(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 113416229 B
(45)授权公告日 2024.12.13

(21)申请号 202110605866.5
(22)申请日 2015.09.17
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 113416229 A
(43)申请公布日 2021.09.21
(30)优先权数据
62/051883 2014.09.17 US
(62)分案原申请数据
201580057324.1 2015.09.17
(73)专利权人 酵活英属哥伦比亚有限公司
地址 加拿大英属哥伦比亚省
(72)发明人 G·C·温特斯 J·R·里奇
G·A·E·贾内特 A·L·曼德尔
T·H·H·谢 E·M·J·布尔克
S·D·巴恩谢尔
(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
专利代理师 李唐
(51)Int.Cl.
C07K 5/027(2006.01)
C07D 207/08(2006.01)
A61K 31/40(2006.01)
A61K 38/05(2006.01)
A61K 38/07(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
(56)对比文件
WO 2007008603 A1,2007.01.18
WO 2011154359 A1,2011.12.15
审查员 陈盛峰

权利要求书4页 说明书141页 附图6页

(54)发明名称

细胞毒性和抗有丝分裂化合物、及其使用方法

(57)摘要

本发明涉及细胞毒性和抗有丝分裂化合物、及其使用方法。本发明公开了具有细胞毒性和/或抗有丝分裂活性的化合物。本发明还公开了与此类化合物的制备和使用有关的方法、以及包含此类化合物的药物组合物。还公开了具有以下结构的组合物:(T)-(L)-(D),其中(T)为靶向部分,(L)为任选的接头,且(D)是具有细胞毒性和/或抗有丝分裂活性的化合物。

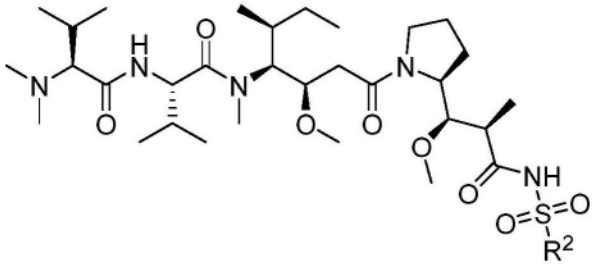
CN 113416229 B

1.一种制备式II的缀合物的方法：

(T)-(L)-(D)

II

其中(T)为抗体,(L)为接头,且(D)为式Ig的化合物：



Ig

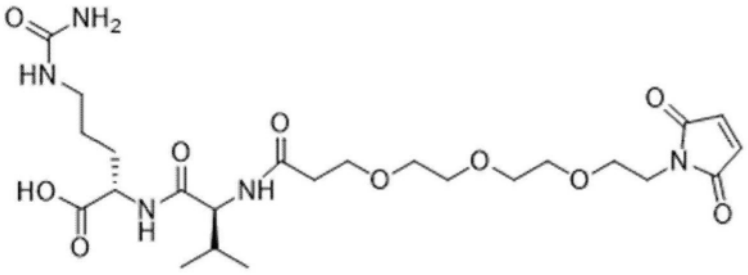
其中R^2选自:4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-氨基苯基、4-(氨基甲基)苯基、4-(1-氨基环丙基)苄基和4-(1-氨基环丙基)苯基,

所述方法包括：

a)制备包含式Ig的化合物和接头(L)的药物-接头(D)-(L),和

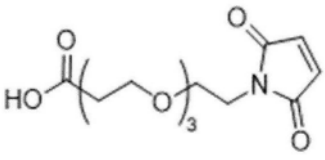
b)将药物-接头(D)-(L)与抗体(T)缀合,和

其中(L)是具有以下结构的MT-VC-OH：



，或

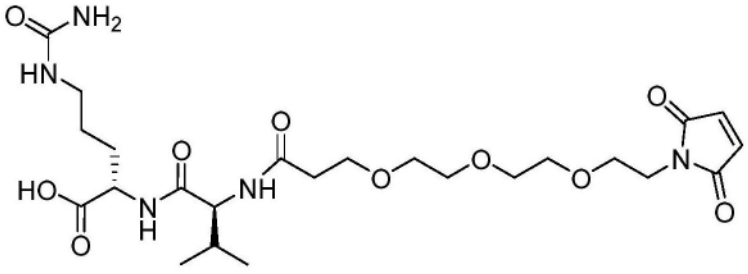
(L)是具有以下结构的MT-OH：



。

2.根据权利要求1所述的方法,其中R^2选自:4-氨基苄基、4-氨基苯基和4-(1-氨基环丙基)苯基。

3.根据权利要求1所述的方法,其中接头(L)是具有以下结构的MT-VC-OH：

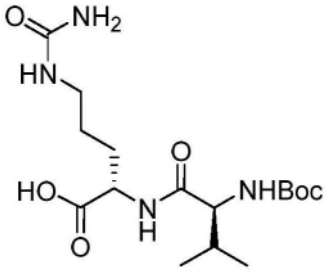


。

4.根据权利要求3所述的方法,其中制备药物-接头(D)-(L)包括将式Ig的化合物与MT-VC-OH反应。

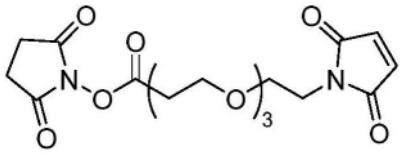
5.根据权利要求3所述的方法,其中制备药物-接头(D)-(L)包括:

i)将式Ig的化合物与具有以下结构的Boc-VC-OH反应:



以提供药物-接头中间体,和

ii)将所述药物-接头中间体与具有以下结构的MT-NHS反应:

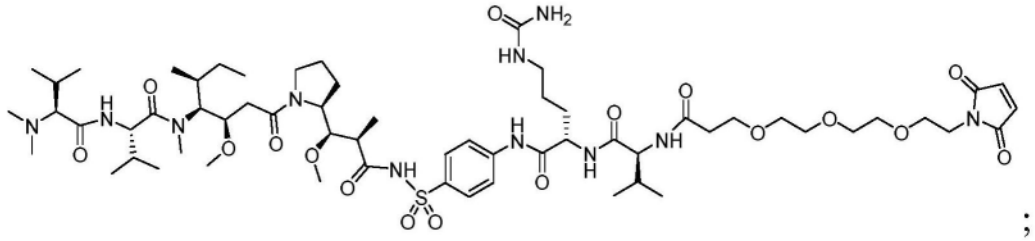


。

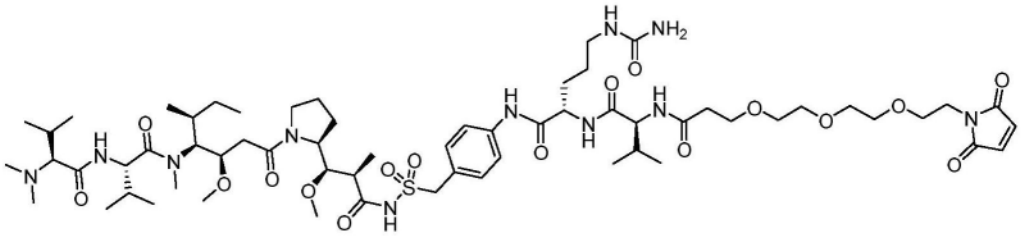
6.根据权利要求3所述的方法,其中R^2选自:4-氨基苄基、4-氨基苯基和4-(1-氨基环丙基)苯基。

7.根据权利要求3所述的方法,其中R^2为4-氨基苯基。

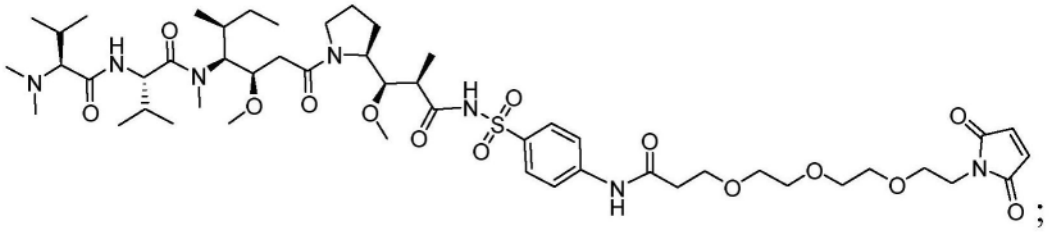
8.根据权利要求1所述的方法,其中药物-接头(D)-(L)选自:



;

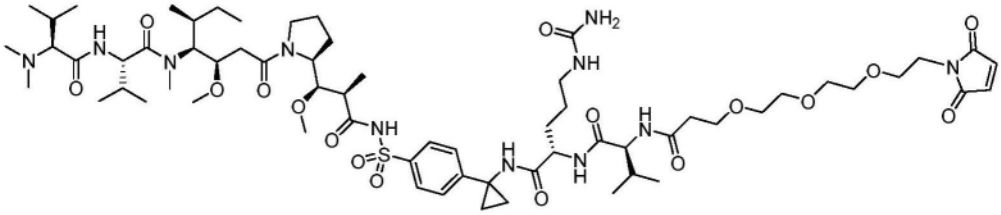


;



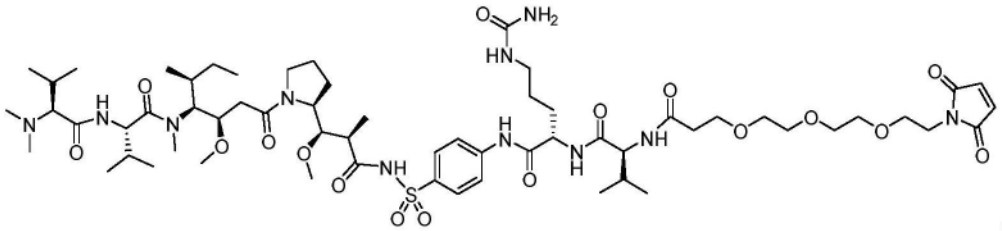
;

和



。

9.根据权利要求1所述的方法,其中药物-接头(D)-(L)是:



。

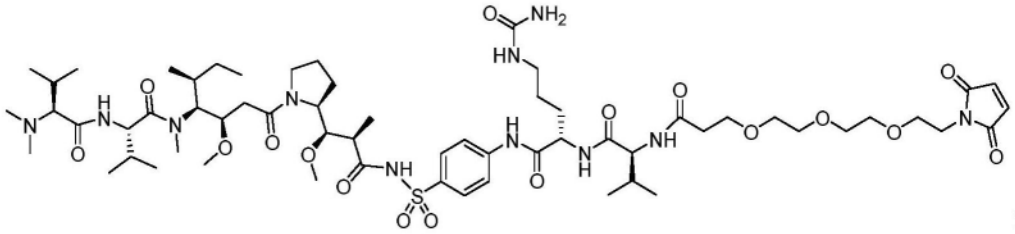
10.根据权利要求1至9中任一项所述的方法,其中将药物-接头(D)-(L)与抗体(T)缀合包括将1至8个药物-接头(D)-(L)与抗体(T)缀合。

11.根据权利要求1至9中任一项所述的方法,其中所述抗体是双特异性抗体。

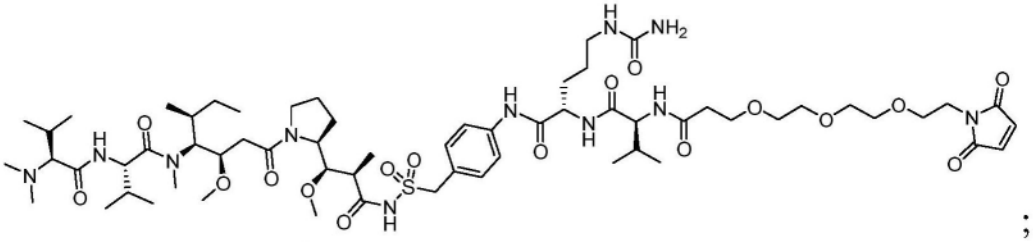
12.根据权利要求1至9中任一项所述的方法,其中所述抗体特异性结合癌细胞抗原。

13.根据权利要求12所述的方法,其中所述癌细胞抗原是HER2。

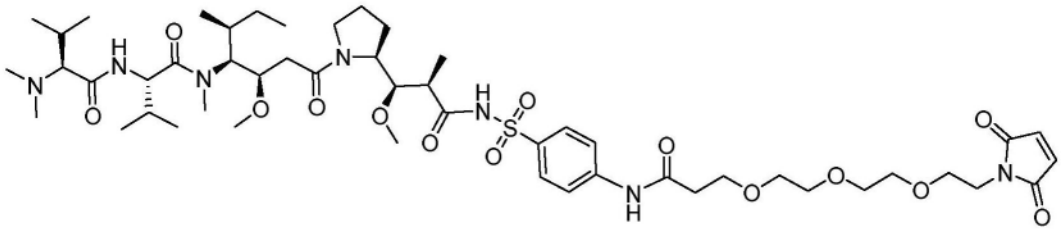
14.一种制备抗体-药物缀合物的方法,所述方法包括将药物-接头与抗体缀合,所述药物-接头选自:



;

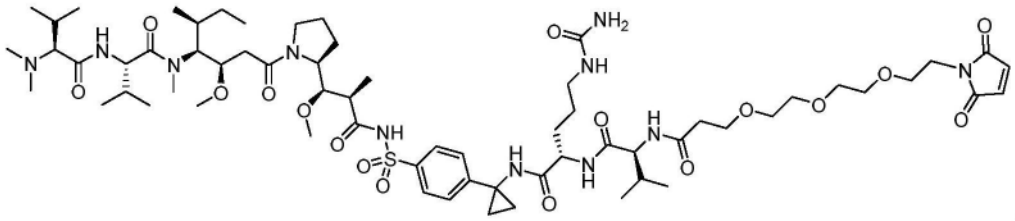


;



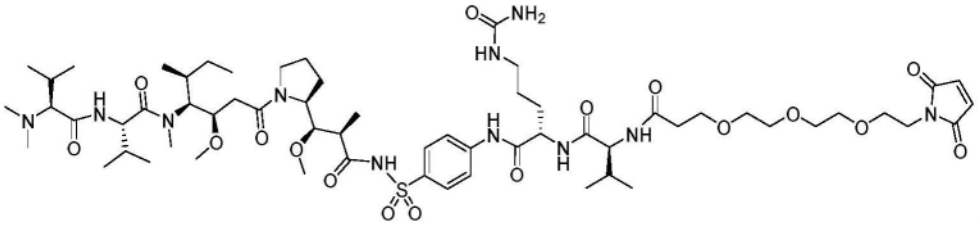
;

和



。

15.根据权利要求14所述的方法,其中所述药物-接头为:



。

16.根据权利要求14或15所述的方法,其中将药物-接头与抗体缀合包括将1至8个药物-接头与抗体缀合。

17.根据权利要求14或15所述的方法,其中所述抗体是双特异性抗体。

18.根据权利要求14或15所述的方法,其中所述抗体特异性结合癌细胞抗原。

19.根据权利要求18所述的方法,其中所述癌细胞抗原是HER2。

细胞毒性和抗有丝分裂化合物、及其使用方法

[0001] 本申请是申请日为2015年9月17日的中国专利申请201580057324.1“细胞毒性和抗有丝分裂化合物、及其使用方法”的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及生物活性化合物、包含其的组合物、以及使用此类生物活性化合物和组合物治疗癌症及其它疾病的方法。

背景技术

[0003] 有前景的新型癌症治疗剂包括多拉司他汀及合成的多拉司他汀类似物如奥瑞斯他汀(美国专利号5,635,483、5,780,588、6,323,315及6,884,869;Shnyder等人(2007)Int.J.Oncol.31:353-360;Otani,M.等人Jpn.J.Cancer Res.2000,91,837-844;PCT国际公布号WO 01/18032A3、WO 2005/039492、WO 2006/132670及WO 2009/095447;Fennell,B.J.等人J.Antimicrob.Chemther.2003,51,833-841)。多拉司他汀和奥瑞斯他汀已显示干扰微管的动力学,由此破坏细胞分裂(Woyke等人(2001)Antimicrob.Agents Chemother.45(12):3580-3584)并且具有抗癌(美国专利号5,663,149)和抗真菌活性(Pettit等人(1998)Antimicrob.Agents Chemother.42:2961-2965)。令人遗憾的是,尽管有早期的热情,但多拉司他汀10作为II期临床试验中的单一试剂显示出不良的结果(Shnyder(2007),同上)。在奥瑞斯他汀家族中的某些化合物作为具有改进的功效和药理特征的临床候选物显示出比多拉司他汀更大的前景(Pettit等人(1995)Anti-Cancer Drug Des.10:529-544;Pettit等人(1998)Anti-Cancer Drug Des.13:243-277;Shnyder(2007),同上)。此结构类型的各种合成类似物已有描述(美国专利号6,569,834;美国专利号6,124,431;及Pettit等人(2011)J.Nat.Prod.74:962-968)。

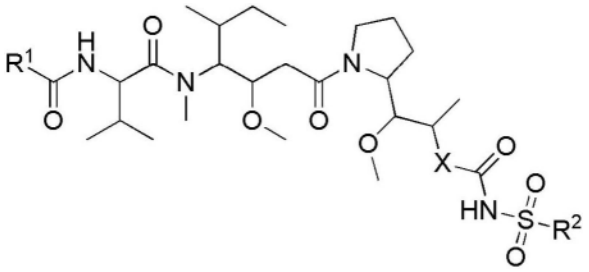
[0004] 奥瑞斯他汀具有若干性质,使得其对药物开发具有吸引力。首先,这些化合物极其有效。其次,它们的制备简单直接,因为肽骨架的原因。第三,它们一般与肽相比或与具体说来其它癌症药物类别相比具有良好的药代动力学和代谢特征谱。最终,奥瑞斯他汀的肽结构类似于抗体的肽结构,所以当这些化合物被用作抗体-药物缀合物(ADC)的一部分时,它们不太可能会造成高分子量聚集物的沉淀或形成(Doronina等人(2003)Nat.Biotechnology 21(7):778-784)。

[0005] 有效的细胞毒性和抗有丝分裂组合物是治疗许多破坏性病症(包括癌症)高度需要的。虽然已生成了广泛多种奥瑞斯他汀类似物,但许多展现降低的效力,这限制了在医学治疗方法中的功用。因为以上原因,虽然在本领域中已有进展,但仍需要具有优选特征的额外的有效的抗有丝分裂和细胞毒性化合物,使得其适用于治疗多种病症,包括癌症。本公开满足了这些需要并且还提供相关优点。

发明内容

[0006] 简单地说,本公开涉及生物活性化合物、包含其的组合物、以及使用此类化合物和

组合物的方法。提供了式I化合物：

[0007] 

I

[0008] 及其药学上可接受的盐，其中：

[0009] R^1选自：氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、氨基-杂环基和杂环基，各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代：芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷硫基、羧基、羧酰胺、C_3-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、胍基、卤基、C_1-C_6卤烷基、杂环基、杂环基-C_1-C_6烷基、羟基和硫基；或

[0010] R^1为$R^aR^bNCH(R^c)$-；

[0011] R^a选自：H和C_1-C_6烷基；

[0012] R^b为C_1-C_6烷基；且

[0013] R^c为R^d-$C(CH_3)_2$-；且

[0014] R^d选自：H、芳基、C_3-C_7环烷基和杂芳基，其各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代：C_1-C_4酰硫基、C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基、C_1-C_4烷基氨基、C_1-C_4烷氧基、氨基、氨基-C_1-C_4烷基、卤基、C_1-C_4卤烷基、羟基、羟基-C_1-C_4烷基和硫基，其中C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基氨基及C_1-C_4烷氧基进一步任选被一个选自以下的取代基取代：C_1-C_4烷基芳基、羟基和硫基；或

[0015] R^b和R^c与其各自所键结的原子一起形成杂环基二基；

[0016] R^2选自：C_2-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_4-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基，各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代：C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤酰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基；并且

[0017] X为-C(O)NHCH(CH_2R^3)-，或X不存在；并且

[0018] R^3选自：芳基、杂芳基和C_3-C_7环烷基，各自任选被一个选自氨基和羟基的取代基取代。

[0019] 在一个实施方案中，本发明提供了一种制备本文所述的化合物或其药学上可接受的盐的方法。

[0020] 在另一实施方案中，提供了一种药物组合物，其包含本文所述的化合物或其药学上可接受的盐、以及药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

[0021] 在另一实施方案中，提供了一种在疗法中使用本文所述的化合物或其药学上可接受的盐的方法。具体说来，本公开提供了一种治疗哺乳动物的癌症的方法，所述方法包括向有此需要的哺乳动物施用有效量的本文所述的化合物或其药学上可接受的盐，或包含本文所述的化合物或其药学上可接受的盐、以及药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物。

[0022] 在另一实施方案中,本公开提供了一种抑制哺乳动物中的肿瘤生长的方法,所述方法包括向有此需要的哺乳动物施用有效量的本文所述的化合物或其药学上可接受的盐,或包含本文所述的化合物或其药学上可接受的盐、以及药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物。

[0023] 在另一实施方案中,本公开提供了一种使用本文所述的化合物或其药学上可接受的盐体外杀灭癌细胞的方法。在另一实施方案中,本公开提供了一种体内杀灭哺乳动物中的癌细胞的方法,所述方法包括向有此需要的哺乳动物施用有效量的本文所述的化合物或其药学上可接受的盐,或包含本文所述的化合物或其药学上可接受的盐、以及药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物。

[0024] 在另一实施方案中,本公开提供了一种增加患有癌症的哺乳动物的存活时间的方法,所述方法包括向此类哺乳动物施用有效量的本文所述的化合物或其药学上可接受的盐,或包含本文所述的化合物或其药学上可接受的盐、以及药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物。

[0025] 在另一实施方案中,本公开提供了一种本文所述的化合物或其药学上可接受的盐在制造用于治疗哺乳动物的癌症的药剂中的用途。

[0026] 在另一实施方案中,本公开提供了一种本文所述的化合物或其药学上可接受的盐在制造用于抑制哺乳动物中的肿瘤生长的药剂中的用途。

[0027] 在另一实施方案中,本公开提供了一种本文所述的化合物或其药学上可接受的盐在制造用于延长患有癌症的哺乳动物的存活的药剂中的用途。

[0028] 在另一实施方案中,本公开提供了本文所述的化合物或药物组合物,其是用于通过疗法治疗人或动物体的方法中。

[0029] 在另一实施方案中,本公开提供了本文所述的化合物或药物组合物,其是用于治疗哺乳动物的癌症。

[0030] 在另一实施方案中,本公开提供了本文所述的化合物或药物组合物,其是用于抑制哺乳动物中的肿瘤生长。

[0031] 在另一实施方案中,本公开提供了本文所述的化合物或药物组合物,其是用于延长患有癌症的哺乳动物的存活。

[0032] 在一个实施方案中,提供了包含如本文所述的生物活性化合物或其药学上可接受的盐的组合物,其直接地或间接地连接到靶向部分。

[0033] 在一个实施方案中,本发明提供式II组合物:

[0034] (T)-(L)-(D)

[0035] II

[0036] 其中(T)为靶向部分,(L)为任选的接头,且(D)为式I、Ia、Ib、Ic、Id、Ie、If、Ig、Ih、Ii、Ij或Ik的化合物,或其药学上可接受的盐。如果(L)存在,那么(D)共价地连接到(L)上;或如果(L)不存在,那么(D)共价地连接到(T)上。

[0037] 在一个实施方案中,靶向部分为抗体。因此,在一个实施方案中,提供了抗体-药物缀合物(ADC),其包含本文所述的化合物或其药学上可接受的盐或前药。

[0038] 在一个实施方案中,本发明提供了一种制备式II组合物的方法。

[0039] 在另一实施方案中,提供了一种药物组合物,其包含式II组合物或其药学上可接

受的盐、以及药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

[0040] 在另一实施方案中,提供了一种在疗法中使用式II组合物的方法。具体说来,本公开提供了一种治疗哺乳动物的癌症的方法,所述方法包括向有此需要的哺乳动物施用有效量的式II组合物或包含式II组合物及药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物。

[0041] 在另一实施方案中,本公开提供了一种抑制哺乳动物中的肿瘤生长的方法,所述方法包括向有此需要的哺乳动物施用有效量的式II组合物或包含式II组合物及药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物。

[0042] 在另一实施方案中,本公开提供了一种使用式II组合物体外杀灭癌细胞的方法。在另一实施方案中,本公开提供了一种体内杀灭哺乳动物中的癌细胞的方法,所述方法包括向有此需要的哺乳动物施用有效量的式II组合物或包含式II组合物及药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物。

[0043] 在另一实施方案中,本公开提供了增加患有癌症的哺乳动物的存活时间的方法,所述方法包括向有此需要的哺乳动物施用有效量的式II组合物或包含式II组合物及药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物。

[0044] 在另一实施方案中,本公开提供了一种式II组合物或其药学上可接受的盐在制造用于治疗哺乳动物的癌症的药剂中的用途。

[0045] 在另一实施方案中,本公开提供了一种式II组合物在制造用于抑制哺乳动物中的肿瘤生长的药剂中的用途。

[0046] 在另一实施方案中,本公开提供了一种式II组合物在制造用于延长患有癌症的哺乳动物的存活的药剂中的用途。

[0047] 在另一实施方案中,本公开提供了一种式II组合物或包含式II组合物的药物组合物,其是用于通过疗法治疗人或动物体的方法中。

[0048] 在另一实施方案中,本公开提供了一种式II组合物或包含式II组合物的药物组合物,其是用于治疗哺乳动物的癌症。

[0049] 在另一实施方案中,本公开提供了一种式II组合物或包含式II组合物的药物组合物,其是用于抑制哺乳动物中的肿瘤生长。

[0050] 在另一实施方案中,本公开提供了一种式II组合物或包含式II组合物的药物组合物,其是用于延长患有癌症的哺乳动物的存活。

[0051] 本公开的这些及其它方面在参考以下详细说明后将变得显而易见。

附图说明

[0052] 图1示出了化合物5对Her2阳性HCC1954细胞系的细胞毒性。

[0053] 图2示出了化合物5对Her2阴性Jurkat细胞系的细胞毒性。

[0054] 图3示出了化合物5的曲妥单抗ADC对Her2阳性NCI-N87细胞系的细胞毒性。

[0055] 图4示出了化合物5的曲妥单抗ADC对Her2阳性HCC1954细胞系的细胞毒性。

[0056] 图5示出了化合物5的曲妥单抗ADC对Her2阴性Jurkat细胞系的细胞毒性。

[0057] 图6示出了用于比较某些ADC与MDA-MB-231细胞系的结合的平衡天然结合测定的结果。

[0058] 图7示出了某些ADC在使用NOD SCID γ小鼠的NCI-N87肿瘤模型中的功效。

[0059] 图8示出了某些ADC在使用C.B-17/IcrHsd-Prkdc^{scid}小鼠的Karpas 299肿瘤模型中的功效。

[0060] 图9示出了化合物14的曲妥单抗ADC在雌性Sprague Dawley大鼠中的耐受性研究结果。

[0061] 图10示出了化合物5的曲妥单抗ADC在雌性Sprague Dawley大鼠中的耐受性研究结果。

[0062] 图11示出了在用化合物5处理的Jurkat细胞中细胞周期停滞测定的结果。

[0063] 详述

[0064] 在以下描述中,阐明某些具体细节以便提供对本公开的各种实施方案的透彻了解。然而,本领域技术人员应理解,本公开可在无这些细节的情况下实践。

[0065] 定义

[0066] 除非另有说明,否则如本文所用的以下术语和短语意在具有以下含义。当在本文中使用商品名称时,申请者意在独立地包括商品名称产品制剂、通用药名以及商品名称产品的活性药物成分。

[0067] 除非上下文另外要求,否则在本说明书和权利要求书通篇中,词语“包含(comprise)”及其变型,如“包含(comprises)”和“包含(comprising)”应以开放式、包括性的意义解释为“包括但不限于”。

[0068] 在本说明书通篇中对“一个实施方案”或“一实施方案”的提及意在表示关于实施方案所述的具体特点、结构或特征包括在本公开的至少一个实施方案中。因此,短语“在一个实施方案中”或“在一实施方案中”在本说明书通篇的不同地方的出现不一定都指的是同一实施方案。应当理解,为清楚起见在单独的实施方案的上下文中描述的本发明的某些特点也可在单个实施方案中以组合形式提供。相反,为简洁起见在单个实施方案的上下文中描述的本发明的各种特点也可单独地或以任何合适的子组合形式提供。

[0069] 化学基团

[0070] 关于由变量(例如,包含在本文所述的化学通式(例如,I、Ia、Ib、Ic、Id、Ie、If、Ig、Ih、Ii、Ij、Ik、In、In、II、III、IV、V、VI、VII及VIII)内的R^a、R^b、R^c、R^d、R^e、R^f、R^g、R^h、R^i、R^j、R^k、R^m、R^l、R^2、R^{2a}、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^4、R^{10}、R^{11}、R^{12}、R^{13}、$R1^4$、R^{15}、R^{16}、X、Y及Z)表示的化学基团的实施方案的所有组合具体地由本发明所涵盖,如同每个和每一个组合单独明确地叙述一般,由此此类组合包括产生稳定化合物(即,可被分离、表征及测试生物活性的化合物)的化合物。另外,描述此类变量的实施方案中所列的化学基团的所有子组合以及本文所述的用途和医学适应症的所有子组合也具体地由本发明所涵盖,就如同化学基团的每个和每一个子组合及用途和医学适应症的子组合单独地且明确地在本文中叙述一般。另外,如果在具体的实施方案和/或权利要求中为任何具体的R^a、R^b、R^c、R^d、R^e、R^f、R^g、R^h、R^i、R^j、R^k、R^m、R^l、R^2、R^{2a}、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^4、R^{10}、R^{11}、R^{12}、R^{13}、$R1^4$、R^{15}、R^{16}、X、Y或Z列举了取代基的清单,那么应当理解每个单独的取代基可从具体的实施方案和/或权利要求中删除,并且取代基的其余清单将被视为在本公开的范围内。

[0071] 如本文所用的术语“酰氧基”包括-OC(O)-烷基,其中烷基如本文中所定义。酰氧基的实例包括但不限于:甲酰氧基、乙酰氧基、丙酰氧基、异丁酰氧基、新戊酰氧基等。

[0072] 如本文所用的术语“酰硫基”是指-SC(O)-烷基,其中烷基如本文中所定义。酰硫基的实例包括但不限于:甲酰硫基、乙酰硫基、丙酰硫基、异丁酰硫基、新戊酰硫基等。

[0073] 如本文所用的术语“烷氧基”是指-O-烷基,其中烷基如本文中所定义。烷基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、异丁氧基、叔丁氧基、戊氧基、异戊氧基、叔戊氧基、新戊氧基、1-甲基丁氧基、2-甲基丁氧基、正己氧基等。

[0074] 如本文所用的术语“烷氧羰基”是指-C(O)O-烷基。烷氧羰基的实例包括但不限于:甲氧羰基、乙氧羰基、正丙氧羰基、异丙氧羰基、正丁氧羰基、仲丁氧羰基、异丁氧羰基、叔丁氧羰基、戊氧羰基、异戊氧羰基、叔戊氧羰基、新戊氧羰基、1-甲基丁氧羰基、2-甲基丁氧羰基、正己氧羰基等。

[0075] 如本文所用的术语“烯基二基”是指含有指定数目的碳原子和一个或多个碳-碳双键的直链或支链不饱和烃二价基团,例如,C_2-C_6烯基二基、C_2-C_4烯基二基或C_2烯基二基。烯基二基的实例包括但不限于:乙烯基二基、正丙烯基二基、异丙烯基二基、正丁烯基二基、仲丁烯基二基、异丁烯基二基、叔丁烯基二基、戊烯基二基、异戊烯基二基、叔戊烯基二基、新戊烯基二基、1-甲基丁烯基二基、2-甲基丁烯基二基、正己烯基二基等。

[0076] 如本文所用的术语“烷基”是指含有指定数目的碳原子的直链或支链饱和烃基团,例如C_1-C_6烷基、C_1-C_4烷基或C_2烷基。烷基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、异丁基、叔丁基、戊基、异戊基、叔戊基、新戊基、1-甲基丁基、2-甲基丁基、正己基等。

[0077] 如本文所用的术语“烷基二基”是指含有指定数目的碳原子的直链或支链饱和烃二价基团,例如,C_1-C_6烷基二基、C_1-C_4烷基二基或C_2烷基二基。烷基二基的实例包括但不限于:甲基二基、乙基二基、正丙基二基、异丙基二基、正丁基二基、仲丁基二基、异丁基二基、叔丁基二基、戊基二基、异戊基二基、叔戊基二基、新戊基二基、1-甲基丁基二基、2-甲基丁基二基、正己基二基等。

[0078] 如本文所用的术语“烷基氨基”是指-NH-烷基,其中烷基如本文中所定义。烷基氨基的实例包括但不限于:甲基氨基、乙基氨基、正丙基氨基、异丙基氨基、正丁基氨基、仲丁基氨基、异丁基氨基、叔丁基氨基、戊基氨基、异戊基氨基、叔戊基氨基、新戊基氨基、1-甲基丁基氨基、2-甲基丁基氨基、正己基氨基等。

[0079] 如本文所用的术语“烷硫基”是指-S-烷基,其中烷基如本文中所定义。烷硫基的实例包括但不限于:甲硫基、乙硫基、正丙硫基、异丙硫基、正丁硫基、仲丁硫基、异丁硫基、叔丁硫基、戊硫基、异戊硫基、叔戊硫基、新戊硫基、1-甲基丁硫基、2-甲基丁硫基、正己硫基等。

[0080] 如本文所用的术语“氨基”是指-NH_2。

[0081] 如本文所用的术语“氨基-环烷基”是指被一个氨基取代基取代的环烷基,那些术语如本文中所定义。氨基-环烷基的实例包括但不限于:氨基环丙基、氨基环丁基、氨基环戊基、氨基环己基等。

[0082] 如本文所用的术语“氨基-烷基”是指被一个氨基取代基取代的烷基,那些术语如本文中所定义。氨基-烷基的实例包括但不限于:氨基甲基、氨基乙基、氨基-正丙基、氨基-异丙基、氨基-正丁基、氨基-仲丁基、氨基-异丁基、氨基-叔丁基、氨基-戊基、氨基-异戊基、氨基-叔戊基、氨基-新戊基、氨基-1-甲基丁基、氨基-2-甲基丁基、氨基-正己基等。

[0083] 如本文所用的术语“氨基-芳基”是指被一个氨基取代基取代的芳基,那些术语如本文中所定义。氨基-芳基的实例包括但不限于:氨基-苯基、氨基-萘基等。

[0084] 如本文所用的术语“氨基-杂环基”是指被一个氨基取代基取代的杂环基,那些术语如本文中所定义。氨基-杂环基的实例包括但不限于:氨基-吡咯烷基、氨基-哌啶基等。

[0085] 如本文所用的术语“芳基”是指衍生自6至12元单环或二环烃环系统的基团,其中至少一个环是芳族的。芳基的实例包括但不限于:苯基、萘基、1,2,3,4-四氢-萘基、5,6,7,8-四氢-萘基、茚满基等。

[0086] 如本文所用的术语“芳基-烷基”是指被一个芳基取代基取代的烷基,那些术语如本文中所定义。芳基-烷基的实例包括但不限于:苄基、苯乙基、苯丙基、萘基甲基等。

[0087] 如本文所用的术语“芳基二基”是指衍生自6至12元单环或二环烃环系统的二价基团,其中至少一个环是芳族的。芳基二基的实例包括但不限于:苯基二基、萘基二基、1,2,3,4-四氢-萘基二基、5,6,7,8-四氢-萘基二基、茚满基二基等。

[0088] 如本文所用的术语“羧酰胺”是指-C(O)NH_2。

[0089] 如本文所用的术语“羧基”是指-C(O)OH。

[0090] 如本文所用的术语“氰基”是指-CN。

[0091] 如本文所用的术语“环烷基”是指含有指定数目的碳原子的环状饱和烃基团,例如C_3-C_7烷基或C_4-C_7烷基二基。环烷基的实例包括但不限于:环丙基、环丁基、环戊基、环己基等。

[0092] 如本文所用的术语“环烷基-烷基”是指被一个环烷基取代基取代的烷基,那些术语如本文中所定义。环烷基-烷基的实例包括但不限于:环丙基甲基、环丁基甲基、环戊基甲基、环己基甲基、环丙基乙基、环丁基乙基、环戊基乙基、环己基乙基等。

[0093] 如本文所用的术语“环烷基二基”是指含有指定数目的碳原子的二价环状饱和烃基团,例如,C_3-C_7环烷基二基或C_4-C_7烷基二基。环烷基二基的实例包括但不限于:环丙基二基、环丁基二基、环戊基二基、环己基二基等。

[0094] 如本文所用的术语“胍基”是指-NH-C(=NH)-NH_2。

[0095] 如本文所用的术语“卤基”是指-F、-Cl、-Br及-I。

[0096] 如本文所用的术语“卤酰基”是指-C(O)-卤烷基,其中卤烷基如本文中所定义。卤酰基的实例包括但不限于:二氟乙酰基、三氟乙酰基、3,3,3-三氟丙酰基、五氟丙酰基等。

[0097] 如本文所用的术语“卤烷氧基”是指-O-卤烷基,其中卤烷基如本文中所定义。卤烷氧基的实例包括但不限于:二氟甲氧基、三氟甲氧基、2,2,2-三氟乙氧基、五氟乙氧基等。

[0098] 如本文所用的术语“卤烷基”是指被一个或多个卤素取代的如本文所定义的烷基。完全取代的卤烷基可由式C_nL_{2n+1}表示,其中L是卤素。当存在一个以上卤素时,它们可以是相同或不同的并且选自由以下组成的组:F、Cl、Br及I。卤烷基的实例包括但不限于:氟甲基、二氟甲基、三氟甲基、氯二氟甲基、2,2,2-三氟乙基、五氟乙基等。

[0099] 如本文所用的术语“杂芳基”是指衍生自6至12元单环或二环环系统的基团,其中至少一个环原子是杂原子且至少一个环是芳族的。杂原子的实例包括但不限于:O、S、N等。杂芳基的实例包括但不限于:吡啶基、苯并呋喃基、吡嗪基、哒嗪基、嘧啶基、三嗪基、喹啉基、苯并噁唑基、苯并噻唑基、1H-苯并咪唑基、异喹啉基、喹唑啉基、喹喔啉基、吡咯基、吲哚基、1H-苯并咪唑-2-基、苯并[1,3]间二氧杂环戊烯-5-基、3,4-二氢-2H-苯并[1,4]噁嗪-7-

基、2,3-二氢-苯并呋喃-7-基、2,3-二氢吲哚-1-基等。

[0100] 如本文所用的术语“杂芳基-烷基”是指被一个杂芳基取代基取代的烷基,那些术语如本文中所定义。杂芳基-烷基的实例包括但不限于:吡啶基甲基、苯并呋喃基甲基、吡嗪基甲基、哒嗪基甲基、嘧啶基甲基、三嗪基甲基、喹啉基甲基、苯并噁唑基甲基、苯并噻唑基甲基、1H-苯并咪唑基甲基、异喹啉基甲基、喹唑啉基甲基、喹喔啉基甲基、吡咯基甲基、吲哚基甲基、1H-苯并咪唑-2-基甲基、苯并[1,3]间二氧杂环戊烯-5-基甲基、3,4-二氢-2H-苯并[1,4]噁嗪-7-基甲基、2,3-二氢-苯并呋喃-7-基甲基、2,3-二氢-吲哚-1-基甲基等。

[0101] 如本文所用的术语“杂芳基二基”是指衍生自6至12元单环或二环环系统的二价基团,其中至少一个环原子是杂原子且至少一个环是芳族的。杂原子的实例包括但不限于:O、S、N等。杂芳基二基的实例包括但不限于:噻唑基二基、2,4-噻唑基二基、三唑基二基、1,2,3-三唑基-1,4-二基、吡啶基二基、苯并呋喃基二基、吡嗪基二基、哒嗪基二基、嘧啶基二基、三嗪基二基、喹啉基二基、苯并噁唑基二基、苯并噻唑基二基、1H-苯并咪唑基二基、异喹啉基二基、喹唑啉基二基、喹喔啉基二基、吡咯基二基、吲哚基二基、1H-苯并咪唑-2-基二基、苯并[1,3]间二氧杂环戊烯-5-基二基、3,4-二氢-2H-苯并[1,4]噁嗪-7-基二基、2,3-二氢-苯并呋喃-7-基二基、2,3-二氢-吲哚-1-基二基等。实例包括但不限于:等。

[0102] 如本文所用的术语“杂环基”是指衍生自3至12元单环或二环非芳族环系统的基团,其中至少一个环原子是杂原子。杂原子的实例包括但不限于:O、S、N等。杂环基取代基可经由其可利用的环原子中的任一个连接,例如环碳或环氮。在一些实施方案中,杂环基是含有3-、4-、5-、6-或7-元的环。杂环基的实例包括但不限于:氮丙啶-1-基、氮丙啶-2-基、氮杂环丁-1-基、氮杂环丁-2-基、氮杂环丁-3-基、哌啶-1-基、哌啶-2-基、哌啶-3-基、哌啶-4-基、吗啉-2-基、吗啉-3-基、吗啉-4-基、哌嗪-1-基、哌嗪-2-基、哌嗪-3-基、哌嗪-4-基、吡咯烷-1-基、吡咯烷-2-基、吡咯烷-3-基、[1,3]-二氧戊环-2-基、硫代吗啉-4-基、[1,4]氧杂氮杂环庚烷-4-基、1,1-二氧代-1λ^6-硫代吗啉-4-基、氮杂环庚烷-1-基、氮杂环庚烷-2-基、氮杂环庚烷-3-基、氮杂环庚烷-4-基、八氢-喹啉-1-基、八氢-异喹啉-2-基等。

[0103] 如本文所用的术语“杂环基-烷基”是指被一个杂环基取代基取代的烷基,那些术语如本文中所定义。杂环基-烷基的实例包括但不限于:氮杂环丁-3-基甲基、哌啶-1-基甲基、哌啶-2-基甲基、哌啶-3-基甲基、哌啶-4-基甲基、吗啉-2-基甲基、吗啉-3-基甲基、吗啉-4-基甲基、哌嗪-1-基甲基、哌嗪-2-基甲基、哌嗪-3-基甲基、哌嗪-4-基甲基、吡咯烷-1-基甲基、吡咯烷-2-基甲基、吡咯烷-3-基甲基、[1,3]-二氧戊环-2-基甲基、硫代吗啉-4-基甲基、[1,4]氧杂氮杂环庚烷-4-基甲基、1,1-二氧代-1λ^6-硫代吗啉-4-基甲基、氮杂环庚烷-1-基甲基、氮杂环庚烷-2-基甲基、氮杂环庚烷-3-基甲基、氮杂环庚烷-4-基甲基、八氢-喹啉-1-基甲基、八氢-异喹啉-2-基等。

[0104] 如本文所用的术语“杂环基二基”是指衍生自3至12元单环或二环非芳族环系统的二价基团,其中至少一个环原子是杂原子。杂原子的实例包括但不限于:O、S、N等。杂环基二基取代基可经由其可利用的环原子中的任两个连接,例如环碳或环氮。在一些实施方案中,杂环基二基是含有3-、4-、5-、6-或7-元的环。杂环基二基的实例包括但不限于:氮丙啶-1-基二基、氮丙啶-2-基二基、氮杂环丁-1-基二基、氮杂环丁-2-基二基、氮杂环丁-3-基二基、哌啶-1-基二基、哌啶-2-基二基、哌啶-3-基二基、哌啶-4-基二基、吗啉-2-基二基、吗啉-3-基二基、吗啉-4-基二基、哌嗪-1-基二基、哌嗪-2-基二基、哌嗪-3-基二基、哌嗪-4-基二基、

吡咯烷-1-基二基、吡咯烷-2-基二基、吡咯烷-3-基二基、[1,3]-二氧戊环-2-基二基、硫代吗啉-4-基二基、[1,4]氧杂氮杂环庚烷-4-基二基、1,1-二氧代-1λ6-硫代吗啉-4-基二基、氮杂环庚烷-1-基二基、氮杂环庚烷-2-基二基、氮杂环庚烷-3-基二基、氮杂环庚烷-4-基二基、八氢-喹啉-1-基二基、八氢-异喹啉-2-基二基等。

[0105] 如本文所用的术语“羟基”是指-OH。

[0106] 如本文所用的术语“羟基-烷基”是指被一个羟基取代基取代的烷基,那些术语如本文中所定义。羟基-烷基的实例包括但不限于:羟甲基、羟乙基、羟基-正丙基、羟基-异丙基、羟基-正丁基、羟基-仲丁基、羟基-异丁基、羟基-叔丁基、羟基-戊基、羟基-异戊基、羟基-叔戊基、羟基-新戊基、羟基-1-甲基丁基、羟基-2-甲基丁基、羟基-正己基等。

[0107] 如本文所用的术语“硝基”是指-NO_2。

[0108] 如本文所用的术语“氧代基”是指=O。

[0109] 如本文所用的术语“硫基”是指-SH。

[0110] 如本文所用的术语“硫代烷基”是指-S-烷基,其中烷基如本文中所定义。实例包括但不限于:甲硫基、乙硫基、正丙硫基、异丙硫基、正丁硫基、仲丁硫基、异丁硫基、叔丁硫基、戊硫基、异戊硫基、叔戊硫基、新戊硫基、1-甲基丁硫基、2-甲基丁硫基、正己硫基等。

[0111] 如本文所用,“取代的”表示化学基团的至少一个氢原子被非氢取代基或基团取代,该非氢取代基或基团可以是单价或二价的。当取代基或基团为二价时,应理解此基团进一步被另一取代基或基团取代。当本文中的化学基团被“取代”时,其可具有高达满价态的取代;例如,甲基可被1、2或3个取代基取代,亚甲基(甲基二基)可被1或2个取代基取代,苯基可被1、2、3、4或5个取代基取代,萘基可被1、2、3、4、5、6或7个取代基取代等。同样,“被一个或多个取代基取代”是指基团被一个取代基至至多所述基团物理上允许的总数量的取代基取代。此外,当基团被一个以上基团取代时,它们可以是相同的或者它们可以是不同的。

[0112] 本文所述的化合物还可包括互变异构形式,如酮-烯醇互变异构体等等。互变异构形式可处于平衡中或通过适当的取代在空间上锁定成一种形式。应当理解,各种互变异构形式在本发明化合物的范围内。

[0113] 应当理解和了解的是,式I及与此相关之式的化合物可具有一个或多个手性中心且因此可以对映异构体和/或非对映异构体形式存在。应了解本发明延伸至且包括所有此类对映异构体、非对映异构体和其混合物,包括但不限于外消旋体。应当理解,除非另外指出或示出,否则式I及本公开通篇使用的式的化合物旨在代表所有单独的对映异构体及其混合物。

[0114] 如本文所用的术语“保护基”是指在本领域中已知保护反应性基团(包括但不限于羟基和氨基)以免在合成过程中发生不希望的反应的不稳定化学部分。用保护基保护的羟基和氨基在本文中分别被称为“受保护的羟基”和“受保护的氨基”。保护基通常被选择性地和/或相对地使用以保护反应期间在其它反应性位点处的位点且随后可被除去以留下未保护的基团,其呈原样或可用于其它反应。如本领域中已知的保护基一般描述于Greene和Wuts,Protective Groups in Organic Synthesis,第3版,John Wiley&Sons,New York(1999)中。基团可选择性地作为前体并入本公开的化合物中。例如,氨基可作为叠氮基置于本文所述的化合物中,该叠氮基可在合成中的所需时刻在化学上转化为氨基。一般来说,基团作为前体被保护或存在,该前体对修饰母体分子的其它部分的反应呈惰性,以便在适当

的时间转化为其最终基团。其它代表性保护或前体基团论述于Agrawal,等人,Protocols for Oligonucleotide Conjugates,编著,Humana Press;New Jersey,1994;第26卷第172页中。羟基保护基的实例包括但不限于:叔丁基、叔丁氧基甲基、甲氧基甲基、四氢吡喃基、1-乙氧基乙基、1-(2-氯乙氧基)乙基、2-三甲基甲硅烷基乙基、对氯苯基、2,4-二硝基苯基、苄基、2,6-二氯苄基、二苯甲基、对硝基苄基、三苯甲基、三甲基甲硅烷基、三乙基甲硅烷基、叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基二苯基甲硅烷基(TBDPS)、三苯甲硅烷基、苯甲酰甲酸酯、乙酸酯、氯乙酸酯、三氯乙酸酯、三氟乙酸酯、新戊酸酯、苯甲酸酯、苯甲酸对苯酯、碳酸9-芴基甲酯、甲磺酸酯及甲苯磺酸酯。“氨基保护基”的实例包括但不限于氨基甲酸酯保护基,如2-三甲基甲硅烷基乙氧羰基(Teoc)、1-甲基-1-(4-联苯基)乙氧羰基(Bpoc)、叔丁氧羰基(BOC)、烯丙氧基羰基(Alloc)、9-芴基甲氧羰基(Fmoc)及苄氧羰基(Cbz);酰胺保护基,如甲酰基、乙酰基、三卤乙酰基、苯甲酰基及硝基苯基乙酰基;磺酰胺保护基,如2-硝基苯磺酰基;以及亚胺和环状亚胺保护基,如苯二酰亚氨基和二硫杂琥珀酰基(dithiasuccinoyl)。

[0115] 如本文所用的“前药”是指可在生理条件下或通过溶剂分解转化为本文所述的生物活性化合物的化合物。因此,术语“前药”是指药学上可接受的本文所述的化合物的代谢前体。前药当向有此需要的受试者施用时可以是非活性的,但体内转化为本文所述的活性化合物。在一个实施方案中,前药在体内快速地转化以产生本文所述的母体化合物,例如通过在血液中的水解。在一个实施方案中,前药在血浆或血液中可为稳定的。在一个实施方案中,前药可以是本文所述的化合物的靶向形式。前药化合物经常在哺乳动物生物体中提供溶解度、组织相容性或延迟释放的优点(参见Bundgard,H.,Design of Prodrugs(1985),第79,2124页(Elsevier,Amsterdam))。前药的论述提供于Higuchi,T.等人,A.C.S.Symposium Series,第14卷及Bioreversible Carriers in Drug Design,编著Edward B.Roche,American Pharmaceutical Association and Pergamon Press,1987中。

[0116] 术语“前药”包括任何共价键合的载体,当向哺乳动物受试者施用此类前药时其在体内释放本文所述的活性化合物。缀合物(包括如本文所公开的ADC)是本文所述化合物的此类前药。本文所述的化合物的前药可通过以修饰物在常规操作中或在体内裂解为本文所述的母体化合物的方式修饰本文所述的化合物中存在的官能团来制备。前药包括本文所述的化合物,其中羟基、氨基或巯基被键结至任何基团,当向哺乳动物受试者施用本文所述的化合物的前药时其裂解以分别形成游离的羟基、游离的氨基或游离的巯基。前药的实例包括但不限于醇官能团的乙酸酯、甲酸酯及苯甲酸酯衍生物,以及本文所述的化合物中的胺官能团的酰胺衍生物等等。

[0117] 本公开还包括了所有通过用具有不同原子质量或质量数的原子取代一个或多个原子而被同位素标记的本文所述的化合物。可并入所公开的化合物中的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、氟、氯及碘的同位素,分别如^{2}H、^{3}H、^{11}C、^{13}C、^{14}C、^{13}N、^{15}N、^{15}O、^{17}O、^{18}O、^{31}P、^{32}P、^{35}S、^{18}F、^{36}Cl、^{123}I及^{125}I。这些放射性同位素标记的化合物适用于通过表征例如作用位点或模式或与药理上重要的作用位点的结合亲和力来帮助测定或测量化合物的有效性。本文所述的某些同位素标记的化合物(例如,加入了放射性同位素的那些)适用于药物和/或底物组织分布研究中。考虑到其易于加入和现成的检测,放射性同位素氚(即^{3}H)和碳-14(即^{14}C)特别适用于此目的。

[0118] 用较重的同位素如氘(即^{2}H)的取代可由于更大的代谢稳定性,例如延长的体内半

衰期或减少的剂量要求而提供某些治疗优点且因此在一些情况下可为优选的。

[0119] 用正电子发射同位素如^{11}C、^{18}F、^{15}O及^{13}N的取代可适用于正电子发射断层扫描(PET)研究中以用于检查底物受体占有率。本文所述的同位素标记的化合物一般可通过本领域技术人员已知的常规技术或通过类似于以下阐述的制备和实施例中所述的过程使用适当的同位素标记试剂代替先前使用的非标记试剂来制备。

[0120] 本公开还旨在包括所公开的化合物的体内代谢产物。此类产物可由所施用化合物的例如氧化、还原、水解、酰胺化、酯化等产生,主要归因于酶促过程。因此,本公开包括通过一种方法产生的化合物,所述方法包括将本公开的化合物施用于哺乳动物持续足以产生其代谢产物的一段时间。此类产物通常通过以下操作来鉴别:将本文所述的放射性同位素标记的化合物以可检测的剂量施用于动物如大鼠、小鼠、豚鼠、猴或人类,允许足够代谢发生的时间,并且将其转化产物从尿液、血液或其它生物样品中分离。

[0121] 如本文所用的“稳定化合物”和“稳定结构”是指足够稳定以便经受得住从反应混合物中分离至有用的纯度并配制成有效治疗剂的化合物。

[0122] 其它定义

[0123] 术语“抗体”在本文中以广义使用且具体地包括完整单克隆抗体、多克隆抗体、由至少两个完整抗体形成的多特异性抗体(例如双特异性抗体)和抗体片段,只要它们展现所需生物活性。术语“抗体”是指全长免疫球蛋白分子或全长免疫球蛋白分子的功能活性部分,即含有免疫特异性地结合目标靶抗原或其部分的抗原结合位点的分子。本文所公开的免疫球蛋白可以是任一种类型(例如IgG、IgE、IgM、IgD及IgA)、类别(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2)或亚类的免疫球蛋白分子。免疫球蛋白可来源于任何物种。一方面,免疫球蛋白具有人、鼠或兔来源。另一方面,抗体为多克隆、单克隆、多特异性(例如双特异性)、人类、人源化或嵌合抗体、线性抗体、单链抗体、双抗体、大型抗体(maxibodies)、微型抗体、Fv、Fab片段、F(ab')片段、F(ab')2片段、由Fab表达文库产生的片段、抗独特型(抗Id)抗体、CDR、以及免疫特异性地结合至靶抗原的以上任一者的表位结合片段。

[0124] 如本文所用的术语“单克隆抗体”是指从基本上同源的抗体群获得的抗体,即,除可以微量存在的可能天然存在的突变之外群体相同的单独抗体。单克隆抗体包括“嵌合”抗体,其中重链和/或轻链的一部分与来源于特定物种或属于特定抗体类别或亚类的抗体中的相应序列相同或同源,而链的其余部分与来源于另一物种或属于另一抗体类别或亚类的抗体以及此类抗体片段中的相应序列相同或同源(参见,例如美国专利号4,816,567;及Morrison等人,1984,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 81:6851-6855)。单克隆抗体还包括人源化抗体,其可含有完全人类恒定区及来自非人类来源的CDR。

[0125] “完整”抗体是包含抗原结合可变区以及轻链恒定结构域(CL)和重链恒定结构域C_{H1}、C_{H2}及C_{H3}的抗体。恒定结构域可为天然序列恒定结构域(例如,人类天然序列恒定结构域)或其氨基酸序列变体。

[0126] 完整的抗体可具有一种或多种“效应子功能”,这指的是可归因于抗体的Fc区(天然序列Fc区或氨基酸序列变体Fc区)的那些生物活性。抗体效应子功能的实例包括C1q结合;补体依赖性细胞毒性(CDC);Fc受体结合;抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC);吞噬作用;细胞表面受体(例如B细胞受体;BCR)的下调等。在一些实施方案中,抗体缺乏效应子功能。

[0127] “抗体片段”包含完整抗体的一部分，优选包含抗原结合区或其可变区。抗体片段的实例包括Fab、Fab’、F(ab’)$_2$及Fv片段；双抗体；线性抗体；单链抗体分子；大型抗体；微型抗体；及由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0128] “分离的”抗体是已被鉴别并且从其自然环境的组分中分离和/或回收的抗体。其自然环境的污染组分是将干扰抗体的诊断或治疗用途的材料，并且可包括酶、激素及其它蛋白质或非蛋白质溶质。在一些实施方案中，抗体将被纯化(1)至大于95重量％的抗体，如通过Lowry方法所测定，且最优选超过99重量％，(2)通过利用转杯式测序仪至足以获得N端或内部氨基酸序列的至少15个残基的程度，或(3)使用考马斯蓝或优选银染色在还原或非还原条件下通过SDS-PAGE至均一性。分离的抗体包括在重组细胞内原位处的抗体，因为抗体自然环境的至少一种组分将不存在。然而，通常，分离的抗体将通过至少一个纯化步骤来制备。

[0129] “结合”目标抗原的抗体是能够用足以使得抗体适用于靶向表达抗原的细胞的亲和力结合那个抗原的抗体。

[0130] “天然序列”多肽是具有与来源于自然的多肽相同的氨基酸序列的多肽。此类天然序列多肽可从自然界中分离或可通过重组或合成手段产生。因此，天然序列多肽可具有天然存在的人类多肽、鼠多肽或来自任何其它哺乳动物物种的多肽的氨基酸序列。

[0131] 术语“细胞内代谢物”是指由在细胞内对本文所述的组合物(例如，抗体药物缀合物(ADC))的代谢过程或反应产生的化合物。该代谢过程或反应可为酶促过程，如主题组合物的肽接头的蛋白水解裂解，或主题组合物内的官能团如腙、酯或酰胺的水解。在缀合物(包括ADC)的情形中，细胞内代谢物包括但不限于抗体及游离药物，其已在细胞内被分离，即在进入之后，扩散、摄取或运送到细胞中(例如，通过由胞内酶进行的ADC的酶促裂解)。

[0132] 在缀合物(包括ADC)的情形中，术语“细胞内裂解(intracellularly cleaved)”和“细胞内裂解(intracellular cleavage)”是指在细胞内部对本文所述的组合物的代谢过程或反应，借此药物部分(D)与靶向部分(T)(例如抗体)之间的共价连接(例如接头(L))断裂，产生游离药物。在一个实施方案中，主题组合物的裂解部分因此是细胞内代谢物(例如，T、T-L片段、D-L片段和D)。因此，在一个实施方案中，本发明提供了是式II组合物的裂解产物的组合物，该裂解产物包括包含式I化合物的组合物。

[0133] 术语“细胞外裂解”是指在细胞外部对本文所述的组合物的代谢过程或反应，借此药物部分(D)与靶向部分(T)(例如抗体)之间的共价连接(例如接头(L))断裂，产生在细胞外部从(T)上解离的游离药物。在一个实施方案中，主题组合物的裂解部分因此是最初的细胞外代谢物(例如，T、T-L片段、D-L片段和D)，其可通过扩散及细胞渗透性或转运在细胞内移动。因此，在一个实施方案中，本发明提供了是式II组合物的裂解产物的组合物，该裂解产物包括包含式I化合物的组合物。

[0134] “哺乳动物”包括人和家畜，如实验室动物和家庭宠物(例如猫、狗、猪、牛、绵羊、山羊、马、兔)，及非家畜，如野生动物等。

[0135] “任选的”或“任选地”意指随后描述的情形事件有可能发生也有可能不发生，而且该描述包括以下所述事件或情形的例子以及不发生的例子。举例来说，“任选被取代的芳基”意指芳基取代基可能被取代也可能不被取代，而且该描述包括取代的芳基取代基以及未取代的芳基取代基。

[0136] “药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂”包括但不限于任何佐剂、载体、赋形剂、助流剂、甜味剂、稀释剂、防腐剂、染料/着色剂、增味剂、表面活性剂、润湿剂、分散剂、悬浮剂、稳定剂、等渗剂、溶剂或乳化剂,其已被美国食品与药物管理局(或另一管辖区域的其他类似管理机构)批准为在人或家畜中使用所接受。

[0137] “药学上可接受的盐”包括酸和碱加成盐。

[0138] “药学上可接受的酸加成盐”是指保留游离碱的生物有效性和性质的那些盐,其在生物或其它方面是合乎需要的,并且其是由以下形成:无机酸,如但不限于盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等;以及有机酸,如但不限于乙酸、2,2-二氯乙酸、已二酸、海藻酸、抗坏血酸、天冬氨酸、苯磺酸、安息香酸、4-乙酰胺基苯甲酸、樟脑酸、樟脑-10-磺酸、癸酸、已酸、辛酸、碳酸、肉桂酸、柠檬酸、环拉酸、十二烷基硫酸、乙烷-1,2-二磺酸、乙磺酸、2-羟基乙磺酸、甲酸、富马酸、半乳糖二酸、龙胆酸、葡庚糖酸、葡糖酸、葡糖醛酸、谷氨酸、戊二酸、2-氧代基-戊二酸、甘油磷酸、羟基乙酸、马尿酸、异丁酸、乳酸、乳糖酸、十二烷酸、马来酸、苹果酸、丙二酸、扁桃酸、甲磺酸、粘酸、萘-1,5-二磺酸、萘-2-磺酸、1-羟基-2-萘甲酸、烟酸、油酸、乳清酸、草酸、棕榈酸、双羟萘酸、丙酸、焦谷氨酸、丙酮酸、水杨酸、4-氨基水杨酸、癸二酸、硬脂酸、丁二酸、酒石酸、硫氰酸、对甲苯磺酸、三氟乙酸、十一碳烯酸等。

[0139] “药学上可接受的碱加成盐”是指保留游离酸的生物有效性和性质的那些盐,其在生物或其它方面是合乎需要的。这些盐是由无机碱或有机碱加成到游离酸上来制备。衍生自无机碱的盐包括但不限于钠、钾、锂、铵、钙、镁、铁、锌、铜、锰、铝盐等。优选的无机盐是铵、钠、钾、钙和镁盐。衍生自有机碱的盐包括但不限于以下的盐:伯、仲及叔胺;取代的胺,包括天然存在的取代胺;环胺和碱离子交换树脂,如氨、异丙胺、三甲胺、二乙胺、三乙胺、三丙胺、二乙醇胺、乙醇胺、丹醇、2二甲氨基乙醇、2二乙氨基乙醇、二环已胺、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、咖啡因、普鲁卡因、海巴明、胆碱、甜菜碱、苄乙胺、苯乍生、乙二胺、葡糖胺、甲基葡糖胺、可可碱、三乙醇胺、氨丁三醇、嘌呤、哌嗪、哌啶、N-乙基哌啶、多胺树脂等。特别优选的有机碱是异丙胺、二乙胺、乙醇胺、三甲胺、二环已胺、胆碱及咖啡因。

[0140] 结晶常常产生本文所述的化合物的溶剂化物。如本文所用,术语“溶剂化物”是指包含本文所述的化合物的一个或多个分子与溶剂的一个或多个分子的聚集物。溶剂可为水,在此情形下,溶剂化物可为水合物。或者,溶剂可为有机溶剂。因此,本公开的化合物可以水合物形式存在,包括一水合物、二水合物、半水合物、倍半水合物、三水合物、四水合物等,以及相应的溶剂化物形式。本文所述的化合物可为真正的溶剂化物,而在其它情况下,本文所述的化合物可仅保持外来水或是水加上一些外来溶剂的混合物。

[0141] “药物组合物”是指本文所述的化合物与本领域中普遍接受的介质的制剂,其是用于将生物活性化合物递送给哺乳动物,例如人。此类介质包括所有药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

[0142] 本文中有待治疗的病症的非限制性实例包括良性和恶性肿瘤;白血病和淋巴样恶性肿瘤,具体说来乳腺癌、卵巢癌、胃癌、子宫内膜癌、唾液腺癌、肺癌、肾癌、结肠癌、甲状腺癌、胰腺癌、前列腺癌或膀胱癌;神经元、神经胶质细胞、星形胶质细胞、下丘脑及其它腺体、巨噬细胞、上皮细胞、间质和囊胚腔病症、自身免疫疾病、炎性疾病、纤维化及感染性疾病。考虑到主题组合物的特征且特别是效力,熟练技术人员将显而易见,本文所述的化合物可被示为用于治疗任何疾病,其中需要发挥针对靶细胞的细胞毒性或细胞毒性作用。

[0143] 在一个实施方案中,本文所述的组合物被用于治疗自身免疫疾病。对负责产生自身免疫抗体的细胞的抗原有免疫特异性的抗体可从任何机构(例如,大学的科学家或公司如Genentech)获得或通过本领域技术人员已知的任何方法(例如化学合成或重组表达技术)产生。在另一实施方案中,对自身免疫疾病的治疗有免疫特异性的有用的配体抗体包括但不限于:抗核抗体;抗双链DNA;抗单链DNA、抗心磷脂抗体IgM、IgG;抗磷脂抗体IgM、IgG;抗SM抗体;抗线粒体抗体;甲状腺抗体;微粒体抗体;甲状腺球蛋白抗体;抗SCL-70;抗Jo;抗U1RNP;抗La/SSB;抗SSA;抗SSB;抗壁细胞(Perital Cell)抗体;抗组蛋白;抗RNP;C-ANCA;P-ANCA;抗着丝点;抗纤维蛋白及抗GBM抗体。在某些优选实施方案中,适用于本方法中的抗体可结合至在活化的淋巴细胞上表达的受体或受体复合物。

[0144] 受体或受体复合物可包含免疫球蛋白基因超家族成员、TNF受体超家族成员、整联蛋白、细胞因子受体、趋化因子受体、主要组织相容性蛋白、凝集素或补体调控蛋白。合适的免疫球蛋白超家族成员的非限制性实例是CD2、CD3、CD4、CD8、CD19、CD22、CD28、CD79、CD90、CD152/CTLA-4、PD-1和ICOS。

[0145] 合适的TNF受体超家族成员的非限制性实例是CD27、CD40、CD95/Fas、CD134/OX40、CD137/4-1BB、TNF-R1、TNFR-2、RANK、TACI、BCMA、骨保护素、Apo2/TRAIL-R1、TRAIL-R2、TRAIL-R3、TRAIL-R4和APO-3。合适的整联蛋白的非限制性实例是CD11a、CD11b、CD11c、CD18、CD29、CD41、CD49a、CD49b、CD49c、CD49d、CD49e、CD49f、CD103和CD104。合适的凝集素的非限制性实例是C型、S型和I型凝集素。

[0146] 在一个实施方案中,配体是结合至与自身免疫疾病有关的活化的淋巴细胞的抗体。

[0147] 特征为免疫细胞的不当激活并且可通过本文所述的方法治疗或预防的免疫疾病可例如通过作为病症基础的超敏反应的类型来分类。这些反应通常被分为四种类型:过敏反应、细胞毒性(溶细胞)反应、免疫复合体反应或细胞介导的免疫(CMI)反应(也称为延迟型超敏(DTH)反应)。(参见,例如Fundamental Immunology(William E.Paul编著,Raven Press,N.Y.,第3版1993))。

[0148] 此类免疫疾病的具体实例包括以下:类风湿性关节炎、自身免疫性脱髓鞘疾病(例如多发性硬化症、变态反应性脑脊髓炎)、内分泌眼病、葡萄膜视网膜炎、全身性红斑狼疮、重症肌无力、格雷夫斯氏病(Grave's disease)、肾小球性肾炎、自身免疫性血液病、炎性肠病(例如克罗恩氏病(Crohn's disease))、过敏症、变态反应、干燥综合征(Sjogren's syndrome)、I型糖尿病、原发性胆汁性肝硬化、韦格纳氏肉芽肿病(Wegener's granulomatosis)、纤维肌痛、多发性肌炎、皮肌炎、多内分泌腺衰竭、施密特氏综合征(Schmidt's syndrome)、自身免疫性葡萄膜炎、阿狄森氏病(Addison's disease)、肾上腺炎、甲状腺炎、桥本氏甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis)、自身免疫性甲状腺病、恶性贫血、胃萎缩、慢性肝炎、狼疮样肝炎、动脉粥样硬化、亚急性皮肤型红斑狼疮、甲状旁腺机能减退、心肌梗塞后综合征(Dressler's syndrome)、自身免疫性血小板减少症、特发性血小板减少性紫癜、溶血性贫血、寻常天疱疮、天疱疮、疱疹样皮炎、斑形脱发、类天疱疮、硬皮病、进行性全身性硬化、CREST综合征(钙质沉着、雷诺氏现象(Raynaud's phenomenon)、食道蠕动障碍、指硬皮病)和毛细血管扩张)、男性和女性自身免疫性不孕症、强直性脊柱炎、溃疡性结肠炎、混合性结缔组织病、结节性多动脉炎、全身性坏死性脉管炎、特应性皮炎、特

应性鼻炎、古德帕斯彻氏综合征(Goodpasture′s syndrome)、查加斯氏病(Chagas′ disease)、结节病、风湿热、哮喘、反复流产、抗磷脂综合征、农民肺、多形性红斑、心切开术后综合征、库欣氏综合征(Cushing′s syndrome)、自身免疫性慢性活动性肝炎、养鸟者肺、中毒性表皮坏死溶解、阿尔波特氏综合征(Alport′s syndrome)、牙槽炎、过敏性牙槽炎、纤维性肺泡炎、间质性肺病、结节性红斑、坏疽性脓皮病、输血反应、高安氏动脉炎(Takayasu′s arteritis)、风湿性多肌痛、颞动脉炎、血吸虫病、巨细胞性动脉炎、蛔虫病、曲霉病、萨姆普特氏综合征(Sampter′s syndrome)、、湿疹、淋巴瘤样肉芽肿病、白塞氏病(Behcet′s disease)、卡普兰氏综合征(Caplan′s syndrome)、川崎病(Kawasaki′s disease)、登革热、脑脊髓炎、心内膜炎、心肌内膜纤维化、眼内炎、持久性隆起性红斑、牛皮癣、胎儿成红细胞增多病、嗜酸性筋膜炎、舒尔曼氏综合征(Shulman′s syndrome)、费尔蒂氏综合征(Felty′s syndrome)、丝虫病、睫状体炎、慢性睫状体炎、异时性睫状体炎、富克氏睫状体炎(Fuch′s cyclitis)、IgA肾病、亨-舍二氏紫癜(Henoch-Schonlein purpura)、移植物抗宿主疾病、移植排斥、心肌病、伊顿-兰伯特肌无力综合征(Eaton-Lambert syndrome)、复发性多软骨炎、冷球蛋白血症、瓦尔登斯特伦氏巨球蛋白血症(Waldenstrom′s macroglobulemia)、伊文氏综合征(Evan′s syndrome)和自身免疫性性腺生成障碍。因此,本文所述的方法包括治疗以下病症:B淋巴细胞(例如,全身性红斑狼疮、古德帕斯彻氏综合征、类风湿性关节炎及I型糖尿病)、Th1淋巴细胞(例如,类风湿性关节炎、多发性硬化症、牛皮癣、干燥综合征、桥本氏甲状腺炎、格雷夫斯病、原发性胆汁性肝硬化、韦格纳氏肉芽肿病、肺结核或急性移植物抗宿主疾病)或Th2淋巴细胞(例如,特应性皮炎、全身性红斑狼疮、变应性哮喘、鼻炎结膜炎、过敏性鼻炎、欧门氏(Omenn′s syndrome)综合征、全身性硬化或慢性移植物抗宿主疾病)。一般而言,涉及树突细胞的病症包括Th1淋巴细胞或Th2淋巴细胞的病症。

[0149] 在某些实施方案中,免疫病症是T细胞介导的,其可包括活化的T细胞。可施用ADC或ADC衍生物以耗尽此类活化的T细胞。

[0150] 在一个实施方案中,本文所述的组合物可用于治疗纤维化。纤维化可在体内的许多组织中出现,通常由于炎症或损伤,实例包括但不限于:肺脏,肺纤维化、特发性肺纤维化、囊性纤维化;肝脏,肝硬化;心脏,心肌内膜纤维化、陈旧性心肌梗塞、心房纤维化;其它,纵隔纤维化(纵隔的软组织)、骨髓纤维化(骨髓)、腹膜后纤维化(腹膜后腔的软组织)、进行性大块纤维化(肺);煤炭工人肺尘埃沉着病的并发症、肾原性全身性纤维化(皮肤)、克罗恩氏病(肠)、瘢痕瘤(皮肤)、硬皮病/全身性硬化(皮肤、肺)、关节纤维化(膝、肩、其它关节)、佩罗尼氏病(Peyronie′s disease)(阴茎)、杜普伊特兰氏挛缩症(Dupuytren′s contracture)(手、手指)及某些形式的粘连性关节囊炎(肩)。

[0151] 关于感染性疾病,本文所述的组合物可直接作用于某些感染性因子或病原体,或可用于对载有或另外提供感染性因子或病原体的宿主细胞发挥细胞抑制性或细胞毒性作用。

[0152] “有效量”或“治疗有效量”是指本文所述的化合物当向哺乳动物(优选人类)施用时足以实现如以下所定义治疗特定适应症(例如,在哺乳动物(优选人类)中的癌症或肿瘤细胞)的量。构成“治疗有效量”的本文所述的化合物的量将根据化合物、病状及其严重性、施用方式和有待治疗的哺乳动物的年龄而变化,但可由本领域技术人员根据其所具备的知识并虑及本公开来常规地确定。

[0153] 如本文所用的“治疗(Treating)”或“治疗(treatment)”包括治疗患有目标疾病或病状的哺乳动物(优选人类)中的目标疾病或病状,并且包括:

[0154] (i)预防所述疾病或病状在哺乳动物中出现,特别是当此类哺乳动物易患该病但尚未被诊断为患有该病时;

[0155] (ii)抑制所述疾病或病状,即,阻止其发展;

[0156] (iii)减轻所述疾病或病状,即,造成疾病或病状的消退;或

[0157] (iv)减轻由所述疾病或病状产生的症状,即,减轻疼痛但不解决原发疾病或病状。

[0158] 关于癌症治疗的化合物的治疗有效量可减少癌细胞数量;减小肿瘤尺寸;抑制(即,在某种程度上减慢且优选终止)癌细胞浸润到外周器官中;抑制(即,在某种程度上减慢且优选终止)肿瘤转移;在某种程度上抑制肿瘤生长;增加存活时间;和/或在某种程度上减轻一种或多种与所述癌症有关的症状。如果药物可预防生长和/或杀灭现存的癌细胞,那么其可为细胞抑制性和/或细胞毒性的。本发明化合物优选为细胞毒性的。对于癌症疗法,功效可例如通过评价至疾病进展的时间(TTP)和/或测定反应率(RR)来测量。

[0159] 关于有待实现的具体结果的“有效量”是足以达到所需结果的量。例如,当关于杀灭癌细胞时提及的药物的“有效量”是指足以产生杀灭效果的药物的量。

[0160] 预期使用本公开的化合物治疗的实体肿瘤包括但不限于:肉瘤、纤维肉瘤、粘液肉瘤、脂肪肉瘤、软骨肉瘤、骨肉瘤、脊索瘤、血管肉瘤、内皮肉瘤、淋巴管肉瘤、淋巴管内皮肉瘤、滑膜瘤、间皮瘤、尤因氏瘤(Ewing′s tumor)、平滑肌肉瘤、横纹肌肉瘤、结肠癌、结肠直肠癌、肾癌、胰腺癌、骨癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、食道癌、胃癌(例如胃肠癌)、口腔癌、鼻癌、喉癌、鳞状细胞癌(例如,肺的)、基底细胞癌、腺癌(例如,肺的)、汗腺癌瘤、皮脂腺癌瘤、乳头状癌、乳头状腺癌、囊腺癌、髓样癌、支气管癌、肾细胞癌、肝癌、胆管癌、绒毛膜癌、精原细胞瘤、胚胎癌、韦尔姆斯氏瘤(Wilms′ tumor)、子宫颈癌、子宫癌、睾丸癌、小细胞肺癌、膀胱癌、肺癌、非小细胞肺癌、上皮癌、神经胶质瘤、成胶质细胞瘤、多形性星形细胞瘤、成神经管细胞瘤、颅咽管瘤、室管膜瘤、松果体瘤、成血管细胞瘤、听神经瘤、寡树突神经胶细胞瘤、脑膜瘤、皮肤癌、黑色素瘤、神经母细胞瘤和成视网膜细胞瘤。预期使用本公开的化合物治疗的血液相关癌症包括但不限于:急性淋巴母细胞性白血病“ALL”、急性成淋巴细胞性B细胞白血病、急性成淋巴细胞性T细胞白血病、急性髓母细胞性白血病“AML”、急性早幼粒细胞白血病“APL”、急性单核细胞性白血病、急性红白血病性白血病、急性巨核细胞性白血病、急性髓单核细胞性白血病、急性非淋巴细胞性白血病、急性未分化性白血病、慢性粒细胞性白血病“CML”、慢性淋巴细胞性白血病“CLL”、毛细胞白血病和多发性骨髓瘤。预期使用本公开的化合物治疗的急性和慢性白血病包括但不限于:成淋巴细胞性白血病、髓细胞性白血病、淋巴细胞性白血病和骨髓性白血病。预期使用本公开的化合物治疗的淋巴瘤包括但不限于:何杰金氏病(Hodgkin′s disease)、非何杰金氏淋巴瘤、多发性骨髓瘤、瓦尔登斯特伦氏巨球蛋白血症、重链病和真性红细胞增多。预期使用本公开的化合物治疗的其它癌症包括但不限于:腹膜癌、肝细胞癌、肝癌、唾液腺癌、外阴癌、甲状腺癌、阴茎癌、肛门癌、头颈癌、肾细胞癌、急性间变性大细胞癌和皮肤间变性大细胞癌。

[0161] 包括但不限于肿瘤、转移或特征为不受控制或不希望的细胞生长的其它疾病或病症的癌症可通过施用本公开的化合物来治疗或预防。

[0162] 在其它实施方案中,提供用于治疗或预防癌症的方法,所述方法包括向有此需要

的患者施用有效量的本文所公开的化合物与另外的治疗方法的组合。在一个实施方案中，另外的治疗方法包括化疗剂的治疗。在一个实施方案中，化疗剂是借此癌症的治疗未被认为是难治性的。在另一实施方案中，化疗剂是借此癌症的治疗被认为是难治性的。本文所述的化合物可在化疗剂之前、之后或与其同时施用。

[0163] 在一个实施方案中，另外的治疗方法是放射疗法。本文所述的化合物可在放射之前、之后或与其同时施用。

[0164] 本文所述的化合物也可向经历过或将经历癌症治疗手术的患者施用。

[0165] 在具体的实施方案中，本文所述的化合物与化疗剂或放射疗法同时施用。在另一具体的实施方案中，化疗剂或放射疗法在本文所述的化合物施用之前或之后施用，一方面，在本文所述的化合物施用之前或之后至少一小时、五小时、12小时、一天、一周、一个月，在其它方面中若干个月(例如，长达三个月)。

[0166] 化疗剂可在一系列的时间段上施用。可施用本文所列举的或另外本领域中已知的化疗剂的任一种或组合。关于放射，任何放射疗法方案可取决于有待治疗的癌症类型而使用。举例来说，但并非出于限制，可施用x射线放射；具体说来，高能巨电压(大于1MeV能量的放射)可用于深部的肿瘤，且电子束及正电压x射线放射可用于皮肤癌。也可施用γ-射线放射性同位素，如镭、钴及其它元素的放射性同位素。

[0167] 另外，提供用本文所述的化合物的癌症治疗方法作为化疗或放射疗法的替代，其中化疗或放射疗法已被证明或可被证明为毒性过高，例如，对所治疗的受试者产生不可接受的或无法忍受的副作用。另外，提供用本文所述的化合物的癌症治疗方法作为手术的替代，其中手术已被证明或可被证明为所治疗的受试者不可接受或无法忍受的。

[0168] 本文所述的化合物还可以体外或离体方式使用，如用于治疗某些癌症，包括但不限于白血病和淋巴瘤，此类治疗包括自体干细胞移植。此可包括多步过程，其中收集动物的自体造血干细胞并清除所有的癌细胞，然后经由施用高剂量的本文所述的化合物伴有或不伴有高剂量放射疗法根除动物的剩余骨骼-骨髓细胞群，并将干细胞移植物输注回到动物中。随后当骨髓功能恢复且动物恢复时提供支持性护理。

[0169] 用于治疗癌症的方法还包括向有此需要的患者施用有效量的本文所述的化合物和作为抗癌剂的另一治疗剂。合适的抗癌剂包括但不限于氨甲蝶呤、紫杉酚、L-天冬酰胺酶、巯基嘌呤、硫鸟嘌呤、羟基脲、阿糖胞苷、环磷酸酰胺、异环磷酰胺、亚硝基脲、顺铂、卡铂、丝裂霉素、氮烯唑胺、甲基苄肼、拓扑替康、氮芥、环磷酰胺、依托泊苷、5-氟尿嘧啶、BCNU、依立替康、喜树碱、博来霉素、阿霉素、伊达比星、柔红霉素、放线菌素D、更生霉素、普卡霉素、米托蒽醌、天冬酰胺酶、长春花碱、长春新碱、去乙酰长春酰胺、长春瑞滨、紫杉醇和多西他赛。

[0170] 化疗剂的其它实例包括烷化剂，如噻替派和CYTOXAN®环磷酰胺；烷基磺酸盐，如白消安、苏消安、英丙舒凡及保释芬；氮丙啶，如苯并多巴、卡波醌、美妥替哌(meturedopa)及脲多巴；乙烯亚胺和甲基蜜胺类(methylamelamine)，包括六甲蜜胺、曲他胺、三乙烯磷酰胺、三乙烯硫代磷酰胺及三羟甲基蜜胺；TLK 286(TELCYTA™)；多聚乙酰(特别是布拉他辛和布拉他辛酮)；δ-9-四氢大麻酚(屈大麻酚，MARINOL®)；β-拉帕醌；拉帕醇；秋水仙碱；桦木酸；喜树碱(包括合成类似物拓扑替康(HYCAMTIN®)、CPT-11(依立替康，CAMPTOSAR®)、乙酰喜树碱、东莨菪素(scopolectin)及9-氨基喜树碱)；苔藓

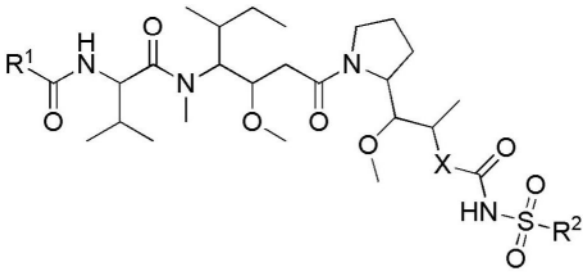
抑素;海绵他汀(callystatin);CC-1065(包括其阿多来新、卡折来新及比折来新合成类似物);鬼臼霉素;足叶草酸;替尼泊苷;隐藻素类(特别是隐藻素1和隐藻素8);多拉司他汀;倍癌霉素(包括合成类似物、KW-2189及CB1-TM1);伊璐霉素;水鬼蕉碱;匍枝珊瑚醇(sarcodictyin);软海绵素;氮芥,如氮芥苯丁酸、萘氮芥、环磷酰胺、雌氮芥、异环磷酰胺、氮芥、盐酸甲氧氮芥、美法仑、新恩比兴、胆固醇苯乙酸氮芥、松龙苯芥、氯乙环磷酰胺和尿嘧啶氮芥;三嗪类,如达卡巴嗪;亚硝基脲类,如卡莫司汀、氯脲霉素、福莫司汀、洛莫司汀、尼莫司汀及雷莫司汀(ranimnustine);表鬼臼毒素(epipodophyllin),如依托泊苷、替尼泊苷、拓扑替康、9-氨基喜树碱、喜树碱(camptothecin orcrisnatol);双膦酸盐,如氯膦酸盐;抗生素,如烯二炔抗生素(例如加利车霉素,特别是加利车霉素γ1I和加利车霉素ω11(参见,例如Agnew,Chem.Intl.Ed.Engl.,33:183-186(1994))和蒽环霉素,如蒽那霉素、AD32、阿柔比星、柔红霉素、右雷佐生、DX-52-1、表柔比星、GPX-100、伊达比星、KRN5500、美诺立尔、达内霉素包括达内霉素A、埃斯培拉霉素、新制癌菌素发色团及相关色蛋白烯二炔抗生素发色团、阿克拉霉素(aclacinomysins)、放线菌素、安曲霉素(authramycin)、重氮丝氨酸、博来霉素(例如A2和B2)、放线菌素C、卡柔比星(carabicin)、洋红霉素(caminomycin)、嗜癌菌素、色霉素(chromomycinis)、更生霉素、地托比星、6-重氮基-5-氧代基-L-正亮氨酸、ADRIAMYCIN®阿霉素(包括吗啉代-阿霉素、氰基吗啉代-阿霉素、2-吡咯啉并-阿霉素、脂质体阿霉素和去氧阿霉素)、依索比星、麻西罗霉素、丝裂霉素如丝裂霉素C、霉酚酸、诺加霉素、橄榄霉素、培洛霉素、泊非霉素(potfiromycin)、嘌呤霉素、三铁阿霉素、罗多比星、链黑菌素、链脲霉素、杀结核菌素、乌苯美司、净司他丁和佐柔比星;光能疗法,如苯并卟啉衍生物单酸(BPD-MA)、酞菁、光敏剂Pc4和去甲氧基-竹红菌素A(2BA-2-DMHA);叶酸类似物,如二甲叶酸、蝶罗呤和三甲曲沙;嘌呤类似物,如氟达拉滨、6-巯基嘌呤、硫咪嘌呤和硫鸟嘌呤;嘧啶类似物,如环胞苷、阿扎胞苷、6-氮尿苷、卡莫氟、阿糖胞苷(cytarabine)、阿糖胞苷(cytosine arabinoside)、二脱氧尿苷、去氧氟尿苷、依诺他滨和氟尿苷;雄激素,如二甲睾酮、丙酸屈他雄酮、环硫雄醇、美雄烷和睾内酯;抗肾上腺素,如氨鲁米特、米托坦和曲洛司坦;叶酸补充剂,如亚叶酸(甲酰四氢叶酸);醋葡醛内酯;抗叶酸抗肿瘤剂,如ALIMTA®、LY231514培美曲塞、二氢叶酸还原酶抑制剂如氨甲蝶呤和三甲曲沙;抗代谢物如5-氟尿嘧啶(5-FU)及其前药如UFT、S-1及卡培他滨、氟尿苷、去氧氟尿苷及雷替曲塞;及胸苷酸合酶抑制剂和甘氨酰胺核苷酸甲酰基转移酶抑制剂如雷替曲塞(TOMUDEX®, TDX);二氢嘧啶脱氢酶的抑制剂,如恩尿嘧啶;醛磷酰胺糖苷;氨基乙酮戊酸;安吖啶;阿莫司汀;比生群;依达曲沙;地磷酰胺(defofamine);秋水仙胺;地吖醌;艾氟米辛(elformithine);醋酸羟吡咔唑;埃博霉素;乙环氧啶;硝酸镓;羟基脲;蘑菇多糖;氯尼达明(lonidainine);美登木素生物碱,如美登素和美登木素;米托胍腙;米托蒽醌;莫哌达醇(mopidanmol);二胺硝吖啶(nitraerine);喷司他丁;蛋氨氮芥;吡柔比星;洛索蒽醌;2-乙酰肼;甲基苄肼;PSK®多糖复合物(JHS Natural Products,Eugene,OR);丙亚胺;利索新;西佐喃;锗螺胺;细交链孢菌酮酸;三亚胺醌;2,2',2"-三氯三乙胺;单端孢菌素类(特别是T-2毒素、疣孢菌素(verracurin)A、杆孢菌素A及蛇形菌素);乌拉坦;长春地辛(ELDISINE®、FILDESIN®);氮烯唑胺;甘露醇氮芥;二溴甘露醇;二溴卫矛醇;双溴丙基哌嗪;加西托星(gacytosine);阿拉伯糖苷("Ara-C");环磷酸酰胺;噻替派;紫杉醇和紫杉烷、例如TAXOL®紫杉醇(Bristol-Myers Squibb Oncology,Princeton,N.J.)、

ABRAXANE™不含聚氧乙烯蓖麻油的、紫杉醇的白蛋白工程改造的纳米颗粒制剂(American Pharmaceutical Partners,Schaumberg,Ill.)和TAXOTERE®多西他赛(Rhone-Poulenc Rorer,Antony,France);苯丁酸氮芥;吉西他滨(GEMZAR®);6-硫代鸟嘌呤;巯基嘌呤:铂;铂类似物或基于铂的类似物,如顺铂、奥沙利铂及卡铂;长春花碱(VELBAN®);依托泊苷(VP-16);异环磷酰胺;米托蒽醌;长春新碱(ONCOVIN®);长春花生物碱;长春瑞滨(NAVELBINE®);万珂;来那度胺;沙利度胺;IMiD3;洛伐他汀;维拉帕米;毒胡萝卜素;1-甲基-4-苯基吡啶;细胞周期抑制剂,如星状孢菌素;诺消灵(novantrone);依达曲沙;道诺霉素;米托蒽醌;氨基蝶呤;卡培他滨;伊班膦酸盐;拓扑异构酶抑制剂RFS 2000;二氟甲基鸟氨酸(DMFO);维生素D3类似物,如EB 1089、CB1093及KH 1060;类视黄醇,如视黄酸;以上任一种的药学上可接受的盐、酸或衍生物;以及以上两种或更多种的组合,如CHOP,即环磷酸酰胺、阿霉素、长春新碱及氢化泼尼松的组合疗法的缩写;及FOLFOX,即奥沙利铂(ELOXATIN™)与5-FU和甲酰四氢叶酸组合的治疗方案的缩写。

[0171] 用于调节或抑制肿瘤上的激素作用的抗激素剂如抗雌激素和选择性雌激素受体调节剂(SERM)包括例如他莫昔芬(包括NOLVADEX®他莫昔芬)、雷洛昔芬、甲地孕酮、屈洛昔芬、4-羟基他莫昔芬、曲沃昔芬、雷洛昔芬、LY117018、奥那司酮和FARESTON®托瑞米芬;抑制芳香酶的芳香酶抑制剂,其调节肾上腺中的雌激素产生,例如像4(5)-咪唑、氨鲁米特、MEGASE®乙酸甲地孕酮、AROMASIN®依西关坦、福关司坦(formestanie)、法倔唑、RIVISOR®伏氯唑、FEMARA®来曲唑和ARIMIDEX®阿那曲唑;及抗雄激素,如氟他胺、比卡鲁胺、尼鲁米特、比卡鲁胺、亮丙瑞林及戈舍瑞林;以及曲沙他滨(1,3-二氧戊环核苷胞嘧啶类似物);反义寡核苷酸,特别是抑制异常细胞增殖中所涉及的信号途径中的基因表达的那些反义寡核苷酸,例如像PKC-α、Raf、H-Ras和表皮生长因子受体(EGF-R);疫苗,如基因疗法疫苗,例如像ALLOVECTIN®疫苗、LEUVECTIN®疫苗和VAXID®疫苗;PROLEUKIN®rIL-2;LURTOTECAN®拓扑异构酶1抑制剂;ABARELIX®rmRH;以及以上任一种的药学上可接受的盐、酸或衍生物。

[0172] 新型化合物

[0173] 提供了式I化合物:

[0174] 

I

[0175] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0176] R^1选自:氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、氨基-杂环基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷硫基、羧基、羧酰胺、C_3-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、胍基、卤基、C_1-C_6卤酰基、C_1-C_6卤烷基、杂环基、杂环基-C_1-C_6烷基、羟基和硫基;或

[0177] R^1为$R^aR^bNCH(R^c)-$;

[0178] R^a选自:H和C_1-C_6烷基;

[0179] R^b为C_1-C_6烷基;且

[0180] R^c为R^d-$C(CH_3)_2$-;且

[0181] R^d选自:H、芳基、C_3-C_7环烷基和杂芳基,其各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_4酰硫基、C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基、C_1-C_4烷基氨基、C_1-C_4烷氧基、氨基、氨基-C_1-C_4烷基、卤基、C_1-C_4卤烷基、羟基、羟基-C_1-C_4烷基和硫基,其中C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基氨基及C_1-C_4烷氧基进一步任选被一个选自以下的取代基取代:C_1-C_4烷基芳基、羟基和硫基;或

[0182] R^b和R^c与其各自所键结的原子一起形成杂环基二基;

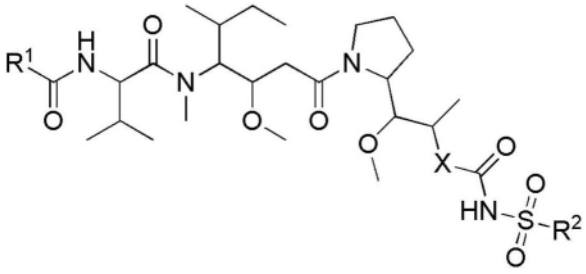
[0183] R^2选自:C_2-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_4-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤酰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基;并且

[0184] X为-C(O)NHCH(CH_2R^3)-,或X不存在;并且

[0185] R^3选自:芳基、杂芳基和C_3-C_7环烷基,各自任选被一个选自氨基和羟基的取代基取代。

[0186] 在一些实施方案中,当R^1为2-甲基-1-(甲基氨基)丙基,且X为-C(O)NHCH(CH_2Ph)-时,R^2不为乙基、异丙基、正丁基及苯基。

[0187] 还提供了式I化合物:

[0188] 

I

[0189] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0190] R^1选自:氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、氨基-杂环基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷硫基、羧基、羧酰胺、C_3-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、胍基、卤基、C_1-C_6卤酰基、C_1-C_6卤烷基、杂环基、杂环基-C_1-C_6烷基、羟基和硫基;或

[0191] R^1为$R^aR^bNCH(R^c)-$;

[0192] R^a选自:H和C_1-C_6烷基;

[0193] R^b为C_1-C_6烷基;且

[0194] R^c为R^d-$C(CH_3)_2$-;且

[0195] R^d选自:H、芳基、C_3-C_7环烷基和杂芳基,其各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_4酰硫基、C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基、C_1-C_4烷基氨基、C_1-C_4烷氧基、氨基、氨基-C_1-C_4

烷基、卤基、C_1-C_4卤烷基、羟基、羟基-C_1-C_4烷基和硫基，其中C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基氨基及C_1-C_4烷氧基进一步任选被一个选自以下的取代基取代：C_1-C_4烷基芳基、羟基和硫基；或

[0196] R^b和R^c与其各自所键结的原子一起形成杂环基二基；

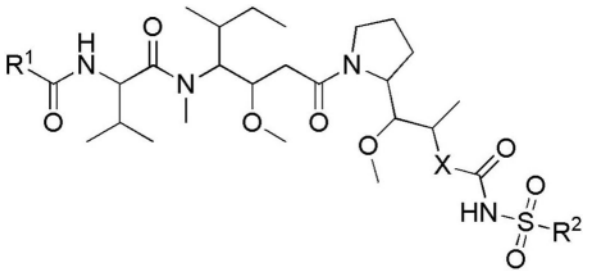
[0197] R^2选自：C_1-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_3-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基，各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代：C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤酰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基；并且

[0198] X为-C(O)NHCH(CH_2R^3)-，或X不存在；并且

[0199] R^3选自：芳基、杂芳基和C_3-C_7环烷基，各自任选被一个选自氯基和羟基的取代基取代。

[0200] 在一些实施方案中，当R^1为2-甲基-1-(甲基氨基)丙基，且X为-C(O)NHCH(CH_2Ph)-时，R^2不为甲基、乙基、异丙基、正丁基、环丙基及苯基。

[0201] 还提供了式I化合物：

[0202] 

I

[0203] 及其药学上可接受的盐，其中：

[0204] R^1选自：氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、氨基-杂环基和杂环基，各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代：芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷硫基、羧基、羧酰胺、C_3-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、胍基、卤基、C_1-C_6卤酰基、C_1-C_6卤烷基、杂环基、杂环基-C_1-C_6烷基、羟基和硫基；或

[0205] R^1为$R^aR^bNCH(R^c)$-；

[0206] R^a选自：H和C_1-C_6烷基；

[0207] R^b为C_1-C_6烷基；且

[0208] R^c为R^d-$C(CH_3)_2$-；且

[0209] R^d选自：H、芳基、C_3-C_7环烷基和杂芳基，其各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代：C_1-C_4酰硫基、C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基、C_1-C_4烷基氨基、C_1-C_4烷氧基、氨基、氨基-C_1-C_4烷基、卤基、C_1-C_4卤烷基、羟基、羟基-C_1-C_4烷基和硫基，其中C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基氨基及C_1-C_4烷氧基进一步任选被一个选自以下的取代基取代：C_1-C_4烷基芳基、羟基和硫基；或

[0210] R^b和R^c与其各自所键结的原子一起形成杂环基二基；

[0211] R^2选自：C_2-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_4-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基，各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代：C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-

C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤酰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基;并且

[0212] X不存在。

[0213] 变量R^1

[0214] 在一些实施方案中,R^1选自:氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、氨基-杂环基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷硫基、羧基、羧酰胺、C_3-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、胍基、卤基、C_1-C_6卤烷基、杂环基、杂环基-C_1-C_6烷基、羟基和硫基。

[0215] 在一些实施方案中,R^1选自:氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、氨基-杂环基和杂环基,各自任选被一个或多个选自C_1-C_6烷基和卤基的取代基取代。

[0216] 在一些实施方案中,R^1选自:1-(二甲基氨基)-2-甲基丙基、2-甲基-1-(甲基氨基)丙基、1-氨基环戊基、1-氨基环丙基、4-氨基苯基、2-氨基丙-2-基、1-氨基环己基、3-氨基氧杂环丁烷-3-基、2-(甲基氨基)丙-2-基、1-氨基-2-甲基丙-2-基、2-甲基吡咯烷-2-基、2-氨基-3-甲基丁-2-基、2-氨基丁-2-基、2-甲基-1-(甲基氨基)丙-2-基、1-甲基哌啶-2-基、3-氟吡咯烷-3-基、1,2-二甲基吡咯烷-2-基和2-(二甲基氨基)丙-2-基)。

[0217] 在一些实施方案中,R^1选自:1-(二甲基氨基)-2-甲基丙基、2-甲基-1-(甲基氨基)丙基、1-氨基环戊基、1-氨基环丙基、4-氨基苯基、2-氨基丙-2-基、1-氨基环己基、3-氨基氧杂环丁烷-3-基、2-(甲基氨基)丙-2-基、1-氨基-2-甲基丙-2-基、2-甲基吡咯烷-2-基、2-氨基-3-甲基丁-2-基、2-氨基丁-2-基、2-甲基-1-(甲基氨基)丙-2-基、1-甲基哌啶-2-基、3-氟吡咯烷-3-基、1,2-二甲基吡咯烷-2-基、2-(二甲基氨基)丙-2-基)、2-甲基-1-(甲基氨基)-2-苯基丙基、1-异丙基哌啶-2-基、2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-3-基和2-甲基-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-3-基。

[0218] 在一些实施方案中,R^1为1-(二甲基氨基)-2-甲基丙基。

[0219] 在一些实施方案中,R^1为2-甲基-1-(甲基氨基)丙基。

[0220] 在一些实施方案中,R^1为1-氨基环戊基。

[0221] 在一些实施方案中,R^1为1-氨基环丙基。

[0222] 在一些实施方案中,R^1为4-氨基苯基。

[0223] 在一些实施方案中,R^1为2-氨基丙烷-2-基。

[0224] 在一些实施方案中,R^1为1-氨基环己基。

[0225] 在一些实施方案中,R^1为3-氨基氧杂环丁烷-3-基。

[0226] 在一些实施方案中,R^1为2-(甲基氨基)丙-2-基。

[0227] 在一些实施方案中,R^1为1-氨基-2-甲基丙烷-2-基。

[0228] 在一些实施方案中,R^1为2-甲基吡咯烷-2-基。

[0229] 在一些实施方案中,R^1为2-氨基-3-甲基丁烷-2-基。

[0230] 在一些实施方案中,R^1为2-氨基丁烷-2-基。

[0231] 在一些实施方案中,R^1为2-甲基-1-(甲基氨基)丙-2-基。

[0232] 在一些实施方案中,R^1为1-甲基哌啶-2-基。

[0233] 在一些实施方案中,R^1为3-氟吡咯烷-3-基。

[0234] 在一些实施方案中,R^1为2-甲基-1-(甲基氨基)丙基。

[0235] 在一些实施方案中,R^1为(R)-1-(二甲基氨基)-2-甲基丙基。

[0236] 在一些实施方案中,R^1为(R)-2-甲基-1-(甲基氨基)丙基。

[0237] 在一些实施方案中,R^1为$R^aR^bNCH(R^c)$-。

[0238] 在一些实施方案中,R^1为2-甲基-1-(甲基氨基)-2-苯基丙基。

[0239] 在一些实施方案中,R^1为1-异丙基哌啶-2-基。

[0240] 在一些实施方案中,R^1为2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-3-基。

[0241] 在一些实施方案中,R^1为2-甲基-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-3-基。

[0242] 变量R^a

[0243] 在一些实施方案中,R^a选自:H和C_1-C_6烷基;

[0244] 在一些实施方案中,R^b选自:H、甲基及异丙基。

[0245] 在一些实施方案中,R^c为H。

[0246] 在一些实施方案中,R^d为甲基。

[0247] 在一些实施方案中,R^e为异丙基。

[0248] 变量R^b

[0249] 在一些实施方案中,R^b为C_1-C_6烷基。

[0250] 在一些实施方案中,R^b为甲基。

[0251] 变量R^c

[0252] 在一些实施方案中,R^c为R^d-$C(CH_3)_2$-。

[0253] 变量R^d

[0254] 在一些实施方案中,R^d选自:H、芳基、C_3-C_7环烷基和杂芳基,其各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_4酰硫基、C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基、C_1-C_4烷基氨基、C_1-C_4烷氧基、氨基、氨基-C_1-C_4烷基、卤基、C_1-C_4卤烷基、羟基、羟基-C_1-C_4烷基和硫基,其中C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基氨基及C_1-C_4烷氧基进一步任选被一个选自C_1-C_4烷基芳基、羟基及硫基的取代基取代。

[0255] 在一些实施方案中,R^d选自:H、芳基、C_3-C_7环烷基和杂芳基,其各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_4酰硫基、C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基、C_1-C_4烷基氯基、C_1-C_4烷氧基、氨基、氨基-C_1-C_4烷基、卤基、C_1-C_4卤烷基、羟基、羟基-C_1-C_4烷基和硫基,其中C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基氨基及C_1-C_4烷氧基进一步任选被一个选自对甲苯基、羟基及硫基的取代基取代。

[0256] 在一些实施方案中,R^d选自:H、芳基、C_3-C_7环烷基和杂芳基,其各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:(2-羟乙基)氨基、(2-巯基乙基)氨基、2-(乙酰基硫基)乙氧基、2-氨基乙氧基、2-羟基乙氧基、2-巯基乙氧基、3-甲氧基、4-甲基苯乙烯基、氨基、氨基甲基、氯、氟、羟基、羟甲基、甲基、硫基、三氟甲基。

[0257] 在一些实施方案中,R^d选自:H、环己基、1H-吲哚-3-基、苯基和噻吩-2-基,其各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:(2-羟乙基)氨基、(2-巯基乙基)氨基、2-(乙酰基硫基)乙氧基、2-氨基乙氧基、2-羟基乙氧基、2-巯基乙氧基、3-甲氧基、4-甲基苯乙烯基、氨基、氨基甲基、氯、氟、羟基、羟甲基、甲基、硫基和三氟甲基。

[0258] 在一些实施方案中,R^d选自:H、1H-吲哚-3-基、1-甲基-1H-吲哚-3-基、2-甲氧基苯基、3-((2-羟乙基)氨基)苯基、3-((2-巯基乙基)氨基)苯基、3-(2-(乙酰基硫基)乙氧基)苯基、3-(2-羟基乙氧基)苯基、3-(2-巯基乙氧基)苯基、3-(4-甲基苯乙烯基)苯基、3-(氨基甲

基)苯基、3-(羟甲基)苯基、3-羟基苯基、3,5-二氟苯基、3,5-二甲基苯基、3-氨基苯基、3-氯苯基、3-巯基苯基、3-甲氧基苯基、3-三氟甲基苯基、4-((2-羟乙基)氨基)苯基、4-((2-巯基乙基)氨基)苯基、4-(2-(乙酰基硫基)乙氧基)苯基、4-(2-氨基乙氧基)苯基、4-(2-羟基乙氧基)苯基、4-(2-巯基乙氧基)苯基、4-(氨基甲基)苯基、4-(羟甲基)苯基、4-氨基苯基、4-羟基苯基、4-巯基苯基、4-甲氧基苯基、环己基、噻吩-2-基、间甲苯基和苯基。

[0259] 在一些实施方案中,R^d选自:H、1H-吲哚-3-基、1-甲基-1H-吲哚-3-基、2-甲氧基苯基、3-((2-羟乙基)氨基)苯基、3-((2-巯基乙基)氨基)苯基、3-(2-羟基乙氧基)苯基、3-(2-巯基乙氧基)苯基、3,5-二氟苯基、3,5-二甲基苯基、3-氯苯基、3-巯基苯基、3-甲氧基苯基、3-三氟甲基苯基、4-((2-羟乙基)氨基)苯基、4-((2-巯基乙基)氨基)苯基、4-4-(2-羟基乙氧基)苯基、4-(2-巯基乙氧基)苯基、4-巯基苯基、4-甲氧基苯基、环己基、噻吩-2-基、间甲苯基和苯基。

[0260] 在一些实施方案中,R^d为苯基。

[0261] 在一些实施方案中,R^d为1H-吲哚-3-基。

[0262] 在一些实施方案中,R^d为1-甲基-1H-吲哚-3-基。

[0263] 在一些实施方案中,R^d为2-甲氧基苯基。

[0264] 在一些实施方案中,R^d为3-((2-羟乙基)氨基)苯基。

[0265] 在一些实施方案中,R^d为3-((2-巯基乙基)氨基)苯基。

[0266] 在一些实施方案中,R^d为3-(2-羟基乙氧基)苯基。

[0267] 在一些实施方案中,R^d为3-(2-巯基乙氧基)苯基。

[0268] 在一些实施方案中,R^d为3,5-二氟苯基。

[0269] 在一些实施方案中,R^d为3,5-二甲基苯基。

[0270] 在一些实施方案中,R^d为3-氯苯基。

[0271] 在一些实施方案中,R^d为3-巯基苯基。

[0272] 在一些实施方案中,R^d为3-甲氧基苯基。

[0273] 在一些实施方案中,R^d为3-三氟甲基苯基。

[0274] 在一些实施方案中,R^d为4-((2-羟乙基)氨基)苯基。

[0275] 在一些实施方案中,R^d为4-((2-巯基乙基)氨基)苯基。

[0276] 在一些实施方案中,R^d为4-4-(2-羟基乙氧基)苯基。

[0277] 在一些实施方案中,R^d为4-(2-巯基乙氧基)苯基。

[0278] 在一些实施方案中,R^d为4-巯基苯基。

[0279] 在一些实施方案中,R^d为4-甲氧基苯基。

[0280] 在一些实施方案中,R^d为环己基。

[0281] 在一些实施方案中,R^d为噻吩-2-基。

[0282] 在一些实施方案中,R^d为间甲苯基。

[0283] 变量R^2

[0284] 在一些实施方案中,R^2选自:C_2-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_4-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤酰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-

C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基。

[0285] 在一些实施方案中,R^2选自:C_2-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_4-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:1-氨基环丙基、4-氨基苯基、氨基、氨基甲基、溴、叔丁基、羧酰胺、羧基、氯、氰基、乙基、氟、羟基、异丙基、甲氧基、甲基、硝基、苯基、硫基、硫代甲基、三氟甲氧基和三氟甲基。

[0286] 在一些实施方案中,R^2选自:5,6,7,8-四氢萘-1-基、苄基、环己基、乙基、己烷-2-基、甲基、萘-2-基、哌啶-1-基、苯基、丙基、吡啶-3-基和噻吩-2-基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:1-氨基环丙基、4-氨基苯基、氨基、氨基甲基、溴、叔丁基、羧酰胺、羧基、氯、氰基、乙基、氟、羟基、异丙基、甲氧基、甲基、硝基、苯基、硫基、硫代甲基、三氟甲氧基和三氟甲基。

[0287] 在一些实施方案中,R^2选自:5,6,7,8-四氢萘-1-基、苄基、环己基、乙基、己烷-2-基、萘-2-基、哌啶-1-基、苯基、丙基、吡啶-3-基和噻吩-2-基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:1-氨基环丙基、4-氨基苯基、氨基、氨基甲基、溴、叔丁基、羧酰胺、羧基、氯、氰基、乙基、氟、羟基、异丙基、甲氧基、甲基、硝基、苯基、硫基、硫代甲基、三氟甲氧基和三氟甲基。

[0288] 在一些实施方案中,R^2选自:4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氨基苯基、苄基、3-巯基丙基、2-巯基乙基、4-(巯基甲基)苯基、对甲苯基、2,4,6-三甲基苯基、4-(三氟甲氧基)苯基、2,4,6-三异丙基苯基、4-叔丁基苯基、4-氯苯基、3-氰基苯基、2-硝基苯基、4-甲氧基-2-硝基苯基、4-氨基羰基-2-硝基苯基、4-甲氧基苯基、苯基、2-氟苄基、哌啶-1-基、邻甲苯基、4-溴苯基、萘-2-基、4-甲氧羰基苯基、2-(三氟甲基)苄基、己烷-2-基、2-甲氧基乙基、环戊基甲基、环己基、吡啶-3-基甲基、4-羧基苯基、3-氨基苯基、吡啶-3-基、噻吩-2-基、4-羟基苯基、4-(1-氨基环丙基)苄基、4-(1-氨基环丙基)苯基、2-甲基苄基、4-硝基苄基、4-氯苄基、苯乙基、4-溴苄基、4-氰基苄基、3-硝基苄基、4-叔丁基苄基、2-硝基苄基、4-硝基苯乙基、2-氯代-3-甲氧羰基苯基、2-氨基苯基、[1,1′-联苯]-4-基、4′-氨基-[1,1′-联苯]-4-基、4-氟苄基、3-(三氟甲基)苄基、3-(三氟甲氧基)苄基、3,4-二氯苄基、2-氰基苄基、3-氯苄基、4-氨基-2-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲氧基)苯基、4-氨基-2,3-二甲基苯基、4-氨基-5,6,7,8-四氢萘-1-基、4-氨基-3-甲基苯基、4-氨基-3-氟苯基、4-氨基-3-乙基苯基和4-氨基-3-(三氟甲基)苯基。

[0289] 在一些实施方案中,R^2选自:4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氨基苯基、苄基、3-巯基丙基、2-巯基乙基、4-(巯基甲基)苯基、对甲苯基、2,4,6-三甲基苯基、4-(三氟甲氧基)苯基、2,4,6-三异丙基苯基、4-叔丁基苯基、4-氯苯基、3-氰基苯基、2-硝基苯基、4-甲氧基-2-硝基苯基、4-氨基羰基-2-硝基苯基、4-甲氧基苯基、苯基、2-氟苄基、哌啶-1-基、邻甲苯基、4-溴苯基、萘-2-基、4-甲氧羰基苯基、2-(三氟甲基)苄基、己烷-2-基、2-甲氧基乙基、环戊基甲基、环己基、吡啶-3-基甲基、4-羧基苯基、3-氨基苯基、吡啶-3-基、噻吩-2-基、4-羟基苯基、4-(1-氨基环丙基)苄基、4-(1-氨基环丙基)苯基、2-甲基苄基、4-硝基苄基、4-氯苄基、苯乙基、4-溴苄基、4-氰基苄基、3-硝基苄基、4-叔丁基苄基、2-硝基苄基、4-硝基苯乙基、2-氯代-3-甲氧羰基苯基、2-氨基苯基、[1,1′-联苯]-4-基、4′-氨基-[1,1′-联苯]-4-基、4-氟苄基、3-(三氟甲基)苄基、3-(三氟甲氧基)苄基、3,4-二氯苄

基、2-氰基苄基、3-氯苄基、4-氨基-2-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲氧基)苯基、4-氨基-2,3-二甲基苯基、4-氨基-5,6,7,8-四氢萘-1-基、4-氨基-3-甲基苯基、4-氨基-3-氟苯基、4-氨基-3-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲基)苯基和4-(甲氧羰基)苯基。

[0290] 在一些实施方案中,其中R^2选自:芳基和芳基-C_1-C_6烷基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:氨基和氨基-C_1-C_6烷基。

[0291] 在一些实施方案中,R^2选自:4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氨基苯基和苄基。

[0292] 在一些实施方案中,R^2为4-氨基苄基。

[0293] 在一些实施方案中,R^2为4-(氨基甲基)苄基。

[0294] 在一些实施方案中,R^2为4-(氨基甲基)苯基。

[0295] 在一些实施方案中,R^2为4-氨基苯基。

[0296] 在一些实施方案中,R^2为苄基。

[0297] 在一些实施方案中,R^2为3-巯基丙基。

[0298] 在一些实施方案中,R^2为2-巯基乙基。

[0299] 在一些实施方案中,R^2为4-(巯基甲基)苯基。

[0300] 在一些实施方案中,R^2为对甲苯基。

[0301] 在一些实施方案中,R^2为2,4,6-三甲基苯基。

[0302] 在一些实施方案中,R^2为4-(三氟甲氧基)苯基。

[0303] 在一些实施方案中,R^2为2,4,6-三异丙基苯基。

[0304] 在一些实施方案中,R^2为4-叔丁基苯基。

[0305] 在一些实施方案中,R^2为4-氯苯基。

[0306] 在一些实施方案中,R^2为3-氰基苯基。

[0307] 在一些实施方案中,R^2为2-硝基苯基。

[0308] 在一些实施方案中,R^2为4-甲氧基-2-硝基苯基。

[0309] 在一些实施方案中,R^2为4-氨基羰基-2-硝基苯基。

[0310] 在一些实施方案中,R^2为4-甲氧基苯基。

[0311] 在一些实施方案中,R^2为苯基。

[0312] 在一些实施方案中,R^2为2-氟苄基。

[0313] 在一些实施方案中,R^2为哌啶-1-基。

[0314] 在一些实施方案中,R^2为邻甲苯基。

[0315] 在一些实施方案中,R^2为4-溴苯基。

[0316] 在一些实施方案中,R^2为萘-2-基。

[0317] 在一些实施方案中,R^2为4-甲氧基羰基苯基。

[0318] 在一些实施方案中,R^2为-(三氟甲基)苄基。

[0319] 在一些实施方案中,R^2为己烷-2-基。

[0320] 在一些实施方案中,R^2为2-甲氧基乙基。

[0321] 在一些实施方案中,R^2为环戊基甲基。

[0322] 在一些实施方案中,R^2为环己基。

[0323] 在一些实施方案中,R^2为吡啶-3-基甲基。

[0324] 在一些实施方案中,R^2为4-羰基苯基。

[0325] 在一些实施方案中,R^2为3-氨基苯基。

[0326] 在一些实施方案中,R^2为吡啶-3-基。

[0327] 在一些实施方案中,R^2为噻吩-2-基。

[0328] 在一些实施方案中,R^2为4-羟基苯基。

[0329] 在一些实施方案中,R^2为4-(1-氨基环丙基)苄基。

[0330] 在一些实施方案中,R^2为4-(1-氨基环丙基)苯基。

[0331] 在一些实施方案中,R^2为2-甲基苄基。

[0332] 在一些实施方案中,R^2为4-硝基苄基。

[0333] 在一些实施方案中,R^2为4-氯苄基。

[0334] 在一些实施方案中,R^2为苯乙基。

[0335] 在一些实施方案中,R^2为4-溴苄基。

[0336] 在一些实施方案中,R^2为4-氰基苄基。

[0337] 在一些实施方案中,R^2为3-硝基苄基。

[0338] 在一些实施方案中,R^2为4-叔丁基苄基。

[0339] 在一些实施方案中,R^2为2-硝基苄基。

[0340] 在一些实施方案中,R^2为-硝基苯乙基。

[0341] 在一些实施方案中,R^2为2-氯代-3-甲氧基羰基苯基。

[0342] 在一些实施方案中,R^2为2-氨基苯基。

[0343] 在一些实施方案中,R^2为[1,1'-联苯]-4-基。

[0344] 在一些实施方案中,R^2为4'-氨基-[1,1'-联苯]-4-基。

[0345] 在一些实施方案中,R^2为4-氟苄基。

[0346] 在一些实施方案中,R^2为3-(三氟甲基)苄基。

[0347] 在一些实施方案中,R^2为3-(三氟甲氧基)苄基。

[0348] 在一些实施方案中,R^2为3,4-二氯苄基。

[0349] 在一些实施方案中,R^2为2-氰基苄基。

[0350] 在一些实施方案中,R^2为3-氯苄基。

[0351] 在一些实施方案中,R^2为4-氨基-2-乙基苯基。

[0352] 在一些实施方案中,R^2为4-氨基-3-(三氟甲氧基)苯基。

[0353] 在一些实施方案中,R^2为4-氨基-2,3-二甲基苯基。

[0354] 在一些实施方案中,R^2为4-氨基-5,6,7,8-四氢萘-1-基。

[0355] 在一些实施方案中,R^2为4-氨基-3-甲基苯基。

[0356] 在一些实施方案中,R^2为4-氨基-3-氟苯基。

[0357] 在一些实施方案中,R^2为4-氨基-3-乙基苯基。

[0358] 在一些实施方案中,R^2为4-氨基-3-(三氟甲基)苯基。

[0359] 在一些实施方案中,R^2为4-(甲氧羰基)苯基。

[0360] 变量R^3

[0361] 在一些实施方案中,R^3选自:芳基、杂芳基和C_3-C_7环烷基,各自任选被一个选自氨基和羟基的取代基取代。

[0362] 在一些实施方案中,R^3选自:1H-吲哚-3-基、4-氨基苯基、4-羟基苯基、5-羟基吡啶-2-基、环已基和苯基。

[0363] 在一些实施方案中,R^3为1H-吲哚-3-基。

[0364] 在一些实施方案中,R^3为4-氨基苯基。

[0365] 在一些实施方案中,R^3为4-羟基苯基。

[0366] 在一些实施方案中,R^3为5-羟基吡啶-2-基。

[0367] 在一些实施方案中,R^3为环已基。

[0368] 在一些实施方案中,R^3为苯基。

[0369] 变量R^4

[0370] 在一些实施方案中,R^4选自:H和C_1-C_6烷基。

[0371] 在一些实施方案中,R^4为H。

[0372] 在一些实施方案中,R^4为C_1-C_6烷基。

[0373] 在一些实施方案中,R^4为甲基。

[0374] 变量R^5

[0375] 在一些实施方案中,R^5选自:H和C_1-C_6烷基。

[0376] 在一些实施方案中,R^5为H。

[0377] 在一些实施方案中,R^5为C_1-C_6烷基。

[0378] 在一些实施方案中,R^5为甲基。

[0379] 变量X

[0380] 在一些实施方案中,X为-C(O)NHCH(CH_2R^3)-,或X不存在。

[0381] 在一些实施方案中,X为-C(O)NHCH(CH_2R^3)-

[0382] 在一些实施方案中,X不存在。

[0383] 某些组合

[0384] 在一些实施方案中,R^b为C_1-C_6烷基;且R^c为R^d-C(CH_3)$_2$-。

[0385] 在一些实施方案中,R^b和R^c连同其各自所键结的原子一起形成杂环基二基。

[0386] 在一些实施方案中,R^b和R^c连同其各自所键结的原子一起形成选自以下的杂环基二基:吡咯烷基二基、哌啶基二基和氮杂环庚烷基二基。

[0387] 在一些实施方案中,R^b和R^c连同其各自所键结的原子一起形成吡咯烷基二基。

[0388] 在一些实施方案中,R^b和R^c连同其各自所键结的原子一起形成哌啶基二基。

[0389] 在一些实施方案中,R^b和R^c连同其各自所键结的原子一起形成氮杂环庚烷基二基。

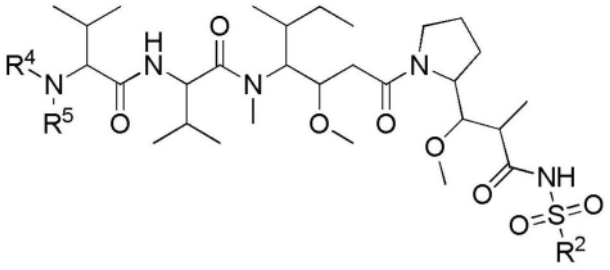
[0390] 在一些实施方案中,R^4和R^5各自独立地选自:H和C_1-C_6烷基。

[0391] 在一些实施方案中,R^4和R^5各自独立地选自:H和甲基。

[0392] 在一些实施方案中,R^4和R^5各自为甲基。

[0393] 在一些实施方案中,R^4为H且R^5为甲基。

[0394] 还提供了式Ia化合物:

[0395] 

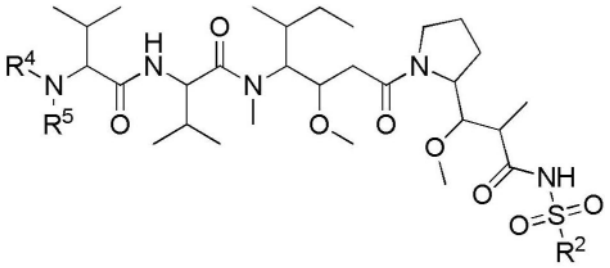
Ia

[0396] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0397] R^2选自:C_2-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_4-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基;并且

[0398] R^4和R^5各自独立地选自:H和C_1-C_6烷基。

[0399] 还提供了式Ia化合物:

[0400] 

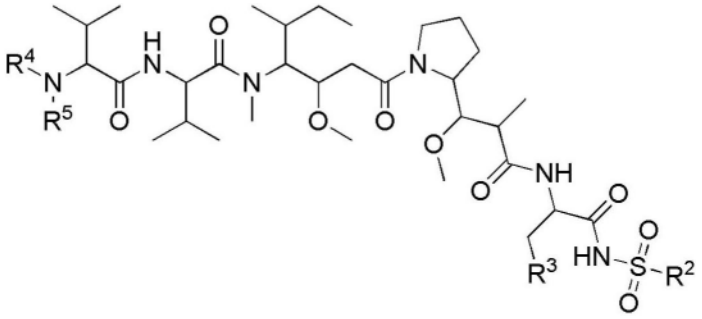
Ia

[0401] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0402] R^2选自:4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氨基苯基、苄基、3-巯基丙基、2-巯基乙基、4-(巯基甲基)苯基、对甲苯基、2,4,6-三甲基苯基、4-(三氟甲氧基)苯基、2,4,6-三异丙基苯基、4-叔丁基苯基、4-氯苯基、3-氰基苯基、2-硝基苯基、4-甲氧基-2-硝基苯基、4-氨基羰基-2-硝基苯基、4-甲氧基苯基、苯基、2-氟苄基、哌啶-1-基、邻甲苯基、4-溴苯基、萘-2-基、4-甲氧羰基苯基、2-(三氟甲基)苄基、己烷-2-基、2-甲氧基乙基、环戊基甲基、环己基、吡啶-3-基甲基、4-羧基苯基、3-氨基苯基、吡啶-3-基、噻吩-2-基、4-羟基苯基、4-(1-氨基环丙基)苄基、4-(1-氨基环丙基)苯基、2-甲基苄基、4-硝基苄基、4-氯苄基、苯乙基、4-溴苄基、4-氰基苄基、3-硝基苄基、4-叔丁基苄基、2-硝基苄基、4-硝基苯乙基、2-氯代-3-甲氧羰基苯基、2-氨基苯基、[1,1′-联苯]-4-基、4′-氨基-[1,1′-联苯]-4-基、4-氟苄基、3-(三氟甲基)苄基、3-(三氟甲氧基)苄基、3,4-二氯苄基、2-氰基苄基、3-氯苄基、4-氨基-2-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲氧基)苯基、4-氨基-2,3-二甲基苯基、4-氨基-5,6,7,8-四氢萘-1-基、4-氨基-3-甲基苯基、4-氨基-3-氟苯基、4-氨基-3-乙基苯基、以及4-氨基-3-(三氟甲基)苯基;并且

[0403] R^4和R^5各自独立地选自:H和甲基。

[0404] 还提供了式Ib化合物:

[0405] 

Ib

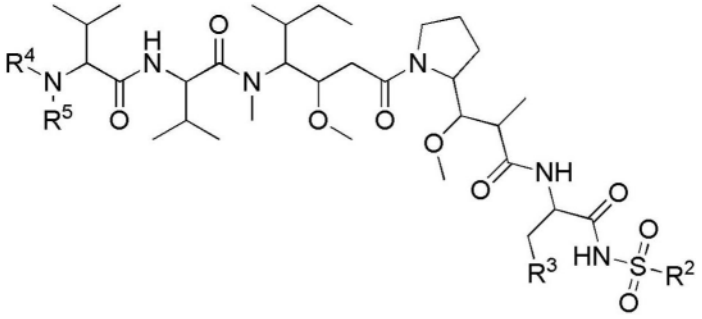
[0406] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0407] R^2选自:C_2-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_4-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基;

[0408] R^3选自:芳基、杂芳基及C_3-C_7环烷基,各自任选被一个选自氨基和羟基的取代基取代;并且

[0409] R^4和R^5各自独立地选自:H和C_1-C_6烷基。

[0410] 还提供了式Ib化合物:

[0411] 

Ib

[0412] 及其药学上可接受的盐,其中:

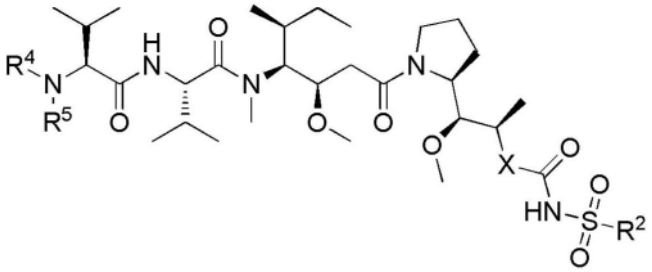
[0413] R^2选自:4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氨基苯基、苄基、3-巯基丙基、2-巯基乙基、4-(巯基甲基)苯基、对甲苯基、2,4,6-三甲基苯基、4-(三氟甲氧基)苯基、2,4,6-三异丙基苯基、4-叔丁基苯基、4-氯苯基、3-氰基苯基、2-硝基苯基、4-甲氧基-2-硝基苯基、4-氨基羰基-2-硝基苯基、4-甲氧基苯基、苯基、2-氟苄基、哌啶-1-基、邻甲苯基、4-溴苯基、萘-2-基、4-甲氧羰基苯基、2-(三氟甲基)苄基、己烷-2-基、2-甲氧基乙基、环戊基甲基、环己基、吡啶-3-基甲基、4-羧基苯基、3-氨基苯基、吡啶-3-基、噻吩-2-基、4-羟基苯基、4-(1-氨基环丙基)苄基、4-(1-氨基环丙基)苯基、2-甲基苄基、4-硝基苄基、4-氯苄基、苯乙基、4-溴苄基、4-氰基苄基、3-硝基苄基、4-叔丁基苄基、2-硝基苄基、4-硝基苯乙基、2-氯代-3-甲氧羰基苯基、2-氨基苯基、[1,1′-联苯]-4-基、4′-氨基-[1,1′-联苯]-4-基、4-氟苄基、3-(三氟甲基)苄基、3-(三氟甲氧基)苄基、3,4-二氯苄基、2-氰基苄基、3-氯

苄基、4-氨基-2-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲氧基)苯基、4-氨基-2,3-二甲基苯基、4-氨基-5,6,7,8-四氢萘-1-基、4-氨基-3-甲基苯基、4-氨基-3-氟苯基、4-氨基-3-乙基苯基、以及4-氨基-3-(三氟甲基)苯基;

[0414] R^3选自:1H-吲哚-3-基、4-氨基苯基、4-羟基苯基、5-羟基吡啶-2-基、环己基和苯基;并且

[0415] R^4和R^5各自独立地选自:H和甲基。

[0416] 还提供了式Ic化合物:

[0417] 

Ic

[0418] 及其药学上可接受的盐,其中:

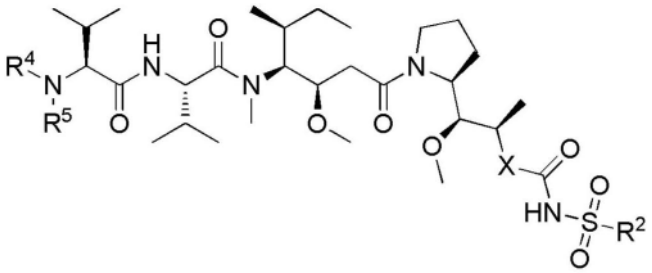
[0419] R^2选自:C_2-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_4-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基;并且

[0420] X为-C(O)NHCH(CH_2R^3)-,或X不存在;并且

[0421] R^3选自:芳基、杂芳基及C_3-C_7环烷基,各自任选被一个选自氨基和羟基的取代基取代;并且

[0422] R^4和R^5各自独立地选自:H和C_1-C_6烷基。

[0423] 还提供了式Ic化合物:

[0424] 

Ic

[0425] 或其药学上可接受的盐,

[0426] 其中:

[0427] R^2选自:4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氨基苯基、苄基、3-巯基丙基、2-巯基乙基、4-(巯基甲基)苯基、对甲苯基、2,4,6-三甲基苯基、4-(三氟甲氧基)苯基、2,4,6-三异丙基苯基、4-叔丁基苯基、4-氯苯基、3-氰基苯基、2-硝基苯基、4-甲氧

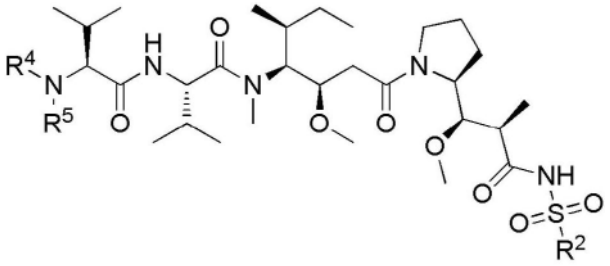
基-2-硝基苯基、4-氨基羰基-2-硝基苯基、4-甲氧基苯基、苯基、2-氟苄基、哌啶-1-基、邻甲苯基、4-溴苯基、萘-2-基、4-甲氧羰基苯基、2-(三氟甲基)苄基、己烷-2-基、2-甲氧基乙基、环戊基甲基、环己基、吡啶-3-基甲基、4-羧基苯基、3-氨基苯基、吡啶-3-基、噻吩-2-基、4-羟基苯基、4-(1-氨基环丙基)苄基、4-(1-氨基环丙基)苯基、2-甲基苄基、4-硝基苄基、4-氯苄基、苯乙基、4-溴苄基、4-氰基苄基、3-硝基苄基、4-叔丁基苄基、2-硝基苄基、4-硝基苯乙基、2-氯代-3-甲氧羰基苯基、2-氨基苯基、[1,1′-联苯]-4-基、4′-氨基-[1,1′-联苯]-4-基、4-氟苄基、3-(三氟甲基)苄基、3-(三氟甲氧基)苄基、3,4-二氯苄基、2-氰基苄基、3-氯苄基、4-氨基-2-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲氧基)苯基、4-氨基-2,3-二甲基苯基、4-氨基-5,6,7,8-四氢萘-1-基、4-氨基-3-甲基苯基、4-氨基-3-氟苯基、4-氨基-3-乙基苯基、以及4-氨基-3-(三氟甲基)苯基;并且

[0428] X为-C(O)NHCH(CH_2R^3)-,或X不存在;并且

[0429] R^3选自:1H-吲哚-3-基、4-氨基苯基、4-羟基苯基、5-羟基吡啶-2-基、环己基和苯基;并且

[0430] R^4和R^5各自独立地选自:H和甲基。

[0431] 还提供了式Id化合物:

[0432] 

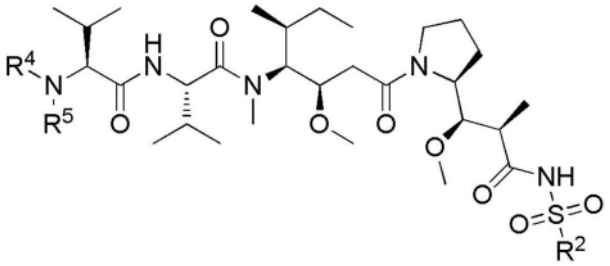
Id

[0433] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0434] R^2选自:C_2-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_4-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基;并且

[0435] R^4和R^5各自独立地选自:H和C_1-C_6烷基。

[0436] 还提供了式Id化合物:

[0437] 

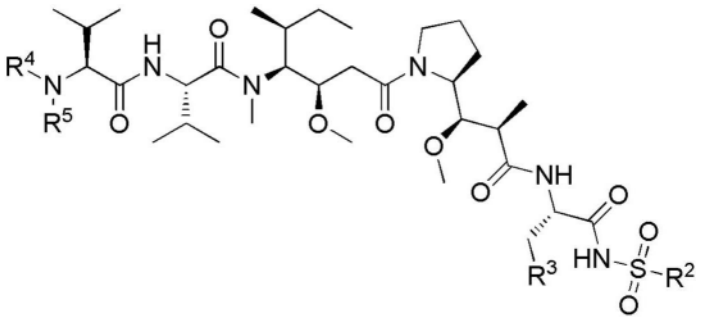
Id

[0438] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0439] R^2选自:4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氨基苯基、苄基、3-巯基丙基、2-巯基乙基、4-(巯基甲基)苯基、对甲苯基、2,4,6-三甲基苯基、4-(三氟甲氧基)苯基、2,4,6-三异丙基苯基、4-叔丁基苯基、4-氯苯基、3-氰基苯基、2-硝基苯基、4-甲氧基-2-硝基苯基、4-氨基羰基-2-硝基苯基、4-甲氧基苯基、苯基、2-氟苄基、哌啶-1-基、邻甲苯基、4-溴苯基、萘-2-基、4-甲氧羰基苯基、2-(三氟甲基)苄基、己烷-2-基、2-甲氧基乙基、环戊基甲基、环己基、吡啶-3-基甲基、4-羧基苯基、3-氨基苯基、吡啶-3-基、噻吩-2-基、4-羟基苯基、4-(1-氨基环丙基)苄基、4-(1-氨基环丙基)苯基、2-甲基苄基、4-硝基苄基、4-氯苄基、苯乙基、4-溴苄基、4-氰基苄基、3-硝基苄基、4-叔丁基苄基、2-硝基苄基、4-硝基苯乙基、2-氯代-3-甲氧羰基苯基、2-氨基苯基、[1,1′-联苯]-4-基、4′-氨基-[1,1′-联苯]-4-基、4-氟苄基、3-(三氟甲基)苄基、3-(三氟甲氧基)苄基、3,4-二氯苄基、2-氰基苄基、3-氯苄基、4-氨基-2-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲氧基)苯基、4-氨基-2,3-二甲基苯基、4-氨基-5,6,7,8-四氢萘-1-基、4-氨基-3-甲基苯基、4-氨基-3-氟苯基、4-氨基-3-乙基苯基、以及4-氨基-3-(三氟甲基)苯基;并且

[0440] R^4和R^5各自独立地选自:H和甲基。

[0441] 还提供了式Ie化合物:

[0442] 

Ie

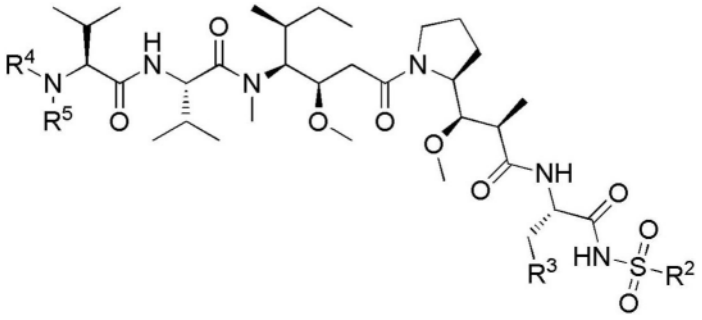
[0443] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0444] R^2选自:C_2-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_4-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基;并且

[0445] R^3选自:芳基、杂芳基及C_3-C_7环烷基,各自任选被一个选自氨基和羟基的取代基取代;并且

[0446] R^4和R^5各自独立地选自:H和C_1-C_6烷基。

[0447] 还提供了式Ie化合物:

[0448] 

Ie

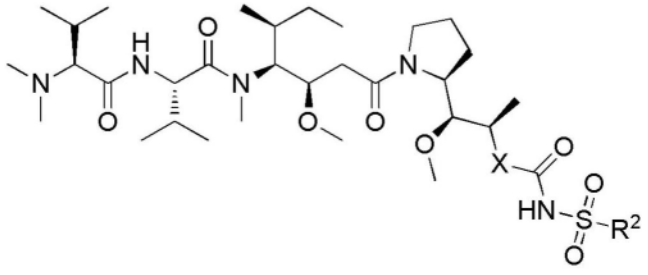
[0449] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0450] R^2选自:4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氨基苯基、苄基、3-巯基丙基、2-巯基乙基、4-(巯基甲基)苯基、对甲苯基、2,4,6-三甲基苯基、4-(三氟甲氧基)苯基、2,4,6-三异丙基苯基、4-叔丁基苯基、4-氯苯基、3-氰基苯基、2-硝基苯基、4-甲氧基-2-硝基苯基、4-氨基羰基-2-硝基苯基、4-甲氧基苯基、苯基、2-氟苄基、哌啶-1-基、邻甲苯基、4-溴苯基、萘-2-基、4-甲氧羰基苯基、2-(三氟甲基)苄基、己烷-2-基、2-甲氧基乙基、环戊基甲基、环己基、吡啶-3-基甲基、4-羧基苯基、3-氨基苯基、吡啶-3-基、噻吩-2-基、4-羟基苯基、4-(1-氨基环丙基)苄基、4-(1-氨基环丙基)苯基、2-甲基苄基、4-硝基苄基、4-氯苄基、苯乙基、4-溴苄基、4-氰基苄基、3-硝基苄基、4-叔丁基苄基、2-硝基苄基、4-硝基苯乙基、2-氯代-3-甲氧羰基苯基、2-氨基苯基、[1,1′-联苯]-4-基、4′-氨基-[1,1′-联苯]-4-基、4-氟苄基、3-(三氟甲基)苄基、3-(三氟甲氧基)苄基、3,4-二氯苄基、2-氰基苄基、3-氯苄基、4-氨基-2-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲氧基)苯基、4-氨基-2,3-二甲基苯基、4-氨基-5,6,7,8-四氢萘-1-基、4-氨基-3-甲基苯基、4-氨基-3-氟苯基、4-氨基-3-乙基苯基、以及4-氨基-3-(三氟甲基)苯基;并且

[0451] R^3选自:1H-吲哚-3-基、4-氨基苯基、4-羟基苯基、5-羟基吡啶-2-基、环己基和苯基;并且

[0452] R^4和R^5各自独立地选自:H和甲基。

[0453] 还提供了式If化合物:

[0454] 

If

[0455] 及其药学上可接受的盐,其中:

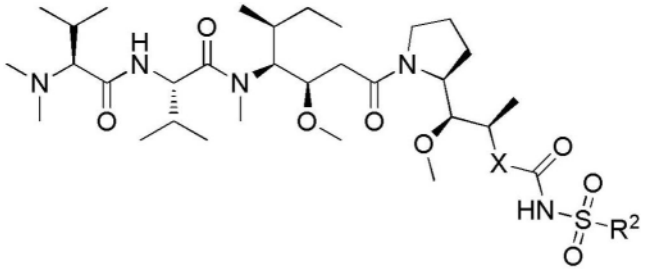
[0456] R^2选自:C_2-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_4-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氯基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-

C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基;并且

[0457] X为-C(O)NHCH(CH_2R^3)-,或X不存在;并且

[0458] R^3选自:芳基、杂芳基和C_3-C_7环烷基,各自任选被一个选自氨基和羟基的取代基取代。

[0459] 还提供了式If化合物:

[0460] 

If

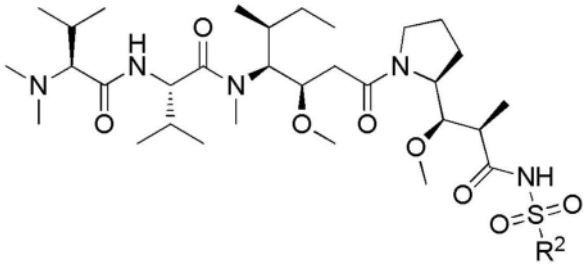
[0461] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0462] R^2选自:4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氨基苯基;并且

[0463] X为-C(O)NHCH(CH_2R^3)-,或X不存在;并且

[0464] R^3选自:1H-吲哚-3-基、4-氨基苯基、4-羟基苯基、5-羟基吡啶-2-基、环己基和苯基。

[0465] 还提供了式Ig化合物:

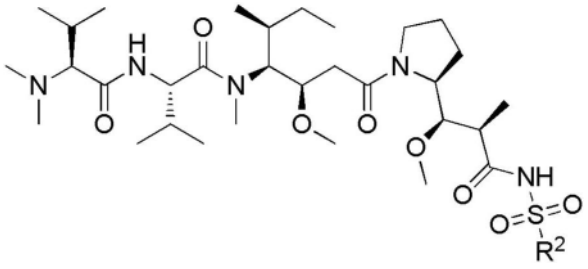
[0466] 

Ig

[0467] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0468] R^2选自:C_2-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_4-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基。

[0469] 还提供了式Ig化合物:

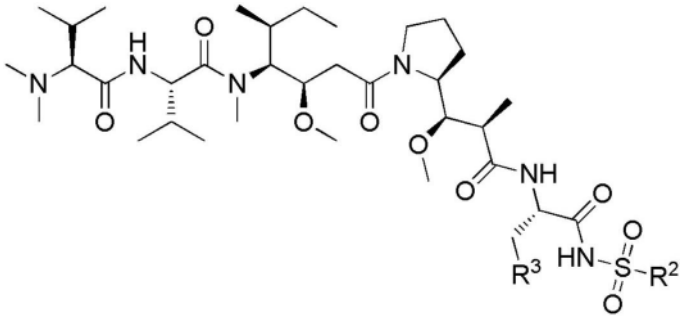
[0470] 

[0471] **Ig**

[0472] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0473] R^2选自:4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氛基苯基。

[0474] 还提供了式Ih化合物:

[0475] 

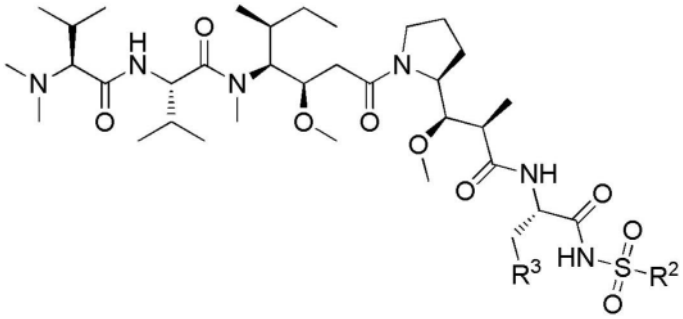
Ih

[0476] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0477] R^2选自:C_2-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_4-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基;并且

[0478] R^3选自:芳基、杂芳基和C_3-C_7环烷基,各自任选被一个选自氨基和羟基的取代基取代。

[0479] 还提供了式Ih化合物:

[0480] 

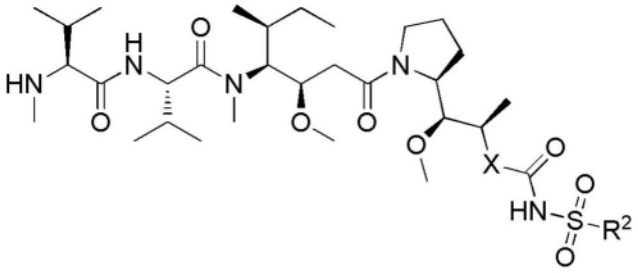
Ih

[0481] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0482] R^2选自:4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氨基苯基;并且

[0483] R^3选自:1H-吲哚-3-基、4-氨基苯基、4-羟基苯基、5-羟基吡啶-2-基、环己基和苯基。

[0484] 还提供了式Ii化合物:

[0485] 

Ii

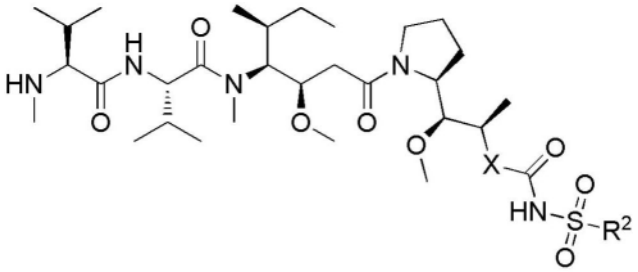
[0486] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0487] R^2选自:C_2-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_4-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基;

[0488] X为-C(O)NHCH(CH_2R^3)-,或X不存在;并且

[0489] R^3选自:芳基、杂芳基和C_3-C_7环烷基,各自任选被一个选自氨基和羟基的取代基取代。

[0490] 还提供了式Ii化合物:

[0491] 

Ii

[0492] 及其药学上可接受的盐,其中:

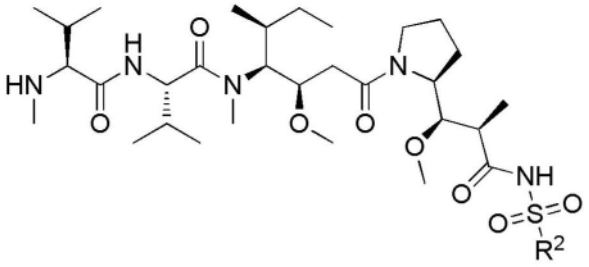
[0493] R^2选自:4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氨基苯基、苄基、3-巯基丙基、2-巯基乙基、4-(巯基甲基)苯基、对甲苯基、2,4,6-三甲基苯基、4-(三氟甲氧基)苯基、2,4,6-三异丙基苯基、4-叔丁基苯基、4-氯苯基、3-氰基苯基、2-硝基苯基、4-甲氧基-2-硝基苯基、4-氨基羰基-2-硝基苯基、4-甲氧基苯基、苯基、2-氟苄基、哌啶-1-基、邻甲苯基、4-溴苯基、萘-2-基、4-甲氧羰基苯基、2-(三氟甲基)苄基、己烷-2-基、2-甲氧基乙基、环戊基甲基、环己基、吡啶-3-基甲基、4-羧基苯基、3-氨基苯基、吡啶-3-基、噻吩-2-基、4-羟基苯基、4-(1-氨基环丙基)苄基、4-(1-氨基环丙基)苯基、2-甲基苄基、4-硝基苄基、4-氯苄基、苯乙基、4-溴苄基、4-氰基苄基、3-硝基苄基、4-叔丁基苄基、2-硝基苄基、4-硝基苯乙基、2-氯代-3-甲氧羰基苯基、2-氨基苯基、[1,1′-联苯]-4-基、4′-氨基-[1,1′-联苯]-4-

基、4-氟苄基、3-(三氟甲基)苄基、3-(三氟甲氧基)苄基、3,4-二氯苄基、2-氰基苄基、3-氯苄基、4-氨基-2-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲氧基)苯基、4-氨基-2,3-二甲基苯基、4-氨基-5,6,7,8-四氢萘-1-基、4-氨基-3-甲基苯基、4-氨基-3-氟苯基、4-氨基-3-乙基苯基、以及4-氨基-3-(三氟甲基)苯基;

[0494] X为-C(O)NHCH(CH_2R^3)-,或X不存在;并且

[0495] R^3选自:1H-吲哚-3-基、4-氨基苯基、4-羟基苯基、5-羟基吡啶-2-基、环已基和苯基。

[0496] 还提供了式Ij化合物:

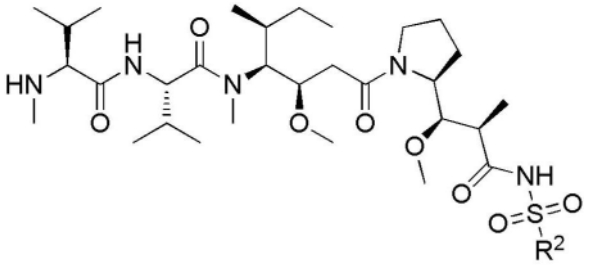
[0497] 

Ij

[0498] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0499] R^2选自:C_2-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_4-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基。

[0500] 还提供了式Ij化合物:

[0501] 

Ij

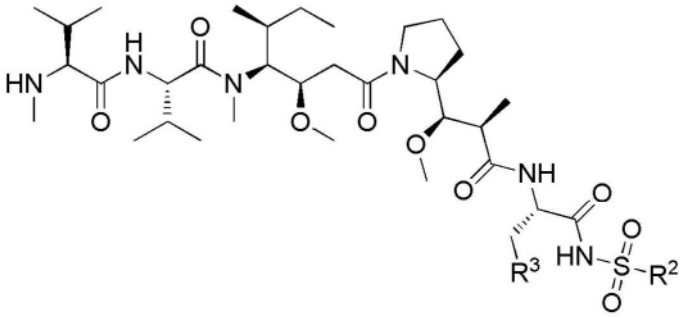
[0502] 或其药学上可接受的盐,

[0503] 其中:

[0504] R^2选自:4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氨基苯基、苄基、3-巯基丙基、2-巯基乙基、4-(巯基甲基)苯基、对甲苯基、2,4,6-三甲基苯基、4-(三氟甲氧基)苯基、2,4,6-三异丙基苯基、4-叔丁基苯基、4-氯苯基、3-氰基苯基、2-硝基苯基、4-甲氧基-2-硝基苯基、4-氨基羰基-2-硝基苯基、4-甲氧基苯基、苯基、2-氟苄基、哌啶-1-基、邻甲苯基、4-溴苯基、萘-2-基、4-甲氧羰基苯基、2-(三氟甲基)苄基、已烷-2-基、2-甲氧基乙基、环戊基甲基、环已基、吡啶-3-基甲基、4-羧基苯基、3-氨基苯基、吡啶-3-基、噻吩-2-基、4-

羟基苯基、4-(1-氨基环丙基)苄基、4-(1-氨基环丙基)苯基、2-甲基苄基、4-硝基苄基、4-氯苄基、苯乙基、4-溴苄基、4-氰基苄基、3-硝基苄基、4-叔丁基苄基、2-硝基苄基、4-硝基苯乙基、2-氯代-3-甲氧羰基苯基、2-氨基苯基、[1,1′-联苯]-4-基、4′-氨基-[1,1′-联苯]-4-基、4-氟苄基、3-(三氟甲基)苄基、3-(三氟甲氧基)苄基、3,4-二氯苄基、2-氰基苄基、3-氯苄基、4-氨基-2-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲氧基)苯基、4-氨基-2,3-二甲基苯基、4-氨基-5,6,7,8-四氢萘-1-基、4-氨基-3-甲基苯基、4-氨基-3-氟苯基、4-氨基-3-乙基苯基和4-氨基-3-(三氟甲基)苯基。

[0505] 还提供了式Ik化合物:

[0506] 

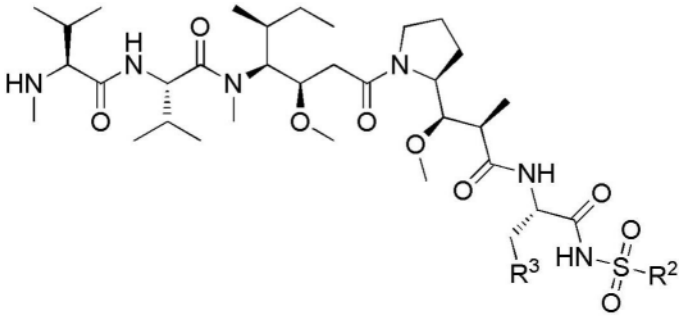
Ik

[0507] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0508] R^2选自:C_2-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_4-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基;并且

[0509] R^3选自:芳基、杂芳基和C_3-C_7环烷基,各自任选被一个选自氨基和羟基的取代基取代。

[0510] 还提供了式Ik化合物:

[0511] 

Ik

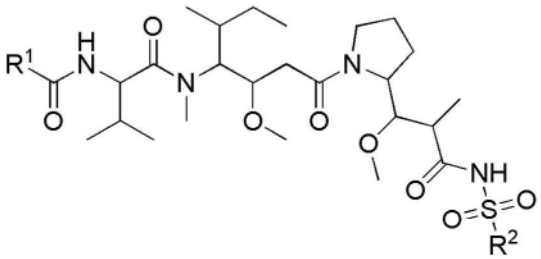
[0512] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0513] R^2选自:4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氨基苯基、苄基、3-巯基丙基、2-巯基乙基、4-(巯基甲基)苯基、对甲苯基、2,4,6-三甲基苯基、4-(三氟甲氧基)苯基、2,4,6-三异丙基苯基、4-叔丁基苯基、4-氯苯基、3-氰基苯基、2-硝基苯基、4-甲氧

基-2-硝基苯基、4-氨基羰基-2-硝基苯基、4-甲氧基苯基、苯基、2-氟苄基、哌啶-1-基、邻甲苯基、4-溴苯基、萘-2-基、4-甲氧羰基苯基、2-(三氟甲基)苄基、己烷-2-基、2-甲氧基乙基、环戊基甲基、环己基、吡啶-3-基甲基、4-羧基苯基、3-氨基苯基、吡啶-3-基、噻吩-2-基、4-羟基苯基、4-(1-氨基环丙基)苄基、4-(1-氨基环丙基)苯基、2-甲基苄基、4-硝基苄基、4-氯苄基、苯乙基、4-溴苄基、4-氰基苄基、3-硝基苄基、4-叔丁基苄基、2-硝基苄基、4-硝基苯乙基、2-氯代-3-甲氧羰基苯基、2-氨基苯基、[1,1′-联苯]-4-基、4′-氨基-[1,1′-联苯]-4-基、4-氟苄基、3-(三氟甲基)苄基、3-(三氟甲氧基)苄基、3,4-二氯苄基、2-氰基苄基、3-氯苄基、4-氨基-2-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲氧基)苯基、4-氨基-2,3-二甲基苯基、4-氨基-5,6,7,8-四氢萘-1-基、4-氨基-3-甲基苯基、4-氨基-3-氟苯基、4-氨基-3-乙基苯基、以及4-氨基-3-(三氟甲基)苯基;并且

[0514] R^3选自:1H-吲哚-3-基、4-氨基苯基、4-羟基苯基、5-羟基吡啶-2-基、环己基和苯基。

[0515] 还提供了式Im化合物:

[0516] 

Im

[0517] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0518] R^1选自:氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、氨基-杂环基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷硫基、羧基、羧酰胺、C_3-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、胍基、卤基、C_1-C_6卤酰基、C_1-C_6卤烷基、杂环基、杂环基-C_1-C_6烷基、羟基和硫基;或

[0519] R^1为$R^aR^bNCH(R^c)$-;

[0520] R^a选自:H和C_1-C_6烷基;

[0521] R^b为C_1-C_6烷基;且

[0522] R^c为R^d-$C(CH_3)_2$-;且

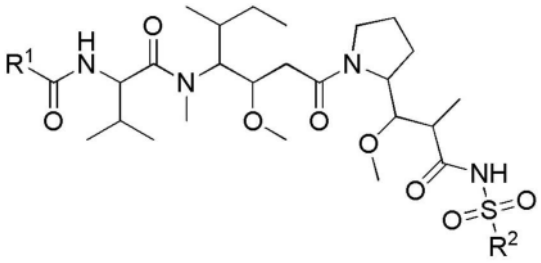
[0523] R^d选自:H、芳基、C_3-C_7环烷基和杂芳基,其各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_4酰硫基、C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基、C_1-C_4烷基氨基、C_1-C_4烷氧基、氨基、氨基-C_1-C_4烷基、卤基、C_1-C_4卤烷基、羟基、羟基-C_1-C_4烷基和硫基,其中C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基氨基及C_1-C_4烷氧基进一步任选被一个选自以下的取代基取代:C_1-C_4烷基芳基、羟基和硫基;或

[0524] R^b和R^c与其各自所键结的原子一起形成杂环基二基;

[0525] R^2选自:C_2-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_4-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤酰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟

基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基。

[0526] 还提供了式Im化合物：

[0527] 

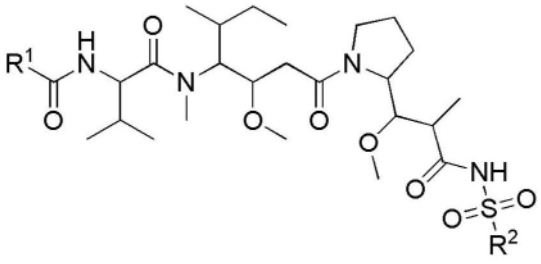
Im

[0528] 及其药学上可接受的盐，其中：

[0529] R^1选自：1-(二甲基氨基)-2-甲基丙基、2-甲基-1-(甲基氨基)丙基、1-氨基环戊基、1-氨基环丙基、4-氨基苯基、2-氨基丙-2-基、1-氨基环己基、3-氨基氧杂环丁烷-3-基、2-(甲基氨基)丙-2-基、1-氨基-2-甲基丙-2-基、2-甲基吡咯烷-2-基、2-氨基-3-甲基丁-2-基、2-氨基丁-2-基、2-甲基-1-(甲基氨基)丙-2-基、1-甲基哌啶-2-基、3-氟吡咯烷-3-基、1,2-二甲基吡咯烷-2-基和2-(二甲基氨基)丙-2-基)；并且

[0530] R^2选自：4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氨基苯基、苄基、3-巯基丙基、2-巯基乙基、4-(巯基甲基)苯基、对甲苯基、2,4,6-三甲基苯基、4-(三氟甲氧基)苯基、2,4,6-三异丙基苯基、4-叔丁基苯基、4-氯苯基、3-氰基苯基、2-硝基苯基、4-甲氧基-2-硝基苯基、4-氨基羰基-2-硝基苯基、4-甲氧基苯基、苯基、2-氟苄基、哌啶-1-基、邻甲苯基、4-溴苯基、萘-2-基、4-甲氧羰基苯基、2-(三氟甲基)苄基、己烷-2-基、2-甲氧基乙基、环戊基甲基、环己基、吡啶-3-基甲基、4-羧基苯基、3-氨基苯基、吡啶-3-基、噻吩-2-基、4-羟基苯基、4-(1-氨基环丙基)苄基、4-(1-氨基环丙基)苯基、2-甲基苄基、4-硝基苄基、4-氯苄基、苯乙基、4-溴苄基、4-氰基苄基、3-硝基苄基、4-叔丁基苄基、2-硝基苄基、4-硝基苯乙基、2-氯代-3-甲氧羰基苯基、2-氨基苯基、[1,1′-联苯]-4-基、4′-氨基-[1,1′-联苯]-4-基、4-氟苄基、3-(三氟甲基)苄基、3-(三氟甲氧基)苄基、3,4-二氯苄基、2-氰基苄基、3-氯苄基、4-氨基-2-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲氧基)苯基、4-氨基-2,3-二甲基苯基、4-氨基-5,6,7,8-四氢萘-1-基、4-氨基-3-甲基苯基、4-氨基-3-氟苯基、4-氨基-3-乙基苯基和4-氨基-3-(三氟甲基)苯基。

[0531] 还提供了式Im化合物：

[0532] 

Im

[0533] 及其药学上可接受的盐，其中：

[0534] R^1选自：氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、氨基-杂环基和杂环基，各

自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷硫基、羧基、羧酰胺、C_3-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、胍基、卤基、C_1-C_6卤酰基、C_1-C_6卤烷基、杂环基、杂环基-C_1-C_6烷基、羟基和硫基;或

[0535] R^1为$R^aR^bNCH(R^c)$-;

[0536] R^a选自:H和C_1-C_6烷基;

[0537] R^b为C_1-C_6烷基;且

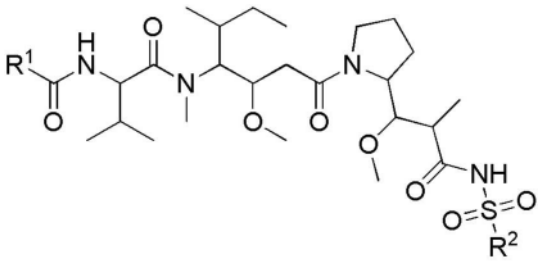
[0538] R^c为R^d-$C(CH_3)_2$-;且

[0539] R^d选自:H、芳基、C_3-C_7环烷基和杂芳基,其各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_4酰硫基、C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基、C_1-C_4烷基氨基、C_1-C_4烷氧基、氨基、氨基-C_1-C_4烷基、卤基、C_1-C_4卤烷基、羟基、羟基-C_1-C_4烷基和硫基,其中C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基氨基及C_1-C_4烷氧基进一步任选被一个选自以下的取代基取代:C_1-C_4烷基芳基、羟基和硫基;或

[0540] R^b和R^c与其各自所键结的原子一起形成杂环基二基;

[0541] R^2选自:C_1-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_3-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤酰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基。

[0542] 还提供了式Im化合物:

[0543] 

Im

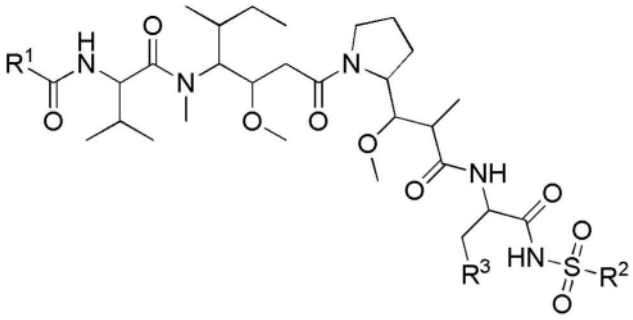
[0544] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0545] R^1选自:1-(二甲基氨基)-2-甲基丙基、2-甲基-1-(甲基氨基)丙基、1-氨基环戊基、1-氨基环丙基、4-氨基苯基、2-氨基丙-2-基、1-氨基环己基、3-氨基氧杂环丁烷-3-基、2-(甲基氨基)丙-2-基、1-氨基-2-甲基丙-2-基、2-甲基吡咯烷-2-基、2-氨基-3-甲基丁-2-基、2-氨基丁-2-基、2-甲基-1-(甲基氨基)丙-2-基、1-甲基哌啶-2-基、3-氟吡咯烷-3-基、1,2-二甲基吡咯烷-2-基、2-(二甲基氨基)丙-2-基)、2-甲基-1-(甲基氨基)-2-苯基丙基、1-异丙基哌啶-2-基、2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-3-基和2-甲基-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-3-基;并且

[0546] R^2选自:4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氨基苯基、苄基、3-巯基丙基、2-巯基乙基、4-(巯基甲基)苯基、对甲苯基、2,4,6-三甲基苯基、4-(三氟甲氧基)苯基、2,4,6-三异丙基苯基、4-叔丁基苯基、4-氯苯基、3-氰基苯基、2-硝基苯基、4-甲氧基-2-硝基苯基、4-氨基羰基-2-硝基苯基、4-甲氧基苯基、苯基、2-氟苄基、哌啶-1-基、邻甲苯基、4-溴苯基、萘-2-基、4-甲氧羰基苯基、2-(三氟甲基)苄基、己烷-2-基、2-甲氧基乙基、

环戊基甲基、环己基、吡啶-3-基甲基、4-羧基苯基、3-氨基苯基、吡啶-3-基、噻吩-2-基、4-羟基苯基、4-(1-氨基环丙基)苄基、4-(1-氨基环丙基)苯基、2-甲基苄基、4-硝基苄基、4-氯苄基、苯乙基、4-溴苄基、4-氰基苄基、3-硝基苄基、4-叔丁基苄基、2-硝基苄基、4-硝基苯乙基、2-氯代-3-甲氧羰基苯基、2-氨基苯基、[1,1′-联苯]-4-基、4′-氨基-[1,1′-联苯]-4-基、4-氟苄基、3-(三氟甲基)苄基、3-(三氟甲氧基)苄基、3,4-二氯苄基、2-氰基苄基、3-氯苄基、4-氨基-2-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲氧基)苯基、4-氨基-2,3-二甲基苯基、4-氨基-5,6,7,8-四氢萘-1-基、4-氨基-3-甲基苯基、4-氨基-3-氟苯基、4-氨基-3-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲基)苯基和4-(甲氧羰基)苯基。

[0547] 还提供了式In化合物：

[0548] 

In

[0549] 及其药学上可接受的盐，其中：

[0550] R^1选自：氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、氨基-杂环基和杂环基，各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代：芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷硫基、羧基、羧酰胺、C_3-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、胍基、卤基、C_1-C_6卤酰基、C_1-C_6卤烷基、杂环基、杂环基-C_1-C_6烷基、羟基和硫基；或

[0551] R^1为$R^aR^bNCH(R^c)$-；

[0552] R^a选自：H和C_1-C_6烷基；

[0553] R^b为C_1-C_6烷基；且

[0554] R^c为R^d-$C(CH_3)_2$-；且

[0555] R^d选自：H、芳基、C_3-C_7环烷基和杂芳基，其各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代：C_1-C_4酰硫基、C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基、C_1-C_4烷基氨基、C_1-C_4烷氧基、氨基、氨基-C_1-C_4烷基、卤基、C_1-C_4卤烷基、羟基、羟基-C_1-C_4烷基和硫基，其中C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基氨基及C_1-C_4烷氧基进一步任选被一个选自以下的取代基取代：C_1-C_4烷基芳基、羟基和硫基；或

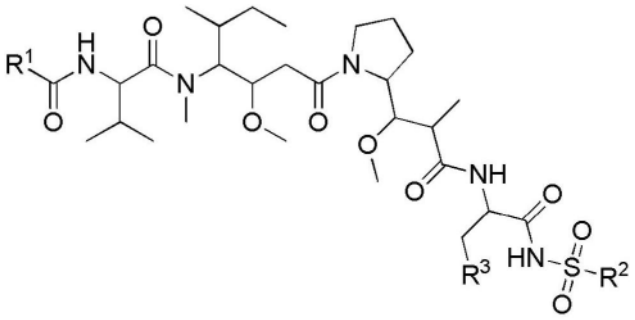
[0556] R^b和R^c与其各自所键结的原子一起形成杂环基二基；

[0557] R^2选自：C_2-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_4-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基，各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代：C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤酰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基；并且

[0558] R^3选自：芳基、杂芳基和C_3-C_7环烷基，各自任选被一个选自氨基和羟基的取代基取代；

[0559] 前提条件是当R^1为2-甲基-1-(甲基氨基)丙基,且R^3为苯基时,R^2不为乙基、异丙基、正丁基和苯基。

[0560] 还提供了式In化合物:

[0561] 

In

[0562] 及其药学上可接受的盐,其中:

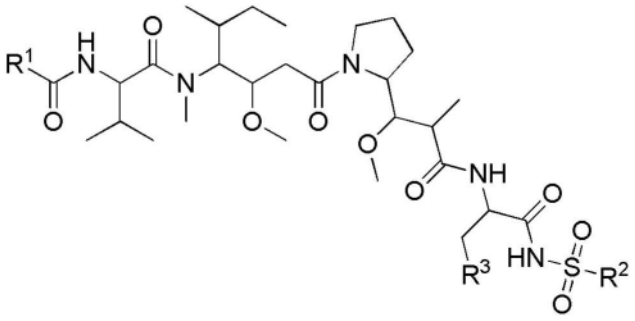
[0563] R^1选自:1-(二甲基氨基)-2-甲基丙基、2-甲基-1-(甲基氨基)丙基、1-氨基环戊基、1-氨基环丙基、4-氨基苯基、2-氨基丙-2-基、1-氨基环己基、3-氨基氧杂环丁烷-3-基、2-(甲基氨基)丙-2-基、1-氨基-2-甲基丙-2-基、2-甲基吡咯烷-2-基、2-氨基-3-甲基丁-2-基、2-氨基丁-2-基、2-甲基-1-(甲基氨基)丙-2-基、1-甲基哌啶-2-基、3-氟吡咯烷-3-基、1,2-二甲基吡咯烷-2-基和2-(二甲基氯基)丙-2-基);并且

[0564] R^2选自:4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氨基苯基、苄基、3-巯基丙基、2-巯基乙基、4-(巯基甲基)苯基、对甲苯基、2,4,6-三甲基苯基、4-(三氟甲氧基)苯基、2,4,6-三异丙基苯基、4-叔丁基苯基、4-氯苯基、3-氰基苯基、2-硝基苯基、4-甲氧基-2-硝基苯基、4-氨基羰基-2-硝基苯基、4-甲氧基苯基、苯基、2-氟苄基、哌啶-1-基、邻甲苯基、4-溴苯基、萘-2-基、4-甲氧羰基苯基、2-(三氟甲基)苄基、己烷-2-基、2-甲氧基乙基、环戊基甲基、环己基、吡啶-3-基甲基、4-羧基苯基、3-氨基苯基、吡啶-3-基、噻吩-2-基、4-羟基苯基、4-(1-氨基环丙基)苄基、4-(1-氨基环丙基)苯基、2-甲基苄基、4-硝基苄基、4-氯苄基、苯乙基、4-溴苄基、4-氰基苄基、3-硝基苄基、4-叔丁基苄基、2-硝基苄基、4-硝基苯乙基、2-氯代-3-甲氧羰基苯基、2-氨基苯基、[1,1′-联苯]-4-基、4′-氨基-[1,1′-联苯]-4-基、4-氟苄基、3-(三氟甲基)苄基、3-(三氟甲氧基)苄基、3,4-二氯苄基、2-氰基苄基、3-氯苄基、4-氨基-2-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲氧基)苯基、4-氨基-2,3-二甲基苯基、4-氨基-5,6,7,8-四氢萘-1-基、4-氨基-3-甲基苯基、4-氨基-3-氟苯基、4-氨基-3-乙基苯基、以及4-氨基-3-(三氟甲基)苯基;并且

[0565] R^3选自:1H-吲哚-3-基、4-氨基苯基、4-羟基苯基、5-羟基吡啶-2-基、环己基和苯基。

[0566] 前提条件是当R^1为2-甲基-1-(甲基氨基)丙基,且R^3为苯基时,R^2不为乙基、异丙基、正丁基和苯基。

[0567] 还提供了式In化合物:

[0568] 

In

[0569] 及其药学上可接受的盐,其中:

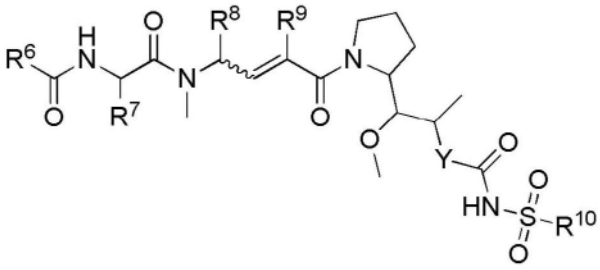
[0570] R^1选自:1-(二甲基氨基)-2-甲基丙基、2-甲基-1-(甲基氨基)丙基、1-氨基环戊基、1-氨基环丙基、4-氨基苯基、2-氨基丙-2-基、1-氨基环己基、3-氨基氧杂环丁烷-3-基、2-(甲基氨基)丙-2-基、1-氨基-2-甲基丙-2-基、2-甲基吡咯烷-2-基、2-氨基-3-甲基丁-2-基、2-氨基丁-2-基、2-甲基-1-(甲基氨基)丙-2-基、1-甲基哌啶-2-基、3-氟吡咯烷-3-基、1,2-二甲基吡咯烷-2-基、2-(二甲基氨基)丙-2-基)、2-甲基-1-(甲基氨基)-2-苯基丙基、1-异丙基哌啶-2-基、2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-3-基和2-甲基-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-3-基;并且

[0571] R^2选自:4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氨基苯基、苄基、3-巯基丙基、2-巯基乙基、4-(巯基甲基)苯基、对甲苯基、2,4,6-三甲基苯基、4-(三氟甲氧基)苯基、2,4,6-三异丙基苯基、4-叔丁基苯基、4-氯苯基、3-氰基苯基、2-硝基苯基、4-甲氧基-2-硝基苯基、4-氨基羰基-2-硝基苯基、4-甲氧基苯基、苯基、2-氟苄基、哌啶-1-基、邻甲苯基、4-溴苯基、萘-2-基、4-甲氧羰基苯基、2-(三氟甲基)苄基、己烷-2-基、2-甲氧基乙基、环戊基甲基、环己基、吡啶-3-基甲基、4-羧基苯基、3-氨基苯基、吡啶-3-基、噻吩-2-基、4-羟基苯基、4-(1-氨基环丙基)苄基、4-(1-氨基环丙基)苯基、2-甲基苄基、4-硝基苄基、4-氯苄基、苯乙基、4-溴苄基、4-氰基苄基、3-硝基苄基、4-叔丁基苄基、2-硝基苄基、4-硝基苯乙基、2-氯代-3-甲氧羰基苯基、2-氨基苯基、[1,1′-联苯]-4-基、4′-氨基-[1,1′-联苯]-4-基、4-氟苄基、3-(三氟甲基)苄基、3-(三氟甲氧基)苄基、3,4-二氯苄基、2-氰基苄基、3-氯苄基、4-氨基-2-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲氧基)苯基、4-氨基-2,3-二甲基苯基、4-氨基-5,6,7,8-四氢萘-1-基、4-氨基-3-甲基苯基、4-氨基-3-氟苯基、4-氨基-3-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲基)苯基和4-(甲氧羰基)苯基;并且

[0572] R^3选自:1H-吲哚-3-基、4-氨基苯基、4-羟基苯基、5-羟基吡啶-2-基、环己基和苯基。

[0573] 前提条件是当R^1为2-甲基-1-(甲基氨基)丙基,且R^3为苯基时,R^2不为乙基、异丙基、正丁基和苯基。

[0574] 还提供了式VI化合物:

[0575] 

VI

[0576] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0577] R^6选自:氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氯基-C_3-C_7环烷基、氨基-杂环基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷硫基、羧基、羧酰胺、C_3-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、胍基、卤基、C_1-C_6卤酰基、C_1-C_6卤烷基、杂环基、杂环基-C_1-C_6烷基、羟基和硫基;或

[0578] R^6为$R^eR^fNCH(R^g)$-;

[0579] R^e选自:H和C_1-C_6烷基;

[0580] R^f为C_1-C_6烷基;且

[0581] R^g为R^h-$C(CH_3)_2$-;且

[0582] R^h选自:H、芳基、C_3-C_7环烷基和杂芳基,其各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_4酰硫基、C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基、C_1-C_4烷基氨基、C_1-C_4烷氧基、氨基、氨基-C_1-C_4烷基、卤基、C_1-C_4卤烷基、羟基、羟基-C_1-C_4烷基和硫基,其中C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基氨基及C_1-C_4烷氧基进一步任选被一个选自以下的取代基取代:C_1-C_4烷基芳基、羟基和硫基;或

[0583] R^e和R^f与其各自所键结的原子一起形成杂环基二基;

[0584] R^7为任选被C_1-C_6烷硫基取代的C_2-C_4烷基;

[0585] R^8为任选被C_1-C_6烷硫基取代的C_2-C_4烷基;

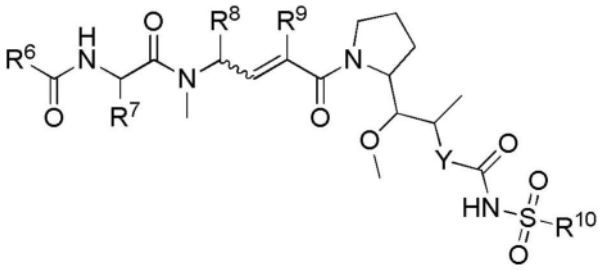
[0586] R^9选自:H和C_1-C_3烷基;

[0587] R^{10}选自:C_1-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_3-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤酰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基;

[0588] Y为-C(O)NHCH(CH_2R^{11})-,或Y不存在;并且

[0589] R^{11}选自:芳基、杂芳基和C_3-C_7环烷基,各自任选被一个选自氨基和羟基的取代基取代。

[0590] 还提供了式VI化合物:

[0591] 

VI

[0592] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0593] R^6选自:1-(二甲基氨基)-2-甲基丙基、2-甲基-1-(甲基氨基)丙基、1-氨基环戊基、1-氨基环丙基、4-氨基苯基、2-氨基丙-2-基、1-氨基环己基、3-氨基氧杂环丁烷-3-基、2-(甲基氨基)丙-2-基、1-氨基-2-甲基丙-2-基、2-甲基吡咯烷-2-基、2-氨基-3-甲基丁-2-基、2-氨基丁-2-基、2-甲基-1-(甲基氨基)丙-2-基、1-甲基哌啶-2-基、3-氟吡咯烷-3-基、1,2-二甲基吡咯烷-2-基、2-(二甲基氨基)丙-2-基)、2-甲基-1-(甲基氨基)-2-苯基丙基、1-异丙基哌啶-2-基、2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-3-基和2-甲基-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-3-基;

[0594] R^7选自:异丙基、异丁基、仲丁基、叔丁基及2-(甲硫基)乙基;

[0595] R^8选自:异丙基、异丁基、仲丁基和2-(甲硫基)乙基;

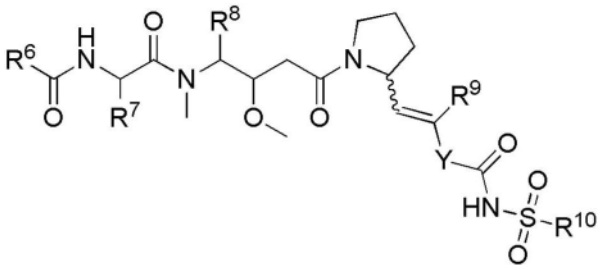
[0596] R^9选自:甲基、乙基和正丙基;

[0597] R^{10}选自:4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氨基苯基、苄基、3-巯基丙基、2-巯基乙基、4-(巯基甲基)苯基、对甲苯基、2,4,6-三甲基苯基、4-(三氟甲氧基)苯基、2,4,6-三异丙基苯基、4-叔丁基苯基、4-氯苯基、3-氰基苯基、2-硝基苯基、4-甲氧基-2-硝基苯基、4-氨基羰基-2-硝基苯基、4-甲氧基苯基、苯基、2-氟苄基、哌啶-1-基、邻甲苯基、4-溴苯基、萘-2-基、4-甲氧羰基苯基、2-(三氟甲基)苄基、己烷-2-基、2-甲氧基乙基、环戊基甲基、环己基、吡啶-3-基甲基、4-羧基苯基、3-氨基苯基、吡啶-3-基、噻吩-2-基、4-羟基苯基、4-(1-氨基环丙基)苄基、4-(1-氨基环丙基)苯基、2-甲基苄基、4-硝基苄基、4-氯苄基、苯乙基、4-溴苄基、4-氰基苄基、3-硝基苄基、4-叔丁基苄基、2-硝基苄基、4-硝基苯乙基、2-氯代-3-甲氧羰基苯基、2-氨基苯基、[1,1′-联苯]-4-基、4′-氯基-[1,1′-联苯]-4-基、4-氟苄基、3-(三氟甲基)苄基、3-(三氟甲氧基)苄基、3,4-二氯苄基、2-氰基苄基、3-氯苄基、4-氨基-2-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲氧基)苯基、4-氨基-2,3-二甲基苯基、4-氨基-5,6,7,8-四氢萘-1-基、4-氨基-3-甲基苯基、4-氨基-3-氟苯基、4-氨基-3-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲基)苯基和4-(甲氧羰基)苯基;

[0598] Y为-C(O)NHCH(CH_2R^{11})-,或Y不存在;并且

[0599] R^{11}选自:1H-吲哚-3-基、4-氨基苯基、4-羟基苯基、5-羟基吡啶-2-基、环己基和苯基。

[0600] 还提供了式VII化合物:

[0601] 

VII

[0602] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0603] R^6选自:氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、氨基-杂环基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷硫基、羧基、羧酰胺、C_3-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、胍基、卤基、C_1-C_6卤酰基、C_1-C_6卤烷基、杂环基、杂环基-C_1-C_6烷基、羟基和硫基;或

[0604] R^6为$R^eR^fNCH(R^g)$-;

[0605] R^e选自:H和C_1-C_6烷基;

[0606] R^f为C_1-C_6烷基;且

[0607] R^g为R^h-$C(CH_3)_2$-;且

[0608] R^h选自:H、芳基、C_3-C_7环烷基和杂芳基,其各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_4酰硫基、C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基、C_1-C_4烷基氨基、C_1-C_4烷氧基、氨基、氨基-C_1-C_4烷基、卤基、C_1-C_4卤烷基、羟基、羟基-C_1-C_4烷基和硫基,其中C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基氨基及C_1-C_4烷氧基进一步任选被一个选自以下的取代基取代:C_1-C_4烷基芳基、羟基和硫基;或

[0609] R^e和R^f与其各自所键结的原子一起形成杂环基二基;

[0610] R^7为任选被C_1-C_6烷硫基取代的C_2-C_4烷基;

[0611] R^8为任选被C_1-C_6烷硫基取代的C_2-C_4烷基;

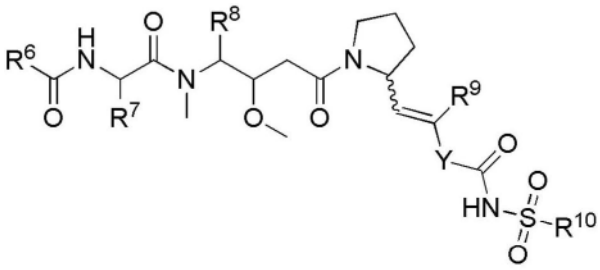
[0612] R^9选自:H和C_1-C_3烷基;

[0613] R^{10}选自:C_1-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_3-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤酰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基;

[0614] Y为-C(O)NHCH(CH_2R^{11})-,或Y不存在;并且

[0615] R^{11}选自:芳基、杂芳基和C_3-C_7环烷基,各自任选被一个选自氨基和羟基的取代基取代。

[0616] 还提供了式VII化合物:

[0617] 

VII

[0618] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0619] R^6选自:1-(二甲基氨基)-2-甲基丙基、2-甲基-1-(甲基氨基)丙基、1-氨基环戊基、1-氨基环丙基、4-氨基苯基、2-氨基丙-2-基、1-氨基环己基、3-氨基氧杂环丁烷-3-基、2-(甲基氨基)丙-2-基、1-氨基-2-甲基丙-2-基、2-甲基吡咯烷-2-基、2-氯基-3-甲基丁-2-基、2-氨基丁-2-基、2-甲基-1-(甲基氨基)丙-2-基、1-甲基哌啶-2-基、3-氟吡咯烷-3-基、1,2-二甲基吡咯烷-2-基、2-(二甲基氨基)丙-2-基)、2-甲基-1-(甲基氨基)-2-苯基丙基、1-异丙基哌啶-2-基、2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-3-基和2-甲基-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-3-基;

[0620] R^7选自:异丙基、异丁基、仲丁基、叔丁基及2-(甲硫基)乙基;

[0621] R^8选自:异丙基、异丁基、仲丁基及2-(甲硫基)乙基;

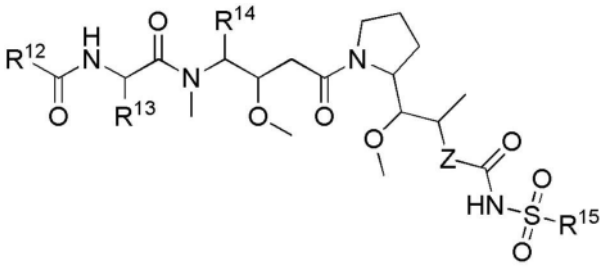
[0622] R^9选自:甲基、乙基和正丙基;

[0623] R^{10}选自:4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氨基苯基、苄基、3-巯基丙基、2-巯基乙基、4-(巯基甲基)苯基、对甲苯基、2,4,6-三甲基苯基、4-(三氟甲氧基)苯基、2,4,6-三异丙基苯基、4-叔丁基苯基、4-氯苯基、3-氰基苯基、2-硝基苯基、4-甲氧基-2-硝基苯基、4-氨基羰基-2-硝基苯基、4-甲氧基苯基、苯基、2-氟苄基、哌啶-1-基、邻甲苯基、4-溴苯基、萘-2-基、4-甲氧羰基苯基、2-(三氟甲基)苄基、己烷-2-基、2-甲氧基乙基、环戊基甲基、环己基、吡啶-3-基甲基、4-羧基苯基、3-氨基苯基、吡啶-3-基、噻吩-2-基、4-羟基苯基、4-(1-氨基环丙基)苄基、4-(1-氨基环丙基)苯基、2-甲基苄基、4-硝基苄基、4-氯苄基、苯乙基、4-溴苄基、4-氰基苄基、3-硝基苄基、4-叔丁基苄基、2-硝基苄基、4-硝基苯乙基、2-氯代-3-甲氧羰基苯基、2-氨基苯基、[1,1′-联苯]-4-基、4′-氨基-[1,1′-联苯]-4-基、4-氟苄基、3-(三氟甲基)苄基、3-(三氟甲氧基)苄基、3,4-二氯苄基、2-氰基苄基、3-氯苄基、4-氨基-2-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲氧基)苯基、4-氨基-2,3-二甲基苯基、4-氨基-5,6,7,8-四氢萘-1-基、4-氨基-3-甲基苯基、4-氨基-3-氟苯基、4-氨基-3-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲基)苯基和4-(甲氧羰基)苯基;

[0624] Y为-C(O)NHCH(CH_2R^{11})-,或Y不存在;并且

[0625] R^{11}选自:1H-吲哚-3-基、4-氨基苯基、4-羟基苯基、5-羟基吡啶-2-基、环己基和苯基。

[0626] 还提供了式VIII化合物:

[0627] 

VIII

[0628] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0629] R^{12}选自:氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、氨基-杂环基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷硫基、羧基、羧酰胺、C_3-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、胍基、卤基、C_1-C_6卤酰基、C_1-C_6卤烷基、杂环基、杂环基-C_1-C_6烷基、羟基和硫基;或

[0630] R^{12}为$R^iR^jNCH(R^k)$-;

[0631] R^i选自:H和C_1-C_6烷基;

[0632] R^j为C_1-C_6烷基;且

[0633] R^k为R^m-$C(CH_3)_2$-;且

[0634] R^m选自:H、芳基、C_3-C_7环烷基和杂芳基,其各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_4酰硫基、C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基、C_1-C_4烷基氨基、C_1-C_4烷氧基、氨基、氨基-C_1-C_4烷基、卤基、C_1-C_4卤烷基、羟基、羟基-C_1-C_4烷基和硫基,其中C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基氨基及C_1-C_4烷氧基进一步任选被一个选自以下的取代基取代:C_1-C_4烷基芳基、羟基和硫基;或

[0635] R^i和R^j与其各自所键结的原子一起形成杂环基二基;

[0636] R^{13}为任选被C_1-C_6烷硫基取代的C_2-C_4烷基;

[0637] R^{14}为任选被C_1-C_6烷硫基取代的C_2-C_4烷基;

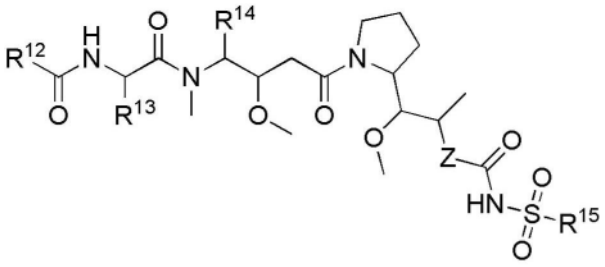
[0638] R^{15}选自:C_2-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_4-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤酰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基;

[0639] Z为-C(O)NHCH(CH_2R^{16})-,或Z不存在;并且

[0640] R^{16}选自:芳基、杂芳基和C_3-C_7环烷基,各自任选被一个选自氨基和羟基的取代基取代;

[0641] 前提条件是当R^{12}为2-甲基-1-(甲基氨基)丙基,R^{13}为异丙基,且R^{14}为仲丁基,且Z为-C(O)NHCH(CH_2Ph)-时,R^{15}不为乙基、异丙基、正丁基和苯基。

[0642] 还提供了式VIII化合物:

[0643] 

VIII

[0644] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0645] R^{12}选自:1-(二甲基氨基)-2-甲基丙基、2-甲基-1-(甲基氨基)丙基、1-氨基环戊基、1-氨基环丙基、4-氨基苯基、2-氨基丙-2-基、1-氨基环己基、3-氨基氧杂环丁烷-3-基、2-(甲基氨基)丙-2-基、1-氨基-2-甲基丙-2-基、2-甲基吡咯烷-2-基、2-氨基-3-甲基丁-2-基、2-氨基丁-2-基、2-甲基-1-(甲基氨基)丙-2-基、1-甲基哌啶-2-基、3-氟吡咯烷-3-基、1,2-二甲基吡咯烷-2-基、2-(二甲基氨基)丙-2-基)、2-甲基-1-(甲基氨基)-2-苯基丙基、1-异丙基哌啶-2-基、2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-3-基和2-甲基-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-3-基;

[0646] R^{13}选自:异丙基、异丁基、仲丁基、叔丁基及2-(甲硫基)乙基;

[0647] R^{14}选自:异丙基、异丁基、仲丁基及2-(甲硫基)乙基;

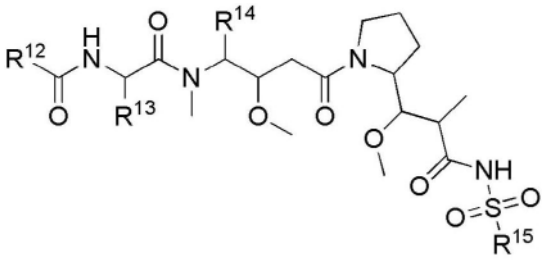
[0648] R^{15}选自:4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氨基苯基、苄基、3-巯基丙基、2-巯基乙基、4-(巯基甲基)苯基、对甲苯基、2,4,6-三甲基苯基、4-(三氟甲氧基)苯基、2,4,6-三异丙基苯基、4-叔丁基苯基、4-氯苯基、3-氰基苯基、2-硝基苯基、4-甲氧基-2-硝基苯基、4-氨基羰基-2-硝基苯基、4-甲氧基苯基、苯基、2-氟苄基、哌啶-1-基、邻甲苯基、4-溴苯基、萘-2-基、4-甲氧羰基苯基、2-(三氟甲基)苄基、己烷-2-基、2-甲氧基乙基、环戊基甲基、环己基、吡啶-3-基甲基、4-羧基苯基、3-氨基苯基、吡啶-3-基、噻吩-2-基、4-羟基苯基、4-(1-氨基环丙基)苄基、4-(1-氨基环丙基)苯基、2-甲基苄基、4-硝基苄基、4-氯苄基、苯乙基、4-溴苄基、4-氰基苄基、3-硝基苄基、4-叔丁基苄基、2-硝基苄基、4-硝基苯乙基、2-氯代-3-甲氧羰基苯基、2-氨基苯基、[1,1′-联苯]-4-基、4′-氨基-[1,1′-联苯]-4-基、4-氟苄基、3-(三氟甲基)苄基、3-(三氟甲氧基)苄基、3,4-二氯苄基、2-氰基苄基、3-氯苄基、4-氨基-2-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲氧基)苯基、4-氨基-2,3-二甲基苯基、4-氨基-5,6,7,8-四氢萘-1-基、4-氨基-3-甲基苯基、4-氨基-3-氟苯基、4-氨基-3-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲基)苯基和4-(甲氧羰基)苯基;

[0649] Z为-C(O)NHCH(CH_2R^{16})-,或Z不存在;并且

[0650] R^{16}选自:1H-吲哚-3-基、4-氨基苯基、4-羟基苯基、5-羟基吡啶-2-基、环己基和苯基;

[0651] 前提条件是当R^{12}为2-甲基-1-(甲基氨基)丙基,R^{13}为异丙基,且R^{14}为仲丁基,且Z为-C(O)NHCH(CH_2Ph)-时,R^{15}不为乙基、异丙基、正丁基和苯基。

[0652] 还提供了式VIIIa化合物:

[0653] 

VIIIa

[0654] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0655] R^{12}选自:氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、氨基-杂环基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷硫基、羧基、羧酰胺、C_3-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、胍基、卤基、C_1-C_6卤酰基、C_1-C_6卤烷基、杂环基、杂环基-C_1-C_6烷基、羟基和硫基;或

[0656] R^{12}为$R^iR^jNCH(R^k)$-;

[0657] R^i选自:H和C_1-C_6烷基;

[0658] R^j为C_1-C_6烷基;且

[0659] R^k为R^m-$C(CH_3)_2$-;且

[0660] R^m选自:H、芳基、C_3-C_7环烷基和杂芳基,其各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_4酰硫基、C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基、C_1-C_4烷基氨基、C_1-C_4烷氧基、氨基、氨基-C_1-C_4烷基、卤基、C_1-C_4卤烷基、羟基、羟基-C_1-C_4烷基和硫基,其中C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基氨基及C_1-C_4烷氧基进一步任选被一个选自以下的取代基取代:C_1-C_4烷基芳基、羟基和硫基;或

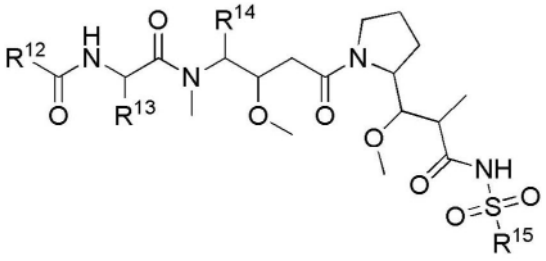
[0661] R^i和R^j与其各自所键结的原子一起形成杂环基二基;

[0662] R^{13}为任选被C_1-C_6烷硫基取代的C_2-C_4烷基;

[0663] R^{14}为任选被C_1-C_6烷硫基取代的C_2-C_4烷基;并且

[0664] R^{15}选自:C_1-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_3-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤酰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基。

[0665] 还提供了式VIIIa化合物:

[0666] 

VIIIa

[0667] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0668] R^{12}选自:1-(二甲基氨基)-2-甲基丙基、2-甲基-1-(甲基氨基)丙基、1-氨基环戊

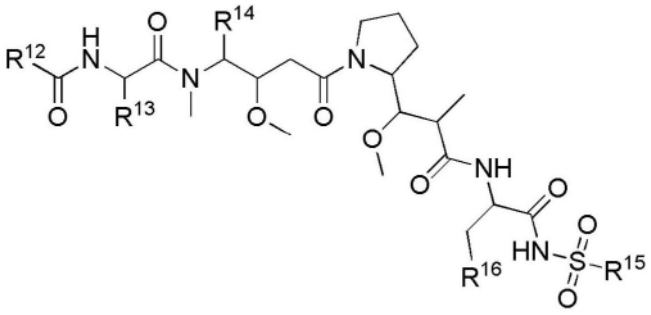
基、1-氨基环丙基、4-氨基苯基、2-氨基丙-2-基、1-氨基环己基、3-氨基氧杂环丁烷-3-基、2-(甲基氨基)丙-2-基、1-氨基-2-甲基丙-2-基、2-甲基吡咯烷-2-基、2-氨基-3-甲基丁-2-基、2-氨基丁-2-基、2-甲基-1-(甲基氨基)丙-2-基、1-甲基哌啶-2-基、3-氟吡咯烷-3-基、1,2-二甲基吡咯烷-2-基、2-(二甲基氨基)丙-2-基)、2-甲基-1-(甲基氨基)-2-苯基丙基、1-异丙基哌啶-2-基、2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-3-基和2-甲基-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-3-基;

[0669] R^{13}选自:异丙基、异丁基、仲丁基、叔丁基及2-(甲硫基)乙基;

[0670] R^{14}选自:异丙基、异丁基、仲丁基及2-(甲硫基)乙基;并且

[0671] R^{15}选自:4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氨基苯基、苄基、3-巯基丙基、2-巯基乙基、4-(巯基甲基)苯基、对甲苯基、2,4,6-三甲基苯基、4-(三氟甲氧基)苯基、2,4,6-三异丙基苯基、4-叔丁基苯基、4-氯苯基、3-氰基苯基、2-硝基苯基、4-甲氧基-2-硝基苯基、4-氨基羰基-2-硝基苯基、4-甲氧基苯基、苯基、2-氟苄基、哌啶-1-基、邻甲苯基、4-溴苯基、萘-2-基、4-甲氧羰基苯基、2-(三氟甲基)苄基、己烷-2-基、2-甲氧基乙基、环戊基甲基、环己基、吡啶-3-基甲基、4-羧基苯基、3-氨基苯基、吡啶-3-基、噻吩-2-基、4-羟基苯基、4-(1-氨基环丙基)苄基、4-(1-氨基环丙基)苯基、2-甲基苄基、4-硝基苄基、4-氯苄基、苯乙基、4-溴苄基、4-氰基苄基、3-硝基苄基、4-叔丁基苄基、2-硝基苄基、4-硝基苯乙基、2-氯代-3-甲氧羰基苯基、2-氨基苯基、[1,1′-联苯]-4-基、4′-氨基-[1,1′-联苯]-4-基、4-氟苄基、3-(三氟甲基)苄基、3-(三氟甲氧基)苄基、3,4-二氯苄基、2-氰基苄基、3-氯苄基、4-氨基-2-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲氧基)苯基、4-氨基-2,3-二甲基苯基、4-氨基-5,6,7,8-四氢萘-1-基、4-氨基-3-甲基苯基、4-氨基-3-氟苯基、4-氨基-3-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲基)苯基和4-(甲氧羰基)苯基。

[0672] 还提供了式VIIIb化合物:

[0673] 

VIIIb

[0674] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0675] R^{12}选自:氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、氨基-杂环基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷硫基、羧基、羧酰胺、C_3-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、胍基、卤基、C_1-C_6卤酰基、C_1-C_6卤烷基、杂环基、杂环基-C_1-C_6烷基、羟基和硫基;或

[0676] R^{12}为$R^iR^jNCH(R^k)$-;

[0677] R^i选自:H和C_1-C_6烷基;

[0678] R^j为C_1-C_6烷基;且

[0679] R^k为R^m-C$(CH_3)_2$-;且

[0680] R^m选自:H、芳基、C_3-C_7环烷基和杂芳基,其各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_4酰硫基、C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基、C_1-C_4烷基氨基、C_1-C_4烷氧基、氨基、氨基-C_1-C_4烷基、卤基、C_1-C_4卤烷基、羟基、羟基-C_1-C_4烷基和硫基,其中C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基氨基及C_1-C_4烷氧基进一步任选被一个选自以下的取代基取代:C_1-C_4烷基芳基、羟基和硫基;或

[0681] R^i和R^j与其各自所键结的原子一起形成杂环基二基;

[0682] R^{13}为任选被C_1-C_6烷硫基取代的C_2-C_4烷基;

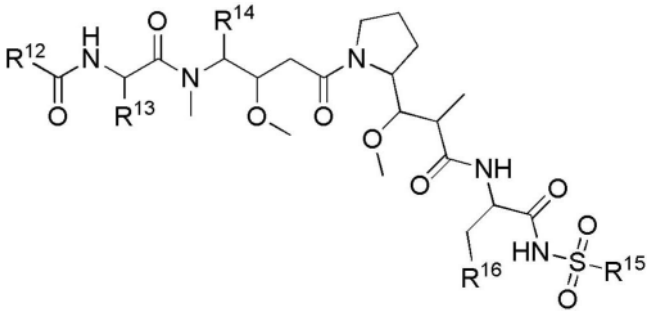
[0683] R^{14}为任选被C_1-C_6烷硫基取代的C_2-C_4烷基;

[0684] R^{15}选自:C_2-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_4-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤酰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基;并且

[0685] R^{16}选自:芳基、杂芳基和C_3-C_7环烷基,各自任选被一个选自氨基和羟基的取代基取代;

[0686] 前提条件是当R^{12}为2-甲基-1-(甲基氨基)丙基,R^{13}为异丙基,且R^{14}为仲丁基,且R^{16}为苯基时,R^{15}不为乙基、异丙基、正丁基和苯基。

[0687] 还提供了式VIIIb化合物:

[0688] 

VIIIb

[0689] 及其药学上可接受的盐,其中:

[0690] R^{12}选自:1-(二甲基氨基)-2-甲基丙基、2-甲基-1-(甲基氨基)丙基、1-氨基环戊基、1-氨基环丙基、4-氨基苯基、2-氨基丙-2-基、1-氨基环己基、3-氨基氧杂环丁烷-3-基、2-(甲基氨基)丙-2-基、1-氨基-2-甲基丙-2-基、2-甲基吡咯烷-2-基、2-氨基-3-甲基丁-2-基、2-氨基丁-2-基、2-甲基-1-(甲基氨基)丙-2-基、1-甲基哌啶-2-基、3-氟吡咯烷-3-基、1,2-二甲基吡咯烷-2-基、2-(二甲基氨基)丙-2-基)、2-甲基-1-(甲基氨基)-2-苯基丙基、1-异丙基哌啶-2-基、2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-3-基和2-甲基-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-3-基;

[0691] R^{13}选自:异丙基、异丁基、仲丁基、叔丁基及2-(甲硫基)乙基;

[0692] R^{14}选自:异丙基、异丁基、仲丁基及2-(甲硫基)乙基;

[0693] R^{15}选自:4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氨基苯基、苄基、3-巯基丙基、2-巯基乙基、4-(巯基甲基)苯基、对甲苯基、2,4,6-三甲基苯基、4-(三氟甲氧

基)苯基、2,4,6-三异丙基苯基、4-叔丁基苯基、4-氯苯基、3-氰基苯基、2-硝基苯基、4-甲氧基-2-硝基苯基、4-氨基羰基-2-硝基苯基、4-甲氧基苯基、苯基、2-氟苄基、哌啶-1-基、邻甲苯基、4-溴苯基、萘-2-基、4-甲氧羰基苯基、2-(三氟甲基)苄基、己烷-2-基、2-甲氧基乙基、环戊基甲基、环己基、吡啶-3-基甲基、4-羧基苯基、3-氨基苯基、吡啶-3-基、噻吩-2-基、4-羟基苯基、4-(1-氨基环丙基)苄基、4-(1-氨基环丙基)苯基、2-甲基苄基、4-硝基苄基、4-氯苄基、苯乙基、4-溴苄基、4-氰基苄基、3-硝基苄基、4-叔丁基苄基、2-硝基苄基、4-硝基苯乙基、2-氯代-3-甲氧羰基苯基、2-氨基苯基、[1,1′-联苯]-4-基、4′-氨基-[1,1′-联苯]-4-基、4-氟苄基、3-(三氟甲基)苄基、3-(三氟甲氧基)苄基、3,4-二氯苄基、2-氰基苄基、3-氯苄基、4-氨基-2-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲氧基)苯基、4-氨基-2,3-二甲基苯基、4-氨基-5,6,7,8-四氢萘-1-基、4-氨基-3-甲基苯基、4-氨基-3-氟苯基、4-氨基-3-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲基)苯基和4-(甲氧羰基)苯基;并且

[0694] R^{16}选自:1H-吲哚-3-基、4-氨基苯基、4-羟基苯基、5-羟基吡啶-2-基、环己基和苯基;

[0695] 前提条件是当R^{12}为2-甲基-1-(甲基氨基)丙基,R^{13}为异丙基,且R^{14}为仲丁基,且R^{16}为苯基时,R^{15}不为乙基、异丙基、正丁基和苯基。

[0696] 本发明的一些实施方案包括选自表A中所示的以下群组的一种或多种化合物的每个组合。

[0697] 本发明的一些实施方案包括选自表B中所示的以下群组的一种或多种化合物的每个组合。

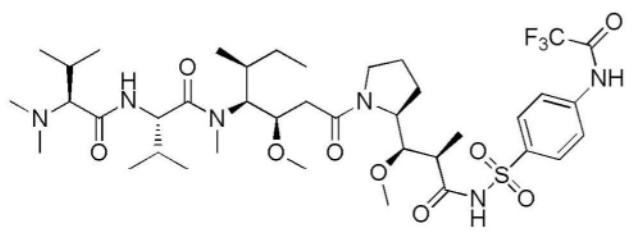
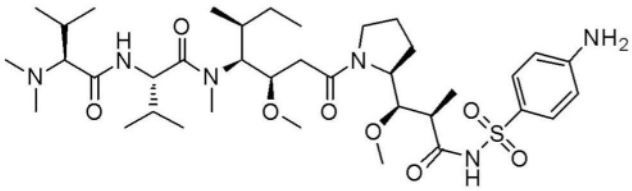
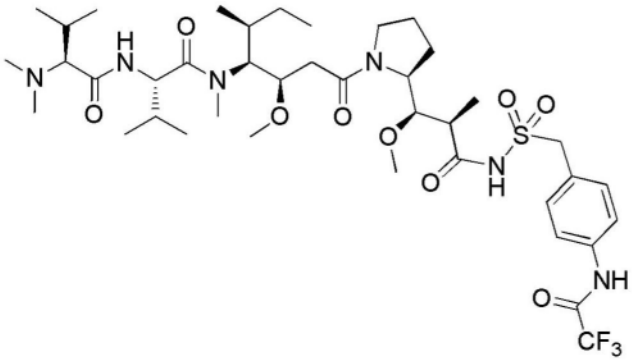
[0698] 本发明的一些实施方案包括选自表C中所示的以下群组的一种或多种化合物的每个组合。

[0699] 表A

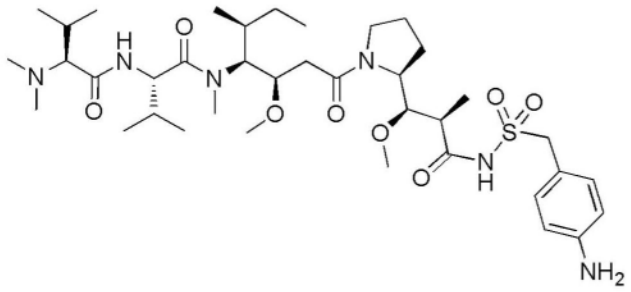
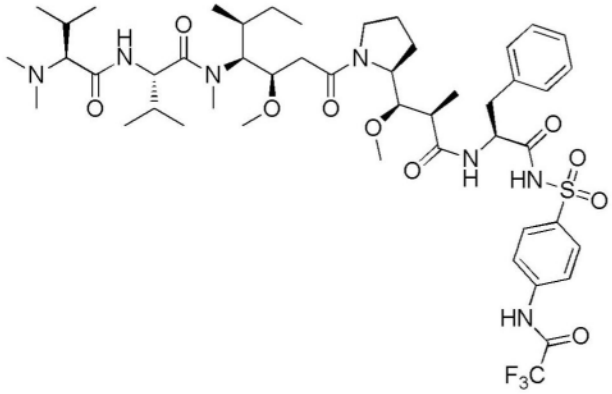
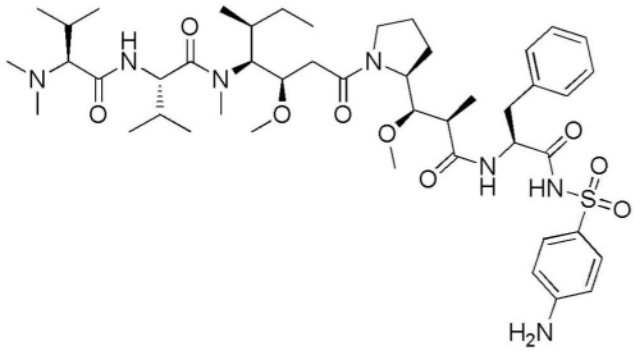
[0700]

化学结构	化学名称

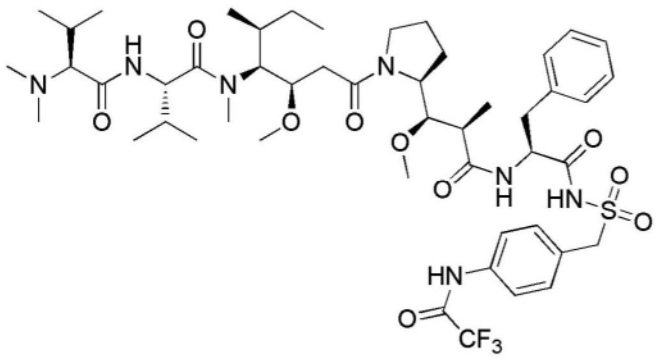
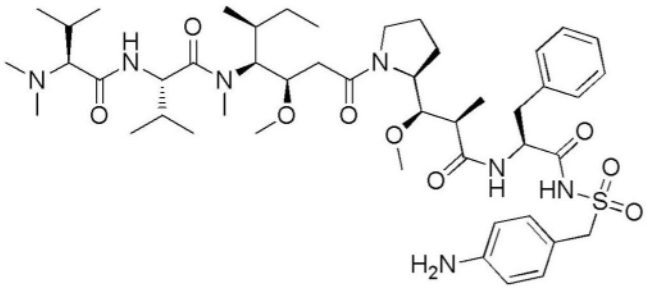
[0701]

化学结构	化学名称
	(*S*)-2-((*S*)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-3-甲氧基-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-(4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-*N*,3-二甲基丁酰胺(化合物4)
	(*S*)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-(4-氨基苯基磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((*S*)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-*N*,3-二甲基丁酰胺(化合物5)
	(*S*)-2-((*S*)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-3-甲氧基-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基)甲基磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-*N*,3-二甲基丁酰胺(化合物7)

[0702]

化学结构	化学名称
	(*S*)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((4-氨基苯基)甲基磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((*S*)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-*N*,3-二甲基丁酰胺(化合物 8)
	(*S*)-2-((*S*)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-3-甲氧基-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((*S*)-1-氧代基-3-苯基-1-(4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基磺酰胺基)丙-2-基氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-*N*,3-二甲基丁酰胺(化合物 10)
	(*S*)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((*S*)-1-(4-氨基苯基磺酰胺基)-1-氧代基-3-苯基丙-2-基氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((*S*)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-*N*,3-二甲基丁酰胺(化合物 11)

[0703]

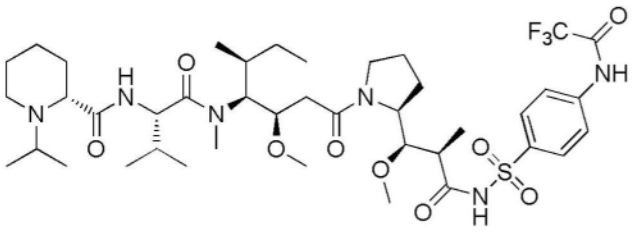
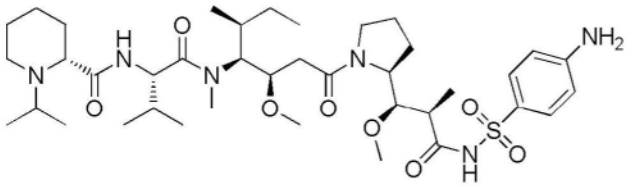
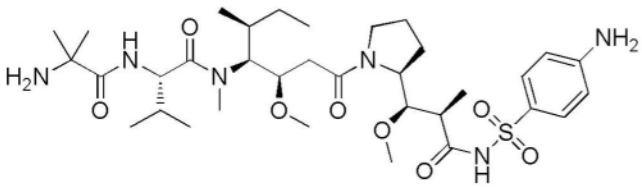
化学结构	化学名称
	(*S*)-2-((*S*)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-3-甲氧基-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((*S*)-1-氧代基-3-苯基-1-(4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基甲基磺酰胺基)丙-2-基氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-*N*,3-二甲基丁酰胺(化合物 13)
	(*S*)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((*S*)-1-(4-氨基苯基甲基磺酰胺基)-1-氧代基-3-苯基丙-2-基氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((*S*)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-*N*,3-二甲基丁酰胺(化合物 14)

[0704] 表B

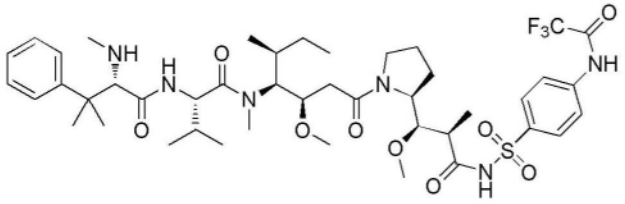
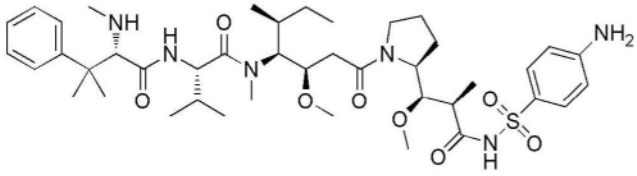
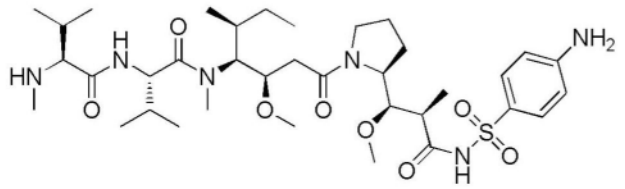
[0705]

化学结构	化学名称

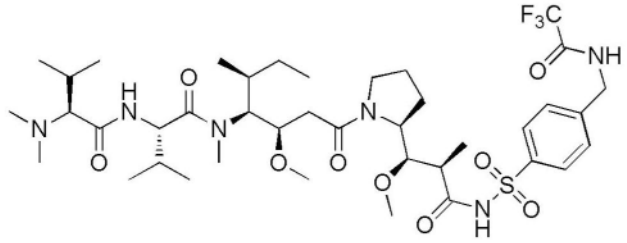
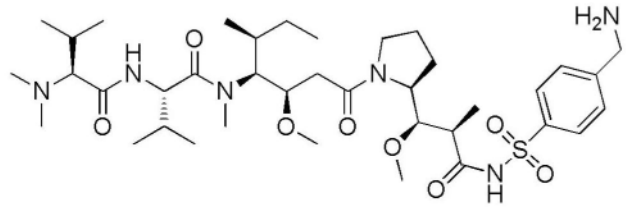
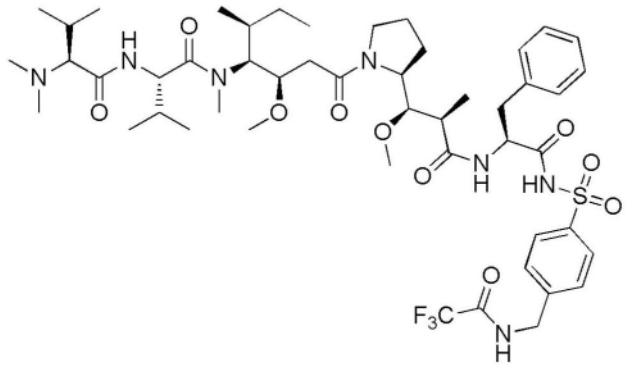
[0706]

化学结构	化学名称
	(*R*)-1-异丙基-*N*-((S)-1-(((3*R*,4*S*,5*S*)-3-甲氧基-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基)磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)哌啶-2-甲酰胺(化合物 15)
	(*R*)-*N*-((*S*)-1-(((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((4-氨基苯基)磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)-1-异丙基哌啶-2-甲酰胺(化合物 16)
	(*S*)-2-(2-氨基-2-甲基丙酰胺基)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((4-氨基苯基)磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-*N*,3-二甲基丁酰胺(化合物 17)

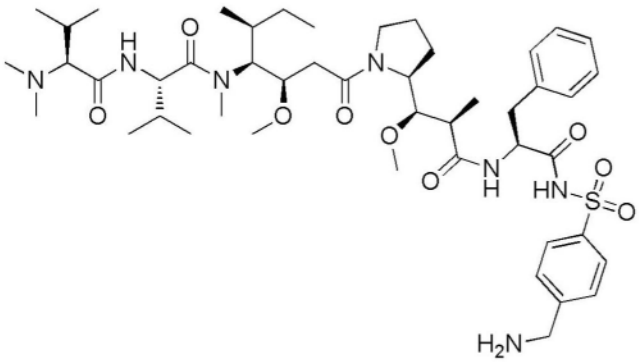
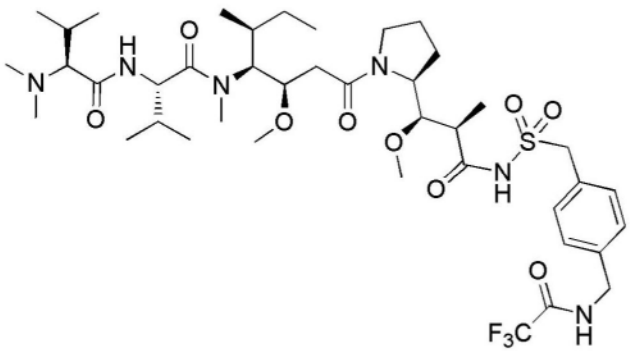
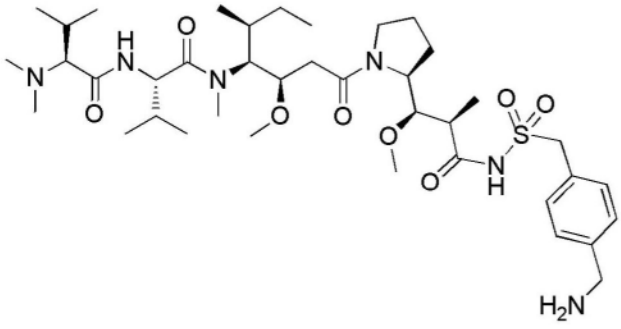
[0707]

化学结构	化学名称
	(1-(((*S*)-1-(((3*R*,4*S*,5*S*)-3-甲氧基-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基)磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-2-甲基-1-氧代丙-2-基)氨基甲酸叔丁酯(化合物 18)
	(*S*)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((4-氨基苯基)磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-*N*,3-二甲基-2-((*S*)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺(化合物 19)
	(*S*)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((4-氨基苯基)磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-N,3-二甲基-2-((*S*)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)丁酰胺(化合物 20)

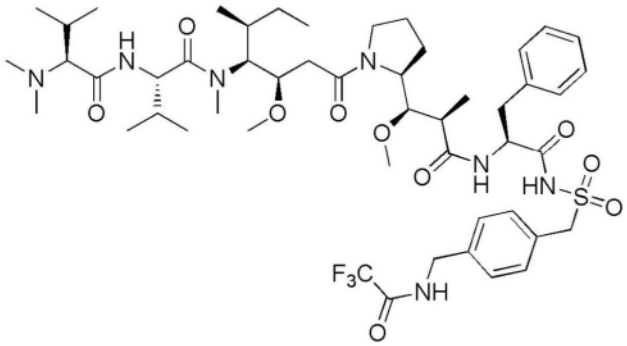
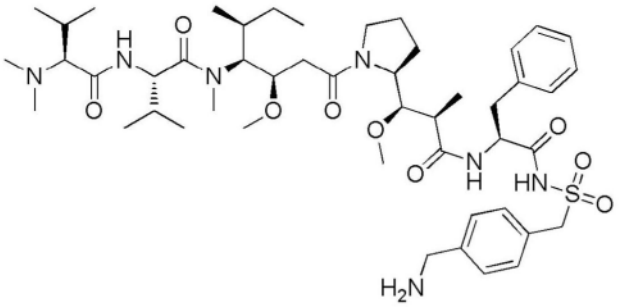
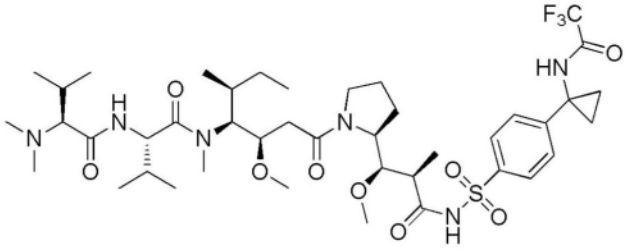
[0708]

化学结构	化学名称
	(*S*)-2-((*S*)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-3-甲氧基-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((4-((2,2,2-三氟乙酰胺基)甲基)苯基)磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-*N*,3-二甲基丁酰胺(化合物 21)
	(*S*)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((4-(氨基甲基)苯基)磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((*S*)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-*N*,3-二甲基丁酰胺(化合物 22)
	(*S*)-2-((*S*)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-3-甲氧基-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-(((*S*)-1-氧代基-3-苯基-1-((4-((2,2,2-三氟乙酰胺基)甲基)苯基)磺酰胺基)丙-2-基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-*N*,3-二甲基丁酰胺(化合物 23)

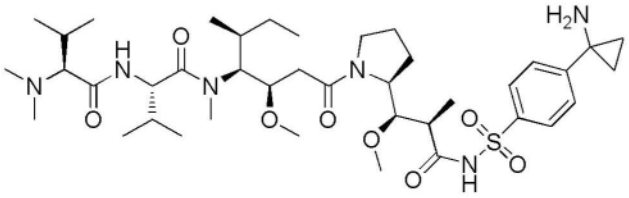
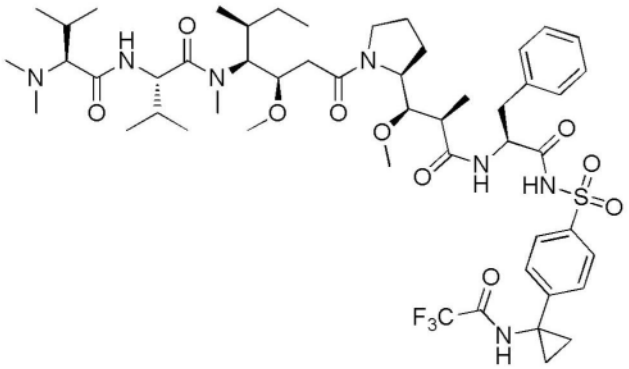
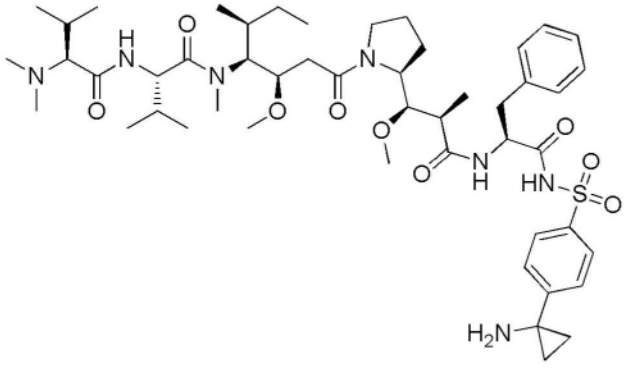
[0709]

化学结构	化学名称
	(*S*)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-(((*S*)-1-((4-(氨基甲基)苯基)磺酰胺基)-1-氧代基-3-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((*S*)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-*N*,3-二甲基丁酰胺(化合物24)
	(*S*)-2-((*S*)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-3-甲氧基-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-(((4-((2,2,2-三氟乙酰胺基)甲基)苯基)甲基)磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-*N*,3-二甲基丁酰胺(化合物 25)
	(*S*)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-(((4-(氨基甲基)苯基)甲基)磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((*S*)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-*N*,3-二甲基丁酰胺(化合物 26)

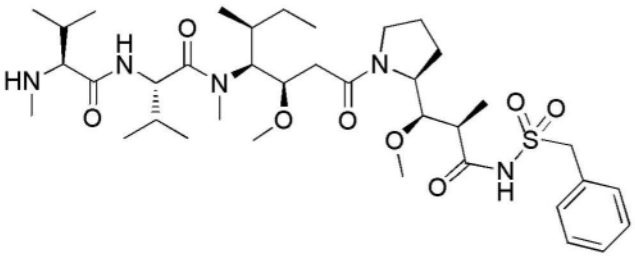
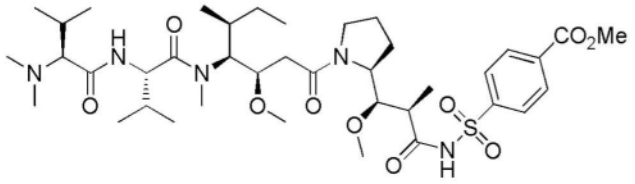
[0710]

化学结构	化学名称
	(*S*)-2-((*S*)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-3-甲氧基-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-(((*S*)-1-氧代基-3-苯基-1-(((4-((2,2,2-三氟乙酰胺基)甲基)苯基)甲基)磺酰胺基)丙-2-基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-*N*,3-二甲基丁酰胺(化合物 27)
	(*S*)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-(((*S*)-1-(((4-(氨基甲基)苯基)甲基)磺酰胺基)-1-氧代基-3-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((*S*)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-*N*,3-二甲基丁酰胺(化合物 28)
	(*S*)-2-((*S*)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-3-甲氧基-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-(4-(1-(2,2,2-三氟乙酰胺基)环丙基)苯基磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-*N*,3-二甲基丁酰胺(化合物 29)

[0711]

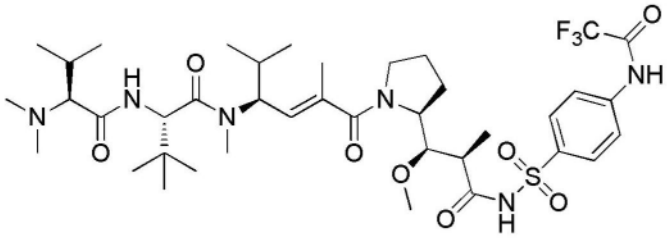
化学结构	化学名称
	(*S*)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-(4-(1-氨基环丙基)苯基磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((*S*)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-*N*,3-二甲基丁酰胺(化合物 30)
	(*S*)-2-((*S*)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-3-甲氧基-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((*S*)-1-氧代基-3-苯基-1-(4-(1-(2,2,2-三氟乙酰胺基)环丙基)苯基磺酰胺基)丙-2-基氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-*N*,3-二甲基丁酰胺(化合物 31)
	(*S*)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((*S*)-1-(4-(1-氨基环丙基)苯基磺酰胺基)-1-氧代基-3-苯基丙-2-基氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((*S*)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-*N*,3-二甲基丁酰胺(化合物 32)

[0712]

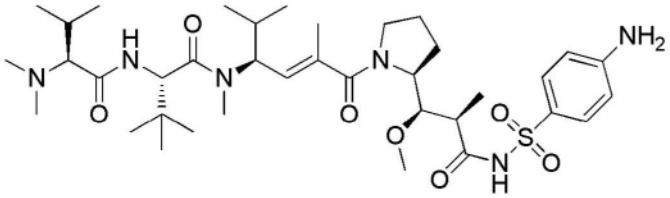
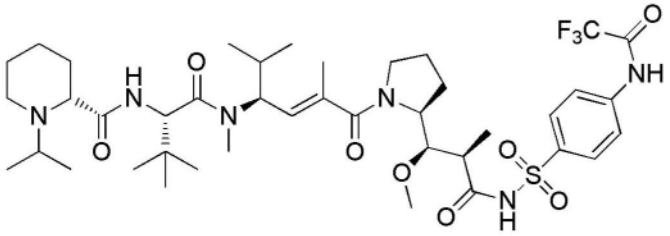
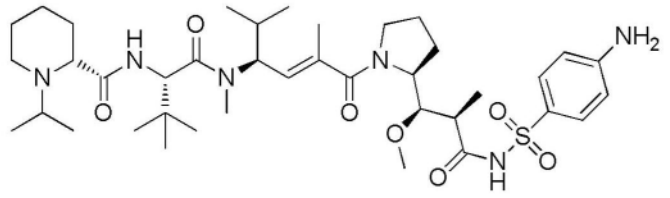
化学结构	化学名称
	(*S*)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-3-甲氧基-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((苯基甲基)磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-*N*,3-二甲基-2-((*S*)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)丁酰胺(化合物 33)
	4-(*N*-((2*R*,3*R*)-3-((*S*)-1-((3*R*,4*S*,5*S*)-4-((*S*)-2-((*S*)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-*N*,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)氨磺酰基)苯甲酸甲酯(化合物 34)

[0713] 表C

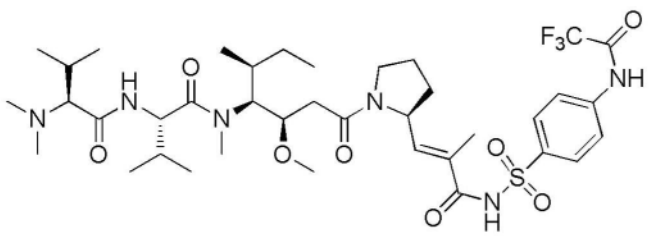
[0714]

化学结构	化学名称
	(*S*)-2-((*S*)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-*N*-((*S*,*E*)-6-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基)磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-2,5-二甲基-6-氧代己-4-烯-3-基)-*N*,3,3-三甲基丁酰胺(化合物 35)

[0715]

化学结构	化学名称
	(*S*)-*N*-((*S*,*E*)-6-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((4-氨基苯基)磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-2,5-二甲基-6-氧代己-4-烯-3-基)-2-((*S*)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-*N*,3,3-三甲基丁酰胺(化合物 36)
	(*S*)-1-异丙基-N-((*S*)-1-(((*S*,*E*)-6-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基)磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-2,5-二甲基-6-氧代己-4-烯-3-基)(甲基)氨基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)哌啶-2-甲酰胺(化合物 37)
	(*S*)-*N*-((*S*)-1-(((*S*,*E*)-6-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((4-氨基苯基)磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-2,5-二甲基-6-氧代己-4-烯-3-基)(甲基)氨基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)-1-异丙基哌啶-2-甲酰胺(化合物 38)

[0716]

化学结构	化学名称
	(*S*)-2-((*S*)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N-((3*R*,4*S*,5*S*)-3-甲氧基-5-甲基-1-((*S*)-2-((*E*)-2-甲基-3-氧代基-3-((4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基)磺酰胺基)丙-1-烯-1-基)吡咯烷-1-基)-1-氧代庚烷-4-基)-*N*,3-二甲基丁酰胺(化合物 39)

[0717] 另外,本发明的单独化合物及化学种类,例如表A、表B及表C中所见的那些化合物(包括其非对映异构物及对映异构体)涵盖所有药学上可接受的盐。式I化合物可根据由本领域技术人员使用的相关公开文献方法来制备。用于这些反应的示例性试剂和方法示于以下工作实施例中。在一个实施方案中,本发明提供了一种制造本文所述的化合物的方法。

[0718] 包含新型化合物的缀合物

[0719] 本文所述的化合物可用于形成缀合物,例如抗体-药物缀合物(ADC)。因此,在本公开的一个实施方案中,提供式II的缀合物组合物:

[0720] (T)-(L)-(D)

[0721] II

[0722] 其中(T)为靶向部分,(L)为任选的接头,且(D)为式I化合物。在一个实施方案中,(T)为抗体。因此,在一个实施方案中,抗体-药物缀合物(ADC)包含式I的化合物(D)。

[0723] 如熟练技术人员应理解,广泛多种手段可用于共价地连接(T)-(L)-(D)。任何已知的方法可用于连接缀合物组分。任何已知的接头技术可用于将(T)连接至(D)。此外,(T)、(L)和(D)可以如熟练技术人员所认可的任何合适的方式来修饰,以便促进缀合物形成。

[0724] 靶向部分(T)

[0725] 本发明组合物的靶向部分(T)在其范围内包括(T)的任何单元,其与受体、抗原或与给定的靶细胞群有关的其它接受部分结合或反应性地缔合或复合。(T)是与设法被靶向的细胞群的部分结合、与之复合或与之反应的分子。一方面,(T)用于将药物(D)递送到与(T)反应的特定的靶细胞群。此类(T)包括但不限于大分子量蛋白,例如像全长抗体、抗体片段、较小分子量蛋白、多肽或肽、凝集素、糖蛋白、非肽、维生素、营养素转运分子(如但不限于转铁蛋白)或任何其它细胞结合分子或物质。

[0726] (T)可与接头单元(L)或药物(D)形成键。(T)可经由(T)的杂原子与(L)单元形成键。可存在于(T)上的杂原子包括硫(在一个实施方案中,来自(T)的巯基)、氧(在一个实施方案中,来自(T)的羰基、羧基或羟基)及氮(在一个实施方案中,来自(T)的伯氨基或仲氨基)。这些杂原子可以(T)的天然状态存在于(T)上,例如天然存在的抗体,或者可经由化学

修饰引入(T)中。

[0727] 在一个实施方案中,(T)具有巯基并且(T)经由巯基的硫原子键结至(L)。在另一实施方案中,(T)具有一个或多个可在化学上被修饰以引入一个或多个巯基的赖氨酸残基。(T)经由巯基键结至(L)单元。可用于修饰赖氨酸的试剂包括但不限于N-琥珀酰亚胺基S-乙酰基硫基乙酸酯(SATA)和2-亚氨基四氢噻吩(iminothiolane)盐酸盐(Traut's试剂)。

[0728] 在另一实施方案中,(L)可具有一个或多个可在化学上被修饰以具有一个或多个巯基的糖基。(T)经由巯基的硫原子键结至(L)。在又一实施方案中,(T)可具有一个或多个糖基,所述糖基可被氧化以提供醛(-CHO)基团(参见,例如Laguzza等人,1989,J.Med.Chem.32(3):548-55)。相应的醛可与(L)的一部分上的反应性位点形成键。可与(T)上的羰基反应的反应性位点包括但不限于肼和羟胺。用于修饰供(D)的连接或缔合用的蛋白质的其它方案描述于Coligan等人,Current Protocols in Protein Science,第2卷,John Wiley&Sons(2002)中,该文献以引用的方式并入本文。

[0729] (T)可包括例如蛋白质、多肽或肽,包括但不限于转铁蛋白、表皮生长因子("EGF")、蛙皮素、促胃液素、促胃液素释放肽、血小板源性生长因子、IL-2、IL-6、转化生长因子("TGF")如TGF-α或TGF-β、牛痘生长因子("VGF")、胰岛素及胰岛素样生长因子I和II、凝集素及来自低密度脂蛋白的脱辅基蛋白。

[0730] (T)也可包括抗体,如多克隆抗体或单克隆抗体。抗体可针对特定的抗原决定簇,包括例如癌细胞抗原、病毒抗原、微生物抗原、蛋白质、肽、糖、化学物质、核酸或其片段。产生多克隆抗体的方法在本领域中是已知的。针对目标抗原的单克隆抗体(mAb)可通过使用本领域中已知的任何技术来制备。这些技术包括但不限于最初由Kohler和Milstein(1975,Nature 256,495-497)描述的杂交瘤技术、人B细胞杂交瘤技术(Kozbor等人,1983,Immunology Today 4:72)以及EBV-杂交瘤技术(Cole等人,1985,Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy,Alan R.Liss,Inc.,第77-96页)。选择的淋巴细胞抗体方法(SLAM)(Babcook,J.S.等人,A novel strategy for generating monoclonal antibodies from single,isolated lymphocytes producing antibodies of defined specificities.Proc Natl Acad Sci U S A,1996.93(15):第7843-8页)及(McLean GR,Olsen OA,Watt IN,Rathanaswami P,Leslie KB,Babcook JS,Schrader JW.Recognition of human cytomegalovirus by human primary immunoglobulins identifies an innate foundation to an adaptive immune response.J Immunol.2005年4月15日;174(8):4768-78。此类抗体可以是免疫球蛋白类中的任一个,包括IgG、IgM、IgE、IgA及IgD及其任何亚类。产生本发明中使用的mAb的杂交瘤可在体外或体内培养。

[0731] 单克隆抗体可为例如人单克隆抗体、人源化单克隆抗体、抗体片段或嵌合抗体(例如,人-小鼠抗体)。人单克隆抗体可通过本领域中已知的众多技术中的任一种来制造(例如,Teng等人,1983,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 80:7308-7312;Kozbor等人,1983,Immunology Today 4:72-79;以及Olsson等人,1982,Meth.Enzymol.92:3-16)。还参见Huse等人,1989,Science 246:1275-1281及McLean等人J Immunol.2005年4月15日;174(8):4768-78。

[0732] 抗体也可为双特异性抗体。用于制造双特异性抗体的方法在本领域中是已知的。全长双特异性抗体的传统产生是基于两个免疫球蛋白重链-轻链对的共表达,其中两条链

具有不同特异性(参见,例如Milstein等人,1983,Nature 305:537-539;国际公布号WO 93/08829;Traunecker等人,1991,EMBO J.10:3655-3659。

[0733] 根据一种不同的方法,将具有所需结合特异性的抗体可变结构域(抗体-抗原结合位点)融合至免疫球蛋白恒定结构域序列。该融合优选用包含铰链、C_{H2}及C_{H3}区的至少一部分的免疫球蛋白重链恒定结构域进行。优选第一重链恒定区(CH1)含有为轻链结合所必需的位点,存在于融合物的至少一种中。将具有编码免疫球蛋白重链融合物和(如果需要的话)免疫球蛋白轻链的序列的核酸插入分离的表达载体中,并且共转染到合适的宿主生物体中。这在当用于构建中的不等比率的三条多肽链提供最佳产率时的实施方案中调节三个多肽片段的相互比例中提供了灵活性。然而,可能当相等比率的至少两条多肽链的表达造成高产率时或当比率不是特别重要时将两条或所有三条多肽链的编码序列插入一个表达载体中。

[0734] 举例来说,双特异性抗体可具有杂合免疫球蛋白重链,该重链在一条臂上具有第一结合特异性,且在另一条臂上具有杂合免疫球蛋白重链-轻链对(提供第二结合特异性)。此不对称结构促进所需双特异性化合物从不需要的免疫球蛋白链结合中的分离,因为免疫球蛋白轻链在仅一半的双特异性分子中的存在提供便利的分离方式(国际公布号WO 94/04690),该专利以引用的方式整体并入本文。

[0735] 关于生成双特异性抗体的进一步细节,参见,例如Suresh等人,1986,Methods in Enzymology 121:210;Rodrigues等人,1993,J.Immunology 151:6954-6961;Carter等人,1992,Bio/Technology 10:163-167;Carter等人,1995,J.Hematotherapy 4:463-470;Merchant等人,1998,Nature Biotechnology 16:677-681。使用此类技术,可制备双特异性抗体用于治疗或预防如本文所定义的疾病中。

[0736] 双功能抗体还描述于欧洲专利公布号EPA 0 105 360中。如在此参考文献中所公开,杂合或双功能抗体可以生物方式,即通过细胞融合技术,或以化学方式,特别是用交联剂或二硫桥形成试剂而得到,并且可包含全抗体或其片段。<0用于获得此类杂合抗体的方法公开于例如国际公布WO 83/03679和欧洲专利公布号EPA 0 217 577中,其两者都以引用的方式并入本文。

[0737] 抗体也可为抗体的功能活性片段、衍生物或类似物,其免疫特异性地结合至靶抗原(例如,癌抗原、病毒抗原、微生物抗原或结合至细胞或基质的其它抗体)。就此而言,“功能活性”意指片段、衍生物或类似物能够识别与该片段、衍生物或类似物所衍生自的抗体识别的抗原相同的抗原。具体地说,在示例性实施方案中,免疫球蛋白分子的独特型的抗原性可通过缺失特异性地识别抗原的CDR序列C端的框架和CDR序列来增强。为了确定哪个CDR序列结合抗原,含有CDR序列的合成肽可用于通过本领域中已知的任何结合测定法与抗原的结合测定中(例如BIA核心测定)(参见,例如Kabat等人,1991,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第五版,National Institute of Health,Bethesda,Md.;Kabat等人,1980,J.Immunology 125(3):961-969)。

[0738] 其它有用的抗体包括抗体的片段,如但不限于$F(ab')_2$片段、Fab片段、Fab'、Fv片段及抗体的重链和轻链二聚体或其任何最小片段,如Fvs或单链抗体(SCA)(例如,如美国专利号4,946,778;Bird,1988,Science 242:423-42;Huston等人,1988,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879-5883;及Ward等人,1989,Nature 334:544-54中所述)。

[0739] 也可使用重组抗体,如嵌合及人源化单克隆抗体,包含人和非人部分,其可使用标准重组DNA技术制成。(参见,例如美国专利号4,816,567;和美国专利号4,816,397。)人源化抗体是来自非人物种的抗体分子,其具有一个或多个来自非人物种的互补决定区(CDR)和来自人免疫球蛋白分子的框架区。(参见,例如美国专利号5,585,089。)嵌合及人源化单克隆抗体可通过本领域中已知的重组DNA技术产生,例如使用在以下文献中所述的方法:国际公布号WO 87/02671;欧洲专利公布号0 184 187;欧洲专利公布号0 171 496;欧洲专利公布号0 173 494;国际公布号WO 86/01533;美国专利号4,816,567;欧洲专利公布号012023;Berter等人,1988,Science 240:1041-1043;Liu等人,1987,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 84:3439-3443;Liu等人,1987,J.Immunol.139:3521-3526;Sun等人,1987,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 84:214-218;Nishimura等人,1987,Cancer.Res.47:999-1005;Wood等人,1985,Nature 314:446-449;Shaw等人,1988,J.Natl.Cancer Inst.80:1553-1559;Morrison,1985,Science 229:1202-1207;Oi等人,1986,BioTechniques 4:214;美国专利号5,225,539;Jones等人,1986,Nature 321:552-525;Verhoeyan等人,1988,Science 239:1534;以及Beidler等人,1988,J.Immunol.141:4053-4060。

[0740] 可使用完全的人抗体。人抗体可例如使用转基因小鼠来制备,该转基因小鼠不能表达内源性免疫球蛋白重链和轻链基因,但可表达人重链和轻链基因。转基因小鼠是以正常方式用所选抗原(例如,多肽的全部或一部分)来免疫。可使用常规的杂交瘤技术获得针对抗原的单克隆抗体。由转基因小鼠载有的人免疫球蛋白转基因在B细胞分化期间重新排列且随后经历类别转换和体细胞突变。因此,使用此类技术有可能产生治疗上有用的IgG、IgA、IgM及IgE抗体。关于用于产生人抗体的此项技术的综述,参见Lonberg和Huszar(1995,Int.Rev.Immunol.13:65-93)。关于用于产生人抗体和人单克隆抗体的此项技术及用于产生此类抗体的方案的详细论述。参见,例如美国专利号5,625,126;5,633,425;5,569,825;5,661,016;及5,545,806。

[0741] 识别所选表位的人抗体也可使用称为“导向选择”的技术生成。在此方法中,所选的非人单克隆抗体,例如小鼠抗体,被用于指导识别相同表位的完全的人抗体的选择。(参见,例如Jespers等人,1994,Biotechnology 12:899-903。)人抗体也可使用本领域中已知的各种技术(包括噬菌体展示文库)产生(参见,例如Hoogenboom和Winter,1991,J.Mol.Biol.227:381;Marks等人,1991,J.Mol.Biol.222:581;Quan和Carter,2002,“The rise of monoclonal antibodies as therapeutics,”Anti-IgE and Allergic Disease,Jardieu,P.M.和Fick Jr.,R.B,编著,Marcel Dekker,New York,N.Y.,第20章,第427-469页)。

[0742] 在其它实施方案中,抗体是抗体的融合蛋白或其功能活性片段。举例来说,抗体可经由在N端或C端处的共价键(例如肽键)融合至不是抗体的另一蛋白质(或其部分,如蛋白质的至少10个、20个或50个氨基酸的部分)的氨基酸序列上。

[0743] 抗体还包括被修饰,即通过任一类型分子的共价连接的类似物和衍生物,只要此类共价连接容许抗体保留其抗原结合免疫特异性。例如但不限于,抗体的衍生物和类似物包括已进一步例如通过糖基化、乙酰化、聚乙二醇化、磷酸化、酰胺化、通过已知保护/封闭基团的衍生化、蛋白水解裂解、键结至细胞抗体单元或其它蛋白质等被修饰的那些。众多化学修饰中的任一种可通过已知技术进行,包括但不限于特定的化学裂解、乙酰化、甲酰化、

在衣霉素存在下的代谢合成等。另外,类似物或衍生物可含有一个或多个非天然氨基酸。

[0744] 抗体可在与Fc受体相互作用的氨基酸残基中具有修饰(例如,取代、缺失或添加)。具体说来,抗体包括在经鉴定参与抗Fc结构域与FcRn受体之间的相互作用的氨基酸残基中具有修饰的抗体(参见,例如国际公布号WO 97/34631,其以引用的方式整体并入本文)。对靶抗原有免疫特异性的抗体可从商业上或其它来源获得或者通过本领域技术人员已知的任何方法(例如像化学合成或重组表达技术)产生。编码对癌细胞抗原有免疫特异性的抗体的核苷酸序列可例如从GenBank数据库或类似的数据库、文献出版物或通过常规的克隆及测序获得。

[0745] 可用于治疗癌症的抗体的实例包括但不限于:人源化抗HER2单克隆抗体、HERCEPTIN®(曲妥单抗;Genentech);RITUXAN®(利妥昔单抗;Genentech),其是用于治疗患有非何杰金氏淋巴瘤的患者的嵌合抗CD20单克隆抗体;OvaRex(AltaRex Corporation,MA),其是用于治疗卵巢癌的鼠抗体;依决可单抗(Panorex)(Glaxo Wellcome,NC),其是用于治疗结肠直肠癌的鼠IgG2a抗体;西妥昔单抗爱必妥(Imclone Systems Inc.,NY),其是用于治疗表皮生长因子阳性癌症如头颈癌的抗EGFR IgG嵌合抗体;Vitaxin(MedImmune,Inc.,MD),其是用于治疗肉瘤的人源化抗体;阿仑单抗(Campath)I/H(Leukosite,MA),其是用于治疗慢性淋巴细胞性白血病(CLL)的人源化IgG1抗体;Smart MI95(Protein Design Labs,Inc.,CA),其是用于治疗急性骨髓性白血病(AML)的人源化抗CD33 IgG抗体;LymphoCide(Immunomedics,Inc.,NJ),其是用于治疗非何杰金氏淋巴瘤的人源化抗CD22 IgG抗体;Smart ID10(Protein Design Labs,Inc.,CA),其是用于治疗非何杰金氏淋巴瘤的人源化抗HLA-DR抗体;Oncolym(Techniclone,Inc.,CA),其是用于治疗非何杰金氏淋巴瘤的放射性标记的鼠抗HLA-Dr10抗体;Allomune(BioTransplant,CA),其是用于治疗何杰金氏病或非何杰金氏淋巴瘤的人源化抗CD2 mAb;阿瓦斯汀(Genentech,Inc.,CA),其是用于治疗肺及结肠直肠癌的抗VEGF人源化抗体;依帕珠单抗(Epratuzamab)(Immunomedics,Inc.,NJ和Amgen,CA),其是用于治疗非何杰金氏淋巴瘤的抗CD22抗体;以及CEAcide(Immunomedics,NJ),其是用于治疗结肠直肠癌的人源化抗CEA抗体。

[0746] 适用于治疗癌症的其它抗体包括但不限于针对以下抗原的抗体(示例性癌症在括号中示出):CA125(卵巢癌)、CA15-3(癌瘤)、CA19-9(癌瘤)、L6(癌瘤)、Lewis Y(癌瘤)、Lewis X(癌瘤)、甲胎蛋白(癌瘤)、CA242(结肠直肠癌)、胎盘碱性磷酸酶(癌瘤)、前列腺特异性膜抗原(前列腺癌)、前列腺酸性磷酸酶(前列腺癌)、表皮生长因子(癌瘤)、MAGE-1(癌瘤)、MAGE-2(癌瘤)、MAGE-3(癌瘤)、MAGE-4(癌瘤)、抗转铁蛋白受体(癌瘤)、p97(黑色素瘤)、MUC1-KLH(乳腺癌)、CEA(结肠直肠癌)、gp100(黑色素瘤癌)、MART1(黑色素瘤)、前列腺特异性抗原(PSA)(前列腺癌)、IL-2受体(T细胞白血病和淋巴瘤)、CD20(非何杰金氏淋巴瘤)、CD52(白血病)、CD33(白血病)、CD22(淋巴瘤)、人绒毛膜促性腺激素(癌瘤)、CD38(多发性骨髓瘤)、CD40(淋巴瘤)、粘蛋白(癌瘤)、P21(癌瘤)、MPG(黑色素瘤)、以及Neu致癌基因产物(癌瘤)。一些特异性、有用的抗体包括但不限于BR96 mAb(Trail等人,1993,Science 261:212-215)、BR64(Trail等人,1997,Cancer Research 57:100-105)、针对CD40抗原的mAb,如S2C6 mAb(Francisco等人,2000,Cancer Res.60:3225-3231)及其嵌合和人源化变体、针对cD33抗原的mAb;针对EphA2抗原的mAb;针对CD70抗原的mAb,如1F6 mAb和2F2 mAb及其嵌合和人源化变体;以及针对CD30抗原的mAb,如AC10(Bowen等人,1993,

J.Immunol.151:5896-5906;Wahl等人,2002,Cancer Res.62(13):3736-42)及其嵌合和人源化变体。可使用结合至肿瘤相关抗原的许多其它内化抗体并且已经有了综述(参见,例如Franke等人,2000,Cancer Biother.Radiopharm.15:459 76;Murray,2000,Semin.Oncol.27:64 70;Breitling等人,Recombinant Antibodies,John Wiley,and Sons,New York,1998)。

[0747] 抗体也可以是结合至存在于靶细胞或靶细胞群上的抗原的抗体。举例来说,与一种或多种正常细胞(例如,非癌细胞)相比,跨膜多肽及其它标志物可特异性地在一种或多种特定类型的靶细胞(例如癌细胞)的表面上表达。与在正常细胞表面上的那些相比,此类标志物经常更大量地在靶细胞表面上表达,或展现更大的免疫原性。此类细胞表面抗原多肽的鉴别引出特异性地靶向细胞以便经由基于抗体的疗法进行破坏的能力。因此,在一些实施方案中,抗体包括但不限于针对肿瘤相关抗原(TAA)的抗体。此类肿瘤相关抗原是本领域中已知的,并且可制备以便使用本领域中公知的方法和信息来用于生成抗体。

[0748] 另参见EP2552957,WO/2012/116453,WO/2012/032080。另参见Zybody™,http://www.zyngenia.com/science-technology/technology-approach.asp。另参见人仅有重链的抗体技术,http://www.crescendobi ologics.com/。另参见WO2010001251,基于酵母的人抗体酵母基平台http://www.adimab.com/platform-overview,mAbLogix™平台http://www.dna.com/OurApproach/ComplementaryTechnologies/AntibodyDisc overy,单克隆发现平台http://www.igenica.com/science.php,WO2009/157771,EP2560993,WO2013004842,WO2012166560。

[0749] 除抗体之外,本发明组合物的靶向部分(T)在其范围内还包括(T)的任何单元,其与受体、抗原或与给定的靶细胞群有关的其它接受部分结合或反应性地缔合或复合。(T)是与设法被靶向的细胞群的部分结合、与之复合或与之反应的分子。举例来说,来源于不同来源的细胞表面受体的配体包括在(T)内,包括来源于人细胞的那些、来源于细菌的配体、以及源自病原体的配体。各种各样的适当靶向部分在本领域中是已知的,例如,参见WO2013117705。

[0750] 接头部分(L)

[0751] 本发明组合物任选地还包括接头部分(L)。(L)是双功能化合物,其可用于连接(D)和(T)以形成缀合物组合物T-L-D。此类缀合物允许将药物选择性递送至靶细胞(例如肿瘤细胞)。(L)包括二价取代基,如烷基二基、芳基二基、杂芳基二基、部分如:-(CR2)$_n$O(CR2)$_n$-、烷氧基(例如,聚亚乙基氧基、PEG、聚亚甲基氧基)和烷基氨基(例如,聚乙烯氨基、Jeffamine™)的重复单元;以及二酸酯和酰胺,包括琥珀酸酯、琥珀酰胺、二乙醇酸酯、丙二酸酯和己酰胺。

[0752] 本发明组合物可使用具有用于结合至(D)和(T)的反应性位点的(L)单元来制备。在一些实施方案中,(L)具有反应性位点,其具有对(T)上存在的亲核基团有反应性的亲电子基团。(T)上的有用的亲核基团包括但不限于巯基、羟基及氨基。(T)的亲核基团的杂原子对(L)上的亲电子基团有反应性并且与(L)形成共价键。有用的亲电子基团包括但不限于马来酰亚胺和卤代乙酰胺基团。(T)上的亲核基团提供用于连接至(L)的方便的位点。

[0753] 在另一实施方案中,(L)具有反应性位点,其具有对(T)上存在的亲电子基团有反应性的亲核基团。(T)上的有用的亲电子基团包括但不限于醛和酮羰基。(L)的亲核基团的

杂原子可与(T)上的亲电子基团反应并且与(T)形成共价键。(L)上的有用的亲核基团包括但不限于酰肼、肟、氨基、肼、缩氨基硫脲、肼羧酸酯和芳酰肼。(T)上的亲电子基团提供用于连接至(L)的方便的位点。

[0754] 羧酸官能团和氯甲酸酯官能团也是用于(L)的有用的反应性位点,因为它们可与(D)的氨基反应以形成酰胺键。(L)上的碳酸酯官能团也适用作反应性位点,如但不限于碳酸对硝基苯酯,其可与(D)的氨基反应以形成氨基甲酸酯键。

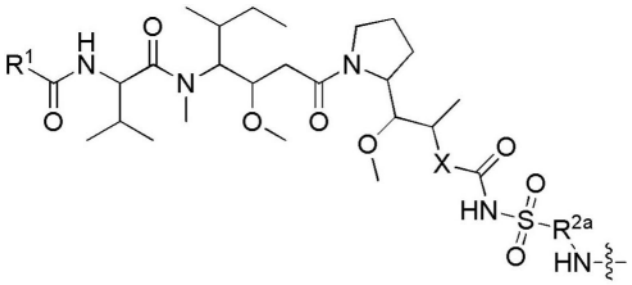
[0755] 应当理解,在现有技术中教导的任何接头部分,且特别是用于药物递送的情形中所教导的那些,可用于本发明中。不希望限制先前陈述的范围,在一个实施方案中,(L)包含WO 2012/113847中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含U.S.8,288,352中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含U.S.5,028,697中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含U.S.5,006,652中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含U.S.5,094,849中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含U.S.5,053,394中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含U.S.5,122,368中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含U.S.5,387,578中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含U.S.5,547,667中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含U.S.5,622,929中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含U.S.5,708,146中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含U.S.6,468,522中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含U.S.6,103,236中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含U.S.6,638,509中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含U.S.6,214,345中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含US.6,759,509中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含WO 2007/103288中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含WO 2008/083312中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含WO 2003/068144中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含WO 2004/016801中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含WO 2009/134976中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含WO 2009/134952中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含WO 2009/134977中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含WO 2002/08180中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含WO 2004/043493中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含WO 2007/018431中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含WO 2003/026577中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含WO 2005/077090中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含WO 2005/082023中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含WO 2007/011968中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含WO 2007/038658中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含WO 2007/059404中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含WO 2006/110476中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含WO 2005/112919中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含WO 2008/103693中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含U.S.6,756,037中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含U.S.7,087,229中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含U.S.7,122,189中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含U.S.7,332,164中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含U.S.5,556,623中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含U.S.5,643,573中所公开的接头部分。在另一实施方案中,(L)包含U.S.5,665,358中所公开的接头部分。

[0756] 在一个优选实施方案中,(L)包含2013年12月27日提交的美国临时申请61/921,242中所公开的接头部分。因此,提供式III的缀合物组合物:

[0757] (T)-(L^1)-(D^1)

[0758] III

[0759] 其中(T)为靶向部分,其中(D^1)具有以下结构(IV):

[0760] 

IV

[0761] 其中R^1和X如本文上文和下文中所述;

[0762] 其中R^{2a}选自:C_2-C_6烷基二基、芳基二基、C_4-C_7环烷基二基、杂芳基二基和杂环基二基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基;

[0763] 且其中(L^1)-(T)具有以下结构(V)

[0764] $(AA)_1$-$(AA)_n$-(L^2)-(T)

[0765] V

[0766] 其中键结至式IV中的R^{2a}的-NH-基团与式V中的$(AA)_1$形成肽键(JPB),其中JPB是酶促可裂解的,其中每个AA独立地为氨基酸,其中n为0至25的整数,其中(L^2)任选地为接头(L^1)的剩余部分,其中(T)为靶向部分,且其中$(AA)_1$-$(AA)_n$结合起来包含能够促进JPB的酶促裂解的氨基酸序列。

[0767] 也可使用包含自分解组分的接头(L)。例如,参见美国专利号6,214,345。自分解组分的一个实例为对氨基苄基氨基甲酰基(PABC)。

[0768] 可商购获得的接头可用于本发明。举例来说,如本文中所示,可使用可商购获得的可裂解接头6-[3′(2-吡啶基二硫基)-丙酰胺基]己酸磺基琥珀酰亚胺酯(磺基-LC-SPDP:Thermo Pierce目录号21650)和非可裂解的接头4-[N-马来酰亚胺基甲基]环己烷-1-羧酸琥珀酰亚胺酯(SMCC:Thermo Pierce目录号22360)。

[0769] 还参见WO2012171020,WO2010138719,多种可商购获得的接头,例如来自Concortis http://www.concortis.com/home。还参见Kim等人,Bioconjugate Chemistry,21(8):1513-1519 AUG 2010。还参见EP2326349。还参见无铜点击化学接头(copper free click chemistry linkers),Angew.Chem.Int.编,2010,49,第9422-9425页,ChemBioChem,2011,12,第1309-1312页,http://www.synaffix.com/technology/。

[0770] 药物部分(D)

[0771] (D)为如本文所述的式I化合物。熟练技术人员将认识到,本文所述的化合物可适当地被修饰以促进与(L)的缀合反应,或如果(L)不存在,与(T)的缀合反应,以及缀合物

(T)-(L)-(D)或(T)-(D)的形成。可使用(D)上的任一连接点。在一个实施方案中,(D)的C端在(T)-(L)-(D)缀合物中形成连接点。在另一实施方案中,(D)的N端在(T)-(L)-(D)缀合物中形成连接点。在另一实施方案中,(D)的侧链在(T)-(L)-(D)缀合物中形成连接点。

[0772] 施用

[0773] 出于施用的目的,本公开的化合物可作为原料化学品施用或可作为药物组合物配制。本公开的药物组合物包含本文所述的化合物及药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。本文所述的化合物以有效治疗特定目标疾病或病状的量,例如以足以治疗癌症或肿瘤细胞生长的量,且优选以对患者可接受的毒性存在于组合物中。本文所述的化合物的活性可由本领域技术人员确定,例如,如以下实施例中所述。适当的浓度和剂量可由本领域技术人员容易地确定。

[0774] 本文所述的化合物或其药学上可接受的盐以纯的形式或以适当药物组合物形式的施用可经由用于发挥类似效用的试剂的所接受的施用模式的任一种来进行。本公开的药物组合物可通过将本文所述的化合物与适当的药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂组合来制备,并且可配制成固体、半固体、液体或气态形式的制剂,如片剂、胶囊、粉剂、颗粒剂、膏剂、溶液、栓剂、注射剂、吸入剂、凝胶、微球体及气溶胶。施用此类药物组合物的典型途径包括但不限于经口、局部、经皮、吸入、胃肠外、舌下、经颊、直肠、阴道及鼻内。如本文所用的术语胃肠外包括皮下注射、静脉内、肌内、胸骨内注射或输注技术。本公开的药物组合物被配制以便允许其中所含的活性成分当组合物施用于患者时是生物可利用的。将向受试者或患者施用的组合物采取一个或多个剂量单位的形式,其中例如,片剂可以是单个剂量单位,且呈气溶胶形式的本文所述的化合物的容器可容纳多个剂量单位。制备此类剂型的实际方法是已知的或将为本领域技术人员显而易见;例如,参见Remington:The Science and Practice of Pharmacy(第22版)编者Loyd V.Allen,Jr,等人,Pharmaceutical Press,2012。有待施用的组合物将在任何情况下含有治疗有效量的本文所述的化合物或其药学上可接受的盐,用于根据本公开的教导治疗目标疾病或病状。

[0775] 本文所述的药物组合物可呈固体或液体形式。一方面,载体为颗粒,以使得组合物例如呈片剂或粉末形式。载体可为液体,其中组合物呈例如口服糖浆剂、可注射液体或气溶胶,其适用于例如吸入施用中。

[0776] 当打算经口施用时,本公开的药物组合物通常为固体或液体形式,其中半固体、半液体、混悬液及凝胶形式包括在本文中视为固体或液体的形式内。

[0777] 作为用于经口施用的固体组合物,药物组合物可配制成粉剂、颗粒剂、压片剂、丸剂、胶囊、咀嚼胶、糯米纸或类似形式。此类固体组合物通常将含有一种或多种惰性稀释剂或可食用的载体。另外,可存在一种或多种以下物质:粘合剂,如羧甲基纤维素、乙基纤维素、微晶纤维素、黄蓍胶或明胶;赋形剂,如淀粉、乳糖或糊精;崩解剂,如海藻酸、海藻酸钠、原生凝胶(Primogel)、玉米淀粉等;润滑剂,如硬脂酸镁或Sterotex;助流剂,如胶体二氧化硅;甜味剂,如蔗糖或糖精;调味剂,如薄荷、水杨酸甲酯或橙味调味剂;以及着色剂。

[0778] 当药物组合物呈胶囊(例如明胶胶囊)形式时,其除以上类型的材料之外还可含有液体载体,如聚乙二醇或油。

[0779] 本文所述的药物组合物可呈液体形式,例如酏剂、糖浆剂、溶液、乳液或混悬液。液体可用于经口施用或通过注射递送,作为两个实例。当打算经口施用时,本文所述的药物组

合物除本化合物之外通常还含有甜味剂、防腐剂、染料/着色剂及增味剂中的一种或多种。在打算通过注射施用的组合物中,可包括表面活性剂、防腐剂、润湿剂、分散剂、悬浮剂、缓冲剂、稳定剂及等渗剂中的一种或多种。

[0780] 本文所述的液体药物组合物,无论它们是溶液、混悬液或其它类似形式,可包括一种或多种以下佐剂:无菌稀释剂,如注射用水、盐水溶液、优选生理盐水、林格氏溶液(Ringer's solution)、等渗氯化钠、不挥发性油类,如可充当溶剂或悬浮介质的合成的甘油单酯或甘油二酯、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其它溶剂;抗细菌剂,如苯甲醇或对羟基苯甲酸甲酯;抗氧化剂,如抗坏血酸或亚硫酸氢钠;螯合剂,如乙二胺四乙酸;缓冲剂,如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐以及用于调节渗透压的试剂,如氯化钠或葡萄糖。胃肠外制剂可装入安瓿、一次性注射器或由玻璃或塑料制成的多剂量小瓶中。生理盐水为优选佐剂。可注射的药物组合物优选为无菌的。

[0781] 打算用于胃肠外或经口施用的本文所述的液体药物组合物应含有本文所述的化合物的量以便将获得合适的剂量。

[0782] 本文所述的药物组合物可用于局部施用,在此情况下载体可适当地包含溶液、乳液、软膏或凝胶基质。基质举例来说可包含一种或多种以下物质:矿脂、羊毛脂、聚乙二醇、蜂蜡、矿物油、稀释剂如水和乙醇、以及乳化剂和稳定剂。增稠剂可存在于用于局部施用的药物组合物中。如果打算经皮施用,组合物可包括经皮贴剂或离子电渗装置。

[0783] 本文所述的药物组合物可打算以例如栓剂形式直肠施用,其将在直肠中融化并释放药物。用于直肠施用的组合物可含有油脂性基质作为合适的无刺激性赋形剂。此类基质包括但不限于羊毛脂、可可脂及聚乙二醇。

[0784] 本文所述的药物组合物可包括改善固体或液体剂量单位的物理形式的各种物质。例如,组合物可包括在活性成分周围形成包衣外壳的物质。形成包衣外壳的物质通常为惰性的,并且可选自例如糖、虫胶及其它肠溶包衣剂。或者,活性成分可包裹在明胶胶囊中。

[0785] 本文所述的药物组合物可以剂量单位来制备,其可作为气溶胶施用。术语气溶胶用于表示在具有胶体性质的那些系统至由加压包装组成的系统范围内的多种系统。递送可由液化或压缩气体或通过分配活性成分的合适的泵系统进行。本文所述的化合物的气溶胶可在单相、双相或三相系统中递送以便递送活性成分。气溶胶的递送包括必需的容器、激活剂、阀门、分容器等,它们可组合在一起形成成套装置。本领域技术人员无需过度实验可确定优选的气溶胶。

[0786] 本文所述的药物组合物可通过药物领域中公知的方法来制备。例如,打算通过注射施用的药物组合物可通过将本文所述的化合物与无菌蒸馏水组合以形成溶液来制备。可添加表面活性剂以促进均匀溶液或混悬液的形成。表面活性剂是与本文所述的化合物非共价地相互作用以便促进化合物在含水递送系统中的溶解或均匀悬浮的化合物。

[0787] 本文所述的化合物或其药学上可接受的盐是以治疗有效量施用,该治疗有效量将随包括以下的多种因素而变化:所采用的特定化合物的活性;化合物的代谢稳定性和作用长度;患者的年龄、体重、一般健康状况、性别及饮食;施用模式和时间;排泄率;药物组合;具体病症或病状的严重性;以及受试者接受的疗法。

[0788] 本文所述的化合物或其药学上可接受的衍生物也可在一种或多种其它治疗剂施用的同时、之前或之后施用。此类组合疗法包括含有本文所述的化合物及一种或多种另外

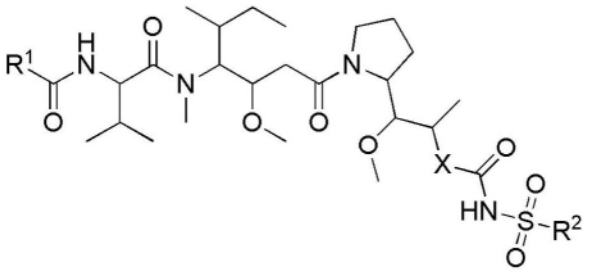
的活性剂的单一药物剂量制剂的施用,以及本文所述的化合物与每种活性剂在其各自单独的药物剂量制剂中的施用。举例来说,本文所述的化合物与其它活性剂可以单一口服剂量组合物(如片剂或胶囊)形式一起向患者施用,或每种试剂以单独的口服剂量制剂来施用。当使用单独的剂量制剂时,本文所述的化合物与一种或多种另外的活性剂可基本上同时(即同时地)或在分别错开的时间(即连续地)施用;应理解组合疗法包括所有这些方案。

[0789] 以下实施例示出了本文所述的化合物(即式I及相关式的化合物)的各种制备方法。应当理解,本领域技术人员将能通过类似方法或通过组合本领域技术人员已知的其它方法制备这些化合物。还应理解的是,本领域技术人员将能以如下所述的类似方式通过使用适当的起始组分并视需要修改合成的参数来制备下文未具体示出的式I的其它化合物。一般说来,起始组分可从如Sigma Aldrich、Lancaster Synthesis,Inc.、Maybridge、Matrix Scientific、TCI和Fluorochem USA等来源获得或根据本领域技术人员已知的来源(参见,例如Advanced Organic Chemistry:Reactions,Mechanisms,and Structure,第5版(Wiley,2000年12月))合成或如本文所述来制备。

[0790] 提供以下实施例用于说明目的,而非限制。

具体实施方式

[0791] 1.一种式I化合物:

[0792] 

I

[0793] 或其药学上可接受的盐,

[0794] 其中:

[0795] R^1选自:氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、氨基-杂环基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷硫基、羧基、羧酰胺、C_3-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、胍基、卤基、C_1-C_6卤烷基、杂环基、杂环基-C_1-C_6烷基、羟基和硫基;或

[0796] R^1为$R^aR^bNCH(R^c)$-;

[0797] R^a选自:H和C_1-C_6烷基;

[0798] R^b为C_1-C_6烷基;且

[0799] R^c为R^d-$C(CH_3)_2$-;且

[0800] R^d选自:H、芳基、C_3-C_7环烷基和杂芳基,其各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_4酰硫基、C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基、C_1-C_4烷基氨基、C_1-C_4烷氧基、氨基、氨基-C_1-C_4烷基、卤基、C_1-C_4卤烷基、羟基、羟基-C_1-C_4烷基和硫基,其中C_2-C_4烯基、C_1-C_4烷基氨基及C_1-C_4烷氧基进一步任选被一个选自以下的取代基取代:C_1-C_4烷基芳基、羟基和硫基;或

[0801] R^b和R^c与其各自所键结的原子一起形成杂环基二基;

[0802] R^2选自:C_2-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_4-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤酰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基;并且

[0803] X不存在。

[0804] 2.如实施方案1所述的化合物,其中R^1选自:氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、氨基-杂环基和杂环基,各自任选被一个或多个选自C_1-C_6烷基和卤基的取代基取代。

[0805] 3.如实施方案1所述的化合物,其中R^1选自:1-(二甲基氨基)-2-甲基丙基、2-甲基-1-(甲基氨基)丙基、1-氨基环戊基、1-氨基环丙基、4-氨基苯基、2-氨基丙-2-基、1-氨基环已基、3-氨基氧杂环丁烷-3-基、2-(甲基氨基)丙-2-基、1-氨基-2-甲基丙-2-基、2-甲基吡咯烷-2-基、2-氨基-3-甲基丁-2-基、2-氨基丁-2-基、2-甲基-1-(甲基氨基)丙-2-基、1-甲基哌啶-2-基、3-氟吡咯烷-3-基、1,2-二甲基吡咯烷-2-基和2-(二甲基氨基)丙-2-基)。

[0806] 4.如实施方案1所述的化合物,其中R^1为1-(二甲基氨基)-2-甲基丙基。

[0807] 5.如实施方案1所述的化合物,其中R^1为2-甲基-1-(甲基氨基)丙基。

[0808] 6.如实施方案1所述的化合物,其中R^1为(R)-1-(二甲基氨基)-2-甲基丙基。

[0809] 7.如实施方案1所述的化合物,其中R^1为(R)-2-甲基-1-(甲基氨基)丙基。

[0810] 8.如实施方案1至7中任一项所述的化合物,其中R^2选自:C_2-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_4-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:1-氨基环丙基、4-氨基苯基、氨基、氨基甲基、溴、叔丁基、羧酰胺、羧基、氯、氰基、乙基、氟、羟基、异丙基、甲氧基、甲基、硝基、苯基、硫基、硫代甲基、三氟甲氧基和三氟甲基。

[0811] 9.如实施方案1至7中任一项所述的化合物,其中R^2选自:4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氨基苯基、苄基、3-巯基丙基、2-巯基乙基、4-(巯基甲基)苯基、对甲苯基、2,4,6-三甲基苯基、4-(三氟甲氧基)苯基、2,4,6-三异丙基苯基、4-叔丁基苯基、4-氯苯基、3-氰基苯基、2-硝基苯基、4-甲氧基-2-硝基苯基、4-氨基羰基-2-硝基苯基、4-甲氧基苯基、苯基、2-氟苄基、哌啶-1-基、邻甲苯基、4-溴苯基、萘-2-基、4-甲氧羰基苯基、2-(三氟甲基)苄基、已烷-2-基、2-甲氧基乙基、环戊基甲基、环已基、吡啶-3-基甲基、4-羧基苯基、3-氨基苯基、吡啶-3-基、噻吩-2-基、4-羟基苯基、4-(1-氨基环丙基)苄基、4-(1-氨基环丙基)苯基、2-甲基苄基、4-硝基苄基、4-氯苄基、苯乙基、4-溴苄基、4-氰基苄基、3-硝基苄基、4-叔丁基苄基、2-硝基苄基、4-硝基苯乙基、2-氯代-3-甲氧羰基苯基、2-氨基苯基、[1,1′-联苯]-4-基、4′-氨基-[1,1′-联苯]-4-基、4-氟苄基、3-(三氟甲基)苄基、3-(三氟甲氧基)苄基、3,4-二氯苄基、2-氰基苄基、3-氯苄基、4-氨基-2-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲氧基)苯基、4-氨基-2,3-二甲基苯基、4-氨基-5,6,7,8-四氢萘-1-基、4-氨基-3-甲基苯基、4-氨基-3-氟苯基、4-氨基-3-乙基苯基和4-氨基-3-(三氟甲基)苯基。

[0812] 10.如实施方案1至7中任一项所述的化合物,其中R^2选自:芳基和芳基-C_1-C_6烷基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:氨基和氨基-C_1-C_6烷基。

[0813] 11.如实施方案1至7中任一项所述的化合物,其中R^2选自:4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氨基苯基和苄基。

[0814] 12.如实施方案1至7中任一项所述的化合物,其中R^2为4-氨基苄基。

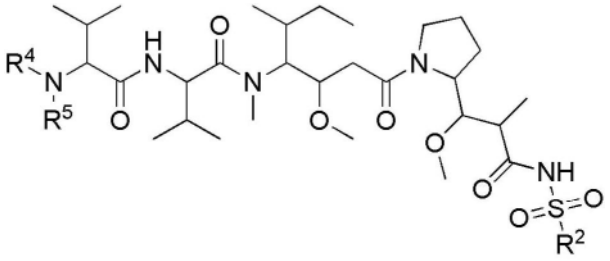
[0815] 13.如实施方案1至7中任一项所述的化合物,其中R^2为4-(氨基甲基)苄基。

[0816] 14.如实施方案1至7中任一项所述的化合物,其中R^2为4-(氨基甲基)苯基。

[0817] 15.如实施方案1至7中任一项所述的化合物,其中R^2为4-氨基苯基。

[0818] 16.如实施方案1至7中任一项所述的化合物,其中R^2为苄基。

[0819] 17.如实施方案1所述的化合物,其具有式Ia:

[0820] 

Ia

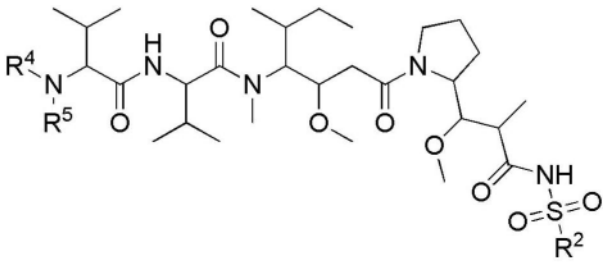
[0821] 或其药学上可接受的盐,

[0822] 其中:

[0823] R^2选自:C_2-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_4-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基;并且

[0824] R^4和R^5各自独立地选自:H和C_1-C_6烷基。

[0825] 18.如实施方案1所述的化合物,其具有式Ia:

[0826] 

Ia

[0827] 或其药学上可接受的盐,

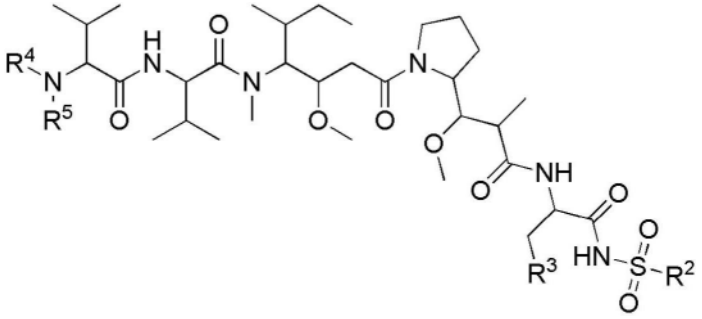
[0828] 其中:

[0829] R^2选自:4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氨基苯基、苄基、3-巯基丙基、2-巯基乙基、4-(巯基甲基)苯基、对甲苯基、2,4,6-三甲基苯基、4-(三氟甲氧基)苯基、2,4,6-三异丙基苯基、4-叔丁基苯基、4-氯苯基、3-氰基苯基、2-硝基苯基、4-甲氧基-2-硝基苯基、4-氨基羰基-2-硝基苯基、4-甲氧基苯基、苯基、2-氟苄基、哌啶-1-基、邻甲苯基、4-溴苯基、萘-2-基、4-甲氧羰基苯基、2-(三氟甲基)苄基、己烷-2-基、2-甲氧基乙基、

环戊基甲基、环己基、吡啶-3-基甲基、4-羧基苯基、3-氨基苯基、吡啶-3-基、噻吩-2-基、4-羟基苯基、4-(1-氨基环丙基)苄基、4-(1-氨基环丙基)苯基、2-甲基苄基、4-硝基苄基、4-氯苄基、苯乙基、4-溴苄基、4-氰基苄基、3-硝基苄基、4-叔丁基苄基、2-硝基苄基、4-硝基苯乙基、2-氯代-3-甲氧羰基苯基、2-氨基苯基、[1,1′-联苯]-4-基、4′-氨基-[1,1′-联苯]-4-基、4-氟苄基、3-(三氟甲基)苄基、3-(三氟甲氧基)苄基、3,4-二氯苄基、2-氰基苄基、3-氯苄基、4-氨基-2-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲氧基)苯基、4-氨基-2,3-二甲基苯基、4-氨基-5,6,7,8-四氢萘-1-基、4-氨基-3-甲基苯基、4-氨基-3-氟苯基、4-氨基-3-乙基苯基、以及4-氨基-3-(三氟甲基)苯基;并且

[0830] R^4和R^5各自独立地选自:H和甲基。

[0831] 19.如实施方案1所述的化合物,其具有式Ib:

[0832] 

Ib

[0833] 或其药学上可接受的盐,

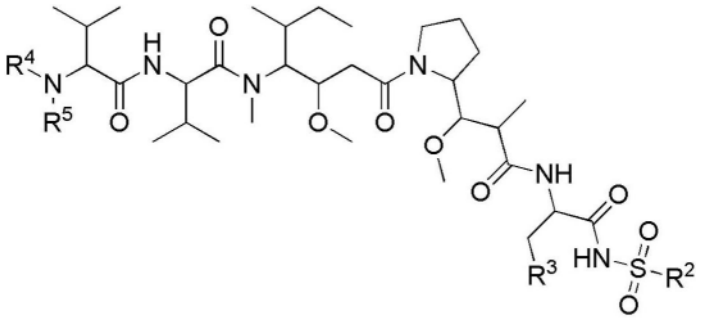
[0834] 其中:

[0835] R^2选自:C_2-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_4-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基,各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代:C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基;

[0836] R^3选自:芳基、杂芳基及C_3-C_7环烷基,各自任选被一个选自氨基和羟基的取代基取代;并且

[0837] R^4和R^5各自独立地选自:H和C_1-C_6烷基。

[0838] 20.如实施方案1所述的化合物,其具有式Ib:

[0839] 

Ib

[0840] 或其药学上可接受的盐，

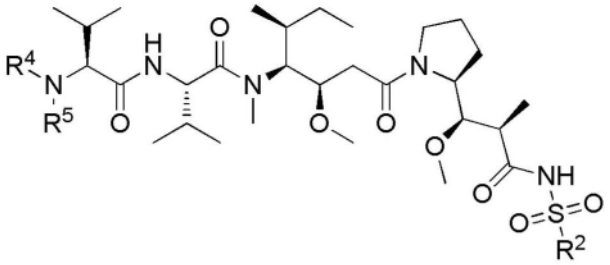
[0841] 其中：

[0842] R^2选自：4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氨基苯基、苄基、3-巯基丙基、2-巯基乙基、4-(巯基甲基)苯基、对甲苯基、2,4,6-三甲基苯基、4-(三氟甲氧基)苯基、2,4,6-三异丙基苯基、4-叔丁基苯基、4-氯苯基、3-氰基苯基、2-硝基苯基、4-甲氧基-2-硝基苯基、4-氨基羰基-2-硝基苯基、4-甲氧基苯基、苯基、2-氟苄基、哌啶-1-基、邻甲苯基、4-溴苯基、萘-2-基、4-甲氧羰基苯基、2-(三氟甲基)苄基、己烷-2-基、2-甲氧基乙基、环戊基甲基、环己基、吡啶-3-基甲基、4-羧基苯基、3-氨基苯基、吡啶-3-基、噻吩-2-基、4-羟基苯基、4-(1-氨基环丙基)苄基、4-(1-氨基环丙基)苯基、2-甲基苄基、4-硝基苄基、4-氯苄基、苯乙基、4-溴苄基、4-氰基苄基、3-硝基苄基、4-叔丁基苄基、2-硝基苄基、4-硝基苯乙基、2-氯代-3-甲氧羰基苯基、2-氨基苯基、[1,1′-联苯]-4-基、4′-氨基-[1,1′-联苯]-4-基、4-氟苄基、3-(三氟甲基)苄基、3-(三氟甲氧基)苄基、3,4-二氯苄基、2-氰基苄基、3-氯苄基、4-氨基-2-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲氧基)苯基、4-氨基-2,3-二甲基苯基、4-氨基-5,6,7,8-四氢萘-1-基、4-氨基-3-甲基苯基、4-氨基-3-氟苯基、4-氨基-3-乙基苯基、以及4-氨基-3-(三氟甲基)苯基；

[0843] R^3选自：1H-吲哚-3-基、4-氨基苯基、4-羟基苯基、5-羟基吡啶-2-基、环己基和苯基；并且

[0844] R^4和R^5各自独立地选自：H和甲基。

[0845] 21.如实施方案1所述的化合物，其具有式Id：

[0846] 

Id

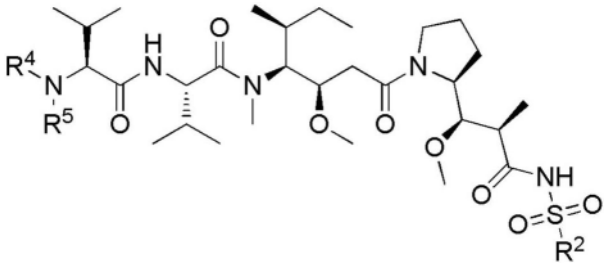
[0847] 或其药学上可接受的盐，

[0848] 其中：

[0849] R^2选自：C_2-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_4-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基，各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代：C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基；并且

[0850] R^4和R^5各自独立地选自：H和C_1-C_6烷基。

[0851] 22.如实施方案1所述的化合物，其具有式Id：

[0852] 

[0853] **Id**

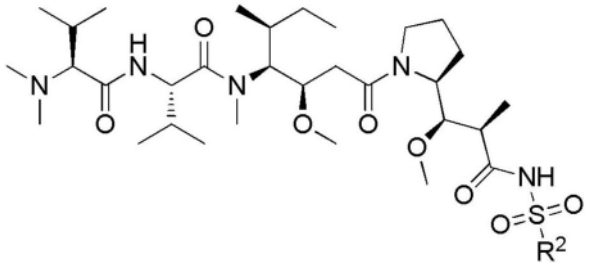
[0854] 或其药学上可接受的盐，

[0855] 其中：

[0856] R^2选自：4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氨基苯基、苄基、3-巯基丙基、2-巯基乙基、4-(巯基甲基)苯基、对甲苯基、2,4,6-三甲基苯基、4-(三氟甲氧基)苯基、2,4,6-三异丙基苯基、4-叔丁基苯基、4-氯苯基、3-氰基苯基、2-硝基苯基、4-甲氧基-2-硝基苯基、4-氨基羰基-2-硝基苯基、4-甲氧基苯基、苯基、2-氟苄基、哌啶-1-基、邻甲苯基、4-溴苯基、萘-2-基、4-甲氧羰基苯基、2-(三氟甲基)苄基、己烷-2-基、2-甲氧基乙基、环戊基甲基、环己基、吡啶-3-基甲基、4-羧基苯基、3-氨基苯基、吡啶-3-基、噻吩-2-基、4-羟基苯基、4-(1-氨基环丙基)苄基、4-(1-氨基环丙基)苯基、2-甲基苄基、4-硝基苄基、4-氯苄基、苯乙基、4-溴苄基、4-氰基苄基、3-硝基苄基、4-叔丁基苄基、2-硝基苄基、4-硝基苯乙基、2-氯代-3-甲氧羰基苯基、2-氨基苯基、[1,1′-联苯]-4-基、4′-氨基-[1,1′-联苯]-4-基、4-氟苄基、3-(三氟甲基)苄基、3-(三氟甲氧基)苄基、3,4-二氯苄基、2-氰基苄基、3-氯苄基、4-氨基-2-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲氧基)苯基、4-氨基-2,3-二甲基苯基、4-氨基-5,6,7,8-四氢萘-1-基、4-氨基-3-甲基苯基、4-氨基-3-氟苯基、4-氨基-3-乙基苯基、以及4-氨基-3-(三氟甲基)苯基；并且

[0857] R^4和R^5各自独立地选自：H和甲基。

[0858] 23.如实施方案1所述的化合物，其具有式Ig：

[0859] 

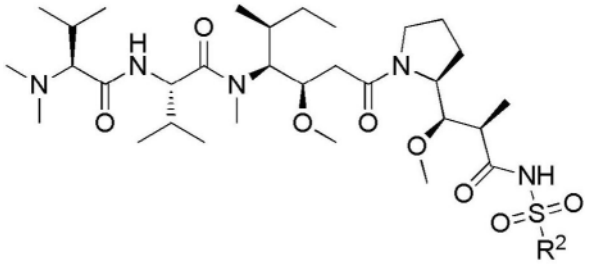
[0860] **Ig**

[0861] 或其药学上可接受的盐，

[0862] 其中：

[0863] R^2选自：C_2-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_4-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基，各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代：C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基。

[0864] 24.如实施方案1所述的化合物，其具有式Ig：

[0865] 

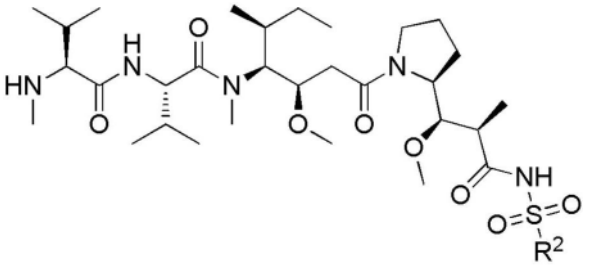
Ig

[0866] 或其药学上可接受的盐，

[0867] 其中：

[0868] R^2选自：4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氨基苯基。

[0869] 25.如实施方案1所述的化合物，其具有式Ij：

[0870] 

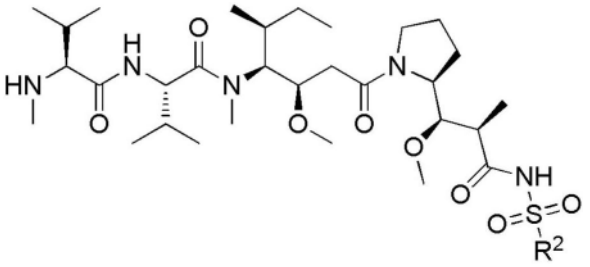
Ij

[0871] 或其药学上可接受的盐，

[0872] 其中：

[0873] R^2选自：C_2-C_6烷基、芳基、芳基-C_1-C_6烷基、C_4-C_7环烷基、C_3-C_7环烷基-C_1-C_6烷基、杂芳基、杂芳基-C_1-C_6烷基和杂环基，各自任选被一个或多个选自以下的取代基取代：C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6烷氧羰基、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷基氨基、氨基、氨基-C_1-C_6烷基、氨基-芳基、氨基-C_3-C_7环烷基、芳基、羧酰胺、羧基、氰基、C_1-C_6卤烷基、C_1-C_6卤烷氧基、卤基、羟基、硝基、硫基和硫基-C_1-C_6烷基。

[0874] 26.如实施方案1所述的化合物，其具有式Ij：

[0875] 

Ij

[0876] 或其药学上可接受的盐，

[0877] 其中：

[0878] R^2选自：4-氨基苄基、4-(氨基甲基)苄基、4-(氨基甲基)苯基、4-氨基苯基、苄基、

3-巯基丙基、2-巯基乙基、4-(巯基甲基)苯基、对甲苯基、2,4,6-三甲基苯基、4-(三氟甲氧基)苯基、2,4,6-三异丙基苯基、4-叔丁基苯基、4-氯苯基、3-氰基苯基、2-硝基苯基、4-甲氧基-2-硝基苯基、4-氨基羰基-2-硝基苯基、4-甲氧基苯基、苯基、2-氟苄基、哌啶-1-基、邻甲苯基、4-溴苯基、萘-2-基、4-甲氧羰基苯基、2-(三氟甲基)苄基、己烷-2-基、2-甲氧基乙基、环戊基甲基、环己基、吡啶-3-基甲基、4-羧基苯基、3-氨基苯基、吡啶-3-基、噻吩-2-基、4-羟基苯基、4-(1-氨基环丙基)苄基、4-(1-氨基环丙基)苯基、2-甲基苄基、4-硝基苄基、4-氯苄基、苯乙基、4-溴苄基、4-氰基苄基、3-硝基苄基、4-叔丁基苄基、2-硝基苄基、4-硝基苯乙基、2-氯代-3-甲氧羰基苯基、2-氨基苯基、[1,1′-联苯]-4-基、4′-氨基-[1,1′-联苯]-4-基、4-氟苄基、3-(三氟甲基)苄基、3-(三氟甲氧基)苄基、3,4-二氯苄基、2-氰基苄基、3-氯苄基、4-氨基-2-乙基苯基、4-氨基-3-(三氟甲氧基)苯基、4-氨基-2,3-二甲基苯基、4-氨基-5,6,7,8-四氢萘-1-基、4-氨基-3-甲基苯基、4-氨基-3-氟苯基、4-氨基-3-乙基苯基和4-氨基-3-(三氟甲基)苯基。

[0879] 27.如实施方案1所述的化合物,其选自以下:

[0880] (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(4-氨基苯基磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷14-基)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺;以及

[0881] (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-氨基苯基)甲基磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺,

[0882] 或其药学上可接受的盐。

[0883] 28.如实施方案1所述的化合物,其选自以下:

[0884] (R)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-氨基苯基)磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)-1-异丙基哌啶-2-甲酰胺;

[0885] (S)-2-(2-氨基-2-甲基丙酰胺基)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-氨基苯基)磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-N,3-二甲基丁酰胺;

[0886] (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-氨基苯基)磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺;

[0887] (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-氯基苯基)磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)丁酰胺;

[0888] (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-(氨基甲基)苯基)磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺;

[0889] (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((4-(氨基甲基)苯基)甲基)磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺;

[0890] (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(4-(1-氨基环丙基)苯基磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺;

[0891] (S)-N-((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((苯基甲基)磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)丁酰胺;以及

[0892] 4-(N-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)氨磺酰基)苯甲酸甲酯,

[0893] 或其药学上可接受的盐。

[0894] 29.一种药物组合物,其包含如实施方案1至28中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、以及药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

[0895] 30.一种治疗哺乳动物的癌症的方法,所述方法包括向有此需要的哺乳动物施用有效量的如实施方案1至28中任一项所述的化合物或如实施方案29所述的药物组合物。

[0896] 31.一种抑制哺乳动物中的肿瘤生长的方法,所述方法包括向有此需要的哺乳动物施用有效量的如实施方案1至28中任一项所述的化合物或如实施方案29所述的药物组合物。

[0897] 32.一种延长患有癌症的哺乳动物的存活的方法,所述方法包括向所述哺乳动物施用有效量的如实施方案1至28中任一项所述的化合物或如实施方案29所述的药物组合物。

[0898] 33.如实施方案1至28中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐的用途,其是用于制造供治疗哺乳动物的癌症用的药剂。

[0899] 34.如实施方案1至28中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐的用途,其是用于制造供抑制哺乳动物中的肿瘤生长用的药剂。

[0900] 35.如实施方案1至28中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐的用途,其是用于制造供延长患有癌症的哺乳动物的存活用的药剂。

[0901] 36.如实施方案1至28中任一项所述的化合物或如实施方案29所述的药物组合物,其是用于通过疗法治疗人或动物体的方法中。

[0902] 37.如实施方案1至28中任一项所述的化合物或如实施方案29所述的药物组合物,其是用于治疗哺乳动物中的癌症。

[0903] 38.如实施方案1至28中任一项所述的化合物或如实施方案29所述的药物组合物,其是用于抑制哺乳动物中的肿瘤生长。

[0904] 39.如实施方案1至28中任一项所述的化合物或如实施方案29所述的药物组合物,其是用于延长患有癌症的哺乳动物的存活。

[0905] 40.一种式II组合物:

[0906] (T)-(L)-(D)

[0907] II

[0908] 其中(T)为靶向部分,(L)为任选的接头,且(D)为根据实施方案1至28中任一项所述的化合物。

[0909] 41.一种药物组合物,其包含如实施方案40所述的组合物或其药学上可接受的盐、以及药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

[0910] 42.一种治疗哺乳动物的癌症的方法,所述方法包括向有此需要的哺乳动物施用有效量的如实施方案40所述的组合物或如实施方案41所述的药物组合物。

[0911] 43.一种抑制哺乳动物中的肿瘤生长的方法,所述方法包括向有此需要的哺乳动物施用有效量的如实施方案40所述的组合物或如实施方案41所述的药物组合物。

[0912] 44.一种延长患有癌症的哺乳动物的存活的方法,所述方法包括向所述哺乳动物施用有效量的如实施方案40所述的组合物或如实施方案41所述的药物组合物。

[0913] 45.如实施方案40所述的组合物或其药学上可接受的盐的用途,其是用于制造供治疗哺乳动物的癌症用的药剂。

[0914] 46.如实施方案40所述的组合物或其药学上可接受的盐的用途,其是用于制造供抑制哺乳动物中的肿瘤生长用的药剂。

[0915] 47.如实施方案40所述的组合物或其药学上可接受的盐的用途,其是用于制造供延长患有癌症的哺乳动物的存活用的药剂。

[0916] 48.如实施方案40所述的组合物或如实施方案41所述的药物组合物,其是用于通过疗法治疗人或动物体的方法中。

[0917] 49.如实施方案40所述的组合物或如实施方案41所述的药物组合物,其是用于治疗哺乳动物中的癌症。

[0918] 50.如实施方案40所述的组合物或如实施方案41所述的药物组合物,其是用于抑制哺乳动物中的肿瘤生长。

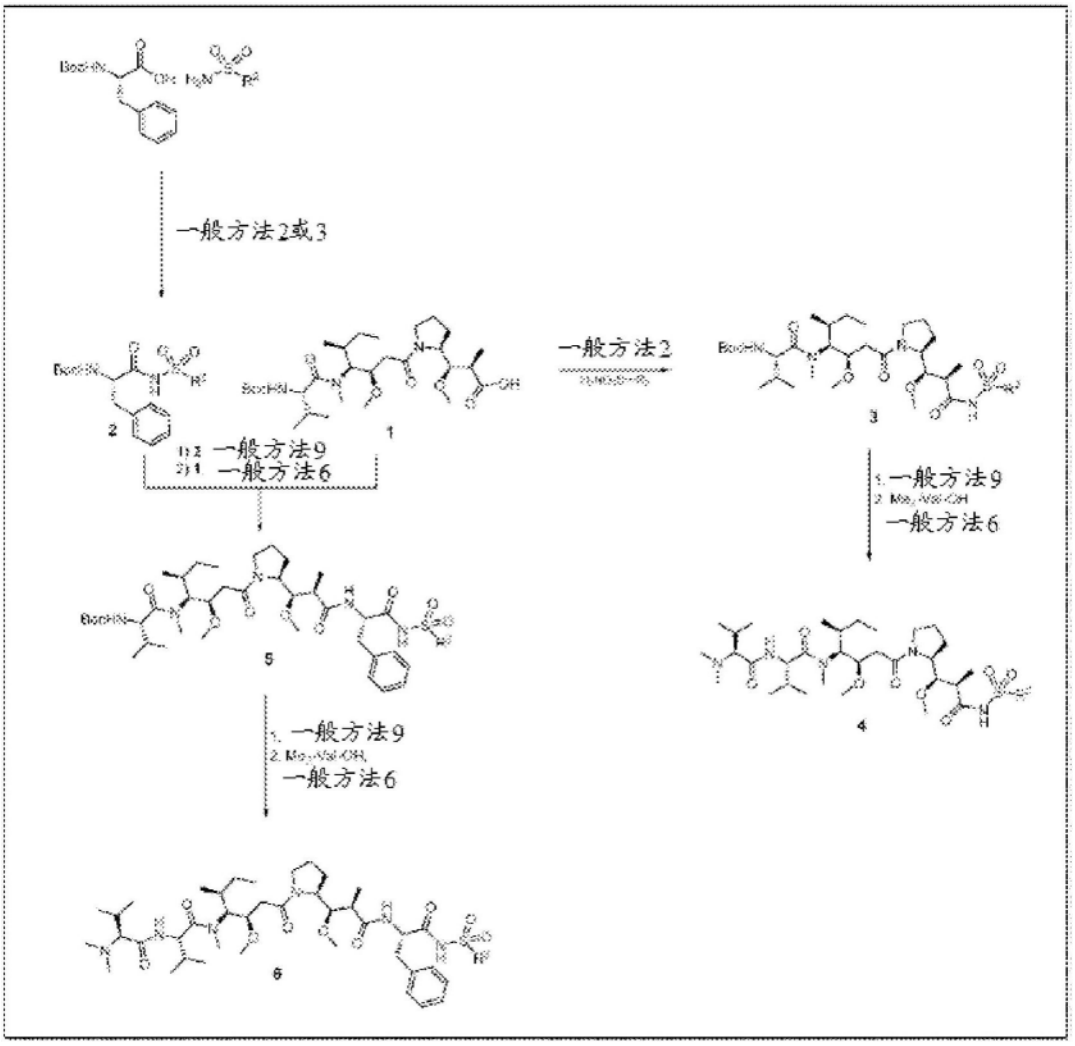
[0919] 51.如实施方案40所述的组合物或如实施方案41所述的药物组合物,其是用于延长患有癌症的哺乳动物的存活。

[0920] 实施例

[0921] 实施例1:一般合成方法

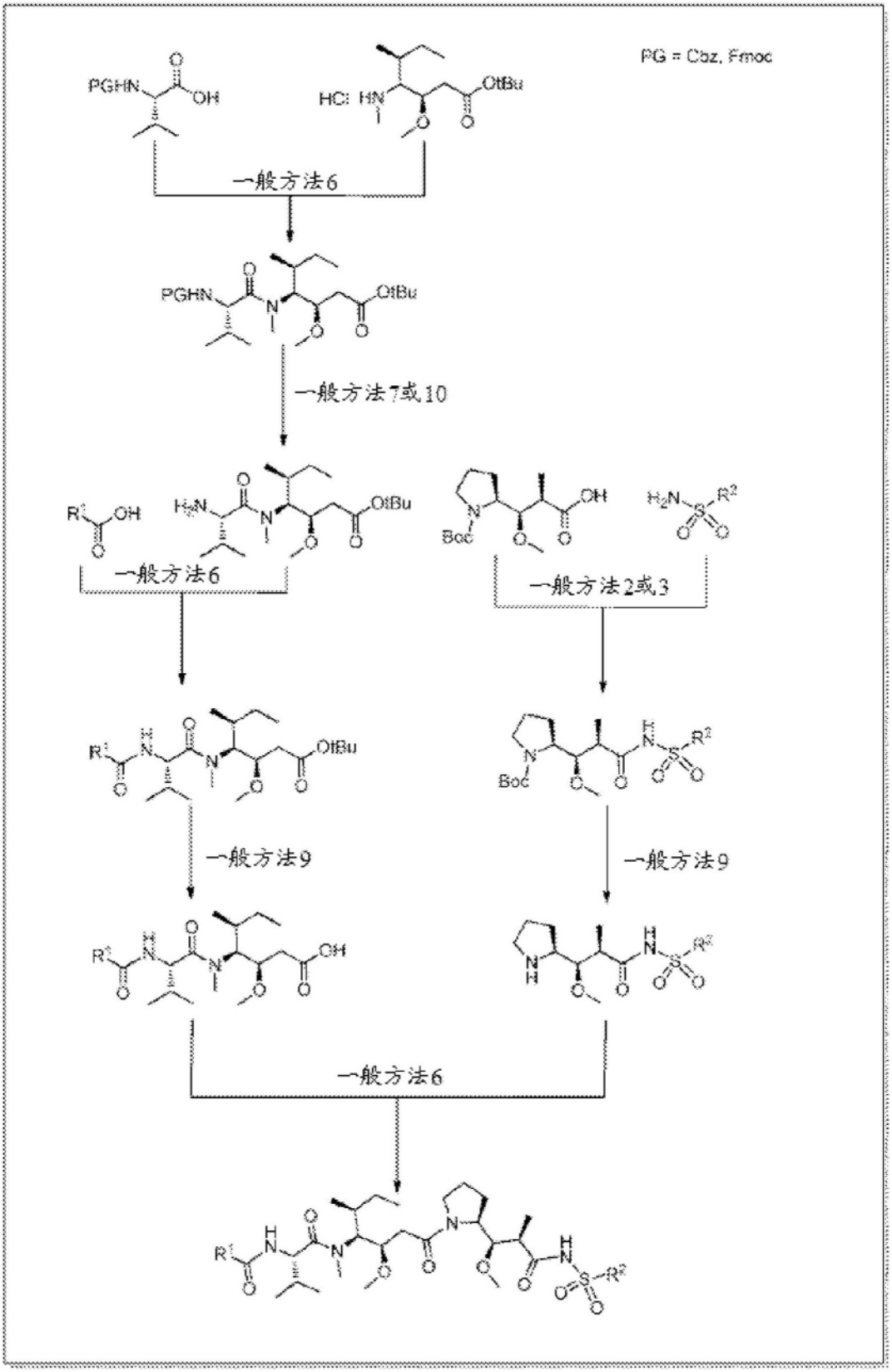
[0922] 合成方案A

[0923]



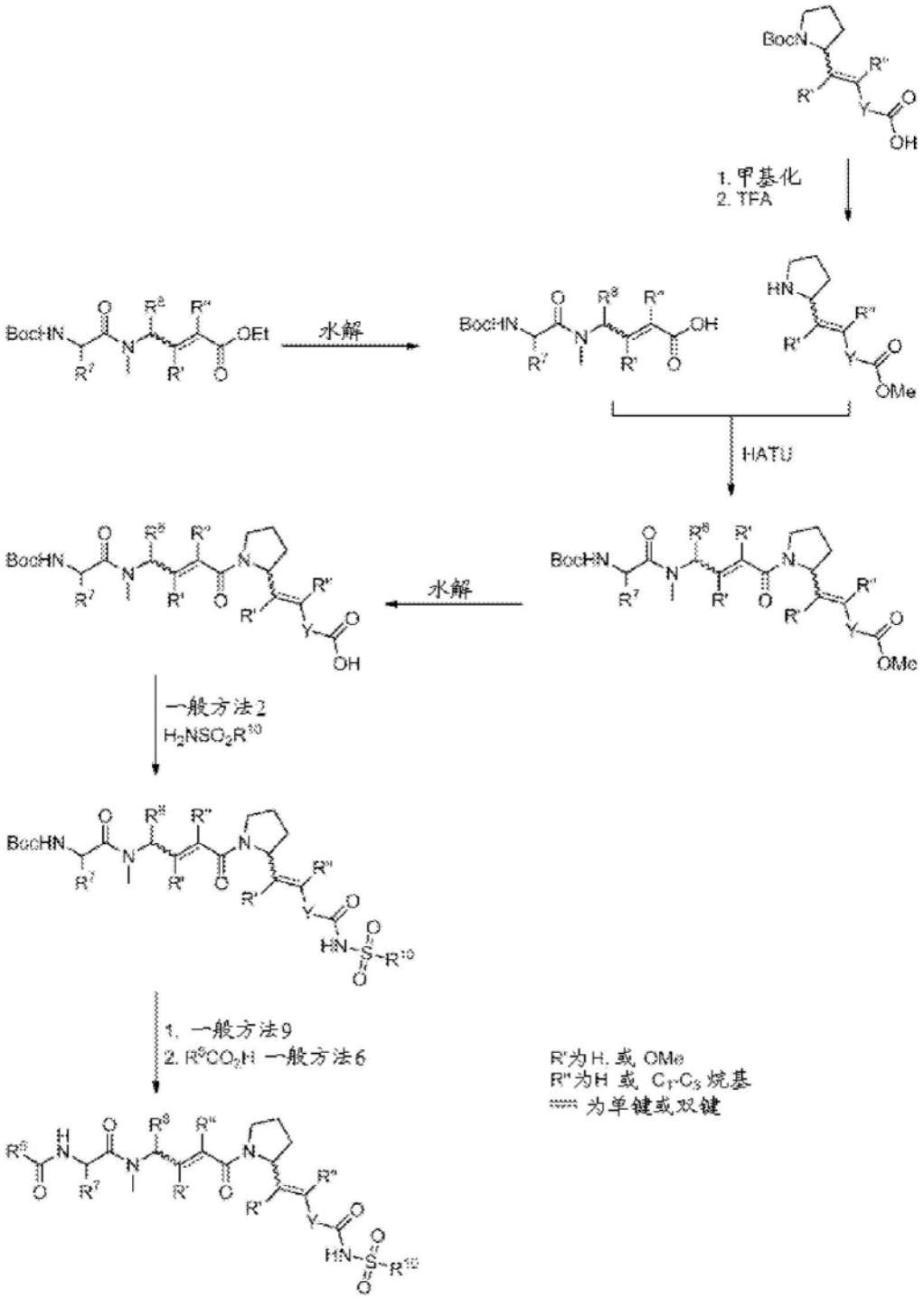
[0924] 合成方案B

[0925]



[0926] 方案C

[0927]



[0928] 实施例1.1:一般方法1-三氟乙酰胺装置。

[0929] 向胺在1,4-二噁烷中的搅拌悬浮液中添加三氟乙酸酐(1.1当量)。将反应混合物从悬浮液转换成溶液并再次转换回悬浮液。通过TLC和/或HPLC-MS监测反应的进展以使反应完全。一旦起始材料完全消耗,便将反应用己烷或乙醚稀释,在布氏漏斗上过滤并在减压下干燥所生成的固体以得到纯的三氟乙酰胺。

[0930] 实施例1.2:一般方法2

[0931] 方法A:DCC/DMAP介导的N-酰基磺酰胺形成。

[0932] 向酸在二氯甲烷中的搅拌溶液中添加磺酰胺溶液(1.3当量,根据需要在二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺或其混合物中)。添加二环己基碳化二亚胺(1.2当量)且接着添加N,

N-二甲基氨基吡啶(1.2当量)。通过HPLC-MS(通常16h)监测反应过程并且可通过添加乙醚沉淀过量的副产物。通过过滤除去固体并用1:1乙醚/二氯甲烷洗涤。将合并的有机层浓缩,并且通过硅胶色谱法或任选的制备型-HpLC纯化残余物以得到所需的N-酰基磺酰胺。

[0933] 方法B:DCC或EDCI/DMAP介导的N-酰基磺酰胺形成。

[0934] 向酸在二氯甲烷、乙酸乙酯或其混合物中的搅拌溶液中添加磺酰胺溶液(1.3当量,根据需要在二氯甲烷、乙酸乙酯或N,N-二甲基甲酰胺或其混合物中)。添加二环已基碳化二亚胺或EDCI(1.2当量)且接着添加N,N-二甲基氨基吡啶(1.2当量)。通过HPLC-MS(通常16h)监测反应过程并且可通过添加乙醚沉淀过量的副产物。通过过滤除去固体并用1:1乙醚/二氯甲烷洗涤。将合并的有机层浓缩,并且通过硅胶色谱法或任选的制备型-HPLC纯化残余物以得到所需的N-酰基磺酰胺。

[0935] 实施例1.3:一般方法3替代方案-AcBt介导的N-酰基磺酰胺形成

[0936] 此方法是由ARKIVOC 2004(xii),14-22中所述的内容改编而来。

[0937] 实施例1.4:一般方法4-三氟乙酰胺皂化。

[0938] 向含有构建体的三氟乙酰胺在1,4-二噁烷或甲醇中的溶液中添加氢氧化锂(10当量)和水(10%v/v)。允许在室温下搅拌反应或任选地加热至50℃。通过HPLC-MS监测反应过程。一旦完成,便在减压下除去挥发性物质,必要时对水层的pH进行调节并且用二氯甲烷或乙酸乙酯连续洗涤。将有机相汇集,经$MgSO_4$干燥,过滤并浓缩。反应产物"按原样"使用或根据需要通过硅胶色谱法纯化。

[0939] 实施例1.4.1:一般方法4.1-酰胺/酯皂化。

[0940] 向含有构建体的酰胺/酯在1,4-二噁烷或甲醇中的溶液中添加氢氧化锂(10当量)和水(10%v/v)。允许在室温下搅拌反应或任选地加热至50℃。通过HPLC-MS监测反应过程。一旦完成,便在减压下除去挥发性物质,必要时对水层的pH进行调节并且用二氯甲烷或乙酸乙酯连续洗涤。将有机相汇集,经$MgSO_4$干燥,过滤并浓缩。反应产物"按原样"使用或根据需要通过硅胶色谱法纯化。

[0941] 实施例1.5:一般方法5-DIC/Cu(II)介导的肽键形成

[0942] 向羧酸在最少量的30%N,N-二甲基甲酰胺的二氯甲烷溶液中的搅拌溶液中依次添加1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(0.95当量)、1-羟基-7-氮杂苯并三唑(1.0当量)、胺(0.33当量)及无水氯化铜(II)(1.0当量),其中在每种另外的试剂之间有一个短暂停顿。在室温下继续搅拌并且通过HPLC-MS监测反应的进展。一旦完成,在减压下除去挥发性物质并且通过硅胶色谱法或反相HPLC纯化残余物质以提供足够纯度的所需酰胺。

[0943] 实施例1.6:一般方法6-HATU介导的肽键形成。

[0944] 在0℃下向羧酸在最少量的二氯甲烷或N,N-二甲基甲酰胺或其混合物中的搅拌溶液中添加HATU(1.05-1.2当量)和N,N-二异丙胺(2-4当量)或2,4,6-可力丁(2-4当量)。继续搅拌持续短暂的诱导期(5-20分钟),在此时向反应中充入胺在二氯甲烷中的溶液。允许反应温至室温并且通过HPLC-MS监测进展。一旦完成,在减压下除去挥发性物质并且通过硅胶色谱法或反相HPLC纯化残余物质以提供足够纯度的酰胺。

[0945] 实施例1.7:一般方法7-Fmoc基团移除。

[0946] 将Fmoc保护的肽构建体溶于在N,N-二甲基甲酰胺中的20%哌啶中。通过HPLC-MS监测反应过程。当完成时,在减压下除去所有挥发性物质以得到残余物,将其通过硅胶色谱

法纯化或直接用于下一步中。

[0947] 实施例1.8:一般方法8-使用NHS-活化酯的胺的N-酰化。

[0948] 向胺在最少量的N,N-二甲基甲酰胺中的溶液中添加相应的含有酯的N-羟基琥珀酰亚胺(1.5当量)及任选的二异丙胺(2-4当量)。通过HPLC-MS(通常约16h)监测反应进展,此时在减压下除去所有挥发性物质。随后将残余物通过硅胶色谱法或反相HPLC纯化以得到所需的酰胺产物。

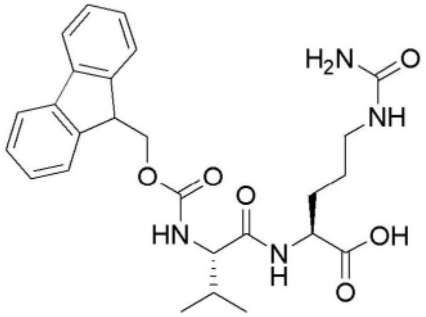
[0949] 实施例1.9:一般方法9-Boc基团移除。

[0950] 向Boc保护的构建体在二氯甲烷中的溶液中添加10%v/v三氟乙酸。通过HPLC-MS监测反应过程。一旦完成,便在减压下除去所有挥发性物质。通过反相HPLC、硅胶色谱法或从冷甲醇/二氯甲烷/乙醚的混合物中沉淀来纯化残余物质。

[0951] 实施例1.9.1:一般方法9.1-Boc基团和叔丁酯移除。

[0952] 向Boc保护的胺或叔丁酯在二氯甲烷中的溶液中添加10-20%v/v三氟乙酸。通过HPLC-MS监测反应过程。一旦完成,便在减压下除去所有挥发性物质。通过反相HPLC、硅胶色谱法或从冷甲醇/二氯甲烷/乙醚的混合物中沉淀来纯化残余物质。

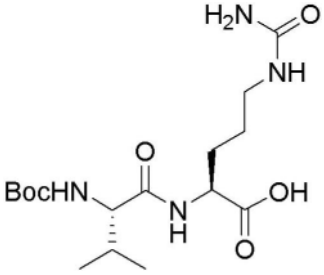
[0953] 实施例1.10:Fmoc-Val-Cit-OH:(S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酸,Fmoc-缬氨酸-瓜氨酸-OH,Fmoc-VC-OH。

[0954] 

[0955] 根据Dubowehik等人,Bioconjugate Chem.,2002,13,855-869制备标题化合物。

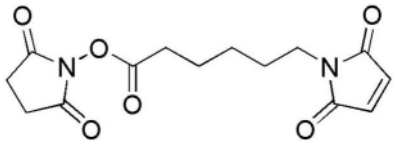
[0956] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ12.56(s,1H),8.21(d,J=7.3Hz,1H),7.90(d,J=7.5Hz,2H),7.76(t,J=7.0Hz,2H),7.49-7.39(m,3H),7.38-7.23(m,2H),5.96(t,J=5.9Hz,1H),5.40(s,2H),4.34-4.09(m,4H),3.93(dd,J=9.1,7.1Hz,1H),3.39(q,J=7.0Hz,3H),2.96(q,J=6.5Hz,2H),1.97(d,J=6.9Hz,1H),1.86-1.63(m,1H),1.57(dtd,J=13.9,9.0,5.4Hz,1H),1.41(dhept,J=13.2,6.9Hz,2H),0.88(dd,J=13.3,6.7Hz,6H).)。C26H32N4O6计算值:[M+H]+497.23。实测值:[M+H]$^+$497.19。

[0957] 实施例1.11:(S)-2-((S)-2-((叔丁氧羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酸,Boc-缬氨酸-瓜氨酸-OH,Boc-VC-OH。

[0958] 

[0959] 根据具有匹配的光谱数据的US2010/0233190 A1合成标题化合物。

[0960] 实施例1.12:MC-NHS:6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸2,5-二氧代吡咯烷-1-基酯。

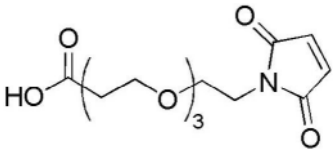
[0961] 

[0962] 向6-氨基己酸(10.0g,76.2mmol,1.0eq)在乙酸(75mL)中的搅拌溶液中添加马来酸酐(7.85g,80.0mmol,1.05eq)。固体溶解耗费了几分钟,接着在约5min之后,白色固体开始出现。一小时之后,悬浮液增稠成白色饼状物。将此物质在烧结漏斗上过滤并用甲苯洗涤并且在真空中在加热下干燥以除去所有痕量乙酸。

[0963] 将中间体粉末溶于甲苯(250mL)中,添加三乙胺(21.3mL,152mmol,2.0eq),并且用Dean-Stark分水器将混合物加热至回流。回流5h之后,冷却混合物并且将澄清的甲苯层从烧瓶中的其余粘性残余物中倾析。在真空中除去甲苯以产生6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯的三乙胺盐。将盐再溶解于甲苯中,并且添加少量乙酸,接着浓缩。紧接着,将混合物溶于50%饱和碳酸氢钠中,并且添加1M HCl以便将pH调节至3,形成乳状沉淀。将其用EtOAc萃取三次,将合并的有机物经硫酸钠干燥,过滤并在真空中浓缩以得到纯的6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯(3.08g,19%)。

[0964] 在0℃下向6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯(3.08g,14.6mmol,1.0eq)和N-羟基琥珀酰亚胺(1.76g,15.3mmol,1.05eq)在EtOAc(30mL)中的搅拌溶液中添加二环己基碳化二亚胺(3.16g,15.3mmol,1.05eq)。接着允许反应温至室温。20h之后,将反应物过滤并用EtOAc洗涤并且浓缩滤液。通过快速色谱法纯化残余物以得到呈澄清油状的标题化合物(2.16g,48%),其缓慢凝固成白色蜡状固体。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ6.71(s,2H),3.56(t,J=7.2Hz,2H),2.86(s,4H),2.63(t,J=7.4Hz,2H),1.80(p,J=7.4Hz,2H),1.73-1.57(m,2H),1.50-1.35(m,2H)。m/z计算值:$C_{14}H_{16}N_2O_6$=308.10。实测值:$[M+H]^+$=309.13。R_f=0.28(50%EtOAc/Hex)。

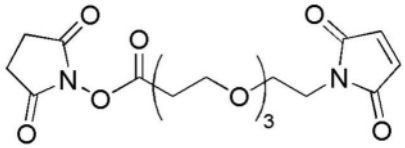
[0965] 实施例1.13:MT-OH:3-(2-(2-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸。

[0966] 

[0967] 根据Warnecke,A.,Kratz,F.Bioconjugate Chemistry 2003,14,377-387制备标题化合物。

[0968] ^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ6.74(s,2H),3.87-3.72(m,4H),3.72-3.62(m,10H),2.73-2.64(m,2H)。m/z计算值:C13H29NO7=301.12。实测值:$[M+H]^+$=302.14。

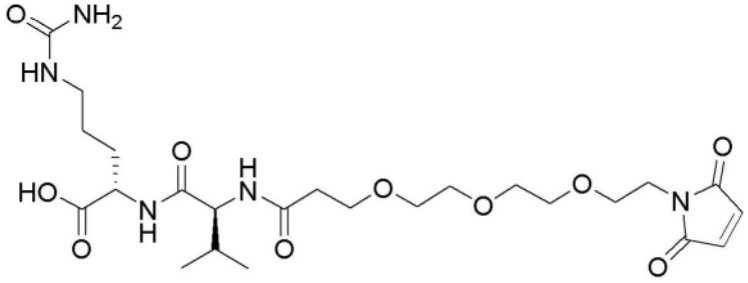
[0969] 实施例1.14:MT-NHS:3-(2-(2-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸2,5-二氧代吡咯烷-1-基酯。

[0970] 

[0971] 在室温下将MT-OH(2.6g,8.6mmol,1.0eq)用在30mL的5:1EtOAc/二噁烷中的二环己基碳化二亚胺(1.87g,9.06mmol,1.05eq)和N-羟基琥珀酰亚胺(1.04g,6.06mmol,1.05eq)处理。36h之后,将混合物过滤,用EtOAc洗涤,并且通过快速色谱法纯化残余物以得到呈澄清油状的标题化合物(309mg,9.0%)连同起始材料(1.31g,50%回收率)一起。

[0972] ^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ6.72(s,2H),3.87(t,J=6.4Hz,2H),3.74(t,J=5.6Hz,2H),3.70-3.58(m,10H),2.93(t,J=6.4Hz,2H),2.86(s,4H),1.32-1.19(m,2H)。m/z计算值:$C_{17}H_{22}N_2O_9$=398.13。实测值:$[M+H]^+$=399.15,$[M+Na]^+$=421.14。R_f=0.59(10%(5%AcOH/MeOH)/10%Hex/CH_2Cl_2)。

[0973] 实施例1.15:MT-VC-OH:(14R,17R)-1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-14-异丙基-12,15-二氧代-17-(3-脲基丙基)-3,6,9-三氧杂-13,16-二氮杂十八-18-烷酸。

[0974] 

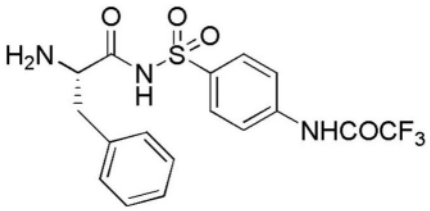
[0975] 方法A

[0976] 向(R)-2-((R)-2-(叔丁氧羰基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酸(Boc-VC-OH,0.600g,1.602mmol)在二氯甲烷(2.5mL)中的溶液中添加三氟乙酸(2.5mL)。通过HPLC监测反应过程中的起始材料消耗,然后在减压下浓缩,再悬浮在甲苯中,在减压下浓缩并且在高真空下静置4小时。将一部分产物(H-VC-OH.TFA,0.5g,1.287mmol)悬浮在1,4-二噁烷(0.5mL)中并且一次性加入MT-NHS(0.512g,1.287mmol),接着加入二异丙基乙胺(0.90mL,4当量)并且允许搅拌反应过夜。浓缩反应至干燥并且将生成的油溶于甲醇中,之后通过制备型HPLC纯化。所需级分的冷冻干燥得到呈白色粉末状的标题化合物(0.351g)。

[0977] 方法B

[0978] 根据WO 2015095953 A1中所述的方法制备标题化合物。

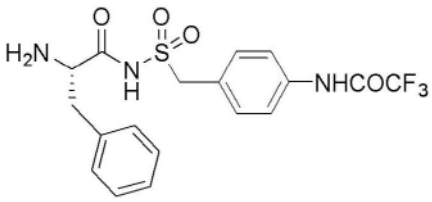
[0979] 实施例1.16:(S)-2-氨基-3-苯基-N-(4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基磺酰基)丙酰胺(化合物1)。

[0980] 

[0981] 根据一般方法2和9,由Boc-苯丙氨酸及2,2,2-三氟代-N-(4-氨磺酰基苯基)乙酰胺制备。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ11.42(s,1H),7.84(d,J=8.7Hz,2H),7.73-7.64(m,1H),7.69(d,J=8.7Hz,2H),7.24-7.14(m,3H),7.13-7.06(m,2H),3.65-3.60(m,1H),3.06(dd,J=14.2,5.1Hz,1H),2.91(dd,J=14.1,7.1Hz,1H)。$C_{17}H_{16}F_3N_3O_4S$计算值:m/z=415.08实测值:$[M+H]^+$=416.5。

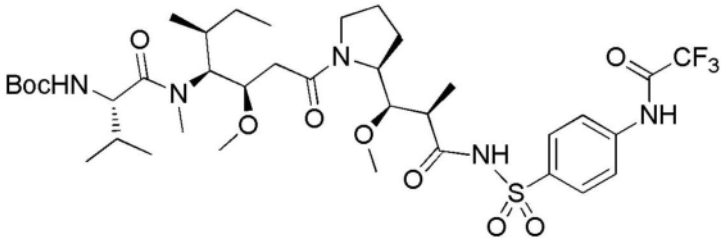
[0982] 实施例1.17:(S)-2-氨基-3-苯基-N-((4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苄基)磺酰基)丙

酰胺(化合物2)。

[0983] 

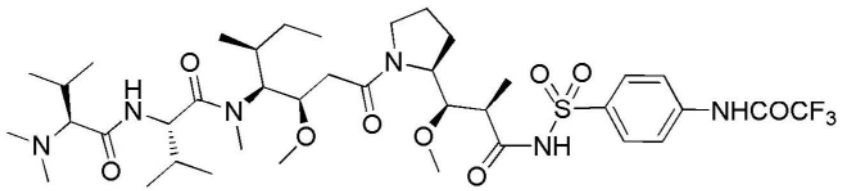
[0984] 根据一般方法3和9,由Boc-苯丙氨酸及2,2,2-三氟代-N-(4-氨磺酰基苯基)乙酰胺(实施例1.39)制备。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ7.76-7.71(m,2H),7.58(d,J=8.4Hz,2H),7.36-7.21(m,8H),4.34(d,J=13.1Hz,1H),4.30(d,J=13.1Hz,1H),3.62(dd,J=8.2,4.6Hz,1H),3.21-3.09(m,1H),2.89(dd,J=14.3,8.3Hz,1H)。$C_{18}H_{18}F_3N_3O_4S$计算值:m/z=429.10实测值:$[M+H]^+$=430.7。

[0985] 实施例1.18:(S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-(4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基氨基甲酸叔丁酯(化合物3)。

[0986] 

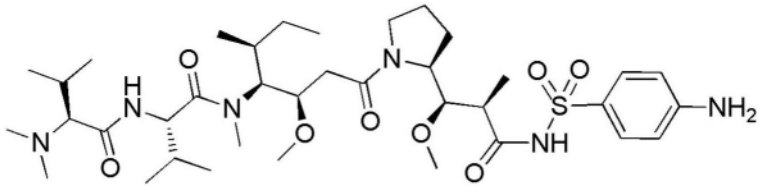
[0987] 使用一般方法2,由可商购获得的Boc-Val-Dip-Dap-OH(0.08g)及2,2,2-三氟代-N-(4-氨磺酰基苯基)乙酰胺合成标题化合物。$C_{37}H_{58}F_3N_5O_{10}S$计算值:m/z=821.39实测值:$[M+H]^+$=823.04。

[0988] 实施例1.19:(S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N-((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-(4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-N,3-二甲基丁酰胺(化合物4)。

[0989] 

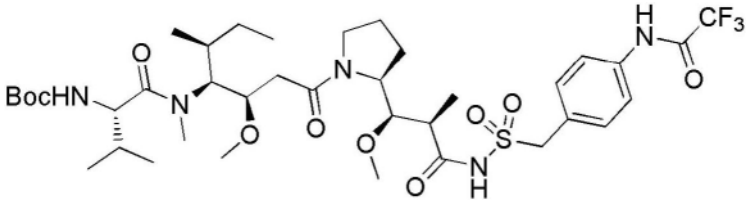
[0990] 使用一般方法9和6,由化合物3及N,N-二甲基缬氨酸制备标题化合物。$C_{39}H_{63}F_3N_6O_9S$计算值:m/z=848.43实测值:$[M+H]^+$850.11。

[0991] 实施例1.20:(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(4-氨基苯基磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺(化合物5)。

[0992] 

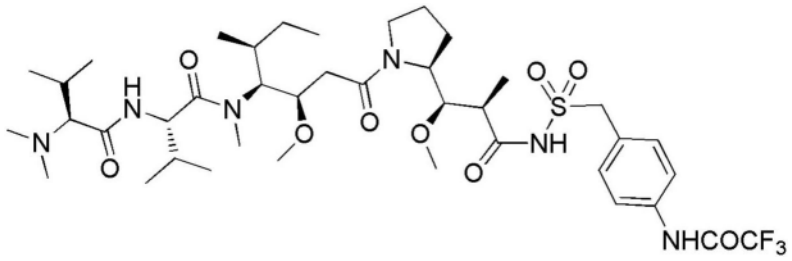
[0993] 使用一般方法4,由化合物4制备标题化合物。$C_{37}H_{64}N_6O_8S$计算值:m/z=752.45实测值:$[M+H]^+$754.16。

[0994] 实施例1.21:(S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基)甲基磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基氨基甲酸叔丁酯(化合物6)。

[0995] 

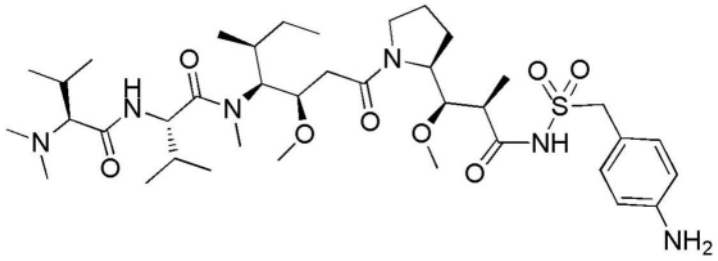
[0996] 通过一般方法2,由可商购获得的Boc-Val-Dil-Dap-OH制备标题化合物。$C_{38}H_{60}F_3N_5O_{10}S$计算值:m/z=835.40实测值:$[M+H]^+$=836.7。

[0997] 实施例1.22:(S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N-((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-(S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基)甲基磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-N,3-二甲基丁酰胺(化合物7)。

[0998] 

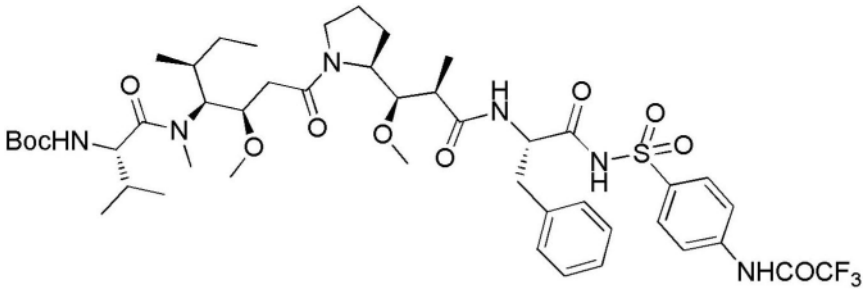
[0999] 遵循一般方法6,由化合物6制备标题化合物。$C_{40}H_{65}F_3N_6O_9S$计算值:m/z=862.45实测值:$[M+H]^+$=863.2。

[1000] 实施例1.23:(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-氨基苯基)甲基磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺(化合物8)。

[1001] 

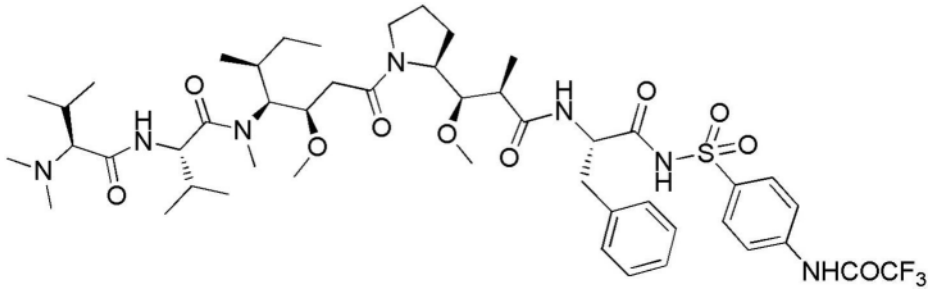
[1002] 遵循一般方法4,由化合物7制备标题化合物。$C_{38}H_{66}N_6O_8S$计算值:m/z=766.47实测值:$[M-C_7H_8O_2S+H]^+$=599.0(醌甲基化物的碎片化及4-氨基苄基磺酸酯的损失)。

[1003] 实施例1.24:(S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((S)-1-氧代基-3-苯基-1-(4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基磺酰胺基)丙-2-基氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基氨基甲酸叔丁酯(化合物9)。

[1004] 

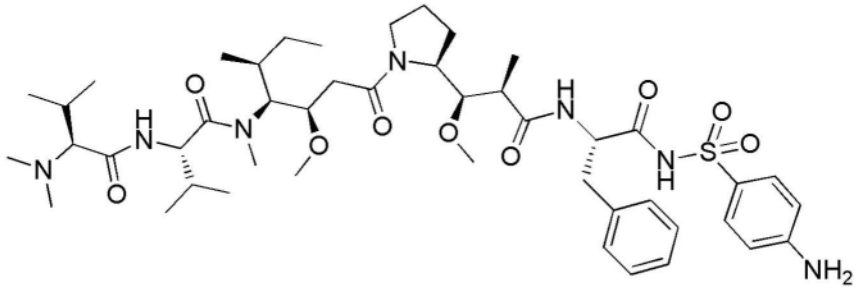
[1005] 使用一般方法6,由可商购获得的Boc-Val-Dip-Dap-OH(0.07g)及化合物1合成标题化合物。$C_{46}H_{67}F_3N_6O_{11}S$计算值:m/z=968.45实测值:$[M+Na]^+$=992.1。

[1006] 实施例1.25:(S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N-((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((S)-1-氧代基-3-苯基-1-(4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基磺酰胺基)丙-2-基氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-N,3-二甲基丁酰胺(化合物10)。

[1007] 

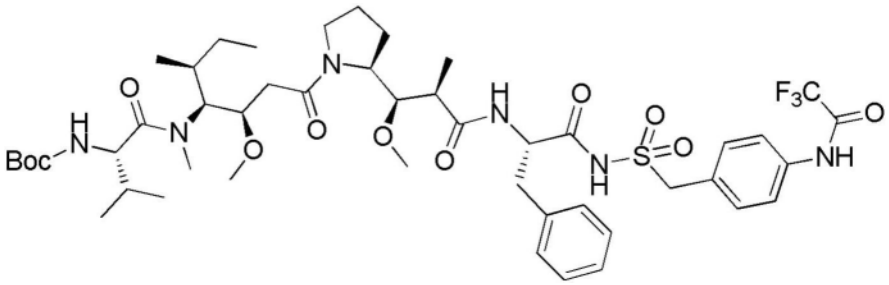
[1008] 使用一般方法9和6,由化合物9(110mg)及N,N-二甲基缬氨酸制备标题化合物。$C_{48}H_{72}F_3N_7O_{10}S$计算值:m/z=995.50实测值:$[M+H]^+$997.3。

[1009] 实施例1.26:(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((S)-1-(4-氨基苯基磺酰胺基)-1-氧代基-3-苯基丙-2-基氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺(化合物11)。

[1010] 

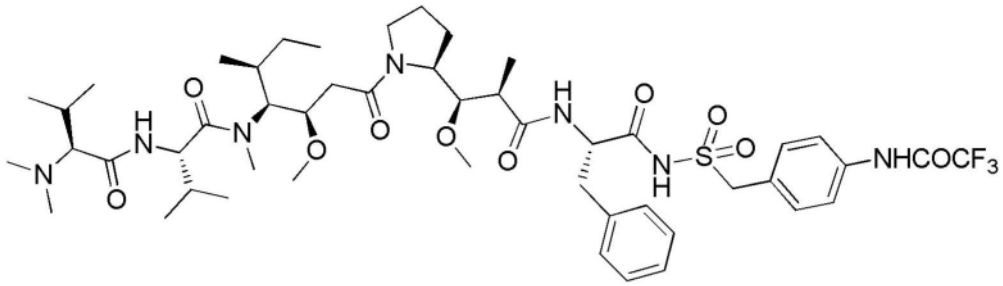
[1011] 使用一般方法4,由化合物10(100mg)制备标题化合物。$C_{46}H_{73}N_7O_9S$计算值:m/z=899.52实测值:$[M+H]^+$901.3。

[1012] 实施例1.27:(S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((S)-1-氧代基-3-苯基-1-(4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基甲基磺酰胺基)丙-2-基氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基氨基甲酸叔丁酯(化合物12)。

[1013] 

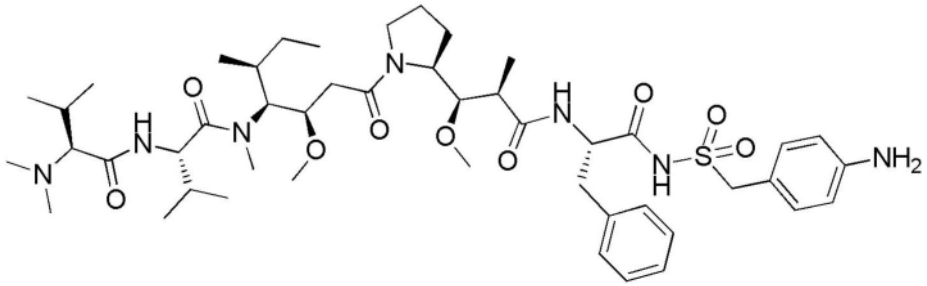
[1014] 通过一般方法6,由可商购获得的Boc-Val-Dil-Dap-OH及化合物2制备标题化合物。$C_{47}H_{69}F_3N_6O_{11}S$计算值:m/z=982.47实测值:$[M+Na]^+$=1006.2。

[1015] 实施例1.28:(S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N-((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((S)-1-氧代基-3-苯基-1-(4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基甲基磺酰胺基)丙-2-基氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-N,3-二甲基丁酰胺(化合物13)。

[1016] 

[1017] 通过一般方法6,由化合物12及二甲基缬氨酸制备标题化合物。$C_{49}H_{74}F_3N_7O_{10}S$计算值:m/z=1009.52实测值:$[M+H]^+$=1011.0。

[1018] 实施例1.29:(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((S)-1-(4-氨基苯基甲基磺酰胺基)-1-氧代基-3-苯基丙-2-基氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺(化合物14)。

[1019] 

[1020] 通过一般方法4,由化合物13制备化合物。$C_{47}H_{75}N_7O_95$计算值:m/z=913.53实测值:$[M-C_7H_aO_2S+Na]^+$=768.1(醌甲基化物的碎片化及4-氨基苄基磺酸酯的损失)。

[1021] 实施例1.30:一般方法10-氢化。

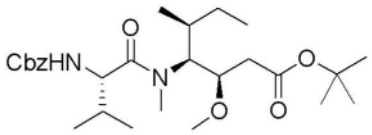
[1022] 向有待还原的样品在甲醇、乙醇、乙酸、乙酸乙酯、其混合物或其它合适的溶剂中的溶液中加入磁性搅拌器。含有搅拌溶液的烧瓶装配有二通气体管线转接器并且在减压下抽空并充入氮气。重复此过程3次。加入呈固体或浆料的10%Pd/C,通常以相对于反应物的10mol%钯。再次在减压下抽空容器并充入含氢气球。通过HPLC-MS监测反应是否完成,且一旦完成,通过在过滤漏斗上的硅藻土垫来过滤。在减压下浓缩滤液并且原样使用或经由硅

胶或制备型HPLC色谱法纯化。

[1023] 实施例1.31:3-(2-(2-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸全氟苯酯。

[1024] 向3-(2-(2-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸(实施例1.13)(2.28g,7.57mmol)在二氯甲烷(100mL)中的搅拌溶液中添加1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺盐酸盐(1.59g,1.1当量)和五氟苯酚(1.53g,1.1当量)。允许搅拌反应过夜,此时HPLC-MS显示不剩余起始材料(Rt=5.30min,490.4m/z,全梯度)。用饱和碳酸氢钠(约20mL)稀释粗反应混合物并且将混合物转移到分液漏斗。将有机相用盐水(约50mL)洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤并浓缩以得到淡黄色油状物。将油状物溶于最少量的二氯甲烷中并装载至100g硅胶柱上来纯化(Isolera,10-100%EtOAc的己烷溶液,经12个柱体积)。汇集含有所需物质的级分并在减压下浓缩以得到无色油状物(3.32g,94%)。

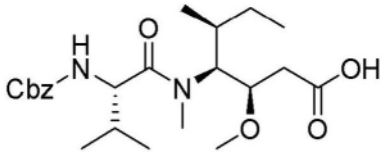
[1025] 实施例1.32:(3R,4S,5S)-4-((S)-2-(苄氧羰基氨基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酸叔丁酯,Cbz-Val-Dil-OtBu。

[1026] 

[1027] 遵循一般方法6,由商业上购得的Cbz-Val-OH及H-Dil-OtBu·HCl制备标题化合物。

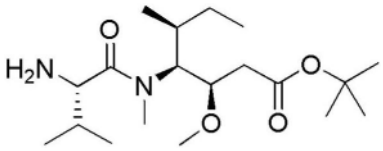
[1028] ^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ7.40-7.30(m,5H),5.54(d,J=9.2Hz,1H),5.12(s,2H),4.73(s,1H),4.54(dd,J=9.2,5.6Hz,1H),3.91(s,1H),3.37(s,3H),2.98(s,3H),2.47(d,J=16.5Hz,1H),2.33(dd,J=15.6,9.1Hz,1H),2.07-1.96(m,1H),1.84-1.60(m,1H),1.48(s,9H),1.45-1.32(m,2H),1.04(d,J=6.8Hz,3H),0.98(d,J=6.6Hz,3H),0.94(d,J=6.8Hz,3H),0.86(t,J=7.4Hz,3H)。$C_{27}H_{44}N_2O_6$计算值:m/z=492.32实测值:$[M+H]^+$=515.8$[M+Na]^+$。R_f=0.78(50%EtOAc/Hex)。

[1029] 实施例1.33:(3R,4S,5S)-4-((S)-2-(((苄氧基)羰基)氨基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酸,Cbz-Val-Dil-OH。

[1030] 

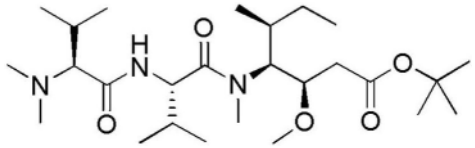
[1031] 使用一般方法9,由Cbz-Val-Dil-OtBu(实施例1.32)制备标题化合物。$C_{23}H_{36}N_2O_6$计算值:m/z=436.26实测值:$[M+Na]^+$459.81。1H NMR(400MHz,甲醇-d_4)δ7.47-7.22(m,5H),5.21-4.99(m,2H),4.83-4.54(m,1H),4.39(d,J=8.0Hz,1H),3.96(s,1H),3.43-3.33(s,3H),3.07(s,3H),2.63(dd,J=15.9,2.9Hz,1H),2.38(dd,J=15.8,9.3Hz,1H),2.15-1.95(m,1H),1.83(s,1H),1.52-1.30(m,1H),1.07-0.91(m,9H),0.85(t,J=7.4Hz,3H)。

[1032] 实施例1.34:(3R,4S,5S)-4-((S)-2-氨基-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酸叔丁酯,H-Val-Dil-OtBu。

[1033] 

[1034] 根据一般方法10,由Cbz-Val-Dil-OtBu(438mg,0.889mmol)生成标题化合物,以获得呈澄清膜状的所需产物(288mg,90%)。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ4.76(s,1H),3.92(s,1H),3.50(d,J=5.1Hz,1H),3.38(s,3H),2.92(s,3H),2.48(dd,J=15.7,3.1Hz,1H),2.35(dd,J=15.6,8.8Hz,1H),1.93(dq,J=10.9,6.5Hz,1H),1.82-1.60(m,1H),1.51-1.46(m,11H),1.05-0.85(m,12H)。$C_{19}H_{38}N_2O_4$计算值:m/z=358.28实测值:$[M+Na]^+$=381.8。

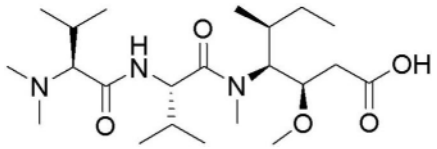
[1035] 实施例1.35:(3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酸叔丁酯,Dov-Val-Dil-OtBu。

[1036] 

[1037] 遵循一般方法6,由H-Val-Dil-OtBu及N,N-二甲基缬氨酸制备标题化合物。

[1038] ^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ7.09(d,J=8.8Hz,1H),4.79(t,J=7.6Hz,1H),4.00-3.81(m,1H),3.75(s,1H),3.37(s,3H),3.26(s,1H),3.00(s,3H),2.74(s,6H),2.49(d,J=15.9Hz,1H),2.38-2.20(m,2H),2.13-2.05(m,1H),1.81-1.62(m,1H),1.51-1.43(m,10H),1.33(s,1H),1.18-0.89(m,15H),0.83(t,J=7.2Hz,3H)。$C_{26}H_{51}N_3O_5$计算值:m/z=485.38实测值:$[M+Na]^+$=508.9。R_f=0.36(5%MeOH/CH_2Cl_2)。

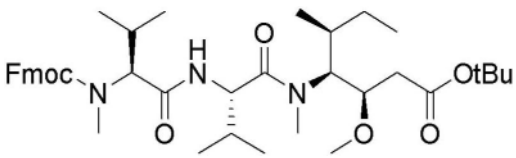
[1039] 实施例1.36:(3R,4S,5S)-叔丁基4-((S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酸,Dov-Val-Dil-OH。

[1040] 

[1041] 遵循一般方法9,由Dov-Val-Dil-OtBu制备标题化合物。

[1042] ^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ4.98(t,J=10.0Hz,1H),4.65(dd,J=9.3,3.1Hz,1H),4.08(d,J=10.6Hz,1H),3.61-3.53(m,1H),3.39(s,3H),3.24(s,3H),3.13(s,3H),2.93(s,3H),2.77(dd,J=17.0,9.8Hz,1H),2.66(dd,J=17.3,1.9Hz,1H),2.31-2.26(m,1H),2.07(dt,J=10.8,5.5Hz,1H),1.97-1.85(m,1H),1.29-1.24(m,1H),1.13(d,J=6.7Hz,3H),1.08-1.01(m,6H),1.01-0.95(m,6H),0.90-0.81(m,1H),0.77(t,J=6.9Hz,3H)$C_{22}H_{43}N_3O_5$计算值:m/z=429.32。实测值:$[M+H]^+$=430.8。

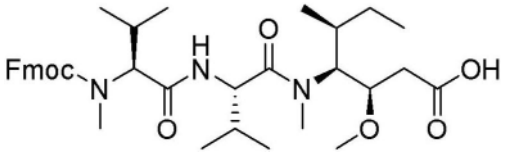
[1043] 实施例1.37:(5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-1-(9H-芴-9-基)-5,8-二异丙基-12-甲氧基-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2-氧杂-4,7,10-三氮杂十四烷-14-酸叔丁酯,Fmoc-(Me)Val-Val-Dil-OtBu。

[1044] 

[1045] 根据一般方法6,由Fmoc-(Me)-(L)-缬氨酸-OH及H-Val-Dil-OtBu制备标题化合

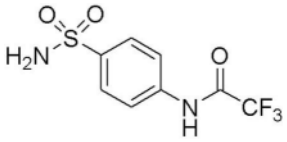
物。$C_{40}H_{59}N_3O_7$计算值:m/z=693.44实测值:$[M+H]^+$694.98。

[1046] 实施例1.38:(5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-1-(9H-芴-9-基)-5,8-二异丙基-12-甲氧基-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2-氧杂-4,7,10-三氮杂十四烷-14-酸,Fmoc-(Me)Val-Val-Dil-OH。

[1047] 

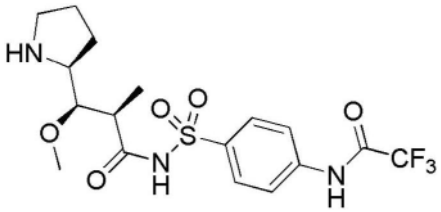
[1048] 使用一般方法9,由Fmoc-(Me)Val-Val-Dil-OtBu制备标题化合物。$C_{36}H_{51}N_3O_7$计算值:m/z=637.37实测值:$[M+H]^+$638.91。

[1049] 实施例1.39:2,2,2-三氟代-N-(4-氨磺酰基苯基)乙酰胺。

[1050] 

[1051] 向磺胺(1.72g,10mmol)在二噁烷(20mL)中的搅拌悬浮液中添加三氟乙酸酐(1.69mL,1.2当量)。缓慢溶解固体以生成均匀的溶液并且在短期之后,形成一批新的固体。将反应用乙醚(100mL)稀释并且将所生成的悬浮液在布氏漏斗上过滤。收集固体并且在减压下干燥以提供足够纯度的标题化合物以供进一步使用(2.60g,97%)。

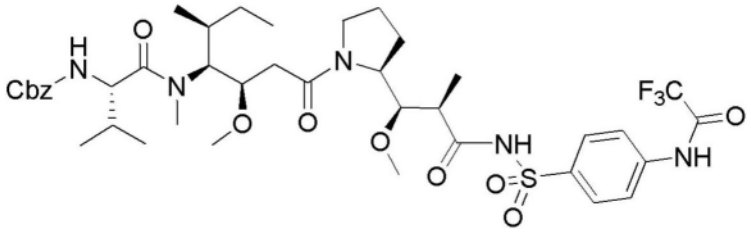
[1052] 实施例1.40:(2R,3R)-3-甲氧基-2-甲基-3-((S)-吡咯烷-2-基)-N-(4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基磺酰基)丙酰胺。

[1053] 

[1054] 遵循一般方法2和9,由商业上购得的Boc-Dap-OH及2,2,2-三氟代-N-(4-氨磺酰基苯基)乙酰胺制备标题化合物。

[1055] ^{1}H NMR(400MHz,甲醇-d_4)δ8.06(d,J=8.9Hz,2H),7.92(d,J=8.9Hz,2H),3.69(dd,J=6.6,3.0Hz,1H),3.48(s,3H),3.51-3.39(m,1H),3.33-3.14(m,2H),2.64(p,J=7.0Hz,1H),2.06-1.68(m,4H),1.19(d,J=7.1Hz,3H)。$C_{17}H_{22}F_3N_3O_5S$计算值:m/z=437.12实测值:$[M+H]^+$=438.6。

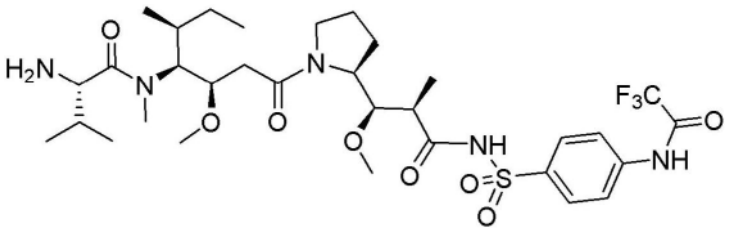
[1056] 实施例1.41:((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基)磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸苄酯。

[1057] 

[1058] 根据一般方法2,由Cbz-Val-Dil-OH及实施例1.40的产物制备标题化合物。

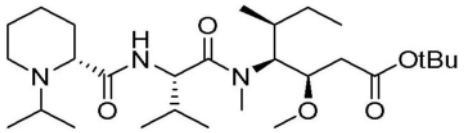
$C_{40}H_{56}F_3N_5O_{10}S$计算值:m/z＝855.37实测值:$[M+H]^+$857.07。

[1059] 实施例1.42:(S)-2-氨基-N-((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基)磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-N,3-二甲基丁酰胺。

[1060] 

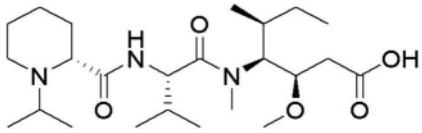
[1061] 根据一般方法10,由实施例1.41的产物制备标题化合物。$C_{32}H_{50}F_3N_5O_8S$计算值:m/z＝721.33实测值:$[M+H]^+$722.70。

[1062] 实施例1.43:(3R,4S,5S)-4-((S)-2-((R)-1-异丙基哌啶-2-甲酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酸叔丁酯。

[1063] 

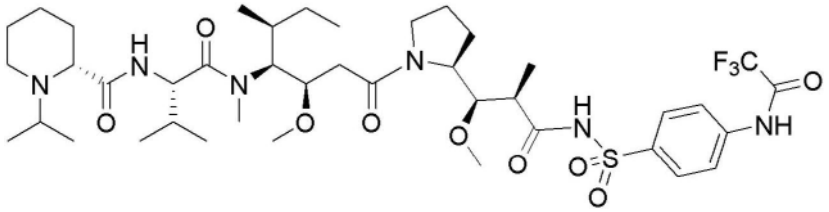
[1064] 根据一般方法6,由(R)-1-异丙基哌啶-2-羧酸及H-Val-Dil-OtBu制备标题化合物。$C_{28}H_{53}N_3O_5$计算值:m/z＝511.40实测值:$[M+H]^+$512.77。

[1065] 实施例1.44:(3R,4S,5S)-4-((S)-2-((R)-1-异丙基哌啶-2-甲酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酸。

[1066] 

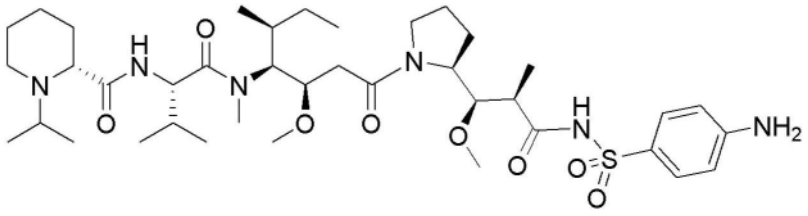
[1067] 根据一般方法9,由实施例1.43的叔丁基产物制备标题化合物。$C_{24}H_{45}N_3O_5$计算值:m/z＝455.34实测值:$[M+H]^+$456.70。

[1068] 实施例1.45:(R)-1-异丙基-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基)磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)哌啶-2-甲酰胺(化合物15)。

[1069] 

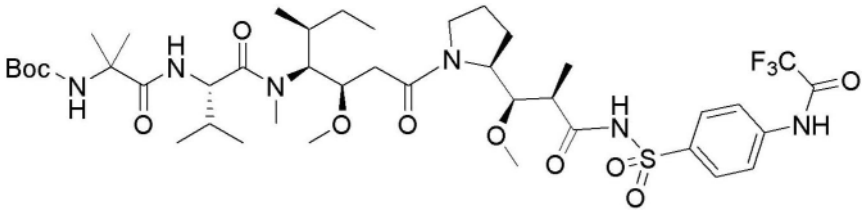
[1070] 根据一般方法6,由实施例1.40的产物及实施例1.44的产物制备标题化合物。$C_{41}H_{65}F_3N_6O_9S$计算值:m/z＝874.45实测值:$[M+H]^+$876.0。

[1071] 实施例1.46:(R)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-氨基苯基)磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)-1-异丙基哌啶-2-甲酰胺(化合物16)。

[1072] 

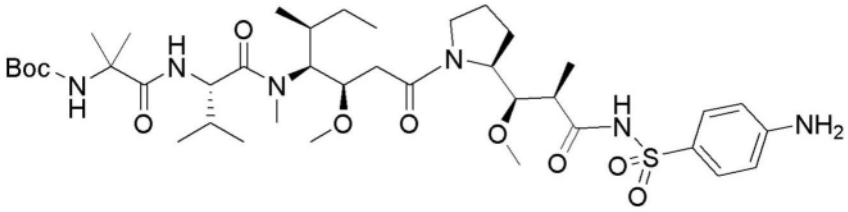
[1073] 根据一般方法4,由化合物15制备标题化合物。$C_{39}H_{66}N_6O_8S$计算值:m/z=778.47实测值:$[M+H]^+$780.06。

[1074] 实施例1.47:(1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基)磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-2-甲基-1-氧代丙-2-基)氨基甲酸叔丁酯。

[1075] 

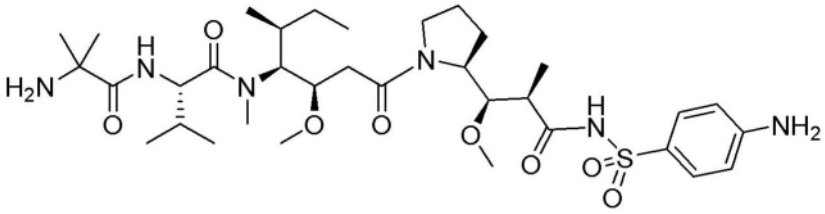
[1076] 根据一般方法6,由实施例1.42的产物及商业上购得的α-(Boc-氨基)异丁酸制备标题化合物。$C_{41}H_{65}F_3N_6O_{11}S$计算值:m/z=906.44实测值:$[M+H]^+$907.80。

[1077] 实施例1.48:(1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-氨基苯基)磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-2-甲基-1-氧代丙-2-基)氨基甲酸叔丁酯。

[1078] 

[1079] 根据一般方法4,由实施例1.47的产物制备标题化合物。$C_{39}H_{66}N_6O_{10}S$计算值:m/z=810.46实测值:$[M+H]^+$811.84。

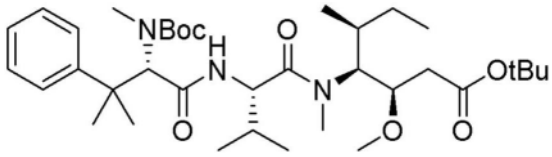
[1080] 实施例1.49:(S)-2-(2-氨基-2-甲基丙酰胺基)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-氨基苯基)磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-N,3-二甲基丁酰胺(化合物17)。

[1081] 

[1082] 根据一般方法9,由实施例1.48的产物制备标题化合物。$C_{34}H_{58}N_6O_8S$计算值:m/z=710.40实测值:$[M+H]^+$711.77。

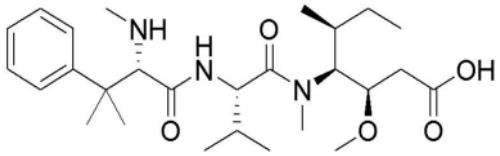
[1083] 实施例1.50(6S,9S,12S,13R)-12-((S)-仲丁基)-9-异丙基-13-甲氧基-2,2,5,

11-四甲基-4,7,10-三氧代-6-(2-苯基丙-2-基)-3-氧杂-5,8,11-三氮杂十五烷-15-酸叔丁酯。

[1084] 

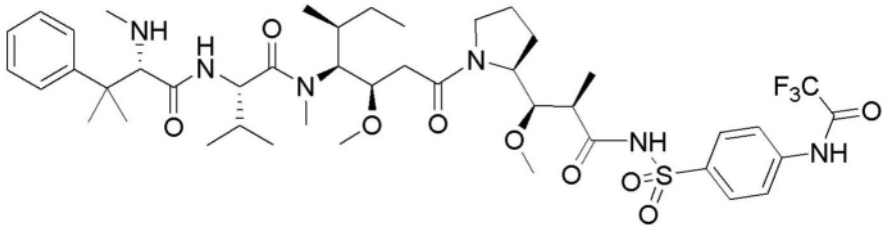
[1085] 使用一般方法6,由(S)-2-((叔丁氧羰基)(甲基)氨基)-3-甲基-3-苯基丁酸(根据WO 2015095953 A1制备)及H-Val-Dil-OtBu制备标题化合物。$C_{36}H_{61}N_3O_7$计算值:m/z=647.45实测值:$[M+H]^+$649.12。

[1086] 实施例1.51:(3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酸。

[1087] 

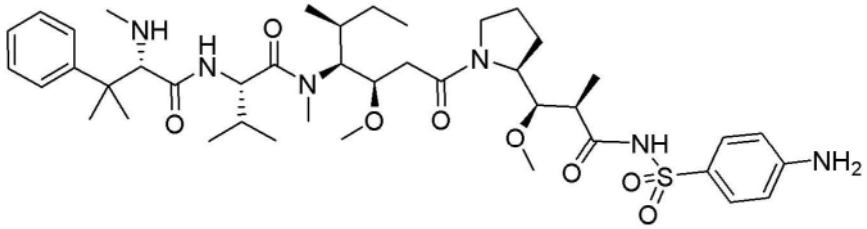
[1088] 根据一般方法9,由实施例1.50的产物制备标题化合物。$C_{27}H4_5N_3O_5$计算值:m/z=491.34实测值:$[M+H]^+$492.73。

[1089] 实施例1.52:(1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基)磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-2-甲基-1-氧代丙-2-基)氨基甲酸叔丁酯(化合物18)。

[1090] 

[1091] 根据一般方法6,由实施例1.51的产物及实施例1.42的产物制备标题化合物。$C_{44}H_{65}F_3N_6O_9S$计算值:m/z=910.45实测值:$[M+H]^+$911.91。

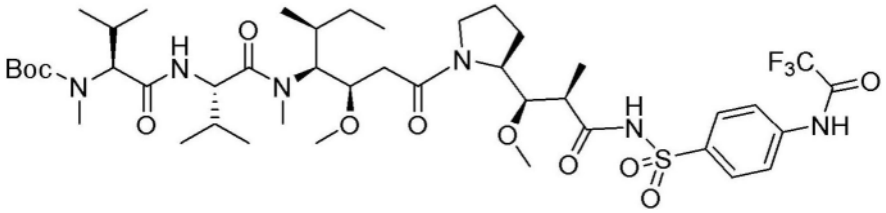
[1092] 实施例1.53(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-(((1R,2R)-3-((4-氨基苯基)磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺(化合物19)。

[1093] 

[1094] 使用一般方法4,由实施例1.52的产物制备标题化合物。$C_{42}H_{66}N_6O_8S$计算值:m/z=814.47实测值:$[M+H]^+$816.08。

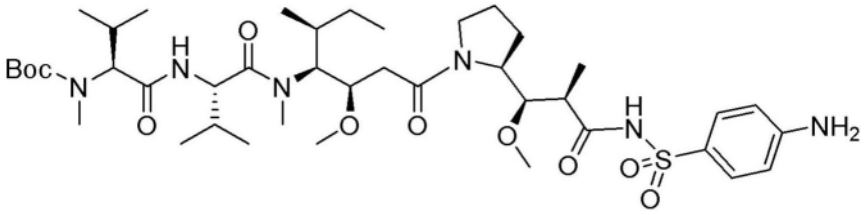
[1095] 实施例1.54:((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基)磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-

基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)(甲基)氨基甲酸叔丁酯。

[1096] 

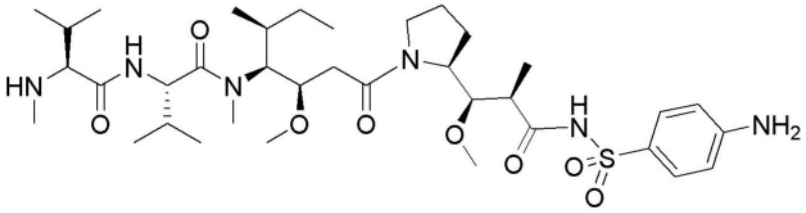
[1097] 使用一般方法6,由实施例1.42的产物及商业上购得的Boc-(Me)-(L)-缬氨酸-OH制备标题化合物。$C_{43}H_{69}F_3N_6O_{11}S$计算值:m/z=934.47实测值:$[M+H]^+$935.87。

[1098] 实施例1.55:((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-氨基苯基)磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)(甲基)氨基甲酸叔丁酯。

[1099] 

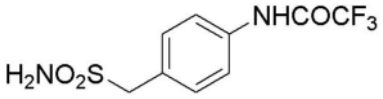
[1100] 使用一般方法4,由实施例1.54的产物制备标题化合物。$C_{41}H_{70}N_6O_{10}S$计算值:m/z=838.49实测值:$[M+H]^+$839.85。

[1101] 实施例1.56:(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-氨基苯基)磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)丁酰胺(化合物20)。

[1102] 

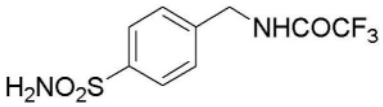
[1103] 使用一般方法9,由实施例1.54的产物制备标题化合物。$C_{36}H_{62}N_6O_8S$计算值:m/z=738.43实测值:$[M+H]^+$739.84。

[1104] 实施例1.57:2,2,2-三氟代-N-(4-(氨磺酰基甲基)苯基)乙酰胺。

[1105] 

[1106] 根据WO 2015095953 A1制备标题化合物。

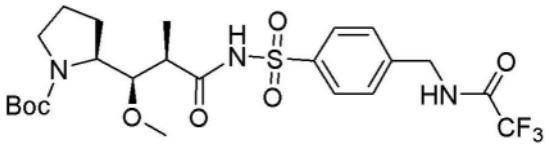
[1107] 实施例1.58:2,2,2-三氟代-N-(4-氨磺酰基苄基)乙酰胺。

[1108] 

[1109] 根据WO 2015095953 A1制备标题化合物。

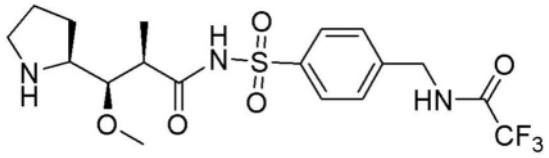
[1110] 实施例1.59:(S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((4-((2,2,2-三氟

乙酰胺基)甲基)苯基)磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-羧酸叔丁酯。

[1111] 

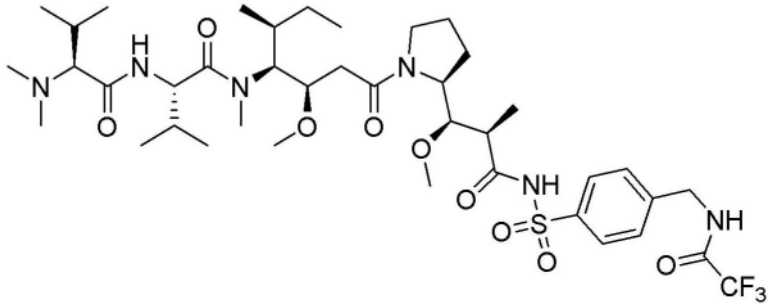
[1112] 使用一般方法2,由商业上购得的Boc-dolaproline-OH及2,2,2-三氟代-N-(4-氨磺酰基苄基)乙酰胺制备标题化合物。$C_{23}H_{32}F_3N_3O_7S$计算值:m/z=551.19实测值:$[M+Na]^+$ 574.92。

[1113] 实施例1.60:(2R,3R)-3-甲氧基-2-甲基-3-((S)-吡咯烷-2-基)-N-((4-((2,2,2-三氟乙酰胺基)甲基)苯基)磺酰基)丙酰胺。

[1114] 

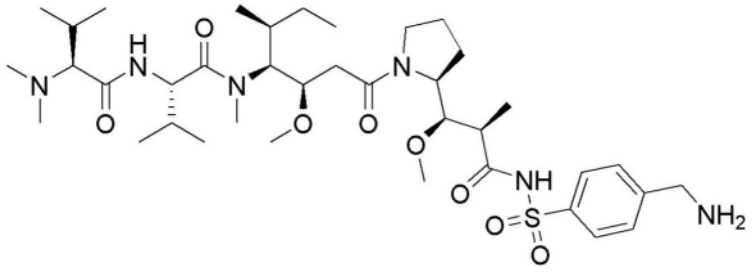
[1115] 使用一般方法9,由实施例1.59的产物制备标题化合物。$C_{18}H_{24}F_3N_3O_5S$计算值:m/z=451.14实测值:$[M+H]^+$452.71。

[1116] 实施例1.61:(S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N-((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((4-((2,2,2-三氟乙酰胺基)甲基)苯基)磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-N,3-二甲基丁酰胺(化合物21)。

[1117] 

[1118] 使用一般方法6,由Dov-Val-Dil-OH(实施例1.36)及实施例1.60的产物制备标题化合物。$C_{40}H_{65}F_3N_6O_9S$计算值:m/z=862.45实测值:$[M+H]^+$863.80。

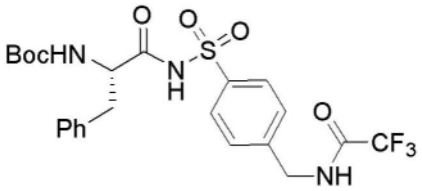
[1119] 实施例1.62:(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-(氨基甲基)苯基)磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺(化合物22)。

[1120] 

[1121] 根据一般方法4,由化合物51制备标题化合物。$C_{38}H_{66}N_6O_8S$计算值:m/z=766.47实测值:$[M+H]^+$767.85。

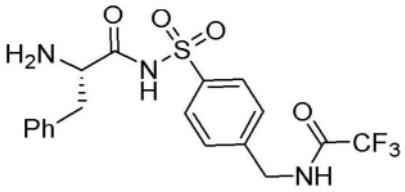
[1122] 实施例1.63:(S)-(1-氧代基-3-苯基-1-((4-((2,2,2-三氟乙酰胺基)甲基)苯基)

磺酰胺基)丙-2-基)氨基甲酸叔丁酯(化合物63)

[1123] 

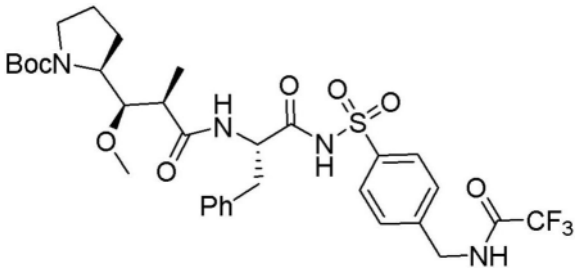
[1124] 使用一般方法2,由Boc-(L)-Phe-OH及2,2,2-三氟代-N-(4-氨磺酰基苄基)乙酰胺(实施例1.58)制备标题化合物。$C_{23}H_{26}F_3N_3O_6S$计算值:m/z=529.15实测值:$[M+Na]^+$552.52。

[1125] 实施例1.64:(S)-2-氨基-3-苯基-N-((4-((2,2,2-三氟乙酰胺基)甲基)苯基)磺酰基)丙酰胺。

[1126] 

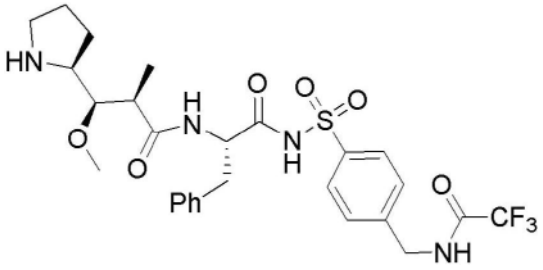
[1127] 使用一般方法9,由实施例1.63的产物制备标题化合物。$C_{18}H_{18}F_3N_3O_4S$计算值:m/z=429.10实测值:$[M+H]^+$430.51。^1H NMR(400MHz,甲醇-d_4)δ8.05-7.98(m,2H),7.56(d,J=8.2Hz,2H),7.33-7.22(m,3H),7.09(d,J=6.7Hz,2H),4.59(d,J=4.4Hz,2H),4.06(t,J=6.8Hz,1H),3.15(dd,J=14.1,6.3Hz,1H),3.03(dd,J=14.2,7.4Hz,1H)。

[1128] 实施例1.65:(S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-(((S)-1-氧代基-3-苯基-1-((4-((2,2,2-三氟乙酰胺基)甲基)苯基)磺酰胺基)丙-2-基)氨基)丙基)吡咯烷-1-羧酸叔丁酯。

[1129] 

[1130] 根据一般方法6,由可商购获得的Boc-dolaproline-OH及实施例1.64的产物制备标题化合物。$C_{32}H_{41}F_3N_4O_8S$计算值:m/z=698.26实测值:$[M+Na]^+$721.62。

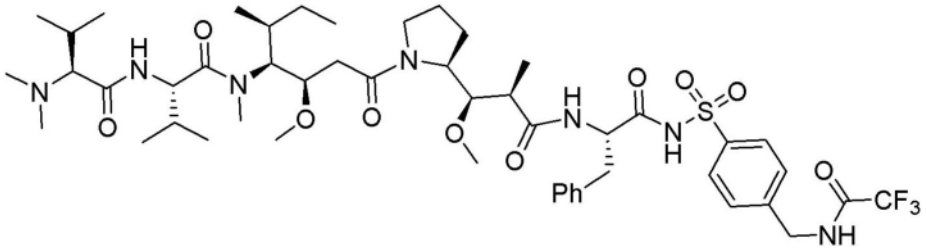
[1131] 实施例1.66:(2R,3R)-3-甲氧基-2-甲基-N-((S)-1-氧代基-3-苯基-1-((4-((2,2,2-三氟乙酰胺基)甲基)苯基)磺酰胺基)丙-2-基)-3-((S)-吡咯烷-2-基)丙酰胺。

[1132] 

[1133] 使用一般方法9,由实施例1.65的产物制备标题化合物。$C_{27}H_{33}F_3N_4O_6S$计算值:m/z=598.21实测值:$[M+H]^+$599.62。

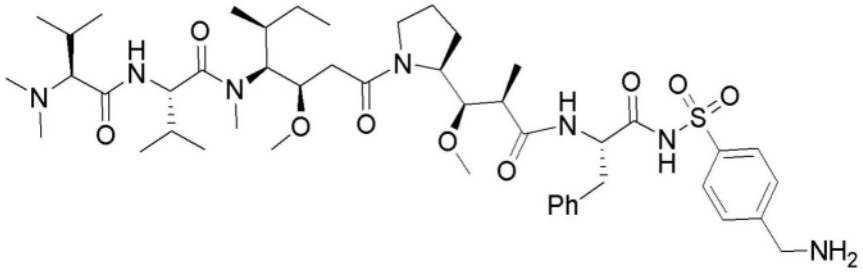
[1134] 实施例1.67:(S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N-((3R,4S,5S)-3-

甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-(((S)-1-氧代基-3-苯基-1-((4-((2,2,2-三氟乙酰胺基)甲基)苯基)磺酰胺基)丙-2-基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-N,3-二甲基丁酰胺(化合物23)。

[1135] 

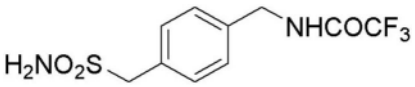
[1136] 根据一般方法6,由Dov-Val-Dil-OH(实施例1.36)及实施例1.66的产物制备标题化合物。$C_{49}H_{74}F_3N_7O_{10}S$计算值:m/z=1009.52实测值:$[M+H]^+$1011.04。

[1137] 实施例1.68:(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-1-((4-(氨基甲基)苯基)磺酰胺基)-1-氧代基-3-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺(化合物24)。

[1138] 

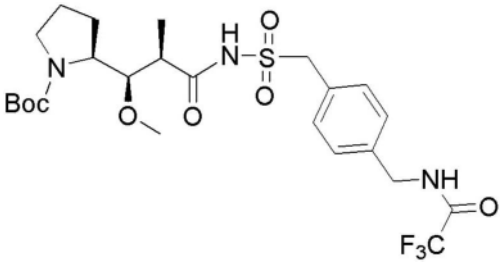
[1139] 根据一般方法4,由实施例1.67的产物制备标题化合物。$C_{47}H_{75}N_7O_9S$计算值:m/z=913.53实测值:$[M+H]^+$915.09。

[1140] 实施例1.69:2,2,2-三氟代-N-(4-(氨磺酰基甲基)苄基)乙酰胺。

[1141] 

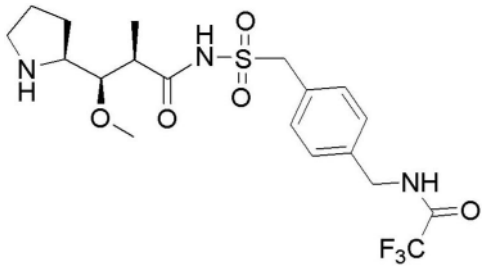
[1142] 根据WO 2015095953 A1制备标题化合物。

[1143] 实施例1.70:(S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-(((4-((2,2,2-三氟乙酰胺基)甲基)苯基)甲基)磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-羧酸叔丁酯。

[1144] 

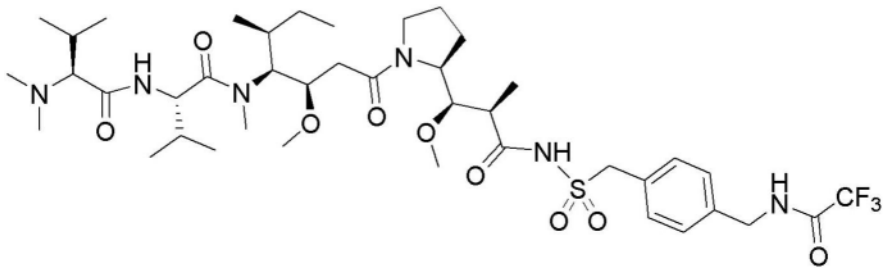
[1145] 使用一般方法2,由商业上购得的Boc-dolaproline-OH及2,2,2-三氟代-N-(4-(氨磺酰基甲基)苄基)乙酰胺(实施例1.69)制备标题化合物。$C_{24}H_{34}F_3N_3O_7S$计算值:m/z=565.21实测值:$[M+Na]^+$588.75。

[1146] 实施例1.71:(2R,3R)-3-甲氧基-2-甲基-3-((S)-吡咯烷-2-基)-N-((4-((2,2,2-三氟乙酰胺基)甲基)苄基)磺酰基)丙酰胺。

[1147] 

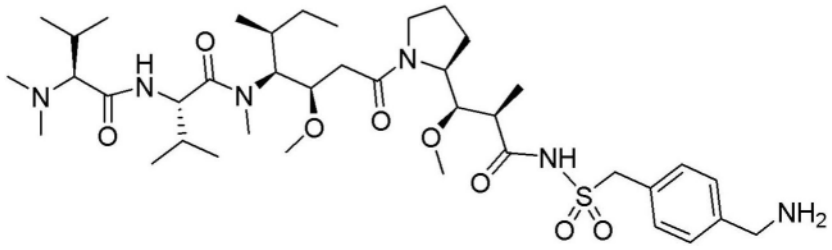
[1148] 根据一般方法9,由实施例1.69的产物制备标题化合物。$C_{19}H_{26}F_3N_3O_5S$计算值:m/z=465.15实测值:$[M+H]^+$466.77。

[1149] 实施例1.72:(S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N-((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-(((4-((2,2,2-三氟乙酰胺基)甲基)苯基)甲基)磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-N,3-二甲基丁酰胺(化合物25)。

[1150] 

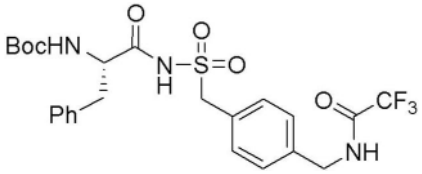
[1151] 根据一般方法6,由实施例1.36的产物及实施例1.71的产物制备标题化合物。$C_{41}H_{67}F_3N_6O_9S$计算值:m/z=876.46实测值:$[M+H]^+$878.22。

[1152] 实施例1.73:(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((4-(氨基甲基)苯基)甲基)磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺(化合物26)。

[1153] 

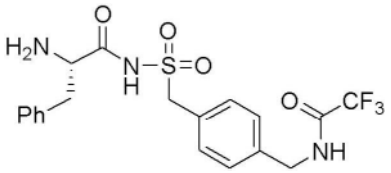
[1154] 根据一般方法4,由实施例1.72的产物制备标题化合物。$C_{39}H_{68}N_6O_8S$计算值:m/z=780.48实测值:$[M+H]^+$782.20。

[1155] 实施例1.74:(S)-(1-氧代基-3-苯基-1-(((4-((2,2,2-三氟乙酰胺基)甲基)苯基)甲基)磺酰胺基)丙-2-基)氨基甲酸叔丁酯。

[1156] 

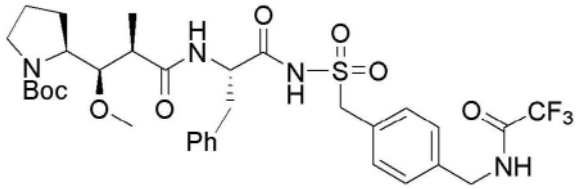
[1157] 根据一般方法2,由Boc-(L)-Phe-OH及2,2,2-三氟代-N-(4-(氨磺酰基甲基)苄基)乙酰胺(实施例1.69)制备标题化合物。$C_{24}H_{28}F_3N_3O_6S$计算值:m/z=543.17实测值:$[M+Na]^+$566.78。

[1158] 实施例1.75:(S)-2-氨基-3-苯基-N-((4-((2,2,2三氟乙酰胺基)甲基)苄基)磺酰基)丙酰胺。

[1159] 

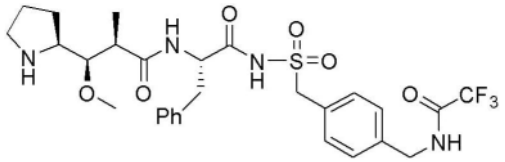
[1160] 使用一般方法9,由实施例1.74的产物制备标题化合物。$C_{19}H_{20}F_3N_3O_4S$计算值:m/z=443.11实测值:$[M+H]^+$444.55。^1H NMR(400MHz,甲醇-d_4)δ7.46-7.27(m,9H),4.51(s,2H),4.46(s,2H),3.84(dd,J=9.3,4.3Hz,1H),3.29(dd,1H),2.95(dd,J=14.5,9.4Hz,1H)。

[1161] 实施例1.76:(S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-(((S)-1-氧代基-3-苯基-1-(((4-((2,2,2-三氟乙酰胺基)甲基)苯基)甲基)磺酰胺基)丙-2-基)氨基)丙基)吡咯烷-1-羧酸酯。

[1162] 

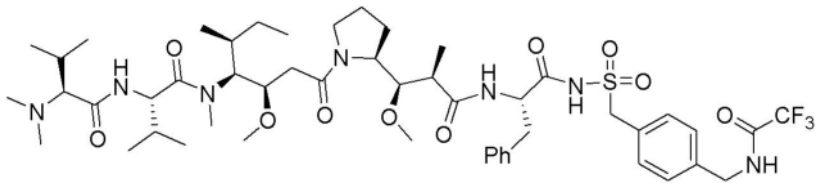
[1163] 根据一般方法6,由可商购获得的Boc-dolaproline-OH及实施例1.75的产物制备标题化合物。$C_{33}H_{43}F_3N_4O_8S$计算值:m/z=712.28实测值:$[M+Na]^+$735.65。

[1164] 实施例1.77:(2R,3R)-3-甲氧基-2-甲基-N-((S)-1-氧代基-3-苯基-1-(((4-((2,2,2-三氟乙酰胺基)甲基)苯基)甲基)磺酰胺基)丙-2-基)-3-((S)-吡咯烷-2-基)丙酰胺。

[1165] 

[1166] 使用一般方法9,由实施例1.76的产物制备标题化合物。$C_{28}H_{35}F_3N_4O_6S$计算值:m/z=612.22实测值:$[M+H]^+$613.58。

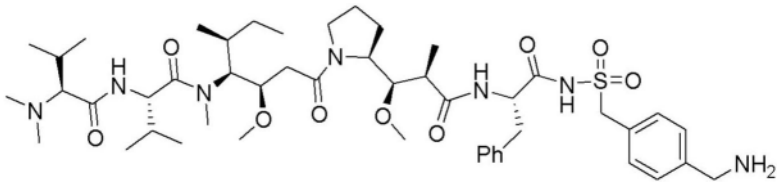
[1167] 实施例1.78:(S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N-((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-(((S)-1-氧代基-3-苯基-1-(((4-((2,2,2-三氟乙酰胺基)甲基)苯基)甲基)磺酰胺基)丙-2-基)氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-N,3-二甲基丁酰胺(化合物27)。

[1168] 

[1169] 使用一般方法9和6,由Dov-Val-Dil-OH(实施例1.36)及实施例1.77的产物制备标题化合物。$C_{50}H_{76}F_3N_7O_{10}S$计算值:m/z=1023.53实测值:$[M+H]^+$1024.94。

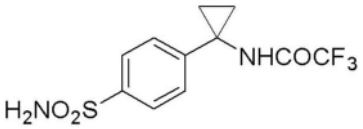
[1170] 实施例1.79:(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-1-(((4-(氨基甲基)苯基)甲基)磺酰胺基)-1-氧代基-3-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基

丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺(化合物28)

[1171] 

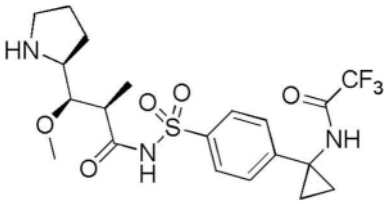
[1172] 使用一般方法4,由实施例1.78的产物制备标题化合物。$C_{48}H_{77}N_7O_9S$计算值:m/z=927.55实测值:$[M+H]^+$928.92。

[1173] 实施例1.80:2,2,2-三氟代-N-(1-(4-氨磺酰基苯基)环丙基)乙酰胺。

[1174] 

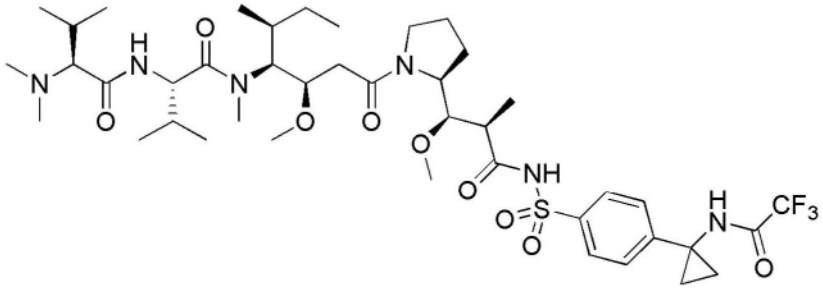
[1175] 根据WO 2015095953 A1制备标题化合物。

[1176] 实施例1.81:(2R,3R)-3-甲氧基-2-甲基-3-((S)-吡咯烷-2-基)-N-(4-(1-(2,2,2-三氟乙酰胺基)环丙基)苯基磺酰基)丙酰胺。

[1177] 

[1178] 遵循一般方法2和9,由商业上购得的Boc-Dap-OH及2,2,2-三氟代-N-(1-(4-氨磺酰基苯基)环丙基)乙酰胺(实施例1.80)制备标题化合物。^1H NMR(400MHz,DMSO-d^6)δ12.19(s,1H),10.32(s,1H),7.86(d,J=8.6Hz,2H),7.35(d,J=8.6Hz,2H),7.31(s,1H),3.58(dd,J=5.7,3.7Hz,1H),3.28(s,3H),3.11(t,J=6.8Hz,2H),2.59(dq,J=13.0,6.5Hz,1H),1.90-1.68(m,3H),1.63-1.56(m,1H),1.44-1.35(m,4H),1.04(d,J=7.0Hz,3H)。$C_{20}H_{26}F_3N_3O_5S$计算值:m/z=477.15实测值:$[M+H]^+$=478.6。

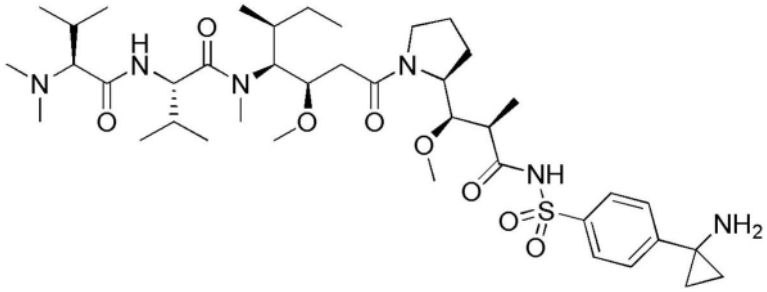
[1179] 实施例1.82:(S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N-((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-(4-(1-(2,2,2-三氟乙酰胺基)环丙基)苯基磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-N,3-二甲基丁酰胺(化合物29)。

[1180] 

[1181] 根据一般方法6,由Dov-Val-Dil-OH(实施例1.36)及实施例1.81的产物制备标题化合物。$C_{42}H_{67}F_3N_6O_9S$计算值:m/z=888.46实测值:$[M+H]^+$=889.3。

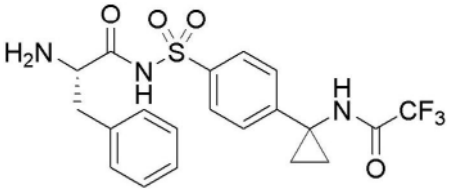
[1182] 实施例1.83:(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(4-(1-氨基环丙基)苯基磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚

烷-4-基)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺(化合物30)。

[1183] 

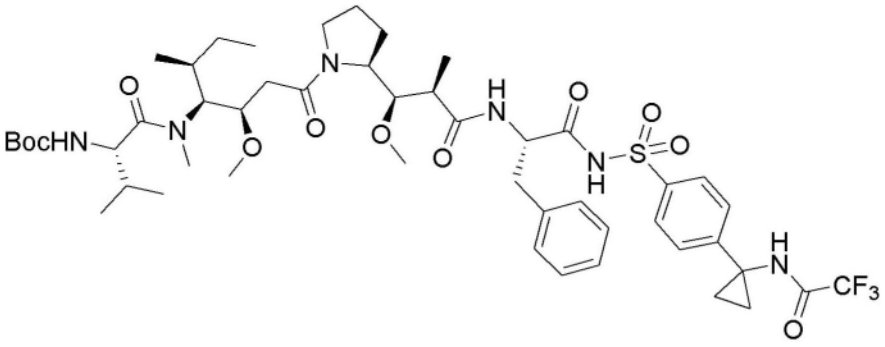
[1184] 根据一般方法4,由实施例1.82的产物制备标题化合物。$C_{40}H_{68}N_6O_8S$计算值:m/z=792.48实测值:$[M+Na]^+$=815.9。

[1185] 实施例1.84:(S)-2-氨基-3-苯基-N-(4-(1-(2,2,2-三氟乙酰胺基)环丙基)苯基磺酰基)丙酰胺。

[1186] 

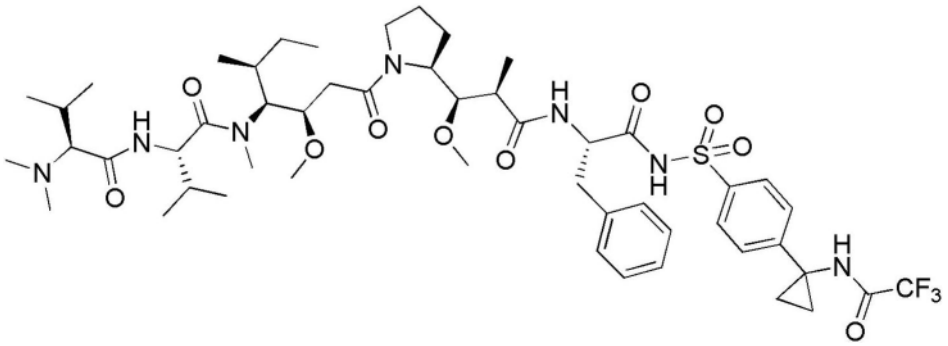
[1187] 遵循一般方法2和9,由Boc-Phe-OH及2,2,2-三氟代-N-(1-(4-氨磺酰基苯基)环丙基)乙酰胺(实施例1.80)制备标题化合物。^1H NMR(400MHz,DMSO-d^6)δ10.30(s,1H),7.87(b,3H),7.79(d,J=8.3Hz,2H),7.25(d,J=8.2Hz,2H),7.23-7.16(m,3H),7.08(dd,J=6.6,2.9Hz,2H),3.78(s,1H),3.06(dd,J=14.2,5.3Hz,1H),2.93(dd,J=14.1,7.2Hz,1H),1.36(dd,J=6.6,3.0Hz,4H)。$C_{20}H_{20}F_3N_3O_4S$计算值:m/z=455.11实测值:$[M+H]^+$=456.6。

[1188] 实施例1.85:(S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((S)-1-氧代基-3-苯基-1-(4-(1-(2,2,2-三氟乙酰胺基)环丙基)苯基磺酰胺基)丙-2-基氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基氨基甲酸叔丁酯。

[1189] 

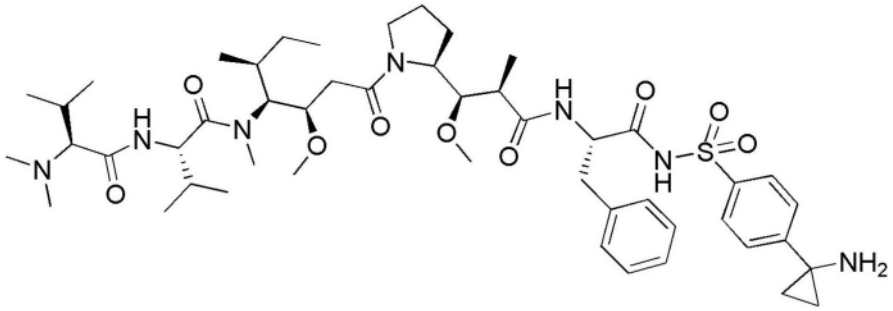
[1190] 根据一般方法2,由商业上获得的Boc-Val-Dil-Dap-OH及实施例1.84的产物制备标题化合物。$C_{49}H_{71}F_3N_6O_{11}S$计算值:m/z=1008.49实测值:$[M+Na]^+$=1031.9。

[1191] 实施例1.86:(S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N-((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((S)-1-氧代基-3-苯基-1-(4-(1-(2,2,2-三氟乙酰胺基)环丙基)苯基磺酰胺基)丙-2-基氨基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-N,3-二甲基丁酰胺(化合物31)。

[1192] 

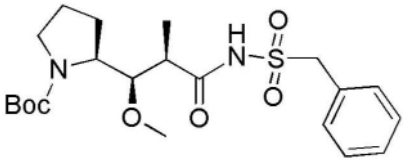
[1193] 遵循一般方法9和6,由实施例1.85的产物及N,N-二甲基缬氨酸制备标题化合物。$C_{51}H_{76}F_3N_7O_{10}S$计算值:m/z=1035.53实测值:$[M+H]^+$=1036.5。

[1194] 实施例1.87:(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((S)-1-(4-(1-氨基环丙基)苯基磺酰胺基)-1-氧代基-3-苯基丙-2-基氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺(化合物32)。

[1195] 

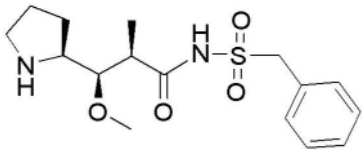
[1196] 根据一般方法4,由实施例1.86的产物制备标题化合物。$C_{49}H_{77}N_7O_9S$计算值:m/z=939.55实测值:$[M+H]^+$=940.5。

[1197] 实施例1.88:(S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((苯基甲基)磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-羧酸叔丁酯。

[1198] 

[1199] 使用一般方法2,由商业上获得的Boc-dolaproline-OH及苄基磺酰胺制备标题化合物。$C_{21}H_{32}N_2O_6S$计算值:m/z=440.20实测值:$[M+H]^+$463.71。

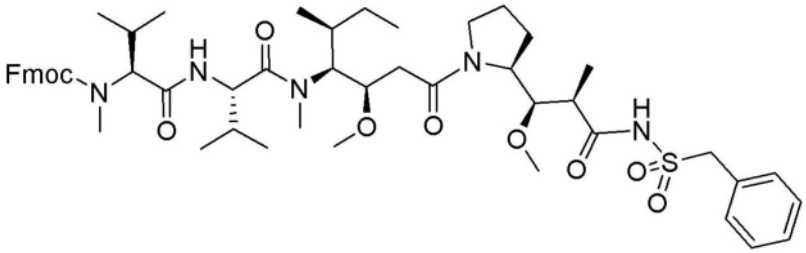
[1200] 实施例1.89:(2R,3R)-N-(苄基磺酰基)-3-甲氧基-2-甲基-3-((S)-吡咯烷-2-基)丙酰胺。

[1201] 

[1202] 使用一般方法9,由实施例1.88的产物制备标题化合物。$C_{16}H_{24}N_2O_4S$计算值:m/z=340.15实测值:$[M+H]^+$341.75。

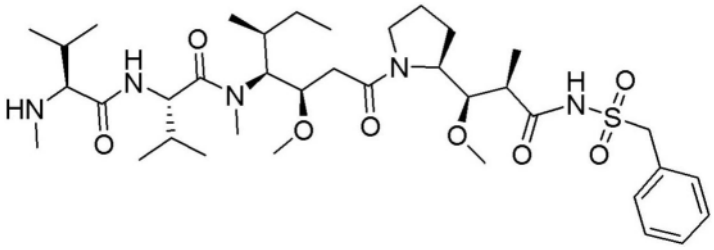
[1203] 实施例1.90:((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((苯基甲基)磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代

庚烷-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)(甲基)氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯。

[1204] 

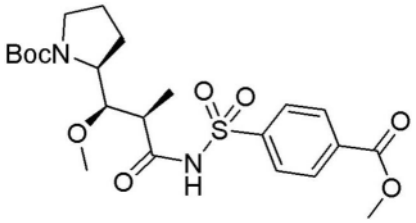
[1205] 根据一般方法6,由实施例1.89的产物及实施例1.38的产物制备标题化合物。$C_{52}H_{73}N_5O_{10}S$计算值:m/z=959.51实测值:$[M+H]^+$961.15。

[1206] 实施例1.91:(S)-N-((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((苯基甲基)磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)丁酰胺(化合物33)。

[1207] 

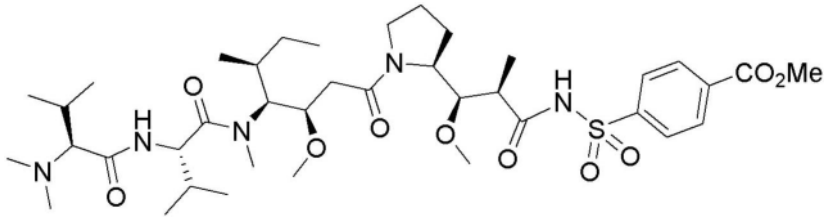
[1208] 根据一般方法7,由实施例1.90的产物制备标题化合物。$C_{37}H_{63}N_5O_8S$计算值:m/z=737.44实测值:$[M+H]^+$739.07。

[1209] 实施例1.92:(S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-3-((4-(甲氧羰基)苯基)磺酰胺基)-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-羧酸叔丁酯。

[1210] 

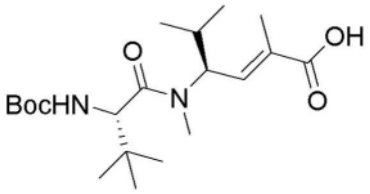
[1211] 根据一般方法2,由4-氨磺酰基苯甲酸甲酯及Boc-Dap-OH制备标题化合物。$C_{22}H_{32}N_2O_8S$计算值:m/z=484.19.实测值:$[M+Na]^+$=507.6。

[1212] 实施例1.93:4-(N-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)氨磺酰基)苯甲酸甲酯(化合物34)。

[1213] 

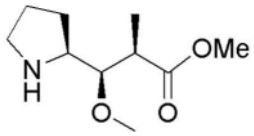
[1214] 根据一般方法9和6,由实施例1.92的产物及Dov-Val-Dil-OH(实施例1.36)制备标题化合物。$C_{22}H_{32}N_2O_8S$计算值:m/z=795.45.实测值:$[M+Na]^+$=818.8。

[1215] 实施例1.94:(S,E)-4-((S)-2-((叔丁氧羰基)氨基)-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-2,5-二甲基己-2-烷酸(化合物83)

[1216] 

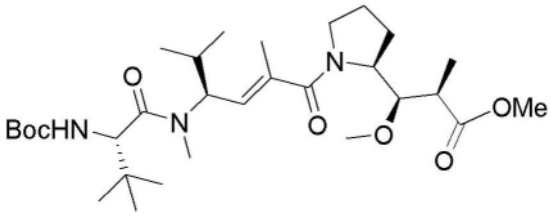
[1217] 根据一般方法4,由(S,E)-4-((S)-2-((叔丁氧羰基)氨基)-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-2,5-二甲基己-2烷酸乙酯制备标题化合物。$C_{20}H_{36}N_2O_5$计算值:m/z=384.26实测值:$[M+H]^+$=407.71。^1H NMR(400MHz,氯仿-d)δ6.80(dd,J=9.6,1.8Hz,1H),5.29(d,J=10.1Hz,1H),5.16(t,J=10.0Hz,1H),4.46(d,J=10.1Hz,1H),3.03(s,3H),1.95(d,J=1.5Hz,3H),1.44(s,9H),0.99(s,9H),0.92(d,J=6.5Hz,3H),0.88(d,J=6.5Hz,3H)。

[1218] 实施例1.95:(2R,3R)-3-甲氧基-2-甲基-3-((S)-吡咯烷-2-基)丙酸甲酯。

[1219] 

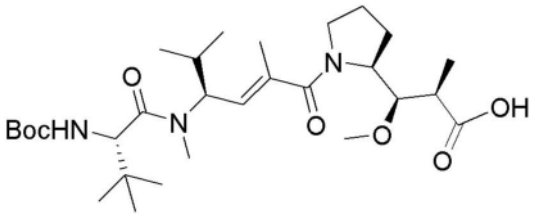
[1220] 向Boc-Dap-OH(0.635g,2.21mmol)在二氯甲烷/甲醇(95:5,v/v,10mL)中的搅拌溶液中添加TMS-重氮甲烷(2M在己烷中,1.35mL,1.2当量)。监测反应且当冒泡停止时,HPLC-MS分析显示完全转化为酯。通过添加乙酸淬灭剩余的TMS-重氮甲烷并且一旦所有黄色消失,便在减压下浓缩反应。将残余物溶于二氯甲烷中并且根据一般方法9.1除去Boc-保护基。该物质在未进一步纯化的情况下"按原样"使用。$C_{10}H_{19}NO_3$计算值:m/z=201.14实测值:$[M+H]^+$=202.56。^1H NMR(400MIHz,甲醇-d_4)δ3.88(dd,J=6.0,3.6Hz,1H),3.74(s,3H),3.73-3.62(m,1H),3.52(s,3H),3.32-3.26(m,2H),2.88-2.74(m,1H),2.15-1.87(m,4H),1.29(d,J=7.2Hz,3H)。

[1221] 实施例1.96:(2R,3R)-3-((S)-1-((S,E)-4-((S)-2-((叔丁氧羰基)氨基)-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-2,5-二甲基己-2-烯酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酸甲酯。

[1222] 

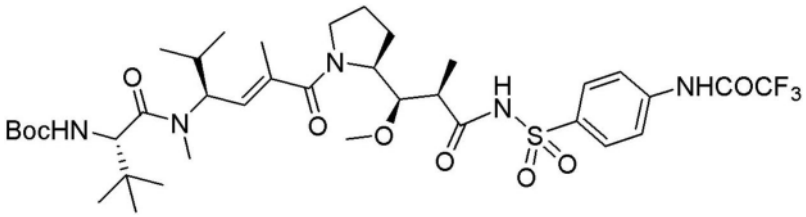
[1223] 根据一般方法6,由实施例1.94的产物及实施例1.95的产物制备标题化合物。$C_{30}H_{53}N_3O_7$计算值:m/z=567.39实测值:$[M+Na]^+$=590.85。^1H NMR(400MHz,氯仿-d)δ5.53(dd,J=9.0,1.8Hz,1H),5.18(d,J=10.1Hz,1H),5.02(dd,J=10.6,8.8Hz,1H),4.37(d,J=10.1Hz,1H),4.11-4.01(m,1H),3.92(dd,J=8.2,2.8Hz,1H),3.66(s,3H),3.51-3.42(m,1H),3.39(s,3H),3.34-3.23(m,1H),2.89(s,3H),2.54-2.43(m,1H),1.86(s,3H),1.95-1.77(m,3H),1.70-1.52(m,1H),1.36(s,9H),1.21(d,J=6.9Hz,3H),0.92(s,9H),0.88(d,J=6.6Hz,3H),0.78(d,J=6.6Hz,3H)。

[1224] 实施例1.97:(2R,3R)-3-((S)-1-((S,E)-4-((S)-2-((叔丁氧羰基)氨基)-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-2,5-二甲基己-2-烯酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酸。

[1225] 

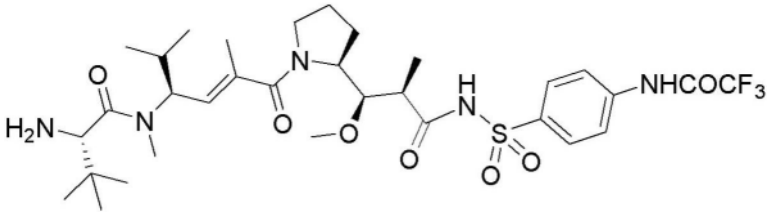
[1226] 根据一般方法4.1,由实施例1.96的产物制备标题化合物。$C_{29}H_{51}N_3O_7$计算值:m/z=553.37实测值:$[M+Na]^+$=576.81。^1H NMR(400MHz,氯仿-d)δ5.64(d,J=8.8Hz,1H),5.37(d,J=10.1Hz,1H),5.05(s,1H),4.42(d,J=10.1Hz,1H),4.23-4.17(m,1H),4.02(dd,J=8.8,2.5Hz,1H),3.53-3.46(m,1H),3.45(s,3H),3.39-3.27(m,1H),2.93(s,3H),2.51-2.36(m,1H),2.08-1.77(m,4H),1.90(s,3H),1.73-1.60(m,1H),1.40(s,9H),1.25(d,J=7.1Hz,3H),0.95(s,9H),0.91(d,J=6.5Hz,3H),0.82(d,J=6.5Hz,3H)。

[1227] 实施例1.98:((S)-1-(((S,E)-6-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基)磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-2,5-二甲基-6-氧代己-4-烯-3-基)(甲基)氨基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸叔丁酯。

[1228] 

[1229] 根据一般方法2,由实施例1.97的产物及实施例1.39的产物制备标题化合物。$C_{37}H_{56}F_3N_5O_9S$计算值:m/z=803.38实测值:$[M+Na]^+$=826.69。^1H NMR(400MHz,氯仿-d)δ9.66(s,1H),8.03(d,J=8.8Hz,2H),7.82(d,J=8.8Hz,2H),5.62(d,J=8.6Hz,1H),5.54(d,J=10.0Hz,1H),5.10-4.98(m,1H),4.45(d,J=10.1Hz,1H),4.01(dd,J=7.2,2.4Hz,1H),3.94-3.83(m,1H),3.48-3.43(m,1H),3.41(s,3H),3.35-3.22(m,1H),2.95(s,3H),2.66-2.55(m,1H),1.87(s,3H),1.91-1.75(m,2H),1.67-1.53(m,2H),1.41(s,9H),1.14(d,J=6.9Hz,3H),0.96(s,9H),0.89(d,J=6.4Hz,3H),0.82(d,J=6.5Hz,3H)。

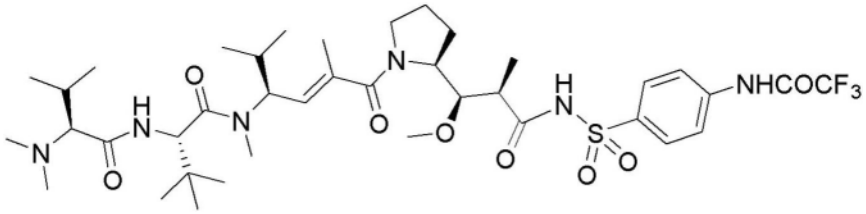
[1230] 实施例1.99:(S)-2-氨基-N-((S,E)-6-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基)磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-2,5-二甲基-6-氧代己-4-烯-3-基)-N,3,3-三甲基丁酰胺。

[1231] 

[1232] 根据一般方法9.1,由实施例1.98的产物制备标题化合物。$C_{32}H_{48}F_3N_5O_7S$计算值:m/z=703.32实测值:$[M+H]^+$=704.68。^1H NMR(400MHz,甲醇-d_4)δ8.06(d,J=8.5Hz,2H),7.90(d,J=8.5Hz,2H),5.71(dd,J=9.5,1.9Hz,1H),5.10-5.00(m,2H),4.30(s,1H),3.85(dd,J=8.1,2.7Hz,1H),3.79-3.71(m,1H),3.55-3.48(m,1H),3.36(s,3H),3.40-3.28(m,1H),3.00(s,3H),2.52-2.39(m,1H),2.09-1.96(m,1H),1.91(s,3H),1.95-1.83(m,1H),1.79-1.69(m,1H),1.69-1.51(m,1H),1.14(d,J=6.9Hz,3H),1.10(s,9H),0.97(d,J=6.5Hz,

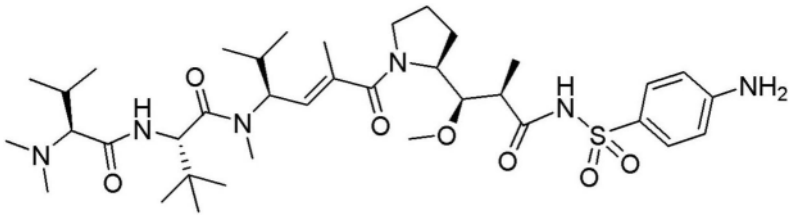
3H),0.93(d,J＝6.5Hz,3H)。

[1233] 实施例1.100:(S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N-((S,E)-6-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基)磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-2,5-二甲基-6-氧代己-4-烯-3-基)-N,3,3-三甲基丁酰胺(化合物35)。

[1234] 

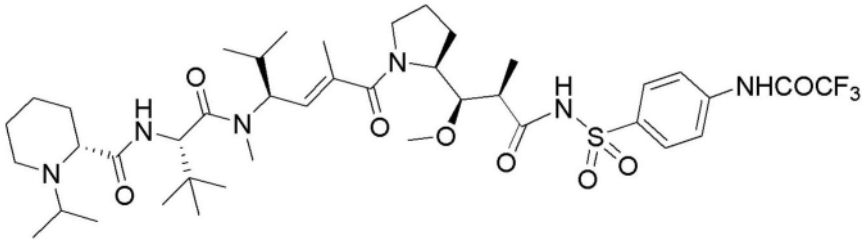
[1235] 根据一般方法6,由实施例1.99的产物及N,N-二甲基缬氨酸制备标题化合物。$C_{39}H_{61}F_3N_6O_8S$计算值:m/z＝830.42实测值:$[M+H]^+$＝831.75。

[1236] 实施例1.101:(S)-N-((S,E)-6-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-氨基苯基)磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-2,5-二甲基-6-氧代己-4-烯-3-基)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3,3-三甲基丁酰胺(化合物36)。

[1237] 

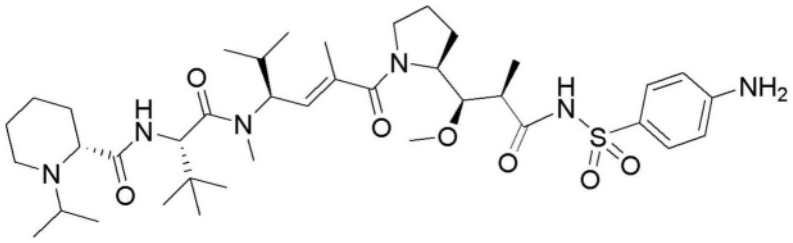
[1238] 根据一般方法4.1,由实施例1.100的产物制备标题化合物。$C_{37}H_{62}N_6O_7S$计算值:m/z＝734.44实测值:$[M+H]^+$＝735.72。

[1239] 实施例1.102:(S)-1-异丙基-N-((S)-1-(((S,E)-6-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基)磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-2,5-二甲基-6-氧代己-4-烯-3-基)(甲基)氨基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)哌啶-2-甲酰胺(化合物37)。

[1240] 

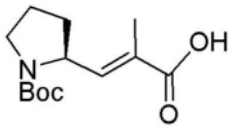
[1241] 根据一般方法6,由实施例1.99的产物及(R)-1-异丙基哌啶-2-羧酸制备标题化合物。$C_{41}H_{63}F_3N_6O_8S$计算值:m/z＝856.44实测值:$[M+H]^+$＝857.80。

[1242] 实施例1.103(S)-N-((S)-1-(((S,E)-6-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-氨基苯基)磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-2,5-二甲基-6-氧代己-4-烯-3-基)(甲基)氨基)-3,3-二甲基-1-氧代丁烷-2-基)-1-异丙基哌啶-2-甲酰胺(化合物38)。

[1243] 

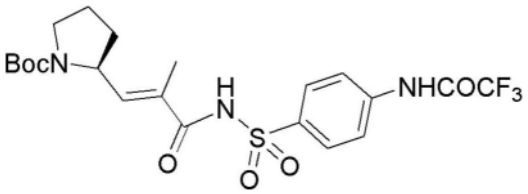
[1244] 根据一般方法4.1,由实施例1.102的产物制备标题化合物。$C_{39}H_{64}N_6O_7S$计算值:m/z=760.46实测值:$[M+H]^+$=761.77。

[1245] 实施例1.104:(S,E)-3-(1-(叔丁氧羰基)吡咯烷-2-基)-2-甲基丙烯酸。

[1246] 

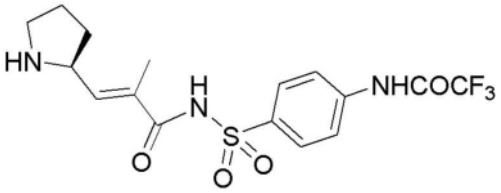
[1247] 根据一般方法4.1,由(S,E)-2-(3-乙氧基-2-甲基-3-氧代丙-1-烯-1-基)吡咯烷-1-羧酸叔丁酯(根据J.Org.Chem.,2003,68(16),第6459-6462页所制备)合成标题化合物。$C_{13}H_{21}NO_4$计算值:m/z=255.15实测值:$[M-Boc+H]^+$=156.5,$[M-Boc+MeCN]^+$=197.5。

[1248] 实施例1.105:(S,E)-2-(2-甲基-3-氧代基-3-((4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基)磺酰胺基)丙-1-烯-1-基)吡咯烷-1-羧酸叔丁酯。

[1249] 

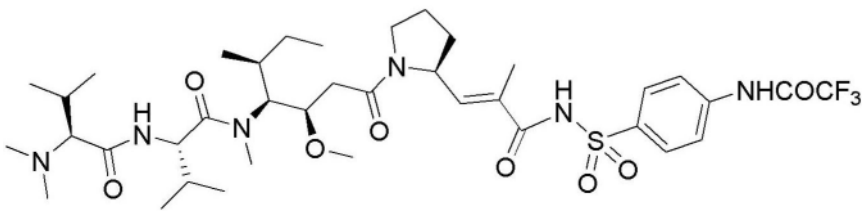
[1250] 根据一般方法2,由实施例1.104的产物及实施例1.39的产物制备标题化合物。$C_{21}H_{26}F_3N_3O_6S$计算值:m/z=505.15实测值:$[M-Boc+H]^+$=406.5,$[M+Na]^+$=528.5。

[1251] 实施例1.106:(S,E)-2-甲基-3-(吡咯烷-2-基)-N-((4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基)磺酰基)丙烯酰胺。

[1252] 

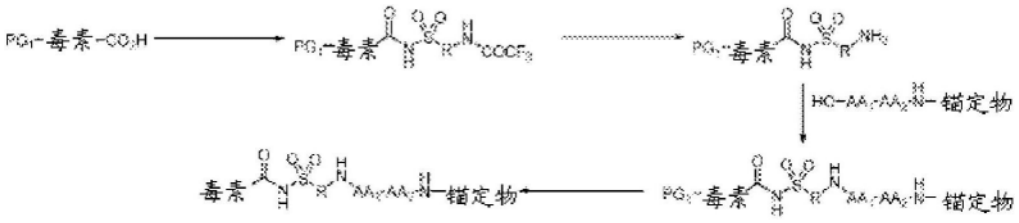
[1253] 根据一般方法9.1,由实施例1.105的产物制备标题化合物。$C_{16}H_{18}F_3N_3O_4S$计算值:m/z=405.10,实测值:$[M+H]^+$=406.5。

[1254] 实施例1.107:(S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N-((3R,4S,5S)-3-甲氧基-5-甲基-1-((S)-2-((E)-2-甲基-3-氧代基-3-((4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基)磺酰胺基)丙-1-烯-1-基)吡咯烷-1-基)-1-氧代庚烷-4-基)-N,3-二甲基丁酰胺(化合物39)。

[1255] 

[1256] 根据一般方法6,由实施例1.106的产物及实施例1.36的产物制备标题化合物。$C_{38}H_{59}F_3N_6O_8S$计算值:m/z=816.41,实测值:$[M+H]^+$=817.7。

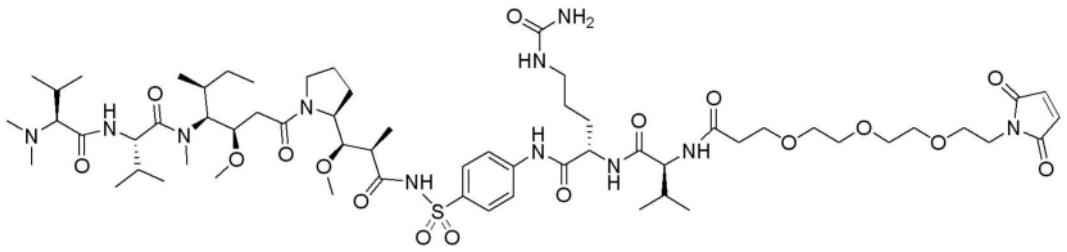
[1257] 实施例2:本发明的药物-接头缀合物的合成。

[1258] 

方案1

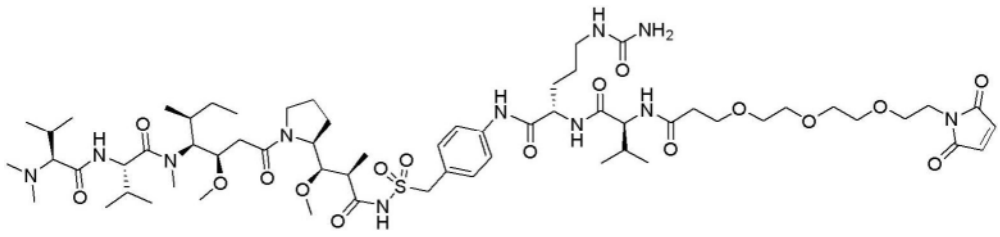
[1259] 方案1示出了合成D-L复合物的一般方案的具体实施方案。在本发明的其它实施方案中,在添加氨基酸(例如,AA_1-AA_2)之前将保护基(PG_1)从毒素(或药物)中除去。在本发明的某些实施方案中,锚定物包括可与靶标形成共价键的官能团。在本发明的其它实施方案中,锚定物包含延伸物(Stretcher)。

[1260] 实施例2.1:(S)-N-(4-(N-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)氨磺酰基)苯基)-2-((S)-1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-14-异丙基-12-氧代基-3,6,9-三氧杂-13-氮杂十五烷-15-酰胺基)-5-脲基戊酰胺。

[1261] 

[1262] 使用一般方法5,由MT-VC-OH及化合物5合成标题化合物并且通过制备型HPLC色谱法纯化。$C_{61}H_{101}N_{11}O_{17}S$计算值:m/z=1291.71实测值:$[M+H]^+$1292.89。

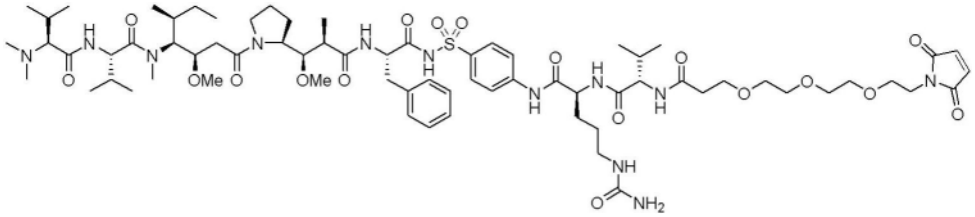
[1263] 实施例2.2:(S)-N-(4-((N-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)氨磺酰基)甲基)苯基)-2-((S)-1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-14-异丙基-12-氧代基-3,6,9-三氧杂-13-氮杂十五烷-15-酰胺基)-5-脲基戊酰胺。

[1264] 

[1265] 使用一般方法5,由MT-VC-OH及化合物8合成标题化合物并且通过制备型HPLC色谱法纯化。$C_{61}H_{101}N_{11}O_{17}S$计算值:m/z=1305.73实测值:$[M+H]^+$=1306.9。

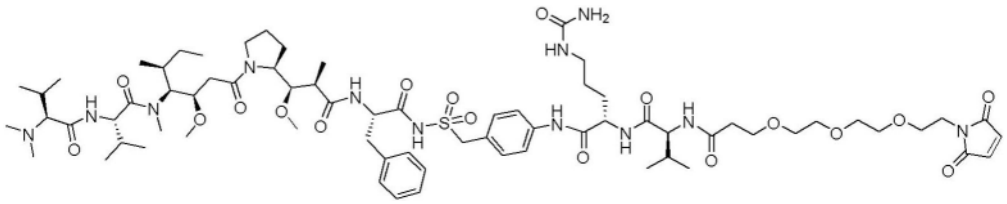
[1266] 实施例2.3:(S)-N-(4-(N-(((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-

(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯基丙酰胺基)氨磺酰基)苯基)-2-((S)-1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-14-异丙基-12-氧代基-3,6,9-三氧杂-13-氮杂十五烷-15-酰胺基)-5-脲基戊酰胺。

[1267] 

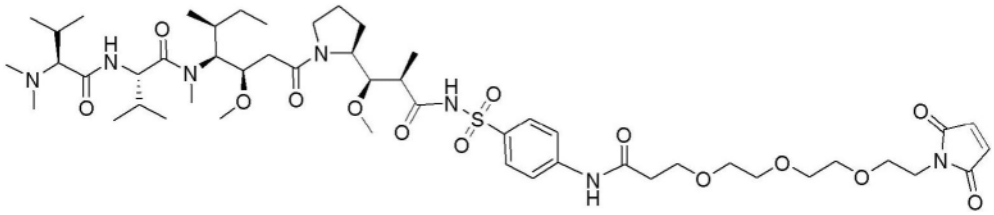
[1268] 根据一般方法5,由MT-VC-OH及化合物11制备标题化合物。$C_{70}H_{110}N_{12}O_{18}S$计算值:m/z=1438.8amu;实测值:$[M+H]^+$=1440.2,$[(M+2H)/2]^{2+}$=720.5。

[1269] 实施例2.4:(S)-N-(4-((N-(((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯基丙酰胺基)氨磺酰基)甲基)苯基)-2-((S)-1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-14-异丙基-12-氧代基-3,6,9-三氧杂-13-氮杂十五烷-15-酰胺基)-5-脲基戊酰胺。

[1270] 

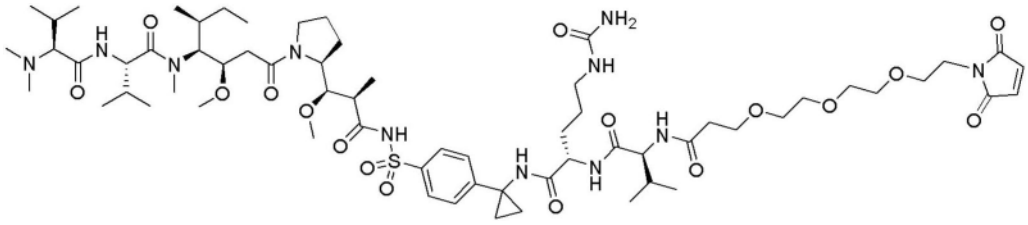
[1271] 根据一般方法5,由化合物14及MT-VC-OH制备并且通过制备型HPLC纯化。$C_{71}H_{112}N_{12}O_{18}S$计算值:m/z=1452.80amu;实测值:$[M+H]^+$=1453.7。

[1272] 实施例2.5:(S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-(3-(2-(2-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙烷酰胺基)苯基)磺酰胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-N,3-二甲基丁酰胺。

[1273] 

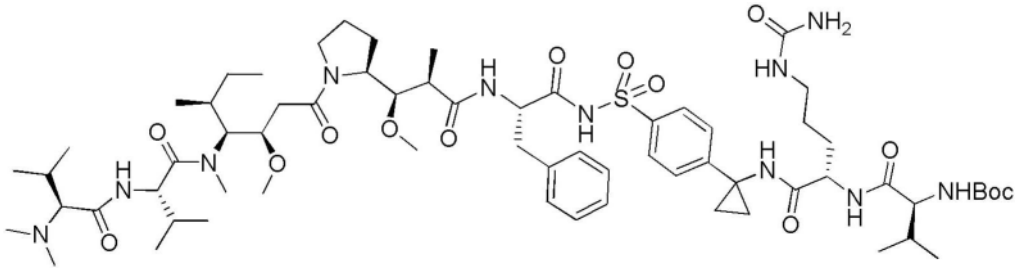
[1274] 使用一般方法6,由化合物5及MT-OH制备标题化合物。$C_{50}H_{81}N_7O_{14}S$计算值:m/z1035.56=实测值:$[M+H]^+$1037.97。

[1275] 实施例2.6:(S)-N-(1-(4-(N-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)氨磺酰基)苯基)环丙基)-2-((S)-1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-14-异丙基-12-氧代基-3,6,9-三氧杂-13-氮杂十五烷-15-酰胺基)-5-脲基戊酰胺。

[1276] 

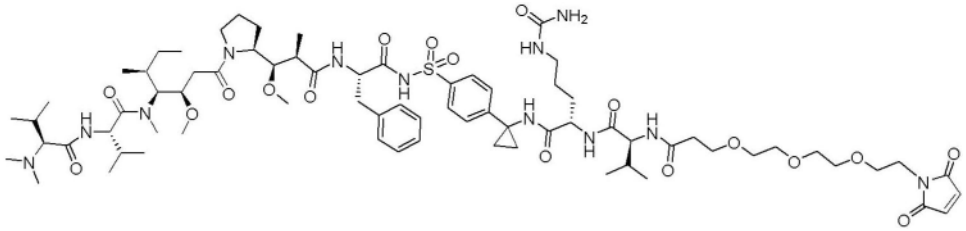
[1277] 遵循一般方法8,由化合物30、Boc-VC-OH及MT-NHS制备标题化合物。$C_{64}H_{105}N_{11}O_{17}S$计算值:m/z=1331.74实测值:$[M+H]^+$=1332.8。

[1278] 实施例2.7:((S)-1-(((S)-1-((1-(4-(N-(((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯基丙酰胺基)氨磺酰基)苯基)环丙基)氨基)-1-氧代基-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸叔丁酯。

[1279] 

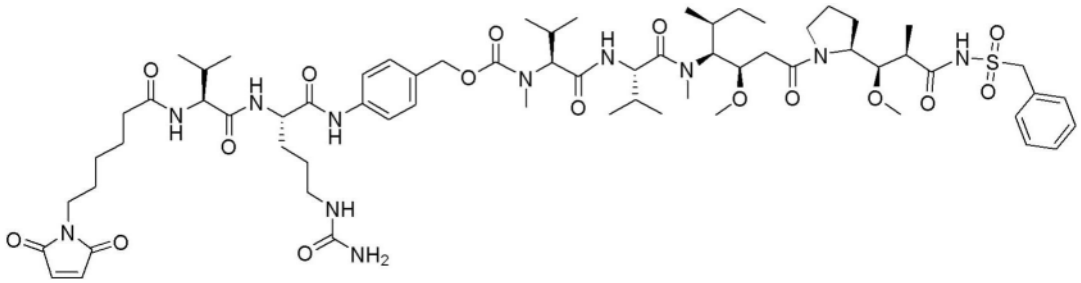
[1280] 遵循一般方法5,由化合物32及Boc-VC-OH制备标题化合物。$C_{65}H_{105}N_{11}O_{14}S$计算值:m/z=1295.76实测值:$[M+H]^+$=1297.2。

[1281] 实施例2.8:(S)-N-(1-(4-(N-(((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯基丙酰胺基)氨磺酰基)苯基)环丙基)-2-((S)-1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-14-异丙基-12-氧代基-3,6,9-三氧杂-13-氮杂十五烷-15-酰胺基)-5-脲基戊酰胺。

[1282] 

[1283] 遵循一般方法9和8,由实施例2.7的产物及MT-NHS制备标题化合物。$C_{73}H_{114}N_{12}O_{18}S$计算值:m/z=1478.81实测值:$[M+H]^+$=1479.7。

[1284] 实施例2.9:4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己烷酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊烷酰胺基)苄基((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5R)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代基-3-((苯基甲基)磺酰胺基)丙基)吡咯烷-1-基)-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)(甲基)氨基甲酸酯。

[1285] 

[1286] 由化合物33及商业上购得的MC-VC-PABC-OPnp制备标题化合物。$C_{66}H_{101}N_{11}O_{16}S$计算值:m/z＝1335.71实测值:$[M+H]^+$1337.28。

[1287] 本领域技术人员应理解,可能进行如以上方案中所示的化学转化,其中有一个或多个参数的修改。作为实例,替代的非亲核溶剂可适用于化学过程中,如THF、DMF、甲苯等。反应温度可变化。替代试剂可适于充当脱水剂或酸活化剂,其通常用于酰胺形成反应中,如五氟苯基酯、NHS酯、EDAC、HBTU、HOBT等。

[1288] 实施例3:式I化合物在Jurkat和HCC1954细胞系中的细胞毒性。

[1289] 针对Jurkat和HCC1954细胞系测试化合物以评价它们的细胞毒性。以各种浓度(30nM至1000nM)起始1:3滴定化合物。对照细胞毒素HTI-286(参见,例如U.S.7,579,323)也是从30nM浓度开始进行1:3滴定。将板孵育3天。使用30μL/孔的1×CellTiter-Glo试剂量化细胞活力。对照细胞毒素在预期浓度下成功地杀灭了Jurkat。

[1290] 每个细胞系在其相应的生长培养基中生长直到接种日。将细胞从它们的培养容器中移除并且使用ViCell计数所生成的细胞悬液。接着将细胞在其生长培养基中稀释至25000/mL,以使得100μL/孔＝2500个细胞/孔。将每个细胞系接种在96孔黑壁TC板的内部60个孔中,外部的孔用水填充。在测定建立之前一天接种HCC1954。如下所述稀释细胞毒素,在深孔96孔板中使用RPMI+10％FBS制备每种化合物的5×剂量-反应。此“主”稀释板用于每个细胞系。将25μL的5×剂量反应一式三份掺入每个细胞系中。使板回到培养箱中并且孵育3晚。3晚之后,使用30μL/孔的1×CellTiter-glo试剂量化细胞活力。孵育至少10分钟之后,使用SpectraMax(500ms积分)测量发光。结果示于表2以及图1和2中。

[1291] 表2

[1292]

细胞系	化合物	EC_{50} (nM)
Jurkat	4	18.1
	5	16.8
	7	29.9
	10	45.3
	11	52
	13	20.9
HCC1954	5	8.9

[1293] 实施例3.1:式I化合物在Jurkat、HCC1954、NCI-N87、BxPC-3、SK-OV-3和JIMT-1细胞系中的细胞细胞毒性的评价。

[1294] 针对一种或多种以下细胞系测试化合物:人T细胞白血病细胞系Jurkat(ATCC:TIB-152);人乳腺癌细胞系HCC1954(ATCC:CRL-2338)和JIMT-1(DSMZ:ACC 589);人胰腺细胞系BxPC-3(ATCC:CRL.1687)、人卵巢腺癌细胞系SK-OV-3(ATCC:HTB-77)及人胃癌细胞系NCI-N87(ATCC:CRL.5822);以便评价它们的细胞毒性。

[1295] 简单说来,细胞是获自商业来源并且如所提供的产品页中所述进行培养。将细胞从其培养容器中移除并且使用ViCell(Beckman Coulter)计数所生成的细胞悬液,然后以25,000个细胞/mL(2,500个细胞/孔)接种在Costar 3904黑壁平底的96孔板(细胞接种在96孔TC板的内部60个孔中,并且外缘孔用水填充)中。在37℃/5%CO_2气氛下孵育贴壁细胞系一夜以允许细胞附着在微量滴定板表面,而在使用之前即刻将细胞悬液(Jurkat)铺板。将细胞毒素溶解并且在二甲亚砜中连续稀释,然后将溶液以五倍所需最大最终浓度添加到完全生长培养基中。接着在生长培养基中,通常1:3,经八个步骤滴定细胞毒素。不存在测试品的对照(生长培养基单独)一式六份包括在每个微量滴定板上。将所制备的毒素滴定液(25μL/孔)一式三份添加到每个测定的细胞系。将细胞和滴定液在37℃/5%CO_2下孵育三晚(Jurkat)和五晚(所有其它细胞系)。孵育之后,使用CellTiter-Glo®,通过向每个测定孔中添加30μL所制备的CellTiter-Glo®试剂测量细胞活力。在黑暗中孵育混合物至少20分钟,之后使用微板光度计(500ms积分时间)测量所发出的发光。将所收集的相对发光单位(RLU)转化为使用以上提及的生长培养基单独对照的细胞毒性%(细胞毒性%=1-[孔RLU/平均培养基单独对照RLU]×100%)。绘制数据(细胞毒性%对比ADC的浓度(log10(nM))并且使用GraphPad Prism软件5.02版,使用非线性回归方法(四参数-可变斜率)将其拟合至曲线以便获得EC_{50}估算值。对照细胞毒素,通常是HTI-286(参见,例如U.S.7,579,323)以预期浓度成功地杀灭了所有细胞系。

[1296] 结果示于表2.1中。

[1297] 表2.1

[1298]

化合物	EC_{50} (nM)					
	NCI-N87	Jurkat	BxPC-3	HCC-1954	SKOV-3	JIMT-1
4		18.1				
5	12.0	13.6	18.2	8.9	23.7	9.3
10		45.3				
11		52				
15	11.7	10.1	14.5			
16	14.4	11.5	17.0			
17	>100	30.5	>100			
18	0.9	1.5	2.3			

[1299]

化合物	EC_{50} (nM)					
	NCI-N87	Jurkat	BxPC-3	HCC-1954	SKOV-3	JIMT-1
19	12.8	2.2	10.2			
20	*	>100	*			
7		29.9				
13		20.9				
21	*	约 100	>100			
23	11.3	11.8	17.2			
24	>100	~100	>100			
25	>100	34.3	>100			
27	17.4	24.2	19.0			
28	>100	约 100	>100			
29		22.1				
30		>100				
31		31.1				
32		>100				
34	*	>100	*			

[1300] *在300nM下无细胞毒性

[1301] 实施例4:生物测定。

[1302] 细胞系:人T细胞白血病细胞系Jurkat(ATCC:TIB-152);HCC1954(ATCC:CRL.2338);人胰腺细胞系:AsPC-1(ATCC:CRL-1682)、BxPC-3(ATCC:CRL.1687)、HPAF-II(ATCC:CRL.1997)、MiaPaCa2(ATCC:CRL.1420)、PANC-1(ATCC:CRL.1469)、Capan-1(ATCC:HTB-79)、Capan-2(ATCC:HTB-80)以及人胃癌细胞系NCI-N87(ATCC:CRL.5822);AML-193(ATCC:CRL.9589)、CCRF-CEM(ATCC:CCL-119)、DU145(ATCC:HTB-81)、PC-3(ATCC:CRL.1435)、A-431(ATCC:CRL.1555)、HT-29(ATCC:HTB-38)、A-172(ATCC:CRL.1620)、NCI-H358(ATCC:CRL.5807)、A549(ATCC:CCL-185)、Colo-205(ATCC:CCL-222)、MDA-MB-231(ATCC:HTB-26)、OVCAR-3(ATCC:HTB-161)、OV-90(ATCC:CRL.11732)、OE19(Sigma:96071721)、RT112/84(Sigma:85061106)。

[1303] 在添加化合物之前一天,将HCC1954 AsPC-1、BxPC-3、HPAF-II、MiaPaCa2、PANC-1、Capan-1、Capan-2及NCI-N87细胞以2500个细胞/100微升(μL)培养基的密度添加到使用完全生长培养基的壁不透明的96孔组织培养处理的微量滴定板中。在37℃/5%CO_2下孵育这些贴壁细胞系细胞一夜以允许细胞附着在微量滴定板表面。添加化合物当天,将Jurkat细胞以2500个细胞/100μL添加到使用与HCC1954相同的生长培养基的单独的96孔微量滴定板中。首先使用二甲亚砜将化合物连续稀释,然后将所制备的稀释液以五倍最终浓度添加到完全生长培养基中。然后经八个步骤1:3滴定化合物。没有化合物的对照(生长培养基单独)一式六份包括在每个微量滴定板上。一式三份添加(25μL/孔)所制备的化合物滴定液。在37℃/5%CO_2下孵育细胞及化合物滴定液三晚。孵育之后,通过将30μL所制备的CellTiter-Glo®添加到每个测定孔中,使用CellTiter-Glo®试剂测量细胞活力。在黑暗中孵育测定至少20分钟,之后使用微板光度计(500ms积分时间)测量所发出的发光。将所收集的相对发光单位(RLU)转化为使用以上提及的生长培养基单独对照的细胞毒性%(细胞毒性%=1-[孔RLU/平均培养基单独对照RLU])。

[1304] 使用三参数非线性回归曲线拟合,将GraphPad Prism®用于生成EC_{50}值。

[1305] 实施例5:示例性抗体-药物缀合物。

[1306] 1.示例性接头

[1307] 如熟练技术人员认识到,用于缀合物形成的具体接头将取决于用于键形成的反应物化合物的反应性基团。举例来说,并且在本发明范围内,具有硫醇部分的化合物可用于缀合物形成。在一些本实施例中,可商购获得的可裂解的接头6-[3′(2-吡啶基二硫基)-丙酰胺基]己酸磺基琥珀酰亚胺酯(磺基-LC-SPDP:Thermo Pierce目录号21650)和非可裂解的接头4-[N-马来酰亚胺基甲基]环己烷-1-羧酸琥珀酰亚胺酯(SMCC:Thermo Pierce目录号22360)被用于抗体-药物缀合反应。偶联过程是以两个主要步骤进行:1)经由与抗体伯胺基团(赖氨酸残基)及接头的N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)酯部分的反应将接头并入到抗体上;以及2)并入的马来酰亚胺基团(SMCC)或2-吡啶基二硫基(LC-SPDP)与含有硫醇的化合物的反应。、

[1308] 2.具有可裂解的(LC-SPDP)或非可裂解的(SMCC)接头的抗体的活化

[1309] 将抗体(Herceptin®)在磷酸钾pH 8(磺基-LC-SPDP)或D-PBS(Invitrogen)pH7.4(SMCC)中稀释至5mg/mL。向稀释的抗体中添加刚溶解的接头,对磺基-LC-SPDP使用超纯水

或对SMCC使用无水N,N-二甲基乙酰胺(DMA)。10-14倍摩尔过量的SMCC:抗体或磺基-LC-SPDP:抗体造成5-7个接头/抗体的并入。在28℃下孵育接头-抗体“活化”反应2小时。孵育之后,使用40kda Zeba™尺寸排阻色谱法/脱盐柱(Thermo Pierce目录号87771或87772,根据规模)从每个抗体样品中除去未反应的接头。在同一色谱法步骤期间,更换缓冲液为下一个反应做准备:磷酸盐缓冲液/EDTA pH 6.5(LC-SPDP)或柠檬酸盐缓冲液/EDTA pH 5(SMCC)。然后使用微板适合的BCA测定(Thermo Pierce目录号23225)针对抗体标准曲线测定纯化制剂的总蛋白含量。为了估计接头并入的程度,进行与过量(与蛋白质浓度相比,约10倍)半胱氨酸的小规模反应。10min孵育之后,使用5,5-二硫代-双-(2-硝基苯甲酸)(Ellman′s试剂,Thermo Pierce目录号22582)检测未反应的半胱氨酸。通过对来自半胱氨酸标准曲线的浓度进行内插,通过从所用半胱氨酸的已知浓度中减去测定值来确定接头浓度。

[1310] 3.含有硫醇的化合物对接头-活化抗体的反应

[1311] 在偶联反应的第二步中,通过首先使用磷酸盐缓冲液/EDTA pH 6.5(LC-SPDP)或柠檬酸盐缓冲液/EDTA pH 5(SMCC)将制剂稀释至2mg/mL来利用活化的抗体。在使用之前,使用TCEP-琼脂糖珠粒还原含有硫醇的M酰基磺酰胺化合物以确保硫醇基可用于对并入的接头作出反应。简单地说,使用磷酸盐缓冲液/EDTA pH 6.5将化合物稀释至5mM。在其中水溶性是一个问题的情况下,添加少量的37%HCl(1:300)并且其足以在5mM下溶解化合物。在使用之前,使TCEP-琼脂糖珠粒(Thermo Pierce目录号77712)用磷酸盐缓冲液/EDTA/10%DMA平衡。将化合物稀释物绕TCEP-琼脂糖珠粒旋转至少0.5小时或长达3小时。在过滤器(其排除TCEP-琼脂糖)上,通过离心收集还原的化合物。使用Ellman′s试剂(与半胱氨酸标准曲线相比)测量还原的程度及硫醇浓度。然后将含有还原硫醇的化合物以与先前测定的接头浓度相比约2倍摩尔过量添加到活化的抗体样品中。为了监测偶联反应有效性,通过将每种化合物以与缀合反应中所用的相同稀释因子在磷酸盐缓冲液/EDTA pH 6.5或柠檬酸盐缓冲液/EDTA pH 5中稀释来制备“过夜”缀合物对照。将剩余的化合物贮备液在-80℃下冷冻。在周围温度下孵育反应及过夜对照过夜。次日早晨,将冷冻的化合物贮备液解冻并且为每种化合物准备另一对照,就像“过夜”对照-这是“新鲜”对照。使用Ellman′s试剂将小体积的每个缀合反应与过夜及新鲜化合物对照相比。使用40kda Zeba™尺寸排阻/脱盐柱从ADC中纯化出未反应的化合物;在同一步骤期间,将缓冲液更换为D-PBS pH 7.4(Invitrogen)。然后就以下来分析纯化的ADC:总蛋白含量(BCA测定,Pierce microBCA方案)、抗原结合的相对亲和力(平衡天然结合)、以及HER2阳性细胞(HCC1954)与HER2阴性细胞(Jurkat)相比的选择性细胞毒性杀灭。

[1312] 4.细胞毒性测定

[1313] 在添加测试品之前一天,将HCC1954细胞以2,500个细胞/100μL培养基的密度添加到使用完全生长培养基的壁不透明的96孔组织培养处理的微量滴定板中。在37℃/5%CO_2下孵育HCC1954细胞一夜以允许细胞附着在微量滴定板表面。添加测试品当天,将Jurkat细胞以2,500个细胞/100μL添加到使用与HCC1954相同的生长培养基的单独的96孔微量滴定板中。为了比较ADC杀灭与从游离化合物处获得的那个,首先使用二甲亚砜或DMA将N-酰基磺酰胺化合物连续稀释,然后将所制备的稀释液以五倍最终浓度添加到完全生长培养基中。然后经八个步骤1:3滴定化合物。为了测试ADC,将其以五倍最终浓度直接在生长培养基中稀释。然后经八个步骤1:3滴定ADC。不存在测试品的对照(生长培养基单独)一式六份包

括在每个微量滴定板上。将所制备的化合物/ADC滴定液一式三份添加(25μL/孔)到HCC1954细胞及Jurkat细胞中。在37℃/5％CO_2下孵育细胞及滴定液三晚。孵育之后,通过将30μL所制备的CellTiter-Glo®添加到每个测定孔中,使用CellTiter-Glo®试剂测量细胞活力。在黑暗中孵育测定至少20分钟,之后使用微板光度计(500ms积分时间)测量所发出的发光。将所收集的相对发光单位(RLU)转化为使用以上提及的生长培养基单独对照的细胞毒性％(细胞毒性％＝1-[孔RLU/平均培养基单独对照RLU])。

[1314] 5.通过EsiToF质谱法的抗体-药物缀合物(ADC)的分析。

[1315] 电喷雾电离飞行时间(EsiToF)质谱(MS)仪器(QStar XL混合四极-TOF LC/MSMS;AB Sciex)被用于测定ADC的分子量并且评估药物-抗体比率(DAR)。EsiToF MS仪器装备有电喷雾电离涡轮喷雾源。以阳离子模式进行数据获取,并且使用Analyst QS 1.1软件获取在2,000m/z至4,000m/z的质量范围上的样品总离子流。如下操作离子源:5.2KV的离子喷雾针电压、在25(任意单位)下的喷雾作用(气体1)、30(任意单位)的气帘气、150V的去簇电压及150℃的温度。将ADC测试样品溶液借助于注射器和注射器泵,经由熔融二氧化硅毛细管,通过直接输注以5μL/min引入离子源中。通常DAR在0至4的范围内。

[1316] 6.制备ADC样品用于ESI-ToF MS分析

[1317] 使用EndoS(IgGZERO)™内切糖苷酶对所有ADC样品去糖基化并且在EsiToF-MS分析之前用水更换缓冲液。简单说来,使原始ADC样品穿过100K MWCO Amicon浓缩器以便在磷酸钠缓冲液中的缓冲液更换。然后用在含有150mM NaCl的磷酸钠裂解缓冲液中的IgGZERO™(1单位/1μg抗体)处理缓冲液更换的样品并且在37℃下孵育30min。使用100K MWCO Amicon浓缩器再次用水对所生成的去糖基化ADC进行缓冲液更换,并且在分析之前用在乙腈/水中的0.1％甲酸(50/50v/v％)稀释至3.0μg/μL的浓度。

[1318] 实施例6:示例性抗体-药物缀合物

[1319] 1.由MCvcPABC-毒素制备抗体-药物缀合物,一般方法

[1320] 向抗体(1-10mg/mL)在25mM硼酸钠、25mM氯化钠、1mM DTPA(pH 8.0)中的溶液中添加来自在相同缓冲液(2.0-3.0摩尔当量)中新鲜制备的贮备液(1-10mM)的TCEP。将溶液充分混合并且在冰上冷却之前,在37℃下孵育2h。在一些情况下,将还原的抗体溶液进一步用含有1mM DTPA的冰冷的磷酸盐缓冲盐水(最终蛋白质浓度2.0mg/mL)或冰冷的25mM硼酸钠、25mM氯化钠、1mM DTPA(pH 8.0)稀释以获得最终蛋白质浓度在1与4mg/mL之间的溶液。向在冰上储存的还原蛋白质溶液中添加来自10mM DMSO储备溶液的马来酰亚胺官能化的毒素(10-12摩尔当量)。立即通过倒转充分地混合缀合反应并且允许缀合继续在冰上进行大约1小时,之后通过在磷酸盐缓冲盐水或10mM柠檬酸钠、150mM氯化钠pH 5.5预平衡过的Zeba™自旋脱盐柱(40KDa MWCO;Peirce)上纯化。将洗出液汇集,过滤法消毒(Steriflip®,Millipore),并且在4℃下储存。分析纯化的ADC的总蛋白含量(二金鸡纳酸(bicinchonic acid)测定,Pierce microBCA方案,目录号23225)。通过还原和非还原PAGE、HPLC-HIC、SEC和RP-UPLC-MS表征ADC产物。平均DAR及药物分布衍生自参考非还原PAGE对HIC及LC-MS数据的说明。平均DAR估算值通常在3.5-4.5的范围内。如(上文/下文)所述进行ADC对抗原结合(平衡天然结合)的相对亲和力。通过测试抗原阳性及抗原阴性细胞系的杀灭来评价抗体药物缀合物的选择性细胞毒性。

[1321] 2.通过抗体药物缀合物对抗原阳性细胞的选择性体外细胞毒性的测定

[1322] 展示所制备的每种缀合物相对于抗原阴性Jurkat细胞的抗原阳性细胞系(包括HCC1954、NCI-N87、HPAF-II及BxPC-3细胞系)的选择性杀灭。简单说来,细胞是由ATCC获得并且如所提供的产品页中所述进行培养。将细胞以25,000个细胞/mL(2,500个细胞/孔)接种在Costar 3904黑壁平底的96孔板中。在37℃/5％CO_2气氛下孵育贴壁细胞系细胞一夜以允许细胞附着在微量滴定板表面,而在使用之前即刻将细胞悬液(Jurkat)铺板。将ADC以五倍所需最终浓度直接在适当的细胞生长培养基中稀释。然后经八个步骤,通常1:3滴定这些ADC。不存在测试品的对照(生长培养基单独)一式六份包括在每个微量滴定板上。将所制备的ADC滴定液一式三份添加(25 μL/孔)到所测定的每个细胞系中。将细胞和滴定液在37℃/5％CO_2下孵育三晚(Jurkat)和五晚(所有其它细胞系)。孵育之后,通过将30μL所制备的CellTiter-Glo®添加到每个测定孔中,使用CellTiter-Glo®试剂测量细胞活力。在黑暗中孵育混合物至少20分钟,之后使用微板光度计(500ms积分时间)测量所发出的发光。将所收集的相对发光单位(RLU)转化为使用以上提及的生长培养基单独对照的细胞毒性％(细胞毒性％＝1-[孔RLU/平均培养基单独对照RLU])。绘制数据(细胞毒性％对比ADC的浓度(log10(nM))并且使用GraphPad Prism软件5.02版,通过非线性回归方法分析以获得EC_{50}估算值。

[1323] 3.药物与抗体比率(DAR)的估算

[1324] 通过疏水性相互作用色谱法及高效液相色谱-质谱法评价毒素-接头与抗体的平均缀合度。这些技术描述于Antibody Drug Conjugates,Methods in Molecular Biology第1045卷,2013年第275-284页.L.Ducry编著,及Asish B.Chakraborty、Scott J.Berger和John C.Gebler,Characterization of an IgG1Monoclonal Antibody and related Sub-structures by LC/ESI-TOF/MS:Application note,Waters Corporation.2007年3月.720002107EN中。通常,DAR在0至4的范围内。

[1325] 方法1.疏水性相互作用色谱法

[1326] 使抗体药物缀合物在连接到Agilent 1100系列HPLC上的TSKgel®Butyl-NPR柱(Tosoh Bioscience;内径4.6mm×35mm;2.5μm粒径)上经历疏水性相互作用色谱法(HIC)。以4mg/mL或超过4mg/mL注入样品(5μL)。必要时,在注射之前使用PALL Nanosep Omega离心浓缩装置(部件#OD010C34)浓缩ADC。采用线性梯度洗脱,起始于95％流动相A/5％流动相B,在12min时间内转换为5％流动相A/95％流动相B(流动相A:1.5M硫酸铵+25mM磷酸钠pH 6.95及流动相B:25％异丙醇、75％25mM磷酸钠pH 6.95)。未修饰的抗体的注入提供鉴别具有DAR＝0的峰的手段。根据在280nm下的吸光度检测抗体。

[1327] 方法2.超高效液相色谱-质谱法用于DAR估算

[1328] 反相超高效液相色谱串联ESI-QToF-质谱法(UPLC-ESI-QToF-MS)被用于表征抗体药物缀合物在用二硫苏糖醇还原之后的药物缀合程度。使用耦合到具有电喷雾离子源的Quattro-Premier™ QToF质谱仪(WATERS Corporation)上的Acquity-UPLC®(H-类)Bio进行表征。在70℃下,用PolymerX™ 5uPR-1 100A,50×2.0min柱(Phenomenex,Inc.)及由溶剂A:乙腈/水/三氟乙酸/甲酸(10/90/0.1/0.1,v/v％)和溶剂B:乙腈/甲酸(100/0.1,v/v)构成的流动相进行还原的ADC样品的UPLC分析。用线性梯度洗脱还原的ADC样品的组分,起始于溶剂A/溶剂B(80/20v/v及0.3mL/min的流速至溶剂A/溶剂B(40/60,v/v),经25min,然后经2min至溶剂A/溶剂B(10/90,v/v％),之后平衡回到初始条件。总运行时间是30min。使

用MassLynx™数据获取软件(Waters Corporation)获取在500-4,500m/z范围的ESI-ToF MS总离子流(TIC)数据。以阳离子V模式获取样品组分质量数据,并且如下操作ESI来源:源温度:150℃;去溶剂化温度350℃;去溶剂化气体:800L/h;样品锥电压:60V;毛细管电压:3.0kV;去溶剂化气体:氮气;以及碰撞气体:氩气。通过Maximum Entropy™ 1(Max-Ent1)算法去卷积每个峰的总TIC质谱以生成峰组分的中性质量数据。

[1329] 4.制备还原的ADC样品用于UPLC/ESI-ToF MS分析

[1330] 在60℃下使用20mM DTT进行ADC的抗体(约1μg/μL溶液)中二硫键的还原历时20min以生成轻链和重链。注射体积的5-10μL的还原的ADC样品被用于UPLC/ESI-ToF-MS分析。

[1331] 实施例6.1示例性抗体-药物缀合物

[1332] 1.由马来酰亚胺官能化的药物-接头制备抗体-药物缀合物,一般方法

[1333] 向抗体(1-10mg/mL)在磷酸盐缓冲盐水(pH 7.4)中的溶液中添加来自在相同缓冲液(2.0-3.0摩尔当量)中新鲜制备的贮备液(1-10mM)的TCEP。将溶液充分混合并且在冰上冷却之前,在37℃下孵育2h。在一些情况下,将还原的抗体溶液进一步用含有1mM DTPA的冰冷的磷酸盐缓冲盐水稀释以获得最终蛋白质浓度在1与5mg/mL之间的溶液。向在冰上储存的还原蛋白质溶液中添加来自10-20mM DMSO储备溶液的马来酰亚胺官能化的药物-接头(8-10摩尔当量)。立即通过倒转充分地混合缀合反应并且允许缀合继续在冰上进行大约1小时,之后通过在磷酸盐缓冲盐水预平衡过的Zeba™自旋脱盐柱(40KDa MWCO;Peirce)上纯化。将洗出液汇集,过滤法消毒(Steriflip®,Millipore),并且在4℃下储存。分析纯化的ADC的总蛋白含量(二金鸡纳酸测定,Pierce microBCA方案,目录号23225)。通过还原和非还原PAGE、HPLC-HIC、SEC和RP-UPLC-MS表征ADC产物。平均DAR及药物分布衍生自参考非还原PAGE对HIC及LC-MS数据的说明。平均DAR估算值通常在3.5-4.2的范围内。如(上文/下文)所述进行ADC对于抗原结合(平衡天然结合)的相对亲和力。通过在细胞细胞毒性测定中测试抗原阳性及抗原阴性细胞系的杀灭来评价抗体药物缀合物的选择性细胞毒性。

[1334] 2.抗体药物缀合物对抗原阳性细胞的选择性体外细胞毒性的测定

[1335] 测试抗体药物缀合物对包括以下的培养细胞系的细胞毒性:人T细胞白血病细胞系Jurkat(ATCC:TIB-152);人乳腺癌细胞系HCC1954(ATCC:CRL-2338)和JIMT-1(DSMZ:ACC 589);人卵巢腺癌细胞系SK-OV-3(ATCC:HTB-77);人胃癌细胞系NCI-N87(ATCC:CRL-5822);人非何杰金氏淋巴瘤细胞系Karpas299(健康保护局培养物中心(Health Protection Agency Culture Collections:06072604);以及人伯基特氏(Burkitt's)淋巴瘤细胞系Ramos(ATCC:CRL-1596)。为所制备的每种缀合物展示抗原阳性细胞系(包括对于基于曲妥单抗的缀合物是HCC1954、NCI-N87、SK-OV-3及JIMT-1细胞系;对于基于利妥昔单抗的缀合物是Ramos细胞系;对于基于贝伦妥单抗(cAC-10)的缀合物是Karpas 299)相对于一个或多个抗原阴性细胞系(对于基于曲妥单抗的缀合物是Jurkat、Karpas299及Ramos;对于基于贝伦妥单抗(cAC-10)和利妥昔单抗的缀合物是NCI-N87)的选择性杀灭。简单说来,细胞是获自商业来源并且如所提供的产品页中所述进行培养。将细胞以25,000个细胞/mL(2,500个细胞/孔)接种在Costar 3904黑壁平底的96孔板中。在37℃/5%CO_2气氛下孵育贴壁细胞系一夜以允许细胞附着在微量滴定板表面,而在使用之前即刻将细胞悬液(Jurkat)铺板。将ADC以五倍所需最终最大浓度直接在适当的细胞生长培养基中稀释。然后经八个步骤,通常

1:3滴定这些ADC。不存在测试品的对照(生长培养基单独)一式六份包括在每个微量滴定板上。将所制备的ADC滴定液各自一式三份添加(25μL/孔)到所测定的每个细胞系中。将细胞和滴定液在37℃/5％CO_2下孵育三晚(Jurkat)和五晚(所有其它细胞系)。孵育之后,使用CellTiter-Glo®,通过向每个测定孔中添加30μL所制备的CellTiter-Glo®试剂测量细胞活力。在黑暗中孵育混合物至少20分钟,之后使用微板光度计(500ms积分时间)测量所发出的发光。将所收集的相对发光单位(RLU)转化为使用以上提及的生长培养基单独对照的细胞毒性％(细胞毒性％＝1-[孔RLU/平均培养基单独对照RLU])。绘制数据(细胞毒性％对比ADC的浓度(log10(nM))并且使用GraphPad Prism软件5.02版,使用非线性回归方法(四参数-可变斜率)将其拟合至曲线以便获得EC_{50}估算值。

[1336] 3.药物与抗体比率(DAR)的估算

[1337] 通过疏水性相互作用色谱法及高效液相色谱-质谱法评价毒素-接头与抗体的平均缀合度。这些技术描述于Antibody Drug Conjugates,Methods in Molecular Biology第1045卷,2013年.第275-284页.L.Ducry编著,及Asish B.Chakraborty、Scott J.Berger和John C.Gebler,Characterization of an IgG1Monoclonal Antibody and related Sub-structures by LC/ESI-TOF/MS:Application note,Waters Corporation.2007年3月.720002107EN中。

[1338] 方法1.疏水性相互作用色谱法

[1339] 使抗体药物缀合物在连接到Agilent 1100系列HPLC上的TSKgel®Butyl-NPR柱(Tosoh Bioscience;内径4.6mm×35mm;2.5μm粒径)上经历疏水性相互作用色谱法(HIC)。以4mg/mL或超过4mg/mL注入样品(5μL)。采用线性梯度洗脱,起始于95％流动相A/5％流动相B,在12min时间内转换为5％流动相A/95％流动相B(流动相A:1.5M硫酸铵+25mM磷酸钠pH 6.95及流动相B:25％异丙醇、75％25mM磷酸钠pH 6.95)。使用相同流动相组分的替代梯度提供一些缀合物的改善拆分。未修饰的抗体的注入提供鉴别具有DAR＝0的峰的手段。根据在280nm下的吸光度检测抗体。

[1340] 方法2.超高效液相色谱-质谱法用于DAR估算

[1341] 反相超高效液相色谱串联ESI-QToF-质谱法(UPLC-ESI-QToF-MS)被用于表征抗体药物缀合物在用二硫苏糖醇还原之后的药物缀合程度。使用耦合到具有电喷雾离子源的Quattro-Premier™ QToF质谱仪(WATERS Corporation)上的Acquity-UPLC®(H-类)Bio进行表征。在70℃下,用PolymerX™ 5uPR-1 100A,50×2.0mm柱(Phenomenex,Inc.)及由溶剂A:乙腈/水/三氟乙酸/甲酸(10/90/0.1/0.1,v/v％)和溶剂B:乙腈/甲酸(100/0.1,v/v)构成的流动相进行还原的ADC样品的UPLC分析。用线性梯度洗脱还原的ADC样品的组分,起始于溶剂A/溶剂B(80/20v/v及0.3mL/min的流速至溶剂A/溶剂B(40/60,v/v),经25min,然后经2min至溶剂A/溶剂B(10/90,v/v％),之后平衡回到初始条件。总运行时间是30min。使用MassLynx™数据获取软件(Waters Corporation)获取在500-4,500m/z范围的ESI-ToF MS总离子流(TIC)数据。以阳离子V模式获取样品组分质量数据,并且如下操作ESI来源:源温度:150℃;去溶剂化温度350℃;去溶剂化气体:800L/h;样品锥电压:60V;毛细管电压:3.0kV;去溶剂化气体:氮气;以及碰撞气体:氩气。通过Maximum Entropy™ 1(Max-Ent1)算法去卷积每个峰的总TIC质谱以生成峰组分的中性质量数据。

[1342] 4.制备还原的ADC样品用于UPLC/ESI-ToF MS分析

[1343] 在60℃下使用20mM DTT进行ADC的抗体(约1μg/μL溶液)中二硫键的还原历时20min以生成轻链和重链。注射体积的5-10μL的还原的ADC样品被用于UPLC/ESI-ToF-MS分析。

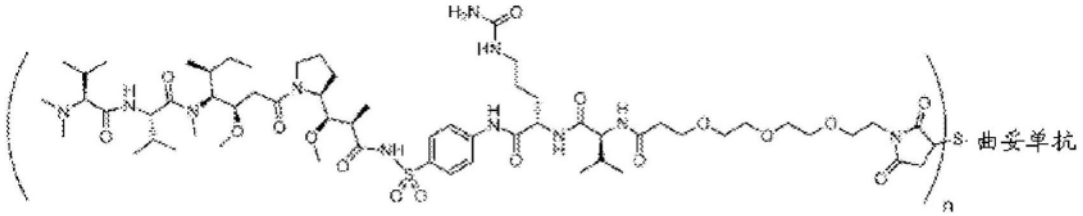
[1344] 5.使用平衡天然结合测定进行的ADC对抗原的相对亲和力的测定

[1345] 使用平衡天然结合测定对抗体及其缀合物的结合进行评级。进行实验以比较基于曲妥单抗和曲妥单抗的抗体药物缀合物与MDA-MB-231细胞系(ATCC:HTB-26)的结合。如由供应商提供的产品页上所述培养MDA-MB-231细胞。用PBS洗涤细胞(约60％汇合)一次并且使用细胞解离缓冲液(Sigma 5914)从培养瓶中移除,然后再悬浮于细胞培养基中并转移到96孔V形底的板(Sartstedt 82.1583.001;50000个细胞/孔)中,之后沉淀细胞(400×g,3min)并丢弃上清液。在冰冷的细胞培养基中从60μg/mL起始浓度开始1:3滴定抗体及抗体药物缀合物。这些滴定液(20μL)被用于再悬浮细胞沉淀,然后与细胞一起孵育过夜以达到平衡。通过以下操作洗出未结合的抗体:沉淀两次并将细胞再悬浮于FACS缓冲液(200μL;PBS pH 7.4,含有1％FBS)中,然后沉淀并再悬浮于含有2μg/mL Gt抗人IgG-Fc-Alexa647(Jackson Immuno目录号109-605-098)和2.5μg/mL 7-放线菌素D(Sigma目录号A9400)的相同缓冲液(200μL)中并且在冰上孵育30min。如上洗涤细胞,再悬浮于50μL FACS缓冲液中并且通过流式细胞术(BD Accuri)并排除7-AAD阳性事件进行分析。GraphPad Prism被用于使用具有4参数及可变斜率的非线性回归分析将曲线拟合至数据。来自代表性相对亲和力评级实验的数据示于图6中。

[1346] 实施例7:式I化合物的抗体药物缀合物。

[1347] 使用类似于实施例5和6中所述的方法,制备以下曲妥单抗ADC,其中n＝0、1、2、3、4、5、6、7或8。n平均值为约4。

[1348] T-MTvc-化合物5

[1349] 

[1350] T-MTvc-化合物5对Her2阳性NCI-N87和HCC1954细胞系及Her2阴性Jurkat细胞系的细胞毒性示于表3及图3-5中。

[1351] 表3

[1352]

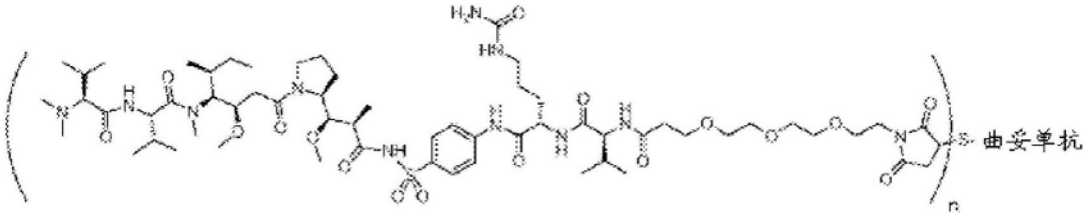
细胞系	化合物	EC_{50} (nM)
NCI-N87	T-MTvc-化合物 5	0.17
HCC1954	T-MTvc-化合物 5	0.09

[1353] 实施例7.1:式I化合物的抗体药物缀合物。

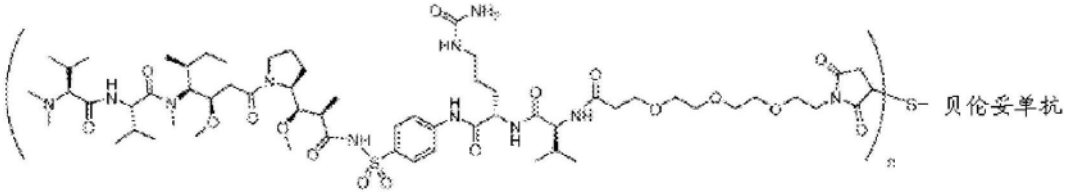
[1354] 使用类似于实施例6.1中所述的方法,由曲妥单抗(Herceptin,Roche)、利妥昔单抗(Rituxan,Roche)及贝伦妥单抗(cAC-10)制备以下抗体药物缀合物,其中n平均值为大约

4。

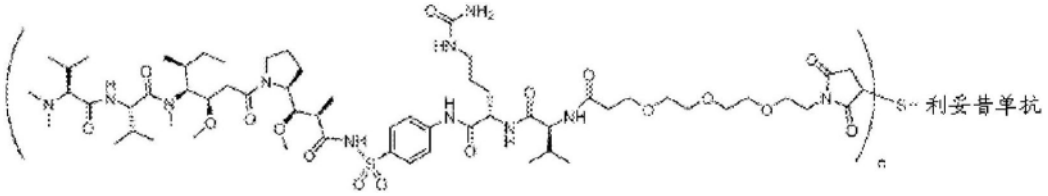
[1355] T-MTvc-化合物5

[1356] 

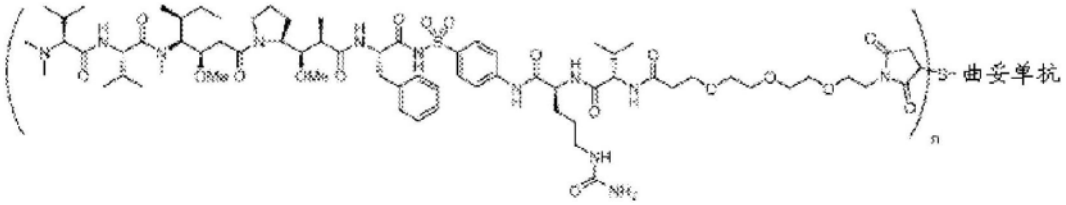
[1357] B-MTvc-化合物5

[1358] 

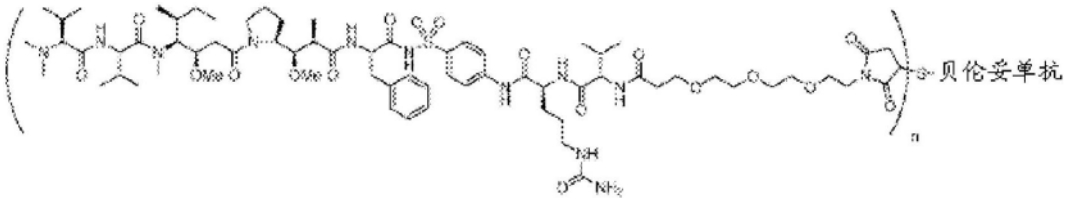
[1359] R-MTvc-化合物5

[1360] 

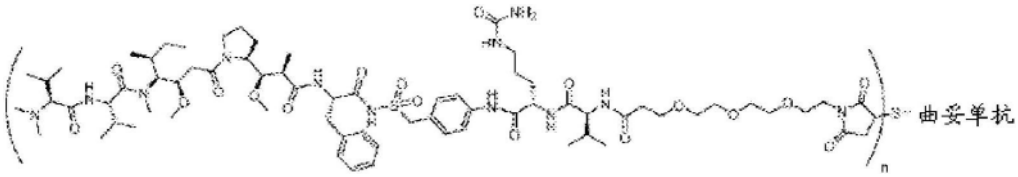
[1361] T-MTvc-化合物11

[1362] 

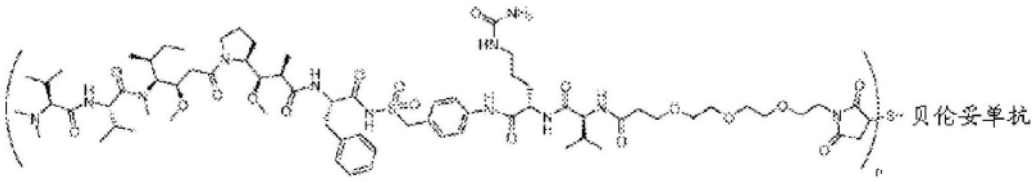
[1363] B-MTvc-化合物11

[1364] 

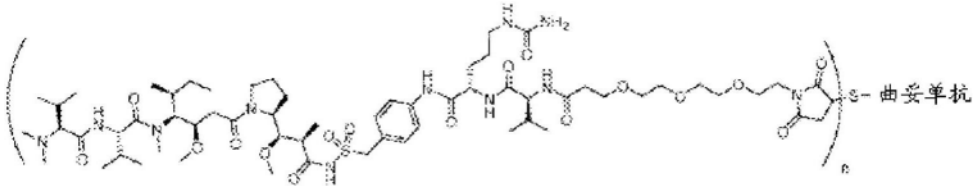
[1365] T-MTvc-化合物14

[1366] 

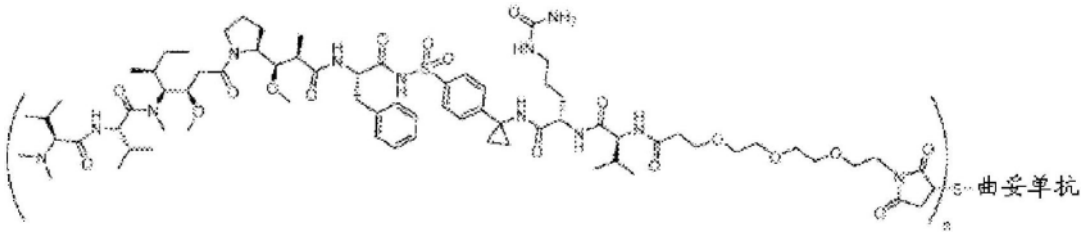
[1367] B-MTvc-化合物14

[1368] 

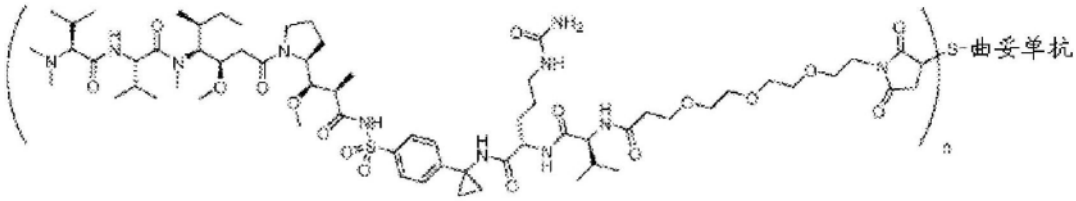
[1369] T-MTvc-化合物8

[1370] 

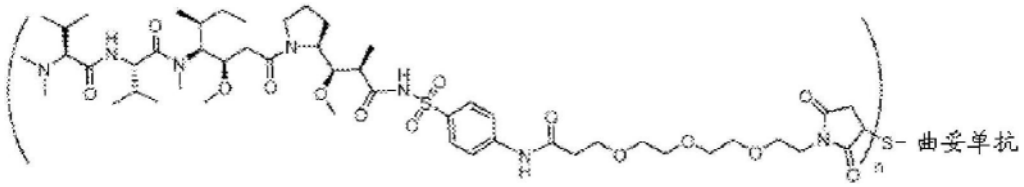
[1371] T-MTvc-化合物32

[1372] 

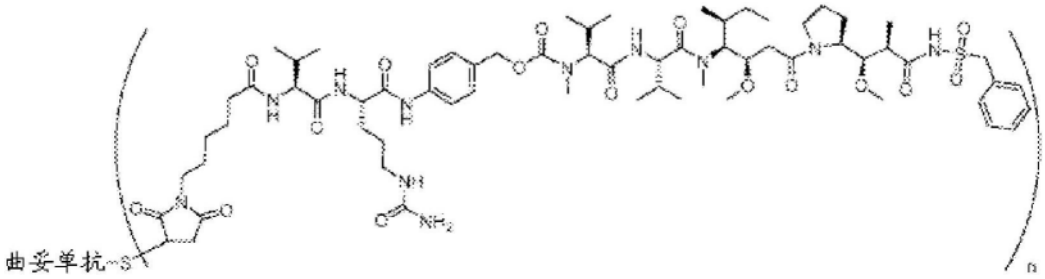
[1373] T-MTvc-化合物30

[1374] 

[1375] T-MT-化合物5

[1376] 

[1377] T-MCvcPABC-化合物80

[1378] 

[1379] 测试来自实施例7的抗体药物缀合物对抗原阳性和抗原阴性细胞系的细胞毒性。结果示于表3.1中。

[1380] 表3.1

[1381]

化合物	EC_{50} (nM)

[1382]

	NCI-N87	HCC-1954	SKOV-3	Karpas 299	Ramos	Jurkat	JIM T-1
T-MTvc-化合物 5	0.016	0.093	0.012	NC	NC	NC	约 0.01
T-MTvc-化合物 11	0.008					NC	
T-MTvc-化合物 32	0.011					NC	
T-MTvc-化合物 14	0.011		0.004			NC	约 0.01
T-MTvc-化合物 8	0.090					NC	
T-MTvc-化合物 30	0.270					NC	
T-MT-化合物 5	0.111					NC	
T-MCvcPABC-化合物 33	0.157					NC	
B-MTvc-化合物 5	NC			0.001			
B-MTvc-化合物 11				0.004			
B-MTvc-化合物 14				0.001			
R-MTvc-化合物 5	NC				0.688		

[1383] NC＝无细胞毒性

[1384] 实施例8:在载有PC-3肿瘤的小鼠中毒素的功效研究

[1385] IV施用测试品。剂量接近最大耐受剂量。每七天递送一个针剂的测试品,四次重

复/针剂,或每七天递送一个针剂,三次重复/针剂。媒介物:6.3%海藻糖、0.05%Tween® 20、20mM柠檬酸盐缓冲液,pH 5.0,4℃。

[1386] 1.程序概述

[1387] 在实验第0日,在购自Harlan Laboratories的7-8周龄的雌性无胸腺裸小鼠的背部皮下接种5×10^6个PC-3肿瘤细胞。每周一、周三及周五测量肿瘤。一旦肿瘤在尺寸上达到150-200mm^3,便通过使各组的平均肿瘤尺寸平衡将动物分配到4个处理组中的一个中。用其相应的化合物处理动物,并且每周一、周三及周五继续肿瘤测量。

[1388] 2.PC-3细胞:细胞制备-组织培养物

[1389] PC-3人前列腺腺癌细胞系是获自ATCC(目录号CRL-1435)。细胞是起始于实验室贮备液的冷冻小瓶,该小瓶是由原始ATCC小瓶冷冻而来,就支原体阴性对细胞进行测试,并保持在实验室液氮罐中。为体内研究收获传代#3至#10并具有80-90%汇合的细胞培养物。在37℃/5%CO_2环境下将细胞在补充有2mM L-谷氨酰胺和10%FBS的Ham's F12培养基中生长。每周一次以1:3至1:6的分裂比传代培养细胞并扩增。培养基每周更新一次。

[1390] 3.细胞制备-收获以供植入

[1391] 将细胞用2mL新鲜的胰蛋白酶/EDTA溶液(具有EDTA 4Na的0.25%胰蛋白酶)简单地冲洗一次,然后吸出额外的胰蛋白酶/EDTA。然后添加1.5mL胰蛋白酶/EDTA,并且水平地放置烧瓶以确保细胞被胰蛋白酶/EDTA覆盖。随后在37℃下孵育细胞几分钟。在倒置显微镜下观察细胞以确保细胞层被分散,然后添加新鲜的培养基,并且采集50μL细胞悬液并与锥虫蓝(1:1)混合并对细胞进行计数并且使用Cellometer®Auto T4评价细胞活力。在1,000rpm下离心细胞7min并吸出上清液。然后将细胞再悬浮在生长培养基中至适当的浓度以用于接种。注射体积为100μL/动物。

[1392] 4.肿瘤细胞植入-SC背部

[1393] 在第0日,在异氟烷麻醉下,使用27/28-号针将5.0×10^6个肿瘤细胞以100μL的体积皮下植入到小鼠的背部中。

[1394] 5.动物圈养

[1395] 将动物圈养在通风笼中,每笼2至5只动物,使用12小时亮/暗循环。动物无限制地接受无菌食品和水并且动物的圈养和使用是根据加拿大委员会有关动物管理指南(Canadian Council on Animal Care guidelines)进行。无菌处理动物,并且每10-14天更换笼子一次。

[1396] 6.数据收集(肿瘤尺寸)

[1397] 每周一、周三及周五就肿瘤发展对小鼠进行监测。用卡尺测量所建立的肿瘤的尺寸。根据方程式[L×W^2]÷2计算肿瘤体积,其中长度(L)为肿瘤的长轴。在肿瘤测量之时还称重动物。允许肿瘤生长至800mm^3的最大值。

[1398] 7.分析方法:肿瘤体积X实验日生长曲线

[1399] 针对处理天数绘制每组的肿瘤体积。在首只动物达到肿瘤-尺寸实验终点(800mm^3)之时或在研究的最后一天为每个组截止生长曲线。在组生长曲线截止之前从研究中退出的任何动物将从研究中完全除去。

[1400] 8.动物排除

[1401] 具有溃疡肿瘤、必需使动物安乐死、具有700mm^3或较小肿瘤体积的任何动物将从

研究中除去并且不能进行数据分析(除了如果最终肿瘤体积比处理日高＞2.0倍,至复发的天数之外)。

[1402] 实施例9:在使用NOD SCID Gamma小鼠的NCI-N87肿瘤模型中的抗体药物缀合物的功效剂量范围研究

[1403] IV施用测试品,仅一次处理。测试剂量为3、7及12mg/kg。媒介物:20mM柠檬酸钠、6.3%海藻糖、0.02%Tween®20,pH 5,4℃。

[1404] 1.程序概述

[1405] 在实验第0日,在购自The Jackson Laboratory(JAX®Mice)的7-8周龄的七十六只(76)雌性NOD/SCID Gamma小鼠(NSG)的下背部中皮下接种5×10^6个在基质胶中的NCI-N87肿瘤细胞。每周一、周三及周五测量肿瘤。一旦肿瘤在尺寸上达到150-200mm^3,便通过使各组的平均肿瘤尺寸平衡将动物分配到10个处理组中的一个中。用其相应的化合物处理动物,并且每周一、周三及周五继续肿瘤测量。

[1406] 2.细胞制备-组织培养物:NCI-N87细胞

[1407] NCI-N87人胃癌细胞来源于在细胞毒性疗法之前采集的胃高分化癌的肝转移。在细胞系建立之前,将肿瘤作为在无胸腺裸小鼠中的异种移植物传代三代。NCI-N87细胞是获自ATCC(目录号CRL-5822)并且在RADIL处测试支原体和小鼠病原体呈阴性。

[1408] 细胞是起始于实验室贮备液的冷冻小瓶,该小瓶是由原始ATCC小瓶冷冻而来,并保持在实验室液氮罐中。为体内研究收获传代#3至#10并具有80-90%汇合的细胞培养物。在37℃/5%CO_2环境下使NCI-N87细胞在补充有1.0mM L-谷氨酰胺和10%FBS的RPMI 1640培养基中生长。每周一次或两次以1:3或1:4的分裂比传代培养细胞并扩增。培养基每周更新一次。用5%DMSO冷冻细胞。

[1409] 3.细胞制备-收获以供植入

[1410] 将细胞用无Ca、Mg的汉克氏(Hank's)平衡盐溶液简单地冲洗一次。添加新鲜的胰蛋白酶/EDTA溶液(具有EDTA 4Na的0.25%胰蛋白酶),并且将烧瓶水平放置以确保细胞被胰蛋白酶/EDA覆盖,然后吸出额外的胰蛋白酶/EDTA。在37℃下孵育细胞几分钟。在倒置显微镜下观察细胞直到细胞层被分散,然后添加新鲜的培养基。然后,收集50μL细胞悬液并与锥虫蓝(1:1)混合,并且在血球计上对细胞进行计数并评价其活力。活力应≥90%。在125RCF(1,000rpm)下离心细胞7min并且吸出上清液。将细胞再悬浮于冷的生长培养基中至2倍所需最终浓度(100×10^6/mL)。将悬液与基质胶(1:1)混合(在冰上)。所生成的细胞悬液(50×10^6个细胞/mL)被用于以100μL注射体积递送5×10^6个细胞/动物。接触到基质胶的所有器材(针、注射器、移液管尖头)都在注射之前冷藏。

[1411] 4.肿瘤细胞植入-SC(NCI-N87)

[1412] 在接种以前,为每只小鼠的下背部区域中的大约2×2cm的面积剃毛,并用乙醇清洁。在第0日,在异氟烷麻醉下,使用27/28-号针将5.0×10^6个肿瘤细胞以100μL的体积皮下植入到小鼠的背部中。

[1413] 5.动物圈养

[1414] 将动物圈养在通风笼中,每笼2至5只动物,使用12小时亮/暗循环。动物无限制地接受无菌食品和水并且动物的圈养和使用是根据加拿大委员会有关动物管理指南进行。无菌地处理动物,并且每10-14天更换笼子一次。

[1415] 6.数据收集(肿瘤尺寸)

[1416] 每周一、周三及周五就肿瘤发展对小鼠进行监测。用卡尺测量所建立的肿瘤的尺寸。根据方程式[L×W^2]÷2计算肿瘤体积,其中长度(L)为肿瘤的长轴。在肿瘤测量之时还称重动物。允许肿瘤生长至800mm^{3}的最大值。

[1417] 7.分析方法:肿瘤体积X实验日生长曲线

[1418] 针对处理天数绘制每组的肿瘤体积。在首只动物达到肿瘤-尺寸实验终点(800mm^3)之时或在研究的最后一天为每个组截止生长曲线。在组生长曲线截止之前从研究中退出的任何动物将从研究中完全除去。

[1419] 8.动物排除

[1420] 具有溃疡肿瘤、必需使动物安乐死、具有700mm^{3}或较小肿瘤体积的任何动物将从研究中除去并且不能进行数据分析(除了如果最终肿瘤体积比处理日高>2.0倍,至复发的天数之外)。

[1421] 实施例10:在使用NOD SCID Gamma小鼠的NCI-N87肿瘤模型中的抗体药物缀合物的功效比较。

[1422] IV施用测试品,其中一次施用3mg/kg。媒介物:20mM柠檬酸钠、6.3%海藻糖、0.02%Tween®20,pH 5。

[1423] 1.程序概述

[1424] 在实验第0日,在购自The Jackson Laboratory(JAX®Mice)的7-8周龄的24只(24)雌性NOD/SCID Gamma小鼠(NSG)的下背部中皮下接种5×10^{6}个在基质胶中的NCI-N87肿瘤细胞。每周一、周三及周五测量肿瘤。一旦肿瘤在尺寸上达到150-200mm^3,便通过使各组的平均肿瘤尺寸平衡将动物分配到3个处理组中的一个中。用其相应的化合物处理动物,并且每周一、周三及周五继续肿瘤测量。

[1425] 2.细胞制备-组织培养物:NCI-N87细胞

[1426] NCI-N87人胃癌细胞来源于在细胞毒性疗法之前采集的胃高分化癌的肝转移。在细胞系建立之前,将肿瘤作为在无胸腺裸小鼠中的异种移植物传代三代。NCI-N87细胞是获自ATCC(目录号CRL-5822)并且在RADIL处测试支原体和小鼠病原体呈阴性。

[1427] 细胞是起始于实验室贮备液的冷冻小瓶,该小瓶是由原始ATCC小瓶冷冻而来,并保持在实验室液氮罐中。为体内研究收获传代#3至#10并具有80-90%汇合的细胞培养物。在37℃/5%CO_2环境下使NCI-N87细胞在补充有1.0mM L-谷氨酰胺和10%FBS的RPMI 1640培养基中生长。每周一次或两次以1:3或1:4的分裂比传代培养细胞并扩增。培养基每周更新一次。用5%DMSO冷冻细胞。

[1428] 3.细胞制备-收获以供植入

[1429] 将细胞用无Ca、Mg的汉克氏平衡盐溶液简单地冲洗一次。添加新鲜的胰蛋白酶/EDTA溶液(具有EDTA 4Na的0.25%胰蛋白酶),并且将烧瓶水平放置以确保细胞被胰蛋白酶/EDA覆盖,然后吸出额外的胰蛋白酶/EDTA。在37℃下孵育细胞几分钟。在倒置显微镜下观察细胞直到细胞层被分散,然后添加新鲜的培养基。然后,收集50μL细胞悬液并与锥虫蓝(1:1)混合,并且在血球计上对细胞进行计数并评价其活力。活力应≥90%。在125RCF(1,000rpm)下离心细胞7min并且吸出上清液。将细胞再悬浮于冷的生长培养基中至2倍所需最终浓度(100×10^6/mL)。将悬液与基质胶(1:1)混合(在冰上)。所生成的细胞悬液(50×10^{6}个

细胞/mL)被用于以100μL注射体积递送5×10^{6}个细胞/动物。接触到基质胶的所有器材(针、注射器、移液管尖头)都在注射之前冷藏。

[1430] 4.肿瘤细胞植入-皮下(NCI-N87)

[1431] 在接种以前,为每只小鼠的下背部区域中的大约2×2cm的面积剃毛,并用乙醇清洁。在第0日,在异氟烷麻醉下,使用27/28-号针将5.0×10^{6}个肿瘤细胞以100μL的体积皮下移植到小鼠的背部中。

[1432] 5.动物圈养

[1433] 将动物圈养在通风笼中,每笼2至5只动物,使用12小时亮/暗循环。动物无限制地接受无菌食品和水并且动物的圈养和使用是根据加拿大委员会有关动物管理指南进行。无菌处理动物,并且每10-14天更换笼子一次。

[1434] 6.数据收集(肿瘤尺寸)

[1435] 每周一、周三及周五就肿瘤发展对小鼠进行监测。用卡尺测量所建立的肿瘤的尺寸。根据方程式[L×W^2]÷2计算肿瘤体积,其中长度(L)为肿瘤的长轴。在肿瘤测量之时还称重动物。允许肿瘤生长至800mm^{3}的最大值。

[1436] 7.分析方法:肿瘤体积X实验日生长曲线

[1437] 针对处理天数绘制每组的肿瘤体积。在首只动物达到肿瘤-尺寸实验终点(800mm^3)之时或在研究的最后一天为每个组截止生长曲线。在组生长曲线截止之前从研究中退出的任何动物将从研究中完全除去。

[1438] 8.动物排除

[1439] 具有溃疡肿瘤、必需使动物安乐死、具有700mm^{3}或较小肿瘤体积的任何动物将从研究中除去并且不能进行数据分析(除了如果最终肿瘤体积比处理日高>2.0倍,至复发的天数之外)。

[1440] 实施例10.1:在使用NOD SCID Gamma小鼠的NCI-N87肿瘤模型中的抗体药物缀合物的功效比较。

[1441] IV施用测试品,仅一次处理,5mg/kg。媒介物:无钙或镁的磷酸盐缓冲盐水,pH 7.4。

[1442] 1.程序概述

[1443] 在实验第0日,在购自The Jackson Laboratory(JAX®Mice)的7-8周龄的雌性NOD/SCID Gamma小鼠(NSG)的下背部中皮下接种5×10^{6}个在基质胶中的NCI-N87肿瘤细胞。每周一、周三及周五测量肿瘤。一旦肿瘤在尺寸上达到150-200mm^3,便通过使各组的平均肿瘤尺寸平衡将动物分配到10个处理组中的一个中。用其相应的化合物处理动物,并且每周一、周三及周五继续肿瘤测量。

[1444] 2.细胞制备-组织培养物:NCI-N87细胞

[1445] NCI-N87人胃癌细胞来源于在细胞毒性疗法之前采集的胃高分化癌的肝转移。在细胞系建立之前,将肿瘤作为在无胸腺裸小鼠中的异种移植物传代三代。NCI-N87细胞是获自ATCC(目录号CRL-5822)并且在RADIL处测试支原体和小鼠病原体呈阴性。

[1446] 细胞是起始于实验室贮备液的冷冻小瓶,该小瓶是由原始ATCC小瓶冷冻而来,并保持在实验室液氮罐中。为体内研究收获传代#3至#10并具有80-90%汇合的细胞培养物。在37℃/5%CO_2环境下使NCI-N87细胞在补充有1.0mM L-谷氨酰胺和10%FBS的RPMI1640培

养基中生长。每周一次或两次以1:3或1:4的分裂比传代培养细胞并扩增。每周更新培养基一次。用5％DMSO冷冻细胞。

[1447] 3.细胞制备-收获以供植入

[1448] 将细胞用无Ca、Mg的汉克氏平衡盐溶液简单地冲洗一次。添加新鲜的胰蛋白酶/EDTA溶液(具有EDTA 4Na的0.25％胰蛋白酶),并且将烧瓶水平放置以确保细胞被胰蛋白酶/EDA覆盖,然后吸出额外的胰蛋白酶/EDTA。在37℃下孵育细胞几分钟。在倒置显微镜下观察细胞直到细胞层被分散,然后添加新鲜的培养基。然后,收集50μL细胞悬液并与锥虫蓝(1:1)混合,并且在血球计上对细胞进行计数并评价其活力。活力≥90％。在125RCF(1,000rpm)下离心细胞7min并且吸出上清液。将细胞再悬浮于冷的生长培养基中至2倍所需最终浓度(100×10^6/mL)。将悬液与基质胶(1:1)混合(在冰上)。所生成的细胞悬液(50×10^6个细胞/mL)被用于以100μL注射体积递送5×10^6个细胞/动物。接触到基质胶的所有器材(针、注射器、移液管尖头)都在注射之前冷藏。

[1449] 4.肿瘤细胞植入-SC(NCI-N87)

[1450] 在接种以前,为每只小鼠的下背部区域中的大约2×2cm的面积剃毛,并用乙醇清洁。在第0日,在异氟烷麻醉下,使用27/28-号针将5.0×10^6个肿瘤细胞以100μL的体积皮下植入到小鼠的背部中。

[1451] 5.动物圈养

[1452] 将动物圈养在通风笼中,每笼2至5只动物,使用12小时亮/暗循环。动物无限制地接受无菌食品和水并且动物的圈养和使用是根据加拿大委员会有关动物管理指南进行。无菌地处理动物,并且每10-14天更换笼子一次。

[1453] 6.数据收集(肿瘤尺寸)

[1454] 每周一、周三及周五就肿瘤发展对小鼠进行监测。用卡尺测量所建立的肿瘤的尺寸。根据方程式$[L\times W^2]\div2$计算肿瘤体积,其中长度(L)为肿瘤的长轴。在肿瘤测量之时还称重动物。允许肿瘤生长至800mm^3的最大值。

[1455] 7.分析方法:肿瘤体积X实验日生长曲线

[1456] 相对于处理天数于图7中绘制某些处理组的肿瘤体积。在首只动物达到肿瘤-尺寸实验终点(800mm^3)之时或在研究的最后一天为每个组截止生长曲线。在组生长曲线截止之前从研究中退出的任何动物将从研究中完全除去。

[1457] 8.动物排除

[1458] 具有溃疡肿瘤、必需使动物安乐死、具有700mm^3或较小肿瘤体积的任何动物将从研究中除去并且不能进行数据分析(除了如果最终肿瘤体积比处理日高＞2.0倍,至复发的天数之外)。

[1459] 实施例11:在使用C.B-17/IcrHsd-Prkdc^{scid}小鼠的Karpas 299肿瘤模型中的抗体药物缀合物的功效比较。

[1460] IV施用测试品,其中在第21日、第25日、第29日及第33日以1mg/kg施用四次。媒介物:无钙或镁的磷酸盐缓冲盐水,pH 7.4。

[1461] 1.程序概述

[1462] 在购自Harlan的雌性C.B-17/lcrHsd-Prkdcscid(CB.17-SCID)小鼠的下背部中皮下接种1百万个表达Karpas 299CD30的肿瘤细胞系。每周一、周三及周五就肿瘤发展对小鼠

进行监测。用卡尺测量所建立的肿瘤的尺寸。根据方程式[L×W^2]÷2计算肿瘤体积,其中长度为肿瘤的长轴。在肿瘤测量之时还称重动物。当平均肿瘤体积为141.32mm^{3}时,基于肿瘤体积在第21日对小鼠进行随机化。在随机化之时,将每组小鼠减为6只。小鼠预定在第21日、第25日、第29日及第33日接受其相应的化合物的四次单独的静脉内推注施用,并且每周一、周三及周五测量肿瘤。

[1463] 1.细胞制备-组织培养物:Karpas 299

[1464] Karpas 299人T细胞淋巴瘤细胞系是于1986年由患有T细胞非何杰金氏淋巴瘤的25岁男性的外周血建立;现归类为CD30+间变性大细胞淋巴瘤(ALCL);细胞携带NPM-ALK融合基因。Karpas 299细胞是获自健康保护局培养物中心(目录号06072604并且测试支原体呈阴性)。

[1465] 细胞起始于实验室贮备液的冷冻小瓶。为体内研究收获传代3至10次且密度维持在5×10^{5}与2×10^{6}个细胞/mL之间的细胞培养物。在37℃在5%CO_2环境下,细胞以悬液形式生长于RPMI 1640+2mM谷氨酰胺+20%胎牛血清中。每周两次以1:3的分裂比传代培养细胞并扩增。

[1466] 2.细胞制备-收获以供植入

[1467] 将细胞离心并用无Ca、Mg的汉克氏平衡盐溶液洗涤一次。然后,收集50μL细胞悬液并与锥虫蓝(1:1)混合,并且在Cellometer Auto4上对细胞进行计数并评价其活力。活力≥90%。在200g下离心细胞7min并且吸出上清液。将细胞再悬浮于生长培养基中以供皮下接种。所生成的细胞悬液被用于以50μL体积皮下递送1×10^{6}个细胞。

[1468] 3.肿瘤细胞植入-皮下(Karpas 299)

[1469] 在接种以前,为每只小鼠的下背部区域中的大约2×2cm的面积剃毛,并用乙醇清洁。在第0日,在异氟烷麻醉下,使用27/28-号针将1×10^{6}个细胞以50μL的体积皮下植入到小鼠的背部中。

[1470] 4.动物圈养

[1471] 将动物圈养在通风笼中,每笼3至4只动物,使用12小时亮/暗循环。动物无限制地接受无菌食品和水并且动物的圈养和使用是根据加拿大委员会有关动物管理指南进行。无菌地处理动物,并且每10-14天更换笼子一次。

[1472] 5.数据收集(肿瘤尺寸)

[1473] 在接种后11天开始,每个工作日就肿瘤发展对小鼠进行监测。用卡尺测量所建立的肿瘤的尺寸。根据方程式[L×W^2]÷2计算肿瘤体积,其中长度(mm)为肿瘤的长轴。还在肿瘤测量之时(仅周一、周三及周五)称重动物。一旦施用处理,便在周一、周三及周五,每周三次测量肿瘤。允许肿瘤生长至800mm^{3}的最大值。

[1474] 6.分析方法:肿瘤体积X实验日生长曲线

[1475] 相对于处理天数于图8中绘制每组的肿瘤体积。在首只动物达到肿瘤-尺寸实验终点(800mm^3)之时或在研究的最后一天为每个组截止生长曲线。在组生长曲线截止之前从研究中退出的任何动物将从研究中完全除去。

[1476] 7.动物排除

[1477] 具有溃疡肿瘤、必需使动物安乐死、具有700mm^{3}或较小肿瘤体积的任何动物将从研究中除去并且不能进行数据分析(除了如果最终肿瘤体积比处理日高>2.0倍,至复发的

天数之外)。

[1478] 实施例12:抗体药物缀合物在雌性Sprague Dawley大鼠中的耐受性

[1479] IV施用测试品,在第0日单次施用。测试品制剂:无钙或镁的磷酸盐缓冲盐水,pH 7.4。

[1480] 1.程序概述

[1481] 四十三只雌性Sprague Dawley(品系001)大鼠是购自Charles River Labs并且允许在研究开始之前的5天驯化期。在第0日,IV施用测试品。在以下时候收集动物体重和临床观察结果:在注射日的注射前,每天进行持续施用之后至少三天,此后每周三次,直到研究终点(优选每周一、周三及周五),并恰好在安乐死之前。在第22日,通过CO_2对动物施以安乐死并进行尸检。对任何不寻常的观察结果拍照。

[1482] 2.动物圈养

[1483] 将动物圈养在通风笼中,每笼2-3只,使用12小时亮/暗循环。动物无限制地接受食品和水并且动物的圈养和使用是根据加拿大委员会有关动物管理指南进行。每周更换笼子一次。在开始处理之前强制进行至少5天的驯化期。在驯化期期间完成详细的身体检查及体重测定。仅健康动物用于研究。所有动物都通过尾巴上的花纹来鉴别。笼子用具有以下信息的单个卡片标记:方案编号、房号、研究指导者、研究指导者的电话、物种和品系、性别、体重、接收日期及供应商。

[1484] 3.测试品施用

[1485] 单独称重动物并且以所需体积的测试品施用以施用处方剂量。

[1486] 4.静脉内施用

[1487] 通过推注静脉内(IV)注射向大鼠施用溶液。使用<23G针,经由侧尾静脉通过静脉内推注施用给药溶液。根据在注射日前一天收集的个体体重来调整7mL/kg的给药体积。将处理过的大鼠送回其住所笼中并且观察直到看见止血。

[1488] 5.动物的观察和数据收集

[1489] 使用“注射后临床观察记录”来方便急性毒性作用的监测以便评价发病并且有助于确定施用之后长达24小时的人道终点。在施用日的工作日结束时(给药后约6小时),如果动物表现出在它们在无观察的情况下不能放置过夜水平下的临床症状,那么便对动物施以安乐死并视为达到了毒性终点,或定期监测直到它们被认为能安全放置过夜。

[1490] 在施用后24小时后,使用“耐受性监测临床观察记录”就慢性毒性对动物进行监测。根据以下频率/方案监测动物:在注射日的注射前,每天进行持续施用后至少三天,此后每周三次直到研究终点(优选每周一、周三及周五),并恰好在安乐死之前。如果动物表现出显著的发病体征,那么便更经常地监测动物。对达到人道终点的任何动物施以安乐死并且进行尸检以鉴别肝脏、脾脏、肾脏、肺脏、心脏、胃肠道及膀胱中的任何大体异常。

[1491] 来自耐受性研究的结果示于图9和10中。

[1492] 这些数据表明式I的截短化合物(其中X不存在)比其全长对应物(其中X为-C(O)NHCH(CH_2R^3)-)耐受性更好。

[1493] 实施例13.细胞周期停滞测定

[1494] 获得呈指数生长形式的Jurkat细胞(ATCC),其是在补充有10%FBS的RMPI-1640培养基中培养。将1百万个细胞/ml以950μL的体积接种于12孔组织培养物处理的板中。在50μL

生长培养基中用化合物5处理细胞以使得化合物5的最终浓度为50nM,向对照细胞给予单独50μL生长培养基。在湿润的培养箱中在37℃和5％CO_2下孵育细胞24h。孵育之后,将细胞充分地再悬浮并且转移到5mL FACS试管中,并在冰上储存。通过在摇篮式离心机中在450×g下旋转细胞4min进行两次洗涤,再悬浮于1mL冰冷的PBS中。通过在涡流下以逐滴方式添加3mL冰冷的100％乙醇来固定细胞,并且在4℃下立即储存1h。1h孵育期间,在冰冷的PBS中制备以下染色溶液:10μg/ml碘化丙啶、10U/ml RNA酶1f及0.05％Triton X-100。1h固定孵育之后,通过如上所述旋转细胞并在1mL冰冷的PBS中洗涤两次除去乙醇。将细胞再悬浮于500μL上述染色溶液中,并且在室温下孵育1h。在BD C6 HTFC血细胞计数器上获取事件,通过门控除去碎片和二联体。使用FCS Express生成直方图,针对FL-3中的荧光绘制事件数量。

[1495] 来自此测定的代表性数据示于图11中。DNA含量直方图示出了在G0/G1相中的大部分未处理的细胞在用化合物5处理之后具有向细胞周期的G2/M相的明显转变。

[1496] 在本说明书中提及的所有美国专利、美国专利申请公布、美国专利申请、外国专利、外国专利申请及非专利出版物以引用的方式并入本文,其引用的整体程度与本描述并非不一致。由以上应理解,虽然本文所述的具体实施方案出于说明目的而在本文得以描述,但可在不背离本文所述的精神及范围的情况下作出各种修改。因此,本公开不被所附权利要求以外的内容限制。

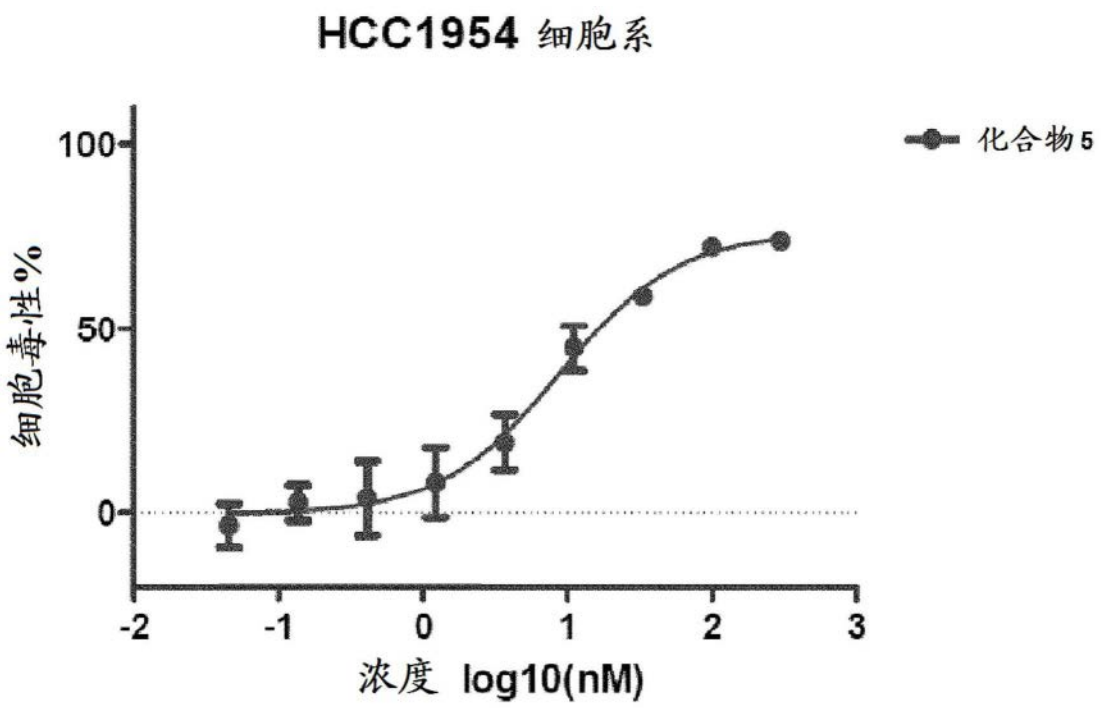

HCC1954 细胞系
化合物 5
100
50
0
细胞毒性%
-2
-1
0
1
2
3
浓度 log10(nM)

图1

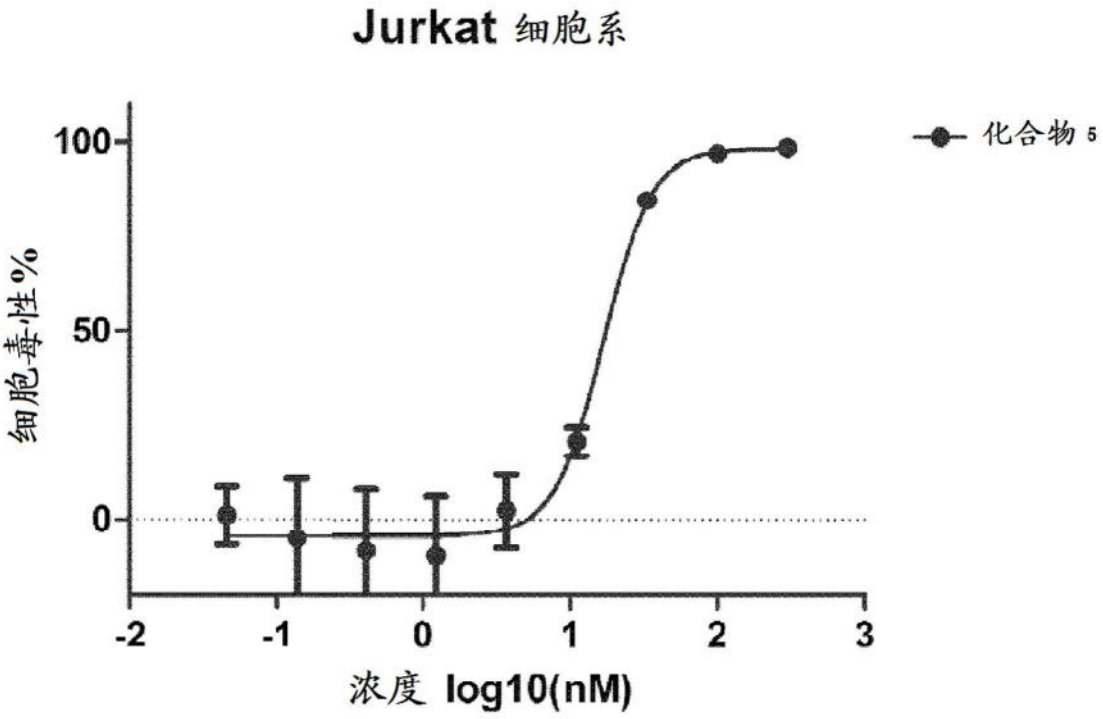

Jurkat 细胞系
化合物 5
100
50
0
细胞毒性%
-2
-1
0
1
2
3
浓度 log10(nM)

图2

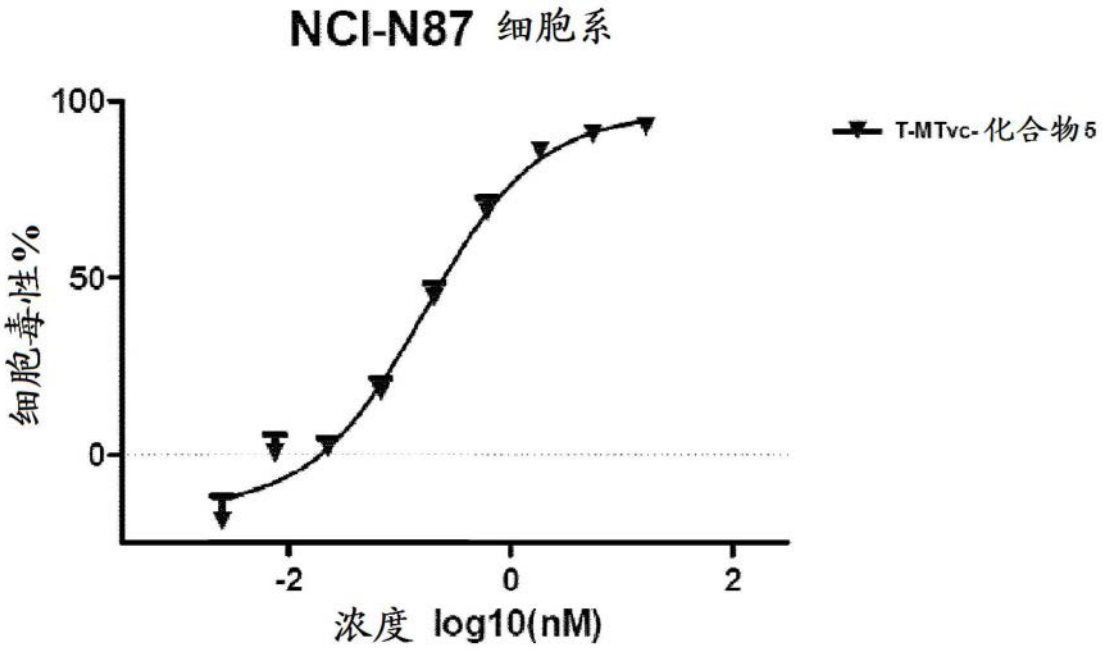

NCI-N87 细胞系
100
50
0
细胞毒性%
-2
0
2
浓度 log10(nM)
T-MTvc-化合物5

图3

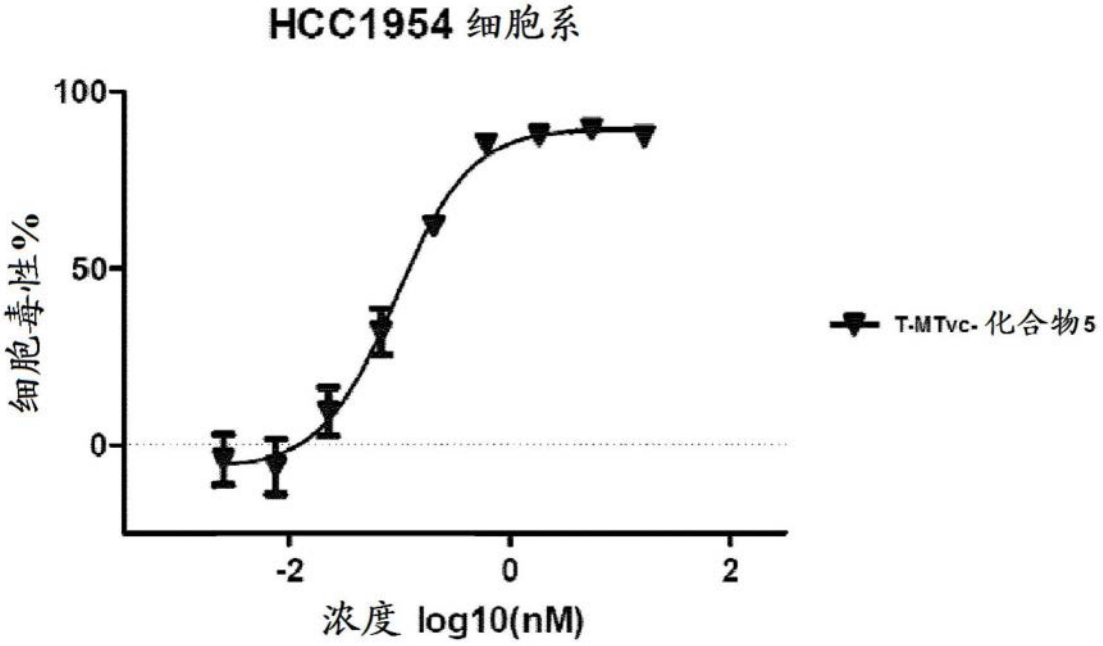

HCC1954 细胞系
100
50
0
细胞毒性%
-2
0
2
浓度 log10(nM)
T-MTvc-化合物5

图4

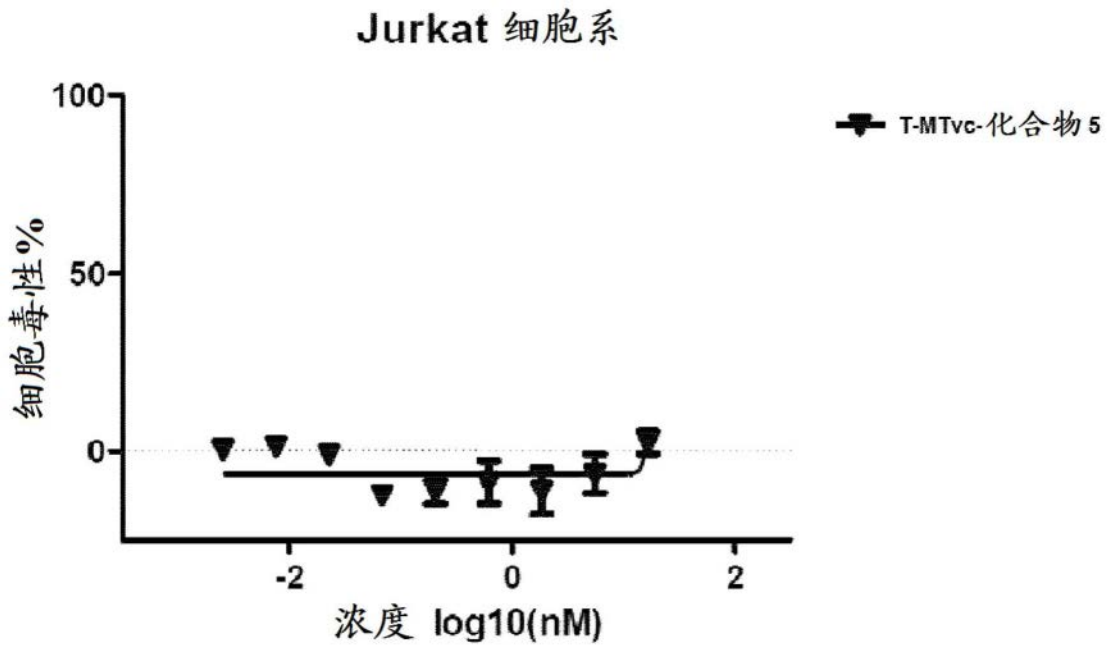

Jurkat 细胞系
T-MTvc-化合物 5
细胞毒性%
100
50
0
-2
0
2
浓度 log10(nM)

图5

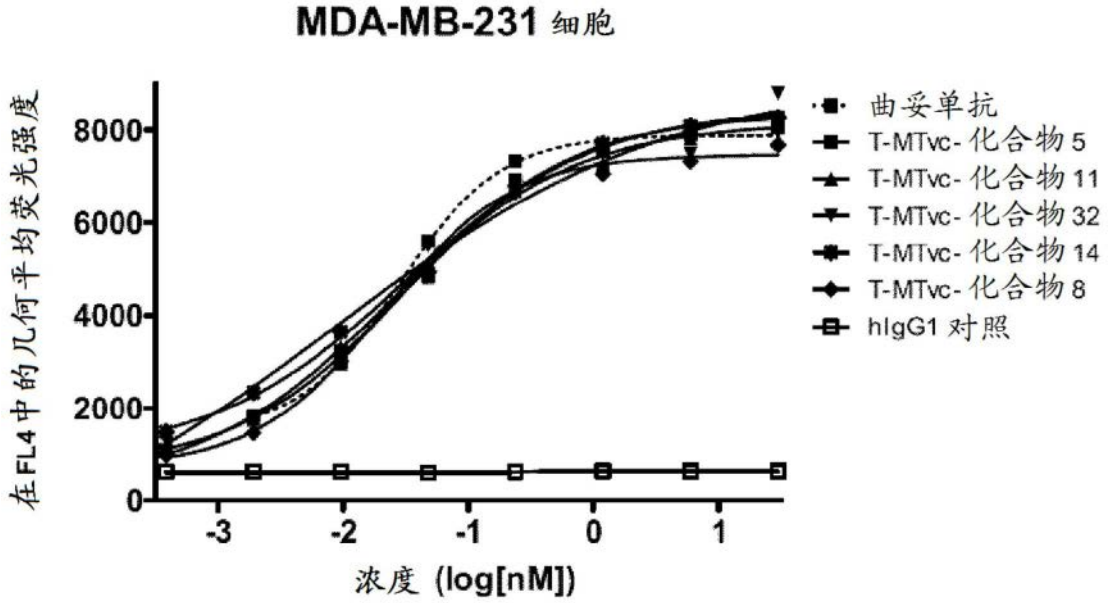

MDA-MB-231 细胞
在FL4中的几何平均荧光强度
8000
6000
4000
2000
0
-3
-2
-1
0
1
浓度 (log[nM])
曲妥单抗
T-MTvc- 化合物 5
T-MTvc- 化合物 11
T-MTvc- 化合物 32
T-MTvc- 化合物 14
T-MTvc- 化合物 8
hIgG1 对照

图6

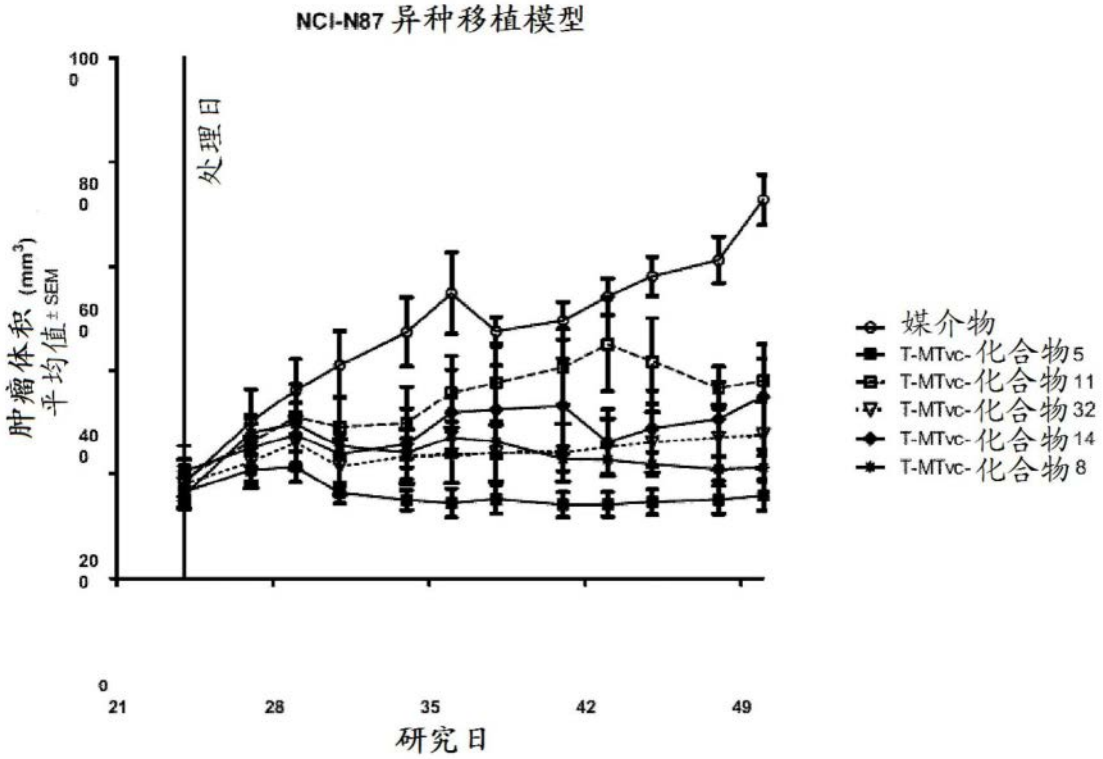

NCI-N87 异种移植模型
处理日
肿瘤体积 (mm³)
平均值 ± SEM
媒介物
T-MTvc-化合物5
T-MTvc-化合物11
T-MTvc-化合物32
T-MTvc-化合物14
T-MTvc-化合物8
研究日

图7

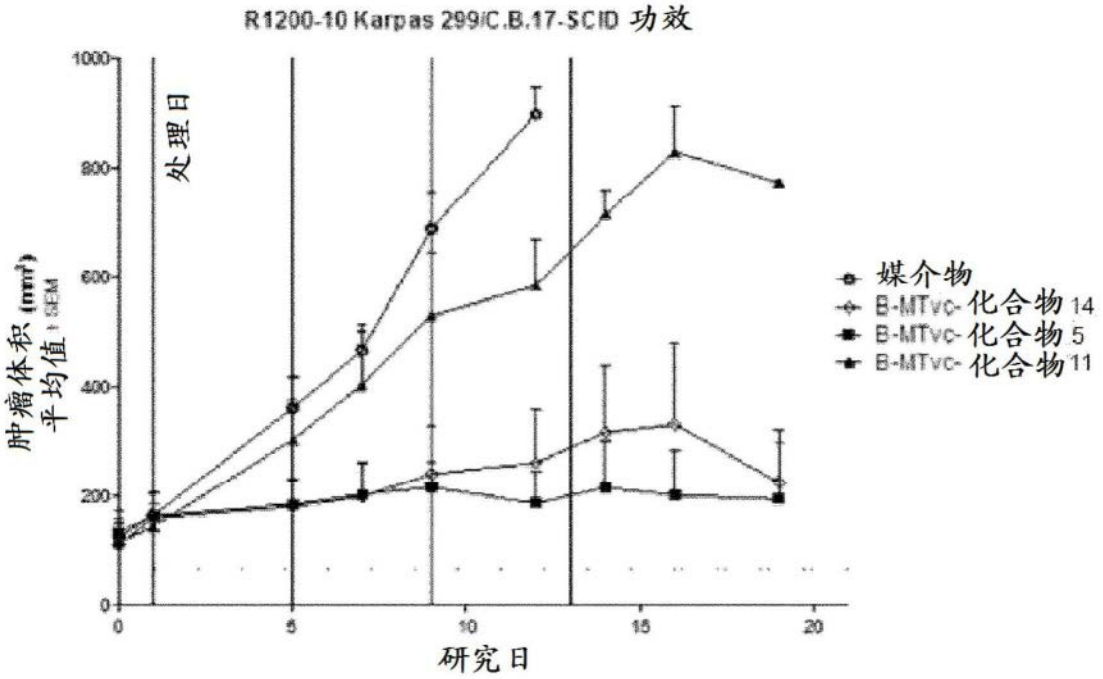

R1200-10 Karpas 299/C.B.17-SCID 功效
处理日
肿瘤体积 (mm³)
平均值 ± SEM
媒介物
B-MTvc-化合物14
B-MTvc-化合物5
B-MTvc-化合物11
研究日

图8

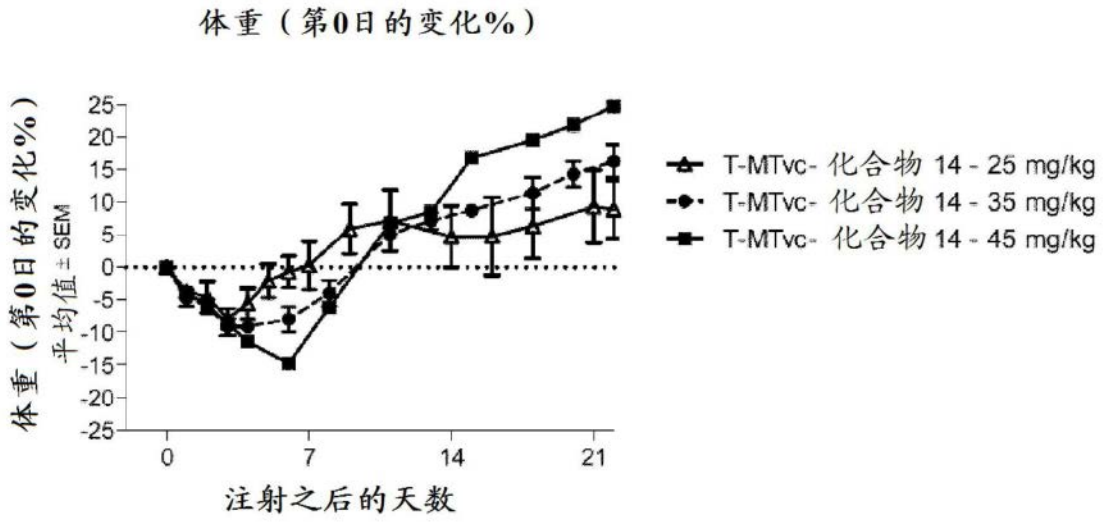

体重（第0日的变化%）
体重（第0日的变化%）
平均值 ± SEM
25
20
15
10
5
0
-5
-10
-15
-20
-25
0
7
14
21
注射之后的天数
T-MTvc- 化合物 14 - 25 mg/kg
T-MTvc- 化合物 14 - 35 mg/kg
T-MTvc- 化合物 14 - 45 mg/kg

图9

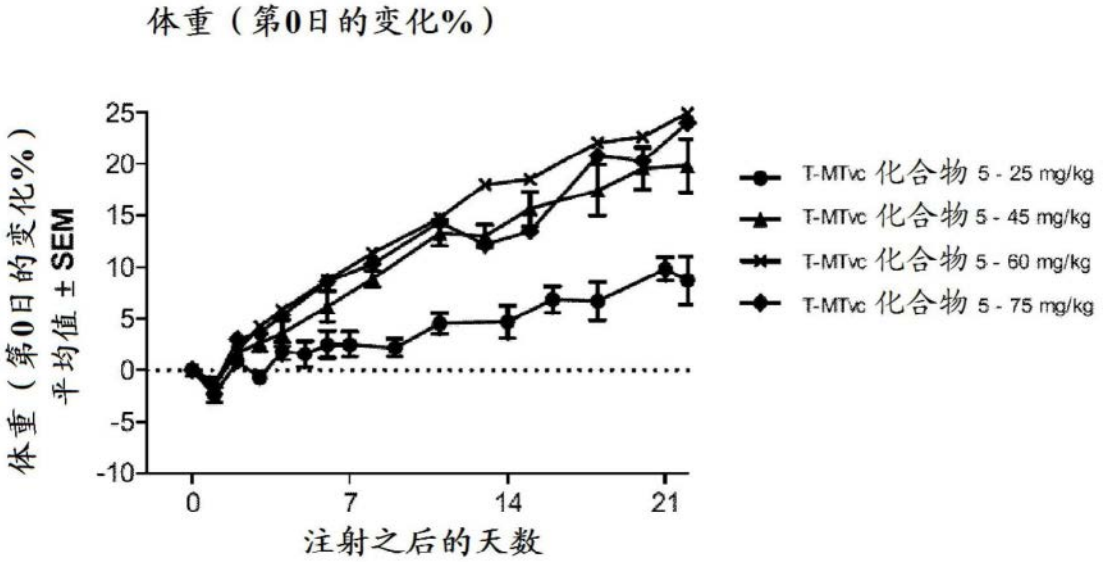

体重（第0日的变化%）
体重（第0日的变化%）
平均值 ± SEM
25
20
15
10
5
0
-5
-10
0
7
14
21
注射之后的天数
T-MTvc 化合物 5 - 25 mg/kg
T-MTvc 化合物 5 - 45 mg/kg
T-MTvc 化合物 5 - 60 mg/kg
T-MTvc 化合物 5 - 75 mg/kg

图10

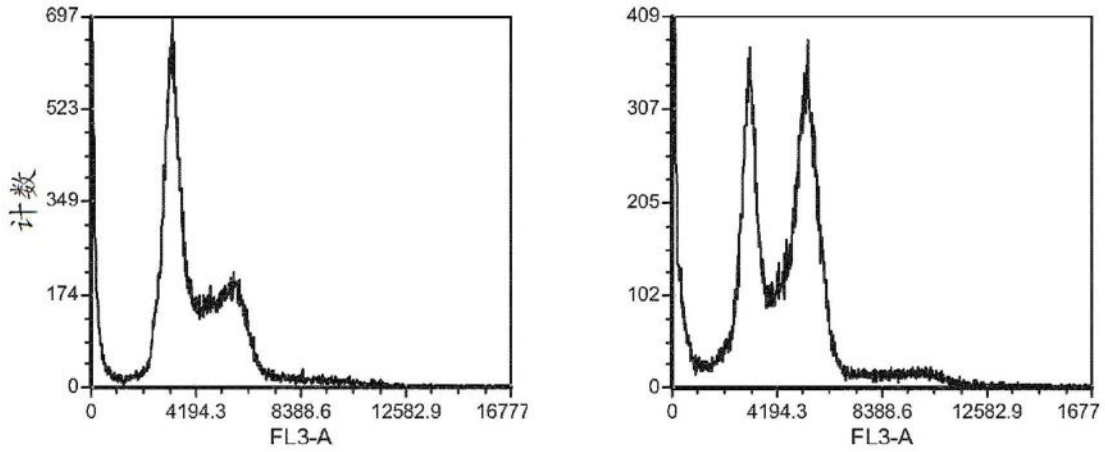

计数
697
523
349
174
0
0
4194.3
8388.6
12582.9
16777
FL3-A
409
307
205
102
0
0
4194.3
8388.6
12582.9
1677
FL3-A

图11