(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 113929707 A
(43)申请公布日 2022.01.14

(21)申请号 202111233924.2

(22)申请日 2019.10.30

(30)优先权数据
62/753,605 2018.10.31 US

(62)分案原申请数据
201980071111.2 2019.10.30

(71)申请人 尹图赛利有限公司
地址 韩国大田市

(72)发明人 朴泰教 禹成昊 金璇暎 朴秀浩 赵钟云 丁头焕 徐东动 李在镐 李相光 尹尚铉 李享俶 朴沃龟 徐范硕 金世娜 薛旻娥

(74)专利代理机构 北京嘉和天工知识产权代理事务所(普通合伙) 11269
代理人 缪策 甘玲

(51)Int.Cl.
C07D 519/00(2006.01)
C07D 471/14(2006.01)
C07D 493/14(2006.01)
C07D 495/14(2006.01)
A61K 31/5517(2006.01)
A61K 31/5513(2006.01)
A61K 47/68(2017.01)
A61P 29/00(2006.01)
A61P 31/00(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)

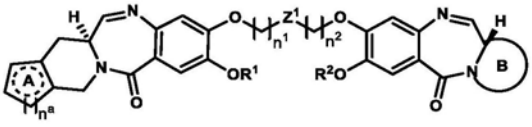
权利要求书14页 说明书130页 附图4页

(54)发明名称

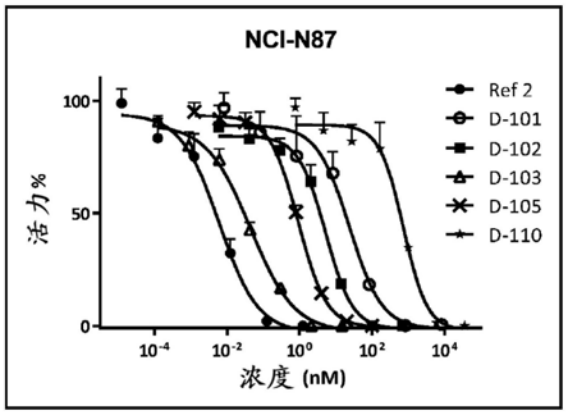
稠合杂环苯并二氮杂䓬衍生物及其用途

(57)摘要

本发明涉及稠合杂环苯并二氮杂䓬衍生物及其用途。本发明提供了一种具有式(I)的结构的化合物、包含所述化合物的缀合物和药物组合物及其使用方法。本发明提供的化合物、缀合物、药物组合物可用在于哺乳动物中抑制异常细胞生长或治疗增殖性病症，也可用于治疗哺乳动物的病症诸如癌症、类风湿性关节炎、多发性硬化、移植物抗宿主病(GVHD)、移植排斥、狼疮、肌炎、感染、诸如AIDS的免疫缺陷和炎性疾病，从而延长寿命。

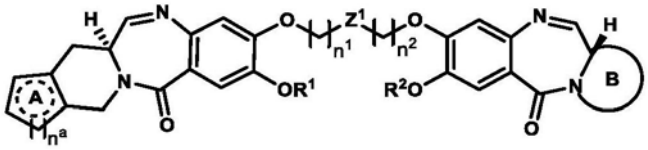


(I)



CN 113929707 A

1.一种具有式(I)的结构的化合物：



(I)

或其药学上可接受的盐，

其中：

环A为杂环、芳基或杂芳基环；

环B为杂环，优选为5元或6元环，任选地与一个或更多个芳基或杂芳基环稠合或被一个或更多个芳基或杂芳基环取代；

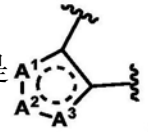
R^1和R^2各自独立地是烷基基团；

Z^1是亚甲基或连接基团；

n^a是值为1或2的整数；并且

n^1和n^2各自独立地是值为1至5的整数。

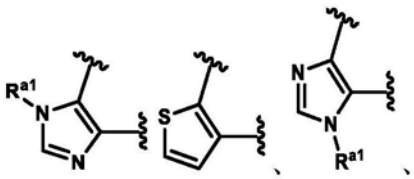
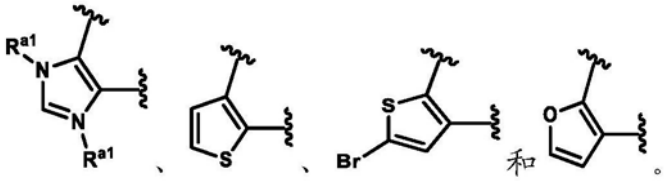
2.如权利要求1所述的化合物，其中环A是杂芳基环。

3.如权利要求1所述的化合物，其中环A是，其中：

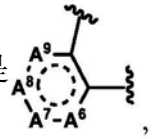
A^1、A^2和A^3各自独立地是NR^{a1}、CR^{a2}、O、N或S；

R^{a1}是H、烷基、卤素、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基；并且

R^{a2}是H或烷基，优选为低级烷基。

4.如权利要求3所述的化合物，其中环A选自、和。

5.如权利要求3所述的化合物，其中R^{a1}是C_1-C_4烷基。

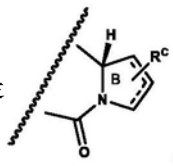
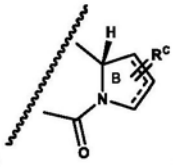
6.如权利要求1所述的化合物，其中环A是，其中：

A^6、A^7、A^8和A^9各自独立地是CR^{a3}或N；并且

R^{a3}是H、烷基、卤素、硝基、羟基、腈基、氰基、烷氧基、氨基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基，

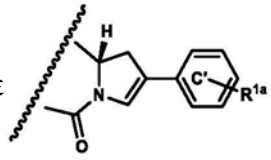
前提是A^6、A^7、A^8和A^9中不超过两个为N。

7.如权利要求1所述的化合物，其中环B是5元或6元杂环，并且任选地被选自烷基、亚烷基、芳基或杂芳基的一个或更多个R^C基团取代。

8.如权利要求7所述的化合物，其中环B是或，

虚线表示任选存在的双键；并且

每个R^C独立地选自H、OH、烷基、亚烷基、卤素、氨基、氰基或芳基。

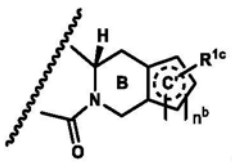
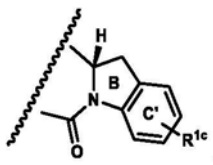
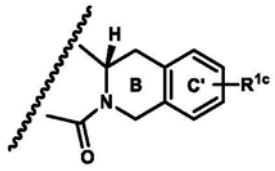
9.如权利要求8所述的化合物，其中环B是，

环C’任选地被1至4个独立地选自R^{1a}的取代基取代；并且

每个R^{1a}独立地选自H、OH、SH、烷基硫醇、$-CH_2N(CH_3)_2$、烷氧基、烷基、亚烷基、卤素、氨基、氰基、芳基或烷基。

10.如权利要求1所述的化合物，其中环B是5元或6元杂环，并与环C’稠合，所述环C’选自芳基或杂芳基环，优选5元或6元芳基或杂芳基环。

11.如权利要求10所述的化合物，其中环B和环C一起形成以下结构：

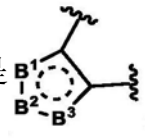
、、，

环C’是任选被1-4个独立地选自R^{1c}的取代基取代的芳基或杂芳基；

每个R^{1c}独立地选自OH、SH、烷基硫醇或$-CH_2N(CH_3)_2$、烷氧基、烷基、卤素、氨基或氰基；并且

n^b是值为1或2的整数。

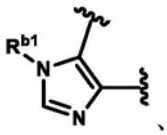
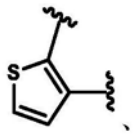
12.如权利要求7所述的化合物，其中：

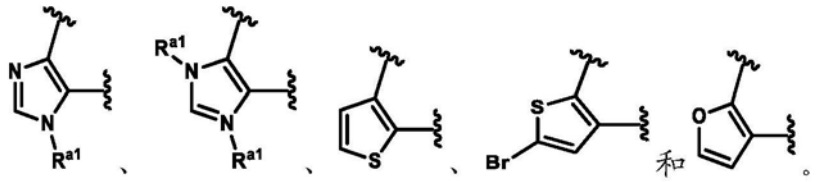
环C是；

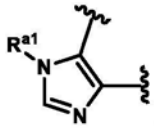
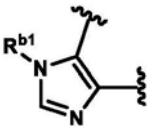
B^1、B^2和B^3各自独立地是NR^{a1}、CR^{a2}、O、N或S；

R^{b1}是H、烷基、卤素、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基；并且

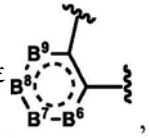
R^{b2}是不存在的、是H或是烷基。

13.如权利要求12所述的化合物，其中环C’选自、、



14.如权利要求13所述的化合物,其中环A选自,并且环C'选自。

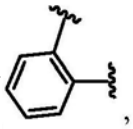
15.如权利要求12所述的化合物,其中R^{b1}是C_1-C_4烷基。

16.如权利要求7所述的化合物,其中环C'是,其中:

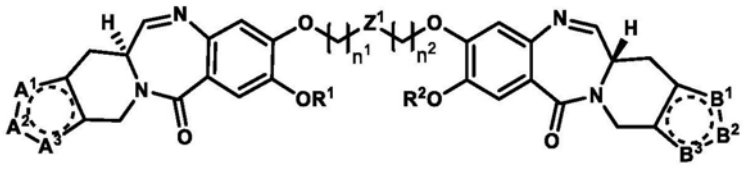
B^6、B^7、B^8和B^9各自独立地是CR^{b3}或N;并且

R^{b3}是H、烷基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基,

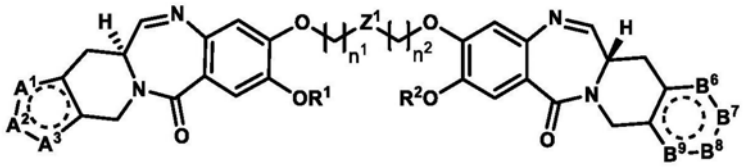
前提是B^6、B^7、B^8和B^9中不超过两个为N。

17.如权利要求1所述的化合物,其中环A或环C'中的一个是,并且环A或环C'中的另一个是杂芳基。

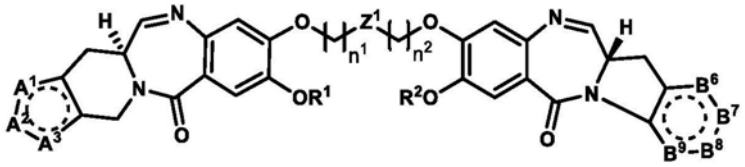
18.如权利要求1所述的化合物,所述化合物具有式(Ia)、(Ib-1)、(1b-2)、(1b-3)、(1c-1)、(1c-2)或(1c-3)的结构:



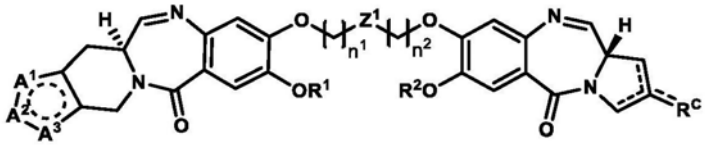
(Ia)



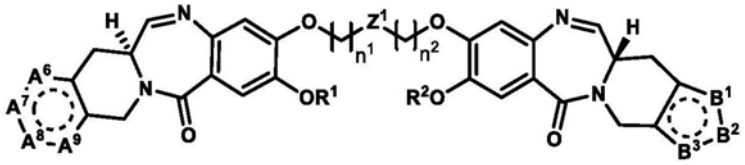
(Ib-1)



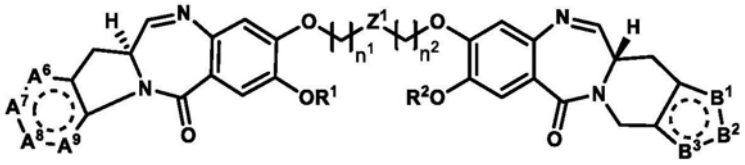
(Ib-2)



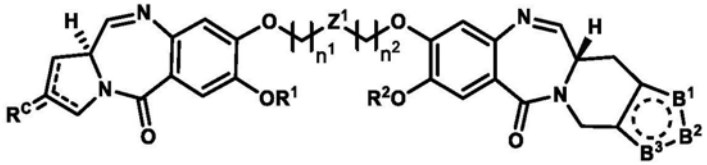
(Ib-3)



(Ic-1)



(Ic-2)

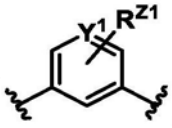


(Ic-3),

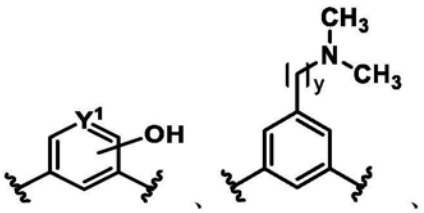
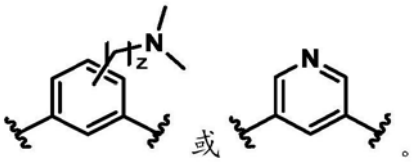
或是其药学上可接受的盐。

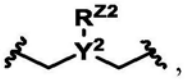
19.如权利要求1所述的化合物,其中R^1和R^2相同。

20.如权利要求1所述的化合物,其中Z^1是亚甲基。

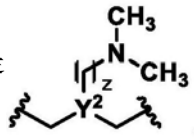
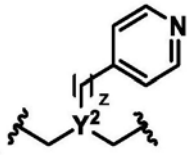
21.如权利要求1所述的化合物,其中Z^1是,其中:

Y^1是CR^{Y1}或N;
R^{Y1}是H或烷基,优选低级烷基;
R^{Z1}是不存在的、是羟基、是氨基、是酰氨基或是$(CH_2)_zR^{Z1a}$;
R^{Z1a}是氨基(优选叔氨基)、芳基或杂芳基;并且
z是值为1至约10的整数。

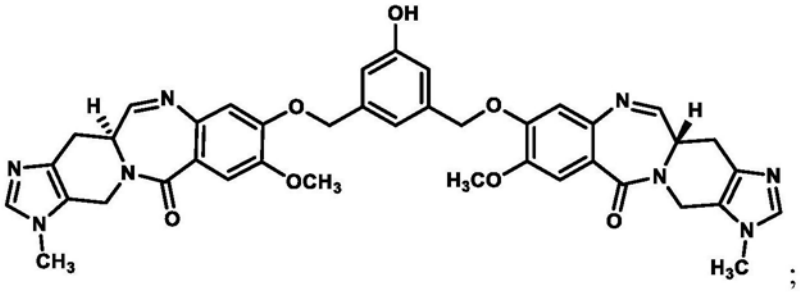
22.如权利要求21所述的化合物,其中Z^1是、或。

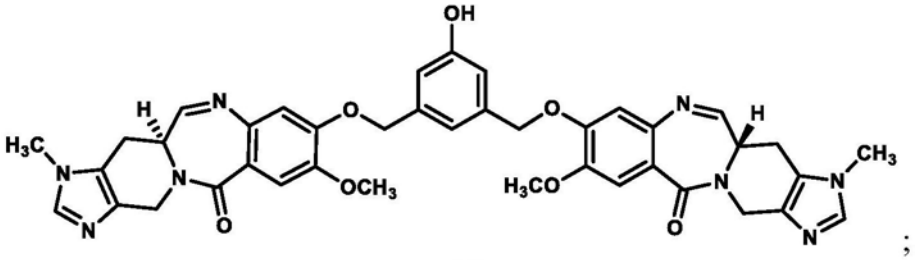
23.如权利要求1所述的化合物,其中Z^1是,其中:

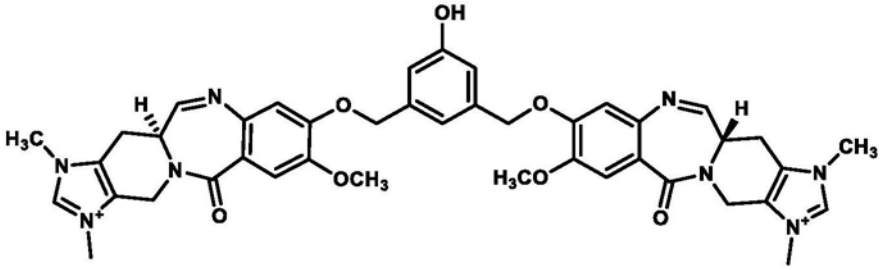
Y^2是CR^{Y2}或N;
R^{Y2}是H或烷基,优选低级烷基;
R^{Z2}是$(CH_2)_zR^{Z2a}$;
R^{Z2a}是氨基(优选叔氨基)、芳基或杂芳基;并且
z是值为0至约10的整数。

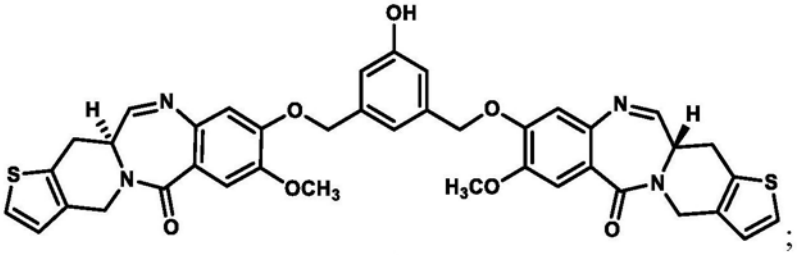
24.如权利要求23所述的化合物,其中Z是或。

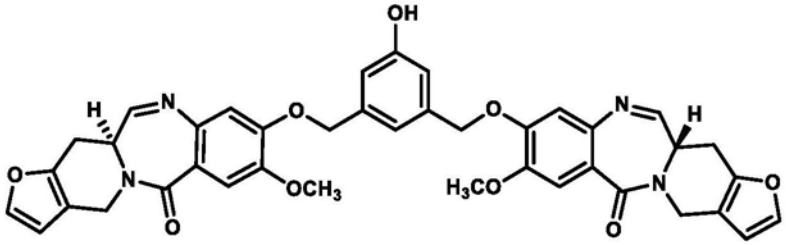
25.如权利要求1所述的化合物,其中所述化合物选自:

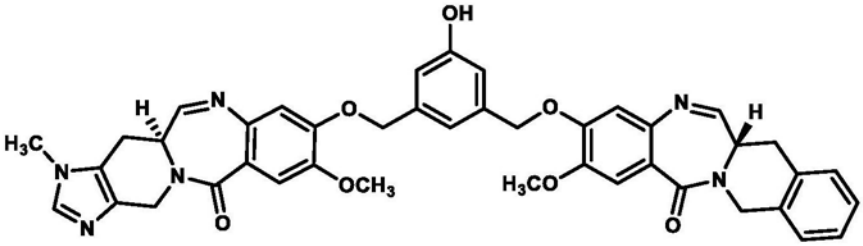

;

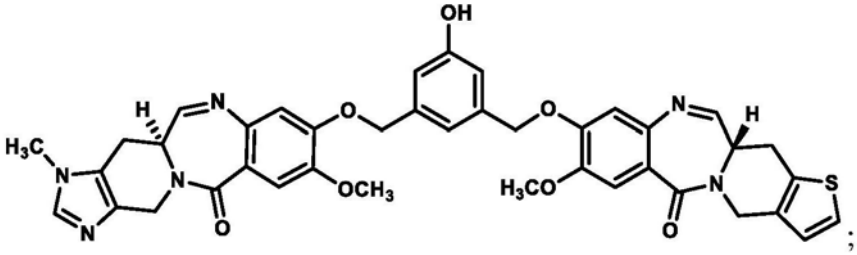

;

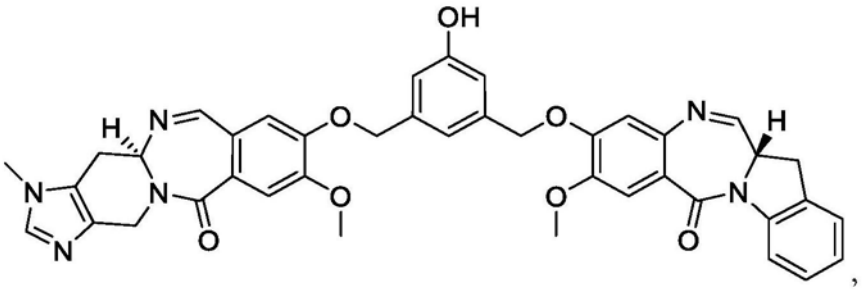

;


;



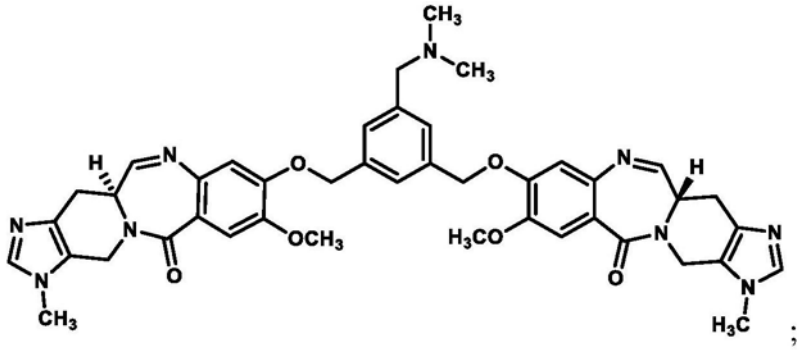


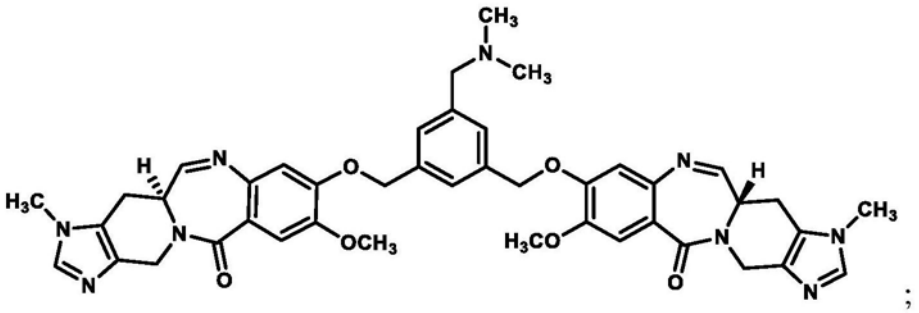

或者
;

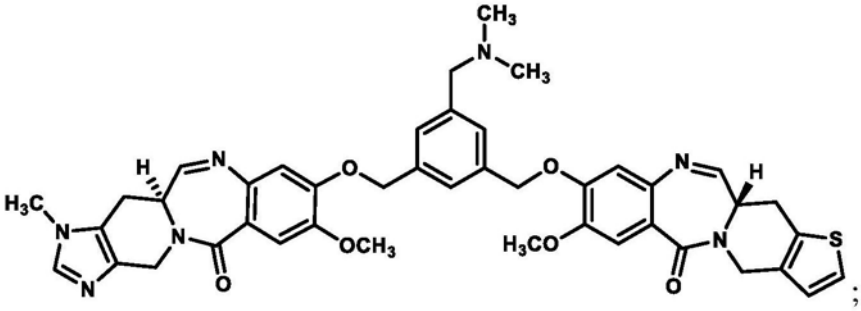


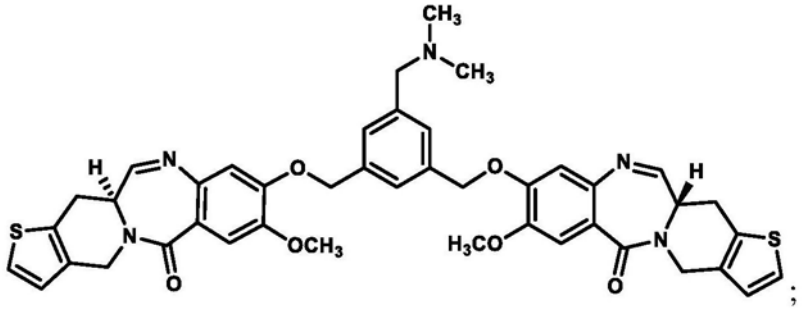
或是其药学上可接受的盐。

26.如权利要求1所述的化合物,其中所述化合物选自:

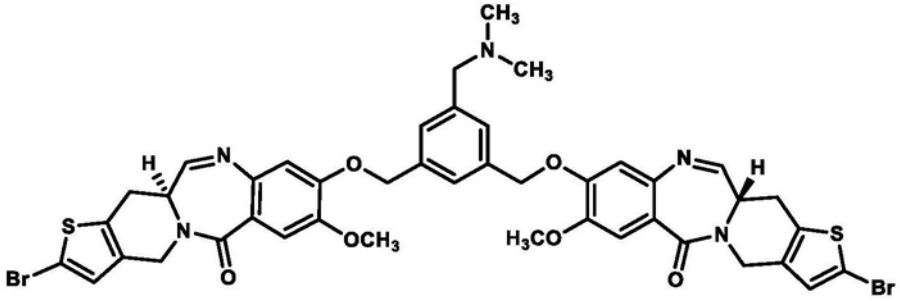


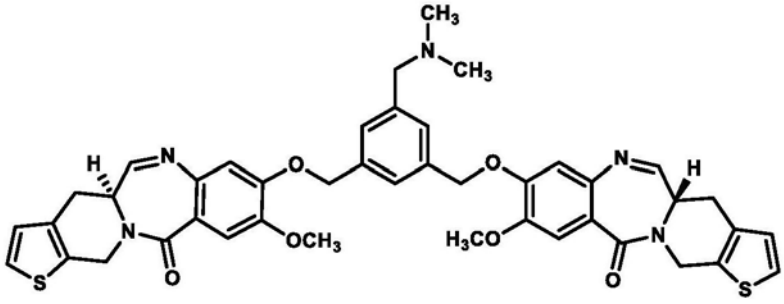


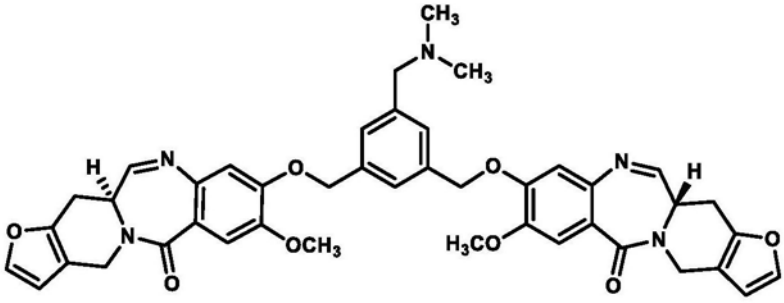


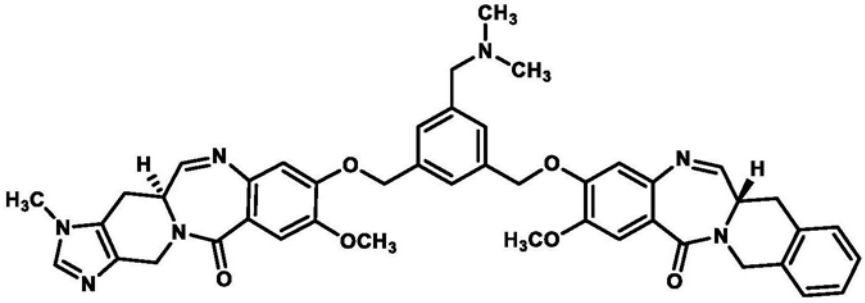


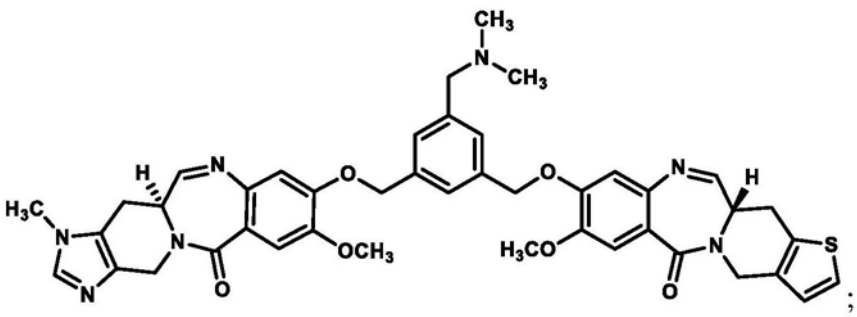
;





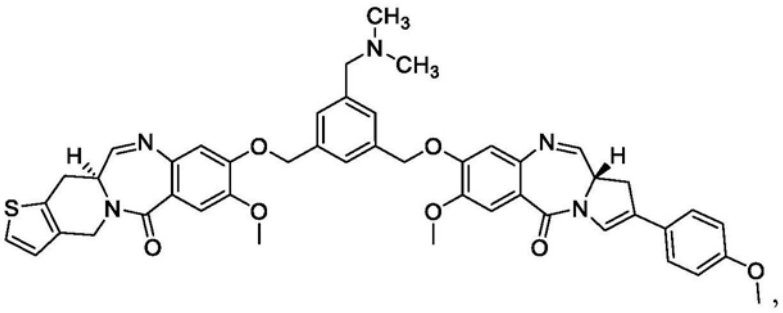






;

或者

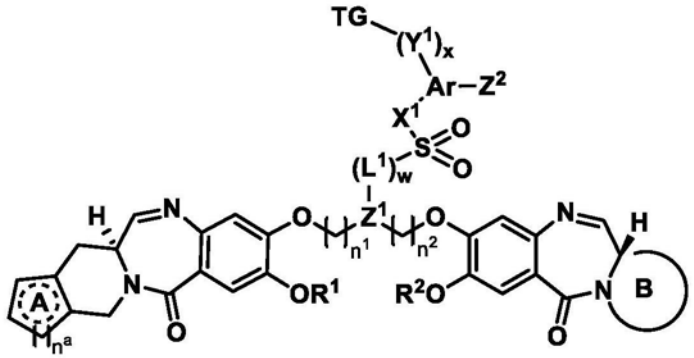


或是其药学上可接受的盐。

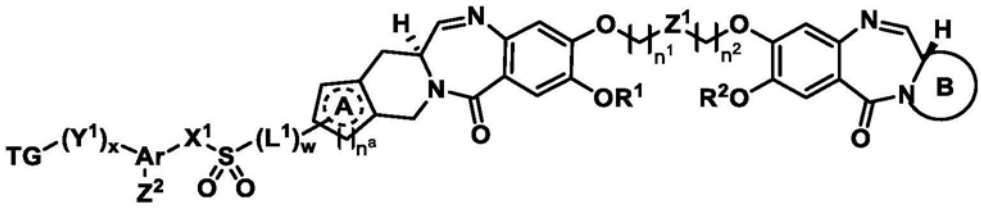
27.一种缀合物，所述缀合物包括权利要求1至26中任一项所述的化合物、可裂解的接头和靶向剂，其中所述可裂解的接头将所述化合物可裂解地连接至所述靶向剂。

28.如权利要求27所述的缀合物，所述缀合物还包括靶向部分(例如，寡肽、多肽、抗体等)，所述靶向部分对预期靶标受体或与靶标细胞相关的其它分子具有结合特异性。

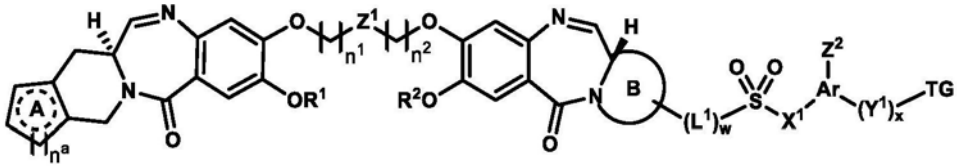
29.如权利要求27所述的缀合物，所述缀合物具有式(II)、(IIa)或(IIb)的结构：



(II)



(IIa)



(IIb)

或是其药学上可接受的盐，

其中：

环A是杂环、芳基或杂芳基环；

环B是杂环，优选为5元或6元环，任选地与一个或更多个芳基或杂芳基环稠合或被一个或更多个芳基或杂芳基环取代；

R^1和R^2各自独立地是烷基基团；

Z^1是亚甲基或连接基团；

n^a是值为1或2的整数；

n^1和n^2各自独立地是值为1至5的整数；

Z^2是不存在的或是连接基团；

L^1是经由选自O、S和N，优选O或N的杂原子附接至SO_2的连接基团，并且被选择为使得L^1与SO_2之间的键的裂解促进L^1与Z^1之间的键裂解以释放活性剂；

X^1是-O-、-CR^a_2-或-NR'-，优选是-O-；

Ar表示环，诸如芳基、杂芳基、环烷基或杂环烷基，优选为芳基或杂芳基；

Y^1是-$(CR^b_2)_yN(R^a)$-、-$(CR^b_2)_yO$-或-$(CR^b_2)_yS$-，被定位为使得如果y为1，则N、O或S原子附接至TG；其中X^1和Y^1被定位在Ar的相邻原子上；

TG是触发基团，当所述触发基团被活化时产生N、O或S原子，能够与SO_2反应以置换Z并且形成包含X-SO_2和Ar的居间原子的5至6元环；

w和x各自独立地是值为0或1的整数；

每个R^a和R^c独立地是氢或低级烷基；并且

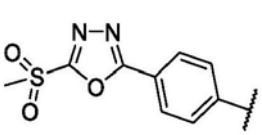
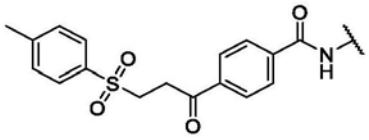
每个R^b独立地是氢或低级烷基；或者

两个R^b与它们所附接的碳原子一起形成3至5元环，优选3至4元环。

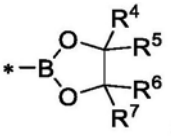
30.如权利要求29所述的缀合物，其中X^1是-O-。

31.如权利要求29所述的缀合物，其中Ar是芳基。

32.如权利要求29所述的缀合物，其中Z^2是包括一个或更多个选自以下的基团的连接基团：异氰化物、异硫氰化物、2-吡啶基二硫化物、卤代乙酰胺(-NHC(O)CH_2-卤代)、马来酰亚胺、二烯、烯烃、卤素、甲苯磺酸根(TsO-)、醛、磺酸根(R-SO_3^-)、


、

、膦酸(-P(=O)$(OH)_2$)、酮、C_8-C_{10}环炔基、-OH、-NHOH、-$NHNH_2$、-SH、羧酸(-COOH)、乙炔(-C≡CH)、叠氮化物(-N_3)、氨基(-NH_2)、磺酸(-SO_3H)、炔酮衍生物(-C(O)C≡C-R^a)和磷酸二氢根(-OP(=O)$(OH)_2$)。

33.如权利要求29所述的缀合物，其中x是0。

34.如权利要求29所述的缀合物，其中TG是-NO_2、-OC(O)$(CH_2)_rC(O)R^1$、-$NHNH_2$、-BR^2R^3、-C(O)-$(CH_2)_2C(O)$-烷基、硝基苄基或，其中：

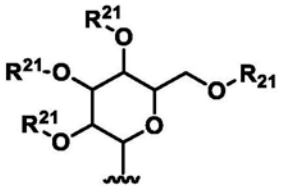
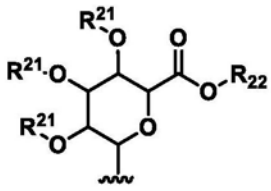
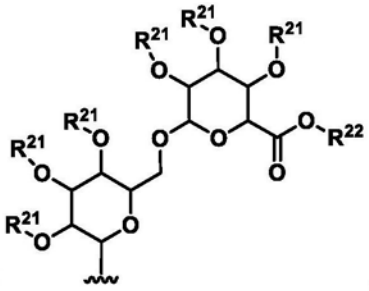
R^1是C_1-C_6烷基；

R^2和R^3各自独立地是氢、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷氧基或羟基；

R^4、R^5、R^6和R^7各自独立地是氢或C_1-C_6烷基；并且

r是值为1、2、3、4或5的整数。

35.如权利要求29所述的缀合物，其中TG选自：


；

和

，

其中：

每个R^{21}独立地是氢或乙酰基；并且

R^{22}是氢或低级烷基。

36.一种具有式(III)的结构的缀合物，：

$(D\text{-}L)_{d1}\text{-}LG\text{-}(CB)_{cb}$

(III)

或其药学上可接受的盐，

其中：

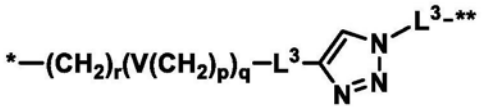
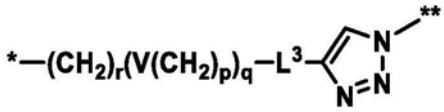
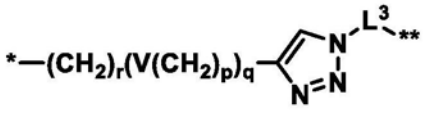
LG是连接基团

CB是细胞结合剂；

cb和d1各自独立地是值为1至约20，优选从1至约10的整数；并且

每个D-L独立地是具有权利要求1至22或29至35中任一项所述的化合物的结构的基团。

37.如权利要求36所述的缀合物，其中LG是：


；

或

，

其中：

*表示与$(D\text{-}L)_{d1}$的附接点；

**表示与CB的附接点；

每个V独立地是单键、-O-、-S-、$-NR^{21}-$、$-C(O)NR^{22}-$、$-NR^{23}C(O)-$、$-NR^{24}SO_2-$或$-SO_2NR^{25}-$；

R^{21}、R^{22}、R^{23}、R^{24}和R^{25}各自独立地是氢、$(C_1\text{-}C_6)$烷基、$(C_1\text{-}C_6)$烷基$(C_6\text{-}C_{20})$芳基或$(C_1\text{-}C_6)$烷基$(C_3\text{-}C_{20})$杂芳基；

r是值为1至约10的整数；

p是值为0至约10的整数；

q是值为1至约10的整数；并且

L^3是单键。

38.如权利要求36所述的缀合物，其中LG包括在线性链中通过共价键彼此连接的$(CH_2)_b$、L^c、$(P^1)_a$、W^{a1}、W^{a2}、W^{a3}、Y^3和Y^4基团，其中：

W^{a1}、W^{a2}和W^{a3}各自独立地是-NH-、$-C(O)-$或$-CH_2-$；

W^{b1}是酰胺键或亚三唑基；

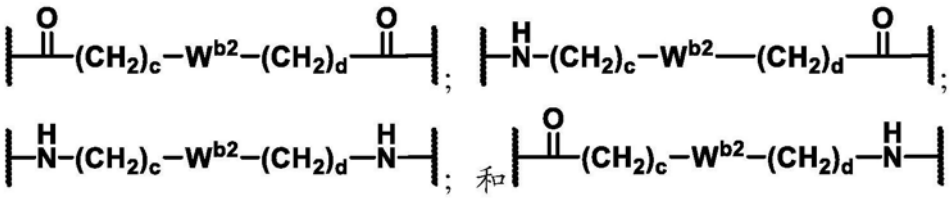
P^1是酰胺键、氨基酸残基、或肽；

L^c是亚烷基；

Y^1是$-(CH_2)_q-(CH_2CH_2X^4)_o-$或$-(CH_2)_q-(X^4CH_2CH_2X^3)_o-$；

X^4是-O-、-S-、-NH-或$-CH_2-$；

Y^2是单键或选自以下的基团：



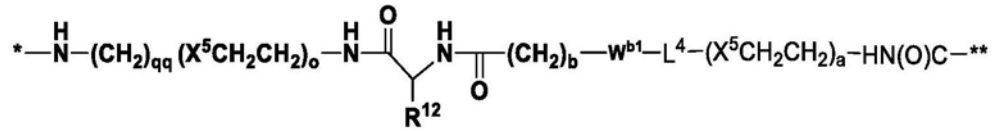
W^{b2}是酰胺键或亚三唑基；

a是0至10；

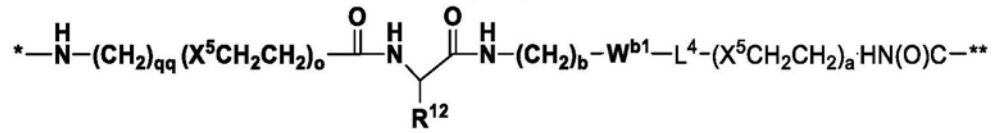
b、c和d各自独立地是值为1至约10的整数；并且

o和q各自独立地是值为1至约10的整数。

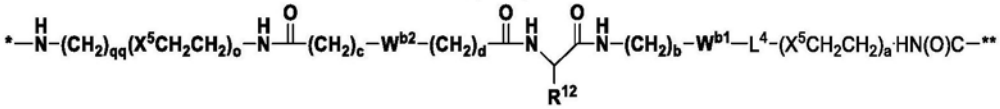
39.如权利要求36所述的缀合物，其中LG是式(IIIb)、(IIIc)、(IIId)、(IIIe)、(IIIf)、(IIIg)、(IIIh)或(IIIj)的连接基团：



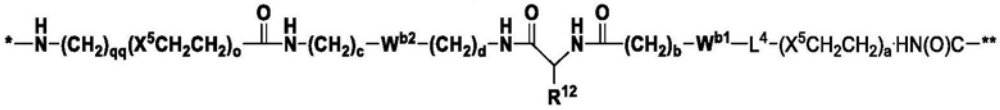
(IIIb)



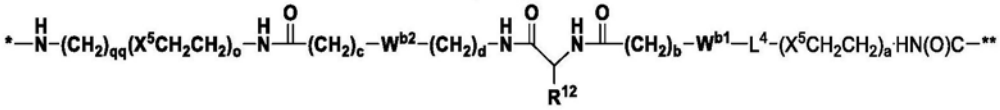
(IIIc)



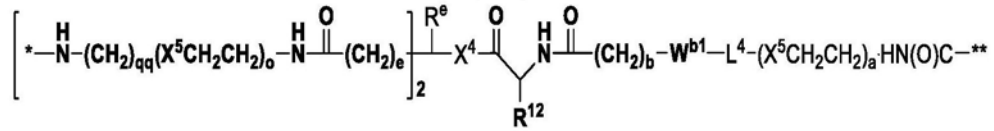
(IIId)



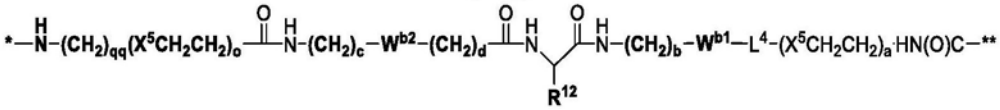
(IIIe)



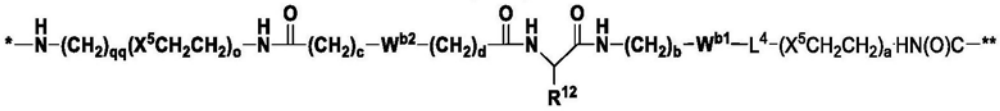
(IIIf)



(IIIg)



(IIIh)



(IIIj)

其中：

R^e为烷基；

X^5为-O-、-S-、-NH-或-CH_2-；

W^{b1}和W^{b2}各自独立地是-C(O)NH-、-NHC(O)-、或；

R^{12}是氢、烷基、氨基酸侧链、-$(CH_2)_s$C(O)R^{13}或-$(CH_2)_p$$NR^{14}R^{15}$；

R^{13}是OH或-NH$(CH_2)_{s'}(X^4CH_2CH_2)_{s''}Z''$-$(CB)_m$；

R^{14}和R^{15}各自独立地是氢或-C(O)$(CH_2)_{s'}(X'''CH_2CH_2)_{s''}Z''$-$(CB)_m$；

s和s”各自独立地是值为0至约10的整数；

m是值为0或1的整数；

X^4和X^5各自独立地是-O-、-S-、-NH-或-CH_2-;并且

b、c、d、e、g、h、o和q各自独立地是值为1至约10的整数。

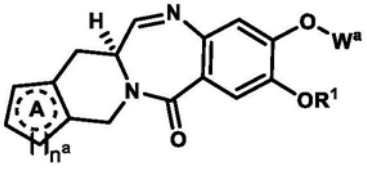
40.如权利要求36所述的缀合物,其中所述细胞结合剂与选自以下的靶标细胞结合:肿瘤细胞、病毒感染细胞、微生物细胞、活化细胞、髓样细胞、活化T细胞、B细胞或黑素细胞;表达CD4、CD6、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、EpCAm、CanAg、CALLA或Her-2抗原的细胞;Her-3抗原或表达胰岛素生长因子受体、表皮生长因子受体和叶酸受体的细胞。

41.如权利要求40所述的缀合物,其中所述细胞结合剂是与所述靶标细胞特异性结合的抗体、单链抗体、抗体片段、特异性结合所述靶标细胞的单克隆抗体、单链单克隆抗体或单克隆抗体片段、与所述靶标细胞特异性结合的嵌合抗体、嵌合抗体片段、与所述靶标细胞特异性结合的结构域抗体、结构域抗体片段、淋巴因子、激素、维生素、生长因子、集落刺激因子或营养转运分子。

42.一种药物组合物,所述药物组合物包括权利要求1至35中任一项所述的化合物或权利要求36-41中任一项所述的缀合物,或其药学上可接受的盐,以及药学上可接受的载体。

43.权利要求1至35中任一项所述的化合物、权利要求36至41中任一项所述的缀合物或权利要求42所述的药物组合物用于制造用于治疗或预防疾病或病症的药物中的应用,其中所述疾病或病症是癌症、感染、免疫缺陷、自身免疫性疾病或慢性炎性病症。

44.一种具有式(IV)的结构的化合物:



(IV)

或其药学上可接受的盐,

其中:

环A是杂环、芳基或杂芳基环;

R^1是烷基;

W^a是H或苄基;并且

n^a是1或2。

稠合杂环苯并二氮杂䓬衍生物及其用途

[0001] 本申请是2019年10月30日递交的PCT国际申请PCT/IB2019/001175于2021年04月27日进入中国国家阶段的中国专利申请号为201980071111.2、发明名称为“稠合杂环苯并二氮杂䓬衍生物及其用途”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请

[0003] 本申请要求2018年10月31日提交的美国临时申请号62/753,605的权益，其内容通过引用完全并入本文。

技术领域

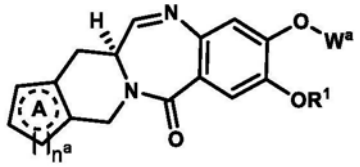
[0004] 本申请涉及一种稠合杂环苯并二氮杂䓬衍生物及其用途。

背景技术

[0005] 抗体-药物缀合物(ADC)正作为对一系列癌症具有功效的一类强大的抗肿瘤剂而兴起。ADC通常包括三个不同的特征：细胞结合剂或靶向部分；接头；和细胞毒性剂。ADC的接头组分是开发靶向抗癌剂的重要特征，所述靶向抗癌剂具有希望的靶标特异性，即，在肿瘤细胞中具有高活性，但在健康细胞中具有低活性。靶向部分与细胞毒性剂的组合使用也改变了此类细胞毒性剂所需特征的演算，细胞毒性剂如果未靶向，则可能损害健康组织。因此，需要可用于制备ADC的改进的接头和细胞毒性剂。

发明内容

[0006] 在某些方面，本文提供了化合物，其具有式(IV)的结构：

[0007] 

(IV)

[0008] 或其药学上可接受的盐，

[0009] 其中：

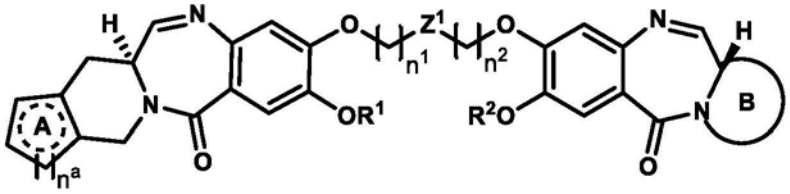
[0010] 环A是杂环、芳基或杂芳基环；

[0011] R^1是烷基，优选为低级烷基；

[0012] W^a是H或苄基；并且

[0013] n^a是值为1或2的整数。

[0014] 在某些方面，本文提供了化合物，其具有式(I)的结构：

[0015] 

(I)

[0016] 或其药学上可接受的盐，

[0017] 其中：

[0018] 环A是杂环、芳基或杂芳基环；

[0019] 环B是杂环，优选为5元或6元环，任选地与一个或更多个芳基或杂芳基环稠合或被一个或更多个芳基或杂芳基环取代；

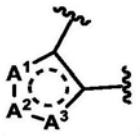
[0020] R^1和R^2各自独立地是烷基，优选为低级烷基；

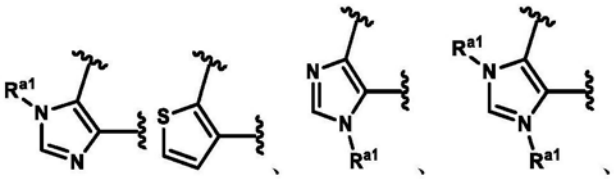
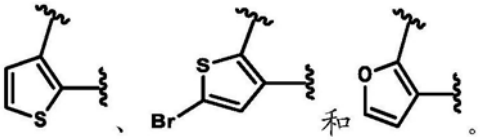
[0021] Z^1是亚甲基或连接基团，其可进一步与可裂解的接头和靶向剂缀合；

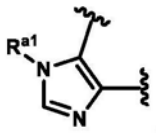
[0022] n^a是值为1或2的整数；并且

[0023] n^1和n^2各自独立地为1、2、3、4或5。

[0024] 在某些实施方案中，环A是杂芳基环。

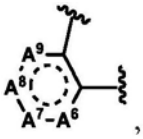
[0025] 在某些实施方案中，环A是，其中：A^1、A^2和A^3各自独立地是NR^{a1}、CR^{a2}、O、N或S；R^{a1}是H、烷基、卤素、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基；并且R^{a2}是H或烷基，优选为低级烷基。

[0026] 在某些实施方案中，环A选自、和。

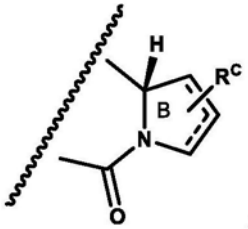
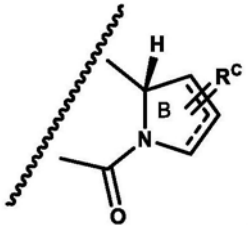
[0027] 在某些实施方案中，环A选自。

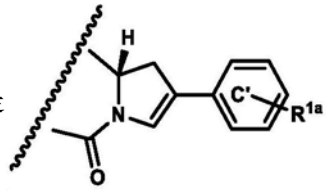
[0028] 在某些实施方案中，R^{a1}是C_1-C_4烷基。

[0029] 在某些实施方案中，R^{a1}是甲基。

[0030] 在某些实施方案中，环A是，其中：A^6、A^7、A^8和A^9各自独立地是CR^{a3}或N；并且R^{a3}是H、烷基、卤素、硝基、羟基、腈基、氰基、烷氧基、氨基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基，前提是A^6、A^7、A^8和A^9中不超过两个为N。

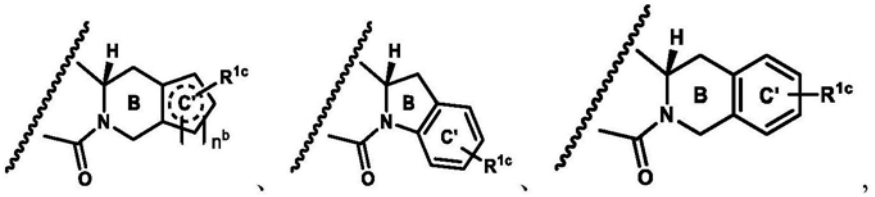
[0031] 在某些实施方案中，环B是5元或6元杂环，并且任选地被选自烷基、亚烷基、芳基或杂芳基的一个或更多个R^C基团取代。

[0032] 在某些实施方案中，环B是或，虚线表示任选存在的双键；并且每个R^C独立地选自H、OH、烷基、亚烷基、卤素、氨基、氰基或芳基。

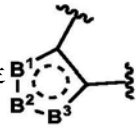
[0033] 在某些实施方案中，环B是，环C'任选地被1至4个独立地选自R^{1a}的取代基取代；并且每个R^{1a}独立地选自H、OH、SH、烷基硫醇、$-CH_2N(CH_3)_2$、烷氧基、烷基、亚烷基、卤素、氨基、氰基、芳基或烷基。

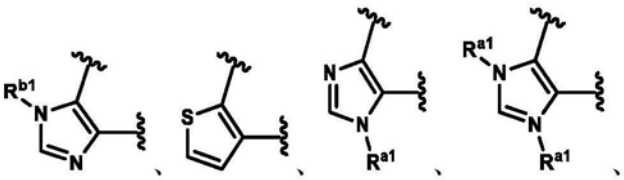
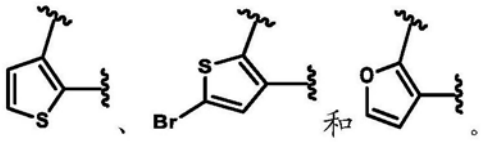
[0034] 在某些实施方案中，环B是5元或6元杂环，并与环C'稠合，所述环C'选自芳基或杂芳基环，优选5元或6元芳基或杂芳基环。

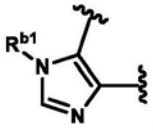
[0035] 在某些实施方案中，环B和环C一起形成以下结构：

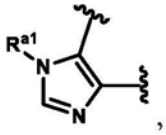
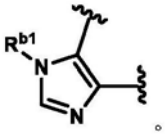
[0036] 

[0037] 环C'是任选被1-4个独立地选自R^{1c}的取代基取代的芳基或杂芳基；每个R^{1c}独立地选自OH、SH、烷基硫醇或$-CH_2N(CH_3)_2$、烷氧基、烷基、卤素、氨基或氰基；并且n^b是值为1或2的整数。

[0038] 在某些实施方案中，环C是；B^1、B^2和B^3各自独立地是NR^{a1}、CR^{a2}、O、N或S；R^{b1}是H、烷基、卤素、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基；并且R^{b2}是不存在的、是H或是烷基。

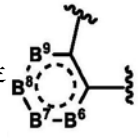
[0039] 在某些实施方案中，环C'选自、和。

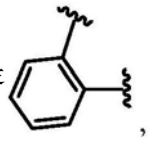
[0040] 在某些实施方案中，环C’选自 。

[0041] 在某些实施方案中，环A选自 ，并且环C’选自 。

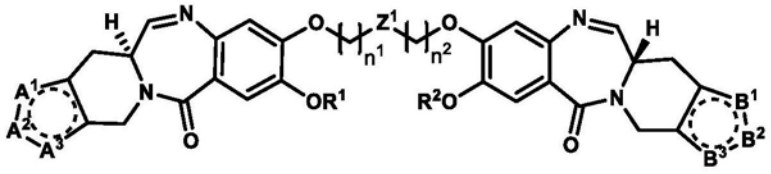
[0042] 在某些实施方案中，R^{b1}是C_1-C_4烷基。

[0043] 在某些实施方案中，R^{b1}是甲基。

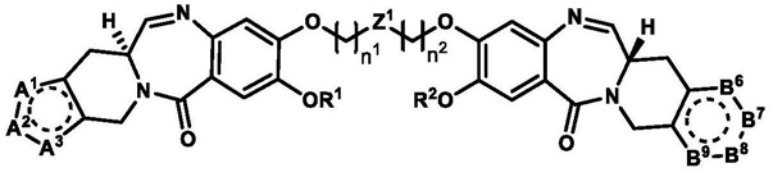
[0044] 在某些实施方案中，环C’是 ，其中：B^6、B^7、B^8和B^9各自独立地是CR^{b3}或N；并且R^{b3}是H、烷基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基，前提是B^6、B^7、B^8和B^9中不超过两个为N。

[0045] 在某些实施方案中，环A或环C’中的一个是 ，并且环A或环C’中的另一个是杂芳基。

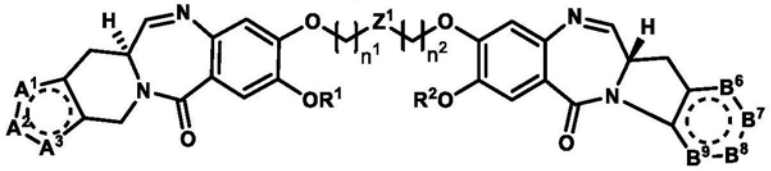
[0046] 在某些实施方案中，化合物具有式(Ia)、(Ib-1)、(1b-2)、(1b-3)、(1c-1)、(1c-2)或(1c-3)的结构：



(Ia)

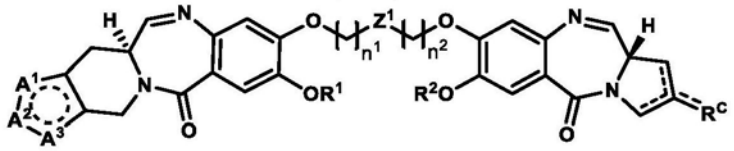


(Ib-1)

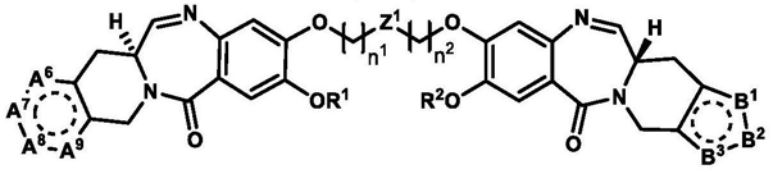


(Ib-2)

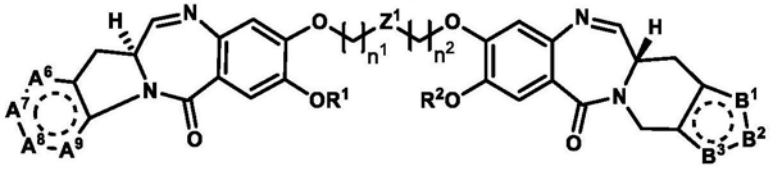
[0047]



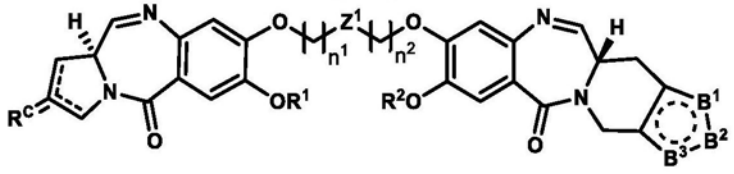
(Ib-3)



(Ic-1)



(Ic-2)



(Ic-3),

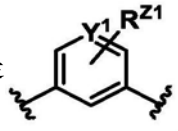
[0048] 或是其药学上可接受的盐。

[0049] 在某些实施方案中，R^1和R^2相同。

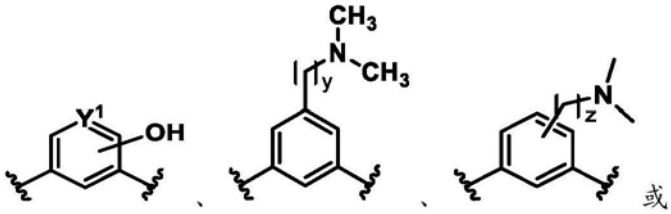
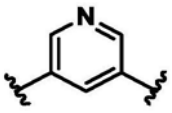
[0050] 在某些实施方案中，R^1和R^2是C_1-C_4烷基。

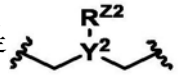
[0051] 在某些实施方案中，R^1和R^2是甲基。

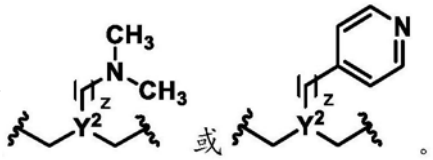
[0052] 在某些实施方案中，Z^1是亚甲基。

[0053] 在某些实施方案中，Z^1是，其中：Y^1是CR^{Y1}或N；

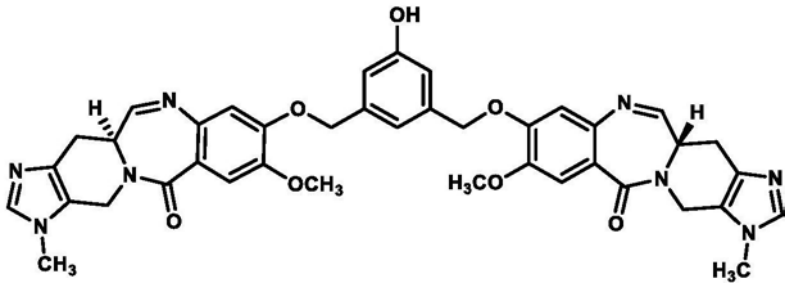
[0054] R^{Y1}是H或烷基，优选低级烷基；R^{Z1}是不存在的、是羟基、是氨基、是酰氨基或是$(CH_2)_zR^{Z1a}$；R^{Z1a}是氨基(优选叔氨基)、芳基或杂芳基；并且z是值为1至约10的整数。

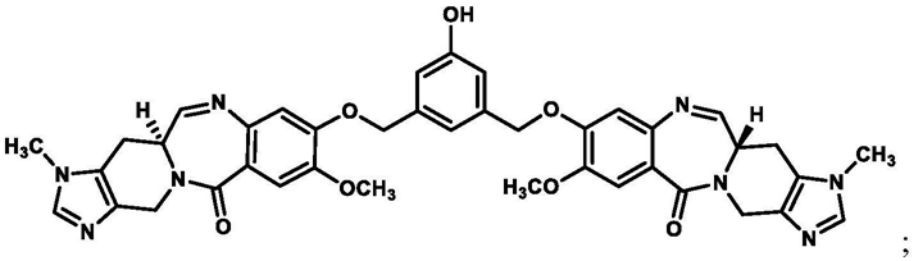
[0055] 在某些实施方案中，Z^1是、、或。

[0056] 在某些实施方案中，Z^1是，其中：Y^2是CR^{Y2}或N；R^{Y2}是H或烷基，优选低级烷基；R^{Z2}是$(CH_2)_zR^{Z2a}$；R^{Z2a}是氨基(优选叔氨基)、芳基或杂芳基；并且z是值为0至约10的整数。

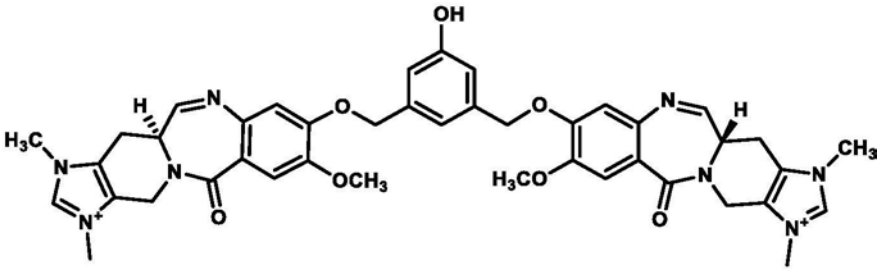
[0057] 在某些实施方案中，Z是。

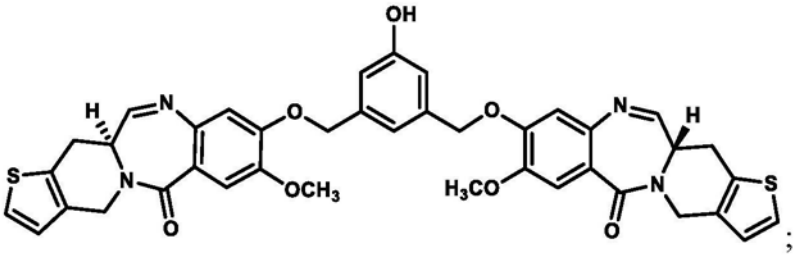
[0058] 在某些实施方案中，化合物选自：

[0059] 

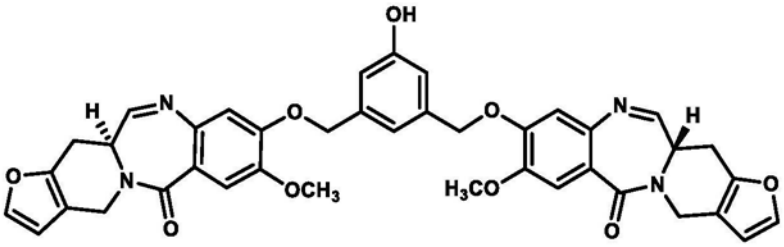


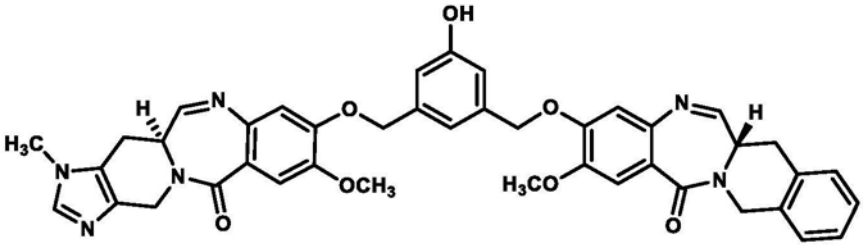
;

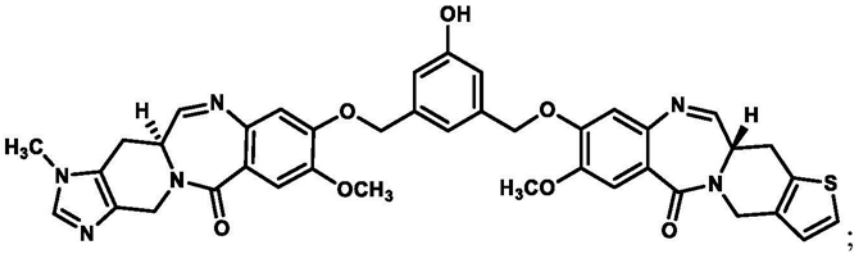




[0060] ; 或者

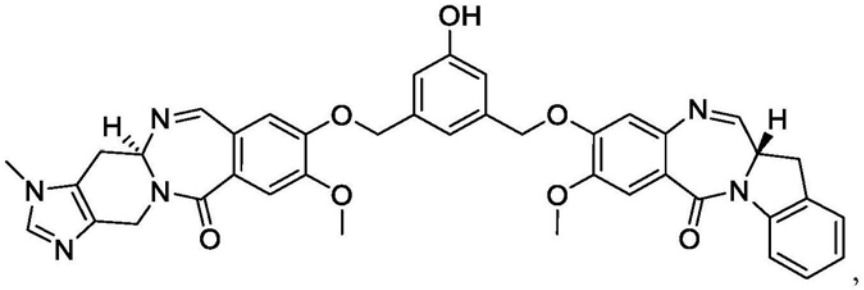






;

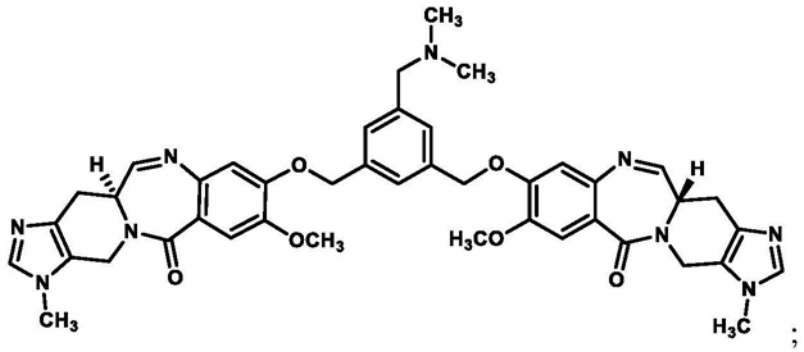
[0061]



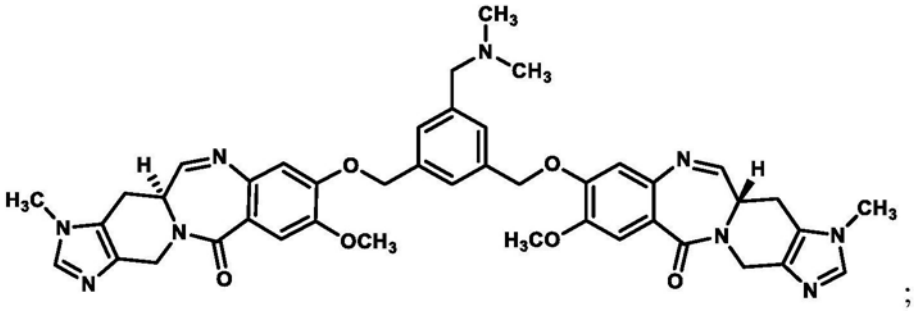
,

[0062] 或是其药学上可接受的盐。

[0063] 在某些实施方案中,化合物选自:

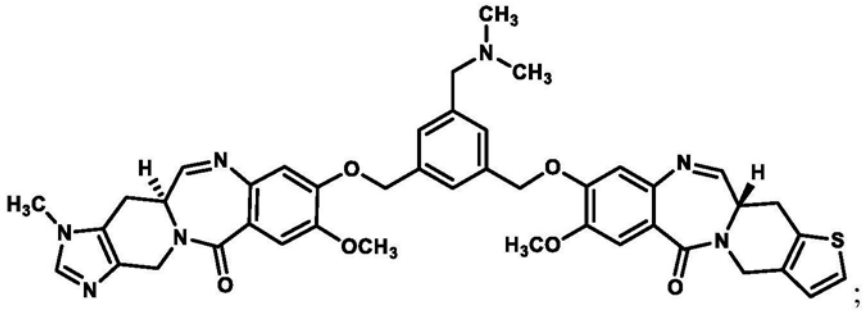


;

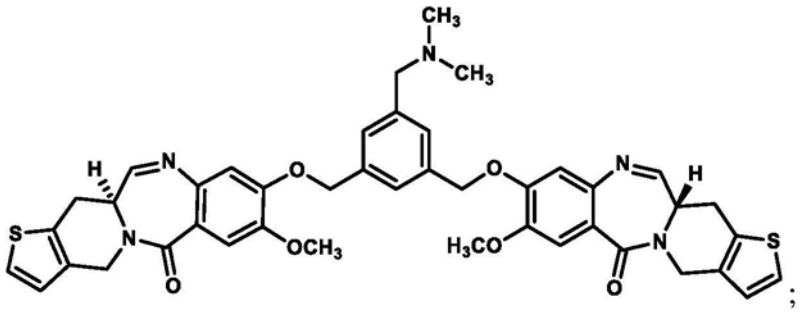


;

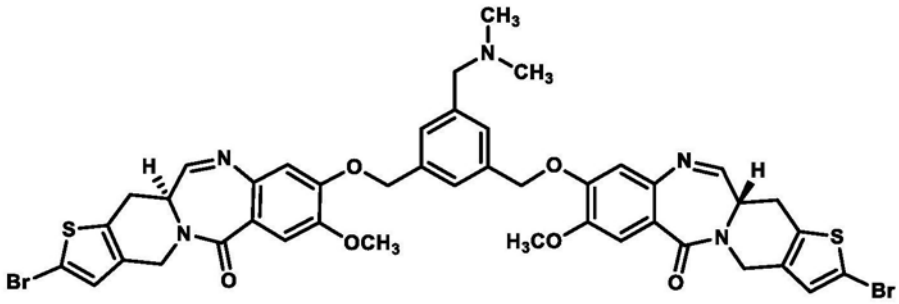
[0064]

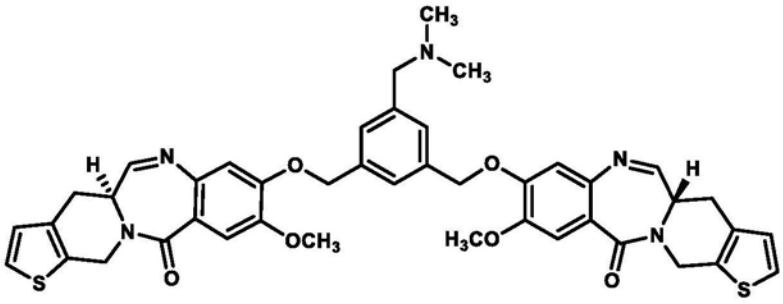


;

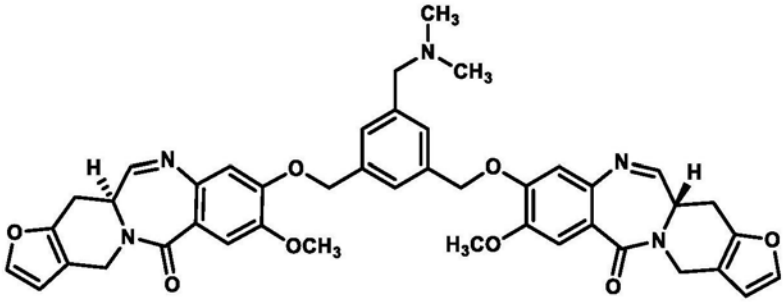


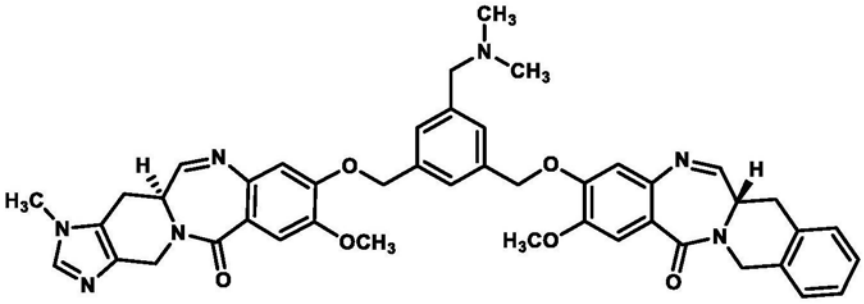
;



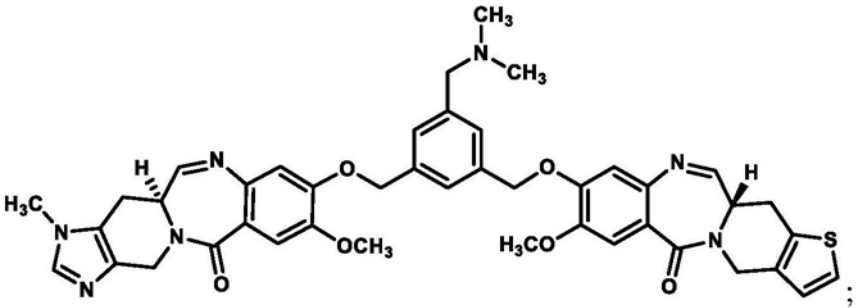


[0065]



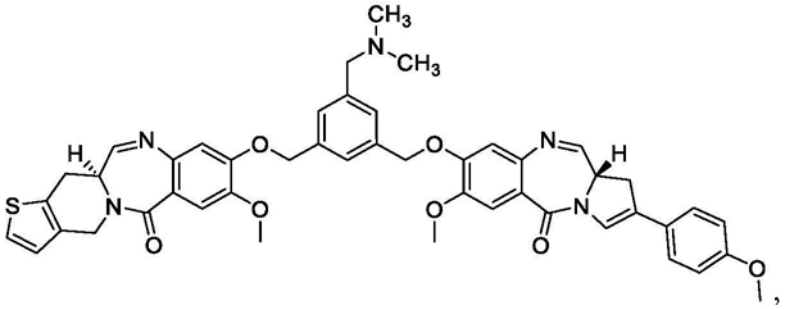


[0066]



或者；

[0067]



，

[0068] 或是其药学上可接受的盐。

[0069] 在某些方面，本发明提供一种缀合物，该缀合物包括上述化合物、可裂解的接头和靶向剂，其中所述可裂解的接头将所述化合物可裂解地连接至所述靶向剂。

[0070] 在某些方面，本文提供了包含式(I)的化合物的缀合物，其中连接基团是可裂解的接头，其将化合物可裂解地连接到靶向剂。在优选实施方案中，靶向剂是细胞结合剂。

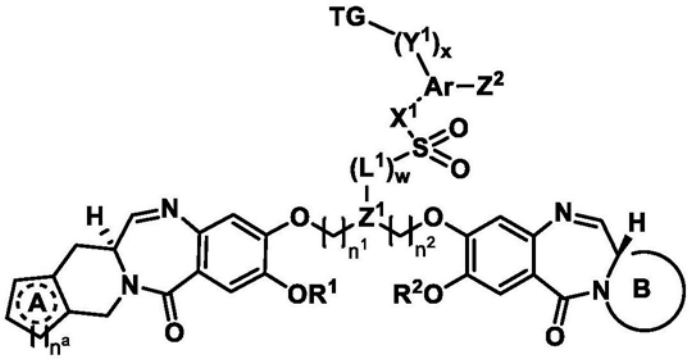
[0071] 在某些实施方案中，靶向剂是细胞结合剂。

[0072] 在某些实施方案中，接头包括在预定条件下经历化学反应(例如，物理化学反应和/或生物反应)以释放亲核杂原子的官能团，以及位于亲核杂原子附近的-S(O)$_2$-官能团。

[0073] 在某些实施方案中，-S(O)$_2$-官能团在分子内环化反应中与所述亲核杂原子反应以释放活性剂。

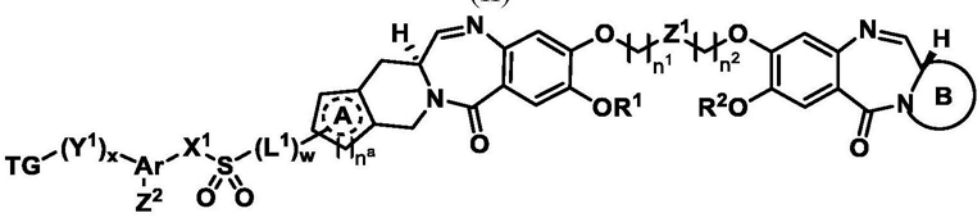
[0074] 在某些实施方案中，缀合物还包括靶向部分(例如，寡肽、多肽、抗体等)，所述靶向部分对预期靶标受体或与靶标细胞相关的其它分子具有结合特异性。

[0075] 在某些实施方案中，缀合物具有式(II)、(IIa)或(IIb)的结构：

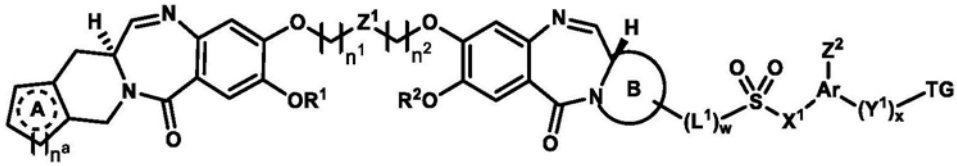


(II)

[0076]



(IIa)



(IIb)

[0077] 或是其药学上可接受的盐，

[0078] 其中：

[0079] 环A是杂环、芳基或杂芳基环；

[0080] 环B是杂环，优选为5元或6元环，任选地与一个或更多个芳基或杂芳基环稠合或被一个或更多个芳基或杂芳基环取代；

[0081] R^1和R^2各自独立地是烷基；

[0082] Z^1是亚甲基或连接基团；

[0083] n^a是值为1或2的整数；

[0084] n^1和n^2各自独立地是值为1至5的整数；

[0085] Z^2是不存在的或是连接基团；

[0086] L^1是经由选自O、S和N，优选O或N的杂原子附接至SO_2的连接基团，并且被选择为使得L^1与SO_2之间的键的裂解促进L^1与Z^1之间的键裂解以释放活性剂；

[0087] X^1是-O-、-CR^a_2-或-NR'-，优选是-O-；

[0088] Ar表示环，诸如芳基、杂芳基、环烷基或杂环烷基，优选为芳基或杂芳基；

[0089] Y^1是-$(CR^b_2)_yN(R^a)$-、-$(CR^b_2)_yO$-或-$(CR^b_2)_yS$-，被定位为使得如果y为1，则N、O或S原子附接至TG；其中X^1和Y^1被定位在Ar的相邻原子上；

[0090] TG是触发基团，当所述触发基团被活化时产生N、O或S原子，能够与SO_2反应以置换Z并且形成包含X-SO_2和Ar的居间原子的5至6元环；

[0091] w和x各自独立地是值为0或1的整数；

[0092] 每个R^a和R^c独立地是氢或低级烷基；并且

[0093] 每个R^b独立地是氢或低级烷基；或者

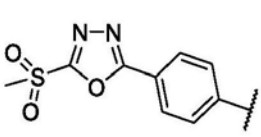
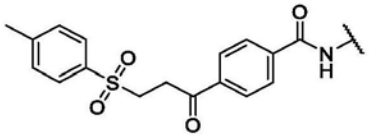
[0094] 两个R^b与它们所附接的碳原子一起形成3至5元环，优选3至4元环。

[0095] 在某些实施方案中，X^1是-O-。

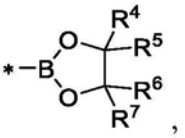
[0096] 在某些实施方案中，Ar是芳基。

[0097] 在某些实施方案中，Ar是苯基或萘基。

[0098] 在某些实施方案中，Z^2是包括一个或更多个选自以下的基团的连接基团：异氰化物、异硫氰化物、2-吡啶基二硫化物、卤代乙酰胺(-NHC(O)CH_2-卤代)、马来酰亚胺、二烯、烯烃、卤素、甲苯磺酸根(TsO-)、醛、磺酸根(R-SO_3^-)、

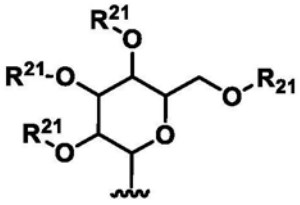
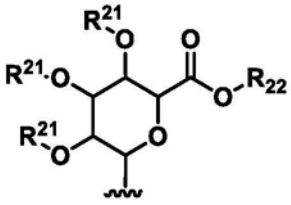

、

、膦酸(-P(=O)$(OH)_2$)、酮、C_8-C_{10}环炔基、-OH、-NHOH、-$NHNH_2$、-SH、羧酸(-COOH)、乙炔(-C≡CH)、叠氮化物(-N_3)、氨基(-NH_2)、磺酸(-SO_3H)、炔酮衍生物(-C(O)C≡C-R^a)和磷酸二氢根(-OP(=O)$(OH)_2$)。

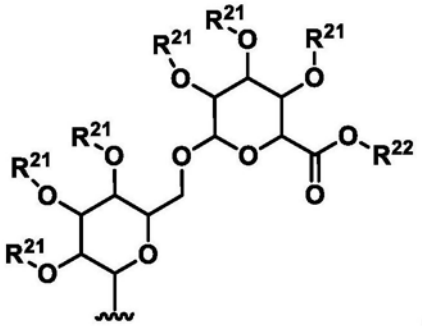
[0099] 在某些实施方案中，x是0。

[0100] 在某些实施方案中，TG是-NO_2、-OC(O)$(CH_2)_rC(O)R^1$、-$NHNH_2$、-BR^2R^3或，

其中：R^1是C_1-C_6烷基；R^2和R^3各自独立地是氢、C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷氧基或羟基；R^4、R^5、R^6和R^7各自独立地是氢或C_1-C_6烷基；并且r是值为1、2、3、4或5的整数。

[0101] 在某些实施方案中，TG选自：

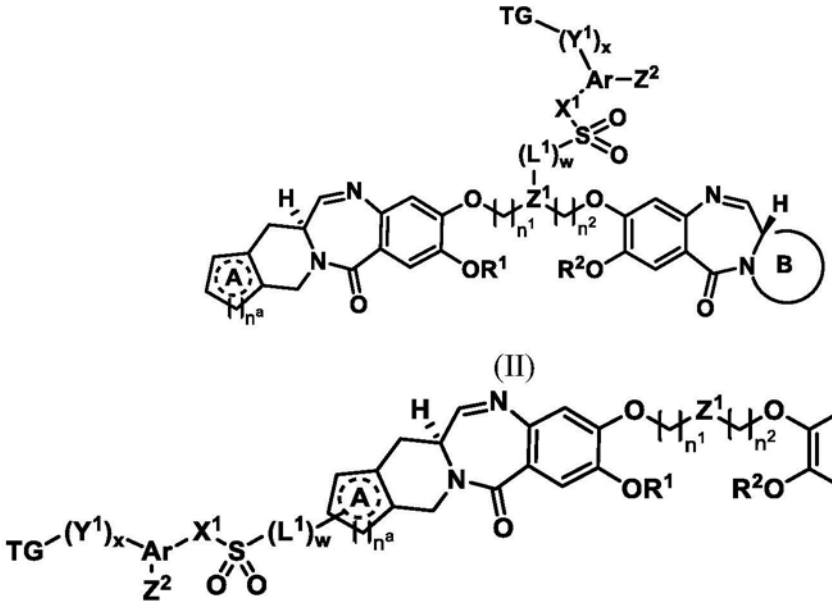
[0102] 
；

和



其中：每个R^{21}独立地是氢或乙酰基；并且R^{22}是氢或低级烷基。

[0103] 在某些实施方案中，TG选自$-NO_2$、$-C(O)-(CH_2)_2C(O)-$烷基和硝基苄基。在某些实施方案中，本文提供了化合物，其具有式(II)、(IIa)或(IIb)的结构：

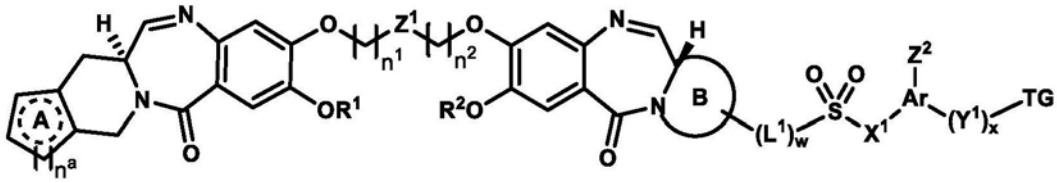
[0104]



(II)

(IIa)

[0105]



(IIb)

[0106] 或其药学上可接受的盐，

[0107] 其中：

[0108] 环A是杂环、芳基或杂芳基环；

[0109] 环B是杂环，优选为5元或6元环，任选地与一个或更多个芳基或杂芳基环稠合或被其取代；

[0110] R^1和R^2各自独立地是烷基，优选为低级烷基；

[0111] Z^1是亚甲基或连接基团，其可进一步与靶向剂缀合；

[0112] n^a是值为1或2的整数；

[0113] n^1和n^2各自独立地是1、2、3、4或5；

[0114] Z^2不存在或为连接基团；

[0115] L^1是通过选自O、S和N，优选O或N的杂原子附接至SO_2的连接基团，并且被选择为使得L^1与SO_2之间的键的裂解促进L^1与Z^1之间的键裂解以释放活性剂；

[0116] X^1是-O-、$-CR^a_2$-或-NR'-，优选-O-；

[0117] Ar表示环，诸如芳基、杂芳基、环烷基或杂环烷基，优选芳基或杂芳基；

[0118] Y^1是$-(CR^b_2)_yN(R^a)-$、$-(CR^b_2)_yO-$或$-(CR^b_2)_yS-$，被定位为使得如果y为1，则N、O或S原子附接至TG；其中X^1和Y^1被定位在Ar的相邻原子上；

[0119] TG是触发基团，所述触发基团当被活化时产生N、O或S原子，其能够与SO_2反应以置换Z并且形成包含X-SO_2和Ar的居间原子的5至6元环；

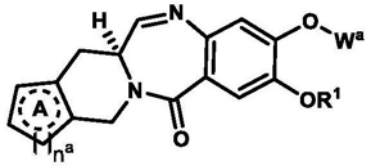
[0120] w和x各自独立地是值为0或1的整数；

[0121] 每个R^a和R^c独立地是氢或低级烷基；并且

[0122] 每个R^b独立地是氢或低级烷基；或

[0123] 两个R^b与它们所附接的碳原子一起形成3至5元环，优选3至4元环。

[0124] 在一些实施方案中，本公开涉及化合物，其具有式(IV)的结构：

[0125] 

(IV)

[0126] 或其药学上可接受的盐，

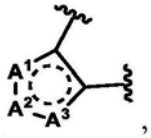
[0127] 其中：

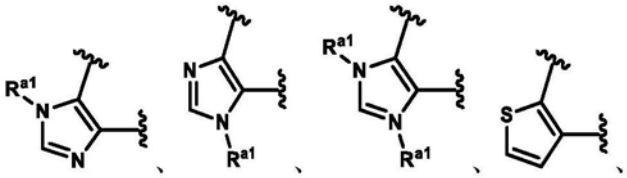
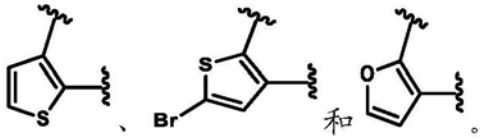
[0128] 环A为杂环、芳基或杂芳基环；

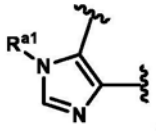
[0129] R^1为烷基；

[0130] W^a为H或苄基；并且

[0131] n^a为1或2。

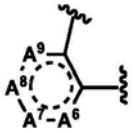
[0132] 在某些实施方案中，环A是，其中：A^1、A^2和A^3各自独立地是NR^{a1}、CR^{a2}、O、N或S；R^{a1}是H、烷基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基；并且R^{a2}是H或烷基，优选是低级烷基。

[0133] 在某些实施方案中，环A选自、和。

[0134] 在某些实施方案中，环A选自 。

[0135] 在某些实施方案中，R^{a1}是C_1-C_4烷基。

[0136] 在某些实施方案中，R^{a1}是甲基。

[0137] 在某些实施方案中，环A是 ，其中：

[0138] A^6、A^7、A^8和A^9各自独立地是CR^{a3}或N；并且

[0139] R^{a3}是H、烷基、卤素、硝基、羟基、腈基、氰基、烷氧基、氨基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基，

[0140] 前提是A^6、A^7、A^8和A^9中不超过两个为N。

[0141] 本文还提供了缀合物，其具有式(III)的结构：

[0142] $(D\text{-}L)_{dl}\text{-}LG\text{-}(CB)_{cb}$

[0143] (III)

[0144] 或其药学上可接受的盐，

[0145] 其中：

[0146] LG为连接基团；

[0147] CB为细胞结合剂；

[0148] cb和dl各自独立地是值为1至约20，优选为1至约10的整数；并且

[0149] 每个D-L独立地是具有式(I)或(II)的化合物结构的基团。

[0150] 在某些实施方案中，LG是包括以下中的至少两个的C_{10}-C_{100}直链或支链的饱和或不饱和亚烷基部分：

[0151] (i)至少一个选自-NH-、-C(=O)、-O-、-S-和-P-的杂原子；

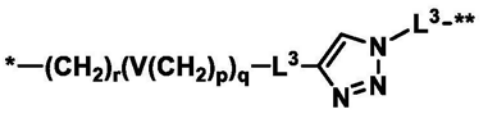
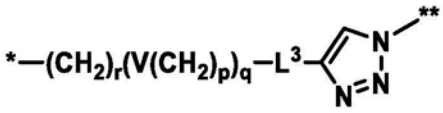
[0152] (ii)至少一个亚杂芳基；

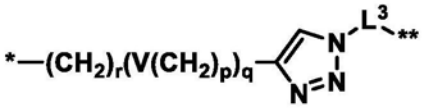
[0153] (iii)至少一个氨基酸部分、糖键、肽键或酰胺键；以及

[0154] (iv)一个或更多个选自由以下组成的组的取代基：C_1-C_{20}烷基、C_6-C_{20}芳基C_1-C_8烷基、$-(CH_2)_sCOOH$和$-(CH_2)_pNH_2$，是值为0至10的整数，并且p是值为1至约10的整数。

[0155] 在某些实施方案中，LG是能够通过点击化学反应产生的官能团，诸如三唑。

[0156] 在某些实施方案中，LG是：


；

或

[0157]

，

[0158] 其中：*表示与$(D\text{-}L)_{dl}$的附接点；**表示与CB的附接点；每个V独立地是单键、-O-、-S-、$-NR^{21}$-、-C(O)NR^{22}-、$-NR^{23}$C(O)-、$-NR^{24}SO_2$-或$-SO_2NR^{25}$-；R^{21}、R^{22}、R^{23}、R^{24}和R^{25}各自独立地

是氢、(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)烷基(C_6-C_{20})芳基或(C_1-C_6)烷基(C_3-C_{20})杂芳基；r是值为1至约10的整数；p是值为0至约10的整数；q是值为1至约10的整数；并且L^3是单键。

[0159] 在某些实施方案中，LG包括在线性链中通过共价键彼此连接的$(CH_2)_b$、L^c、$(P^1)_a$、W^{a1}、W^{a2}、W^{a3}、Y^3和Y^4基团，其中：

[0160] W^{a1}、W^{a2}和W^{a3}各自独立地是-NH-、-C(O)-或$-CH_2-$；

[0161] W^{b1}是酰胺键或亚三唑基；

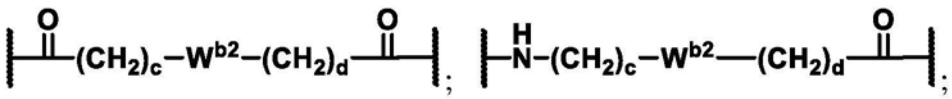
[0162] P^1是酰胺键、氨基酸残基、或肽；

[0163] L^c是亚烷基；

[0164] Y^1是$-(CH_2)_q-(CH_2CH_2X^4)_o-$或$-(CH_2)_q-(X^4CH_2CH_2X^3)_o-$；

[0165] X^4是-O-、-S-、-NH-或$-CH_2-$；

[0166] Y^2是单键或选自以下的基团：



[0167]



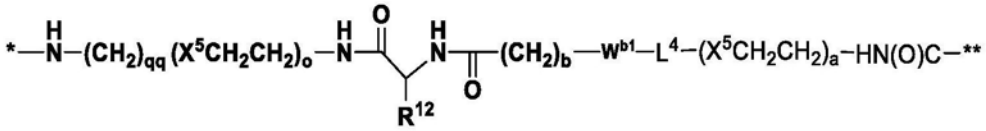
[0168] W^{b2}是酰胺键或亚三唑基；

[0169] a是0至10；

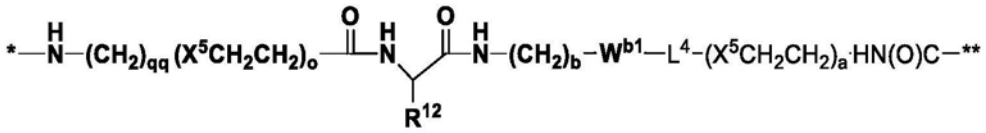
[0170] b、c和d各自独立地是值为1至约10的整数；并且

[0171] o和q各自独立地是值为1至约10的整数。

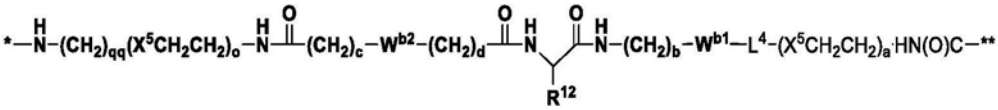
[0172] 在某些实施方案中，LG是式(IIIb)、(IIIc)、(IIId)、(IIIe)、(IIIf)、(IIIg)、(IIIh)或(IIIj)的连接基团：



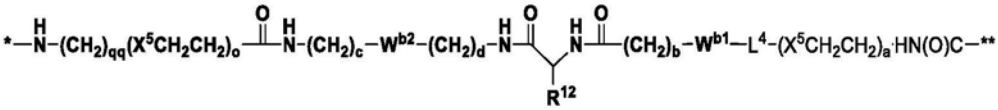
(IIIb)



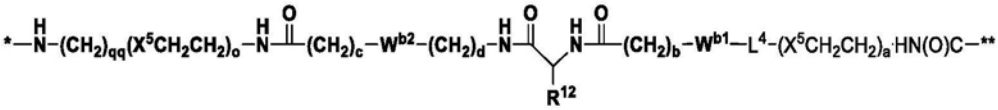
(IIIc)



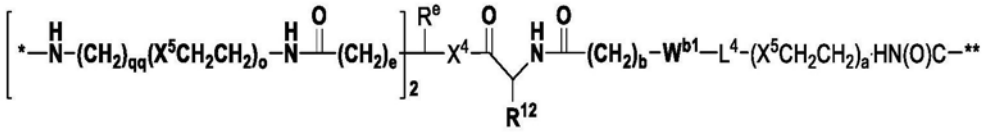
[0173] (IIId)



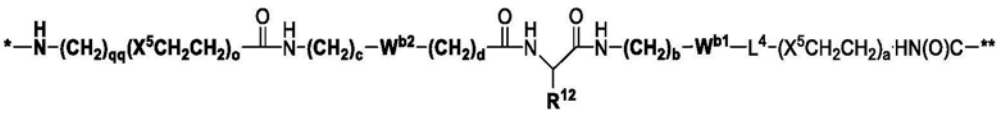
(IIIe)



(IIIf)

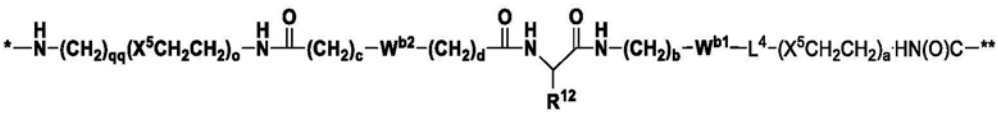


(IIIg)



(IIIh)

[0174]

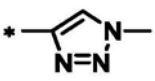


(IIIj)

[0175] 其中：

[0176] R^e为烷基；

[0177] X^5为-O-、-S-、-NH-或-CH_2-；

[0178] W^{b1}和W^{b2}各自独立地是-C(O)NH-、-NHC(O)-、或；

[0179] R^{12}是氢、烷基、氨基酸侧链、-$(CH_2)_s$C(O)R^{13}或-$(CH_2)_p$N$R^{14}R^{15}$；

[0180] R^{13}是OH或-NH$(CH_2)_s$,$(X^4CH_2CH_2)_s$"Z"-$(CB)_m$；

[0181] R^{14}和R^{15}各自独立地是氢或-C(O)$(CH_2)_{s'}$(X"'$CH_2CH_2)_{s"}$Z"-$(CB)_m$;

[0182] s和s"各自独立地是值为0至约10的整数;

[0183] m是值为0或1的整数;

[0184] X^4和X^5各自独立地是-O-、-S-、-NH-或-CH_2-;并且

[0185] b、c、d、e、g、h、o和q各自独立地是值为1至约10的整数。

[0186] 在某些实施方案中,细胞结合剂与选自以下的靶标细胞结合:肿瘤细胞、病毒感染细胞、微生物细胞、活化细胞、髓样细胞、活化T细胞、B细胞或黑素细胞;表达CD4、CD6、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、EpCAm、CanAg、CALLA或Her-2抗原的细胞;Her-3抗原或表达胰岛素生长因子受体、表皮生长因子受体和叶酸受体的细胞。

[0187] 在某些实施方案中,肿瘤细胞选自乳腺癌细胞、前列腺癌细胞、卵巢癌细胞、结直肠癌细胞、胃癌细胞、鳞状细胞癌细胞、小细胞肺癌细胞和睾丸癌细胞。

[0188] 在某些实施方案中,细胞结合剂是与所述靶标细胞特异性结合的抗体、单链抗体、抗体片段、特异性结合所述靶标细胞的单克隆抗体、单链单克隆抗体或单克隆抗体片段、与所述靶标细胞特异性结合的嵌合抗体、嵌合抗体片段、与所述靶标细胞特异性结合的结构域抗体、结构域抗体片段、淋巴因子、激素、维生素、生长因子、集落刺激因子或营养转运分子。

[0189] 在某些实施方案中,抗体是表面重塑的抗体、表面重塑的单链抗体或表面重塑的抗体片段;单克隆抗体、单链单克隆抗体或其单克隆抗体片段;嵌合抗体片段、结构域抗体或结构域抗体片段;人源化抗体、人源化单链抗体或人源化抗体片段。

[0190] 在某些方面,本发明提供一种药物组合物,该药物组合物包括本发明的化合物或本发明的缀合物,或其药学上可接受的盐,以及药学上可接受的载体。

[0191] 在某些实施方案中,药物组合物还包括化学治疗剂。

[0192] 本公开还涉及包含式(I)、(II)、(IIa)或(IIb)化合物或式(III)缀合物和载体(例如,药学上可接受的载体)的组合物(例如,药物组合物)。

[0193] 在某些方面,本公开提供了将活性剂递送至细胞的方法,其包括施用式(III)的缀合物或其药物组合物,其中选择靶向部分以结合与靶标细胞相关联的分子。在某些方面,本发明提供了式(III)的缀合物及其药物组合物,用于将活性剂递送至细胞的方法,其中选择靶向部分以结合与靶标细胞相关联的分子。特别地,本发明的化合物、缀合物和组合物可用于在哺乳动物(例如,人)中抑制异常细胞生长或治疗增殖性病症,诸如当靶标细胞是癌细胞并且靶向部分被选择为结合至与所述癌细胞相关(而不与健康细胞相关或至少优先与肿瘤细胞而不是健康细胞相关)的分子时。

[0194] 在某些方面,本发明提供一种治疗或预防疾病或病症的方法,该方法包括向有此需要的受试者施用本发明的化合物、本发明的缀合物或本发明的药物组合物。

[0195] 在某些实施方案中,疾病或病症是癌症、感染、免疫缺陷、自身免疫性疾病或慢性炎性病症。

[0196] 在某些实施方案中,方法还包括向所述受试者施用化学治疗剂。

[0197] 在某些实施方案中,向所述受试者依次施用所述化学治疗剂。

[0198] 在一些实施方案中,本公开涉及治疗或预防疾病或病症的方法,所述方法包括向有此需要的受试者施用式(I)或式(II)的化合物或式(III)的缀合物或包含式(I)或式(II)

的化合物或式(III)的缀合物的药物组合物。

[0199] 式(III)的缀合物及其药物组合物可用于治疗哺乳动物(例如,人)的疾患,诸如癌症、类风湿性关节炎、多发性硬化、移植物抗宿主病(GVHD)、移植排斥、狼疮、肌炎、感染、诸如AIDS的免疫缺陷、和炎性疾病。

附图说明

[0200] 图1显示了化合物D-101、D-102、D-103、D-105和D-110对NCI-N87的体外细胞毒性活性。

[0201] 图2显示了化合物D-104、D-106、D-107、D-108和D-109对NCI-N87的体外细胞毒性活性。

[0202] 图3显示了化合物D-111、D-112、D-113和D-114对NCI-N87的体外细胞毒性活性。

[0203] 图4显示了缀合物T-1-AB对NCI-N87的体外细胞毒性活性。

[0204] 图5显示了缀合物T-2-AB对NCI-N87的体外细胞毒性活性。

[0205] 图6显示了缀合物T-3-AB对NCI-N87的体外细胞毒性活性。

[0206] 图7显示了缀合物T-4-AB对NCI-N87的体外细胞毒性活性。

具体实施方式

[0207] 本发明涉及苯并二氮杂䓬(BD)衍生物,诸如吡咯并苯并二氮杂䓬(PBD)、吲哚啉并苯并二氮杂䓬(IBD)、四氢异喹啉并苯并二氮杂䓬(TBD)及其二聚体;它们的包含可裂解接头的化合物和缀合物及其用途。本文公开的代表性化合物和缀合物包含具有希望的功能或活性的活性剂(例如,式(I)的化合物)、在预定条件下经历化学反应(例如,物理化学反应和/或生物反应)以释放亲核杂原子的官能团、和SO_2官能团,所述SO_2官能团是邻近所述亲核杂原子定位的,使得它可以在分子内环化反应中与亲核杂原子反应以释放所述活性剂。在一些实施方案中,本文公开的化合物和缀合物进一步包含针对所希望的靶标受体或与靶标细胞相关的其它分子具有结合特异性的靶向部分(例如,寡肽、多肽、抗体等)。

[0208] 定义

[0209] 除非本文另有定义,否则本申请中使用的科学和技术术语应具有本领域普通技术人员通常所理解的含义。通常,本文所述的结合化学、细胞和组织培养、分子生物学、细胞和癌症生物学、神经生物学、神经化学、病毒学、免疫学、微生物学、药理学、遗传学以及蛋白质和核酸化学使用的术语和技术是本领域众所周知和常用的。

[0210] 除非另有说明,否则本公开的方法和技术通常是根据本领域公知的以及如贯穿本说明书引用和论述的各种一般和更具体的参考文献中所描述的常规方法来执行。参见,例如,“Principles of Neural Science”,McGraw-Hill Medical,New York,N.Y.(2000);Motulsky,“Intuitive Biostatistics”,Oxford University Press,Inc.(1995);Lodish等人,“Molecular Cell Biology,第4版”,W.H.Freeman & Co.,New York(2000);Griffiths等人,“Introduction to Genetic Analysis,第7版”,W.H.Freeman & Co.,N.Y.(1999);和Gilbert等人,“Developmental Biology,第6版”,Sinauer Associates,Inc.,Sunderland,MA(2000)。

[0211] 除非本文另有定义,否则本文所用的化学术语是根据本领域的常规用法使用的,

如“The McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms”,Parker S.,Ed.,McGraw-Hill,San Francisco,C.A.(1985)所举例说明的。

[0212] 所有上述内容,以及本申请中提及的任何其它出版物、专利和公开的专利申请明确地通过引用并入本文。如有矛盾,以本说明书(包括其具体定义)为准。

[0213] 术语“剂”在本文中用于表示化学化合物(诸如有机或无机化合物、化学化合物的混合物)、生物大分子(诸如核酸、抗体(包括其部分以及人源化抗体、嵌合抗体和人抗体和单克隆抗体)、蛋白质或其部分(例如肽)、脂质、碳水化合物)、或由生物材料诸如细菌、植物、真菌或动物(特别是哺乳动物)细胞或组织制成的提取物。剂包括,例如,其结构已知的剂和其结构未知的剂。

[0214] “患者”、“受试者”或“个体”可互换使用,指人或非人动物。这些术语包括哺乳动物,诸如人、灵长类动物、家畜(包括牛、猪等)、伴侣动物(例如,犬科动物、猫科动物等)和啮齿动物(例如,小鼠和大鼠)。

[0215] “治疗”疾患或患者是指采取步骤以获得有益或期望的结果,包括临床结果。如本文中所用,并且如本领域所熟知的,“治疗”是用于获得有益或期望的结果,包括临床结果的方法。有益或期望的临床结果可包括但不限于减轻或改善一种或更多种症状或状况、减轻疾病程度、稳定(即不恶化)疾病状态、防止疾病传播、延迟或减缓疾病进展、改善或减轻疾病状态以及缓解(无论是部分还是全部),无论是可检测的还是不可检测的。“治疗”也可意指与在不接受治疗的情况下预期的存活期相比,延长了存活期。

[0216] 术语“预防”是本领域公认的,并且当与疾患诸如局部复发(例如,疼痛)、疾病诸如癌症、症候群(syndrome complex)诸如心力衰竭或任何其它医学疾患关联使用时,在本领域中是众所周知的,并且包括施用组合物,所述组合物相对于未接受该组合物的受试者,降低了受试者中医学疾患的症状的频率或延迟了其发作。因此,癌症的预防包括,例如,相对于未治疗的对照群体,减少接受预防性治疗的患者群体中可检测到的癌性生长的数量,和/或相对于未治疗的对照群体,延迟治疗群体中可检测到的癌性生长的出现,例如,根据统计学和/或临床显著的量。

[0217] 可使用本领域技术人员已知的多种方法中的一种来对受试者进行物质、化合物或剂的“施用(administering)”或“施用(administration of)”。例如,可以静脉内、动脉内、皮内、肌内、腹膜内、皮下、经眼、舌下、口服(通过摄入)、鼻内(通过吸入)、椎管内、大脑内和经皮肤(通过吸收,例如通过皮肤导管)施用化合物或剂。还可通过可再装填或可生物降解的聚合物装置或其它装置,例如贴片和泵或制剂,适当地引入化合物或剂,它们提供化合物或剂的延长、缓慢或受控释放。还可以例如一次、多次进行和/或在一个或更多个延长的时期内进行施用。

[0218] 向受试者施用物质、化合物或剂的合适方法还将取决于例如受试者的年龄和/或身体状况以及化合物或剂的化学和生物性质(例如,溶解度、可消化性、生物利用度、稳定性和毒性)。在一些实施方案中,向受试者口服(例如通过摄入)施用化合物或剂。在一些实施方案中,口服施用的化合物或剂是在延长释放制剂或缓释制剂中,或使用用于这种缓释或延长释放的装置施用。

[0219] 如本文中所用,短语“联合施用”是指使得在先前施用的治疗剂在体内仍然有效的同时施用第二剂(例如,两种剂在患者体内同时有效,这可包括两种剂的协同作用)的两种

或更多种不同治疗剂的任何施用形式。例如，不同的治疗性化合物可以在相同的制剂中或在单独的制剂中同时或依次施用。因此，接受这种治疗的个体可受益于不同治疗剂的组合作用。

[0220] 药物或剂的“治疗有效量”或“治疗有效剂量”是当向受试者施用时将具有预期治疗效果的药物或剂的量。施用一个剂量并不一定产生完全的治疗效果，只有在施用一系列剂量后才会产生完全的治疗效果。因此，可在一次或多次施用中施用治疗有效量。受试者所需的精确有效量将取决于，例如，受试者的体型、健康和年龄，以及所治疗疾患诸如癌症或MDS的性质和程度。本领域技术人员可以通过常规实验容易地确定给定情况下的有效量。

[0221] 如本文中所用，术语“烯基”是指含有至少一个双键的脂族基团，意在包括“未经取代的烯基”和“经取代的烯基”，其中后者是指在烯基的一个或更多个碳上用取代基取代氢的烯基部分。此类取代基可以出现在一个或更多个双键中包括或不包括的一个或更多个碳上。此外，如下所述，此类取代基包括所有考虑用于烷基的取代基，除非在稳定性上是不允许的。例如，考虑用一个或更多个烷基、碳环基、芳基、杂环基或杂芳基取代烯基。

[0222] 如本文中所用，术语“亚烷基”是=C(R*)(R**)，其中R*和R**各自独立地是氢或烷基。实例为亚甲基(=CH_2)、亚乙基(=$CHCH_3$)、1-亚丙基(=$CHCH_2CH_3$)、2-亚丙基(=$C(CH_3)_2$)、1-亚丁基(=$CHCH_2CH_2CH_3$)、2-甲基-1-亚丙基(=$CHCH(CH_3)_2$)、2-亚丁基(=$C(CH_3)CH_2CH_3$)、1-亚戊基(=$CHCH_2CH_2CH_2CH_3$)、2-亚戊基(=$C(CH_3)CH_2CH_2CH_3$)、3-亚戊基(=$C(CH_2CH_3)_2$)、3-甲基-2-亚戊基(=$C(CH_3)CH(CH_3)_2$)、3-甲基-1-亚丁基(=$CHCH_2CH(CH_3)_2$)、2-甲基-1-亚丁基(=$CHCH(CH_3)CH_2CH_3$)、1-亚己基(=$CHCH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$)、2-亚己基(=$C(CH_3)CH_2CH_2CH_2CH_3$)、3-亚己基(=$C(CH_2CH_3)(CH_2CH_2CH_3)$)、3-甲基-2-亚戊基(=$C(CH_3)CH(CH_3)CH_2CH_3$)、4-甲基-2-亚戊基(=$C(CH_3)CH_2CH(CH_3)_2$)、2-甲基-3-亚戊基(=$C(CH_2CH_3)CH(CH_3)_2$)和3,3-二甲基-2-亚丁基(=$C(CH_3)C(CH_3)_3$。亚烷基可以任选地被一个或更多个烷基、烯基、烷氧基、卤素、卤代烷基、羟基、羟基烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基、烷酰基、烷氧基羰基、氨基、亚氨基、烷基氨基、酰基氨基、硝基、三氟甲基、三氟甲氧基、羧基、羧基烷基、酮基、硫代(thioxo)、烷硫基、烷基亚磺酰基、烷基磺酰基、氰基、NR_xR_y和/或$COOR_y$(其中每个R_x和R_y独立地是H、烷基、烯基、芳基、杂芳基、杂环基、环烷基或羟基)取代。

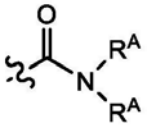
[0223] “烷基”或“烷烃”是完全饱和的直链或支链非芳族烃。典型地，直链或支链烷基具有从1至约20个碳原子、优选从1至约10个碳原子，除非另有定义。直链和支链烷基的实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、叔丁基、戊基、己基、戊基和辛基。C_1-C_6直链或支链烷基也称为“低级烷基”基团。

[0224] 此外，如在整个说明书、实施例和权利要求书中所用的，术语“烷基”(或“低级烷基”)旨在包括“未经取代的烷基”和“经取代的烷基”两者，其中后者是指具有替代烃主链的一个或更多个碳上的氢的取代基的烷基部分。如果未另外规定，则此类取代基可以包括，例如，卤素(例如，氟)、羟基、羰基(诸如羧基、烷氧基羰基、甲酰基或酰基)、硫代羰基(诸如硫酯、硫代乙酸根或硫代甲酸根)、烷氧基、磷酰基、磷酸根、膦酸根、次磷酸根、氨基、酰氨基、脒、亚胺、氰基、硝基、叠氮基、巯基、烷硫基、硫酸根、磺酸根、氨磺酰基、磺酰氨基、磺酰基、杂环基、芳烷基、或芳族或杂芳族部分。在优选实施方案中，经取代的烷基上的取代基选自C_{1-6}烷基、C_{3-6}环烷基、卤素、羰基、氰基或羟基。在更优选的实施方案中，经取代的烷基上的取代基选自氟、羰基、氰基或羟基。本领域技术人员将理解，如果适当的话，在烃链上取代的

部分本身可以被取代。例如，经取代的烷基的取代基可以包括取代和未取代形式的氨基、叠氮基、亚氨基、酰胺基、磷酰基(包括膦酸根和次磷酸根)、磺酰基(包括硫酸根、磺酰氨基、氨磺酰基和磺酸根)、和甲硅烷基，以及醚、烷硫基、羰基(包括酮、醛、羧酸根、和酯)、-CF_3、-CN等。下面描述示例性经取代的烷基。环烷基可以进一步被烷基、烯基、烷氧基、烷硫基、氨基烷基、经羰基取代的烷基、-CF_3、-CN等取代。

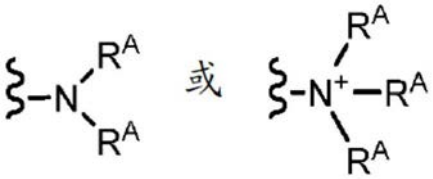
[0225] 当术语“C_{x-y}”与化学部分(例如酰基、酰氧基、烷基、烯基、炔基或烷氧基)结合使用时，意指包括链中含有从x至y个碳的基团。例如，术语“C_{x-y}烷基”是指经取代或未经取代的饱和烃基，包括链中含有从x至y个碳的直链烷基和支链烷基，包括卤代烷基。优选卤代烷基包括三氟甲基、二氟甲基、2,2,2-三氟乙基和五氟乙基。C_0烷基当基团存在于末端位置时表示氢，如果基团存在于内部，则表示键。术语“C_{2-y}烯基”和“C_{2-y}炔基”是指长度和可能的取代与上面描述的烷基相似但分别含有至少一个双键或三键的经取代或未经取代的不饱和脂族基团。

[0226] 如本文中所用，术语“酰胺”是指以下基团

[0227] 

[0228] 其中每个R^A独立地表示氢或烃基，或者两个R^A与它们所附接的N原子一起完成在环结构中具有4-8个原子的杂环。

[0229] 术语“胺”和“氨基”是本领域公认的，是指未经取代的和经取代的胺及其盐，例如可以由下式表示的部分

[0230] 

[0231] 其中每个R^A独立地表示氢或烃基，或者两个R^A与它们所附接的N原子一起完成在环结构中具有4-8个原子的杂环。

[0232] 如本文中所用，术语“芳基”包括经取代或未经取代的单环芳族基团，其中环的每个原子是碳。优选所述环是6元或10元环，更优选为6元环。术语“芳基”还包括具有两个或更多个环状的环的多环环体系，其中两个或更多个碳为两个相邻环所共有，其中至少一个环是芳族的，例如，另外的环状的环可以是环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基和/或杂环基。芳基包括苯、萘、菲、苯酚、苯胺等。

[0233] “环烷基”基团是完全饱和的环烃。“环烷基”包括单环和双环的环。典型地，单环环烷基具有从3至约10个碳原子、更典型地3至8个碳原子，除非另有定义。双环环烷基的第二个环可以选自饱和的、不饱和的、和芳族的环。环烷基包括双环分子，其中一个、两个或三个或更多个原子是两个环共享的。术语“稠合环烷基”是指双环环烷基，其中每个环与另一个环共享两个相邻原子。稠合双环环烷基的第二个环可以选自饱和的、不饱和和芳族的环。“环烯基”基团是含有一个或更多个双键的环烃。

[0234] 如本文中所用，术语“卤代”和“卤素”意指卤素，包括氯、氟、溴和碘。

[0235] 术语“杂芳基(heteroaryl)”和“杂芳基(hetaryl)”包括经取代或未经取代的芳族

单环结构，优选5至7元环、更优选5至6元环，其环结构包含至少一个杂原子、优选一至四个杂原子、更优选一个或两个杂原子。术语“杂芳基”(“heteroaryl”和“hetaryl”)还包括具有两个或更多个环状的环的多环环体系，其中两个或更多个碳为两个相邻环所共有，其中至少一个环是杂芳族的，例如另外的环状的环可以是环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基和/或杂环基。杂芳基包括例如吡咯、呋喃、噻吩、咪唑、噁唑、噻唑、吡唑、吡啶、吡嗪、哒嗪、和嘧啶等。

[0236] 如本文中所用，术语“杂原子”意指除碳或氢之外的任何元素的原子。优选的杂原子是氮、氧和硫。

[0237] 术语“杂环基”、“杂环”和“杂环的”是指经取代或未经取代的非芳族环结构，优选3至10元环，更优选3至7元环，其环结构包含至少一个杂原子，优选1-4个杂原子，更优选1或2个杂原子。术语“杂环基”和“杂环的”也包括具有两个或更多个环状的环的多环环体系，其中两个或更多个碳为两个相邻环所共有，其中至少一个环是杂环，例如，另外的环状的环可以是环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基和/或杂环基。杂环基包括例如哌啶、哌嗪、吡咯烷、四氢吡喃、四氢呋喃、吗啉、内酯、内酰胺等。

[0238] 术语“低级”，当与化学部分诸如酰基、酰氧基、烷基、烯基、炔基或烷氧基结合使用时，意指包括其中取代基中具有10个或更少，优选6个或更少的非氢原子的基团。例如，“低级烷基”是指含有10个或更少碳原子，优选6个或更少碳原子的烷基。在某些实施方案中，本文定义的酰基、酰氧基、烷基、烯基、炔基或烷氧基取代基分别是低级酰基、低级酰氧基、低级烷基、低级烯基、低级炔基或低级烷氧基，无论它们单独出现还是与其它取代基组合出现，诸如在羟烷基和芳烷基的叙述中(在这种情况下，例如，当计数烷基取代基中的碳原子时，芳基内的原子不计算在内)。

[0239] 术语“经取代的”是指具有取代基的部分，所述取代基替代主链的一个或更多个碳上的氢。应理解，“取代”或“被...取代”包括隐含的限制条件，即这样的取代符合经取代的原子和取代基的允许化合价，并且所述取代导致稳定的化合物，例如所述化合物不自发地经受诸如重排、环化、消除等转化。如本文中所用，术语“经取代的”预期包括有机化合物的所有允许的取代基。在广泛的方面，允许的取代基包括有机化合物的无环和环状的、分支和未分支的、碳环和杂环的、芳族和非芳族取代基。对于适当的有机化合物，允许的取代基可以是一个或更多个并且是相同或不同的。出于本发明的目的，诸如氮的杂原子可以具有本文描述的有机化合物的氢取代基和/或任何允许的取代基，所述取代基满足杂原子的化合价。取代基可以包括本文描述的任何取代基，例如卤素、羟基、羰基(诸如羧基、烷氧基羰基、甲酰基或酰基)、硫代羰基(诸如硫酯、硫代乙酸根或硫代甲酸根)、烷氧基、磷酰基、磷酸根、膦酸根、次磷酸根、氨基、酰氨基、脒、亚胺、氰基、硝基、叠氮基、巯基、烷硫基、硫酸根、磺酸根、氨磺酰基、磺酰氨基、磺酰基、杂环基、芳烷基、或芳族或杂芳族部分。在优选实施方案中，经取代的烷基上的取代基选自C_{1-6}烷基、C_{3-6}环烷基、卤素、羰基、氰基或羟基。在更优选的实施方案中，经取代的烷基上的取代基选自氟、羰基、氰基或羟基。本领域技术人员将理解，如果适当的话，取代基本身可以被取代。除非特别阐述为“未经取代的”，否则本文对化学部分的提及应理解为包括经取代的变体。例如，对“芳基”基团或部分的提及隐含地包括经取代的变体和未经取代的变体两者。

[0240] “保护基团”是指一组原子，当其附接至分子中的反应性官能团时，可以掩蔽、降低

或阻止官能团的反应性。典型地，在合成过程中，可以根据需要选择性地除去保护基团。保护基团的实例可见于Greene和Wuts,Protective Groups in Organic Chemistry,第3版，1999,John Wiley & Sons,NY和Harrison等人,Compendium of Synthetic Organic Methods,第1-8卷,1971-1996,John Wiley & Sons,NY。代表性的氮保护基团包括但不限于甲酰基、乙酰基、三氟乙酰基、苄基、苄氧基羰基(“CBZ”)、叔丁氧基羰基(“Boc”)、三甲基甲硅烷基(“TMS”)、2-三甲基甲硅烷基-乙磺酰基(“TES”)、三苯甲基和经取代的三苯甲基、烯丙基氧羰基、9-芴甲基氧羰基(“FMOC”)、硝基-藜芦氧羰基(“NVOC”)等。代表性的羟基保护基团包括但不限于其中羟基被酰化(酯化)或烷基化的基团，诸如苄基和三苯甲基醚，以及烷基醚、四氢吡喃基醚、三烷基甲硅烷基醚(例如,TMS或TIPS基团)、二醇醚，诸如乙二醇和丙二醇衍生物和烯丙基醚。

[0241] 如本文中所用，术语“调节”包括功能或活性(诸如细胞增殖)的抑制或遏制以及功能或活性的增强。

[0242] 短语“药学上可接受的”是本领域公认的。在某些实施方案中，所述术语包括组合物、赋形剂、佐剂、聚合物和其它材料和/或剂型，它们在合理的医学判断范围内，适合用于与人类和动物的组织接触，而无过度的毒性、刺激、过敏反应或其它问题或并发症，与合理的益处/风险比相称。

[0243] “药学上可接受的盐”或“盐”在本文中用于指适用于患者的治疗或与患者的治疗相容的酸加成盐或碱加成盐。

[0244] 如本文中所用，术语“药学上可接受的酸加成盐”是指由式I表示的任何碱化合物的任何无毒有机或无机盐。形成合适盐的示例性无机酸包括盐酸、氢溴酸、硫酸和磷酸，以及金属盐，诸如正磷酸一氢钠和硫酸氢钾。形成合适盐的示例性有机酸包括单羧酸、二羧酸和三羧酸，诸如乙醇酸、乳酸、丙酮酸、丙二酸、琥珀酸、戊二酸、富马酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、抗坏血酸、马来酸、苯甲酸、苯乙酸、肉桂酸和水杨酸，以及磺酸，诸如对甲苯磺酸和甲磺酸。可以形成单酸盐或二酸盐，并且此类盐可以以水合、溶剂化或基本无水的形式存在。一般来说，式I的化合物的酸加成盐更易溶于水和各种亲水性有机溶剂，并且与它们的游离碱形式相比，通常显示出更高的熔点。合适的盐的选择是本领域技术人员已知的。其它非药学上可接受的盐，例如草酸盐，可用于例如分离供实验室使用的式I的化合物，或随后转化为药学上可接受的酸加成盐。

[0245] 如本文中所用，术语“药学上可接受的碱加成盐”意指由式I表示的任何酸化合物或它们的任何中间体的任何无毒有机或无机碱加成盐。形成合适盐的示例性无机碱包括氢氧化锂、氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化钙、氢氧化镁或氢氧化钡。形成合适盐的示例性有机碱包括脂族、脂环族或芳族有机胺，诸如甲胺、三甲胺和甲吡啶或氨。合适盐的选择是本领域技术人员已知的。

[0246] 在本公开的方法和组合物中有用的许多化合物在其结构中具有至少一个立体中心。这种立体中心可能以R或S构型存在，所述R和S符号与Pure Appl.Chem.(1976),45,11-30中描述的规则一致地使用。本公开涵盖所有立体异构形式，诸如化合物、其盐、前药或混合物(包括立体异构体的所有可能混合物)的对映体和非对映体形式。参见，例如，WO 01/062726。

[0247] 此外，某些含有烯基的化合物可以以Z(同侧(zusammen))或E(异侧(entgegen))异

构体的形式存在。在每种情况下，本公开包括混合物和单独的异构体。

[0248] 一些化合物也可以以互变异构体的形式存在。尽管在本文所述的式中没有明确指出此类形式，但这些形式旨在包括在本公开的范围内。

[0249] “前药”或“药学上可接受的前药”是指施用后在宿主中代谢(例如水解或氧化)形成本公开的化合物(例如，式I的化合物)的化合物。前药的典型实例包括在活性化合物的功能性部分上具有生物不稳定或可裂解(保护)基团的化合物。前药包括可被氧化、还原、胺化、脱氨基、羟基化、脱羟基化、水解、脱水、烷基化、脱烷基化、酰化、脱酰化、磷酸化或脱磷酸化以产生活性化合物的化合物。美国专利6,875,751、7,585,851和7,964,580中公开了使用酯或氨基磷酸酯作为生物不稳定或可裂解(保护)基团的前药的实例，所述美国专利的公开内容通过引用并入本文。本公开的前药被代谢产生式I的化合物。本公开在其范围内包括本文所述化合物的前药。合适的前药的选择和制备的常规程序在例如“Design of Prodrugs”Ed.H.Bundgaard,Elsevier,1985中进行了描述。

[0250] 如本文中所用，短语“药学上可接受的载体”意指药学上可接受的材料、组合物或媒介物，诸如可用于配制用于医学或治疗用途的药物的液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、溶剂或包封材料。

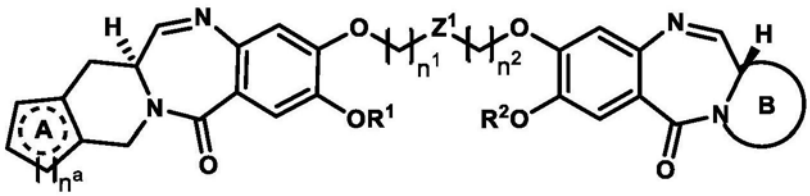
[0251] 术语“异常细胞生长”和“增殖性病症”在本申请中可互换使用。除非另外指出，否则如本文中所用的“异常细胞生长”是指独立于正常调节机制的细胞生长(例如，失去接触抑制)。这包括，例如，以下的异常生长：(1)通过表达突变的酪氨酸激酶或过表达受体酪氨酸激酶而增殖的肿瘤细胞(肿瘤)；(2)其中发生异常的酪氨酸激酶激活的其它增殖性疾病的良性和恶性细胞；(3)通过受体酪氨酸激酶增殖的任何肿瘤；(4)通过异常的丝氨酸/苏氨酸激酶激活而增殖的任何肿瘤；和(5)其中发生异常的丝氨酸/苏氨酸激酶激活的其它增殖性疾病的良性和恶性细胞。

[0252] 术语“癌症”和“癌的”是指或描述哺乳动物的生理状况，其特征典型地在于不受控制的细胞生长。“肿瘤”包含一个或更多个癌细胞。癌症的实例包括但不限于癌、淋巴瘤、母细胞瘤、肉瘤、和白血病或淋巴样恶性肿瘤。此类癌症的更具体实例包括鳞状细胞癌(例如，上皮鳞状细胞癌)、肺癌(包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌(“NSCLC”)、肺腺癌和肺鳞状癌)、腹膜癌、肝细胞癌、胃癌(gastric cancer)或胃部癌(stomach cancer)(包括胃肠道癌)、胰腺癌、胶质母细胞瘤、宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、肝细胞瘤、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、子宫内膜或子宫癌、唾液腺癌、肾或肾脏癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝脏癌、肛门癌、阴茎癌、急性白血病、以及头/脑和颈癌。

[0253] 本发明的化合物和缀合物

[0254] 式(I)化合物

[0255] 本公开提供了化合物，其具有式(I)的结构：

[0256] 

(I)

[0257] 或其药学上可接受的盐，

[0258] 其中：

[0259] 环A为杂环、芳基或杂芳基环；

[0260] 环B为杂环，优选为5元或6元环，任选地与一个或更多个芳基或杂芳基环稠合或被其取代；

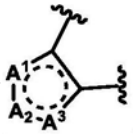
[0261] R^1和R^2各自独立地是烷基；

[0262] Z^1是亚甲基或连接基团，其可进一步与靶向剂缀合；

[0263] n^a是值为1或2的整数；并且

[0264] n^1和n^2各自独立地是值为1至5的整数。

[0265] 在一些实施方案中，环A或环B中的至少一个是杂芳基环。

[0266] 例如，在一些实施方案中，环A是

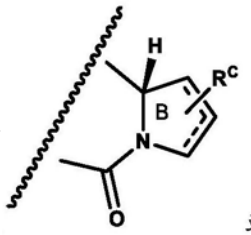
，其中：

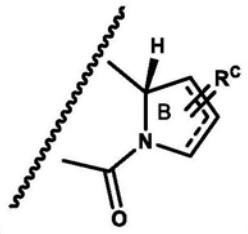
[0267] A^1、A^2和A^3各自独立地是NR^{a1}、CR^{a2}、O、N或S；

[0268] R^{a1}是H、烷基、卤素、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基；并且

[0269] R^{a2}是H或烷基，优选为低级烷基。

[0270] 在一些实施方案中，环B是5元或6元杂环，并且任选地被一个或更多个选自烷基、亚烷基、芳基或杂芳基的R^C基团取代。

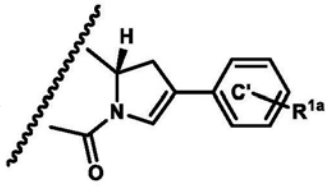
[0271] 在一些此类实施方案中，环B是

或

，其中：

[0272] 虚线表示任选存在的双键；并且

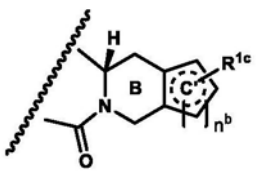
[0273] R^C是H、OH、烷基、亚烷基、卤素、氨基、氰基或芳基。

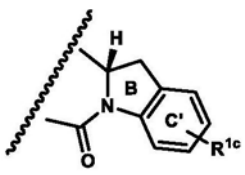
[0274] 在一些此类实施方案中，环B是

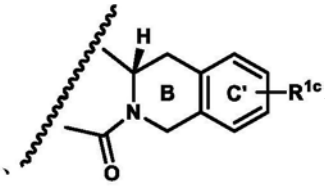
其中

[0275] R^{1a}是H、OH、SH、烷基硫醇、$-CH_2N(CH_3)_2$、烷基、烷氧基、亚烷基、卤素、氨基、氰基或芳基。

[0276] 在一些实施方案中，环B是5元或6元杂环，并与选自芳基或杂芳基环，优选5元或6元芳基或杂芳基环的环C'稠合。在一些此类实施方案中，环B和环C一起形成以下结构：







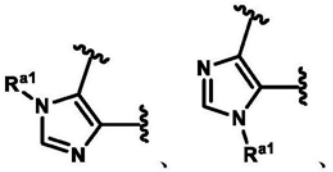
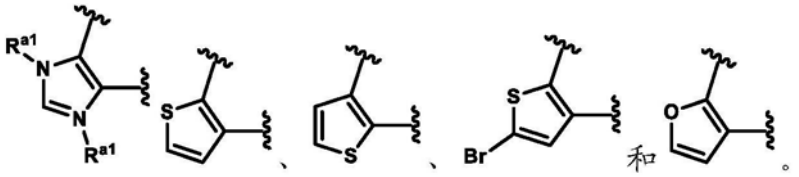
其中：

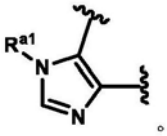
[0277] 环C'任选地被R^{1c}取代；

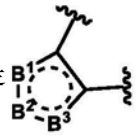
[0278] 环C'中最多三个碳原子可以被氮替代；

[0279] R^{1c}是OH、SH、烷基硫醇、$-CH_2N(CH_3)_2$、烷基、烷氧基、烷基、卤素、氨基或氰基；并且

[0280] n^b是值为1或2的整数。

[0281] 在一些实施方案中，环A和环C'独立地选自、和。

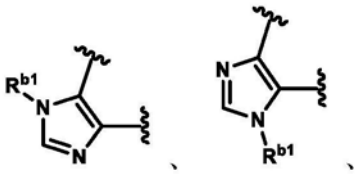
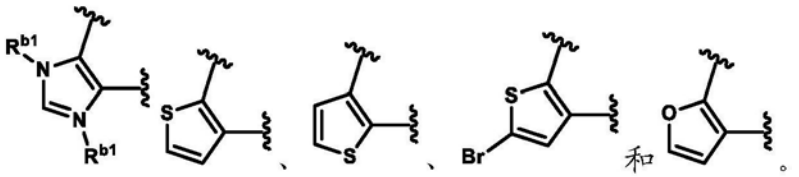
[0282] 在某些优选实施方案中，环A选自。在某些实施方案中，R^{a1}是C_1-C_4烷基，优选为甲基。

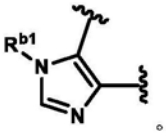
[0283] 在某些实施方案中，环C'是，其中：

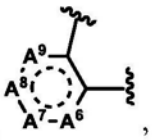
[0284] B^1、B^2和B^3各自独立地是NR^{a1}、CR^{a2}、O、N或S；

[0285] R^{b1}是H、烷基、卤素、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基；并且

[0286] R^{b2}不存在，是H或烷基。

[0287] 在一些此类实施方案中，环C'选自、和。

[0288] 在某些优选实施方案中，环C'选自。在某些实施方案中，R^{b1}是C_1-C_4烷基，优选为甲基。

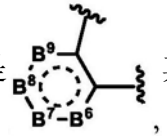
[0289] 在一些实施方案中，环A是，其中：

[0290] A^6、A^7、A^8和A^9各自独立地是CR^{a3}或N；并且

[0291] R^{a3}是H、烷基、卤素、硝基、羟基、腈基、氰基、烷氧基、氨基、环烷基、杂环烷基、芳基

或杂芳基，

[0292] 前提是A^6、A^7、A^8和A^9中不超过两个为N。

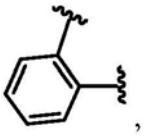
[0293] 在某些实施方案中，环C是，其中：

[0294] B^6、B^7、B^8和B^9各自独立地是CR^{b3}或N；并且

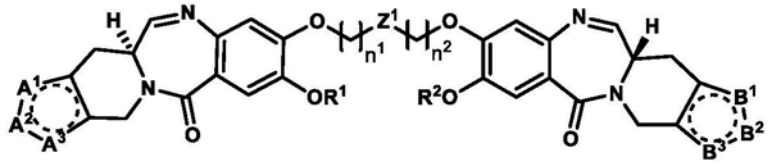
[0295] R^{b3}是H、烷基、卤素、硝基、羟基、腈基、氰基、烷氧基、氨基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基，

[0296] 前提是B^6、B^7、B^8和B^9中不超过两个为N。

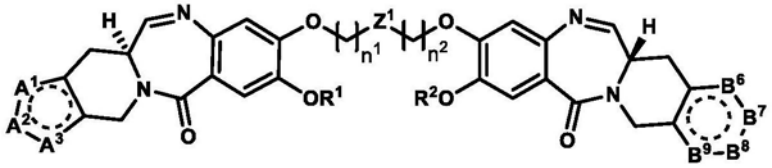
[0297] 在一些实施方案中，环A和环B各自独立地选自上述实施方案中定义的环。

[0298] 在特定实施方案中，环A或环C中的一个是，并且环A或环C中的另一个选自如上述任一实施方案中定义的杂芳基环。

[0299] 在某些实施方案中，式(I)的化合物具有式(Ia)、(Ib-1)、(Ib-2)、(Ib-3)、(Ic-1)、(Ic-2)或(Ic-3)的结构：

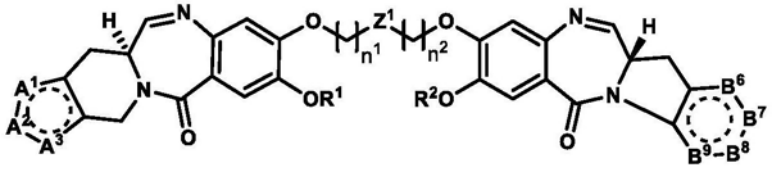


(Ia)

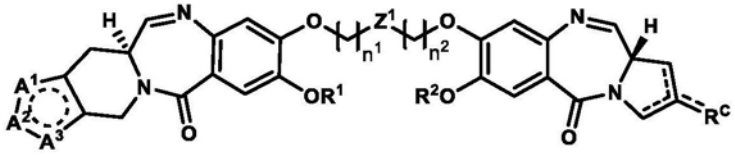


[0300]

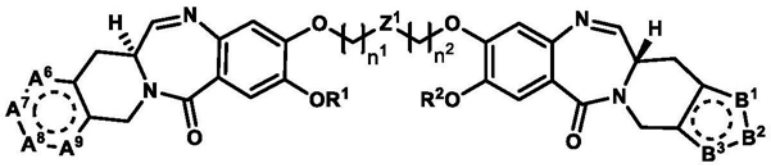
(Ib-1)



(Ib-2)

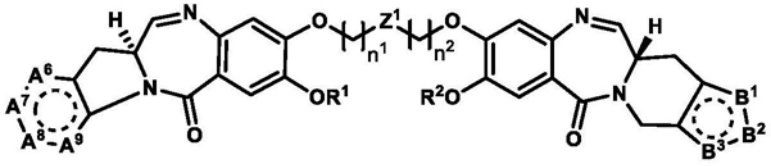


(Ib-3)

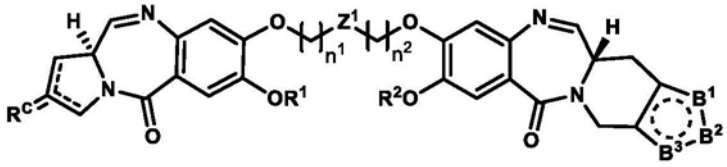


(Ic-1)

[0301]



(Ic-2)

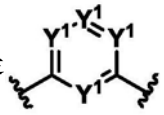


(Ic-3)

[0302] 或其药学上可接受的盐,其中变量如上所述定义。

[0303] 在一些此类实施方案中,R^1和R^2相同。例如,在某些实施方案中,R^1和R^2是C_1-C_4烷基,优选为甲基。

[0304] 在一些实施方案中,Z^1是亚甲基。

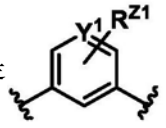
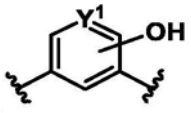
[0305] 在其它实施方案中,Z^1是,其中:

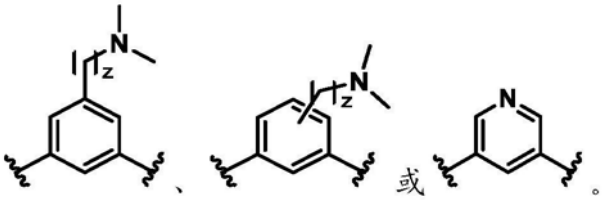
[0306] Y^1是CR^{Y1}或N,前提是只有一个Y^1为N;

[0307] R^{Y1}是H或羟基、氨基、酰氨基或$(CH_2)_y(R^{Y1a})_{yy}$;

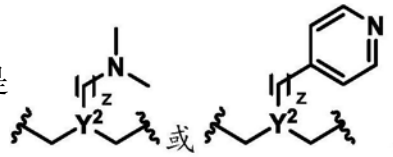
[0308] R^{Y1a}是氨基、芳基或杂芳基;并且

[0309] y和yy是整数,各自独立地为1至约10的值。

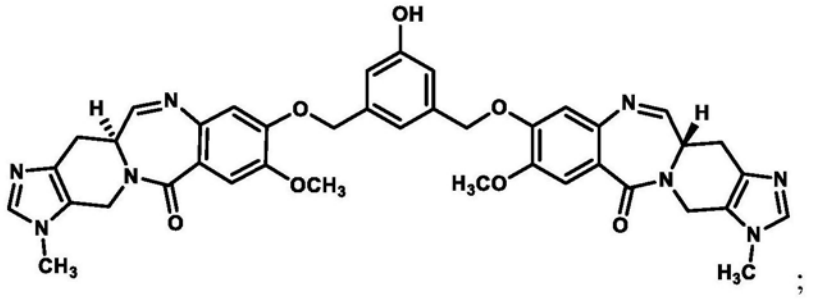
[0310] 在某些优选实施方案中,Z^1是,其中R^{Z1}不存在,为羟基、氨基、酰氨基或$(CH_2)_z(R^{Z1a})_{zz}$;并且R^{Z1a}是氨基、芳基或杂芳基;并且z和zz各自独立地是值为1至约10的整数。在更优选的实施方案中,Z^1是;

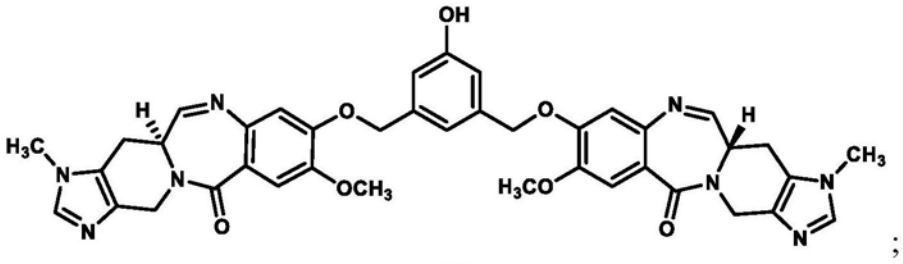


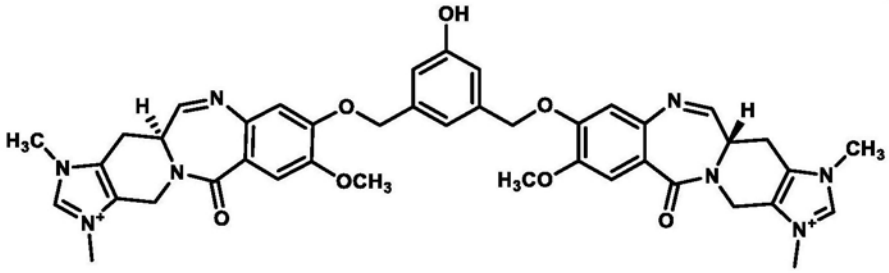
[0311] 在某些优选实施方案中，Z^1提供用于缀合的胺或酚。因此，在某些此类实施方案中，例如，Z^1可选自氨基、羟基取代的芳基或含氮杂芳基，并且可以任选地被进一步取代。在其它此类实施方案中，R^{Y1a}和R^{Z1a}提供用于缀合的胺或酚。例如，R^{Z1a}可以选自氨基(例如，烷基取代的氨基)、羟基取代的芳基或含氮杂芳基，并且可以任选地被进一步取代。

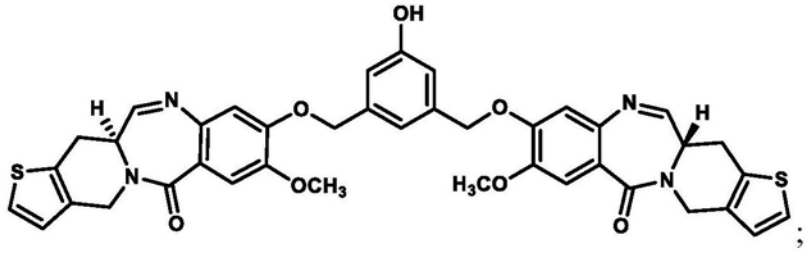
[0312] 在某些优选实施方案中，Z^1是 

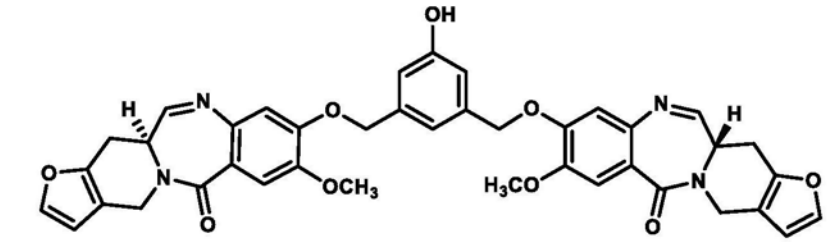
[0313] 在某些实施方案中，式(I)的化合物选自：

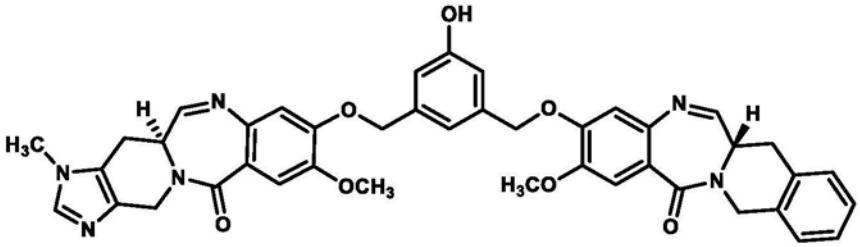


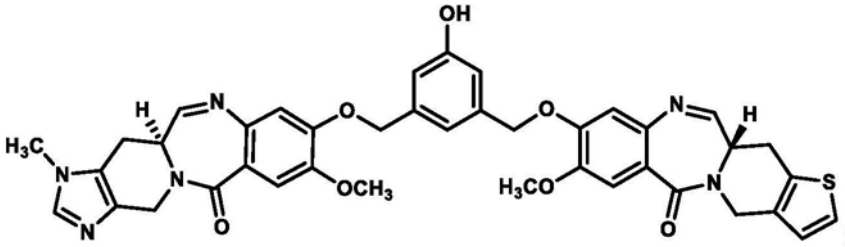
[0314] 

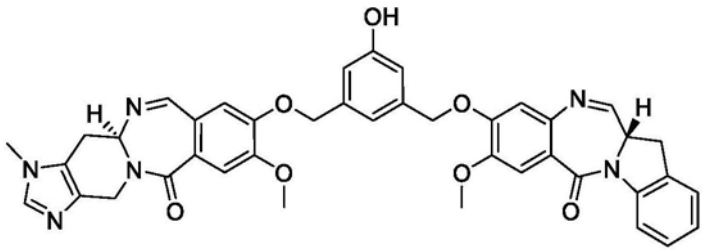




[0315] 

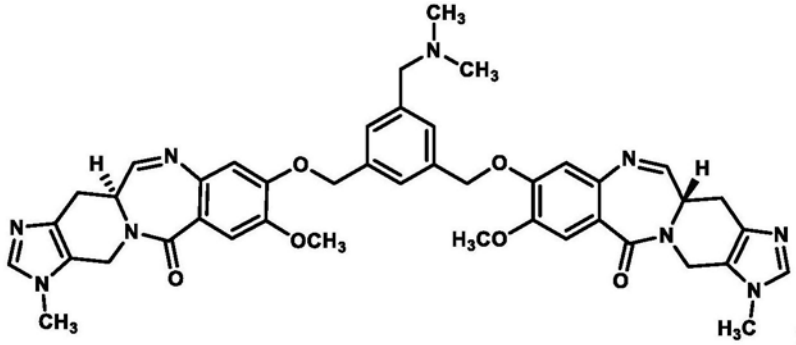


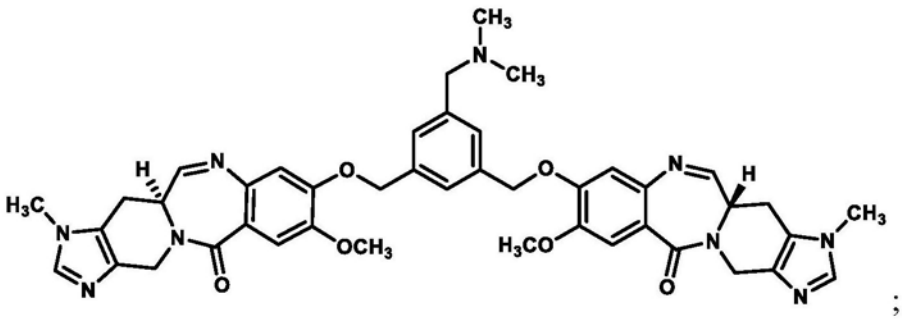
[0316]  并且

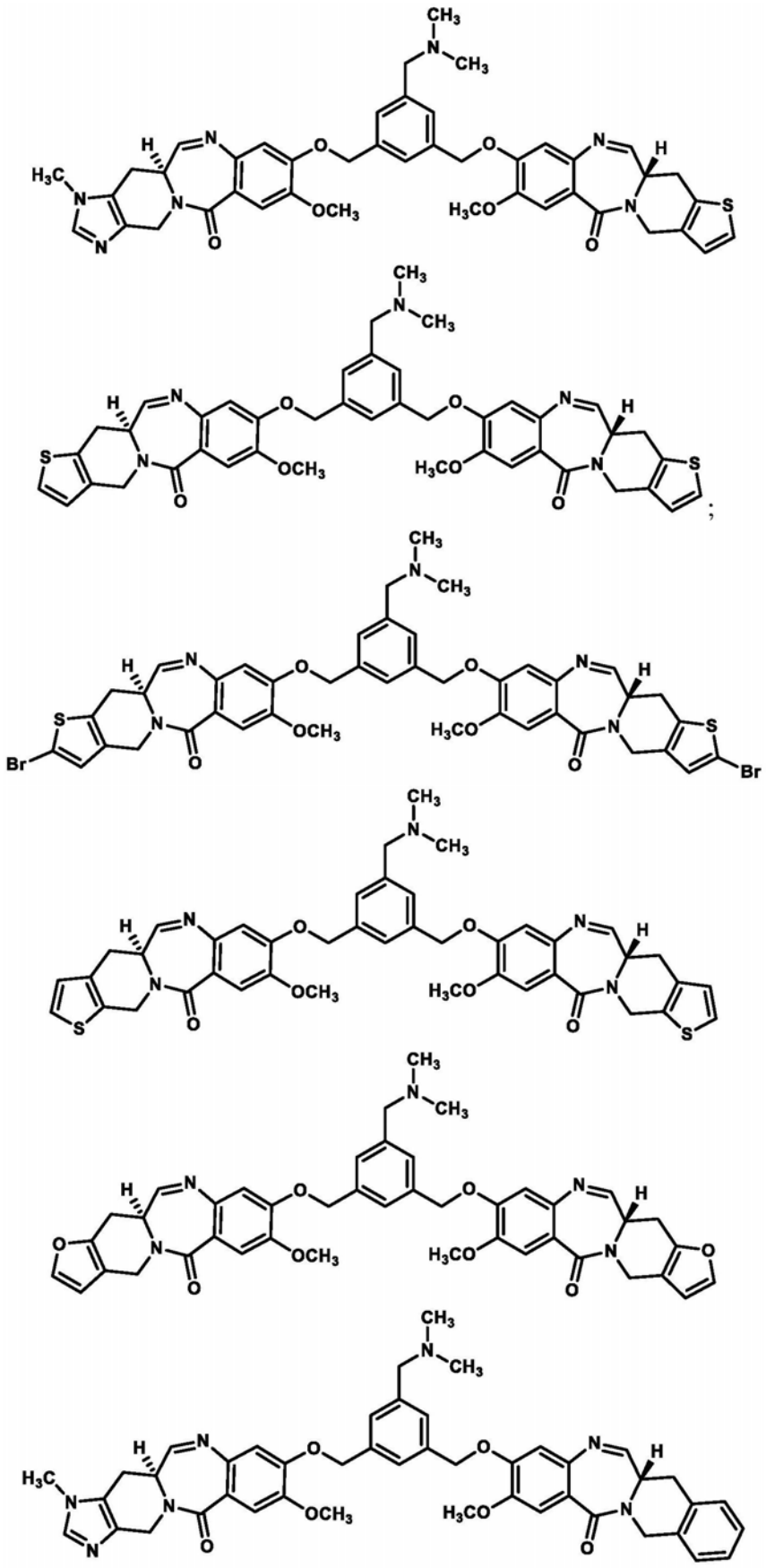
[0317] 

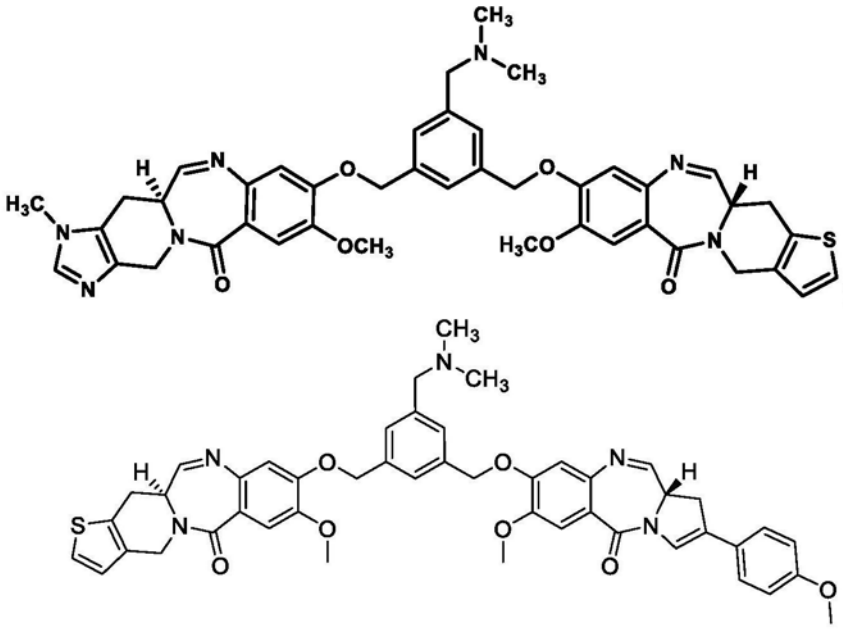
[0318] 或其药学上可接受的盐。

[0319] 在某些其它实施方案中,式(I)的化合物选自:

[0320] 

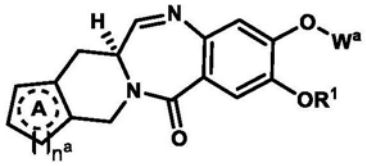


[0321] 

[0322] ；和

[0323] 或其药学上可接受的盐。

[0324] 在一些实施方案中，本公开涉及化合物，其具有式(IV)的结构：

[0325] 

(IV)

[0326] 或其药学上可接受的盐，

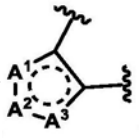
[0327] 其中：

[0328] 环A是杂环、芳基或杂芳基环；

[0329] R^1是烷基；

[0330] W^a是H或苄基；并且

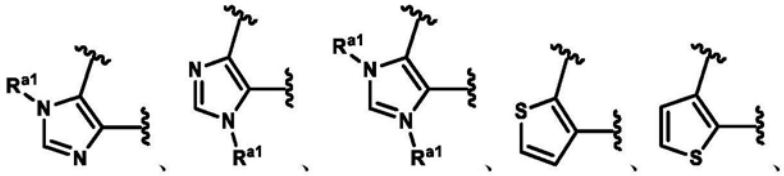
[0331] n^a是1或2。

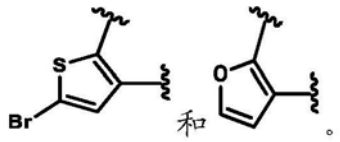
[0332] 在某些实施方案中，环A是，其中：

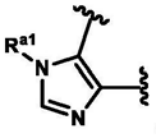
[0333] A^1、A^2和A^3各自独立地是NR^{a1}、CR^{a2}、O、N或S；

[0334] R^{a1}是H、烷基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基；并且

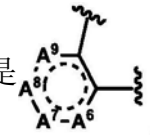
[0335] R^{a2}是H或烷基，优选是低级烷基。

[0336] 例如，环A可选自、、、、、



[0337] 在一些实施方案中，环A是。

[0338] 在某些实施方案中，R^{a1}是C_1-C_4烷基，诸如甲基。

[0339] 在某些实施方案中，环A是，其中：

[0340] A^6、A^7、A^8和A^9各自独立地是CR^{a3}或N；并且

[0341] R^{a3}是H、烷基、卤素、硝基、羟基、腈基、氰基、烷氧基、氨基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基，

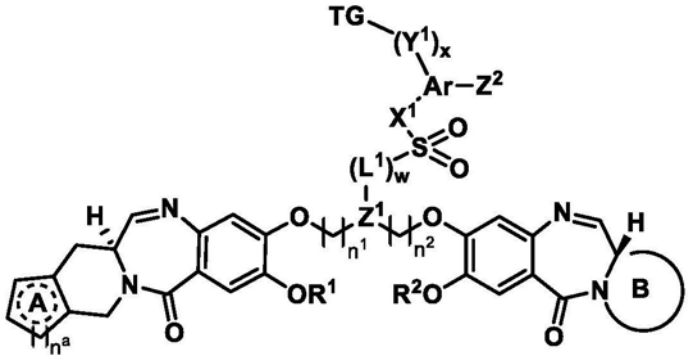
[0342] 前提是A^6、A^7、A^8和A^9中不超过两个为N。

[0343] 式(I)的化合物的缀合物

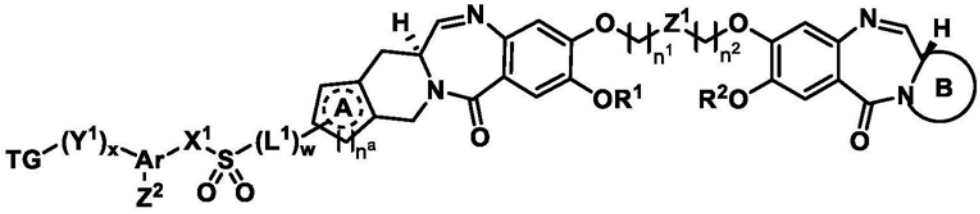
[0344] 在一些实施方案中，本文提供了包含式(I)的化合物的缀合物，其中连接基团是可裂解的接头，其将所述化合物可裂解地连接至靶向剂。在优选实施方案中，靶向剂是细胞结合剂。在一些实施方案中，接头包含在预定条件下经历化学反应(例如，物理化学反应和/或生物反应)以释放亲核杂原子的官能团，以及位于亲核杂原子附近的SO_2官能团。在优选实施方案中，SO_2官能团在分子内环化反应中与亲核杂原子反应以释放活性剂。在一些实施方案中，缀合物还包含对所需靶标受体或与靶标细胞相关的其它分子具有结合特异性的靶向部分(例如，寡肽、多肽、抗体等)。

[0345] 式(II)、(IIa)和(IIb)的化合物

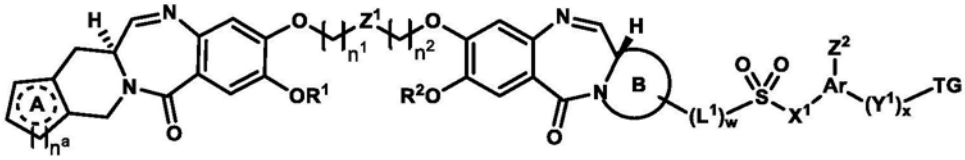
[0346] 本文还提供了化合物，其具有式(II)和(IIa)的结构

[0347] 

(II)



[0348] (IIa)



(IIb)

[0349] 或其药学上可接受的盐，

[0350] 其中：

[0351] 环A为杂环、芳基或杂芳基环；

[0352] 环B为杂环，优选为5元或6元环，任选地与一个或更多个芳基或杂芳基环稠合或被其取代；

[0353] R^1和R^2各自独立地是烷基；

[0354] Z^1是亚甲基或连接基团；

[0355] n^a是值为1或2的整数；

[0356] n^1和n^2各自独立地是值为1至5的整数。

[0357] Z^2不存在或为连接基团；

[0358] L^1是通过选自O、S和N，优选O或N的杂原子附接至SO_2的连接基团，并且被选择为使得L^1与SO_2之间的键的裂解促进L^1与Z^1之间的的键裂解以释放活性剂；

[0359] X^1是-O-、-CR^a_2-或-NR'-，优选-O-；

[0360] Ar表示环，诸如芳基、杂芳基、环烷基或杂环烷基，优选芳基或杂芳基；

[0361] Y^1是-$(CR^b_2)_yN(R^a)$-、-$(CR^b_2)_yO$-或-$(CR^b_2)_yS$-，被定位为使得如果y为1，则N、O或S原子附接至TG；其中X^1和Y^1被定位在Ar的相邻原子上；

[0362] TG是触发基团，所述触发基团当被活化时产生N、O或S原子，其能够与SO_2反应以置换Z并且形成包含X-SO_2和Ar的居间原子的5至6元环；

[0363] w和x各自独立地是值为0或1的整数；

[0364] 每个R^a和R^c独立地是氢或低级烷基；并且

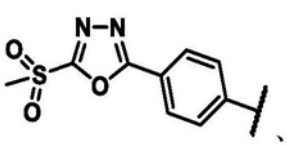
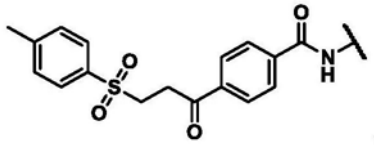
[0365] 每个R^b独立地是氢或低级烷基；或者

[0366] 两个R^b与它们所附接的碳原子一起形成3至5元环，优选3至4元环。

[0367] 在一些实施方案中，X^1是-O-。

[0368] 在某些实施方案中，Ar是芳基。在优选实施方案中，苯基或萘基。

[0369] 在一些实施方案中，Z^2是连接基团，其包含一个或更多个选自以下的基团：异氰化物、异硫氰化物、2-吡啶基二硫化物、卤代乙酰胺(-NHC(O)CH_2-卤代)、马来酰亚胺、二烯、烯烃、卤素、甲苯磺酸根(TsO^-)、醛、磺酸根($R-SO_3^-$)、


、
、膦酸(-P(=O)(OH)$_2$)、酮、C_8-C_{10}环炔基、-OH、-NHOH、-$NHNH_2$、-SH、羧酸(-COOH)、乙炔(-C≡CH)、叠氮化物(-N_3)、氨基(-NH_2)、磺酸(-SO_3H)、炔酮衍生物(-C(O)C≡C-R^a)和磷酸二氢根(-OP(=O)(OH)$_2$)。

[0370] 在某些实施方案中,x是0。

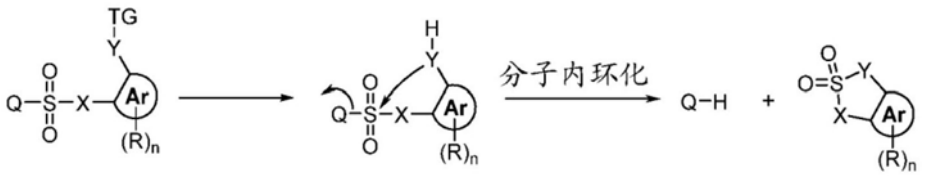
[0371] 活性剂的释放

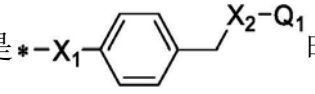
[0372] 如上所描述,在某些实施方案中,本文公开的化合物和缀合物能够在活化触发基团的化学反应之后通过分子内环化反应解离一种或更多种由式(II)表示的活性剂。在某些实施方案中,所述化学反应是物理化学反应和/或生物化学反应。

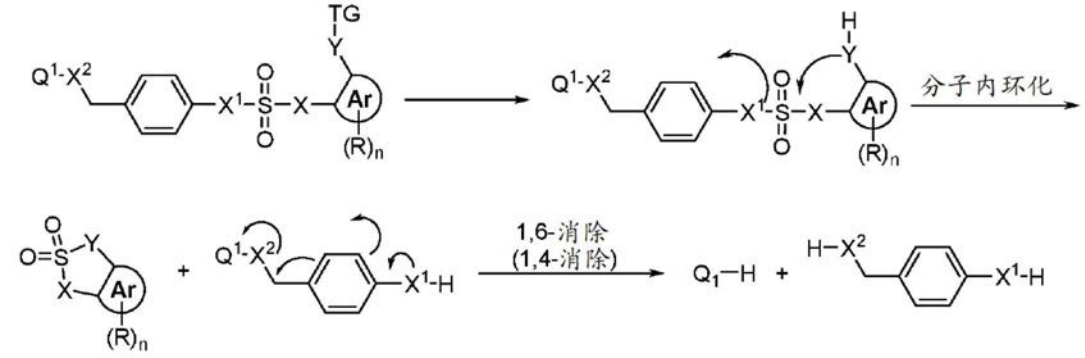
[0373] 在一些实施方案中,本文公开的化合物和缀合物包含在Ar上相对于X(例如,O)相邻的原子处引入的亲核官能团(Y或Y')。典型地,所述亲核官能团被触发基团(TG)掩盖,如下面进一步详述。活化后,所述触发基团释放亲核官能团以在分子内环化中与附近的SO_2部分反应,最终释放一种或更多种式(II)、(IIa)或(IIb)的化合物。在一些此类实施方案中,在化学反应、物理化学反应和/或生物化学反应之后通过分子内环化反应释放一种或更多种活性剂(参见例如反应方案1),或者在分子内环化反应之后通过1,6-消除或1,4-消除释放活性剂(参见例如反应方案2)。

[0374] 例如,当Y是-Y'-TG并且Q与SO^2基团直接缀合时,所述活性剂可通过反应方案1中所示的机理释放:

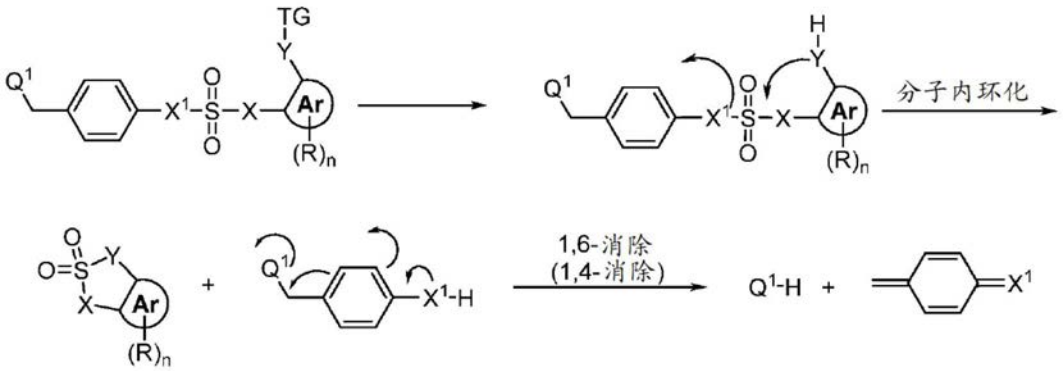
[0375] 反应方案1:

[0376] 

[0377] 当Q是时,Q^1可通过反应方案2中所示的机理释放:



[0378]



[0379] 在一些实施方案中，Q^1在释放时是包含至少一个选自以下的官能团的活性剂：-OH、-NH-、-SH和-COOH。根据这些实施方案，如本文进一步所描述，Q^1通过-OH、-NH-、-SH和-COOH，例如通过选自酯、酰胺、硫酯、氨基甲酸根、脲、肟、腙等的官能团与如本文所描述的化合物缀合。在一些此类实施方案中，使用Q^2替代Q^1，并且Q^2是含胺基的药物。在其它实施方案中，Q^2是能够与铵单元结合的活性剂。在仍然其它实施方案中，Q^2能够在Q^2释放的释放时以其具有胺基的原始形式解离，其中活性剂可以是药物、毒素、亲和配体、用于检测的探针、或其组合。

[0380] 在一些实施方案中，本文公开的化合物和缀合物是化学和生理上稳定的。在一些此类实施方案中，本文公开的化合物和缀合物以活性剂很少解离在血液中的状态到达所希望的靶标细胞，从而选择性地释放药物。

[0381] 触发基团(TG)

[0382] 在一些实施方案中，本发明的缀合物包含触发基团(TG)。TG是能够通过诸如生物反应的化学反应裂解、优选选择性裂解的基团。通常，触发基团用于掩盖Y或Y'基团的亲核性质，从而为本文公开的化合物和缀合物提供稳定性(例如，通过防止在缀合物到达目标位置或经历预定触发条件之前自我牺牲(self-immolation)或分子内环化)。活化后，触发基团释放亲核性Y基团并且允许发生如上所描述的自我牺牲或分子内环化。

[0383] 在一些实施方案中，TG包含被TEV、胰蛋白酶、凝血酶、组织蛋白酶B、组织蛋白酶D、组织蛋白酶K、胱天蛋白酶1、基质金属蛋白酶(MMP)等识别的序列(诸如肽序列)或部分，所述序列或部分可以被酶(例如，氧化还原酶、转移酶、水解酶、裂解酶、异构酶、连接酶等)水解和/或可以包含选自磷酸二酯、磷脂、酯、β-半乳糖、β-葡萄糖、岩藻糖、寡糖等的部分。

[0384] 在一些实施方案中，TG包含可在亲核试剂条件下裂解的反应性化学部分或官能团(例如，甲硅烷基醚、2-N-酰基硝基苯磺酰胺、不饱和乙烯基硫醚、活化后的磺酰胺、丙二醛-吲哚衍生物、乙酰丙酰基酯、腙、或酰基腙)。

[0385] 在一些实施方案中，TG可以包含可在碱性试剂条件下裂解的反应性化学部分或官能团(例如，2-氰基乙基酯、二琥珀酸乙二醇酯、2-磺酰基乙基酯、烷基硫酯、或苯硫基酯)。

[0386] 在一些实施方案中，TG可以包含可通过光辐照裂解的反应性化学部分或官能团(例如，2-硝基苄基衍生物、苯酰基酯、苯磺酸8-喹啉酯、香豆素、磷酸三酯、双-芳基腙、或bimane二-硫代丙酸衍生物)。

[0387] 在一些实施方案中，TG可以包含可通过还原剂条件裂解的反应性化学部分或官能团(例如，羟胺、二硫化物、乙酰丙酸根、硝基、或4-硝基苄基衍生物)。

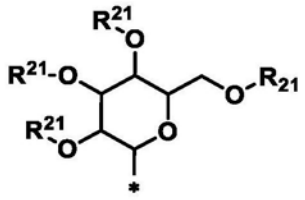
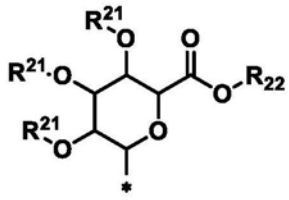
[0388] 在一些实施方案中，TG可以包含可使用酸性条件裂解的反应性化学部分或官能团(例如，糖类、叔丁基氨基甲酸酯类似物、二烷基或二芳基二烷氧基硅烷、原酸酯、缩醛、乌头酰基、腙、β-硫代丙酸酯、氨基磷酸酯、亚胺、三苯甲基、乙烯基醚、聚缩酮、和2-(二苯基膦基)苯甲酸烷基酯衍生物；烷基酯、8-羟基喹啉酯、和吡啶甲酸酯)。

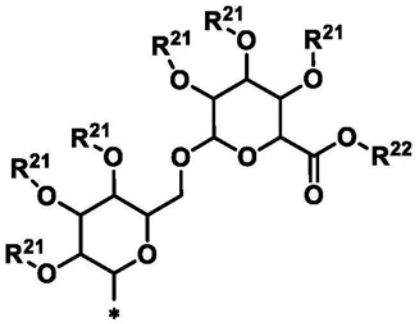
[0389] 在一些实施方案中，TG可以包含可在氧化条件下裂解的反应性化学部分或官能团(例如，硼酸酯、邻二醇、对甲氧基苄基衍生物、或硒化合物)。

[0390] 在某些优选实施方案中，TG包含可在酸性或酶促条件下裂解的糖。在某些优选实施方案中，触发基团是可在还原条件下裂解的-NO_2。在某些优选实施方案中，触发基团是可在氧化条件下裂解的硼酸酯。在某些优选实施方案中，触发基团是可在酸性、碱性或酶促条件下裂解的酯。在某些优选实施方案中，触发基团是可在亲核条件下或在酸性条件下裂解的腙。在某些优选实施方案中，触发基团是可在还原条件下裂解的羟胺。

[0391] 糖触发基团

[0392] 在一些实施方案中，本文公开的化合物和缀合物包含糖触发基团，例如选自以下的触发基团：


；

；和

[0393]


[0394] 其中每个R^{21}独立地是氢或被选择为使得O-R^{21}是羟基保护基团(例如，乙酰基)；并且R^{22}是氢或低级烷基(例如，C_1-C_6烷基)。在某些实施方案中，所述羟基保护基团能够用于有机合成，包括但不限于：甲基醚、甲氧基甲基醚、甲硫基甲基醚、2-甲氧基乙氧基甲基醚、双(2-氯乙氧基)甲基醚、四氢吡喃基醚、四氢硫代吡喃基醚、4-甲氧基四氢吡喃基醚、4-甲氧基四氢硫代吡喃基醚、四氢呋喃基醚、1-乙氧基乙基醚、1-甲基-1-甲氧基乙基醚、2-(苯基硒基)乙基醚、叔丁基醚、烯丙基醚、苄基醚、邻硝基苄基醚、三苯基甲基醚、α-萘基二苯基

甲基醚、对甲氧基苯基二苯基甲基醚、9-(9-苯基-10-氧代)蒽基醚、三甲基甲硅烷基醚、异丙基二甲基甲硅烷基醚、叔丁基二甲基甲硅烷基醚、叔丁基二苯基甲硅烷基醚、三苄基甲硅烷基醚、三异丙基甲硅烷基醚、甲酸酯、乙酸酯、三氯乙酸酯、苯氧基乙酸酯、异丁酸酯、特戊酸酯、金刚酸酯、苯甲酸酯、2,4,6-三甲基苯甲酸酯、碳酸甲酯、碳酸2,2,2-三氯乙酯、碳酸烯丙酯、碳酸对硝基苯酯、碳酸苄酯、碳酸对硝基苄酯、S-苄基硫代碳酸酯、N-苯基氨基甲酸酯、硝酸酯、2,4-二硝基苯基次磺酸酯等,但不限于这些。

[0395] 作为触发基团的保护基团

[0396] 在一些实施方案中,TG是能够通过化学反应、物理化学反应和/或生物反应裂解的基团。在某些实施方案中,TG是保护基团。在一些此类实施方案中,所述保护基团是胺基保护基团、醇保护基团、或硫醇保护基团。

[0397] 胺保护基团

[0398] 在某些实施方案中,所述胺保护基团是能够用于有机合成的一般保护基团,包括但不限于:氨基甲酸间硝基苯酯、氨基甲酸3,5-二甲氧基苄酯、氨基甲酸邻硝基苄酯、氨基甲酸苯基(邻硝基苯基)甲酯、氨基甲酸烷基酯、氨基甲酸9-芴基甲酯、氨基甲酸2,2,2-三氯乙酯、氨基甲酸2-三甲基甲硅烷基乙酯(Teoc)、氨基甲酸叔丁酯(Boc)、氨基甲酸乙烯酯(Voc)、氨基甲酸烯丙酯(Alloc)、氨基甲酸1-异丙基烯丙酯(Ipaoc)、氨基甲酸8-喹啉酯、氨基甲酸N-羟基哌啶酯、氨基甲酸苄酯、氨基甲酸对甲氧基苄酯、氨基甲酸对硝基苄酯、二苯基甲基氨基甲酸酯、乙酰胺、氯乙酰胺、三氯乙酰胺、苯基乙酰胺、苯甲酰胺、N-苯邻二甲酰亚胺、N-2,3-二苯基马来酰亚胺、N-2,5-二甲基吡咯、N-1,1-二甲基硫代亚甲基胺、N-亚苄基胺、苯次磺酰胺、邻硝基苯次磺酰胺、三苯基甲基次磺酰胺、对甲苯磺酰胺、甲磺酰胺等,但不限于这些。

[0399] 醇保护基团

[0400] 在某些实施方案中,所述醇保护基团是能够用于有机合成的一般保护基团,包括但不限于:甲基醚、甲氧基甲基醚(MOM醚)、苄氧基甲基醚(BOM醚)、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基醚(SEM醚)、苯硫基甲基醚(PTM醚)、2,2-二氯-1,1-二氟乙基醚、对溴苯酰基醚、氯丙基甲基醚、异丙基醚、环己基醚、4-甲氧基苄基、2,6-二氯苄基醚、4-(二甲基氨基羰基)苄基醚、9-蒽基甲基醚、4-吡啶甲基醚、甲硫基甲基醚(MTM醚)、2-甲氧基乙氧基甲基醚(MEM醚)、双(2-氯乙氧基)甲基醚、四氢吡喃基醚(THP醚)、四氢硫代吡喃基醚、4-甲氧基四氢吡喃基醚、4-甲氧基四氢硫代吡喃基醚、四氢呋喃基醚、1-乙氧基乙基醚、1-甲基-1-甲氧基乙基醚、2-(苯基硒基)乙基醚)、叔丁基醚、烯丙基醚、苄基醚、邻硝基苄基醚、三苯基甲基醚、α-萘基二苯基甲基醚、对甲氧基苯基二苯基甲基醚、9-(9-苯基-10-氧代)蒽基醚、三甲基甲硅烷基醚(TMS醚)、异丙基二甲基甲硅烷基醚、叔丁基二甲基甲硅烷基醚(TBDMS醚)、叔丁基二苯基甲硅烷基醚、三苄基甲硅烷基醚、三异丙基甲硅烷基醚、甲酸酯、乙酸酯、三氯乙酸酯、苯氧基乙酸酯、异丁酸酯、特戊酸酯、金刚酸酯、苯甲酸酯、2,4,6-三甲基苯甲酸酯(Mesitoate)酯、碳酸甲酯、碳酸2,2,2-三氯乙酯、碳酸烯丙酯、碳酸对硝基苯酯、碳酸苄酯、碳酸对硝基苄酯、硫代碳酸S-苄酯、N-苯基氨基甲酸酯、硝酸酯、2,4-二硝基苯基次磺酸酯、二甲基膦基酯(DMP酯)、二甲基硫代膦基酯(MPT酯)、甲磺酸芳基酯、甲苯磺酸芳基酯等,但不限于这些。

[0401] 硫醇保护基团

[0402] 在某些实施方案中，所述硫醇保护基团能够用于有机合成，包括但不限于：S-苄基硫醚、S-对甲氧基苄基硫醚、S-邻或对羟基或乙酰氧基苄基硫醚、S-对硝基苄基硫醚、S-4-吡啶甲基硫醚、S-2-吡啶甲基N-氧化物硫醚、S-9-蒽基甲基硫醚、S-9-芴基甲基硫醚、S-甲氧基甲基单硫缩醛、A-乙酰基衍生物、S-苯甲酰基衍生物、S-(N-乙基氨基甲酸酯)、S-(N-甲氧基甲基氨基甲酸酯)等，但不限于这些。

[0403] 连接基团

[0404] 在一些实施方案中，本文公开的化合物和缀合物包含通过共价键连接每个CB和Ar的连接基团。典型的连接基团是稳定的不可水解部分，例如像C_{10}-C_{100}直链或支链的饱和或不饱和亚烷基。在某些实施方案中，所述连接单元满足以下四个标准中的至少两个并且更优选至少三个：

[0405] (i)亚烷基部分中的至少一个-CH_2-被选自-NH-、-C(=O)、-O-、-S-和-P-的杂原子取代(即，替代)；

[0406] (ii)亚烷基部分包含至少一个亚杂芳基；

[0407] (iii)亚烷基部分包含至少一个氨基酸部分、糖键、肽键或酰胺键；和

[0408] (iv)亚烷基可以进一步被一个或更多个选自由以下组成的组的取代基取代：C_1-C_{20}烷基、C_6-C_{20}芳基C_1-C_8烷基、-$(CH_2)_s$COOH和-$(CH_2)_p$$NH_2$，其中s是值为0至10的整数，并且p是值为1至约10的整数。

[0409] 在某些实施方案中，连接单元包含以下中的至少两个并且更优选至少三个：

[0410] (i)至少一个选自-NH-、-C(=O)、-O-、-S-和-P-的杂原子；

[0411] (ii)至少一个亚杂芳基；

[0412] (iii)至少一个氨基酸部分、糖键、肽键或酰胺键；和

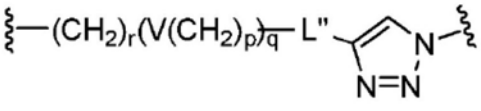
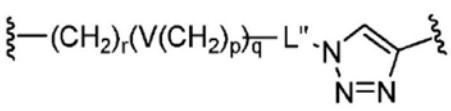
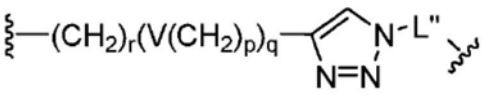
[0413] (iv)亚烷基可以进一步被一个或更多个选自由以下组成的组的取代基取代：C_1-C_{20}烷基、C_6-C_{20}芳基C_1-C_8烷基、-$(CH_2)_s$COOH和-$(CH_2)_p$$NH_2$，其中s是值为0至10的整数，并且p是值为1至约10的整数。

[0414] 在其它实施方案中，连接每个CB和Ar的连接基团包含通过点击化学反应产生的官能团。

[0415] 在可选实施方案中，连接单元包含能够参与点击化学反应的反应性官能团。

[0416] 点击化学反应是可在温和条件下进行的反应，并且对于在生物分子中不常发现的官能团(例如，叠氮化物基团、乙炔基团等)具有极高的选择性。因此，次反应可以在复杂触发基团、靶向部分等的存在下进行。此外，点击化学具有高的反应特异性。例如，在叠氮化物基团与乙炔基团之间的点击化学反应选择性地进行，而不受分子中存在的其它官能团的干扰。例如，叠氮化物-乙炔点击化学可以高产率得到三唑部分。

[0417] 因此，在一些实施方案中，连接每个CB和Ar的连接基团包含


、

或

，V可以是单键、-O-、-S-、-NR^{21}-、-C(O)NR^{22}-、-NR^{23}C(O)-、-$NR^{24}$$SO_2$-或-$SO_2$$NR^{25}$-，$R^{21}$至$R^{25}$可以各自独立地是氢、($C_1$-$C_6$)烷基、($C_1$-$C_6$)烷基($C_6$-

C_{20})芳基或(C_1-C_6)烷基(C_3-C_{20})杂芳基，r可以是值为1至约10的整数，p可以是值为0至约10的整数，q可以是值为1至约10的整数，并且L”可以是单键。

[0418] 在其它实施方案中，连接每个CB和Ar的连接单元是由式(A)表示的连接基团：

[0419] **-L^c-W^{b1}-$(CH_2)_b$-W^{a3}-$(P^1)_a$-Y^2-W^{a2}-Y^1-W^{a1}-*

[0420] (A)

[0421] 其中：

[0422] *是与CB的附接点；

[0423] **是与Ar的附接点；

[0424] W^{a1}、W^{a2}和W^{a3}各自独立地是-NH-、-C(=O)-或$(-CH_2-)_b$；

[0425] W^{b1}是酰胺键或亚三唑基；

[0426] P^1是连接W^{a3}和Y^2的接头，并且是氨基酸部分、肽键或酰胺键；

[0427] L^c是亚烷基；

[0428] Y^2是单键、-W^{a4}-$(CH_2)_c$-W^{b2}-$(CH_2)_d$-W^{a5}-或-W^{a6}-$(CH_2)_e$-CR^eR^f-X-；

[0429] R^e是C_1-C_8烷基或CB-W_{a7}-Y_3-W_{c1}-$(CH_2)_f$-；

[0430] R^f是B-W^{a7}-Y^3-W^{c1}-$(CH_2)_f$-；

[0431] X是-NHC(=O)-$(CH_2)_g$-W^{a8}-或-C(=O)NH-$(CH_2)_h$-W^{a9}-；

[0432] W^{a4}、W^{a5}、W^{a6}、W^{a7}、W^{a8}和W^{a9}各自独立地是-NH-、-C(=O)-或-CH_2-；

[0433] W^{b2}是酰胺键或亚三唑基；

[0434] W^{c1}是-NHC(=O)-或-C(=O)NH-；

[0435] Y^3是-$(CH_2)_i$-$(X'CH_2CH_2)_j$-$(CH_2)_k$-；

[0436] X’是-O-、-S-、-NH-或-CH_2-；

[0437] CB是如上相同定义的；

[0438] b、c、d、e、f、g、h、i和j各自独立地是值为1至约10的整数；

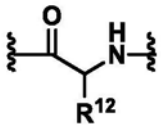
[0439] k和y各自独立地是值为0至约10的整数；

[0440] Y^1是-$(CH_2)_q$-$(CH_2CH_2X'')_o$-或-$(CH_2)_q$-$(X''CH_2CH_2)_o$-；

[0441] X”是-O-、-S-、-NH-或-CH_2-；并且

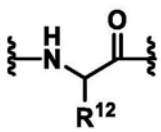
[0442] o和q是值为1至约10的整数。

[0443] 在一些实施方案中，P^1包含至少一个由式(B)或(C)表示的单元：



(B)

[0444]



(C)

[0445] 其中：

[0446] R^{12}是氢、C_1-C_8-烷基、氨基酸侧链(诸如天然氨基酸侧链(例如，H、甲基、异丙基、异

丁基、仲丁基、S-甲基硫醚、苄基、吲哚、吡咯烷、羟基甲基、酪氨酰基、赖氨酰基、咪唑、甘氨酰基、谷氨酰基、氨基甲酰基丁酸、甲酰胺、天冬氨酸、1-羟基乙基、和2-羟基乙基))、-$(CH_2)_sCOR^{13}$或-$(CH_2)_pNR^{14}R^{15}$；

[0447] R^{13}是OH或-NH$(CH_2)_{s'}(X''CH_2CH_2)_{s''}Z$；

[0448] R^{14}和R^{15}各自独立地是氢或-(C(O)$(CH_2)_{s'}(X''CH_2CH_2)_{s''}Z)_m$-CB；

[0449] X”是-O-、-S-、-NH-或-CH_2-；

[0450] Z和CB是如上相同定义的；

[0451] p是值为1至约10的整数；

[0452] s和s”是值为0至约10的整数；

[0453] s’是值为1至约10的整数；并且

[0454] m是值为0或1的整数。

[0455] 在式(B)或(C)的一些实施方案中：

[0456] R^{12}是氢、烷基、氨基酸侧链、-$(CH_2)_sC(O)R^{13}$或-$(CH_2)_pNR^{14}R^{15}$；

[0457] p是值为1至约10的整数；

[0458] s是值为0至约10的整数；

[0459] R^{13}是OH或-NH$(CH_2)_{s'}(X'''CH_2CH_2)_{s''}Z''-(CB)_m$；

[0460] R^{14}和R^{15}各自独立地是氢或-C(O)$(CH_2)_{s'}(X'''CH_2CH_2)_{s''}Z''-(CB)_m$；

[0461] s”是值为0至约10的整数；

[0462] s’是值为1至约10的整数；

[0463] m是值为0或1的整数；

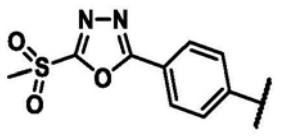
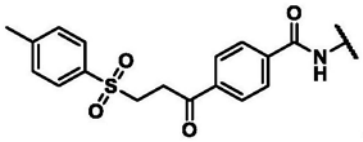
[0464] X”’是-O-、-S-、-NH-或-CH_2-；并且

[0465] Z”是将CB与R^{14}或R^{15}的其余部分连接的连接基团；或Z”是包含反应性基团的连接基团。

[0466] 在式(B)或(C)的一些此类实施方案中：

[0467] R^{13}是OH或-NH$(CH_2)_{s'}(X'''CH_2CH_2)_{s''}Z''$；

[0468] R^{14}和R^{15}各自独立地是氢或-C(O)$(CH_2)_{s'}(X'''CH_2CH_2)_{s''}Z''$；并且

[0469] Z”是连接单元的反应性前体，所述反应性前体选自异氰化物、异硫氰化物、2-吡啶基二硫化物、卤代乙酰胺(-NHC(O)CH_2-卤代)、马来酰亚胺、二烯、烯烃、卤素、甲苯磺酸根(TsO$^-$)、醛、磺酸根(R-SO_3^-)、、、膦酸(-P(=O)$(OH)_2$)、酮、C_8-C_{10}环炔基、-OH、-NHOH、-$NHNH_2$、-SH、羧酸(-COOH)、乙炔(-C≡CH)、叠氮化物(-N_3)、氨基(-NH_2)、磺酸(-SO_3H)、炔酮衍生物(-C(O)C≡C-R^a，其中R^a是C_1-C_{10}-烷基)、和磷酸二氢根(-OP(=O)$(OH)_2$)。

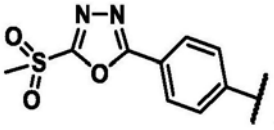
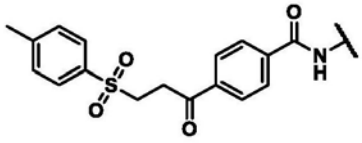
[0470] 在式(B)或(C)的其它此类实施方案中：

[0471] R^{13}是OH或-NH$(CH_2)_{s'}(X'''CH_2CH_2)_{s''}Z''$CB；

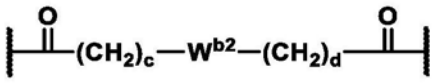
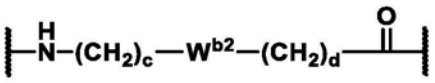
[0472] R^{14}和R^{15}各自独立地是氢或-C(O)$(CH_2)_{s'}(X'''CH_2CH_2)_{s''}Z''$CB；并且

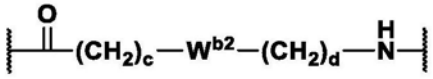
[0473] Z”是由前体形成的将CB与R^{14}或R^{15}的其余部分连接的连接单元，所述前体选自异氰化物、异硫氰化物、2-吡啶基二硫化物、卤代乙酰胺(-NHC(O)CH_2-卤代)、马来酰亚胺、二

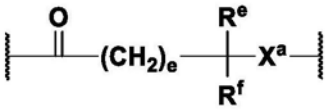
烯、烯烃、卤素、甲苯磺酸根(TsO^-)、醛、磺酸根($R-SO_3^-$)、

、、膦酸($-P(=O)(OH)_2$)、酮、C_8-C_{10}环炔基、-OH、-NHOH、$-NHNH_2$、-SH、羧酸(-COOH)、乙炔($-C\equiv CH$)、叠氮化物($-N_3$)、氨基($-NH_2$)、磺酸($-SO_3H$)、炔酮衍生物($-C(O)C\equiv C-R^a$,其中R^a是C_1-C_{10}-烷基)、和磷酸二氢根($-OP(=O)(OH)_2$)。

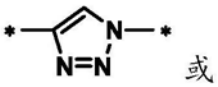
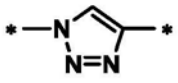
[0474] 在一些实施方案中,Y^2是单键或选自:

; ;

[0475] ; ; 和



[0476] 其中:

[0477] W^{b2}是-C(O)NH-、-NHC(O)-、或;

[0478] R^e是C_1-C_8-烷基或$-(L^{1'}-Z-)_mCB$;

[0479] R^f是$B-W_{b2'}-(CH_2)_i-(X"CH_2CH_2)_j-NH-C(=O)-(CH_2)_f-$;

[0480] X^a是$-NHC(=O)-(CH_2)_g-NH-$或$-C(O)NH-(CH_2)_h-NH-$;

[0481] $W^{b2'}$是-C(O)NH-或-NHC(=O)-;

[0482] c、d、e、f、g、h、i和j各自独立地是值为1至约10的整数;

[0483] X"是-O-、-S-、-NH-或$-CH_2-$;并且

[0484] $L^{1'}$、Z、m和B是如上相同定义的。

[0485] 在某些实施方案中,连接每个CB和Ar的连接单元是包含通过共价键彼此连接的$(CH_2)_b$、L^c、$(P^1)_a$、W^{a1}、W^{a2}、W^{a3}、Y^1和Y^2基团的连接基团,其中:

[0486] W^{a1}、W^{a2}和W^{a3}各自独立地是-NH-、-C(O)-或$-CH_2-$;

[0487] W^{b1}是酰胺键或亚三唑基;

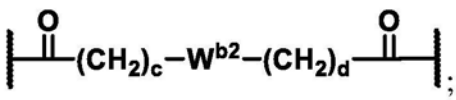
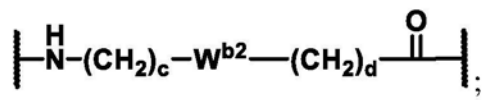
[0488] P^1是酰胺键、氨基酸残基、或肽;

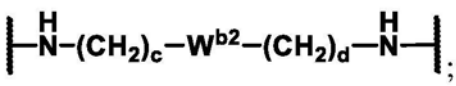
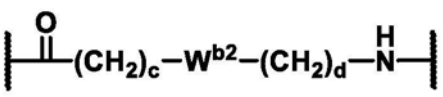
[0489] L^c是亚烷基;

[0490] Y^1是$-(CH_2)_q-(CH_2CH_2X")_o-$或$-(CH_2)_q-(X"CH_2CH_2X")_o-$;

[0491] X"是-O-、-S-、-NH-或$-CH_2-$;

[0492] Y^2是单键或选自以下的基团:

[0493] ; ;

; 和

[0494] W^{b2}是酰胺键或亚三唑基；

[0495] a是0至10；

[0496] b、c和d各自独立地是值为1至约10的整数；并且

[0497] o和q各自独立地是值为1至约10的整数。

[0498] 在一些实施方案中，R^{12}是天然氨基酸侧链。在其它实施方案中，R^{12}是非天然氨基酸侧链。

[0499] 在一些实施方案中，连接每个CB和Ar的连接单元是由式(A)表示的连接基团：

[0500] $**-L^{c}-W^{b1}-(CH_2)_b-W^{a3}-(P^1)_a-Y^2-W^{a2}-Y^1-W^{a1}-*$

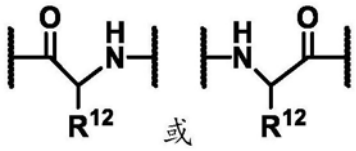
[0501] (A)

[0502] 其中：

[0503] *是与CB的附接点；并且

[0504] **是与Ar的附接点。

[0505] 在一些此类实施方案中，P^1是

[0506] 

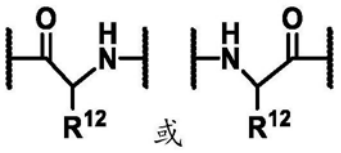
[0507] 其中：

[0508] R^{12}是氢、烷基、氨基酸侧链、$-(CH_2)_sCOOH$或$-(CH_2)_pNH_2$；

[0509] p是值为1至约10的整数；并且

[0510] s和s”各自独立地是值为0至约10的整数。

[0511] 在一些实施方案中，P^1是

[0512] 

[0513] 其中：

[0514] R^{12}是氢、烷基、氨基酸侧链、$-(CH_2)_sC(O)R^{13}$或$-(CH_2)_pNR^{14}R^{15}$；

[0515] p是值为1至约10的整数；

[0516] s是值为0至约10的整数；

[0517] R^{13}是OH或$-NH(CH_2)_{s'}(X'''CH_2CH_2)_{s''}Z''-(CB)_m$；

[0518] R^{14}和R^{15}各自独立地是氢或$-C(O)(CH_2)_{s'}(X'''CH_2CH_2)_{s''}Z''-(CB)_m$；

[0519] s”是值为0至约10的整数；

[0520] s’是值为1至约10的整数；

[0521] m是值为0或1的整数；

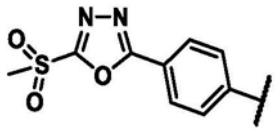
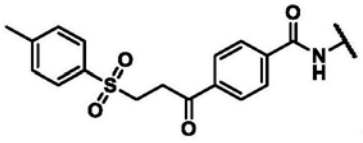
[0522] X”’是-O-、-S-、-NH-或$-CH_2-$；并且

[0523] Z”是将CB与R^{14}或R^{15}的其余部分连接的连接基团；或Z”是包含反应性基团的连接基团。

[0524] 在P^1的一些此类实施方案中：

[0525] R^{13}是OH或$-NH(CH_2)_{s'}(X'''CH_2CH_2)_{s''}Z''$；

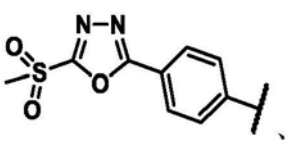
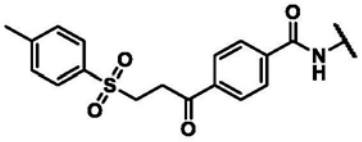
[0526] R^{14}和R^{15}各自独立地是氢或-C(O)$(CH_2)_s$,(X"'$CH_2CH_2)_s$"Z";并且

[0527] Z"是连接单元的反应性前体,所述反应性前体选自异氰化物、异硫氰化物、2-吡啶基二硫化物、卤代乙酰胺(-NHC(O)CH_2-卤代)、马来酰亚胺、二烯、烯烃、卤素、甲苯磺酸根(TsO^-)、醛、磺酸根($R-SO_3^-$)、、、膦酸(-P(=O)$(OH)_2$)、酮、C_8-C_{10}环炔基、-OH、-NHOH、-$NHNH_2$、-SH、羧酸(-COOH)、乙炔(-C≡CH)、叠氮化物(-N_3)、氨基(-NH_2)、磺酸(-SO_3H)、炔酮衍生物(-C(O)C≡C-R^a,其中R^a是C_1-C_{10}-烷基)、和磷酸二氢根(-OP(=O)$(OH)_2$)。

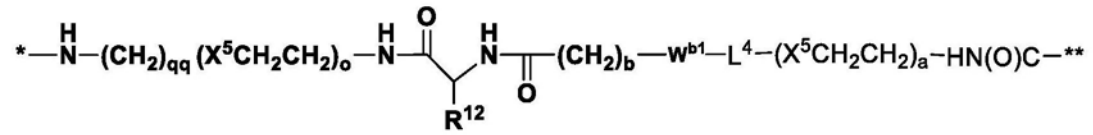
[0528] 在P^1的其它此类实施方案中:

[0529] R^{13}是OH或-NH$(CH_2)_s$,(X"'$CH_2CH_2)_s$"Z"CB;

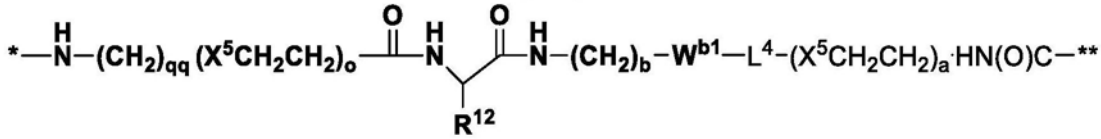
[0530] R^{14}和R^{15}各自独立地是氢或-C(O)$(CH_2)_s$,(X"'$CH_2CH_2)_s$"Z"CB;并且

[0531] Z"是由前体形成的将CB与R^{14}或R^{15}的其余部分连接的连接单元,所述前体选自异氰化物、异硫氰化物、2-吡啶基二硫化物、卤代乙酰胺(-NHC(O)CH_2-卤代)、马来酰亚胺、二烯、烯烃、卤素、甲苯磺酸根(TsO^-)、醛、磺酸根($R-SO_3^-$)、、、膦酸(-P(=O)$(OH)_2$)、酮、C_8-C_{10}环炔基、-OH、-NHOH、-$NHNH_2$、-SH、羧酸(-COOH)、乙炔(-C≡CH)、叠氮化物(-N_3)、氨基(-NH_2)、磺酸(-SO_3H)、炔酮衍生物(-C(O)C≡C-R^a,其中R^a是C_1-C_{10}-烷基)、和磷酸二氢根(-OP(=O)$(OH)_2$)。

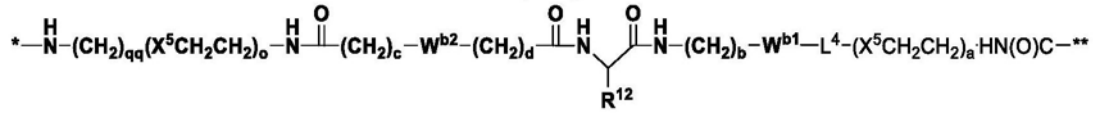
[0532] 在可选实施方案中,连接CB和Ar的连接单元是由式(IIIb)、(IIIc)、(IIId)、(IIIe)、(IIIf)、(IIIg)、(IIIh)或(IIIj)表示的连接基团:



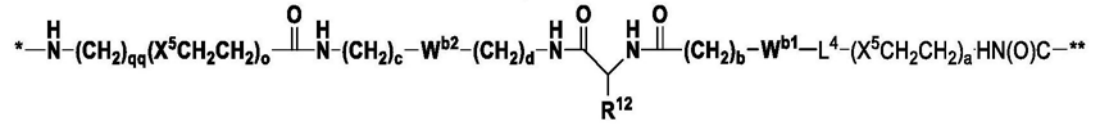
(IIIb)



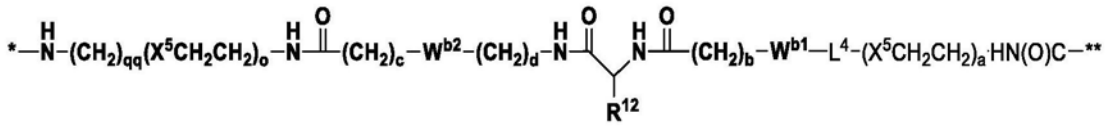
[0533] (IIIc)



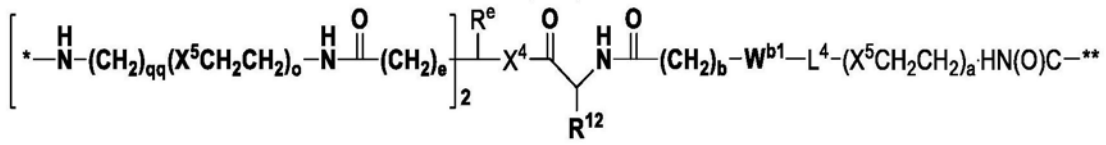
(IIId)



(IIIe)

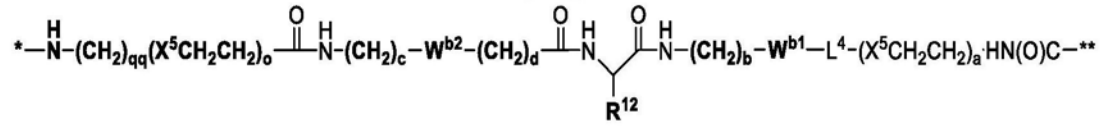


(IIIf)

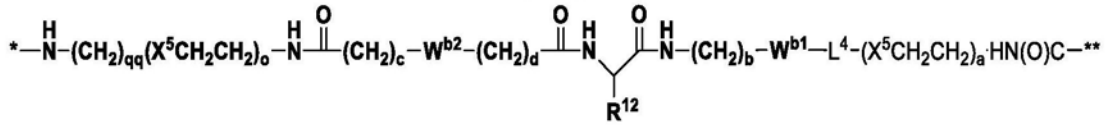


[0534]

(IIIg)



(IIIh)

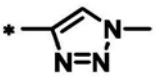
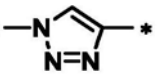


(IIIj)

[0535] 其中：

[0536] R^e是烷基；

[0537] X^5是-O-、-S-、-NH-或-CH_2-；

[0538] W^{b1}和W^{b2}各自独立地是-C(O)NH-、-NHC(O)-、或；

[0539] R^{12}是氢、烷基、氨基酸侧链、-$(CH_2)_s$C(O)R^{13}或-$(CH_2)_p$N$R^{14}R^{15}$；

[0540] R^{13}是OH或-NH$(CH_2)_{s'}(X^4CH_2CH_2)_{s''}Z''$-$(CB)_m$；

[0541] R^{14}和R^{15}各自独立地是氢或-C(O)$(CH_2)_{s'}(X'''CH_2CH_2)_{s''}Z''$-$(CB)_m$；

[0542] s和s”各自独立地是值为0至约10的整数；

[0543] m是值为0或1的整数；

[0544] X^4和X^5各自独立地是-O-、-S-、-NH-或-CH_2-；并且

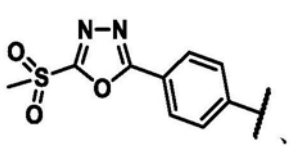
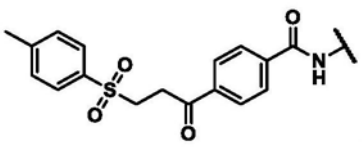
[0545] b、c、d、e、g、h、o和q各自独立地是值为1至约10的整数。

[0546] 在式(IIIb)、(IIIc)、(IIId)、(IIIe)、(IIIf)、(IIIg)、(IIIh)或(IIIj)的一些此类实施方案中：

[0547] R^{13}是OH或-NH$(CH_2)_{s'}(X'''CH_2CH_2)_{s''}Z''$CB；

[0548] R^{14}和R^{15}各自独立地是氢或-C(O)$(CH_2)_{s'}(X'''CH_2CH_2)_{s''}Z''$；并且

[0549] Z”是由前体形成的将CB与R^{14}或R^{15}的其余部分连接的连接单元，所述前体选自异氰化物、异硫氰化物、2-吡啶基二硫化物、卤代乙酰胺(-NHC(O)CH_2-卤代)、马来酰亚胺、二烯、烯烃、卤素、甲苯磺酸根(TsO$^-$)、醛、磺酸根(R-SO_3^-)、

、、膦酸(-P(=O)$(OH)_2$)、酮、C_8-C_{10}环炔基、-OH、-NHOH、-$NHNH_2$、-SH、羧酸(-COOH)、乙炔(-C≡CH)、叠氮化物(-N_3)、氨基(-NH_2)、磺酸(-

SO_3H)、炔酮衍生物(-C(O)C≡C-R^a,其中R^a是C_1-C_{10}-烷基)、和磷酸二氢根(-OP(=O)(OH)$_2$)。

[0550] 靶向部分

[0551] 本发明的化合物和缀合物可以进一步包含配体或靶向部分CB。在一些实施方案中,所述配体或靶向部分是任何分子识别元件,所述分子识别元件可以通过例如非共价键(诸如氢键、金属配位、疏水力、范德华力、π-π相互作用、卤素键、静电、和/或电磁效应)与至少一种其它分子发生特异性相互作用。在某些实施方案中,CB选自纳米颗粒、免疫球蛋白、核酸、蛋白质、寡肽、多肽、抗体、抗原性多肽的片段、重复体(repebody)等。

[0552] 本发明的化合物和缀合物可以包含一个或更多个靶向部分。即,变量cb可以具有选自1、2、3、4、5、1-10或1-20的整数值。

[0553] 在一些实施方案中,CB包含通过共价键(例如,肽键)缀合的两个或更多个独立选择的天然氨基酸或非天然氨基酸,并且可以包含通过肽键缀合的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个天然氨基酸或非天然氨基酸。在一些实施方案中,配体包含较短的氨基酸序列(例如,天然蛋白质片段或合成多肽片段)以及全长蛋白质(例如,预先工程设计的蛋白质)。

[0554] 在一些实施方案中,CB选自与受体结合的抗体、激素、药物、抗体类似物(例如,非IgG)、蛋白质、寡肽、多肽等。在某些实施方案中,CB选择性地靶向特定器官、组织或细胞中的药物。在其它实施方案中,CB特异性地结合至如与正常细胞相比在癌细胞中过表达的受体,并且可以分类为单克隆抗体(mAb)或抗体片段和低分子非抗体。优选地,CB选自在文库筛选中鉴定的肽、肿瘤细胞特异性肽、肿瘤细胞特异性适体、肿瘤细胞特异性碳水化合物、肿瘤细胞特异性单克隆抗体、多克隆抗体、和抗体片段。

[0555] 示例性配体或靶向部分包括但不限于肉毒碱、肌醇、硫辛酸、吡哆醛、抗坏血酸、烟酸、泛酸、叶酸、核黄素、硫胺素、生物素、维生素B_{12}、其它水溶性维生素(维生素B)、脂溶性维生素(维生素A、D、E、K)、RGD(Arg-Gly-Asp)、NGR(Asn-Gly-Arg)、转铁蛋白(transferein)、VIP(血管活性肠肽)受体、APRPG(Ala-Pro-Arg-Pro-Gly)肽、TRX-20(硫氧还蛋白-20)、整合素、核仁素、氨基肽酶N(CD13)、内皮糖蛋白、血管上皮生长因子受体、低密度脂蛋白受体、转铁蛋白受体、生长抑素受体、蛙皮素、神经肽Y、促黄体激素释放激素受体、叶酸受体、表皮生长因子受体、转化生长因子、成纤维细胞生长因子受体、去唾液酸糖蛋白受体、半乳糖凝集素-3受体、E-选择素受体、透明质酸受体、前列腺特异性膜抗原(PSMA)、缩胆囊素A受体、缩胆囊素B受体、网柄菌凝素结构域受体、粘蛋白受体、阿片样物质受体、纤溶酶原受体、缓激肽受体、胰岛素受体、胰岛素样生长因子受体、血管紧张素AT1受体、血管紧缩素AT2受体、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子受体(GM-CSF受体)、半乳糖胺受体、σ-2受体、δ样3(DLL-3)、氨基肽酶P、黑素转铁蛋白、瘦素、破伤风毒素Tet1、破伤风毒素G23、RVG(狂犬病病毒糖蛋白)肽、HER2(人表皮生长因子受体2)、GPNMB(非转移性糖蛋白b)、Ley、CA6、CanAng、SLC44A4(溶质载体家族44成员4)、CEACAM5(癌胚抗原相关细胞粘附分子5)、连接素-4、碳酸酐酶9、TNNB2、5T4、CD30、CD37、CD74、CD70、PMEL17、EphA2(肝配蛋白A2受体)、Trop-2、SC-16、组织因子、ENPP-3(AGS-16)、SLITRK6(SLIT和NTRK样家族成员6)、CD27、Lewis Y抗原、LIV1、GPR161(G蛋白偶联受体161)、PBR(外周型苯并二氮杂䓬受体)、MERTK(Mer受体酪氨酸激酶)受体、CD71、LLT1(凝集素样转录物1或CLED2D)、白介素-22受体、σ1受体、过氧化物酶体增殖物激活的受体、DLL3、C4.4a、cKIT、肝配蛋白A、CTLA4(细胞毒性T-淋巴细胞相关蛋白4)、

FGFR2b(成纤维细胞生长因子受体2b)、N-乙酰胆碱受体、促性腺激素释放激素受体、胃泌素释放肽受体、骨形态发生蛋白1B型受体(BMPR1B)、E16(LAT1、SLC7A5)、STEAP1(前列腺的六跨膜上皮抗原)、0772P(CA125、MUC16)、MPF(MSLN、间皮素)、Napi3b(SLC34A2)、Sema5b(脑信号蛋白5b)、ETBR(内皮素B型受体)、MSG783(RNF124)、STEAP2(前列腺2的六跨膜上皮抗原)、TrpM4(瞬时受体电位阳离子5通道亚家族M成员4)、CRIPTO(畸胎癌来源的生长因子)、CD21、CD79b、FcRH2(IFGP4)、HER2(ErbB2)、NCA(CEACM6)、MDP(DPEP1)、IL20R-α(IN20Ra)、短蛋白聚糖(Brevican,BCAN)、EphB2R、ASLG659(B7h)、CD276、PSCA(前列腺癌干细胞抗原前体)、GEDA、BAFF-R(BR3)、CD22(BL-CAM)、CD79a、CXCR5、HLA-DOB、P2X5、CD72、LY64、FcRH1、IRTA2、TENB2、SSTR2、SSTR5、SSTR1、SSTR3、SSTR4、ITGAV(整合素,α5)、ITGB6(整合素,β6)、MET、MUC1、EGFRvIII、CD33、CD19、IL2RA(白介素2受体α)、AXL、BCMA、CTA(癌症睾丸抗原(cancer tetis antigen))、CD174、CLEC14A、GPR78、CD25、CD32、LGR5(GPR49)、CD133(Prominin)、ASG5、ENPP3(膜外核甘酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶3)、PRR4(富含脯氨酸的蛋白质4)、GCC(鸟苷酸环化酶2C)、Liv-1(SLC39A6)、CD56、CanAg、TIM-1、RG-1、B7-H4、PTK7、CD138、密封蛋白(Claudins)、Her3(ErbB3)、RON(MST1R)、CD20、TNC(腱生蛋白C)、FAP、DKK-1、CD52、CS1(SLAMF7)、膜联蛋白A1、V-CAM、gp100、MART-1、MAGE-1(黑素瘤抗原编码基因-1)、MAGE-3(黑素瘤相关抗原3)、BAGE、GAGE-1、MUM-1(多发性骨髓瘤原癌基因1)、CDK4、TRP-1(gp75)、TAG-72(肿瘤相关糖蛋白-72)、神经节苷脂GD2、GD3、GM2、GM3、VEP8、VEP9、My1、VIM-D5、D156-22、OX40、RNAK、PD-L1、TNFR1、TNFR2等。

[0556] 靶标

[0557] 在一些实施方案中,分子识别元件的一个或更多个靶标特异性地与一种或更多种特定细胞或组织类型相关。在一些实施方案中,靶标特异性地与一种或更多种特定疾病状态相关。在一些实施方案中,靶标特异性地与一个或更多个特定发育阶段相关。例如,细胞类型特异性标志物在所述细胞类型中的表达水平典型地是在参考细胞群体中的至少2倍。在一些实施方案中,细胞类型特异性标志物的存在水平是其在参考群体中的平均表达的至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、至少10倍、至少50倍、至少100倍、或至少1,000倍。细胞类型特异性标志物的检测或测量可以使感兴趣的一种或更多种细胞类型与许多、大多数或所有其它类型的细胞区分开。在一些实施方案中,靶标可以包含蛋白质、碳水化合物、脂质和/或核酸,如本文所描述。

[0558] 在一些实施方案中,如果物质特异性地结合至靶向部分,诸如核酸靶向部分,则认为所述物质是“靶标的”。在一些实施方案中,靶向部分,诸如核酸靶向部分,在严格条件下特异性地结合至靶标。

[0559] 在某些实施方案中,本文所描述的缀合物和化合物包含特异性地结合至与器官、组织、细胞、细胞外基质组分和/或细胞内区室相关的一个或更多个靶标(例如,抗原)的靶向部分。在一些实施方案中,本文所描述的缀合物和化合物包含特异性地结合至与特定器官或器官系统相关的靶标的靶向部分。在一些实施方案中,本文所描述的缀合物和化合物包含特异性地结合至一种或更多种细胞内靶标(例如,细胞器、细胞内蛋白)的靶向部分。在一些实施方案中,本文所描述的缀合物和化合物包含特异性地结合至与患病的器官、组织、细胞、细胞外基质组分和/或细胞内区室相关的靶标的靶向部分。在一些实施方案中,本文所描述的缀合物和化合物包含特异性地结合至与特定细胞类型(例如,内皮细胞、癌细胞、

恶性细胞、前列腺癌细胞等)相关的靶标的靶向部分。

[0560] 在一些实施方案中,本文所描述的缀合物和化合物包含结合至对一种或更多种特定组织类型(例如,相对于前列腺组织,对肝组织)具有特异性的靶标的靶向部分。在一些实施方案中,本文所描述的缀合物和化合物包含结合至对一种或更多种特定细胞类型(例如,相对于B细胞,对T细胞)具有特异性的靶标的靶向部分。在一些实施方案中,本文所描述的缀合物和化合物包含结合至对一种或更多种特定疾病状态(例如,相对于健康细胞,对肿瘤细胞)具有特异性的靶标的靶向部分。在一些实施方案中,本文所描述的缀合物和化合物包含结合至对一个或更多个特定发育阶段(例如,相对于分化的细胞,对干细胞)具有特异性的靶标的靶向部分。

[0561] 在一些实施方案中,靶标可以是与一种或几种细胞类型、与一种或几种疾病和/或与一个或几个发育阶段排他性地或主要相关的标志物。细胞类型特异性标志物在所述细胞类型中的表达水平典型地是在参考细胞群体中的至少2倍,所述参考细胞群体可以由大约相等量的例如含有来自多个(例如,5-10或更多)不同组织或器官的细胞的混合物组成。在一些实施方案中,细胞类型特异性标志物的存在水平是其在参考群体中的平均表达的至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、至少10倍、至少50倍、至少100倍、或至少1000倍。细胞类型特异性标志物的检测或测量可以使感兴趣的一种或更多种细胞类型与许多、大多数或所有其它类型的细胞区分开。

[0562] 在一些实施方案中,靶标包含蛋白质、碳水化合物、脂质和/或核酸。在一些实施方案中,靶标包含蛋白质和/或其特征部分,诸如肿瘤标志物、整合素、细胞表面受体、跨膜蛋白、细胞间蛋白、离子通道、膜转运蛋白、酶、抗体、嵌合蛋白、糖蛋白等。在一些实施方案中,靶标包含碳水化合物和/或其特征部分,诸如糖蛋白、糖(例如,单糖、二糖、多糖)、糖萼(即,在大多数真核细胞的外表面上的富含碳水化合物的外围区域)等。在一些实施方案中,靶标包含脂质和/或其特征部分,例如油、脂肪酸、甘油酯、激素、类固醇(例如,胆固醇、胆汁酸)、维生素(例如,维生素E)、磷脂、鞘脂、脂蛋白等。在一些实施方案中,靶标包含核酸和/或其特征部分,诸如DNA核酸;RNA核酸;修饰的DNA核酸;修饰的RNA核酸;包含DNA、RNA、修饰的DNA和修饰的RNA的任何组合的核酸。

[0563] 许多标志物是本领域已知的。典型的标志物包括细胞表面蛋白,例如受体。示例性受体包括但不限于转铁蛋白受体;LDL受体;生长因子受体,诸如表皮生长因子受体家族成员(例如,EGFR、Her2、Her3、Her4)或血管内皮生长因子受体、细胞因子受体、细胞粘附分子、整合素、选择素、和CD分子。标记物可以是唯一地或以更高的量存在于恶性细胞(例如肿瘤抗原)上的分子。

[0564] 抗体-药物缀合物(ADC)

[0565] 在一些实施方案中,CB是抗体,并且Q是药物。因此,本文公开的化合物和缀合物可用于将抗体与药物部分缀合以形成抗体-药物缀合物(ADC)。由于ADC将一种或更多种药物部分选择性地递送至靶标组织(诸如肿瘤相关抗原)的能力,抗体-药物缀合物(ADC)可以提高治疗疾病(例如,癌症)的治疗功效。因此,在某些实施方案中,本发明提供了用于治疗性用途(例如治疗癌症)的ADC。

[0566] 本发明的ADC包含与一个或更多个药物部分连接的抗体。ADC的特异性由抗体的特异性限定。在一个实施方案中,抗体与一种或更多种细胞毒性药物连接,所述细胞毒性药物

内部递送至癌细胞。

[0567] 下面提供了可用于本发明的ADC的药物的实例。术语“药物”、“药剂”和“药物部分”在本文中可互换使用。术语“连接的”和“缀合的”在本文中也可互换使用，并且指示抗体和部分是共价连接的。

[0568] 在某些方面，本公开涉及ADC、包含ADC的组合物、治疗方法和配制ADC组合物的方法。ADC包含与细胞毒性化合物缀合的抗体或抗体片段。在一些实施方案中，细胞毒性化合物通过接头与抗体缀合。在其它实施方案中，细胞毒性化合物直接与抗体连接。下面描述本公开所涵盖的抗体、接头和细胞毒性化合物的类型。

[0569] 在一些实施方案中，所述ADC具有下式(式(III))：

[0570] $(D\text{-}L)_{dl}\text{-}LG\text{-}(CB)_{cb}$

[0571] (III)

[0572] 或其药学上可接受的盐，

[0573] 其中：

[0574] LG为连接基团；

[0575] CB为细胞结合剂；

[0576] cb和dl各自独立地是值为1至约20，优选为1至约10的整数；并且

[0577] 每个D-L独立地是具有式(I)或(II)的化合物结构的基团。

[0578] 抗体

[0579] ADC的抗体可以是典型地但不一定特异性地结合在感兴趣的靶标细胞的表面上表达的抗原的任何抗体。抗原不需要，但是在一些实施方案中，能够将与其结合的ADC内化到细胞中。感兴趣的靶标细胞可以包括其中希望诱导凋亡的细胞。靶标抗原可以是在感兴趣的靶标细胞上表达的任何蛋白质、糖蛋白、多糖、脂蛋白等，但将典型地是在靶标细胞而不是正常或健康细胞上独特表达或者与正常或健康细胞相比在靶标细胞上过度表达的蛋白质，使得ADC选择性地靶向感兴趣的特定细胞，例如肿瘤细胞。如技术人员将理解的，所选择的特异性抗原以及因此的抗体将取决于所希望的感兴趣的靶标细胞的身份。在特定的实施方案中，ADC的抗体是适合施用人的抗体。

[0580] 抗体(Ab)和免疫球蛋白(Ig)是具有相同结构特征的糖蛋白。尽管抗体展现出针对特异性靶标的结合特异性，但是免疫球蛋白包括抗体和缺乏靶标特异性的其它抗体样分子两者。天然抗体和免疫球蛋白通常是约150,000道尔顿的杂四聚体糖蛋白，所述杂四聚体糖蛋白由两条相同轻(L)链和两条相同重(H)链构成。每条重链在一端具有可变结构域(VH)，接着是多个恒定结构域。每条轻链在一端具有可变结构域(VL)并且在其另一端具有恒定结构域。

[0581] 对“VH”的提及是指抗体的免疫球蛋白重链(包括Fv、scFv或Fab的重链)的可变区。对“VL”的提及是指免疫球蛋白轻链(包括Fv、scFv、dsFv或Fab的轻链)的可变区。

[0582] 本文中的术语“抗体”以最广泛的意义使用并且是指与特定抗原特异性结合或者对其具有免疫反应性的免疫球蛋白分子，并且包括抗体的多克隆、单克隆、基因工程化形式以及在其它方面修饰形式(包括但不限于鼠嵌合抗体、人源化抗体、杂缀合物抗体(例如，双特异性抗体、双抗体、三抗体和四抗体))以及抗体的抗原结合片段(包括例如Fab’、F(ab’)2、Fab、Fv、rIgG和scFv片段)。术语“scFv”是指单链Fv抗体，其中来自传统抗体的重链和轻

链的可变结构域已经连接形成一条链。

[0583] 抗体可以是鼠、人、人源化、嵌合的或衍生自其它物种。抗体是由免疫系统产生的能够识别并且结合特定抗原的蛋白质。(Janeway,C.,Travers,P.,Walport,M.,Shlomchik(2001)Immuno Biology,第5版,Garland Publishing,New York)。靶标抗原通常具有被在多个抗体上的CDR识别的许多结合位点,也称为表位。与不同表位特异性结合的每种抗体具有不同的结构。因此,一种抗原可以具有多于一种对应的抗体。抗体包括全长免疫球蛋白分子或全长免疫球蛋白分子的免疫学活性部分,即含有与感兴趣的靶标的抗原或其一部分免疫特异性结合的抗原结合位点的分子,此类靶标包括但不限于癌细胞或产生与自身免疫疾病相关的自身免疫抗体的细胞。本文公开的免疫球蛋白可以是任何类型(例如,IgG、IgE、IgM、IgD和IgA)、类别(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)或子类别的免疫球蛋白分子。所述免疫球蛋白可以来源于任何物种。然而,在一个方面,所述免疫球蛋白是人、鼠或兔来源的。

[0584] 术语“抗体片段”是指全长抗体的一部分,通常是靶标结合或可变区。抗体片段的实例包括Fab、Fab'、F(ab')2和Fv片段。“Fv”片段是是含有完整靶标识别和结合位点的最小抗体片段。此区域由以紧密的非共价缔合的一个重链可变结构域和一个轻链可变结构域的二聚体(VH-VL二聚体)组成。正是以这种构型,每个可变结构域的三个CDR相互作用以限定出在VH-VL二聚体的表面上的靶标结合位点。通常,六个CDR赋予靶标针对抗体的结合特异性。然而,在某些情况下,即使是单个可变结构域(或Fv的一半,仅包含三个对靶标特异的CDR)也可以具有识别和结合靶标的能力。“单链Fv”或“scFv”抗体片段在单多肽链中包含抗体的VH结构域和VL结构域。通常,Fv多肽进一步包含在VH结构域与VL结构域之间的多肽接头,所述多肽接头使得scFv能够形成用于抗原结合的所希望的结构。“单结构域抗体”由对靶标展现出足够亲和力的单VH或VL结构域构成。在具体的实施方案中,所述单结构域抗体是骆驼化抗体(参见例如Riechmann,1999,Journal of Immunological Methods 231:25-38)。

[0585] Fab片段含有轻链的恒定结构域和重链的第一恒定结构域(CH1)。Fab'片段与Fab片段的区别在于在重链CH1结构域的羧基末端(包括来自抗体铰链区的一或多个半胱氨酸)添加几个残基。F(ab')片段是通过在F(ab')2胃蛋白酶消化产物的铰链半胱氨酸处的二硫键的裂解产生的。抗体片段的另外化学偶联是本领域普通技术人员已知的。

[0586] 轻链可变结构域和重链可变结构域两者具有互补性决定区(CDR),也称为高变区。可变结构域的更高保守性的部分称为框架区(FR)。如本领域中已知的,描绘抗体的高变区的氨基酸位置/边界可以变化,这取决于上下文和本领域中已知的各种定义。可变结构域内的一些位置可以被视为杂合高变位置,因为这些位置可以在一组标准下被认为处在高变区之内,而在一组不同的标准下被认为处在高变区之外。这些位置中的一个或更多个也可以在延伸的高变区中找到。每条链中的CDR通过FR区紧密保持在一起并且与来自另一条链的CDR一起促成抗体的靶标结合位点的形成(参见Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest(National Institute of Health,Bethesda,Md.1987)。如本文中所用,除非另外指出,否则根据Kabat等人的免疫球蛋白氨基酸残基编号系统进行免疫球蛋白氨基酸残基的编号。

[0587] 在某些实施方案中,本公开的ADC的抗体是单克隆抗体。术语“单克隆抗体”(mAb)

是指这样的抗体,所述抗体来源于单个拷贝或克隆,包括例如任何真核、原核、或噬菌体克隆,而不是产生它的方法。优选地,本公开的单克隆抗体存在于同质或基本同质的群体中。单克隆抗体包括能够特异性结合蛋白质的完整分子以及抗体片段(例如像Fab片段和F(ab')2片段)两者。Fab片段和F(ab')2片段缺少完整抗体的Fc片段(从动物循环中更快地清除),并且可以具有比完整抗体更少的非特异性组织结合(Wahl等人,1983,J.Nucl.Med 24:316)。可用于本公开的单克隆抗体可以使用本领域中已知的多种多样的技术来制备,所述技术包括使用杂交瘤、重组体、以及噬菌体展示技术或其组合。本公开的抗体包括嵌合、灵长类动物源化、人源化或人抗体。

[0588] 尽管在大多数情况下,抗体仅由遗传编码的氨基酸构成,但在一些实施方案中,可以特异性地掺入非编码的氨基酸。Tian等人,2014,Proc Nat'l Acad Sci USA 111(5):1766-1771和Axup等人,2012,Proc Nat'l Acad Sci USA 109(40):16101-16106(将其全部内容通过引用并入本文)中讨论了可以掺入抗体中用于控制化学计量和附接位置的非编码的氨基酸以及用于制造此类修饰抗体的方法的实例。

[0589] 在某些实施方案中,本文描述的ADC的抗体是嵌合抗体。如本文中所用的术语"嵌合"抗体是指具有衍生自非人免疫球蛋白(诸如大鼠或小鼠抗体)和人免疫球蛋白恒定区(典型地选自人免疫球蛋白模板)的可变序列的抗体。用于产生嵌合抗体的方法是本领域中已知的。参见例如Morrison,1985,Science 229(4719):1202-7;Oi等人,1986,BioTechniques 4:214-221;Gillies等人,1985,J.Immunol.Methods 125:191-202;美国专利号5,807,715;4,816,567;和4,816397,将所述专利通过引用以其整体并入本文。

[0590] 在某些实施方案中,本文描述的ADC的抗体是人源化抗体。非人(例如,鼠)抗体的"人源化"形式是含有衍生自非人免疫球蛋白的最小序列的嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白链或其片段(诸如抗体的Fv、Fab、Fab'、F(ab')2或其它靶标结合子结构域)。通常,人源化抗体将包含至少一个并且典型地两个可变结构域的基本上全部,所述CDR区的全部或基本上全部对应于非人免疫球蛋白的那些,并且FR区的全部或基本上全部是人免疫球蛋白序列的那些人源化抗体还可以包含免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分,典型地是人免疫球蛋白共有序列的一部分。抗体人源化的方法是本领域已知的。参见例如Riechmann等人,1988,Nature 332:323-7;美国专利号5,530,101;5,585,089;5,693,761;5,693,762;和美国专利号6,180,370,Queen等人;EP 239400;PCT公开WO 91/09967;美国专利号5,225,539;EP 592106;EP 519596;Padlan,1991,Mol.Immunol.,28:489-498;Studnicka等人,1994,Prot.Eng.7:805-814;Roguska等人,1994,Proc.Natl.Acad Sci.USA 91:969-973;和美国专利号5,565,332,将其全部通过引用以其整体特此并入。

[0591] 在某些实施方案中,本文描述的ADC的抗体是人抗体。完全"人"抗体对于人患者的治疗性治疗可能是希望的。如本文中所用,"人抗体"包括具有人免疫球蛋白的氨基酸序列的抗体,并且包括从人免疫球蛋白文库中或从针对一种或更多种人免疫球蛋白转基因的动物中分离的并且不表达内源性免疫球蛋白的抗体。人抗体可以通过本领域中已知的多种方法来制造,所述方法包括使用衍生自人免疫球蛋白序列的抗体文库的噬菌体展示方法。参见美国专利号4,444,887 4,716,111、6,114,598、6,207,418、6,235,883、7,227,002、8,809,151和美国公开申请号2013/189218,将其内容通过引用以其整体并入本文。人抗体也可以使用转基因小鼠来产生,所述转基因小鼠不能表达功能内源性免疫球蛋白,但是可以

表达人免疫球蛋白基因。参见例如美国专利号5,413,923;5,625,126;5,633,425;5,569,825;5,661,016;5,545,806;5,814,318;5,885,793;5,916,771;5,939,598;7,723,270;8,809,051和美国公开申请号2013/117871,将其通过引用以其整体并入本文。此外,可以聘请诸如Medarex(新泽西州普林斯顿)、安斯泰来制药公司(Astellas Pharma,伊利诺伊州迪尔菲尔德)和再生元公司(Regeneron,纽约州塔里敦)的公司,以使用类似于上面描述的技术来提供针对所选择的抗原的人抗体。可以使用称为"指导选择"的技术来生成识别所选择的表位的完全人类抗体。在这种方法中,使用所选择的非人单克隆抗体(例如,小鼠抗体)来指导识别相同表位的完全人抗体的选择(Jespers等人,1988,Biotechnology 12:899-903)。

[0592] 在某些实施方案中,本文描述的ADC的抗体是灵长类动物源化抗体。术语"灵长类动物源化抗体"是指包含猴可变区和人恒定区的抗体。用于生产灵长类动物源化抗体的方法是本领域中已知的。参见例如美国专利号5,658,570;5,681,722;和5,693,780,将所述专利通过引用以其整体并入本文。

[0593] 在某些实施方案中,本文描述的ADC的抗体是双特异性抗体或双可变结构域抗体(DVD)。双特异性和DVD抗体是单克隆的、通常是人或人源化的抗体,所述抗体具有针对至少两种不同抗原的结合特异性。DVD例如描述于美国专利号7,612,181,将其公开内容通过引用并入本文。

[0594] 在某些实施方案中,本文描述的ADC的抗体是衍生抗体。例如但不限于,衍生抗体典型地是通过糖基化、乙酰化、聚乙二醇化、磷酸化、酰胺化、通过已知的保护/阻断基团的衍生化、蛋白水解切割、与细胞配体或其它蛋白质的连接等修饰的。多种化学修饰中的任何一种可以通过已知技术进行,所述技术包括但不限于特异性化学裂解、乙酰化、甲酰化、衣霉素的代谢合成等。另外,所述衍生物可以含有一种或更多种非天然氨基酸,例如使用ambrx技术(参见例如Wolfson,2006,Chem.Biol.13(10):1011-2)。

[0595] 在某些实施方案中,本文描述的ADC的抗体具有这样的序列,所述序列已被修饰以相对于相应的野生型序列改变至少一种恒定区介导的生物学效应子功能。例如,在一些实施方案中,可以修饰所述抗体以相对于未修饰的抗体降低至少一种恒定区介导的生物学效应子功能,例如降低与Fc受体(FcR)的结合。可以通过使抗体的免疫球蛋白恒定区的区段在对于FcR相互作用必需的特定区域突变来降低FcR结合(参见例如Canfield和Morrison,1991,J.Exp.Med 173:1483-1491;和Lund等人,1991,J.Immunol.147:2657-2662)。

[0596] 在某些实施方案中,相对于未修饰的抗体,本文描述的ADC的抗体被修饰以获得或改进至少一种恒定区介导的生物学效应子功能,例如以增强FcγR相互作用(参见例如US 2006/0134709)。例如,可以根据本文所描述的方法生产具有结合FcγRIIA、FcγRIIB和/或FcγRIIIA的亲和力大于相应的野生型恒定区的恒定区的抗体。

[0597] 在某些具体实施方案中,本文所描述的ADC的抗体是结合肿瘤细胞的抗体,诸如针对细胞表面受体或肿瘤相关抗原(TAA)的抗体。试图发现用于癌症诊断和疗法的有效细胞靶标,研究人员寻求鉴定出如与一种或更多种正常非癌细胞相比在一种或更多种特定类型的癌细胞的表面上特异性表达的跨膜多肽或在其它方面肿瘤相关多肽。通常,与非癌细胞的表面相比,此类肿瘤相关多肽更丰富地在癌细胞的表面上表达。此类细胞表面受体和肿瘤相关抗原是本领域已知的,并且可以使用本领域众所周知的方法和信息制备用于产生抗体。

[0598] 示例性细胞表面受体和TAA

[0599] 本文所描述的ADC的抗体可以靶向的细胞表面受体和TAA的实例包括但不限于下表1中列出的各种受体和TAA。为方便起见，与这些抗原有关的信息(所有这些信息都是本领域已知的)在以下列出，并且遵循美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information，NCBI)国家中心的核酸和蛋白质序列鉴定惯例，包括名称、替代名称、Genbank登录号和一个或更多个主要参考。对应于所列出的细胞表面受体和TAA的核酸和蛋白质序列可在公共数据库(诸如GenBank)中获得。

[0600] 表I.

[0601]

4-1BB
5AC
5T4
α-甲胎蛋白
血管生成素 2
ASLG659
TCL1
BMPR1B
短蛋白聚糖(BCAN，BEHAB)
C2-42 抗原
C5
CA-125
CA-125 (仿制)
CA-IX (碳酸酐酶 9)
CCR4

[0602]

CD140a
CD152
CD19
CD20
CD200
CD21 (C3DR) 1)
CD22 (B 细胞受体 CD22-B 同种型)
CD221
CD23 (gE 受体)
CD28
CD30 (TNFRSF8)
CD33
CD37
CD38 (环状 ADP 核糖水解酶)
CD4
CD40
CD44 v6
CD51
CD52
CD56
CD70
CD72 (Lyb-2，B 细胞分化抗原 CD72)
CD74
CD79a (CD79A，CD79α，免疫球蛋白相关 α) Genbank 登录号 NP_001774.10)
CD79b (CD79B, CD79β, B29)
CD80
CEA
CEA 有关抗原
ch4D5
CLDN18.2
CRIPTO (CR，CR1，CRGF，TDGF1 畸胎癌来源的生长因子)
CTLA-4
CXCR5
DLL4
DR5
E16 (LAT1, SLC7A5) EGFL7
EGFR

[0603]

EpCAM
EphB2R (DRT，ERK，Hek5，EPHT3，Tyro5)
Episialin
ERBB3
ETBR (内皮素 B 型受体)
FCRH1 (Fc 受体样蛋白 1)
FcRH2 (IFGP4，IRTA4，SPAP1，SPAP1B，SPAP1C，含有 SH2 结构域的磷酸酶锚定蛋白
纤连蛋白额外结构域-B
叶酸受体 1
卷曲受体
GD2
GD3 神经节苷脂
GEDA
GPNMB
HER1
HER2 (ErbB2)
HER2/neu
HER3
HGF
HLA-DOB
HLA-DR
人离散因子受体激酶
IGF-1 受体
IgG4
IL-13
IL20Rα (IL20Ra，ZCYTOR7)
IL-6
ILGF2
ILFR1R
整合素 α
整合素 α5β1
整合素 αvβ3
IRTA2 (免疫球蛋白超家族受体易位相关 2，基因染色体 1q21)
Lewis-Y 抗原
LY64 (RP105)
MCP-1

[0604]

MDP (DPEP1)
MPF (MSLN，SMR，间皮素，巨核细胞强化因子)
MS4A1
MSG783 (RNF124，假设蛋白 FLJ20315)
MUC1
粘蛋白 CanAg
Napi3 (NAPI-3B，NPTIIb，SLC34A2，II 型钠依赖型磷酸酯转运蛋白 3b)
NCA (CEACAM6)
P2X5 (嘌呤能受体 P2X 配体门控离子通道 5)
PD-1
PDCD1
PDGF-R α
前列腺特异性膜抗原
PSCA (前列腺干细胞抗原前体)
PSCA hlg
RANKL
RON
SDC1
Sema 5b
SLAMF7 (CS-1)
STEAP1
STEAP2 (HGNC_8639，PCANAP1，STAMP1，STEAP2，STMP，前列腺癌相关基因 1)
TAG-72
TEM1
腱生蛋白 C
TENB2 (TMEFF2，土莫调节素，TPEF，HPP1，TR)
TGF-β
TRAIL-E2
TRAIL-R1
TRAIL-R2
TrpM4 (BR22450，FLJ20041，TRPM4，TRPM4B，瞬时受体电位阳离子通道亚家族 M 成员 4)
TA CTAA16.88
TWEAK-R
TYRP1 (糖蛋白 75)
VEGF

[0605]

VEGF-A
EGFR-1
VEGFR-2
波形蛋白

[0606] 示例性抗体

[0607] 待用于本公开的ADC的示例性抗体包括但不限于3F8(GD2)、阿巴伏单抗(Abagovomab,CA-125(仿制))、阿德木单抗(Adecatumumab,EpCAM)、阿夫土珠(Afutuzumab,CD20)、培阿珠单抗(Alacizumab pegol,VEGFR2)、ALD518(IL-6)、阿仑珠单抗(Alemtuzumab,CD52)、喷替酸阿妥莫单抗(Altumomab pentetate,CEA)、阿麦妥昔单抗(Amatuximab,间皮素)、马安那莫单抗(Anatumomnab mafenatox,TAG-72)、阿泊珠单抗(Apolizumab,HLA-DR)、阿西莫单抗(Arcitumomab,CEA)、巴维昔单抗(Bavituximab,磷脂酰丝氨酸)、贝妥莫单抗(Bectumomab,CD22)、贝利木单抗(BAFF)、贝索单抗(Besilesomab,CEA有关抗原)、贝伐珠单抗(VEGF-A)、莫比伐珠单抗(Bivatuzumab mertansine,CD44 v6)、博纳吐单抗(Blinatumomab,CD19)、本妥昔单抗(Brentuximab vedotin,(CD30(TNFRSF8))、莫坎妥珠单抗(Cantuzumab mertansine,粘蛋白CanAg)、坎妥单抗瑞伐坦(Cantuzumab ravtansine,MUC1)、卡罗单抗喷地肽(Capromab pendetide,前列腺癌细胞)、卡鲁单抗(Carlumab,MCP-1)、卡妥索单抗(EpCAM,CD3)、CC49(Tag-72)、cBR96-DOX ADC(Lewis-Y抗原)、西妥昔单抗(EGFR)、泊西他珠单抗(Citatuzumab bogatox,EpCAM)、西妥木单抗(Cixutumumab,IGF-1受体)、Clivatuzumab tetraxetan(MUC1)、可那妥木单抗(Conatumumab,TRAIL-E2)、达西珠单抗(Dacetuzumab,CD40)、达洛珠单抗(Dalotuzumab,胰岛素样生长因子1受体)、Deratumumab((CD38(环状ADP核糖水解酶))、登西珠单抗(Demcizumab,DLL4)、地诺单抗(Denosumab,RANKL)、地莫单抗(Detumomab,B-淋巴瘤细胞)、卓齐妥单抗(Drozitumab,DR5)、杜昔单抗(Dusigitumab,ILGF2)、依美昔单抗(Ecromeximab,D3神经节苷脂)、依库丽单抗(Eculizumab,C5)、依决洛单抗(Edrecolomab,EpCAM)、艾洛珠单抗(Elotuzumab,SLAMF7)、艾西莫单抗(Elsilimomab,IL-6)、Enavatuzumab(TWEAK受体)、Enoticumab(DLL4)、恩司昔单抗(Ensituximab,5AC)、西依匹莫单抗(Epitumomab cituxetan,Episialin)、依帕珠单抗(Epratuzumab,CD22)、厄妥索单抗(Ertumaxomab,(HER2/neu,CD3))、Etancizumab(整合素αvβ3)、法勒珠单抗(Farletuzumab,叶酸受体1)、FBTA05(CD20)、Ficlatuzumab(HGF)、芬妥木单抗(Figitumumab,IGF-1受体)、Flanvotumab((TYRP1(糖蛋白75))、夫苏木单抗(Fresolimumab,TGF-1)、加利昔单抗(Galiximab,CD80)、Ganitumab(IGF-I)、吉妥珠单抗奥佐米星(Gemtuzumab ozogamicin,CD33)、Girentuximab((碳酸酐酶9(CA-IX))、Glembatumumab vedotin(GPNMB)、替坦替伊莫单抗(Ibritumomab tiuxetan,CD20)、Icrucumab(VEGFR-1)、Igovomab(CA-125)、IMAB362(CLDN18.2)、英戈土珠单抗(Imgatuzumab,EGFR)、Indatuximab ravtansine(SDC1)、英妥木单抗(Intetumumab,CD51)、奥英妥珠单抗(Inotuzumab ozogamicin,CD22)、易普利姆玛(Ipilimumab,CD152)、伊拉妥木单抗(Iratumumab,(CD30(TNFRSF8))、拉贝珠单抗(Labetuzumab,CEA)、派姆单抗(Lambrolizumab,PDCD1)、来沙木单抗(Lexatumumab,TRAIL-R2)、林妥珠单抗(Lintuzumab,CD33)、Lorvotuzumab mertansine(CD56)、鲁卡木单抗(Lucatumumab,CD40)、鲁昔单抗(Lumiliximab,(CD23(IgE受体))、马帕木单抗

(Mapatumumab,TRAIL-R1)、Margetuximab(ch4DS)、马妥珠单抗(Matuzumab,EGFR)、米拉珠单抗(Milatuzumab,CD74)、米妥莫单抗(Mitumomab,GD3神经节苷脂)、莫加珠单抗(Mogamulizumab,CCR4)、Moxetumomab pasudotox(CD22)、他那可单抗(Nacolomab tafenatox,C2-42抗原)、伊那莫单抗(Naptumomab estafenatox,5T4)、纳瑞特单抗(Narnatumab,RON)、那他珠单抗(Natalizumab,整合素α4)、耐昔妥珠单抗(Necitumumab,EGFR)、Nesvacumab(血管生成素2)、尼妥珠单抗(Nimotuzumab,EGFR)、纳武单抗(Nivolumab,IgG4)、奥卡拉珠单抗(Ocaratuzumab,CD20)、奥法木单抗(Ofatumumab,CD20)、奥拉单抗(Olaratumab,PDGF-Rα)、奥那妥珠单抗(Onartuzumab,人离散因子受体激酶)、昂妥昔珠单抗(Ontuxizumab,TEM1)、蒙托-奥珀妥珠单抗(Oportuzumab monato,EpCAM)、奥戈伏单抗(Oregovomab,CA-125)、奥乐妥珠单抗(Otlertuzumab,CD37)、帕尼单抗(EGFR)、Pankomab(MUC1的肿瘤特异性糖基化)、帕萨妥珠单抗(Parsatuzumab,EGFL7)、帕曲妥单抗(Patritumab,HER3)、Pemtumomab(MUC1)、帕妥珠单抗(Pertuzumab,HER2/neu)、匹地利珠单抗(Pidilizumab,PD-1)、维汀-匹那妥珠单抗(Pinatuzumab vedotin,CD22)、普托木单抗(Pritumumab,波形蛋白)、雷考妥莫单抗(Racotumomab,N-乙醇酰基神经氨酸)、雷曲妥单抗(Radretumab,纤连蛋白额外结构域-B)、雷莫芦单抗(Ramucirumab,VEGFR2)、瑞洛妥木单抗(Rilotumumab,HGF)、利妥昔单抗(Rituximab,CD20)、洛巴妥木单抗(Robatumumab,IGF-1受体)、萨玛利珠单抗(Samalizumab,CD200)、Satumomab pendetide(TAG-72)、瑟瑞妥单抗(Seribantumab,ERBB3)、西罗珠单抗(Sibrotuzumab,FAP)、SGN-CD19A(CD19)、SGN-CD33A(CD33)、司妥昔单抗(Siltuximab,IL-6)、索利托单抗(Solitomab,EpCAM)、索耐珠单抗(Sonepcizumab,鞘氨醇-1-磷酸酯)、Tabalumb(BAFF)、替他珠单抗(Tacatuzumab tetraxetan,α-甲胎蛋白)、帕他普莫单抗(Taplitumomab paptox,CD19)、替妥莫单抗(Tenatumomab,腱生蛋白C)、特普妥木单抗(Teprotumumab,CD221)、TGN1412(CD28)、替西木单抗(Ticilimumab,CTLA-4)、替加妥珠单抗(Tigatuzumab,TRAIL-R2)、TNX-650(IL-13)、托维妥单抗(Tovetumab,CD40a)、曲妥珠单抗(Trastuzumab,HER2/neu)、TRBS07(GD2)、曲美木单抗(Tremelimumab,CTLA-4)、土库珠单抗西莫介白素(Tucotuzumab celmoleukin,EpCAM)、乌利妥昔单抗(Ublituximab,MS4A)、乌瑞鲁单抗(Urelumab,4-1BB)、凡德他尼(Vandetanib,VEGF)、万替妥单抗(Vantictumab,卷曲受体)、伏洛昔单抗(Volociximab,整合素α5β1)、玛汀-沃瑟妥珠单抗(Vorsetuzumab mafodotin,CD70)、伏妥莫单抗(Votumumab,肿瘤抗原CTAA16.88)、扎鲁木单抗(Zalutumumab,EGFR)、扎诺利木单抗(Zanolimumab,CD4)、和扎妥昔单抗(Zatuximab,HER1)。

[0608] 制造抗体的方法

[0609] 可以通过在宿主细胞中重组表达免疫球蛋白轻链和重链基因来制备ADC的抗体。例如,为了重组表达抗体,用一个或更多个携带编码抗体的免疫球蛋白轻链和重链的DNA片段的重组表达载体转染宿主细胞,使得轻链和重链在宿主细胞中表达,并且任选地,分泌到培养宿主细胞的培养基中,可以从其中回收抗体。使用标准重组DNA方法来获得抗体重链和轻链基因,将这些基因掺合到重组表达载体中并且将载体引入宿主细胞中,诸如在Molecular Cloning;A Laboratory Manual,第二版(Sambrook,Fritsch和Maniatis(编辑),Cold Spring Harbor,N.Y.,1989)、Current Protocols in Molecular Biology(Ausubel,F.M.等人,编辑,Greene Publishing Associates,1989)和美国专利号4,816,

397中描述的那些。

[0610] 在一个实施方案中,Fc变体抗体与它们的野生型等同物类似,但是它们的Fc结构域发生改变。为了产生编码此类Fc变体抗体的核酸,可以合成编码野生型抗体的Fc结构域(称为“野生型Fc结构域”)或Fc结构域的一部分的DNA片段,并且将其用作诱变模板以使用常规诱变技术产生本文所描述的抗体;可选地,可以直接合成编码所述抗体的DNA片段。

[0611] 一旦获得编码野生型Fc结构域的DNA片段,就可以通过标准重组DNA技术进一步操纵这些DNA片段,例如以将恒定区基因转化为全长抗体链基因。在这些操纵中,将编码CH的DNA片段可操作地连接至编码另一种蛋白质的另一种DNA片段,诸如抗体可变区或柔性接头。如在此上下文中所用的术语“可操作地连接”旨在意指连接两个DNA片段,使得由这两个DNA片段编码的氨基酸序列保留在框架内。

[0612] 为了表达Fc变体抗体,将如上面所描述获得的编码部分或全长轻链和重链的DNA插入表达载体中,使得所述基因可操作地连接至转录和翻译控制序列。在此上下文中,术语“可操作地连接”旨在意指将抗体基因连接到载体中,使得所述载体内的转录和翻译控制序列发挥其预期的调节抗体基因的转录和翻译的功能。表达载体和表达控制序列被选择为与所用的表达宿主细胞相容。可以将变体抗体轻链基因和抗体重链基因插入单独的载体中,或更典型地,将两个基因插入相同的表达载体中。

[0613] 通过标准方法(例如,将抗体基因片段和载体上的互补限制性位点连接,或如果不存在限制性位点则平端连接)将所述抗体基因插入表达载体中。在插入变异Fc结构域序列之前,表达载体可以已经携带抗体可变区序列。另外地或可选地,所述重组表达载体可以编码促进抗体链从宿主细胞分泌的信号肽。可以将抗体链基因克隆到载体中,使得所述信号肽在框内连接至抗体链基因的氨基末端。所述信号肽可以是免疫球蛋白信号肽或异源信号肽(即,来自非免疫球蛋白的蛋白质的信号肽)。

[0614] 除了抗体链基因之外,所述重组表达载体还携带调节序列,所述调节序列控制抗体链基因在宿主细胞中的表达。术语“调节序列”旨在包括控制抗体链基因的转录或翻译的启动子、增强子和其它表达控制元件(例如,聚腺苷酸化信号)。此类调节序列描述于例如Goeddel,Gene Expression Technology:Methods in Enzymology 185(Academic Press,San Diego,Calif.,1990)。本领域技术人员应理解,表达载体的设计(包括调节序列的选择)可以取决于诸如待转化的宿主细胞的选择、所希望的蛋白质的表达水平等因素。用于哺乳动物宿主细胞表达的合适调节序列包括在哺乳动物细胞中指导高水平蛋白质表达的病毒元件,诸如来源于以下的启动子和/或增强子:巨细胞病毒(CMV)(诸如CMV启动子/增强子)、猴病毒40(SV40)(诸如SV40启动子/增强子)、腺病毒(例如,腺病毒主要晚期启动子(AdMLP))和多瘤病毒。对于病毒调节元件及其序列的进一步描述,参见例如美国专利号5,168,062,Stinski;美国专利号4,510,245,Bell等人;和美国专利号4,968,615,Schaffner等人。

[0615] 除了抗体链基因以及调节序列之外,所述重组表达载体携带还可以携带另外的序列,诸如在宿主细胞中调节载体复制的序列(例如,复制起点)和选择性标记基因。所述选择性标记基因有助于选择其中已引入载体的宿主细胞(参见例如美国专利号4,399,216、4,634,665和5,179,017,均为Axel等人的)。例如,典型地,所述选择性标记基因对其中已经引入载体的宿主细胞赋予对药物(诸如G418、嘌呤霉素、杀稻瘟菌素、潮霉素或氨甲蝶呤)的抗

性。合适的选择性标记基因包括二氢叶酸还原酶(DHFR)基因(用于在用甲氨蝶呤选择/扩增的DHFR宿主细胞中使用)和neo基因(用于G418选择)。对于轻链和重链的表达,通过标准技术将编码重链和轻链的一个或更多个表达载体转染到宿主细胞中。术语"转染"的各种形式旨在涵盖通常用于将外源DNA引入原核或真核宿主细胞中的多种多样的技术,例如电穿孔、脂质转染、磷酸钙沉淀、DEAE-右旋糖酐转染等。

[0616] 可以在原核或真核宿主细胞中表达抗体。在某些实施方案中,抗体的表达在真核细胞(例如,哺乳动物宿主细胞)中进行,以最佳地分泌正确折叠和具有免疫活性的抗体。用于表达重组抗体的示例性哺乳动物宿主细胞包括中国仓鼠卵巢(Chinese Hamster Ovary,CHO细胞)(包括DHFR-CHO细胞,描述于Urlaub和Chasin,1980,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4216-4220,与DHFR选择性标记一起使用,例如,如描述于Kaufman和Sharp,1982,Mol.Biol.159:601-621)、NSO骨髓瘤细胞、COS细胞、293细胞和SP2/0细胞。当将编码抗体基因的重组表达载体引入哺乳动物宿主细胞中时,通过将所述宿主细胞培养持续足以允许在宿主细胞中表达所述抗体或将所述抗体分泌到其中生长宿主细胞的培养基中的时间段来生产抗体。可以使用标准蛋白质纯化方法从培养基中回收抗体。宿主细胞还可以用来生产完整抗体的部分,如Fab片段或scFv分子。

[0617] 在一些实施方案中,ADC的抗体可以是双功能抗体。可以通过标准化学交联方法,通过使一种抗体与第二抗体交联来生产其中一条重链和一条轻链针对一种抗原具有特异性并且另一条重链和轻链针对第二种抗原具有特异性的此类抗体。双功能抗体还可以通过表达被工程化以编码双功能抗体的核酸来制造。

[0618] 在某些实施方案中,可以通过使轻链和/或重链CDR中的氨基酸残基突变来生产双特异性抗体,即,使用同一结合位点结合一种抗原和第二不相关抗原的抗体。示例性第二抗原包括促炎细胞因子(例如像淋巴毒素、干扰素-γ或白介素-1)。可以例如通过使抗原结合位点外围的氨基酸残基突变来生产双特异性抗体(参见例如Bostrom等人,2009,Science 323:1610-1614)。双功能抗体可以通过表达被工程化以编码双特异性抗体的核酸来制造。

[0619] 抗体也可以通过化学合成来生产(例如,通过在Solid Phase Peptide Synthesis,第2版,1984The Pierce Chemical Co.,Rockford,Ill.中描述的方法)。也可以使用无细胞平台来生成抗体(参见例如Chu等人,Biochemia No.2,2001(Roche Molecular Biologicals))。

[0620] 用于重组表达Fc融合蛋白的方法描述于Flanagan等人,Methods in Molecular Biology,第378卷:Monoclonal Antibodies:Methods and Protocols。

[0621] 一旦已通过重组表达产生抗体,就可以通过本领域中已知用于纯化免疫球蛋白分子的任何方法将其纯化,例如通过色谱法(例如,离子交换,亲和力、特别是在蛋白质A或蛋白质G选择后对抗原的亲和力,和尺寸分析柱色谱法)、离心、差别溶解度、或通过用于蛋白质纯化的任何其它标准技术。

[0622] 一旦分离,就可以将抗体(如果希望)例如通过高效液相色谱法(参见例如Fisher,Laboratory Techniques In Biochemistry And Molecular Biology(Work和Burdon编辑,Elsevier,1980))或通过在Superdex^{TM}75柱(Pharmacia Biotech AB,瑞典乌普萨拉)上的凝胶过滤色谱法进一步纯化。

[0623] 治疗方法

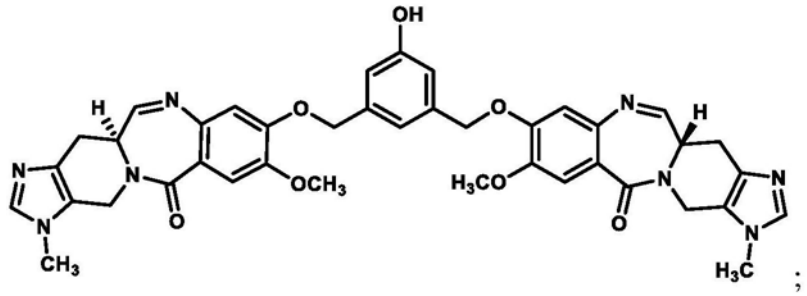
[0624] 靶标定向治疗

[0625] 缀合物的靶向部分可以被细胞识别，从而提供所谓的靶标定向治疗。

[0626] 在一些实施方案中，本公开涉及治疗或预防疾病或病症的方法，其包括向有此需要的受试者施用式(I)或式(II)的化合物、或式(III)的缀合物、或包含式(I)或式(II)的化合物、或式(III)的缀合物的药物组合物。在某些此类实施方案中，疾病或病症是癌症、感染、免疫缺陷、自身免疫性疾病或慢性炎性病症。

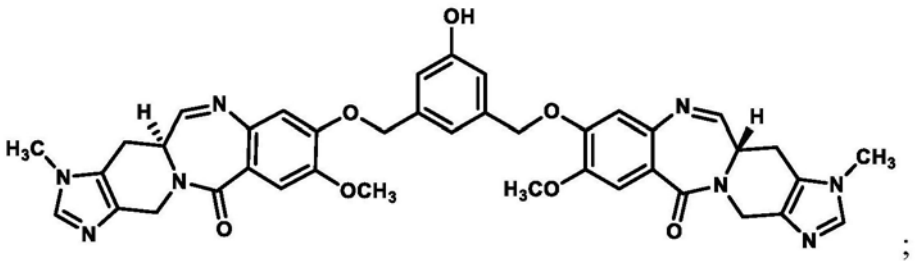
[0627] 在一些实施方案中，本公开涉及方法，所述方法还包括向受试者联合施用化学治疗剂。在某些此类实施方案中，依次向受试者施用化学治疗剂和本文公开的缀合物。

[0628] 在一些实施方案中，本文所述的缀合物包含本文所述的活性剂，例如式(I)的活性剂。在一些此类实施方案中，所述活性剂选自：

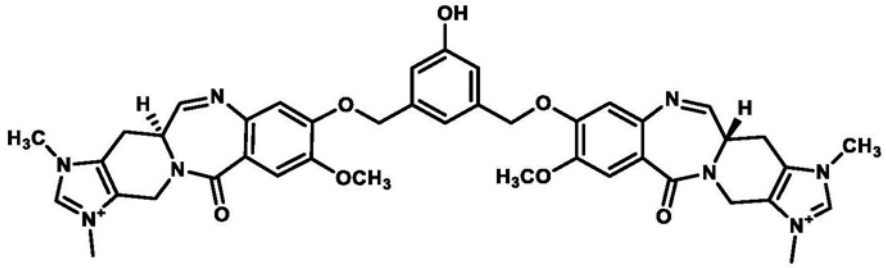


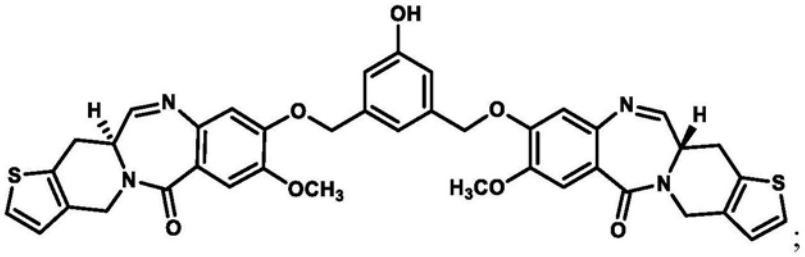
;

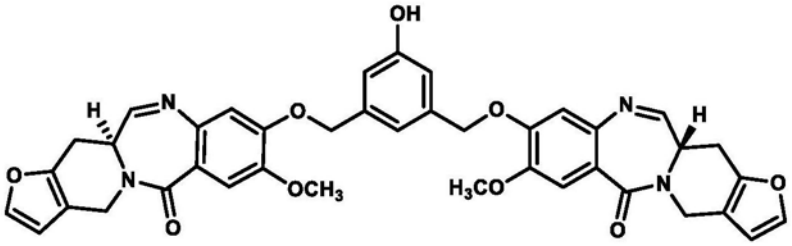
[0629]



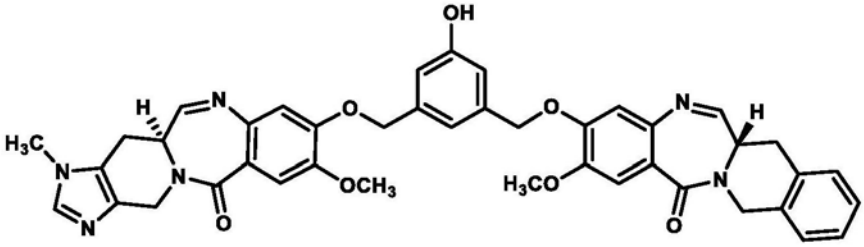
;

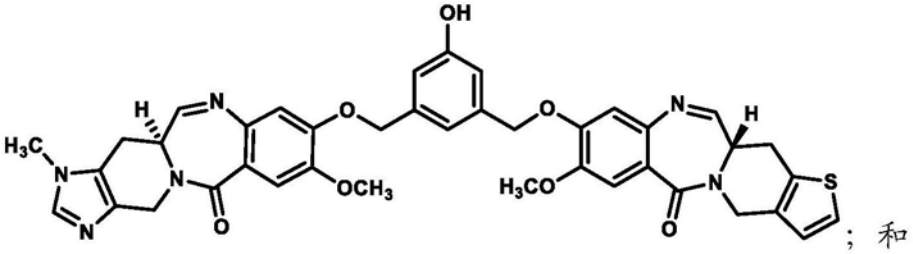




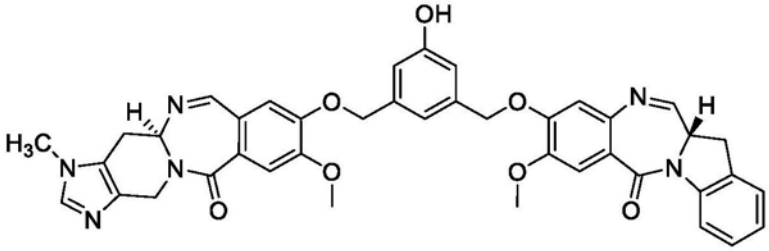


[0630]



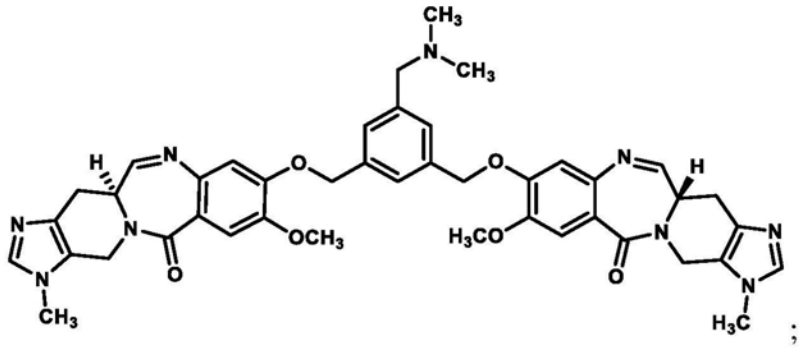


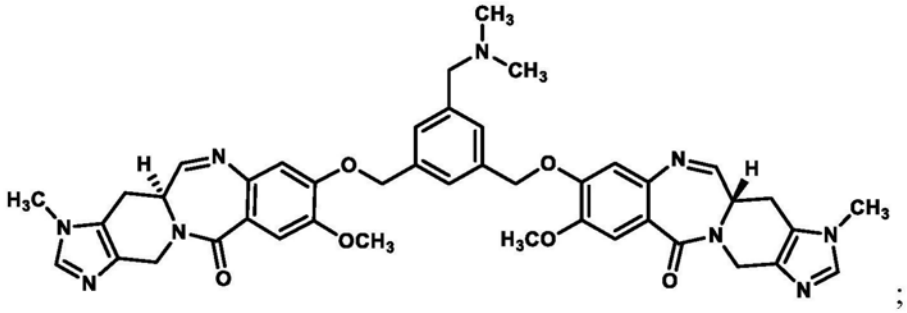
；和



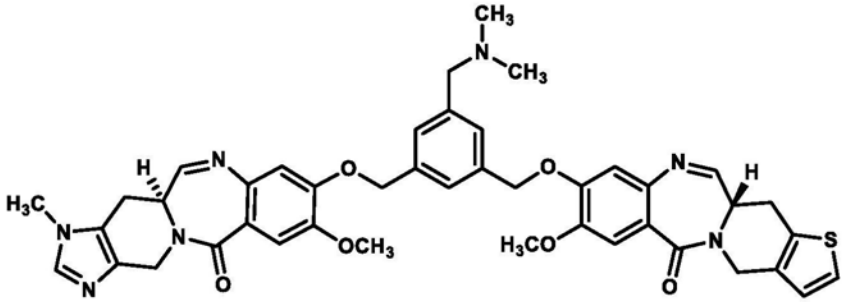
[0631] 或其药学上可接受的盐。

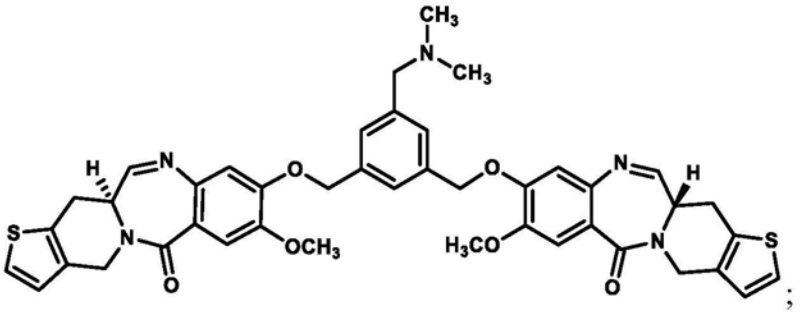
[0632] 在其它实施方案中,所述活性剂选自：

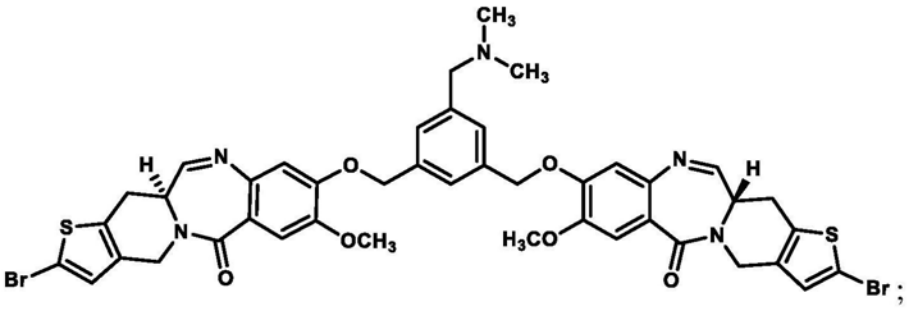


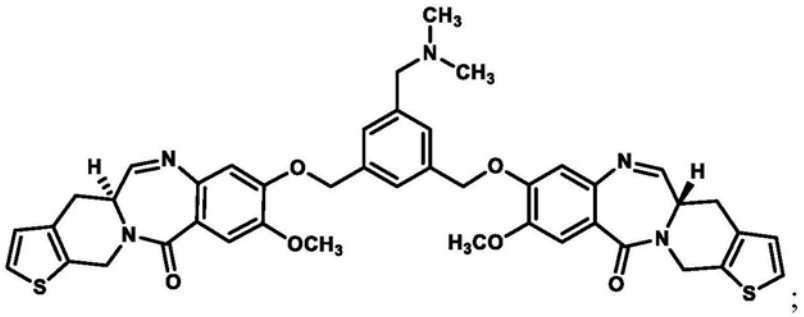


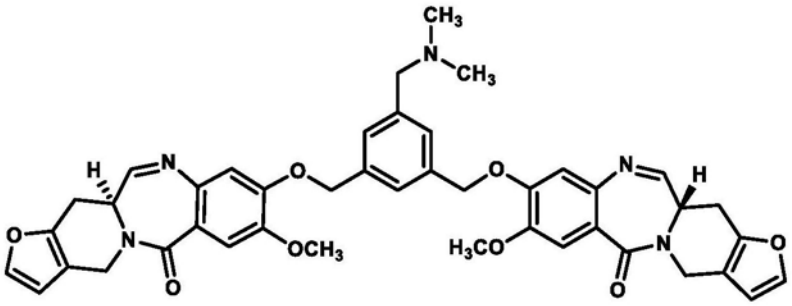
[0633]



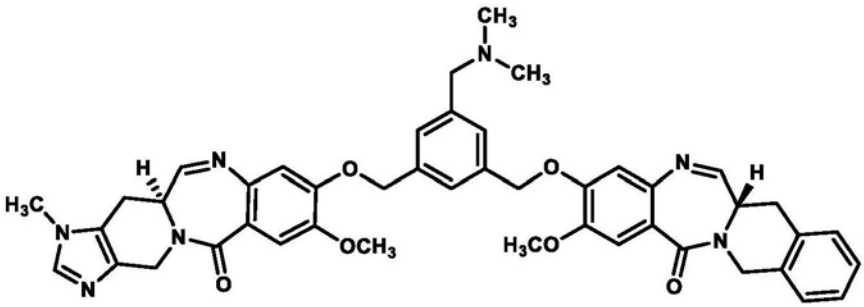


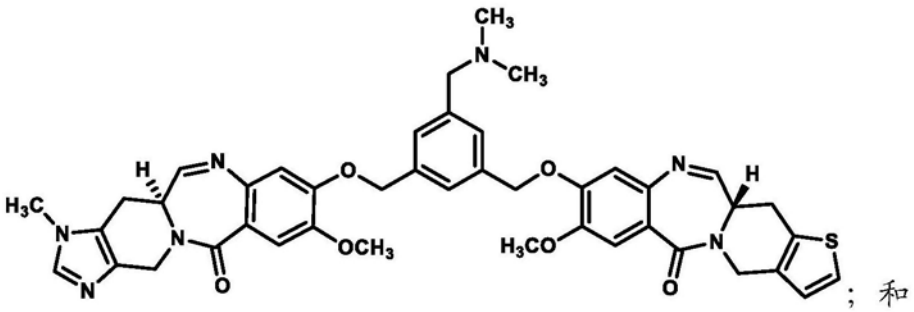


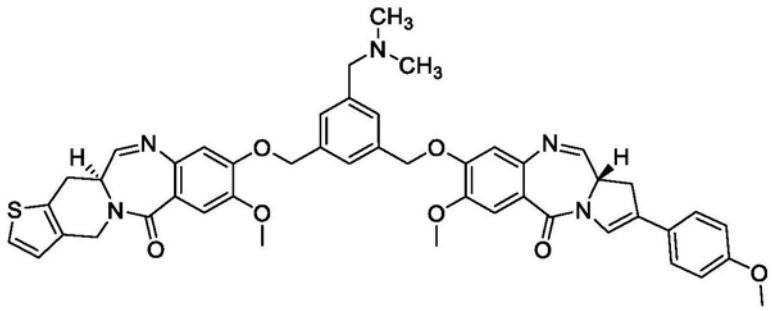




[0634]







[0635] 或其药学上可接受的盐。

[0636] 细胞增殖和凋亡

[0637] 本文公开的化合物和缀合物可以用于诱导细胞凋亡的方法中。

[0638] 细胞凋亡失调牵涉到多种疾病，包括例如自身免疫性病症(例如，全身性红斑狼

疮、类风湿性关节炎、移植物抗宿主病、重症肌无力、或舍格伦综合征(Sjögren's syndrome))、慢性炎性疾患(例如,银屑病、哮喘或克罗恩氏病(Crohn's disease))、过度增殖性病症(例如,乳腺癌、肺癌)、病毒感染(例如,疱疹、乳头状瘤、或HIV),和其它疾患,诸如骨关节炎和动脉粥样硬化。本文所描述的化合物、缀合物和组合物可用于治疗或减轻这些疾病中的任何一种。此类治疗通常涉及向患有疾病的受试者施用足以提供治疗益处的量的本文所描述的化合物、缀合物或组合物。所施用的化合物、缀合物或组合物的抗体的身份将取决于所治疗的疾病,因此所述抗体应结合在抑制作用会有益的细胞类型中表达的细胞表面抗原。所获得的治疗益处还将取决于所治疗的特定疾病。在某些情况下,当作为单一疗法施用时,本文公开的化合物和组合物可以治疗或减轻疾病本身或疾病的症状。在其它情况下,本文公开的化合物和组合物可以是包括其它剂的总体治疗方案的一部分,所述其它剂与本文公开的抑制剂或化合物和组合物一起治疗或减轻所治疗的疾病或疾病的症状。可辅助本文公开的化合物和组合物而施用或与其一起施用的可用于治疗或减轻特定疾病的剂对于本领域技术人员将是显而易见的。

[0639] 尽管绝对治愈在任何治疗方案中始终都是理想的,但是不需要实现治愈来提供治疗益处。治疗益处可以包括中止或减缓疾病的进程、使疾病消退而不治愈、和/或减轻或减缓疾病的症状的进程。与统计平均值相比延长的生存期和/或改善的生活质量也可以被认为是治疗益处。

[0640] 一类具体的涉及细胞凋亡失调并且在全球范围内作为显著健康负担的疾病是癌症。在具体的实施方案中,本文公开的化合物和组合物可用于治疗癌症。癌症可以是例如实体瘤或血液肿瘤。可用本文公开的化合物和组合物治疗的癌症包括但不限于膀胱癌、脑癌、乳腺癌、骨髓癌、宫颈癌、慢性淋巴细胞性白血病、结直肠癌、食道癌、肝细胞癌、淋巴母细胞性白血病、滤泡性淋巴瘤、T细胞或B细胞起源的淋巴恶性肿瘤、黑素瘤、骨髓性白血病、骨髓瘤、口腔癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、慢性淋巴细胞性白血病、骨髓瘤、前列腺癌、小细胞肺癌和脾癌。本文公开的化合物和组合物在癌症的治疗中可能尤其有益,因为所述抗体可用于特异性地靶向肿瘤细胞,从而潜在地避免或减轻可能与未缀合抑制剂的全身施用相关的不希望的副作用和/或毒性。一个实施方案涉及一种治疗涉及固有细胞凋亡失调的疾病的方法,其包括向患有涉及细胞凋亡失调的疾病的受试者施用有效提供治疗益处的本文公开的量的化合物和组合物,其中本文公开的化合物和组合物的配体结合在其固有细胞凋亡失调的细胞上的细胞表面受体。一个实施方案涉及一种治疗癌症的方法,其包括向患有癌症的受试者施用有效提供治疗益处的量的本文公开的化合物和组合物,其中所述配体能够结合在癌细胞的表面上表达的细胞表面受体或肿瘤相关抗原。

[0641] 在致瘤性癌症的背景下,与所治疗的癌症的类型和阶段的统计平均值相比,除包括上面讨论的作用外,治疗益处还可以具体包括阻止或减缓肿瘤生长的进程、使肿瘤生长消退、根除一个或更多个肿瘤和/或增加患者存活期。在一个实施方案中,所治疗的癌症是致瘤性癌症。

[0642] 本文公开的化合物和缀合物可以作为单一疗法施用以提供治疗益处,或者可以辅助其它化学治疗剂和/或辐射疗法施用或与其一起施用。其中本文公开的化合物和组合物可用作辅助疗法的化学治疗剂可以是靶向的(例如,ADC、蛋白激酶抑制剂等)或非靶向的(例如,非特异性细胞毒性剂,诸如放射性核苷酸、烷基化剂和嵌入剂)。可与辅助地施用的

本文公开的化合物和组合物一起的非靶向化学治疗剂包括但不限于氨甲蝶呤、他克唑、L-天冬酰胺酶、巯基嘌呤、硫代鸟嘌呤、羟基脲、阿糖孢苷、环磷酰胺、异环磷酰胺、亚硝基脲、顺铂、卡铂、丝裂霉素、达卡巴嗪、甲基苄肼、拓扑替康、氮芥、癌得星、依托泊苷、5-氟尿嘧啶、BCNU、伊立替康、喜树碱、博来霉素、多柔比星、伊达比星、道诺霉素、更生霉素、普卡霉素、米托蒽醌、天冬酰胺酶(asperaginase)、长春花碱、长春新碱、长春瑞滨、紫杉醇、卡奇霉素、和多西他赛。

[0643] 作为单一疗法可能不能有效治疗癌症的本文公开的化合物和缀合物可以辅助其它化学治疗剂或辐射疗法施用或与其一起施用以提供治疗益处。一个实施方案涉及一种方法,其中以有效使肿瘤细胞对标准化学疗法和/或辐射疗法敏感的量施用本文公开的化合物或组合物。因此,在治疗癌症的上下文中,“治疗益处”包括将辅助其它化学治疗剂和/或辐射疗法的或与其一起的本文公开的化合物和组合物施用在尚未开始这种疗法的或已开始但尚未展现出抗性迹象的患者中或者在已开始展现出抗性迹象的患者中,作为使肿瘤对化学疗法和/或辐射疗法敏感的手段。

[0644] 药物组合物及其施用

[0645] 本文公开的化合物和缀合物可用于治疗有需要的个体。在某些实施方案中,所述个体是哺乳动物,诸如人或非人哺乳动物。当施用诸如人的动物时,所述组合物或化合物优选以药物组合物的形式施用,所述药物组合物包含例如公开的化合物和药学上可接受的载体。

[0646] 药学上可接受的载体是本领域中众所周知的,并且包括例如水溶液,诸如水或生理缓冲盐水或其它溶剂或媒介物,诸如乙二醇、甘油、诸如橄榄油的油、或可注射有机酯。在优选实施方案中,当此类药物组合物用于人施用时,特别是用于侵入性施用途径(即,规避通过上皮屏障输送或扩散的途径,诸如注射或植入)时,所述水溶液是无热原的或基本上无热原的。可以例如选择赋形剂以实现药剂的延迟释放或选择性地靶向一种或更多种细胞、组织或器官。所述药物组合物可以呈剂量单位形式,诸如片剂、胶囊(包括洒胶囊(sprinkle capsule)和明胶胶囊)、颗粒、用于重构的冻干剂、粉末、溶液、糖浆、栓剂、注射液等。所述组合物也可以存在于透皮递送系统(例如,皮肤贴剂)中。所述组合物也可以存在于适用于局部施用的溶液(诸如软膏或乳膏)中。

[0647] 药学上可接受的载体可以含有生理学上可接受的药剂,所述生理学上可接受的药剂例如起稳定化合物(诸如本发明化合物)、增加其溶解度或增加其吸收的作用。此类生理学上可接受的药剂包括例如碳水化合物(诸如葡萄糖、蔗糖或右旋糖酐)、抗氧化剂(诸如抗坏血酸或谷胱甘肽)、螯合剂、低分子量蛋白质或其它稳定剂或赋形剂。药学上可接受的载体(包括生理学上可接受的药剂)的选择取决于例如组合物的施用途径。药物组合物的制剂可以是自乳化药物递送系统或自微乳化药物递送系统。所述药物组合物(制剂)也可以是脂质体或其它聚合物基质,其中可能已掺入例如本发明的化合物。例如,包含磷脂或其它脂质的脂质体是无毒的、生理学上可接受的和可代谢的载体,所述载体相对容易制造和施用。

[0648] 短语“药学上可接受的”在本文中用来指这样的化合物、材料、组合物和/或剂型,它们在合理的医学判断范围内适合用于与人类和动物组织接触而没有过多的毒性、刺激、过敏反应或其它问题或并发症,与合理的益处/风险比相称的。

[0649] 如本文中所用的短语“药学上可接受的载体”意指药学上可接受的材料、组合物或

媒介物，诸如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、溶剂或包封材料。每种载体必须是在与制剂的其它成分相容并且对患者无害的意义上“可接受的”。可用作药学上可接受的载体的材料的一些实例包括：(1)糖，诸如乳糖、葡萄糖和蔗糖；(2)淀粉，诸如玉米淀粉和马铃薯淀粉；(3)纤维素及其衍生物，诸如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素、和乙酸纤维素；(4)粉状西黄蓍胶；(5)麦芽；(6)明胶；(7)滑石；(8)赋形剂，诸如可可脂和栓剂蜡；(9)油，诸如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油；(10)二醇，例如丙二醇；(11)多元醇，诸如甘油、山梨醇、甘露醇和聚乙二醇；(12)酯，诸如油酸乙酯和月桂酸乙酯；(13)琼脂；(14)缓冲剂，诸如氢氧化镁和氢氧化铝；(15)海藻酸；(16)无热原水；(17)等渗盐水；(18)林格氏溶液；(19)乙醇；(20)磷酸盐缓冲溶液；以及(21)用于药物制剂的其它无毒相容物质。

[0650] 可以多种施用途径中的任何一种将药物组合物(制剂)施用受试者，所述施用途径包括例如口服(例如，如在水性或非水性溶液或悬浮液中的灌药、片剂、胶囊(包括洒胶囊和明胶胶囊)、大丸剂、粉末、颗粒剂、用于施用于舌头的糊剂)；通过口腔黏膜的吸收(例如，经舌下)；经肛门、直肠或阴道(例如，作为子宫托、乳膏或泡沫)；肠胃外(包括肌内、静脉内、皮下或鞘内，作为例如无菌溶液或悬浮液)；经鼻；腹腔内；皮下；透皮(例如作为施用于皮肤的贴剂)；和局部(例如，作为施用于皮肤的乳膏、软膏或喷雾剂，或作为滴眼剂)。所述化合物也可以被配制用于吸入。在某些实施方案中，可以将化合物简单地溶解或悬浮在无菌水中。适当的施用途径和适用于其的组合物的细节可以在例如美国专利号6,110,973、5,763,493、5,731,000、5,541,231、5,427,798、5,358,970和4,172,896以及其中引用的专利中找到。

[0651] 这些制剂可以方便地以单位剂量形式存在并且可以通过药学领域中众所周知的任何方法来制备。可与载体材料组合以生产单一剂量形式的活性成分的量将取决于待治疗的宿主和具体施用方式而变化。可与载体材料组合以生产单一剂量形式的活性成分的量将总体上是产生治疗作用的化合物的量。总体上，在百分之一百中，此量的范围将是从约1％至约99％的活性成分、优选从约5％至约70％、最优选从约10％至约30％。

[0652] 用于制备这些制剂或组合物的方法包括使诸如本发明化合物的活性化合物与载体和任选地一种或更多种辅助成分结合的步骤。通常，所述制剂是通过以下方式制备的：使本发明化合物与液体载体或细碎的固体载体或两者均匀地且紧密地结合，并且然后(如果需要)将产物成型。

[0653] 适于口服施用的本发明制剂可以呈胶囊(包括洒胶囊和明胶胶囊)、扁囊剂、丸剂、片剂、锭剂(使用矫味基质，通常是蔗糖和阿拉伯胶或西黄蓍胶)、冻干剂、粉末、颗粒剂的形式；或者作为水性或非水性液体中的溶液或悬浮液；或者作为水包油型或油包水型液体乳液；或者作为酏剂或糖浆；或者作为软锭剂(使用惰性基质，诸如明胶和甘油、或蔗糖和阿拉伯胶)和/或作为漱口剂等，各剂型含有预定量的本发明化合物作为活性成分。化合物、缀合物或其组合物也可以作为大丸剂、栓剂或糊剂来施用。

[0654] 为制备用于口服施用的固体剂型(胶囊(包括洒胶囊和明胶胶囊)、片剂、丸剂、糖衣丸、粉末、颗粒剂等)，将活性成分与一种或更多种药学上可接受的载体(诸如柠檬酸钠或磷酸二钙)和/或以下中的任何一种混合：(1)填充剂或扩充剂(extender)，诸如淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇、和/或硅酸；(2)粘合剂，例如像羧甲基纤维素、海藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖、和/或阿拉伯胶；(3)保湿剂，诸如甘油；(4)崩解剂，诸如琼脂、碳酸钙、马

铃薯或木薯淀粉、海藻酸、某些硅酸盐、和碳酸钠；(5)溶液阻滞剂(solution retarding agent)，诸如石蜡；(6)吸收促进剂，诸如季铵化合物；(7)润湿剂，例如像鲸蜡醇和单硬脂酸甘油酯；(8)吸附剂，诸如高岭土和膨润土；(9)润滑剂，诸如滑石、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、月桂基硫酸钠及其混合物；(10)络合剂，诸如改性和未改性的环糊精；以及(11)着色剂。在胶囊(包括洒胶囊和明胶胶囊)、片剂和丸剂的情况下，所述药物组合物还可以包含缓冲剂。相似类型的固体组合物也可以在使用这样的赋形剂如乳糖或奶糖以及高分子量聚乙二醇等的软和硬填充的明胶胶囊中用作填充剂。

[0655] 片剂可以是通过任选地与一种或更多种辅助成分压缩或模制来制备的。可以使用粘合剂(例如，明胶或羟丙基甲基纤维素)、润滑剂、惰性稀释剂、防腐剂、崩解剂(例如，羟基乙酸淀粉钠或交联的羧甲基纤维素钠)、表面活性剂或分散剂来制备压缩片剂。可通过在合适的机器中模制用惰性液体稀释剂润湿的粉状化合物的混合物来制备模制片剂。

[0656] 所述药物组合物的片剂和其它固体剂型(诸如糖衣丸、胶囊(包括洒胶囊和明胶胶囊)、丸剂、和颗粒剂)可以任选地被刻痕或用包衣和外壳来制备，所述包衣和外壳诸如肠包衣和药物配制领域中众所周知的其它包衣。也可使用例如为提供所希望的释放特征而不同比例的羟丙基甲基纤维素、其它聚合物基质、脂质体和/或微球来配制它们以便提供其中的活性成分的缓慢释放或受控释放。可以通过以下方式将它们灭菌：例如通过用细菌截留过滤器进行过滤，或通过在即将使用前掺入呈可溶解于无菌水或一些其它可注射无菌介质中的无菌固体组合物的形式的灭菌剂。任选地，这些组合物也可以任选地含有遮光剂并且可以是仅或者优先在胃肠道的某个部分中任选地以延迟的方式释放一种或更多种活性成分的组合物。可以使用的包埋组合物的实例包括聚合物物质和蜡。活性成分也可以呈微包封的形式，如果适当的话，含有一种或更多种上面所描述的赋形剂。

[0657] 可用于口服施用的液体剂型包括药学上可接受的乳液、用于重构的冻干剂、微乳液、溶液、悬浮液、糖浆和酏剂。除所述活性成分之外，所述液体剂型还可以含有在本领域中常用的惰性稀释剂，例如像水或其它溶剂、环糊精及其衍生物、增溶剂和乳化剂，诸如乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苯甲醇、苯甲酸苄酯、丙二醇、1,3-丁二醇、油(特别是棉籽油、花生油、玉米油、胚芽油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油)、甘油、四氢呋喃醇、聚乙二醇和山梨聚糖的脂肪酸酯、以及其混合物。

[0658] 除隋性稀释剂之外，所述口服组合物还可以包含辅助剂，诸如润湿剂、乳化剂和悬浮剂、甜味剂、矫味剂、着色剂、芳香剂、和防腐剂。

[0659] 除活性化合物之外，悬浮液还可以含有悬浮剂，如例如乙氧基化异硬脂醇、聚氧乙烯山梨醇和山梨聚糖酯、微晶纤维素、偏氢氧化铝、膨润土、琼脂和西黄蓍胶、以及其混合物。

[0660] 用于直肠、阴道或尿道施用的药物组合物的制剂可以呈现为栓剂，所述栓剂可以通过将一种或更多种活性化合物与一种或更多种合适的无刺激性赋形剂或载体(包含例如可可脂、聚乙二醇、栓剂蜡或水杨酸盐)混合来制备，并且所述栓剂在室温下是固体但在体温下是液体，并且因此其将在直肠或阴道腔中融化并且释放活性化合物。

[0661] 用于向嘴部施用的药物组合物的制剂可以以漱口剂、口服喷雾剂或口服软膏的形式存在。

[0662] 可选地或另外地，可以将组合物配制用于经由导管、支架、丝或其它管腔内装置的

递送。经由此类装置的递送可能对于递送至膀胱、尿道、输尿管、直肠或肠是尤其有用的。

[0663] 适用于阴道施用的制剂还包括阴道栓、卫生棉条、乳膏、凝胶、糊剂、泡沫或喷雾剂制剂，其含有如本领域中已知适当的此类载体。

[0664] 用于局部或透皮施用的剂型包括粉末、喷雾剂、软膏、糊剂、乳膏、洗剂、凝胶、溶液、贴剂和吸入剂。可以在无菌条件下将活性化合物与药学上可接受的载体以及与任何可能需要的防腐剂、缓冲剂或推进剂混合。

[0665] 除活性化合物之外，软膏、糊剂、乳膏和凝胶还可以含有赋形剂，诸如动物和植物脂肪、油、蜡、石蜡、淀粉、西黄蓍胶、纤维素衍生物、聚乙二醇、硅酮、膨润土、硅酸、滑石和氧化锌、或其混合物。

[0666] 除活性化合物之外，粉末和喷雾剂还可以含有赋形剂，诸如乳糖、滑石、硅酸、氢氧化铝、硅酸钙以及聚酰胺粉末、或这些物质的混合物。喷雾剂可以另外含有惯用的推进剂，诸如氯氟烃和未经取代的挥发性烃，诸如丁烷和丙烷。

[0667] 透皮贴剂具有以下附加优点：向身体受控递送本发明化合物。此类剂型可以通过将活性化合物溶解或分散于适当介质中来制备。吸收促进剂还可以用于增加所述化合物跨越皮肤的通量。这种通量的速率可以通过提供速率控制膜或将所述活性化合物分散在聚合物基质或凝胶中来控制。

[0668] 眼科制剂、眼软膏、粉末、溶液等也被考虑是在本发明的范围内。示例性眼科制剂描述于美国公开号2005/0080056、2005/0059744、2005/0031697、和2005/004074；和美国专利号6,583,124，将其内容通过引用并入本文。如果希望，液体眼科制剂具有与泪液、房水或玻璃体液相似的特性，或与此类流体相容。

[0669] 如本文中所用，短语“肠胃外施用(parenteral administration和administered parenterally)”意指除了肠内和局部施用以外的施用方式，通常是通过注射，并且包括但并不局限于静脉内、肌内、动脉内、鞘内、囊内、眼眶内、心内、真皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊髓内以及胸骨内注射和输注。

[0670] 适合于肠胃外施用的药物组合物可以包含与以下组合的一种或更多种活性化合物：一种或更多种药学上可接受的无菌等渗水性或非水性溶液、分散液、悬浮液或乳液，或者在正要使用之前可被重构为无菌可注射溶液或分散液的无菌粉末，它们可以含有抗氧化剂、缓冲剂、抑细菌剂、溶质(使制剂与预期接收者的血液等渗)、或悬浮剂或增稠剂。

[0671] 可用于本发明药物组合物的合适水性和非水性载体的实例包括水、乙醇、多元醇(诸如甘油、丙二醇、聚乙二醇等)及其合适的混合物，植物油，诸如橄榄油，和可注射有机酯，诸如油酸乙酯。例如可以通过使用包衣材料(诸如卵磷脂)、在分散液的情况下通过维持所需要的粒度、以及通过使用表面活性剂来维持适当的流动性。

[0672] 这些组合物还可以含有辅助剂，诸如防腐剂、润湿剂、乳化剂和分散剂。可以通过包含各种抗细菌剂和抗真菌剂(例如，对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚山梨酸等)来确保防止微生物的作用。还可希望的是在组合物中包含等渗剂，诸如糖、氯化钠等。此外，可以通过包含延迟吸收的试剂(诸如单硬脂酸铝和明胶)来实现可注射药物形式的延长吸收。

[0673] 在一些情况下，为了延长药物的作用，希望减缓来自皮下或肌内注射的药物的吸收。这可以通过使用水溶性不佳的结晶或非结晶材料的液体悬浮液来实现。然后，药物的吸收速率取决于其溶解速率，而溶解速率进而可能取决于晶体尺寸以及晶型。可选地，胃肠外

施用的药物形式的延迟吸收通过将药物溶解或悬浮在油媒介物中来实现。

[0674] 通过在可生物降解的聚合物(诸如聚丙交酯-聚乙交酯)中形成主题化合物的微包封基质来制造可注射储库形式(Injectable depot form)。取决于药物与聚合物的比率以及所使用的特定聚合物的性质,可以控制药物释放的速率。其它可生物降解的聚合物的实例包括聚(原酸酯)和聚(酸酐)。可注射的储库制剂也可以通过将药物包埋到与身体组织相容的脂质体或微乳液中来制备。

[0675] 为了用于本发明的方法,活性化合物可以本身或作为含有例如0.1%至约99.5%(更优选约0.5%至约90.0%)的活性成分与药学上可接受的载体的组合的药物组合物给予。

[0676] 在本发明的一些实施方案中,本发明的化合物与一种或更多种另外的化合物/药剂联合施用。

[0677] 在某些此类实施方案中,所述联合施用是同时进行的。在某些此类实施方案中,本发明的化合物与一种或更多种另外的化合物共同配制。在某些其它此类实施方案中,本发明的化合物与一种或更多种另外的化合物分开但同时施用。在某些此类实施方案中,联合施用是顺序的,与本发明化合物的施用一起的,或者在一种或更多种另外的化合物的施用之前或之后数分钟或数小时时进行的。

[0678] 引入本发明化合物的方法也可以通过可再装填的或可生物降解的装置提供。近年来,已经开发出各种缓慢释放聚合物装置并且在体内进行了测试,以用于药物(包括蛋白质样生物药物)的控制递送。包括可生物降解的聚合物和不可降解的聚合物两者的多种生物相容性聚合物(包括水凝胶)可用于形成植入物,以用于在特定靶标位点持续释放化合物。

[0679] 可以改变药物组合物中活性成分的实际剂量水平,以便获得在不对患者有不可接受的毒性情况下有效实现对于具体患者、组合物和施用方式而言希望的治疗反应的量的活性成分。

[0680] 所选择的剂量水平将取决于多种因素,包括所使用的特定化合物、缀合物、或化合物和/或缀合物的组合或其酯、盐或酰胺的活性,施用途径,施用时间,所使用的一种或更多种特定化合物的排泄速率,治疗的持续时间,与所使用的一种或更多种特定化合物组合使用的其它药物、化合物和/或材料,年龄,性别,体重,状况,总体健康状况以及所治疗的患者的既往病史,以及医学领域中众所周知的类似因素。

[0681] 具有本领域普通技术的医师或兽医可以容易地确定并且开出治疗有效量的所需药物组合物。例如,医师或兽医可以以低于为实现所希望的治疗效果所需的水平的药物组合物或化合物的剂量开始,并且逐渐增加剂量直至获得所希望的效果。“治疗有效量”是指足以引起所希望的治疗效果的化合物的浓度。通常应理解,化合物的有效量将根据受试者的体重、性别、年龄和病史而变化。影响有效量的其它因素可以包括但不限于患者疾患的严重程度、所治疗的病症、化合物的稳定性以及(如果希望的话)与本发明化合物一起施用的另一种类型的治疗剂。可以通过多次施用药剂来递送较大的总剂量。确定功效和剂量的方法是本领域技术人员已知的(Isselbacher等人(1996)Harrison's Principles of Internal Medicine第13版,1814-1882,将其通过引用并入本文)。

[0682] 通常,用于本发明的组合物和方法中的活性化合物的合适的日剂量将是有效产生治疗效果的最低剂量的化合物的量。这样的有效剂量将通常取决于上面描述的因素。

[0683] 如果希望,所述活性化合物或缀合物的有效日剂量可以在一整天中以单位剂型作为一、二、三、四、五、六或更多个亚剂量来施用,所述亚剂量是以适当的间隔分开施用的。在本发明的某些实施方案中,活性化合物可以每天施用两次或三次。在优选实施方案中,活性化合物将每天施用一次。

[0684] 接受这种治疗的患者是任何有需要的动物,包括灵长类动物,特别是人,以及其它哺乳动物,诸如马、牛、猪和绵羊;以及一般的家禽和宠物。

[0685] 在某些实施方案中,本文公开的化合物或缀合物可以单独使用或与另一种类型的治疗剂联合施用。如本文中所用,短语"联合施用"是指两个或更多个不同治疗性化合物或缀合物的任何形式的施用,使得先前施用的治疗性化合物或缀合物在体内仍然有效时施用第二化合物或缀合物(例如,两种化合物或缀合物在患者中同时有效,这可以包括两种化合物或缀合物的协同作用)。例如,可以在同一制剂中或在分开的制剂中伴随地或顺序地施用不同治疗性化合物或缀合物。在某些实施方案中,可以在1小时、12小时、24小时、36小时、48小时、72小时或1周或多周内彼此施用不同治疗性化合物或缀合物。因此,接受此类治疗的个体可以从不同治疗性化合物或缀合物的组合作用中受益。

[0686] 本发明包括本文公开的化合物或缀合物的药学上可接受的盐的用途。在某些实施方案中,本发明的考虑的盐包括但不限于烷基、二烷基、三烷基、或四烷基铵盐。在某些实施方案中,本发明的考虑的盐包括但不限于L-精氨酸、苯乙苄胺(benenthamine)、苯乍生、甜菜碱、氢氧化钙、胆碱、地阿诺(deanol)、二乙醇胺、二乙胺、2-(二乙基氨基)乙醇、乙醇胺、乙二胺、N-甲葡糖胺、海巴明哈胺(hydrabamine)、1H-咪唑、锂、L-赖氨酸、镁、4-(2-羟基乙基)吗啉、哌嗪、钾、1-(2-羟基乙基)吡咯烷、钠、三乙醇胺、氨丁三醇(tromethamine)和锌盐。在某些实施方案中,本发明的考虑的盐包括但不限于Na、Ca、K、Mg、Zn、或其它金属的盐。

[0687] 药学上可接受的酸加成盐也可以作为各种溶剂化物(诸如与水、甲醇、乙醇、二甲基甲酰胺等)存在。也可以制备此类溶剂化物的混合物。此类溶剂化物的来源可以来自结晶溶剂,是制备或结晶溶剂中固有的,或对于此类溶剂是外来的。

[0688] 组合物中还可以存在润湿剂、乳化剂和润滑剂,诸如月桂基硫酸钠和硬脂酸镁,以及着色剂、脱模剂、包衣剂、甜味剂、矫味和芳香剂、防腐剂和抗氧化剂。

[0689] 药学上可接受的抗氧化剂的实例包括:(1)水溶性抗氧化剂,诸如抗坏血酸、半胱氨酸盐酸盐、硫酸氢钠、焦亚硫酸钠、亚硫酸钠等;(2)油溶性抗氧化剂,诸如抗坏血酸棕榈酸酯、丁基化羟基茴香醚(BHA)、丁基化羟基甲苯(BHT)、卵磷脂、没食子酸丙酯、α-生育酚等;以及(3)金属螯合剂,诸如柠檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨醇、酒石酸、磷酸等。

[0690] 现在总体上描述了本发明,参考以下实施例将更容易理解本发明,所述实施例仅是出于说明本发明的某些方面和实施方案的目的而包括的并且不旨在限制本发明。

[0691] 实施例

[0692] 合成方案

[0693] 缩写

[0694] AcO:乙酰基

[0695] AcOH:乙酸

[0696] EA:乙酸乙酯

[0697] DCM:二氯甲烷

[0698] m-CPBA:间氯过氧苯甲酸

[0699] TBDMSOTf:三氟甲磺酸叔丁基二甲基甲硅烷基酯

[0700] TBDMS:叔丁基二甲基甲硅烷基

[0701] DMF:二甲基甲酰胺

[0702] EDCI:1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺

[0703] HOBt:1-羟基苯并三唑水合物

[0704] ACN:乙腈

[0705] TBDMS-Cl:叔丁基二甲基甲硅烷基氯

[0706] DBU:1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一碳-7-烯

[0707] THF:四氢呋喃

[0708] DCC:N,N’-二环己基碳二亚胺

[0709] DMAP:4-二甲基氨基吡啶

[0710] NHS:N-羟基琥珀酰亚胺

[0711] DIPEA:二异丙基乙胺

[0712] TEA:三乙胺

[0713] DEAD:偶氮二甲酸二乙酯

[0714] Boc:叔丁氧基羰基

[0715] LAH:氢化铝锂

[0716] CDI:1,1’-羰基二咪唑

[0717] BEMP:2-叔丁基亚氨基-2-二乙基氨基-1,3-二甲基全氢-1,3,2-二氮杂膦

[0718] TPSCl:三苯基氯硅烷

[0719] tfa:三氟乙酰基

[0720] PyBop:六氟磷酸苯并三唑-1-基-氧基三吡咯烷基鏻

[0721] HBTU:六氟磷酸N,N,N’,N’-四甲基-O-(1H-苯并三唑-1-基)脲鎓

[0722] TFA:三氟乙酸

[0723] DIC:N,N’-二异丙基碳二亚胺

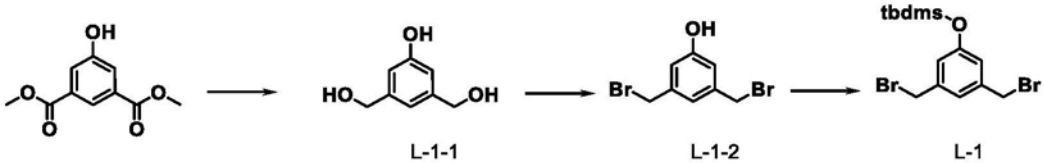
[0724] DMPA:2,2-二甲氧基-2-苯基乙酰苯

[0725] TBAF:四-正丁基氟化铵

[0726] AgOTf:三氟甲磺酸银

[0727] $(BimC4A)_3$:5,5’,5”-[2,2’,2”-次氮基三(亚甲基)三(1H-苯并咪唑-2,1-二基)]三戊酸三钾水合物

[0728] 实施例1:化合物L-1的制备

[0729] 

[0730] 化合物L-1-1的制备

[0731] 在-78℃下在N_2气氛下,向5-羟基间苯二甲酸二甲酯(5g,23.79mmol)在无水THF(300mL)中的溶液中滴加入LAH(3.6g,95.15mmol)。将反应混合物在室温下搅拌17小时。反

应完成后，加入15％NaOH溶液(4mL)、H_2O(8mL)和EA(100mL)，然后将反应混合物搅拌1小时。将混合物过滤，减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化，得到化合物L-1-1(3.02g,82％)。

[0732] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ9.21(s,1H),6.66(s,1H),6.58(s,2H),5.07(t,J＝6.0Hz,2H),4.38(d,J＝4.6Hz,4H)。

[0733] 化合物L-1-2的制备

[0734] 在N_2气氛下将化合物L-1-1(2g,12.97mmol)溶于HBr(5.0mL,33％于AcOH中)中。在60℃下搅拌18小时后，加入$NaHCO_3$溶液(pH～8)淬灭反应。然后在反应混合物中加入蒸馏水(50mL)和EA(100mL×2)。将有机层经无水Na_2SO_4干燥，过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化，得到化合物L-1-2(2.9g,80％)。

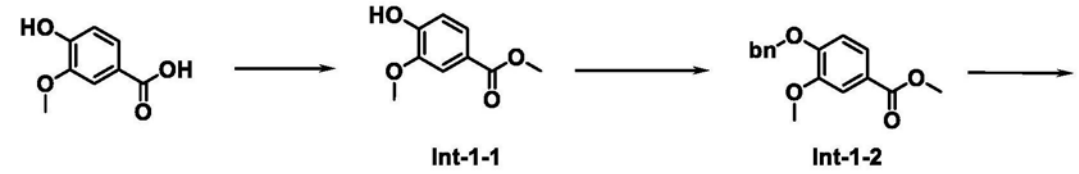
[0735] ^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ6.99(s,1H),6.81(s,2H),4.85(s,1H),4.41(s,2H)。

[0736] 化合物L-1的制备

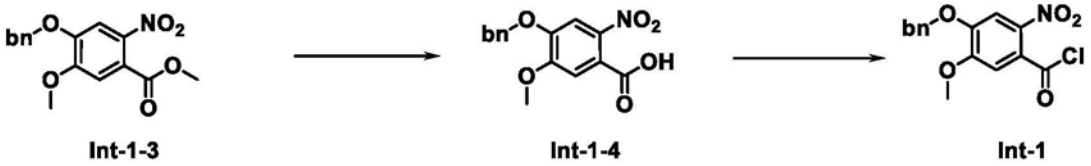
[0737] 在室温下在N_2气氛下，向化合物L-1-2(100mg,0.36mmol)在无水DCM(3mL)中的溶液中加入咪唑(27mg,0.39mmol)和TBDMS-Cl(59mg,0.39mmol)。搅拌16小时后，在反应混合物中加入蒸馏水(50mL)和EA(100mL)。将有机层经无水Na_2SO_4干燥，过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化，得到化合物L-1(110mg,79％)。

[0738] ^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.00(s,1H),6.80(s,2H),4.41(s,4H),0.99(s,9H),0.21(s,6H)。

[0739] 实施例2:化合物Int-1的制备



[0740]



[0741] 化合物Int-1-1的制备

[0742] 在0℃下在N_2气氛下，向香草酸(50.0g,0.30mol)在MeOH(700mL)中的溶液中滴加$SOCl_2$(207mL,2.85mol)。在室温下搅拌15小时后，用饱和$NaHCO_3$水溶液将反应物调节至pH 7-8，然后用蒸馏水(100mL)和EA(400mL)进行稀释。将有机层经Na_2SO_4干燥，过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化，得到化合物Int-1-1(54.2g,定量)。

[0743] ^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.64(dd,J＝6.4,1.6Hz,1H),7.55(s,1H),6.94(d,J＝8.4Hz,1H),6.05(s,1H),3.95(s,3H),3.89(s,3H)。

[0744] 化合物Int-1-2的制备

[0745] 在N_2气氛下，向化合物Int-1-1(54.2g,0.30mol)在DMF(200mL)中的溶液中加入K_2CO_3(61.6g,0.45mol)和苄基溴(39.0mL,0.33mol)。在100℃下搅拌6小时后，将混合物冷却至室温，用蒸馏水(100mL)和EA(400mL)进行稀释。将有机层经无水Na_2SO_4干燥，过滤并减压

浓缩。将残留物通过柱色谱纯化，得到化合物Int-1-2(79.8g,98%)。

[0746] ^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.60(dd,J＝6.4,2.0Hz,1H),7.56(d,J＝2.0Hz,1H),7.44-7.31(m,5H),6.89(d,J＝8.4Hz,1H),5.22(s,2H),3.94(s,3H),3.88(s,3H)。

[0747] 化合物Int-1-3的制备

[0748] 将化合物Int-1-2(79.8g,0.29mol)在N_2气氛下溶于乙酸酐(550mL)，然后冷却至0℃。分批加入硝酸铜(II)半(五水合物)(75.0g,0.32mol)。在0℃下搅拌6小时后，用冰水(800mL)淬灭反应。过滤固体并用蒸馏水(100mL)和己烷(400mL)洗涤，得到化合物Int-1-3(85.5g,92%)。

[0749] ^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.52(s,1H),7.45-7.35(m,5H),7.08(s,1H),5.22(s,2H),3.98(s,3H),3.91(s,3H)。

[0750] 化合物Int-1-4的制备

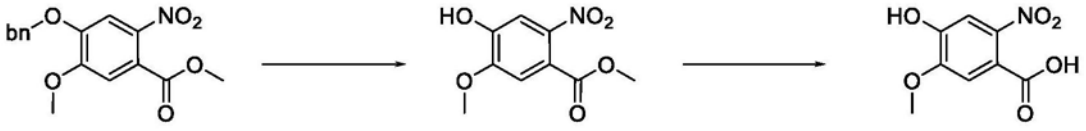
[0751] 向化合物Int-1-3(85.5g,0.27mol)在THF(800mL)和MeOH(300mL)中的溶液中加入2N NaOH(404mL,0.81mol)。在65℃下搅拌5小时后，将反应物冷却至室温，通过加入2N HCl溶液调节至pH 2，然后用蒸馏水(100mL)和EA(300mL X2)萃取。将有机层经无水Na_2SO_4干燥，过滤并减压浓缩。收集残余固体，用己烷洗涤，得到化合物Int-1-4(79.2g,97%)。

[0752] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ7.69(s,1H),7.47-7.35(m,5H),7.03(s,1H),5.24(s,2H),3.91(s,3H)。

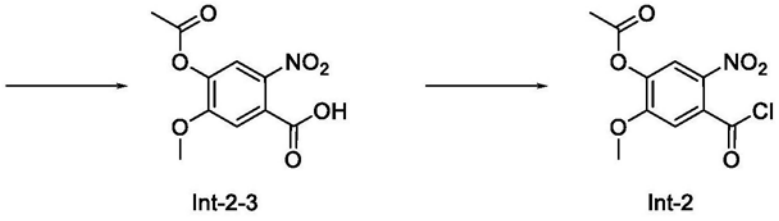
[0753] 化合物Int-1的制备

[0754] 在0℃下在N_2气氛下，向化合物Int-1-4(100mg,0.33mmol)在无水THF(500μL)和无水DCM(1.5mL)中的溶液中缓慢滴加草酰氯(42.4μL)和1滴DMF。搅拌30分钟后，减压浓缩反应混合物。将化合物Int-1直接用于下一步，而未经进一步纯化。

[0755] 实施例3:化合物Int-2的制备



[0756]



[0757] 化合物Int-2-1的制备

[0758] 在-78℃下在N_2气氛下，向化合物Int-1-3(24.8g,78.2mmol)于DCM(500mL)中的棕色溶液中加入1M的于DCM中的BCl_3(93.8mL,93.8mmol,1.2当量)。搅拌3小时后，通过加入MeOH(100mL)来淬灭反应。使混合物升温至室温，然后向反应混合物中加入饱和$NaHCO_3$(100mL)、盐水(100mL)和DCM(600mL)。将有机层经无水Na_2SO_4干燥，过滤并减压浓缩。除去溶剂，得到为黄色固体的Int-2-1(17.5g,98%)。

[0759] ^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.47(s,1H),7.14(s,1H),6.03(s,1H),4.02(s,3H),3.90

(s,3H)。

[0760] 化合物Int-2-2的制备

[0761] 在室温下在N_2气氛下用6N NaOH(38.5mL,231.0mmol)处理化合物Int-2-1(17.5g,77.03mmol)在1,4-二噁烷(250mL)中的棕色溶液。在40℃下搅拌5小时后,将混合物冷却至0℃,用2N HCl酸化。将混合物用H_2O(150mL)稀释,用EA(300mL X3)萃取。将合并的有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩。过滤收集所得沉淀,用已烷洗涤,真空干燥,得到为黄色固体的化合物Int-2-2(15.9g,97%)。

[0762] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ10.6(brs,1H),7.31(s,1H),7.25(s,1H),3.90(s,3H),3.57(s,3H)。

[0763] 化合物Int-2-3的制备

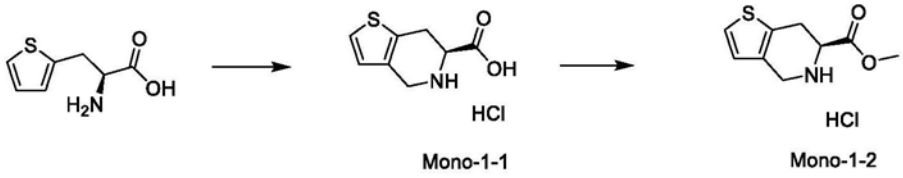
[0764] 在室温下在N_2气氛下,用DMAP(1.8g,14.92mmol,0.2当量)、乙酸酐(8.5mL,87.5mmol,1.2当量)和TEA(15.6mL,111.9mmol,1.5当量)处理化合物Int-2-2(15.9g,74.6mmol)在无水THF(370mL)中的的棕色溶液,并搅拌6小时。用水(150mL)稀释反应混合物,并用EA(300mL×2)萃取。将合并的有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤,减压浓缩,得到为黄色固体的化合物Int-2-3(18g,95%)。

[0765] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ7.99(s,1H),7.46(s,1H),3.94(s,3H),2.30(s,3H)。

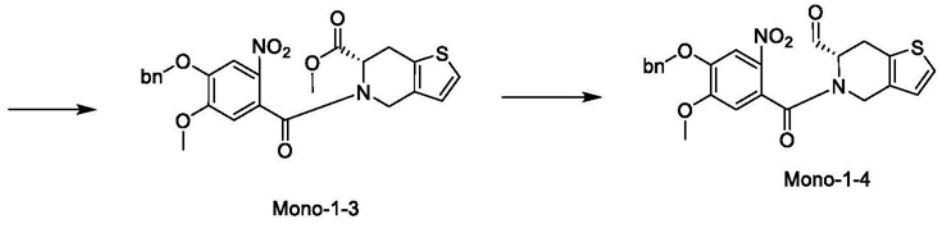
[0766] 化合物Int-2的制备

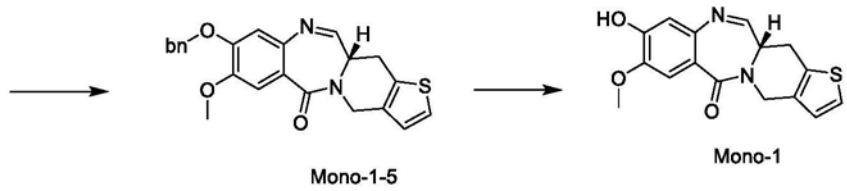
[0767] 在0℃下在N_2气氛下用草酰氯(7.6mL,84.64mmol,1.5当量)和DMF(2滴)处理化合物Int-2-3(14.4g,56.43mmol)在无水THF(15mL)和无水DCM(40mL)中的棕色溶液,并搅拌6小时。将反应混合物减压浓缩。将化合物Int-2直接用于下一步,而未经进一步纯化。

[0768] 实施例4:化合物Mono-1的制备



[0769]





[0770] 化合物Mono-1-1的制备

[0771] 向L-2-噻吩基丙氨酸(500mg,2.92mmol)在蒸馏水(5.0mL)中的溶液中滴加浓HCl(206μL)并在0℃下在N_2气氛下搅拌,然后向其中加入甲醛(37%,261μL,3.5mmol)。将混合物回流过夜。反应完成后,将混合物减压浓缩。将残留物悬浮在IPA(3.0mL)中,并向其中加

入4M HCl(于1,4-二噁烷中,1.0mL)。搅拌2小时后,将固体过滤并用IPA(5mL)、乙醚(20mL)洗涤,得到化合物Mono-1-1(495.7mg,77%)。

[0772] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ9.95(brs,1H),7.48(d,J=5.2Hz,1H),6.94(d,J=5.2Hz,1H),4.48-4.44(m,1H),4.28(d,J=15.6Hz,1H),4.18(d,J=16.0Hz,1H),3.39(dd,J=11.6,5.2Hz,1H),3.17-3.10(m,1H)。EI-MS m/z:184(M^++1)。

[0773] 化合物Mono-1-2的制备

[0774] 在N_2气氛下,将化合物Mono-1-1(495.7mg,2.25mmol)溶解在甲醇(10.0mL)中,然后冷却至0℃。在0℃下滴加$SOCl_2$(491.3μL,6.76mmol),并将反应混合物回流3小时。反应完成后,将混合物减压浓缩。将残留物用乙醚(5mL X2)洗涤,得到化合物Mono-1-2(521.5mg,99%)。

[0775] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ10.22(brs,2H),7.49(d,J=5.2Hz,1H),6.94(d,J=5.2Hz,1H),4.65-4.61(m,1H),4.30(d,J=15.6Hz,1H),4.19(d,J=15.6Hz,1H),3.80(s,3H),3.60(dd,J=11.6,5.2Hz,1H),3.21-3.14,(m,1H)。EI-MS m/z:198(M^++1)。

[0776] 化合物Mono-1-3的制备

[0777] 向化合物Int-1(856.5mg,2.66mmol)在无水THF(3.0mL)中的溶液中加入化合物Mono-1-2(518.5mg,2.22mmol)在DMF(3.0mL)中的溶液,然后在0℃下加入DIPEA(772.8μL,4.44mmol)。将反应混合物在室温下搅拌过夜。反应完成后,向反应混合物中加入蒸馏水(20mL)和EA(50mL X2)。将有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化,得到化合物Mono-1-3(888.5mg,89%)。

[0778] EI-MS m/z:483(M^++1)。

[0779] 化合物Mono-1-4的制备

[0780] 在-78℃下在N_2气氛下,向化合物Mono-1-3(880mg,1.82mmol)在无水DCM(5.0mL)和甲苯(15.0mL)中的溶液中滴加DIBAL(3.6mL,3.6mmol,1.0M于甲苯中)。将反应混合物在-78℃下搅拌3小时。用MeOH(5mL)、2N HCl(20.0mL)在-78℃下淬灭反应,然后在反应混合物中加入蒸馏水(20mL)和EA(50mL X2)。将有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化,得到化合物Mono-1-4(701.9mg,85%)。

[0781] EI-MS m/z:453(M^++1)。

[0782] 化合物Mono-1-5的制备

[0783] 在室温下,向化合物Mono-1-4(700mg,1.55mmol)在THF(15.0mL)和蒸馏水(3.0mL)中的溶液中加入$Na_2S_2O_4$(2.2g,12.4mmol),进行4小时。反应完成后,用MeOH(5mL)淬灭反应,并将反应混合物减压浓缩。将残留物悬浮在甲苯(20mL)中,蒸发以帮助除去任何残留的水。通过在高真空下放置过夜,将所得的白色固体进一步完全干燥。将残留物悬浮在无水MeOH(10mL)中,然后加入乙酰氯(1.1mL,15.5mmol)。15分钟后,过滤浑浊的溶液,用无水MeOH(5mL X2)洗涤固体。将滤液搅拌2小时。一旦反应完成,用$NaHCO_3$溶液pH～7淬灭反应混合物,并向反应混合物中加入蒸馏水(20mL)和EA(50mL X2)。将有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化,得到化合物Mono-1-5(701.9mg,85%)。

[0784] ^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.55(d,J=5.6Hz,1H),7.47(m,5H),7.22(d,J=5.2Hz,1H),6.95(d,J=5.2Hz,1H),6.85(s,1H),5.26-5.14(m,2H),4.98(d,J=16.4Hz,1H),4.44(d,J=16.8Hz,1H),4.08-4.02(m,1H),3.98(s,3H),3.32-3.26(m,1H)。

[0785] EI-MS m/z:453(M^++1)。

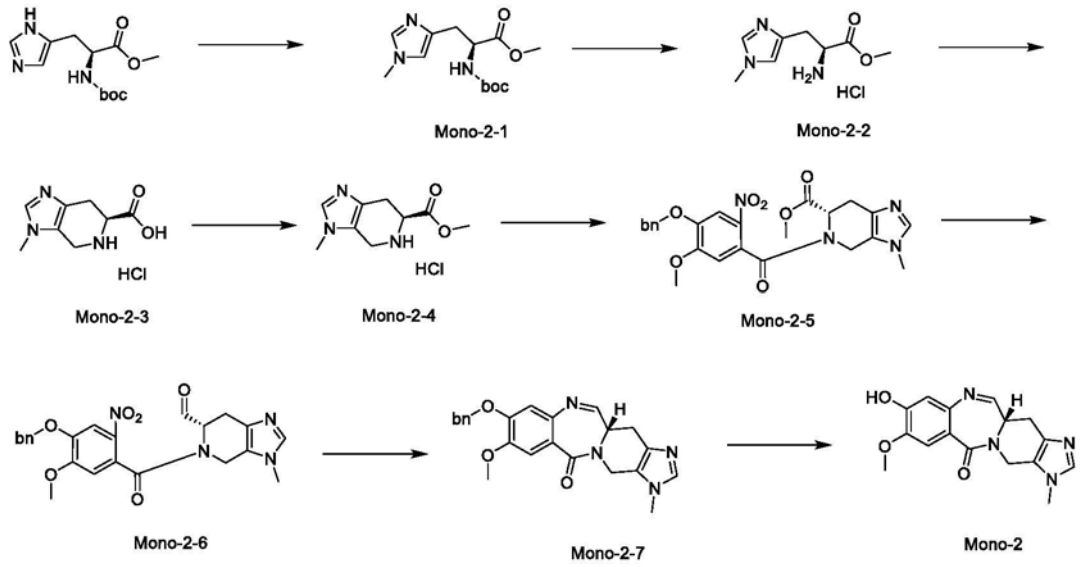
[0786] 化合物Mono-1的制备

[0787] 将化合物Mono-1-5(60mg,0.15mmol)在无水DCM(3mL)中的溶液冷却至0℃,并加入DCM(2.0mL)中的甲磺酸(700μL)。将混合物在0℃下搅拌2小时。反应完成后,用$NaHCO_3$溶液(pH～7)淬灭反应,向反应混合物中加入蒸馏水(5mL)和EA(20mL X2)。将有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化,得到化合物Mono-1(38.3mg,82%)。

[0788] ^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.58(d,J=5.6Hz,1H),7.54(s,1H),7.23(d,J=5.2Hz,1H),6.95(d,J=5.2Hz,1H),6.89(s,1H),6.06(s,1H),5.30(s,1H),4.99(d,J=16.4Hz,1H),4.44(d,J=16.4Hz,1H),4.10-4.04(m,1H),3.99(s,3H),3.32-3.26(m,1H)。

[0789] EI-MS m/z:315(M^++1)。

[0790] 实施例5:化合物Mono-2的制备

[0791] 

[0792] 化合物Mono-2-1的制备

[0793] 在N_2气氛下,将N-Boc-L-组氨酸(900mg,3.34mmol)溶解在ACN(5.0mL)中。加入Cs_2CO_3(2.2g,6.68mmol)和碘甲烷(208μL,3.34mmol)。将反应混合物在室温下搅拌过夜。反应完成后,过滤浑浊的溶液,并减压浓缩滤液。将残留物通过柱色谱纯化,得到化合物Mono-2-1(549.2mg,58%)。

[0794] ^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.34(s,1H),6.52(s,1H),5.89(d,J=7.2Hz,1H),4.58-4.50(m,1H),3.72(s,3H),3.63(s,3H),3.14-3.08(m,2H).EI-MS m/z:284(M^++1)。

[0795] 化合物Mono-2-2的制备

[0796] 在N_2气氛下,将化合物Mono-2-1(549.2mg,1.94mmol)溶解在DCM(5.0mL)中,并冷却至0℃。在0℃下加入4M HCl(于1,4-二噁烷中,2mL)。使反应物升温至室温并搅拌5小时。反应完成后,将混合物减压浓缩。将残留物用乙醚(5mL)洗涤,得到化合物Mono-2-2(429.8mg,定量)。

[0797] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ9.00(s,1H),8.80(brs,2H),7.51(s,1H),4.31(t,J=6.8Hz,1H),3.81(s,3H),3.74(s,3H),3.27(t,J=6.0Hz,2H)。EI-MS m/z:184(M^++1)。

[0798] 化合物Mono-2-3的制备

[0799] 在N_2气氛下,将化合物Mono-2-2(425.8mg,1.94mmol)溶解在蒸馏水(4.0mL)中,然后冷却至0℃。在0℃下滴加浓HCl(250μL),然后加入甲醛(37%,216μL,2.9mmol)。将反应混合物回流过夜。反应完成后,将混合物减压浓缩。将残留物悬浮在IPA(3.0mL)中并加入4M HCl(在1,4-二噁烷中,2.0mL),并将所得混合物搅拌2小时。过滤固体并用IPA(5mL)、乙醚(10mL X2)洗涤,得到化合物Mono-2-3(421.9mg,定量)。

[0800] EI-MS m/z:182(M^++1)。

[0801] 化合物Mono-2-4的制备

[0802] 在N_2气氛下将化合物Mono-2-3(421.9mg,1.94mmol)溶解在MeOH(5.0mL)中,然后冷却至0℃。在0℃下滴加$SOCl_2$(423μL,5.83mmol),并将反应混合物回流5小时。反应完成后,将混合物减压浓缩。将残留物用乙醚(5mL X2)洗涤,得到化合物Mono-2-4(375.2mg,84%)。

[0803] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ9.02(s,2H),4.66-4.62(m,1H),4.49(d,J=15.2Hz,1H),4.33(d,J=15.6Hz,1H),3.80(s,6H),3.29(dd,J=11.6,5.2Hz,1H),3.18-3.13,(m,1H)。EI-MS m/z:196(M^++1)。

[0804] 化合物Mono-2-5的制备

[0805] 将化合物Mono-2-4(375.2mg,1.62mmol)在DMF(3.0mL)中的溶液加入到化合物Int-1(625.2mg,1.94mmol)在无水THF(3.0mL)中的溶液中,然后在0℃下加入DIPEA(846.2μL,4.86mmol),并将反应混合物在室温下搅拌过夜。反应完成后,在反应混合物中加入蒸馏水(20mL)和EA(50mL X2)。将有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化,得到化合物Mono-2-5(466.8mg,60%)。

[0806] EI-MS m/z:481(M^++1)。

[0807] 化合物Mono-2-6的制备

[0808] 在-78℃下在N_2气氛下,向化合物Mono-2-5(100mg,0.21mmol)在无水DCM(0.5mL)和甲苯(1.5mL)中的溶液中滴加DIBAL(832μL,0.832mmol,1.0M,于甲苯中),并将反应混合物在-78℃下搅拌5小时。在-78℃下用MeOH(0.1mL)和2NHCl(20mL)淬灭反应,并在反应混合物中加入蒸馏水(20mL)和DCM(100mL)。将有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化,得到化合物Mono-2-6(43mg,46%)。

[0809] EI-MS m/z:451(M^++1)。

[0810] 化合物Mono-2-7的制备

[0811] 在室温下在N_2气氛下,向化合物Mono-2-6(40mg,0.09mmol)在THF(1.7mL)和蒸馏水(1.1mL)中的溶液中加入$Na_2S_2O_4$·$2H_2O$(149mg,0.71mmol)。搅拌4小时后,用MeOH(2.0mL)淬灭反应。将反应混合物减压浓缩,并将残留物悬浮在甲苯(20mL)中,蒸发以帮助除去任何残留的水。通过将所得黄色固体在高真空下放置过夜以进一步完全干燥。将残留物悬浮在无水MeOH(3.0mL)中,然后加入乙酰氯(63μL,0.88mmol)。搅拌15分钟后,过滤浑浊的溶液,用无水MeOH(5.0mL X2)洗涤固体。搅拌2小时后,用$NaHCO_3$溶液将反应混合物调节至pH为7。向其中加入蒸馏水(5.0mL)和EA(20mL X2)。将有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化,得到化合物Mono-2-8(18mg,51%)。

[0812] ^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.63(d,J=5.6Hz,1H),7.51(s,1H),7.46-7.27(m,6H),6.85(s,1H),5.26-5.17(m,2H),4.71(d,J=16.4Hz,1H),4.58(d,J=16.8Hz,1H),4.15-

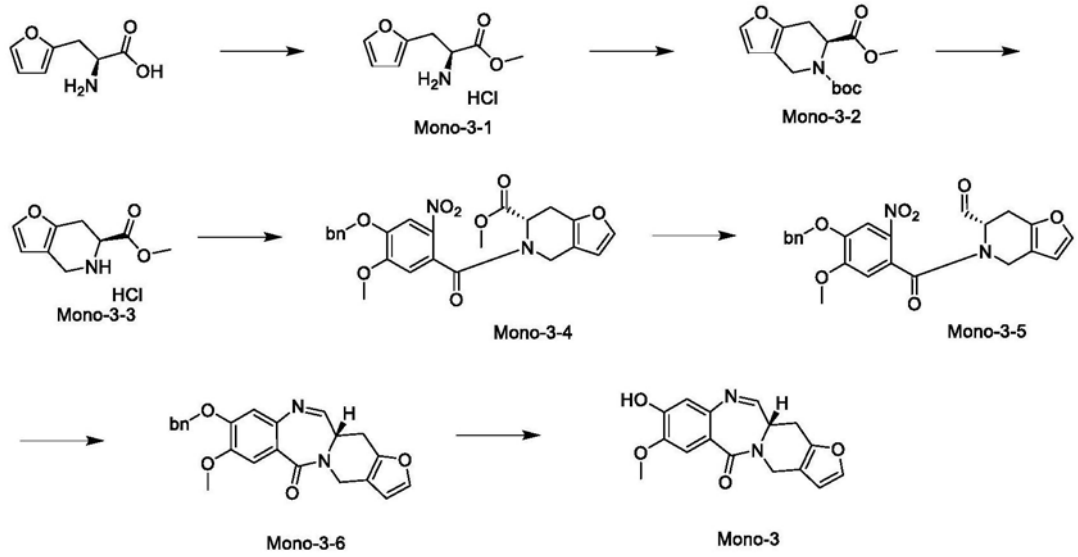
4.05(m,1H),3.99(s,3H),3.68(s,3H),3.22-3.08(m,2H)。EI-MS m/z:403(M^++1)。

[0813] 化合物Mono-2的制备

[0814] 在0℃下,向化合物Mono-2-7(16mg,0.04mmol)在无水DCM(160μL)中的溶液中加入在DCM(160μL)中的甲磺酸(80μL)。将反应混合物在相同温度下搅拌3小时。反应完成后,用$NaHCO_3$溶液(pH 8～9)淬灭混合物。将残留物通过制备型HPLC纯化,得到化合物Mono-2(4.9mg,40%)。

[0815] ^{1}H NMR(400MHz,CD_3OD)δ8.34(brs,1H),7.68(s,1H),7.28(s,1H),6.42(s,1H),4.83(d,J=16.4Hz,1H),4.63(d,J=16.4Hz,1H),4.26(d,J=8.4Hz,1H),4.02-3.99(m,1H),3.87(s,3H),3.68(s,3H),2.98-2.86(m,2H)。EI-MS m/z:313(M^++1)。

[0816] 实施例6:化合物Mono-3的制备

[0817] 

[0818] 化合物Mono-3-1的制备

[0819] 在N_2气氛下,将L-2-呋喃基丙氨酸(2.56g,13.35mmol)溶解在MeOH(50.0mL)中,然后冷却至0℃。在相同温度下滴加$SOCl_2$(1.45mL,20.02mmol),并将反应混合物回流5小时。将混合物减压浓缩。将残留物用乙醚(10mL)洗涤,得到化合物Mono-3-1(2.73g,定量)。

[0820] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ8.65(brs,3H),7.58(s,1H),6.35(s,1H),6.26(s,1H),4.26(t,J=6.4Hz,1H),3.69(s,3H),3.24-3.14(m,2H)。EI-MS m/z:170(M^++1)。

[0821] 化合物Mono-3-2的制备

[0822] 将化合物Mono-3-1(2.7g,13.13mmol)溶解在THF(10mL)和DMF(20.0mL)中,然后在N_2气氛下加入甲醛(37%,2.0mL,26.26mmol)。将反应混合物回流过夜后,向反应混合物中加入Na_2SO_4(1.0g)以除去水,然后加入4M HCl(于1,4-二噁烷中,3.5mL),将所得混合物在室温下搅拌3小时。将混合物用$NaHCO_3$溶液(pH～9)淬灭,加入BOC_2O(4.3g,19.7mmol)。将反应混合物在室温下搅拌过夜。将反应混合物过滤,用EA(50mL)和蒸馏水(20mL)萃取滤液。将有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化,得到化合物Mono-3-2(906.1mg,24.5%)。

[0823] EI-MS m/z:282(M^++1)。

[0824] 化合物Mono-3-3的制备

[0825] 在0℃下在N_2气氛下,向化合物Mono-3-2(609.1mg,3.22mmol)在DCM(5.0mL)中的

溶液中加入4M HCl(于1,4-二噁烷中,1.6mL)。使反应物升温至室温并搅拌5小时。反应完成后,将混合物减压浓缩。将残留物用乙醚(5mL)洗涤,得到化合物Mono-3-3(628.3mg,90%)。

[0826] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ10.03(brs,1H),7.65(s,1H),6.46(s,1H),4.62-4.58(m,1H),4.11(q,J=17.6,14.8Hz,2H),3.28-3.20(m,1H),3.12-3.00(m,3H)。EI-MS m/z:182(M^++1)。

[0827] 化合物Mono-3-4的制备

[0828] 向化合物Int-1(1.4g,4.33mmol)在无水THF(5.0ml)中的溶液中加入化合物Mono-3-3(628.3mg,2.88mmol)在DMF(5.0mL)中的溶液,然后在0℃下加入DIPEA(846.2μL,4.86mmol)。将反应混合物在室温下搅拌过夜。反应完成后,加入蒸馏水(20mL)和EA(50mL X2)。将有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化,得到化合物Mono-3-4(1.2g,89%)。

[0829] EI-MS m/z:467(M^++1)。

[0830] 化合物Mono-3-5的制备

[0831] 在-78℃下,向化合物Mono-3-4(1.2g,2.57mmol)在无水DCM(7.0mL)和甲苯(21.0mL)中的溶液中滴加1M DIBAL(5.2mL,5.2mmol,1.0M于甲苯中)。将混合物在相同温度下搅拌5小时。反应完成后,在-78℃下用MeOH(5mL)、2N HCl(20.0mL)淬灭反应混合物,向反应混合物中加入蒸馏水(20mL)和EA(50mL X2)。将有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化,得到化合物Mono-3-5(884mg,79%)。

[0832] EI-MS m/z:436(M^++1)。

[0833] 化合物Mono-3-6的制备

[0834] 在室温下在N_2气氛下,向化合物Mono-3-5(55.4mg,0.13mmol)在THF(3.0mL)和蒸馏水(1.0mL)中的溶液中加入$Na_2S_2O_4$(213.4mg,1.02mmol)。搅拌8小时后,用MeOH(3.0mL)淬灭反应。将反应混合物减压浓缩。将残留物悬浮在甲苯(20mL)中,蒸发以帮助除去任何残留的水。通过将所得黄色固体在高真空下放置过夜以进一步完全干燥。将残留物悬浮在无水MeOH(2.0mL)中,然后加入乙酰氯(90.2μL,1.27mmol)。搅拌15分钟后,过滤浑浊的溶液,用无水MeOH(5.0mL X2)洗涤固体。搅拌2小时后,用$NaHCO_3$溶液将反应混合物调节至pH为7。向其中加入蒸馏水(5.0mL)和EA(20mL X2)。将有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化,得到化合物Mono-3-6(30.3mg,61%)。

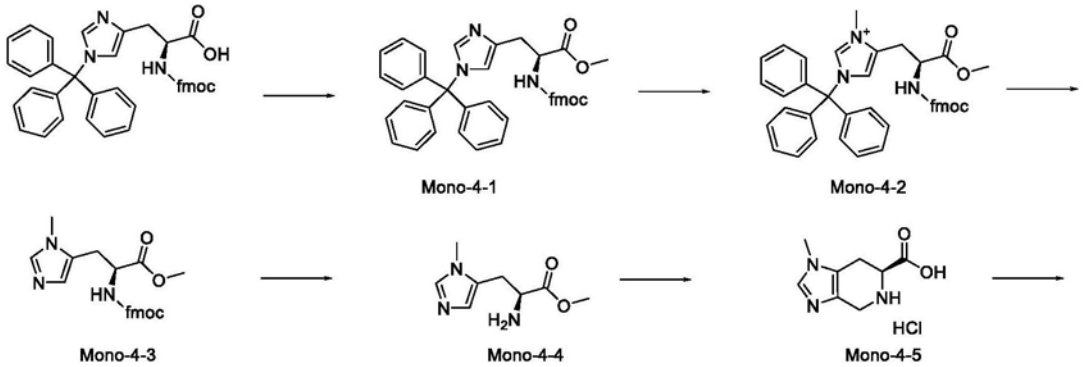
[0835] ^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.64(d,J=5.6Hz,1H),7.51(s,1H),7.45-7.32(m,6H),6.85(s,1H),6.36(s,1H),5.24(q,J=12.4,11.2Hz,2H),4.59(s,2H),4.13(t,J=6.4Hz,1H),3.23(dd,J=9.2,6.8Hz,1H),3.10(d,J=16.8Hz,1H)。EI-MS m/z:389(M^++1)。

[0836] 化合物Mono-3的制备

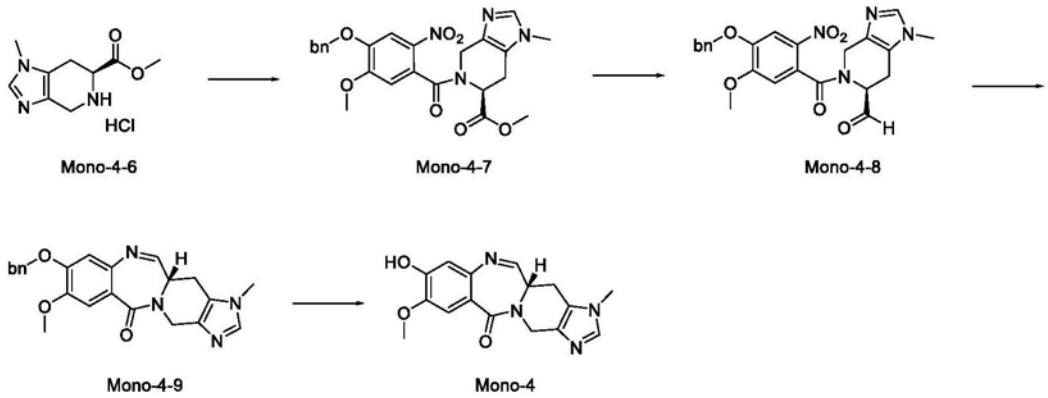
[0837] 向化合物Mono-3-6(100mg,0.26mmol)在无水EtOH(10mL)中的溶液中加入5%Pd/C(273mg,0.13mmol)和1,4-环已二烯(1.0mL,10.30mmol)。将混合物在室温下搅拌8小时。反应完成后,过滤固体,并将滤液减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化,得到化合物Mono-3(23mg,31%)。

[0838] ^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.67(d,J=6.0Hz,1H),7.50(s,1H),7.41(s,1H),7.37(d,J=3.2Hz,1H),6.89(s,1H),6.37(s,1H),4.58(s,2H),4.15(t,J=6.8Hz,1H),3.91(s,3H),3.24(dd,J=9.6,6.8Hz,1H),3.12(d,J=16.8Hz,1H);EI-MS m/z:299(M^++1)。

[0839] 实施例7:化合物Mono-4的制备



[0840]



[0841] 化合物Mono-4-1的制备

[0842] 在-13℃下,在30分钟内向Fmoc-His(Trt)-OH(15.0g,24.2mmol)和HOBT(5.0g,24.2mmol)在无水THF(200mL)中的溶液中滴加THF(40mL)和MeOH(20mL)中的DCC(1.15g,8mmol)。使反应混合物缓慢升温至室温,同时搅拌5小时。反应完成后,向反应混合物中加入蒸馏水(50mL)和DCM(200mL X2)。将有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化,得到化合物Mono-4-1(13.0g,84%)。

[0843] ^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.75(d,J=7.6Hz,2H),7.62(t,J=7.6Hz,2H),7.41-7.28(m,14H),7.15-7.06(m,7H),6.54(s,1H),6.52(d,J=7.6Hz,1H),4.66-4.59(m,1H),4.38-4.22(m,2H),3.63(s,3H),3.07(t,J=6.4Hz,1H)。EI-MS m/z:634(M^++1)。

[0844] 化合物Mono-4-2的制备

[0845] 在0℃下,向化合物Mono-4-1(13g,20.51mmol)在DMF(50mL)中的溶液中加入甲基碘(3.8mL,61.54mmol)。将反应混合物升温至室温并搅拌5小时。反应完成后,将混合物减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化,得到化合物Mono-4-2(11g,83%)。

[0846] ^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ8.42(s,1H),7.76(d,J=7.6Hz,2H),7.70-7.60(m,2H),7.46-7.20(m,19h),6.89(s,1H),6.60(d,J=7.2Hz,1H),4.70-4.62(m,1H),4.30-4.12(m,3H),4.01(s,3H),3.67(s,3H),3.50-3.28(m,2H)。EI-MS m/z:648(M^++1)。

[0847] 化合物Mono-4-3的制备

[0848] 在0℃下在N_2气氛下,向化合物Mono-4-2(11g,16.95mmol)在DCM(150mL)中的溶液中加入TFA(40mL)和三乙基硅烷(8.12mL,50.86mmol)。将反应物升温至室温并搅拌6小时。反应完成后,将混合物减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化,得到化合物Mono-4-3(6.25g,

91%)。

[0849] ^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ8.87(s,1H),7.78(d,J=7.2Hz,2H),7.59(d,J=7.6Hz,2H),7.45-7.30(m,4H),7.09(s,1H),5.69(d,J=6.0Hz,1H),4.64-4.50(m,2H),4.48-4.38(m,1H),3.79(s,6H),3.51-3.44(m,1H),3.29-3.10(m,2H)。EI-MS m/z:407(M^++1)。

[0850] 化合物Mono-4-4的制备

[0851] 在0℃下在N_2气氛下,向化合物Mono-4-3(6.25g,15.37mmol)在DCM(150mL)中的溶液中加入哌啶(3.0mL,30.74mmol)。将反应混合物升温至室温并搅拌7小时。反应完成后,将混合物减压浓缩,得到化合物Mono-4-4(2.65g,95%)。

[0852] ^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.51(s,1H),6.87(s,1H),3.78-3.69(m,4H),3.63(s,3H),3.09-2.84(m,2H)。EI-MS m/z:184(M^++1)。

[0853] 化合物Mono-4-5的制备

[0854] 在N_2气氛下,将化合物Mono-4-4(2.65g,14.46mmol)溶解在蒸馏水(100mL)中,然后将反应混合物冷却至0℃。在0℃下滴加浓HCl(2.5mL)后,加入甲醛(37%,2.2mL,28.93mmol)。将反应混合物回流过夜。反应完成后,将混合物减压浓缩。将残留物悬浮在IPA(20mL)中,加入4M HCl(于1,4-二噁烷中,4.0mL)。将反应混合物搅拌2小时。过滤固体,并用IPA(5mL)和乙醚(10mL X2)洗涤,得到化合物Mono-4-5(3.14g,99%)。

[0855] EI-MS m/z:182(M^++1)。

[0856] 化合物Mono-4-6的制备

[0857] 在0℃下,向化合物Mono-4-5(3.14g,14.43mmol)在MeOH(100mL)中的溶液中滴加$SOCl_2$(2.5mL,35.15mmol)。在将反应混合物回流5小时后,然后减压浓缩。将残留物用乙醚(25mL X2)洗涤,得到化合物Mono-4-6(2.18g,65%)。

[0858] EI-MS m/z:196(M^++1)。

[0859] 化合物Mono-4-7的制备

[0860] 在0℃下,向化合物Int-1(3.93g,12.23mmol)和化合物Mono-4-6(2.18g,9.41mmol)在无水THF(30ml)和DMF(30mL)中的溶液中加入DIPEA(4.9mL,28.22mmol)。在室温下搅拌2小时后,用蒸馏水(200mL)和EA(1000mL)淬灭混合物。将有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化,得到化合物Mono-4-7(2.81g,62%)。

[0861] EI-MS m/z:481(M^++1)。

[0862] 化合物Mono-4-8的制备

[0863] 在-78℃下在N_2气氛下,向化合物Mono-4-7(2.5g,5.20mmol)在无水DCM(12.5mL)和甲苯(37.5mL)中的溶液中滴加DIBAL(10.4mL,10.41mmol,1.0M于甲苯中)。在-78℃下搅拌5小时后,在相同温度下用MeOH(1.0mL)和2N HCl(100mL)淬灭混合物。将混合物依次用水(100mL)和DCM(200mL)稀释,然后将有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化,得到化合物Mono-4-8(1.21g,52%)。

[0864] EI-MS m/z:451(M^++1)。

[0865] 化合物Mono-4-9的制备

[0866] 在室温下,向化合物Mono-4-8(1.2g,2.66mmol)在THF(100mL)和蒸馏水(70mL)中的溶液中加入$Na_2S_2O_4$(3.7g,21.31mmol)。搅拌6小时后,用MeOH(20mL)淬灭反应,并将混合物用甲苯作为共溶剂减压浓缩三次,从而除去水。将所得黄色固体悬浮在无水MeOH(200mL)

中，并向其中加入乙酰氯(1.9mL，26.64mmol)。搅拌15分钟后，通过加入饱和$NaHCO_3$溶液将反应混合物调节至pH 8，并用蒸馏水(250mL)、MeOH(250mL)和DCM(200mL)稀释。将有机层经无水Na_2SO_4干燥，过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化，得到化合物Mono-4-9(918mg，78％)。

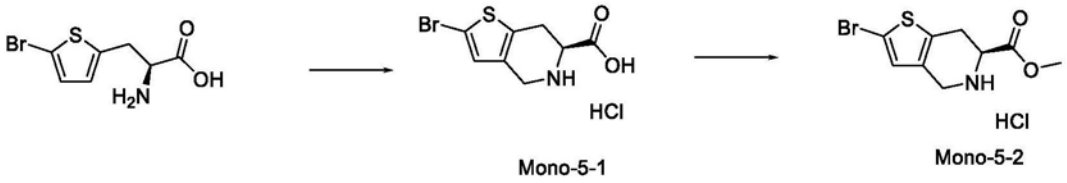
[0867] ^1H NMR(400MHz，$CDCl_3$)δ7.58(d，J＝5.6Hz，1H)，7.57(s，1H)，7.52(s，1H)，7.49-7.27(m，5H)，6.84(s，1H)，5.26-5.15(m，2H)，4.66(s，2H)，4.16(t，J＝6.0Hz，1H)，3.97(s，3H)，3.67(s，3H)，3.22-2.94(m，2H)。EI-MS m/z：403(M^++1)。

[0868] 化合物Mono-4的制备

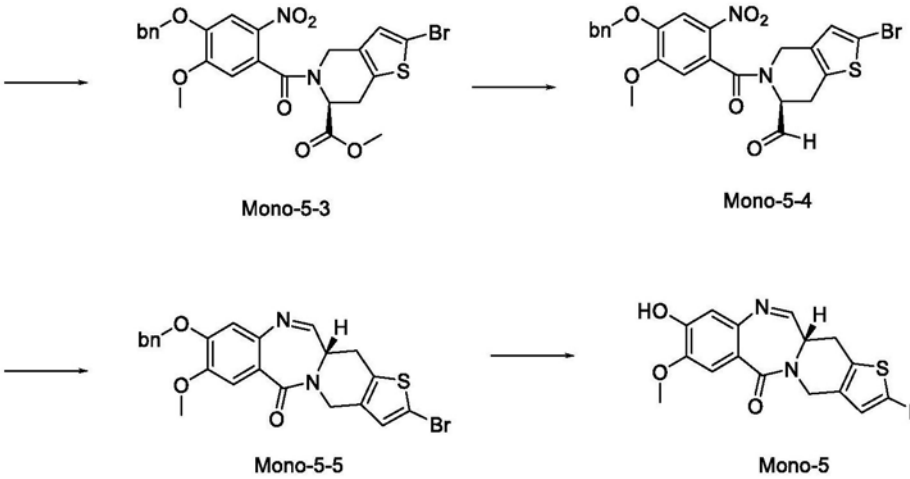
[0869] 在0℃下，向化合物Mono-4-9(50mg，0.12mmol)在无水DCM(2mL)中的溶液中加入DCM(0.2mL)中的甲磺酸(0.1mL)。在室温下搅拌1小时后，通过加入饱和$NaHCO_3$溶液将混合物调节至pH 8。将残留物通过制备型HPLC纯化，得到化合物Mono-4(27mg，71％)。

[0870] ^1H NMR(400MHz，CD_3OD)δ8.34(brs，1H)，7.68(s，1H)，7.28(s，1H)，6.42(s，1H)，4.77(d，J＝16.0Hz，1H)，4.56(d，J＝16.0Hz，1H)，4.33(d，J＝7.6Hz，1H)，4.10-4.02(m，1H)，3.84(s，3H)，3.66(s，3H)，3.02-2.82(m，2H)。EI-MS m/z：313(M^++1)。

[0871] 实施例8：化合物Mono-5的制备



[0872]



[0873] 以类似于实施例4中所述的方式合成化合物Mono-5。

[0874] 化合物Mono-5-1

[0875] 产率：92％；^1H NMR(400MHz，DMSO-d6)δ9.97(s，2H)，7.08(s，1H)，4.47-4.31(m，1H)，4.22(d，J＝16.0Hz，1H)，4.12(d，J＝15.6Hz，1H)，3.12-3.02(m，2H)；EI-MS m/z：263(M^++1)。

[0876] 化合物Mono-5-2

[0877] 产率：95％；^1H NMR(400MHz，DMSO-d6)δ10.1(s，2H)，7.09(s，1H)，4.66-4.56(m，1H)，3.80(s，3H)，4.25(d，J＝15.6Hz，1H)，4.14(d，J＝15.6Hz，1H)，3.32-3.28(m，1H)，

3.13-3.04(m,1H);EI-MS m/z:277(M^++1)。

[0878] 化合物Mono-5-3

[0879] 产率:68%;EI-MS m/z:562(M^++1)。

[0880] 化合物Mono-5-4

[0881] 产率:34%;EI-MS m/z:532(M^++1)。

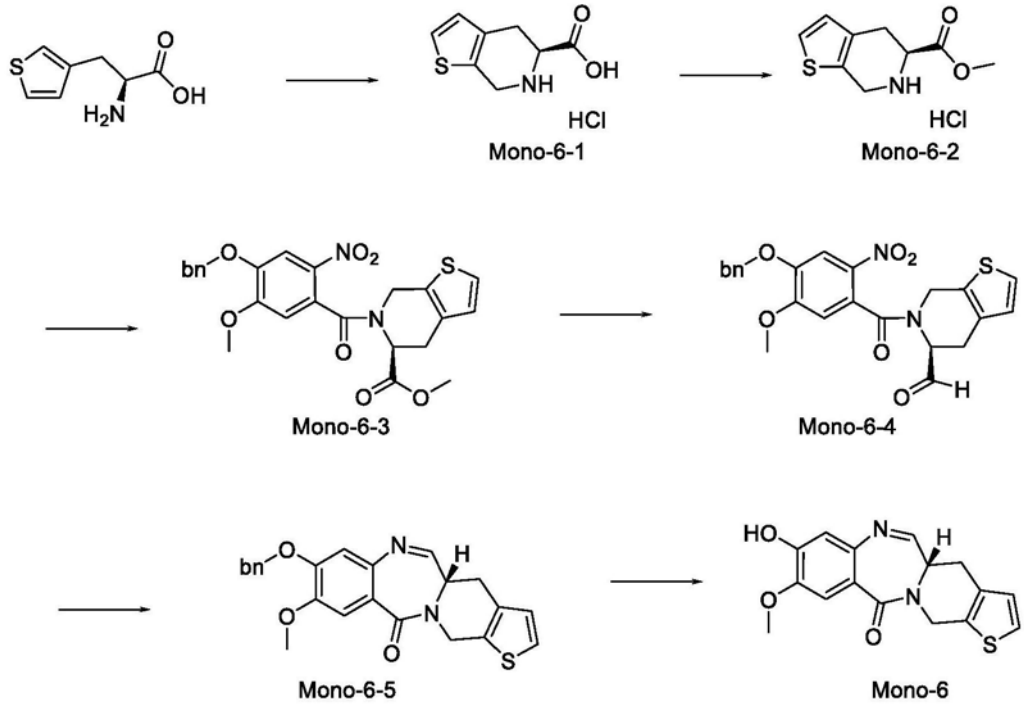
[0882] 化合物Mono-5-5

[0883] 产率:80%;^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.59(d,J=6.0Hz,1H),7.52(s,1H),7.46-7.27(m,5H),6.92(s,1H),6.85(s,1H),5.20(q,J=12.4,11.6Hz,2H),4.87(d,J=16.4,1H),4.38(d,J=16.8,1H),4.06-4.0(m,1H),3.98(s,3H),3.23(dd,J=12.2,6.4Hz,1H),3.15(d,J=16.0Hz,1H);EI-MS m/z:484(M^++1)。

[0884] 化合物Mono-5

[0885] 产率:84%;^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.61(d,J=5.6Hz,1H),7.52(s,1H),6.91(d,J=12.4Hz,1H),6.02(s,1H),4.87(d,J=16.4Hz,1H),4.39(d,J=16.8Hz,1H),4.07-4.02(m,1H),3.99(s,3H),3.28-3.16(m,2H);EI-MS m/z:394(M^++1)。

[0886] 实施例9:化合物Mono-6的制备

[0887] 

[0888] 以类似于实施例4中所述的方式合成化合物Mono-6。

[0889] 化合物Mono-6-1

[0890] 产率:95%;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ10.0(s,2H),7.51(d,J=4.8Hz,1H),6.95(d,J=5.2Hz,1H),4.46(d,J=15.6Hz,1H),4.44-4.40(m,1H),4.34(d,J=16.0Hz,1H),3.24(dd,J=11.6,5.2Hz,1H),3.02-2.92(m,1H);EI-MS m/z:184(M^++1)。

[0891] 化合物Mono-6-2

[0892] 产率:95%;^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ10.12(s,2H),7.52(d,J=4.8Hz,1H),6.95(d,J=5.2Hz,1H),4.62-4.54(m,1H),4.49(d,J=16.4Hz,1H),4.34(d,J=15.6Hz,1H),3.81(s,3H),3.24(dd,J=12.0,4.8Hz,1H),3.02-2.96(m,1H);EI-MS m/z:198(M^++1)。

[0893] 化合物Mono-6-3

[0894] 产率:76%;EI-MS m/z:483(M^++1)。

[0895] 化合物Mono-6-4

[0896] 产率:74%;EI-MS m/z:453(M^++1)。

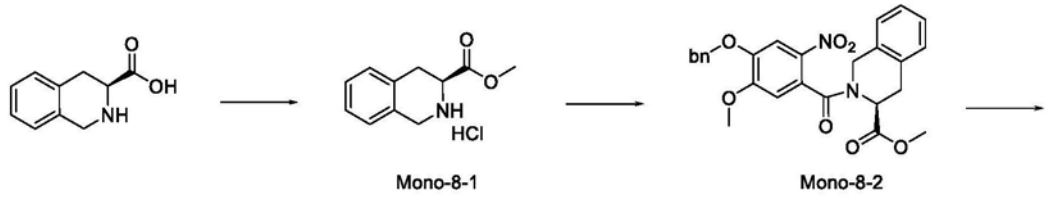
[0897] 化合物Mono-6-5

[0898] 产率:74%;^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.55(s,1H),7.48(d,J=6.0Hz,1H),7.46-7.28(m,5H),7.25(s,1H),7.01(d,J=4.8Hz,1H),6.85(s,1H),5.20(q,J=12.0,11.6Hz,2H),5.08(d,J=16.8,1H),4.57(d,J=16.4,1H),4.06-4.0(m,1H),3.98(s,3H),3.18-3.12(m,2H);EI-MS m/z:405(M^++1)。

[0899] 化合物Mono-6

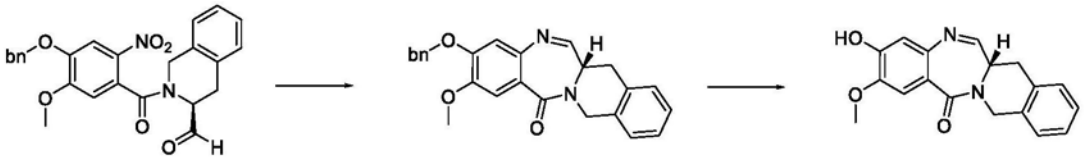
[0900] 产率:89%;^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.53(s,1H),7.52(d,J=5.2Hz,1H),7.02(d,J=5.2Hz,1H),6.89(s,1H),6.06(s,1H),5.09(d,J=16.4,1H),4.57(d,J=16.4,1H),4.08-3.99(m,1H),3.98(s,3H),3.19-3.14(m,2H);EI-MS m/z:315(M^++1)。

[0901] 实施例10:化合物Mono-8的制备



Mono-8-1 Mono-8-2

[0902]



Mono-8-3 Mono-8-4 Mono-8

[0903] 化合物Mono-8-1的制备

[0904] 在0℃下在N_2气氛下,向(s)-(-)-1,2,3,4,-四氢异喹啉-3-甲酸(5.0g,28.22mmol)在MeOH(140mL)中的溶液中滴加$SOCl_2$(2.30mL,31.04mmol)。在40℃下搅拌21小时后,将混合物减压浓缩。将残留物用乙醚(50mL)洗涤,得到化合物Mono-8-1(6.42g,99%)。

[0905] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ10.02(s,2H),7.27(s,4H),4.60-4.56(m,1H),4.39-4.29(m,2H),3.82(s,3H),3.19-3.12(m,2H);EI-MS m/z:192(M^++1)。

[0906] 化合物Mono-8-2的制备

[0907] 在0℃下,向化合物Mono-8-1(9.07g,28.22mmol)和化合物Int-1(6.42g,28.22mmol)在无水THF(50mL)中的溶液中加入TEA(7.9mL,56.43mmol)。在室温下搅拌2小时后,向其中加入蒸馏水(500mL)和EA(800mL)。将有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化,得到化合物Mono-8-2(12.01g,90%)。EI-MS m/z:477(M^++1)。

[0908] 化合物Mono-8-3的制备

[0909] 在-78℃下在N_2气氛下,向化合物Mono-8-2(4g,8.39mmol)在无水DCM(18mL)和甲苯(52mL)中的溶液中滴加DIBAL(16.8mL,16.79mmol,1.0M于甲苯中)。将反应混合物在-78

℃下搅拌4小时后，用MeOH(0.4mL)、2N HCl(25mL)在-78℃下淬灭反应，并加入蒸馏水(100mL)和EA(500mL)。将有机层经无水Na_2SO_4干燥，过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化，得到化合物Mono-8-3(3.07g,82%)。EI-MS m/z:447(M^++1)。

[0910] 化合物Mono-8-4的制备

[0911] 在室温下在N_2气氛下，向化合物Mono-8-3(3g,6.72mmol)在THF(130mL)和蒸馏水(86mL)中的溶液中加入$Na_2S_2O_4 \cdot 2H_2O$(11.3g,53.76mmol)。搅拌5小时后，用MeOH(130mL)淬灭反应。将反应混合物减压浓缩。将残留物悬浮在甲苯(20mL)中，蒸发以帮助除去任何残留的水。通过将所得黄色固体在高真空下放置过夜以进一步完全干燥。将残留物悬浮在无水MeOH(220mL)中，然后加入乙酰氯(4.8mL,67.19mmol)。搅拌15分钟后，过滤浑浊的溶液，用无水MeOH(50mL)洗涤固体。搅拌2小时后，用$NaHCO_3$溶液将反应混合物调节至pH 7，并向其中加入蒸馏水(100mL)和EA(500mL)。将有机层经无水Na_2SO_4干燥，过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化，得到化合物Mono-8-4(2.48g,93%)。

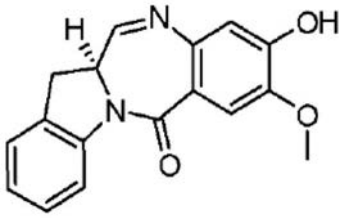
[0912] ^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.55(s,1H),7.45-7.27(m,10H),6.84(s,1H),5.24-5.15(m,2H),5.00(d,J=15.2,1H),4.56(d,J=15.6,1H),3.97(s,3H),3.93-3.92(m,1H),3.31-3.12(m,2H)。EI-MS m/z:399(M^++1)。

[0913] 化合物Mono-8的制备

[0914] 在0℃下，向化合物Mono-8-4(1g,2.51mmol)在无水DCM(10mL)中的溶液中加入DCM(10mL)中的甲磺酸(5mL)。在0℃下搅拌3小时后，用$NaHCO_3$溶液将混合物调节至pH 7，然后加入蒸馏水(100mL)和EA(400mL)。将有机层经无水Na_2SO_4干燥，过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化，得到化合物Mono-8(703mg,91%)。

[0915] ^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.54(s,1H),7.48(d,J=4.8Hz,1H),7.37-7.26(m,4H),6.88(s,1H),6.03(s,1H),5.00(d,J=15.6Hz,1H),4.56(d,J=15.6Hz,1H),3.98(s,3H),3.95-3.90(m,1H),3.30-3.13(m,2H)。EI-MS m/z:309(M^++1)。

[0916] 实施例11:化合物Mono-9(IBD单体)的制备

[0917] 

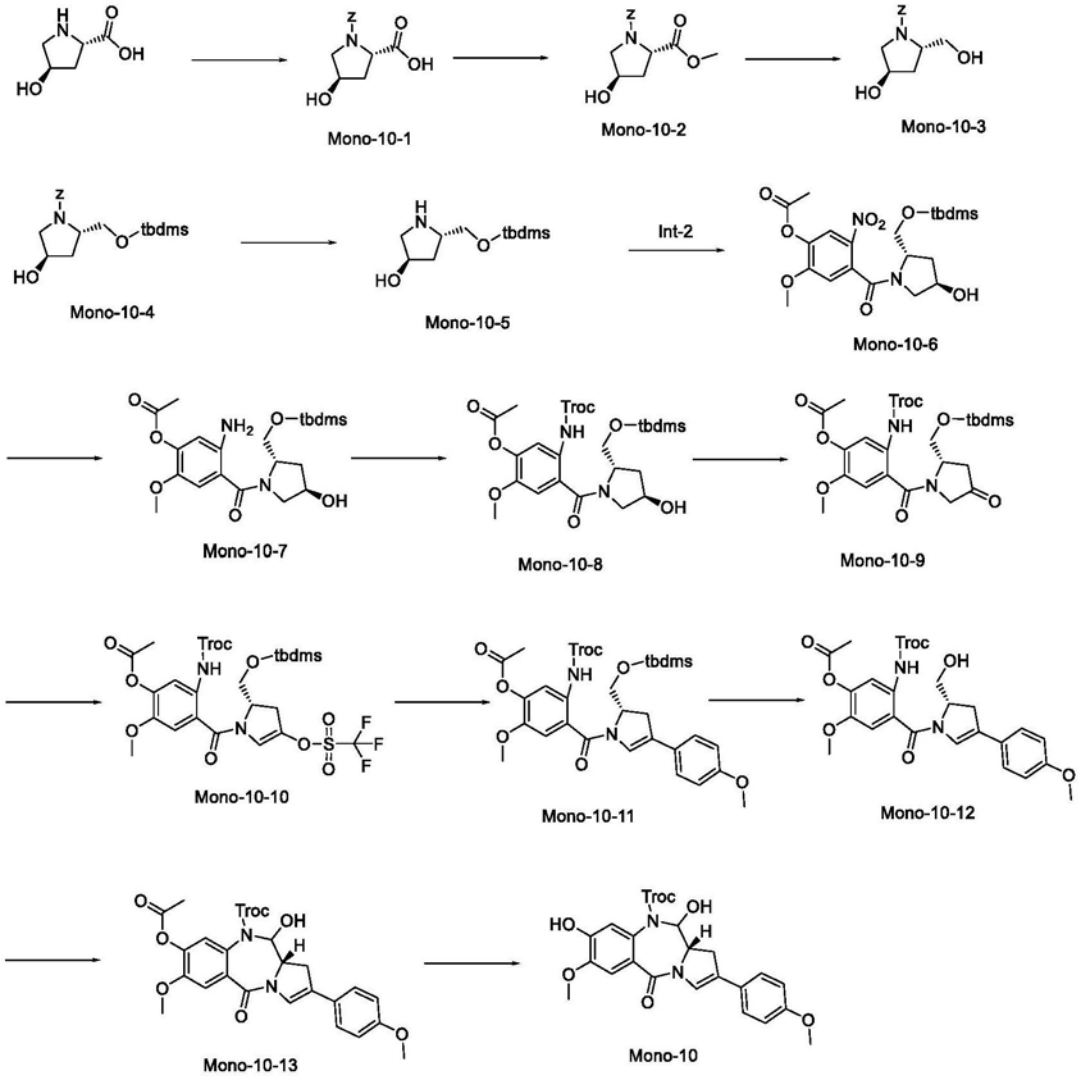
Mono-9
(IBD-单体)

[0918] 通过类似于WO2010091150中描述的路线合成了Mono-9。

[0919] ^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ8.27(d,J=7.6Hz,1H),7.88(d,J=4.4Hz,1H),7.56(s,1H),7.33-7.30(m,1H),7.11(t,J=7.6Hz,1H),6.92(s,1H),4.50-4.46(m,1H),3.99(s,3H),3.78-3.67(m,1H),3.53-3.50(m,1H);EI-MS m/z:295(M^++1)。

[0920] 实施例12:化合物Mono-10的制备

[0921]



[0922] 化合物Mono-10-1的制备

[0923] 在N_2气氛下，将Cbz-Cl(37.4mL,260mmol)加入到反-4-羟基-1-脯氨酸(30g,230mmol,CAS 51-35-4)在甲苯(120mL)中和$NaHCO_3$(43g,570mmol)在H_2O(500mL)中的溶液中。将反应混合物在室温下搅拌过夜。用EA(500mL×3)萃取混合物。将有机层经无水Na_2SO_4干燥，过滤并减压浓缩，得到为浅棕色油状物的化合物Mono-10-1(57.5g,95%)。

[0924] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ12.7(brs,1H),7.40-7.28(m,5H),5.18-5.02(m,2H),4.31-4.24(m,2H),3.51-3.35(m,2H),2.23-2.10(m,1H),2.00-1.87(m,1H);EI-MS m/z:266(M^++1)。

[0925] 化合物Mono-10-2的制备

[0926] 在0℃下在N_2气氛下，用亚硫酰氯(45.3mL,610mmol)处理化合物Mono-10-1(57.5g,220mmol)在MeOH(400mL)中的棕色溶液，并在室温下搅拌过夜。将反应混合物减压浓缩，得到为浅棕色油状物的化合物Mono-10-2(60.5g，定量)。将化合物Mono-10-2直接用于下一步，未经进一步纯化。

[0927] ^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.38-7.28(m,5H),5.23-5.09(m,2H),4.56-4.47(m,2H),3.80(s,1H),3.76-3.66(m,2H),3.58-3.52(m,1H)2.38-2.26(m,1H),2.16-2.08(m,1H);EI-MS m/z:270(M^++1)。

[0928] 化合物Mono-10-3的制备

[0929] 在0℃下在N_2气氛下，向化合物Mono-10-2(60.5g,220mmol)在无水THF(500mL)中的溶液中加入$LiBH_4$(3.9g,180mmol)。在室温下搅拌2天后，用水(200mL)和2N HCl(100mL)淬灭反应。用EA(500mL×3)萃取混合物。将有机层经无水Na_2SO_4干燥，过滤并减压浓缩，得到为浅棕色油状物的化合物Mono-10-3(54.6g,98%)。

[0930] ^1H NMR(400MHz,CDCl3)δ7.39-7.30(m,5H),5.21-5.12(m,2H),4.66(d,J＝7.2Hz,1H),4.39(s,1H),4.21(q,J＝7.6,7.2Hz,1H),3.76(t,J＝9.6Hz,2H),3.66-3.58(m,1H),3.50(dd,J＝8.0,4.0Hz,1H),2.10-2.23(m,1H),1.78-1.64(m,1H);EI-MS m/z:252(M^++1)。

[0931] 化合物Mono-10-4的制备

[0932] 在室温下在N_2气氛下，用叔丁基二甲基甲硅烷基氯化物(25.4g,170mmol)、TEA(30mL,210mmol)和DBU(6.3mL,42.2mmol)处理Mono-10-3(53g,210mmol)在无水DCM(500mL)中的棕色溶液，并搅拌过夜。将混合物用NH_4Cl(300mL)和盐水(300mL)洗涤。将有机层经无水Na_2SO_4干燥，过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱(Hex:EA＝1:1)纯化，得到为浅棕色油状物的化合物Mono-10-4(48.2g,63%)。

[0933] ^1H NMR(400MHz,CDCl3)δ7.38-7.28(m,5H),5.20-5.08(m,2H),4.50(s,1H),4.12-4.00(m,1H),3.97(dd,J＝6.4,4.0Hz,1H),3.71(dd,J＝5.6,4.8Hz,1H),3.66-3.58(m,1H),3.52-3.48(m,1H),2.28-2.18(m,1H),2.02-1.92(m,1H),0.10--0.08(m,6H);EI-MS m/z:366(M^++1)。

[0934] 化合物Mono-10-5的制备

[0935] 在室温下在N_2气氛下，将碳载钯，即5%Pd/C(1.3g,1.23mmol)加入到化合物Mono-10-4(15g,41.0mmol)在EA(50mL)中的搅拌溶液中。通过在室温下将氢气鼓泡通过溶液来冲洗烧瓶。将混合物在相同温度下搅拌5小时。将混合物用EA(30mL)稀释，通过CELITE®过滤，并用EA(50mL x2)洗涤CELITE®塞。将滤液减压浓缩。将为浅棕色油状物的化合物Mono-10-5(9.5g,定量)直接用于下一步，未经进一步纯化。

[0936] ^1H NMR 400MHz,$CDCl_3$)δ4.41(brs,1H),3.60-3.44(m,3H),3.12(dd,J＝7.2Hz,4.8Hz,1H),2.89(d,J＝12Hz,1H),1.84-1.79(m,1H),1.74-1.67(m,1H),0.89(s,9H),0.06(s,6H);EI-MS m/z:232(M^++1)。

[0937] 化合物Mono-10-6的制备

[0938] 在0℃下在N_2气氛下，用DIPEA(26.9mL,154.3mmol)处理化合物Mono-10-5(11.9g,51.42mmol)、Int-2(14.4g,56.6mmol)在无水THF(400ml)中的棕色溶液，并搅拌5小时。用蒸馏水(50mL)和EA(150mL X2)稀释反应混合物。将有机层经无水Na_2SO_4干燥，过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱(Hex:EA＝2:1至2:1)纯化，得到为黄色泡沫固体的化合物Mono-10-6(20g,83%)。

[0939] ^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.95(s,1H),6.87(s,1H),4.60-4.51(m,1H),4.49-4.41(m,1H),4.24-4.08(m,1H),3.91(s,3H),3.80-3.68(m,1H),3.37(dd,J＝7.6Hz,4.0Hz,1H),3.14(d,J＝10.4Hz,1H),2.35(s,3H),2.18-2.08(m,1H),0.91(s,9H),0.1(s 6H);EI-MS m/z:469(M^++1)。

[0940] 化合物Mono-10-7的制备

[0941] 在N_2气氛下，将碳载钯，即5%Pd/C(9.1g,4.27mmol)加入到搅拌的Mono-9-6(20g,

42.68mmol)在EA(213mL)中的溶液中。通过在室温下将氢气鼓泡通过溶液来冲洗烧瓶。搅拌8小时后,将混合物用EA(50mL)稀释,通过CELITE®过滤,并用EA(50mL x2)洗涤CELITE®塞。将滤液减压浓缩,得到为黄色泡沫固体的化合物Mono-10-7(18.5g,99%)。

[0942] ^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ6.81(s,1H),6.44(s,1H),5.79(brs,1H),4.58-4.50(m,1H),4.42-4.36(m,1H),4.10(brs,1H),3.79(s,3H),3.59(dd,J=8.4Hz,2.8Hz,1H),3.50(d,J=11.2Hz,1H),2.30-2.24(m,1H),2.06-2.01(m,1H),0.89(s,9H),0.05(d,J=1.6Hz,6H);EI-MS m/z:439(M^++1)。

[0943] 化合物Mono-10-8的制备

[0944] 在0℃下在N_2气氛下,用氯甲酸2,2,2-三氯乙酯(6.4mL,46.4mmol)和吡啶(6.9mL,87.4mmol)处理Mono-10-7(18.5g,42.18mmol)在无水DCM(210mL)中的黄色溶液,并搅拌3小时。用$CuSO_4$溶液(50mL)和盐水(100mL X2)洗涤反应混合物。将有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱(Hex:EA=2:1)纯化,得到为棕色泡沫固体的化合物Mono-10-8(21.2g,82%)。

[0945] ^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ8.87(brs,1H),7.86(s,1H),6.89(s,1H),4.84(d,J=12.8Hz,1H),4.71(d,J=10.8Hz,1H),4.61(brs,1H),4.45(s,1H),4.20(brs,1H),3.78(s,3H),3.70-3.62(m,1H),3.57(s,2H),2.32(s,4H),2.11-2.02(m,1H),1.80(s,1H),0.90(s,9H),0.05(s,6H);EI-MS m/z:615(M^++1)。

[0946] 化合物Mono-10-9的制备

[0947] 在-78℃下在N_2气氛下,用无水DCM(20mL)中的DMSO(3.5mL,48.9mmol)处理草酰氯(21mL,24.4mmol)在无水DMC(50mL)中的均匀溶液,并搅拌1小时。将Mono-10-8(10g,0.33mmol)在无水DMC(100mL)中的溶液滴加到反应混合物中,并搅拌2小时。将反应混合物用TEA(22.7mL,162.9mmol)处理,并在室温下搅拌1小时。用NH_4Cl溶液(30mL)和DCM(100mL X2)萃取反应混合物。将有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱(Hex:EA=4:1至1:1)纯化,得到为棕色泡沫固体的化合物Mono-10-9(8.2g,83%)。

[0948] ^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ8.68(brs,1H),7.91(s,1H),6.86(s,1H),5.12(brs,1H),4.80(s,2H),4.13(brs,1H),4.04(d,J=17.2Hz,1H),3.98-3.86(m,1H),3.80(s,3H),3.76-3.62(m,1H),2.84-2.72(m,2H),2.54(d,J=17.2Hz,1H),2.32(s,3H),2.08-1.98(m,1H),0.88(s,9H),0.21(s,6H);EI-MS m/z:612(M^++1)。

[0949] 化合物Mono-10-10的制备

[0950] 在-10℃下在N_2气氛下,用三氟乙酸酐(8.25mL,49mmol)处理Mono-10-9(3.0g,4.9mmol)和2,6-二甲基吡啶(6.9mL,58.8mmol)在无水DCM(150mL)中的黄色溶液,并搅拌6小时。使反应混合物在室温下升温并搅拌1小时。将反应混合物用蒸馏水(50mL)稀释,用DCM(100mL X2)萃取。将有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱(Hex:EA=4:1)纯化,得到为黄色油状物的化合物Mono-10-10(1.3g,36%)。

[0951] ^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ8.78(brs,1H),7.97(s,1H),6.85(s,1H),6.80(s,1H),4.86-4.72(m,3H),4.20-4.32(m,1H),3.80(s,3H),3.76-3.68(m,1H),3.20-3.00(m,2H),2.33(s,3H),0.89(s,9H),0.06(d,J=10.6Hz 6H);EI-MS m/z:745(M^++1)。

[0952] 化合物Mono-10-11的制备

[0953] 在室温下在N_2气氛下,用4-甲氧基苯硼酸、频哪醇酯(286.9mg,1.22mmol)、Pd

$(TPP)_4$(122mg,0.12mmol)和TEA(185μL,2.04mmol)处理Mono-10-10(760mg,1.02mmol)在甲苯(8.0mL)、H_2O(1.2mL)和乙醇(8.0mL)中的黄色溶液,然后搅拌2小时。将混合物用蒸馏水(100mL)稀释,用EA(100mL)萃取。将有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱(Hex:EA=3:1)纯化,得到为黄色泡沫固体的化合物Mono-10-11(420.9mg,59%)。

[0954] ^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ8.78(brs,1H),7.95(s,1H),7.22(d,J=8.4Hz,2H),6.97(s,1H),6.85(d,J=8.4Hz,1H),6.81(s,1H),4.87-4.69(m,3H),4.09-4.02(m,1H),3.93-3.88(m,1H),3.80(d,J=8.0Hz,6H),3.20-3.12(m,1H),3.05-2.97(m,1H),2.34(s,3H),0.85(s,9H),0.60(d,J=8.4Hz,6H);EI-MS m/z:703(M^++1)。

[0955] 化合物Mono-10-12的制备

[0956] 在室温下在N_2气氛下,用乙酸(8.0mL)处理Mono-10-11(420mg,0.60mmol)在THF(4.0mL)和H_2O(2.0mL)中的黄色溶液,并搅拌过夜。将反应混合物用蒸馏水(10mL)稀释,用EA(20mL X2)萃取。将有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱(Hex:EA=3:1)纯化,得到为黄色泡沫固体的化合物Mono-10-12(279.5mg,79%)。

[0957] ^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ8.85(brs,1H),7.85(s,1H),7.2(d,J=8.8Hz,2H),7.00(s,1H),6.85(d,J=7.2Hz,1H),6.72(s,1H),4.95-4.87(m,1H),4.74(d,J=2.8Hz,2H),4.04-3.84(m,3H),3.81(d,J=3.6Hz,6H),3.34-3.24(m,1H),2.72(dd,J=13.2,3.2Hz,1H),2.34(s,3H);EI-MS m/z:588(M^++1)。

[0958] 化合物Mono-10-13的制备

[0959] 在-78℃下在N_2气氛下,用无水DCM(1.0mL)中的DMSO(86.2μL,1.22mmol)处理草酰氯(52.5μL,0.61mmol)在无水DMC(1.0mL)中的均匀溶液,并搅拌15分钟。将Mono-10-2(240mg,0.40mmol)在无水DMC(3.0mL)中的溶液滴加到反应混合物中,然后将其搅拌3小时,随后加入TEA(569μL,4.08mmol)。将混合物在室温下搅拌30分钟。将反应混合物用蒸馏水(5.0mL)稀释,用EA(15mL X2)萃取。将有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱(Hex:EA=3:1)纯化,得到为黄色泡沫固体的化合物Mono-10-13(191.4mg,80%)。

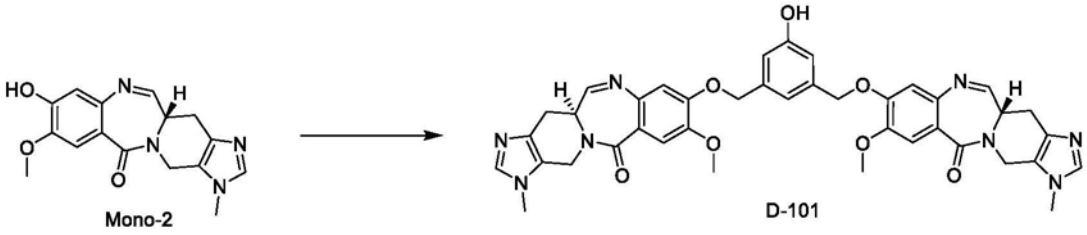
[0960] ^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.37(s,2H),7.32(d,J=8.0Hz,2H),7.11(s,1H),6.90(d,J=9.2Hz,2H),5.86-5.81(m,1H),5.18(d,J=12Hz,1H),4.30(d,J=11.6Hz,1H),4.10-4.05(m,1H),3.90(s,3H),3.83(s,3H),3.73(d,J=4.8Hz,1H),3.44-3.35(m,1H),3.12-3.05(m,1H),2.37(s,3H);EI-MS m/z:586(M^++1)。

[0961] 化合物Mono-10的制备

[0962] 在室温下在N_2气氛下,用K_2CO_3(88.5mg,0.64mmol)处理Mono-10-13(150mg,0.26mmol)在MeOH(6.0mL)、H_2O(3.0mL)中的黄色溶液,并搅拌1小时。将反应混合物用蒸馏水(5mL)稀释,用EA(10mL X2)萃取。将有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱(Hex:EA=2:1)纯化,获得为黄色泡沫固体的化合物Mono-10(105mg,75%)。

[0963] ^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.37(s,1H),7.31(d,J=8.8Hz,2H),7.30(s,1H),6.94(s,1H),6.89(d,J=8.8Hz,2H),5.93(s,1H),5.84(dd,J=5.2,4.4Hz,1H),5.14(d,J=11.6Hz,1H),4.32(d,J=12Hz,1H),4.07-3.99(m,1H),3.97(s,3H),3.83(s,1H),3.64(d,J=4.4Hz,1H),3.43-3.34(m,1H),3.10-3.03(m,1H);EI-MS m/z:544(M^++1)。

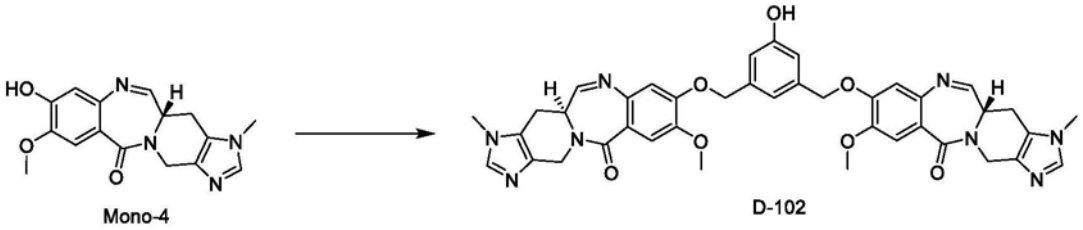
[0964] 实施例13:化合物D-101的制备

[0965] 

[0966] 在室温下在N_2气氛下，向化合物Mono-2(2.0mg,0.005mmol)和化合物L-1(3.3mg,0.010mmol)在DMF(1.0mL)中的溶液中加入K_2CO_3(2.0mg,0.012mmol)。搅拌3小时后，将反应混合物通过制备型HPLC纯化，得到化合物D-101(1.2mg,34%)。

[0967] EI-MS m/z:743(M^++1)。

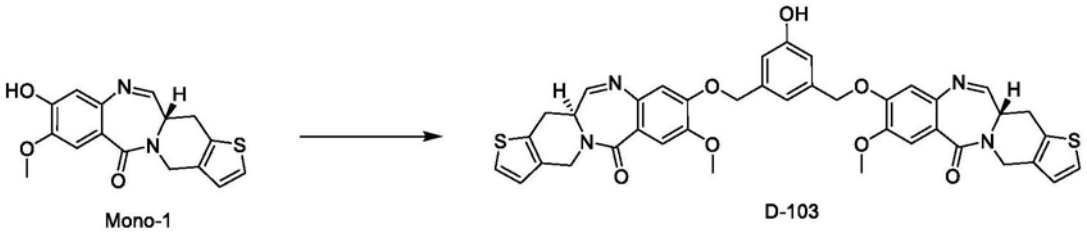
[0968] 实施例14:化合物D-102的制备

[0969] 

[0970] 以类似于实施例13中所述的方式合成化合物D-102。

[0971] 产率为34%;EI-MS m/z:743(M^++1)。

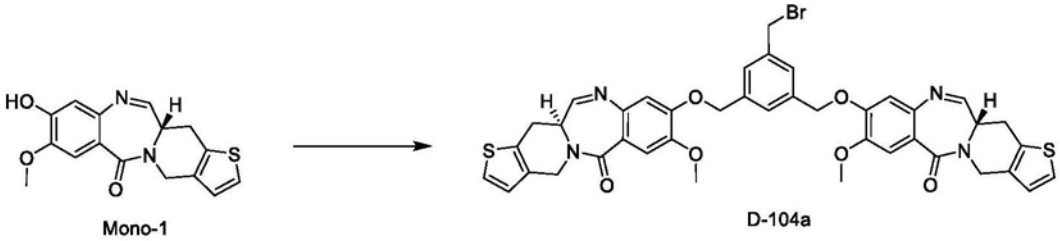
[0972] 实施例15:化合物D-103的制备

[0973] 

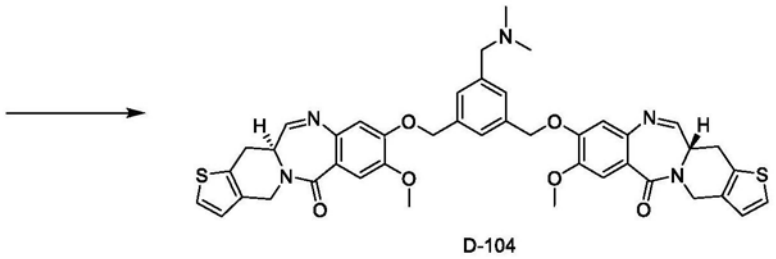
[0974] 在N_2气氛下，向化合物Mono-1(10.0mg,0.03mmol)和化合物L-1(5.8mg,0.015mmol)在DMF(1.0mL)中的溶液中加入K_2CO_3(9.4mg,0.07mmol)。将混合物在室温下搅拌7小时。反应完成后。将反应混合物通过制备型HPLC纯化，得到化合物D-103(5.4mg,50%)。

[0975] EI-MS m/z:747(M^++1)。

[0976] 实施例16:化合物D-104的制备



[0977]



[0978] 化合物D-104a的制备

[0979] 在室温下在N_2气氛下,向化合物Mono-1(100mg,0.318mmol)和1,3,5-三溴甲基苯(57mg,0.159mmol)在DMF(3mL)中的溶液中加入K_2CO_3(66mg,0.477mmol)。搅拌3小时后,将反应混合物通过制备型HPLC纯化,得到化合物D-104a(62mg,48%)。

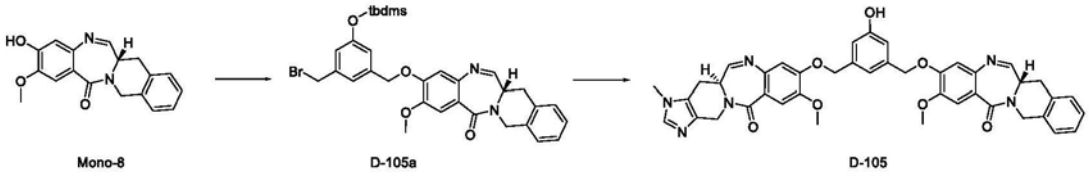
[0980] EI-MS m/z:824(M^++1)。

[0981] 化合物D-104的制备

[0982] 在室温下在N_2气氛下,向化合物D-104a(62mg,0.075mmol)在DMF(1mL)中的溶液中加入1M的于THF中的二甲胺(0.5mL)。搅拌1小时后,将反应混合物通过制备型HPLC纯化,得到化合物D-104(39mg,60%)。

[0983] EI-MS m/z:788(M^++1)。

[0984] 实施例17:化合物D-105的制备

[0985] 

[0986] 化合物D-105a的制备

[0987] 在40℃下在N_2气氛下,向化合物Mono-8(10mg,0.03mmol)和化合物Int-1(25mg,0.06mmol)在DMF(1mL)中的溶液中加入K_2CO_3(4.5mg,0.03mmol)。搅拌2小时后,将反应混合物通过制备型HPLC纯化,得到化合物D-10a(9mg,45%)。

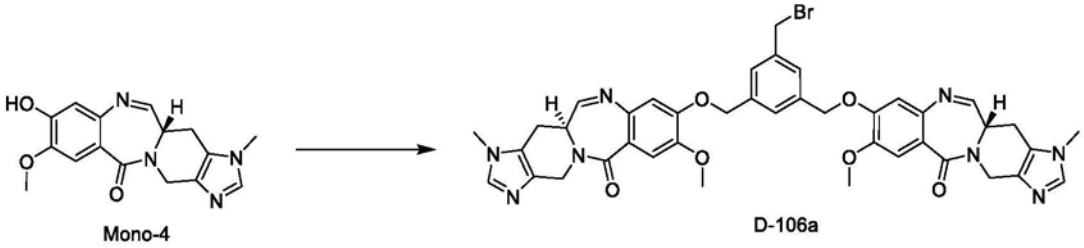
[0988] EI-MS m/z:622(M^++1)。

[0989] 化合物D-105的制备

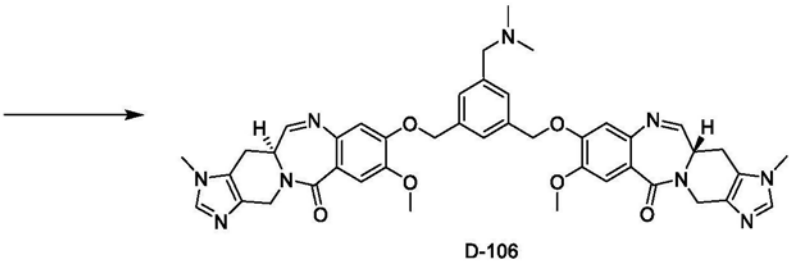
[0990] 在40℃下在N_2气氛下,向化合物D-105a(9mg,0.01mmol)和化合物Mono-4(2mg,0.01mmol)在DMF(1mL)中的溶液中加入K_2CO_3(2mg,0.01mmol)。搅拌15小时后,将反应混合物通过制备型HPLC纯化,得到化合物D-105(1.1mg,23%)。

[0991] EI-MS m/z:739(M^+)。

[0992] 实施例18:化合物D-106的制备



[0993]



[0994] 以类似于实施例16中所述的方式合成化合物D-106。

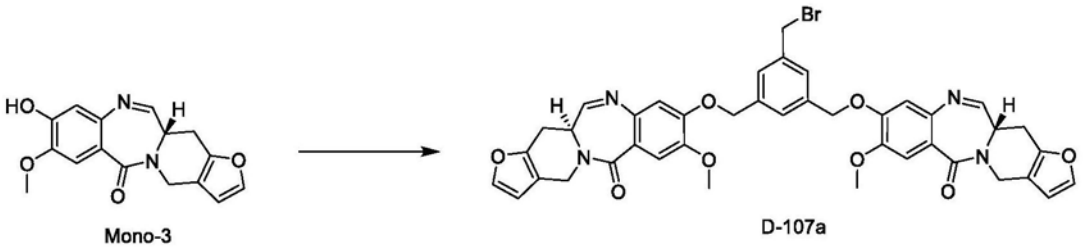
[0995] 化合物D-106a

[0996] EI-MS m/z:820(M^++1)。

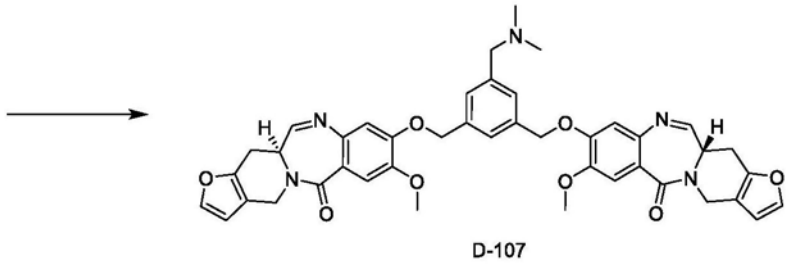
[0997] 化合物D-106

[0998] (两步产率为4%)。EI-MS m/z:784(M^++1)。

[0999] 实施例19:化合物D-107的制备



[1000]



[1001] 以类似于实施例16中所述的方式合成化合物D-107。

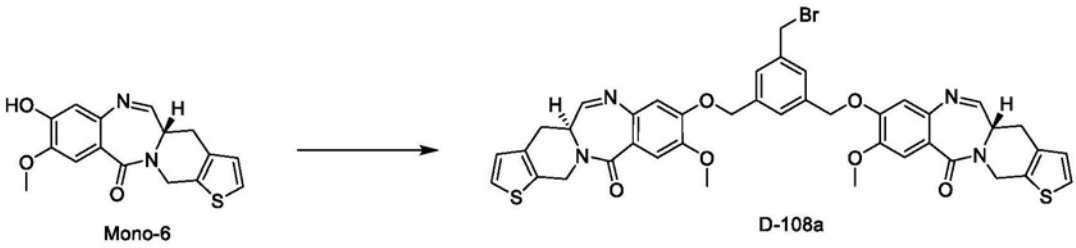
[1002] 化合物D-107a

[1003] EI-MS m/z:792(M^++1)。

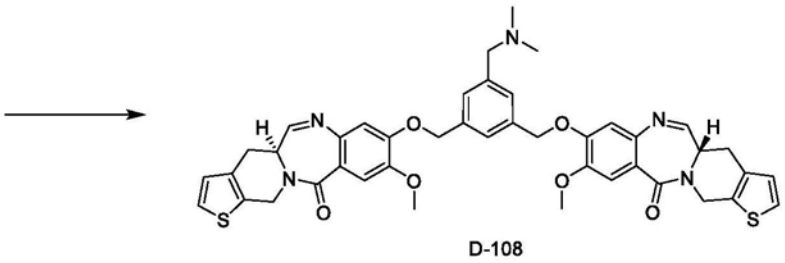
[1004] 化合物D-107

[1005] 两步产率为16%;EI-MS m/z:756(M^++1)。

[1006] 实施例20:化合物D-108的制备



[1007]



[1008] 以类似于实施例16中所述的方式合成化合物D-108。

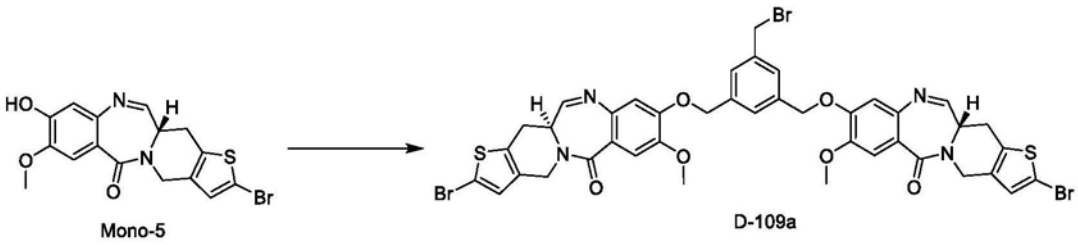
[1009] 化合物D-108a

[1010] EI-MS m/z:824(M^++1)。

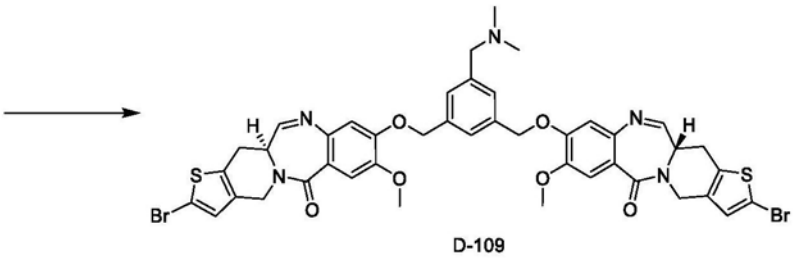
[1011] 化合物D-108

[1012] 两步产率为16%;EI-MS m/z:788(M^++1)。

[1013] 实施例21:化合物D-109的制备



[1014]



[1015] 以类似于实施例16中所述的方式合成化合物D-109。

[1016] 化合物D-109a

[1017] 产率为20%

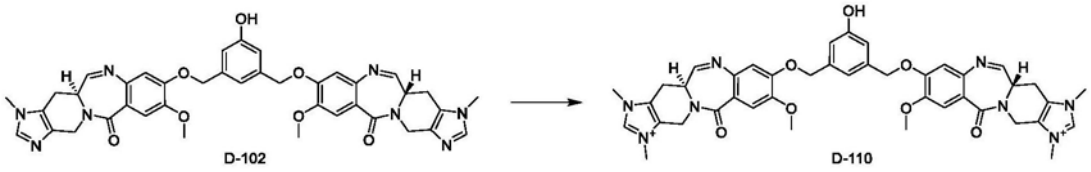
[1018] EI-MS m/z:982(M^++1)。

[1019] 化合物D-109

[1020] 产率为56%

[1021] EI-MS m/z:946(M^++1)。

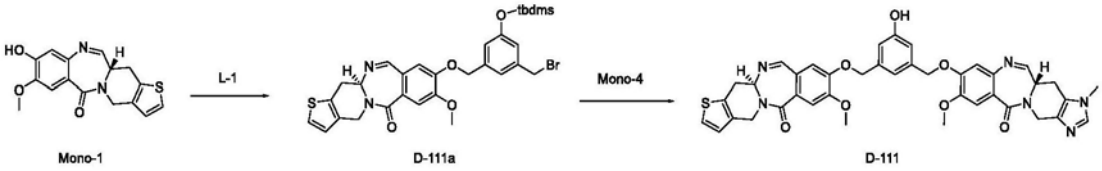
[1022] 实施例22:化合物D-110的制备

[1023] 

[1024] 在室温下在N_2气氛下,向化合物D-102(3.5mg,0.005mmol)在DMF(1mL)中的溶液中加入碘甲烷(0.1mL)。在室温下搅拌5小时后,通过HPLC纯化反应混合物,得到化合物D-110(1.2mg,33%)。

[1025] EI-MS m/z:772(M^++1)。

[1026] 实施例23:化合物D-111的制备

[1027] 

[1028] 以类似于实施例17的针对化合物D-105所描述的方式合成化合物D-111。

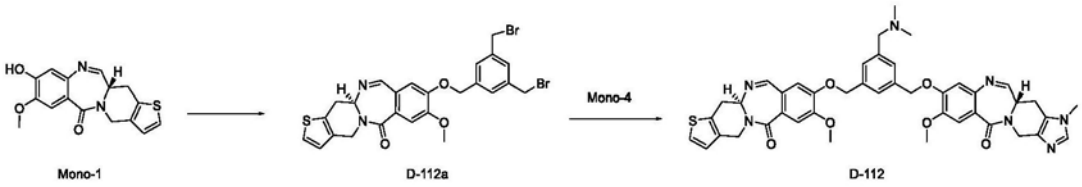
[1029] 化合物D-111a

[1030] 产率为54%,白色固体。EI-MS m/z:628(M^++1)。

[1031] 化合物D-111

[1032] 产率为11%,白色固体。EI-MS m/z:745(M^++1)。

[1033] 实施例24:化合物D-112的制备

[1034] 

[1035] 化合物D-112a的制备

[1036] 在室温下在N_2气氛下,用K_2CO_3(4.4mg,0.032mmol,1.0当量)处理化合物Mono-1(10mg,0.032mmol)和1,3,5-三(溴甲基)苯(11.35mg,0.032mmol,1.0当量)在DMF(1mL)中的黄色溶液,并搅拌5小时。通过制备型HPLC(柱:Innoval ODS-2 10um,100 Å,21.2x250mm;流速:15mL/分钟,A缓冲液0.1%甲酸水溶液/B缓冲液0.1%的于ACN中的甲酸,方法梯度,溶剂A:溶剂B 95:5至5:95,1小时,波长214nm)纯化反应混合物,得到为白色固体的化合物D-112a(7.5mg,40%)。

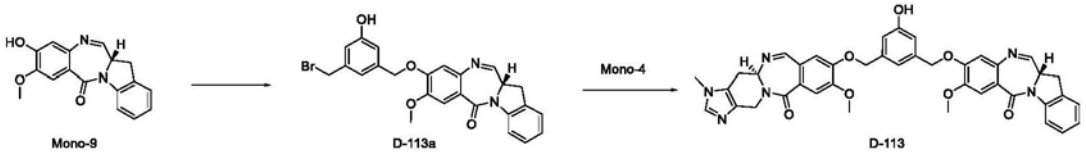
[1037] EI-MS m/z:591(M^++1)。

[1038] 化合物D-112的制备

[1039] 在室温下在N_2气氛下,用K_2CO_3(1.8mg,0.013mmol,1.0当量)处理化合物D-112a(7.5mg,0.013mmol)和Mono-4(3.9mg,0.013mmol,1.0当量)在DMF(1mL)中的均匀溶液,并搅拌6小时。用1M的于THF中的二甲胺(0.5mL)处理反应混合物,并搅拌30分钟。通过制备型HPLC(柱:Innoval ODS-2 10um,100 Å,21.2x250mm;流速:15mL/分钟,A缓冲液0.1%甲酸水溶液/B缓冲液0.1%的于ACN中的甲酸,方法梯度,溶剂A:溶剂B 95:5至5:95,1小时,波长214nm)纯化反应混合物,得到为白色固体的化合物D-112(0.9mg,9%)。

[1040] EI-MS m/z:786(M^++1)。

[1041] 实施例25:化合物D-113的制备

[1042] 

[1043] 以类似于实施例17的化合物D-105的合成的方式合成化合物D-113。

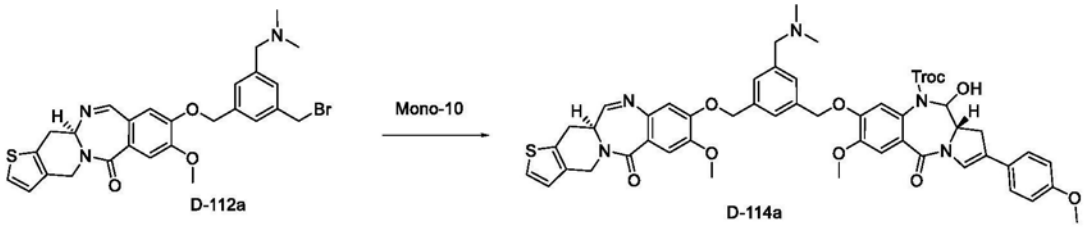
[1044] 化合物D-113a

[1045] 产率为32%,白色固体。EI-MS m/z:494(M^++1)。

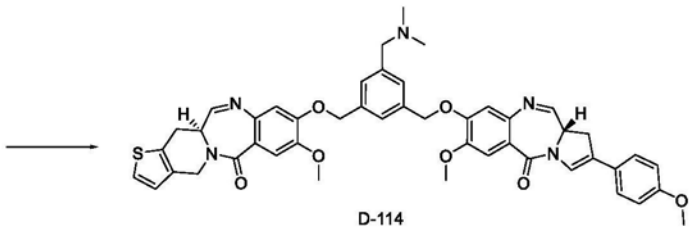
[1046] 化合物D-113

[1047] 产率为7%,白色固体。EI-MS m/z:725(M^++1)。

[1048] 实施例26:化合物D-114的制备



[1049]



[1050] 化合物D-114a的制备

[1051] 在室温下在N_2气氛下,用K_2CO_3(4.7mg,0.034mmol)处理化合物D-112a(20mg,0.034mmol)和Mono-10(18.4mg,0.034mmol)在DMF(1mL)中的均匀溶液,并搅拌5小时。用1M的于THF中的二甲胺(0.5mL)处理反应混合物,并搅拌30分钟。通过制备型HPLC(柱:Innoval ODS-2 10um,100 Å,21.2x250mm;流速:15mL/分钟,A缓冲液0.1%甲酸水溶液/B缓冲液0.1%的于ACN中的甲酸,方法梯度,溶剂A:溶剂B 95:5至5:95,1小时,波长214nm)纯化反应混合物,得到为白色固体的化合物D-114a(3.4mg,9.8%)。

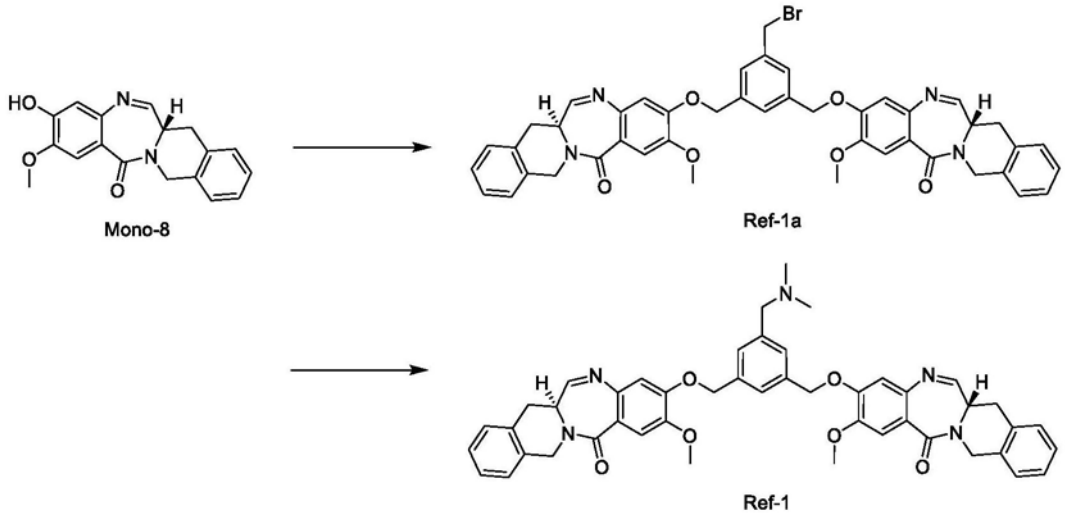
[1052] EI-MS m/z:1018(M^++1)。

[1053] 化合物D-114的制备

[1054] 在室温下在N_2气氛下,用1N NH_4OAc(300μL)处理化合物D-114a(3.4mg,0.003mmol)和10%Cd/Pb(100mg)在THF(0.5mL)中的溶液,并搅拌3天。通过制备型HPLC(柱:Innoval ODS-2 10um,100 Å,21.2x250mm;流速:15mL/分钟,A缓冲液0.1%甲酸水溶液/B缓冲液0.1%的于ACN中的甲酸,方法梯度,溶剂A:溶剂B 95:5至5:95,1小时,波长214nm)纯化反应混合物,得到为白色固体的化合物D-114(0.8mg,29%)。EI-MS m/z:824(M^++1)。

[1055] 实施例27:化合物Ref-1的制备

[1056]



[1057] 化合物Ref-1a的制备

[1058] 在室温下在N_2气氛下，将化合物Mono-8(100mg,0.32mmol)和1,3,5-三(溴甲基)苯(57mg,0.16mmol)溶解在DMF(20mL)中，然后向其中加入K_2CO_3(45mg,0.32mmol)。将混合物在室温下搅拌4小时。反应完成后，加入EA(100mL)、H_2O(50mL)和2N HCl水溶液(5mL)进行萃取，将所得有机层经无水Na_2SO_4干燥，过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化，得到化合物Ref-1a(54mg,42%)。

[1059] EI-MS m/z:812(M^++1)。

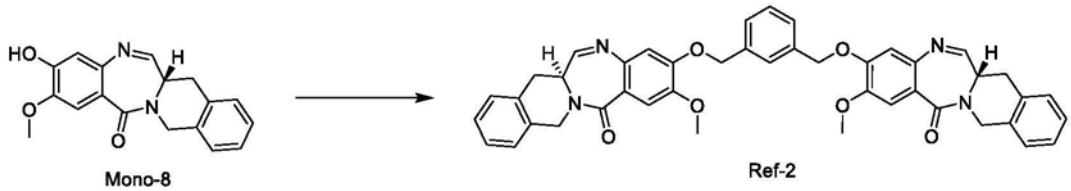
[1060] 化合物Ref-1的制备

[1061] 在室温下在N_2气氛下，将化合物Ref-1a(50mg,0.01mmol)溶解在二甲胺(1mL)中。搅拌1小时后，将混合物通过制备型HPLC纯化，得到化合物Ref-1(2.2mg,17%)。

[1062] EI-MS m/z:776(M^+)。

[1063] 实施例28:化合物Ref-2的制备

[1064]

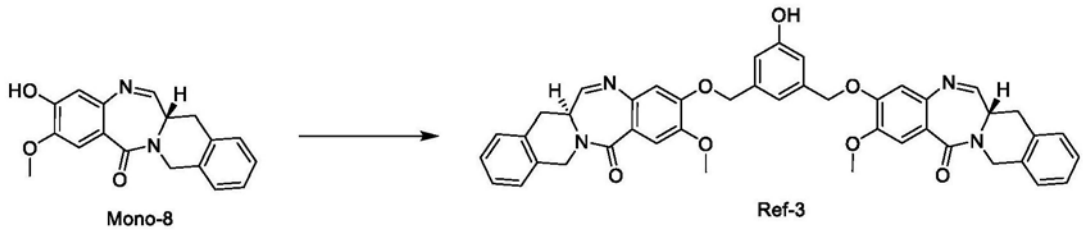


[1065] 在N_2气氛下，向化合物Mono-8(10.0mg,0.03mmol)和1,3-双(溴甲基)苯(4.1mg,0.015mmol)在DMF(1.0mL)中的溶液中加入K_2CO_3(4.7mg,0.034mmol)。将混合物在室温下搅拌过夜。反应完成后，通过制备型HPLC纯化混合物，得到化合物Ref-2(8.0mg,71%)。

[1066] EI-MS m/z:719(M^++1)。

[1067] 实施例29:化合物Ref-3的制备

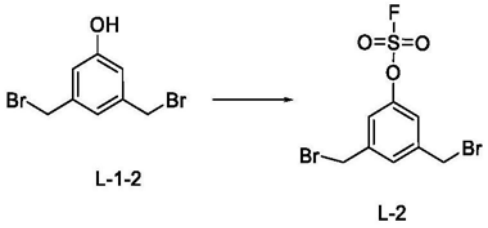
[1068]



[1069] 以类似于实施例13中所述的方式合成化合物Ref-3。

[1070] 产率为35%;EI-MS m/z:734(M^++1)。

[1071] 实施例30:化合物L-2的制备

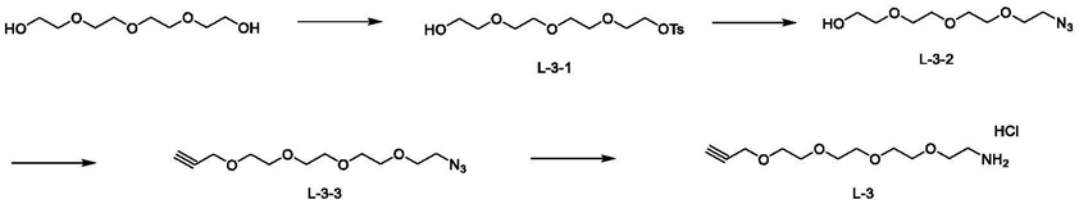
[1072] 

[1073] 化合物L-2的制备

[1074] 在室温下在N_2气氛下,向化合物L-1-2(1.0g,3.57mmol)在DCM(35mL)中的溶液中加入TEA(0.45mL,3.21mmol)。通过气球引入SO_2F_2气体,将混合物在室温下搅拌1小时。然后将混合物用DCM(50mL)洗涤,并加入水(30mL)。将有机层用$NaHCO_3$水溶液洗涤,经无水Na_2SO_4干燥,过滤,并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化,得到化合物L-2(941.7mg,73%)。

[1075] ^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$)δ7.47(s,1H),7.32(s,2H),4.46(s,4H)。

[1076] 实施例31:化合物L-3的制备

[1077] 

[1078] 以类似于Journal of Polymer Science,Part A:Polymer Chemistry,2012,50(19),3986-3995(通过引用并入本文)中所述的方法的方式合成化合物L-3。

[1079] 化合物L-3-1的制备

[1080] 产率为30%

[1081] ^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$)δ7.80(d,J=8.4Hz,2H),7.34(d,J=8.4Hz,2H),4.16(t,J=4.8Hz,2H),3.74-3.58(m,14H),2.45(s,3H)。

[1082] 化合物L-3-2的制备

[1083] 产率为68%

[1084] ^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$)δ3.74-3.61(m,14H),3.40(t,J=4.8Hz,2H),2.45(t,J=6.0Hz,2H)。

[1085] 化合物L-3-3的制备

[1086] 产率为63%

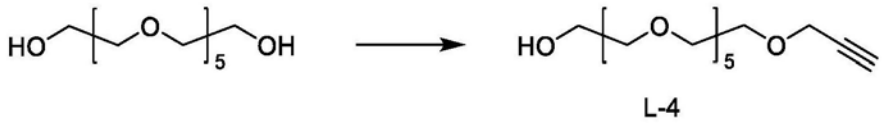
[1087] ^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$)δ4.21(d,J=2.4Hz,2H),3.72-3.67(m,14H),3.39(t,J=5.2Hz,2H),2.43(t,J=2.4Hz,1H)。

[1088] 化合物L-3的制备

[1089] 产率为76%

[1090] ^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$)δ4.20(d,J=2.4Hz,2H),3.7-3.61(m,12H),3.51(t,J=4.8Hz,2H),2.87(t,J=5.6Hz,2H),2.43(t,J=2.4Hz,1H)。

[1091] 实施例32:化合物L-4的制备

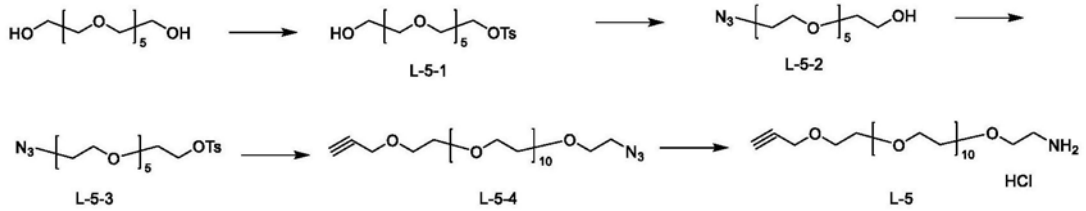
[1092] 

L-4

[1093] 在0℃下在N_2气氛下，向t-BuOK(575mg,4.9mmol)在无水THF(30mL)中的溶液中加入THF(38mL)中的六乙二醇(2.6g,9.2mmol)，然后加入炔丙基溴(544μL,4.9mmol)。使反应混合物升温至室温并搅拌过夜。反应完成后，将混合物通过CELITE®过滤，并用DCM(10mL)洗涤CELITE®塞。将滤液减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化，得到化合物L-4(1.38g,48%)。

[1094] ^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$)δ4.21(s,2H),3.7-3.6(m,24H),3.05(brs,1H),2.43(s,1H)。

[1095] 实施例33:化合物L-5的制备

[1096] 

[1097] 化合物L-5-1的制备

[1098] 在N_2气氛下，向六乙二醇(5.0g,17.71mmol)在无水DCM(178mL)中的溶液中加入KI(294mg,1.77mmol)、Ag_2O(4.92g,19.48mmol)和p-TsCl(3.7g,19.48mmol)。将混合物在室温下搅拌过夜。反应完成后，将混合物通过CELITE®过滤，并用DCM(100mL)洗涤CELITE®塞。将滤液减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化，得到化合物L-5-1(5.98g,73%)。

[1099] ^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$)δ7.80(d,J=8.4Hz,2H),7.35(d,J=8.4Hz,2H),4.16(t,J=4.8Hz,2H),3.71-3.58(m,22H),2.88(br,1H),2.45(s,3H)。

[1100] 化合物L-5-2的制备

[1101] 在N_2气氛下，向化合物L-5-1(5.98g,13.7mmol)在DMF(30mL)中的溶液中加入NaN_3(1.34g,20.55mmol)。将混合物在110℃下搅拌1小时，并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化，得到化合物L-5-2(4.1g,97%)。

[1102] ^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$)δ3.72-3.60(m,22H),3.39(t,J=4.8Hz,2H),2.78(br,1H)。

[1103] 化合物L-4-3的制备

[1104] 在N_2气氛下，将化合物L-5-2(1.9g,6.18mmol)溶解在DCM(20mL)中，向其中加入三乙胺(2.0mL,14.22mmol)和p-TsCl(2.4g,12.36mmol)，并将混合物在室温下搅拌过夜。反应完成后，将混合物减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化，得到化合物L-5-3(2.58g,91%)。

[1105] ^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$)δ7.80(d,J=8.4Hz,2H),7.35(d,J=8.4Hz,2H),4.16(t,J=4.8Hz,2H),3.70-3.61(m,16H),3.56(s,1H),3.39(t,J=4.8Hz,2H),2.45(s,3H)。

[1106] EI-MS m/z:462(M^++1)。

[1107] 化合物L-5-4的制备

[1108] 在0℃下在N_2气氛下，用NaH(60%的于矿物油中的分散体,135mg,3.4mmol)处理化合物L-4(1.1g,3.4mmol)在无水THF(30mL)中的均匀溶液。将混合物在相同温度下搅拌20分钟后，向其中加入化合物L-5-3(1.56g,3.4mmol)。使反应物升温至室温并搅拌过夜。反应完成后，使反应混合物冷却，用MeOH(5mL)淬灭，并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化，得到

化合物L-5-4(1.91g,93%)。

[1109] EI-MS m/z:610(M^++1)。

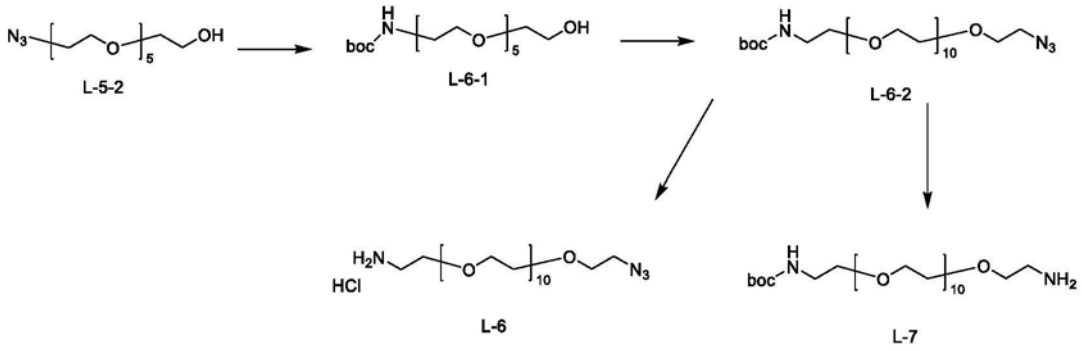
[1110] 化合物L-5的制备

[1111] 在N_2气氛下,将化合物L-5-4(906.7mg,1.49mmol)溶解在EA(4mL)和乙醚(4mL)中,然后冷却至0℃。向其中加入5%HCl溶液(8mL),并缓慢加入三苯基膦(390mg,1.49mmol),并将混合物。将混合物用DCM(10mL)稀释。将水层用DCM(10mL x3)进行萃取。在高真空下浓缩水层,得到化合物L-5(495mg,54%)。

[1112] EI-MS m/z:584(M^++1)。

[1113] 实施例34:化合物L-6和L-7的制备

[1114]



[1115] 化合物L-6-1的制备

[1116] 在H_2气氛下,向化合物L-5-2(1.0g,3.25mmol)在EtOH(5mL)中的溶液中加入5% Pd/C(1.04g,0.49mmol)。将混合物在室温下搅拌4小时。将混合物通过CELITE®过滤以除去Pd/C,并减压浓缩。将残留物溶解在DCM(25mL)中。加入BOC_2O(852.1mg,3.9mmol),将所得混合物在室温下搅拌3小时。将混合物减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化,得到化合物L-6-1(330mg,28%)。

[1117] ^1H NMR(400Hz,$CDCl_3$)δ5.19(brs,1H),3.73(t,J=4.8Hz,2H),3.67(s,12H),3.63-3.60(m,6H),3.54(t,J=5.2Hz,2H),3.34-3.27(m,1H),1.44(s,9H)。

[1118] EI-MS m/z:382(M^++1)。

[1119] 化合物L-6-2的制备

[1120] 在0℃下在N_2气氛下,用NaH(60%的于矿物油中的分散体,47.2mg,1.18mmol)处理化合物L-6-1(450mg,1.18mmol)在无水THF(10mL)中的均匀溶液。将混合物在0℃下搅拌20分钟后,向其中加入L-5-3(544.5mg,1.18mmol)。使反应物升温至室温并搅拌过夜。使反应冷却,用MeOH(5mL)淬灭,并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化,得到化合物L-6-2(582.9mg,74%)。

[1121] 化合物L-6的制备

[1122] 在0℃下在N_2气氛下,向化合物L-6-2(582.9mg,0.87mmol)在DCM(3mL)中的溶液中加入4M HCl(于1,4-二噁烷中,1mL)。将混合物在室温下搅拌2小时。将混合物浓缩,得到化合物L-6(527.6mg,定量)。

[1123] EI-MS m/z:571(M^++1)。

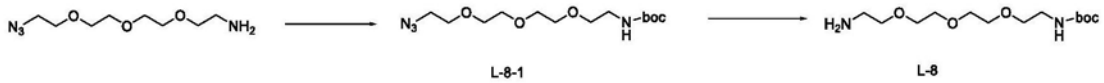
[1124] 化合物L-7的制备

[1125] 以类似于实施例33的化合物L-5的制备方法的方式合成化合物L-7(定量,无色油

状物)。

[1126] EI-MS m/z:645(M^++1)。

[1127] 实施例35:化合物L-8的制备

[1128] 

[1129] 化合物L-8-1的制备

[1130] 在室温下在N_2气氛下,用$NaHCO_3$(3.8g,45.8mmol,2.0当量)和BOC_2O(6.0g,27.5mmol,1.2当量)处理11-叠氮基-3,6,9-三氧杂十一碳-1-胺(Aldrich,CAS134179-38-7,5.0g,22.9mmol)在1,4-二噁烷(100mL)和H_2O(25mL)中的均匀溶液,然后搅拌6小时。将反应用水(50mL)淬灭,并用DCM(100mL x3)萃取。将有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤,并减压浓缩。将残留物通过柱色谱(1%至3%的于DCM中的MeOH)纯化,得到为无色油状物的化合物L-8-1(7.2g,99%)。

[1131] ^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ5.03(brs,1H),3.72-3.60(m,10H),3.98-3.52(m,1H),3.43-3.36(m,1H),3.35-3.24(m,1H),1.26(s,9H)。

[1132] EI-MS m/z:319(M^++1)。

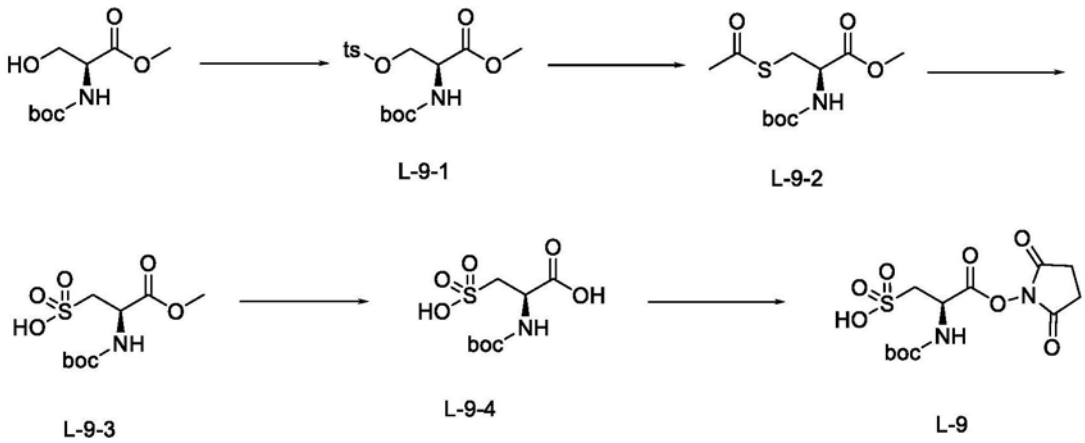
[1133] 化合物L-8的制备

[1134] 以类似于实施例33的化合物L-5的制备方法的方式合成化合物L-8(定量,无色油状物)。

[1135] 产率为95%,无色油状物。

[1136] EI-MS m/z:293(M^++1)

[1137] 实施例36:化合物L-9的制备

[1138] 

[1139] 化合物L-9-1的制备

[1140] 在室温下在N_2气氛下,用吡啶(8mL)、对甲苯磺酰氯(5.22g,27.4mmol)处理Boc-L-丝氨酸甲酯(5.0g,22.8mmol)在DCM(30mL)中的均匀溶液,并搅拌过夜。加入水(50mL)淬灭反应,并用EA(100mL×3)进行萃取。将合并的有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤,并减压浓缩。将残留物通过柱色谱(Hex:EA=9:1至2:1)纯化,得到为白色固体的化合物L-9-1(7.0g,82%)。

[1141] ^1H NMR(600MHz,$CDCl_3$)δ7.76(d,J=8.4Hz,2H),7.35(d,J=7.8Hz,2H),5.29(S,1H),4.53-4.47(m,1H),4.39(dd,J=2.4,7.8Hz,1H),4.29(d,J=7.2,2.4Hz,1H),3.69(s,

3H),2.45(s,3H)。

[1142] 化合物L-9-2的制备

[1143] 在室温下在N_2气氛下,用DMF(8mL)中的硫代乙酸(498μL,6.96mmol)和L-9-1(2.0g,5.36mmol)处理$CsCO_3$(1.05g,3.21mmol,0.6当量)在DMF(12mL)中的悬浮液,并搅拌过夜。加入水(50mL)淬灭混合物,并用EA(100mL×3)进行萃取。将有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤,并减压浓缩。将残留物通过柱色谱(Hex:EA=5:1)纯化,得到为白色固体的化合物L-9-2(1.4g,95%)。

[1144] ^1H NMR(600MHz,$CDCl_3$)δ5.24(s,1H),4.53-4.49(m,1H),3.75(s,3H),2.45(s,3H),4.41-4.31(m,2H)。

[1145] 化合物L-9-3的制备

[1146] 在室温下在N_2气氛下,向化合物L-9-2(1.2g,4.33mmol)在AcOH(10mL)中的溶液中加入35%的过氧化氢(4mL)。将混合物搅拌7小时,然后减压浓缩。将残留物用水(5mL)稀释,并在0℃下使用饱和$NaHCO_3$水溶液碱化至pH 9。加入Boc_2O(1.4g,6.49mmol,1.5当量),并将所得混合物搅拌过夜。将混合物在0℃下用2N HCl中和,并减压浓缩。将残留物通过柱色谱(DCM:MeOH:AcOH=8:1:0.01至5:1:0.01)纯化,得到为白色固体的化合物L-9-3(521.5mg,42%)。

[1147] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ6.96(d,J=7.2Hz,1H),4.20(q,J=6.8,4.8Hz,1H),3.58(s,3H),2.84(dd,J=14,6.4Hz,1H),2.76(dd,J=9.2,4.4Hz,1H),1.37(s,9H)。

[1148] 化合物L-9-4的制备

[1149] 在室温下在N_2气氛下,用LiOH(17.3mg,0.41)处理L-9-3(71mg,0.25mmol)在THF/H_2O(2.0mL4.0 mL)中的均匀溶液,并搅拌3小时。将混合物在0℃下用2N HCl中和,减压浓缩,得到为白色固体的化合物L-9-4(67mg,99%)。

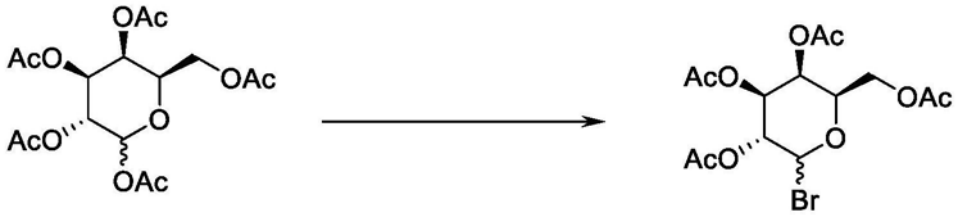
[1150] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ6.40(d,J=7.2Hz,1H),3.96(q,J=6.4,5.6Hz,1H),2.88-2.78(n,2H),1.36(s,9H)。

[1151] 化合物L-9的制备

[1152] 在室温下在N_2气氛下,将L-8-4(35mg,0.13mmol)、N-羟基琥珀酰亚胺(22.4mg,0.19mmol)和EDCI-HCl(50mg,0.26mmol)溶解在DMF(2mL)中。在将混合物搅拌过夜后,将化合物L-9直接用于下一步,而未经进一步纯化。

[1153] EI-MS m/z:367(M^++1)。

[1154] 实施例37:BGal-Br(下文中为"Int-TG")的制备

[1155] 

Int-TG

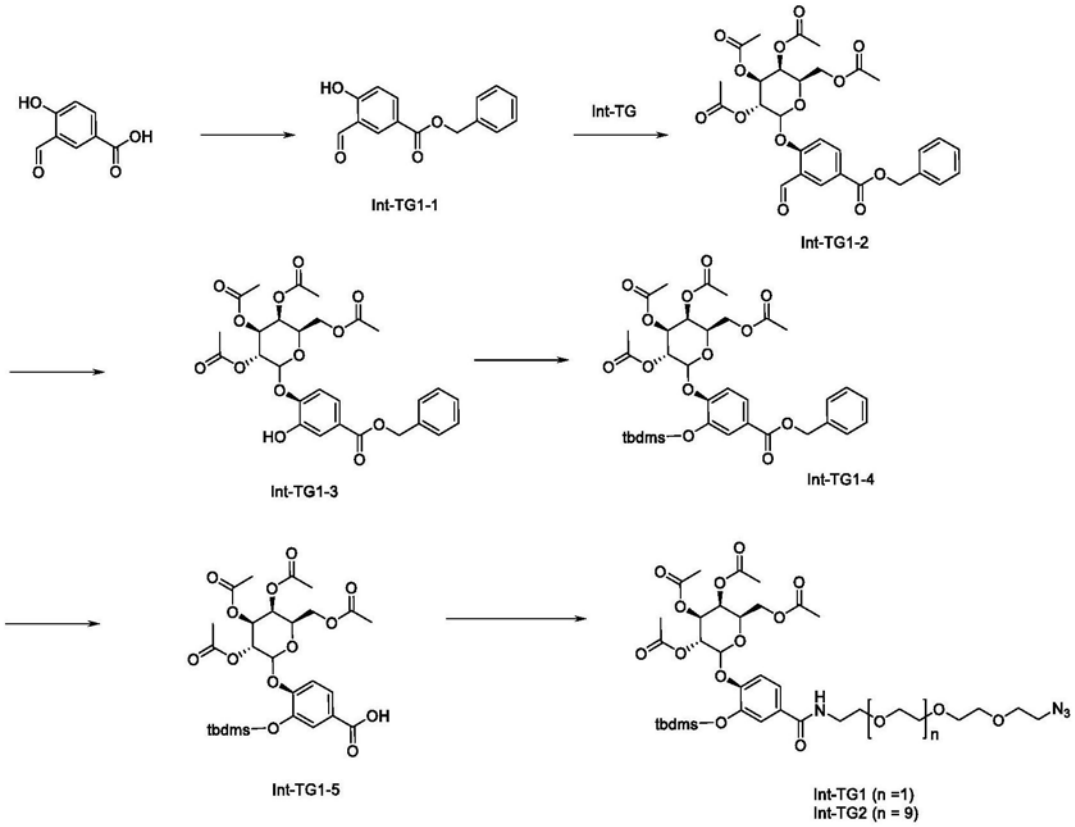
[1156] 在0℃下在N_2气氛下,将β-D-半乳糖五乙酸酯(Alfa,CAS 4163-60-4,5.0g,12.81mmol)溶解于33%在AcOH中的HBr(20mL)中。将混合物升温至室温。在室温下搅拌4小时后,将混合物减压浓缩,然后加入EA(1000mL)和饱和碳酸氢钠水溶液(1000mL)。将有机层

经无水Na_2SO_4干燥，过滤，并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化，得到化合物Int-TG(5.2g，99％)。

[1157] ^1H NMR(400Hz,$CDCl_3$)δ6.70(d,J＝4.0Hz,1H),5.52(d,J＝2.4Hz,1H),5.41(dd,J＝7.6,2.8Hz,1H),5.05(dd,J＝6.4,4.0Hz,1H),4.49(t,J＝6.4Hz,1H),4.22-4.09(m,2H),2.16-2.01(m,12H)。

[1158] 实施例38:化合物Int-TG1和Int-TG2的制备

[1159]



[1160] 化合物Int-TG1-1的制备

[1161] 在室温下在N_2气氛下，向3-甲酰基-4-羟基苯甲酸(5g,43.06mmol)在DMF(100mL)中的溶液中加入苄基溴(5.1mL,43.06mmol)和$NaHCO_3$(2.53g,43.06mmol)。将混合物在室温下在N_2气氛下搅拌过夜。用EA(200mL×2)和蒸馏水(100mL)萃取反应物。将所得有机层经无水Na_2SO_4干燥，过滤，并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化，得到化合物Int-TG1-1(2.56g，39％)。

[1162] ^1H NMR(400Hz,$CDCl_3$)δ11.41(s,1H),9.95(s,1H),8.34(d,J＝2.0Hz,1H),8.23(dd,J＝6.4Hz,2.4Hz,1H),7.46-7.35(m,5H),7.04(d,J＝9.2Hz,1H),5.37(s,2H)。

[1163] 化合物Int-TG1-2的制备

[1164] 在室温下在N_2气氛下，向化合物Int-TG1-1(1.0g,3.90mmol)和化合物Int-TG(1.6g,3.90mmol)于无水ACN(30mL)中的溶液中加入分子筛(8g)和Ag_2O(3.62g，15.61mmol)。将混合物在室温下搅拌1小时，然后通过CELITE®过滤。将有机层经Na_2SO_4干燥，过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化，得到化合物Int-TG1-2(2.1g,92％)。

[1165] ^1H NMR(400Hz,$CDCl_3$)δ10.34(s,1H),8.55(d,J＝2.0Hz,1H),8.26(dd,J＝6.8,2.0Hz,1H),7.45-7.35(m,5H),7.17(d,J＝8.8Hz,1H),5.63-5.60(m,1H),5.50(d,J＝

3.6Hz,1H),5.37(s,2H),5.23(d,J=8.0Hz,1H),5.16(dd,J=7.2,3.6Hz,1H)4.24-4.10(m,4H),2.20(s,3H),2.10-2.03(m,9H)。

[1166] 化合物Int-TG1-3的制备

[1167] 在0℃下在N_2气氛下,向化合物Int-TG1-2(2.1g,3.58mmol)在DCM(30mL)中的溶液中加入m-CPBA(2.65g,10.74mmol)。在0℃下搅拌7小时后,通过加入饱和碳酸氢钠(40mL×2)来淬灭混合物。分离混合物,将有机层用盐水洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤,并减压浓缩。将残留物溶解在DCM(5mL)中,并在0℃下在N_2气氛下,向溶液中加入水合肼(261μL,5.37mmol)。在0℃下搅拌1小时后,加入EA(30mL×2)和1M HCl水溶液(10mL)。将所得有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩,得到化合物Int-TG1-3(1.1g,55%)。

[1168] EI-MS m/z:574(M^++Na)

[1169] 化合物Int-TG1-4的制备

[1170] 在0℃下在N_2气氛下,向化合物Int-TG1-3(280mg,0.49mmol)在DCM(5mL)中的溶液中加入TBDMS-OTf(224μL,0.97mmol)和Et_3N(207μL,1.46mmol)。将混合物在室温下搅拌1.5小时,然后加入柠檬酸(20ml)进行淬灭。将有机层用盐水(20mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤,并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化,得到化合物Int-TG1-4(246.3mg,68%)。

[1171] ^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$)δ7.67(d,J=8.4Hz,1H),7.57(s,1H),7.44-7.34(m,5H),7.02(d,J=8.4Hz,1H),5.49-5.44(m,2H),5.30(s,2H),5.19(d,J=7.6Hz,1H),5.10(dd,J=6.8,3.2Hz,1H)4.20-4.11(m,2H),4.05(t,J=6.8Hz,2H),2.19(s,3H),2.04(s,3H),2.01(d,J=6.0Hz,6H),1.02(s,9H),0.20(d,J=15.6Hz,6H)。

[1172] 化合物Int-TG1-5的制备

[1173] 在室温下于H_2下,向化合物Int-TG1-4(283.2mg,0.41mmol)在EA(5mL)中的溶液中加入Pd/C(5%,87.5mg,0.04mmol)。将混合物搅拌1小时,通过CELITE®过滤,然后减压浓缩。将化合物Int-TG1-5直接用于下一步,而未经进一步纯化(246mg,定量)。

[1174] ^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$)δ7.67(d,J=8.8Hz,1H),7.57(s,1H),7.05(d,J=8.4Hz,1H),5.49-5.45(m,2H),5.22(d,J=7.6Hz,1H),5.12(dd,J=7.2,3.6Hz,1H)4.20-4.06(m,4H),2.19(s,3H),2.05(s,3H),2.02(d,J=7.6Hz,6H),1.01(s,9H),0.21(d,J=15.2Hz,6H)。

[1175] 化合物Int-TG1的制备

[1176] 在室温下在N_2气氛下,向化合物Int-TG1-5(243.2mg,0.41mmol)和11-叠氮基-3,6,9-三氧杂十一碳-1-胺(Aldrich,CAS 134179-38-7,89.5mg,0.41mmol)在DMF(5mL)中的溶液中加入PyBOP(275mg,0.53mmol)和DIPEA(176μL,1.02mmol)。将混合物在室温下在N_2气氛下搅拌2小时。用EA(30mL×2)和蒸馏水(10mL)萃取反应。将所得有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤,并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化,得到化合物Int-TG1(272.8mg,84%)。

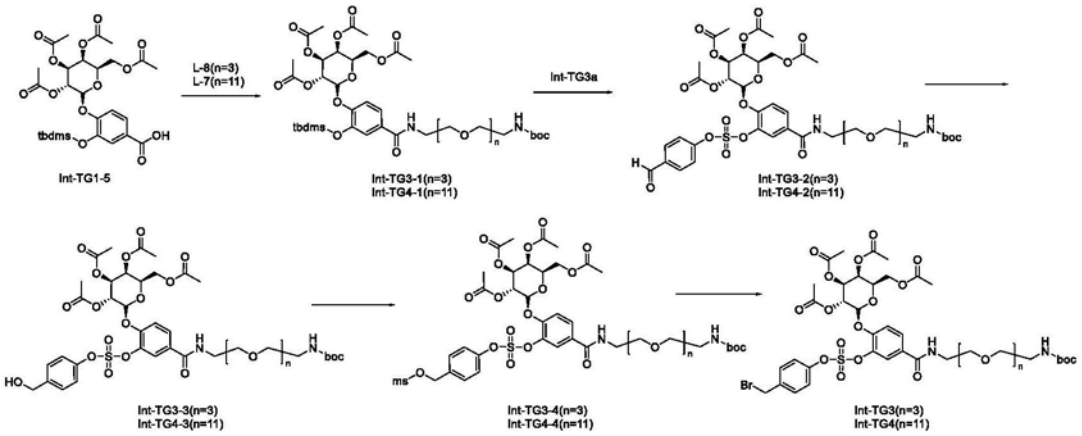
[1177] ^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$)δ7.34(s,1H),7.31(d,J=9.2Hz,1H),7.02(d,J=8.0Hz,1H),6.73(s,1H),5.48-5.44(m,2H),5.19(d,J=7.6Hz,1H),5.10(dd,J=6.4,3.6Hz,1H),4.20-4.10(m,2H),4.06(t,J=6.4Hz,2H),3.66(s,14H),3.38(t,J=4.4Hz,2H),2.19(s,3H),2.02(t,J=8.4Hz,9H),1.00(s,9H),0.20(d,J=14.4Hz,6H)。

[1178] EI-MS m/z:799(M^++1)。

[1179] 化合物Int-TG2的制备

[1180] 在室温下在N_2气氛下，向化合物Int-TG1-5(246mg,0.41mmol)和L-6(249.5mg,0.41mmol)在DMF(3mL)中的溶液中加入PyBOP(278mg,0.53mmol)和DIPEA(179μL,1.02mmol)。将混合物搅拌2小时后，将反应混合物经历制备型HPLC，得到化合物Int-TG2(384.6mg,81%)。EI-MS m/z:1152(M^++1)。

[1181] 实施例39:化合物Int-TG3和Int-TG4的制备

[1182] 

[1183] 化合物Int-TG3-1的制备

[1184] 在室温下在N_2气氛下，用PyBOP(1.13g,2.17mmol,1.3当量)和DIPEA(873μL,5.01mmol,3.0当量)处理化合物Int-TG1-5(1.0g,0.26mmol)和L-8(586mg,2.0mmol,1.2当量)在DMF(10mL)中的均匀溶液，并搅拌4小时。将反应用水(20mL)淬灭，并用EA(30mL×2)萃取。将有机层经无水Na_2SO_4干燥，过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱(Hex:EA=1:1至1:3)纯化，得到为白色泡沫固体的化合物Int-TG3-1(1.05g,72%)。

[1185] EI-MS m/z:874(M^++1)。

[1186] 化合物Int-TG3a的制备

[1187] 在室温下在N_2气氛下，向4-羟基苯甲醛(1g,8.19mmol)在DCM(3mL)中的溶液中加入Et_3N(2.28mL,16.38mmol)。通过气球引入SO_2F_2气体，将混合物在室温下搅拌2小时。然后将混合物用DCM(30mL×3)和盐水(30mL)洗涤，将有机层经无Na_2SO_4干燥，过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化，得到化合物Int-TG3a(790mg,63%)。

[1188] ^1H NMR(400Hz,$CDCl_3$)δ10.06(s,1H),8.05(d,J=8.0Hz,2H),7.55(d,J=8.8Hz,2H)。

[1189] 化合物Int-TG3-2的制备

[1190] 在室温下在N_2气氛下，用BEMP(66.3μL,0.23mmol,0.4当量)处理化合物Int-TG3-1(500mg,0.57mmol)和化合物Int-TG3a(140mg,0.69mmol,1.2当量)在无水ACN(10mL)中的均匀溶液，并搅拌4小时。将反应用水(20mL)淬灭，并用EA(30mL×2)萃取。将有机层经无水Na_2SO_4干燥，过滤，并减压浓缩。将残留物通过柱色谱(4%的于DCM中的MeOH)纯化，得到为白色泡沫固体的化合物Int-TG3-2(495mg,85%)。

[1191] EI-MS m/z:869(M^++1)。

[1192] 化合物Int-TG3-3的制备

[1193] 在0℃下在N_2气氛下，向化合物Int-TG3-2(495mg,0.52mmol)在无水THF(5.0mL)中的溶液中加入$NaBH_4$(39.7mg,1.05mmol,2.0当量)，并将所得混合物搅拌2小时。将反应用水(20mL)淬灭，并用EA(30mL×2)萃取。将有机层经无水Na_2SO_4干燥，过滤，并减压浓缩。将残留

物通过柱色谱(2%至3%的于DCM中的MeOH)纯化,得到为白色泡沫固体的化合物Int-TG3-3(418mg,91%)。

[1194] EI-MS m/z:945(M^++1)。

[1195] 化合物Int-TG3-4的制备

[1196] 在0℃下在N_2气氛下,向化合物Int-TG3-3(214.2mg,0.23mmol)在无水THF(5.0mL)中的溶液中加入甲磺酰氯(24.6μL,0.32mmol,1.4当量)和TEA(79.2μL,0.57mmol,1.5当量),并将所得混合物在室温下搅拌过夜。将反应用水(10mL)淬灭,并用DCM(20mL×2)进行萃取。将有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤,并减压浓缩。将残留物通过柱色谱(100%DCM至5%的于DCM中的MeOH)纯化,得到为白色泡沫固体的化合物Int-TG3-4(164mg,70%)。

[1197] EI-MS m/z:1024(M^++1)。

[1198] 化合物Int-TG3的制备

[1199] 在室温下在N_2气氛下,向化合物Int-TG3-4(164mg,0.16mmol)在无水THF(10mL)中的溶液中加入LiBr(69.6mg,0.80mmol,5.0当量),并将所得混合物搅拌3小时。将反应物用水(10mL)稀释,用DCM(20mL×2)萃取。将有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤,并减压浓缩。将残留物通过柱色谱(3%至5%的于DCM中的MeOH)纯化,得到为白色泡沫固体的化合物Int-TG3(161mg,99%)。

[1200] EI-MS m/z:1008(M^++1)。

[1201] 以类似于化合物Int-TG3的制备方法的方式合成化合物Int-TG4。

[1202] 化合物Int-TG4-1的制备

[1203] 产率为72%,无色油状物

[1204] EI-MS m/z:1226(M^++1)。

[1205] 化合物Int-TG4-2的制备

[1206] 产率为82%,无色油状物

[1207] EI-MS m/z:1296(M^++1)。

[1208] 化合物Int-TG4-3的制备

[1209] 产率为75%,无色油状物

[1210] EI-MS m/z:1298(M^++1)。

[1211] 化合物Int-TG4-4的制备

[1212] 产率为82%,无色油状物

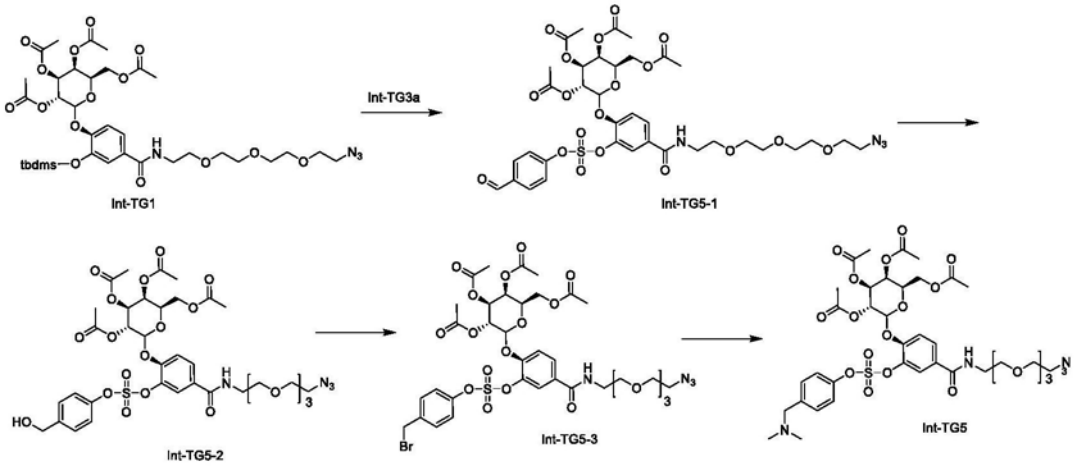
[1213] EI-MS m/z:1376(M^++1)。

[1214] 化合物Int-TG4的制备

[1215] 产率为82%,无色油状物

[1216] EI-MS m/z:1361(M^++1)。

[1217] 实施例40:化合物Int-TG5的制备

[1218] 

[1219] 化合物Int-TG5-1的制备

[1220] 向化合物Int-TG1(100mg,0.13mmol)和化合物Int-TG3a(26mg,0.13mmol)在无水ACN(3mL)中的溶液中加入DBU(4μL,25μmol)。将混合物在室温下搅拌1小时,用蒸馏水(10mL)和EA(15mL×2)洗涤。将有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化,得到化合物Int-TG5-1(103mg,94%)。

[1221] EI-MS m/z:869(M^++1)。

[1222] 化合物Int-TG5-2的制备

[1223] 在0℃下在N_2气氛下,向化合物Int-TG5-1(103mg,0.12mmol)在THF(8mL)中的溶液中加入$NaBH_4$(9mg,0.24mmol)。在室温下搅拌2小时后,加入蒸馏水(10mL)和EA(10mL×2)。将有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩,得到化合物Int-TG5-2(101mg,98%)。

[1224] EI-MS m/z:871(M^++1)。

[1225] 化合物Int-TG5-3的制备

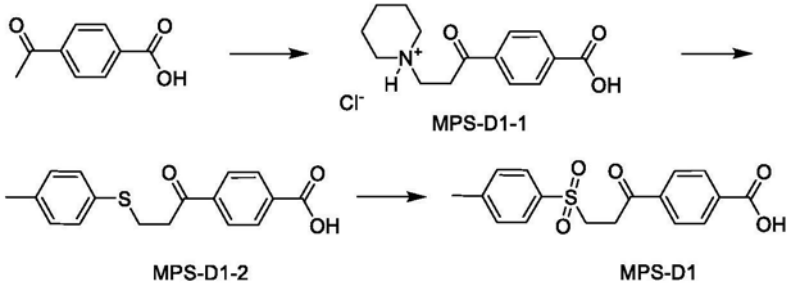
[1226] 在0℃下在N_2气氛下,向化合物Int-TG5-2(320.5mg,0.0.37mmol)在DCM(3ml)中的溶液中加入1M的于DCM中的PBr_3(165μL,0.19mmol)。在0℃下搅拌2小时后,通过加入饱和碳酸氢钠(8mL×2)淬灭混合物。分离混合物,将有机层用盐水洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化,得到化合物Int-TG5-3(202.6mg,59%)。

[1227] EI-MS m/z:934(M^++1)。

[1228] 化合物Int-TG5的制备

[1229] 在室温下在N_2气氛下,向化合物Int-TG5-3(10mg,0.01mmol)在DMF(1mL)中的溶液中加入二甲胺(0.1mL)。在室温下搅拌10分钟后,将反应混合物通过制备型HPLC纯化,得到化合物Int-TG5(6mg,63%)。EI-MS m/z:898(M^++1)。

[1230] 实施例41:化合物MPS-D1的制备

[1231] 

[1232] 化合物MPS-D1-1的制备

[1233] 在室温下在N_2气氛下,向4-乙酰基苯甲酸(9g,54.82mmol)在EtOH(50mL)中的溶液中添加哌啶盐酸盐(6.66g,54.82mmol)、多聚甲醛(4.95g,164.5mmol)和浓HCl(0.6mL)。将混合物在100℃下搅拌16小时,然后冷却至室温,并向其中滴加丙酮(90mL)。将混合物在0℃下搅拌1小时。将固体过滤并且用二乙醚(30mL X2)洗涤以获得化合物MPS-D1-1(6.11g,38%)。

[1234] ^{1}H NMR(400Hz,DMSO-d_6)δ8.08(s,4H),5.73(s,1H),3.65(t,J=7.2Hz,2H),3.35(t,J=7.2Hz,2H),3.31(m,6H),1.74(s,4H)。

[1235] 化合物MPS-D1-2的制备

[1236] 在室温下,向MPS-D1-1(6.11g,20.52mmol)在EtOH(40mL)和MeOH(26mL)中的溶液中添加4-甲氧基苯硫醇(2.55g,20.52mmol)和哌啶(0.3mL,3.08mmol)。将混合物在100℃下搅拌16小时并且冷却至0℃并且另外搅拌1小时。将固体过滤并且用醚(30mL×2)洗涤以获得化合物MPS-D1-2(5.56g,90%)。

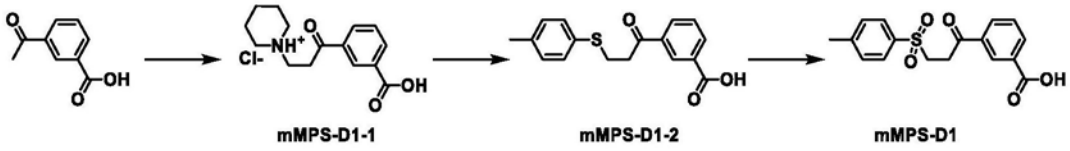
[1237] ^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$)δ8.04-7.99(m,4H),7.27(d,J=8.4Hz,2H),7.15(d,J=7.6Hz,2H),3.39-3.36(m,2H),3.25-3.21(m,2H),2.27(s,3H)。

[1238] 化合物MPS-D1的制备

[1239] 在0℃下在N_2气氛下,向MPS-D1b(5.56g,18.51mmol)在MeOH(90mL)和蒸馏水(90mL)中的溶液中添加过硫酸氢钾制剂(oxone)(25.03g,40.72mmol)。在室温下搅拌14小时后,将混合物用蒸馏水(100mL)和氯仿(150mL X3)淬灭。将有机层用盐水(200mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩以获得化合物MPS-D1(5.29g,86%)。

[1240] ^{1}H NMR(400Hz,$CDCl_3$)δ8.04-7.99(m,4H),7.81(d,J=8.4Hz,2H),7.46(d,J=8.4Hz,2H),3.63(t,J=7.2Hz,2H),3.41(t,J=7.2Hz,2H),2.44(s,3H)。EI-MS m/z:333(M^++1)。

[1241] 实施例42:化合物mMPS-D1的制备

[1242] 

mMPS-D1-1 mMPS-D1-2 mMPS-D1

[1243] 以类似于实施例41中所述的方式合成化合物mMPS-D1。

[1244] 化合物mMPS-D1-1的制备

[1245] 产率为21%,白色固体。

[1246] EI-MS m/z:262(M^++1)。

[1247] 化合物mMPS-D1-2的制备

[1248] 产率为72%,白色固体。

[1249] ^{1}H NMR(600Hz,DMSO-d6)δ8.40(s,1H),8.18-8.15(m,2H),7.66-7.63(m,1H),7.26(d,J=7.8Hz,2H),7.14(d,J=7.8Hz,2H),3.40-3.37(m,2H),3.26-3.23(m,2H),2.27(s,3H)。

[1250] EI-MS m/z:301(M^++1)。

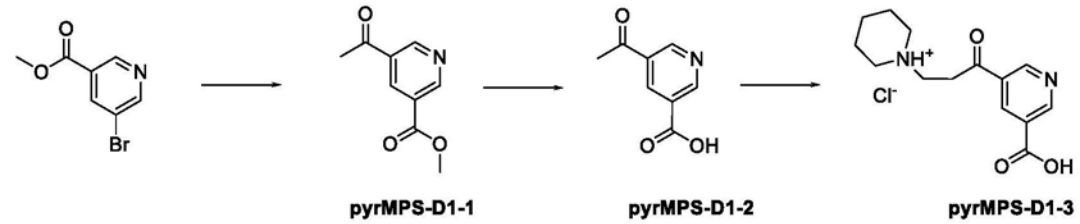
[1251] 化合物mMPS-D1的制备

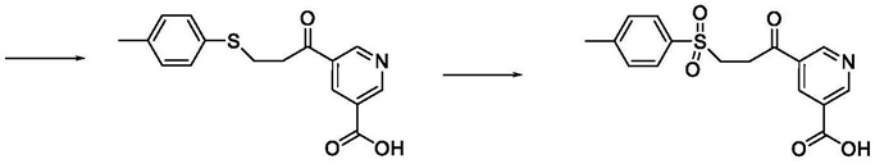
[1252] 产率为47%,淡黄色固体。

[1253] ^{1}H NMR(600Hz,DMSO-d6)δ8.37-8.36(m,1H),8.20-8.16(m,2H),7.81(d,J＝7.8Hz,2H),7.68-7.65(m,1H),7.46(d,J＝8.4Hz,2H),3.66-3.63(m,2H),3.44-3.41(m,2H),2.41(s,3H)。

[1254] EI-MS m/z:333(M^++1)。

[1255] 实施例43:化合物pyrMPS-D1的制备

[1256] 



[1257] 化合物pyrMPS-D4-1的制备

[1258] 在室温下在N_2气氛下,将5-溴烟酸甲酯(3g,13.89mmol)、$PdCl_2(PPh_3)_2$(487mg,0.96mmol)和三丁基(1-乙氧基乙烯基)锡(5.86mL,17.36mmol)在无水甲苯(60mL)中的溶液加热回流3小时。将混合物冷却至0℃,通过CELITE®过滤,并用MeOH(100mL)洗涤。将滤液减压浓缩。将残留物在室温下在N_2气氛下溶解在MeOH(30mL)和10M HCl(30mL)中,静置2小时。用饱和Na_2CO_3(120mL)淬灭反应,用EA(150mL X3)萃取。将有机层用盐水(250mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩。将残留物通过快速色谱(EA:HEX＝1:2)纯化,得到为白色固体的化合物pyrMPS-D1-1(2.22g,89%)。

[1259] ^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ9.37(s,1H),9.31(s,1H),8.79(s,1H),4.00(s,3H),2.69(s,3H)。

[1260] 化合物pyrMPS-D1-2的制备

[1261] 在室温下在N_2气氛下,用1N NaOH(10.64mL)处理pyrMPS-D1-1(636mg,3.55mmol)在MeOH(11mL)中的均匀溶液,并搅拌1小时。在将混合物减压浓缩后,用1N HCl(pH 2)淬灭反应,并用EA(80mL X3)萃取。将有机层用盐水(150mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩,得到为白色固体的化合物pyrMPS-D1-2(粗)。

[1262] ^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ9.31(s,1H),9.25(s,1H),8.64(s,1H),2.69(s,3H)。

[1263] 通过类似于实施例41的化合物MPS-D1的制备方法的方式合成化合物pyrMPS-D1-3、pyrMPS-D1-4和pyrMPS-D1。

[1264] 化合物pyrMPS-D1-3的制备

[1265] 产率为30%,白色固体。

[1266] EI-MS m/z:264(M^++1)。

[1267] 化合物pyrMPS-D1-4的制备

[1268] 产率为11%,白色固体。

[1269] ^{1}H NMR(400Hz,DMSO-d_6)δ9.26(d,J＝2Hz,1H),9.23(d,J＝2Hz,1H),8.58(m,1H),

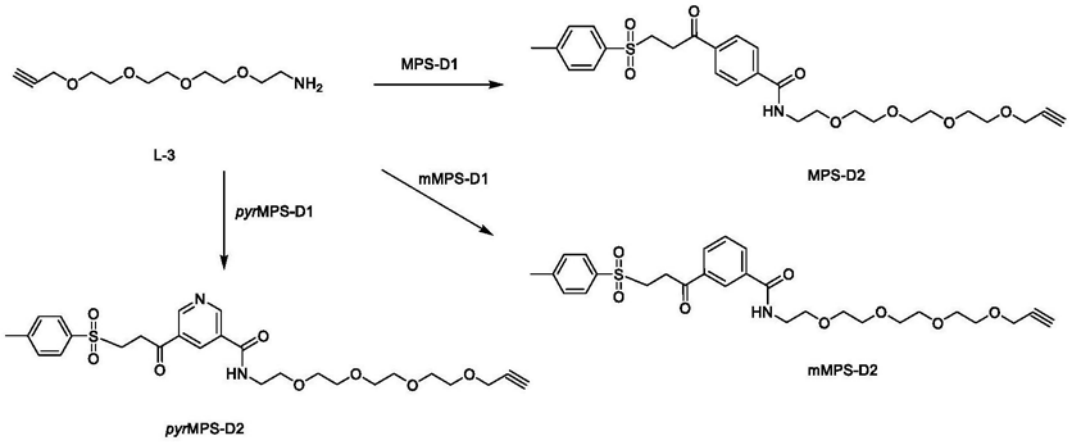
7.26(d,J＝8Hz,2H),7.13(d,J＝8.4Hz,2H),3.46(t,J＝7.2Hz,2H),3.24(d,J＝7.2Hz,2H),2.26(s,3H);EI-MS m/z:302(M^++1)。

[1270] 化合物pyrMPS-D1的制备

[1271] 产率为43%,白色固体。

[1272] EI-MS m/z:334(M^++1)。

[1273] 实施例44:化合物MPS-D2、mMPS-D2和PyrMPS-D2的制备

[1274] 

[1275] 化合物MPS-D2的制备

[1276] 将化合物MPS-D1(652.4mg,1.96mmol)和化合物L-3(500mg,1.96mmol)在N_2气氛下溶解在DMF(5mL)中。向其中加入HBTU(893.3mg,2.36mmol)和DIPEA(0.684mL,3.93mmol),并将混合物在室温下搅拌3小时。反应完成后,加入EA(30mL×2)和H_2O(20mL)以萃取有机层。将所得有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤,并减压浓缩。将残留物通过柱色谱纯化,得到化合物MPS-D2(854.1mg,80%)。

[1277] ^1H NMR(400Hz,$CDCl_3$)δ8.11-7.94(m,4H),7.83(d,J＝7.6Hz,2H),7.44(brs,1H),7.38(d,J＝8.0Hz,2H),4.15(s,2H),3.69-3.65(m,14H),3.58-3.48(m,4H),2.80(s,1H),2.46(s,3H)。EI-MS m/z:546(M^++1)。

[1278] 以类似于化合物MPS-D2合成的方式合成mMPS-D2和pyrMPS-D2。

[1279] 化合物mMPS-D2的制备

[1280] 产率为60%,白色固体。

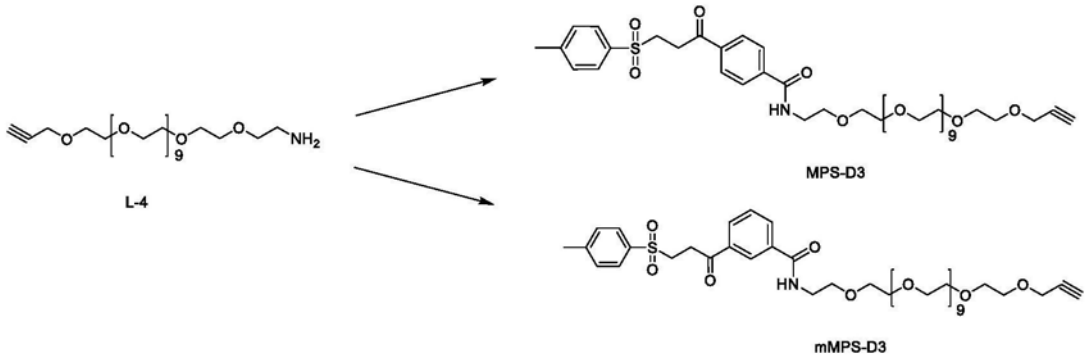
[1281] EI-MS m/z:546(M^++1)。

[1282] 化合物pyrMPS-D2的制备

[1283] 产率为22%,淡黄色油状物。

[1284] EI-MS m/z:547(M^++1)。

[1285] 实施例45:化合物MPS-D3的制备

[1286] 

[1287] 通过类似于实施例44中所述的合成路线合成化合物MPS-D3和mMPS-D3。

[1288] 化合物MPS-D3的制备

[1289] 产率为72%

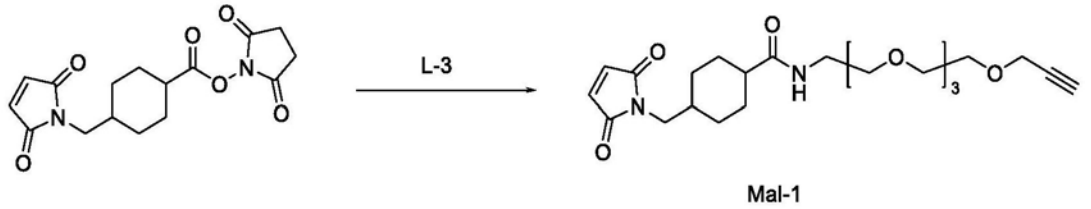
[1290] EI-MS m/z:899(M^++1)。

[1291] 化合物mMPS-D3的制备

[1292] 产率为32%,白色固体。

[1293] EI-MS m/z:899(M^++1)。

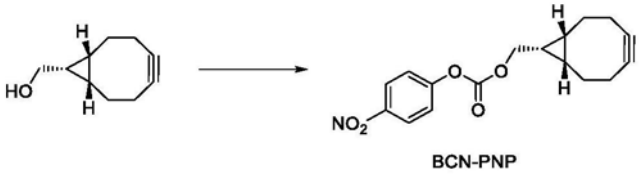
[1294] 实施例46:化合物Mal-1的制备

[1295] 

[1296] 在室温下在N_2气氛下,用DIPEA(44.5μL,0.26mmol)处理4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷甲酸N-琥珀酰亚胺基酯(85.5mg,0.26mmol)和L-3(75.3mg,0.28mmol,1.1当量)在无水DMC中的均匀溶液,并在室温下搅拌45分钟。将反应混合物用DCM(32mL)稀释,并用1N HCl(30mL)、盐水(30mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩。将残留物通过制备型HPLC纯化,得到白色胶状标题化合物Mal-1(70.8mg,61%)。

[1297] EI-MS m/z:451(M^++1)。

[1298] 实施例47:化合物BCN-PNP的制备

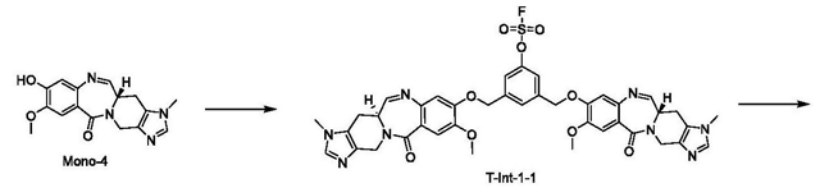
[1299] 

[1300] 将(1R,8S,9s)-双环[6.1.0]壬-4-炔-9-基甲醇(800mg,5.3mmol)在室温下在N_2气氛下溶解在DCM(125mL)中。向其中加入吡啶(1.22mL,15.9mmol)和氯甲酸4-硝基苯酯(1.75g,8.74mmol)。在相同温度下搅拌混合物4小时后,通过加入饱和NH_4Cl溶液(100mL)淬灭反应,并用EA(100mL x4)萃取。将有机层经Na_2SO_4干燥,过滤并真空浓缩。将残留物通过柱色谱(Hex:EA=10:1)纯化,得到为白色固体的化合物BCN-PNP(1.34g,84%)。

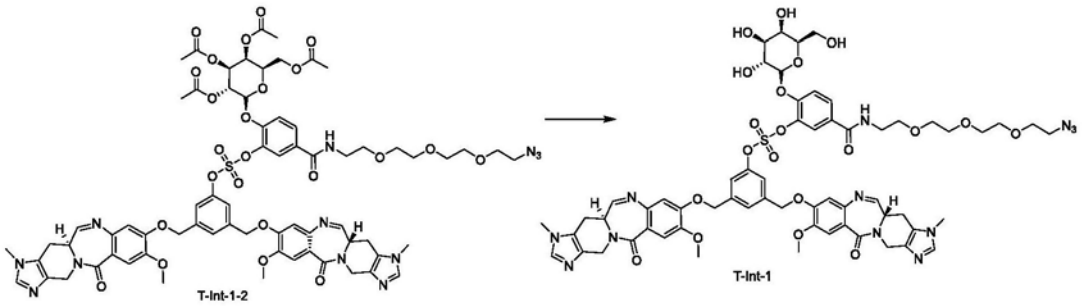
[1301] ^1H NMR(600MHz,$CDCl_3$)δ8.29(d,J=9Hz,2H),7.39(d,J=9Hz,2H),4.41(d,J=8.4Hz,2H),2.36-2.24(m,6H),1.62-1.55(m,2H),1.53-1.49(m,1H),1.07(t,J=10.2Hz,

2H)。

[1302] 实施例48:化合物T-Int-1的制备



[1303]



[1304] 化合物T-Int-1-1的制备

[1305] 在30℃下在N_2气氛下,向化合物Mono-4(14mg,0.04mmol)和化合物L-2(8.0mg,0.02mmol)在DMF(0.6mL)中的溶液中加入K_2CO_3(9.3mg,0.07mmol)。搅拌3小时后,将反应混合物通过制备型PLC纯化,得到化合物T-Int-1-1(5.4mg,29%)。EI-MS m/z:825(M^++1)。

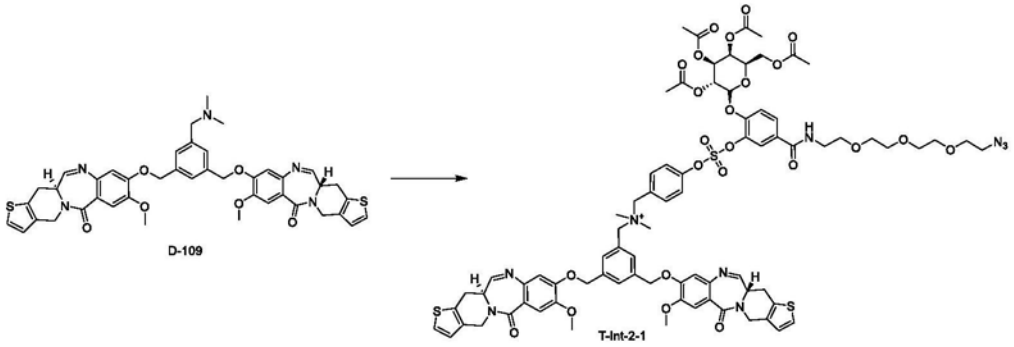
[1306] 化合物T-Int-1-2的制备

[1307] 在室温下在N_2气氛下,向化合物T-Int-1-1(7.5mg,0.01mmol)和化合物Int-TG1(14mg,0.02mmol)在ACN(0.5mL)和DMF(0.5mL)中的溶液中加入BEMP(1μL,0.004mmol)。在室温下搅拌5小时后,通过HPLC纯化反应混合物,得到化合物T-Int-1-2(67mg,83%)。EI-MS m/z:1490(M^++1)。

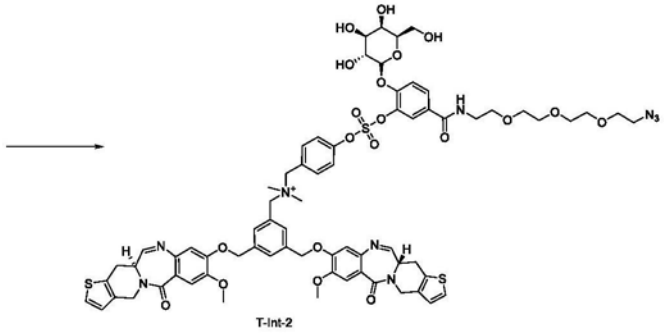
[1308] 化合物T-Int-1的制备

[1309] 在N_2气氛下,向T-Int-1-2(8.1mg,0.01mmol)在MeOH(1mL)和MC(0.1mL)中的溶液中加入K_2CO_3(5.6mg,0.04mmol)。在0℃下搅拌1小时后,将反应混合物通过HPLC纯化,得到化合物T-Int-1(5.5mg,76%)。EI-MS m/z:1322(M^++1)。

[1310] 实施例49:化合物T-Int-2的制备



[1311]



[1312] 化合物T-Int-2-1的制备

[1313] 在40℃下在N_2气氛下,向化合物D-109(22.8mg,0.03mmol)和化合物Int-TG3(32mg,0.03mmol)在DMF(2mL)中的溶液中加入DIPEA(12μL,0.07mmol)。在室温下搅拌5小时后,将反应混合物通过制备型HPLC纯化,得到化合物T-Int-2-1(28.9mg,61%)。

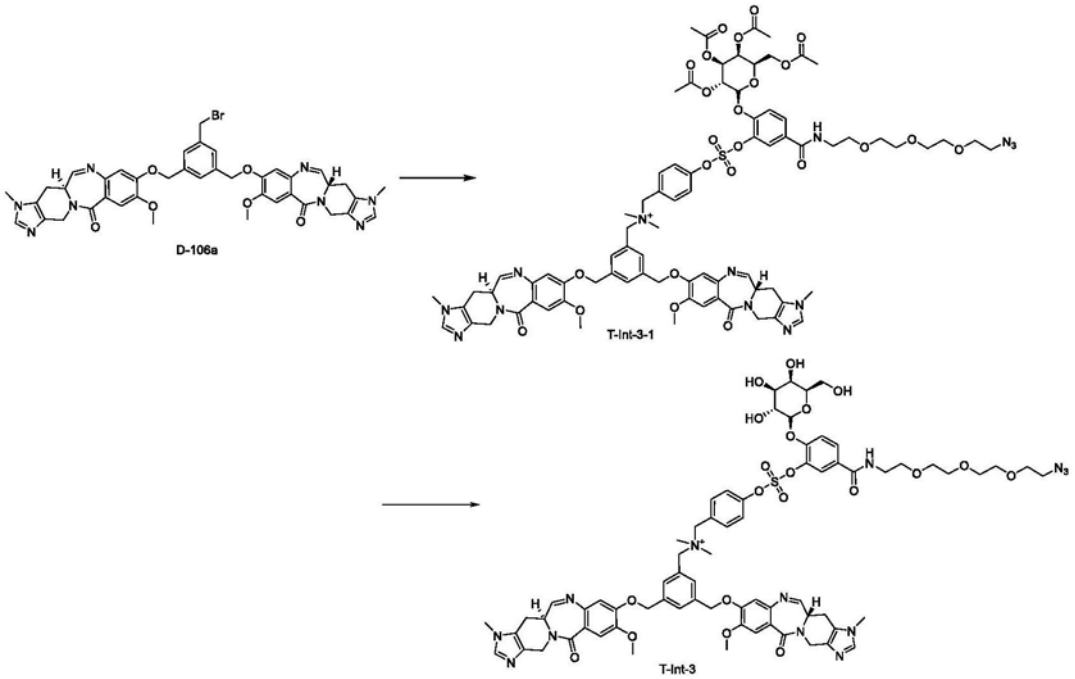
[1314] EI-MS m/z:1641(M^++1)。

[1315] 化合物T-Int-2的制备

[1316] 在N_2气氛下,向化合物T-Int-2-1(28.9mg,0.02mmol)在MeOH(2mL)中的溶液中加入K_2CO_3(12.2mg,0.09mmol)。在0℃下在N_2气氛下搅拌1小时后,通过制备型HPLC纯化反应混合物,得到化合物T-Int-2(18.4mg,71%)。

[1317] EI-MS m/z:1473(M^++1)。

[1318] 实施例50:化合物T-Int-3的制备

[1319] 

[1320] 化合物T-Int-3-1的制备

[1321] 在室温下在N_2气氛下,向化合物D-106a(3.0mg,0.004mmol)和化合物Int-TG5(6.0mg,0.008mmol)在DMF(1mL)中的溶液中加入DIPEA(3μL,0.018mmol)。在室温下搅拌5小时后,将反应混合物通过制备型HPLC纯化,得到化合物T-Int-3-1(3.1mg,52%)。

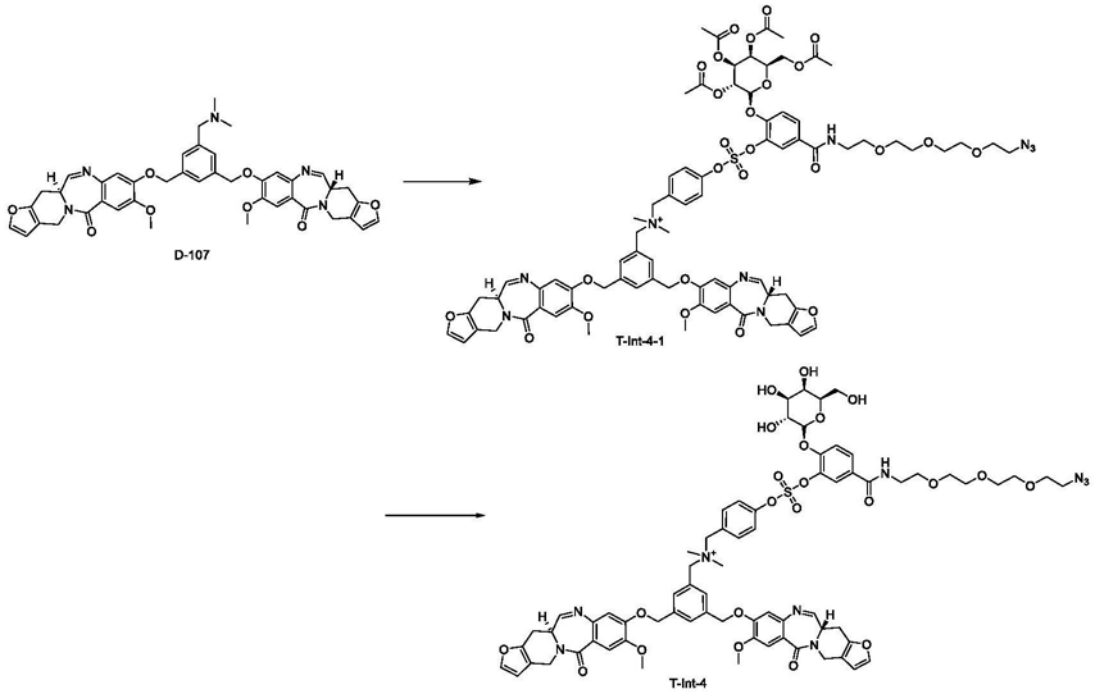
[1322] EI-MS m/z:1637(M^++1)。

[1323] 化合物T-Int-3的制备

[1324] 在N_2气氛下,向化合物T-Int-3-1(3.1mg,0.002mmol)在MeOH(1mL)中的溶液中加入K_2CO_3(1.2mg,0.009mmol)。在0℃下在N_2气氛下搅拌1小时后,将反应混合物通过制备型HPLC纯化,得到化合物T-Int-3(2.0mg,72%)。

[1325] EI-MS m/z:1469(M^++1)。

[1326] 实施例51:化合物T-Int-4的制备

[1327] 

[1328] 以类似于实施例49中所述的方式合成化合物T-Int-4。

[1329] 化合物T-Int-4-1的制备

[1330] 产率为50％

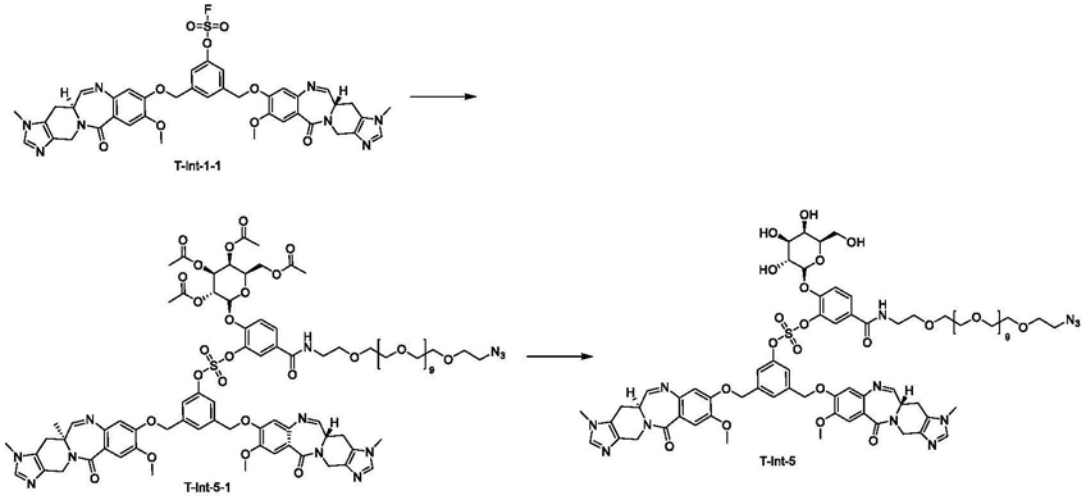
[1331] EI-MS m/z:1609(M+1)。

[1332] 化合物T-Int-4的制备

[1333] 产率为55％

[1334] EI-MS m/z:1441(M+1)。

[1335] 实施例52:化合物T-Int-5的制备

[1336] 

[1337] 以类似于实施例48中所述的方式合成化合物T-Int-5。

[1338] 化合物T-Int-5-1的制备

[1339] 产率为61％

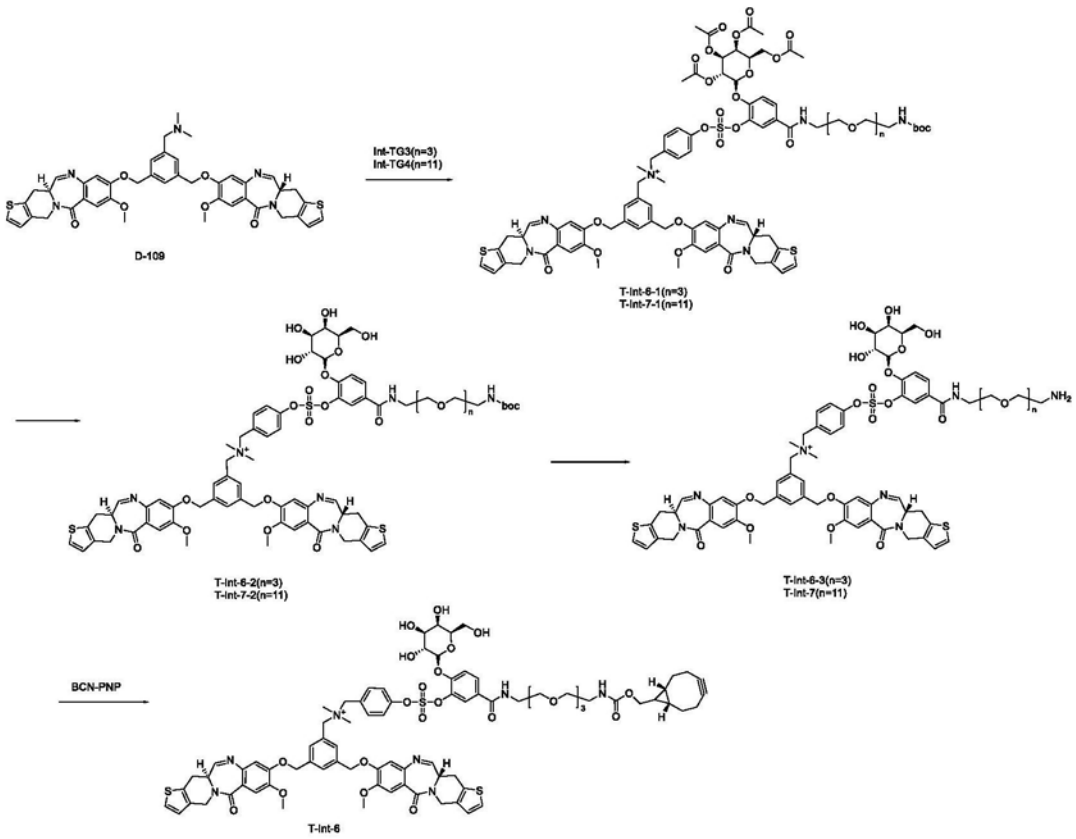
[1340] EI-MS m/z:1842(M+1)。

[1341] 化合物T-Int-5的制备

[1342] 产率为62%

[1343] EI-MS m/z:1674(M^++1)。

[1344] 实施例53:化合物T-Int-6和T-Int-7的制备

[1345] 

[1346] 以类似于实施例49的化合物T-Int-2的制备方法的方式合成化合物T-Int-6-2。

[1347] 化合物T-Int-6-1的制备

[1348] 产率:61%,乳白色固体。

[1349] EI-MS m/z:1716(M^++1),858(M^+/2+1)。

[1350] 化合物T-Int-6-2的制备

[1351] 产率为67%:乳白色固体。

[1352] EI-MS m/z:1548(M^++1)。

[1353] 化合物T-Int-6-3的制备

[1354] 在0℃下在N_2气氛下,用TFA/DCM(0.6mL/2mL)处理化合物T-Int-6-2(92mg,0.059mmol)在无水DCM(4.0mL)中的均匀溶液,并搅拌2小时。将反应混合物通过制备型HPLC(0.1%的甲酸水溶液/0.1%的于ACN中的甲酸)纯化,得到为黄色固体的化合物T-Int-6-3(72.5mg,84%)。

[1355] EI-MS m/z:1448(M^++1)。

[1356] 化合物T-Int-6的制备

[1357] 在室温下在N_2气氛下,用DIPEA(4.4μL,0.026mmol)处理化合物T-Int-6-3(18.6mg,0.013mmol)和BCN-PNP(4.0mg,0.013mmol)在DMF(1.5mL)中的均匀溶液,并搅拌2小时。将反应混合物通过制备型HPLC(0.1%的甲酸水溶液/0.1%的于ACN中的甲酸)纯化,得到为淡黄色固体的化合物T-Int-6(12.9mg,62%)。

[1358] EI-MS m/z:1624(M^++1),812(M^+/2+1)。

[1359] 以类似于化合物T-Int-6-3的制备方法的方式合成化合物T-Int-7。

[1360] 化合物T-Int-7-1的制备

[1361] 产率为73%,乳白色固体

[1362] EI-MS m/z:2069(M^++1),1035(M^+/2+1)。

[1363] 化合物T-Int-7-2的制备

[1364] 产率为72%,乳白色固体

[1365] EI-MS m/z:1901(M^++1),951(M^+/2+1)。

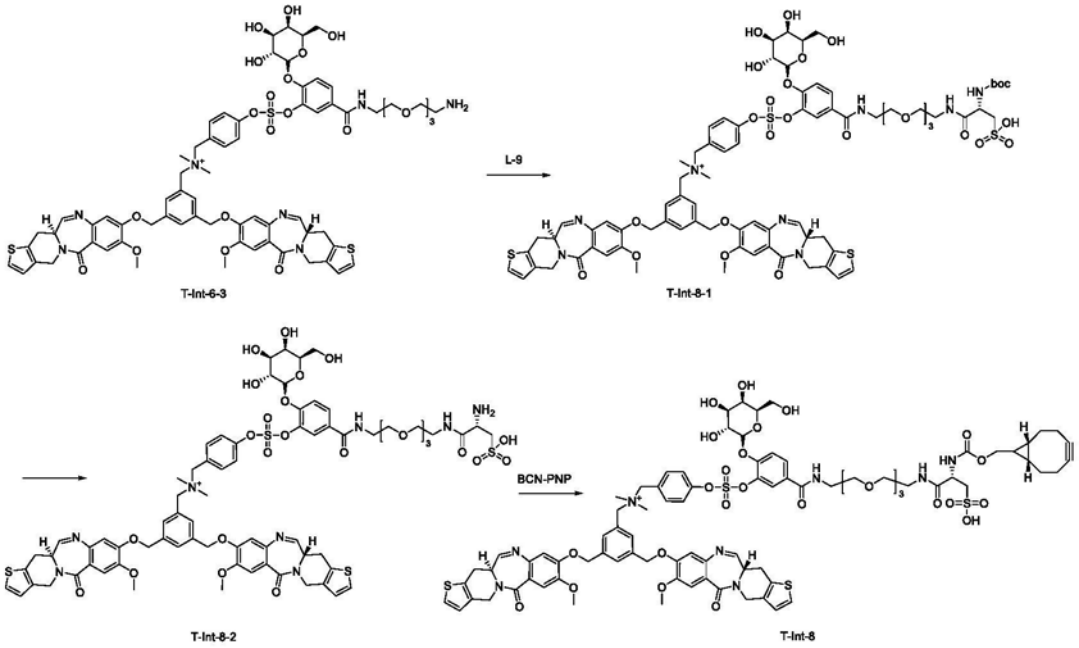
[1366] 化合物T-Int-7的制备

[1367] 产率为65%,黄色固体

[1368] EI-MS m/z:1801(M^++1),901(M^+/2+1)。

[1369] 实施例54:化合物T-Int-8的制备

[1370]



[1371] 化合物T-Int-8-1的制备

[1372] 在室温下在N_2气氛下,用DIPEA(7.3μL,0.042mmol)处理T-Int-6-3(20mg,0.014mmol)和化合物L-9(5.1mg,0.014mmol)在DMF(1.0mL)中的澄清溶液,并搅拌2小时。将反应混合物通过制备型HPLC(0.1%的甲酸水溶液/0.1%的于ACN中的甲酸)纯化,得到为黄色固体的化合物T-Int-8-1(19.9mg,85%)。

[1373] EI-MS m/z:1699(M^++1),850(M^+/2+1)。

[1374] 化合物T-Int-8-2的制备

[1375] 在0℃下在N_2气氛下,用TFA/DCM(0.3mL/3.0mL)处理化合物T-Int-8-1(19.9mg,0.012mmol)在无水DCM(1.0mL)中的澄清溶液,并搅拌4小时。将反应混合物通过制备型HPLC(0.1%的甲酸水溶液/0.1%的于ACN中的甲酸)纯化,得到为乳白色固体的化合物T-Int-8-2(13.2mg,71%)。

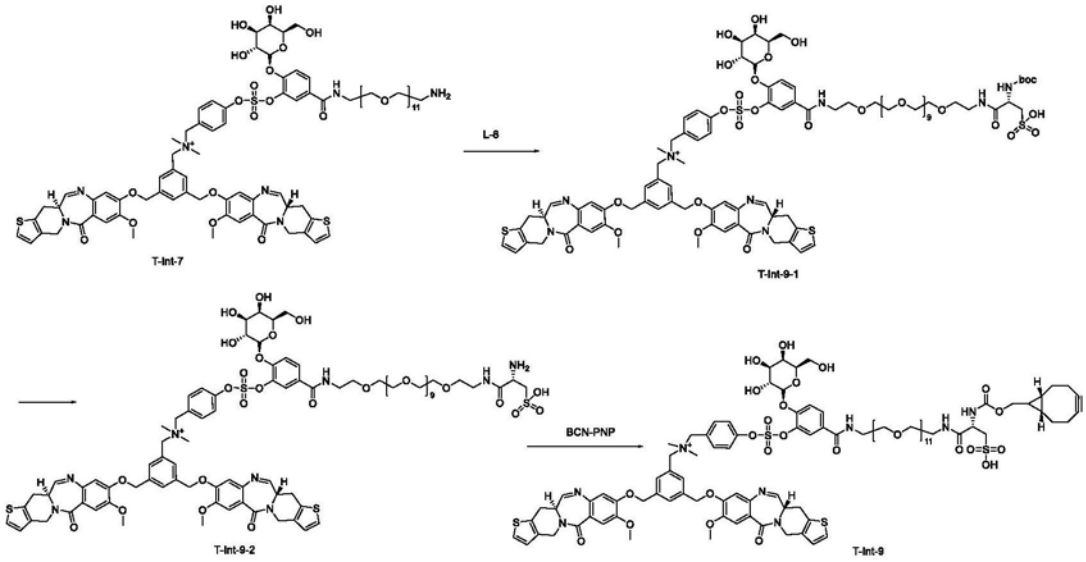
[1376] EI-MS m/z:1599(M^++1),800(M^+/2+1)。

[1377] 化合物T-Int-8的制备

[1378] 在室温下在N_2气氛下，用DIPEA(2.8μL,0.017mmol)处理化合物T-Int-8-2(13.2mg,0.00083mmol)和BCN-PNP(1.8mg,0.0058mmol)在DMF(1.0mL)中的澄清溶液，并搅拌28小时。将反应混合物通过制备型HPLC(0.1％的甲酸水溶液/0.1％的于ACN中的甲酸)纯化，得到为淡黄色固体的化合物T-Int-8(3.6mg,35％)。

[1379] EI-MS m/z:1776(M^++1),888(M^+/2+1)。

[1380] 实施例55:化合物T-Int-9的制备

[1381] 

[1382] 以类似于实施例54的化合物T-Int-8的制备方法的方式合成化合物T-Int-9。

[1383] 化合物T-Int-9-1的制备

[1384] 产率为56％，乳白色固体。

[1385] EI-MS m/z:2052(M^++1),1026(M^+/2+1)

[1386] 化合物T-Int-9-2的制备

[1387] 产率为71％，乳白色固体。

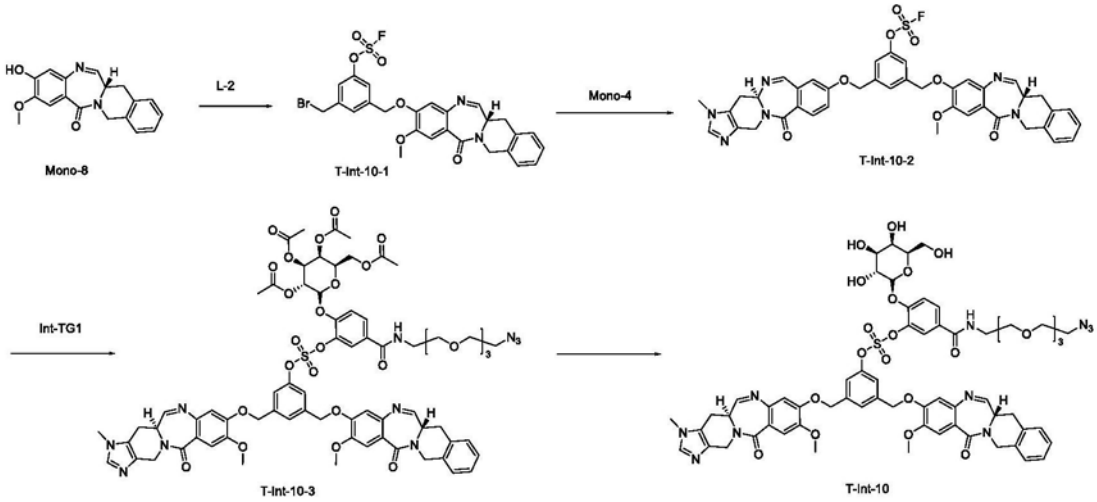
[1388] EI-MS m/z:1952(M^++1),976(M^+/2+1)

[1389] 化合物T-Int-9的制备

[1390] 产率为31％，白色固体。

[1391] EI-MS m/z:2128(M^++1),1064(M^+/2+1)

[1392] 实施例56:化合物T-Int-10的制备

[1393] 

[1394] 化合物T-Int-10-1的制备

[1395] 在室温下在N_2气氛下，用K_2CO_3(45mg,0.347mmol)处理化合物Mono-8(100mg,0.324mmol)和L-2(352.2mg,0.972mmol)在DMF(2.0mL)中的黄色溶液，并搅拌7小时。将反应物用水(10mL)稀释，并用EA(30mL×2)萃取。将有机层用2N HCl(5mL)洗涤，经无水硫Na_2SO_4干燥，过滤并减压浓缩。将残留物通过柱色谱(MeOH/DCM＝0％至3％)纯化，得到为黄色固体的化合物T-Int-10-1(136.7mg,71％)。

[1396] EI-MS m/z:590(M^++1)。

[1397] 化合物T-Int-10-2的制备

[1398] 在室温下在N_2气氛下，用K_2CO_3(11.7mg,0.085mmol)处理化合物T-Int-10-1(25mg,0.042mmol)和Mono-4(13.2mg,0.042mmol)在DMF(2mL)中的澄清溶液，并搅拌7小时。将反应混合物通过制备型HPLC(0.1％的甲酸水溶液/0.1％的于ACN中的甲酸)纯化，得到为白色固体的化合物T-Int-10-2(11.1mg,32％)。

[1399] EI-MS m/z:821(M^++1)。

[1400] 化合物T-Int-10-3的制备

[1401] 在室温下在N_2气氛下，用BEMP(2.6μL,0.009mmol)处理化合物T-Int-10-2(18.1mg,0.022mmol)和化合物Int-TG1(21.1mg,0.026mmol)在ACN(3mL)中的澄清溶液，并搅拌6小时。将反应混合物通过制备型HPLC(0.1％的甲酸水溶液/0.1％的于ACN中的甲酸)纯化，得到为乳白色固体的化合物T-Int-10-3(15mg,46％)。

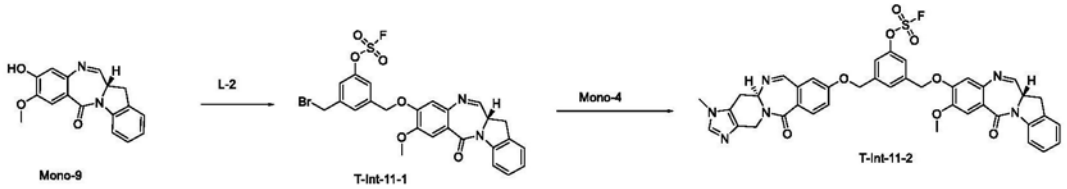
[1402] EI-MS m/z:1486(M^++1)。

[1403] 化合物T-Int-10的制备

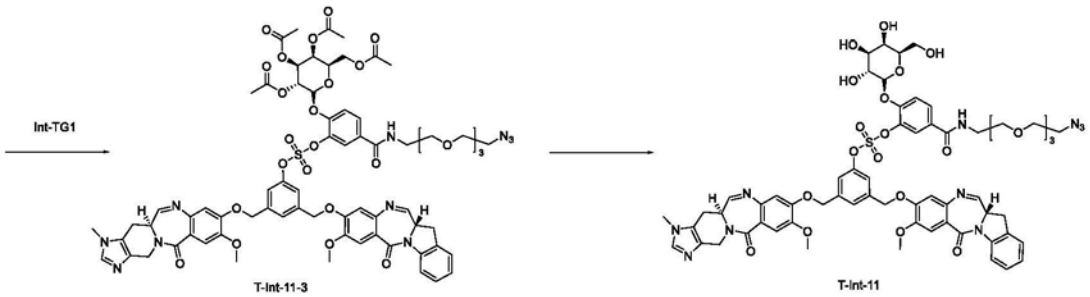
[1404] 在0℃下在N_2气氛下，用K_2CO_3(8.6mg,0.063mmol)处理化合物T-Int-10-3(13.2mg,0.009mmol)在MeOH(2mL)中的混浊溶液，并搅拌30分钟。将反应混合物通过制备型HPLC(0.1％的甲酸水溶液/0.1％的于ACN中的甲酸)纯化，得到为白色固体的化合物T-Int-10(7.4mg,63％)。

[1405] EI-MS m/z:1318(M^++1)。

[1406] 实施例57:化合物T-Int-11的制备



[1407]



[1408] 以类似于实施例56的化合物T-Int-10的制备方法的方式合成化合物T-Int-11。

[1409] 化合物T-Int-11-1的制备

[1410] 产率为52%,白色固体。

[1411] EI-MS m/z:576(M^++1)。

[1412] 化合物T-Int-11-2的制备

[1413] 产率为29%,黄色固体。

[1414] EI-MS m/z:807(M^++1)。

[1415] 化合物T-Int-11-3的制备

[1416] 产率为66%,黄色固体。

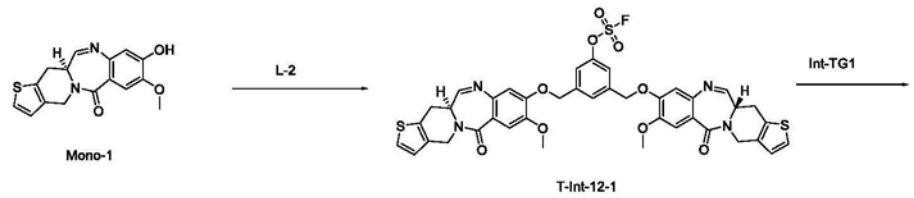
[1417] EI-MS m/z:1472(M^++1)。

[1418] 化合物T-Int-11的制备

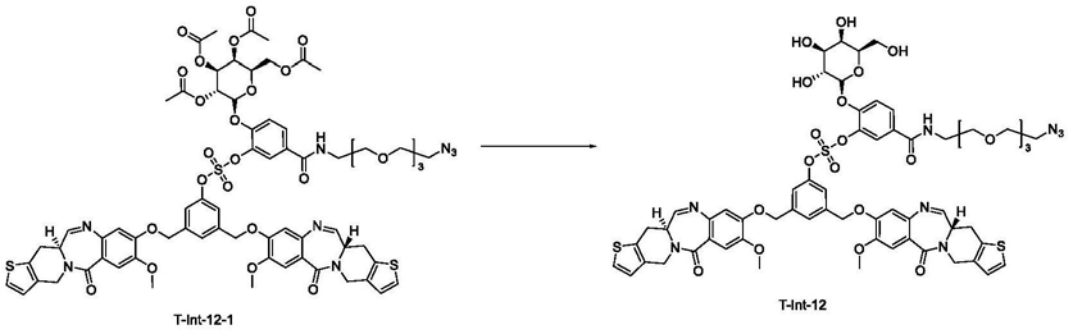
[1419] 产率为57%,黄色固体。

[1420] EI-MS m/z:1304(M^++1)。

[1421] 实施例58:化合物T-Int-12的制备



[1422]



[1423] 以类似于实施例48的化合物T-Int-1的制备方法的方式合成化合物T-Int-12。

[1424] 化合物T-Int-12-1的制备

[1425] 产率为66%,乳白色固体。

[1426] EI-MS m/z:829(M^++1)。

[1427] 化合物T-Int-12-2的制备

[1428] 产率为64%,黄色固体。

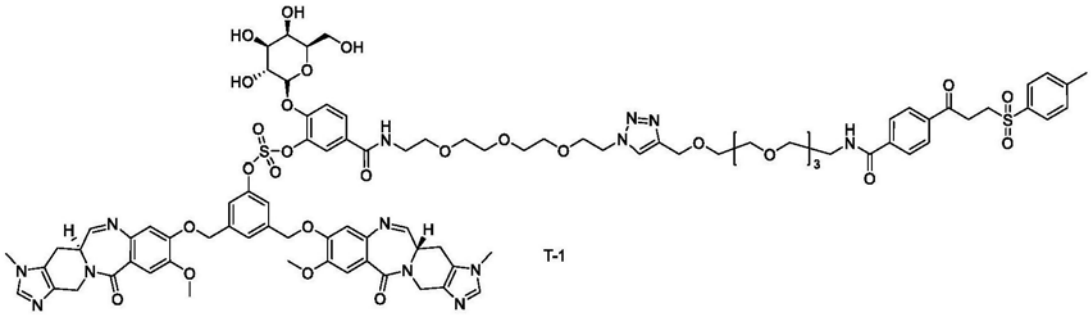
[1429] EI-MS m/z:1494(M^++1)。

[1430] 化合物T-Int-12的制备

[1431] 产率为71%,黄色固体。

[1432] EI-MS m/z:1326(M^++1)。

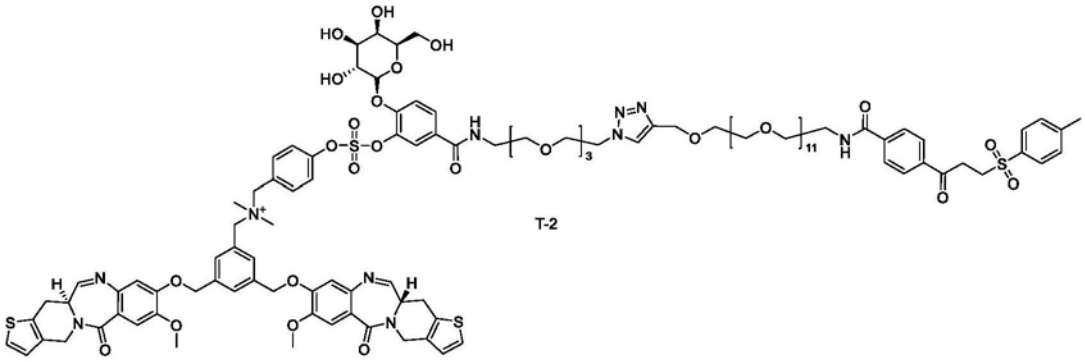
[1433] 实施例59:化合物T-1的制备

[1434] 

[1435] 向T-Int-1(2.3mg,0.002mmol)在DMSO(2mL)中的溶液中加入$(BimC_4A)_3$(1348μL,5mM),然后加入CuBr溶液(189μL,100mM)。将混合物搅拌2分钟。向其中加入DMSO(674μL)中的化合物MPS-D2(3.7mg,0.007mmol),然后搅拌10分钟。反应完成后,将混合溶液通过制备型HPLC分离和纯化,得到化合物T-1(1.0mg,32%)。

[1436] EI-MS m/z:1868(M^++1)。

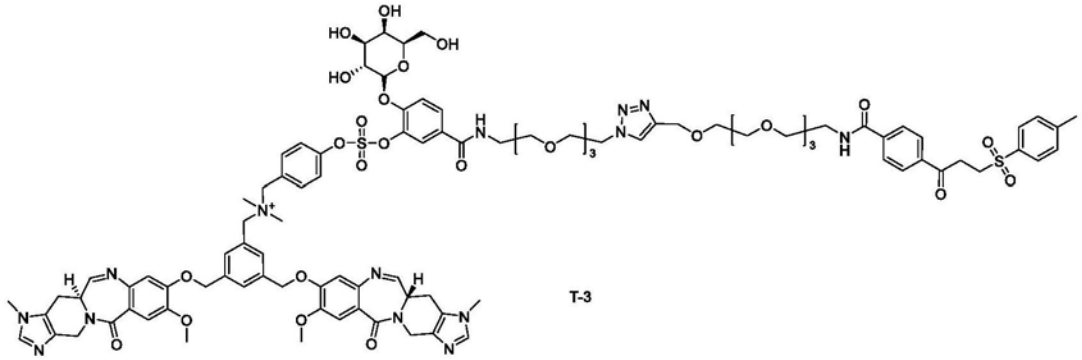
[1437] 实施例60:化合物T-2的制备

[1438] 

[1439] 向化合物T-Int-2(2.4mg,0.002mmol)在DMSO(337μL)中的溶液中加入$(BimC_4A)_3$(1348μL,5mM),然后加入CuBr溶液(189μL,100mM)。将混合物搅拌2分钟。向其中加入DMSO(673μL)中的化合物MPS-D3(5.7mg,0.006mmol),然后搅拌10分钟。反应完成后,将混合溶液通过制备型HPLC分离和纯化,得到化合物T-2(1.3mg,34%)。

[1440] EI-MS m/z:2371(M^++1)。

[1441] 实施例61:化合物T-3的制备

[1442] 

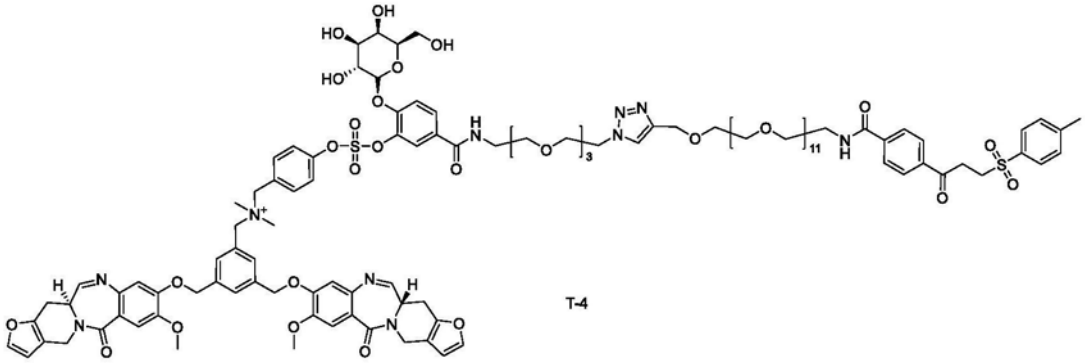
T-3

[1443] 以类似于实施例60的化合物T-2的制备方法的方式合成化合物T-3。

[1444] 产率为34％。

[1445] EI-MS m/z:2371(M+1)。

[1446] 实施例62:化合物T-4的制备

[1447] 

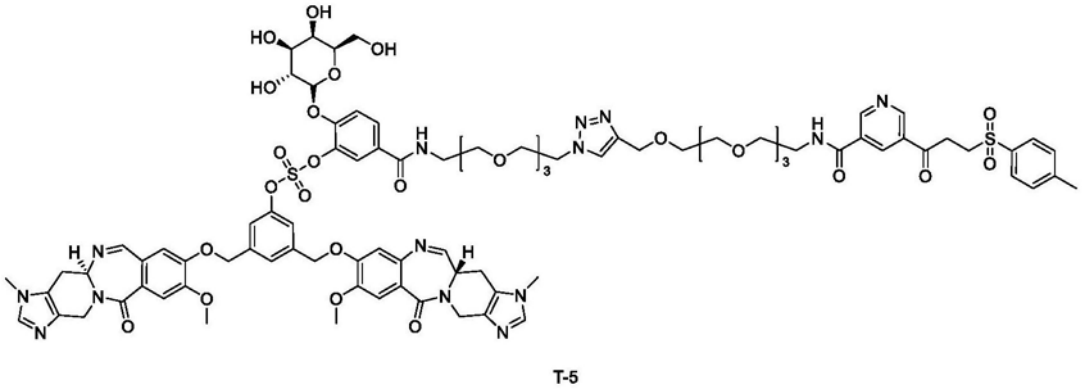
T-4

[1448] 以类似于实施例60中所述的方式合成化合物T-4。

[1449] 产率为24％

[1450] EI-MS m/z:2339(M+1)。

[1451] 实施例63:化合物T-5的制备

[1452] 

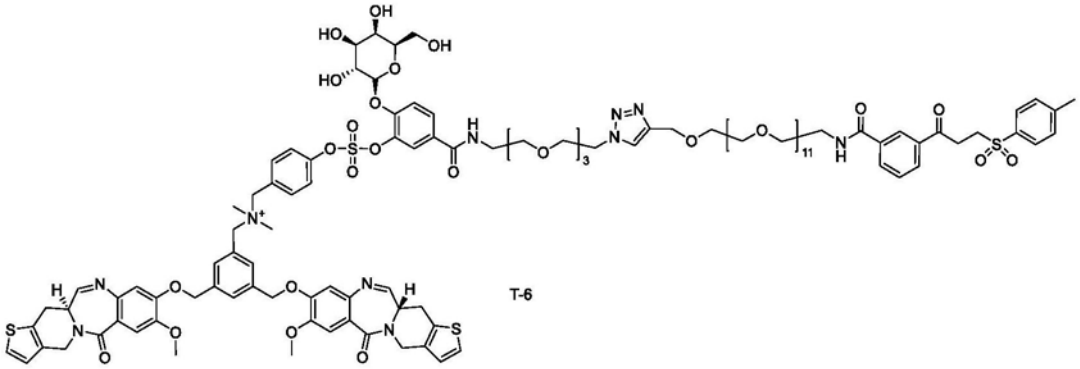
T-5

[1453] 以类似于实施例60中所述的方式合成化合物T-5。

[1454] 产率为15％,白色固体。

[1455] EI-MS m/z:1869(M+1)。

[1456] 实施例64:化合物T-6的制备

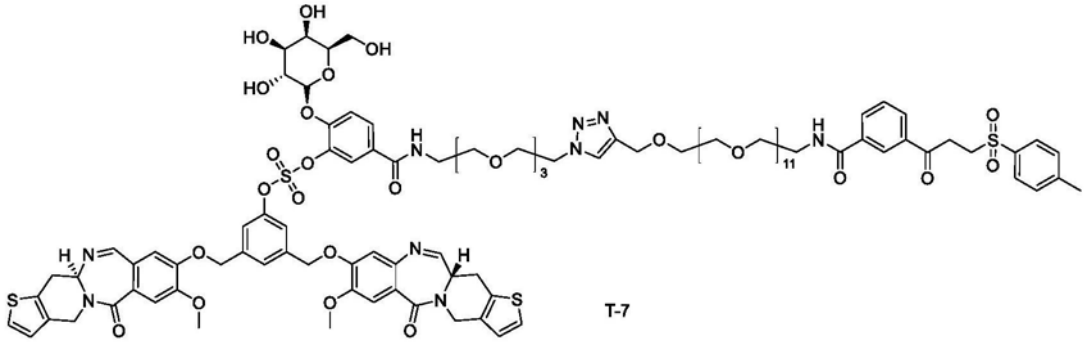
[1457] 

[1458] 以类似于实施例60的化合物T-2的制备方法的方式合成化合物T-6。

[1459] 产率为79％,白色固体。

[1460] EI-MS m/z:2372(M^++1),1186(M^+/2+1)。

[1461] 实施例65:化合物T-7的制备

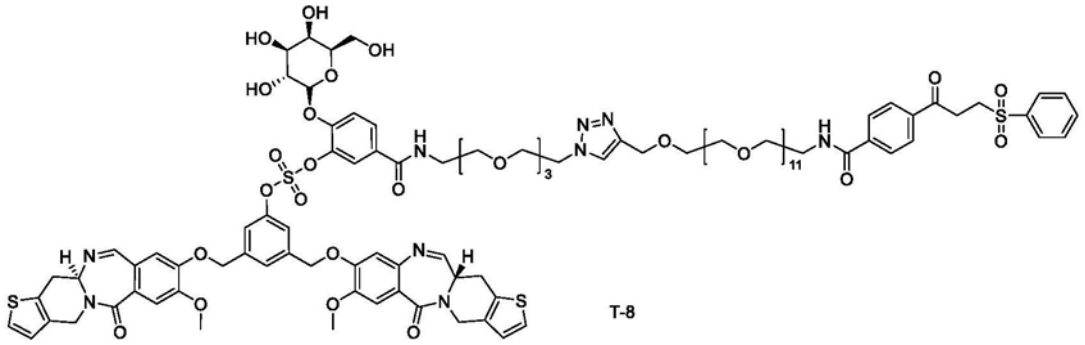
[1462] 

[1463] 以类似于实施例59的化合物T-1的制备方法的方式合成化合物T-7。

[1464] 产率为66％,白色固体

[1465] EI-MS m/z:2224(M^++1),1112(M^+/2+1)。

[1466] 实施例66:化合物T-8的制备

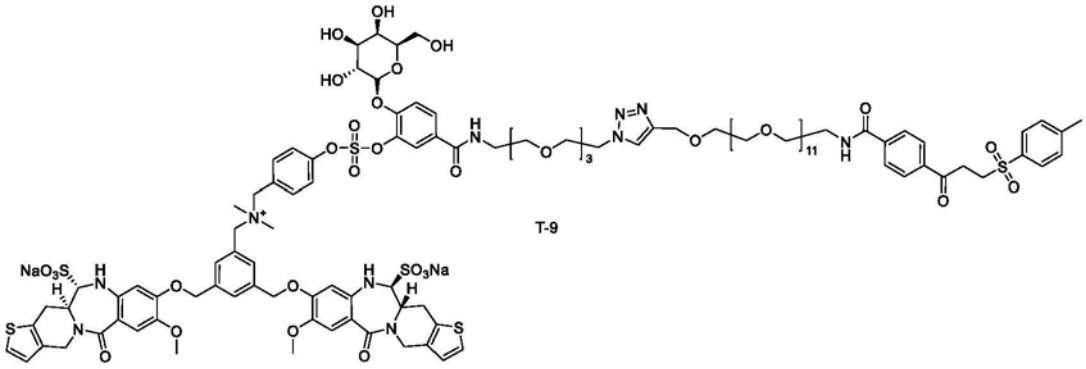
[1467] 

[1468] 以类似于实施例59的化合物T-1的制备方法的方式合成化合物T-8。

[1469] 产率为65％,白色固体

[1470] EI-MS m/z:2224(M^++1),1112(M^+/2+1)。

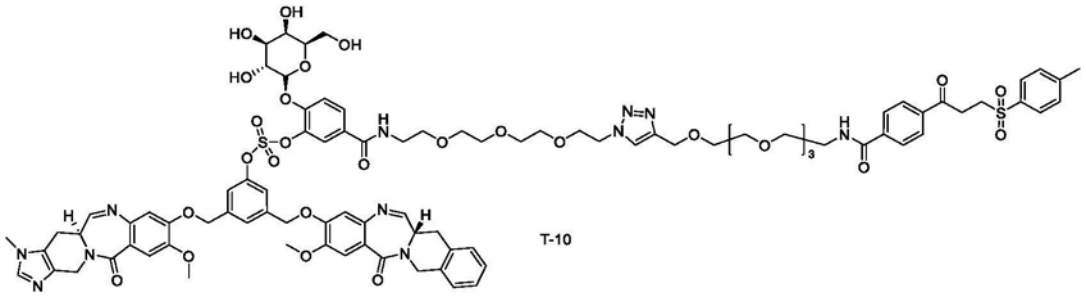
[1471] 实施例67:化合物T-9的制备

[1472] 

[1473] 将化合物T-2(1.3mg,0.0005mmol)、H_2O(25μL)和亚硫酸氢钠(65.7%,0.16mg,0.0010mmol)在IPA(50μL)中的澄清溶液在室温下在N_2气氛下搅拌6小时。将混合物冻干,得到为黄色固体的化合物T-9(1.3mg,92%)。

[1474] EI-MS m/z:2580(M^++1)。

[1475] 实施例68:化合物T-10的制备

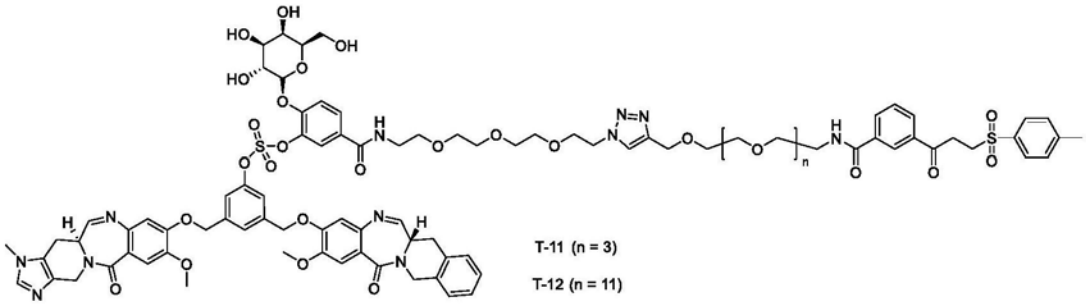
[1476] 

[1477] 以类似于实施例59的化合物T-1的制备方法的方式合成化合物T-10。

[1478] 产率为59%,白色固体

[1479] EI-MS m/z:1864(M^++1),932(M^+/2+1)。

[1480] 实施例69:化合物T-11和T-12的制备

[1481] 

[1482] 以类似于实施例59的化合物T-1的制备方法的方式合成化合物T-11和T-12。

[1483] 化合物T-11的制备

[1484] 产率为32%,白色固体

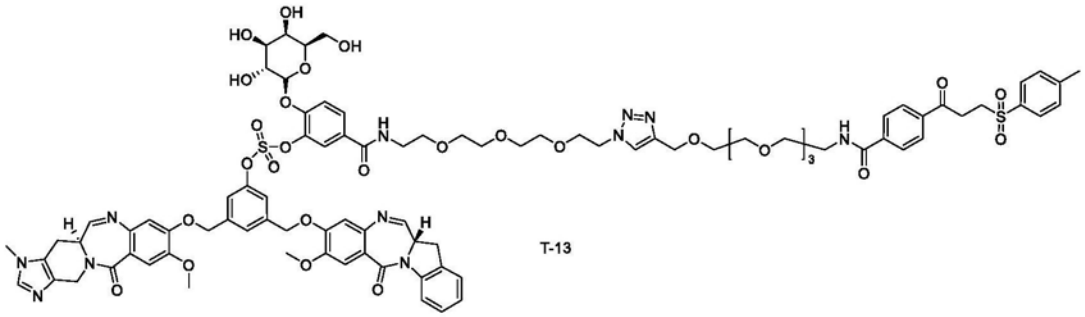
[1485] EI-MS m/z:1864(M^++1),932(M^+/2+1)。

[1486] 化合物T-12的制备

[1487] 产率为50%,白色固体

[1488] EI-MS m/z:2216(M^++1),1108(M^+/2+1)。

[1489] 实施例70:化合物T-13的制备

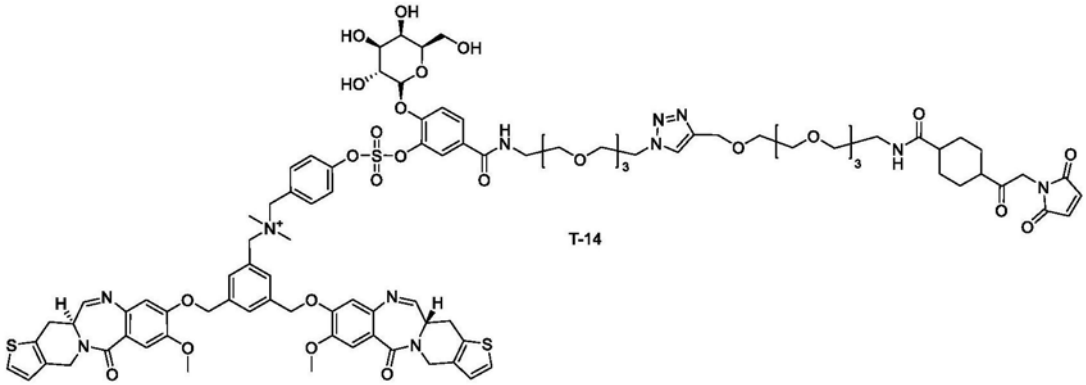
[1490] 

[1491] 以类似于实施例59的化合物T-1的制备方法的方式合成化合物T-13。

[1492] 产率为75%,白色固体

[1493] EI-MS m/z:1849(M^++1),925(M^+/2+1)。

[1494] 实施例71:化合物T-14的制备

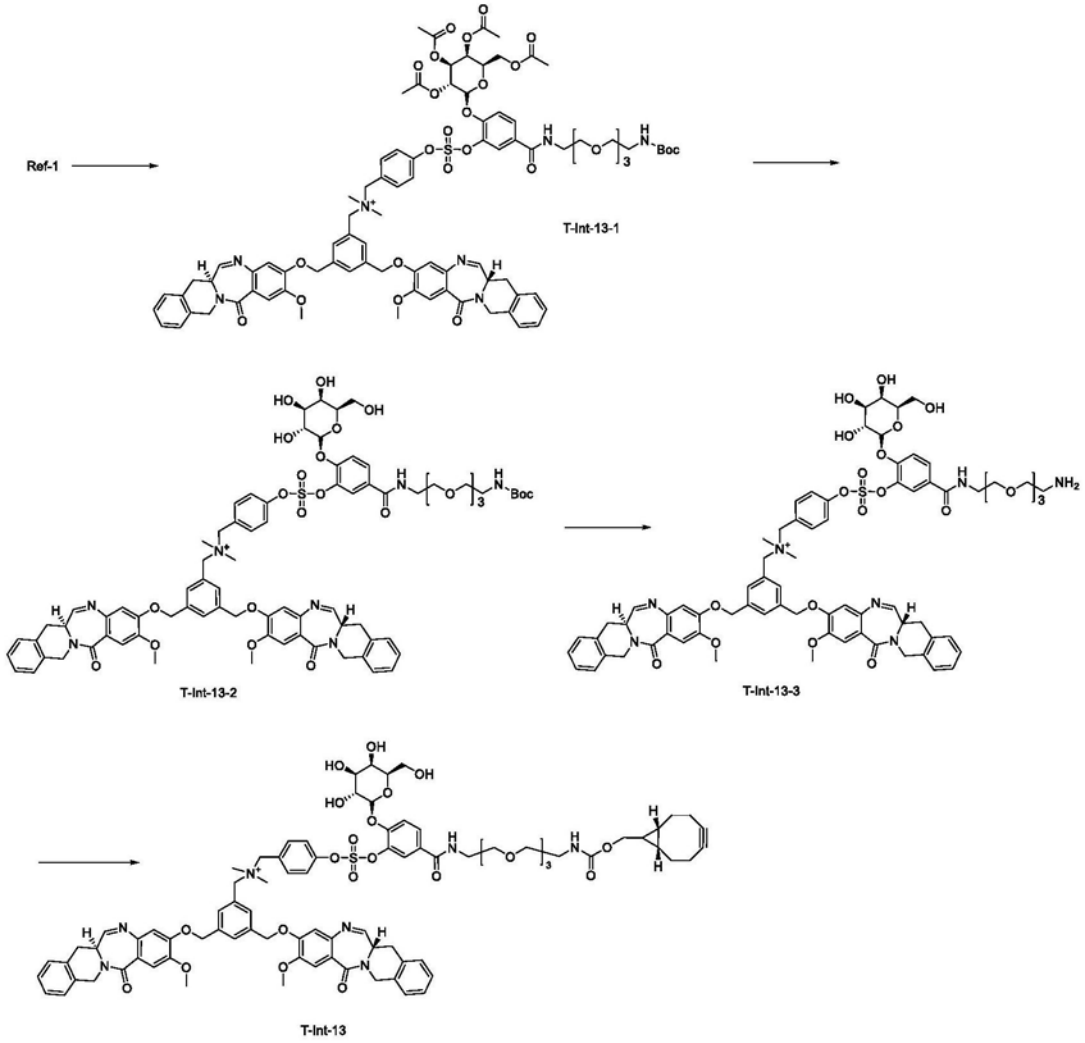
[1495] 

[1496] 以类似于实施例61的化合物T-3的制备方法的方式合成化合物T-14。

[1497] 产率为65%,白色固体

[1498] EI-MS m/z:1925(M^++1),963(M^+/2+1)。

[1499] 实施例72:化合物T-Int-13的制备

[1500] 

[1501] 以类似于实施例53的化合物T-Int-6的制备方法的方式合成化合物T-Int-13。

[1502] 化合物T-Int-13-1的制备

[1503] 产率为70%,白色固体

[1504] EI-MS m/z:1704(M^++1)。

[1505] 化合物T-Int-13-2的制备

[1506] 产率为81%,白色固体

[1507] EI-MS m/z:1536(M^++1)。

[1508] 化合物T-Int-13-3的制备

[1509] 产率为81%,乳白色固体

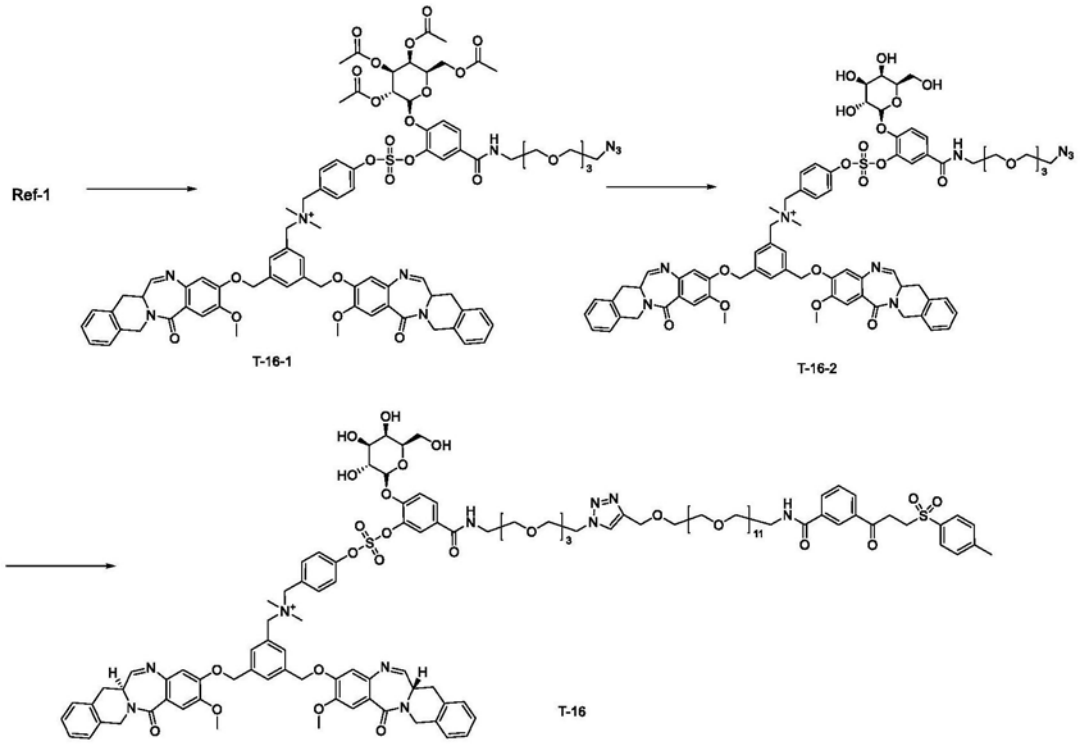
[1510] EI-MS m/z:1436(M^++1)。

[1511] 化合物T-Int-13的制备

[1512] 产率为81%,米色固体

[1513] EI-MS m/z:1612(M^++1)。

[1514] 实施例73:化合物T-16的制备

[1515] 

[1516] 以类似于实施例49的化合物T-Int-2的制备方法的方式合成化合物T-16-2。

[1517] 化合物T-16-1的制备

[1518] 产率为71％。

[1519] EI-MS m/z:1630(M^{+1})。

[1520] 化合物T-16-2的制备

[1521] 产率为60％。

[1522] EI-MS m/z:1462(M^{+1})。

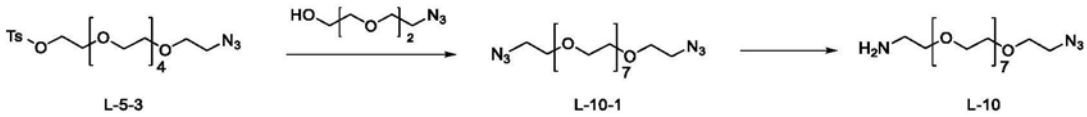
[1523] 以类似于实施例59的化合物T-1的制备方法的方式合成化合物T-Int-16。

[1524] 化合物T-16的制备

[1525] 产率为69％,浅黄色固体。

[1526] EI-MS m/z:2360(M^{+}+1),1180($M/2^{+}$+1)。

[1527] 实施例74:化合物L-10的制备

[1528] 

[1529] 以类似于实施例33的化合物L-5的制备方法的方式合成化合物L-10。

[1530] 化合物L-10-1的制备

[1531] 产率为96％,无色油状物。

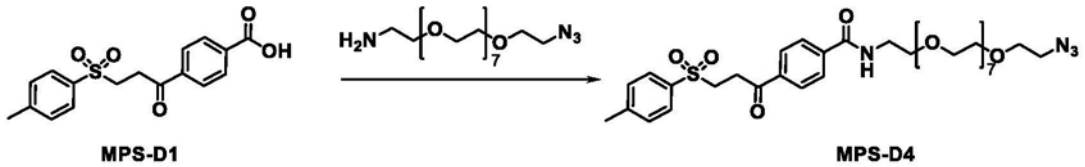
[1532] ^{1}H NMR(600MHz,$CDCl_3$)δ3.67-3.63(m,32H),3.37(t,J＝5.2Hz,4H);EI-MS m/z:465(M^{+}+1)。

[1533] 化合物L-10的制备

[1534] 产率为97％,无色油状物。

[1535] EI-MS m/z:439(M^{+}+1)。

[1536] 实施例75:化合物MPS-D4的制备

[1537] 

[1538] 以类似于实施例44中所述的方式合成化合物MPS-D4。

[1539] 化合物MPS-D4的制备

[1540] 产率为53%,黄色油状物。

[1541] EI-MS m/z:753(M^++1)。

[1542] 生物测试

[1543] 实施例76:苯并二氮杂䓬二聚体衍生物的体外分析

[1544] 将NCI-N87癌细胞以25x 10^3个细胞/1mL培养基/孔接种到24孔板中。将板在37℃下于潮湿的5%的大气中的CO_2气氛中孵育24小时。最初将苯并二氮杂䓬二聚体衍生物以10mM的浓度溶解在DMSO中。在DMSO中进行系列稀释。将DMSO中的系列化合物稀释液以5μL/孔加入到24孔板的一式三份孔中。每个单独的板上的三个孔接受5μL无化合物的DMSO作为对照。每孔DMSO的最终浓度为0.5%。将板在37℃下于潮湿的5%的大气中的CO_2气氛中孵育6天。通过MTT测定法测定细胞活力,使用S型剂量-反应非线性回归曲线拟合(GraphPad Software Inc.)生成IC_{50}。其结果如图1、图2、图3和表2所示。表2.苯并二氮杂䓬二聚体衍生物的体外生物学分析

[1545]

	NCI-N87(IC_{50} nM)
D-101	17.8±6.6
D-102	4.993±0.785
D-103	0.0472±0.010
D-104	0.013±0.003
D-105	0.933±0.344
D-106	28.87±14.96
D-107	0.013±0.002
D-108	0.008±0.001
D-109	0.025±0.010
D-110	587.9±223.1
D-111	9.985±2.434
D-112	1.410±0.567
D-113	2.139±0.365
D-114	1.888
Ref-1	0.013±0.003
Ref-2	0.0089±0.002
Ref-3	0.025±0.018
MMAF-OMe	0.182

[1546] 实施例77:缀合物的制备

[1547] 用于缀合的抗体的还原/氧化:用约20-50倍过量的在含有1mM EDTA的4mM Tris pH 7.3中的TCEP(三(2-羧乙基)膦盐酸盐)或DTT(二硫苏糖醇)在37℃下还原半胱氨酸工程化单克隆抗体,持续1小时。将还原的硫代单抗(thiomab)稀释并加载到PBS中的PD-10柱上。用pH 7.3的10mM PBS洗脱该柱。通过空气氧化重新建立洗脱的还原的硫代单抗。通过从溶液的280nm处的吸光度确定还原的抗体的浓度以及通过与DTNB(Aldrich,CAS No D8130)的反应和412nm处的吸光度的测定确定硫醇浓度来检查硫醇/Ab值。

[1548] 缀合方法:在还原和再氧化反应后,将抗体溶解在PBS中。用还原的、再氧化的抗体(44μL,0.080mmol)处理实施例59中获得的化合物T-1(5.62μL,3.0mmol,作为接头-毒素中间体)在DMSO中的溶液,并在室温下温和搅拌3小时。将羟胺(5.62μL,1,500mmol)加入到反应混合物的溶液中,并在37℃下孵育8小时,以阻断可逆的解偶联反应。加载缀合混合物,并通过PD-10柱洗脱,以除去过量的药物-接头中间体和其它杂质。将混合物通过离心超滤浓缩,将缀合物用HIC NPR柱(TOSOH#0007656TSKgel Phenyl-5PW,21.5x150mm,13μm)纯化,并以0.8ml/min利用40%至100%的B的线性梯度(A缓冲液1.5M的于50mM磷酸钠(pH 7.0)中的硫酸铵;B缓冲液20%的于50mM磷酸钠(pH 7.0)中的乙腈)洗脱。

[1549] 将实施例59、实施例60、实施例61和实施例62中获得的化合物T-1、T-2、T-3和T-4用于与曲妥珠单抗(抗HER2)的工程化半胱氨酸的巯基进行缀合反应,从而参考文献中给出的方法分别将T-1-AB、T-2-AB、T-3-AB和T-4-AB制备为硫代单抗药物缀合物(TDC)。[参见Nature Biotechnology,2008,26,925-932;Bioconjugate Chem.,2013,24,1256-1263;Bioconjugate Chem.,2016,27,1324-1331;Bioconjugate Chem.2014,25,460-469]。通过HIC分析缀合的抗体的DAR(药物与抗体的比率),分析结果如表3中所示。

[1550] 表3.抗体-药物缀合物(ADC)

[1551]

ADC	DAR	接头-毒素,实施例
T-1-AB	1.52	T-1,实施例59
T-2-AB	1.00	T-2,实施例60
T-3-AB	1.26	T-3,实施例61
T-4-AB	1.40	T-4,实施例62

[1552] 实施例78:蛋白质-药物缀合物的体外分析

[1553] 将NCI-N87癌细胞以每孔5000个细胞的密度接种在96孔板中的100μL培养基中,并培养24小时。通过从50nM至0.0003nM的1:4系列稀释液处理实施例77中的四种化合物ADC,并且通过从50nM至0.0007nM的1:4系列稀释液处理抗体药物缀合物T-DM1。将DMSO中的系列化合物稀释液以5μL/孔加入到24孔板的一式三份孔中。每个单独的板上的三个孔接受5μL无化合物的DMSO作为对照。每孔DMSO的最终浓度为0.5%。将板在37℃下于潮湿的5%的大气中的CO_2气氛中孵育6天。通过MTT测定法测定细胞活力,使用S型剂量-反应非线性回归曲线拟合(GraphPad software Inc.)生成IC_{50}。

[1554] 化合物T-1-AB、T-2-AB、T-3-AB和T-4-AB的体外分析结果如图4、图5、图6、图7和表4所示。

[1555] 表4.抗体-药物缀合物的细胞毒性

[1556]

ADC	DAR	NCI-N87(IC_{50} nM)

T-1-AB	1.52	0.121
T-2-AB	1.00	0.013
T-3-AB	1.26	0.912
T-4-AB	1.40	0.044
T-DM1	3.5	0.213±0.120

[1557] (*T-DM1:Roche CAS号;1018448-65-1)

[1558] 实施例79:溶解度测试

[1559] 使用分析型HPLC进行溶解度研究,以检查D-102、D-103、D-104、D-105、D-106和D-107在保留时间上的相对溶解度。通过HPLC分析这些化合物的保留时间,分析结果如表5所示。

[1560] 表5.酸性(0.1%TFA)下的HPLC保留时间*

[1561]

毒素	保留时间(min)	毒素	保留时间(min)
Ref 3	10.00	Ref 1	9.30
D-102	6.50	D-104	8.98
D-103	9.75	D-106	6.02
D-105	8.05	D-107	8.60

[1562] (*使用Thermo Scientific RP-C18分析型HPLC柱(Hypersil Gold,50X4.6mm)和以下分析型HPLC方法在Waters Alliance LC/MS系统上测定保留时间:注射体积5μL;流速1mL/min;在15分钟内,从5%→95%的含有0.1%TFA的ACN水溶液;在γ=214nm下的Waters二极管阵列检测器;室温)。

[1563] 通过引用并入

[1564] 将在本文中提及的所有出版物和专利都通过引用以其整体特此并入,如同指明每个单独的出版物或专利被具体地并且单独地通过引用并入。在冲突的情况下,将以本申请(包括本文中的任何定义)为准。

[1565] 等效方案

[1566] 尽管已经讨论了本发明的特定实施方案,但是以上说明书是说明性的而不是限制性的。在阅读本说明书和下面的权利要求书后,本发明的许多变化对本领域技术人员将变得显而易见。本发明的全部范围应通过参考权利要求书,连同其等效方案的全部范围,以及说明书连同此类变化来确定。

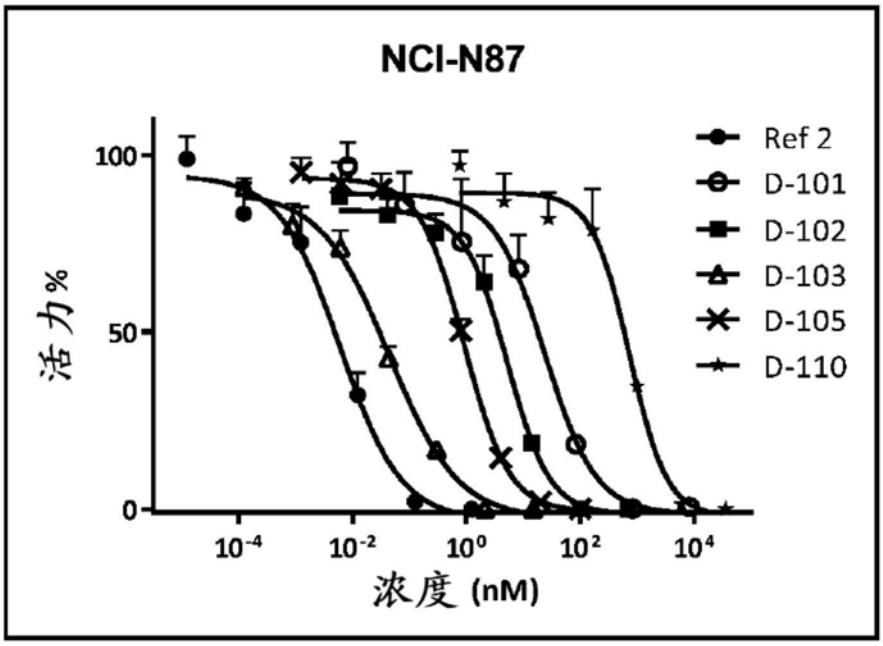

NCI-N87
Ref 2
D-101
D-102
D-103
D-105
D-110
活力%
100
50
0
10^{-4}
10^{-2}
10^{0}
10^{2}
10^{4}
浓度 (nM)

图1

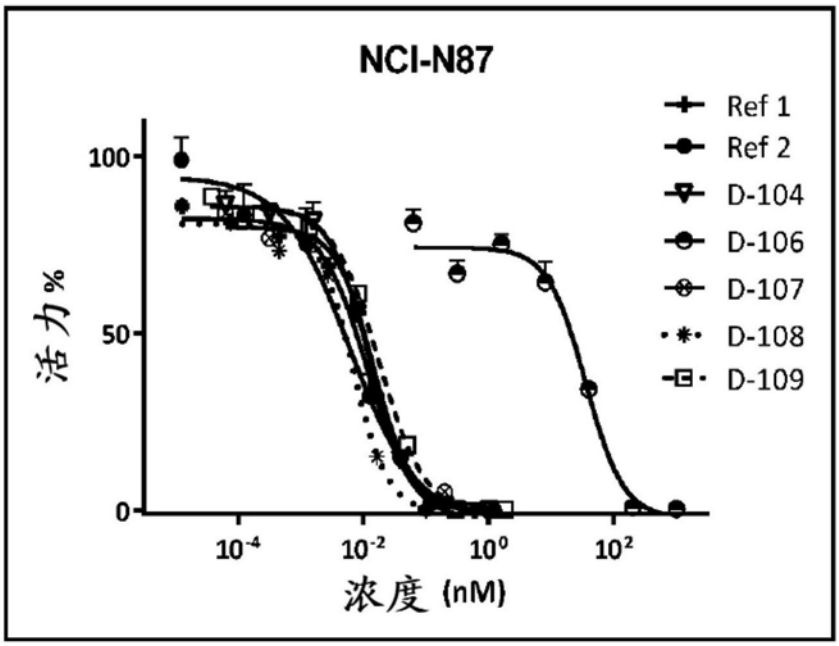

NCI-N87
Ref 1
Ref 2
D-104
D-106
D-107
D-108
D-109
活力%
100
50
0
10^{-4}
10^{-2}
10^{0}
10^{2}
浓度 (nM)

图2

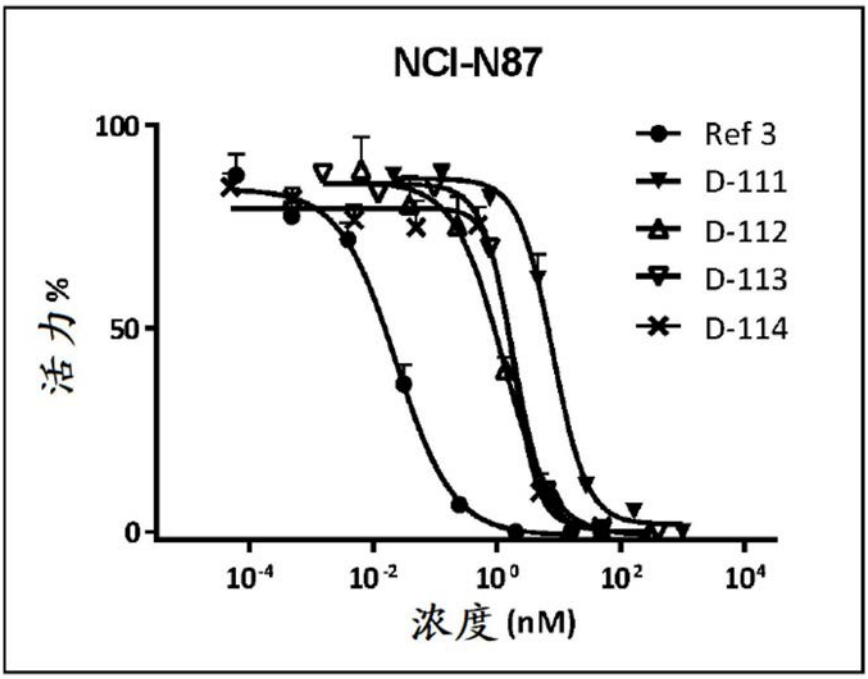

NCI-N87
100
50
0
活力%
Ref 3
D-111
D-112
D-113
D-114
10-4
10-2
100
102
104
浓度(nM)

图3

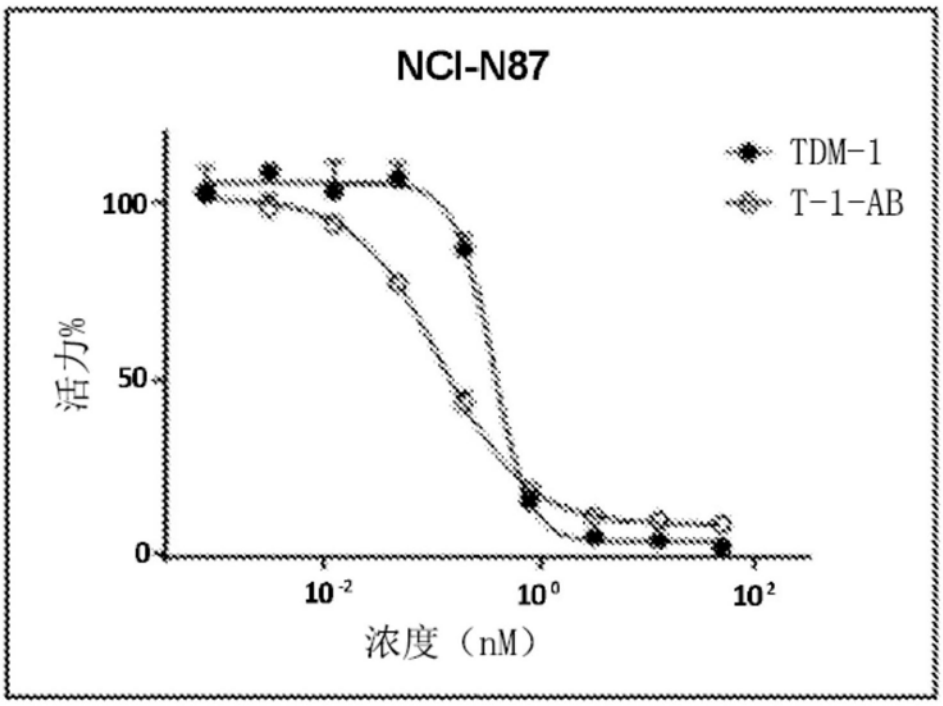

NCI-N87
100
50
0
活力%
TDM-1
T-1-AB
10-2
100
102
浓度（nM）

图4

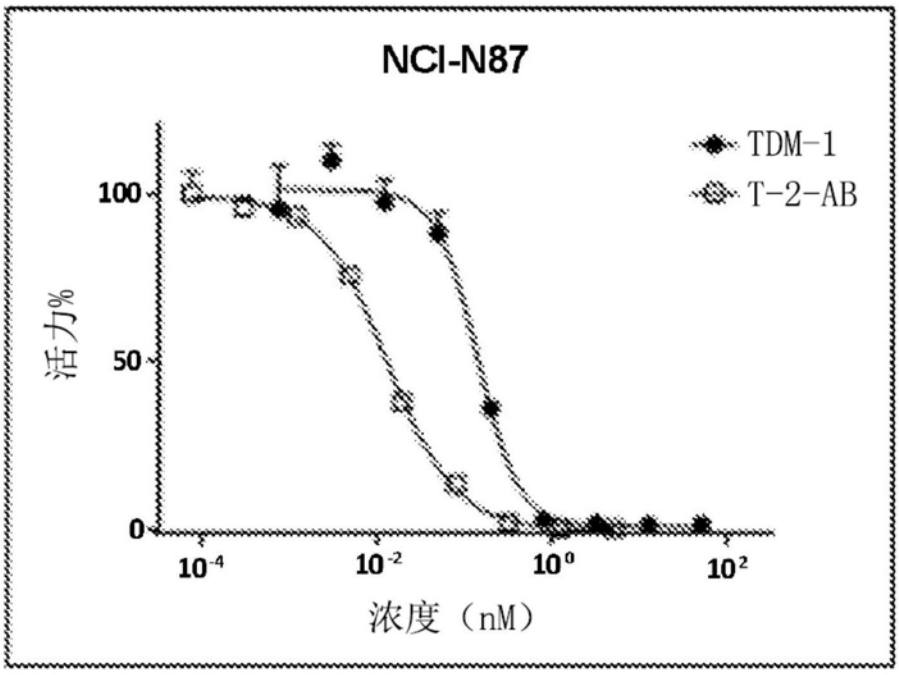

NCI-N87
TDM-1
T-2-AB
100
50
0
活力%
10^{-4}
10^{-2}
10^{0}
10^{2}
浓度（nM）

图5

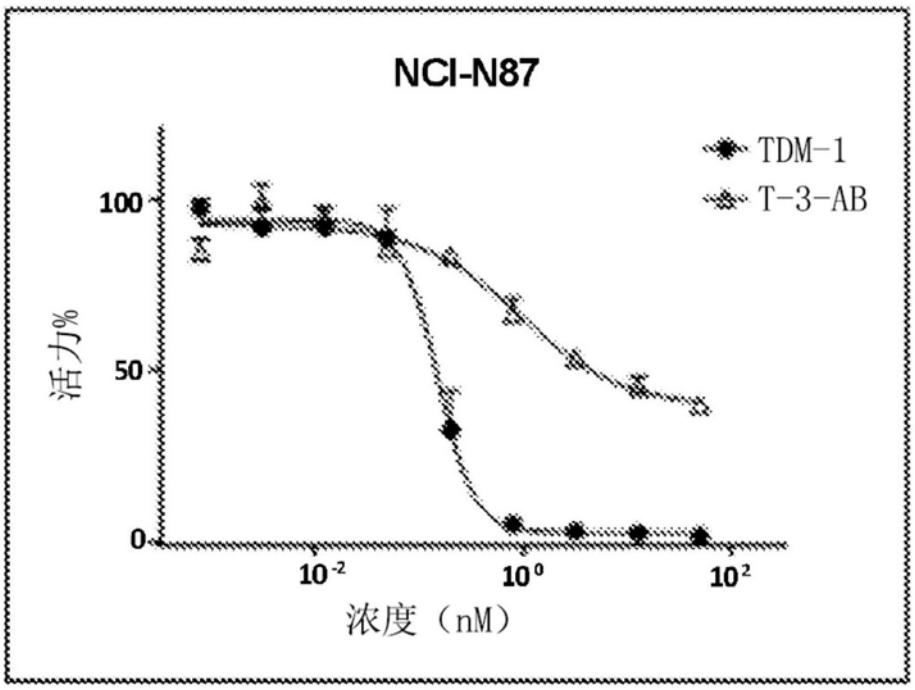

NCI-N87
TDM-1
T-3-AB
100
50
0
活力%
10^{-2}
10^{0}
10^{2}
浓度（nM）

图6

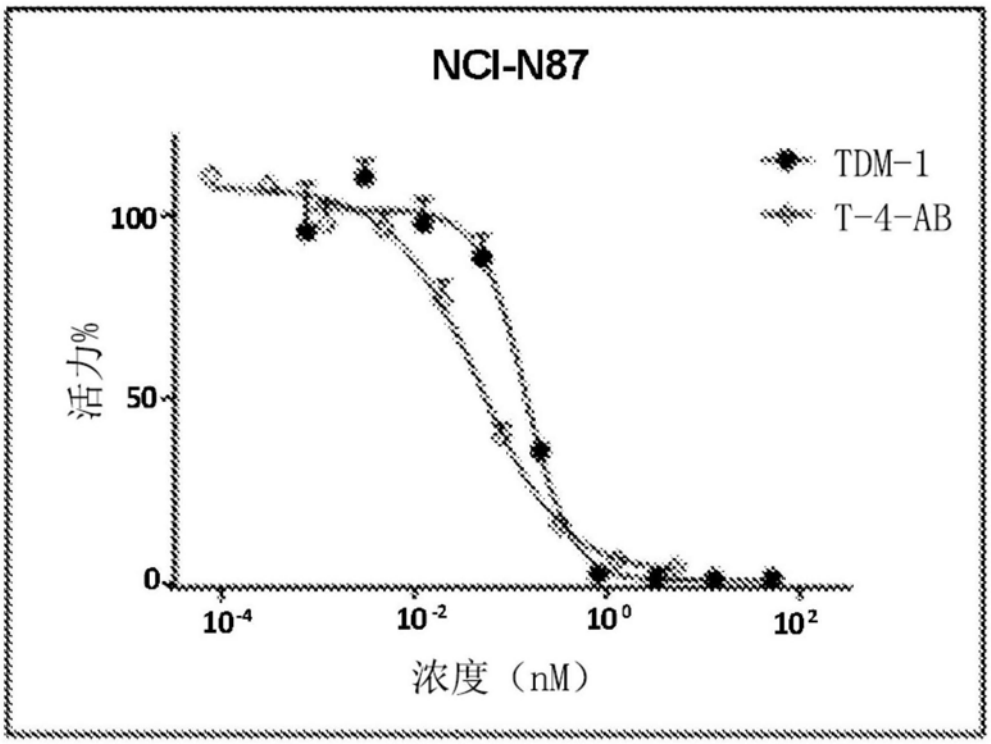


图7