(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111065622 A
(43)申请公布日 2020.04.24

(21)申请号 201880047919.2

(22)申请日 2018.05.09

(30)优先权数据
62/508327 2017.05.18 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2020.01.17

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2018/031910 2018.05.09

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2018/213082 EN 2018.11.22

(71)申请人 里珍纳龙药品有限公司
地址 美国纽约州.塔里敦.旧锯木厂河路777号

(72)发明人 A.韩 A.J.墨菲 W.奥尔森

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
代理人 初明明 彭昶

(51)Int.Cl.
C07C 233/90(2006.01)
A61K 31/16(2006.01)
A61P 3/00(2006.01)
A61P 25/28(2006.01)
A61P 29/00(2006.01)

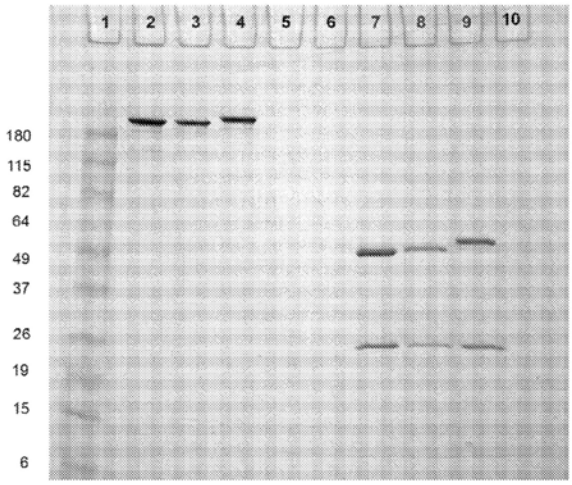
权利要求书13页 说明书219页 附图25页

(54)发明名称

双八氢菲羧酰胺类化合物及其蛋白质偶联物

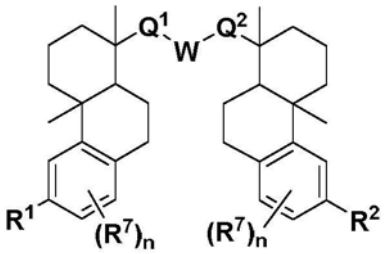
(57)摘要

本发明提供了用于治疗与肝X受体相关的疾病和病症的化合物、组合物和方法，包括双八氢菲羧酰胺类化合物及其蛋白质(例如抗体)药物偶联物。



CN 111065622 A

1.式I所示化合物：



(I)

或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，其中，

Q^1和Q^2各自独立地为-CH_2-、-C(O)-、-C(H)(OH)-、-$C(OH)_2$-、-SO_2-、-SO-、-PO(OR^{11})-、-PO($NR^{11}NR^{12}$)-、-NR^{11}-、或-N=；

W是-CH_2-、-N(H)-、或-O-；

R^1独立地为-H、-OR^6、-OH、-NH_2、烷基、或-OP(O)(OR^6)$_2$；

R^2独立地为-H、-OH、-OR^{11}、卤化物、-$SO_2NR^{11}R^{12}$、-$CONR^{11}R^{12}$、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5；

其中R^1和R^2不同时为-H；

R^3是-N(R^6)$_2$；

R^4是-X-Y-Z；

X是选自由-O-和-N(H)-组成的组；

Y是选自由亚烷基、取代的亚烷基(包括氧代，即=O取代)、亚杂烷基、和取代的亚杂烷基组成的组；

Z是选自由-OH和-NH_2组成的组；

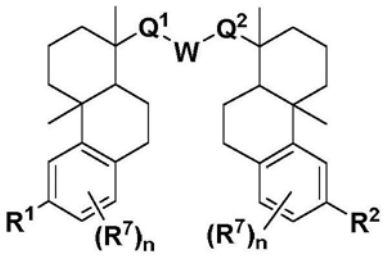
R^5是烷基、杂环烷基、或取代的杂环烷基，其中各杂环烷基或取代的杂环烷基分别包含选自N和O的1、2或3个杂原子，并包括至少一个-OH和-CH_2OH、或至少一个伯氮或仲氮；

各R^6，在每种情况下，分别独立地为-H、氨基酸残基、N-烷基氨基酸残基、肽、可生物降解的基团部分、或烷基；

各R^7分别独立地为卤素、C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基、-CN、O-葡萄糖、O-氨基酸残基、和O-PEG_n，其中各n分别为从0至3的整数；和

各R^{11}和R^{12}分别独立地为-H、烷基、和芳基。

2.根据权利要求1所述的化合物，其具有式I所示结构：



(I)

或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，其中，

Q^1和Q^2各自独立地为-CH_2-、-C(O)-、-C(H)(OH)-、或-$C(OH)_2$-；

W是-CH_2-、-N(H)-、或-O-；

R^1独立地为-H、-OH、-NH_2、烷基、或-OP(O)$(OR^6)_2$；

R^2独立地为-H、-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5；

其中R^1和R^2不同时为-H；

R^3是-N$(R^6)_2$；

R^4是-X-Y-Z；

X是选自由-O-和-N(H)-组成的组；

Y是选自由亚烷基、取代的亚烷基(包括氧代,即=O取代)、亚杂烷基、和取代的亚杂烷基组成的组；

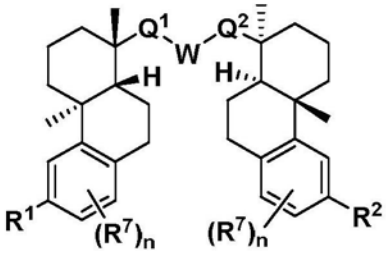
Z是选自由-OH和-NH_2组成的组；

R^5是烷基、杂环烷基、或取代的杂环烷基,其中各杂环烷基或取代的杂环烷基分别包含选自N和O的1、2或3个杂原子,并包括至少一个-OH和-CH_2OH、或至少一个伯氮或仲氮。

各R^6,在每种情况下,分别独立地为-H、氨基酸残基、N-烷基氨基酸残基、肽、或烷基;和

各R^7分别独立地为卤素、C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基、-CN、O-葡萄糖、O-氨基酸残基、和O-PEG_n,其中各n分别为从0至3的整数。

3.根据权利要求1所述的化合物,其具有式Ia所示结构：



(Ia)

或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式。

4.根据前述权利要求任一项所述的化合物,其中Q^1是-CH_2-,和Q^2是-C(O)-。

5.根据前述权利要求任一项所述的化合物,其中Q^1是-C(H)(OH)-,和Q^2是-C(O)-。

6.根据前述权利要求任一项所述的化合物,其中Q^1是-C(O)-,和Q^2是-C(O)-。

7.根据前述权利要求任一项所述的化合物,其中Q^1是-C(O)-,和Q^2是-CH_2-。

8.根据前述权利要求任一项所述的化合物,其中Q^1是-C(O)-,和Q^2是-C(H)(OH)-。

9.根据前述权利要求任一项所述的化合物,其中W是-CH_2-。

10.根据前述权利要求任一项所述的化合物,其中W是-O-。

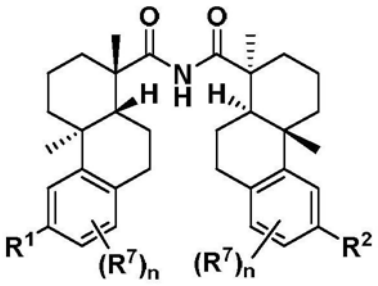
11.根据前述权利要求任一项所述的化合物,其中W是-NH-。

12.根据前述权利要求任一项所述的化合物,其中R^1是-H,和R^2是R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。

13.根据前述权利要求任一项所述的化合物,其中R^1是-OH,和R^2是R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。

14.根据前述权利要求任一项所述的化合物,其中R^1是-OH或-OP(O)(OR^6)(OH),和R^2是-H。

15.根据权利要求1所述的化合物,其具有式Ib所示结构：



(Ib)

或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式。

16.根据前述权利要求任一项所述的化合物，其中R^1是-OH。

17.根据前述权利要求任一项所述的化合物，其中R^2是-O-$(CH_2)_n$-Z，和n是从1至4的整数。

18.根据前述权利要求任一项所述的化合物，其中R^2是-N(H)C(O)-$(CH_2)_n$-NH_2，和n是从1至4的整数。

19.根据前述权利要求任一项所述的化合物，其中R^2是-N(H)C(O)-$(CRR)_n$-NH_2；各R分别为-H、-OH、或-CH_2OH；和n是从1至4的整数。

20.根据前述权利要求任一项所述的化合物，其中R^2是N-哌嗪基。

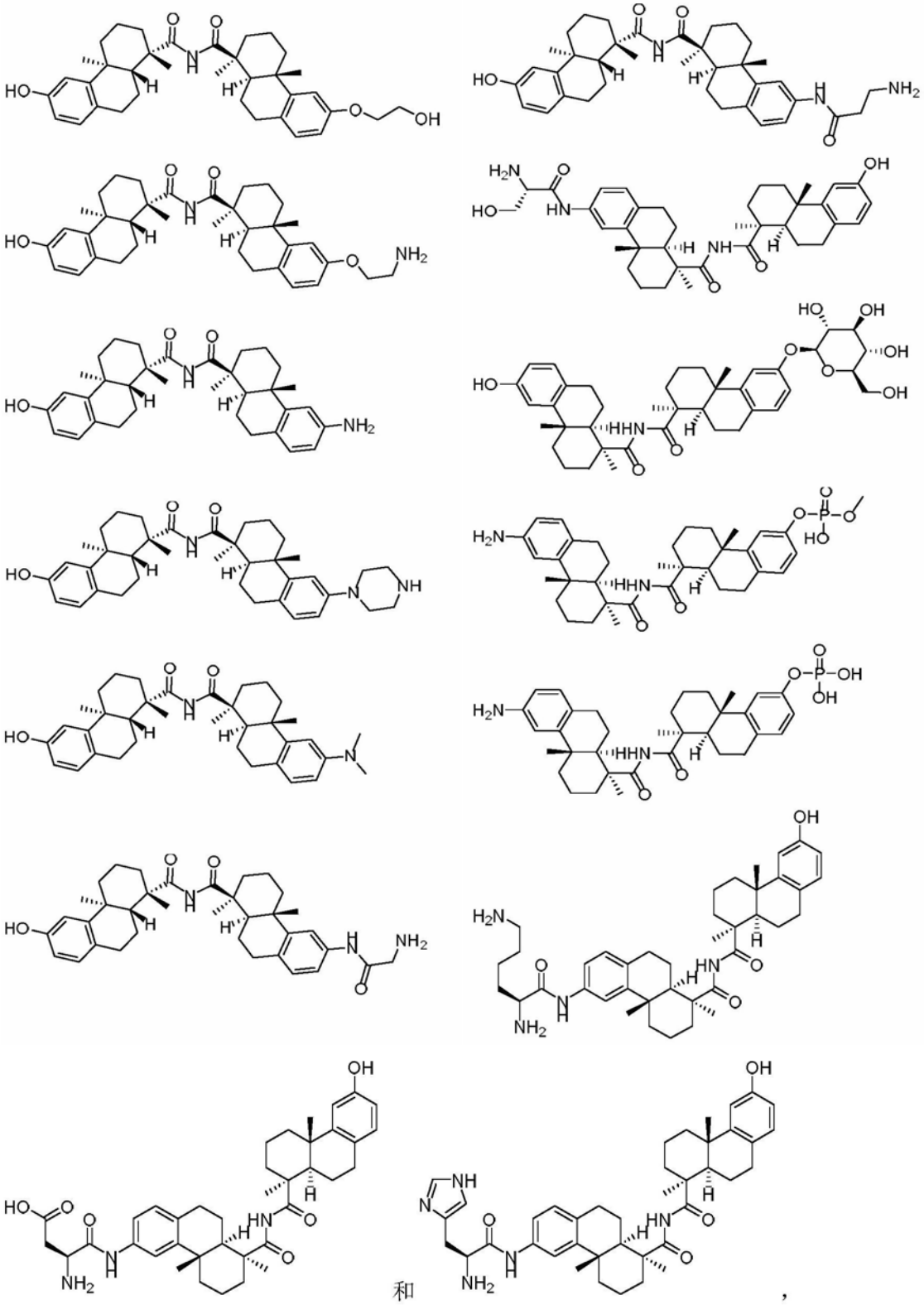
21.根据前述权利要求任一项所述的化合物，其中R^2是-N$(R^6)_2$。

22.根据前述权利要求任一项所述的化合物，其中R^2是N-丝氨酰基。

23.根据前述权利要求任一项所述的化合物，其中R^2是O-糖基。

24.根据前述权利要求任一项所述的化合物，其中R^1是-OP(O)(OR^6)(OH)，和R^2是-NH_2。

25.根据权利要求1所述的化合物，其选自由以下组成的组：

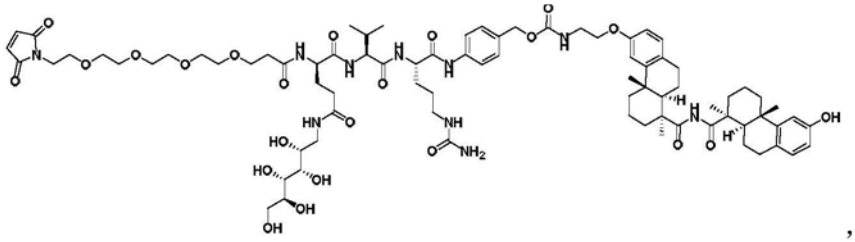


或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式。

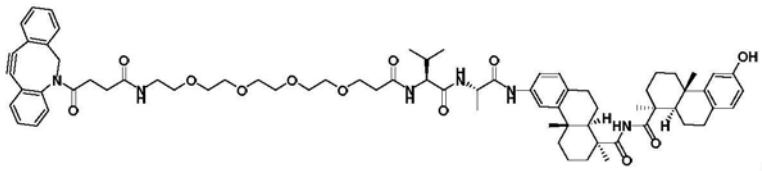
26.连接体-有效负载，其包含与连接体连接的前述权利要求任一项所述的化合物。

27.根据前述权利要求所述的连接体-有效负载，其中所述连接体与前述权利要求所述化合物的氧原子或伯氮原子或仲氮原子连接。

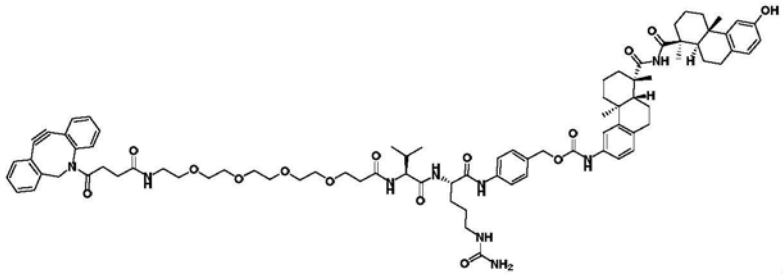
28.根据权利要求26或27所述的连接体-有效负载，其选自由以下组成的组：



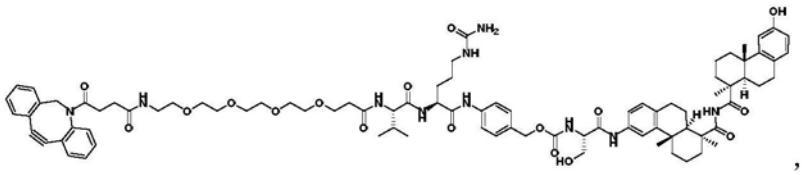
,



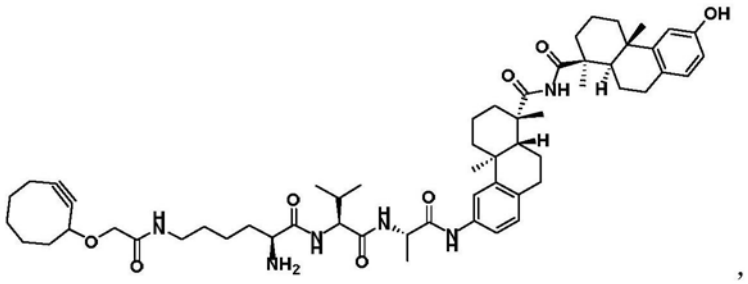
,



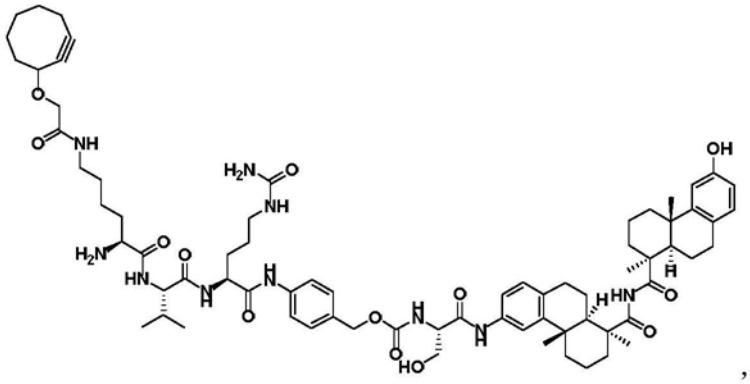
,



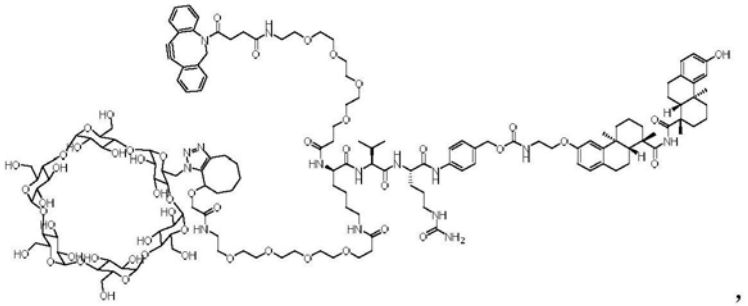
,



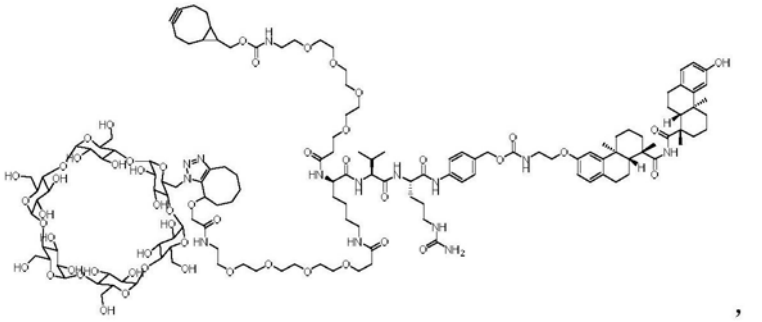
,



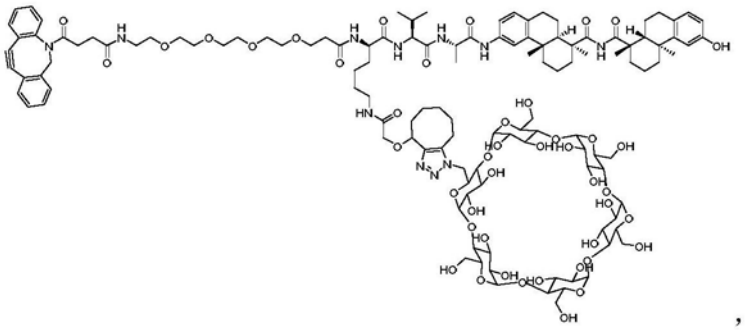
,



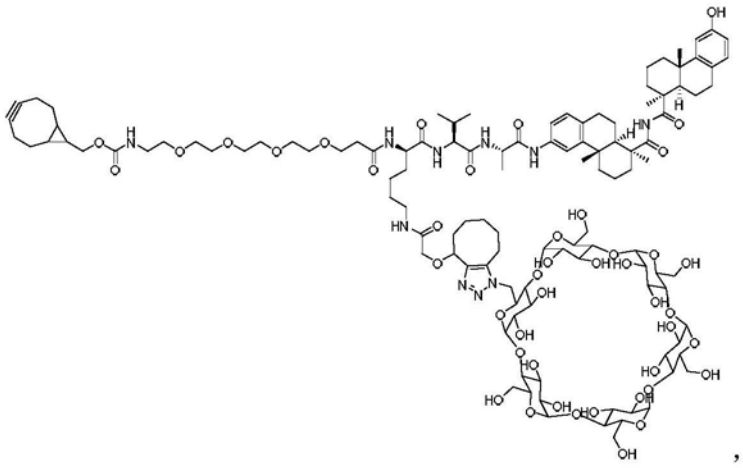
,



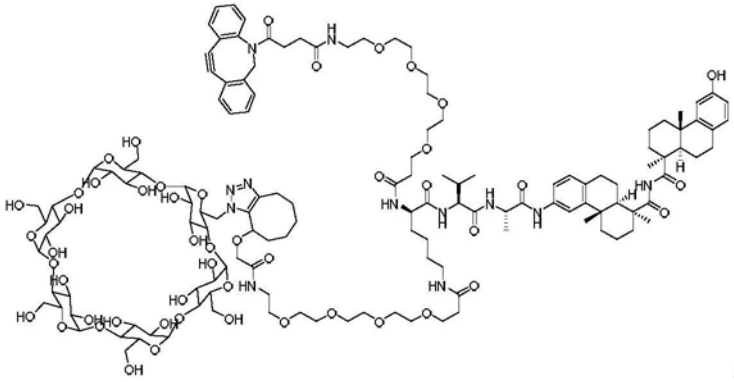
,



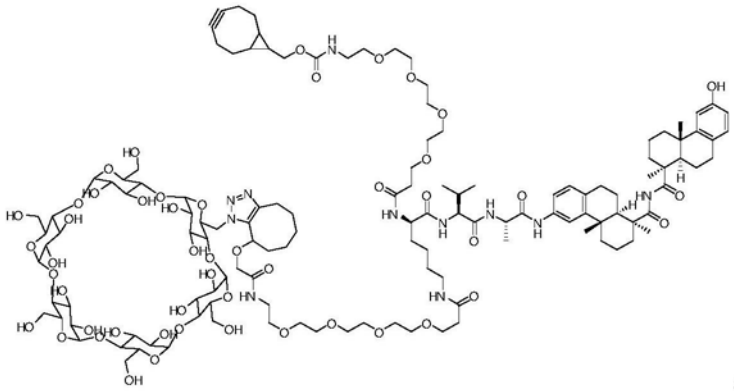
,



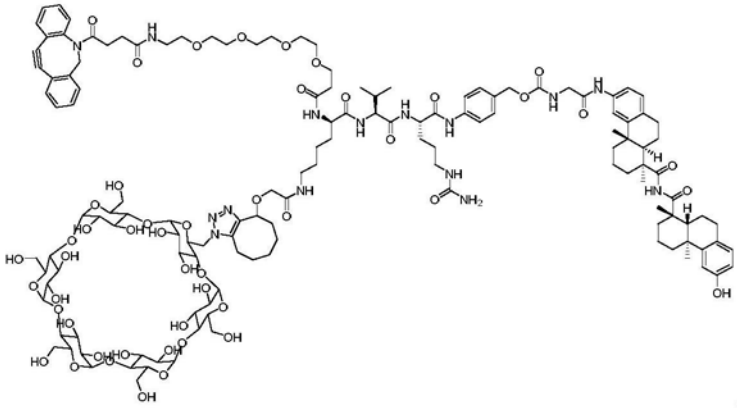
,



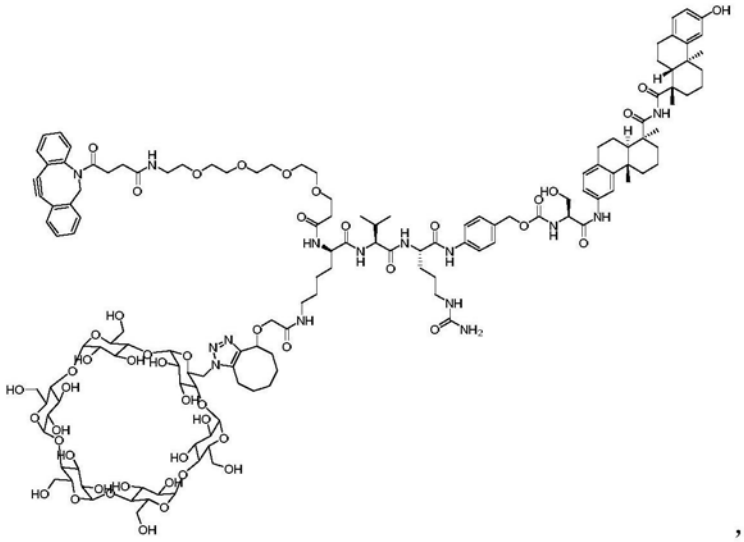
,



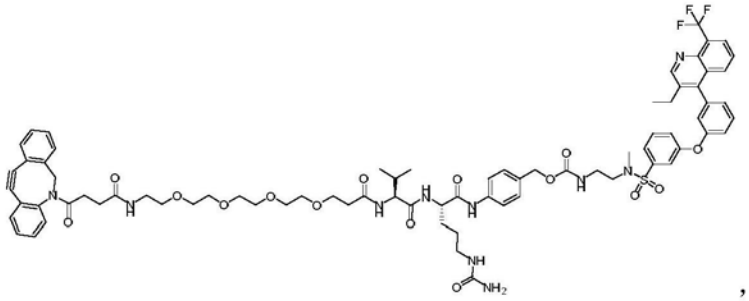
,



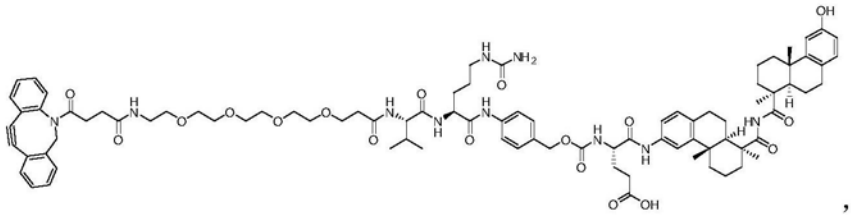
,



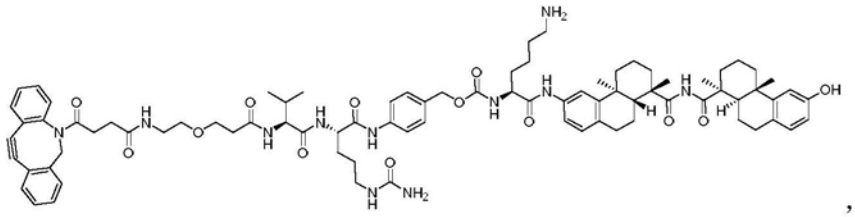
,



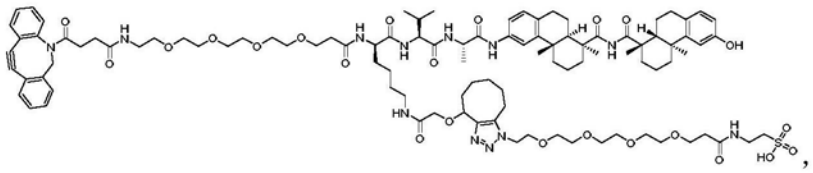
,



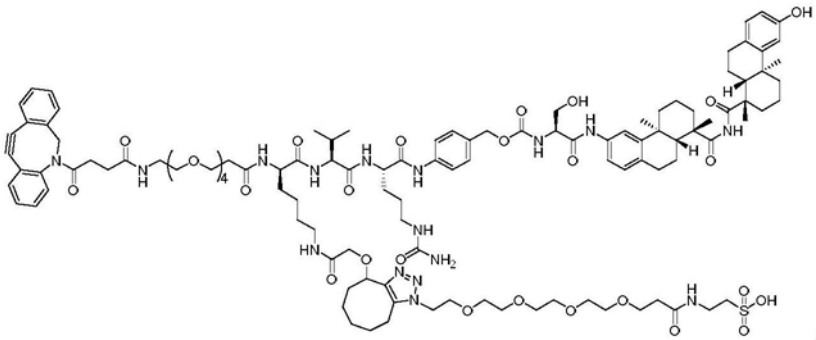
,



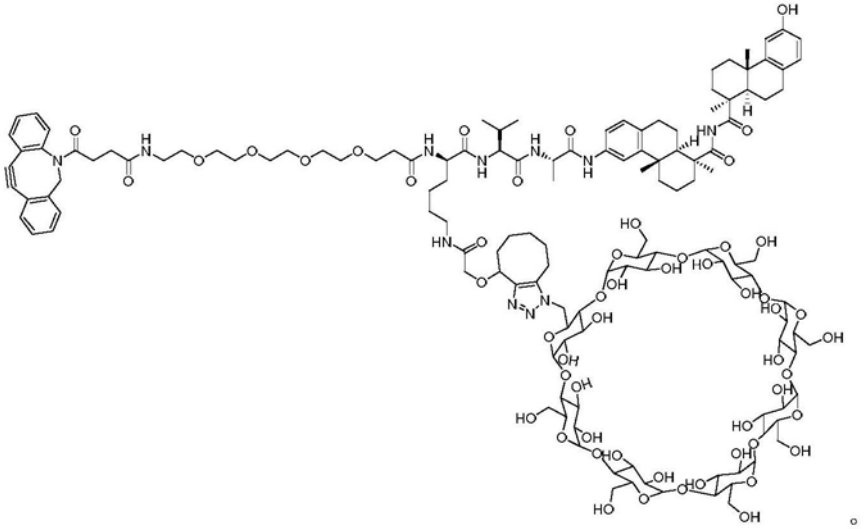
,



,



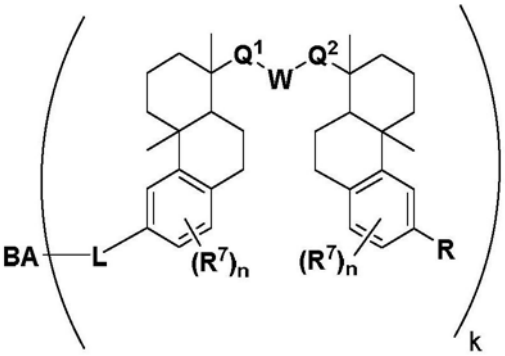
，和



。

29.抗体-药物-偶联物，其包含与抗体或其抗原结合片段连接的前述权利要求任一项所述的化合物或连接体-有效负载。

30.式A所示化合物：



(A)

或其药学上可接受的盐、或立体异构体形式，其中，

L是连接体；

BA是结合剂；

k是从1至30的整数；

Q^1和Q^2各自独立地为$-CH_2-$、-C(O)-、-C(H)(OH)-、或$-C(OH)_2-$；

W是$-CH_2-$、-N(H)-、或-O-；

R分别独立地为-H、-OH、或$-OP(O)(OR^6)(OH)$；和

各R^6，在每种情况下，分别独立地为-H、氨基酸残基、肽、或烷基；和

各R^7分别独立地为卤素、C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基、-CN、O-葡萄糖、O-氨基酸残基、和O-PEG_n，其中各n分别为从0至3的整数。

31.药物组合物，其包含前述权利要求任一项所述的化合物、连接体-有效负载或抗体-药物-偶联物，以及药学上可接受的辅料、载体或稀释剂。

32.治疗受试者血脂异常、代谢性疾病、炎症、或神经退行性疾病的方法，其包含向所述受试者施用有效治疗量的前述权利要求任一项所述的化合物或药物组合物。

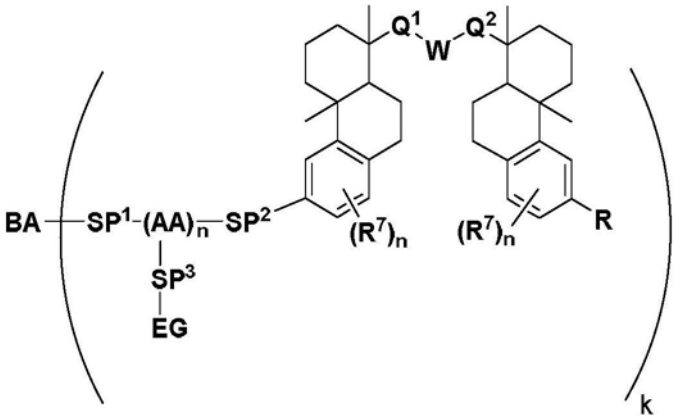
33.治疗受试者血脂异常的方法，其包含向所述受试者施用有效治疗量的前述权利要求任一项所述的化合物或药物组合物。

34.治疗受试者代谢性疾病的方法，其包含向所述受试者施用有效治疗量的前述权利要求任一项所述的化合物或药物组合物。

35.治疗受试者炎症的方法，其包含向所述受试者施用有效治疗量的前述权利要求任一项所述的化合物或药物组合物。

36.治疗受试者神经退行性疾病的方法，其包含向所述受试者施用有效治疗量的前述权利要求任一项所述的化合物或药物组合物。

37.根据权利要求30所述的化合物，其具有式(B)所示结构：



(B)

或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，或其区域异构体，其中：

各SP^1、SP^2、和SP^3分别为间隔基团，其中SP^3连接至$(AA)_n$中的一个AA；

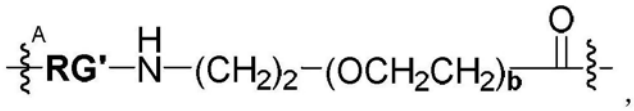
各AA分别为氨基酸；

n是从1至10的整数；和

EG是增强剂。

38.根据权利要求37所述的化合物，其中，

所述SP^1间隔基团是：



，

其中RG是活性基团RG与结合剂反应后的活性基团残基，-A-是直接或间接与所述结合剂连接的键，和b是从1至4的整数；

所述$(AA)_n$-SP^2是-NH-赖氨酸-缬氨酸-丙氨酸-NH-。

所述SP^3间隔基团是：

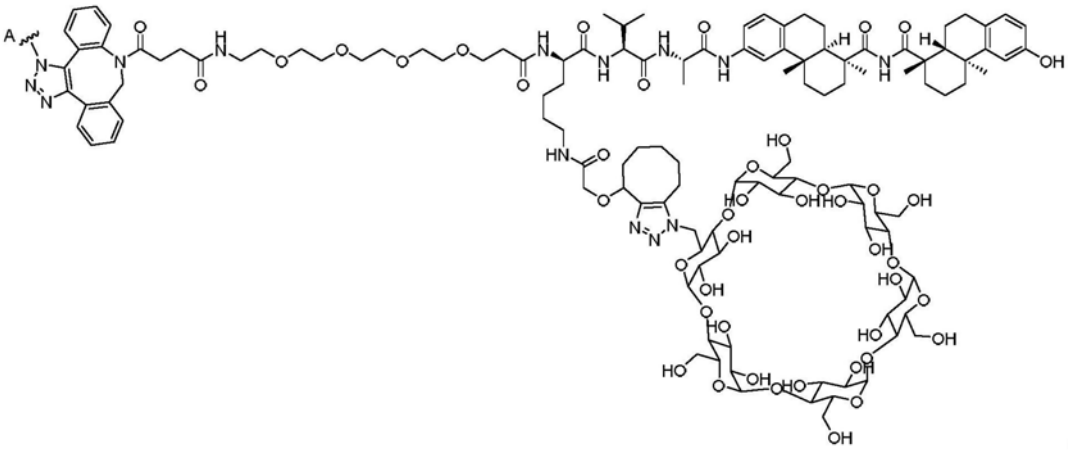


其中RG是活性基团RG与增强剂EG反应后的活性基团残基；

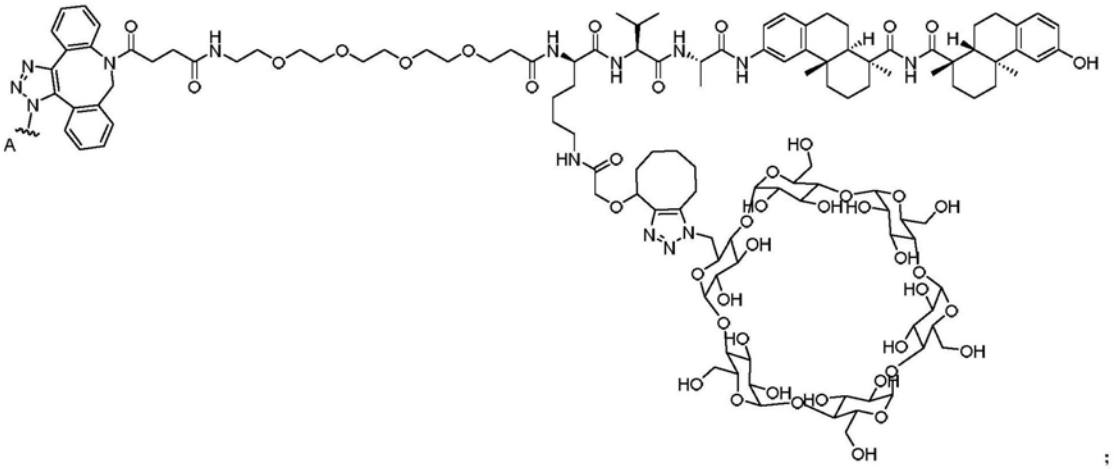
是与所述增强剂连接的键；和

是与$(AA)_n$连接的键。

39.根据权利要求30或37-38任一项所述的化合物，其中所述化合物选自由以下组成的组：



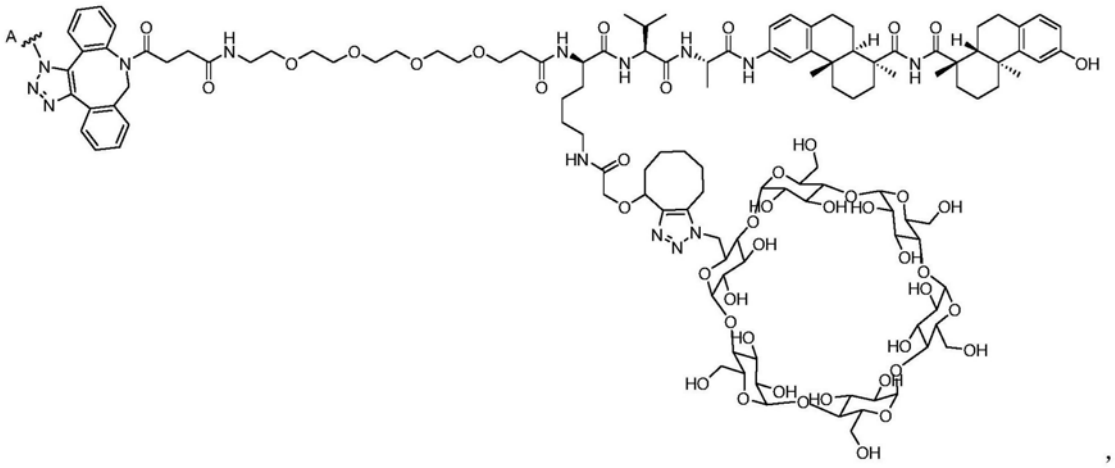
，和



；

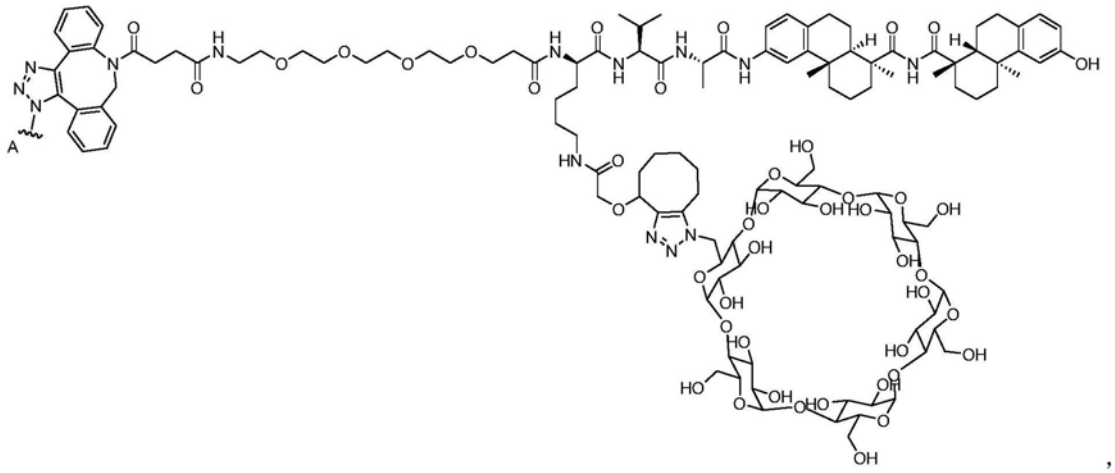
其中各分别为直接或间接与所述结合剂连接的键。

40.根据权利要求39所述的化合物，其中所述化合物是



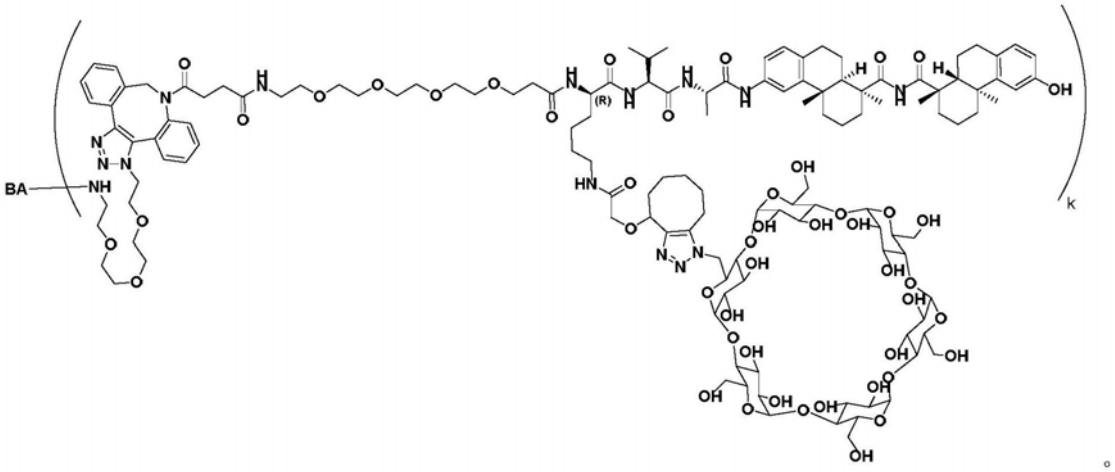
其中-A-是直接或间接与所述结合剂连接的键。

41.根据权利要求39所述的化合物,其中所述化合物是

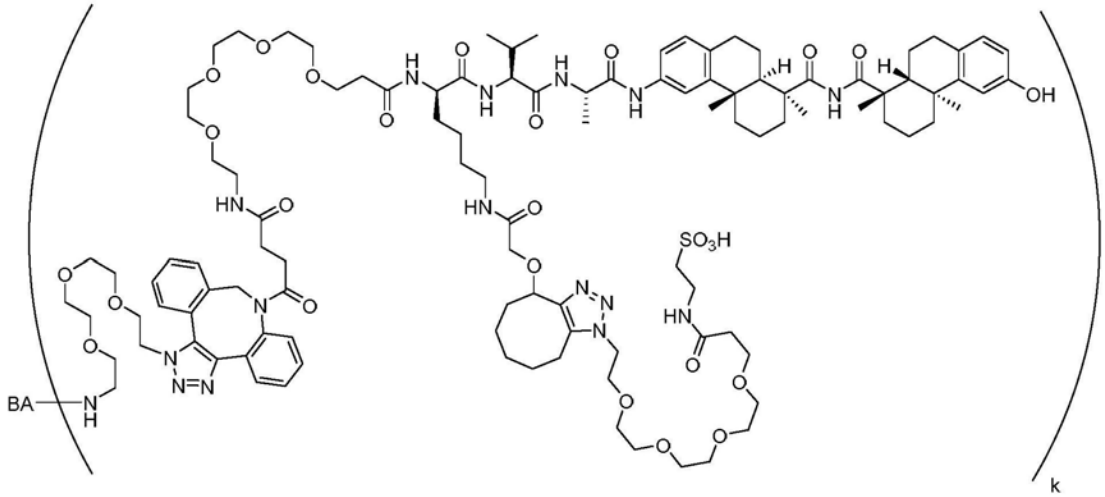


其中-A-是直接或间接与所述结合剂连接的键。

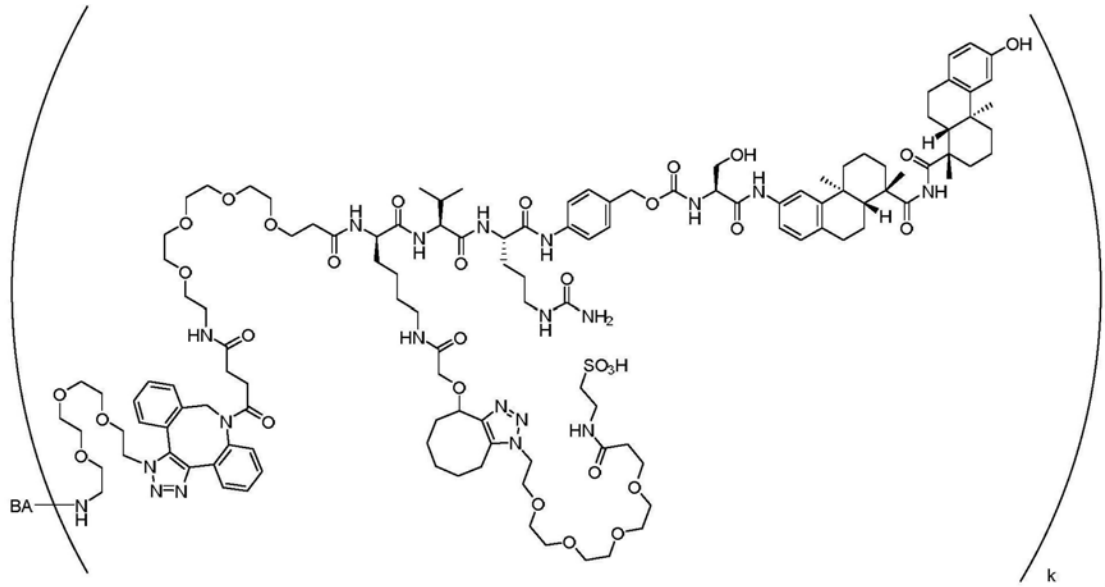
42.根据权利要求37-38任一项所述的化合物,其中所述化合物是



43.根据权利要求37-38任一项所述的化合物,其中所述化合物是



44.根据权利要求37-38任一项所述的化合物,其中所述化合物是



45.根据权利要求42所述的化合物,其中BA是抗体或其抗原结合片段。

46.根据权利要求42所述的化合物,其中k是从1至4的整数。

47.根据权利要求42所述的化合物,其中BA是结合HER2的抗体或其抗原结合片段。

48.根据权利要求42所述的化合物,其中BA是结合PRLR的抗体或其抗原结合片段。

49.根据权利要求42所述的化合物,其中BA是抗体或其抗原结合片段,并通过至少一个Q295残基进行偶联。

50.根据权利要求42所述的化合物,其中BA是抗体或其抗原结合片段,并通过两个Q295残基进行偶联。

51.根据权利要求42所述的化合物,其中BA是N297Q抗体或其抗原结合片段。

52.根据权利要求42所述的化合物,其中BA是N297Q抗体或其抗原结合片段,并通过至少一个Q295残基和至少一个Q297残基进行偶联。

53.根据权利要求42所述的化合物,其中BA是N297Q抗体或其抗原结合片段,并通过两个Q295残基和两个Q297残基进行偶联。

双八氢菲羧酰胺类化合物及其蛋白质偶联物

相关申请的交叉引用

[0001] 根据美国35 U.S.C.§119,本申请要求并享有于2017年5月18日提交的美国临时专利申请号62/508,327的优先权,其全部内容通过引用并入本申请。

发明领域

[0002] 本发明提供了新颖的双八氢菲羧酰胺类化合物及其蛋白质偶联物,以及用于治疗多种疾病、病症和病况的方法,包括施用所述双八氢菲羧酰胺类化合物及其蛋白质偶联物。

发明背景

[0003] 抗体-药物偶联物(ADC)是与生物活性小分子药物共价连接的抗体,因此可将抗体的靶向特异性与小分子药物的作用模式和效力相结合。ADC的治疗作用已在癌症治疗中得到验证,并且是研究的主要持续焦点。ADCETRIS® (bentruximab vedotin)和KADCYLA® (ado-曲妥珠单抗emtansine偶联物(ado-trastuzumab emtansine))是经批准用于治疗某些癌症类型的ADC,目前至少有四十种ADC正在临床开发中。

[0004] 肝X受体(LXR)包括LXRα和LXRβ,其均是依赖于配体的转录因子,控制与胆固醇、脂质和葡萄糖稳态、炎症以及先天免疫有关的基因的表达。LXRα在肝、肠、脂肪组织、以及分化的巨噬细胞中高表达;而LXRβ的表达则无处不在。LXR具有多种生物学功能,其中包括:(i)刺激胆固醇转运蛋白(例如ABCA1和ABCG1)表达,所述ABCA1和ABCG1均介导细胞胆固醇外排;(ii)通过抑制NF-kB激活来负调控巨噬细胞炎性基因表达。LXR也与动脉粥样硬化、增殖性疾病、神经退行性疾病和炎症有关。增殖性疾病包括黑色素瘤、肺癌、口腔鳞状细胞癌、和前列腺癌(Pencheva et al.2004;Wu et al.2015;Kaneko et al.2015;Chuu et al.2006)。神经退行性疾病包括阿尔茨海默病和髓磷脂基因表达(Terwel et al.2011;Sandoval-Hernandez et al.2016;Meffre et al.2014)。炎症包括炎性肠病、溃疡性结肠炎、克罗恩病和关节炎(Anderson et al.2011;Huang et al.2015;Cui et al.2012)。已知巨噬细胞LXR具有抗动脉粥样硬化活性。LXR激动剂被认为能够(i)抑制动脉粥样硬化的发生并延缓其发展;(ii)减轻动脉粥样硬化并稳定已建立的动脉粥样硬化病变;和(iii)通过细胞凋亡减少病变巨噬细胞含量。

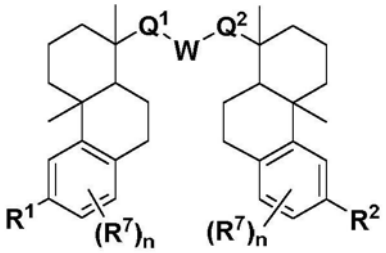
[0005] 小分子LXR调节剂的治疗潜力受到例如非靶细胞对LXR的不希望的调节和/或低生物利用度的限制。非靶细胞对LXR的调节可导致不良副作用,并且由于多种原因,可能显示出低生物利用度,包括但不限于低溶解度,这进一步加剧了不良的治疗窗口。包含LXR调节剂的ADC的开发将使得对LXR进行靶向特异性调节,从而避免了由LXR的脱靶调节引起的副作用。此外,此类ADC将提供对生物靶标的改善调节、改善的生物利用度、和改善的治疗窗口。因此,持续需使用LXR调节剂的小分子ADC来有效治疗例如代谢性疾病。

发明摘要

[0006] 本发明提供了化合物,其可用于例如治疗代谢性疾病,包括但不限于血脂异常。本发明还提供了用于例如治疗炎症或神经退行性疾病的化合物。本发明提供的化合物具有式

I所示结构。

[0007] 在一个实施方案，本发明提供了式I所示化合物：



(I)

或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，其中，

Q^1和Q^2各自独立地包含-CH_2-、-C(O)-、-C(H)(OH)-、-$C(OH)_2$-、-SO_2-、-SO-、-$PO(OR^{11})$-、-$PO(NR^{11}NR^{12})$-、-NR^{11}-、或-N=；

W包含-CH_2-、-N(H)-、或-O-；

R^1包含-H、-OR^6、-OH、-NH_2、烷基、或-$OP(O)(OR^6)_2$；

R^2包含-H、-OH、-OR^{11}、卤化物、-$SO_2NR^{11}R^{12}$、-$CONR^{11}R^{12}$、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5，

其中R^1和R^2不同时为-H；

R^3包含-$N(R^6)_2$；

R^4包含-X-Y-Z；

X包含由-O-和-N(H)-组成的组；

Y包含由亚烷基、取代的亚烷基(包括氧代，即=O)、亚杂烷基、和取代的亚杂烷基(包括氧代，即=O)组成的组；

Z包含由-OH和-NH_2组成的组；

R^5包含烷基、杂环烷基、或取代的杂环烷基，其中各杂环烷基或取代的杂环烷基分别包含选自N和O的1、2或3个杂原子，并包括至少一个-OH或-CH_2OH、或至少一个伯氮或仲氮；

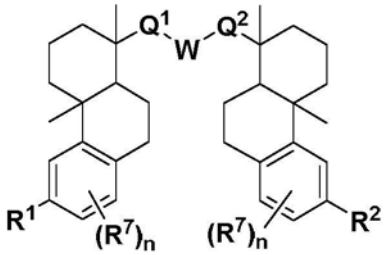
各R^6，在每种情况下，分别独立地包含-H、氨基酸残基、N-烷基氨基酸残基、肽、可生物降解的基团部分、或烷基；

各R^7分别独立地包含卤素、C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基、-CN、O-葡萄糖、O-氨基酸残基、和O-PEG_n，

其中各n分别为从0至3的整数；和

各R^{11}和R^{12}分别独立地选自-H、烷基、和芳基。

[0008] 在一个实施方案，本发明提供了式I所示化合物：



(I)

或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，其中，

Q^1和Q^2各自独立地包含-CH_2-、-C(O)-、-C(H)(OH)-、或-$C(OH)_2$-；

W包含-CH_2-、-N(H)-、或-O-；

R^1包含-H、-OH、-NH_2、烷基、或-OP(O)$(OR^6)_2$；

R^2包含-H、-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5，其中R^1和R^2不同时为-H；

R^3包含-$N(R^6)_2$；

R^4包含-X-Y-Z；

X包含由-O-和-N(H)-组成的组；

Y包含由亚烷基、取代的亚烷基(包括但不限于氧代取代(即=O))、亚杂烷基、和取代的亚杂烷基(包括但不限于氧代取代(即=O))组成的组；

Z包含由-OH和-NH_2组成的组；

R^5包含烷基、杂环烷基、或取代的杂环烷基，其中各杂环烷基或取代的杂环烷基分别包含选自N和O的1、2或3个杂原子，并包括至少一个-OH或-CH_2OH取代基、或至少一个伯氮或仲氮，例如O-葡萄糖；

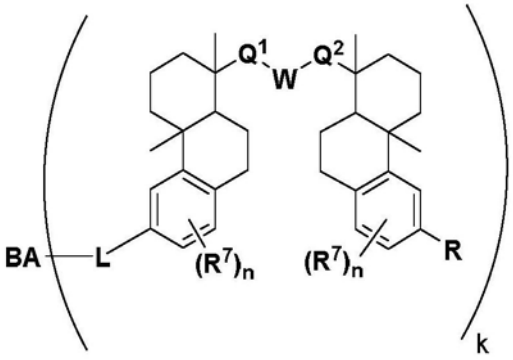
各R^6，在每种情况下，分别独立地包含-H、氨基酸残基、N-烷基氨基酸残基、肽、或烷基；和

各R^7分别独立地包含卤素、C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基、-CN、O-葡萄糖、O-氨基酸残基、和O-PEG_n，其中各n分别为从0至3的整数。

[0009] 在另一实施方案，本发明提供了具有上述式I所示化合物的连接体-有效负载。

[0010] 在另一实施方案，本发明提供了具有上述式I所示化合物或连接体-有效负载的抗体-药物偶联物，上述式I所示化合物或连接体-有效负载连接至抗体或其抗原结合片段。

[0011] 在另一实施方案，本发明提供了式A所示化合物：



(A)

或其药学上可接受的盐、或立体异构体形式，其中，

L是连接体；

BA是结合剂；

k是从1至30的整数；

Q^1和Q^2各自独立地为-CH_2-、-C(O)-、-C(H)(OH)-、或-$C(OH)_2$-；

W是-CH_2-、-N(H)-、或-O-；

R独立地为-H、-OH、或-OP(O)(OR^6)(OH)；和

各R^6，在每种情况下，分别独立地为-H、氨基酸残基、N-烷基氨基酸残基、肽、或烷基；和

各R^7分别独立地为卤素、C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基、-CN、O-葡萄糖、O-氨基酸残基、和O-

PEG_n，

其中各n分别为从0至3的整数。

[0012] 在另一实施方案，本发明提供了药物组合物，其包含本发明所述的化合物、连接体-有效负载或抗体-药物偶联物，以及药学上可接受的辅料、载体或稀释剂。

[0013] 在另一实施方案，本发明提供了治疗受试者血脂异常、代谢性疾病、炎症、或神经退行性疾病的方法，其包含向所述受试者施用有效治疗量的本发明所述化合物、连接体-有效负载或抗体-药物偶联物、或药物组合物。

[0014] 在另一实施方案，本发明提供了制备本发明所述化合物、连接体-有效负载或抗体-药物偶联物、以及组合物的方法。

附图简要说明

[0015] 图1、1a-1i、2、3a-3e和4-10示出了双八氢菲羧酰胺类化合物、基于环糊精的连接体-有效负载、及其蛋白质偶联物的合成化学方案。

[0016] 图11示出了抗Her2抗体、抗Her2-PEG_3-N_3和抗Her2-LP8的考马斯(Coomassie)染色的SDS-PAGE凝胶。

[0017] 图12示出了抗Her2Ab、抗Her2-PEG_3-N_3和抗Her2-LP8的SEC。

[0018] 图13示出了LXR激动剂激活ABCA1和ABCG1基因。

[0019] 图14示出了在10点剂量响应曲线上使用四参数逻辑斯蒂方程的EC_{50}值。

[0020] 图15是说明示例性MSR1抗体-LXR偶联物、其未偶联的对应物、同种型对照-LXR偶联物和相应的游离有效负载的THP1巨噬细胞中剂量依赖性胆固醇外排百分比的图表。

[0021] 图16提供了一系列条形图，示出了示例性MSR1抗体-LXR激动剂偶联物及其未偶联的对应物对动脉粥样硬化小鼠模型中血清脂质水平的影响。

[0022] 图17提供了一系列条形图，示出了示例性MSR1抗体-LXR激动剂偶联物及其未偶联的对应物对动脉粥样硬化小鼠模型中的病变脂质面积和巨噬细胞(CD68)含量的影响。

[0023] 图18提供了一系列条形图，示出了示例性MSR1抗体-LXR激动剂偶联物及其未偶联的对应物对动脉粥样硬化小鼠模型中肝甘油三酸酯和胆固醇水平的影响。

[0024] 图19提供了一系列条形图，示出了示例性MSR1抗体-LXR激动剂偶联物及其未偶联的对应物对动脉粥样硬化小鼠模型中从头脂肪形成的影响。

本发明具体实施方式

[0025] 本发明提供了可用于治疗例如受试者血脂异常、代谢性疾病、炎症或神经退行性疾病的化合物、组合物和方法。

定义

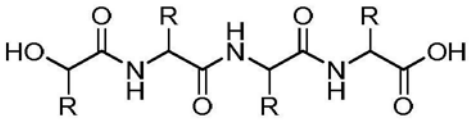
[0026] 当提及本发明提供的化合物时，除非另有说明，否则以下术语具有以下含义。除非另有定义，否则本发明使用的所有技术术语和科学术语均具有与本领域普通技术人员通常所理解的相同的含义。在本发明提供的术语存在多个定义的情况下，除非另有说明，否则以所述这些定义为准。

[0027] 本发明使用的“烷基”是指一价且饱和的烃基基团部分。烷基是任选取代的，且可以是直链、支链或环状的，即环烷基。烷基包括但不限于具有1-20个碳原子，即C_{1-20}烷基；1-12个碳原子，即C_{1-12}烷基；1-8个碳原子，即C_{1-8}烷基；1-6个碳原子，即C_{1-6}烷基；和1-3个碳原子，即C_{1-3}烷基的那些基团。烷基基团部分的实例包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、

正丁基、仲丁基、叔丁基、异丁基、戊基基团部分、己基基团部分、环丙基、环丁基、环戊基和环己基。戊基基团部分包括但不限于正戊基和异戊基。己基基团部分包括但不限于正己基。

[0028] 本发明使用的“亚烷基”是指二价烷基基团。除非另有说明，否则亚烷基包括但不限于1-20个碳原子。亚烷基基团任选地如本发明所述被烷基取代。在一些实施方案，亚烷基是未取代的。

[0029] 本发明使用的术语“O-氨基酸”或“HO-氨基酸”表示氨基酸，其中氨基酸或氨基酸序列的N端的天然氨基基团已分别被氧或羟基基团替代。譬如，“O-AAAA”或“HO-AAAA”旨在表示氨基酸序列(AAAA)，其中N端的天然氨基基团分别被氧或羟基基团替代(例如



其中各R分别为氨基酸侧链)。同理，术语“O-氨基酸残基”或“HO-氨基酸残基”是指化合物内进行化学反应后保留的化学基团部分。例如，“O-氨基酸残基”或“HO-氨基酸残基”是指O-氨基酸或HO-氨基酸与合适的偶联配偶体进行酰胺偶联或肽偶联的产物；其中，例如，在O-氨基酸或HO-氨基酸的酰胺偶联或肽偶联之后将水分子排出，从而形成O-氨基酸残基或HO-氨基酸残基掺入其中的产物。

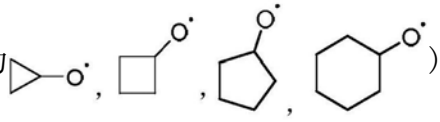
[0030] 在未指定其立体化学的情况下，氨基酸或氨基酸残基的名称旨在涵盖氨基酸的L形式、氨基酸的D形式、或其外消旋混合物。

[0031] 本发明使用的“卤代烷基”是指如上所定义的烷基，其中所述烷基包括至少一个选自卤素例如氟(F)、氯(Cl)、溴(Br)或碘(I)的取代基。卤代烷基的实例包括但不限于，$-CF_3$、$-CH_2CF_3$、$-CCl_2F$和$-CCl_3$。

[0032] 本发明使用的“烯基”是指包含至少两个碳原子和一个或多个非芳族碳-碳双键的一价烃基基团部分。烯基是任选取代的，且可以是直链、支链或环状的。烯基包括但不限于具有2-20个碳原子，即C_{2-20}烯基；2-12个碳原子，即C_{2-12}烯基；2-8个碳原子，即C_{2-8}烯基；2-6个碳原子，即C_{2-6}烯基；和2-4个碳原子，即C_{2-4}烯基的那些基团。烯基基团部分的实例包括但不限于乙烯基、丙烯基、丁烯基和环己烯基。

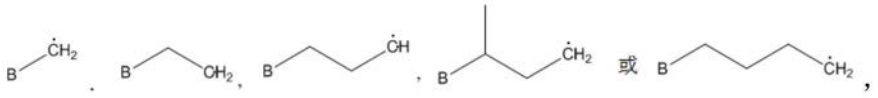
[0033] 本发明使用的“炔基”是指包含至少两个碳原子和一个或多个碳-碳三键的一价烃基基团部分。炔基是任选取代的，且可以是直链、支链或环状的。炔基包括但不限于具有2-20个碳原子，即C_{2-20}炔基；2-12个碳原子，即C_{2-12}炔基；2-8个碳原子，即C_{2-8}炔基；2-6个碳原子，即C_{2-6}炔基；和2-4个碳原子，即C_{2-4}炔基的那些基团。炔基基团部分的实例包括但不限于乙炔基、丙炔基和丁炔基。

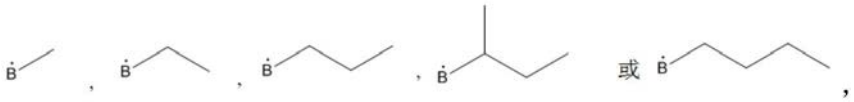
[0034] 本发明使用的“烷氧基”是指一价且饱和的烃基基团部分，其中所述烃包括与氧原子连接的单键，和其中所述自由基位于氧原子上，例如乙氧基CH_3CH_2-O•。烷氧基取代基与它们通过所述烷氧基取代基的氧原子取代的化合物连接。烷氧基是任选取代的，且可以是直链、支链或环状的，即环烷氧基。烷氧基包括但不限于具有1-20个碳原子，即C_{1-20}烷氧基；1-12个碳原子，即C_{1-12}烷氧基；1-8个碳原子，即C_{1-8}烷氧基；1-6个碳原子，即C_{1-6}烷氧基；和1-3个碳原子，即C_{1-3}烷氧基的那些。烷氧基基团部分的实例包括但不限于甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基、异丁氧基、戊氧基基团部分、己氧基基团

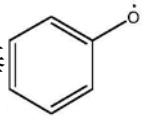
部分、环丙氧基、环丁氧基、环戊氧基和环己氧基(即分别为)。

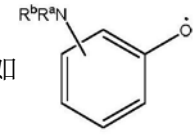
[0035] 本发明使用的“卤代烷氧基”是指如上所定义的烷氧基，其中所述烷氧基包括至少一个选自卤素例如F、Cl、Br或I的取代基。

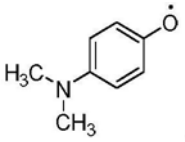
[0036] 本发明使用的“芳基”是指一价基团部分，其是芳族化合物的原子团，其中所述环原子均是碳原子。芳基是任选取代的，且可以是单环或多环的，例如双环或三环。芳基基团部分的实例包括但不限于具有6至20个环碳原子，即C_{6-20}芳基；6至15个环碳原子，即C_{6-15}芳基，和6至10个环碳原子，即C_{6-10}芳基的那些。芳基基团部分的实例包括但不限于苯基、萘基、芴基、蒽基、葸基、菲基和苊基。

[0037] 本发明使用的“芳基烷基”是指烷基化合物原子团的一价基团部分，其中所述烷基化合物被芳香族取代基取代，即，所述芳香族化合物包括与烷基基团连接的单键，和其中所述自由基位于所述烷基基团上。芳基烷基基团通过所述烷基基团与所示的化学结构连接。芳基烷基可以由以下结构表示，例如，，其中B是芳族基团部分，例如苯基。芳基烷基是任选取代的，即所述芳基基团和/或所述烷基基团，可以如本发明所述的那样被取代。芳基烷基的实例包括但不限于苄基。

[0038] 本发明使用的“烷基芳基”是指芳基化合物原子团的一价基团部分，其中所述芳基化合物被烷基取代基取代，即，所述芳基化合物包括与烷基基团连接的单键，其中所述自由基位于所述芳基基团上。烷基芳基基团通过所述芳基基团与所示的化学结构连接。烷基芳基可以由以下结构表示，例如，，其中B是芳族基团部分，例如苯基。烷基芳基是任选取代的，即所述芳基基团和/或所述烷基基团，可以如本发明所述的那样被取代。烷基芳基的实例包括但不限于甲苯甲酰基。

[0039] 本发明使用的“芳氧基/芳基氧基”是指芳族化合物原子团的一价基团部分，其中所述环原子均是碳原子，和其中所述环被氧基取代，即所述芳族化合物包括与氧原子连接的单键，和其中所述自由基位于氧原子上，例如苯氧基芳氧基取代基与它们通过此氧原子取代的化合物连接。芳氧基是任选取代的。芳氧基包括但不限于具有6至20个环碳原子，即C_{6-20}芳氧基；6至15个环碳原子，即C_{6-15}芳氧基，和6至10个环碳原子，即C_{6-10}芳氧基的那些基团。芳氧基基团部分的实例包括但不限于苯氧基、萘氧基和蒽氧基。

[0040] 本发明使用的“R^aR^bN-芳基氧基”是指芳族化合物原子团的一价基团部分，其中所述环原子均是碳原子，和其中所述环被至少一个R^aR^bN-取代基和至少一个氧基取代，即所述芳族化合物包括与R^aR^bN-取代基连接的单键和与氧原子连接的单键，其中所述自由基位于氧原子上，例如R^aR^bN-芳基氧基取代基与它们通过此氧原子取代的化合物连

接。R^aR^bN-芳基氧基是任选取代的。R^aR^bN-芳基氧基包括但不限于具有6至20个环碳原子，例如，$C_{6-20}(R^aR^bN)_n$-芳基氧基，6至15个环碳原子，例如，$C_{6-15}(R^aR^bN)_n$-芳基氧基，和6至10个环碳原子，例如，$C_{6-10}(R^aR^bN)_n$-芳基氧基的那些，其中n表示R^aR^bN-取代基的数目。R^aR^bN-芳基氧基基团部分的实例包括但不限于4-(二甲基氨基)-苯氧基，。

[0041] 本发明使用的“亚芳基”是指芳族化合物的二价基团部分，其中所述环原子仅为碳原子。亚芳基是任选取代的，且可以是单环或多环的，例如双环或三环。亚芳基基团部分的实例包括但不限于具有6至20个环碳原子，即C_{6-20}亚芳基；6至15个环碳原子，即C_{6-15}亚芳基；和6至10个环碳原子，即C_{6-10}亚芳基的那些。

[0042] 本发明使用的“杂烷基”是指其中一个或多个碳原子被杂原子替换的烷基。本发明使用的“杂烯基”是指其中一个或多个碳原子被杂原子替换的烯基。本发明使用的“杂炔基”是指其中一个或多个碳原子被杂原子替换的炔基。合适的杂原子包括但不限于氮、氧和硫原子。杂烷基是任选取代的。杂烷基基团部分的实例包括但不限于氨基烷基、磺酰基烷基、亚磺酰基烷基。杂烷基基团部分的实例还包括但不限于甲氨基、甲磺酰基和甲基亚磺酰基。

[0043] 本发明使用的“杂芳基”是指芳族化合物原子团的一价基团部分，其中所述环原子包含碳原子和至少一个氧、硫、氮或磷原子。杂芳基基团部分的实例包括但不限于具有5至20个环原子，5至15个环原子，和5至10个环原子的那些。杂芳基是任选取代的。

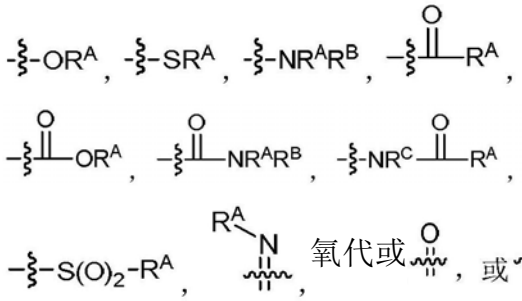
[0044] 本发明使用的“亚杂芳基”是指其中所述芳环的一个或多个环原子被氧、硫、氮或磷原子替换的亚芳基。亚杂芳基是任选取代的。

[0045] “杂环烷基”是指其中一个或多个碳原子被杂原子替换的环烷基。合适的杂原子包括但不限于氮、氧和硫原子。杂环烷基是任选取代的。杂环烷基基团部分的实例包括但不限于吗啉基、哌啶基、四氢吡喃基、吡咯烷基、咪唑烷基、噁唑烷基、噻唑烷基、二氧杂环戊烷基、二硫杂环戊烷基、氧杂环戊烷基或硫杂环戊烷基。

[0046] 本发明使用的“路易斯酸”是指接受孤对电子的分子或离子。本发明所述方法中使用的路易斯酸是质子以外的那些。路易斯酸包括但不限于非金属酸类，金属酸类，硬路易斯酸类和软路易斯酸类。路易斯酸包括但不限于铝、硼、铁、锡、钛、镁、铜、锑、磷、银、镱、钪、镍和锌的路易斯酸类。示例性的路易斯酸包括但不限于：$AlBr_3$，$AlCl_3$，BCl_3，三氯化硼甲基硫化物，BF_3，三氟化硼甲基醚络合物，三氟化硼甲基硫化物，三氟化硼四氢呋喃，二环己基硼三氟甲烷磺酸盐，溴化铁(III)，氯化铁(III)，氯化锡(IV)，氯化钛(IV)，异丙醇钛(IV)，$Cu(OTf)_2$，$CuCl_2$，$CuBr_2$，氯化锌，烷基铝卤化物类(R_nAlX_{3-n}，其中R是烃基)，$Zn(OTf)_2$，$ZnCl_2$，$Yb(OTf)_3$，$Sc(OTf)_3$，$MgBr_2$，$NiCl_2$，$Sn(OTf)_2$，$Ni(OTf)_2$，和$Mg(OTf)_2$。

[0047] 本发明使用的“含N的杂环烷基”是指其中一个或多个碳原子被杂原子替代，和其中至少一个杂原子是氮原子的环烷基。合适的杂原子除氮原子之外，还包括但不限于氧原子和硫原子。含N的杂环烷基是任选取代的。含N的杂环烷基基团部分的实例包括但不限于吗啉基、哌啶基、吡咯烷基、咪唑烷基、噁唑烷基、或噻唑烷基。

[0048] 本发明使用的“任选取代的”，当用于描述基团部分，例如任选取代的烷基时，是指此基团部分任选地与一个或多个取代基连接。此类取代基的实例包括但不限于卤素，氰基，硝基，任选取代的卤代烷基，叠氮基，环氧基，任选取代的杂芳基，任选取代的杂环烷基，



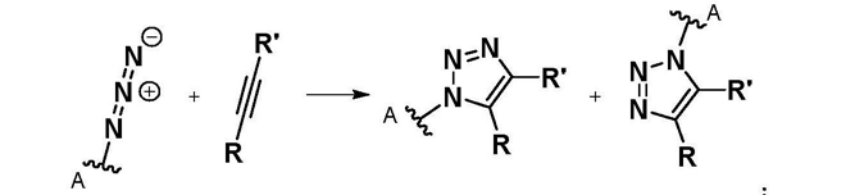
氧代或，或，其中R^A、R^B和R^C在每次出现时，分别独立地为氢原子、烷基、烯基、炔基、芳基、烷基芳基、芳基烷基、杂烷基、杂芳基、或杂环烷基，或R^A和R^B同与它们连接的原子一起形成饱和或不饱和的碳环，其中所述环是任选取代的，和其中一个或多个环原子任选地被杂原子替代。在某些实施方案，当基团部分任选地被任选取代的杂芳基、任选取代的杂环烷基或任选取代的饱和或不饱和碳环取代时，所述任选取代的杂芳基、任选取代的杂环烷基或任选取代的饱和或不饱和碳环上的取代基，如果它们被取代，则不被进一步任选地被另外的取代基取代的取代基取代。在一些实施方案，当本发明所述的基团任选地被取代时，除非另有说明，与所述基团连接的取代基是未被取代的。

[0049] 本发明使用的“结合剂”是指能够与给定结合配偶体(例如抗原)特异性结合的任何分子，例如蛋白质。

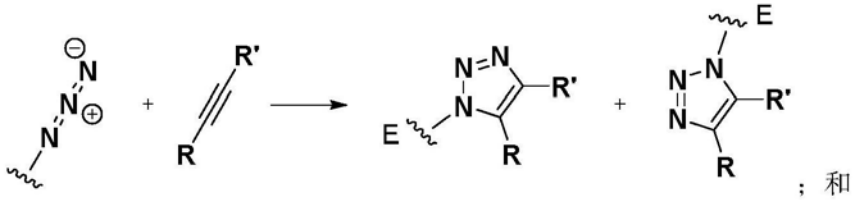
[0050] 本发明使用的“连接体”是指将所述结合剂与本发明所述的一个或多个化合物，例如，有效负载化合物和增强剂，共价连接的二价、三价、或多价基团部分。

[0051] 本发明使用的“酰胺合成条件”是指适于促进形成酰胺，譬如，通过羧酸、活化的羧酸、或酰卤与胺进行反应的反应条件。在一些实施例，酰胺合成条件是指适于在羧酸和胺之间促进形成酰胺键的反应条件。在所述这些实施例的一些中，所述羧酸首先在活化羧酸与胺反应形成酰胺之前转化为活化羧酸。实现酰胺形成的适宜条件包括，但不限于，利用试剂来实现羧酸与胺之间反应的那些，包括但不限于，二环己基碳二亚胺(DCC)、二异丙基碳二亚胺(DIC)、(苯并三氮唑-1-基氧基)三(二甲基氨基)磷鎓六氟磷酸盐(BOP)、(苯并三唑-1-基氧基)三吡咯烷基鏻六氟磷酸盐(PyBOP)、(7-偶氮苯并三氮唑-1-基氧基)三吡咯烷基鏻六氟磷酸盐(PyAOP)、三吡咯烷基溴化鏻六氟磷酸盐(PyBrOP)、O-(苯并三氮唑-1-基)-N,N,N’,N’-四甲基脲六氟磷酸盐(HBTU)、O-(苯并三氮唑-1-基)-N,N,N’,N’-四甲基脲六氟硼酸盐(TBTU)、1-[双(二甲氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三氮唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化六氟磷酸盐(HATU)、2-乙氧基-1-乙氧羰基-1,2-二氢喹啉(EEDQ)，1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺(EDC)、2-氯-1,3-二甲基咪唑鎓六氟磷酸盐(CIP)、2-氯-4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪(CDMT)、和羰二咪唑(CDI)。在一些实施例，首先将羧酸转化为活化的羧酸酯，然后与胺反应形成酰胺键。在一些实施方案，羧酸与试剂反应。所述试剂通过使羧酸去质子来活化羧酸，然后由于去质子化的羧酸亲核进攻到质子化试剂上，从而与去质子化的羧酸形成产物复合物。对于某些羧酸，相较羧酸转化成活化酯之前，所述活化羧酸酯更容易受到胺的亲核进攻。此举导致酰胺键形成。因此，所述羧酸被描述为活化的。示例性试剂包括DCC和DIC。

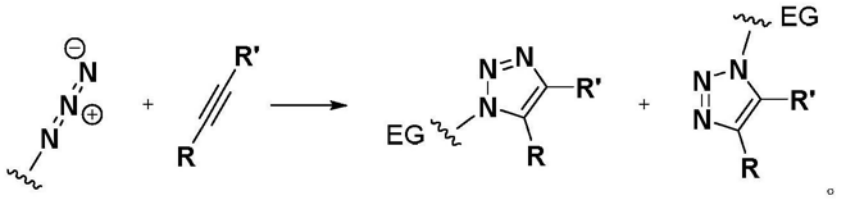
[0052] 本发明使用的“位置异构体”、“区域异构体”或“区域异构体的混合物”是指得自用合适的炔烃处理的合适的叠氮化物(例如，$-N_3$或PEG-N_3衍生抗体)的1,3-环加成产物或应变促进的炔烃-叠氮化物环加成产物(SPAAC)(也称为点击反应)。在某些实施方案，例如，所述区域异构体和区域异构体的混合物的特征在于如下所示的点击反应产物：



；



；和



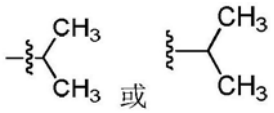
。

在某些实施方案，可在生成产物的合成方案中使用一种以上的合适的叠氮化物和一种以上的合适的炔烃，其中每对叠氮化物-炔烃可参与一个或多个独立的点击反应以生成区域异构的点击反应产物的混合物。例如，技术人员将认识到，第一合适的叠氮化物可独立地与第一合适的炔烃反应，第二合适的叠氮化物可在生成产物的途中独立地与第二合适的炔烃反应，从而生成本发明所述ADC样品中的四种可能的点击反应区域异构体或所述四种可能的点击反应区域异构体的混合物。通过进一步的实例，技术人员将认识到，第一合适的叠氮化物可独立地与第一合适的炔烃反应，和第二合适的叠氮化物可在生成产物的途中独立地与第二合适的炔烃反应，从而生成本发明所述的LP样品中的四种可能的点击反应区域异构体或所述四种可能的点击反应区域异构体的混合物。

[0053] 本发明使用的术语“残基”是指化合物内化学反应后保留的化学基团部分。例如，术语“氨基酸残基”或“N-烷基氨基酸残基”是指氨基酸或N-烷基氨基酸与合适的偶联配偶体进行酰胺偶联或肽偶联的产物；其中，例如，在氨基酸或N-烷基氨基酸的酰胺偶联或肽偶联之后将水分子排出，从而得到氨基酸残基或N-烷基氨基酸残基掺入其中的产物。

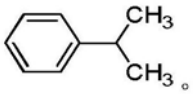
[0054] 本发明使用的“治疗有效量”是指足以在患者治疗或控制疾病或病症，或延迟或最小化与疾病或病症相关的一种或多种症状时，提供治疗益处的(化合物的)量。

[0055] 某些基团、分子/基团部分、取代基、和原子被描述为具有与键相交的波浪线，以指示所述基团、分子/基团部分、取代基、原子通过其进行连接的原子。譬如，被丙基基团取代的苯基基团可表示为：

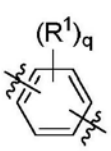
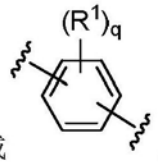


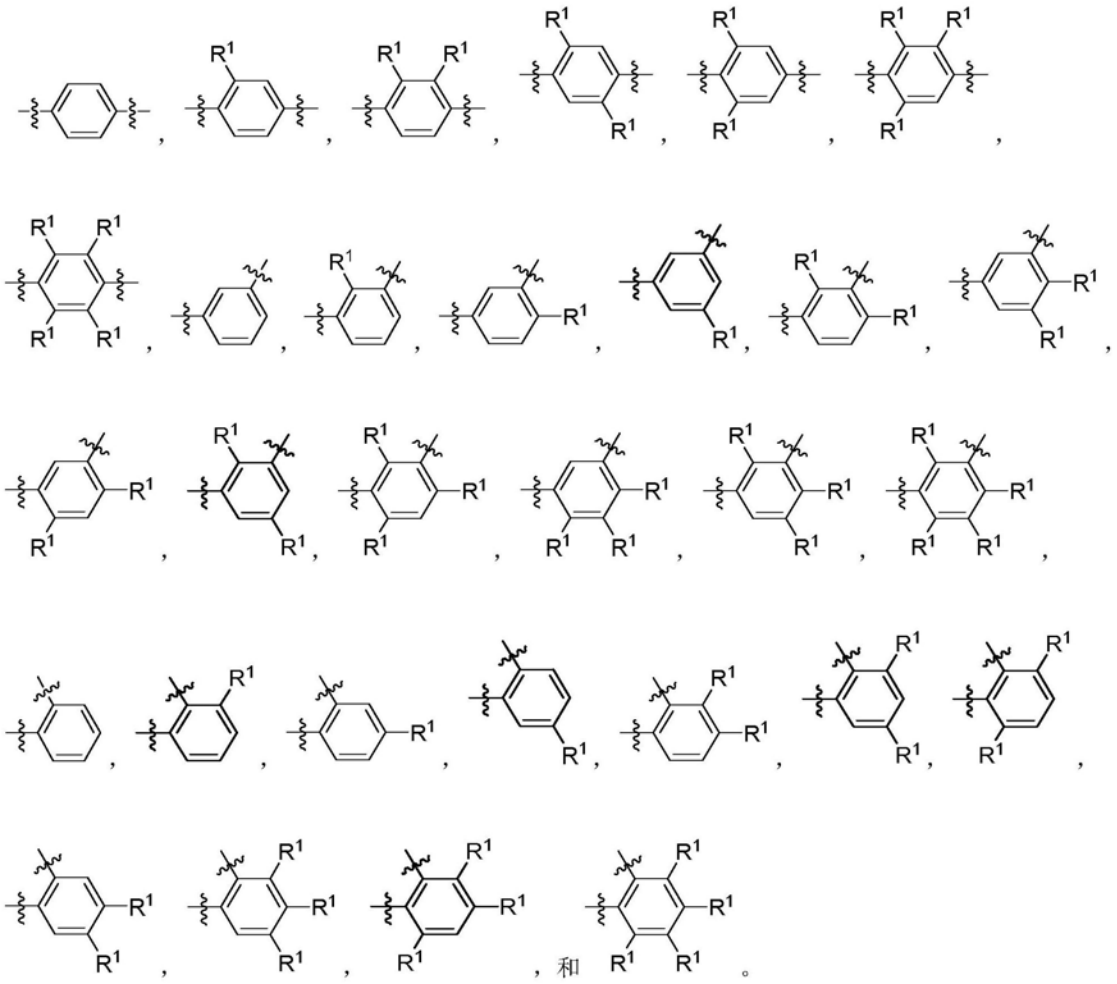
或

具有下述结构：

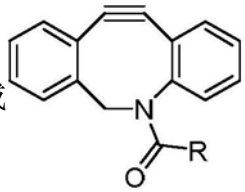
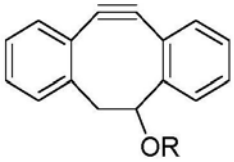
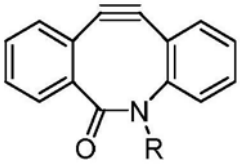
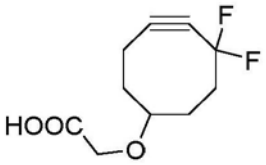
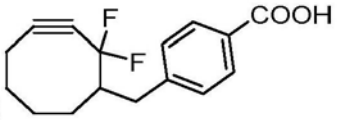
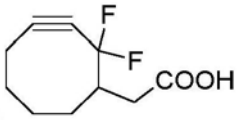
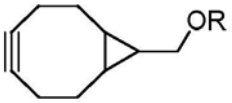
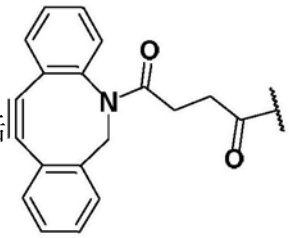
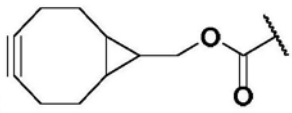


。本发明使用的，通过环原子之间的键连接到环状基团(例如，芳环、杂芳环、稠环、和饱和或不饱和环烷基或杂环烷基)的取代基的图示说明意在表示，除非另有说

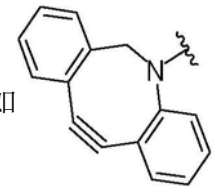
明，环状基团可根据本发明所阐述的技术或即时公开的涉及本领域已知的技术，在环状基团的任何环位置或稠环基团的任何环上被取代基取代。譬如，所述基团  或 ，其中下标q是从0至4的整数，和其中取代基R^1的位置一般性地描述，即不直接连接至键合线结构的任何顶点，即特定的环碳原子，包括以下，其中取代基R^1与特定环碳原子连接的基团的非限制性实例：

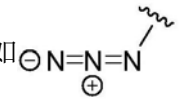
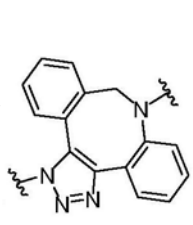
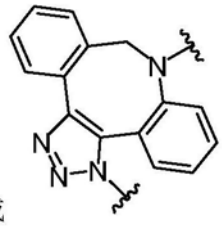


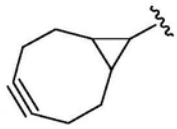
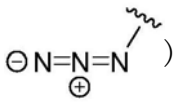
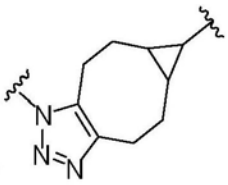
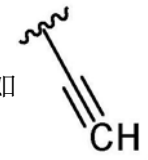
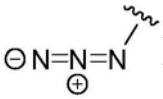
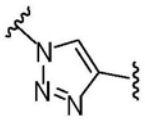
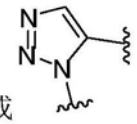
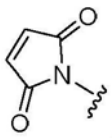
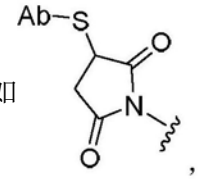
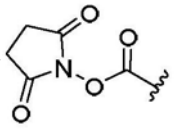
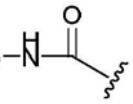
[0056] 本发明使用的短语“活性(反应性)连接体”或缩写“RL”是指包含活性(反应性)基团和间隔基团的一价基团，如RG-SP-⧘所示，其中RG是活性基团，SP是间隔基团。如本发明所述，活性(反应性)连接体可包含一个以上活性(反应性)基团和一个以上间隔基团。所述间隔基团是将活性(反应性)基团桥接至另一个基团(例如有效负载)的任何二价基团部分。所述活性连接体(RL)与同它们连接的有效负载一起，组成可用作制备本发明所述抗体偶联物的合成前体的中间体(“连接体-有效负载”)。所述活性连接体包含活性基团(“RG”)，其是与另一基团(例如抗体、经修饰的抗体、或其抗原结合片段、或增强基团)的活性部分反应的官能团或基团部分。由所述活性基团与所述抗体、经修饰的抗体或其抗原结合片段反应产生的基团部分与所述连接基团一起，组成本发明所述的偶联物的“结合剂连接体”(“BL”)部分。在某些实施方案，所述“活性基团”是与抗体或其抗原结合片段的半胱氨酸或赖氨酸残基反应的

官能团或基团部分(例如,马来酰亚胺或N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)酯)。在某些实施方案,所述"活性基团"是能够进行点击化学反应(参见,例如click chemistry,Huisgen Proc.Chem.Soc.1961,Wang et al.J.Am.Chem.Soc.2003,and Agard et al.J.Am.Chem.Soc.2004)的官能团或基团部分。在所述点击化学反应的一些实施方案中,所述活性基团是能够与叠氮化物进行1,3-环加成反应的炔烃。此类合适的活性基团包括但不限于应变炔烃类,例如适用于应变促进的炔-叠氮化物环加成(SPAAC)的那些,环炔烃类,例如环辛炔类、苯并环化的炔烃类、和在没有铜催化剂的情况下能够与炔烃类化合物进行1,3-环加成反应的炔烃类。合适的炔烃类还包括但不限于二苯并氮杂环辛炔或(DIBAC),二苯并环辛炔或(DIBO),二芳基氮杂环辛炔酮或(BARAC),二氟化环辛炔或,或,或(DIFO),取代的例如氟化炔烃类,氮杂环炔烃类,二环[6.1.0]壬炔或(BCN,其中R是烷基、烷氧基、或酰基),和其衍生物类。特别有用的炔烃类包括和。

包含此类活性基团的连接体-有效负载可用于偶联已用叠氮基官能化的抗体。此类官能化抗体包括用叠氮基-聚乙二醇基团官能化的抗体。在某些实施方案,此类官能化抗体通过在转谷氨酰胺酶的存在下,用带有氨基基团和叠氮基的化合物处理具有至少一个谷氨酰胺残基(例如重链Gln295)的抗体,从而衍生得到。

[0057] 在一些实施例,所述活性基团是炔烃,例如,其可通过点击化学与叠氮

化物(例如)反应,以形成点击化学产物,例如或。

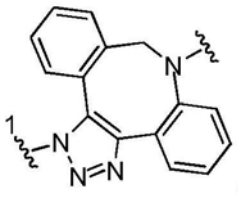
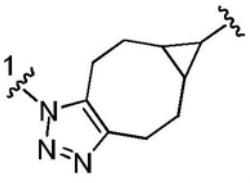
在一些实施例,所述基团与经修饰的抗体或其抗原结合片段上的叠氮化物反应。在一些实施例,所述活性基团是炔烃,例如,其可通过点击化学与叠氮化物(例如)反应,以形成点击化学产物,例如。在一些实施例,所述活性基团是炔烃,例如,其可通过点击化学与叠氮化物(例如)反应,以形成点击化学产物,例如或。在一些实施例,所述活性基团是官能团,例如,其与抗体或其抗原结合片段上的半胱氨酸残基反应,与其形成键,例如,其中Ab是指抗体或其抗原结合片段,S是指半胱氨酸残基上的S原子,所述官能团通过此半胱氨酸残基上的S原子与Ab结合。在一些实施例,所述活性基团是官能团,例如,其与抗体或其抗原结合片段上的赖氨酸残基反应,与其形成键,例如,其中Ab是指抗体或其抗原结合片段,NH是指赖氨酸侧链残基上的NH原子,所述官能团通过此赖氨酸侧链残基上的NH原子与Ab结合。

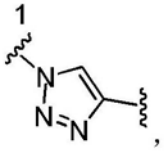
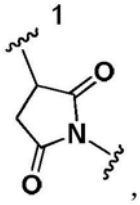
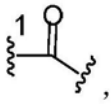
[0058] 本发明使用的短语“可生物降解的基团部分”是指在体内降解为无毒的、可生物相容的组分的基团部分,所述组分可通过普通生物过程从体内清除。在一些实施方案,可生物降解的基团部分在约90天或更短,约60天或更短,或约30天或更短的时间内在体内完全或基本上降解,其中降解的程度基于所述可生物降解基团部分的质量损失百分比,其中完全降解对应于100%质量损失。示例性可生物降解的基团部分包括但不限于脂族聚酯类,例如

聚(ε-己内酯)(PCL),聚(3-羟基丁酸酯)(PHB),聚(乙醇酸)(PGA),聚(乳酸)(PLA)和其与乙醇酸的共聚物(即聚(D,L-丙交酯-共乙交酯)(PLGA)(Vert M,Schwach G,Engel R and Coudane J(1998)J Control Release 53(1-3):85-92;Jain R A(2000)Biomaterials 21(23):2475-2490;Uhrich K E,Cannizzaro S M,Langer R S and Shakesheff K M(1999)Chemical Reviews 99(11):3181-3198;和Park T G(1995)Biomaterials 16(15):1123-1130,各文献均通过引用其全部内容并入本发明)。

[0059] 本发明使用的短语“有效量”、“生理学有效量”或“预防有效量”是指当向需要此种治疗的受试者施用时足以实现治疗效果的化合物的量。活性物质的“生理学有效量”表示有效量的所述活性物质对患者具有显著的、外部可观察的效果。因此,生理有效量影响患者中的一种或多种特征(例如表型),而无需专用设备来确定所述效果。例如,通过减少待治疗病症的一种或多种症状,本发明公开的生理学有效量的化合物对患者的行为具有显著的、外部可观察的作用。因此,可通过观察患者并观察患者是否由于活性物质而发生了变化来确定是否已施用了有效量的活性物质。

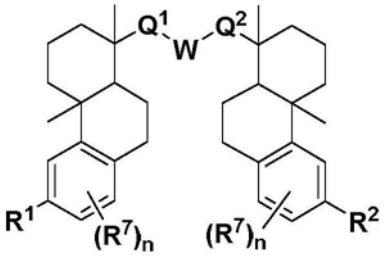
[0060] 本发明使用的短语“结合剂连接体”、或“BL”是指使结合剂(例如,抗体或其抗原结合片段)与本发明所述的有效负载化合物(例如,双八氢菲羧酰胺类化合物)、以及任选地与一个或多个侧链化合物连接、结合或键合的任何二价、三价、或多价基团或基团部分。通常,本发明所述的抗体偶联物的合适的结合剂连接体是足以稳定以利用抗体的循环半衰期,并且同时能够在抗原介导的偶联物内化后释放其有效负载的那些。连接体可以是可切割的或不可切割的。可切割的连接体是内化后由细胞内代谢切割的连接体,例如通过水解、还原或酶促反应进行切割。不可切割的连接体是通过内化后抗体的溶酶体降解来释放附接的有效负载的连接体。合适的连接体包括但不限于酸不稳定连接体,水解不稳定连接体,酶促可切割连接体,还原不稳定连接体,自降解(self-immolative)连接体和不可切割连接体。合适的连接体还包括但不限于肽类,葡糖苷酸类,琥珀酰亚胺-硫醚类,聚乙二醇(PEG)单元类,脲类,ε-己酰单元类,二肽单元类,缬氨酸-瓜氨酸单元类,和对氨基苄基(PAB)单元类。在一些实施方案,所述结合剂连接体(BL)包含通过活性连接体(RL)的活性基团(RG)与结合剂(例如,抗体、经修饰的抗体、或其抗原结合片段)的活性部分进行反应形成的基团部分。

[0061] 在一些实施例,所述BL包含以下基团部分:或所述三唑基区域异构体,其中是与所述结合剂连接的键。在一些实施例,所述BL包含以下基团部分:其中是与所述结合剂连接的键。在一些实施例,所述BL包含以下基团

部分： 或所述三唑基区域异构体，其中是与所述结合剂连接的键。在一些实施例，所述BL包含以下基团部分： 其中是与所述抗体或其抗原结合片段的所述半胱氨酸连接的键。在一些实施例，所述BL包含以下基团部分： 其中是与所述抗体或其抗原结合片段的所述赖氨酸连接的键。

化合物和有效负载

[0062] 在一些实施例，本发明所述化合物具有式(I)所示结构：



(I)

或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，其中，

Q^1和Q^2各自独立地为$-CH_2-$、-C(O)-、-C(H)(OH)-、或$-C(OH)_2-$；

W是$-CH_2-$、-N(H)-、或-O-；

R^1是-H、-OH、$-NH_2$、烷基、或$-OP(O)(OR^6)_2$；

R^2是-H、-OH、$-CH_2NH_2$、R^3、R^4、R^5、或$-O-R^5$，其中R^1和R^2不同时为-H；

R^3是$-N(R^6)_2$；

R^4是-X-Y-Z；

X是选自由-O-和-N(H)-组成的组；

Y是选自由亚烷基、取代的亚烷基(包括但不限于氧代取代，即=O)、亚杂烷基、和取代的亚杂烷基(包括但不限于氧代取代(即=O))组成的组；

Z是选自由-OH和$-NH_2$组成的组；

R^5是烷基、杂环烷基、或取代的杂环烷基，其中各杂环烷基或取代的杂环烷基分别包含选自N和O的1、2或3个杂原子，并包括至少一个-OH和$-CH_2OH$、或至少一个伯氮或仲氮，例如O-葡萄糖；

各R^6，在每种情况下，分别独立地为-H、氨基酸残基、N-烷基氨基酸残基、肽、或烷基；和

各R^7分别独立地为卤素、C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基、-CN、O-葡萄糖、O-氨基酸残基、和$O-PEG_n$，

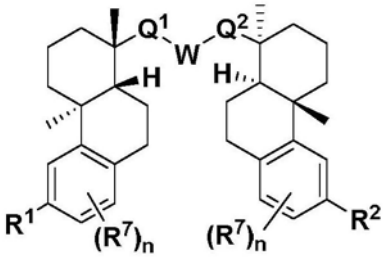
其中各n分别为从0至3的整数。

[0063] 在式I中，在某些实施方案，R^5是杂环烷基、或取代的杂环烷基。有用的杂环烷基基团包含四氢吡喃基、糖苷基、和哌嗪基。所述这些基团可以是取代的或未取代的。在某些实施方案，它们是未取代的。在某些实施方案中，它们是取代的。示例性取代基包括至少一个羟基，至少一个伯氮，或至少一个仲氮。

[0064] 在式I的某些实施方案中，R^6在每种情况下，分别独立地为氨基酸残基、N-烷基氨基酸残基、或肽。本领域技术人员将认识到，所述氨基酸残基可以是非手性或手性的，例如，L-氨基酸或D-氨基酸。氨基酸通常包括氨基酸侧链。所述侧链可以是技术人员已知的任何氨基酸的侧链。在某些实施方案，所述侧链是组氨酸、丙氨酸、异亮氨酸、精氨酸、亮氨酸、天冬酰胺、赖氨酸、天冬氨酸、蛋氨酸、半胱氨酸、苯丙氨酸、谷氨酸、苏氨酸、谷氨酰胺、色氨酸、缬氨酸、鸟氨酸、硒代半胱氨酸、丝氨酸、甘氨酸、高甘氨酸(例如β-高甘氨酸)、或酪氨酸的侧链。本领域技术人员将认识到，所述肽可以是非手性或手性的，例如，包括外消旋的DL-氨基酸或非外消旋的D-或L-氨基酸及其非对映异构体混合物。所述肽的侧链为如上述氨基酸背景下所述。本领域技术人员将认识到，N-烷基氨基酸残基在氨基酸残基的末端氨基基团或肽的末端氨基基团处包含如本发明所定义的烷基取代基。实例包括N-甲基氨基酸和N-乙基氨基酸。

[0065] 在式I中，在某些实施方案，各R^7分别为卤素、C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基、-CN、O-葡萄糖、O-氨基酸残基、或O-PEG_n，其中各n分别为从0至3的整数。在一些实施方案，O-氨基酸残基包括如上定义的HO-氨基酸残基。在一个实施方案，O-PEG_n是其中n＝0。在另一实施方案，O-PEG_n是其中n＝1。在另一实施方案，O-PEG_n是其中n＝2。在另一实施方案，O-PEG_n是其中n＝3。

[0066] 在一些实施例，本发明所述化合物具有式(Ia)所示结构：



(Ia)

或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，其中，

Q^1和Q^2各自独立地为-CH_2-、-C(O)-、-C(H)(OH)-、或-$C(OH)_2$-；

W是-CH_2-、-N(H)-、或-O-；

R^1是-H、-OH、-NH_2、烷基、或-OP(O)(OR^6)(OH)-OP(O)(OR^6)$_2$；

R^2是-H、-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5，其中R^1和R^2不同时为-H；

R^3是-N(R^6)$_2$；

R^4是-X-Y-Z；

X是选自由-O-和-N(H)-组成的组；

Y是选自由亚烷基、取代的亚烷基(包括但不限于氧代取代，即＝O)、亚杂烷基、和取代的亚杂烷基(包括但不限于氧代取代(即＝O))组成的组；

Z是选自由-OH和-NH_2组成的组；

R^5是烷基、杂环烷基、或取代的杂环烷基，其中各杂环烷基或取代的杂环烷基分别包含选自N和O的1、2或3个杂原子，并包括至少一个-OH和-CH_2OH取代基、或至少一个伯氮或仲氮，例如O-葡萄糖；

各R^6，在每种情况下，分别独立地为-H、氨基酸残基、N-烷基氨基酸残基、肽、或烷基；和

各R^7分别独立地为卤素、C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基、-CN、O-葡萄糖、O-氨基酸残基、和O-PEG_n，

其中各n分别为从0至3的整数。

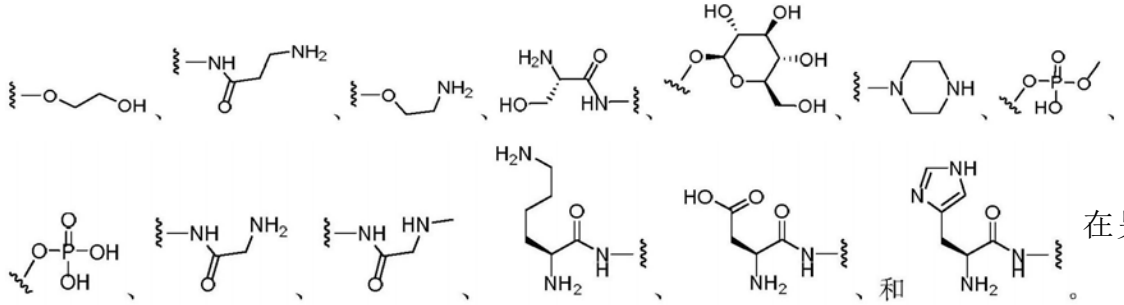
[0067] 在式Ia中，在某些实施方案，R^5是杂环烷基、或取代的杂环烷基。有用的杂环烷基包括四氢吡喃基、糖苷基和哌嗪基。所述这些基团可以是取代的或未取代的。在某些实施方案，它们是未取代的。在某些实施方案，它们是取代的。示例性取代基包括至少一个羟基，至少一个伯氮，或至少一个仲氮。

[0068] 在式Ia的某些实施方案中，R^6在每种情况下，分别独立地为氨基酸残基、N-烷基氨基酸残基、或肽。本领域技术人员将认识到，所述氨基酸残基可以是非手性或手性的，例如，L-氨基酸或D-氨基酸。氨基酸通常包括氨基酸侧链。所述侧链可以是技术人员已知的任何氨基酸的侧链。在某些实施方案，所述侧链是组氨酸、丙氨酸、异亮氨酸、精氨酸、亮氨酸、天冬酰胺、赖氨酸、天冬氨酸、蛋氨酸、半胱氨酸、苯丙氨酸、谷氨酸、苏氨酸、谷氨酰胺、色氨酸、缬氨酸、鸟氨酸、硒代半胱氨酸、丝氨酸、甘氨酸、高甘氨酸(例如β-高甘氨酸)、或酪氨酸的侧链。本领域技术人员将认识到，所述肽可以是非手性或手性的，例如，包括外消旋的DL-氨基酸或非外消旋的D-或L-氨基酸及其非对映异构体混合物。所述肽的侧链为如上述氨基酸背景下所述。本领域技术人员将认识到，N-烷基氨基酸残基在氨基酸的末端氨基基团或肽的末端氨基基团处包含如本发明所定义的烷基取代基。

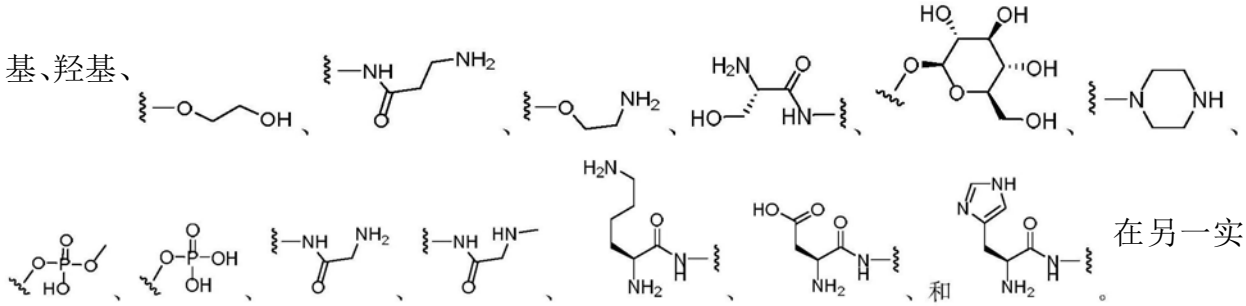
[0069] 在式Ia中，在某些实施方案，R^7是卤素、C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基、-CN、O-葡萄糖、O-氨基酸残基、或O-PEG_n，其中各n分别为从0至3的整数。在某些实施方案，O-氨基酸残基包括如上定义的HO-氨基酸残基。在一个实施方案，O-PEG_n是其中n＝0。在另一实施方案，O-PEG_n是其中n＝1。在另一实施方案，O-PEG_n是其中n＝2。在另一实施方案，O-PEG_n是其中n＝3。

[0070] 在式I或Ia的一个实施方案中，Q^1是-CH_2-，和Q^2是-C(O)-。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，和Q^2是-C(O)-。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，和Q^2是-C(O)-。又在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，和Q^2是-CH_2-。又在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，和Q^2是-C(H)(OH)-。

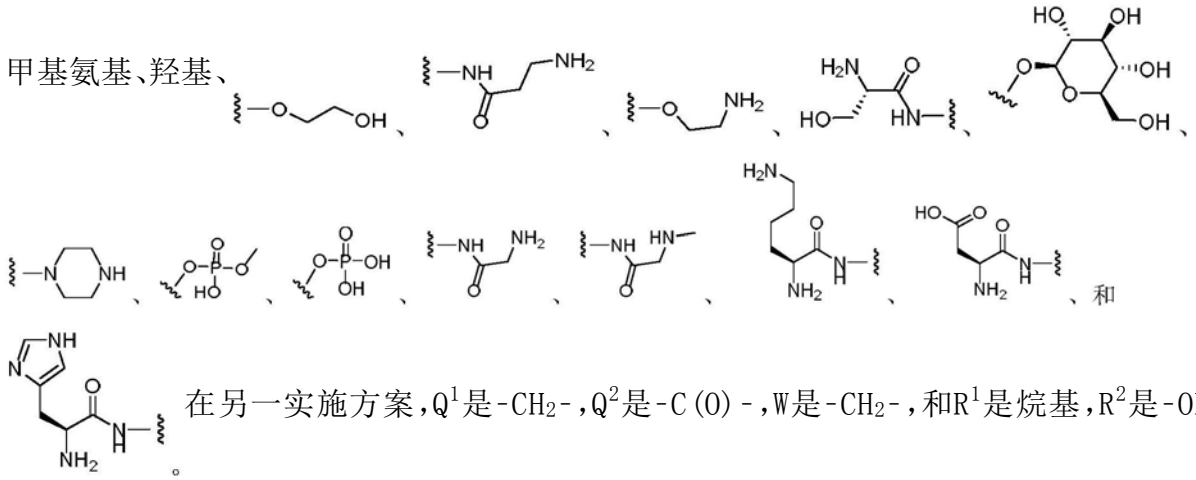
[0071] 在式I或Ia的一个实施方案中，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，和W是-CH_2-。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、



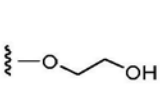
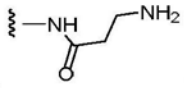
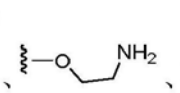
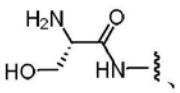
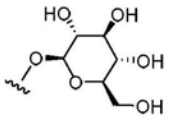
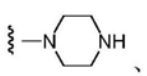
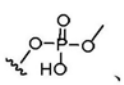
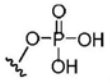
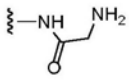
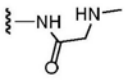
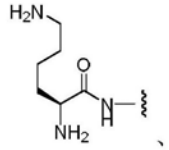
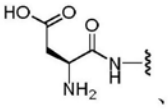
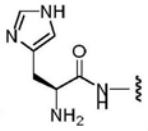
在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，和R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、



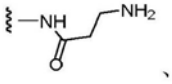
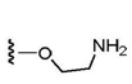
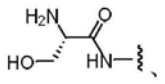
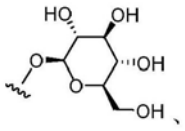
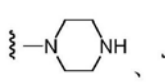
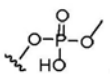
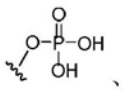
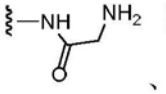
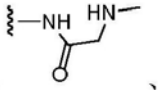
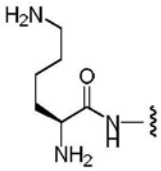
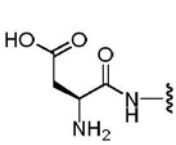
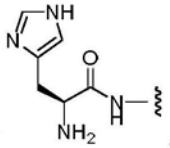
在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、

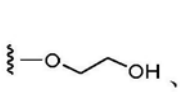
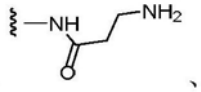
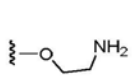
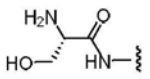
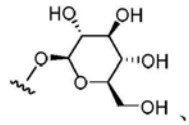
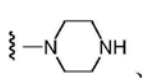
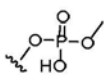
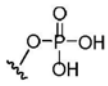
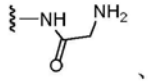
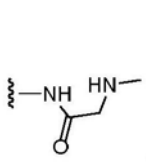
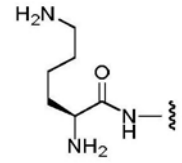
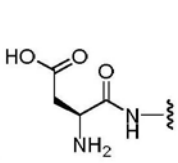
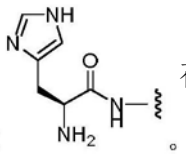
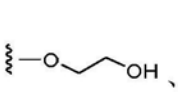
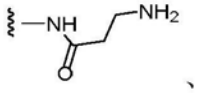
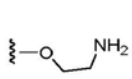
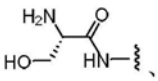
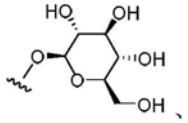
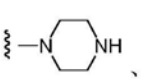
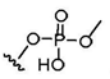
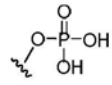
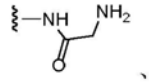
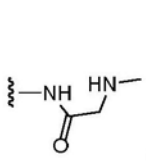
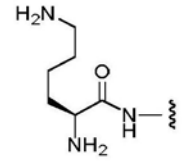
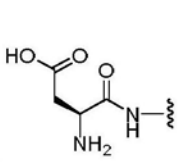
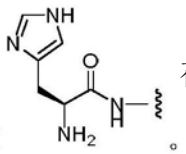
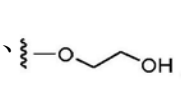
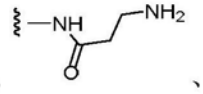


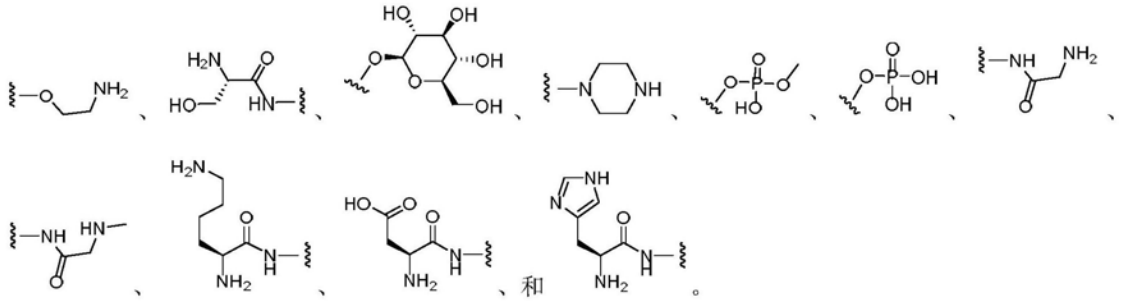
在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，

和R^2是-OH。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-CH_2-,和R^1是烷基,R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-CH_2-,和R^1是烷基,和R^2是R^3。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-CH_2-,和R^1是烷基,和R^2是R^4。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-CH_2-,和R^1是烷基,和R^2是R^5。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-CH_2-,和R^1是烷基,R^2是-O-R^5。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-CH_2-,和R^1是烷基,R^2是选自由以下组成的组:氨基、二甲基氨基、羟基、、、、、、、、、、、、、和。

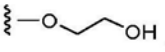
[0072] 在式I或Ia的另一实施方案中,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-CH_2-,和R^1是-OH或-OP(O)(OR^6)(OH),R^2是-H。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-CH_2-,和R^1是-OH,R^2是-H。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-CH_2-,和R^1是-OP(O)(OR^6)(OH),R^2是-H。在本段落前述实施方案中的任一个中,R^6可选自由羟基和甲基组成的组。

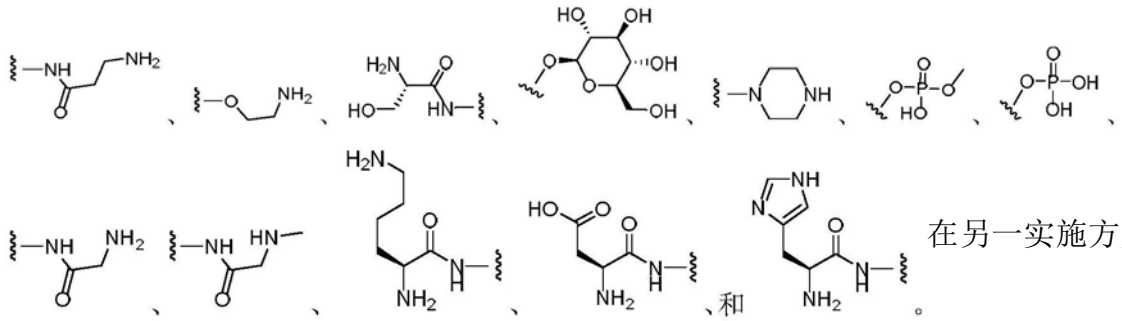
[0073] 在式I或Ia的一个实施方案中,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,和W是-O-。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-H,R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-H,R^2是-OH。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-H,R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-H,R^2是R^3。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-H,R^2是R^4。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-H,R^2是R^5。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-H,R^2是-O-R^5。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-CH_2-,和R^1是-H,R^2是选自由以下组成的组:氨基、二甲基氨基、羟基、、、、、、、、、、、、、和。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-OH,R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-OH,R^2是-OH。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-OH,R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-OH,R^2是R^3。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-OH,R^2是R^4。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-OH,R^2是R^5。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C

(O)-,W是-O-。和R^1是-OH,R^2是-O-R^5。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-CH_2-,和R^1是-OH,R^2是选自由以下组成的组:氨基、二甲基氨基、羟基、、、、、、、、、、、、、在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-NH_2,R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-NH_2,R^2是-OH。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-NH_2,R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-NH_2,R^2是R^3。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-NH_2,R^2是R^4。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-NH_2,R^2是R^5。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-NH_2,R^2是-O-R^5。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-CH_2-,和R^1是-NH_2,R^2是选自由以下组成的组:氨基、二甲基氨基、羟基、、、、、、、、、、、、、在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是烷基,R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是烷基,R^2是-OH。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是烷基,R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是烷基,R^2是R^3。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是烷基,R^2是R^4。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是烷基,R^2是R^5。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是烷基,R^2是-O-R^5。在另一实施方案,Q^1是-CH_2-,Q^2是-C(O)-,W是-CH_2-,和R^1是烷基,R^2是选自由以下组成的组:氨基、二甲基氨基、羟基、、、

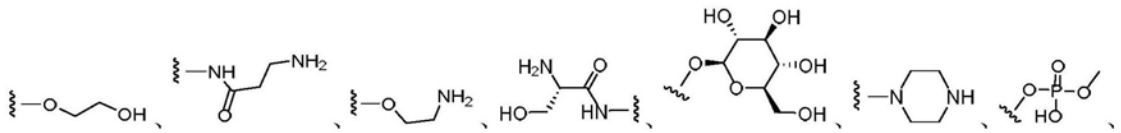


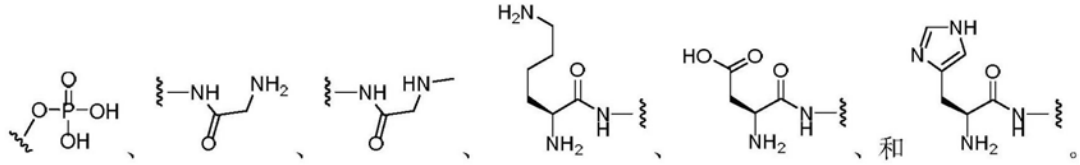
[0074] 在式I或Ia的另一实施方案中，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是-OH或-OP(O)(OR^6)(OH)，R^2是-H。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是-OH，R^2是-H。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是-OP(O)(OR^6)(OH)，R^2是-H。在本段落前述实施方案中的任一个中，R^6可选自由羟基和甲基组成的组。

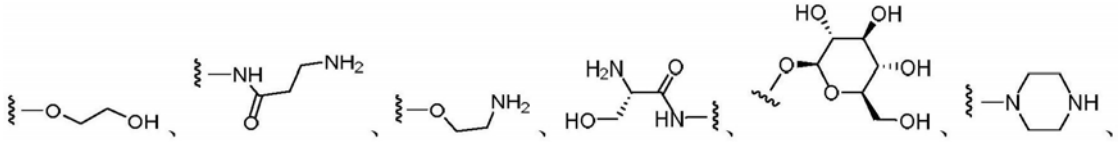
[0075] 在式I或Ia的一个实施方案中，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，和W是-NH-。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-H，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-H，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-H，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-H，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-H，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-H，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-H，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、、

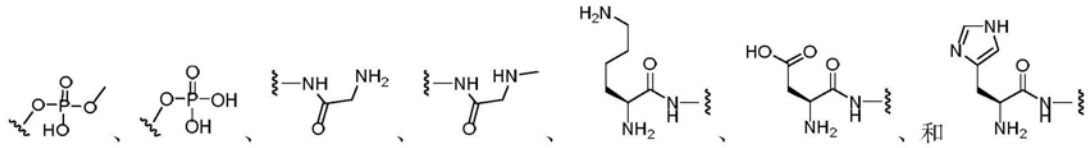


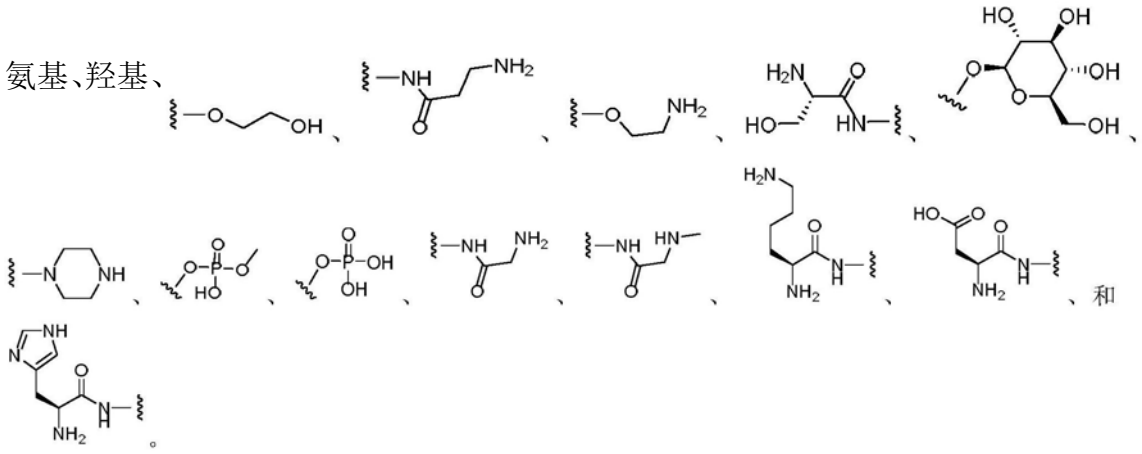
在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、




在另一实施方案，Q^1是$-CH_2-$，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是$-NH_2$，R^2是-OH、$-CH_2NH_2$、R^3、R^4、R^5、或$-O-R^5$。在另一实施方案，Q^1是$-CH_2-$，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是$-NH_2$，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是$-CH_2-$，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是$-NH_2$，R^2是$-CH_2NH_2$。在另一实施方案，Q^1是$-CH_2-$，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是$-NH_2$，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是$-CH_2-$，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是$-NH_2$，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是$-CH_2-$，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是$-NH_2$，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是$-CH_2-$，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是$-NH_2$，R^2是$-O-R^5$。在另一实施方案，Q^1是$-CH_2-$，Q^2是-C(O)-，W是$-CH_2-$，和R^1是$-NH_2$，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、

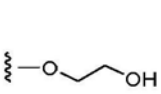
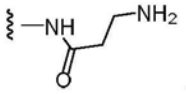
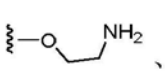
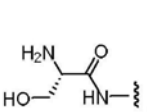
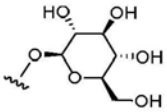
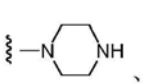
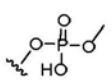
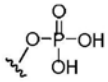
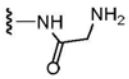
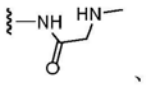
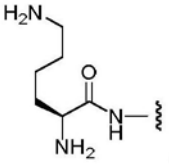
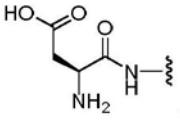
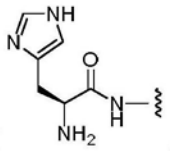
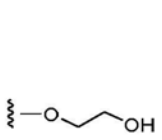
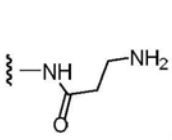
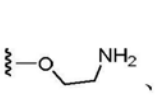
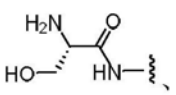
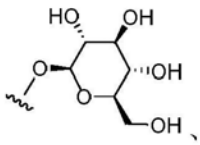
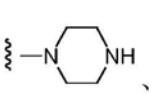
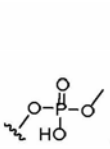
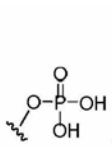
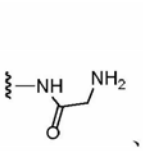
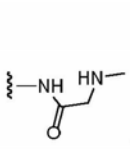
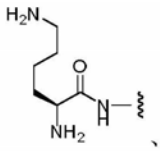
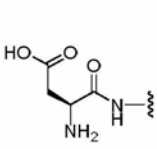
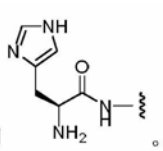


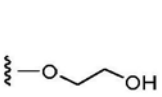
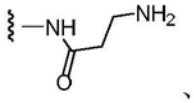
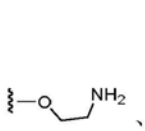
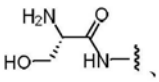
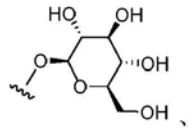
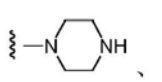
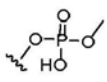
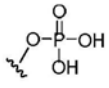
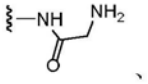
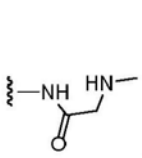
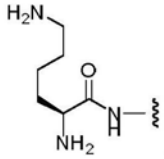
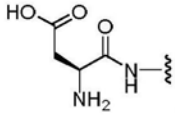
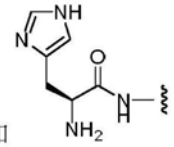
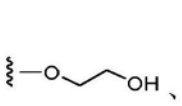
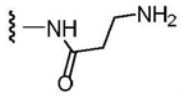
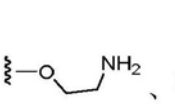
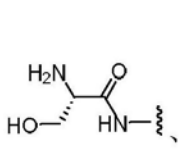
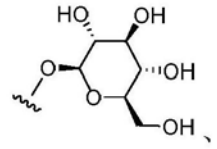
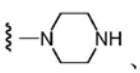
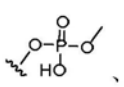
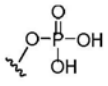
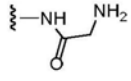
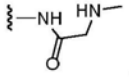
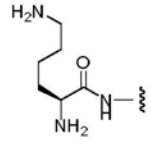
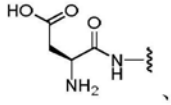
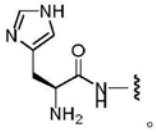

在另一实施方案，Q^1是$-CH_2-$，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是-OH、$-CH_2NH_2$、R^3、R^4、R^5、或$-O-R^5$。在另一实施方案，Q^1是$-CH_2-$，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是$-CH_2-$，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是$-CH_2NH_2$。在另一实施方案，Q^1是$-CH_2-$，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是$-CH_2-$，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是$-CH_2-$，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是$-CH_2-$，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是$-O-R^5$。在另一实施方案，Q^1是$-CH_2-$，Q^2是-C(O)-，W是$-CH_2-$，和R^1是烷基，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、



[0076] 在式I或Ia的另一实施方案中，Q^1是$-CH_2-$，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-OH或$-OP(O)(OR^6)(OH)$，R^2是-H。在另一实施方案，Q^1是$-CH_2-$，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是-H。在另一实施方案，Q^1是$-CH_2-$，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是$-OP(O)(OR^6)(OH)$，R^2是-H。在本段落前述实施方案中的任一个中，R^6可选自由羟基和甲基组成的组。

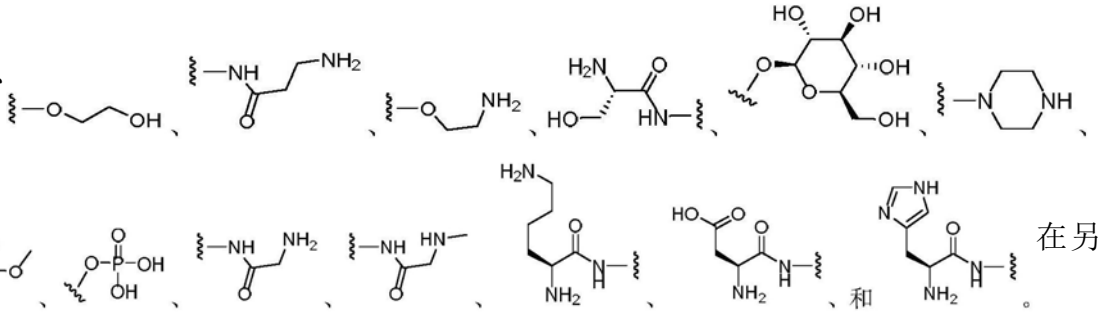
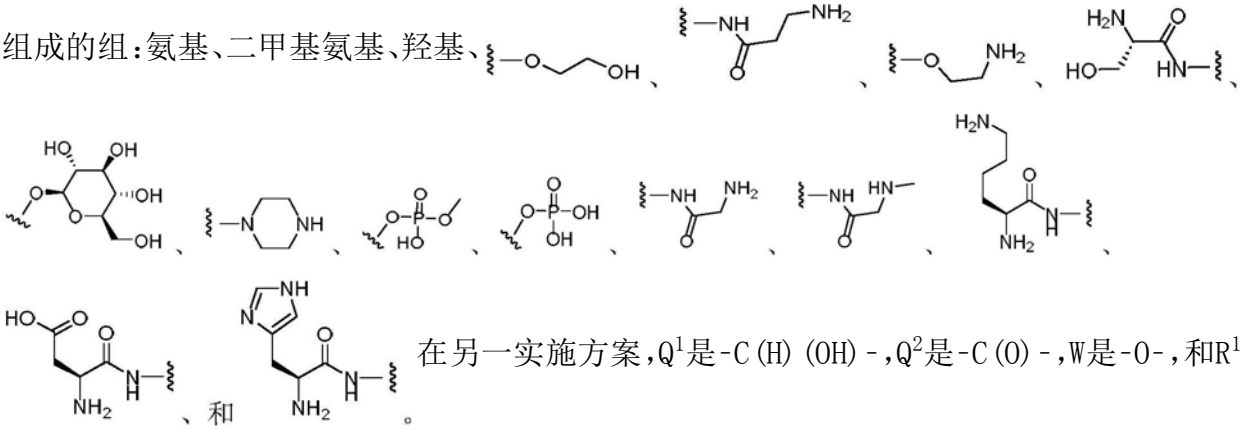
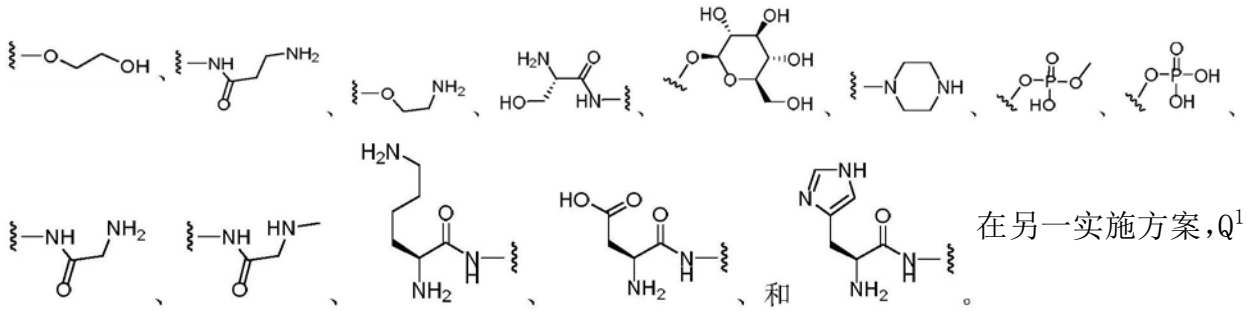
[0077] 在式I或Ia的一个实施方案中，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，和W是$-CH_2-$。在另一

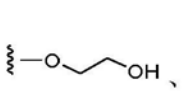
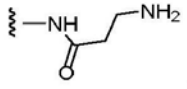
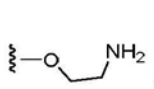
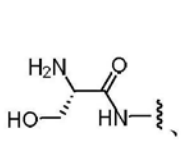
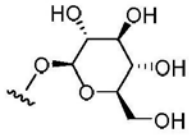
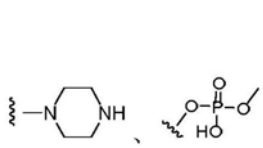
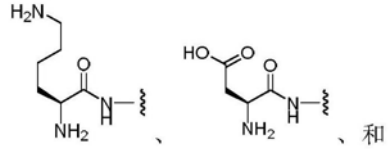
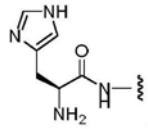
实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、、、、、、、、、、、、、和。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、、、、、、、、、、、、和。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1

是-NH_2，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、、、、、、、、、、、、、和。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、、、、、、、、、、、、、和。

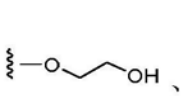
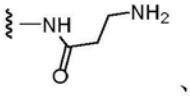
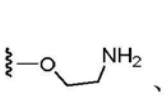
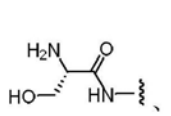
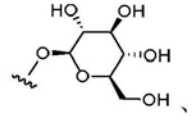
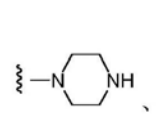
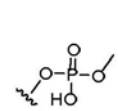
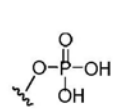
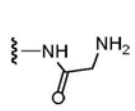
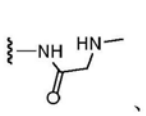
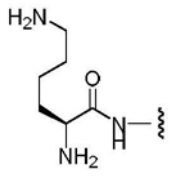
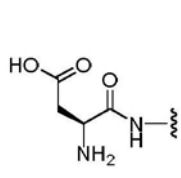
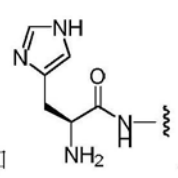
[0078] 在式I或Ia的另一实施方案中，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH或-OP(O)(OR^6)(OH)，R^2是-H。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是-H。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OP(O)(OR^6)(OH)，R^2是-H。在本段落前述实施方案中的任一个中，R^6可选自由羟基和甲基组成的组。

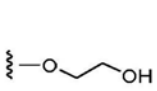
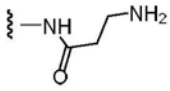
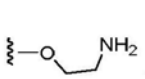
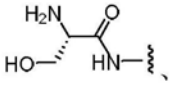
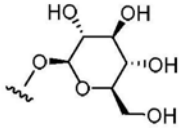
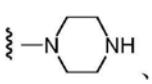
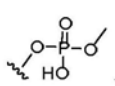
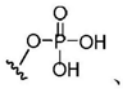
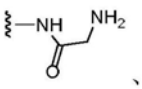
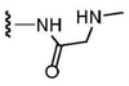
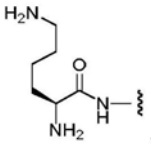
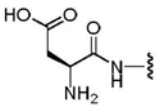
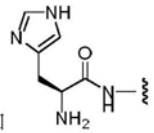
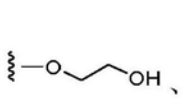
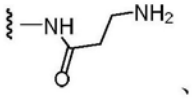
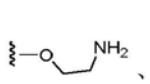
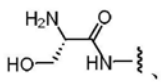
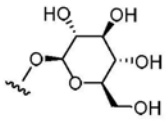
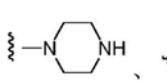
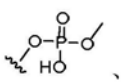
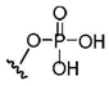
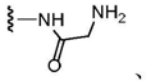
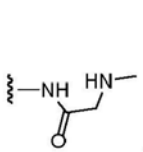
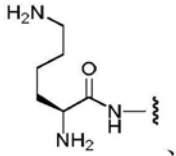
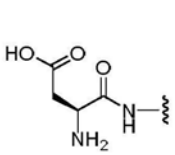
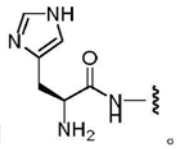
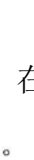
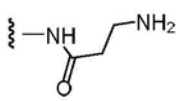
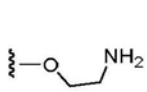
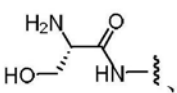
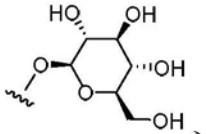
[0079] 在式I或Ia的一个实施方案中，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，和W是-O-。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是-H，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(H,OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是-H，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(H,OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是-H，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-C(H,OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是-H，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(H,OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是-H，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(H,OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是-H，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(H,OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是-H，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-CH_2-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、

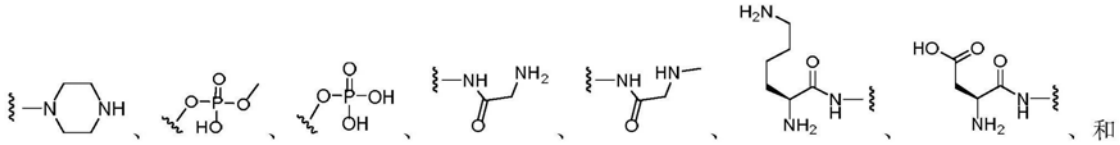
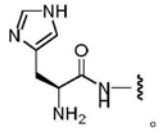
羟基、在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是-OH，R^2是-OH、$-CH_2NH_2$、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是-OH，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是-OH，R^2是$-CH_2NH_2$。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是-OH，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是-OH，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是-OH，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是-OH，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是-OH，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是$-NH_2$，R^2是-OH、$-CH_2NH_2$、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是$-NH_2$，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是$-NH_2$，R^2是$-CH_2NH_2$。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是$-NH_2$，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是$-NH_2$，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是$-NH_2$，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是$-NH_2$，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是$-NH_2$，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是烷基，R^2是-OH、$-CH_2NH_2$、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是烷基，R^2是-OH。在另一实施方案，

Q^1是-C(H)(OH)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是烷基,R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案,Q^1是-C(H)(OH)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是烷基,R^2是R^3。在另一实施方案,Q^1是-C(H)(OH)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是烷基,R^2是R^4。在另一实施方案,Q^1是-C(H)(OH)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是烷基,R^2是R^5。在另一实施方案,Q^1是-C(H)(OH)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是烷基,R^2是-O-R^5。在另一实施方案,Q^1是-C(H)(OH)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是烷基,R^2是选自由以下组成的组:氨基、二甲基氨基、羟基、、、、、、、和。

[0080] 在式I或Ia的另一实施方案中,Q^1是-C(H)(OH)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-OH或-OP(O)(OR^6)(OH),R^2是-H。在另一实施方案,Q^1是-C(H)(OH)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-OH,R^2是-H。在另一实施方案,Q^1是-C(H)(OH)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-OP(O)(OR^6)(OH),R^2是-H。在本段落前述实施方案中的任一个中,R^6可选自由羟基和甲基组成的组。

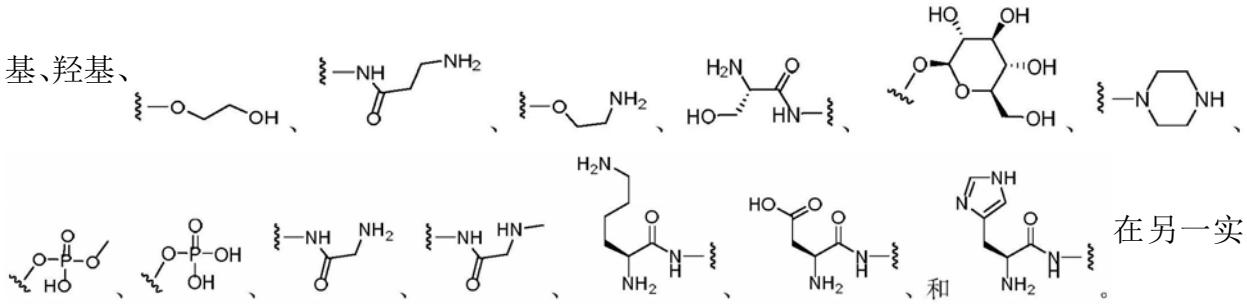
[0081] 在式I或Ia的一个实施方案中,Q^1是-C(H)(OH)-,Q^2是-C(O)-,和W是-NH-。在另一实施方案,Q^1是-C(H)(OH)-,Q^2是-C(O)-,W是-NH-,和R^1是-H,R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案,Q^1是-C(H)(OH)-,Q^2是-C(O)-,W是-NH-,和R^1是-H,R^2是-OH。在另一实施方案,Q^1是-C(H)(OH)-,Q^2是-C(O)-,W是-NH-,和R^1是-H,R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案,Q^1是-C(H)(OH)-,Q^2是-C(O)-,W是-NH-,和R^1是-H,R^2是R^3。在另一实施方案,Q^1是-C(H)(OH)-,Q^2是-C(O)-,W是-NH-,和R^1是-H,R^2是R^4。在另一实施方案,Q^1是-C(H)(OH)-,Q^2是-C(O)-,W是-NH-,和R^1是-H,R^2是R^5。在另一实施方案,Q^1是-C(H)(OH)-,Q^2是-C(O)-,W是-NH-,和R^1是-H,R^2是-O-R^5。在另一实施方案,Q^1是-C(H)(OH)-,Q^2是-C(O)-,W是-NH-,和R^1是-H,R^2是选自由以下组成的组:氨基、二甲基氨基、羟基、、、、、、、、、、、、和。在另一实施方案,Q^1是-C(H)(OH)-,Q^2是-C(O)-,W是-NH-,和R^1是-OH,R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案,Q^1是-C(H)(OH)-,Q^2是-C(O)-,W是-NH-,和R^1是-OH,R^2是-OH。在另一实施方案,Q^1是-C(H)(OH)-,Q^2是-C(O)-,W是-NH-,和R^1是-OH,R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案,Q^1是-C(H)(OH)-,Q^2是-C(O)-,W

是-NH-，和R^1是-OH，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、、、、、、、、、、、、、和。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-NH_2，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-NH_2，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-NH_2，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-NH_2，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-NH_2，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-NH_2，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-NH_2，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-NH_2，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、、、、、、、、、、、、、和。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、、、、、、

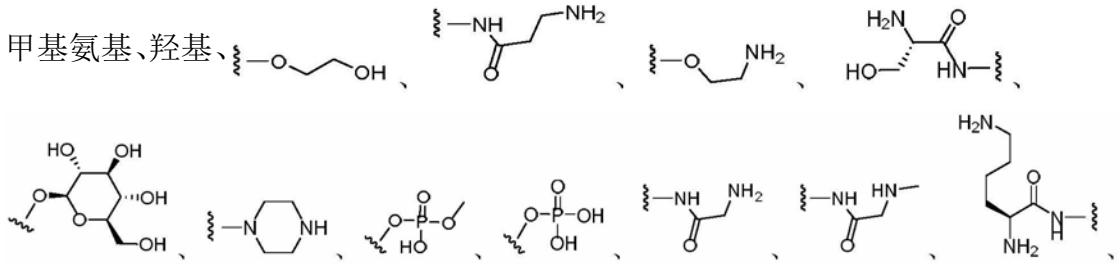



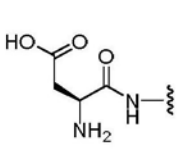
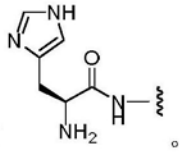
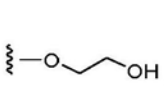
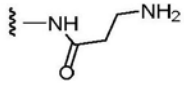
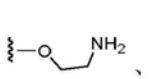
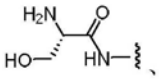
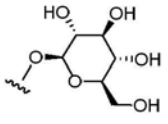
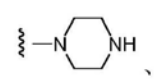
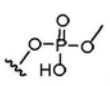
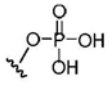
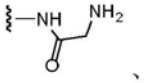
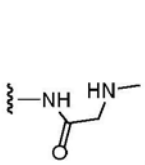
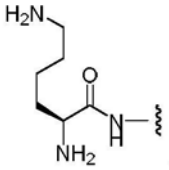
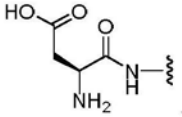
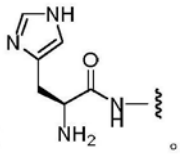
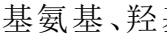
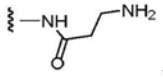
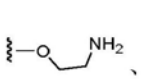
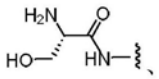
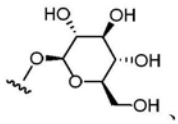
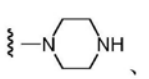
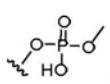
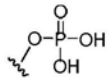
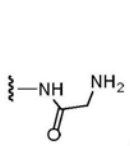
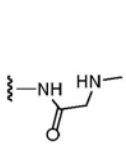
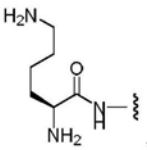
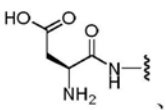
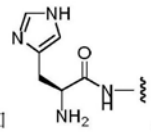
[0082] 在式I或Ia的另一实施方案中，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-OH或-OP(O)(OR^6)(OH)，R^2是-H。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是-H。在另一实施方案，Q^1是-C(H)(OH)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-OP(O)(OR^6)(OH)，R^2是-H。在本段落前述实施方案中的任一个中，R^6可选自由羟基和甲基组成的组。

[0083] 在式I或Ia的一个实施方案中，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，和W是-CH_2-。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、



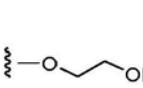
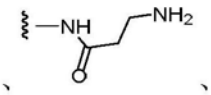
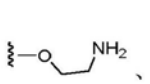
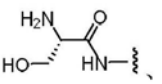
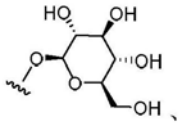
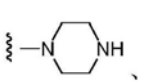
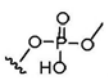
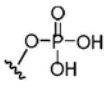
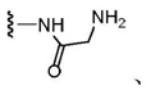
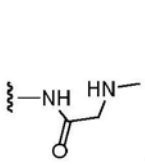
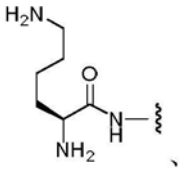
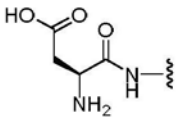
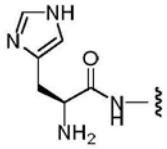
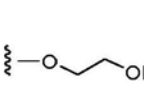
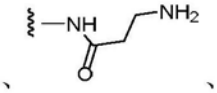
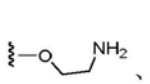
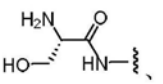
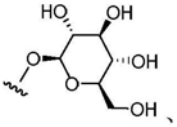
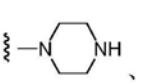
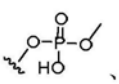
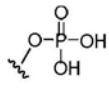
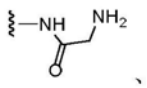
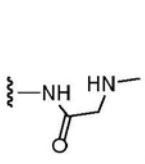
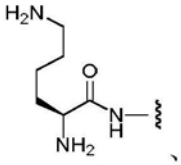
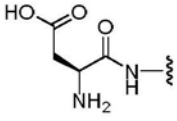
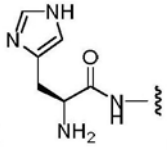
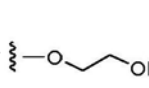
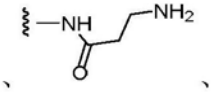
在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、

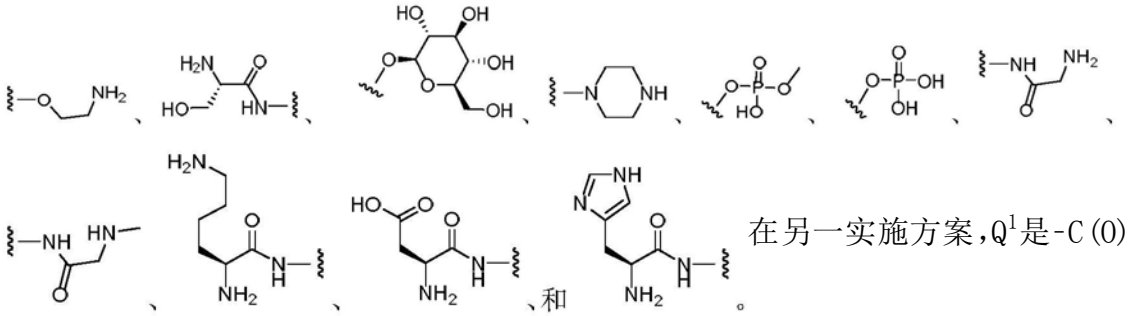


、和。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、、、、、、、、、、、、、。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、、、、、、、、、、、、、。

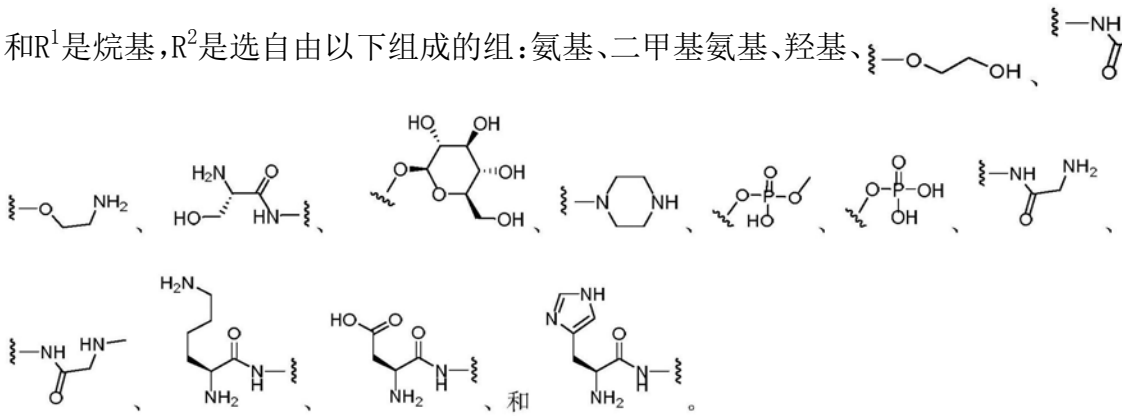
[0084] 在式I或Ia的另一实施方案中，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH或-OP(O)(OR^6)(OH)，R^2是-H。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是-H。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-CH_2-，和R^1是-OP(O)(OR^6)(OH)，R^2是-H。在本段落前述实施方案中的任一个中，R^6可选自由羟基和甲基组成的组。

[0085] 在式I或Ia的一个实施方案中，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，和W是-O-。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是-H，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一

实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-H,R^2是-OH。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-H,R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-H,R^2是R^3。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-H,R^2是R^4。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-H,R^2是R^5。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-H,R^2是-O-R^5。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-H,R^2是选自由以下组成的组:氨基、二甲基氨基、羟基、、、、、、、、、、、、、和。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-OH,R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-OH,R^2是-OH。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-OH,R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-OH,R^2是R^3。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-OH,R^2是R^4。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-OH,R^2是R^5。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-OH,R^2是-O-R^5。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-OH,R^2是选自由以下组成的组:氨基、二甲基氨基、羟基、、、、、、、、、、、、、和。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-NH_2,R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-NH_2,R^2是-OH。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-NH_2,R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-NH_2,R^2是R^3。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-NH_2,R^2是R^4。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-NH_2,R^2是R^5。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-NH_2,R^2是-O-R^5。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(O)-,W是-O-,和R^1是-NH_2,R^2是选自由以下组成的组:氨基、二甲基氨基、羟基、、、

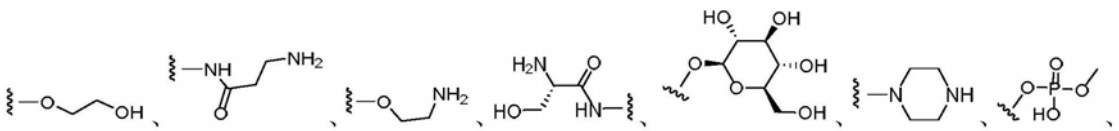


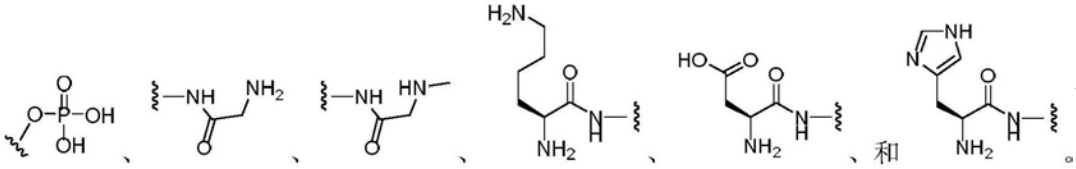
在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是烷基，R^2是-OH、$-CH_2NH_2$、R^3、R^4、R^5、或$-O-R^5$。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是烷基，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是烷基，R^2是$-CH_2NH_2$。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是烷基，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是烷基，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是烷基，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是烷基，R^2是$-O-R^5$。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是烷基，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、

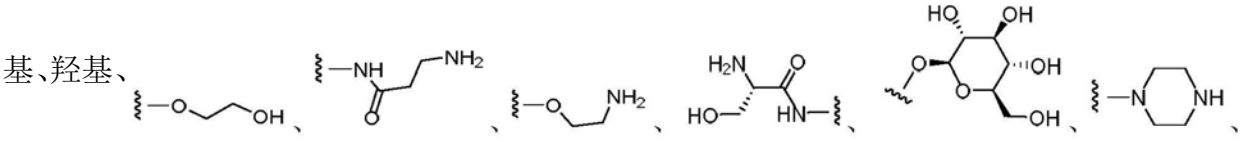


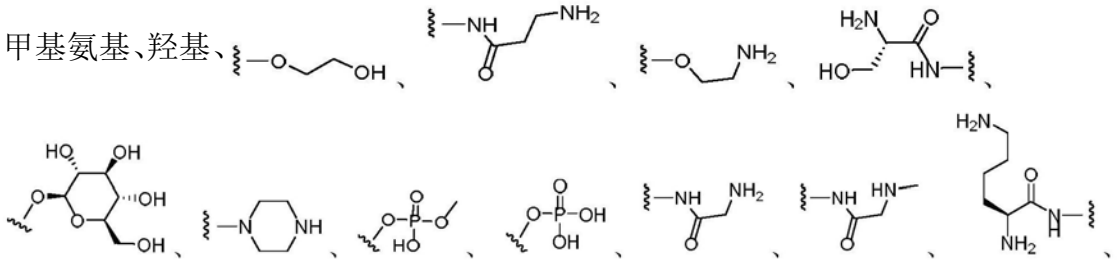
[0086] 在式I或Ia的另一实施方案中，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是-OH或$-OP(O)(OR^6)(OH)$，R^2是-H。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是-OH，R^2是-H。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-O-，和R^1是$-OP(O)(OR^6)(OH)$，R^2是-H。在本段落前述实施方案中的任一个中，R^6可选自由羟基和甲基组成的组。

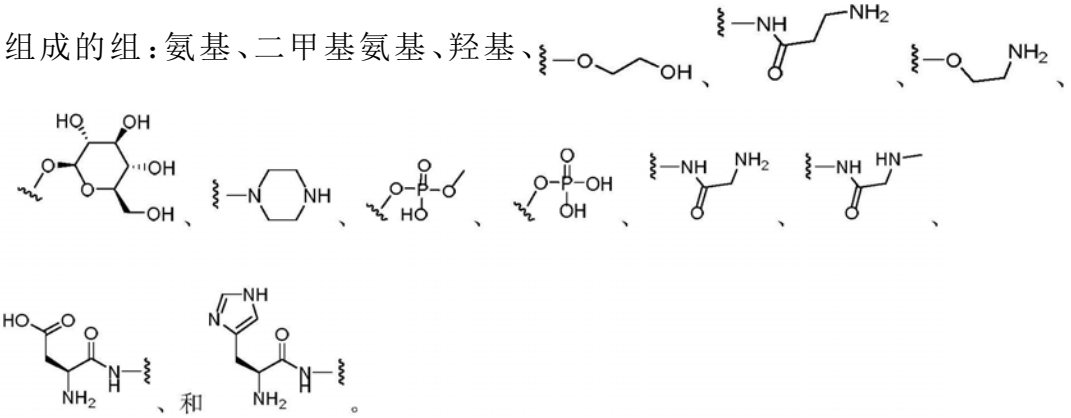
[0087] 在式I或Ia的一个实施方案中，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，和W是-NH-。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-H，R^2是-OH、$-CH_2NH_2$、R^3、R^4、R^5、或$-O-R^5$。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-H，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-H，R^2是$-CH_2NH_2$。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-H，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-H，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-H，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-H，R^2是$-O-R^5$。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-H，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、



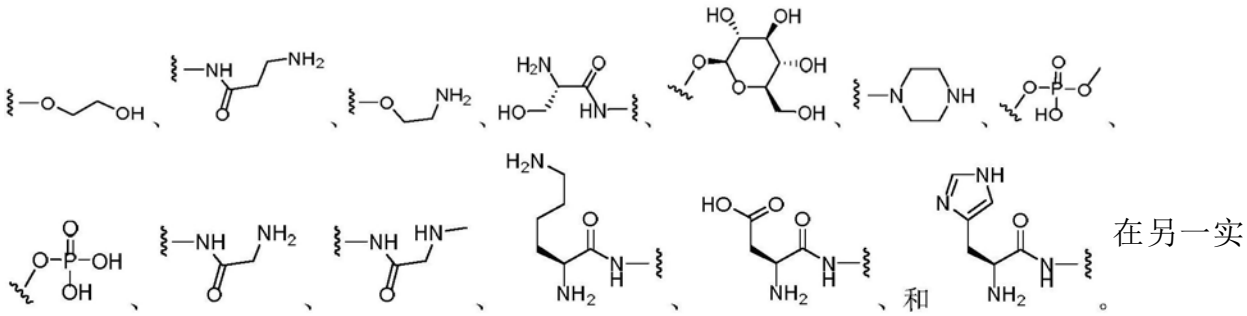
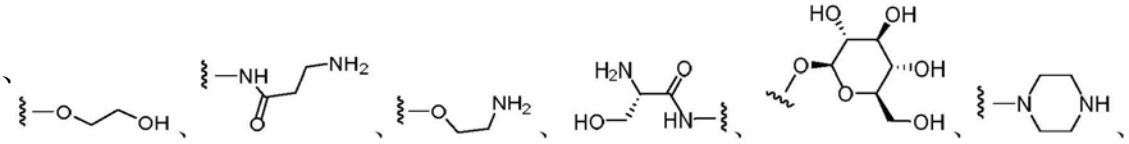

在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是-OH、$-CH_2NH_2$、R^3、R^4、R^5、或$-O-R^5$。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是$-CH_2NH_2$。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是$-O-R^5$。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、

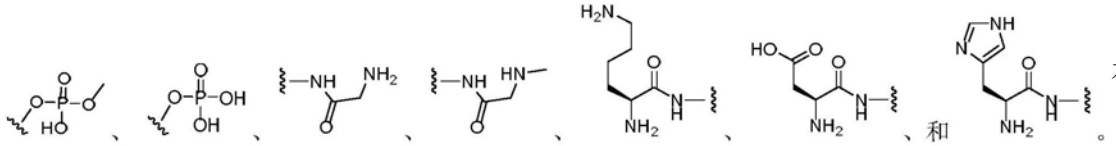

在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是$-NH_2$，R^2是-OH、$-CH_2NH_2$、R^3、R^4、R^5、或$-O-R^5$。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是$-NH_2$，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是$-NH_2$，R^2是$-CH_2NH_2$。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是$-NH_2$，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是$-NH_2$，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是$-NH_2$，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是$-NH_2$，R^2是$-O-R^5$。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是$-NH_2$，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、

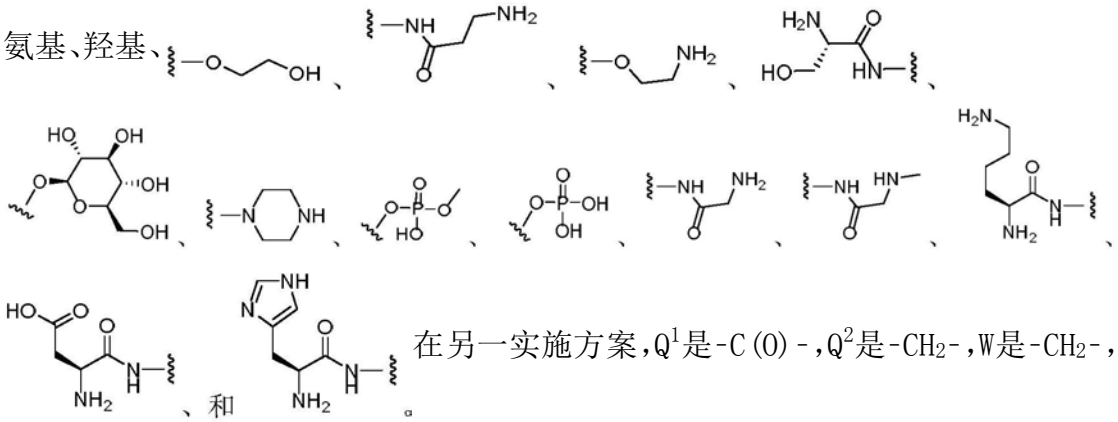

在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是-OH、$-CH_2NH_2$、R^3、R^4、R^5、或$-O-R^5$。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是$-CH_2NH_2$。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，

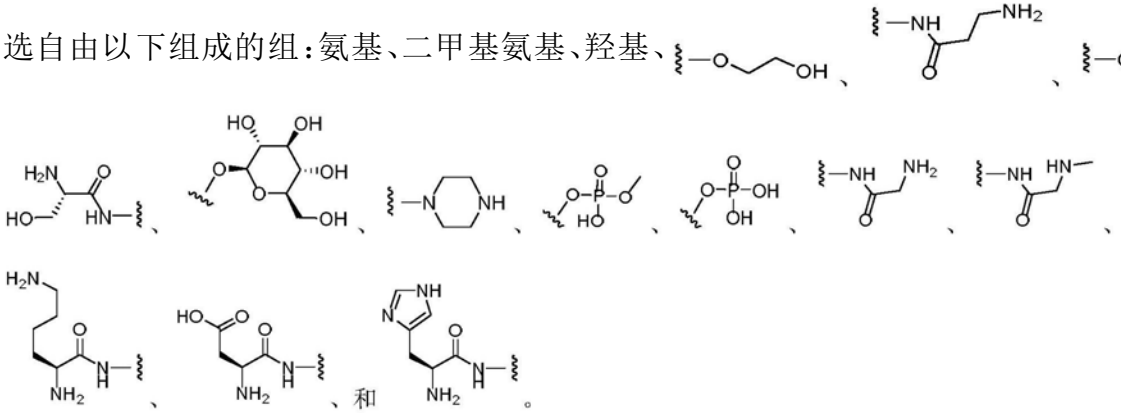
和R^1是烷基，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、

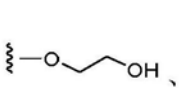
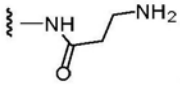
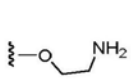
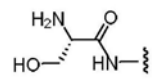
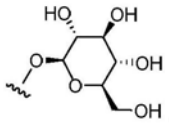
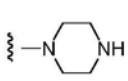
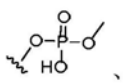
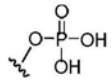
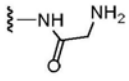
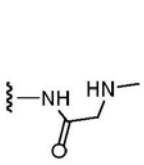
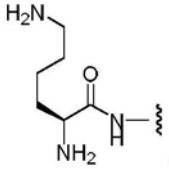
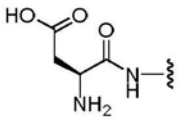
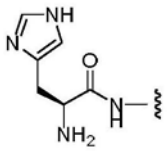
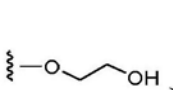
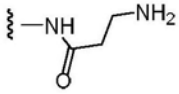
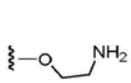
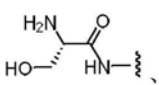
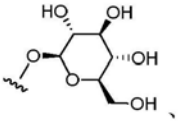
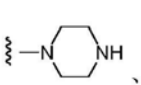
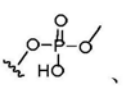
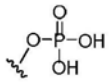
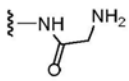
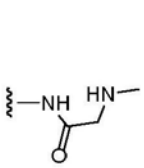
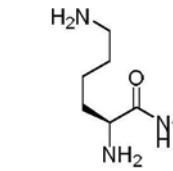
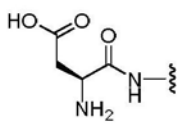
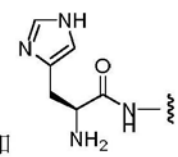
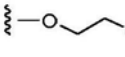
[0088] 在式I或Ia的另一实施方案中，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-OH或-OP(O)(OR^6)(OH)，R^2是-H。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是-H。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(O)-，W是-NH-，和R^1是-OP(O)(OR^6)(OH)，R^2是-H。在本段落前述实施方案中的任一个中，R^6可选自由羟基和甲基组成的组。

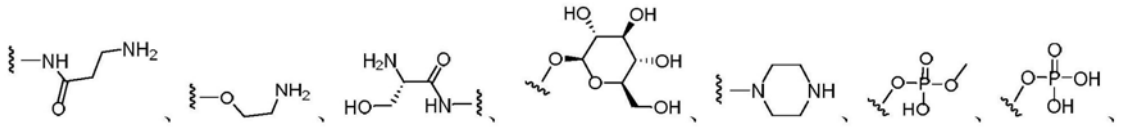
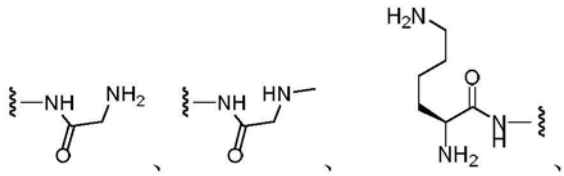
[0089] 在式I或Ia的一个实施方案中，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，和W是-CH_2-。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、

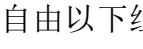

在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、

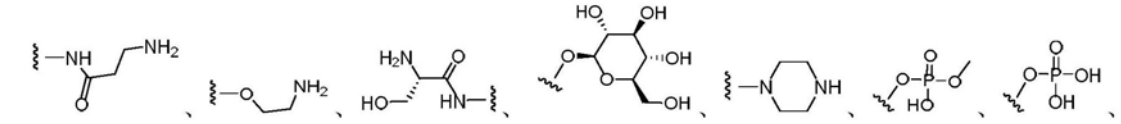
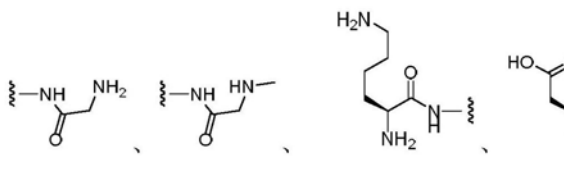

在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、


[0090] 在式I或Ia的另一实施方案中，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是-OH或-OP(O)(OR^6)(OH)，R^2是-H。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是-H。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-CH_2-，和R^1是-OP(O)(OR^6)(OH)，R^2是-H。在本段落前述实施方案中的任一个中，R^6可选自由羟基和甲基组成的组。

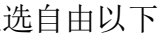
[0091] 在式I或Ia的一个实施方案中，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，和W是-O-。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是-H，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是-H，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是-H，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是-H，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是-H，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是-H，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是-H，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是-H，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、、、、、、、、、、、、、、和。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是-OH，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是-OH，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是-OH，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是-OH，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是-OH，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是-OH，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是-OH，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是-OH，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、、、、、、、、、、、、、、和。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是-NH_2，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是-NH_2，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是-NH_2，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是-NH_2，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是-NH_2，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是-NH_2，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是-NH_2，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是-NH_2，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、、

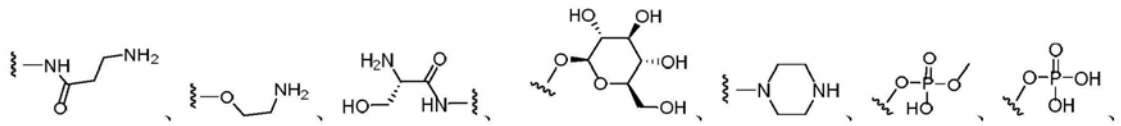



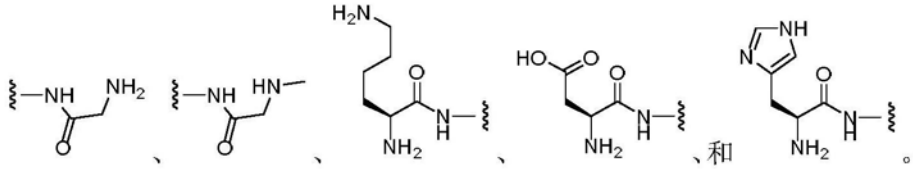
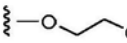
在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是烷基，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是烷基，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是烷基，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是烷基，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是烷基，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是烷基，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是烷基，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是烷基，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、、

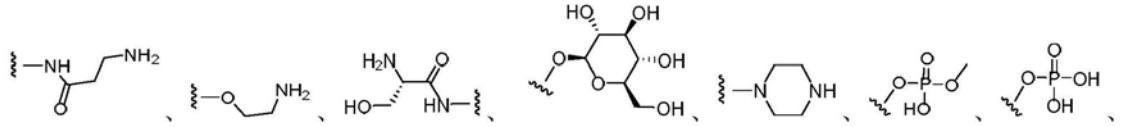
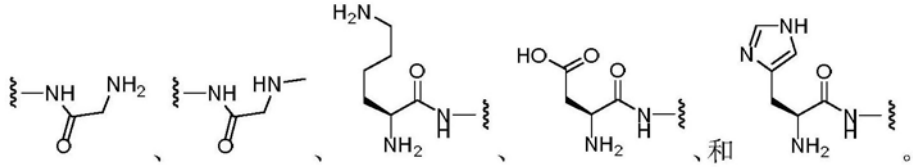



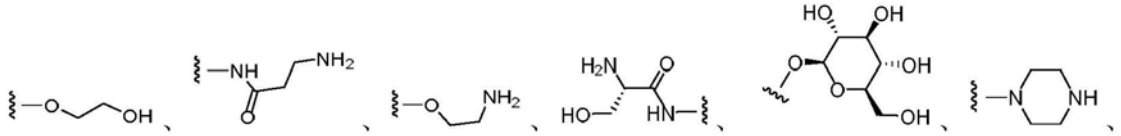
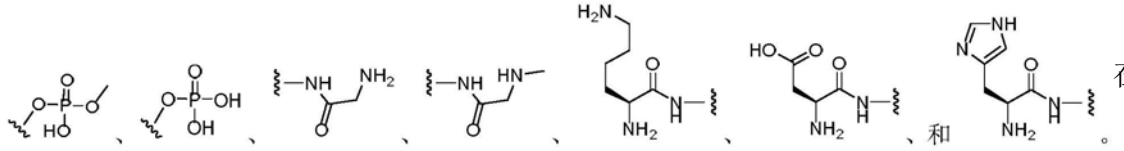
[0092] 在式I或Ia的另一实施方案中，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是-OH或-OP(O)(OR^6)(OH)，R^2是-H。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是-OH，R^2是-H。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-O-，和R^1是-OP(O)(OR^6)(OH)，R^2是-H。在本段落前述实施方案中的任一个中，R^6可选自由羟基和甲基组成的组。

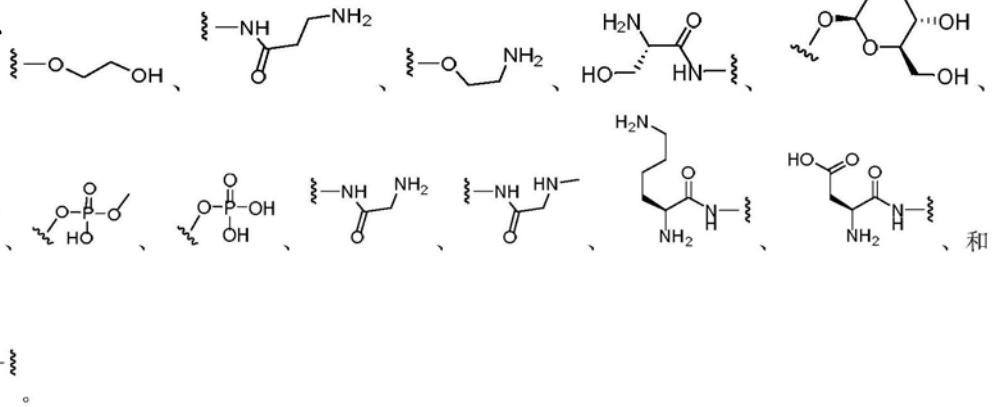
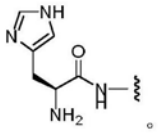
[0093] 在式I或Ia的一个实施方案中，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，和W是-NH-。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是-H，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是-H，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是-H，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是-H，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是-H，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是-H，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是-H，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是-H，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、、



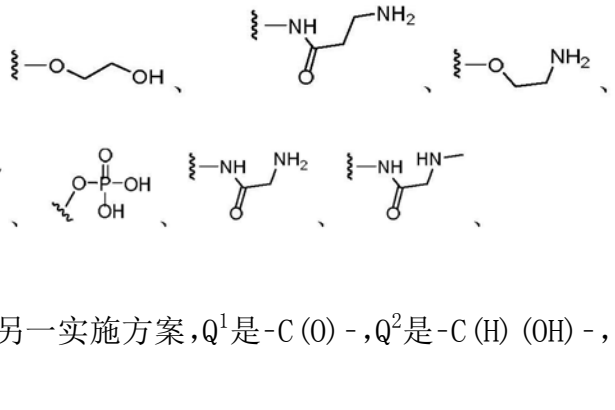
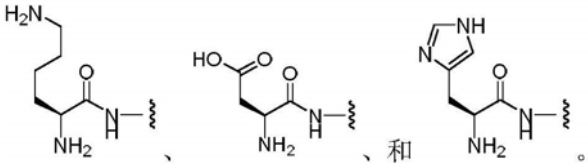

、
、
、
、和
。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、、

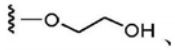
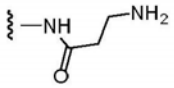
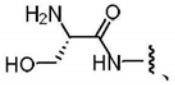
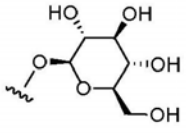
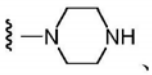
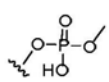
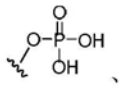
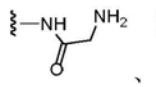
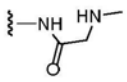
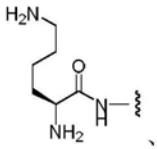
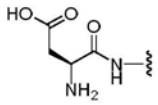
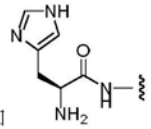
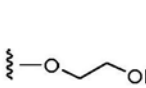
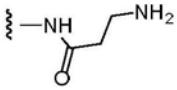
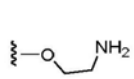
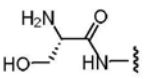
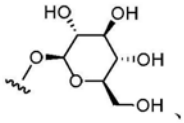
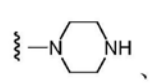
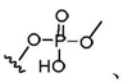
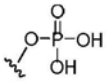
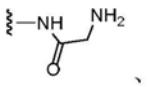
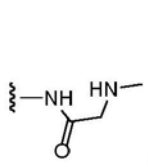
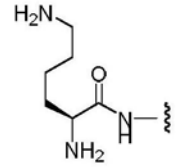
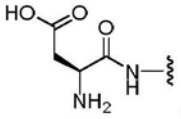
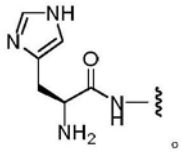
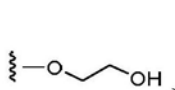
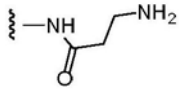
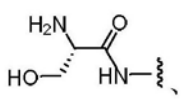
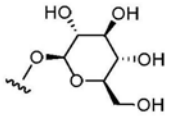
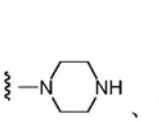
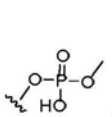
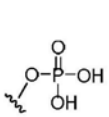
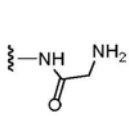
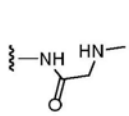
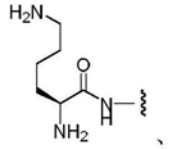
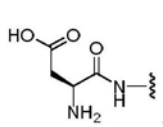
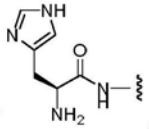


、
、
、
、和
。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是-NH_2，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是-NH_2，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是-NH_2，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是-NH_2，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是-NH_2，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是-NH_2，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是-NH_2，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是-NH_2，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、



、
、
、
、
、和
。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨

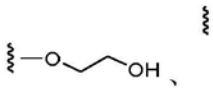
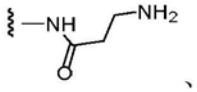
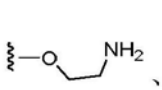
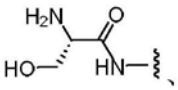
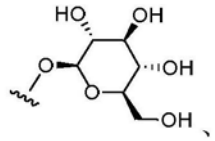
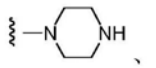
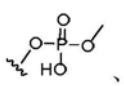
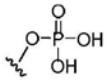
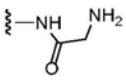
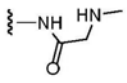
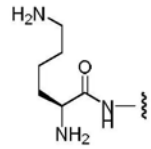
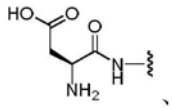
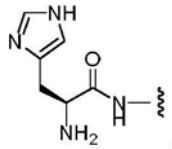
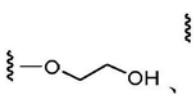
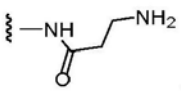
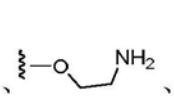
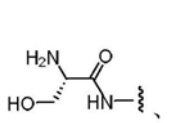
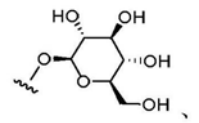
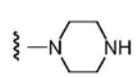
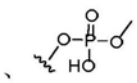
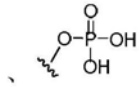
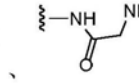
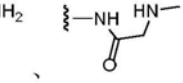
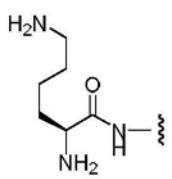
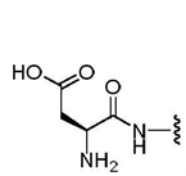
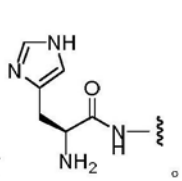
基、羟基、和。

[0094] 在式I或Ia的另一实施方案中，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是-OH或-OP(O)(OR^6)(OH)，R^2是-H。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是-H。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-CH_2-，W是-NH-，和R^1是-OP(O)(OR^6)(OH)，R^2是-H。在本段落前述实施方案中的任一个中，R^6可选自由羟基和甲基组成的组。

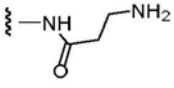
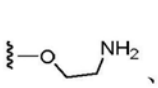
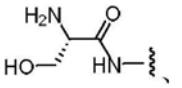
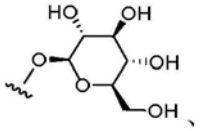
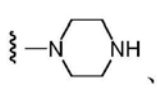
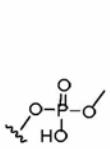
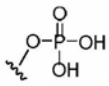
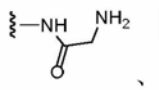
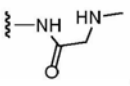
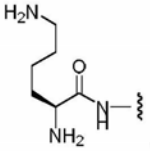
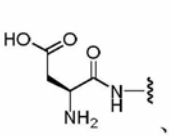
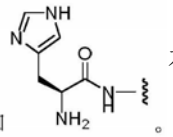
[0095] 在式I或Ia的一个实施方案中，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，和W是-CH_2-。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是-H，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、和。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨

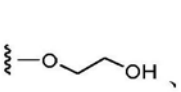
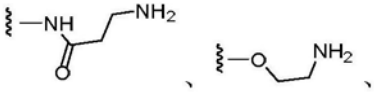
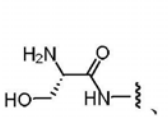
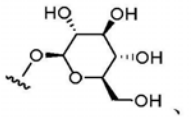
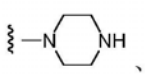
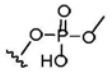
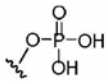
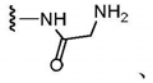
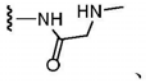
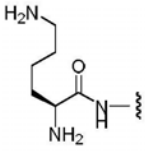
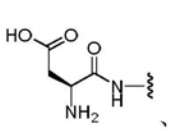
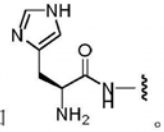
基、羟基、、、、、、、、、、、、、和。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是-NH_2，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、、、、、、、、、、、、、和。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是烷基，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、、、、、、、、、、、、和。

[0096] 在式I或Ia的另一实施方案中，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH或-OP(O)(OR^6)(OH)，R^2是-H。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是-OH，R^2是-H。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-CH_2-，和R^1是-OP(O)(OR^6)(OH)，R^2是-H。在本段落前述实施方案中的任一个中，R^6可选自由羟基和甲基组成的组。

[0097] 在式I或Ia的一个实施方案中，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，和W是-O-。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-O-，和R^1是-H，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-O-，和R^1是-H，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-O-，和R^1是-H，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-O-，和R^1是-H，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-O-，和R^1是-H，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-O-，和R^1是-H，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-O-，和R^1是-H，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-O-，和R^1是-H，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、、、、、、、、、、、、、和。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-O-，和R^1是-OH，R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-O-，和R^1是-OH，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-O-，和R^1是-OH，R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-O-，和R^1是-OH，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-O-，和R^1是-OH，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-O-，和R^1是-OH，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-O-，和R^1是-OH，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-O-，和R^1是-OH，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、、、、、、、、、、、、、和。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)

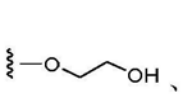
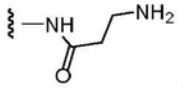
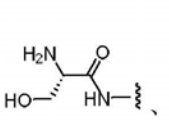
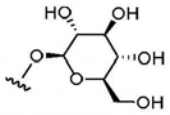
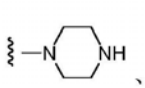
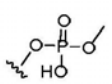
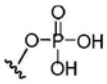
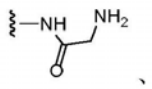
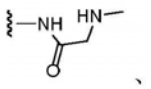
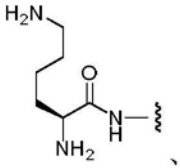
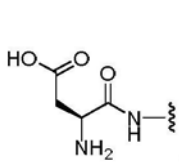
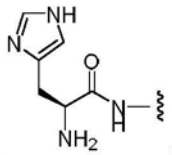
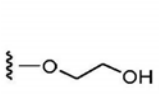
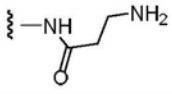
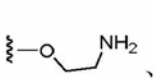
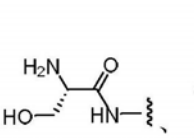
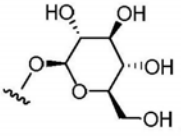
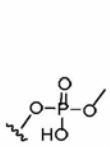
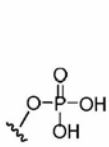
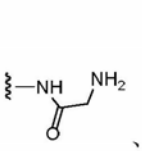
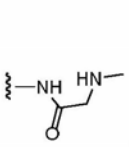
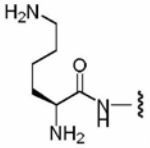
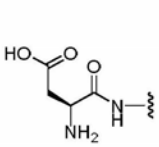
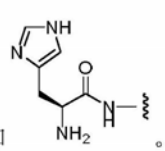
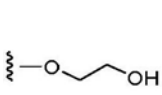
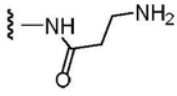
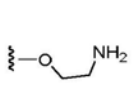
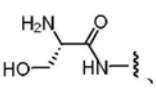
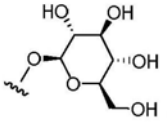
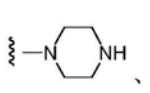
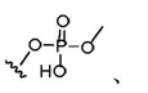
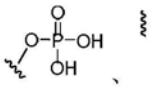
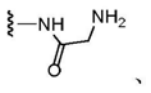
(OH)-,W是-O-,和R^1是$-NH_2$,R^2是-OH、$-CH_2NH_2$、R^3、R^4、R^5、或$-O-R^5$。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-O-,和R^1是$-NH_2$,R^2是-OH。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-O-,和R^1是$-NH_2$,R^2是$-CH_2NH_2$。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-O-,和R^1是$-NH_2$,R^2是R^3。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-O-,和R^1是$-NH_2$,R^2是R^4。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-O-,和R^1是$-NH_2$,R^2是R^5。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-O-,和R^1是$-NH_2$,R^2是$-O-R^5$。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-O-,和R^1是$-NH_2$,R^2是选自由以下组成的组:氨基、二甲基氨基、羟基、

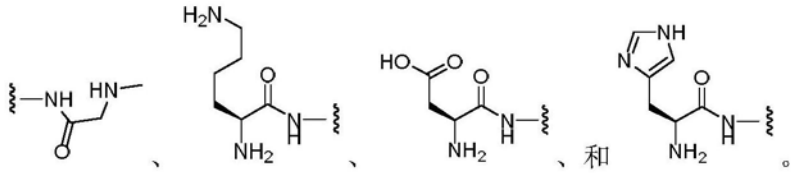
、、、、、、、、、、、、和。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-O-,和R^1是烷基,R^2是-OH、$-CH_2NH_2$、R^3、R^4、R^5、或$-O-R^5$。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-O-,和R^1是烷基,R^2是-OH。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-O-,和R^1是烷基,R^2是$-CH_2NH_2$。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-O-,和R^1是烷基,R^2是R^3。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-O-,和R^1是烷基,R^2是R^4。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-O-,和R^1是烷基,R^2是R^5。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-O-,和R^1是烷基,R^2是$-O-R^5$。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-O-,和R^1是烷基,R^2是选自由以下组成的组:氨基、二甲基氨基、羟基、

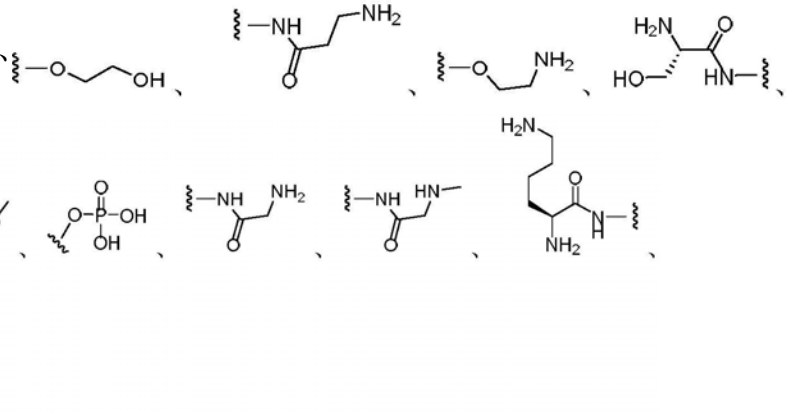
、、、、、、、、、、和。

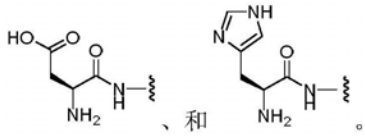
[0098] 在式I或Ia的另一实施方案中,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-O-,和R^1是-OH或$-OP(O)(OR^6)(OH)$,R^2是-H。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-O-,和R^1是-OH,R^2是-H。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-O-,和R^1是$-OP(O)(OR^6)(OH)$,R^2是-H。在本段落前述实施方案中的任一个中,R^6可选自由羟基和甲基组成的组。

[0099] 在式I或Ia的一个实施方案中,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,和W是-NH-。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-NH-,和R^1是-H,R^2是-OH、$-CH_2NH_2$、R^3、R^4、R^5、或$-O-R^5$。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-NH-,和R^1是-H,R^2是-OH。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-NH-,和R^1是-H,R^2是$-CH_2NH_2$。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-NH-,和R^1是-H,R^2是R^3。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-

C(H)(OH)-,W是-NH-,和R^1是-H,R^2是R^4。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-NH-,和R^1是-H,R^2是R^5。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-NH-,和R^1是-H,R^2是-O-R^5。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-NH-,和R^1是-H,R^2是选自由以下组成的组:氨基、二甲基氨基、羟基、、、、、、、、、、、、、、和。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-NH-,和R^1是-OH,R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-NH-,和R^1是-OH,R^2是-OH。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-NH-,和R^1是-OH,R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-NH-,和R^1是-OH,R^2是R^3。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-NH-,和R^1是-OH,R^2是R^4。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-NH-,和R^1是-OH,R^2是R^5。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-NH-,和R^1是-OH,R^2是-O-R^5。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-NH-,和R^1是-OH,R^2是选自由以下组成的组:氨基、二甲基氨基、羟基、、、、、、、、、、、、和。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-NH-,和R^1是-NH_2,R^2是-OH、-CH_2NH_2、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-NH-,和R^1是-NH_2,R^2是-OH。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-NH-,和R^1是-NH_2,R^2是-CH_2NH_2。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-NH-,和R^1是-NH_2,R^2是R^3。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-NH-,和R^1是-NH_2,R^2是R^4。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-NH-,和R^1是-NH_2,R^2是R^5。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-NH-,和R^1是-NH_2,R^2是-O-R^5。在另一实施方案,Q^1是-C(O)-,Q^2是-C(H)(OH)-,W是-NH-,和R^1是-NH_2,R^2是选自由以下组成的组:氨基、二甲基氨基、羟基、、、、、、、、、、

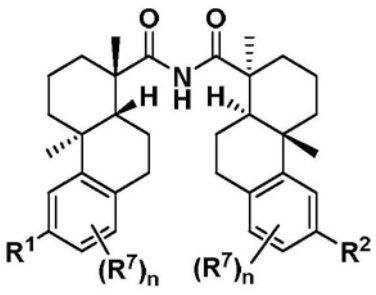

在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是-OH、$-CH_2NH_2$、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是-OH。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是$-CH_2NH_2$。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是R^3。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是R^4。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是-O-R^5。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-NH-，和R^1是烷基，R^2是选自由以下组成的组：氨基、二甲基氨基、羟基、


和


。

[0100] 在式I或Ia的另一实施方案中，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-NH-，和R^1是-OH或-OP(O)(OR^6)(OH)，R^2是-H。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-NH-，和R^1是-OH，R^2是-H。在另一实施方案，Q^1是-C(O)-，Q^2是-C(H)(OH)-，W是-NH-，和R^1是-OP(O)(OR^6)(OH)，R^2是-H。在本段落前述实施方案中的任一个中，R^6可选自由羟基和甲基组成的组。

[0101] 在一些实施例，本发明所述化合物具有式(Ib)所示结构：



(Ib)

或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，其中，

W是$-CH_2-$、-N(H)-、或-O-；

R^1是-H、-OH、$-NH_2$、烷基、或-OP(O)(OR^6)$_2$；

R^2是-H、-OH、$-CH_2NH_2$、R^3、R^4、R^5、或-O-R^5，其中R^1和R^2不同时为-H；

R^3是-N(R^6)$_2$；

R^4是-X-Y-Z；

X是选自由-O-和-N(H)-组成的组；

Y是选自由亚烷基、取代的亚烷基(包括但不限于氧代取代(即=O))、亚杂烷基、和取代的亚杂烷基(包括但不限于氧代取代(即=O))组成的组；

Z是选自由-OH和-NH_2组成的组；

R^5是烷基、杂环烷基、或取代的杂环烷基，其中各杂环烷基或取代的杂环烷基分别包含选自N和O的1、2或3个杂原子，并包括至少一个-OH和-CH_2OH取代基、或至少一个伯氮或仲氮，例如O-葡萄糖；

各R^6，在每种情况下，分别独立地为-H、氨基酸残基、N-烷基氨基酸残基、肽、或烷基；和

各R^7分别独立地为卤素、C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基、-CN、O-葡萄糖、O-氨基酸残基、和O-PEG_n，

其中各n分别为从0至3的整数。

[0102] 在式Ib中，在某些实施方案，R^5是杂环烷基、或取代的杂环烷基。有用的杂环烷基包括四氢吡喃基、糖苷基和哌嗪基。所述这些基团可以是取代的或未取代的。在某些实施方案，它们是未取代的。在某些实施方案中，它们是取代的。示例性取代基包括至少一个羟基，至少一个伯氮，或至少一个仲氮。

[0103] 在式Ib的某些实施方案中，R^6在每种情况下，分别独立地为氨基酸残基、N-烷基氨基酸残基、或肽。本领域技术人员将认识到，所述氨基酸残基可以是非手性或手性的，例如，L-氨基酸或D-氨基酸。氨基酸通常包括氨基酸侧链。所述侧链可以是技术人员已知的任何氨基酸的侧链。在某些实施方案，所述侧链是组氨酸、丙氨酸、异亮氨酸、精氨酸、亮氨酸、天冬酰胺、赖氨酸、天冬氨酸、蛋氨酸、半胱氨酸、苯丙氨酸、谷氨酸、苏氨酸、谷氨酰胺、色氨酸、缬氨酸、鸟氨酸、硒代半胱氨酸、丝氨酸、甘氨酸、高甘氨酸(例如β-高甘氨酸)、或酪氨酸的侧链。本领域技术人员将认识到，所述肽可以是非手性或手性的，例如，包括外消旋的DL-氨基酸或非外消旋的D-或L-氨基酸及其非对映异构体混合物。所述肽的侧链为如上述氨基酸背景下所述。本领域技术人员将认识到，N-烷基氨基酸残基在氨基酸的末端氨基基团或肽的末端氨基基团处包含如本发明所定义的烷基取代基。

[0104] 在式Ib中，在某些实施方案，R^7是卤素、C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基、-CN、O-葡萄糖、O-氨基酸残基、或O-PEG_n，其中各n分别为从0至3的整数。在某些实施方案，O-氨基酸残基包括如上定义的HO-氨基酸残基。在一个实施方案，O-PEG_n是其中n=0。在另一实施方案，O-PEG_n是其中n=1。在另一实施方案，O-PEG_n是其中n=2。在另一实施方案，O-PEG_n是其中n=3。

[0105] 在式Ib的一个实施方案中，R^1是-OH。在另一实施方案，R^1是-OH，和R^2是-O-$(CH_2)_n$-Z，其中n是从1至4的整数。在某些实施方案，R^1是-OH，R^2是-O-$(CH_2)_n$-Z，和n是1。在某些实施方案，R^1是-OH，R^2是-O-$(CH_2)_n$-Z，和n是2。在某些实施方案，R^1是-OH，R^2是-O-$(CH_2)_n$-Z，和n是3。在某些实施方案，R^1是-OH，R^2是-O-$(CH_2)_n$-Z，和n是4。

[0106] 在式Ib的一个实施方案中，R^1是-OH，和R^2是-N(H)C(O)-$(CH_2)_n$-NH_2，其中n是从1至4的整数。在某些实施方案，R^1是-OH，R^2是-N(H)C(O)-$(CH_2)_n$-NH_2，和n是1。在某些实施方案，R^1是-OH，R^2是-N(H)C(O)-$(CH_2)_n$-NH_2，和n是2。在某些实施方案，R^1是-OH，R^2是-N(H)C(O)-$(CH_2)_n$-NH_2，和n是3。在某些实施方案，R^1是-OH，R^2是-N(H)C(O)-$(CH_2)_n$-NH_2，和n是4。

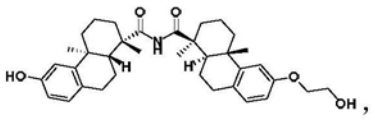
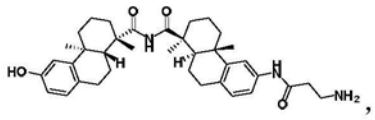
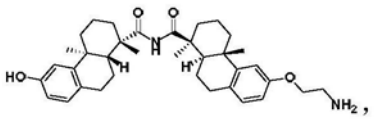
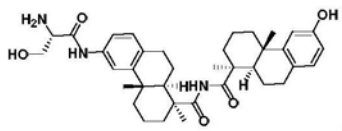
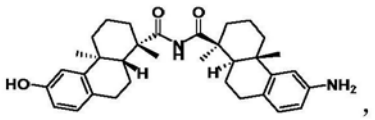
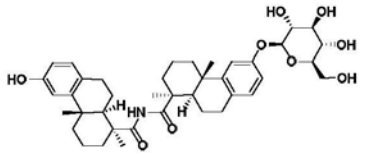
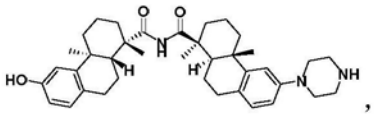
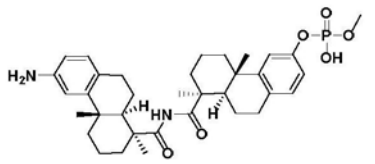
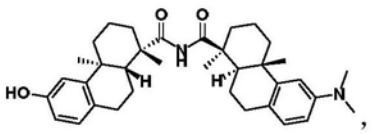
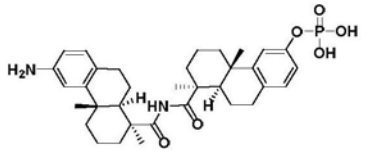
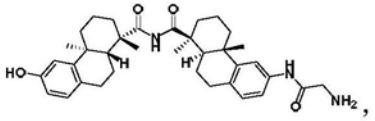
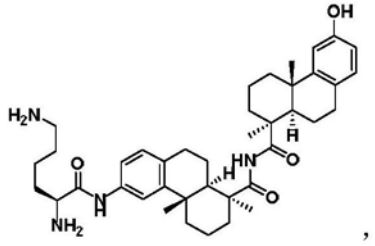
[0107] 在式Ib的一个实施方案中，R^1是-OH，和R^2是-N(H)C(O)-$(CRR)_n$-NH_2，其中各R分别是-H、-OH、或-CH_2OH，和其中n是从1至4的整数。在某些实施方案，R^1是-OH，R^2是-N(H)C(O)-

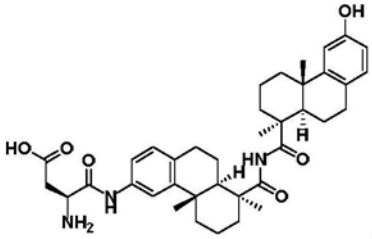
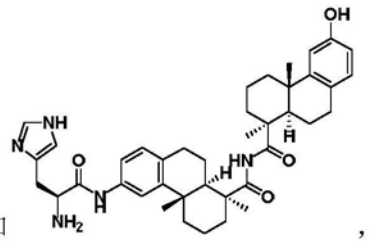
$(CRR)_n-NH_2$，各R分别是-H，和n是从1至4的整数。在某些实施方案，R^1是-OH，R^2是-N(H)C(O)-$(CRR)_n-NH_2$，各R分别是-OH，和n是从1至4的整数。在某些实施方案，R^1是-OH，R^2是-N(H)C(O)-$(CRR)_n-NH_2$，各R分别是$-CH_2OH$，和n是从1至4的整数。在本段落前述实施方案中的任一个中，n是1。在本段落前述实施方案中的任一个中，n是2。在本段落前述实施方案中的任一个中，n是3。在本段落前述实施方案中的任一个中，n是4。

[0108] 在式Ib的一个实施方案中，R^1是-OH，和R^2是N-哌嗪基。在另一实施方案，R^1是-OH，R^2是$-N(R^6)_2$。在另一实施方案，R^1是-OH，和R^2是N-丝氨酰基。又在另一实施方案，R^1是-OH，和R^2是O-糖基。

[0109] 在式Ib的一个实施方案中，R^1是$-OP(O)(OR^6)(OH)$，和R^2是$-NH_2$。

[0110] 在某些实施方案，本发明提供了式I、Ia和Ib任一所示化合物，其可选自由以下组成的组：

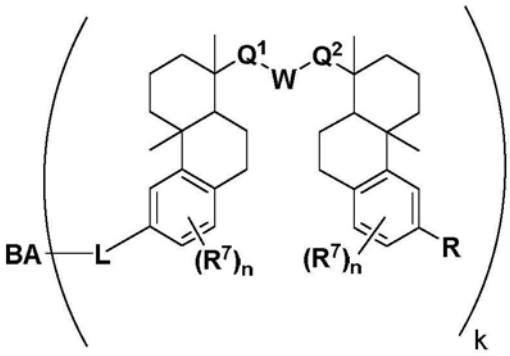













或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式。

偶联物/抗体药物偶联物(ADC)

[0111] 本发明提供了式A所示的偶联物：



(A)

或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，其中，

L是连接体或X-Y-Z，其中X是-NH-或-O-；Y是酶可切割的基团部分，自降解(self-immolative)基团，酸不稳定基团部分，PEG_n，糖基团部分，或增强剂；和Z是结合剂连接体(BL)，其中Z与BA共价连接；

BA是结合剂；

k是从1至30的整数；

Q^1和Q^2各自独立地为$-CH_2-$、-C(O)-、-C(H)(OH)-、或$-C(OH)_2-$；

W是$-CH_2-$、-N(H)-、或-O-；

R是-H、$-OR^6$、-OH、$-NH_2$、烷基、或$-OP(O)(OR^6)_2$；

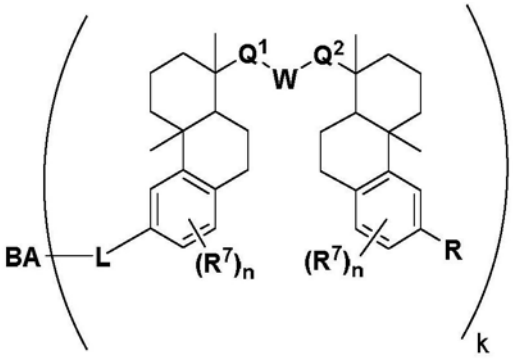
各R^6，在每种情况下，分别独立地为-H、氨基酸残基、肽、或烷基；和

其中R^1、R^2、R^3、R^4和R^5均具有式I的上下文中所述定义。

示例性酶可切割的基团部分包括但不限于任何二肽或三肽(例如，VC-PAB和VA，如本发明其他地方所述)。示例性自降解基团如本发明其他地方所述。示例性酸不稳定基团部分包括但不限于烷氧胺类、酮氧胺类、碳酸酯类、或膦酸酯类。示例性增强剂如本发明其他地方所述。示例性活性/反应性基团部分如本发明其他地方所述。在某些实施方案，Y不包括PEG_n。在某些实施方案，氨基酸可用于将有所述效负载、增强剂和抗体(各自如本发明其他地方所述)彼此连接，如本发明其他地方所述以及本发明其他地方显而易见的。本领域技术人员将理解，所述有效负载、增强剂和抗体经由氨基酸的连接可通过酰胺偶联反应、硫代-迈克尔加成、或酚-O-烷基化来进行。譬如，连接所述有效负载、增强剂和抗体的氨基酸是赖氨酸。作为进一步的实例，在一个实施方案，连接所述有效负载、增强剂和抗体的氨基酸是D-赖氨酸。作为进一步的实例，在一个实施方案，连接所述有效负载、增强剂和抗体的氨基

酸是天冬氨酸。作为进一步的实例，在一个实施方案，连接所述有效负载、增强剂和抗体的氨基酸是谷氨酸。作为进一步的实例，在一个实施方案，连接所述有效负载、增强剂和抗体的氨基酸是丝氨酸。作为进一步的实例，在一个实施方案，连接所述有效负载、增强剂和抗体的氨基酸是半胱氨酸。作为进一步的实例，在一个实施方案，连接所述有效负载、增强剂和抗体的氨基酸是酪氨酸。

[0112] 本发明提供了式(A)所示的偶联物：



(A)

或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，

其中，

L是连接体；

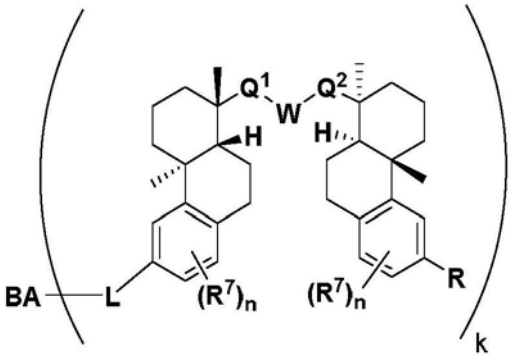
BA是结合剂；

k是从1至30的整数；

R是-H、R^1、或R^2；和

Q^1、Q^2、W、R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、X、Y和Z均具有式I的上下文中所述定义。在某些实施方案，R是R^1。

[0113] 本发明提供了式(Aa)所示化合物：



(Aa)

或其药学上可接受的盐，

其中，

L是连接体；

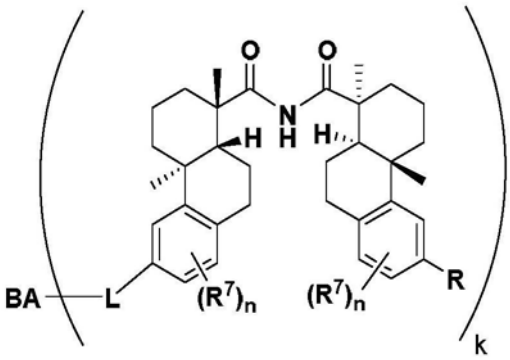
BA是结合剂；

k是从1至30的整数；

R是-H、R^1、或R^2；和

Q^1、Q^2、W、R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、X、Y和Z均具有式Ia的上下文中所述定义。在某些实施方案，R是R^1。

[0114] 本发明提供了式(Ab)所示化合物：



(Ab)

或其药学上可接受的盐，其中，

L是连接体；

BA是结合剂；

k是从1至30的整数；

R是-H、R^1、或R^2；和

R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、X、Y和Z均具有式Ib的上下文中所述定义。在某些实施方案，R是R^1。

结合剂

[0115] 用于本发明提供的任何偶联物的合适结合剂包括但不限于抗体类、淋巴因子类、激素类、生长因子类、病毒受体类、白介素类、或任何其他细胞结合分子类或物质类或肽结合分子类或物质类。

[0116] 在一些实施方案，所述结合剂是抗体或其抗原结合片段。所述抗体可以是本领域技术人员已知的任何形式。本发明使用的术语“抗体”是指包含至少一个互补决定区(CDR)的任何抗原结合分子或分子复合物，所述互补决定区(CDR)与特定抗原特异性结合或相互作用。术语“抗体”包括免疫球蛋白分子，所述免疫球蛋白分子包含四条多肽链，通过二硫键相互连接的两条重(H)链和两条轻(L)链，以及其多聚体(例如IgM)。每条重链包含重链可变区(本发明缩写为HCVR或V_H)和重链恒定区。所述重链恒定区包含三个结构域，C_H1、C_H2和C_H3。每条轻链包含轻链可变区(本发明中缩写为LCVR或V_L)和轻链恒定区。所述轻链恒定区包含一个结构域(C_L1)。所述V_H和V_L区可进一步细分为高变区，称为互补决定区(CDR)，散布有更保守的区域，称为框架区(FR)。每个V_H和V_L由三个CDR和四个FR组成，按照以下顺序从氨基端到羧基端排列：FR1，CDR1，FR2，CDR2，FR3，CDR3，FR4。在本发明的不同实施方案中，适用于本发明化合物的所述抗体(或其抗原结合部分)的FR可以与人种系序列相同，或者可以是天然、或人工修饰的。可基于两个或更多个CDR的并列分析来定义氨基酸共有序列。本发明使用的术语“抗体”还包括完整抗体分子的抗原结合片段。本发明使用的术语抗体的“抗原结合部分”，抗体的“抗原结合片段”等包括任何天然存在的、可酶促得到的、合成的、或基因工程化的多肽或糖蛋白，其特异性结合抗原形成复合物。抗体的抗原结合片段可以例如使用任何合适的标准技术，例如涉及操纵和表达编码抗体可变结构域和任选恒定结构域的

DNA的蛋白水解消化或重组基因工程技术，由完整抗体分子衍生得到。此种DNA是已知的和/或容易从例如商业来源，DNA文库(包括例如噬菌体-抗体文库)得到，或可以合成得到。可对DNA进行测序和化学操作或通过使用分子生物学技术进行操作，例如，将一个或多个可变结构域和/或恒定结构域排列成合适的构型，或引入密码子，产生半胱氨酸残基，修饰、添加或删除氨基酸等。抗原结合片段的非限制性实例包括：(i)Fab片段；(ii)F(ab')2片段；(iii)Fd片段；(iv)Fv片段；(v)单链Fv(scFv)分子；(vi)dAb片段；和(vii)由模拟抗体高变区的氨基酸残基(例如，分离的互补决定区(CDR)，例如CDR3肽)或受约束的FR3-CDR3-FR4肽组成的最小识别单元。其他工程化分子，如结构域特异性抗体类，单结构域抗体类，结构域缺失抗体类，嵌合抗体类，CDR嫁接抗体类，双抗体类，三抗体类，四抗体类，微抗体类，纳米抗体类(例如一价纳米抗体类，二价纳米抗体类等)，小型模块化免疫药物(SMIP)和鲨鱼可变IgNAR结构域也包含在本发明所使用的表达“抗原结合片段”内。抗体的抗原结合片段通常包含至少一个可变结构域。所述可变结构域可具有任何大小或氨基酸组成，并且通常包含至少一个CDR，所述至少一个CDR与一个或多个框架序列相邻或在框内。在具有与V_L结构域相关的V_H结构域的抗原结合片段中，所述V_H和V_L结构域可以任何合适的排列相对于彼此进行定位。譬如，所述可变区可以是二聚的并含有V_H-V_H、V_H-V_L或V_L-V_L二聚体。或者，所述抗体的抗原结合片段可包含单体V_H或V_L结构域。在某些实施方案，抗体的抗原结合片段可包含至少一个可变结构域，所述可变结构域与至少一个恒定结构域共价连接。可在本发明公开的抗体的抗原结合片段内发现的可变结构域和恒定结构域的非限制性示例性构型包括：(i)V_H-C_H1；(ii)V_H-C_H2；(iii)V_H-C_H3；(iv)V_H-C_H1-C_H2；(v)V_H-C_H1-C_H2-C_H3；(vi)V_H-C_H2-C_H3；(vii)V_H-C_L；(viii)V_L-C_H1；(ix)V_L-C_H2；(x)V_L-C_H3；(xi)V_L-C_H1-C_H2；(xii)V_L-C_H1-C_H2-C_H3；(xiii)V_L-C_H2-C_H3；和(xiv)V_L-C_L。在可变结构域和恒定结构域的任何构型中，包括上文列出的任何示例性构型，所述可变结构域和恒定结构域可以彼此直接连接或可以通过完整或部分铰链或连接体区域进行连接。铰链区可由至少2个(例如，5、10、15、20、40、60个或更多个)氨基酸组成，所述氨基酸导致单个多肽分子中相邻可变结构域和/或恒定结构域之间的柔性或半柔性连接。与完整的抗体分子一样，抗原结合片段可以是单特异性或多特异性的(例如，双特异性的)。抗体的多特异性抗原结合片段通常包含至少两个不同的可变结构域，其中每个可变结构域能够特异性结合单独的抗原或结合同一抗原上的不同表位。任何多特异性抗体形式，包括本发明公开的示例性双特异性抗体形式，可使用本领域可用的常规技术，适用于本发明抗体的抗原结合片段。在本发明所述的某些实施方案中，本发明所述抗体是人抗体。本发明使用的术语“人抗体”旨在包括具有衍生自人种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区的抗体。本发明的人抗体可包括不由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如，通过体外随机或位点特异性诱变或通过体内体细胞突变而引入的突变)，例如在CDR中，特别是在CDR3中。然而，本发明使用的术语“人抗体”不旨在包括其中衍生自另一种哺乳动物物种(例如小鼠)的种系的CDR序列已移植到人框架序列上的抗体。术语“人抗体”不包括在天然存在的、未经修饰的生物体中通常不经修饰或人为干预/操作而存在的天然存在的分子。在一些实施方案，本发明所述抗体可以是重组人抗体。本发明使用的术语“重组人抗体”旨在包括通过重组方式制备、表达、产生或分离的所有人抗体，例如使用转染到宿主细胞中的重组表达载体表达的抗体(下文进一步描述)；从重组、组合人抗体文库分离的抗体(下文进一步描述)；从动物(例如小鼠)分离的抗体，所述动物是人免疫球蛋白基因的转基因动物(参见例

如,Taylor et al.(1992)Nucl.Acids Res.20:6287-6295);或通过涉及将人免疫球蛋白基因序列剪接到其他DNA序列的任何其他方法制备、表达、产生或分离的抗体。此类重组人抗体具有衍生自人种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区。然而,在某些实施方案,对此种重组人抗体进行体外诱变(或者,当使用转基因人Ig序列的动物时,进行体内体细胞诱变),并因此重组抗体的V_H和V_L区的氨基酸序列是衍生自人种系V_H和V_L序列并与之相关的序列,其在体内可不天然存在于人抗体种系库中。人抗体可以与铰链异质性相关的两种形式存在。在一种形式中,免疫球蛋白分子包含约150-160kDa的稳定四链构建体,其中二聚体通过链间重链二硫键连接在一起。在第二种形式中,所述二聚体不通过链间二硫键连接,并且形成约75-80kDa的分子,其由共价偶联的轻链和重链(半抗体)组成。即使在亲和纯化后,这些形式也极难分离。在各种完整IgG同种型中出现第二种形式的频率是由于但不限于与抗体的铰链区同种型相关的结构差异。人IgG4铰链的铰链区中的单个氨基酸置换可以显著地将第二种形式(Angal et al.(1993)Molecular Immunology 30:105)的出现降低至通常使用人IgG1铰链观察到的水平。本发明公开内容包括在铰链、C_H2或C_H3区域中具有一个或多个突变的抗体,所述突变可能是例如在生成中所需的,以提高所需抗体形式的产量。本发明所述抗体可以是分离的抗体。本发明使用的“分离的抗体”是指已经从其天然环境的至少一种组分中鉴定和分离和/或回收的抗体。例如,为了本发明的目的,已从生物体的至少一种组分或从其中天然存在或天然产生的抗体的组织或细胞中分离或除去的抗体是“分离的抗体”。分离的抗体还包括重组细胞内的原位抗体。分离的抗体是已经过至少一个纯化或分离步骤的抗体。根据某些实施方案,分离的抗体可以基本上不含其他细胞材料和/或化学物质。与衍生抗体的相应种系序列相比,本发明使用的抗体可在重链和轻链可变结构域的框架和/或CDR区中包含一个或多个氨基酸置换、插入和/或缺失。通过将本发明公开的氨基酸序列与可从例如公共抗体序列数据库获得的种系序列进行比较,可以容易地确定此类突变。本发明包括抗体及其抗原结合片段,其衍生自本发明公开的任何氨基酸序列,其中一个或多个框架和/或CDR区内的一个或多个氨基酸突变为衍生抗体的种系序列的相应残基,或突变为另一个人种系序列的相应残基,或突变为相应种系残基的保守氨基酸置换(此类序列变化在本发明中统称为“种系突变”)。本领域普通技术人员从本发明公开的重链和轻链可变区序列开始,可以生成许多抗体和抗原结合片段,所述抗体和抗原结合片段包含一个或多个个体种系突变或其组合。在某些实施方案,V_H和/或V_L结构域内的所有框架和/或CDR残基突变回在衍生抗体的原始种系序列中发现的残基。在其他实施方案,仅有某些残基突变回原始种系序列,例如,仅在FR1的前8个氨基酸内或在FR4的最后8个氨基酸内发现的突变残基,或仅在CDR1、CDR2或CDR3中发现的突变残基。在其他实施方案,将一个或多个框架和/或CDR残基突变为不同种系序列(即,种系序列不同于最初衍生抗体的种系序列)的相应残基。此外,本发明所述抗体可包含框架和/或CDR区内的两个或更多个种系突变的任何组合,例如,其中某些个体残基突变为特定种系序列的相应残基,而某些与原始种系序列不同的其他残基保持或突变为不同种系序列的相应残基。一旦得到,可容易地测试含有一个或多个种系突变的抗体和抗原结合片段的一种或多种所需特性,例如改善的结合特异性,增加的结合亲和力,改善或增强的拮抗或激动的生物学特性(视情况而定),降低的免疫原性等。以这种一般方式得到的抗体和抗原结合片段均包括在本发明中。可用于本发明化合物的抗体还包括抗体,其包含具有一个或多个保守置换的本发明公开的HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列

中任一个的变体。术语“表位”是指与抗体分子的可变区中被称为互补位的特定抗原结合位点相互作用的抗原决定簇。单个抗原可具有一个以上的表位。因此，不同的抗体可结合抗原上的不同区域并且可具有不同的生物学效应。表位可以是构象的或线性的。构象表位是由线性多肽链不同区段在空间上并列的氨基酸产生。线性表位是由多肽链中相邻氨基酸残基产生。在某些情况下，表位可包括抗原上的糖类、磷酰基类或磺酰基类基团部分。

[0117] 在某些实施方案，所述抗体包含轻链。在某些实施方案，所述轻链是κ轻链。在某些实施方案，所述轻链是λ轻链。在某些实施方案，所述抗体包含重链。在某些方面，所述重链是IgA。在某些方面，所述重链是IgD。在某些方面，所述重链是IgE。在一些方面，所述重链是IgG。在一些方面，所述重链是IgM。在一些方面，所述重链是IgG1。在一些方面，所述重链是IgG2。在一些方面，所述重链是IgG3。在一些方面，所述重链是IgG4。在一些方面，所述重链是IgA1。在一些方面，所述重链是IgA2。

[0118] 在一些实施方案，所述抗体是抗体片段。在一些方面，所述抗体片段是Fv片段。在一些方面，所述抗体片段是Fab片段。在一些方面，所述抗体片段是$F(ab')_2$片段。在一些方面，所述抗体片段是Fab'片段。在一些方面，所述抗体片段是scFv(sFv)片段。在一些方面，所述抗体片段是scFv-Fc片段。

[0119] 在一些实施方案，所述抗体是单克隆抗体。在一些实施方案，所述抗体是多克隆抗体。

[0120] 在一些实施方案，所述抗体是嵌合抗体。在一些实施方案，所述抗体是人源化抗体。在一些实施方案，所述抗体是人抗体。

[0121] 所述抗体可对认为适合本领域技术人员的任何抗原具有结合特异性。在某些实施方案，所述抗原是跨膜分子(例如受体)或生长因子。示例性抗原包括但不限于，诸如A类清道夫受体(包括清道夫受体A(SR-A或MSR1))的分子，具有胶原结构的巨噬细胞受体(MARCO)的分子，具有C型凝集素的清道夫受体(SRCL)的分子，和清道夫受体A-5(SCARA5)，COLEC12，B类巨噬细胞清道夫受体(包括CD36、LIMPII、SRBI、SRBII)，D类清道夫受体CD68，和溶酶体膜糖蛋白(LAMP)的分子，E类清道夫受体(包括凝集素样氧化低密度脂蛋白受体1LOX-1和Dectin-1)的分子，F类清道夫受体(包括内皮细胞-I(SREC-I)和SREC-II以及多种表皮生长因子(EGF)样结构域(MEGF)10表达的清道夫受体)的分子，G类清道夫受体CXC趋化因子配体16(CXCL16)的分子，H类清道夫受体(包括成束蛋白(Fasciclin)、EGF样、核纤层蛋白类型EGF样和含有连接结构域的清道夫受体1(FEEL-1)和受体2(FEEL-2))的分子，I类清道夫受体CD163的分子，和用于晚期糖基化终产物(RAGE)的J类清道夫受体的分子，其他C型凝集素超家族成员(包括DEC205、CD206、Dectin-2、Mincle、DC-SIGN和DNGR-1)的分子，以及其他膜蛋白类(例如B7家族相关成员，包括V-set和含Ig结构域4(VSIG4))的分子，集落刺激因子1受体(CSF1R)的分子，去唾液酸糖蛋白受体(ASGPR)的分子，和淀粉样β前体样蛋白2(APLP-2)的分子。在一些实施方案，所述抗原是PRLR或HER2。在一些实施方案，所述抗体是抗PRLR抗体或抗HER2抗体。

[0122] 所述结合剂连接体可通过抗体或抗原结合分子内特定氨基酸处的附接而与所述结合剂(例如，抗体或抗原结合分子)连接。可在本发明此方面的上下文中使用的示例性氨基酸附接包括，例如，赖氨酸(参见例如，US 5,208,020;US 2010/0129314;Hollander et al.,Bioconjugate Chem.,2008,19:358-361;WO 2005/089808;US 5,714,586;US 2013/

0101546;和US 2012/0585592);半胱氨酸(参见例如,US 2007/0258987;WO 2013/055993;WO 2013/055990;WO 2013/053873;WO 2013/053872;WO 2011/130598;US 2013/0101546;和US 7,750,116);硒代半胱氨酸(参见例如,WO 2008/122039;和Hofer et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.,USA,2008,105:12451-12456);甲酰甘氨酸(参见例如,Carrico et al.,Nat.Chem.Biol.,2007,3:321-322;Agarwal et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.,USA,2013,110:46-51,和Rabuka et al.,Nat.Protocols,2012,10:1052-1067);非天然氨基酸(参见例如,WO 2013/068874,和WO 2012/166559),和酸性氨基酸(参见例如,WO 2012/05982)。连接体也可通过与碳水化合物(参见例如,US 2008/0305497,WO 2014/065661,和Ryan et al.,Food&Agriculture Immunol.,2001,13:127-130)的附接而与抗原结合蛋白偶联。

[0123] 在一些实施例,所述结合剂是抗体或抗原结合分子,和所述抗体通过赖氨酸残基与所述连接体连接。在一些实施方案,所述抗体或抗原结合分子通过半胱氨酸残基与所述连接体连接。

[0124] 连接体还可通过基于转谷氨酰胺酶的化学酶偶联而偶联至一个或多个谷氨酰胺残基上(参见例如,Dennler et al.,Bioconjugate Chem.2014,25,569-578,和WO 2017/147542)。例如,在转谷氨酰胺酶存在下,抗体的一个或多个谷氨酰胺残基可与伯胺化合物偶联。简言之,在一些实施方案,在转谷氨酰胺酶存在下,用伯胺化合物处理具有谷氨酰胺残基(例如,Gln295残基)的抗体,如下文更详细描述的。伯胺类化合物包括例如有效负载或连接体-有效负载,其通过转谷氨酰胺酶介导的偶联直接提供抗体药物偶联物。伯胺类化合物还包括被活性基团官能化的连接体和间隔基团,随后可用进一步的化合物对其进行处理以合成抗体药物偶联物。包含谷氨酰胺残基的抗体可从天然来源分离得到或经工程改造以包含一个或多个谷氨酰胺残基而得到。用于将谷氨酰胺残基工程化为抗体多肽链(谷氨酰胺基修饰的抗体或抗原结合分子)的技术均在本领域技术人员的技术范围内。在某些实施方案,所述抗体是无糖基化的。

[0125] 在某些实施方案,所述抗体或谷氨酰胺基修饰的抗体或抗原结合分子在至少一个多肽链序列中包含至少一个谷氨酰胺残基。在某些实施方案,所述抗体或谷氨酰胺基修饰的抗体或抗原结合分子包含两个重链多肽,其中每个具有一个Gln295残基。在进一步的实施方案中,所述抗体或谷氨酰胺基修饰的抗体或抗原结合分子在除重链295以外的位点处包含一个或多个谷氨酰胺残基。本发明包括具有本发明所述的Asn297Gln(N297Q)突变的此部分的抗体。本发明包括具有Gln55(Q55)残基的此部分的抗体。

伯胺类化合物

[0126] 可用于由包含谷氨酰胺的抗体(或抗原结合化合物)的转谷氨酰胺酶介导的偶联的伯胺化合物可以是普通技术人员认为有用的任何伯胺化合物。通常,伯胺化合物具有式H_2N-R所示结构,其中R可以是与抗体和反应条件相配的任何基团。在某些实施方案,R是烷基、取代的烷基、杂烷基、或取代的杂烷基。

[0127] 在一些实施方案,所述伯胺化合物包含活性基团或保护的活性基团。有用的活性基团包括叠氮化物类、炔烃类、环炔烃类、硫醇类、醇类、酮类、醛类、酸类、酯类、酰肼类、苯胺类、和胺类。在某些实施方案,所述活性基团选自由叠氮化物、炔烃、巯基、环炔烃、醛、和羧基组成的组。

[0128] 在某些实施方案，所述伯胺化合物具有式H_2N-LL-X所示结构，其中LL是二价间隔基团，和X是活性基团或保护的活性基团。在特定实施方案，LL是二价聚乙二醇(PEG)基团。在某些实施方案，X是选自由-SH、$-N_3$、炔烃、醛和四唑组成的组。在特定实施方案，X是$-N_3$。

[0129] 在某些实施方案，所述伯胺化合物具有以下通式之一的结构：

$H_2N-(CH_2)_n-X$；

$H_2N-(CH_2CH_2O)_n-(CH_2)_p-X$；

$H_2N-(CH_2)_n-N(H)C(O)-(CH_2)_m-X$；

$H_2N-(CH_2CH_2O)_n-N(H)C(O)-(CH_2CH_2O)_m-(CH_2)_p-X$；

$H_2N-(CH_2)_n-C(O)N(H)-(CH_2)_m-X$；

$H_2N-(CH_2CH_2O)_n-C(O)N(H)-(CH_2CH_2O)_m-(CH_2)_p-X$；

$H_2N-(CH_2)_n-N(H)C(O)-(CH_2CH_2O)_m-(CH_2)_p-X$；

$H_2N-(CH_2CH_2O)_n-N(H)C(O)-(CH_2)_m-X$；

$H_2N-(CH_2)_n-C(O)N(H)-(CH_2CH_2O)_m-(CH_2)_p-X$；和

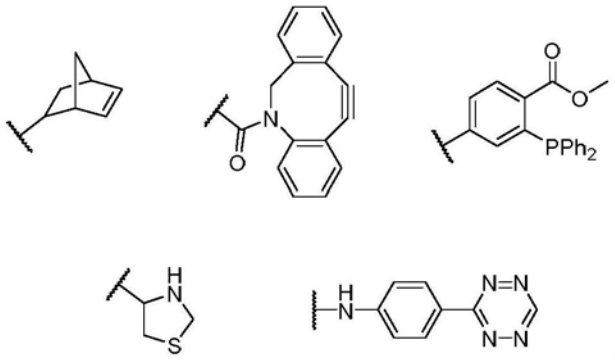
$H_2N-(CH_2CH_2O)_n-C(O)N(H)-(CH_2)_m-X$；

其中n是选自1至12的整数；

m是选自0至12的整数；

p是选自0至2的整数；

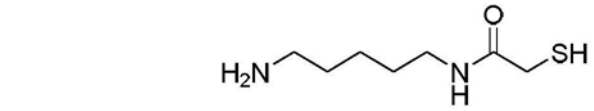
和X是选自由以下组成的组：-SH、$-N_3$、-C≡CH、-C(O)H、四唑、和以下之一：

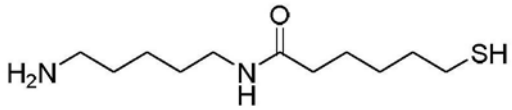


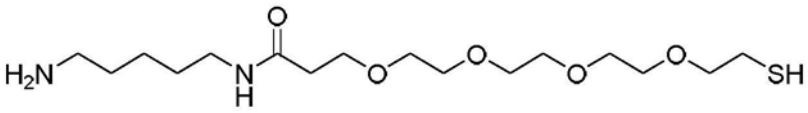
。

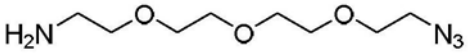
[0130] 在上文中，任何所述烷基(即$-CH_2-$)基团可任选地被例如C_{1-8}烷基、甲基甲酰基、或$-SO_3H$取代。在某些实施方案，所述烷基基团均是未取代的。

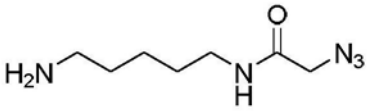
[0131] 在某些实施方案，所述伯胺化合物是选自由以下组成的组：



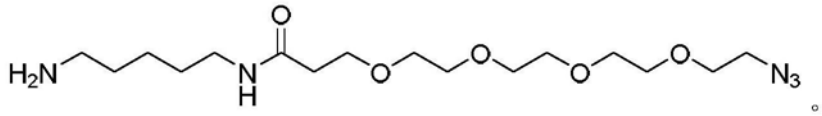




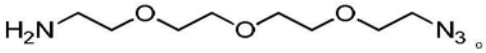




和



[0132] 在特定实施方案,所述伯胺化合物是:



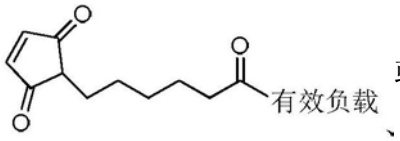
在以下实施例中提供了上述反应的示例性条件。

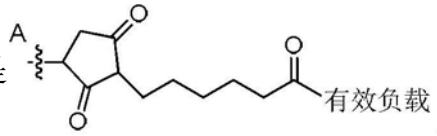
连接体

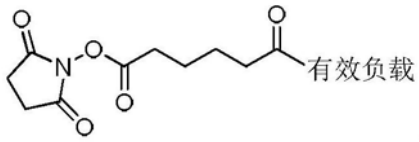
[0133] 本发明所述偶联物的连接体L部分是一个基团部分,例如二价基团部分,其将结合剂共价连接至本发明所述的有效负载化合物。在其他情况下,连接体L是将结合剂共价连接至本发明所述的有效负载化合物的三价或多价基团部分。合适的连接体可在例如Antibody-Drug Conjugates and Immunotoxins;Phillips,G.L.,Ed.;Springer Verlag:New York,2013;Antibody-Drug Conjugates;Ducry,L.,Ed.;Humana Press,2013;Antibody-Drug Conjugates;Wang,J.,Shen,W.-C.,and Zaro,J.L.,Eds.;Springer International Publishing,2015中获悉,各文献的内容通过引用其整体并入本发明。有效负载化合物包括上述式I、Ia和Ib的化合物,以及其与连接体L连接或结合后的残基。本领域技术人员将认识到,所述有效负载基团部分的某些官能团便于连接至连接体和/或结合剂。所述这些基团包括胺类、羟基类、磷酸盐/酯类和糖类。

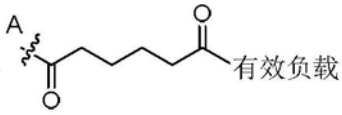
[0134] 在某些实施方案,所述连接体在生理条件下是稳定的。在某些实施方案,所述连接体是可切割的,例如,能够在酶存在下或在特定pH范围或pH值下释放至少所述有效负载部分。在一些实施方案,连接体包含酶可切割的基团部分。示例性酶可切割的基团部分包括但不限于肽键类、酯键类、腙类、和二硫键类。在一些实施方案,所述连接体包含组织蛋白酶可切割的连接体。

[0135] 在一些实施方案,所述连接体包含不可切割基团部分。在一些实施方案,所述不可

切割的连接体衍生自

或其残基。在一些实施方案，所述不可切割的连接体-有效负载是

或其区域异构体。在一些实施方案，所述不可切割的连接体衍生自

或其残基。在一些实施方案，所述不可切割的连接体-有效负载是

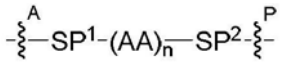
或其区域异构体。在一个实施方案，所述连接体是马来酰亚胺环己烷羧酸酯或4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷羧酸(MCC)。在所述结构中，表示与结合剂连接的键。在所述结构中，在一些实施例，表示由例如结合剂和连接体有效负载的反应产生的点击化学残基。

[0136] 在一些实施方案，合适的连接体包括但不限于与单一结合剂(例如抗体)的两个半胱氨酸残基进行化学键合的那些。此类连接体可用于模拟由于偶联过程而被破坏的所述抗体的二硫键。

[0137] 在一些实施方案，所述连接体包含一个或多个氨基酸。合适的氨基酸包括天然、非天然的、标准、非标准的、蛋白原、非蛋白原的、和L-或D-型α-氨基酸。在一些实施方案，所述连接体包含丙氨酸、缬氨酸、甘氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、酪氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、天冬氨酸、谷氨酸、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、或瓜氨酸、或其衍生物、或其组合。在某些实施方案，所述氨基酸的一个或多个侧链连接至如下所述的侧链基团。在一些实施方案，所述连接体包含缬氨酸和瓜氨酸。在一些实施方案，所述连接体包含赖氨酸、缬氨酸和瓜氨酸。在一些实施方案，所述连接体包含赖氨酸、缬氨酸和丙氨酸。在一些实施方案，所述连接体包含缬氨酸和丙氨酸。

[0138] 在一些实施方案，所述连接体包含自降解基团。所述自降解基团可以是技术人员已知的任何此类基团。在特定实施方案，所述自降解基团是对氨基苄基(PAB)或其衍生物。有用的衍生物包括对氨基苄氧基羰基(PABC)。本领域技术人员将认识到，自降解基团能够进行化学反应，所述化学反应从有效负载中释放连接体的剩余原子。

[0139] 在一些实施方案，所述连接体是：



其中：

SP^1是间隔基团；

SP^2是间隔基团；

是与所述结合剂连接的一个或多个键；

是与所述有效负载连接的一个或多个键；

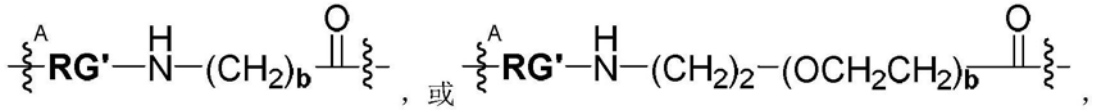
各AA分别是氨基酸；和

n是从1至10的整数。

[0140] SP^1间隔基团是将$(AA)_n$部分连接至结合剂(BA)或连接至与BA连接的活性基团残基的基团部分。合适的SP^1间隔基团包括但不限于，包含亚烷基或聚醚或亚烷基和聚醚两者的那些基团。间隔基团的末端，例如间隔基团连接至结合剂或AA的部分，可以是衍生自活性基团部分的基团部分，所述活性基团部分用于在偶联物的化学合成过程中将抗体或AA偶联至间隔基团的目的。在某些实施方案，n是1、2、3、或4。在特定实施方案，n是2。在特定实施方案，n是3。在特定实施方案，n是4。

[0141] 在一些实施方案，SP^1间隔基团包含亚烷基。在一些实施方案，SP^1间隔基团包含C_{5-7}亚烷基。在一些实施方案，SP^1间隔基团包含聚醚。在一些实施方案，SP^1间隔基团包含环氧乙烷的聚合物，例如聚乙二醇。

[0142] 在一些实施方案，SP^1间隔基团是：



其中：

RG'是活性基团RG与结合剂反应后的活性基团残基；

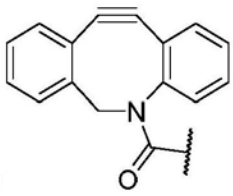
是与所述结合剂连接的键；

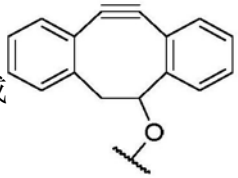
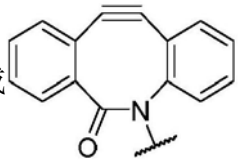
是与$(AA)_n$连接的键；和

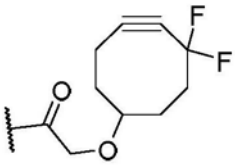
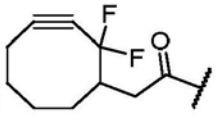
b是从2至8的整数。

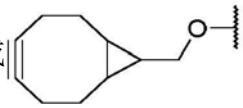
[0143] 活性基团RG可以是本领域技术人员已知的能够与结合剂连接形成一个或多个键的任何活性基团。活性基团RG是在其结构中包含能够与结合剂反应(例如，在抗体的半胱氨酸或赖氨酸残基或叠氮化物部分处与抗体反应，例如在一个或多个谷氨酰胺残基处与PEG-N_3官能化的抗体反应)以形成式A、Aa或Ab所示化合物的部分的基团部分。与结合剂偶联后，活性基团成为活性基团(RG')残基。示例性活性基团包括但不限于，包含能够与结合剂反应的卤代乙酰基、异硫氰酸酯基、琥珀酰亚胺、N-羟基琥珀酰亚胺、或马来酰亚胺部分的那些活性基团。

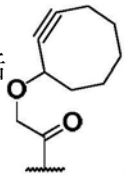
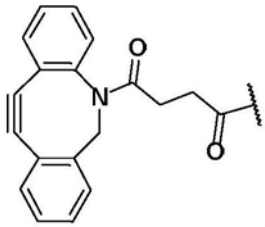
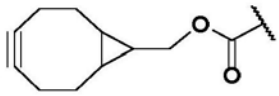
[0144] 在某些实施方案，活性基团包括但不限于炔烃类。在某些实施方案，所述炔烃是在不存在铜催化剂的情况下能够与叠氮化物进行1,3-环加成反应的炔烃，如应变炔烃。应变炔烃是适于应变促进的炔-叠氮化物环加成(SPAAC)的那些，环炔烃类，例如环辛炔类，苯并环化的炔烃类。合适的炔烃类还包括但不限于，二苯并氮杂环辛炔或

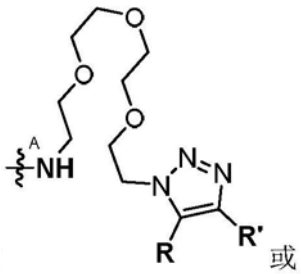


(DIBAC)，二苯并环辛炔或(DIBO)，二芳基氮杂环辛炔酮或

(BARAC)，二氟化环辛炔或或，或

(DIFO)，取代的例如氟化炔烃类，氮杂-环炔烃类，二环[6.1.0]壬炔或(BCN)，

和其衍生物。特别有用的炔烃包括，，和。

[0145] 在某些实施方案，所述结合剂直接连接至RG'。在某些实施方案，所述结合剂通过下面的间隔基团例如SP^4连接至RG'。在特定实施方案，所述结合剂通过PEG间隔基团连接至RG'。如以下详细讨论的，在某些实施方案，所述结合剂通过采用一个或多个叠氮基进行官能化来制得。每个叠氮基基团能够与RG反应形成RG'。在特定实施方案，所述结合剂采用与谷氨酰胺残基连接的-PEG-N_3衍生得到。本发明提供了示例性-N_3衍生的结合剂，其制备方法，以及其与RG反应的方法。在某些实施方案，RG是适于参与1,3-环加成的炔烃，和RG'是由RG与叠氮基官能化的结合剂反应形成的1,2,3-三唑基基团部分。作为进一步的实例，在某些实施方案，RG'连接至结合剂，所述结合剂如或所示，或各区域异构体的混合物。各R和R'分别具有本发明所述定义。

[0146] SP^2间隔基团是将$(AA)_n$部分连接至有效负载的基团部分。合适的间隔基团包括但不限于以上描述为SP^1间隔基团的那些。其他合适的SP^2间隔基团包括但不限于包含亚烷基或聚醚或亚烷基和聚醚两者的那些。SP^2间隔基团的末端(例如，直接连接至有效负载或AA的间隔基团的部分)可以是衍生自活性基团部分的基团部分，所述活性基团部分用于在化学合成偶联物的过程中将有效负载或AA与SP^2间隔基团偶联的目的。在一些实施例，SP^2间隔基团的末端(例如，直接连接至有效负载或AA的SP^2间隔基团的部分)可以是活性基团部分的残基，所述活性基团部分用于在化学合成偶联物的过程中将有效负载或AA与间隔基团偶联的目的。

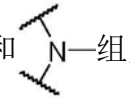
[0147] 在一些实施方案，SP^2间隔基团是选自由-O-、-N(R^6)-、-R^4'-、-R^5'-、-OR^5'-、和-OP(O)(OR^6)O-组成的组，其中：

R^4'是-Z'-Y-X-；

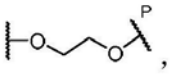
X是选自由-O-和-N(H)-组成的组；

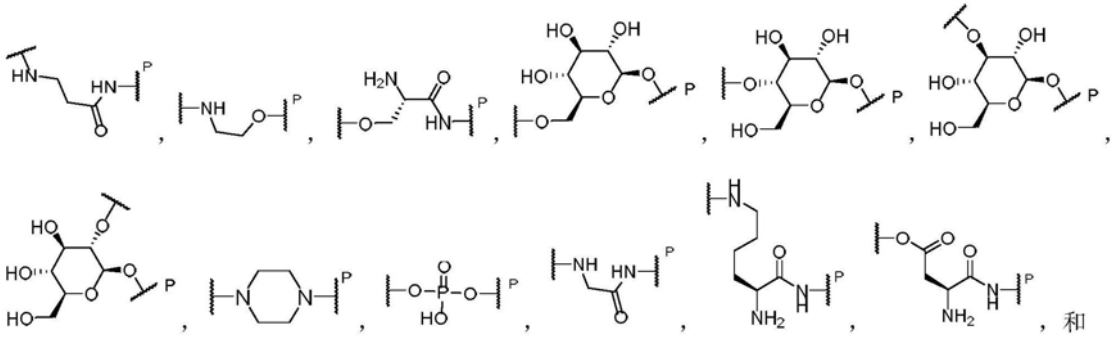
Y是选自由亚烷基、取代的亚烷基(包括但不限于氧代取代，即=O)、亚杂烷基、和取代的亚杂烷基组成的组；

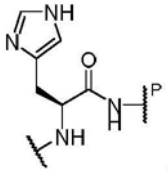
Z'是选自由-O-和-N(H)-组成的组；

R^5'是亚杂环烷基、或取代的亚杂环烷基，其中各亚杂环烷基或取代的亚杂环烷基分别包含选自N和O的1、2或3个杂原子，包括选自由-O-、-N(H)-、和组成的组的至少两个基团部分，用于连接至分子的其余部分；和

各R^{6}分别为-H、氨基酸残基、肽、或烷基。

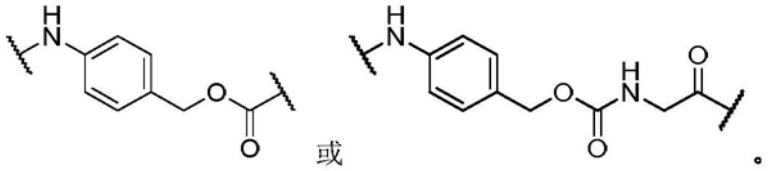
[0148] 在某些实施方案，SP^2间隔基团是选自由以下组成的组：-O-，-N(H)-，，



和。在某些实施方案，各分别为与所述有效负载连接的键，和各--分别为与(AA)$_n$连接的键。

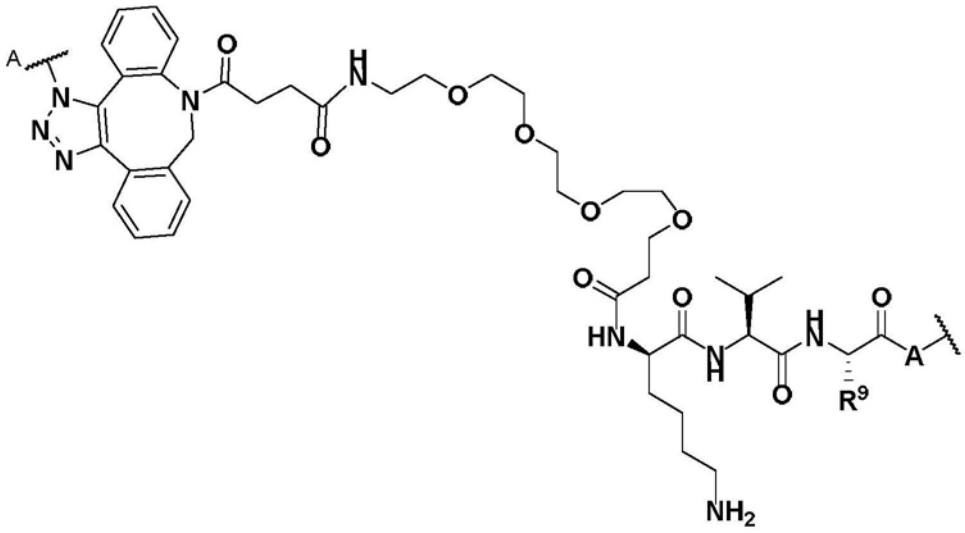
[0149] 在上述通式中，各AA分别为氨基酸、或任选地为对氨基苄氧基羰基残基(PABC)。如果存在PABC，则优选仅存在一个PABC。优选地，PABC残基(若存在)是(AA)$_n$基团中的末端AA，靠近有效负载。每个AA的合适氨基酸包括天然、非天然的、标准、非标准的、蛋白原、非蛋白原的、L-型或D-型α-氨基酸。在一些实施方案，所述连接体包含丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、酪氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、天冬氨酸、谷氨酸、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、或瓜氨酸、或其衍生物、或其组合。在某些实施方案，所述氨基酸的一个或多个侧链连接至如下所述的侧链基团。在一些实施方案，n是2。在一些实施方案，(AA)$_n$是缬氨酸-瓜氨酸。在一些实施方案，(AA)$_n$是瓜氨酸-缬氨酸。在一些实施方案，(AA)$_n$是缬氨酸-丙氨酸。在一些实施方案，(AA)$_n$是丙氨酸-缬氨酸。在一些实施方案，(AA)$_n$是缬氨酸-甘氨酸。在一些实施方案，(AA)$_n$是甘氨酸-缬氨酸。在一些实施方案，n是3。在一些实施方案，(AA)$_n$是缬氨酸-瓜氨酸-PABC。在一些实施方案，(AA)$_n$是瓜氨酸-缬氨酸-PABC。在一些实施方案，(AA)$_n$是谷氨酸-缬氨酸-瓜氨酸。在一些实施方案，

$(AA)_n$是谷氨酰胺-缬氨酸-瓜氨酸。在一些实施方案，$(AA)_n$是赖氨酸-缬氨酸-丙氨酸。在一些实施方案，$(AA)_n$是赖氨酸-缬氨酸-瓜氨酸。在一些实施方案，n是4。在一些实施方案，$(AA)_n$是谷氨酸-缬氨酸-瓜氨酸-PAB。在一些实施方案，$(AA)_n$是谷氨酰胺-缬氨酸-瓜氨酸-PABC。技术人员将认识到PABC是具有以下结构的对氨基苄氧基羰基的残基：

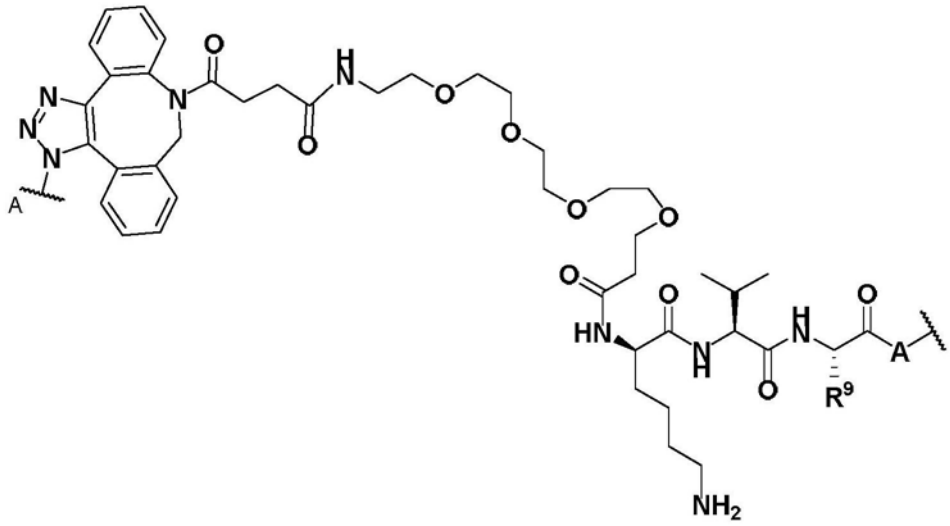


已示出了PABC残基促进体外和体内切割某些连接体。

[0150] 在某些实施方案，所述连接体是：



或

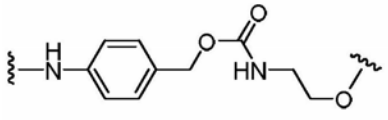
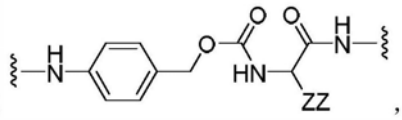


其中：

各$-\overset{A}{\sim}-$分别是与所述结合剂连接的键；

各$-\sim-$分别是与所述有效负载连接的键；

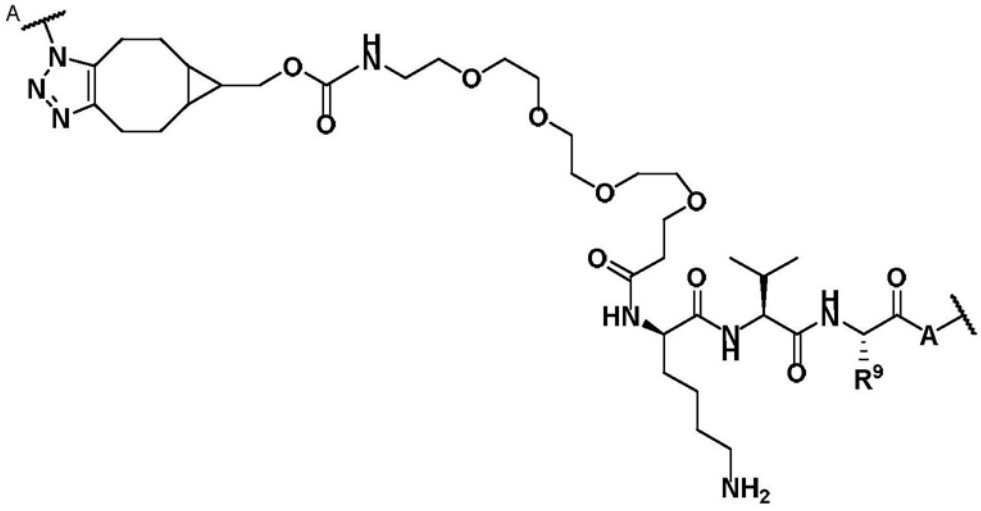
各R^9分别是$-CH_3$或$-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$；和

各A分别是-O-、-N(H)-、、或，

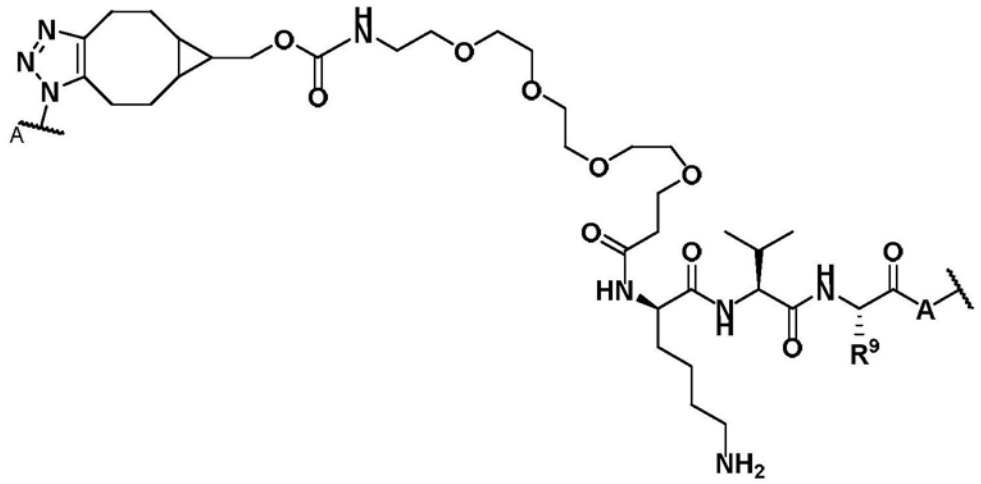
其中ZZ是氢，或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}杂烷基。

如上所述，与所述结合剂连接的键可以是直接连接、也可以是通过间隔基团连接。在某些实施方案，与所述结合剂连接的键是通过PEG间隔基团与所述结合剂的谷氨酰胺残基连接。

[0151] 在一些实施方案，所述连接体是：



或

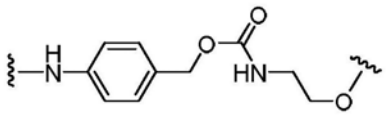
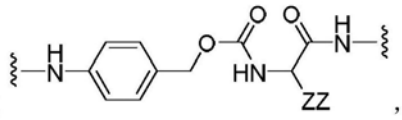


其中：

各--分别是与所述结合剂连接的键；

各--分别是与所述有效负载连接的键；

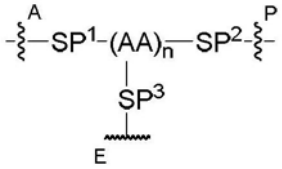
各R^9分别是$-CH_3$或$-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$；和

各A分别是-O-、-N(H)-、、或，

其中ZZ是氢，或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}杂烷基。

如上所述，与所述结合剂连接的键可以是直接连接、也可以是通过间隔基团连接。在某些实施方案，与所述结合剂连接的键是通过PEG间隔基团与所述结合剂的谷氨酰胺残基连接。

[0152] 在以上任一个实施方案中，$(AA)_n$基团可用一个或多个增强剂进行修饰。有利地，所述增强剂可连接至$(AA)_n$中任何氨基酸的侧链。用于连接增强剂的有用氨基酸包括赖氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、和瓜氨酸。与增强基团的连接可以是与氨基酸侧链的直接连接，或者可以是经由间隔基和/或活性基团的间接连接。有用的间隔基团和活性基团包括任何上述基团。所述增强基团可以是本领域技术人员认为有用的任何基团。例如，所述增强基团可以是赋予化合物、有效负载、连接体有效负载、或抗体偶联物有益作用的任何基团，包括但不限于生物学、生化、合成、增溶、成像、检测、和反应性/活性方面作用等。在某些实施方案，所述增强基团是亲水基团。在某些实施方案，所述增强基团是环糊精。在某些实施方案，所述增强基团是烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸。环糊精可以是技术人员已知的任何环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是α-环糊精、β-环糊精、或γ-环糊精、或其混合物。在某些实施方案，所述环糊精是α-环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是β-环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是γ-环糊精。在某些实施方案，所述增强基团能够改善偶联物其余部分的溶解度。在某些实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是取代的或未取代的。在某些实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，$-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，$-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，$-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，$-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，$-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，或$-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5，和m是1、2、3、4、或5。在一个实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2)_{1-5}SO_3H$。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中m是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中m是1、2、3、4、或5。在一些实施方案，所述连接体是：



其中：

SP^1是间隔基团；

SP^2是间隔基团；

SP^3是间隔基团，连接至$(AA)_n$中的一个AA；

是与所述结合剂连接的一个或多个键；

是与所述有效负载连接的一个或多个键；

是与所述增强基团EG连接的一个或多个键；

各AA分别是氨基酸；和

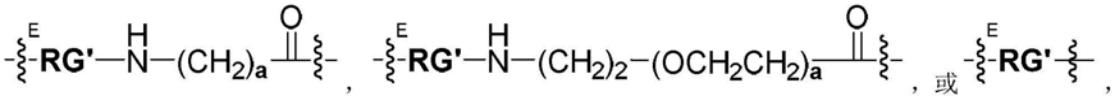
n是从1至10的整数。

如上所述，与所述结合剂连接的键可以是直接连接、也可以是通过间隔基团连接。在某些实施方案，与所述结合剂连接的键是通过PEG间隔基团与所述结合剂的谷氨酰胺残基连接。

[0153] SP^1间隔基团具有如上所述定义。SP^2间隔基团具有如上所述定义。各$(AA)_n$基团分别具有如上所述定义。

[0154] SP^3间隔基团是将$(AA)_n$部分连接至增强基团(EG)的基团部分。合适的SP^3间隔基团包括但不限于包含亚烷基或聚醚或亚烷基和聚醚两者的那些。SP^3间隔基团的末端(例如，直接连接至增强基团或AA的SP^3间隔基团的部分)可以是衍生自活性基团部分的基团部分，所述活性基团部分用于在化学合成偶联物的过程中将增强基团或AA与SP^3间隔基团偶联的目的。在一些实施例，SP^3间隔基团的末端(例如，直接连接至增强基团或AA的间隔基团的部分)可以是活性基团部分的残基，所述活性基团部分用于在化学合成偶联物的过程中将增强基团或AA与间隔基团偶联的目的。在某些实施方案，SP^3是间隔基团，连接至$(AA)_n$中的一个且仅一个AA。在某些实施方案，SP^3间隔基团连接至$(AA)_n$的赖氨酸残基的侧链。

[0155] 在一些实施方案，SP^3间隔基团是：



其中：

RG'是活性基团RG与增强剂EG反应后的活性基团残基；

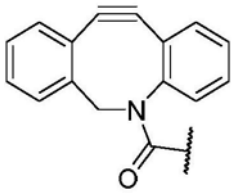
是与所述增强剂连接的键；

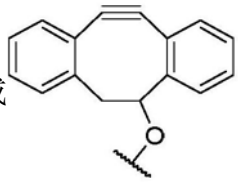
是与$(AA)_n$连接的键；和

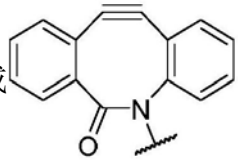
a是从2至8的整数。

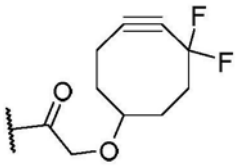
[0156] 活性基团RG可以是本领域技术人员已知的能够与增强剂连接形成一个或多个键

的任何活性基团。活性基团RG是在其结构中包含能够与结合剂反应(例如,在抗体的半胱氨酸或赖氨酸残基或叠氮化物部分处与抗体反应)以形成式A、Aa或Ab所示化合物的部分的基团部分。与结合剂偶联后,活性基团成为活性基团残基(RG')。活性基团RG可以是上述任何活性基团。示例性活性基团包括但不限于,包含能够与结合剂反应的卤代乙酰基、异硫氰酸酯基、琥珀酰亚胺、N-羟基琥珀酰亚胺、或马来酰亚胺部分的那些活性基团。

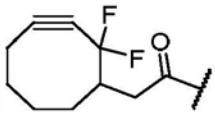
[0157] 在某些实施方案,活性基团包括但不限于炔烃类。在某些实施方案,所述炔烃是在不存在铜催化剂的情况下能够与叠氮化物进行1,3-环加成反应的炔烃,如应变炔烃。应变炔烃是适于应变促进的炔-叠氮化物环加成(SPAAC)的那些,环炔烃类,例如环辛炔类,苯并环化的炔烃类。合适的炔烃类包括但不限于,二苯并氮杂环辛炔或

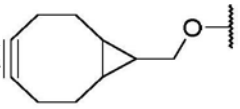
(DIBAC),二苯并环辛炔或

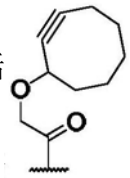
(DIBO),二芳基氮杂环辛炔酮或

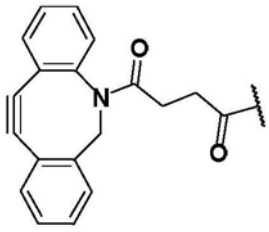
(BARAC),二氟化环辛炔或

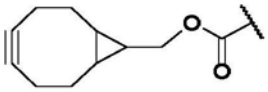
,或

,或

(DIFO),取代的例如氟化炔烃类,氮杂-环炔烃类,二环[6.1.0]壬炔或

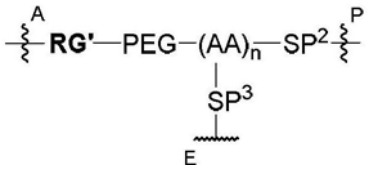
(BCN),和其衍生物。特别有用的炔烃包括

,

,和

。

[0158] 在一些实施方案,所述连接体是:



其中:

RG'是活性基团RG与结合剂反应后的活性基团残基;

PEG是PEG3;

SP^2是间隔基团;

SP^3是间隔基团,连接至$(AA)_n$中的一个AA;

--是与所述结合剂连接的一个或多个键；

--是与所述有效负载连接的一个或多个键；

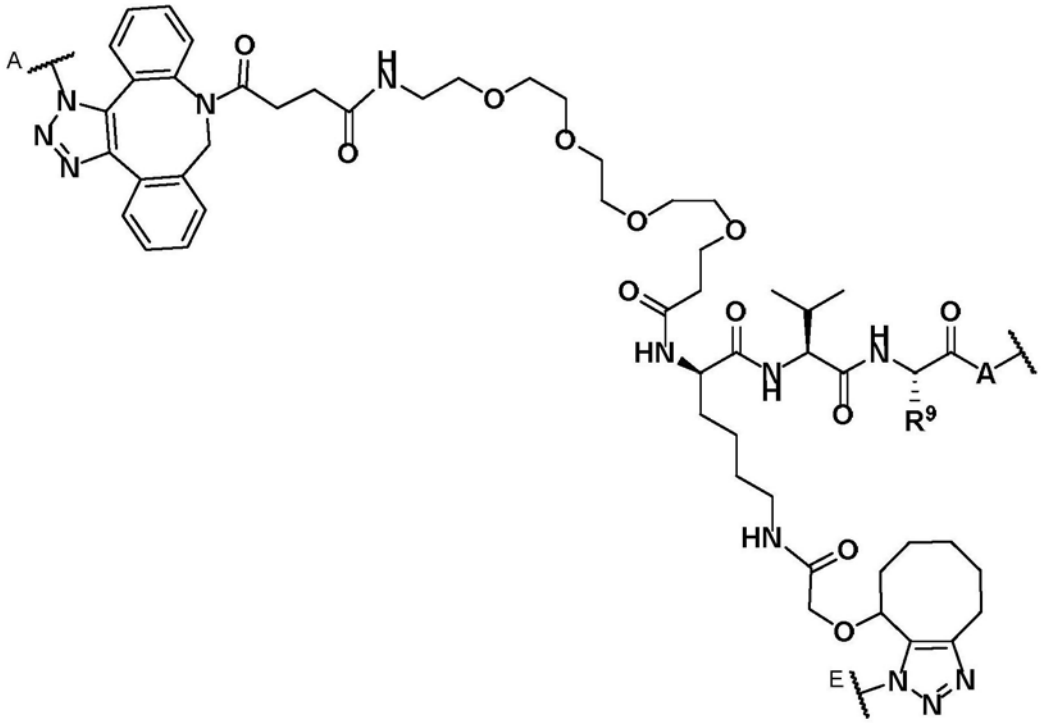
--是与所述增强基团EG连接的一个或多个键；

各AA分别是氨基酸；和

n是从1至10的整数。

如上所述，与所述结合剂连接的键可以是直接连接、或通过间隔基团连接。在某些实施方案，与所述结合剂连接的键是通过PEG间隔基团与所述结合剂的谷氨酰胺残基连接。

[0159] 在某些实施方案，所述连接体是：



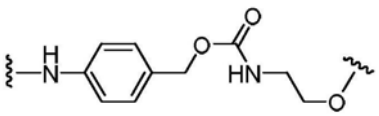
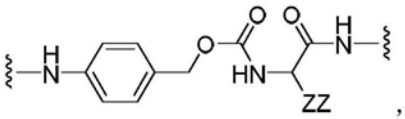
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，或其区域异构体，或其区域异构体的混合物，其中：

各--分别是与所述结合剂连接的键；

各--分别是与所述有效负载连接的键；

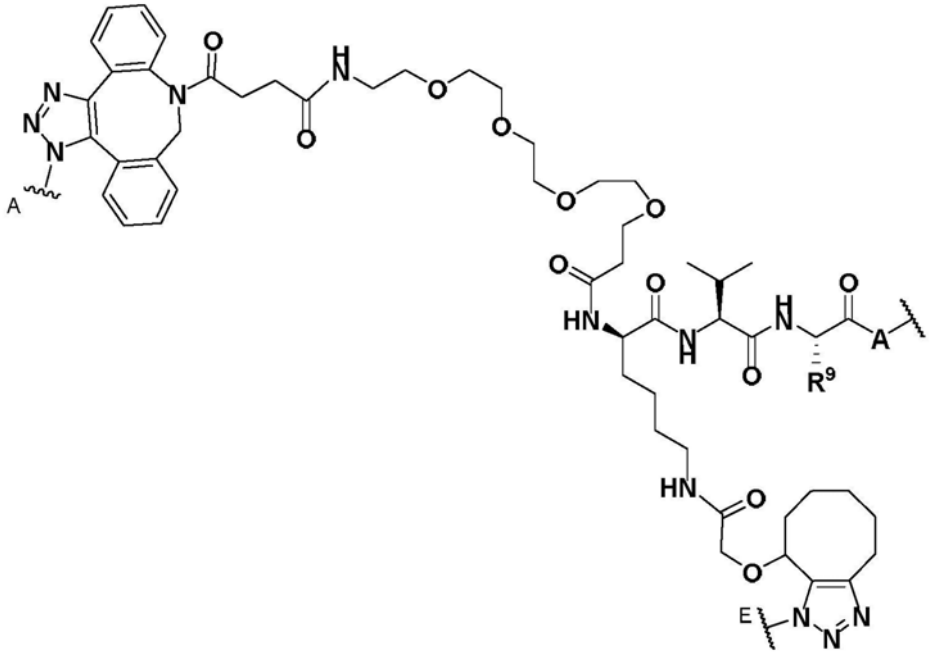
各--分别是与所述增强剂连接的键；

各R^9分别是$-CH_3$或$-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$；和

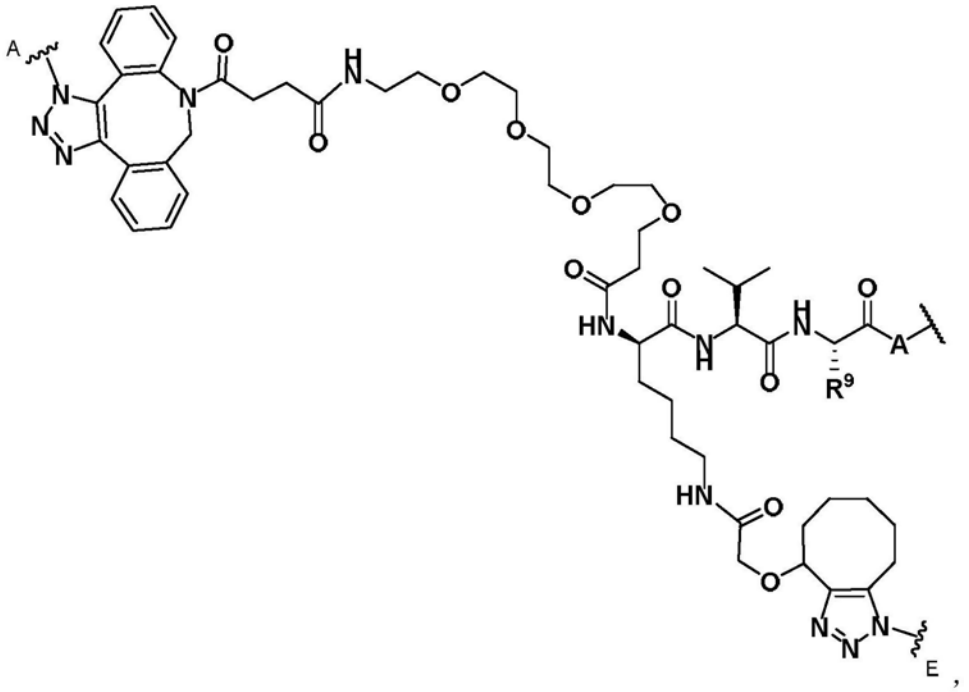
各A分别是-O-、-N(H)-、、或，

其中ZZ是氢，或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}杂烷基。在某些实施方案，1,3-环加成或SPAAC区域异构体或区域异构体的混合物衍生自用合适炔烃处理的PEG-N_3衍生的抗体。譬

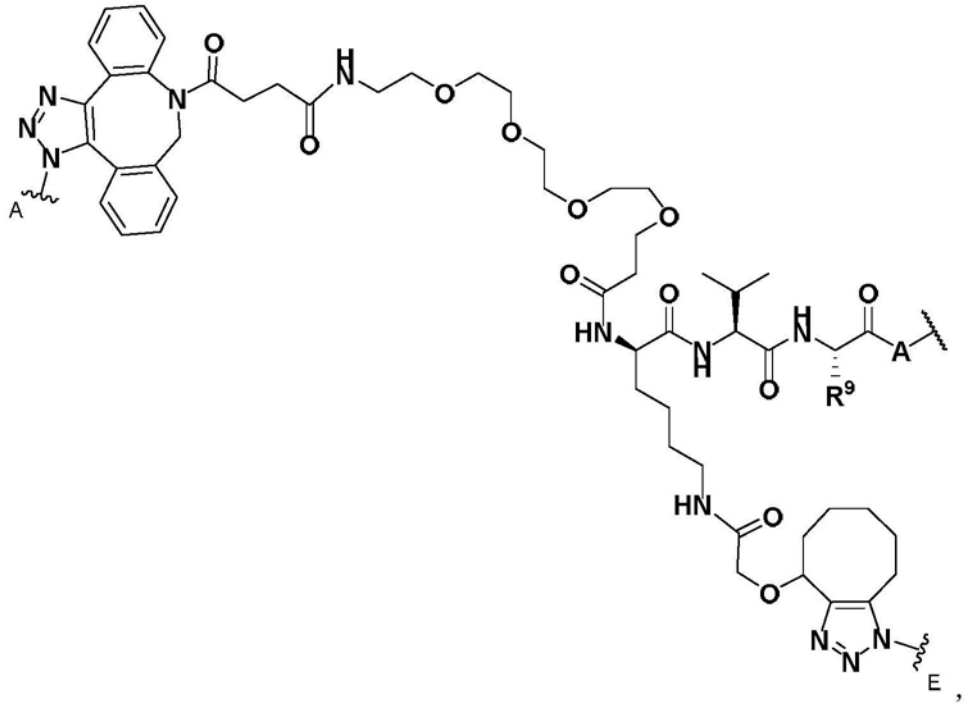
如,在一个实施方案,所述连接体是:



或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式,或其区域异构体,或其区域异构体的混合物。作为另一实例,所述连接体是:



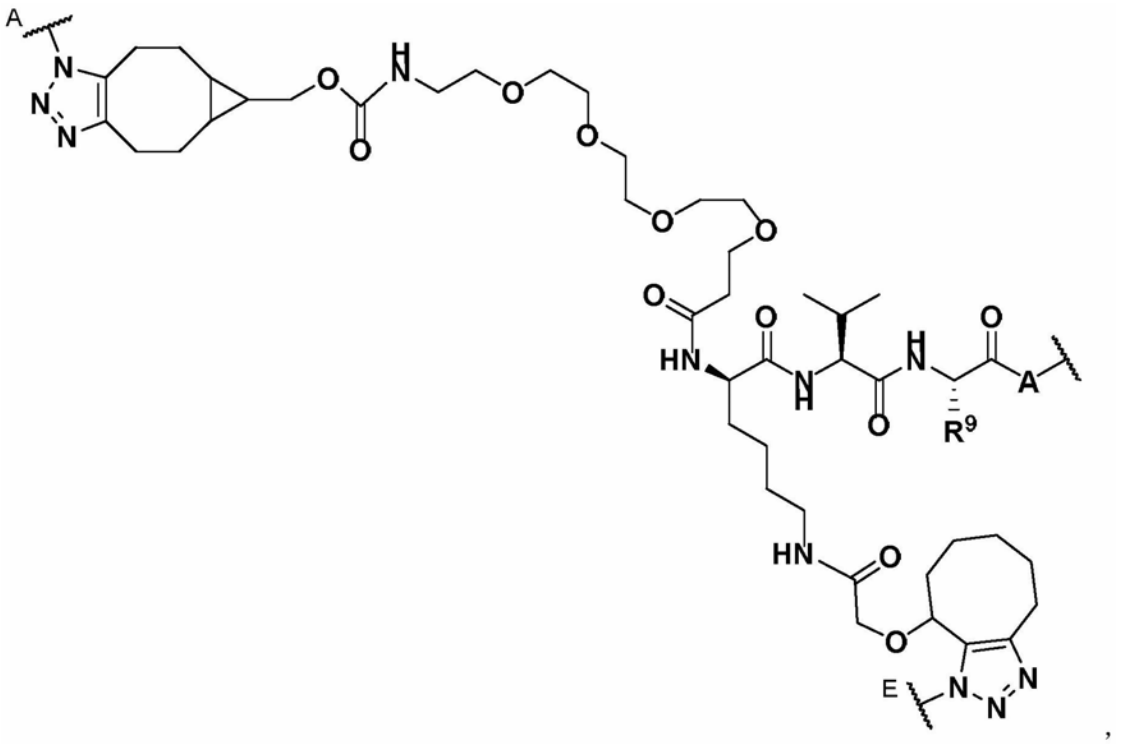
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式,或其区域异构体,或其区域异构体的混合物。作为另一实例,在一个实施方案,所述连接体是:



或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，或其区域异构体，或其区域异构体的混合物。

如上所述，与所述结合剂连接的键可以是直接连接、也可以是通过间隔基团连接。在某些实施方案，与所述结合剂连接的键是通过PEG间隔基团与所述结合剂的谷氨酰胺残基连接。在某些实施方案，所述增强剂是亲水基团。在某些实施方案，所述增强剂是环糊精。在某些实施方案，所述增强剂是烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸。环糊精可以是技术人员已知的任何环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是α-环糊精、β-环糊精、或γ-环糊精、或其混合物。在某些实施方案，所述环糊精是α-环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是β-环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是γ-环糊精。在某些实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，-$(CH_2)_n$-NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，-$(CH_2)_n$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，-$(CH_2)_n$-N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，-$(CH_2)_n$-C(O)N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，或-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5，和m是1、2、3、4、或5。在一个实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中m是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-C(O)N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中m是1、2、3、4、或5。

[0160] 在一些实施方案，所述连接体是：



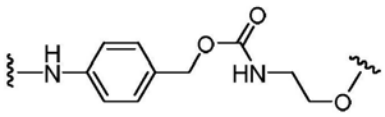
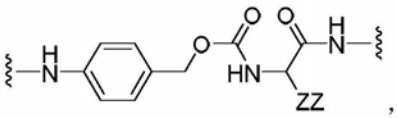
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，或其区域异构体，或其区域异构体的混合物，其中：

各-A-分别是与所述结合剂连接的键；

各-E-分别是与所述增强剂连接的键；

各-~-分别是与所述有效负载连接的键；

各R^9分别是$-CH_3$或$-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$；和

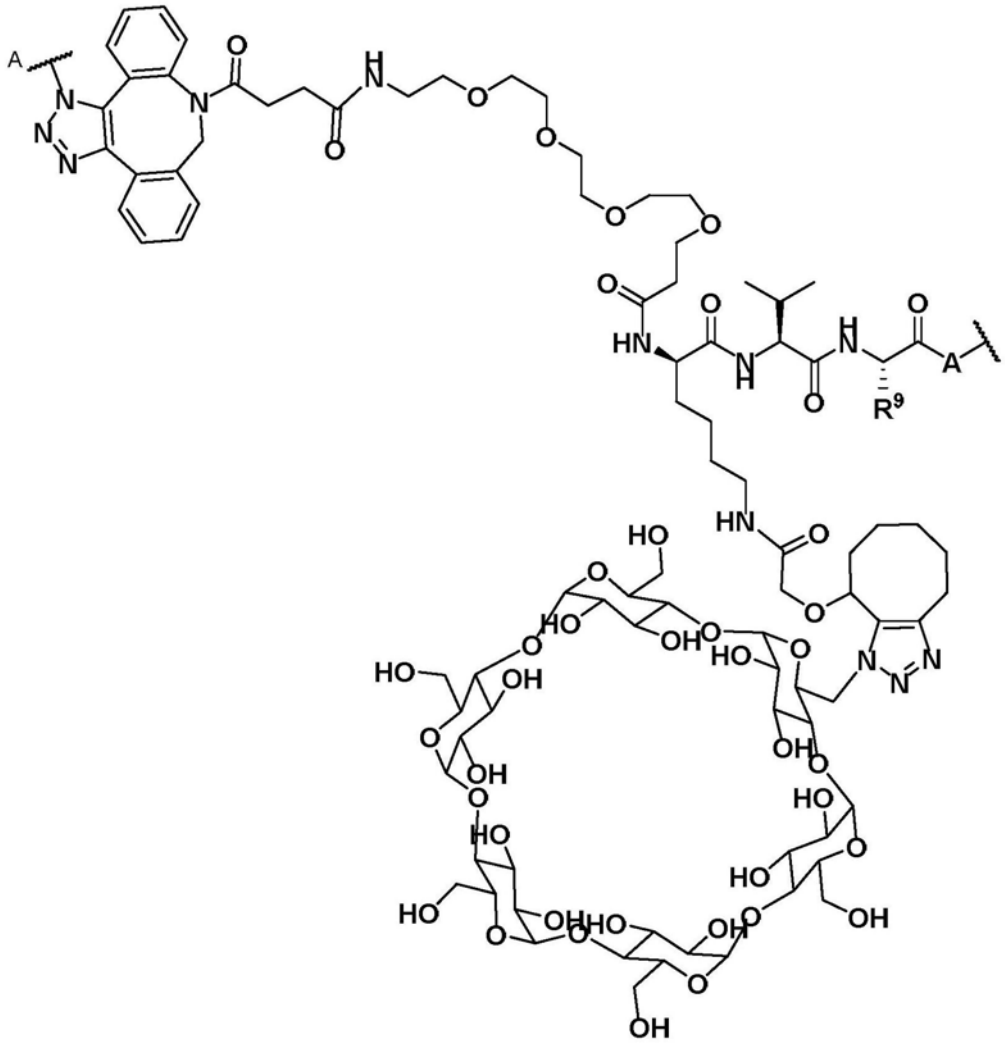
各A分别是-O-、-N(H)-、、或，

其中ZZ是氢，或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}杂烷基。

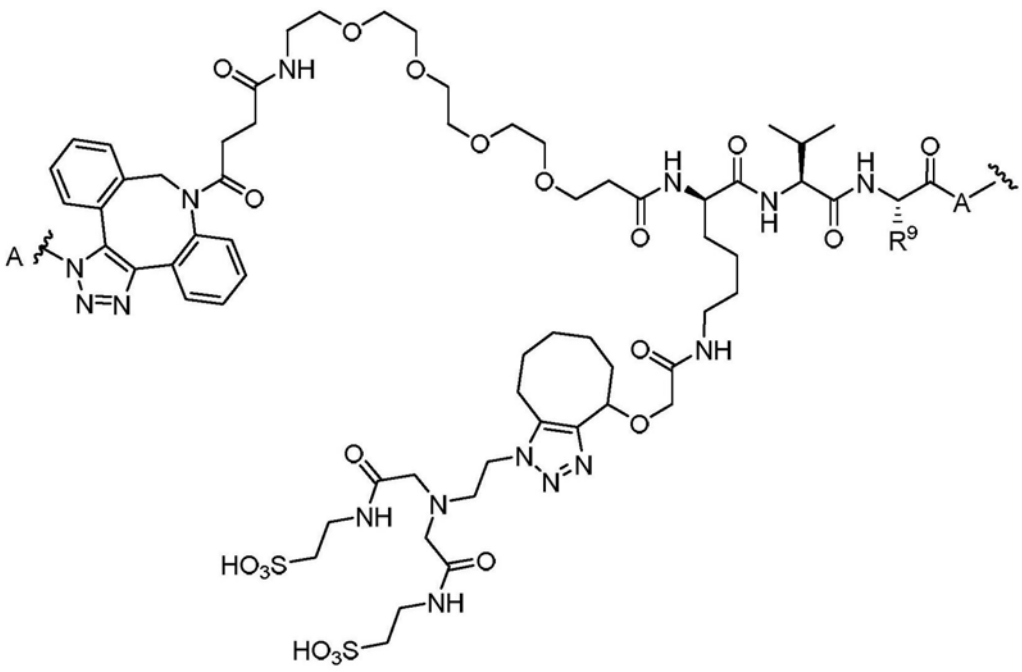
如上所述，与所述结合剂连接的键可以是直接连接、也可以是通过间隔基团连接。在某些实施方案，与所述结合剂连接的键是通过PEG间隔基团与所述结合剂的谷氨酰胺残基连接。在某些实施方案，所述增强剂是亲水基团。在某些实施方案，所述增强剂是环糊精。在某些实施方案，所述增强剂是烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸。环糊精可以是技术人员已知的任何环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是α-环糊精、β-环糊精、或γ-环糊精、或其混合物。在某些实施方案，所述环糊精是α-环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是β-环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是γ-环糊精。在某些实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，$-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，$-(CH_2)_nC(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，$-(CH_2CH_2O)_mC(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，$-(CH_2)_nN((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，$-(CH_2)_nC(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，或$-(CH_2CH_2O)_mC(O)N$

$((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5，和m是1、2、3、4、或5。在一个实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中m是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-N$((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-C(O)N$((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)N$((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中m是1、2、3、4、或5。

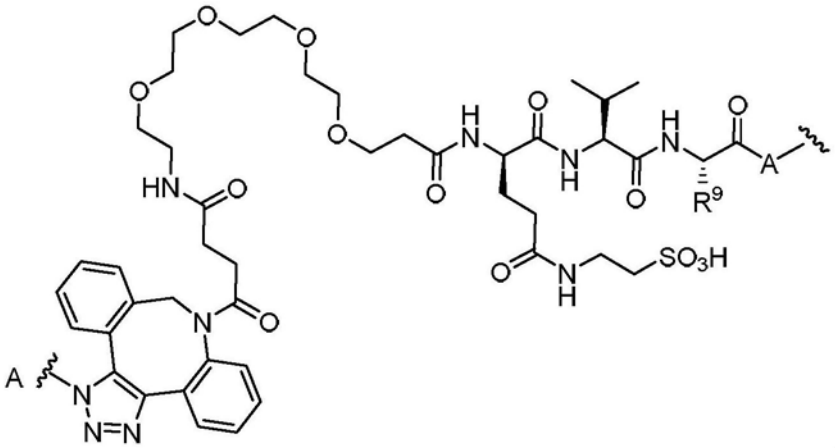
[0161] 在一些实施方案，所述连接体是：



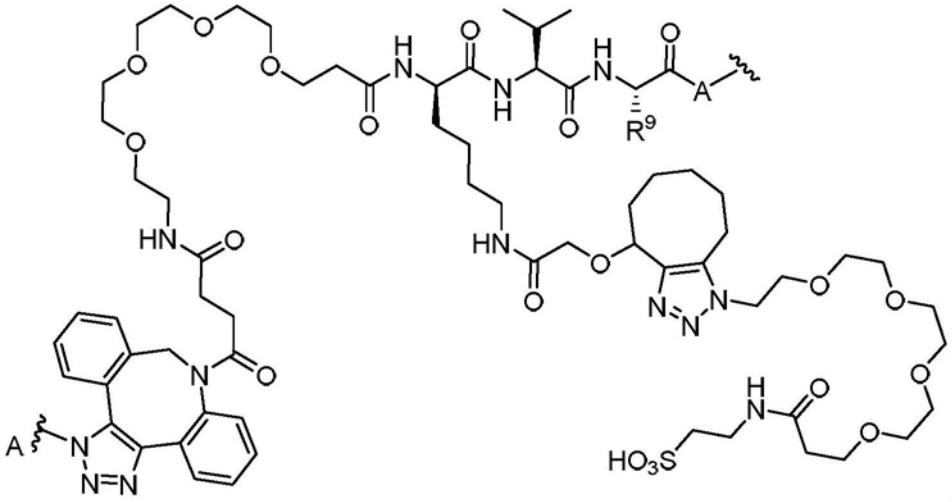
,



,



，



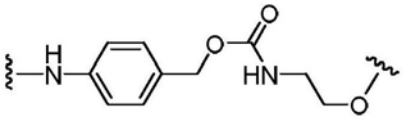
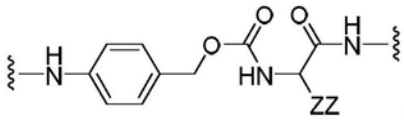
，

或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，或其区域异构体，或其区域异构体的混合物，其中：

各-A-分别是与所述结合剂连接的键；

各-分别是与所述有效负载连接的键；

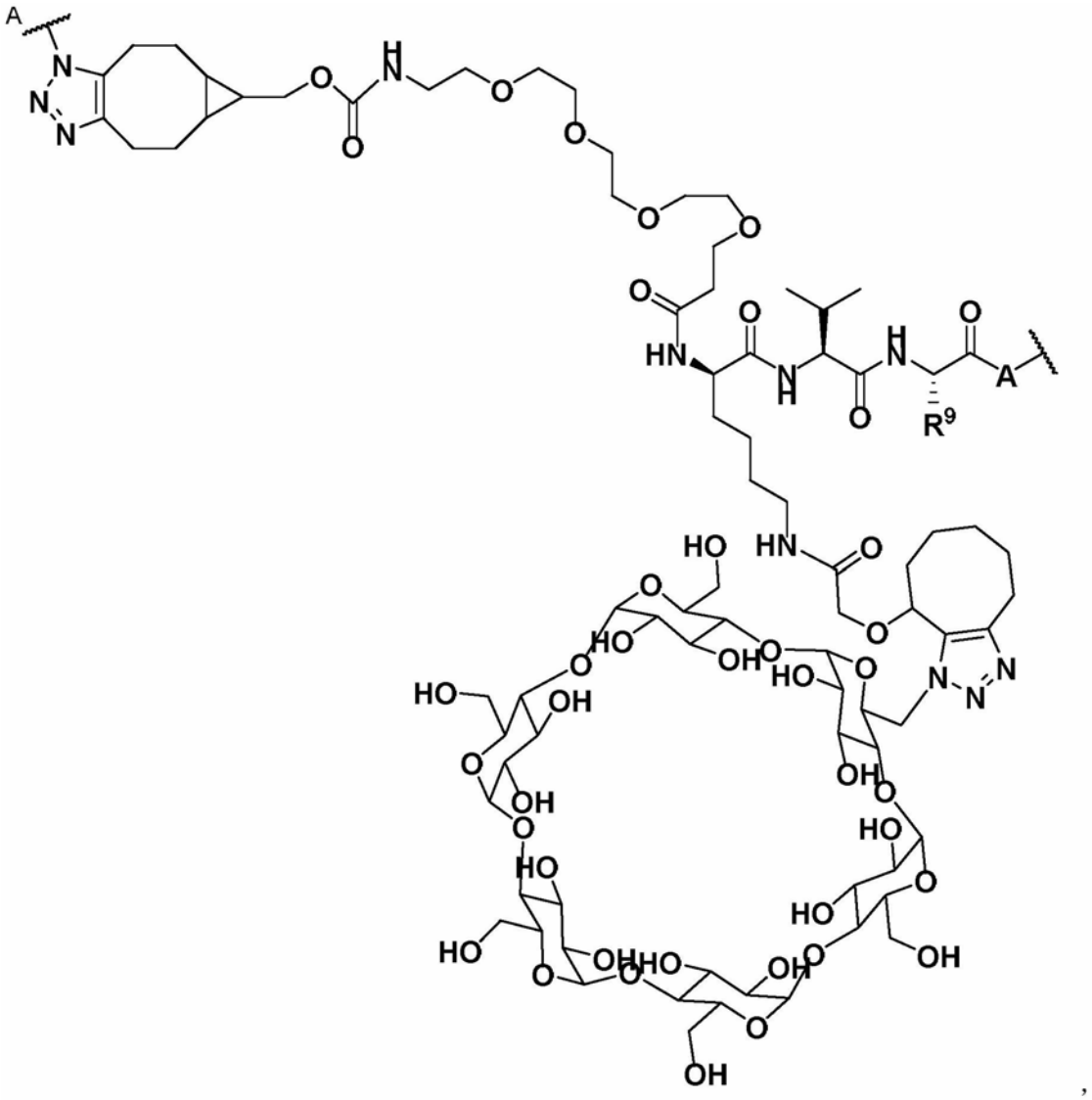
各R^9分别是-CH_3或-$(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$；和

A是-O-、-N(H)-、、或，

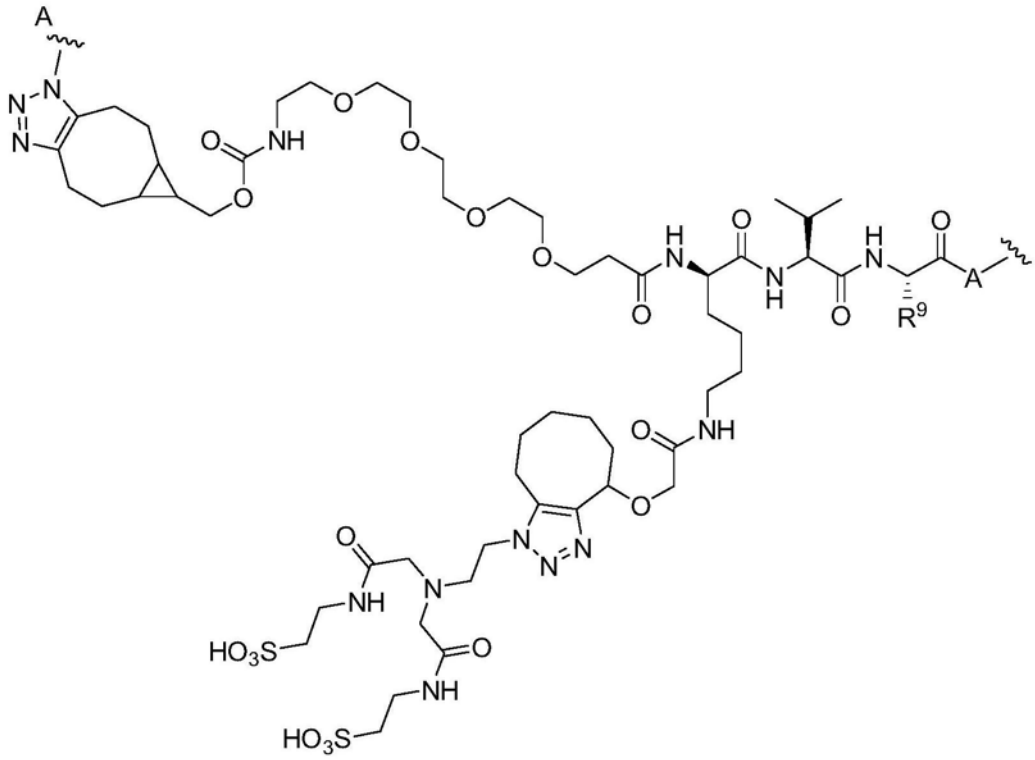
其中ZZ是氢，或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}杂烷基。

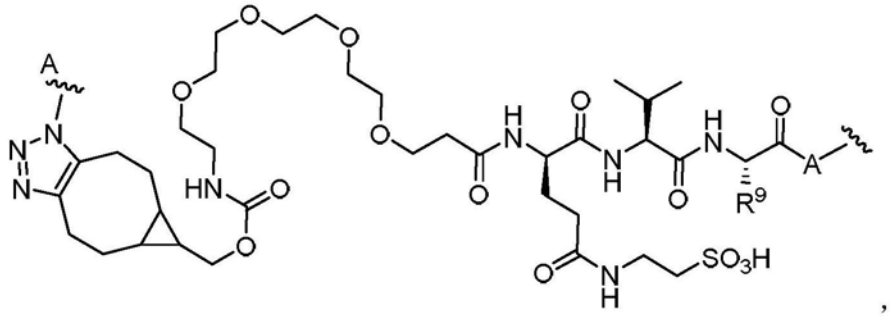
如上所述，与所述结合剂连接的键可以是直接连接、也可以是通过间隔基团连接。在某些实施方案，与所述结合剂连接的键是通过PEG间隔基团与所述结合剂的谷氨酰胺残基连接。

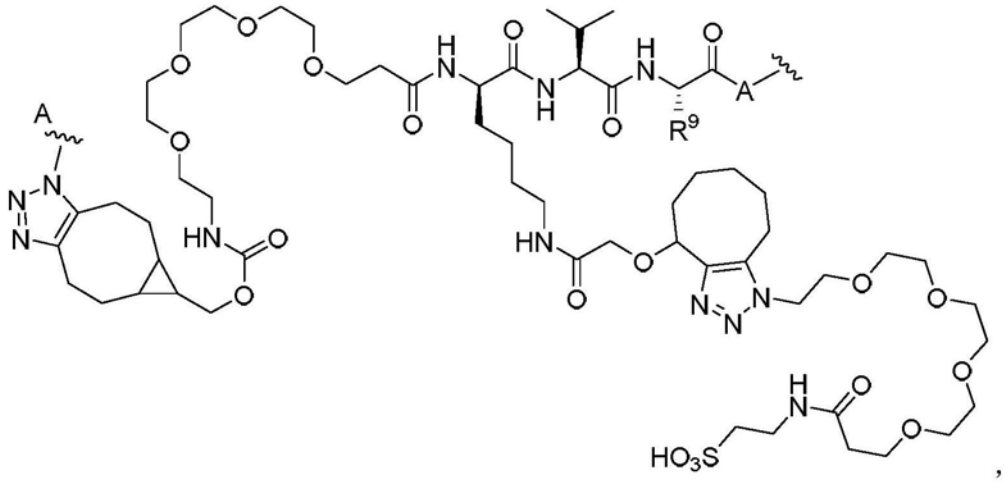
在一些实施方案，所述连接体是：



,





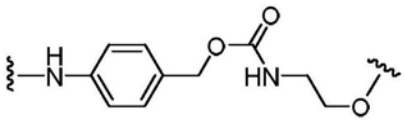
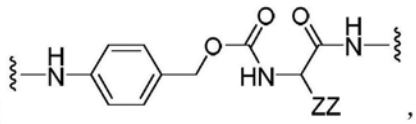


或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，或其区域异构体，或其区域异构体的混合物，其中：

各-A-分别是与所述结合剂连接的键；

各-~-分别是与所述有效负载连接的键；

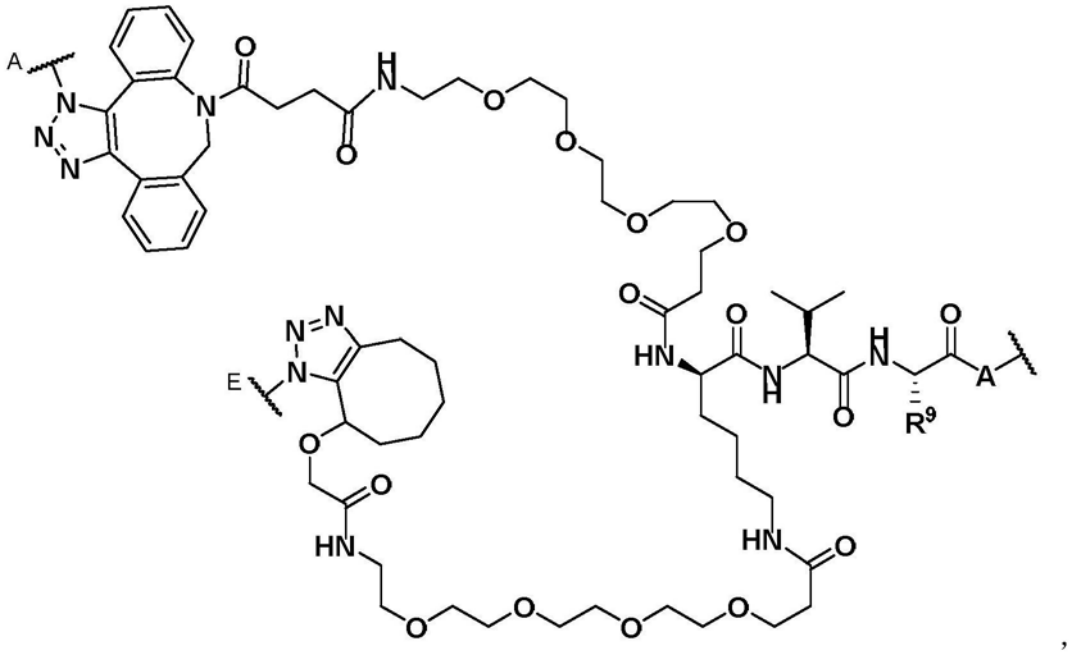
各R^9分别是-CH_3或-$(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$;和

A是-O-、-N(H)-、、或，

其中ZZ是氢,或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如,在一个实施方案,ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例,在一个实施方案,ZZ是C_{1-6}杂烷基。

如上所述,与所述结合剂连接的键可以是直接连接、也可以是通过间隔基团连接。在某些实施方案,与所述结合剂连接的键是通过PEG间隔基团与所述结合剂的谷氨酰胺残基连接。

[0162] 在一些实施方案,所述连接体是:

，

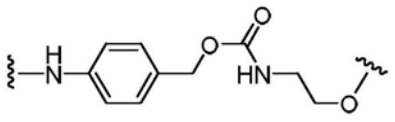
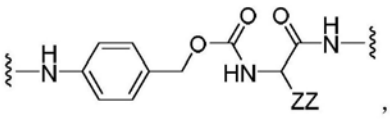
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式,或其区域异构体,或其区域异构体的混合物,其中:

各-A-分别是与所述结合剂连接的键;

各-L-分别是与所述有效负载连接的键;

各-E-分别是与所述增强基团连接的键;

各R^9分别是-CH_3或-$(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$;和

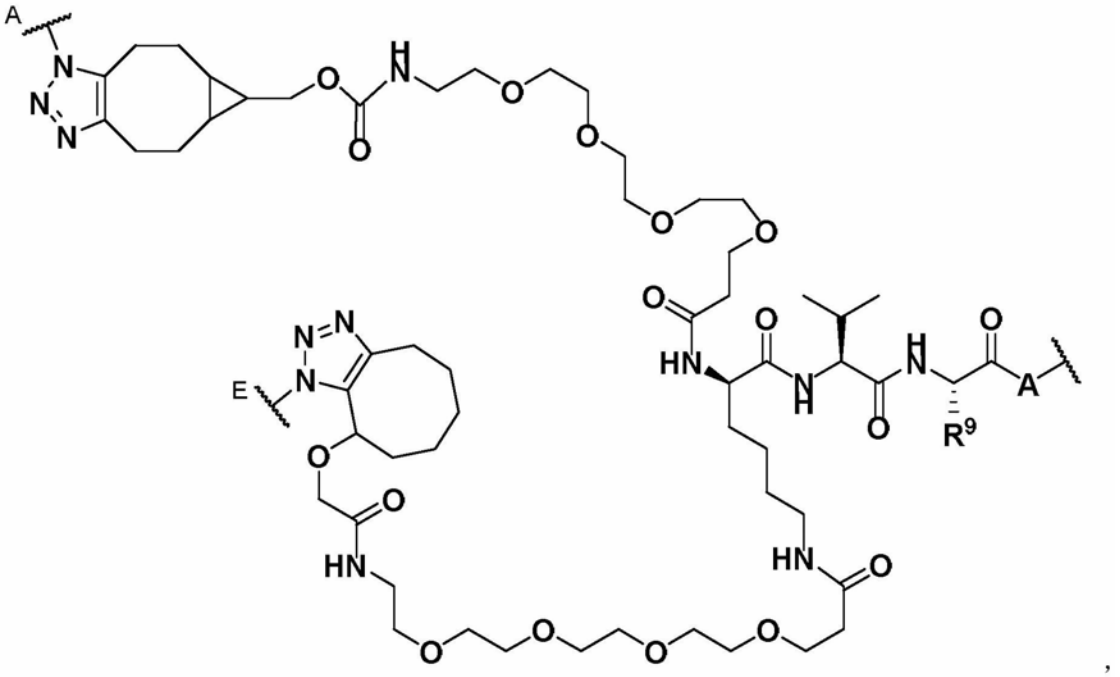
各A分别是-O-、-N(H)-、、或，

其中ZZ是氢,或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如,在一个实施方案,ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例,在一个实施方案,ZZ是C_{1-6}杂烷基。

如上所述,与所述结合剂连接的键可以是直接连接、也可以是通过间隔基团连接。在某些实施方案,与所述结合剂连接的键是通过PEG间隔基团与所述结合剂的谷氨酰胺残基连

接。在某些实施方案，所述增强剂是亲水基团。在某些实施方案，所述增强剂是环糊精。在某些实施方案，所述增强基团是烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸。环糊精可以是技术人员已知的任何环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是α-环糊精、β-环糊精、或γ-环糊精、或其混合物。在某些实施方案，所述环糊精是α-环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是β-环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是γ-环糊精。在某些实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，-$(CH_2)_n$-NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，-$(CH_2)_n$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，-$(CH_2)_n$-N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，-$(CH_2)_n$-C(O)N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，或-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5，和m是1、2、3、4、或5。在一个实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中m是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-C(O)N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中m是1、2、3、4、或5。

[0163] 在一些实施方案，所述连接体是：



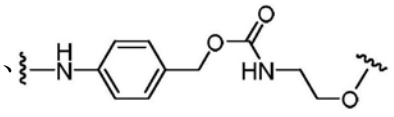
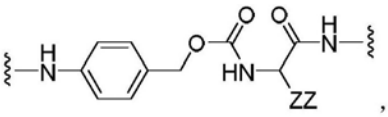
，

或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，或其区域异构体，或其区域异构体的混合物，其中：

各-$\overset{A}{\sim}$-分别是与所述结合剂连接的键；

各-⧘-分别是与所述有效负载连接的键；

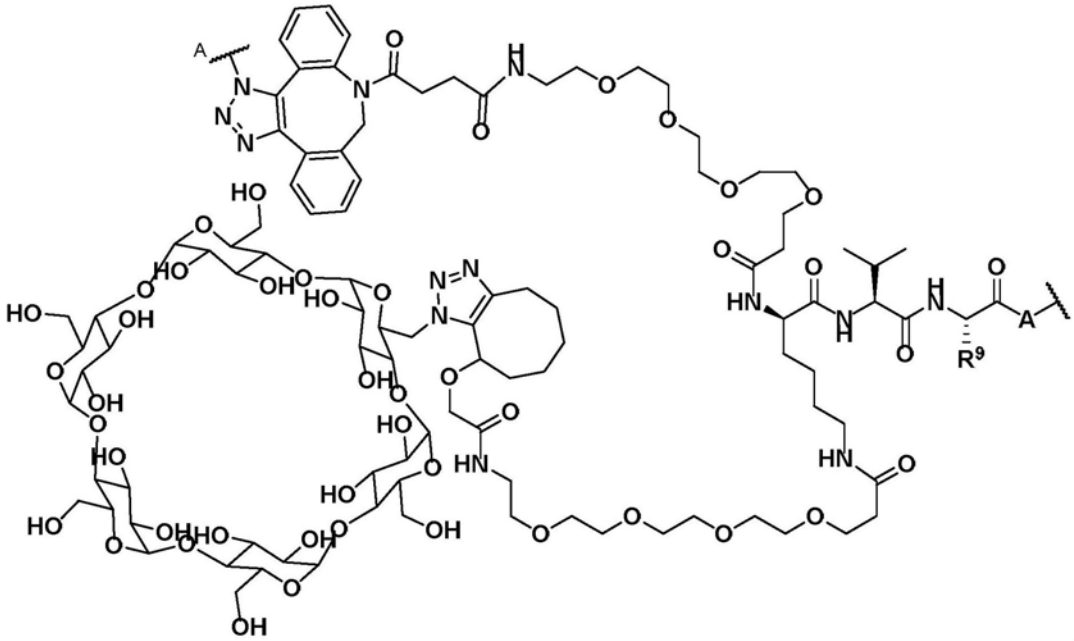
各R^9分别是-CH_3或-$(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$；和

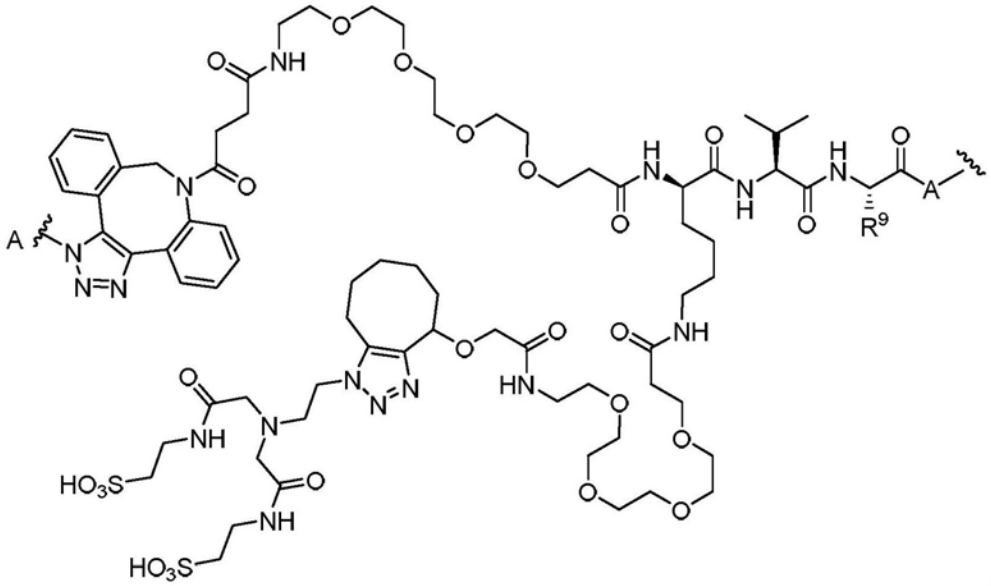
各A分别是-O-、-N(H)-、、或，

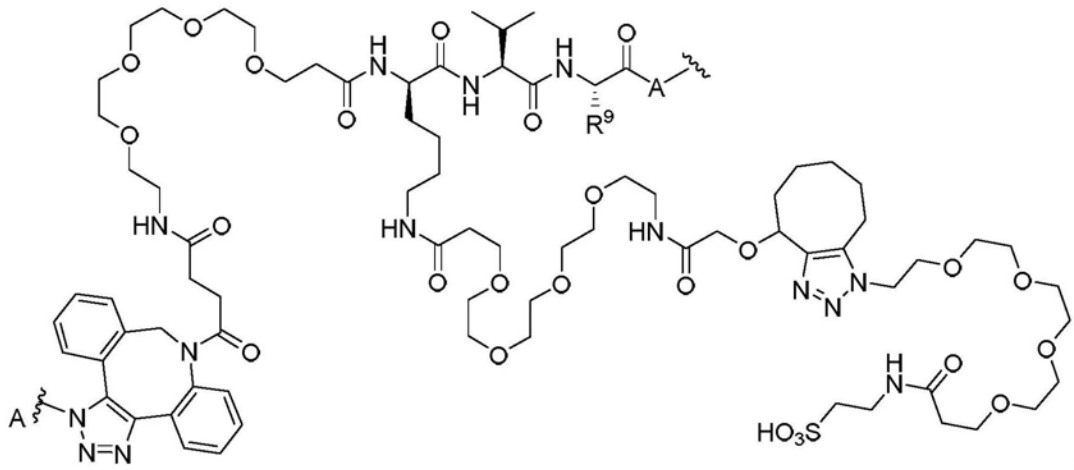
其中ZZ是氢，或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}杂烷基。

如上所述，与所述结合剂连接的键可以是直接连接、也可以是通过间隔基团连接。在某些实施方案，与所述结合剂连接的键是通过PEG间隔基团与所述结合剂的谷氨酰胺残基连接。在某些实施方案，所述增强剂是亲水基团。在某些实施方案，所述增强剂是环糊精。在某些实施方案，所述增强基团是烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸。环糊精可以是技术人员已知的任何环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是α-环糊精、β-环糊精、或γ-环糊精、或其混合物。在某些实施方案，所述环糊精是α-环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是β-环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是γ-环糊精。在某些实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，-$(CH_2)_n$-NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，-$(CH_2)_n$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，-$(CH_2)_n$-N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，-$(CH_2)_n$-C(O)N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，或-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5，和m是1、2、3、4、或5。在一个实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中m是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-C(O)N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中m是1、2、3、4、或5。

[0164] 在一些实施方案，所述连接体是：





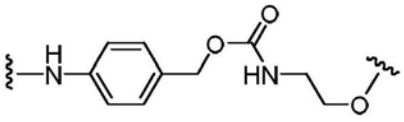
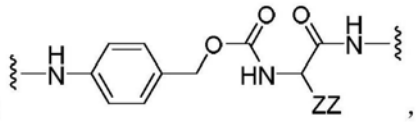


或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，或其区域异构体，或其区域异构体的混合物，其中：

各-A-分别是与所述结合剂连接的键；

各-|-分别是与所述有效负载连接的键；

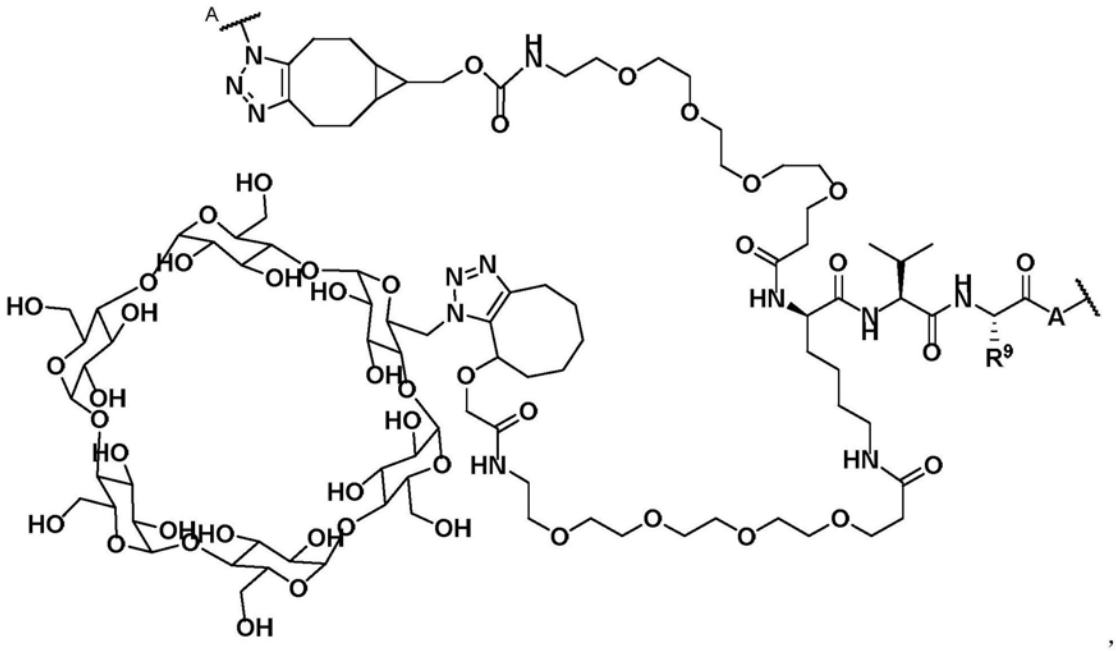
各R^9分别是$-CH_3$或$-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$；和

A是-O-、-N(H)-、、或，

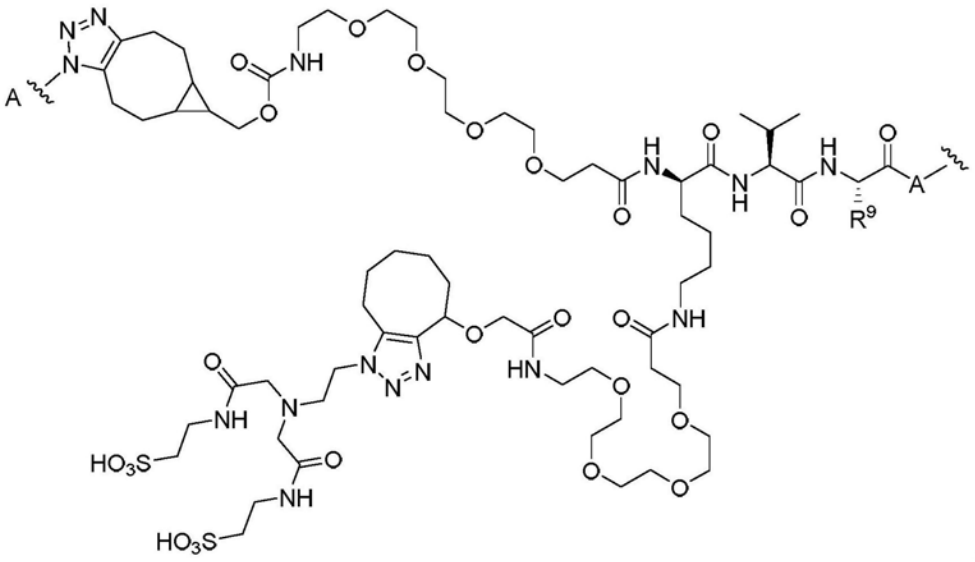
其中ZZ是氢，或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}杂烷基。

如上所述，与所述结合剂连接的键可以是直接连接、也可以是通过间隔基团连接。在某些实施方案，与所述结合剂连接的键是通过PEG间隔基团与所述结合剂的谷氨酰胺残基连接。

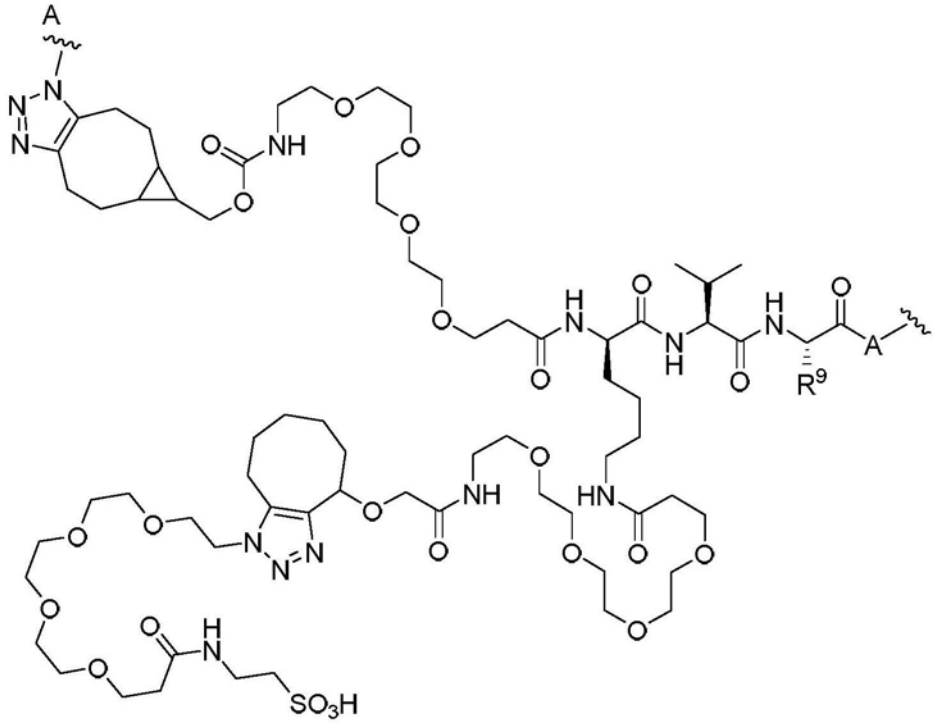
[0165] 在一些实施方案，所述连接体是：



，



，

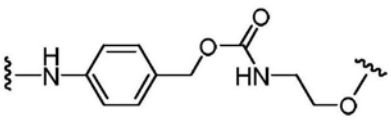
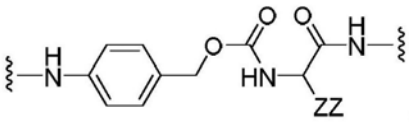


或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，或其区域异构体，或其区域异构体的混合物，其中：

各-A-分别是与所述结合剂连接的键；

各-分别是与所述有效负载连接的键；

R^9是-CH_3或-$(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$；和

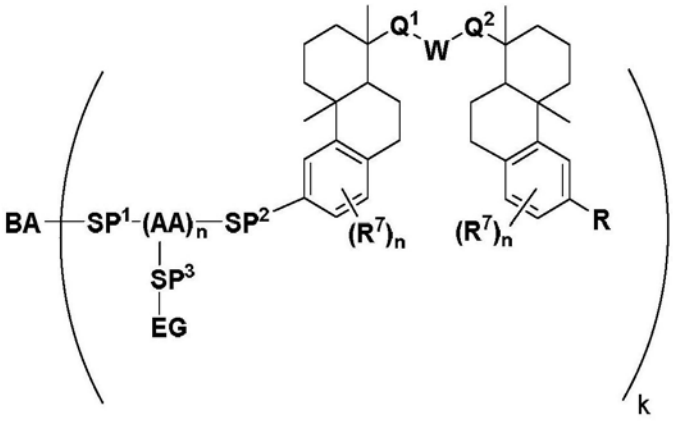
A是-O-、-N(H)-、、或，

其中ZZ是氢，或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}杂烷基。

如上所述，与所述结合剂连接的键可以是直接连接、也可以是通过间隔基团连接。在某些实施方案，与所述结合剂连接的键是通过PEG间隔基团与所述结合剂的谷氨酰胺残基连接。

[0166] 上述连接体可用于提供以下偶联物。

[0167] 在一些实施方案，所述偶联物是：



或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，或其区域异构体，其中：

BA是结合剂；

各SP^1、SP^2、和SP^3分别为如上所述的间隔基团，其中SP^3连接至$(AA)_n$中的一个AA；

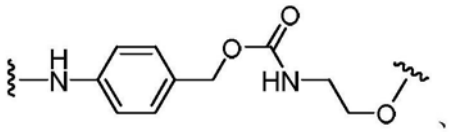
EG是增强剂；

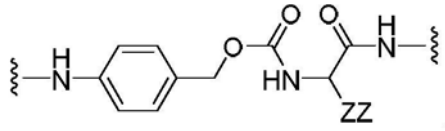
k是从1至30的整数；

R是-H、R^1、或R^2；和

Q^1、Q^2、W、R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、X、Y、Z、和n均具有式I的上下文中所述定义；

各R^9分别为$-CH_3$或$-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$；和

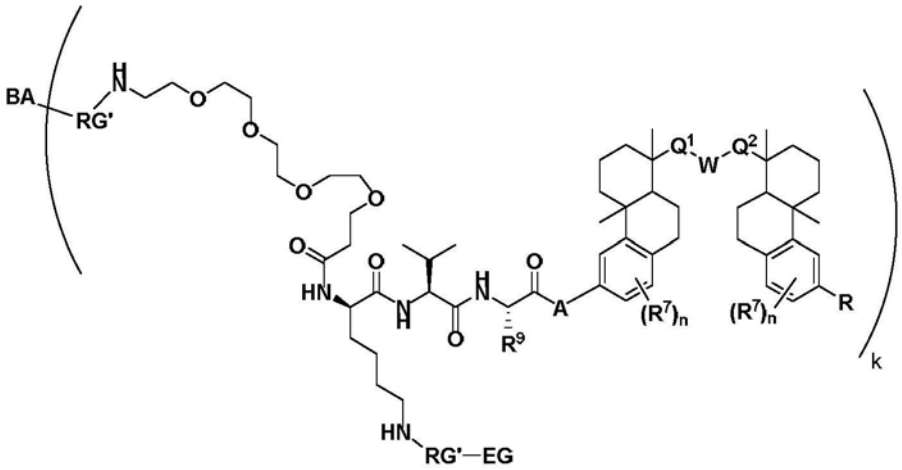
各A，在每种情况下，分别独立地为-O-、-N(H)-、、

或，其中ZZ是氢，或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}杂烷基。

如上所述，与所述结合剂连接的键可以是直接连接、也可以是通过间隔基团连接。在某些实施方案，与所述结合剂连接的键是通过PEG间隔基团与所述结合剂的谷氨酰胺残基连接。在某些实施方案，所述增强剂是亲水基团。在某些实施方案，所述增强剂是环糊精。在某些实施方案，所述增强基团是烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸。环糊精可以是技术人员已知的任何环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是α-环糊精、β-环糊精、或γ-环糊精、或其混合物。在某些实施方案，所述环糊精是α-环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是β-环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是γ-环糊精。在某些实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，$-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，$-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，$-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，$-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，$-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，或$-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5，和m是1、2、3、4、或5。在一个实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2)_{1-5}SO_3H$。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-}$

$_5SO_3H$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中m是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-C(O)N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中m是1、2、3、4、或5。在某些实施方案，R是R^1。

[0168] 在一些实施方案，所述偶联物是：



或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，或其区域异构体，其中：

BA是结合剂；

各RG'分别是活性基团的残基，如本发明所述；

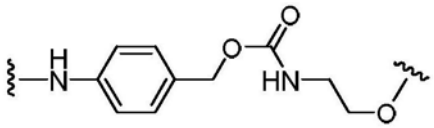
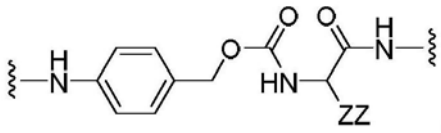
EG是增强剂；

k是从1至30的整数；

R是-H、R^1、或R^2；和

Q^1、Q^2、W、R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、X、Y、Z、和n均具有式I的上下文中所述定义；

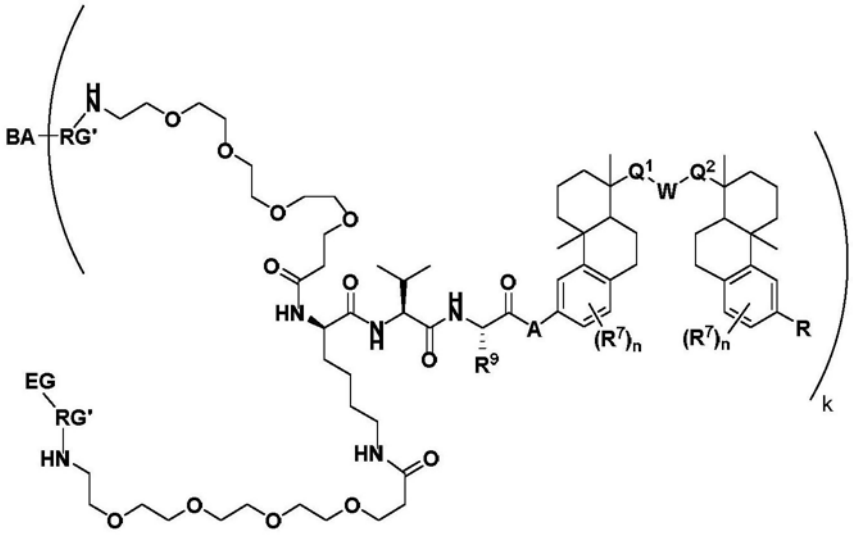
各R^9分别为-CH_3或-$(CH_2)_3$N(H)C(O)NH_2；和

各A分别为-O-、-N(H)-、、或，其中ZZ是氢，或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}杂烷基。

如上所述，与所述结合剂连接的键可以是直接连接、也可以是通过间隔基团连接。在某些实施方案，与所述结合剂连接的键是通过PEG间隔基团与所述结合剂的谷氨酰胺残基连接。在某些实施方案，所述增强剂是亲水基团。在某些实施方案，所述增强剂是环糊精。在某

些实施方案，所述增强基团是烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸。环糊精可以是技术人员已知的任何环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是α-环糊精、β-环糊精、或γ-环糊精、或其混合物。在某些实施方案，所述环糊精是α-环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是β-环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是γ-环糊精。在某些实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，-$(CH_2)_n$-NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，-$(CH_2)_n$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，-$(CH_2)_n$-N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，-$(CH_2)_n$-C(O)N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，或-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5，和m是1、2、3、4、或5。在一个实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中m是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-C(O)N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中m是1、2、3、4、或5。在某些实施方案，R是R^1。

[0169] 在一些实施方案，所述偶联物是：



或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，或其区域异构体，其中：

BA是结合剂；

各RG'分别是活性基团的残基，如本发明所述；

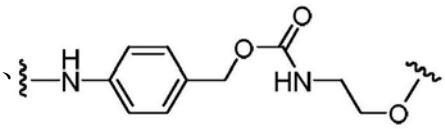
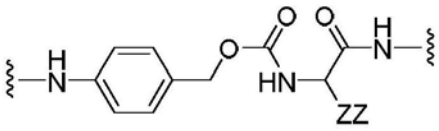
EG是增强剂；

k是从1至30的整数；

R是-H、R^1、或R^2；和

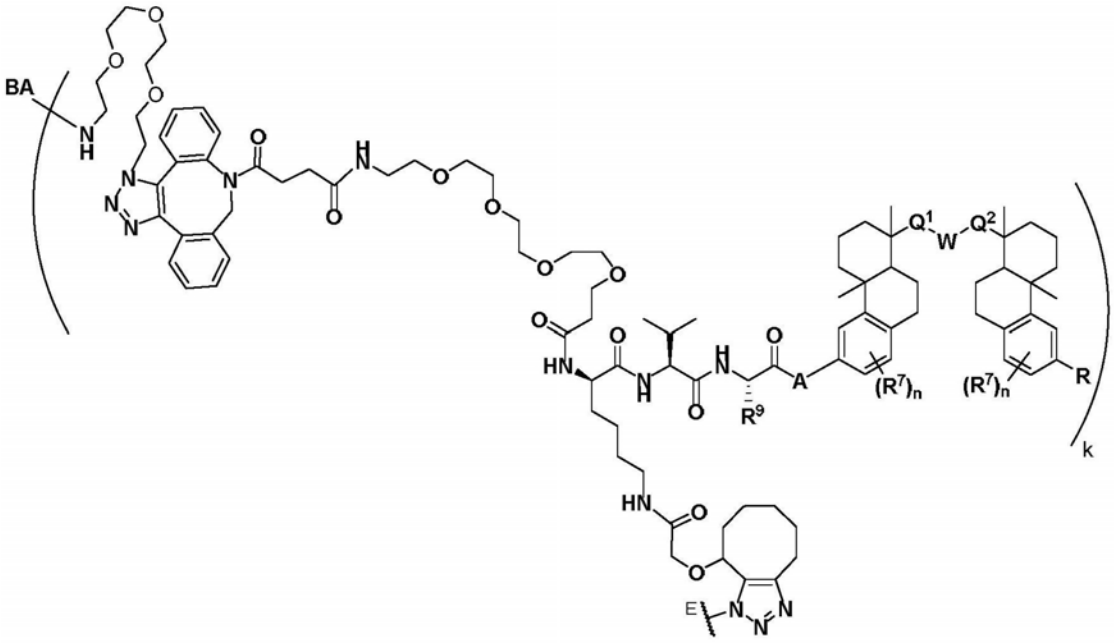
Q^1、Q^2、W、R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、X、Y、Z、和n均具有式I的上下文中所述定义；

各R^9分别为-CH_3或-$(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$;和

各A分别为-O-、-N(H)-、、或，其中ZZ是氢，或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}杂烷基。

如上所述，与所述结合剂连接的键可以是直接连接、也可以是通过间隔基团连接。在某些实施方案，与所述结合剂连接的键是通过PEG间隔基团与所述结合剂的谷氨酰胺残基连接。在某些实施方案，所述增强剂是亲水基团。在某些实施方案，所述增强剂是环糊精。在某些实施方案，所述增强基团是烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸。环糊精可以是技术人员已知的任何环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是α-环糊精、β-环糊精、或γ-环糊精、或其混合物。在某些实施方案，所述环糊精是α-环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是β-环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是γ-环糊精。在某些实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，-$(CH_2)_n$-NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，-$(CH_2)_n$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，-$(CH_2)_n$-N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，-$(CH_2)_n$-C(O)N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，或-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5，和m是1、2、3、4、或5。在一个实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中m是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-C(O)N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中m是1、2、3、4、或5。在某些实施方案，R是R^1。

[0170] 在一些实施方案，所述偶联物是：



或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，或其区域异构体，其中：

BA是结合剂；

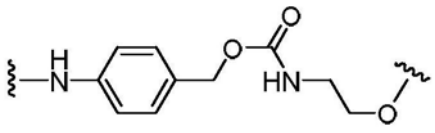
k是从1至30的整数；

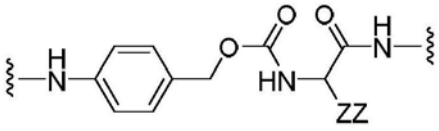
R是-H、R^1、或R^2；和

Q^1、Q^2、W、R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、X、Y、Z、和n均具有式I的上下文中所述定义；

各-≋E-分别为与所述增强基团连接的键；

各R^9分别为$-CH_3$或$-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$；和

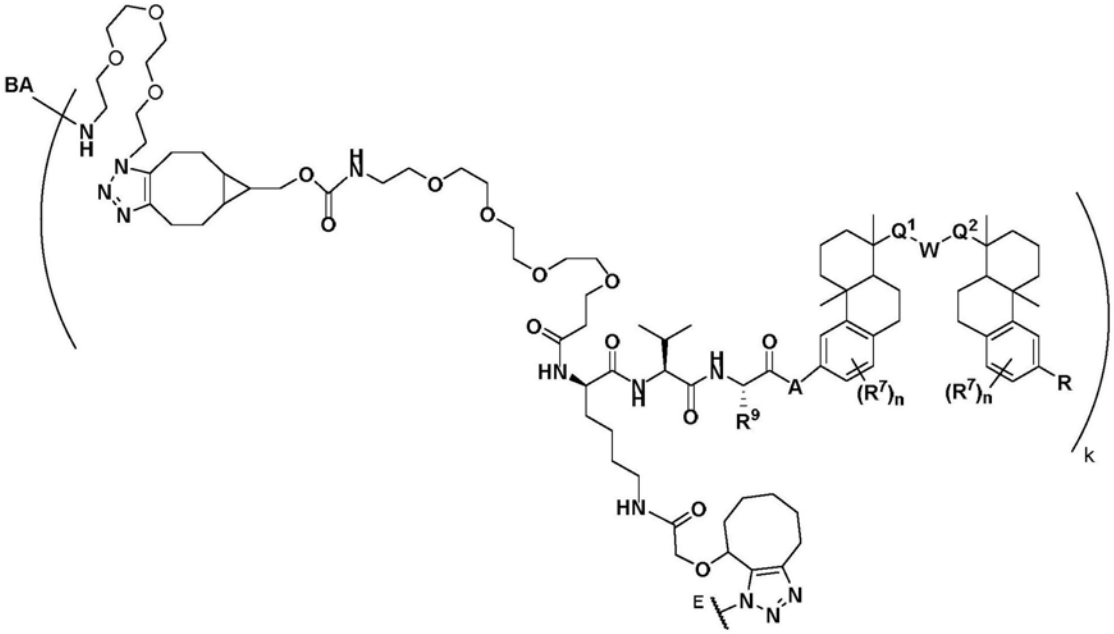
各A分别为-O-、-N(H)-、、或

，其中ZZ是氢，或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}杂烷基。

在某些实施方案，所述增强剂是亲水基团。在某些实施方案，所述增强剂是环糊精。在某些实施方案，所述增强基团是烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸。环糊精可以是技术人员已知的任何环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是α-环糊精、β-环糊精、或γ-环糊精、或其混合物。在某些实施方案，所述环糊精是α-环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是β-环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是γ-环糊精。在某些实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，$-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，$-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，$-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，$-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，$-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，或$-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5，和m是1、2、3、4、或5。在一个实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2)_{1-5}SO_3H$。在另一实施

方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中m是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-N($(CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-C(O)N($(CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)N($(CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中m是1、2、3、4、或5。在某些实施方案，R是R^1。

[0171] 在一些实施方案，所述偶联物是：



或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，或其区域异构体，其中：

BA是结合剂；

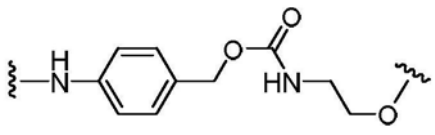
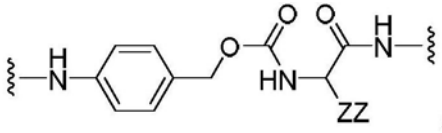
k是从1至30的整数；

R是-H、R^1、或R^2；和

Q^1、Q^2、W、R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、X、Y、Z、和n均具有式I的上下文中所述定义；

各-E-分别为与所述增强基团连接的键；

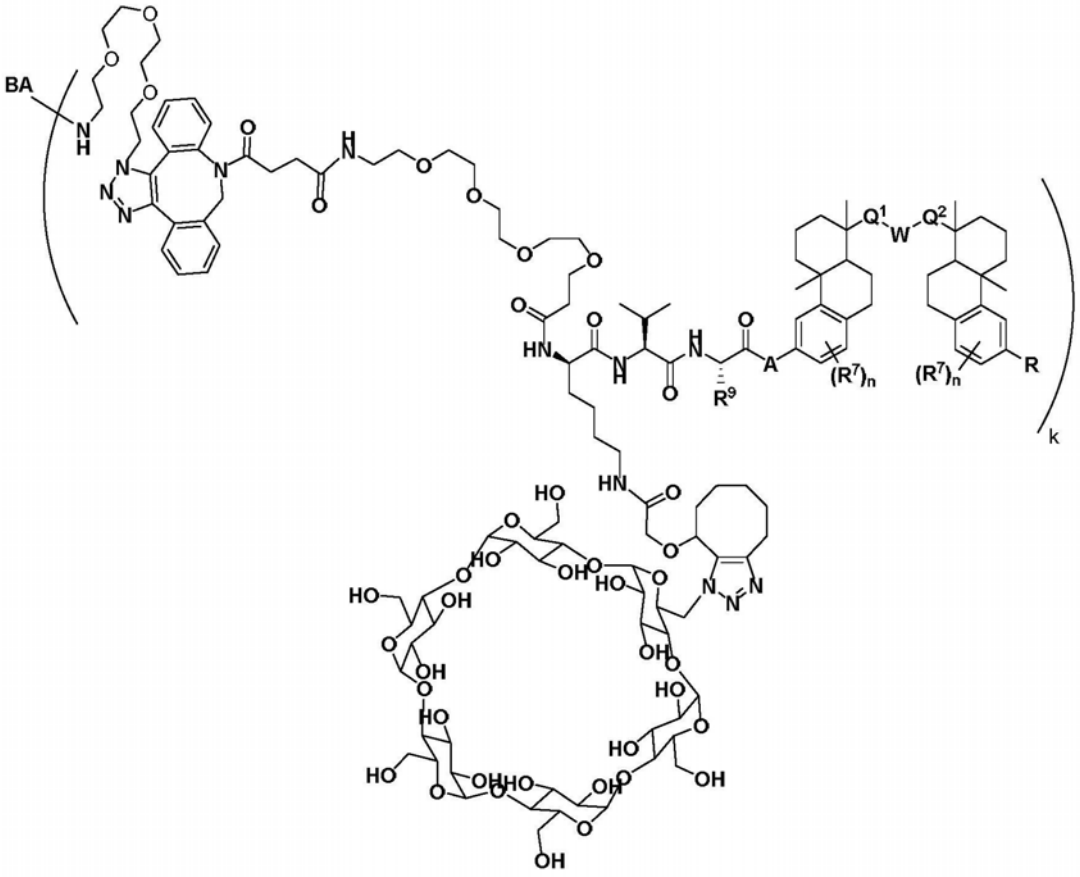
各R^9分别为-CH_3或-$(CH_2)_3$N(H)C(O)NH_2；和

各A分别为-O-、-N(H)-、、或，其中ZZ是氢，或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧

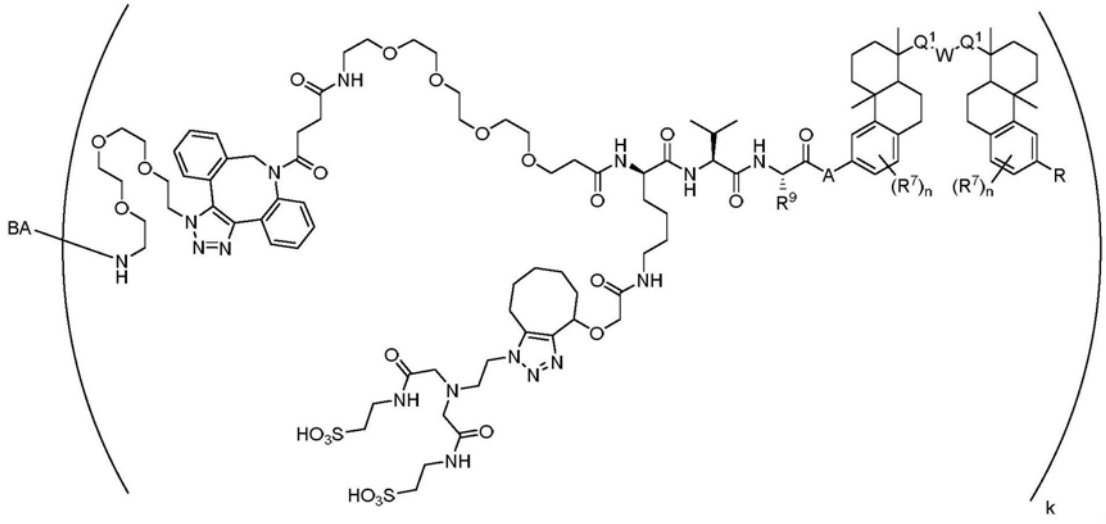
链。例如，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}杂烷基。

在某些实施方案，所述增强剂是亲水基团。在某些实施方案，所述增强剂是环糊精。在某些实施方案，所述增强基团是烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸。环糊精可以是技术人员已知的任何环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是α-环糊精、β-环糊精、或γ-环糊精、或其混合物。在某些实施方案，所述环糊精是α-环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是β-环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是γ-环糊精。在某些实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，$-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，$-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，$-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，$-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，$-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，或$-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5，和m是1、2、3、4、或5。在一个实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2)_{1-5}SO_3H$。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中m是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中m是1、2、3、4、或5。在某些实施方案，R是R^1。

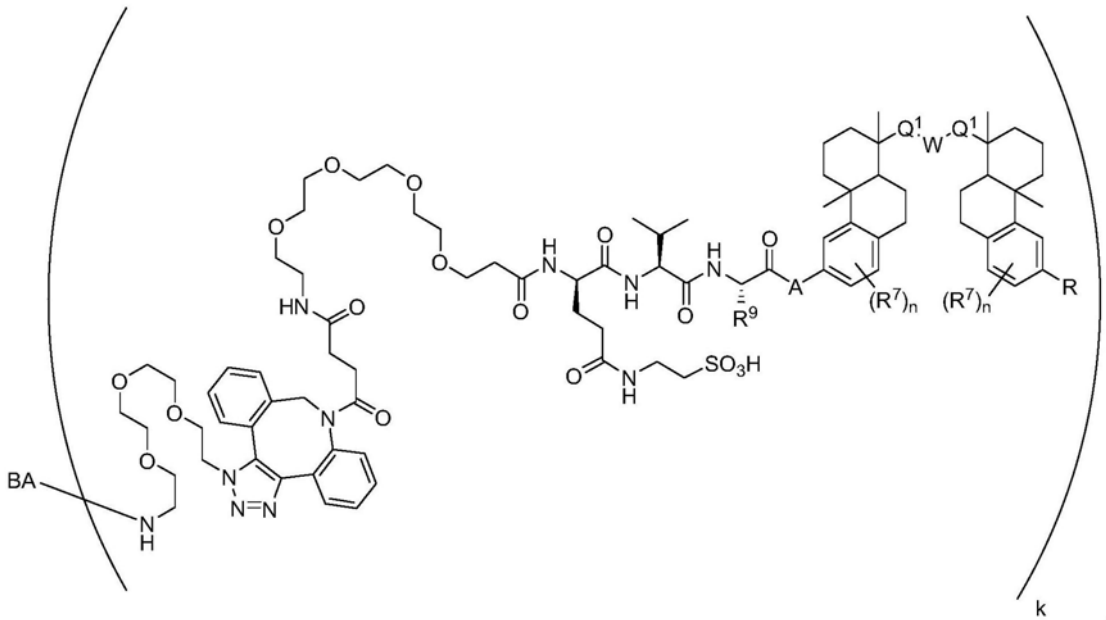
[0172] 在一些实施方案，所述偶联物是：



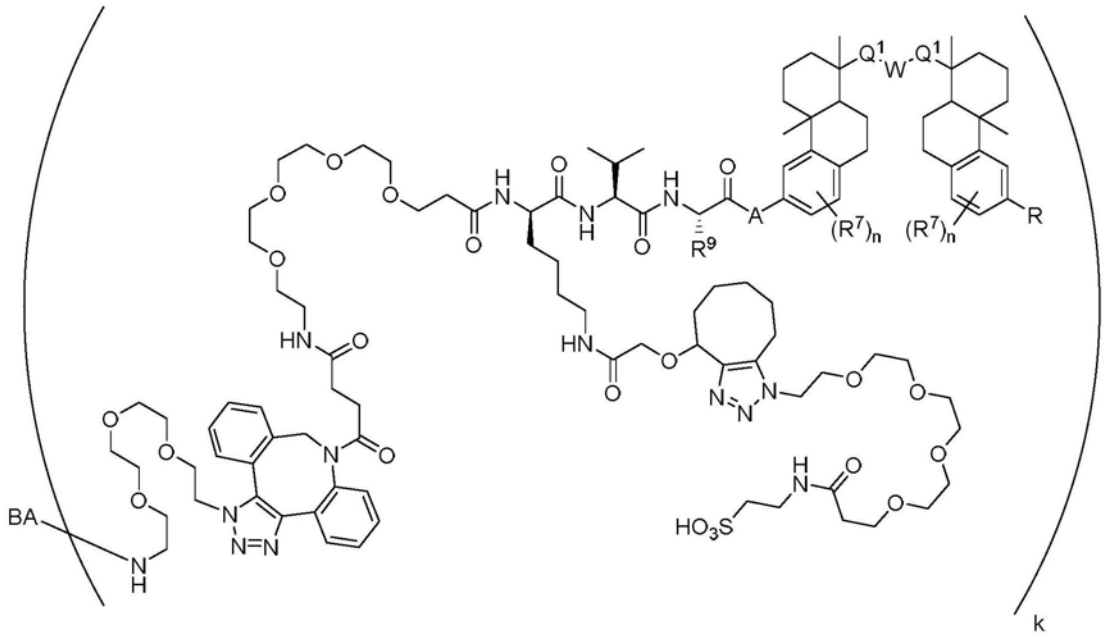
,



k ,



k ,



k ,

或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，或其区域异构体，其中：

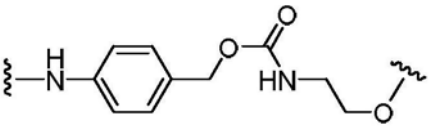
BA是结合剂；

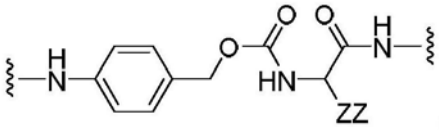
k是从1至30的整数；

R是-H、R^1、或R^2；和

Q^1、Q^2、W、R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、X、Y、Z、和n均具有式I的上下文中所述定义；

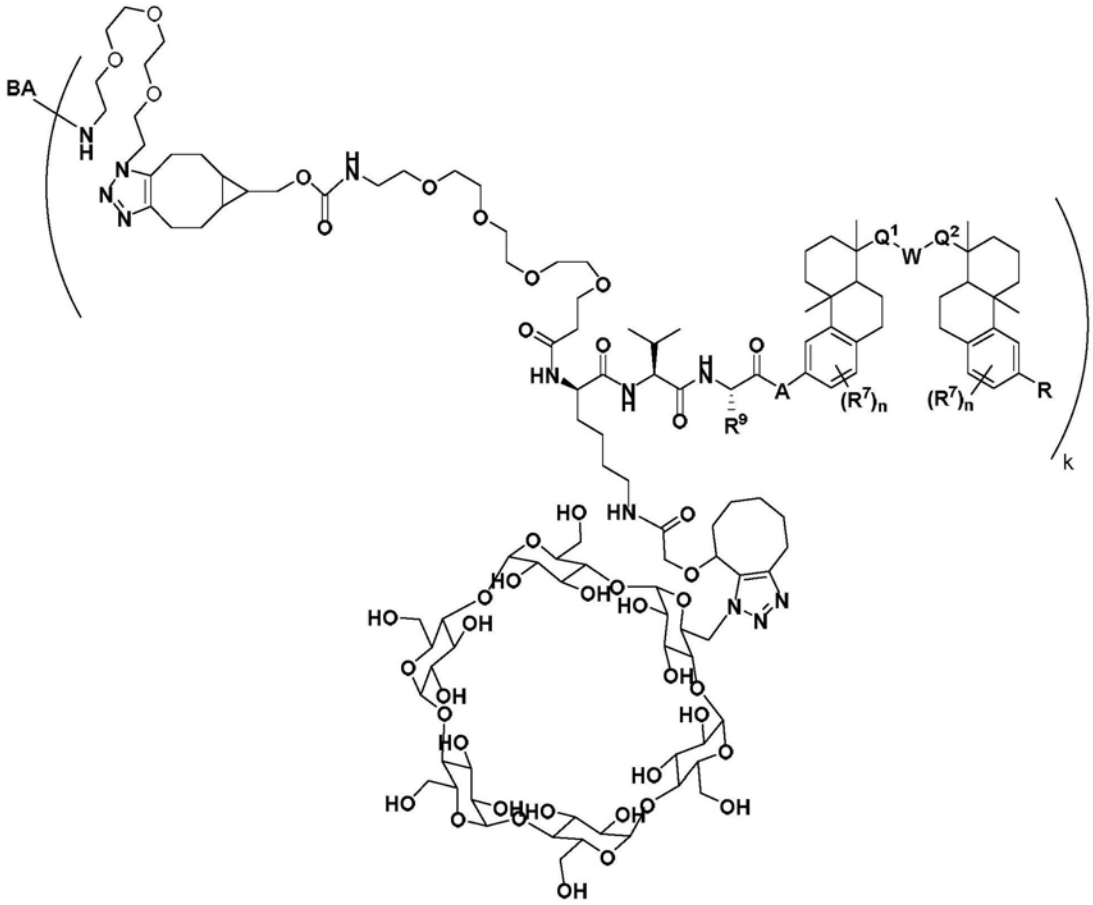
各R^9分别为$-CH_3$或$-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$；和

各A分别为-O-、-N(H)-、、或

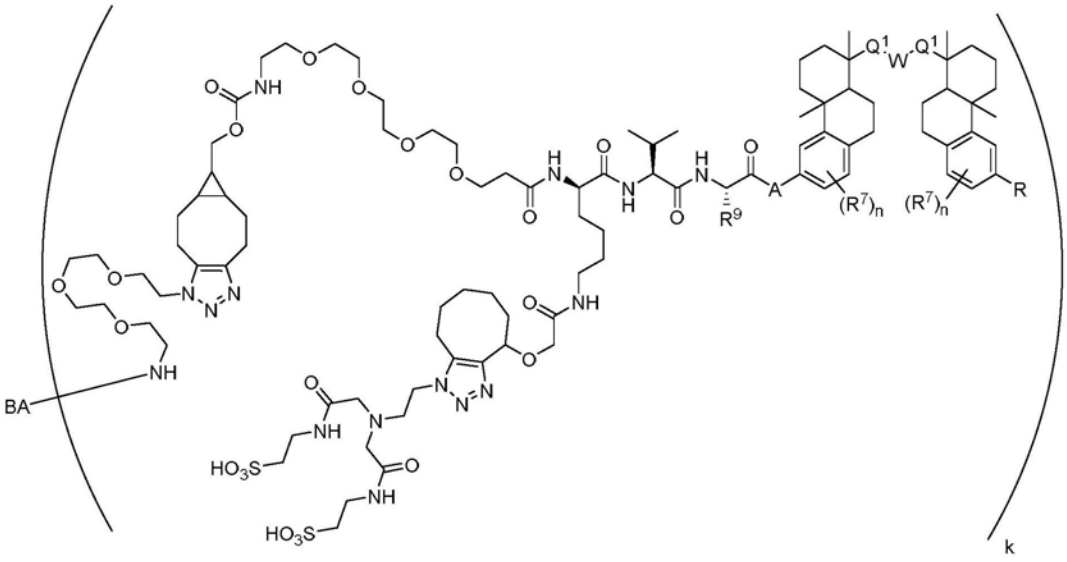
，其中ZZ是氢，或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}杂烷基。

在某些实施方案，R是R^1。

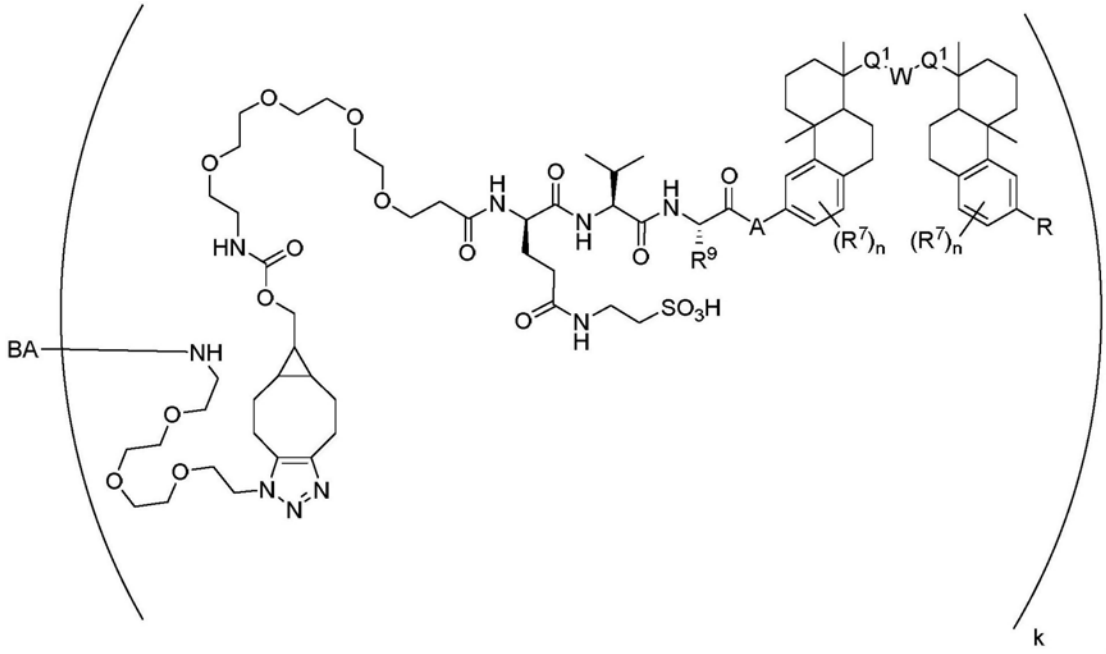
[0173] 在一些实施方案，所述偶联物是：



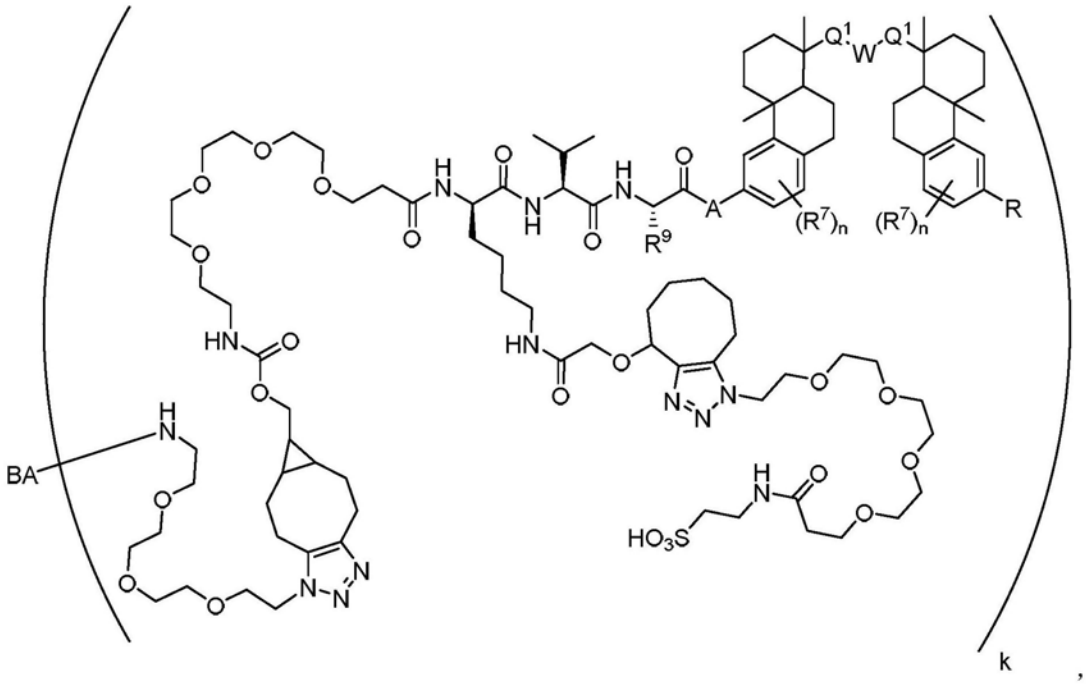
,



,



k ，



k ，

或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，或其区域异构体，其中：

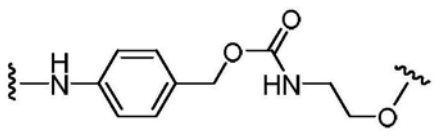
BA是结合剂；

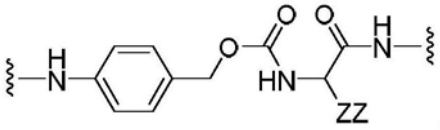
k是从1至30的整数；

R是-H、R^1、或R^2；和

Q^1、Q^2、W、R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、X、Y、Z、和n均具有式I的上下文中所述定义；

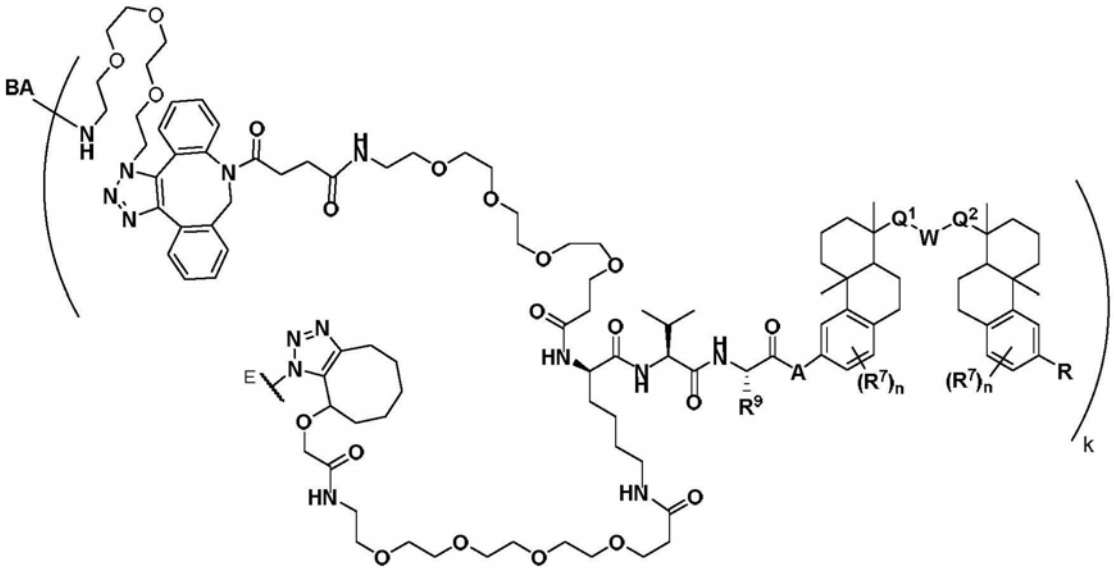
各R^9分别为$-CH_3$或$-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$；和

各A分别为-O-、-N(H)-、、或


其中ZZ是氢，或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}杂烷基。

在某些实施方案，R是R^1。

[0174] 在一些实施方案，所述偶联物是：



或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，或其区域异构体，其中：

BA是结合剂；

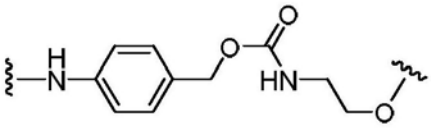
k是从1至30的整数；

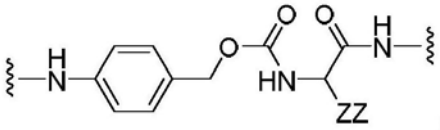
R是-H、R^1、或R^2；和

Q^1、Q^2、W、R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、X、Y、Z、和n均具有式I的上下文中所述定义；

各分别为与所述增强基团连接的键；

各R^9分别为$-CH_3$或$-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$；和

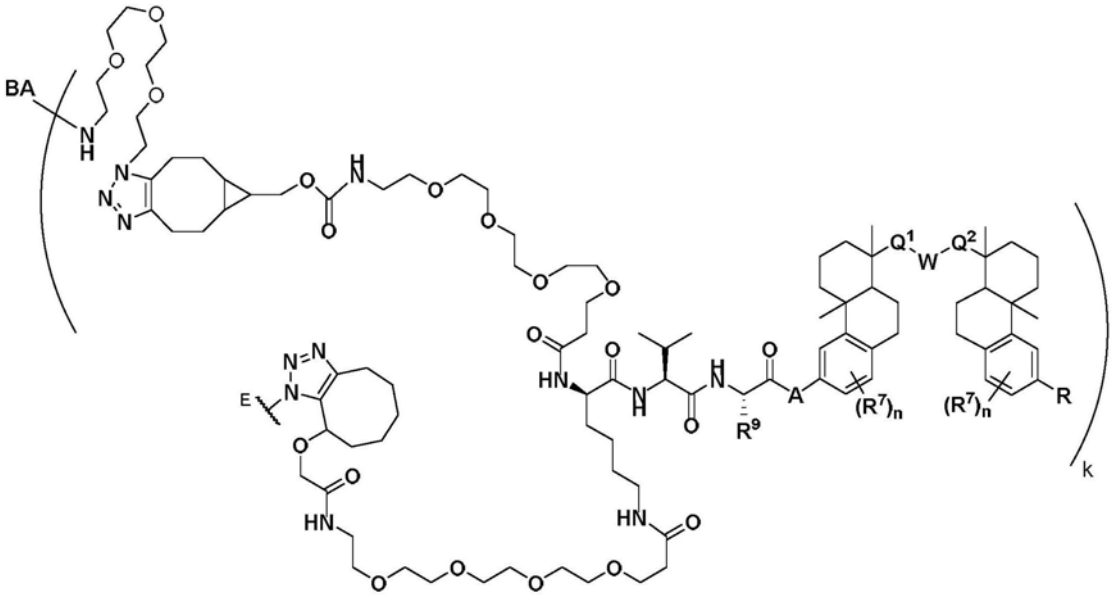
各A分别为-O-、-N(H)-、、或


其中ZZ是氢，或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}杂烷基。

在某些实施方案，所述增强剂是亲水基团。在某些实施方案，所述增强剂是环糊精。在某些实施方案，所述增强基团是烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸。环糊精可以是技术人员已知的任何环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是α-环糊精、β-环糊精、或γ-环糊精、或其混合物。在某些实施方案，所述环糊精是α-环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是β-环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是γ-环糊精。在某些实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，$-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-}$

$_5SO_3H$,-$(CH_2)_n$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$,-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$,-$(CH_2)_n$-N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$,-$(CH_2)_n$-C(O)N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$,或-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$,其中n是1、2、3、4、或5,和m是1、2、3、4、或5。在一个实施方案,所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$。在另一实施方案,所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$,其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案,所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$,其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案,所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)NH-$(CH_2)_{1-5}SO_3H$,其中m是1、2、3、4、或5。在另一实施方案,所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$,其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案,所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2)_n$-C(O)N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$,其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案,所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是-$(CH_2CH_2O)_m$-C(O)N($(CH_2)_{1-5}$C(O)NH$(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$,其中m是1、2、3、4、或5。在某些实施方案,R是R^1。

[0175] 在某些实施方案,所述偶联物是:



或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式,或其区域异构体,其中:

BA是结合剂;

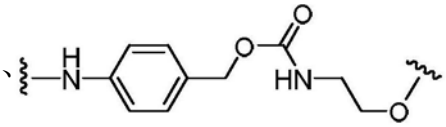
k是从1至30的整数;

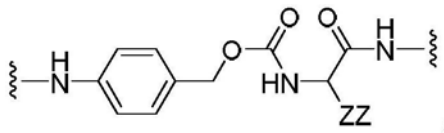
R是-H、R^1、或R^2;和

Q^1、Q^2、W、R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、X、Y、Z、和n均具有式I的上下文中所述定义;

各-$\overset{E}{\sim}$-分别为与所述增强基团连接的键;

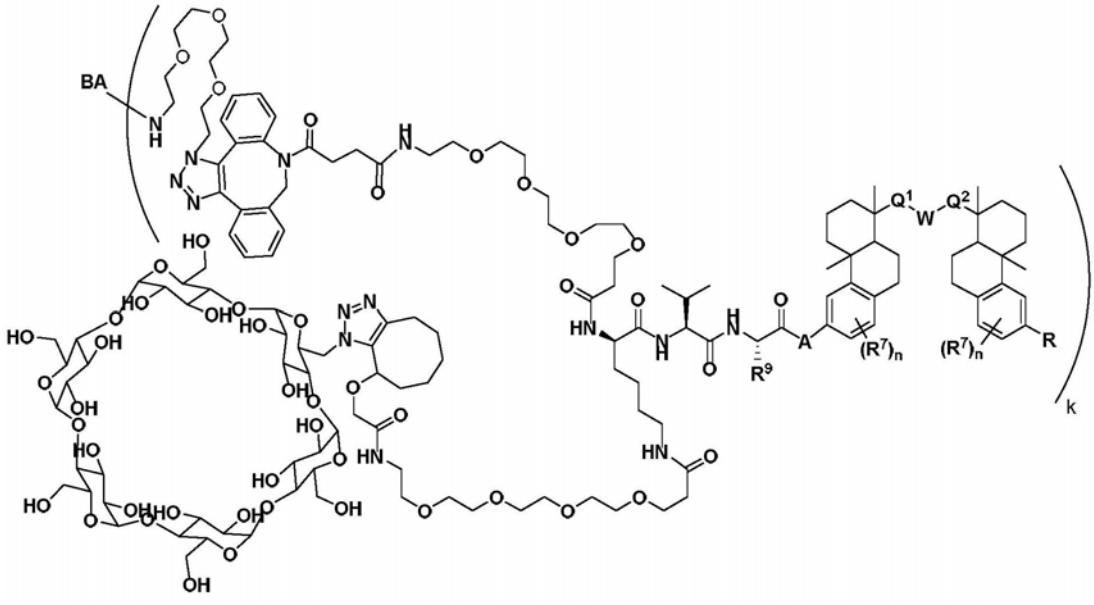
各R^9分别为-CH_3或-$(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$;和

各A分别为-O-、-N(H)-、、或

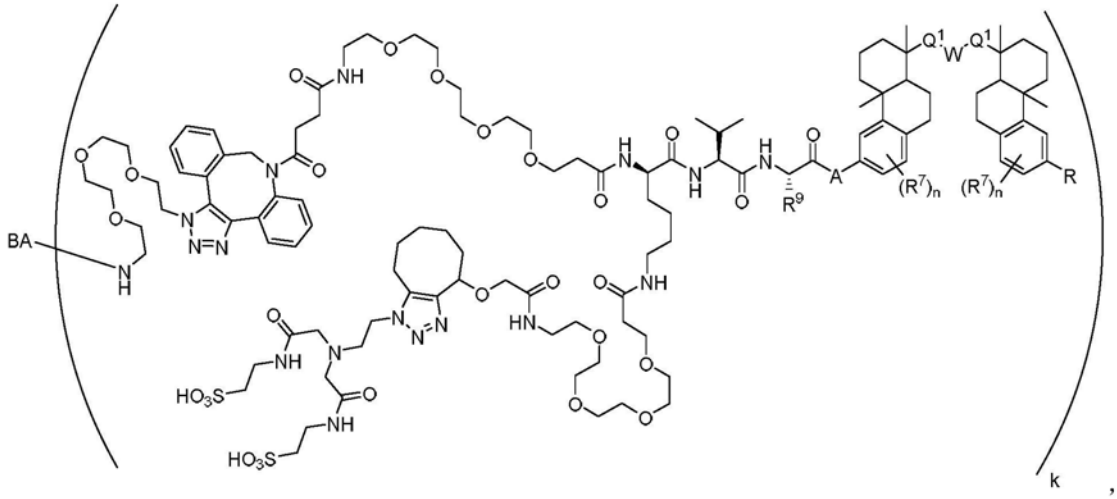

，其中ZZ是氢，或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}杂烷基。

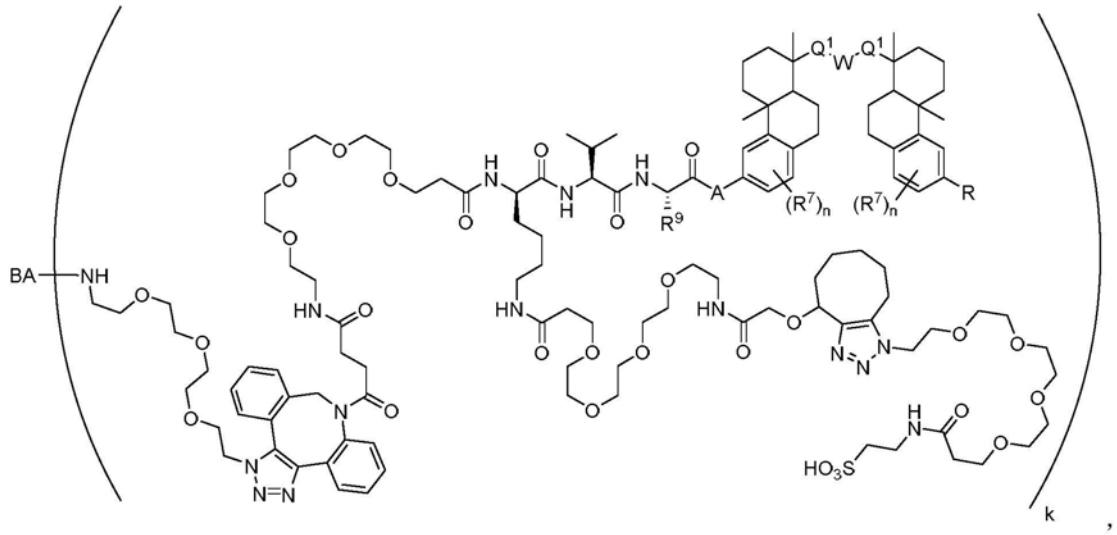
在某些实施方案，所述增强剂是亲水基团。在某些实施方案，所述增强剂是环糊精。在某些实施方案，所述增强基团是烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸。环糊精可以是技术人员已知的任何环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是α-环糊精、β-环糊精、或γ-环糊精、或其混合物。在某些实施方案，所述环糊精是α-环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是β-环糊精。在某些实施方案，所述环糊精是γ-环糊精。在某些实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，$-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，$-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，$-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，$-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，$-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，或$-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5，和m是1、2、3、4、或5。在一个实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2)_{1-5}SO_3H$。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2)_n-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2CH_2O)_m-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$，其中m是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2)_n-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2)_n-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中n是1、2、3、4、或5。在另一实施方案，所述烷基磺酸、杂烷基磺酸、亚烷基磺酸、或亚杂烷基磺酸是$-(CH_2CH_2O)_m-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$，其中m是1、2、3、4、或5。在某些实施方案，R是R^1。

[0176] 在一些实施方案，所述偶联物是：



，





或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，或其区域异构体，其中：

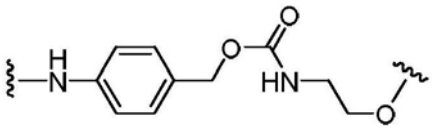
BA是结合剂；

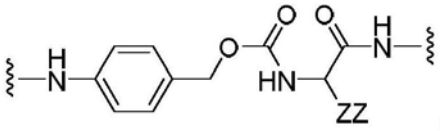
k是从1至30的整数；

R是-H、R^1、或R^2；和

Q^1、Q^2、W、R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、X、Y、Z、和n均具有式I的上下文中所述定义；

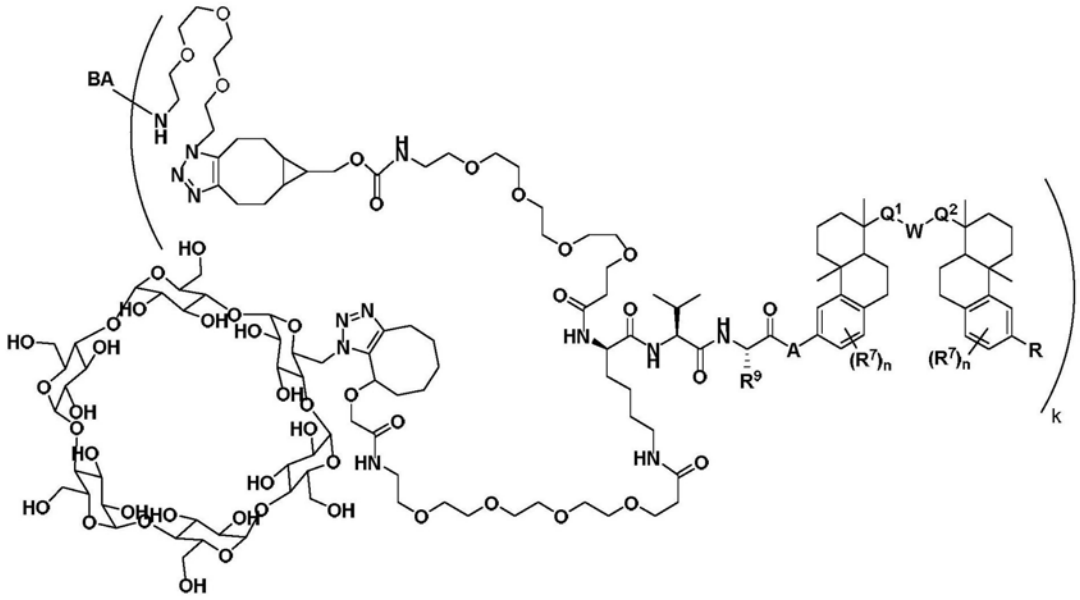
各R^9分别为$-CH_3$或$-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$；和

各A分别为-O-、-N(H)-、、或

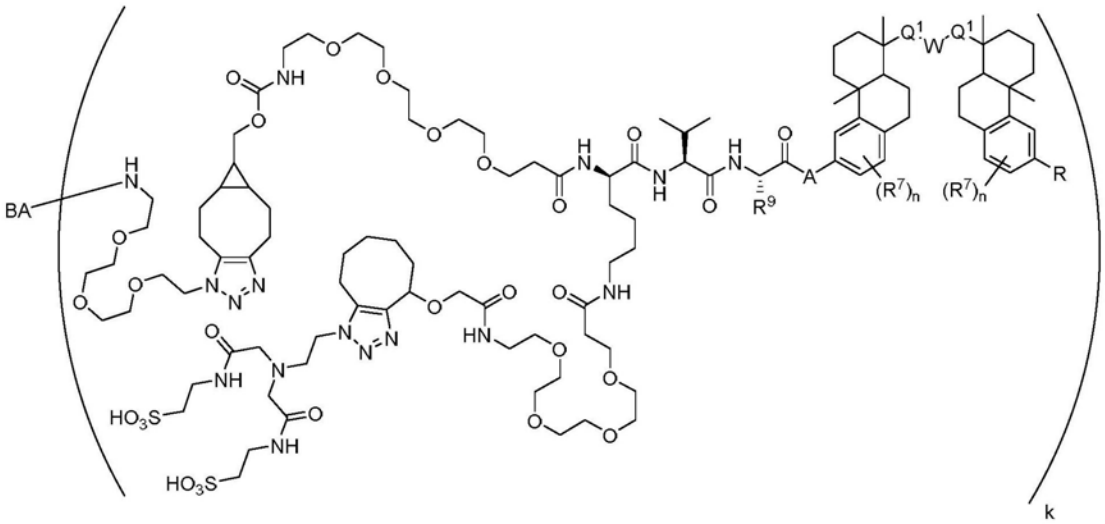
，其中ZZ是氢，或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}杂烷基。

在某些实施方案，R是R^1。

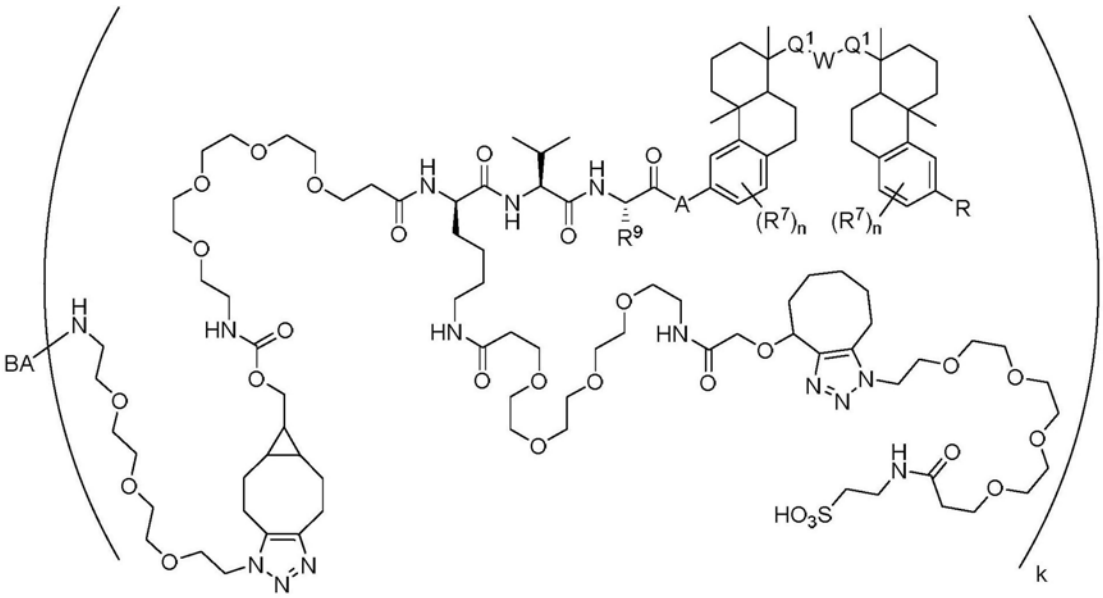
[0177] 在一些实施方案，所述偶联物是：



,



,



,

或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，或其区域异构体，其中：

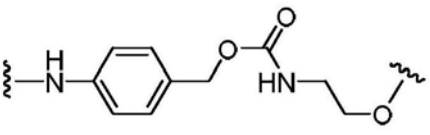
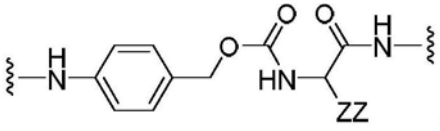
BA是结合剂；

k是从1至30的整数；

R是-H、R^1、或R^2；和

Q^1、Q^2、W、R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、X、Y、Z、和n均具有式I的上下文中所述定义；

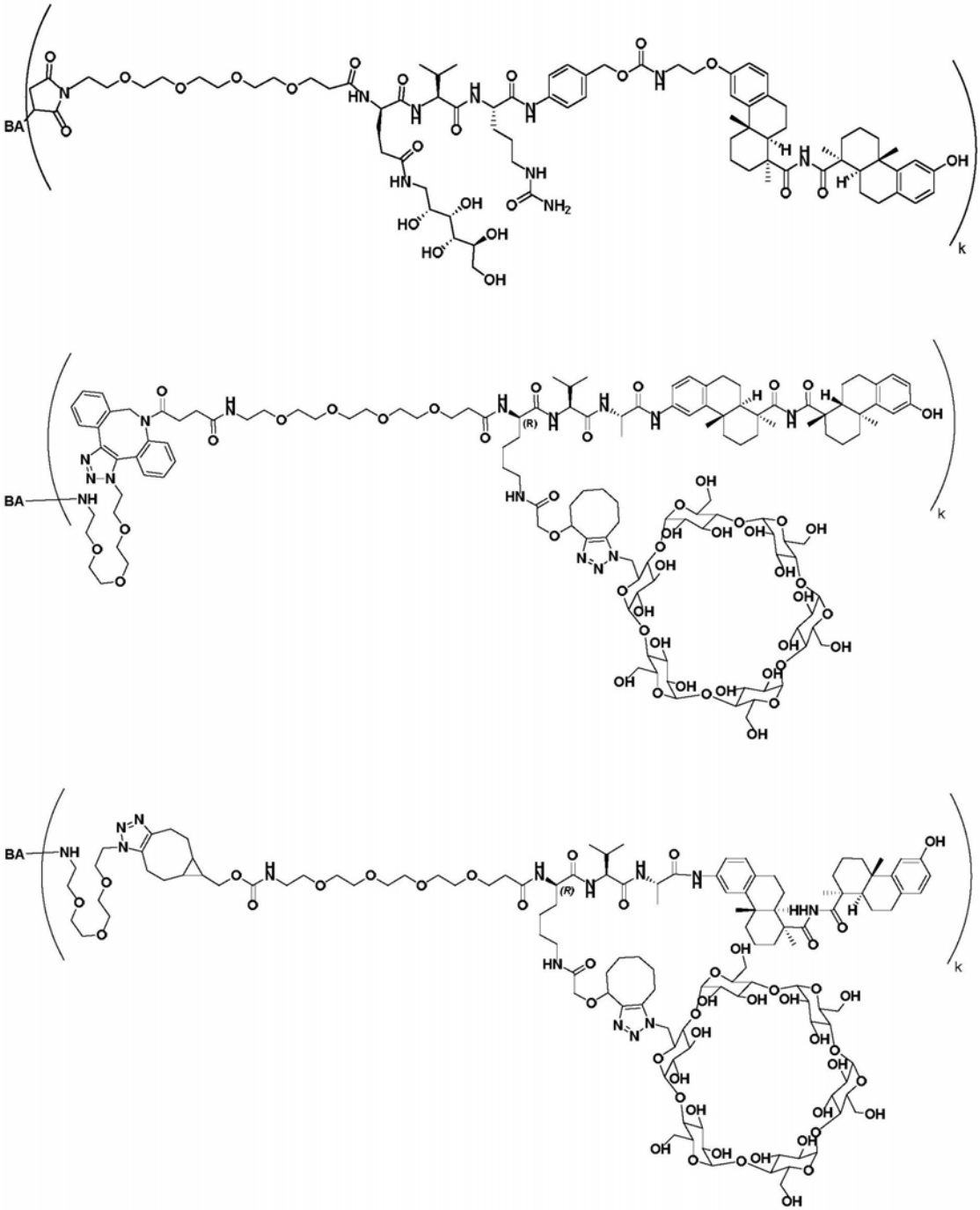
各R^9分别为$-CH_3$或$-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$；和

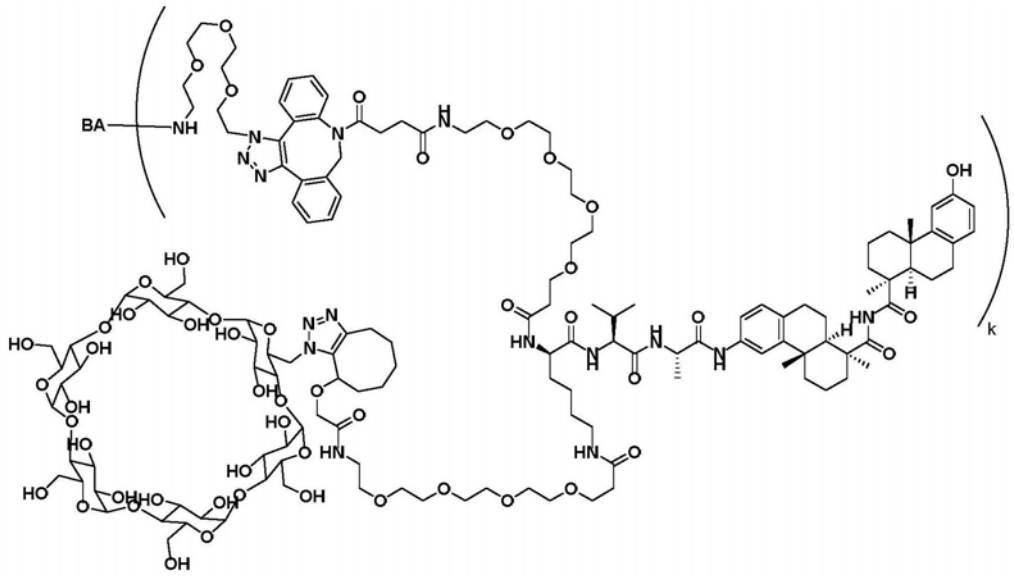
各A分别为-O-、-N(H)-、、或，其中ZZ是氢，或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}杂烷基。

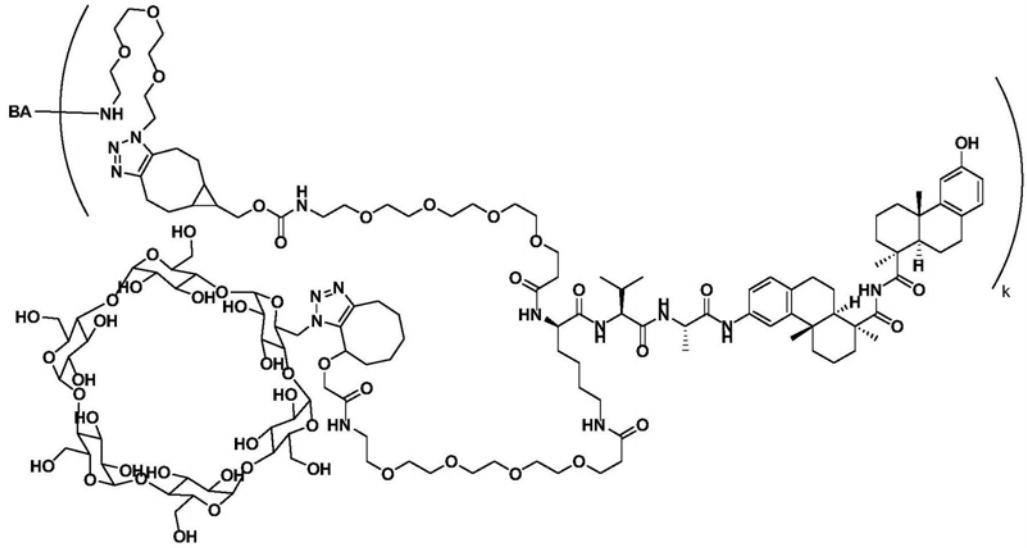
在某些实施方案，R是R^1。

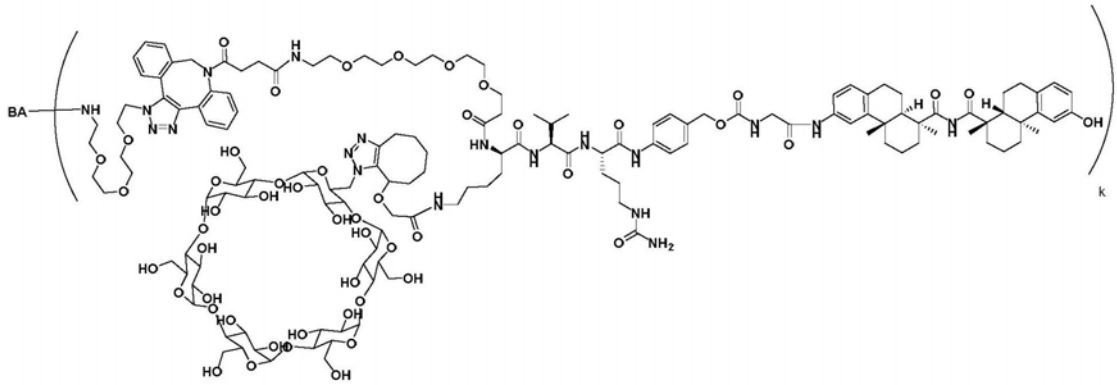
[0178] 在以上各实施方案中，可由叠氮化物基团官能化的结合剂及其残基来制备所述偶联物，如以下章节所述。为了方便起见，在括号内描述了以上几个结构中的三唑残基。本领域技术人员将认识到，所述三唑可由叠氮化物衍生的结合剂的叠氮化物基团与所述连接体有效负载L-P的炔烃形成。

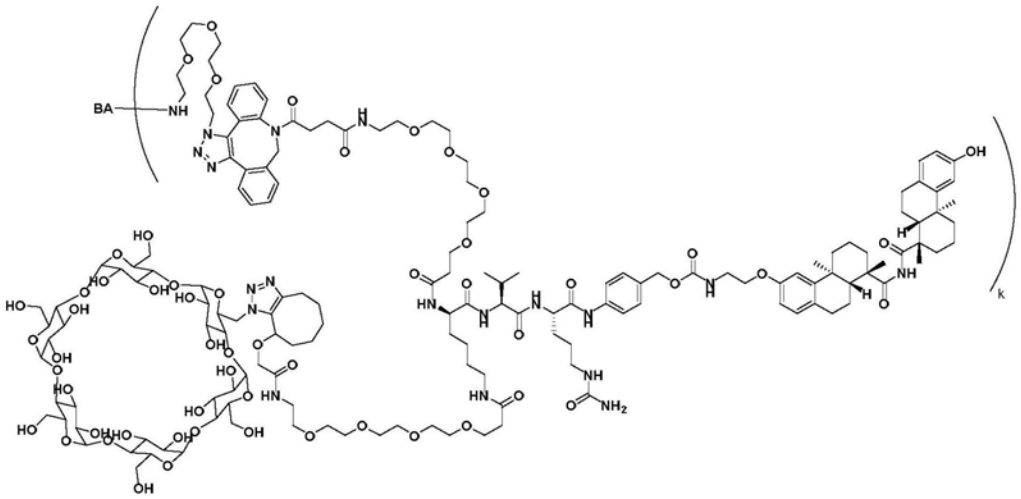
[0179] 在一些实施方案，所述偶联物选自：

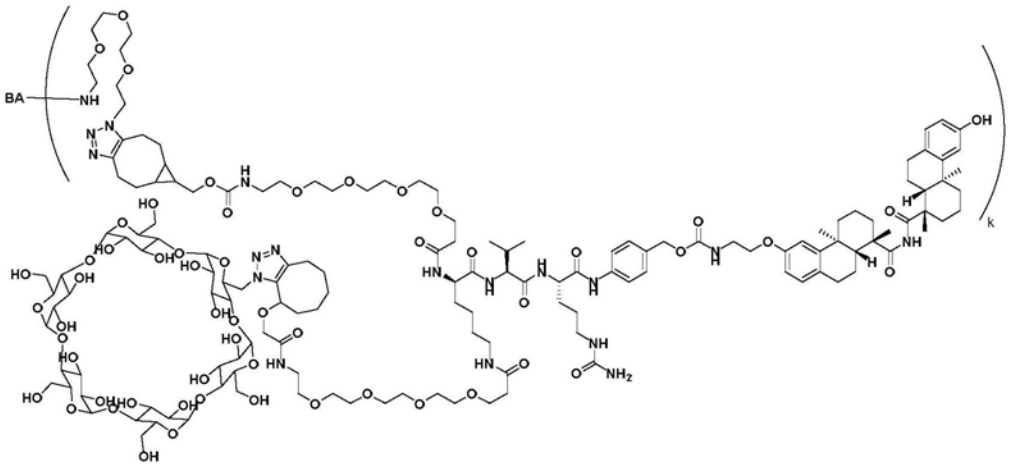


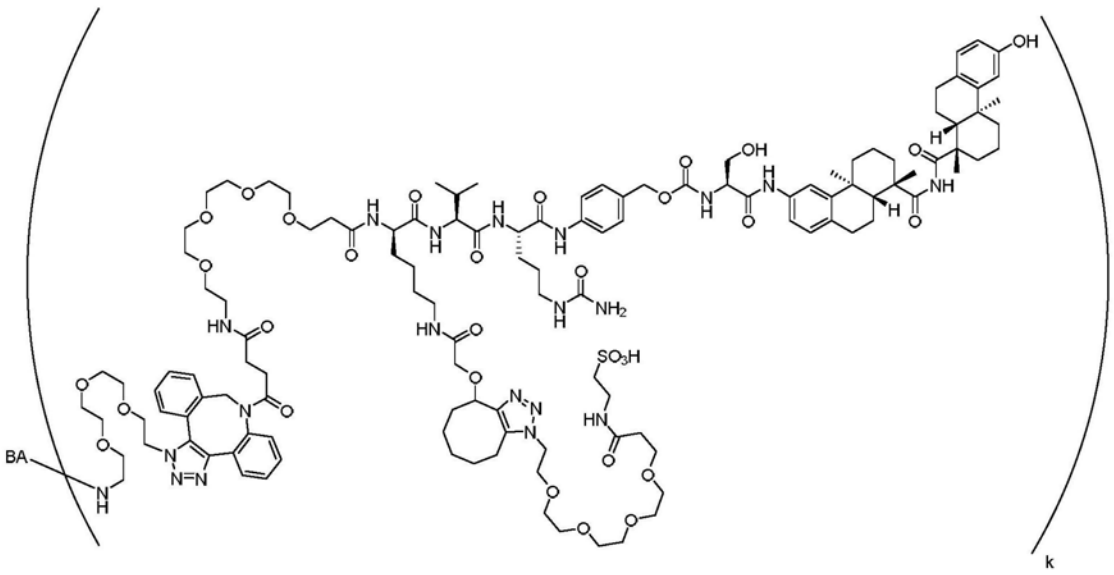


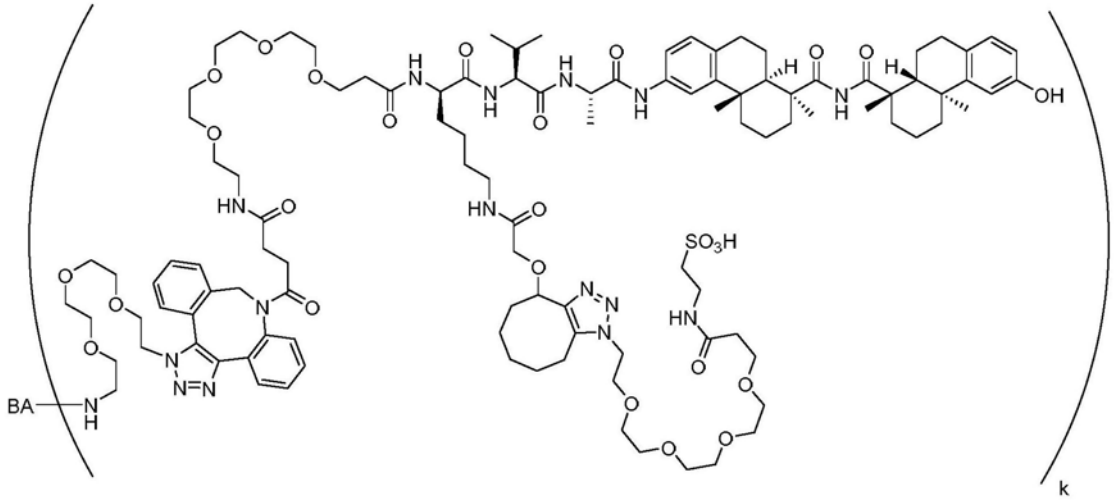


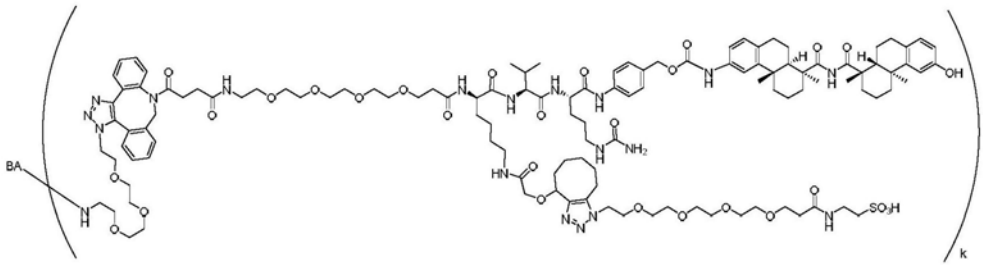


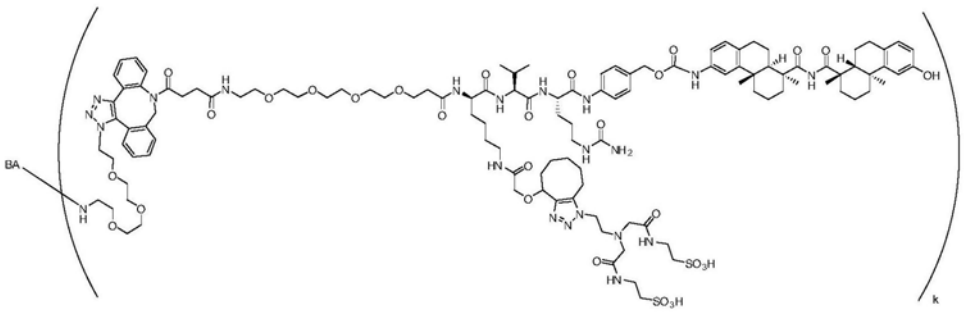


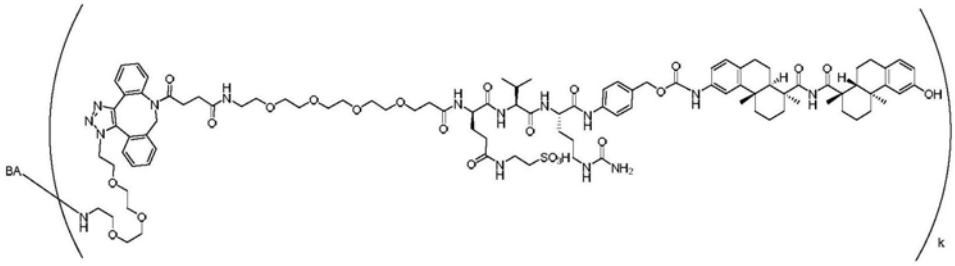


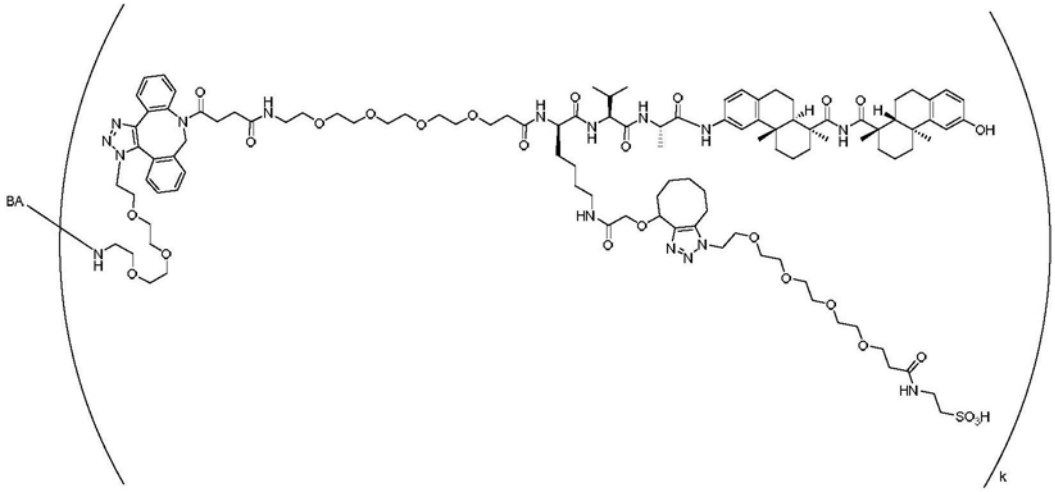


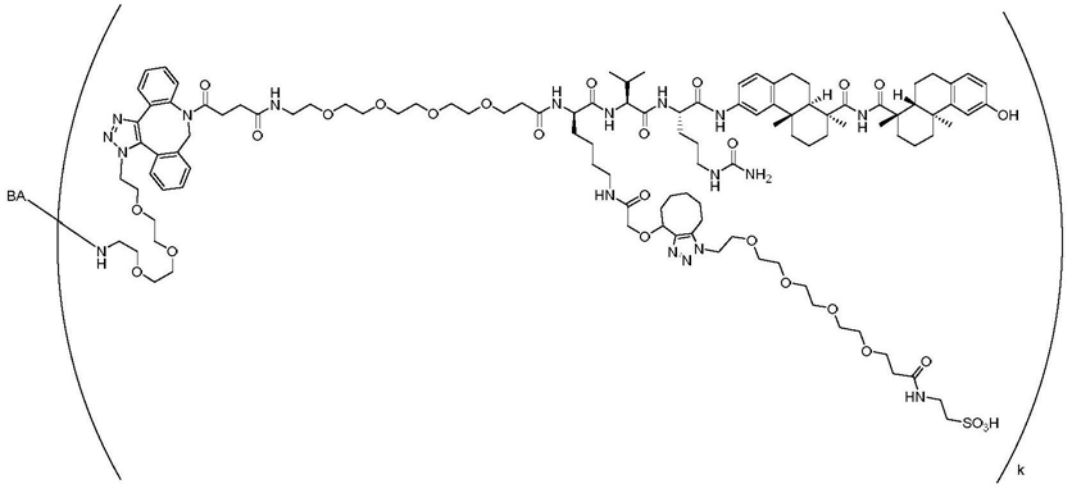


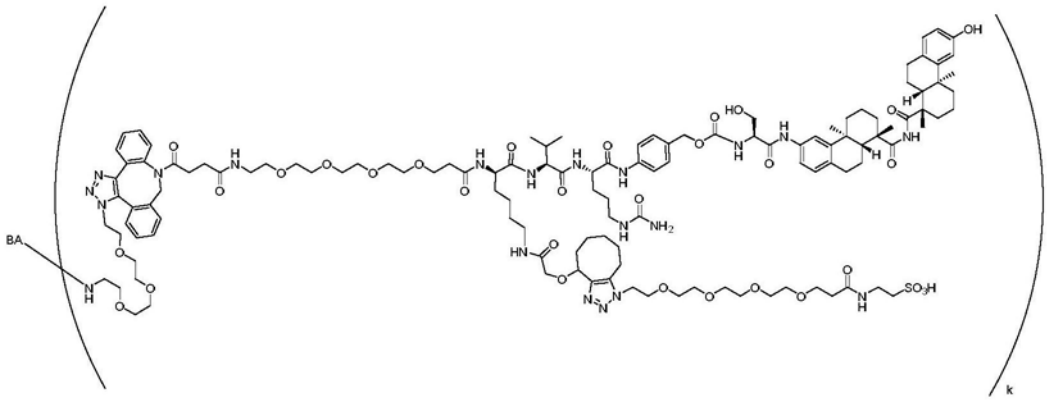


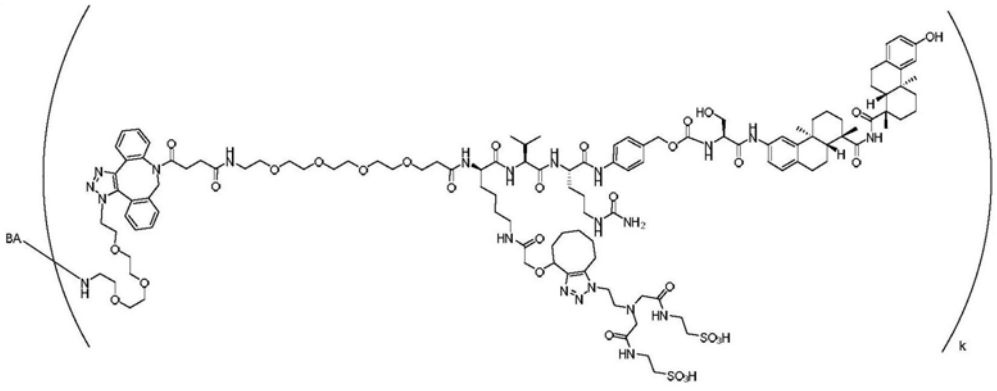


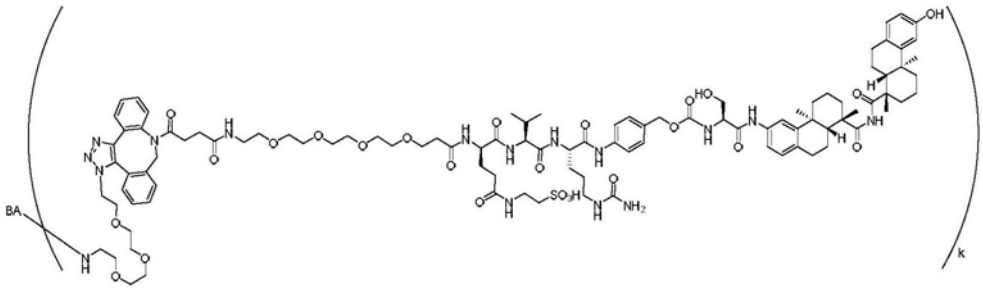


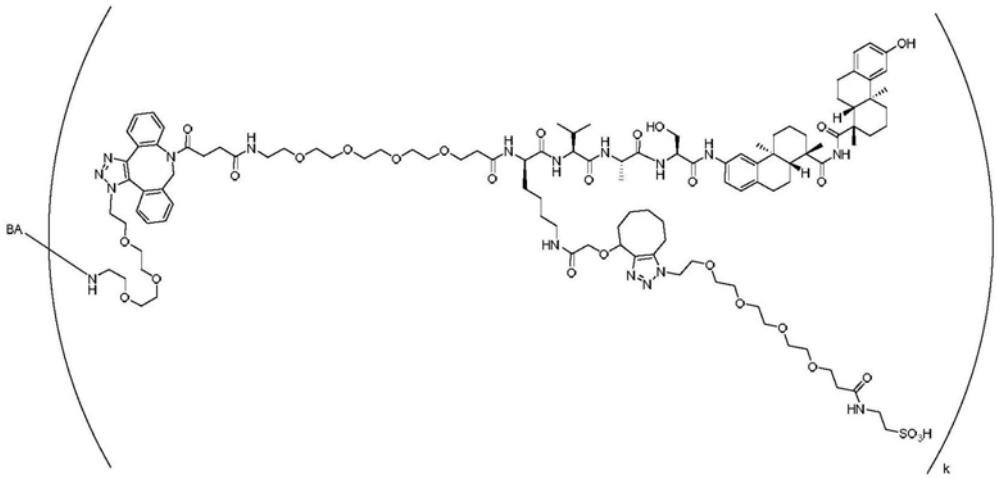

BA
OH
HN
SO3H
k

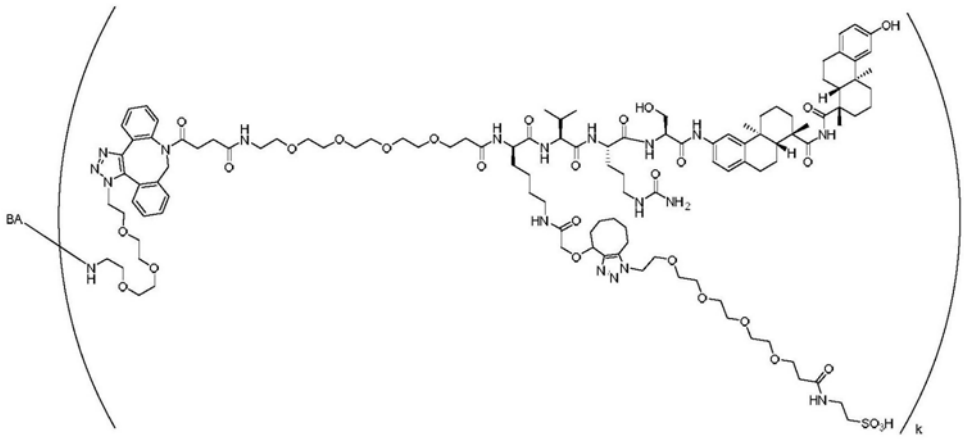

BA
OH
NH2
HN
SO3H
k


BA
OH
HO
NH2
HN
SO3H
k









或其区域异构体、立体异构体形式、药学上可接受的盐、溶剂化物。

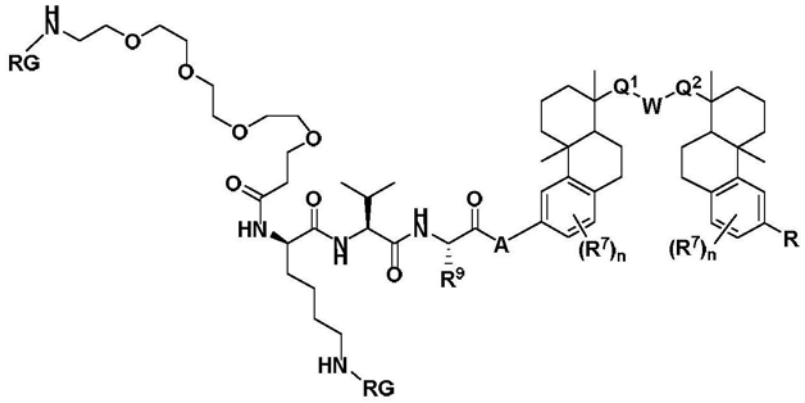
在上述实施方案中，k是从1至30的整数。在某些实施方案，k是从1至8的整数。在某些实

施方案，k是从1至4的整数。在某些实施方案，k是8、7、6、5、4、3、2、或1。在某些实施方案，k是4。在某些实施方案，k是3。在某些实施方案，k是2。在某些实施方案，k是1。

活性连接体-有效负载

[0180] 本发明提供的偶联物可由具有如上所述的活性基团RG的活性连接体-有效负载制备得到。可根据以下所述方法将活性连接体有效负载连接至增强基团和/或结合剂。

[0181] 在一些实施方案，所述活性连接体-有效负载是：



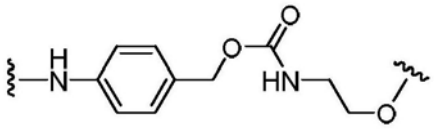
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，或其区域异构体，其中：

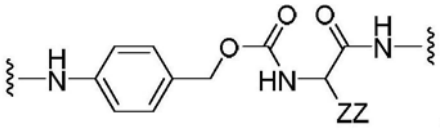
各RG分别为活性基团，如本发明所述；

R是-H、R^1、或R^2；和

Q^1、Q^2、W、R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、X、Y、Z、和n均具有式I的上下文中所述定义；

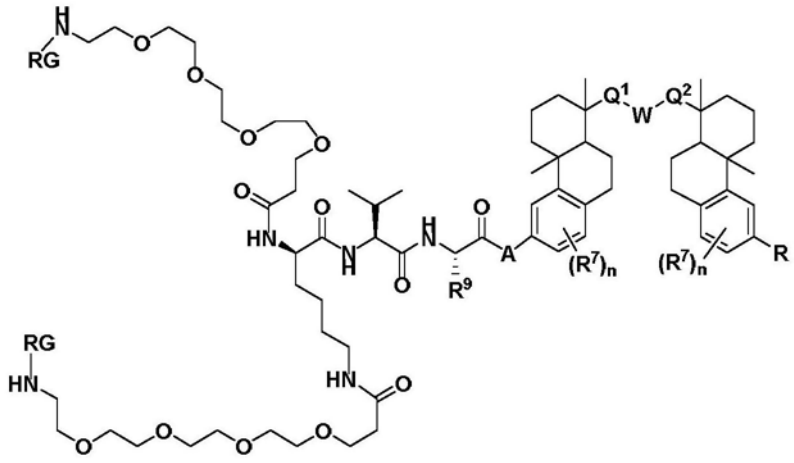
各R^9分别为$-CH_3$或$-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$；和

各A分别为-O-、-N(H)-、、或

，其中ZZ是氢，或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}杂烷基。

在某些实施方案，R是R^1。

[0182] 在一些实施方案，所述活性连接体-有效负载是：



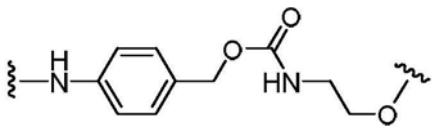
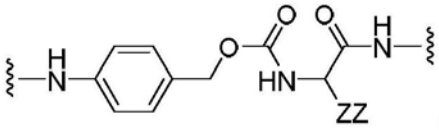
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，或其区域异构体，其中：

各RG分别为活性基团，如本发明所述；

R是-H、R^1、或R^2；和

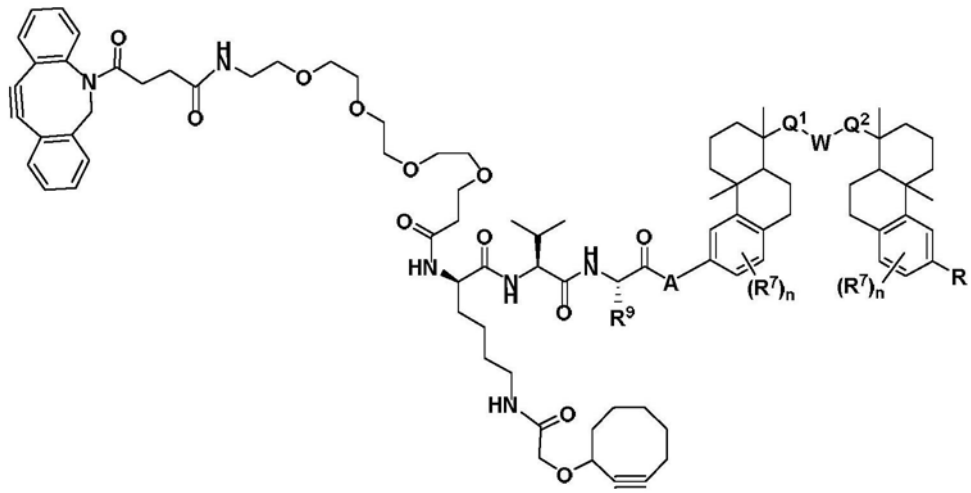
Q^1、Q^2、W、R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、X、Y、Z、和n均具有式I的上下文中所述定义；

各R^9分别为$-CH_3$或$-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$；和

各A分别为-O-、-N(H)-、、或，其中ZZ是氢，或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}杂烷基。

在某些实施方案，R是R^1。

[0183] 在一些实施方案，所述活性连接体-有效负载是：

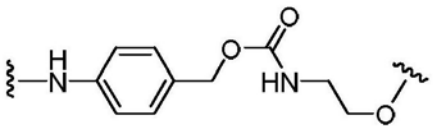
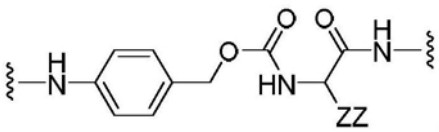


或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，或其区域异构体，其中：

R是-H、R^1、或R^2；和

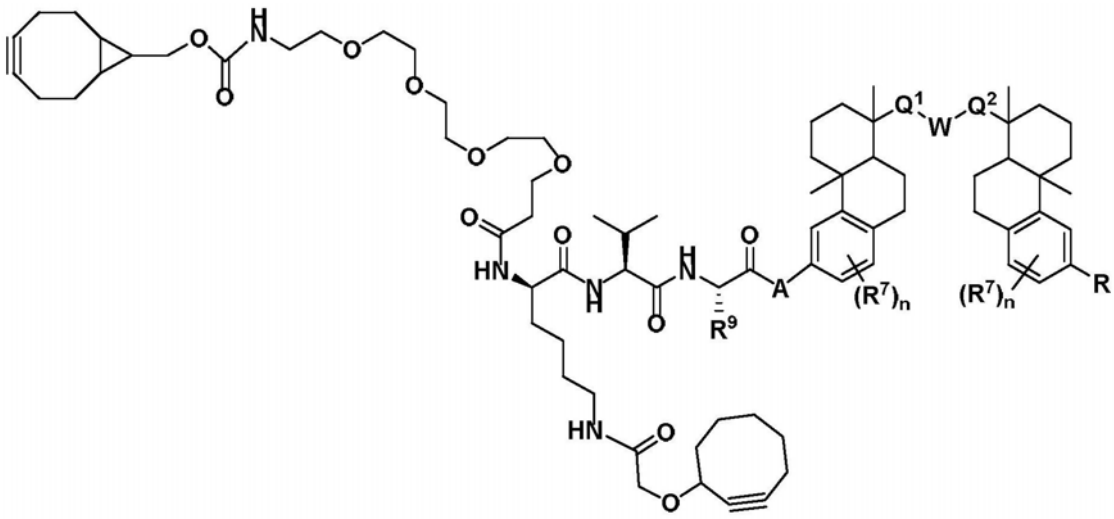
Q^1、Q^2、W、R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、X、Y、Z、和n均具有式I的上下文中所述定义；

各R^9分别为$-CH_3$或$-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$；和

各A分别为-O-、-N(H)-、、或，其中ZZ是氢，或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}杂烷基。

在某些实施方案，R是R^1。

[0184] 在一些实施方案，所述活性连接体-有效负载是：

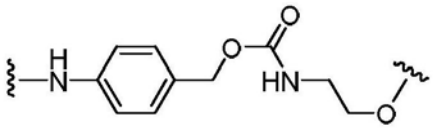


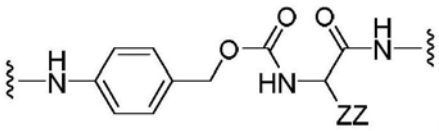
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，或其区域异构体，其中：

R是-H、R^1、或R^2；和

Q^1、Q^2、W、R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、X、Y、Z、和n均具有式I的上下文中所述定义；

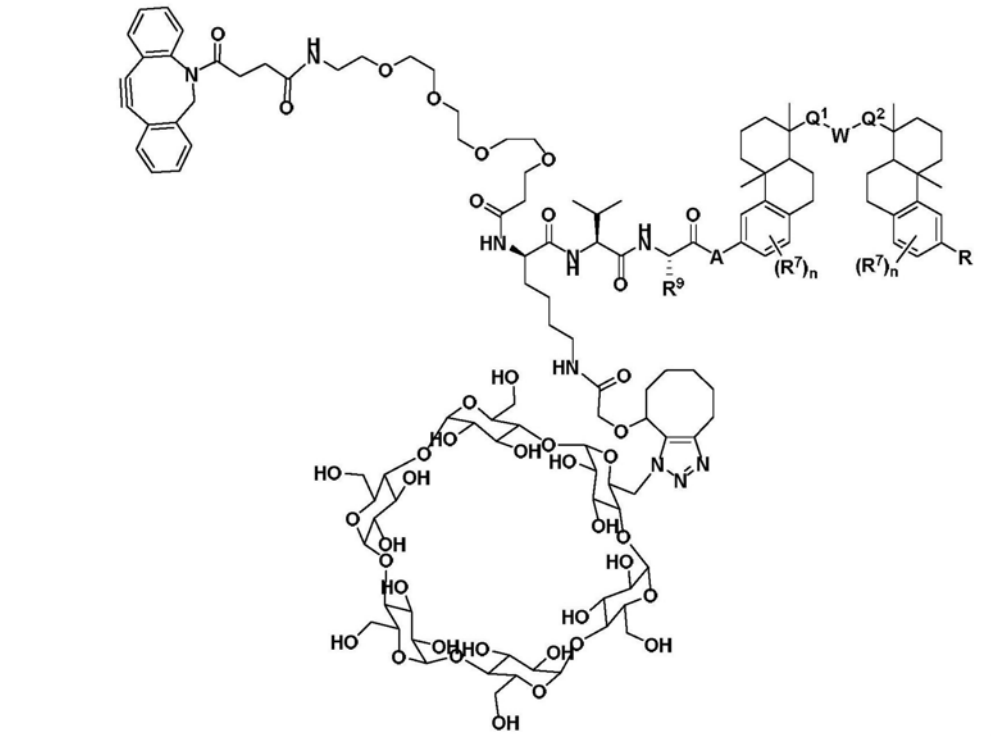
各R^9分别为$-CH_3$或$-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$；和

各A分别为-O-、-N(H)-、、或

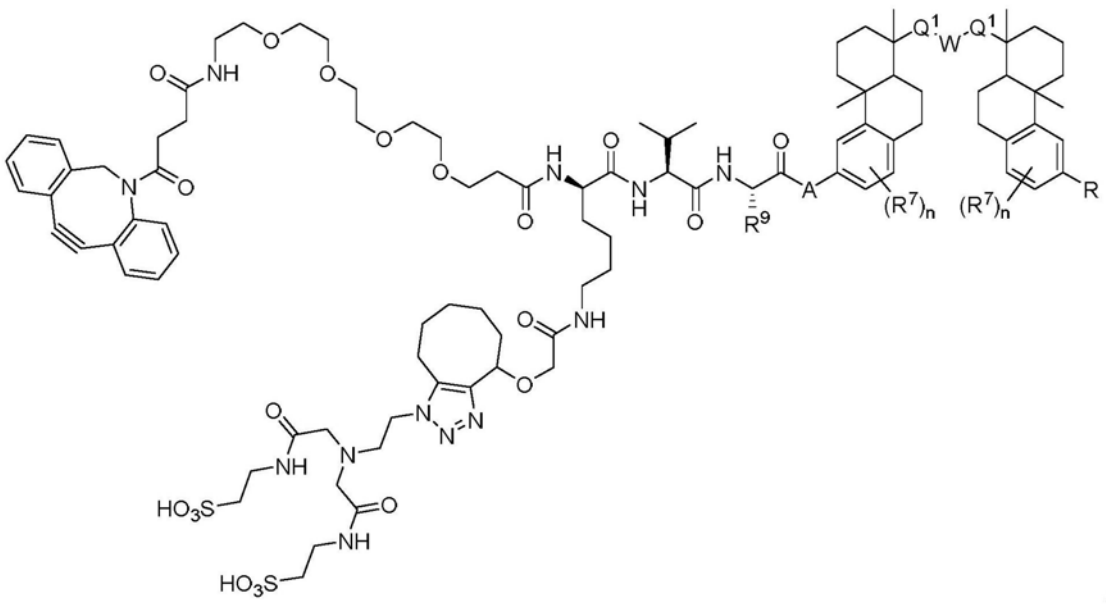
，其中ZZ是氢，或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}杂烷基。

在某些实施方案，R是R^1。

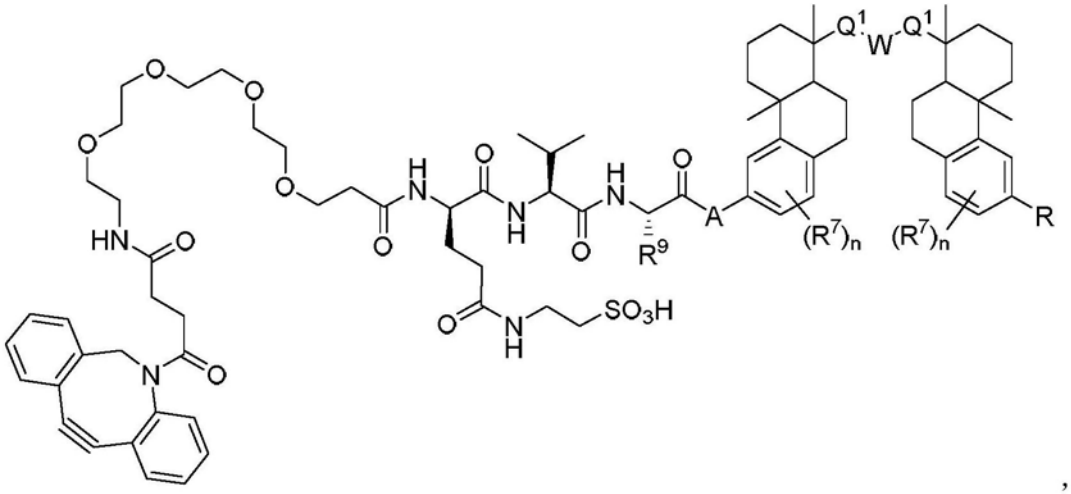
[0185] 在一些实施方案，所述活性连接体-有效负载是：



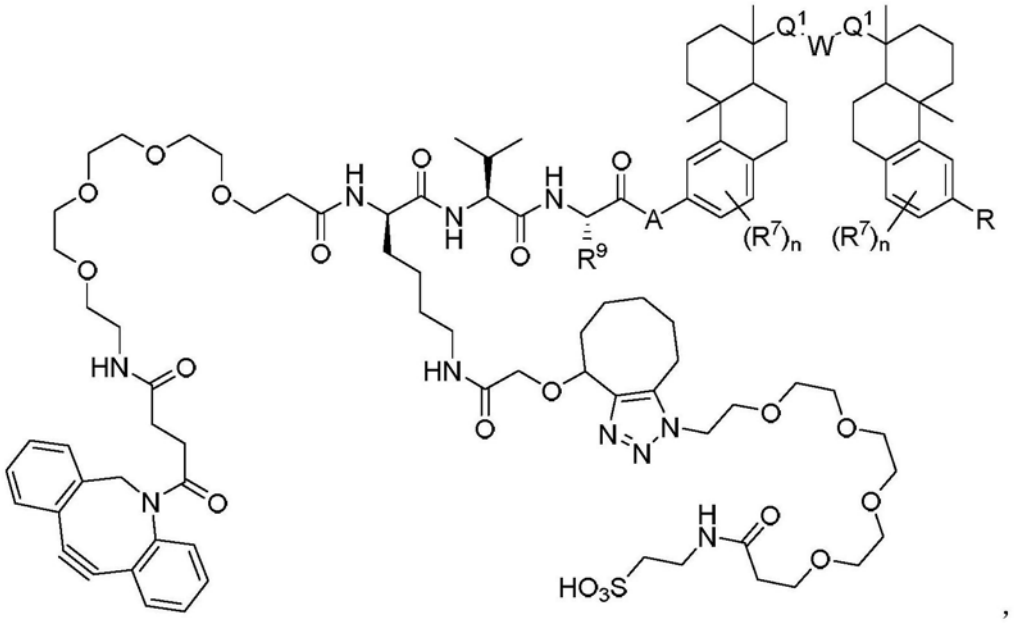
,



,



,



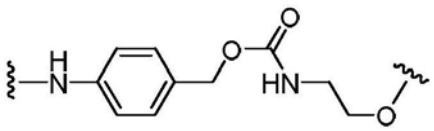
,

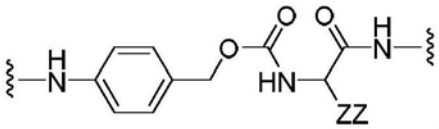
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，或其区域异构体，其中：

R是-H、R^1、或R^2；和

Q^1、Q^2、W、R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、X、Y、Z、和n均具有式I的上下文中所述定义；

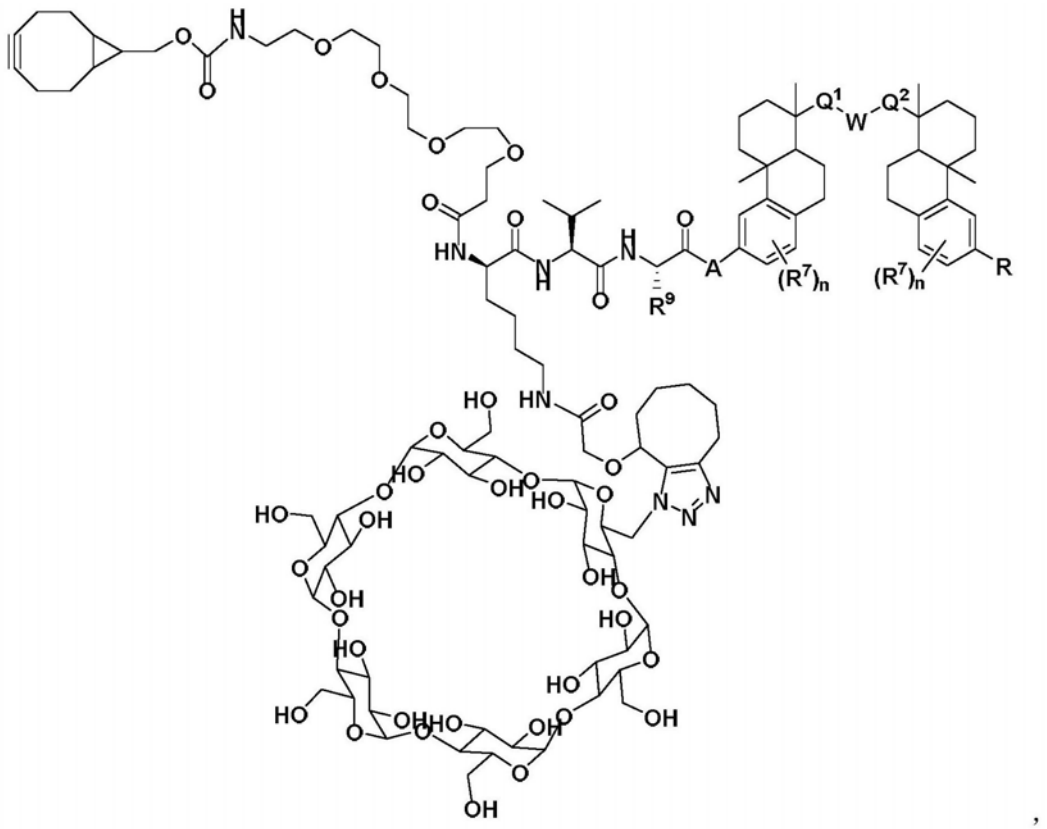
各R^9分别为$-CH_3$或$-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$；和

各A分别为-O-、-N(H)-、、或

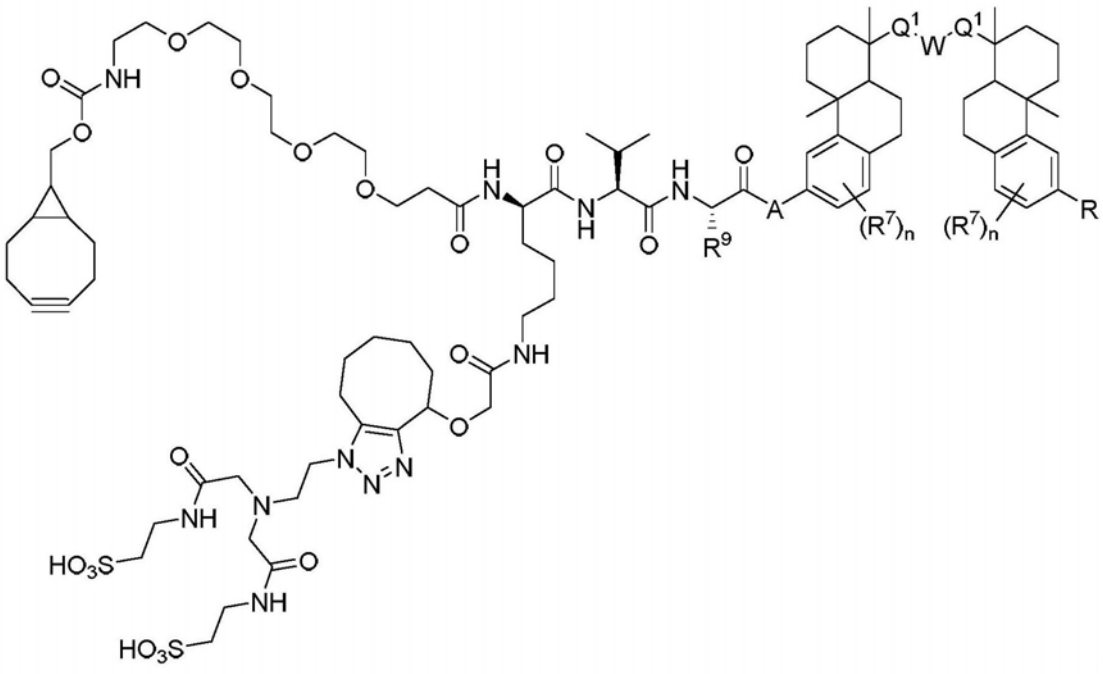
，其中ZZ是氢，或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}杂烷基。

在某些实施方案，R是R^1。

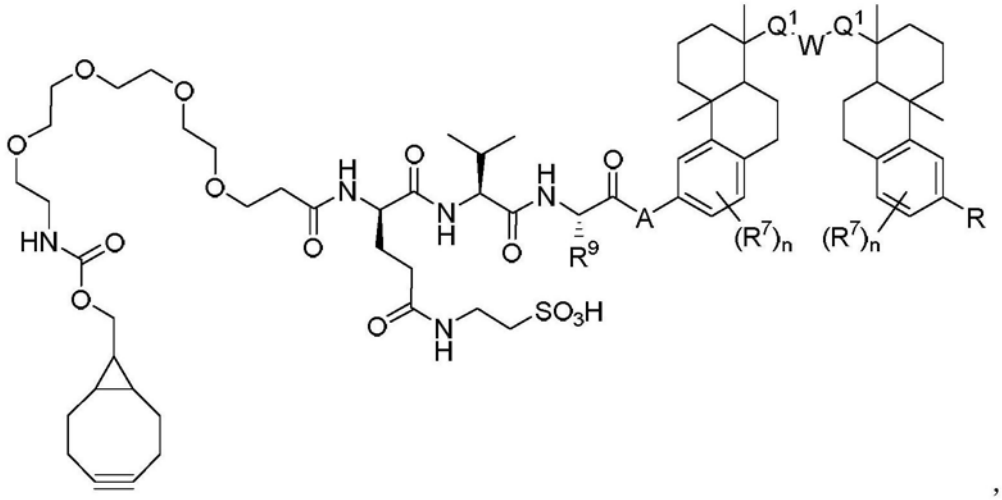
[0186] 在一些实施方案，所述活性连接体-有效负载是：

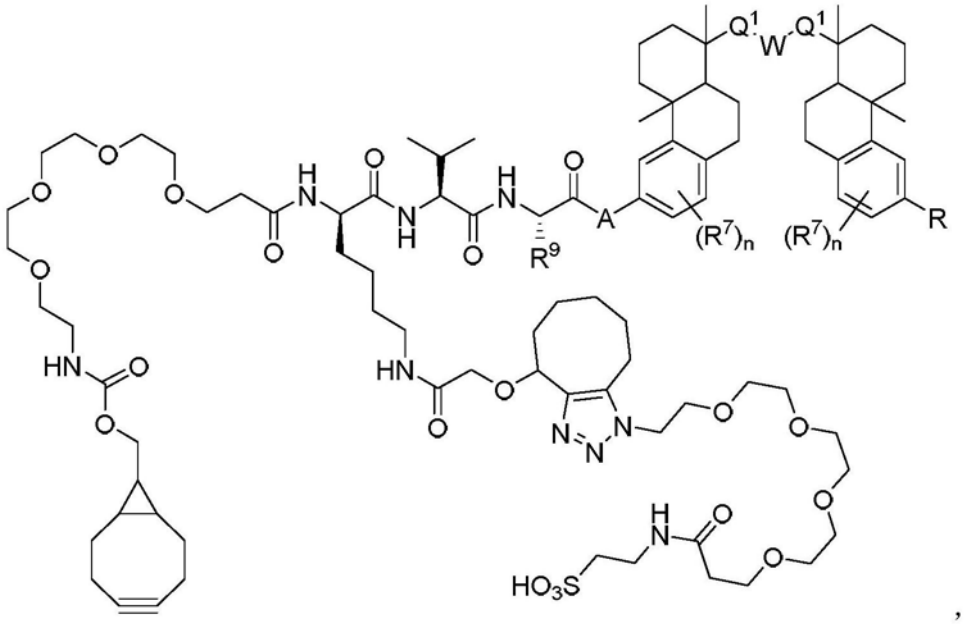


,



,



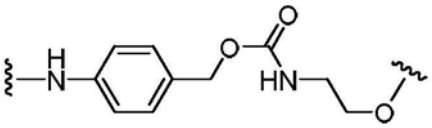


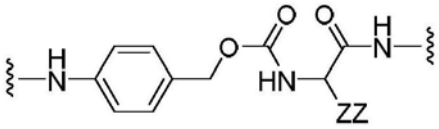
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，或其区域异构体，其中：

R是-H、R^1、或R^2；和

Q^1、Q^2、W、R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、X、Y、Z、和n均具有式I的上下文中所述定义；

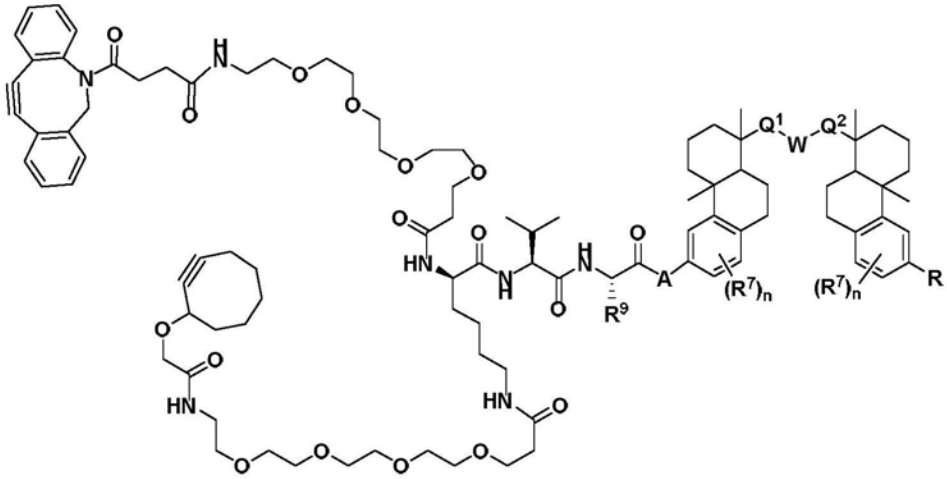
各R^9分别为$-CH_3$或$-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$；和

各A分别为-O-、-N(H)-、、或

其中ZZ是氢，或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}杂烷基。

在某些实施方案，R是R^1。

[0187] 在一些实施方案，所述活性连接体-有效负载是：

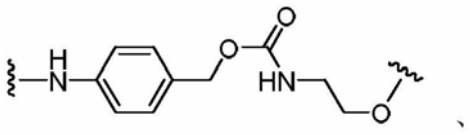
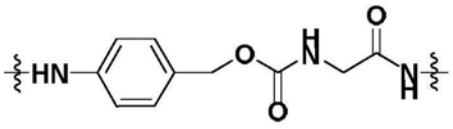
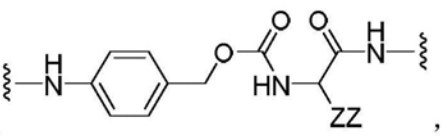


或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，或其区域异构体，其中：

R是-H、R^1、或R^2；和

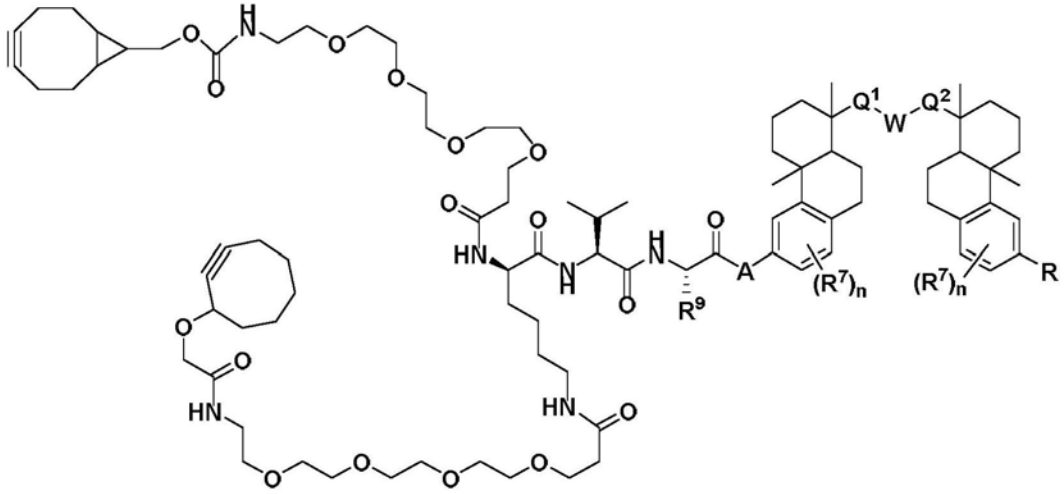
Q^1、Q^2、W、R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、X、Y、Z、和n均具有式I的上下文中所述定义；

各R^9分别为$-CH_3$或$-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$；和

各A分别为-O-、-N(H)-、、，或，其中ZZ是氢，或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}杂烷基。

在某些实施方案，R是R^1。

[0188] 在一些实施方案，所述活性连接体-有效负载是：

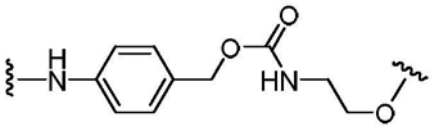
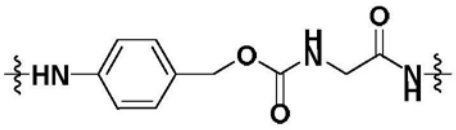
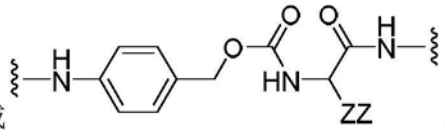


或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，或其区域异构体，其中：

R是-H、R^1、或R^2；和

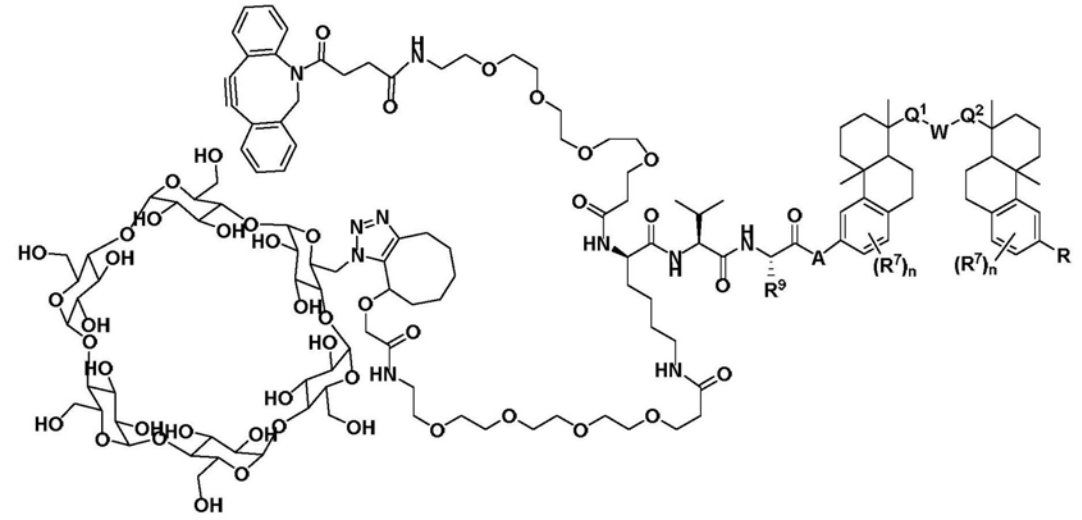
Q^1、Q^2、W、R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、X、Y、Z、和n均具有式I的上下文中所述定义；

各R^9分别为$-CH_3$或$-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$；和

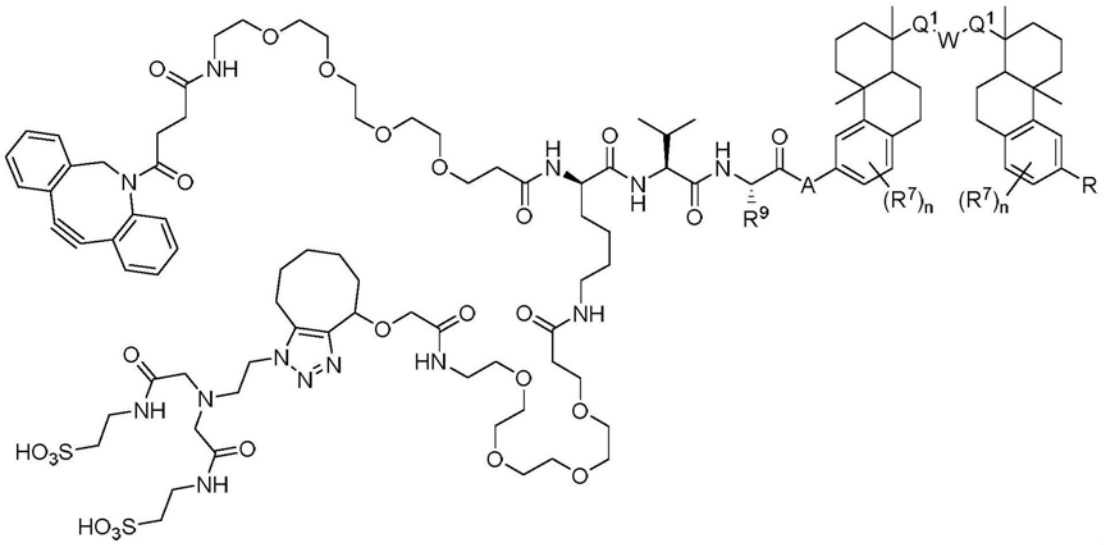
各A分别为-O-、-N(H)-、、、或，其中ZZ是氢，或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}杂烷基。

在某些实施方案，R是R^1。

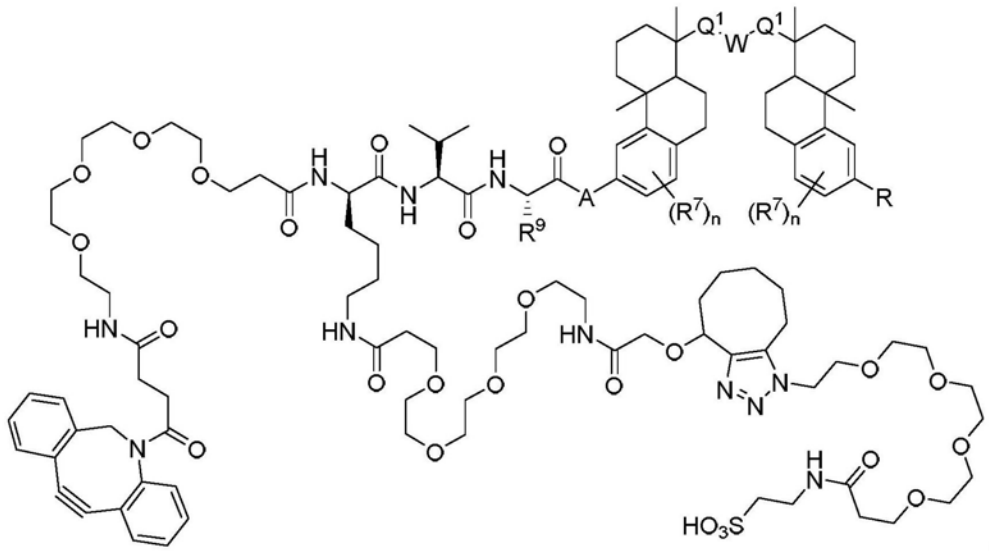
[0189] 在一些实施方案，所述活性连接体-有效负载是：



,



,



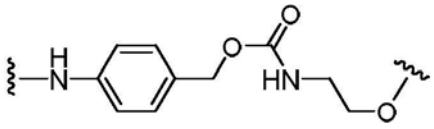
,

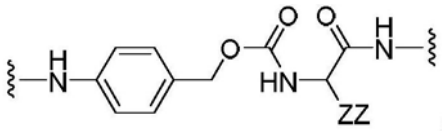
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，或其区域异构体，其中：

R是-H、R^1、或R^2；和

Q^1、Q^2、W、R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、X、Y、Z、和n均具有式I的上下文中所述定义；

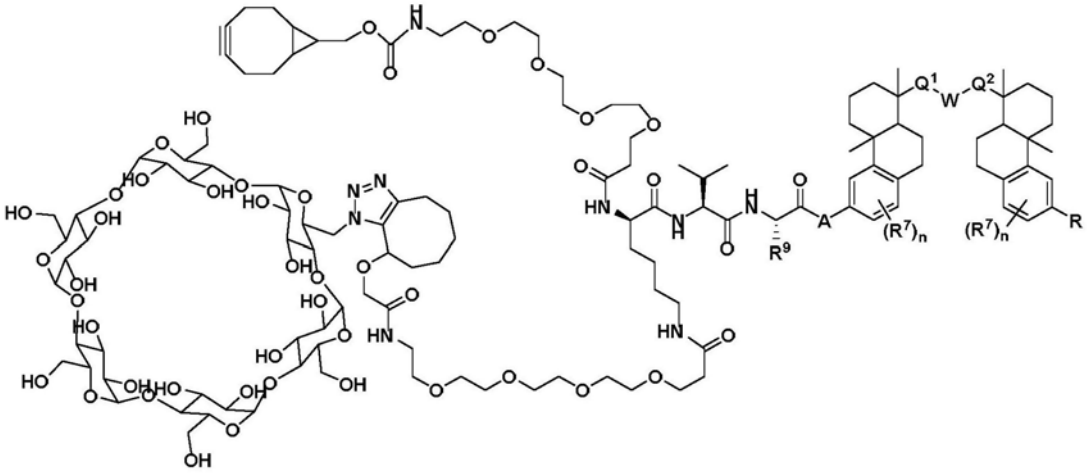
各R^9分别为$-CH_3$或$-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$；和

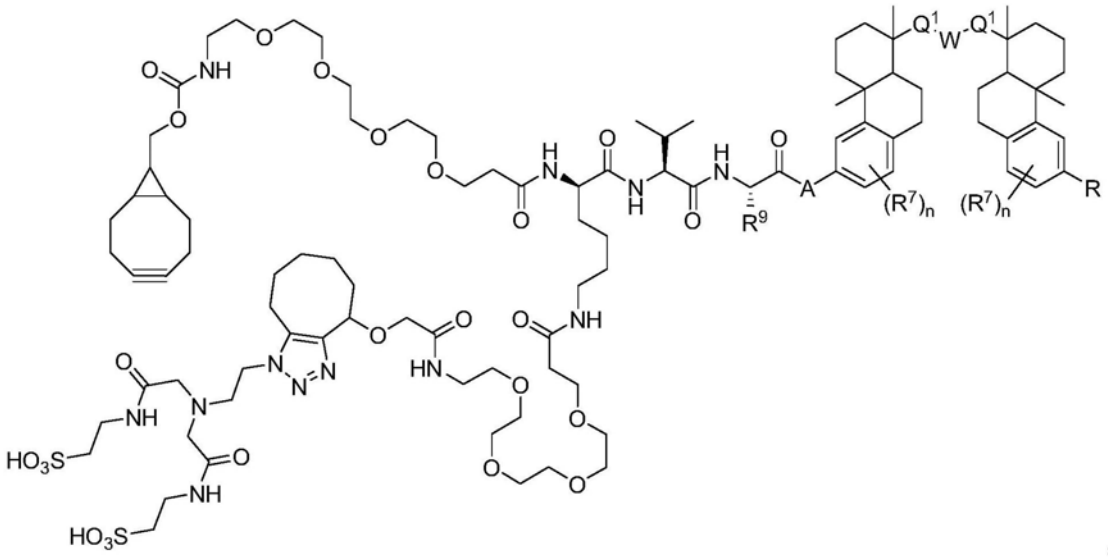
各A分别为-O-、-N(H)-、、或

，其中ZZ是氢，或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}杂烷基。

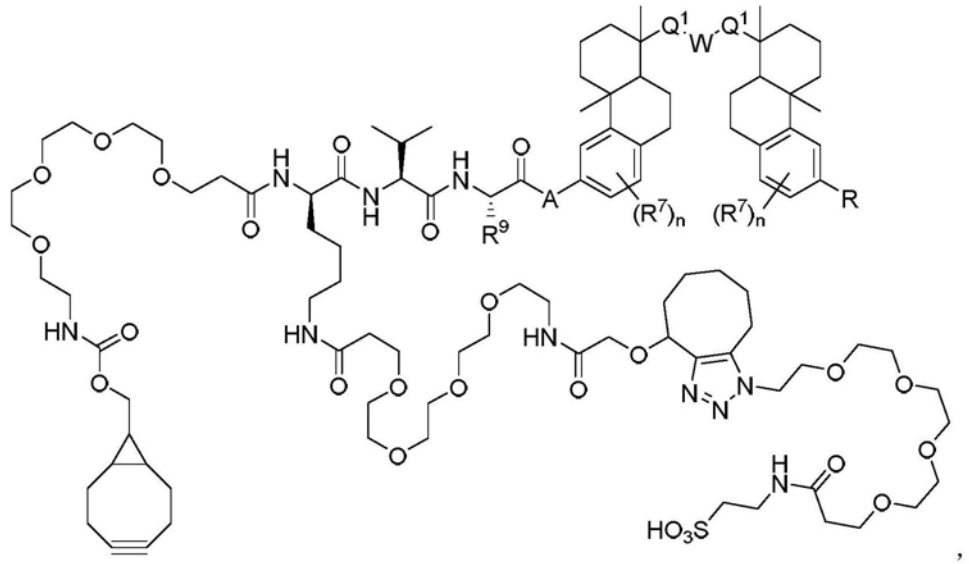
在某些实施方案，R是R^1。

[0190] 在一些实施方案，所述活性连接体-有效负载是：

，



,



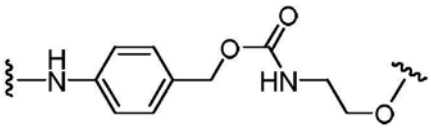
,

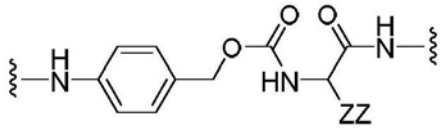
或其药学上可接受的盐、溶剂化物、或立体异构体形式，或其区域异构体，其中：

R是-H、R^1、或R^2；和

Q^1、Q^2、W、R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、X、Y、Z、和n均具有式I的上下文中所述定义；

各R^9分别为$-CH_3$或$-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$；和

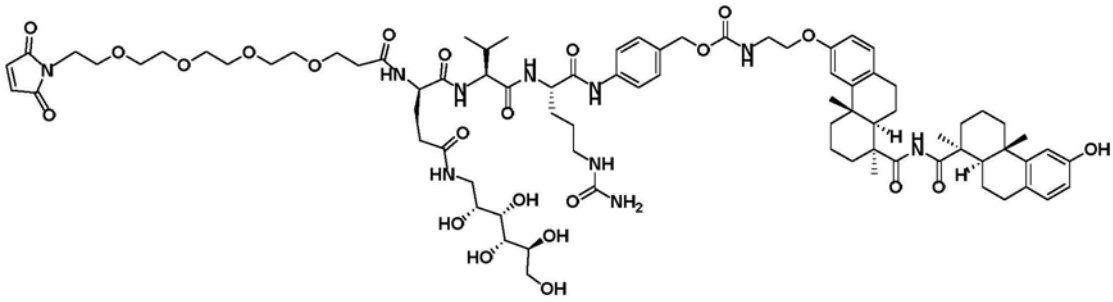
各A分别为-O-、-N(H)-、、或

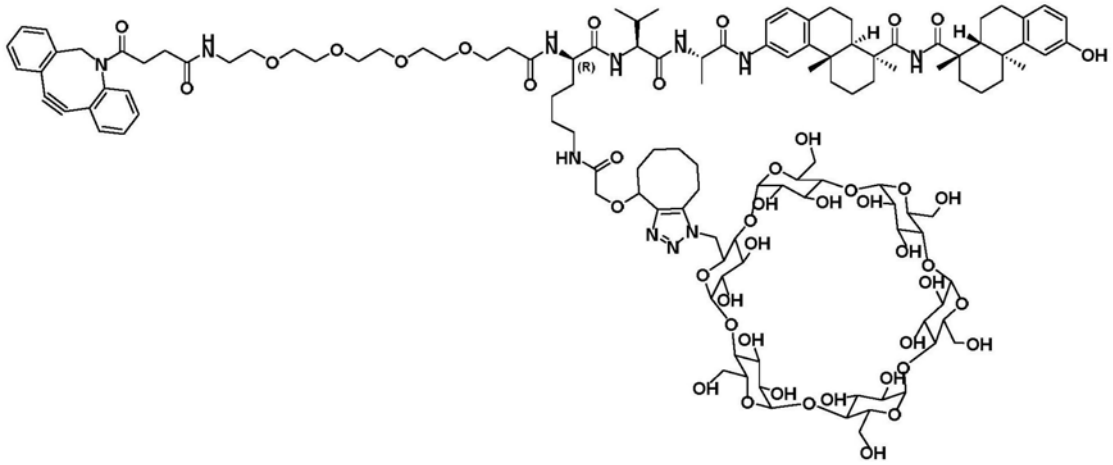
其中ZZ是氢，或如本发明其他地方所讨论的氨基酸的侧链。例如，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}烷基。作为另一实例，在一个实施方案，ZZ是C_{1-6}杂烷基。

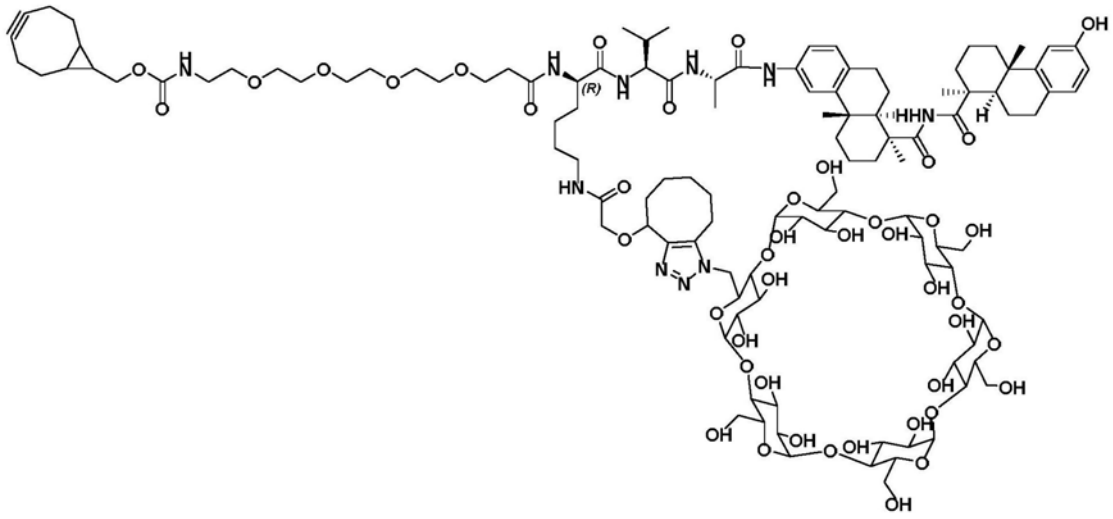
,

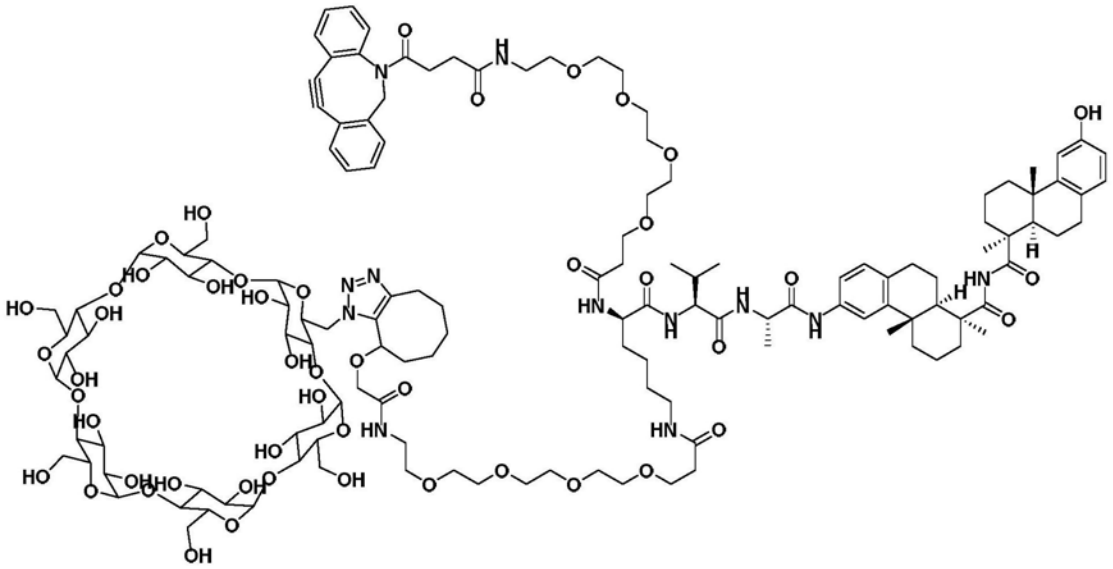
在某些实施方案，R是R^1。

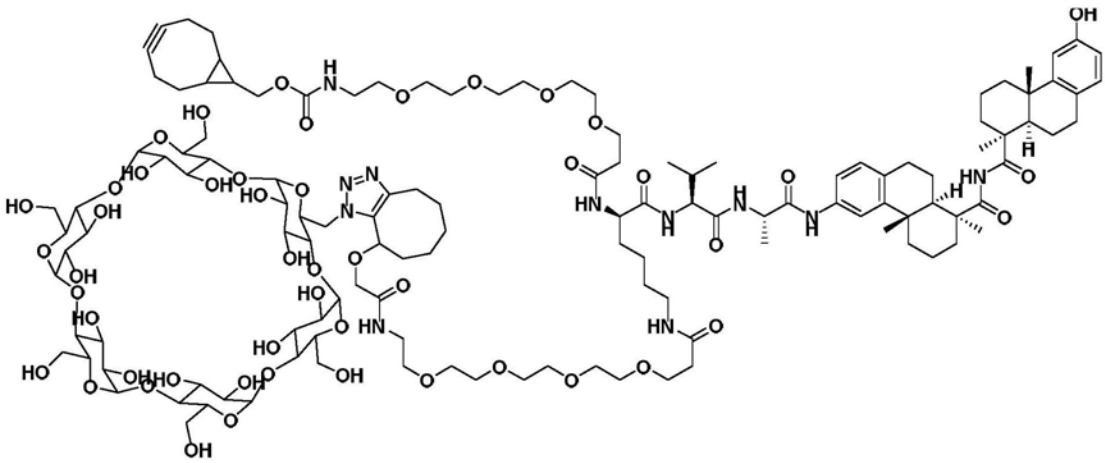
[0191] 在一些实施方案，所述活性连接体-有效负载选自：

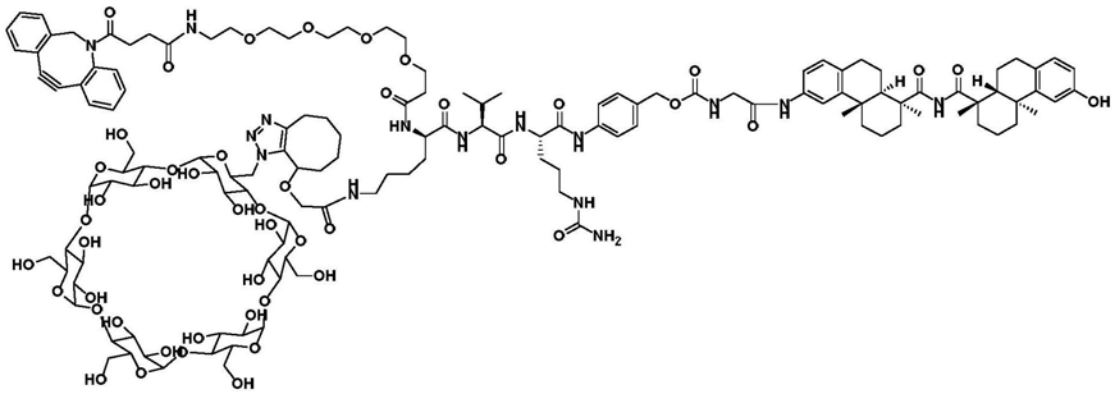


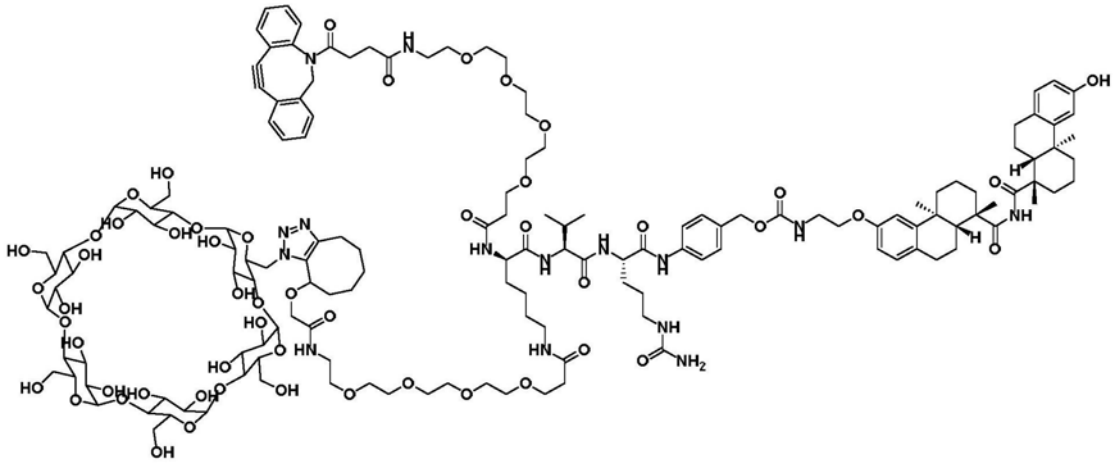


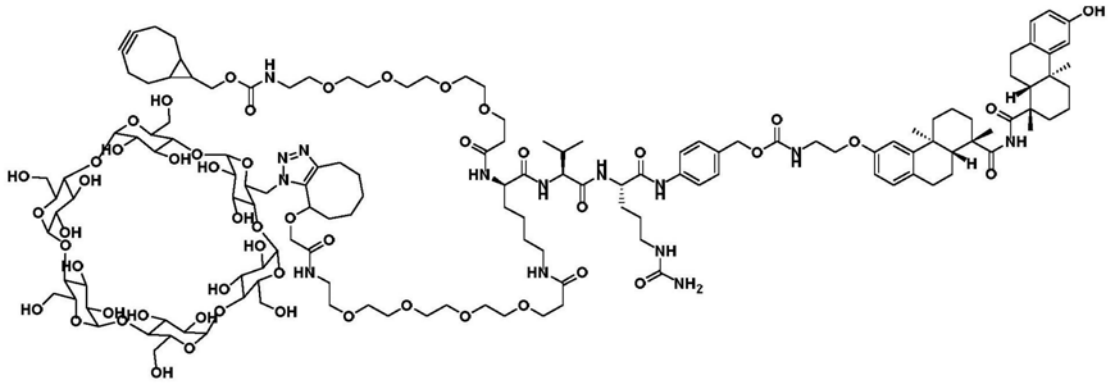


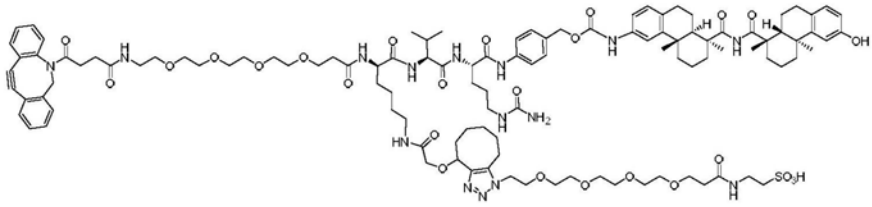


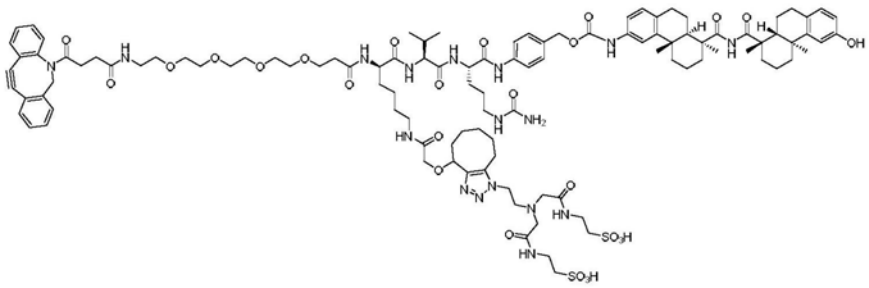


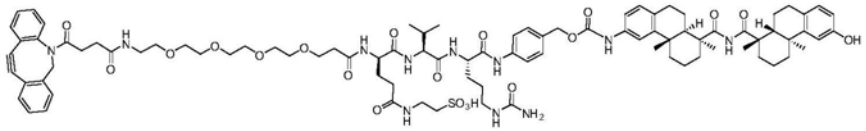


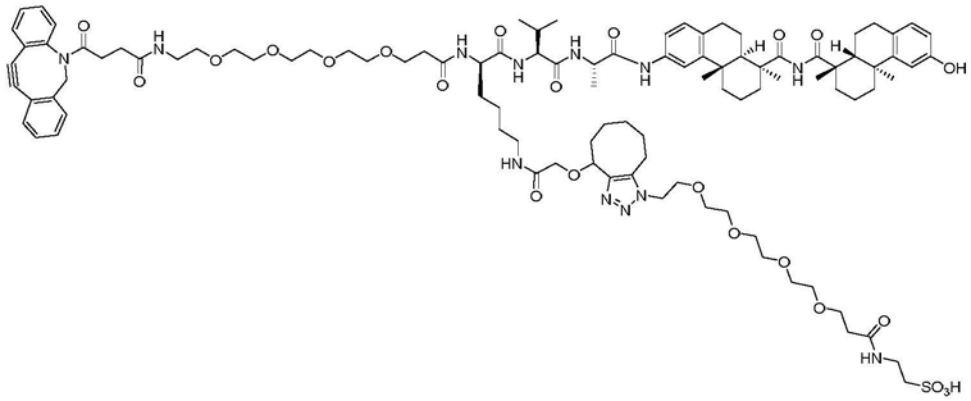


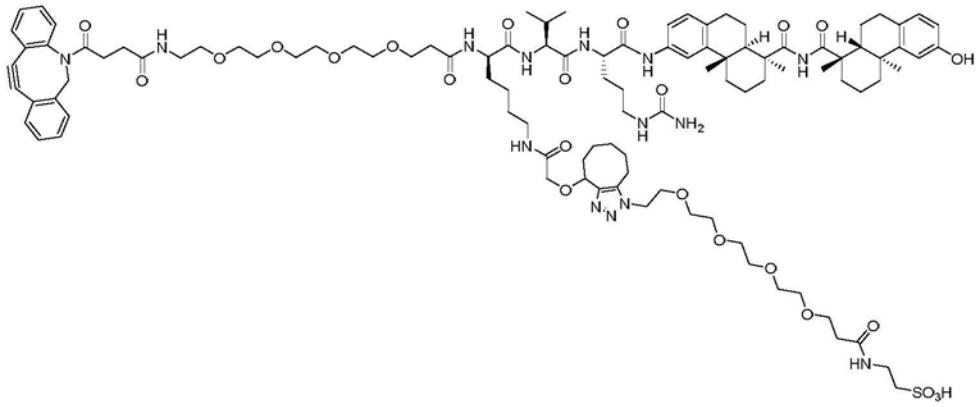


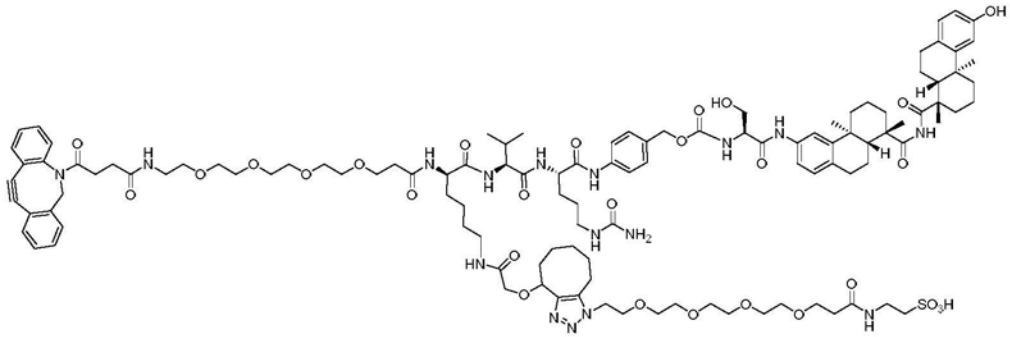


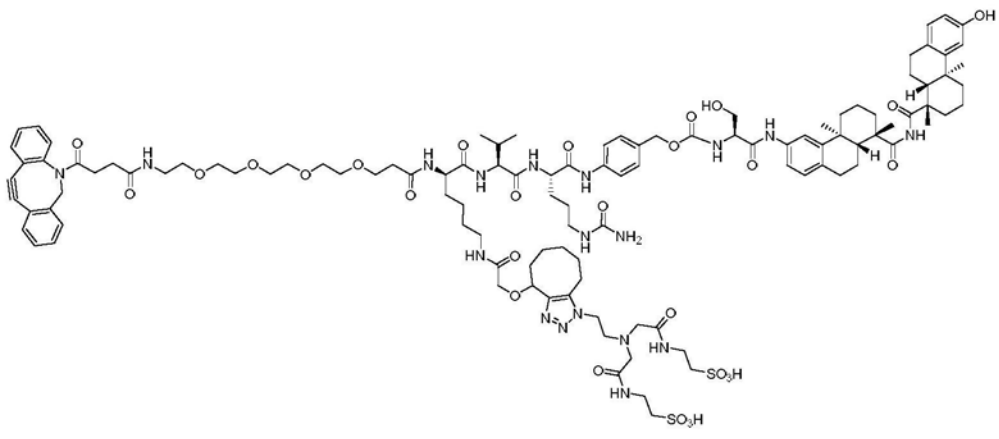


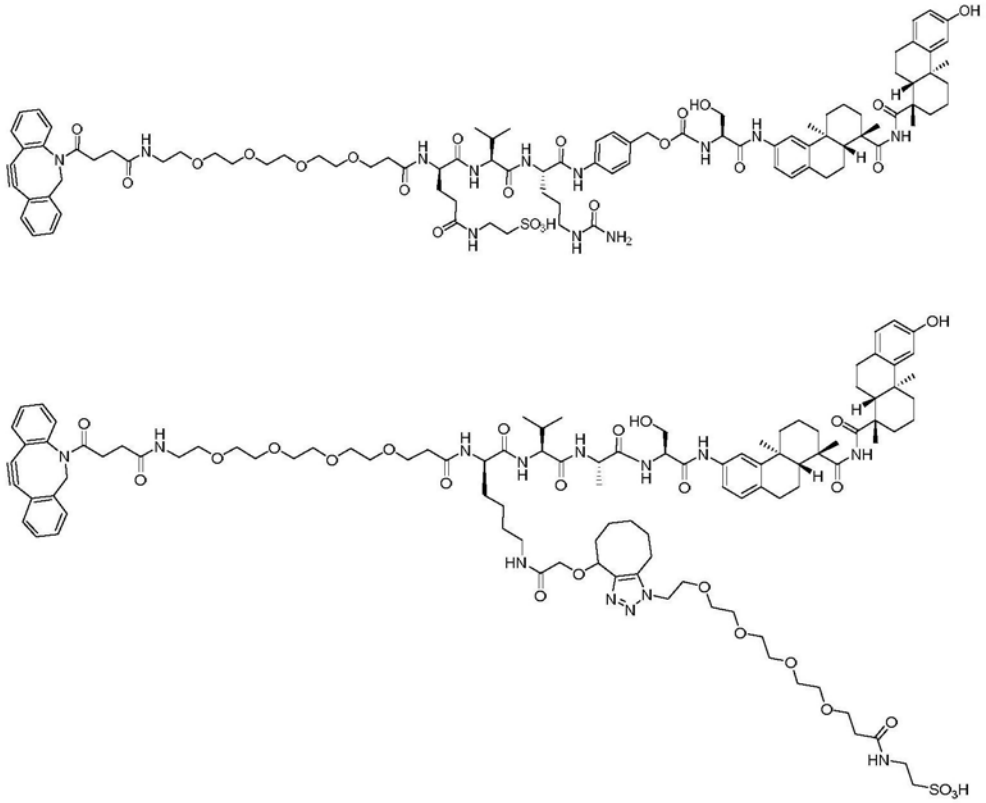


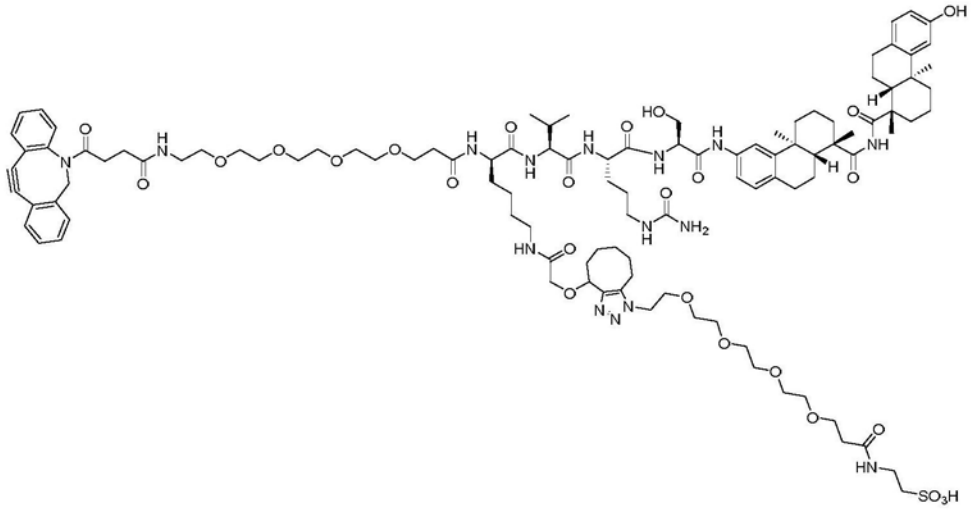










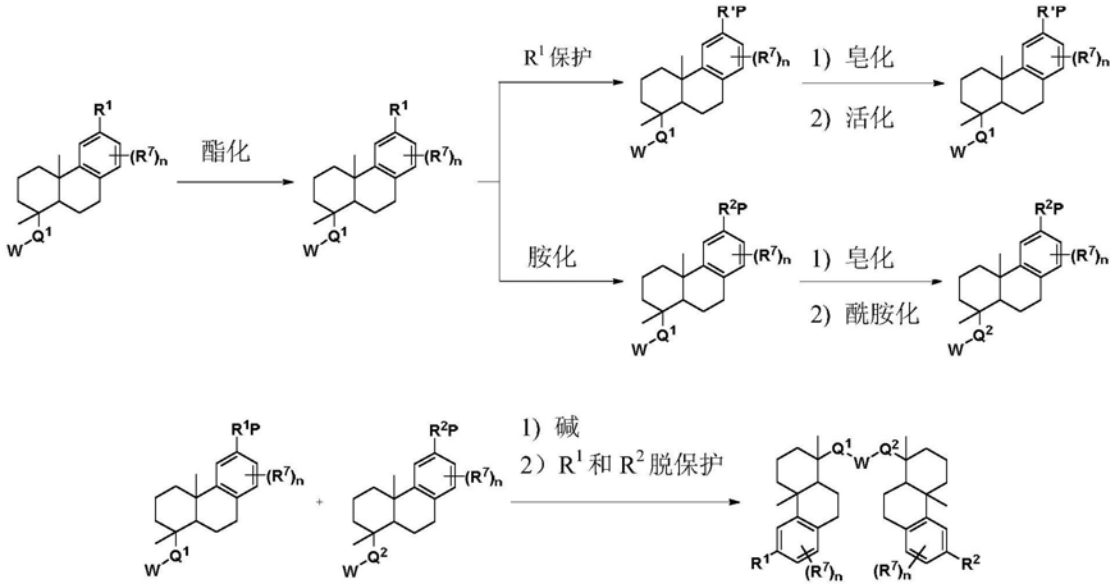


或其区域异构体或立体异构体形式、或其药学上可接受的盐、溶剂化物。

制备化合物的方法

[0192] 本发明提供的化合物可通过本领域技术人员显而易见的任何方法制备、分离或得到。在以下实施例中详细描述了示例性制备方法。在某些实施方案，本发明提供的化合物可根据合成方案A制备得到：

合成方案A.示例性制备方案

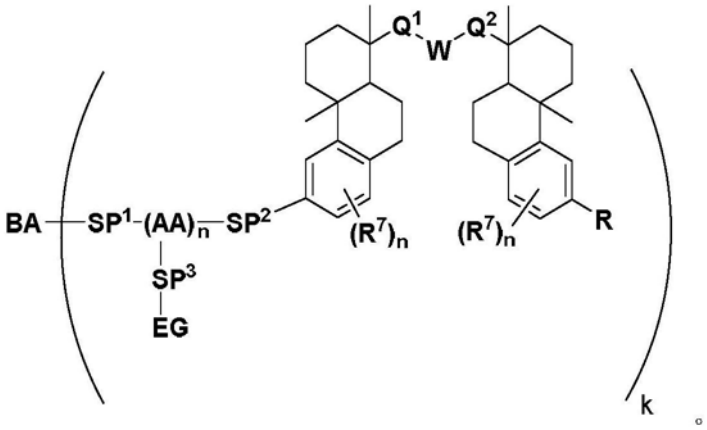


式I

[0193] 在示例性制备方案中，Q^1、Q^2、R^1、R^2、R^7、W和n均具有式(I)的上下文中所述定义。最初的酯化反应之后，要么保护R^1和/或将R^1胺化以生成R^2P。在保护R^1之后，对例如羧酸部分进行皂化和活化以提供具有Q^1的第一偶联配偶体。在对例如羧酸部分进行胺化、皂化和酰胺化之后，提供具有Q^2的第二偶联配偶体。分别将具有Q^1和Q^2的偶联配偶体进行连接，然后分别使R^1和R^2脱保护，以提供了式I所示化合物。在下述实施例中详细描述了示例性制备方法。

[0194] 在某些实施方案，一个或多个保护或脱保护步骤可包括在以上合成方案A的所述制备方法中。

[0195] 本发明所述的连接体-有效负载可通过一系列偶联步骤合成得到。



例如，右侧的有效负载可通过一种或多种标准偶联反应连接至SP^2。在有利的实施方案中，本发明所述的有效负载化合物包括可用于本发明所述的酰胺合成条件下偶联的游离氨基基团。$(AA)_n$的氨基酸可通过酰胺合成条件，例如肽合成条件，来进行添加。间隔基团SP^2可通过一种或多种标准偶联反应与$(AA)_n$连接。在有利的实施方案中，本发明所述的SP^2和$(AA)_n$基团包括可用于本发明所述的酰胺合成条件偶联的游离氨基或羧基基团。当存在时，间隔基团SP^3可通过一种或多种标准偶联反应与$(AA)_n$连接。在有利的实施方案，本发明所述的SP^3和$(AA)_n$基团包括可用于本发明所述的酰胺合成条件偶联的游离氨基或羧基基团。

[0196] 当存在间隔基团SP^3时，其以活性基团RG终止。所述活性基团可通过本领域技术人员认为合适的偶联条件与增强剂EG连接。在某些实施方案，间隔基团SP^3通过酰胺合成条件连接至增强剂EG。在某些实施方案，间隔基团SP^3通过点击化学连接至增强剂EG。在这些实施方案中，间隔基团SP^3以适于点击反应的活性基团(例如叠氮化物或炔烃)终止，和增强剂EG包含适于点击反应的互补活性基团，例如炔烃或叠氮化物。在优选实施方案，SP^3以张紧的炔烃终止，和EG包含叠氮化物；或SP^3以羧酸终止，和EG包含胺。当EG为环糊精基团部分时，所述环糊精可包含叠氮化物。叠氮基环糊精可以合成制备得到或从商业来源得到。当EG为磺酸基团部分时，EG的一个末端以磺酸基团终止，而另一个末端以伯胺或仲胺终止。

[0197] 本发明所述的偶联物可通过在标准偶联条件下将本发明所述的连接体-有效负载与结合剂(例如抗体)偶联来合成得到(参见例如，Doronina et al.Nature Biotechnology 2003,21,7,778，其通过引用其全部内容并入本发明)。当所述结合剂是抗体时，所述抗体可通过抗体的一个或多个半胱氨酸或赖氨酸残基偶联至连接体-有效负载。连接体-有效负载可以，例如通过使抗体经受还原剂(例如二硫苏糖醇)的作用以切割抗体的二硫键，例如通过凝胶过滤纯化所述还原的抗体，然后用含有合适的活性基团部分(例如马来酰亚胺基)的连接体-有效负载处理所述抗体，从而与半胱氨酸残基偶联。合适的溶剂包括但不限于水、DMA、DMF、和DMSO。含有活性基团例如活化的酯或酰基卤基团的连接体-有效负载可以与抗体的赖氨酸残基偶联。合适的溶剂包括但不限于水、DMA、DMF、和DMSO。偶联物可使用已知的蛋白质技术进行纯化，包括例如体积排除色谱法、透析法和超滤/渗滤法。

[0198] 结合剂，例如抗体，也可通过点击化学反应进行偶联。在所述点击化学反应的一些实施方案中，连接体-有效负载包括能够与叠氮化物进行1,3-环加成反应的活性基团，例如炔。此类合适的活性基团如上所述。所述抗体包括一个或多个叠氮基团。此类抗体包括用例如叠氮基-聚乙二醇基团官能化的抗体。在某些实施方案，此类官能化抗体通过在转谷氨酰胺酶存在下，用伯胺化合物处理具有至少一个谷氨酰胺残基(例如重链Gln295或Gln55)的抗体，进行衍生得到。在某些实施方案，此类官能化抗体通过在转谷氨酰胺酶存在下，用伯胺化合物处理具有至少一个谷氨酰胺残基(例如重链Gln297)的抗体，进行衍生得到。此类抗体包括Asn297Gln(N297Q)突变体。在某些实施方案，此类官能化抗体通过在转谷氨酰胺酶存在下，用伯胺化合物处理具有至少两个谷氨酰胺残基(例如重链Gln295和重链Gln297)的抗体，进行衍生得到。此类抗体包括Asn297Gln(N297Q)突变体。在某些实施方案，所述抗体具有如本段所述的两条重链，用于总共两个或总共四个谷氨酰胺残基。

[0199] 在某些实施方案，所述抗体在EU编号体系中在编号为295的一个或多个重链位置处包含谷氨酰胺残基。在本发明中，此位置称为谷氨酰胺295，或称为Gln295，或称为Q295。技术人员将认识到，这是许多抗体的野生型序列中的保守谷氨酰胺残基。在其他有用的实施方案中，可将所述抗体工程化以包含谷氨酰胺残基。修饰抗体序列以包括谷氨酰胺残基的技术是包含在本领域技术人员的技术范围内(参见例如，Ausubel et al.Current Protoc.Mol.Biol.)。

[0200] 在某些实施方案，所述抗体包含两个谷氨酰胺残基，每个重链中有一个。在特定实施方案，所述抗体在每个重链中包含Q295残基。在进一步的实施方案，所述抗体包含1、2、3、4、5、6、7、8个、或更多个谷氨酰胺残基。所述这些谷氨酰胺残基可在重链中、轻链中、或在重链和轻链两者中。示例性谷氨酰胺残基包括Q55。所述这些谷氨酰胺残基可以是野生型残

基、或工程化残基。所述抗体可根据标准技术制备得到。

[0201] 本领域技术人员将认识到，抗体通常在重链序列中的残基Q295附近的残基N297处进行糖基化。残基N297处的糖基化可干扰残基Q295处的转谷氨酰胺酶(Dennler et al.，同上)。因此，在有利的实施方案中，所述抗体未被糖基化。在某些实施方案，所述抗体进行去糖基化或无糖基化。在特定实施方案，所述抗体重链具有N297突变。换言之，所述抗体突变为在位置297不再具有天冬酰胺残基。在特定实施方案，抗体重链具有N297Q突变。此类抗体可通过定点诱变除去糖基化序列或使糖基化序列无效或通过定点诱变将谷氨酰胺残基插入位点而不会导致抗体功能或结合功能丧失，来制备得到。在一些实施方案，具有Q295残基和/或N297Q突变的抗体在其可变区中含有一个或多个另外的天然存在的谷氨酰胺残基，转谷氨酰胺酶可接近这些残基，因此所述这些残基能够与连接体或连接体-有效负载偶联。可在例如轻链的Q55处找到示例性天然存在的谷氨酰胺残基。在此种情况下，通过转谷氨酰胺酶偶联的抗体可具有高于预期的DAR值(例如，DAR高于4)。可从天然来源或人工来源中分离任何此类抗体。

[0202] 然后使不干扰糖基化的抗体与伯胺化合物反应。在某些实施方案，使无糖基化的抗体与伯胺化合物反应以生成谷氨酰胺基修饰的抗体。在某些实施方案，使去糖基化的抗体与伯胺化合物反应以生成谷氨酰胺基修饰的抗体。

[0203] 伯胺可以是在转谷氨酰胺酶存在下能够与谷氨酰胺残基形成共价键的任何伯胺。有用的伯胺如下所述。所述转谷氨酰胺酶可以是本领域技术人员认为合适的任何转谷氨酰胺酶。在某些实施方案，所述转谷氨酰胺酶是催化伯胺化合物上的游离胺基团与谷氨酰胺残基侧链上的酰基基团之间的异肽键形成的酶。转谷氨酰胺酶也称为蛋白质-谷氨酰胺-γ-谷氨酰转移酶。在特定实施方案，所述转谷氨酰胺酶被分类为EC2.3.2.13。所述转谷氨酰胺酶可以来自认为合适的任何来源。在某些实施方案，所述转谷氨酰胺酶是微生物。有用的转谷氨酰胺酶已从茂原链轮丝菌(Streptomyces mobaraense)、肉桂链霉菌(Streptomyces cinnamoneum)、灰肉链霉菌(Streptomyces griseo-carneum)、淡紫灰链霉菌(Streptomyces lavendulae)和枯草芽孢杆菌(Bacillus subtilis)中分离得到。也可使用非微生物的转谷氨酰胺酶，包括哺乳动物的转谷氨酰胺酶。在某些实施方案，所述转谷氨酰胺酶可通过任何技术生成或从本领域技术人员认为合适的任何来源得到。在特定实施方案，所述转谷氨酰胺酶得自商业来源。

[0204] 在特定实施方案，所述伯胺化合物包含能够在转谷氨酰胺化之后进一步反应的活性基团。在所述这些实施方案中，可将谷氨酰胺基修饰的抗体与活性有效负载化合物或活性连接体-有效负载化合物反应或用活性有效负载化合物或活性连接体-有效负载化合物处理以形成抗体-有效负载偶联物。在某些实施方案，所述伯胺化合物包含叠氮化物。

[0205] 在某些实施方案，将谷氨酰胺基修饰的抗体与活性连接体-有效负载反应或用活性连接体-有效负载处理以形成抗体-有效负载偶联物。所述反应可在本领域技术人员认为合适的条件下进行。在某些实施方案，使谷氨酰胺基修饰的抗体与活性连接体-有效负载化合物在适于在谷氨酰胺基修饰的抗体与连接体-有效负载化合物之间形成键的条件下接触。合适的反应条件是本领域技术人员周知的。

[0206] 示例性反应提供在以下实施例中。

药物组合物和治疗方法

[0207] 本发明提供了治疗和预防疾病、病况或病症的方法，其包含施用治疗或预防有效量的本发明公开的一种或多种化合物，例如本发明提供的通式的一种或多种化合物。疾病、病症和/或病况包括但不限于与本发明所列抗原相关的那些。

[0208] 本发明所述的化合物可以单独施用或与一种或多种其他治疗剂一同施用。可在施用本发明所述化合物之前、同时或之后不久施用一种或多种其他治疗剂。本发明还包括药物组合物，其包含任何本发明所述化合物与一种或多种其他治疗剂组合，以及治疗方法，所述方法包含向有需要的受试者施用此类组合。

[0209] 合适的其他治疗剂包括但不限于：第二糖皮质激素，自身免疫治疗剂，激素，生物药，或单克隆抗体。合适的治疗剂还包括但不限于本发明所述化合物的任何药学上可接受的盐类、酸类或衍生物类。

[0210] 在本发明所述方法的一些实施方案中，可在限定的时间疗程中向受试者施用多剂量的本发明所述化合物(或包含本发明所述化合物和本发明提及的任何其他治疗剂的组合的药物组合物)。根据本发明内容的此方面的方法包括向受试者依次施用多剂量的本发明所述化合物。本发明使用的“依次施用”是指在不同的时间点，例如在以预定间隔(例如，小时、天、周、或月)隔开的不同天，将化合物的每个剂量施用于受试者。本发明包含以下方法，所述方法包含依次向患者施用单一初始剂量的本发明所述化合物，随后施用一个或多个二次剂量的所述化合物，以及任选地后续施用一个或多个三次剂量的所述化合物。

[0211] 术语“初始剂量”，“二次剂量”，和“三次剂量”是指本发明所述化合物的给药时间顺序。因此，“初始剂量”是在治疗方案开始时给药的剂量(也称为“基线剂量”)；“二次剂量”是在所述初始剂量给药后施用的剂量；和“三次剂量”是在所述二次剂量给药后施用的剂量。所述初始、二次和三次剂量均可含有相同量的本发明化合物，但通常可在给药频率方面彼此不同。在一些实施方案，在治疗过程中，所述初始、二次和/或三次剂量中所含的化合物的量彼此变化(例如，酌情上调或下调)。在一些实施方案，在治疗方案开始时，将两种或更多种(例如，2、3、4或5种)剂量施用为“负荷剂量”，随后以较不频繁的方式施用后续剂量(例如“维持剂量”)。

[0212] 在本发明所述的一些示例性实施方案中，每个二次和/或三次剂量在紧随前述剂量之后进行给药1至26周(例如，1、$1^1/_2$、2、$2^1/_2$、3、$3^1/_2$、4、$4^1/_2$、5、$5^1/_2$、6、$6^1/_2$、7、$7^1/_2$、8、$8^1/_2$、9、$9^1/_2$、10、$10^1/_2$、11、$11^1/_2$、12、$12^1/_2$、13、$13^1/_2$、14、$14^1/_2$、15、$15^1/_2$、16、$16^1/_2$、17、$17^1/_2$、18、$18^1/_2$、19、$19^1/_2$、20、$20^1/_2$、21、$21^1/_2$、22、$22^1/_2$、23、$23^1/_2$、24、$24^1/_2$、25、$25^1/_2$、26、$26^1/_2$、或更多)。本发明使用的短语“紧随前述剂量”是指在多次给药的序列中，在施用紧邻下一个剂量之前，对患者施用本发明化合物的剂量，在所述给药序列中不存在干预剂量。

[0213] 本发明此方面的方法可包含向患者施用任何数量的二次和/或三次剂量的本发明化合物。譬如，在一些实施方案，仅向患者施用单次二次剂量。在其他实施方案，向患者施用两次或更多次(例如，2、3、4、5、6、7、8或更多次)二次剂量。同理，在一些实施方案，仅向患者施用单次的三次剂量。在其他实施方案，向患者施用两次或更多次(例如，2、3、4、5、6、7、8或更多次)三次剂量。给药方案可在特定受试者的寿命期内无限期地进行，或者直至此种治疗不再是治疗需要或有利的。

[0214] 在涉及多个二次剂量的实施方案中，每个二次剂量可以与其他二次剂量相同的频率施用/给药。譬如，每个二次剂量可在紧随前述剂量之后，对患者进行给药1至2周或1至2

个月。同理，在涉及多个三次剂量的实施方案中，每个三次剂量可以与其他三次剂量相同的频率施用/给药。譬如，每个三次剂量可在紧随前述剂量之后，对患者进行给药2至12周。在本发明的一些实施方案中，向患者施用二次和/或三次剂量的频率可在治疗方案的过程中变化。也可根据临床检查后的个体患者的需要，由医师在治疗过程中调整给药频率。

[0215] 本发明包括其中以第一频率(例如，每周一次，每两周一次，每三周一次，每月一次，每两个月一次等)向患者施用2至6次负荷剂量，然后以较不频繁的方式向患者施用两次或更多次维持剂量的给药方案。例如，根据本发明的此方面，如果以每月一次的频率施用负荷剂量，那么维持剂量可以每6周施用一次，每两个月施用一次，每三个月施用一次等。

[0216] 本发明包括本发明所述化合物和/或偶联物如式I、Ia、Ib、A、Aa、或Ab所示化合物的药物组合物，譬如，组合物包含本发明所述化合物、其盐、立体异构体、多晶型物，和药学上可接受的载体、稀释剂、和/或辅料。合适的载体、稀释剂和辅料的实例包括，但不限于：用于维持适当组合物pH值的缓冲剂类(例如，柠檬酸盐缓冲液、琥珀酸盐缓冲液、乙酸盐缓冲液、磷酸盐缓冲液、乳酸盐缓冲液、草酸盐缓冲液等)，载体蛋白类(如人血清白蛋白)，盐水，多元醇类(例如，海藻糖、蔗糖、木糖醇、山梨糖醇等)，表面活性剂类(例如，聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯80、聚氧乙烯酸酯(polyoxolate)等)，抗微生物剂类，和抗氧化剂类。

[0217] 在一些实施例，本发明提供了治疗疾病、病症或病况的方法，包括向患有所述病症的患者施用治疗有效量的式I、Ia、Ib、A、Aa、或Ab的化合物或其药物组合物。

[0218] 在一些实施例，本发明提供了预防疾病、病症或病况的方法，包括向患有所述病症的患者施用预防有效量的式I、Ia、Ib、A、Aa、或Ab的化合物或其药物组合物。

[0219] 在一些实施例，本发明阐述了用于治疗或预防响应于LXR信号传导调节的任何疾病、病症或病况的方法。在一些实施例，所述疾病或病症与LXR功能、LXR多态性、LXR激动剂活性、或LXR拮抗剂活性有关。在一些实施例，本发明阐述了治疗或预防选自由以下组成的组的疾病、病症或病况：增殖性疾病，神经退行性疾病，免疫疾病，自身免疫性疾病，炎性疾病，皮肤病，代谢性疾病，心血管疾病和胃肠道疾病。

[0220] 所述增殖性疾病可以是技术人员已知的任何增殖性疾病。在某些实施方案，所述增殖性疾病包括但不限于肿瘤学疾病，其中所述肿瘤学疾病可以是技术人员已知的任何癌症疾病。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防黑素瘤的方法。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防转移性黑素瘤的方法。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防肺癌的方法。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防EGFR-酪氨酸激酶抑制剂抗性肺癌的方法。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防口腔癌的方法。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防口腔鳞状细胞癌的方法。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防前列腺癌的方法。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防霍奇金淋巴瘤的方法。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防乳腺癌的方法。

[0221] 所述神经退行性疾病可以是技术人员已知的任何神经退行性疾病。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防阿尔茨海默病的方法。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防帕金森病的方法。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防亨廷顿病的方法。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防肌萎缩性侧索硬化症的方法。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防髓磷脂基因表达的方法。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防髓鞘化和再髓鞘化病况、疾病或病症的方法。

[0222] 所述免疫疾病可以是技术人员已知的任何免疫疾病。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防炎症性肠病的方法。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防溃疡性结肠炎的方法。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防克罗恩病的方法。

[0223] 所述炎性疾病可以是技术人员已知的任何炎性疾病。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防关节炎的方法。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防类风湿性关节炎的方法。

[0224] 所述代谢性疾病可以是技术人员已知的任何代谢性疾病。在某些实施方案，所述代谢性疾病是血脂异常。血脂异常可以是本领域技术人员已知的任何血脂异常。在某些实施方案，所述血脂异常选自由以下组成的组：高脂血症，高胆固醇血症，高甘油三酯血症，高脂蛋白血症，HDL缺乏症，ApoA-I缺乏症，和心血管疾病例如冠状动脉疾病(包括，例如，治疗和预防心绞痛、心肌梗塞、和心源性猝死)；动脉粥样硬化(包括，例如，治疗和预防动脉粥样硬化)；和再狭窄(包括，例如，预防或治疗由于诸如气囊血管成形术之类的医疗程序而形成的动脉粥样硬化斑块)。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防糖尿病的方法。

[0225] 所述心血管疾病可以是技术人员已知的任何心血管疾病。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防动脉粥样硬化的方法。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防源自异常巨噬细胞加工的动脉粥样硬化的方法。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防源自氧化的低密度脂蛋白(oxLDL)形成的动脉粥样硬化的方法，其中巨噬细胞不能加工氧化的低密度脂蛋白(oxLDL)。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防缺血性心脏病的方法。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防中风的方法。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防高血压性心脏病的方法。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防主动脉瘤的方法。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防心内膜炎的方法。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防外周动脉疾病的方法。在某些实施方案，本发明提供了治疗或预防本段提供的任何疾病的组合的方法。

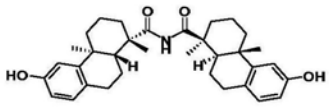
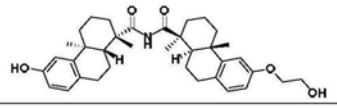
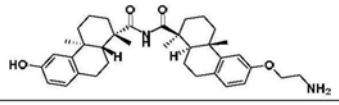
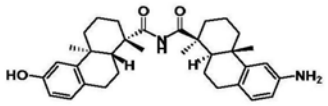
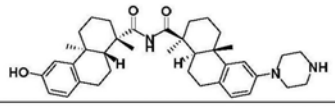
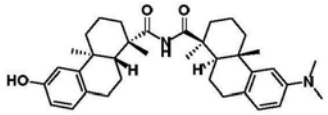
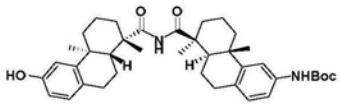
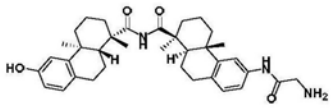
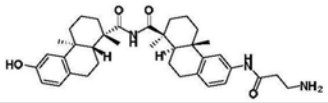
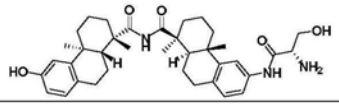
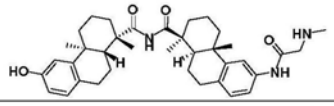
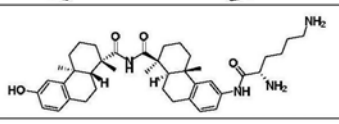
[0226] 在一些实施例，本发明阐述了调节核受体功能的方法。通过非限制性实例，所述功能可选自炎性介质(例如细胞因子、趋化因子)的表达/分泌，胆固醇调节，胆固醇摄入，胆固醇外排，胆固醇氧化、迁移、趋化性，细胞凋亡和坏死，炎性活性，脂质调节，细胞凋亡、迁移、趋化性，基因转录，和蛋白质表达。

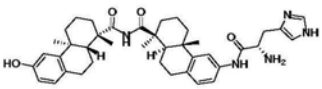
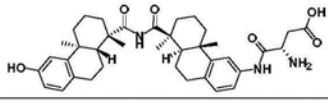
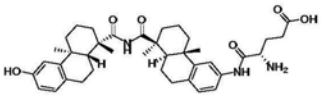
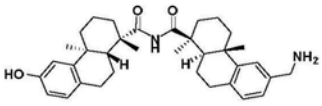
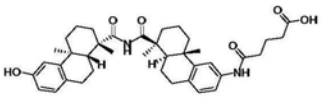
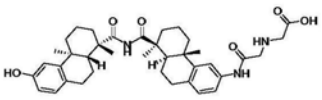
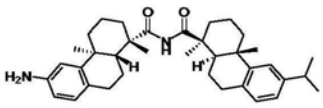
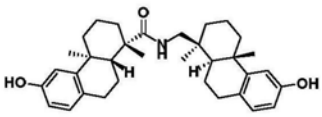
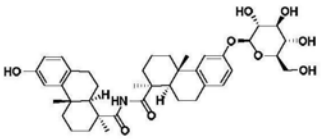
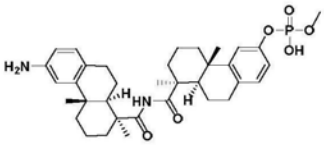
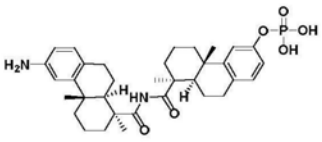
实施例

[0227] 本发明提供了新的双八氢菲羧酰胺类化合物，其蛋白质偶联物，以及用于治疗疾病、病症和病况的方法，包括施用所述双八氢菲羧酰胺类化合物和偶联物。

[0228] 在一些实施例，式(I)所示化合物是表1中鉴定的化合物。

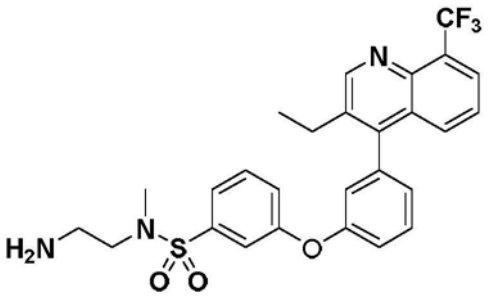
表1.有效负载列表

化合物编号#	结构式	MF	MW
9a		$C_{34}H_{43}NO_4$	529.71
9b		$C_{36}H_{47}NO_5$	573.76
9c		$C_{36}H_{48}N_2O_4$	695.85
9d		$C_{34}H_{44}N_2O_3$	528.72
9e		$C_{38}H_{51}N_3O_3$	694.85
9f		$C_{36}H_{48}N_2O_3$	556.78
9g		$C_{39}H_{52}N_2O_5$	628.85
9h		$C_{36}H_{47}N_3O_4$	585.78
9i		$C_{37}H_{49}N_3O_4$	599.80
9j		$C_{37}H_{49}N_3O_4$	615.80
9k		$C_{37}H_{49}N_3O_4$	599.37
9l		$C_{40}H_{56}N_4O_4$	656.43

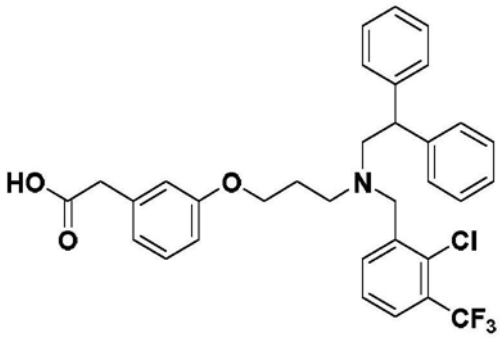
化合物编号#	结构式	MF	MW
9m		$C_{40}H_{51}N_5O_4$	665.39
9n		$C_{38}H_{49}N_3O_6$	643.81
9o		$C_{39}H_{51}N_3O_6$	657.38
9p		$C_{35}H_{46}N_2O_3$	542.35
9q		$C_{39}H_{50}N_2O_6$	642.82
9r		$C_{38}H_{49}N_3O_6$	643.83
9t		$C_{37}H_{50}N_2O_2$	554.81
9u		$C_{34}H_{45}NO_3$	515.73
15b		$C_{40}H_{53}NO_9$	691.85
17b		$C_{34}H_{45}N_2O_6P$	608.70
17c		$C_{35}H_{47}N_2O_6P$	622.73

[0229] 参照化合物：

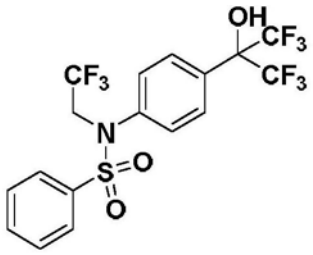
化合物31的结构式



GW3965的结构式

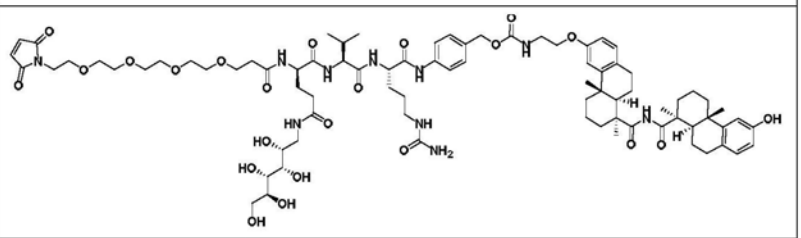


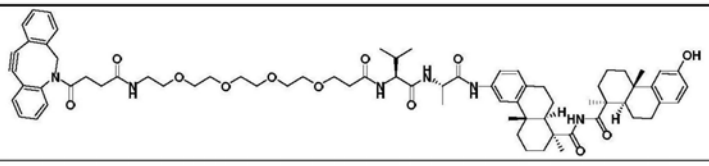
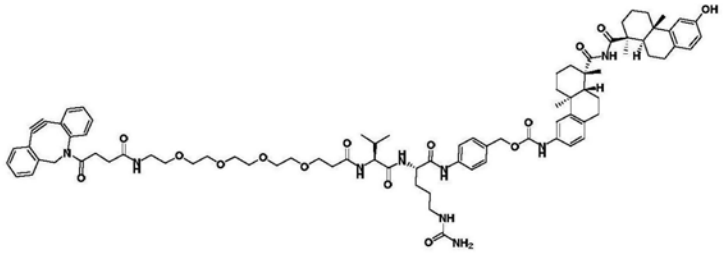
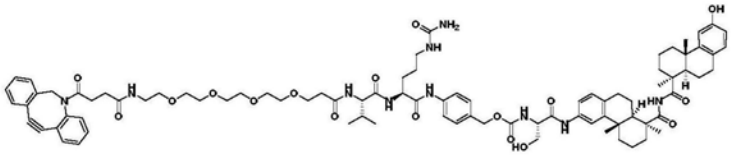
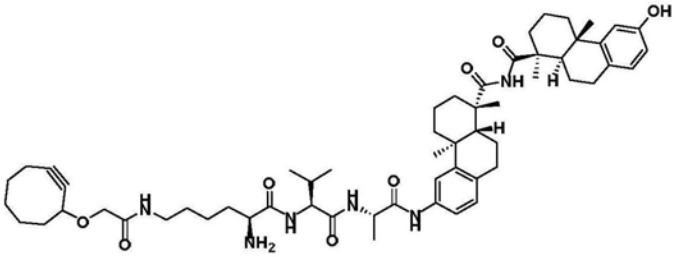
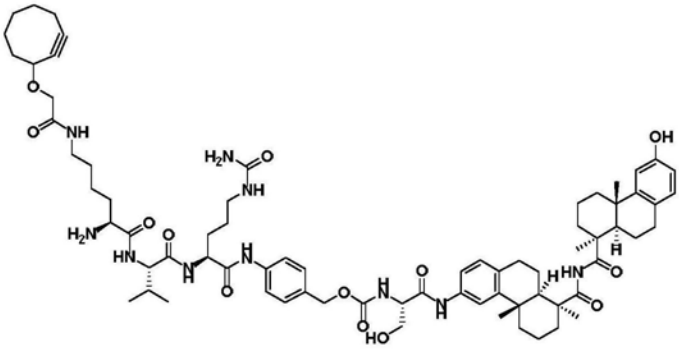
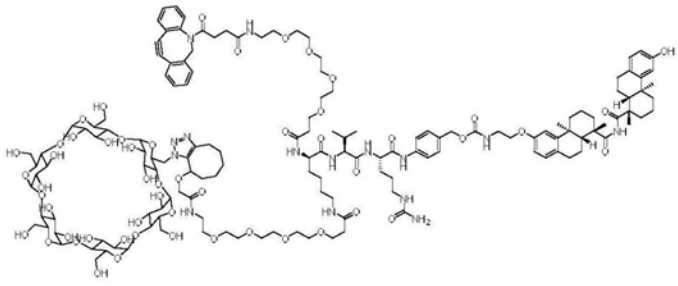
T0901317的结构式

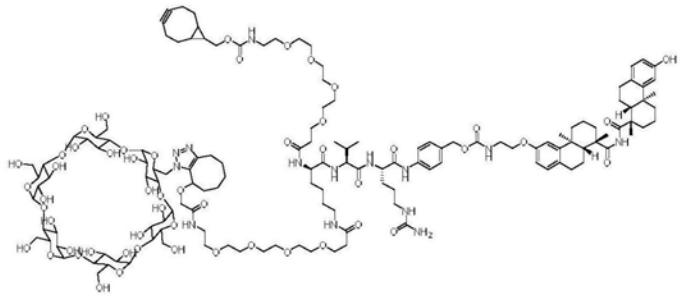
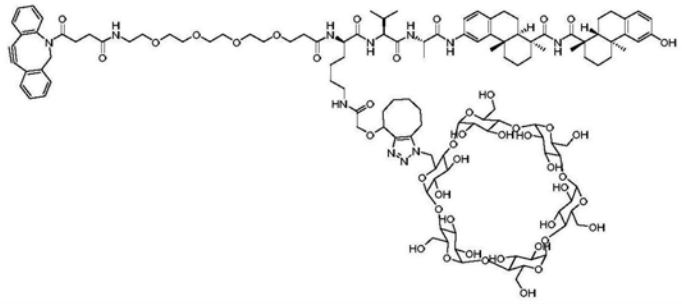
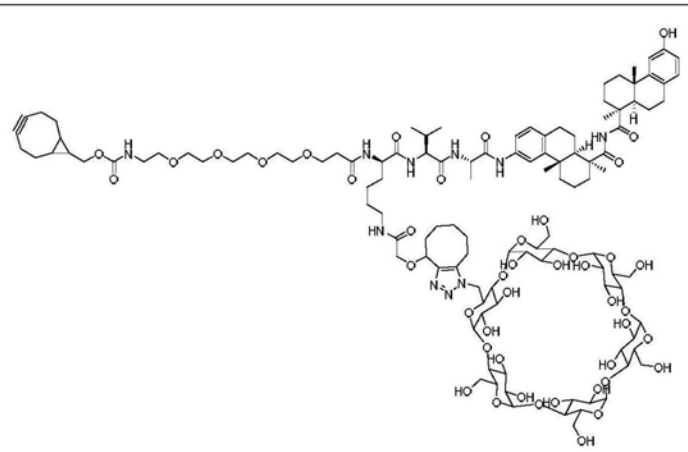
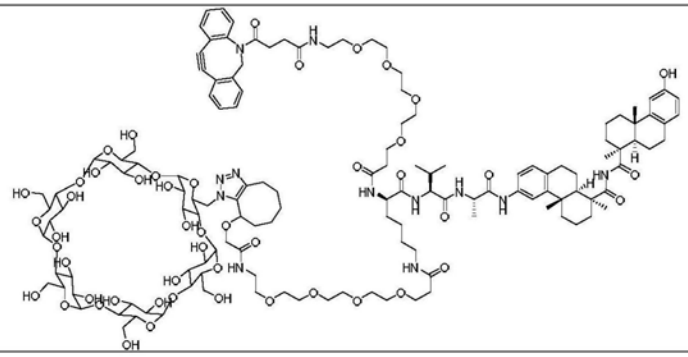


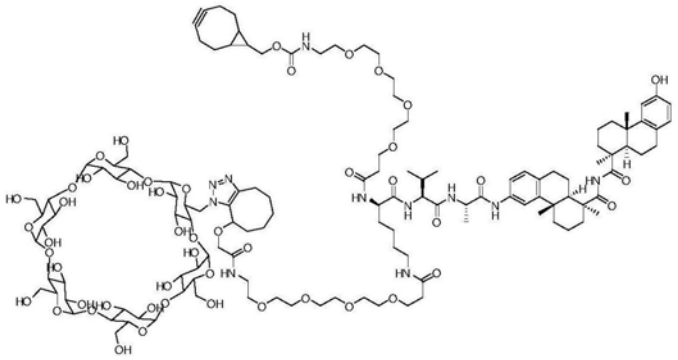
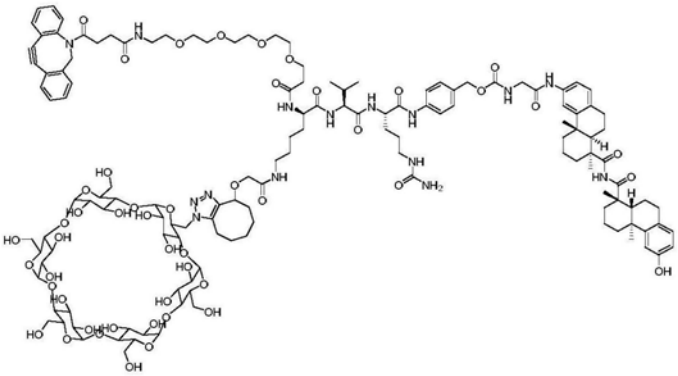
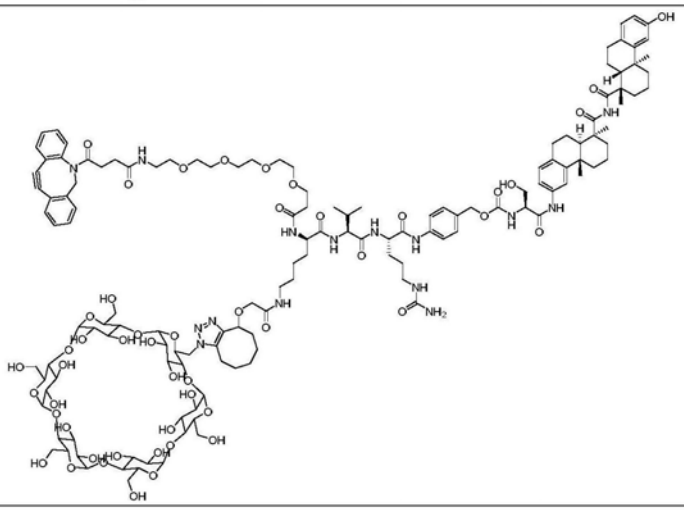
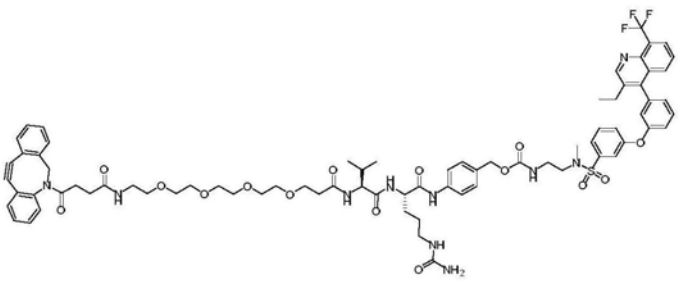
[0230] 本发明的连接体-有效负载的实例包括但不限于以下表2中所述的那些。

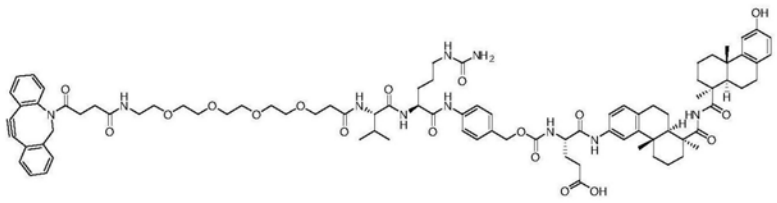
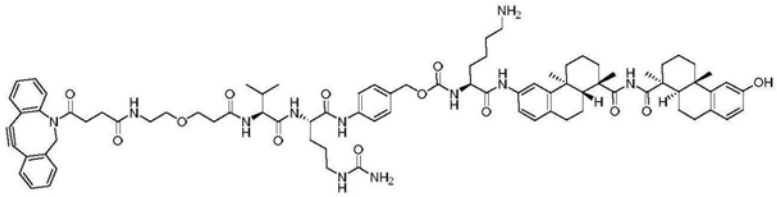
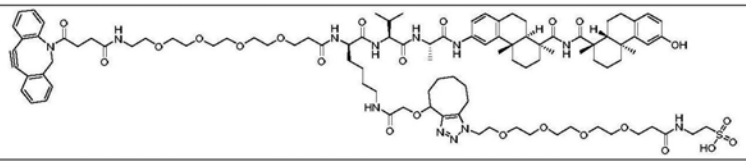
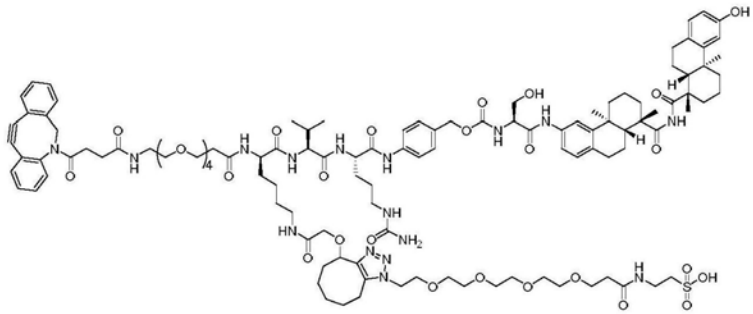
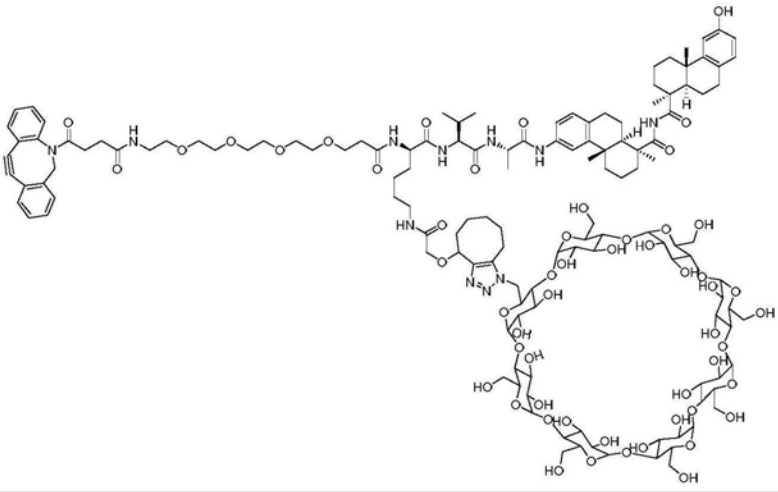
表2.连接体-有效负载列表

	化合物编号#	结构式
LP1	24c	

LP2	22d1	
LP3	22d2	
LP4	22j	
LP5	27d1	
LP15	27j	
LP6	29c1	

LP7	29c2	
LP8	29d1	
LP9	29d2	
LP10	29d3	

LP11	29d4	
LP12	29h	
LP13	29j	
LP14	33	

LP39	–	
LP311	–	
LP18	–	
LP36	–	
LP32	–	

[0231] 通过以下非限制性实施例来阐明本发明的某些实施方案。

[0232] 除非另有明确说明,否则试剂和溶剂均得自商业来源,例如国药集团化学试剂有限公司(Sinopharm Chemical Reagent Co.(SCRC))、Sigma-Aldrich、Alfa或其他供应商。

[0233] 在Bruker AVIII 400或Bruker AVIII 500上记录^{1}H NMR和其他NMR光谱。用Nuts软件或MestReNova软件处理数据,测定内标四甲基硅烷(TMS)低磁场的质子位移百万分率(ppm)。

[0234] HPLC-MS测定在Agilent 1200 HPLC/6100 SQ系统上运行,使用以下条件:

[0235] 用于HPLC-MS测定的方法A包括作为流动相:A:水(0.01%三氟乙酸TFA)和B:乙腈

(0.01％TFA)；梯度相：在15分钟(min)的时间段内，由5％的B增加至95％的B；流速：1.0mL/min；色谱柱SunFire C18，4.6x50mm，3.5μm；柱温：50℃。检测器：模数转换器(ADC)蒸发光散射检测器(ELSD)，二极管阵列检测器(DAD)(214nm和254nm)电喷雾电离-大气压电离(ES-API)。

[0236] 用于HPLC-MS测定的方法B包括作为流动相：A：水(10mM NH_4HCO_3)和B：乙腈；梯度相：在15分钟(min)内由5％增加至95％的B；流速：1.0mL/min；色谱柱：XBridge C18，4.6x50mm，3.5μm；柱温：50℃。检测器：ADC ELSD，DAD(214nm和254nm)，质量选择检测器(MSD)(ES-API)。

[0237] LC-MS测定在Agilent 1200 HPLC/6100 SQ系统上运行，使用以下条件：

[0238] 用于LC-MS测定的方法A包含在WATERS 2767仪器上进行；色谱柱：Shimadzu Shim-Pack，PRC-ODS，20x250mm，15μm，两个串联连接；流动相：A：水(0.01％TFA)，B：乙腈(0.01％TFA)；梯度相：在3分钟内由5％的B增加至95％的B；流速：1.8-2.3mL/min；色谱柱：SunFire C18，4.6x50mm，3.5μm；柱温：50℃；检测器：ADC ELSD，DAD(214nm和254nm)，ES-API。

[0239] 用于LC-MS测定的方法B包括在Gilson GX-281仪器上进行。色谱柱：Xbridge Prep C18 10um OBD，19x250mm；流动相：A：水(10mM NH_4HCO_3)，B：乙腈；梯度相：在3分钟内由5％的B增加至95％的B；流速：1.8-2.3mL/min；色谱柱：XBridge C18，4.6x50mm，3.5μm；柱温：50℃。检测器：ADC ELSD，DAD(214nm和254nm)，MSD(ES-API)。

[0240] 在Gilson GX-281仪器上以酸性或碱性溶剂体系进行制备型高压液相色谱(制备型HPLC)。所述酸性溶剂体系采用Waters SunFire 10μm C18柱(100 Å，250x19mm)，和用于制备型HPLC的溶剂A是水/0.05％TFA，溶剂B是乙腈。洗脱条件是线性梯度，其在20分钟的时间段内以30mL/min的流速，从5％的溶剂B增至100％的溶剂B。碱性溶剂体系包括Waters Xbridge 10μm C18柱(100 Å，250x19mm)，和用于制备型HPLC的溶剂A是水/10mM碳酸氢铵(NH_4HCO_3)，溶剂B是乙腈。洗脱条件是线性梯度，其在20分钟的时间段内以30mL/min的流速，从5％的溶剂B增至100％的溶剂B。

[0241] 使用Agela Flash Column silica-CS柱在Biotage仪器上进行快速色谱法。除非另有明确说明，否则在Biotage仪器上使用Boston ODS或Agela C18柱进行反相快速色谱法。

[0242] 如本发明使用的，无论是否具体定义了特定的缩写，所述这些方法、方案和实施例中使用的符号和惯例均与当代科学文献(例如，《美国化学学会杂志》或《生物化学杂志》)中使用的那些一致。具体但不限于，以下缩写可用于实施例和整个说明书：

缩写词	术语
ADC	抗体–药物偶联物
无糖基化抗体（Aglycosylated antibody）	抗体不含任何聚糖
API	大气压电离
aq	水溶液
Boc	N–叔丁氧基羰基
BupH™	Thermo Scientific Prod# 28372，除非另有说明，否则包含 100 mM 磷酸钠和 150 mM 氯化钠，不含钾，pH 值从 7.2 调节至 7.6-7.8 MQ
CD	环糊精
COT	环辛炔醇（Cyclooctynol）
Da	道尔顿
DAD	二极管阵列检测器
DAR	药物与抗体的比值
DCM	二氯甲烷
DIBAC	11,12–二脱氢–5,6–二氢–二苯并[*b*,*f*]吖辛因
DIBAC–Suc	11,12–二脱氢–5,6–二氢–二苯并[*b*,*f*]吖辛因 琥珀酰胺酸
DIBAC–Suc–PEG4–VC–pAB–PNP	{4–[(2S)–2–[(2S)–2–[1–(4–{2– 氮 杂 三 环 [10.4.0.0^{4,9}] 十 六 碳 –1(12),4(9),5,7,13,15– 六 烯 –10– 炔 –2– 基 }–4– 氧 丁 酰 胺 基)–3,6,9,12–四氧杂十五烷–15–酰胺基]–3–甲基丁酰胺基]–5–(氨基甲酰基氨基)戊酰胺基]苯基}甲基 4–硝基苯基碳酸酯
DIBACT	3*H*–苯并[*c*]–1,2,3–三唑并[4,5–*e*][1]苯并吖辛因，8,9–二氢–
DIPEA	二异丙基乙胺
DMF	N,N–二甲基甲酰胺
DMSO	二甲亚砜
EC	酶学委员会
ELSD	蒸发光散射检测器

缩写词	术语
ESI	电喷雾电离
Fmoc	N-(9-芴基甲氧基羰基)
Fmoc–vcPAB–PNP	N–Fmoc–L–缬氨酸–L–瓜氨酸–p–氨基苄醇 p–硝基苯基碳酸酯
g	克
HATU	2–(7–氮杂–1H–苯并三唑–1–基)–1,1,3,3–四甲基脲六氟磷酸盐
HC	免疫球蛋白重链
HEK	人胚肾（细胞）
HPLC	高效液相色谱
hr, h, 或 hrs	小时
LC	免疫球蛋白轻链
LCh	液相色谱
MALDI	基质辅助的激光解吸/电离
MC	马来酰亚胺基己酰基
mg	毫克
min	分钟
mL	毫升
mmh	*myc–myc*–六组氨酸标签
μL	微升
mM	毫摩尔
μM	微摩尔
MMAE	单甲基奥瑞他汀 E（auristatin E）
MS	质谱
MsCl	甲磺酰氯
MSD	质量选择检测器
MTG	微生物转谷氨酰胺酶(MTG EC 2.3.2.13, Zedira, 达姆施塔特（Darmstadt），德国（Germany）)
MW	分子量
ncADC	非细胞毒性抗体药物偶联物

缩写词	术语
NHS	N–羟基琥珀酰亚胺
nM	纳摩尔
NMR	核磁共振
NOESY	二维 NOE 谱/核奥佛好塞（Overhauser）效应磁共振光谱
PAB	对氨基苄氧基(羰基)
PBS	10 mM 磷酸钠缓冲液和 150 mM 氯化钠
PBSg	10 mM 磷酸盐，150 mM 氯化钠，5%甘油
PEG	聚乙二醇
PNP	对硝基苯基
MC–VC–PAB–PNP	马来酰亚胺基己酰基–L–缬氨酸–L–瓜氨酸–p–氨基苄醇 p–硝基苯基碳酸酯
ppm	百万分率（化学位移，δ）
RP	反相
rt 或 RT	室温
SDS–PAGE	十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳
SEC	体积排除色谱/尺寸排阻色谱
Suc	琥珀酸
TCEP	三(2-羧乙基)膦 盐酸盐
TEA	三乙胺
TMS	四甲基硅烷
TFA	三氟乙酸
TG	转谷氨酰胺酶/谷氨酰胺转移酶
THF	四氢呋喃
TOF	飞行时间
UPLC	超高效液相色谱
UV	紫外
VA	缬氨酸–丙氨酸
VC	缬氨酸–瓜氨酸

缩写词	术语
VC–PAB	缬氨酸–瓜氨酸–对氨基苄氧基(羰基)

制备方法

实施例1

[0243] 本实施例说明了合成上述表1中的罗汉松衍生物9a至9r,9t和9u的一般方法。本实施例涉及图1中编号为1至9a-p的化合物。

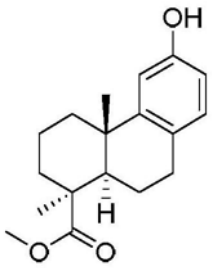
[0244] 在图1中,起始物料罗汉松酸1最初于1873年在植物树脂中发现,后来报道又从罗汉松(Podocarpus)的几种物种得到(参见例如,J.Chem.Soc.1938,1006-1013)。先前已报道了由罗汉松酸1合成化合物4(参见例如,Bioorg.Med.Chem.Lett.2005,15,2824;Bioorg.Med.Chem.Lett.2005,15,4574)。酰氯6a是由4用亚硫酰氯处理而制得;并由4用5处理制得活性酯6b。通过用酰氯6a或活化酯6b处理酰胺7a,合成对称的酰亚胺8a,然后通过氢化使其脱苄基,得到酰亚胺9a。同理,不对称酰亚胺8b-e和8g是由酰胺7b-g与活化酯6b或酰氯6a的偶联反应合成得到。与对称酰亚胺8a的收率相比,由6a制得的不对称酰亚胺8b-e和8g的收率较低,但使用活化酯6b的8b-e和8g的收率从约40%增至50-85%。

[0245] 通过分别对相应的保护基团,即8a中的Bn,8b中的TBS,或8c、8d和8e中的Boc的脱保护作用,由8a-e得到酰亚胺类化合物9a-e。N,N-二甲基化的类似物9f是由8d在甲醇中进行氢化作用以除去苄基基团而同时使苯胺氮进行N,N-二甲基化而得到;N-Boc类似物9g由8d进行脱苄基作用而得到。化合物9h-o是由9d与氨基酸衍生物在HATU和DIPEA存在下进行酰胺偶联反应,然后在DCM中用10-25%TFA对Boc基团进行脱保护,或者在有机溶剂中用20%哌啶对Fmoc基团进行脱保护从而得到。9d与Fmoc-Gly-OH进行酰胺偶联反应,随后使Fmoc脱保护,得到9h;9d与Boc-β-Ala-OH进行酰胺偶联反应,随后使Boc脱保护,得到9i;9d与Boc-Ser-OH进行酰胺偶联反应,随后使Boc脱保护,得到9j;9d与Boc-Sar-OH进行酰胺偶联反应,随后使Boc脱保护,得到9k;9d与Boc-Lys(Boc)-OH进行酰胺偶联反应,随后使Boc脱保护,得到9l;9d与Boc-His-OH进行酰胺偶联反应,随后使Boc脱保护,得到9m;9d与oc-Asp-OtBu进行酰胺偶联反应,随后使Boc和-OtBu脱保护,在一锅中得到9n;和9d与Boc-Glu-OtBu进行酰胺偶联反应,随后使Boc和-OtBu脱保护,在一锅中得到9o。化合物9p是在LiHMDS存在下由7g与6b进行酰胺偶联反应形成8g,然后由雷尼镍(Raney Nickel)催化将腈还原为胺,然后用三溴化硼(BBr_3)脱苄基从而合成得到。化合物9q由9d与戊二酸酐进行酰胺偶联反应得到。化合物9r由9d与Boc-亚氨基二乙酸进行酰胺偶联反应,然后进行Boc脱保护而得到。化合物9t由7d与脱氢松香酸(Cas号为1740-19-8)的活化酯进行酰胺偶联反应,然后进行Boc脱保护而得到。

实施例1a

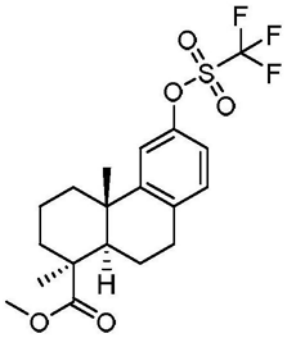
有效负载9d的合成(图1a)

(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羧酸甲酯(P1-2)



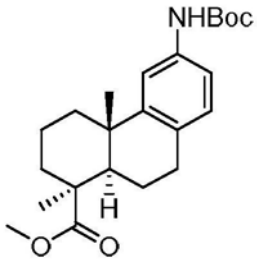
[0246] 向罗汉松酸(P1-1,90g,0.33mol)的甲醇(200mL)和甲苯(600mL)溶液中加入(三甲基硅烷基)重氮甲烷(2M的己烷溶液,200mL)。反应混合物在室温下搅拌2小时。然后根据LCMS监测罗汉松酸完全耗尽。真空浓缩除去挥发物,并将残余物采用石油醚(2L)进行研磨,得到化合物P1-2(91g,96%收率)为白色固体。ESI m/z:289(M+H)$^+$。^{1}H NMR(400MHz,$DMSO_{d6}$)δ8.95(s,1H),6.79(d,J=8.2Hz,1H),6.63(d,J=2.4Hz,1H),6.48(dd,J=8.2,2.4Hz,1H),3.58(s,3H),2.80-2.55(m,2H),2.20-2.02(m,3H),1.96-1.71(m,2H),1.56-1.45(m,2H),1.27(t,J=13.5Hz,1H),1.21(s,3H),1.09(td,J=13.5,4.1Hz,1H),0.91(s,3H)ppm。

(1S,4aS,10aR)-1,4a-二甲基-6-(三氟甲磺酰氧基)-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羧酸甲酯(P1-3)



[0247] 在氮气氛下,向化合物P1-2(10g,35mmol)的二氯甲烷(200mL)溶液中加入吡啶(3.3g,42mmol)和DMAP(0.84g,6.9mmol)。将混合物冷却至-78℃,加入三氟甲酸酐(12g,42mmol),然后使所得混合物升温至25℃,并在25℃下再搅拌4小时。反应混合物用DCM(500mL)稀释,然后用水(100mL)、盐酸水溶液(1N,150mL)和盐水(100mL)洗,经硫酸钠干燥,真空浓缩,得到粗品化合物P1-3(14g,97%粗收率)为粘稠油状物,其纯度足以用于下一步骤。所述粗品化合物P1-3可通过快速色谱法纯化(0-10%乙酸乙酯的石油醚溶液),得到纯产物为粘稠油状物。ESI m/z:421.2(M+1)$^+$。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.12(d,J=2.5Hz,1H),7.10(d,J=8.5Hz,1H),6.97(dd,J=8.5,2.5Hz,1H),3.67(s,J=3.4Hz,3H),2.93(dd,J=17.2,4.4Hz,1H),2.85-2.71(m,1H),2.29(d,J=13.5Hz,1H),2.25-2.14(m,2H),2.03-1.89(m,2H),1.71-1.61(m,1H),1.56-1.48(m,1H),1.40(td,J=13.4,4.2Hz,1H),1.30-1.22(m,3H),1.09(td,J=13.6,4.2Hz,1H),1.02(s,3H)ppm。

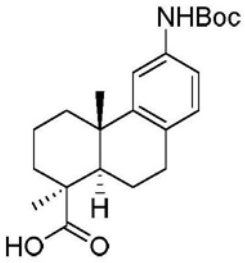
(1S,4aS,10aR)-6-((叔丁氧基羰基)氨基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羧酸甲酯(P1-4)



[0248] 室温下,向化合物P1-3(14g,34mmol)和氨基甲酸叔丁酯($BocNH_2$,7.9g,68mmol)的叔丁醇(100mL)溶液中依次加入碳酸铯(22g,68mmol),三(二亚苄基丙酮)二钯(0)($Pd_2(dba)_3$,1.8g,2.0mmol)和2-二环己基磷-2,4,6-三异丙基联苯(X-Phos,1.8g,4.0mmol)。将混合物脱气并用氩气排气3次,然后在80℃下、在氩气氛(气球)下搅拌过夜,直至通过TLC监

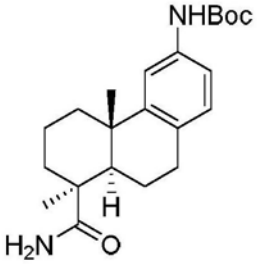
测化合物P1-3已完全耗尽。冷却至室温后，反应混合物用乙酸乙酯稀释并通过硅藻土过滤。固体用乙酸乙酯洗3次。合并的滤液真空浓缩，所得残余物经硅胶柱色谱法纯化(0-6.25%乙酸乙酯的石油醚溶液)，得到化合物P1-4(11g，82%收率)为白色固体。ESI m/z:410(M+23)$^+$。^{1}H NMR(500MHz，$DMSO_{d6}$)δ9.07(s,1H)，7.39(s,1H)，7.13(d,J＝8.5Hz,1H)，6.87(d,J＝8.3Hz,1H)，3.59(s,3H)，2.76(dd,J＝16.4,4.5Hz,1H)，2.70-2.61(m,1H)，2.16-2.05(m,3H)，2.00-1.75(m,2H)，1.65-1.50(m,2H)，1.45(s,9H)，1.31-1.25(m,1H)，1.21(s,3H)，1.10(td,J＝13.5,4.1Hz,1H)，0.92(s,3H)ppm。

(1S,4aS,10aR)-6-{[(叔丁氧基)羰基]氨基}-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羧酸(P1-5)



[0249] 室温下，向化合物P1-4(4.9g，13mmol)的DMSO溶液中分批加入叔丁醇钾(15g，0.13mol)。反应混合物在氩气氛下、于60℃下搅拌3小时，直至根据LCMS监测反应完成。冷却至室温后，将反应混合物倒入冰中，然后用盐酸水溶液(0.5M)缓慢酸化至pH值为5，在此期间温度不超过25℃。通过过滤收集沉淀物，然后用水洗几次。粗产物经硅胶柱色谱法进一步纯化(0-20%乙酸乙酯的石油醚溶液)，得到化合物P1-5(4.5g，93%收率)为白色固体。ESI m/z:318(M-55)$^+$。^{1}H NMR(500MHz，$DMSO_{d6}$)δ12.08(s,1H)，9.08(s,1H)，7.40(s,1H)，7.11(s,1H)，6.87(d,J＝8.3Hz,1H)，2.79-2.68(m,1H)，2.65(d,J＝12.6Hz,1H)，2.17-2.03(m,4H)，1.94-1.76(m,2H)，1.53(d,J＝13.7Hz,1H)，1.46(d,J＝7.4Hz,9H)，1.29-1.14(m,5H)，1.04(s,3H)ppm。

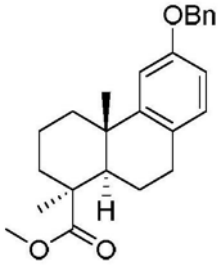
N-[(4bS,8S,8aR)-8-氨基甲酰基-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酸叔丁酯(P1-6)



[0250] 向P1-5(4.5g，12mmol)和HATU(4.9g，13mmol)的DMF(50mL)溶液中加入二异丙基乙胺(20mL，0.12mol)，将混合物在25℃下搅拌1小时。然后向混合物中加入氯化铵(16g，0.30mol)，混合物在室温下搅拌过夜。所得混合物用乙酸乙酯稀释，然后用水和盐水洗，经硫酸钠干燥，真空浓缩。所得残余物经快速色谱法纯化(0-20%乙酸乙酯的石油醚溶液)，得到化合物P1-6(4.2g，94%收率)为白色固体。ESI m/z:373.3(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz，CH_3OH_{d4})δ7.20(s,1H)，6.97(d,J＝7.7Hz,1H)，6.80(d,J＝8.3Hz,1H)，2.77-2.68(m,2H)，2.66-2.55(m,1H)，2.20(d,J＝12.9Hz,1H)，2.13(dd,J＝13.2,5.3Hz,1H)，2.08(d,J＝

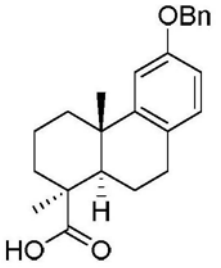
14.0Hz,1H),2.03-1.86(m,2H),1.54(d,J＝11.1Hz,1H),1.40(s,9H),1.26(t,J＝26.7Hz,1H),1.18(s,3H),1.14-1.03(m,4H)ppm。

(1S,4aS,10aR)-6-(苄氧基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羧酸甲酯(P1-8)



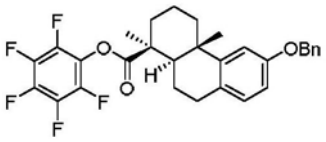
[0251] 将化合物P1-2(12g,40mmol)和碳酸铯(14g,44mmol)的DMF(100mL)混合物在20-25℃下搅拌15分钟。室温下,向所述混合物中加入苄基溴(7.1mL,60mmol)。反应在室温下搅拌4小时后,将所得混合物倒入冷水中,用乙酸乙酯萃取。合并的有机溶液用水和盐水洗,经硫酸钠干燥,真空浓缩。粗产物经快速色谱法纯化(0-10%乙酸乙酯的石油醚溶液),得到标题化合物P1-8(13g,89%收率)为白色固体。ESI m/z:379(M+H)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,CH_3OH_{d4})δ7.60-7.20(m,5H),7.00-6.82(m,2H),6.73(d,J＝7.1Hz,1H),5.03(s,2H),3.66(s,3H),2.95-2.58(m,2H),2.36-2.10(m,3H),2.10-1.85(m,2H),1.70-1.48(m,2H),1.44-1.21(m,4H),1.15(t,J＝17.2Hz,1H),1.01(s,3H)ppm。

1S,4aS,10aR)-6-(苄氧基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羧酸(P1-9)



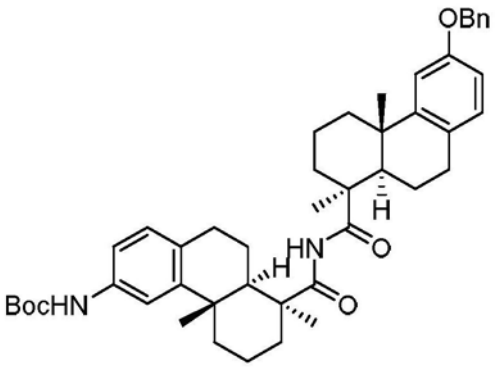
[0252] 将化合物P1-8(11g,29mmol)和叔丁醇钾(33g,0.29mol)的DMSO(0.19L)混合物在100℃下搅拌1小时,直至通过LCMS和TLC监测甲基基团完全脱去。反应冷却至25℃后,混合物用盐酸水溶液(1N)淬灭,然后用乙酸乙酯萃取。合并的有机溶液用盐水洗,经硫酸钠干燥,真空浓缩。所得残余物经硅胶柱色谱法纯化(0-24%乙酸乙酯的石油醚溶液),得到化合物P1-9(7.5g,71%收率)为白色固体。ESI m/z:365(M+H)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,CH_3OH_{d4})δ7.42(d,J＝7.4Hz,2H),7.36(t,J＝7.5Hz,2H),7.30(t,J＝7.3Hz,1H),6.92(d,J＝8.4Hz,1H),6.87(d,J＝2.5Hz,1H),6.72(dd,J＝8.4,2.5Hz,1H),5.02(s,2H),2.82(dd,J＝16.3,4.4Hz,1H),2.77-2.65(m,1H),2.24(d,J＝13.2Hz,2H),2.19(dd,J＝13.8,6.0Hz,1H),2.11-1.96(m,2H),1.64-1.56(m,1H),1.53(d,J＝11.0Hz,1H),1.35(td,J＝13.3,3.7Hz,1H),1.30(s,3H),1.13(s,3H),1.11-1.05(m,1H)ppm。

(1S,4aS,10aR)-6-(苄氧基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羧酸五氟苯酯(P1-10)



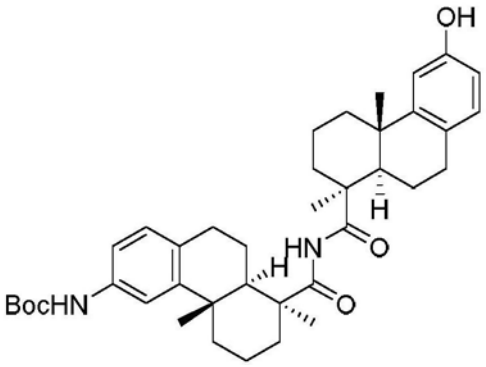
[0253] 向P1-9(9.6g,26mmol)的DMF(100mL)溶液中加入DIPEA(14mL,79mmol)和全氟苯基2,2,2-三氟乙酸酯(15g,53mmol)。所得混合物在室温下搅拌过夜,并通过LCMS进行监测。然后将反应混合物用乙醚(200mL)稀释,并用水(300mL)和盐水(200mL)洗。有机溶液经硫酸钠干燥,真空浓缩。所得残余物经快速色谱法纯化(0-10%乙酸乙酯的石油醚溶液),得到化合物P1-10(12g,88%收率)为白色固体。ESI m/z:531(M+H)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,DMSO$_{d6}$)δ7.43(d,J=7.1Hz,2H),7.38(t,J=7.4Hz,2H),7.31(t,J=7.2Hz,1H),6.93(dd,J=10.2,5.5Hz,2H),6.76(dd,J=8.4,2.5Hz,1H),5.05(s,2H),2.81(dd,J=16.3,4.5Hz,1H),2.77-2.68(m,1H),2.28-2.19(m,2H),2.18(dd,J=13.4,5.6Hz,1H),2.00-1.83(m,2H),1.74(d,J=11.8Hz,1H),1.65(d,J=14.1Hz,1H),1.47(s,3H),1.38-1.27(m,2H),1.08(s,3H)ppm。

N-[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-(苄氧基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-基]甲酰胺基}羰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酸叔丁酯(P1-11)



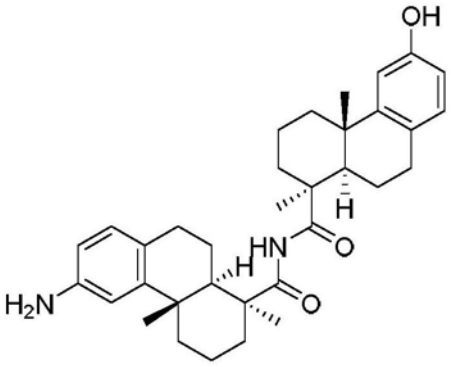
[0254] 在-78℃下,向化合物P1-6(2.3g,6.2mmol)的THF(20mL)溶液中滴加n-BuLi(2.5M的己烷溶液,5.5mL,14mmol)。混合物在此温度下搅拌反应1小时。向混合物中加入P1-10(3.0g,5.6mmol)的THF(20mL)溶液,然后将所得混合物在10-20℃下搅拌过夜,直至通过LCMS监测化合物P1-10已耗尽。然后用饱和氯化铵水溶液淬灭反应,并用乙酸乙酯萃取。合并的有机溶液用水和盐水洗,经硫酸钠干燥,真空浓缩。所得残余物经快速色谱法纯化(0-30%乙酸乙酯的石油醚溶液),得到化合物P1-11(1.59g,51%收率)为白色固体。ESI m/z:719(M+1)$^+$。

N-[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-基]甲酰胺基}羰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酸叔丁酯(P1-12)



[0255] 在氮气保护下，向P1-11(2.0g，2.78mmol)的乙酸乙酯(40mL)溶液中加入湿的钯/碳(10％Pd，0.9g)。将混合物脱气并用氢气排气，然后在室温下、在氢气球下搅拌过夜，直至通过LCMS监测P1-11完全耗尽。混合物通过硅藻土过滤，滤液真空浓缩。所得残余物经硅胶柱色谱法纯化(0-55％乙酸乙酯的石油醚溶液)，得到P1-12(1.06g，61％收率)为白色固体。ESI m/z:629(M+H)$^+$。^{1}H NMR(500MHz，$DMSO_{d6}$)δ9.10(s，1H)，8.98(s，1H)，8.11(s，1H)，7.40(s，1H)，7.15(d，J＝7.5Hz，1H)，6.90(d，J＝8.4Hz，1H)，6.81(d，J＝8.3Hz，1H)，6.63(d，J＝2.3Hz，1H)，6.50(dd，J＝8.2，2.4Hz，1H)，2.84(td，J＝16.3，3.8Hz，2H)，2.77-2.64(m，2H)，2.30-2.22(m，2H)，2.14(t，J＝10.9Hz，4H)，2.00-1.80(m，4H)，1.65-1.54(m，4H)，1.45(s，9H)，1.34-1.28(m，2H)，1.27(d，J＝2.5Hz，6H)，1.15-1.08(m，2H)，0.99(s，6H)ppm。

(1S，4aS，10aR)-N-[(1S，4aS，10aR)-6-氨基-1，4a-二甲基-1，2，3，4，4a，9，10，10a-八氢菲-1-羰基]-6-羟基-1，4a-二甲基-1，2，3，4，4a，9，10，10a-八氢菲-1-甲酰胺(9d)



[0256] 室温下，向化合物P1-12(0.17g，0.27mmol)的DCM(10mL)溶液中滴加TFA(3mL)。反应混合物在室温下搅拌1小时，直至根据LCMS监测已脱去Boc。真空浓缩除去挥发物，所得残余物经制备型HPLC纯化(方法B)，得到9d(0.10g，70％收率)为白色固体。

[0257] ESI m/z:529.3(M+1)$^+$。

[0258] ^{1}H NMR(400MHz，$CDCl_3$)δ8.14(s，1H)，6.92(d，J＝8.3Hz，1H)，6.86(d，J＝8.1Hz，1H)，6.73(d，J＝2.5Hz，1H)，6.65-6.57(m，2H)，6.50(dd，J＝8.1，2.3Hz，1H)，4.75(s，1H)，3.49(s，1H)，2.99-2.85(m，2H)，2.79(tt，J＝11.6，5.8Hz，2H)，2.34-2.14(m，6H)，2.15-1.95(m，4H)，1.74-1.51(m，5H)，1.46-1.34(m，2H)，1.30(s，6H)，1.21-1.06(m，8H)ppm。

[0259] ^{1}H NMR(400MHz，$DMSO_{d6}$)δ8.99(s，1H)，8.09(s，1H)，6.81(d，J＝8.0Hz，1H)，6.68(d，J＝8.0Hz，1H)，6.63(d，J＝2.5Hz，1H)，6.50(dd，J＝8.0，2.5Hz，1H)，6.48(d，J＝2.5Hz，1H)，6.34(dd，J＝8.0，2.5Hz，1H)，4.69(s，2H)，2.86-2.60(m，4H)，2.28-2.10(m，6H)，1.94-1.75(m，4H)，1.65-1.53(m，4H)，1.35-1.20(m，8H)，1.20-1.06(m，2H)，0.98(s，6H)ppm。

[0260] ^{13}C NMR(100MHz,$DMSO_{d6}$)δ174.03,173.92,155.34,148.39,147.63,146.43,129.56,129.09,124.60,121.65,113.23,112.58,111.81,110.77,52.32,52.09,45.56,45.52,39.20,39.36,38.23,38.17,37.18,37.12,31.08,31.00,27.65,27.64,23.08,23.03,21.43,21.27,19.64,19.61ppm。

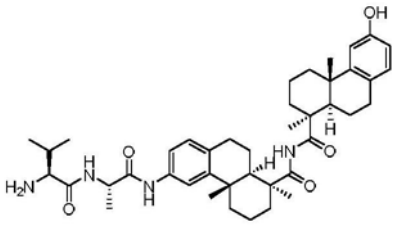
[0261] HPLC(方法B):保留时间:8.92min,纯度:99.4%;手性HPLC:>99.9%(在色谱柱AD、AS、OD和OJ中)。

[0262] 旋光度(α):+2.53°(1.7g/100mL THF,25℃)。

实施例1b

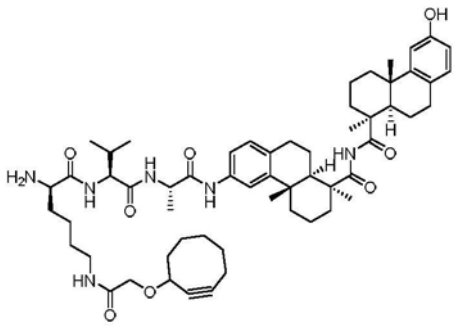
LP8的合成(图1b)

(1S,4aS,10aR)-6-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-N-((1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺(LP1-2)



[0263] 向9d(53mg,0.10mmol)的DMF(1mL)溶液中依次加入Fmoc-Val-Ala-OH(41mg,0.10mmol),HATU(38mg,0.1mmol)和二异丙基乙胺(26mg,0.20mmol)。反应混合物在25℃下搅拌24小时,直至根据LCMS监测9d已耗尽,然后向混合物中加入哌啶(0.1mL),并将所得溶液在25℃下再搅拌3小时。过滤后,所得滤液直接经制备型HPLC纯化(方法B),得到化合物LP1-2(45mg,64%收率)为白色固体。ESI m/z:699$(M+1)^+$。^1H NMR(500MHz,CH_3OH_{d4})δ8.40(s,1H),7.47(s,1H),7.32(d,J=8.0Hz,1H),7.03(d,J=8.3Hz,1H),6.88(d,J=8.2Hz,1H),6.72(d,J=2.4Hz,1H),6.56(dd,J=8.3,2.4Hz,1H),4.60-4.48(m,1H),3.22-3.11(m,1H),3.02-2.93(m,1H),2.92-2.76(m,3H),2.74-2.70(m,1H),2.43-2.31(m,3H),2.28(d,J=14.1Hz,3H),2.16-1.96(m,3H),1.81(s,1H),1.78-1.65(m,4H),1.53-1.42(m,4H),1.38(d,J=5.3Hz,6H),1.33-1.22(m,2H),1.14(d,J=6.6Hz,6H),1.09(d,J=18.6Hz,6H)ppm。

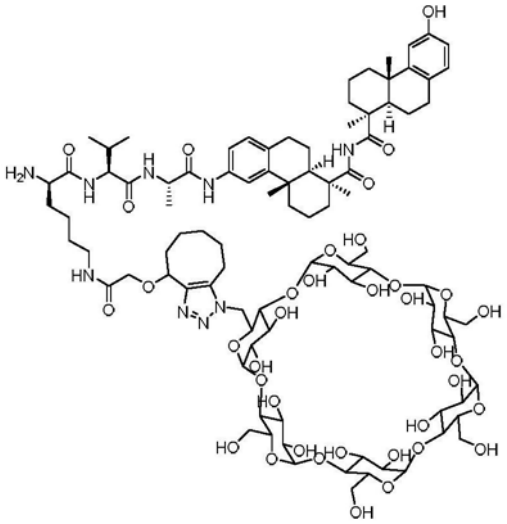
(1S,4aS,10aR)-6-((2S)-2-((2S)-2-((2R)-2-氨基-6-(2-(环辛-2-炔基氧基)乙酰胺基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-N-((1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺(LP1-4)



[0264] 室温下,向化合物LP1-3(35mg,0.064mmol)的DMF(1mL)溶液中依次加入HATU

(24mg,0.064mmol)和化合物LP1-2(45mg,0.064mmol)。混合物在室温下搅拌几分钟,直至混合物均匀。在室温下,通过注射器向所述混合物中加入二异丙基乙胺(41mg,0.32mmol)。所得混合物在室温下搅拌过夜(16小时),直至根据LCMS监测大部分LP1-2已耗尽。然后在室温下向所述反应混合物中滴加哌啶(0.1mL,过量),并将混合物再搅拌3小时,直至通过LCMS监测已脱去Fmoc。反应混合物经反相快速色谱法或制备型HPLC直接纯化(方法B,碱性条件),得到化合物LP1-4(30mg,47%收率)为白色固体。ESI m/z:991 $(M+1)^+$。^{1}H NMR(500MHz,CH_3OH_{d4})δ7.51(d,J=1.5Hz,1H),7.37(dd,J=8.3,2.0Hz,1H),7.02(d,J=8.3Hz,1H),6.89(d,J=8.4Hz,1H),6.72(d,J=2.4Hz,1H),6.56(dd,J=8.3,2.5Hz,1H),4.64-4.57(m,1H),4.48(q,J=7.1Hz,1H),4.33-4.27(m,1H),4.20(d,J=6.7Hz,1H),3.93(m,2H),3.43(t,J=6.6Hz,1H),3.24(t,J=6.9Hz,2H),3.02-2.93(m,2H),2.92-2.76(m,3H),2.40-2.32(m,2H),2.33-2.23(m,4H),2.22-2.12(m,3H),2.12-2.00(m,5H),1.99-1.91(m,1H),1.91-1.81(m,2H),1.78-1.66(m,6H),1.66-1.58(m,1H),1.58-1.49(m,2H),1.45(d,J=7.1Hz,6H),1.38(d,J=4.0Hz,6H),1.34-1.22(m,4H),1.14(d,J=7.0Hz,6H),1.06-0.98(m,6H)ppm。

(1S,4aS,10aR)-N-{[(1S,4aS,10aR)-6-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-氨基-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-十二羟基-10,15,20,25,30-五(羟甲基)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-十二氧杂七环[26.2.2.$2^{3,6}$.$2^{8,11}$.$2^{13,16}$.$2^{18,21}$.$2^{23,26}$]四十二烷-5-基]甲基}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-环辛并[d][1,2,3]三唑-4-基)氧基]乙酰胺基}己酰胺基]-3-甲基丁酰胺基]丙酰胺基]-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-基]羰基}-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺(LP1-5)

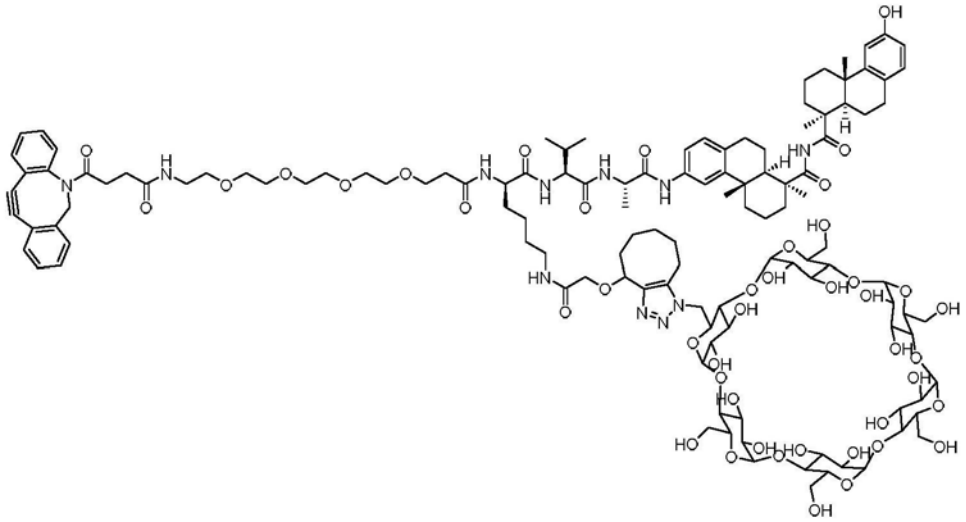


[0265] 室温下,通过注射器向化合物LP1-4(30mg,30μmol)的DMF(0.5mL)溶液中加入CD-N_3(60mg,60μmol)的DMF(0.5mL)溶液。所得混合物在20-25℃下搅拌3天。根据LCMS监测,大部分化合物LP1-4耗尽。反应混合物经制备型HPLC直接纯化(方法B),得到化合物LP1-5(14mg,23%收率)为白色固体。ESI m/z:995 $(M/2+1)^+$。^{1}H NMR(500MHz,CH_3OH_{d4})δ8.40(s,1H),7.56-7.52(m,1H),7.32(t,J=7.7Hz,1H),7.03(d,J=8.4Hz,1H),6.88(d,J=8.3Hz,1H),6.72(d,J=2.4Hz,1H),6.56(dd,J=8.2,2.3Hz,1H),5.24-5.16(m,1H),5.01-4.95(m,6H),4.65-4.59(m,1H),4.52-4.44(m,1H),4.31-4.22(m,2H),4.13-3.73(m,22H),3.63-3.43(m,14H),3.14-2.72(m,7H),2.45-2.32(m,3H),2.28(d,J=13.8Hz,3H),2.22-1.85(m,

11H),1.82-1.59(m,9H),1.55-1.41(m,8H),1.38(d,J=5.3Hz,6H),1.31-1.26(m,3H),1.14(d,J=7.2Hz,6H),1.06-0.93(m,6H)ppm。

1-(4-{2-氮杂三环[10.4.0.$0^{4,9}$]十六碳-1(12),4(9),5,7,13,15-六烯-10-炔-2-基}-4-氧丁酰胺

基)-N-[(1R)-1-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-基]甲酰胺基}羰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}乙基]氨基甲酰基}-2-甲基丙基]氨基甲酰基}-5-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-十二羟基-10,15,20,25,30-五(羟甲基)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-十二氧杂七环[26.2.2.$2^{3,6}$.$2^{8,11}$.$2^{13,16}$.$2^{18,21}$.$2^{23,26}$]四十二烷-5-基]甲基}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-环辛并[d][1,2,3]三唑-4-基)氧基]乙酰胺基}戊基]-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺(LP8)



[0266] 向化合物LP1-5(14mg,7.4μmol)和DIBAC-Suc-PEG_4-OSu(6.5mg,10μmol)的DMF(1mL)溶液中加入三乙胺(2.0mg,20μmol),混合物在20-25℃下搅拌16小时。真空浓缩除去大部分挥发物,所得残余物经制备型HPLC纯化(方法B),得到化合物LP8(5.0mg,27%收率)为白色固体。ESI m/z:1261$(M/2+1)^+$。^{1}H NMR(500MHz,CH_3OH_{d4})δ7.69-7.44(m,6H),7.41-7.30(m,3H),7.26(d,J=6.8Hz,1H),7.04-6.96(m,1H),6.88(d,J=8.4Hz,1H),6.72(d,J=1.9Hz,1H),6.56(dd,J=8.3,2.4Hz,1H),5.25-5.18(m,1H),5.17-5.08(m,1H),5.01-4.94(m,4H),4.61(s,16H),4.53-4.13(m,5H),4.03-3.80(m,18H),3.74-3.64(m,3H),3.63-3.41(m,23H),3.28-2.76(m,12H),2.76-2.65(m,1H),2.56-2.44(m,2H),2.42-2.31(m,4H),2.30-2.23(m,4H),2.18-1.92(m,9H),1.79-1.55(m,9H),1.49-1.34(m,9H),1.33-1.22(m,3H),1.18-1.10(m,6H),1.06-0.94(m,6H)ppm。

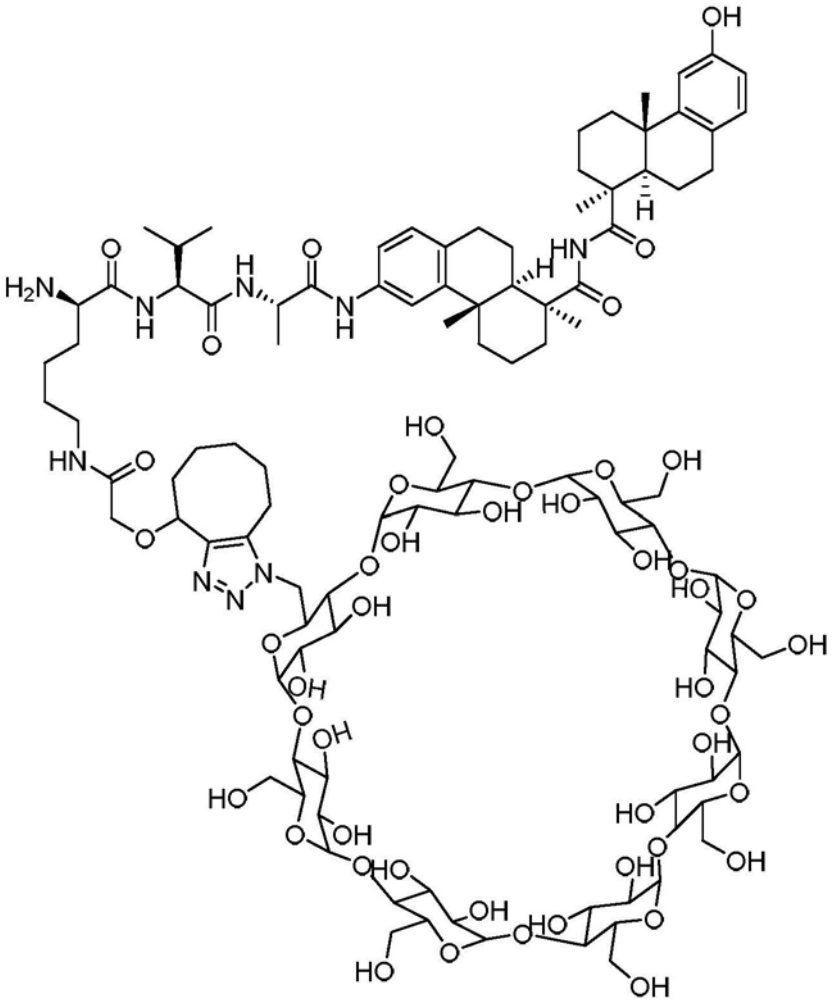
实施例1c

LP32的合成(图1c)

(1S,4aS,10aR)-N-{[(1S,4aS,10aR)-6-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-氨基

-6-{2-[(1-{[41,42,43,44,45,46,47,48,49,50,51,52,53,54,55,56-十六羟基-10,15,20,25,30,35,40-七(羟甲基)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29,32,34,37,39-十六氧杂九环[36.2.2.$2^{3,6}$.$2^{8,11}$.$2^{13,16}$.$2^{18,21}$.$2^{23,26}$.$2^{28,31}$.$2^{33,36}$]五十六烷-5-基]甲基}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-环辛并[d][1,2,3]三唑-4-基)氧基]乙酰胺基}己酰胺基]-3-甲基丁酰胺

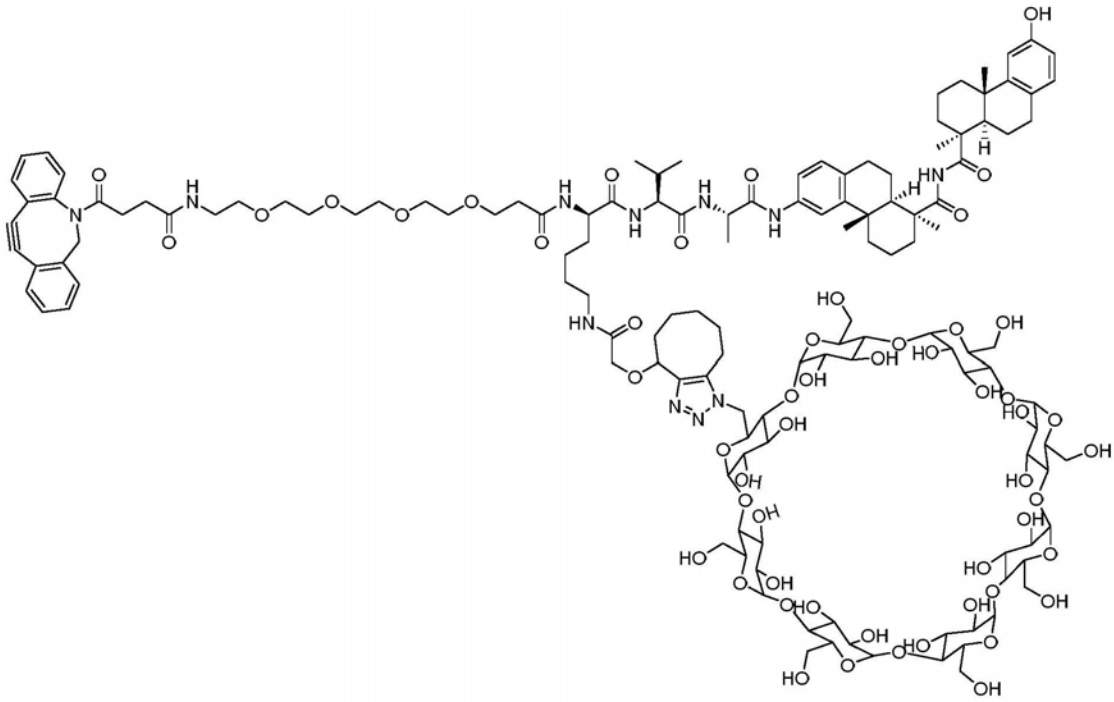
基]丙酰胺基]-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-基]羰基}-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺(LP2-5)



[0267] 向化合物LP1-4(30mg,0.030mmol)的DMF(2mL)溶液中加入γCD-N_3(0.12mg,0.091mmol)。混合物在室温下搅拌16小时,通过LCMS进行监测。将混合物通过膜过滤,然后所得滤液经制备型HPLC纯化(方法A),得到化合物LP2-5(40mg,57%收率)为白色固体。ESI m/z:1157.6(M/2+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,$DMSO_{d6}$)δ9.82(s,1H),9.00(s,1H),8.55(d,J=9.0Hz,1H),8.39(d,J=6.5Hz,1H),8.11-8.04(m,4H),7.93-7.88(m,1H),7.45(s,1H),7.35(d,J=8.0Hz,1H),6.97(d,J=8.5Hz,1H),6.81(d,J=8.5Hz,1H),6.63(s,1H),6.50(d,J=11Hz,1H),5.89-5.68(m,16H),5.16-4.32(m,19H),3.94-3.80(m,4H),3.69-3.51(m,50H),3.18-2.64(m,8H),2.33-1.85(m,12H),1.65-1.11(m,25H),0.99(d,J=9.5Hz,6H),0.89-0.83(m,6H)ppm。

1-(4-{2-氮杂三环[10.4.0.$0^{4,9}$]十六碳-1(12),4(9),5,7,13,15-六烯-10-炔-2-基}-4-氧丁酰胺基)-N-[(1R)-1-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-基]甲酰胺基}羰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}乙基]氨基甲酰基}-2-甲基丙基]氨基甲酰基}-5-{2-[(1-{[41,42,43,44,45,46,47,48,49,50,51,52,53,54,55,56-十六羟基-10,15,20,25,30,35,40-七(羟甲基)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29,32,34,37,39-十六氧杂九

环[36.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}.2^{28,31}.2^{33,36}]五十六烷-5-基]甲基}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-环辛并[d][1,2,3]三唑-4-基)氧基]乙酰胺基}戊基]-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺(LP32)

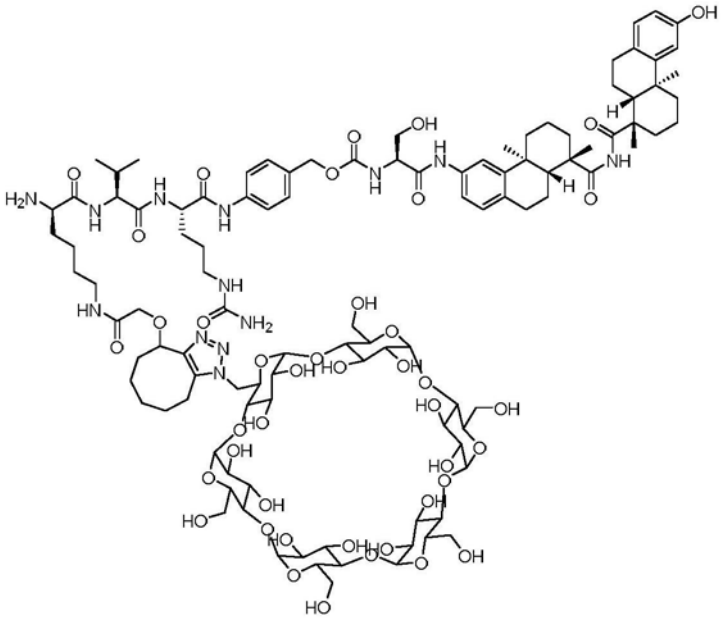


[0268] 向化合物LP2-6(4.3mg,7.8μmol)的无水DMF(1mL)溶液中加入HATU(3.0mg,7.8μmol)。混合物在10℃下搅拌10分钟,然后加入化合物LP2-5(15mg,6.5μmol)和DIPEA(1.7mg,13μmol)。将混合物在室温(RT)下搅拌2小时,直至通过LCMS监测LP2-5完全耗尽。混合物通过膜过滤,所得滤液经制备型HPLC纯化(方法B),得到化合物LP32(6.0mg,32%收率)为白色固体。ESI m/z:1424.2(M/2+1)$^{+}$。^{1}H NMR(500MHz,$DMSO_{d6}$)δ9.26(s,1H),8.95(s,1H),8.24-7.98(m,4H),7.81(d,J=5.6Hz,1H),7.72(t,J=5.5Hz,1H),7.67(d,J=8.1Hz,1H),7.61(d,J=7.4Hz,1H),7.55(s,1H),7.53-7.25(m,7H),6.95(d,J=8.5Hz,1H),6.81(d,J=8.4Hz,1H),6.63(d,J=2.1Hz,1H),6.50(dd,J=8.2,2.1Hz,1H),5.94-5.58(m,15H),5.39-4.43(m,17H),4.37-4.24(m,3H),4.13-4.08(m,1H),3.98-3.33(m,52H),3.26-2.52(m,18H),2.40-1.18(m,48H),1.18-0.63(m,19H)ppm。溶解度:0.075mg/mLH_2O。

实施例1d

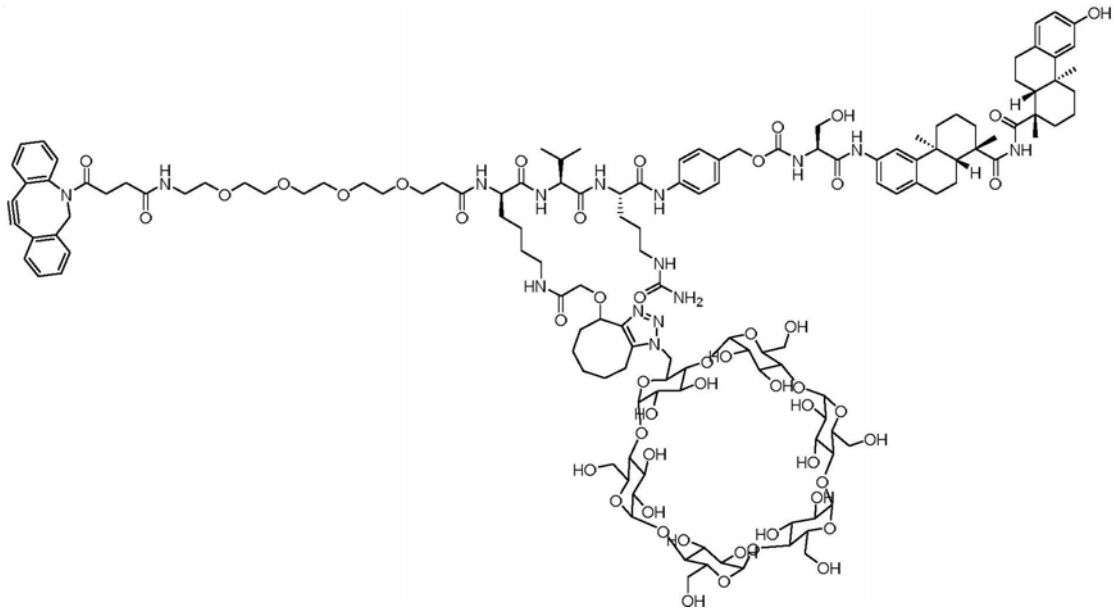
LP13的合成(图1d)

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-氨基-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-十二羟基-10,15,20,25,30-五(羟甲基)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-十二氧杂七环[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]四十二烷-5-基]甲基}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-环辛并[d][1,2,3]三唑-4-基)氧基]乙酰胺基}己酰胺基]-3-甲基丁酰胺基]-5-(氨基甲酰基氨基)戊酰胺基]苯基}甲基N-[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-基]甲酰胺基}羰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}-2-羟乙基]氨基甲酸酯(LP5-1)



[0269] 室温下,向化合物LP15(20mg,15μmol)的DMF(1mL)溶液中加入CD-N_3(46mg,45μmol)的乙腈(2mL)和水(2mL)溶液。混合物在30℃下搅拌16小时。根据LCMS监测,大部分化合物LP15耗尽。将反应混合物经制备型HPLC直接纯化(方法B),得到化合物LP5-1(20mg,57%收率)为白色固体。ESI m/z:1156.0(M/2+1)$^+$。

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-[1-(4-{2-氮杂三环[10.4.0.$0^{4,9}$]十六碳-1(12),4(9),5,7,13,15-六烯-10-炔-2-基}-4-氧丁酰胺基)-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺基]-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-十二羟基-10,15,20,25,30-五(羟甲基)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-十二氧杂七环[26.2.2.$2^{3,6}$.$2^{8,11}$.$2^{13,16}$.$2^{18,21}$.$2^{23,26}$]四十二烷-5-基]甲基}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-环辛并[d][1,2,3]三唑-4-基)氧基]乙酰胺基}己酰胺基]-3-甲基丁酰胺基]-5-(氨基甲酰基氨基)戊酰胺基]苯基}甲基N-[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-基]甲酰胺基}羰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}-2-羟乙基]氨基甲酸酯(LP13)

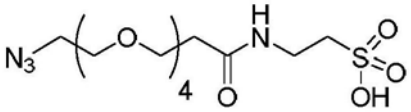


[0270] 室温下，向DIBAC-PEG$_4$-酸LP5-2(4.3mg，7.8μmol)的DMF(1mL)溶液中加入HATU(3.0mg，3.6μmol)和DIPEA(1.7mg，13μmol)。所得混合物在室温下搅拌10分钟。然后向混合物中加入LP5-1(15mg，6.5μmol)。反应混合物在30℃下搅拌2小时，直至通过LCMS监测反应完成。将反应混合物过滤，并通过制备型HPLC纯化(方法B)，得到LP13(10mg，42％收率)为白色固体。ESI m/z:1424.3(M/2+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz，DMSO$_{d6}$)δ9.81-9.67(m，2H)，8.99(s，1H)，8.20-8.06(m，5H)，7.85-7.22(m，18H)，6.97-6.49(m，2H)，5.98(s，1H)，5.65-5.33(m，15H)，5.14-4.92(m，5H)，4.82-4.72(m，6H)，4.60-4.54(m，4H)，4.36-4.28(m，3H)，4.18-3.96(m，3H)，3.85-3.55(m，27H)，3.49-3.39(m，23H)，3.28-3.08(m，8H)，2.94-2.57(m，4H)，2.42-2.07(m，8H)，1.99-1.45(m，22H)，1.28-1.11(m，23H)，1.05-0.95(m，6H)，0.89-0.79(m，7H)ppm。

实施例1e

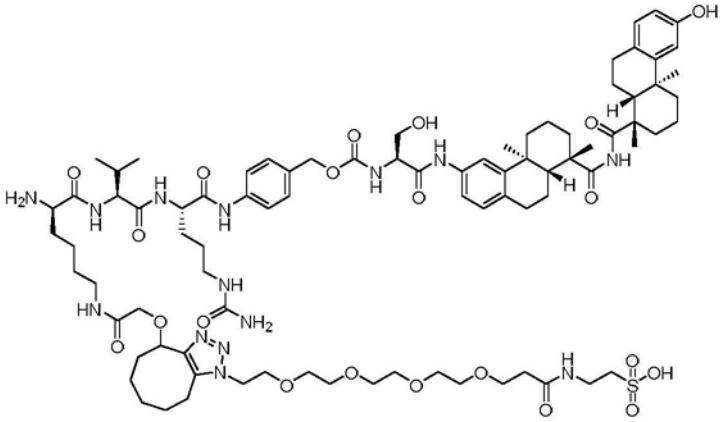
LP36的合成(图1e)

1-叠氮基-15-氧-3,6,9,12-四氧杂-16-氮杂十八烷-18-磺酸(L6-2)



[0271] 向叠氮基-PEG$_4$-NHS(L6-1，0.10g，0.26mmol)的无水DMF(4mL)溶液中加入牛磺酸(39mg，0.31mmol)和DIPEA(15mg，0.52mmol)。混合物在25℃下搅拌过夜。然后将混合物过滤，滤液经制备型HPLC纯化(方法A)，得到化合物LP6-2(80mg，78％收率)为无色油状物。ESI m/z:399.1(M+H)$^+$。^{1}H NMR(500MHz，D$_2$O)δ3.69(t，J＝6.0Hz，2H)，3.64-3.59(m，14H)，3.49(t，J＝6.5Hz，2H)，3.41(t，J＝4.5Hz，2H)，3.00(t，J＝7.0Hz，2H)，2.45(t，J＝6.0Hz，2H)ppm。

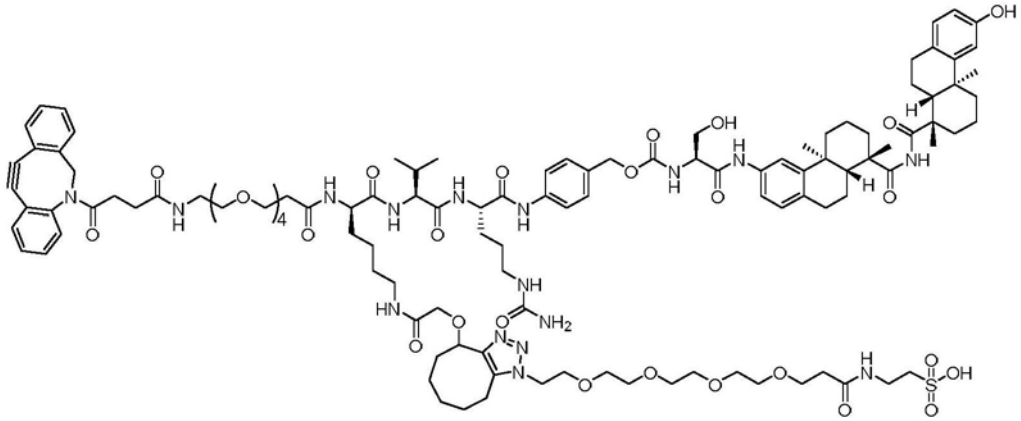
2-{1-[4-({[(5R)-5-氨基-5-{[(1S)-1-{[(1S)-1-({4-[({[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-基]甲酰胺基}羰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}-2-羟乙基]氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}氨基甲酰基)-4-(氨基甲酰基氨基)丁基]氨基甲酰基}-2-甲基丙基]氨基甲酰基}戊基]氨基甲酰基}甲氧基)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-环辛并[d][1,2,3]三唑-1-基]-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺基}乙烷-1-磺酸(LP6-3)



[0272] 在0℃下，向化合物LP6-2(20mg，50μmol)的水(1mL)溶液中滴加饱和NaHCO$_3$溶液直至pH值约为7。然后通过注射器向搅拌溶液中加入化合物LP15(28mg，21μmol)的乙腈(1mL)

溶液。混合物在25℃下搅拌过夜。通过LCMS监测反应混合物，直至化合物LP15完全耗尽。将反应混合物过滤，滤液经制备型HPLC纯化(方法A)，得到化合物LP6-3(15mg，41％收率)为白色固体。ESI m/z:856.5(M/2+1)$^{+}$。

2-{1-[4-({[(5R)-5-[1-(4-{2-氮杂三环[10.4.0.0^{4,9}]十六碳-1(12),4(9),5,7,13,15-六烯-10-炔-2-基}-4-氧丁酰胺基)-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺基]-5-{[(1S)-1-{[(1S)-1-({4-[({[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-基]甲酰胺基}羰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}-2-羟乙基]氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}氨基甲酰基)-4-(氨基甲酰基氨基)丁基]氨基甲酰基}-2-甲基丙基]氨基甲酰基}戊基]氨基甲酰基}甲氧基)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-环辛并[d][1,2,3]三唑-1-基]-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺基}乙烷-1-磺酸(LP36)

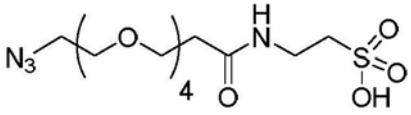


[0273] 向化合物LP6-3(15mg，8.8μmol)和市售DIBAC-Suc-PEG$_4$-OSu LP6-4(5.7mg，8.8μmol，CAS 1427004-19-0)的DMF(1mL)溶液中加入DIPEA(2.3mg，18μmol)，混合物在室温下搅拌2小时。真空浓缩除去大部分挥发物，所得残余物经制备型HPLC纯化(方法B)，得到LP36(6.0mg，30％收率)为白色固体。ESI m/z:1123.8(M/2+H)$^{+}$，749.5(M/3+H)$^{+}$。^{1}H NMR(500MHz，CH_3OH_{d4})δ7.76-7.16(m,14H)，7.06-7.00(m,1H)，6.88(d,J＝8.5Hz,1H)，6.72-6.71(m,1H)，6.56-6.55(m,1H)，5.39-5.33(m,1H)，5.14-5.09(m,5H)，4.61(s,18H)，4.50-4.43(m,2H)，4.33-4.30(m,1H)，3.99(s,2H)，3.89-3.85(m,3H)，3.73-3.42(m,28H)，3.25-2.72(m,8H)，2.45(t,J＝7.5Hz,2H)，2.36-1.96(m,18H)，1.81-1.51(m,12H)，1.45-1.32(m,15H)，1.12-0.89(m,12H)ppm。

实施例1f

LP18的合成(图1f)

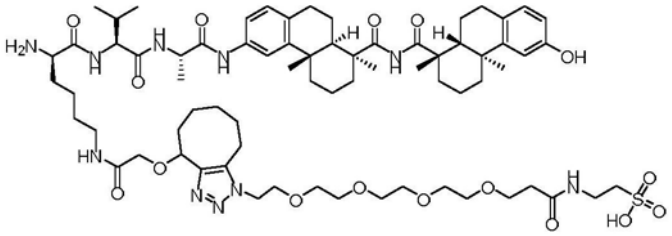
1-叠氮基-15-氧-3,6,9,12-四氧杂-16-氮杂十八烷-18-磺酸(L18-2)



[0274] 向叠氮基-PEG$_4$-NHS(L18-1，0.10g，0.26mmol)的无水DMF(4mL)溶液中加入牛磺酸(39mg，0.31mmol)和DIPEA(15mg，0.52mmol)。混合物在25℃下搅拌过夜。将混合物过滤，所得滤液经制备型HPLC纯化(方法A)，得到化合物LP18-2(80mg，78％收率)为无色油状物。ESI m/z:399.1(M+H)$^{+}$。^{1}H NMR(500MHz，D_2O)δ3.69(t,J＝6.0Hz,2H)，3.64-3.59(m,14H)，3.49

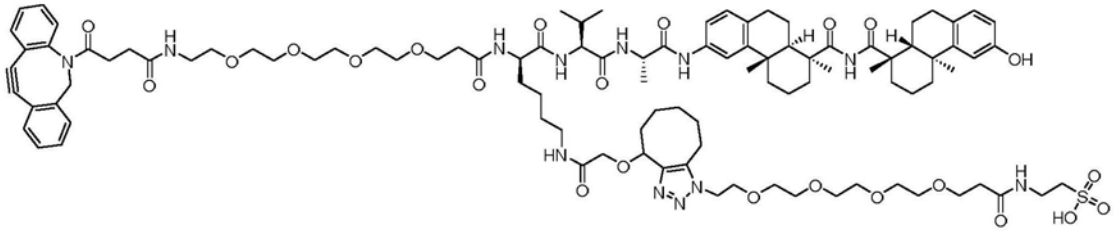
(t,J＝6.5Hz,2H),3.41(t,J＝4.5Hz,2H),3.00(t,J＝7.0Hz,2H),2.45(t,J＝6.0Hz,2H)ppm。

1-(4-(2-((R)-5-氨基-6-((S)-1-((S)-1-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基氨基甲酰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基氨基)-1-氧丙烷-2-基氨基)-3-甲基-1-氧丁烷-2-基氨基)-6-氧己基氨基)-2-氧乙氧基)-4,5,6,7,8,9-六氢-1H-环辛并[d][1,2,3]三唑-1-基)-15-氧-3,6,9,12-四氧杂-16-氮杂十八烷-18-磺酸(LP18-3)



[0275] 室温下,向化合物LP1-4(40mg,40μmol)的DMF(1mL)溶液中加入叠氮化物LP18-2(40mg,0.10mmol)。反应在室温下搅拌16小时,直至LCMS显示反应完成。反应混合物经制备型HPLC直接纯化,得到化合物LP18-3(43mg,77%收率)为白色固体。ESI m/z:695.4(M/2+H)$^+$。

2-{1-[4-({[(5R)-5-[1-(4-{2-氮杂三环[10.4.0.0^{4,9}]十六碳-1(12),4(9),5,7,13,15-六烯-10-炔-2-基}-4-氧丁酰胺基)-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺基]-5-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-基]甲酰胺基}羰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}乙基]氨基甲酰基}-2-甲基丙基]氨基甲酰基}戊基]氨基甲酰基}甲氧基)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-环辛并[d][1,2,3]三唑-1-基]-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺基}乙烷-1-磺酸(LP18)



[0276] 室温下,向化合物LP18-3(30mg,22μmol)的DMF(1mL)溶液中依次加入DIBAC-suc-PEG$_4$-OSu(LP18-4,14mg,22μmol)的DMF(1mL)溶液和DIPEA(4mg,32μmol)。反应混合物在室温下搅拌2小时。将反应混合物经制备型HPLC直接纯化(方法B),得到化合物LP18(15mg,37%收率)为白色固体。ESI m/z:642(M/3+H)$^+$。^{1}H NMR(400MHz,DMSO$_{d6}$)δ9.68-9.27(m,1H),8.99(s,1H),8.23-7.85(m,4H),7.79-7.71(m,2H),7.76-7.42(m,6H),7.39-7.28(m,3H),7.21(s,1H),7.09(s,1H),6.96-6.93(m,2H),6.81(d,J＝8.4Hz,1H),6.63(d,J＝2.4Hz,1H),6.50(dd,J＝8.4Hz,2.4Hz,1H),5.02(d,J＝14.0Hz,1H),4.93-4.72(m,1H),4.53-4.09(m,5H),3.82-3.75(m,4H),3.62-3.53(m,3H),3.51-3.38(m,23H),3.30-3.27(m,6H),3.12-2.67(m,10H),2.61-2.54(m,4H),2.39-1.52(m,31H),1.45-1.08(m,18H),1.01-0.98(m,6H),0.90-0.82(m,6H)ppm。

实施例1g

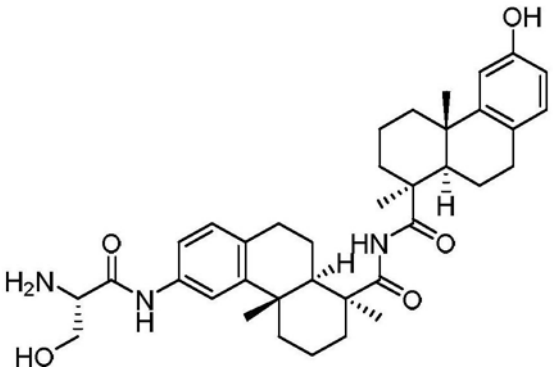
有效负载9j、有效负载9o和有效负载9l的合成



化合物	R	PG	收率
9j	NHC(O)(*S*)-CH(CH_2OH)NH_2 (Ser)	Fmoc	51%
9o	NHC(O)(*S*)-CH(CH_2CH_2COOH)NH_2 (Glu)	tBu, Boc	46%
9l	NHC(O)(*S*)-CH($(CH_2)_4NH_2$)NH_2 (Lys)	Boc, Boc	49%

有效负载9j

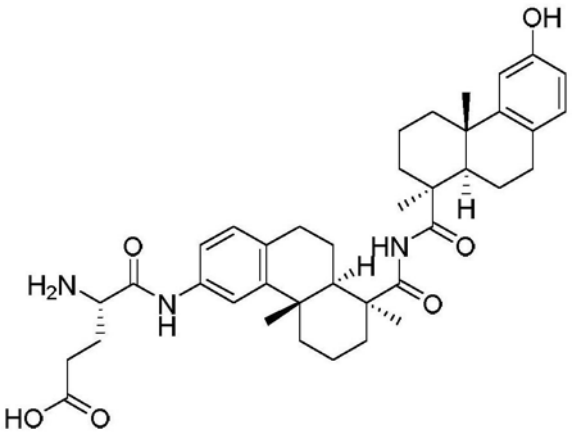
(1S,4aS,10aR)-6-((S)-2-氨基-3-羟基丙酰胺基)-N-((1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺(9j)



[0277] 在25℃下,向Fmoc-Ser-OH(33mg,0.1mmol)的DMF(1mL)溶液中加入HATU(38mg,0.1mmol)和DIPEA(39mg,0.3mmol)。所得混合物在此温度下搅拌1小时。然后向混合物中加入9d(30mg,0.06mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌16小时并且9d完全耗尽(通过LCMS监测)之后,将哌啶(0.2mL)加至混合物中,然后在室温下再搅拌30分钟。所得残余物经制备型HPLC直接纯化(方法B),得到9j(18mg,51%收率)为白色固体。ESI m/z:616$(M+1)^+$。^{1}H NMR(500MHz,$DMSO_{d6}$)δ9.74(brs,1H),9.00(s,1H),8.11(s,1H,),7.58(s,1H),7.41(dd,J=8.2,2.0Hz,1H),6.96(d,J=8.4Hz,1H),6.82(d,J=8.3Hz,1H),6.63(d,J=2.3Hz,1H),6.50(dd,J=8.2,2.4Hz,1H),4.82(t,J=5.5Hz,1H),3.62-3.45(m,2H),2.97-2.67(m,4H),2.67-2.61(m,2H),2.33-2.21(m,2H),2.21-2.03(m,4H),1.96-1.77(m,4H),1.70-1.50(m,4H),1.43-1.37(m,1H),1.36-1.20(m,8H),1.23-1.06(m,2H),1.06-0.93(m,6H)ppm。

有效负载9o

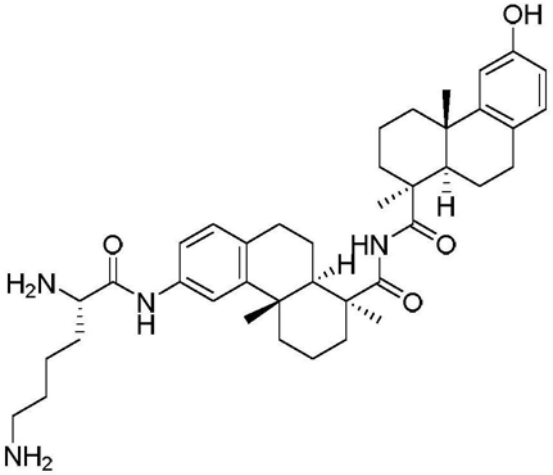
(4S)-4-氨基-4-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基]氨基甲酰基}-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}丁酸;三氟乙酸盐(9o)



[0278] 在25℃下，向OtBu-N-Boc-Glu-OH(15mg，0.05mmol)的DMF(1mL)溶液中加入HATU(19mg，0.05mmol)和DIPEA(13mg，0.1mmol)。所得混合物在此温度下搅拌1小时。然后向混合物中加入9d(14mg，0.026mmol)。在25℃下搅拌16小时并且9d完全耗尽(通过LCMS监测)之后，将反应混合物用乙酸乙酯稀释，然后用水和盐水洗。有机溶液经硫酸钠干燥，真空浓缩。将残余物溶于DCM(1mL)中，并在室温下向溶液中缓慢加入TFA(0.1mL)。混合物在室温下搅拌2小时。真空浓缩除去挥发物，所得残余物经制备型HPLC纯化(方法A)，得到9o(8mg，46％收率)为白色固体。ESI m/z:658.3(M+1)$^{+}$。^{1}H NMR(400MHz，$DMSO_{d6}$)δ10.32(s，1H)，9.00(s，1H)，8.12(s，1H)，7.48(s，1H)，7.35(d，J＝8.2Hz，1H)，7.02(d，J＝8.4Hz，1H)，6.82(d，J＝8.3Hz，1H)，6.63(d，J＝2.1Hz，1H)，6.50(dd，J＝8.2，2.3Hz，1H)，3.87(t，J＝6.5Hz，1H)，2.97-2.67(m，4H)，2.41-2.22(m，4H)，2.22-2.08(m，4H)，2.05-1.97(m，2H)，1.94-1.80(m，4H)，1.69-1.52(m，4H)，1.42-1.22(m，8H)，1.22-1.06(m，2H)，1.02(s，3H)，0.99(s，3H)ppm.^{19}FNMR(376MHz，$DMSO_{d6}$)δ-73.50ppm。

有效负载91

(1S，4aS，10aR)-N-[(1S，4aS，10aR)-6-羟基-1，4a-二甲基-1，2，3，4，4a，9，10，10a-八氢菲-1-羰基]-6-[(2S)-2，6-二氨基己酰胺基]-1，4a-二甲基-1，2，3，4，4a，9，10，10a-八氢菲-1-甲酰胺；三氟乙酸盐(91)



[0279] 在25℃下，向Boc-Lys-OH(15mg，0.05mmol)的DMF(1mL)溶液中加入HATU(19mg，0.05mmol)和DIPEA(13mg，0.1mmol)。所得混合物在此温度下搅拌1小时。然后向混合物中加入9d(15mg，0.028mmol)。反应在25℃下搅拌16小时并且9d完全耗尽(通过LCMS监测)之后，

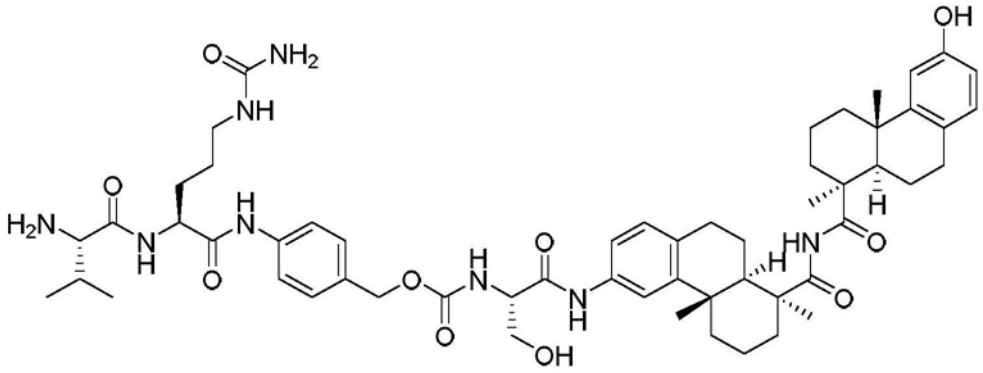
将反应混合物用乙酸乙酯稀释，然后用水和盐水洗。有机溶液经硫酸钠干燥，真空浓缩。将残余物(Boc-91)溶于DCM(1mL)中，并在室温下向溶液中缓慢加入TFA(0.1mL)。混合物在室温下搅拌2小时。真空浓缩除去挥发物，所得残余物经制备型HPLC纯化(方法A)，得到91(9mg，49％收率)为白色固体。ESI m/z:657.5(M+1)$^{+}$。^{1}H NMR(400MHz，$DMSO_{d6}$)δ10.33(s，1H)，9.01(s，1H)，8.13(s，1H)，7.78(brs，6H)，7.51(s，1H)，7.34(d，J＝8.1Hz，1H)，7.02(d，J＝8.5Hz，1H)，6.82(d，J＝8.6Hz，1H)，6.63(s，1H)，6.51(d，J＝8.3Hz，1H)，3.82(s，1H)，2.89(s，1H)，2.82-2.67(m，5H)，2.29(s，2H)，2.15(s，4H)，1.85(s，6H)，1.64-1.51(m，6H)，1.28(d，J＝6.8Hz，10H)，1.13(s，2H)，1.01(s，3H)，0.99(s，3H)ppm。^{19}F NMR(376MHz，$DMSO_{d6}$)δ-73.53ppm。

实施例1h

LP15的合成(图1g)

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基]-5-(氨基甲酰基氨基)戊酰胺基]苯基}甲基

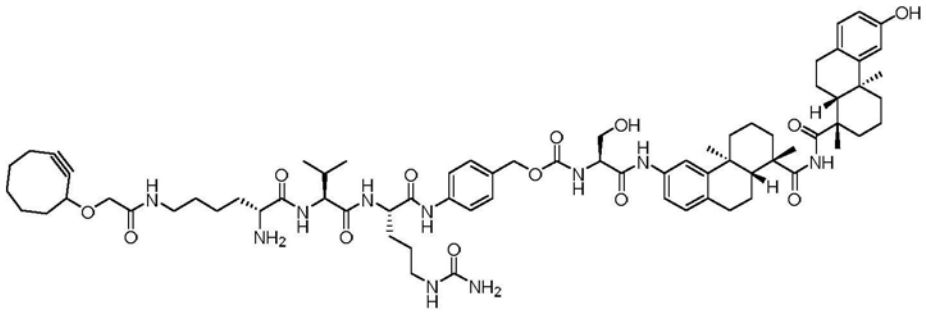
N-[(1S)-1-{[(4bS，8S，8aR)-8-({[(1S，4aS，10aR)-6-羟基-1，4a-二甲基-1，2，3，4，4a，9，10，10a-八氢菲-1-基]甲酰胺基}羰基)-4b，8-二甲基-4b，5，6，7，8，8a，9，10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}-2-羟乙基]氨基甲酸酯(LP4-2)



[0280] 向Fmoc-vc-PAB-PNP(LP4-1，58mg，76μmol)和9j(36mg，58μmol)的DMF(3mL)溶液中加入HOBt(7.9mg，58μmol)和DIPEA(15mg，0.12mmol)，混合物在30℃下搅拌16小时。然后根据LCMS监测化合物9j完全耗尽。向所得混合物中加入二乙胺(0.1mL)，反应在室温下搅拌1小时，直至通过LCMS监测已脱去Fmoc。将反应物过滤后，滤液经制备型HPLC直接纯化(方法B)，得到化合物LP4-2(36mg，48％收率)为浅黄色固体。ESI m/z:1021(M+1)$^{+}$。^{1}H NMR(400MHz，$DMSO_{d6}$)δ10.02(s，1H)，9.82(s，1H)，9.00(s，1H)，8.69-8.65(m，1H)，8.11-8.00(m，4H)，7.65-7.53(m，3H)，7.40-7.30(m，3H)，7.30-7.20(m，1H)，6.96(d，J＝8.0Hz，1H)，6.81(d，J＝8.0Hz，1H)，6.65-6.61(m，1H)，6.50(dd，J＝8.0Hz，2.0Hz，1H)，6.00-5.95(m，1H)，5.48(s，2H)，5.00-4.95(m，3H)，4.60-4.40(m，1H)，4.25-4.20(m，1H)，3.65-3.55(m，4H)，3.15-2.55(m，10H)，2.40-2.20(m，3H)，2.20-2.00(m，5H)，2.00-1.80(m，4H)，1.86-1.55(m，6H)，1.27(d，J＝4.8Hz，9H)，1.20-1.10(m，2H)，0.97-0.90(m，6H)ppm。

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-氨基-6-[2-(环辛-2-炔-1-基氧基)乙酰胺基]己酰胺基]-3-甲基丁酰胺基]-5-(氨基甲酰基氨基)戊酰胺基]苯基}甲基N-[(1S)-1-{[(4bS，8S，8aR)-8-({[(1S，4aS，10aR)-6-羟基-1，4a-二甲基-1，2，3，4，4a，9，10，10a-八氢菲-1-基]甲酰胺基}羰基)-4b，8-二甲基-4b，5，6，7，8，8a，9，10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}-2-羟乙基]

氨基甲酸酯(LP15)

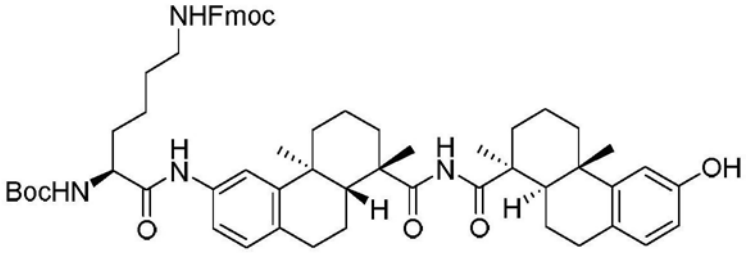


[0281] 室温下,向化合物LP4-3(24mg,44μmol)的DMF(2mL)溶液中依次加入HATU(17mg,44μmol)和化合物LP4-2(35mg,34μmol)。混合物在室温下搅拌几分钟,直至混合物均匀。在室温下,通过注射器向所述混合物中加入DIPEA(8.8mg,68μmol)。所得混合物在室温下搅拌2小时,直至根据LCMS监测大部分LP4-2耗尽。然后在室温下向所述反应混合物中滴加二乙胺或哌啶(0.1mL,过量),混合物搅拌1小时,直至通过LCMS监测已脱去Fmoc基团。(注意:二乙胺和哌啶均有效)。将反应混合物直接通过制备型HPLC纯化(方法B),得到化合物LP15(15mg,33%收率)为白色固体。ESI m/z:1313.6(M+H)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,CH_3OH_{d4})δ7.59(d,J=8.5Hz,2H),7.51(s,1H),7.36-7.26(m,3H),7.01(d,J=8.5Hz,1H),6.88(d,J=8.0Hz,1H),6.72-6.71(m,1H),6.57-6.54(m,1H),5.09(s,2H),4.64-4.52(m,1H),4.35-4.28(m,2H),4.21(d,J=7.0Hz,1H),4.01-3.98(m,1H),3.88-3.84(m,3H),3.43(t,J=6.5Hz,1H),3.26-3.10(m,4H),3.00-2.76(m,3H),2.38-2.24(m,7H),2.19-2.02(m,9H),1.98-1.78(m,4H),1.74-1.54(m,12H),1.45-1.26(m,14H),1.13(s,6H),1.00(t,J=7.5Hz,6H)ppm。

实施例1i

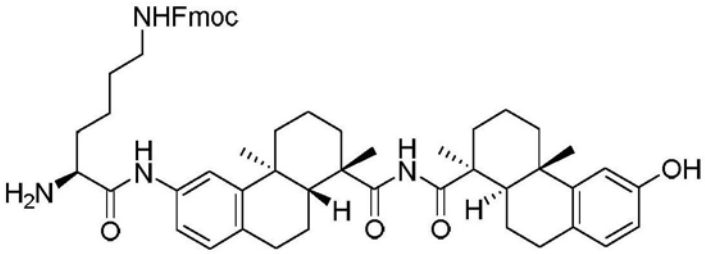
LP311的合成(图1h)

N-[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基]氨基甲酰基}-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}-5-{[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基}戊基]氨基甲酸叔丁酯(LP11-1)



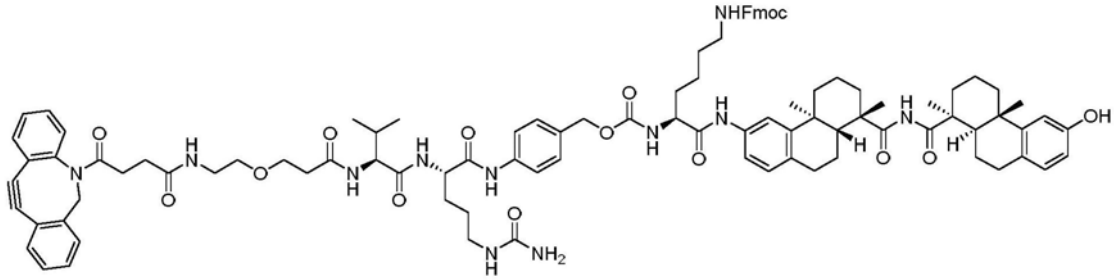
[0282] 向N-Boc-N'-Fmoc-L-赖氨酸(0.21g,0.45mmol)的DMF(2mL)溶液中加入HATU(0.24g,0.64mmol)和DIPEA(0.15g,1.1mmol)。所得混合物在室温下搅拌3分钟。然后向混合物中加入有效负载9d(0.20g,0.38mmol)。反应混合物在室温下搅拌15分钟,直至通过LCMS监测反应完成。将反应混合物过滤,所得滤液经制备型HPLC纯化(方法B),得到化合物LP11-1(0.10g,27%收率)为白色固体。ESI m/z:979(M+1)$^+$。

9H-芴-9-基甲基N-[(5S)-5-氨基-5-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基]氨基甲酰基}-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}戊基]氨基甲酸酯(LP11-2)



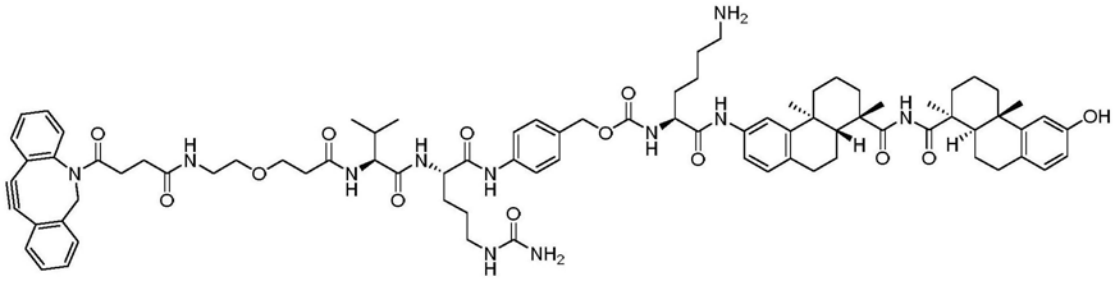
[0283] 室温下,向化合物LP11-1(0.10g,0.10mmol)的DCM溶液中加入TFA(2mL)。所得混合物在室温下搅拌1小时,直至根据LCMS监测已完全脱去Boc。真空浓缩除去挥发物。所得残余物经反相快速色谱法纯化(0-100%乙腈的碳酸氢铵水溶液(10mM)),得到化合物LP11-2(77mg,86%收率)为白色固体。ESI m/z:879(M+1)$^{+}$。^{1}H NMR(400MHz,$DMSO_{d6}$)δ9.87-9.52(m,1H),9.00(s,1H),8.11(s,1H),7.92-7.81(m,2H),7.71-7.48(m,3H),7.44-7.22(m,6H),7.00-6.90(m,1H),6.82(d,J=8.3Hz,1H),6.66-6.60(m,1H),6.54-6.47(m,1H),4.38-4.14(m,3H),3.27-3.17(m,1H),3.01-2.93(m,2H),2.90-2.66(m,4H),2.33-2.06(m,7H),1.94-1.78(m,4H),1.67-1.51(m,5H),1.48-1.07(m,16H),1.03-0.92(m,6H)ppm。

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-氮杂三环[10.4.0.$0^{4,9}$]十六碳-1(12),4(9),5,7,13,15-六烯-10-炔-2-基}-4-氧丁酰胺基)-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺基]-3-甲基丁酰胺基]-5-(氨基甲酰基氨基)戊酰胺基]苯基}甲基N-[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基]氨基甲酰基}-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}-5-{[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基}戊基]氨基甲酸酯(LP11-3)



[0284] 向化合物LP11-2(57mg,65μmol)和化合物LP9-5(0.10g,96μmol)的DMF(3mL)混合物中加入HOBt(30mg,0.22mmol)和DIPEA(0.11g,0.81mmol),混合物在室温下搅拌1小时,并通过LCMS进行监测。反应混合物经反相快速色谱法纯化(0-100%乙腈的碳酸氢铵水溶液(10mM)),得到化合物LP11-3(97mg,81%收率)为白色固体。ESI m/z:909(M/2+1)$^{+}$。

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-氮杂三环[10.4.0.$0^{4,9}$]十六碳-1(12),4(9),5,7,13,15-六烯-10-炔-2-基}-4-氧丁酰胺基)-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺基]-3-甲基丁酰胺基]-5-(氨基甲酰基氨基)戊酰胺基]苯基}甲基N-[(1S)-5-氨基-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基]氨基甲酰基}-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}戊基]氨基甲酸酯(LP311)

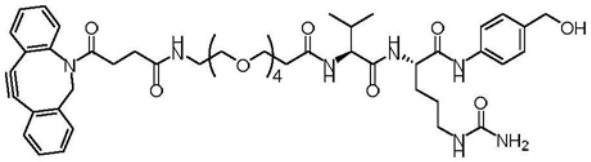


[0285] 向化合物LP11-3(97mg,53μmol)的DMF(3mL)溶液中加入二乙胺(45mg,0.62mmol)。混合物在室温下搅拌2小时,直至根据LCMS监测Fmoc完全脱去。反应混合物经制备型HPLC直接纯化(方法B),得到化合物LP311(40mg,47%收率)为白色固体。ESI m/z:798(M/2+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,DMSO$_{d6}$)δ9.99(s,1H),9.85(s,1H),9.00(s,1H),8.21-8.10(m,2H),7.88(d,J=8.5Hz,1H),7.82-7.59(m,6H),7.55-7.43(m,5H),7.41-7.29(m,5H),6.98(d,J=8.2Hz,1H),6.84(d,J=8.3Hz,1H),6.66(s,1H),6.53(d,J=8.1Hz,1H),6.06-5.96(m,1H),5.50-5.38(m,2H),5.09-4.92(m,3H),4.45-4.35(m,1H),4.28-4.21(m,1H),4.14-4.04(m,1H),3.67-3.58(m,4H),3.52-3.45(m,13H),3.14-2.69(m,9H),2.63-2.56(m,1H),2.50-2.44(m,1H),2.43-2.37(m,1H),2.33-2.13(m,7H),2.06-1.85(m,6H),1.82-1.56(m,9H),1.51-1.23(m,17H),1.21-1.13(m,2H),1.10-0.80(m,12H)ppm。

实施例1j

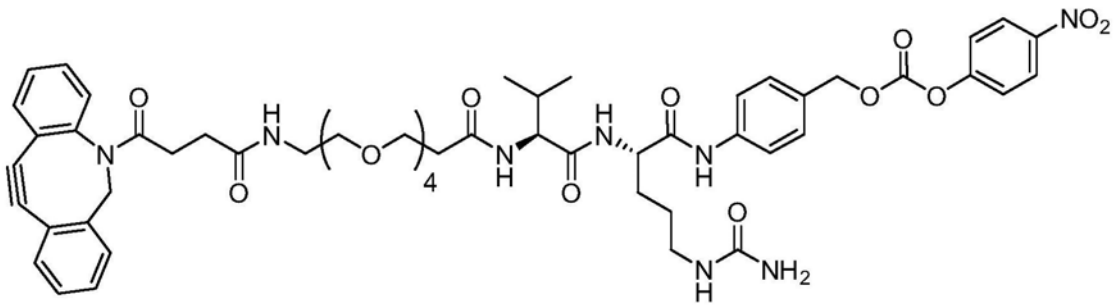
LP39的合成(图1i)

1-(4-{2-氮杂三环[10.4.0.0^{4,9}]十六碳-1(12),4(9),5,7,13,15-六烯-10-炔-2-基}-4-氧丁酰胺基)-N-[(1S)-1-{[(1S)-4-(氨基甲酰基氨基)-1-{[4-(羟甲基)苯基]氨基甲酰基}丁基]氨基甲酰基}-2-甲基丙基]-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺(LP9-3)



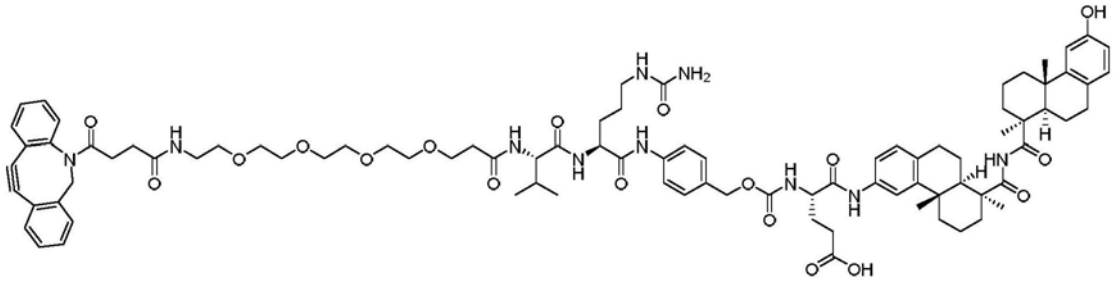
[0286] 室温下,向化合物LP9-2(0.30g,0.54mmol)的DMF(10mL)溶液中依次加入HATU(0.31g,0.81mmol)和DIPEA(0.14g,1.1mmol)。混合物在室温下搅拌15分钟。在室温下向反应溶液中加入VC-PAB-OH(LP9-1,CAS:159857-79-1,0.21g,0.54mmol),所得混合物在室温下搅拌3小时;反应进程通过LCMS进行监测。将反应混合物通过滤膜过滤,所得滤液经反向快速色谱法(0-100%乙腈的水溶液(含10mmol/L碳酸氢铵))直接纯化,得到化合物LP9-2(0.30g,60%收率)为白色固体。ESI m/z:617(M+H)$^+$。

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-氮杂三环[10.4.0.0^{4,9}]十六碳-1(12),4(9),5,7,13,15-六烯-10-炔-2-基}-4-氧丁酰胺基)-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺基]-3-甲基丁酰胺基]-5-(氨基甲酰基氨基)戊酰胺基]苯基}甲基4-硝基苯基碳酸酯(LP9-5)



[0287] 在0℃下,向化合物LP9-3(0.15g,0.16mmol)的DMF(10mL)溶液中依次加入双(4-硝基苯基)碳酸酯(LP9-4,0.15g,0.49mmol)和DIPEA(63mg,0.49mmol)。然后将混合物在室温下搅拌3小时,直至通过LCMS监测大部分LP9-3已耗尽。将反应混合物通过滤膜过滤,所得滤液直接经反向快速色谱法纯化(0-100%乙腈的水溶液(含10mmol/L碳酸氢铵)),得到化合物LP9-5(50mg,28%收率))为白色固体。ESI m/z:1079(M+H)$^+$。

(4S)-4-{[({4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-氮杂三环[10.4.0.0^{4,9}]十六碳-1(12),4(9),5,7,13,15-六烯-10-炔-2-基}-4-氧丁酰胺基)-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺基]-3-甲基丁酰胺基]-5-(氨基甲酰基氨基)戊酰胺基]苯基}甲氧基)羰基]氨基}-4-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基]氨基甲酰基}-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}丁酸(LP39)



[0288] 向化合物9o(50mg,76μmol)和化合物LP9-5(0.10g,96μmol)的DMF(1mL)混合物中加入HOBt(16mg,0.12mmol)和DIPEA(39mg,0.31mmol),混合物在室温下搅拌1小时,并通过LCMS进行监测。反应混合物经制备型HPLC纯化(方法B),得到化合物LP39(40mg,33%收率)为白色固体。ESI m/z:799(M/2+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,$DMSO_{d6}$)δ10.02(s,1H),9.03(s,1H),8.20-8.07(m,2H),7.94-7.87(m,1H),7.82-7.76(m,1H),7.70-7.57(m,4H),7.54-7.42(m,4H),7.40-7.26(m,6H),6.99-6.91(m,1H),6.85-6.79(m,1H),6.63(s,1H),6.53-6.47(m,1H),6.03(s,1H),5.44(s,2H),5.07-4.88(m,3H),4.42-4.32(m,1H),4.27-4.20(m,1H),4.11-4.02(m,1H),3.63-3.55(m,3H),3.51-3.41(m,13H),3.11-2.58(m,10H),2.40-2.10(m,11H),2.00-1.55(m,15H),1.46-1.09(m,14H),1.05-0.94(m,6H),0.99-0.77(m,7H)ppm。

实施例2

[0289] 本实施例说明了制备关键中间体7b-7f的一般方法。制备7b-7e的化学合成如图2所示。

[0290] 酰胺7f由1与NH_4Cl在HATU催化下的酰胺偶联反应制备得到。中间体7b和7c分别由7f与10b和10c进行苯酚-O-烷基化制备得到。由苯酚2转化为三氟甲磺酸酯11开始合成中间体7d和7e,然后采用布赫瓦尔德(Buchwald)偶联条件引入12d和12e的掩蔽的氨基官能团;

然后对12d和12e进行酸性脱保护，随后进行碱性水解，以将酯分别转化为酸13d和13e；最后，对13d和13e进行Boc保护，分别得到14d和14e，其进一步与铵盐进行酰胺偶联反应，分别得到7d和7e。由1与2,4-二甲氧基苄胺进行酰胺偶联反应形成7g-1，然后用三氟甲磺酸酐将其转化为三氟甲磺酸酯类似物7g-2，制备得到中间体7g。使用氰化锌进行制备，并且用TFA实现最终的脱保护，以去除2,4-二甲氧基-苄基部分，得到氰基类似物7g-3。

[0291] 或者，从罗汉松酸1的Boc-保护开始形成E2，然后转化为三氟甲磺酸酯E3，制备得到13d。中间体E3对通过正相柱色谱纯化是稳定的，并且在布赫瓦尔德(Buchwald)条件下用二苯基甲酮亚胺进一步处理，得到E4-1、E4-2、E4-3和13d的混合物，将其在HCl的THF水溶液(v/v＝1:1)中水解，一锅得到13d，总收率为28％。

实施例3

[0292] 本实施例说明了制备中间体7a的方法。本实施例参考图1中的化合物编号。

[0293] 步骤1：制备(1S,4aS,10aR)-甲基-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羧酸酯(2)

[0294] 向罗汉松酸(1,0.20g,0.73mmol)的甲醇(1.4mL)和甲苯(5.2mL)溶液中加入(三甲基硅烷基)重氮甲烷(2M的己烷溶液,0.45mL)。反应混合物在10-25℃下搅拌过夜。在基于LC-MS监测罗汉松酸完全耗尽后，真空浓缩除去挥发物，所得残余物经快速色谱法(0-35％乙酸乙酯的石油醚溶液)纯化，得到化合物2(0.21g,98％收率)为白色固体。ESI m/z:289(M+H)$^+$。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-$_{d6}$)δ8.95(s,1H),6.79(d,J＝8.2Hz,1H),6.63(d,J＝2.4Hz,1H),6.48(dd,J＝8.2,2.4Hz,1H),3.58(s,3H),2.80-2.55(m,2H),2.20-2.02(m,3H),1.96-1.71(m,2H),1.56-1.45(m,2H),1.27(t,J＝13.5Hz,1H),1.21(s,3H),1.09(td,J＝13.5,4.1Hz,1H),0.91(s,3H)ppm。

[0295] 步骤2：制备(1S,4aS,10aR)-甲基6-(苄氧基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羧酸酯(3)

[0296] 向化合物2(0.10g,0.35mmol)的DMF(1.2mL)溶液中加入碳酸铯(0.12g,0.38mmol)，混合物在20-25℃下搅拌15分钟。然后在室温下向所述混合物中加入苄基溴(88mg,0.52mmol)，将所得混合物再搅拌4小时，然后倒入水中并用乙酸乙酯萃取。合并的有机物用水和盐水洗，经硫酸钠干燥，真空浓缩。粗产物经快速色谱法纯化(10-35％乙酸乙酯的石油醚溶液)，得到化合物3(0.13g,99％收率)为白色固体。ESI m/z:379(M+H)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,CH_3OH_{d4})δ7.60-7.20(m,5H),7.00-6.82(m,2H),6.73(d,J＝7.1Hz,1H),5.03(s,2H),3.66(s,3H),2.95-2.58(m,2H),2.36-2.10(m,3H),2.10-1.85(m,2H),1.70-1.48(m,2H),1.44-1.21(m,4H),1.15(t,J＝17.2Hz,1H),1.01(s,3H)ppm。

[0297] 步骤3：制备(1S,4aS,10aR)-6-(苄氧基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羧酸(4)

[0298] 向化合物3(0.10g,0.26mmol)的DMSO(1.7mL)混合物中加入叔丁醇钾(0.30g,2.6mmol)，混合物在100℃下搅拌2小时，直至由LC-MS和TLC监测反应完成。将反应冷却至25℃后，混合物用盐酸水溶液(1N)淬灭，调至pH值为2，然后用乙酸乙酯萃取。合并的有机物用盐水洗，经硫酸钠干燥，真空浓缩。所得残余物经快速色谱法纯化(20-35％乙酸乙酯的石油醚溶液)，得到化合物4(92mg,95％收率)为白色固体。ESI m/z:365(M+H)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,CH_3OH_{d4})δ7.42(d,J＝7.4Hz,2H),7.36(t,J＝7.5Hz,2H),7.30(t,J＝7.3Hz,1H),6.92(d,J

＝8.4Hz,1H),6.87(d,J＝2.5Hz,1H),6.72(dd,J＝8.4,2.5Hz,1H),5.02(s,2H),2.82(dd,J＝16.3,4.4Hz,1H),2.77-2.65(m,1H),2.24(d,J＝13.2Hz,2H),2.19(dd,J＝13.8,6.0Hz,1H),2.11-1.96(m,2H),1.64-1.56(m,1H),1.53(d,J＝11.0Hz,1H),1.35(td,J＝13.3,3.7Hz,1H),1.30(s,3H),1.13(s,3H),1.11-1.05(m,1H)ppm。

[0299] 步骤4:制备(1S,4aS,10aR)-6-(苄氧基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-碳酰氯(6a)

[0300] 向化合物4(0.10g,0.27mmol)的1,2-二氯乙烷(DCE)(2mL)溶液中加入亚硫酰氯(0.20mL),然后反应在90℃下搅拌3h。将反应冷却至室温后,真空浓缩除去挥发物,粗产物无需进一步纯化即可用于下一步骤。

[0301] 或者步骤4:制备(1S,4aS,10aR)-全氟苯基-6-(苄氧基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羧酸酯(6b)

[0302] 向4(0.50g,1.4mmol)的DMF(5mL)溶液中加入DIPEA(0.51g,4.1mmol),然后加入全氟苯基2,2,2-三氟乙酸酯5(0.77g,2.7mmol)。所得混合物在25℃下搅拌过夜,然后用乙醚(80mL)稀释。有机混合物用水(10mL)和盐水(10mL)洗,经硫酸钠干燥,真空浓缩。所得残余物经快速色谱法纯化(0-15%乙酸乙酯的石油醚溶液),得到酯6b(0.46g,63%收率)为白色固体。^{1}H NMR(500MHz,CH_3COCH_{3d6})δ7.33(d,J＝7.4Hz,2H),7.24(t,J＝7.5Hz,2H),7.17(t,J＝7.3Hz,1H),6.86-6.80(m,2H),6.63(dd,J＝8.4,2.5Hz,1H),4.95(s,2H),2.78-2.57(m,3H),2.28-2.19(m,2H),2.14(dd,J＝13.5,5.9Hz,1H),2.02-1.81(m,1H),1.63(d,J＝11.5Hz,1H),1.60-1.52(m,1H),1.40(s,3H),1.29(td,J＝13.4,3.8Hz,1H),1.22(td,J＝13.8,4.1Hz,1H),1.05(s,3H)ppm。

[0303] 步骤5:制备(1S,4aS,10aR)-6-(苄氧基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺(7a)

[0304] 将化合物4(50mg,0.14mmol)和HATU(57mg,0.15mmol)的DMF溶液在25℃下搅拌15分钟。在25℃下,向溶液中加入DIPEA(89mg,0.69mmol)和氯化铵(25mg,0.48mmol),然后将所得混合物再搅拌4小时,之后倒入水中,并用乙酸乙酯萃取。合并的有机物用水和盐水洗,经硫酸钠干燥,真空浓缩。粗产物经快速色谱法纯化(0-35%乙酸乙酯的石油醚溶液),得到7a(48mg,91%收率)为白色固体。ESI m/z:364(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,CH_3OH_{d4})δ7.63-7.22(m,5H),7.02-6.82(m,2H),6.78(d,J＝7.1Hz,1H),5.10(s,2H),2.95-2.58(m,2H),2.36-2.10(m,3H),2.10-1.85(m,2H),1.70-1.48(m,2H),1.44-1.21(m,4H),1.15(t,J＝17.2Hz,1H),1.01(s,3H)ppm。

实施例4

[0305] 本实施例说明了制备中间体7b-7g的方法。本实施例参考图2中的化合物编号。

[0306] (1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺(7f)

[0307] 向罗汉松酸1(0.30g,1.1mmol)的DMF(4mL)溶液中加入HATU(0.46g,1.2mmol),DIPEA(0.57g,4.4mmol)和氯化铵(0.23g,4.4mmol),所得溶液在10-25℃下搅拌16小时。将混合物倒入水中,并用乙酸乙酯萃取。合并的有机物用盐水洗,经硫酸钠干燥,真空浓缩。所得残余物经快速色谱法纯化(0-35%乙酸乙酯的石油醚溶液),得到所需化合物(0.77g,100%收率)为油状物。ESI m/z:274.1(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,CH_3OH_{d4})δ6.82(d,J＝8.3Hz,

1H),6.71(d,J=2.4Hz,1H),6.58-6.47(m,1H),2.79(dd,J=16.1,4.1Hz,1H),2.71-2.60(m,1H),2.29-2.13(m,3H),2.13-1.95(m,2H),1.67-1.56(m,1H),1.48(d,J=11.6Hz,1H),1.36(td,J=13.2,4.0Hz,1H),1.27(s,3H),1.19(dt,J=8.9,4.5Hz,1H),1.16(s,3H)ppm。

[0308] (1S,4aS,10aR)-6-(2-(叔丁基二甲基硅烷氧基)乙氧基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺(7b)

[0309] 向7f(0.33g,0.47mmol)的DMF(2.5mL)溶液中加入碳酸铯(0.60g,1.8mmol)和(2-溴乙氧基)(叔丁基)二甲基硅烷(10b,0.45g,2.1mmol)。反应在氮气氛下搅拌8小时后,将混合物倒入水(30mL)和乙酸乙酯(30mL)中。分离有机物,然后用盐水洗,经无水硫酸钠干燥,真空浓缩。所得残余物经硅胶柱色谱法纯化(20-35%乙酸乙酯的石油醚溶液)得到化合物7b(0.21g,87%收率)。ESI m/z:432.2$(M+1)^+$。^1H NMR(500MHz,CH_3OH_{d4})δ6.79(d,J=8.4Hz,1H),6.69(d,J=2.2Hz,1H),6.53(dd,J=8.3,1.5Hz,1H),3.84(dd,J=14.3,4.1Hz,4H),2.71(dd,J=16.1,4.6Hz,1H),2.64-2.47(m,1H),2.20-2.02(m,3H),2.01-1.84(m,2H),1.52(d,J=14.0Hz,1H),1.37(d,J=12.2Hz,1H),1.25(td,J=13.2,3.3Hz,1H),1.16(s,3H),1.12-0.99(m,4H),0.81(s,9H),0.00(s,6H)ppm。

[0310] 2-((4bS,8S,8aR)-8-氨基甲酰基-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基氧基)乙基氨基甲酸叔丁酯(7c)

[0311] 按照制备7b的方法,通过用10c处理7f得到7c(60mg,40%收率)为白色固体。ESI m/z:360.9$(M-55)^+$,438.9$(M+23)^+$。

[0312] 叔丁基-(4bS,8S,8aR)-8-氨基甲酰基-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基氨基甲酸酯(7d)

[0313] 步骤1:制备(1S,4aS,10aR)-甲基-1,4a-二甲基-6-(三氟甲基磺酰基氧基)-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羧酸酯(11)

[0314] 向化合物2(0.33g,1.1mmol)的DCM(6mL)溶液中加入2,6-二甲基吡啶(0.15g,1.4mmol)和DMAP(28mg,0.23mmol)。将混合物冷却至-78℃,加入三氟甲酸酐(0.39g,1.4mmol)。所得混合物温热至25℃,并在25℃下再搅拌4小时。将反应混合物用乙酸乙酯(50mL)稀释,有机物用水(6mL)、盐酸水溶液(1N,10mL)和盐水(10mL)洗,然后经硫酸钠干燥,真空浓缩。所得残余物经快速色谱法纯化(0-10%乙酸乙酯的石油醚溶液),得到化合物11(0.43g,89%收率)为粘稠油状物。ESI m/z:421.2$(M+1)^+$。^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.12(d,J=2.5Hz,1H),7.10(d,J=8.5Hz,1H),6.97(dd,J=8.5,2.5Hz,1H),3.67(s,J=3.4Hz,3H),2.93(dd,J=17.2,4.4Hz,1H),2.85-2.71(m,1H),2.29(d,J=13.5Hz,1H),2.25-2.14(m,2H),2.03-1.89(m,2H),1.71-1.61(m,1H),1.56-1.48(m,1H),1.40(td,J=13.4,4.2Hz,1H),1.30-1.22(m,3H),1.09(td,J=13.6,4.2Hz,1H),1.02(s,3H)ppm。

[0315] 步骤2:制备(1S,4aS,10aR)-6-氨基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羧酸(13d)

[0316] 在氩气氛下,向碳酸铯(0.62g,1.9mmol),X-phos(2-二环己基磷-2',4',6'-三异丙基联苯,50mg,0.11mmol)和$Pd_2(dba)_3$(50mg,55μmol)的混合物中加入化合物11(0.40g,0.95mmol)的叔丁醇(5mL)溶液,然后加入二苯基甲酮亚胺(0.26g,1.4mmol)。反应在氩气下、于100℃下搅拌30分钟后,将反应混合物冷却至室温,用DCM稀释,并通过硅藻土过滤以除去不溶的残留物。滤液用水洗,经无水硫酸钠干燥,真空浓缩。向所得残余物(粗产物12d)

中加入盐酸的甲醇溶液(4N,2mL),所得溶液在25℃下搅拌5h。真空浓缩除去挥发物,残余物经快速色谱法纯化(0-20%乙酸乙酯的石油醚溶液),得到12d'-甲基酯(0.28g)为白色固体苯胺酯。ESI m/z:288(M+1)$^+$,^{1}H NMR(400MHz,DMSO-$_{d6}$)δ9.72(s,2H),7.22(s,1H),7.11(d,J=8.1Hz,1H),7.01(d,J=8.1Hz,1H),3.58(s,3H),2.86(dd,J=17.0,4.5Hz,1H),2.79-2.66(m,1H),2.21-2.05(m,3H),1.97-1.76(m,2H),1.55(t,J=13.7Hz,2H),1.30(td,J=13.2,3.7Hz,1H),1.22(s,3H),1.10(td,J=13.4,4.0Hz,1H),0.93(s,3H)ppm。向12d'-甲基酯(0.12g,0.42mmol)的DMF(3mL)混合物中加入乙硫醇钠(0.37g,4.2mmol),所得混合物在60℃下搅拌16小时。反应冷却至室温后,所得混合物用水稀释,并用盐酸水溶液(1N,20mL)酸化。水溶液用乙酸乙酯萃取,分离有机物,真空浓缩,得到粗品13d(0.14g),其直接用于下一步骤。ESI m/z:274.2(M+1)$^+$。

[0317] 通过E2、E3和E4制备得到13d的另一种方法如下所述:

[0318] 步骤1:制备(叔丁基碳酸)(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羧酸酐(E2)

[0319] 向罗汉松酸(1,0.40g,1.5mmol)和碳酸钠(0.31g,2.9mmol)的叔丁醇(10mL)混合物中加入二碳酸二叔丁酯(0.35g,1.6mmol)。反应混合物在10-25℃下搅拌16小时。反应通过TLC和LCMS进行监测,直至罗汉松酸耗尽。将所得混合物倒入乙酸乙酯(100mL)中,有机物用水(20mL×2)和盐水(50mL)洗。有机溶液经硫酸钠干燥,真空浓缩。粗产物经快速色谱法纯化(0-20%乙酸乙酯的石油醚溶液),得到标题化合物E2(0.41g,76%收率)为粘稠油状物。ESI m/z:319.2(M-55)$^+$。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-$_{d6}$)δ8.95(s,1H),6.79(d,J=8.0Hz,1H),6.64(d,J=2.5Hz,1H),6.49(dd,J=8.0,2.5Hz,1H),2.76-2.72(m,1H),2.67-2.60(m,1H),2.16-2.03(m,3H),1.85-1.78(m,2H),1.60-1.57(m,2H),1.46(s,9H),1.33-1.27(m,4H),1.21-1.15(m,1H),1.04(s,3H)ppm。

[0320] 步骤2:制备(叔丁基碳酸)(1S,4aS,10aR)-1,4a-二甲基-6-(三氟甲基磺酰基氧基)-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羧酸酐(E3)

[0321] 在氮气氛下,向化合物E2(0.30g,0.80mmol)的DCM(16mL)溶液中加入吡啶(95mg,1.2mmol)和DMAP(10mg,0.080mmol)。将混合物冷却至-20℃,通过注射器加入三氟甲酸酐(0.27g,0.96mmol)。所得混合物温热至25℃,并在25℃下再搅拌2小时。反应混合物用乙酸乙酯(50mL)稀释,有机物用水(6mL)、盐酸水溶液(1N,10mL)和盐水(10mL)洗,然后经硫酸钠干燥,真空浓缩。所得残余物经快速色谱法纯化(0-10%乙酸乙酯的石油醚溶液),得到化合物E3(0.27g,66%收率)为粘稠油状物。ESI m/z:529.2(M+Na)$^+$。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-$_{d6}$)δ7.37(d,J=2.0Hz,1H),7.23-7.17(m,2H),2.95-2.90(m,1H),2.82-2.75(m,1H),2.30-2.28(m,1H),2.12-2.09(m,1H),1.90-1.80(m,2H),1.68-1.66(m,1H),1.62-1.59(m,1H),1.46(s,9H),1.33-1.27(m,4H),1.26-1.17(m,1H),1.08(s,3H)ppm。

[0322] 步骤3:制备(1S,4aS,10aR)-6-氨基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羧酸(13d)

[0323] 在氩气氛下,向化合物E3(0.20g,0.40mmol)和二苯基甲酮亚胺(0.086g,0.48mmol)的叔丁醇(10mL)搅拌溶液中加入碳酸铯(0.33g,1.0mmol),X-phos(2-二环己基磷-2',4',6'-三异丙基联苯,38mg,80μmol)和$Pd_2(dba)_3$(37mg,40μmol)。反应混合物在氩气下、于90℃下搅拌3小时,通过LCMS监测,此时在LCMS光谱中检测到E4-1、E4-2、E4-3和13d。

将反应混合物冷却，用DCM(30ml)稀释，并通过硅藻土过滤以除去无机物。滤液用水洗，经无水硫酸钠干燥，真空浓缩。将残余物溶于THF(5mL)，用HCl水溶液(2N，5mL)酸化。然后反应在25℃下搅拌反应，并通过LCMS进行监测。16小时后，LCMS显示大部分E4-1和E4-2均已转化为13d。反应混合物用饱和碳酸氢钠水溶液中和至pH值为8，然后用乙酸乙酯(20mL×3)萃取。合并的有机物经硫酸钠干燥，真空浓缩。粗产物经快速色谱法纯化(0-50％乙酸乙酯的石油醚溶液)，得到标题化合物13d(30mg，2步收率为56％)为白色固体。ESI m/z:274.2(M+H)$^+$。

[0324] 步骤4：制备(1S,4aS,10aR)-6-(叔丁氧基羰基氨基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羧酸(14d)

[0325] 向13d(0.12g)的叔丁醇(5mL)溶液中加入碳酸钠(0.12g，1.1mmol)，碳酸氢二叔丁酯(0.48g，2.2mmol)和DMAP(20mg，0.16)，然后混合物在60℃下搅拌16小时。真空浓缩除去挥发物，残余物用DCM(20mL)稀释。分离有机物，所得有机物用饱和柠檬酸水溶液洗，经硫酸钠干燥，真空浓缩。所得残余物经快速色谱法纯化(0-35％乙酸乙酯的石油醚溶液)，得到化合物14d(0.11g，从11开始的3步收率为67％)为白色固体。ESI m/z:318.2(M-tBu+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-$_{d6}$)δ12.08(s,1H)，9.08(s,1H)，7.40(s,1H)，7.11(s,1H)，6.87(d,J＝8.3Hz,1H)，2.79-2.68(m,1H)，2.65(d,J＝12.6Hz,1H)，2.17-2.03(m,4H)，1.94-1.76(m,2H)，1.53(d,J＝13.7Hz,1H)，1.46(d,J＝7.4Hz,9H)，1.29-1.14(m,5H)，1.04(s,3H)ppm。

[0326] 步骤5：制备叔丁基-(4bS,8S,8aR)-8-氨基甲酰基-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基氨基甲酸酯(7d)

[0327] 向14d(0.11g，0.30mmol)的DMF(2.4mL)溶液中加入HATU(0.12g，0.32mmol)和DIPEA(0.5mL，3.0mmol)，混合物在25℃下搅拌1小时。然后向混合物中加入氯化铵(0.40g，7.5mmol)，所得混合物在15-25℃下再搅拌16小时。所得混合物用乙酸乙酯(40mL)稀释；分离有机物，有机物用水(10mL)和盐水(10mL)洗，经硫酸钠干燥，真空浓缩。所得残余物经快速色谱法纯化(0-20％乙酸乙酯的石油醚溶液)，得到化合物7d(84mg，75％收率)为白色固体。ESI m/z:373.3(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,CH$_3$OH-$_{d4}$)δ7.20(s,1H)，6.97(d,J＝7.7Hz,1H)，6.80(d,J＝8.3Hz,1H)，2.77-2.68(m,2H)，2.66-2.55(m,1H)，2.20(d,J＝12.9Hz,1H)，2.13(dd,J＝13.2,5.3Hz,1H)，2.08(d,J＝14.0Hz,1H)，2.03-1.86(m,2H)，1.54(d,J＝11.1Hz,1H)，1.40(s,9H)，1.26(t,J＝26.7Hz,1H)，1.18(s,3H)，1.14-1.03(m,4H)ppm。

[0328] 叔丁基-4-((4bS,8S,8aR)-8-氨基甲酰基-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基)哌嗪-1-羧酸酯(7e)

[0329] 步骤1：制备(1S,4aS,10aR)-1,4a-二甲基-6-(哌嗪-1-基)-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羧酸(14e)

[0330] 在氩气氛下，向化合物11(0.40g，0.95mmol)和哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.29g，1.5mmol)的叔丁醇(5mL)溶液中加入碳酸铯(0.62g，1.9mmol)，X-phos(50mg，0.11mmol)和$Pd_2(dba)_3$(50mg，55μmol)。反应在氩气下、于100℃下搅拌30分钟后，将反应混合物冷却，用DCM稀释，并通过硅藻土过滤以除去无机物。滤液用水洗，经无水硫酸钠干燥，真空浓缩。所得残余物经硅胶柱色谱法纯化(20-35％乙酸乙酯的石油醚溶液)，得到12e(0.42g)为黄色固体。ESI m/z:457.1(M+1)$^+$。在100℃下，12e(0.23g，0.5mmol)的DMSO(5mL)溶液用叔丁醇钾(0.25g，2.2mmol)进行处理。反应冷却至室温后，在20-25℃下，向粗品13e的混合物中加入二碳酸二叔丁酯(0.92g，4.3mmol)，所得混合物在25℃下搅拌4小时。然后将反应混合物

用乙酸乙酯(100mL)稀释,有机物用水洗,经硫酸钠干燥,真空浓缩。所得残余物经硅胶柱色谱法纯化(0-35%乙酸乙酯的石油醚溶液)得到化合物14e(0.15g,从11开始的3步收率为79%)为黄色固体。ESI m/z:443(M+1)$^+$。

[0331] 步骤2:制备叔丁基-4-((4bS,8S,8aR)-8-氨基甲酰基-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基)哌嗪-1-羧酸酯(7e)

[0332] 向14e(0.10g,0.30mmol)和HATU(0.12g,0.32mmol)的DMF(2.4mL)溶液中加入DIPEA(0.5mL,3.0mmol),所得溶液在25℃下搅拌1小时。然后向混合物中加入氯化铵(0.40g,7.5mmol),所得混合物在15-25℃下再搅拌16小时。将所得混合物用乙酸乙酯(40mL)稀释,有机物用水(10mL)和盐水(10mL)洗,经硫酸钠干燥,真空浓缩。所得残余物经快速色谱法纯化(0-20%乙酸乙酯的石油醚溶液),得到化合物7e(96mg,87%收率)为白色固体。ESI m/z:442(M+1)$^+$。

[0333] (1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺(7g)

[0334] 步骤1:制备(1S,4aS,10aR)-N-(2,4-二甲氧基苄基)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺(7g-1)

[0335] 根据制备7f的方法,化合物1与2,4-二甲氧基苄胺进行偶联反应得到7g-1(0.57g,93%收率)为浅黄色固体。ESI m/z:424.1(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-$_{d6}$)δ8.90(s,1H),7.33(t,J=5.7Hz,1H),7.06(d,J=8.3Hz,1H),6.77(d,J=8.2Hz,1H),6.60(d,J=2.4Hz,1H),6.51(d,J=2.3Hz,1H),6.48-6.42(m,2H),4.28-4.02(m,2H),3.77(s,3H),3.72(s,3H),2.74-2.67(m,1H),2.62-2.53(m,1H),2.24-2.05(m,3H),2.02-1.90(m,1H),1.90-1.78(m,1H),1.56-1.45(m,1H),1.42-1.22(m,2H),1.19(s,3H),1.09-1.01(m,1H),0.87(s,3H)ppm。

[0336] 步骤2:制备(4bS,8S,8aR)-8-(2,4-二甲氧基苄基氨基甲酰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基三氟甲磺酸酯(7g-2)

[0337] 按照制备11的方法,制备得到7g-2(0.59g,96%收率)为白色固体。ESI m/z:556.2(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-$_{d6}$)δ7.43(t,J=5.7Hz,1H),7.31(d,J=2.3Hz,1H),7.22-7.11(m,2H),7.06(d,J=8.3Hz,1H),6.52(d,J=2.3Hz,1H),6.45(dd,J=8.3,2.3Hz,1H),4.17(d,J=5.7Hz,2H),3.77(s,3H),3.72(s,3H),2.92-2.82(m,1H),2.78-2.65(m,1H),2.27-2.15(m,3H),2.03-1.86(m,2H),1.57-1.48(m,1H),1.42-1.17(m,5H),1.10-1.05(m,1H),0.91(s,J=5.9Hz,3H)ppm。

[0338] 步骤3:制备(1S,4aS,10aR)-6-氰基-N-(2,4-二甲氧基苄基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺(7g-3)

[0339] 在氮气氛下,向化合物7g-2(0.20g,0.36mmol)的DMF(3.6mL)溶液中加入四(三苯基膦)钯(42mg,36μmol)和氰化锌(84mg,0.72mmol)。混合物在氮气氛下、于110℃下搅拌4小时,直至通过LCMS监测反应完成。将反应冷却至室温后,反应混合物用乙酸乙酯(100mL)稀释,有机物用水(20mL)和盐水(20mL)洗。有机物经硫酸钠干燥,真空浓缩。所得残余物经快速色谱法纯化(10-20%乙酸乙酯的石油醚溶液),得到标题化合物7g-3(0.13g,82%收率)为白色固体。ESI m/z:433.2(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-$_{d6}$)δ7.74(d,J=1.1Hz,1H),7.47(dd,J=7.9,1.4Hz,1H),7.44(t,J=5.7Hz,1H),7.20(d,J=8.0Hz,1H),7.06(d,J=8.3Hz,

1H),6.51(d,J＝2.3Hz,1H),6.45(dd,J＝8.3,2.3Hz,1H),4.16(d,J＝5.6Hz,2H),3.77(s,3H),3.72(s,3H),3.05-2.87(m,1H),2.82-2.70(m,1H),2.36-2.28(m,1H),2.26-2.16(m,2H),2.01-1.85(m,2H),1.58-1.48(m,1H),1.45-1.17(m,5H),1.13-1.05(m,1H),0.91(s,3H)ppm。

[0340] 步骤4:制备(1S,4aS,10aR)-6-氰基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺(7g)

[0341] 在0℃下,向化合物7g-3(0.12g,0.28mmol)的DCM(3mL)溶液中滴加TFA(3mL)。将所得混合物温热,然后在25℃下搅拌48小时。所需质量通过LCMS检测为主峰。真空浓缩除去挥发物,所得残余物经快速色谱法纯化(20-40%乙酸乙酯的石油醚溶液),得到标题化合物7g(70mg,71%收率)为白色固体。ESI m/z:283.2(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-$_{d6}$)δ7.76(d,J＝1.3Hz,1H),7.48(dd,J＝7.9,1.5Hz,1H),7.21(d,J＝8.0Hz,1H),6.84(d,J＝11.8Hz,2H),3.00-2.85(m,1H),2.84-2.69(m,1H),2.41-2.27(m,1H),2.22-2.15(m,1H),2.15-2.09(m,1H),2.04-1.89(m,2H),1.56-1.48(m,1H),1.40-1.20(m,2H),1.16(s,3H),1.11-1.00(m,4H)ppm。

实施例5

[0342] 本实施例说明了制备中间体8a-e和8g的方法。本实施例参考图1中的化合物编号。

[0343] 制备化合物8a-e和8g的一般方法:制备中间体7a-g(40-100mg)中的一种的THF(0.5-2mL)溶液,使其浓度为0.06-0.28M。在-78℃下,向此溶液中滴加双(三甲基硅烷基)酰胺锂(LiHMDS)(1M的己烷溶液,1.2当量),所得混合物在-78℃下搅拌2小时。向混合物中加入6a(0.9-2.2当量)或6b(1.2当量)的THF(1mL)溶液,然后将所得混合物在10-20℃下搅拌过夜。通过LCMS监测7a-g耗尽后,将反应用饱和氯化铵水溶液淬灭,然后用乙酸乙酯萃取。合并的有机物用水和盐水洗,经硫酸钠干燥,真空浓缩。所得残余物经快速色谱法纯化(0-35%乙酸乙酯的石油醚溶液),得到8a-e和8g为白色固体。

[0344] (1S,4aS,10aR)-6-(苄氧基)-N-((1S,4aS,10aR)-6-(苄氧基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺(8a):8a的合成方法与Bioorg.Med.Chem.Lett.2005,15,2824-2828中报道的类似,但将LiHMDS替换为NaHMDS。8a(60mg,31%收率)是通过用6a(0.10g,0.26mmol)处理7a(0.10g,0.28mmol)而得到。ESI m/z:710(M+1)$^+$。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ8.16(s,1H),7.46-7.28(m,10H),6.97(dd,J＝8.4,3.0Hz,2H),6.88(dd,J＝5.8,2.6Hz,2H),6.75(dt,J＝8.4,2.9Hz,2H),5.02(s,4H),2.98-2.89(m,1H),2.89-2.71(m,3H),2.33-2.14(m,6H),2.12-1.93(m,4H),1.72-1.61(m,4H),1.45-1.40(m,2H),1.38(s,3H),1.31(s,3H),1.22-1.09(m,8H)ppm。

[0345] (1S,4aS,10aR)-6-(苄氧基)-N-((1S,4aS,10aR)-6-(2-(叔丁基二甲基硅烷基氧基)乙氧基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺(8b):化合物8b(34mg,38%收率)是通过用6a(0.10g,0.26mmol)处理7b(50mg,0.12mmol)而得到。ESI m/z:779(M+1)$^+$。

[0346] 2-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-(苄氧基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基氨基甲酰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基氧基)乙基氨基甲酸叔丁酯(8c):化合物8c(0.11g,60%收率)是通过用6b(0.15g,0.29mmol)处理7c(0.10g,0.24mmol)而得到。ESI m/z:763(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,$CDCl_3$)δ8.14(s,

1H),7.37-7.33(m,2H),7.32-7.28(m,2H),7.26-7.22(m,1H),6.91(s,1H),6.90(s,1H),6.80(d,J=2.5Hz,1H),6.72(s,1H),6.69(dd,J=8.4,2.6Hz,1H),6.60(dd,J=8.4,2.5Hz,1H),4.95(s,2H),3.90(t,J=5.0Hz,2H),3.61(s,1H),3.44(s,2H),2.87(dd,J=16.2,4.1Hz,2H),2.80-2.67(m,2H),2.25-2.11(m,6H),2.06-1.89(m,4H),1.67-1.54(m,4H),1.45-1.29(m,11H),1.24(s,6H),1.14-1.03(m,8H)ppm。

[0347] 叔丁基-(4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-(苄氧基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基氨基甲酰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基氨基甲酸酯(8d):化合物8d(37mg,46%收率)是通过用6b(72mg,0.14mmol)处理7d(42mg,0.11mmol)而得到。ESI m/z:719(M+1)$^+$。

[0348] 叔丁基-4-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-(苄氧基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基氨基甲酰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基)哌嗪-1-羧酸酯(8e):化合物8e(80mg,99%收率)是通过用6b(65mg,0.12mmol)处理7e(45mg,0.10mmol)而得到。ESI m/z:788.4(M+1)$^+$。

[0349] (1S,4aS,10aR)-6-(苄氧基)-N-((1S,4aS,10aR)-6-氰基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺(8g):化合物8g(83mg,67%收率)是通过用6b(0.16g,0.30mmol)处理7g(56mg,0.20mmol)而得到。ESI m/z:629.2(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-$_{d6}$)δ8.14(s,1H),7.79(s,1H),7.51(dd,J=7.9,1.4Hz,1H),7.44-7.40(m,2H),7.40-7.35(m,2H),7.33-7.29(m,1H),7.25(d,J=8.0Hz,1H),6.94(d,J=8.6Hz,1H),6.89(d,J=2.5Hz,1H),6.78-6.71(m,1H),5.04(s,2H),3.20-2.98(m,1H),2.92-2.80(m,2H),2.78-2.68(m,1H),2.39-2.21(m,5H),2.22-2.11(m,2H),1.95-1.79(m,4H),1.69-1.53(m,4H),1.31-1.22(m,7H),1.21-1.08(m,2H),1.02(s,3H),1.01(s,3H)ppm。

实施例6

[0350] 本实施例说明了制备以上表1中的最终化合物9a的方法。本实施例参考图1中的化合物编号。

[0351] (1S,4aS,10aR)-6-羟基-N-((1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺(9a)报道在Bioorg.Med.Chem.Lett.2005,15,2824-2828中;所述合成方法与所报道的相似,仅所述氢化反应在大气压下进行而非在45psi压力下进行。在氮气氛下,向8a(50mg,70μmol)的乙酸乙酯(2mL)溶液中加入湿的Pd/C(10%,20mg)。混合物用氢气净化排气3次,并在氢气氛下、于15-25℃下搅拌16小时。混合物通过硅藻土过滤以除去Pd/C,滤液真空浓缩。所得残余物经快速色谱法纯化(0-20%乙酸乙酯的石油醚溶液),得到9a(10mg,27%收率)为白色固体。ESI m/z:530(M+1)$^+$。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ8.16(s,1H),6.93(d,J=8.4Hz,2H),6.73(d,J=2.6Hz,2H),6.64-6.59(m,2H),3.00-2.85(m,2H),2.88-2.71(m,2H),2.34-2.16(m,6H),2.15-1.96(m,4H),1.49-1.35(m,4H),1.31(s,6H),1.30-1.08(m,4H),1.08(s,6H)ppm。

实施例7

[0352] 本实施例说明了制备以上表1中的最终化合物9b的方法。本实施例参考图1中的化合物编号。

[0353] (1S,4aS,10aR)-6-羟基-N-((1S,4aS,10aR)-6-(2-羟基乙氧基)-1,4a-二甲基-1,

2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺(9b)

[0354] 步骤1:向8b(37mg,44μmol)的THF(1.4mL)溶液中加入TBAF(1M的THF溶液,0.09mL),混合物在25℃下搅拌2h。真空浓缩除去THF,得到粗制的羟基中间体,其无需纯化即可用于下一步骤。ESI m/z:664(M+1)。^{1}H NMR(500MHz,CH_3OH-$_{d4}$)δ7.42(d,J=7.4Hz,2H),7.36(t,J=7.5Hz,2H),7.29(t,J=7.3Hz,1H),6.97(d,J=2.3Hz,1H),6.96(d,J=2.3Hz,1H),6.87(dd,J=4.4,2.6Hz,2H),6.75(dd,J=8.4,2.5Hz,1H),6.72(dd,J=8.4,2.5Hz,1H),5.03(s,2H),4.02-3.98(m,2H),3.87-3.83(m,2H),2.94(d,J=16.3Hz,2H),2.82(dd,J=18.2,8.2Hz,2H),2.40-2.20(m,5H),2.16-1.95(m,4H),1.77-1.62(m,3H),1.59-1.49(m,1H),1.48-1.32(m,8H),1.25(tt,J=13.8,3.8Hz,2H),1.12(d,J=13.3Hz,6H),0.98(t,J=7.4Hz,1H)ppm。

[0355] 步骤2:在氮气氛下,向粗制羟基中间体(20mg,30μmol)的乙酸乙酯(2mL)溶液中加入湿的Pd/C(10%,20mg)。所得混合物用氢气净化排气3次,并在氢气氛下、于20-25℃下搅拌16小时。反应混合物通过硅藻土过滤以除去Pd/C,滤液真空浓缩。所得残余物经快速色谱法纯化(0-35%乙酸乙酯的石油醚溶液),得到9b(4mg,23%收率)为白色固体。ESI m/z:574.2(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,$CDCl_3$)δ8.16(s,1H),7.02-6.87(m,2H),6.85-6.72(m,2H),6.72-6.57(m,2H),4.08-4.01(m,2H),3.99-3.89(m,2H),3.01-2.87(m,2H),2.87-2.68(m,2H),2.33-2.15(m,6H),2.14-1.97(m,4H),1.78-1.58(m,5H),1.50-1.35(m,2H),1.36-1.25(m,7H),1.22-1.07(m,8H)ppm。

实施例8

[0356] 本实施例说明了制备以上表1中的最终化合物9c的方法。本实施例参考图1中的化合物编号。

[0357] (1S,4aS,10aR)-6-(2-氨基乙氧基)-N-((1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺(9c)

[0358] 方法1:在氮气氛下,向8c(0.11g,0.16mmol)的乙酸乙酯(5mL)溶液中加入湿的Pd/C(10%,30mg)。混合物用氢气净化排气3次,并在15-25℃下搅拌16小时。将混合物通过硅藻土过滤,滤液真空浓缩,得到脱苄基化中间体(94mg)为白色固体。ESI m/z:673(M+1)$^+$。^{1}H NMR(400MHz,CH_3OH-$_{d4}$)δ6.95(d,J=8.5Hz,1H),6.90-6.82(m,2H),6.72-6.66(m,2H),6.54(dd,J=8.3,2.4Hz,1H),3.94(t,J=5.6Hz,2H),3.43-3.34(m,2H),2.98-2.86(m,2H),2.86-2.72(m,2H),2.38-2.30(m,3H),2.26(d,J=13.8Hz,3H),2.15-1.94(m,4H),1.75-1.63(m,4H),1.44(s,9H),1.39-1.32(m,8H),1.31-1.20(m,2H),1.12(d,J=5.0Hz,6H)ppm。将脱苄基中间体(90mg)的甲醇(0.5mL)混合物在15-25℃下用HCl的二氧六环(4M,0.5mL)溶液处理16h。真空浓缩除去挥发物,所得残余物经制备型HPLC纯化(方法B),得到9c(40mg,52%收率)为白色固体。ESI m/z:573.3(M+1)$^+$。^{1}H NMR(400MHz,CH_3OH-$_{d4}$)δ8.41(s,1H,酰亚胺啶(imidine)的NH),6.99(d,J=8.4Hz,1H),6.90(d,J=2.5Hz,1H),6.87(d,J=8.4Hz,1H),6.76(dd,J=8.3,2.5Hz,1H),6.69(d,J=2.5Hz,1H),6.54(dd,J=8.3,2.5Hz,1H),4.17(t,J=5.0Hz,2H),3.40-3.22(m,2H),2.99-2.71(m,4H),2.41-2.21(m,6H),2.15-1.93(m,4H),1.75-1.64(m,4H),1.47-1.33(m,8H),1.27-1.25(m,2H),1.12(s,3H),1.09(s,3H)

ppm。

[0359] 方法2:向9b(25mg,44μmol)的甲苯(1mL)溶液中加入邻苯二甲酰亚胺(10mg,65μmol),三苯膦(23mg,88μmol)和偶氮二羧酸二异丙酯(DIAD,18mg,88μmol)。反应在20-25℃下搅拌24小时后,将反应混合物用乙酸乙酯(40mL)稀释,有机物用水(20mL)洗,经无水硫酸钠干燥,浓缩。将残余物溶于乙醇(5mL)中,然后将乙醇溶液用肼(0.3mL)处理。此混合物在90℃下搅拌3小时。反应冷却后,真空浓缩除去挥发物,所得残余物与乙腈(10mL)一起研磨。混合物在25℃下搅拌10分钟,过滤。所得固体用乙腈(10mL)洗,合并的滤液真空浓缩。粗产物经制备型HPLC纯化(方法B),得到9c(11mg,44%收率)为白色固体。ESI m/z:573.4(M+1)$^+$。

实施例9

[0360] 本实施例说明了制备以上表1中的最终化合物9d的方法。本实施例参考图1中的化合物编号。

[0361] (1S,4aS,10aR)-6-氨基-N-((1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺(9d)

[0362] 步骤1:在氮气氛下,向8d(0.84g,1.3mmol)的乙酸乙酯(50mL)溶液中加入湿的Pd/C(10%,0.15g)。混合物用氢气净化排气,并在氢气球下、于15-25℃下搅拌16小时。混合物通过硅藻土过滤,滤液真空浓缩。所得残余物经硅胶柱色谱法纯化(0-50%乙酸乙酯的石油醚溶液),得到9g(0.66g,90%收率)为白色固体。ESI m/z:629(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-$_{d6}$)δ9.12(s,1H),9.00(s,1H),8.12(s,1H),7.39(d,J=17.8Hz,1H),7.15(d,J=7.4Hz,1H),6.90(d,J=8.4Hz,1H),6.82(d,J=8.3Hz,1H),6.64(d,J=2.3Hz,1H),6.51(dd,J=8.2,2.4Hz,1H),2.85(td,J=16.3,3.8Hz,2H),2.79-2.64(m,2H),2.33-2.22(m,2H),2.21-2.09(m,4H),1.96-1.77(m,4H),1.68-1.54(m,4H),1.46(s,9H),1.34-1.24(m,8H),1.20-1.10(m,2H),0.99(s,6H)ppm。

[0363] 步骤2:在0℃下,向9g的甲醇(0.5mL)溶液中加入HCl的二氧六环(4M,0.5mL)溶液,所得溶液在15-25℃下搅拌16h。真空浓缩除去挥发物,所得残余物经制备型HPLC纯化(方法B),得到9d(1.3mg,44%收率)为白色固体。ESI m/z:529.3(M+1)$^+$。

[0364] 下表3中总结了9d在DMSO-$_{d6}$(ppm)中的500MHzNMR数据。

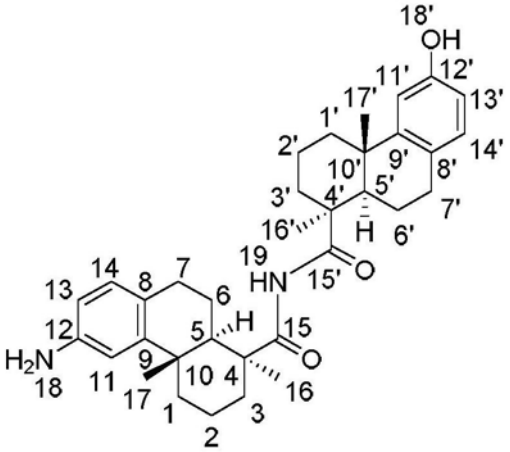


表3.

原子编号#	^{1}H NMR	^{13}C NMR	原子编号#	^{1}H NMR	^{13}C NMR
1	1.30 (Ha), 2.14 (He)	39.2	1’	1.30 (Ha), 2.14 (He)	39.36
2	1.54 (Ha), 1.84 (He)	19.61	2’	1.54 (Ha), 1.84 (He)	19.64
3	1.13 (Ha), 2.14 (He)	37.12	3’	1.13 (Ha), 2.14 (He)	37.18
4	-	45.52	4’	-	45.56
5	1.6	52.09	5’	1.6	52.32
6	1.84 (Ha), 2.23 (He)	21.27	6’	1.84 (Ha), 2.23 (He)	21.43
7	2.75	31	7’	2.75	31.08
8	-	121.65	8’	-	124.6
9	-	147.63	9’	-	148.39
10	-	38.17	10’	-	38.23
11	6.48	110.77	11’	6.63	111.81
12	-	146.43	12’	-	155.34
13	6.34	112.58	13’	6.5	113.23
14	6.68	129.09	14’	6.81	129.56
15	-	173.92	15’	-	174.03

原子编号#	^{1}H NMR	^{13}C NMR	原子编号#	^{1}H NMR	^{13}C NMR
16	1.26	27.65	16’	1.26	27.64
17	0.98	23.03	17’	0.98	23.08
18 (N)	4.69		18’ (O)	8.99	
19 (N)	8.09				

[0365] ^{1}H NMR(500MHz,$CDCl_3$)δ8.14(s,1H),6.92(d,J=8.3Hz,1H),6.86(d,J=8.1Hz,1H),6.73(d,J=2.5Hz,1H),6.65-6.57(m,2H),6.50(dd,J=8.1,2.3Hz,1H),4.75(s,1H),3.49(s,1H),2.99-2.85(m,2H),2.79(tt,J=11.6,5.8Hz,2H),2.34-2.14(m,6H),2.15-1.95(m,4H),1.74-1.51(m,5H),1.46-1.34(m,2H),1.30(s,6H),1.21-1.06(m,8H)ppm。

[0366] ^{1}H NMR(500MHz,$DMSO\text{-}_{d6}$)δ8.99(s,1H),8.09(s,1H),6.81(d,J=8.0Hz,1H),6.68(d,J=8.0Hz,1H),6.63(d,J=2.5Hz,1H),6.50(dd,J=8.0,2.5Hz,1H),6.48(d,J=2.5Hz,1H),6.34(dd,J=8.0,2.5Hz,1H),4.69(s,2H),2.86-2.60(m,4H),2.28-2.10(m,6H),1.94-1.75(m,4H),1.65-1.53(m,4H),1.35-1.20(m,8H),1.20-1.06(m,2H),0.98(s,6H)ppm。

[0367] ^{13}C NMR(100MHz,$DMSO\text{-}_{d6}$)δ174.03,173.92,155.34,148.39,147.63,146.43,129.56,129.09,124.60,121.65,113.23,112.58,111.81,110.77,52.32,52.09,45.56,

45.52,39.20,39.36,38.23,38.17,37.18,37.12,31.08,31.00,27.65,27.64,23.08,23.03,21.43,21.27,19.64,19.61ppm。

[0368] HPLC(方法B):保留时间(R_t):8.92min,纯度:99.4%,手性HPLC:>99.9%(在色谱柱AD、AS、OD和OJ中)。旋光度$[\alpha]^{25}$:+2.53°(1.7g/100mLTHF)。

实施例10

[0369] 本实施例说明了制备以上表1中的最终化合物9e的方法。本实施例参考图1中的化合物编号。

[0370] (1S,4aS,10aR)-N-((1S,4aS,10aR)-1,4a-二甲基-6-(哌嗪-1-基)-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺(9e)

[0371] 在氮气氛下,向8e(61mg,77μmol)的乙酸乙酯(1mL)溶液中加入湿的Pd/C(10%,5mg)。混合物用氢气净化排气3次,并在30℃下、在氢气氛下搅拌16小时。将混合物通过硅藻土过滤,滤液真空浓缩,得到脱苄基中间体(54mg,ESI m/z:698$(M+1)^+$),将其溶于甲醇(0.5mL)并用HCl的二氧六环溶液(4M,0.5mL)在15-25℃下处理16h。真空浓缩除去挥发物,所得残余物经制备型HPLC纯化(方法B),得到9e(10mg,22%收率)为白色固体。ESI m/z:598$(M+1)^+$。^{1}H NMR(400MHz,CH_3OH-$_{d4}$)δ8.40(s,1H,NH),7.00(d,J=8.3Hz,1H),6.92(d,J=2.5Hz,1H),6.87(d,J=8.3Hz,1H),6.80(dd,J=8.3,2.4Hz,1H),6.70(d,J=2.5Hz,1H),6.54(dd,J=8.2,2.4Hz,1H),3.36(m,8H),3.02-2.71(m,4H),2.42-2.20(m,6H),2.15-1.92(m,4H),1.79-1.59(m,4H),1.52-1.18(m,10H),1.12(d,J=9.1Hz,6H)ppm。

实施例11

[0372] 本实施例说明了制备以上表1中的最终化合物9f的方法。本实施例参考图1中的化合物编号。

[0373] (1S,4aS,10aR)-6-(二甲基氨基)-N-((1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺(9f)

[0374] 在0℃下,向化合物8d(36mg,50μmol)的甲醇(0.5mL)溶液中加入HCl的二氧六环溶液(4N,0.5mL,2mmol),所得混合物在20-25℃下搅拌16小时。反应通过LC-MS进行监测,直至化合物8d耗尽。真空浓缩除去挥发物,得到27mg游离胺中间体,将其溶于甲醇(2mL),然后在氮气氛下加入Pd/C(10%,5mg)。反应混合物用氢气净化排气并在氢气球下、于20-25℃下搅拌16h。N-甲基化在酸性条件下用甲醇进行。将混合物通过硅藻土过滤,滤液真空浓缩。所得残余物经制备型HPLC纯化(方法B),得到9f(10mg,36%收率)为白色固体。ESI m/z:557$(M+H)^+$。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ8.15(s,1H),6.99-6.90(m,2H),6.73(d,J=2.6Hz,1H),6.68-6.58(m,3H),4.69(s,1H),2.98-2-2.85(m,8H),2.87-2.72(m,2H),2.35-2.16(m,6H),2.15-1.98(m,4H),1.66(d,J=14.5Hz,4H),1.5-1.34(m,2H),1.31(s,3H),1.31(s,3H)1.19(s,3H),1.17-1.08(m,5H)ppm。

实施例12

[0375] 本实施例说明了制备以上表1中的最终化合物9g的方法。本实施例参考图1中的化合物编号。

[0376] (4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-

八氢菲-1-羰基氨基甲酰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基氨基甲酸叔丁酯(9g)

[0377] 在氮气氛下,向8d(0.84g,1.3mmol)的乙酸乙酯(50mL)溶液中加入湿的Pd/C(10%,0.15g)。混合物用氢气净化排气,并在氢气球下、于15-25℃下搅拌16h,直至通过LCMS监测8d完全耗尽。将混合物通过硅藻土过滤,滤液真空浓缩。所得残余物经硅胶柱色谱法纯化(0-50%乙酸乙酯的石油醚溶液),得到9g(0.66g,90%收率)为白色固体。ESI m/z:629(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-$_{d6}$)δ9.12(s,1H),9.00(s,1H),8.12(s,1H),7.39(d,J=17.8Hz,1H),7.15(d,J=7.4Hz,1H),6.90(d,J=8.4Hz,1H),6.82(d,J=8.3Hz,1H),6.64(d,J=2.3Hz,1H),6.51(dd,J=8.2,2.4Hz,1H),2.85(td,J=16.3,3.8Hz,2H),2.79-2.64(m,2H),2.33-2.22(m,2H),2.21-2.09(m,4H),1.96-1.77(m,4H),1.68-1.54(m,4H),1.46(s,9H),1.34-1.24(m,8H),1.20-1.10(m,2H),0.99(s,6H)ppm。

实施例13

[0378] 本实施例说明了制备以上表1中的最终化合物9h的方法。本实施例参考图1中的化合物编号。

[0379] (1S,4aS,10aR)-6-(2-氨基乙酰胺基)-N-((1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺(9h)

[0380] 在25℃下,向Fmoc-Gly-OH(30mg,0.1mmol)的DMF(1mL)溶液中加入HATU(38mg,0.1mmol)和DIPEA(39mg,0.3mmol)。所得混合物在此温度下搅拌1小时。然后向混合物中加入9d(30mg,0.06mmol),反应混合物在25℃下搅拌16h,直至9d完全耗尽(通过LCMS监测)。向混合物中加入哌啶(0.2mL),所得混合物在室温下再搅拌30分钟。真空浓缩除去挥发物,所得残余物经制备型HPLC直接纯化(方法B),得到9h(17mg,51%收率)为白色固体。ESI m/z:586(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-$_{d6}$)δ9.70(brs,1H,CONH-Ph),9.03(s,1H,OH),8.12(s,1H,酰亚胺啶的NH),7.52(s,1H),7.41(dd,J=8.3,1.8Hz,1H),6.97(d,J=8.4Hz,1H),6.82(d,J=8.3Hz,1H),6.64(d,J=2.3Hz,1H),6.51(dd,J=8.2,2.3Hz,1H),3.22(s,2H),2.95-2.63(m,4H),2.33-2.23(m,2H),2.23-2.08(m,4H),1.98-1.77(m,4H),1.71-1.51(m,4H),1.37-1.23(m,8H),1.20-1.09(m,2H),1.01(s,3H),0.99(s,3H)ppm。

实施例14

[0381] 本实施例说明了制备以上表1中的最终化合物9i的方法。本实施例参考图1中的化合物编号。

[0382] (1S,4aS,10aR)-6-(3-氨基丙酰胺基)-N-((1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺(9i)

[0383] 在25℃下,向Boc-β-Ala-OH(38mg,0.2mmol)的DMF(1mL)溶液中加入HATU(76mg,0.2mmol)和DIPEA(52mg,0.4mmol)。所得溶液在此温度下搅拌1小时。然后向溶液中加入9d(53mg,0.1mmol),所得混合物在25℃下搅拌16h,直至9d完全耗尽(通过LCMS监测)。反应混合物用乙酸乙酯稀释,然后用水和盐水洗。有机物经硫酸钠干燥,真空浓缩。将所得残余物溶于DCM(2mL),并在室温下向溶液中缓慢加入TFA(0.2mL)。混合物在室温下搅拌2h,然后真空浓缩除去挥发物,所得残余物经制备型HPLC纯化(方法B),得到9i(30mg,50%收率)为白

色固体。ESI m/z:600(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,CH_3OH-$_{d4}$)δ7.38(s,1H),7.20(d,J＝8.2Hz,1H),6.90(d,J＝8.3Hz,1H),6.76(d,J＝8.3Hz,1H),6.60(d,J＝2.3Hz,1H),6.43(dd,J＝8.2,2.3Hz,1H),2.93(t,J＝6.5Hz,2H),2.90-2.80(m,2H),2.80-2.63(m,2H),2.47(t,J＝6.5Hz,2H),2.30-2.12(m,6H),2.02-1.85(m,4H),1.65-1.54(m,4H),1.37-1.28(m,2H),1.26(s,3H),1.25(s,3H),1.21-1.11(m,2H),1.02(s,3H),1.01(s,3H)ppm。

实施例15

[0384] 本实施例说明了制备以上表1中的最终化合物9j的方法。本实施例参考图1中的化合物编号。

[0385] (1S,4aS,10aR)-6-((S)-2-氨基-3-羟基丙酰胺基)-N-((1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺(9j)

[0386] 使用与制备9h相同的方法,不同之处在于用Fmoc-Ser-OH代替Fmoc-Gly-OH,得到9j(18mg,51％收率)为白色固体。ESI m/z:616(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-$_{d6}$)δ9.74(brs,1H,CONH-Ph),9.00(s,1H,OH),8.11(s,1H,酰亚胺啶的NH),7.58(s,1H),7.41(dd,J＝8.2,2.0Hz,1H),6.96(d,J＝8.4Hz,1H),6.82(d,J＝8.3Hz,1H),6.63(d,J＝2.3Hz,1H),6.50(dd,J＝8.2,2.4Hz,1H),4.82(t,J＝5.5Hz,1H,OHonSer),3.62-3.45(m,3H),2.97-2.61(m,4H),2.33-2.21(m,2H),2.21-2.03(m,4H),1.96-1.77(m,4H),1.70-1.50(m,4H),1.36-1.20(m,8H),1.23-1.06(m,2H),1.06-0.93(m,6H)ppm。

实施例16

[0387] 本实施例说明了制备以上表1中的最终化合物9k的方法。本实施例参考图1中的化合物编号。

[0388] (1S,4aS,10aR)-N-((1S,4aS,10aR)-1,4a-二甲基-6-(2-(甲基氨基)乙酰胺基)-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺;三氟乙酸盐(9k)

[0389] 按照制备9i的方法,不同之处在于用N-Boc-Sar-OH代替Boc-β-Ala-OH,通过制备型HPLC(方法A)纯化后得到9k(27mg,28％收率,TFA盐)为白色固体。ESI m/z:600.5(M+1)$^+$。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-$_{d6}$)δ10.33(s,1H),8.99(s,1H),8.74(s,2H),8.12(s,1H),7.47(s,1H),7.32(dd,J＝8.3,1.6Hz,1H),7.03(d,J＝8.4Hz,1H),6.82(d,J＝8.1Hz,1H),6.63(d,J＝2.3Hz,1H),6.50(dd,J＝8.2,2.4Hz,1H),3.87(s,2H),2.97-2.66(m,4H),2.62(s,3H),2.37-2.23(m,2H),2.21-2.06(m,4H),2.00-1.77(m,4H),1.70-1.50(m,4H),1.38-1.23(m,8H),1.21-1.08(m,2H),1.01(s,3H),0.99(s,3H)ppm。^{19}F NMR(376MHz,DMSO-$_{d6}$)δ-73.43ppm。

实施例17

[0390] 本实施例说明了制备以上表1中的最终化合物9l的方法。本实施例参考图1中的化合物编号。

[0391] (1S,4aS,10aR)-N-[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基]-6-[(2S)-2,6-二氨基己酰胺基]-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺;三氟乙酸盐(9l)

[0392] 按照制备9i的方法,不同之处在于用Boc-Lys-OH代替Boc-β-Ala-OH,得到化合物

91(9mg,49%收率)为白色固体。ESI m/z:657.5(M+1)$^+$。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-$_{d6}$)δ10.33(s,1H),9.01(s,1H),8.13(s,1H),7.78(brs,6H),7.51(s,1H),7.34(d,J=8.1Hz,1H),7.02(d,J=8.5Hz,1H),6.82(d,J=8.6Hz,1H),6.63(s,1H),6.51(d,J=8.3Hz,1H),3.82(s,1H),2.89(s,1H),2.82-2.67(m,5H),2.29(s,2H),2.15(s,4H),1.85(s,6H),1.64-1.51(m,6H),1.28(d,J=6.8Hz,10H),1.13(s,2H),1.01(s,3H),0.99(s,3H)ppm。^{19}F NMR(376MHz,DMSO$_{d6}$)δ-73.53ppm。

实施例18

[0393] 本实施例说明了制备以上表1中的最终化合物9m的方法。本实施例参考图1中的化合物编号。

[0394] (1S,4aS,10aR)-N-[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基]-6-[(2S)-2-氨基-3-(1H-咪唑-4-基)丙酰胺基]-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺;三氟乙酸盐(9m)

[0395] 按照制备9i的方法,不同之处在于用Boc-His-OH代替Boc-β-Ala-OH,得到化合物9m(11mg,60%收率)为白色固体。ESI m/z:666.3(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-$_{d6}$)δ10.39(s,1H),9.02(s,1H),8.74(s,1H),8.45(brs,2H),8.13(s,1H),7.42(s,1H),7.36(s,1H),7.31-7.27(dd,J=8.3Hz,1.7Hz,1H),7.02(d,J=8.4Hz,1H),6.82(d,J=8.3Hz,1H),6.63(d,J=2.2Hz,1H),6.51(dd,J=8.2,2.3Hz,1H),4.20(t,J=6.8Hz,1H),3.28-3.13(m,2H),2.95-2.63(m,4H),2.34-2.22(m,2H),2.22-2.08(m,4H),1.93-1.81(m,4H),1.66-1.56(m,4H),1.37-1.22(m,8H),1.22-1.08(m,2H),1.01(s,3H),0.99(s,3H)ppm。^{19}F NMR(376MHz,DMSO$_{d6}$)δ-73.64ppm。

实施例19

[0396] 本实施例说明了制备以上表1中的最终化合物9n的方法。本实施例参考图1中的化合物编号。

[0397] (3S)-3-氨基-3-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基]氨基甲酰基}-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}丙酸(9n)

[0398] 按照制备9i的方法,不同之处在于用OtBu-N-Boc-Asp-OH代替Boc-β-Ala-OH,得到化合物9n(11mg,62%收率)为白色固体。ESI m/z:644.3(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-$_{d6}$)δ10.34(brs,1H),9.03(brs,1H),8.12(s,1H),7.53(s,1H),7.34(dd,J=8.3,1.8Hz,1H),6.98(d,J=8.4Hz,1H),6.81(d,J=8.3Hz,1H),6.63(d,J=2.3Hz,1H),6.50(dd,J=8.2,2.3Hz,1H),3.79-3.74(m,1H),2.93-2.69(m,5H),2.37-2.23(m,3H),2.22-2.08(m,4H),1.95-1.78(m,4H),1.66-1.54(m,4H),1.42-1.22(m,8H),1.19-1.09(m,2H),1.00(s,3H),0.99(s,3H)ppm。

实施例20

[0399] 本实施例说明了制备以上表1中的最终化合物9o的方法。本实施例参考图1中的化合物编号。

[0400] (4S)-4-氨基-4-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基]氨基甲酰基}-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}丁酸;三氟乙酸(9o)

[0401] 按照制备9i的方法，不同之处在于用OtBu-N-Boc-Glu-OH代替Boc-β-Ala-OH，得到化合物9o(8mg，46％收率)为白色固体。ESI m/z:658.3(M+1)$^+$。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-$_{d6}$)δ10.32(s,1H),9.00(s,1H),8.12(s,1H),7.48(s,1H),7.35(d,J＝8.2Hz,1H),7.02(d,J＝8.4Hz,1H),6.82(d,J＝8.3Hz,1H),6.63(d,J＝2.1Hz,1H),6.50(dd,J＝8.2,2.3Hz,1H),3.87(t,J＝6.5Hz,1H),2.97-2.67(m,4H),2.41-2.22(m,4H),2.22-2.08(m,4H),2.05-1.97(m,2H),1.94-1.80(m,4H),1.69-1.52(m,4H),1.42-1.22(m,8H),1.22-1.06(m,2H),1.02(s,3H),0.99(s,3H)ppm。^{19}F NMR(376MHz,DMSO-$_{d6}$)δ-73.50ppm。

实施例21

[0402] 本实施例说明了制备以上表1中的最终化合物9p的方法。本实施例参考图1中的化合物编号，合成方法示于图3a中。

[0403] 步骤1：制备(1S,4aS,10aR)-6-(氨基甲基)-N-((1S,4aS,10aR)-6-(苄氧基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺；三氟乙酸盐(9p')

[0404] 在0℃下，在氮气氛下，向8g(70mg，0.11mmol)的乙醇(15mL)溶液加入雷尼镍(0.10g)，然后加入浓氨水溶液(1.5mL)。所得混合物用氢气净化排气，并通过气球在氢气氛下搅拌18小时。LCMS确认还原已完成。将溶液通过硅藻土过滤，滤液真空浓缩，得到粗物料(67mg，95％收率)为白色固体，将7mg的所述粗物料经制备型HPLC纯化(方法A)，得到9p'(4mg，TFA盐)用于NMR分析。ESI m/z:633.4(M+1)$^+$。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-$_{d6}$)δ9.21(s,2H),9.01(s,1H),8.13(s,1H),7.52-7.34(m,6H),7.18(d,J＝8.0Hz,1H),7.10(d,J＝7.9Hz,1H),6.82(d,J＝8.3Hz,1H),6.63(d,J＝2.2Hz,1H),6.51(dd,J＝8.2,2.3Hz,1H),4.19-4.03(m,4H),3.00-2.93(m,1H),2.87-2.77(m,2H),2.75-2.64(m,1H),2.35-2.24(m,3H),2.22-2.09(m,3H),1.96-1.74(m,4H),1.71-1.51(m,4H),1.38-1.22(m,8H),1.21-1.08(m,2H),1.03(s,3H),0.99(s,3H)ppm。^{19}F NMR(376MHz,DMSO-$_{d6}$)δ-73.53ppm。

[0405] 步骤2：制备(1S,4aS,10aR)-6-(氨基甲基)-N-((1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺；三氟乙酸盐(9p)

[0406] 在-78℃的氩气氛下，向化合物9p'(60mg，95μmol)的DCM(5mL)溶液中滴加三溴化硼(1M的DCM溶液，1mL)。所得混合物在-78℃下搅拌1小时，直至根据LCMS确定苄基完全脱去。然后在-78℃下，向混合物滴加甲醇(5mL)进行淬灭，使反应升温至室温。反应溶液用DCM(50mL)稀释，然后用饱和$NaHCO_3$溶液(20mL x 2)洗。有机物经硫酸钠干燥，真空浓缩。所得残余物经制备型HPLC纯化(方法A)，得到标题化合物9p(15mg，30％收率，TFA盐)为白色固体。ESI m/z:543.2(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-$_{d6}$)δ9.02(s,1H),8.14(s,1H),8.09(brs,3H),7.40(s,1H),7.15(d,J＝7.9Hz,1H),7.09(d,J＝7.9Hz,1H),6.82(d,J＝8.3Hz,1H),6.64(d,J＝2.3Hz,1H),6.51(dd,J＝8.2,2.4Hz,1H),3.96(d,J＝4.7Hz,2H),3.00-2.91(m,1H),2.87-2.76(m,2H),2.75-2.66(m,1H),2.36-2.24(m,3H),2.22-2.10(m,3H),1.97-1.78(m,4H),1.68-1.53(m,4H),1.35-1.23(m,8H),1.16(qd,J＝14.0,3.6Hz,2H),1.03(s,3H),0.99(s,3H)ppm。^{19}FNMR(376MHz,DMSO$_{d6}$)δ-73.53ppm。

实施例22

[0407] 本实施例说明了制备以上表1中的最终化合物9q的方法。本实施例参考图1中的化

合物编号。

[0408] 4-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基]氨基甲酰基}-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}丁酸(9q)

[0409] 向4mL旋盖的小瓶中加入化合物9d(15mg,28μmol)和戊二酸酐(5.0mg,43μmol)。将混合的固体溶于THF(0.2mL)。所得混合物在室温下搅拌16小时,直至通过LCMS监测反应完成。混合物用甲醇(2mL)稀释。将溶液过滤,滤液经制备型HPLC纯化(方法B),得到化合物9q(10mg,56%收率)为白色固体。ESI m/z:643.3(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,$DMSO_{d6}$)δ9.73(s,1H),8.99(s,1H),8.11(s,1H),7.48(s,1H),7.33(dd,J=8.3,1.7Hz,1H),6.94(d,J=8.4Hz,1H),6.81(d,J=8.3Hz,1H),6.63(d,J=2.3Hz,1H),6.50(dd,J=8.2,2.3Hz,1H),2.94-2.60(m,4H),2.33-2.07(m,10H),1.96-1.51(m,10H),1.37-1.21(m,8H),1.14(t,J=14.1Hz,2H),1.00(s,3H),0.98(s,3H)ppm。

实施例23

[0410] 本实施例说明了制备以上表1中的最终化合物9r的方法。本实施例参考图1中的化合物编号,合成方法示于图3b中。

[0411] 2-[({[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基]氨基甲酰基}-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}甲基)氨基]乙酸;三氟乙酸盐(9r)

[0412] 在25℃下,向Boc-亚氨基二乙酸(30mg,0.13mmol)的DMF(0.5mL)溶液中加入HATU(60mg,0.16mmol)和DIPEA(72mg,0.56mmol)。所得混合物在此温度下搅拌1小时。将反应混合物冷却至10-15℃,然后向混合物中加入9d(30mg,57μmol)。反应在10-15℃下搅拌3小时后,9d完全耗尽(通过LCMS监测)。向反应混合物中加入氢氧化锂水溶液(1M,0.5mL)。然后将混合物在70℃下搅拌2小时。反应冷却至室温、并通过注射器滤膜过滤后,滤液通过反相快速色谱法(5-90%乙腈的水溶液(含0.1%TFA))直接分离,得到白色固体。将固体溶于DCM(0.4mL),并在室温下向溶液中缓慢加入TFA(0.1mL),反应在室温下搅拌2小时。真空浓缩除去挥发物,所得残余物经制备型HPLC纯化(方法B),得到9r(10mg,28%收率)为白色固体。ESI m/z:644.4(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,$DMSO_{d6}$)δ10.24(s,1H),9.00(s,1H),8.12(s,1H),7.48(s,1H),7.32(d,J=7.9Hz,1H),7.01(d,J=8.5Hz,1H),6.82(d,J=8.3Hz,1H),6.67-6.60(m,1H),6.51(d,J=8.4Hz,1H),3.88-3.76(m,4H),2.96-2.61(m,5H),2.32-2.22(m,2H),2.19-2.08(m,4H),1.97-1.78(m,4H),1.69-1.54(m,4H),1.39-1.20(m,8H),1.22-1.08(m,2H),1.01(s,3H),0.99(s,3H)ppm。^{19}F NMR(376MHz,$DMSO_{d6}$)δ-73.44ppm。

实施例24

[0413] 本实施例说明了制备以上表1中的最终化合物9t的方法。本实施例参考图1中的化合物编号,合成方法示于图3c中。

[0414] (1S,4aS,10aR)-6-氨基-N-((1R,4aS,10aR)-7-异丙基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺(9t)

[0415] 步骤1:制备(1R,4aS,10aR)-全氟苯基7-异丙基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羧酸酯(6d)

[0416] 使用与制备6b相同的方法，不同之处在于用14f(脱氢松香酸，CAS号为1740-19-8，0.50g，1.7mmol)代替4，经快速色谱法纯化(5％乙酸乙酯的石油醚溶液)后得到化合物6d(0.30g，39％)为无色油状物。^{1}HNMR(500MHz，$DMSO_{d6}$)δ7.2(d，J＝7.0Hz，1H)，7.00-6.99(m，1H)，6.88(s，1H)，2.94-2.78(m，3H)，2.38-2.36(m，1H)，2.25-2.23(m，1H)，2.02-1.73(m，5H)，1.46-1.40(m，2H)，1.36(s，3H)，1.19(s，3H)，1.15(d，J＝7.0Hz，6H)ppm。

[0417] 步骤2：制备(4bS，8S，8aR)-8-((1R，4aS，10aR)-7-异丙基-1，4a-二甲基-1，2，3，4，4a，9，10，10a-八氢菲-1-羰基氨基甲酰基)-4b，8-二甲基-4b，5，6，7，8，8a，9，10-八氢菲-3-基氨基甲酸叔丁酯(8t)

[0418] 使用与制备8d相同的方法，7d(40mg，0.11mmol)与6d(60mg，0.13mmol)进行酰胺偶联反应得到纯的8t(10mg，14％收率)。ESI m/z:655(M+1)$^+$。

[0419] 步骤3：制备(1S，4aS，10aR)-6-氨基-N-((1R，4aS，10aR)-7-异丙基-1，4a-二甲基-1，2，3，4，4a，9，10，10a-八氢菲-1-羰基)-1，4a-二甲基-1，2，3，4，4a，9，10，10a-八氢菲-1-甲酰胺(9t)

[0420] 在0℃下，向化合物8t(10mg，15μmol)的DCM(2mL)溶液中滴加TFA(0.2mL)。反应在0℃下搅拌1小时，直至通过LCMS监测已脱去Boc。反应混合物用DCM(20mL)稀释，然后依次用饱和$NaHCO_3$溶液洗、水和盐水洗。有机溶液经硫酸钠干燥，真空浓缩，得到化合物9t(5mg，59％收率)为白色固体。ESI m/z:555.2(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz，CH_3OH-$_{d4}$)δ7.19(d，J＝8.0Hz，1H)，7.00(d，J＝9.5Hz，1H)，6.88(s，1H)，6.81(d，J＝8.5Hz，1H)，6.72(d，J＝2.5Hz，1H)，6.55-6.53(m，1H)，2.88-2.74(m，5H)，2.43-2.40(m，1H)，2.31-2.28(m，3H)，2.11-1.99(m，2H)，1.94-1.86(m，2H)，1.81-1.67(m，4H)，1.52-1.46(m，2H)，1.42(s，4H)，1.35(s，3H)，1.32-1.30(m，3H)，1.26(s，3H)，1.23(s，3H)，1.21(s，3H)，1.13(s，3H)ppm。

实施例25

[0421] 本实施例说明了制备以上表1中的最终化合物9u的方法。本实施例参考图1中的化合物编号，合成方法示于图3d中。

[0422] 步骤1：制备(4bS，8S，8aR)-8-(氨基甲基)-4b，8-二甲基-4b，5，6，7，8，8a，9，10-八氢菲-3-醇(7f')

[0423] 室温下，通过注射器向化合物7f(0.10g，0.37mmol)的THF(10mL)溶液中加入硼烷-甲基硫醚络合物(2M的THF溶液，1.9mL，3.7mmol)。然后将混合物在70℃下搅拌48小时，直至通过LC-MS监测反应完成。反应冷却后，将反应混合物倒入0-5℃的冷的甲醇(50mL)中。真空浓缩除去挥发物。所得残余物经制备型HPLC纯化(方法B)，得到化合物7f'(45mg，47％收率)为白色固体。ESI m/z:260.2(M+1)$^+$。

[0424] 步骤2：制备(1S，4aS，10aR)-N-{[(1S，4aS，10aR)-6-羟基-1，4a-二甲基-1，2，3，4，4a，9，10，10a-八氢菲-1-基]甲基}-6-羟基-1，4a-二甲基-1，2，3，4，4a，9，10，10a-八氢菲-1-甲酰胺(9u)

[0425] 在25℃下，向罗汉松酸1(10mg，36μmol)的DMF(0.5mL)溶液中加入HATU(21mg，55μmol)和DIPEA(14mg，0.11mmol)。所得混合物在此温度下搅拌16小时。然后向混合物中加入化合物7f'(10mg，39μmol)。反应在25℃下搅拌40小时后，通过LCMS进行监测，反应混合物通过制备型HPLC直接纯化(方法A)，得到化合物9u(9mg，48％收率)为白色固体。ESI m/z:516.3(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz，$DMSO_{d6}$)δ8.93(brs，2H)，6.77(dd，J＝8.2，5.3Hz，2H)，6.70

(t,J＝5.9Hz,1H),6.62(s,2H),6.47(dt,J＝8.2,2.1Hz,2H),3.70-3.62(m,1H),2.87-2.55(m,5H),2.22-2.09(m,4H),2.02-1.80(m,4H),1.72-1.13(m,14H),1.10-1.04(m,1H),1.01(s,3H),0.93(s,3H),0.87-0.81(m,1H)ppm。

实施例26

[0426] 本实施例说明了制备以上表1中的最终化合物15b的方法。本实施例参考图1中的化合物编号,合成方法示于图3e中。

[0427] 葡萄糖类似物15b由乙酰酯15a的碱性水解得到,其中15a通过用溴葡萄糖16处理双酚9a而形成。

[0428] (1S,4aS,10aR)-N-((1S,4aS,10aR)-1,4a-二甲基-6-((2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基氧基)-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺(15b)

[0429] 向9a(10mg,19μmol)的乙腈(0.2mL)溶液中加入[(2R,3R,4S,5R,6S)-3,4,5-三(乙酰氧基)-6-溴噁烷-2-基]甲基乙酸酯(16,10mg,24μmol)和氧化银(I)(15mg,64μmol)。所得混合物在10-20℃下搅拌48小时。混合物通过硅藻土过滤,滤液真空浓缩。将所得残余物(粗品15a)溶于THF/水(v/v＝4,1mL),并向溶液中加入氢氧化锂(0.50mg,0.021mmol)。反应在18℃下搅拌2小时后,将混合物过滤,滤液经制备型HPLC直接纯化(方法B),得到15b(2mg,15%收率)为白色固体。ESI m/z:692$(M+1)^+$。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-$_{d6}$)δ9.01(s,1H),8.13(s,1H),6.96-6.89(m,2H),6.85-6.75(m,2H),6.66-6.61(m,1H),6.57(s,1H),5.26(d,J＝5.1Hz,1H),5.07(d,J＝4.4Hz,1H),4.99(d,J＝6.1Hz,1H),4.80(d,J＝7.8Hz,1H),4.52-4.49(m,1H),2.32-2.22(m,4H),2.21-2.09(m,4H),1.93-1.78(m,5H),1.66-1.54(m,4H),1.32-1.22(m,14H),1.15(s,3H),1.00(d,J＝7.7Hz,6H)ppm。

实施例27

[0430] 本实施例说明了制备以上表1中化合物17b和17c的方法。本实施例参考图4中的化合物编号。

[0431] 通过用二磷酰氯18处理苯酚9g,从而得到磷酸类似物17a。通过用TFA对17a进行酸性脱保护,而得到化合物17b和17c。磷酸类似物17c在碱性和中性条件下可溶于水,但在pH5下不稳定,可在甲醇存在下转化为甲氧基磷酸酯17b;发现后者在pH5-8下稳定。

[0432] (4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-氨基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基氨基甲酰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基甲基磷酸氢酯(17b);(4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-氨基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基氨基甲酰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基磷酸二氢酯(17c)

[0433] 在-40℃下,向9g(10mg,16μmol)的THF(0.1mL)搅拌溶液中加入二磷酰氯18(10mg,40μmol)和TEA(16mg,0.16mmol)。反应在-40℃下搅拌1小时后,将反应混合物用水淬灭,并用饱和碳酸氢钠水溶液将pH值调节至8。然后溶液用盐酸水溶液(1N)酸化至pH2,并用乙酸乙酯萃取。合并的有机物用盐水洗,经硫酸钠干燥,浓缩,得到粗制的17a。向17a(11mg)的约1%甲醇的二氯甲烷(1mL)溶液中加入TFA(0.1mL),所得混合物在25℃下搅拌1小时。除去挥发物,所得残余物经制备型HPLC纯化(方法B),得到17b(3mg,31%收率)为白色固体和17c(2mg,20%收率)为白色固体。

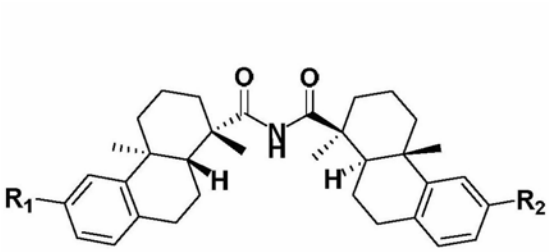
[0434] 对于17b:ESI m/z:623(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-$_{d6}$)δ8.13(s,1H),7.04(s,1H),7.00(d,J＝8.4Hz,1H),6.96-6.89(m,1H),6.89-6.84(m,2H),6.76-6.67(m,1H),3.60(d,J＝11.4Hz,3H),2.89(t,J＝17.0Hz,2H),2.81-2.68(m,1H),2.56-2.50(m,4H),2.33-2.23(m,2H),2.16(d,J＝12.3Hz,4H),1.93-1.80(m,4H),1.67-1.55(m,4H),1.33-1.20(m,8H),1.15(t,J＝10.4Hz,2H),1.00(s,6H)ppm。

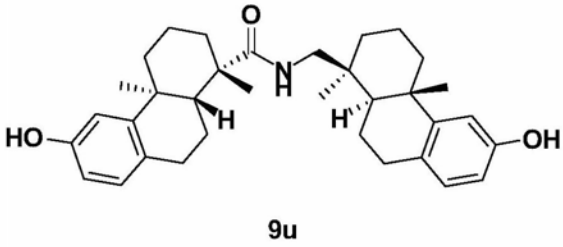
[0435] 对于17c:ESI m/z:609(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-$_{d6}$)δ8.11(s,1H),7.20(s,1H),7.00-6.91(m,2H),6.86(d,J＝8.5Hz,1H),6.68(d,J＝8.1Hz,1H),6.48(s,1H),6.34(d,J＝7.9Hz,1H),2.87(d,J＝14.4Hz,2H),2.80-2.57(m,5H),2.31-2.22(m,2H),2.19-2.07(m,4H),1.95-1.73(m,4H),1.69-1.48(m,4H),1.27(d,J＝5.9Hz,8H),1.21-1.06(m,2H),0.99(s,6H)ppm。

实施例28

[0436] 表4总结了上述化合物的结构、计算的LogP值、MS和HPLC结果。

表4.有效负载的化学物理性质





9u

	R1	R2	CLogP	MS M+H (100%)	HPLC	
					纯度 (%)	R_t (min)
9a	OH	OH	+++	530.3	100	2.01
9b	OH	OCH_2CH_2OH	+++	574.2	100	2.00
9c	OH	$OCH_2CH_2NH_2$	+++	572.4	100	8.72
9d	OH	NH_2	+++	529.3	95	8.66
9e	OH	N-哌嗪	+++	598.4	100	8.99
9f	OH	$N(CH_3)_2$	+++	557.4	95	10.07
9h	OH	NH-Gly	+++	586.2	100	7.51
9i	OH	NH-β-Ala	+++	600.3	97	8.43
9j	OH	NH-Ser	++	616.3	92	6.38
9k	OH	NH-Sar	+++	599.4	99	7.55
9l	OH	NH-Lys	+++	657.5	96	6.82
9m	OH	NH-His	+++	666.3	99	6.85
9n	OH	NH-Asp	++	644.3	99	6.69
9o	OH	NH-Glu	++	658.3	100	7.41
9p	OH	$CH_2\ NH_2$	+++	526.2	99	7.48
9q	OH	$NHCO(CH_2)_3CO_2H$	+++	643.3	100	9.35
9r	OH	$NHCOCH_2NH_2CH_2CO_2H$	+	644.4	100	7.7
9t	NH_2	iPr	+++	555.2	98	11.4
9u	OH	OH	+++	516.3	100	10.6
15b	OH	葡萄糖	++	692.2	90	7.24
17b	NH_2	OPO_3HMe	+++	623.2	99	6.42
17c	NH_2	OPO_3H_2	+++	609.1	98	5.83

6<+++<9;4<++<6;2<+<4

实施例29

[0437] 本实施例说明了制备VA-有效负载、VC-有效负载和VC-PAB-有效负载的一般方法，由化合物21c、21d、21h和21j表示。本实施例参考图5中的化合物编号。

[0438] 化合物21d是由9d与Fmoc-VA-酸(20)进行酰胺偶联反应，随后采用标准Fmoc脱保护条件而得到。化合物21c、21d、21h和21j是通过用Fmoc-L-缬氨酸-L-瓜氨酸-对氨基苄醇对硝基苯基碳酸酯(Fmoc-VC-PAB-PNP，19)处理9c、9d、9h或9j，随后分别采用标准Fmoc脱保护条件而得到。

[0439] 4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基2-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基氨基甲酰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基氧基)乙基氨基甲酸酯(21c)

[0440] 向9c(18mg,31μmol)的DMF溶液中加入Fmoc-VC-PAB-PNP19(16mg,21μmol)和DIPEA(20mg,0.16mmol)，混合物在20-25℃下搅拌反应24小时。向所得混合物中加入哌啶(0.1mL)，混合物在25℃下再搅拌2小时，直至通过LC-MS监测从中间体中脱去Fmoc。将混合物通过膜过滤，滤液经制备型HPLC直接纯化(方法B)，得到21c(14mg，50％收率)为白色固体。ESI m/z:978(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-$_{d6}$)δ10.22(s,1H),9.04(s,1H),8.71(d,J＝7.5Hz,1H),8.12(s,2H),7.59(d,J＝8.3Hz,2H),7.42(t,J＝5.4Hz,1H),7.29(d,J＝8.2Hz,2H),6.94(d,J＝8.5Hz,1H),6.84-6.76(m,2H),6.67(d,J＝8.4Hz,1H),6.64(s,1H),6.51(dd,J＝8.1,2.0Hz,1H),6.12(s,1H),5.52(s,2H),4.96(s,2H),4.51(d,J＝5.1Hz,1H),3.92(s,2H),3.66(d,J＝5.7Hz,1H),3.32(d,J＝5.6Hz,2H),3.13-2.93(m,2H),2.85(t,J＝18.0Hz,2H),2.77-2.63(m,2H),2.26(d,J＝7.2Hz,2H),2.22-2.03(m,4H),1.89-1.82(m,4H),1.79-1.69(m,1H),1.68-1.53(m,4H),1.46-1.40(m,2H),1.27(d,J＝3.3Hz,8H),1.19-1.08(m,4H),1.03-0.89(m,12H)ppm。

[0441] (1S,4aS,10aR)-6-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-N-((1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺(21d)

[0442] 向9d(53mg，0.10mmol)的DMF(1mL)溶液中加入Fmoc-Val-Ala-OH20(41mg，0.10mmol)，HATU(38mg，0.1mmol)和DIPEA(26mg，0.20mmol)。反应在25℃下搅拌24小时后，根据LC-MS监测9d耗尽。然后向此混合物中加入哌啶(0.1mL)，所得溶液在25℃下再搅拌3小时。将混合物过滤，滤液真空浓缩，所得残余物经制备型HPLC直接纯化(方法B)，得到化合物21d(45mg，64％收率)为白色固体。ESI m/z:699(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,CH$_3$OH-$_{d4}$)δ8.40(s,1H),7.47(s,1H),7.32(d,J＝8.0Hz,1H),7.03(d,J＝8.3Hz,1H),6.88(d,J＝8.2Hz,1H),6.72(d,J＝2.4Hz,1H),6.56(dd,J＝8.3,2.4Hz,1H),4.60-4.48(m,1H),3.22-3.11(m,1H),3.02-2.93(m,1H),2.92-2.76(m,3H),2.74-2.70(m,1H),2.43-2.31(m,3H),2.28(d,J＝14.1Hz,3H),2.16-1.96(m,3H),1.81(s,1H),1.78-1.65(m,4H),1.53-1.42(m,4H),1.38(d,J＝5.3Hz,6H),1.33-1.22(m,2H),1.14(d,J＝6.6Hz,6H),1.09(d,J＝18.6Hz,6H)ppm。

[0443] {4-[(2S)-2-[(2S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基]-5-(氨基甲酰基氨基)戊酰胺基]苯基}甲基N-({[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基]氨基甲酰基}-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}甲基)氨基甲酸酯(21h)

[0444] 使用与制备21c相同的方法，不同之处在于使用9h代替9c。得到21h(85mg，32％收

率)为白色固体。ESI m/z:990(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,CH_3OH-$_{d4}$)δ8.40(s,1H,酰亚胺啶的NH),7.58(d,J=8.5Hz,2H),7.50(s,1H),7.37(d,J=8.5Hz,2H),7.30(d,J=7.5Hz,1H),7.02(d,J=8.3Hz,1H),6.88(d,J=8.3Hz,1H),6.72(d,J=2.4Hz,1H),6.56(dd,J=8.2,2.5Hz,1H),5.10(s,2H),4.66-4.52(m,1H),3.92(s,2H),3.75(d,J=5.7Hz,1H),3.26-3.03(m,3H),3.02-2.75(m,4H),2.42-2.22(m,7H),2.14-1.98(m,5H),1.97-1.87(m,1H),1.85-1.59(m,6H),1.40(t,J=15.9Hz,8H),1.34-1.27(m,3H),1.16-1.12(m,6H),1.10(d,J=6.9Hz,3H),1.07(d,J=6.9Hz,3H)ppm。

[0445] {4-[(2S)-2-[(2S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基]-5-(氨基甲酰基氨基)戊酰胺基]苯基}甲基N-[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-基]甲酰胺基}羰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}-2-羟乙基]氨基甲酸酯(21j)

[0446] 使用与制备21c相同的方法,不同之处在于使用9j代替9c。得到21j(22mg,40%收率)为白色固体。ESI m/z:1021(M+1)$^+$。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-$_{d6}$)δ10.02(s,1H),9.82(s,1H),9.00(s,1H),8.69-8.65(m,1H),8.11-8.00(m,4H),7.65-7.53(m,3H),7.40-7.30(m,3H),7.30-7.20(m,1H),6.96(d,J=8.0Hz,1H),6.81(d,J=8.0Hz,1H),6.65-6.61(m,1H),6.50(dd,J=8.0Hz,2.0Hz,1H),6.00-5.95(m,1H),5.48(s,2H),5.00-4.95(m,3H),4.60-4.40(m,1H),4.25-4.20(m,1H),3.65-3.55(m,4H),3.15-2.55(m,10H),2.40-2.20(m,3H),2.20-2.00(m,5H),2.00-1.80(m,4H),1.86-1.55(m,6H),1.27(d,J=4.8Hz,9H),1.20-1.10(m,2H),0.97-0.90(m,6H)ppm。

实施例30

[0447] 本实施例说明了制备连接体-有效负载22d1、22d2和22j的一般方法。本实施例参考图5中的化合物编号。

[0448] 制备连接体-有效负载22的一般方法:室温下,向化合物21(5-30mg,1当量)的DMF(0.5mL)溶液中加入可商购的DIBAC-Suc-PEG_4-COOSu或DIBAC-Suc-PEG_4-COOH或BCN-PEG_4-COOSu(1.2当量)的THF(0.5mL)溶液,然后加入TEA(2当量)。通过LC-MS监测,混合物在室温下搅拌反应直至21耗尽。将反应混合物真空浓缩,所得残余物经制备型HPLC直接纯化,得到22为白色固体。

实施例31

[0449] 本实施例说明了制备连接体-有效负载22d1的一般方法。本实施例参考图5中的化合物编号。

[0450] 1-(4-{2-氮杂三环[10.4.0.$0^{4,9}$]十六碳-1(12),4(9),5,7,13,15-六烯-10-炔-2-基}-4-氧丁酰胺基)-N-[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基]氨基甲酰基}-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}乙基]氨基甲酰基}-2-甲基丙基]-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺(22d1)

[0451] 使用一般方法来制备连接体-有效负载22,得到22d1(10mg,28%收率)为白色固体。ESI m/z:1234(M+H)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,CH_3OH-$_{d4}$)δ7.65(d,J=7.4Hz,1H),7.62-7.51(m,2H),7.48-7.43(m,3H),7.39-7.30(m,2H),7.27-7.23(m,1H),7.00(d,J=8.5Hz,1H),6.88(d,J=8.0Hz,1H),6.72(d,J=2.4Hz,1H),6.57-6.54(m,1H),5.15-5.10(m,1H),4.62(s,

6H),4.52-4.45(m,1H),4.22-4.02(m,1H),3.77-3.64(m,3H),3.60-3.51(m,11H),3.46-3.41(m,2H),3.24(t,J＝5.5Hz,2H),2.99-2.66(m,5H),2.57-2.51(m,1H),2.37-2.24(m,6H),2.21-2.12(m,1H),2.09-1.95(m,5H),1.74-1.65(m,4H),1.47-1.41(m,4H),1.39-1.35(m,6H),1.31-1.22(m,2H),1.14-1.10(m,6H),1.05-0.97(m,6H)ppm。

实施例32

[0452] 本实施例说明了制备连接体-有效负载22d2的一般方法。本实施例参考图5中的化合物编号。

[0453] {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-氮杂三环[10.4.0.$0^{4,9}$]十六碳-1(12),4(9),5,7,13,15-六烯-10-炔-2-基}-4-氧丁酰胺基)-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺基]-3-甲基丁酰胺基]-5-(氨基甲酰基氨基)戊酰胺基]苯基}甲基N-[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-基]甲酰胺基}羰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酸酯(22d2)

[0454] 使用一般方法来制备连接体-有效负载22,得到22d2(7mg,44％收率)为白色固体。ESI m/z:735.0(M/2+H)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,CH_3OH-$_{d4}$)δ7.65-7.62(m,3H),7.59-7.57(m,1H),7.44-7.42(m,3H),7.39-7.18(m,7H),6.96(d,J＝8.5Hz,1H),6.88(d,J＝8.0Hz,1H),6.71(s,1H),6.56-6.54(m,1H),5.15-5.10(m,3H),4.64(s,5H),4.53-4.49(m,1H),4.22(d,J＝8.0Hz,1H),3.77-3.66(m,3H),3.59-3.51(m,11H),3.45-3.42(m,2H),3.24(t,J＝5.5Hz,2H),3.15-3.08(m,1H),2.96-2.90(m,2H),2.84-2.68(m,3H),2.55(t,J＝6.0Hz,2H),2.40-2.33(m,3H),2.28-1.91(m,11H),1.75-1.58(m,5H),1.36-1.22(m,11H),1.12-1.11(m,5H),1.01-0.98(m,6H)ppm。

实施例33

[0455] 本实施例说明了制备连接体-有效负载22j的一般方法。本实施例参考图5中的化合物编号。

[0456] {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-氮杂三环[10.4.0.$0^{4,9}$]十六碳-1(12),4(9),5,7,13,15-六烯-10-炔-2-基}-4-氧丁酰胺基)-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺基]-3-甲基丁酰胺基]-5-(氨基甲酰基氨基)戊酰胺基]苯基}甲基N-[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-基]甲酰胺基}羰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}-2-羟乙基]氨基甲酸酯(22j)

[0457] 使用一般方法来制备连接体-有效负载22,得到22j(8mg,26％收率)为白色固体。ESI m/z:778(M/2+H)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-$_{d6}$)δ10.02(s,1H),9.82(s,1H),9.00(s,1H),8.11(m,2H),7.88(d,J＝8.5Hz,1H),7.80-7.75(m,1H),7.70-7.66(m,1H),7.65-7.53(m,4H),7.53-7.45(m,3H),7.40-7.25(m,7H),6.96(d,J＝8.5Hz,1H),6.81(d,J＝8.0Hz,1H),6.63(d,J＝2.5Hz,1H),6.50(dd,J＝8.0Hz,2.0Hz,1H),6.00-5.95(m,1H),5.41(s,2H),5.10-5.05(m,4H),4.43-4.33(m,1H),4.25-4.10(m,2H),3.65-3.55(m,5H),3.50-3.40(m,12H),3.30-3.25(m,2H),3.15-2.55(m,10H),2.40-2.20(m,5H),2.20-2.10(m,4H),2.00-1.90(m,2H),1.86-1.70(m,5H),1.64-1.54(m,6H),1.50-1.25(m,9H),1.20-1.10(m,2H),1.00(m,6H),0.86(d,J＝6.5Hz,3H),0.82(d,J＝6.5Hz,3H)ppm。

实施例34

[0458] 本实施例说明了制备可通过半胱氨酸偶联与抗体进行偶联的连接体-有效负载的一般方法，由化合物24c表示。本实施例参考图6中的化合物编号。

[0459] 21c与取代的Glu-酸(23c1)进行酰胺偶联反应得到23c，将其用MC-PEG_4-CO_2Su酯(23c2)处理得到连接体-有效负载24c。

[0460] {4-[(2S)-5-(氨基甲酰基氨基)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-[1-(2,5-二氧-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺基]-4-{[(2R,3S,4S,5S)-2,3,4,5,6-五羟己基]氨基甲酰基}丁酰胺基]-3-甲基丁酰胺基]戊酰胺基]苯基}甲基N-(2-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-基]甲酰胺基}羰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氧基}乙基)氨基甲酸酯(24c)

[0461] 步骤1：向23c1(15mg，25μmol)的DMF(1mL)溶液中加入化合物21c(14mg，14μmol)，HATU(9.5mg，25μmoL)和NMM(4.9mg，49μmoL)。反应在25℃下搅拌4小时后，根据LC-MS监测21c耗尽。所得混合物用哌啶(0.1mL)处理，并搅拌2小时。混合物经制备型HPLC直接纯化，得到23c(8.0mg，45％收率)为白色固体。ESI m/z:675$(M/2+1)^+$。

[0462] 步骤2：向23c(10mg，7.4μmol)的DMF(1mL)溶液中加入23c2(7mg，22μmol)和N-甲基吗啉(2.0mg，20μmol)，所得混合物在25℃下搅拌4小时。真空浓缩除去挥发物后，将残余物溶于DCM(1mL)，并向溶液中加入TFA(0.1mL)。所得混合物在25℃下搅拌2h，然后真空浓缩，残余物经制备型HPLC纯化(方法B)，得到24c(4.0mg，30％收率)为白色固体。ESI m/z:1598$(M+1)^+$。^{1}H NMR(500MHz，DMSO-$_{d6}$)δ9.71(s,1H)，8.98(s,1H)，8.20(d,J＝6.9Hz,1H)，8.13-8.08(m,2H)，8.06(d,J＝8.1Hz,1H)，7.74(t,J＝5.5Hz,1H)，7.61(d,J＝8.4Hz,2H)，7.40(t,J＝5.9Hz,1H)，7.27(d,J＝8.5Hz,2H)，7.02(s,2H)，6.93(d,J＝8.3Hz,1H)，6.84-6.77(m,2H)，6.67(d,J＝10.5Hz,1H)，6.63(d,J＝2.2Hz,1H)，6.50(dd,J＝8.2,2.3Hz,1H)，5.98(t,J＝5.8Hz,1H)，5.40(s,2H)，4.95(s,2H)，4.33(s,3H)，4.23-4.13(m,1H)，3.92(t,J＝5.9Hz,2H)，3.62-3.54(m,6H)，3.51-3.45(m,18H)，3.07-2.62(m,9H)，2.43-2.35(m,2H)，2.32-2.21(m,4H)，2.19-2.09(m,6H)，2.09-2.01(m,1H)，1.93-1.70(m,8H)，1.68-1.53(m,6H)，1.51-1.33(m,2H)，1.27(d,J＝3.2Hz,9H)，1.14(t,J＝12.4Hz,2H)，1.00(d,J＝11.9Hz,6H)，0.87(dd,J＝20.2,6.8Hz,6H)ppm。

实施例35

[0463] 本实施例说明了制备可通过叠氮化物与炔烃的点击反应与抗体进行偶联的连接体-有效负载的一般方法。所述连接体的中间体的合成如图7所示，而连接体-有效负载的合成如图8所示。本实施例参考图7和图8中的化合物编号。

[0464] 图7示出了COT-$(PEG_4)_n$-(N^2-Fmoc)dLys26a和26b的合成。N^2-Fmoc-D-赖氨酸25a与可商购的酯25c进行酰胺偶联反应得到26a。N^2-Fmoc-D-赖氨酸25a与可商购的酯25b1进行酰胺偶联反应，然后进行Boc脱保护，得到25b2；25b2与25c进行酰胺偶联反应得到26b。

[0465] 图8示出了连接体-有效负载29的一般合成方法，例如29c1、29c2、29d1、29d2、29d3、29d4、29h和29j的一般合成方法。连接体-有效负载29的合成分别从26a或26b与21c、21d、21h和21j的酰胺偶联反应开始，然后分别通过Fmoc脱保护以形成27c、27d1、27d2、27h和27j，其27c、27d1、27d2、27h和27j中的每个化合物用环糊精-叠氮化物进行2+3环化，分别得到28c、28d1、28d2、28h和28j。最后，将28c、28d1、28d2、28h和28j分别与可商购的DIBAC-

Suc-PEG_4-NHS酯或BCN-氨基甲酸酯-PEG_4-酸进行酰胺偶联反应得到29c1、29c2、29d1、29d2、29d3、29d4、29h和29j。

实施例36

[0466] 本实施例说明了用于合成连接体26a和26b的中间体的一般方法。本实施例参考图7中的化合物编号。

[0467] (2R)-6-[2-(环辛-2-炔-1-基氧基)乙酰胺基]-2-{[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基}己酸(26a)

[0468] 向可商购的25c(65mg,0.23mmol)和Fmoc-D-Lys-OH(85mg,0.23mmol)的DMF(2mL)溶液中加入TEA(52mg,0.51mmol),所得混合物在室温下搅拌30分钟。然后将混合物真空浓缩,残余物经反相快速色谱法直接纯化(0-100%乙腈的水溶液(0.05%TFA)),得到26a(85mg,70%收率)为白色固体。ESI m/z:533$(M+H)^+$。^1H NMR(500MHz,CH_3OH-_{d4}):δ7.70(d,J=7.5Hz,2H),7.59(t,J=8.0Hz,2H),7.30(t,J=7.5Hz,2H),7.22(t,J=7.4Hz,2H),4.35-4.22(m,2H),4.22-4.09(m,2H),4.09-3.99(m,1H),3.94-3.81(m,1H),3.79-3.67(m,1H),3.15(t,J=6.9Hz,2H),2.17-1.96(m,3H),1.96-1.86(m,1H),1.85-1.66(m,4H),1.66-1.41(m,5H),1.41-1.25(m,3H)ppm。

[0469] (24R)-24-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)-1-(环辛-2-炔基氧基)-2,18-二氧-6,9,12,15-四氧杂-3,19-二氮杂二十五烷-25-羧酸(26b)

[0470] 步骤1:向化合物25b1(4.6g,10mmol)和Fmoc-(D)Lys-OH(25a,3.6g,10mmol)的DMF(10mL)混合物中加入三乙胺(2.0g,20mmol)。反应混合物在25℃下搅拌1小时,然后用DCM(100mL)稀释,并用水和盐水洗。有机物经无水硫酸钠干燥,真空浓缩。所得残余物经硅胶柱色谱法纯化(0-5%甲醇的二氯甲烷溶液),得到25b2'为无色油状物(5.5g,77%收率)。ESI m/z:716.2$(M+H)^+$。^1H NMR(500MHz,$DMSO-_{d6}$)δ7.89(d,J=7.5Hz,2H),7.84-7.80(m,1H),7.74-7.72(d,J=7.5Hz,2H),7.61-7.59(m,1H),7.42(t,J=7.5Hz,2H),7.33(t,J=7.5Hz,2H),6.76-6.74(m,1H),4.28-4.21(m,3H),3.93-3.85(m,1H),3.58(t,J=6.5Hz,2H),3.48-3.47(m,12H),3.16(d,J=5.5Hz,1H),3.07-2.97(m,3H),2.28(t,J=6.5Hz,2H),2.02-1.94(m,1H),1.71-1.56(m,2H),1.36(s,9H),1.23-1.15(m,6H)ppm。

[0471] 步骤2:在0℃下,向25b2'(0.60g,0.84mmol)的DCM(10mL)溶液中滴加TFA(2.0mL)。将反应混合物温热并在25℃下搅拌过夜,直至TLC监测化合物25b2'完全耗尽。真空浓缩除去挥发物,得到残余物:ESI m/z:616.3$(M+H)^+$。

[0472] 步骤3:向上述残余物的DMF(10mL)溶液中加入化合物25c(0.27g,0.98mmol)。在湿pH试纸上测试了少量反应混合物,并通过加入TEA(约1.0mL)将反应混合物的pH值从7调节至8。反应混合物在25℃下搅拌反应,通过LCMS进行监测,在半小时内反应完成。然后反应混合物用DCM(100mL)和水(100mL)稀释。所得混合物用盐酸(2N)酸化至pH2。有机物用水(80mL)和盐水洗,经无水硫酸钠干燥,真空浓缩。所得残余物经硅胶柱色谱法纯化(0-5%甲醇的二氯甲烷溶液),得到26b为无色油状物(0.38g,49%收率)。ESI m/z:780.3$(M+H)^+$。^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.75(d,J=7.6Hz,2H),7.61(t,J=7.6Hz,2H),7.39(t,J=7.6Hz,2H),7.32-7.27(m,2H),7.05-7.01(m,1H),6.86-6.83(m,1H),5.85(d,J=7.6Hz,1H),4.38-4.37(m,3H),4.27-4.15(m,2H),4.11-4.05(m,1H),3.91-3.87(m,1H),3.69(t,J=5.6Hz,2H),3.62-3.47(m,17H),3.28-3.19(m,2H),2.46(t,J=5.6Hz,2H),2.27-2.01(m,3H),

1.91-1.72(m,5H),1.66-1.55(m,4H),1.42-1.34(m,3H)ppm。

实施例37

[0473] 本实施例说明了用于制备连接体-有效负载27c、27d1、27d2、27h和27j的方法。本实施例参考图8中的化合物编号。

[0474] 制备中间体连接体-有效负载27的一般方法:室温下,向化合物26a或26b(1当量)的DMF溶液(每mLDMF含30-50mg26a或26b)中依次加入HATU(1当量)和分别独立加入化合物21c、21d、21h或21j(1当量)。所得混合物在室温下搅拌直至混合物均匀。在室温下通过注射器向此混合物中缓慢加入DIPEA(5当量)。所得混合物在室温下搅拌过夜(16小时),直至根据LC-MS监测21c、21d、21h或21j分别独立地耗尽。然后在室温下,向反应混合物中滴加哌啶(0.1mL,过量),混合物再搅拌反应3小时,直至通过LC-MS监测已脱去Fmoc基团。反应混合物经反相快速色谱法或制备型HPLC(方法B,碱性条件)直接纯化,分别各自得到化合物27c、27d1、27d2、27h和27j为白色固体。

实施例38

[0475] 本实施例说明了用于制备连接体-有效负载27c的方法。本实施例参考图8中的化合物编号。

[0476] {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-氨基-6-{1-[2-(环辛-2-炔-1-基氧基)乙酰胺基]-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺基}己酰胺基]-3-甲基丁酰胺基]-5-(氨基甲酰基氨基)戊酰胺基]苯基}甲基

N-(2-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-基]甲酰胺基}羰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氧基}乙基)氨基甲酸酯(27c)

[0477] 按照制备27的一般方法,由21c(85mg,87μmol)与26b(68mg,87μmol)进行酰胺偶联反应而得到化合物27c(40mg,30%收率)为白色固体。ESI m/z:759(M/2+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-$_{d6}$)δ10.01(s,1H),9.00(s,1H),8.24-8.09(m,1H),8.06-7.74(m,1H),7.64-7.36(m,3H),7.28(d,J=8.3Hz,2H),6.94(d,J=8.5Hz,1H),6.82(d,J=8.4Hz,2H),6.68(d,J=7.6Hz,1H),6.64(s,1H),6.51(d,J=6.4Hz,1H),6.00(s,1H),5.42(s,1H),4.96(s,2H),4.39(s,1H),4.28-2.21(m,2H),4.05(s,2H),3.93(t,J=5.6Hz,2H),3.86-3.79(m,2H),3.59(t,J=6.5Hz,2H),3.53-3.47(m,11H),3.43(t,J=5.9Hz,2H),3.36(s,6H),3.24(dt,J=12.8,6.1Hz,3H),3.10-2.91(m,4H),2.85(t,J=17.2Hz,2H),2.75-2.69(m,2H),2.34-2.10(m,10H),2.10-1.66(m,12H),1.67-1.54(m,8H),1.47-1.24(m,16H),1.14(t,J=13.3Hz,2H),1.01(d,J=11.8Hz,6H),0.88(s,3H)0.84(s,3H)ppm。

实施例39

[0478] 本实施例说明了用于制备连接体-有效负载27d1的方法。本实施例参考图8中的化合物编号。

[0479] (1S,4aS,10aR)-6-((2S)-2-((2S)-2-((2R)-2-氨基-6-(2-(环辛-2-炔基氧基)乙酰胺基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-N-((1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基)-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺(27d1)

[0480] 按照制备27的一般方法,由26a(35mg,0.064mmol)与21d1(45mg,0.064mmol)进行

酰胺偶联反应而得到化合物27d(30mg,47%收率)为白色固体。ESI m/z:991(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,CH_3OH-$_{d4}$)δ7.51(d,J=1.5Hz,1H),7.37(dd,J=8.3,2.0Hz,1H),7.02(d,J=8.3Hz,1H),6.89(d,J=8.4Hz,1H),6.72(d,J=2.4Hz,1H),6.56(dd,J=8.3,2.5Hz,1H),4.64-4.57(m,1H),4.48(q,J=7.1Hz,1H),4.33-4.27(m,1H),4.20(d,J=6.7Hz,1H),3.93(m,2H),3.43(t,J=6.6Hz,1H),3.24(t,J=6.9Hz,2H),3.02-2.93(m,2H),2.92-2.76(m,3H),2.40-2.32(m,2H),2.33-2.23(m,4H),2.22-2.12(m,3H),2.12-2.00(m,5H),1.99-1.91(m,1H),1.91-1.81(m,2H),1.78-1.66(m,6H),1.66-1.58(m,1H),1.58-1.49(m,2H),1.45(d,J=7.1Hz,6H),1.38(d,J=4.0Hz,6H),1.34-1.22(m,4H),1.14(d,J=7.0Hz,6H),1.06-0.98(m,6H)ppm。

实施例40

[0481] 本实施例说明了用于制备连接体-有效负载27d2的方法。本实施例参考图8中的化合物编号。

[0482] N-[(5R)-5-氨基-5-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基]氨基甲酰基}-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}乙基]氨基甲酰基}-2-甲基丙基]氨基甲酰基}戊基]-1-[2-(环辛-2-炔-1-基氧基)乙酰胺基]-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺(27d2)

[0483] 按照制备27的一般方法,由21d(60mg,0.086mmol)与26b进行酰胺偶联反应而得到化合物27d2(54mg,50%收率)为白色固体。ESI m/z:620(M/2+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,CH_3OH-$_{d4}$)δ7.61-7.48(m,1H),7.35-7.29(m,1H),7.02(d,J=8.3Hz,1H),6.88(d,J=8.3Hz,1H),6.71(d,J=1.8Hz,1H),6.56(dd,J=8.2,1.7Hz,1H),4.52-4.44(m,1H),4.27(dd,J=21.9,7.2Hz,2H),4.03(dd,J=15.1,2.4Hz,1H),3.96(dt,J=22.5,6.5Hz,1H),3.89(dd,J=15.1,3.1Hz,1H),3.75(t,J=5.8Hz,2H),3.64(t,J=8.6Hz,12H),3.60-3.54(m,3H),3.44(dd,J=11.7,5.9Hz,2H),3.23(t,J=6.7Hz,2H),3.02-2.91(m,1H),2.91-2.74(m,3H),2.46(t,J=5.9Hz,2H),2.40-2.31(m,3H),2.26-2.22(m,5H),2.21-1.79(m,12H),1.77-1.65(m,6H),1.62-1.53(m,3H),1.47-1.43(m,5H),1.38(s,3H),1.37(s,3H),1.33-1.22(m,3H),1.14(s,3H),1.12(s,3H),1.06-0.95(m,6H)ppm。

实施例41

[0484] 本实施例说明了用于制备连接体-有效负载27h的方法。本实施例参考图8中的化合物编号。

[0485] {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-氨基-6-[2-(环辛-2-炔-1-基氧基)乙酰胺基]己酰胺基]-3-甲基丁酰胺基]-5-(氨基甲酰基氨基)戊酰胺基]苯基}甲基N-({[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基]氨基甲酰基}-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}甲基)氨基甲酸酯(27h)

[0486] 按照制备27的一般方法,由21h(80mg,64μmol)与26a(53mg,97μmol)进行酰胺偶联反应而得到化合物27h(65mg,62%收率)为白色固体。ESI m/z:1283(M+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,CH_3OH-$_{d4}$)δ7.53-7.33(m,3H),7.28-7.14(m,3H),6.89(d,J=8.4Hz,1H),6.76(d,J=8.3Hz,1H),6.60(d,J=2.5Hz,1H),6.43(dd,J=8.3,2.5Hz,1H),4.97(s,2H),4.53-4.46(m,2H),

4.41(dd,J＝8.9,5.0Hz,1H),4.18(t,J＝6.0Hz,1H),4.09(d,J＝7.1Hz,1H),3.92-3.72(m,4H),3.31(t,J＝6.6Hz,1H),3.16-3.05(m,3H),3.06-2.97(m,1H),2.90-2.62(m,4H),2.27-2.09(m,7H),2.09-1.87(m,7H),1.86-1.68(m,4H),1.66-1.40(m,12H),1.36-1.22(m,10H),1.20-1.09(m,3H),1.01(s,3H),1.01(s,3H),0.89(t,J＝7.0Hz,6H)ppm。

实施例42

[0487] 本实施例说明了用于制备连接体-有效负载27j的方法。本实施例参考图8中的化合物编号。

[0488] {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-氨基-6-[2-(环辛-2-炔-1-基氧基)乙酰胺基]己酰胺基]-3-甲基丁酰胺基]-5-(氨基甲酰基氨基)戊酰胺基]苯基}甲基N-[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-基]甲酰胺基}羰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}-2-羟乙基]氨基甲酸酯(27j)

[0489] 按照制备27的一般方法,得到化合物27j(15mg,33%收率)为白色固体。ESI m/z:1313.6$(M+H)^+$。^1H NMR(500MHz,CH_3OH-$_{d4}$)δ7.59(d,J＝8.5Hz,2H),7.51(s,1H),7.36-7.26(m,3H),7.01(d,J＝8.5Hz,1H),6.88(d,J＝8.0Hz,1H),6.72-6.71(m,1H),6.57-6.54(m,1H),5.09(s,2H),4.64-4.52(m,1H),4.35-4.28(m,2H),4.21(d,J＝7.0Hz,1H),4.01-3.98(m,1H),3.88-3.84(m,3H),3.43(t,J＝6.5Hz,1H),3.26-3.10(m,4H),3.00-2.76(m,3H),2.38-2.24(m,7H),2.19-2.02(m,9H),1.98-1.78(m,4H),1.74-1.54(m,12H),1.45-1.26(m,14H),1.13(s,6H),1.00(t,J＝7.5Hz,6H)ppm。

实施例43

[0490] 本实施例说明了用于制备连接体-有效负载28c、28d1、28d2、28h和28j的方法。本实施例参考图8中的化合物编号。

[0491] 制备中间体连接体-有效负载28的一般方法:室温下,通过注射器向化合物27(30mg,1当量)的DMF(0.5mL)溶液中加入α-环糊精叠氮化物(CD-N_3,ESI m/z:1020$(M+Na)^+$,2当量;参见Synthetic Communications,2002,32(21),3367-3372)的DMF(0.5mL)溶液。所得混合物在20-25℃下搅拌反应3天。基于LC-MS分析确定化合物27耗尽。将反应混合物真空浓缩,残余物经制备型HPLC(方法B)或反相快速色谱法直接纯化(0-100%乙腈的水溶液,含10%碳酸氢铵),得到化合物28为白色固体。

实施例44

[0492] 本实施例说明了用于制备连接体-有效负载28c的方法。本实施例参考图8中的化合物编号。

[0493] {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-氨基-6-(1-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-十二羟基-10,15,20,25,30-五(羟甲基)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-十二氧杂七环[26.2.2.$2^{3,6}$.$2^{8,11}$.$2^{13,16}$.$2^{18,21}$.$2^{23,26}$]四十二烷-5-基]甲基}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-环辛并[d][1,2,3]三唑-9-基)氧基]乙酰胺基}-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺基)己酰胺基]-3-甲基丁酰胺基]-5-(氨基甲酰基氨基)戊酰胺基]苯基}甲基

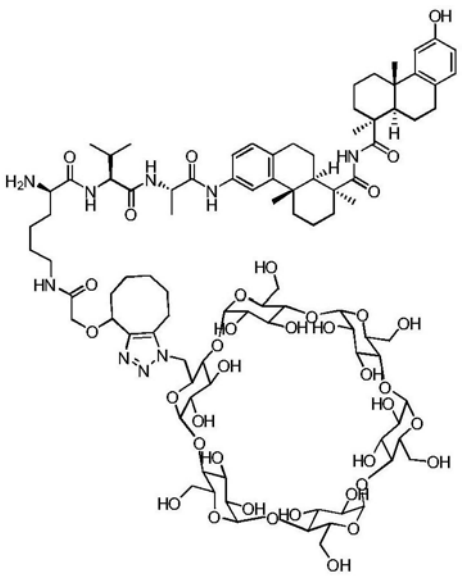
N-(2-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-基]甲酰胺基}羰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氧基}乙基)氨基甲酸酯(28c)

[0494] 按照制备28的一般方法，由27c(40mg，26μmol)与CD-N_3(52μmol)进行(2+3)点击反应而得到化合物28c(51mg，78％收率)为白色固体。ESI m/z:1258(M/2+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz，DMSO-$_{d6}$)δ10.08(s,1H)，9.09-8.91(m,1H)，8.56(d,J＝8.7Hz,1H)，8.39(d,J＝7.3Hz,1H)，8.12(s,1H)，8.07(s,1H)，7.85-7.78(m,2H)，7.58(d,J＝8.5Hz,2H)，7.41(s,1H)，7.29(d,J＝8.5Hz,2H)，6.94(d,J＝8.5Hz,1H)，6.85-6.78(m,2H)，6.68(d,J＝8.3Hz,1H)，6.63(s,1H)，6.51(d,J＝8.2Hz,1H)，6.06(s,1H)，5.50(brs,15H)，5.15(s,1H)，4.96(s,3H)，4.85-4.78(m,12H)，4.70(s,3H)，4.56(s,3H)，4.39(s,5H)，3.89-3.75(m,14H)，3.74-3.56(m,8H)，3.54-3.39(m,8H)，3.38-3.29(m,7H)，3.14(s,2H)，3.01(d,J＝5.5Hz,5H)，2.86-2.8(m,2H)，2.74(s,4H)，2.32-2.23(m,5H)，2.16(d,J＝11.2Hz,3H)，2.00(d,J＝6.6Hz,2H)，1.93-1.86(m,5H)，1.77-1.54(m,10H)，1.46-1.42(m,6H)，1.30-1.27(m11H)，1.14(s,3H)，1.00(d,J＝12.5Hz,6H)，0.88(s,3H)0.84(s,3H)ppm。

实施例45

[0495] 本实施例说明了用于制备连接体-有效负载28d1的方法。本实施例参考图8中的化合物编号。

[0496] (1S,4aS,10aR)-N-{[(1S,4aS,10aR)-6-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-氨基-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-十二羟基-10,15,20,25,30-五(羟甲基)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-十二氧杂七环[26.2.2.23,6.28,11.213,16.218,21.223,26]四十二烷-5-基]甲基}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-环辛并[d][1,2,3]三唑-4-基)氧基]乙酰胺基}己酰胺基]-3-甲基丁酰胺基]丙酰胺基]-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-基]羰基}-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-甲酰胺(28d1)



[0497] 按照制备28的一般方法，由27d1(30mg，30μmol)与CD-N_3(60μmol)进行(2+3)点击反应而得到化合物28d1(14mg，23％收率)为白色固体。ESI m/z:995(M/2+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz，CH_3OH-$_{d4}$)δ8.40(s,1H,酰亚胺-H)，7.56-7.52(m,1H)，7.32(t,J＝7.7Hz,1H)，7.03(d,J＝8.4Hz,1H)，6.88(d,J＝8.3Hz,1H)，6.72(d,J＝2.4Hz,1H)，6.56(dd,J＝8.2,2.3Hz,1H)，5.24-5.16(m,1H)，5.01-4.95(m,6H)，4.65-3.43(m,40H)，3.14-2.72(m,7H)，2.55-1.26(m,44H)，1.16(s,3H)，1.13(s,3H)，1.09-0.93(m,6H)ppm。

实施例46

[0498] 本实施例说明了用于制备连接体-有效负载28d2的方法。本实施例参考图8中的化合物编号。

[0499] N-[(5R)-5-氨基-5-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基]氨基甲酰基}-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}乙基]氨基甲酰基}-2-甲基丙基]氨基甲酰基}戊基]-1-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-十二羟基-10,15,20,25,30-五(羟甲基)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-十二氧杂七环[26.2.2.$2^{3,6}$.$2^{8,11}$.$2^{13,16}$.$2^{18,21}$.$2^{23,26}$]四十二烷-5-基]甲基}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-环辛并[d][1,2,3]三唑-9-基)氧基]乙酰胺基}-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺(28d2)

[0500] 按照制备28的一般方法,由27d2(23mg,19μmol)与CD-N_3(38μmol)进行(2+3)点击反应而得到化合物28d2(30mg,72%收率)为白色固体。ESI m/z:1118$(M/2+1)^+$。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-$_{d6}$)δ9.91-9.85(m,1H),9.13-8.90(m,1H),8.58(t,J=9.3Hz,2H),8.50-8.47(m,1H),8.17-8.00(m,6H),7.88-7.78(m,2H),7.53-7.49(m,1H),7.36-7.30(m,1H),6.97(d,J=8.5Hz,1H),6.82(d,J=8.3Hz,1H),6.63(s,1H),6.51(d,J=8.3Hz,1H),5.52-5.50(m,11H),5.14(s,1H),4.86-4.67(m,10H),4.54(d,J=12.9Hz,2H),4.46-4.32(m,5H),4.06-3.94(m,3H),3.89-3.76(m,4H),3.73-3.61(m,5H),3.57(t,J=6.5Hz,3H),3.53-3.34(m,12H),3.33-3.19(m,4H),3.17-3.08(m,3H),3.00(dd,J=12.6,6.2Hz,3H),2.91-2.68(m,8H),2.31-2.22(m,5H),2.18-2.07(m,6H),1.93-1.78(m,6H),1.74-1.35(m,15H),1.28(d,J=6.6Hz,17H),1.19-1.06(m,5H),1.01-0.94(m,9H),0.89-0.79(m,6H)ppm。

实施例47

[0501] 本实施例说明了用于制备连接体-有效负载28h的方法。本实施例参考图8中的化合物编号。

[0502] {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-氨基-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-十二羟基-10,15,20,25,30-五(羟甲基)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-十二氧杂七环[26.2.2.$2^{3,6}$.$2^{8,11}$.$2^{13,16}$.$2^{18,21}$.$2^{23,26}$]四十二烷-5-基]甲基}-1H,2H,3H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-环辛并[d][1,2,3]三唑-4-基)氧基]乙酰胺基}己酰胺基]-3-甲基丁酰胺基]-5-(氨基甲酰基氨基)戊酰胺基]苯基}甲基N-({[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基]氨基甲酰基}-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}甲基)氨基甲酸酯(28h)

[0503] 按照制备28的一般方法,由27h(60mg,47μmol)与CD-N_3(94μmol)进行(2+3)点击反应而得到化合物28h(67mg,76%收率)为白色固体。ESI m/z:1141$(M/2+1)^+$。^{1}H NMR(500MHz,CH_3OH-$_{d4}$)δ8.40(s,1H),7.65-7.45(m,3H),7.40-7.26(m,3H),7.02(d,J=8.3Hz,1H),6.88(d,J=8.3Hz,1H),6.72(d,J=2.4Hz,1H),6.56(dd,J=8.3,2.4Hz,1H),5.24-5.16(m,1H),5.10(s,2H),5.02-4.93(m,4H),4.66-4.51(m,2H),4.43-4.22(m,2H),4.15-3.73(m,22H),3.64-3.42(m,12H),3.37(s,3H),3.24-3.03(m,4H),3.01-2.75(m,6H),2.42-2.25(m,6H),2.18-1.98(m,8H),1.94-1.58(m,15H),1.56-1.50(m,3H),1.47-1.40(m,3H),1.38(s,3H),1.37(s,3H),1.34-1.25(m,4H),1.16-1.10(m,6H),1.09-0.93(m,7H)ppm。

实施例48

[0504] 本实施例说明了用于制备连接体-有效负载28j的方法。本实施例参考图8中的化合物编号。

[0505] {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-氨基-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-十二羟基-10,15,20,25,30-五(羟甲基)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-十二氧杂七环[26.2.2.$2^{3,6}$.$2^{8,11}$.$2^{13,16}$.$2^{18,21}$.$2^{23,26}$]四十二烷-5-基]甲基}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-环辛并[d][1,2,3]三唑-4-基)氧基]乙酰胺基}己酰胺基]-3-甲基丁酰胺基]-5-(氨基甲酰基氨基)戊酰胺基]苯基}甲基N-[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-基]甲酰胺基}羰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}-2-羟乙基]氨基甲酸酯(28j)

[0506] 按照制备28的一般方法,由27j与CD-N_3进行(2+3)点击反应而得到化合物28j(20mg,57%收率)为白色固体。ESI m/z:1156.0(M/2+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,$DMSO_{d6}$)δ9.81-9.67(m,2H),8.99(s,1H),8.20-8.06(m,5H),7.85-7.22(m,18H),6.97-6.49(m,2H),5.98(s,1H),5.65-5.33(m,15H),5.14-4.92(m,5H),4.82-4.72(m,6H),4.60-4.54(m,4H),4.36-4.28(m,3H),4.18-3.96(m,3H),3.85-3.55(m,27H),3.49-3.39(m,23H),3.28-3.08(m,8H),2.94-2.57(m,4H),2.42-2.07(m,8H),1.99-1.45(m,22H),1.28-1.11(m,23H),1.05-0.95(m,6H),0.89-0.79(m,7H)ppm。

实施例49

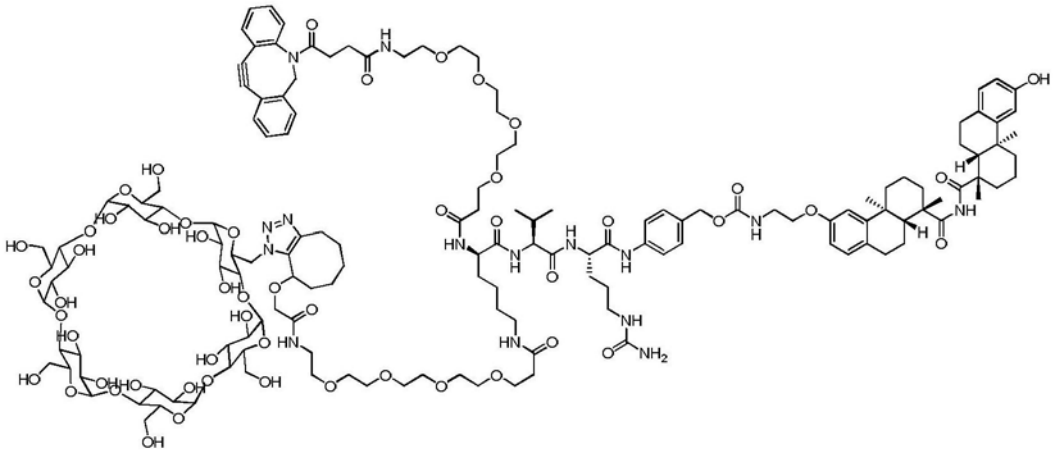
[0507] 本实施例说明了用于制备连接体-有效负载29c1、29c2、29d1、29d2、29d3、29d4、29h和29j的方法。本实施例参考图8中的化合物编号。

[0508] 制备连接体-有效负载29的一般方法:室温下,向化合物28(5-30mg,1当量)的DMF(0.5mL)溶液中加入可商购的DIBAC-Suc-PEG_4-OSu或BCN-PEG_4-NHS酯(1.2当量)的THF(0.5mL)溶液,然后加入TEA(2当量)。混合物在室温下搅拌反应,直至通过LC-MS监测28耗尽。将反应混合物真空浓缩,残余物经制备型HPLC直接纯化,得到29为白色固体。

实施例50

[0509] 本实施例说明了用于制备连接体-有效负载29c1的方法。本实施例参考图8中的化合物编号。

[0510] {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-[1-(4-{2-氮杂三环[10.4.0.$0^{4,9}$]十六碳-1(12),4(9),5,7,13,15-六烯-10-炔-2-基}-4-氧丁酰胺基)-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺基]-6-(1-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-十二羟基-10,15,20,25,30-五(羟甲基)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-十二氧杂七环[26.2.2.$2^{3,6}$.$2^{8,11}$.$2^{13,16}$.$2^{18,21}$.$2^{23,26}$]四十二烷-5-基]甲基}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-环辛并[d][1,2,3]三唑-9-基)氧基]乙酰胺基}-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺基)己酰胺基]-3-甲基丁酰胺基]-5-(氨基甲酰基氨基)戊酰胺基]苯基}甲基-N-(2-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-基]甲酰胺基}羰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氧基}乙基)氨基甲酸酯(29c1)



[0511] 按照制备29的一般方法,得到化合物29c1(12mg,39%收率)为白色固体。

[0512] $C_{148}H_{213}N_{15}O_{53}$,精确质量:3048.4.ESI m/z:1017(M/3+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,$DMSO_{d6}$)δ 9.68(s,1H),8.21-8.04(m,3H),7.88-7.74(m,2H),7.71-7.56(m,3H),7.52-7.21(m,8H),6.93(d,J=8.6Hz,1H),6.84-6.77(m,1H),6.70-6.58(m,2H),6.51(d,J=8.1Hz,1H),6.01(s,1H),5.78-5.33(m,12H),5.22-4.51(m,14H),4.43-4.12(m,4H),4.07-3.55(m,35H),3.53-3.33(m,38H),3.33-2.52(m,32H),2.43-1.21(m,41H),1.20-0.77(m,14H)ppm。

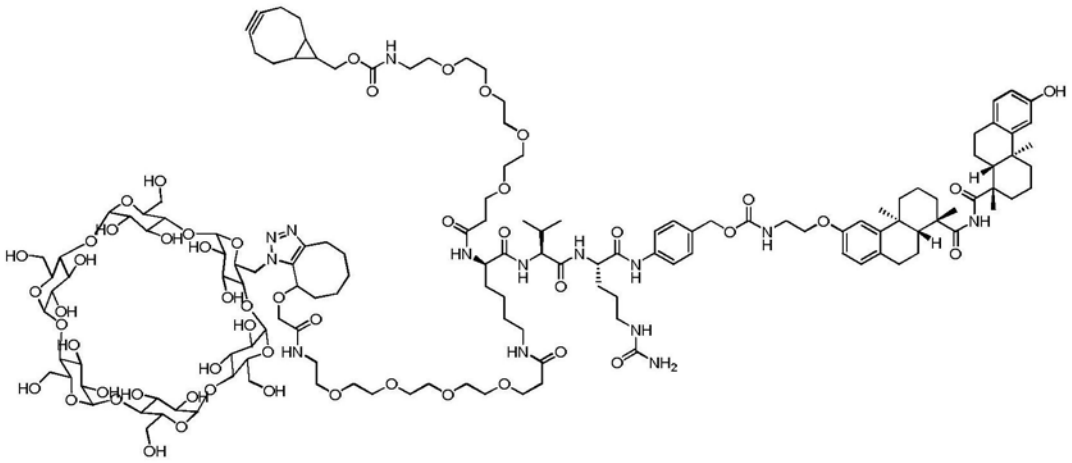
实施例51

[0513] 本实施例说明了用于制备连接体-有效负载29c2的方法。本实施例参考图8中的化合物编号。

[0514] {二环[6.1.0]壬-4-炔-9-基}甲基

N-(14-{[(1R)-1-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[4-({[(2-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基

-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-基]甲酰胺基}羰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氧基}乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]氨基甲酰基}-4-(氨基甲酰基氨基)丁基]氨基甲酰基}-2-甲基丙基]氨基甲酰基}-5-(1-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-十二羟基-10,15,20,25,30-五(羟甲基)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-十二氧杂七环[26.2.2.$2^{3,6}$.$2^{8,11}$.$2^{13,16}$.$2^{18,21}$.$2^{23,26}$]四十二烷-5-基]甲基}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-环辛并[d][1,2,3]三唑-9-基)氧基]乙酰胺基}-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺基)戊基]氨基甲酰基}-3,6,9,12-四氧杂十四烷-1-基)氨基甲酸酯(29c2)



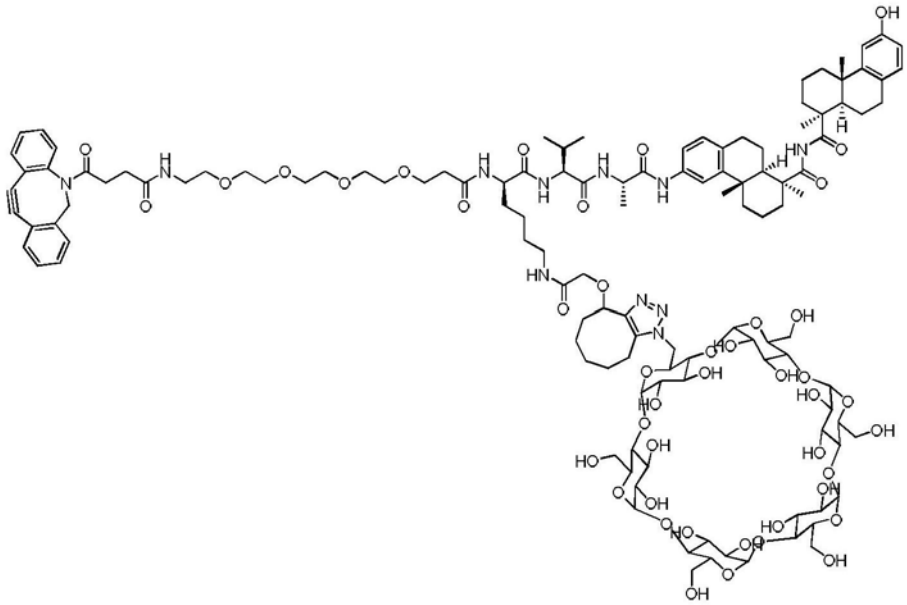
[0515] 按照制备29的一般方法,得到化合物29c2(5mg,21%收率)为白色固体。

[0516] $C_{140}H_{212}N_{14}O_{53}$,精确质量:2937.4.ESI m/z:1470(M/2+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,$DMSO_{d6}$)δ 9.68(s,1H),9.00(s,1H),8.21-8.03(m,2H),7.62(d,J=8.4Hz,2H),7.27(d,J=8.3Hz,2H),6.93(d,J=8.8Hz,1H),6.81(d,J=8.4Hz,1H),6.80(s,1H),6.67(d,J=8.6Hz,1H),6.63(s,1H),6.50(d,J=7.9Hz,1H),5.99(s,1H),5.64-5.37(m,12H),5.14(s,1H),5.00-4.50(m,13H),4.38-4.29(m,3H),4.20-4.13(m,1H),4.09-3.97(m,10H),3.95-3.89(m,2H),3.86-3.54(m,23H),3.52-3.33(m,28H),3.16-2.61(m,17H),2.45-1.20(m,66H),1.18-0.80(m,21H)ppm。

实施例52

[0517] 本实施例说明了用于制备连接体-有效负载29d1的方法。本实施例参考图8中的化合物编号。

[0518] 1-(4-{2-氮杂三环[10.4.0.04,9]十六碳-1(12),4(9),5,7,13,15-六烯-10-炔-2-基}-4-氧丁酰胺基)-N-[(1R)-1-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-基]甲酰胺基}羰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}乙基]氨基甲酰基}-2-甲基丙基]氨基甲酰基}-5-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-十二羟基-10,15,20,25,30-五(羟甲基)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-十二氧杂七环[26.2.2.$2^{3,6}$.$2^{8,11}$.$2^{13,16}$.$2^{18,21}$.$2^{23,26}$]四十二烷-5-基]甲基}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-环辛并[d][1,2,3]三唑-4-基)氧基]乙酰胺基}戊基]-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺(29d1)



[0519] 按照制备29的一般方法,得到化合物29d1(5.0mg,27%收率)为白色固体。

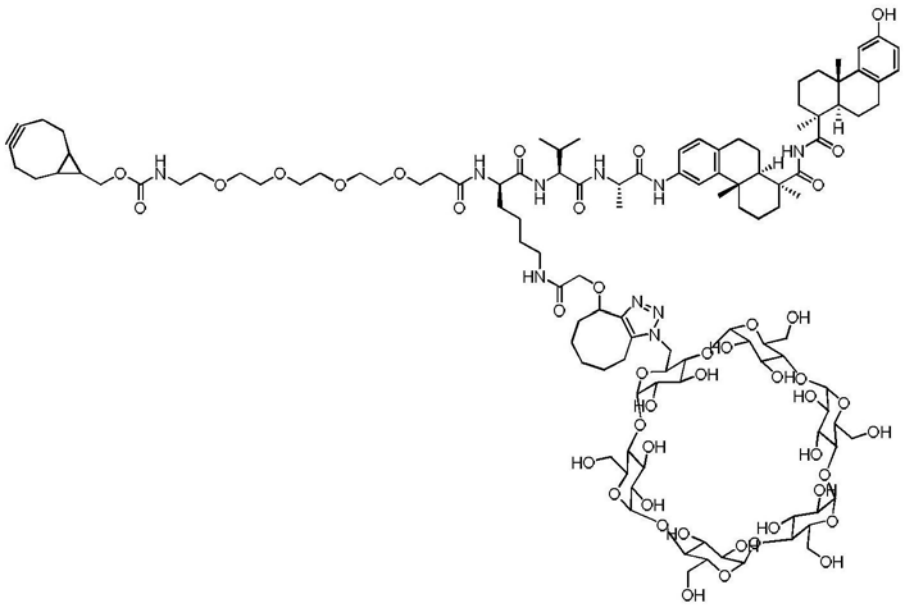
[0520] $C_{124}H_{175}N_{11}O_{44}$,精确质量:2522.2.ESI m/z:1261(M/2+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,CH_3OH-$_{d4}$)δ7.69-7.44(m,6H),7.41-7.30(m,3H),7.26(d,J=6.8Hz,1H),7.04-6.96(m,1H),6.88(d,J=8.4Hz,1H),6.72(d,J=1.9Hz,1H),6.56(dd,J=8.3,2.4Hz,1H),5.25-4.94(m,6H),4.75-4.55(m,16H),4.53-3.41(m,49H),3.33-1.20(m,53H),1.18-1.10(m,6H),1.06-0.94(m,6H)ppm。

实施例53

[0521] 本实施例说明了用于制备连接体-有效负载29d2的方法。本实施例参考图8中的化合物编号。

[0522] {二环[6.1.0]壬-4-炔-9-基}甲基

N-(14-{[(1R)-1-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基]氨基甲酰基}-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}乙基]氨基甲酰基}-2-甲基丙基]氨基甲酰基}-5-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-十二羟基-10,15,20,25,30-五(羟甲基)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-十二氧杂七环[26.2.2.$2^{3,6}$.$2^{8,11}$.$2^{13,16}$.$2^{18,21}$.$2^{23,26}$]四十二烷-5-基]甲基}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-环辛并[d][1,2,3]三唑-4-基)氧基]乙酰胺基}戊基]氨基甲酰基}-3,6,9,12-四氧杂十四烷-1-基)氨基甲酸酯(29d2)



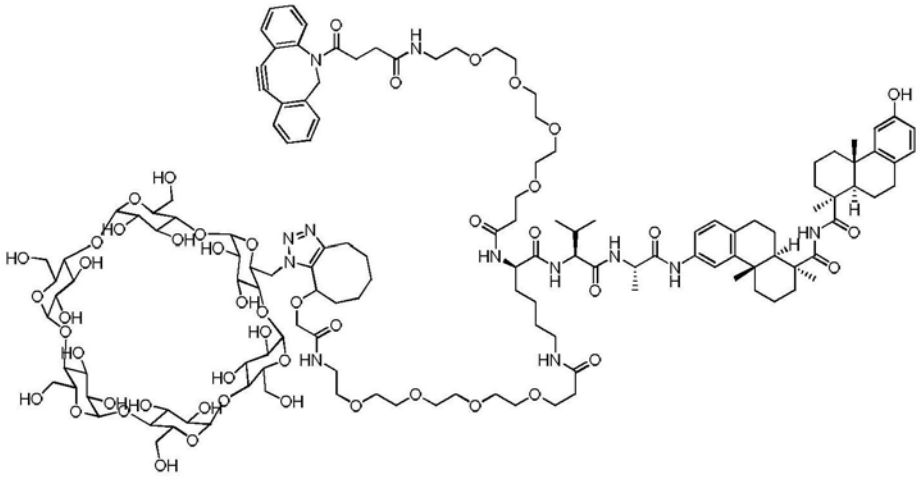
[0523] 按照制备29的一般方法,得到化合物29d2(16mg,43%收率)为白色固体。

[0524] $C_{116}H_{174}N_{10}O_{44}$,精确质量:2411.2.ESI m/z:1206(M/2+1)$^{+}$。^{1}H NMR(500MHz,CH_3OH-$_{d4}$)δ7.62(s,1H),7.39(d,J=8.2Hz,1H),7.03(d,J=8.4Hz,1H),6.89(d,J=8.3Hz,1H),6.72(d,J=2.3Hz,1H),6.56(dd,J=8.2,2.4Hz,1H),5.21(t,J=2.8Hz,1H),4.99-4.95(m,4H),4.65-3.43(m,57H),3.31-2.74(m,11H),2.55-1.22(m,55H),1.16(s,3H),1.13(s,3H),1.06-0.87(m,9H)ppm。

实施例54

[0525] 本实施例说明了用于制备连接体-有效负载29d3的方法。本实施例参考图8中的化合物编号。

[0526] 1-(4-{2-氮杂三环[10.4.0.0^{4,9}]十六碳-1(12),4(9),5,7,13,15-六烯-10-炔-2-基}-4-氧丁酰胺基)-N-[(1R)-1-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基]氨基甲酰基}-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}乙基]氨基甲酰基}-2-甲基丙基]氨基甲酰基}-5-(1-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-十二羟基-10,15,20,25,30-五(羟甲基)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-十二氧杂七环[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]四十二烷-5-基]甲基}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-环辛并[d][1,2,3]三唑-9-基)氧基]乙酰胺基}-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺基)戊基]-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺(29d3)



[0527] 按照制备29的一般方法,得到化合物29d3(8mg,32%收率)为白色固体。

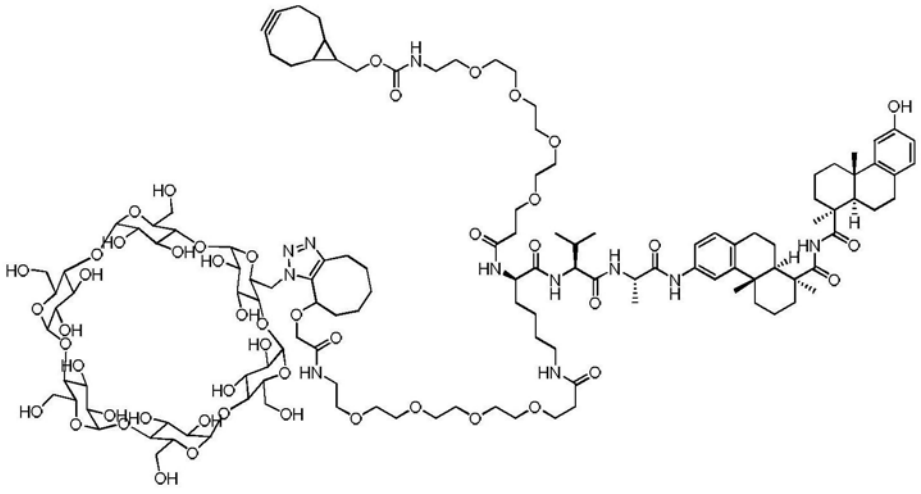
[0528] $C_{135}H_{196}N_{12}O_{49}$,精确质量:2769.3.ESI m/z:1385.9(M/2+1)$^+$。^{1}H NMR(500MHz,$DMSO_{d6}$)δ9.71-9.30(brs,0.6H),9.01(s,1H),8.29-7.99(m,4H),7.89-7.76(m,3H),7.74-7.60(m,2H),7.58-7.27(m,7H),7.01-6.92(m,1H),6.82(d,J=8.1Hz,1H),6.68-6.48(m,2H),5.71-5.45(m,12H),5.17-4.69(m,2H),4.90-4.50(m,12H),4.44-3.54(m,33H),3.54-3.41(m,38H),3.33-2.54(m,15H),2.43-1.19(m,44H),1.18-0.66(m,18H)ppm。

实施例55

[0529] 本实施例说明了用于制备连接体-有效负载29d4的方法。本实施例参考图8中的化合物编号。

[0530] {二环[6.1.0]壬-4-炔-9-基}甲基

N-(14-{[(1R)-1-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-羰基]氨基甲酰基}-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}乙基]氨基甲酰基}-2-甲基丙基]氨基甲酰基}-5-(1-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-十二羟基-10,15,20,25,30-五(羟甲基)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-十二氧杂七环[26.2.2.$2^{3,6}$.$2^{8,11}$.$2^{13,16}$.$2^{18,21}$.$2^{23,26}$]四十二烷-5-基]甲基}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-环辛并[d][1,2,3]三唑-9-基)氧基]乙酰胺基}-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺基)戊基]氨基甲酰基}-3,6,9,12-四氧杂十四烷-1-基)氨基甲酸酯(29d4)



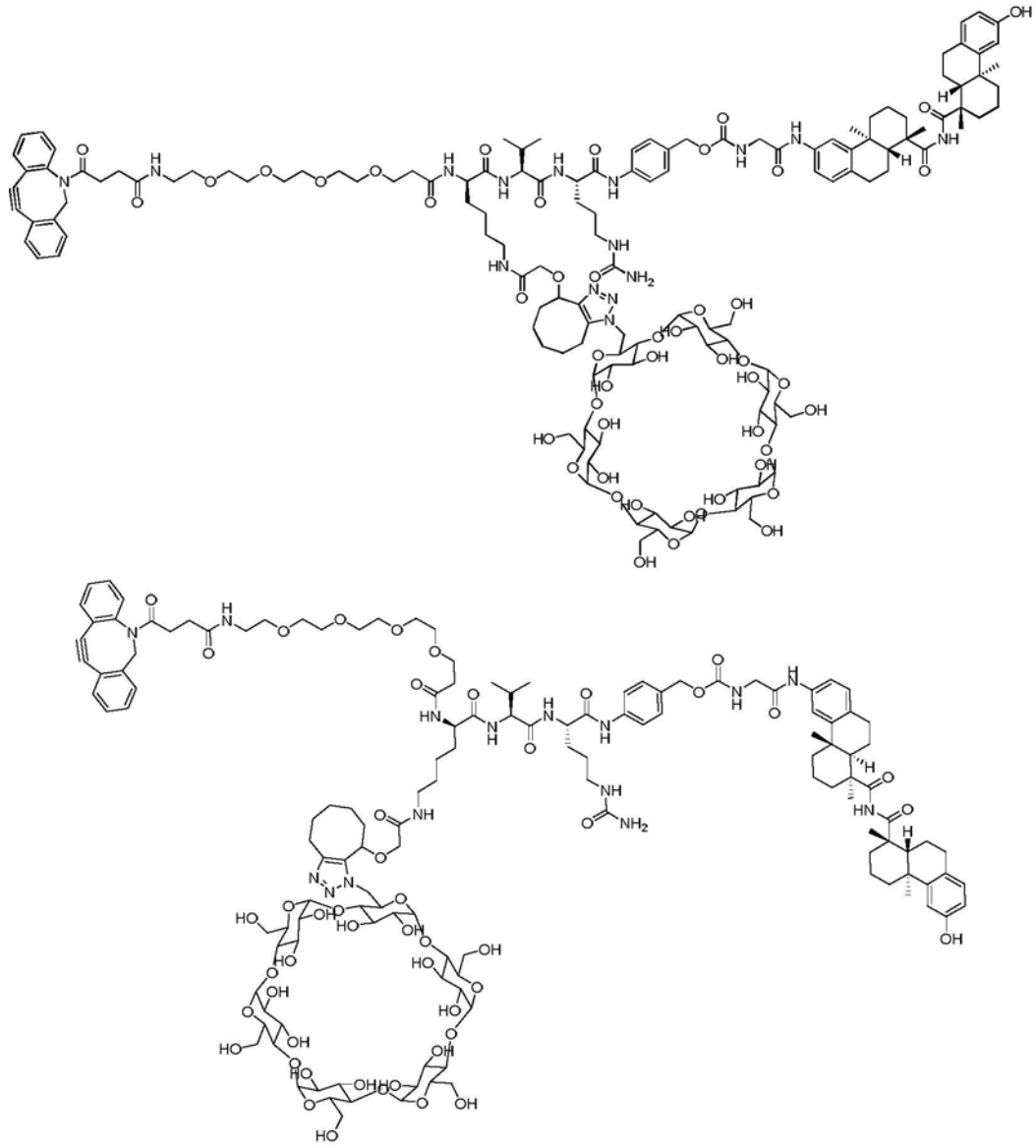
[0531] 按照制备29的一般方法，得到化合物29d4(2mg，14％收率)为白色固体。

[0532] $C_{148}H_{213}N_{15}O_{53}$，精确质量:3048.4.ESI m/z:1017(M/3+1)$^{+}$，^{1}H NMR(500MHz，$DMSO_{d6}$)δ 9.68(s，1H)，8.21-8.04(m，3H)，7.88-7.74(m，2H)，7.71-7.56(m，3H)，7.52-7.21(m，8H)，6.93(d，J＝8.6Hz，1H)，6.84-6.77(m，1H)，6.70-6.58(m，2H)，6.51(d，J＝8.1Hz，1H)，6.01(s，1H)，5.78-5.33(m，12H)，5.22-4.51(m，14H)，4.43-4.12(m，4H)，4.07-3.55(m，35H)，3.53-3.33(m，38H)，3.33-2.52(m，32H)，2.43-1.21(m，41H)，1.20-0.77(m，14H)ppm。

实施例56

[0533] 本实施例说明了用于制备连接体-有效负载29h的方法。本实施例参考图8中的化合物编号。

[0534] 1-(4-{2-氮杂三环[10.4.0.$0^{4,9}$]十六碳-1(12)，4(9)，5，7，13，15-六烯-10-炔-2-基}-4-氧丁酰胺基)-N-[(1R)-1-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS，8S，8aR)-8-({[(1S，4aS，10aR)-6-羟基-1，4a-二甲基-1，2，3，4，4a，9，10，10a-八氢菲-1-基]甲酰胺基}羰基)-4b，8-二甲基-4b，5，6，7，8，8a，9，10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}乙基]氨基甲酰基}-2-甲基丙基]氨基甲酰基}-5-{2-[(1-{[31，32，33，34，35，36，37，38，39，40，41，42-十二羟基-10，15，20，25，30-五(羟甲基)-2，4，7，9，12，14，17，19，22，24，27，29-十二氧杂七环[26.2.2.$2^{3,6}$.$2^{8,11}$.$2^{13,16}$.$2^{18,21}$.$2^{23,26}$]四十二烷-5-基]甲基}-1H，4H，5H，6H，7H，8H，9H-环辛并[d][1，2，3]三唑-4-基)氧基]乙酰胺基}戊基]-3，6，9，12-四氧杂十五烷-15-酰胺(29h)



[0535] 按照制备29的一般方法,得到化合物29h(28mg,35%收率)为白色固体(在三唑处的区域异构体的混合物)。

[0536] $C_{137}H_{191}N_{15}O_{48}$,精确质量:2814.3.ESI m/z:1409$(M/2+1)^+$。^1H NMR(500MHz,$DMSO_{d6}$)δ 9.79(s,1H),9.68(s,1H),8.99(s,1H),8.24-8.05(m,3H),7.86-7.73(m,2H),7.71-7.58(m,3H),7.54-7.42(m,4H),7.42-7.25(m,5H),6.96(d,J=8.5Hz,1H),6.81(d,J=8.4Hz,1H),6.63(s,1H),6.57-6.45(m,1H),5.99(s,1H),5.69-5.31(m,12H),5.17-4.49(m,14H),4.39-3.95(m,5H),3.90-3.51(m,25H),3.50-3.33(m,32H),3.33-2.53(m,21H),2.44-1.20(m,41H),1.21-0.77(m,16H)ppm。

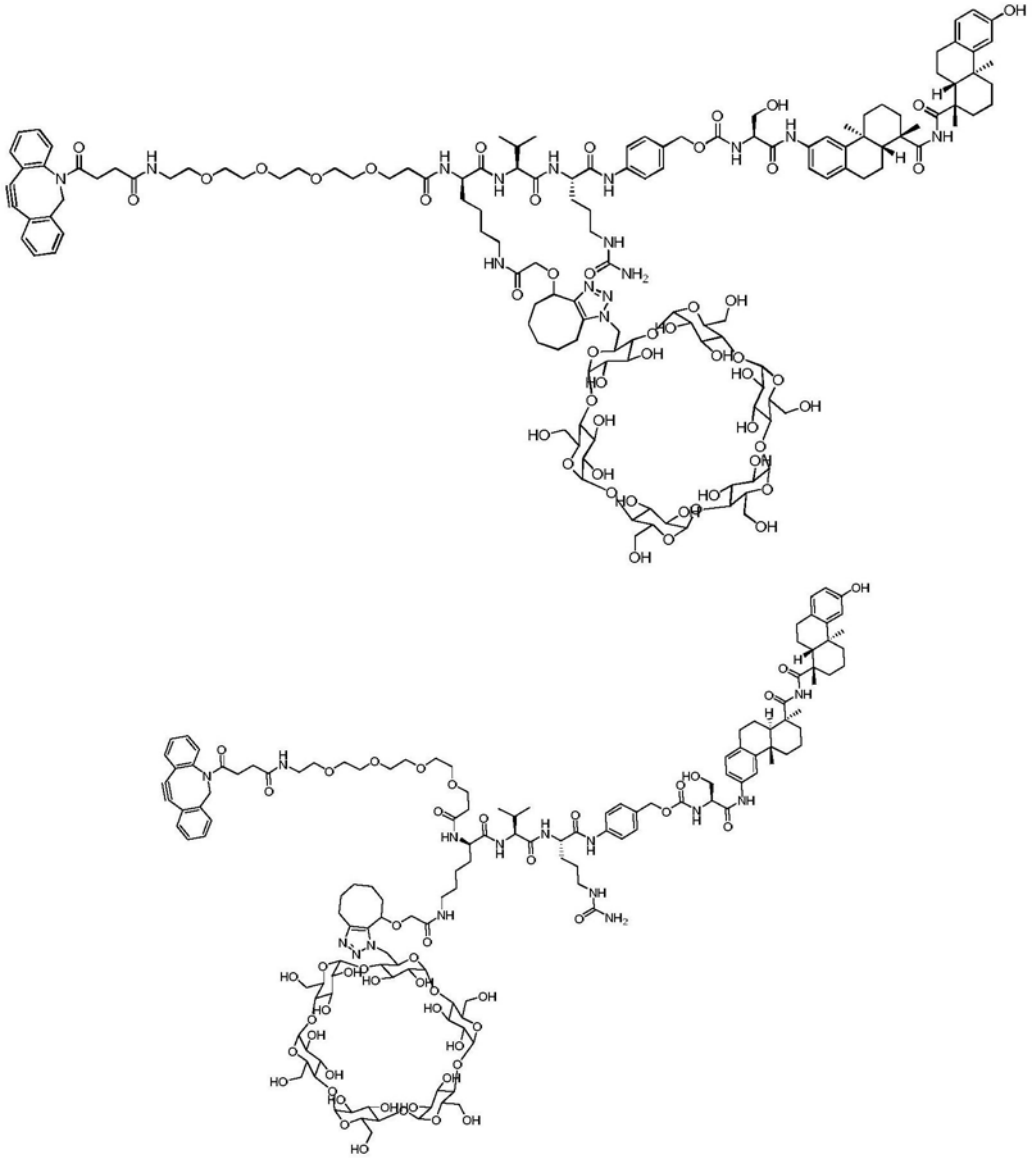
实施例57

[0537] 本实施例说明了用于制备连接体-有效负载29j的方法。本实施例参考图8中的化合物编号。

[0538] {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-[1-(4-{2-氮杂三环[10.4.0.$0^{4,9}$]十六碳-1(12),4(9),5,7,13,15-六烯-10-炔-2-基}-4-氧丁酰胺基)-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺基]-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-十二羟基-10,15,20,25,30-五

(羟甲基)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-十二氧杂七环[26.2.2.$2^{3,6}$.$2^{8,11}$.$2^{13,16}$.$2^{18,21}$.$2^{23,26}$]四十二烷-5-基]甲基}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-环辛并[d][1,2,3]三唑-4-基)氧基]乙酰胺基}己酰胺基]-3-甲基丁酰胺基]-5-(氨基甲酰基氨基)戊酰胺基]苯基}甲基

N-[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-羟基-1,4a-二甲基-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲-1-基]甲酰胺基}羰基)-4b,8-二甲基-4b,5,6,7,8,8a,9,10-八氢菲-3-基]氨基甲酰基}-2-羟乙基]氨基甲酸酯(29j)



[0539] 按照制备29的一般方法,得到化合物29j(10mg,42%收率)为白色固体(在三唑处的区域异构体的混合物)。

[0540] $C_{138}H_{193}N_{15}O_{49}$,精确质量:2844.3.ESI m/z:1424.3$(M/2+H)^+$。^1H NMR(500MHz,$DMSO_{d6}$)δ9.81(s,1H),9.65(s,1H),8.97(s,1H),8.28-8.04(m,3H),7.91-7.73(m,2H),7.73-7.16(m,12H),6.95(d,J=8.8Hz,1H),6.81(d,J=7.8Hz,1H),6.73-6.59(m,1H),6.59-6.44(m,1H),5.98(s,1H),5.71-5.27(m,12H),5.23-4.48(m,14H),4.43-3.93(m,5H),4.09-3.50(m,24H),3.51-3.33(m,31H),3.33-2.53(m,17H),2.42-1.08(m,51H),1.06-0.67(m,14H)

ppm。

实施例58

[0541] 本实施例说明了用于制备连接体-有效负载33的方法。本实施例参考图9中的化合物编号。

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-氮杂三环[10.4.0.0$^{(4,9)}$]十六碳-1(12),4(9),5,7,13,15-六烯-10-炔-2-基}-4-氧丁酰胺基)-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺基]-3-甲基丁酰胺基]-5-(氨基甲酰基氨基)戊酰胺基]苯基}甲基N-{2-[N-甲基(3-{3-[3-乙基-8-(三氟甲基)喹啉-4-基]苯氧基}苯)磺酰胺基]乙基}氨基甲酸酯(33)

[0542] N-(2-氨基乙基)-3-(3-(3-乙基-8-(三氟甲基)喹啉-4-基)苯氧基)-N-甲基苯磺酰胺(31)报道为有效的LXR激动剂,对LXRα的结合亲和力为1.5nM,对LXRβ的结合亲和力为12nM(参见Bioconjug Chem.2015 26(11),2216-22)。

[0543] 经由两个酰胺偶联反应的连接体-有效负载33的合成示于图9中。在HOBt催化下,31与Fmoc-VC-PAB-PNP进行第一酰胺偶联反应,然后在碱性条件下进行Fmoc脱保护,形成32,然后32与可商购的DIBAC-suc-PEG$_4$-酸进行第二酰胺偶联反应以形成33。

[0544] 步骤1:室温下,向31(0.14g,0.26mmol)的DMF(5mL)混合物中依次加入Fmoc-vc-PAB-PNP(0.26g,0.34mmol),HOBt(46mg,0.34mmol)和DIPEA(89mg,0.68mmol)。反应物在20-25℃下搅拌24小时后,根据LC-MS分析,31已完全耗尽。向反应混合物中加入Et$_2$NH(0.5mL),所得混合物在25℃下再搅拌2小时。LC-MS显示当时Fmoc基团已完全脱去。真空浓缩除去挥发物,残余物经制备型HPLC纯化(方法A),得到32(75mg,30%收率)为白色固体。ESI m/z:935(M+H)$^+$。^{1}H NMR(400MHz,CH$_3$OH-$_{d4}$)δ8.97(s,1H),8.06(d,J=7.2Hz,1H),7.71-7.52(m,7H),7.40-7.37(m,2H),7.31-7.27(m,3H),7.18(d,J=7.2Hz,1H),7.06-7.04(m,1H),5.00(s,2H),4.55-4.52(m,1H),3.25-3.06(m,7H),2.74(s,3H),2.73-2.60(m,2H),2.06-1.54(m,5H),1.18(t,J=7.2Hz,3H),0.98(d,J=6.8Hz,3H),0.93(d,J=6.8Hz,3H)ppm。

[0545] 步骤2:室温下,向DIBAC-suc-PEG$_4$-酸(8.0mg,14μmol)的DMF(1mL)溶液中加入HATU(8.0mg,20μmol)。混合物在25℃下搅拌1小时,然后向混合物中加入32(13mg,14μmol)和TEA(13mg,28μmol)。混合物在25℃下再搅拌2小时。反应通过LC-MS进行监测,直至32耗尽。真空浓缩除去挥发物,残余物经制备型HPLC纯化(方法B),得到33(7.0mg,35%收率)为白色固体。ESI m/z:735(M/2+H)$^+$。^{1}H NMR(400MHz,CH$_3$OH-$_{d4}$)δ8.96(s,1H),8.06(d,J=7.2Hz,1H),7.71-7.52(m,9H),7.43-7.18(m,12H),7.05(s,1H),5.13-5.09(m,1H),5.00(s,2H),4.52-4.46(m,1H),4.20(d,J=6.8Hz,1H),3.77-3.65(m,3H),3.58-3.51(m,12H),3.44-3.39(m,2H),3.22(t,J=6.0Hz,4H),3.14-3.03(m,3H),2.73-2.62(m,6H),2.53(t,J=6.0Hz,2H),2.40-2.31(m,1H),2.20-1.86(m,5H),1.79-1.51(m,3H),1.17(t,J=7.6Hz,3H),0.97(t,J=6.0Hz,6H)ppm。

实施例59

[0546] 表2总结了连接体-有效负载22、24、27、29和33的结构。表5总结了连接体-有效负载的分子式、分子量、计算的LogP值、MS和HPLC结果。

表5.连接体-有效负载的化学物理性质

	化合物编号#	cLogP	MF	MW	MS m/z (100%)	HPLC R_t 方法 A 或 B (min)	HPLC 纯度 (%)
LP1	24c	+	$C_{81}H_{116}N_{10}O_{23}$	1597.8	1598.7 [M+H]	6.70 (A) 7.72 (B)	100
LP2	22d1	+++	$C_{72}H_{92}N_6O_{12}$	1233.53	617.3 [M/2+H]	9.21 (B)	100
LP3	22d2	++	$C_{38}H_{51}N_3O_3$	597.39	598.4 [M+H]	8.99 (B)	100
LP4	22j	++	$C_{86}H_{110}N_{10}O_{17}$	1555.8	778.4 [M/2+H]	7.21 (B)	96.6
LP5	27d1	++	$C_{58}H_{82}N_6O_8$	990.62	991.3 [M+H]	6.5 (B)	100
LP6	29c1	+	$C_{137}H_{191}N_{15}O_{48}$	2818.1	939.5 [M/3+H]	6.62 (B)	100
LP7	29c2	+	$C_{148}H_{213}N_{15}O_{53}$	3050.3	1017.3 [M/3+H]	6.68 (B)	96
LP8	29d1	+	$C_{124}H_{175}N_{11}O_{44}$	2523.8	841.8 [M/3+H]	6.19 (B)	98
LP9	29d2	+	$C_{116}H_{174}N_{10}O_{44}$	2412.7	1215.2 [(M+H2O)/2+	6.37 (B)	100

	化合物编号#	cLogP	MF	MW	MS m/z (100%)	HPLC R_t 方法 A 或 B (min)	HPLC 纯度 (%)
					H]		
LP10	29d3	+	$C_{135}H_{196}N_{12}O_{49}$	2771.1	924.5 [M/3+H]	6.42 (B)	100
LP11	29d4	+	$C_{127}H_{195}N_{11}O_{49}$	2660	837.2 [(M-BCN)/ 3+H]	6.33 (B)	100
LP12	29h	+	$C_{137}H_{191}N_{15}O_{48}$	2818.1	939.5 [M/3+H]	6.62 (B)	100
LP13	29j	+	$C_{138}H_{193}N_{15}O_{49}$	2846.08	1424.3 [M/2+H]	6.12 (B)	100
LP15	27j	++	$C_{72}H_{100}N_{10}O_{13}$	1313.62	657.5 [M/2+H] 1313.6 [M+H, 5%]	8.16 (B)	96
LP14	33	++	$C_{76}H_{87}F_3N_{10}O_{15}S$	1469.6	735.3 [M/2+H]	9.34 (B)	96

9<+++;7<++<9;-2<+<2

实施例60

[0547] 本实施例说明了使用硫醇-马来酰亚胺反应来制备抗体的非位点特异性偶联药物的方法。

[0548] 使用与制备类Adcetris®ADC类似的那些方法,通过抗体半胱氨酸的偶联分两步进行(参见Mol.Pharm.2015,12(6),1863-71)。

[0549] 采用二硫苏糖醇或TCEP来还原单克隆抗体(mAb)。凝胶过滤后,将24c的DMSO溶液加至经还原的抗体中,将混合物调节至适当的pH值。混合物搅拌反应。所得偶联物通过SEC进行纯化。DAR(UV)值是使用测定的ncADC的吸光度以及抗体和24c的消光系数来确定。

实施例61

[0550] 本实施例说明了用于位点特异性偶联的方法,通常是针对抗体或其抗原结合片段与有效负载的位点特异性偶联。本实施例参考图10。

[0551] 在一个实施例,通过微生物转谷氨酰胺酶(MTG EC 2.3.2.13,Zedira,达姆施塔特(Darmstadt),德国)(以下简称“基于MTG”)两步偶联N297Q抗体而生成位点特异性偶联物。

第一步是基于MTG的酶将小分子(例如叠氮化物-PEG_3-胺)附接至突变的抗体上。第二步是通过[2+3]环加成,例如叠氮化物和环辛炔之间的1,3-偶极环加成(又称无铜点击化学反应),将连接体-有效负载附接至叠氮基官能化抗体上。参见Baskin,J.M.;Prescher,J.A.;Laughlin,S.T.;Agard,N.J.;Chang,P.V.;Miller,I.A.;Lo,A.;Codelli,J.A.;Bertozzi,C.R.PNAS 2007,104(43),16793-7。图10中示出的是连接体-有效负载的示例,所述连接体-有效负载具有通过[2+3]环加成与叠氮基官能化抗体偶联的DIBAC部分。此方法以约50-80%的分离产率提供了所述位点特异性和化学计量的偶联物。

实施例62

[0552] 本实施例说明了制备叠氮基官能化抗体药物偶联物的方法。

[0553] 在$BupH^{TM}$(pH6.5-8.0)中,将无糖基化的人抗体IgG(IgG1、IgG4等)或人IgG1同种型与≥200摩尔当量的叠氮基-dPEG_3-胺(MW=218.26g/mol)混合。将所得溶液与转谷氨酰胺酶(25U/mL;每毫克抗体5UMTG,来自德国达德施塔特(Darmstadt)的Zedira或日本味之素(Ajinomoto))混合,使得抗体最终浓度为0.5-5mg/mL,溶液保持在pH6.5-8.0,然后在37℃下孵育4-24h,同时轻轻振荡。反应通过ESI-MS进行监测。反应完成后,通过SEC(参见图12)或蛋白A柱色谱法用酸性缓冲液洗脱,然后用Tris缓冲液(pH8)中和,除去过量的胺和MTG,以生成叠氮基官能化抗体。在SDS-PAGE(参见图11)和ESI-MS(参见图13)上分析此产物。将叠氮基-dPEG_3-胺添加至抗体的两个位点-Q295和Q297-,使得所述4DAR无糖基化的抗体-PEG_3-叠氮化物偶联物增加804Da。通过胰蛋白酶消化的重链的肽序列作图,在$EEQ^{连接体}YQ^{连接体}STYR$($EEQ^{Linker}YQ^{Linker}STYR$)处鉴定和确证所述4DAR叠氮基官能化抗体的偶联位点。

实施例63

[0554] 本实施例说明了使用点击化学反应制备药物与抗体的位点特异性偶联物的方法。

[0555] 通过叠氮基官能化抗体与含有炔烃的连接体-有效负载之间的[2+3]点击反应来制备位点特异性无糖基化抗体药物偶联物,所述偶联物具有表6中含有N297Q突变(EU编号)的人IgG(IgG1、IgG4等)。如表6所示,抗Her2-PEG_3-N_3与表2中连接体-有效负载LP2、LP3、LP4、LP5、LP6、LP7、LP8、LP10、LP11、LP12、LP13和LP14偶联。如表6所示,抗PRLR-PEG_3-N_3与表2中LP(LP5、LP6、LP7、LP8、LP10、LP11、LP12、LP13和LP14)偶联。如表6所示,同种型对照-PEG_3-N_3与表2中LP2、LP3、LP4、LP5、LP6、LP7、LP8、LP10、LP11、LP12、LP13和LP14偶联。

[0556] 对于偶联,通过将mAb-PEG_3-N_3(1-3mg/mL)在水性培养基(例如,PBS、含5%甘油的PBS、HBS)中与≥6摩尔当量的溶于合适有机溶剂(如DMSO、DMF或DMA)(即,反应混合物含有5-20%有机溶剂,v/v)中的LP,在24℃至37℃下持续孵育6小时,来制备叠氮基官能化的无糖基化人IgG1抗体(mAb-PEG_3-N_3)和连接体-有效负载(LP)的偶联物。通过ESI-MS监测反应进程,并且不存在mAb-PEG_3-N_3表示偶联完成。通过SEC用PBS进行洗脱,或通过蛋白A柱用酸性缓冲液进行洗脱,然后用Tris(pH8)中和,来除去过量的LP和有机溶剂。通过SEC、SDS-PAGE和ESI-MS来分析纯化的偶联物。表6示出了来自相应LP的非细胞毒性抗体偶联物(ncADC)的列表,其分子量和ESI-DAR值。

[0557] 表6总结了裸抗体(抗Her2抗体、抗PRLR抗体和同型对照抗体),叠氮基官能化抗体(抗Her2抗体-PEG_3-N_3、抗PRLR抗体-PEG_3-N_3和同种型对照抗体-PEG_3-N_3),及其抗体药物偶联物。在表6中,Ab是指抗体,mAb是指单克隆抗体,Ab-N_3是指叠氮基官能化抗体,Ab-PEG_3-N_3是指具有PEG_3间隔基团的叠氮基官能化抗体,和ncADC是指非细胞毒性抗体药物偶联物。为

方便起见，抗Her2-LP(X)和抗PRLR-LP(X)命名法(如表6和本发明其他表中所述，其中X表示特定的连接体-有效负载(例如LP2或LP10等))包含PEG_3间隔基团(例如，来自抗Her2抗体-PEG_3-N_3或抗PRLR抗体-PEG_3-N_3)存在，如本发明所述。

表6.抗体、抗体-PEG_3-N_3、和LXR激动剂-ncADC列表

Ab, Ab–N_3,或 ncADC	MS m/z (ncADC)	LP #	MW (LP)	DAR (ESI–MS)
抗 Her2 mAb	145132			
抗 Her2–PEG_3–N_3	145930	NH_2–PEG_3–N_3	218.26	4
抗 Her2–LP2	150880	LP2	1232.7	3.8
抗 Her2–LP3	151830	LP3	1467.8	3.9
抗 Her2–LP4	152175	LP4	1554.8	3.8
抗 Her2–LP5	149925	LP5	990.0	4
抗 Her2–LP6	158153	LP6	3050.3	4
抗 Her2–LP7	157715	LP7	2939.2	3.9
抗 Her2–LP8	156047	LP8	2523.8	3.9
抗 Her2–LP10	157040	LP10	2771.1	4
抗 Her2–LP11	156602	LP11	2660.0	4

Ab, Ab–N_3,或 ncADC	MS m/z (ncADC)	LP #	MW (LP)	DAR (ESI–MS)
抗 Her2–LP12	157212	LP12	2818.1	4
抗 Her2–LP14	151827	LP14	1469.6	4
抗 PRLR mAb	144579			-
抗 PRLR– PEG_3–N_3	145373	NH_2–PEG_3–N_3	218.26	4
抗 PRLR–LP5	149368	LP5	990.0	4
抗 PRLR–LP6	157589	LP6	3050.3	4
抗 PRLR–LP7	157169	LP7	2939.2	3.9
抗 PRLR–LP8	155484	LP8	2523.8	4
抗 PRLR–LP10	156474	LP10	2771.1	4
抗 PRLR–LP11	156052	LP11	2660.0	4
抗 PRLR–LP14	151283	LP14	1469.6	4
同种型对照 mAb	145430			
同种型对照– PEG_3–N_3	146235	NH_2–PEG_3–N_3	218.26	4
同种型对照–LP2	151176	LP2	1232.7	4–
同种型对照–LP3	152120	LP3	1467.8	4
同种型对照–LP4	152472	LP4	1554.8	4
同种型对照–LP5	150218	LP5	990.0	4
同种型对照–LP8	156355	LP8	2523.8	4
同种型对照–LP10	157340	LP10	2771.1	4
同种型对照–LP11	156893	LP11	2660.0	3.4
同种型对照–LP12	157514	LP12	2818.1	3.9

实施例64

[0558] 本实施例说明了表征抗体和非细胞毒性抗体药物偶联物(ncADC)的方法。

[0559] 抗体和ncADC通过SDS-PAGE、SEC和MS(ESI)进行表征。表6中的抗-Her2-LP8偶联物通过其叠氮基官能化抗体(抗-Her2-PEG_3-N_3)由抗-Her2抗体生成,其特征在于在非还原和还原条件下进行SDS-PAGE(图11)、SEC(图12)和ESI-MS(图13),并示出了ncADC形成的完成。

[0560] SDS-PAGE用于分析ADC的完整性和纯度。

[0561] 在其中一种方法,SDS-PAGE条件包括非还原和还原的样品(2-4μg)以及BenchMark预染色蛋白质阶梯(BenchMark Pre-Stained Protein Ladder,Invitrogen,目录号10748-010;L#1671922.),其每泳道载入(1.0mm x 10孔)Novex 4-20%Tris-甘氨酸凝胶,并在180V、300mA下运行80分钟。使用Novex Tris-甘氨酸SDS缓冲液(2倍)(Invitrogen,目录号

LC2676)制备分析样品,所述还原样品采用含10％2-甲巯基乙醇的SDS样品缓冲液(2倍)制得。

[0562] 在图11中示出了代表性凝胶,其指示在非还原和还原条件下进行的SDS-PAGE上抗体和ncADC的分子量的变化。重链的质量从裸抗体增加至ncADC偶联物。未发现可检测到的交联物质。

[0563] 如图11所示,基于表7中的以下泳道标签,SDS-PAGE泳道包括以下物种。

表7.

泳道	样品
1	标准品（基准点（Bench Mark）10 μL）
2	抗 Her2 mAb
3	抗 Her2 mAb-NH-PEG_3-N_3
4	抗 Her2 mAb-LP8
7	抗 Her2 mAb (还原的)
8	抗 Her2 mAb-NH-PEG_3-N_3 (还原的)
9	抗 Her2 mAb-LP8 (还原的)
~2 μg 非还原/还原的样品/泳道。 Novex 4-20% Tris-甘氨酸凝胶；1.0 mm x 10 孔；180 V，300 mA，80 min。 BenchMark 预染色蛋白质阶梯（BenchMark Pre-Stained Protein Ladder），Invitrogen，目录号10748-010；L# 1671922。	

[0564] ADC的纯度通过SEC进行分析。

[0565] 为了确定抗体药物偶联物的纯度,进行SEC分析。使用Waters 600仪器,在Superdex 200(1.0x30cm)HR色谱柱上,使用PBS pH 7.4以0.80mL/min的流速进行SEC分析性实验,并使用Waters 2998 PDA在λ＝280nm处进行监测。分析样品由200μL PBS(pH 7.4)和30-100μL测试样品组成。使用来自GE Healthcare的AKTA仪器,在Superdex 200 PG(2.6x60cm)色谱柱上,以2mL/min的流速,用PBS pH 7.4洗脱,进行制备性SEC纯化,并在λ＝280nm处进行监测。图12中的SEC结果表明单体mAb及其偶联物的典型保留时间,并且未发现可检测到的聚集体或降解物。

[0566] 抗体和ADC通过LC-ESI-MS的完整质量分析进行分析。

[0567] 通过LC-ESI-MS来测定ncADC样品的完整质量以确定药物-有效负载分布曲线,并计算完整ADC形式的平均DAR。将每个测试样品(20-50ng,5uL)上样到Acquity UPLC Protein BEH C4柱(10K psi,300 Å,1.7μm,75μm×100mm;目录号186003810)上。脱盐3分钟后,对蛋白质进行洗脱,并通过Waters Synapt G2-Si质谱仪获得质谱。

[0568] 解卷积质谱示出了分子量为145132Da的无糖基化抗PRLR抗体的主峰,并且其叠氮基官能化抗PRLR抗体的主要峰具有145930Da的分子量,表明与其无糖基化的亲本抗体相比增加了798Da(对应于与每种无糖基化抗体偶联的4个氨基-PEG_3-叠氮化物)。此外,抗HER2-LP8偶联物的主要峰具有156047Da的分子量,表明与其无糖基化的亲本抗体相比增加了10931Da(对应于与每种无糖基化抗体偶联的4个LP8)。如表6所示,本发明中的大多数位点特异性ADC均具有4DAR。

[0569] 对于非位点特异性抗体药物偶联物,基于ESIQ-TOF质量分析来确定DAR值。使用最

大熵算法(Maximum Entropy algorithm,MassLynx),将ESIQ-TOF质谱解卷积为零电荷质谱。所得质谱证明了每种药物偶联的抗体的分布。峰面积百分比表示特定载药抗体种类的相对分布。使用峰面积信息百分比和抗体上的药物载量数来计算平均DAR。

[0570] 对于非位点特异性抗体药物偶联物,基于ESIQ-TOF质量分析来确定DAR值。使用最大熵算法(Maximum Entropy algorithm,MassLynx),将ESIQ-TOF质谱解卷积为零电荷质谱。所得质谱证明了每种药物偶联的抗体的分布。峰面积百分比表示特定载药抗体种类的相对分布。使用峰面积信息百分比和抗体上的药物载量数来计算平均DAR。

实施例65

[0571] 本实施例说明了LanthaScreen TR-FRET GR竞争性结合试验的方法。

[0572] 为了评估新型LXR激动剂结合LXRα和LXRβ受体的能力,使用LanthaScreen TR-FRET LXRα共激活试剂盒(Coactivator Assay Kit,ThermoFisher,目录号PV4655)和LXRβ共激活试剂盒(Coactivator Assay Kit,ThermoFisher,目录号PV4658)进行无细胞结合试验。根据制造商的说明书进行测定试验。简言之,从100μM(最终浓度的100倍)开始,在100%DMSO中制备LXR激动剂的3倍连续稀释液。将连续稀释液在具有5mMDTT的核受体缓冲液F中进一步稀释50倍,并转移至384孔测定板中。接下来,将荧光素-D22(Fluorescein-D22)、LXRα或LXRβLBD-GST以及Tb抗GST抗体依次加至384孔测定板中。然后将板在室温下孵育2.5小时,同时进行避光处理。所述板在Envision多标记微孔检测仪(Envision Multilabel Plate Reader,PerkinElmer)上进行分析,激发设定在340nm处,发射滤光器设定在520nm和486nm处。FRET比计算为520nm/486nm。IC_{50}值是使用四参数逻辑斯蒂(logistic)方程在12点响应曲线(GraphPad Prism)上进行确定。

[0573] 如表8所示,在LXR测定试验中,本发明的LXR激动剂结合LXRα,其IC_{50}值从低于1nM至大于100nM,并结合LXRβ,其IC_{50}值从低于1nM至大于100nM。在LXR测定试验中,参考化合物结合LXRα,其IC_{50}值小于或等于10nM,并结合LXRβ,其IC_{50}值在1nM和10nM之间。在这些测定条件下,本发明提供的几种LXR激动剂显示出与参考化合物相似或更好的结合LXR的IC_{50}。

[0574] 表8总结了表1中化合物的无细胞结合和基于细胞的功能活性。基于游离有效负载9d的最大激活来定义基于细胞的测定法中的倍数激活(如下文实施例68所述)。表现出游离有效负载的激活大于75%的化合物称为“完全激活”。表现出游离有效负载的激活从25%最大激活至75%最大激活的化合物称为“部分激活”。表现出游离有效负载的激活少于25%的化合物称为“无激活”。

表8.48小时无细胞结合和基于细胞的功能活性

化合物编号#	无细胞结合		THP1/LXR-Luc 细胞的激活	
	LXRα IC_{50}	LXRβ IC_{50}	激活倍数	EC_{50} (nM)
9a	+++	+++	完全激活	+++
9b	+++	+++	完全激活	+++
9c	++	+++	完全激活	++
9d	+++	+++	完全激活	++++
9e	+++	+++	完全激活	+++
9f	+++	+++	完全激活	+++
9h	++++	++++	完全激活	++++
9i	+++	+++	部分激活	++
9j	+++	+++	完全激活	++++
9k	++	+++	完全激活	+++
9l	++	++	完全激活	+++
9m	++	+++	完全激活	+++
9n	++	+++	完全激活	++++
9o	++	+++	完全激活	++++
9p	++	+++	完全激活	+++
9q	+++	+++	完全激活	++
9r	+++	+++	完全激活	++
9t	+	+	部分激活	++
9u	++	++	部分激活	+++
17b	++	+++	完全激活	++
17c	+	+++	完全激活	++++
31	+++	+++	部分激活	++
GW3965	+++	+++	完全激活	+
T0901317	++++	+++	完全激活	++

IC_{50}:++++:≤1nM;+++:≤10nM>1nM;++:≤100nM>10nM;+:>100nM.NT:未测试。

EC_{50}:++++:≤1nM;+++:≤10nM>1nM;++:≤100nM>10nM;+:>100nM.NT:未测试。

实施例66

为了确定LXR激动剂激活ABCA1和ABCG1基因的能力,测定了这两个基因在分化巨噬细胞中的mRNA水平。对于所述测定试验,在5%CO_2中、于37℃下,将THP-1人细胞系细胞以500,000个细胞/孔接种到48孔板的RPMI 1640培养基(Irvine Scientific,#9160)中,所述RPMI 1640培养基包含10%FBS(Gibco,目录号1043010),10μg/mL青霉素-链霉素(Gibco,目录号15140122)。通过用100nM佛波醇(Phorbol)-12肉豆蔻酸酯13-乙酸酯(Sigma,#P8139)处理,将细胞分化为巨噬细胞,然后将其加至上述培养基中孵育72小时。用连续稀释的LXR激动剂化合物和参考化合物T0901317处理分化的巨噬细胞24小时,浓度范围在$5x10^{-7}$M至$5x10^{-17}$M之间。吸出来自细胞的培养基,并加入0.75mL的TRIzol试剂(Invitrogen,目录号15596018)以裂解所述细胞。然后将氯仿用于相分离。根据制造商的说明书,使用MagMAX™-96用于微阵列总RNA分离试剂盒(Microarrays Total RNA Isolation Kit,Ambion,目录号AM1830)来

纯化含有总RNA的水相，并使用SuperScript® VILO™Master Mix(Invitrogen，目录号11755050)将其逆转录为cDNA。使用Gene Expression Master Mix，ABI 7900HT序列检测系统(Applied Biosystems)以及下表9中所示的引物和探针进行TaqMan®。GAPDH基因用作内部对照基因，以标准化任何cDNA输入差异。

表9.Taqman探针和引物

基因	探针序列	正向引物	反向引物
ABCA1	CTGACCAATGTGAACAGCTCCAGC	ACATGCGACAGGAGGTGATG	ATGCCCGCAGACAATACGA
ABCG1	AGATAATAACCTCACGGAAGCCCAGCG	GGACCTGCTGAATGGACATC	CCGAGGCAAGGAGGAGAA
GADPH	TCAACAGCGACACCCACTCCTC	CCAGGTGGTCTCCTCTGACT	GCTTGACAAAGTGGTCGTTGA

所有化合物均表明在人THP1巨噬细胞中诱导LXR内源性效应因子靶基因ABCA1和ABCG1(图14)。化合物9d和9h的效力最高，诱导ABCA1的EC_{50}值低于皮摩尔，而诱导ABCG1的EC_{50}值亦低于皮摩尔。测试的其他化合物与9d和9h相比，显示出相似的ABCA1和ABCG1基因激活水平，但它们的激活水平均为纳摩尔EC_{50}值。

实施例67

[0575] 本实施例说明了用于评估LXR激动剂及其抗体偶联物的生物测定细胞系的生成。

[0576] 使用含有萤火虫荧光素酶基因的市售LXR报告基因(称为LXR-Luc)，在最小的CMV启动子和LXR转录反应元件的串联重复序列的控制下，开发了生物测定方法来评估激动剂或ncADC内化进入细胞并与核受体LXR结合后的LXR激动剂活性。对于此测定试验，工程改造了THP1细胞系，其是人单核细胞白血病细胞系，以表达全长人Her2(表达M1至V1255的氨基酸，登录号为NP_004439.2)。用Cignal LXR Luc报告基因(Qiagen，目录号CLS-7041L)进一步转导随后的稳定细胞系。所得稳定细胞系在本发明中称为THP1/Her2/LXR-Luc。通过FACS证实了THP1/Her2/LXR-Luc细胞系上的Her2细胞表面表达(数据未示出)。

[0577] 此外，用Cignal LXR Luc报告基因(Qiagen，目录号CLS-7041L)转导THP1细胞系，而未添加Her2。所得稳定细胞系在本发明中称为THP1/LXR-Luc。评估在随后的生物测定试验中使用的所有抗体内化并释放所用生物测定细胞系上的有效负载的能力。

实施例68

[0578] 本实施例评估了本发明提供的LXR激动剂、参考化合物和抗-Her2抗体-LXR ncADC激活LXR的能力。样品在THP1/LXR-Luc/Her2生物测定中进行测试。对于所述测定，将THP1/LXR-Luc细胞或THP1/LXR-Luc/Her2细胞以30,000个细胞/孔接种到白色96孔板上的培养基中，所述培养基含有RPMI，补充有10％FBS和青霉素/链霉素(完全培养基)。随后将抗体药物偶联物、未偶联的抗体或游离有效负载的3倍连续稀释液以100nM至0.01nM的终浓度添加至细胞中。孵育48小时或72小时后，在向每个细胞孔中添加One-Glo™试剂(Promega，目录号E6130)后确定荧光素酶活性。在Victor光度计(PerkinElmer)上测定相对光单位(RLU)，并使用四参数逻辑斯蒂方程在10点剂量响应曲线(GraphPad Prism)上确定EC_{50}值(图15)。表3

示出了本发明的LXR激动剂和参考化合物的EC_{50}值。表10示出了ncADC和同时测试的LXR激动剂的EC_{50}值。倍数激活是基于游离有效负载9d的最大激活进行计算。表现出游离有效负载9d的激活大于75％的测试分子称为“完全激活”。表现出游离有效负载9d的激活从25％最大激活至75％最大激活的测试分子称为“部分激活”。表现出游离有效负载9d的激活少于25％的测试分子称为“无激活”。

[0579] 如表10所示，在48小时的时间点，游离有效负载9d诱导了THP1/LXR-Luc/Her2细胞的完全激活，其EC_{50}值为1.6nM。抗Her2抗体与包含9d的连接体有效负载进行位点特异性偶联，可刺激激活THP1/LXR-Luc/Her2细胞，其EC_{50}值是在0.51nM至0.83nM之间(抗Her2-LP2、LP3、LP5和LP8)。与含有9d的连接体有效负载偶联的阴性同种型对照抗体，除了LP2的对照(在最高测试浓度下显示出轻微的激活作用)外，未显示出明显激活。游离有效负载9j诱导了THP1/LXR-Luc/Her2细胞的完全激活，其EC_{50}值为0.39nM。抗Her2抗体与包含9j(抗Her2-LP4)的连接体有效负载进行位点特异性偶联，可刺激激活THP1/LXR-Luc/Her2细胞，其EC_{50}值为0.60nM。与含有9j的连接体有效负载偶联的阴性同种型对照抗体在最高测试浓度下显示出轻微的激活作用。游离有效负载9h诱导了THP1/LXR-Luc/Her2细胞的完全激活，其EC_{50}值为0.50nM。抗Her2抗体与包含9h(抗Her2-LP12)的连接体有效负载进行位点特异性偶联，可刺激激活THP1/LXR-Luc/Her2细胞，其EC_{50}值为0.47nM。与含有9h的连接体有效负载偶联的阴性同种型对照抗体在最高测试浓度下显示出轻微的激活作用。

[0580] 如表10所示，在72小时的时间点，游离有效负载9d诱导了THP1/LXR-Luc/Her2细胞的完全激活，其EC_{50}值为2.8nM。抗Her2抗体与包含9d的连接体有效负载进行位点特异性偶联，可刺激激活THP1/LXR-Luc/Her2细胞，其EC_{50}值是在0.46nM至0.80nM之间(抗Her2-LP2、LP3、LP5和LP8)。与含有9d的连接体有效负载偶联的阴性同种型对照抗体，除了LP2的对照(在最高测试浓度下显示出轻微的激活作用)外，未显示出明显激活。游离有效负载9j诱导了THP1/LXR-Luc/Her2细胞的完全激活，其EC_{50}值为0.47nM。抗Her2抗体与包含9j(抗Her2-LP4)的连接体有效负载进行位点特异性偶联，可刺激激活THP1/LXR-Luc/Her2细胞，其EC_{50}值为0.55pM。与含有9j的连接体有效负载偶联的阴性同种型对照抗体在最高测试浓度下显示出轻微的激活作用。游离有效负载9h诱导了THP1/LXR-Luc/Her2细胞的完全激活，其EC_{50}值为0.65nM。抗Her2抗体与包含9h(抗Her2-LP12)的连接体有效负载进行位点特异性偶联，可刺激激活THP1/LXR-Luc/Her2细胞，其EC_{50}值为0.45nM。与含有9h的连接体有效负载偶联的阴性同种型对照抗体在最高测试浓度下显示出轻微的激活作用。

表10.LXR激动剂和ncADC在THP1/LXR-Luc/Her2测定中的激活

	48 小时		72 小时	
分子	激活水平	EC_{50}	激活水平	EC_{50} (nM)
抗 Her2-LP2	完全激活	8.3E-10	完全激活	8.0E-10
同种型对照-LP2	部分激活	NA	部分激活	NA
抗 Her2-LP3	完全激活	5.1E-10	完全激活	4.6E-10
同种型对照-LP3	无激活	NA	无激活	NA
抗 Her2-LP4	完全激活	6.0E-10	完全激活	5.5E-10
同种型对照-LP4	部分激活	5.7E-08	部分激活	3.8E-08
抗 Her2-LP5	完全激活	5.5E-10	完全激活	5.7E-10
同种型对照-LP5	无激活	NA	无激活	NA
抗 Her2-LP8	完全激活	6.5E-10	完全激活	7.0E-10
同种型对照-LP8	无激活	NA	无激活	NA
抗 Her2-LP12	完全激活	4.7E-10	完全激活	4.5E-10
同种型对照-LP12	部分激活	NA	部分激活	NA
9d，LP2、3、5、&8 的有效负载	完全激活	1.6E-09	完全激活	2.8E-09
9h，LP12 的有效负载	完全激活	5.0E-10	完全激活	6.5E-10
9j，LP4 的有效负载	完全激活	3.9E-10	完全激活	4.7E-10
仅抗 Her2 抗体	无激活	NA	无激活	NA

NA:不适用

实施例69

ADC偶联

[0581] 本实施例说明了通常将有效负载与抗体或其抗原结合片段进行位点特异性偶联的另一种方法。

[0582] 使生成的抗MSR1抗体突变(N297Q)以掺入转谷氨酰胺酶位点,从而与治疗有效负载偶联。将含有N297Q突变的位点特异性无糖基化抗体与胺-PEG_3-N_3偶联,生成叠氮基官能化抗体偶联物(mAb-N_3),包括抗MSR1Ab-PEG_3-N_3。

[0583] 本实施例说明了制备偶联物的方法。将BupH™(pH7-8)中具有人IgG1同种型的无糖基化抗体与≥200摩尔当量的叠氮基-dPEG$_3$-胺(MW.218.26g/mol)混合。所得溶液与转谷氨酰胺酶(25U/mL;每毫克抗体5UMTG)混合,使得抗体最终浓度为0.5-10mg/mL,然后溶液在37℃下孵育4-24小时,同时轻轻振荡。反应通过SDS-PAGE或ESI-MS进行监测。反应完成后,通过体积排除色谱法(SEC)除去过量的胺和MTG,以生成叠氮基官能化抗体(mAb-N_3)。在SDS-PAGE和ESI-MS上分析此产物。将叠氮基-dPEG$_3$-胺添加至抗体的两个位点-Q295和Q297-,使得所述4DAR无糖基化的抗体-PEG_3-叠氮化物偶联物增加804Da。通过胰蛋白酶消化的重链的肽序列作图,在$EEQ^{连接体}YQ^{连接体}$STYR($EEQ^{Linker}YQ^{Linker}$STYR)处鉴定和确证所述4DAR叠氮基官能化抗体的偶联位点。

[0584] 通过叠氮基官能化抗体(mAb-N_3)与含有连接体-有效负载(LP)的炔烃之间的[2+3]点击反应,制备得到具有人IgG1或IgG4且含有N297Q突变的位点特异性无糖基化抗体药物偶联物(ADC)。

[0585] 通过将mAb-PEG_3-N_3(1-12mg/mL)在水性培养基(例如,PBS、含5%甘油的PBS、HBS)中与≥6摩尔当量的溶于合适有机溶剂(如DMSO、DMF或DMA)(即,反应混合物含有5-20%的有机溶剂,v/v)的LP,在24℃至37℃下持续孵育30分钟至24小时,来制备位点特异性抗体与连接

体-有效负载(LP)的偶联物。通过ESI-MS监测反应进程,并且不存在mAb-PEG_3-N_3表示偶联完成。通过SEC用PBS进行洗脱,或通过蛋白A柱色谱法用酸性缓冲液进行洗脱,随后用Tris(pH8.0)中和,来除去过量的LP和有机溶剂。通过SEC、SDS-PAGE和ESI-MS来分析纯化的偶联物。

[0586] 在具体实施例,在室温下,用6摩尔当量的DIBAC-PEG_4-D-Lys(COT-∝-CD)-VC-PABC-有效负载(浓度为10mg/mL的DMSO溶液)处理0.800mL PBSg(PBS,5%甘油,pH7.4)中的叠氮基官能化抗体(1mg)2小时,然后通过体积排除色谱法(SEC,Superdex 200 HR,GE Healthcare)除去过量的连接体有效负载(LP)。通过超速离心法浓缩最终产物,并通过UV、SEC、SDS-PAGE和ESI-MS进行表征。

实施例70

通过LC-ESI-MS对ADC进行表征

[0587] 通过LC-ESI-MS对ADC样品的完整质量进行测定,以确定药物-有效负载分布曲线并计算平均DAR。将每个测试样品(20-50ng,5uL)上样到Acquity UPLC Protein BEHC4色谱柱(10Kpsi,300 Å,1.7μm,75μm×100mm;目录号186003810)。3分钟后,进行脱盐处理,洗脱蛋白质,并通过Waters Synapt G2-Si质谱仪获得质谱。如表12所示,大多数位点特异性ADC针对位点特异性偶联物具有3.9-4DAR。

表11.连接体-有效负载性质

LP	cLogP	MF	MW	HPLC 纯度 (%)	HPLC R_t (min)	MS (m/z) 100%	最高 m/z 峰
LP8	-0.38	$C_{124}H_{175}N_{11}O_{44}$	2523.76	98	6.45, 6.55 (B)	841.8 [M/3+H]	1262.4 [M/2+H] (30%)
LP32	-3.92	$C_{136}H_{195}N_{11}O_{54}$	2848.04	96	7.48 (B)	955.0 [(M+18)/3] 949.5 (M/3+H)	1424.2 (M/2+H) (30%)
LP15	7.53	$C_{72}H_{100}N_{10}O_{13}$	1313.62	96	8.16 (B)	657.5 (M/2+H)	1313.6 (M+H) (5%)
LP13	-1.48	$C_{138}H_{193}N_{15}O_{49}$	2846.08	100	6.11, 6.21 (B)	949.0 (M/3+H)	1423.3 (M/2+H) (5%)
LP36	6.59	$C_{115}H_{160}N_{16}O_{28}S$	2246.66	100	7.24 (B)	749.5 (M/3+H)	1123.8 (M/2+H) (5%)
LP39	8.70	$C_{88}H_{112}N_{10}O_{18}$	1597.89	95	5.67 (B)	799.0 (M/2+H)	799.0 (M/2+H)
LP311	8.17	$C_{89}H_{117}N_{11}O_{16}$	1596.95	95	8.51 (B)	798.5 (M/2+H)	798.5 (M/2+H)
LP18	6.49	$C_{101}H_{142}N_{12}O_{23}S$	1924.34	97	7.57 (B)	642.2 (M/3+H)	962.5 (M/2+H) (70%)

表12.ADC性质

LP #	MW (LP)	Ab, Ab–N_3, 或 ncADC	MS m/z (ncADC)	DAR (ESI–MS)
		H1H27729P		
		H1H27729P-N_3	144166	4
8	2523.8	H1H27729P-LP8		
		H1H27731P	144620	4
		H1H27731P-N_3		

8	2523.8	H1H27731P-LP8		
		H1H27732P	144176	5.7
		H1H27732P-N_3		
8	2523.8	H1H27732P-LP8		
		H1H27734P	145110	4.4
		H1H27734P-N_3		
8	2523.8	H1H27734P-LP8		
		H1H27736P	145940	4
		H1H27736P-N_3		
8	2523.8	H1H27736P-LP8		
		H1H27739P	145251	4
		H1H27739P-N_3		
8	2523.8	H1H27739P-LP8		
		H1H27747P	145214	5.3
		H1H27747P-N_3		
8	2523.8	H1H27747P-LP8		
		H1H27749P	143441	4
		H1H27749P-N_3		
8	2523.8	H1H27749P-LP8		
		H1H17751P	146092	3.8
		H1H17751P-N_3		
8	2523.8	H1H17751P-LP8		
		H1H27754P	145477	4.2
		H1H27754P-N_3		
8	2523.8	H1H27754P-LP8		
		H1H27756P	145503	
		H1H27756P-N_3	146310	4
8	2523.8	H1H27756P-LP8	156424	4
		H1H17759P2	145126	
		H1H17759P2-N_3	145930	4

8	2523.8	H1H17759P2-LP8	156046	4
		H1H17760P2	145611	
		H1H17760P2-N_3	146431	4
8	2523.8	H1H17760P-LP8	156533	4
		H1H17761P2	145508	
		H1H17761P2-N_3	146717	6
8	2523.8	H1H17761P2-LP8	161884 159158	5.34
		H1H27762P2	144371	
		H1H27762P2-N_3	145177	4
8	2523.8	H1H27762P2-LP8	155294	4
		H1H27766P2	146314	
		H1H27766P2-N_3	147121	4
8	2523.8	H1H27766P2-LP8	157236	4
		H1H27771P2	145966	
		H1H27771P2-N_3	146774	4
8	2523.8	H1H27771P2-LP8	156890	4
		H1H27773P2	145533	
		H1H27773P2-N_3	146337	4
8	2523.8	H1H27773P2-LP8	156453	4
		H1H27778P2	145310	
		H1H27778P2-N_3	146115	4
8	2523.8	H1H27778P2-LP8	156227	4
		H1H21231N		
		H1H21231N-N_3	Lot2	2
8	2523.8	H1H21231N-LP8	Lot4	1.9
		H1H21227N		
		H1H21227N-N_3	Lot2	4
8	2523.8	H1H21227N-LP8	Lot3	3.7
		H1H21231N		
		H1H21231N-N_3	Lot2	6

8	2523.8	H1H21231N-LP8	Lot3	5.9
		H1H21235N	145487	
		H1H21235N-N_3	146288	4
8	2523.8	H1H21235N-LP8	156390	4.1
		H1H25700N	145484	
		H1H25700N-N_3	146688	6
8	2523.8	H1H25700N-LP8	161873	6
		H1H25690N	145157	
		H1H25690N-N_3	145969	4
8	2523.8	H1H25690N-LP8	156060	4.1
		H1H25695N	145736	
		H1H25695N-N_3	146537	4
8	2523.8	H1H25695N-LP8	156637	3.9
		H1H25685N	145380	
		H1H25685N-N_3	146582	6
8	2523.8	H1H25685N-LP8	161767	5.8
		H1H21228N	144830	
		H1H21228N-N_3	145631	4
8	2523.8	H1H21228N-LP8	155732	4.2
		H1H21234N	145790	
		H1H21234N-N_3	146583	4
8	2523.8	H1H21234N-LP8	156691	4
32	2848.1	H1H21234N-LP32	157983	3.9
15	1313.7	H1H21234N-LP15	151841	3.9
13	2846.2	H1H21234N-LP13	157963	3.9
36	2246.7	H1H21234N-LP36	155570	3.9
39	1597.9	H1H21234N-LP39	152975	3.9
311	1597.0	H1H21234N-LP311	152979	3.9
Fel D1		同种型对照-N297Q		
		同种型对照-N297Q-N_3	146251	4
8	2523.8	同种型对照-N297Q-LP8	156352	3.9

实施例71

抗MSR1抗体-药物偶联物的Biacore表面等离子体共振产生的结合动力学

[0588] 将本发明公开的MSR1抗体偶联至各种肝X受体(LXR)有效负载。本实施例描述了如何使用基于实时表面等离振子共振的Biacore T200生物传感器,来测定与人抗MSR1抗体-

药物偶联物及其对应的未偶联的亲本抗体结合的人MSR1试剂的平衡解离常数(K_D)值。

[0589] 所有结合研究均在25℃下,在10mM HEPES、300mM NaCl、3mM EDTA和0.05%v/v表面活性剂吐温(Tween)-20、pH 7.4(HBS-ET)的运行缓冲液中进行。首先通过胺与山羊抗人Fcγ特异性多克隆抗体(Jackson ImmunoResearch Laboratories,目录号BR-1008-39)进行胺偶联来衍生化Biacore CM4传感器芯片表面,以捕获抗MSR1单克隆抗体。对用N端九组氨酸标签(His9-hMSR1;R&D Systems,目录号2708-MS)表达的人MSR1细胞外结构域进行结合研究。首先在HBSET运行缓冲液中制备不同浓度的His9-hMSR1(100nM-3.7nM或30nM-3.33nM;3倍连续稀释),并在3分钟内注入抗人Fcγ捕获的抗MSR1单克隆抗体表面,流速为50μL/分钟,同时在HBS-ET运行缓冲液中监测结合单克隆抗体的MSR1试剂的解离约8-10分钟。

[0590] 通过使用Scrubber 2.0c曲线拟合软件将实时结合感测图拟合为具有质量迁移限制的1:1结合模型,来确定结合速率(k_a)和解离速率(k_d)。结合解离平衡常数(K_D)和解离半衰期($t^1/_2$)由动力学速率计算为:

$$K_D\,(M) = \frac{kd}{ka}\text{,和}t½\,(min) = \frac{ln(2)}{60*kd}$$

[0591] 表13示出了在25℃下,His9-hMSR1与不同的抗MSR1抗体-LXR ADC及其未偶联的亲本抗体结合的结合动力学参数。"LP1"表示其有效负载结构提供在实施例111a中的连接体-有效负载。

表13.在25℃下His-hMSR1与MSR1抗体-LXR ADC及相应未偶联的抗体结合的结合动力学

捕获抗体	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	kd (s^{-1})	K_D(摩尔)	t½ (min)
H1H27729P-N297Q	1.05E+05	9.06E-04	8.67E-09	12.8
H1H27729P-N297Q-LP8	5.47E+04	7.18E-04	1.31E-08	16.1
H1H27731P-N297Q	1.17E+05	1.00E-05	8.55E-11	1155.2
H1H27731P-N297Q-LP8	1.28E+05	1.00E-05*	7.80E-11	1155.2
H1H27732P-N297Q	2.20E+05	1.00E-05*	4.50E-11	1155.2
H1H27732P-N297Q-LP8	1.50E+05	1.00E-05*	6.60E-11	1155.2

H1H27734P-N297Q	7.72E+04	5.96E-04	7.72E-09	19.4
H1H27734P-N297Q-LP8	6.93E+04	4.49E-04	6.49E-09	25.7
H1H27736P-N297Q	1.14E+05	1.47E-04	1.29E-09	78.7
H1H27736P-N297Q-LP8	9.59E+04	1.21E-04	1.26E-09	95.5
H1H27739P-N297Q	1.19E+05	5.55E-04	4.68E-09	20.8
H1H27739P-N297Q-LP8	8.88E+04	7.22E-04	8.14E-09	16.0
H1H27747P-N297Q	1.17E+05	2.62E-04	2.24E-09	44.1
H1H27747P-N297Q-LP8	1.36E+05	2.03E-04	1.49E-09	56.9
H1H27749P-N297Q	1.43E+05	1.00E-05*	6.99E-11	1155.2
H1H27749P-N297Q-LP8	1.40E+05	1.00E-05*	7.16E-11	1155.2
H1H27751P-N297Q	2.10E+05	1.75E-04	8.33E-10	66.1
H1H27751P-N297Q-LP8	2.29E+05	1.52E-04	6.64E-10	76.1
H1H27754P-N297Q	2.00E+05	1.00E-05*	4.99E-11	1155.2
H1H27754P-N297Q-LP8	1.77E+05	1.00E-05*	5.64E-11	1155.2
H1H27756P-N297Q	7.21E+04	1.19E-04	1.65E-09	97.4
H1H27756P-N297Q-LP8	6.27E+04	1.10E-04	1.76E-09	104.7
H1H27759P-N297Q	1.03E+05	4.35E-04	4.23E-09	26.6
H1H27759P-N297Q-LP8	1.30E+05	5.95E-04	4.57E-09	19.4
H1H27760P-N297Q	2.31E+05	3.83E-04	1.66E-09	30.2
H1H27760P-N297Q-LP8	2.59E+05	4.34E-04	1.67E-09	26.6
H1H27761P-N297Q	5.95E+05	3.62E-04	6.09E-10	31.9
H1H27761P-N297Q-LP8	2.53E+05	5.11E-04	2.02E-09	22.6
H1H27762P-N297Q	4.05E+05	5.60E-04	1.38E-09	20.6
H1H27762P-N297Q-LP8	4.83E+05	6.23E-04	1.29E-09	18.5
H1H27766P-N297Q	1.72E+05	1.00E-05*	5.83E-11	1155.2
H1H27766P-N297Q-LP8	4.16E+05	2.70E-05	6.49E-11	427.4
H1H27771P-N297Q	3.83E+05	3.55E-04	9.26E-10	32.6
H1H27771P-N297Q-LP8	3.38E+05	4.42E-04	1.31E-09	26.1
H1H27773P-N297Q	5.49E+04	7.52E-04	1.37E-08	15.4
H1H27773P-N297Q-LP8	2.72E+04	9.47E-04	3.48E-08	12.2
H1H27778P-N297Q	1.66E+05	2.71E-04	1.63E-09	42.6
H1H27778P-N297Q-LP8	2.85E+05	2.76E-04	9.70E-10	41.8
H1H21234N-N297Q	2.20E+05	1.00E-05*	4.54E-11	1155.2
H1H21234N-N297Q-LP8	4.90E+05	1.00E-05*	2.04E-11	1155.2
H1xH29273P2	8.20E+04	7.63E-03	9.30E-08	1.5
H1xH29282P2	8.28E+04	3.62E-03	4.37E-08	3.2
H1xH29283P2	1.39E+05	1.85E-03	1.34E-08	6.2

*表示在当前实验条件下未观测到His9-hMSR1的解离,并且在拟合数据的同时将k_d值手动固定为1.00E-05。

$表示在当前实验条件下未观测到结合。

[0592] 在25℃下,不同的抗MSR1抗体-LXR偶联物以小于或等于0.6pM至34.8nM的K_D值结合至9xHis-hMSR1,而未偶联的亲本抗体以小于或等于0.6pM至13.7nM的K_D值结合至9xHis-hMSR1,如表13所示。

实施例72

抗MSR1抗体-LXR偶联物激活LXR-荧光素酶报告基因生物测定(LXR-Luciferase Reporter Bioassay)中的激动剂结合

[0593] 测定细胞系的生成:为了在体外测试抗MSR1抗体-LXR偶联物的功效,开发了基于

细胞的LXR响应荧光素酶报告基因测定法。为了生成测定细胞系，将LXR调节的荧光素酶报道基因[Cignal Lenti LXR Reporter(luc)试剂盒(Qiagen,目录号CLS-001L)]转导至THP1细胞，并在嘌呤霉素中挑选细胞两周。慢病毒在最小的CMV启动子和LXR转录反应元件的串联重复序列的控制下，表达萤火虫荧光素酶基因。所得细胞系称为THP1/LXR-Luc细胞。

[0594] 试验方案：将THP1/LXR-Luc细胞以40,000个细胞/孔的浓度接种到96孔板上的培养基中，所述培养基含有RPMI，补充有10％FBS和青霉素/链霉素，然后用200nM乙酸肉豆蔻佛波醇(PMA)分化3天。在为期3天的分化之后，将新鲜培养基中的抗体药物偶联物、未偶联的抗体或游离有效负载的三倍连续稀释液以100nM至0.01nM的终浓度加至细胞中。单独使用培养基作为空白对照。48小时后，在向每个孔中添加One-Glo™试剂(Promega，目录号E6130)后，测定荧光素酶活性。在Victor光度计(PerkinElmer)上测定相对光单位(RLU)，并使用四参数逻辑斯蒂方程在10点剂量响应曲线(GraphPad Prism)上确定EC_{50}值。表14示出了每种测试试剂的EC_{50}值。对于每种未偶联的抗MSR1抗体或游离有效负载，通过计算标准品1的RLU与标准品8的RLU之比，来确定信噪比(S/N)。“LP#”表示在本发明中其他地方提供相应结构的连接体-有效负载，而“P#”表示在本发明中其他地方提供相应结构的有效负载。

表14.抗MSR1抗体-LXR偶联物、有效负载和未偶联的抗体的激动活性

测试分子	EC_{50} (M)	S/N
H1H21231N-N297Q-LP8	8.6E-10	14.5
H1H21227N-N297Q-LP8	8.9E-10	31.0
H1H21231N-N297Q-LP8	1.73E-09	38.6
H1H21234N-N297Q-LP8	3.65E-09	18.4
H1H21234N-N297Q-LP15	6.3E-10	9.0
H1H21234N-N297Q-LP13	9.8E-10	9.6
H1H21234N-N297Q-LP36	1.02E-09	9.2
H1H21234N-N297Q-LP39	1.12E-09	8.3
H1H21234N-N297Q-LP311	8.1E-10	10.0
H1H21234N-N297Q-LP32	8.7E-10	9.1
H1H27729N-N297Q-LP8	1.64E-09	14.5
H1H27731N-N297Q-LP8	1.46E-09	15.5
H1H27732N-N297Q-LP8	8.2E-10	19.1
H1H27734N-N297Q-LP8	5.19E-09	17.8
H1H27736N-N297Q-LP8	1.01E-09	16.4

测试分子	EC_{50} (M)	S/N
H1H27739N-N297Q-LP8	1.60E-09	21.0
H1H27747N-N297Q-LP8	4.77E-09	20.6
H1H27749N-N297Q-LP8	1.46E-09	13.1
H1H27751N-N297Q-LP8	1.54E-09	17.9
H1H27754N-N297Q-LP8	1.30E-09	17.3
H1H27756N-N297Q-LP8	1.61E-09	18.6
H1H27759N-N297Q-LP8	5.94E-09	18.9
H1H27760N-N297Q-LP8	6.34E-09	21.5
H1H27761N-N297Q-LP8	5.72E-09	20.7
H1H27762N-N297Q-LP8	7.02E-09	16.4
H1H27766N-N297Q-LP8	1.277E-08	11.3
H1H27771N-N297Q-LP8	2.41E-09	17.3
H1H27773N-N297Q-LP8	>4.05E-08	12.9
H1H27778N-N297Q-LP8	1.51E-09	16.1
H1H21235N-N297Q-LP8	8.3E-10	8.2
H1H25700N-N297Q-LP8	1.13E-09	7.4
H1H25690N-N297Q-LP8	2.5E-10	8.0
H1H25695N-N297Q-LP8	1.87E-09	9.8
H1H25685N-N297Q-LP8	7.8E-10	8.3
同种型对照-N297Q-LP8	>6.6E-08	2.7
H1H21234N-N297Q	无激活	无激活
9d	1.14E-09	15.9
9j	4.6E-10	5.7
9l	2.09E-09	8.9
9o	3.7E-10	8.3

[0595] 如表14所示，在48小时的时间点，所有与LP8偶联的抗MSR1抗体均表现出对THP1/Luc细胞的刺激作用，其EC_{50}值为0.2nM至大于140.5nM，S/N值为7.4至38.6。一种示例性的抗MSR1抗体-LXR偶联物(H1H21234N-N297Q-LP8)表现出对THP1/Luc细胞的刺激作用，其EC_{50}值为3.7nM，S/N为18.4。游离有效负载9d表现出对THP1/Luc细胞的刺激作用，其平均EC_{50}为15.9nM。与LP8偶联的同种型对照抗体(同种型对照-LP8)的平均EC_{50}值>66nM，S/N为2.7。此外，与测试的其他LXR激动剂连接体-有效负载偶联的H1H21234N-N297Q(H1H21234N-N297Q-LP15，H1H21234N-N297Q-LP13，H1H21234N-N297Q-LP36，H1H21234N-N297Q-LP39，H1H21234N-N297Q-LP311，和H1H21234N-N297Q-LP32)表现出对THP1/Luc细胞的刺激作用，其EC_{50}值为0.63nM至大于73nM，S/N为1.4至10。测试的其他LXR激动剂有效负载(9j、9l和9o)表现出对THP1/Luc细胞的刺激作用，其EC_{50}值为0.37nM至2.09nM，S/N为5.7至8.9。单独使用一种未偶联的抗MSR1抗体(H1H21234N)不会对THP/Luc细胞的刺激产生任何影响。

实施例73

抗MSR1抗体-LXR偶联物激活THP-1细胞中的胆固醇外排

[0596] 使用荧光胆固醇类似物评估了抗MSR1抗体-LXR偶联物激活人巨噬细胞系(THP-1；ATCC目录号TIB-202)中胆固醇外排的能力。

[0597] 简言之，将THP-1细胞以100,000个细胞/孔接种到96孔聚赖氨酸包被的平板(Corning，目录号354640)上的RPMI1640培养基(Irvine Scientific，目录号9160)中，所述培养基包含10％FBS(Gibco，目录号1043010)，10μg/mL青霉素-链霉素(Gibco，目录号15140122)，并在5％CO_2中于37℃下孵育。通过将100nM佛波醇-12肉豆蔻酸酯13-乙酸酯(Sigma，目录号P8139)加至培养基中，从而将细胞分化为巨噬细胞，并进一步孵育96小时。然后将分化的巨噬细胞在不含酚红的RPMI 1640培养基(Gibco，目录号32404-014)中孵育24小时，所述培养基包含25μM BODIPY-胆固醇(Avanti Polar Lipids，目录号810255P)，0.2％牛血清白蛋白(BSA;Sigma目录号A7211)，以及10μg/mL青霉素-链霉素，然后用游离有效负载、抗MSR1抗体-LXR偶联物(H1H21234N-N297Q-LP8)、同种型对照-LXR偶联物(同种型对照-N297Q-LP8)或未偶联的抗MSR1抗体(H1H21234N)的$1x10^{7}$M至$5x10^{-14}$M的连续稀释液，在含有0.2％BSA的不含酚红的RPMI1640培养基中处理24小时。用不含酚红的RPMI1640培养基清洗细胞，并与含有50μg/mL高密度脂蛋白(Millipore，目录号437641)、10μg/mL载脂蛋白A1(Millipore，目录号ALP10)的100μL受体培养基，在不含酚红RPMI1640培养基中一起孵育5小时，此后，收集受体培养基，将细胞在100μL RIPA缓冲液(Millipore，目录号20-188)中于室温温和搅拌下裂解2小时。在SpectraMax i3读板器(酶标仪，Molecular Devices)中，在激发482nm、发射515nm处测定这些级分的荧光。

[0598] 使用以下公式计算BODIPY-胆固醇外排的百分比：[受体培养基中的荧光/(受体培养基中的荧光+细胞裂解液中的荧光)]×100。表15提供了测试样品的激活的胆固醇外排量，图15以图表形式示出了所述数据。

表15.抗体-LXR偶联物和比较剂激活胆固醇外排量

测试分子	胆固醇外排激活EC_{50}(M)	最大外排量(％)
9d	1.5E-10	36.7
H1H21234N-N297Q-LP8	5.0E-11	36.7
同种型对照-N297Q-LP8	>6.4E-8	30.3
H1H21234N-N297Q	N/A	18.7

[0599] 如表15所示，在24小时后，H1H21234N-N297Q-LP8偶联物表现出最大胆固醇外排量，最大外排百分比为36.6％，EC_{50}值为50pM。游离有效负载9d表现出第二大胆固醇外排量，最大外排百分比为36.6％，EC_{50}值为150pM。同种型对照-N297Q-LP8偶联物表现出最小胆固醇外排量，最大外排百分比为30.3％。未偶联的抗体H1H21234N-N297Q未表现任何可测定的胆固醇外排。

实施例74

抗MSR1抗体-LXR偶联物在小鼠模型中对动脉粥样硬化的体内功效

[0600] 在小鼠体内评估了抗MSR1抗体-LXR激动剂偶联物H1H21234N-N297Q-LP8对动脉粥样硬化发展的功效，所述小鼠对人MSR1胞外结构域代替了小鼠MSR1胞外结构域的表达纯合，并且对缺失apoE基因(本发明称为$Msr1^{hu/hu}ApoE^{-/-}$小鼠)纯合。

[0601] 在禁食4小时后，在实验开始前6天，对$Msr1^{hu/hu}ApoE^{-/-}$小鼠进行预出血，然后使其进食致动脉粥样硬化的西方饮食(Research Diets，目录号106452)。根据它们的基线甘油三酸酯(TG)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)值，将小鼠进行分组(每组n＝7-9)。从第0天开始，将MSR1抗体(H1H21234N-N297Q)或MSR1抗体-LXR激动剂偶联物(H1H21234N-N297Q-LP8)

以每周25mg/kg的剂量(基于抗体浓度)皮下注射进行施用,持续16周。分别在研究的第4、8和16周,在禁食4小时后,收集血清,以使用AdviaXPT化学系统(Siemens)评估血清脂质。计算每个时间点的平均血清脂质值。所示结果(平均值±SEM)示出在图16中。图16示出了MSR1抗体-LXR激动剂偶联物H1H21234N-N297Q-LP8的施用对血清脂质水平没有影响。

[0602] 在研究结束时,在最后一次注射抗MSR1抗体或MSR1抗体-LXR激动剂ncADC后6天,在非禁食条件下处死小鼠,并收集它们的心脏和肝脏。将心脏埋入最佳切割温度化合物(OCT)中,并垂直于主动脉轴进行切片,从心脏内部开始并沿主动脉弓方向进行。一旦通过主动脉瓣小叶的出现识别出了主动脉根部,便取出一系列横截面切片(12μm厚)并将其安装在连续的载玻片上(VWR International,目录号16004-406)。这些切片用苏木精和(hematoxylin)曙红(eosin)染色(H&E染色),油红O(Oil Red O)脂质染色,和大鼠抗CD68抗体(Abcam,目录号ab201844)染色,以标记巨噬细胞从而进行分析。使用Aperio AT2载玻片扫描仪(Leica Biosystems,Illinois)对载玻片进行扫描并生成图像。对于每只小鼠,基于油红O(Oil Red O)染色,使用HALO软件(Indica Labs,New Mexico)在随后的7个横截面切片中测定脂质面积,随后使用这些测定值计算每只小鼠的总病变脂质面积的平均值。所有测定均由对治疗组不知情的分析员进行。所示结果(平均值±SEM)示于图17A中。图17A示出了MSR1抗体-LXR激动剂偶联物H1H21234N-N297Q-LP8的施用使得动脉粥样硬化病变区域减少。

[0603] 此外,使用H&E染色的载玻片来计算内膜/中膜比值,其代表噬斑尺寸的标准化值。使用H&E染色的切片在每只小鼠的7个后续横截面切片中测定动脉中层的内、外弹性层和管腔面积,并计算每只小鼠的平均值。使用以下公式计算内膜/中膜比值:

内膜/中膜比值＝(内弹性层面积-管腔面积)/(外弹性层面积-内弹性层面积)

所示结果(平均值±SEM)示于图17B中。

[0604] 使用大鼠抗CD68抗体染色的载玻片来测定切片中的巨噬细胞含量。对于每只小鼠,使用HALO软件在至少5个后续横截面切片中测定巨噬细胞阳性面积,并使用这些测定值计算每只小鼠总巨噬细胞含量的平均值。所示结果(平均值±SEM)示于图17C中。图17C示出了MSR1抗体-LXR激动剂偶联物H1H21234N-N297Q-LP8的施用使得巨噬细胞含量减少。

[0605] 处死时收集的肝脏用于qRT-PCR和脂质提取。将每只小鼠的一片肝脏置于RNAlader(Invitrogen,目录号AM7023)中进行RNA提取,然后使用标准方法通过qRT-PCR来评估脂肪形成基因(Srebf1、Acc、Fasn)的表达以评估从头脂肪生成。所示结果(平均值±SEM)示于图18中。图18示出了MSR1抗体-LXR激动剂偶联物H1H21234N-N297Q-LP8的施用对肝甘油三酸酯或胆固醇水平没有影响。

[0606] 用Folch方法从每只小鼠的第二片肝脏中提取脂质,并用Carr方法将其溶解。TG,总胆固醇和游离胆固醇的含量通过酶法检测进行测定(Teco Diagnostics,目录号T532-480(TG);Thermo Fisher Scientific,目录号TR13421(总胆固醇);Waco Diagnostics,目录号993-02501(游离胆固醇)),并标准化为湿组织重量。所示结果(平均值±SEM)示于图19中。图19示出了MSR1抗体-LXR激动剂偶联物H1H21234N-N297Q-LP8的施用对肝从头脂肪形成没有影响。

9a-9p 的合成

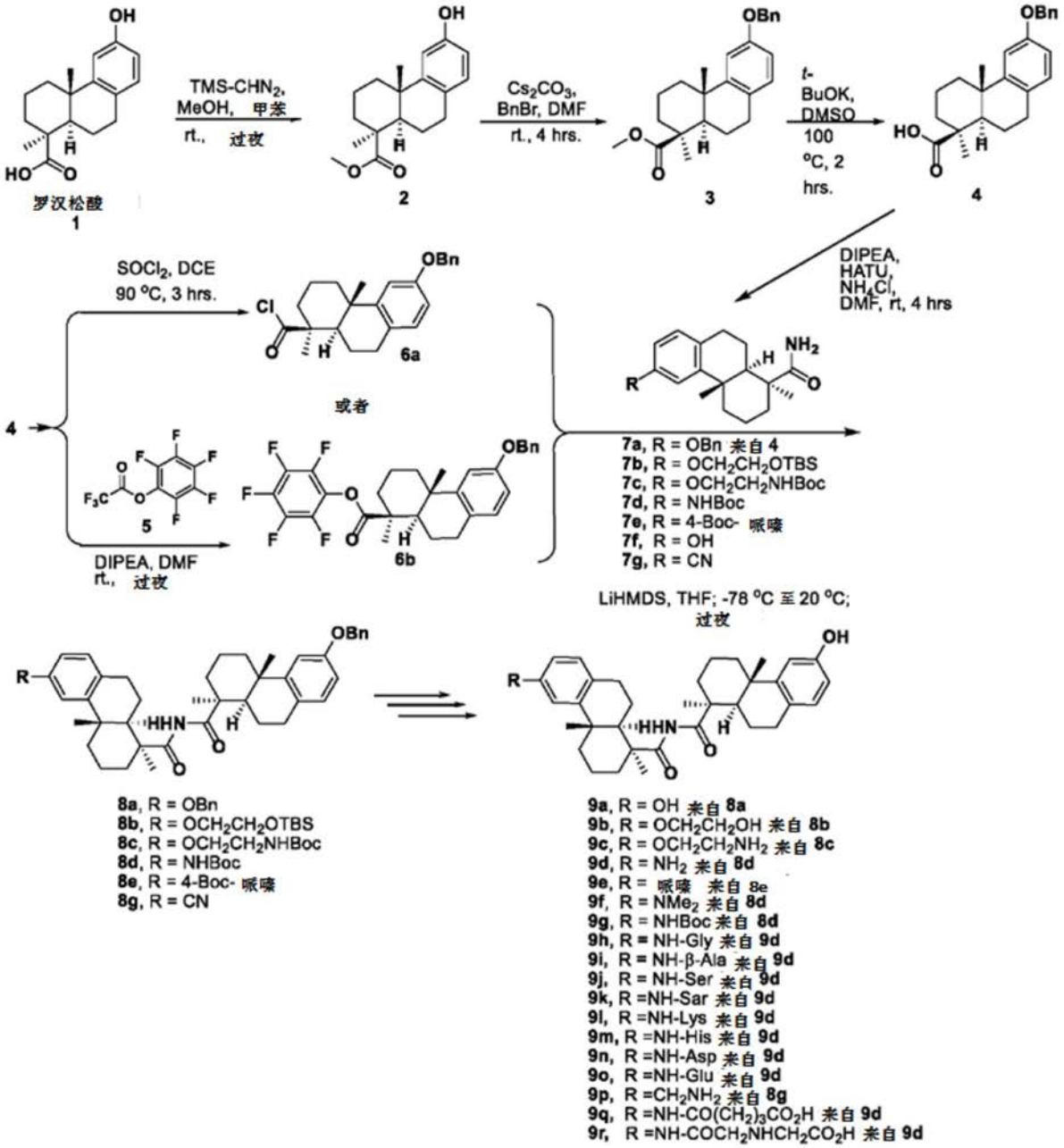

罗汉松酸
1
TMS-CHN2, MeOH, 甲苯
rt., 过夜
2
Cs2CO3, BnBr, DMF
rt., 4 hrs.
3
t-BuOK, DMSO
100 °C, 2 hrs.
4
SOCl2, DCE
90 °C, 3 hrs.
6a
或者
5
DIPEA, DMF
rt., 过夜
6b
DIPEA, HATU, NH4Cl, DMF, rt, 4 hrs
7a, R = OBn 来自 4
7b, R = OCH2CH2OTBS
7c, R = OCH2CH2NHBoc
7d, R = NHBoc
7e, R = 4-Boc- 哌嗪
7f, R = OH
7g, R = CN
LiHMDS, THF; -78 °C 至 20 °C;
过夜
8a, R = OBn
8b, R = OCH2CH2OTBS
8c, R = OCH2CH2NHBoc
8d, R = NHBoc
8e, R = 4-Boc- 哌嗪
8g, R = CN
9a, R = OH 来自 8a
9b, R = OCH2CH2OH 来自 8b
9c, R = OCH2CH2NH2 来自 8c
9d, R = NH2 来自 8d
9e, R = 哌嗪 来自 8e
9f, R = NMe2 来自 8d
9g, R = NHBoc 来自 8d
9h, R = NH-Gly 来自 9d
9i, R = NH-β-Ala 来自 9d
9j, R = NH-Ser 来自 9d
9k, R =NH-Sar 来自 9d
9l, R =NH-Lys 来自 9d
9m, R =NH-His 来自 9d
9n, R =NH-Asp 来自 9d
9o, R =NH-Glu 来自 9d
9p, R =CH2NH2 来自 8g
9q, R =NH-CO(CH2)3CO2H 来自 9d
9r, R =NH-COCH2NHCH2CO2H 来自 9d

图1

9d 的合成

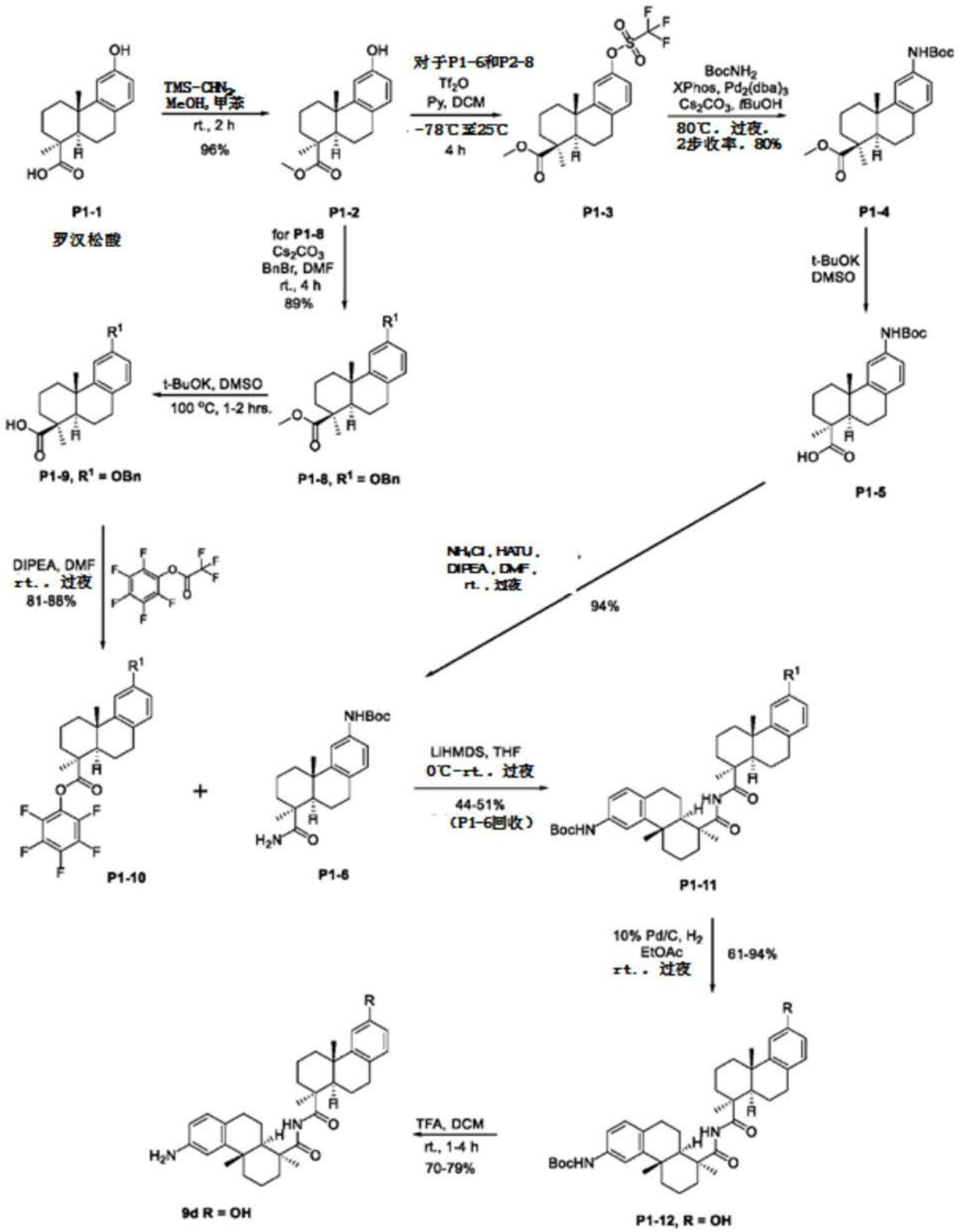

TMS-CHN2
MeOH, 甲苯
rt., 2 h
96%
对于P1-6和P2-8
Tf2O
Py, DCM
-78℃至25℃
4 h
BocNH2
XPhos, Pd2(dba)3
Cs2CO3, tBuOH
80℃. 过夜.
2步收率. 80%
P1-1
罗汉松酸
P1-2
P1-3
P1-4
for P1-8
Cs2CO3
BnBr, DMF
rt., 4 h
89%
t-BuOK
DMSO
t-BuOK, DMSO
100 °C, 1-2 hrs.
P1-9, R1 = OBn
P1-8, R1 = OBn
P1-5
DIPEA, DMF
rt.. 过夜
81-88%
NH4Cl, HATU,
DIPEA, DMF,
rt., 过夜
94%
P1-10
P1-6
LiHMDS, THF
0℃-rt.. 过夜
44-51%
(P1-6回收)
P1-11
10% Pd/C, H2
EtOAc
rt.. 过夜
61-94%
TFA, DCM
rt., 1-4 h
70-79%
9d R = OH
P1-12, R = OH

图1a

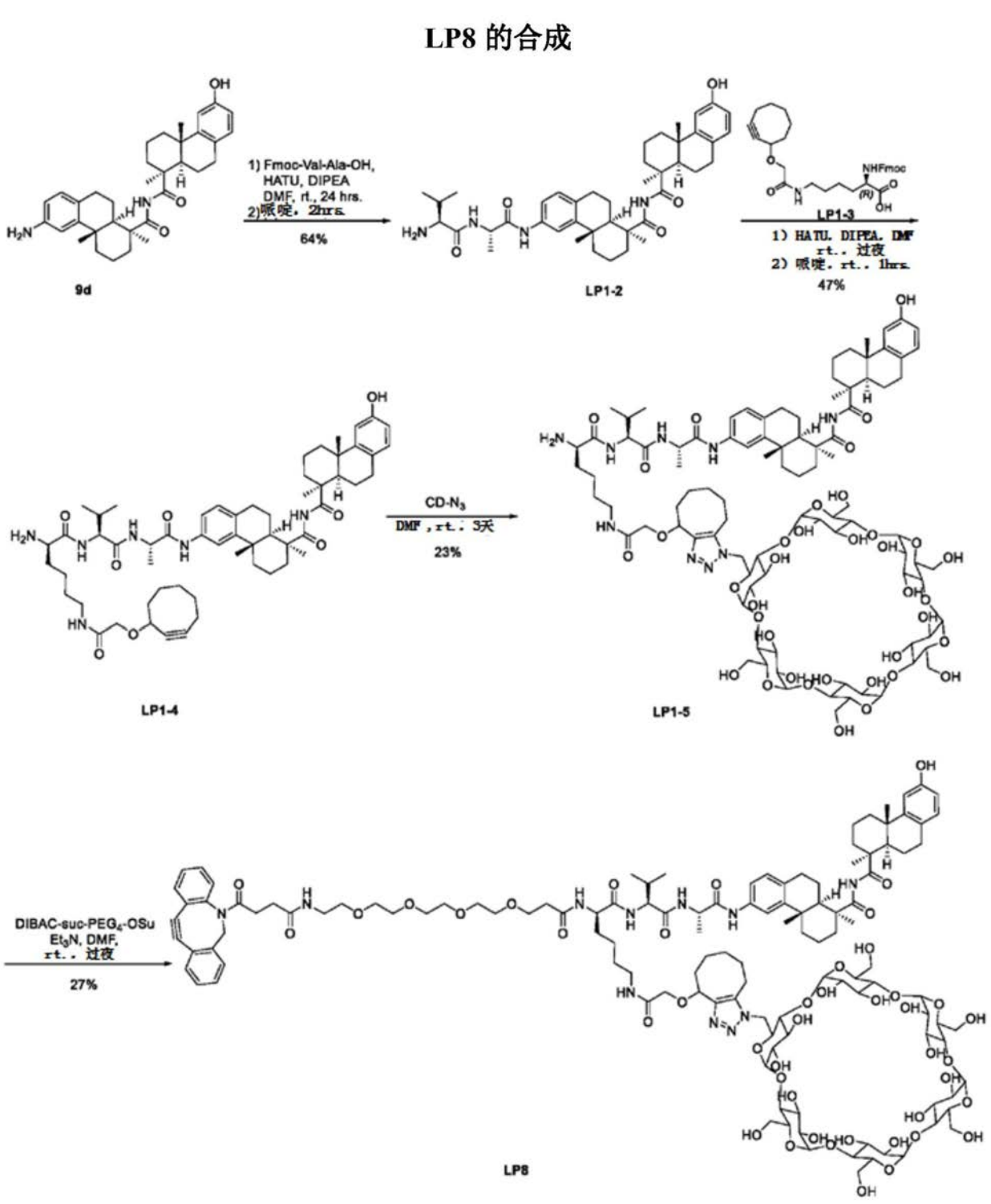

LP8 的合成
9d
1) Fmoc-Val-Ala-OH, HATU, DIPEA DMF, rt., 24 hrs.
2)哌啶，2hrs.
64%
LP1-2
LP1-3
1) HATU, DIPEA, DMF rt., 过夜
2) 哌啶, rt., 1hrs.
47%
LP1-4
CD-N3
DMF，rt.，3天
23%
LP1-5
DIBAC-suc-PEG4-OSu
Et3N, DMF,
rt.，过夜
27%
LP8

图1b

LP32 的合成

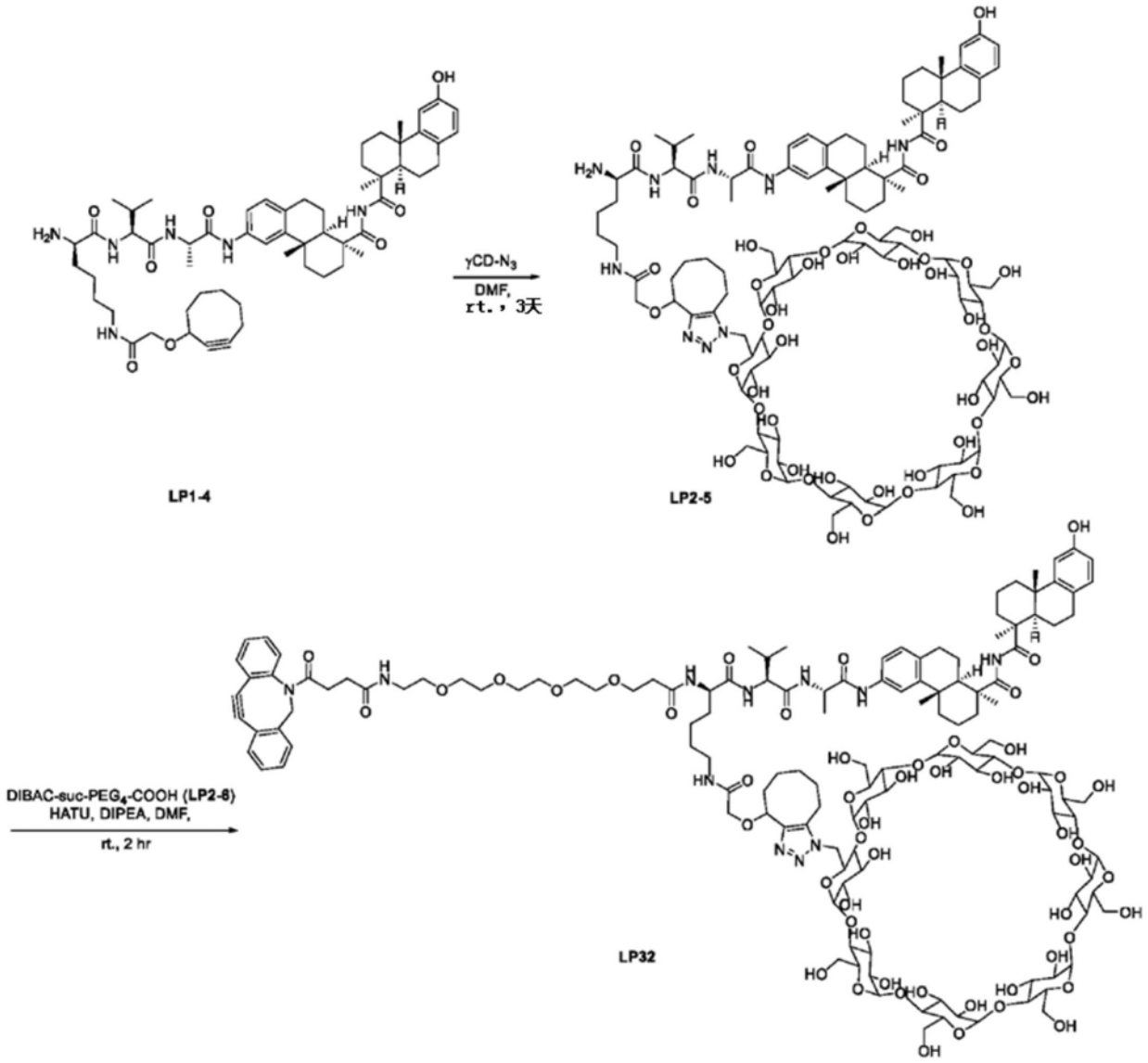

γCD-N3
DMF,
rt.，3天
LP1-4
LP2-5
DIBAC-suc-PEG4-COOH (LP2-6)
HATU, DIPEA, DMF,
rt., 2 hr
LP32

图1c

LP13 的合成

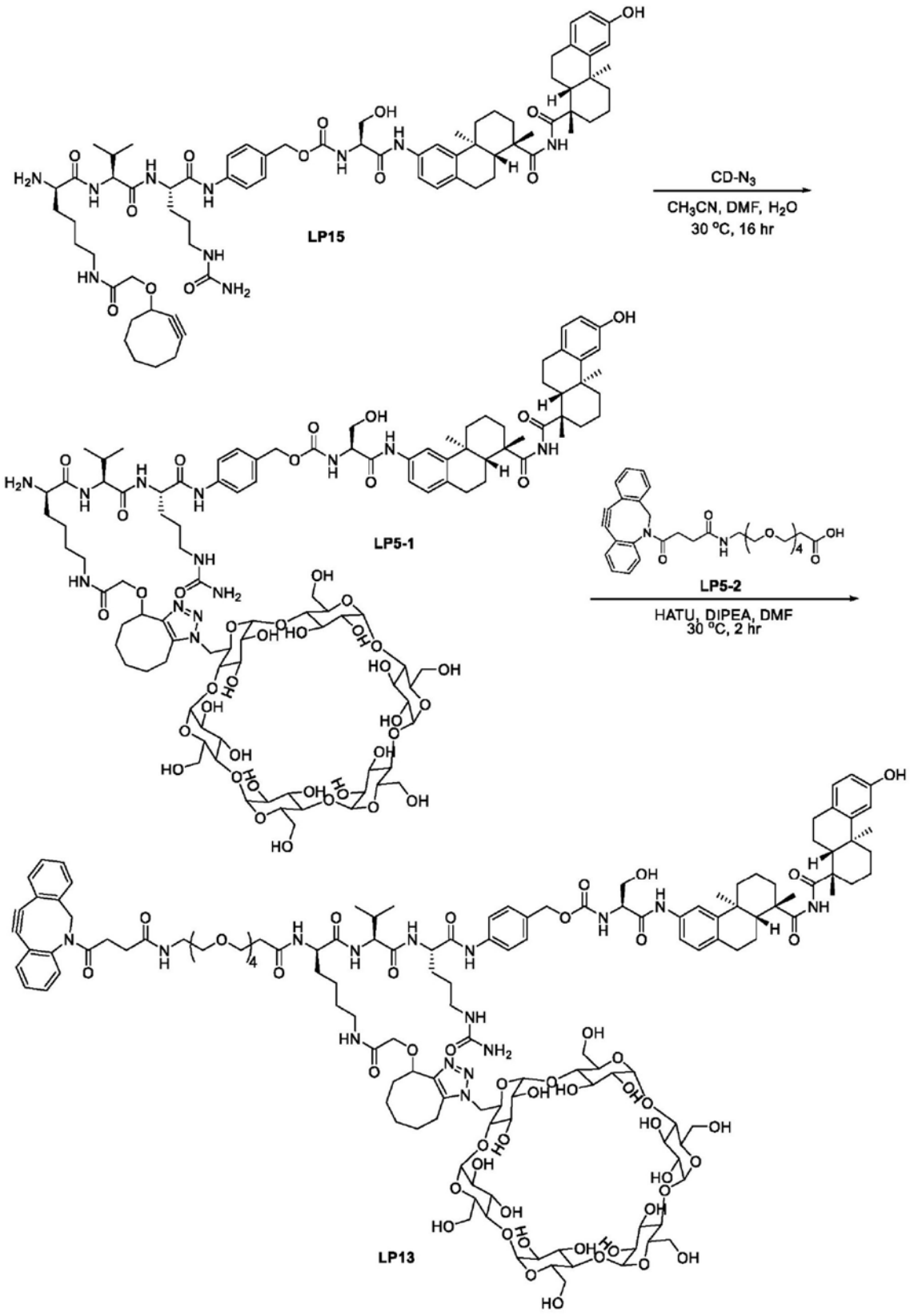

LP15
CD-N3
CH3CN, DMF, H2O
30 °C, 16 hr
LP5-1
LP5-2
HATU, DIPEA, DMF
30 °C, 2 hr
LP13

图1d

LP36 的合成

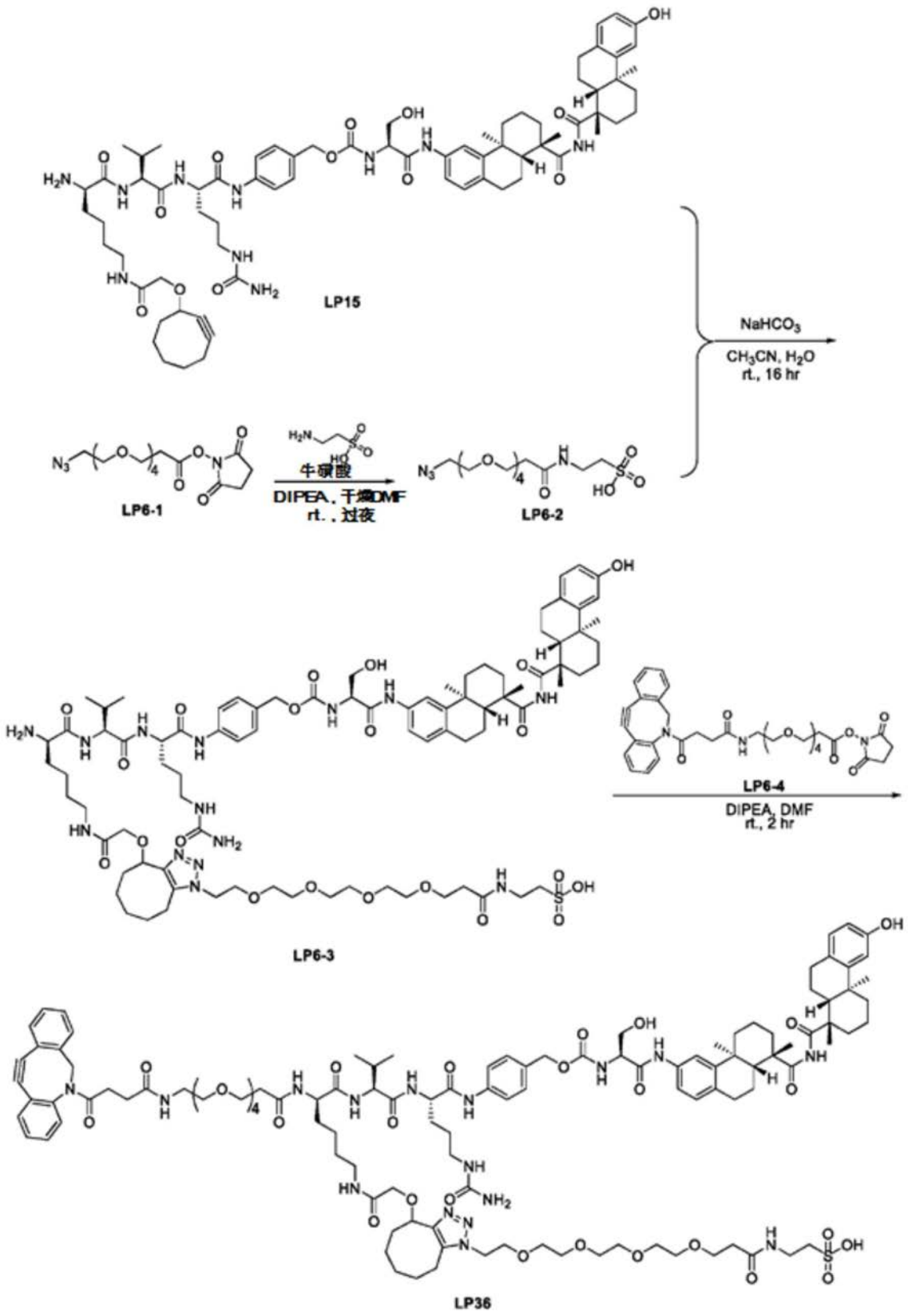

LP15
NaHCO3
CH3CN, H2O
rt., 16 hr
LP6-1
牛磺酸
DIPEA, 干燥DMF
rt., 过夜
LP6-2
LP6-4
DIPEA, DMF
rt., 2 hr
LP6-3
LP36

图1e

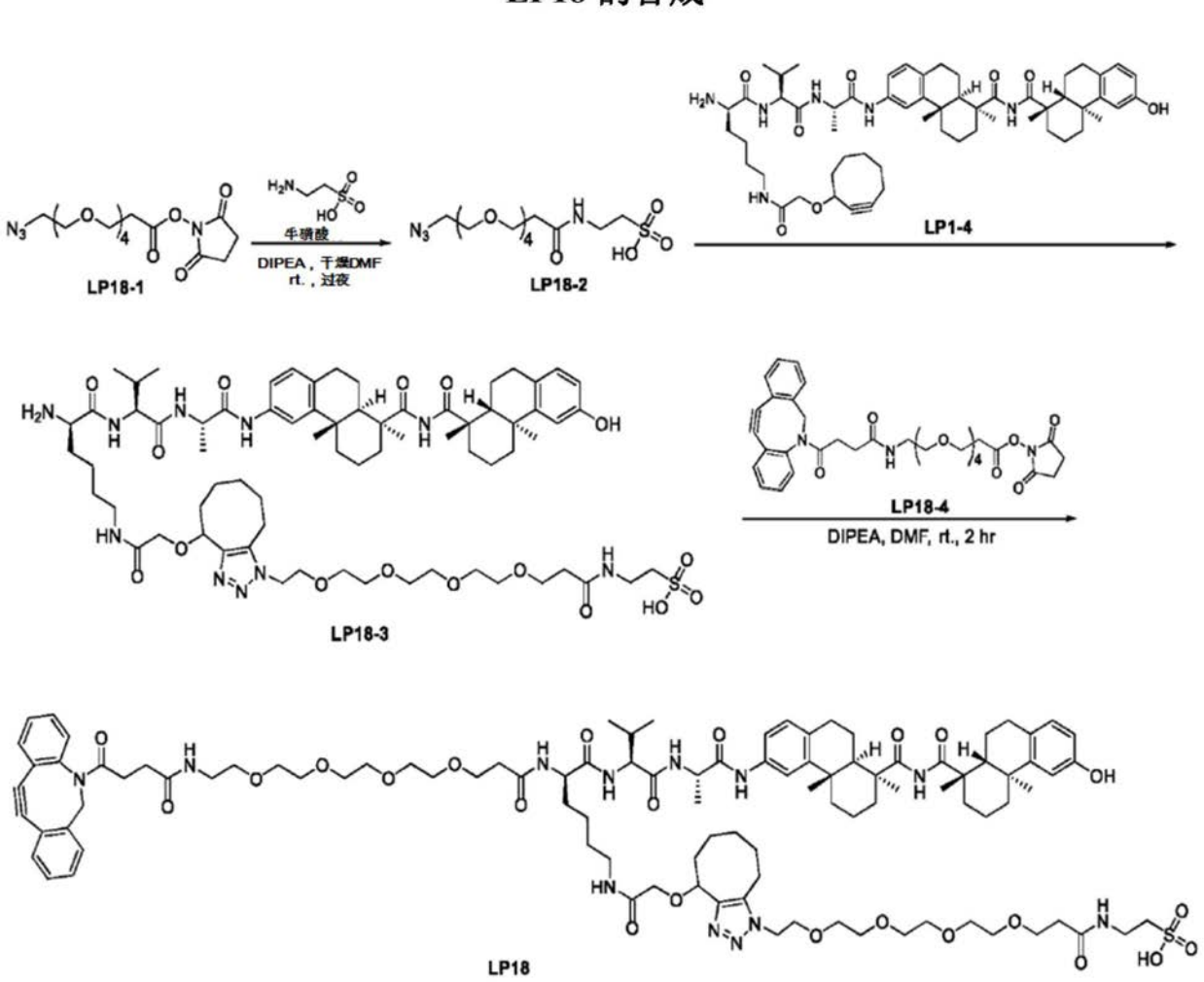

LP18 的合成
LP18-1
牛磺酸
DIPEA，干燥DMF
rt.，过夜
LP18-2
LP1-4
LP18-4
DIPEA, DMF, rt., 2 hr
LP18-3
LP18

图1f

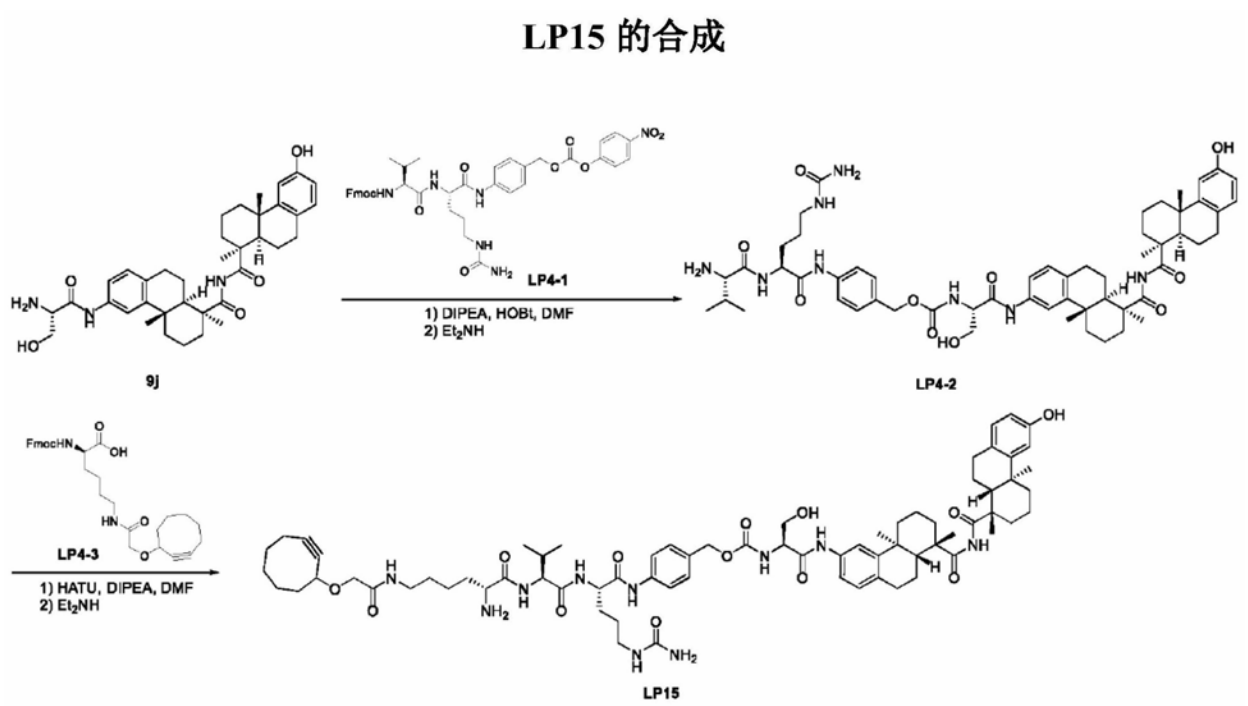

LP15 的合成
9j
LP4-1
1) DIPEA, HOBt, DMF
2) Et2NH
LP4-2
LP4-3
1) HATU, DIPEA, DMF
2) Et2NH
LP15

图1g

LP311 的合成

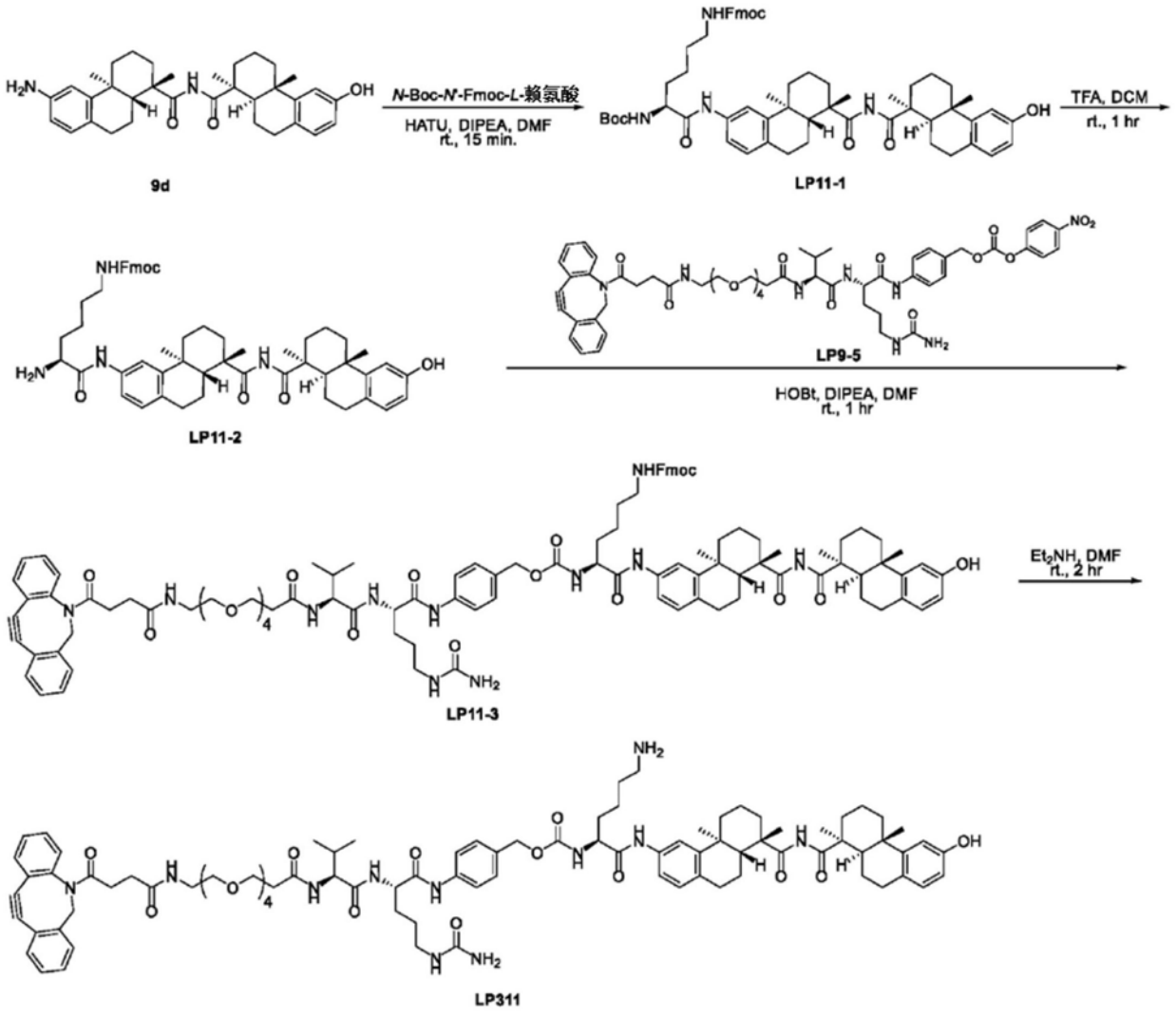


图1h

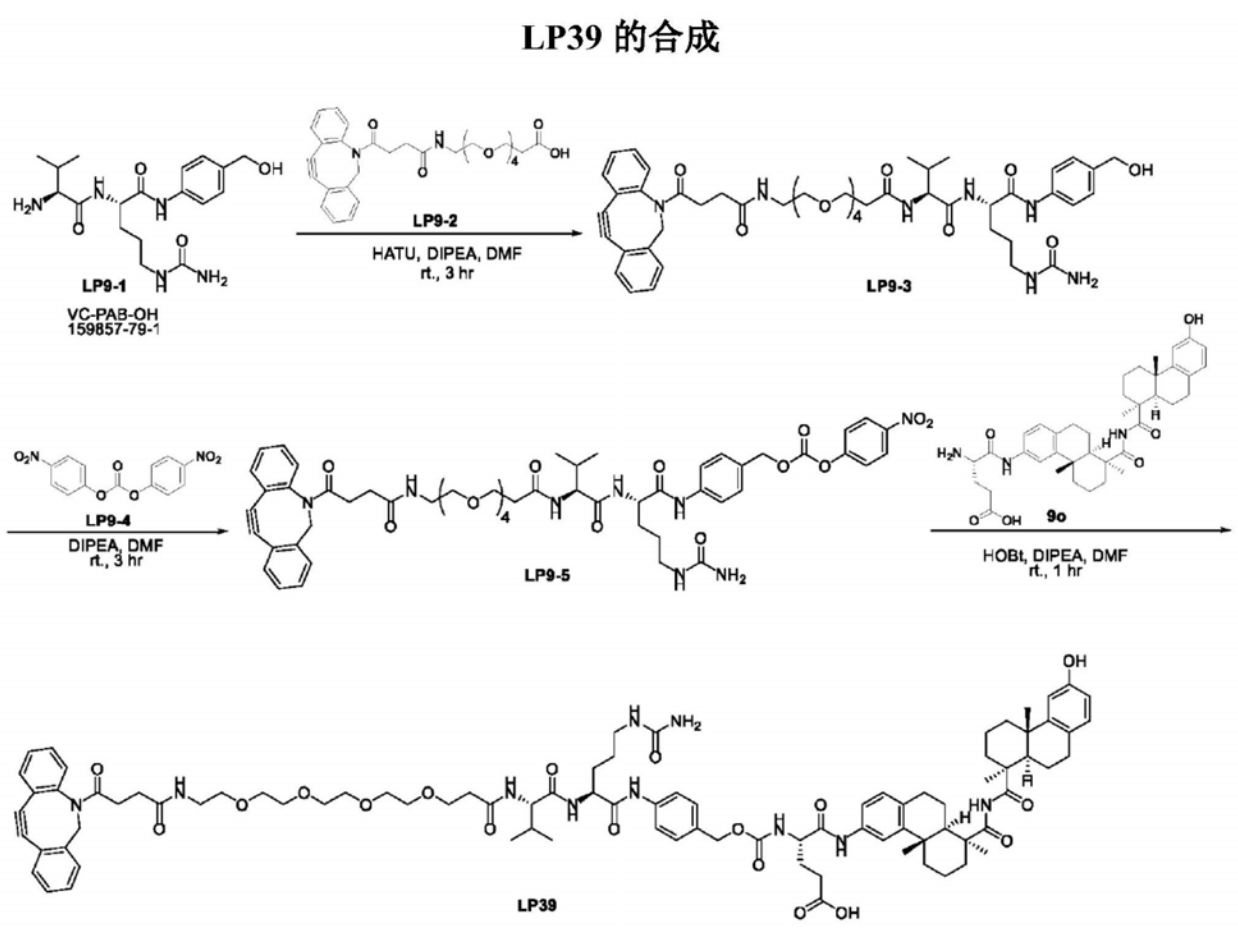

LP39 的合成
LP9-1
VC-PAB-OH
159857-79-1
LP9-2
HATU, DIPEA, DMF
rt., 3 hr
LP9-3
LP9-4
DIPEA, DMF
rt., 3 hr
LP9-5
9o
HOBt, DIPEA, DMF
rt., 1 hr
LP39

图1i

中间体 7 的合成

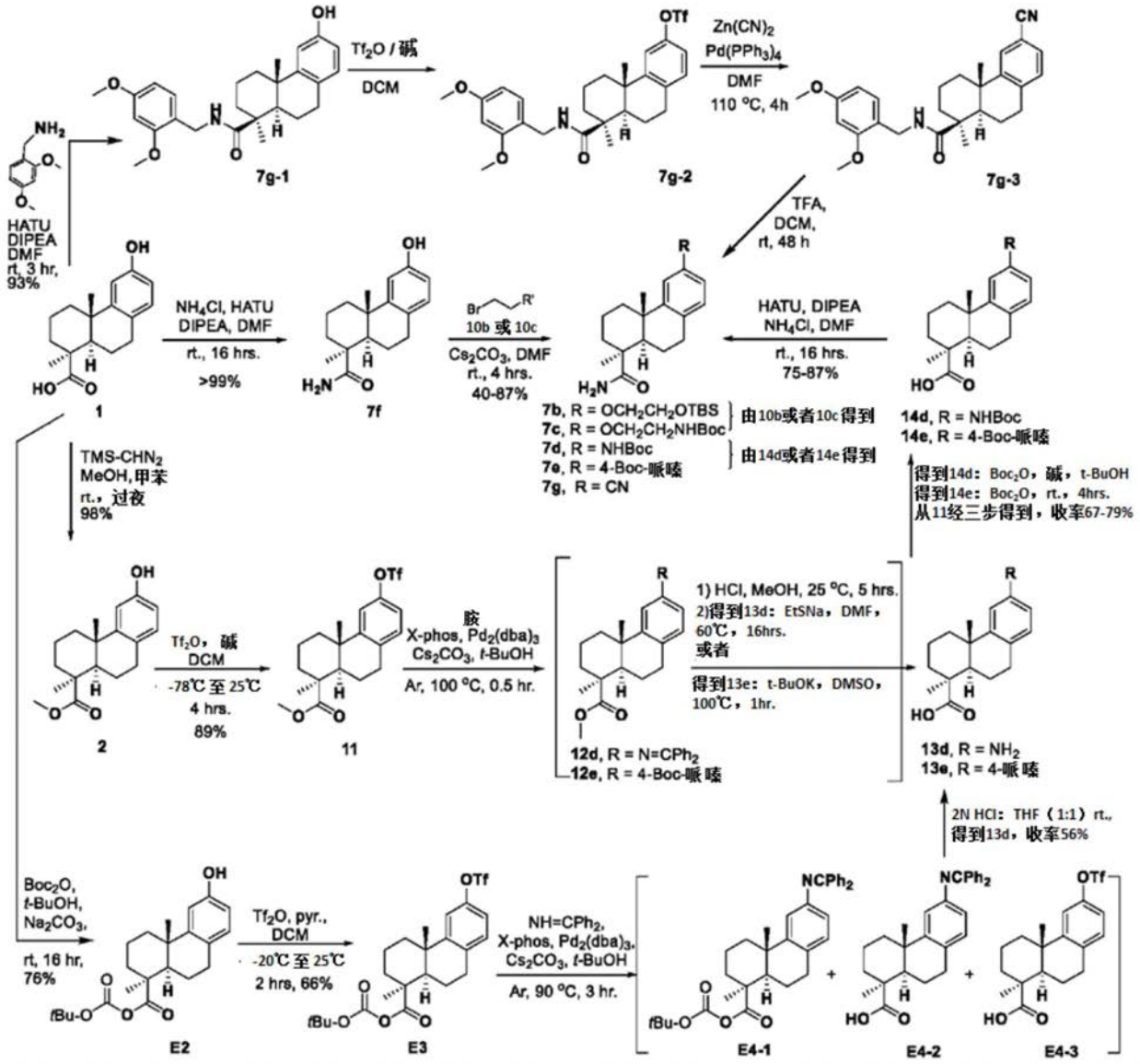


图2

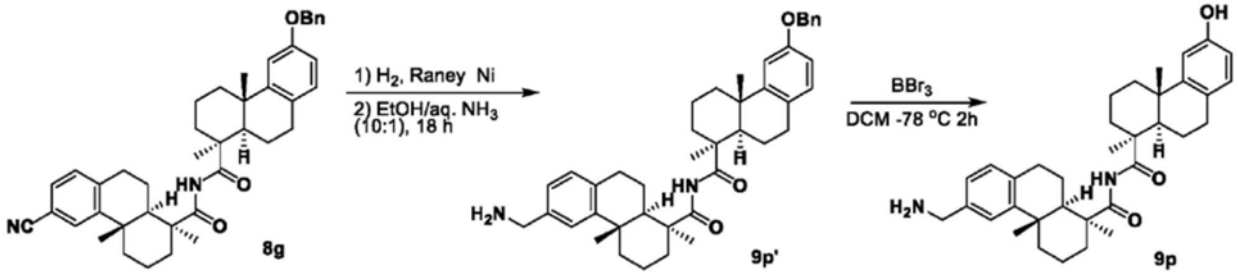


图3a

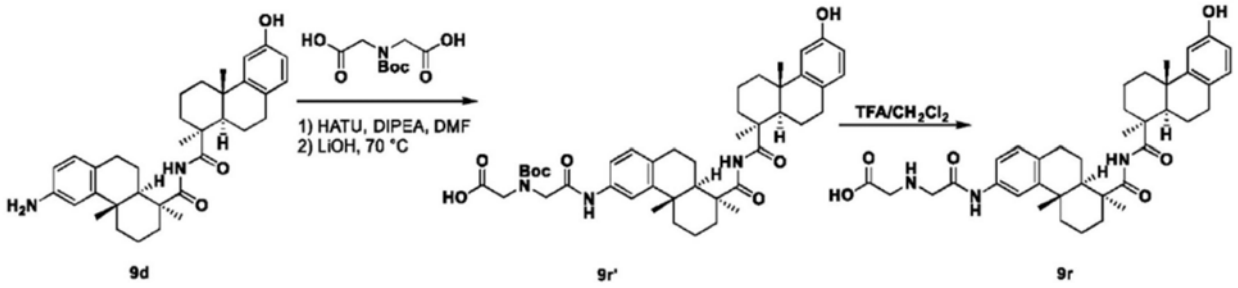

1) HATU, DIPEA, DMF
2) LiOH, 70 °C
TFA/CH2Cl2
9d
9r'
9r

图3b

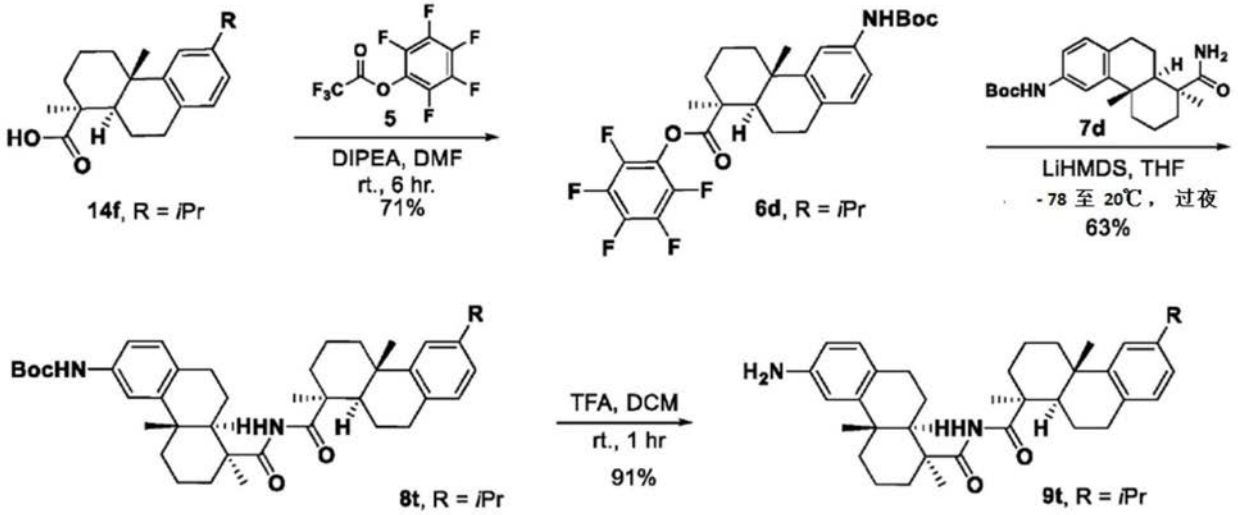

14f, R = iPr
5
DIPEA, DMF
rt., 6 hr.
71%
6d, R = iPr
7d
LiHMDS, THF
-78 至 20℃，过夜
63%
8t, R = iPr
TFA, DCM
rt., 1 hr
91%
9t, R = iPr

图3c

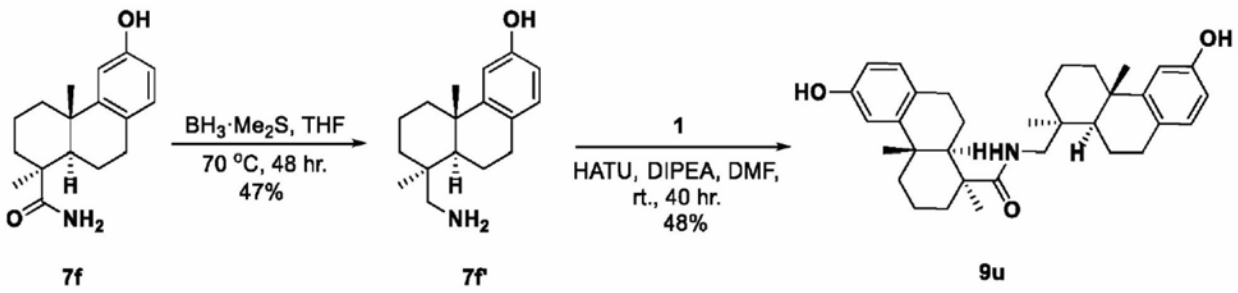

BH3·Me2S, THF
70 °C, 48 hr.
47%
1
HATU, DIPEA, DMF,
rt., 40 hr.
48%
7f
7f'
9u

图3d

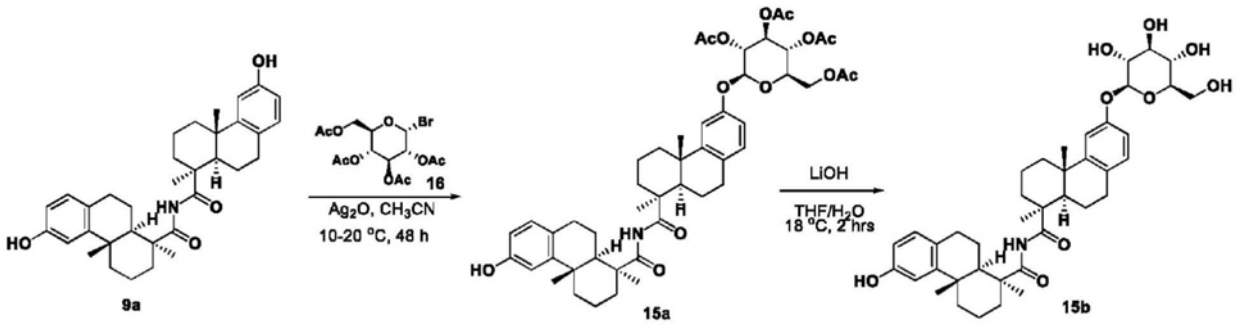

9a
16
Ag_2O, CH_3CN
10-20 °C, 48 h
15a
LiOH
THF/H_2O
18 °C, 2 hrs
15b

图3e

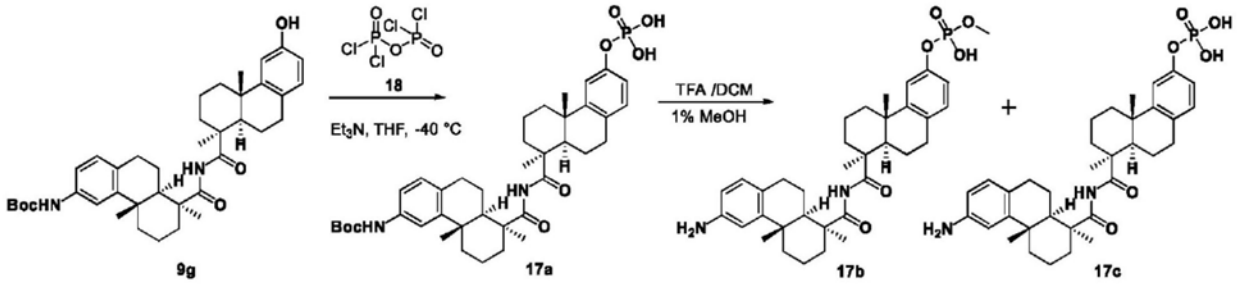

9g
18
Et_3N, THF, -40 °C
17a
TFA /DCM
1% MeOH
17b
17c

图4

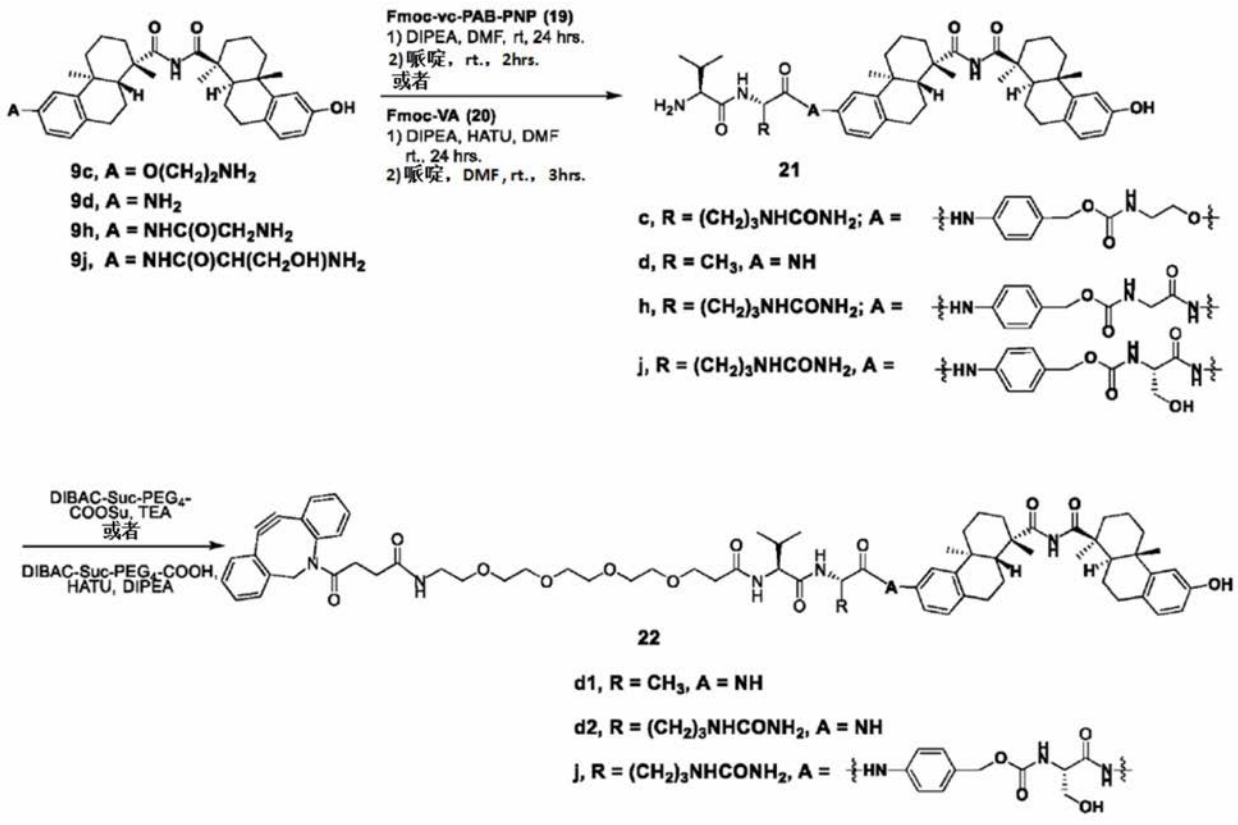

9c, A = $O(CH_2)_2NH_2$
9d, A = NH_2
9h, A = $NHC(O)CH_2NH_2$
9j, A = $NHC(O)CH(CH_2OH)NH_2$
Fmoc-vc-PAB-PNP (19)
1) DIPEA, DMF, rt, 24 hrs.
2) 哌啶, rt., 2hrs.
或者
Fmoc-VA (20)
1) DIPEA, HATU, DMF
rt., 24 hrs.
2) 哌啶, DMF, rt., 3hrs.
21
c, R = $(CH_2)_3NHCONH_2$; A =
d, R = CH_3, A = NH
h, R = $(CH_2)_3NHCONH_2$; A =
j, R = $(CH_2)_3NHCONH_2$, A =
DIBAC-Suc-PEG_4-COOSu, TEA
或者
DIBAC-Suc-PEG_4-COOH,
HATU, DIPEA
22
d1, R = CH_3, A = NH
d2, R = $(CH_2)_3NHCONH_2$, A = NH
j, R = $(CH_2)_3NHCONH_2$, A =

图5

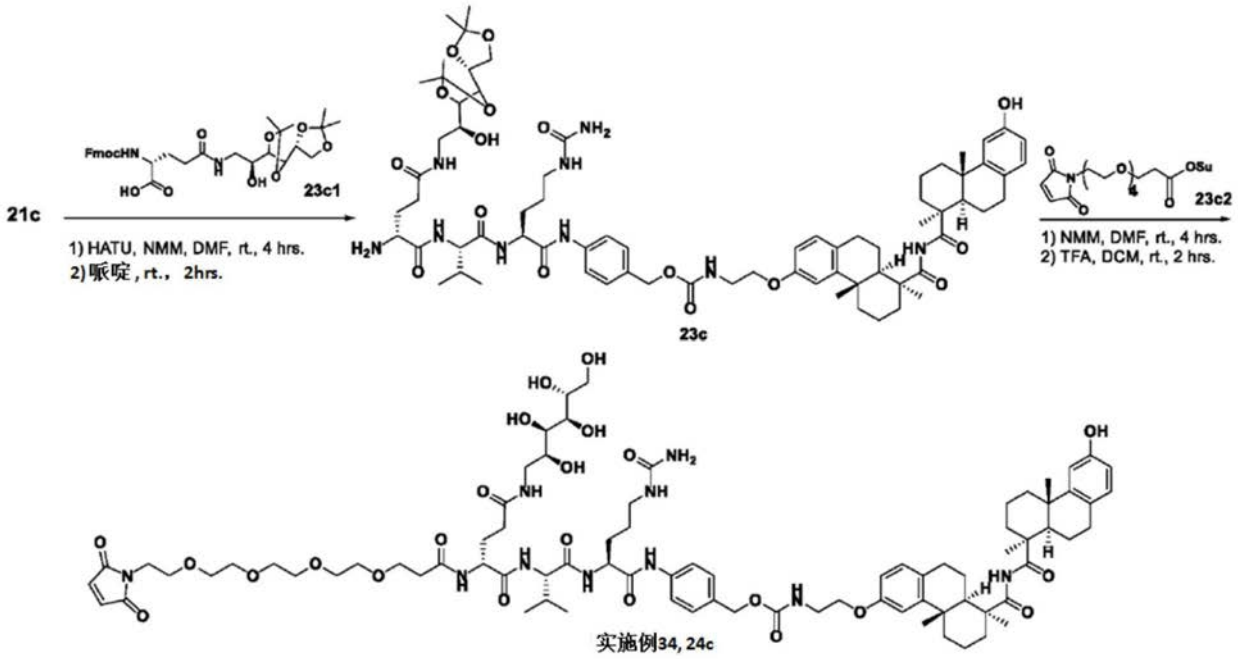

21c
FmocHN
23c1
1) HATU, NMM, DMF, rt., 4 hrs.
2) 哌啶, rt., 2hrs.
23c
OSu
23c2
1) NMM, DMF, rt., 4 hrs.
2) TFA, DCM, rt., 2 hrs.
实施例34, 24c

图6

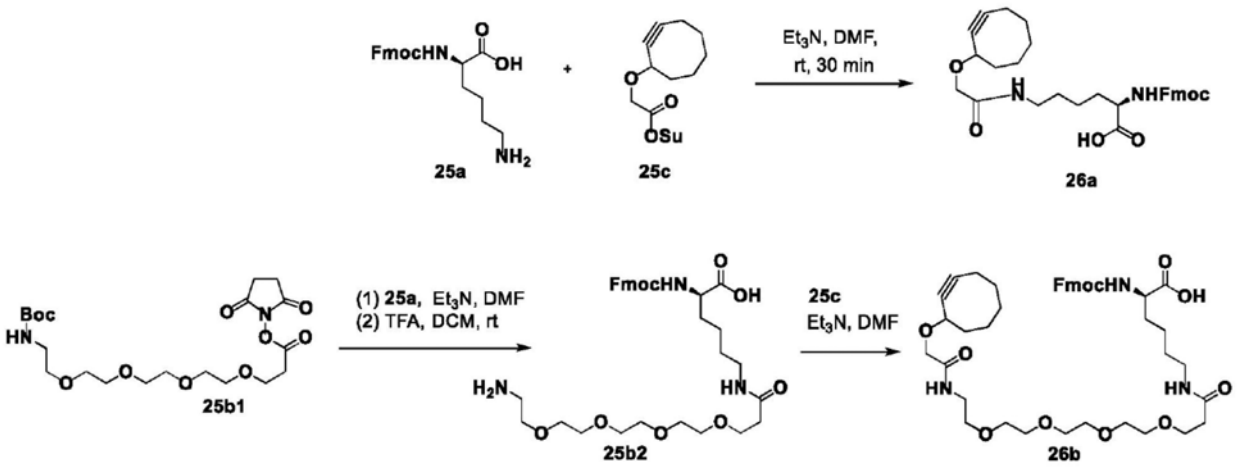

FmocHN
25a
25c
Et3N, DMF,
rt, 30 min
NHFmoc
26a
Boc
25b1
(1) 25a, Et3N, DMF
(2) TFA, DCM, rt
25b2
25c
Et3N, DMF
26b

图7

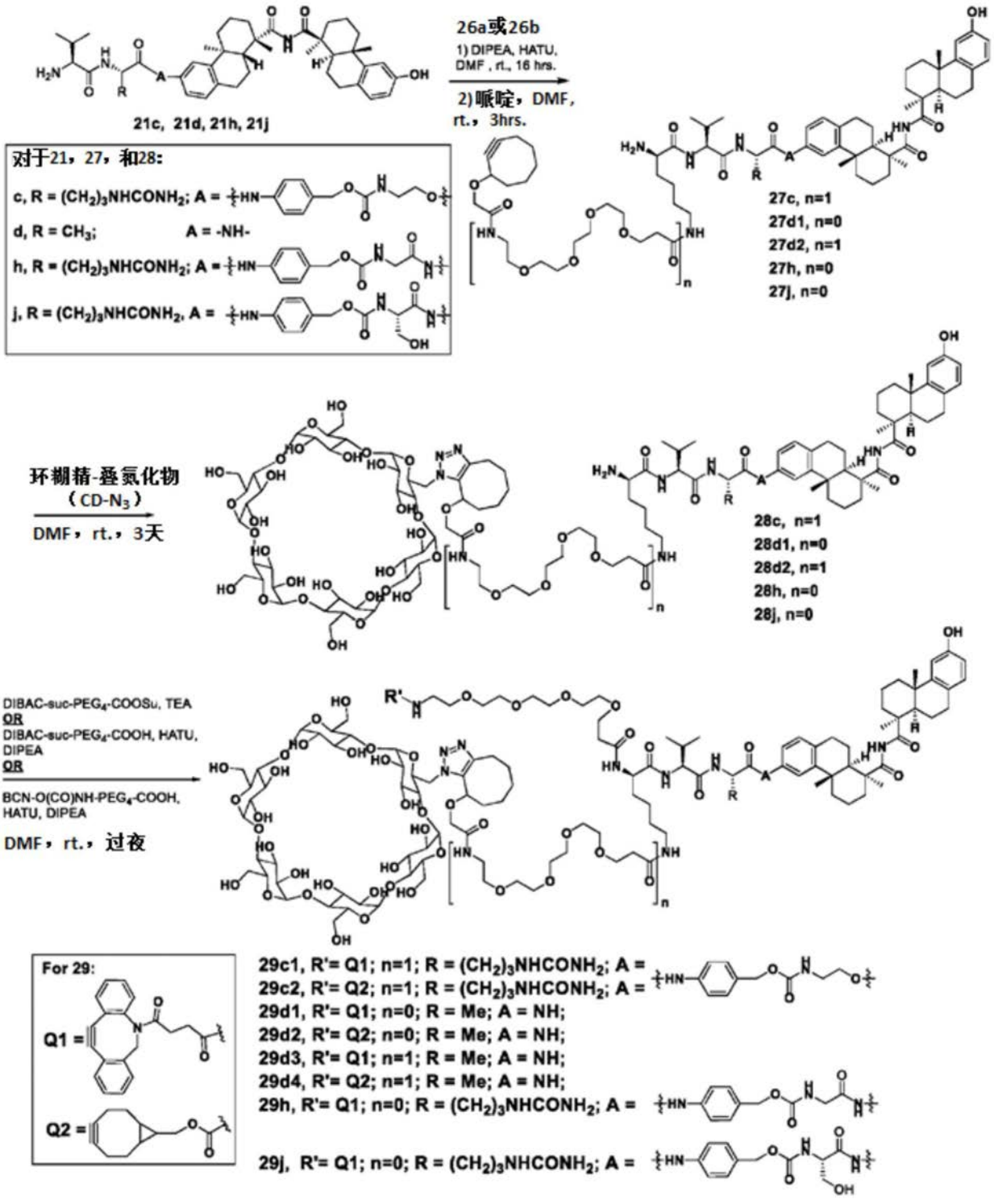

21c, 21d, 21h, 21j
26a或26b
1) DIPEA, HATU, DMF , rt., 16 hrs.
2)哌啶，DMF, rt.，3hrs.
对于21，27，和28:
c, R = (CH2)3NHCONH2; A =
d, R = CH3; A = -NH-
h, R = (CH2)3NHCONH2; A =
j, R = (CH2)3NHCONH2, A =
27c, n=1
27d1, n=0
27d2, n=1
27h, n=0
27j, n=0
环糊精-叠氮化物
（CD-N3）
DMF，rt.，3天
28c, n=1
28d1, n=0
28d2, n=1
28h, n=0
28j, n=0
DIBAC-suc-PEG4-COOSu, TEA
OR
DIBAC-suc-PEG4-COOH, HATU, DIPEA
OR
BCN-O(CO)NH-PEG4-COOH, HATU, DIPEA
DMF，rt.，过夜
For 29:
Q1 =
Q2 =
29c1, R'= Q1; n=1; R = (CH2)3NHCONH2; A =
29c2, R'= Q2; n=1; R = (CH2)3NHCONH2; A =
29d1, R'= Q1; n=0; R = Me; A = NH;
29d2, R'= Q2; n=0; R = Me; A = NH;
29d3, R'= Q1; n=1; R = Me; A = NH;
29d4, R'= Q2; n=1; R = Me; A = NH;
29h, R'= Q1; n=0; R = (CH2)3NHCONH2; A =
29j, R'= Q1; n=0; R = (CH2)3NHCONH2; A =

图8

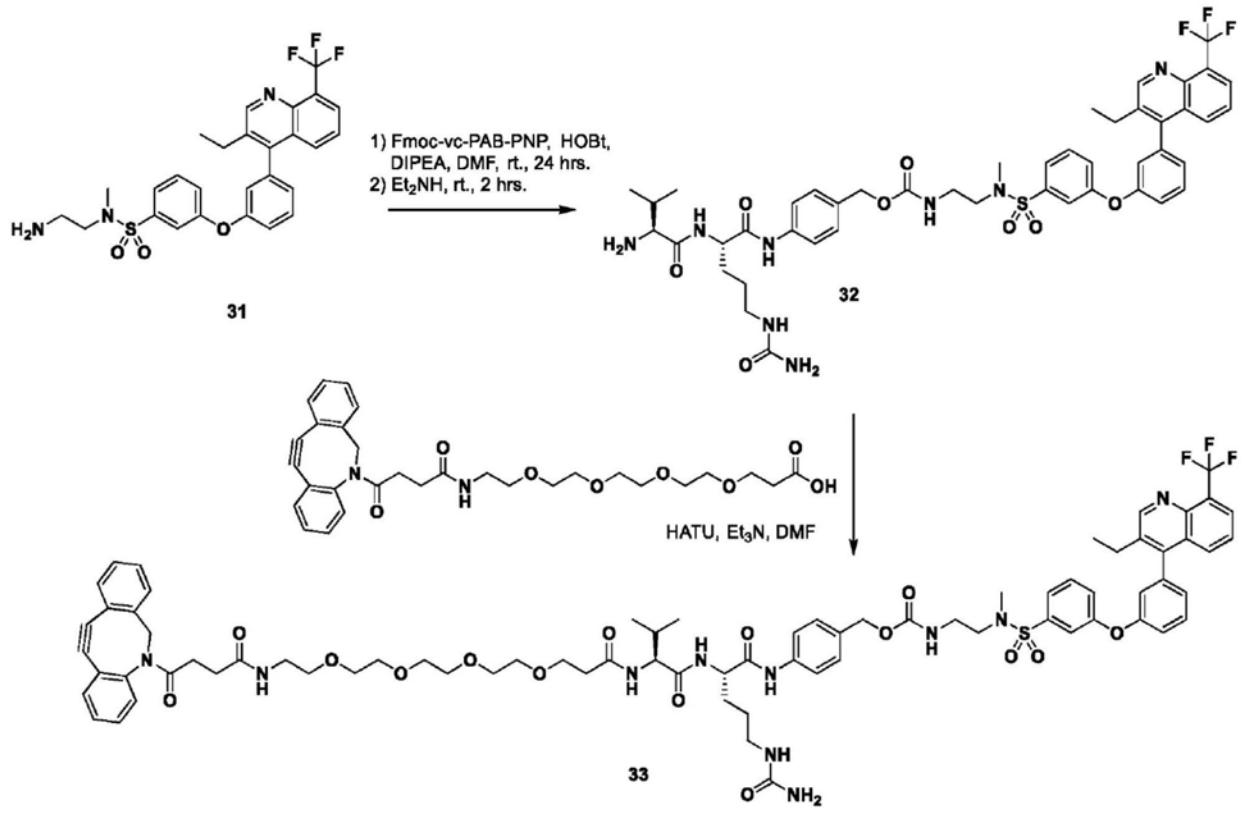

1) Fmoc-vc-PAB-PNP, HOBt,
DIPEA, DMF, rt., 24 hrs.
2) Et2NH, rt., 2 hrs.
31
32
HATU, Et3N, DMF
33

图9

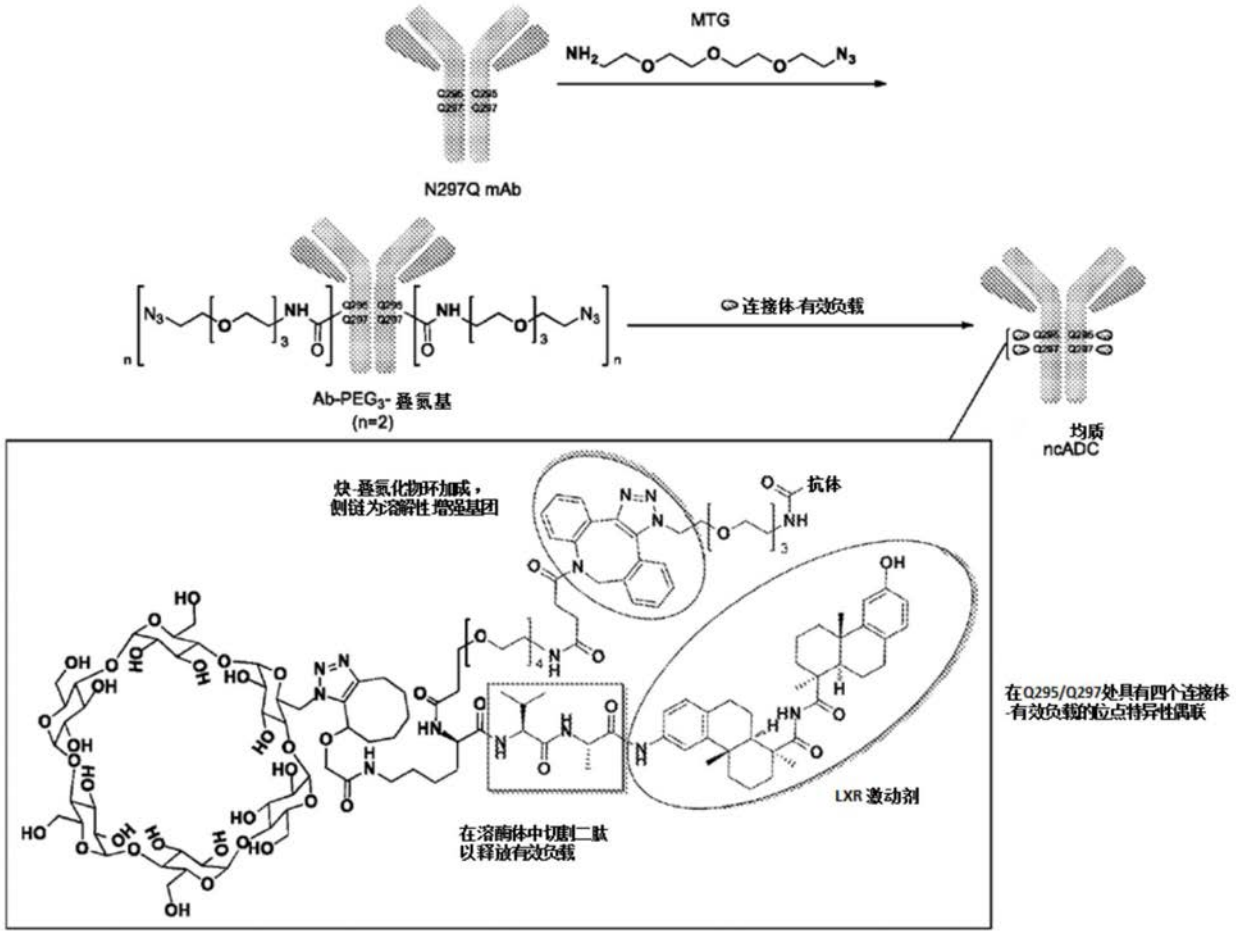

MTG
N297Q mAb
Ab-PEG3-叠氮基
(n=2)
连接体-有效负载
均质
ncADC
炔-叠氮化物环加成，
侧链为溶解性增强基团
抗体
在溶酶体中切割二肽
以释放有效负载
LXR 激动剂
在Q295/Q297处具有四个连接体
-有效负载的位点特异性偶联

图10

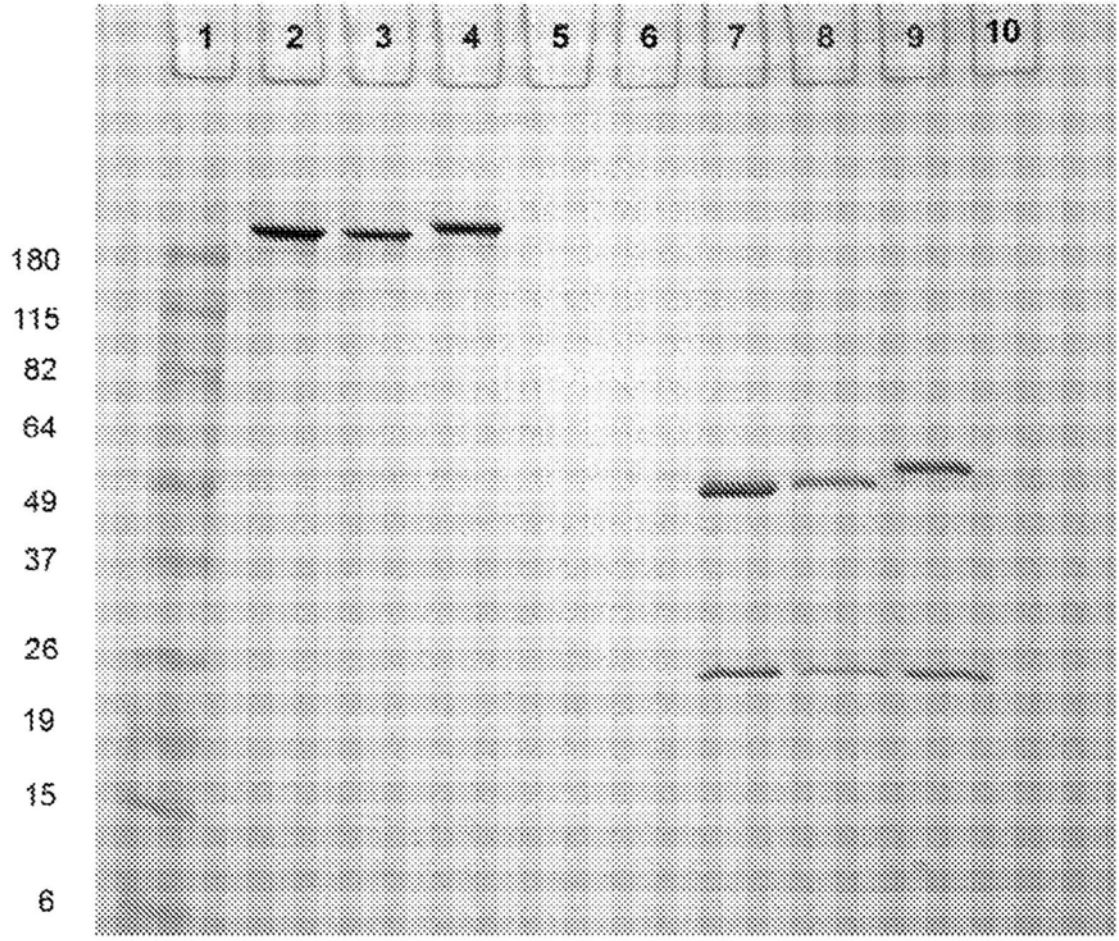

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
180
115
82
64
49
37
26
19
15
6

图11

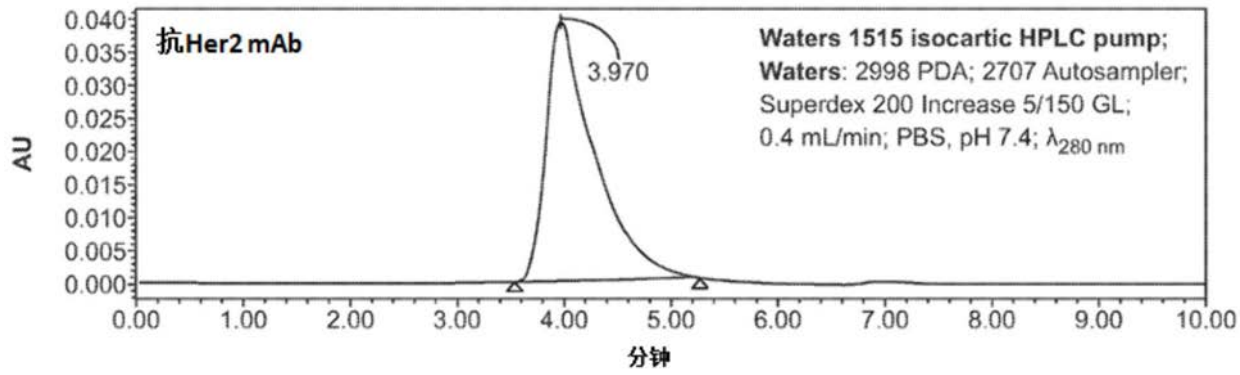

抗Her2 mAb
3.970
Waters 1515 isocartic HPLC pump;
Waters: 2998 PDA; 2707 Autosampler;
Superdex 200 Increase 5/150 GL;
0.4 mL/min; PBS, pH 7.4; λ280 nm
AU
0.040
0.035
0.030
0.025
0.020
0.015
0.010
0.005
0.000
0.00
1.00
2.00
3.00
4.00
5.00
6.00
7.00
8.00
9.00
10.00
分钟

图12A

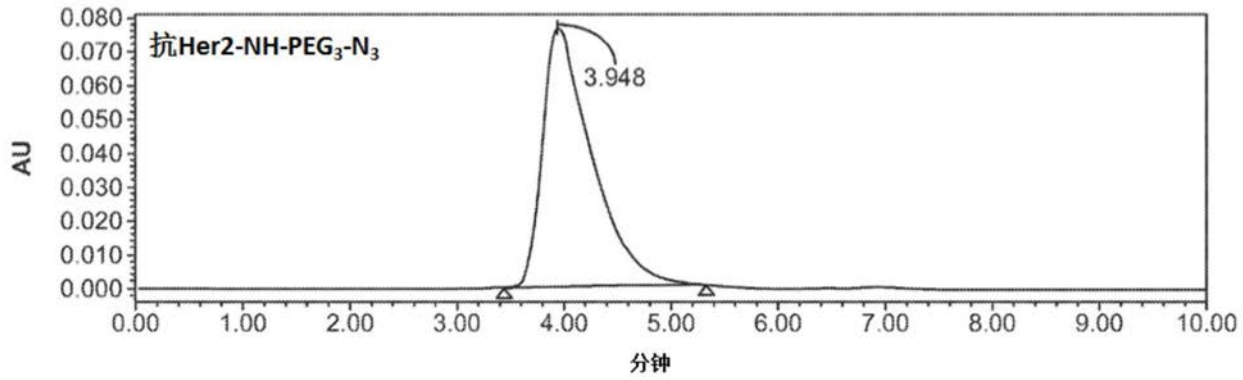

抗Her2-NH-PEG3-N3
3.948
AU
0.080
0.070
0.060
0.050
0.040
0.030
0.020
0.010
0.000
0.00
1.00
2.00
3.00
4.00
5.00
6.00
7.00
8.00
9.00
10.00
分钟

图12B

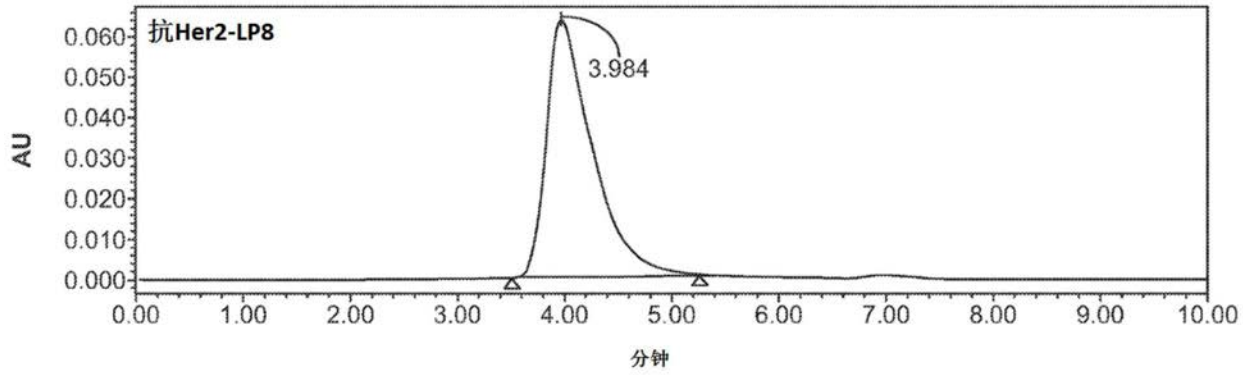
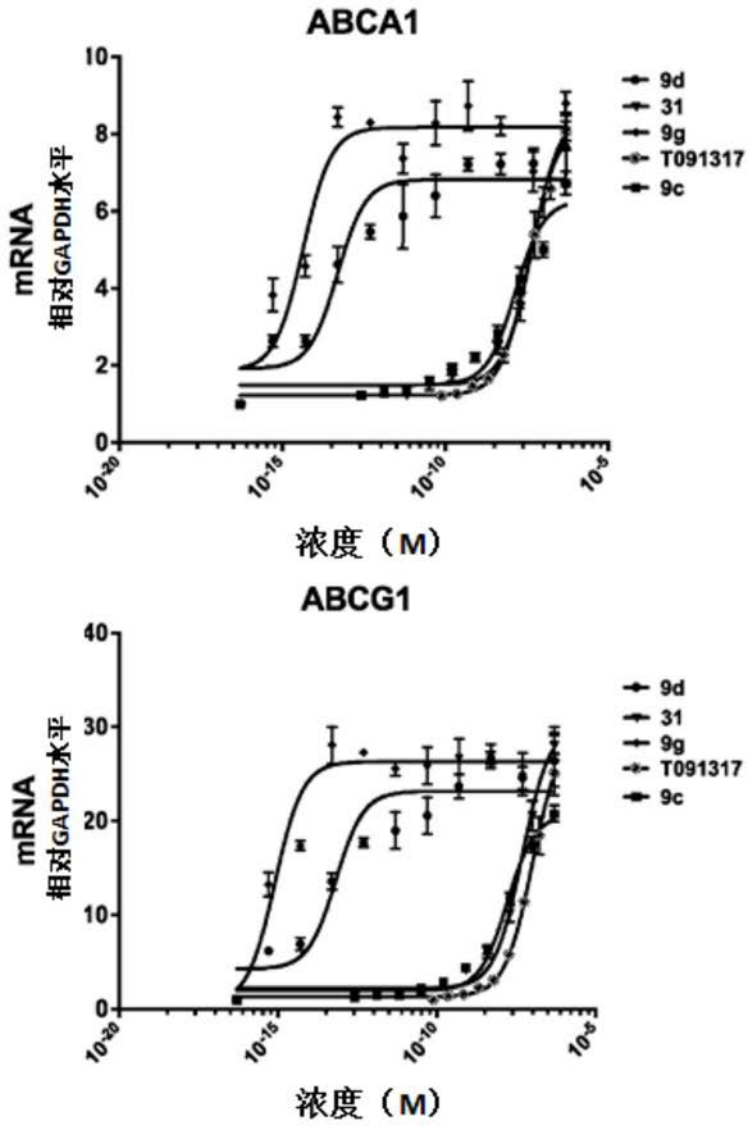

抗Her2-LP8
3.984
AU
0.060
0.050
0.040
0.030
0.020
0.010
0.000
0.00
1.00
2.00
3.00
4.00
5.00
6.00
7.00
8.00
9.00
10.00
分钟

图12C



化合物	ABCA1诱导的EC_{50}值（M）	ABCG1诱导的EC_{50}值（M）
9d	4.9E-14	6.6E-14
9c	1.5E-08	1.5E-08
31	4.6E-08	4.8E-08
9h	4.3E-15	8.0E-16
TO91317	3.8E-08	1.0E-07

图13

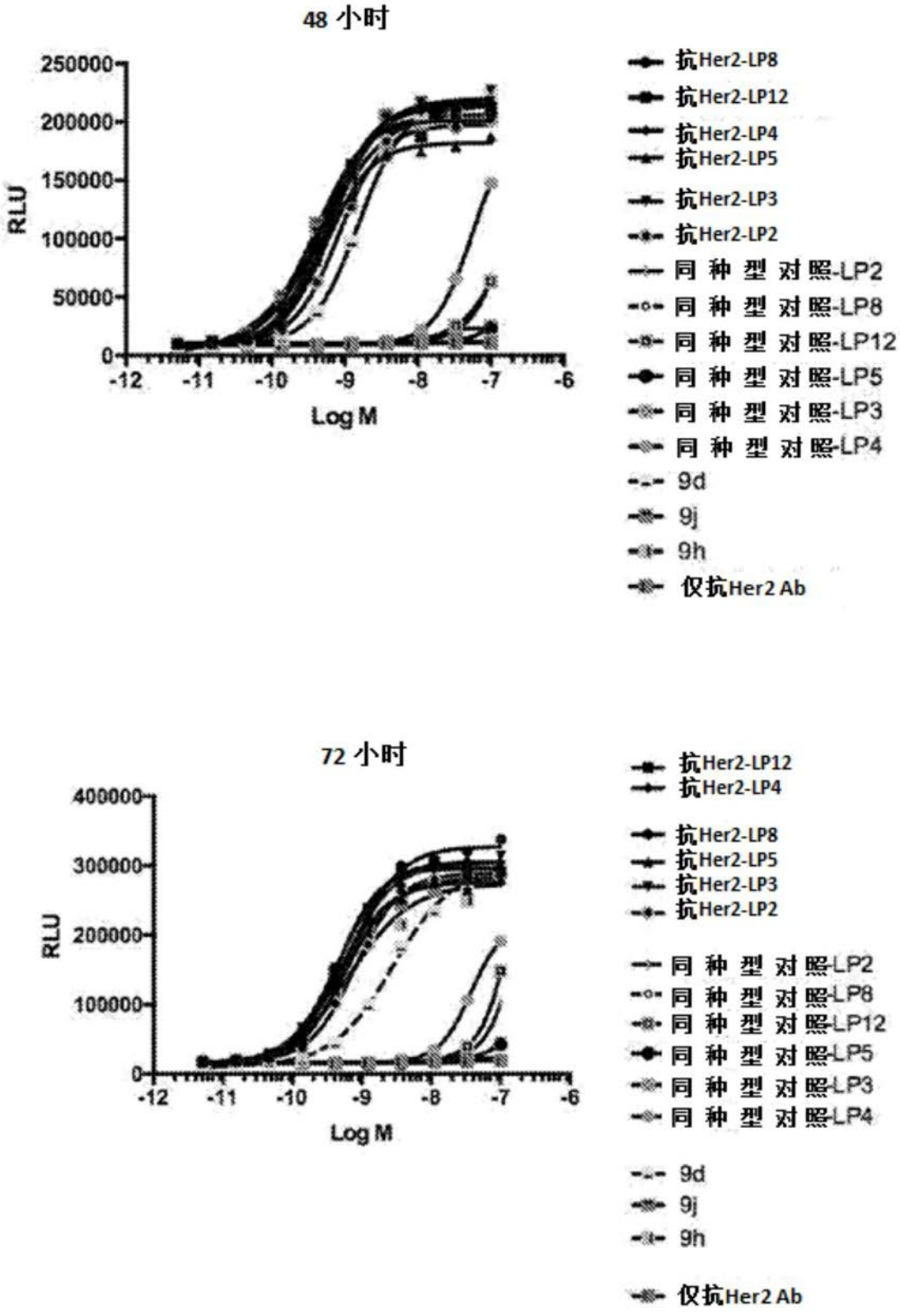

48 小时
RLU
Log M
抗Her2-LP8
抗Her2-LP12
抗Her2-LP4
抗Her2-LP5
抗Her2-LP3
抗Her2-LP2
同种型对照-LP2
同种型对照-LP8
同种型对照-LP12
同种型对照-LP5
同种型对照-LP3
同种型对照-LP4
9d
9j
9h
仅抗Her2 Ab
72 小时
RLU
Log M
抗Her2-LP12
抗Her2-LP4
抗Her2-LP8
抗Her2-LP5
抗Her2-LP3
抗Her2-LP2
同种型对照-LP2
同种型对照-LP8
同种型对照-LP12
同种型对照-LP5
同种型对照-LP3
同种型对照-LP4
9d
9j
9h
仅抗Her2 Ab

图14

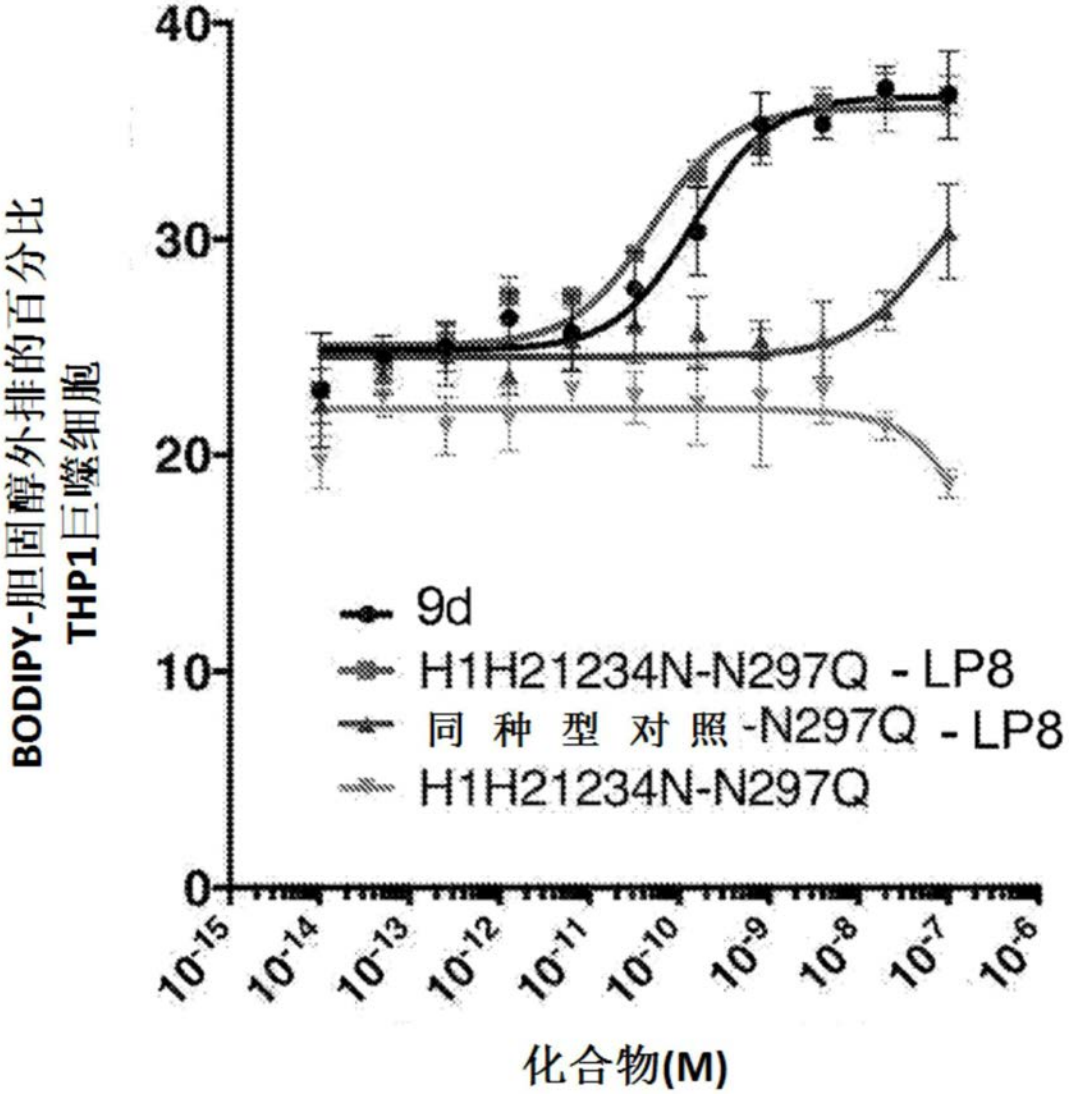

BODIPY-胆固醇外排的百分比
THP1巨噬细胞
40
30
20
10
0
9d
H1H21234N-N297Q - LP8
同 种 型 对 照-N297Q - LP8
H1H21234N-N297Q
10-15
10-14
10-13
10-12
10-11
10-10
10-9
10-8
10-7
10-6
化合物(M)

图15

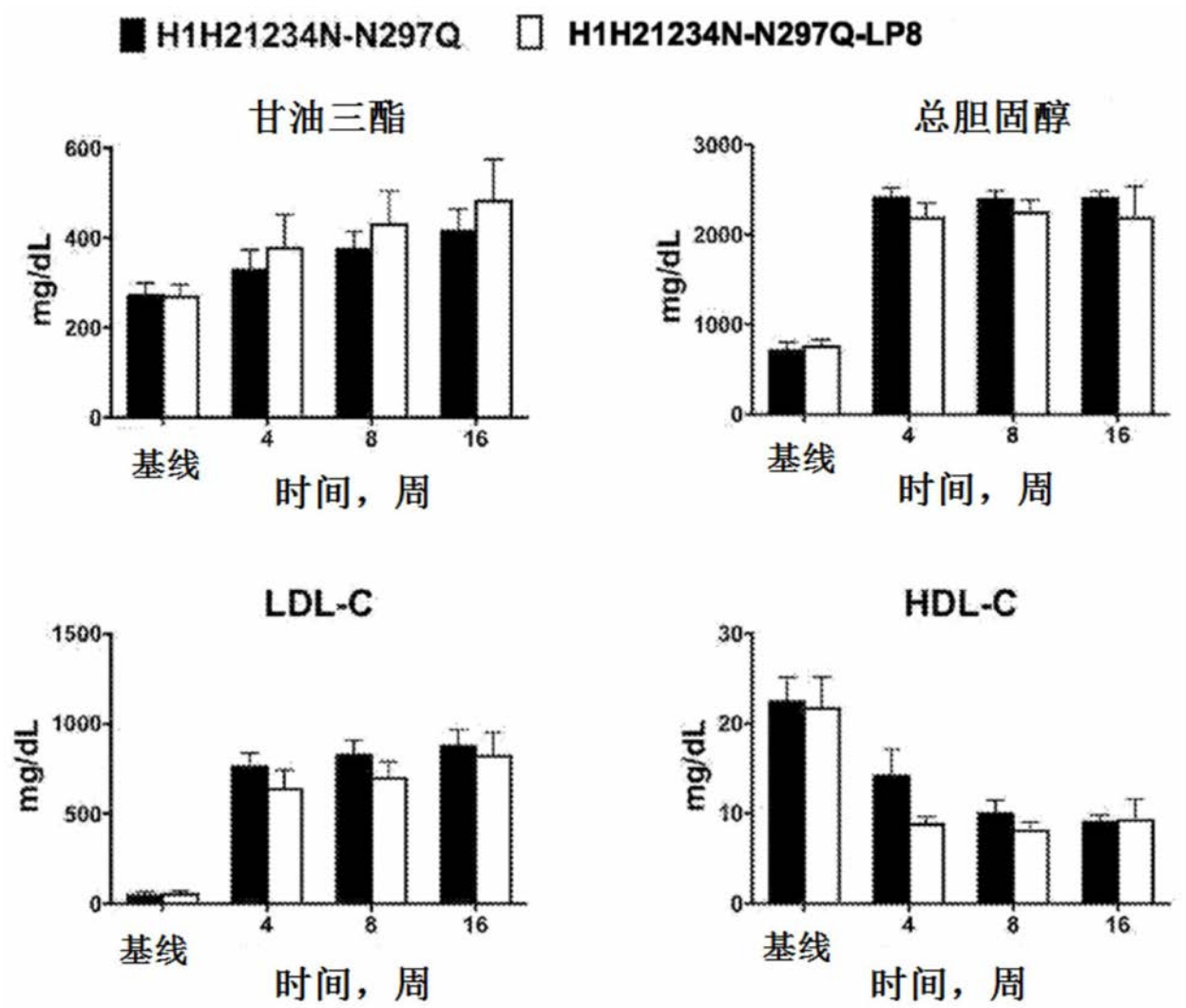

H1H21234N-N297Q
H1H21234N-N297Q-LP8
甘油三酯
mg/dL
600
400
200
0
基线
4
8
16
时间，周
总胆固醇
mg/dL
3000
2000
1000
0
基线
4
8
16
时间，周
LDL-C
mg/dL
1500
1000
500
0
基线
4
8
16
时间，周
HDL-C
mg/dL
30
20
10
0
基线
4
8
16
时间，周

图16

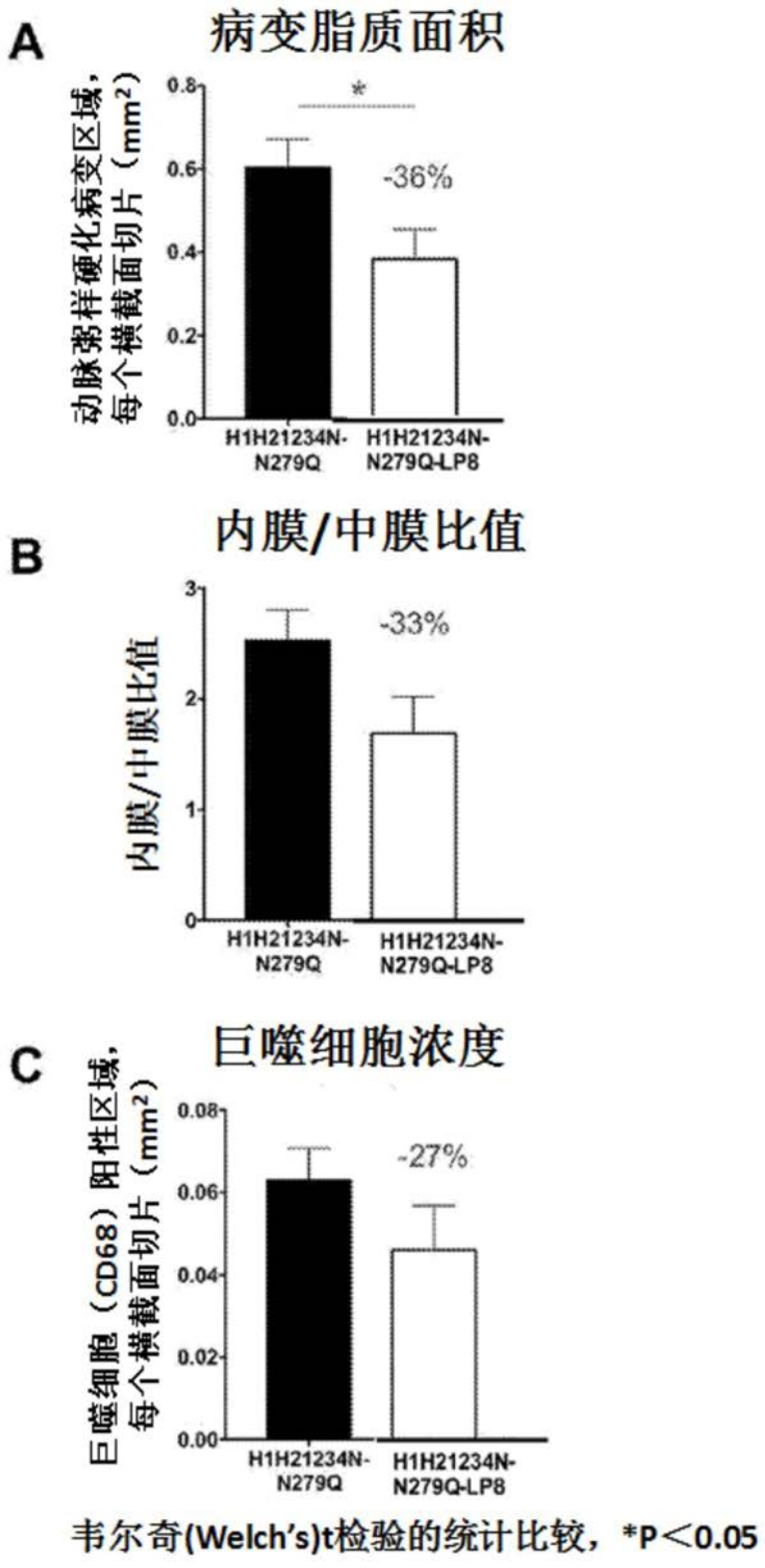

A
病变脂质面积
动脉粥样硬化病变区域，每个横截面切片（mm²）
*
-36%
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
H1H21234N-N279Q
H1H21234N-N279Q-LP8
B
内膜/中膜比值
内膜/中膜比值
-33%
3
2
1
0
H1H21234N-N279Q
H1H21234N-N279Q-LP8
C
巨噬细胞浓度
巨噬细胞（CD68）阳性区域，每个横截面切片（mm²）
-27%
0.08
0.06
0.04
0.02
0.00
H1H21234N-N279Q
H1H21234N-N279Q-LP8
韦尔奇(Welch's)t检验的统计比较，*P＜0.05

图17

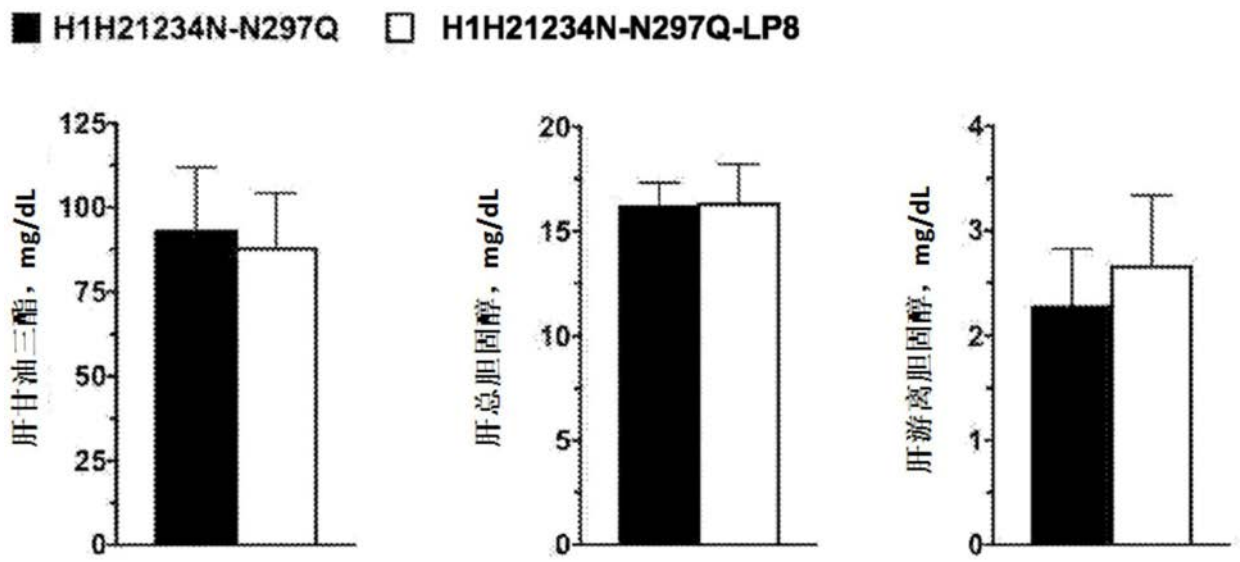

H1H21234N-N297Q
H1H21234N-N297Q-LP8
肝甘油三酯，mg/dL
125
100
75
50
25
0
肝总胆固醇，mg/dL
20
15
10
5
0
肝游离胆固醇，mg/dL
4
3
2
1
0

图18

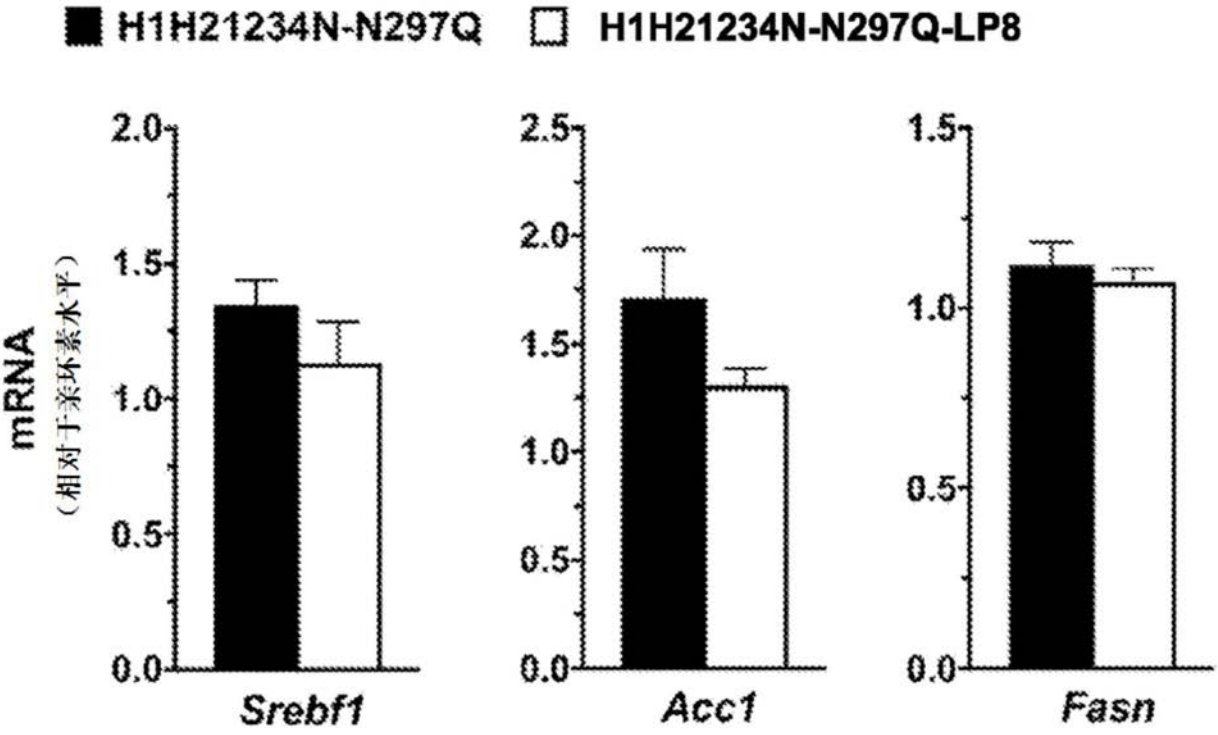

H1H21234N-N297Q
H1H21234N-N297Q-LP8
mRNA
（相对于亲环素水平）
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
Srebf1
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
Acc1
1.5
1.0
0.5
0.0
Fasn

图19