



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 105744935 B

(45) 授权公告日 2022. 09. 30

(21) 申请号 201480063875.4

R · A · 库季卡尔 A · W · 加罗法洛

(22) 申请日 2014.11.26

(74) 专利代理机构 北京龙双利达知识产权代理

(65) 同一申请的已公布的文献号

有限公司 11329

申请公布号 CN 105744935 A

专利代理师 肖鹏 孙涛

(43) 申请公布日 2016.07.06

(51) Int.Cl.

(30) 优先权数据

A61K 31/4045 (2006.01)

61/909,897 2013.11.27 US

(56) 对比文件

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

WO 2014/074218 A1, 2014.05.15

2016.05.23

CN 104955821 A, 2015.09.30

(86) PCT国际申请的申请数据

Paresh Agarwal等.Hydrazino-Pictet-Spengler Ligation as a Biocompatible Method for the Generation of Stable Protein Conjugates.《Bioconjugate Chemistry》.2013,第24卷第846-851页,尤其是第848页Scheme 1.

PCT/US2014/067746 2014.11.26

(87) PCT国际申请的公布数据

W02015/081282 EN 2015.06.04

(73) 专利权人 雷德伍德生物科技股份有限公司

审查员 齐洁

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 D · 兰布卡 A · E · 阿伯斯

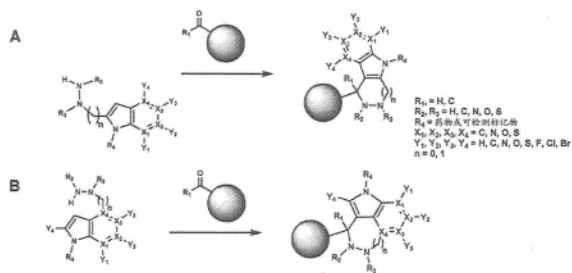
权利要求书5页 说明书176页 附图88页

(54) 发明名称

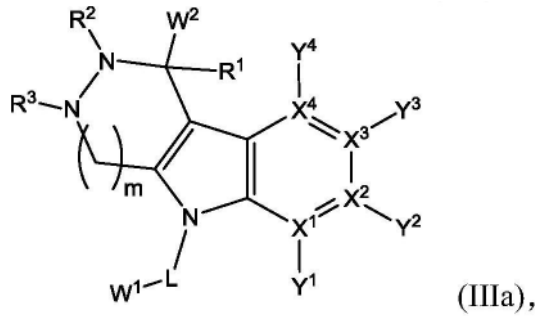
胍基-吡咯并化合物及用于生成缀合物的方法

(57) 摘要

本公开内容提供缀合物结构和用于生成这些缀合物的胍基-吡咯并化合物结构。本公开内容还涵盖此类缀合物的生产方法以及使用方法。本公开内容的多个方面包括一种药物组合物。所述药物组合物包括本文所述缀合物和药学可接受赋形剂。本公开内容的多个方面包括一种将缀合物投递至受试者的方法。所述方法包括对受试者施用有效量的本文所述缀合物。本公开内容的多个方面包括一种治疗受试者中的疾患的方法。



1. 一种缀合物,其包含至少一个式(IIIa)的经修饰的氨基酸残基:



其中

m是1;

R¹是氢;

R²和R³每个独立选自烷基;

X¹, X², X³和X⁴每个是C;

Y¹, Y², Y³和Y⁴每个是氢;

L是式-(T¹-V¹)_a-(T²-V²)_b-(T³-V³)_c-(T⁴-V⁴)_d-(T⁵-V⁵)_e的接头,其中a,b,c和d每个是1,且e是0;

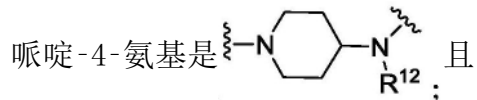
T¹是(C₁-C₁₂)烷基,T²是哌啶-4-氨基(P4A),T³是(C₁-C₁₂)烷基,且T⁴是(AA)_p;T⁵缺失;其中AA是氨基酸残基;

p是0或1至20的整数;且

V¹,V²和V³每个是-CO-;V⁴和V⁵缺失;

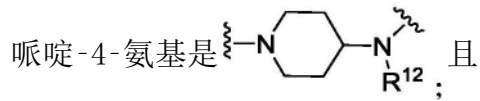
其中W²是抗体且W¹是药物。

2. 权利要求1的缀合物,其中:



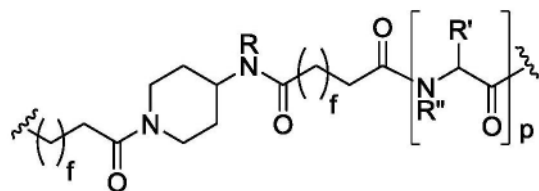
R¹²是聚乙二醇模块。

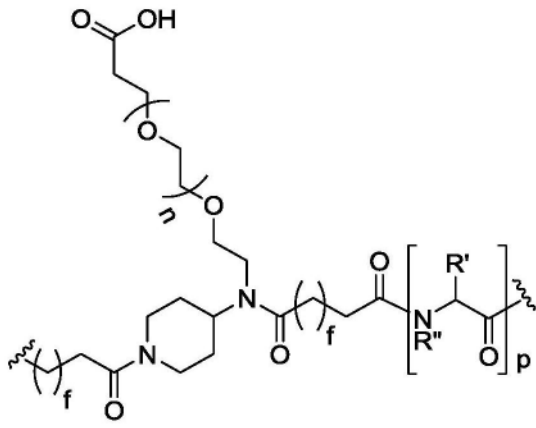
3. 权利要求1的缀合物,其中:



R¹²是聚乙二醇模块,其中任两个相邻的R¹²基团环状连接以形成哌嗪基环。

4. 权利要求1的缀合物,其中L由下述结构中一项描述:





其中：

每个f独立是0或1至12的整数；

每个n独立是0或1至30的整数；

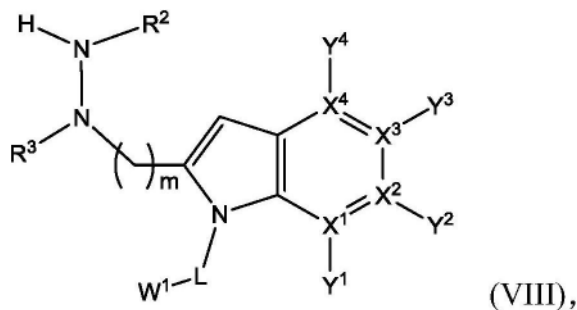
每个p独立是0或1至20的整数；

每个R独立是聚乙二醇模块；且

每个R'独立是H, 氨基酸的侧链基团, 烷基, 烯基, 炔基, 烷氧基, 氨基, 羧基, 羧基酯, 酰基, 酰氧基, 酰基氨基, 氨基酰基, 烷基酰胺, 磺酰基, 硫代烷氧基, 芳基, 杂芳基, 环烷基, 或杂环基；且

每个R''独立是H, 烷基, 烯基, 炔基, 烷氧基, 氨基, 羧基, 酰基, 酰氧基, 酰基氨基, 氨基酰基, 烷基酰胺, 磺酰基, 硫代烷氧基, 芳基, 杂芳基, 环烷基, 或杂环基。

5. 式 (VIII) 的化合物：



其中

m是1；

R²和R³每个独立选自烷基；

X¹, X², X³和X⁴每个是C；

Y¹, Y², Y³和Y⁴每个是氢；

L是式 $-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-(T^4-V^4)_d-(T^5-V^5)_e$ 的接头, 其中a, b, c和d每个是1, 且e是0；

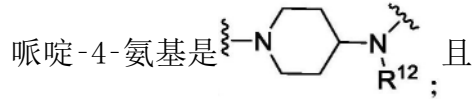
T¹是(C₁-C₁₂)烷基, T²是哌啶-4-氨基(P4A), T³是(C₁-C₁₂)烷基, 且T⁴是(AA)_p; T⁵缺失; 其中AA是氨基酸残基；

p是0或1至20的整数；

V¹, V², 和V³每个是-CO-; V⁴和V⁵缺失；

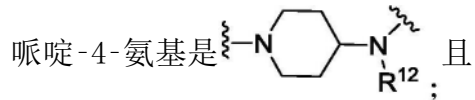
W¹是药物。

6. 权利要求5的化合物,其中:



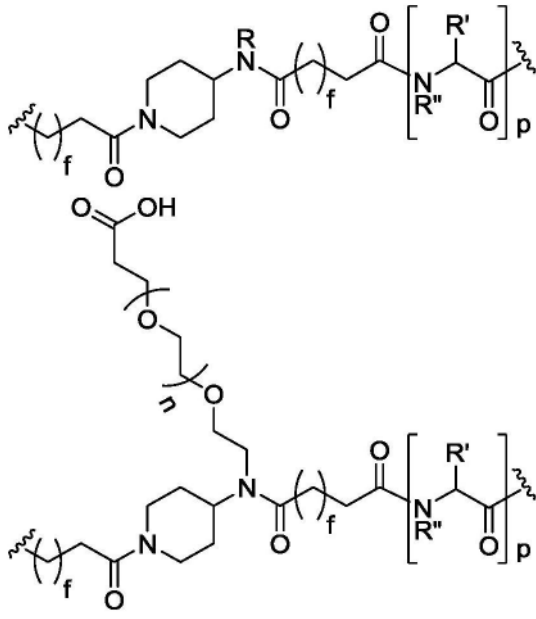
R¹²是聚乙二醇模块。

7. 权利要求5的化合物,其中:



R¹²是聚乙二醇模块,其中任两个相邻的R¹²基团环状连接以形成哌嗪基环。

8. 权利要求5的化合物,其中L由下述结构中一项描述:



其中:

每个f独立是0或1至12的整数;

每个n独立是0或1至30的整数;

每个p独立是0或1至20的整数;

每个R是聚乙二醇模块;且

每个R'独立是H,氨基酸的侧链基团,烷基,烯基,炔基,烷氧基,氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,芳基,杂芳基,环烷基,或杂环基;且

每个R''独立是H,烷基,烯基,炔基,烷氧基,氨基,羧基,酰基,酰氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,芳基,杂芳基,环烷基,或杂环基。

9. 一种生成多肽缀合物的方法,该方法包括:

在反应混合物中组合:

权利要求5至8任一项的化合物,和

包含反应性醛基团或反应性酮基团的第二化合物,

以形成该缀合物,其中该组合是在适合于促进该化合物和该第二化合物的反应性醛基团或反应性酮基团之间的反应的反应条件下;并

自该反应混合物分离该缀合物。

10. 一种药物组合物,其包含:

权利要求1至4任一项的缀合物;和
药学可接受赋形剂。

11. 权利要求1至4任一项的缀合物在制备供一种治疗受试者中的疾患的方法使用的药物中的用途,该方法包括:

对具有疾患的受试者施用治疗有效量的包含权利要求1至4任一项的缀合物的药物组合物,其中该施用有效治疗受试者中的疾患。

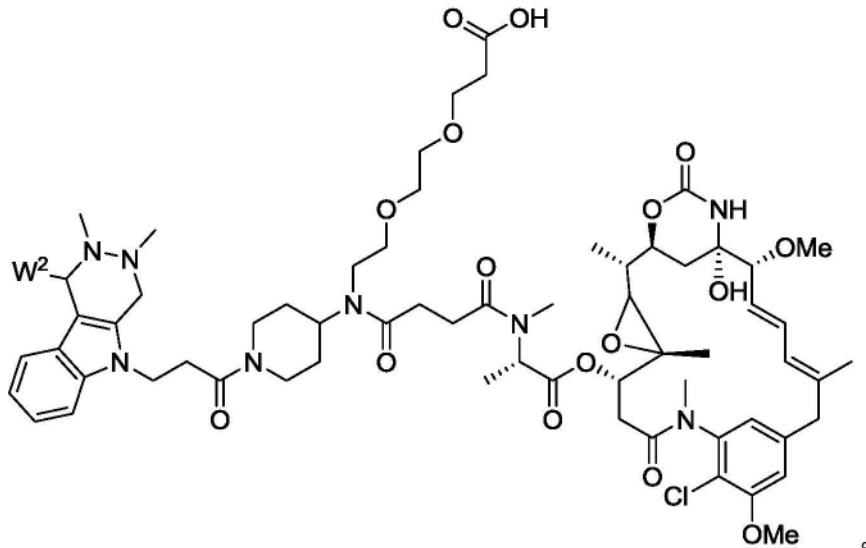
12. 权利要求1的缀合物,其中所述药物包含类美登素。

13. 权利要求12的缀合物,其中所述类美登素包含去酰基美登素。

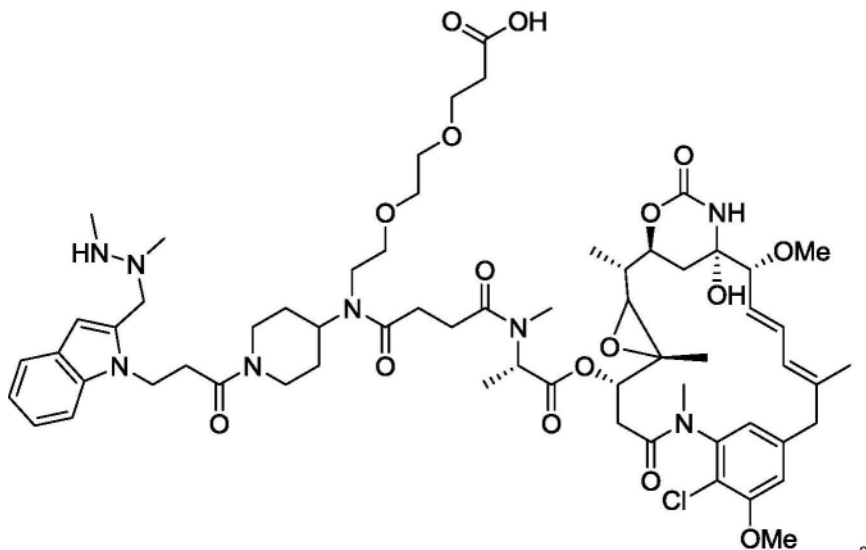
14. 权利要求5的化合物,其中所述药物包含类美登素。

15. 权利要求14的化合物,其中所述类美登素包含去酰基美登素。

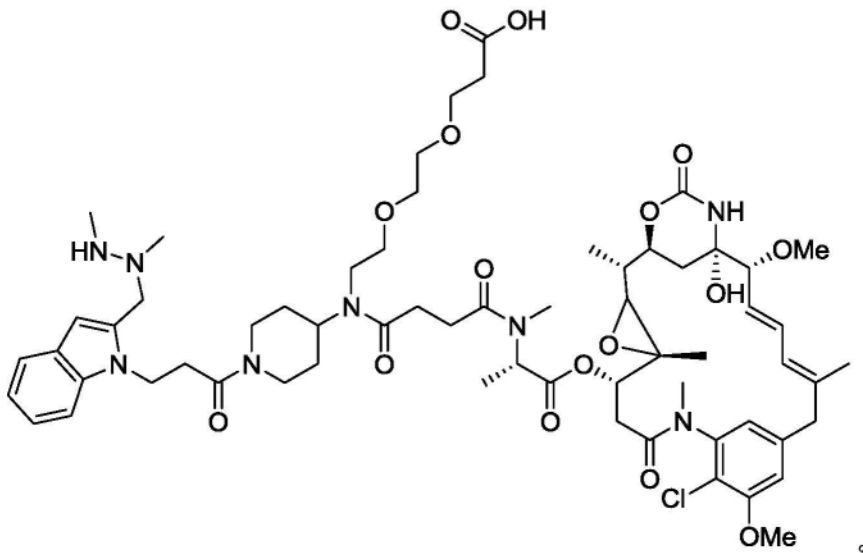
16. 权利要求1的缀合物,其中所述缀合物是下式的:



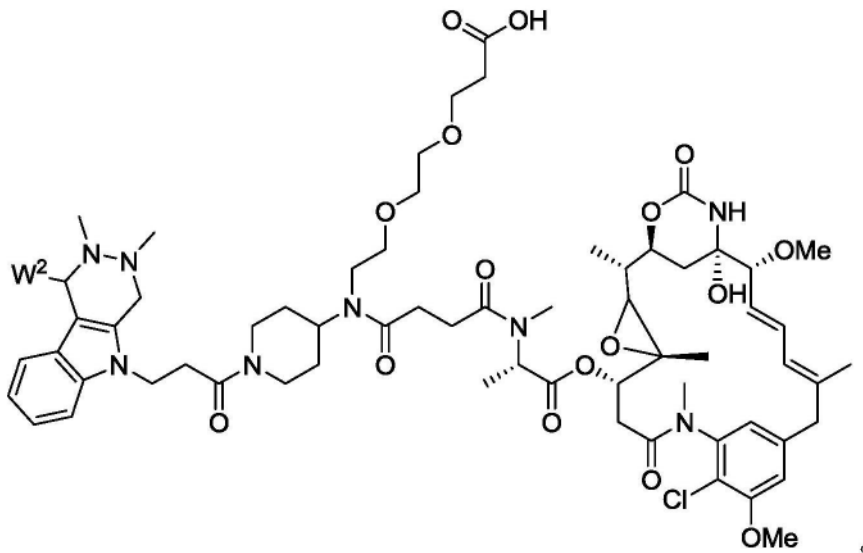
17. 权利要求5的化合物,其中所述化合物是下式的:



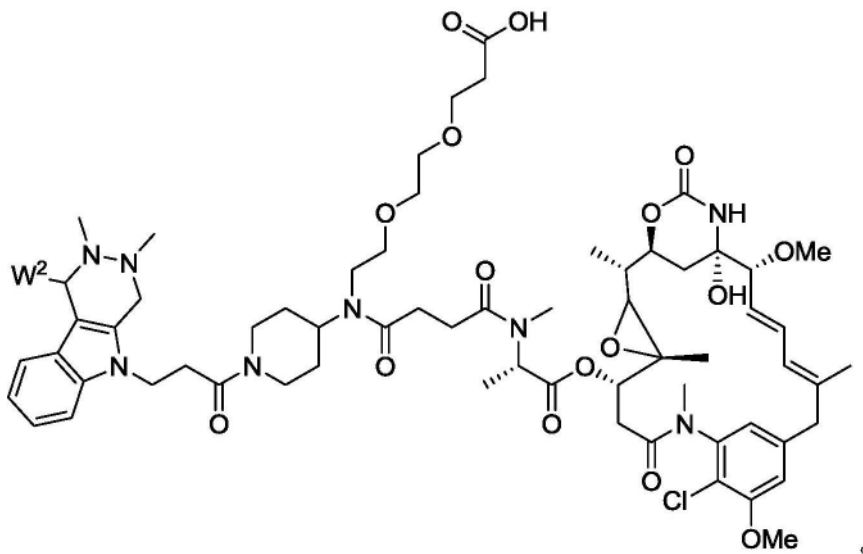
18. 权利要求9的方法,其中所述化合物是下式的:



19. 权利要求10的药物组合物,其中所述缀合物是下式的:



20. 权利要求11的用途,其中所述缀合物是下式的:



胍基-吡咯并化合物及用于生成缀合物的方法

[0001] 对相关申请的交叉援引

[0002] 依照35U.S.C. §119 (e), 本申请要求2013年11月27日提交的流水号61/909,897的美国临时申请的优先权, 通过援引将该申请完整收入本文。

[0003] 引言

[0004] 蛋白质-小分子治疗性缀合物领域进展很大, 提供多种在临床上有益的药物及在未来几年中提供更多的承诺。蛋白质缀合物治疗剂可提供数项优点, 这是由于例如特异性, 功能多样性及相对低的脱靶活性, 导致更少的副作用。对蛋白质的化学修饰可通过使它们更加有效, 稳定, 或多模块而扩充这些优点。

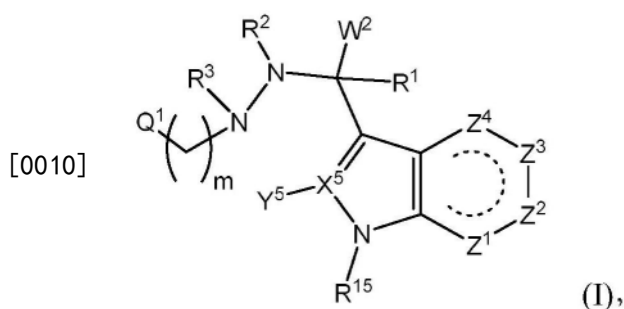
[0005] 通常使用多种标准化学转化在蛋白质上创建及操作翻译后修饰。有多种方法, 其中一种能够选择性修饰某些氨基酸的侧链。例如, 可以通过首先用水溶性碳二亚胺试剂活化及随后与胺反应来靶向羧酸侧链(天冬氨酸和谷氨酸)。类似地, 可以经由使用已活化的酯或异硫氰酸酯来靶向赖氨酸, 而且可以用马来酰亚胺和 α -卤代-羰基来靶向半胱氨酸硫醇。

[0006] 对于创建在化学上改变的蛋白质治疗剂或试剂的一项重大障碍是以有生物学活性的, 同质的形式生成蛋白质。药物或可检测标记物对多肽的缀合可能难以控制, 产生在所附着的药物分子的数目和化学缀合的位置方面不同的缀合物的异质混合物。在一些情况中, 可能想要使用合成有机化学的工具来控制缀合的位点和/或缀合至多肽的药物或可检测标记物以指导多肽上化学键的精确且选择性的形成。

[0007] 概述

[0008] 本公开内容提供缀合物结构和用于生成这些缀合物的胍基-吡咯并(hydrazinyl-pyrrolo)化合物结构。本公开内容还涵盖此类缀合物的生产方法以及使用方法。

[0009] 本公开内容的多个方面包括一种缀合物, 其包含至少一个式(I)的经修饰的氨基酸残基:



[0011] 其中

[0012] m是0或1;

[0013] R^1 选自氢, 烷基, 取代的烷基, 烯基, 取代的烯基, 炔基, 取代的炔基, 芳基, 取代的芳基, 杂芳基, 取代的杂芳基, 环烷基, 取代的环烷基, 杂环基, 和取代的杂环基;

[0014] R^2 和 R^3 每个独立选自氢, 烷基, 取代的烷基, 烯基, 取代的烯基, 炔基, 取代的炔基, 烷氧基, 取代的烷氧基, 氨基, 取代的氨基, 羧基, 羧基酯, 酰基, 酰氧基, 酰基氨基, 氨基酰

基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,或 R^2 和 R^3 任选环状连接以形成5或6元杂环基;

[0015] Z^1, Z^2, Z^3 和 Z^4 每个独立选自 CR^{11}, NR^{12}, O 和 S ,其中 Z^1, Z^2, Z^3 和 Z^4 中一项是任选的;

[0016] X^5 是 C ;

[0017] Y^5, R^{11} 和 R^{12} 每个独立选自氢,卤素,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

[0018] Q^1 是与 Z^4 或 X^5 任一的键,其中若 Q^1 是与 Z^4 的键,则 Z^4 是 CR^{11} 或 NR^{12} 且 R^{11} 或 R^{12} 缺失,或若 Q^1 是与 X^5 的键,则 Y^5 缺失;

[0019] R^{15} 是 $-L-W^1$ 或 $-L-W^1$ 附着于 Z^1, Z^2, Z^3 或 Z^4 中一项,其中若 $-L-W^1$ 附着于 Z^1, Z^2, Z^3 或 Z^4 中一项,则 R^{15} 选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

[0020] L 是包含 $-(T^1-V^1)_a - (T^2-V^2)_b - (T^3-V^3)_c - (T^4-V^4)_d - (T^5-V^5)_e$ 的接头,其中 a, b, c, d 和 e 每个独立是0或1,其中 a, b, c, d 和 e 的和是1至5;

[0021] T^1, T^2, T^3, T^4 和 T^5 每个独立选自 (C_1-C_{12}) 烷基,取代的 (C_1-C_{12}) 烷基, $(EDA)_w, (PEG)_n, (AA)_p, -(CR^{13}OH)_h$, 哌啶-4-氨基(P4A), 对氨基-苄基氧羰基(PABC), 间氨基-苄基氧羰基(MABC), 对氨基-苄基氧(PABO), 间氨基-苄基氧(MABO), 对氨基苄基, 乙缩醛基团, 二硫化物, 胍, 蛋白酶可切割模块, 葡糖醛酸糖苷酶可切割模块, β -内酰胺酶可切割模块, 和酯, 其中EDA是乙二胺模块, PEG是聚乙二醇或经修饰的聚乙二醇, 而AA是氨基酸残基;

[0022] w 是1至20的整数;

[0023] n 是1至30的整数;

[0024] p 是1至20的整数;

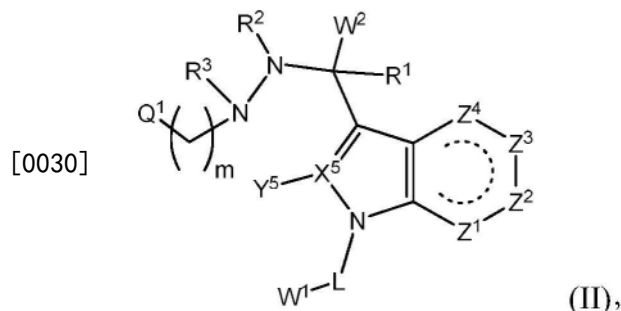
[0025] h 是1至12的整数;且

[0026] V^1, V^2, V^3, V^4 和 V^5 每个独立选自下组: 共价键, $-CO-$, $-NR^{11}-$, $-CONR^{11}-$, $-NR^{11}CO-$, $-C(O)O-$, $-OC(O)-$, $-O-$, $-S-$, $-S(O)-$, $-SO_2-$, $-SO_2NR^{11}-$, $-NR^{11}SO_2-$ 和 $-P(O)OH-$,

[0027] 其中 W^1 和 W^2 中一项是多肽且另一项是化学实体,且

[0028] 其中当 a, b, c, d 和 e 的和是2且 $T^1-V^1, T^2-V^2, T^3-V^3, T^4-V^4$ 或 T^5-V^5 中一项是 $(PEG)_n-CO$ 时,则 n 不是6。

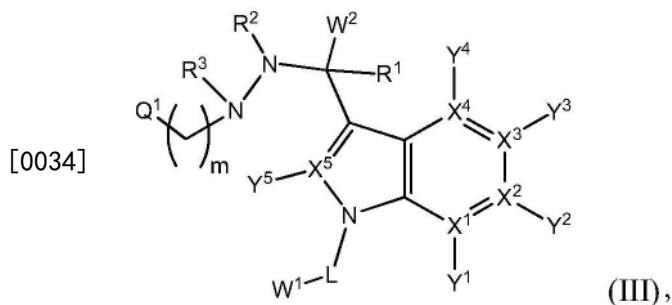
[0029] 在一些实施方案中,所述缀合物包括至少一个式(II)的经修饰的氨基酸残基:



[0031] 其中

[0032] $m, R^1, R^2, R^3, X^5, L, Q^1, W^1, W^2, Y^5, Z^1, Z^2, Z^3$ 和 Z^4 如式(I)中定义的。

[0033] 在一些实施方案中,所述缀合物包括至少一个式(III)的经修饰的氨基酸残基:



[0035] 其中

[0036] $m, R^1, R^2, R^3, X^5, L, W^1$ 和 W^2 如式(I)中定义的;

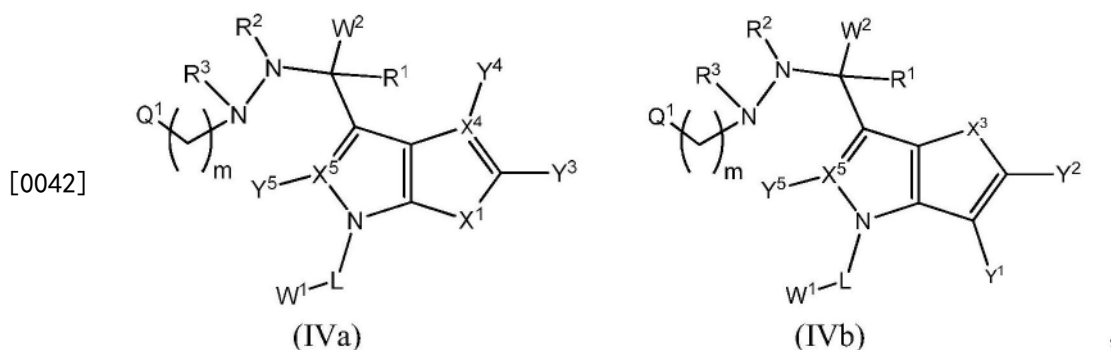
[0037] X^1, X^2, X^3 和 X^4 每个独立选自C, N, O和S;

[0038] Y^1, Y^2, Y^3, Y^4 和 Y^5 ,若存在,则每个独立选自氢,卤素,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,其中 Y^1 和 Y^2 , Y^2 和 Y^3 ,或 Y^3 和 Y^4 任选是环状连接的;且

[0039] Q^1 是与 X^4 或 X^5 任一的键,其中若 Q^1 是与 X^4 的键,则 Y^4 缺失,或若 Q^1 是与 X^5 的键,则 Y^5 缺失。

[0040] 在一些实施方案中, Y^1 和 Y^2 , Y^2 和 Y^3 ,或 Y^3 和 Y^4 环状连接以形成稠合苯并环。

[0041] 在一些实施方案中,所述缀合物包括至少一个式(IVa)或(IVb)的经修饰的氨基酸残基:



[0043] 其中:

[0044] $m, R^1, R^2, R^3, R^{12}, X^5, Y^5, L, W^1$ 和 W^2 如式(I)中定义的;

[0045] X^1 和 X^3 每个独立是O, S或 NR^{12} ;

[0046] Y^1, Y^2, Y^3 和 Y^4 ,若存在,则每个独立选自氢,卤素,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,其中 Y^1 和 Y^2 或 Y^3 和 Y^4 任选是环状连接的;

[0047] Q^1 是与 X^4 或 X^5 任一的键,其中若 Q^1 是与 X^4 的键,则 X^4 是C且 Y^4 缺失,或若 Q^1 是与 X^5 的

键,则Y⁵缺失;且

[0048] Q²是与X³或X⁵任一的键,其中若Q²是与X³的键,则X³是NR¹²且R¹²缺失,或若Q²是与X⁵的键,则Y⁵缺失。

[0049] 在一些实施方案中,Y¹和Y²或Y³和Y⁴环状连接以形成稠合苯并环。

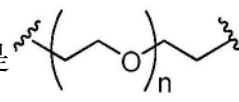
[0050] 在一些实施方案中,

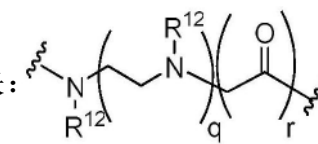
[0051] T¹选自(C₁-C₁₂)烷基和取代的(C₁-C₁₂)烷基;

[0052] T²,T³,T⁴和T⁵每个独立选自(EDA)_w, (PEG)_n, (C₁-C₁₂)烷基,取代的(C₁-C₁₂)烷基, (AA)_p, -(CR¹³OH)_h-, 哌啶-4-氨基, MABC, MABO, PABO, PABC, 对氨基苄基, 乙缩醛基团, 二硫化物, 胍, 蛋白酶可切割模块, 葡糖醛酸糖苷酶可切割模块, β-内酰胺酶可切割模块, 酯, (AA)_p-MABC-(AA)_p, (AA)_p-MABO-(AA)_p, (AA)_p-PABO-(AA)_p和(AA)_p-PABC-(AA)_p;且

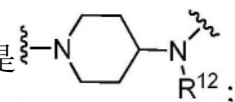
[0053] V¹,V²,V³,V⁴和V⁵每个独立选自下组:共价键,-CO-,-NR¹¹-,-CONR¹¹-,-NR¹¹CO-,-C(O)O-,-OC(O)-,-O-,-S-,-S(O)-,-SO₂-,-SO₂NR¹¹-,-NR¹¹SO₂-和-P(O)OH-;

[0054] 其中:

[0055] (PEG)_n是  其中n是1至30的整数;

[0056] EDA是具有如下结构的乙二胺模块:  其中q是1至6的整数且

r是0或1;

[0057] 哌啶-4-氨基是 ;

[0058] 每个R¹¹和R¹²独立选自氢,烷基,取代的烷基,PEG,芳基和取代的芳基,其中任两个相邻的R¹²基团可以环状连接以形成哌嗪基环;且

[0059] R¹³选自氢,烷基,取代的烷基,芳基,和取代的芳基。

[0060] 在一些实施方案中,a,b,c和d每个是1;且e是0。

[0061] 在一些实施方案中,a,b和c每个是1;且d和e每个是0。

[0062] 在一些实施方案中,a和b每个是1;且c,d和e每个是0。

[0063] 在一些实施方案中,T¹,T²,T³,T⁴和T⁵和V¹,V²,V³,V⁴和V⁵选自下表:

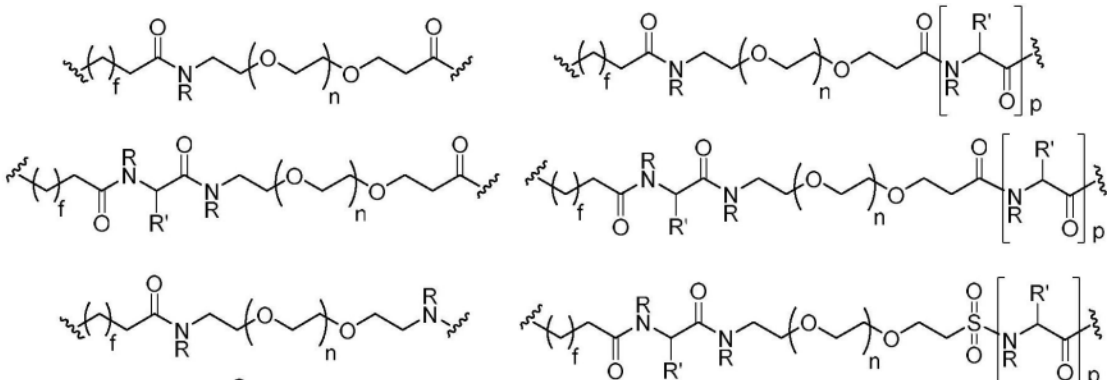
T ¹	V ¹	T ²	V ²	T ³	V ³	T ⁴	V ⁴	T ⁵	V ⁵
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	-	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-	-	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	(PEG) _n	-NR ¹¹ -	-	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(PEG) _n	-NR ¹¹ -	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(EDA) _w	-CO-	-	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-NR ¹¹ -	-	-	-	-	-	-

[0064]

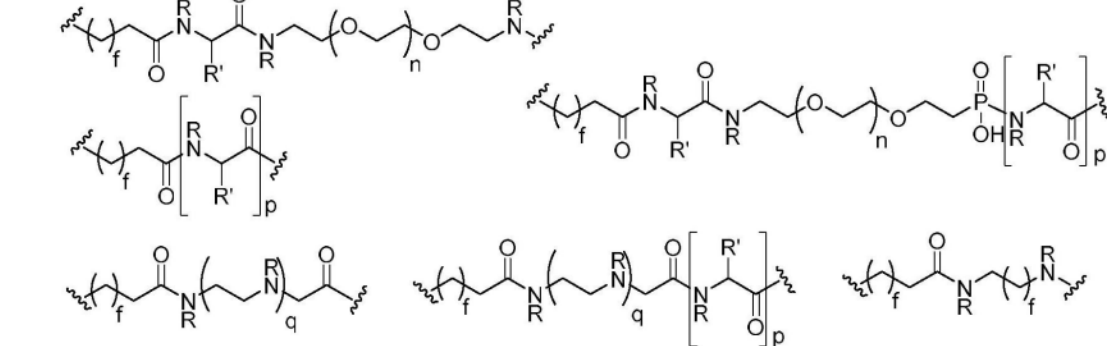
[0065]

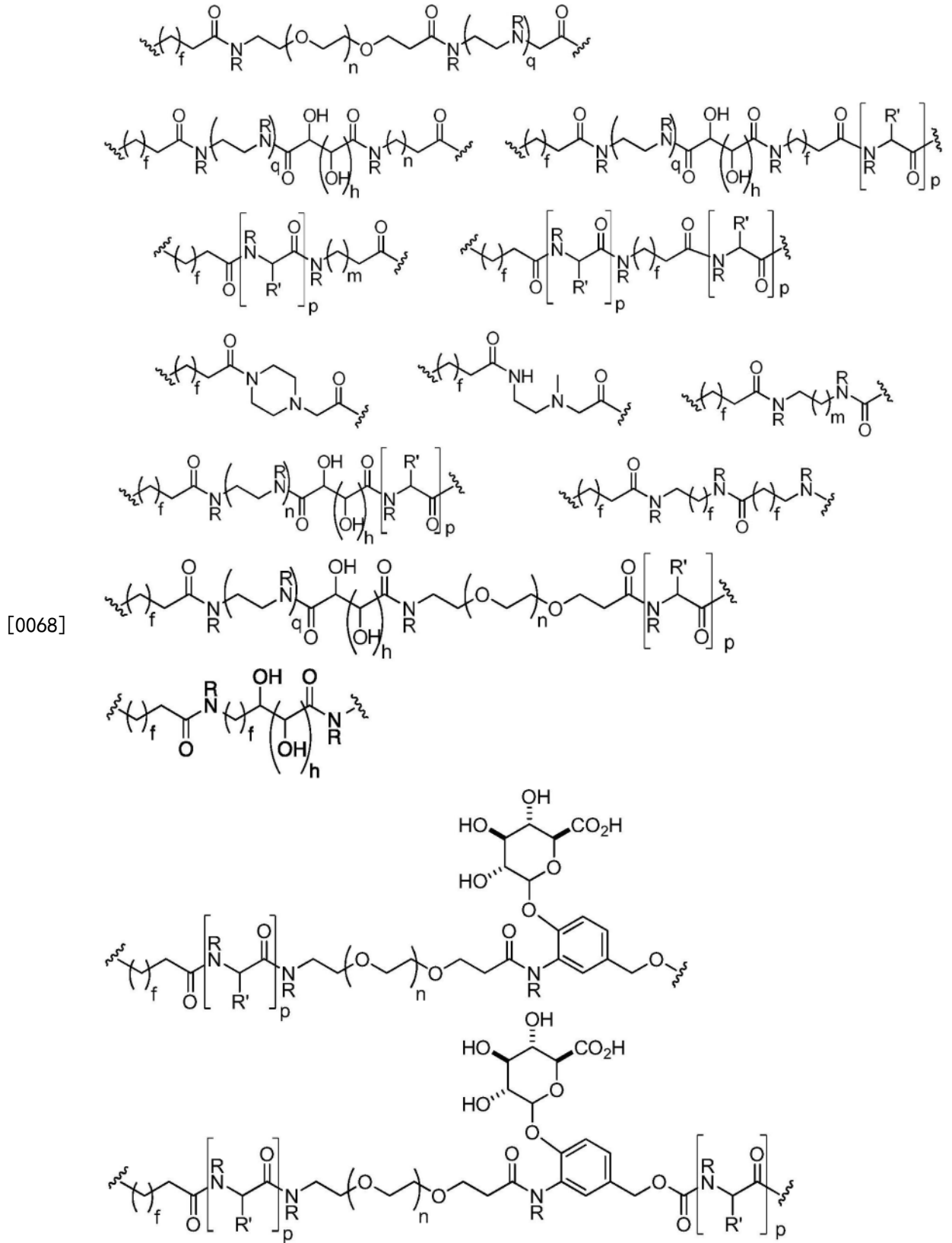
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	(EDA) _w	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(EDA) _w	-	-	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(EDA) _w	-CO-	(CR ¹³ OH) _h	-CONR ¹¹ -	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	MABO	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	PABO	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	PABC	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(EDA) _w	-CO-	(CR ¹³ OH) _h	-CO-	(AA) _p	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p -PABC-(AA) _p	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p -	-	PABC-(AA) _p	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p -PABO	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	PABO	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(PEG) _n	-SO ₂ -	(AA) _p	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	PABC-(AA) _p	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	PABC	-	(AA) _p	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(EDA) _w	-CO-	(CR ¹³ OH) _h	-CONR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	MABC-(AA) _p	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	MABC	-	(AA) _p	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	MABO	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	MABO	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	PABO	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	PABC	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	MABC	-	(AA) _p	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(CR ¹³ OH) _h	-CO-	-	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	取代的 (C ₁ -C ₁₂)烷基	-NR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-SO ₂ -	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	-	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	PABC	-NR ¹¹ -	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-	(CR ¹³ OH) _h	-CONR ¹¹ -	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	P4A	-CO-	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-	PABO	-CO-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	P4A	-CO-	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-	PABO	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	P4A	-CO-	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-	PABC-(AA) _p	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	P4A	-CO-	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-	-	-

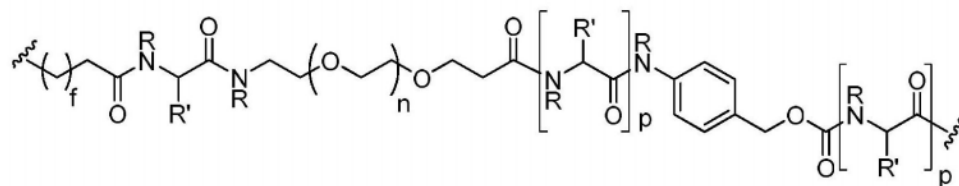
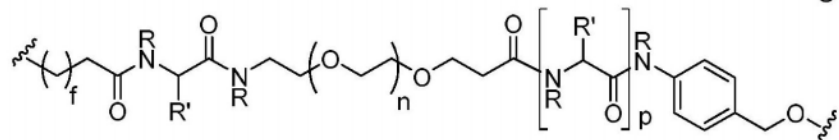
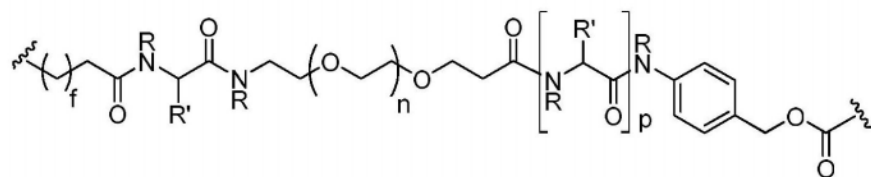
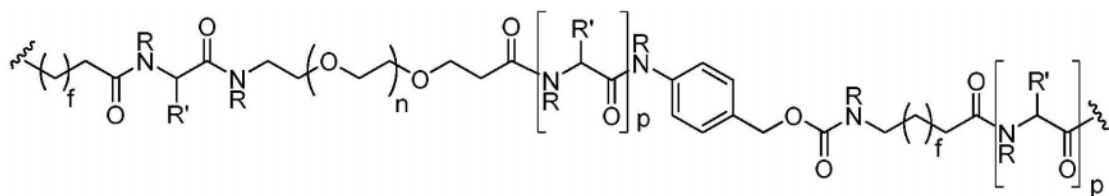
[0066] 在一些实施方案中,L由下述结构中一项描述:



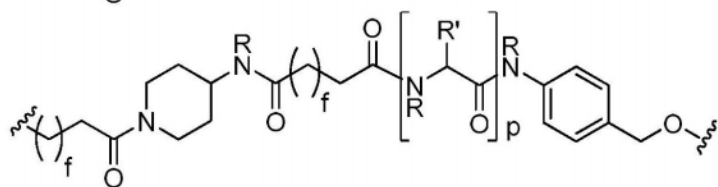
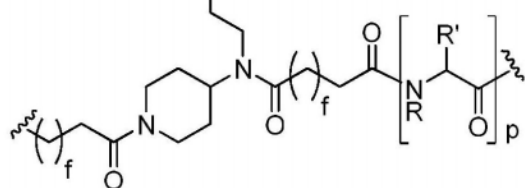
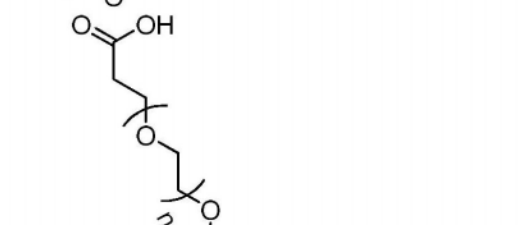
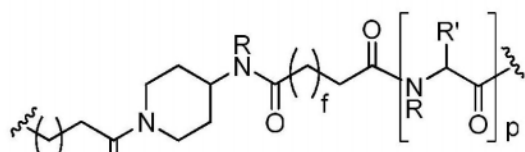
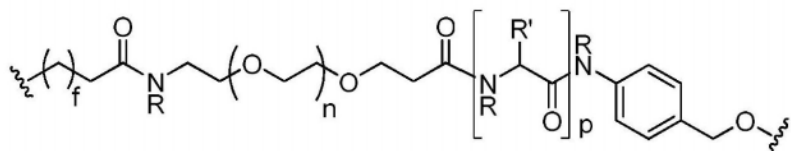
[0067]



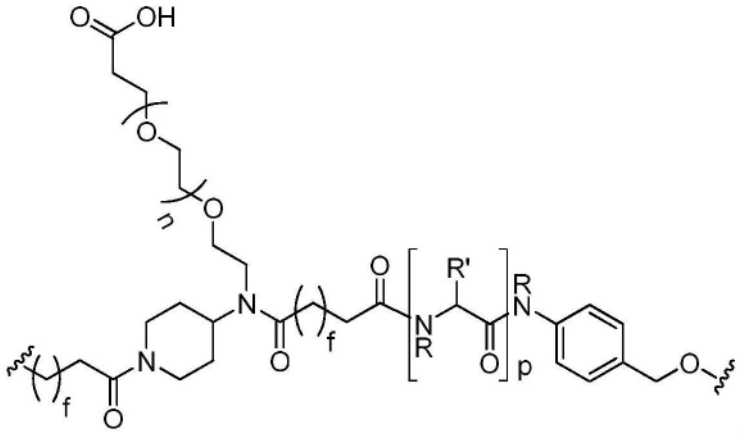




[0069]



[0070]



[0071] 其中:

[0072] 每个f独立是0或1至12的整数;

[0073] 每个w独立是0或1至20的整数;

[0074] 每个n独立是0或1至30的整数;

[0075] 每个p独立是0或1至20的整数;

[0076] 每个h独立是0或1至12的整数;

[0077] 每个R独立是氢,烷基,取代的烷基,聚乙二醇模块,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;且

[0078] 每个R'独立是H,氨基酸的侧链基团,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。

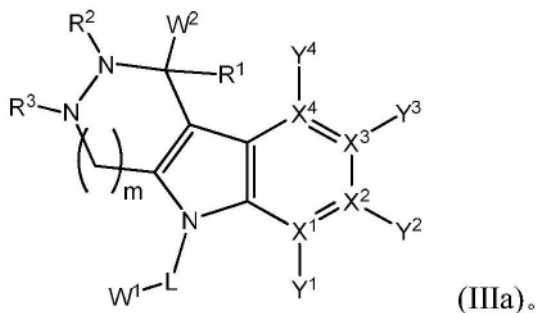
[0079] 在一些实施方案中, Q¹是与X⁴的键且Y⁴缺失。[0080] 在一些实施方案中, Q¹是与X⁵的键且Y⁵缺失。

[0081] 在一些实施方案中, m是1。

[0082] 在一些实施方案中, R²和R³每个独立选自烷基和取代的烷基。[0083] 在一些实施方案中, R²和R³每个是甲基。[0084] 在一些实施方案中, X¹, X², X³和X⁴每个是C。[0085] 在一些实施方案中, Y¹, Y²和Y³每个是H,且Y⁴或Y⁵中任一项是H。

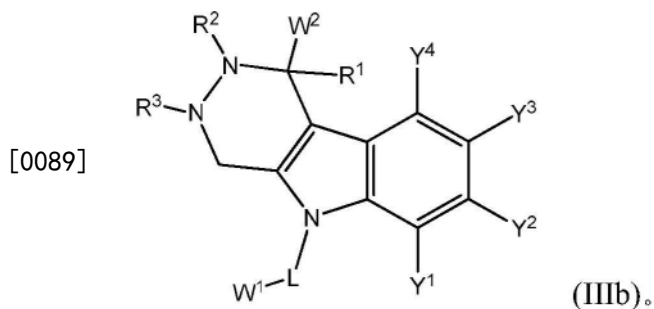
[0086] 在一些实施方案中,所述缀合物包括至少一个式(IIIa)的经修饰的氨基酸残基:

[0087]

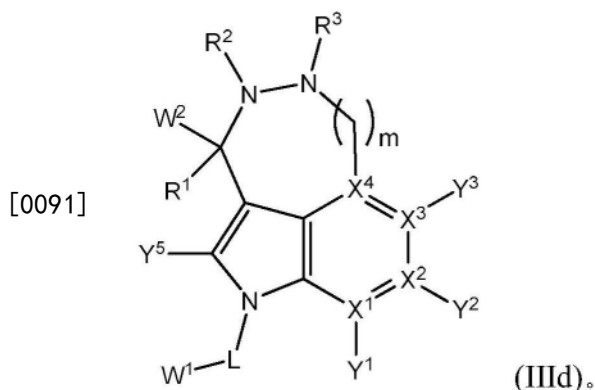


(IIIa)。

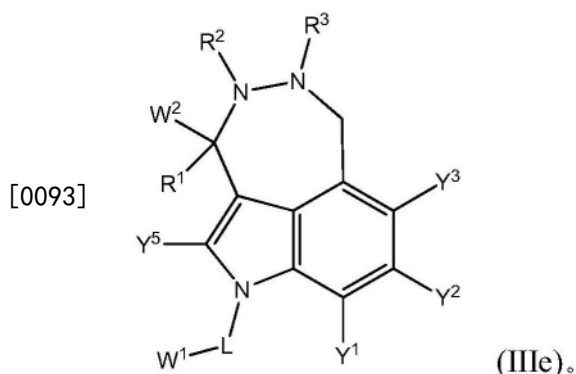
[0088] 在一些实施方案中,所述缀合物包括至少一个式(IIIb)的经修饰的氨基酸残基:



[0090] 在一些实施方案中,所述缀合物包括至少一个式(IIIId)的经修饰的氨基酸残基:



[0092] 在一些实施方案中,所述缀合物包含至少一个式(IIIe)的经修饰的氨基酸残基:

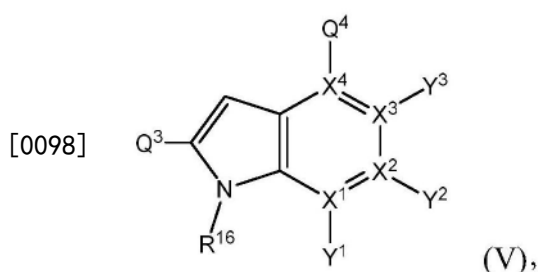


[0094] 在一些实施方案中,所述化学实体是药物或可检测标记物。

[0095] 在一些实施方案中, W^1 是所述化学实体,且 W^2 是所述多肽。

[0096] 在一些实施方案中, W^1 是所述多肽,且 W^2 是所述化学实体。

[0097] 本公开内容的多个方面包括式(V)的化合物:



[0099] 其中

[0100] Q^3 和 Q^4 中一项是 $-(CH_2)_m NR^3 NHR^2$ 且另一项是 Y^4 ;

[0101] m 是0或1;

[0102] R^2 和 R^3 每个独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,或 R^2 和 R^3 任选环状连接以形成5或6元杂环基;

[0103] X^1, X^2, X^3 和 X^4 每个独立选自C, N, O和S, 其中 X^1, X^2, X^3 和 X^4 中一项是任选的;

[0104] Y^1, Y^2, Y^3 和 Y^4 每个独立选自氢, 卤素, 烷基, 取代的烷基, 烯基, 取代的烯基, 炔基, 取代的炔基, 烷氧基, 取代的烷氧基, 氨基, 取代的氨基, 羧基, 羧基酯, 酰基, 酰氧基, 酰基氨基, 氨基酰基, 烷基酰胺, 取代的烷基酰胺, 磺酰基, 硫代烷氧基, 取代的硫代烷氧基, 芳基, 取代的芳基, 杂芳基, 取代的杂芳基, 环烷基, 取代的环烷基, 杂环基, 和取代的杂环基, 其中 Y^1 和 Y^2 或 Y^2 和 Y^3 任选是环状连接的, 且其中当 Q^4 是 Y^4 时, 则 Y^3 和 Y^4 任选是环状连接的;

[0105] R^{16}, Y^1, Y^2, Y^3 或 Q^4 中一项是 $-L-W^1$, 其中若 Q^4 是 $-L-W^1$, 则 Q^3 是 $-(CH_2)_mNR^3NHR^2$ 且 Y^4 缺失; 且其中若 Y^1, Y^2, Y^3 或 Q^4 中一项是 $-L-W^1$, 则 R^{16} 选自氢, 烷基, 取代的烷基, 烯基, 取代的烯基, 炔基, 取代的炔基, 芳基, 取代的芳基, 杂芳基, 取代的杂芳基, 环烷基, 取代的环烷基, 杂环基, 和取代的杂环基;

[0106] L是包含 $-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-(T^4-V^4)_d-(T^5-V^5)_e$ 的接头, 其中a, b, c, d和e每个独立是0或1, 其中a, b, c, d和e的和是1至5;

[0107] T^1, T^2, T^3, T^4 和 T^5 每个独立选自 (C_1-C_{12}) 烷基, 取代的 (C_1-C_{12}) 烷基, $(EDA)_w$, $(PEG)_n$, $(AA)_p$, $-(CR^{13}OH)_h$, 哌啶-4-氨基(P4A), 对氨基-苄基氧羰基(PABC), 间氨基-苄基氧羰基(MABC), 对氨基-苄基氧(PABO), 间氨基-苄基氧(MABO), 对氨基苄基, 乙缩醛基团, 二硫化物, 胍, 蛋白酶可切割模块, 葡糖醛酸糖苷酶可切割模块, β -内酰胺酶可切割模块, 和酯, 其中EDA是乙二胺模块, PEG是聚乙二醇或经修饰的聚乙二醇, 而AA是氨基酸残基;

[0108] w是1至20的整数;

[0109] n是1至30的整数;

[0110] p是1至20的整数;

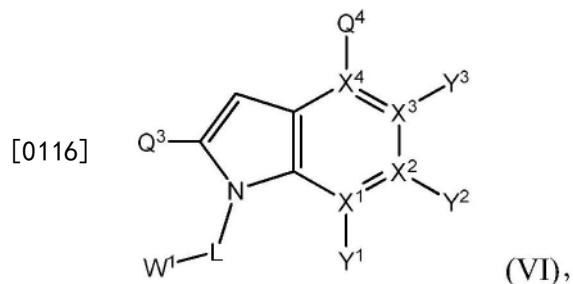
[0111] h是1至12的整数;

[0112] V^1, V^2, V^3, V^4 和 V^5 每个独立选自下组: 共价键, $-CO-$, $-NR^{11}-$, $-CONR^{11}-$, $-NR^{11}CO-$, $-C(O)O-$, $-OC(O)-$, $-O-$, $-S-$, $-S(O)-$, $-SO_2-$, $-SO_2NR^{11}-$, $-NR^{11}SO_2-$ 和 $-P(O)OH-$; 且

[0113] W^1 选自多肽和化学实体, 且

[0114] 其中当a, b, c, d和e的和是2且 $T^1-V^1, T^2-V^2, T^3-V^3, T^4-V^4$ 或 T^5-V^5 中一项是 $(PEG)_n-CO$ 时, 则n不是6。

[0115] 在一些实施方案中, 所述化合物是式(VI)的化合物:



[0117] 其中

[0136] 每个R¹¹和R¹²独立选自氢,烷基,取代的烷基,聚乙二醇模块,芳基和取代的芳基,其中任两个相邻的R¹²基团可以环状连接以形成哌嗪基环;且

[0137] R¹³选自氢,烷基,取代的烷基,芳基,和取代的芳基。

[0138] 在一些实施方案中,a,b,c和d每个是1;且e是0。

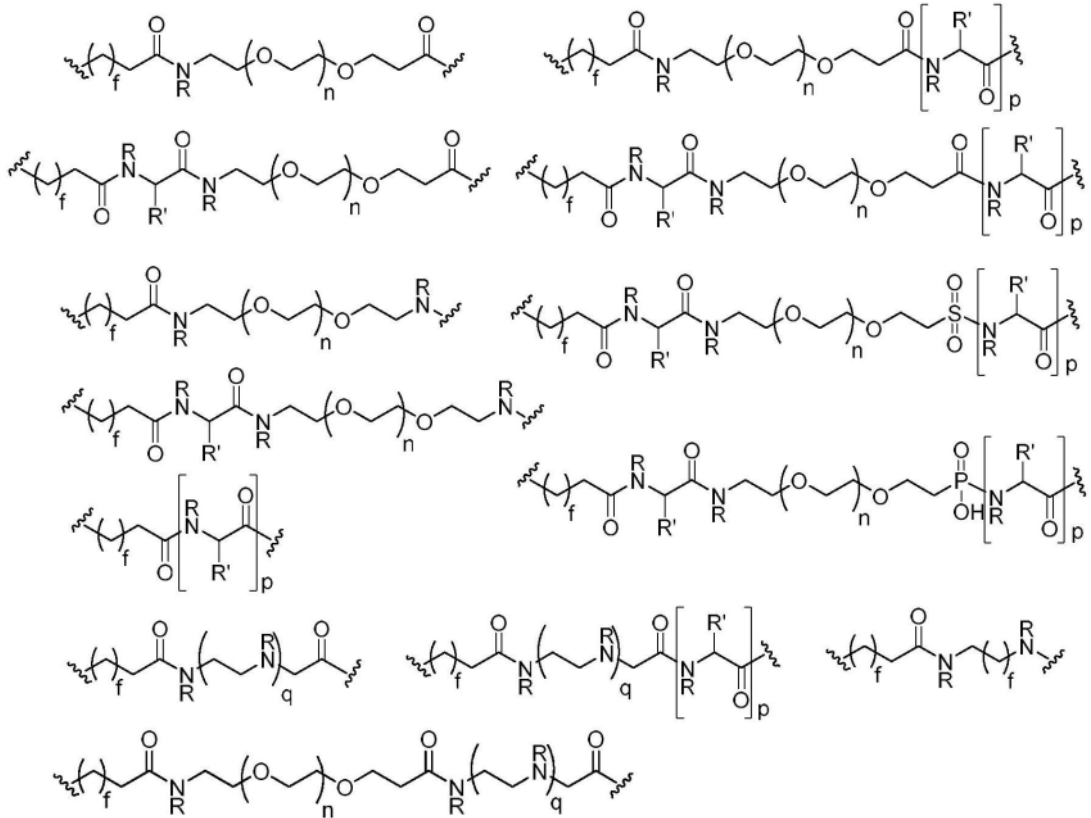
[0139] 在一些实施方案中,a,b和c每个是1;且d和e是0。

[0140] 在一些实施方案中,a和b每个是1;且c,d和e是0。

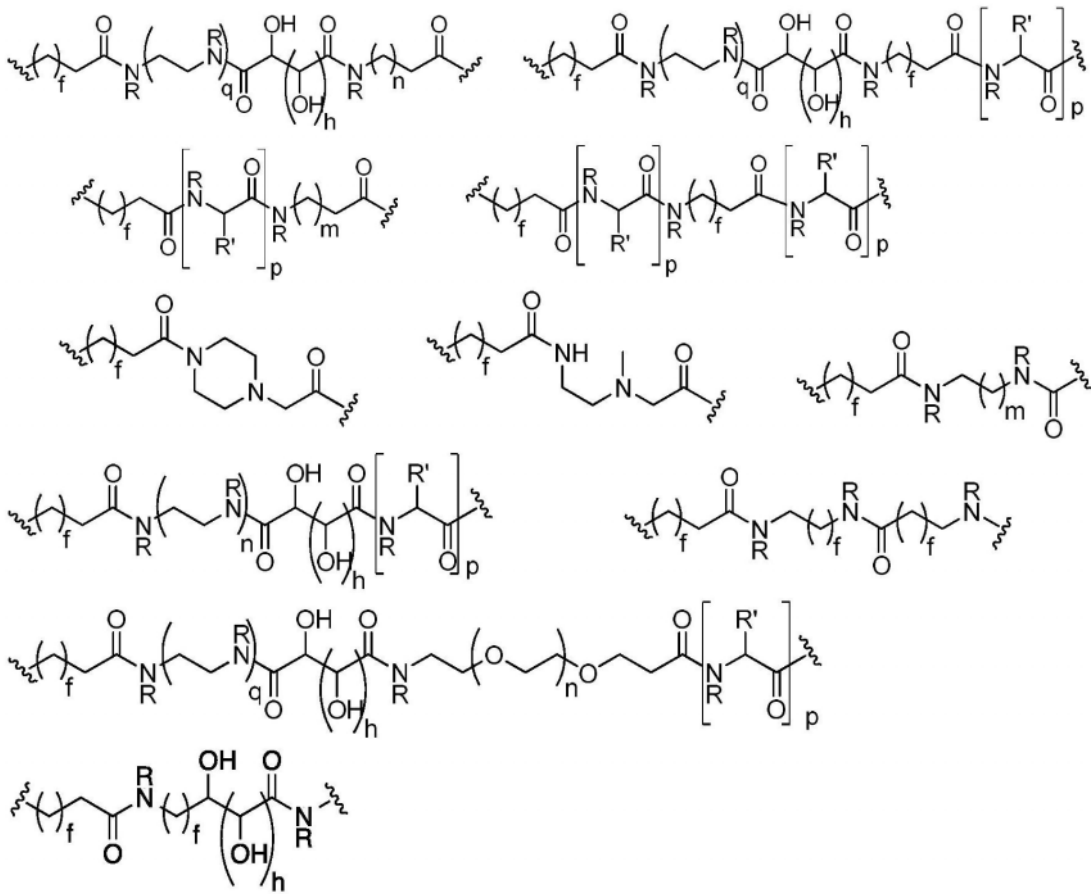
[0141] 在一些实施方案中,T¹,T²,T³,T⁴和T⁵和V¹,V²,V³,V⁴和V⁵选自下表:

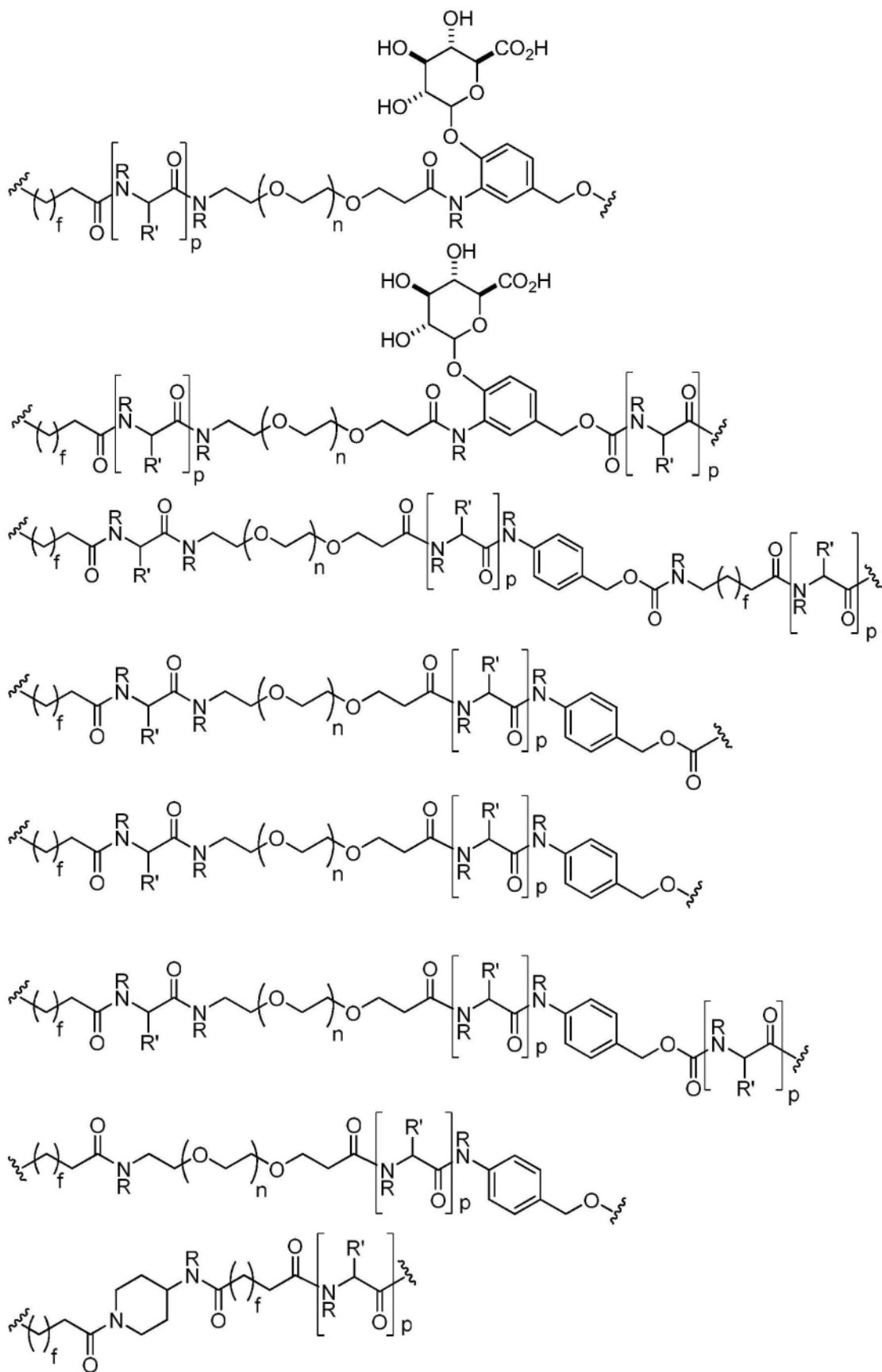
T ¹	V ¹	T ²	V ²	T ³	V ³	T ⁴	V ⁴	T ⁵	V ⁵
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	-	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-	-	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	(PEG) _n	-NR ¹¹ -	-	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(PEG) _n	-NR ¹¹ -	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(EDA) _w	-CO-	-	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-NR ¹¹ -	-	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	(EDA) _w	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(EDA) _w	-	-	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(EDA) _w	-CO-	(CR ¹³ OH) _n	-CONR ¹¹ -	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	MABO	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	PABO	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	PABC	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(EDA) _w	-CO-	(CR ¹³ OH) _n	-CO-	(AA) _p	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p -PABC-(AA) _p	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p -	-	PABC-(AA) _p	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p -PABO	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	PABO	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(PEG) _n	-SO ₂ -	(AA) _p	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	PABC-(AA) _p	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	PABC	-	(AA) _p	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(EDA) _w	-CO-	(CR ¹³ OH) _n	-CONR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	MABC-(AA) _p	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	MABC	-	(AA) _p	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	MABO	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	MABO	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	PABO	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	PABC	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	MABC	-	(AA) _p	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(CR ¹³ OH) _n	-CO-	-	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	取代的 (C ₁ -C ₁₂)烷基	-NR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-SO ₂ -	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	-	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	PABC	-NR ¹¹ -	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-	(CR ¹³ OH) _n	-CONR ¹¹ -	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	P4A	-CO-	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-	PABO	-CO-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	P4A	-CO-	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-	PABO	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	P4A	-CO-	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-	PABC-(AA) _p	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	P4A	-CO-	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-	-	-

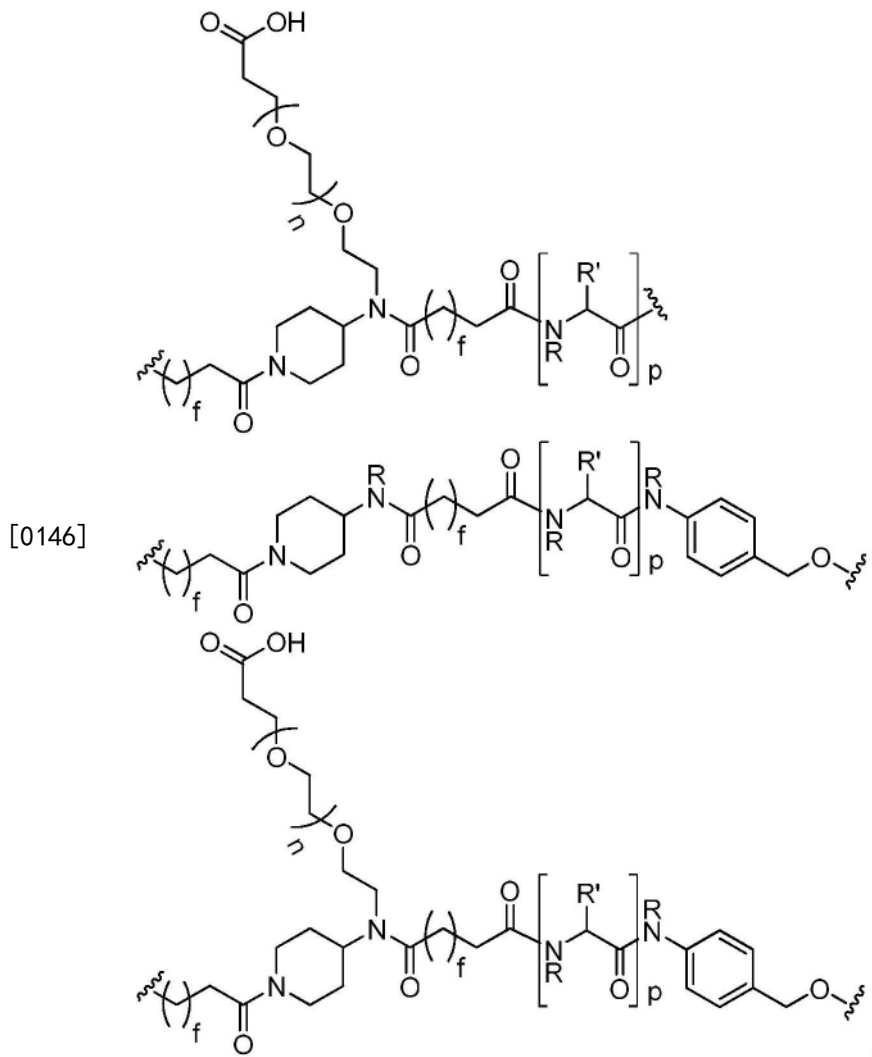
[0142] 在一些实施方案中,L由下述结构中一项描述:



[0144]







[0147] 其中：

[0148] 每个f独立是0或1至12的整数；

[0149] 每个w独立是0或1至20的整数；

[0150] 每个n独立是0或1至30的整数；

[0151] 每个p独立是0或1至20的整数；

[0152] 每个h独立是0或1至12的整数；

[0153] 每个R独立是氢，烷基，取代的烷基，聚乙二醇模块，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，烷氧基，取代的烷氧基，氨基，取代的氨基，羧基，羧基酯，酰基，酰氧基，酰基氨基，氨基酰基，烷基酰胺，取代的烷基酰胺，磺酰基，硫代烷氧基，取代的硫代烷氧基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，和取代的杂环基；且

[0154] 每个R'独立是H，氨基酸的侧链基团，烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，烷氧基，取代的烷氧基，氨基，取代的氨基，羧基，羧基酯，酰基，酰氧基，酰基氨基，氨基酰基，烷基酰胺，取代的烷基酰胺，磺酰基，硫代烷氧基，取代的硫代烷氧基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，和取代的杂环基。

[0155] 在一些实施方案中， Q^3 是 $-(CH_2)_mNR^3NHR^2$ 且 Q^4 是 Y^4 。

[0156] 在一些实施方案中， Q^4 是 $-(CH_2)_mNR^3NHR^2$ 且 Q^3 是 Y^4 。

[0157] 在一些实施方案中, m 是 1。

[0158] 在一些实施方案中, R^2 和 R^3 每个独立选自烷基和取代的烷基。

[0159] 在一些实施方案中, R^2 和 R^3 每个是甲基。

[0160] 在一些实施方案中, X^1 , X^2 , X^3 和 X^4 每个是 C。

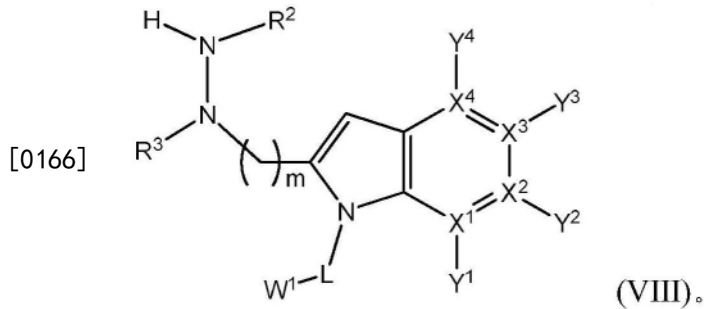
[0161] 在一些实施方案中, Y^1 , Y^2 , Y^3 和 Y^4 每个是 H。

[0162] 在一些实施方案中, X^1 和 X^3 每个是 S 且 X^4 是 C。

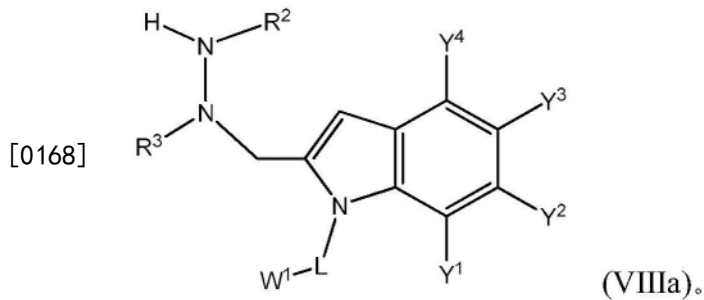
[0163] 在一些实施方案中, X^1 和 X^3 每个是 O 且 X^4 是 C。

[0164] 在一些实施方案中, X^1 和 X^3 每个是 NR^{12} 且 X^4 是 C。

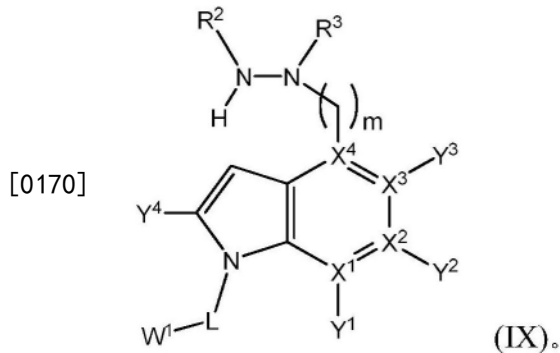
[0165] 在一些实施方案中, 所述化合物是式 (VIII) 的化合物:



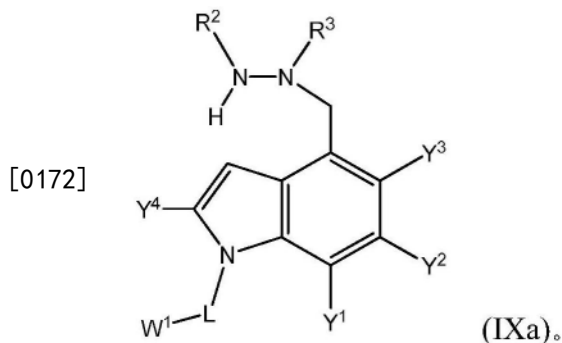
[0167] 在一些实施方案中, 所述化合物是式 (VIIIa) 的化合物:



[0169] 在一些实施方案中, 所述化合物是式 (IX) 的化合物:



[0171] 在一些实施方案中, 所述化合物是式 (IXa) 的化合物:



[0173] 在一些实施方案中, W^1 是药物或可检测标记物。

[0174] 在一些实施方案中, 所述可检测标记物包含荧光团。

[0175] 本公开内容的多个方面包括一种生成多肽缀合物的方法。所述方法包括在反应混合物中组合: 本文所述化合物和包含反应性醛基团或反应性酮基团的第二化合物, 以形成该缀合物, 其中该组合是在适合于促进该化合物和该第二化合物的反应性醛基团或反应性酮基团之间的反应的反应条件下, 并自该反应混合物分离该缀合物。

[0176] 在一些实施方案中, W^1 是所述化学实体, 且所述第二化合物包含所述多肽。

[0177] 在一些实施方案中, W^1 是所述多肽, 且所述第二化合物包含所述化学实体。

[0178] 在一些实施方案中, 所述反应混合物具有 pH 7。

[0179] 在一些实施方案中, 所述反应条件是在 37°C 的温度。

[0180] 本公开内容的多个方面包括一种药物组合物。所述药物组合物包括本文所述缀合物和药学可接受赋形剂。

[0181] 本公开内容的多个方面包括一种将缀合物投递至受试者的方法。所述方法包括对受试者施用有效量的本文所述缀合物。

[0182] 本公开内容的多个方面包括一种治疗受试者中的疾患的方法。所述方法包括对具有疾患的受试者施用治疗有效量的包含本文所述缀合物的药物组合物, 其中该施用有效治疗受试者中的疾患。

[0183] 附图简述

[0184] 图1 (小图A和B) 显示依照本公开内容的实施方案生成包括胍基-吡咯并偶联模块的多肽缀合物的反应示意图。

[0185] 图2 (小图A) 显示依照本公开内容的实施方案合成官能化可检测标记物的反应示意图。图2 (小图B) 显示依照本公开内容的实施方案将官能化可检测标记物缀合至抗体的反应的示意图。

[0186] 图3和图4显示依照本公开内容的实施方案合成化合物HIPS吡啶E (CO₂H) PEG₂美登素的反应示意图, 见例如实施例1。

[0187] 图5和图6显示依照本公开内容的实施方案合成化合物HIPS吡啶E (CO₂H) PEG₂美登素的反应示意图, 见例如实施例2。

[0188] 图7和图8显示依照本公开内容的实施方案合成化合物HIPS吡啶N (CONH₂) PEG₂美登素的反应示意图, 见例如实施例3。

[0189] 图9显示依照本公开内容的实施方案合成化合物HIPS吡啶尸胺Alexa Fluor 555的反应示意图, 见例如实施例4。

[0190] 图10和图11显示依照本公开内容的实施方案合成化合物HIPS吡啶E (CO₂H) PEG₂ NH ATTO 550的反应示意图, 见例如实施例5。

[0191] 图12和图13显示依照本公开内容的实施方案合成化合物HIPS吡啶C (SO₃H) PEG₂ NH ATTO 550的反应示意图, 见例如实施例6。

[0192] 图14至19显示依照本公开内容的实施方案合成化合物HIPS吡啶G PEG₆ Val Cit PABC NMC₃美登素的反应示意图, 见例如实施例7 (其中, 如本文中使用的, NMC₃代表基团 -N(CH₃) - (CH₂)₃-)。

[0193] 图20显示依照本公开内容的实施方案合成化合物HIPS吡啶C (SO₃H) 美登素的反应示意图, 见例如实施例8。

[0194] 图21和图22显示依照本公开内容的实施方案合成化合物HIPS吡啶G PEG₆美登素的反应示意图, 见例如实施例9。

[0195] 图23显示依照本公开内容的实施方案合成化合物HIPS吡啶N ((OH)₃AcNH-β-Glc) PEG₂美登素的反应示意图, 见例如实施例10。

[0196] 图24显示依照本公开内容的实施方案合成化合物HIPS吡啶乙二胺酒石酸 (OH)₂β丙氨酸美登素的反应示意图, 见例如实施例11。

[0197] 图25显示依照本公开内容的实施方案合成化合物HIPS吡啶甘氨酸二羟基类肽 (OH)₂β丙氨酸美登素的反应示意图, 见例如实施例12。

[0198] 图26显示依照本公开内容的实施方案合成化合物HIPS吡啶甘氨酸三羟基类肽 (OH)₃β丙氨酸美登素的反应示意图, 见例如实施例13。

[0199] 图27显示依照本公开内容的实施方案合成化合物HIPS吡啶甘氨酸三甲氧基类肽β丙氨酸美登素的反应示意图, 见例如实施例14。

[0200] 图28显示依照本公开内容的实施方案合成化合物HIPS吡啶甘氨酸₃美登素的反应示意图, 见例如实施例15。

[0201] 图29和图30显示依照本公开内容的实施方案合成化合物HIPS吡啶氨基乙基甘氨酸PEG₂美登素的反应示意图, 见例如实施例16。

[0202] 图31和图32显示依照本公开内容的实施方案合成化合物HIPS吡啶乙二胺硫脲PEG₂美登素的反应示意图, 见例如实施例17。

[0203] 图33显示依照本公开内容的实施方案, 缀合至HIPS丝氨酸PEG₂美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析 (SEC) 迹线 (图33, 小图A), 疏水相互作用柱 (HIC) 迹线 (图33, 小图B), 和质谱仪 (MS) 迹线 (图33, 小图C)。

[0204] 图34显示依照本公开内容的实施方案, 缀合至HIPS磷酸丝氨酸PEG₂美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析 (SEC) 迹线 (图34, 小图A), 疏水相互作用柱 (HIC) 迹线 (图34, 小图B), 和质谱仪 (MS) 迹线 (图34, 小图C)。

[0205] 图35显示依照本公开内容的实施方案, 缀合至HIPS半胱氨酸PEG₂美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析 (SEC) 迹线 (图35, 小图A), 疏水相互作用柱 (HIC) 迹线 (图35, 小图B), 和质谱仪 (MS) 迹线 (图35, 小图C)。

[0206] 图36显示依照本公开内容的实施方案, 缀合至HIPS谷氨酸PEG₂美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析 (SEC) 迹线 (图36, 小图A), 疏水相互作用柱 (HIC) 迹线 (图36, 小图B), 和质谱仪 (MS) 迹线 (图36, 小图C)。

[0207] 图37显示依照本公开内容的实施方案,缀合至HIPS天冬酰胺PEG₂美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析 (SEC) 迹线(图37,小图A) 和疏水相互作用柱 (HIC) 迹线(图37,小图B)。

[0208] 图38显示依照本公开内容的实施方案,缀合至HIPS磷酸酪氨酸PEG₂美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析 (SEC) 迹线(图38,小图A) 和疏水相互作用柱 (HIC) 迹线(图38,小图B)。

[0209] 图39显示依照本公开内容的实施方案,缀合至AzaHIPS谷氨酸PEG₂美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析 (SEC) 迹线(图39,小图A),疏水相互作用柱 (HIC) 迹线(图39,小图B),和质谱仪 (MS) 迹线(图39,小图C)。

[0210] 图40显示依照本公开内容的实施方案,缀合至HIPS酒石酸美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析 (SEC) 迹线(图40,小图A),疏水相互作用柱 (HIC) 迹线(图40,小图B),和质谱仪 (MS) 迹线(图40,小图C)。

[0211] 图41显示依照本公开内容的实施方案,缀合至HIPS二羟基美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析 (SEC) 迹线(图41,小图A),疏水相互作用柱 (HIC) 迹线(图41,小图B),和质谱仪 (MS) 迹线(图41,小图C)。

[0212] 图42显示依照本公开内容的实施方案,缀合至HIPS谷氨酸C₃美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析 (SEC) 迹线(图42,小图A),疏水相互作用柱 (HIC) 迹线(图42,小图B),和质谱仪 (MS) 迹线(图42,小图C)。

[0213] 图43显示依照本公开内容的实施方案,缀合至HIPS三甲氧基美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析 (SEC) 迹线(图43,小图A),疏水相互作用柱 (HIC) 迹线(图43,小图B),和质谱仪 (MS) 迹线(图43,小图C)。

[0214] 图44显示依照本公开内容的实施方案,缀合至HIPS Glc NAc PEG₂Ac₃美登素的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱 (HIC) 迹线。

[0215] 图45显示依照本公开内容的实施方案,缀合至HIPS Glc NAc PEG₂美登素的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱 (HIC) 迹线。

[0216] 图46显示依照本公开内容的实施方案,缀合至HIPS Nit PEG₂美登素的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱 (HIC) 迹线(图46,小图A) 和质谱仪 (MS) 迹线(图46,小图B)。

[0217] 图47显示依照本公开内容的实施方案,缀合至HIPS PEG₂ MMAF的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱 (HIC) 迹线(图47,小图A) 和质谱仪 (MS) 迹线(图47,小图B)。

[0218] 图48显示依照本公开内容的实施方案,缀合至HIPS S PEG₄美登素的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱 (HIC) 迹线。

[0219] 图49显示依照本公开内容的实施方案,缀合至HIPS S PEG₆美登素的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱 (HIC) 迹线。

[0220] 图50显示依照本公开内容的实施方案,缀合至HIPS-S-C₅-美登素的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱 (HIC) 迹线。

[0221] 图51显示依照本公开内容的实施方案,缀合至HIPS G PEG₆美登素的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱 (HIC) 迹线。

[0222] 图52显示依照本公开内容的实施方案,缀合至HIPS PEG₆Val Cit PABC NMC₃美登素的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱 (HIC) 迹线。

[0223] 图53显示依照本公开内容的实施方案,缀合至HIPS Gly PEG₆Val Cit PABC MMAE的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱(HIC)迹线。

[0224] 图54显示依照本公开内容的实施方案,缀合至HIPS半胱氨酸美登素的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱(HIC)迹线。

[0225] 图55显示依照本公开内容的实施方案,缀合至HIPS吡啶E(CO₂H) PEG₂ NH Alexa Fluor 488的带醛标签的抗体的SDS-PAGE凝胶图像。

[0226] 图56显示依照本公开内容的实施方案,缀合至HIPS PEG₆美登素的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱(HIC)迹线。

[0227] 图57显示依照本公开内容的实施方案,缀合至PIPS PEG₂美登素的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱(HIC)迹线。

[0228] 图58显示依照本公开内容的实施方案,缀合至HIPS三羟基美登素的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱(HIC)迹线。

[0229] 图59显示依照本公开内容的实施方案,缀合至HIPS赖氨酸PEG₂美登素的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱(HIC)迹线。

[0230] 图60显示依照本公开内容的实施方案合成(2S)-8-(1-(3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)-1-(((1⁴S, 1⁶S, 3³S, 2R, 4S, 10E, 12E, 14R)-8⁶-氯-1⁴-羟基-8⁵, 14-二甲氧基-3³, 2, 7, 10-四甲基-1², 6-二氧化-7-氮-1(6, 4)-夹氧氮杂环己烷-3(2, 3)-夹氧杂环丙烷-8(1, 3)-夹苯环十四烷-10, 12-二烯-4-基)氧基)-2, 3-二甲基-1, 4, 7-三氧代-11, 14-二氧杂-3, 8-二氮十七烷-17-酸(Fmoc-HIPS-PAPip(PEG₂(CO₂H))-美登素)的反应示意图, 见例如实施例20。

[0231] 图61显示依照本公开内容的实施方案合成(2S, 5S, 18S)-1-((4-((5S, 8S, 11S, 12R)-11-((S)-仲丁基)-5, 8-二异丙基-12-(2-((S)-2-((1R, 2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-4, 10-二甲基-3, 6, 9-三氧代-2, 13-二氧杂-4, 7, 10-三氮十四基)苯基)氨基)-18-(3-(2-((1, 2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)-5-异丙基-2-甲基-1, 4, 7, 17-四氧代-10, 13-二氧杂-3, 6, 16-三氮二十一烷-21-酸(HIPS-Glu(OH)-PEG₂-Val-Ala-PABC-MMAD)的反应示意图, 见例如实施例21。

[0232] 图62显示依照本公开内容的实施方案合成13-(1-(3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1, 2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)-2, 2-二甲基-4, 14-二氧化-3, 7, 10-三氧杂-13-氮十七烷-17-酸(Fmoc-HIPS-PAPip(PEG₂(CO₂t-Bu))CO₂H)的反应示意图, 见例如实施例22。

[0233] 图63显示依照本公开内容的实施方案合成(2S, 5S)-1-((4-((5S, 8S, 11S, 12R)-11-((S)-仲丁基)-5, 8-二异丙基-12-(2-((S)-2-((1R, 2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-4, 10-二甲基-3, 6, 9-三氧代-2, 13-二氧杂-4, 7, 10-三氮十四基)苯基)氨基)-11-(1-(3-(2-((1, 2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)-5-异丙基-2-甲基-1, 4, 7, 10-四氧代-14, 17-二氧杂-3, 6, 11-三氮二十烷-20-酸)的反应示意图, 见例如实施例23。

[0234] 图64显示依照本公开内容的实施方案合成(6S, 9S)-1-氨基-6-((4-((5S, 8S, 11S, 12R)-11-((S)-仲丁基)-5, 8-二异丙基-12-(2-((S)-2-((1R, 2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧

代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮十四基)苯基)氨基甲酰基)-15-(1-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)-9-异丙基-1,8,11,14-四氧代-18,21-二氧杂-2,7,10,15-四氮二十四烷-24-酸的反应示意图,见例如实施例24。

[0235] 图65显示依照本公开内容的实施方案合成(6S,9S)-1-氨基-6-(4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-5,8-二异丙基-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮十四基)苯基)氨基甲酰基)-15-(1-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)-9-异丙基-1,8,11,14-四氧代-18,21-二氧杂-2,7,10,15-四氮二十四烷-24-酸的反应示意图,见例如实施例25。

[0236] 图66显示依照本公开内容的实施方案,缀合至HIPS-PAPip(PEG2(CO₂H))-美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析(SEC)迹线(图66,小图A),疏水相互作用柱(HIC)迹线(图66,小图B),和质谱仪(MS)迹线(图66,小图C)。

[0237] 图67显示依照本公开内容的实施方案,缀合至HIPS-谷氨酸-PEG2-缬氨酸-丙氨酸-PABC-美登素的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱(HIC)迹线。

[0238] 图68显示依照本公开内容的实施方案,缀合至HIPS-PAPip(PEG2(CO₂H))-缬氨酸-丙氨酸-PABC-MMAD的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱(HIC)迹线。

[0239] 图69显示依照本公开内容的实施方案,缀合至HIPS-PAPip(PEG2(CO₂H))-缬氨酸-瓜氨酸-PABC-MMAD的带醛标签的抗体的大小排阻层析(SEC)迹线(图69,小图A)和疏水相互作用柱(HIC)迹线(图69,小图B)。

[0240] 图70显示依照本公开内容的实施方案,缀合至AzaHIPS-PAPip(PEG2(CO₂H))-缬氨酸-瓜氨酸-PABC-MMAD的带醛标签的抗体的大小排阻层析(SEC)迹线(图70,小图A)和疏水相互作用柱(HIC)迹线(图70,小图B)。

[0241] 图71显示依照本公开内容的实施方案,缀合至HIPS-谷氨酸-PEG2-缬氨酸-瓜氨酸-PABC-美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析(SEC)迹线(图71,小图A),疏水相互作用柱(HIC)迹线(图71,小图B),和质谱仪(MS)迹线(图71,小图C)。

[0242] 图72显示依照本公开内容的实施方案,缀合至HIPS-天冬酰胺-PEG2-美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析(SEC)迹线(图72,小图A),疏水相互作用柱(HIC)迹线(图72,小图B),和质谱仪(MS)迹线(图72,小图C)。

[0243] 图73显示依照本公开内容的实施方案,缀合至HIPS-丙氨酸-PEG2-美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析(SEC)迹线(图73,小图A),疏水相互作用柱(HIC)迹线(图73,小图B),和质谱仪(MS)迹线(图73,小图C)。

[0244] 定义

[0245] 除非另有指示,以下术语具有以下含义。任何未定义的术语具有它们在技术上公认的含义。

[0246] “烷基”指的是具有1至10个碳原子(诸如1至6个碳原子,或1至5个,或1至4个,或1至3个碳原子)的单价饱和脂肪族烃基。举例而言,这个术语包括直链和支链烃基,诸如甲基(CH₃-),乙基(CH₃CH₂-),正丙基(CH₃CH₂CH₂-),异丙基((CH₃)₂CH-),正丁基(CH₃CH₂CH₂CH₂-),

异丁基 $((\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2-)$ ，仲丁基 $((\text{CH}_3)(\text{CH}_3\text{CH}_2)\text{CH}-)$ ，叔丁基 $((\text{CH}_3)_3\text{C}-)$ ，正戊基 $(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-)$ ，和新戊基 $((\text{CH}_3)_3\text{CCH}_2-)$ 。

[0247] 术语“取代的烷基”指的是如下的如本文中定义的烷基，其中烷基链中的一个或多个碳原子已经任选用杂原子(诸如 $-O-$ ， $-N-$ ， $-S-$ ， $-S(O)_n-$ (其中 n 为0至2)， $-NR-$ (其中 R 为氢或烷基))替换且具有1至5个选自由以下组成的群组的取代基：烷氧基，取代的烷氧基，环烷基，取代的环烷基，环烯基，取代的环烯基，酰基，酰基氨基，酰氧基，氨基，氨基酰基，氨基酰氧基，氧基氨基酰基，叠氮基，氰基，卤素，羟基，氧代，硫酮基，羧基，羧基烷基，硫代芳氧基，硫代杂芳氧基，硫代杂环氧基，硫醇基，硫代烷氧基，取代的硫代烷氧基，芳基，芳氧基，杂芳基，杂芳氧基，杂环基，杂环氧基，羟基氨基，烷氧基氨基，硝基， $-SO-$ 烷基， $-SO-$ 芳基， $-SO-$ 杂芳基， $-SO_2-$ 烷基， $-SO_2-$ 芳基， $-SO_2-$ 杂芳基，和 $-NR^aR^b$ ，其中 R' 和 R'' 可以是相同的或不同的且选自氢，任选取代的烷基，环烷基，烯基，环烯基，炔基，芳基，杂芳基，和杂环基。

[0248] “亚烷基”指的是优选具有1至6个且更优选1至3个碳原子的二价脂肪族烃基，其为直链或支链，且任选间杂有一个或多个选自以下的基团： $-O-$ ， $-NR^{10}-$ ， $-NR^{10}C(O)-$ ， $-C(O)NR^{10}-$ 等等。举例而言，这个术语包括亚甲基 $(-\text{CH}_2-)$ ，亚乙基 $(-\text{CH}_2\text{CH}_2-)$ ，亚正丙基 $(-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-)$ ，亚异丙基 $(-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)-)$ ， $(-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2-)$ ， $(-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-)$ ， $(-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}-)$ ， $(-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-)$ ，等等。

[0249] “取代的亚烷基”指的是有1至3个氢用下文“取代的”的定义中关于碳描述的取代基替换的亚烷基。

[0250] 术语“烷”指的是如本文中定义的烷基和亚烷基。

[0251] 术语“烷基氨基烷基”，“烷基氨基烯基”和“烷基氨基炔基”指的是基团 $R'NHR''-$ ，其中 R' 为如本文中定义的烷基且 R'' 为如本文中定义的亚烷基，亚烯基或亚炔基。

[0252] 术语“烷芳基”或“芳烷基”指的是基团-亚烷基-芳基和-取代的亚烷基-芳基，其中亚烷基，取代的亚烷基和芳基在本文中定义。

[0253] “烷氧基”指的是基团 $-O-$ 烷基，其中烷基如本文中定义。举例而言，烷氧基包括甲氧基，乙氧基，正丙氧基，异丙氧基，正丁氧基，叔丁氧基，仲丁氧基，正戊氧基，等等。术语“烷氧基”还指的是基团烯基 $-O-$ ，环烷基 $-O-$ ，环烯基 $-O-$ ，和炔基 $-O-$ ，其中烯基，环烷基，环烯基，和炔基如本文中定义。

[0254] 术语“取代的烷氧基”指的是基团取代的烷基 $-O-$ ，取代的烯基 $-O-$ ，取代的环烷基 $-O-$ ，取代的环烯基 $-O-$ ，和取代的炔基 $-O-$ ，其中取代的烷基，取代的烯基，取代的环烷基，取代的环烯基和取代的炔基如本文中定义。

[0255] 术语“烷氧基氨基”指的是基团 $-NH-$ 烷氧基，其中烷氧基在本文中定义。

[0256] 术语“卤代烷氧基”指的是如下的基团烷基 $-O-$ ，其中烷基上的一个或多个氢原子已经用卤基取代，而且举例而言包括诸如三氟甲氧基等基团。

[0257] 术语“卤代烷基”指的是如上文描述的取代的烷基，其中烷基上的一个或多个氢原子已经用卤基取代。此类基团的例子包括但不限于氟代烷基，诸如三氟甲基，二氟甲基，三氟乙基等等。

[0258] 术语“烷基烷氧基”指的是基团-亚烷基 $-O-$ 烷基，亚烷基 $-O-$ 取代的烷基，取代的亚烷基 $-O-$ 烷基，和取代的亚烷基 $-O-$ 取代的烷基，其中烷基，取代的烷基，亚烷基和取代的亚烷基如本文中定义。

[0259] 术语“烷基硫代烷氧基”指的是基团-亚烷基-S-烷基,亚烷基-S-取代的烷基,取代的亚烷基-S-烷基和取代的亚烷基-S-取代的烷基,其中烷基,取代的烷基,亚烷基和取代的亚烷基如本文中定义。

[0260] “烯基”指的是具有2至6个碳原子和优选2至4个碳原子且具有至少1个和优选1至2个双键不饱和位点的直链或支链烃基。举例而言,这个术语包括联乙烯基,烯丙基,和丁-3-烯-1-基。这个术语内包括顺式和反式异构体或这些异构体的混合物。

[0261] 术语“取代的烯基”指的是具有1至5个取代基或1至3个取代基的如本文中定义的烯基,所述取代基选自烷氧基,取代的烷氧基,环烷基,取代的环烷基,环烯基,取代的环烯基,酰基,酰基氨基,酰氧基,氨基,取代的氨基,氨基酰基,氨基酰氧基,氧基氨基酰基,叠氮基,氰基,卤素,羟基,氧代,硫酮基,羧基,羧基烷基,硫代芳氧基,硫代杂芳氧基,硫代杂环氧基,硫醇基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,芳氧基,杂芳基,杂芳氧基,杂环基,杂环氧基,羟基氨基,烷氧基氨基,硝基,-SO-烷基,-SO-取代的烷基,-SO-芳基,-SO-杂芳基,-SO₂-烷基,-SO₂-取代的烷基,-SO₂-芳基和-SO₂-杂芳基。

[0262] “炔基”指的是具有2至6个碳原子和优选2至3个碳原子且具有至少1个和优选1至2个三键不饱和位点的直链或支链单价烃基。此类炔基的例子包括乙炔基(-C≡CH)和炔丙基(-CH₂C≡CH)。

[0263] 术语“取代的炔基”指的是具有1至5个取代基或1至3个取代基的如本文中定义的炔基,所述取代基选自烷氧基,取代的烷氧基,环烷基,取代的环烷基,环烯基,取代的环烯基,酰基,酰基氨基,酰氧基,氨基,取代的氨基,氨基酰基,氨基酰氧基,氧基氨基酰基,叠氮基,氰基,卤素,羟基,氧代,硫酮基,羧基,羧基烷基,硫代芳氧基,硫代杂芳氧基,硫代杂环氧基,硫醇基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,芳氧基,杂芳基,杂芳氧基,杂环基,杂环氧基,羟基氨基,烷氧基氨基,硝基,-SO-烷基,-SO-取代的烷基,-SO-芳基,-SO-杂芳基,-SO₂-烷基,-SO₂-取代的烷基,-SO₂-芳基,和-SO₂-杂芳基。

[0264] “炔氧基”指的是基团-O-炔基,其中炔基如本文中定义。举例而言,炔氧基包括乙炔氧基,丙炔氧基,等等。

[0265] “酰基”指的是基团H-C(O)-,烷基-C(O)-,取代的烷基-C(O)-,烯基-C(O)-,取代的烯基-C(O)-,炔基-C(O)-,取代的炔基-C(O)-,环烷基-C(O)-,取代的环烷基-C(O)-,环烯基-C(O)-,取代的环烯基-C(O)-,芳基-C(O)-,取代的芳基-C(O)-,杂芳基-C(O)-,取代的杂芳基-C(O)-,杂环基-C(O)-,和取代的杂环基-C(O)-,其中烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,环烷基,取代的环烷基,环烯基,取代的环烯基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,杂环基,和取代的杂环基如本文中定义。例如,酰基包括“乙酰基”基团CH₃C(O)-。

[0266] “酰基氨基”指的是基团-NR²⁰C(O)烷基,-NR²⁰C(O)取代的烷基,NR²⁰C(O)环烷基,-NR²⁰C(O)取代的环烷基,-NR²⁰C(O)环烯基,-NR²⁰C(O)取代的环烯基,-NR²⁰C(O)烯基,-NR²⁰C(O)取代的烯基,-NR²⁰C(O)炔基,-NR²⁰C(O)取代的炔基,-NR²⁰C(O)芳基,-NR²⁰C(O)取代的芳基,-NR²⁰C(O)杂芳基,-NR²⁰C(O)取代的杂芳基,-NR²⁰C(O)杂环基,和-NR²⁰C(O)取代的杂环基,其中R²⁰为氢或烷基且其中烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,环烷基,取代的环烷基,环烯基,取代的环烯基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,杂环基,和取代的杂环基如本文中定义。

[0267] “氨基羰基”或术语“氨基酰基”指的是基团 $-C(O)NR^{21}R^{22}$ ，其中 R^{21} 和 R^{22} 独立选自由以下组成的群组：氢，烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，芳基，取代的芳基，环烷基，取代的环烷基，环烯基，取代的环烯基，杂芳基，取代的杂芳基，杂环基，和取代的杂环基且其中 R^{21} 和 R^{22} 任选与其所结合的氮连接在一起以形成杂环基或取代的杂环基，且其中烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，环烷基，取代的环烷基，环烯基，取代的环烯基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，杂环基，和取代的杂环基如本文中定义。

[0268] “氨基羰基氨基”指的是基团 $-NR^{21}C(O)NR^{22}R^{23}$ ，其中 R^{21} ， R^{22} ，和 R^{23} 独立选自氢，烷基，芳基或环烷基，或其中两个R基团连接以形成杂环基。

[0269] 术语“烷氧基羰基氨基”指的是基团 $-NRC(O)OR$ ，其中每个R独立为氢，烷基，取代的烷基，芳基，杂芳基，或杂环基，其中烷基，取代的烷基，芳基，杂芳基，和杂环基如本文中定义。

[0270] 术语“酰氧基”指的是基团烷基 $-C(O)O-$ ，取代的烷基 $-C(O)O-$ ，环烷基 $-C(O)O-$ ，取代的环烷基 $-C(O)O-$ ，芳基 $-C(O)O-$ ，杂芳基 $-C(O)O-$ ，和杂环基 $-C(O)O-$ ，其中烷基，取代的烷基，环烷基，取代的环烷基，芳基，杂芳基，和杂环基如本文中定义。

[0271] “氨基磺酰基”指的是基团 $-SO_2NR^{21}R^{22}$ ，其中 R^{21} 和 R^{22} 独立选自由以下组成的群组：氢，烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，芳基，取代的芳基，环烷基，取代的环烷基，环烯基，取代的环烯基，杂芳基，取代的杂芳基，杂环基，取代的杂环基且其中 R^{21} 和 R^{22} 任选与其所结合的氮连接在一起以形成杂环基或取代的杂环基，且烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，环烷基，取代的环烷基，环烯基，取代的环烯基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，杂环基和取代的杂环基如本文中定义。

[0272] “磺酰基氨基”指的是基团 $-NR^{21}SO_2R^{22}$ ，其中 R^{21} 和 R^{22} 独立选自由以下组成的群组：氢，烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，芳基，取代的芳基，环烷基，取代的环烷基，环烯基，取代的环烯基，杂芳基，取代的杂芳基，杂环基，和取代的杂环基且其中 R^{21} 和 R^{22} 任选与其所结合的原子连接在一起以形成杂环基或取代的杂环基，且其中烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，环烷基，取代的环烷基，环烯基，取代的环烯基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，杂环基和取代的杂环基如本文中定义。

[0273] “芳基”或“Ar”指的是具有单环(诸如存在于苯基中)或具有多个缩合环的环系统(此类芳香族环系统的例子包括萘基，蒽基和茚满基)的6至18个碳原子的单价芳香族碳环基，所述缩合环可以是或不是芳香族的，前提是附着点经由芳香环的原子。举例而言，这个术语包括苯基和萘基。除非另外受到芳基取代基的定义约束，此类芳基可以任选用1至5个取代基或1至3个取代基取代，所述取代基选自酰氧基，羟基，硫醇基，酰基，烷基，烷氧基，烯基，炔基，环烷基，环烯基，取代的烷基，取代的烷氧基，取代的烯基，取代的炔基，取代的环烷基，取代的环烯基，氨基，取代的氨基，氨基酰基，酰基氨基，烷芳基，芳基，芳氧基，叠氮基，羧基，羧基烷基，氰基，卤素，硝基，杂芳基，杂芳氧基，杂环基，杂环氧基，氨基酰氧基，氧酰基氨基，硫代烷氧基，取代的硫代烷氧基，硫代芳氧基，硫代杂芳氧基， $-SO-$ 烷基， $-SO-$ 取代的烷基， $-SO-$ 芳基， $-SO-$ 杂芳基， $-SO_2-$ 烷基， $-SO_2-$ 取代的烷基， $-SO_2-$ 芳基， $-SO_2-$ 杂芳基和三卤代甲基。

[0274] “芳氧基”指的是基团 $-O-$ 芳基，其中芳基如本文中定义，举例而言，包括苯氧基，萘

氧基,等等,包括也如本文中定义的任选取代的芳基。

[0275] “氨基”指的是基团-NH₂。

[0276] 术语“取代的氨基”指的是基团-NRR,其中每个R独立选自由以下组成的群组:氢,烷基,取代的烷基,环烷基,取代的环烷基,烯基,取代的烯基,环烯基,取代的环烯基,炔基,取代的炔基,芳基,杂芳基,和杂环基,前提是至少一个R不是氢。

[0277] 术语“叠氮基”指的是基团-N₃。

[0278] “羧基”或“羧酸盐”指的是-CO₂H或其盐。

[0279] “羧基酯”或术语“羧基烷基”指的是基团-C(O)O-烷基,-C(O)O-取代的烷基,-C(O)O-烯基,-C(O)O-取代的烯基,-C(O)O-炔基,-C(O)O-取代的炔基,-C(O)O-芳基,-C(O)O-取代的芳基,-C(O)O-环烷基,-C(O)O-取代的环烷基,-C(O)O-环烯基,-C(O)O-取代的环烯基,-C(O)O-杂芳基,-C(O)O-取代的杂芳基,-C(O)O-杂环基,和-C(O)O-取代的杂环基,其中烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,环烷基,取代的环烷基,环烯基,取代的环烯基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,杂环基,和取代的杂环基如本文中定义。

[0280] “(羧基酯)氧基”或“碳酸酯”指的是基团-O-C(O)O-烷基,-O-C(O)O-取代的烷基,-O-C(O)O-烯基,-O-C(O)O-取代的烯基,-O-C(O)O-炔基,-O-C(O)O-取代的炔基,-O-C(O)O-芳基,-O-C(O)O-取代的芳基,-O-C(O)O-环烷基,-O-C(O)O-取代的环烷基,-O-C(O)O-环烯基,-O-C(O)O-取代的环烯基,-O-C(O)O-杂芳基,-O-C(O)O-取代的杂芳基,-O-C(O)O-杂环基,和-O-C(O)O-取代的杂环基,其中烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,环烷基,取代的环烷基,环烯基,取代的环烯基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,杂环基,和取代的杂环基如本文中定义。

[0281] “氰基”或“腈”指的是基团-CN。

[0282] “环烷基”指的是具有单环或包括稠合,桥连,和螺式环系统的多环的3至10个碳原子的环状烷基。举例而言,合适的环烷基的例子包括金刚烷基,环丙基,环丁基,环戊基,环辛基等等。举例而言,此类环烷基包括单环结构,诸如环丙基,环丁基,环戊基,环辛基,等等;或多环结构,诸如金刚烷基,等等。

[0283] 术语“取代的环烷基”指的是具有1至5个取代基或1至3个取代基的环烷基,所述取代基选自烷基,取代的烷基,烷氧基,取代的烷氧基,环烷基,取代的环烷基,环烯基,取代的环烯基,酰基,酰基氨基,酰氧基,氨基,取代的氨基,氨基酰基,氨基酰氧基,氧基氨基酰基,叠氮基,氰基,卤素,羟基,氧代,硫酮基,羧基,羧基烷基,硫代芳氧基,硫代杂芳氧基,硫代杂环氧基,硫醇基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,芳氧基,杂芳基,杂芳氧基,杂环基,杂环氧基,羟基氨基,烷氧基氨基,硝基,-S(O)-烷基,-S(O)-取代的烷基,-S(O)-芳基,-S(O)-杂芳基,-SO₂-烷基,-SO₂-取代的烷基,-SO₂-芳基和-SO₂-杂芳基。

[0284] “环烯基”指的是具有单环或多环且具有至少一个双键和优选1至2个双键的3至10个碳原子的非芳香族环状烷基。

[0285] 术语“取代的环烯基”指的是具有1至5个取代基或1至3个取代基的环烯基,所述取代基选自烷氧基,取代的烷氧基,环烷基,取代的环烷基,环烯基,取代的环烯基,酰基,酰基氨基,酰氧基,氨基,取代的氨基,氨基酰基,氨基酰氧基,氧基氨基酰基,叠氮基,氰基,卤素,羟基,酮基,硫酮基,羧基,羧基烷基,硫代芳氧基,硫代杂芳氧基,硫代杂环氧基,硫醇

基, 硫代烷氧基, 取代的硫代烷氧基, 芳基, 芳氧基, 杂芳基, 杂芳氧基, 杂环基, 杂环氧基, 羟基氨基, 烷氧基氨基, 硝基, -S(0)-烷基, -S(0)-取代的烷基, -S(0)-芳基, -S(0)-杂芳基, -SO₂-烷基, -SO₂-取代的烷基, -SO₂-芳基和-SO₂-杂芳基。

[0286] “环炔基”指的是具有单环或多环且具有至少一个三键的5至10个碳原子的非芳香族环烷基。

[0287] “环烷氧基”指的是-O-环烷基。

[0288] “环烯氧基”指的是-O-环烯基。

[0289] “卤代”或“卤素”指的是氟代, 氯代, 溴代, 和碘代。

[0290] “羟基”指的是基团-OH。

[0291] “杂芳基”指的是在环内具有1至15个碳原子(诸如1至10个碳原子)和1至10个选自氧, 氮, 和硫组成的群组的杂原子的芳香族基团。此类杂芳基可以具有单环(诸如吡啶基, 咪唑基或呋喃基)或环系统中的多个缩合环(例如, 在诸如吲哚啉基, 喹啉基, 苯并呋喃, 苯并咪唑基或苯并噻吩基的基团中), 其中环系统内的至少一个环是芳香族的且环系统内的至少一个环是芳香族的, 前提是附着点经由芳香环的原子。在某些实施方案中, 杂芳基的氮和/或硫原子任选被氧化以提供N-氧化物(N→O), 亚磺酰基, 或磺酰基模块。举例而言, 这个术语包括吡啶基, 吡咯基, 吲哚基, 苯硫基, 和呋喃基。除非另外受到杂芳基取代基的定义约束, 此类杂芳基可以任选用1至5个取代基或1至3个取代基取代, 所述取代基选自酰氧基, 羟基, 硫醇基, 酰基, 烷基, 烷氧基, 烯基, 炔基, 环烷基, 环烯基, 取代的烷基, 取代的烷氧基, 取代的烯基, 取代的炔基, 取代的环烷基, 取代的环烯基, 氨基, 取代的氨基, 氨基酰基, 酰基氨基, 烷芳基, 芳基, 芳氧基, 叠氮基, 羧基, 羧基烷基, 氰基, 卤素, 硝基, 杂芳基, 杂芳氧基, 杂环基, 杂环氧基, 氨基酰氧基, 氧酰基氨基, 硫代烷氧基, 取代的硫代烷氧基, 硫代芳氧基, 硫代杂芳氧基, -S(0)-烷基, -S(0)-取代的烷基, -S(0)-芳基, -S(0)-杂芳基, -SO₂-烷基, -SO₂-取代的烷基, -SO₂-芳基和-SO₂-杂芳基, 和三卤代甲基。

[0292] 术语“杂芳烷基”指的是基团-亚烷基-杂芳基, 其中亚烷基和杂芳基定义于本文中。举例而言, 这个术语包括吡啶基甲基, 吡啶基乙基, 吲哚基甲基, 等等。

[0293] “杂芳氧基”指的是-O-杂芳基。

[0294] “杂环”, “杂环烷基”, 和“杂环基”指的是具有单环或多个缩合环(包括稠合, 桥连和螺式环系统)且具有3至20个环原子, 包括1至10个杂原子的饱和或不饱和基团。这些环原子选自氮, 硫, 或氧组成的群组, 其中在稠合环系统中, 一个或多个环可以是环烷基, 芳基, 或杂芳基, 前提是附着点经由非芳香环。在某些实施方案中, 杂环基的氮和/或硫原子任选被氧化以提供N-氧化物, -S(0)-, 或-SO₂-模块。

[0295] 杂环和杂芳基的例子包括但不限于氮杂环丁烷, 吡咯, 咪唑, 吡啶, 吡嗪, 嘧啶, 哒嗪, 吲哚啉, 异吲哚, 吲哚, 二氢吲哚, 吲唑, 嘌呤, 喹啉, 异喹啉, 喹啉, 酞嗪, 萘基吡啶, 喹啉, 喹啉啉, 噌啉, 蝶啶, 咔唑, 咔啉, 菲啶, 吡啶, 菲咯啉, 异噻唑, 吩嗪, 异噻唑, 吩噻唑, 吩噻啉, 咪唑烷, 咪唑啉, 哌啶, 哌嗪, 吲哚啉, 邻苯二甲酰亚胺, 1,2,3,4-四氢异喹啉, 4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩, 噻唑, 噻唑烷, 噻吩, 苯并[b]噻吩, 吗啉基, 硫吗啉基(也称作噻吗啉基), 1,1-二氧化硫吗啉基, 哌啶基, 吡咯烷, 四氢呋喃基, 等等。

[0296] 除非另外受到杂环取代基的定义约束, 此类杂环基可以任选用1至5个或1至3个取代基取代, 所述取代基选自烷氧基, 取代的烷氧基, 环烷基, 取代的环烷基, 环烯基, 取代的

环烯基, 酰基, 酰基氨基, 酰氧基, 氨基, 取代的氨基, 氨基酰基, 氨基酰氧基, 氧基氨基酰基, 叠氮基, 氰基, 卤素, 羟基, 氧代, 硫酮基, 羧基, 羧基烷基, 硫代芳氧基, 硫代杂芳氧基, 硫代杂环氧基, 硫醇基, 硫代烷氧基, 取代的硫代烷氧基, 芳基, 芳氧基, 杂芳基, 杂芳氧基, 杂环基, 杂环氧基, 羟基氨基, 烷氧基氨基, 硝基, -SO-烷基, -SO-取代的烷基, -SO-芳基, -SO-杂芳基, -SO₂-烷基, -SO₂-取代的烷基, -SO₂-芳基, -SO₂-杂芳基, 和稠合杂环。

[0297] “杂环氧基”指的是基团-O-杂环基。

[0298] 术语“杂环硫基”指的是基团杂环-S-。

[0299] 术语“亚杂环基”指的是由如本文中定义的杂环形成的双根基团。

[0300] 术语“羟基氨基”指的是基团-NHOH。

[0301] “硝基”指的是基团-NO₂。

[0302] “氧代”指的是原子(=O)。

[0303] “磺酰基”指的是基团SO₂-烷基, SO₂-取代的烷基, SO₂-烯基, SO₂-取代的烯基, SO₂-环烷基, SO₂-取代的环烷基, SO₂-环烯基, SO₂-取代的环烯基, SO₂-芳基, SO₂-取代的芳基, SO₂-杂芳基, SO₂-取代的杂芳基, SO₂-杂环基, 和SO₂-取代的杂环基, 其中烷基, 取代的烷基, 烯基, 取代的烯基, 炔基, 取代的炔基, 环烷基, 取代的环烷基, 环烯基, 取代的环烯基, 芳基, 取代的芳基, 杂芳基, 取代的杂芳基, 杂环基, 和取代的杂环基如本文中定义。举例而言, 磺酰基包括甲基-SO₂- , 苯基-SO₂- , 和4-甲基苯基-SO₂-。

[0304] “磺酰氧基”指的是基团-OSO₂-烷基, OSO₂-取代的烷基, OSO₂-烯基, OSO₂-取代的烯基, OSO₂-环烷基, OSO₂-取代的环烷基, OSO₂-环烯基, OSO₂-取代的环烯基, OSO₂-芳基, OSO₂-取代的芳基, OSO₂-杂芳基, OSO₂-取代的杂芳基, OSO₂-杂环基, 和OSO₂取代的杂环基, 其中烷基, 取代的烷基, 烯基, 取代的烯基, 炔基, 取代的炔基, 环烷基, 取代的环烷基, 环烯基, 取代的环烯基, 芳基, 取代的芳基, 杂芳基, 取代的杂芳基, 杂环基, 和取代的杂环基如本文中定义。

[0305] 术语“氨基羰氧基”指的是基团-OC(O)NRR, 其中每个R独立为氢, 烷基, 取代的烷基, 芳基, 杂芳基, 或杂环基, 其中烷基, 取代的烷基, 芳基, 杂芳基和杂环基如本文中定义。

[0306] “硫醇基”指的是基团-SH。

[0307] “硫代”或术语“硫酮基”指的是原子(=S)。

[0308] “烷硫基”或术语“硫代烷氧基”指的是基团-S-烷基, 其中烷基如本文中定义。在某些实施方案中, 硫可以被氧化成-S(O)-。亚砷可以作为一种或多种立体异构体存在。

[0309] 术语“取代的硫代烷氧基”指的是基团-S-取代的烷基。

[0310] 术语“硫代芳氧基”指的是基团芳基-S-, 其中芳基如本文中定义, 包括也在本文中定义的任选取代的芳基。

[0311] 术语“硫代杂芳氧基”指的是基团杂芳基-S-, 其中杂芳基如本文中定义, 包括也如本文中定义的任选取代的芳基。

[0312] 术语“硫代杂环氧基”指的是基团杂环基-S-, 其中杂环基如本文中定义, 包括也如本文中定义的任选取代的杂环基。

[0313] 在本文中的公开内容之外, 术语“取代的”当用于修饰指定基团或根时, 也可以意味着指定基团或根的一个或多个氢原子每个彼此独立地用如下文定义的同或不同取代基替换。

[0314] 在关于本文中的个别术语公开的基团之外,除非另有规定,用于取代指定基团或根中的饱和碳原子上的一个或多个氢(单个碳上的任两个氢可以用=O,=NR⁷⁰,=N-OR⁷⁰,=N₂或=S替换)的取代基为-R⁶⁰,卤代,=O,-OR⁷⁰,-SR⁷⁰,-NR⁸⁰R⁸⁰,三卤代甲基,-CN,-OCN,-SCN,-NO,-NO₂,=N₂,-N₃,-SO₂R⁷⁰,-SO₂O⁻M⁺,-SO₂OR⁷⁰,-OSO₂R⁷⁰,-OSO₂O⁻M⁺,-OSO₂OR⁷⁰,-P(O)(O⁻)₂(M⁺)₂,-P(O)(OR⁷⁰)O⁻M⁺,-P(O)(OR⁷⁰)₂,-C(O)R⁷⁰,-C(S)R⁷⁰,-C(NR⁷⁰)R⁷⁰,-C(O)O⁻M⁺,-C(O)OR⁷⁰,-C(S)OR⁷⁰,-C(O)NR⁸⁰R⁸⁰,-C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰,-OC(O)R⁷⁰,-OC(S)R⁷⁰,-OC(O)O⁻M⁺,-OC(O)OR⁷⁰,-OC(S)OR⁷⁰,-NR⁷⁰C(O)R⁷⁰,-NR⁷⁰C(S)R⁷⁰,-NR⁷⁰CO₂⁻M⁺,-NR⁷⁰CO₂R⁷⁰,-NR⁷⁰C(S)OR⁷⁰,-NR⁷⁰C(O)NR⁸⁰R⁸⁰,-NR⁷⁰C(NR⁷⁰)R⁷⁰和-NR⁷⁰C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰,其中R⁶⁰选自由以下组成的群组:任取代的烷基,环烷基,杂烷基,杂环烷基烷基,环烷基烷基,芳基,芳基烷基,杂芳基,和杂芳基烷基,每个R⁷⁰独立是氢或R⁶⁰;每个R⁸⁰独立是R⁷⁰,或者,两个R⁸⁰连同其所键结的氮原子一起形成5,6或7元杂环烷基,所述杂环烷基可以任选包括1至4个相同或不同的选自由O,N和S组成的群组的额外杂原子,其中N可以具有-H或C₁-C₃烷基取代;且每个M⁺是具有净的单正电荷的反离子。例如,每个M⁺可以独立是碱金属离子,诸如K⁺,Na⁺,Li⁺;铵离子,诸如⁺N(R⁶⁰)₄;或碱土金属离子,诸如[Ca²⁺]_{0.5},[Mg²⁺]_{0.5},或[Ba²⁺]_{0.5}(下标0.5意味着此类二价碱土金属离子的一个反离子可以是本发明的化合物的离子化形式且另一个是典型的反离子诸如氯离子,或本文中公开的两个离子化化合物可以充当此类二价碱土金属离子的反离子,或本发明的双重离子化化合物可以充当此类二价碱土金属离子的反离子)。作为特定例子,-NR⁸⁰R⁸⁰意图包括-NH₂,-NH-烷基,N-吡咯烷基,N-哌嗪基,4N-甲基-哌嗪-1-基和N-吗啉基。

[0315] 在本文中的公开内容之外,除非另有规定,“取代的”烯,炔,芳基和杂芳基基团中的不饱和碳原子上的氢的取代基是-R⁶⁰,卤代,-O⁻M⁺,-OR⁷⁰,-SR⁷⁰,-S⁻M⁺,-NR⁸⁰R⁸⁰,三卤代甲基,-CF₃,-CN,-OCN,-SCN,-NO,-NO₂,-N₃,-SO₂R⁷⁰,-SO₃⁻M⁺,-SO₃R⁷⁰,-OSO₂R⁷⁰,-OSO₃⁻M⁺,-OSO₃R⁷⁰,-PO₃⁻²(M⁺)₂,-P(O)(OR⁷⁰)O⁻M⁺,-P(O)(OR⁷⁰)₂,-C(O)R⁷⁰,-C(S)R⁷⁰,-C(NR⁷⁰)R⁷⁰,-CO₂⁻M⁺,-CO₂R⁷⁰,-C(S)OR⁷⁰,-C(O)NR⁸⁰R⁸⁰,-C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰,-OC(O)R⁷⁰,-OC(S)R⁷⁰,-OCO₂⁻M⁺,-OCO₂R⁷⁰,-OC(S)OR⁷⁰,-NR⁷⁰C(O)R⁷⁰,-NR⁷⁰C(S)R⁷⁰,-NR⁷⁰CO₂⁻M⁺,-NR⁷⁰CO₂R⁷⁰,-NR⁷⁰C(S)OR⁷⁰,-NR⁷⁰C(O)NR⁸⁰R⁸⁰,-NR⁷⁰C(NR⁷⁰)R⁷⁰和-NR⁷⁰C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰,其中R⁶⁰,R⁷⁰,R⁸⁰和M⁺如先前定义,前提是在取代的烯或炔的情况中,取代基不是-O⁻M⁺,-OR⁷⁰,-SR⁷⁰,或-S⁻M⁺。

[0316] 在关于本文中的个别术语公开的基团之外,除非另有规定,“取代的”杂烷基和环杂烷基中的氮原子上的氢的取代基是-R⁶⁰,-O⁻M⁺,-OR⁷⁰,-SR⁷⁰,-S⁻M⁺,-NR⁸⁰R⁸⁰,三卤代甲基,-CF₃,-CN,-NO,-NO₂,-S(O)₂R⁷⁰,-S(O)₂O⁻M⁺,-S(O)₂OR⁷⁰,-OS(O)₂R⁷⁰,-OS(O)₂O⁻M⁺,-OS(O)₂OR⁷⁰,-P(O)(O⁻)₂(M⁺)₂,-P(O)(OR⁷⁰)O⁻M⁺,-P(O)(OR⁷⁰)(OR⁷⁰),-C(O)R⁷⁰,-C(S)R⁷⁰,-C(NR⁷⁰)R⁷⁰,-C(O)OR⁷⁰,-C(S)OR⁷⁰,-C(O)NR⁸⁰R⁸⁰,-C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰,-OC(O)R⁷⁰,-OC(S)R⁷⁰,-OC(O)OR⁷⁰,-OC(S)OR⁷⁰,-NR⁷⁰C(O)R⁷⁰,-NR⁷⁰C(S)R⁷⁰,-NR⁷⁰C(O)OR⁷⁰,-NR⁷⁰C(S)OR⁷⁰,-NR⁷⁰C(O)NR⁸⁰R⁸⁰,-NR⁷⁰C(NR⁷⁰)R⁷⁰和-NR⁷⁰C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰,其中R⁶⁰,R⁷⁰,R⁸⁰和M⁺如先前定义。

[0317] 在本文中的公开内容之外,在某个实施方案中,取代的基团具有1,2,3,或4个取代基,1,2,或3个取代基,1或2个取代基,或1个取代基。

[0318] 应了解,在上文定义的所有取代的基团中,通过定义本身具有进一步取代基的取代基而得到的聚合物(例如,取代的芳基具有取代的芳基作为取代基,这个取代基本身用取代的芳基取代,而这个取代的芳基进一步用取代的芳基取代,等)不意图包括在本文中。在此类情况中,此类取代的最大数目是三个。例如,本文中具体涵盖的取代的芳基的系列取代

限于取代的芳基- (取代的芳基) -取代的芳基。

[0319] 除非另有指示,本文中未明确定义的取代基的命名通过叫出官能团的末端部分,接下来叫出接近附着点的相邻官能团来达成。例如,取代基“芳基烷氧基羰基”指的是基团(芳基) - (烷基) -O-C(O) -。

[0320] 关于本文中公开的含有一个或多个取代基的任何基团,应了解,当然,此类基团不含空间上不可实现和/或合成上不可行的任何取代或取代样式。另外,主题化合物包括由这些化合物的取代而产生的所有立体化学异构体。

[0321] 术语“药学可接受盐”意味着对于施用于患者,诸如哺乳动物可接受的盐(与对于给定的剂量方案具有可接受的哺乳动物安全性的反离子的盐)。此类盐可以衍生自药学可接受的无机或有机碱和药学可接受的无机或有机酸。“药学可接受盐”指的是化合物的药学可接受盐,所述盐衍生自本领域公知的各种有机和无机反离子,而且仅举例而言,包括钠,钾,钙,镁,铵,四烷基铵,等等;而且当分子含有碱性官能团时,包括有机或无机酸的盐,诸如盐酸或氢氯酸盐,氢溴酸盐,甲酸盐,酒石酸盐,苯磺酸盐,甲磺酸盐,乙酸盐,马来酸盐,草酸盐,等等。

[0322] 术语“其盐”意味着当酸的质子用阳离子诸如金属阳离子或有机阳离子等等替换时形成的化合物。在适用的情况下,盐是药学可接受盐,虽然这对于不意图施用于患者的中间化合物的盐不是必需的。举例而言,本发明化合物的盐包括如下的那些盐,其中化合物被无机或有机酸质子化以形成阳离子,其中无机或有机酸的共轭碱作为盐的阴离子成分。

[0323] “溶剂合物”指的是通过溶剂分子与溶质的分子或离子组合而形成的复合物。溶剂可以是有机化合物,无机化合物,或二者的混合物。溶剂的一些例子包括但不限于甲醇,N,N-二甲基甲酰胺,四氢呋喃,二甲亚砜,和水。当溶剂是水时,所形成的溶剂合物是水合物。

[0324] “立体异构体”指的是在空间中具有相同的原子连接但不同的原子排列的化合物。立体异构体包括顺-反异构体,E和Z异构体,对映异构体,和非对映异构体。

[0325] “互变异构体”指的是仅在原子的电子键结和/或质子的位置方面不同的分子的变换形式,诸如烯醇-酮和亚胺-烯胺互变异构体;或含有-N=C(H)-NH-环原子排列的杂芳基的互变异构形式,诸如吡唑,咪唑,苯并咪唑,三唑,和四唑。本领域普通技术人员会认识到其它互变异构环原子排列是可能的。

[0326] 应了解,术语“或其盐或溶剂合物或立体异构体”意图包括盐,溶剂合物和立体异构体的所有编排,诸如主题化合物的立体异构体的药学可接受盐的溶剂合物。

[0327] “药学有效量”和“治疗有效量”指的是足以治疗指定的病症或疾病或其一种或多种症状和/或预防疾病或病症发生的化合物的量。提到致瘤性增殖性病症时,药学或治疗有效量包含足以引起肿瘤缩小或降低肿瘤生长速率等的量。

[0328] “患者”指的是人类和非人类受试者,尤其是哺乳动物受试者。

[0329] 如本文中使用的,术语“治疗”或“处理”意味着对患者,诸如哺乳动物(特别是人类)中的疾病或医学状况的治疗或处理,包括:(a) 预防疾病或医学状况发生,诸如对受试者的预防性治疗;(b) 改善疾病或医学状况,诸如消除患者中的疾病或医学状况或引起患者中的疾病或医学状况消退;(c) 阻抑疾病或医学状况,例如通过减缓或阻滞患者中的疾病或医学状况的发展;或(d) 减轻患者中的疾病或医学状况的症状。

[0330] 术语“多肽”,“肽”,和“蛋白质”在本文中可互换使用,指的是任何长度的氨基酸的

聚合形式。除非另有特别指示,“多肽”,“肽”,和“蛋白质”可以包括遗传编码的和非编码的氨基酸,化学或生物化学修饰或衍生的氨基酸,和具有经修饰的肽骨架的多肽。这个术语包括融合蛋白,包括但不限于具有异源氨基酸序列的融合蛋白,具有异源和同源前导序列的融合体,含有至少一个N端甲硫氨酸残基(例如,以推定在重组细菌宿主细胞中产生)的蛋白质;带有免疫学标签的蛋白质;等等。

[0331] “天然氨基酸序列”或“亲本氨基酸序列”在本文中可互换使用,指的是在进行修饰以包括修饰的氨基酸残基之前多肽的氨基酸序列。

[0332] 术语“氨基酸类似物”,“非天然氨基酸”,等等可以互换使用,而且包括在结构和/或整体形状方面与天然存在的蛋白质中通常找到的一种或多种氨基酸(例如Ala或A,Cys或C,Asp或D,Glu或E,Phe或F,Gly或G,His或H,Ile或I,Lys或K,Leu或L,Met或M,Asn或N,Pro或P,Gln或Q,Arg或R,Ser或S,Thr或T,Val或V,Trp或W,Tyr或Y)相似的氨基酸样化合物。氨基酸类似物还包括具有修饰的侧链或骨架的天然氨基酸。氨基酸类似物还包括与天然存在的D型具有相同立体化学的氨基酸类似物,以及L型的氨基酸类似物。在一些情况中,氨基酸类似物分享骨架结构和/或一种或多种天然氨基酸的侧链结构,但是差异在于分子中的一个或多个修饰的基团。此类修饰可以包括但不限于原子(诸如N)取代相关原子(诸如S),添加基团(诸如甲基或羟基,等)或原子(诸如Cl或Br,等),删除基团,取代共价键(单键取代双键,等),或其组合。例如,氨基酸类似物可以包括 α -羟基酸和 α -氨基酸,等等。

[0333] 术语“碳水化合物”诸如此类可用于指单糖,二糖,寡糖,和多糖的单体单元和/或聚合物。术语糖可用于指较小的碳水化合物,诸如单糖,二糖。术语“碳水化合物衍生物”包括如下的化合物,其中感兴趣碳水化合物的一个或多个官能团是取代的(用任何常规取代基替换),修饰的(使用任何常规化学转变成另一种基团)或缺失的(例如消除或用H替换)。多种碳水化合物和碳水化合物衍生物是可得的,而且可应用于主题化合物和缀合物。

[0334] 术语“抗体”以最广义使用,而且包括单克隆抗体(包括全长单克隆抗体),多克隆抗体,和多特异性抗体(例如双特异性抗体),人源化抗体,单链抗体,嵌合抗体,抗体片段(例如Fab片段),等等。抗体能够结合靶抗原(Janeway,C.,Travers,P.,Walport,M.,Shlomchik(2001) *Immuno Biology*,5th Ed.,Garland Publishing,New York)。靶抗原可以具有一个或多个结合位点,也称作表位,其受到由抗体的一个或多个可变区形成的互补决定区(CDR)识别。

[0335] 术语“天然抗体”指的是如下抗体,其中抗体的重链和轻链已经由多细胞生物体的免疫系统生成并配对。脾,淋巴结,骨髓和血清是产生天然抗体的组织的例子。例如,由自经过抗原免疫的第一动物分离的抗体产生细胞产生的抗体是天然抗体。

[0336] 术语“人源化抗体”或“人源化免疫球蛋白”指的是所含有一个或多个氨基酸(例如在框架区,恒定区或CDR中)已经用来自人抗体的处于对应位置的氨基酸替代的非人(例如小鼠或家兔)抗体。一般而言,人源化抗体在人类宿主中产生与相同抗体的非人源化型式相比减小的免疫反应。抗体可以使用本领域已知的多种技术进行人源化,包括例如CDR嫁接(EP 239,400;PCT公开文本W0 91/09967;美国专利No.5,225,539;No.5,530,101;和No.5,585,089),镶饰或重建表面(EP 592,106;EP 519,596;Padlan,*Molecular Immunology*28(4/5):489-498(1991);Studnicka等,*Protein Engineering* 7(6):805-814(1994);Roguska等,*PNAS* 91:969-973(1994)),和链改组(美国专利No.5,565,332)。在某些实施方

案中,框架替代是通过CDR和框架残基的相互作用进行建模以鉴定对于抗原结合重要的框架残基及进行序列比较以鉴定在特定位置处的非常见框架残基来鉴定的(参见例如美国专利No.5,585,089;Riechmann等,Nature 332:323(1988))。可用于本发明的人源化抗体的其它方法描述于美国专利No.5,750,078;No.5,502,167;No.5,705,154;No.5,770,403;No.5,698,417;No.5,693,493;No.5,558,864;No.4,935,496;和No.4,816,567,和PCT公开文本W0 98/45331和W0 98/45332。在特定实施方案中,可以依照US20040086979和US20050033031中列出的方法人源化主题家兔抗体。因而,可以使用本领域公知的方法人源化上文所述抗体。

[0337] 术语“嵌合抗体”指的是轻链和重链基因已经通常通过遗传工程改造从属于不同物种的抗体可变区和恒定区基因来构建的抗体。例如,可以将来自小鼠单克隆抗体的基因的可变区段连接至人恒定区段,诸如伽马1和伽马3。治疗性嵌合抗体的一个例子是由来自小鼠抗体的可变域或抗原结合域和来自人抗体的恒定域或效应器域构成的杂合蛋白,虽然可以使用来自其它哺乳动物物种的域。

[0338] 如提到多肽,肽或蛋白质的氨基酸序列时使用的,“可遗传编码的”意味着氨基酸序列由能够通过编码氨基酸序列的核酸的转录和翻译而产生的氨基酸残基构成,其中转录和/或翻译可以在细胞中或无细胞体外转录/翻译系统中发生。

[0339] 术语“控制序列”指的是推动可操作连接的编码序列在特定表达系统(例如哺乳动物细胞,细菌细胞,无细胞合成,等)中表达的DNA序列。例如,适合于原核生物系统的控制序列包括启动子,任选的操纵基因序列,和核糖体结合位点。真核细胞系统可以利用启动子,多腺苷酸化信号,和增强子。

[0340] 核酸当置于与另一核酸序列的功能性关系时是“可操作连接的”。例如,如果前序列或分泌前导的DNA表达成参与多肽分泌的前蛋白,那么该前序列或分泌前导序列的DNA是可操作连接至该多肽的DNA的;如果启动子或增强子影响编码序列的转录,那么该启动子或增强子是可操作连接至该序列的;或者,如果核糖体结合位点的定位推动翻译起始,那么该核糖体结合位点是可操作连接至编码序列的。一般而言,“可操作连接”意味着所连接的DNA序列是相连的,而且在分泌前导的情况中,是相连且在阅读框中的。连接通过接合或经由扩增反应来实现。可以依照常规实践使用合成寡核苷酸接头或接头来连接序列。

[0341] 如本文中使用的,术语“表达盒”指的是可以插入核酸中(例如通过使用与接合入感兴趣构建体中相容的限制性位点或通过同源重组入感兴趣构建体或宿主细胞基因组中)的核酸(通常是DNA)区段。一般而言,核酸区段包含编码感兴趣多肽的多核苷酸,而且盒和限制性位点设计成推动将盒插入正确的阅读框中进行转录和翻译。表达盒还可以包含推动在宿主细胞中表达编码感兴趣多肽的多核苷酸的元件。这些元件可以包括但不限于启动子,最小限度启动子,增强子,响应元件,终止子序列,聚腺苷酸化序列,等等。

[0342] 如本文中使用的,术语“分离的”意图描述处于与化合物天然存在的环境不同的环境中的感兴趣化合物。“分离的”意图包括在实质性富集了感兴趣化合物和/或感兴趣化合物得到部分或实质性纯化的样品内的化合物。

[0343] 如本文中使用的,术语“实质性纯化”指的是自其天然环境移出且至少60%不含,至少75%不含,至少80%不含,至少85%不含,至少90%不含,至少95%不含,至少98%不含,或超过98%不含与其天然相关的其它成分的化合物。

[0344] 术语“生理条件”意图涵盖与活细胞相容的那些条件,例如与活细胞相容的温度,pH,盐度,等主要含水的条件。

[0345] “反应性配偶”意味着与另一反应性配偶特异性反应以产生反应产物的分子或分子模块。例示性的反应性配偶包括硫酸酯酶基序的半胱氨酸或丝氨酸和甲酰甘氨酸生成酶(FGE),它们反应形成含有甲酰甘氨酸(fGly)替代基序中的半胱氨酸或丝氨酸的转化醛标签的反应产物。其它例示性的反应性配偶包括转化醛标签(例如反应性醛基团)的fGly残基的醛和“醛反应性反应性配偶”,该醛反应性反应性配偶包含醛反应性基团和感兴趣部分,且反应形成反应产物带有修饰的醛标签的多肽,其中感兴趣模块经由修饰的fGly残基缀合至修饰的多肽。

[0346] “N端”指的是多肽中具有游离胺基团的末端氨基酸残基,在非N端氨基酸残基中的胺基团通常形成多肽的共价骨架的一部分。

[0347] “C端”指的是多肽中具有游离羧基基团的末端氨基酸残基,在非C端氨基酸残基中的羧基基团通常形成多肽的共价骨架的一部分。

[0348] 如提到多肽或多肽的氨基酸序列时使用的,“内部位点”意味着多肽中不在N端或C端的区域。

[0349] 在进一步描述本发明之前,应了解,本发明并不限于所描述的特定实施方案,所述实施方案当然可以有变化。还应了解,本文中使用的术语仅仅出于描述特定实施方案的目的,并不意图是限制性的,因为本发明的范围会仅受所附权利要求书的限制。

[0350] 在提供数值的范围的情况下,应了解,除非上下文另有明确规定,本发明内涵盖介于该范围的上限和下限之间相隔下限单位十分之一的每个居间值和该规定范围内的任何其它规定值或居间值。这些较小范围的上限和下限可以独立包括在较小范围中,而且也涵盖于本发明内,服从于在规定范围内任何特定排除的界限。在规定范围包括两个界限之一或二者的情况下,排除那些所包括的界限中的任一或两者的范围也包括于本发明中。

[0351] 应了解,为了清楚起见在分开的实施方案的上下文中描述的本发明的某些特征也可以在单个实施方案中组合提供。反之,为简便起见在单个实施方案的上下文中描述的本发明的各种特征也可以分开或以任何合适的子组合提供。本发明具体涵盖且本文中公开了属于本发明的实施方案的所有组合,就像个别且明确地公开每个和每一个组合一样,达到所述组合涵盖主题的程度,例如,作为稳定化合物的化合物(即,可以生成,分离,表征,及测试生物学活性的化合物)。另外,本发明也具体涵盖且本文中公开了各种实施方案及其要素(例如描述此类变量的实施方案中列出的化学基团的要素)的所有子组合,就像本文中个别且明确地公开每个和每一个此类子组合一样。

[0352] 除非另有定义,本文中使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的含义相同的含义。虽然也可以使用与本文中描述的方法和材料类似或等同的任何方法和材料来实施或测试本发明,但是现在描述优选的方法和材料。通过援引将本文中提到的所有出版物收入本文以披露和记载与所引用的出版物有关的方法和/或材料。

[0353] 必须注意,除非上下文另有明确规定,如本文和所附权利要求书中使用的单数形式“一个”,“一种”,和“所述/该”包括复数指示物。应进一步注意,权利要求书可以撰写成排除任何任选要素。这样的话,这个陈述意图充当与列举权利要求的要素或使用“负向”限制

相结合来使用诸如“只”，“仅”等排他性术语的在先基础。

[0354] 应了解，为清楚起见在分开的实施方案的上下文中描述的本发明的某些特征也可以在单个实施方案中组合提供。反之，为简便起见在单个实施方案的上下文中描述的本发明的各种特征也可以分开或以任何合适的子组合提供。

[0355] 本文中讨论的出版物仅仅因为它们在本申请的提交日之前公开而提供。本文中的任何内容都不应解释为承认本发明依据在先发明没有先于所述出版物的资格。而且，所提供的出版物的日期可能不同于实际的出版日期，这可能需要独立确认。

[0356] 详述

[0357] 本公开内容提供了缀合物(例如多肽缀合物)，用于生成所述缀合物的胍基-吡咯并化合物，及所述缀合物的生产方法和使用方法。在以下章节中更为详细地描述每一种的实施方案。

[0358] 缀合物

[0359] 本公开内容提供了缀合物。“缀合物”意味着第一模块与第二模块稳定联合。“稳定联合”意味着在标准条件下一个模块结合至另一个模块或结构。在某些实施方案中，第一和第二模块经由一个或多个共价键彼此结合。

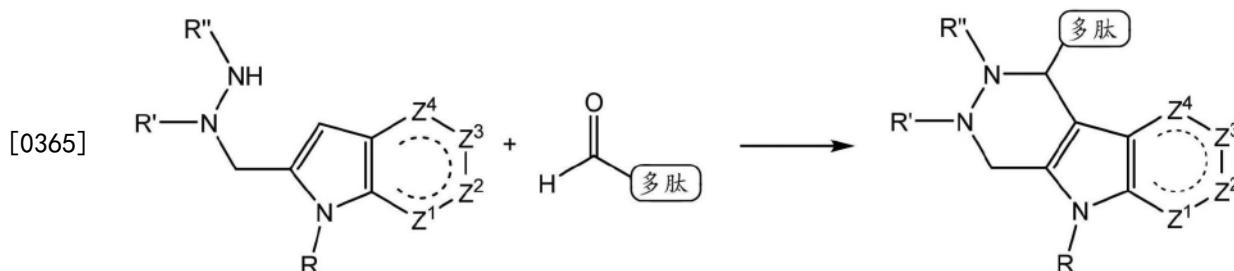
[0360] 在某些实施方案中，缀合物是多肽缀合物，其包括缀合至第二模块的多肽。如下文更为详细描述，缀合至多肽的模块可以是多种模块任一，诸如但不限于可检测标记物，药物，水溶性聚合物，或用于将多肽固定化至膜或表面的模块。感兴趣模块可以在多肽的任何期望位点处缀合至多肽。如此，例如，本公开内容提供了如下的经修饰的多肽，其具有在多肽的C端或C端附近的位点处缀合的模块。其它例子包括如下的经修饰的多肽，其具有在多肽的N端或N端附近的位置处缀合的模块。例子还包括如下的经修饰的多肽，其具有在多肽的C端和N端之间的位置处(例如在多肽的内部位点处)缀合的模块。在经修饰的多肽缀合至两个或更多个模块的情况下，上述的组合也是可能的。

[0361] 本公开内容的实施方案包括如下的缀合物，其中多肽缀合至一个或多个模块，诸如2个模块，3个模块，4个模块，5个模块，6个模块，7个模块，8个模块，9个模块，或10个或更多个模块。模块可以在多肽中的一个或多个位点处缀合至多肽。例如，一个或多个模块可以缀合至多肽的单个氨基酸残基。在一些情况中，一个模块缀合至多肽的一个氨基酸残基。在其它实施方案中，两个模块可以缀合至多肽的同一氨基酸残基。在其它实施方案中，第一模块缀合至多肽的第一氨基酸残基且第二模块缀合至多肽的第二氨基酸残基。例如，在多肽在第一氨基酸残基处缀合至第一模块且在第二氨基酸残基处缀合至两个其它模块的情况下，上述的组合也是可能的。其它组合也是可能的，诸如但不限于在第一氨基酸残基处缀合至第一和第二模块且在第二氨基酸残基处缀合至第三和第四模块的多肽，等。

[0362] 缀合至一个或多个模块的一个或多个氨基酸残基可以是天然存在氨基酸，非天然氨基酸，或其组合。例如，缀合物可以包括缀合至多肽的天然存在氨基酸残基的模块。在其它情况中，缀合物可以包括缀合至多肽的非天然氨基酸残基的模块。如上所述，一个或多个模块可以在单个天然或非天然氨基酸残基处缀合至多肽。如本文中描述的，多肽中的一个或多个天然或非天然氨基酸残基可以缀合至一个或多个模块。例如，多肽中的两个(或更多个)氨基酸残基(例如天然或非天然氨基酸残基)可以每个缀合至一个或两个模块，使得多肽中的多个位点是修饰的。

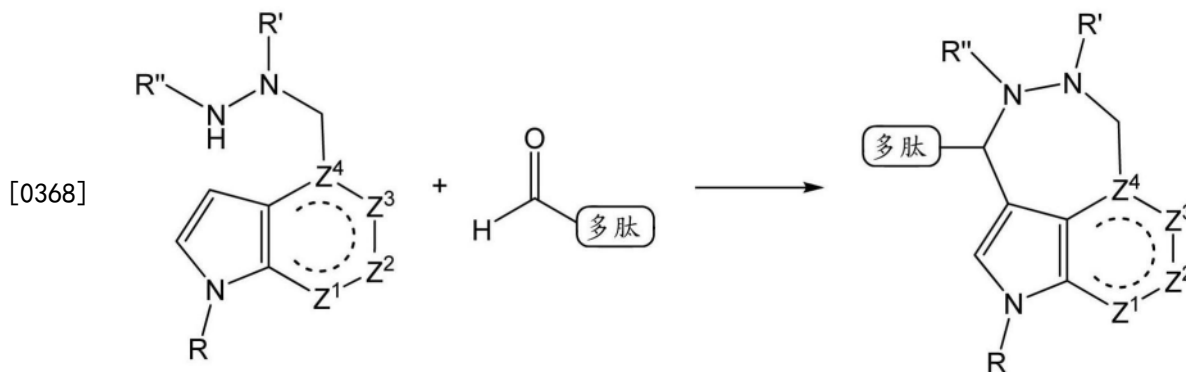
[0363] 虽然本文中以多肽缀合至一个或多个模块(例如化学实体,多肽,等)进行描述,但是本公开内容的实施方案还包括如下的缀合物,其中模块(例如化学实体,诸如药物或可检测标记物)缀合至一个或多个其它模块(例如化学实体,多肽,等)。例如,药物可以缀合至一个或多个其它模块(例如化学实体,多肽,等),或在其它实施方案中,可检测标记物可以缀合至一个或多个其它模块(例如化学实体,多肽,等)。如此,例如,本公开内容的实施方案包括但不限于下述:一个多肽和一个药物的缀合物;一个多肽和一个可检测标记物的缀合物;两个或更多个多肽的缀合物;两个或更多个药物的缀合物;两个或更多个可检测标记物的缀合物;一个药物和一个可检测标记物的缀合物;一个多肽,一个药物和一个可检测标记物的缀合物;一个多肽和两个或更多个药物的缀合物;一个多肽和两个或更多个可检测标记物的缀合物;一个药物和两个或更多个多肽的缀合物;一个可检测标记物和两个或更多个多肽的缀合物;等等。

[0364] 在某些实施方案中,多肽和感兴趣模块经由偶联模块而缀合。例如,多肽和感兴趣模块可以每个结合(例如共价键结)至偶联模块,如此经由偶联模块将多肽和感兴趣模块间接地结合在一起。在一些情况中,偶联模块包括胍基-吡咯并化合物或胍基-吡咯并化合物的衍生物。例如,用于经由胍基-吡咯并偶联模块将感兴趣模块偶联至多肽的一种通用流程显示于下文通用反应流程中。



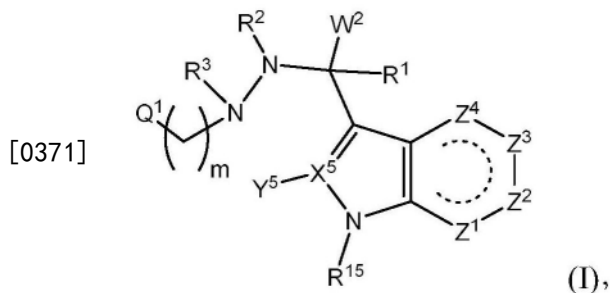
[0366] 在上文反应流程中,R可以是缀合至多肽的感兴趣模块。如本文中描述的,所述模块可以是多种模块任一,诸如但不限于化学实体,诸如可检测标记物,药物,水溶性聚合物,或用于将多肽固定化至膜或基质的表面的模块。R'和R''可以每个独立是任何期望取代基,诸如但不限于氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。Z¹,Z²,Z³和Z⁴可以是CR¹¹,NR¹²,N,O或S,其中Z¹,Z²,Z³和Z⁴中一项是任选的且R¹¹和R¹²可以是任何期望取代基。

[0367] 其它胍基-吡咯并偶联模块也是可能的。例如,用于经由胍基-吡咯并偶联模块将感兴趣模块偶联至多肽的另一种通用流程显示于下文通用反应流程中。



[0369] 在上文反应流程中,R可以是缀合至多肽的感兴趣模块。如上文描述的,所述模块可以是多种模块任一,诸如但不限于化学实体,诸如可检测标记物,药物,水溶性聚合物,或用于将多肽固定化至膜或基质的表面的模块。R'和R''可以每个独立是任何期望取代基,诸如但不限于氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。 Z^1, Z^2, Z^3 和 Z^4 可以是 $CR^{11}, NR^{12}, N, O, C$ 或 S ,其中 Z^1, Z^2, Z^3 和 Z^4 中一项是任选的且 R^{11} 和 R^{12} 可以是任何期望取代基。其它偶联模块也是可能的,如下文更为详细描述缀合物和化合物中所示。

[0370] 在某些实施方案中,缀合物包括至少一个式(I)的经修饰的氨基酸残基:



[0372] 其中

[0373] m 是0或1;

[0374] R^1 选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

[0375] R^2 和 R^3 每个独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,或 R^2 和 R^3 任选环状连接以形成5或6元杂环基;

[0376] Z^1, Z^2, Z^3 和 Z^4 每个独立选自 CR^{11}, NR^{12}, O, N 和 S ,其中 Z^1, Z^2, Z^3 和 Z^4 中一项是任选的;

[0377] X^5 是C;

[0378] Y^5, R^{11} 和 R^{12} 每个独立选自氢,卤素,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,

取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

[0379] Q^1 是与 Z^4 或 X^5 任一的键,其中若 Q^1 是与 Z^4 的键,则 Z^4 是 CR^{11} 或 NR^{12} 且 R^{11} 或 R^{12} 缺失,或若 Q^1 是与 X^5 的键,则 Y^5 缺失;

[0380] R^{15} 是 $-L-W^1$ 或 $-L-W^1$ 附着于 Z^1, Z^2, Z^3 或 Z^4 中一项,其中若 $-L-W^1$ 附着于 Z^1, Z^2, Z^3 或 Z^4 中一项,则 R^{15} 选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;

[0381] L 是接头(例如本文中描述的接头),且

[0382] W^1 和 W^2 中一项是多肽且另一项是化学实体。

[0383] 在某些实施方案中, m 是0或1。在某些实施方案中, m 是0。在某些实施方案中, m 是1。

[0384] 在某些实施方案中, R^1 选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。在某些实施方案中, R^1 是氢。在某些实施方案中, R^1 是烷基或取代的烷基。在某些实施方案中, R^1 是烯基或取代的烯基。在某些实施方案中, R^1 是炔基或取代的炔基。在某些实施方案中, R^1 是芳基或取代的芳基。在某些实施方案中, R^1 是杂芳基或取代的杂芳基。在某些实施方案中, R^1 是环烷基或取代的环烷基。在某些实施方案中, R^1 是杂环基或取代的杂环基。

[0385] 在某些实施方案中, R^2 选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。在某些实施方案中, R^2 是氢。在某些实施方案中, R^2 是烷基或取代的烷基。在某些实施方案中, R^2 是烯基或取代的烯基。在某些实施方案中, R^2 是炔基或取代的炔基。在某些实施方案中, R^2 是烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中, R^2 是氨基或取代的氨基。在某些实施方案中, R^2 是羧基或羧基酯。在某些实施方案中, R^2 是酰基或酰氧基。在某些实施方案中, R^2 是酰基氨基或氨基酰基。在某些实施方案中, R^2 是烷基酰胺或取代的烷基酰胺。在某些实施方案中, R^2 是磺酰基。在某些实施方案中, R^2 是硫代烷氧基或取代的硫代烷氧基。在某些实施方案中, R^2 是芳基或取代的芳基。在某些实施方案中, R^2 是杂芳基或取代的杂芳基。在某些实施方案中, R^2 是环烷基或取代的环烷基。在某些实施方案中, R^2 是杂环基或取代的杂环基。

[0386] 在某些实施方案中, R^2 是烷基或取代的烷基。例如, R^2 可以是烷基或取代的烷基,诸如 C_1-C_{10} 烷基或 C_1-C_{10} 取代的烷基(例如 C_1-C_6 烷基或 C_1-C_6 取代的烷基)。在一些情况中, R^2 是甲基,乙基,正丙基,异丙基,正丁基,仲丁基,异丁基,叔丁基,等等。在某些情况中, R^2 是甲基。

[0387] 在某些实施方案中, R^3 选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。在某些实施方案中, R^3 是氢。在某些实施方案中, R^3 是烷基或取代的烷基。在某些实施方案中, R^3 是烯基或取代的烯基。在某些实施方案中, R^3 是炔基或取代的炔基。在某些实施方案中, R^3 是烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中, R^3 是氨基或取代的氨基。在某些实施方案中, R^3 是羧基或羧基酯。在某些实施方案中, R^3 是酰基或酰氧基。在某些实施方案中, R^3 是酰基氨基或氨基

酰基。在某些实施方案中, R^3 是烷基酰胺或取代的烷基酰胺。在某些实施方案中, R^3 是磺酰基。在某些实施方案中, R^3 是硫代烷氧基或取代的硫代烷氧基。在某些实施方案中, R^3 是芳基或取代的芳基。在某些实施方案中, R^3 是杂芳基或取代的杂芳基。在某些实施方案中, R^3 是环烷基或取代的环烷基。在某些实施方案中, R^3 是杂环基或取代的杂环基。

[0388] 在某些实施方案中, R^3 是烷基或取代的烷基。例如, R^3 可以是烷基或取代的烷基, 诸如 C_1 - C_{10} 烷基或 C_1 - C_{10} 取代的烷基 (例如 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_6 取代的烷基)。在一些情况中, R^3 是甲基, 乙基, 正丙基, 异丙基, 正丁基, 仲丁基, 异丁基, 叔丁基, 等等。在某些情况中, R^3 是甲基。

[0389] 在某些实施方案中, R^2 和 R^3 每个独立选自烷基和取代的烷基。例如, R^2 可以是烷基或取代的烷基, 诸如 C_1 - C_{10} 烷基或 C_1 - C_{10} 取代的烷基 (例如 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_6 取代的烷基), 且 R^3 可以是烷基或取代的烷基, 诸如 C_1 - C_{10} 烷基或 C_1 - C_{10} 取代的烷基 (例如 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_6 取代的烷基)。在一些情况中, R^2 和 R^3 每个独立选自甲基, 乙基, 正丙基, 异丙基, 正丁基, 仲丁基, 异丁基, 叔丁基, 等等。在某些情况中, R^2 和 R^3 每个是甲基。

[0390] 在某些实施方案中, R^2 和 R^3 任选环状连接以形成 5 或 6 元杂环基。在一些情况中, R^2 和 R^3 (与它们所附着的原子一起) 可以环状连接以形成 5 元杂环基。在一些情况中, R^2 和 R^3 (与它们所附着的原子一起) 可以环状连接以形成 6 元杂环基。例如, R^2 和 R^3 可以每个独立是烷基或取代的烷基, 诸如 C_1 - C_{10} 烷基或 C_1 - C_{10} 取代的烷基 (例如 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_6 取代的烷基), 其中 R^2 和 R^3 任选环状连接以形成 5 或 6 元杂环基, 如上文描述的。在一些情况中, R^2 和/或 R^3 中的一个或多个碳原子可以用杂原子, 诸如 N, O, 或 S 替换。

[0391] 在某些实施方案中, Z^1 选自 CR^{11} , NR^{12} , O, N 和 S。在某些实施方案中, Z^1 是 CR^{11} 。在某些实施方案中, Z^1 是 NR^{12} 。在某些实施方案中, Z^1 是 N。在某些实施方案中, Z^1 是 O。在某些实施方案中, Z^1 是 S。

[0392] 在某些实施方案中, Z^2 选自 CR^{11} , NR^{12} , O, N 和 S。在某些实施方案中, Z^2 是 CR^{11} 。在某些实施方案中, Z^2 是 NR^{12} 。在某些实施方案中, Z^2 是 N。在某些实施方案中, Z^2 是 O。在某些实施方案中, Z^2 是 S。

[0393] 在某些实施方案中, Z^3 选自 CR^{11} , NR^{12} , O, N 和 S。在某些实施方案中, Z^3 是 CR^{11} 。在某些实施方案中, Z^3 是 NR^{12} 。在某些实施方案中, Z^3 是 N。在某些实施方案中, Z^3 是 O。在某些实施方案中, Z^3 是 S。

[0394] 在某些实施方案中, Z^4 选自 CR^{11} , NR^{12} , O, N 和 S。在某些实施方案中, Z^4 是 CR^{11} 。在某些实施方案中, Z^4 是 NR^{12} 。在某些实施方案中, Z^4 是 N。在某些实施方案中, Z^4 是 O。在某些实施方案中, Z^4 是 S。

[0395] Z^1 , Z^2 , Z^3 和 Z^4 的各种组合是可能的。例如, 在某些实施方案中, Z^1 , Z^2 , Z^3 和 Z^4 中每项是 CR^{11} 。在其它情况中, Z^1 , Z^2 , Z^3 和 Z^4 中三项是 CR^{11} 且 Z^1 , Z^2 , Z^3 和 Z^4 中一项是 N。在其它实施方案中, Z^1 , Z^2 , Z^3 和 Z^4 中两项是 CR^{11} 且 Z^1 , Z^2 , Z^3 和 Z^4 中两项是 N。在其它实施方案中, Z^1 , Z^2 , Z^3 和 Z^4 中一项是 CR^{11} 且 Z^1 , Z^2 , Z^3 和 Z^4 中三项是 N。在其它实施方案中, Z^1 , Z^2 , Z^3 和 Z^4 中一项缺失, Z^1 , Z^2 , Z^3 和 Z^4 中两项是 CR^{11} 且 Z^1 , Z^2 , Z^3 和 Z^4 中一项是 NR^{12} 。在其它实施方案中, Z^1 , Z^2 , Z^3 和 Z^4 中一项缺失, Z^1 , Z^2 , Z^3 和 Z^4 中两项是 CR^{11} 且 Z^1 , Z^2 , Z^3 和 Z^4 中一项是 S。在其它实施方案中, Z^1 , Z^2 , Z^3 和 Z^4 中一项缺失, Z^1 , Z^2 , Z^3 和 Z^4 中两项是 CR^{11} 且 Z^1 , Z^2 , Z^3 和 Z^4 中一项是 O。在需要时, CR^{11} , N, O 和 S 的其它组合对于 Z^1 , Z^2 , Z^3 和 Z^4 是可能的。

[0396] 在某些实施方案中, X^5 是 C。

[0397] 在某些实施方案中, 每个 R^{11} (若存在的话) 独立选自氢, 卤素, 烷基, 取代的烷基, 烯基, 取代的烯基, 炔基, 取代的炔基, 烷氧基, 取代的烷氧基, 氨基, 取代的氨基, 羧基, 羧基酯, 酰基, 酰氧基, 酰基氨基, 氨基酰基, 烷基酰胺, 取代的烷基酰胺, 磺酰基, 硫代烷氧基, 取代的硫代烷氧基, 芳基, 取代的芳基, 杂芳基, 取代的杂芳基, 环烷基, 取代的环烷基, 杂环基, 和取代的杂环基。在某些实施方案中, R^{11} 是氢。在某些实施方案中, R^{11} 是卤素, 诸如 F, Cl, Br 或 I。在某些实施方案中, R^{11} 是 F。在某些实施方案中, R^{11} 是 Cl。在某些实施方案中, R^{11} 是 Br。在某些实施方案中, R^{11} 是 I。在某些实施方案中, R^{11} 是烷基或取代的烷基。在某些实施方案中, R^{11} 是烯基或取代的烯基。在某些实施方案中, R^{11} 是炔基或取代的炔基。在某些实施方案中, R^{11} 是烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中, R^{11} 是氨基或取代的氨基。在某些实施方案中, R^{11} 是羧基或羧基酯。在某些实施方案中, R^{11} 是酰基或酰氧基。在某些实施方案中, R^{11} 是酰基氨基或氨基酰基。在某些实施方案中, R^{11} 是烷基酰胺或取代的烷基酰胺。在某些实施方案中, R^{11} 是磺酰基。在某些实施方案中, R^{11} 是硫代烷氧基或取代的硫代烷氧基。在某些实施方案中, R^{11} 是芳基或取代的芳基。在某些实施方案中, R^{11} 是杂芳基或取代的杂芳基。在某些实施方案中, R^{11} 是环烷基或取代的环烷基。在某些实施方案中, R^{11} 是杂环基或取代的杂环基。

[0398] 在某些实施方案中, 每个 R^{12} (若存在的话) 独立选自氢, 卤素, 烷基, 取代的烷基, 烯基, 取代的烯基, 炔基, 取代的炔基, 烷氧基, 取代的烷氧基, 氨基, 取代的氨基, 羧基, 羧基酯, 酰基, 酰氧基, 酰基氨基, 氨基酰基, 烷基酰胺, 取代的烷基酰胺, 磺酰基, 硫代烷氧基, 取代的硫代烷氧基, 芳基, 取代的芳基, 杂芳基, 取代的杂芳基, 环烷基, 取代的环烷基, 杂环基, 和取代的杂环基。在某些实施方案中, R^{12} 是氢。在某些实施方案中, R^{12} 是卤素, 诸如 F, Cl, Br 或 I。在某些实施方案中, R^{12} 是 F。在某些实施方案中, R^{12} 是 Cl。在某些实施方案中, R^{12} 是 Br。在某些实施方案中, R^{12} 是 I。在某些实施方案中, R^{12} 是烷基或取代的烷基。在某些实施方案中, R^{12} 是烯基或取代的烯基。在某些实施方案中, R^{12} 是炔基或取代的炔基。在某些实施方案中, R^{12} 是烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中, R^{12} 是氨基或取代的氨基。在某些实施方案中, R^{12} 是羧基或羧基酯。在某些实施方案中, R^{12} 是酰基或酰氧基。在某些实施方案中, R^{12} 是酰基氨基或氨基酰基。在某些实施方案中, R^{12} 是烷基酰胺或取代的烷基酰胺。在某些实施方案中, R^{12} 是磺酰基。在某些实施方案中, R^{12} 是硫代烷氧基或取代的硫代烷氧基。在某些实施方案中, R^{12} 是芳基或取代的芳基。在某些实施方案中, R^{12} 是杂芳基或取代的杂芳基。在某些实施方案中, R^{12} 是环烷基或取代的环烷基。在某些实施方案中, R^{12} 是杂环基或取代的杂环基。

[0399] 在某些实施方案中, Y^5 (若存在的话) 选自氢, 卤素, 烷基, 取代的烷基, 烯基, 取代的烯基, 炔基, 取代的炔基, 烷氧基, 取代的烷氧基, 氨基, 取代的氨基, 羧基, 羧基酯, 酰基, 酰氧基, 酰基氨基, 氨基酰基, 烷基酰胺, 取代的烷基酰胺, 磺酰基, 硫代烷氧基, 取代的硫代烷氧基, 芳基, 取代的芳基, 杂芳基, 取代的杂芳基, 环烷基, 取代的环烷基, 杂环基, 和取代的杂环基。在某些实施方案中, Y^5 是氢。在某些实施方案中, Y^5 是卤素, 诸如 F, Cl, Br 或 I。在某些实施方案中, Y^5 是 F。在某些实施方案中, Y^5 是 Cl。在某些实施方案中, Y^5 是 Br。在某些实施方案中, Y^5 是 I。在某些实施方案中, Y^5 是烷基或取代的烷基。在某些实施方案中, Y^5 是烯基或取代的烯基。在某些实施方案中, Y^5 是炔基或取代的炔基。在某些实施方案中, Y^5 是烷氧基或

取代的烷氧基。在某些实施方案中， Y^5 是氨基或取代的氨基。在某些实施方案中， Y^5 是羧基或羧基酯。在某些实施方案中， Y^5 是酰基或酰氧基。在某些实施方案中， Y^5 是酰基氨基或氨基酰基。在某些实施方案中， Y^5 是烷基酰胺或取代的烷基酰胺。在某些实施方案中， Y^5 是磺酰基。在某些实施方案中， Y^5 是硫代烷氧基或取代的硫代烷氧基。在某些实施方案中， Y^5 是芳基或取代的芳基。在某些实施方案中， Y^5 是杂芳基或取代的杂芳基。在某些实施方案中， Y^5 是环烷基或取代的环烷基。在某些实施方案中， Y^5 是杂环基或取代的杂环基。

[0400] 在某些实施方案中， Q^1 是与 Z^4 或 X^5 任一的键。在某些实施方案中， Q^1 是与 Z^4 的键。在某些实施方案中，若 Q^1 是与 Z^4 的键，则 Z^4 是 CR^{11} 且 R^{11} 缺失。在某些实施方案中，若 Q^1 是与 Z^4 的键，则 Z^4 是 NR^{12} 且 R^{12} 缺失。在某些实施方案中， Q^1 是与 X^5 的键。在某些实施方案中，若 Q^1 是与 X^5 的键，则 Y^5 缺失。

[0401] 在某些实施方案中， R^{15} 是 $-L-W^1$ 或 $-L-W^1$ 附着于 Z^1, Z^2, Z^3 或 Z^4 中一项。在某些实施方案中， R^{15} 是 $-L-W^1$ 。在某些实施方案中， R^{15} 不是 $-L-W^1$ 。在某些实施方案中， $-L-W^1$ 附着于 Z^1, Z^2, Z^3 或 Z^4 中一项。在某些实施方案中， $-L-W^1$ 附着于 Z^1 。在某些实施方案中， $-L-W^1$ 附着于 Z^2 。在某些实施方案中， $-L-W^1$ 附着于 Z^3 。在某些实施方案中， $-L-W^1$ 附着于 Z^4 。

[0402] 在某些实施方案中，若 $-L-W^1$ 附着于 Z^1, Z^2, Z^3 或 Z^4 中一项，则 R^{15} 不是 $-L-W^1$ 。在这些实施方案中， R^{15} 选自氢，烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，和取代的杂环基。在一些情况中， R^{15} 是氢。在一些情况中， R^{15} 是烷基或取代的烷基。在一些情况中， R^{15} 是烯基或取代的烯基。在一些情况中， R^{15} 是炔基或取代的炔基。在一些情况中， R^{15} 是芳基或取代的芳基。在一些情况中， R^{15} 是杂芳基或取代的杂芳基。在一些情况中， R^{15} 是环烷基或取代的环烷基。在一些情况中， R^{15} 是杂环基或取代的杂环基。

[0403] 在某些实施方案中， L 是任选的接头。在某些实施方案中， L 不存在，而且因此吡啶环的氮直接与 W^1 成键。在某些实施方案中， L 存在，而且因此吡啶环的氮经由接头 L 间接与 W^1 成键。接头 L 的进一步描述见本文中的公开内容。

[0404] 例如，在某些实施方案中， L 包括选自烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，烷氧基，取代的烷氧基，氨基，取代的氨基，羧基，羧基酯，酰基氨基，烷基酰胺，取代的烷基酰胺，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，和取代的杂环基的基团。在某些实施方案中， L 包括烷基或取代的烷基基团。在某些实施方案中， L 包括烯基或取代的烯基基团。在某些实施方案中， L 包括炔基或取代的炔基基团。在某些实施方案中， L 包括烷氧基或取代的烷氧基基团。在某些实施方案中， L 包括氨基或取代的氨基基团。在某些实施方案中， L 包括羧基或羧基酯基团。在某些实施方案中， L 包括酰基氨基基团。在某些实施方案中， L 包括烷基酰胺或取代的烷基酰胺基团。在某些实施方案中， L 包括芳基或取代的芳基基团。在某些实施方案中， L 包括杂芳基或取代的杂芳基基团。在某些实施方案中， L 包括环烷基或取代的环烷基基团。在某些实施方案中， L 包括杂环基或取代的杂环基基团。

[0405] 在某些实施方案中， L 包括聚合物。例如，聚合物可以包括聚烷撑二醇及其衍生物，包括聚乙二醇，甲氧基聚乙二醇，聚乙二醇均聚物，聚丙二醇均聚物，乙二醇与丙二醇的共聚物（例如，其中均聚物和共聚物是未取代的或在一端用烷基取代的），聚乙烯醇，聚乙烯基乙基醚，聚乙烯吡咯烷酮，其组合，等等。在某些实施方案中，聚合物是聚烷撑二醇。在某些

实施方案中,聚合物是聚乙二醇。

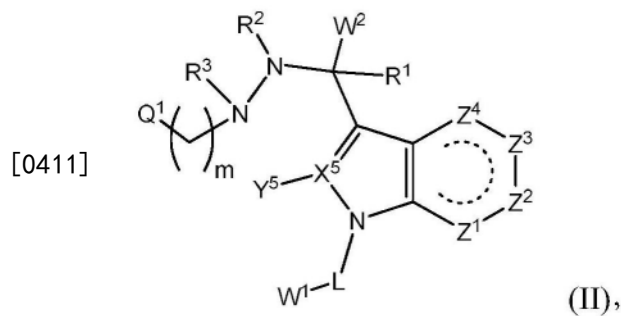
[0406] 在一些实施方案中,L是包含 $-(L^1)_a-(L^2)_b-(L^3)_c-(L^4)_d-(L^5)_e-$ 的接头,其中 L^1,L^2,L^3,L^4 和 L^5 每个是接头单元,且a,b,c,d和e每个独立是0或1,其中a,b,c,d和e的和是1至5。其它接头也是可能的,如下文更为详细地在缀合物和化合物中显示的。

[0407] 在某些实施方案中, W^1 选自多肽和化学实体。在某些实施方案中, W^1 是化学实体。在某些实施方案中,所述化学实体是药物。在某些实施方案中,所述化学实体是可检测标记物。在某些实施方案中, W^1 选自可检测标记物和多肽。在某些实施方案中, W^1 选自药物,可检测标记物和多肽。在某些实施方案中, W^1 是多肽。

[0408] 在某些实施方案中, W^2 选自药物和化学实体。在某些实施方案中, W^2 是化学实体。在某些实施方案中,所述化学实体是药物。在某些实施方案中,所述化学实体是可检测标记物。在某些实施方案中, W^2 选自药物,可检测标记物和多肽。在某些实施方案中, W^2 是药物。在某些实施方案中, W^2 是可检测标记物。在某些实施方案中, W^2 是多肽。

[0409] 在某些实施方案中, W^1 和 W^2 中一项是多肽且另一项是化学实体。在某些实施方案中,所述化学实体是药物。在某些实施方案中,所述化学实体是可检测标记物。在某些实施方案中, W^1 是化学实体,且 W^2 是多肽。在某些实施方案中, W^1 是多肽,且 W^2 是化学实体。

[0410] 在某些实施方案中,缀合物包括至少一个式(II)的经修饰的氨基酸残基:



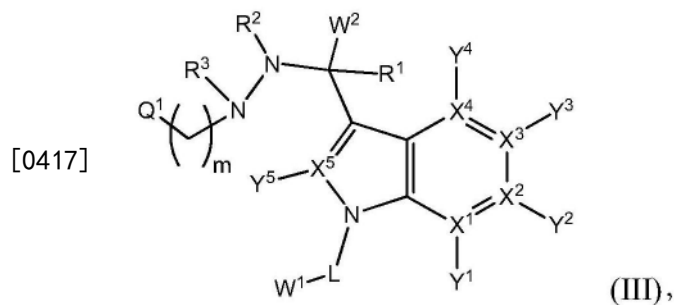
[0412] 其中

[0413] m, $R^1,R^2,R^3,X^5,L,Q^1,W^1,W^2,Y^5,Z^1,Z^2,Z^3$ 和 Z^4 如式(I)中定义的。

[0414] 如上文描述的,在式(I)中,在一些情况中, R^{15} 是 $-L-W^1$,其导致如上所示式(II)的经修饰的氨基酸残基。

[0415] 在某些实施方案中,式(II)的取代基与上文所述式(I)的取代基相同。例如,在某些实施方案中,m是0或1。在某些实施方案中,m是0。在某些实施方案中,m是1。在某些实施方案中,式(II)的取代基,例如m, $R^1,R^2,R^3,X^5,L,Q^1,W^1,W^2,Y^5,Z^1,Z^2,Z^3$ 和 Z^4 如式(I)中定义的。

[0416] 在一些实施方案中,缀合物包括至少一个式(III)的经修饰的氨基酸残基:



[0418] 其中

[0419] $m, R^1, R^2, R^3, X^5, Y^5, L, W^1$ 和 W^2 如式(I)中定义的;

[0420] X^1, X^2, X^3 和 X^4 每个独立选自C, N, O和S, 其中 X^1, X^2, X^3 和 X^4 中一项是任选的;

[0421] Y^1, Y^2, Y^3, Y^4 和 Y^5 , 若存在的话, 每个独立选自氢, 卤素, 烷基, 取代的烷基, 烯基, 取代的烯基, 炔基, 取代的炔基, 烷氧基, 取代的烷氧基, 氨基, 取代的氨基, 羧基, 羧基酯, 酰基, 酰氧基, 酰基氨基, 氨基酰基, 烷基酰胺, 取代的烷基酰胺, 磺酰基, 硫代烷氧基, 取代的硫代烷氧基, 芳基, 取代的芳基, 杂芳基, 取代的杂芳基, 环烷基, 取代的环烷基, 杂环基, 和取代的杂环基, 其中 Y^1 和 Y^2, Y^2 和 Y^3 , 或 Y^3 和 Y^4 任选是环状连接的; 且

[0422] Q^1 是与 X^4 或 X^5 任一的键, 其中若 Q^1 是与 X^4 的键, 则 Y^4 缺失, 或若 Q^1 是与 X^5 的键, 则 Y^5 缺失。

[0423] 在某些实施方案中, 式(III)的取代基与上文所述式(I)的取代基相同。例如, 在某些实施方案中, m 是0或1。在某些实施方案中, m 是0。在某些实施方案中, m 是1。在某些实施方案中, 式(III)的取代基, 例如 $m, R^1, R^2, R^3, X^5, Y^5, L, W^1$ 和 W^2 如式(I)中定义的。

[0424] 在某些实施方案中, X^1 选自C, N, O和S。在某些实施方案中, X^1 是C。在某些实施方案中, X^1 是N。在某些实施方案中, X^1 是O。在某些实施方案中, X^1 是S。

[0425] 在某些实施方案中, X^2 选自C, N, O和S。在某些实施方案中, X^2 是C。在某些实施方案中, X^2 是N。在某些实施方案中, X^2 是O。在某些实施方案中, X^2 是S。

[0426] 在某些实施方案中, X^3 选自C, N, O和S。在某些实施方案中, X^3 是C。在某些实施方案中, X^3 是N。在某些实施方案中, X^3 是O。在某些实施方案中, X^3 是S。

[0427] 在某些实施方案中, X^4 选自C, N, O和S。在某些实施方案中, X^4 是C。在某些实施方案中, X^4 是N。在某些实施方案中, X^4 是O。在某些实施方案中, X^4 是S。

[0428] 在某些实施方案中, X^1, X^2, X^3 和 X^4 中一项是任选的。在某些实施方案中, X^1 缺失。在某些实施方案中, X^2 缺失。在某些实施方案中, X^3 缺失。在某些实施方案中, X^4 缺失。

[0429] X^1, X^2, X^3 和 X^4 的各种组合是可能的。例如, 在某些实施方案中, X^1, X^2, X^3 和 X^4 中每项是C。在其它情况中, X^1, X^2, X^3 和 X^4 中三项是C且 X^1, X^2, X^3 和 X^4 中一项是N。在其它实施方案中, X^1, X^2, X^3 和 X^4 中两项是C且 X^1, X^2, X^3 和 X^4 中两项是N。在其它实施方案中, X^1, X^2, X^3 和 X^4 中一项是C且 X^1, X^2, X^3 和 X^4 中三项是N。在需要时, C, N, O和S的其它组合对于 X^1, X^2, X^3 和 X^4 是可能的。

[0430] 在某些实施方案中, Y^1 (若存在的话) 选自氢, 卤素, 烷基, 取代的烷基, 烯基, 取代的烯基, 炔基, 取代的炔基, 烷氧基, 取代的烷氧基, 氨基, 取代的氨基, 羧基, 羧基酯, 酰基, 酰氧基, 酰基氨基, 氨基酰基, 烷基酰胺, 取代的烷基酰胺, 磺酰基, 硫代烷氧基, 取代的硫代烷氧基, 芳基, 取代的芳基, 杂芳基, 取代的杂芳基, 环烷基, 取代的环烷基, 杂环基, 和取代的杂环基。在某些实施方案中, Y^1 是氢。在某些实施方案中, Y^1 是卤素, 诸如F, Cl, Br或I。在某些实施方案中, Y^1 是F。在某些实施方案中, Y^1 是Cl。在某些实施方案中, Y^1 是Br。在某些实施方案中, Y^1 是I。在某些实施方案中, Y^1 是烷基或取代的烷基。在某些实施方案中, Y^1 是烯基或取代的烯基。在某些实施方案中, Y^1 是炔基或取代的炔基。在某些实施方案中, Y^1 是烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中, Y^1 是氨基或取代的氨基。在某些实施方案中, Y^1 是羧基或羧基酯。在某些实施方案中, Y^1 是酰基或酰氧基。在某些实施方案中, Y^1 是酰基氨基或氨基酰基。在某些实施方案中, Y^1 是烷基酰胺或取代的烷基酰胺。在某些实施方案中, Y^1 是磺酰基。在某些实施方案中, Y^1 是硫代烷氧基或取代的硫代烷氧基。在某些实施方案中, Y^1 是芳基或取代的芳基。在某些实施方案中, Y^1 是杂芳基或取代的杂芳基。在某些实施方案中, Y^1 是环烷

基或取代的环烷基。在某些实施方案中， Y^1 是杂环基或取代的杂环基。

[0431] 在某些实施方案中， Y^2 (若存在的话) 选自氢，卤素，烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，烷氧基，取代的烷氧基，氨基，取代的氨基，羧基，羧基酯，酰基，酰氧基，酰基氨基，氨基酰基，烷基酰胺，取代的烷基酰胺，磺酰基，硫代烷氧基，取代的硫代烷氧基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，和取代的杂环基。在某些实施方案中， Y^2 是氢。在某些实施方案中， Y^2 是卤素，诸如F，Cl，Br或I。在某些实施方案中， Y^2 是F。在某些实施方案中， Y^2 是Cl。在某些实施方案中， Y^2 是Br。在某些实施方案中， Y^2 是I。在某些实施方案中， Y^2 是烷基或取代的烷基。在某些实施方案中， Y^2 是烯基或取代的烯基。在某些实施方案中， Y^2 是炔基或取代的炔基。在某些实施方案中， Y^2 是烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中， Y^2 是氨基或取代的氨基。在某些实施方案中， Y^2 是羧基或羧基酯。在某些实施方案中， Y^2 是酰基或酰氧基。在某些实施方案中， Y^2 是酰基氨基或氨基酰基。在某些实施方案中， Y^2 是烷基酰胺或取代的烷基酰胺。在某些实施方案中， Y^2 是磺酰基。在某些实施方案中， Y^2 是硫代烷氧基或取代的硫代烷氧基。在某些实施方案中， Y^2 是芳基或取代的芳基。在某些实施方案中， Y^2 是杂芳基或取代的杂芳基。在某些实施方案中， Y^2 是环烷基或取代的环烷基。在某些实施方案中， Y^2 是杂环基或取代的杂环基。

[0432] 在某些实施方案中， Y^3 (若存在) 选自氢，卤素，烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，烷氧基，取代的烷氧基，氨基，取代的氨基，羧基，羧基酯，酰基，酰氧基，酰基氨基，氨基酰基，烷基酰胺，取代的烷基酰胺，磺酰基，硫代烷氧基，取代的硫代烷氧基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，和取代的杂环基。在某些实施方案中， Y^3 是氢。在某些实施方案中， Y^3 是卤素，诸如F，Cl，Br或I。在某些实施方案中， Y^3 是F。在某些实施方案中， Y^3 是Cl。在某些实施方案中， Y^3 是Br。在某些实施方案中， Y^3 是I。在某些实施方案中， Y^3 是烷基或取代的烷基。在某些实施方案中， Y^3 是烯基或取代的烯基。在某些实施方案中， Y^3 是炔基或取代的炔基。在某些实施方案中， Y^3 是烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中， Y^3 是氨基或取代的氨基。在某些实施方案中， Y^3 是羧基或羧基酯。在某些实施方案中， Y^3 是酰基或酰氧基。在某些实施方案中， Y^3 是酰基氨基或氨基酰基。在某些实施方案中， Y^3 是烷基酰胺或取代的烷基酰胺。在某些实施方案中， Y^3 是磺酰基。在某些实施方案中， Y^3 是硫代烷氧基或取代的硫代烷氧基。在某些实施方案中， Y^3 是芳基或取代的芳基。在某些实施方案中， Y^3 是杂芳基或取代的杂芳基。在某些实施方案中， Y^3 是环烷基或取代的环烷基。在某些实施方案中， Y^3 是杂环基或取代的杂环基。

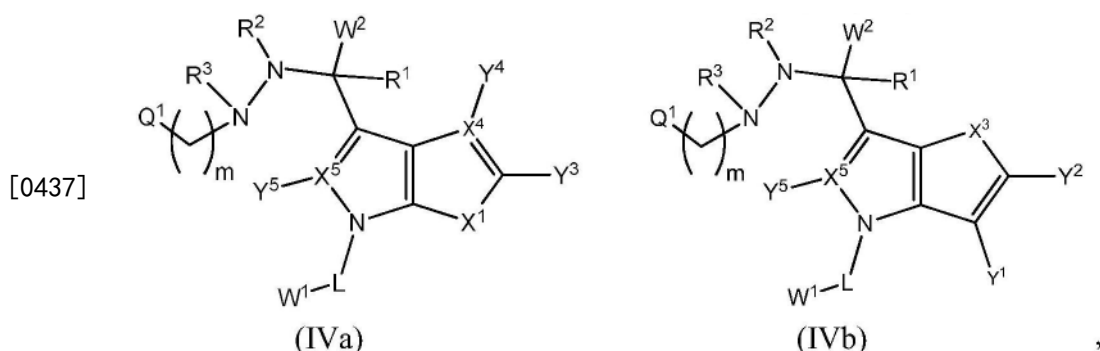
[0433] 在某些实施方案中， Y^4 (若存在的话) 选自氢，卤素，烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，烷氧基，取代的烷氧基，氨基，取代的氨基，羧基，羧基酯，酰基，酰氧基，酰基氨基，氨基酰基，烷基酰胺，取代的烷基酰胺，磺酰基，硫代烷氧基，取代的硫代烷氧基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，和取代的杂环基。在某些实施方案中， Y^4 是氢。在某些实施方案中， Y^4 是卤素，诸如F，Cl，Br或I。在某些实施方案中， Y^4 是F。在某些实施方案中， Y^4 是Cl。在某些实施方案中， Y^4 是Br。在某些实施方案中， Y^4 是I。在某些实施方案中， Y^4 是烷基或取代的烷基。在某些实施方案中， Y^4 是烯基或取代的烯基。在某些实施方案中， Y^4 是炔基或取代的炔基。在某些实施方案中， Y^4 是烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中， Y^4 是氨基或取代的氨基。在某些实施方案中， Y^4 是羧基或羧基酯。在某些实施方案中， Y^4 是酰基或酰氧基。在某些实施方案中， Y^4 是酰基氨基或氨基酰基。

基。在某些实施方案中， Y^4 是烷基酰胺或取代的烷基酰胺。在某些实施方案中， Y^4 是磺酰基。在某些实施方案中， Y^4 是硫代烷氧基或取代的硫代烷氧基。在某些实施方案中， Y^4 是芳基或取代的芳基。在某些实施方案中， Y^4 是杂芳基或取代的杂芳基。在某些实施方案中， Y^4 是环烷基或取代的环烷基。在某些实施方案中， Y^4 是杂环基或取代的杂环基。

[0434] 在某些实施方案中， Y^1 和 Y^2 ， Y^2 和 Y^3 ，或 Y^3 和 Y^4 环状连接以形成稠合苯并环。在某些实施方案中， Y^1 和 Y^2 环状连接以形成稠合苯并环。在式的某些实施方案中， Y^2 和 Y^3 环状连接以形成稠合苯并环。在式的某些实施方案中， Y^3 和 Y^4 环状连接以形成稠合苯并环。

[0435] 在某些实施方案中， Q^1 是与 X^4 或 X^5 任一的键，其中若 Q^1 是与 X^4 的键，则 Y^4 缺失，或若 Q^1 是与 X^5 的键，则 Y^5 缺失。在某些实施方案中， Q^1 是与 X^4 的键，其中若 Q^1 是与 X^4 的键，则 Y^4 缺失。在某些实施方案中， Q^1 是与 X^5 的键，其中若 Q^1 是与 X^5 的键，则 Y^5 缺失。

[0436] 在一些实施方案中，缀合物包括至少一个式(IVa)或(IVb)的经修饰的氨基酸残基：



[0438] 其中 m ， R^1 ， R^2 ， R^3 ， R^{12} ， X^5 ， Y^5 ， L ， W^1 和 W^2 如式(I)中定义的；

[0439] X^1 和 X^3 每个独立是O，S或 NR^{12} ；

[0440] Y^1 ， Y^2 ， Y^3 和 Y^4 ，若存在的话，每个独立选自氢，卤素，烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，烷氧基，取代的烷氧基，氨基，取代的氨基，羧基，羧基酯，酰基，酰氧基，酰基氨基，氨基酰基，烷基酰胺，取代的烷基酰胺，磺酰基，硫代烷氧基，取代的硫代烷氧基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，和取代的杂环基，其中 Y^1 和 Y^2 或 Y^3 和 Y^4 任选是环状连接的；

[0441] Q^1 是与 X^4 或 X^5 任一的键，其中若 Q^1 是与 X^4 的键，则 X^4 是C且 Y^4 缺失，或若 Q^1 是与 X^5 的键，则 Y^5 缺失；且

[0442] Q^2 是与 X^3 或 X^5 任一的键，其中若 Q^2 是与 X^3 的键，则 X^3 是 NR^{12} 且 R^{12} 缺失，或若 Q^2 是与 X^5 的键，则 Y^5 缺失。

[0443] 在某些实施方案中，式(IVa)和(IVb)的取代基同如上文关于式(I)所述。在某些实施方案中，取代基 m ， R^1 ， R^2 ， R^3 ， R^{12} ， X^5 ， Y^5 ， L ， W^1 和 W^2 如式(I)中定义的。

[0444] 在式(IVa)的某些实施方案中， X^1 是O，S或 NR^{12} 。在式(IVa)的某些实施方案中， X^1 是O。在式(IVa)的某些实施方案中， X^1 是S。在式(IVa)的某些实施方案中， X^1 是 NR^{12} 。

[0445] 在式(IVb)的某些实施方案中， X^3 是O，S或 NR^{12} 。在式(IVb)的某些实施方案中， X^3 是O。在式(IVb)的某些实施方案中， X^3 是S。在式(IVb)的某些实施方案中， X^3 是 NR^{12} 。

[0446] 在式(IVb)的某些实施方案中， Y^1 选自氢，卤素，烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，烷氧基，取代的烷氧基，氨基，取代的氨基，羧基，羧基酯，酰基，酰氧基

基, 酰基氨基, 氨基酰基, 烷基酰胺, 取代的烷基酰胺, 磺酰基, 硫代烷氧基, 取代的硫代烷氧基, 芳基, 取代的芳基, 杂芳基, 取代的杂芳基, 环烷基, 取代的环烷基, 杂环基, 和取代的杂环基。在某些实施方案中, Y^1 是氢。在某些实施方案中, Y^1 是卤素, 诸如 F, Cl, Br 或 I。在某些实施方案中, Y^1 是 F。在某些实施方案中, Y^1 是 Cl。在某些实施方案中, Y^1 是 Br。在某些实施方案中, Y^1 是 I。在某些实施方案中, Y^1 是烷基或取代的烷基。在某些实施方案中, Y^1 是烯基或取代的烯基。在某些实施方案中, Y^1 是炔基或取代的炔基。在某些实施方案中, Y^1 是烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中, Y^1 是氨基或取代的氨基。在某些实施方案中, Y^1 是羧基或羧基酯。在某些实施方案中, Y^1 是酰基或酰氧基。在某些实施方案中, Y^1 是酰基氨基或氨基酰基。在某些实施方案中, Y^1 是烷基酰胺或取代的烷基酰胺。在某些实施方案中, Y^1 是磺酰基。在某些实施方案中, Y^1 是硫代烷氧基或取代的硫代烷氧基。在某些实施方案中, Y^1 是芳基或取代的芳基。在某些实施方案中, Y^1 是杂芳基或取代的杂芳基。在某些实施方案中, Y^1 是环烷基或取代的环烷基。在某些实施方案中, Y^1 是杂环基或取代的杂环基。

[0447] 在式 (IVb) 的某些实施方案中, Y^2 选自氢, 卤素, 烷基, 取代的烷基, 烯基, 取代的烯基, 炔基, 取代的炔基, 烷氧基, 取代的烷氧基, 氨基, 取代的氨基, 羧基, 羧基酯, 酰基, 酰氧基, 酰基氨基, 氨基酰基, 烷基酰胺, 取代的烷基酰胺, 磺酰基, 硫代烷氧基, 取代的硫代烷氧基, 芳基, 取代的芳基, 杂芳基, 取代的杂芳基, 环烷基, 取代的环烷基, 杂环基, 和取代的杂环基。在某些实施方案中, Y^2 是氢。在某些实施方案中, Y^2 是卤素, 诸如 F, Cl, Br 或 I。在某些实施方案中, Y^2 是 F。在某些实施方案中, Y^2 是 Cl。在某些实施方案中, Y^2 是 Br。在某些实施方案中, Y^2 是 I。在某些实施方案中, Y^2 是烷基或取代的烷基。在某些实施方案中, Y^2 是烯基或取代的烯基。在某些实施方案中, Y^2 是炔基或取代的炔基。在某些实施方案中, Y^2 是烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中, Y^2 是氨基或取代的氨基。在某些实施方案中, Y^2 是羧基或羧基酯。在某些实施方案中, Y^2 是酰基或酰氧基。在某些实施方案中, Y^2 是酰基氨基或氨基酰基。在某些实施方案中, Y^2 是烷基酰胺或取代的烷基酰胺。在某些实施方案中, Y^2 是磺酰基。在某些实施方案中, Y^2 是硫代烷氧基或取代的硫代烷氧基。在某些实施方案中, Y^2 是芳基或取代的芳基。在某些实施方案中, Y^2 是杂芳基或取代的杂芳基。在某些实施方案中, Y^2 是环烷基或取代的环烷基。在某些实施方案中, Y^2 是杂环基或取代的杂环基。

[0448] 在式 (IVa) 的某些实施方案中, Y^3 选自氢, 卤素, 烷基, 取代的烷基, 烯基, 取代的烯基, 炔基, 取代的炔基, 烷氧基, 取代的烷氧基, 氨基, 取代的氨基, 羧基, 羧基酯, 酰基, 酰氧基, 酰基氨基, 氨基酰基, 烷基酰胺, 取代的烷基酰胺, 磺酰基, 硫代烷氧基, 取代的硫代烷氧基, 芳基, 取代的芳基, 杂芳基, 取代的杂芳基, 环烷基, 取代的环烷基, 杂环基, 和取代的杂环基。在某些实施方案中, Y^3 是氢。在某些实施方案中, Y^3 是卤素, 诸如 F, Cl, Br 或 I。在某些实施方案中, Y^3 是 F。在某些实施方案中, Y^3 是 Cl。在某些实施方案中, Y^3 是 Br。在某些实施方案中, Y^3 是 I。在某些实施方案中, Y^3 是烷基或取代的烷基。在某些实施方案中, Y^3 是烯基或取代的烯基。在某些实施方案中, Y^3 是炔基或取代的炔基。在某些实施方案中, Y^3 是烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中, Y^3 是氨基或取代的氨基。在某些实施方案中, Y^3 是羧基或羧基酯。在某些实施方案中, Y^3 是酰基或酰氧基。在某些实施方案中, Y^3 是酰基氨基或氨基酰基。在某些实施方案中, Y^3 是烷基酰胺或取代的烷基酰胺。在某些实施方案中, Y^3 是磺酰基。在某些实施方案中, Y^3 是硫代烷氧基或取代的硫代烷氧基。在某些实施方案中, Y^3 是芳基或取代的芳基。在某些实施方案中, Y^3 是杂芳基或取代的杂芳基。在某些实施方案中, Y^3 是环烷基或

取代的环烷基。在某些实施方案中， Y^3 是杂环基或取代的杂环基。

[0449] 在式 (IVa) 的某些实施方案中， Y^4 (若存在的话) 选自氢，卤素，烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，烷氧基，取代的烷氧基，氨基，取代的氨基，羧基，羧基酯，酰基，酰氧基，酰基氨基，氨基酰基，烷基酰胺，取代的烷基酰胺，磺酰基，硫代烷氧基，取代的硫代烷氧基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，和取代的杂环基。在某些实施方案中， Y^4 是氢。在某些实施方案中， Y^4 是卤素，诸如F，Cl，Br或I。在某些实施方案中， Y^4 是F。在某些实施方案中， Y^4 是Cl。在某些实施方案中， Y^4 是Br。在某些实施方案中， Y^4 是I。在某些实施方案中， Y^4 是烷基或取代的烷基。在某些实施方案中， Y^4 是烯基或取代的烯基。在某些实施方案中， Y^4 是炔基或取代的炔基。在某些实施方案中， Y^4 是烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中， Y^4 是氨基或取代的氨基。在某些实施方案中， Y^4 是羧基或羧基酯。在某些实施方案中， Y^4 是酰基或酰氧基。在某些实施方案中， Y^4 是酰基氨基或氨基酰基。在某些实施方案中， Y^4 是烷基酰胺或取代的烷基酰胺。在某些实施方案中， Y^4 是磺酰基。在某些实施方案中， Y^4 是硫代烷氧基或取代的硫代烷氧基。在某些实施方案中， Y^4 是芳基或取代的芳基。在某些实施方案中， Y^4 是杂芳基或取代的杂芳基。在某些实施方案中， Y^4 是环烷基或取代的环烷基。在某些实施方案中， Y^4 是杂环基或取代的杂环基。

[0450] 在某些实施方案中， Y^1 和 Y^2 或 Y^3 和 Y^4 环状连接以形成稠合苯并环。在式 (IVa) 的某些实施方案中， Y^3 和 Y^4 环状连接以形成稠合苯并环。在式 (IVb) 的某些实施方案中， Y^1 和 Y^2 环状连接以形成稠合苯并环。

[0451] 在式 (IVa) 的一些实施方案中， Q^1 是与 X^4 的键且 Y^4 缺失。

[0452] 在式 (IVa) 的一些实施方案中， Q^1 是与 X^5 的键， X^5 是C且 Y^5 缺失。

[0453] 在式 (IVb) 的一些实施方案中， Q^2 是与 X^3 的键， X^3 是 NR^{12} 且 R^{12} 缺失。

[0454] 在式 (IVb) 的一些实施方案中， Q^2 是与 X^5 的键且 Y^5 缺失。

[0455] 在一些实施方案中， R^2 和 R^3 每个独立选自烷基和取代的烷基。

[0456] 在式 (IVa) 和 (IVb) 的一些实施方案中， m 是1。

[0457] 在式 (IVa) 和 (IVb) 的一些实施方案中， R^2 和 R^3 每个是甲基。

[0458] 在式 (IVa) 和 (IVb) 的一些实施方案中， R^2 和 R^3 任选环状连接以形成5或6元杂环基，如上文式 (I) 中所述。

[0459] 在式 (IVa) 和 (IVb) 的一些实施方案中， X^1 ， X^3 ， X^4 和 X^5 每个是C。

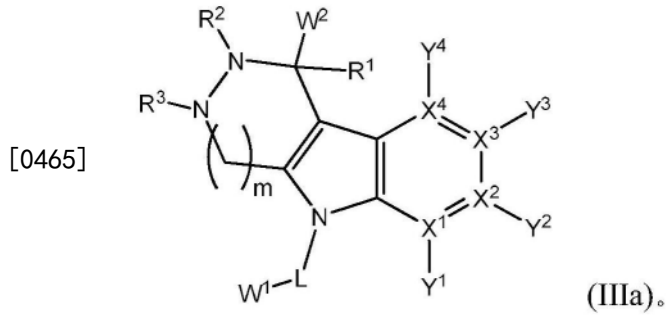
[0460] 在式 (IVa) 和 (IVb) 的一些实施方案中， Y^1 ， Y^2 和 Y^3 每个是H，且 Y^4 或 Y^5 中任一项是H。

[0461] 在式 (IVa) 和 (IVb) 的一些实施方案中，所述化学实体是药物或可检测标记物。

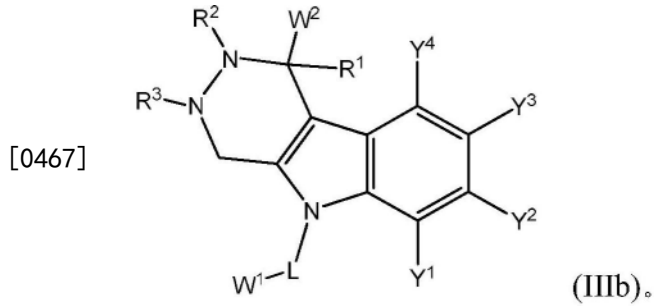
[0462] 在式 (IVa) 和 (IVb) 的一些实施方案中， W^1 是化学实体，且 W^2 是多肽。

[0463] 在式 (IVa) 和 (IVb) 的一些实施方案中， W^1 是多肽，且 W^2 是化学实体。

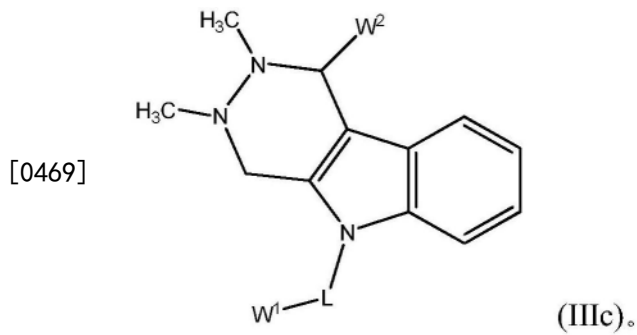
[0464] 在一些实施方案中，缀合物包含至少一个式 (IIIa) 的经修饰的氨基酸残基：



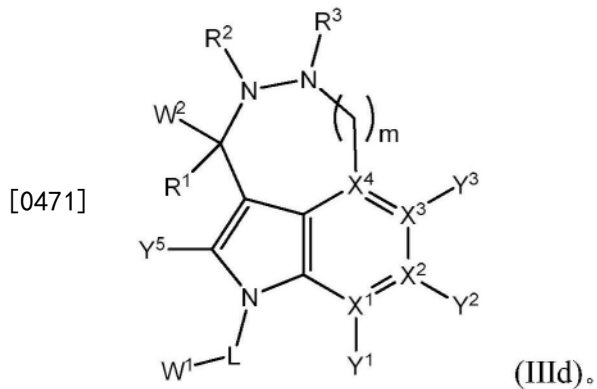
[0466] 在一些实施方案中,缀合物包含至少一个式 (IIIb) 的经修饰的氨基酸残基:



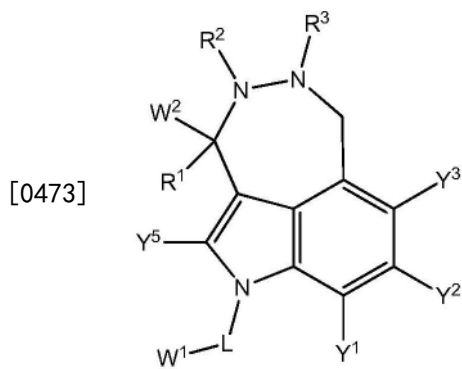
[0468] 在某些实施方案中,缀合物包括至少一个式 (IIIc) 的经修饰的氨基酸残基:



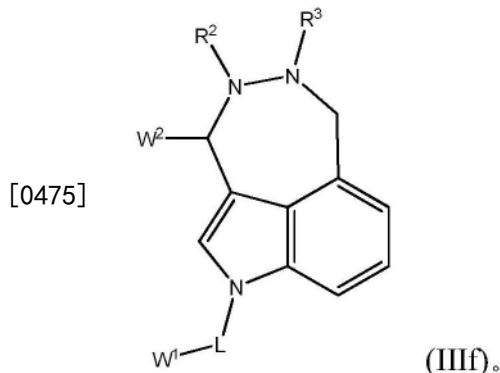
[0470] 在一些实施方案中,缀合物包含至少一个式 (IIIId) 的经修饰的氨基酸残基:



[0472] 在一些实施方案中,缀合物包含至少一个式 (IIIe) 的经修饰的氨基酸残基:



[0474] 在某些实施方案中,缀合物包括至少一个式(III f)的经修饰的氨基酸残基:



[0476] 在某些实施方案中,式(III a), (III b), (III c), (III d), (III e) 和(III f) 中的取代基如上文关于式(III)所述。

[0477] 对于缀合物和化合物有用的接头

[0478] 本公开内容提供对于本文所述缀合物和化合物,诸如本文中公开的每个式(例如本文所述式(I), (II), (III), (III a), (III b), (III c), (III d), (III e), (III f), (IV a), (IV b), (V), (VI), (VII a), (VII b), (VIII), (VIII a), (VIII b), (IX), (IX a) 和(IX b))的缀合物和化合物有用的接头(L)。可以利用接头将偶联模块结合至一个或多个感兴趣模块和/或一个或多个多肽。在一些实施方案中,接头将偶联模块结合至多肽或化学实体任一。接头可以在任何便利的位置处结合(例如共价结合)至偶联模块(例如如本文所述)。

[0479] 在某些实施方案中,接头(L)是任选的。在某些实施方案中,L不存在,而且如此多肽或化学实体直接与偶联模块成键。在某些实施方案中,L存在,而且如此偶联模块经由接头L间接与W¹成键。

[0480] 可以在主题缀合物和化合物中利用任何常规接头。在某些实施方案中,L包括选自烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基氨基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基的基团。在某些实施方案中,L包括烷基或取代的烷基基团。在某些实施方案中,L包括烯基或取代的烯基基团。在某些实施方案中,L包括炔基或取代的炔基基团。在某些实施方案中,L包括烷氧基或取代的烷氧基基团。在某些实施方案中,L包括氨基或取代的氨基基团。在某些实施方案中,L包括羧基或羧基酯基团。在某些实施方案中,L包括酰基氨基基团。在某些实施方案中,L包括烷基酰胺或取代的烷基酰胺基团。在某些实施方案中,L包括芳基或取代的芳基基团。在某些实施方案中,L包括杂芳基或取代的杂芳基基团。在某些实施方案中,L包括环烷基或取代的环烷基

基团。在某些实施方案中,L包括杂环基或取代的杂环基基团。

[0481] 在某些实施方案中,L包括聚合物。例如,聚合物可以包括聚烷撑二醇及其衍生物,包括聚乙二醇,甲氧基聚乙二醇,聚乙二醇均聚物,聚丙二醇均聚物,乙二醇与丙二醇的共聚物(例如,其中均聚物和共聚物是未取代的或在一端用烷基取代的),聚乙烯醇,聚乙烯基乙基醚,聚乙烯吡咯烷酮,其组合,等等。在某些实施方案中,聚合物是聚烷撑二醇。在某些实施方案中,聚合物是聚乙二醇。其它接头也是可能的,如下文更为详细地在缀合物和化合物中显示的。

[0482] 在一些实施方案中,L是通过式 $-(L^1)_a-(L^2)_b-(L^3)_c-(L^4)_d-(L^5)_e$ 来描述的接头,其中 L^1, L^2, L^3, L^4 和 L^5 每个独立是接头单元,且a,b,c,d和e每个独立是0或1,其中a,b,c,d和e的和是1至5。

[0483] 在某些实施方案中,a,b,c,d和e的和是1。在某些实施方案中,a,b,c,d和e的和是2。在某些实施方案中,a,b,c,d和e的和是3。在某些实施方案中,a,b,c,d和e的和是4。在某些实施方案中,a,b,c,d和e的和是5。在某些实施方案中,a,b,c,d和e每个是1。在某些实施方案中,a,b和c每个是1,且d和e每个是0。在某些实施方案中,a和b每个是1,且c,d和e每个是0。在某些实施方案中,a是1且b,c,d和e每个是0。

[0484] 可以在主题接头中利用任何常规接头单元。感兴趣的接头单元包括但不限于聚合物,诸如聚乙二醇,聚乙烯和聚丙烯酸酯,氨基酸残基,基于碳水化合物的聚合物或碳水化合物残基及其衍生物,多核苷酸,烷基基团,芳基基团,杂环基团,可切割接头基团,其组合,和其取代型式的单元。在一些实施方案中, L^1, L^2, L^3, L^4 和 L^5 (若存在的话)中每个包括一个或多个独立选自聚乙二醇,经修饰的聚乙二醇,氨基酸残基,烷基基团,取代的烷基,芳基基团,取代的芳基基团,二胺(例如包括烷撑二胺的连接基团),和可切割模块(例如化学可切割模块,酶可切割模块(诸如但不限于蛋白酶可切割模块,葡糖醛酸糖苷酶可切割模块, β -内酰胺酶可切割模块,等),光可切割模块,等等)的基团。

[0485] 在一些实施方案中, L^1 (若存在的话)包含聚乙二醇,经修饰的聚乙二醇,氨基酸残基,烷基基团,取代的烷基,芳基基团,取代的芳基基团,二胺或可切割模块。在一些实施方案中, L^1 包含聚乙二醇。在一些实施方案中, L^1 包含经修饰的聚乙二醇。在一些实施方案中, L^1 包含氨基酸残基。在一些实施方案中, L^1 包含烷基基团或取代的烷基。在一些实施方案中, L^1 包含芳基基团或取代的芳基基团。在一些实施方案中, L^1 包含二胺。在一些实施方案中, L^1 包含可切割模块。

[0486] 在一些实施方案中, L^2 (若存在的话)包含聚乙二醇,经修饰的聚乙二醇,氨基酸残基,烷基基团,取代的烷基,芳基基团,取代的芳基基团,二胺或可切割模块。在一些实施方案中, L^2 包含聚乙二醇。在一些实施方案中, L^2 包含经修饰的聚乙二醇。在一些实施方案中, L^2 包含氨基酸残基。在一些实施方案中, L^2 包含烷基基团或取代的烷基。在一些实施方案中, L^2 包含芳基基团或取代的芳基基团。在一些实施方案中, L^2 包含二胺。在一些实施方案中, L^2 包含可切割模块。

[0487] 在一些实施方案中, L^3 (若存在的话)包含聚乙二醇,经修饰的聚乙二醇,氨基酸残基,烷基基团,取代的烷基,芳基基团,取代的芳基基团,二胺或可切割模块。在一些实施方案中, L^3 包含聚乙二醇。在一些实施方案中, L^3 包含经修饰的聚乙二醇。在一些实施方案中, L^3 包含氨基酸残基。在一些实施方案中, L^3 包含烷基基团或取代的烷基。在一些实施方案中,

L^3 包含芳基基团或取代的芳基基团。在一些实施方案中, L^3 包含二胺。在一些实施方案中, L^3 包含可切割模块。

[0488] 在一些实施方案中, L^4 (若存在的话) 包含独立选自聚乙二醇, 经修饰的聚乙二醇, 氨基酸残基, 烷基基团, 取代的烷基, 芳基基团, 取代的芳基基团, 二胺 (例如包含烷撑二胺的连接基团), 和可切割模块的基团。在一些实施方案中, L^4 包含聚乙二醇。在一些实施方案中, L^4 包含经修饰的聚乙二醇。在一些实施方案中, L^4 包含氨基酸残基。在一些实施方案中, L^4 包含烷基基团或取代的烷基。在一些实施方案中, L^4 包含芳基基团或取代的芳基基团。在一些实施方案中, L^4 包含二胺。在一些实施方案中, L^4 包含可切割模块。

[0489] 在一些实施方案中, L^5 (若存在的话) 包含独立选自聚乙二醇, 经修饰的聚乙二醇, 氨基酸残基, 烷基基团, 取代的烷基, 芳基基团, 取代的芳基基团, 二胺 (例如包含烷撑二胺的连接基团), 和可切割模块的基团。在一些实施方案中, L^5 包含聚乙二醇。在一些实施方案中, L^5 包含经修饰的聚乙二醇。在一些实施方案中, L^5 包含氨基酸残基。在一些实施方案中, L^5 包含烷基基团或取代的烷基。在一些实施方案中, L^5 包含芳基基团或取代的芳基基团。在一些实施方案中, L^5 包含二胺。在一些实施方案中, L^5 包含可切割模块。

[0490] 可以作为主题缀合物和化合物中的可切割接头利用任何常规可切割模块。在某些实施方案中, 可切割模块是对氨基-苄基氧羰基基团 (PABC), 间氨基-苄基氧羰基基团 (MABC), 对氨基-苄基氧基团 (PABO), 间氨基-苄基氧基团 (MABO), 对氨基苄基, 乙缩醛基团, 二硫化物, 胍, 蛋白酶可切割模块 (例如Cat B可切割模块), 葡糖醛酸糖苷酶可切割模块, β -内酰胺酶可切割模块, 或酯。

[0491] 在一些实施方案中, L 是包含 $-(L^1)_a - (L^2)_b - (L^3)_c - (L^4)_d - (L^5)_e -$ 的接头, 其中:

[0492] $-(L^1)_a -$ 是 $-(T^1-V^1)_a -$;

[0493] $-(L^2)_b -$ 是 $-(T^2-V^2)_b -$;

[0494] $-(L^3)_c -$ 是 $-(T^3-V^3)_c -$;

[0495] $-(L^4)_d -$ 是 $-(T^4-V^4)_d -$; 且

[0496] $-(L^5)_e -$ 是 $-(T^5-V^5)_e -$,

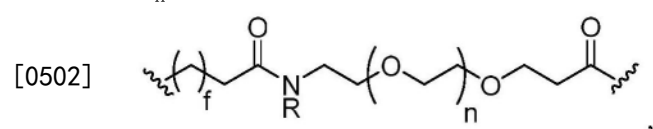
[0497] 其中 T^1, T^2, T^3, T^4 和 T^5 , 若存在的话, 是拴系基团;

[0498] V^1, V^2, V^3, V^4 和 V^5 , 若存在的话, 是共价键或连接官能团; 且

[0499] a, b, c, d 和 e 每个独立是 0 或 1, 其中 a, b, c, d 和 e 的和是 1 至 5。

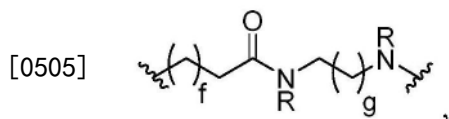
[0500] 关于拴系基团, T^1, T^2, T^3, T^4 和 T^5 , 可以在主题接头中利用任何常规拴系基团。在一些实施方案中, T^1, T^2, T^3, T^4 和 T^5 每个包含一个或多个独立选自 (C_1-C_{12}) 烷基, 取代的 (C_1-C_{12}) 烷基, $(EDA)_w$, $(PEG)_n$, $(AA)_p$, $-(CR^{13}OH)_h -$, 哌啶-4-氨基 (P4A), MABC, MABO, PABO, PABC, 对氨基苄基, 乙缩醛基团, 二硫化物, 胍, 蛋白酶可切割模块, 葡糖醛酸糖苷酶可切割模块, β -内酰胺酶可切割模块, 和酯的基团, 其中 w 是 1 至 20 的整数, n 是 1 至 30 的整数, p 是 1 至 20 的整数, 且 h 是 1 至 12 的整数。

[0501] 在某些实施方案中, 当 a, b, c, d 和 e 的和是 2 且 $T^1-V^1, T^2-V^2, T^3-V^3, T^4-V^4$ 或 T^5-V^5 中一项是 $(PEG)_n-CO$ 时, 则 n 不是 6。例如, 在一些情况中, 接头可具有下面的结构:



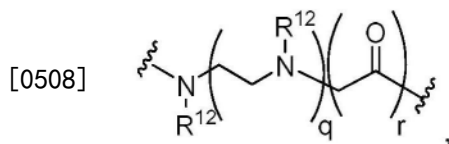
[0503] 其中n不是6。

[0504] 在某些实施方案中,当a,b,c,d和e的和是2且 $T^1-V^1, T^2-V^2, T^3-V^3, T^4-V^4$ 或 T^5-V^5 中一项是 (C_1-C_{12}) 烷基-NR¹¹时,则 (C_1-C_{12}) 烷基不是C₅烷基。例如,在一些情况中,接头可具有下面的结构:



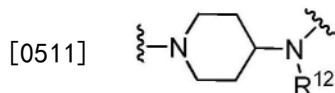
[0506] 其中g不是4。

[0507] 在某些实施方案中,拴系基团包括乙二胺(EDA)模块,例如含EDA拴系。在某些实施方案中,(EDA)_w包括一个或多个EDA模块,诸如其中w是1至50,诸如1至40,1至30,1至20,1至12或1至6的整数,诸如1,2,3,4,5或6。所连接的乙二胺(EDA)模块可以任选是在一个或多个常规位置处用任何常规取代基,例如用烷基,取代的烷基,酰基,取代的酰基,芳基或取代的芳基取代的。在某些实施方案中,EDA模块由下面的结构描述:



[0509] 其中q是1至6的整数且r是0或1且每个R¹²独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。在某些实施方案中,q是1,2,3,4,5或6。在某些实施方案中,q是1且r是0。在某些实施方案中,q是1且r是1。在某些实施方案中,q是2且r是0。在某些实施方案中,q是2且r是1。在某些实施方案中,每个R¹²独立选自氢,烷基,取代的烷基,芳基和取代的芳基。在某些实施方案中,EDA中任两个相邻的R¹²基团可以环状连接,例如形成哌嗪基环。在某些实施方案中,q是1且两个相邻R¹²基团是烷基基团,环状连接以形成哌嗪基环。在某些实施方案中,q是1且相邻R¹²基团选自氢,烷基(例如甲基)和取代的烷基(例如低级烷基-OH,诸如乙基-OH或丙基-OH)。

[0510] 在某些实施方案中,拴系基团包括哌啶-4-氨基(P4A)模块。P4A模块可以任选是在一个或多个常规位置处用任何常规取代基,例如用烷基,取代的烷基,聚乙二醇模块,酰基,取代的酰基,芳基或取代的芳基取代的。在某些实施方案中,P4A模块由下面的结构描述:



[0512] 其中R¹²选自氢,烷基,取代的烷基,聚乙二醇模块(例如聚乙二醇或经修饰的聚乙二醇),烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。在某些实施方案中,R¹²是聚乙二醇模块。在某些实施方案中,R¹²是羧基修饰的聚乙二醇。

[0513] 在某些实施方案中,拴系基团是(PEG)_n,其中(PEG)_n是聚乙二醇或经修饰的聚乙二醇连接单元。在某些实施方案中,(PEG)_n由下面的结构描述:



[0515] 其中n是1至50,诸如1至40,1至30,1至20,1至12或1至6的整数,诸如1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19或20。在一些情况中,n是3。在一些情况中,n是6。在一些情况中,n是12。

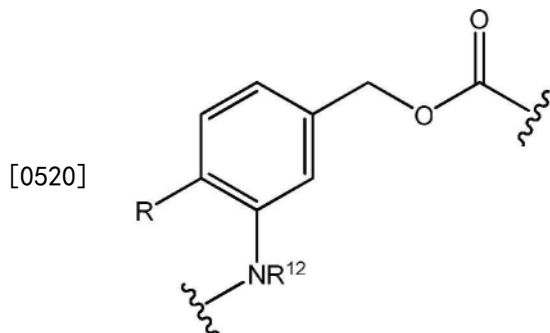
[0516] 在某些实施方案中,拴系基团包括(AA)_p,其中AA是氨基酸残基。可以利用任何常规氨基酸。感兴趣的氨基酸包括但不限于L-和D-氨基酸,天然发生氨基酸,诸如20种主要α-氨基酸和β-丙氨酸任一,非天然发生氨基酸(例如氨基酸类似物),诸如非天然发生α-氨基酸或非天然发生β-氨基酸,等。在某些实施方案中,p是1。在某些实施方案中,p是1至50,诸如1至40,1至30,1至20,1至12或1至6的整数,诸如1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19或20。

[0517] 在某些实施方案中,拴系基团包括由式-(CR¹³OH)_h-描述的模块,其中h是0或n是1至50,诸如1至40,1至30,1至20,1至12或1至6的整数,诸如1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11或12。在某些实施方案中,R¹³选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。在某些实施方案中,R¹³是氢。在某些实施方案中,R¹³是烷基或取代的烷基。在某些实施方案中,R¹³是烯基或取代的烯基。在某些实施方案中,R¹³是炔基或取代的炔基。在某些实施方案中,R¹³是烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中,R¹³是氨基或取代的氨基。在某些实施方案中,R¹³是羧基或羧基酯。在某些实施方案中,R¹³是酰基或酰氧基。在某些实施方案中,R¹³是酰基氨基或氨基酰基。在某些实施方案中,R¹³是烷基酰胺或取代的烷基酰胺。在某些实施方案中,R¹³是磺酰基。在某些实施方案中,R¹³是硫代烷氧基或取代的硫代烷氧基。在某些实施方案中,R¹³是芳基或取代的芳基。在某些实施方案中,R¹³是杂芳基或取代的杂芳基。在某些实施方案中,R¹³是环烷基或取代的环烷基。在某些实施方案中,R¹³是杂环基或取代的杂环基。在某些实施方案中,R¹³选自氢,烷基,取代的烷基,芳基,和取代的芳基。

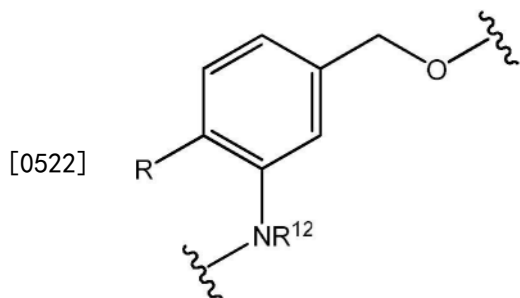
[0518] 关于V¹,V²,V³,V⁴和V⁵,可以在主题接头中利用任何常规连接官能团。感兴趣的连接官能团包括但不限于氨基,羰基,酰胺基,氧羰基,羧基,磺酰基,亚砷,磺酰基氨基,氨基磺酰基,硫,氧,磷,氨基磷酸酯,硫代氨基磷酸酯,等等。在一些实施方案中,V¹,V²,V³,V⁴和V⁵每个独立选自下组:共价键,-CO-, -NR¹¹-, -CONR¹¹-, -NR¹¹CO-, -C(O)O-, -OC(O)-, -O-, -S-, -S(O)-, -SO₂-, -SO₂NR¹¹-, -NR¹¹SO₂-和-P(O)OH-。在一些实施方案中,R¹¹选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。在某些实施方案中,R¹¹是氢。在某些实施方案中,R¹¹是烷基或取代的烷基。在某些实施方案中,R¹¹是烯基或取代的烯基。在某些实施方案中,R¹¹是炔基或取代的炔基。在某些实施方案中,R¹¹是烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中,R¹¹是羧基

基或羧基酯。在某些实施方案中, R^{11} 是酰基或酰氧基。在某些实施方案中, R^{11} 是酰基氨基或氨基酰基。在某些实施方案中, R^{11} 是烷基酰胺或取代的烷基酰胺。在某些实施方案中, R^{11} 是磺酰基。在某些实施方案中, R^{11} 是硫代烷氧基或取代的硫代烷氧基。在某些实施方案中, R^{11} 是芳基或取代的芳基。在某些实施方案中, R^{11} 是杂芳基或取代的杂芳基。在某些实施方案中, R^{11} 是环烷基或取代的环烷基。在某些实施方案中, R^{11} 是杂环基或取代的杂环基。

[0519] 在一些实施方案中, 拴系基团包括由下面的结构描述的MABC基团:

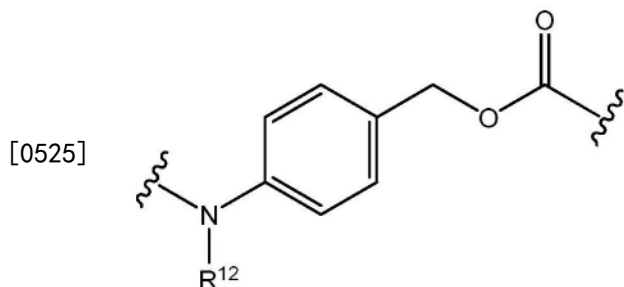


[0521] 在一些实施方案中, 拴系基团包括由下面的结构描述的MABO基团:



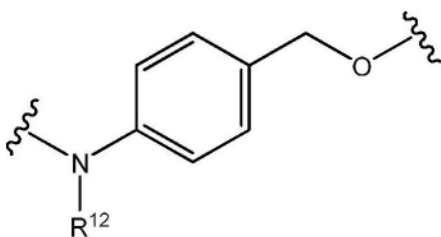
[0523] 在上文所示MABO和MABC拴系结构的一些实施方案中, R选自氢, 卤素, 烷基, 取代的烷基, 烯基, 取代的烯基, 炔基, 取代的炔基, 烷氧基, 取代的烷氧基, 氨基, 取代的氨基, 羧基, 羧基酯, 酰基, 酰氧基, 酰基氨基, 氨基酰基, 烷基酰胺, 取代的烷基酰胺, 磺酰基, 硫代烷氧基, 取代的硫代烷氧基, 芳基, 取代的芳基, 杂芳基, 取代的杂芳基, 环烷基, 取代的环烷基, 杂环基, 和取代的杂环基。在上文所示MABO和MABC拴系结构的一些实施方案中, R是碳水化合物或碳水化合物衍生物。

[0524] 在一些实施方案中, 拴系基团包括由下面的结构描述的PABC基团:



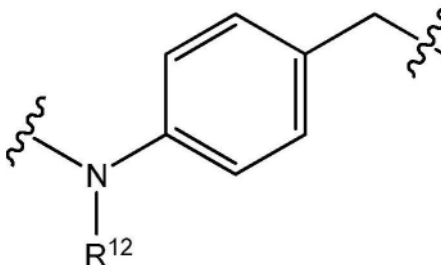
[0526] 在一些实施方案中, 拴系基团包括由下面的结构描述的PABO基团:

[0527]



[0528] 在一些实施方案中,拴系基团包括由下面的结构描述的对氨基苄基 (PAB) 基团:

[0529]



[0530] 在上文所示PABO, PABC, MABO, MABC和PAB拴系结构的一些实施方案中, R^{12} 选自氢, 烷基, 取代的烷基, 烯基, 取代的烯基, 炔基, 取代的炔基, 烷氧基, 取代的烷氧基, 氨基, 取代的氨基, 羧基, 羧基酯, 酰基, 酰氧基, 酰基氨基, 氨基酰基, 烷基酰胺, 取代的烷基酰胺, 磺酰基, 硫代烷氧基, 取代的硫代烷氧基, 芳基, 取代的芳基, 杂芳基, 取代的杂芳基, 环烷基, 取代的环烷基, 杂环基, 和取代的杂环基。在PABO, PABC, MABO, MABC和PAB的某些实施方案中, R^{12} 选自氢, 烷基, 取代的烷基, 芳基和取代的芳基。在PABO, PABC, MABO, MABC和PAB的某些实施方案中, R^{12} 选自氢, 烷基(例如甲基)和取代的烷基(例如低级烷基-OH, 诸如乙基-OH或丙基-OH)。在一些实施方案中, 上文所示PABO, PABC, MABO, MABC和PAB拴系结构任一可以进一步用一个或多个常规芳基和/或烷基取代基取代。在PABO, PABC, MABO, MABC和PAB的某些实施方案中, R^{12} 是氢。二价PABO, PABC, MABO, MABC和PAB拴系基团可以经由任何常规化学共价结合至相邻模块。

[0531] 在某些实施方案中, 拴系基团包括乙缩醛基团, 二硫化物, 肼, 葡糖醛酸糖苷酶可切割模块, β -内酰胺酶可切割模块, 或酯。在一些实施方案中, 拴系基团是乙缩醛基团。在一些实施方案中, 拴系基团是二硫化物。在一些实施方案中, 拴系基团是肼。在一些实施方案中, 拴系基团是葡糖醛酸糖苷酶可切割模块。在一些实施方案中, 拴系基团是 β -内酰胺酶可切割模块。在一些实施方案中, 拴系基团是酯。

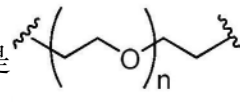
[0532] 在一些实施方案中, 在主题接头中:

[0533] T^1 选自 (C_1-C_{12}) 烷基和取代的 (C_1-C_{12}) 烷基;

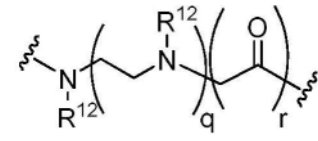
[0534] T^2, T^3, T^4 和 T^5 每个独立选自 $(EDA)_w, (PEG)_n, (C_1-C_{12})$ 烷基, 取代的 (C_1-C_{12}) 烷基, $(AA)_p, -(CR^{13}OH)_h, -$ 哌啶-4-氨基 (P4A), MABC, MABO, PABO, PABC, 对氨基苄基, 乙缩醛基团, 二硫化物, 肼, 蛋白酶可切割模块, 葡糖醛酸糖苷酶可切割模块, β -内酰胺酶可切割模块, 酯, $(AA)_p-MABC-(AA)_p, (AA)_p-MABO-(AA)_p, (AA)_p-PABO-(AA)_p$ 和 $(AA)_p-PABC-(AA)_p$; 且

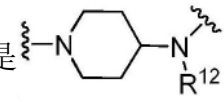
[0535] V^1, V^2, V^3, V^4 和 V^5 每个独立选自下组: 共价键, $-CO-, -NR^{11}-, -CONR^{11}-, -NR^{11}CO-, -C(O)O-, -OC(O)-, -O-, -S-, -S(O)-, -SO_2-, -SO_2NR^{11}-, -NR^{11}SO_2-,$ 和 $-P(O)OH-$;

[0536] 其中:

[0537] (PEG)_n是  其中n是1至30的整数；

[0538] EDA是具有如下结构的乙二胺模块：

[0539]  其中q是1至6的整数且r是0或1；

[0540] 哌啶-4-氨基 (P4A) 是  ；

[0541] AA是氨基酸残基，其中p是1至20的整数；

[0542] PABC是对氨基-苄基氧羰基，MABC是间氨基-苄基氧羰基，PABO是对氨基-苄基氧，而MABO是间氨基-苄基氧；

[0543] 每个R¹¹和R¹²独立选自氢，烷基，取代的烷基，PEG，芳基和取代的芳基，其中任两个相邻的R¹²基团可以环状连接以形成哌嗪基环；且

[0544] R¹³选自氢，烷基，取代的烷基，芳基，和取代的芳基。

[0545] 在某些实施方案中，T¹，T²，T³，T⁴和T⁵和V¹，V²，V³，V⁴和V⁵选自下表，例如下表的一行：

[0546]

T ¹	V ¹	T ²	V ²	T ³	V ³	T ⁴	V ⁴	T ⁵	V ⁵
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹	(PEG) _n	-CO-	-	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹	(PEG) _n	-CO-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-	-	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹	(PEG) _n	-NR ¹¹	-	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹	(PEG) _n	-NR ¹¹	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(EDA) _w	-CO-	-	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-NR ¹¹	-	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹	(PEG) _n	-CO-	(EDA) _w	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(EDA) _w	-	-	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(EDA) _w	-CO-	(CR ¹³ OH) _h	-CONR ¹¹	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	MABO	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	PABO	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	PABC	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(EDA) _w	-CO-	(CR ¹³ OH) _h	-CO-	(AA) _p	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p -PABC-(AA) _p	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p -	-	PABC-(AA) _p	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p -PABO	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	PABO	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹	(PEG) _n	-SO ₂ -	(AA) _p	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	PABC-(AA) _p	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	PABC	-	(AA) _p	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(EDA) _w	-CO-	(CR ¹³ OH) _h	-CONR ¹¹	(PEG) _n	-CO-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹	(PEG) _n	-CO-	MABC-(AA) _p	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹	(PEG) _n	-CO-	MABC	-	(AA) _p	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹	(PEG) _n	-CO-	MABO	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹	(PEG) _n	-CO-	MABO	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹	(PEG) _n	-CO-	PABO	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-NR ¹¹	(PEG) _n	-CO-	PABC	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹	(PEG) _n	-CO-	MABC	-	(AA) _p	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(CR ¹³ OH) _h	-CO-	-	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹	取代的 (C ₁ -C ₁₂)烷基	-NR ¹¹	(PEG) _n	-CO-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-SO ₂ -	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	-	-	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹	(PEG) _n	-CO-	(AA) _p	-	PABC	-NR ¹¹	-	-

[0547]

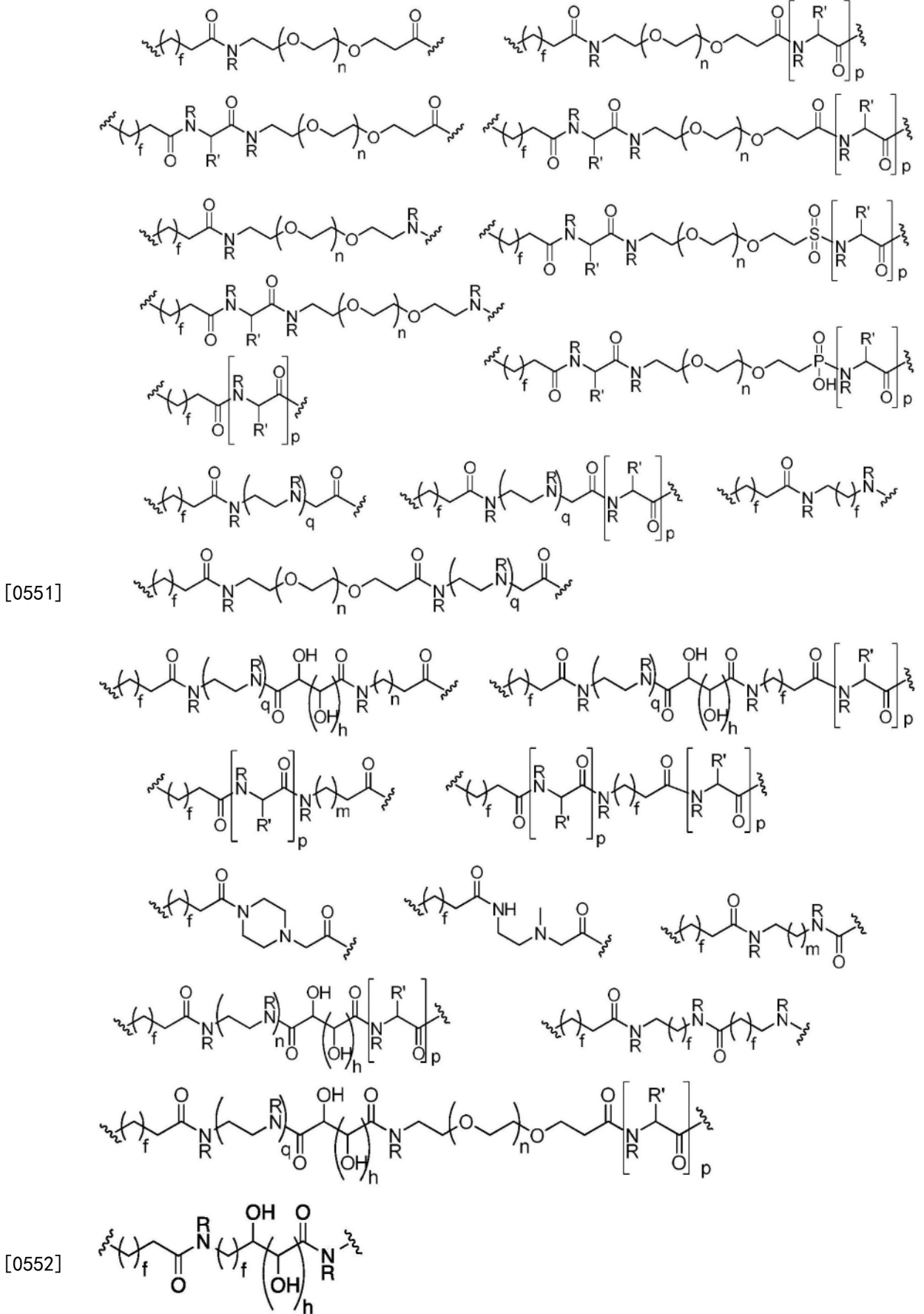
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CONR ¹¹ -	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-	(CR ¹³ OH) _h	-CONR ¹¹ -	-	-	-	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	P4A	-CO-	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-	PABO	-CO-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	P4A	-CO-	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-	PABO	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	P4A	-CO-	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-	PABC-(AA) _p	-
(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	P4A	-CO-	(C ₁ -C ₁₂)烷基	-CO-	(AA) _p	-	-	-

[0548] 在一些实施方案中,L是包含-(L¹)_a-(L²)_b-(L³)_c-(L⁴)_d-(L⁵)_e的接头,其中-(L¹)_a-是-(T¹-V¹)_a-;-(L²)_b-是-(T²-V²)_b-;-(L³)_c-是-(T³-V³)_c-;-(L⁴)_d-是-(T⁴-V⁴)_d-;且-(L⁵)_e-是-(T⁵-V⁵)_e-。在某些实施方案中,T¹是(C₁-C₁₂)烷基,V¹是-CONR¹¹-,T²是(PEG)_n,V²是-CO-,T³缺失,V³缺失,T⁴缺失,V⁴缺失,T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中,T¹是(C₁-C₁₂)烷基,V¹是-CO-,T²是(AA)_p,V²是-NR¹¹-,T³是(PEG)_n,V³是-CO-,T⁴缺失,V⁴缺失,T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中,T¹是(C₁-C₁₂)烷基,V¹是-CO-,T²是(AA)_p,V²缺失,T³缺失,V³缺失,T⁴缺失,V⁴缺失,T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中,T¹是(C₁-C₁₂)烷基,V¹是-CONR¹¹-,T²是(PEG)_n,V²是-NR¹¹-,T³缺失,V³缺失,T⁴缺失,V⁴缺失,T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中,T¹是(C₁-C₁₂)烷基,V¹是-CO-,T²是(AA)_p,V²是-NR¹¹-,T³是(PEG)_n,V³是-NR¹¹-,T⁴缺失,V⁴缺失,T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中,T¹是(C₁-C₁₂)烷基,V¹是-CO-,T²是(EDA)_w,V²是-CO-,T³缺失,V³缺失,T⁴缺失,V⁴缺失,T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中,T¹是(C₁-C₁₂)烷基,V¹是-CONR¹¹-,T²是(C₁-C₁₂)烷基,V²是-NR¹¹-,T³缺失,V³缺失,T⁴缺失,V⁴缺失,T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中,T¹是(C₁-C₁₂)烷基,V¹是-CONR¹¹-,T²是(PEG)_n,V²是-CO-,T³是(EDA)_w,V³缺失,T⁴缺失,V⁴缺失,T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中,T¹是(C₁-C₁₂)烷基,V¹是-CO-,T²是(EDA)_w,V²缺失,T³缺失,V³缺失,T⁴缺失,V⁴缺失,T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中,T¹是(C₁-C₁₂)烷基,V¹是-CO-,T²是(EDA)_w,V²是-CO-,T³是(CR¹³OH)_h,V³是-CONR¹¹-,T⁴是(C₁-C₁₂)烷基,V⁴是-CO-,T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中,T¹是(C₁-C₁₂)烷基,V¹是-CO-,T²是(AA)_p,V²是-NR¹¹-,T³是(C₁-C₁₂)烷基,V³是-CO-,T⁴缺失,V⁴缺失,T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中,T¹是(C₁-C₁₂)烷基,V¹是-CONR¹¹-,T²是(PEG)_n,V²是-CO-,T³是(AA)_p,V³缺失,T⁴缺失,V⁴缺失,T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中,T¹是(C₁-C₁₂)烷基,V¹是-CO-,T²是(EDA)_w,V²是-CO-,T³是(CR¹³OH)_h,V³是-CO-,T⁴是(AA)_p,V⁴缺失,T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中,T¹是(C₁-C₁₂)烷基,V¹是-CO-,T²是(AA)_p,V²是-NR¹¹-,T³是(C₁-C₁₂)烷基,V³是-CO-,T⁴是(AA)_p,V⁴缺失,T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中,T¹是(C₁-C₁₂)烷基,V¹是-CO-,T²是(AA)_p,V²是-NR¹¹-,T³是(PEG)_n,V³是-CO-,T⁴是(AA)_p,V⁴缺失,T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中,T¹是(C₁-C₁₂)烷基,V¹是-CO-,T²是(AA)_p,V²是-NR¹¹-,T³是(C₁-C₁₂)烷基,V³是-CO-,T⁴是(AA)_p,V⁴缺失,T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中,T¹是(C₁-C₁₂)烷基,V¹是-CONR¹¹-,T²是(PEG)_n,V²是-CO-,T³是(AA)_p,V³缺失,T⁴是PABC-(AA)_p,其中每个p独立是0,1,2,3,4,5或6,V⁴缺失,T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中,T¹是(C₁-C₁₂)烷基,V¹是-CO-,T²是(AA)_p,V²是-NR¹¹-,T³是(PEG)_n,V³是-CO-,T⁴是(AA)_p-PABO,其中p是0,1,2,3,4,5或6,V⁴缺失,T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中,T¹是(C₁-C₁₂)烷基,V¹是-CO-,T²是(AA)_p,V²是-NR¹¹-,T³是(PEG)_n,V³是-SO₂-,T⁴是(AA)_p,V⁴缺失,T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中,T¹是(C₁-C₁₂)烷基,V¹是-CONR¹¹-,T²是(PEG)_n,V²是-CO-,T³是(AA)_p,V³缺失,T⁴是PABC-(AA)_p,其中p是0,1,2,3,4,5或6,V⁴缺失,T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中,T¹是(C₁-C₁₂)烷基,V¹是-CO-,T²是(EDA)_w,V²是-CO-,T³是(CR¹³OH)_h,V³是-CONR¹¹-,T⁴是(PEG)_n,V⁴是-CO-,T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中,T¹是(C₁-C₁₂)烷基,V¹是-CO-,T²是(AA)_p,V²是-NR¹¹-,T³是(PEG)_n,V³是-CO-,T⁴是MABC-(AA)_p-,其中p是0,1,2,3,4,5或6,V⁴缺失,T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中,T¹是(C₁-C₁₂)烷基,V¹

是-CONR¹¹-, T²是(PEG)_n, V²是-CO-, T³是MABO, V³缺失, T⁴缺失, V⁴缺失, T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中, T¹是(C₁-C₁₂)烷基, V¹是-CO-, T²是(AA)_p, V²是-NR¹¹-, T³是(PEG)_n, V³是-CO-, T⁴是MABO, V⁴缺失, T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中, T¹是(C₁-C₁₂)烷基, V¹是-CONR¹¹-, T²是(PEG)_n, V²是-CO-, T³是MABC, V³缺失, T⁴是(AA)_p, V⁴缺失, T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中, T¹是(C₁-C₁₂)烷基, V¹是-CO-, T²是(CR¹³OH)_h, V²是-CO-, T³缺失, V³缺失, T⁴缺失, V⁴缺失, T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中, T¹是(C₁-C₁₂)烷基, V¹是-CONR¹¹-, T²是取代的(C₁-C₁₂)烷基, V²是-NR¹¹-, T³是(PEG)_n, V³是-CO-, T⁴缺失, V⁴缺失, T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中, T¹是(C₁-C₁₂)烷基, V¹是-SO₂-, T²是(C₁-C₁₂)烷基, V²是-CO-, T³缺失, V³缺失, T⁴缺失, V⁴缺失, T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中, T¹是(C₁-C₁₂)烷基, V¹是-CONR¹¹-, T²是(PEG)_n, V²是-CO-, T³是(AA)_p, V³缺失, T⁴是PABC, V⁴是-NR¹¹-, T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中, T¹是(C₁-C₁₂)烷基, V¹是-CONR¹¹-, T²是(C₁-C₁₂)烷基, V²缺失, T³是(CR¹³OH)_h, V³是-CONR¹¹-, T⁴缺失, V⁴缺失, T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中, T¹是(C₁-C₁₂)烷基, V¹是-CO-, T²是P4A, V²是-CO-, T³是(C₁-C₁₂)烷基, V³是-CO-, T⁴是(AA)_p, V⁴缺失, T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中, T¹是(C₁-C₁₂)烷基, V¹是-CONR¹¹-, T²是(PEG)_n, V²是-CO-, T³是(AA)_p, V³缺失, T⁴是MABO, V⁴缺失, T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中, T¹是(C₁-C₁₂)烷基, V¹是-CONR¹¹-, T²是(PEG)_n, V²是-CO-, T³是(AA)_p, V³缺失, T⁴是PABO, V⁴缺失, T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中, T¹是(C₁-C₁₂)烷基, V¹是-CONR¹¹-, T²是(PEG)_n, V²是-CO-, T³是(AA)_p, V³缺失, T⁴是PABC, V⁴缺失, T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中, T¹是(C₁-C₁₂)烷基, V¹是-CONR¹¹-, T²是(PEG)_n, V²是-NR¹¹-, T³是(PEG)_n, V³是-CO-, T⁴是PABO, V⁴缺失, T⁵缺失且V⁵缺失。在某些实施方案中, T¹是(C₁-C₁₂)烷基, V¹是-CO-, T²是(AA)_p, V²是-NR¹¹-, T³是(PEG)_n, V³是-CO-, T⁴是PABC, V⁴缺失, T⁵缺失且V⁵缺失。

[0549] 在一些实施方案中, L是包含-(L¹)_a-(L²)_b-(L³)_c-(L⁴)_d-(L⁵)_e的接头, 其中-(L¹)_a-是-(T¹-V¹)_a-; -(L²)_b-是-(T²-V²)_b-; -(L³)_c-是-(T³-V³)_c-; -(L⁴)_d-是-(T⁴-V⁴)_d-; 且-(L⁵)_e-是-(T⁵-V⁵)_e-。在某些实施方案中, T¹是(C₁-C₁₂)烷基, V¹是-CO-, T²是(AA)_p, V²是-NR¹¹-, T³是(PEG)_n, V³是-CO-, T⁴是(AA)_p, V⁴缺失, T⁵是PABC-(AA)_p, 且V⁵缺失。在某些实施方案中, T¹是(C₁-C₁₂)烷基, V¹是-CO-, T²是(AA)_p, V²是-NR¹¹-, T³是(PEG)_n, V³是-CO-, T⁴是(AA)_p, V⁴缺失, T⁵是PABO, 且V⁵缺失。在某些实施方案中, T¹是(C₁-C₁₂)烷基, V¹是-CO-, T²是(PEG)_n, V²是-CO-, T³是(AA)_p, V³缺失, T⁴是PABC, V⁴缺失, T⁵是(AA)_p, 且V⁵缺失。在某些实施方案中, T¹是(C₁-C₁₂)烷基, V¹是-CO-, T²是(AA)_p, V²是-NR¹¹-, T³是(PEG)_n, V³是-CO-, T⁴是MABC, V⁴缺失, T⁵是(AA)_p, 且V⁵缺失。在某些实施方案中, T¹是(C₁-C₁₂)烷基, V¹是-CO-, T²是P4A, V²是-CO-, T³是(C₁-C₁₂)烷基, V³是-CO-, T⁴是(AA)_p, V⁴缺失, T⁵是PABO, 且V⁵是-CO-。在某些实施方案中, T¹是(C₁-C₁₂)烷基, V¹是-CO-, T²是P4A, V²是-CO-, T³是(C₁-C₁₂)烷基, V³是-CO-, T⁴是(AA)_p, V⁴缺失, T⁵是PABO, 且V⁵缺失。在某些实施方案中, T¹是(C₁-C₁₂)烷基, V¹是-CO-, T²是P4A, V²是-CO-, T³是(C₁-C₁₂)烷基, V³是-CO-, T⁴是(AA)_p, V⁴缺失, T⁵是PABC-(AA)_p, 且V⁵缺失。在某些实施方案中, T¹是(C₁-C₁₂)烷基, V¹是-CO-, T²是P4A, V²是-CO-, T³是(C₁-C₁₂)烷基, V³是-CO-, T⁴是(AA)_p, V⁴缺失, T⁵缺失, 且V⁵缺失。

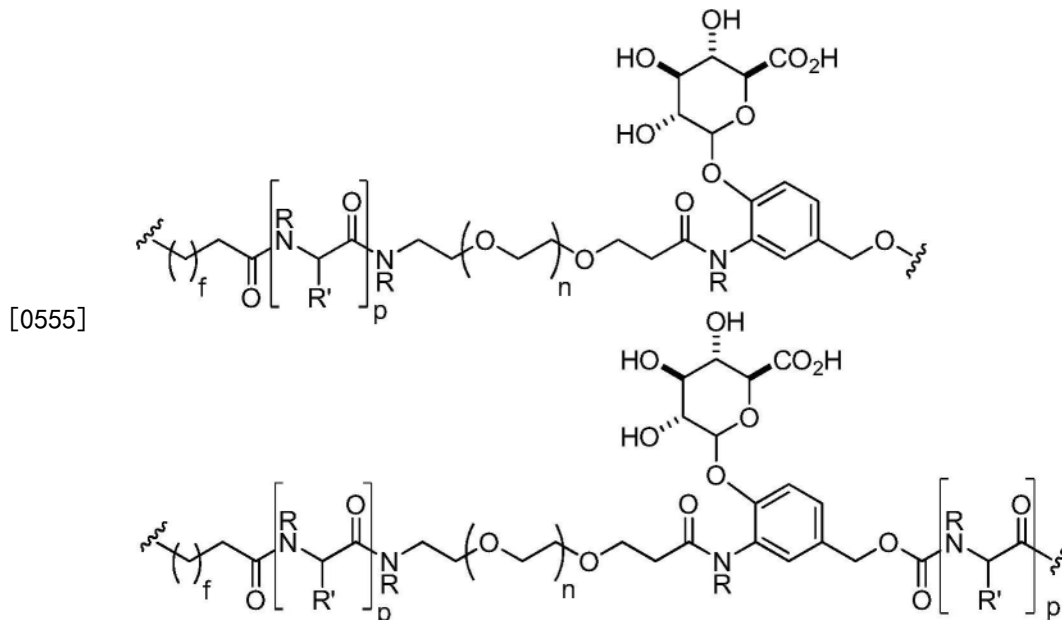
[0550] 在一些实施方案中, 接头由下述结构之一描述:

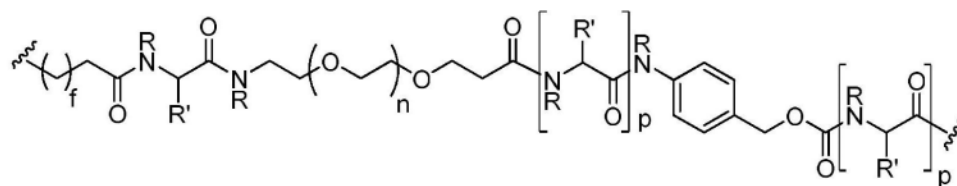
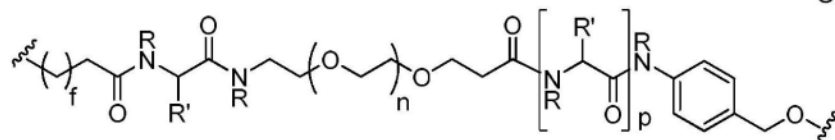
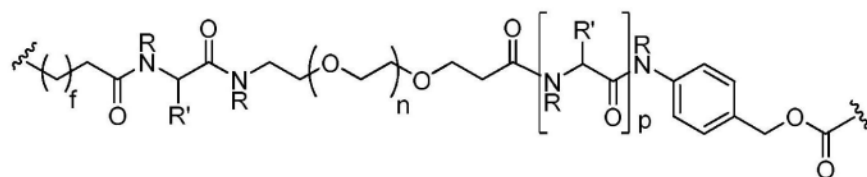
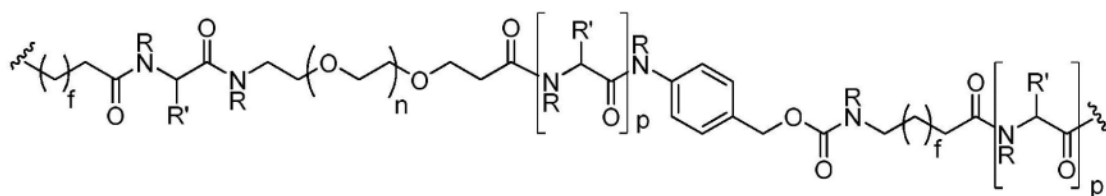


[0553] 在上文所述接头结构的某些实施方案中, 每个f独立是0或1至12的整数; 每个w独

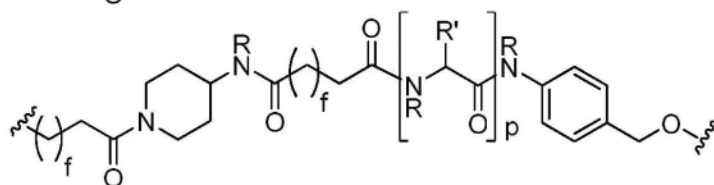
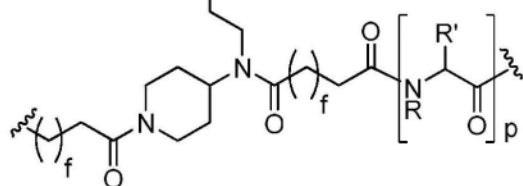
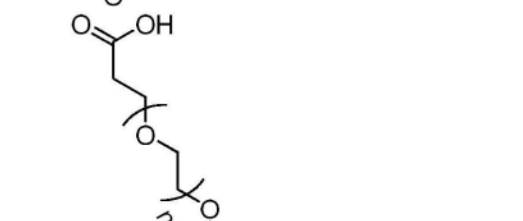
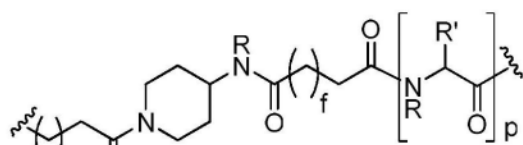
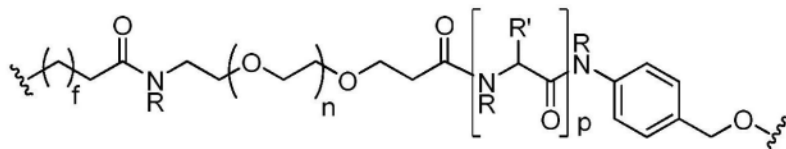
立是0或1至20的整数；每个n独立是0或1至30的整数；每个p独立是0或1至20的整数；每个h独立是0或1至12的整数；每个R独立是氢，烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，烷氧基，取代的烷氧基，氨基，取代的氨基，羧基，羧基酯，酰基，酰氧基，酰基氨基，氨基酰基，烷基酰胺，取代的烷基酰胺，磺酰基，硫代烷氧基，取代的硫代烷氧基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，和取代的杂环基；且每个R'独立是H，氨基酸的侧链，烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，烷氧基，取代的烷氧基，氨基，取代的氨基，羧基，羧基酯，酰基，酰氧基，酰基氨基，氨基酰基，烷基酰胺，取代的烷基酰胺，磺酰基，硫代烷氧基，取代的硫代烷氧基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，和取代的杂环基。在上文所述接头结构的某些实施方案中，每个f独立是0, 1, 2, 3, 4, 5或6；每个w独立是0, 1, 2, 3, 4, 5或6；每个n独立是0, 1, 2, 3, 4, 5或6；每个p独立是0, 1, 2, 3, 4, 5或6；且每个h独立是0, 1, 2, 3, 4, 5或6。在上文所述接头结构的某些实施方案中，每个R独立是H，甲基或 $-(CH_2)_m-OH$ ，其中m是1, 2, 3或4(例如2)。

[0554] 在某些实施方案中，接头包括可切割基团，例如如下面的结构中描述的：

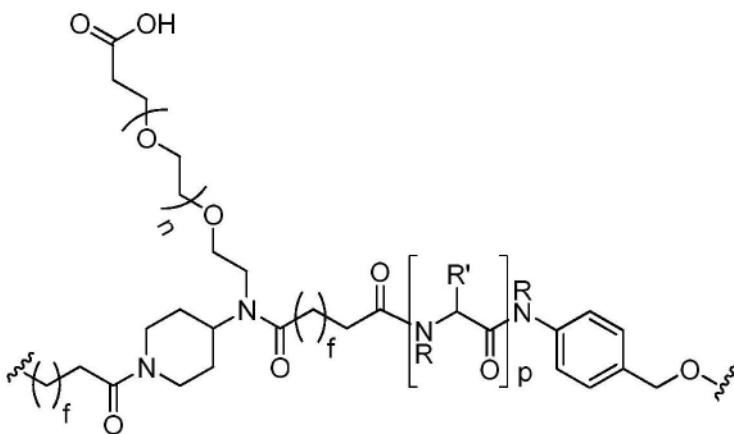




[0556]



[0557]



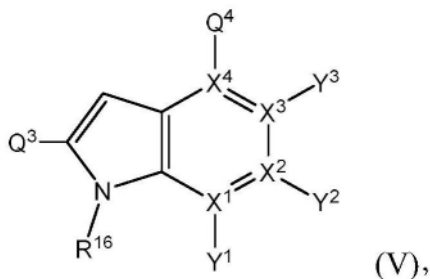
[0558] 在上文所述接头结构的某些实施方案中,每个f独立是0或1至12的整数;每个w独立是0或1至20的整数;每个n独立是0或1至30的整数;每个p独立是0或1至20的整数;每个h独立是0或1至12的整数;每个R独立是氢,烷基,取代的烷基,聚乙二醇模块,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基;且每个R'独立是H,氨基酸的侧链,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基。在上文所述接头结构的某些实施方案中,每个f独立是0,1,2,3,4,5或6;每个w独立是0,1,2,3,4,5或6;每个n独立是0,1,2,3,4,5或6;每个p独立是0,1,2,3,4,5或6;且每个h独立是0,1,2,3,4,5或6。在上文所述接头结构的某些实施方案中,每个R独立是H,甲基或 $-(CH_2)_m-OH$,其中m是1,2,3或4(例如2)。

[0559] 对于生成缀合物有用的化合物

[0560] 本公开内容提供对于生成本文所述缀合物有用的胍基-吡咯并化合物。在某些实施方案中,所述胍基-吡咯并化合物可以是对于缀合多肽和第二模块有用的偶联模块。例如,所述胍基-吡咯并化合物可以结合至多肽且还结合至第二模块,如此将多肽和第二模块间接结合到一起。

[0561] 在某些情况中,胍基-吡咯并化合物可以是式(V)的化合物:

[0562]



[0563] 其中

[0564] Q³和Q⁴中一项是 $-(CH_2)_m-NR^3-NHR^2$ 且另一项是Y⁴;

[0565] m是0或1;

[0566] R^2 和 R^3 每个独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,或 R^2 和 R^3 任选环状连接以形成5或6元杂环基;

[0567] X^1, X^2, X^3 和 X^4 每个独立选自C, N, O和S, 其中 X^1, X^2, X^3 和 X^4 中一项是任选的;

[0568] Y^1, Y^2, Y^3 和 Y^4 每个独立选自氢, 卤素, 烷基, 取代的烷基, 烯基, 取代的烯基, 炔基, 取代的炔基, 烷氧基, 取代的烷氧基, 氨基, 取代的氨基, 羧基, 羧基酯, 酰基, 酰氧基, 酰基氨基, 氨基酰基, 烷基酰胺, 取代的烷基酰胺, 磺酰基, 硫代烷氧基, 取代的硫代烷氧基, 芳基, 取代的芳基, 杂芳基, 取代的杂芳基, 环烷基, 取代的环烷基, 杂环基, 和取代的杂环基, 其中 Y^1 和 Y^2 或 Y^2 和 Y^3 任选是环状连接的, 且其中当 Q^4 是 Y^4 时, 则 Y^3 和 Y^4 任选是环状连接的;

[0569] R^{16}, Y^1, Y^2, Y^3 或 Q^4 中一项是 $-L-W^1$, 其中若 Q^4 是 $-L-W^1$, 则 Q^3 是 $-(CH_2)_mNR^3NHR^2$ 且 Y^4 缺失; 且其中若 Y^1, Y^2, Y^3 或 Q^4 中一项是 $-L-W^1$, 则 R^{16} 选自氢, 烷基, 取代的烷基, 烯基, 取代的烯基, 炔基, 取代的炔基, 芳基, 取代的芳基, 杂芳基, 取代的杂芳基, 环烷基, 取代的环烷基, 杂环基, 和取代的杂环基;

[0570] L是任选的接头(例如本文所述接头); 且

[0571] W^1 选自多肽和化学实体。

[0572] 例如, L可以是如下的接头, 诸如其中:

[0573] L是包含 $-(T^1-V^1)_a-(T^2-V^2)_b-(T^3-V^3)_c-(T^4-V^4)_d-(T^5-V^5)_e-$ 的接头, 其中a, b, c, d和e每个独立是0或1, 其中a, b, c, d和e的和是1至5;

[0574] T^1, T^2, T^3, T^4 和 T^5 每个独立选自 (C_1-C_{12}) 烷基, 取代的 (C_1-C_{12}) 烷基, $(EDA)_w, (PEG)_n, (AA)_p, -(CR^{13}OH)_h-$, 哌啶-4-氨基(P4A), 对氨基-苄基氧羰基(PABC), 间氨基-苄基氧羰基(MABC), 对氨基-苄基氧(PABO), 间氨基-苄基氧(MABO), 对氨基苄基, 乙缩醛基团, 二硫化物, 胍, 蛋白酶可切割模块, 葡糖醛酸糖苷酶可切割模块, β -内酰胺酶可切割模块, 和酯, 其中EDA是乙二胺模块, PEG是聚乙二醇或经修饰的聚乙二醇, 而AA是氨基酸残基;

[0575] w是1至20的整数;

[0576] n是1至30的整数;

[0577] p是1至20的整数;

[0578] h是1至12的整数; 且

[0579] V^1, V^2, V^3, V^4 和 V^5 每个独立选自下组: 共价键, $-CO-$, $-NR^{11}-$, $-CONR^{11}-$, $-NR^{11}CO-$, $-C(O)O-$, $-OC(O)-$, $-O-$, $-S-$, $-S(O)-$, $-SO_2-$, $-SO_2NR^{11}-$, $-NR^{11}SO_2-$ 和 $-P(O)OH-$ 。

[0580] 在某些实施方案中, Q^3 和 Q^4 中一项是 $-(CH_2)_mNR^3NHR^2$ 且另一项是 Y^4 。在某些实施方案中, Q^3 是 $-(CH_2)_mNR^3NHR^2$ 且 Q^4 是 Y^4 。在某些实施方案中, Q^4 是 $-(CH_2)_mNR^3NHR^2$ 且 Q^3 是 Y^4 。在某些实施方案中, m是0或1。在某些实施方案中, m是0。在某些实施方案中, m是1。

[0581] 在某些实施方案中, R^2 选自氢, 烷基, 取代的烷基, 烯基, 取代的烯基, 炔基, 取代的炔基, 烷氧基, 取代的烷氧基, 氨基, 取代的氨基, 羧基, 羧基酯, 酰基, 酰氧基, 酰基氨基, 氨基酰基, 烷基酰胺, 取代的烷基酰胺, 磺酰基, 硫代烷氧基, 取代的硫代烷氧基, 芳基, 取代的芳基, 杂芳基, 取代的杂芳基, 环烷基, 取代的环烷基, 杂环基, 和取代的杂环基。在某些实施方案中, R^2 是氢。在某些实施方案中, R^2 是烷基或取代的烷基。在某些实施方案中, R^2 是烯基

或取代的烯基。在某些实施方案中， R^2 是炔基或取代的炔基。在某些实施方案中， R^2 是烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中， R^2 是氨基或取代的氨基。在某些实施方案中， R^2 是羧基或羧基酯。在某些实施方案中， R^2 是酰基或酰氧基。在某些实施方案中， R^2 是酰基氨基或氨基酰基。在某些实施方案中， R^2 是烷基酰胺或取代的烷基酰胺。在某些实施方案中， R^2 是磺酰基。在某些实施方案中， R^2 是硫代烷氧基或取代的硫代烷氧基。在某些实施方案中， R^2 是芳基或取代的芳基。在某些实施方案中， R^2 是杂芳基或取代的杂芳基。在某些实施方案中， R^2 是环烷基或取代的环烷基。在某些实施方案中， R^2 是杂环基或取代的杂环基。

[0582] 在某些实施方案中， R^2 是烷基或取代的烷基。例如， R^2 可以是烷基或取代的烷基，诸如 C_1 - C_{10} 烷基或 C_1 - C_{10} 取代的烷基（例如 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_6 取代的烷基）。在一些情况中， R^2 是甲基，乙基，正丙基，异丙基，正丁基，仲丁基，异丁基，叔丁基，等等。在某些情况中， R^2 是甲基。

[0583] 在某些实施方案中， R^3 选自氢，烷基，取代的烷基，烯基，取代的烯基，炔基，取代的炔基，烷氧基，取代的烷氧基，氨基，取代的氨基，羧基，羧基酯，酰基，酰氧基，酰基氨基，氨基酰基，烷基酰胺，取代的烷基酰胺，磺酰基，硫代烷氧基，取代的硫代烷氧基，芳基，取代的芳基，杂芳基，取代的杂芳基，环烷基，取代的环烷基，杂环基，和取代的杂环基。在某些实施方案中， R^3 是氢。在某些实施方案中， R^3 是烷基或取代的烷基。在某些实施方案中， R^3 是烯基或取代的烯基。在某些实施方案中， R^3 是炔基或取代的炔基。在某些实施方案中， R^3 是烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中， R^3 是氨基或取代的氨基。在某些实施方案中， R^3 是羧基或羧基酯。在某些实施方案中， R^3 是酰基或酰氧基。在某些实施方案中， R^3 是酰基氨基或氨基酰基。在某些实施方案中， R^3 是烷基酰胺或取代的烷基酰胺。在某些实施方案中， R^3 是磺酰基。在某些实施方案中， R^3 是硫代烷氧基或取代的硫代烷氧基。在某些实施方案中， R^3 是芳基或取代的芳基。在某些实施方案中， R^3 是杂芳基或取代的杂芳基。在某些实施方案中， R^3 是环烷基或取代的环烷基。在某些实施方案中， R^3 是杂环基或取代的杂环基。

[0584] 在某些实施方案中， R^3 是烷基或取代的烷基。例如， R^3 可以是烷基或取代的烷基，诸如 C_1 - C_{10} 烷基或 C_1 - C_{10} 取代的烷基（例如 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_6 取代的烷基）。在一些情况中， R^3 是甲基，乙基，正丙基，异丙基，正丁基，仲丁基，异丁基，叔丁基，等等。在某些情况中， R^3 是甲基。

[0585] 在某些实施方案中， R^2 和 R^3 每个独立选自烷基和取代的烷基。例如， R^2 可以是烷基或取代的烷基，诸如 C_1 - C_{10} 烷基或 C_1 - C_{10} 取代的烷基（例如 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_6 取代的烷基），且 R^3 可以是烷基或取代的烷基，诸如 C_1 - C_{10} 烷基或 C_1 - C_{10} 取代的烷基（例如 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_6 取代的烷基）。在一些情况中， R^2 和 R^3 每个独立选自甲基，乙基，正丙基，异丙基，正丁基，仲丁基，异丁基，叔丁基，等等。在某些情况中， R^2 和 R^3 每个是甲基。

[0586] 在某些实施方案中， R^2 和 R^3 任选环状连接以形成5或6元杂环基。在一些情况中， R^2 和 R^3 （与它们所附着的原子一起）可以环状连接以形成5元杂环基。在一些情况中， R^2 和 R^3 （与它们所附着的原子一起）可以环状连接以形成6元杂环基。例如， R^2 和 R^3 可以每个独立是烷基或取代的烷基，诸如 C_1 - C_{10} 烷基或 C_1 - C_{10} 取代的烷基（例如 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_6 取代的烷基），其中 R^2 和 R^3 任选环状连接以形成5或6元杂环基，如上文描述的。在一些情况中， R^2 和/或 R^3 中的一个或多个碳原子可以用杂原子，诸如N，O，或S替换。

[0587] 在某些实施方案中， X^1 选自C，N，O和S。在某些实施方案中， X^1 是C。在某些实施方案

中, X^1 是 N。在某些实施方案中, X^1 是 O。在某些实施方案中, X^1 是 S。在某些实施方案中, X^1 缺失。

[0588] 在某些实施方案中, X^2 选自 C, N, O 和 S。在某些实施方案中, X^2 是 C。在某些实施方案中, X^2 是 N。在某些实施方案中, X^2 是 O。在某些实施方案中, X^2 是 S。在某些实施方案中, X^2 缺失。

[0589] 在某些实施方案中, X^3 选自 C, N, O 和 S。在某些实施方案中, X^3 是 C。在某些实施方案中, X^3 是 N。在某些实施方案中, X^3 是 O。在某些实施方案中, X^3 是 S。在某些实施方案中, X^3 缺失。

[0590] 在某些实施方案中, X^4 选自 C, N, O 和 S。在某些实施方案中, X^4 是 C。在某些实施方案中, X^4 是 N。在某些实施方案中, X^4 是 O。在某些实施方案中, X^4 是 S。在某些实施方案中, X^4 缺失。

[0591] X^1, X^2, X^3 和 X^4 的各种组合是可能的。例如, 在某些实施方案中, X^1, X^2, X^3 和 X^4 中每项是 C。在其它情况中, X^1, X^2, X^3 和 X^4 中三项是 C 且 X^1, X^2, X^3 和 X^4 中一项是 N。在其它实施方案中, X^1, X^2, X^3 和 X^4 中两项是 C 且 X^1, X^2, X^3 和 X^4 中两项是 N。在其它实施方案中, X^1, X^2, X^3 和 X^4 中一项是 C 且 X^1, X^2, X^3 和 X^4 中三项是 N。在其它实施方案中, X^1, X^2, X^3 和 X^4 中一项缺失, X^1, X^2, X^3 和 X^4 中两项是 C 且 X^1, X^2, X^3 和 X^4 中一项是 N。在其它实施方案中, X^1, X^2, X^3 和 X^4 中一项缺失, X^1, X^2, X^3 和 X^4 中两项是 C 且 X^1, X^2, X^3 和 X^4 中一项是 S。在其它实施方案中, X^1, X^2, X^3 和 X^4 中一项缺失, X^1, X^2, X^3 和 X^4 中两项是 C 且 X^1, X^2, X^3 和 X^4 中一项是 O。在需要时, C, N, O 和 S 的其它组合对于 X^1, X^2, X^3 和 X^4 是可能的。

[0592] 在某些实施方案中, Y^1 选自氢, 卤素, 烷基, 取代的烷基, 烯基, 取代的烯基, 炔基, 取代的炔基, 烷氧基, 取代的烷氧基, 氨基, 取代的氨基, 羧基, 羧基酯, 酰基, 酰氧基, 酰基氨基, 氨基酰基, 烷基酰胺, 取代的烷基酰胺, 磺酰基, 硫代烷氧基, 取代的硫代烷氧基, 芳基, 取代的芳基, 杂芳基, 取代的杂芳基, 环烷基, 取代的环烷基, 杂环基, 和取代的杂环基。在某些实施方案中, Y^1 是氢。在某些实施方案中, Y^1 是卤素, 诸如 F, Cl, Br 或 I。在某些实施方案中, Y^1 是 F。在某些实施方案中, Y^1 是 Cl。在某些实施方案中, Y^1 是 Br。在某些实施方案中, Y^1 是 I。在某些实施方案中, Y^1 是烷基或取代的烷基。在某些实施方案中, Y^1 是烯基或取代的烯基。在某些实施方案中, Y^1 是炔基或取代的炔基。在某些实施方案中, Y^1 是烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中, Y^1 是氨基或取代的氨基。在某些实施方案中, Y^1 是羧基或羧基酯。在某些实施方案中, Y^1 是酰基或酰氧基。在某些实施方案中, Y^1 是酰基氨基或氨基酰基。在某些实施方案中, Y^1 是烷基酰胺或取代的烷基酰胺。在某些实施方案中, Y^1 是磺酰基。在某些实施方案中, Y^1 是硫代烷氧基或取代的硫代烷氧基。在某些实施方案中, Y^1 是芳基或取代的芳基。在某些实施方案中, Y^1 是杂芳基或取代的杂芳基。在某些实施方案中, Y^1 是环烷基或取代的环烷基。在某些实施方案中, Y^1 是杂环基或取代的杂环基。

[0593] 在某些实施方案中, Y^2 选自氢, 卤素, 烷基, 取代的烷基, 烯基, 取代的烯基, 炔基, 取代的炔基, 烷氧基, 取代的烷氧基, 氨基, 取代的氨基, 羧基, 羧基酯, 酰基, 酰氧基, 酰基氨基, 氨基酰基, 烷基酰胺, 取代的烷基酰胺, 磺酰基, 硫代烷氧基, 取代的硫代烷氧基, 芳基, 取代的芳基, 杂芳基, 取代的杂芳基, 环烷基, 取代的环烷基, 杂环基, 和取代的杂环基。在某些实施方案中, Y^2 是氢。在某些实施方案中, Y^2 是卤素, 诸如 F, Cl, Br 或 I。在某些实施方案中, Y^2 是 F。在某些实施方案中, Y^2 是 Cl。在某些实施方案中, Y^2 是 Br。在某些实施方案中, Y^2 是 I。

在某些实施方案中, Y^2 是烷基或取代的烷基。在某些实施方案中, Y^2 是烯基或取代的烯基。在某些实施方案中, Y^2 是炔基或取代的炔基。在某些实施方案中, Y^2 是烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中, Y^2 是氨基或取代的氨基。在某些实施方案中, Y^2 是羧基或羧基酯。在某些实施方案中, Y^2 是酰基或酰氧基。在某些实施方案中, Y^2 是酰基氨基或氨基酰基。在某些实施方案中, Y^2 是烷基酰胺或取代的烷基酰胺。在某些实施方案中, Y^2 是磺酰基。在某些实施方案中, Y^2 是硫代烷氧基或取代的硫代烷氧基。在某些实施方案中, Y^2 是芳基或取代的芳基。在某些实施方案中, Y^2 是杂芳基或取代的杂芳基。在某些实施方案中, Y^2 是环烷基或取代的环烷基。在某些实施方案中, Y^2 是杂环基或取代的杂环基。

[0594] 在某些实施方案中, Y^3 选自氢, 卤素, 烷基, 取代的烷基, 烯基, 取代的烯基, 炔基, 取代的炔基, 烷氧基, 取代的烷氧基, 氨基, 取代的氨基, 羧基, 羧基酯, 酰基, 酰氧基, 酰基氨基, 氨基酰基, 烷基酰胺, 取代的烷基酰胺, 磺酰基, 硫代烷氧基, 取代的硫代烷氧基, 芳基, 取代的芳基, 杂芳基, 取代的杂芳基, 环烷基, 取代的环烷基, 杂环基, 和取代的杂环基。在某些实施方案中, Y^3 是氢。在某些实施方案中, Y^3 是卤素, 诸如 F, Cl, Br 或 I。在某些实施方案中, Y^3 是 F。在某些实施方案中, Y^3 是 Cl。在某些实施方案中, Y^3 是 Br。在某些实施方案中, Y^3 是 I。在某些实施方案中, Y^3 是烷基或取代的烷基。在某些实施方案中, Y^3 是烯基或取代的烯基。在某些实施方案中, Y^3 是炔基或取代的炔基。在某些实施方案中, Y^3 是烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中, Y^3 是氨基或取代的氨基。在某些实施方案中, Y^3 是羧基或羧基酯。在某些实施方案中, Y^3 是酰基或酰氧基。在某些实施方案中, Y^3 是酰基氨基或氨基酰基。在某些实施方案中, Y^3 是烷基酰胺或取代的烷基酰胺。在某些实施方案中, Y^3 是磺酰基。在某些实施方案中, Y^3 是硫代烷氧基或取代的硫代烷氧基。在某些实施方案中, Y^3 是芳基或取代的芳基。在某些实施方案中, Y^3 是杂芳基或取代的杂芳基。在某些实施方案中, Y^3 是环烷基或取代的环烷基。在某些实施方案中, Y^3 是杂环基或取代的杂环基。

[0595] 在某些实施方案中, Y^4 选自氢, 卤素, 烷基, 取代的烷基, 烯基, 取代的烯基, 炔基, 取代的炔基, 烷氧基, 取代的烷氧基, 氨基, 取代的氨基, 羧基, 羧基酯, 酰基, 酰氧基, 酰基氨基, 氨基酰基, 烷基酰胺, 取代的烷基酰胺, 磺酰基, 硫代烷氧基, 取代的硫代烷氧基, 芳基, 取代的芳基, 杂芳基, 取代的杂芳基, 环烷基, 取代的环烷基, 杂环基, 和取代的杂环基。在某些实施方案中, Y^4 是氢。在某些实施方案中, Y^4 是卤素, 诸如 F, Cl, Br 或 I。在某些实施方案中, Y^4 是 F。在某些实施方案中, Y^4 是 Cl。在某些实施方案中, Y^4 是 Br。在某些实施方案中, Y^4 是 I。在某些实施方案中, Y^4 是烷基或取代的烷基。在某些实施方案中, Y^4 是烯基或取代的烯基。在某些实施方案中, Y^4 是炔基或取代的炔基。在某些实施方案中, Y^4 是烷氧基或取代的烷氧基。在某些实施方案中, Y^4 是氨基或取代的氨基。在某些实施方案中, Y^4 是羧基或羧基酯。在某些实施方案中, Y^4 是酰基或酰氧基。在某些实施方案中, Y^4 是酰基氨基或氨基酰基。在某些实施方案中, Y^4 是烷基酰胺或取代的烷基酰胺。在某些实施方案中, Y^4 是磺酰基。在某些实施方案中, Y^4 是硫代烷氧基或取代的硫代烷氧基。在某些实施方案中, Y^4 是芳基或取代的芳基。在某些实施方案中, Y^4 是杂芳基或取代的杂芳基。在某些实施方案中, Y^4 是环烷基或取代的环烷基。在某些实施方案中, Y^4 是杂环基或取代的杂环基。

[0596] 在某些实施方案中, Y^1 和 Y^2 或 Y^2 和 Y^3 环状连接以形成稠合苯并环。在某些实施方案中, Y^1 和 Y^2 环状连接以形成稠合苯并环。在某些实施方案中, Y^2 和 Y^3 环状连接以形成稠合苯并环。在某些实施方案中, 当 Q^4 是 Y^4 时, 则 Y^3 和 Y^4 任选是环状连接的。

[0597] 在某些实施方案中, R^{16} , Y^1 , Y^2 , Y^3 或 Q^4 中一项是 $-L-W^1$, 其中若 Q^4 是 $-L-W^1$, 则 Q^3 是 $-(CH_2)_m NR^3 NHR^2$ 且 Y^4 缺失。在某些实施方案中, R^{16} 是 $-L-W^1$ 。在某些实施方案中, Y^1 是 $-L-W^1$ 。在某些实施方案中, Y^2 是 $-L-W^1$ 。在某些实施方案中, Y^3 是 $-L-W^1$ 。在某些实施方案中, Q^4 是 $-L-W^1$ 。在某些实施方案中, 若 Q^4 是 $-L-W^1$, 则 Q^3 是 $-(CH_2)_m NR^3 NHR^2$ 且 Y^4 缺失。

[0598] 在某些实施方案中, 若 Y^1 , Y^2 , Y^3 或 Q^4 中一项是 $-L-W^1$, 则 R^{16} 不是 $-L-W^1$ 。在这些实施方案中, R^{16} 选自氢, 烷基, 取代的烷基, 烯基, 取代的烯基, 炔基, 取代的炔基, 芳基, 取代的芳基, 杂芳基, 取代的杂芳基, 环烷基, 取代的环烷基, 杂环基, 和取代的杂环基。在一些情况中, R^{16} 是氢。在一些情况中, R^{16} 是烷基或取代的烷基。在一些情况中, R^{16} 是烯基或取代的烯基。在一些情况中, R^{16} 是炔基或取代的炔基。在一些情况中, R^{16} 是芳基或取代的芳基。在一些情况中, R^{16} 是杂芳基或取代的杂芳基。在一些情况中, R^{16} 是环烷基或取代的环烷基。在一些情况中, R^{16} 是杂环基或取代的杂环基。

[0599] 在某些实施方案中, L 是任选的接头。在某些实施方案中, L 不存在, 而且因此吡啶环的氮直接与 W^1 成键。在某些实施方案中, L 存在, 而且因此吡啶环的氮经由接头 L 间接与 W^1 成键。接头 L 的进一步描述见本文中的公开内容。

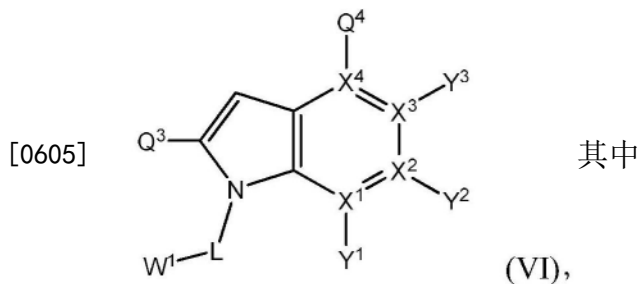
[0600] 例如, 在某些实施方案中, L 包括选自烷基, 取代的烷基, 烯基, 取代的烯基, 炔基, 取代的炔基, 烷氧基, 取代的烷氧基, 氨基, 取代的氨基, 羧基, 羧基酯, 酰基氨基, 烷基酰胺, 取代的烷基酰胺, 芳基, 取代的芳基, 杂芳基, 取代的杂芳基, 环烷基, 取代的环烷基, 杂环基, 和取代的杂环基的基团。在某些实施方案中, L 包括烷基或取代的烷基基团。在某些实施方案中, L 包括烯基或取代的烯基基团。在某些实施方案中, L 包括炔基或取代的炔基基团。在某些实施方案中, L 包括烷氧基或取代的烷氧基基团。在某些实施方案中, L 包括氨基或取代的氨基基团。在某些实施方案中, L 包括羧基或羧基酯基团。在某些实施方案中, L 包括酰基氨基基团。在某些实施方案中, L 包括烷基酰胺或取代的烷基酰胺基团。在某些实施方案中, L 包括芳基或取代的芳基基团。在某些实施方案中, L 包括杂芳基或取代的杂芳基基团。在某些实施方案中, L 包括环烷基或取代的环烷基基团。在某些实施方案中, L 包括杂环基或取代的杂环基基团。

[0601] 在某些实施方案中, L 包括聚合物。例如, 聚合物可以包括聚烷撑二醇及其衍生物, 包括聚乙二醇, 甲氧基聚乙二醇, 聚乙二醇均聚物, 聚丙二醇均聚物, 乙二醇与丙二醇的共聚物(例如, 其中均聚物和共聚物是未取代的或在一端用烷基取代的), 聚乙烯醇, 聚乙烯基乙基醚, 聚乙烯吡咯烷酮, 其组合, 等等。在某些实施方案中, 聚合物是聚烷撑二醇。在某些实施方案中, 聚合物是聚乙二醇。

[0602] 在一些实施方案中, L 是包含 $-(L^1)_a - (L^2)_b - (L^3)_c - (L^4)_d - (L^5)_e -$ 的接头, 其中 L^1 , L^2 , L^3 , L^4 和 L^5 每个是接头单元, 且 a, b, c, d 和 e 每个独立是 0 或 1, 其中 a, b, c, d 和 e 的和是 1 至 5。其它接头也是可能的, 如本文中更为详细描述缀合物和化合物中所示。

[0603] 在某些实施方案中, W^1 选自化学实体和多肽。在某些实施方案中, W^1 是化学实体(例如药物或可检测标记物)。在某些实施方案中, W^1 是药物。在某些实施方案中, W^1 是可检测标记物。在某些实施方案中, W^1 是多肽。

[0604] 在某些情况中, 胍基-吡咯并化合物是式 (VI) 的化合物:

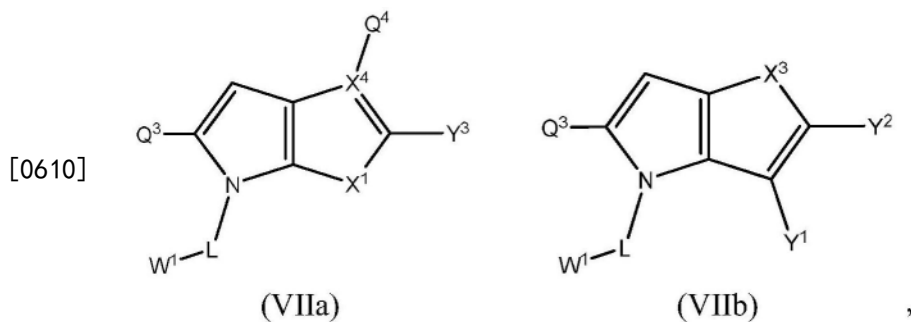


[0606] $Q^3, Q^4, X^1, X^2, X^3, X^4, L, W^1, Y^1, Y^2$, 和 Y^3 如式 (V) 中定义的。

[0607] 如上文描述的, 在式 (V) 中, 在一些情况中, R^{16} 是 $-L-W^1$, 其导致如上所示式 (VI) 的化合物。

[0608] 在某些实施方案中, 式 (VI) 的取代基与上文所述式 (V) 的取代基相同。例如, 在某些实施方案中, 式 (VI) 的取代基, 例如 $Q^3, Q^4, X^1, X^2, X^3, X^4, L, W^1, Y^1, Y^2$, 和 Y^3 如式 (V) 中定义的。

[0609] 在一些实施方案中, 所述化合物是式 (VIIa) 或 (VIIb) 的化合物:



[0611] 其中:

[0612] X^1 和 X^3 每个独立是 O, S 或 NR^{12} ;

[0613] X^4 是 C;

[0614] 在式 (VIIa) 中, Q^3 和 Q^4 中一项是 $-(CH_2)_m NR^3 NHR^2$ 且另一项是 Y^4 ;

[0615] 在式 (VIIb) 中, Q^3 和 R^{12} 中一项, 若存在的话, 是 $-(CH_2)_m NR^3 NHR^2$ 且另一项是 Y^3 ;

[0616] Y^1, Y^2, Y^3 和 Y^4 , 若存在的话, 每个独立选自氢, 卤素, 烷基, 取代的烷基, 烯基, 取代的烯基, 炔基, 取代的炔基, 烷氧基, 取代的烷氧基, 氨基, 取代的氨基, 羧基, 羧基酯, 酰基, 酰氧基, 酰基氨基, 氨基酰基, 烷基酰胺, 取代的烷基酰胺, 磺酰基, 硫代烷氧基, 取代的硫代烷氧基, 芳基, 取代的芳基, 杂芳基, 取代的杂芳基, 环烷基, 取代的环烷基, 杂环基, 和取代的杂环基, 其中 Y^1 和 Y^2 任选是环状连接的, 且其中当 Q^4 是 Y^4 时, 则 Y^3 和 Y^4 任选是环状连接的; 且 n, R^2 和 R^3 如式 (V) 中定义的。

[0617] 在某些实施方案中, 式 (VIIa) 和 (VIIb) 的取代基与上文所述式 (V) 的取代基相同。

[0618] 例如, 在式 (VIIa) 的某些实施方案中, X^4 是 C, 且 Q^3 和 R^{12} 中一项是 $-(CH_2)_m NR^3 NHR^2$ 且另一项是 Y^3 。在式 (VIIa) 的某些实施方案中, X^4 是 C, Q^3 是 $-(CH_2)_m NR^3 NHR^2$ 且 Q^4 是 Y^3 。在式 (VIIa) 的某些实施方案中, X^4 是 C, Q^4 是 $-(CH_2)_m NR^3 NHR^2$ 且 Q^3 是 Y^3 。在某些实施方案中, m 是 0 或 1。在某些实施方案中, m 是 0。在某些实施方案中, m 是 1。

[0619] 在式 (VIIb) 的某些实施方案中, X^3 是 NR^{12} , 且 Q^3 和 R^{12} 中一项是 $-(CH_2)_m NR^3 NHR^2$ 且另一项是 Y^3 。在式 (VIIb) 的某些实施方案中, X^3 是 NR^{12} , Q^3 是 $-(CH_2)_m NR^3 NHR^2$ 且 R^{12} 是 Y^3 。在式

(VIIb)的某些实施方案中, X^3 是 NR^{12} , R^{12} 是 $-(CH_2)_mNR^3NHR^2$ 且 Q^3 是 Y^3 。在某些实施方案中, m 是0或1。在某些实施方案中, m 是0。在某些实施方案中, m 是1。

[0620] 在某些实施方案中, Y^1 和 Y^2 任选是环状连接的,且其中当 Q^4 是 Y^4 时,则 Y^3 和 Y^4 任选环状连接以形成稠合苯并环。在式(VIIb)的某些实施方案中, Y^1 和 Y^2 环状连接以形成稠合苯并环。在式(VIIa)的某些实施方案中, Q^4 是 Y^4 且 Y^3 和 Y^4 环状连接以形成稠合苯并环。

[0621] 在一些实施方案中,在所述化合物中, Q^2 是 $-(CH_2)_mNR^3NHR^2$ 且 Q^3 是 Y^4 。在一些实施方案中,在所述化合物中, Q^3 是 $-(CH_2)_mNR^3NHR^2$ 且 Q^2 是 Y^4 。在某些实施方案中, m 是1。

[0622] 在一些实施方案中, R^2 和 R^3 每个独立选自烷基和取代的烷基。在某些实施方案中, R^2 和 R^3 每个是甲基。

[0623] 在一些实施方案中, X^1 , X^2 , X^3 和 X^4 每个是C。

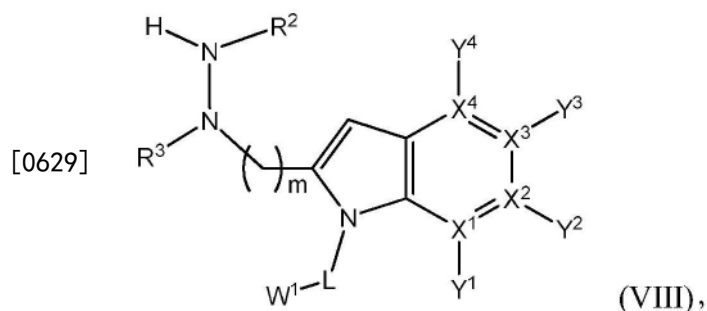
[0624] 在一些实施方案中, Y^1 , Y^2 , Y^3 和 Y^4 每个是H。

[0625] 在一些实施方案中, X^1 和 X^3 每个是S且 X^4 是C。在一些实施方案中, X^1 和 X^3 每个是O且 X^4 是C。在式(VIIa)的一些实施方案中, X^1 是S且 X^4 是C。在式(VIIa)的一些实施方案中, X^1 是O且 X^4 是C。在式(VIIb)的一些实施方案中, X^3 是S。在式(VIIb)的一些实施方案中, X^3 是O。

[0626] 在一些实施方案中, X^1 和 X^3 每个是 NR^{12} 且 X^4 是C。在式(VIIa)的一些实施方案中, X^1 是 NR^{12} 且 X^4 是C。在式(VIIa)的一些实施方案中, X^1 是NH且 X^4 是C。在式(VIIb)的一些实施方案中, X^3 是 NR^{12} 。在式(VIIb)的一些实施方案中, X^3 是NH。

[0627] 在一些实施方案中, W^1 是化学实体。在一些实施方案中, W^1 是药物或可检测标记物。在某些实施方案中,可检测标记物包含荧光团。在一些实施方案中, W^2 是多肽。

[0628] 在一些实施方案中,所述化合物是式(VIII)的化合物:



[0630] 其中

[0631] m 是0或1;

[0632] R^2 和 R^3 每个独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,或 R^2 和 R^3 任选环状连接以形成5或6元杂环基;

[0633] X^1 , X^2 , X^3 和 X^4 每个独立选自C,N,O和S;

[0634] Y^1 , Y^2 , Y^3 和 Y^4 每个独立选自氢,卤素,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,其中

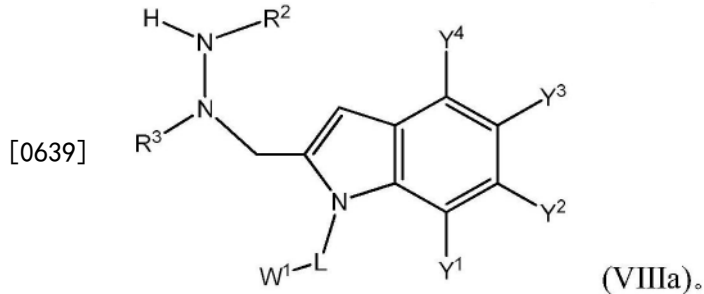
Y^1 和 Y^2 , Y^2 和 Y^3 , 或 Y^3 和 Y^4 任选是环状连接的;

[0635] L是任选的接头(例如本文所述接头);且

[0636] W^1 选自化学实体和多肽。

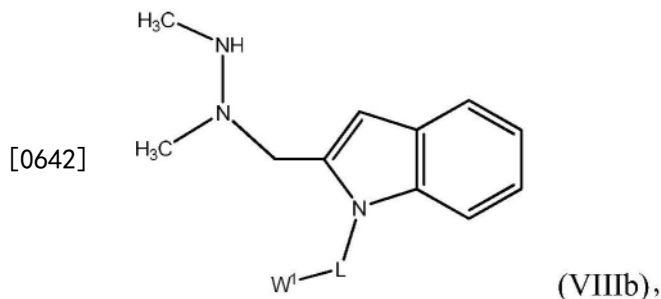
[0637] 在某些实施方案中,式(VIII)的取代基与上文所述式(V)的取代基相同。

[0638] 在一些实施方案中,所述化合物是式(VIIIa)的化合物:



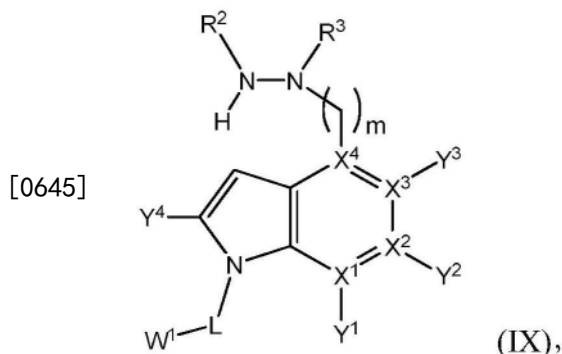
[0640] 在某些实施方案中,式(VIIIa)中的取代基如上文关于式(VIII)描述的。

[0641] 所述化合物的实施方案包括式(VIIIb)的化合物:



[0643] 其中 W^1 和L如上文关于式(VIII)描述的。

[0644] 在一些实施方案中,所述化合物是式(IX)的化合物:



[0646] 其中

[0647] m是0或1;

[0648] R^2 和 R^3 每个独立选自氢,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,或 R^2 和 R^3 任选环状连接以形成5或6元杂环基;

[0649] X^1 , X^2 , X^3 和 X^4 每个独立选自C, N, O和S;

[0650] Y^1 , Y^2 , Y^3 和 Y^4 每个独立选自氢,卤素,烷基,取代的烷基,烯基,取代的烯基,炔基,

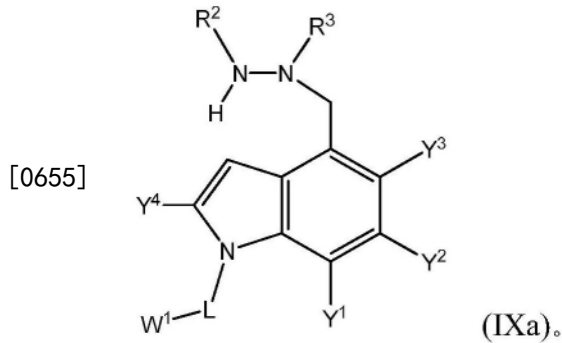
取代的炔基,烷氧基,取代的烷氧基,氨基,取代的氨基,羧基,羧基酯,酰基,酰氧基,酰基氨基,氨基酰基,烷基酰胺,取代的烷基酰胺,磺酰基,硫代烷氧基,取代的硫代烷氧基,芳基,取代的芳基,杂芳基,取代的杂芳基,环烷基,取代的环烷基,杂环基,和取代的杂环基,其中Y¹和Y²或Y²和Y³任选是环状连接的;

[0651] L是任选的接头(例如本文所述接头);且

[0652] W¹选自化学实体和多肽。

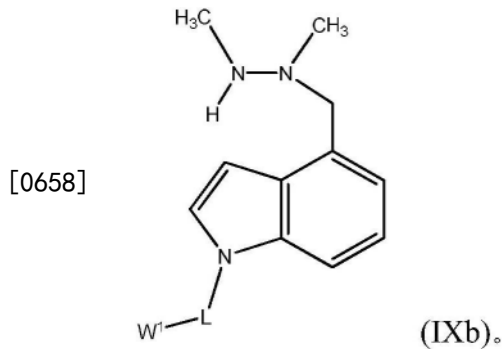
[0653] 在某些实施方案中,式(IX)中的取代基如上文关于式(V)描述的。例如,在某些实施方案中,m是0或1。在某些实施方案中,m是0。在某些实施方案中,m是1。

[0654] 在一些实施方案中,所述化合物是式(IXa)的化合物:



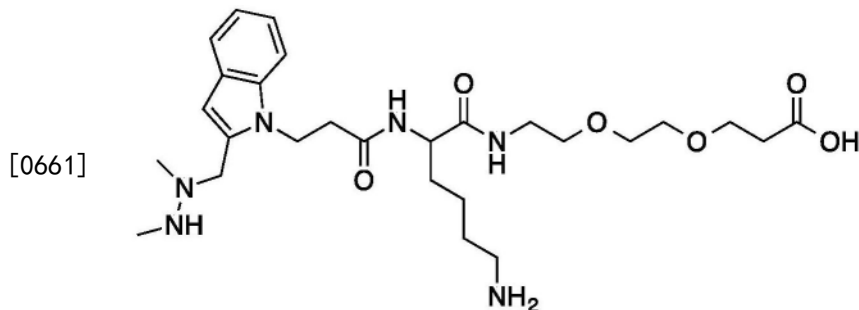
[0656] 在某些实施方案中,式(IXa)中的取代基如上文关于式(IX)描述的。

[0657] 所述化合物的实施方案包括式(IXb)的化合物:



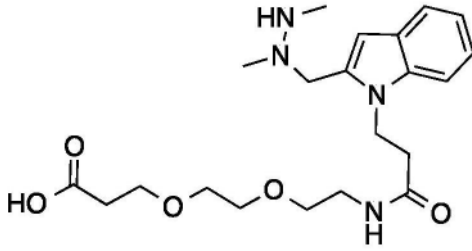
[0659] 在某些实施方案中,式(IXb)中的取代基如上文关于式(IX)描述的。

[0660] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



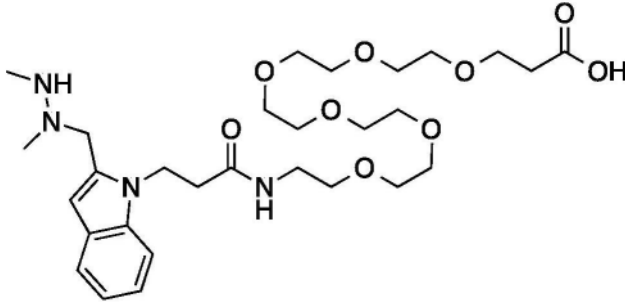
[0662] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

[0663]



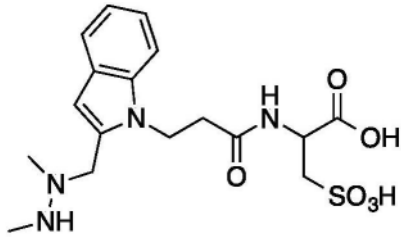
[0664] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

[0665]



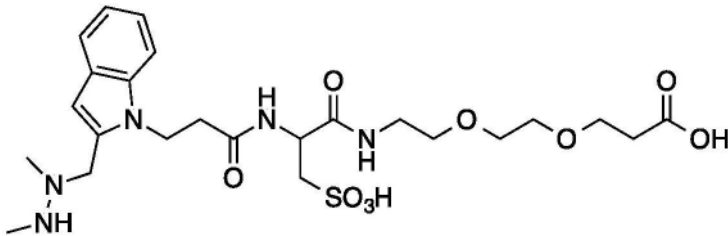
[0666] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

[0667]



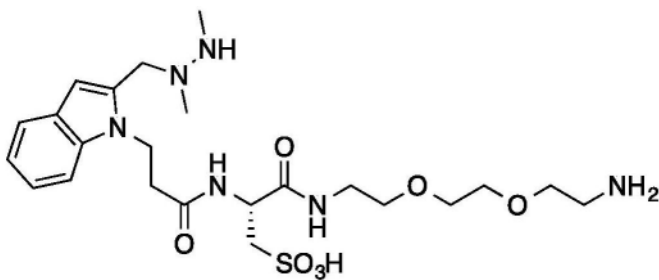
[0668] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

[0669]



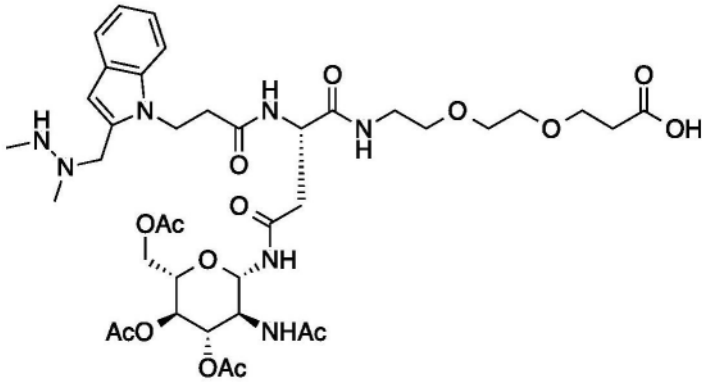
[0670] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

[0671]



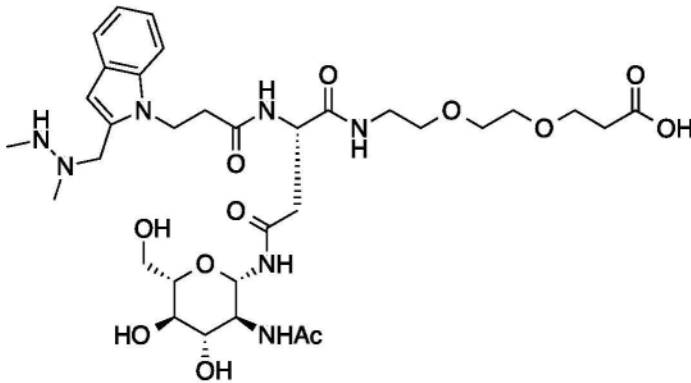
[0672] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

[0673]



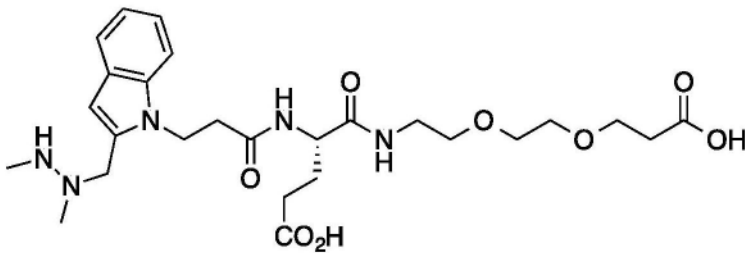
[0674] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

[0675]



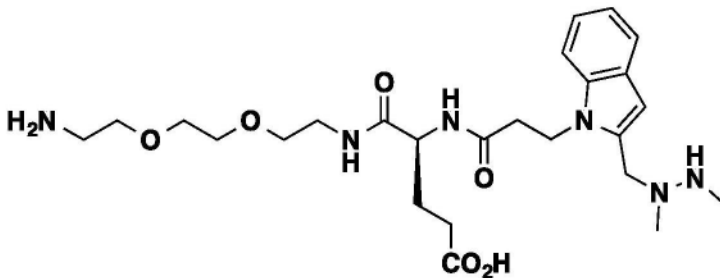
[0676] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

[0677]



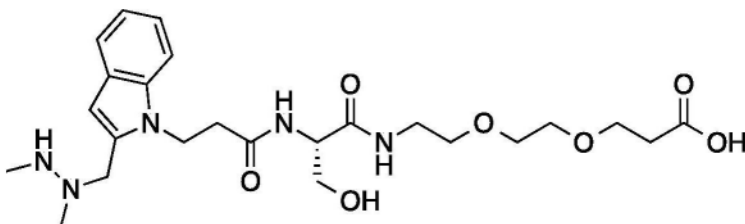
[0678] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

[0679]

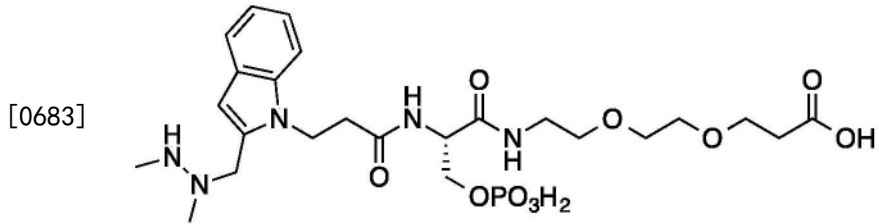


[0680] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

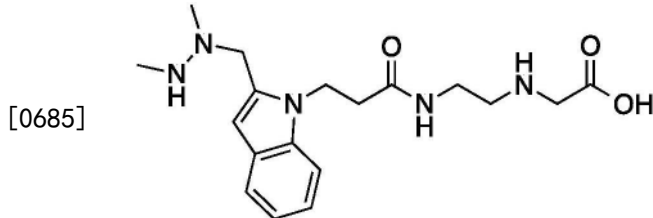
[0681]



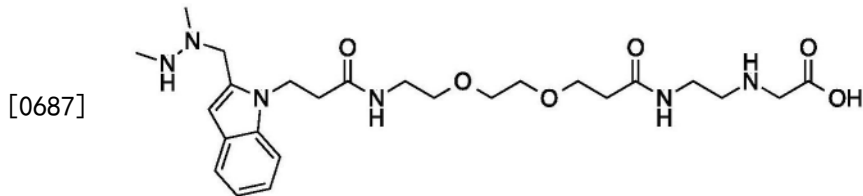
[0682] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



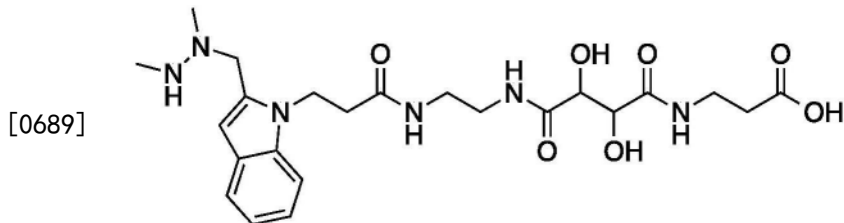
[0684] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



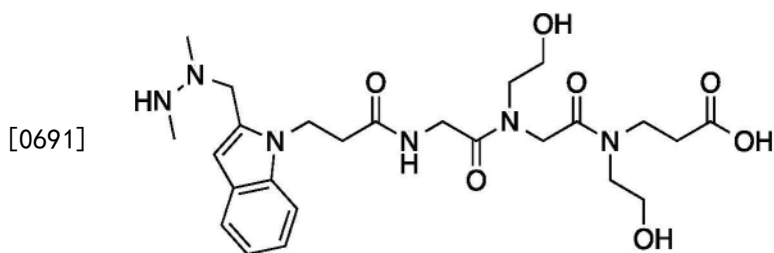
[0686] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



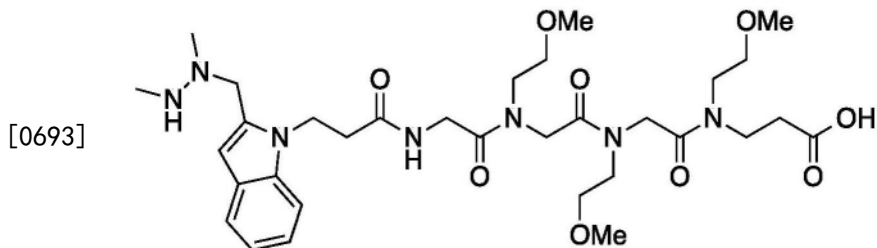
[0688] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



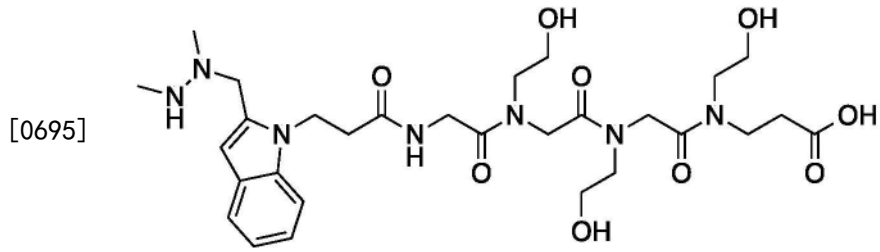
[0690] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



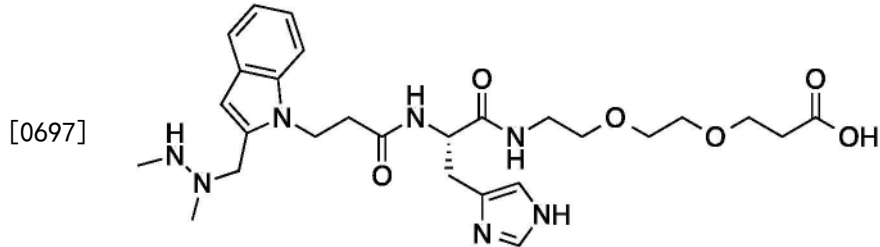
[0692] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



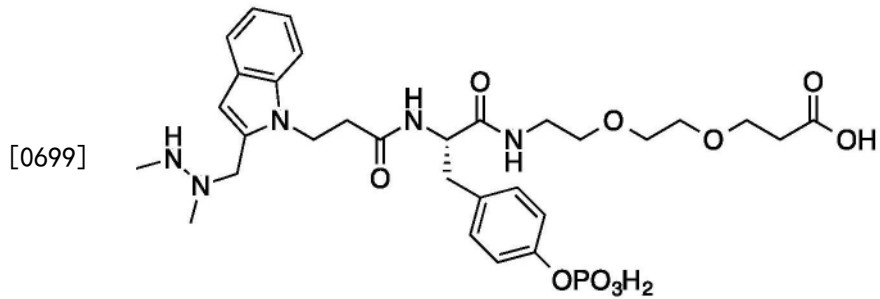
[0694] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



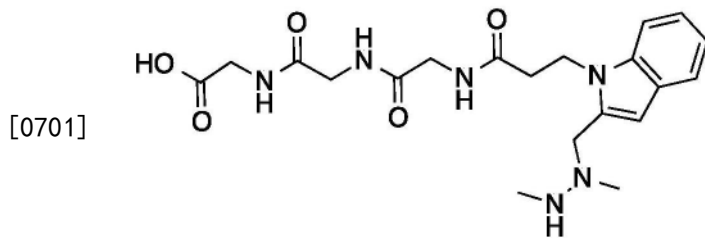
[0696] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



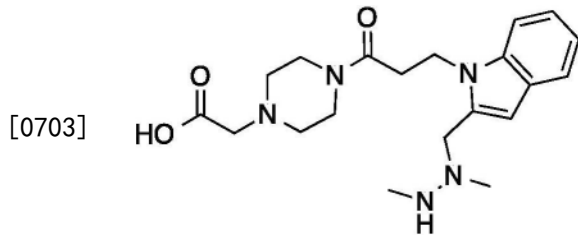
[0698] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



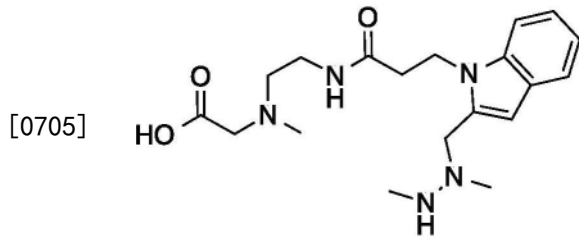
[0700] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



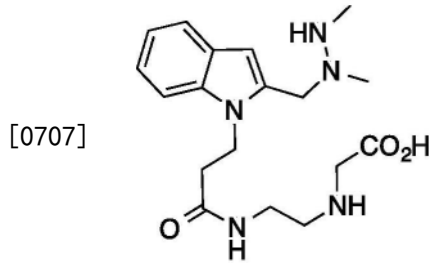
[0702] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



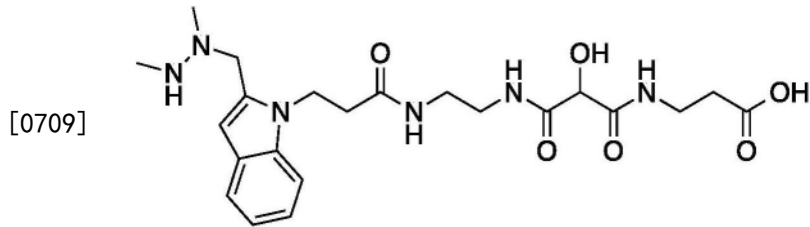
[0704] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



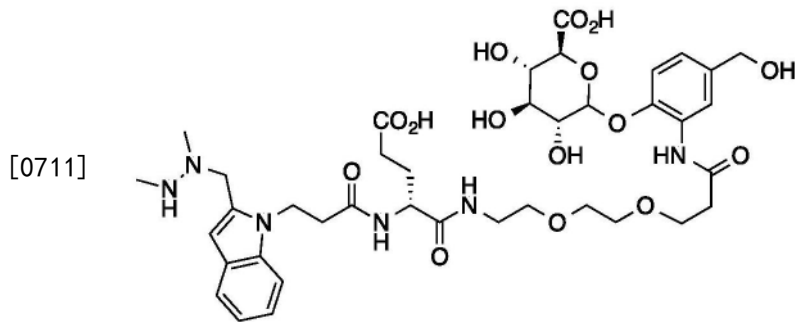
[0706] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



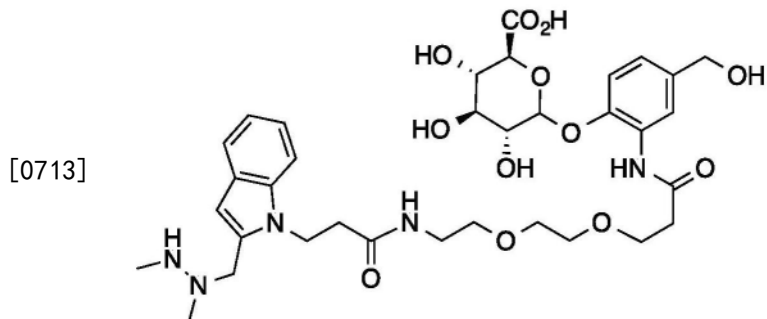
[0708] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



[0710] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

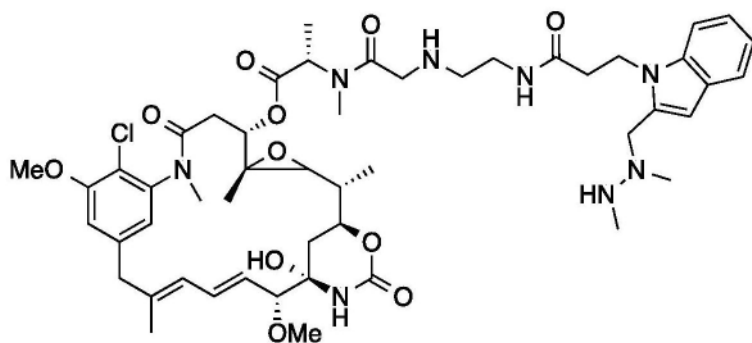


[0712] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



[0714] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

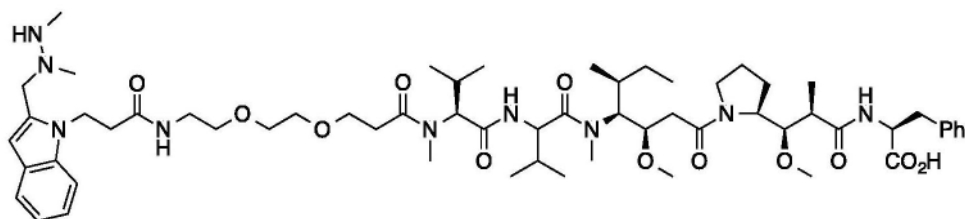
[0715]



[0716]

在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

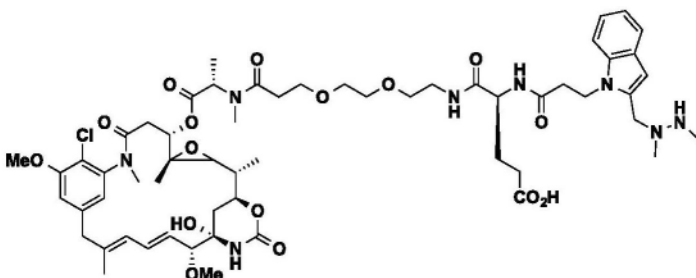
[0717]



[0718]

在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

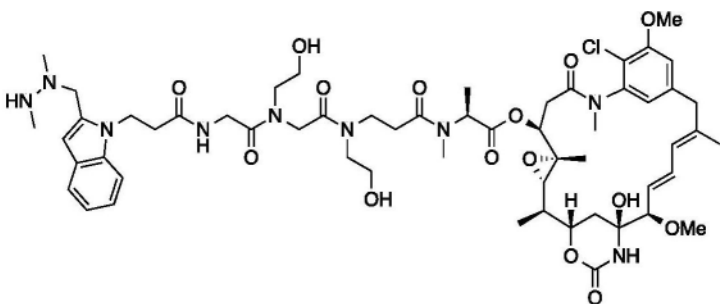
[0719]



[0720]

在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

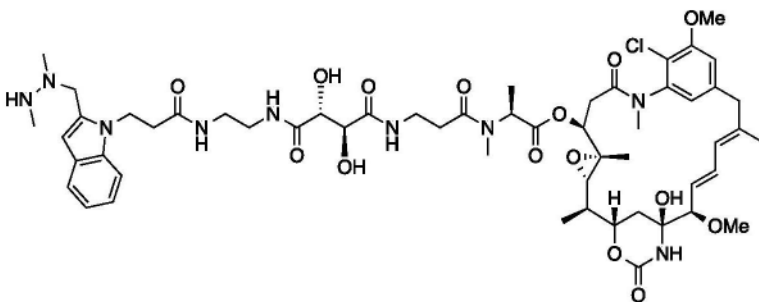
[0721]



[0722]

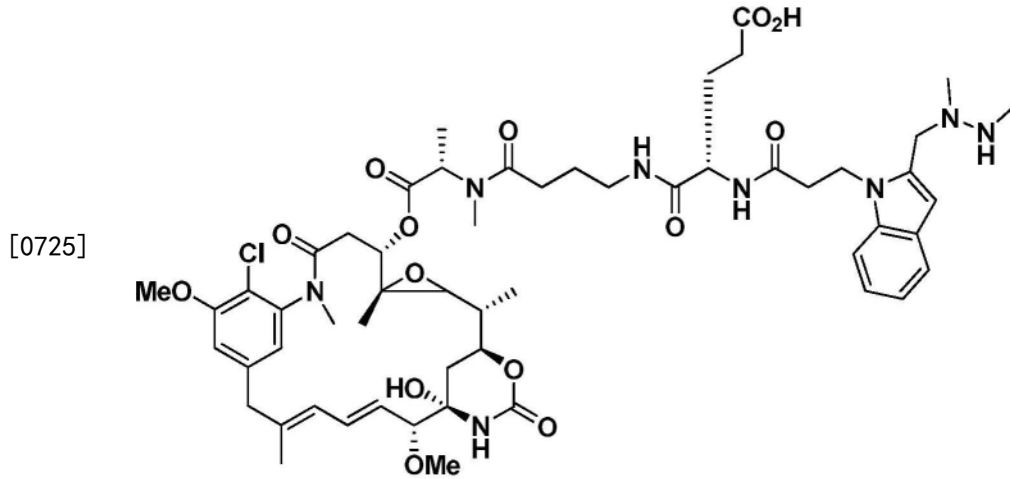
在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

[0723]

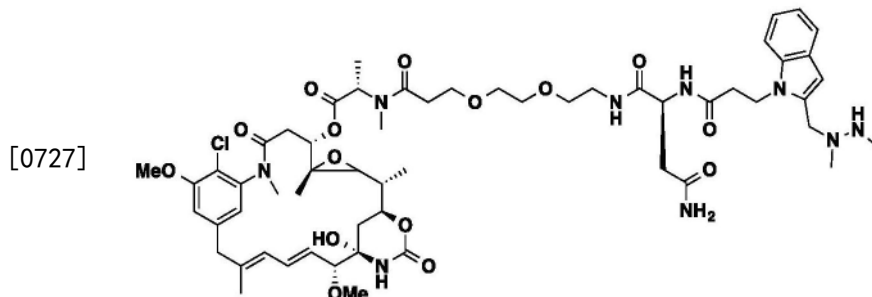


[0724]

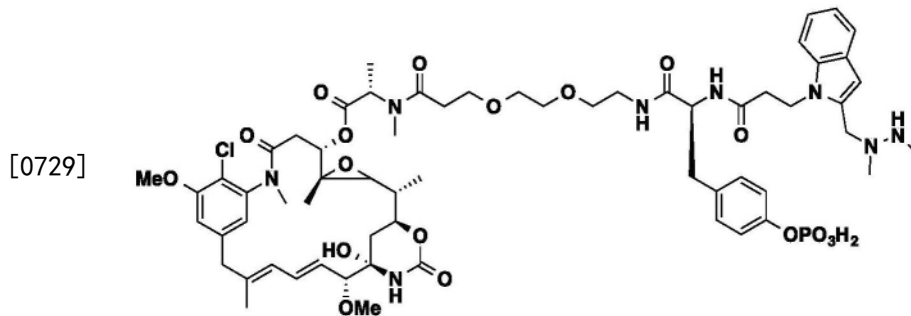
在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



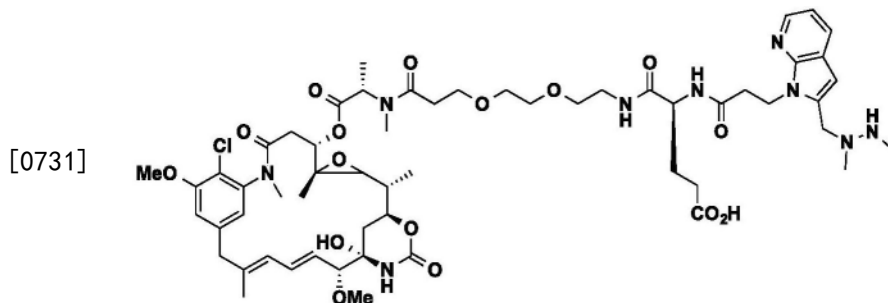
[0726] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



[0728] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

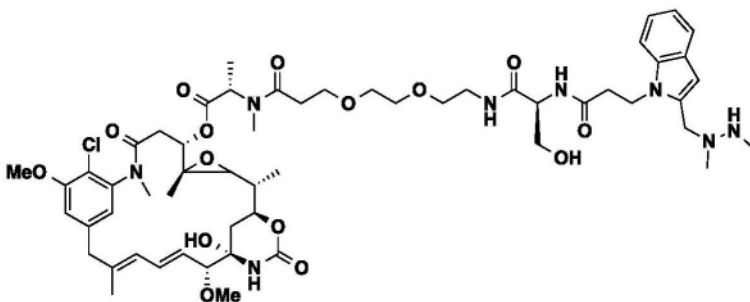


[0730] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



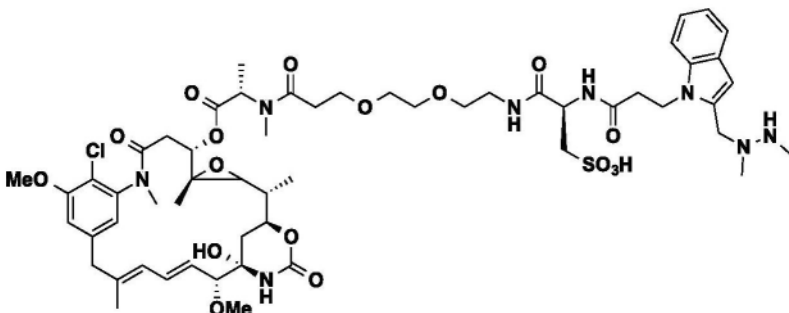
[0732] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

[0733]



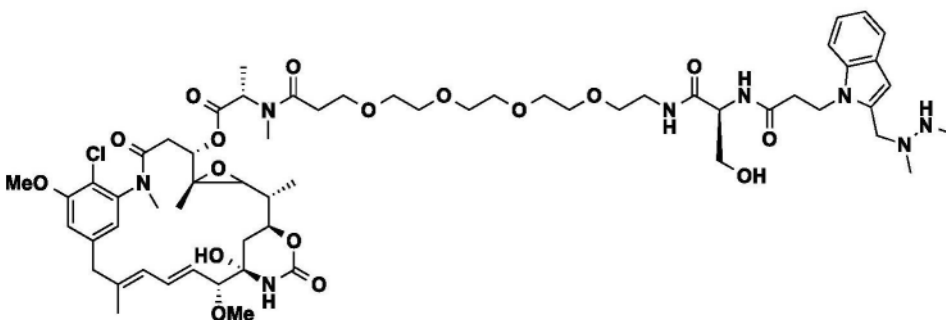
[0734] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

[0735]



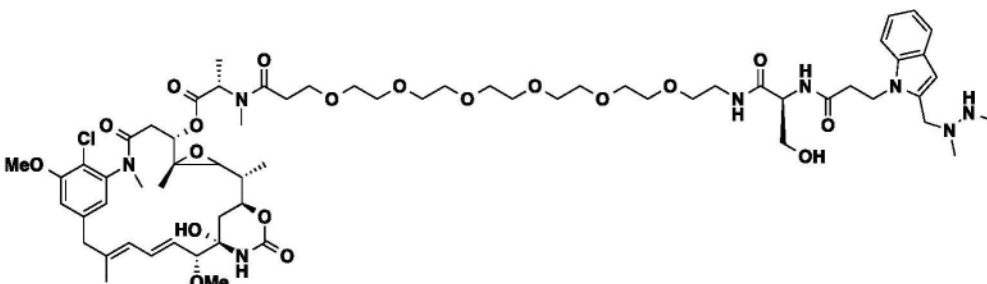
[0736] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

[0737]



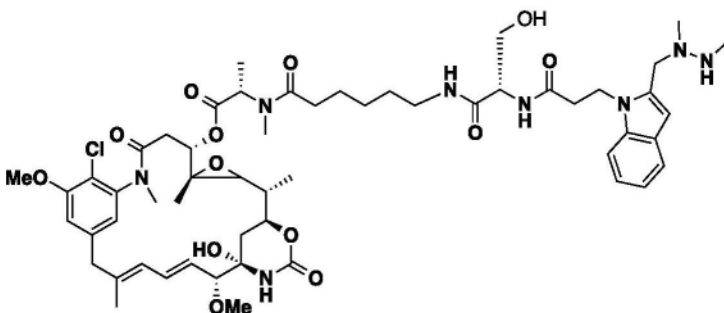
[0738] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

[0739]

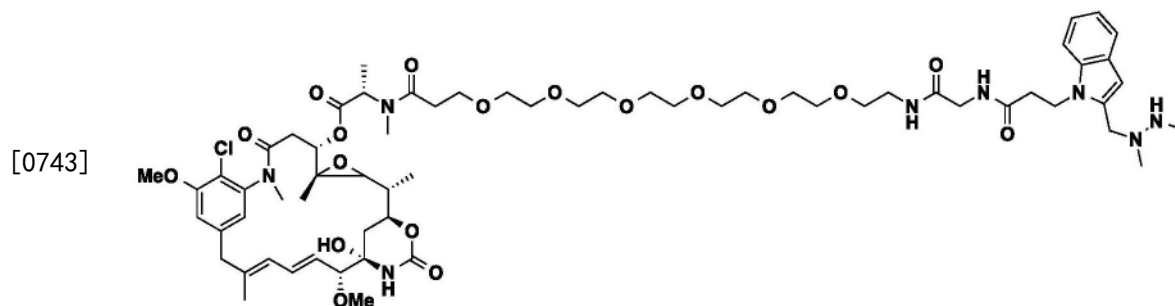


[0740] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

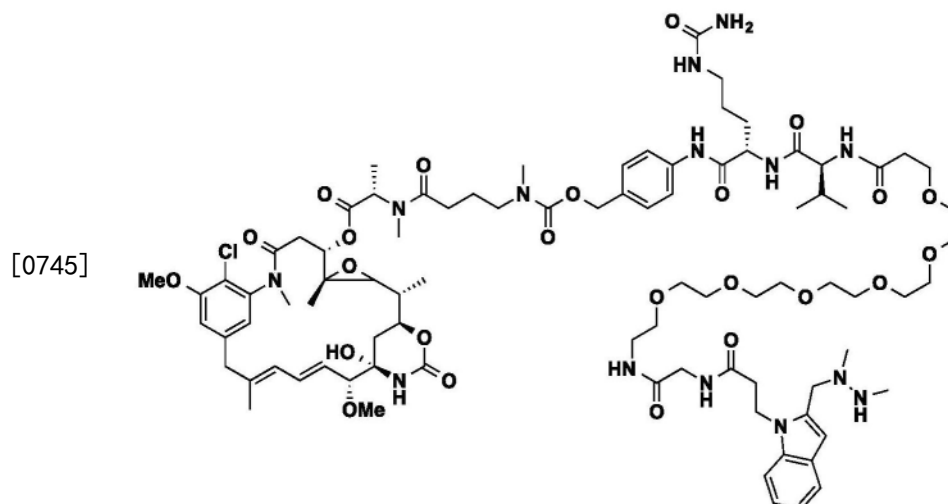
[0741]



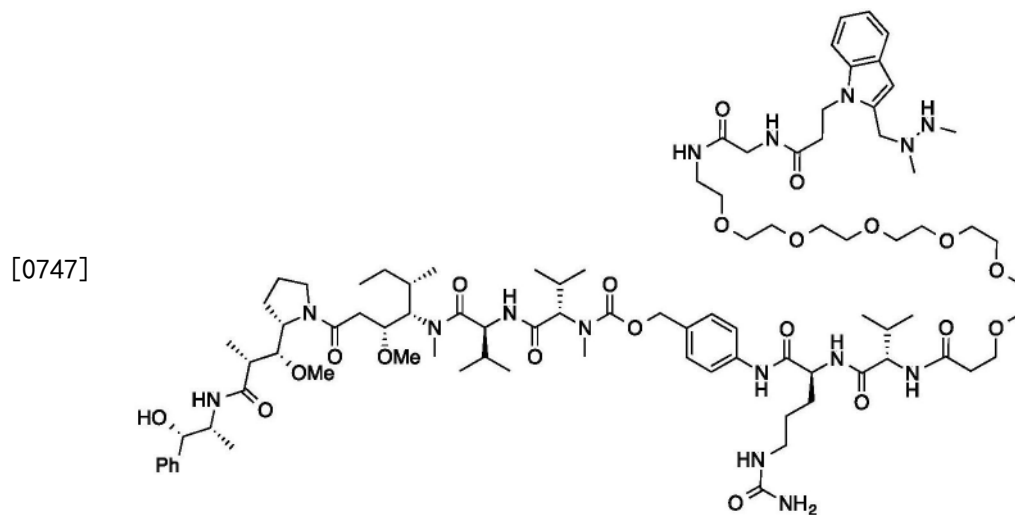
[0742] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



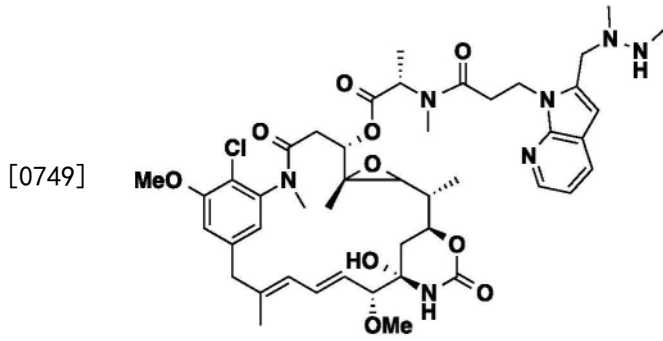
[0744] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



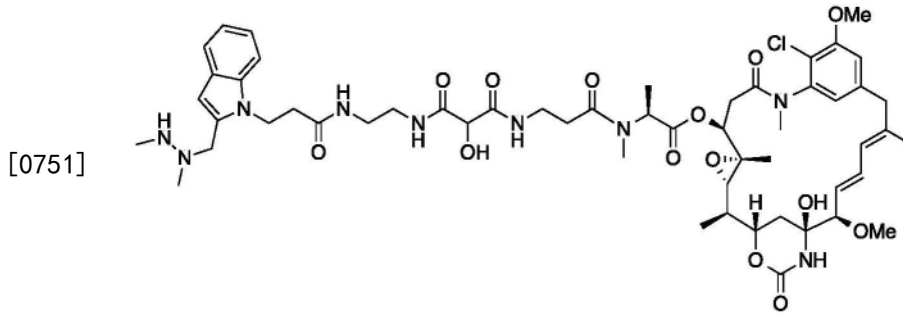
[0746] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



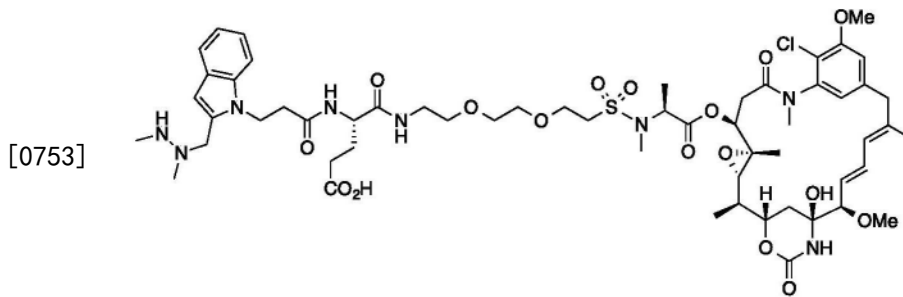
[0748] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



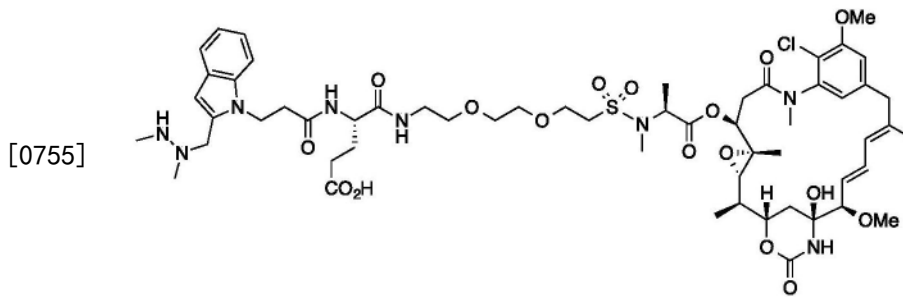
[0750] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



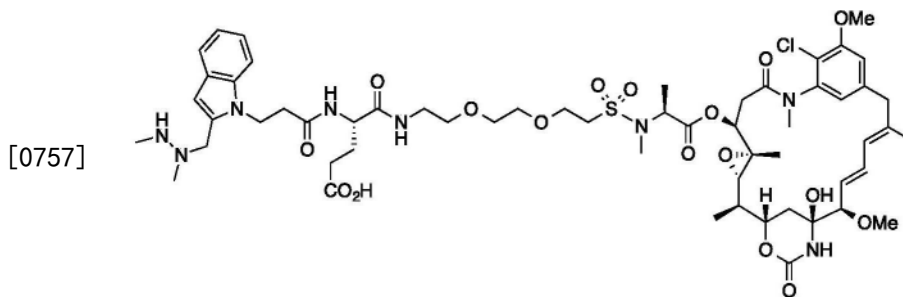
[0752] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



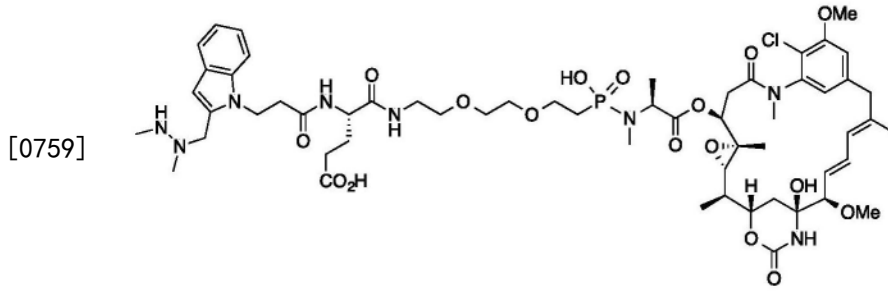
[0754] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



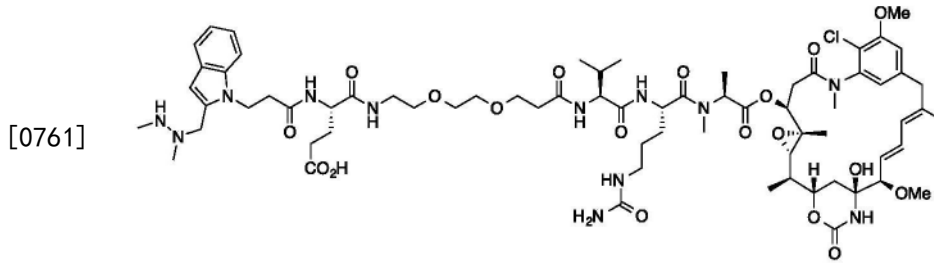
[0756] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



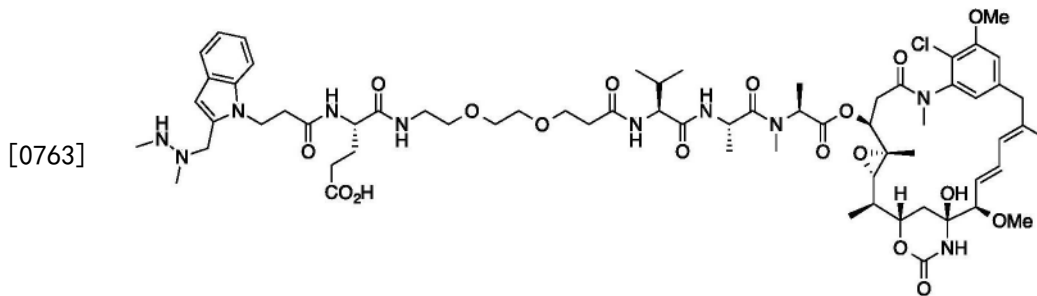
[0758] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



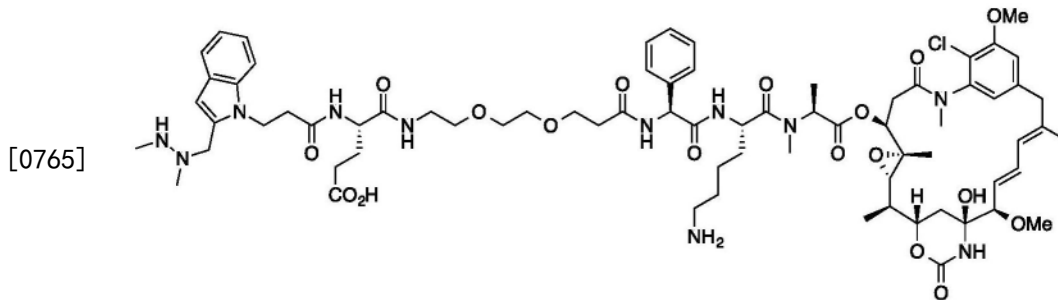
[0760] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



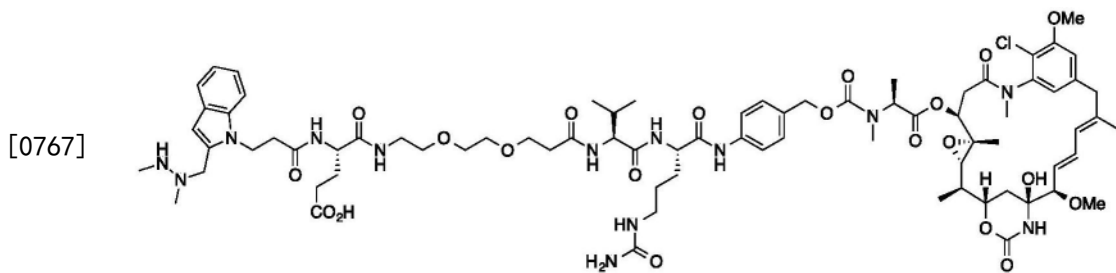
[0762] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



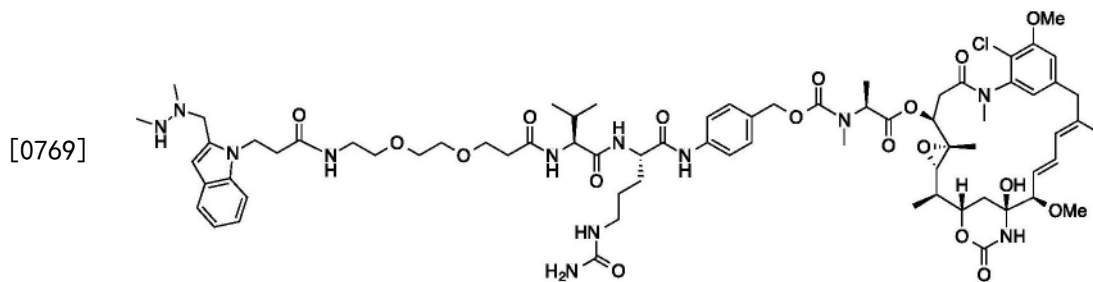
[0764] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



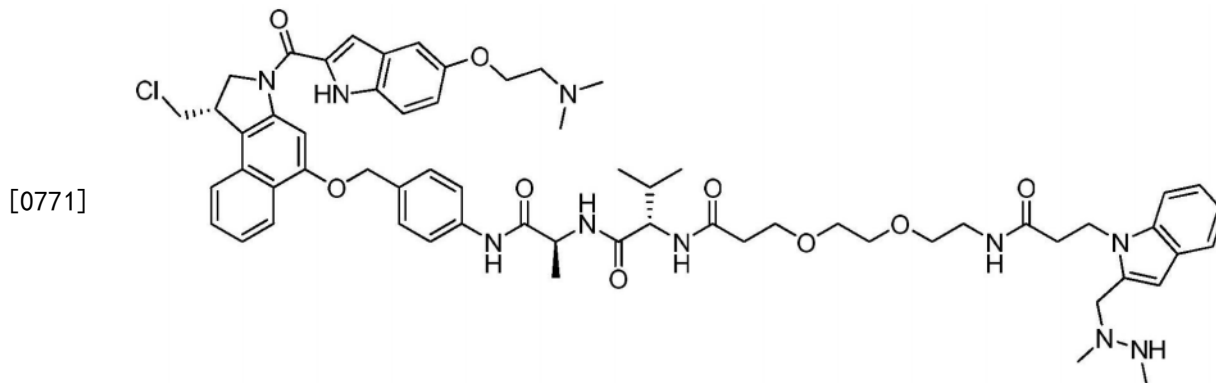
[0766] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



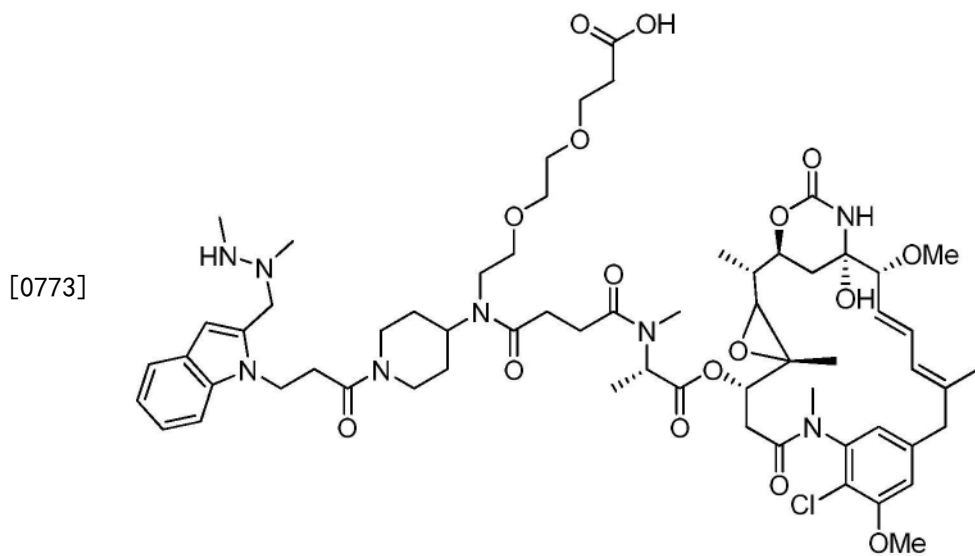
[0768] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



[0770] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

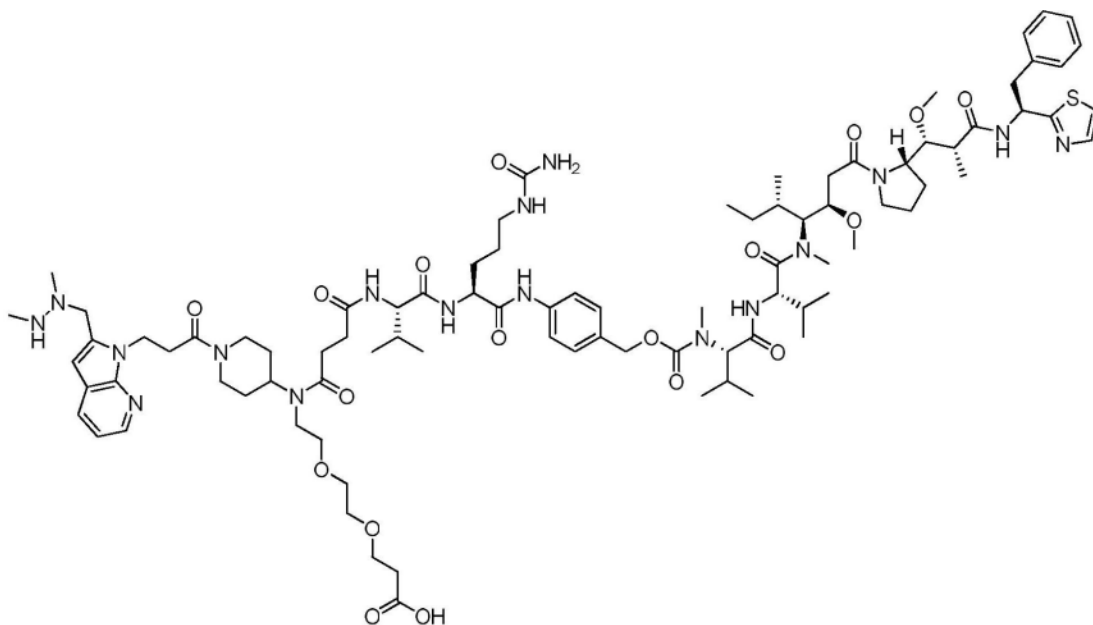


[0772] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



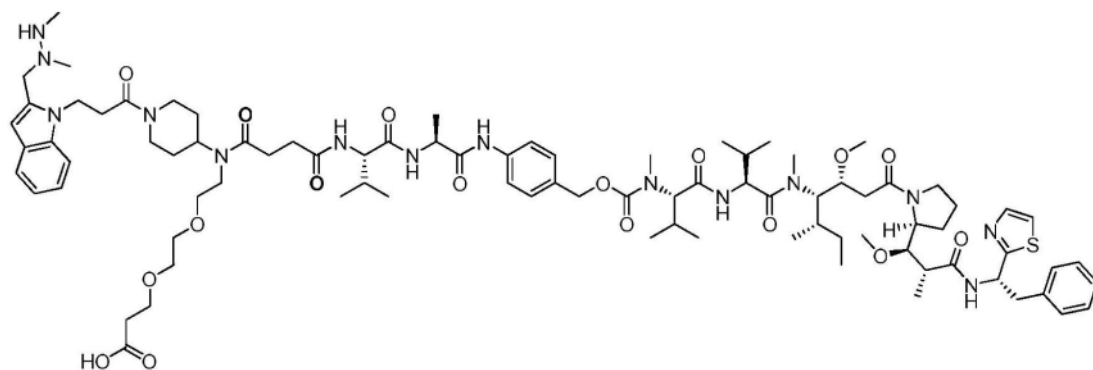
[0774] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

[0775]



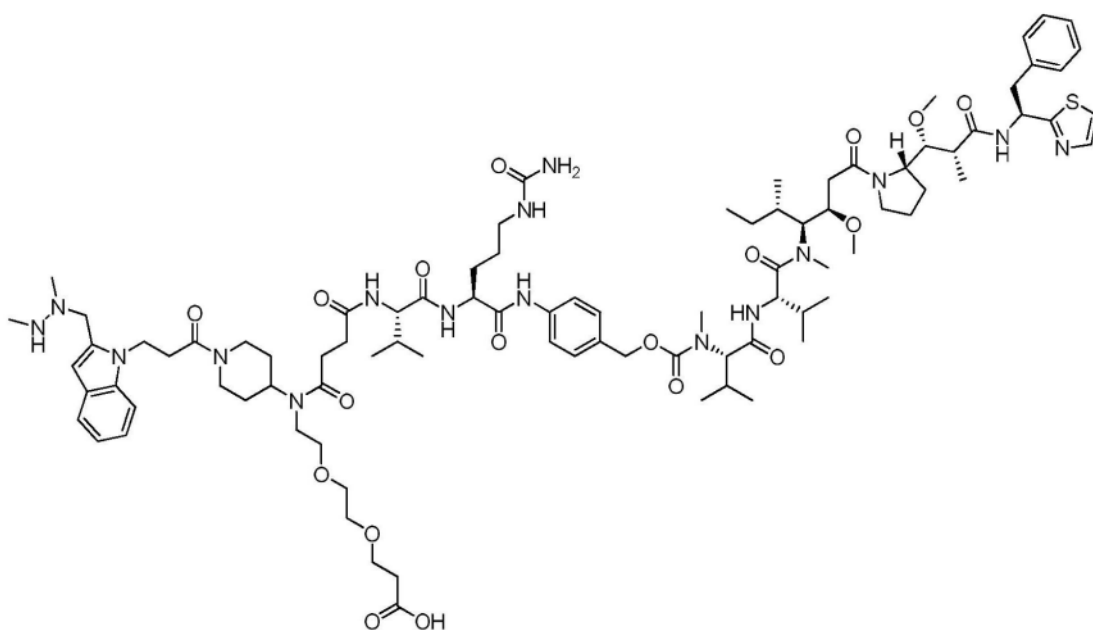
[0776] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

[0777]



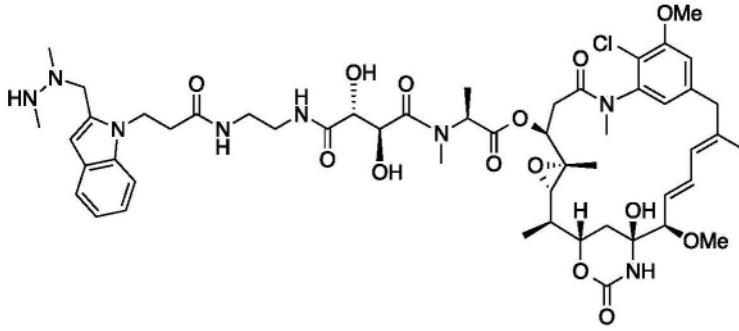
[0778] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

[0779]



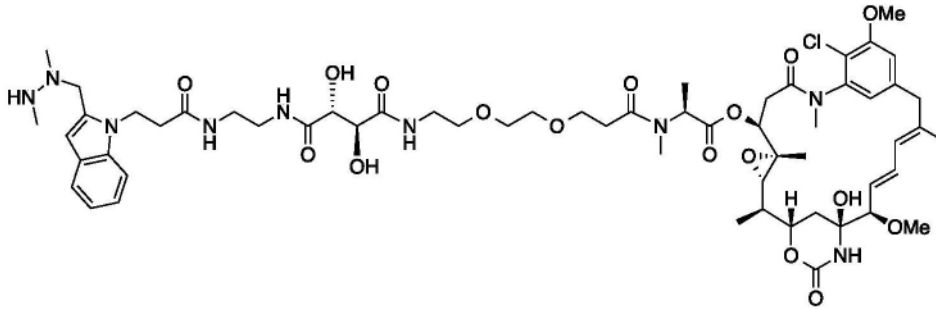
[0780] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

[0781]



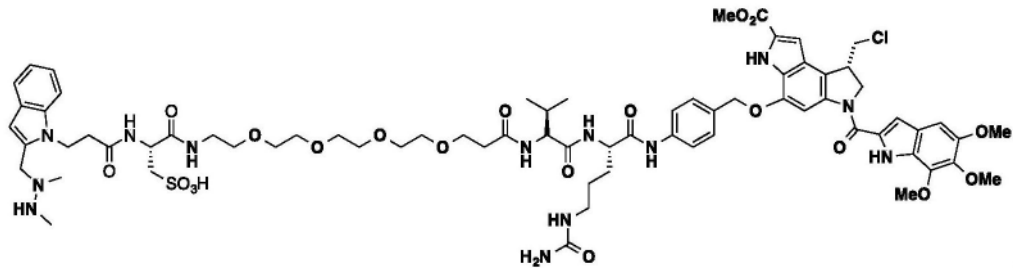
[0782] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

[0783]



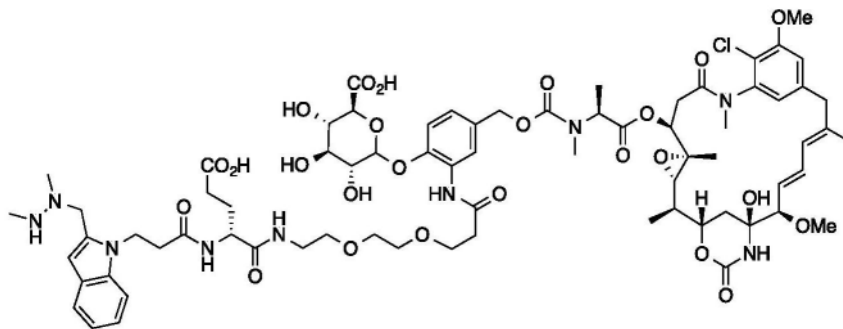
[0784] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

[0785]



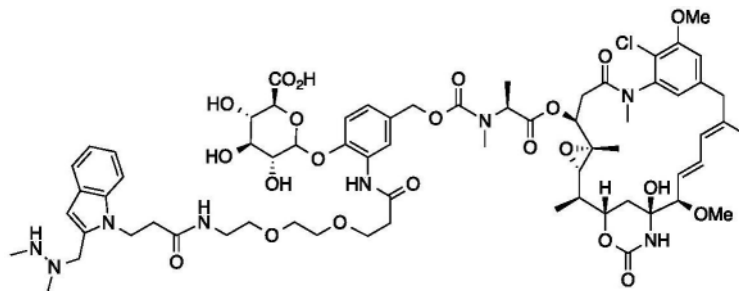
[0786] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

[0787]

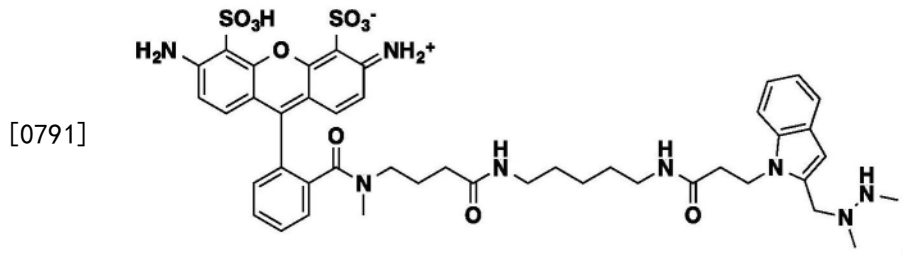


[0788] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:

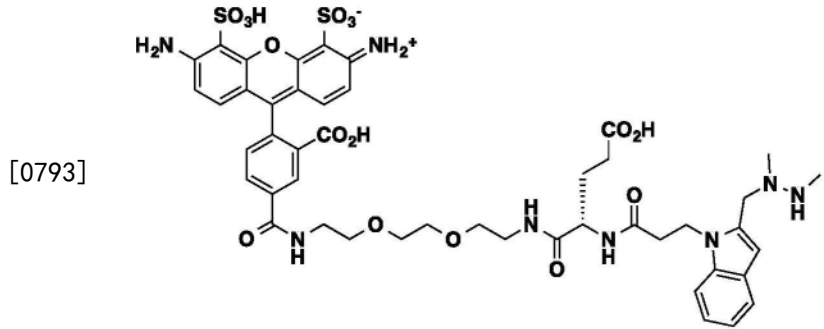
[0789]



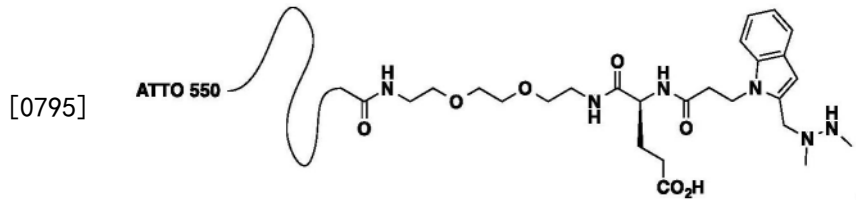
[0790] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



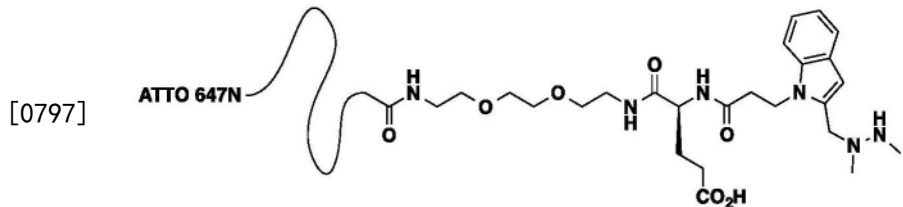
[0792] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



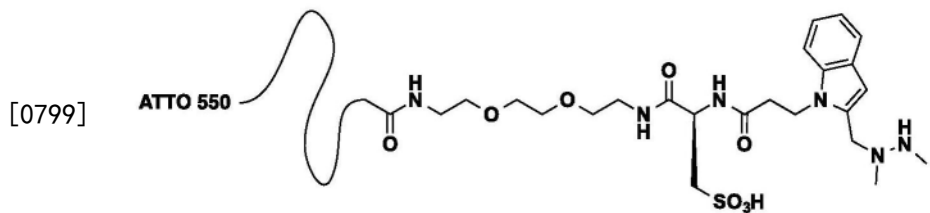
[0794] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



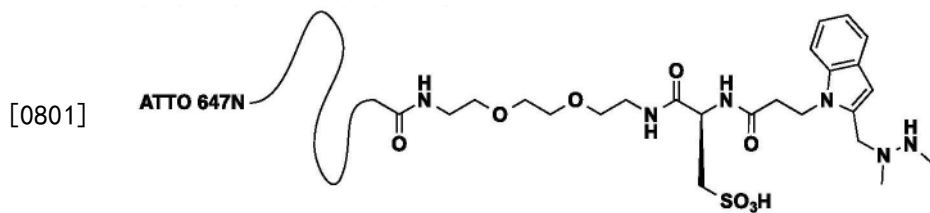
[0796] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



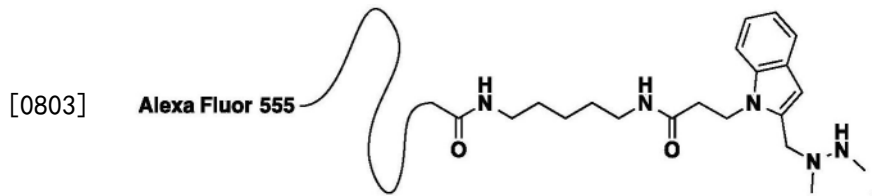
[0798] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



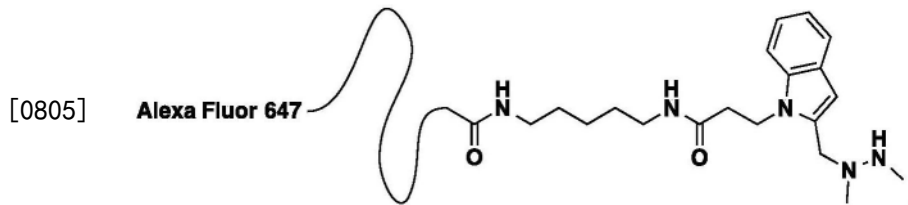
[0800] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



[0802] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



[0804] 在某些实施方案中,所述化合物是下面的结构的:



[0806] 上文结构中列出的任何化学实体,接头和偶联模块可以适应在主题化合物和缀合物中使用。

[0807] 涉及用于生成缀合物的胍基-吡啶化合物和方法的别的公开内容见2013年3月11日提交的美国申请No.13/794,159,其公开内容通过援引收入本文。

[0808] 靶多肽

[0809] 可以修饰极其多种多肽任一以缀合至如上文描述的第二模块。适合于修饰的多肽包括具有天然发生氨基酸序列的蛋白质,天然发生多肽的片段,和非天然发生多肽及其片段。

[0810] 下面是对于使用本文中描述的化合物和方法进行修饰以生成本文中描述的多肽缀合物感兴趣的多肽的类和型的例子。

[0811] 治疗性多肽

[0812] 在某些实施方案中,将生成缀合物的方法应用于修饰可以提供治疗益处的多肽,诸如那些附着至模块能提供下述一项或多项的多肽:例如血清半衰期延长,不利免疫反应减小,额外或替代的生物学活性或功能性,等等,或其它益处或不利副作用降低。在治疗性多肽是疫苗的抗原的情况下,修饰能为多肽提供增强的免疫原性。

[0813] 治疗性蛋白质的类的例子包括那些是细胞因子,趋化因子,生长因子,激素,抗体,和抗原的。别的例子包括但不限于下述:促红细胞生成素(EPO,例如天然EPO或合成EPO(参见例如US 2003/0191291),诸如但不限于例如PROCRIT®, EPREX®,或EPOGEN®(依泊汀(epoetin)-α), ARANESP®(达伯汀(darbepoetin)-α), NEORECORMON®, EPOGIN®(依泊汀(epoetin)-β),等等);生长激素(例如促生长素,例如GENOTROPIN®, NUTROPIN®, NORDITROPIN®, SAIZEN®, SEROSTIM®, HUMATROPE®,等);人生长激素(hGH);牛生长激素(bGH);促滤泡激素(FSH);干扰素(例如IFN-γ, IFN-α, IFN-β, IFN-ω, IFN-τ,复合干扰素,等等);胰岛素(例如诺和灵(Novolin),优泌林(Humulin),优泌乐(Humalog),来得时(Lantus),优乐停(Ultralente),等),胰岛素样生长因子(例如IGF-I, IGF-II);血液因子(例如因子X,组织型纤溶酶原活化剂(TPA),等等,诸如但不限于例如ACTIVASE®(阿替普酶(alteplase))组织型纤溶酶原活化剂, NOVOSEVEN®(重组人因子VIIa),因子VIIa,因子VIII(例如KOGENATE®),因子IX,β-珠蛋白,血红蛋白,等等);集落刺激因子(例如粒细胞-CSF(G-CSF,例如

NEUPOGEN® (非格司亭 (filgrastim)), 巨噬细胞-CSF (M-CSF), 粒细胞-巨噬细胞-CSF (GM-CSF), 纽拉思塔 (Neulasta) (培非格司亭 (pegfilgrastim)), 粒细胞-单核细胞集落刺激因子, 巨核细胞集落刺激因子, 等等), 转化生长因子 (例如 TGF- β , TGF- α); 白介素 (例如 IL-1, IL-2 (例如 Proleukin®), IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-12, 等等); 生长因子 (例如表皮生长因子 (EGF), 血小板衍生生长因子 (PDGF, 例如 REGRANEX® (贝卡普勒明 (beclaplermin))), 成纤维细胞生长因子 (FGF, 例如 aFGF, bFGF, 诸如 FIBLAST® (曲弗明 (trafermin))), 胶质细胞系衍生生长因子 (GDNF), 神经生长因子 (NGF), 干细胞因子 (例如 STEMGEN® (安西司亭 (ancestim))), 角质形成细胞生长因子, 肝细胞生长因子, 等等); 可溶性受体 (例如 TNF- α 结合可溶性受体, 诸如 ENBREL® (依那西普 (etanercept))), 可溶性 VEGF 受体, 可溶性白介素受体, 可溶性 γ/δ T 细胞受体, 等等); 酶 (例如 α -葡萄糖苷酶, CERAZYME® (伊米昔酶 (imiglucarase)), β -葡萄糖脑苷脂酶, CEREDASE® (阿糖脑苷酶 (alglucerase))); 酶活化剂 (例如组织型纤溶酶原活化剂); 趋化因子 (例如 IP-10, Mig, Gro α /IL-8, 调控和正常 T 细胞表达和分泌因子 (RANTES), MIP-1 α , MIP-1 β , MCP-1, PF-4, 等等); 血管生成剂 (例如血管内皮生长因子 (VEGF)); 抗血管生成剂 (例如可溶性 VEGF 受体); 蛋白质疫苗; 神经活性肽, 诸如缓激肽 (bradykinin), 胆囊收缩素 (cholecystokinin), 胃泌素 (gastin), 分泌素 (secretin), 催产素 (oxytocin), 促性腺激素释放激素, β -内啡肽 (beta-endorphin), 脑啡肽 (enkephalin), 物质 P, 生长抑素 (somatostatin), 甘丙肽 (galanin), 生长激素释放激素, 蛙皮素 (bombesin), 华法林 (warfarin), 强啡肽 (dynorphin), 神经紧张素 (neurotensin), 蠕动素 (motilin), 促甲状腺素 (thyrotropin), 神经肽 Y, 促黄体激素, 降钙素 (calcitonin), 胰岛素, 胰高血糖素 (glucagon), 血管加压素 (vasopressin), 血管紧张素 (angiotensin) II, 促甲状腺素释放激素, 血管活性肠肽, 睡眠肽, 等; 其它蛋白质, 诸如血栓溶解剂, 心房钠尿肽, 骨形态发生蛋白, 血小板生成素 (thrombopoietin), 松弛素 (relaxin), 胶质原纤维酸性蛋白, 促滤泡激素, 人 α -1 抗胰蛋白酶, 白血病抑制因子, 转化生长因子, 组织因子, 胰岛素样生长因子, 促黄体激素, 促滤泡激素, 巨噬细胞活化因子, 肿瘤坏死因子, 嗜中性粒细胞趋化因子, 神经生长因子, 金属蛋白酶的抑制剂; 血管活性肠肽, 血管生成素 (angiogenin), 促血管素 (angiotropin), 纤维蛋白; 水蛭素 (hirudin); 白血病抑制因子; IL-1 受体拮抗剂 (例如 Kineret® (阿那白滞素 (anakinra))); 等等。容易领会, 上述治疗性蛋白质的天然形式作为本公开内容中的靶多肽也是感兴趣的。

[0814] 别的例子包括抗体, 例如多克隆抗体, 单克隆抗体, 人源化抗体, 抗原结合片段 (例如 F(ab)’, Fab, Fv), 单链抗体, 等等 (例如 RITUXAN® (利妥昔单抗 (rituximab)); REMICADE® (英夫利昔单抗 (infliximab)); HERCEPTIN® (曲妥珠单抗 (trastuzumab)); HUMIRA™ (阿达木单抗 (adalimumab)); XOLAIR® (奥马珠单抗 (omalizumab)); BEXXAR® (托西莫单抗 (tositumomab)); RAPTIVA™ (依法利珠单抗 (efalizumab)); ERBITUX™ (西妥昔单抗 (cetuximab)); 等等)。在一些情况中, 抗体包括特异性结合肿瘤抗原, 免疫细胞抗原 (例如 CD4, CD8, 等等), 微生物 (特别是致病性微生物) 抗原 (例如细菌, 病毒, 真菌, 或寄生虫抗原), 等等的抗体。

[0815] 在一些情况中, 可以应用本文中描述的方法, 缀合物和化合物来提供在天然或工程化改造的糖基化位点 (诸如在高糖基化形式的治疗性蛋白质中找到的) 处的模块 (例如水

溶性聚合物)。

[0816] 经修饰的靶多肽的生物学活性可以依照本领域已知方法来测定。保留对应亲本蛋白质的至少一种期望药理学活性的经修饰的多肽是感兴趣的。

[0817] 免疫原性组合物

[0818] 本文中公开的方法,缀合物和化合物还可用于生成免疫原性组合物(例如治疗性疫苗)的成分。例如,所述化合物可用于推动延长多肽抗原的血清半衰期,提高多肽的免疫原性,或将非氨基酸抗原连接至多肽载体的模块的附着。在这个方面,所述化合物可用于推动微生物抗原(例如细菌,病毒,真菌,或寄生虫抗原),肿瘤抗原,和施用于受试者以在受试者中引发免疫反应感兴趣的其它抗原的修饰。还感兴趣的是对于引发作为研究工具有用的抗体有用的抗原的修饰。

[0819] 使用本文中公开的化合物进行修饰感兴趣的多肽的别的例子包括那些在测定法中对于检测或功能监测感兴趣的(例如作为研究工具,在药物筛选测定法中,等等)。这种类型的多肽的例子包括受体(例如G蛋白偶联受体(GPCR,包括孤儿GPCR)),受体配体(包括天然发生的和合成的),蛋白质通道(例如离子通道(例如钾通道,钙通道,钠通道,等等)),和其它多肽。在一些实施方案中,细胞表面相关多肽(诸如跨膜多肽)的修饰是感兴趣的,例如在多肽存在于膜中的同时实现此类修饰的情况下。下文进一步描述用于在生理条件下修饰多肽的方法。

[0820] 生成多肽的方法

[0821] 一般而言,本文所述多肽可以依照常规方式在原核生物或真核生物中表达,这取决于表达的目的。如此,本发明进一步提供了一种宿主细胞,例如包含编码多肽的核酸的经遗传修饰的宿主细胞。

[0822] 用于生成(包括大规模生成)适合于形成如本文所述缀合物的未缀合的或经修饰的多肽的宿主细胞可以选自多种可得的宿主细胞任一。宿主细胞的例子包括原核或真核单细胞生物体,诸如细菌(例如大肠杆菌(*Escherichia coli*)菌株,芽孢杆菌属(*Bacillus*)物种(例如枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)),等等),酵母或真菌(例如酿酒酵母(*S. cerevisiae*),毕赤酵母属(*Pichia*)物种,等等)的那些,而且可以使用其它此类宿主细胞。最初衍生自高等生物体诸如昆虫,脊椎动物(包括哺乳动物)的宿主细胞的例子(例如CHO,HEK,等等)可以用作表达宿主细胞。

[0823] 合适的哺乳动物细胞系包括但不限于HeLa细胞(例如美国典型培养物保藏中心(ATCC)编号CCL-2),CHO细胞(例如ATCC编号CRL9618和CRL9096),CHO DG44细胞(Urlaub (1983) Cell 33:405),CHO-K1细胞(ATCC CCL-61),293细胞(例如ATCC编号CRL-1573),Vero细胞,NIH 3T3细胞(例如ATCC编号CRL-1658),Huh-7细胞,BHK细胞(例如ATCC编号CCL10),PC12细胞(ATCC编号CRL1721),COS细胞,COS-7细胞(ATCC编号CRL1651),RAT1细胞,小鼠L细胞(ATCC编号CCLI.3),人胚肾(HEK)细胞(ATCC编号CRL1573),HLHepG2细胞,等等。

[0824] 感兴趣的特定表达系统包括细菌,酵母,昆虫细胞和哺乳动物细胞衍生的表达系统。

[0825] 所表达的多肽可以通过本领域已知的任何适宜手段来回收。而且,可以采用任何方便的蛋白质纯化规程,其中合适的蛋白质纯化方法描述于Guide to Protein Purification,(Deuthser编)(Academic Press,1990)。例如,可以自包含表达期望多肽的

表达载体的细胞制备裂解物,并使用高效液相层析(HPLC),排阻层析,凝胶电泳,亲和层析,等等来纯化。

[0826] 修饰多肽的方法

[0827] 在某些实施方案中,可以将多肽缀合至感兴趣模块,而没有首先修饰多肽。例如,多肽可以包括一个或多个适合于缀合至感兴趣模块(例如包含偶联模块的模块,诸如本文所述吡唑啉酮或吡唑啉酮衍生物)的反应性基团。在其它实施方案中,可以在缀合至感兴趣模块之前修饰多肽。修饰多肽可以产生含有一个或多个适合于缀合至感兴趣模块的反应性基团的经修饰的多肽。

[0828] 在一些情况中,可以在一个或多个氨基酸残基处修饰多肽以提供一个或多个适合于缀合至感兴趣模块(例如包含偶联模块的模块,诸如本文所述吡唑啉酮或吡唑啉酮衍生物)的反应性基团。例如,引入多肽中的羰基可以选择性地与 α -亲核试剂,诸如携带氨基氧基和酰肼的化合物反应。具有增强的动力学,位点选择性和缀合物稳定性的对蛋白质上的羰基官能团选择性的化学可导致改善的生物缀合物及获取如本文中公开的新产物和治疗靶。

[0829] 在某些实施方案中,可以修饰多肽以包括反应性醛基团(例如反应性醛)。反应性醛可以包括在“醛标签”中,“醛标签”意图指的是如下的衍生自硫酸酯酶基序的氨基酸序列,它已经通过甲酰甘氨酸生成酶(FGE)的作用而转变成含有2-甲酰甘氨酸残基(在本文中称作“fGly”)。由FGE生成的fGly残基在文献中也称作“甲酰甘氨酸”。换言之,术语“醛标签”在本文中用于指包含“已转变的”硫酸酯酶基序(即,其中的半胱氨酸或丝氨酸残基已经通过FGE的作用转变成fGly的硫酸酯酶基序,例如L(fGly)TPSR)的氨基酸序列。已转变的硫酸酯酶基序可衍生自包含“未转变的”硫酸酯酶基序(即,其中的半胱氨酸或丝氨酸残基尚未被FGE转变成fGly,但能够被转变的硫酸酯酶基序,例如具有序列L(C/S)TPSR的未转变的硫酸酯酶基序)的氨基酸序列。如在甲酰甘氨酸生成酶(FGE)作用于硫酸酯酶基序的背景中使用的,“转变”指的是硫酸酯酶基序中的半胱氨酸或丝氨酸残基生物化学修饰成甲酰甘氨酸(fGly)残基(例如,Cys转变成fGly,或Ser转变成fGly)。醛标签及其在位点特异性蛋白质修饰中的用途的另外的方面描述于US 7,985,783和2009年3月20日提交的美国申请公开文本No.2011/0117621,通过援引将其每一篇的公开内容收入本文。

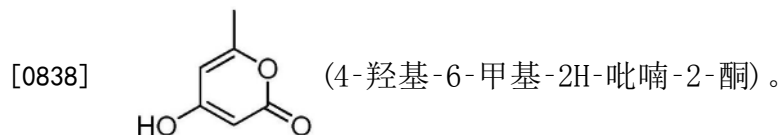
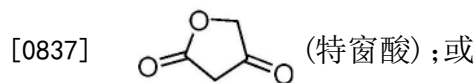
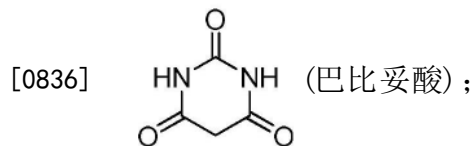
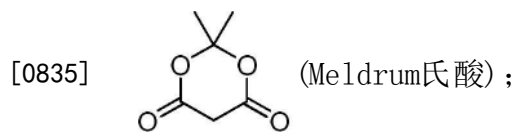
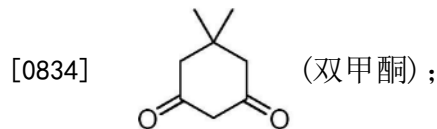
[0830] 转变多肽以包括fGly可以通过基于细胞的方法(体内)或无细胞的方法(体外)来实现。类似地,修饰多肽以生成适合于缀合的多肽(例如,修饰以生成含有适合于缀合的反应性基团的多肽)可以通过基于细胞的方法(体内)或无细胞的方法(体外)来实现。

[0831] 或者,可以在缺乏合适的酶的宿主细胞中重组生成或合成生成之后分离分离的,未修饰的多肽。然后将分离的多肽与合适的酶在对多肽提供期望修饰以包括fGly的条件下接触。可以通过本领域已知的方法(例如使用热,pH调整,离液剂(例如脲等等),有机溶剂(例如烃:辛烷,苯,氯仿),等)解折叠多肽,并将变性的蛋白质与合适的酶接触。然后可以在合适的条件下重折叠经修饰的多肽。

[0832] 在一些情况中,可以通过fGly与本文所述化合物(例如含有偶联模块的化合物,诸如本文所述吡唑啉酮或吡唑啉酮衍生物)反应将含有fGly残基的经修饰的多肽缀合至感兴趣模块。例如,可以自生成来源(例如重组宿主细胞生成,合成生成)分离含fGly的多肽,并与含反应性配偶的药物或其它模块(例如可检测标记物)在适合于提供药物或其它模块与

多肽缀合的条件下接触。例如,含反应性配偶的药物或其它模块可以包括反应性模块(例如本文所述吡唑啉酮或吡唑啉酮衍生物)。含吡唑啉酮的药物或其它模块可以与多肽反应以生成本文所述多肽缀合物。例如,图1显示了依照本公开内容的实施方案的多肽缀合物的示意图。图1A显示了用于生成包括环状偶联模块的多肽缀合物的反应流程。在图1A中,包括fGly的多肽与环状偶联模块(例如吡唑啉酮或吡唑啉酮衍生物)反应以生成包括环状偶联模块的多肽缀合物。图1B显示了用于生成包括无环偶联模块的多肽缀合物的反应流程。在图1B中,包括fGly的多肽与无环偶联模块反应以生成包括无环偶联模块的多肽缀合物。

[0833] 在一些情况中,含有fGly残基的经修饰的多肽可以通过fGly与诸如但不限于下述化合物中一项的化合物的反应而缀合至感兴趣模块:



[0839] 多肽缀合物

[0840] 可以对多肽进行缀合以提供极其多种模块的附着。感兴趣模块的例子包括但不限于药物,可检测标记物,小分子,水溶性聚合物,肽,等等(在本文中也称作“有效载荷”或“货物”)。如此,本公开内容提供了上文所述多肽缀合物。

[0841] 感兴趣的模块作为反应性配偶的成分而提供用于与多肽的残基反应。在某些实施方案中,多肽缀合的方法与适合于多肽的反应条件相容。例如,反应条件可以包括包括水的反应混合物。在一些情况中,反应混合物可以具有与多肽相容的pH,诸如但不限于4至11的pH,或5至10的pH,或6至9的pH,或6至8的pH。在某些情况中,反应混合物具有7的pH。在一些实施方案中,反应条件是在与多肽相容的温度实施的。例如,反应条件可以处于20℃至45℃,诸如25℃至40℃,或30℃至40℃,或35℃至40℃的温度。在一些情况中,反应条件处于室温(例如25℃)。在一些情况中,反应条件处于37℃的温度。

[0842] 提供本公开内容,普通技术人员能容易地使多种模块任一适应以提供用于缀合至本文中涵盖的多肽的反应性配偶。普通技术人员会领会,诸如pH和位阻(即经修饰的氨基酸残基与感兴趣的反应性配偶反应的可及性)等因素是重要的。修改反应条件以提供最佳缀合条件完全在普通技术人员的技能范围内,而且在本领域中是常规的。在用存在于活细胞

中或活细胞上的多肽进行缀合的情况下,选择条件以使其生理上相容。例如,pH可以暂时下降一段时间,足以容许反应发生但在细胞耐受的时段内(例如约30分钟至1小时)。用于在细胞表面上进行多肽修饰的生理条件可以类似于在修饰携带细胞表面叠氮化物的细胞中的酮-叠氮化物反应中使用的那些(参见例如US 6,570,040)。

[0843] 在某些实施方案中,本公开内容提供了一种多肽缀合物,其中所述多肽是抗体。这样的话,实施方案包括缀合至感兴趣模块的抗体,其中缀合至感兴趣模块的抗体称作“抗体缀合物”。Ig多肽一般至少包括Ig重链恒定区或Ig轻链恒定区,而且可以进一步包括Ig可变区(例如V_L区和/或V_H区)。Ig重链恒定区包括任何重链同种型的Ig恒定区,非天然发生Ig重链恒定区(包括共有Ig重链恒定区)。可以修饰Ig恒定区以缀合至感兴趣模块,其中感兴趣模块存在于Ig恒定区的溶剂可及环区中或邻近该区。

[0844] 在一些情况中,本公开内容的抗体缀合物可以包括:1) 缀合至一个或多个感兴趣模块的Ig重链恒定区,和缀合至一个或多个感兴趣模块的Ig轻链恒定区;2) 缀合至一个或多个感兴趣模块的Ig重链恒定区,和未缀合至感兴趣模块的Ig轻链恒定区;或3) 未缀合至感兴趣模块的Ig重链恒定区,和缀合至一个或多个感兴趣模块的Ig轻链恒定区。主题抗体缀合物还可以包括可变V_H和/或V_L域。如上文所述,一个或多个感兴趣模块可以在单个氨基酸残基处缀合至Ig重链恒定区或Ig轻链恒定区(例如一个或两个感兴趣模块缀合至单个氨基酸残基),或在两个或更多个不同氨基酸残基处缀合至Ig重链恒定区和/或Ig轻链恒定区。

[0845] 本公开内容的抗体缀合物可以包括本文所述多种化合物任一作为所缀合的模块,例如药物(例如肽药物,小分子药物,等等),水溶性聚合物,可检测标记物,合成肽,等。

[0846] 抗体缀合物可以具有上文所述多种抗原结合特异性任一,包括例如存在于癌细胞上的抗原;存在于自身免疫细胞上的抗原;存在于致病性微生物上的抗原;存在于病毒感染的细胞(例如人免疫缺陷病毒感染的细胞)上的抗原,例如CD4或gp120;存在于患病细胞上的抗原;等等。例如,抗体缀合物可以结合上文所述抗原,其中抗原存在于细胞表面上。本公开内容的抗体缀合物可以以合适的结合亲和力结合抗原,例如 $5 \times 10^{-6} \text{M}$ 至 10^{-7}M , 10^{-7}M 至 $5 \times 10^{-7} \text{M}$, $5 \times 10^{-7} \text{M}$ 至 10^{-8}M , 10^{-8}M 至 $5 \times 10^{-8} \text{M}$, $5 \times 10^{-8} \text{M}$ 至 10^{-9}M ,或大于 10^{-9}M 的结合亲和力。

[0847] 作为非限制性例子,主题抗体缀合物可以结合存在于癌细胞上的抗原(例如肿瘤特异性抗原;在癌细胞上过表达的抗原;等),而且所缀合的模块可以是细胞毒性化合物(例如细胞毒性小分子,细胞毒性合成肽,等)。例如,主题抗体缀合物可以是对癌细胞上的抗原特异性的,其中所缀合的模块是细胞毒性化合物(例如细胞毒性小分子,细胞毒性合成肽,等)。

[0848] 作为别的非限制性例子,主题抗体缀合物可以结合存在于受到病毒感染的细胞上的抗原(例如,抗原由病毒编码的情况;抗原在受到病毒感染的细胞类型上表达的情况;等),而且所缀合的模块可以是病毒融合抑制剂。例如,主题抗体缀合物可以结合受到病毒感染的细胞上存在的抗原,而且所缀合的模块可以是病毒融合抑制剂。

[0849] 本公开内容的实施方案还包括其中的多肽是载体蛋白的多肽缀合物。例如,载体蛋白可以共价且位点特异性地结合至药物以提供含药物的支架。载体蛋白可以位点特异性地缀合至共价结合的感兴趣分子,诸如药物(例如肽,小分子药物,等等),可检测标记物,等。在某些实施方案中,药物-支架缀合物能给药物提供延长的血清半衰期。

[0850] 一般而言,“载体蛋白”是如下的蛋白质,它是生物学上惰性的,易发生本文中公开的修饰,且能在生理环境中提供经由载体蛋白中的经修饰的氨基酸残基(例如,经由带有醛标签的载体蛋白的已转变的硫酸酯酶基序内的脞或脞键)缀合至载体蛋白的感兴趣模块的溶剂可及呈现。“生物学上惰性的”意图指示载体蛋白在施用于适宜的受试者时,诸如在施用于人受试者时展现临床上不显著或检测不到的生物学活性。如此,载体蛋白是生物学上惰性的在于它们例如具有低免疫原性,不展现显著或检测得到的靶向特性(例如,不展现显著或检测得到的结合特定受体的活性),而且展现很少或检测不到的可能干扰缀合至带有醛标签的载体蛋白的模块(例如药物或可检测标记物)的活性的生物学活性。“低免疫原性”意味着载体蛋白在施用于受试者,诸如哺乳动物受试者,例如人受试者后引发很少或检测不到的免疫反应。载体蛋白可以以单体或多聚体(例如二聚体)形式提供。

[0851] 当折叠时具有提供可发生修饰(且如此缀合至感兴趣模块)的多个不同溶剂可及位点的三维结构的载体蛋白是感兴趣的。一般而言,感兴趣的载体蛋白是那些具有如下尺寸和三维折叠结构的,其提供所缀合的感兴趣模块在溶剂可及表面上以空间上充分分开的方式呈现,从而提供所缀合的感兴趣模块的活性和生物利用度。载体蛋白可以根据多种因素来选择,包括但不限于要缀合至载体蛋白的模块(例如药物或可检测标记物)。

[0852] 因而,极其多种多肽任一可以适合用作载体蛋白用于本公开内容的载体蛋白缀合物中。此类载体蛋白可以包括那些具有天然发生氨基酸序列的,天然发生多肽的片段,和非天然发生多肽及其片段。

[0853] 载体蛋白的例子包括但不限于清蛋白及其片段(例如人血清清蛋白,牛血清清蛋白,等等),运铁蛋白及其片段(例如人运铁蛋白),和具有降低的与哺乳动物Fc受体,特别是人Fc受体的结合的Fc片段(例如,抗体(例如IgG),诸如哺乳动物抗体,例如人抗体的经修饰Fc片段)。具有降低的Fc受体结合的经修饰Fc片段的例子以Herceptin(曲妥珠单抗)和Rituxan(利妥昔单抗)的Fc片段例示,它们含有提供降低的Fc受体结合的点突变(参见例如Clynes等,Nature Medicine(2000),6,443-446)。或者/另外,可以根据期望水平的Fc受体结合来选择Fc片段的同种型(例如使用IgG4同种型人重链恒定区的而非来自IgG1或IgG3的Fc片段)(参见例如Fridman,FASEB J 1991Sep;5(12):2684-90)。一般而言,载体蛋白可以是至少约4kDa(例如长度为约50个氨基酸残基),通常是至少约25kDa,而且尺寸可以更大(例如,运铁蛋白具有90kDa的分子量,而Fc片段可以具有30kDa至50kDa的分子量)。

[0854] 本文所述缀合物可以用于多种应用,包括但不限于使用荧光的可视化或表位标记(例如使用配备有用于缀合至本文所述化合物和缀合物的反应性基团的金颗粒的电子显微术);蛋白质固定化(例如蛋白质微阵列生成);蛋白质动力学和定位研究和应用;和蛋白质与感兴趣模块(例如改善亲本蛋白质的半衰期的模块(例如聚(乙二醇)),靶向模块(例如用于增强对作用部位的投递),和生物学活性模块(例如治疗性模块))的缀合。

[0855] 多肽缀合物可以包括缀合至提供极其多种功能或特征中一种或多种的模块的多肽。一般而言,模块的例子包括但不限于下述:可检测标记物(例如荧光标记物);光活化的动态模块(例如偶氮苯介导的孔闭合,偶氮苯介导的结构变化,光致脱囚禁(photodecaging)识别基序);水溶性聚合物(例如PEG化);纯化标签(例如用于推动通过亲和层析的分离(例如FLAG表位的附着));膜定位域(例如脂质或糖磷脂酰肌醇(GPI)型锚);固定化标签(例如用于推动多肽附着至表面,包括选择性附着);药物(例如用于推动药物靶

向,例如经由药物附着至抗体);靶向投递模块(例如用于结合至靶受体的配体(例如用于推动病毒附着,存在于脂质体上的靶向蛋白的附着,等)),等等。

[0856] 下文提供了特定的非限制性例子。

[0857] 用于缀合至多肽的药物

[0858] 多种药物任一适合使用,或可以经过修饰以使得其适合使用,作为缀合至多肽的反应性配偶。药物的例子包括小分子药物和肽药物。如此,本公开内容提供了药物-多肽缀合物。

[0859] 如本文中使用的,“小分子药物”指的是如下的化合物,例如有机化合物,其展现感兴趣的药理学活性且一般具有800Da或更小,或2000Da或更小的分子量,但可以涵盖高达5kDa的分子且可以大至10kDa。无机小分子指的是不含碳原子的分子,而有机小分子指的是含有至少一个碳原子的化合物。

[0860] 如本文中使用的,“肽药物”指的是含氨基酸的聚合化合物,而且意图涵盖天然发生的和非天然发生的肽,寡肽,环肽,多肽,和蛋白质,以及肽模拟物。肽药物可以通过化学合成来获得,或者可以自遗传编码的来源(例如重组来源)生成。肽药物可以具有一定范围的分子量,而且分子量可以是200Da至10kDa或更大。

[0861] 在一些情况中,所述药物是癌症化疗剂。例如,在多肽是对肿瘤细胞具有特异性的抗体(或其片段)的情况下,可以如本文所述修饰抗体以包括经修饰的氨基酸,它随后能缀合至癌症化疗剂。癌症化疗剂包括降低癌细胞增殖的非肽(即非蛋白质)化合物,而且涵盖细胞毒剂和细胞抑制剂。化疗剂的非限制性例子包括烷化剂,亚硝基脲,抗代谢物,抗肿瘤抗生素,植物(长春花)生物碱,和类固醇激素。还可以使用肽化合物。

[0862] 合适的癌症化疗剂包括多拉司他汀(dolastatin)及其活性类似物和衍生物;和奥瑞司他汀(auristatin)及其活性类似物和衍生物(例如单甲基奥瑞司他汀D(MMAD),单甲基奥瑞司他汀E(MMAE),单甲基奥瑞司他汀F(MMAF),等等)。参见例如WO 96/33212,W096/14856,及US 6,323,315。例如,多拉司他汀10或奥瑞司他汀PE可以包括在本公开内容的抗体-药物缀合物中。合适的癌症化疗剂还包括类美登素(maytansinoid)及其活性类似物和衍生物(参见例如EP 1391213;及Liu等(1996)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 93:8618-8623);倍癌霉素(duocarmycin)及其活性类似物和衍生物(例如包括合成类似物KW-2189和CB 1-TM1);和苯并二氮杂卓及其活性类似物和衍生物(例如吡咯并苯并二氮杂卓(PBD))。

[0863] 起降低细胞增殖作用的药剂是本领域已知的且广泛使用是。此类药剂包括烷化剂,诸如氮芥,亚硝基脲,乙撑亚胺衍生物,磺酸烷基酯,和三氮烯,包括但不限于二氯甲基二乙胺(mechlorethamine),环磷酰胺(CytosanTM),美法仑(melphalan)(L-沙可来新(sarcolysin)),卡莫司汀(carmustine)(BCNU),洛莫司汀(lomustine)(CCNU),司莫司汀(semustine)(甲基-CCNU),链脲菌素(streptozocin),氯脲霉素(chlorozotocin),尿嘧啶氮芥(uracil mustard),双氯乙基甲胺(chlormethine),异环磷酰胺(ifosfamide),苯丁酸氮芥(chlorambucil),哌泊溴烷(pipobroman),三乙撑蜜胺(triethylenemelamine),三乙撑硫代磷酸胺(triethylenethiophosphoramine),白消安(busulfan),达卡巴嗪(dacarbazine),和替莫唑胺(temozolomide)。

[0864] 抗代谢物剂包括叶酸类似物,嘧啶类似物,嘌呤类似物,和腺苷脱氨酶抑制剂,包括但不限于阿糖胞苷(cytarabine)(CYTOSAR-U),胞嘧啶阿拉伯糖苷(cytosine

arabinoside), 氟尿嘧啶 (5-FU), 氟尿苷 (floxuridine) (FudR), 6-硫鸟嘌呤, 6-巯基嘌呤 (6-MP), 喷司他丁 (pentostatin), 5-氟尿嘧啶 (5-FU), 甲氨蝶呤 (methotrexate), 10-炔丙基-5,8-二脱氮杂叶酸 (PDDF, CB3717), 5,8-二脱氮杂四氢叶酸 (DDATHF), 甲酰四氢叶酸 (leucovorin), 磷酸氟达拉滨 (fludarabine phosphate), 喷司他丁, 和吉西他滨 (gemcitabine)。

[0865] 合适的天然产物及其衍生物 (例如长春花生物碱, 抗肿瘤抗生素, 酶, 淋巴因子, 和表鬼臼毒素 (epipodophyllotoxin)) 包括但不限于 Ara-C, 帕利他赛 (paclitaxel) (Taxol®), 多西他赛 (docetaxel) (Taxotere®), 脱氧助间型霉素 (deoxycoformycin), 丝裂霉素 (mitomycin) -C, L-天冬酰胺酶, 硫唑嘌呤 (azathioprine); 布喹那 (brequinar); 生物碱, 例如长春新碱 (vincristine), 长春碱 (vinblastine), 长春瑞滨 (vinorelbine), 长春地辛 (vindesine), 等; 鬼臼毒素 (podophyllotoxin), 例如依托泊苷 (etoposide), 替尼泊苷 (teniposide), 等; 抗生素, 例如蒽环霉素 (anthracycline), 盐酸柔红霉素 (daunorubicin hydrochloride) (道诺霉素 (daunomycin), 红比霉素 (rubidomycin), 司比定 (cerubidine)), 伊达比星 (idarubicin), 多柔比星 (doxorubicin), 表柔比星 (epirubicin) 和吗啉代 (morpholino) 衍生物, 等; 吩噻嗪酮双环肽 (phenoxizone biscyclopeptide), 例如放线菌素 D (dactinomycin); 碱性糖肽 (basic glycopeptide), 例如博莱霉素 (bleomycin); 蒽醌苷 (anthraquinone glycoside), 例如普卡霉素 (plicamycin) (光神霉素 (mithramycin)); 蒽二酮 (anthracenedione), 例如米托蒽醌 (mitoxantrone); 氮丙啶吡咯并吡啶二酮 (azirinopyrrolo indoledione), 例如丝裂霉素 (mitomycin); 大环免疫抑制剂, 例如环孢菌素 (cyclosporine), FK-506 (他克莫司 (tacrolimus), 普乐可复 (prograf)), 雷帕霉素 (rapamycin), 等; 等等。

[0866] 其它抗增殖细胞毒剂为诺维本 (navelbene), CPT-11, 阿那曲唑 (anastrozole), 来曲唑 (letrozole), 卡培他滨 (capecitabine), 雷洛昔芬 (reloxafine), 环磷酰胺, 异环磷酰胺, 和屈洛昔芬 (droloxafine)。

[0867] 具有抗增殖活性的微管影响剂也适合使用, 而且包括但不限于别秋水仙素 (allicolchicine) (NSC 406042), 软海绵素 (Halichondrin) B (NSC 609395), 秋水仙素 (colchicine) (NSC 757), 秋水仙素衍生物 (例如 NSC 33410), 多拉司他汀 10 (NSC 376128), 美登素 (NSC 153858), 根霉菌素 (rhizoxin) (NSC 332598), 帕利他赛 (Taxol®), Taxol® 衍生物, 多西他赛 (Taxotere®), 硫代秋水仙素 (thiocolchicine) (NSC 361792), 三苯甲基半胱氨酸 (trityl cysterin), 硫酸长春碱 (vinblastine sulfate), 硫酸长春新碱 (vincristine sulfate), 天然的和合成的埃博霉素 (epothilone) (包括但不限于埃博霉素 A, 埃博霉素 B), 圆皮海绵内酯 (discodermolide); 雌莫司汀 (estramustine), 诺考达唑 (nocodazole), 等等。

[0868] 适合使用的激素调节剂和类固醇 (包括合成类似物) 包括但不限于肾上腺皮质类固醇, 例如强的松 (prednisone), 地塞米松 (dexamethasone), 等; 雌激素和孕酮, 例如己酸羟孕酮 (hydroxyprogesterone caproate), 醋酸甲羟孕酮 (medroxyprogesterone acetate), 醋酸甲地孕酮 (megestrol acetate), 雌二醇 (estradiol), 克罗米芬 (clomiphene), 他莫昔芬 (tamoxifen), 等; 和肾上腺皮质抑制剂, 例如氨鲁米特

(aminoglutethimide); 17 α -乙炔基雌二醇 (17 α -ethinylestradiol); 己烯雌酚 (diethylstilbestrol), 睾酮 (testosterone), 氟甲睾酮 (fluoxymesterone), 丙酸屈他雄酮 (dromostanolone propionate), 睾内酯 (testolactone), 甲泼尼龙 (methylprednisolone), 甲基睾酮 (methyl-testosterone), 泼尼龙 (prednisolone), 曲安西龙 (triamcinolone), 氯烯雌醚 (chlorotrianisene), 羟孕酮 (hydroxyprogesterone), 氨鲁米特, 雌莫司汀, 醋酸甲羟孕酮, 亮丙瑞林 (leuprolide), 氟他胺 (Flutamide) (佐吉能 (Drogenil)), 托瑞米芬 (Toremifene) (法乐通 (Fareston)), 和 Zoladex[®]。雌激素刺激增殖和分化; 因此, 使用结合雌激素受体的化合物来阻断这种活性。皮质类固醇可以抑制T细胞增殖。

[0869] 其它合适的化疗剂包括金属复合物, 例如顺铂 (cis-DDP), 卡铂, 等; 脲, 例如羟基脲; 和胍, 例如N-甲基胍; 表鬼臼毒素; 拓扑异构酶抑制剂; 丙卡巴胍 (procarbazine); 米托蒽醌; 甲酰四氢叶酸; 替加氟 (tegafur); 等。其它感兴趣的抗增殖剂包括免疫抑制剂, 例如霉酚酸 (mycophenolic acid), 沙利度胺 (thalidomide), 脱氧精胍菌素 (desoxyspergualin), 氮杂孢菌素 (azasporine), 来氟米特 (leflunomide), 咪唑立宾 (mizoribine), 氮杂螺烷 (azaspirane) (SKF 105685); Iressa[®] (ZD 1839, 4-(3-氯-4-氟苯基氨基)-7-甲氧基-6-(3-(4-吗啉基)丙氧基)喹唑啉); 等。

[0870] 紫杉烷 (taxane) 适合使用。“紫杉烷”包括帕利他赛 (paclitaxel), 以及任何活性紫杉烷衍生物或前药。“帕利他赛” (其在本文中应理解为包括类似物, 配制剂, 和衍生物, 诸如多西他赛 (docetaxil), TAXOL[™], TAXOTERE[™] (多西他赛的一种配制剂), 帕利他赛的10-脱乙酰基类似物和帕利他赛的3'-N-脱苄酰基-3'-N-叔丁氧羰基类似物) 可以容易地利用本领域技术人员知道的技术来制备 (还参见W0 94/07882, W0 94/07881, W0 94/07880, W094/07876, W0 93/23555, W0 93/10076; 美国专利No. 5,294,637; 5,283,253; 5,279,949; 5,274,137; 5,202,448; 5,200,534; 5,229,529; 和EP 590,267), 或自多种商业来源获得, 包括例如 Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo. (T7402, 来自短叶红豆杉 (Taxus brevifolia); 或T-1912, 来自云南红豆杉 (Taxus yunnanensis))。

[0871] 帕利他赛应理解为不仅指帕利他赛的常见化学可用形式, 而且指类似物和衍生物 (例如上文所述Taxotere[™]多西他赛) 和帕利他赛缀合物 (例如帕利他赛-PEG, 帕利他赛-右旋糖苷, 或帕利他赛-木糖)。

[0872] 术语“紫杉烷”内还包括多种已知的衍生物, 包括亲水性衍生物和疏水性衍生物二者。紫杉烷衍生物包括但不限于国际专利申请No. W0 99/18113中描述的半乳糖和甘露糖衍生物; W0 99/14209中描述的哌嗪代 (piperazino) 和其它衍生物; W0 99/09021, W098/22451, 和美国专利No. 5,869,680中描述的紫杉烷衍生物; W0 98/28288中描述的6-硫代衍生物; 美国专利No. 5,821,263中描述的次磺酰胺 (sulfenamide) 衍生物; 和美国专利No. 5,415,869中描述的泰素 (taxol) 衍生物。它进一步包括帕利他赛的前药, 包括但不限于W0 98/58927; W0 98/13059; 和美国专利No. 5,824,701中描述的那些。

[0873] 适合使用的生物反应调节剂包括但不限于 (1) 酪氨酸激酶 (RTK) 活性的抑制剂; (2) 丝氨酸/苏氨酸激酶活性的抑制剂; (3) 肿瘤相关抗原拮抗剂, 诸如特异性结合肿瘤抗原的抗体; (4) 凋亡受体激动剂; (5) 白介素-2; (6) IFN- α ; (7) IFN- γ ; (8) 集落刺激因子; 和 (9) 血管生成的抑制剂。

[0874] 用于修饰药物以含有反应性配偶的方法

[0875] 可以修饰要缀合至多肽的药物以并入用于与多肽反应的反应性配偶。在药物是肽药物的情况下,反应性模块(例如氨基氧基或酰肼)可以位于肽的N端区,N端,C端区,C端,或内部位置处。例如,方法的一个例子涉及合成具有氨基基团的肽药物。在这个例子中,自Boc保护的前体合成肽。肽的氨基基团可以与包含羧酸基团和氧基-N-Boc基团的化合物反应。作为一个例子,肽的氨基基团与3-(2,5-二氧代吡咯烷-1-基氧基)丙酸反应。包含羧酸基团和氧基-N-保护基团的化合物上的其它变化可以包括亚烷基接头中的不同数目的碳和亚烷基接头上的取代基。肽的氨基基团和包含羧酸基团和氧基-N-保护基团的化合物之间的反应经由标准肽偶联化学而发生。可以使用的肽偶联试剂的例子包括但不限于DCC(二环己基碳二亚胺),DIC(二异丙基碳二亚胺),二对甲苯甲酰基碳二亚胺,BDP(1-苯并三唑二乙基磷酸-1-环己基-3-(2-吗啉基乙基)碳二亚胺),EDC(1-(3-二甲基氨基丙基-3-乙基-碳二亚胺)盐酸盐),三聚氟氰(cyanuric fluoride),三聚氯氰(cyanuric chloride),TFFH(六氟磷酸四甲基氟甲酰胺),DPPA(二苯基磷酰叠氮化物),BOP(六氟磷酸苯并三唑-1-基氧基三(二甲基氨基)膦),HBTU(六氟磷酸O-苯并三唑-1-基-N,N,N',N'-四甲基脲),TBTU(四氟硼酸O-苯并三唑-1-基-N,N,N',N'-四甲基脲),TSTU(四氟硼酸O-(N-琥珀酰亚胺基)-N,N,N',N'-四甲基脲),HATU(六氟磷酸N-[(二甲基氨基)-1-H-1,2,3-三唑并[4,5,6]-吡啶-1-基亚甲基]-N-甲基甲胺N-氧化物),BOP-Cl(双(2-氧代-3-咪唑烷基)次磷酰氯),PyBOP(四氟磷酸(1-H-1,2,3-苯并三唑-1-基氧基)-三(吡咯烷基)膦),BrOP(六氟磷酸溴代三(二甲基氨基)膦),DEPBT(3-(二乙氧基磷酰氧基)-1,2,3-苯并三唑-4(3H)-酮),PyBrOP(六氟磷酸溴代三(吡咯烷基)膦)。作为一个非限制性例子,HOBt和DIC可以用作肽偶联试剂。

[0876] 对包含N-保护基团的肽实施脱保护以暴露氨基氧基官能度。例如,N-氧基琥珀酰亚胺基团的脱保护依照环酰胺基团的标准脱保护条件而发生。脱保护条件可见于Greene和Wuts,Protective Groups in Organic Chemistry,第3版,1999,John Wiley&Sons NY和Harrison等。某些脱保护条件包括肼试剂,氨基试剂,或硼氢化钠。Boc保护基团的脱保护可以用TFA发生。用于脱保护的其它试剂包括但不限于肼,甲基肼,苯基肼,硼氢化钠,和甲胺。产物和中间物可以通过常规手段来纯化,诸如HPLC纯化。

[0877] 普通技术人员会领会,诸如pH和位阻(即氨基酸残基与感兴趣的反应性配偶反应的可及性)等因素是重要的。修改反应条件以提供最佳缀合条件完全在普通技术人员的技能范围内,而且在本领域是常规的。在用存在于活细胞中或活细胞上的多肽进行缀合的情况下,选择条件以使其在生理上相容。例如,pH可以暂时下降一段时间,足以容许反应发生但在细胞耐受的时段内(例如约30分钟至1小时)。用于在细胞表面上进行多肽修饰的生理条件可以类似于在修饰携带细胞表面叠氮化物的细胞的酮-叠氮化物反应中使用的那些(参见例如US 6,570,040)。

[0878] 含有或经过修饰以含有充当本文中公开的化合物或缀合物的反应性配偶的 α -亲核基团的小分子化合物也涵盖用作本公开内容的多肽-药物缀合物中的药物。对于合成感兴趣化合物有用的化学合成流程和条件的一般方法是本领域中已知的(参见例如Smith和March,March's Advanced Organic Chemistry:Reactions,Mechanisms,and Structure,第5版,Wiley-Interscience,2001;或Vogel,A Textbook of Practical Organic Chemistry,Including Qualitative Organic Analysis,第4版,New York:Longman,

1978)。

[0879] 肽药物

[0880] 在一些情况中,缀合物包含共价连接的肽。合适的肽包括但不限于细胞毒性肽;血管生成肽;抗血管生成肽;活化B细胞的肽;活化T细胞的肽;抗病毒肽;抑制病毒融合的肽;提高一种或多种淋巴细胞群体生成的肽;抗微生物肽;生长因子;生长激素释放因子;血管活性肽;消炎肽;调控葡萄糖代谢的肽;抗血栓肽;抗疼痛肽;舒血管肽;血小板聚集抑制剂;止痛剂;等等。

[0881] 在一些实施方案中,肽可以化学合成以包括与多肽的氨基酸残基或经修饰的氨基酸残基反应性的基团。合适的合成肽具有5个氨基酸至100个氨基酸,或长于100个氨基酸的长度;例如,合适的肽具有5个氨基酸(aa)至10aa,10aa至15aa,15aa至20aa,20aa至25aa,25aa至30aa,30aa至40aa,40aa至50aa,50aa至60aa,60aa至70aa,70aa至80aa,80aa至90aa,或90aa至100aa的长度。

[0882] 在某些实施方案中,可以修饰肽以含有含 α -亲核试剂的模块(例如氨基氧基或酰肼模块),例如能与含fGly的多肽反应以产生多肽和肽分别通过胺或肼键连接的缀合物。上文描述了合成肽的方法的例子,使得合成肽包含与多肽的氨基酸残基或经修饰的氨基酸残基反应性的反应性基团。

[0883] 合适的肽包括但不限于hLF-11(乳铁蛋白的11个氨基酸的N端片段),一种抗微生物肽;粒溶素(granulysin),一种抗微生物肽;菌丝霉素(Plectasin)(NZ2114;SAR 215500),一种抗微生物肽;病毒融合抑制剂,诸如福泽昂(Fuzeon)(恩夫韦地(enfuvirtide)),TRI-1249(T-1249;参见例如Matos等(2010)PLoS One 5:e9830),TRI-2635(T-2635;参见例如Eggink等(2009)J.Biol.Chem.284:26941),T651和TRI-1144;C5a受体抑制剂,诸如PMX-53,JPE-1375,和JSM-7717;POT-4,一种人补体因子C3抑制剂;胰腺蛋白(Pancreate)(一种INGAP衍生序列,一种HIP-人前胰蛋白);生长抑素;生长抑素类似物,诸如DEBI08609(Sanvar),奥曲肽(octreotide),奥曲肽C2L,奥曲肽QLT,奥曲肽LAR,善得定(Sandostatin)LAR,SomaLAR,索马杜林(Somatuline)(兰瑞肽(lanreotide)),参见例如Deghenghi等(2001)Endocrine 14:29;TH9507(替莫瑞林(Tesamorelin),一种生长激素释放因子);POL7080(一种protegrin类似物,一种抗微生物肽);松弛素;促皮质素释放因子激动剂,诸如尾加压素(urotensin),蛙皮降压肽(sauvagine),等等;热休克蛋白衍生物,诸如DiaPep277;人免疫缺陷病毒进入抑制剂;热休克蛋白-20模拟物,诸如AZX100;凝血酶受体活化肽,诸如TP508(Chrysalin);尿皮素(urocortin)2模拟物(例如CRF2激动剂),诸如尿皮素-2;免疫活化剂,诸如日达仙(Zadaxin)(胸腺法新(thymalfasin);胸腺素(thymosin)- α 1),参见例如Sjogren(2004)J.Gastroenterol.Hepatol.19:S69;丙型肝炎病毒(HCV)进入抑制剂E2肽,诸如HCV3;心房钠尿肽,诸如HANP(Sun 4936;卡培立肽(carperitide));膜联蛋白肽(annexin peptide);防御素(defensin)(抗微生物肽),诸如hBD2-4;防御素(抗微生物肽),诸如hBD-3;防御素(抗微生物肽),诸如PMX-30063;组胺素(histatin)(抗微生物肽),诸如组胺素-3,组胺素-5,组胺素-6,和组胺素-9;组胺素(抗微生物肽),诸如PAC-113;吲哚力西丁(indolicidin)(抗微生物肽),诸如MX-594AN(奥米加宁(Omniganin);CLS001);吲哚力西丁(抗微生物肽),诸如奥米加德(Omnigard)(MBI-226;CPI-226);抗微生物肽,诸如昆虫天蚕抗菌肽(cecropin);抗微生物肽,诸如乳铁蛋白(塔乳铁蛋白

(talactoferrin); LL-37/金环蛇抗菌肽(cathelicidin) 衍生物(一种抗微生物肽), 诸如 P60.4 (OP-145); 爪蟾抗菌肽(magainin) (一种抗微生物肽), 诸如培西加南(Pexiganan) (MSI-78; 苏泊奈(Suponex)); protegrin(一种抗微生物肽), 诸如IB-367(依色加南(Iseganan)); 阿甘肽(agan peptide); β -钠尿肽, 诸如内西利他(Natreacor), 或诺拉塔(Noratak)(奈西立肽(Nesiritide)), 或乌拉立肽(ularitide); 比伐卢定(bivalarudin)(安吉马(Angiomax)), 凝血酶抑制剂; C肽衍生物; 降钙素, 诸如米卡星(Miacalcin)(复能素(Fortical)); 脑啡肽衍生物; 红细胞生成刺激肽, 诸如培尼沙肽(Hematide); 间隙连接调节剂, 诸如达奈加肽(Danegaptide)(ZP1609); 胃泌素释放肽(gastrin-releasing peptide); 饥饿素(ghrelin); 胰高血糖素样肽; 胰高血糖素样肽-2类似物, 诸如ZP1846或ZP1848; 葡萄糖胺基胞壁酰二肽, 诸如GMDP; 糖肽抗生素, 诸如奥利万星(Oritavancin); 替考拉宁(teicoplanin) 衍生物, 诸如达巴万星(Dalbavancin); 促性腺激素释放激素(GnRH), 诸如诺雷德(Zoladex)(鲁泊(Lupon))或曲普瑞林(Triptorelin); 组蛋白脱乙酰酶(HDAC) 抑制剂缩酚肽, 诸如PM02734(依伐雷克(Irvallec)); 整联蛋白(integrin), 诸如埃替非巴肽(eptifibatide); 胰岛素类似物, 诸如优泌乐(Humalog); 卡哈拉得(kahalalide) 缩酚肽, 诸如PM02734; 血管舒缓素(kallikrein) 抑制剂, 诸如卡比托(Kalbitor)(艾卡拉肽(ecallantide)); 抗生素, 诸如特拉万星(Telavancin); 脂肽, 诸如库比星(Cubicin)或MX-2401; 促黄体激素释放激素(LHRH), 诸如戈舍瑞林(goserelin); LHRH合成十肽激动剂类似物, 诸如特斯塔(Treistar)(双羟萘酸曲普瑞林(triptorelin pamoate)); LHRH, 诸如艾里咖(Eligard); M2蛋白质通道肽抑制剂; 美曲普汀(metreleptin); 黑皮质素(melanocortin) 受体激动剂肽, 诸如布雷默浪丹(bremalanotide)/PT-141; 黑皮质素; 胞壁酰三肽, 诸如美帕特(Mepact)(米伐木肽(mifamurtide)); 髓磷脂碱性蛋白肽, 诸如MBP 8298(地瑞考肽(dirucotide)); N型电压门控钙通道阻断剂, 诸如齐考诺肽(Ziconotide)(派瑞特(Prialt)); 甲状旁腺激素肽; 甲状旁腺类似物, 诸如768974; 肽激素类似物, 诸如UGP281; 前列腺素F₂- α 受体抑制剂, 诸如PDC31; 蛋白酶抑制剂, 诸如PPL-100; 舒法新(surfaxin); 血小板反应蛋白(thrombospondin)-1(TSP-1) 模拟物, 诸如CVX-045或ABT 510; 血管活性肠肽; 血管加压素; Y2R激动剂肽, 诸如RG7089; 奥滨肽(obinepeptide); 和TM30339。

[0884] 可检测标记物

[0885] 本公开内容的缀合物, 化合物和方法可用于将可检测标记物缀合至多肽。可检测标记物的例子包括但不限于发荧光分子(例如自身发荧光分子, 与试剂接触后发荧光的分子, 等), 放射性标记物(例如¹¹¹In, ¹²⁵I, ¹³¹I, ²¹²B, ⁹⁰Y, ¹⁸⁶Rh, 等等), 生物素(例如经由生物素和亲合素的反应来检测), 发荧光标签, 成像试剂, 等等。可检测标记物还包括能通过抗体结合来检测的肽或多肽, 例如通过可检测标记的抗体的结合或经由三明治型测定法通过结合的抗体来结合。可检测标记物的别的例子包括但不限于染料标记物, 例如发色团, 荧光团, 诸如但不限于Alexa Fluor®发荧光染料(例如Alexa Fluor® 350, 405, 430, 488, 532, 546, 555, 568, 594, 595, 610, 633, 635, 647, 660, 680, 700, 750, 790, 等等), 香豆素, 罗丹明(5-羧基罗丹明及其磺基衍生物, 例如5-羧基-二磺基-罗丹明), carbopyranin和噁嗪, 诸如ATTO染料(例如ATTO 390, 425, 465, 488, 495, 520, 532, 550, 565, 590, 594, 610, 611X, 620, 633, 635, 637, 647, 647N, 655, 665, 680, 700, 725或740), 生物物理探针(自旋标记物, 核磁共振(NMR) 探针), Förster共振能量转移(FRET) 型标记物(例如FRET对的至少一个成员, 包括荧光

团/淬灭团对的至少一个成员),生物发光共振能量转移(BRET)型标记物(例如BRET对的至少一个成员),免疫可检测标签(例如FLAG,His(6),等等),定位标签(例如在组织或分子细胞水平上鉴别带有标签的多肽的联合(例如与组织类型或特定细胞膜的联合)),等等。

[0886] 要投递至靶部位的模块的附着

[0887] 本公开内容的实施方案还包括如下的多肽,其缀合至一个或多个模块,诸如但不限于药物(例如小分子药物),毒素,或要投递至靶部位(例如细胞)的其它分子,而且能提供药理活性或能充当用于投递其它分子的靶标。

[0888] 还涵盖如下的缀合物,其包括一对结合配偶之一(例如配体,受体的配体结合部分,配体的受体结合部分,等)。例如,缀合物可以包括如下的多肽,其充当病毒受体,而且在与病毒包膜蛋白或病毒衣壳蛋白结合后,推动病毒附着至表达经修饰的多肽的细胞表面。或者,缀合物可以包括如下的抗原,其受到抗体(例如单克隆抗体)的特异性结合,以推动表达经修饰的多肽的宿主细胞的检测和/或分离。

[0889] 靶分子对支持物的附着

[0890] 所述方法能提供多肽缀合至推动多肽附着至固体基质(例如推动测定法)的模块,或推动容易分离的模块(例如受到结合至磁珠的抗体识别的半抗原)。在一些实施方案中,所述方法用于提供蛋白质附着至呈限定取向的阵列(例如芯片)。例如,可以生成在选定位点处(例如在N端或N端附近)修饰的多肽,而且使用所述方法,缀合物和化合物将模块投递至经修饰的多肽。然后可以使用所述模块作为附着位点用于将多肽附着至支持物(例如固体或半固体支持物,诸如适合用作高通量测定法中的微芯片的支持物)。

[0891] 水溶性聚合物

[0892] 在一些情况中,缀合物包括共价连接的水溶性聚合物。特别感兴趣的模块是水溶性聚合物。“水溶性聚合物”指的是可溶于水且通常基本上无免疫原性,且通常具有大于1,000道尔顿的原子分子量的聚合物。可以使用本文所述方法,缀合物和化合物将一种或多种水溶性聚合物附着至多肽。水溶性聚合物(例如PEG)对多肽(诸如药理学活性的(例如治疗性的)多肽)的附着可能是想要的,因为此类修饰能通过延长血清半衰期(作为提高蛋白水解稳定性和/或降低肾清除的结果)来提高治疗指数。另外,一种或多种聚合物的附着(例如PEG化)能降低蛋白质药物的免疫原性。

[0893] 在一些实施方案中,水溶性聚合物具有大于5,000Da,大于10,000Da,大于20,000至500,000Da,大于40,000Da至300,000Da,大于50,000Da至70,000Da,诸如大于60,000Da的有效流体动力学分子量。在一些实施方案中,水溶性聚合物具有10kDa至20kDa,20kDa至25kDa,25kDa至30kDa,30kDa至50kDa,或50kDa至100kDa的有效流体动力学分子量。“有效流体动力学分子量”意指如通过水基大小排阻层析(SEC)测定的,聚合物链的有效水溶剂化尺寸。当水溶性聚合物含有具有聚氧化烯重复单元(诸如氧化乙烯重复单元)的聚合物链时,每条链可以具有200Da至80,000Da,或1,500Da至42,000Da,包括2,000至20,000Da的原子分子量。除非特别提及,分子量意图指的是原子分子量。可以使用线性,分支,和末端带电荷的水溶性聚合物(例如PEG)。

[0894] 作为要附着至多肽的模块有用的聚合物可以具有宽范围的分子量和聚合物亚单元。这些亚单元可以包括生物聚合物,合成聚合物,或其组合。此类水溶性聚合物的例子包括:右旋糖苷和右旋糖苷衍生物,包括硫酸右旋糖苷;P-氨基交联糊精,和羧甲基糊精,纤维

素和纤维素衍生物,包括甲基纤维素和羧甲基纤维素,淀粉和糊精,及淀粉的衍生物和水解产物,聚烷撑二醇及其衍生物,包括聚乙二醇,甲氧基聚乙二醇,聚乙二醇均聚物,聚丙二醇均聚物,乙二醇与丙二醇的共聚物,其中所述均聚物和共聚物是未取代的或在一端用烷基取代的,肝素和肝素的片段,聚乙烯醇和聚乙烯基乙基醚,聚乙烯吡咯烷酮,天冬酰胺,和聚氧乙基化多元醇,连同右旋糖苷和右旋糖苷衍生物,糊精和糊精衍生物。会领会,还涵盖特别列举的水溶性聚合物的各种衍生物。

[0895] 水溶性聚合物(诸如上文所述那些)包括基于聚氧化烯的聚合物,诸如聚乙二醇“PEG”(参见例如“Poly(ethylene glycol) Chemistry: Biotechnical and Biomedical Applications”, J.M.Harris编, Plenum Press, New York, N.Y. (1992); 和“Poly(ethylene glycol) Chemistry and Biological Applications”, J.M.Harris和S.Zalipsky编, ACS (1997); 及国际专利申请: WO 90/13540, WO 92/00748, WO 92/16555, WO 94/04193, WO 94/14758, WO 94/17039, WO 94/18247, WO 94/28937, WO 95/11924, WO 96/00080, WO 96/23794, WO 98/07713, WO 98/41562, WO 98/48837, WO 99/30727, WO 99/32134, WO 99/33483, WO 99/53951, WO 01/26692, WO 95/13312, WO 96/21469, WO 97/03106, WO 99/45964, 和美国专利No. 4,179,337; 5,075,046; 5,089,261; 5,100,992; 5,134,192; 5,166,309; 5,171,264; 5,213,891; 5,219,564; 5,275,838; 5,281,698; 5,298,643; 5,312,808; 5,321,095; 5,324,844; 5,349,001; 5,352,756; 5,405,877; 5,455,027; 5,446,090; 5,470,829; 5,478,805; 5,567,422; 5,605,976; 5,612,460; 5,614,549; 5,618,528; 5,672,662; 5,637,749; 5,643,575; 5,650,388; 5,681,567; 5,686,110; 5,730,990; 5,739,208; 5,756,593; 5,808,096; 5,824,778; 5,824,784; 5,840,900; 5,874,500; 5,880,131; 5,900,461; 5,902,588; 5,919,442; 5,919,455; 5,932,462; 5,965,119; 5,965,566; 5,985,263; 5,990,237; 6,011,042; 6,013,283; 6,077,939; 6,113,906; 6,127,355; 6,177,087; 6,180,095; 6,194,580; 6,214,966)。

[0896] 感兴趣聚合物的例子包括那些含有聚氧化烯,聚酰胺氧化烯,或其衍生物的,包括包含式 $-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})-$ 的氧化乙烯重复单元的聚氧化烯和聚酰胺氧化烯。感兴趣聚合物的别的例子包括式 $-\text{[C(O)-X-C(O)-NH-Y-NH]}_n-$ 或 $-\text{[NH-Y-NH-C(O)-X-C(O)]}_n-$ 的具有大于1,000道尔顿的分子量的聚酰胺,其中X和Y是二价根,可以是相同的或不同的,而且可以是分支的或线性的,且n是2至100,诸如2至50的离散整数,且其中X和Y中任一或二者包含可以是线性的或分支的生物相容的,基本上无抗原性的水溶性重复单元。水溶性重复单元的别的例子包含式 $-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})-$ 或 $-(\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2)-$ 的氧化乙烯。此类水溶性重复单元的数目可以显著变化,其中此类单元的数目是2至500,2至400,2至300,2至200,2至100,例如2至50。实施方案的一个例子是如下的情况,其中X和Y中之一或二者选自: $-\text{((CH}_2)_{n_1}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_{n_2}-\text{CH}_2-$ 或 $-\text{((CH}_2)_{n_1}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2)_{n_2}-\text{CH}_2-$,其中n1是1至6,1至5,1至4,或1至3,且其中n2是2至50,2至25,2至15,2至10,2至8,或2至5。实施方案的另一个例子是如下的情况,其中X是 $-(\text{CH}_2-\text{CH}_2)-$,且Y是 $-(\text{CH}_2-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_3-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2)-$ 或 $-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-(\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2)_3-\text{CH}_2)-$ 。

[0897] 聚合物可以包括一个或多个间隔物或接头。间隔物或接头的例子包括线性或分支模块,其包含一个或多个在水溶性聚合物中采用的重复单元,二氨基和/或二酸单元,天然或非天然氨基酸或其衍生物,以及脂肪族模块,包括烷基,芳基,杂烷基,杂芳基,烷氧基,等

等,它们可以含有例如多至18个碳原子或甚至另外的聚合物链。

[0898] 聚合物模块,或聚合物模块的间隔物或接头中的一个或多个(当存在时),可以包括生物稳定或生物可降解的聚合物链或单元。例如,具有重复连接的聚合物在生理条件下具有不同程度的稳定性,这取决于键的不稳定性。具有此类键的聚合物可以通过它们在生理条件下的相对水解速率(这基于低分子量类似物的已知水解速率)来分类,例如从较不稳定至较稳定,例如聚氨酯(-NH-C(O)-O-)>聚原酸酯(-O-C((OR)(R'))-O-)>聚酰胺(-C(O)-NH-)。类似地,将水溶性聚合物附着至靶分子的连接系统可以是生物稳定或生物可降解的,例如从较不稳定至较稳定:碳酸酯(-O-C(O)-O-)>酯(-C(O)-O-)>氨基甲酸酯(-NH-C(O)-O-)>原酸酯(-O-C((OR)(R'))-O-)>酰胺(-C(O)-NH-)。一般而言,可能想要避免使用硫酸化多糖,这取决于硫酸根基团的不稳定性。另外,可能不太想要使用聚碳酸酯和聚酯。这些键作为例子而提供,而且不意图限制在本文中公开的经修饰的带有醛标签的多肽中有用的水溶性聚合物的聚合物链或连接系统中可采用的键的类型。

[0899] 配制剂

[0900] 可以以多种不同方式配制本公开内容的缀合物(包括抗体缀合物)。一般而言,在缀合物是多肽-药物缀合物的情况下,以与缀合至多肽的药物,要治疗的状况,和要使用的施用路径相容的方式配制缀合物。

[0901] 可以以任何合适的形式(例如以药学可接受盐的形式)提供缀合物(例如多肽-药物缀合物),而且可以配制成用于任何合适的施用路径,例如口服,表面或胃肠外施用。在缀合物作为液体可注射剂提供的情况下(诸如在它们静脉内施用或直接施入组织中的那些实施方案中),可以作为即用剂型,或作为由药学可接受载剂和赋形剂构成的可重建的储存稳定的粉剂或液体来提供缀合物。

[0902] 用于配制缀合物的方法可以自本领域可得的那些方法加以适应。例如,可以在包含治疗有效量的缀合物和药学可接受载剂(例如盐水)的药物组合物中提供缀合物。药物组合物可以任选地包括其它添加剂(例如缓冲剂,稳定剂,防腐剂,等等)。在一些实施方案中,配制剂适合施用于哺乳动物,诸如适合施用于人的那些。

[0903] 治疗方法

[0904] 本公开内容的多肽-药物缀合物可用于治疗受试者中适合通过施用亲本药物(即缀合至多肽之前的药物)来治疗的疾患或疾病。“治疗”意味着至少实现与困扰宿主的疾患有关的症状的改善,其中改善在广义使用,指的是至少降低与所治疗的疾患有关的参数(例如症状)的量级。这样的话,治疗还包括病理疾患或至少与其有关的症状完全受到抑制(例如防止发生),或停止(例如终止)的情况,使得宿主不再罹患所述疾患,或至少表征所述疾患的症状。如此,治疗包括:(i) 预防,即降低临床症状发生的风险,包括引起临床症状不发生,例如防止疾病进展至有害的状态;(ii) 抑制,即阻滞临床症状发生或进一步发展,例如减轻或完全抑制活动性疾病;和/或(iii) 缓解,即引起临床症状消退。

[0905] 在癌症的背景中,术语“治疗”包括下述任一或全部:降低实体瘤的生长,抑制癌细胞复制,降低总体肿瘤负荷,和改善一种或多种与癌症有关的症状。

[0906] 要治疗的受试者可以是需要治疗的受试者,其中要治疗的宿主是适合使用亲本药物治疗的宿主。因而,多种受试者可以适合使用本文中公开的多肽-药物缀合物来治疗。一般而言,此类受试者是“哺乳动物”,其中人是感兴趣的。其它受试者可以包括驯养的宠物

(例如犬和猫), 牲畜(例如牛, 猪, 山羊, 马, 等等), 啮齿动物(例如小鼠, 豚鼠, 和大鼠, 例如在疾病的动物模型中), 以及非人灵长动物(例如黑猩猩和猴)。

[0907] 所施用的多肽-药物缀合物的量最初可以基于亲本药物的剂和/或剂量方案的指导来确定。一般而言, 多肽-药物缀合物能给所结合的药物提供靶向投递和/或延长的血清半衰期, 如此提供剂量方案中减少的剂或减少的施用中至少一项。如此, 相对于在本公开内容的多肽-药物缀合物中缀合之前的亲本药物, 多肽-药物缀合物能提供剂量方案中减少的剂和/或减少的施用。

[0908] 而且, 如上文所述, 因为多肽-药物缀合物能提供受控化学计量的药物投递, 所以多肽-药物缀合物的剂量可以基于以每个多肽-药物缀合物基础上提供的药物分子的数目来计算。

[0909] 在一些实施方案中, 施用多剂多肽-药物缀合物。多肽-药物缀合物的施用频率可以随多种因素任一而变化, 例如症状的严重程度, 受试者的状况, 等。例如, 在一些实施方案中, 多肽-药物缀合物每月一次, 每月两次, 每月三次, 每隔一周(qow), 每周一次(qw), 每周两次(biw), 每周三次(tiw), 每周四次, 每周五次, 每周六次, 每隔一天(qod), 每天(qd), 每天两次(qid), 或每天三次(tid)施用。

[0910] 治疗癌症的方法

[0911] 本公开内容提供了用于将癌症化疗剂投递至具有癌症的个体的方法。所述方法对于治疗极其多种癌症是有用的, 包括癌瘤, 肉瘤, 白血病, 和淋巴瘤。

[0912] 能使用主题方法治疗的癌瘤包括但不限于食道癌, 肝细胞癌, 基底细胞癌(皮肤癌的一种形式), 鳞状细胞癌(各种组织), 膀胱癌(包括移行细胞癌(膀胱的恶性肿瘤)), 支气管源性癌, 结肠癌, 结直肠癌, 胃癌, 肺癌(包括肺的小细胞癌和非小细胞癌), 肾上腺皮质癌, 甲状腺癌, 胰腺癌, 乳腺癌, 卵巢癌, 前列腺癌, 腺癌, 汗腺癌, 皮脂腺癌, 乳头状癌, 乳头状腺癌, 囊腺癌, 髓样癌, 肾细胞癌, 导管原位癌或胆管癌, 绒毛膜癌, 精原细胞瘤, 胚胎性癌, 威尔姆氏瘤(Wilm's tumor), 宫颈癌, 子宫癌, 睾丸癌, 骨源性癌, 上皮癌, 和鼻咽癌, 等。

[0913] 能使用主题方法治疗的肉瘤包括但不限于纤维肉瘤, 粘液肉瘤, 脂肪肉瘤, 软骨肉瘤, 脊索瘤, 骨源性肉瘤, 骨肉瘤, 血管肉瘤, 内皮肉瘤, 淋巴管肉瘤, 淋巴管内皮肉瘤, 滑膜瘤, 间皮瘤, 尤文氏肉瘤(Ewing's sarcoma), 平滑肌肉瘤, 横纹肌肉瘤, 和其它软组织肉瘤。

[0914] 能使用主题方法治疗的其它实体肿瘤包括但不限于神经胶质瘤, 星形细胞瘤, 成神经管细胞瘤, 颅咽管瘤, 室管膜瘤, 松果体瘤, 成血管细胞瘤, 听神经瘤, 少突神经胶质瘤, 脑膜瘤, 黑素瘤, 成神经细胞瘤, 和成视网膜细胞瘤。

[0915] 能使用主题方法治疗的白血病包括但不限于:a) 慢性骨髓增生综合症(多能造血干细胞的肿瘤性病征); b) 急性骨髓性白血病(多能造血干细胞或限制谱系潜能的造血细胞的肿瘤性转化); c) 慢性淋巴细胞性白血病(CLL; 免疫学上不成熟且功能上不胜任的小淋巴细胞的克隆性增殖), 包括B细胞CLL, T细胞CLL, 前淋巴细胞性白血病, 和毛细胞白血病; 和 d) 急性成淋巴细胞性白血病(特征为成淋巴细胞的积累)。能使用主题方法治疗的淋巴瘤包括但不限于B细胞淋巴瘤(例如伯基特氏淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)); 霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma); 非霍奇金氏B细胞淋巴瘤(non-Hodgkin's B cell lymphoma); 等等。

实施例

[0916] 提出以下实施例以向本领域普通技术人员提供如何生成和使用本发明的全面公开和描述,并非意图限制发明人视为其发明的范围,也并非意图宣称下面的实验是所实施的所有或唯一实验。已经做出了努力来确保关于所用数值(例如量,温度,等)的准确性,但是一些实验误差和偏差应当考虑在内。除非另有指示,份是重量份,分子量是重量平均分子量,温度是摄氏度,而压力是处于或接近大气压。“平均值”表示算术均值。可以使用标准缩写,例如,bp,碱基对;kb,千碱基;pl,皮升;s或sec,秒;min,分钟;h或hr,小时;aa,氨基酸;kb,千碱基;bp,碱基对;nt,核苷酸;i.m.,肌肉内;i.p.,腹膜内;s.c.,皮下;等等。

[0917] 通用合成规程

[0918] 提供对于合成所公开的化合物有用的普遍知道的化学合成方案和条件的许多一般参考文献是可得(参见例如Smith and March, March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, Fifth Edition, Wiley-Interscience, 2001; 或Vogel, A Textbook of Practical Organic Chemistry, Including Qualitative Organic Analysis, Fourth Edition, New York: Longman, 1978)。

[0919] 本文所述化合物可以通过本领域已知的任何纯化方案来纯化,包括层析,诸如HPLC,制备型薄层层析,急骤柱层析和离子交换层析。可以使用任何合适的静止相,包括正相和反相以及离子型树脂。在某些实施方案中,所公开的化合物是经由硅胶和/或氧化铝层析来纯化的。参见例如Introduction to Modern Liquid Chromatography, 2nd Edition, ed. L.R. Snyder and J.J. Kirkland, John Wiley and Sons, 1979; 及Thin Layer Chromatography, ed. E. Stahl, Springer-Verlag, New York, 1969。

[0920] 在用于制备主题化合物的任何工艺期间,保护任何关注分子上的敏感性或反应性基团可能是必需和/或想要的。这可以借助如标准著作中描述的常规保护基团来实现,诸如J.F.W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, London and New York 1973; T.W. Greene and P.G.M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", Third edition, Wiley, New York 1999; "The Peptides"; Volume 3 (editors: E. Gross and J. Meienhofer), Academic Press, London and New York 1981; "Methoden der organischen Chemie", Houben-Weyl, 4th edition, Vol. 15/1, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974; H.-D. Jakubke and H. Jescheit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine", Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, and Basel 1982; 和/或Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide and Derivate", Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974。可以在方便的后续阶段使用本领域已知方法去除保护基团。

[0921] 可以经由多种不同合成途径使用商品化起始材料和/或通过常规合成方法制备的起始材料来合成主题化合物。下面的方案中描述了可用于合成本文中公开的化合物的合成途径的多个例子。

[0922] HPLC分析

[0923] HPLC分析是依照下文所述方法于室温在配备有G1322A型除气器, G1311A型四元泵, G1329A型自动加样器, G1314型可变波长检测器, 和G1364C型级分收集器的Agilent 1100系列分析性HPLC上进行的。

[0924] 方法A: Agilent Poroshell 120SB C18, 4.6mm x 150mm (2.7 μ m) (1.0mL min⁻¹)。溶

剂A:H₂O (0.1%HCO₂H), 溶剂B:CH₃CN (0.1%HCO₂H)。

[0925]	时间 (min)	溶剂B (%)
	0.0	10
	15.0	100
	17.5	100
	18.0	10
	20.5	10

[0926] 方法B:Agilent Poroshell 120SB C18, 4.6mm x 50mm (2.7 μ m) (2.5mL min⁻¹)。溶剂A:H₂O (0.1%HCO₂H), 溶剂B:CH₃CN (0.1%HCO₂H)。

[0927]	时间 (min)	溶剂B (%)
	0.0	10
	5.0	100
	6.0	100
	6.1	10
	7.1	10

[0928] 方法C:Agilent Poroshell 120SB C18, 4.6mm x 150mm (2.7 μ m) (1.0mL min⁻¹)。溶剂A:H₂O (0.1%HCO₂H), 溶剂B:CH₃CN (0.1%HCO₂H)。

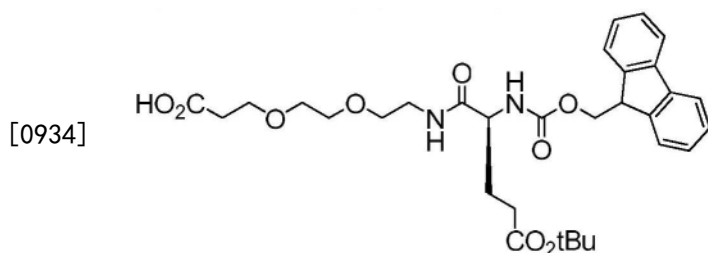
[0929]	时间 (min)	溶剂B (%)
	0.0	5
	15.0	95
	17.5	95
	18.0	5
	20.5	5

[0930] 方法D:Agilent Zorbax 300SB CN, 4.6mm x 250mm (5.0 μ m) (1.0mL min⁻¹)。溶剂A:NH₄OAc (10mM), 溶剂B:H₂O, CH₃CN (0.05, 0.95)。

[0931]	时间 (min)	溶剂B (%)
	0.0	10
	30.0	100
	33.0	100
	36.0	10
	45.0	10

[0932] 实施例1

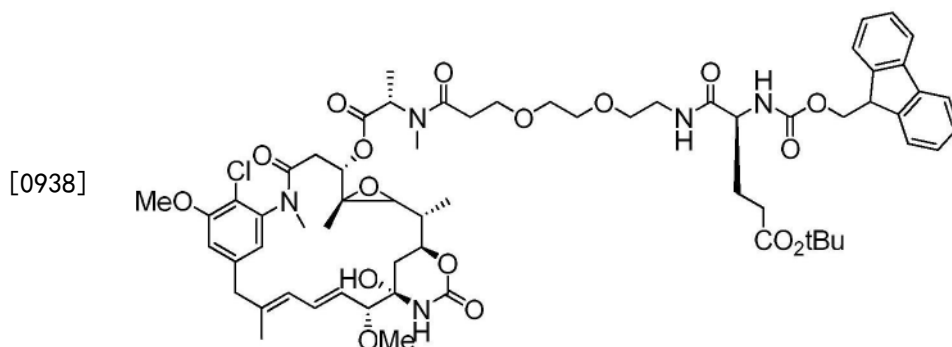
[0933] 方法1-(2S, 15S)-1-((S)-3-美登素基)-15-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)-2,3-二甲基-1,4,14-三氧代-7,10-二氧杂-3,13-二氮杂十八烷-18-酸(HIPS吡啶E(CO₂H) PEG₂美登素)(化合物1)的制备



[0935] 合成化合物HIPS吡啶E (CO₂H) PEG₂美登素的反应示意图显示于图3和图4。

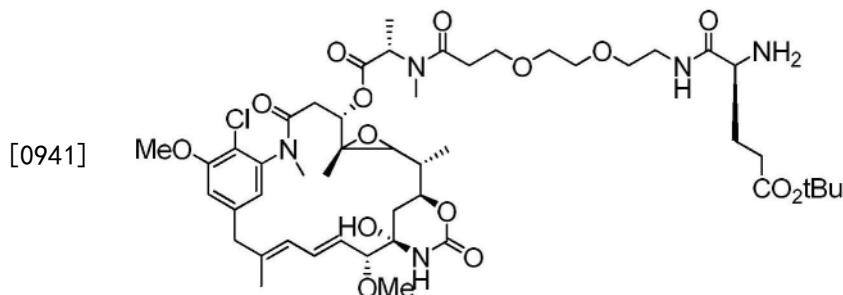
[0936] (S)-5-(3-(叔丁氧基)-3-氧代丙基)-1-(9H-芴-9-基)-3,6-二氧代-2,10,13-三氧杂-4,7-二氮杂十六烷-16-酸 (Fmoc E (CO₂tBu) PEG₂ CO₂H) (化合物2) (图3) 的制备

[0937] 对带有豌豆搅动棒的20mL玻璃闪烁管添加H₂N PEG₂ CO₂H (710.3mg, 4.0mmol), Na₂CO₃ (637.9mg, 6.0mmol), 和H₂O (10mL)。于室温搅动清澈, 无色溶液。将N-α-Fmoc-L-谷氨酸 γ-叔丁酯五氟苯基酯 (1185.7mg, 2.0mmol) 添加至另一20mL玻璃闪烁管, 在无水1,4-二氧杂环己烷 (10mL) 中溶解, 并逐滴, 缓慢添加至水溶液。随连续搅动析出白色沉淀物。于室温搅动反应4小时, 用H₂O (70mL) 稀释, 用逐滴添加1M HCl酸化至pH 3, 并用2x 50mL EtOAc 萃取。组合有机级分, 在Na₂SO₄上干燥, 浓缩, 吸附到Biotage KP C18HS 12g samplet上, 并在Biotage KP C18 HS 60g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化, 给出期望的产物, 为清澈, 粘性油 (1137.3mg, 97%产率)。HPLC保留时间12.260分钟。方法A。



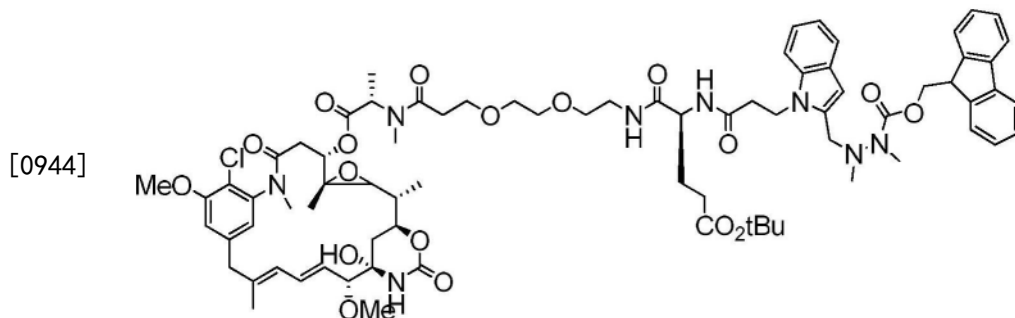
[0939] 15-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-2,3-二甲基-4,14-二氧代-7,10-二氧杂-3,13-二氮杂十八烷-1,18-二酸 (2S,15S)-18-叔丁基酯1-((S)-3-美登素基)酯 (Fmoc E (CO₂tBu) PEG₂美登素) (化合物3) (图3) 的制备

[0940] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的20mL玻璃闪烁管添加Fmoc E (CO₂tBu) PEG₂ CO₂H (311.3mg, 0.5mmol), HATU (201.0mg, 0.5mmol), 和无水DMF (2mL)。于室温搅动清澈, 无色溶液15分钟。在另一干燥的4mL玻璃闪烁管中组合去酰基美登素 (343.4mg, 0.5mmol), DIPEA (204.8mg, 276.0μL, 1.6mmol), 和无水DMF (1mL), 并逐滴, 缓慢添加搅动中的溶液。容许反应于室温搅动2小时, 直接吸附到Biotage KP C18 HS 12g samplet上, 并在Biotage KP C18 HS 60g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化, 给出标题化合物, 为白色固体 (377.8mg, 59%产率)。HPLC保留时间14.385分钟。方法A。



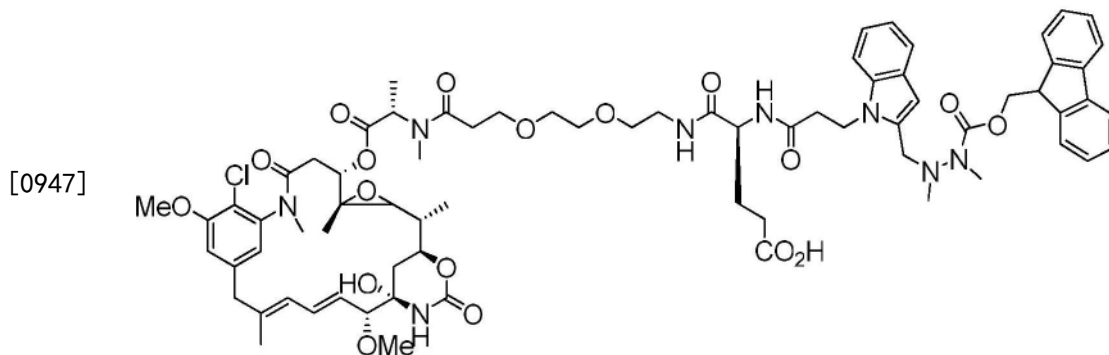
[0942] 15-氨基-2,3-二甲基-4,14-二氧代-7,10-二氧杂-3,13-二氮杂十八烷-1,18-二酸(2S,15S)-18-叔丁基酯1-((S)-3-美登素基)酯(E(CO₂tBu)PEG₂美登素)(化合物4)(图3)的制备

[0943] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的20mL玻璃闪烁管添加Fmoc E(CO₂tBu)PEG₂美登素(377.8mg,0.3mmol)。通过注射器添加DMF(2.452mL)中的哌啶(528.8mg,0.613mL,6.2mmol)。于室温搅动溶液20分钟,直接吸附到Biotage KP C18 HS 12g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 60g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出期望的产物,为浅黄色固体(269.2mg,87%产率)。HPLC保留时间9.683分钟。方法A。



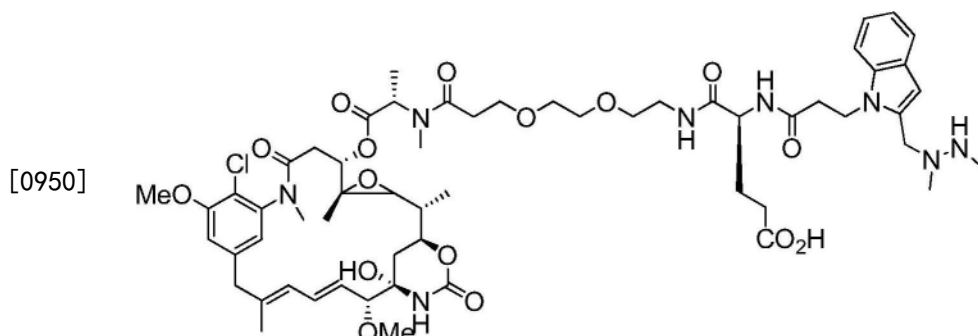
[0945] 15-(3-(2-((2-(((9H-芴-9-基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)-2,3-二甲基-4,14-二氧代-7,10-二氧杂-3,13-二氮杂十八烷-1,18-二酸(2S,15S)-18-叔丁基酯1-((S)-3-美登素基)酯(Fmoc HIPS吡啶E(CO₂tBu)PEG₂美登素)(化合物5)(图4)的制备

[0946] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加E(CO₂tBu)PEG₂美登素(269.2mg,0.3mmol),Fmoc HIPS吡啶CO₂PFP(211.5mg,0.3mmol),DIPEA(105.1mg,141.6μL,0.8mmol),和无水DMF(1mL)。于室温搅动溶液2小时,直接吸附到Biotage KP C18 HS 3g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 30g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出标题化合物,为浅黄色固体(361.6mg,92%产率)。HPLC保留时间15.989分钟。方法A。



[0948] (2S,15S)-15-(3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)-1-((S)-3-美登素基)-2,3-二甲基-1,4,14-三氧代-7,10-二氧杂-3,13-二氮杂十八烷-18-酸(FMOC HIPS吡啶E(CO₂H)PEG₂美登素)(化合物6)(图4)的制备

[0949] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的20mL玻璃闪烁管添加FMOC HIPS吡啶E(CO₂tBu)PEG₂美登素(361.6mg,0.2mmol)和无水CH₂Cl₂(3mL)。在冰,H₂O浴中将溶液冷却至0℃,并通过注射器逐滴添加SnCl₄(1.2mL,1.2mmol,无水CH₂Cl₂中的1.0M溶液),给出浅黄色沉淀物。于0℃搅动溶液5分钟,此时撤走冰,H₂O浴,并使溶液升温至室温。搅动反应1小时,直接吸附到Biotage KP C18 HS 3g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 30g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出期望的产物,为浅黄色固体(260.9mg,75%产率)。HPLC保留时间13.833分钟。方法A。



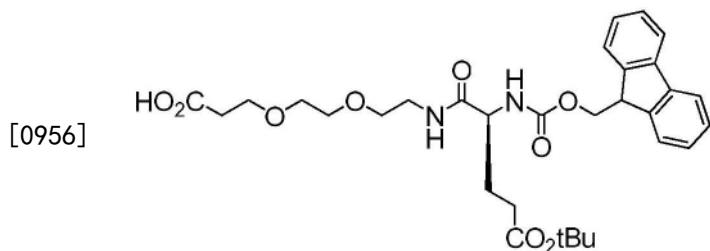
[0951] (2S,15S)-1-((S)-3-美登素基)-15-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)-2,3-二甲基-1,4,14-三氧代-7,10-二氧杂-3,13-二氮杂十八烷-18-酸(HIPS吡啶E(CO₂H)PEG₂美登素)(化合物7)(图4)的制备

[0952] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的20mL玻璃闪烁管添加FMOC HIPS吡啶E(CO₂H)PEG₂美登素(260.9mg,0.2mmol)。通过注射器添加DMA(1.6mL)中的哌啶(344.8mg,0.4mL,4.0mmol)。于室温搅动溶液20分钟,直接吸附到Biotage KP C18 HS 3g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 30g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出标题化合物,为白色固体(218.1mg,99%产率)。

[0953] HPLC保留时间9.372分钟。方法A。LRMS(ESI),为C₅₈H₈₂C₁N₈O₁₆[M+H]⁺计算:1181.6,发现1181.3。

[0954] 实施例2

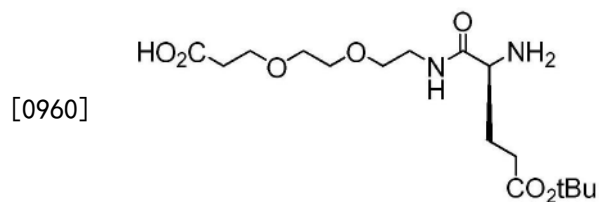
[0955] 方法2-(2S,15S)-1-((S)-3-美登素基)-15-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)-2,3-二甲基-1,4,14-三氧代-7,10-二氧杂-3,13-二氮杂十八烷-18-酸(HIPS吡啶E(CO₂H)PEG₂美登素)(化合物8)的制备



[0957] 合成化合物HIPS吡啶E(CO₂H)PEG₂美登素的反应示意图显示于图5和图6。

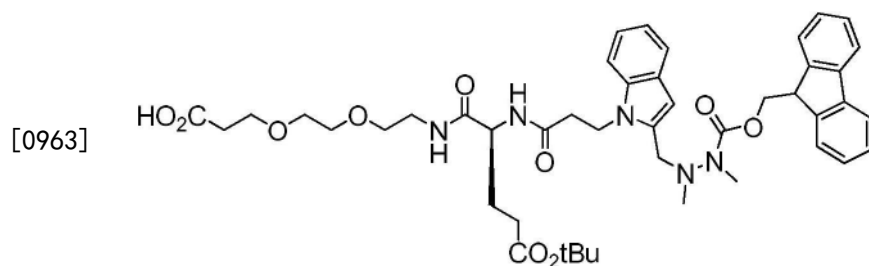
[0958] (S)-5-(3-(叔丁氧基)-3-氧代丙基)-1-(9H-芴-9-基)-3,6-二氧化-2,10,13-三氧杂-4,7-二氮杂十六烷-16-酸(FMOC E(CO₂tBu)PEG₂CO₂H)(图5)的制备

[0959] 如方法1中制备。HPLC保留时间12.260分钟。方法A。



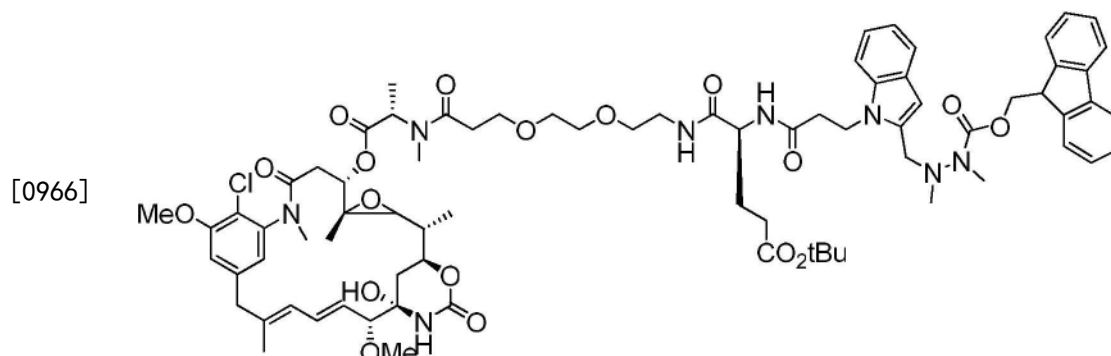
[0961] (S)-7-氨基-2,2-二甲基-4,8-二氧化-3,12,15-三氧杂-9-氮杂十八烷-18-酸(E(CO₂tBu)PEG₂CO₂H)(化合物8)(图5)的制备

[0962] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的20mL玻璃闪烁管添加FMOC E(CO₂tBu)PEG₂CO₂H(2638.7mg,4.5mmol)。通过注射器添加DMF(8.871mL)中的哌啶(1921.4mg,2.229mL,22.6mmol)。于室温搅动溶液20分钟,给出大量的白色沉淀物。过滤反应,直接吸附到Biotage KP C18 HS 12g samplet(x 2)上,并在Biotage KP C18 HS 60g筒(x 2)上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出期望的产物,为无色,粘性油(813.1mg,50%产率)。HPLC保留时间5.480分钟。方法A。



[0964] (S)-7-(3-(2-((2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)-2,2-二甲基-4,8-二氧化-3,12,15-三氧杂-9-氮杂十八烷-18-酸(FMOC HIPS吡啶E(CO₂tBu)PEG₂CO₂H)(化合物9)(图5)的制备

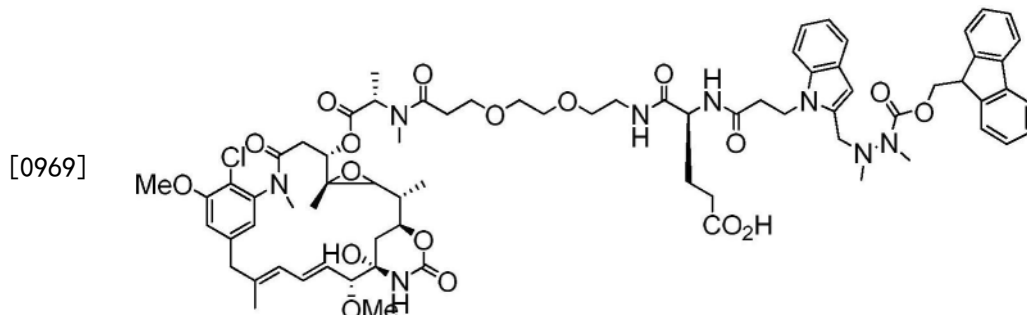
[0965] 对带有豌豆搅动棒的20mL玻璃闪烁管添加E(CO₂tBu)PEG₂CO₂H(582.4mg,1.6mmol),FMOC HIPS吡啶CO₂PFP(1253.7mg,1.9mmol),DIPEA(623.1mg,839.8μL,4.8mmol),和无水DMF(5mL)。于室温搅动溶液2小时,直接吸附到Biotage KP C18 HS 12g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 60g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出标题化合物,为蜡质固体(406.3mg,31%产率)。HPLC保留时间4.037分钟。方法B。



[0967] 15-(3-(2-((2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)-2,3-二甲基-4,14-二氧化-7,10-二氧杂-3,13-二氮杂十八烷-1,18-二酸

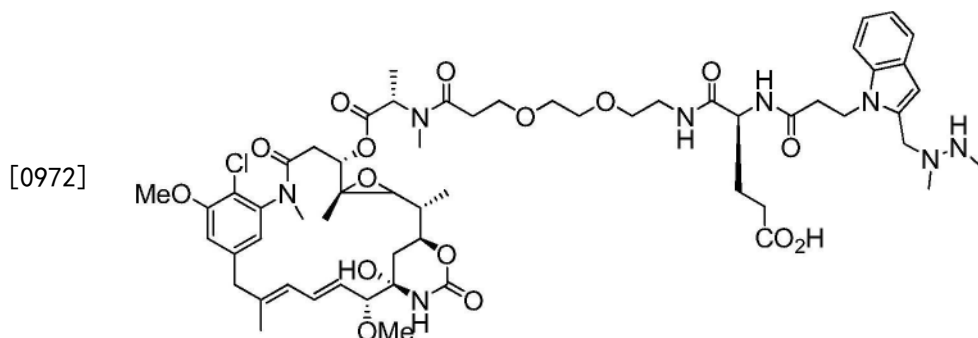
(2S,15S)-18-叔丁基酯1-((S)-3-美登素基)酯(FMOC HIPS吲哚E(CO₂tBu)PEG₂美登素)(化合物10)(图6)的制备

[0968] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加FMOC HIPS吲哚E(CO₂tBu)PEG₂CO₂H(289.8mg,0.4mmol),HATU(133.7mg,0.4mmol),和无水DMF(1mL)。于室温搅动清澈,无色溶液15分钟。在另一干燥的4mL玻璃闪烁管中组合去酰基美登素(227.5mg,0.4mmol),DIPEA(135.7mg,182.9μL,1.1mmol),和无水DMF(1mL),并逐滴,缓慢添加至搅动中的溶液。容许反应于室温搅动2小时,直接吸附到Biotage KP C18HS 3g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 30g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出期望的产物,为白色固体(268.4mg,53%产率)。HPLC保留时间13.833分钟。方法A。



[0970] (2S,15S)-15-(3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吲哚-1-基)丙酰胺基)-1-((S)-3-美登素基)-2,3-二甲基-1,4,14-三氧代-7,10-二氧杂-3,13-二氮杂十八烷-18-酸(FMOC HIPS吲哚E(CO₂H)PEG₂美登素)(图6)的制备

[0971] 如方法1中制备。HPLC保留时间13.833分钟。方法A。



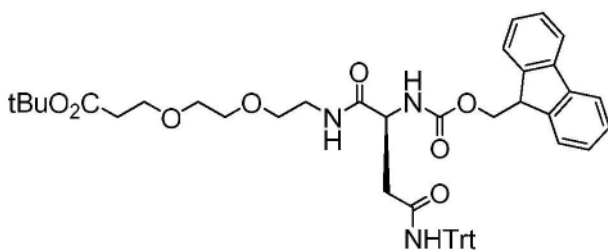
[0973] (2S,15S)-1-((S)-3-美登素基)-15-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吲哚-1-基)丙酰胺基)-2,3-二甲基-1,4,14-三氧代-7,10-二氧杂-3,13-二氮杂十八烷-18-酸(HIPS吲哚E(CO₂H)PEG₂美登素)(图6)的制备

[0974] 如方法1中制备。HPLC保留时间9.372分钟。方法A。LRMS(ESI),为C₅₈H₈₂C₁N₈O₁₆[M+H]⁺计算:1181.6,发现1181.3。

[0975] 实施例3

[0976] 方法3-15-(2-氨基-2-氧代乙基)-19-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吲哚-1-基)-2,3-二甲基-4,14,17-三氧代-7,10-二氧杂-3,13,16-三氮杂十九烷-1-酸(2S,15S)-1-((S)-3-美登素基)酯(HIPS吲哚N(CONH₂)PEG₂美登素)(酸去保护)的制备

[0977]

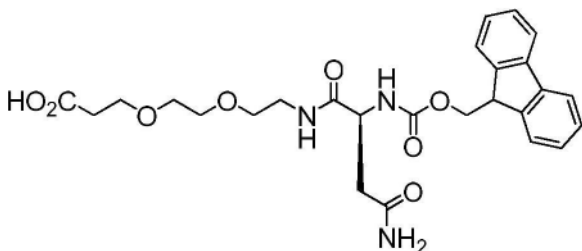


[0978] 合成化合物HIPS吡啶N(CONH₂)PEG₂美登素的反应示意图显示于图7和图8。

[0979] 1-(9H-芴-9-基)-3,6-二氧化-5-(2-氧代-2-(三苯甲基氨基)乙基)-2,10,13-三氧代-4,7-二氮杂十六烷-16-酸(S)-叔丁基酯(FMOC N(Trt)PEG₂CO₂tBu)(化合物11)(图7)的制备

[0980] 对带有干燥的豌豆搅动棒的干燥的20mL玻璃闪烁管添加FMOC N(Trt)CO₂H(597.0mg,1.0mmol),HATU(380.9mg,1.0mmol),和无水DMF(3mL)。于室温搅动清澈,无色溶液15分钟。在另一干燥的4mL玻璃闪烁管中组合H₂NPEG₂CO₂tBu(238.2mg,1.0mmol),DIPEA(258.5mg,348.4μL,2.0mmol),和无水DMF(3mL),并逐滴,缓慢添加至搅动中的溶液。于室温搅动反应2小时,添加至另一漏斗中的H₂O(100mL)和5M NaCl(25mL),并用5x 25mL EtOAc萃取。组合有机级分,用1x 25mL H₂O,1x 25mL 1.2M NaHCO₃,和1x 25mL 5M NaCl清洗,在Na₂SO₄上干燥,浓缩,吸附到Biotage KP C18HS 12g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 60g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出标题化合物,为白色,结晶固体(708.4mg,87%产率)。HPLC保留时间15.971分钟。方法A。

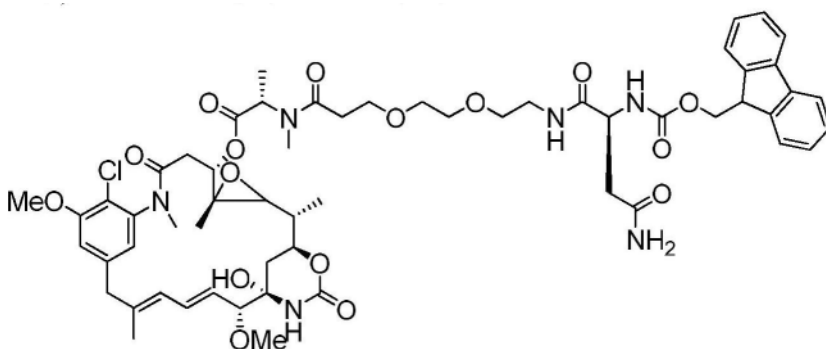
[0981]



[0982] (S)-5-(2-氨基-2-氧代乙基)-1-(9H-芴-9-基)-3,6-二氧化-2,10,13-三氧杂-4,7-二氮杂十六烷-16-酸(FMOC N(CONH₂)PEG₂CO₂H)(化合物12)(图7)的制备

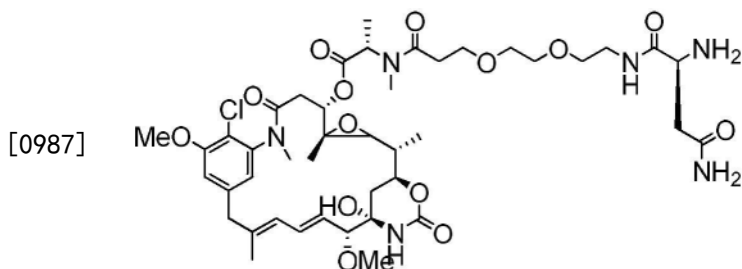
[0983] 对带有豌豆搅动棒的20mL玻璃闪烁管添加TFA,TIPS,H₂O的溶液(6.8ml,0.2mL,0.2mL)。分小份添加FMOC N(Trt)PEG₂CO₂tBu(708.4mg,0.9mmol),并于室温搅动反应4小时。蒸发溶液,吸附到Biotage KP C18 HS 12g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 60g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出期望的产物,为白色固体(385.3mg,86%产率)。HPLC保留时间8.084分钟。方法A。

[0984]



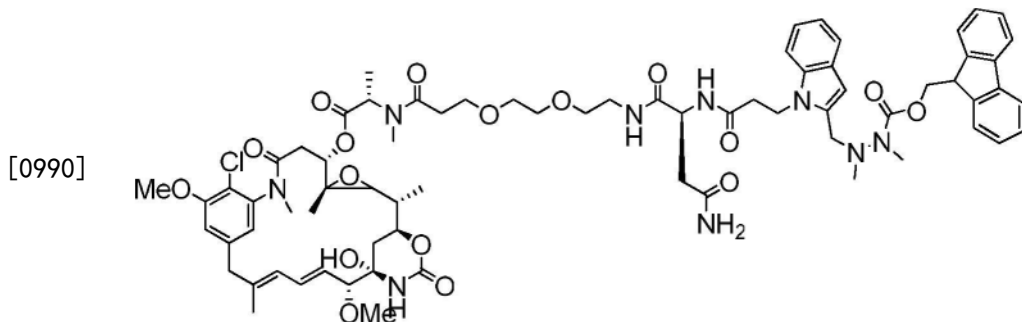
[0985] 5-(2-氨基-2-氧代乙基)-1-(9H-芴-9-基)-17,18-二甲基-3,6,16-三氧代-2,10,13-三氧杂-4,7,17-三氮杂十九烷-19-酸(5S,18S)-1-((S)-3-美登素基)酯(FMOC N(CONH₂)PEG₂美登素)(化合物13)(图7)的制备

[0986] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加FMOC N(CONH₂)PEG₂CO₂H(98.6mg,0.2mmol),HATU(72.9mg,0.2mmol),和无水DMF(1mL)。于室温搅动清澈,无色溶液15分钟。在另一干燥的4mL玻璃闪烁管中组合去酰基美登素(122.1mg,0.2mmol),DIPEA(72.8mg,98.1μL,0.6mmol),和无水DMF(1mL),并逐滴,缓慢添加至搅动中的溶液。容许反应于室温搅动2小时,直接吸附到Biotage KP C18 HS 3g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 30g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出标题化合物,为白色固体(149.1mg,69%产率)。HPLC保留时间11.569分钟。方法A。



[0988] 15,17-二氨基-2,3-二甲基-4,14,17-三氧代-7,10-二氧杂-3,13-二氮杂十七烷-1-酸(2S,15S)-1-((S)-3-美登素基)酯(N(CONH₂)PEG₂美登素)(化合物14)(图8)的制备

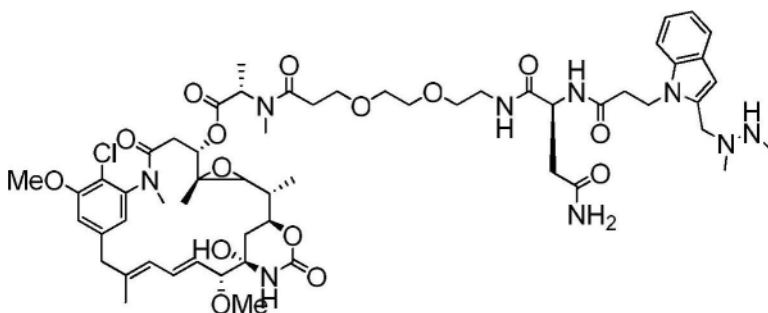
[0989] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的20mL玻璃闪烁管添加FMOC N(CONH₂)PEG₂美登素(149.1mg,0.1mmol)。通过注射器添加DMF(1.03mL)中的哌啶(221.6mg,0.26mL)。于室温搅动溶液20分钟,直接吸附到Biotage KP C18 HS 3g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 30g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出期望的产物,为白色固体(115.0mg,96%产率)。HPLC保留时间8.154分钟。方法A。



[0991] 19-(2-(((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-15-(2-氨基-2-氧代乙基)-2,3-二甲基-4,14,17-三氧代-7,10-二氧杂-3,13,16-三氮杂十九烷-1-酸(2S,15S)-1-(((S)-3-美登素基)酯(FMOC HIPS吡啶N(CONH₂)PEG₂美登素)(化合物15)(图8)的制备

[0992] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加N(CONH₂)PEG₂美登素(115.0mg,0.1mmol),FMOC HIPS吡啶CO₂PFP(86.1mg,0.1mmol),DIPEA(32.3mg,43.5μL,0.3mmol),和无水DMF(1mL)。于室温搅动溶液2小时,直接吸附到Biotage KP C18 HS 3g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 30g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出标题化合物,为很浅的黄色固体(143.3mg,83%产率)。HPLC保留时间13.557分钟。方法A。

[0993]



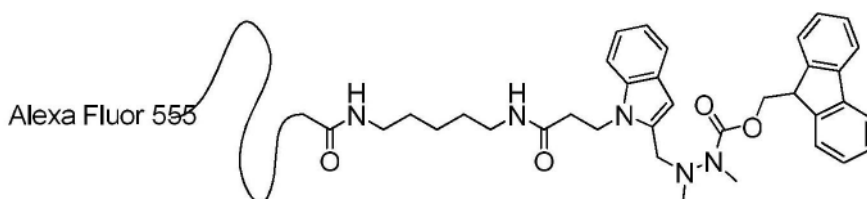
[0994] 15-(2-氨基-2-氧代乙基)-19-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-2,3-二甲基-4,14,17-三氧代-7,10-二氧杂-3,13,16-三氮杂十九烷-1-酸(2S,15S)-1-((S)-3-美登素基)酯(HIPS吡啶N(CONH₂)PEG₂美登素)(化合物16)(图8)的制备

[0995] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加Fmoc HIPS吡啶N(CONH₂)PEG₂美登素(83.3mg,0.1mmol)。通过注射器添加DMA(0.474mL)中的哌啶(102.1mg,0.118mL,1.2mmol)。于室温搅动溶液20分钟,直接吸附到Biotage KP C18 HS 1.2g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 12g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出期望的产物,为白色固体(38.8mg,55%产率)。HPLC保留时间9.084分钟。方法A.LRMS(ESI),为C₅₇H₈₀ClN₉NaO₁₅[M+Na]⁺计算:1188.5,发现1188.5。

[0996] 实施例4

[0997] 方法4-HIPS吡啶尸胺Alexa Fluor 555的制备

[0998]

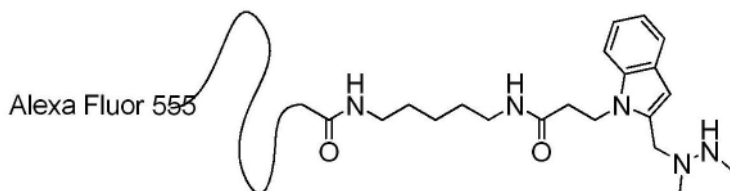


[0999] 合成化合物HIPS吡啶尸胺Alexa Fluor 555的反应示意图显示于图9。

[1000] 2-((1-(3-((5-(甲酰胺基)戊基)氨基)-3-氧代丙基)-1H-吡啶-2-基)甲基)-1,2-二甲基胍羧酸(9H-芴-9-基)甲基酯Alexa Fluor 555(Fmoc HIPS吡啶尸胺Alexa Fluor 555)(化合物17)(图9)的制备

[1001] 对带有跳蚤搅动棒的4mL玻璃闪烁管添加DMF,H₂O(285μL,15μL)中的Alexa Fluor555尸胺(8mg,0.01mmol),Fmoc HIPS吡啶CO₂PEP(36.1mg,0.06mmol),和DIPEA(5.4mg,7.3μL,0.04mmol)。于室温搅动反应2小时,直接吸附到Biotage KP C18 HS 1.2g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 12g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出标题化合物,为略带紫色的红色膜(11.8mg,99%产率)。HPLC保留时间6.092分钟。方法A。

[1002]



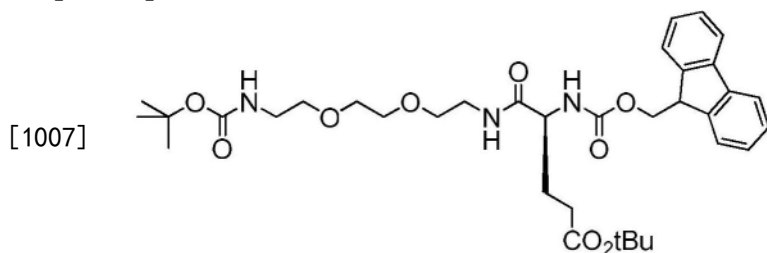
[1003] N-(5-甲酰胺基戊基)-3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺Alexa Fluor555(HIPS吡啶尸胺Alexa Fluor 555)(化合物18)(图9)的制备

[1004] 对带有跳蚤搅动棒的4mL玻璃闪烁管添加Fmoc HIPS吡啶尸胺Alexa Fluor 555

(22.1mg, 0.02mmol)。通过注射器添加DMA, H₂O (228μL, 12μL) 中的哌啶 (51.7mg, 0.06mL, 0.6mmol)。于室温搅动溶液20分钟, 直接吸附到Biotage KP C18 HS 1.2g samplet上, 并在Biotage KP C18 HS 12g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化, 给出期望的产物, 为略带紫色的红色膜 (18.4mg, 99%产率)。HPLC保留时间5.085分钟。方法A。

[1005] 实施例5

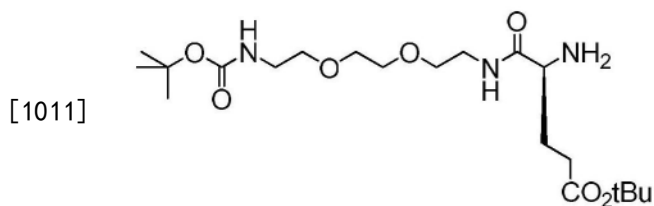
[1006] 方法5- (S)-1-甲酰胺基-13-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)-1,12-二氧化-5,8-二氧杂-2,11-二氮杂十六烷-16-酸ATTO 550 (HIPS吡啶E (CO₂H) PEG₂ NH ATTO 550) 的制备



[1008] 合成化合物HIPS吡啶E (CO₂H) PEG₂ NH ATTO 550的反应示意图显示于图10和图11。

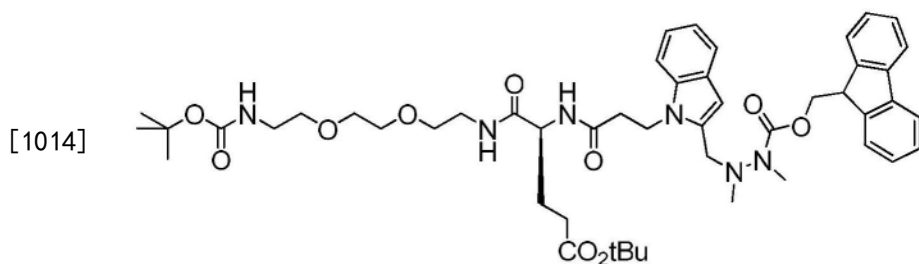
[1009] 16-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-2,2-二甲基-4,15-二氧化-3,8,11-三氧杂-5,14-二氮杂十九烷-19-酸(S)-叔丁基酯(FMOC E (CO₂tBu) PEG₂ NHBOC) (化合物19) (图10)的制备

[1010] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加N-α-Fmoc-L-谷氨酸γ-叔丁基酯五氟苯基酯(296.2mg, 0.5mmol), H₂N PEG₂ NHBOC(124.5mg, 0.5mmol), DIPEA(129.2mg, 174.2μL, 1.0mmol), 和无水DMF(0.5mL)。于室温搅动清澈, 无色溶液2小时, 用H₂O(8mL)和5M NaCl(2mL)稀释, 并用3x 5mL EtOAc萃取。用1x 5mL H₂O, 1x 5mL 1.2M NaHCO₃, 和1x 5mL 5M NaCl清洗有机级分, 在Na₂SO₄上干燥, 浓缩, 吸附到Biotage KP C18 HS 3g samplet上, 并在Biotage KP C18 HS 30g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化, 给出标题化合物, 为白色, 结晶固体(253.9mg, 77%产率)。HPLC保留时间14.333分钟。方法A。



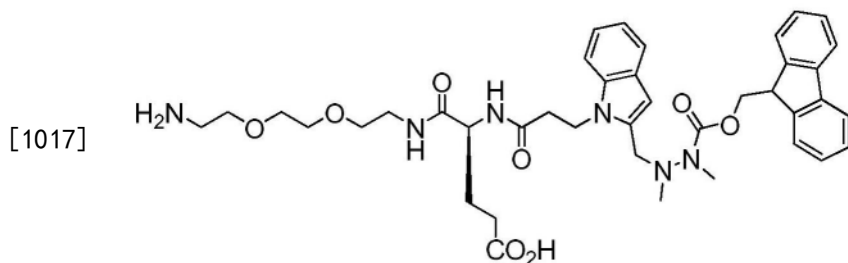
[1012] 16-氨基-2,2-二甲基-4,15-二氧化-3,8,11-三氧杂-5,14-二氮杂十九烷-19-酸(S)-叔丁基酯(E (CO₂tBu) PEG₂ NHBOC) (化合物20) (图10)的制备

[1013] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的20mL玻璃闪烁管添加FMOC E (CO₂tBu) PEG₂ NHBOC(253.9mg, 0.4mmol)。通过注射器添加DMF(3.1mL)中的哌啶(659.4mg, 0.765mL, 7.7mmol)。于室温搅动溶液20分钟, 直接吸附到Biotage KP C18 HS 12g samplet上, 并在Biotage KP C18 HS 60g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化, 给出期望的产物, 为无色固体(165.7mg, 99%产率)。HPLC保留时间7.599分钟。方法A。



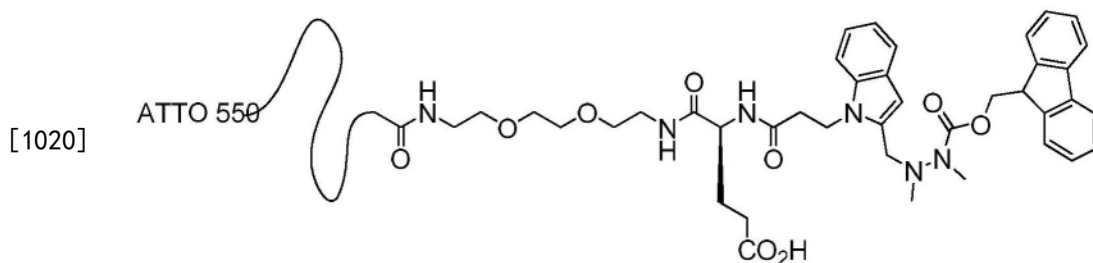
[1015] 16-(3-(2-((2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)-2,2-二甲基-4,15-二氧代-3,8,11-三氧杂-5,14-二氮杂十九烷-19-酸(S)-叔丁基酯(FMOC HIPS吡啶E(CO₂tBu)PEG₂NHBOC)(化合物21)(图10)的制备

[1016] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加E(CO₂tBu)PEG₂NHBOC(64.8mg,0.15mmol),FMOC HIPS吡啶CO₂PEP(98.4mg,0.15mmol),DIPEA(58.0mg,78.2μL,0.45mmol),和无水DMF(0.3mL)。于室温搅动溶液2小时,直接吸附到Biotage KP C18 HS 1.2g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 12g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出标题化合物,为无色固体(83.4mg,62%产率)。HPLC保留时间16.054分钟。方法A。



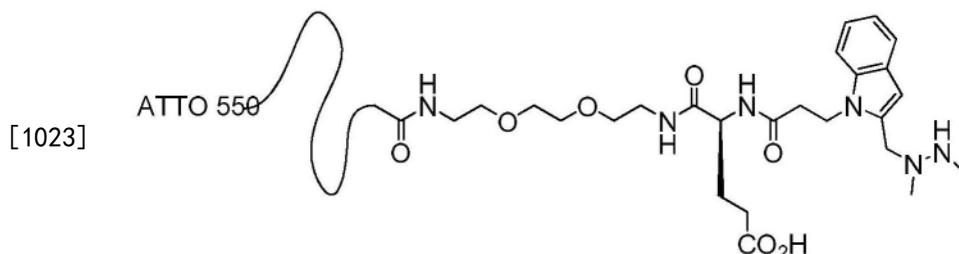
[1018] (S)-4-(3-(2-((2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)-5-((2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙基)氨基)-5-氧代戊酸(FMOC HIPS吡啶E(CO₂H)PEG₂NH₂)(化合物22)(图11)的制备

[1019] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加FMOC HIPS吡啶E(CO₂tBu)PEG₂NHBOC(83.4mg,0.1mmol)和无水CH₂Cl₂(1mL)。在冰,H₂O浴中将溶液冷却至0℃,并通过注射器逐滴添加SnCl₄(0.928mL,0.928mmol,无水CH₂Cl₂中的1.0M溶液),给出浅黄色沉淀物。于0℃搅动溶液5分钟,此时撤走冰,H₂O浴,并使溶液升温至室温。搅动反应1小时,直接吸附到Biotage KP C18 HS 3g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 30g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出期望的产物,为白色膜(36.2mg,52%产率)。HPLC保留时间10.380分钟。方法A。



[1021] (S)-13-(3-(2-((2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)-1-甲酰胺基-1,12-二氧代-5,8-二氧杂-2,11-二氮杂十六烷-16-酸ATTO 550(FMOC HIPS吡啶E(CO₂H)PEG₂NH ATTO 550)(化合物23)(图11)的制备

[1022] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加FMOC HIPS吲哚E (CO₂H) PEG₂ NH₂ (5.3mg, 7.1μmol), ATTO 550NHS (5.0mg, 6.3μmol), DIPEA (2.5mg, 3.4μL, 19.3μmol), 和无水DMF (0.3mL)。于室温搅动溶液2小时, 直接吸附到Biotage SNAP Ultra 1g samplet上, 并在Biotage SNAP Ultra 10g筒上使用CH₂Cl₂ (0.1% AcOH) 中的0% MeOH (0.1% AcOH) 至CH₂Cl₂ (0.1% AcOH) 中的10% MeOH (0.1% AcOH) 的分级梯度纯化, 给出标题化合物, 为略带紫色的红色膜 (4.9mg, 54% 产率)。TLC R_f (SiO₂) 0.308 (10% MeOH, 0.1% AcOH, 89.9% CH₂Cl₂)。

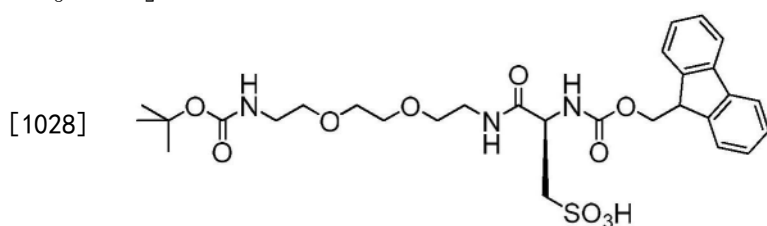


[1024] (S)-1-甲酰胺基-13-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吲哚-1-基)丙酰胺基)-1,12-二氧代-5,8-二氧杂-2,11-二氮杂十六烷-16-酸ATTO 550 (HIPS吲哚E (CO₂H) PEG₂ NH ATTO550) (化合物24) (图11) 的制备

[1025] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加FMOC HIPS吲哚E (CO₂H) PEG₂ NH ATTO 550 (4.9mg, 3.4μmol)。通过注射器添加DMA (240μL) 中的哌啶 (51.7mg, 60.0μL, 0.6mmol)。于室温搅动溶液20分钟, 直接吸附到Biotage KP C18 HS 1.2g samplet上, 并在Biotage KP C18 HS 12g筒上使用H₂O中的0-100% CH₃CN梯度纯化, 给出期望的产物, 为暗红色膜 (3.2mg, 78% 产率)。HPLC保留时间10.568分钟, 10.689分钟, 10.947分钟 (尸胺异构体的混合物)。

[1026] 实施例6

[1027] 方法6-(R)-1-甲酰胺基-13-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吲哚-1-基)丙酰胺基)-1,12-二氧代-5,8-二氧杂-2,11-二氮杂十四烷-14-磺酸ATTO 550 (HIPS吲哚C (SO₃H) PEG₂ NH ATTO 550) 的制备

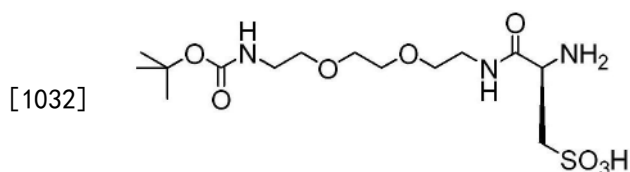


[1029] 合成化合物HIPS吲哚C (SO₃H) PEG₂ NH ATTO 550的反应示意图显示于图12和图13。

[1030] (R)-16-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-2,2-二甲基-4,15-二氧代-3,8,11-三氧杂-5,14-二氮杂十七烷-17-磺酸 (FMOC C (SO₃H) PEG₂ NHBOC) (图12) 的制备

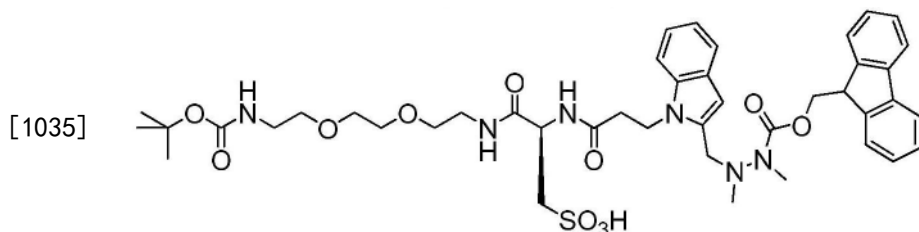
[1031] 对带有干燥的豌豆搅动棒的干燥的20mL玻璃闪烁管添加FMOC C (SO₃H) CO₂H (361.0mg, 0.9mmol), HATU (403.0mg, 1.1mmol), DIPEA (252.0mg, 339.6μL, 2.0mmol), 和无水DMF (10mL)。于室温搅动清澈, 无色溶液15分钟。在另一干燥的4mL玻璃闪烁管中组合H₂N PEG₂ NHBOC (258.0mg, 1.0mmol) 和无水DMF (1mL), 并逐滴, 缓慢添加至搅动中的溶液。于室温搅动反应16小时, 浓缩, 吸附到Biotage KP C18 HS 12g samplet上, 并在Biotage KP

C18 HS 100g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出标题化合物,为无色,玻璃状固体(262.0mg,46%产率)。HPLC保留时间8.961分钟。方法A。



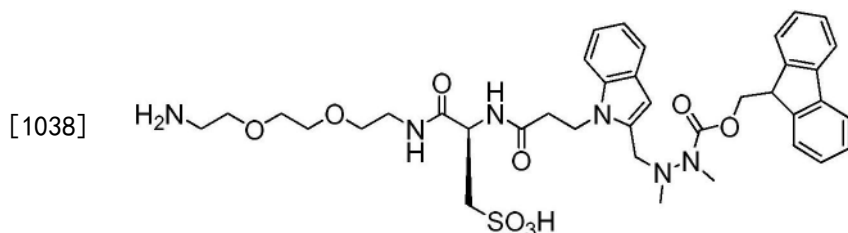
[1033] (R)-16-氨基-2,2-二甲基-4,15-二氧化-3,8,11-三氧杂-5,14-二氮杂十七烷-17-磺酸(C(SO₃H)PEG₂NHBOC)(图12)的制备

[1034] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加Fmoc C(SO₃H)PEG₂NHBOC(248.0mg,0.4mmol)。通过注射器添加DMF(2.0mL)中的哌啶(681.2mg,0.790mL,8.0mmol)。于室温搅动溶液1.5小时,浓缩,直接吸附到Biotage KP C18 HS 3g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 30g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出期望的产物,为白色固体(250.0mg,31%产率)。HPLC保留时间2.311分钟。方法A。



[1036] (R)-16-(3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)-2,2-二甲基-4,15-二氧化-3,8,11-三氧杂-5,14-二氮杂十七烷-17-磺酸(Fmoc HIPS吡啶C(SO₃H)PEG₂NHBOC)(图12)的制备

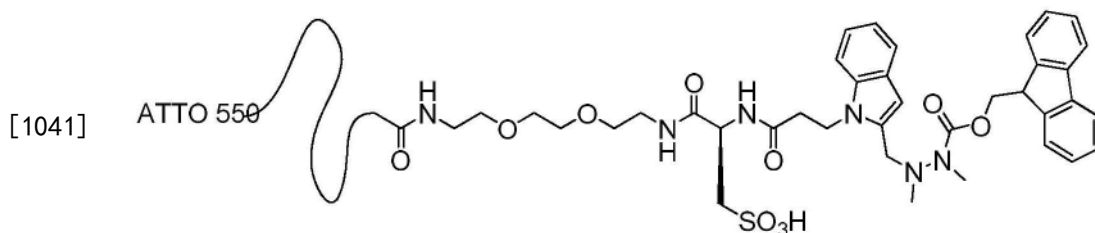
[1037] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加C(SO₃H)PEG₂NHBOC(50.0mg,0.13mmol),Fmoc HIPS吡啶CO₂PFP(85.0mg,0.13mmol),NaHCO₃(51.0mg,0.61mmol),和DMA(2.0mL)。于室温搅动溶液1.5小时,直接吸附到Biotage KP C18 HS 3g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 30g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出标题化合物,为白色,泡沫状固体(41.0mg,36%产率)。HPLC保留时间11.024分钟。方法A。



[1039] (R)-2-(3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)-3-((2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙基)氨基)-3-氧代丙烷-1-磺酸(Fmoc HIPS吡啶C(SO₃H)PEG₂NH₂)(图13)的制备

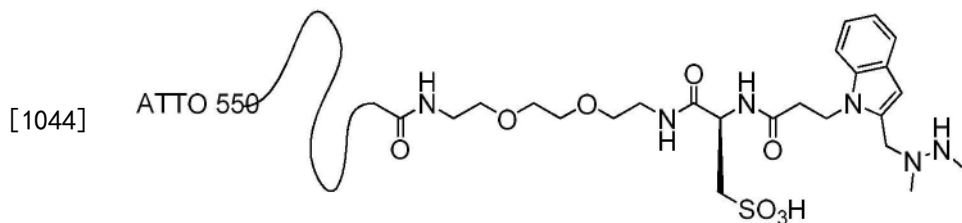
[1040] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的20mL玻璃闪烁管添加Fmoc HIPS吡啶C(SO₃H)PEG₂NHBOC(41.0mg,0.05mmol)和无水CH₂Cl₂(5mL)。在冰,H₂O浴中将溶液冷却至0℃,并通过注射器逐滴添加TFA(273.6mg,0.184mL,2.4mmol)。于0℃搅动溶液2小时,直接吸附到Biotage SNAP Ultra 3g samplet上,并在Biotage SNAP Ultra 25g筒上使用CH₂Cl₂中的

10%MeOH纯化,给出期望的产物,为白色固体(31.0mg,86%产率)。HPLC保留时间10.284分钟。方法A。



[1042] (R)-13-(3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吲哚-1-基)丙酰胺基)-1-甲酰胺基-1,12-二氧代-5,8-二氧杂-2,11-二氮杂十四烷-14-磺酸ATTO 550(FMOC HIPS吲哚C(SO₃H)PEG₂NH ATTO 550)(化合物25)(图13)的制备

[1043] 对带有跳蚤搅动棒的4mL玻璃闪烁管添加FMOC HIPS吲哚C(SO₃H)PEG₂NH₂(5.3mg,7.0μmol),ATTO 550NHS(5.0mg,6.3μmol),DIPEA(4.0mg,5.5μL,31.6μmol),DMF(270.0μL),和H₂O(30.0μL)。于室温搅动溶液2小时,直接吸附到Biotage SNAP Ultra 1g samplet上,并在Biotage SNAP Ultra 10g筒上使用CH₂Cl₂(0.1%AcOH)中的0%MeOH(0.1%AcOH)至CH₂Cl₂(0.1%AcOH)中的10%MeOH(0.1%AcOH)的分级梯度纯化,给出标题化合物,为略带紫色的红色膜(10.0mg,99%产率)。HPLC保留时间15.220分钟,15.366分钟,15.573分钟(异构体的混合物)。方法A。

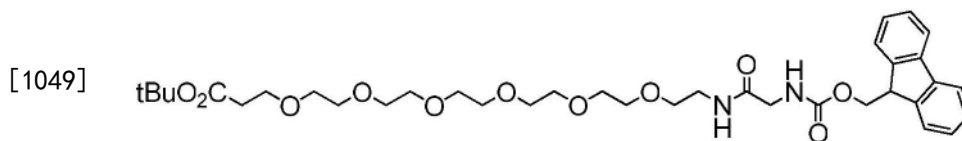


[1045] (R)-1-甲酰胺基-13-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吲哚-1-基)丙酰胺基)-1,12-二氧代-5,8-二氧杂-2,11-二氮杂十四烷-14-磺酸ATTO 550(HIPS吲哚C(SO₃H)PEG₂NH ATTO550)(化合物26)(图13)的制备

[1046] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加FMOC HIPS吲哚C(SO₃H)PEG₂NH ATTO 550(10.0mg,6.3μmol)。通过注射器添加DMA(240μL)中的哌啶(51.7mg,60.0μL,0.6mmol)。于室温搅动溶液20分钟,直接吸附到Biotage KP C18 HS 1.2g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 12g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出期望的产物,为暗红色膜(3.3mg,38%产率)。HPLC保留时间11.343分钟,11.499分钟,11.771分钟。方法A。

[1047] 实施例7

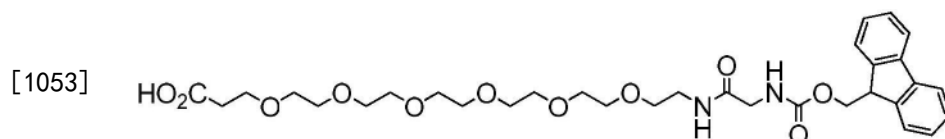
[1048] 方法7-2-(4-(((4-((2S,5S)-34-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吲哚-1-基)-5-异丙基-4,7,29,32-四氧代-2-(3-脲基丙基)-10,13,16,19,22,25-六氧杂-3,6,28,31-四氮杂三十四酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)-N-甲基丁酰胺基)丙酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(HIPS吲哚G PEG₆Val Cit PABC NMC₃美登素)的制备



[1050] 合成化合物HIPS吡啶G PEG₆Val Cit PABC NMC₃美登素的反应示意图显示于图14至19;其中NMC₃代表基团-N(CH₃)-(CH₂)₃-。

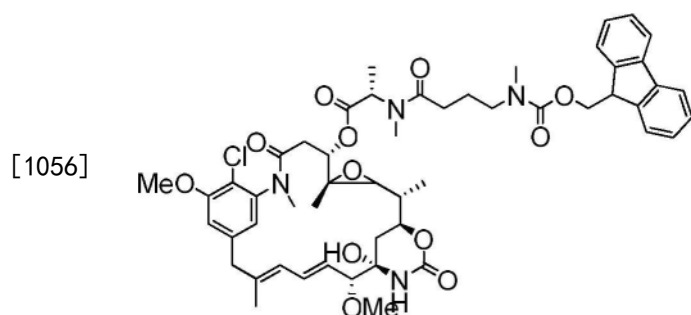
[1051] 1-(9H-芴-9-基)-3,6-二氧化-2,10,13,16,19,22,25-七氧杂-4,7-二氮杂二十八烷-28-酸叔丁基酯(FMOC G PEG₆CO₂tBu) (化合物27)的制备

[1052] 对带有干燥的豌豆搅动棒的干燥的20mL玻璃闪烁管添加FMOC G CO₂H(297.6mg, 1.0mmol), HATU(381.0mg, 1.0mmol), 和无水DMF(3mL)。于室温搅动清澈, 无色溶液15分钟。在另一干燥的4mL玻璃闪烁管中组合H₂N PEG₆CO₂tBu(415.7mg, 1.0mmol), DIPEA(387.7mg, 522.5μL, 3.0mmol), 和无水DMF(1mL), 并逐滴, 缓慢添加至搅动中的溶液。于室温搅动反应2小时, 直接吸附到Biotage KP C18 HS 12g samplet上, 并在Biotage KP C18 HS 60g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化, 给出标题化合物, 为浅黄色, 粘性油(669.0mg, 97%产率)。HPLC保留时间12.481分钟。方法A。



[1054] 1-(9H-芴-9-基)-3,6-二氧化-2,10,13,16,19,22,25-七氧杂-4,7-二氮杂二十八烷-28-酸(FMOC G PEG₆CO₂H) (化合物28) (图14)的制备

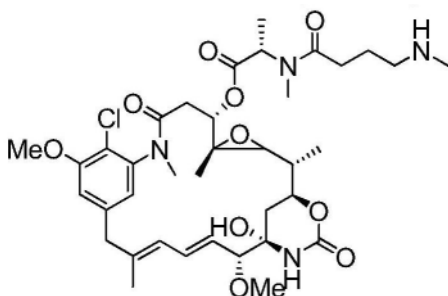
[1055] 对带有豌豆搅动棒的20mL玻璃闪烁管添加TFA, TIPS, H₂O的溶液(7.6ml, 0.2mL, 0.2mL)。分小份添加FMOC G PEG₆CO₂tBu(669.0mg, 1.0mmol), 并于室温搅动反应1小时。蒸发溶液, 吸附到Biotage KP C18 HS 12g samplet上, 并在Biotage KP C18 HS 60g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化, 给出期望的产物, 为白色固体(500.2mg, 79%产率)。HPLC保留时间9.686分钟。方法A。



[1057] 2-(4-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)(甲基)氨基)-N-甲基丁酰胺基)丙酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(FMOC NMC₃美登素) (化合物29) (图14)的制备

[1058] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加FMOC N甲基γ-氨基丁酸(76.3mg, 0.2mmol), HATU(85.4mg, 0.2mmol), 和无水DMF(0.6mL)。于室温搅动清澈, 无色溶液15分钟。在另一干燥的4mL玻璃闪烁管中组合去酰基美登素(145.4mg, 0.2mmol), DIPEA(86.7mg, 116.9μL, 0.7mmol), 和无水DMF(0.3mL), 并逐滴, 缓慢添加至搅动中的溶液。容许反应于室温搅动2小时, 直接吸附到Biotage KP C18 HS 3g samplet上, 并在Biotage KP C18 HS 30g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化, 给出标题化合物, 为白色固体(182.7mg, 84%产率)。HPLC保留时间14.220分钟。方法A。

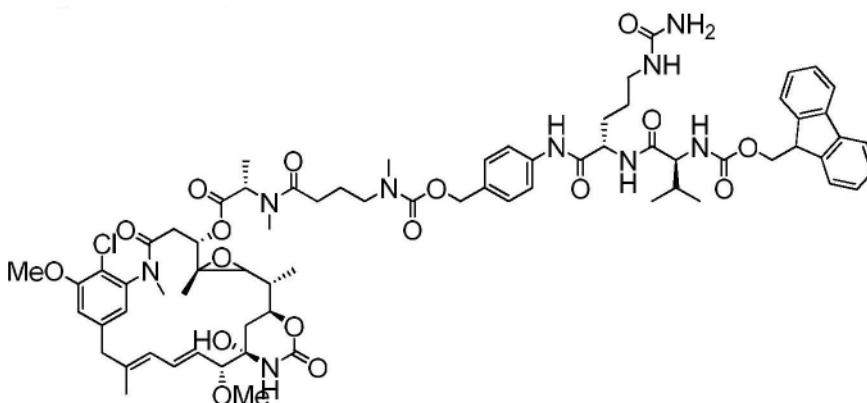
[1059]



[1060] 2-(N-甲基-4-(甲基氨基)丁酰胺基)丙酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(NMC₃美登素)(化合物30)(图14)的制备

[1061] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加Fmoc NMC₃美登素(182.7mg,0.2mmol)。通过注射器添加DMF(1.6mL)中的哌啶(344.8mg,0.4mL,4.0mmol)。于室温搅动溶液20分钟,直接吸附到Biotage KP C18 HS 3g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 30g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出期望的产物,为白色固体(110.6mg,79%产率)。HPLC保留时间13.510分钟。方法A。

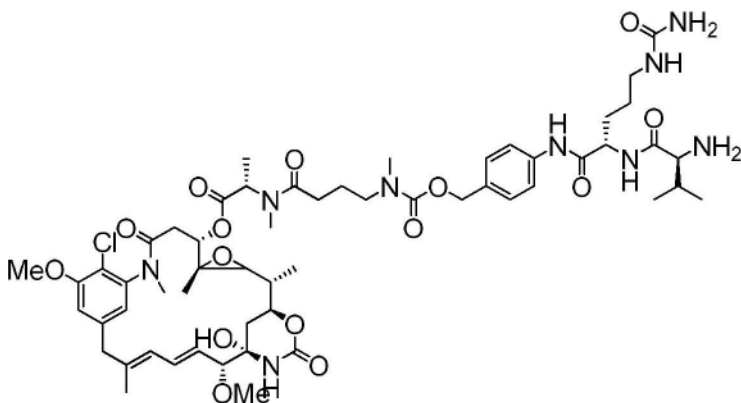
[1062]



[1063] 2-(4-(((4-((S)-2-((S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)-N-甲基丁酰胺基)丙酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(Fmoc Val Cit PABC NMC₃美登素)(化合物31)(图15)的制备

[1064] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加NMC₃美登素(39.8mg,0.05mmol),Fmoc Val Cit PABC PNO₂P(42.0mg,0.06mmol),HOAt(12.8mg,0.09mmol),DIPEA(20.6mg,27.8μL,0.16mmol),和无水DMF(0.7mL)。于室温搅动溶液24小时,直接吸附到Biotage KP C18 HS 1.2g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 12g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出标题化合物,为浅黄色固体(46.9mg,64%产率)。HPLC保留时间12.702分钟。方法A。

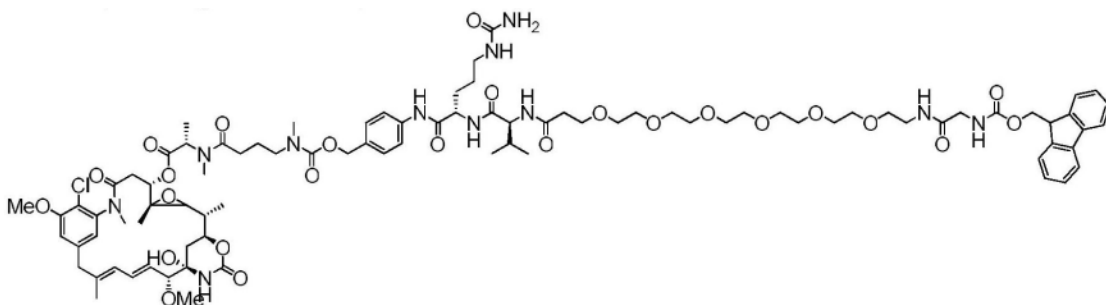
[1065]



[1066] 2-(4-(((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)-N-甲基丁酰胺基)丙酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(Val Cit PABC NMC₃美登素)(化合物32)(图15)的制备

[1067] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加Fmoc Val Cit PABC NMC₃美登素(46.9mg,0.03mmol)。通过注射器添加DMF(0.4mL)中的哌啶(86.2mg,0.1mL,1.0mmol)。于室温搅动溶液20分钟,直接吸附到Biotage KP C18 HS 1.2g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 12g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出期望的产物,为白色固体(31.1mg,79%产率)。HPLC保留时间8.774分钟。方法A。

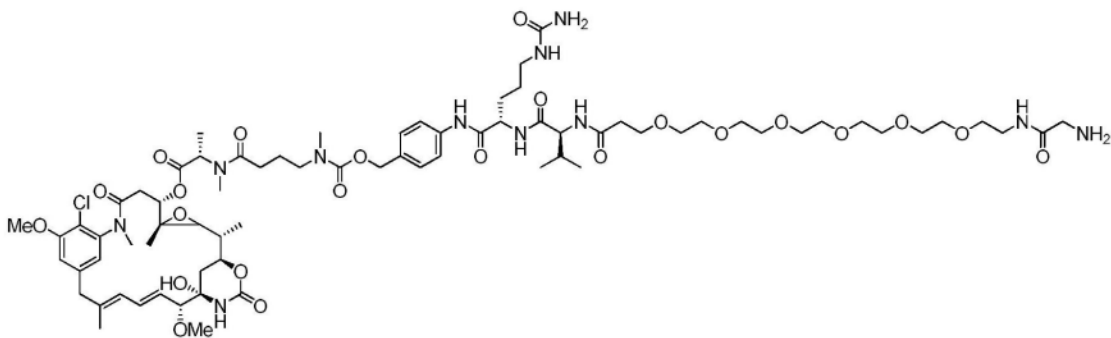
[1068]



[1069] 2-(4-(((4-((30S,33S)-1-(9H-芴-9-基)-30-异丙基-3,6,28,31-四氧代-33-(3-脲基丙基)-2,10,13,16,19,22,25-七氧杂-4,7,29,32-四氮杂三十四酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)-N-甲基丁酰胺基)丙酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(Fmoc G PEG₆Val Cit PABC NMC₃美登素)(化合物33)(图16)的制备

[1070] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加Fmoc G PEG₆CO₂H(21.5mg,0.03mmol),HATU(12.7mg,0.03mmol),和无水DMF(0.2mL)。于室温搅动清澈,无色溶液15分钟。在另一干燥的4mL玻璃闪烁管中组合Val Cit PABC NMC₃美登素(31.1mg,0.03mmol),DIPEA(10.5mg,14.2μL,0.08mmol),和无水DMF(0.2mL),并逐滴,缓慢添加至搅动中的溶液。于室温搅动反应2小时,直接吸附到Biotage KP C18 HS 1.2g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 12g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出标题化合物,为白色固体(43.6mg,91%产率)。HPLC保留时间11.305分钟。方法A。

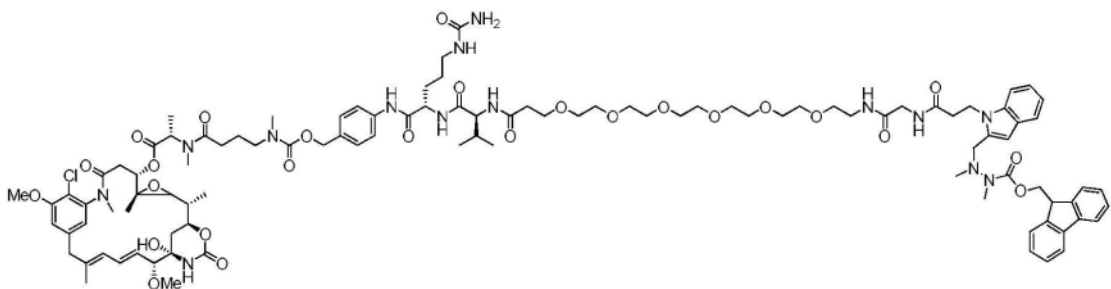
[1071]



[1072] 2-(4-(((4-((26S,29S)-1-氨基-26-异丙基-2,24,27-三氧代-29-(3-脲基丙基)-6,9,12,15,18,21-六氧杂-3,25,28-三氮杂三十酰胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)-N-甲基丁酰胺基)丙酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(G PEG₆Val Cit PABC NMC₃美登素)(化合物34)(图17)的制备

[1073] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加Fmoc Val Cit PABC NMC₃美登素(43.6mg,0.03mmol)。通过注射器添加DMF(0.4mL)中的哌啶(86.2mg,0.1mL,1.0mmol)。于室温搅动溶液20分钟,直接吸附到Biotage KP C18 HS 1.2g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 12g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出期望的产物,为白色固体(33.7mg,89%产率)。HPLC保留时间8.817分钟。方法A。

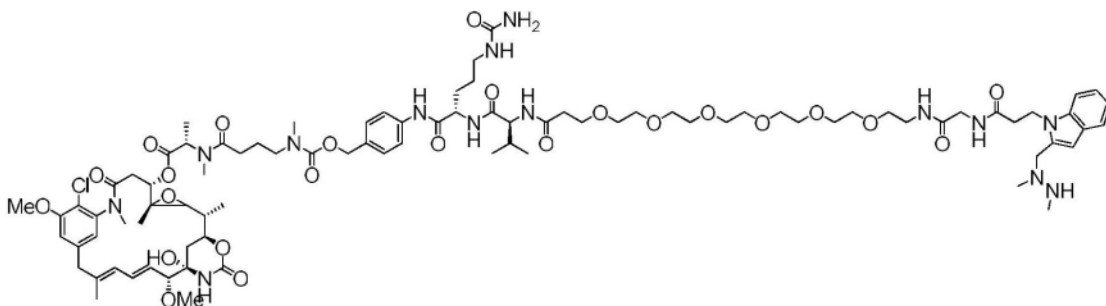
[1074]



[1075] 2-((1-((6S,9S)-1-氨基-6-((4-((10S,13S)-13-((S)-3-美登素基)-4,9,10-三甲基-3,8,11-三氧代-2,12-二氧杂-4,9-二氮杂十四基)苯基)氨基甲酰基)-9-异丙基-1,8,11,33,36-五氧代-14,17,20,23,26,29-六氧杂-2,7,10,32,35-五氮杂三十八烷-38-基)-1H-吡啶-2-基)甲基)-1,2-二甲基胍羧酸(9H-芴-9-基)甲基酯(Fmoc HIPS吡啶G PEG₆Val Cit PABC NMC₃美登素)(化合物35)(图18)的制备

[1076] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加G PEG₆Val Cit PABC NMC₃美登素(33.7mg,0.02mmol),Fmoc HIPS吡啶CO₂PFP(17.4mg,0.03mmol),DIPEA(8.5mg,11.5 μL,0.07mmol),和无水DMF(0.3mL)。于室温搅动溶液2小时,直接吸附到Biotage KP C18 HS 1.2g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 12g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出标题化合物,为浅黄色固体(39.3mg,90%产率)。HPLC保留时间12.900分钟。方法A。

[1077]



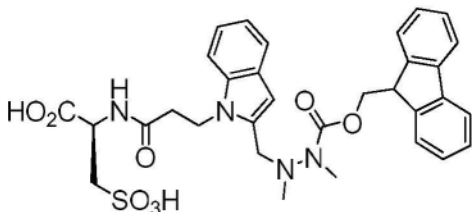
[1078] 2-(4-(((4-((2S,5S)-34-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-5-异丙基-4,7,29,32-四氧代-2-(3-脲基丙基)-10,13,16,19,22,25-六氧杂-3,6,28,31-四氮杂三十四酰胺基)苄基)氧基)羧基)(甲基)氨基)-N-甲基丁酰胺基)丙酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(HIPS吡啶G PEG6Val Cit PABC NMC₃美登素)(化合物36)(图19)的制备

[1079] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加FMOC HIPS吡啶G PEG₆Val Cit PABC NMC₃美登素(39.3mg,0.02mmol)。通过注射器添加DMA(0.4mL)中的哌啶(86.2mg,0.1mL,1.0mmol)。于室温搅动溶液20分钟,直接吸附到Biotage KP C18 HS1.2g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 12g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出期望的产物,为白色固体(31.3mg,90%产率)。HPLC保留时间9.425分钟。方法A.LRMS(ESI),为C₈₇H₁₂₉C1N₁₄NaO₂₄⁺[M+Na]⁺计算:1811.9,发现1811.7。

[1080] 实施例8

[1081] 方法8-3-(((S)-1-((S)-1-环丙基乙氧基)-1-氧代丙-2-基)(甲基)氨基)-2-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)-3-氧代丙烷-1-磺酸根(HIPS吡啶C(SO₃H)美登素)的制备

[1082]

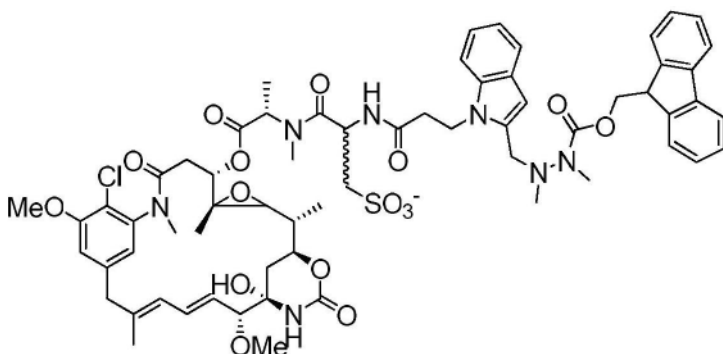


[1083] 合成化合物HIPS吡啶C(SO₃H)美登素的反应示意图显示于图20。

[1084] (R)-2-(3-(2-((2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羧基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)-3-磺基丙酸(FMOC HIPS吡啶C(SO₃H)CO₂H)(化合物36)(图20)的制备

[1085] 对带有干燥的豌豆搅动棒的干燥的20mL玻璃闪烁管添加L-半胱磺酸单水合物(411.1mg,2.2mmol),FMOC HIPS吡啶CO₂PFP(704.6mg,1.1mmol),DIPEA(851.8mg,1.148mL,6.6mmol),和无水DMF(5mL)。于室温搅动溶液4小时,直接吸附到Biotage KP C18HS 12g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 60g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出标题化合物,为白色固体(654.2mg,95%产率)。HPLC保留时间10.725分钟。方法C。

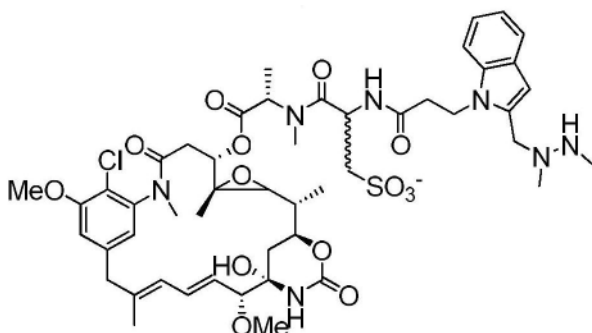
[1086]



[1087] 2-(3-(2-((2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)-3-(((S)-1-((S)-3-美登素基)-1-氧代丙-2-基)(甲基)氨基)-3-氧代丙烷-1-磺酸根(FMOC HIPS吡啶C(SO₃H)美登素)(化合物37)(图20)的制备

[1088] 对带有干燥的豌豆搅动棒的干燥的20mL玻璃闪烁管添加FMOC HIPS吡啶C(SO₃H)CO₂H(586.2mg,0.9mmol),HATU(351.3mg,0.9mmol),和无水DMF(3mL)。于室温搅动清澈,无色溶液15分钟。在另一干燥的4mL玻璃闪烁管中组合去酰基美登素(316.9mg,0.5mmol),DIPEA(388.3mg,523.3μL,3.0mmol),和无水DMF(3mL),并逐滴,缓慢添加至搅动中的溶液。容许反应于室温搅动2小时,直接吸附到Biotage KP C18 HS 12g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 60g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出期望的产物,为白色固体(505.9mg,82%产率)。HPLC保留时间16.493分钟,16.899分钟(非对映异构体的混合物)。方法C。

[1089]



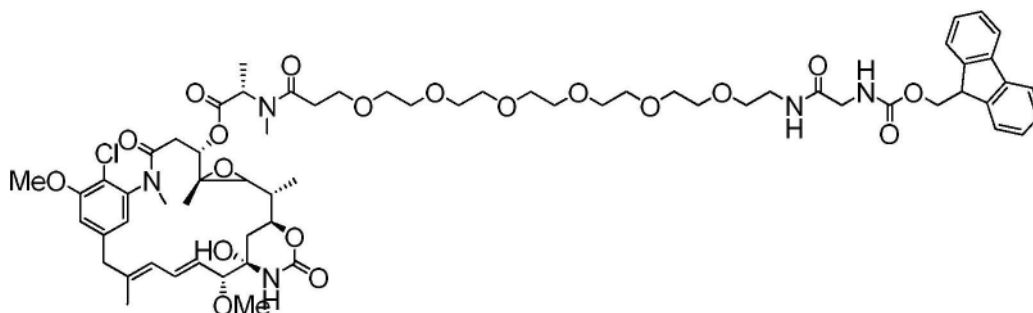
[1090] 3-(((S)-1-((S)-3-美登素基)-1-氧代丙-2-基)(甲基)氨基)-2-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)-3-氧代丙烷-1-磺酸根(HIPS吡啶C(SO₃H)美登素)(化合物38)(图20)的制备

[1091] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加FMOC HIPS吡啶C(SO₃H)美登素(253.0mg,0.2mmol)。通过注射器添加DMA(0.8mL)中的哌啶(172.4mg,0.2mL,2.0mmol)。于室温搅动溶液20分钟,直接吸附到Biotage KP C18 HS 1.2g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 12g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出标题化合物,为白色固体(83.2mg,40%产率)。HPLC保留时间13.643分钟,13.968分钟(非对映异构体的混合物)。方法C.LRMS(ESI),为C₄₉H₆₅C1N₇O₁₄S⁻[M-H]⁻计算:1042.4,发现1042.1。

[1092] 实施例9

[1093] 方法9-31-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-2,3-二甲基-4,26,29-三氧代-7,10,13,16,19,22-六氧杂-3,25,28-三氮杂三十一烷-1-酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(HIPS吡啶G PEG₆美登素)的制备

[1094]

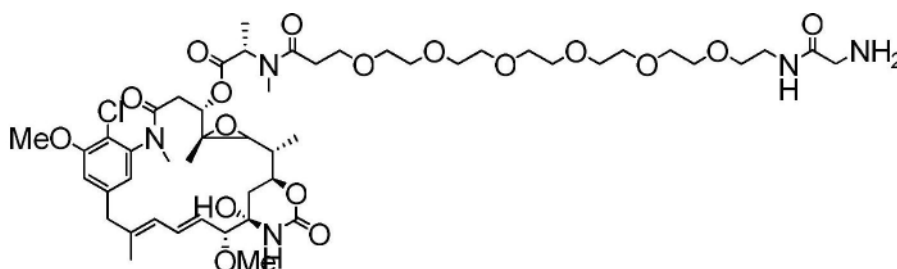


[1095] 合成化合物HIPS吡啶G PEG₆美登素的反应示意图显示于图21和图22。

[1096] 1-(9H-芴-9-基)-29,30-二甲基-3,6,28-三氧代-2,10,13,16,19,22,25-七氧杂-4,7,29-三氮杂三十一烷-31-酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(FMOC G PEG₆美登素)(化合物39)(图21)的制备

[1097] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加FMOC G PEG₆CO₂H(62.3mg, 0.1mmol), HATU(37.8mg, 0.1mmol), 和无水DMF(0.2mL)。于室温搅动清澈, 无色溶液15分钟。在另一干燥的4mL玻璃闪烁管中组合去酰基美登素(63.8mg, 0.1mmol), DIPEA(38.2mg, 51.4 μL, 0.3mmol), 和无水DMF(0.2mL), 并逐滴, 缓慢添加至搅动中的溶液。容许反应于室温搅动2小时, 直接吸附到Biotage KP C18 HS 1.2g samplet上, 并在Biotage KP C18 HS 12g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化, 给出期望的产物, 为白色固体(87.3mg, 70%产率)。HPLC保留时间12.122分钟。方法A。

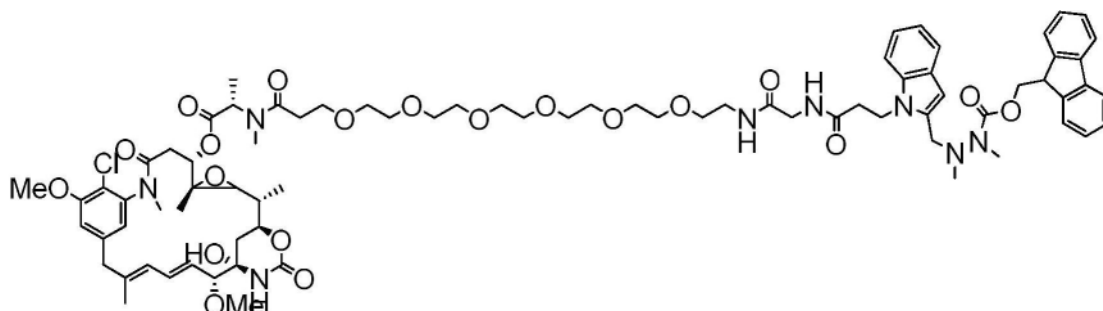
[1098]



[1099] 1-氨基-25,26-二甲基-2,24-二氧代-6,9,12,15,18,21-六氧杂-3,25-二氮杂二十七烷-27-酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(G PEG₆美登素)(化合物40)(图21)的制备

[1100] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加FMOC G PEG₆美登素(87.3mg, 0.07mmol)。通过注射器添加DMF(0.8mL)中的哌啶(172.4mg, 0.2mL, 2.0mmol)。于室温搅动溶液20分钟, 直接吸附到Biotage KP C18 HS 1.2g samplet上, 并在Biotage KP C18 HS 12g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化, 给出标题化合物, 为白色固体(59.1mg, 82%产率)。HPLC保留时间14.090分钟。方法A。

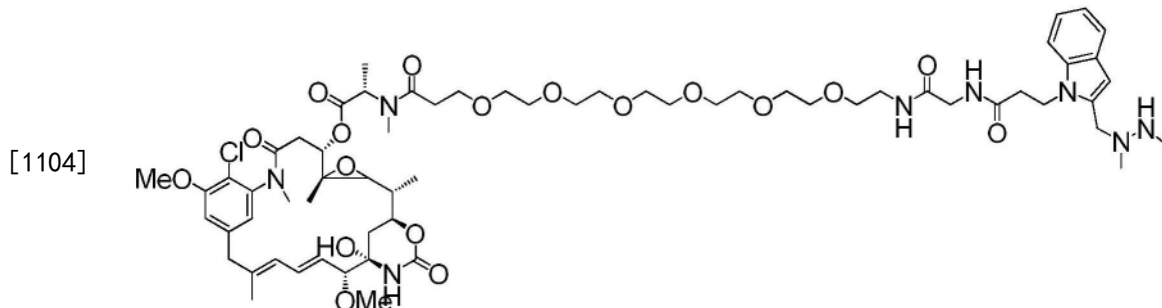
[1101]



[1102] 31-(2-((2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-

基)-2,3-二甲基-4,26,29-三氧代-7,10,13,16,19,22-六氧杂-3,25,28-三氮杂三十一烷-1-酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(FMOC HIPS吲哚G PEG₆美登素)(化合物41)(图21)的制备

[1103] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加G PEG₆美登素(59.1mg, 0.06mmol), FMOC HIPS吲哚CO₂PFP(44.0mg, 0.07mmol), DIPEA(36.6mg, 49.4μL, 0.3mmol), 和无水DMF(0.3mL)。于室温搅动溶液2小时,直接吸附到Biotage KP C18 HS 1.2g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 12g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出期望的产物,为白色固体(67.2mg, 79%产率)。HPLC保留时间13.963分钟。方法A。

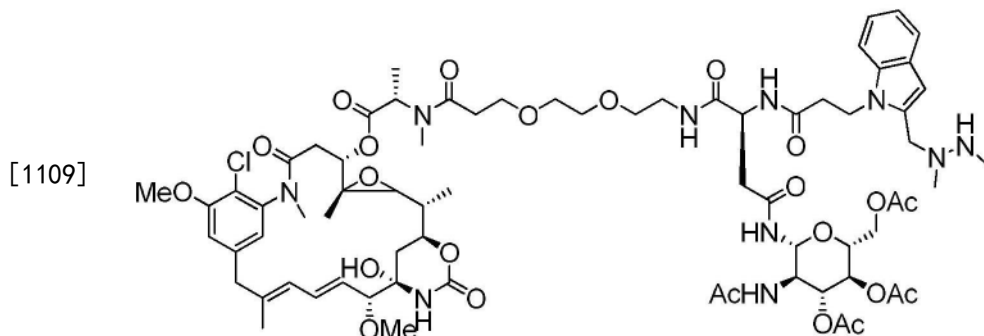


[1105] 31-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吲哚-1-基)-2,3-二甲基-4,26,29-三氧代-7,10,13,16,19,22-六氧杂-3,25,28-三氮杂三十一烷-1-酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(HIPS吲哚G PEG₆美登素)(化合物42)(图22)的制备

[1106] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加FMOC HIPS吲哚G PEG₆美登素(67.2mg, 0.05mmol)。通过注射器添加DMA(0.4mL)中的哌啶(86.2mg, 0.1mL, 1.0mmol)。于室温搅动溶液20分钟,直接吸附到Biotage KP C18 HS 1.2g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 12g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出标题化合物,为白色固体(48.0mg, 84%产率)。HPLC保留时间9.416分钟。方法A。LRMS(ESI),为C₆₃H₉₄C1N₈O₁₈⁺[M+H]⁺计算:1285.6,发现1285.5。

[1107] 实施例10

[1108] 方法10-15-(2-(((2R,3R,4R,5S,6R)-3-乙酰胺基-4,5-二羟基-6-(羟基甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氨基)-2-氧代乙基)-19-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吲哚-1-基)-2,3-二甲基-4,14,17-三氧代-7,10-二氧杂-3,13,16-三氮杂十九烷-1-酸(2S,15S)-1-((S)-3-美登素基)酯(HIPS吲哚N((OH)₃AcNH-β-Glc)PEG₂美登素)的制备

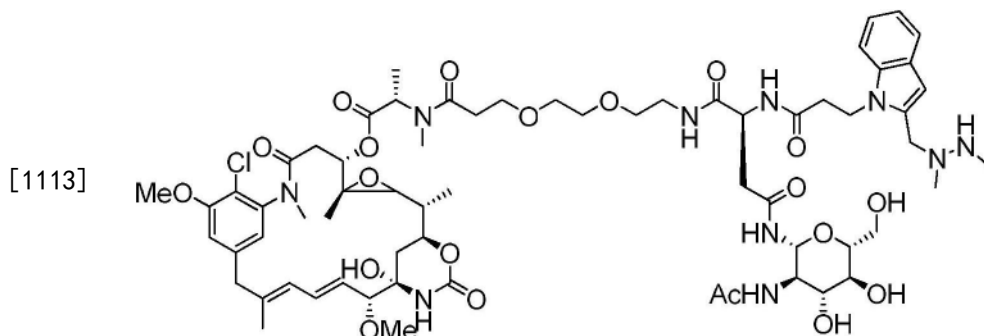


[1110] 合成化合物HIPS吲哚N((OH)₃AcNH-β-Glc)PEG₂美登素的反应示意图显示于图23。

[1111] 二乙酸(2R,3S,4R,5R,6R)-5-乙酰胺基-2-(乙酰氧基甲基)-6-((2S,15S)-1-((S)-3-美登素基)-15-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吲哚-1-基)丙酰胺基)-2,3-二甲基-1,4,14-三氧代-7,10-二氧杂-3,13-二氮杂十七酰胺基)四氢-2H-吡喃-3,4-二基

酯(HIPS吡啶N((Ac)₃AcNH-β-Glc) PEG₂美登素)(化合物43)(图23)的制备

[1112] 如方法3中制备。HPLC保留时间9.451分钟。方法A.LRMS(ESI),为C₇₁H₁₀₀ClN₁₀O₂₃⁺[M+H]⁺计算:1495.7,发现1495.4。

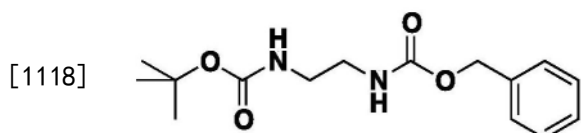


[1114] 15-(2-(((2R,3R,4R,5S,6R)-3-乙酰胺基-4,5-二羟基-6-(羟基甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氨基)-2-氧代乙基)-19-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-2,3-二甲基-4,14,17-三氧代-7,10-二氧杂-3,13,16-三氮杂十九烷-1-酸(2S,15S)-1-((S)-3-美登素基)酯(HIPS吡啶N((OH)₃AcNH-β-Glc) PEG₂美登素)(化合物44)(图23)的制备

[1115] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加HIPS吡啶N((Ac)₃AcNH-β-Glc) PEG₂美登素(7.2mg,4.8μmol)和无水MeOH(1.0mL)。通过注射器添加NH₃(1.0mL,2.0mmol,无水MeOH中的2.0M溶液)。于室温搅动溶液4小时,蒸发,直接吸附到Biotage KP C18 HS 1.2g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 12g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出期望的产物,为白色膜(6.5mg,99%产率)。HPLC保留时间8.520分钟。方法A.LRMS(ESI),为C₆₅H₉₄ClN₁₀O₂₀⁺[M+H]⁺计算:1369.6,发现1369.5。

[1116] 实施例11

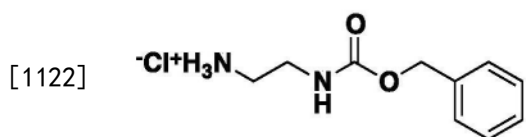
[1117] 方法11-18-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-9,10-二羟基-2,3-二甲基-4,8,11,16-四氧代-3,7,12,15-四氮杂十八烷-1-酸(2S,9S,10R)-1-((S)-3-美登素基)酯(HIPS吡啶乙二胺酒石酸(OH)₂β丙氨酸美登素)(自中间体化合物45)的制备



[1119] 合成化合物HIPS吡啶乙二胺酒石酸(OH)₂β丙氨酸美登素的反应示意图显示于图24。

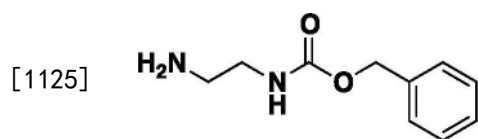
[1120] 乙烷-1,2-二基二氨基甲酸苄基酯叔丁基酯的制备

[1121] 在10分钟里对(2-氨基乙基)氨基甲酸叔丁基酯(1.0g,6.3mmol),Et₃N(0.94g,9.4mmol),和THF(20mL)的溶液添加CbzCl(1.2g,7.5mmol)。于室温搅动反应10小时,并浓缩以得出白色固体,在硅胶上通过柱层析(PE:EtOAc=10:1至3:1)纯化以给出期望的化合物(1.5g,83%产率)。



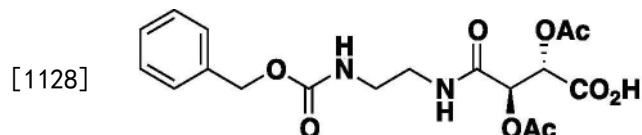
[1123] 氯化2-(((苄基氧基)羰基)氨基)乙铵的制备

[1124] 用HCl/EtOAc (2mL) 处理MeOH (10mL) 中的乙烷-1,2-二基二氨基甲酸苄基酯叔丁基酯 (1.5g, 6.3mmol)。于室温搅动反应10小时, 并浓缩以给出标题化合物 (1.0g, 85%产率)。



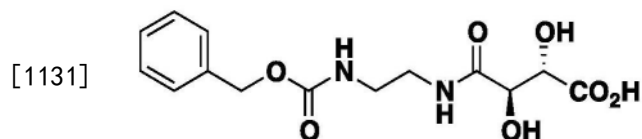
[1126] (2-氨基乙基) 氨基甲酸苄基酯的制备

[1127] 对氯化2-(((苄基氧基)羰基)氨基)乙铵 (1.0g, 4.3mmol) 在水 (5mL) 中的溶液添加无水Na₂CO₃直至石蕊测试指示pH 9。去除溶剂得出残留物, 用CH₂Cl₂研磨并过滤。浓缩滤出液以得出期望的游离胺 (0.93g, 99%产率)。



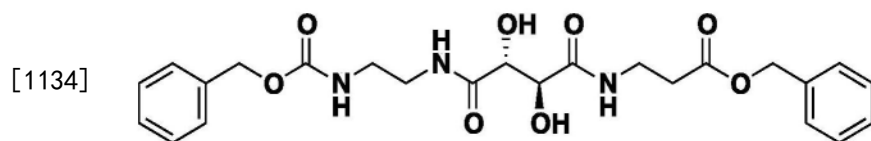
[1129] (2S,3R)-2,3-二乙酰氧基-4-((2-(((苄基氧基)羰基)氨基)乙基)氨基)-4-氧代丁酸的制备

[1130] 于0°C对THF (2mL) 中的(2-氨基乙基)氨基甲酸苄基酯 (100mg, 0.52mmol) 添加(+)-二乙酰基-L-酒石酸酐 (37mg, 0.17mmol)。使混合物升温至室温并搅动过夜。去除溶剂以得出标题化合物, 为浅黄色固体 (212mg, 83%产率)。在没有另外纯化的情况下在后续步骤中使用该化合物。



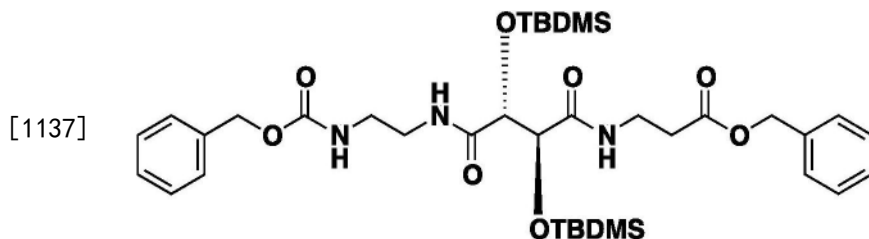
[1132] (2S,3R)-4-((2-(((苄基氧基)羰基)氨基)乙基)氨基)-2,3-二羟基-4-氧代丁酸的制备

[1133] 对(2S,3R)-2,3-二乙酰氧基-4-((2-(((苄基氧基)羰基)氨基)乙基)氨基)-4-氧代丁酸 (3.3g, 8mmol) 在H₂O (40mL) 中的悬浮液添加氢氧化钾 (0.9g, 16mmol)。于室温搅动溶液1.5小时, 并用HCl (1M) 酸化至pH 5, 给出白色沉淀物。过滤固体, 用水清洗, 并干燥以给出标题化合物 (1.2g, 45%产率)。在没有另外纯化的情况下在后续步骤中使用该化合物。



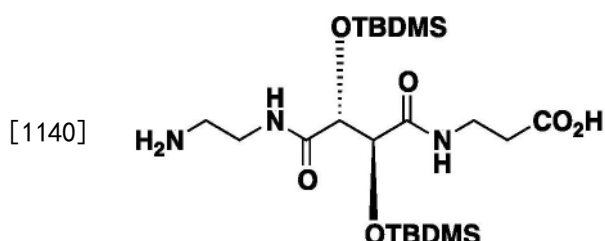
[1135] 9,10-二羟基-3,8,11-三氧代-1-苯基-2-氧杂-4,7,12-三氮杂十五烷-15-酸 (9R, 10S)-苄基酯的制备

[1136] 对(2S,3R)-4-((2-(((苄基氧基)羰基)氨基)乙基)氨基)-2,3-二羟基-4-氧代丁酸 (4g, 12mmol) 在DMF (100mL) 中的溶液添加HOBT (1.66g, 12mmol) 和EDCI (2.3g, 12mmol)。于室温搅动反应30分钟, 此时添加3-氨基丙酸苄基酯 (2.1g, 12mmol)。容许反应于室温搅动过夜, 并逐滴添加至10%Na₂CO₃溶液, 给出白色沉淀物。过滤固体, 用水清洗, 并在真空下干燥以得出标题化合物 (5.2g, 78%产率)。



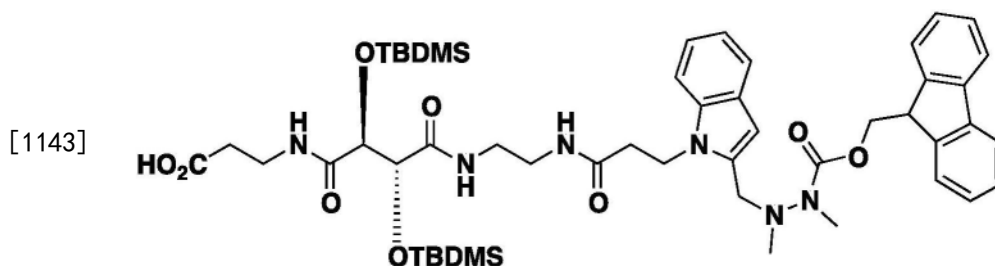
[1138] 9,10-二((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-3,8,11-三氧代-1-苯基-2-氧杂-4,7,12-三氮杂十五烷-15-酸(9R,10S)-苄基酯的制备

[1139] 对9,10-二羟基-3,8,11-三氧代-1-苯基-2-氧杂-4,7,12-三氮杂十五烷-15-酸(9R,10S)-苄基酯(5.8g,12mmol)在DMF(20mL)中的溶液添加TBSCl(18g,0.72mol)和咪唑(8.1g,0.72mol)。于室温搅动反应过夜,用EtOAc(200mL)稀释,用1x 5M NaCl和2x H₂O清洗,在Na₂SO₄上干燥,并浓缩以给出浅黄色粘性油。在硅胶上通过急骤柱层析(PE:EA=6:1至2:1)纯化油以得出标题化合物,为浅粉色固体(4.9g,87%产率)。



[1141] 3-((2S,3R)-4-((2-氨基乙基)氨基)-2,3-二((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-4-氧代丁酰胺基)丙酸(化合物45)(图24)的制备

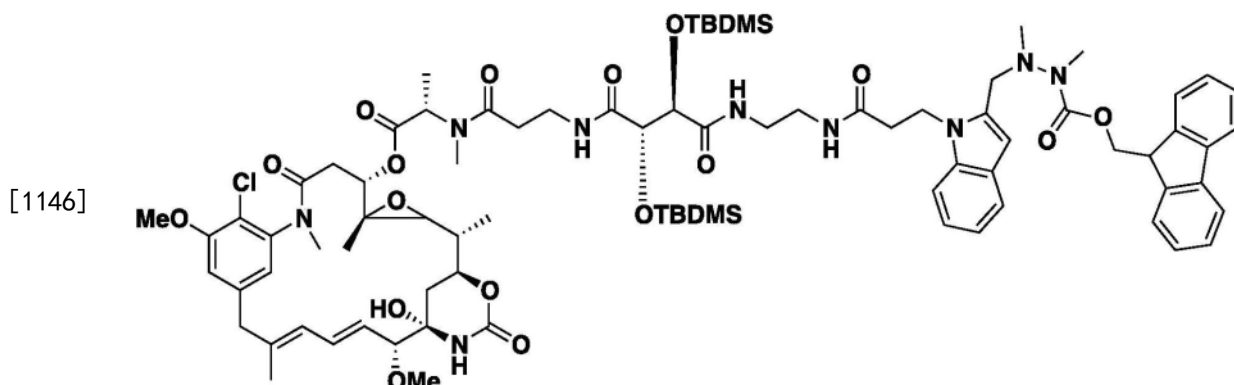
[1142] 对9,10-二((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-3,8,11-三氧代-1-苯基-2-氧杂-4,7,12-三氮杂十五烷-15-酸(9R,10S)-苄基酯(4.0g,2.46mmol)在THF(400mL)中的溶液添加10%Pd/C(3.7g,50%wt)。在双层H₂气球下于室温搅动混合物过夜。过滤反应混合物,并用THF清洗。浓缩滤出液以得出标题化合物(3.7g,91%产率)。MS:m/z(ESI⁺):(M+H)⁺=492.55。1H NMR(400MHz,CDCl₃) δ4.18(d,J=2.0Hz,1H),4.15(d,J=2.0Hz,1H),3.37-3.40(m,2H),3.34-3.36(m,1H),3.30-3.32(m,1H),2.74(s,2H),2.17-2.24(m,2H),0.88(s,18H),0.02(s,6H),-0.04(s,6H)。



[1144] 3-((2S,3R)-4-((2-(3-(2-((2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)乙基)氨基)-2,3-二((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-4-氧代丁酰胺基)丙酸(图24)的制备

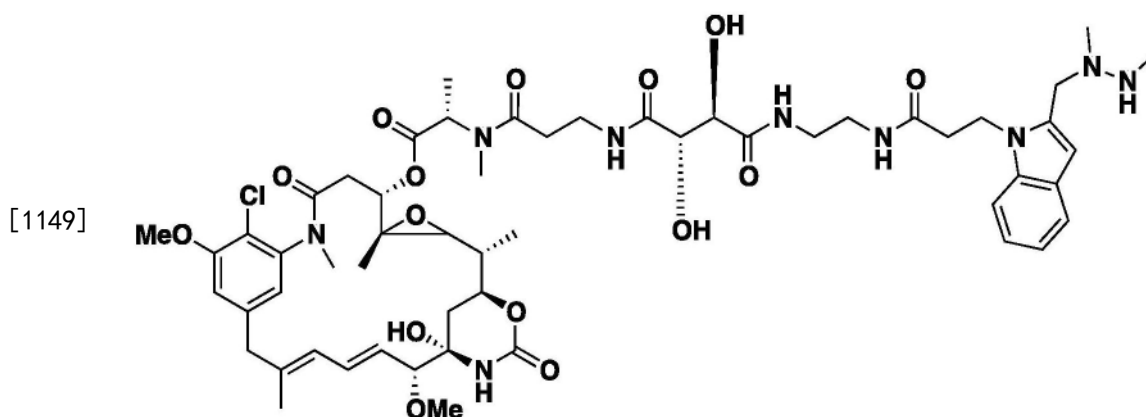
[1145] 对带有干燥的豌豆搅动棒的干燥的20mL玻璃闪烁管添加3-((2S,3R)-4-((2-氨基乙基)氨基)-2,3-二((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-4-氧代丁酰胺基)丙酸(236.0mg,0.5mmol),Fmoc HIPS吡啶CO₂FPF(206.0mg,0.3mmol),NaHCO₃(134.0mg,1.6mmol),和DMA

(5mL)。于室温搅动溶液1小时,倒入H₂O(25mL)中,并用3x 10mL EtOAc萃取。组合有机级分,用1x 10mL 5M NaCl清洗,在Na₂SO₄上干燥,浓缩,吸附到Biotage KP C18 HS3g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 30g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出期望的产物,为白色固体(230.0mg,76%产率)。HPLC保留时间16.21分钟。方法A。



[1147] 18-(2-((2-(((9H-茛-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-9,10-二((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2,3-二甲基-4,8,11,16-四氧代-3,7,12,15-四氮杂十八烷-1-酸(2S,9S,10R)-1-((S)-3-美登素基)酯(FMOC HIPS吡啶乙二胺酒石酸(OTBDMS)₂β丙氨酸美登素)(图24)的制备

[1148] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加3-((2S,3R)-4-((2-(3-(2-((2-(((9H-茛-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)乙基)氨基)-2,3-二((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-4-氧代丁酰胺基)丙酸(129.0mg,0.1mmol),HATU(52.0mg,0.1mmol),和无水DMF(0.5mL)。于室温搅动清澈,无色溶液15分钟。在另一干燥的4mL玻璃闪烁管中组合去酰基美登素(96.0mg,0.1mmol),DIPEA(36.0mg,48.5μL,0.3mmol),和无水DMF(0.5mL),并逐滴,缓慢添加至搅动中的溶液。容许反应于室温搅动2小时,直接吸附到Biotage KP C18 HS 3g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 30g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出标题化合物,为白色固体(103.0mg,48%产率)。HPLC保留时间17.23分钟。方法A。



[1150] 18-(2-(((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-9,10-二羟基-2,3-二甲基-4,8,11,16-四氧代-3,7,12,15-四氮杂十八烷-1-酸(2S,9S,10R)-1-((S)-3-美登素基)酯(HIPS吡啶乙二胺酒石酸(OH)₂β丙氨酸美登素)(图24)的制备

[1151] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加FMOC HIPS吡啶乙二胺酒石酸(OTBDMS)₂β丙氨酸美登素(102.0mg,0.06mmol)和无水THF(0.6mL)。在冰,H₂O浴中将溶

液冷却至0℃,并通过注射器逐滴添加TBAF (0.225mL,0.225mmol,无水THF中的1.0M溶液)。于0℃搅动溶液35分钟,直接吸附到Biotage KP C18 HS 1.2g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 12g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出期望的产物,为白色固体(45.0mg,60%产率)。HPLC保留时间8.72分钟。方法A。LRMS (ESI),为C₅₅H₇₆ClN₉NaO₁₅⁺[M+Na]⁺计算:1160.5,发现1160.5。

[1152] 实施例12

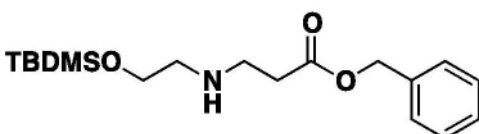
[1153] 方法12-16- (2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-7,10-二(2-羟基乙基)-2,3-二甲基-4,8,11,14-四氧代-3,7,10,13-四氮杂十六烷-1-酸(S)-(S)-1-环丙基乙基酯(HIPS吡啶甘氨酸二羟基类肽(OH)₂β丙氨酸美登素)(自中间体化合物46)的制备

[1154] 

[1155] 合成化合物HIPS吡啶甘氨酸二羟基类肽(OH)₂β丙氨酸美登素的反应示意图显示于图25。

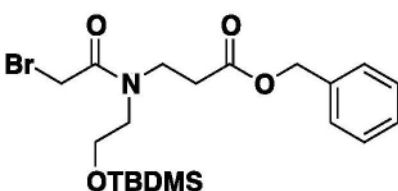
[1156] 2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙胺(化合物1)的制备

[1157] 对2-氨基乙醇(50g,0.82mol),Et₃N(124g,1.23mol),和DMAP(2g)在无水DCM(1L)中的搅动溶液添加TBSCl(135g,0.9016mol)。于室温搅动反应过夜,用NH₄Cl水溶液淬灭,并用DCM(x 3)萃取。用H₂O清洗组合的有机层,在MgSO₄上干燥,过滤,浓缩,并通过急骤柱层析纯化以给出标题化合物(30.5g,22%产率)。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ3.6(t,J=5.5Hz,2H),2.74(t,J=5.5Hz,2H),1.36(brs,1H),0.87(s,9H),0.04(s,6H)。

[1158] 

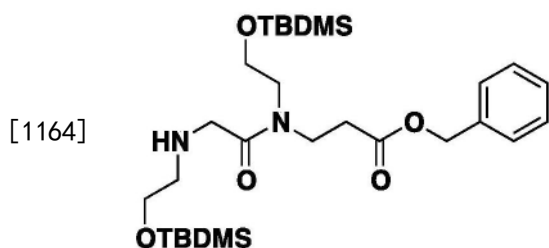
[1159] 3-((2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)氨基)丙酸苄基酯(化合物2)的制备

[1160] 于0℃在10分钟里对氯化锂(20mg)和化合物1(1.0g,5.71mmol)在MeOH(25mL)和THF(25mL)中的搅动溶液逐滴添加丙烯酸苄基酯(1.0g,6.28mmol)。容许反应混合物逐渐升温至室温,并于室温搅动过夜。在减压下浓缩反应混合物,用EtOAc(250mL)萃取,用5M NaCl(200mL)清洗,在Na₂SO₄上干燥,并蒸发。通过急骤柱层析(PE:EA=5:1至0:1)纯化残留物以得出化合物期望的化合物(0.7g,37%产率)。

[1161] 

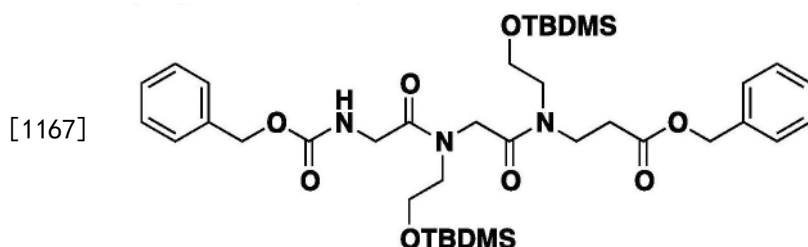
[1162] 3-(2-溴代-N-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)乙酰胺基)丙酸苄基酯(化合物3)的制备

[1163] 在氮下于0℃对化合物2(0.7g,2.07mmol)在THF(20mL)中的溶液添加Et₃N(1.2equiv,0.25g,2.49mmol)和溴代乙酰基溴(1.2equiv,0.5g,2.49mmol)。于0℃搅动反应1小时,用EtOAc(10mL)稀释,并过滤。用EtOAc漂洗固体,并在真空中干燥滤出液以产出粗制的溴代乙酰基酰胺。通过急骤柱层析(PE:EA=10:1至5:1)纯化产物以得出纯的化合物3(0.3g,31%产率)。MS⁺:459[M+H]⁺。



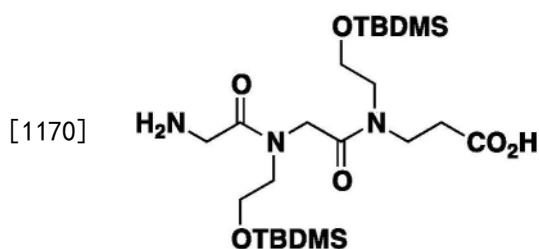
[1165] 10-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-2,2,3,3-四甲基-9-氧代-4-氧杂-7,10-二氮杂-3-硅杂十三烷-13-酸苄基酯(化合物4)的制备

[1166] 在氮下于0℃对化合物3(36.8g,80.3mmol,1.0eq)在THF(350mL)中的溶液添加Et₃N(16.3g,160.7mmol,2eq)和2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙胺(28.1g,160.7mmol,2eq)。于室温搅动反应过夜,用EtOAc(100mL)稀释,并过滤。用EtOAc漂洗固体,并浓缩滤出液以给出粗制的胺。通过急骤柱层析(PE:EA=3:1)纯化产物以得出化合物4(27g,60%产率)。



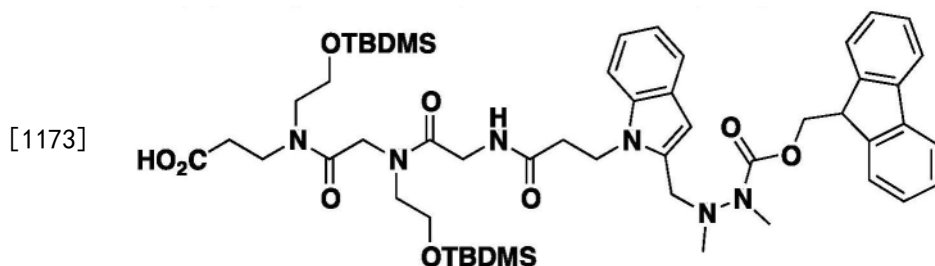
[1168] 7,10-二(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-3,6,9-三氧代-1-苯基-2-氧杂-4,7,10-三氮杂十三烷-13-酸苄基酯(化合物5)的制备

[1169] 于0℃对Cbz-甘氨酸(2.5g,12mmol),EDCI(2.5g,13mmol),和HOBT(1.75g,13mmol)在DCM(20mL)中的溶液添加DIPEA(4.2g,32.5mmol)。于0℃搅动混合物30分钟。对溶液逐滴添加化合物4(6g,11mmol)。于室温搅动反应过夜,蒸发至干,在DCM中悬浮,并过滤。用H₂O和5M NaCl清洗滤出液,在Na₂SO₄上干燥,并浓缩。通过急骤柱层析纯化残留物以得出化合物5(3.01g,38%产率)。



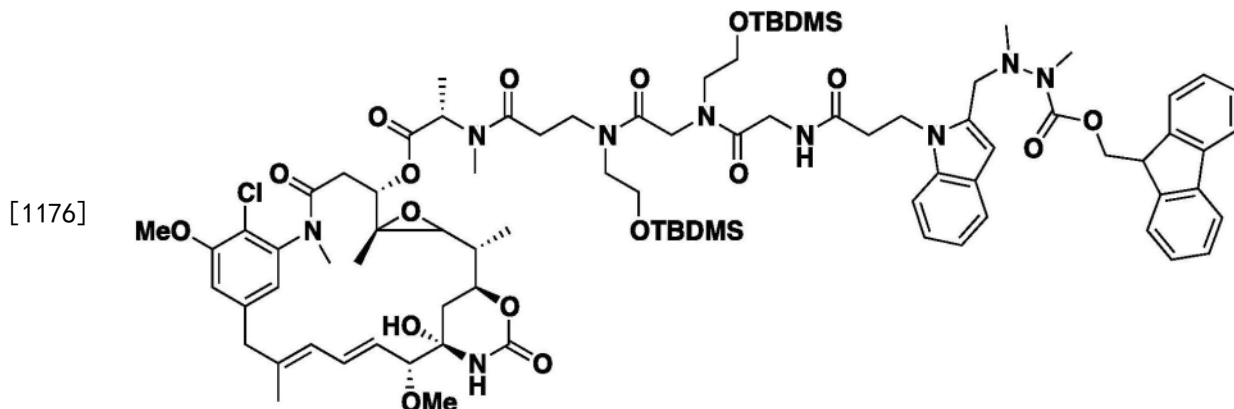
[1171] 7-(2-氨基乙酰基)-10-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-2,2,3,3-四甲基-9-氧代-4-氧杂-7,10-二氮杂-3-硅杂十三烷-13-酸(化合物46)(图25)的制备

[1172] 在H₂(50psi)下于室温在Parr混合器中搅动化合物5(1.9g,2.55mmol)和Pd/C(500mg)在EtOAc(50mL)中的混合物过夜。穿过硅藻土垫过滤混合物,并浓缩以给出标题化合物(AB4296)(730mg,55%产率)。LC-MS:520(M+1)。



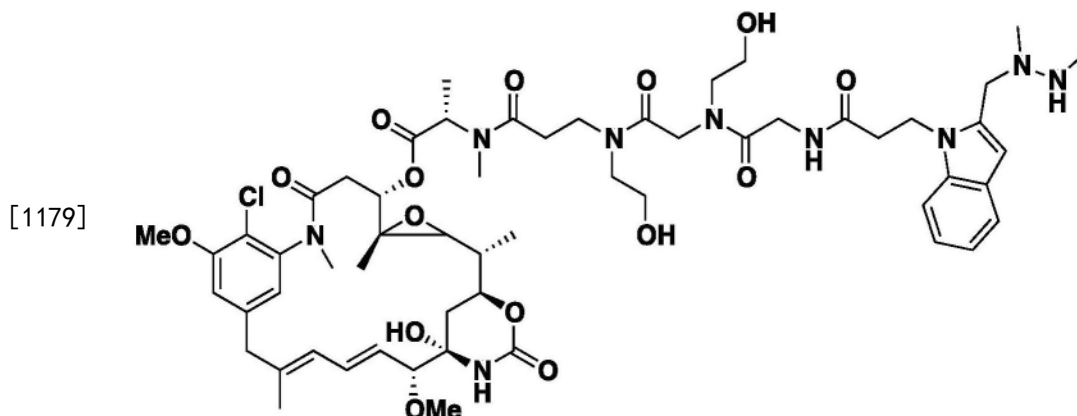
[1174] 7-(2-(3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)乙酰基)-10-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-2,2,3,3-四甲基-9-氧代-4-氧杂-7,10-二氮杂-3-硅杂十三烷-13-酸(图25)的制备

[1175] 对带有干燥的豌豆搅动棒的干燥的20mL玻璃闪烁管添加类肽AB4296(264.0mg, 0.5mmol), Fmoc HIPS吡啶CO₂PFP(220.0mg, 0.3mmol), NaHCO₃(120.0mg, 1.4mmol), 和DMA(5mL)。于室温搅动溶液6小时, 倒入H₂O(25mL)中, 并用3x 10mL EtOAc萃取。组合有机级分, 用1x 10mL 5M NaCl清洗, 在Na₂SO₄上干燥, 浓缩, 吸附到Biotage KP C18HS 3g samplet上, 并在Biotage KP C18 HS 30g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化, 给出标题化合物, 为白色固体(184.0mg, 55%产率)。HPLC保留时间18.88分钟。方法A。



[1177] 7-(2-(3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)乙酰基)-10-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-2,2,3,3,14,15-六甲基-9,13-二氧代-4-氧杂-7,10,14-三氮杂-3-硅杂十六烷-16-酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(Fmoc HIPS吡啶甘氨酸二羟基类肽(OTBDMS)₂β丙氨酸美登素)(图25)的制备

[1178] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加7-(2-(3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)乙酰基)-10-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-2,2,3,3-四甲基-9-氧代-4-氧杂-7,10-二氮杂-3-硅杂十三烷-13-酸(180.0mg, 0.2mmol), HATU(72.0mg, 0.2mmol), 和无水DMF(0.5mL)。于室温搅动清澈, 无色溶液15分钟。在另一干燥的4mL玻璃闪烁管中组合去酰基美登素(123.0mg, 0.2mmol), DIPEA(51.0mg, 68.7μL, 0.4mmol), 和无水DMF(0.5mL), 并逐滴, 缓慢添加至搅动中的溶液。容许反应于室温搅动2小时, 直接吸附到Biotage KP C18 HS 3g samplet上, 并在Biotage KP C18 HS 30g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化, 给出期望的产物, 为白色固体(235.0mg, 80%产率)。HPLC保留时间20.21分钟。方法A。

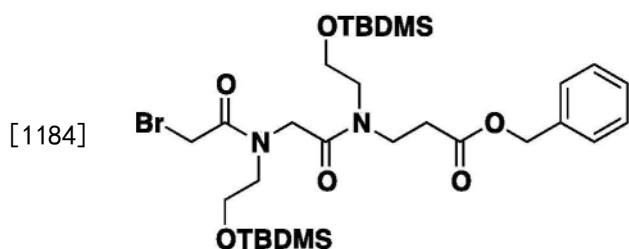


[1180] 16-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-7,10-二(2-羟基乙基)-2,3-二甲基-4,8,11,14-四氧代-3,7,10,13-四氮杂十六烷-1-酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(HIPS吡啶甘氨酸二羟基类肽(OH)₂β丙氨酸美登素)(图25)的制备

[1181] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加Fmoc HIPS吡啶甘氨酸二羟基类肽(OTBDMS)₂β丙氨酸美登素(114.0mg,0.07mmol)和无水THF(0.5mL)。在冰,H₂O浴中将溶液冷却至0℃,并通过注射器逐滴添加TBAF(0.3mL,0.3mmol,无水THF中的1.0M溶液)。于0℃搅动溶液1小时,直接吸附到Biotage KP C18 HS 1.2g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 12g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出标题化合物,为灰白色固体(41.7mg,51%产率)。HPLC保留时间8.03分钟。方法A.LRMS(ESI),为C₅₇H₈₀C1N₉NaO₁₅⁺[M+Na]⁺计算:1188.5,发现1188.4。

[1182] 实施例13

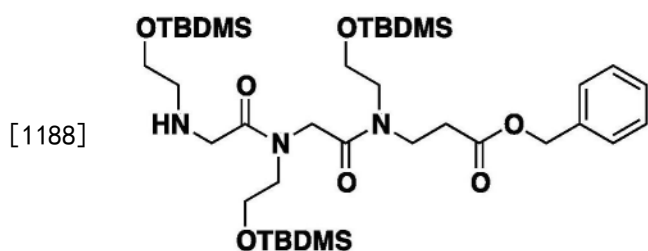
[1183] 方法13-19-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-7,10,13-三(2-羟基乙基)-2,3-二甲基-4,8,11,14,17-五氧代-3,7,10,13,16-五氮杂十九烷-1-酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(HIPS吡啶甘氨酸三羟基类肽(OH)₃β丙氨酸美登素)(自中间体化合物47)的制备



[1185] 合成化合物HIPS吡啶甘氨酸三羟基类肽(OH)₃β丙氨酸美登素的反应示意图显示于图26。

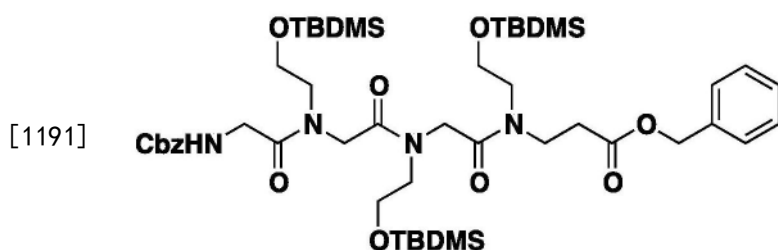
[1186] 7-(2-溴代乙酰基)-10-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-2,2,3,3-四甲基-9-氧代-4-氧杂-7,10-二氮杂-3-硅杂十三烷-13-酸苄基酯(化合物6)的制备

[1187] 在氮下于0℃对化合物4(16g,29mmol)在THF(150mL)中的溶液逐滴添加Et₃N(3.5g,34.7mmol)和溴代乙酰基溴(7g,34.7mmol)。于0℃搅动反应1小时,用EtOAc(100mL)稀释,并过滤。用EtOAc漂洗固体,并浓缩滤出液以给出粗制的溴代乙酰基酰胺。通过急骤柱层析(PE:EA=10:1)纯化产物以得出化合物6(12.6g,64%产率)。



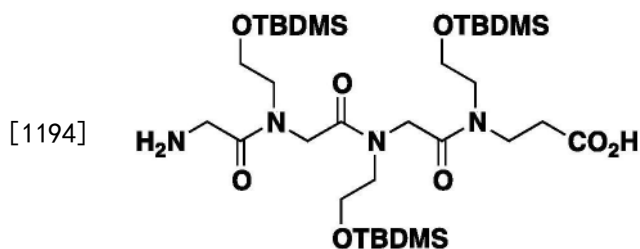
[1189] 10,13-二(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-2,2,3,3-四甲基-9,12-二氧代-4-氧杂-7,10,13-三氮杂-3-硅杂十六烷-16-酸苄基酯(化合物7)的制备

[1190] 在氮下于0℃对化合物6(12.6g,18.5mmol)在THF(150mL)中的溶液添加Et₃N(3.75g,37mmol)和2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙胺(6.5g,37mmol)。于室温搅动反应过夜,用EtOAc(100mL)稀释,过滤,并用EtOAc清洗固体。在真空中浓缩滤出液以产出粗制的胺。通过急骤柱层析(PE:EA=3:1)纯化产物以得出纯的化合物7(5.8g,41%产率)。



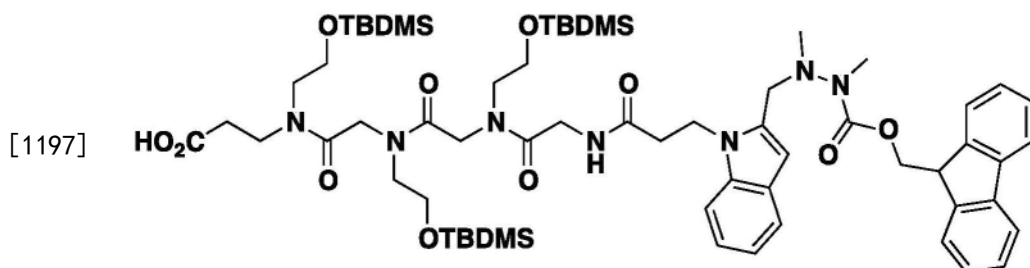
[1192] 7,10,13-三(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-3,6,9,12-四氧代-1-苄基-2-氧杂-4,7,10,13-四氮杂十六烷-16-酸苄基酯(化合物8)的制备

[1193] 于0℃对Cbz-甘氨酸(1.74g,8.3mmol),EDCI(1.73g,9.06mmol),和HOBT(1.22g,9.06mmol)在DCM(50mL)中的溶液添加DIPEA(2.91g,22.6mmol)。搅动溶液30分钟。对溶液逐滴添加DCM(5mL)中的化合物7(5.8g,7.54mmol)。于室温搅动混合物过夜,浓缩,在DCM中悬浮,并过滤。用H₂O和5M NaCl清洗滤出液,并通过急骤柱层析纯化产物以得出纯的化合物8(2.72g,38%产率)。LC-MS:960(M+1)。



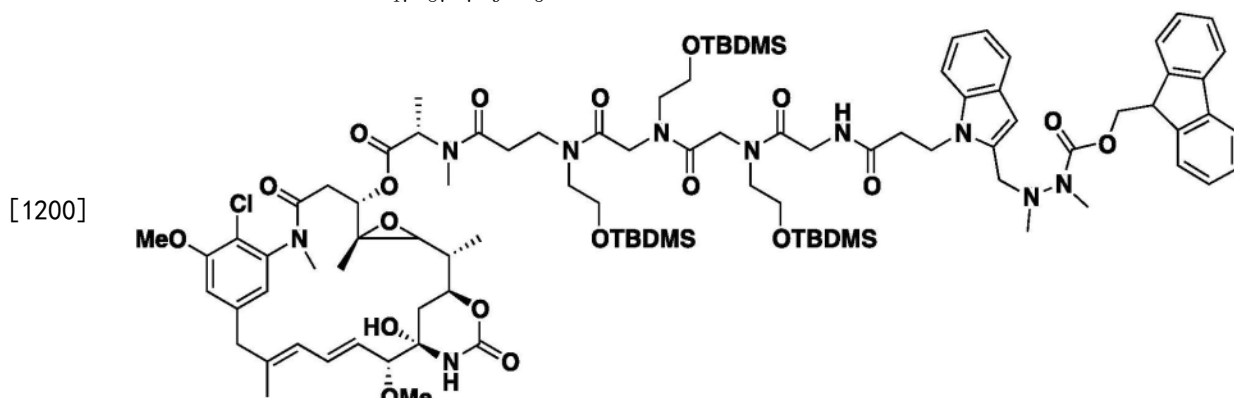
[1195] 7-(2-氨基乙酰基)-10,13-二(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-2,2,3,3-四甲基-9,12-二氧代-4-氧杂-7,10,13-三氮杂-3-硅杂十六烷-16-酸(化合物47)(图26)的制备

[1196] 在H₂(60psi)下于室温在Parr混合器中搅动化合物8(2.7g,2.81mmol)和Pd/C(1g)在EtOAc(60mL)中的混合物过夜。穿过硅藻土垫过滤混合物,用MeOH清洗,并浓缩以给出残留物,冻干以得出AB4297(1.7g,55%产率)。LC-MS:735.6(M+1)。



[1198] 7-(2-(3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)乙酰基)-10,13-二(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-2,2,3,3-四甲基-9,12-二氧化-4-氧杂-7,10,13-三氮杂-3-硅杂十六烷-16-酸(图26)的制备

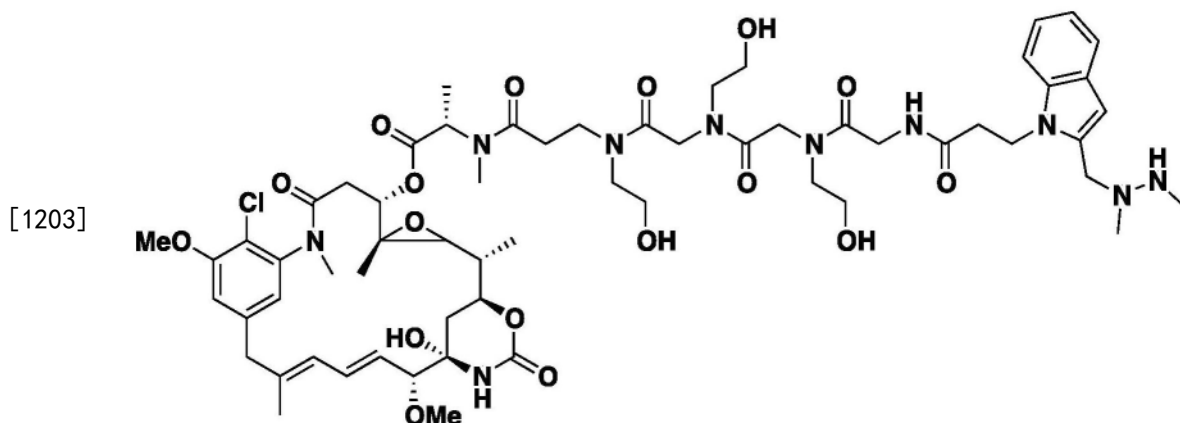
[1199] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加类肽AB4297 (50.0mg, 0.07mmol), Fmoc HIPS吡啶CO₂PFP (38.6mg, 0.06mmol), NaHCO₃ (14.2mg, 0.2mmol), 和DMA (0.4mL)。于室温搅动溶液16小时, 用1M HCl酸化至pH 2, 并用1x 10mL EtOAc萃取。用1x 10mL 1M HCl/5M NaCl (1/1)的混合物清洗有机级分, 在MgSO₄上干燥, 过滤, 浓缩, 吸附到Biotage SNAP Ultra 1g samplet上, 并在Biotage SNAP Ultra 10g筒上使用CH₂Cl₂中的0-10%MeOH梯度纯化, 给出标题化合物, 为白色固体 (40.0mg, 49%产率)。HPLC保留时间7.12分钟。方法A.LRMS (ESI), 为C₄₇H₈₇N₇O₉Si₃[M-H]⁻计算: 1198.6; 发现1198.0。



[1201] 7-(2-(3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)乙酰基)-10,13-二(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-2,2,3,3,17,18-六甲基-9,12,16-三氧代-4-氧杂-7,10,13,17-四氮杂-3-硅杂十九烷-19-酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(Fmoc HIPS吡啶甘氨酸三羟基类肽(OTBDMS)₃β丙氨酸美登素)(图26)的制备

[1202] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加7-(2-(3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)乙酰基)-10,13-二(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙基)-2,2,3,3-四甲基-9,12-二氧化-4-氧杂-7,10,13-三氮杂-3-硅杂十六烷-16-酸 (28.1mg, 0.03mmol), 去酰基美登素 (15.2mg, 0.02mmol), 和DMA (0.13mL)。在冰, H₂O浴中将溶液冷却至0℃, 此时添加2,4,6-三甲基吡啶 (5.7mg, 6.2μL, 0.05mmol) 和COMU (10.0mg, 0.02mmol)。于0℃容许反应搅动15分钟, 然后升温至室温, 并搅动3小时。用EtOAc (7mL) 稀释反应混合物, 用3x 2mL 0.5M HCl, 3x 2mL 1.2M NaHCO₃, 和3x 2mL 5M NaCl清洗, 在MgSO₄上干燥, 过滤, 并浓缩成粘性油。将产物吸附到Biotage KP C18 HS 1.2g samplet上, 并在Biotage KP C18 HS 12g筒上使用H₂O中的0-

100%CH₃CN梯度纯化,给出期望的产物,为白色固体(11.7mg,32%产率)。HPLC保留时间18.72分钟。方法A.LRMS(ESI),为C₉₄H₁₃₉C₁N₁₀O₁₉Si₃[M+Na]⁺计算:1853.9,发现1854.7。

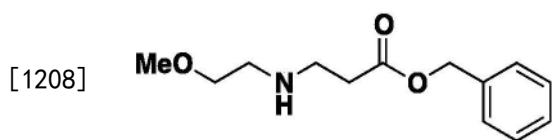


[1204] 19-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-7,10,13-三(2-羟基乙基)-2,3-二甲基-4,8,11,14,17-五氧代-3,7,10,13,16-五氮杂十九烷-1-酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(HIPS吡啶甘氨酸三羟基类肽(OH)₃β丙氨酸美登素)(图26)的制备

[1205] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加Fmoc HIPS吡啶甘氨酸三羟基类肽(OTBDMS)₃β丙氨酸美登素(11.7mg,6.4μmol)和无水THF(63.4μL)。在冰,H₂O浴中将溶液冷却至0℃,并通过微量移液器逐滴添加TBAF(25.0μL,0.25mmol,无水THF中的1.0M溶液)。于0℃搅动溶液1小时,直接吸附到Biotage KP C18 HS 1.2g samplelet上,并在Biotage KP C18 HS 12g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出标题化合物,为灰白色固体(4.9mg,61%产率)。HPLC保留时间8.50分钟。方法A.LRMS(ESI),为C₆₁H₈₇C₁N₁₀O₁₇[M+H]⁺计算:1267.6,发现1267.3。

[1206] 实施例14

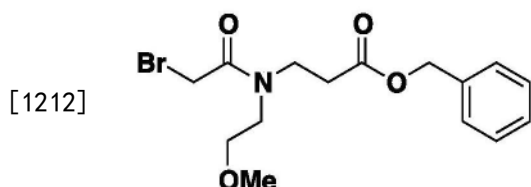
[1207] 方法14-19-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-7,10,13-三(2-甲氧基乙基)-2,3-二甲基-4,8,11,14,17-五氧代-3,7,10,13,16-五氮杂十九烷-1-酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(HIPS吡啶甘氨酸三甲氧基类肽β丙氨酸美登素)(自中间体化合物48)的制备



[1209] 合成化合物HIPS吡啶甘氨酸三甲氧基类肽β丙氨酸美登素的反应示意图显示于图27。

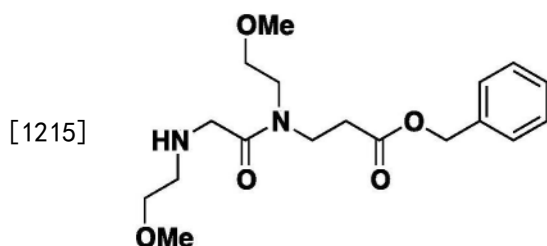
[1210] 3-((2-甲氧基乙基)氨基)丙酸苄基酯(化合物1)的制备

[1211] 于0℃在10分钟里对2-甲氧基乙胺(0.42g,5.6mmol)和氯化锂(20mg)在MeOH(25mL)和THF(25mL)中的溶液逐滴添加丙烯酸苄基酯(1.0g,6.16mmol)。容许反应逐渐升温至室温,并于室温搅动过夜。在减压下去除溶剂,并在EtOAc(250mL)中溶解所得残留物。用5M NaCl(200mL)清洗有机级分,在Na₂SO₄上干燥,并浓缩以给出残留物。通过急骤柱层析(PE:EA=5:1至0:1)纯化产物以得出化合物1(0.95g,71%产率)。



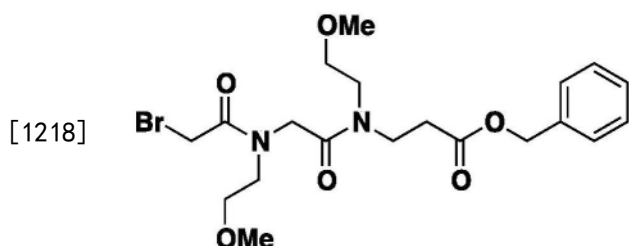
[1213] 3-(2-溴代-N-(2-甲氧基乙基)乙酰胺基)丙酸苄基酯(化合物2)的制备

[1214] 于0℃对化合物1(0.95g,4mmol)在THF(20mL)中的溶液添加Et₃N(0.49g,4.8mmol)和溴代乙酰基溴(0.97g,4.8mmol)。于0℃搅动反应1小时,用EtOAc(20mL)稀释,过滤,并用EtOAc清洗。浓缩滤出液,并在真空中干燥以产出粗制的溴代乙酰基酰胺,通过急骤柱层析(PE:EA=5:1)纯化以得出纯的化合物2(1.15g,80%产率)。(MS⁺:358,360)。



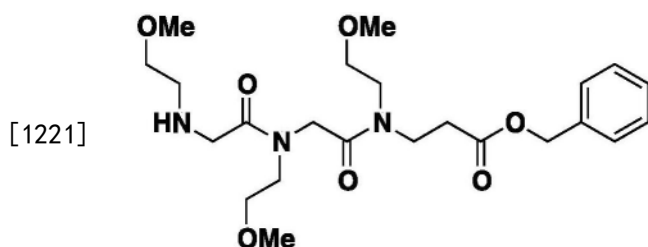
[1216] 3-(N-(2-甲氧基乙基)-2-((2-甲氧基乙基)氨基)乙酰胺基)丙酸苄基酯(化合物3)的制备

[1217] 于0℃对化合物2(1.15g,3.2mmol)在THF(20mL)中的溶液添加Et₃N(0.647g,6.4mmol)和2-甲氧基乙胺(0.48g,6.4mmol)。搅动反应过夜,用EtOAc(10mL)稀释,过滤,并用EtOAc清洗。浓缩滤出液,并在真空中干燥以产出粗制的胺,通过急骤柱层析(PE:EA=5:1至0:1)纯化以得出纯的化合物3(0.35g,31%产率)。LC-MS:353[M+H]⁺。



[1219] 3-(2-(2-溴代-N-(2-甲氧基乙基)乙酰胺基)-N-(2-甲氧基乙基)乙酰胺基)丙酸苄基酯(化合物4)的制备

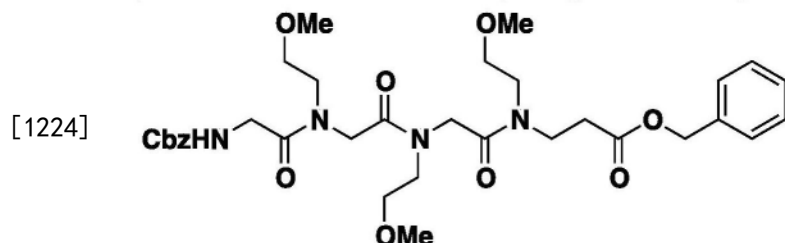
[1220] 于0℃对化合物3(0.35g,1mmol)在THF(15mL)中的溶液添加Et₃N(0.121g,1.2mmol)和溴代乙酰基溴(0.242g,1.2mmol)。于0℃搅动反应1小时,用EtOAc(10mL)稀释,并过滤。用EtOAc清洗固体,并在真空中浓缩滤出液以给出粗制的溴代乙酰基酰胺。通过急骤柱层析(EA)的纯化得出化合物4(0.29g,61%产率)。LC-MS:473,475。



[1222] 8,11-二(2-甲氧基乙基)-7,10-二氧代-2-氧杂-5,8,11-三氮杂十四烷-14-酸苄

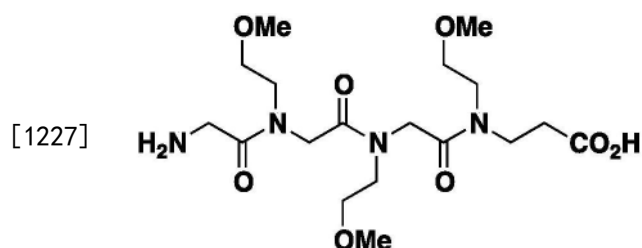
基酯(化合物5)的制备

[1223] 于0℃对化合物4(0.29g,0.61mmol)在THF(10mL)中的溶液添加Et₃N(0.124g,1.23mmol)和2-甲氧基乙胺(91mg,1.23mmol)。于室温搅动反应过夜,用EtOAc(10mL)稀释,并过滤。用EtOAc清洗固体,并浓缩滤出液以给出粗制的胺,通过急骤柱层析(MeOH:EA=1:5)纯化以得出纯的化合物5(0.15g,52%产率)。LC-MS:468(M+1)。



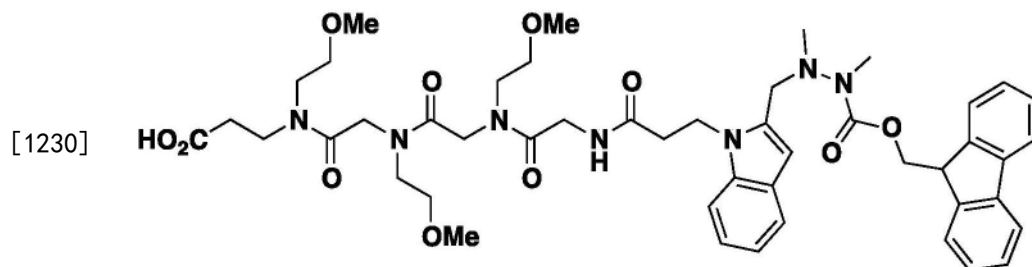
[1225] 7,10,13-三(2-甲氧基乙基)-3,6,9,12-四氧代-1-苯基-2-氧杂-4,7,10,13-四氮杂十六烷-16-酸苄基酯(化合物6)的制备

[1226] 于0℃对Cbz-甘氨酸(181mg,0.87mmol),DCM(10mL),EDCI(200mg,1.04mmol)和HOBt(140mg,1.04mmol)的混合物添加DIPEA(400mg,3.13mmol)。于0℃搅动混合物15分钟,此时添加化合物5(400mg,0.87mmol)。于室温搅动反应过夜,用H₂O和5M NaCl清洗,并在Na₂SO₄上干燥。浓缩粗制的产物,并通过急骤柱层析(PE:EA=1:3)纯化以得出化合物6(300mg,62%产率)。LC-MS:660(M+1)。



[1228] 5-(2-氨基乙酰基)-8,11-二(2-甲氧基乙基)-7,10-二氧代-2-氧杂-5,8,11-三氮杂十四烷-14-酸(化合物48)(图27)的制备

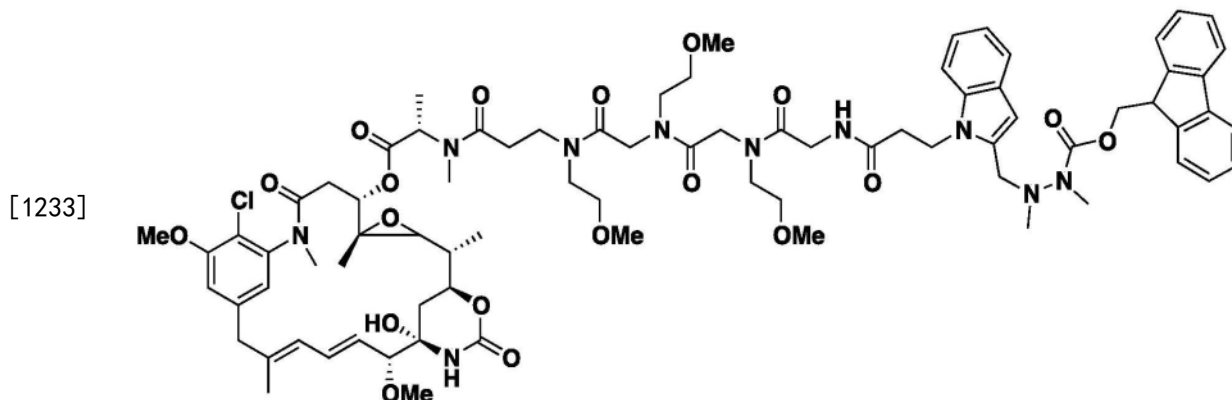
[1229] 在H₂(65psi)下于室温在Parr混合器中搅动化合物6(2.63g,4.0mmol)和Pd/C(500mg)在EtOAc(60mL)中的混合物过夜。穿过硅藻土垫过滤混合物,用MeOH清洗,并浓缩以给出残留物,冻干以得出AB4298(1.2g,69%产率)。LC-MS:435(M+1)。



[1231] 16-(2-((2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-4,7,10-三(2-甲氧基乙基)-5,8,11,14-四氧代-4,7,10,13-四氮杂十六烷-1-酸(图27)的制备

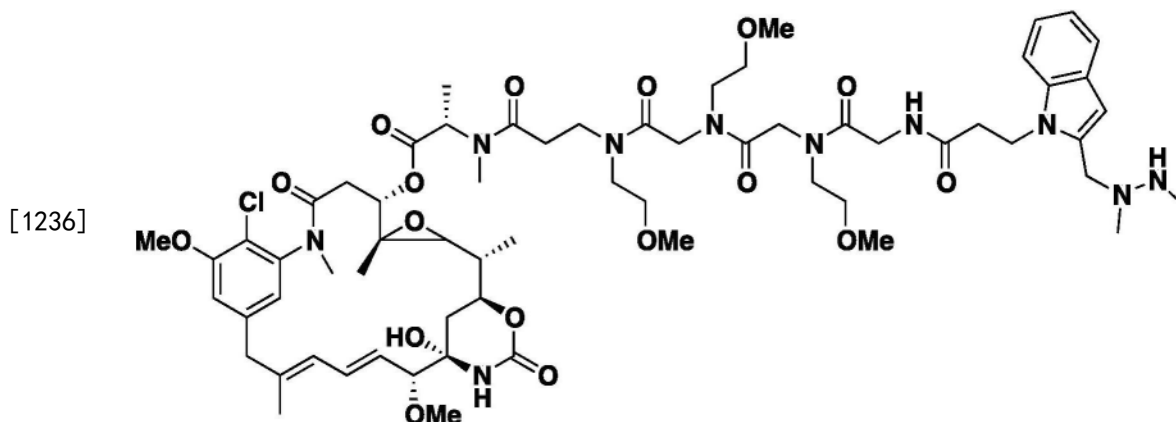
[1232] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加类肽AB4298(22.0mg,0.05mmol),Fmoc HIPS吡啶CO₂PFP(33.1mg,0.05mmol),NaHCO₃(4.3mg,0.05mmol),和DMA

(0.4mL)。于室温搅动溶液16小时,用1M HCl酸化至pH 2,并用1x 10mL EtOAc萃取。用1x 10mL 1M HCl/5M NaCl (1/1)的混合物清洗有机级分,在MgSO₄上干燥,过滤,浓缩,吸附到Biotage SNAP Ultra 1g samplet上,并在Biotage SNAP Ultra 10g筒上使用CH₂Cl₂中的0-10%MeOH梯度纯化,给出标题化合物,为白色固体(28.4mg,63%产率)。HPLC保留时间12.68分钟。方法A.LRMS (ESI),为C₄₇H₆₁N₇O₁₁[M-H]⁻计算:898.4;发现897.7。



[1234] 19-(2-((2-(((9H-茛-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-7,10,13-三(2-甲氧基乙基)-2,3-二甲基-4,8,11,14,17-五氧代-3,7,10,13,16-五氮杂十九烷-1-酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(FMOC HIPS吡啶甘氨酸三甲氧基类肽β丙氨酸美登素)(图27)的制备

[1235] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加16-(2-((2-(((9H-茛-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-4,7,10-三(2-甲氧基乙基)-5,8,11,14-四氧代-4,7,10,13-四氮杂十六烷-1-酸(21.3mg,0.02mmol),去酰基美登素(15.4mg,0.02mmol),和DMA(0.13mL)。在冰,H₂O浴中将溶液冷却至0℃,此时添加2,4,6-三甲基吡啶(5.7mg,6.2μL,0.05mmol)和COMU(13.2mg,0.03mmol)。容许反应于0℃搅动15分钟,然后升温至室温,并搅动3小时。用EtOAc(7mL)稀释反应混合物,用3x 2mL 0.5M HCl,3x 2mL 1.2M NaHCO₃,和3x 2mL 5M NaCl清洗,在MgSO₄上干燥,过滤,并浓缩成粘性油。将产物吸附到Biotage SNAP Ultra 1g samplet上,并在Biotage SNAP Ultra 10g筒上使用CH₂Cl₂中的2-15%MeOH梯度纯化,给出期望的产物,为白色固体(13.2mg,36%产率)。HPLC保留时间14.40分钟。方法A.LRMS (ESI),为C₇₉H₁₀₃ClN₁₀O₁₉[M+Na]⁺计算:1553.7,发现1553.6。



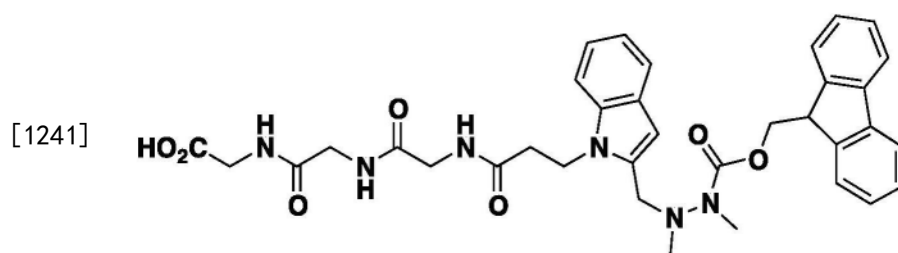
[1237] 19-(2-(((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-7,10,13-三(2-甲氧基乙基)-2,3-二甲基-4,8,11,14,17-五氧代-3,7,10,13,16-五氮杂十九烷-1-酸(S)-1-((S)-3-美

登素基)酯(HIPS吲哚甘氨酸三甲氧基类肽 β 丙氨酸美登素)(图27)的制备

[1238] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加FMOC HIPS吲哚甘氨酸三甲氧基类肽 β 丙氨酸美登素(13.2mg, 8.6 μ mol)。通过注射器添加DMA(0.3mL)中的哌啶(14.7mg, 17.0 μ L, 0.17mmol)。于室温搅动溶液1小时,直接吸附到Biotage KP C18 HS 1.2g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 12g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出标题化合物,为白色固体(9.3mg, 82%产率)。HPLC保留时间9.71分钟。方法A。

[1239] 实施例15

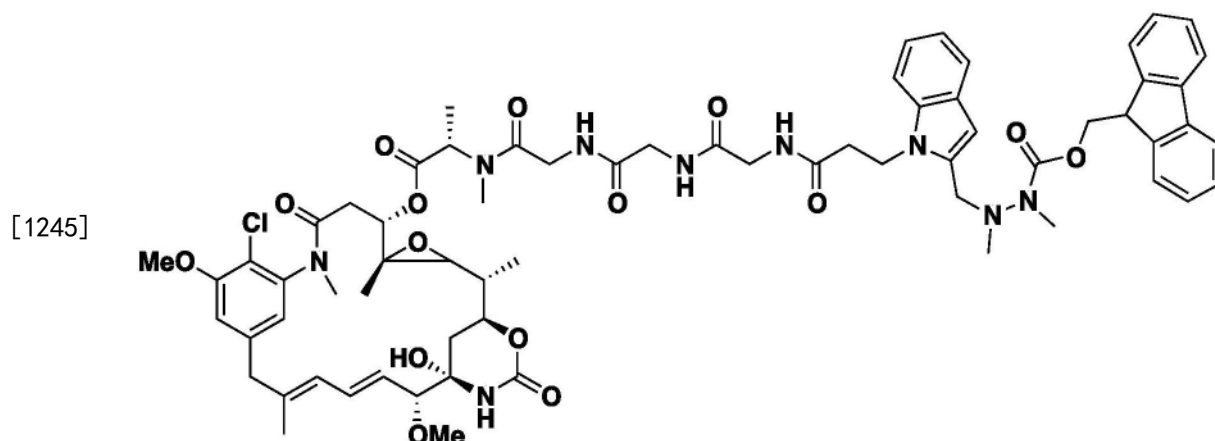
[1240] 方法15-15-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吲哚-1-基)-2,3-二甲基-4,7,10,13-四氧代-3,6,9,12-四氮杂十五烷-1-酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(HIPS吲哚甘氨酸₃美登素)的制备



[1242] 合成化合物HIPS吲哚甘氨酸₃美登素的反应示意图显示于图28。

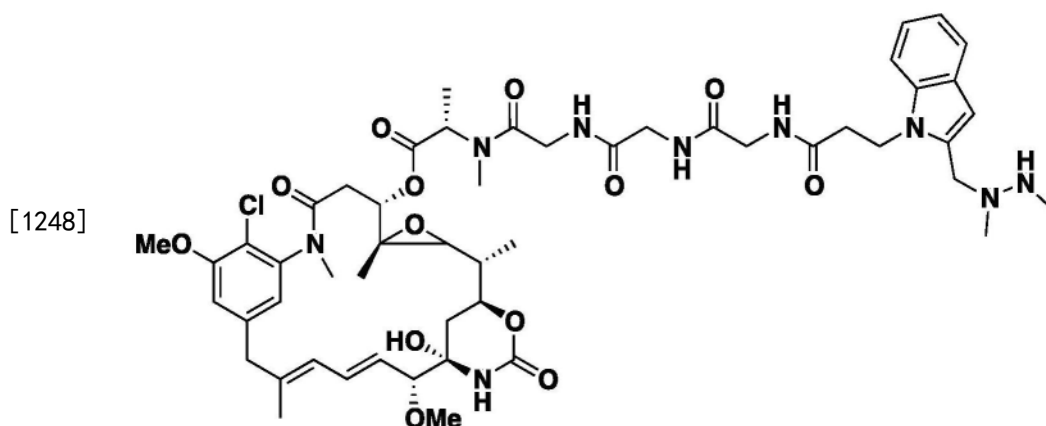
[1243] 2-(2-(2-(3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吲哚-1-基)丙酰胺基)乙酰胺基)乙酰胺基)乙酸(图28)的制备

[1244] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加三甘氨酸(27.4mg, 0.15mmol), FMOC HIPS吲哚CO₂PFP(46.4mg, 0.07mmol), NaHCO₃(25.9mg, 0.3mmol), DMA(0.6mL), H₂O(0.3mL), 和CH₃CN(0.3mL)。于室温搅动溶液22小时,用1M HCl酸化至pH 2,并用1x 10mL EtOAc萃取。用1x 10mL 1M HCl/5M NaCl(1/1)的混合物清洗有机级分,在MgSO₄上干燥,过滤,浓缩,吸附到Biotage SNAP Ultra 1g samplet上,并在Biotage SNAP Ultra 10g筒上使用CH₂Cl₂中的0-10%MeOH梯度纯化,给出期望的产物,为白色固体(53.4mg, 82%产率)。HPLC保留时间11.41分钟。方法A。LRMS(ESI),为C₃₅H₃₇N₆O₇[M-H]⁻计算:653.3;发现652.9。



[1246] 15-(2-((2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吲哚-1-基)-2,3-二甲基-4,7,10,13-四氧代-3,6,9,12-四氮杂十五烷-1-酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(FMOC HIPS吲哚甘氨酸₃美登素)(图28)的制备

[1247] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加2-(2-(2-(3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)乙酰胺基)乙酰胺基)乙酸(28.5mg,0.03mmol),去酰基美登素(28.3mg,0.04mmol),和DMA(0.2mL)。在冰,H₂O浴中将溶液冷却至0℃,此时添加2,4,6-三甲基吡啶(10.5mg,11.5μL,0.09mmol)和COMU(20.5mg,0.05mmol)。容许反应于0℃搅动15分钟,然后升温至室温,并搅动16小时。用EtOAc(7mL)稀释反应混合物,用3x 2mL 0.5M HCl,3x 2mL 1.2M NaHCO₃,和3x 2mL 5M NaCl清洗,在MgSO₄上干燥,过滤,并浓缩成粘性油。将产物吸附到Biotage SNAP Ultra 1g samplet上,并在Biotage SNAP Ultra 10g筒上使用CH₂Cl₂中的2-15%MeOH梯度纯化,给出标题化合物,为白色固体(3.2mg,6%产率)。HPLC保留时间13.63分钟。方法A.LRMS(ESI),为C₆₇H₈₀ClN₉O₁₅[M+Na]⁺计算:1308.5,发现1308.7。

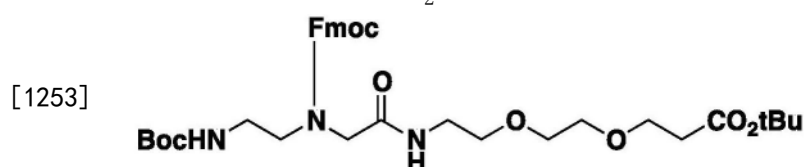


[1249] 15-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-2,3-二甲基-4,7,10,13-四氧代-3,6,9,12-四氮杂十五烷-1-酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(HIPS吡啶甘氨酸₃美登素)(图28)的制备

[1250] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加Fmoc HIPS吡啶甘氨酸₃美登素(3.2mg,2.5μmol)。通过注射器添加DMA(0.2mL)中的哌啶(30.2mg,35.0μL,0.35mmol)。于室温搅动溶液1小时,并在Whatman 1000um制备性薄层层析板(SiO₂)上通过制备性薄层层析使用CH₂Cl₂中的14%MeOH纯化,给出期望的产物,为白色固体(1.8mg,68%产率)。HPLC保留时间8.81分钟。方法A.LRMS(ESI),为C₅₂H₇₀ClN₉O₁₃[M+H]⁺计算:1063.5,发现1064.2。

[1251] 实施例16

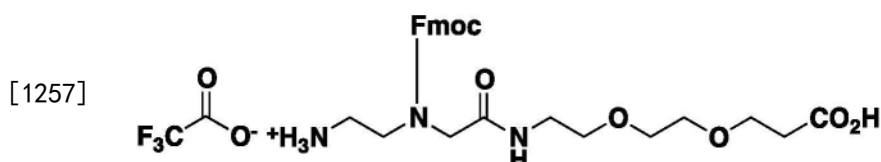
[1252] 方法16-22-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-2,3-二甲基-4,14,20-三氧代-7,10-二氧杂-3,13,16,19-四氮杂二十二烷-1-酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(HIPS吡啶氨基乙基甘氨酸PEG₂美登素)的制备



[1254] 合成化合物HIPS吡啶氨基乙基甘氨酸PEG₂美登素的反应示意图显示于图29和图30。

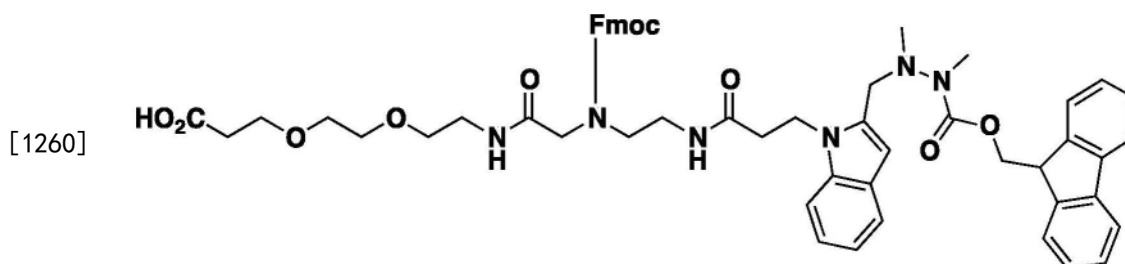
[1255] 8-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-2,2-二甲基-4,10-二氧代-3,14,17-三氧杂-5,8,11-三氮杂二十烷-20-酸叔丁基酯(图29)的制备

[1256] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)乙基)氨基)乙酸(90.7mg,0.2mmol), H_2N PEG₂ CO₂tBu(62.0mg,0.3mmol),和DMA(0.8mL)。在冰, H_2O 浴中将溶液冷却至0℃,此时添加2,4,6-三甲基吡啶(49.5mg,54.0μL,0.4mmol)和COMU(97.0mg,0.2mmol)。容许反应于0℃搅动15分钟,然后升温至室温,并搅动1小时。用EtOAc(20mL)稀释反应混合物,用3x 7mL 0.5M HCl,3x 7mL 1.2M NaHCO₃,和3x 7mL 5M NaCl清洗,在MgSO₄上干燥,过滤,并浓缩成粘性油。将产物吸附到Biotage SNAP Ultra 3g samplet上,并在Biotage SNAP Ultra 25g筒上使用CH₂Cl₂中的2-15%MeOH梯度纯化,给出标题化合物,为白色固体(132.0mg,98%产率)。



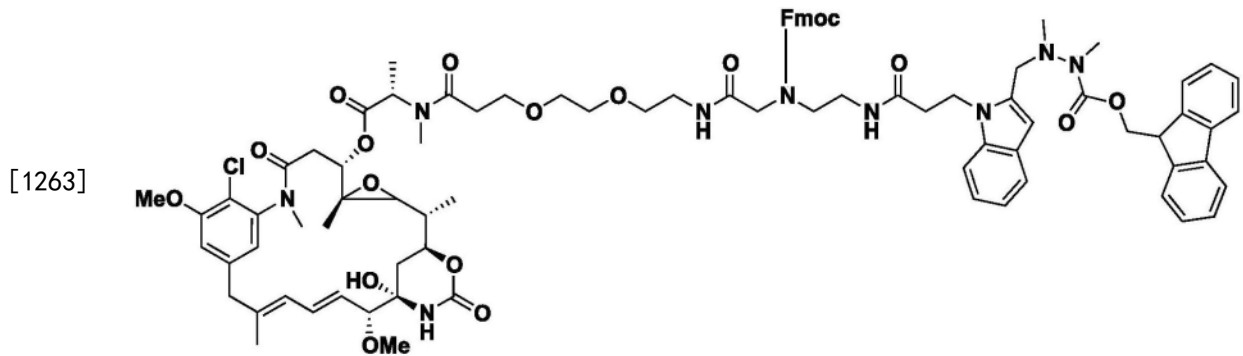
[1258] 2,2,2-三氟乙酸3-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-14-羧基-5-氧代-9,12-二氧杂-3,6-二氮杂十四烷-1-铵(图29)的制备

[1259] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加8-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-2,2-二甲基-4,10-二氧代-3,14,17-三氧杂-5,8,11-三氮杂二十烷-20-酸叔丁基酯(65.5mg,0.1mmol),CH₂Cl₂(0.5mL),TFA(0.18mL),和H₂O(0.02mL)。搅动反应2.5小时,在真空中干燥,并与3x 2mL Tol一起共沸,给出期望的产物,为蜡质残留物(55.0mg,90%产率)。在没有另外纯化的情况下在后续步骤中使用该化合物。



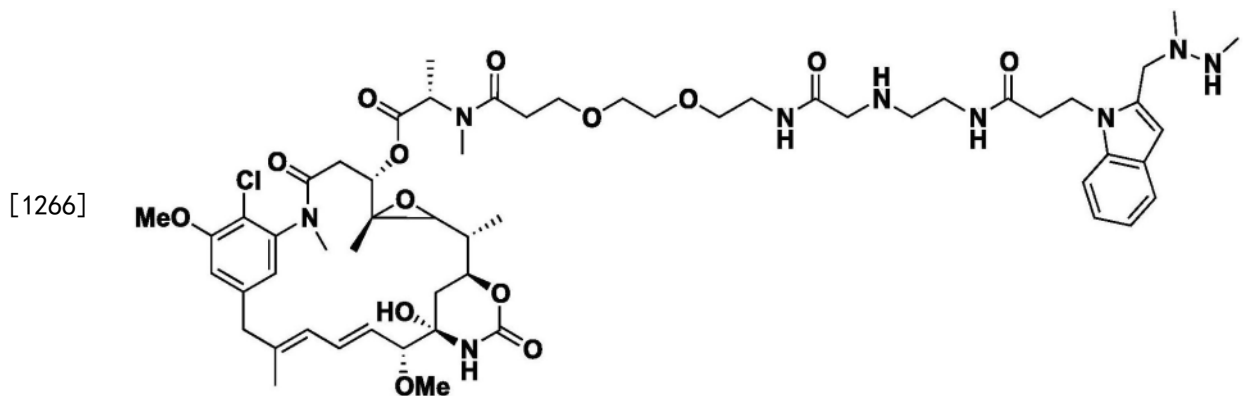
[1261] 7-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1-(2-((2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-3,9-二氧代-13,16-二氧杂-4,7,10-三氮杂十九烷-19-酸(图29)的制备

[1262] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加2,2,2-三氟乙酸3-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-14-羧基-5-氧代-9,12-二氧杂-3,6-二氮杂十四烷-1-铵(55.0mg,0.09mmol),Fmoc HIPS吡啶CO₂PFP(38.8mg,0.06mmol),NaHCO₃(30.0mg,0.4mmol),和1,4-二氧杂环己烷(0.5mL)。于室温搅动溶液16小时,用1M HCl酸化至pH 2,并用1x 10mL EtOAc萃取。用1x 10mL 1M HCl/5M NaCl(1/1)的混合物清洗有机级分,在MgSO₄上干燥,过滤,浓缩,吸附到Biotage SNAP Ultra 1g samplet上,并在Biotage SNAP Ultra10g筒上使用CH₂Cl₂中的2-8%MeOH梯度纯化,给出标题化合物,为白色固体(28.4mg,49%产率)。HPLC保留时间15.04分钟。方法A.LRMS(ESI),为C₅₅H₆₀N₆O₁₀[M+H]⁺计算:965;发现965。



[1264] 16-(((9H-茛-9-基)甲氧基)羰基)-22-(2-((2-(((9H-茛-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-2,3-二甲基-4,14,20-三氧代-7,10-二氧杂-3,13,16,19-四氮杂二十二烷-1-酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(FMOC HIPS吡啶氨基乙基甘氨酸(FMOC)PEG₂美登素)(图30)的制备

[1265] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加7-(((9H-茛-9-基)甲氧基)羰基)-1-(2-((2-(((9H-茛-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-3,9-二氧代-13,16-二氧杂-4,7,10-三氮杂十九烷-19-酸(30.0mg,0.03mmol),去酰基美登素(23.7mg,0.04mmol),和无水DMF(0.3mL)。在冰,H₂O浴中将溶液冷却至0℃,此时添加2,4,6-三甲基吡啶(7.4mg,8.1μL,0.06mmol)和COMU(15.6mg,0.04mmol)。于0℃容许反应搅动30分钟,然后升温至室温,并搅动2小时。用EtOAc(7mL)稀释反应混合物,用3x2mL 0.5M HCl,3x 2mL 1.2M NaHCO₃,和3x 2mL 5M NaCl清洗,在MgSO₄上干燥,过滤,并浓缩成粘性油。将产物吸附到Biotage SNAP Ultra 1g samplet上,并在Biotage SNAP Ultra 10g筒上使用CH₂Cl₂中的2-7%MeOH梯度纯化,给出期望的产物,为白色固体(26.7mg,56%产率)。HPLC保留时间16.28分钟。方法A.LRMS(ESI),为C₈₇H₁₀₂C₁N₉O₁₈[M+Na]⁺计算:1618.7;发现1619.7。

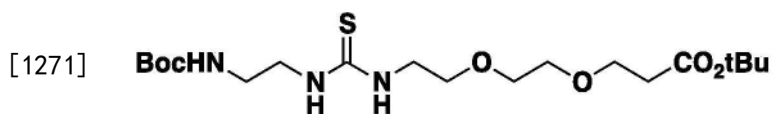


[1267] 22-(2-(((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-2,3-二甲基-4,14,20-三氧代-7,10-二氧杂-3,13,16,19-四氮杂二十二烷-1-酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(HIPS吡啶氨基乙基甘氨酸PEG₂美登素)(图30)的制备

[1268] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加FMOC HIPS吡啶氨基乙基甘氨酸(FMOC)PEG₂美登素(26.6mg,17μmol)。通过注射器添加DMA(0.16mL)中的哌啶(28.4mg,33.0μL,0.3mmol)。于室温搅动溶液1小时,吸附到Biotage SNAP Ultra 1g samplet上,并在Biotage SNAP Ultra 10g筒上使用CH₂Cl₂中的5%MeOH纯化,给出标题化合物,为白色固体(5.6mg,29%产率)。HPLC保留时间8.10分钟。方法A.LRMS(ESI),为C₇₂H₉₂C₁N₉O₁₆[M+H]⁺计算:1152.5,发现1152.4。

[1269] 实施例17

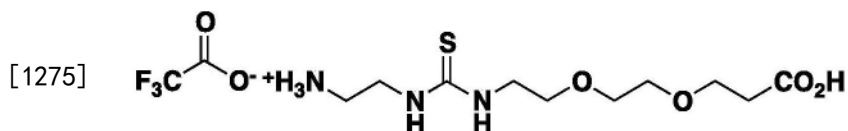
[1270] 方法17-21- (2- ((1,2-二甲基胍基) 甲基) -1H-吡啶-1-基) -2,3-二甲基-4,19-二氧代-14-硫代-7,10-二氧杂-3,13,15,18-四氮杂二十一烷-1-酸(S)-1-((S)-3-美登素基) 酯(HIPS吡啶乙二胺硫脲PEG₂美登素)的制备



[1272] 合成化合物HIPS吡啶乙二胺硫脲PEG₂美登素的反应示意图显示于图31和图32。

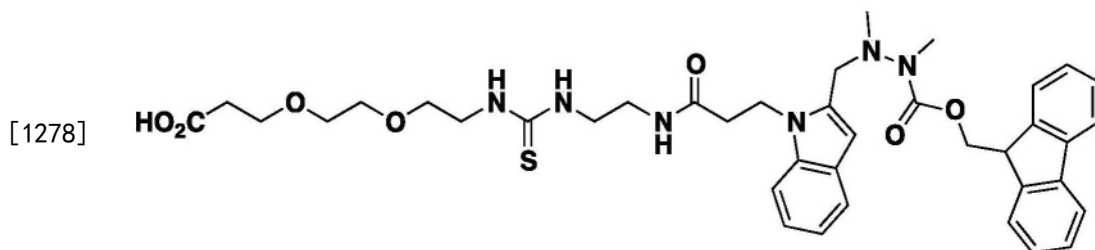
[1273] 2,2-二甲基-4-氧代-9-硫代-3,13,16-三氧杂-5,8,10-三氮杂十九烷-19-酸叔丁基酯(图31)的制备

[1274] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加(2-异硫氰酰基乙基)氨基甲酸叔丁基酯(129.0mg,0.6mmol),H₂N PEG₂ CO₂tBu(166.0mg,0.7mmol),和无水DMF(2.0mL)。搅动反应16小时,在真空中浓缩,吸附到Biotage SNAP Ultra 3g samplet上,并在Biotage SNAP Ultra 25g筒上使用Hex中的30%EtOAc纯化,给出期望的产物,为白色残留物(268.0mg,96%产率)。



[1276] 2,2,2-三氟乙酸13-羧基-4-硫代-8,11-二氧杂-3,5-二氮杂十三烷-1-铵(图31)的制备

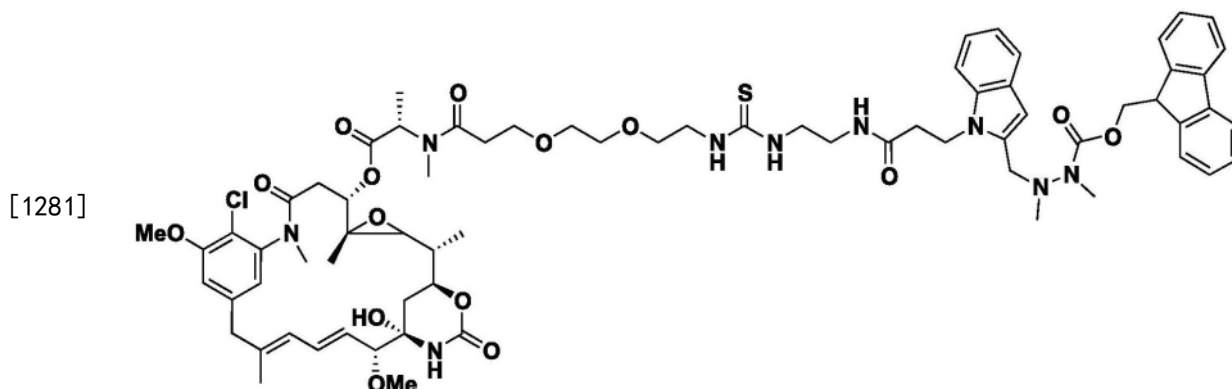
[1277] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加2,2-二甲基-4-氧代-9-硫代-3,13,16-三氧杂-5,8,10-三氮杂十九烷-19-酸叔丁基酯(130.0mg,0.3mmol),CH₂Cl₂(0.5mL),TFA(0.18mL),和H₂O(0.02mL)。搅动反应2.5小时,在真空中干燥,并与3x 2mL Tol一起共沸,给出标题化合物,为蜡质残留物(116.0mg,99%产率)。在没有另外纯化的情况下在后续步骤中使用该化合物。



[1279] 1-(2-((2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-3-氧代-8-硫代-12,15-二氧杂-4,7,9-三氮杂十八烷-18-酸(图31)的制备

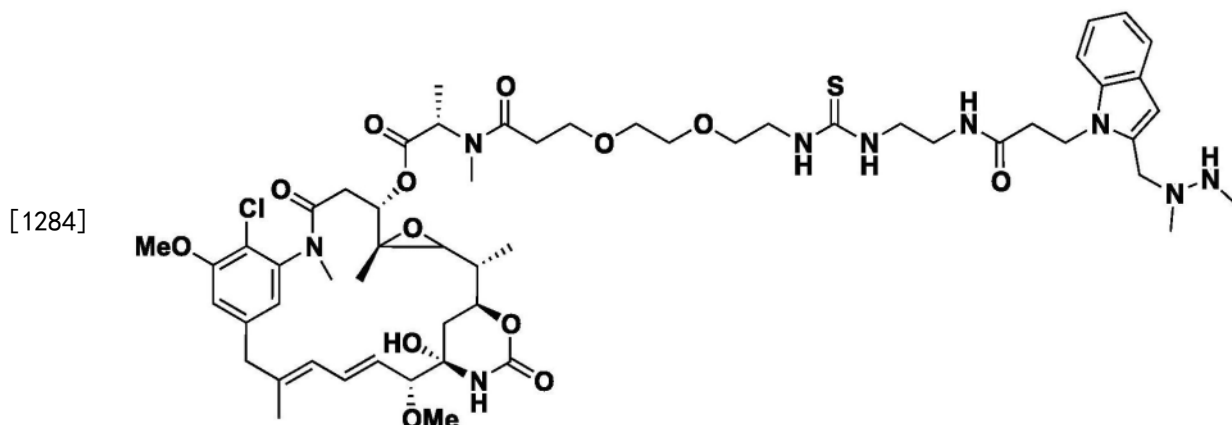
[1280] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加2,2,2-三氟乙酸13-羧基-4-硫代-8,11-二氧杂-3,5-二氮杂十三烷-1-铵(38.4mg,0.1mmol),Fmoc HIPS吡啶CO₂PFP(38.2mg,0.06mmol),NaHCO₃(30.0mg,0.4mmol),和1,4-二氧杂环己烷(0.5mL)。于室温搅动溶液16小时,用1M HCl酸化至pH 2,并用1x 10mL EtOAc萃取。用1x 10mL 1M HCl/5M NaCl(1/1)的混合物清洗有机级分,在MgSO₄上干燥,过滤,浓缩,吸附到Biotage SNAP Ultra 1g samplet上,并在Biotage SNAP Ultra 10g筒上使用CH₂Cl₂中的3-8%MeOH梯度纯化,给出期

望的产物,为白色固体(17.6mg,40%产率)。HPLC保留时间13.02分钟。方法A.LRMS (ESI),为 $C_{39}H_{48}N_6O_7S[M+H]^+$ 计算:743.3;发现743.1。



[1282] 21-(2-((2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-2,3-二甲基-4,19-二氧代-14-硫代-7,10-二氧杂-3,13,15,18-四氮杂二十一烷-1-酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(FMOC HIPS吡啶乙二胺硫脲PEG₂美登素)(图32)的制备

[1283] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加1-(2-((2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-3-氧代-8-硫代-12,15-二氧杂-4,7,9-三氮杂十八烷-18-酸(17.4mg,0.02mmol),HATU(8.9mg,0.02mmol),和DMA(0.1mL)。于室温搅动清澈,无色溶液15分钟。在另一1.5mL微量离心管中组合去酰基美登素(15.2mg,0.02mmol),DIPEA(6.1mg,8.2μL,0.05mmol),和无水DMF(0.06mL),并逐滴,缓慢添加至搅动中的溶液。容许反应于室温搅动2小时,直接吸附到Biotage KP C18HS 1.2g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 12g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出标题化合物,为白色固体(12.7mg,39%产率)。HPLC保留时间14.71分钟。方法A.LRMS (ESI),为 $C_{87}H_{102}ClN_9O_{18}[M+Na]^+$ 计算:1398.6;发现1398.5。

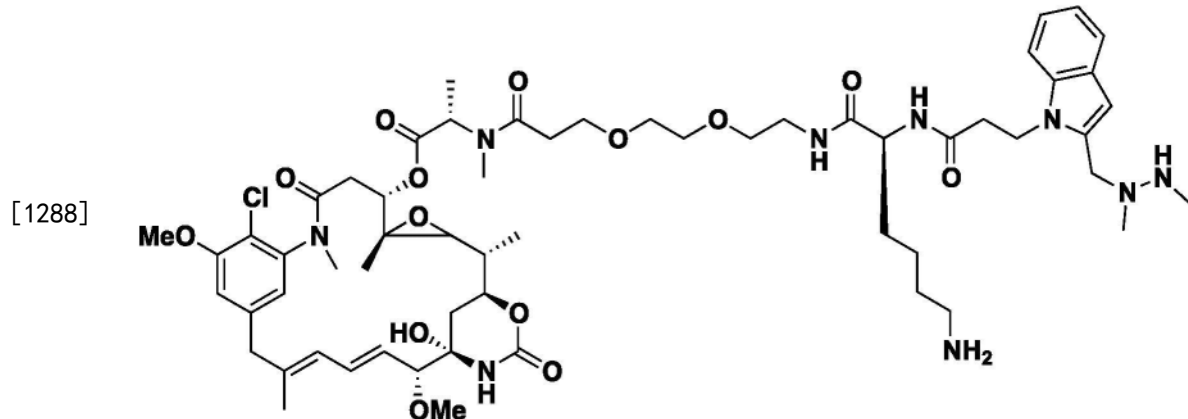


[1285] 21-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-2,3-二甲基-4,19-二氧代-14-硫代-7,10-二氧杂-3,13,15,18-四氮杂二十一烷-1-酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(HIPS吡啶乙二胺硫脲PEG₂美登素)(图32)的制备

[1286] 对带有干燥的跳蚤搅动棒的干燥的4mL玻璃闪烁管添加FMOC HIPS吡啶乙二胺硫脲PEG₂美登素(12.6mg,9.2μmol)。通过注射器添加DMA(0.1mL)中的哌啶(17.2mg,20.0μL,0.2mmol)。于室温搅动溶液1小时,直接吸附到Biotage KP C18 HS 1.2g samplet上,并在Biotage KP C18 HS 12g筒上使用H₂O中的0-100%CH₃CN梯度纯化,给出期望的产物,为白色

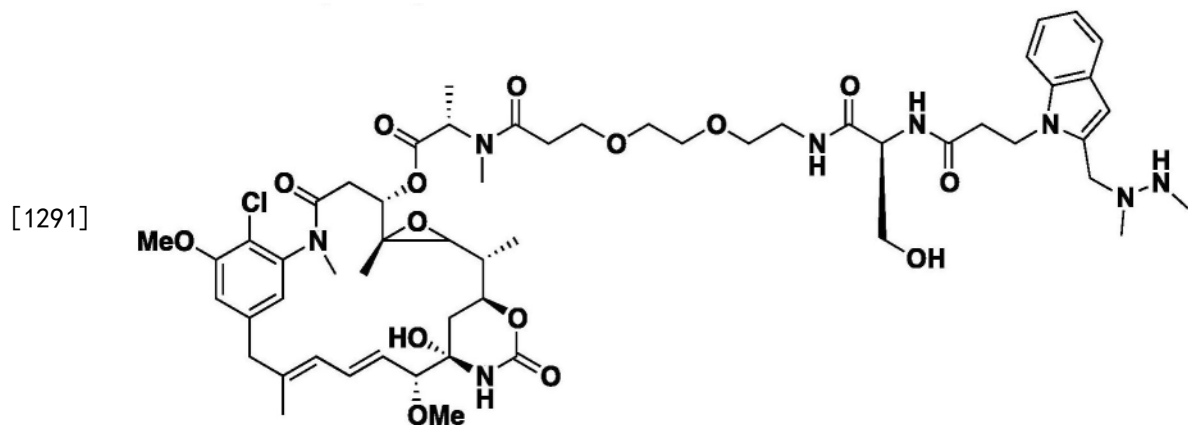
固体 (8.6mg, 81% 产率)。HPLC保留时间9.82分钟。方法A。LRMS (ESI), 为 $C_{56}H_{80}ClN_9O_{13}S[M+H]^+$ 计算:1154.5, 发现1154.4。

[1287] 实施例18



[1289] 15-(4-氨基丁基)-19-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-2,3-二甲基-4,14,17-三氧代-7,10-二氧杂-3,13,16-三氮杂十九烷-1-酸 (2S,15S)-1-((S)-3-美登素基)酯 (HIPS吡啶K(NH₂)PEG₂美登素) (化合物49) 的制备

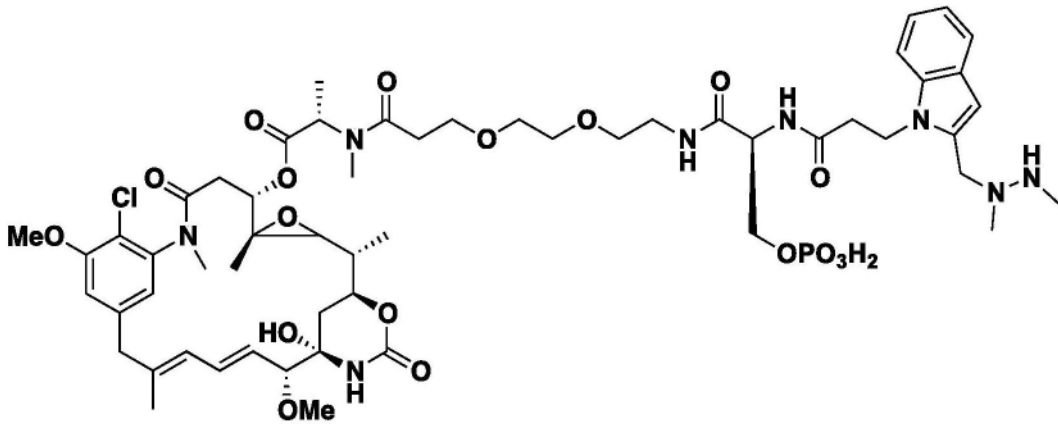
[1290] 如方法1中制备。HPLC保留时间8.921分钟。方法D。LRMS (ESI), 为 $C_{59}H_{86}ClN_9NaO_{14}^+[M+Na]^+$ 计算:1202.6, 发现1202.7。



[1292] 19-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-15-(羟基甲基)-2,3-二甲基-4,14,17-三氧代-7,10-二氧杂-3,13,16-三氮杂十九烷-1-酸 (2S,15S)-1-((S)-3-美登素基)酯 (HIPS吡啶S(OH)PEG₂美登素) 的制备

[1293] 如方法3中制备。HPLC保留时间9.147分钟。方法A。LRMS (ESI), 为 $C_{56}H_{79}ClN_8NaO_{15}^+[M+Na]^+$ 计算:1161.5, 发现1161.5。

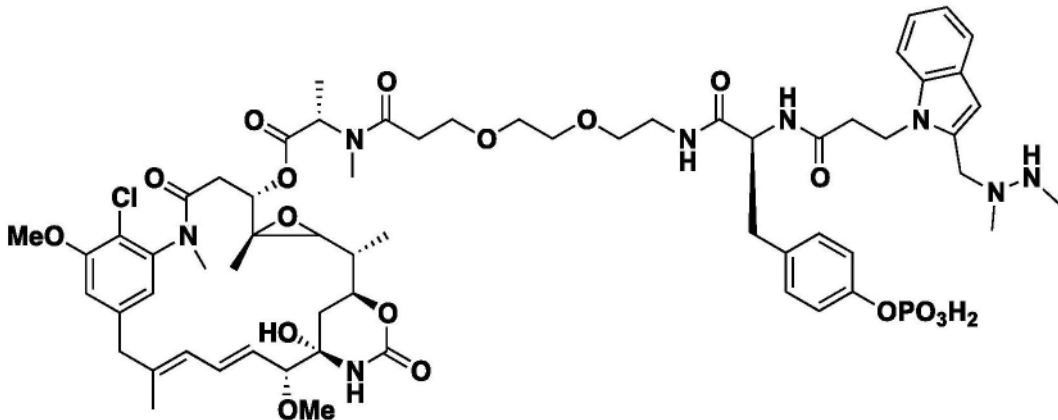
[1294]



[1295] 19-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吲哚-1-基)-2,3-二甲基-4,14,17-三氧代-15-((膦酰基氧基)甲基)-7,10-二氧杂-3,13,16-三氮杂十九烷-1-酸(2S,15S)-1-((S)-3-美登素基)酯(HIPS吲哚S(OPO₃H₂)PEG₂美登素)的制备

[1296] 如方法3中制备。HPLC保留时间8.916分钟。方法A.LRMS(ESI),为C₅₆H₇₉C₁N₈O₁₈P⁻[M-H]⁻计算:1217.5,发现1217.2。

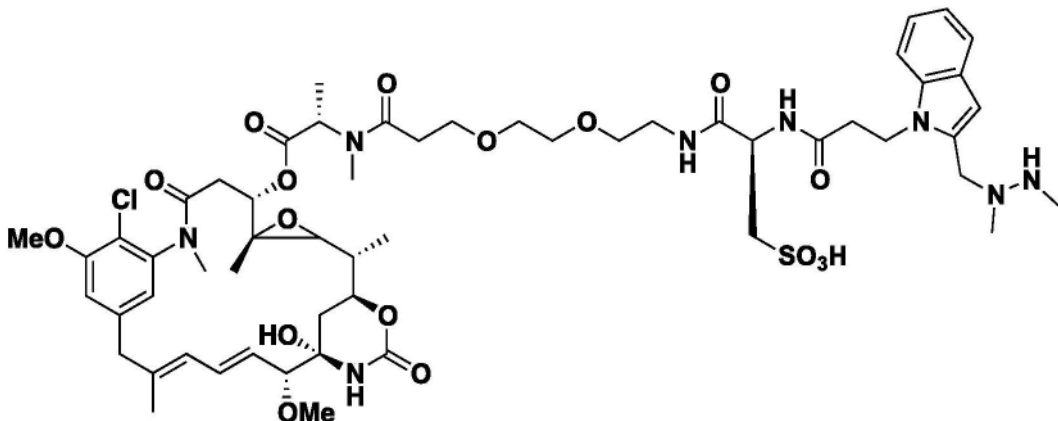
[1297]



[1298] 19-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吲哚-1-基)-2,3-二甲基-4,14,17-三氧代-15-(4-(膦酰基氧基)苄基)-7,10-二氧杂-3,13,16-三氮杂十九烷-1-酸(2S,15S)-1-((S)-3-美登素基)酯(HIPS吲哚Y(OPO₃H₂)PEG₂美登素)的制备

[1299] 如方法3中制备。HPLC保留时间9.070分钟。方法A.LRMS(ESI),为C₆₂H₈₃C₁N₈O₁₈P⁻[M-H]⁻计算:1293.5,发现1293.3。

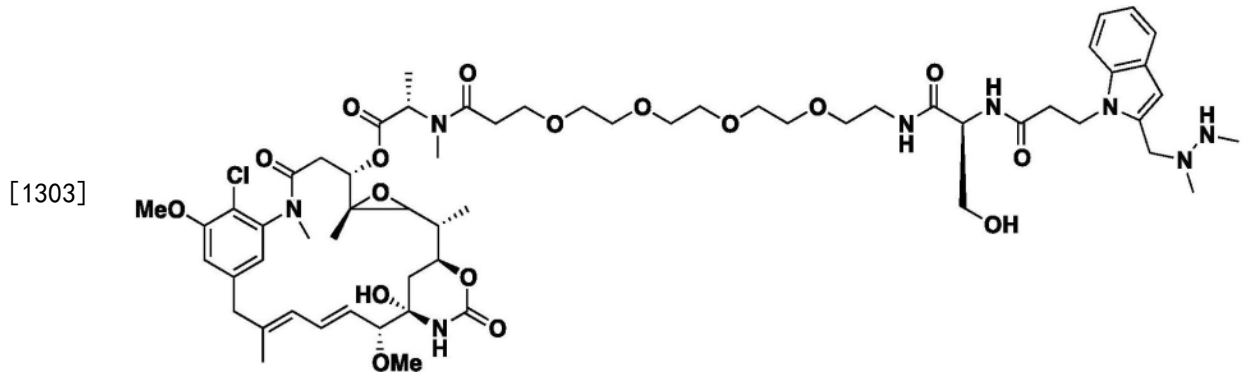
[1300]



[1301] (2S,5S,18R)-2-((S)-3-美登素基)-18-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吲

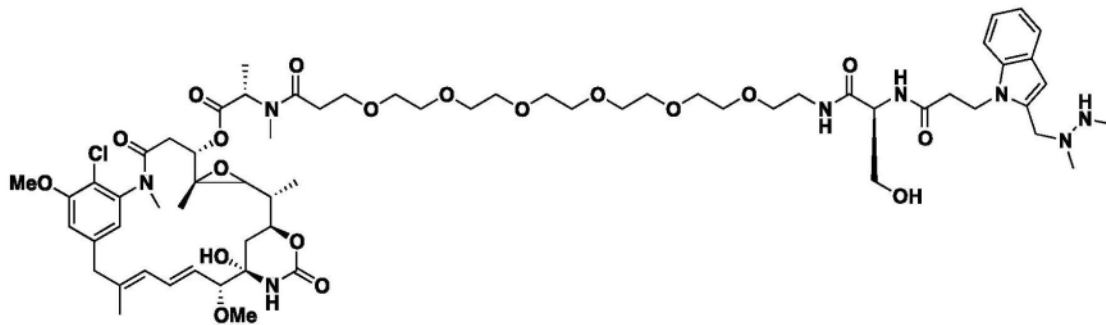
咪-1-基)丙酰胺基)-5,6-二甲基-4,7,17-三氧代-3,10,13-三氧杂-6,16-二氮杂十九烷-19-磺酸(HIPS咪唑C(SO₃H)PEG₂美登素)的制备

[1302] 如方法3中制备。HPLC保留时间9.128分钟。方法A。LRMS(ESI),为C₅₆H₇₈C1N₈O₁₇S⁻[M-H]⁻计算:1201.5,发现1201.4。



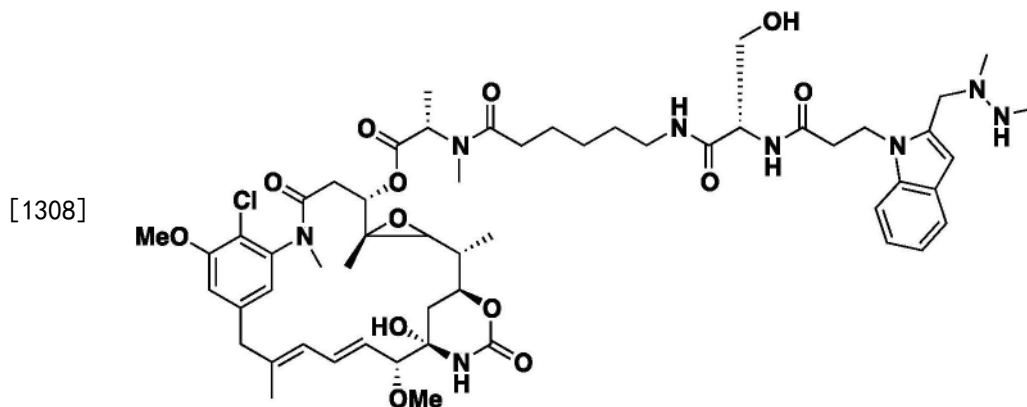
[1304] 25-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-咪唑-1-基)-21-(羟基甲基)-2,3-二甲基-4,20,23-三氧代-7,10,13,16-四氧杂-3,19,22-三氮杂二十五烷-1-酸(2S,21S)-1-((S)-3-美登素基)酯(HIPS咪唑S(OH)PEG₄美登素)的制备

[1305] 如方法3中制备。HPLC保留时间9.228分钟。方法A。LRMS(ESI),为C₆₀H₈₇C1N₈NaO₁₇⁺[M+Na]⁺计算:1249.6,发现1249.6。



[1306] 31-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-咪唑-1-基)-27-(羟基甲基)-2,3-二甲基-4,26,29-三氧代-7,10,13,16,19,22-六氧杂-3,25,28-三氮杂三十一烷-1-酸(2S,27S)-1-((S)-3-美登素基)酯(HIPS咪唑S(OH)PEG₆美登素)的制备

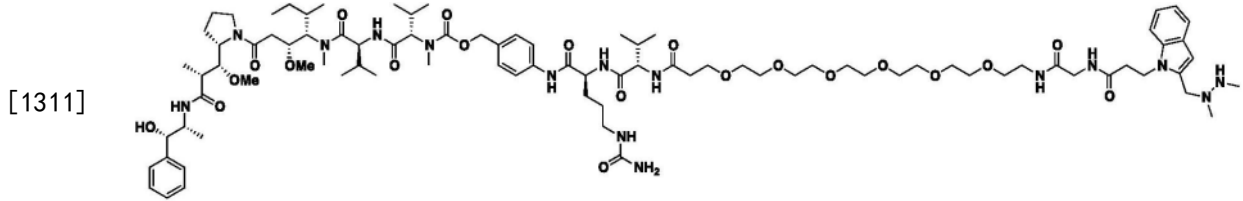
[1307] 如方法3中制备。HPLC保留时间9.305分钟。方法A。LRMS(ESI),为C₆₄H₉₅C1N₈NaO₁₉⁺[M+Na]⁺计算:1337.6,发现1337.6。



[1309] 2-(6-((S)-2-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-咪唑-1-基)丙酰胺基)-3-羟

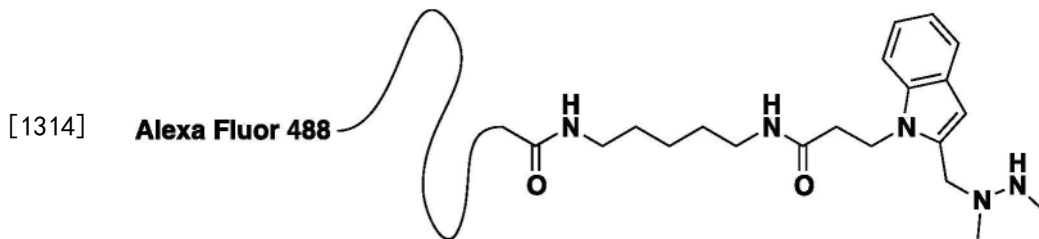
基丙酰胺基)-N-甲基己酰胺基)丙酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(HIPS吡啶S(OH)C₅美登素)的制备

[1310] 如方法3中制备。HPLC保留时间9.307分钟。方法A。LRMS(ESI),为C₅₅H₇₈C₁N₈O₁₃⁺[M+H]⁺计算:1093.5,发现1093.4。



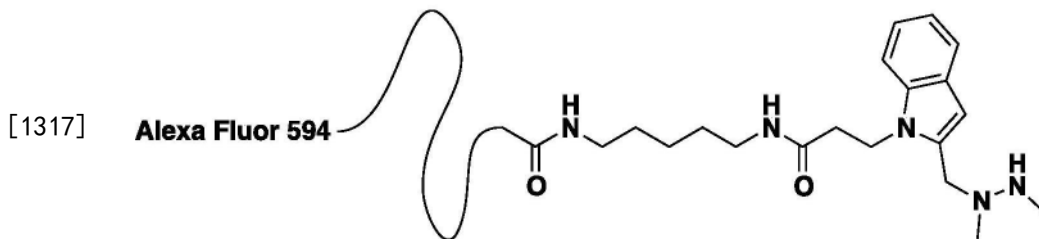
[1312] ((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5R)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸4-((2S,5S)-34-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)-5-异丙基-4,7,29,32-四氧代-2-(3-脲基丙基)-10,13,16,19,22,25-六氧杂-3,6,28,31-四氮杂三十四酰胺基)苄基酯(HIPS吡啶G PEG₆Val Cit PABC单甲基奥瑞司他汀E)的制备

[1313] 如方法7中制备。HPLC保留时间9.832分钟。方法A。LRMS(ESI),为C₈₉H₁₄₃N₁₅NaO₂₁⁺[M+Na]⁺计算:1781.1,发现1780.9。



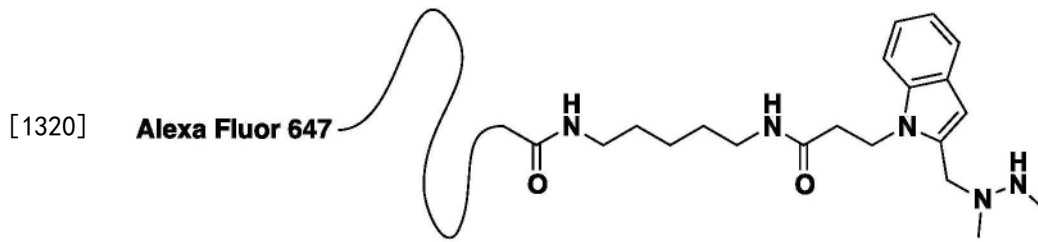
[1315] N-(5-甲酰胺基戊基)-3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺 Alexa Fluor488(HIPS吡啶尸胺Alexa Fluor 488)的制备

[1316] 如方法4中制备。HPLC保留时间6.448分钟。方法A。



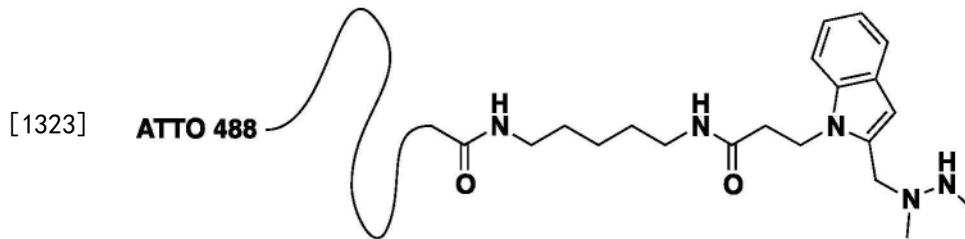
[1318] N-(5-甲酰胺基戊基)-3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺 Alexa Fluor594(HIPS吡啶尸胺Alexa Fluor 594)的制备

[1319] 如方法4中制备。HPLC保留时间7.666分钟。方法A。LRMS(ESI),为C₅₄H₆₂N₇O₁₁S₂⁻[M-H]⁻计算:1048.4,发现1048.2。



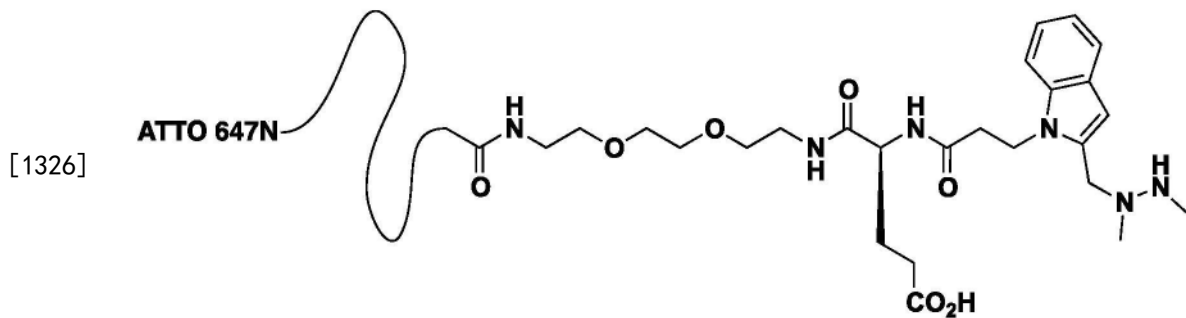
[1321] N-(5-甲酰胺基戊基)-3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺
Alexa Fluor647 (HIPS吡啶尸胺Alexa Fluor 647) 的制备

[1322] 如方法4中制备。HPLC保留时间5.415分钟。方法A。



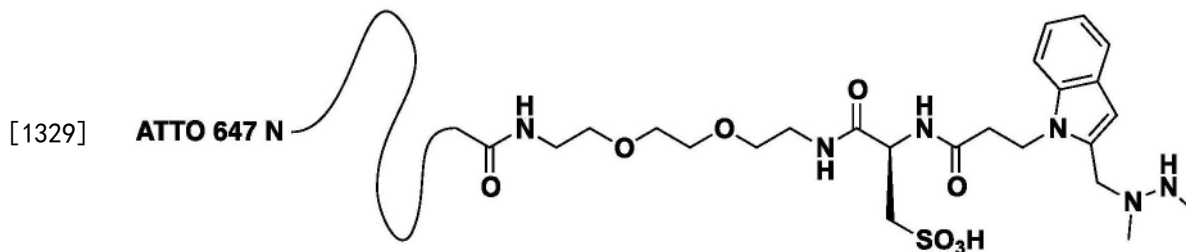
[1324] N-(5-甲酰胺基戊基)-3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺
ATTO 488 (HIPS吡啶尸胺ATTO 488) 的制备

[1325] 如方法4中制备。HPLC保留时间6.699分钟。方法A。



[1327] (S)-1-甲酰胺基-13-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺
基)-1,12-二氧代-5,8-二氧杂-2,11-二氮杂十六烷-16-酸ATTO 647N (HIPS吡啶E (CO₂H)
PEG₂ NH ATTO647N) 的制备

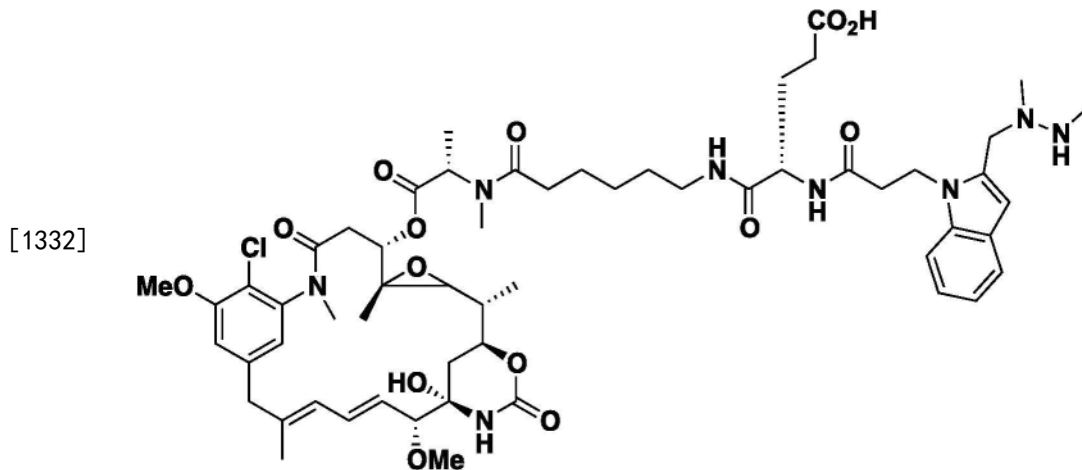
[1328] 如方法5中制备。HPLC保留时间11.595分钟,11.896分钟(异构体的混合物)。方法
A。



[1330] (R)-1-甲酰胺基-13-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺
基)-1,12-二氧代-5,8-二氧杂-2,11-二氮杂十四烷-14-磺酸ATTO 647N (HIPS吡啶C (SO₃H)
PEG₂ NH ATTO 647N) 的制备

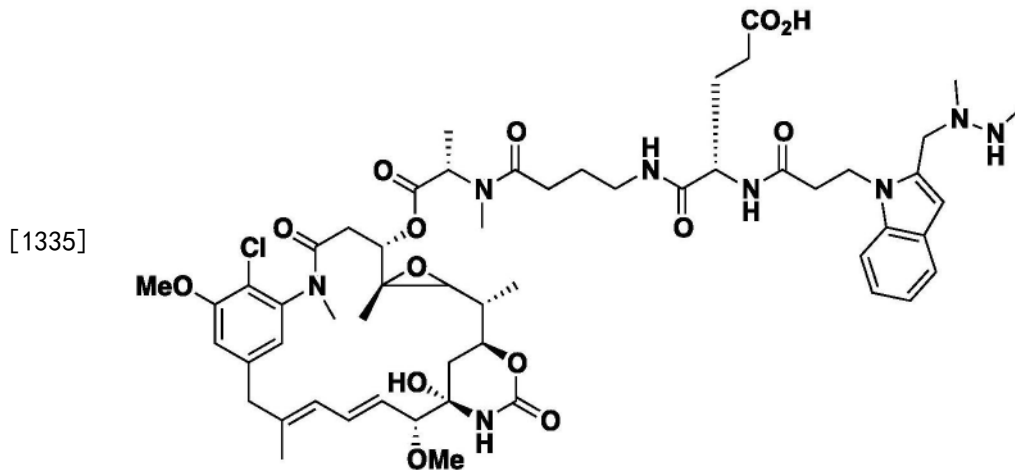
[1331] 如方法6中制备。HPLC保留时间12.519分钟,12.884分钟(异构体的混合物)。方法

A。



[1333] (S)-5-((6-(((S)-1-((S)-3-美登素基)-1-氧代丙-2-基)(甲基)氨基)-6-氧代己基)氨基)-4-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)-5-氧代戊酸(HIPS吡啶E(CO₂H)C₅美登素)的制备

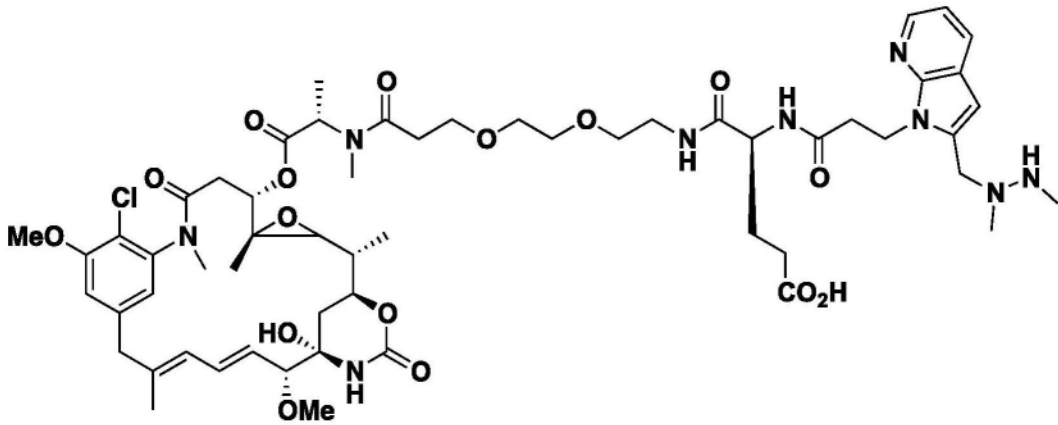
[1334] 如方法1中制备。HPLC保留时间9.361分钟。方法A。LRMS(ESI),为C₅₇H₈₀C₁N₈O₁₄⁺[M+H]⁺计算:1135.6,发现1135.4。



[1336] (S)-5-((4-(((S)-1-((S)-3-美登素基)-1-氧代丙-2-基)(甲基)氨基)-4-氧代丁基)氨基)-4-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)-5-氧代戊酸(HIPS吡啶E(CO₂H)C₃美登素)的制备

[1337] 如方法1中制备。HPLC保留时间9.067分钟。方法A。LRMS(ESI),为C₅₅H₇₆C₁N₈O₁₄⁺[M+H]⁺计算:1107.5,发现1107.3。

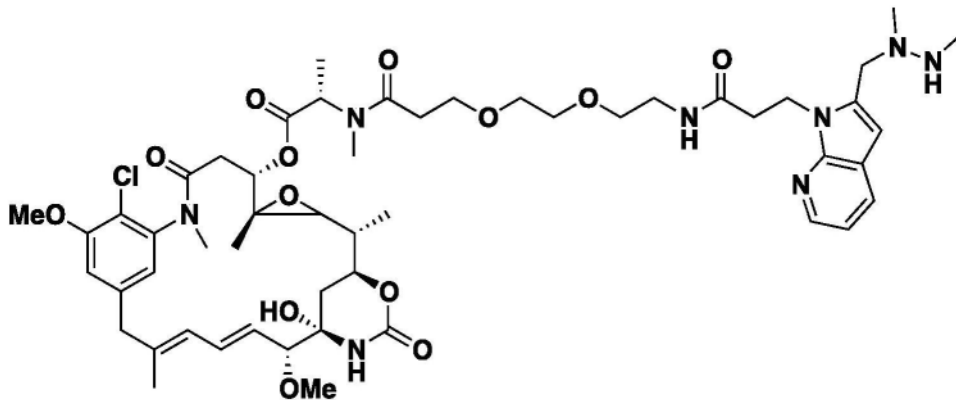
[1338]



[1339] (2S,5S,18S)-2-((S)-3-美登素基)-18-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)丙酰胺基)-5,6-二甲基-4,7,17-三氧代-3,10,13-三氧杂-6,16-二氮杂二十一烷-21-酸(HIPS氮杂吡啶E(CO₂H)PEG₂美登素)的制备

[1340] 如方法1中制备。HPLC保留时间8.534分钟。方法A.LRMS(ESI),为C₅₇H₈₀C₁N₉NaO₁₆⁺[M+H]⁺计算:1204.5,发现1204.5。

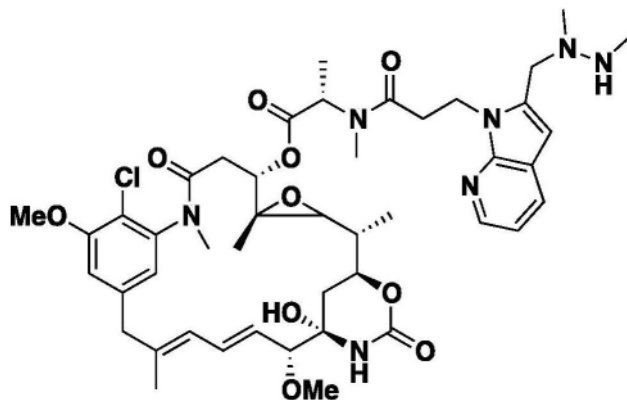
[1341]



[1342] 16-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)-2,3-二甲基-4,14-二氧代-7,10-二氧杂-3,13-二氮杂十六烷-1-酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(HIPS氮杂吡啶PEG₂美登素)的制备

[1343] 如方法1中制备。HPLC保留时间8.867分钟。方法A.LRMS(ESI),为C₅₂H₇₄C₁N₈O₁₃⁺[M+H]⁺计算:1053.5,发现1053.3。

[1344]



[1345] 2-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)-N-甲基丙酰胺基)丙酸(S)-1-((S)-3-美登素基)酯(HIPS氮杂吡啶美登素)的制备

[1346] 如方法1中制备。HPLC保留时间9.198分钟。方法A.LRMS (ESI), 为 $C_{45}H_{61}ClN_7O_{10}^+ [M+H]^+$ 计算:894.4, 发现894.3。

[1347] 实施例19

[1348] 用于将HIPS-接头-药物缀合至带醛标签的抗体的通用规程

[1349] 为了如本文所述将HIPS-接头-药物缀合至带醛标签的抗体, 使用下述通用方案。使1.85mM HIPS-接头-药物(例如HIPS-接头-美登素)与102 μ M带醛标签的抗体(例如每条链带一个醛标签的带醛标签的抗体(二聚体))在含50mM柠檬酸钠pH 5.5, 2.5% DMA, 和0.25% Triton X-100的PBS中于37 $^{\circ}$ C反应16-24小时。反应完全后, 使用渗滤去除未反应的药物。然后使用疏水相互作用柱(GE Healthcare Life Sciences#17-5195-01; 流动相A:25mM $NaPO_4$, 1.0M NH_4SO_4 , pH 7.0; 流动相B:18.75mM $NaPO_4$, 25% IPA, pH 7.0)纯化单和二缀合种类, 除去未缀合材料。使用渗滤将经过富集的样品置入最终的PBS配制缓冲液中。分析最终的样品, 使用疏水相互作用层析测定DAR (Tosoh#14947; 流动相A:25mM $NaPO_4$, 1.5M NH_4SO_4 , pH 7.0; 流动相B:18.75mM $NaPO_4$, 25% IPA, pH7.0), 使用大小排阻层析测定聚集水平 (Tosoh#08541; 流动相A:25mM $NaPO_4$ 缓冲剂, 300mM NaCl, pH 6.8)。

[1350] 将HIPS丝氨酸PEG₂美登素缀合至带醛标签的抗体

[1351] 依照上文所述缀合方法使HIPS丝氨酸PEG₂美登素与带醛标签的抗体反应。

[1352] 结果显示于图33, 其显示缀合至HIPS丝氨酸PEG₂美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析 (SEC) 迹线 (图33, 小图A), 疏水相互作用柱 (HIC) 迹线 (图33, 小图B), 和质谱仪 (MS) 迹线 (图33, 小图C)。观察到未缀合的, 单缀合的, 和二缀合的蛋白质缀合物。

[1353] 将HIPS磷酸丝氨酸PEG₂美登素缀合至带醛标签的抗体

[1354] 依照上文所述缀合方法使HIPS磷酸丝氨酸PEG₂美登素与带醛标签的抗体反应。

[1355] 结果显示于图34, 其显示缀合至HIPS磷酸丝氨酸PEG₂美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析 (SEC) 迹线 (图34, 小图A) 和疏水相互作用柱 (HIC) 迹线 (图34, 小图B), 和质谱仪 (MS) 迹线 (图34, 小图C)。观察到未缀合的, 单缀合的, 和二缀合的蛋白质缀合物。

[1356] 将HIPS半胱氨酸PEG₂美登素缀合至带醛标签的抗体

[1357] 依照上文所述缀合方法使HIPS半胱氨酸PEG₂美登素与带醛标签的抗体反应。

[1358] 结果显示于图35, 其显示缀合至HIPS HIPS半胱氨酸PEG₂美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析 (SEC) 迹线 (图35, 小图A), 疏水相互作用柱 (HIC) 迹线 (图35, 小图B), 和质谱仪 (MS) 迹线 (图35, 小图C)。观察到未缀合的, 单缀合的, 和二缀合的蛋白质缀合物。

[1359] 将HIPS谷氨酸PEG₂美登素缀合至带醛标签的抗体

[1360] 依照上文所述缀合方法使HIPS谷氨酸PEG₂美登素与带醛标签的抗体反应。

[1361] 结果显示于图36, 其显示缀合至HIPS谷氨酸PEG₂美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析 (SEC) 迹线 (图36, 小图A), 疏水相互作用柱 (HIC) 迹线 (图36, 小图B), 和质谱仪 (MS) 迹线 (图36, 小图C)。观察到单缀合的和二缀合的蛋白质缀合物。

[1362] 将HIPS天冬酰胺PEG₂美登素缀合至带醛标签的抗体

[1363] 依照上文所述缀合方法使HIPS天冬酰胺PEG₂美登素与带醛标签的抗体反应。

[1364] 结果显示于图37, 其显示缀合至HIPS天冬酰胺PEG₂美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析 (SEC) 迹线 (图37, 小图A) 和疏水相互作用柱 (HIC) 迹线 (图37, 小图B)。观察到未缀合的, 单缀合的和二缀合的蛋白质缀合物。

- [1365] 将HIPS磷酸酪氨酸PEG₂美登素缀合至带醛标签的抗体
- [1366] 依照上文所述缀合方法使HIPS磷酸酪氨酸PEG₂美登素与带醛标签的抗体反应。
- [1367] 结果显示于图38,其显示缀合至HIPS磷酸酪氨酸PEG₂美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析 (SEC) 迹线 (图38,小图A) 和疏水相互作用柱 (HIC) 迹线 (图38,小图B)。观察到未缀合的,单缀合的和二缀合的蛋白质缀合物。
- [1368] 将azaHIPS谷氨酸PEG₂美登素缀合至带醛标签的抗体
- [1369] 依照上文所述缀合方法使azaHIPS谷氨酸PEG₂美登素与带醛标签的抗体反应。
- [1370] 结果显示于图39,其显示缀合至azaHIPS谷氨酸PEG₂美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析 (SEC) 迹线 (图39,小图A),疏水相互作用柱 (HIC) 迹线 (图39,小图B),和质谱仪 (MS) 迹线 (图39,小图C)。观察到未缀合的,单缀合的和二缀合的蛋白质缀合物。
- [1371] 将HIPS酒石酸美登素缀合至带醛标签的抗体
- [1372] 依照上文所述缀合方法使HIPS酒石酸美登素与带醛标签的抗体反应。
- [1373] 结果显示于图40,其显示缀合至HIPS酒石酸美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析 (SEC) 迹线 (图40,小图A),疏水相互作用柱 (HIC) 迹线 (图40,小图B),和质谱仪 (MS) 迹线 (图40,小图C)。观察到未缀合的,单缀合的和二缀合的蛋白质缀合物。
- [1374] 将HIPS二羟基美登素缀合至带醛标签的抗体
- [1375] 依照上文所述缀合方法使HIPS二羟基美登素与带醛标签的抗体反应。
- [1376] 结果显示于图41,其显示缀合至HIPS二羟基美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析 (SEC) 迹线 (图41,小图A),疏水相互作用柱 (HIC) 迹线 (图41,小图B),和质谱仪 (MS) 迹线 (图41,小图C)。观察到单缀合的和二缀合的蛋白质缀合物。
- [1377] 将HIPS谷氨酸C₃美登素缀合至带醛标签的抗体
- [1378] 依照上文所述缀合方法使HIPS谷氨酸C₃美登素与带醛标签的抗体反应。
- [1379] 结果显示于图42,其显示缀合至HIPS谷氨酸C₃美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析 (SEC) 迹线 (图42,小图A),疏水相互作用柱 (HIC) 迹线 (图42,小图B),和质谱仪 (MS) 迹线 (图42,小图C)。观察到未缀合的,单缀合的和二缀合的蛋白质缀合物。
- [1380] 将HIPS三甲氧基美登素缀合至带醛标签的抗体
- [1381] 依照上文所述缀合方法使HIPS三甲氧基美登素与带醛标签的抗体反应。
- [1382] 结果显示于图43,其显示缀合至HIPS三甲氧基美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析 (SEC) 迹线 (图43,小图A),疏水相互作用柱 (HIC) 迹线 (图43,小图B),和质谱仪 (MS) 迹线 (图43,小图C)。观察到单缀合的和二缀合的蛋白质缀合物。
- [1383] 将HIPS Glc NAc PEG₂ Ac₃美登素缀合至带醛标签的抗体
- [1384] 依照上文所述缀合方法使HIPS Glc NAc PEG₂ Ac₃美登素与带醛标签的抗体反应。
- [1385] 结果显示于图44,其显示缀合至HIPS Glc NAc PEG₂ Ac₃美登素的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱 (HIC) 迹线。观察到未缀合的,单缀合的和二缀合的蛋白质缀合物。
- [1386] 将HIPS Glc NAc PEG₂美登素缀合至带醛标签的抗体
- [1387] 依照上文所述缀合方法使HIPS Glc NAc PEG₂美登素与带醛标签的抗体反应。
- [1388] 结果显示于图45,其显示缀合至HIPS Glc NAc PEG₂美登素的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱 (HIC) 迹线。观察到未缀合的,单缀合的和二缀合的蛋白质缀合物。
- [1389] 将HIPS Nit PEG₂美登素缀合至带醛标签的抗体

- [1390] 依照上文所述缀合方法使HIPS Nit PEG₂美登素与带醛标签的抗体反应。
- [1391] 结果显示于图46,其显示缀合至HIPS Nit PEG₂美登素的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱(HIC)迹线(图46,小图A)和质谱仪(MS)迹线(图46,小图B)。观察到未缀合的,单缀合的和二缀合的蛋白质缀合物。
- [1392] 将HIPS PEG₂ MMAF缀合至带醛标签的抗体
- [1393] 依照上文所述缀合方法使HIPS PEG₂ MMAF与带醛标签的抗体反应。
- [1394] 结果显示于图47,其显示缀合至HIPS PEG₂ MMAF的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱(HIC)迹线(图47,小图A)和质谱仪(MS)迹线(图47,小图B)。观察到未缀合的,单缀合的和二缀合的蛋白质缀合物。
- [1395] 将HIPS S PEG₄美登素缀合至带醛标签的抗体
- [1396] 依照上文所述缀合方法使HIPS S PEG₄美登素与带醛标签的抗体反应。
- [1397] 结果显示于图48,其显示缀合至HIPS S PEG₄美登素的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱(HIC)迹线。观察到未缀合的,单缀合的和二缀合的蛋白质缀合物。
- [1398] 将HIPS S PEG₆美登素缀合至带醛标签的抗体
- [1399] 依照上文所述缀合方法使HIPS S PEG₆美登素与带醛标签的抗体反应。
- [1400] 结果显示于图49,其显示缀合至HIPS S PEG₆美登素的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱(HIC)迹线。观察到未缀合的,单缀合的和二缀合的蛋白质缀合物。
- [1401] 将HIPS S C₅美登素缀合至带醛标签的抗体
- [1402] 依照上文所述缀合方法使HIPS S C₅美登素与带醛标签的抗体反应。
- [1403] 结果显示于图50,其显示缀合至HIPS S C₅美登素的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱(HIC)迹线。观察到未缀合的,单缀合的和二缀合的蛋白质缀合物。
- [1404] 将HIPS G PEG₆美登素缀合至带醛标签的抗体
- [1405] 依照上文所述缀合方法使HIPS G PEG₆美登素与带醛标签的抗体反应。
- [1406] 结果显示于图51,其显示缀合至HIPS G PEG₆美登素的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱(HIC)迹线。观察到未缀合的,单缀合的和二缀合的蛋白质缀合物。
- [1407] 将HIPS PEG₆Val Cit PABC NMC₃美登素缀合至带醛标签的抗体
- [1408] 依照上文所述缀合方法使HIPS PEG₆Val Cit PABC NMC₃美登素与带醛标签的抗体反应。
- [1409] 结果显示于图52,其显示缀合至HIPS PEG₆Val Cit PABC NMC₃美登素的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱(HIC)迹线。观察到未缀合的,单缀合的和二缀合的蛋白质缀合物。
- [1410] 将HIPS Gly PEG₆Val Cit PABC MMAE缀合至带醛标签的抗体
- [1411] 依照上文所述缀合方法使HIPS Gly PEG₆Val Cit PABC MMAE与带醛标签的抗体反应。
- [1412] 结果显示于图53,其显示缀合至HIPS Gly PEG₆Val Cit PABC MMAE的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱(HIC)迹线。观察到未缀合的,单缀合的和二缀合的蛋白质缀合物。
- [1413] 将HIPS半胱磺酸美登素缀合至带醛标签的抗体
- [1414] 依照上文所述缀合方法使HIPS半胱磺酸美登素与带醛标签的抗体反应。
- [1415] 结果显示于图54,其显示缀合至HIPS半胱磺酸美登素的带醛标签的抗体的疏水相

相互作用柱 (HIC) 迹线。观察到未缀合的,单缀合的和二缀合的蛋白质缀合物。

[1416] 将HIPS吡啶E (CO₂H) PEG₂ NH Alexa Fluor 488缀合至带醛标签的抗体

[1417] 依照上文所述缀合方法使HIPS吡啶E (CO₂H) PEG₂ NH Alexa Fluor 488与带醛标签的抗体反应。

[1418] 结果显示于图55,其显示缀合至HIPS吡啶E (CO₂H) PEG₂ NH Alexa Fluor 488的带醛标签的抗体的SDS-PAGE凝胶图像。观察到对带醛标签的抗体的重链和轻链的缀合物。

[1419] 将HIPS PEG₆美登素缀合至带醛标签的抗体

[1420] 依照上文所述缀合方法使HIPS PEG₆美登素与带醛标签的抗体反应。

[1421] 结果显示于图56,其显示缀合至HIPS PEG₆美登素的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱 (HIC) 迹线。观察到未缀合的,单缀合的和二缀合的蛋白质缀合物。

[1422] 将PIPS PEG₂美登素缀合至带醛标签的抗体

[1423] 依照上文所述缀合方法使PIPS PEG₂美登素与带醛标签的抗体反应。

[1424] 结果显示于图57,其显示缀合至PIPS PEG₂美登素的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱 (HIC) 迹线。观察到未缀合的,单缀合的和二缀合的蛋白质缀合物。

[1425] 将HIPS三羟基美登素缀合至带醛标签的抗体

[1426] 依照上文所述缀合方法使HIPS三羟基美登素与带醛标签的抗体反应。

[1427] 结果显示于图58,其显示缀合至HIPS三羟基美登素的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱 (HIC) 迹线。观察到未缀合的和缀合的蛋白质缀合物。

[1428] 将HIPS赖氨酸PEG₂美登素缀合至带醛标签的抗体

[1429] 依照上文所述缀合方法使HIPS赖氨酸PEG₂美登素与带醛标签的抗体反应。

[1430] 结果显示于图59,其显示缀合至HIPS赖氨酸PEG₂美登素的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱 (HIC) 迹线。观察到未缀合的和缀合的蛋白质缀合物。

[1431] 将HIPS-PAPip (PEG2 (CO₂H)) -美登素缀合至带醛标签的抗体

[1432] 依照上文所述缀合方法使HIPS-PAPip (PEG2 (CO₂H)) -美登素与带醛标签的抗体反应。

[1433] 结果显示于图66,其显示缀合至HIPS-PAPip (PEG2 (CO₂H)) -美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析 (SEC) 迹线 (图66,小图A),疏水相互作用柱 (HIC) 迹线 (图66,小图B),和质谱仪 (MS) 迹线 (图66,小图C)。观察到未缀合的,单缀合的和二缀合的蛋白质缀合物。

[1434] 将HIPS-谷氨酸-PEG2-缬氨酸-丙氨酸-PABC-美登素缀合至带醛标签的抗体

[1435] 依照上文所述缀合方法使HIPS-谷氨酸-PEG2-缬氨酸-丙氨酸-PABC-美登素与带醛标签的抗体反应。

[1436] 结果显示于图67,其显示缀合至HIPS-谷氨酸-PEG2-缬氨酸-丙氨酸-PABC-美登素的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱 (HIC) 迹线。观察到未缀合的,单缀合的和二缀合的蛋白质缀合物。

[1437] 将HIPS-PAPip (PEG2 (CO₂H)) -缬氨酸-丙氨酸-PABC-MMAD缀合至带醛标签的抗体

[1438] 依照上文所述缀合方法使HIPS-PAPip (PEG2 (CO₂H)) -缬氨酸-丙氨酸-PABC-MMAD与带醛标签的抗体反应。

[1439] 结果显示于图68,其显示缀合至HIPS-PAPip (PEG2 (CO₂H)) -缬氨酸-丙氨酸-PABC-MMAD的带醛标签的抗体的疏水相互作用柱 (HIC) 迹线。观察到未缀合的,单缀合的和二缀合

的蛋白质缀合物。

[1440] 将HIPS-PAPip (PEG2 (CO₂H)) - 缬氨酸-瓜氨酸-PABC-MMAD缀合至带醛标签的抗体

[1441] 依照上文所述缀合方法使HIPS-PAPip (PEG2 (CO₂H)) - 缬氨酸-瓜氨酸-PABC-MMAD与带醛标签的抗体反应。

[1442] 结果显示于图69,其显示缀合至HIPS-PAPip (PEG2 (CO₂H)) - 缬氨酸-瓜氨酸-PABC-MMAD的带醛标签的抗体的大小排阻层析 (SEC) 迹线 (图69,小图A) 和疏水相互作用柱 (HIC) 迹线 (图69,小图B)。观察到未缀合的,单缀合的和二缀合的蛋白质缀合物。

[1443] 将azaHIPS-PAPip (PEG2 (CO₂H)) - 缬氨酸-瓜氨酸-PABC-MMAD缀合至带醛标签的抗体

[1444] 依照上文所述缀合方法使azaHIPS-PAPip (PEG2 (CO₂H)) - 缬氨酸-瓜氨酸-PABC-MMAD与带醛标签的抗体反应。

[1445] 结果显示于图70,其显示缀合至azaHIPS-PAPip (PEG2 (CO₂H)) - 缬氨酸-瓜氨酸-PABC-MMAD的带醛标签的抗体的大小排阻层析 (SEC) 迹线 (图70,小图A) 和疏水相互作用柱 (HIC) 迹线 (图70,小图B)。观察到未缀合的,单缀合的和二缀合的蛋白质缀合物。

[1446] 将HIPS-谷氨酸-PEG2-缬氨酸-瓜氨酸-PABC-美登素缀合至带醛标签的抗体

[1447] 依照上文所述缀合方法使HIPS-谷氨酸-PEG2-缬氨酸-瓜氨酸-PABC-美登素与带醛标签的抗体反应。

[1448] 结果显示于图71,其显示缀合至HIPS-谷氨酸-PEG2-缬氨酸-瓜氨酸-PABC-美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析 (SEC) 迹线 (图71,小图A),疏水相互作用柱 (HIC) 迹线 (图71,小图B),和质谱仪 (MS) 迹线 (图71,小图C)。观察到未缀合的和单缀合的蛋白质缀合物。

[1449] 将HIPS-天冬酰胺-PEG2-美登素缀合至带醛标签的抗体

[1450] 依照上文所述缀合方法使HIPS-天冬酰胺-PEG2-美登素与带醛标签的抗体反应。

[1451] 结果显示于图72,其显示缀合至HIPS-天冬酰胺-PEG2-美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析 (SEC) 迹线 (图72,小图A),疏水相互作用柱 (HIC) 迹线 (图72,小图B),和质谱仪 (MS) 迹线 (图72,小图C)。观察到未缀合的,单缀合的和二缀合的蛋白质缀合物。

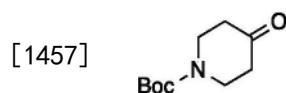
[1452] 将HIPS-丙氨酸-PEG2-美登素缀合至带醛标签的抗体

[1453] 依照上文所述缀合方法使HIPS-丙氨酸-PEG2-美登素与带醛标签的抗体反应。

[1454] 结果显示于图73,其显示缀合至HIPS-丙氨酸-PEG2-美登素的带醛标签的抗体的大小排阻层析 (SEC) 迹线 (图73,小图A),疏水相互作用柱 (HIC) 迹线 (图73,小图B),和质谱仪 (MS) 迹线 (图73,小图C)。观察到未缀合的,单缀合的和二缀合的蛋白质缀合物。

[1455] 实施例20

[1456] 合成 (2S)-1-(((1⁴S,1⁶S,3³S,2R,4S,10E,12E,14R)-8⁶-氯-1⁴-羟基-8⁵,14-二甲氧基-3³,2,7,10-四甲基-1²,6-二氧化-7-氮杂-1(6,4)-夹氧氮杂环己烷-3(2,3)-夹氧杂环丙烷-8(1,3)-夹苯环十四烷-10,12-二烯-4-基)氧基)-8-(1-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)-2,3-二甲基-1,4,7-三氧代-11,14-二氧杂-3,8-二氮杂十七烷-17-酸的反应示意图显示于图60。

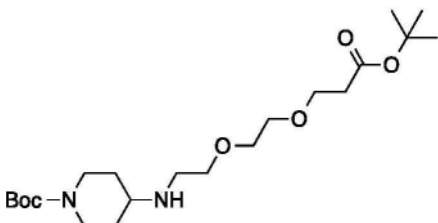


[1458] 4-氧代哌啶-1-羧酸叔丁基酯(图60)的制备

[1459] 对带有磁力搅动棒的100mL圆底烧瓶添加盐酸哌啶酮单水合物(1.53g,10mmol), Boc酐(2.39g,11mmol),碳酸钠(1.22g,11.5mmol),二氧杂环己烷(10mL),和水(1mL)。于室温搅动反应混合物1小时。用水(100mL)稀释混合物,并用EtOAc(3x 100mL)萃取。用盐水清洗组合的有机层,在Na₂SO₄上干燥,过滤,并在减压下浓缩。在真空中干燥所得材料以产出标题化合物,为白色固体(1.74g,87%产率)。

[1460] ¹H NMR (CDCl₃) δ3.73 (t,4H,J=6.0),2.46 (t,4H,J=6.0),1.51 (s,9H)。

[1461]

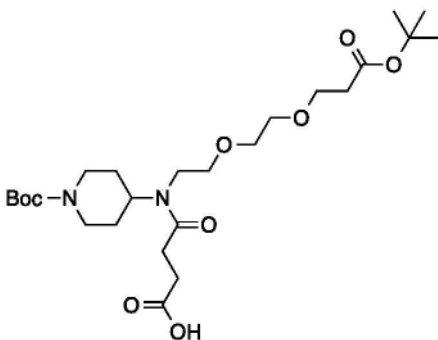


[1462] 4-((2-(2-(3-(叔丁氧基)-3-氧代丙氧基)乙氧基)乙基)氨基)哌啶-1-羧酸叔丁基酯(图60)的制备

[1463] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加4-氧代哌啶-1-羧酸叔丁基酯(399mg,2mmol),H₂N-PEG₂-COOt-Bu(550mg,2.4mmol),4 Å分子筛(经过活化的粉,200mg),和1,2-二氯乙烷(5mL)。于室温搅动混合物1小时。对反应混合物添加三乙酰氧硼氢化钠(845mg,4mmol)。于室温搅动混合物3天。在EtOAc和饱和NaHCO₃水溶液之间分配所得混合物。用盐水清洗有机层,在Na₂SO₄上干燥,过滤,并在减压下浓缩以产出标题化合物,为粘性油(850mg,>100%产率)。

[1464] ESI-MS,为[MH]⁺计算:417.3;发现417.2。

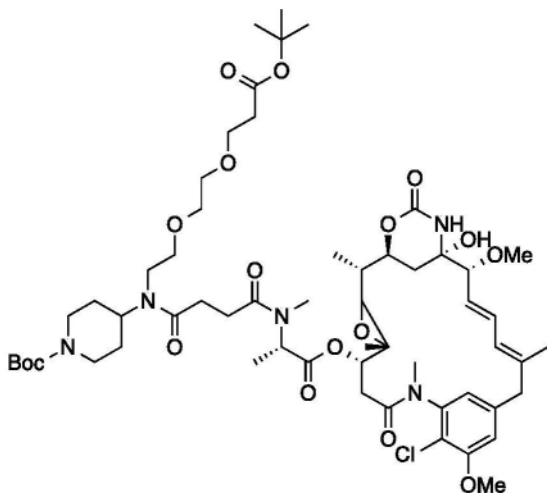
[1465]



[1466] 13-(1-(叔丁氧基羰基)哌啶-4-基)-2,2-二甲基-4,14-二氧代-3,7,10-三氧杂-13-氮杂十七烷-17-酸(图60)的制备

[1467] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加4-((2-(2-(3-(叔丁氧基)-3-氧代丙氧基)乙氧基)乙基)氨基)哌啶-1-羧酸叔丁基酯(220mg,0.5mmol),琥珀酸酐(55mg,0.55mmol),4-(二甲基氨基)吡啶(5mg,0.04mmol),和二氯甲烷(3mL)。于室温搅动混合物24小时。通过急骤层析(洗脱液50-100%EtOAc/己烷)部分纯化反应混合物以产出标题化合物,为清澈油(117mg),在没有进一步表征的情况下结转。

[1468]

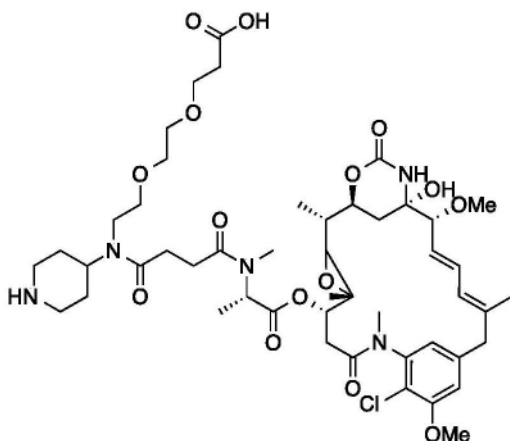


[1469] (2S)-8-(1-(叔丁氧基羰基)哌啶-4-基)-2,3-二甲基-4,7-二氧代-11,14-二氧杂-3,8-二氮杂十七烷二酸17-(叔丁基)酯1-((1⁴S,1⁶S,3³S,2R,4S,10E,12E,14R)-8⁶-氯-1⁴-羟基-8⁵,14-二甲氧基-3³,2,7,10-四甲基-1²,6-二氧代-7-氮杂-1(6,4)-夹氧氮杂环己烷-3(2,3)-夹氧杂环丙烷-8(1,3)-夹苯环十四烷-10,12-二烯-4-基)酯(Boc-PAPip(PEG2(CO2t-Bu)-美登素)(图60)的制备

[1470] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加13-(1-(叔丁氧基羰基)哌啶-4-基)-2,2-二甲基-4,14-二氧代-3,7,10-三氧杂-13-氮杂十七烷-17-酸(55mg,0.1mmol),去酰基美登素(65mg,0.1mmol),HATU(43mg,0.11mmol),DMF(1mL),和二氯甲烷(0.5mL)。于室温搅动混合物8小时。通过C18急骤层析(洗脱液5-100%MeCN/水)直接纯化反应混合物以产出标题化合物,为白色膜(18mg,16%产率)。

[1471] ESI-MS,为[MH]⁺计算:1148.6;发现1148.7。

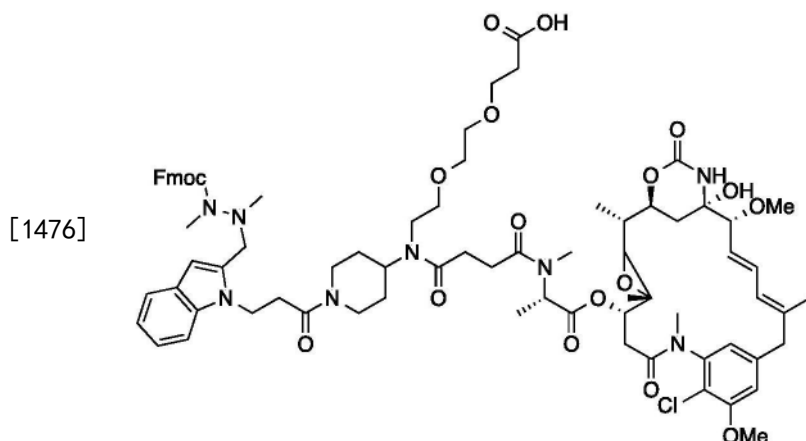
[1472]



[1473] (2S)-1-(((1⁴S,1⁶S,3³S,2R,4S,10E,12E,14R)-8⁶-氯-1⁴-羟基-8⁵,14-二甲氧基-3³,2,7,10-四甲基-1²,6-二氧代-7-氮杂-1(6,4)-夹氧氮杂环己烷-3(2,3)-夹氧杂环丙烷-8(1,3)-夹苯环十四烷-10,12-二烯-4-基)氧基)-2,3-二甲基-1,4,7-三氧代-8-(哌啶-4-基)-11,14-二氧杂-3,8-二氮杂十七烷-17-酸(PAPip(PEG2(CO2H))-美登素)(图60)的制备

[1474] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加Boc-PAPip(PEG2(CO2t-Bu)-美登素(31mg,0.027mmol)和二氯甲烷(1mL)。使溶液冷却至0℃,并添加四氯化锡(IV)(二氯甲烷中的1.0M溶液,0.3mL,0.3mmol)。于0℃搅动反应混合物1小时。通过C18急骤层析(洗脱液5-100%MeCN/水)直接纯化反应混合物以产出标题化合物,为白色固体(16mg,60%产率)。

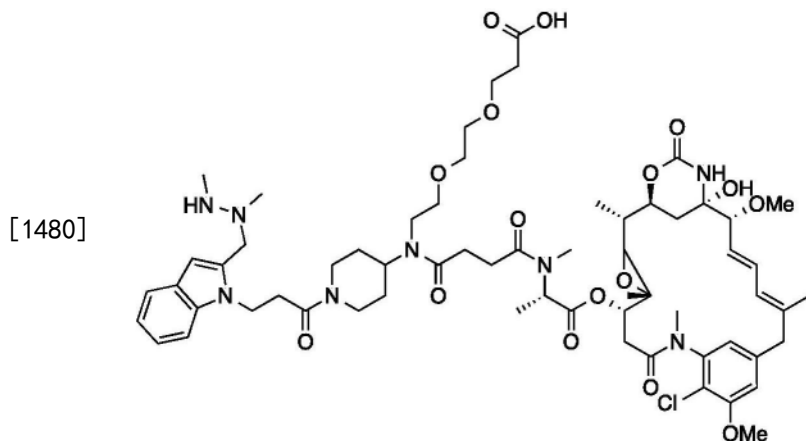
[1475] ESI-MS,为[MH]⁺计算:992.5;发现992.6。



[1477] (2S)-8-(1-(3-(2-((2-((9H-茚-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)-1-(((1⁴S,1⁶S,3³S,2R,4S,10E,12E,14R)-8⁶-氯-1⁴-羟基-8⁵,14-二甲氧基-3³,2,7,10-四甲基-1²,6-二氧化-7-氮杂-1(6,4)-夹氧氮杂环己烷-3(2,3)-夹氧杂环丙烷-8(1,3)-夹苯环十四烷-10,12-二烯-4-基)氧基)-2,3-二甲基-1,4,7-三氧代-11,14-二氧杂-3,8-二氮杂十七烷-17-酸(Fmoc-HIPS-PAPip(PEG2(CO₂H))-美登素)(图60)的制备

[1478] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加PAPip(PEG2(CO₂H))-美登素(16mg,0.016mmol),1,2-二甲基-2-((1-(3-氧代-3-(全氟苯氧基)丙基)-1H-吡啶-2-基)甲基)胍-1-羧酸(9H-茚-9-基)甲基酯(13mg,0.02mmol),DIPEA(8μL,0.05mmol),和DMF(1mL)。于室温搅动溶液18小时。通过C18急骤层析(洗脱液5-100%MeCN/水)直接纯化反应混合物以产出标题化合物,为白色固体(18mg,77%产率)。

[1479] ESI-MS,为[MH]⁺计算:1457.7;发现1457.9。



[1481] (2S)-1-(((1⁴S,1⁶S,3³S,2R,4S,10E,12E,14R)-8⁶-氯-1⁴-羟基-8⁵,14-二甲氧基-3³,2,7,10-四甲基-1²,6-二氧化-7-氮杂-1(6,4)-夹氧氮杂环己烷-3(2,3)-夹氧杂环丙烷-8(1,3)-夹苯环十四烷-10,12-二烯-4-基)氧基)-8-(1-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)-2,3-二甲基-1,4,7-三氧代-11,14-二氧杂-3,8-二氮杂十七烷-17-酸(图60)的制备

[1482] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加Fmoc-HIPS-PAPip(PEG2(CO₂H))-美登素(18mg,0.012mmol),哌啶(20μL,0.02mmol),和DMF(1mL)。于室温搅动溶液20分钟。通过C18

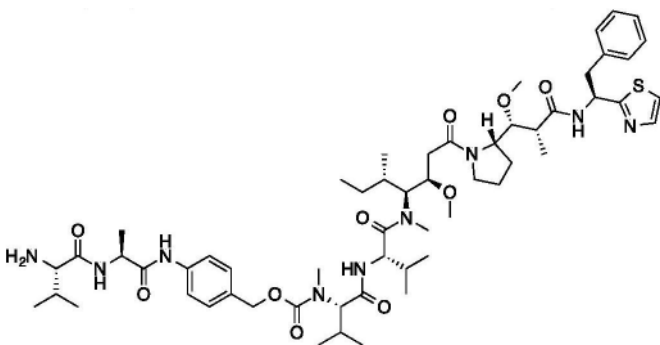
急骤层析(洗脱液1-60%MeCN/水)直接纯化反应混合物以产出标题化合物,为白色固体(15mg,98%产率)。

[1483] ESI-MS,为[MH]⁺计算:1235.6;发现1236.0。

[1484] 实施例21

[1485] 合成(2S,5S,18S)-1-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-5,8-二异丙基-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四基)苯基)氨基)-18-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)-5-异丙基-2-甲基-1,4,7,17-四氧代-10,13-二氧杂-3,6,16-三氮杂二十一烷-21-酸(HIPS-Glu(OH)-PEG2-Val-Ala-PABC-MMAD)的反应示意图显示于图61。

[1486]

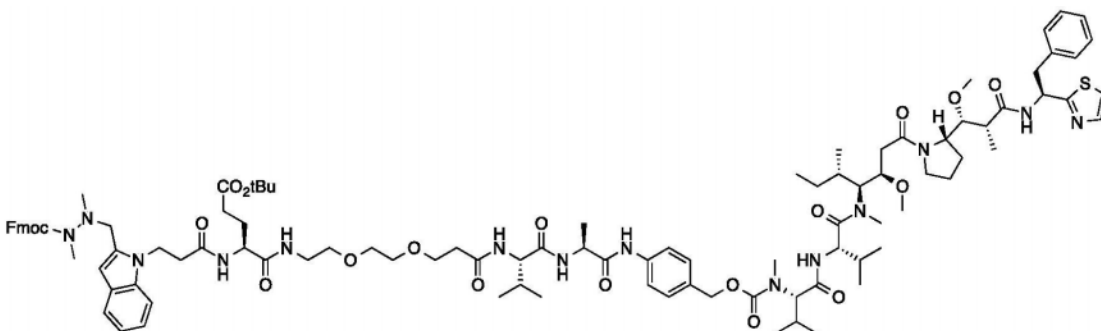


[1487] ((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)苄基酯(H₂N-Val-Ala-PABC-MMAD)(图61)的制备

[1488] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-(((4-硝基苯氧基)羰基)基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲基酯(102mg,0.15mmol),单甲基奥瑞司他汀D(TFA盐,110mg,0.125mmol),HOAt(14mg,0.01mmol),DIPEA(65μL,0.37mmol),和DMA(1mL)。于室温搅动溶液20小时。如通过HPLC检测的,MMAD被消耗。将哌啶(100μL,1mmol)添加至反应混合物,并于室温搅动所得溶液另20分钟。通过C18急骤层析(洗脱液5-100%MeCN/水)直接纯化反应混合物以产出标题化合物,为淡黄色固体(101mg,75%产率)。

[1489] ESI-MS,为[MH]⁺计算:1090.6;发现1090.6。

[1490]



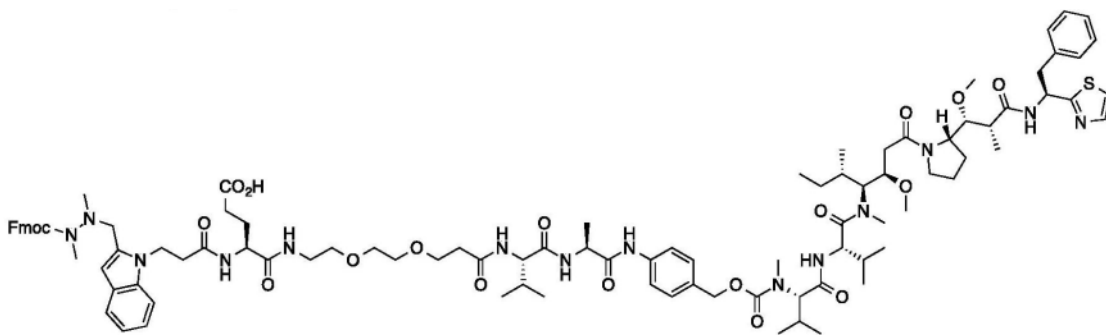
[1491] (2S,5S,18S)-18-(3-(2-((2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲

基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)-1-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-5,8-二异丙基-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四基)苯基)氨基)-5-异丙基-2-甲基-1,4,7,17-四氧代-10,13-二氧杂-3,6,16-三氮杂二十一烷-21-酸叔丁基酯(Fmoc-HIPS-Glu(OtBu)-PEG2-Val-Ala-PABC-MMAD)(图61)的制备

[1492] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加(S)-7-(3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)-2,2-二甲基-4,8-二氧代-3,12,15-三氧杂-9-氮杂十八烷-18-酸(42mg,0.051mmol),H₂N-Val-Ala-PABC-MMAD(50mg,0.046mmol),HATU(20mg,0.053mmol),DIPEA(16μL,0.09mmol),和DCM(1mL)。于室温搅动溶液18小时。添加额外部分的(S)-7-(3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)-2,2-二甲基-4,8-二氧代-3,12,15-三氧杂-9-氮杂十八烷-18-酸(6mg,0.007mmol),HATU(10mg,0.03mmol),和DIPEA(10μL,0.06mmol),并于室温搅动所得溶液另2小时。在减压下浓缩反应混合物,随后通过C18急骤层析(洗脱液25-100%MeCN/水)纯化以产出标题化合物,为白色固体(82mg,94%产率)。

[1493] ESI-MS,为[MH]⁺计算:1900.0;发现1900.3。

[1494]

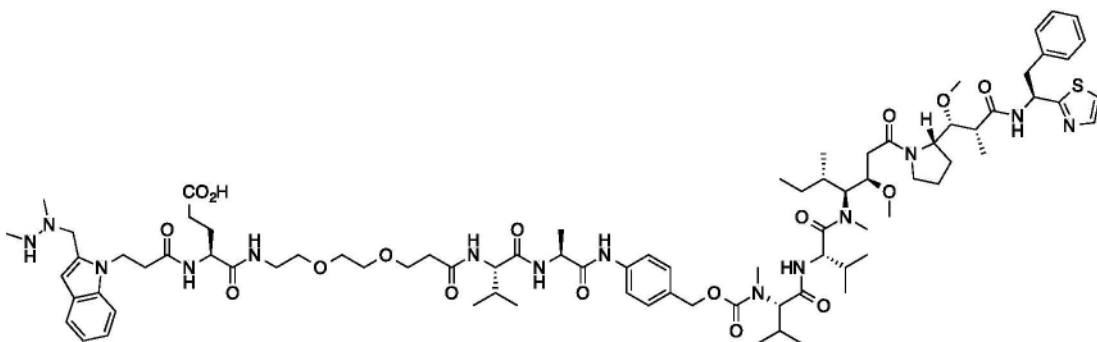


[1495] (2S,5S,18S)-18-(3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)-1-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-5,8-二异丙基-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四基)苯基)氨基)-5-异丙基-2-甲基-1,4,7,17-四氧代-10,13-二氧杂-3,6,16-三氮杂二十一烷-21-酸(Fmoc-HIPS-Glu(OH)-PEG2-Val-Ala-PABC-MMAD)(图61)的制备

[1496] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加Fmoc-HIPS-Glu(OtBu)-PEG2-Val-Ala-PABC-MMAD(82mg,0.043mmol)和DCM(0.5mL)。使溶液冷却至0℃,并添加四氯化锡(IV)(0.25mL,DCM中的1.0M,0.25mmol)。于0℃搅动所得混合物1小时。通过C18急骤层析(洗脱液5-100%MeCN/水)直接纯化反应混合物以产出标题化合物,为白色固体(62mg,78%产率)。

[1497] ESI-MS,为[MH]⁺计算:1844.0;发现1844.2。

[1498]



[1499] (2S,5S,18S)-1-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-5,8-二异丙基-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四基)苯基)氨基)-18-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰基)-5-异丙基-2-甲基-1,4,7,17-四氧代-10,13-二氧杂-3,6,16-三氮杂二十一烷-21-酸(HIPS-Glu(OH)-PEG2-Val-Ala-PABC-MMAD)(图61)的制备

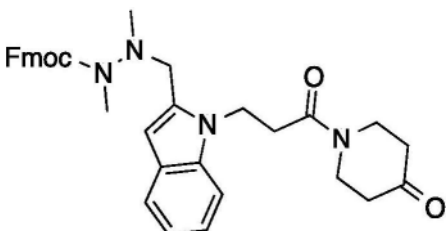
[1500] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加Fmoc-HIPS-Glu(OH)-PEG2-Val-Ala-PABC-MMAD(62mg,0.034mmol),哌啶(0.1mL,1mmol)和DMF(0.5mL)。于室温搅动反应混合物20分钟,然后通过C18急骤层析(洗脱液5-75%MeCN/水)纯化以产出标题化合物,为白色固体(25mg,46%产率)。

[1501] ESI-MS,为[MH]⁺计算:1621.9;发现1622.1。

[1502] 实施例22

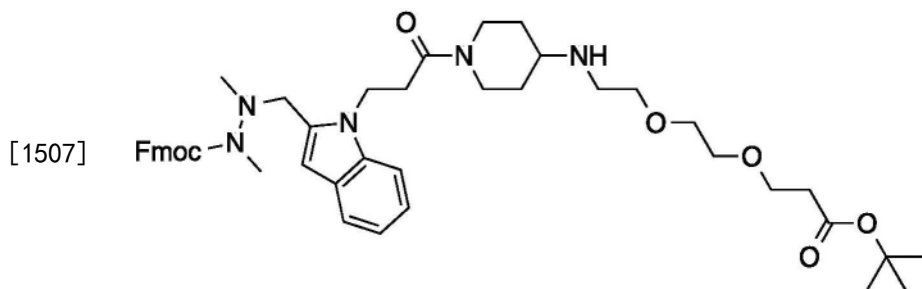
[1503] 合成13-(1-(3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)-2,2-二甲基-4,14-二氧代-3,7,10-三氧杂-13-氮杂十七烷-17-酸(Fmoc-HIPS-PAPip(PEG2(CO₂t-Bu))CO₂H)的反应示意图显示于图62。

[1504]



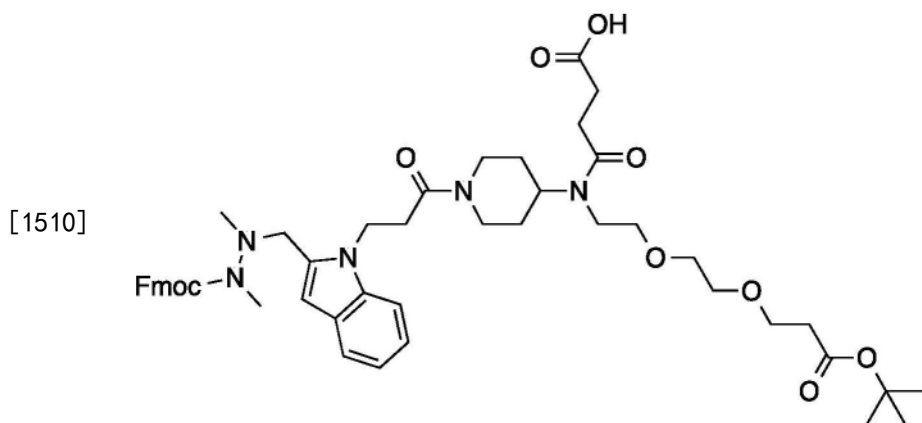
[1505] 1,2-二甲基-2-((1-(3-氧代-3-(4-氧代哌啶-1-基)丙基)-1H-吡啶-2-基)甲基)胍-1-羧酸(9H-芴-9-基)甲基酯(Fmoc-HIPS-哌啶酮)(图62)的制备

[1506] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加1,2-二甲基-2-((1-(3-氧代-3-(全氟苯氧基)丙基)-1H-吡啶-2-基)甲基)胍-1-羧酸(9H-芴-9-基)甲基酯(700mg,1.08mmol),盐酸4-哌啶酮单水合物(183mg,1.2mmol),DIPEA(400μL,2.3mmol),1,2-二氯乙烷(5mL),和DMF(0.5mL)。于室温搅动溶液2小时。用EtOAc(100mL)稀释反应混合物,然后用HCl(1M,3x30mL),饱和NaHCO₃(3x30mL),水(2x30mL),和盐水(1x30mL)清洗。在Na₂SO₄上干燥有机层,过滤,在减压下浓缩,并在真空中干燥以产出标题化合物,为白色固体(355mg,58%产率),在没有进一步表征的情况下使用。



[1508] 2-((1-(3-(4-((2-(2-(3-(叔丁氧基)-3-氧代丙氧基)乙氧基)乙基)氨基)哌啶-1-基)-3-氧代丙基)-1H-吡啶-2-基)甲基)-1,2-二甲基胍-1-羧酸(9H-芴-9-基)甲基酯(Fmoc-HIPS-PAPip(PEG2(CO2t-Bu))NH)(图62)的制备

[1509] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加Fmoc-HIPS-哌啶酮(355mg,0.63mmol), H₂N-PEG2-CO0tBu(175mg,0.76mmol), 4 Å分子筛(经过活化的粉,100mg), 和1,2-二氯乙烷(2.5mL)。于室温搅动混合物1小时。对反应混合物添加三乙酰氧硼氢化钠(314mg, 1.48mmol)。于室温搅动混合物18小时。在EtOAc和饱和NaHCO₃水溶液之间分配所得混合物。用饱和NaHCO₃水溶液(2x 5mL), 和盐水(1x 5mL)清洗有机层, 在Na₂SO₄上干燥, 过滤, 并在减压下浓缩以产出标题化合物, 为黄色油, 在没有进一步表征的情况下结转。



[1511] 13-(1-(3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)-2,2-二甲基-4,14-二氧代-3,7,10-三氧杂-13-氮杂十七烷-17-酸(Fmoc-HIPS-PAPip(PEG2(CO2t-Bu))CO2H)(图62)的制备

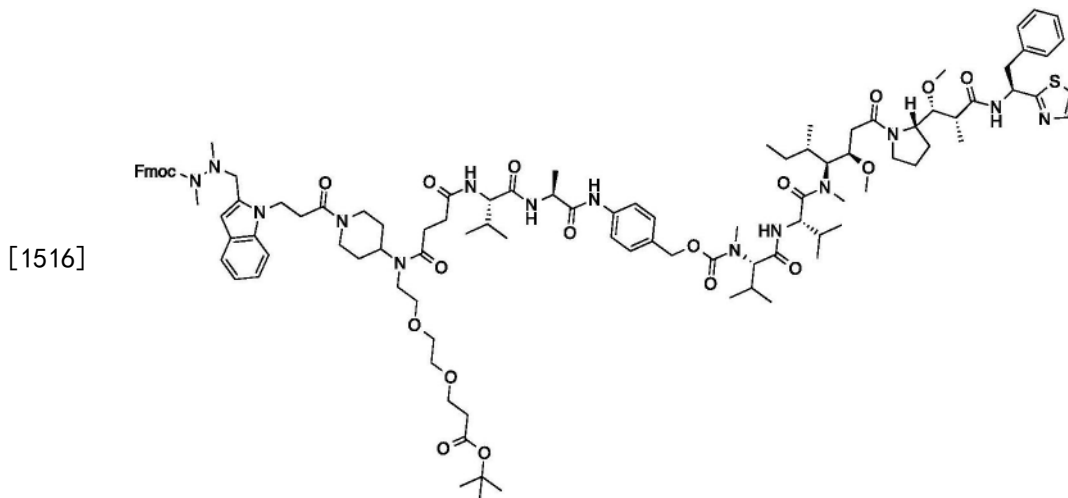
[1512] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加来自前面步骤的Fmoc-HIPS-PAPip(PEG2(CO2t-Bu))NH, 琥珀酸酐(153mg,1.53mmol), 4-(二甲基氨基)吡啶(5mg,0.04mmol), 和二氯甲烷(2mL)。于室温搅动混合物1小时。添加甲醇(1mL), 并搅动混合物15分钟。通过C18急骤层析(洗脱液5-100%MeCN/含0.1%乙酸的水)纯化反应混合物。在减压下浓缩含产物级分, 然后与甲苯(3x 50mL)一起共沸以去除残留的乙酸。获得标题化合物, 为泡沫状白色固体(366mg,38%产率, 在3个步骤上)。

[1513] ESI-MS, 为[MH]⁺计算:882.5;发现882.7。

[1514] 实施例23

[1515] 合成(2S,5S)-1-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-5,8-二异丙基-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧代-4,7,10-

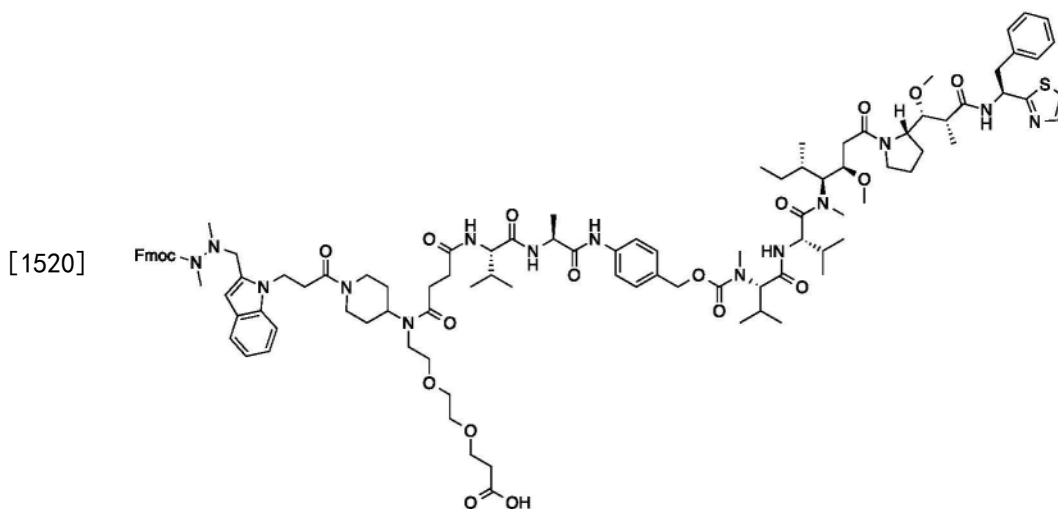
三氮杂十四基) 苯基) 氨基) -11- (1- (3- (2- ((1,2-二甲基胍基) 甲基) -1H-吡啶-1-基) 丙酰基) 哌啶-4-基) -5-异丙基-2-甲基-1,4,7,10-四氧代-14,17-二氧杂-3,6,11-三氮杂二十烷-20-酸的反应示意图显示于图63。



[1517] (2S,5S)-11- (1- (3- (2- ((2- ((9H-芴-9-基) 甲氧基) 羰基) -1,2-二甲基胍基) 甲基) -1H-吡啶-1-基) 丙酰基) 哌啶-4-基) -1- ((4- ((5S,8S,11S,12R)-11- ((S)-仲丁基) -5,8-二异丙基-12- (2- ((S)-2- ((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3- ((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基) 乙基) 氨基) 丙基) 吡咯烷-1-基) -2-氧代乙基) -4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四基) 苯基) 氨基) -5-异丙基-2-甲基-1,4,7,10-四氧代-14,17-二氧杂-3,6,11-三氮杂二十烷-20-酸叔丁基酯 (Fmoc-HIPS-PAPip (PEG2 (CO₂t-Bu)) - Val-Ala-PABC-MMAD) (图63) 的制备

[1518] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加Fmoc-HIPS-PAPip (PEG2 (CO₂t-Bu)) CO₂H (45mg, 0.051mmol), H₂N-Val-Ala-PABC-MMAD (50mg, 0.046mmol), HATU (20mg, 0.053mmol), DIPEA (16μL, 0.09mmol), 和DCM (1mL)。于室温搅动溶液18小时。在减压下浓缩反应混合物, 随后通过C18急骤层析 (洗脱液20-100%MeCN/水) 纯化以产出标题化合物, 为白色固体 (89mg, 99%产率)。

[1519] ESI-MS, 为[MH]⁺计算: 1954.1; 发现1954.3。

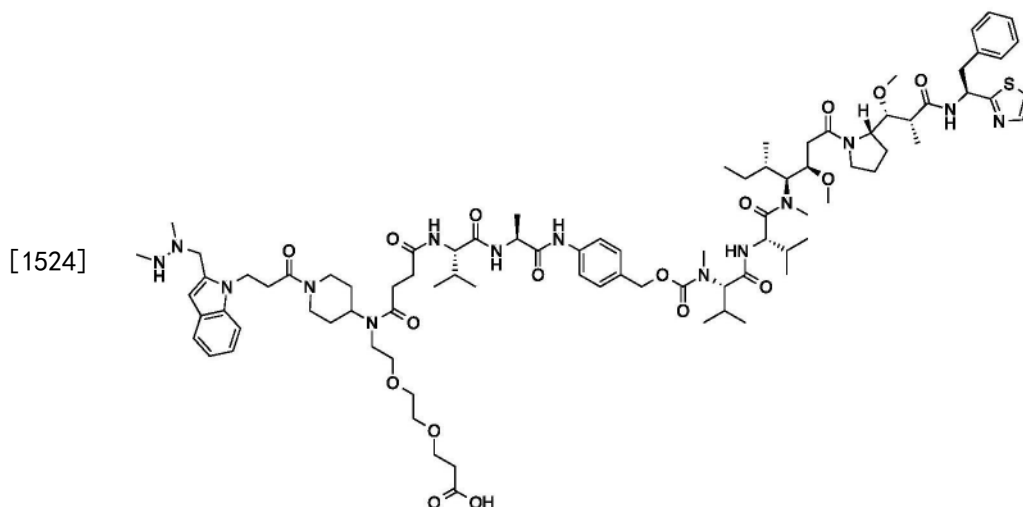


[1521] (2S,5S)-11- (1- (3- (2- ((2- ((9H-芴-9-基) 甲氧基) 羰基) -1,2-二甲基胍基) 甲

基)-1H-吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)-1-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-5,8-二异丙基-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四基)苯基)氨基)-5-异丙基-2-甲基-1,4,7,10-四氧代-14,17-二氧杂-3,6,11-三氮杂二十烷-20-酸(Fmoc-HIPS-PAPip(PEG2(CO₂H)))-Val-Ala-PABC-MMAD)(图63)的制备

[1522] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加Fmoc-HIPS-PAPip(PEG2(CO₂t-Bu))-Val-Ala-PABC-MMAD(89mg,0.045mmol)和DCM(0.5mL)。使溶液冷却至0℃,并添加四氯化锡(IV)(0.25mL,DCM中的1.0M,0.25mmol)。于0℃搅动所得混合物1小时。通过C18急骤层析(洗脱液10-100%MeCN/水)直接纯化反应混合物以产出标题化合物,为白色固体(48mg,56%产率)。

[1523] ESI-MS,为[MH]⁺计算:1898.0;发现1898.2。



[1525] (2S,5S)-1-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-5,8-二异丙基-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧代-4,7,10-三氮杂十四基)苯基)氨基)-11-(1-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)-5-异丙基-2-甲基-1,4,7,10-四氧代-14,17-二氧杂-3,6,11-三氮杂二十烷-20-酸(图63)的制备

[1526] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加Fmoc-HIPS-PAPip(PEG2(CO₂H))-Val-Ala-PABC-MMAD(48mg,0.025mmol),哌啶(0.1mL,1mmol)和DMF(0.5mL)。于室温搅动反应混合物15分钟,然后通过C18急骤层析(洗脱液5-70%MeCN/水)纯化以产出标题化合物,为白色固体(43mg,>99%产率)。

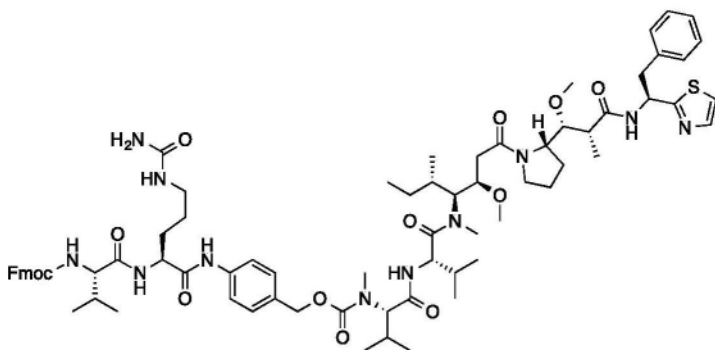
[1527] ESI-MS,为[MH]⁺计算:1676.0;发现1676.2。

[1528] 实施例24

[1529] 合成(6S,9S)-1-氨基-6-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-5,8-二异丙基-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四基)苯基)氨基甲酰基)-15-(1-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)-9-异丙基-1,8,11,14-四氧代-18,21-二氧杂-2,7,10,15-四

氮杂二十四烷-24-酸的反应示意图显示于图64。

[1530]

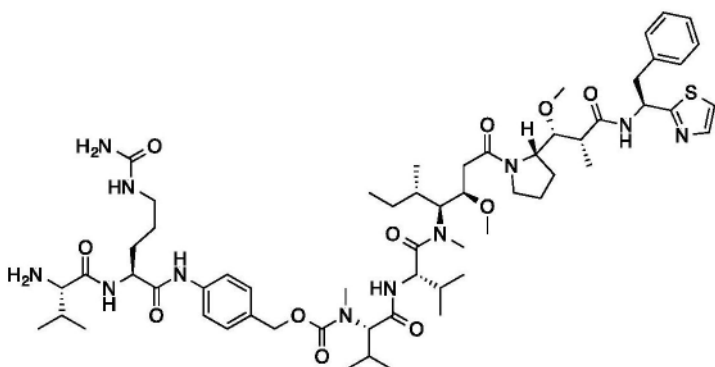


[1531] ((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸4-((S)-2-((S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基酯(Fmoc-Val-Cit-PABC-MMAD)(图64)的制备

[1532] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲基酯(84mg,0.11mmol),单甲基奥瑞司他汀D(TFA盐,88mg,0.1mmol),HOAt(5mg,0.004mmol),DIPEA(35μL,0.2mmol),和DMA(0.5mL)。于室温搅动溶液1小时。对反应混合物添加卢剔啶(35μL,0.3mmol),另外的((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲基酯(17mg,0.02mmol),和DIPEA(35μL,0.2mmol)。加热反应混合物至40℃,并搅动24小时。通过急骤层析(洗脱液1-20%MeOH/DCM)纯化反应混合物以产出标题化合物,为白色固体(107mg,76%产率)。

[1533] ESI-MS,为[MH]⁺计算:1398.8;发现1399.1。

[1534]

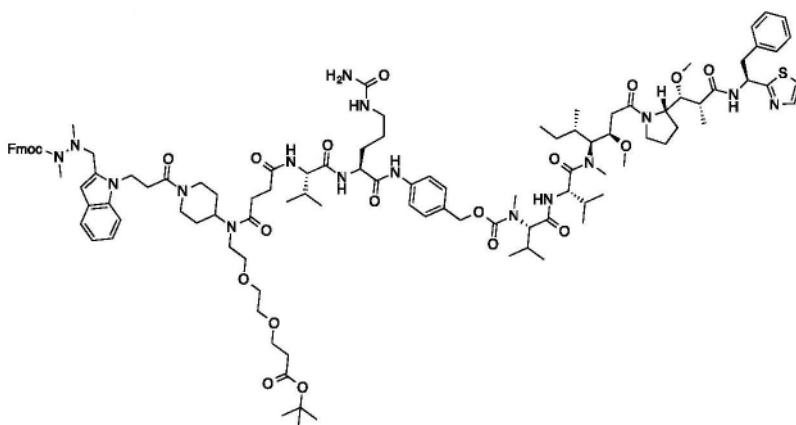


[1535] ((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基酯(H₂N-Val-Cit-PABC-MMAD)(图64)的制备

[1536] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加Fmoc-Val-Cit-PABC-MMAD(107mg,0.076mmol),哌啶(0.1mL,1mmol)和DMF(0.5mL)。于室温搅动反应混合物20分钟,然后通过

C18急骤层析(洗脱液5-100%MeCN/水)纯化以产出标题化合物,为白色固体(52mg,58%产率),在没有进一步表征的情况下结转。

[1537]

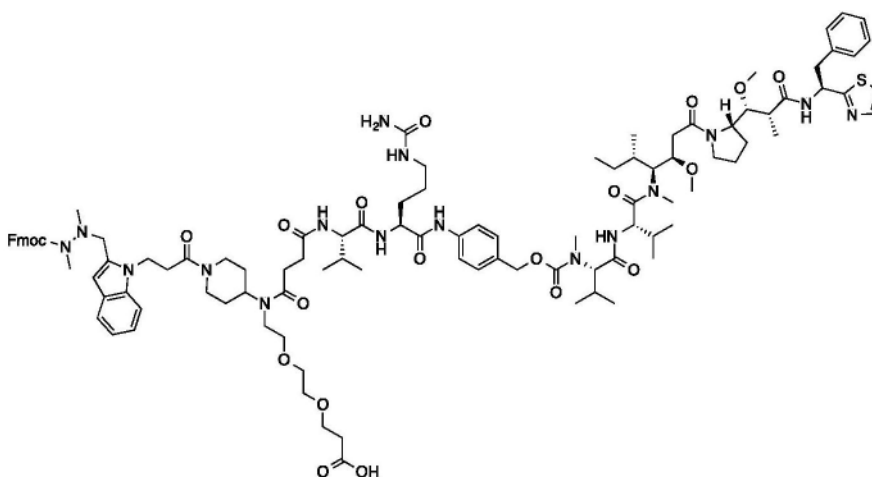


[1538] (6S,9S)-15-(1-(3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)-1-氨基-6-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-5,8-二异丙基-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四基)苯基)氨基甲酰基)-9-异丙基-1,8,11,14-四氧代-18,21-二氧杂-2,7,10,15-四氮杂二十四烷-24-酸叔丁基酯(Fmoc-HIPS-PAPip(PEG2(CO2t-Bu))-Val-Cit-PABC-MMAD)(图64)的制备

[1539] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加Fmoc-HIPS-PAPip(PEG2(CO2t-Bu))CO₂H(28mg,0.032mmol),H₂N-Val-Cit-PABC-MMAD(36mg,0.031mmol),HATU(24mg,0.063mmol),DIPEA(20μL,0.12mmol),DMF(0.5mL),和DCM(0.6mL)。于室温搅动溶液1小时。通过C18急骤层析(洗脱液25-100%MeCN/水)纯化反应混合物以产出标题化合物,为白色固体(53mg,85%产率)。

[1540] ESI-MS,为[MH]⁺计算:2040.1;发现2040.5。

[1541]

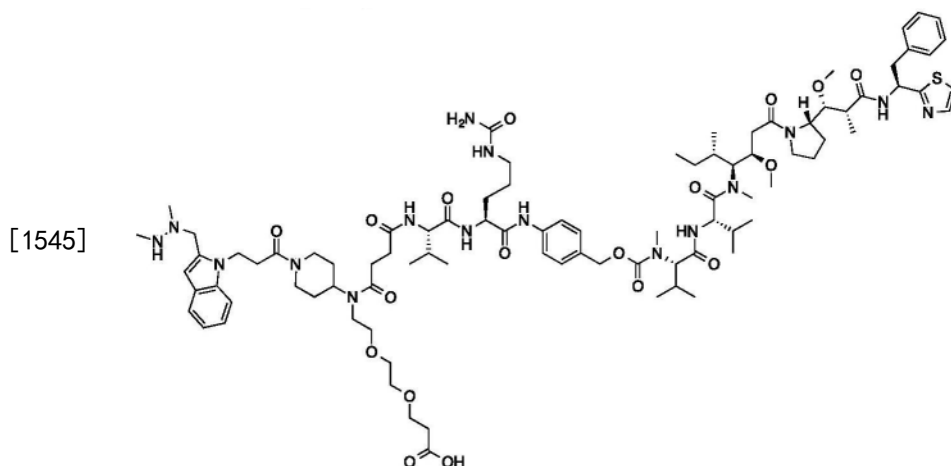


[1542] (6S,9S)-15-(1-(3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)-1-氨基-6-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-5,8-二异丙基-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-4,10-二甲基-3,6,9-三氧

代-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四基)苯基)氨基甲酰基)-9-异丙基-1,8,11,14-四氧代-18,21-二氧杂-2,7,10,15-四氮杂二十四烷-24-酸(Fmoc-HIPS-PAPip(PEG2(CO2H))-Val-Cit-PABC-MMAD)(图64)的制备

[1543] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加Fmoc-HIPS-PAPip(PEG2(CO2t-Bu))-Val-Cit-PABC-MMAD(53mg,0.026mmol)和DCM(0.8mL)。使溶液冷却至0℃,并添加四氯化锡(IV)(0.2mL,DCM中的1.0M,0.2mmol)。于0℃搅动所得混合物1小时。通过C18急骤层析(洗脱液5-100%MeCN/水)直接纯化反应混合物以产出标题化合物,为白色固体(24mg,47%产率)。

[1544] ESI-MS,为[MH]⁺计算:1984.1;发现1984.3。



[1546] (6S,9S)-1-氨基-6-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-5,8-二异丙基-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四基)苯基)氨基甲酰基)-15-(1-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)-9-异丙基-1,8,11,14-四氧代-18,21-二氧杂-2,7,10,15-四氮杂二十四烷-24-酸(图64)的制备

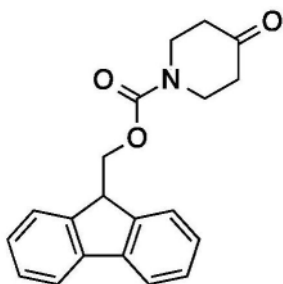
[1547] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加Fmoc-HIPS-PAPip(PEG2(CO2H))-Val-Cit-PABC-MMAD(24mg,0.012mmol),哌啶(0.1mL,1mmol)和DMF(0.5mL)。于室温搅动反应混合物15分钟,然后通过C18急骤层析(洗脱液5-80%MeCN/水)纯化以产出标题化合物,为白色固体(15mg,70%产率)。

[1548] ESI-MS,为[MH]⁺计算:1762.0;发现1762.2。

[1549] 实施例25

[1550] 合成(6S,9S)-1-氨基-6-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-5,8-二异丙基-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四基)苯基)氨基甲酰基)-15-(1-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶并[2,3-b]吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)-9-异丙基-1,8,11,14-四氧代-18,21-二氧杂-2,7,10,15-四氮杂二十四烷-24-酸的反应示意图显示于图65。

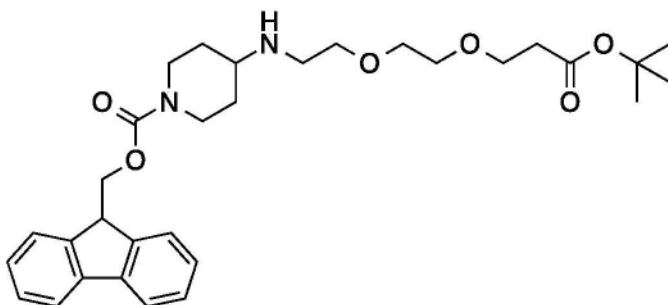
[1551]



[1552] 4-氧代哌啶-1-羧酸(9H-芴-9-基)甲基酯(N-Fmoc-哌啶酮)(图65)的制备

[1553] 对带有磁力搅动棒的100mL圆底烧瓶添加盐酸哌啶酮单水合物(1.53g,10mmol), Fmoc氯(2.58g,10mmol),碳酸钠(3.18g,30mmol),二氧杂环己烷(20mL),和水(2mL)。于室温搅动反应混合物1小时。用EtOAc(100mL)稀释混合物,并用水(1x 100mL)萃取。在 Na_2SO_4 上干燥有机层,过滤,并在减压下浓缩。在真空中干燥所得材料以产出标题化合物,为白色固体(3.05g,95%产率)。

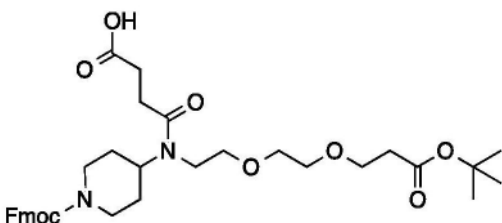
[1554]



[1555] 4-((2-(2-(3-(叔丁氧基)-3-氧代丙氧基)乙氧基)乙基)氨基)哌啶-1-羧酸(9H-芴-9-基)甲基酯(N-Fmoc-哌啶-4-氨基-PEG2-CO0tBu)(图65)的制备

[1556] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加Fmoc-哌啶酮(642mg,2.0mmol),H₂N-PEG2-CO0tBu(560mg,2.4mmol),4 Å分子筛(经过活化的粉,500mg),和1,2-二氯乙烷(5mL)。于室温搅动混合物1小时。对反应混合物添加三乙酰氧硼氢化钠(845mg,4.0mmol)。于室温搅动混合物5天。用EtOAc稀释所得混合物。用饱和 NaHCO_3 (1x50mL),和盐水(1x 50mL)清洗有机层,在 Na_2SO_4 上干燥,过滤,并在减压下浓缩以产出标题化合物,为油,在没有进一步纯化的情况下结转。

[1557]

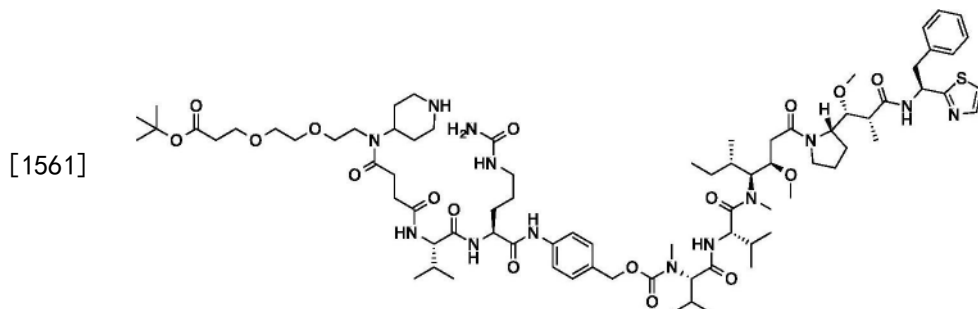


[1558] 13-(1-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)哌啶-4-基)-2,2-二甲基-4,14-二氧代-3,7,10-三氧杂-13-氮杂十七烷-17-酸(Fmoc-PAPip(PEG2(CO2t-Bu))-COOH)(图65)的制备

[1559] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加来自前面步骤的N-Fmoc-哌啶-4-氨基-PEG2-CO0t-Bu,琥珀酸酐(270mg,2.7mmol),和二氯甲烷(5mL)。于室温搅动混合物18小时。在EtOAc和饱和 NaHCO_3 之间分配反应混合物。用EtOAc(3x)萃取水层。用HCl(1M)酸化水层直至pH约3。用DCM(3x)萃取水层。在 Na_2SO_4 上干燥组合的有机层,过滤,并在减压下浓缩。通过C18-急骤层析(洗脱液10-100%MeCN/含0.1%乙酸的水)纯化反应混合物。在减压下浓缩含

产物级分,然后与甲苯 (3x 50mL) 一起共沸以去除残留的乙酸。获得标题化合物,为白色固体 (534mg,42%产率,在2个步骤上)。

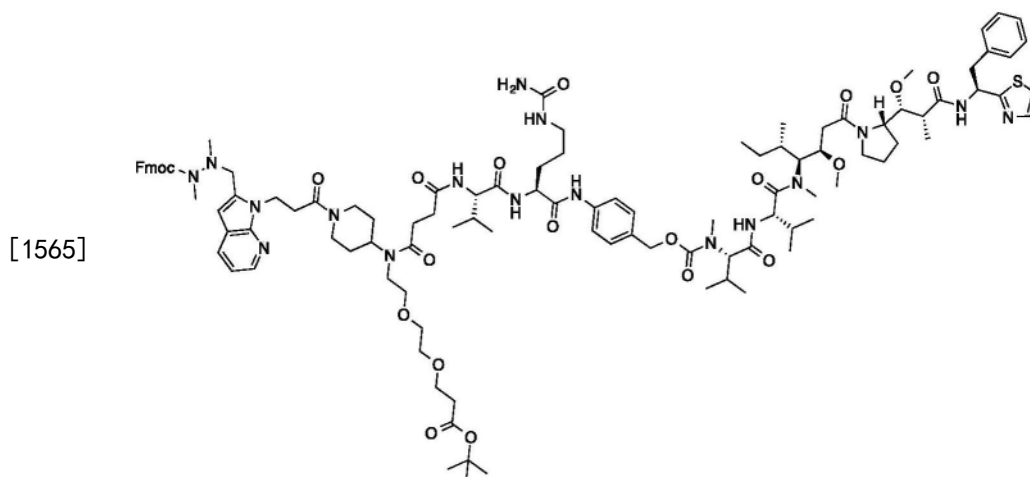
[1560] ESI-MS,为 $[MH]^+$ 计算:639.3;发现639.2。



[1562] (6S,9S)-1-氨基-6-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-5,8-二异丙基-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四基)苯基)氨基甲酰基)-9-异丙基-1,8,11,14-四氧代-15-(哌啶-4-基)-18,21-二氧杂-2,7,10,15-四氮杂二十四烷-24-酸叔丁基酯(PAPip(PEG2(CO2t-Bu))-Val-Cit-PABC-MMAD) (图65)的制备

[1563] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加Fmoc-PAPip(PEG2(CO2t-Bu))-COOH (22mg,0.034mmol), H_2N -Val-Cit-PABC-MMAD (36mg,0.031mmol),HATU (24mg,0.063mmol),DIPEA (20 μ L,0.12mmol),和DMF (1mL)。于室温搅动溶液18小时。将哌啶 (0.2mL,2mmol) 添加至反应混合物,并于室温搅动所得溶液20分钟。通过C18急骤层析(洗脱液5-80%MeCN/水)纯化反应混合物以产出标题化合物,为白色固体 (20mg,85%产率)。

[1564] ESI-MS,为 $[MH]^+$ 计算:1574.9;发现1575.1。

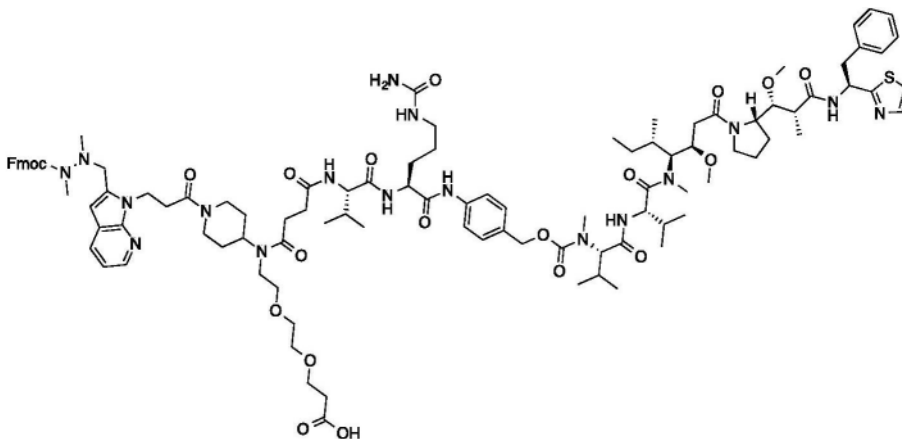


[1566] (6S,9S)-15-(1-(3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)-1-氨基-6-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-5,8-二异丙基-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四基)苯基)氨基甲酰基)-9-异丙基-1,8,11,14-四氧代-18,21-二氧杂-2,7,10,15-四氮杂二十四烷-24-酸叔丁基酯(Fmoc-azaHIPS-PAPip(PEG2(CO2t-Bu))-Val-Cit-PABC-MMAD) (图65)的制备

[1567] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加PAPip (PEG2 (CO₂t-Bu)) -Val-Cit-PABC-MMAD (20mg, 0.013mmol), 3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)丙酸 (7mg, 0.014mmol), PyAOP (8mg, 0.015mmol), DIPEA (3μL, 0.017mmol), 和DMF (0.5mL)。于室温搅动溶液2小时。通过C18急骤层析(洗脱液5-100%MeCN/水)纯化反应混合物以产出标题化合物,为白色固体 (20mg, 77%产率)。

[1568] ESI-MS, 为[MH]⁺计算: 2041.1; 发现2041.3。

[1569]

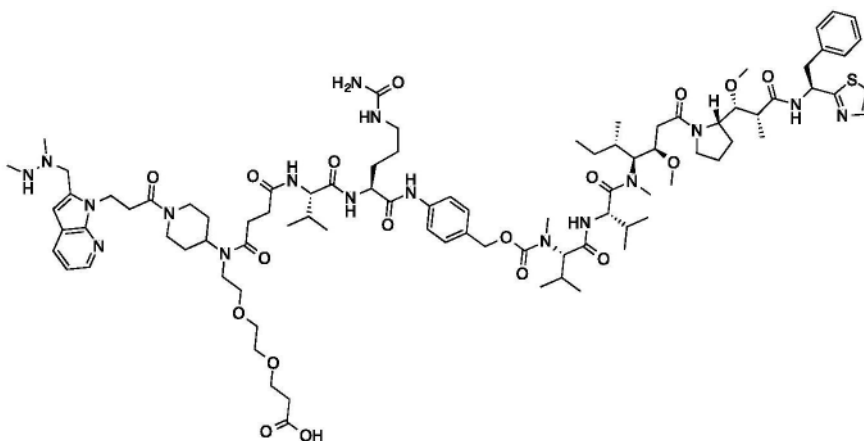


[1570] (6S, 9S) -15-(1-(3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)-1-氨基-6-((4-((5S, 8S, 11S, 12R)-11-((S)-仲丁基)-5,8-二异丙基-12-(2-((S)-2-((1R, 2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四基)苯基)氨基甲酰基)-9-异丙基-1,8,11,14-四氧代-18,21-二氧杂-2,7,10,15-四氮杂二十四烷-24-酸 (Fmoc-azaHIPS-PAPip (PEG2 (CO₂H)) -Val-Cit-PABC-MMAD) (图65) 的制备

[1571] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加Fmoc-azaHIPS-PAPip (PEG2 (CO₂t-Bu)) -Val-Cit-PABC-MMAD (20mg, 0.01mmol) 和DCM (0.8mL)。使溶液冷却至0°C, 并添加四氯化锡(IV) (0.1mL, DCM中的1.0M, 0.1mmol)。于0°C搅动所得混合物1小时。通过C18急骤层析(洗脱液10-100%MeCN/水)直接纯化反应混合物以产出标题化合物,为白色固体 (14mg, 72%产率)。

[1572] ESI-MS, 为[MH]⁺计算: 1985.1; 发现1985.3。

[1573]



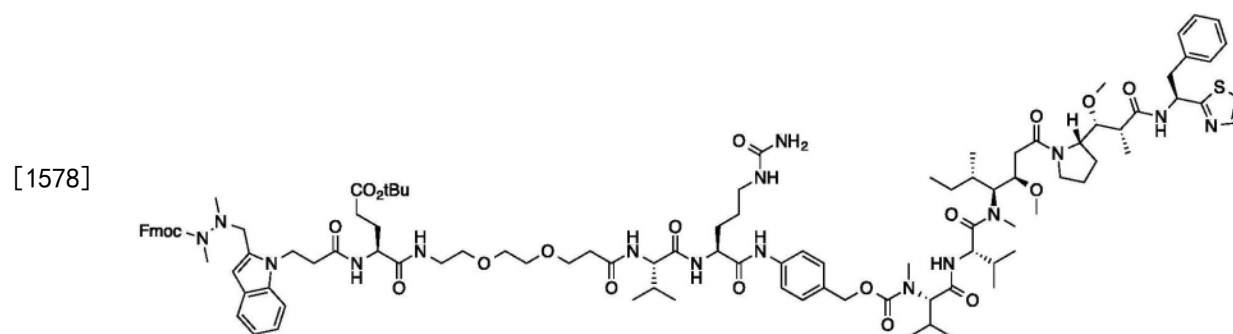
[1574] (6S, 9S) -1-氨基-6-((4-((5S, 8S, 11S, 12R)-11-((S)-仲丁基)-5,8-二异丙基-

12-(2-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四基)苯基)氨基甲酰基)-15-(1-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)丙酰基)哌啶-4-基)-9-异丙基-1,8,11,14-四氧代-18,21-二氧杂-2,7,10,15-四氮杂二十四烷-24-酸(图65)的制备

[1575] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加Fmoc-azaHIPS-PAPip(PEG2(CO₂H))-Val-Cit-PABC-MMAD(14mg,0.007mmol),哌啶(0.05mL,0.5mmol)和DMF(0.5mL)。于室温搅动反应混合物15分钟,然后通过C18-急骤层析(洗脱液5-80%MeCN/水)纯化以产出标题化合物,为白色固体(5mg,40%产率)。

[1576] ESI-MS,为[MH]⁺计算:1763.0;发现1763.2。

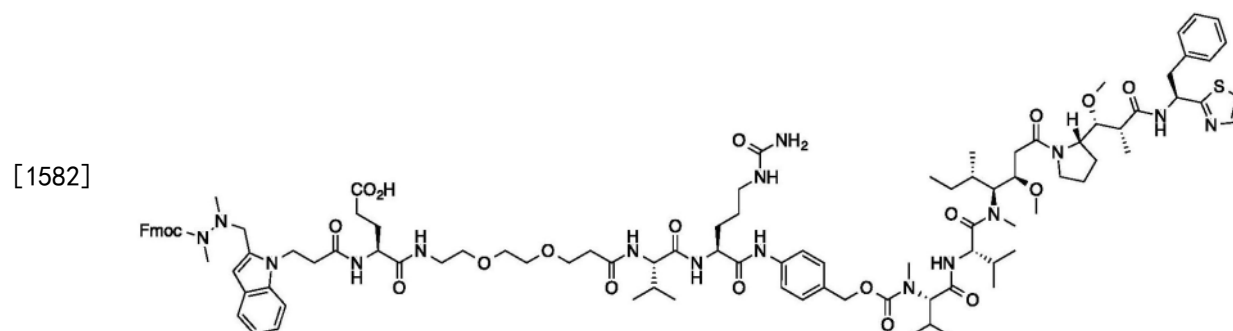
[1577] 实施例26



[1579] (6S,9S,22S)-22-(3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羧基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)-1-氨基-6-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-5,8-二异丙基-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四基)苯基)氨基甲酰基)-9-异丙基-1,8,11,21-四氧代-14,17-二氧杂-2,7,10,20-四氮杂二十五烷-25-酸叔丁基酯(Fmoc-HIPS-Glu(OtBu)-PEG2-Val-Cit-PABC-MMAD)的制备

[1580] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加Fmoc-HIPS-Glu(OtBu)-PEG2-COOH(41mg,0.042mmol),H₂N-Val-Cit-PABC-MMAD(52mg,0.044mmol),HATU(20mg,0.053mmol),DIPEA(16μL,0.1mmol),和DCM(1mL)。于室温搅动溶液2小时。通过急骤层析(洗脱液1-15%MeOH/DCM)纯化反应混合物以产出标题化合物,为白色固体(90mg,>99%产率)。

[1581] ESI-MS,为[MH]⁺计算:1986.1;发现1986.4。



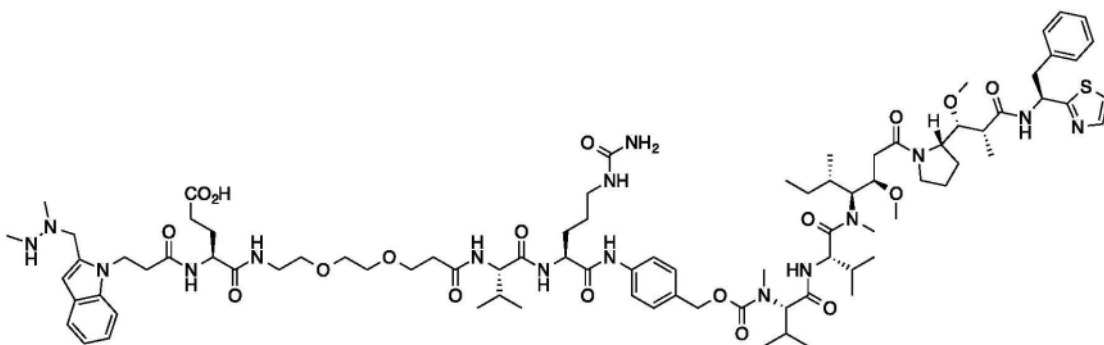
[1583] (6S,9S,22S)-22-(3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羧基)-1,2-二甲基胍基)甲

基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)-1-氨基-6-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-5,8-二异丙基-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四基)苯基)氨基甲酰基)-9-异丙基-1,8,11,21-四氧代-14,17-二氧杂-2,7,10,20-四氮杂二十五烷-25-酸(Fmoc-HIPS-Glu(OH)-PEG2-Val-Cit-PABC-MMAD)的制备

[1584] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加Fmoc-HIPS-Glu(OtBu)-PEG2-Val-Cit-PABC-MMAD(45mg,0.023mmol)和DCM(0.5mL)。使溶液冷却至0°C,并添加四氯化锡(IV)(0.2mL,DCM中的1.0M,0.2mmol)。于0°C搅动所得混合物1小时。通过C18急骤层析(洗脱液10-100%MeCN/水)直接纯化反应混合物以产出标题化合物,为白色固体(35mg,71%产率)。

[1585] ESI-MS,为[MH]⁺计算:1930.0;发现1930.3。

[1586]



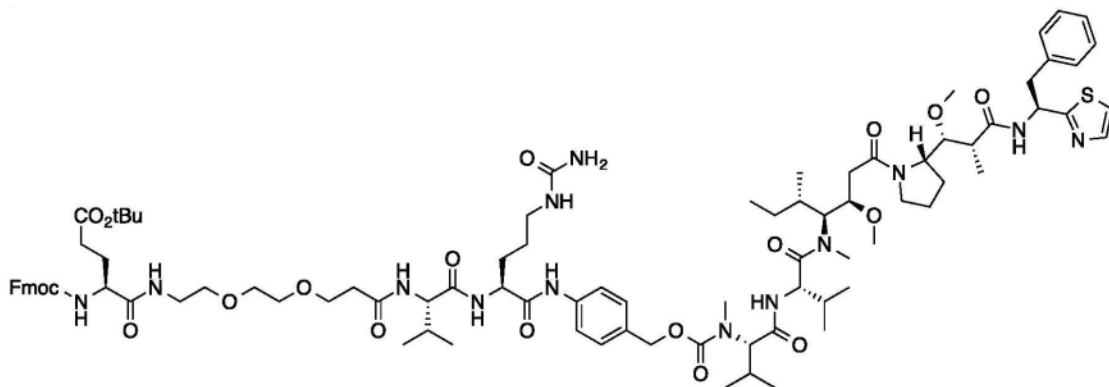
[1587] (6S,9S,22S)-1-氨基-6-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-5,8-二异丙基-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四基)苯基)氨基甲酰基)-22-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡啶-1-基)丙酰胺基)-9-异丙基-1,8,11,21-四氧代-14,17-二氧杂-2,7,10,20-四氮杂二十五烷-25-酸(HIPS-Glu(OH)-2PEG-Val-Cit-PABC-MMAD)的制备

[1588] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加Fmoc-HIPS-Glu-PEG2-Val-Cit-PABC-MMAD(35mg,0.018mmol),哌啶(0.1mL,1mmol)和DMF(0.5mL)。于室温搅动反应混合物30分钟,然后通过C18急骤层析(洗脱液5-100%MeCN/水)纯化以产出标题化合物,为白色固体(25mg,81%产率)。

[1589] ESI-MS,为[MH]⁺计算:1708.0;发现1708.1。

[1590] 实施例27

[1591]

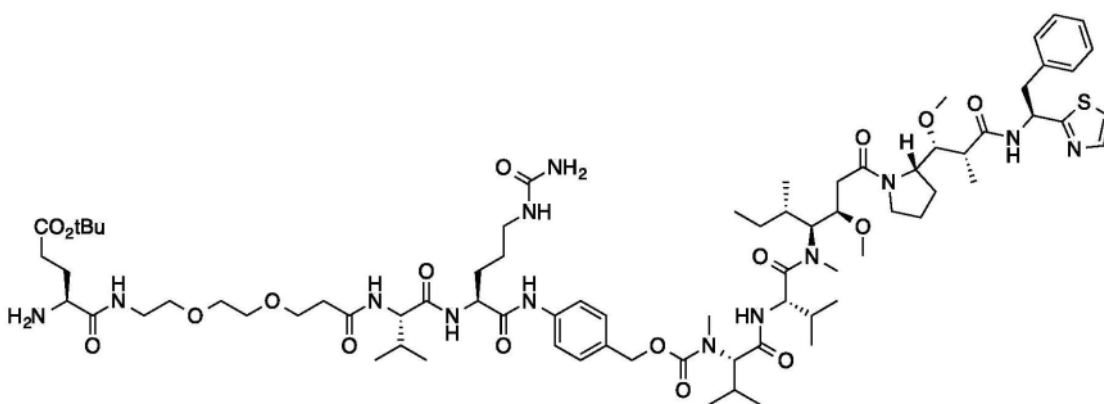


[1592] (6S,9S,22S)-22-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-1-氨基-6-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-5,8-二异丙基-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四基)苯基)氨基甲酰基)-9-异丙基-1,8,11,21-四氧代-14,17-二氧杂-2,7,10,20-四氮杂二十五烷-25-酸叔丁基酯(Fmoc-Glu(OtBu)-PEG2-Val-Cit-PABC-MMAD)的制备

[1593] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加Fmoc-Glu(OtBu)-PEG2-COOH(25mg, 0.042mmol), H₂N-Val-Cit-PABC-MMAD(36mg, 0.031mmol), HATU(20mg, 0.053mmol), DIPEA(20μL, 0.12mmol), DCM(0.6mL), 和DMF(0.5mL)。于室温搅动溶液2小时。通过C18急骤层析(洗脱液10-100%MeCN/含0.1%HOAc的水)纯化反应混合物以产出标题化合物,为白色固体(33mg, 62%产率)。

[1594] ESI-MS,为[MH]⁺计算:1743.0;发现1743.2。

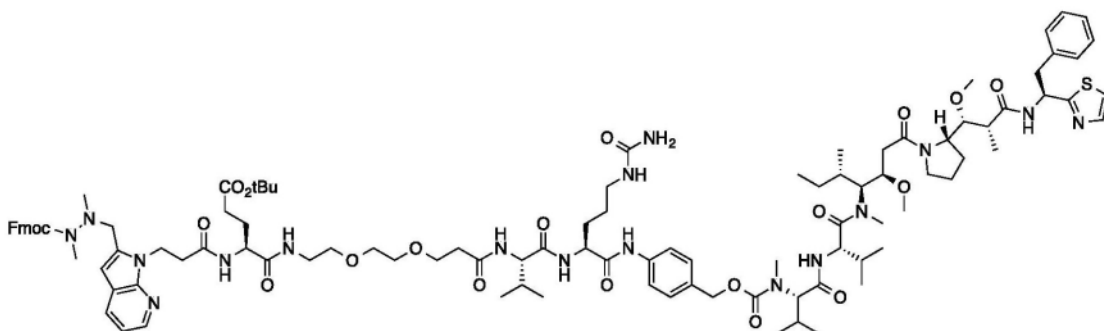
[1595]



[1596] (6S,9S,22S)-1,22-二氨基-6-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-5,8-二异丙基-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四基)苯基)氨基甲酰基)-9-异丙基-1,8,11,21-四氧代-14,17-二氧杂-2,7,10,20-四氮杂二十五烷-25-酸叔丁基酯(H₂N-Glu(OtBu)-2PEG-Val-Cit-PABC-MMAD)的制备

[1597] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加Fmoc-Glu(OtBu)-PEG2-Val-Cit-PABC-MMAD(33mg, 0.019mmol), 哌啶(0.1mL, 1mmol)和DMF(0.8mL)。于室温搅动反应混合物15分钟,然后通过C18急骤层析(洗脱液5-100%MeCN/水)纯化以产出标题化合物,为白色固体(24mg, 83%产率),在没有进一步表征的情况下结转。

[1598]



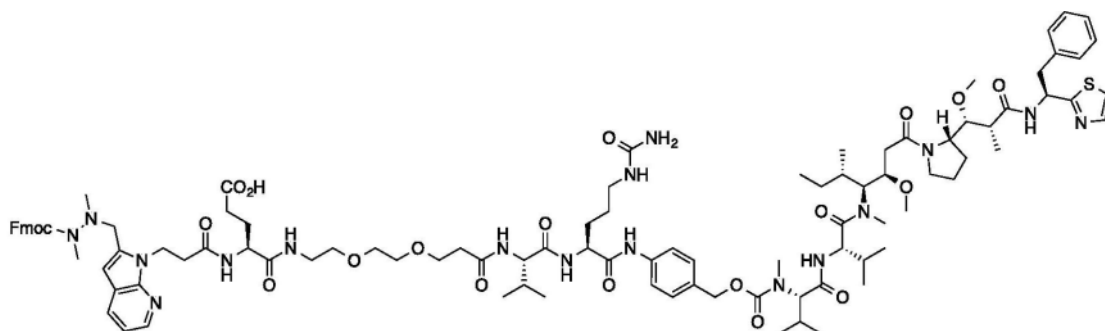
[1599] (6S,9S,22S)-22-(3-(2-((2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲

基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)丙酰胺基)-1-氨基-6-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-5,8-二异丙基-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四基)苯基)氨基甲酰基)-9-异丙基-1,8,11,21-四氧代-14,17-二氧杂-2,7,10,20-四氮杂二十五烷-25-酸叔丁基酯(Fmoc-azaHIPS-Glu(OtBu)-PEG2-Val-Cit-PABC-MMAD)的制备

[1600] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加H₂N-Glu(OtBu)-PEG2-Val-Cit-PABC-MMAD(24mg,0.016mmol),3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)丙酸(9mg,0.019mmol),PyAOP(9mg,0.017mmol),DIPEA(3μL,0.017mmol),和DMF(0.5mL)。于室温搅动溶液2小时。通过C18急骤层析(洗脱液5-100%MeCN/含0.1%甲酸的水)纯化反应混合物以产出标题化合物,为白色固体(32mg,>99%产率)。

[1601] ESI-MS,为[MH]⁺计算:1987.1;发现1987.3。

[1602]

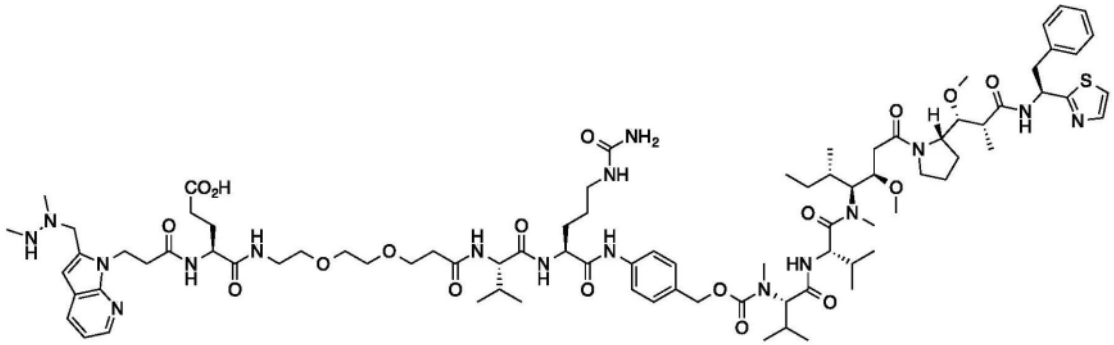


[1603] (6S,9S,22S)-22-(3-(2-((2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)丙酰胺基)-1-氨基-6-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-5,8-二异丙基-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四基)苯基)氨基甲酰基)-9-异丙基-1,8,11,21-四氧代-14,17-二氧杂-2,7,10,20-四氮杂二十五烷-25-酸(Fmoc-azaHIPS-Glu(OH)-2PEG-Val-Cit-PABC-MMAD)的制备

[1604] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加Fmoc-azaHIPS-Glu(OtBu)-2PEG-Val-Cit-PABC-MMAD(32mg,0.016mmol)和DCM(0.5mL)。使溶液冷却至0℃,并添加四氯化锡(IV)(0.2mL,DCM中的1.0M,0.2mmol)。于0℃搅动所得混合物1小时。通过C18急骤层析(洗脱液10-100%MeCN/水)直接纯化反应混合物以产出标题化合物,为白色固体(22mg,71%产率)。

[1605] ESI-MS,为[MH]⁺计算:1931.0;发现1921.2。

[1606]



[1607] (6S,9S,22S)-1-氨基-6-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-5,8-二异丙基-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-(((S)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四基)苯基)氨基甲酰基)-22-(3-(2-((1,2-二甲基胍基)甲基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-1-基)丙酰胺基)-9-异丙基-1,8,11,21-四氧代-14,17-二氧杂-2,7,10,20-四氮杂二十五烷-25-酸 (azaHIPS-Glu(OH)-2PEG-Val-Cit-PABC-MMAD) 的制备

[1608] 对带有磁力搅动棒的干燥的闪烁管添加Fmoc-azaHIPS-Glu-PEG2-Val-Cit-PABC-MMAD (22mg, 0.011mmol), 哌啶 (0.05mL, 0.5mmol) 和DMF (0.5mL)。于室温搅动反应混合物15分钟, 然后通过C18急骤层析 (洗脱液5-100%MeCN/水) 纯化以产出标题化合物, 为白色固体 (15mg, 77%产率)。

[1609] ESI-MS, 为[MH]⁺计算: 1709.0; 发现1709.1。

[1610] 虽然已经参考其具体实施方案描述了本发明, 但是本领域技术人员应当了解, 在不违背本发明的真正精神和范围的情况下可以做出各种变化且可以取代等效方案。另外, 可以做出许多修改以使特定的情况, 材料, 物质组合物, 工艺, 一个或多个工艺步骤适应本发明的目的, 精神和范围。所有这些修改意图在本发明所附权利要求的范围内。

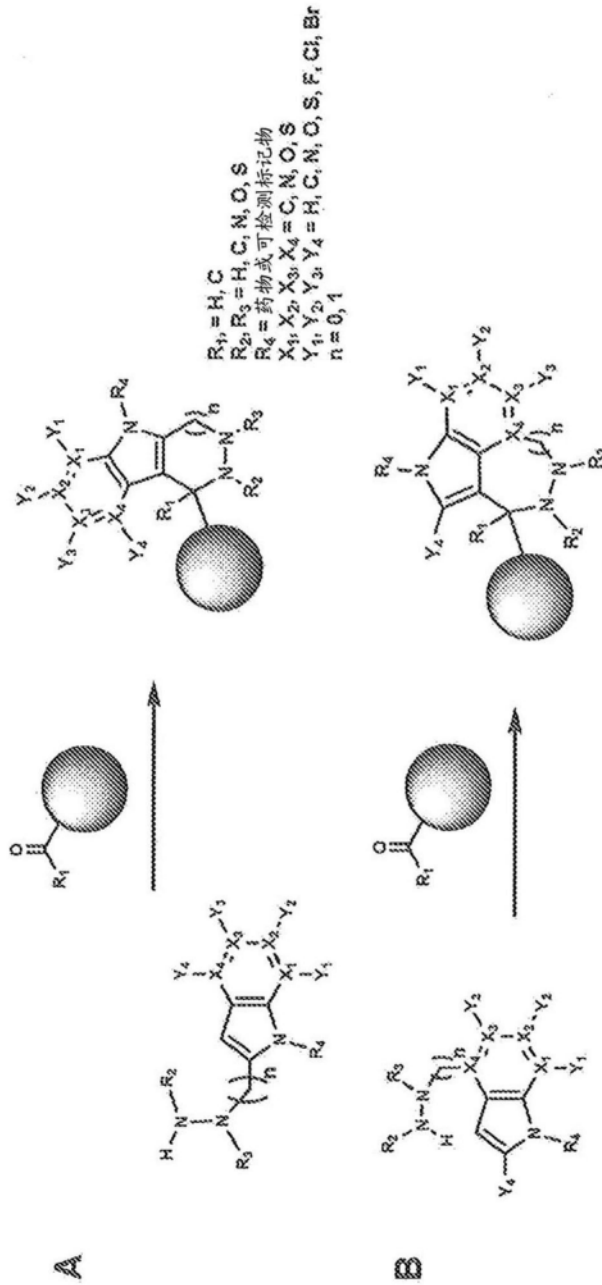


图1

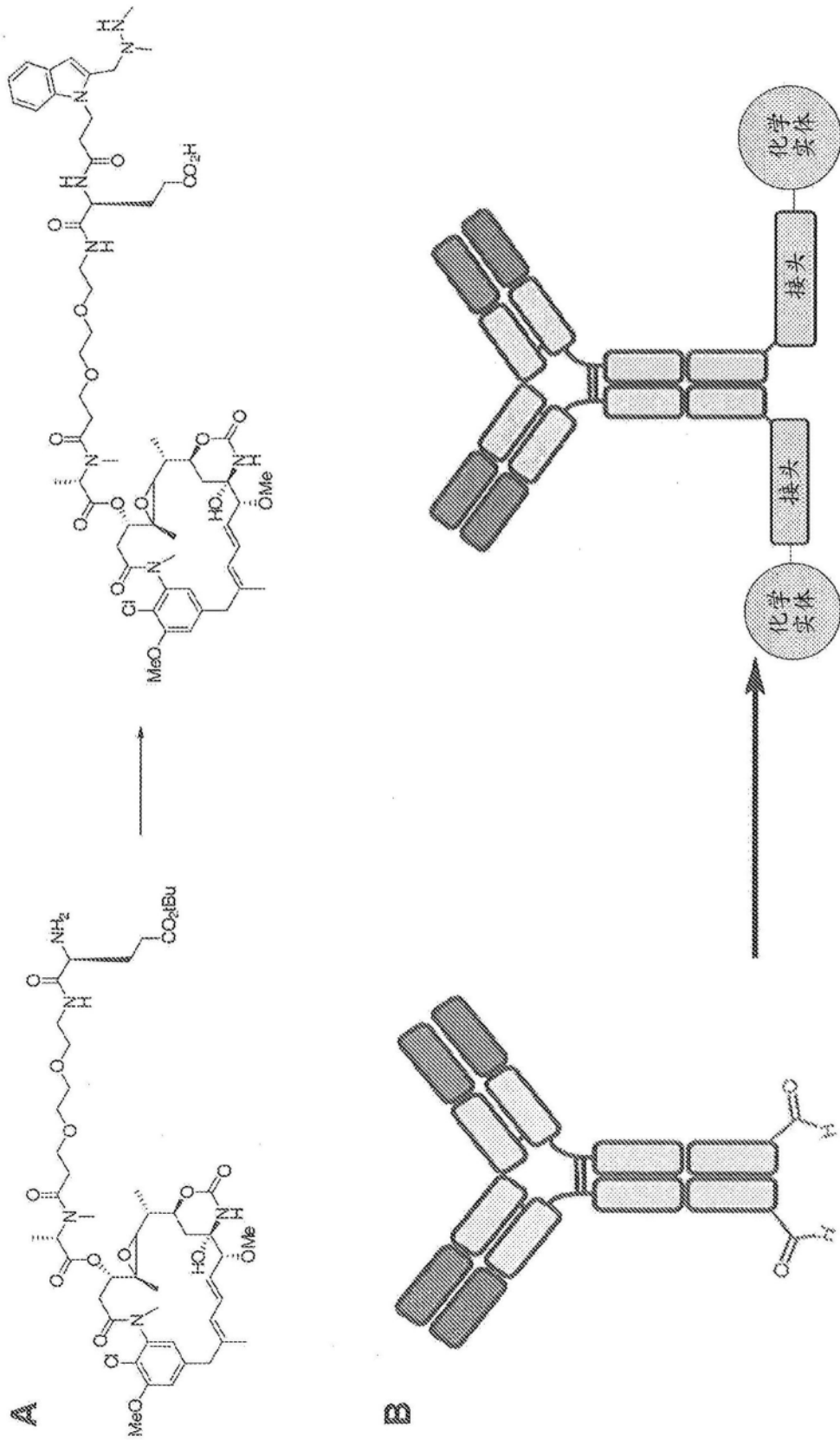


图2

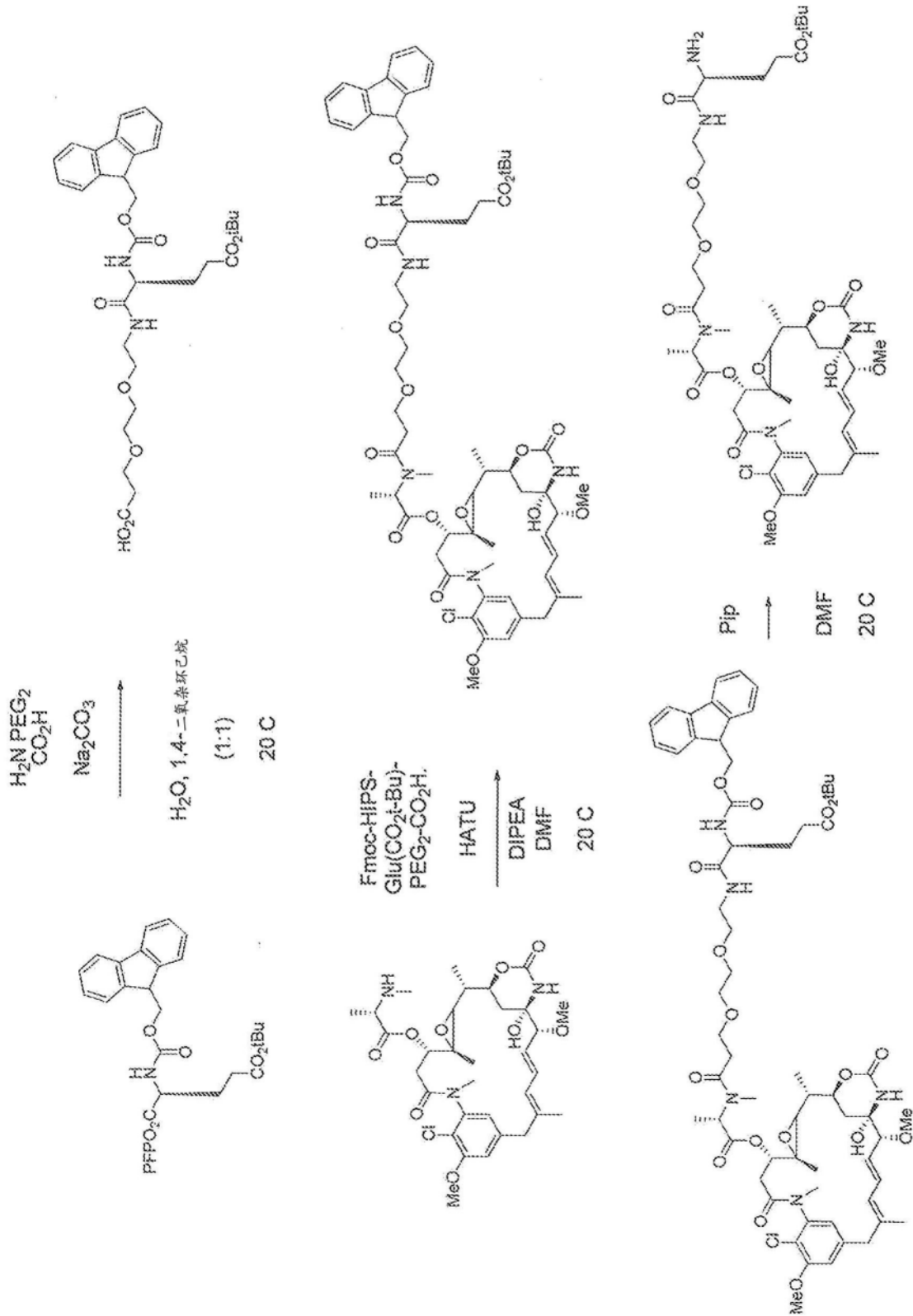


图3

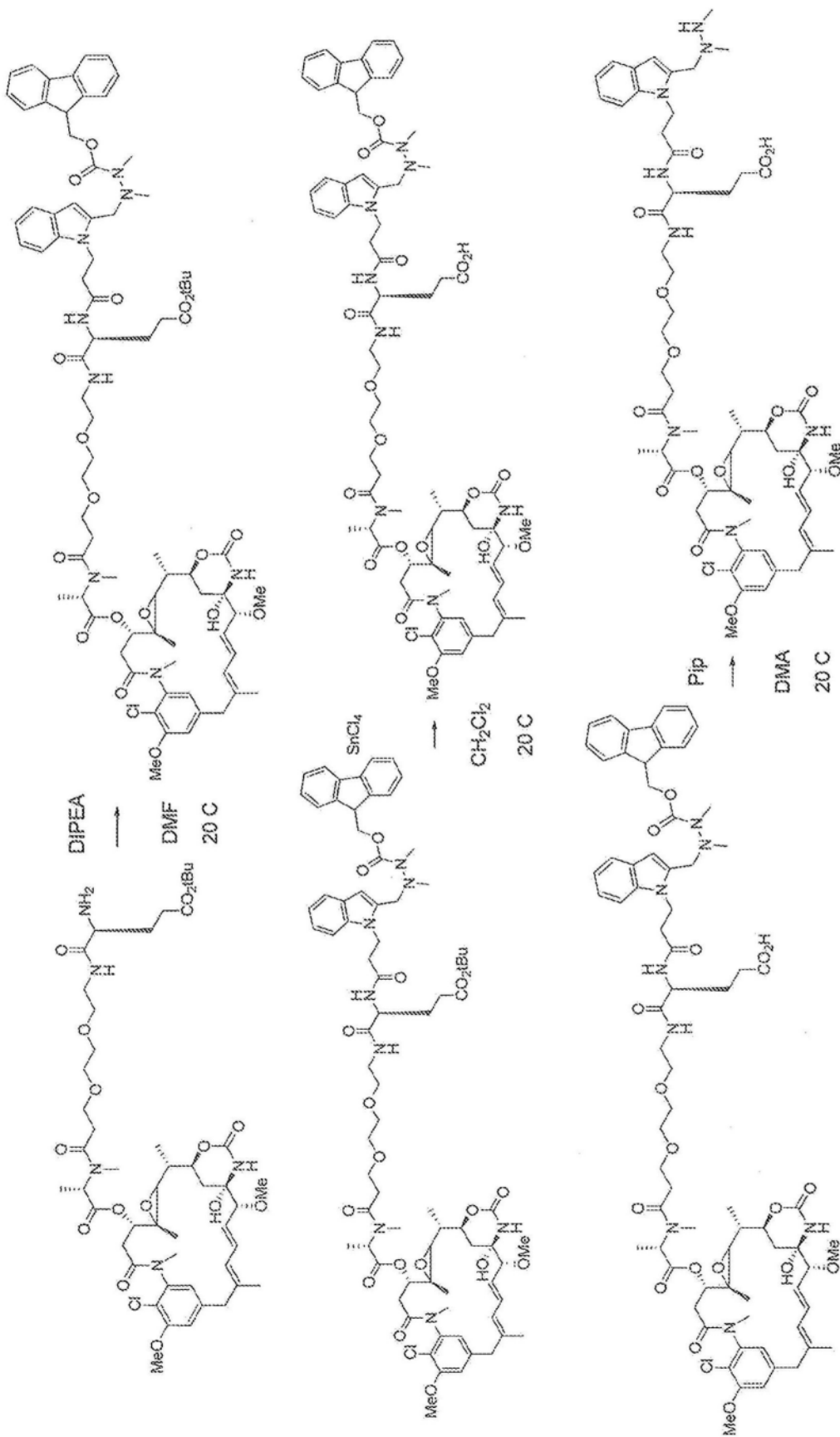


图4

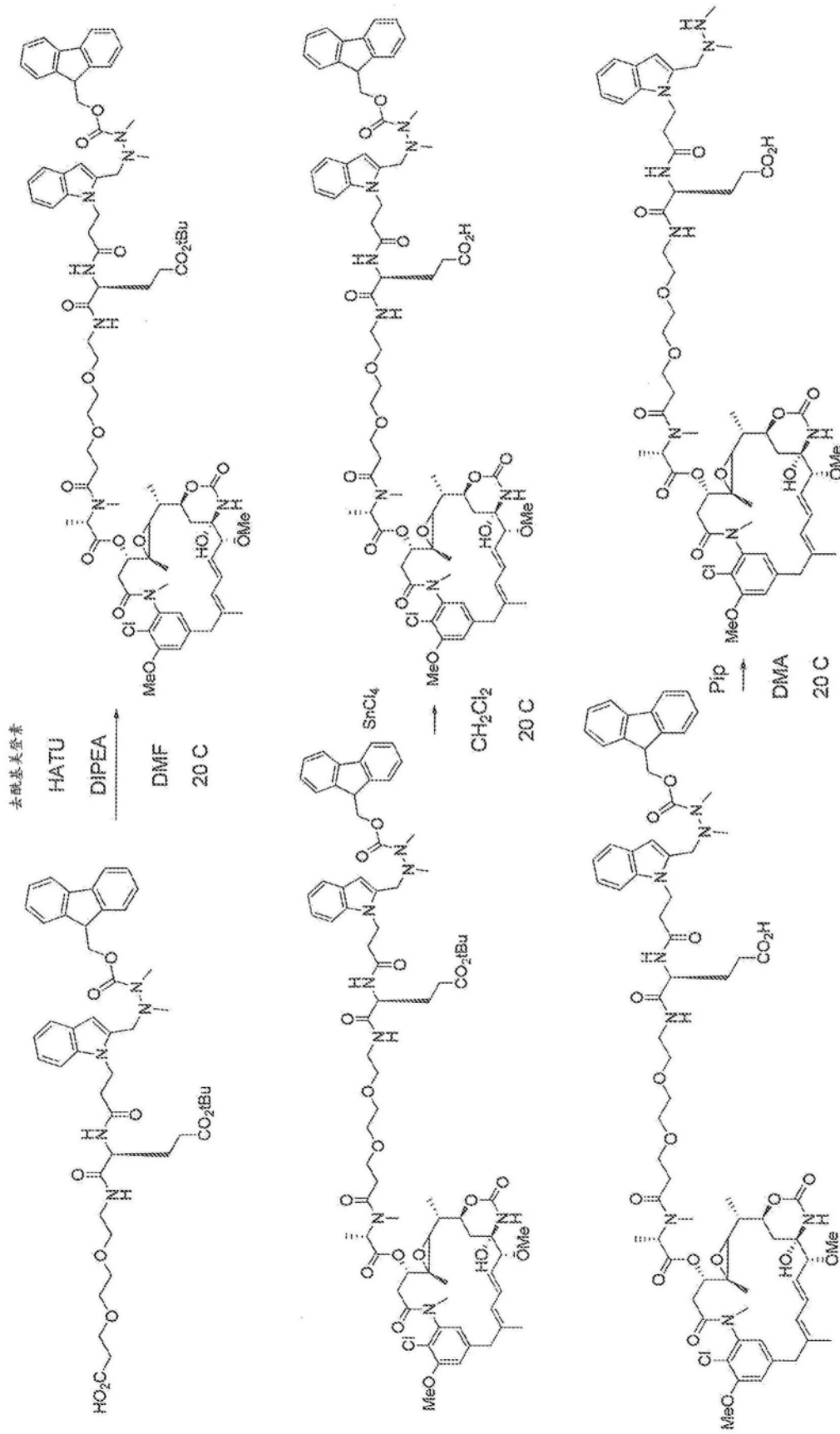


图6

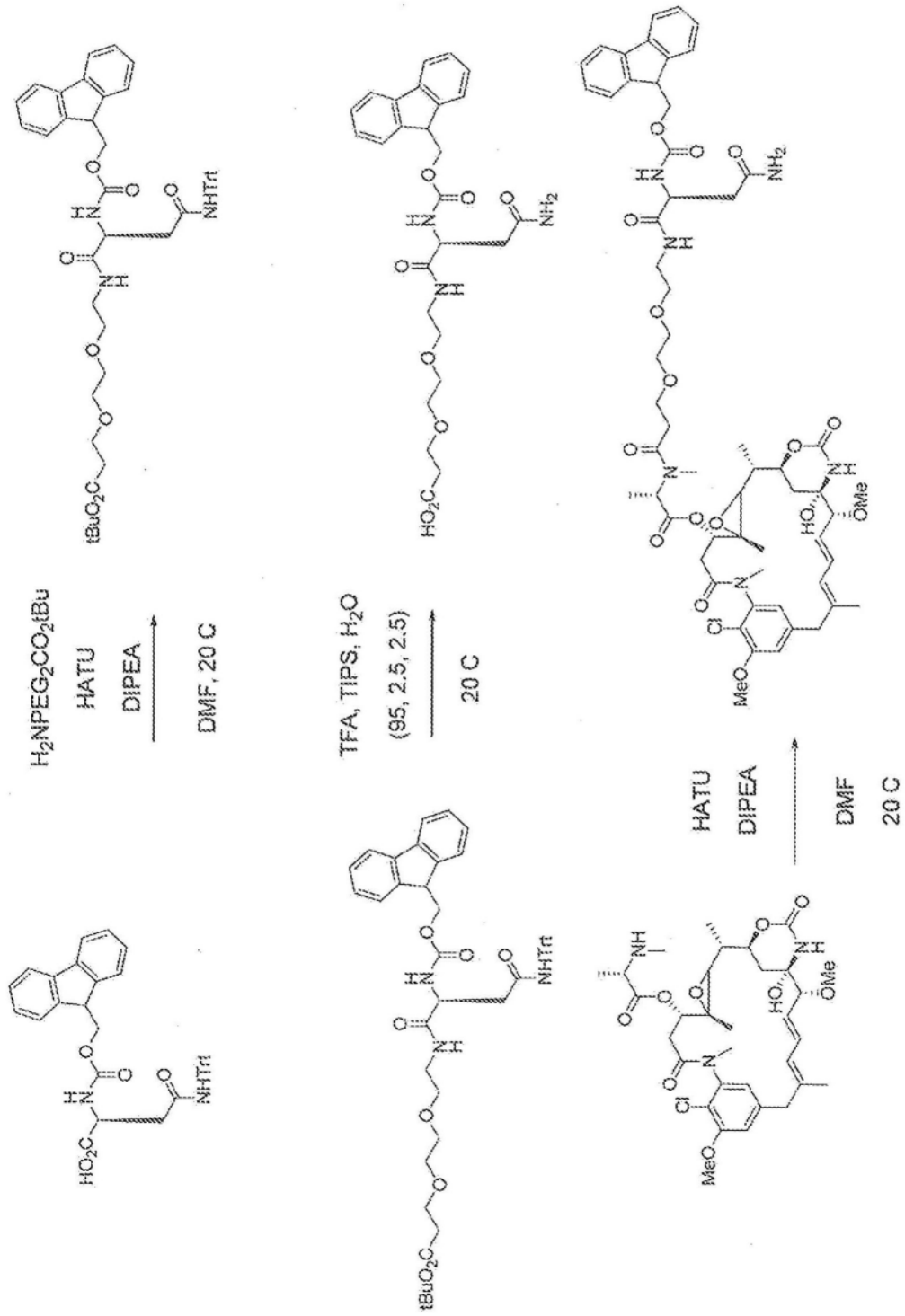


图7

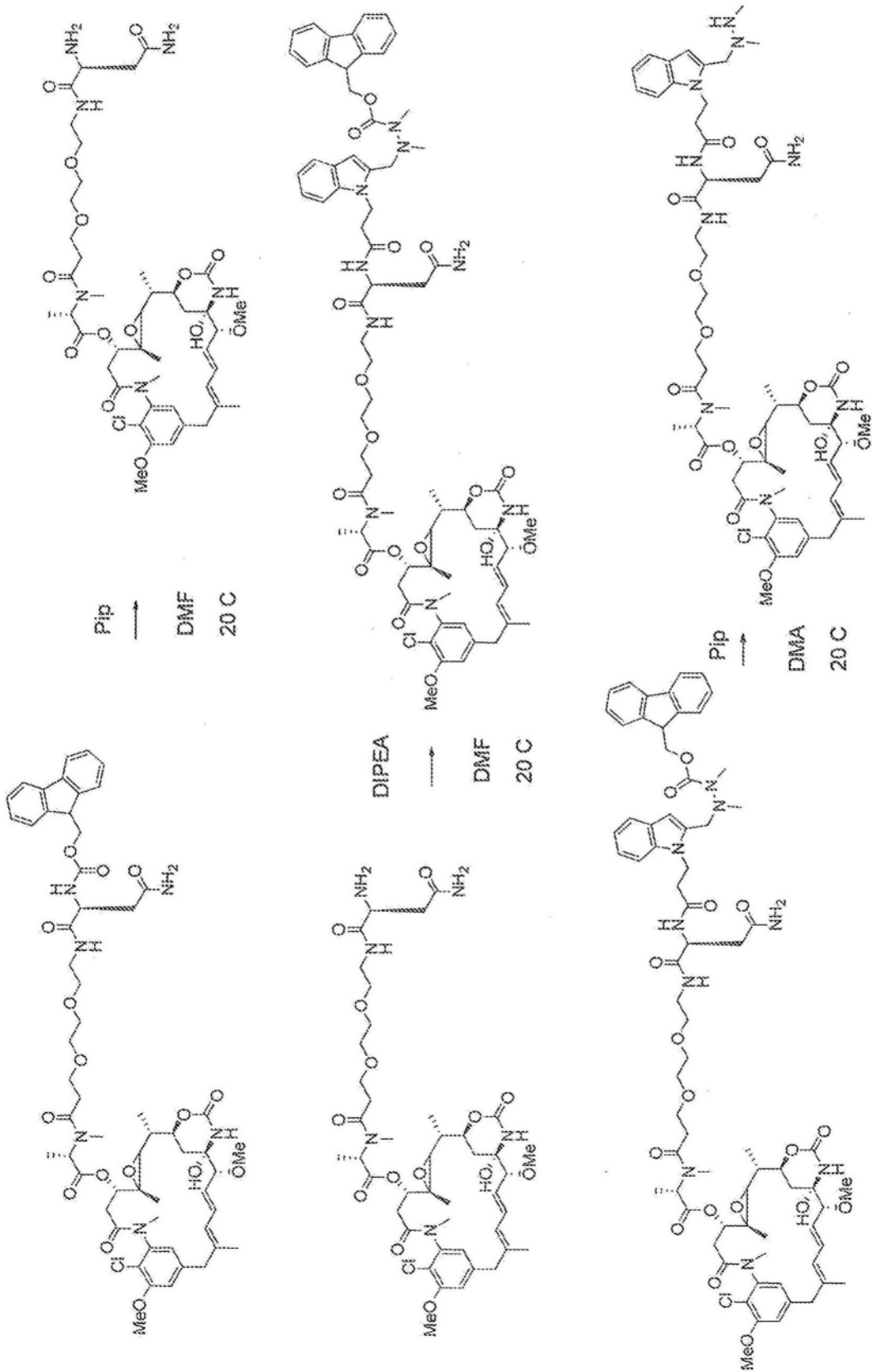


图8

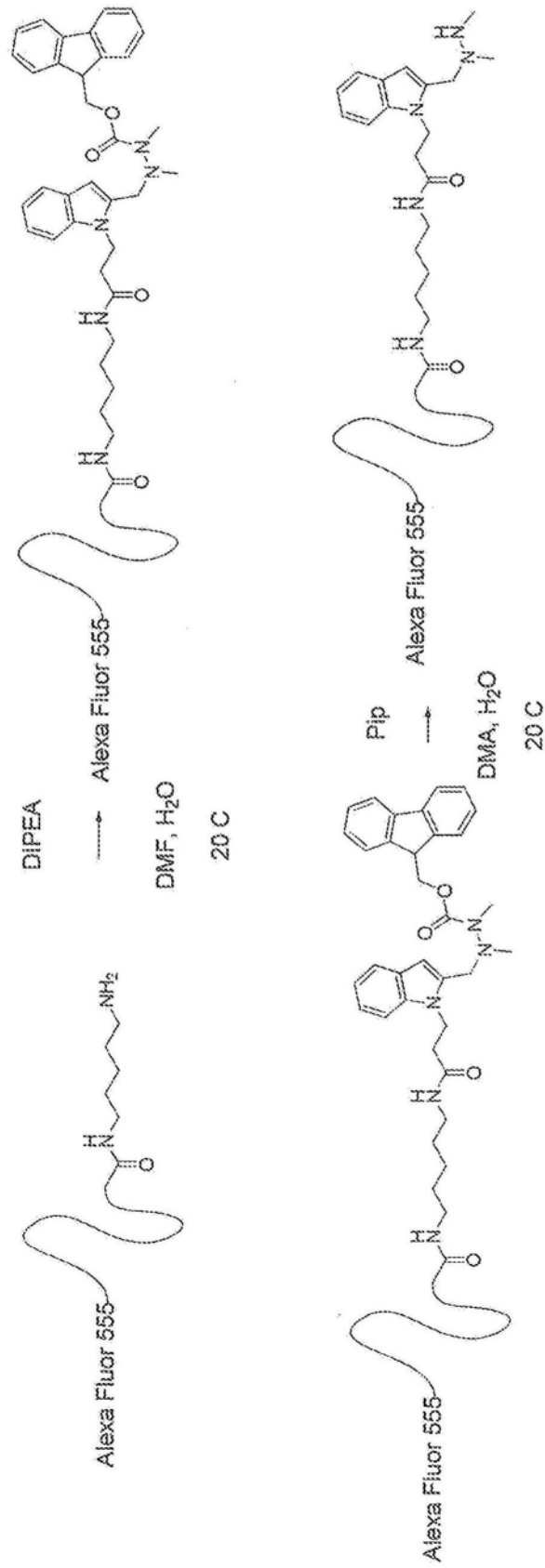


图9

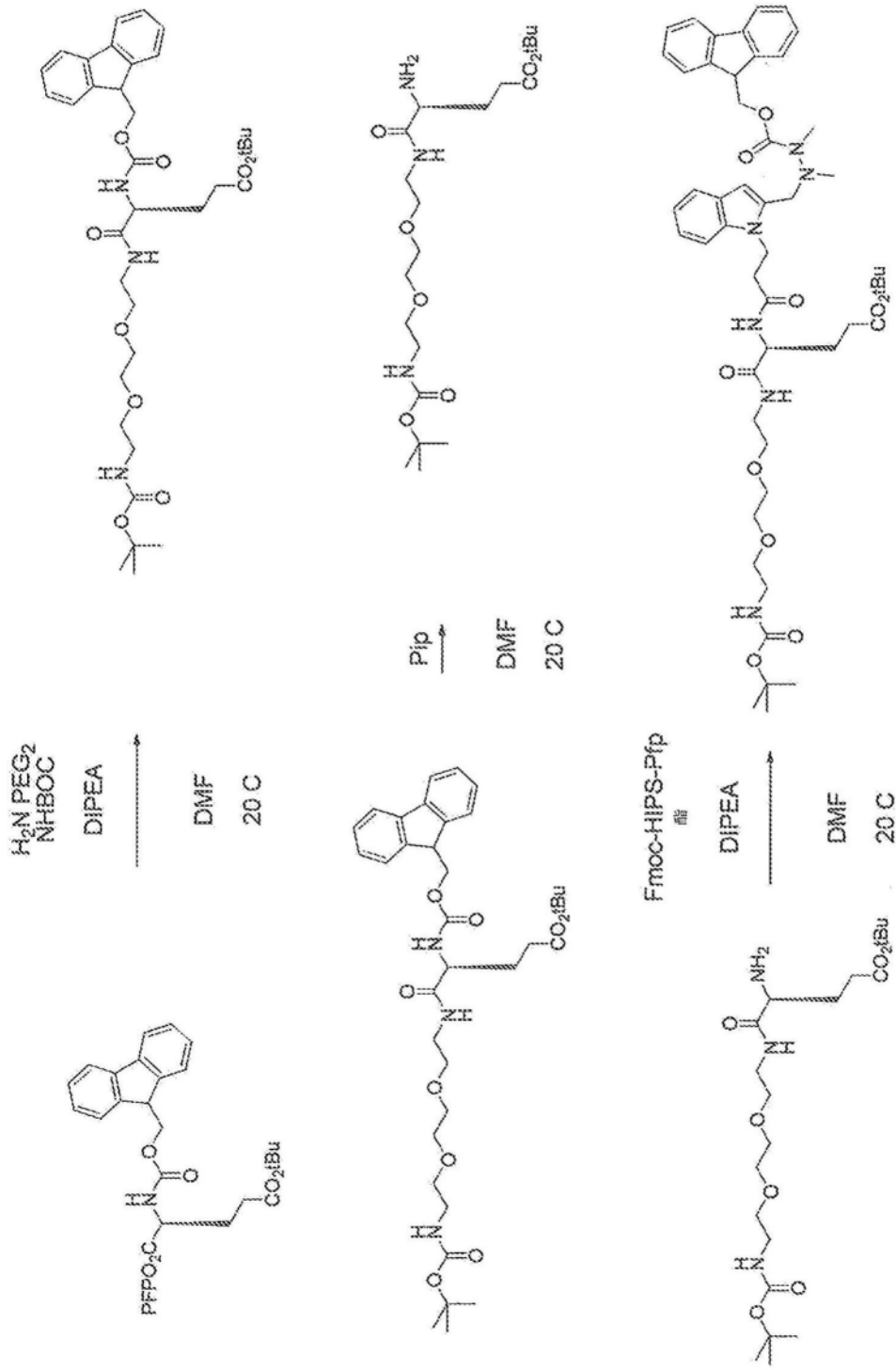


图10

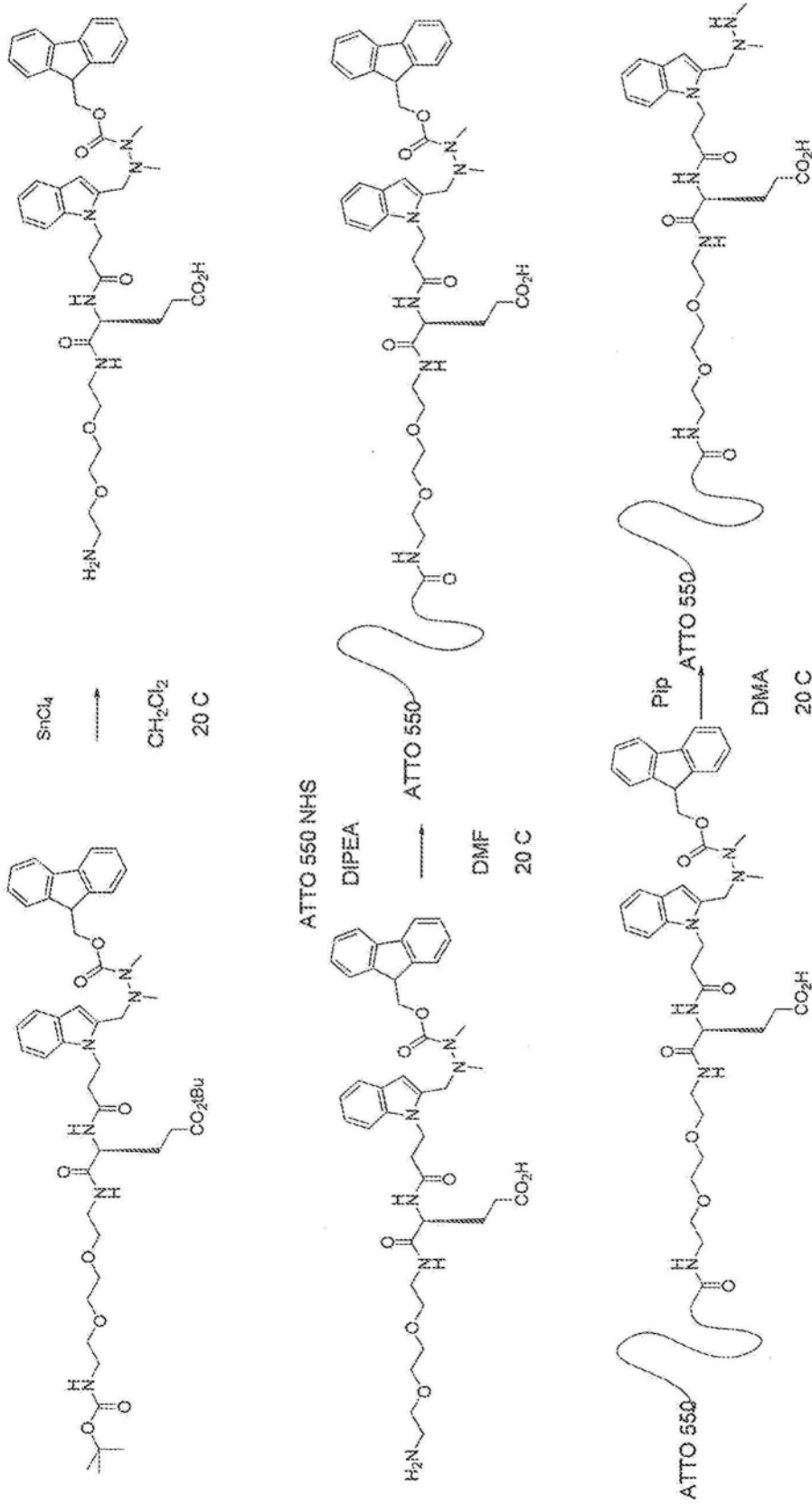


图11

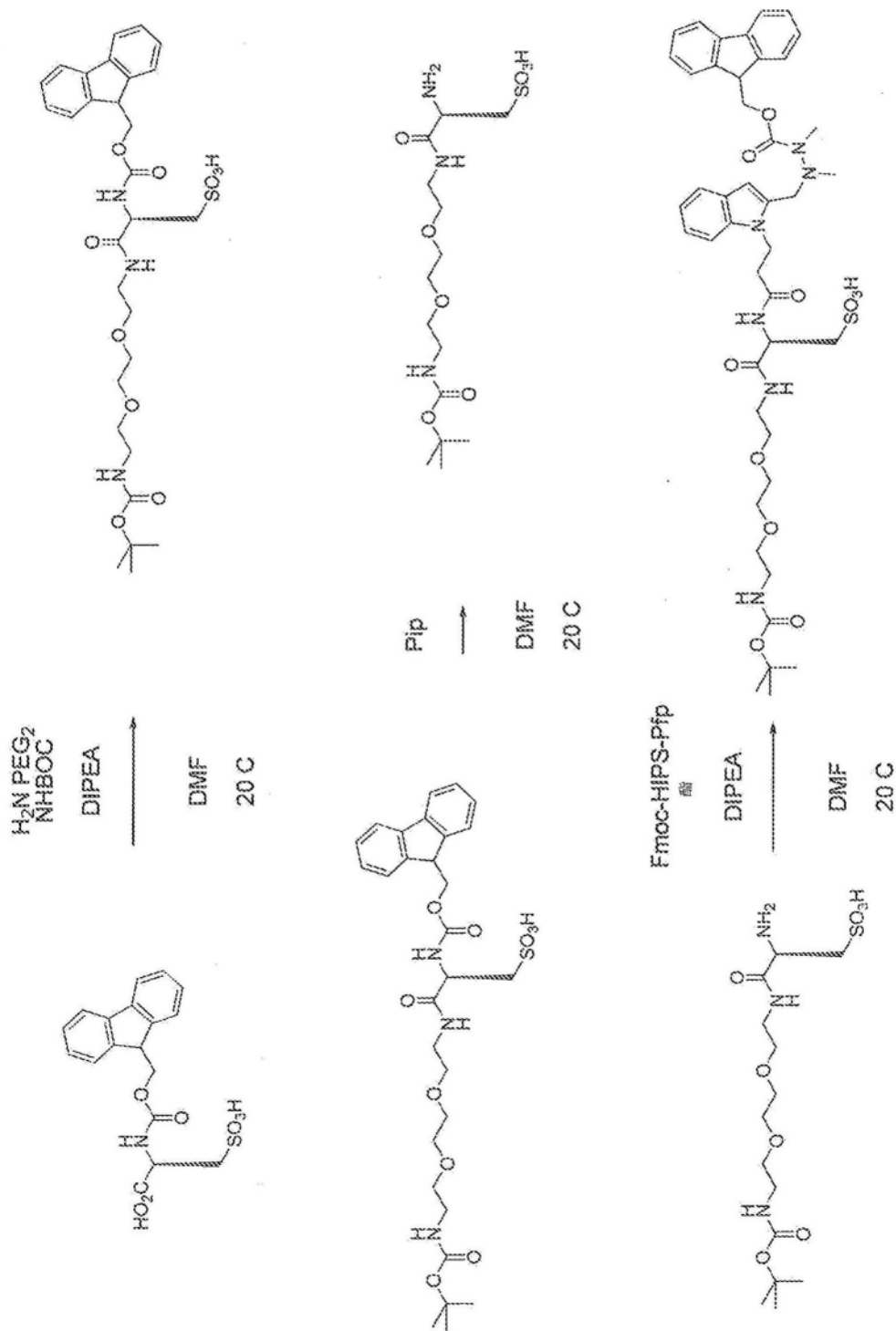


图12

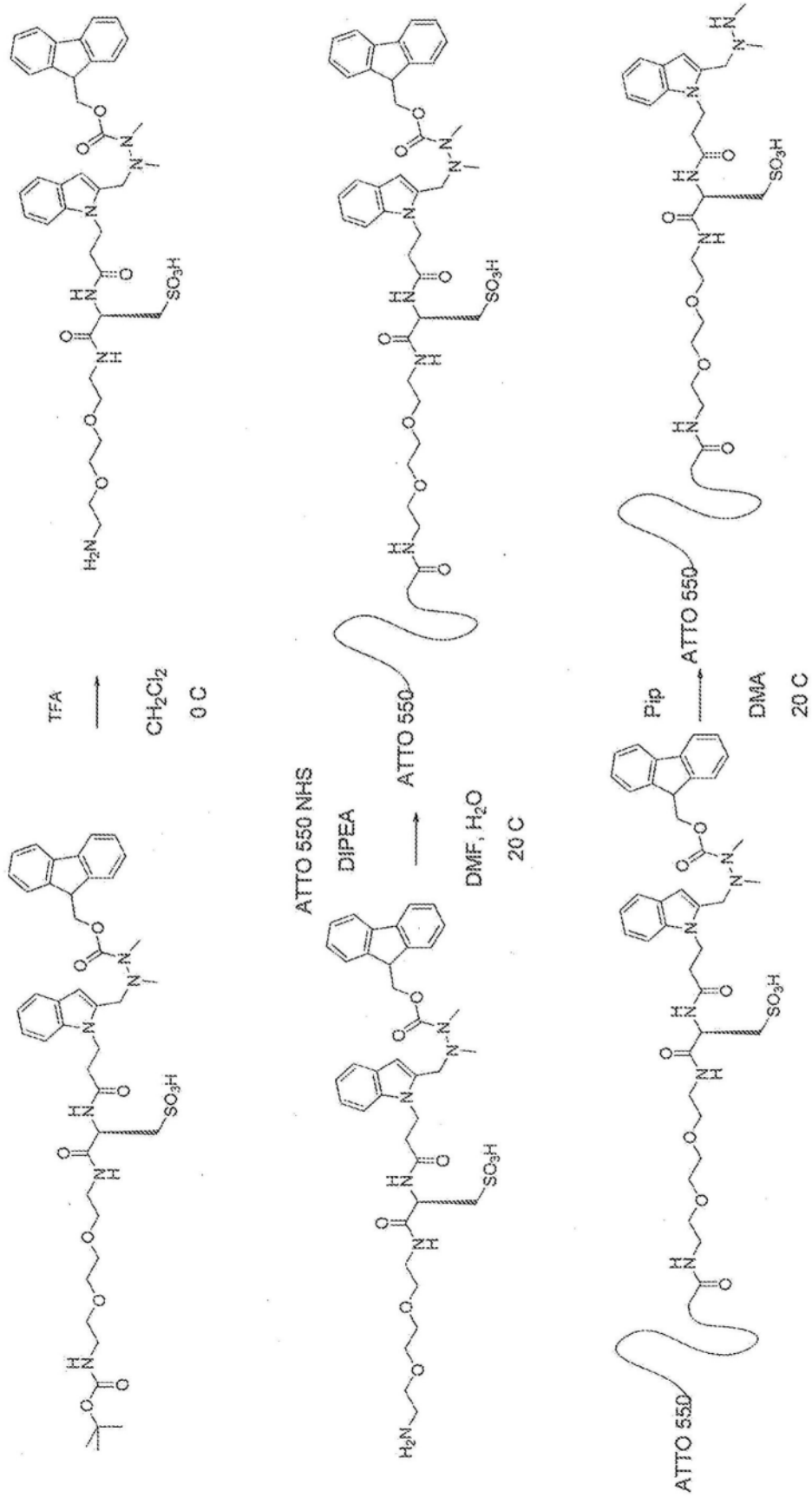


图13

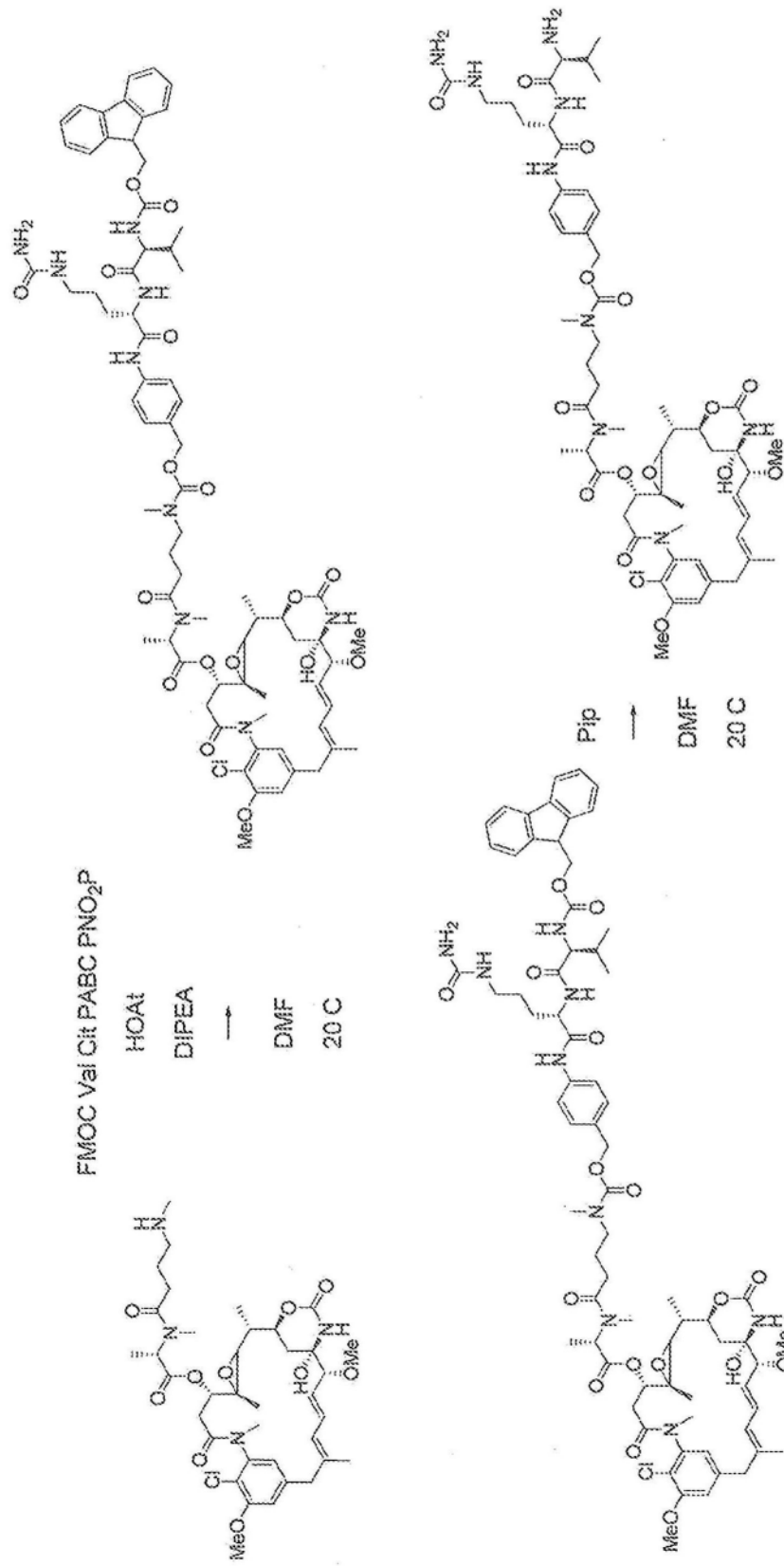


图15

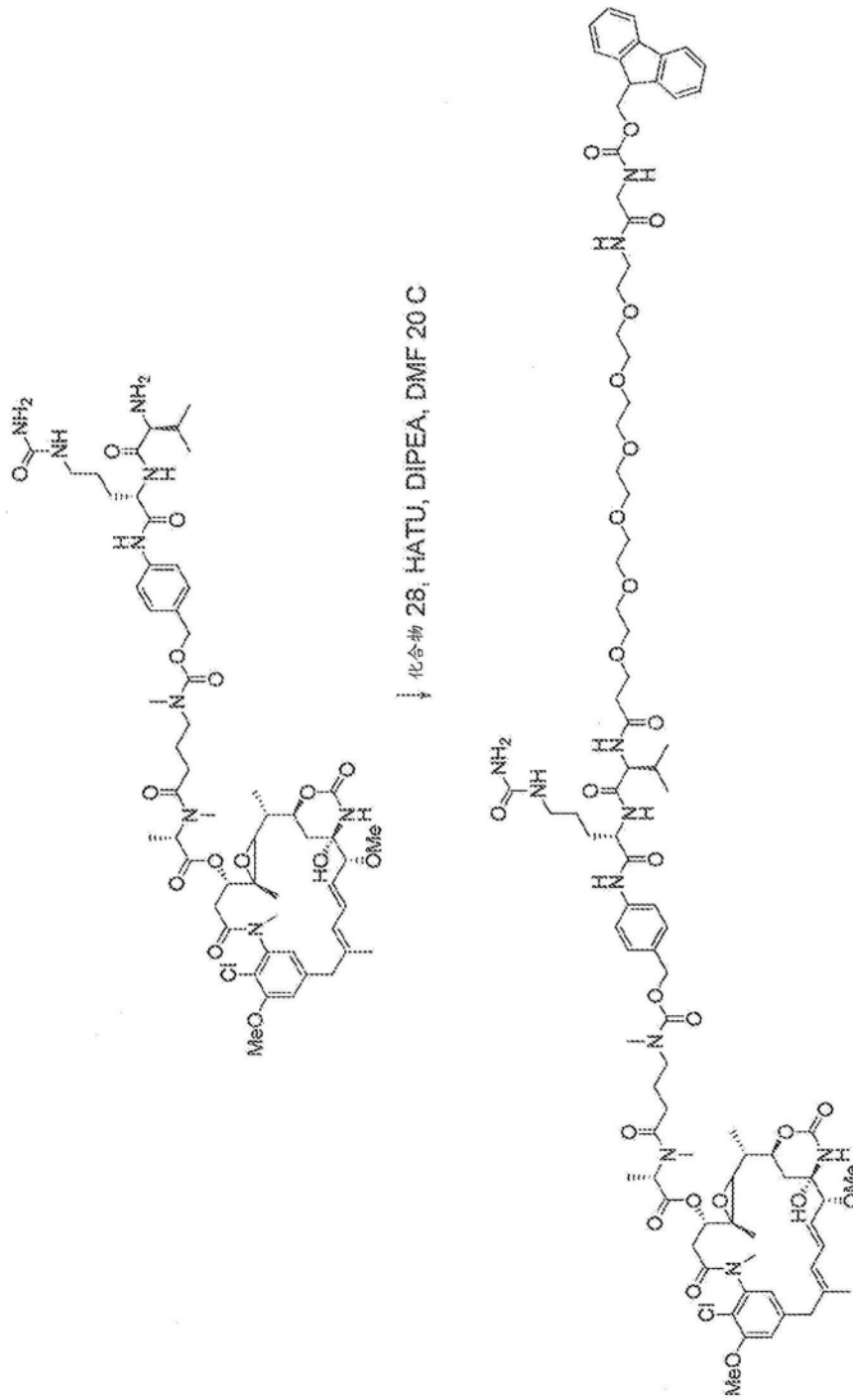


图16

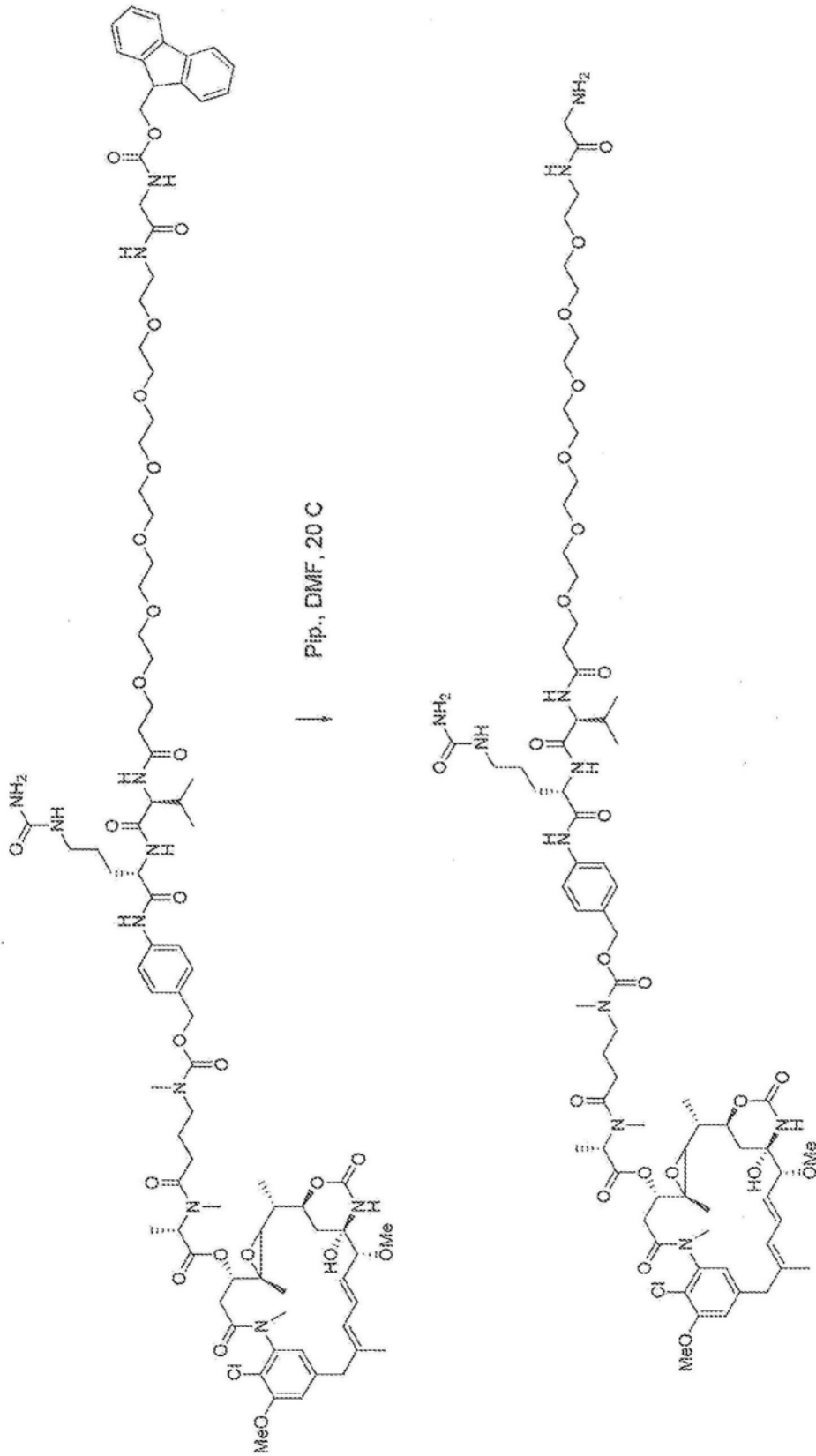


图17

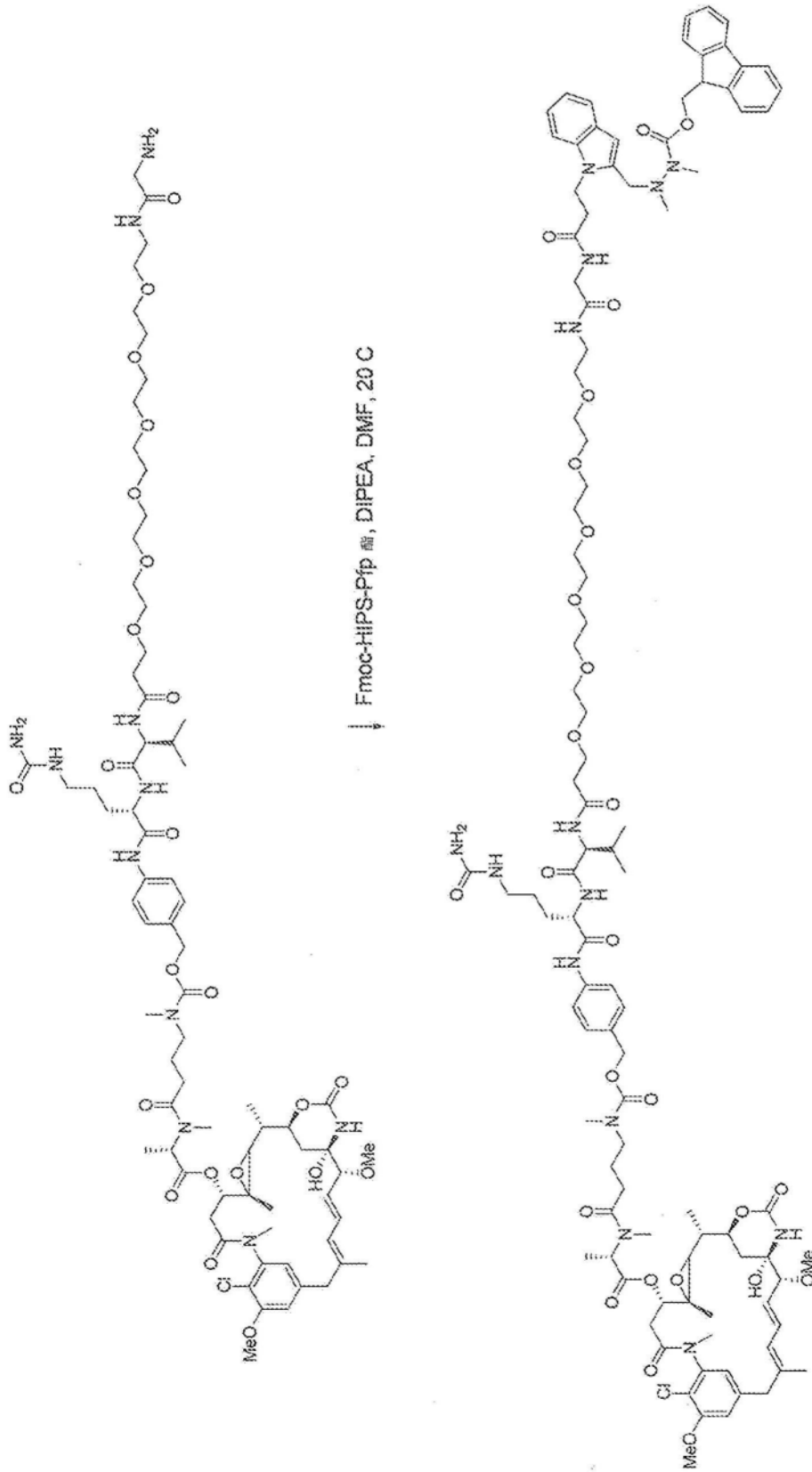


图18

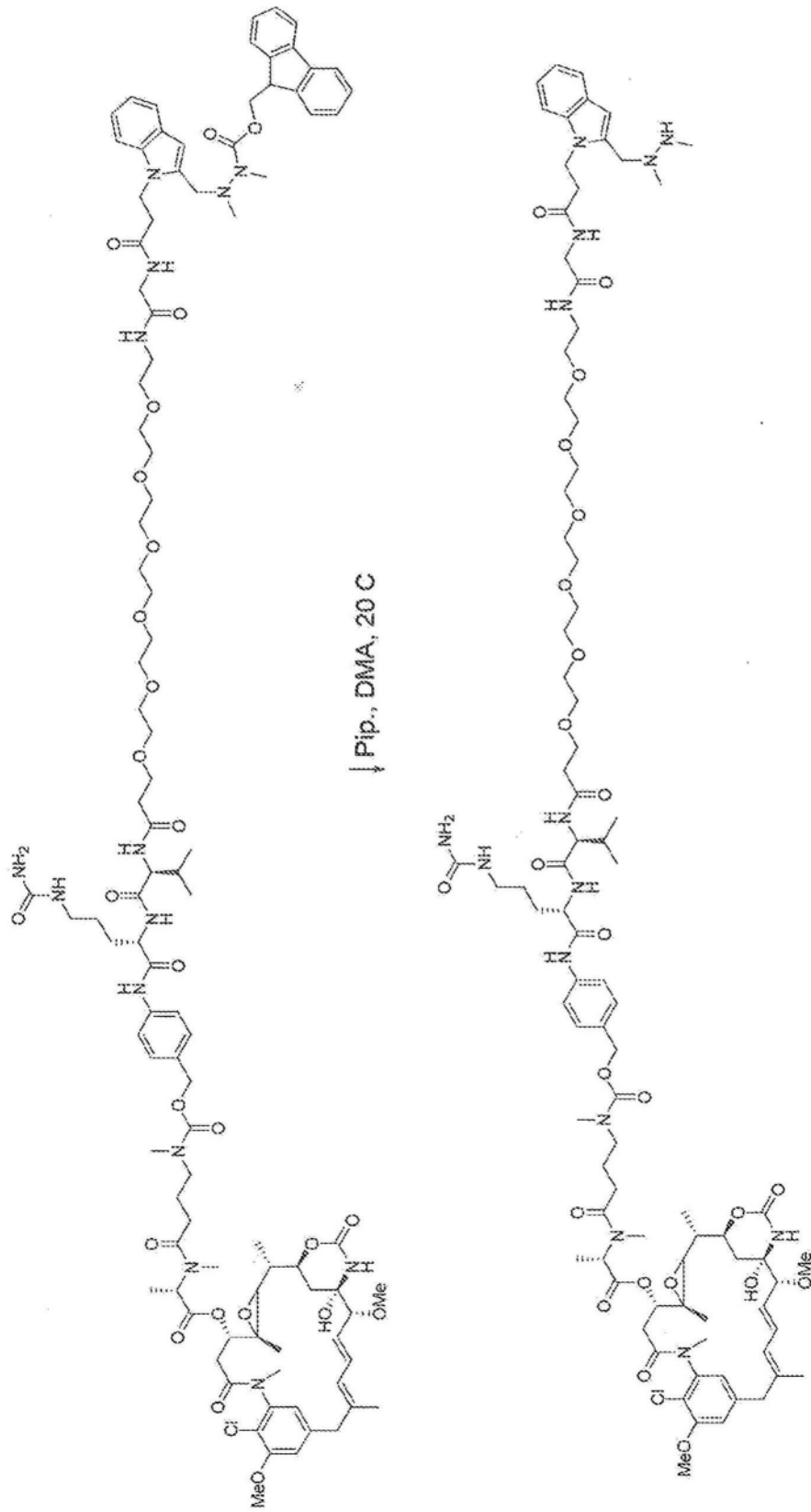


图19

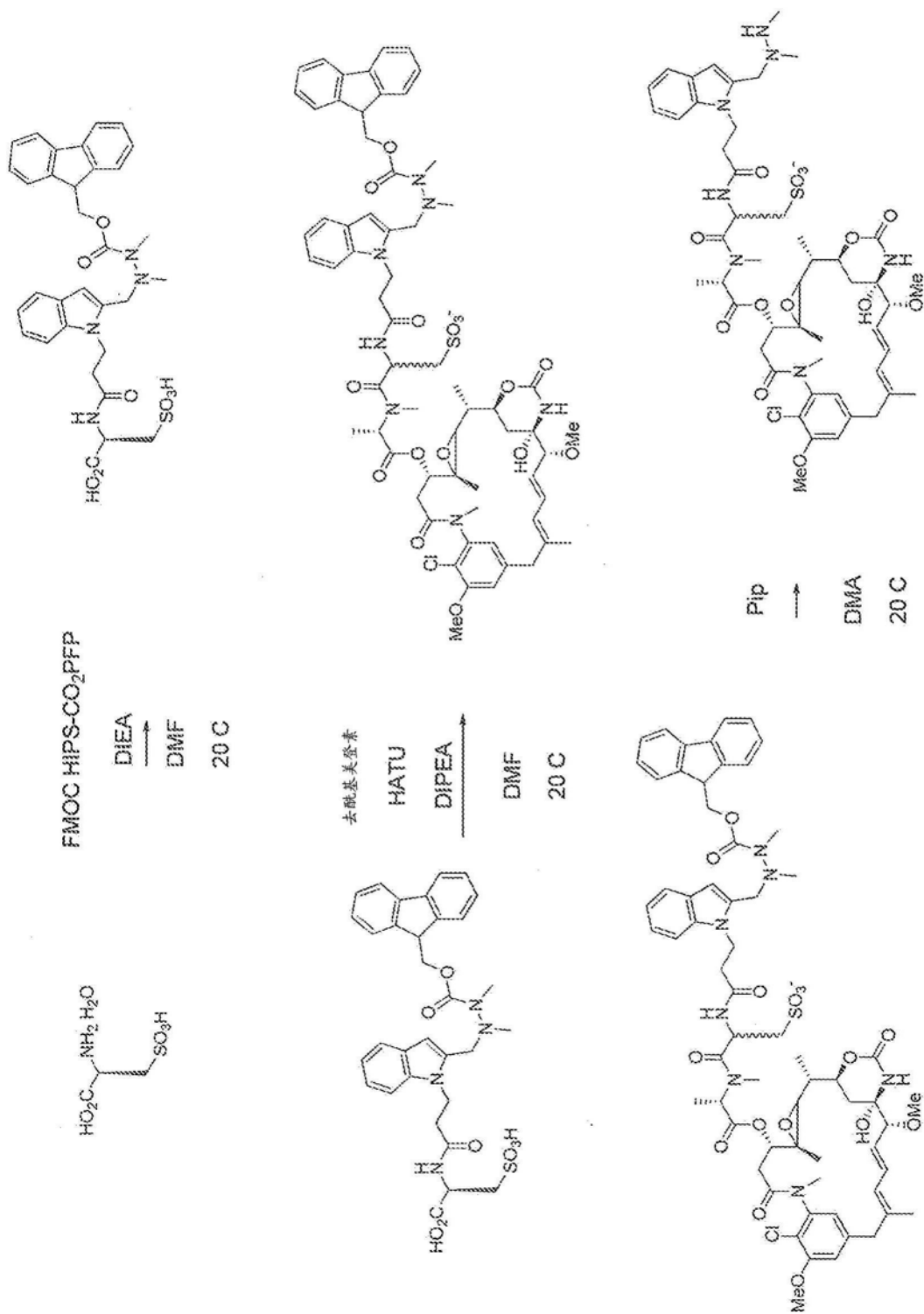


图20

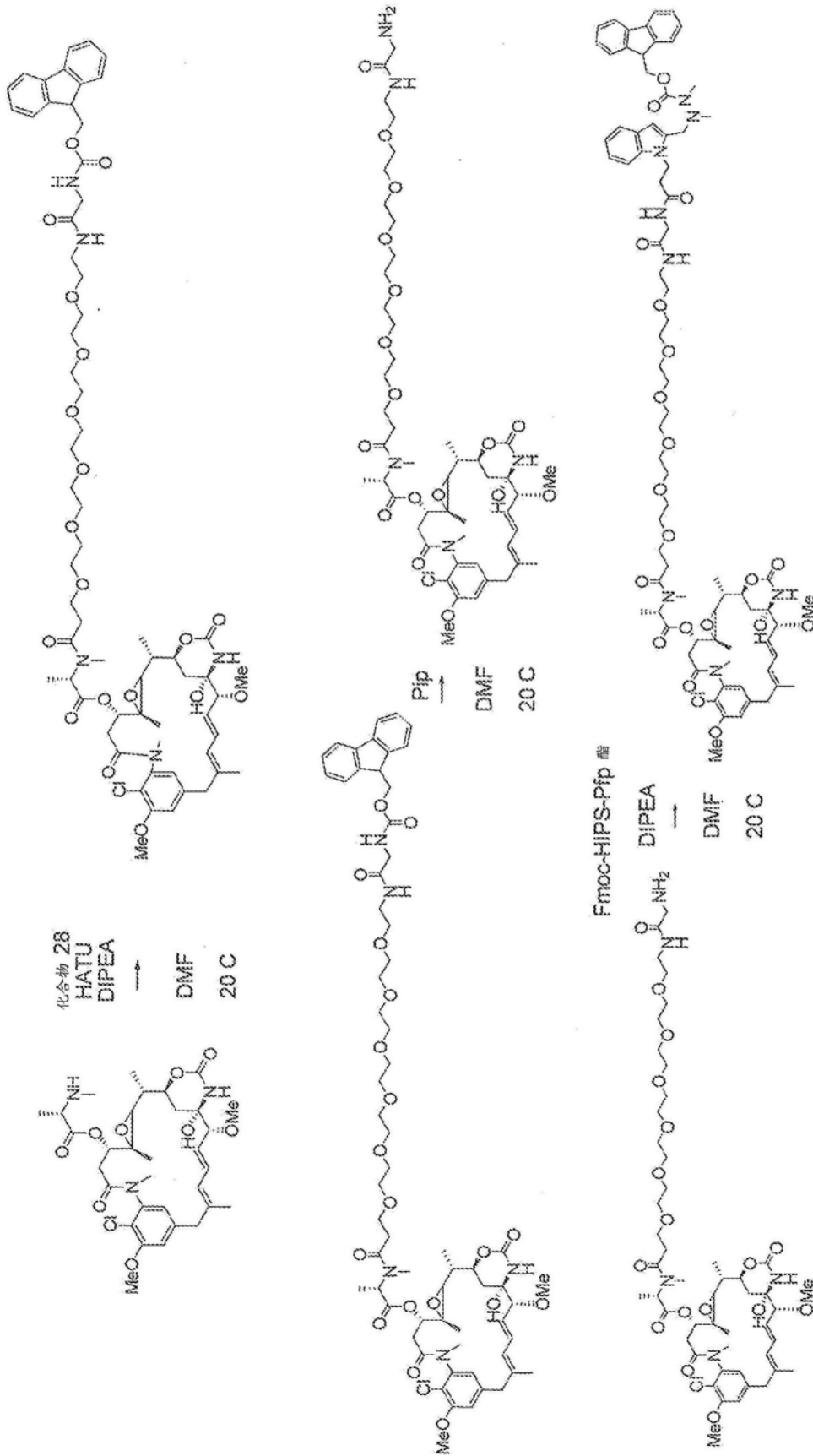


图21

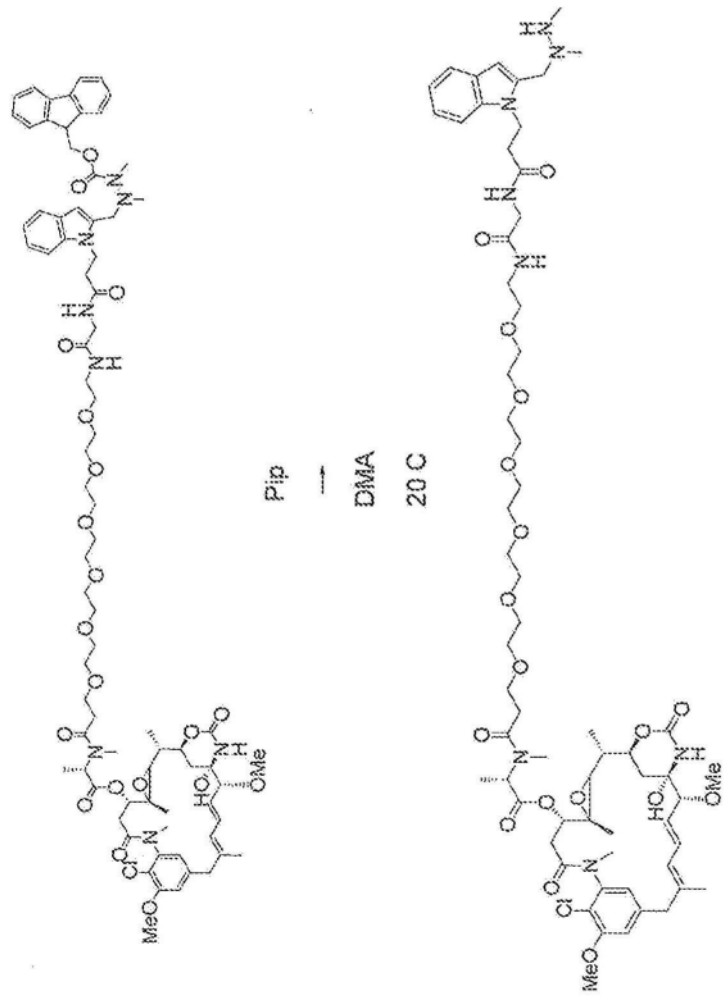


图22

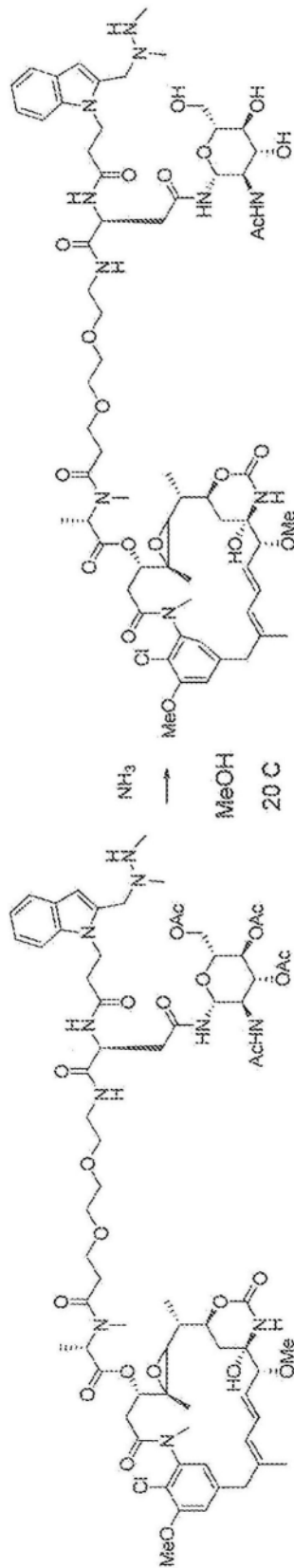


图23

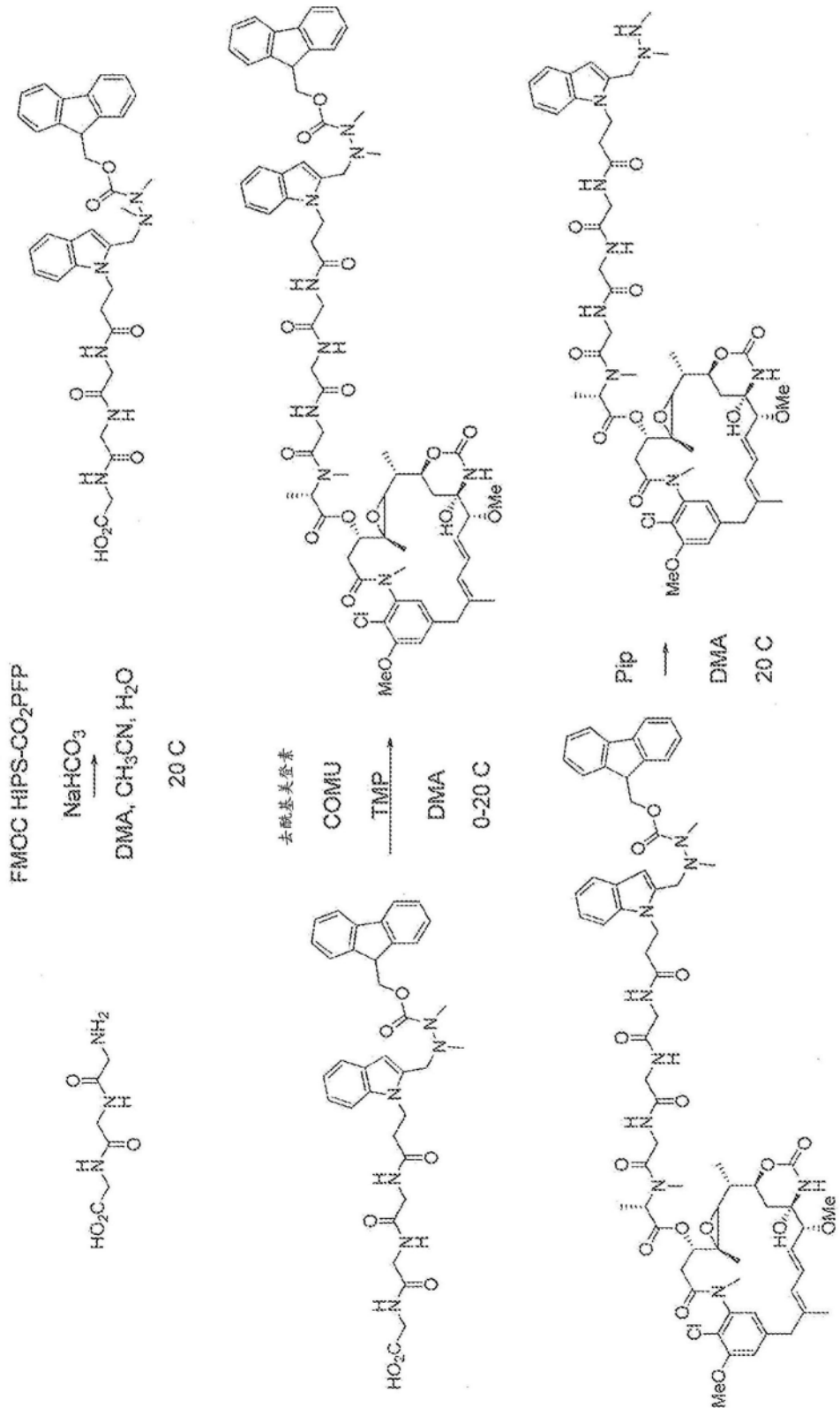


图28

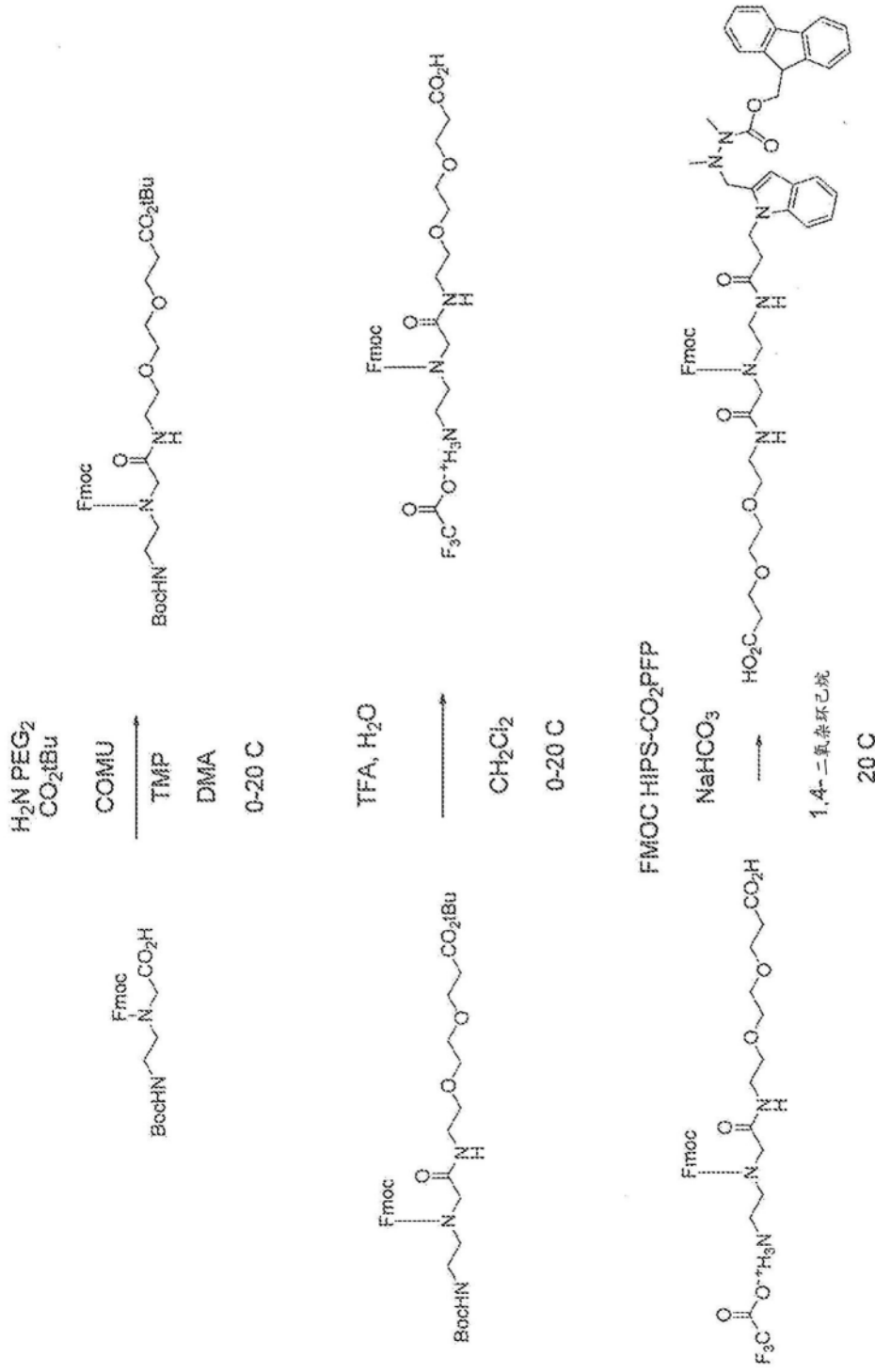


图29

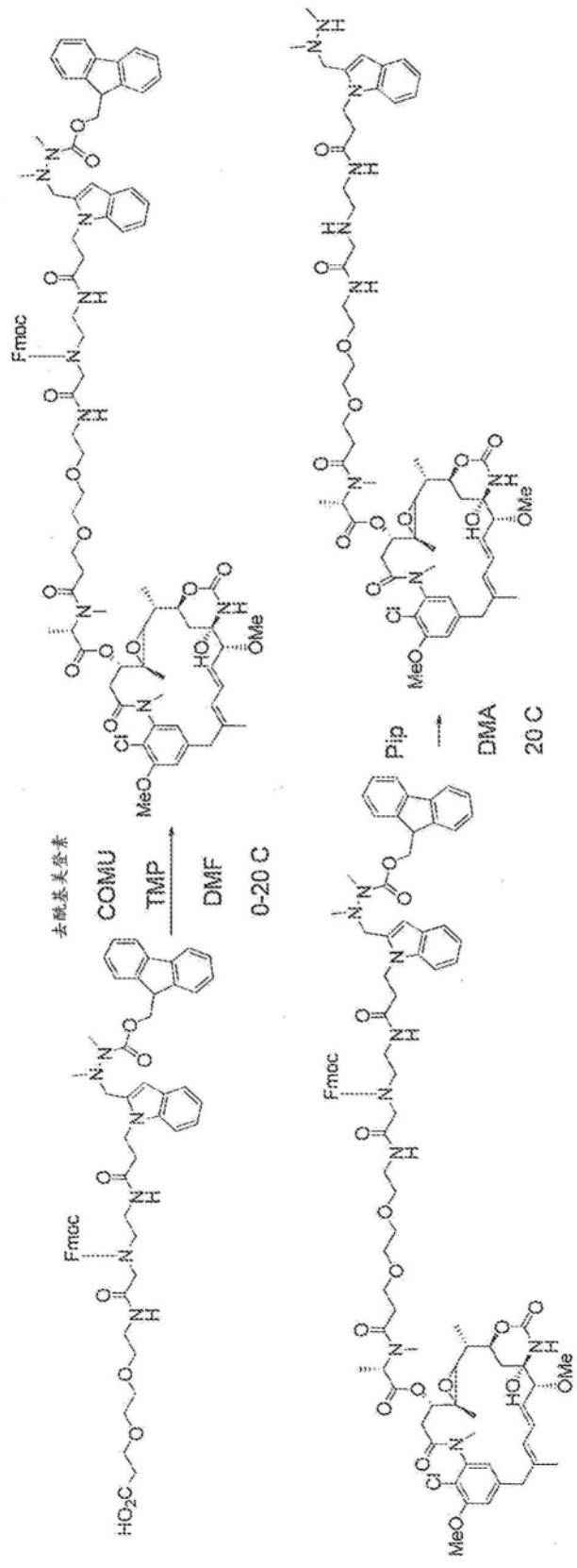


图30

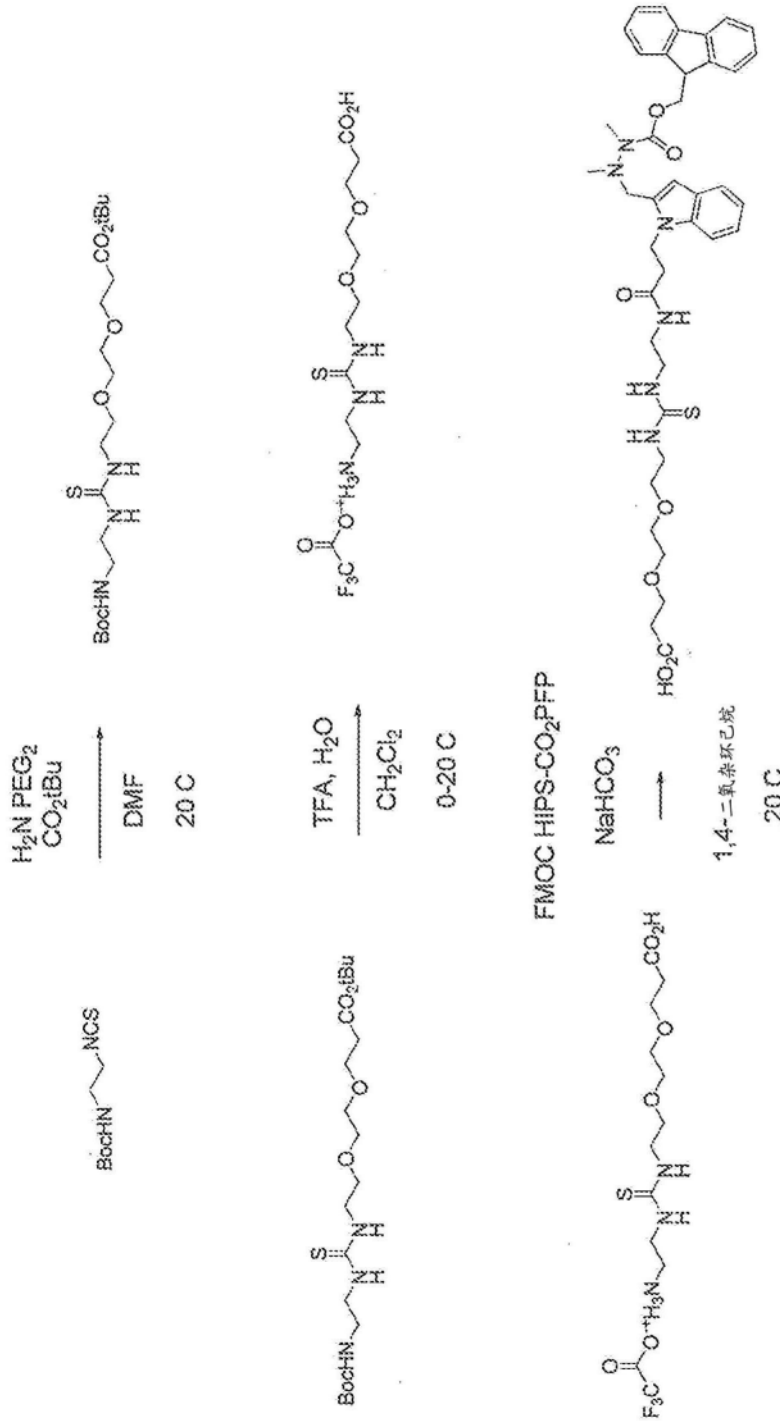


图31

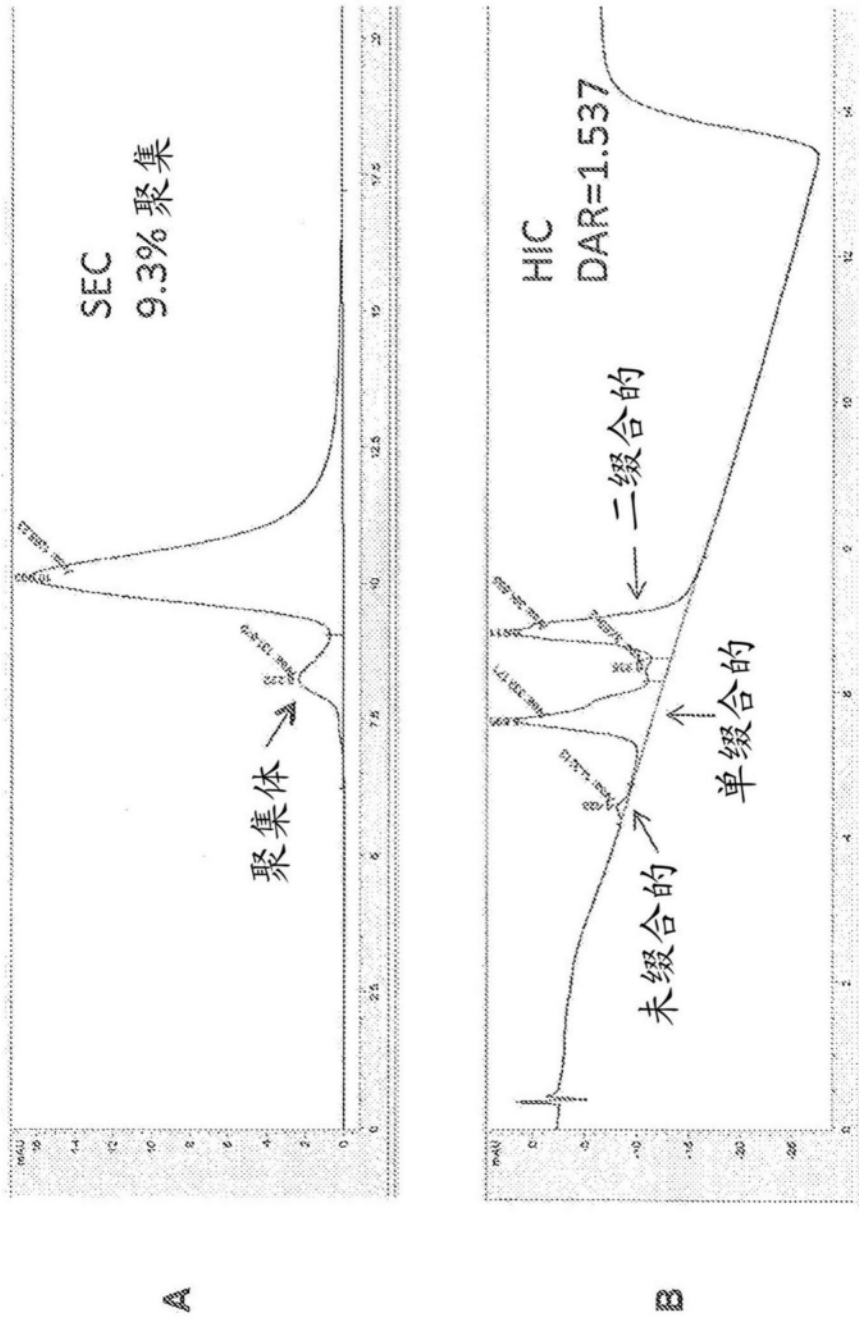


图33

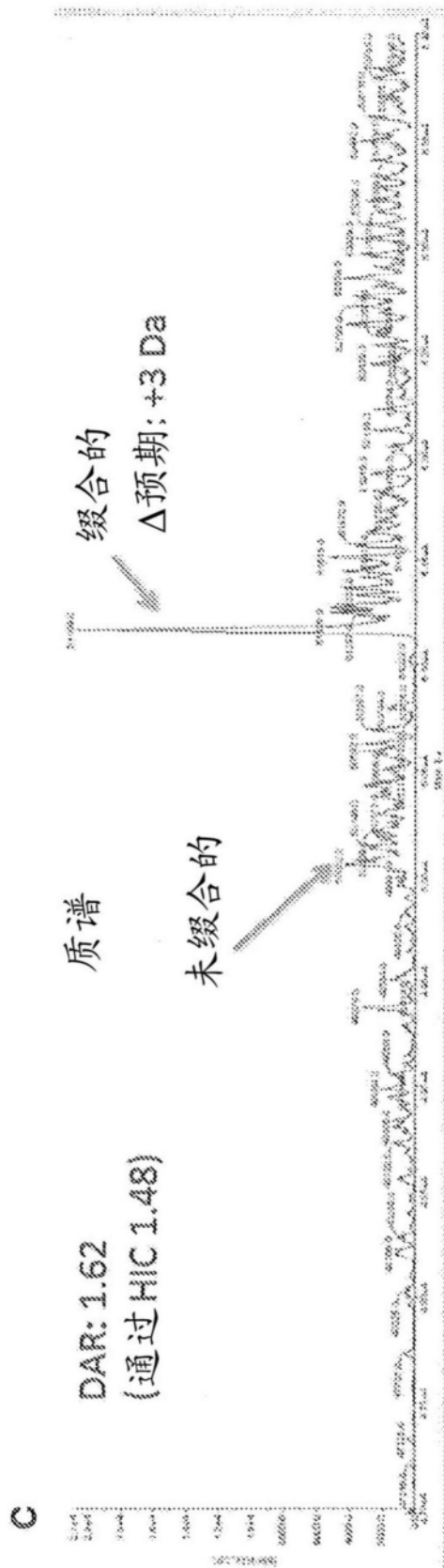


图33,续

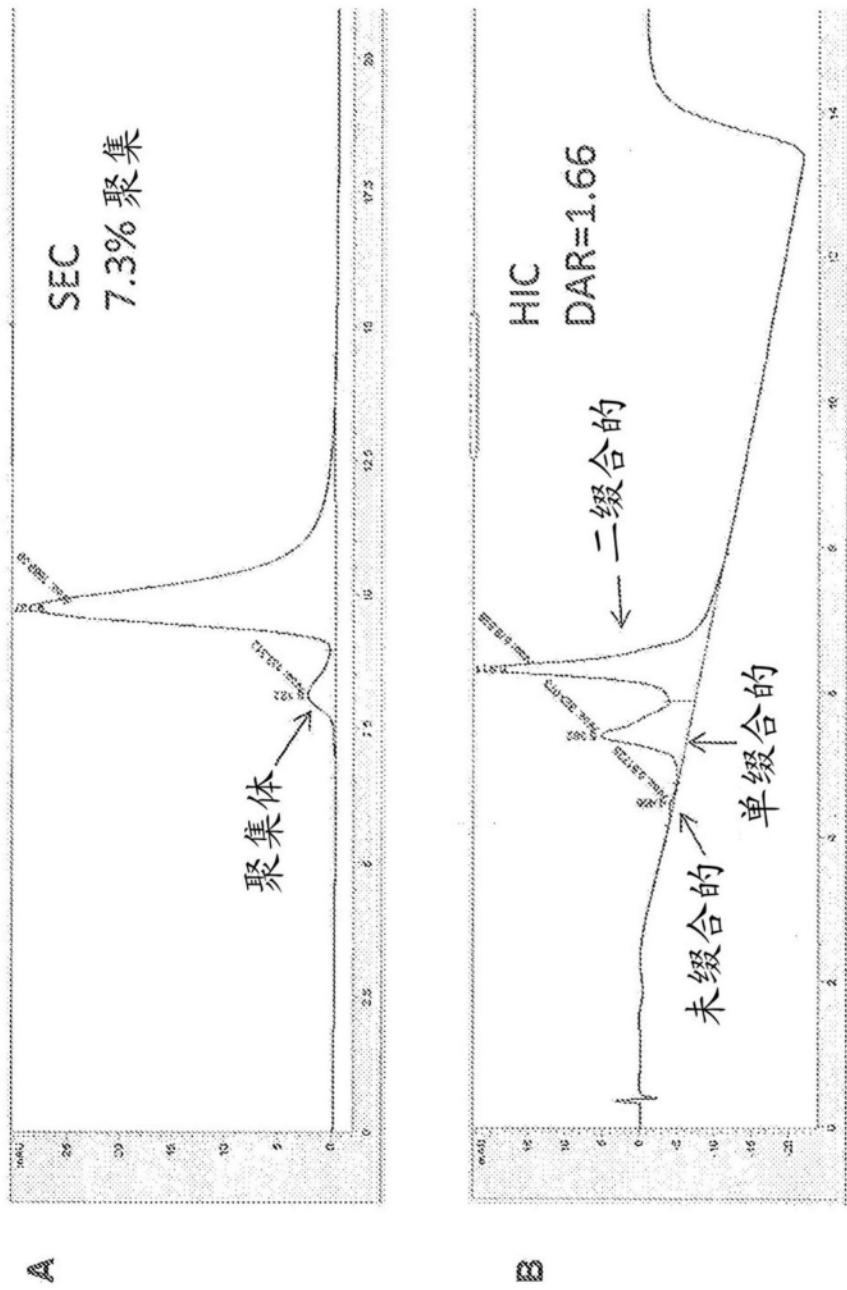


图34

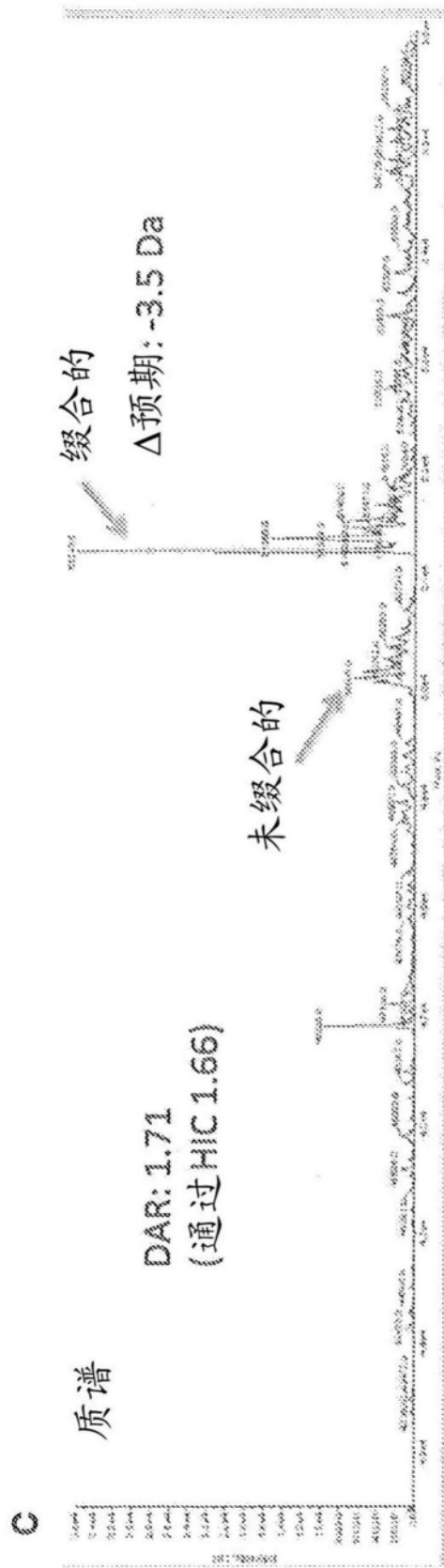


图34, 续

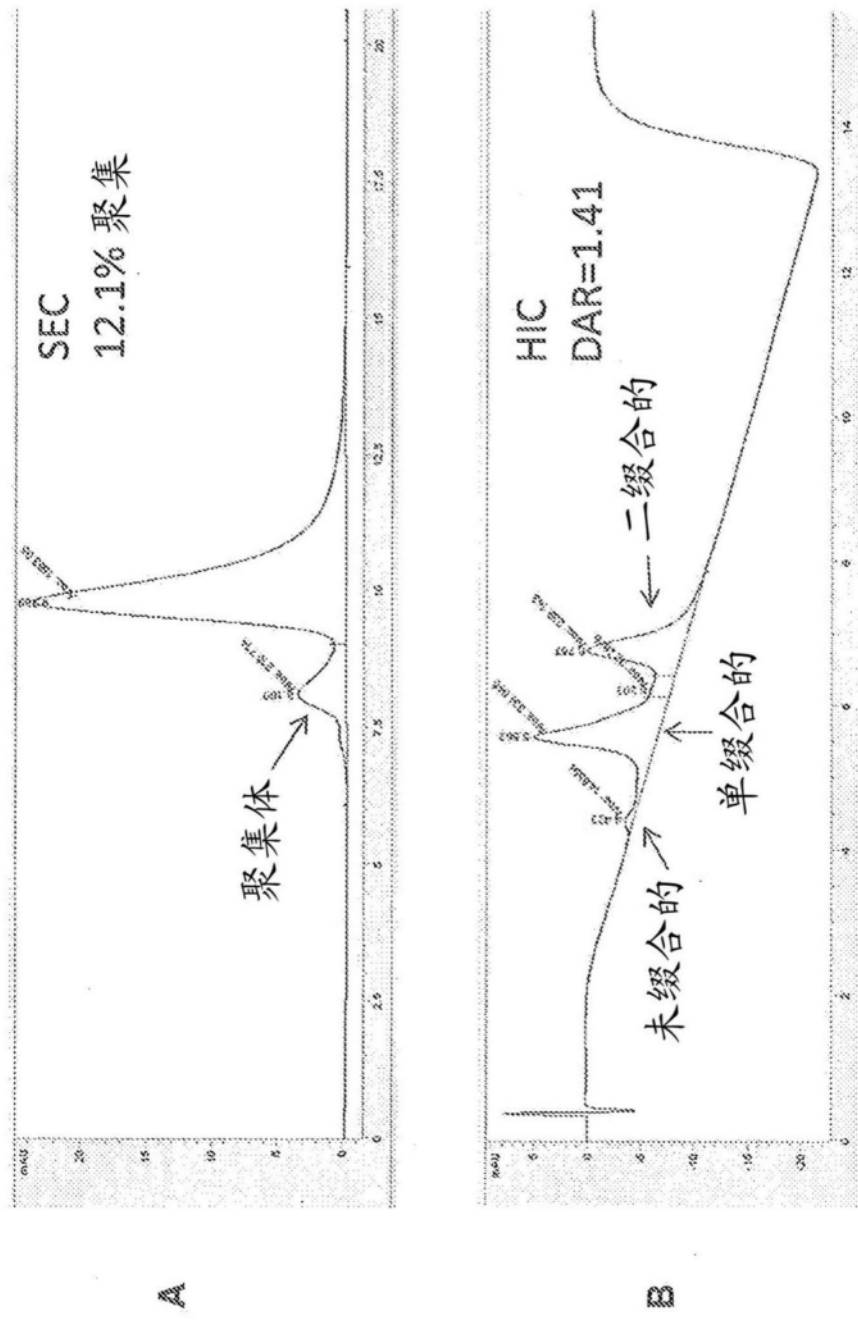


图35

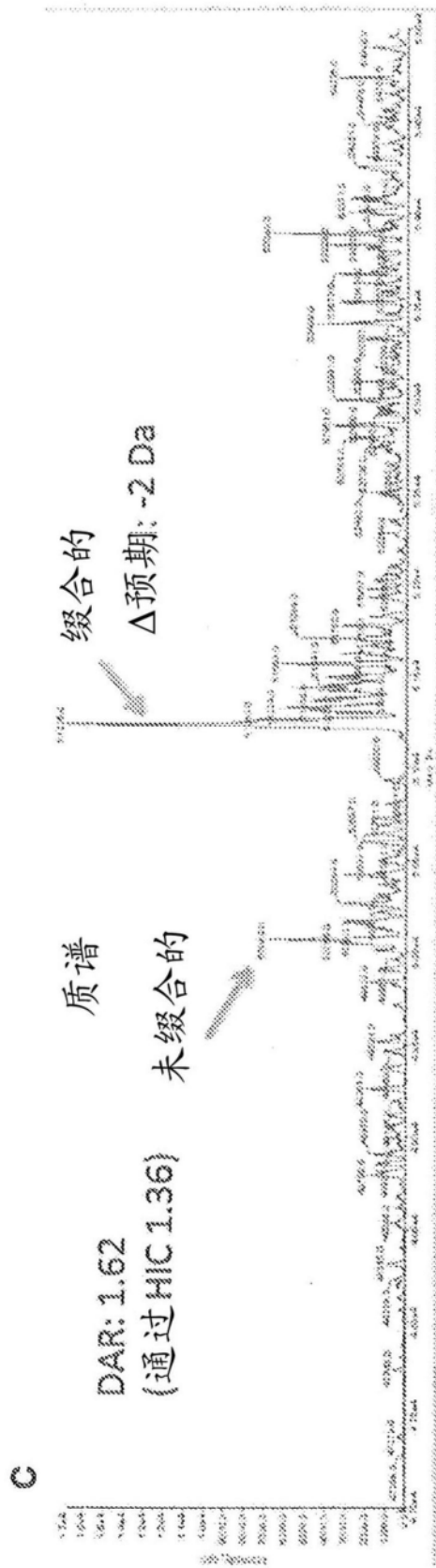


图35,续

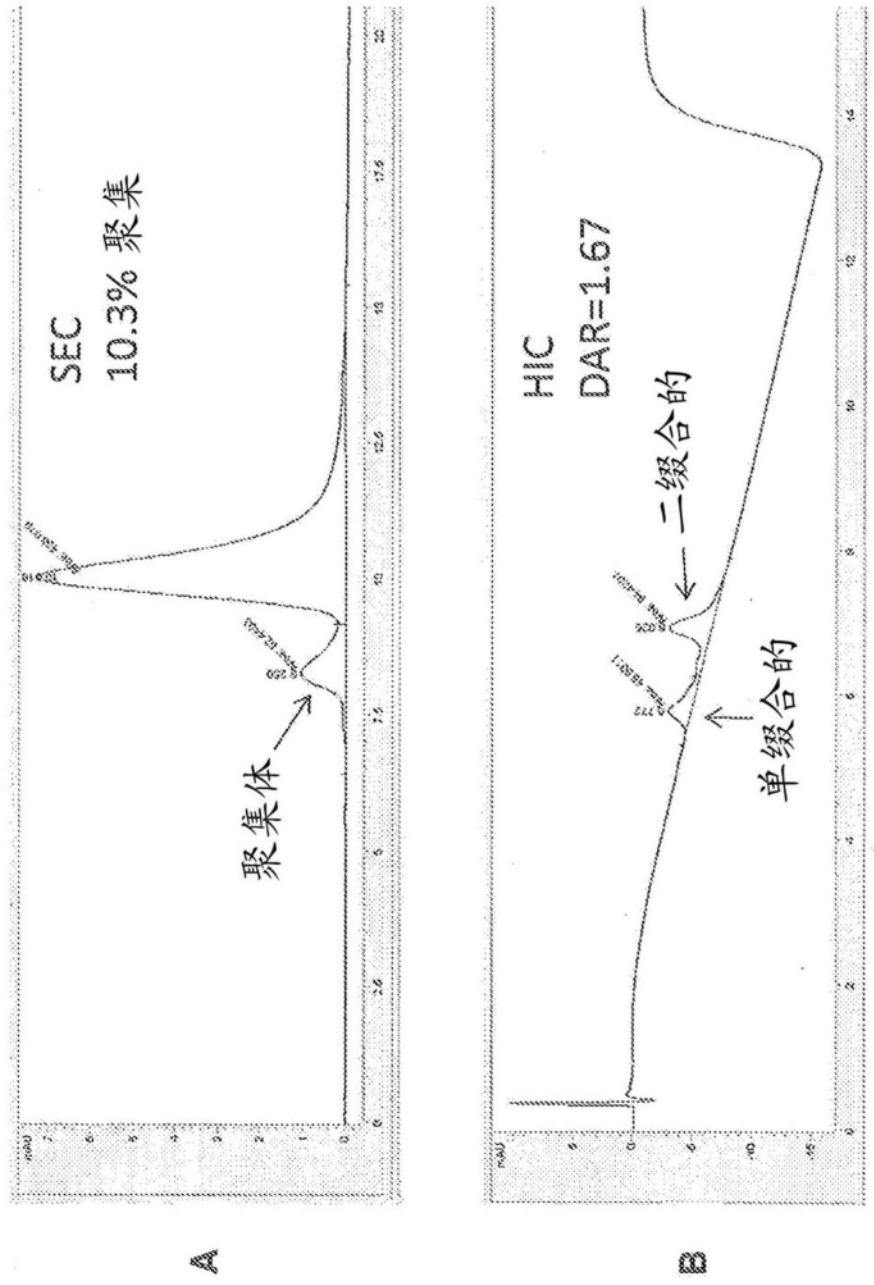


图36

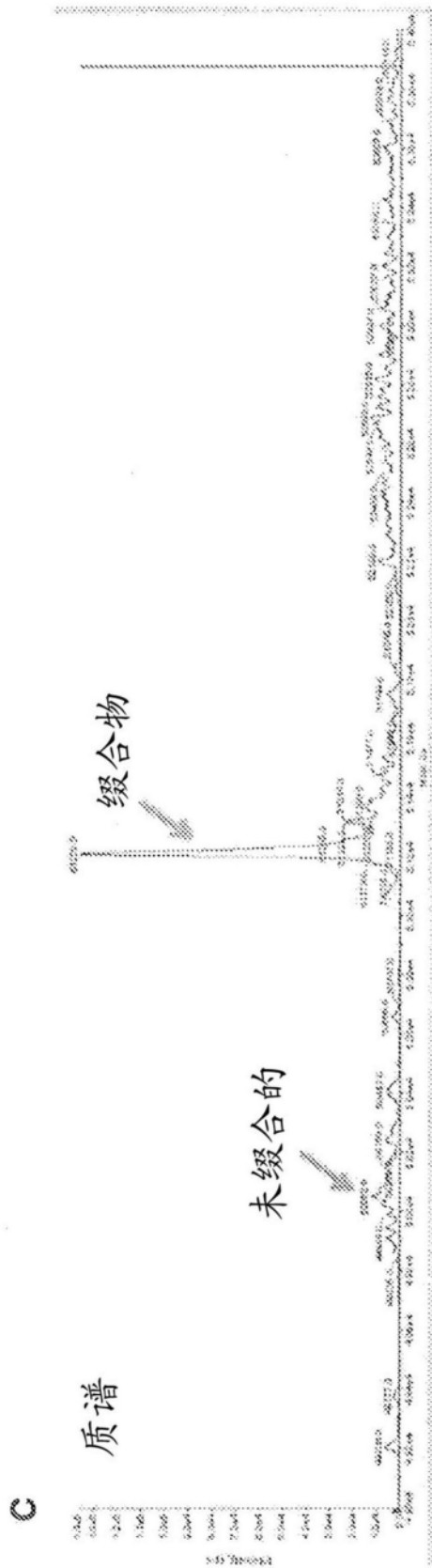


图36,续

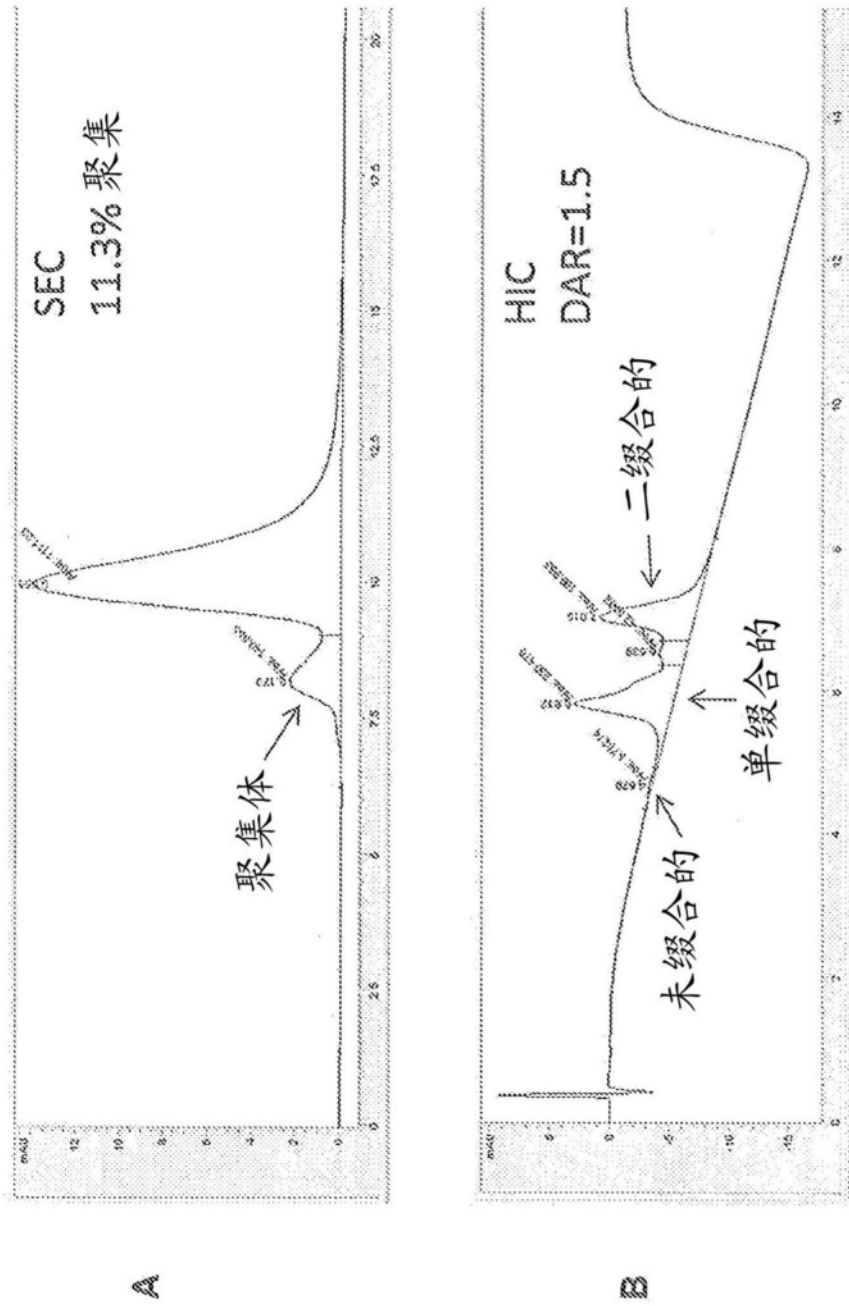


图37

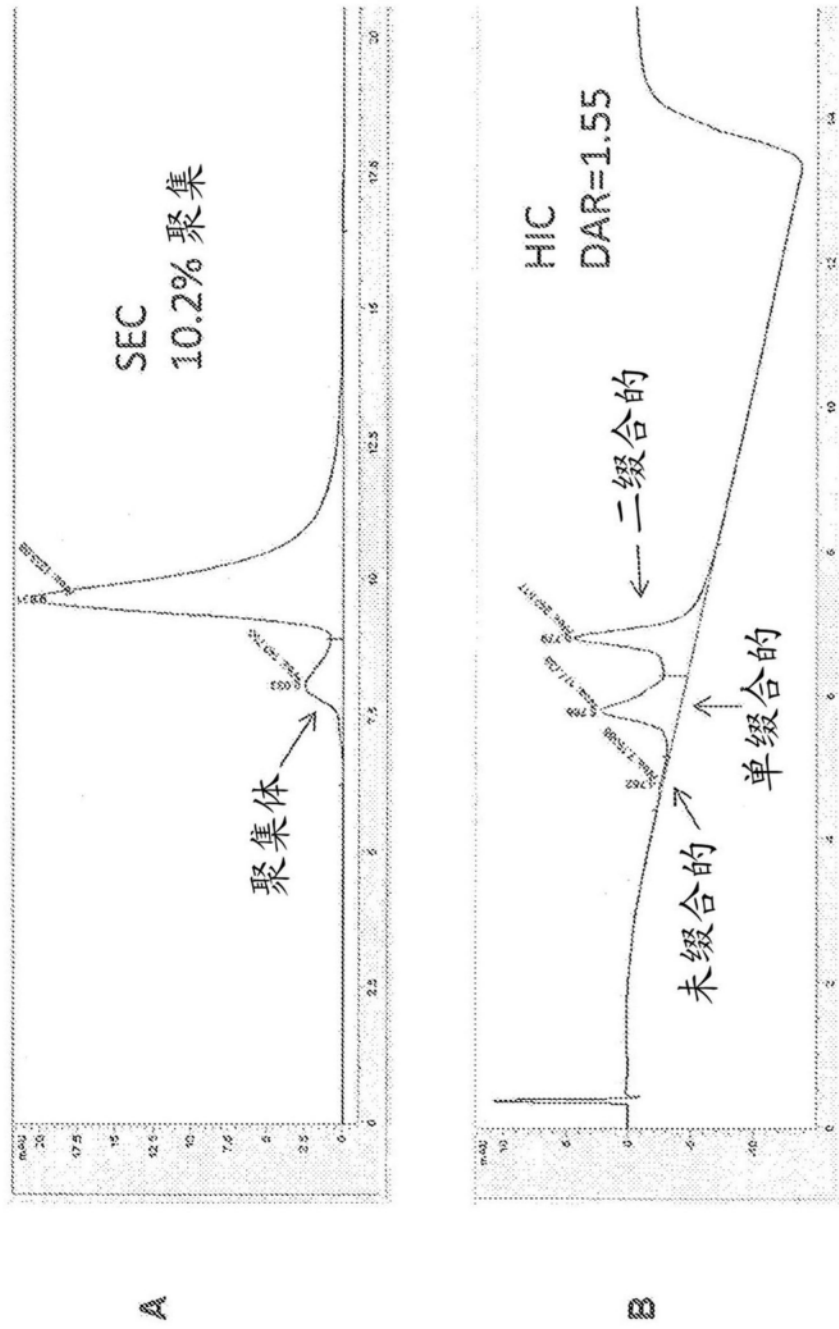


图38

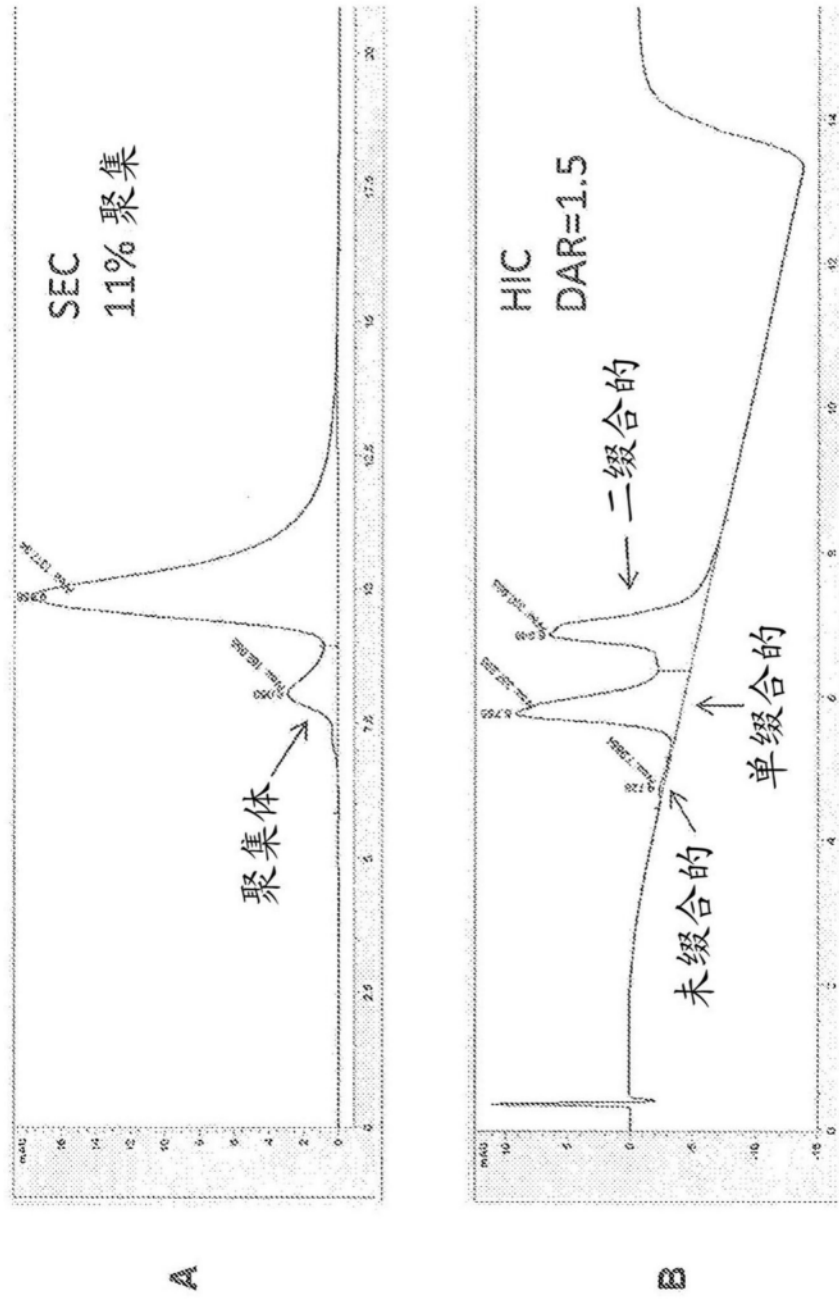


图39

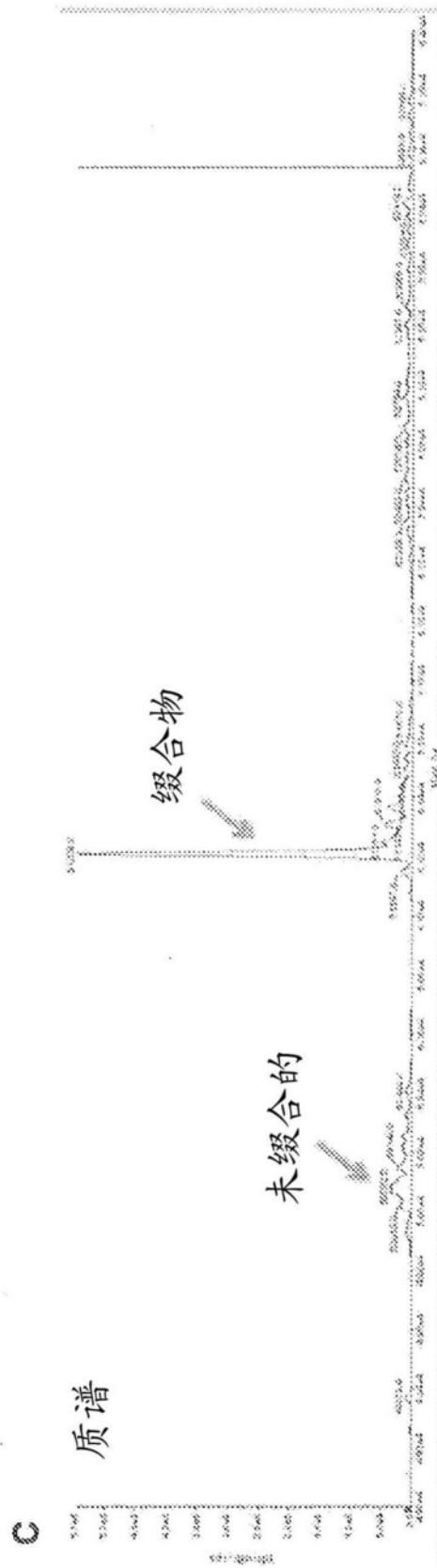


图39,续

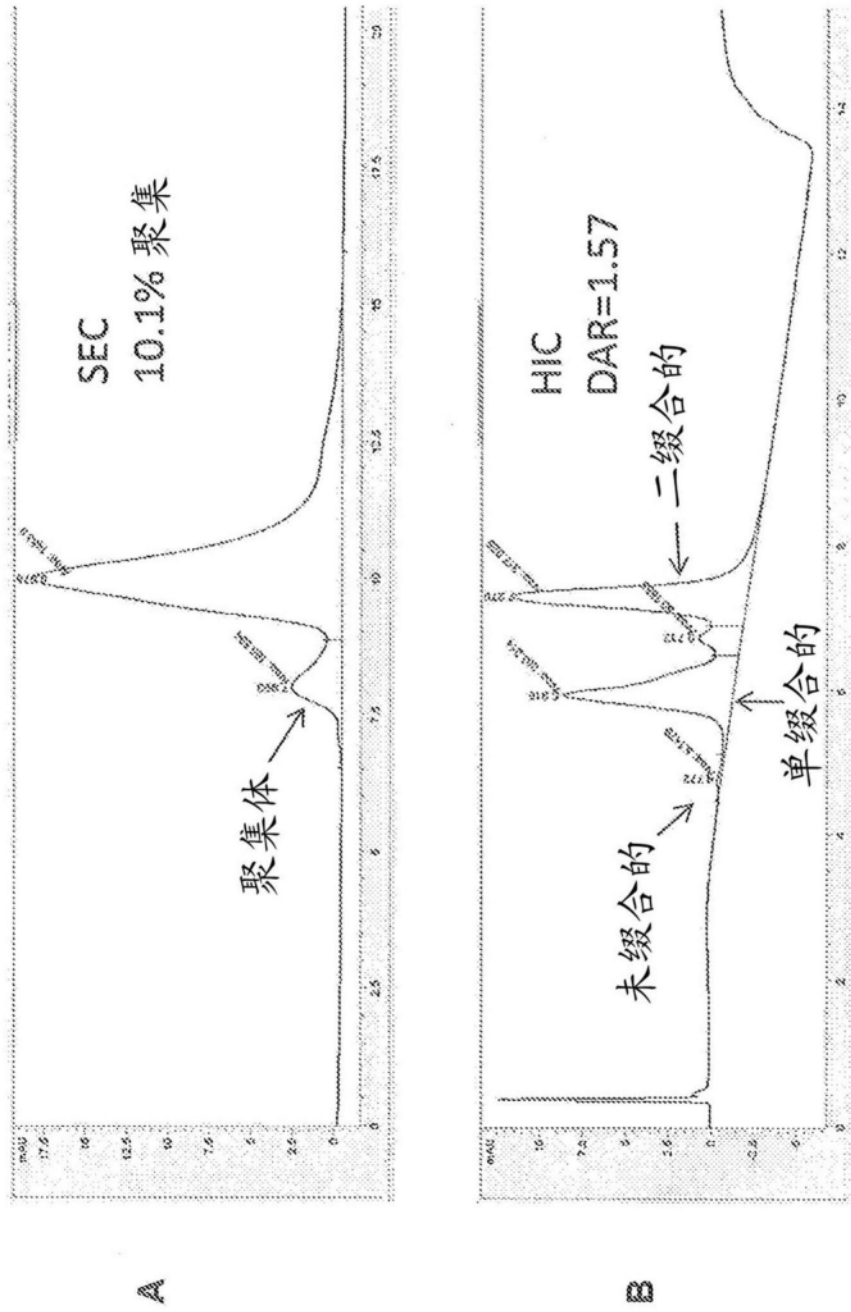


图40

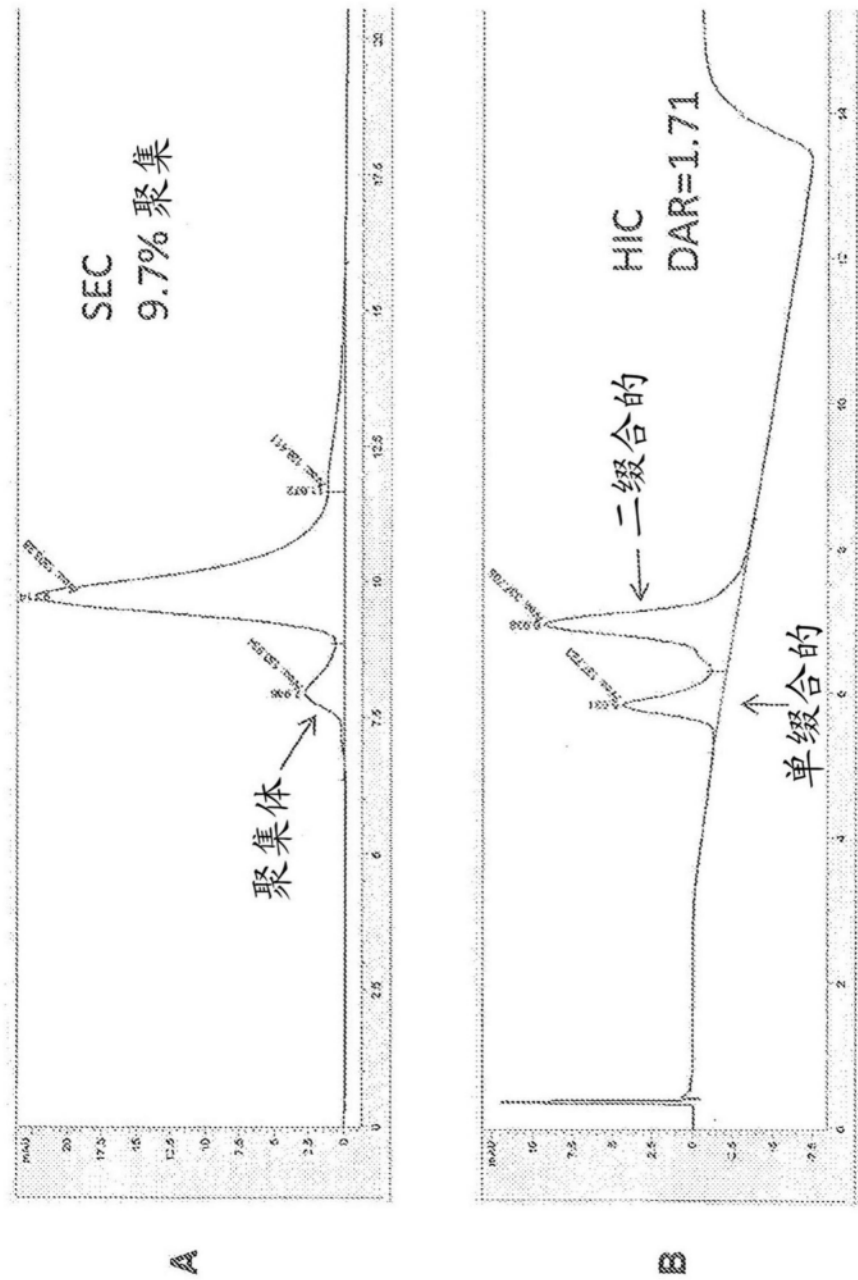


图41

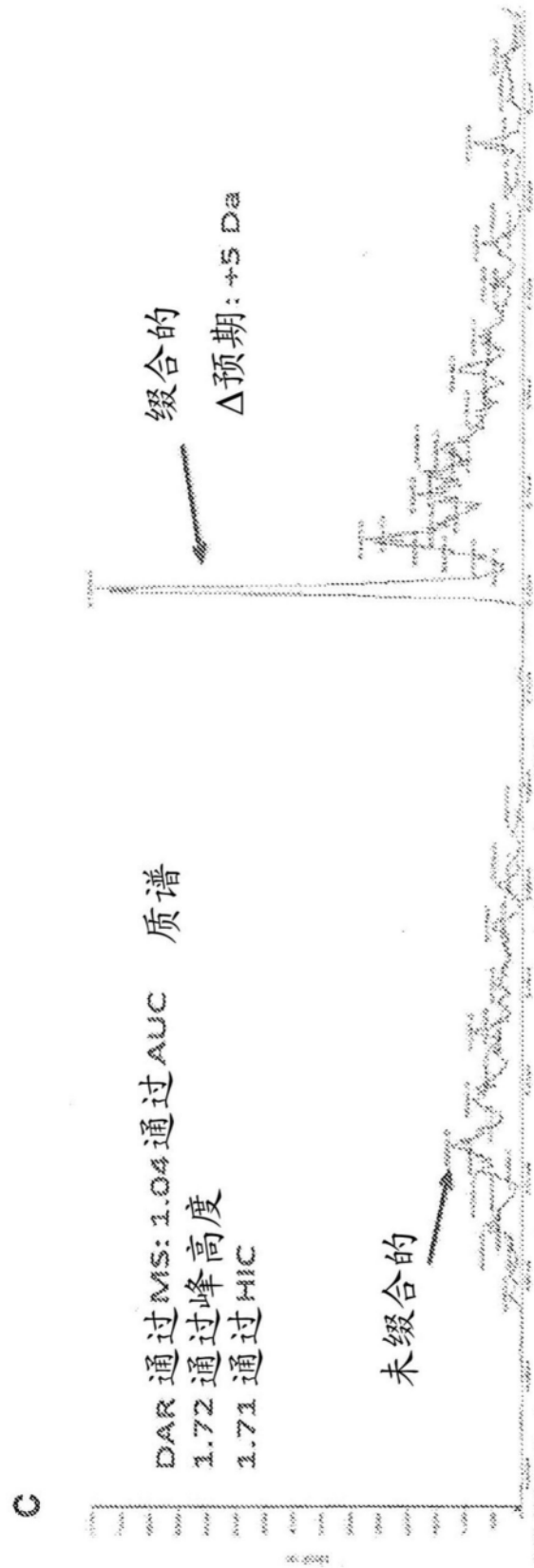


图41, 续

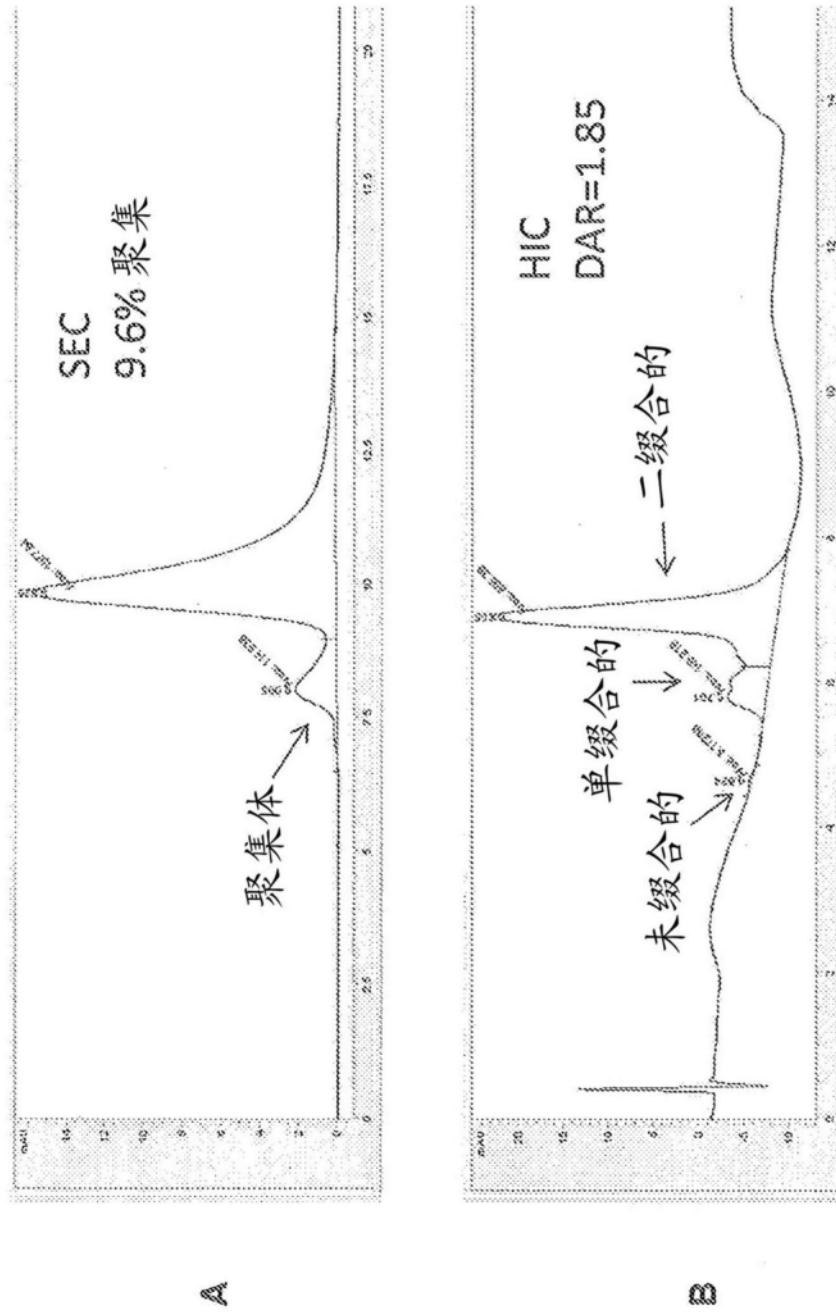


图42

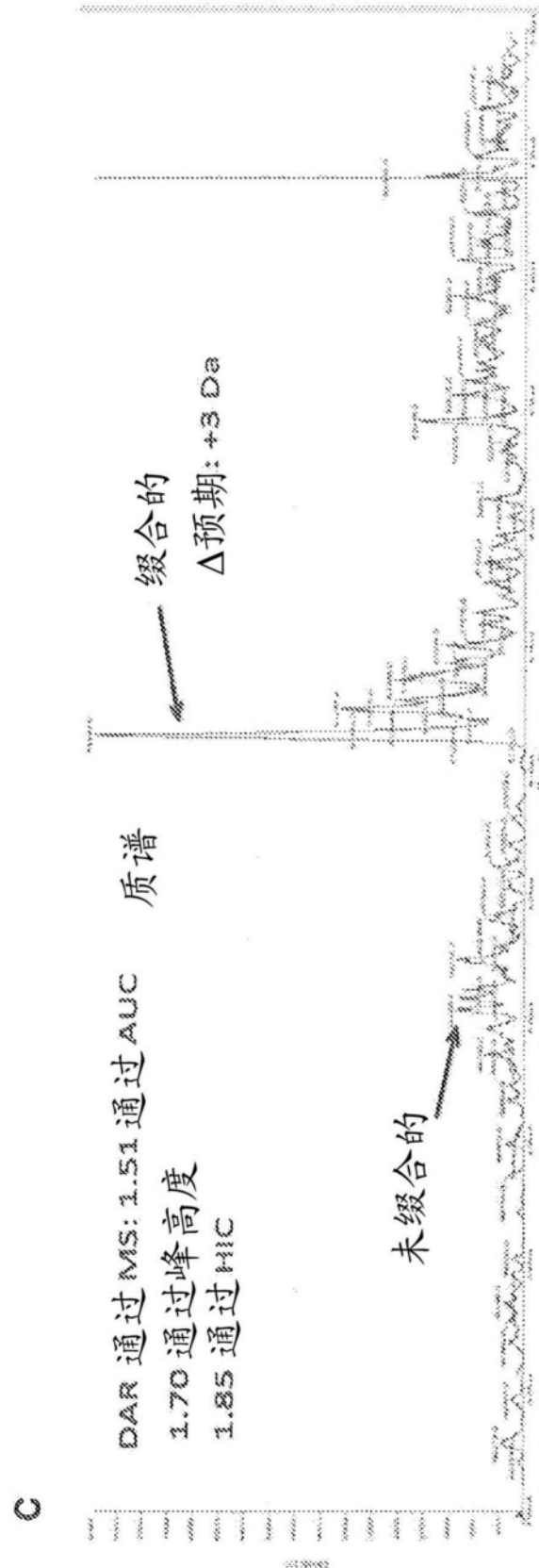


图42, 续

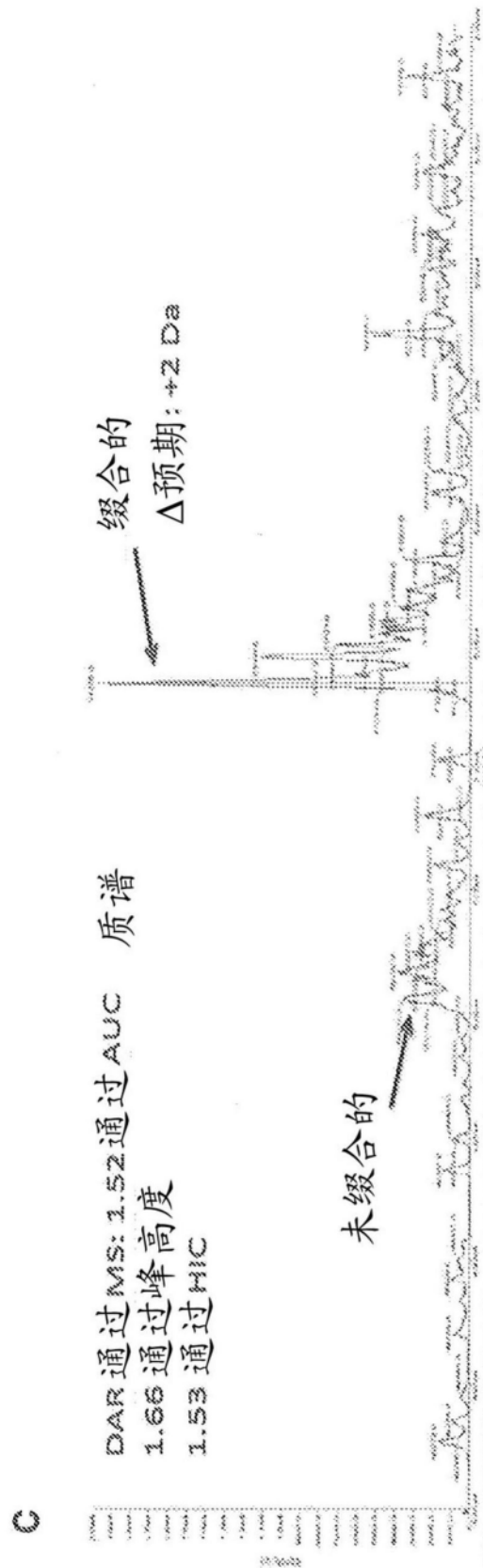


图43, 续

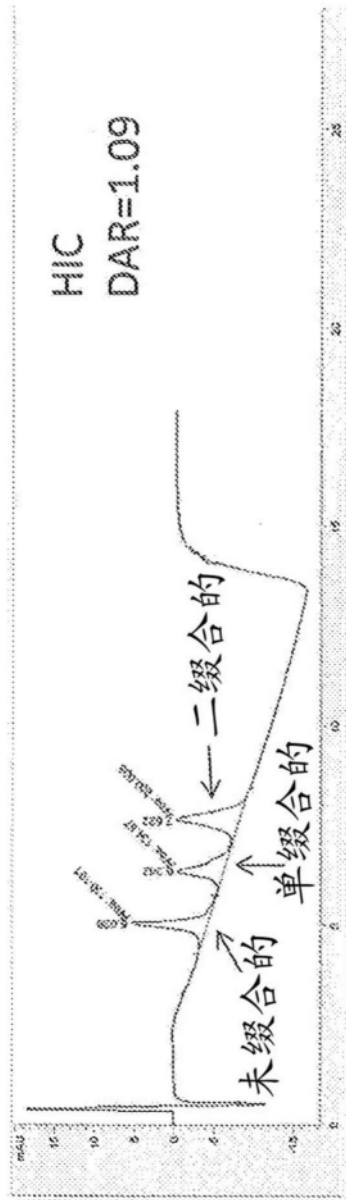


图44

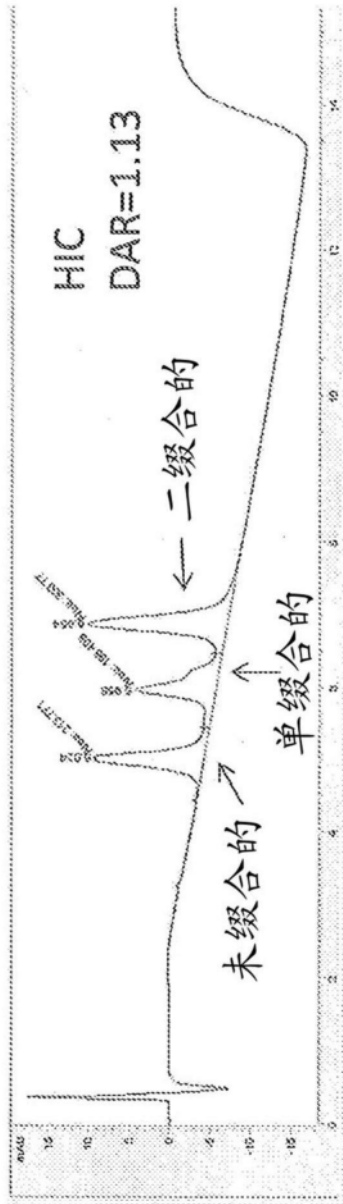
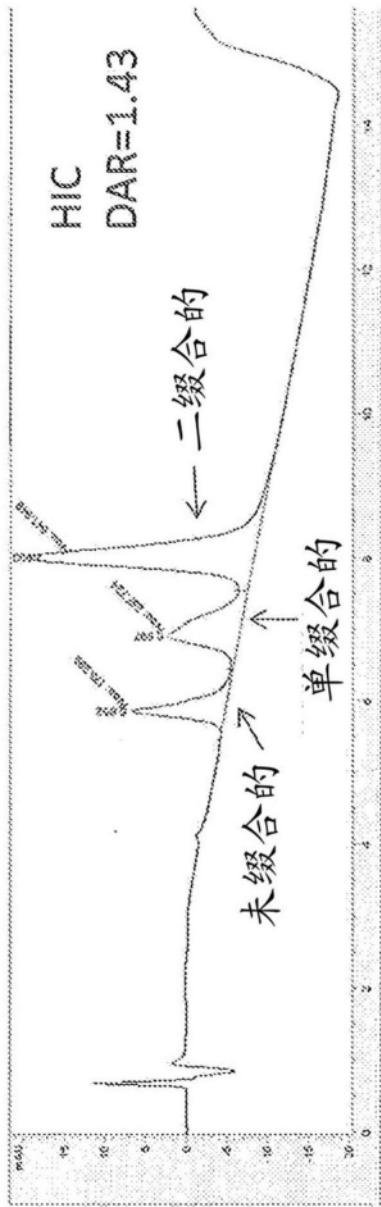
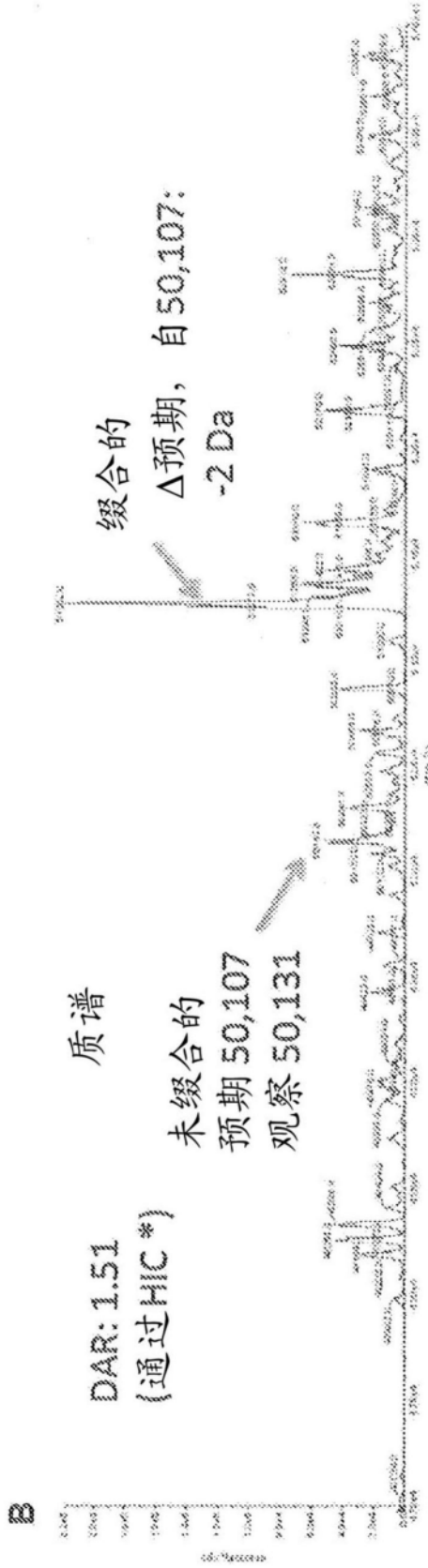


图45



A



B

图46

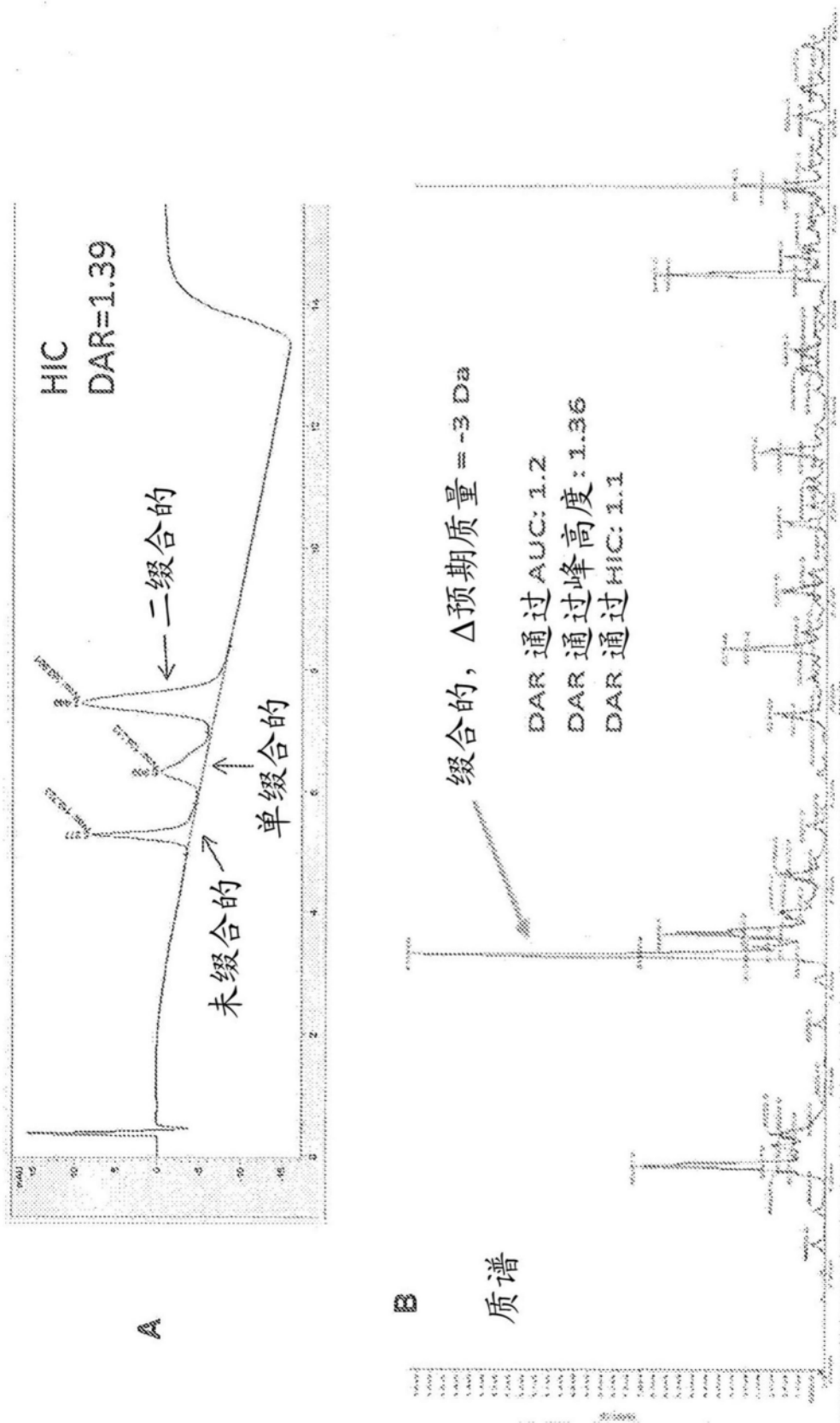


图47

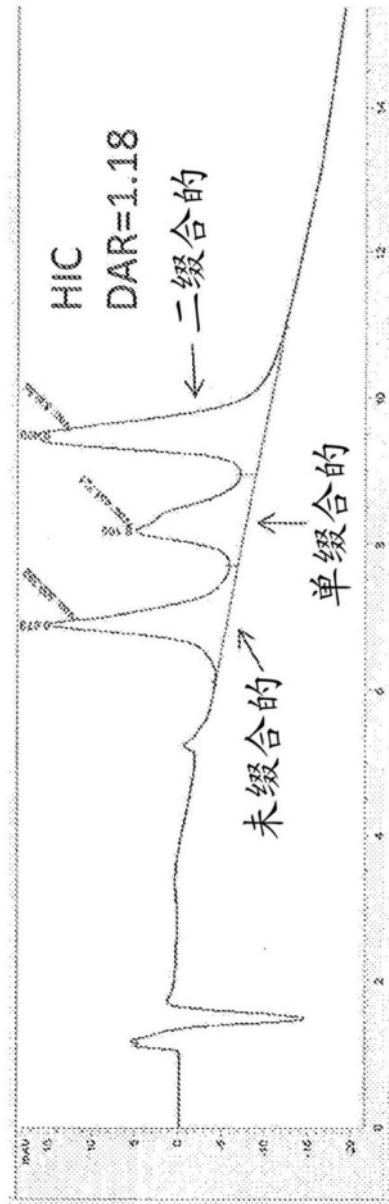


图48

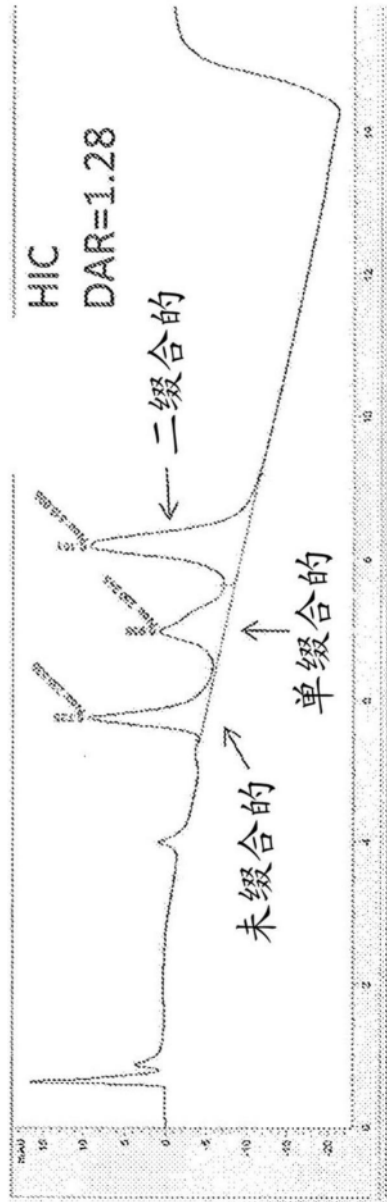


图49

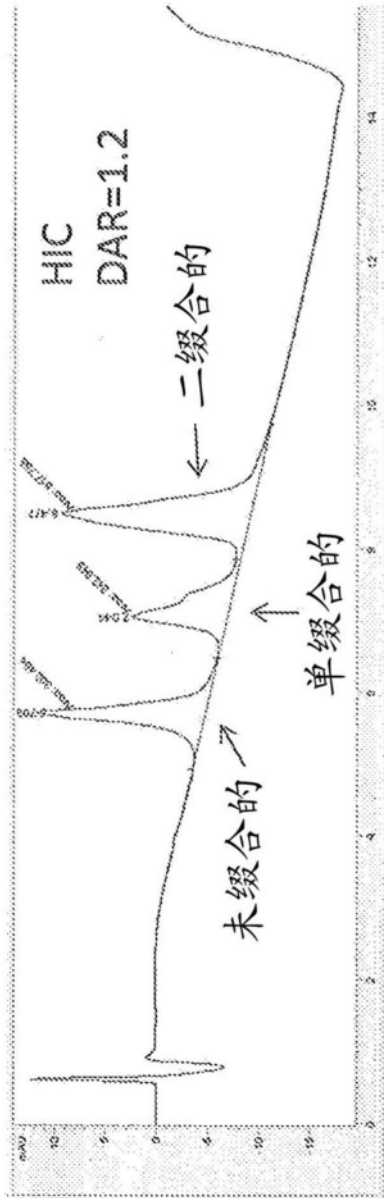


图50

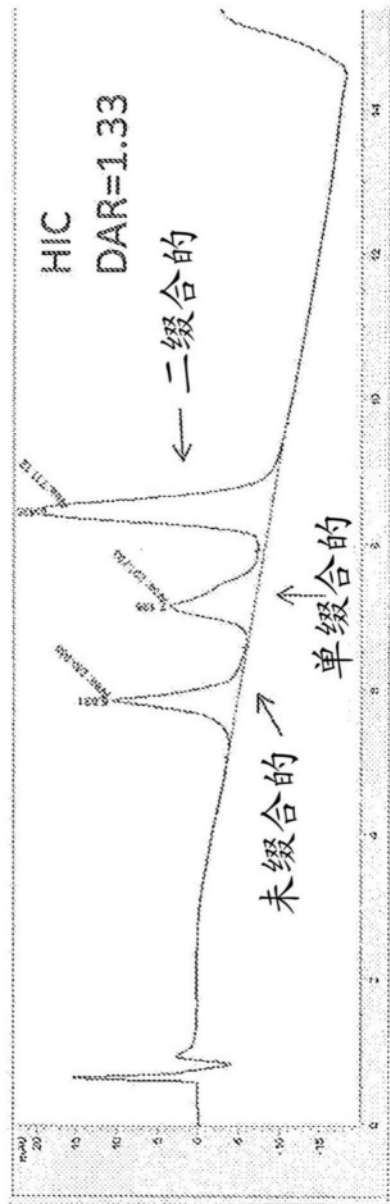


图51

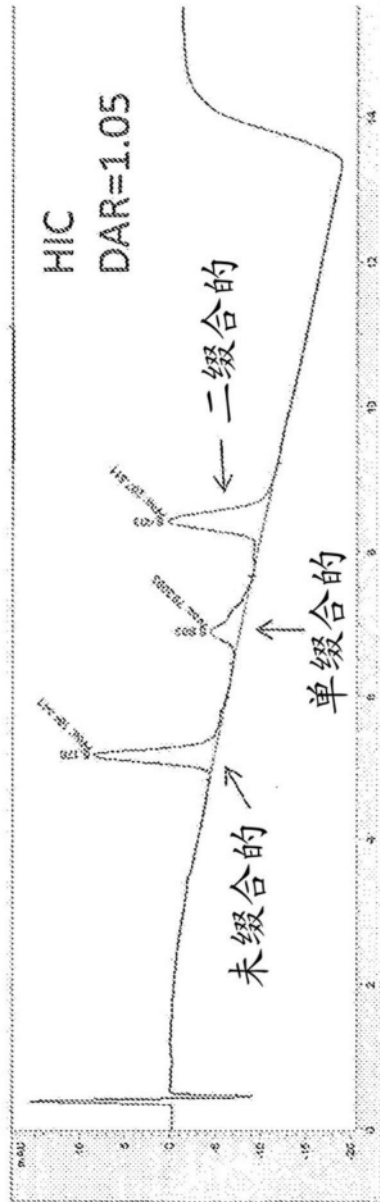


图52

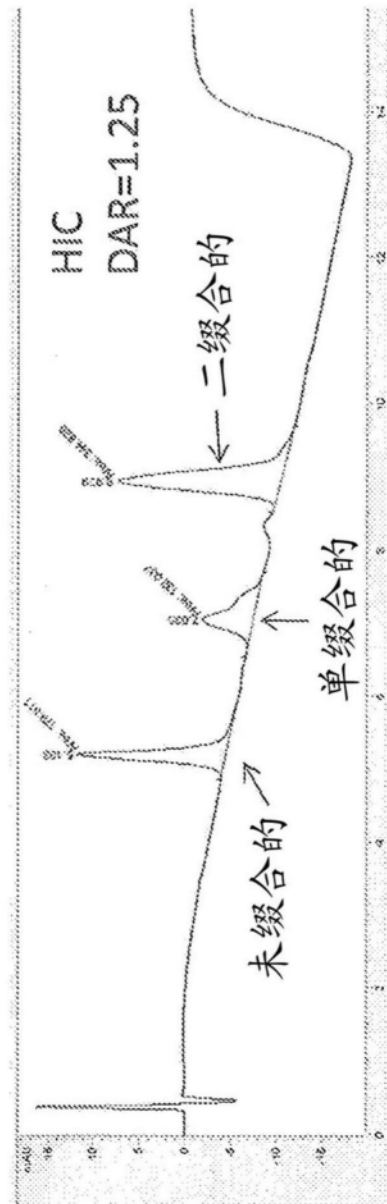


图53

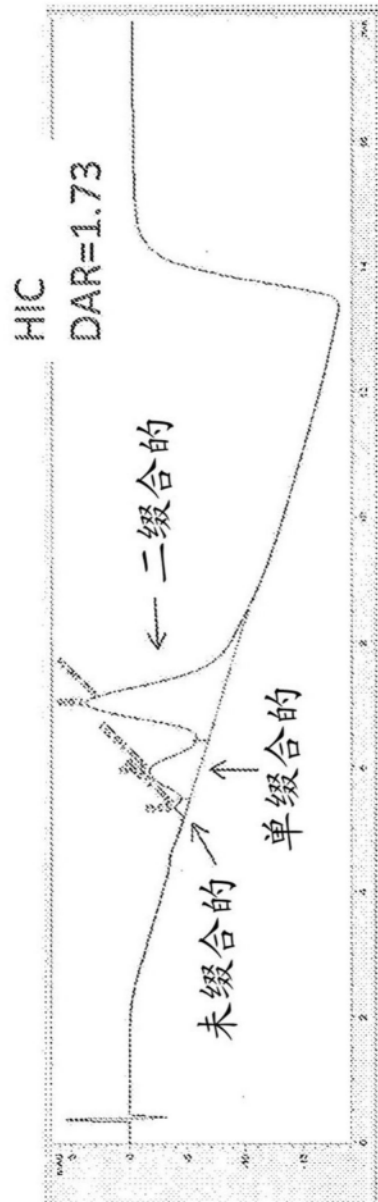


图54

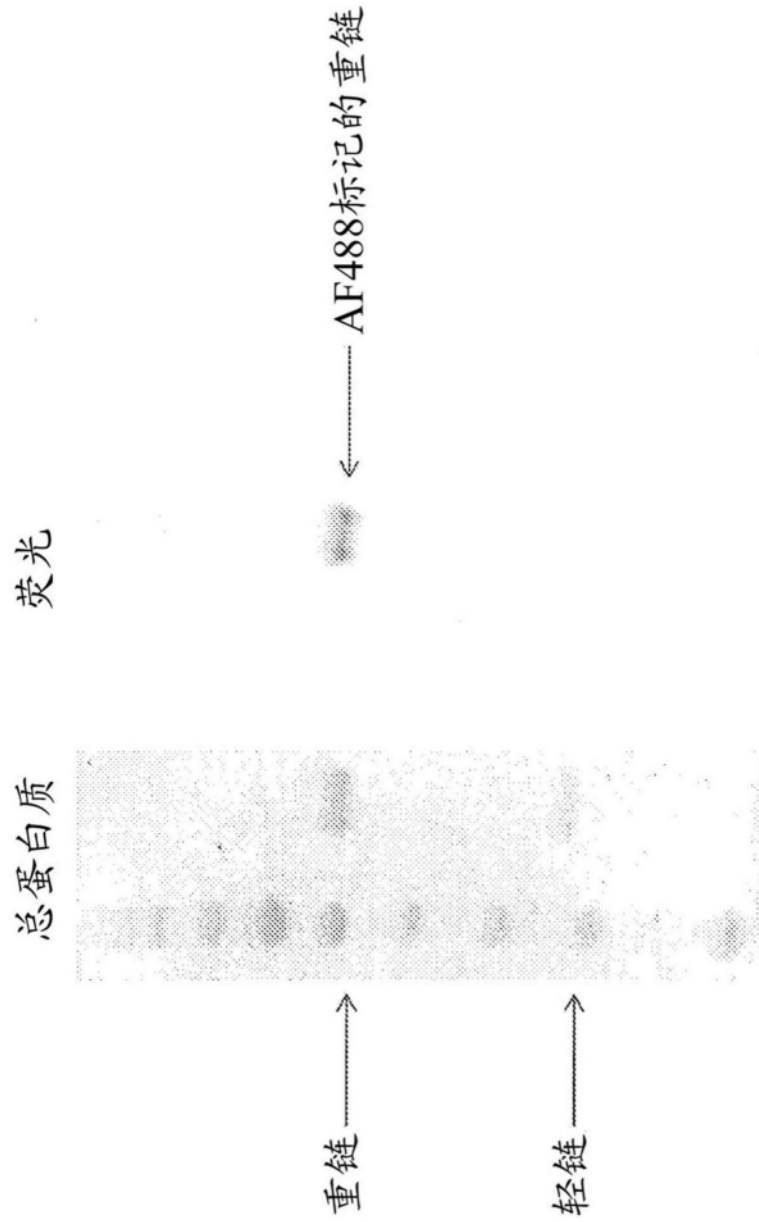


图55

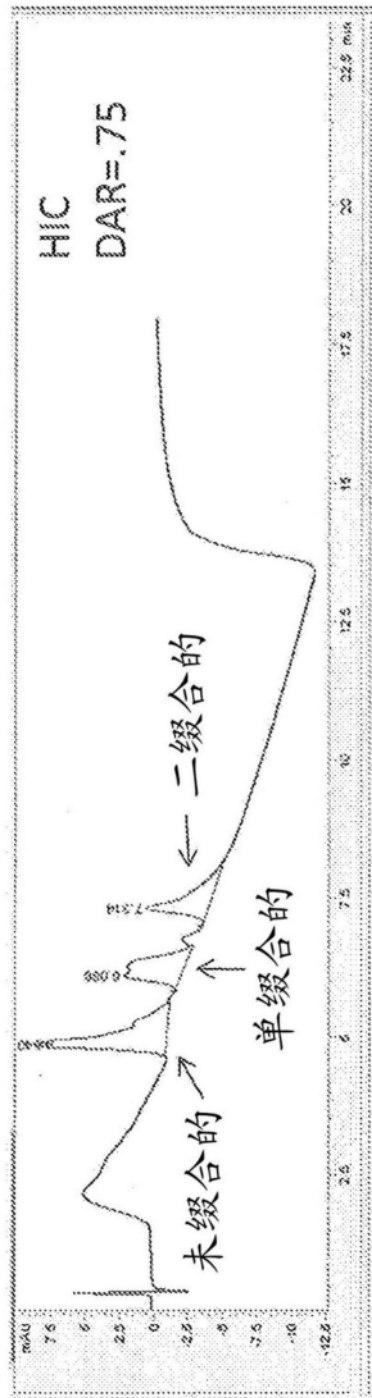


图56

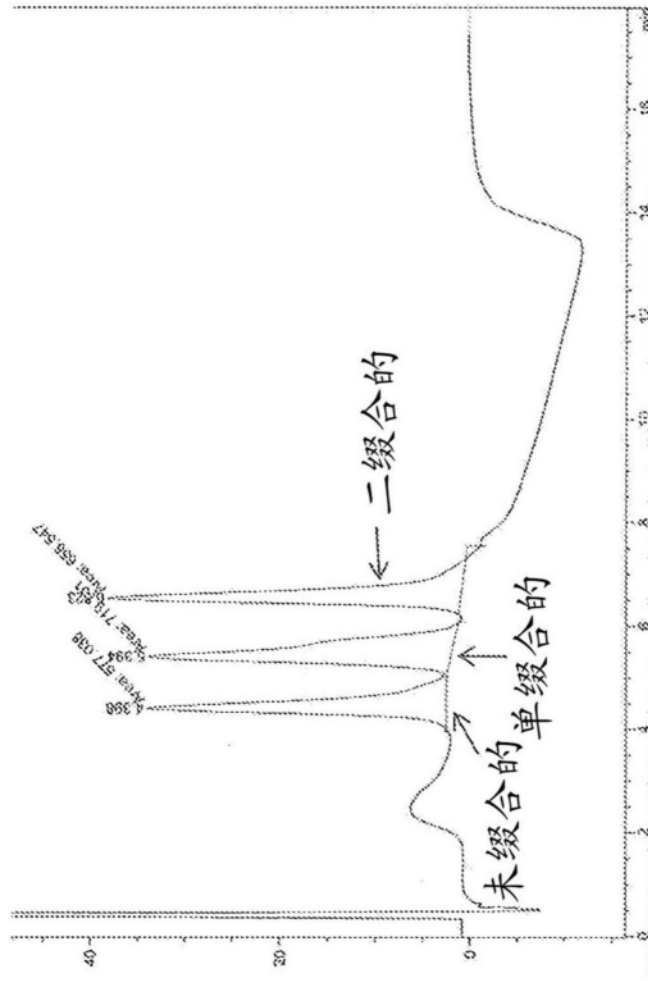
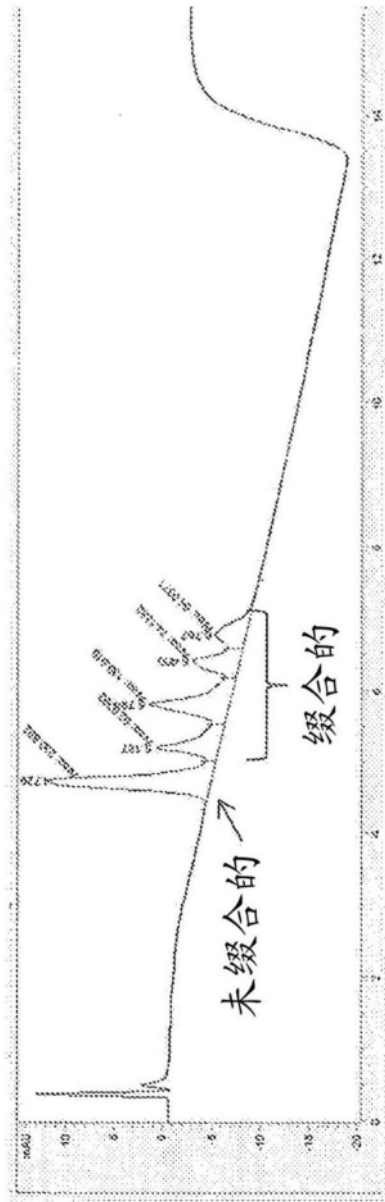


图57



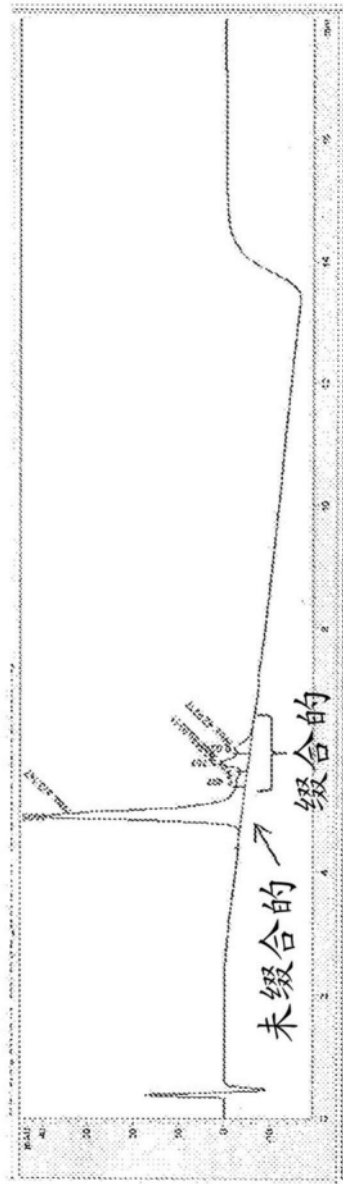


图59

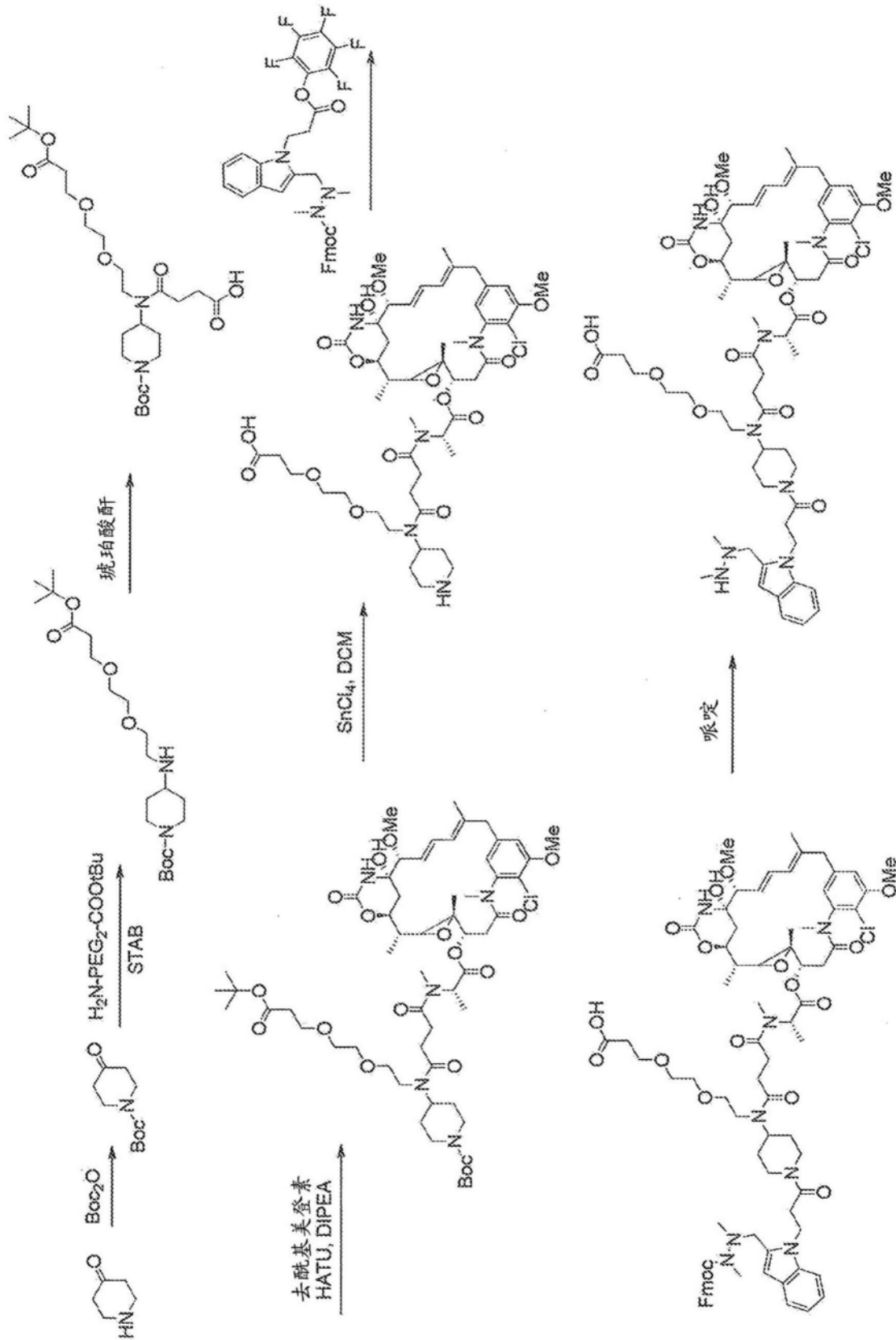


图60

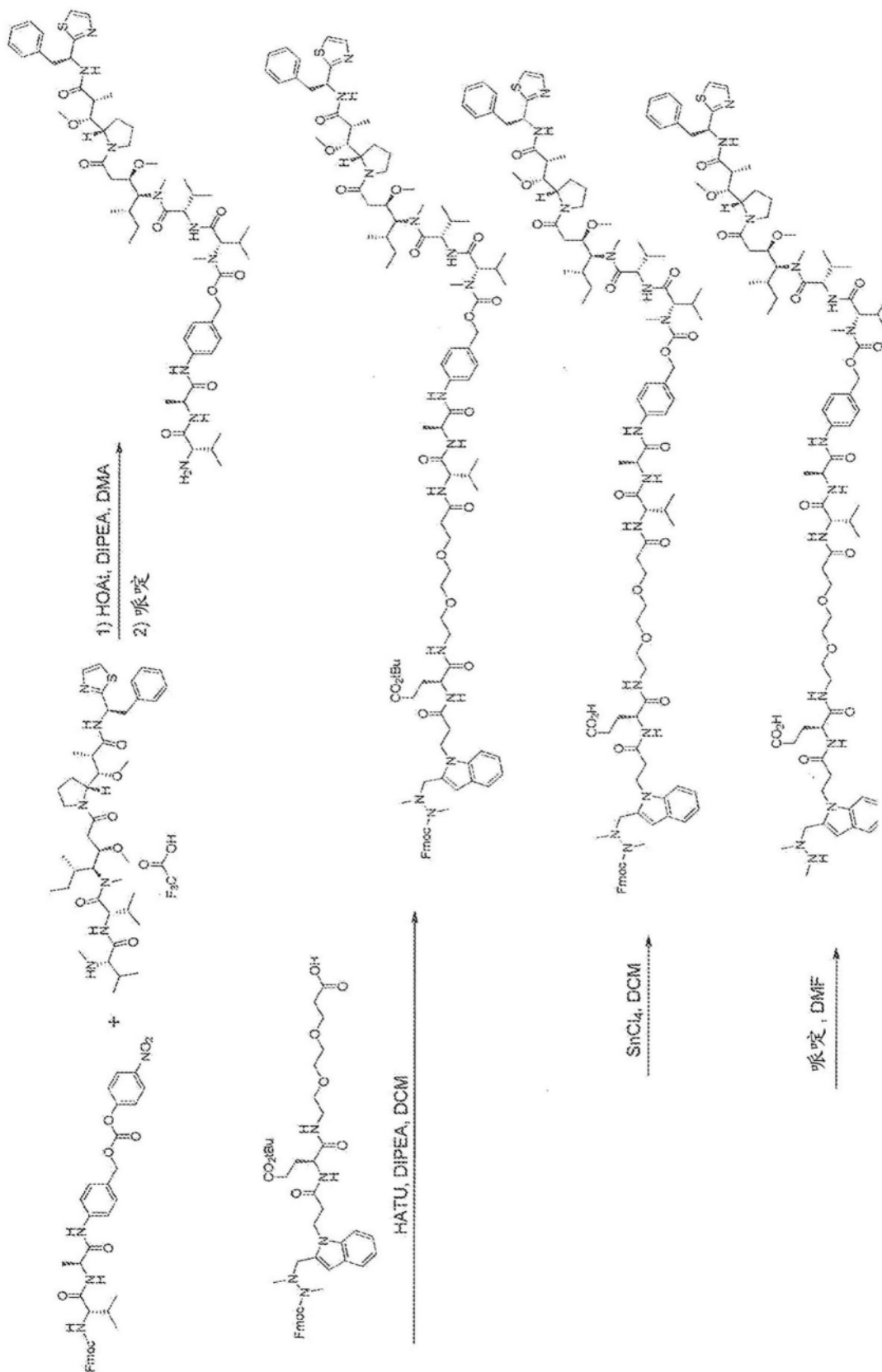


图61

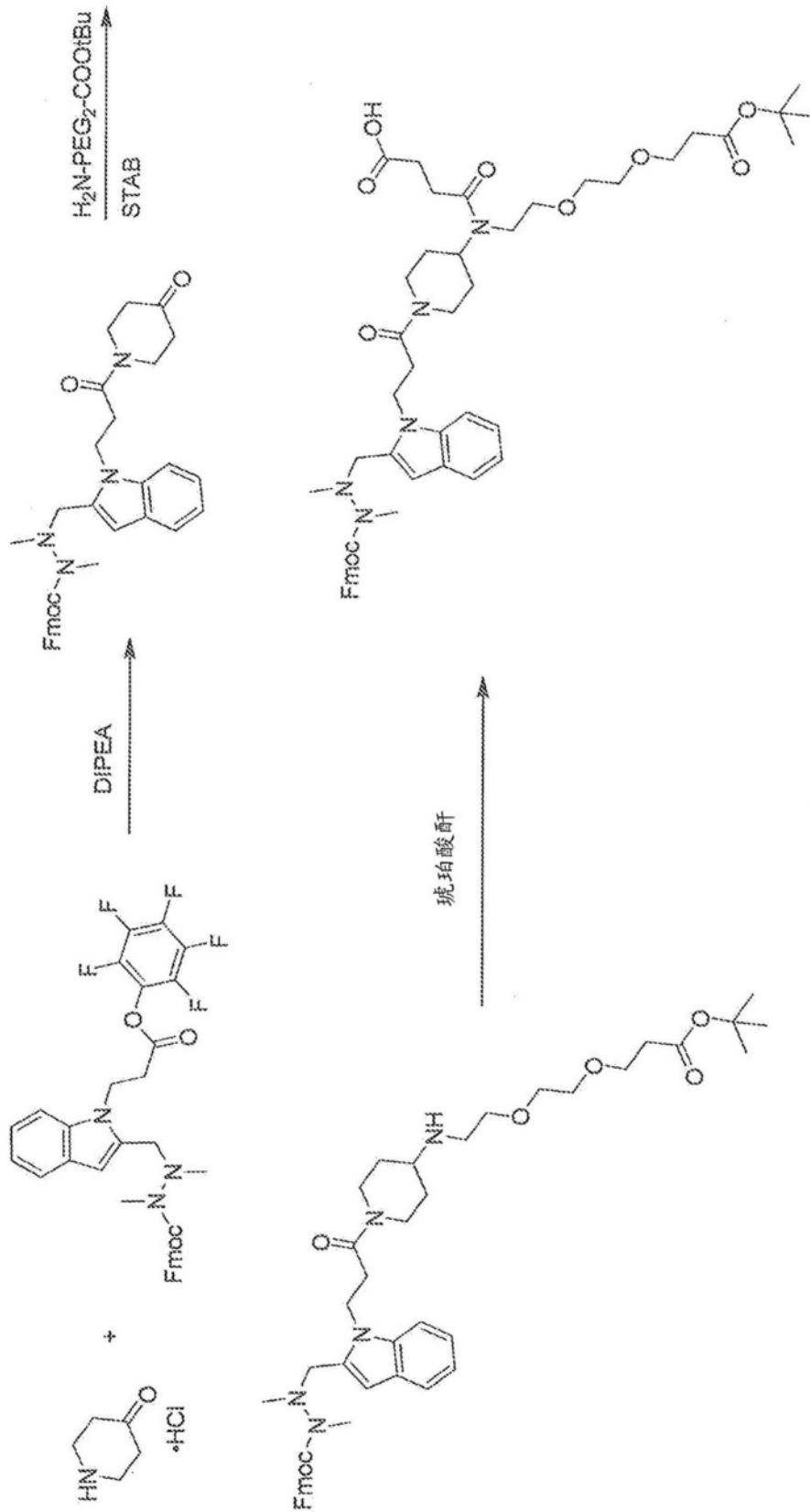


图62

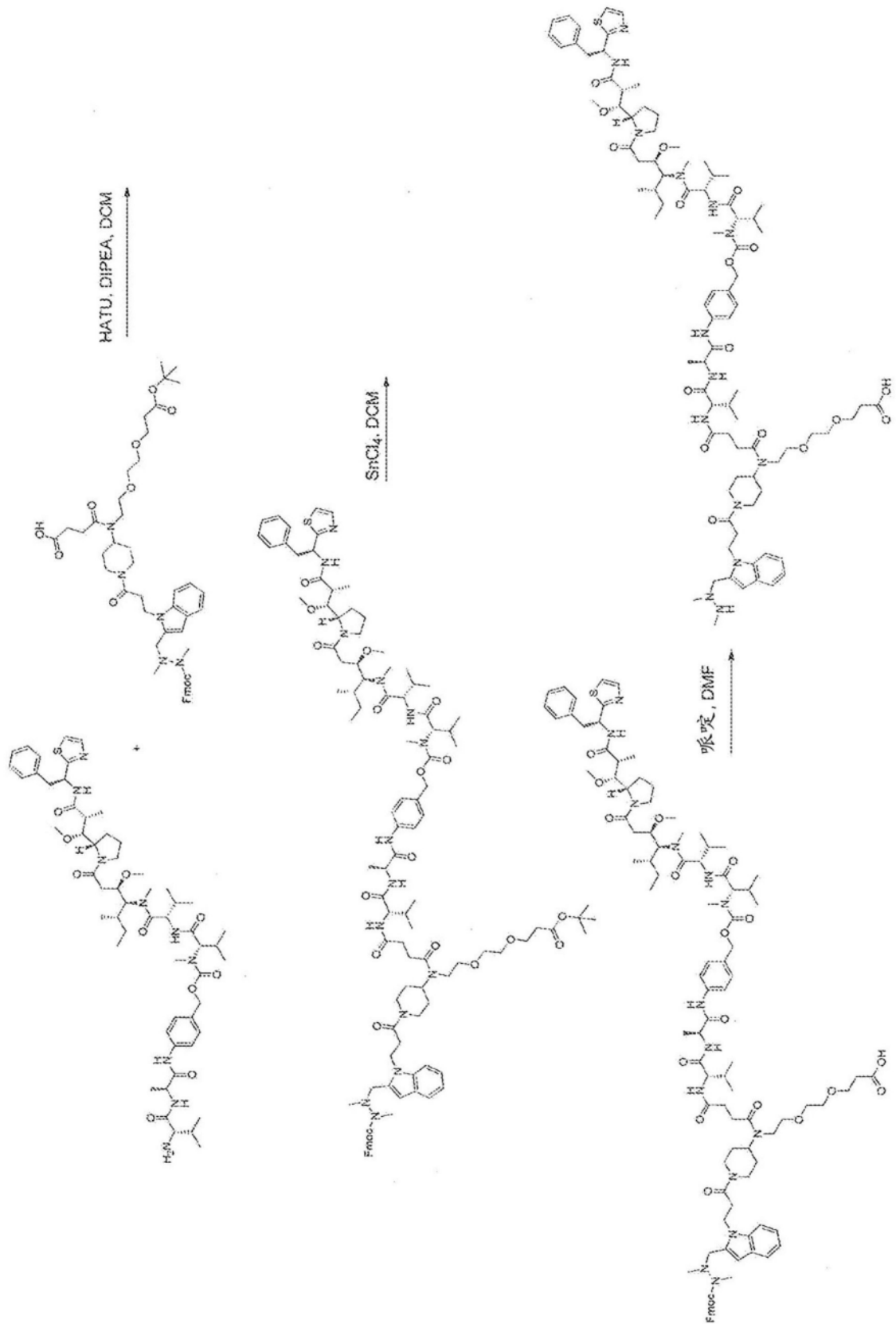


图63

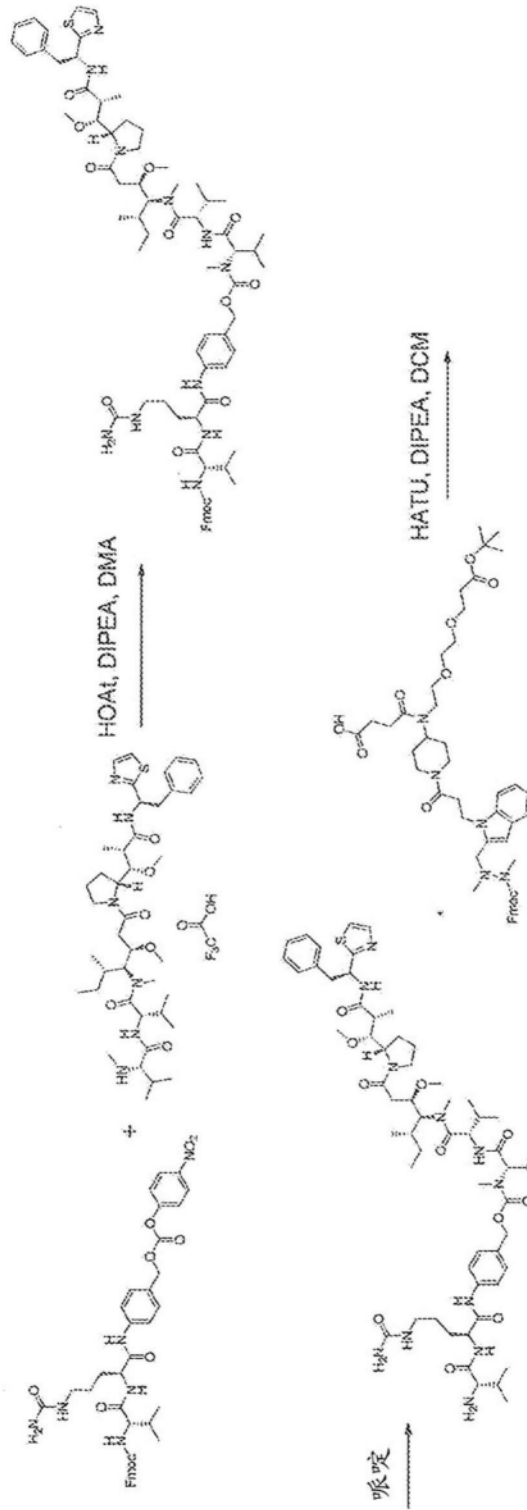


图64

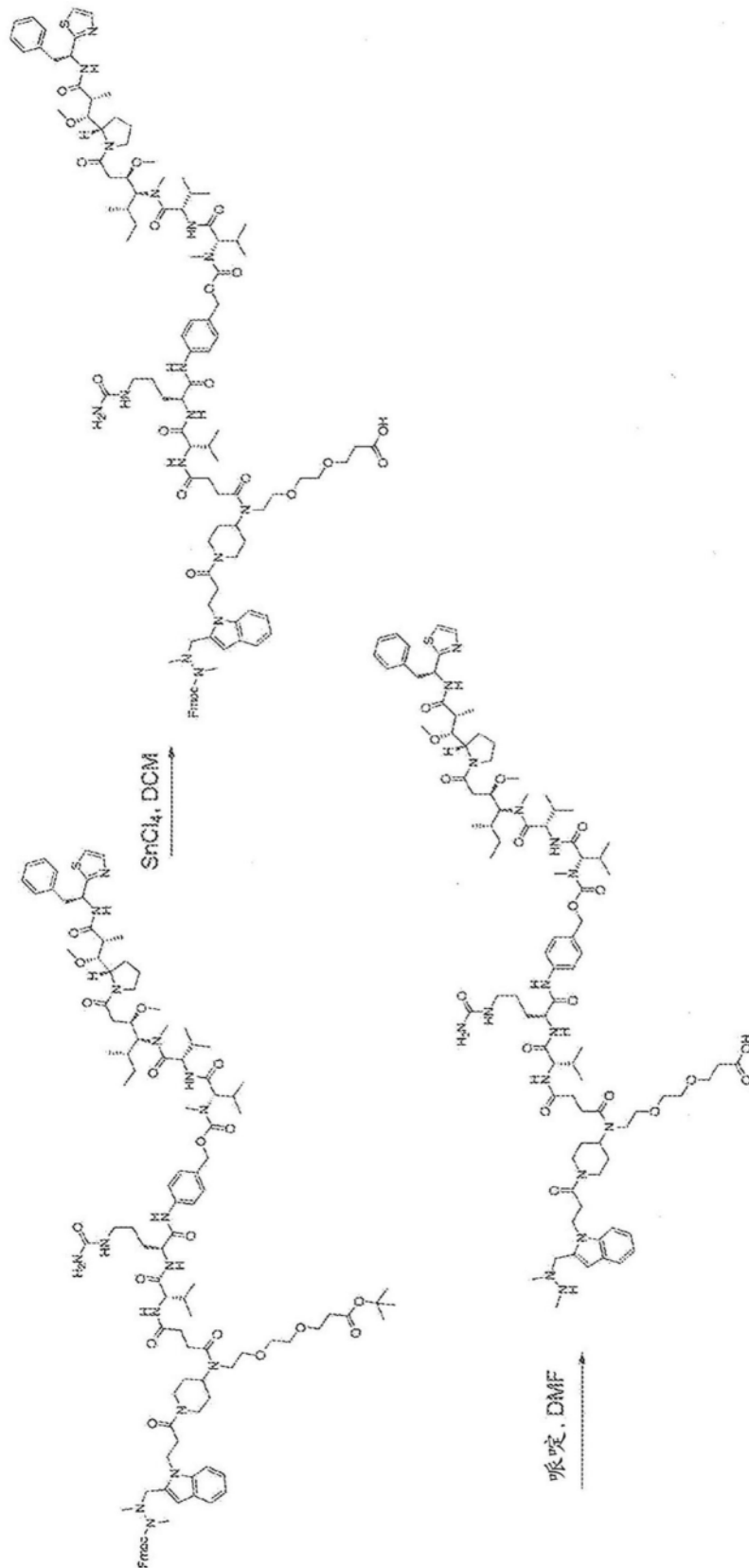


图64, 续

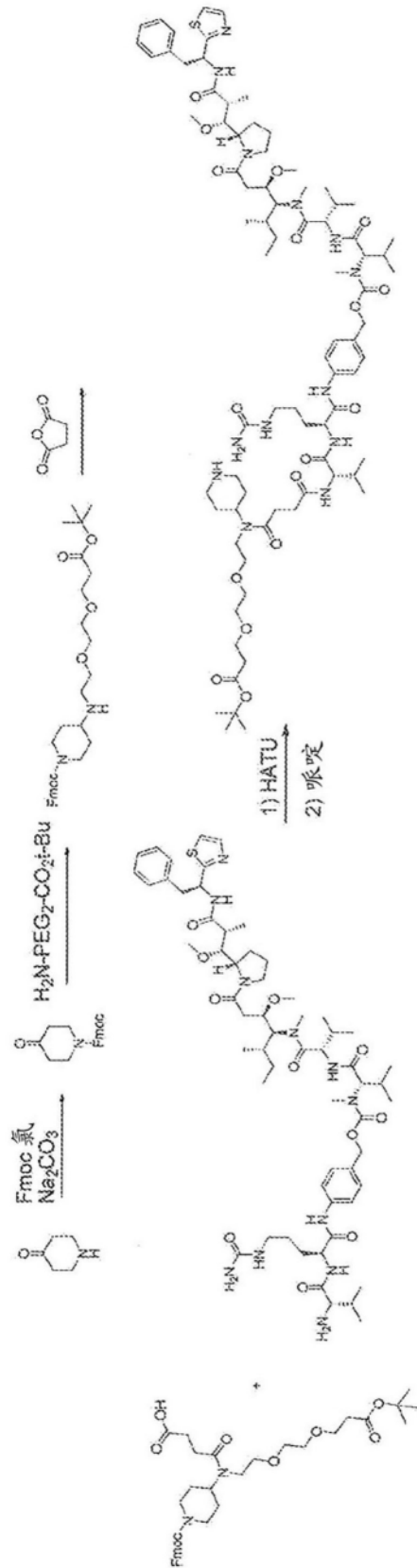


图65

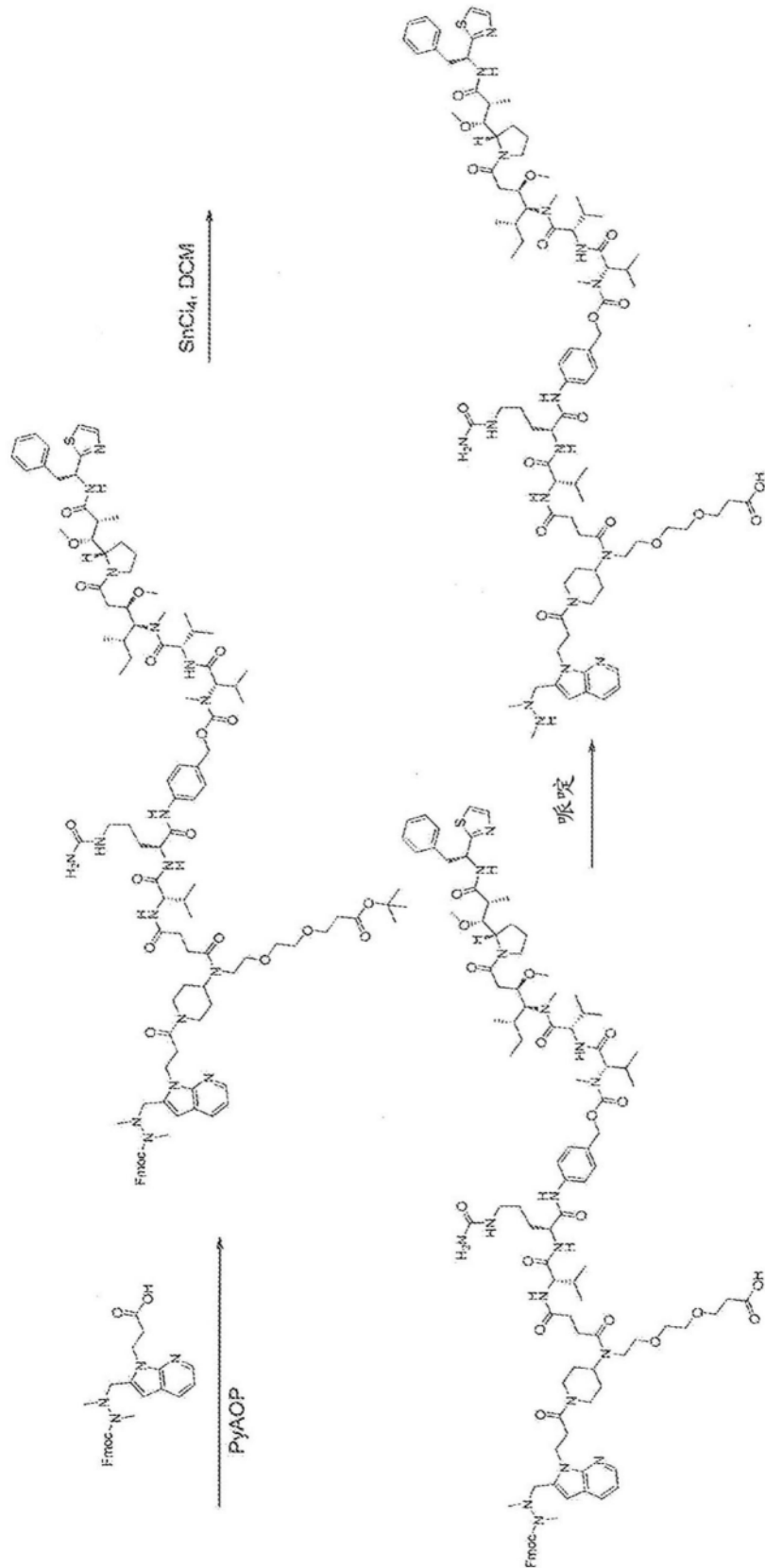


图65, 续

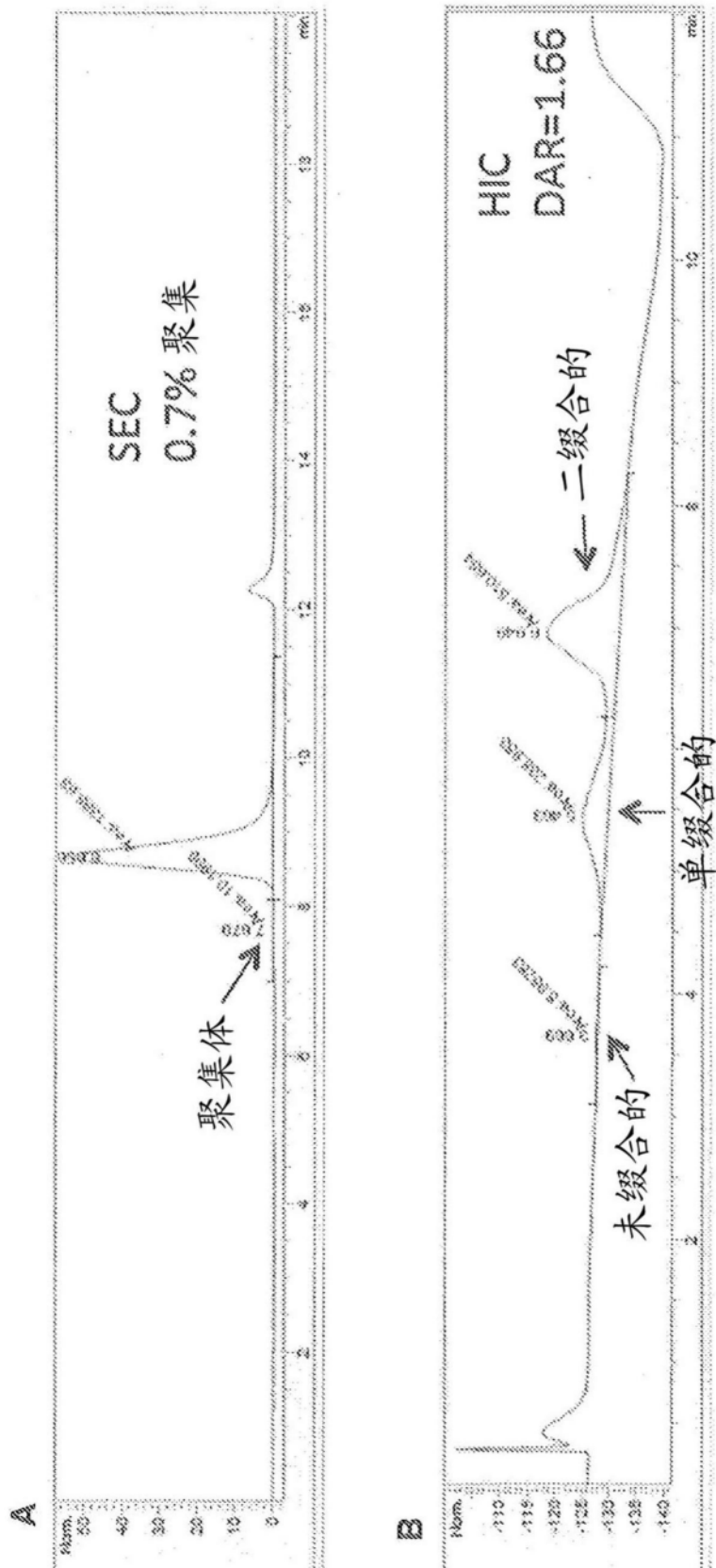


图66

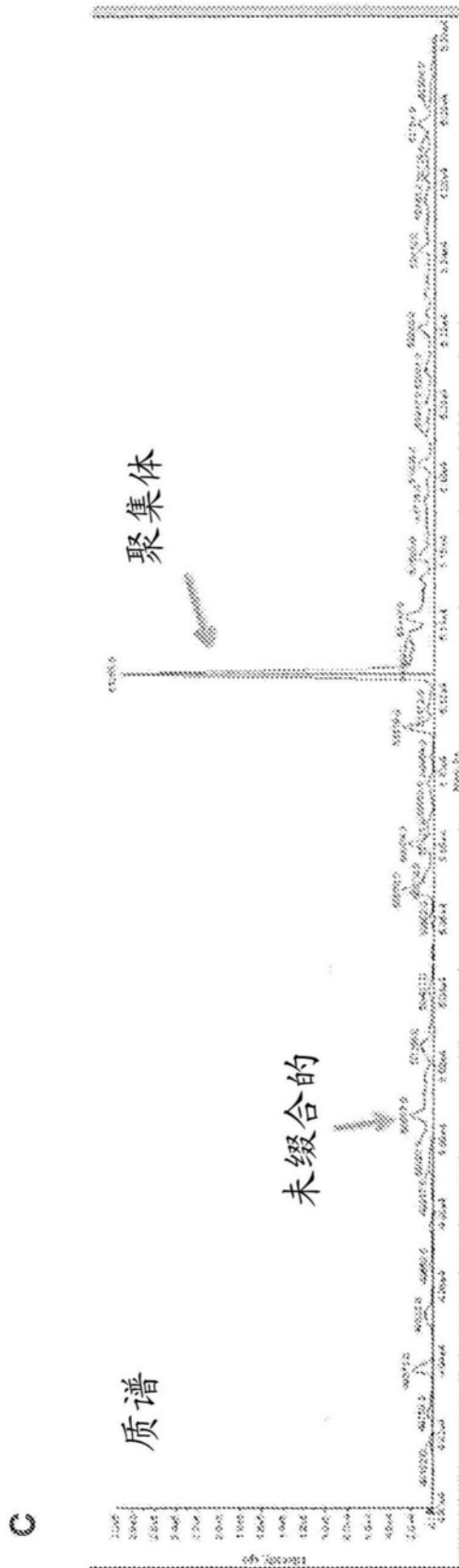


图66,续

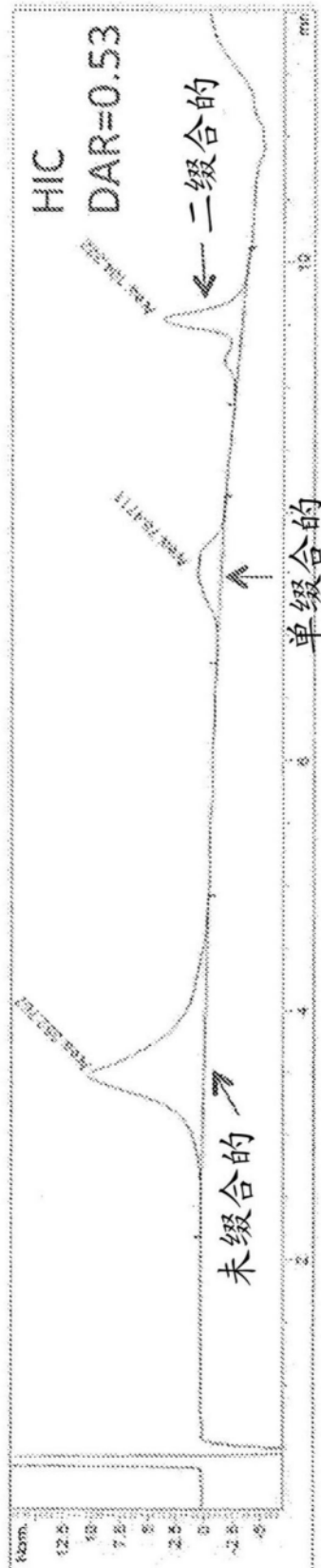


图67

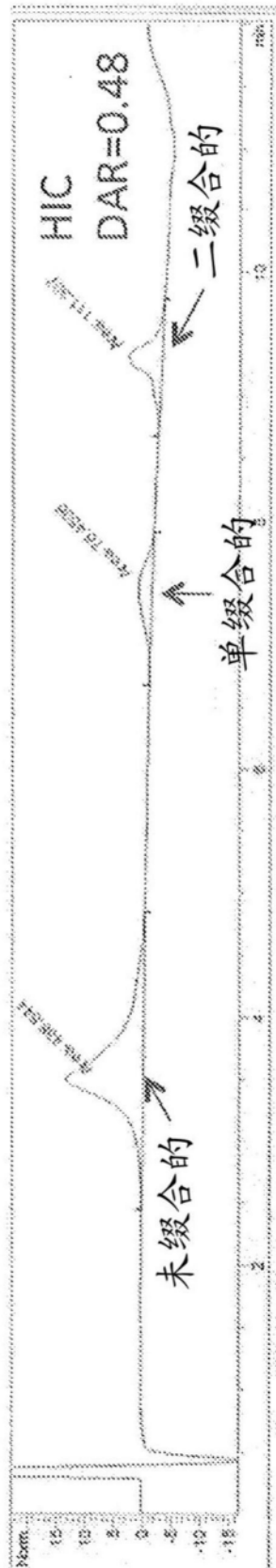


图68

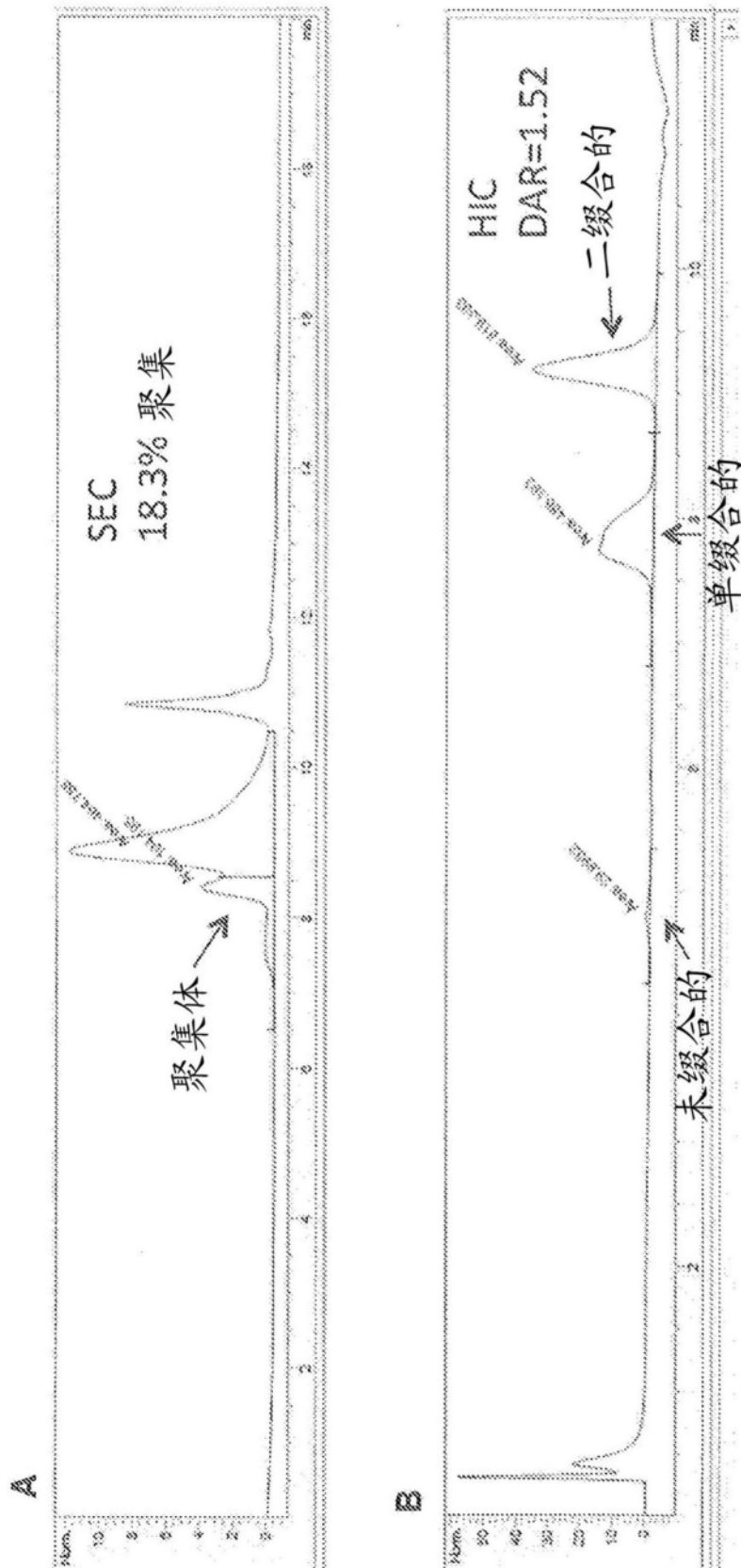


图69

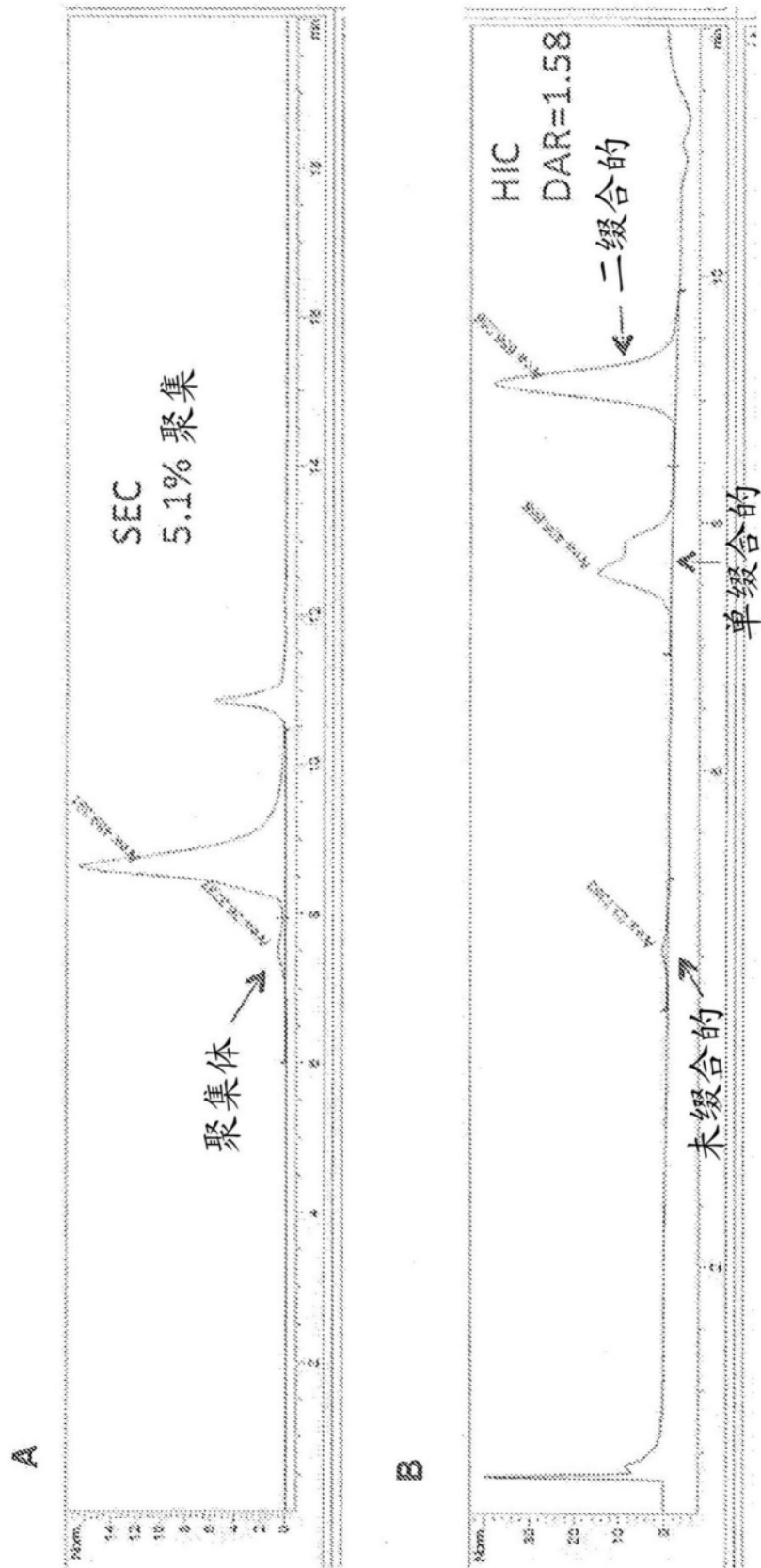


图70

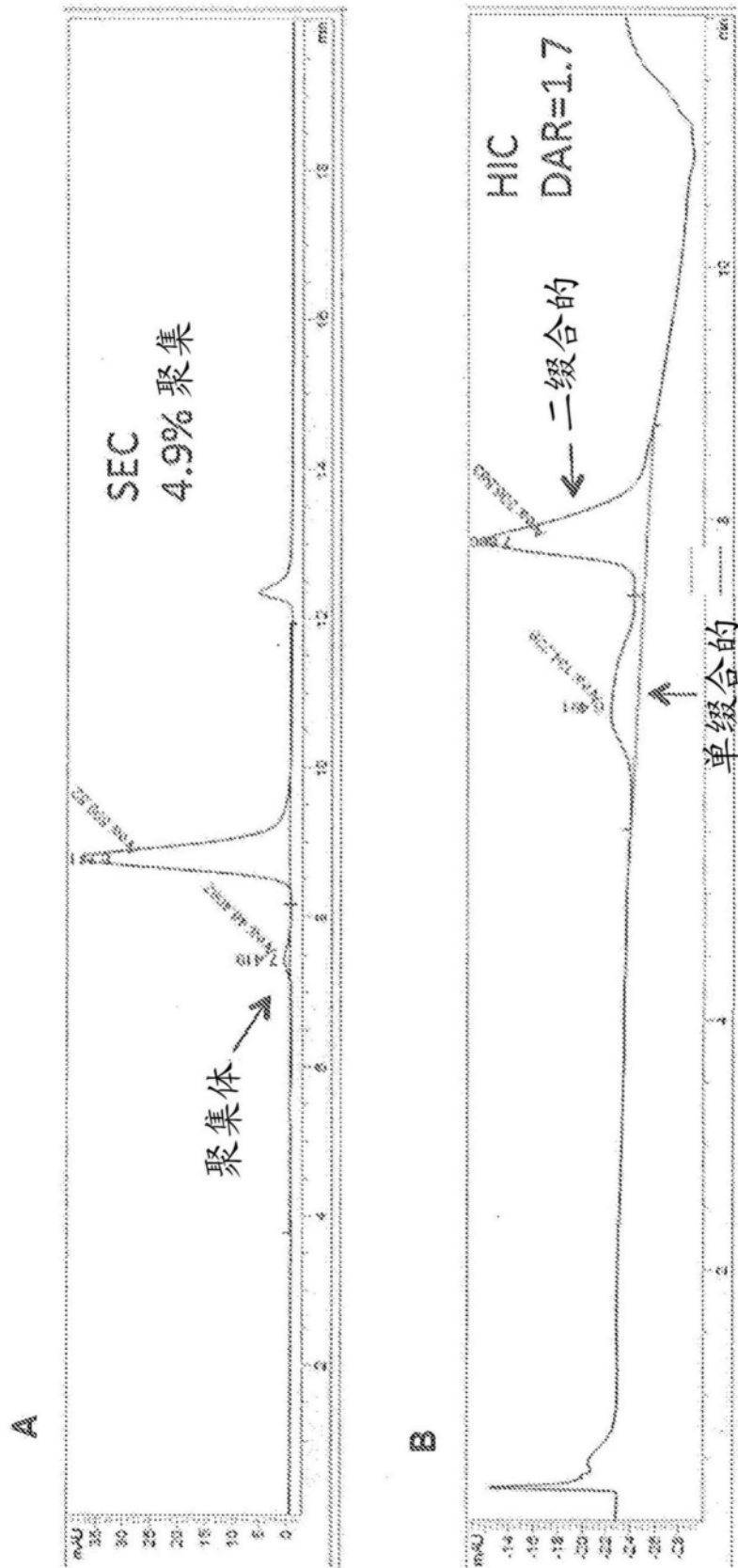


图71

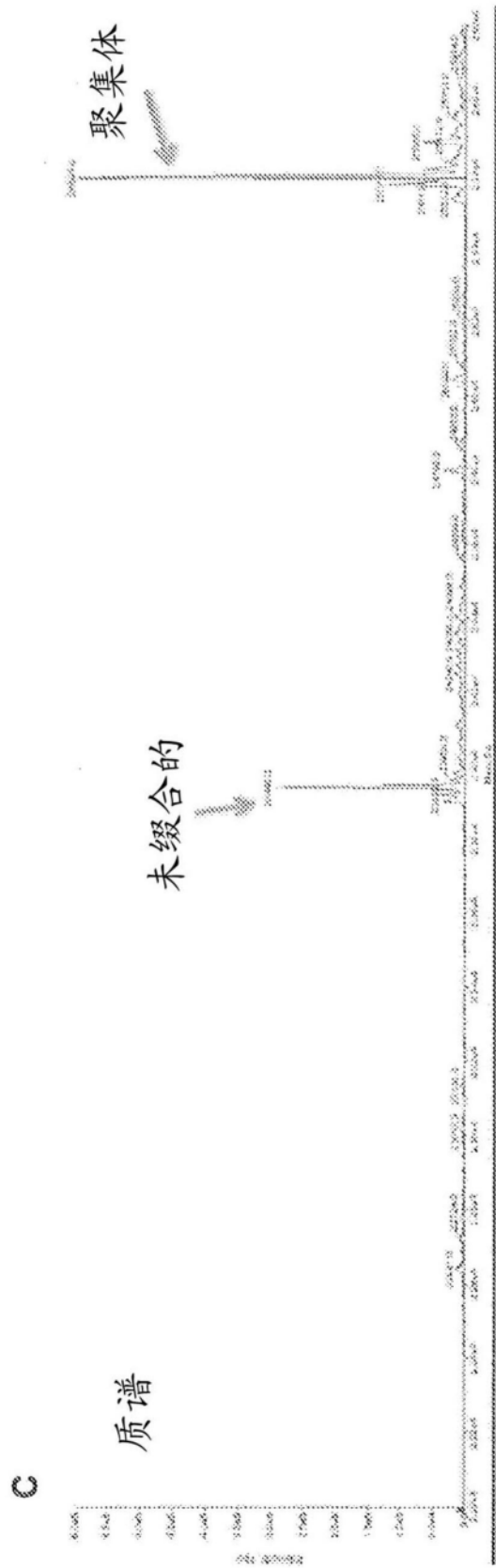


图71, 续

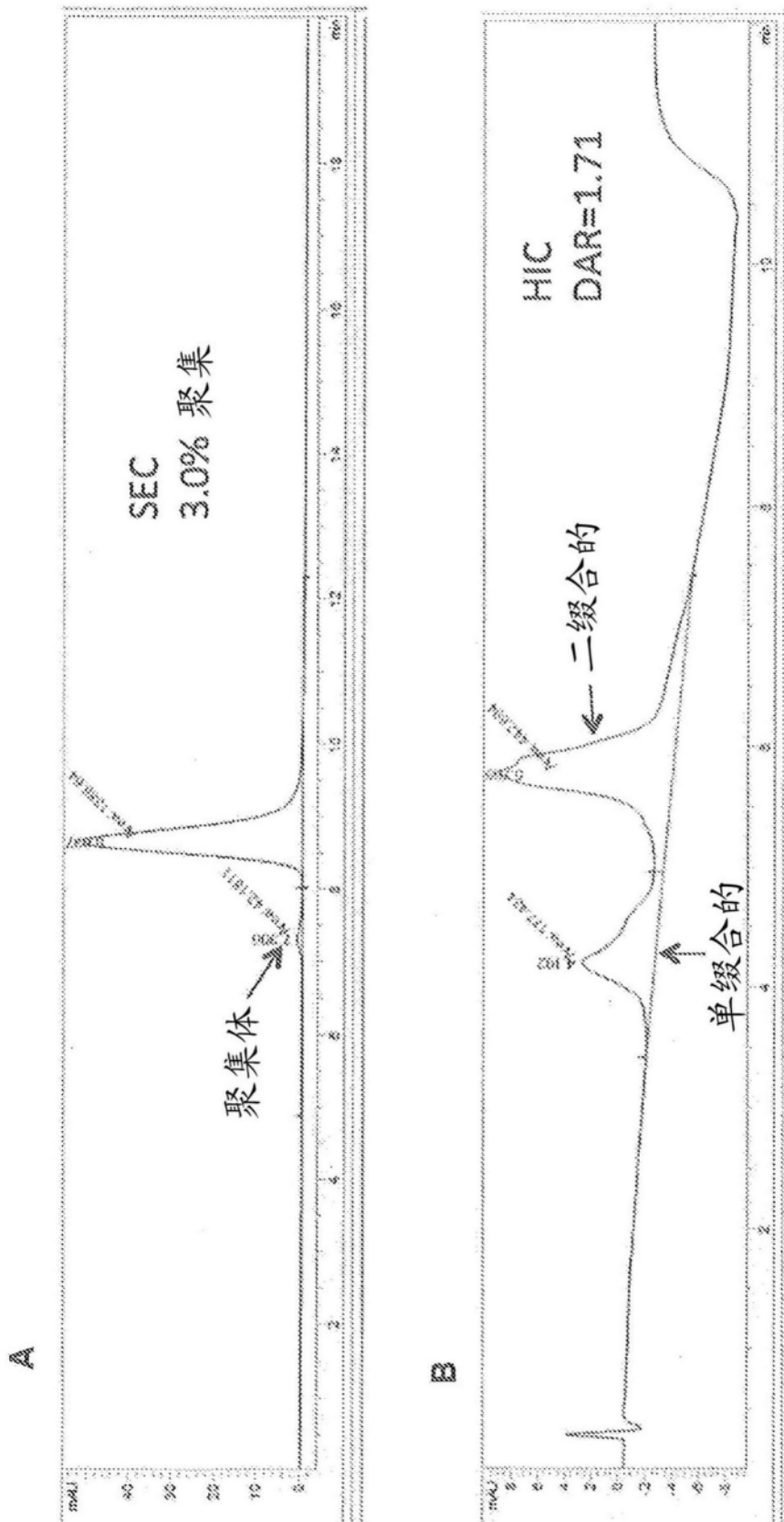


图72

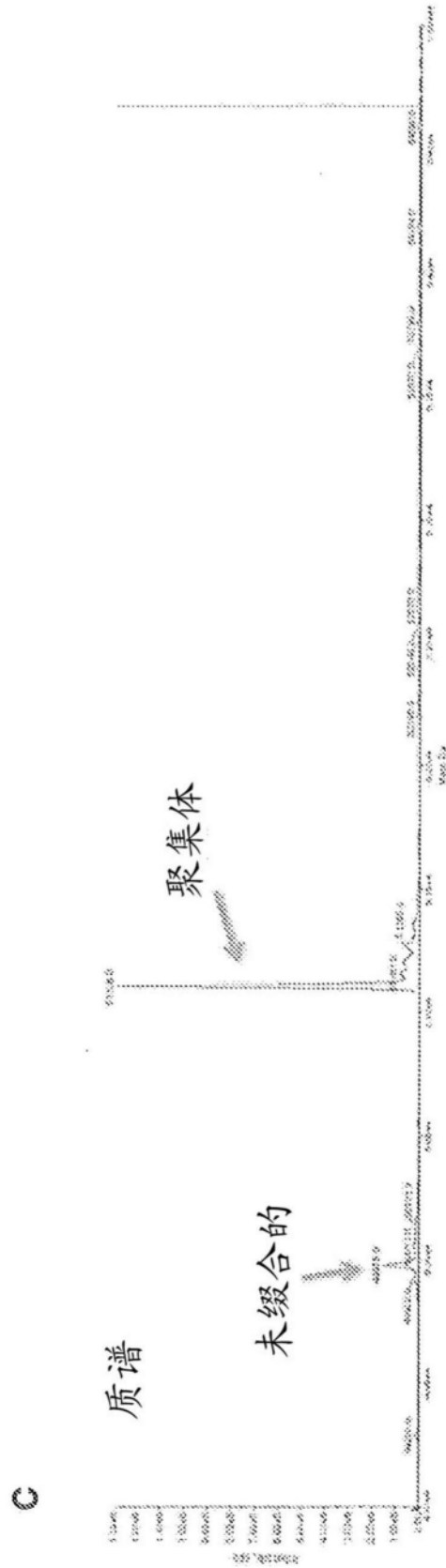


图72, 续

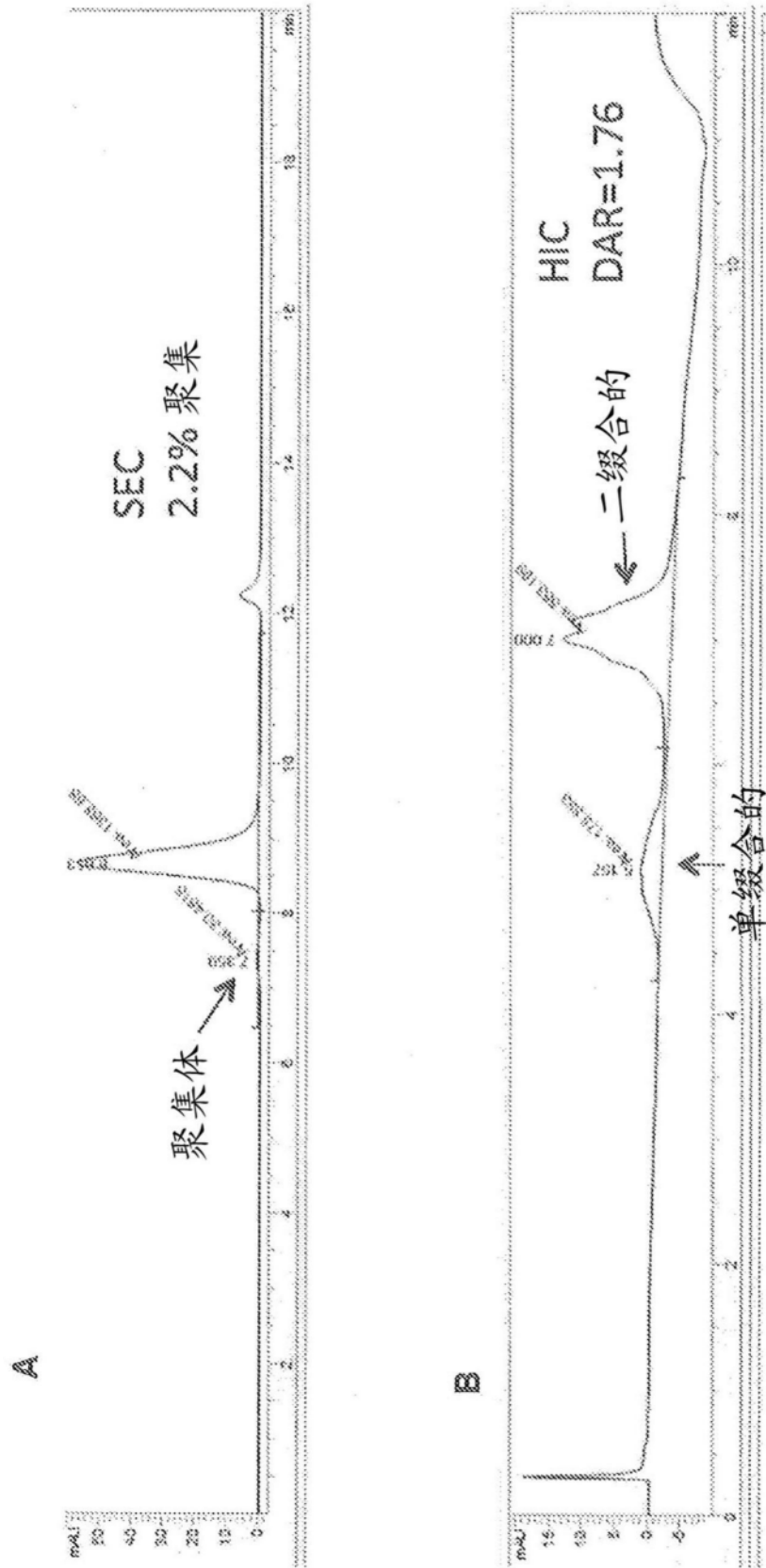


图73

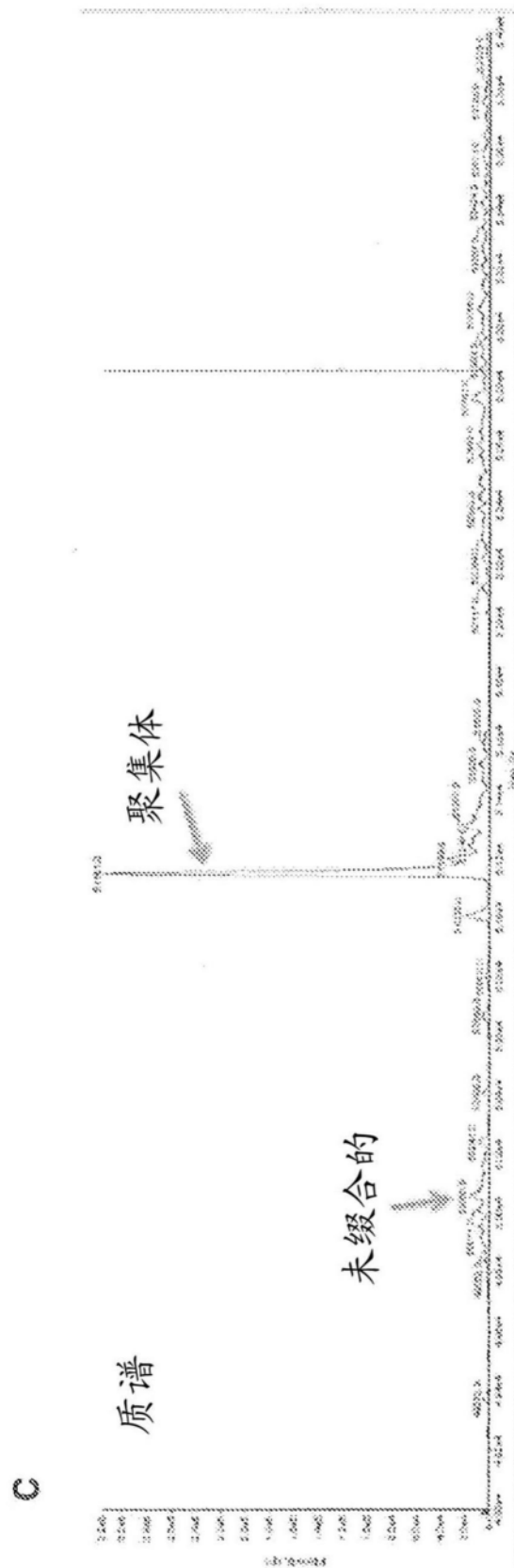


图73, 续