



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102365021 B

(45) 授权公告日 2015. 07. 15

(21) 申请号 201080014211. 0

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所
11256

(22) 申请日 2010. 02. 04

代理人 陈文平

(30) 优先权数据

61/150, 201 2009. 02. 05 US

(51) Int. Cl.

C07D 487/04(2006. 01)

A61K 31/55(2006. 01)

A61P 35/00(2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2011. 09. 28

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2010/023150 2010. 02. 04

审查员 李杨军

(87) PCT国际申请的公布数据

W02010/091150 EN 2010. 08. 12

(73) 专利权人 伊缪诺金公司

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 李为 N·E·菲斯金 R·Y·赵

M·L·米勒 R·V·J·沙里

权利要求书17页 说明书116页 附图38页

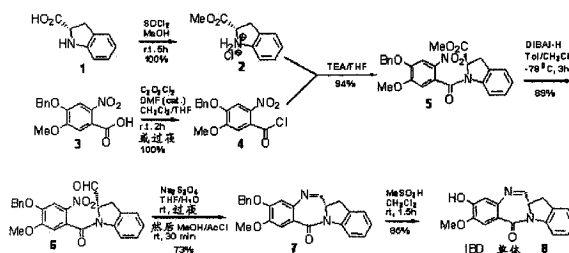
(54) 发明名称

新型苯并二氮杂萘衍生物

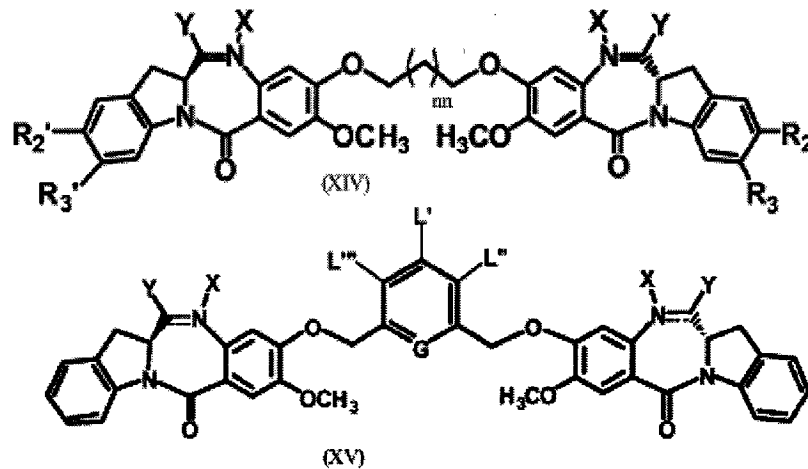
(57) 摘要

本发明涉及具有抗增殖活性的新型苯并二氮杂萘衍生物,更具体来说,涉及式(I)和(II)的新型苯并二氮杂萘,其中所述二氮杂萘环(B)与杂环(CD)稠合,其中所述杂环是二环的或涉及式(III)化合物,其中所述二氮杂萘环(B)与杂环(C)稠合,其中所述杂环是单环的。本发明提供这些化合物的细胞毒性二聚体。本发明还提供单体和二聚体的钹合物。本发明进一步提供用于在哺乳动物中抑制异常细胞生长或治疗增殖性病征的组合物以及使用本发明的化合物或钹合物对在哺乳动物中抑制异常细胞生长或治疗增殖性病征有用的方法。本发明进一步涉及将化合物或钹合物用于体外、原位和体内诊断或治疗哺乳动物细胞或相关的病理状态的方法。

IBD 单体 8 的合成路线



1. 选自式 (XIV) 和 (XV) 的化合物或其可药用的盐：



其中

在 N 和 C 之间的双线 \equiv 表示单键或双键，条件是当其为双键时，X 不存在并且 Y 是 -H，并且当其为单键时，X 是 -H 或选自乙酰基、三氟乙酰基、叔丁氧羰基 (BOC)、苄氧羰基 (CBZ) 和 9- 芴甲氧羰基 (Fmoc) 的氨基保护部分；

Y 选自 OH、由 -OR 表示的醚、亚硫酸根 $-\text{SO}_3^-$ 或 $-\text{OSO}_3^-$ ，其中 R 选自具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；

nn 为 0 或 1 至 5 的整数；

式 (XIV) 中的 R_2 、 R_3 、 R_2' 和 R_3' 中的一个为连接基团，且其它是 H 或 NO_2 ；

式 (XV) 中的 L' 、 L'' 或 L''' 中的一个为连接基团，且其它的是 H；以及

G 是 CH 或 N。

2. 权利要求 1 的化合物，其中 R_2 、 R_3 、 R_2' 、 R_3' 、 L' 、 L'' 、 L''' 中的一个独立地选自：

$-\text{O}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p''\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}''$ 、

$-\text{O}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{CR}_{26}=\text{CR}_{27})_m'(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p''\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}''$ 、

$-\text{O}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{炔基})_n(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p''\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}''$ 、

$-\text{O}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{哌嗪并})_t(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p''\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}''$ 、

$-\text{O}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{吡咯并})_t(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p''\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}''$ 、

$-\text{O}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m\text{A}''_m''(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p''\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}''$ 、

$-\text{S}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p''\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}''$ 、

$-\text{S}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{CR}_{26}=\text{CR}_{27})_m'(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p''\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}''$ 、

$-\text{S}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{炔基})_n(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p''\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}''$ 、

$-\text{S}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{哌嗪并})_t(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p''\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}''$ 、

$-\text{S}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{吡咯并})_t(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p''\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}''$ 、

$-\text{S}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m\text{A}''_m''(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p''\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}''$ 、

$-\text{NR}_{33}(\text{C}=\text{O})_p''(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p''\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}''$ 、

$-\text{NR}_{33}(\text{C}=\text{O})_p''(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{CR}_{26}=\text{CR}_{27})_m'(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p''\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}''$ 、

$t\text{X}''$ 、

$-\text{NR}_{33}(\text{C}=\text{O})_{\text{p}}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_{\text{m}}(\text{炔基})_{\text{n}}(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_{\text{n}}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{p}}(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_{\text{p}}\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_{\text{q}}(\text{CO})_{\text{t}}\text{X}''$ 、
 $-\text{NR}_{33}(\text{C}=\text{O})_{\text{p}}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_{\text{m}}(\text{哌嗪并})_{\text{t}}(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_{\text{n}}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{p}}(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_{\text{p}}\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_{\text{q}}(\text{CO})_{\text{t}}\text{X}''$ 、
 $-\text{NR}_{33}(\text{C}=\text{O})_{\text{p}}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_{\text{m}}(\text{吡咯并})_{\text{t}}(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_{\text{n}}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{p}}(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_{\text{p}}\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_{\text{q}}(\text{CO})_{\text{t}}\text{X}''$ 、
 $-\text{NR}_{33}(\text{C}=\text{O})_{\text{p}}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_{\text{m}}\text{A}''_{\text{m}}(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_{\text{n}}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{p}}(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_{\text{p}}\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_{\text{q}}(\text{CO})_{\text{t}}\text{X}''$ 、
 $-(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_{\text{m}}(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_{\text{n}}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{p}}(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_{\text{p}}\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_{\text{q}}(\text{CO})_{\text{t}}\text{X}''$ 、
 $-(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_{\text{m}}(\text{CR}_{26}=\text{CR}_{27})_{\text{m}}(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_{\text{n}}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{p}}(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_{\text{p}}\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_{\text{q}}(\text{CO})_{\text{t}}\text{X}''$ 、
 $-(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_{\text{m}}(\text{炔基})_{\text{n}}(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_{\text{n}}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{p}}(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_{\text{p}}\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_{\text{q}}(\text{CO})_{\text{t}}\text{X}''$ 、
 $-(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_{\text{m}}(\text{哌嗪并})_{\text{t}}(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_{\text{n}}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{p}}(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_{\text{p}}\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_{\text{q}}(\text{CO})_{\text{t}}\text{X}''$ 、
 $-(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_{\text{m}}\text{A}''_{\text{m}}(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_{\text{n}}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{p}}(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_{\text{p}}\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_{\text{q}}(\text{CO})_{\text{t}}\text{X}''$ 、
 $-(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_{\text{m}}(\text{CR}_{29}=\text{N}-\text{NR}_{30})_{\text{n}}(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_{\text{n}}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{p}}(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_{\text{p}}\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_{\text{q}}(\text{CO})_{\text{t}}\text{X}''$ 、
 $-(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_{\text{m}}(\text{CR}_{29}=\text{N}-\text{NR}_{30})_{\text{n}}(\text{CR}_{26}=\text{CR}_{27})_{\text{m}}(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_{\text{n}}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{p}}(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_{\text{p}}\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_{\text{q}}(\text{CO})_{\text{t}}\text{X}''$ 、
 $-(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_{\text{m}}(\text{CR}_{29}=\text{N}-\text{NR}_{30})_{\text{n}}(\text{炔基})_{\text{n}}(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_{\text{n}}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{p}}(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_{\text{p}}\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_{\text{q}}(\text{CO})_{\text{t}}\text{X}''$ 、或

$-(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_{\text{m}}(\text{CR}_{29}=\text{N}-\text{NR}_{30})_{\text{n}}\text{A}''_{\text{m}}(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_{\text{n}}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{p}}(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_{\text{p}}\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_{\text{q}}(\text{CO})_{\text{t}}\text{X}''$ 、
 其中：

m 、 n 、 p 、 q 、 m' 、 n' 、 t' 是 1 至 10 的整数，或任选地是 0；

t 、 m'' 、 n'' 和 p'' 是 0 或 1；

X'' 选自 OR_{36} 、 SR_{37} 、 $\text{NR}_{38}\text{R}_{39}$ ，其中 R_{36} 、 R_{37} 、 R_{38} 、 R_{39} 是 H；具有 1 至 20 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；或聚乙二醇单元 $-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n$ ， R_{37} 任选地为选自乙酰基、苯甲酰基、三氟乙酰基、苄基、叔丁基、三苯基甲基、9-苄基、甲氧基甲基、2-四氢吡喃基、甲硅烷基、-S-甲基、-S-苄基、-S-叔丁基、-S-吡啶基、-S-硝基吡啶、-S-苯基、-S-硝基苯基、-S-二硝基苯基、叔丁氧羰基和 N-乙基氨基羰基的巯基保护基，或

当 $t = 1$ 时， COX'' 形成选自以下的反应性酯：N-羟基琥珀酰亚胺酯、N-羟基酞酰亚胺酯、N-羟基磺基-琥珀酰亚胺酯、对-硝基苯基酯、二硝基苯基酯、五氟苯基酯；

Y'' 不存在或选自 O、S、S-S 或 NR_{32} ，其中 R_{32} 具有与上文对于 R 给出的相同的定义，条件是

当 Y'' 不是 S-S 且 $t = 0$ 时， X'' 选自马来酰亚胺基团、卤代乙酰基或 SR_{37} ；

A'' 是选自甘氨酸、丙氨酸、亮氨酸、缬氨酸、赖氨酸、瓜氨酸、谷氨酸盐的氨基酸或含有 2 至 20 个氨基酸单元的多肽；

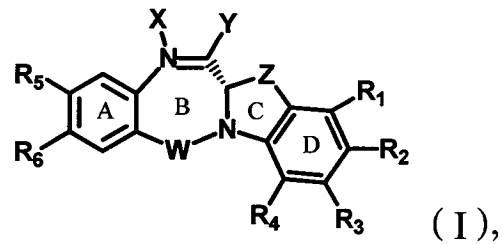
R_{20} 、 R_{21} 、 R_{22} 、 R_{23} 、 R_{24} 、 R_{25} 、 R_{26} 和 R_{27} 相同或不同，并且是 H 或具有 1 至 5 个碳原子的直链或支链烷基；

R_{29} 和 R_{30} 相同或不同，并且是 H 或具有 1 至 5 个碳原子的烷基；

R_{33} 为 H 或具有 1 至 12 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基、或聚乙二醇单元 $-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n$ ，或 R_{33} 为 $-\text{COR}_{34}$ 、 $-\text{CSR}_{34}$ 、 $-\text{SOR}_{34}$ 或 $-\text{SO}_2\text{R}_{34}$ ，其中 R_{34} 为 H 或具有 1 至 20 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基，或聚乙二醇单元 $-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n$ ；以及

R_{40} 和 R_{41} 中的一个任选地为 H 或具有 1 至 4 个碳原子的烷基、烯基、炔基。

3. 式 (I) 化合物或其可药用的盐



其中：

N 与 C 之间的双线 \equiv 表示双键并且 X 不存在且 Y 为 -H，

或 N 与 C 之间的双线 \equiv 表示单键，其中 X 为 -H 或选自乙酰基、三氟乙酰基、叔丁氧羰基 (BOC)、苄氧羰基 (CBZ) 和 9- 芴甲氧羰基 (Fmoc) 的氨基保护基团且 Y 选自 -OR 或亚硫酸根 $-\text{SO}_3^-$ ；

R 是 -H 或具有 1 至 20 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；

W 是 C = O；

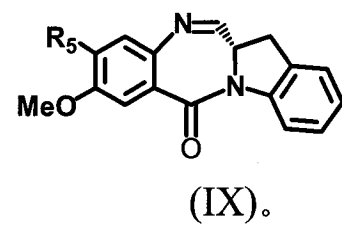
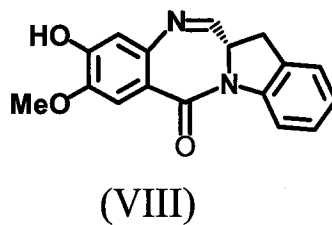
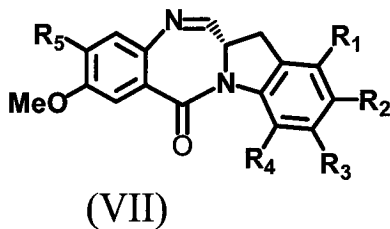
R₁、R₂、R₃、R₄各自为 H；任选地，R₁、R₂、R₃和 R₄中的任何一个独立地是连接基团；

R₅选自 OR₁₅、CRR' OH、SH、CRR' SH、NHR₁₅或 CRR' NHR₁₅，其中 R₁₅为 H 或具有上文对于 R 给出的相同的定义，或选自任选地具有连接基团的多吡咯并、多-吡咯基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吡咯基或多咪唑并-吡咯基单元；

R₆为 -OCH₃；

Z 为其中 n 为 1 的 (CH₂)_n。

4. 权利要求 3 的化合物或其可药用的盐，其选自式 (VII)、(VIII) 和 (IX)：



5. 权利要求 3-4 中任一项的化合物，其中 R₅是：

-OH、

$-\text{O}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p\text{Y}(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}$ 、

$-\text{O}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{CR}_{26}=\text{CR}_{27})_m(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p\text{Y}(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}$ 、

$-\text{O}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{炔基})_n(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p\text{Y}(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}$ 、

$-\text{O}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{吡咯并})_p(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p\text{Y}(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}$ 、

$-\text{O}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{吡咯并})_q(\text{咪唑并})_q(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p\text{Y}(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}$ 、

$-\text{O}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{咪唑并})_q(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p\text{Y}(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}$ 、

$-\text{O}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{吡咯并})_q(\text{吡咯并})_q(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p\text{Y}(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}$ 、

$-\text{O}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{吡咯并})_q(\text{咪唑并})_q(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p\text{Y}(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}$ 、

$-\text{O}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{哌嗪并})_t(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p\text{Y}(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}$ 、

$-\text{O}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m\text{A}^m(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p\text{Y}(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}$ 、

-SH、

$q(\text{CO})_t X''$ 、

$-(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{CR}_{29}=\text{N}-\text{NR}_{30})_n(\text{炔基})_n(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p Y''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t X''$ 、或

$-(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{CR}_{29}=\text{N}-\text{NR}_{30})_n A''_m(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p Y''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t X''$ 、

其中：

m 、 n 、 p 、 q 、 m' 、 n' 、 p' 、 q' 、 q'' 是 1 至 10 的整数，或可以是 0；

t 、 m'' 、 n'' 和 p'' 是 0 或 1；

X'' 选自 OR_{36} 、 SR_{37} 、 $\text{NR}_{38}\text{R}_{39}$ ，其中 R_{36} 、 R_{37} 、 R_{38} 、 R_{39} 是 H；具有 1 至 20 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；或聚乙二醇单元 $-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n$ ， R_{37} 任选地为选自乙酰基、苯甲酰基、三氟乙酰基、苄基、叔丁基、三苯基甲基、9-苄基、甲氧基甲基、2-四氢吡喃基、甲硅烷基、-S-甲基、-S-苄基、-S-叔丁基、-S-吡啶基、-S-硝基吡啶、-S-苯基、-S-硝基苯基、-S-二硝基苯基、叔丁氧羰基和 N-乙基氨基羰基的巯基保护基，或

当 $t = 1$ 时， COX'' 形成选自以下的反应性酯：N-羟基琥珀酰亚胺酯、N-羟基酞酰亚胺酯、N-羟基磺基琥珀酰亚胺酯、对-硝基苯基酯、二硝基苯基酯、五氟苯基酯；

Y'' 不存在或选自 O、S、S-S 或 NR_{32} ，其中 R_{32} 具有与上文对于 R 给出的相同的定义，或

当 Y'' 不是 S-S 且 $t = 0$ 时， X'' 选自马来酰亚胺基团、卤代乙酰基或 SR_{37} ；

A'' 是选自甘氨酸、丙氨酸、亮氨酸、缬氨酸、赖氨酸、瓜氨酸、谷氨酸盐的氨基酸或含有 2 至 20 个氨基酸单元的多肽；

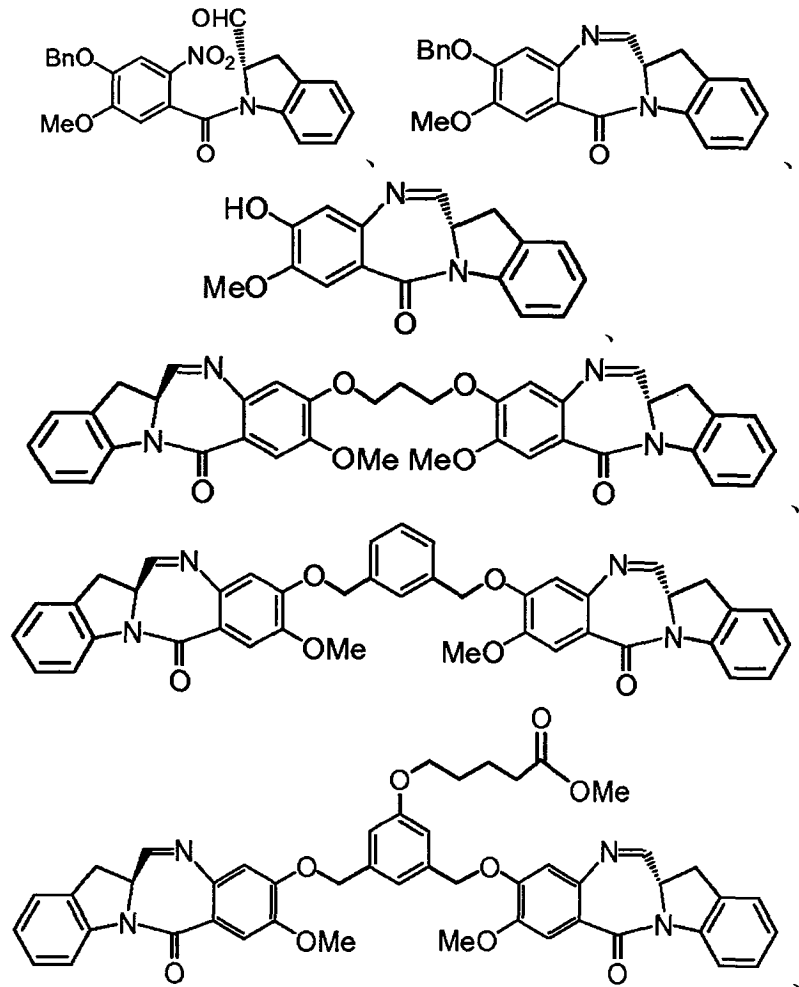
R_{20} 、 R_{21} 、 R_{22} 、 R_{23} 、 R_{24} 、 R_{25} 、 R_{26} 和 R_{27} 相同或不同，并且是 H 或具有 1 至 5 个碳原子的直链或支链烷基；

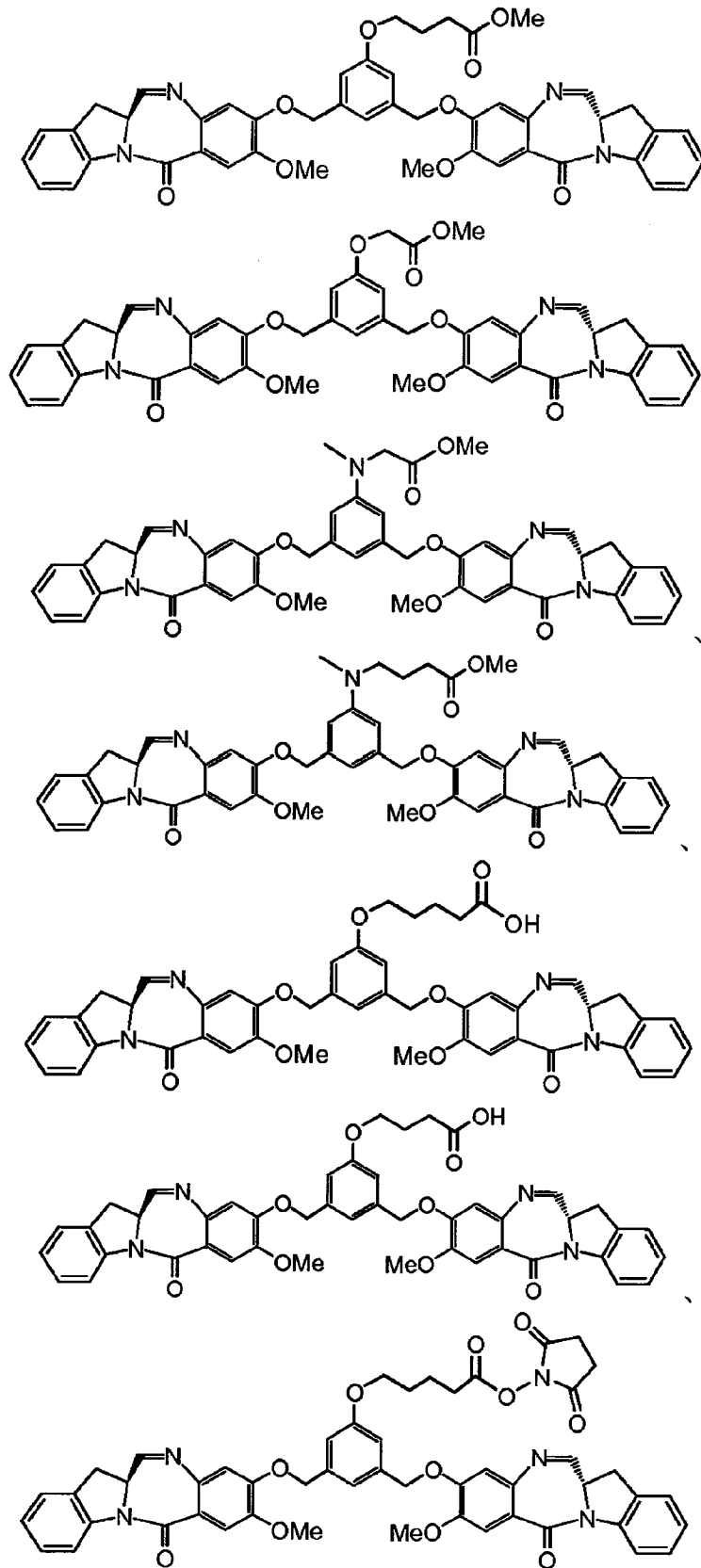
R_{28} 为 -H 或烷基；

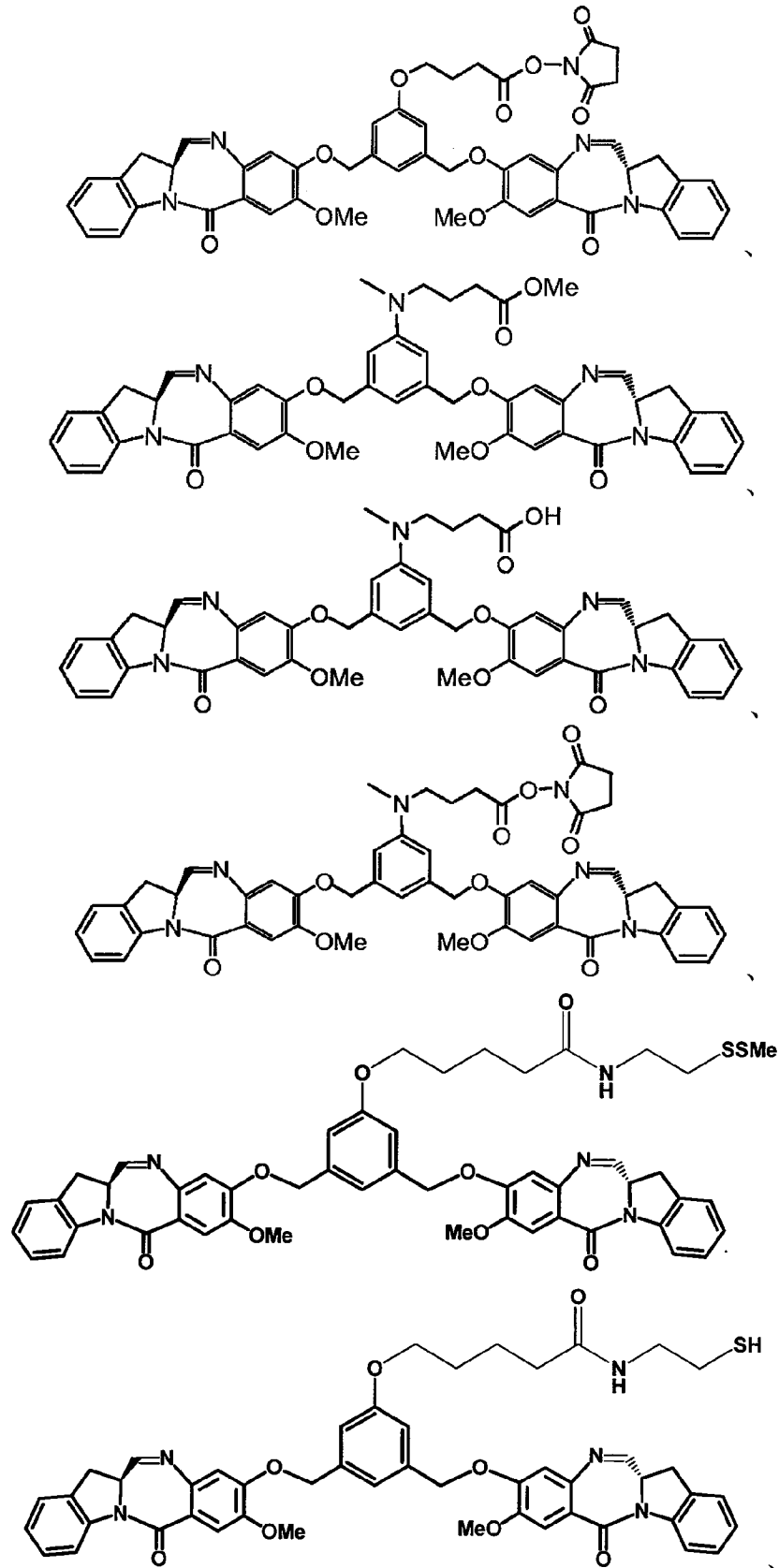
R_{29} 和 R_{30} 相同或不同，并且是 -H 或具有 1 至 5 个碳原子的烷基；

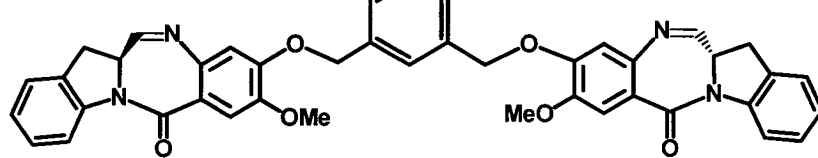
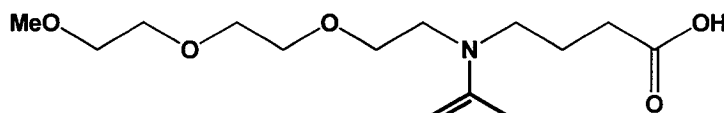
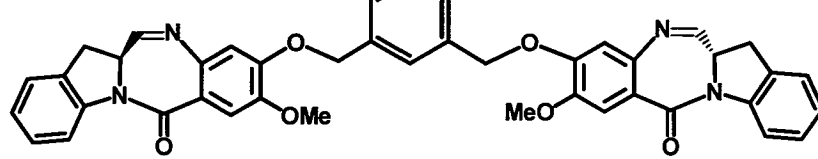
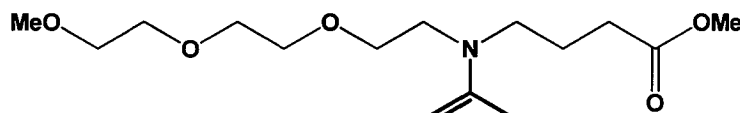
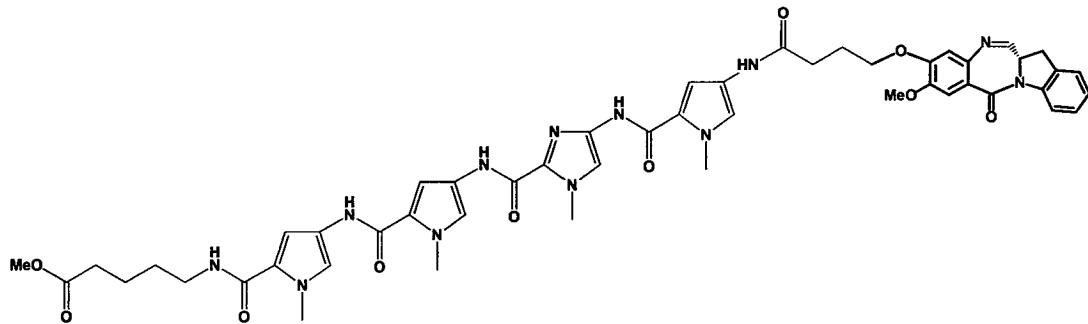
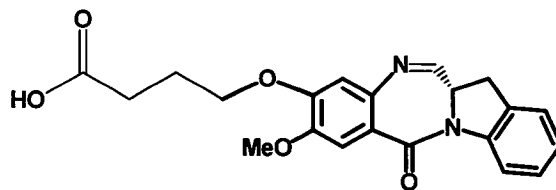
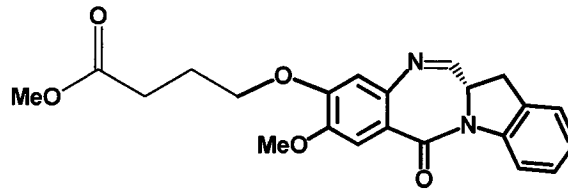
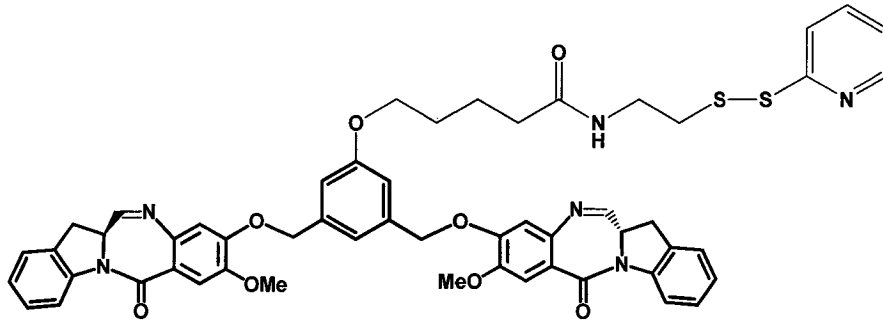
任选地， R_{40} 和 R_{41} 中的一个为 -H 或具有 1 至 4 个碳原子的烷基、烯基、炔基。

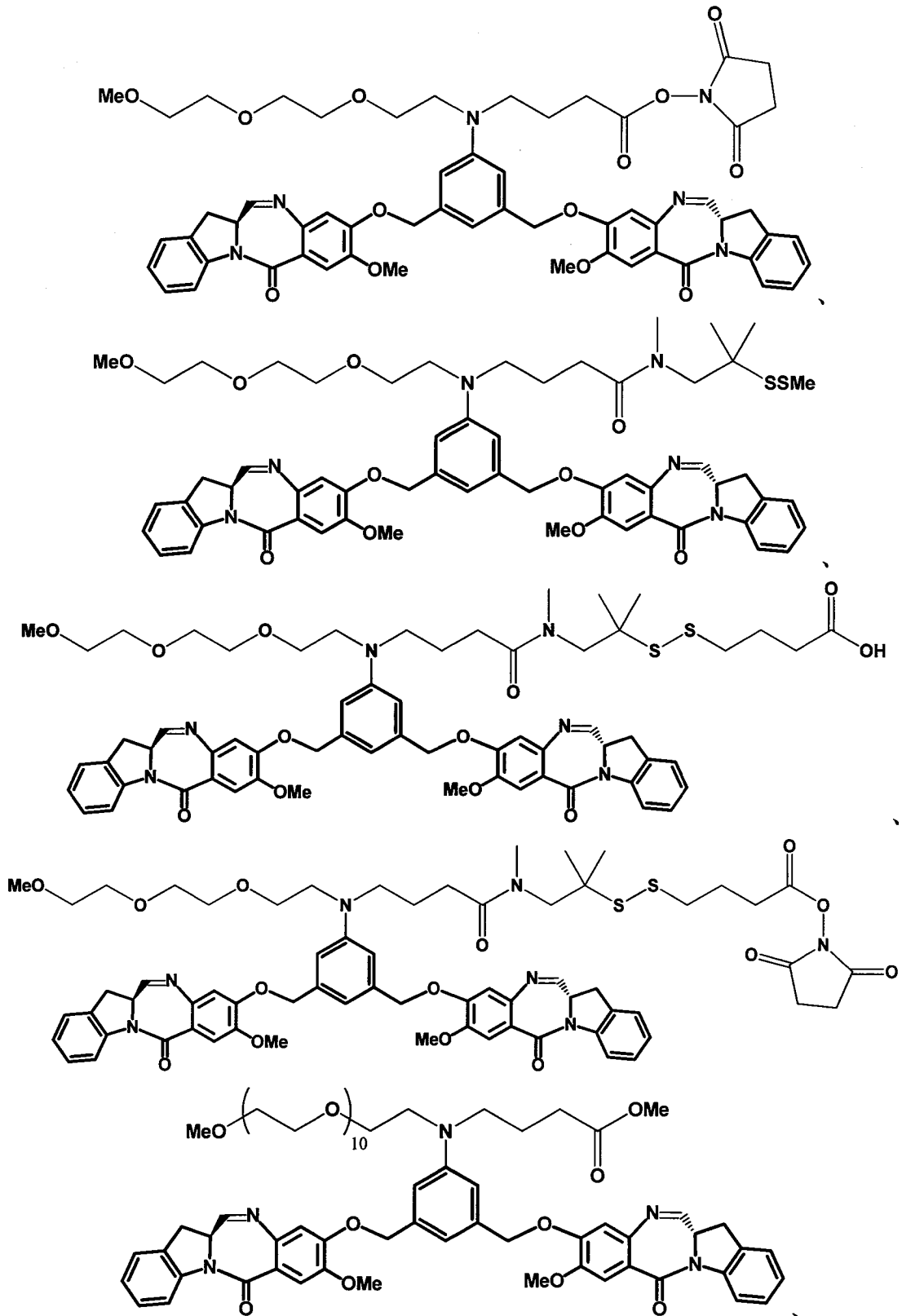
6. 选自以下结构的化合物：

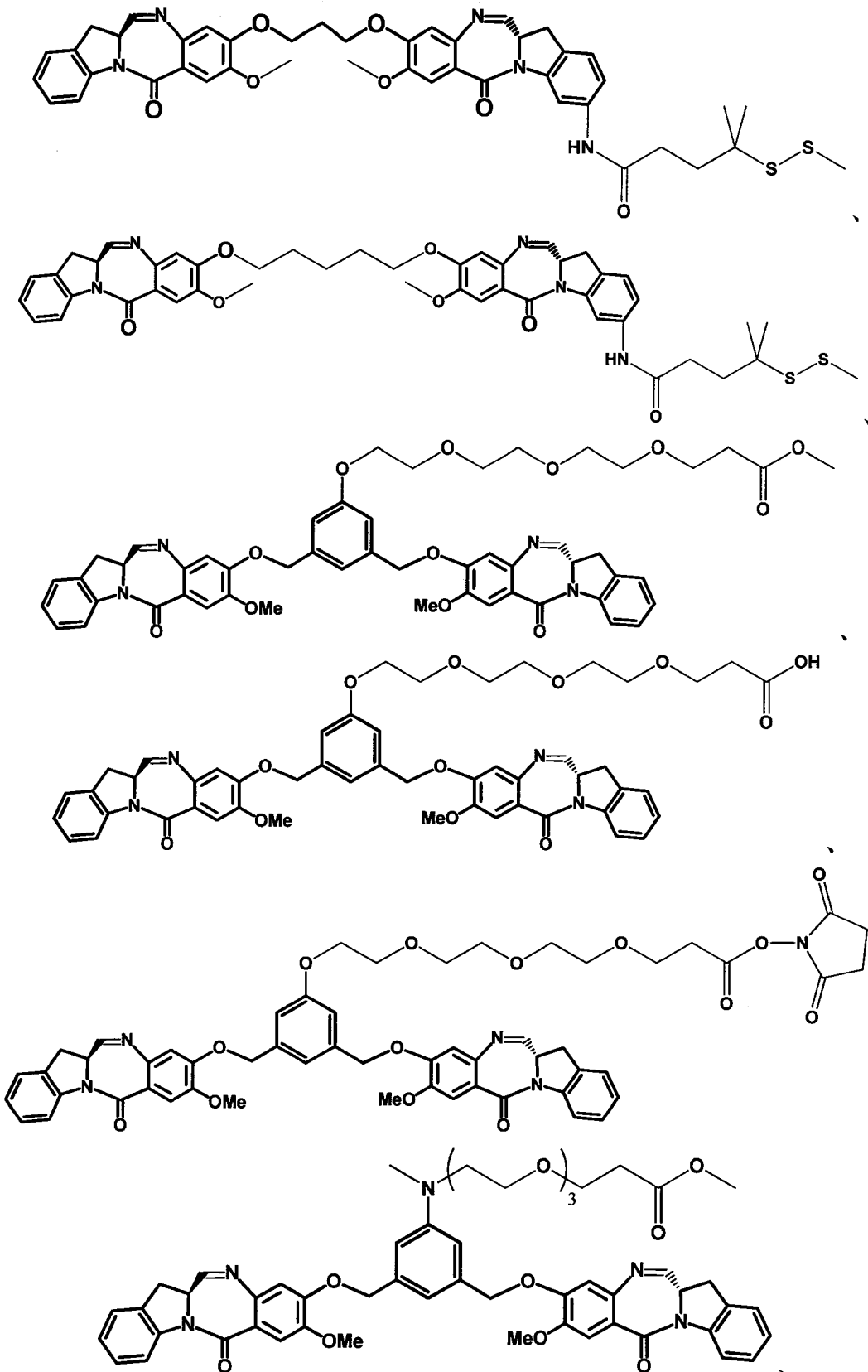


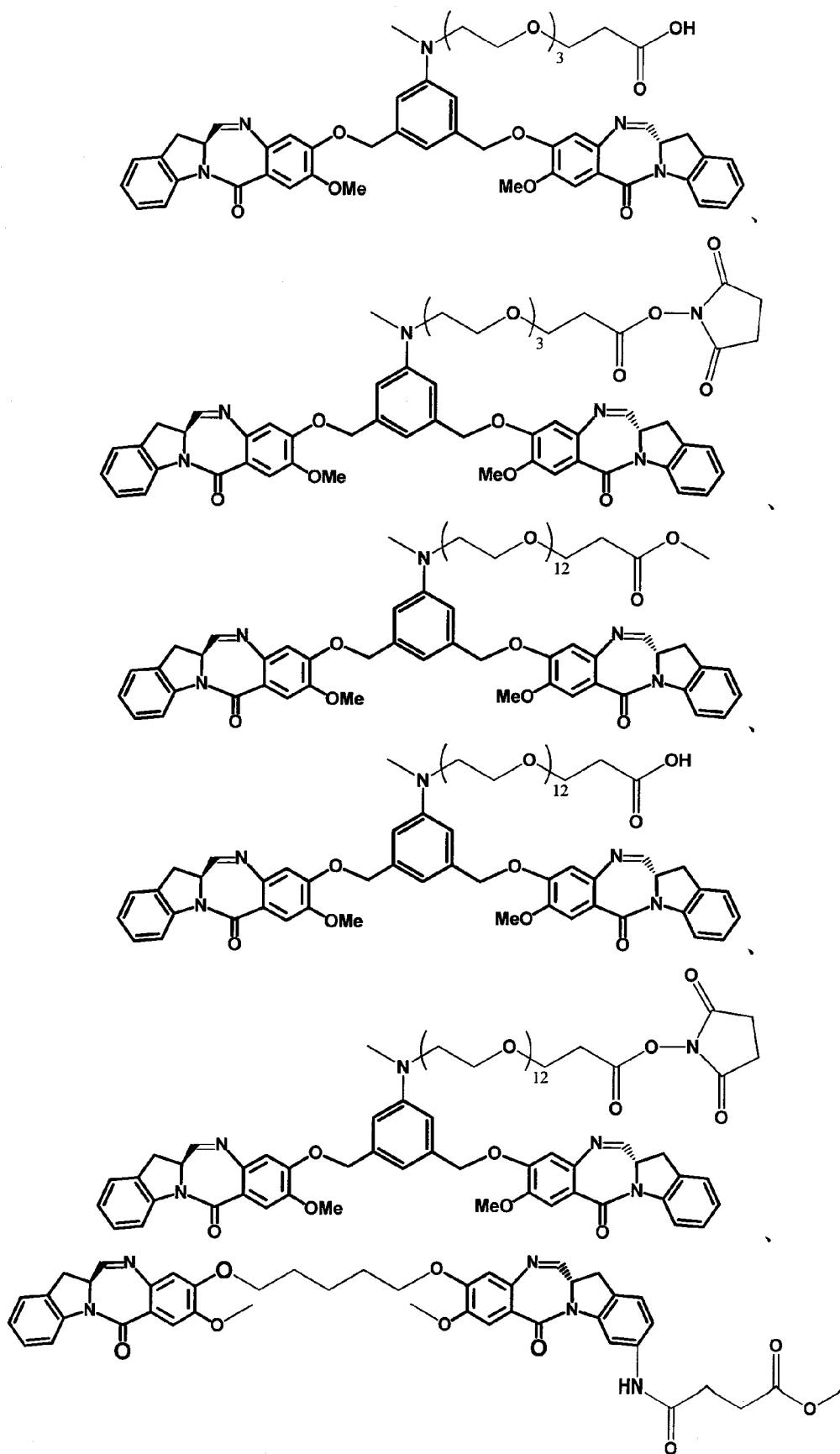


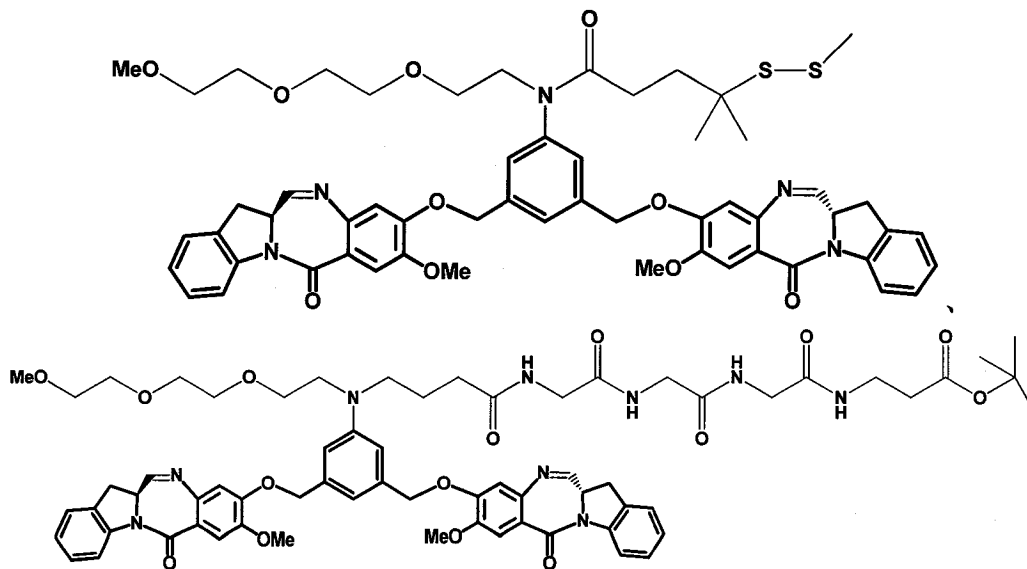












7. 药物组合物,其包含权利要求 1-6 中任一项的化合物以及可药用载体。
8. 权利要求 7 的药物组合物,其还包含为化学治疗剂的第二化合物。
9. 权利要求 1-6 中任一项的化合物在制备用于抑制哺乳动物中异常细胞生长或治疗增殖性病征的药物中的用途。
10. 权利要求 9 的用途,其中所述增殖性疾病是肿瘤。
11. 权利要求 9 或 10 的用途,其中所述药物任选适于与第二化合物共同施用,所述第二化合物为化学治疗剂。
12. 权利要求 9 的用途,其中所述增殖性病征为伯基特淋巴瘤、结肠癌、横纹肌肉瘤、急性早幼粒细胞白血病、表皮样癌、多发性骨髓瘤、乳腺癌、急性淋巴性白血病或黑素瘤。
13. 权利要求 12 的用途,其中所述结肠癌为多药耐药结肠癌。
14. 权利要求 12 的用途,其中所述伯基特淋巴瘤为多药耐药伯基特淋巴瘤。
15. 权利要求 11 的用途,其中相继或连续地向所述哺乳动物施用所述化学治疗剂。
16. 权利要求 1-6 中任一项的化合物与抗体的轭合物。
17. 权利要求 16 的轭合物,其是所述抗体和 1-10 个或 2-5 个权利要求 1-6 中任一项的化合物的轭合物。
18. 权利要求 16 的轭合物,其中所述抗体与选自以下的靶细胞结合:肿瘤细胞、受病毒感染的细胞、受微生物感染的细胞、受寄生虫感染的细胞、自身免疫细胞、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、Her-3 抗原的细胞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细胞的细胞。
19. 权利要求 16 的轭合物,其中所述抗体是单链抗体、与靶细胞特异性结合的抗体片段、单克隆抗体、或与靶细胞特异性结合的单克隆抗体片段、嵌合抗体、与靶细胞特异性结合的嵌合抗体片段、域抗体、与靶细胞特异性结合的域抗体片段。
20. 权利要求 19 的轭合物,其中所述抗体是表面重塑抗体、表面重塑单链抗体或表面重塑抗体片段。
21. 权利要求 19 的轭合物,其中所述抗体是单克隆抗体、或与靶细胞特异性结合的单

克隆抗体片段。

22. 权利要求 19 的轭合物,其中所述抗体是人化抗体、人化单链抗体或人化抗体片段。

23. 权利要求 19 的轭合物,其中所述抗体是嵌合抗体、嵌合抗体片段、域抗体或域抗体片段。

24. 权利要求 22 的轭合物,其中所述抗体是 MY9、抗 -B4 或 C242。

25. 权利要求 22 的轭合物,其中所述抗体是人化或表面重塑 MY9、人化或表面重塑抗 -B4 或人化或表面重塑 C242。

26. 权利要求 18 的轭合物,其中所述肿瘤细胞选自乳腺癌细胞、前列腺癌细胞、卵巢癌细胞、结肠直肠癌细胞、胃癌细胞、鳞癌细胞、小细胞肺癌细胞和睾丸癌细胞。

27. 药物组合物,其包含权利要求 16-26 中任一项的轭合物和可药用载体。

28. 权利要求 27 的药物组合物,其还包含为化学治疗剂的第二化合物。

29. 权利要求 16-26 中任一项的轭合物在制备用于抑制哺乳动物中异常细胞生长或治疗增殖性病症的药物中的用途。

30. 权利要求 29 的用途,其中所述增殖性病症是肿瘤。

31. 权利要求 30 的用途,其中肿瘤细胞选自乳腺癌细胞、前列腺癌细胞、卵巢癌细胞、结肠直肠癌细胞、胃癌细胞、鳞癌细胞、小细胞肺癌细胞和睾丸癌细胞。

32. 权利要求 29、30、31 的用途,其中所述药物适于与化学治疗剂共同施用。

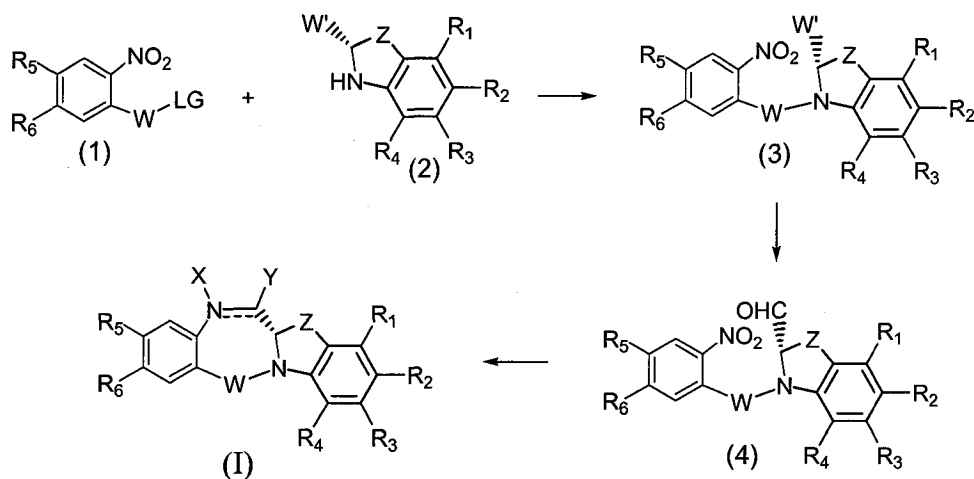
33. 权利要求 32 的用途,其中相继或连续地向所述哺乳动物施用所述第二化学治疗剂。

34. 一种用于制备式 (I) 化合物或其可药用的盐、或其盐的方法,所述方法包括:

a) 将式 (1) 化合物与式 (2) 化合物偶联,得到式 (3) 化合物;

b) 将式 (3) 化合物转化为式 (4) 的醛;以及

c) 将式 (4) 化合物转化为式 (I) 化合物,



其中:

N 与 C 之间的双线 $=$ 表示单键或双键,条件是当其为双键时, X 不存在且 Y 为 $-H$,并且当其为单键时, X 为 $-H$ 或选自乙酰基、三氟乙酰基、叔丁氧羰基 (BOC)、苄氧羰基 (CBZ) 和 9- 芴甲氧羰基 (Fmoc) 的氨基保护部分;

Y 选自 $-OR$ 、亚硫酸根 $-SO_3^-$,其中 R 选自 $-H$;具有 1 至 20 个碳原子的直链、支链或环状

烷基、烯基或炔基；

W 是 C = O；

R₁、R₂、R₃、R₄各自独立地选自 -H；任选地，R₁、R₂、R₃、R₄中的任何一个为连接基团；

R₅选自 -OR₁₅、-CRR'OH、-SH、-CRR'SH、-NHR₁₅或 -CRR'NHR₁₅，其中 R₁₅具有与 R 相同的定义；任选地，R₅是连接基团、或者选自任选地具有连接基团的多吡咯并、多-吡咯基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吡咯基或多咪唑并-吡咯基单元；

R₆是 -OCH₃；

Z 是其中 n 为 1 的 (CH₂)_n；

条件是所述化合物具有至多一个连接基团；

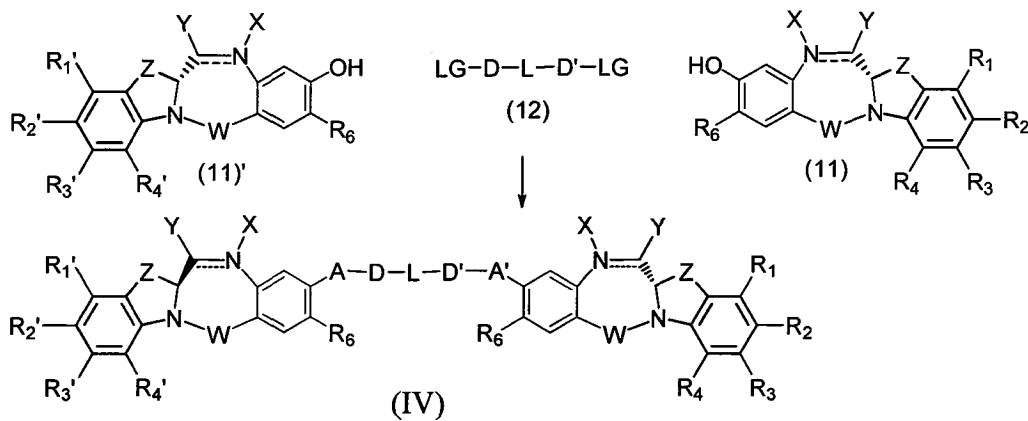
LG 是离去基团；

W' 是 COOR 或 CH₂OW''，以及

W'' 是保护基。

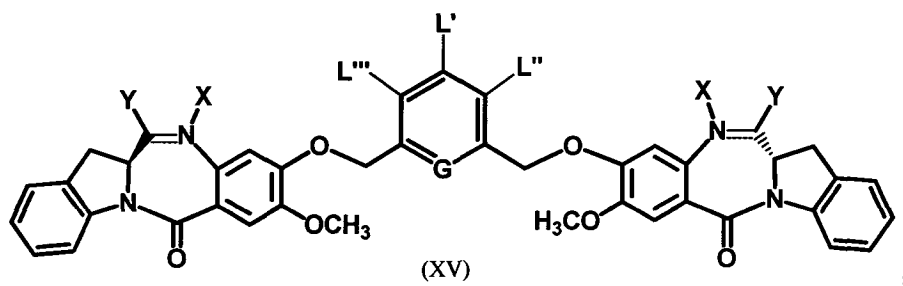
35. 一种用于制备式 (IV) 化合物或其可药用的盐的方法，所述方法包括：

将式 (11) 化合物、式 (11)' 化合物和式 (12) 化合物偶联，得到式 (IV) 化合物，

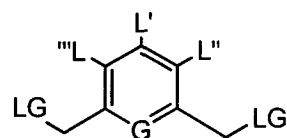


其中：

所述式 (IV) 化合物是式 (XV) 表示的化合物：



所述式 (12) 化合物是下式表示的化合物：



N 与 C 之间的双线 = 表示单键或双键，条件是当其为双键时，X 不存在且 Y 为 -H，并且当其为单键时，X 是 -H 或选自乙酰基、三氟乙酰基、叔丁氧羰基 (BOC)、苄氧羰基 (CBZ) 和 9- 芴甲氧羰基 (Fmoc) 的氨基保护部分；

Y 选自 -OH、-OR、亚硫酸根 $-SO_3^-$ 、 $-OSO_3^-$ ，其中 R 选自具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；

W 是 C=O；

R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_1' 、 R_2' 、 R_3' 和 R_4' 各自为 -H；

Z 是其中 n 为 1 的 $(CH_2)_n$ ；

R_6 是 $-OCH_3$ ；

A 和 A' 是 O；

式 (XV) 的 L'、L'' 或 L''' 中的一个为连接基团，其他是 -H；

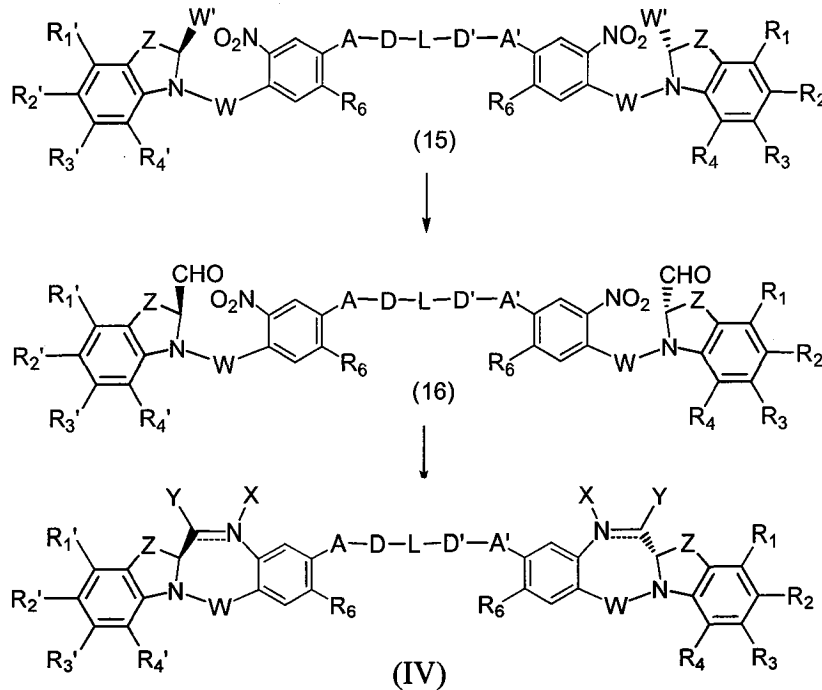
G 是 CH 或 N；

条件是所述化合物具有至多一个经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；以及 LG 是离去基团。

36. 一种用于制备式 (IV) 化合物或其可药用的盐的方法，所述方法包括：

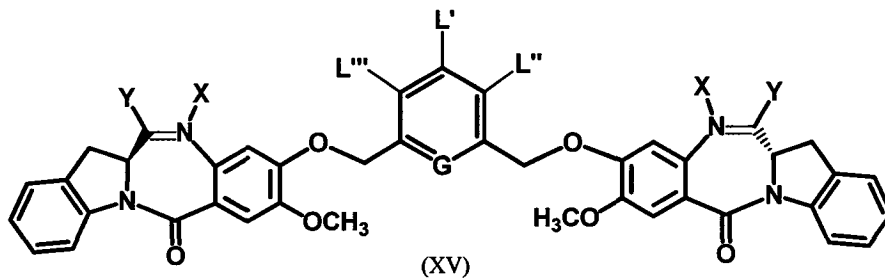
a) 将式 (15) 化合物转化为式 (16) 的醛；以及

b) 将式 (16) 化合物转化为式 (IV) 化合物，

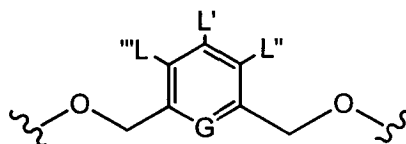


其中：

所述式 (IV) 化合物是式 (XV) 表示的化合物：



所述式 (15) 和 (16) 中的 -A-D-L-D'-A- 基团是下式表示的化合物：



N 与 C 之间的双线 \equiv 表示单键或双键,条件是当其为双键时, X 不存在且 Y 为 -H,并且当其为单键时, X 是 -H 或选自乙酰基、三氟乙酰基、叔丁氧羰基 (BOC)、苄氧羰基 (CBZ) 和 9- 芴甲氧羰基 (Fmoc) 的氨基保护部分;

Y 选自 -OH、-OR、亚硫酸根 $-\text{SO}_3^-$ 、 $-\text{OSO}_3^-$, 其中 R 是具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基;

W 是 $\text{C}=\text{O}$;

R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_1' 、 R_2' 、 R_3' 和 R_4' 各自是 -H;

Z 是其中 n 为 1 的 $(\text{CH}_2)_n$;

R_6 是 $-\text{OCH}_3$;

式 (XV) 的 L' 、 L'' 或 L''' 中的一个连接基团,其他是 -H;

G 是 CH 或 N;

条件是所述化合物具有至多一个经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团; W' 是 COOR 或 $\text{CH}_2\text{OW}''$, 以及

W'' 是保护基。

新型苯并二氮杂萘衍生物

发明领域

[0001] 本发明涉及新型细胞毒性化合物以及包含这些细胞毒性化合物和细胞结合剂的细胞毒性钹合物。更具体来说,本发明涉及新型苯并二氮杂萘化合物(例如,吡啶并苯并二氮杂萘或噁唑烷并苯并二氮杂萘)、其衍生物、其中间体、其钹合物及其可药用盐,它们可用作药物、特别是用作抗增殖剂。

[0002] 发明背景

[0003] 苯并二氮杂萘衍生物是可用于治疗各种病症的化合物,并且包括药物例如,抗癫痫药(咪唑并[2,1-b][1,3,5]苯并硫代二氮杂萘,美国专利 No. 4,444,688;美国专利 No. 4,062,852)、抗菌剂(噻啶并[1,2-c][1,3,5]苯并硫代二氮杂萘,GB1476684)、利尿药和降血压药(吡咯并(1,2-b)[1,2,5]苯并硫代二氮杂萘 5,5 二氧化物,美国专利 No. 3,506,646)、降血脂药(W003091232)、抗抑郁药(美国专利 No. 3,453,266);骨质疏松症(JP2138272)。

[0004] 最近,已经在动物肿瘤模型中表明,苯并二氮杂萘衍生物(例如吡咯并苯并二氮杂萘(PBD))用作抗肿瘤剂(N-2-咪唑基烷基取代的1,2,5-苯并硫代二氮杂萘-1,1-二氧化物、美国专利 No. 6,156,746)、苯并-吡啶并或二吡啶并硫代二氮杂萘(W02004 / 069843)、吡咯并[1,2-b][1,2,5]苯并硫代二氮杂萘和吡咯[1,2-b][1,2,5]苯并二氮杂萘衍生物(W02007 / 015280)、托马霉素衍生物(例如,吡咯并[1,4]苯并二氮杂萘),例如记载于W000 / 12508、W02005 / 085260、W02007 / 085930和EP2019104中的那些。也已知苯并二氮杂萘影响细胞生长和分化(Kamal A. 等人,Bioorg Med Chem. 2008年8月15日;16(16):7804-10(以及本文所引用的参考文献);Kumar R, Mini Rev Med Chem. 2003Jun;3(4):323-39(以及本文所引用的参考文献);Bednarski J J等人,2004;Sutter A. P 等人,2002;Blatt N B 等人,2002),Kamal A. 等人,Current Med. Chem.,2002;2:215-254,Wang J-J., J. Med. Chem.,2206;49:1442-1449,Alley M. C. 等人,Cancer Res. 2004;64:6700-6706,Pepper C. J., Cancer Res 2004;74:6750-6755,Thurston D. E. 和 Bose D. S., Chem Rev 1994;94:433-465;和 Tozuka, Z. 等人,Journal of Antibiotics(1983)36:1699-1708。PBD的一般结构记载于美国公开 No. 20070072846中。PBD在取代基的数目、类型和位置方面、在其芳族A环和吡咯并C环方面、以及在C环的饱和度方面不同。其在小沟中形成加成物的能力能使它们干扰DNA加工,因此它们具有用作抗增殖剂的潜力。

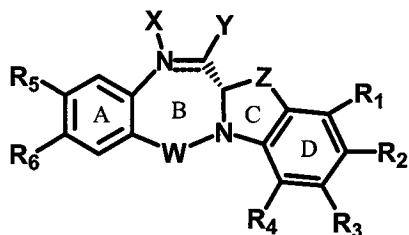
[0005] 目前仍对作为用于治疗多种增殖性疾病状态(例如癌症)的有效且安全的治疗剂的新型苯并二氮杂萘衍生物存在需求。

[0006] 发明概述

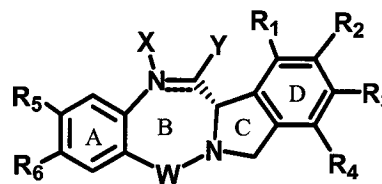
[0007] 本发明的一个目的是提供式(I)和(II)的新型苯并二氮杂萘或其可药用的溶剂

合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体，其中该二氮杂萘环 (B) 与杂环 (CD) 稠合，其中所述杂环是二环的，

[0008]



(I)



(II)

[0009] 其中：

[0010] N 与 C 之间的双线 \equiv 表示单键或双键，条件是当其为双键时，X 不存在且 Y 为 H，并且当其为单键时，X 为 H 或将该化合物转化成可在体外或体内转变为游离胺的前药的氨基保护部分；

[0011] Y 选自 -OR、由 -OCOR' 表示的酯、由 -OCOOR' 表示的碳酸酯、由 -OCONR' R'' 表示的氨基甲酸酯、由 NR' R'' 表示的胺或羟基胺、由 -NRCOR' 表示的酰胺、由 NRCOP 表示的肽（其中 P 为氨基酸或含有 2 至 20 个氨基酸单元的多肽）、由 SR' 表示的硫醚、由 SOR' 表示的亚砷、由 -SO₂R' 表示的砷、亚硫酸根 -SO₃⁻、-OSO₃⁻、卤素、氰基、叠氨基、或巯基，其中 R、R' 和 R'' 相同或不同并且选自 H；取代的或未取代的具有 1 至 20 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元 (-OCH₂CH₂)_n，其中 n 为 1 至 2000 的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5- 或 6- 元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5 元至 18 元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有 6 至 18 个碳原子的芳基；含有 1 至 6 个选自 O、S、N 和 P 的杂原子的 3- 至 18- 元杂环，其中所述取代基选自卤素、OR₇、NR₈R₉、NO₂、NRCOR'、SR₁₀、由 SOR' 表示的亚砷、由 -SO₂R' 表示的砷、亚硫酸根 -SO₃⁻、-OSO₃⁻、由 SO₂NRR' 表示的磺酰胺、氰基、叠氨基、-COR₁₁、OCOR₁₁ 或 OCONR₁₁R₁₂，其中 R₇、R₈、R₉、R₁₀、R₁₁ 和 R₁₂ 各自独立地选自 H；具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元 (-OCH₂CH₂)_n，其中 n 为 1 至 2000 的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5- 或 6- 元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5 至 18 元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；具有 6 至 18 个碳原子的芳基；具有 1 至 6 个选自 O、S、N 和 P 的杂原子的 3- 至 18- 元杂环，并且 R₁₀ 任选地为 SR₁₃ 或 COR₁₃，其中 R₁₃ 选自具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元 (-OCH₂CH₂)_n，其中 n 为 1 至 2000 的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5- 或 6- 元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5 元至 18 元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；具有 1 至 6 个选自 O、S、N 和 P 的杂原子的 3- 至 18- 元杂环，并且 R₁₁ 也可以为 OR₁₄，其中 R₁₄ 为 H 或具有与 R 相同的定义，任选地 R'' 为 OH；

[0012] W 是 C=O、C=S、CH₂、BH (B= 硼)、SO 或 SO₂；

[0013] R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 各自独立地选自 H；取代的或未取代的具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元 $(-OCH_2CH_2)_n$ ，其中 n 为 1 至 2000 的整数；或者选自以下的取代基：卤素、 OR_7 、 NR_8R_9 、 NO_2 、 $NRCOR'$ 、 SR_{10} 、由 SOR' 表示的亚砷、由 $-SO_2R'$ 表示的砷、亚硫酸根 $-SO_3^-$ 、 $-OSO_3^-$ 、由 SO_2NRR' 表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、胍盐 $[-NH(C=NH)NH_2]$ 、 $-COR_{11}$ 、 $-OCOR_{11}$ 或 $-OCONR_{11}R_{12}$ ，其中 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} 、 R_{11} 和 R_{12} 具有与上文给出的相同的定义，任选地， R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 中的任何一个是由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团、或者选自任选具有能与细胞结合剂连接的多吡咯并、多-吡啶基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吡啶基或多咪唑并-吡啶基单位；

[0014] R_5 选自 OR_{15} 、 $CRR'OH$ 、 SH 、 $CRR'SH$ 、 NHR_{15} 或 $CRR'NHR_{15}$ ，其中 R_{15} 具有与 R 相同的定义， R 和 R' 具有与上文给出的相同的定义；任选地， R_5 是由共价键能与细胞结合剂连接的多吡咯并、多-吡啶基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吡啶基或多咪唑并-吡啶基单位；

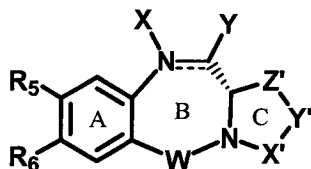
[0015] R_6 是 OR 、 SR 、 NRR' ，其中 R 和 R' 具有与上文给出的相同的定义，或任选地 R_6 是连接基团；

[0016] Z 选自其中 n 为 1、2 或 3 的 $(CH_2)_n$ 、 $CR_{15}R_{16}$ 、 NR_{17} 、 O 或 S ，其中 R_{15} 、 R_{16} 和 R_{17} 各自独立地选自 H；具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基；聚乙二醇单元 $(-OCH_2CH_2)_n$ ，其中 n 为 1 至 2000 的整数；

[0017] 条件是所述化合物具有至多一个经由共价键能与细胞结合剂连接的多吡咯并-咪唑基单位。

[0018] 本发明的第二目的是提供新型的式 (III) 苯并二氮杂萘或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构，其中所述二氮杂萘环 (B) 与杂环 (C) 稠合，其中所述杂环是单环，

[0019]



(III)

[0020] 其中：

[0021] N 与 C 之间的双线 $=$ 表示单键或双键，条件是当其为双键时， X 不存在且 Y 为 H ，并且当其为单键时， X 是 H 或将该化合物转化成前药的氨基保护部分；

[0022] Y 选自 $-OR$ 、由 $-OCOR'$ 表示的酯、由 $-OCOOR'$ 表示的碳酸酯、由 $-OCONR'R''$ 表示的氨基甲酸酯、由 $NR'R''$ 表示的胺或羟基胺、由 $-NRCOR'$ 表示的酰胺、由 $NRCOP$ 表示的肽（其中 P 为氨基酸或含有 2 至 20 个氨基酸单元的多肽）、由 SR' 表示的硫醚、由 SOR' 表示的亚砷、由 $-SO_2R'$ 表示的砷、亚硫酸根 $-SO_3^-$ 、 $-OSO_3^-$ 、卤素、氰基、叠氮基、或巯基，其中 R 、 R' 和 R'' 相同或不同并且选自 H；取代的或未取代的具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元 $(-OCH_2CH_2)_n$ ，其中 n 为 1 至 2000 的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5- 或 6- 元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂

原子的 5 元至 18 元稠环系统,其中至少一个环是芳族的;具有 6 至 18 个碳原子的芳基;具有 1 至 6 个选自 O、S、N 和 P 的杂原子的 3- 至 18- 元杂环,其中所述取代基选自卤素、OR₇、NR₈R₉、NO₂、NRCOR'、SR₁₀、由 SOR' 表示的亚砷、由 -SO₂R' 表示的砷、亚硫酸根 -SO₃⁻、-OSO₃⁻、由 SO₂NRR' 表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR₁₁、OCOR₁₁或 OCONR₁₁R₁₂,其中 R₇、R₈、R₉、R₁₀、R₁₁和 R₁₂各自独立地选自 H;具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基;聚乙二醇单元 (-OCH₂CH₂)_n,其中 n 为 1 至 2000 的整数;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5- 或 6- 元杂芳环;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5 元至 18 元稠环系统,其中至少一个环是芳族的;具有 6 至 18 个碳原子的芳基;具有 1 至 6 个选自 O、S、N 和 P 的杂原子的 3- 至 18- 元杂环,并且 R₁₀任选地为 SR₁₃或 COR₁₃,在本文中 R₁₃选自具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基;聚乙二醇单元 (-OCH₂CH₂)_n,其中 n 为 1 至 2000 的整数;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5- 或 6- 元杂芳环;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5 元至 18 元稠环系统,其中至少一个环是芳族的;含有 6 至 18 个碳原子的芳基;具有 1 至 6 个选自 O、S、N 和 P 的杂原子的 3- 至 18- 元杂环,并且 R₁₁也可以为 OR₁₄,其中 R₁₄为 H 或具有与 R 相同的定义,任选地 R' 为 OH;

[0023] W 是 C=O、C=S、CH₂、BH、SO 或 SO₂;

[0024] R₅选自 OR₁₅、CRR' OH、SH、CRR' SH、NHR₁₅或 CRR' NHR₁₅,其中 R₁₅具有与 R 相同的定义或是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团、或者选自任选地具有能与细胞结合剂连接的多吡咯并、多-吡啶基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吡啶基或多咪唑并-吡啶基单元;

[0025] R₆是 OR、SR 或 NRR',其中 R 和 R' 具有与上文给出的相同的定义,任选地 R₆是连接基团;

[0026] X' 是 CH₂、NR、CO、BH、SO 或 SO₂;

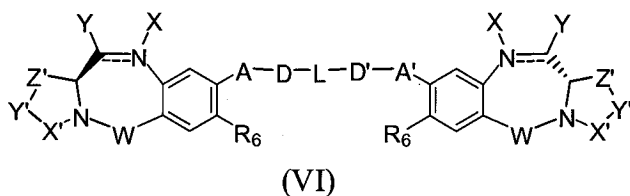
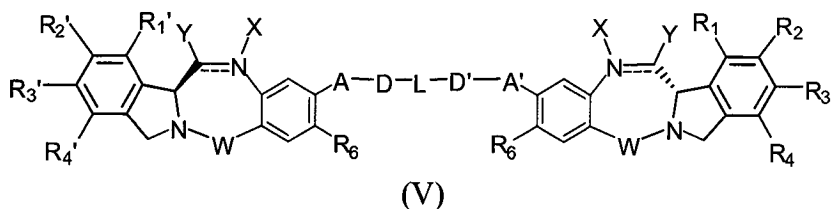
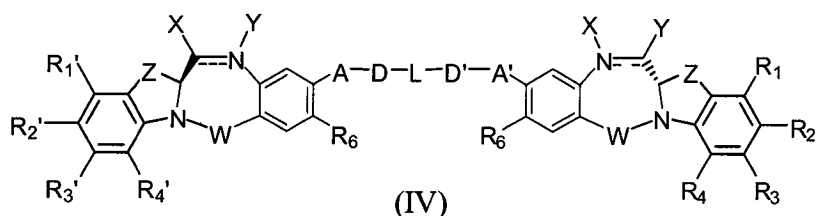
[0027] Y' 是 O、CH₂、NR 或 S;

[0028] Z' 是 CH₂或 (CH₂)_n,其中 n 为 2、3 或 4;

[0029] 条件是所述化合物具有至多一个经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团。

[0030] 本发明的第三目的是提供式 (I) 和 (II) 和 (III) 各自的苯并二氮杂萘单体的细胞毒性二聚体 (IV)、(V) 和 (VI),或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构;

[0031]



[0032] 其中所述二聚体化合物任选地具有能够与细胞结合剂连接的连接基团，

[0033] 其中：

[0034] N 与 C 之间的双线 \equiv 表示单键或双键，条件是当其为双键时，X 不存在且 Y 为 H，并且当其为单键时，X 是 H 或将该化合物转化成前药的氨基保护部分；

[0035] Y 选自 -OR、由 -OCOR' 表示的酯、由 -OCOOR' 表示的碳酸酯、由 -OCONR' R'' 表示的氨基甲酸酯、由 NR' R'' 表示的胺或羟基胺、由 -NRCOR' 表示的酰胺、由 NRCOP 表示的肽（其中 P 为氨基酸或含有 2 至 20 个氨基酸单元的多肽）、由 SR' 表示的硫醚、由 SOR' 表示的亚砷、由 -SO₂R' 表示的砷、亚硫酸根 -SO₃⁻、-OSO₃⁻、卤素、氰基、叠氨基、或巯基，其中 R、R' 和 R'' 相同或不同并且选自 H；取代的或未取代的具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元 (-OCH₂CH₂)_n，其中 n 为 1 至 2000 的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5- 或 6- 元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5 元至 18 元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有 6 至 18 个碳原子的芳基；具有 1 至 6 个选自 O、S、N 和 P 的杂原子的 3- 至 18- 元杂环，其中所述取代基选自卤素、OR₇、NR₈R₉、NO₂、NRCOR'、SR₁₀、由 SOR' 表示的亚砷、由 -SO₂R' 表示的砷、亚硫酸根 -SO₃⁻、-OSO₃⁻、由 SO₂NRR' 表示的磺酰胺、氰基、叠氨基、-COR₁₁、OCOR₁₁ 或 OCONR₁₁R₁₂，其中 R₇、R₈、R₉、R₁₀、R₁₁ 和 R₁₂ 各自独立地选自 H；具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元 (-OCH₂CH₂)_n，其中 n 为 1 至 2000 的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5- 或 6- 元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5 元至 18 元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有 6 至 18 个碳原子的芳基；3- 至 10- 元杂环；具有 1 至 6 个选自 O、S、N 和 P 的杂原子的 3- 至 18- 元杂环，并且 R₁₀ 任选地为 SR₁₃ 或 COR₁₃，其中 R₁₃ 选自具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；含有一个或多个

独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5- 或 6- 元杂芳环 ; 含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5 元至 18 元稠环系统, 其中至少一个环是芳族的 ; 含有 6 至 18 个碳原子的芳基 ; 具有 1 至 6 个选自 O、S、N 和 P 的杂原子的 3- 至 18- 元杂环, 任选地 R_{11} 为 OR_{14} , 其中 R_{14} 具有与 R 相同的定义, 任选地 R" 为 OH ;

[0036] W 是 C=O、C=S、 CH_2 、BH、SO 或 SO_2 ;

[0037] R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_1' 、 R_2' 、 R_3' 和 R_4' 各自独立地选自 H ; 取代的或未取代的具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基 ; 聚乙二醇单元 $(-OCH_2CH_2)_n$, 其中 n 为 1 至 2000 的整数 ; 或者选自以下的取代基 : 卤素、胍盐 $[-NH(C=NH)NH_2]$ 、 OR_7 、 NR_8R_9 、 NO_2 、 $NRCOR'$ 、 SR_{10} 、由 SOR' 表示的亚砷、由 $-SO_2R'$ 表示的砷、亚硫酸根 $-SO_3^-$ 、 $-OSO_3^-$ 、由 SO_2NRR' 表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、 $-COR_{11}$ 、 $OCOR_{11}$ 或 $CONR_{11}R_{12}$, 其中 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} 、 R_{11} 和 R_{12} 如上文定义, 任选地, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_1' 、 R_2' 、 R_3' 或 R_4' 中的任何一个是由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团、或者选自任选地具有能与细胞结合剂连接 的连接基团的多吡咯并、多 - 咪唑基、多 - 咪唑基、多吡咯并 - 咪唑基、多吡咯并 - 咪唑基或多咪唑并 - 咪唑基单元,

[0038] Z 选自其中 n 为 1、2 或 3 的 $(CH_2)_n$ 、 $CR_{15}R_{16}$ 、 NR_{17} 、O 或 S, 其中 R_{15} 、 R_{16} 和 R_{17} 各自独立地选自 H ; 具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基 ; 聚乙二醇单元 $(-OCH_2CH_2)_n$, 其中 n 为 1 至 2000 的整数 ; R_6 是 OR、SR 或 NRR' , 其中 R 和 R' 具有与上文给出的相同的定义, 任选地 R_6 是连接基团 ;

[0039] X' 选自 CH_2 、NR、CO、BH、SO 或 SO_2 , 其中 R 具有与上文给出的相同的定义 ;

[0040] Y' 是 O、 CH_2 、NR 或 S, 其中 R 具有与上文给出的相同的定义 ;

[0041] Z' 是 CH_2 或 $(CH_2)_n$, 其中 n 为 2、3 或 4, 条件是 X'、Y' 和 Z' 不同时都为 CH_2 ;

[0042] A 和 A' 相同或不同并且选自 O、 $-CRR'$ O、S、 $-CRR'$ S、 $-NR_{15}$ 或 $CRR' NHR_{15}$, 其中 R 和 R' 具有与上文给出的相同的定义并且其中 R_{15} 具有与 R 相同的定义 ;

[0043] D 和 D' 相同或不同并且独立地选自具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基, 其任选地被以下的任何一个取代 : 卤素、 OR_7 、 NR_8R_9 、 NO_2 、 $NRCOR'$ 、 SR_{10} 、由 SOR' 表示的亚砷、由 $-SO_2R'$ 表示的砷、亚硫酸根 $-SO_3^-$ 、 $-OSO_3^-$ 、由 SO_2NRR' 表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、 $-COR_{11}$ 、 $OCOR_{11}$ 或 $CONR_{11}R_{12}$, 其中 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} 、 R_{11} 和 R_{12} 的定义如上文定义 ; 或选自聚乙二醇单元 $(-OCH_2CH_2)_n$, 其中 n 为 1 至 2000 的整数 ;

[0044] L 是任选取代的任选的苯基或具有 1 至 6 个选自 O、S、N 和 P 的杂原子的 3- 至 18- 元杂环, 其中所述取代基是由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团, 或选自具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基, 其任选地被以下的任何一个取代 : 卤素、 OR_7 、 NR_8R_9 、 NO_2 、 $NRCOR'$ 、 SR_{10} 、由 SOR' 表示的亚砷、由 $-SO_2R'$ 表示的砷、亚硫酸根 $-SO_3^-$ 、 $-OSO_3^-$ 、由 SO_2NRR' 表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、 $-COR_{11}$ 、 $OCOR_{11}$ 或 $CONR_{11}R_{12}$, 其中 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} 、 R_{11} 和 R_{12} 具有与上文给出的相同的定义, 或选自聚乙二醇单元 $(-OCH_2CH_2)_n$, 其中 n 为 1 至 2000 的整数 ; 任选地, L 自身为经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团 ; 条件是所述化合物具有至多一个经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团。

[0045] 本发明的第四目的是提供细胞结合剂与本发明的新型苯并二氮杂 萘化合物或其衍生物的轭合物。这些轭合物可用作被特异性递送以靶向细胞并且具有细胞毒性的治疗剂。

[0046] 本发明还包括组合物(例如,药物组合物),其包含新型苯并二氮杂萘化合物、其衍生物或其钶合物(和/或其溶剂合物、水合物和/或盐)和载体(可药用载体)。本发明还包括组合物(例如,药物组合物),其包含新型苯并二氮杂萘化合物、其衍生物或其钶合物(和/或其溶剂合物、水合物和/或盐)和载体(可药用载体),还包含第二治疗剂。本发明组合物可用于抑制哺乳动物(例如,人)中的异常细胞生长或治疗增殖性病征。本发明组合物也可用于治疗哺乳动物(例如,人)中的抑郁、焦虑、应激、恐怖症、惊恐、烦躁不安、精神疾病、痛苦和炎性疾病。

[0047] 本发明还包括抑制哺乳动物(例如,人)中的异常细胞生长或治疗增殖性病征的方法,所述方法包括向所述哺乳动物单独地或与第二治疗剂组合地施用治疗有效量的新型苯并二氮杂萘化合物、其衍生物或其钶合物(和/或其溶剂合物和盐)或其组合物。

[0048] 本发明还包括合并新型苯并二氮杂萘化合物、其衍生物及其钶合物以及使用它们用于体外、原位和体内诊断或治疗哺乳动物细胞、器官或相关的病理状态的方法。

[0049] 本发明的化合物、其衍生物或其钶合物以及包含它们的组合物可用于治疗或减轻例如特征在于细胞异常生长(例如,癌症)的疾病的严重程度。本发明的化合物和钶合物的其它应用包括但不限于治疗骨质疏松症、抑郁、焦虑、应激、恐怖症、惊恐、烦躁不安、精神疾病和痛苦或作为抗癫痫药、抗菌剂、利尿药和降血压药、降血脂药及抗抑郁药。

[0050] 附图简述

[0051] 图 1-10 示出了合成本发明的吡啶并苯并二氮杂萘和噁唑烷并苯并二氮杂萘单体、代表性连接体和二聚体的路线。

[0052] 图 11 示出了合成代表性 B 环修饰的吡啶并苯并二氮杂萘单体的路线。

[0053] 图 12 示出了合成代表性异吡啶并苯并二氮杂萘单体的路线。

[0054] 图 13 示出了合成具有直接连接在本发明的吡啶并苯并二氮杂萘部分上的连接体代表性二聚体的路线。

[0055] 图 14 和 15 示出了合成在连接体上含有 (PEG)_n 部分的代表性二聚体的路线。

[0056] 图 16 示出了合成代表性混合的亚胺-胺和亚胺-酰胺吡啶并苯并二氮杂萘二聚体的路线。

[0057] 图 17 示出了合成代表性 IBD- 聚(N-甲基吡咯-咪唑)钶合物的路线。

[0058] 图 18-19 示出了制备单体的多吡咯并和多吡咯并-咪唑并衍生物的合成路线。

[0059] 图 20 示出了合成具有脲连接体的哌啶基苯并二氮杂萘的路线。

[0060] 图 21-26 示出了 muB38.1-IGN-03、huN901-IGN-03、huN901-IGN-07 和 muB38.1-IGN-10 钶合物对抗原阳性和抗原阴性癌细胞系的剂量依赖性体外抗增殖活性。

[0061] 图 27 示出了 huN901-IGN-07 钶合物在具有 Mo1p-8 肿瘤的小鼠中的体内效力。

[0062] 图 28-30 示出了表明 IGN-01、IGN-02 和 IGN-09 结合且共价加成至在相反链上含有鸟嘌呤残基的双链 DNA 的数据。

[0063] 图 31 含有表 1, 其示出了吡啶并苯并二氮杂萘二聚体和噁唑烷并苯并二氮杂萘二聚体对数种癌细胞系的体外抗增殖活性的 IC₅₀ 值。

[0064] 图 32 含有表 2, 其示出了在具有和不具有连接体的情况下、吡啶并苯并二氮杂萘二聚体的体外抗增殖活性的 IC_{50} 值的比较。

[0065] 图 33-36、39、42、43、44、48、49 和 50 示出了制备本发明化合物的合成路线。

[0066] 图 37、38、40 和 41、45、46 和 47 示出了制备本发明的可连接化合物的合成路线。

[0067] 图 51 示出了本发明的化合物的体外细胞毒性。

[0068] 图 52、54、56、57 和 58 示出了 chB38.1 钷合物的体外细胞毒性和特异性。

[0069] 图 53 和 55 示出了 huMy9-6 钷合物的体外细胞毒性和特异性。

[0070] 图 59 示出了 chB38.1 钷合物的体内抗肿瘤活性。

[0071] 发明详述

[0072] 现在将为本发明的特定实施方案详细地制定参考, 以所附的结构和化合式阐述其实例。尽管将结合所列举的实施方案描述本发明, 但是应理解, 它们并不意味着将本发明限于那些实施方案。相反, 本发明旨在涵盖所有的替代形式、变更形式和等同形式, 这些替代形式、变更形式和等同形式可包括在权利要求所定义的本发明的范围内。本领域技术人员将认识到与本文所述类似或等同的许多方法和材料能够用于实施本发明。

[0073] 定义

[0074] 本文所用的“直链或支链烷基”是指 1-20 个碳原子的饱和直链或支链单价烃基。烷基的实例包括但不限于甲基、乙基、1-丙基、2-丙基、1-丁基、2-甲基-1-丙基、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、2-丁基、2-甲基-2-丙基、1-戊基、2-戊基、3-戊基、2-甲基-2-丁基、3-甲基-2-丁基、3-甲基-1-丁基、2-甲基-1-丁基、1-己基)、2-己基、3-己基、2-甲基-2-戊基、3-甲基-2-戊基、4-甲基-2-戊基、3-甲基-3-戊基、2-甲基-3-戊基、2,3-二甲基-2-丁基、3,3-二甲基-2-丁基、1-庚基、1-辛基等。

[0075] “直链或支链烯基”是指具有至少一个不饱和点(即碳-碳双键)的 2-20 个碳原子的直链或支链单价烃基, 其中所述烯基基团还包括具有“顺式”和“反式”取向或可选地, “E”和“Z”取向的基团。实例包括但不限于乙烯基或乙炔基($-\text{CH}=\text{CH}_2$)、烯丙基($-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$)等。

[0076] “直链或支链炔基”是指具有至少一个不饱和点(即碳-碳三键)的 2-20 个碳原子的直链或支链单价烃基。实例包括但不限于乙炔基、丙炔基、1-丁炔基、2-丁炔基、1-戊炔基、2-戊炔基、3-戊炔基、己炔基等。

[0077] 术语“环烷基”、“环烯基”、“环炔基”、“碳环”、“碳环基”、“碳环”和“环烷基”是指具有 3 至 12 个碳原子作为单环或 7 至 12 个碳原子作为二环的单价非芳族的饱和或部分不饱和环。具有 7 至 12 个原子的二环碳环可以排列成例如二环 [4,5]、[5,5]、[5,6] 或 [6,6] 系统, 并且具有 9 或 10 个环原子的二环碳环可排列成二环 [5,6] 或 [6,6] 系统, 或桥接系统例如二环 [2.2.1] 庚烷、二环 [2.2.2] 辛烷和二环 [3.2.2] 壬烷。单环碳环的实例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、1-环戊-1-烯基、1-环戊-2-烯基、1-环戊-3-烯基、环己基、1-环己-1-烯基、1-环己-2-烯基、1-环己-3-烯基、环己二烯基、环庚基、环辛基、环壬基、环癸基、环十一烷基、环十二烷基等。

[0078] “芳基”是指通过从母体芳族环系统的单个碳原子去除一个氢原子而衍生的 6-18 个碳原子的单价芳族烃基。一些芳基在示例性结构中表示为“Ar”。芳基还包括二环基团, 其包含与饱和、部分不饱和环或芳族碳环或杂环稠合的芳族环。典型的芳基包括但不限于

衍生自苯（苯基）、取代的苯、萘、蒽、茛基、茛满基、1,2-二氢萘、1,2,3,4-四氢萘基等的基团。

[0079] 术语“杂环”、“杂环基”和“杂环”在本文可互换地使用，并且是指 3 至 18 个环原子的饱和或部分未饱和（即，在环内具有一个或多个双键和 / 或三键）碳环基团，其中至少一个环原子是选自氮、氧、磷和硫的杂原子，剩余的环原子为 C，其中一个或多个环原子任选地独立地被一个或多个下述的取代基取代。杂环可以是具有 3 至 7 个环成员（2 至 6 个碳原子和 1 至 4 个选自 N、O、P 和 S 的杂原子）的单环或具有 7 至 10 个环成员（4 至 9 个碳原子和 1 至 6 个选自 N、O、P 和 S 的杂原子、）的二环，例如：二环 [4,5]、[5,5]、[5,6] 或 [6,6] 系统。杂环记载于 Paquette, Leo A. ; “Principles of Modern Heterocyclic Chemistry” (W. A. Benjamin, New York, 1968), 特别是第 1、3、4、6、7 和 9 章； “The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs” (John Wiley & Sons, New York, 1950 至今), 特别是第 13、14、16、19 和 28 卷；和 J. Am. Chem. Soc. (1960) 82 : 5566。“杂环基”还包括这样的基团，其中杂环基团与饱和、部分不饱和环或芳族碳环或杂环稠合。杂环的实例包括但不限于吡咯烷基、四氢呋喃基、二氢呋喃基、四氢噻吩基、四氢吡喃基、二氢吡喃基、四氢噻喃基、哌啶子基、吗啉代、硫代吗啉代、噻噁烷基、哌嗪基、高哌嗪基、氮杂环丁烷基、环氧丙烷基、硫杂环丁烷基、高哌啶基、氧杂环庚烷基、硫杂环庚烷基、氧杂萘基、二氮杂萘基、硫杂萘基、2-吡咯啉基、3-吡咯啉基、二氢吲哚基、2H-吡喃基、4H-吡喃基、二噁烷基、1,3-二氧戊环基、吡唑啉基、二噻烷基、二硫戊环基、二氢吡喃基、二氢噻吩基、二氢呋喃基、吡唑烷基咪唑啉基、咪唑烷基、3-氮杂二环 [3.1.0] 己烷基、3-氮杂二环 [4.1.0] 庚烷基和氮杂二环 [2.2.2] 己烷基。螺部分也包括在此定义内。其中环原子被氧代 (=O) 部分取代的杂环基的实例噻啶酮基和 1,1-二氧代-硫代吗啉基。

[0080] 术语“杂芳基”是指 5- 或 6- 元环的单价芳族基团，并且还包含 5-18 个原子的稠环系统（至少一个环是芳族的），其含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子。杂芳基的实例为吡啶基（包括，例如 2-羟基吡啶基）、咪唑基、咪唑并吡啶基、噻啶基（包括，例如 4-羟基噻啶基）、吡唑基、三唑基、吡嗪基、四唑基、呋喃基、噻吩基、异噻唑基、噻唑基、噁唑基、异噻唑基、吡咯基、喹啉基、异喹啉基、吲哚基、苯并咪唑基、苯并呋喃基、噌啉基、吲唑基、吲嗪基、酞嗪基、哒嗪基、三嗪基、异吲哚基、喋啶基、嘌呤基、噁二唑基、三唑基、噻二唑基、呋喃基、苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并噻唑基、苯并噁唑基、喹啉基、喹噁啉基、萘啶基和呋喃并吡啶基。

[0081] 杂环或杂芳基可以是连接的碳（碳连接的）或氮（氮连接的），如果这样可能的话。举例来说但不限制，碳键合的杂环或杂环基在以下位置键合：吡啶的 2、3、4、5 或 6 位键合、哒嗪的 3、4、5 或 6 位、噻啶的 2、4、5 或 6 位、吡嗪的 2、3、5 或 6 位、呋喃、四氢呋喃、硫代呋喃、噻吩、吡咯或四氢吡咯的 2、3、4 或 5 位、噁唑、咪唑或噻唑的 2、4 或 5 位、异噁唑、吡唑或异噻唑的 3、4 或 5 位、氮丙啶的 2 或 3 位、氮杂环丁烷的 2、3 或 4 位、喹啉的 2、3、4、5、6、7 或 8 位或异喹啉的 1、3、4、5、6、7 或 8 位。

[0082] 举例来说但不限制，氮键合的杂环或杂芳基在以下位置键合：氮丙啶、氮杂环丁烷、吡咯、吡咯烷、2-吡咯啉、3-吡咯啉、咪唑、咪唑烷、2-咪唑啉、3-咪唑啉、吡唑、吡唑啉、2-吡唑啉、3-吡唑啉、哌啶、哌嗪、吲哚、吲哚啉、1H-吲唑的 1 位、异吲哚或异吲哚啉的 2 位、

吗啉的 4 位和咪唑或 O- 咪啉的 9 位。

[0083] 存在于杂芳基或杂环基的杂原子包括氧化形式, 例如 NO、SO 和 SO₂。

[0084] 术语“卤代素”或“卤素”是指 F、Cl、Br 或 I。

[0085] 本文所用的术语“化合物素”或“细胞毒性化合物”或“细胞毒性剂素”旨在包括已在本发明中公开的结构或式或其任何衍生物或已通过引用并入的结构或式或其任何衍生物的化合物。术语还包括本发明中公开的所有式的立体异构体、几何异构体、互变异构体、溶剂合物、代谢产物、盐(例如可药用盐)和前药, 以及前药盐。术语还包括任何前述化合物的任何溶剂合物、水合物和多晶型物。本申请中描述的本发明某些方面的“立体异构体”、“几何异构体”、“互变异构体”、“溶剂合物”、“代谢产物”、“盐”、“前药”、“前药盐”、“轭合物”、“轭合物盐”、“溶剂合物”、“水合物”或“多晶型物”的特定详述不应被解释为: 在使用术语“化合物”而不详述这些其它形式时, 在本发明某些方面中有意忽略这些形式。

[0086] 本文所用的术语“轭合物”是指与细胞结合剂连接的化合物或其衍生物, 且由以下通式定义: C-L-CBA, 其中 C= 化合物、L= 连接体和 CBA= 细胞结合剂。

[0087] 本文所用的术语“可与细胞结合剂连接”是指新型苯并二氮杂^葸化合物(例如, 吡啶并苯并二氮杂^葸或噁唑烷并苯并二氮杂^葸)、其衍生物或其二聚体, 其包含至少一个适于键合细胞结合剂至这些化合物、其衍生物或其二聚体的连接基团或其前体。

[0088] 给定基团的术语“前体”是指可通过任何保护、化学修饰和偶联反应产生该基团的任何基团。

[0089] 术语“与细胞结合剂连接”是指轭合物分子, 其包含至少一种通过适合的连接基团或其前体与细胞结合剂结合的新型苯并二氮杂^葸化合物(例如, 吡啶并苯并二氮杂^葸或噁唑烷并苯并二氮杂^葸)、其衍生物或其二聚体。

[0090] 术语“手性”是指具有镜像伴侣的非重迭性的分子, 而术语“非手性”是指可在其镜像伴侣上重迭的分子。

[0091] 术语“立体异构体”是指具有相同的化学组成和连结性但其原子在空间中的不同定位不能通过在单键周围旋转而互相转化的化合物。

[0092] “非对映体”是指具有两个或多个手性中心和其分子不是彼此的镜像的立体异构体。非对映体具有不同物理性质, 例如熔点、沸点、光谱性质和反应性。非对映体的混合物可在高分辨率分析规程(例如结晶、电泳和色谱法)下分离。

[0093] “对映体”是指彼此为非重迭镜像的化合物的两个对映异构体。

[0094] 本文所用的立体化学定义和惯例通常遵循 S. P. Parker 编辑, McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms(1984) McGraw-Hill Book Company, New York; 以及 Eliel, E. 和 Wilen, S., " Stereochemistry of Organic Compounds", John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994。本发明的化合物可包含不对称或手性中心, 并且因此以不同立体异构形式存在。包括但不限于非对映体、对映体和阻转异构体以及其混合物(例如外消旋混合物)的本发明化合物的所有立体异构形式预期形成本发明的一部分。很多有机化合物以旋光性形式存在, 即, 它们具有旋转平面偏振光的平面的能力。在描述旋光性化合物中, 前缀 D 和 L、或 R 和 S 用于表示分子关于其手性中心的绝对构型。前缀 d 和 l 或 (+) 和 (-) 用于指示平面偏振光旋转的符号, 其中 (-) 或 l 是指化合物是左旋的。具有 (+) 或 d 前

缀的化合物是右旋的。对于给定的化学结构,这些立体异构体是相同的,除了它们彼此为镜像。特异性立体异构体也可被称为对映体,并且这些异构体的混合物通常称作对映体混合物。对映体的 50 :50 混合物被称为外消旋混合物或外消旋物,其可在化学反应或工序中没有立体选择或立体特异性之处出现。术语“外消旋混合物”和“外消旋物”是指两种对映体种类的等摩尔混合物,没有旋光性。

[0095] 术语“互变异构体”或“互变异构形式”是指可经由低能量屏障互相转化的不同能量的结构异构体。例如,质子互变异构体(也被称为质子异变的互变异构体)包括经由质子迁移的互相转化,例如酮-烯醇和亚胺-烯胺异构化。化合价互变异构体包括通过重组一些成键电子而进行的互相转化。

[0096] 如果取代基包含至少一个与一个或多个氢原子键合的碳、硫、氧或氮原子,那么该取代基是“可取代的”。因此,例如氢、卤素和氰基不落入本定义内。

[0097] 如果取代基被描述为“取代的”,那么非氢取代基在该取代基的碳、氧、硫或氮上的氢取代基的位置。因此,例如取代的烷基取代基是这样的烷基取代基,其中至少一个非氢取代基在该烷基取代基上的氢取代基的位置。为了举例说明,单氟烷基是被氟取代基取代的烷基,并且二氟烷基是被两个氟取代基取代的烷基。应认识到,如果在取代基上的取代多于一个,那么每个非氢取代基可以相同或不同(除非另有说明)。

[0098] 如果取代基被描述为“任选地取代”,那么该取代基可以(1)未被取代,或(2)被取代。如果取代基的碳被描述为任选地被一组取代基中的一个或多个取代,那么该碳上的一个或多个氢(以碳上没有氢为限)可分别和/或一起被独立选择的任选取代基替代。如果取代基的氮被描述为任选地被一组取代基中的一个或多个取代,那么该氮上的一个或多个氢(以碳上没有氢为限)可各自被独立选择的任选取代基替代。一个示例性取代基可被描述为 $-NR'R''$, 其中 R' 和 R'' 与它们所连接的氮原子一起可以形成杂环。由 R' 和 R'' 与它们所连接的氮原子一起形成的杂环可以是部分或全部饱和的。在一个实施方案中,杂环包括 3 至 7 个原子。在另一个实施方案中,该杂环选自吡咯基、咪唑基、吡啶基、三唑基、四唑基、异噁唑基、吡啶基和噻唑基。

[0099] 本说明书可互换地使用术语“取代基”、“基团”和“基”。

[0100] 如果取代基的基团共同被描述为任选地被一组取代基中的一个或多个取代,那么该基团可以包括:(1)不可取代的取代基、(2)未被任选取代基取代的可取代的取代基,和/或(3)被任选取代基中的一个或多个取代的可取代的取代基。

[0101] 如果取代基被描述为任选地被至多特定数目的非氢取代基取代,那么该取代基可以(1)未被取代;或(2)被至多特定数目的非氢取代基或被该取代基上至多最大数目的可取代位置(取较小值)取代。因此,例如,如果取代基被描述为任选地被至多 3 个非氢取代基取代的杂芳基,那么任何低于 3 个可取代位置的杂芳基将任选地被至多仅与该杂芳基具有的可取代位置一样多的非氢取代基取代。在非限制性实例中,此类取代基可以选自具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基、卤素、胍盐 $[-NH(C=NH)NH_2]$ 、 OR_7 、 NR_8R_9 、 NO_2 、 $NRCOR'$ 、 SR_{10} 、由 SOR' 表示的亚砷、由 $-SO_2R'$ 表示的砷、亚硫酸根 $-SO_3^-$ 、 $-OSO_3^-$ 、由 SO_2NRR' 表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、 $-COR_{11}$ 、 $OCOR_{11}$ 或 $OCNR_{11}R_{12}$, 其中 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} 、 R_{11} 和 R_{12} 各自独立地选自 H; 具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基; 聚乙二醇单元 $(-OCH_2CH_2)_n$, 其中 n 为 1 至 2000 的整数; 具有 6 至 10 个碳原子的芳基; 具有 3 至

10 个碳原子的杂环。

[0102] 本申请中所用的术语“前药”是指本发明化合物的前体或衍生物形式,其能够被以酶法或水解方法激活或转化成更具活性的母体形式。参见,例如 Wilman, " Prodrugs in Cancer Chemotherapy " Biochemical Society Transactions,14, 第 375-382 页,615th Meeting Belfast(1986) 和 Stella 等人, " Prodrugs :A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery " , Directed Drug Delivery, Borchardt 等人(编辑),第 247-267 页, Humana Press(1985)。本发明的前药包括但不限于含有酯的前药、含有磷酸酯的前药、含有硫代磷酸酯的前药、含有硫酸酯的前药、含有肽的前药、含有 D- 氨基酸的前药、糖基化前药、含有 β - 内酰胺的前药、含有任选取代的苯氧基乙酰胺的前药、含有任选取代的苯基乙酰胺的前药、5- 氟胞嘧啶和可转化成更具有活性的细胞毒性游离药物的其它 5- 氟尿苷。可被衍生化成用于本发明的前药的细胞毒性药的实例包括但不限于本发明的化合物和化学治疗剂,例如上述的那些。

[0103] 术语“前药”也意指包括可在生物条件(体外或体内)下水解、氧化或以其它方式反应以提供本发明化合物的化合物衍生物。前药可仅在生物条件下反应后变得具有活性,或它们的未反应形式可具有活性。本发明中涵盖的前药的实例包括但不限于,包含生物可水解的部分例如生物可水解的酰胺、生物可水解的酯、生物可水解的氨基甲酸酯、生物可水解的碳酸酯、生物可水解的酰胺和生物可水解的磷酸酯类似物的本文所公开的式的任何一个的化合物的类似物或衍生物。前药的其它实例包括包含 $-\text{NO}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{ONO}$ 或 $-\text{ONO}_2$ 部分的本文所公开的式的任何一个的化合物的衍生物。前药通常可使用众所周知的方法制备,例如由 Burger ' s Medicinal Chemistry and Drug Discovery(1995)172-178, 949-982(Manfred E. Wolff 编辑,第 5 版)所述的方法;还参见 Goodman 和 Gilman ' s, The Pharmacological basis of Therapeutics, 第 8t 版, McGraw-Hill, Int. Ed. 1992, " Biotransformation of Drugs "。

[0104] 如本文所用且除非另有说明,否则术语“生物可水解的酰胺”、“生物可水解的酯”、“生物可水解的氨基甲酸酯”、“生物可水解的碳酸酯”、“生物可水解的酰胺”和“生物可水解的磷酸酯类似物”分别是指酰胺、酯、氨基甲酸酯、碳酸酯、酰胺或磷酸酯类似物,它们:1) 不破坏化合物的生物活性并且赋予该化合物有利的体内性质,例如摄取、作用持续时间或作用发生;或 2) 本身在生物学上无活性但是在体内转化为生物学活性的化合物。生物可水解的酰胺的实例包括但不限于低级烷基酰胺、 α - 氨基酸酰胺、烷氧基酰基酰胺和烷基氨基烷基羰基酰胺。生物可水解的酯的实例包括但不限于低级烷基酯、烷氧基酰氧基酯、烷基酰基氨基烷基酯和胆碱酯。生物可水解的氨基甲酸酯的实例包括但不限于低级烷基胺、取代的乙二胺、氨基酸、羟基烷基胺、杂环和杂芳族胺、以及聚酰胺。特别有利的前药和前药盐为当此类化合物向哺乳动物施用时本发明化合物的生物利用度增加的那些。

[0105] 本文所用的短语“可药用盐”是指本发明化合物的可药用的有机或无机盐。示例性盐包括但不限于硫酸盐、柠檬酸盐、乙酸盐、草酸盐、盐酸盐、溴酸盐、碘酸盐、硝酸盐、重硫酸盐、磷酸盐、酸式磷酸盐、异烟酸盐、乳酸盐、水杨酸盐、酸式柠檬酸盐、酒石酸盐、油酸盐、鞣酸盐、泛酸盐、酒石酸氢盐、抗坏血酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、龙胆酸盐、富马酸盐、葡糖酸盐、葡糖醛酸盐、蔗糖盐、甲酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐、扑酸盐(即,1,1' - 亚甲基 - 二-(2- 羟基 -3- 萘甲酸盐))、碱金属(例如,

钠和钾)盐、碱土金属(例如,镁)盐、和铵盐。可药用盐可参与包含另一个分子例如乙酸盐离子、琥珀酸盐离子或其它抗衡离子。抗衡离子可以是在母体化合物上稳定电荷的有机或无机部分。而且,可药用盐在其结构中具有一个以上的荷电原子。多个荷电原子是可药用盐的一部分的情况可具有多个抗衡离子。因此,可药用盐可具有一个或多个荷电原子和/或一个或多个抗衡离子。

[0106] 如果本发明化合物是碱,那么期望的可药用盐可通过本领域可用的任何适合方法制备,例如用无机酸例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、甲磺酸、磷酸等或用有机酸(例如乙酸、马来酸、琥珀酸、扁桃酸、富马酸、丙二酸、丙酮酸、草酸、乙醇酸、水杨酸、吡喃糖苷酸(例如葡萄糖醛酸或半乳糖醛酸)、 α 羟基酸(例如柠檬酸或酒石酸)、氨基酸(例如天冬氨酸或谷氨酸)、芳族酸(例如苯甲酸或肉桂酸)、磺酸(例如对甲苯磺酸或乙磺酸等)处理游离碱。

[0107] 如果本发明化合物是酸,那么期望的可药用盐可通过任何适合的方法制备,例如用无机或有机碱例如胺(伯胺、仲胺或叔胺)、碱金属氢氧化物或碱土金属氢氧化物等处理游离酸。适合盐的示例性实例包括但不限于衍生自氨基酸例如甘氨酸和精氨酸、氨、伯胺、仲胺和叔胺、以及环胺(如哌啶、吗啉和哌嗪)的有机酸,以及衍生自钠、钙、钾、镁、锰、铁、铜、锌、铝和锂的无机盐。

[0108] 如本文所用的,术语“溶剂合物”是指化合物,其还包括通过非共价分子间作用力结合的化学计算的或非化学计算的量的溶剂例如水、异丙醇、丙酮、乙醇、甲醇、DMSO、乙酸乙酯、乙酸和乙醇胺、二氯甲烷、2-丙醇等。通过将至少1摩尔当量的羟基溶剂例如甲醇、乙醇、1-丙醇、2-丙醇或水加至化合物以产生亚胺部分的溶剂化或水化,容易地制备化合物的溶剂合物或水合物。

[0109] 术语“异常细胞生长”和“增殖性病症”可在本申请中互换地使用。除非另有说明,否则本文所用的“异常细胞生长”是指与正常调节机制(例如,接触抑制的丧失)无关的细胞生长。这包括,例如以下的异常生长:(1)通过表达突变化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)其它增殖性疾病(其中异常酪氨酸激酶活化发生)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)通过异常丝氨酸/苏氨酸激酶活化增殖的任何肿瘤;和(5)其它增殖性疾病(其中异常丝氨酸/苏氨酸激酶活化发生)的良性和恶性细胞。

[0110] 术语“癌症”和“癌的”是指或描述哺乳动物中通常具有细胞生长失调特征的生理状态。“肿瘤”包含一种或多种癌细胞。癌症的实例包括但不限于癌瘤、淋巴瘤、胚细胞瘤、肉瘤、和白血病或淋巴样恶性肿瘤。此类癌症的更具体例子包括鳞状细胞癌(如上皮鳞状细胞癌)、肺癌(包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺的腺癌和肺的鳞癌)、腹膜癌、肝细胞癌、胃癌(包括胃肠癌)、胰腺癌、成胶质细胞瘤、宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、泌尿道癌、肝癌、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜或子宫癌、唾液腺癌、肾癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝癌、肛门癌、阴茎癌、急性白血病、以及头/脑癌和颈癌。

[0111] “治疗剂”涵盖生物试剂(例如抗体、肽、蛋白质、酶)或化学治疗剂。“化学治疗剂”是用于治疗癌症的化合物。化学治疗剂的实例包括埃罗替尼(TARCEVA[®], Genentech/OSI Pharm.)、硼替佐米(VELCADE[®], Millennium Pharm.), 氟维斯群(FASLODEX[®], AstraZeneca)、索坦(SU11248, Pfizer)、来曲唑(FEMARA[®],

Novartis)、甲磺酸伊马替尼 (GLEEVEC® , Novartis)、PTK787/ZK222584 (Novartis)、奥利沙铂 (Eloxatin®, Sanofi)、5-FU(5-氟尿嘧啶)、甲酰四氢叶酸、雷帕霉素 (Sirolimus, RAPAMUNE®, Wyeth)、拉帕替尼 (TYKERB®, GSK572016, Glaxo Smith Kline)、Lonafamib(SCH66336)、索拉非尼 (BAY43-9006, Bayer Labs) 和吉非替尼 (IRESSA®, AstraZeneca)、AG1478、AG1571(SU5271 ;Sugen)、烷化剂例如塞替派和 CYTOXAN®环磷酰胺 ;磺酸烷基酯例如白消安、英丙舒凡和哌泊舒凡 ;氮丙啶例如苯佐替派 (benzodopa)、卡波醌、美托替派 (meturedopa) 和乌瑞替派 (uredopa) ;乙撑亚胺和甲基蜜胺,包括六甲蜜胺、三乙撑蜜胺、三乙撑磷酰胺、三乙撑硫代磷酰胺和三羟甲基蜜胺 ;番荔枝内酯 (尤其是布拉他辛和布拉他辛酮) ;喜树碱 (包括合成类似物托泊替康) ;苔藓抑素 ;callystatin ;CC-1065 (包括其阿多来新、卡折来新和比折来新合成类似物) ;隐藻素 (特别是隐藻素 1 和隐藻素 8) ;多拉司他汀 ;多卡米星 (包括合成类似物, KW-2189 和 CB1-TM1) ;艾榴赛洛素 ;pancratistatin ;sarcodictyin ;海绵抑素 (spongistatin) ;氮芥例如苯丁酸氮芥、萘氮芥、胆磷酰胺、雌氮芥异环磷酰胺、氮芥、盐酸氧化氮芥、美法仑、新氮芥、苯芥胆甾醇、泼尼莫司汀、曲磷胺、尿嘧啶氮芥 ;亚硝基脲类,例如卡莫司汀、氯脲菌素、福莫司汀、洛莫司汀、尼莫司汀和雷莫司汀 ;抗生素类,例如烯二炔类抗生素 (如卡奇霉素, 尤其是卡奇霉素 γ 11 和卡奇霉素 ω 11 (Angew Chem. Intl. Ed. Engl. (1994) 33 :183-186) ;达内霉素 (dynemicin), 包括达内霉素 A ;二磷酸盐类,例如氯磷酸盐 ;埃斯波霉素 ;以及新制癌菌素发色团和相 关色蛋白烯二炔类抗生素发色团)、阿克拉霉素、放线菌素、氨基霉素 (anthramycin)、偶氮丝氨酸、博来霉素、放线菌素 C、卡柔比星 (carabycin)、洋红霉素、嗜癌霉素、色霉素、放线菌素 D、柔红霉素、地托比星、6- 二氮 -5- 氧带 -L- 正亮氨酸、ADRIAMYCIN® (多柔比星)、(包括吗琳代 - 多柔比星、氰基吗琳代 - 多柔比星、2- 吡咯啉代多柔比星和脱氧多柔比星、表柔比星、依索比星、伊达比星、麻西罗霉素、丝裂霉素例如丝裂霉素 C、霉酚酸、诺拉霉素、橄榄霉素、培洛霉素、泊非霉素、嘌呤霉素、三铁阿霉素、罗多比星、链黑菌素、链佐星、杀结核菌素、乌苯美司、净司他丁、佐柔比星 ;抗代谢物类,例如甲氨喋呤和 5- 氟尿嘧啶 (5-FU) ;叶酸类似物,例如二甲叶酸、甲氨喋呤、蝶罗呤、三甲曲沙 ;嘌呤类似物,例如氟达拉滨、6- 巯嘌呤、硫咪嘌呤、硫鸟嘌呤 ;嘧啶类似物,例如安西他滨、阿扎胞苷、6- 氮杂尿苷、卡莫氟、阿糖胞苷、双脱氧尿苷、去氧氟尿苷、依诺他滨、氟尿苷 ;雄激素类,例如卡普睾酮、丙酸屈他雄酮、环硫雄醇、美雄烷、睾内酯 ;抗肾上腺类,例如氨鲁米特、米托坦、曲洛司坦 ;叶酸补充剂,例如亚叶酸 (frolinic acid) ;醋葡醛内醋 ;醛磷酰胺糖苷 ;氨基乙酰丙酸 ;恩尿嘧啶 ;安吡啶 ;bestrabucil ;比生群 ;edatraxate ;地磷酰胺 (defofamine) ;地美可辛 ;地吡醌 ;elfomithine ;依利醋铵 (elliptinium acetate) ;埃坡霉素 ;依托格鲁 ;硝酸镓 ;羚脲 ;香菇多糖 ;氯尼达明 (lonidainine) ;美登木素生物碱 (maytansinoid), 例如美登素和美登醇 ;安丝菌素 ;米托胍脲 ;米托蒽醌 ;莫哌达醇 ;nitraerine ;喷司他丁 ;蛋氨酸 ;吡柔比星 ;洛索蒽醌 ;鬼臼酸 ;2- 乙基酰肼 ;丙卡巴肼 ;PSK 多糖复合物 (JHS Natural Products, Eugene, Oreg.) ;雷佐生 ;根霉素 ;西左非兰 (sizofuran) ;锗螺胺 ;替奴佐酸 ;三亚胺醌 ;2, 2' , 2" - 三氯三乙胺 ;单端孢霉烯类 (尤其是 T2 毒素、疣孢菌素 (verracurin) A、杆孢菌素 A 和蛇形菌素 (anguidine)) ;乌拉坦 ;长春地辛 ;达卡巴嗪 ;甘露醇氮芥 ;二溴甘露醇 ;二溴卫矛醇 ;哌泊溴烷 ;gacytosine ;阿糖胞苷 (" Ara-C") ;环磷酰胺 ;噻替派 ;类紫杉醇,如 TAXOL® (紫杉醇 ;Bristol-Myers

Squibb Oncology, Princeton, N. J.)、ABRAXANE(不含克列莫佛)、白蛋白改造的纳米颗粒剂型紫杉醇(American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Ill.)和**TAXOTERE®**(多西紫杉醇; Rhone-Poulenc Rorer, Antony, France); 苯丁酸氮芥(chlorambucil); **GEMZAR®**(吉西他滨); 6- 硫鸟嘌呤; 硫嘌呤; 甲氨嘌呤(methotrexate); 铂类似物, 例如顺铂和卡铂; 长春碱; 依托泊苷(VP-16)、异环磷酰胺、米托蒽醌; 长春新碱; **NAVELBINE®**(长春瑞滨); 诺消灵; 替尼泊苷; 依达曲沙; 道诺霉素; 氨基嘌呤; 卡培他滨(**XELODA®**); 伊班膦酸盐; CPT-11; 拓扑异构酶抑制剂 RFS 2000; 二氟甲基鸟氨酸; 类维 A 酸例如维 A 酸; 以及上述任一种的可药用盐、酸和衍生物。

[0112] “化学治疗剂”的定义还包括:(i) 用于调节或抑制对肿瘤例如抗-雌激素和选择性雌激素受体调节剂(SERM)的激素作用的抗-激素剂, 包括例如他莫昔芬(包括**NOLVADEX®**; 枸橼酸他莫昔芬)、雷洛昔芬、屈洛昔芬、4-羟基他莫昔芬、曲沃昔芬、雷洛昔芬、LY117018、奥那司酮和**FARESTON®**(柠檬酸托瑞米芬); (ii) 抑制芳香酶的芳香酶抑制剂, 其调节雌激素在肾上腺中的产生, 例如4(5)-咪唑、氨鲁米特、**MEGASE®**(醋酸甲地孕酮)、**AROMASIN®**(依西美坦; Pfizer)、福美坦、法倔唑、**RIVISOR®**(伏氯唑)、**FEMARA®**(来曲唑; Novartis)和**ARIMIDEX®**(阿那曲唑; AstraZeneca); (iii) 抗-雄激素例如氟他胺、尼鲁米特、比卡鲁胺、亮丙瑞林和戈舍瑞林; 以及曲沙他滨(1,3-二氧戊环核苷胞嘧啶类似物); (iv) 蛋白激酶抑制剂; (v) 脂质激酶抑制剂; (vi) 反义寡核苷酸, 特别是抑制基因在牵涉异常细胞增殖的信号传导途径中的表达的那些, 例如PKC- α 、Raf和H-Ras; (vii) 核糖酶例如VEGF表达抑制剂(例如,**ANGIOZYME®**)和HER2表达抑制剂; (viii) 疫苗例如基因治疗疫苗, 例如**ALLOVECTIN®**、**LEUVECTIN®**和**VAXID®**; **PROLEUKIN®** rIL-2; 拓扑异构酶1抑制剂例如**LURTOTECAN®**; **ABARELIX®** rmRH; (ix) 抗-血管生成剂例如贝伐单抗(**AVASTIN®**, Genentech); 和(x) 上述任一种的可药用盐、酸和衍生物。其他抗-血管生成剂包括MMP-2(基质金属蛋白酶2)抑制剂、MMP-9(基质金属蛋白酶9)抑制剂、COX-II(环加氧酶II)抑制剂和VEGF受体酪氨酸激酶抑制剂。可用于与本发明化合物/组合物组合使用的此类有用的基质金属蛋白酶抑制剂的实例描述于WO 96/33172、WO 96/27583、EP 818442、EP1004578、WO 98/07697、WO 98/03516、WO 98/34918、WO 98/34915、WO 98/33768、WO 98/30566、EP 606,046、EP 931,788、WO 90/05719、WO 99/52910、WO 99/52889、WO 99/29667、WO 99/07675、EP 945864、美国专利No. 5,863,949、美国专利No. 5,861,510和EP 780,386中,所有专利通过引用全文并入本文。VEGF受体酪氨酸激酶抑制剂的实例包括4-(4-溴-2-氟苯胺基)-6-甲氧基-7-(1-甲基哌啶-4-基甲氧基)喹唑啉(ZD6474; W001/32651内的实施例2)、4-(4-氟-2-甲基吡啶-5-基氧基)-6-甲氧基-7-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-喹唑啉(AZD2171; W0 00/47212内的实施例240)、瓦他拉尼(PTK787; W0 98/35985)和SU11248(舒尼替尼; W0 01/60814),以及化合物例如PCT公布No. W0 97/22596、W097/30035、W0 97/32856和W0 98/13354中公布的那些)。

[0113] 可用于与本发明化合物组合使用的化学治疗剂的其它实例包括P13K(磷酸肌醇-3激酶)抑制剂, 例如记载于Yaguchi等人(2006) Jour. of the Nat. Cancer Inst. 98(8): 545-556; 美国专利No. 7,173,029; 美国专利No. 7,037,915; 美国专利No. 6,608,056; 美

国专利 No. 6,608,053 ;美国专利 No. 6,838,457 ;美国专利 No. 6,770,641 ;美国专利 No. 6,653,320 ;美国专利 No. 6,403,588 ;WO 2006/046031 ;WO 2006/046035 ;WO2006/046040 ;WO 2007/042806 ;WO 2007/042810 ;WO 2004/017950 ;US 2004/092561 ;WO 2004/007491 ;WO 2004/006916 ;WO 2003/037886 ;US 2003/149074 ;WO 2003/035618 ;WO 2003/034997 ;US 2003/158212 ;EP 1417976 ;US 2004/053946 ;JP 2001247477 ;JP 08175990 ;JP 08176070 ;美国专利 No. 6,703,414 ;和 WO 97/15658 的那些,上述所有文献通过引用全文并入本文。此类 PI3K 抑制剂的具体实例包括 SF-1126 (PI3K 抑制剂, Semafore Pharmaceuticals)、BEZ-235 (PI3K 抑制剂, Novartis)、XL-147 (PI3K 抑制剂, Exelixis, Inc.)。

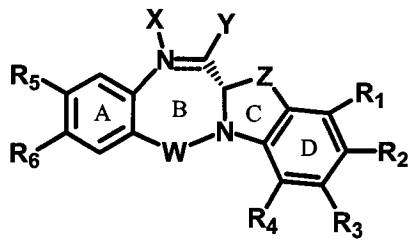
[0114] “代谢产物”是通过指定化合物、其衍生物或其钶合物或其盐在体内的代谢所产生的产物。化合物、其衍生物或其钶合物的代谢产物可使用本领域已知的常规技术得以鉴定,并且其活性使用试验(例如本文所述的那些)得以测定。此类产物可例如由所施用化合物的氧化、羟基化、还原、水解、酰胺化、脱酰胺化、酯化、脱酯化、酶促裂解等产生。因此,本发明还包括本发明的化合物、其衍生物或其钶合物的代谢产物(包括化合物、其衍生物或其钶合物),它们通过包括将本发明的化合物、其衍生物或其钶合物与哺乳动物接触足以获得其代谢产物的时间的方法产生。

[0115] 短语“可药用的”是指物质或组合物与包含制剂和/或用其治疗的哺乳动物的其它要素必须是化学上和/或毒理学上相容的。

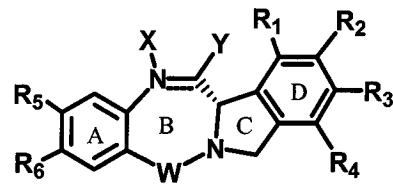
[0116] 术语“保护基”或“保护部分”是指通常用于阻断或保护具体官能度同时与化合物、其衍生物或其钶合物上的其它官能团反应的取代基。例如,“氨基-保护基”或“氨基-保护部分”是连接于阻断或保护化合物中的氨基官能度的氨基的取代基。适合的氨基-保护基包括乙酰基、三氟乙酰基、叔丁氧基羰基 (BOC)、苄氧基羰基 (CBZ) 和 9-苄基亚甲基氧基羰基 (Fmoc)。类似地,“羟基-保护基”是指阻断或保护羟基官能度的羟基的取代基。适合的保护基包括乙酰基和甲硅烷基。“羧基-保护基”是指阻断或保护羧基官能度的羧基的取代基。常用的羧基-保护基包括苯基磺酰基以及、氰基乙基、2-(三甲基甲硅烷基)乙基、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基、2-(对甲苯磺酰基)乙基,2-(对硝基苯基亚磺酰基)乙基、2-(二苯基膦基)-乙基、硝基乙基等。常用硫醇-保护基包括将硫醇转化为硫酯的那些,例如乙酰基、苯甲酰基或三氟乙酰基;将硫醇转化为硫醚的那些(例如苄基、叔丁基、三苯基甲基、9-苄基甲基、甲氧基甲基、2-四氢吡喃基或甲硅烷基);将硫醇转化为二硫化物的那些(例如甲基、苄基、叔丁基、吡啶基、硝基吡啶基、苯基、硝基苯基或二硝基苯基);将硫醇转化为硫代碳酸酯的那些(例如叔丁氧基羰基);将硫醇转化为硫代氨基甲酸酯的那些(例如 N-乙基)。对于保护基及其应用的一般描述,参见 P. G. M. Wuts & T. W. Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, New York, 2007。

[0117] 对于新型的式 (I) 和 (II) 的苯并二氮杂萘或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体,

[0118]



(I)



(II)

[0119] 其中：

[0120] N 与 C 之间的双线 \equiv 表示单键或双键，条件是当其为双键时，X 不存在且 Y 为 H，并且当其为单键时，X 为 H 或将该化合物转化成可在体外或体内转变为游离胺的前药的氨基保护部分；

[0121] Y 选自 -OR、由 -OCOR' 表示的酯、由 -OCOOR' 表示的碳酸酯、由 -OCONR' R'' 表示的氨基甲酸酯、由 NR' R'' 表示的胺或羟基胺、由 -NRCOR' 表示的酰胺、由 NRCOP 表示的肽（其中 P 为氨基酸或含有 2 至 20 个氨基酸单元的多肽）、由 SR' 表示的硫醚、由 SOR' 表示的亚砷、由 -SO₂R' 表示的砷、亚硫酸根 -SO₃⁻、-OSO₃⁻、卤素、氰基、叠氨基、或巯基，其中 R、R' 和 R'' 相同或不同并且选自 H；取代的或未取代的具有 1 至 20 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元 (-OCH₂CH₂)_n，其中 n 为 1 至 2000 的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5- 或 6- 元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5 元至 18 元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；含有 6 至 18 个碳原子的芳基；含有 1 至 6 个选自 O、S、N 和 P 的杂原子的 3- 至 18- 元杂环，其中所述取代基选自卤素、OR₇、NR₈R₉、NO₂、NRCOR'、SR₁₀、由 SOR' 表示的亚砷、由 -SO₂R' 表示的砷、亚硫酸根 -SO₃⁻、-OSO₃⁻、由 SO₂NRR' 表示的磺酰胺、氰基、叠氨基、-COR₁₁、OCOR₁₁ 或 OCONR₁₁R₁₂，其中 R₇、R₈、R₉、R₁₀、R₁₁ 和 R₁₂ 各自独立地选自 H；具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元 (-OCH₂CH₂)_n，其中 n 为 1 至 2000 的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5- 或 6- 元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5 至 18 元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；具有 6 至 18 个碳原子的芳基；具有 1 至 6 个选自 O、S、N 和 P 的杂原子的 3- 至 18- 元杂环，并且 R₁₀ 任选地为 SR₁₃ 或 COR₁₃，其中 R₁₃ 选自具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元 (-OCH₂CH₂)_n，其中 n 为 1 至 2000 的整数；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5- 或 6- 元杂芳环；含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5 元至 18 元稠环系统，其中至少一个环是芳族的；具有 1 至 6 个选自 O、S、N 和 P 的杂原子的 3- 至 18- 元杂环，并且 R₁₁ 也可以为 OR₁₄，其中 R₁₄ 为 H 或具有与 R 相同的定义，任选地，R'' 为 OH；

[0122] W 是 C=O、C=S、CH₂、BH (B= 硼)、SO 或 SO₂；

[0123] R₁、R₂、R₃、R₄ 各自独立地选自 H；取代的或未取代的具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇单元 (-OCH₂CH₂)_n，其中 n 为 1 至 2000 的整数，或者选自以下的取代基：卤素、OR₇、NR₈R₉、NO₂、NRCOR'、SR₁₀、由 SOR' 表示的亚砷、由 -SO₂R' 表示的砷、亚硫酸根 -SO₃⁻、-OSO₃⁻、由 SO₂NRR' 表示的磺酰胺、氰基、叠氨基、胍盐 [-NH(C=NH)NH₂]、-COR₁₁、-OCOR₁₁ 或 -OCONR₁₁R₁₂，其中 R₇、R₈、R₉、R₁₀、R₁₁ 和 R₁₂ 如上文定义，任选地，R₁、R₂、

R_3 、 R_4 中的任何一个是由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团、或者选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吡咯基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吡咯基或多咪唑并-吡咯基单元；

[0124] R_5 选自 OR_{15} 、 $CRR'OH$ 、 SH 、 $CRR'SH$ 、 NHR_{15} 或 $CRR'NHR_{15}$ ，其中 R_{15} 具有与 R 相同的定义， R 和 R' 具有与上文给出的相同的定义；任选地， R_5 是由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团、或者选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吡咯基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吡咯基或多咪唑并-吡咯基单元；

[0125] R_6 是 OR 、 SR 、 NRR' ，其中 R 和 R' 具有与上文给出的相同的定义，或任选地 R_6 是连接基团；

[0126] Z 选自其中 n 为 1、2或 3的 $(CH_2)_n$ 、 $CR_{15}R_{16}$ 、 NR_{17} 、 O 或 S ，其中 R_{15} 、 R_{16} 和 R_{17} 各自独立地选自 H ；具有 1至 10个碳原子的直链、支链或环状烷基；聚乙二醇单元 $(-OCH_2CH_2)_n$ ，其中 n 为 1至 2000的整数；

[0127] 条件是所述化合物具有至多一个经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团。

[0128] 在一个优选的实施方案中， N 与 C 之间的双线 $=$ 表示双键，并且 X 不存在且 Y 为 H ，或 N 与 C 之间的双线 $=$ 表示单键，其中 X 为 H 且 Y 选自 $-OR$ 、亚硫酸根 $-SO_3^-$ 或将该化合物转化成前药的氨基保护部分；

[0129] W 是 $C=O$ 、 CH_2 或 SO_2 ；

[0130] R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 各自为 H ；任选地， R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 中的任何一个可以独立地是由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；

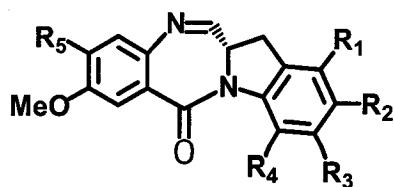
[0131] R_5 选自 OR_{15} 、 $CRR'OH$ 、 SH 、 $CRR'SH$ 、 NHR_{15} 或 $CRR'NHR_{15}$ ，其中 R_{15} 为 H 或具有上文对于 R 给出的相同的定义，或选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吡咯基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吡咯基或多咪唑并-吡咯基单元， R 和 R' 具有与上文给出的相同的定义；

[0132] R_6 为 OCH_3 ；

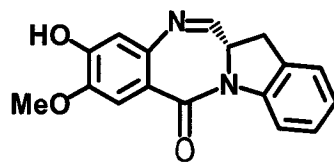
[0133] Z 选自其中 n 为 1或 2的 $(CH_2)_n$ 、 NH 、 NCH_3 或 S ；或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构。

[0134] 在优选的实施方案中，式 (I)和 (II)的化合物为式 (VII)、(VIII)或 (IX)的化合物或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构；

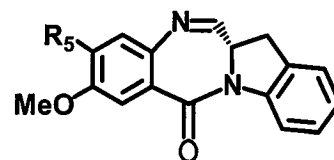
[0135]



(VII)



(VIII)



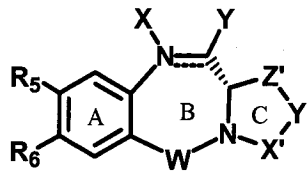
(IX)

[0136] 其中所述取代基如上文所述。

[0137] 对于新型的式 (III)的苯并二氮杂萘或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构，其中所述

二氮杂萘环 (B) 与杂环 (C) 稠合, 其中所述杂环是单环,

[0138]



(III)

[0139] 其中:

[0140] N 与 C 之间的双线==表示单键或双键, 条件是当其为双键时, X 不存在且 Y 为 H, 并且当其为单键时, X 是 H 或将该化合物转化成前药的氨基保护部分;

[0141] Y 选自 -OR、由 -OCOR' 表示的酯、由 -OCOOR' 表示的碳酸酯、由 -OCONR' R'' 表示的氨基甲酸酯、由 NR' R'' 表示的胺或羟基胺、由 -NRCOR' 表示的酰胺、由 NRCOP 表示的肽 (其中 P 为氨基酸或含有 2 至 20 个氨基酸单元的多肽)、由 SR' 表示的硫醚、由 SOR' 表示的亚砷、由 -SO₂R' 表示的砷、亚硫酸根 -SO₃⁻、-OSO₃⁻、卤素、氰基、叠氨基、或巯基, 其中 R、R' 和 R'' 相同或不同并且选自 H; 取代的或未取代的具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基; 聚乙二醇单元 (-OCH₂CH₂)_n, 其中 n 为 1 至 2000 的整数; 含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5- 或 6- 元杂芳环; 含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5 元至 18 元稠环系统, 其中至少一个环是芳族的; 具有 6 至 18 个碳原子的芳基; 具有 1 至 6 个选自 O、S、N 和 P 的杂原子的 3- 至 18- 元杂环, 其中所述取代基选自卤素、OR₇、NR₈R₉、NO₂、NRCOR'、SR₁₀、由 SOR' 表示的亚砷、由 -SO₂R' 表示的砷、亚硫酸根 -SO₃⁻、-OSO₃⁻、由 SO₂NRR' 表示的磺酰胺、氰基、叠氨基、-COR₁₁、OCOR₁₁ 或 OCONR₁₁R₁₂, 其中 R₇、R₈、R₉、R₁₀、R₁₁ 和 R₁₂ 各自独立地选自 H; 具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基; 聚乙二醇单元 (-OCH₂CH₂)_n, 其中 n 为 1 至 2000 的整数; 含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5- 或 6- 元杂芳环; 含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5 元至 18 元稠环系统, 其中至少一个环是芳族的; 具有 6 至 18 个碳原子的芳基; 具有 1 至 6 个选自 O、S、N 和 P 的杂原子的 3- 至 18- 元杂环, 并且 R₁₀ 任选地为 SR₁₃ 或 COR₁₃, 其中 R₁₃ 选自具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基; 聚乙二醇单元 (-OCH₂CH₂)_n, 其中 n 为 1 至 2000 的整数; 含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5- 或 6- 元杂芳环; 含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5 元至 18 元稠环系统, 其中至少一个环是芳族的; 含有 6 至 18 个碳原子的芳基; 具有 1 至 6 个选自 O、S、N 和 P 的杂原子的 3- 至 18- 元杂环, 并且 R₁₁ 也可以为 OR₁₄, 其中 R₁₄ 为 H 或具有与 R 相同的定义, 任选地 R'' 为 OH;

[0142] W 是 C=O、C=S、CH₂、BH、SO 或 SO₂;

[0143] R₅ 选自 OR₁₅、CRR' OH、SH、CRR' SH、NHR₁₅ 或 CRR' NHR₁₅, 其中 R₁₅ 为 H 或具有与 R 相同的定义, 或是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团、或者选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吡咯基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吡咯基或多咪唑并-吡咯基单元; 选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多-吡咯并、多-吡咯基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吡咯基或多咪唑并-吡咯基单元, 任选地, R₅ 是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团;

[0144] R_6 是 OR、SR 或 NRR', 其中 R 和 R' 具有与上文给出的相同的定义, 任选地 R_6 是连接基团;

[0145] X' 是 CH_2 、NR、CO、BH、SO 或 SO_2 ;

[0146] Y' 是 O、 CH_2 、NR 或 S;

[0147] Z' 是 CH_2 或 $(CH_2)_n$, 其中 n 为 2、3 或 4;

[0148] 条件是所述化合物具有至多一个经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团。

[0149] 在一个优选的实施方案中, N 与 C 之间的双线 \equiv 表示双键并且 X 不存在且 $Y=H$, 或 N 与 C 之间的双线 \equiv 表示单键, 其中 X 为 H 且 Y 选自 -OR、亚硫酸根 $-SO_3^-$ 或将该化合物转化成前药的氨基保护部分;

[0150] W 是 C=O、 CH_2 , 或 SO_2 ;

[0151] R_5 选自 OR₁₅、CRR' OH、SH、CRR' SH、NHR₁₅ 或 CRR' NHR₁₅, 其中 R_{15} 为 H 或具有上文对于 R 给出的相同的定义, 或选自任选地具有能与细胞结合剂连接的连接基团的多吡咯并、多-吡咯基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多-吡咯并咪唑基或多咪唑并吡咯基单元;

[0152] R_6 为 OCH_3 ;

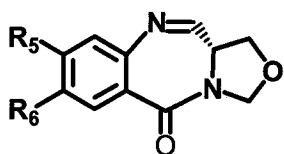
[0153] X' 选自 CH_2 或 C=O;

[0154] Y' 是 O、 CH_2 、NR 或 S;

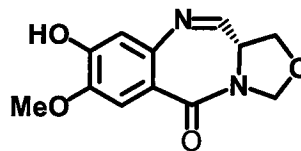
[0155] Z' 是 $(CH_2)_n$, 其中 n 为 1 或 2, 条件是 X' 、 Y' 和 Z' 不同时都为 CH_2 ; 或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构。

[0156] 在优选的实施方案中, 式 III 的化合物由式 (X) 或 (XI) 的化合物或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构表示,

[0157]



(X)

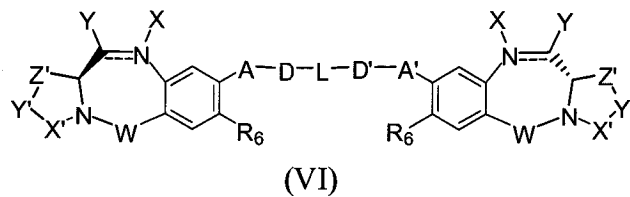
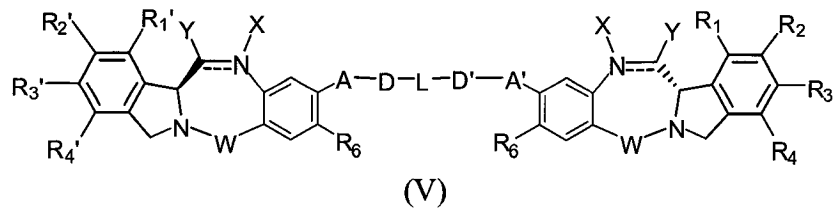
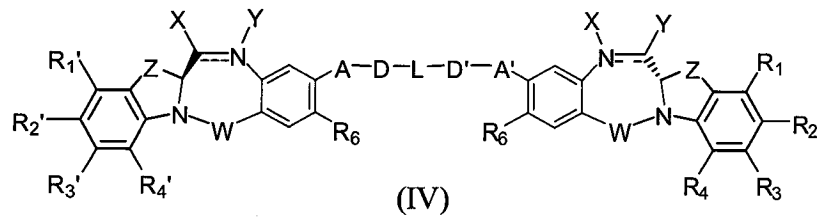


(XI)

[0158] 其中所述取代基如上文所述。

[0159] 对于由式 (IV)、(V) 和 (VI) 表示的细胞毒性二聚体或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构,

[0160]



[0161] N 与 C 之间的双线 \equiv 表示单键或双键,条件是当其为双键时, X 不存在且 Y 为 H,并且当其为单键时, X 是 H 或将该化合物转化成前药的氨基保护部分;

[0162] Y 选自 -OR、由 -OCOR' 表示的酯、由 -OCOR' 表示的碳酸酯、由 -OCONR' R'' 表示的氨基甲酸酯、由 NR' R'' 表示的胺或羟基胺、由 -NRCOR' 表示的酰胺、由 NRCOP 表示的肽 (其中 P 为氨基酸或含有 2 至 20 个氨基酸单元的多肽)、由 SR' 表示的硫醚、由 SOR' 表示的亚砷、由 -SO₂R' 表示的砷、亚硫酸根 -SO₃⁻、-OSO₃⁻、卤素、氰基、叠氨基、或巯基,其中 R、R' 和 R'' 相同或不同并且选自 H;取代的或未取代的具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基;聚乙二醇单元 (-OCH₂CH₂)_n,其中 n 为 1 至 2000 的整数;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5- 或 6- 元杂芳环;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5 元至 18 元稠环系统,其中至少一个环是芳族的;含有 6 至 18 个碳原子的芳基;具有 1 至 6 个选自 O、S、N 和 P 的杂原子的 3- 至 18- 元杂环,其中所述取代基选自卤素、OR₇、NR₈R₉、NO₂、NRCOR'、SR₁₀、由 SOR' 表示的亚砷、由 -SO₂R' 表示的砷、亚硫酸根 -SO₃⁻、-OSO₃⁻、由 SO₂NRR' 表示的磺酰胺、氰基、叠氨基、-COR₁₁、OCOR₁₁或 OCONR₁₁R₁₂,其中 R₇、R₈、R₉、R₁₀、R₁₁和 R₁₂各自独立地选自 H;具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基;聚乙二醇单元 (-OCH₂CH₂)_n,其中 n 为 1 至 2000 的整数;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5- 或 6- 元杂芳环;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5 元至 18 元稠环系统,其中至少一个环是芳族的;含有 6 至 18 个碳原子的芳基;3- 至 10- 元杂环;具有 1 至 6 个选自 O、S、N 和 P 的杂原子的 3- 至 18- 元杂环,并且 R₁₀任选地为 SR₁₃或 COR₁₃,其中 R₁₃选自具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5- 或 6- 元杂芳环;含有一个或多个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的 5 元至 18 元稠环系统,其中至少一个环是芳族的;含有 6 至 18 个碳原子的芳基;具有 1 至 6 个选自 O、S、N 和 P 的杂原子的 3- 至 18- 元杂环,任选地 R₁₁为 OR₁₄,其中 R₁₄具有与 R 相同的定义,任选地 R'' 为 OH;

[0163] W 是 C=O、C=S、CH₂、BH、SO 或 SO₂;

[0164] R₁、R₂、R₃、R₄、R₁'、R₂'、R₃' 和 R₄' 各自独立地选自 H;取代的或未取代的具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基;聚乙二醇单元 (-OCH₂CH₂)_n, 其中 n 为 1 至 2000 的整数, 或者选自以下的取代基: 卤素、胍盐 [-NH(C=NH)NH₂]、OR₇、NR₈R₉、NO₂、NRCOR'、SR₁₀、由 SOR' 表示的亚砷、由 -SO₂R' 表示的砷、亚硫酸根 -SO₃⁻、-OSO₃⁻、由 SO₂NRR' 表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR₁₁、OCOR₁₁或 OCONR₁₁R₁₂, 其中 R₇、R₈、R₉、R₁₀、R₁₁和 R₁₂如上文定义, 任选地, R₁、R₂、R₃、R₄、R₁'、R₂'、R₃' 或 R₄' 中的任何一个是由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团、或者选自任选地具有能与细胞结合剂连接的多吡咯并、多-吡啶基、多-咪唑基、多吡咯并-咪唑基、多吡咯并-吡啶基或多咪唑并-吡啶基单元,

[0165] Z 选自其中 n 为 1、2 或 3 的 (CH₂)_n、CR₁₅R₁₆、NR₁₇、O 或 S, 其中 R₁₅、R₁₆和 R₁₇各自独立地选自 H;具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基;聚乙二醇单元 (-OCH₂CH₂)_n, 其中 n 为 1 至 2000 的整数;

[0166] R₆是 OR、SR 或 NRR', 其中 R 和 R' 具有与上文给出的相同的定义, 任选地 R₆是连接基团;

[0167] X' 选自 CH₂、NR、CO、BH、SO 或 SO₂, 其中 R 具有与上文给出的相同的定义;

[0168] Y' 是 O、CH₂、NR 或 S, 其中 R 具有与上文给出的相同的定义;

[0169] Z' 是 CH₂或 (CH₂)_n, 其中 n 为 2、3 或 4, 条件是 X'、Y' 和 Z' 不同时都为 CH₂;

[0170] A 和 A' 相同或不同并且选自 O、-CRR' O、S、-CRR' S、-NR₁₅或 CRR' NHR₁₅, 其中 R 和 R' 具有与上文给出的相同的定义, 并且其中 R₁₅具有与 R 相同的定义;

[0171] D 和 D' 相同或不同并且独立地选自具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基, 其任选地被以下的任何一个取代: 卤素、OR₇、NR₈R₉、NO₂、NRCOR'、SR₁₀、由 SOR' 表示的亚砷、由 -SO₂R' 表示的砷、亚硫酸根 -SO₃⁻、-OSO₃⁻、由 SO₂NRR' 表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR₁₁、OCOR₁₁或 OCONR₁₁R₁₂, 其中 R₇、R₈、R₉、R₁₀、R₁₁和 R₁₂的定义如上文定义, 或聚乙二醇单元 (-OCH₂CH₂)_n, 其中 n 为 1 至 2000 的整数;

[0172] L 是任选取代的任选的苯基或具有 1 至 6 个选自 O、S、N 和 P 的杂原子的 3- 至 18- 元杂环, 其中所述取代基是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团, 或选自具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基, 其任选地被以下的任何一个取代: 卤素、OR₇、NR₈R₉、NO₂、NRCOR'、SR₁₀、由 SOR' 表示的亚砷、由 -SO₂R' 表示的砷、亚硫酸根 -SO₃⁻、-OSO₃⁻、由 SO₂NRR' 表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、-COR₁₁、OCOR₁₁或 OCONR₁₁R₁₂, 其中 R₇、R₈、R₉、R₁₀、R₁₁和 R₁₂的定义如上文定义;或选自聚乙二醇单元 (-OCH₂CH₂)_n, 其中 n 为 1 至 2000 的整数;任选地, L 自身为经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团;条件是所述化合物具有至多一个经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团。

[0173] 在一个优选的实施方案中, N 与 C 之间的双线 \equiv 表示单键或双键, 条件是当其作为双键时, X 不存在且 Y 为 H, 并且当其作为单键时, X 是 H 或将该化合物转化成前药的胺保护基;

[0174] Y 选自 -OR、NR'R''、亚硫酸根 -SO₃⁻或 -OSO₃⁻, 其中 R 选自 H;具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基;聚乙二醇单元 (-OCH₂CH₂)_n, 其中 n 为 1 至 2000 的整数;具有 6 至 10 个碳原子的芳基;具有 3 至 10 个碳原子的杂环;

[0175] W 是 C=O、CH₂或 SO₂;

[0176] R₁、R₂、R₃、R₄、R₁'、R₂'、R₃' 和 R₄' 各自独立地选自 H、NO₂或经由共价键能与细胞结

合剂连接的连接基团；

[0177] R_6 为 OR_{18} ，其中 R_{18} 具有与 R 相同的定义；

[0178] Z 选自其中 n 为 1、2 或 3 的 $(CH_2)_n$ 、 $CR_{15}R_{16}$ 、 NR_{17} 、 O 或 S ，其中 R_{15} 、 R_{16} 和 R_{17} 各自独立地选自 H ；具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基；聚乙二醇单元 $(-OCH_2CH_2)_n$ ，其中 n 为 1 至 2000 的整数；

[0179] X' 选自 CH_2 或 $C=O$ ；

[0180] Y' 是 O 、 NR 或 S ，其中 R 如上文定义；

[0181] Z' 是 CH_2 或 $(CH_2)_2$ ；

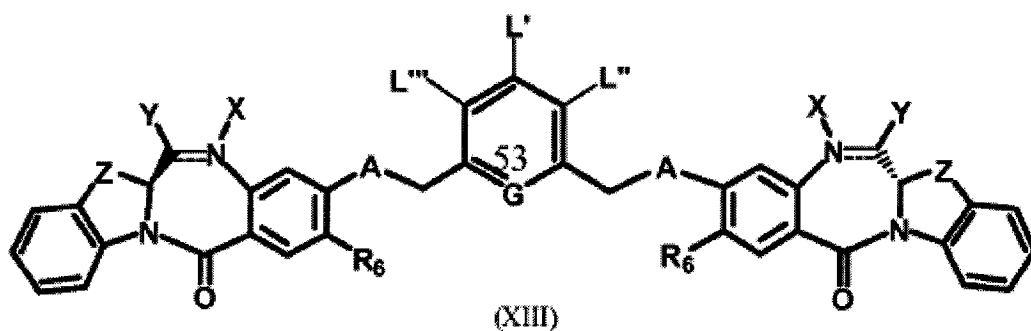
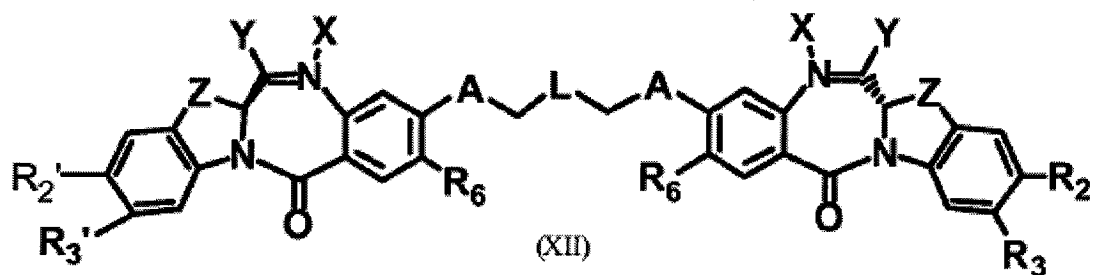
[0182] A 和 A' 各自为 O ；

[0183] D 和 D' 相同或不同并且独立地选自具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；

[0184] L 是任选取代的任选的苯基或具有 3 至 10 个碳原子的杂环，其中所述取代基是经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团，或选自具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基，其任选地被以下的任何一个取代：卤素、 OR_7 、 NR_8R_9 、 NO_2 、 $NRCOR'$ 、 SR_{10} 、由 SOR' 表示的亚砷、由 $-SO_2R'$ 表示的砷、亚硫酸根 $-SO_3^-$ 、 $-OSO_3^-$ 、由 SO_2NRR' 表示的磺酰胺、氰基、叠氨基、 $-COR_{11}$ 、 $OCOR_{11}$ 或 $OCONR_{11}R_{12}$ ；聚乙二醇单元 $(-OCH_2CH_2)_n$ ，其中 n 为 1 至 2000 的整数；任选地， L 自身为经由共价键能与细胞结合剂连接的连接基团；或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构。

[0185] 在另一个优选的实施方案中，式 (IV)、(V) 或 (VI) 的化合物由式 (XII) 和 (XIII) 的化合物或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构表示：

[0186]



[0187] 其中 N 与 C 之间的的双线 $=$ 表示单键或双键，条件是当其为双键时， X 不存在且 Y 为 H ，并且当其为单键时， X 是 H 或将该化合物转化成前药的胺保护基； Y 选自 OH 、由 $-OR$ 表示的醚、 $NR'R''$ 、亚硫酸根 $-SO_3^-$ 或 $-OSO_3^-$ ，其中 R 、 R' 和 R'' 选自具有 1 至 10 个碳原子的直

链、支链或环状烷基、烯基或炔基；

[0188] R_2 、 R_3 、 R_2' 和 R_3' 中的一个 是经由共价键能与细胞结合剂连接 的连接基团，而另一个 为 H、NRCOR' 或 NO_2 ；

[0189] R_6 为 OR，其中 R 具有与上文相同的定义；

[0190] Z 为 CH_2 或 NR，其中 R 具有与上文相同的定义；

[0191] A 为 O 或 NR_{15} ；

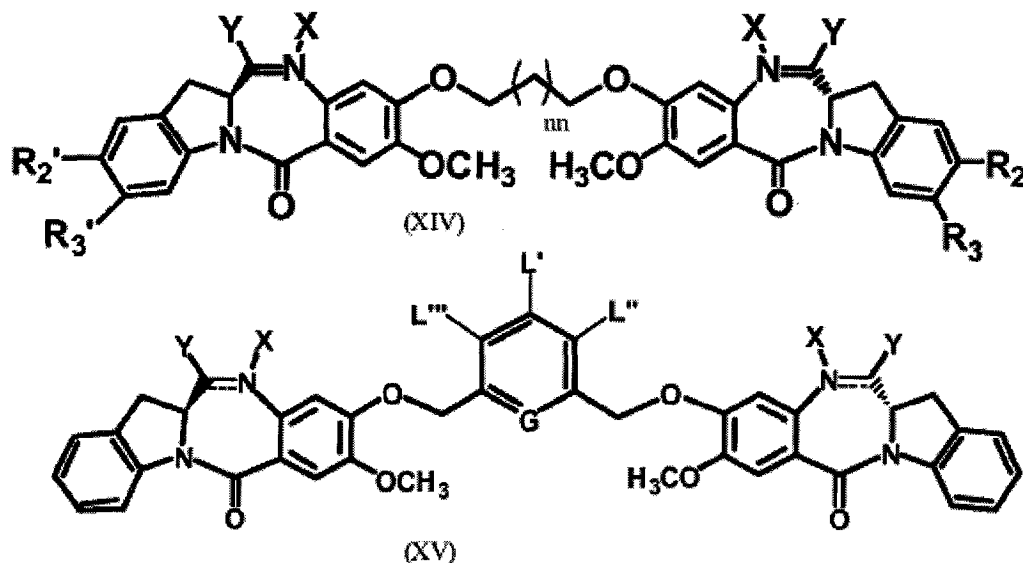
[0192] L 为其中 nn 为 0 或 1 至 5 的整数的 $(\text{CH}_2)_{nn}$ 、或取代的或未取代的具有 2 至 4 个碳原子的烷基或烯基，其中所述取代基选自卤素、 OR_7 、 NR_8R_9 、 NO_2 、NRCOR'、 SR_{10} 、由 SOR' 表示的亚砷、由 $-\text{SO}_2\text{R}'$ 表示的砷、亚硫酸根 $-\text{SO}_3^-$ 、 $-\text{OSO}_3^-$ 、由 $\text{SO}_2\text{NRR}'$ 表示的磺酰胺、氰基、叠氮基、 $-\text{COR}_{11}$ 、 OCOR_{11} 或 $\text{OCONR}_{11}\text{R}_{12}$ ，其中 R_7 、 R_8 、 R_9 、 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 和 R_{15} 具有与上文给出的相同的定义，任选地，L 自身为经由共价键能与细胞结合剂连接 的连接基团；

[0193] L'、L'' 或 L''' 中的一个 是能与细胞结合剂连接 的连接基团，而另一个 是 H；优选地 L' 是连接基团；以及

[0194] G 是 CH 或 N。

[0195] 在又一个优选的实施方案中，式 (IV)、(V) 或 (VI) 的化合物由式 (XIV) 和 (XV) 的化合物或其可药用的溶剂合物、盐、水合物或水合盐、其光学异构体、这些化合物的外消旋体、非对映体、对映体或多晶型结晶结构表示；

[0196]



[0197] 其中 N 与 C 之间的双线 \equiv 表示单键或双键，条件是当其为双键时，X 不存在且 Y 为 H，并且当其为单键时，X 是 H 或将该化合物转化成前药的胺保护基；Y 选自 OH、由 $-\text{OR}$ 表示的醚、亚硫酸根 $-\text{SO}_3^-$ 或 $-\text{OSO}_3^-$ ，其中 R 选自具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；

[0198] nn 为 0 或 1 至 5 的整数；

[0199] R_2 、 R_3 、 R_2' 和 R_3' 中的一个 是经由共价键能与细胞结合剂连接 的连接基团，而另一个 是 H、NRCOR' 或 NO_2 ；

[0200] L'、L'' 或 L''' 中的一个 是能与细胞结合剂连接 的连接基团，条件是当 L'、L'' 或 L''' 中的一个 是连接基团时，其余的为 H（例如，如果 L' 是连接体，那么 L'' 和 L''' 是 H），

[0201] G 是 CH 或 N。

[0202] 为了连接本发明的细胞毒性化合物（例如，吲哚啉并苯并二氮杂萘或噁唑烷并苯并二氮杂萘）、其衍生物或其二聚体与细胞结合剂，细胞毒性化合物包含连接部分。尽管连接两个部分的连接体是双功能的，但是连接体部分的一端可首先与细胞毒性化合物反应，从而提供具有单功能连接基团的化合物，所述化合物然后可与细胞结合剂反应。可选地，连接体部分的一端可首先与细胞结合剂反应，从而提供具有单功能连接基团的细胞结合剂，所述细胞结合剂可与细胞毒性化合物反应。连接部分含有允许在特定部位释放细胞毒性部分的化学键。适合的化学键在本领域众所周知的，并且包括二硫键、硫醚键、酸敏感性键、光敏感性键、肽酶敏感性键和酯酶敏感性键（参见例如美国专利 5, 208, 020 ; 5, 475, 092 ; 6, 441, 163 ; 6, 716, 821 ; 6, 913, 748 ; 7, 276, 497 ; 7, 276, 499 ; 7, 368, 565 ; 7, 388, 026 和 7, 414, 073）。优选为双硫键、硫醚键和肽酶敏感性键。其它可用于本发明的连接体包括非可切割性连接体，例如在美国公开号 20050169933 中详细描述的那些，或带电连接体或亲水连接体，并且在于 2008 年 4 月 30 日提交的临时专利申请 61/049, 291、于 2009 年 1 月 28 日提交的临时专利申请 61/147, 966 和于 2008 年 4 月 30 日提交的临时专利申请 61/049, 289 中描述，所述专利申请通过引用明确地并入本文。

[0203] 式 (I)、(II) 和 (III)（即单体）的化合物可通过 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 或 R_5 连接。在这些中，优选的可连接基团是 R_2 、 R_3 和 R_5 ，并且最优选的可连接基团是 R_5 。式 (I)、(II) 和 (III) 的化合物的 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 和 R_5 的适合取代基的实例包括但不限于：

[0204] -OH、

[0205] $-O(CR_{20}R_{21})_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$ 、

[0206] $-O(CR_{20}R_{21})_m(CR_{26}=CR_{27})_m'(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$ 、

[0207] $-O(CR_{20}R_{21})_m(\text{炔基})_n'(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$ 、

[0208] $-O(CR_{20}R_{21})_m(\text{吲哚并})_p'(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$

[0209] $-O(CR_{20}R_{21})_m(\text{吡咯并})_q'(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$ 、

[0210] $-O(CR_{20}R_{21})_m(\text{吡咯并})_q'(\text{咪唑并})_q"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$ 、

[0211] $-O(CR_{20}R_{21})_m(\text{咪唑并})_q"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$ 、

[0212] $-O(CR_{20}R_{21})_m(\text{吡咯并})_q'(\text{吲哚并})_q"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$ 、

[0213] $-O(CR_{20}R_{21})_m(\text{吲哚并})_q'(\text{咪唑并})_q"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$ 、

[0214] $-O(CR_{20}R_{21})_m(\text{哌嗪并})_t'(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$ 、

[0215] $-O(CR_{20}R_{21})_mA"m"(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$ 、

[0216] -SH、

[0217] $-S(CR_{20}R_{21})_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$ 、

[0218] $-S(CR_{20}R_{21})_m(CR_{26}=CR_{27})_m'(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$ 、

[0219] $-S(CR_{20}R_{21})_m(\text{炔基})_n'(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$ 、

[0220] $-S(CR_{20}R_{21})_m(\text{吲哚并})_p'(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$ 、

[0221] $-S(CR_{20}R_{21})_m(\text{吡咯并})_q'(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_p"Y"(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX"$ 、

- [0222] $-S(CR_{20}R_{21})_m(\text{咪唑并})_q(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
- [0223] $-S(CR_{20}R_{21})_m(\text{吡咯并})_q(\text{咪唑并})_q(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
- [0224] $-S(CR_{20}R_{21})_m(\text{吡咯并})_q(\text{呋唑并})_q(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
- [0225] $-S(CR_{20}R_{21})_m(\text{呋唑并})_q(\text{咪唑并})_q(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
- [0226] $-S(CR_{20}R_{21})_m(\text{哌嗪并})_t(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
- [0227] $-S(CR_{20}R_{21})_mA''_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
- [0228] $-NH_2$ 、
- [0229] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
- [0230] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m(CR_{26}=CR_{27})_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
- [0231] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m(\text{炔基})_n(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
- [0232] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m(\text{呋唑并})_p(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
- [0233] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m(\text{吡咯并})_q(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
- [0234] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m(\text{咪唑})_q(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
- [0235] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m(\text{吡咯并})_q(\text{咪唑并})_q(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''-(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
- [0236] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m(\text{吡咯并})_q(\text{呋唑并})_q(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''-(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
- [0237] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m(\text{呋唑并})_q(\text{咪唑并})_q(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''-(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
- [0238] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_m(\text{哌嗪并})_t(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
- [0239] $-NR_{28}(CR_{20}R_{21})_mA''_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
- [0240] $-(CR_{20}R_{21})_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
- [0241] $-(CR_{20}R_{21})_m(CR_{26}=CR_{27})_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
- [0242] $-(CR_{20}R_{21})_m(\text{炔基})_n(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
- [0243] $-(CR_{20}R_{21})_m(\text{呋唑并})_p(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
- [0244] $-(CR_{20}R_{21})_m(\text{吡咯并})_q(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
- [0245] $-(CR_{20}R_{21})_m(\text{哌嗪并})_t(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
- [0246] $-(CR_{20}R_{21})_m(\text{吡咯并})_q(\text{呋唑并})_q(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''-(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、 $(CR_{20}R_{21})_m(\text{咪唑并})_q(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''-(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、 $(CR_{20}R_{21})_m(\text{吡咯并})_q(\text{咪唑并})_q(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''-(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
- [0247] $(CR_{20}R_{21})_m(\text{咪唑并})_q(\text{呋唑并})_q(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''-(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
- [0248] $-(CR_{20}R_{21})_mA''_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
- [0249] $-(CR_{20}R_{21})_m(CR_{29}=N-NR_{30})_n(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、
- [0250] $-(CR_{20}R_{21})_m(CR_{29}=N-NR_{30})_n(CR_{26}=CR_{27})_m(CR_{22}R_{23})_n(OCH_2CH_2)_p(CR_{40}R_{41})_pY''(CR_{24}R_{25})_q(CO)_tX''$ 、

[0251] $-(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{CR}_{29}=\text{N}-\text{NR}_{30})_n(\text{炔基})_n(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}''$ 、

[0252] $-(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{CR}_{29}=\text{N}-\text{NR}_{30})_n\text{A}''_m(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}''$ 、

[0253] 其中：

[0254] m 、 n 、 p 、 q 、 m' 、 n' 、 p' 、 q' 、 q'' 是 1 至 10 的整数并且可以是 0；

[0255] t 、 m'' 、 n'' 和 p'' 是 0 或 1；

[0256] X'' 选自 OR_{36} 、 SR_{37} 、 $\text{NR}_{38}\text{R}_{39}$ ，其中 R_{36} 、 R_{37} 、 R_{38} 、 R_{39} 是 H，或具有 1 至 20 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基，或聚乙二醇单元 $-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n$ ，任选地 R_{37} 是巯基保护基，或

[0257] 当 $t = 1$ 时， OX'' 形成选自 N- 羟基琥珀酰亚胺酯、N- 羟基酞酰亚胺酯、N- 羟基磺基-琥珀酰亚胺酯、对-硝基苯基酯、二硝基苯基酯、五氟苯基酯及其衍生物的反应性酯，其中所述衍生物促进酰胺形成；

[0258] Y'' 不存在或选自 O、S、S-S 或 NR_{32} ，其中 R_{32} 具有与上文对于 R 给出的相同的定义，或当 Y'' 不是 S-S 和 $t = 0$ 时， X'' 选自马来酰亚胺基团、卤代乙酰基或 SR_{37} ，其中 R_{37} 具有与上文相同的定义；

[0259] A'' 是选自甘氨酸、丙氨酸、亮氨酸、缬氨酸、赖氨酸、瓜氨酸和谷氨酸盐的氨基酸或含有 2 至 20 个氨基酸单元的多肽；

[0260] R_{20} 、 R_{21} 、 R_{22} 、 R_{23} 、 R_{24} 、 R_{25} 、 R_{26} 、 R_{27} 相同或不同并且是 H 或具有 1 至 5 个碳原子的直链或支链烷基；

[0261] R_{28} 为 H 或烷基；

[0262] R_{29} 和 R_{30} 相同或不同，并且是 H 或具有 1 至 5 个碳原子的烷基；

[0263] 任选地， R_{40} 和 R_{41} 中的一个为荷负电或正电的官能团，并且另一个是 H 或具有 1 至 4 个碳原子的烷基、烯基、炔基。

[0264] 式 (IV)、(V)、(VI)、(VII)、(XII) 和 (XIII) (即二聚体) 的化合物可通过 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_1' 、 R_2' 、 R_3' 、 R_4' 、 L' 、 L'' 、 L''' 连接。其中，优选的可连接基团是 R_2' 、 R_3' 、 R_4' 、 L' 、 L'' 、 L''' ，并且最优选的可连接基团是 R_2' 、 R_3' 和 L' 。式 (IV)、(V)、(VI)、(VII)、(XII) 和 (XIII) 的化合物的连接基团的实例包括但不限于：

[0265] $-\text{O}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}''$ 、

[0266] $-\text{O}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{CR}_{26}=\text{CR}_{27})_m(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}''$ 、

[0267] $-\text{O}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{炔基})_n(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}''$ 、

[0268] $-\text{O}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{哌嗪并})_t(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}''$ 、

[0269] $-\text{O}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{吡咯并})_t(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}''$ 、

[0270] $-\text{O}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m\text{A}''_m(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}''$ 、

[0271] $-\text{S}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}''$ 、

[0272] $-\text{S}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{CR}_{26}=\text{CR}_{27})_m(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}''$ 、

[0273] $-\text{S}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{炔基})_n(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}''$ 、

[0274] $-\text{S}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{哌嗪并})_t(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}''$ 、

[0275] $-\text{S}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m(\text{吡咯并})_t(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}''$ 、

[0276] $-\text{S}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_m\text{A}''_m(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_p\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_q(\text{CO})_t\text{X}''$ 、

- [0277] $-\text{NR}_{33}(\text{C}=\text{O})_{\text{p}}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_{\text{m}}(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_{\text{n}}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{p}}(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_{\text{p}}\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_{\text{q}}(\text{CO})_{\text{t}}\text{X}''$ 、
- [0278] $-\text{NR}_{33}(\text{C}=\text{O})_{\text{p}}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_{\text{m}}(\text{CR}_{26}=\text{CR}_{27})_{\text{m}}(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_{\text{n}}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{p}}(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_{\text{p}}\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_{\text{q}}$
- [0279] $(\text{CO})_{\text{t}}\text{X}''$ 、
- [0280] $-\text{NR}_{33}(\text{C}=\text{O})_{\text{p}}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_{\text{m}}(\text{炔基})_{\text{n}}(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_{\text{n}}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{p}}(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_{\text{p}}\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_{\text{q}}(\text{CO})_{\text{t}}\text{X}''$ 、
- [0281] $-\text{NR}_{33}(\text{C}=\text{O})_{\text{p}}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_{\text{m}}(\text{哌嗪并})_{\text{t}}(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_{\text{n}}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{p}}(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_{\text{p}}\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_{\text{q}}$
- [0282] $(\text{CO})_{\text{t}}\text{X}''$ 、
- [0283] $-\text{NR}_{33}(\text{C}=\text{O})_{\text{p}}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_{\text{m}}(\text{吡咯并})_{\text{t}}(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_{\text{n}}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{p}}(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_{\text{p}}\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_{\text{q}}(\text{CO})_{\text{t}}\text{X}''$ 、
- [0284] $-\text{NR}_{33}(\text{C}=\text{O})_{\text{p}}(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_{\text{m}}\text{A}''_{\text{m}}(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_{\text{n}}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{p}}(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_{\text{p}}\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_{\text{q}}(\text{CO})_{\text{t}}\text{X}''$ 、
- [0285] $-(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_{\text{m}}(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_{\text{n}}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{p}}(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_{\text{p}}\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_{\text{q}}(\text{CO})_{\text{t}}\text{X}''$ 、
- [0286] $-(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_{\text{m}}(\text{CR}_{26}=\text{CR}_{27})_{\text{m}}(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_{\text{n}}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{p}}(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_{\text{p}}\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_{\text{q}}(\text{CO})_{\text{t}}\text{X}''$ 、
- [0287] $-(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_{\text{m}}(\text{炔基})_{\text{n}}(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_{\text{n}}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{p}}(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_{\text{p}}\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_{\text{q}}(\text{CO})_{\text{t}}\text{X}''$ 、
- [0288] $-(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_{\text{m}}(\text{哌嗪并})_{\text{t}}(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_{\text{n}}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{p}}(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_{\text{p}}\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_{\text{q}}(\text{CO})_{\text{t}}\text{X}''$ 、
- [0289] $-(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_{\text{m}}\text{A}''_{\text{m}}(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_{\text{n}}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{p}}(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_{\text{p}}\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_{\text{q}}(\text{CO})_{\text{t}}\text{X}''$ 、
- [0290] $-(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_{\text{m}}(\text{CR}_{29}=\text{N}-\text{NR}_{30})_{\text{n}}(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_{\text{n}}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{p}}(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_{\text{p}}\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_{\text{q}}(\text{CO})_{\text{t}}\text{X}''$ 、
- [0291] $-(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_{\text{m}}(\text{CR}_{29}=\text{N}-\text{NR}_{30})_{\text{n}}(\text{CR}_{26}=\text{CR}_{27})_{\text{m}}(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_{\text{n}}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{p}}(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_{\text{p}}\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_{\text{q}}(\text{CO})_{\text{t}}\text{X}''$ 、
- [0292] $-(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_{\text{m}}(\text{CR}_{29}=\text{N}-\text{NR}_{30})_{\text{n}}(\text{炔基})_{\text{n}}(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_{\text{n}}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{p}}(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_{\text{p}}\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_{\text{q}}(\text{CO})_{\text{t}}\text{X}''$ 、
- [0293] $-(\text{CR}_{20}\text{R}_{21})_{\text{m}}(\text{CR}_{29}=\text{N}-\text{NR}_{30})_{\text{n}}\text{A}''_{\text{m}}(\text{CR}_{22}\text{R}_{23})_{\text{n}}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{p}}(\text{CR}_{40}\text{R}_{41})_{\text{p}}\text{Y}''(\text{CR}_{24}\text{R}_{25})_{\text{q}}(\text{CO})_{\text{t}}\text{X}''$ 、
- [0294] 其中：
- [0295] m、n、p、q、m'、n'、t' 是 1 至 10 的整数或任选地为 0；
- [0296] t、m'、n' 和 p 为 0 或 1；
- [0297] X'' 选自 OR₃₆、SR₃₇、NR₃₈R₃₉，其中 R₃₆、R₃₇、R₃₈、R₃₉ 是 H，或具有 1 至 20 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基，或聚乙二醇单元 $-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{n}}$ ，R₃₇ 任选地为巯基保护基，
- [0298] 当 t = 1 时，COX'' 形成选自 N-羟基琥珀酰亚胺酯、N-羟基酞酰亚胺酯、N-羟基磺基-琥珀酰亚胺酯、对-硝基苯基酯、二硝基苯基酯、五氟苯基酯及其衍生的反应性酯物，其中所述衍生物促进酰胺键形成；
- [0299] Y'' 不存在或选自 O、S、S-S 或 NR₃₂，其中 R₃₂ 具有与上文对于 R 给出的相同的定义，或
- [0300] 当 Y'' 不是 S-S 且 t = 0 时，X'' 选自马来酰亚胺基团、卤代乙酰基或 SR₃₇，其中 R₃₇ 具有与上文相同的定义；
- [0301] A'' 是选自甘氨酸、丙氨酸、亮氨酸、缬氨酸、赖氨酸、瓜氨酸和谷氨酸盐的氨基酸或含有 2 至 20 个氨基酸单元的多肽；
- [0302] R₂₀、R₂₁、R₂₂、R₂₃、R₂₄、R₂₅、R₂₆ 和 R₂₇ 相同或不同并且是 H 或具有 1 至 5 个碳原子的直链或支链烷基；
- [0303] R₂₉ 和 R₃₀ 相同或不同并且是 H 或具有 1 至 5 个碳原子的烷基；
- [0304] R₃₃ 为 H 或具有 1 至 12 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；聚乙二醇

单元 $-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n$ 或 R_{33} 是 $-\text{COR}_{34}$ 、 $-\text{CSR}_{34}$ 、 $-\text{SOR}_{34}$ 或 $-\text{SO}_2\text{R}_{34}$, 其中 R_{34} 为 H 或具有 1 至 20 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基, 或聚乙二醇单元 $-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n$; 以及

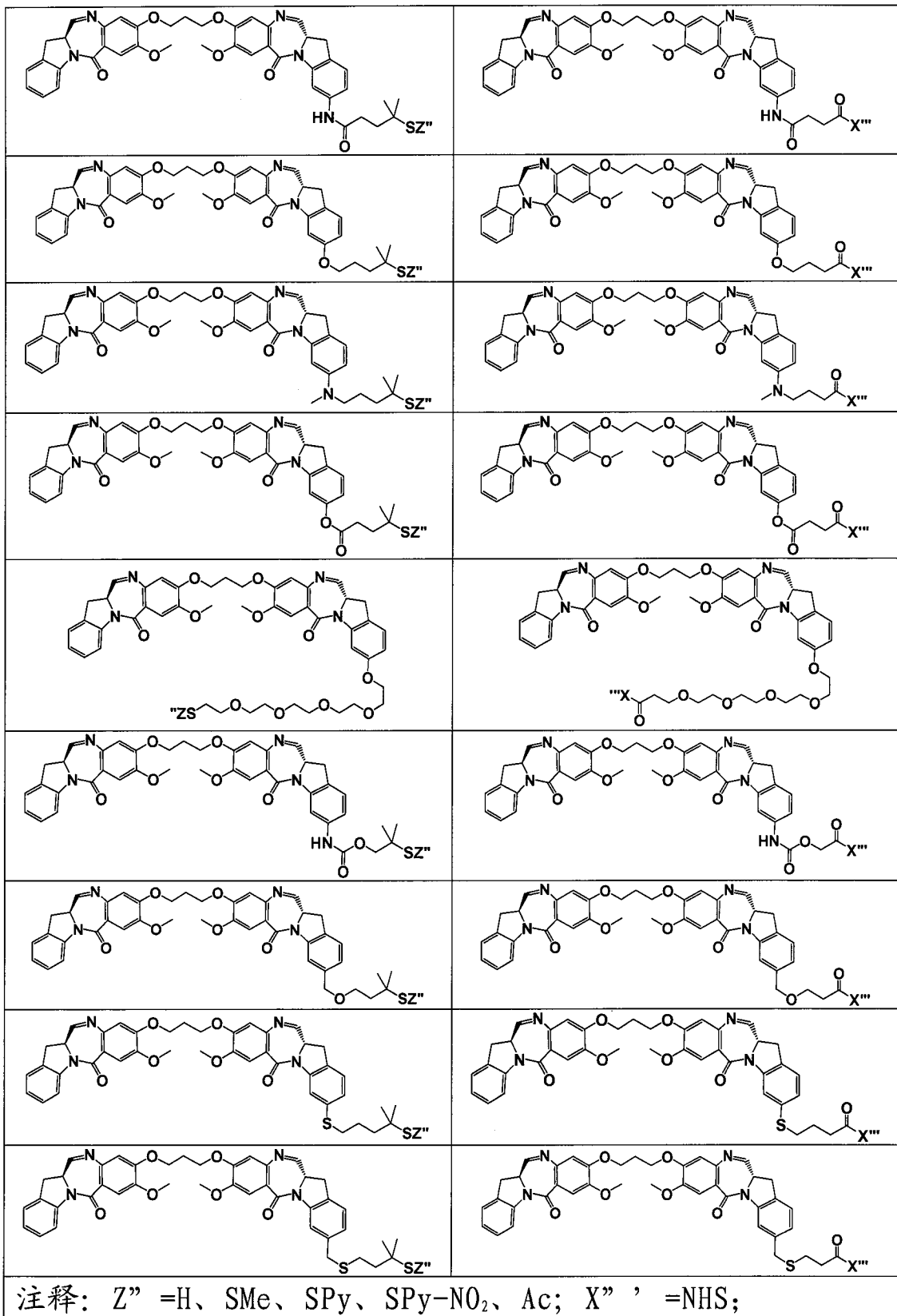
[0305] R_{40} 和 R_{41} 中的一个任选地为荷负电或正电的官能团, 另一个为 H 或具有 1 至 4 个碳原子的烷基、烯基、炔基。

[0306] 此外, 尽管下面在 L' (在式 XIII 的化合物中) 或 R_3 (在式 XII 的化合物中) 位置含有连接部分的酰胺、硫醚或二硫键的术语中描述具有连接部分的细胞毒性化合物 (例如, 吡啶并苯并二氮杂萘或噁唑烷并苯并二氮杂萘)、其衍生物或其二聚体的合成, 但是本领域技术人员应理解, 上文所述的在其它位置或具有其它化学键的连接部分也可用于本发明。

[0307] 本发明的实施例中代表性化合物、代表性轭合物和所主张的化合物的结构示于表 3 ~ 9 中:

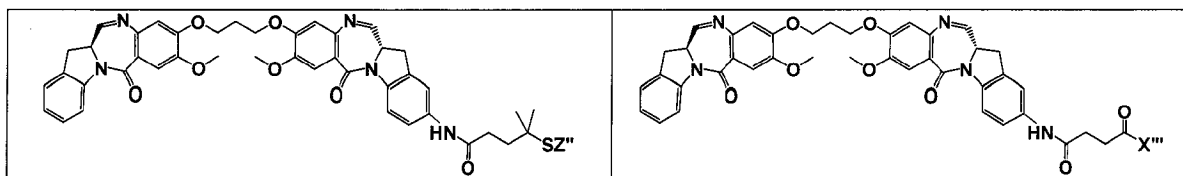
[0308] 表 3. 本发明的代表性化合物的结构

[0309]

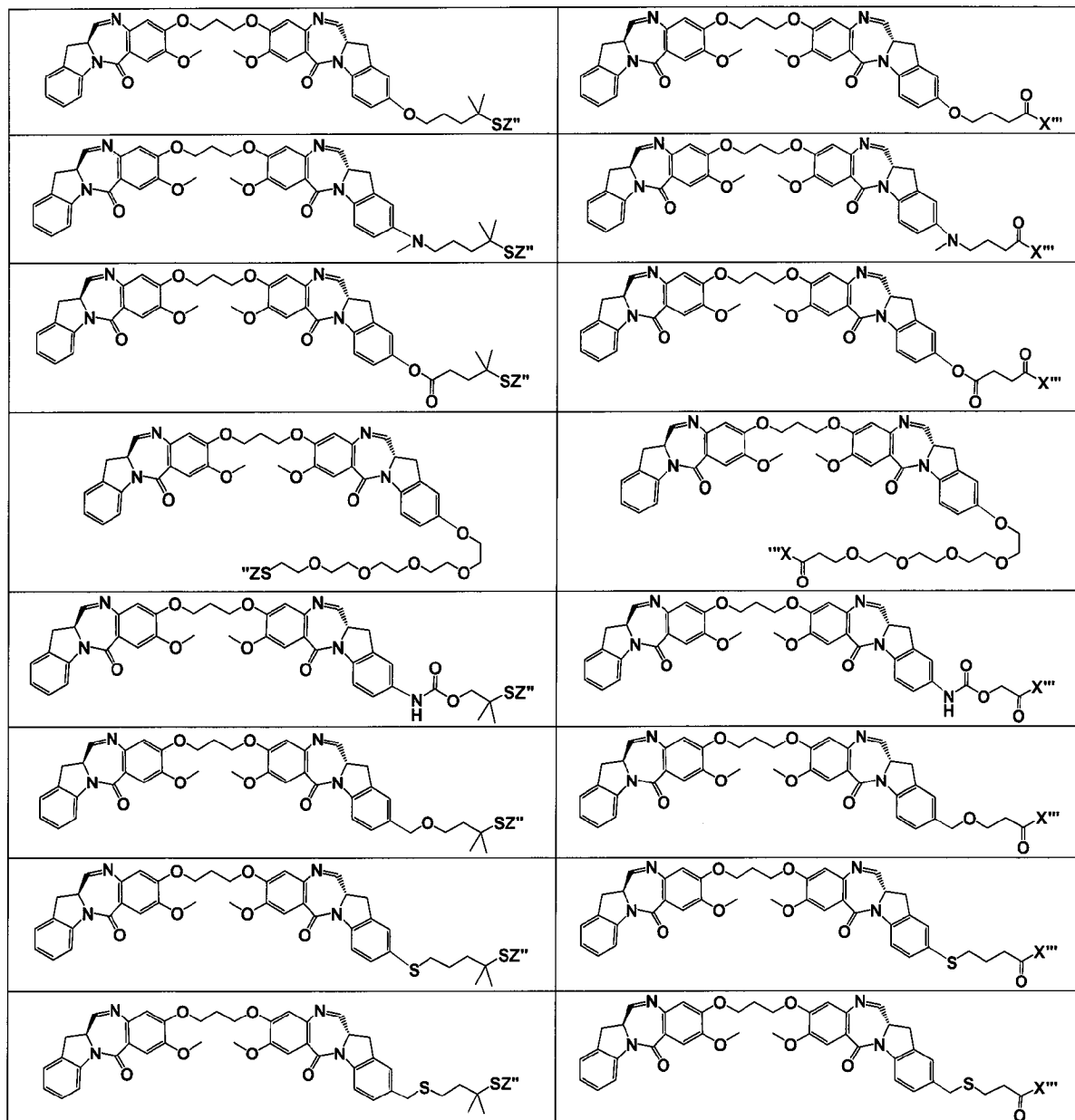


[0310] 表 4. 本发明的代表性化合物的结合 (待续)

[0311]



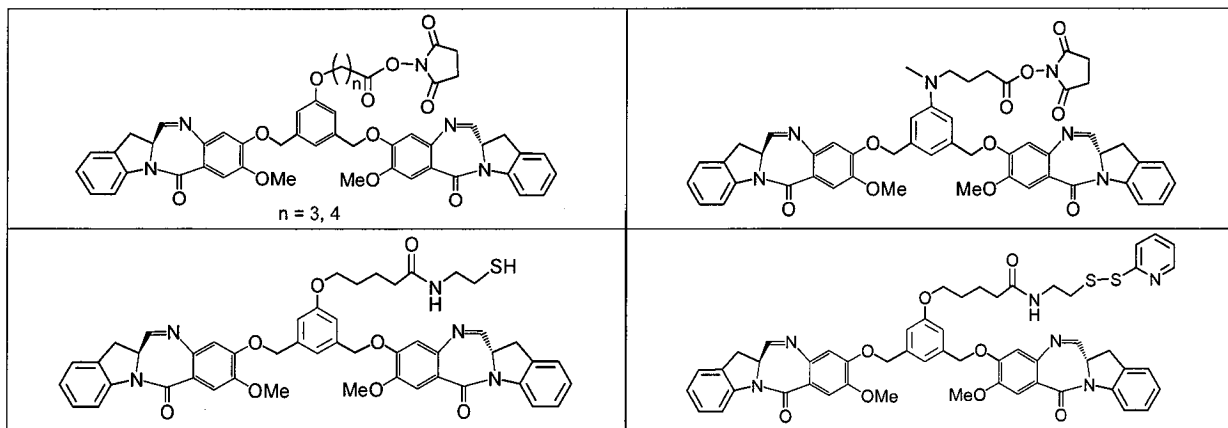
[0312]



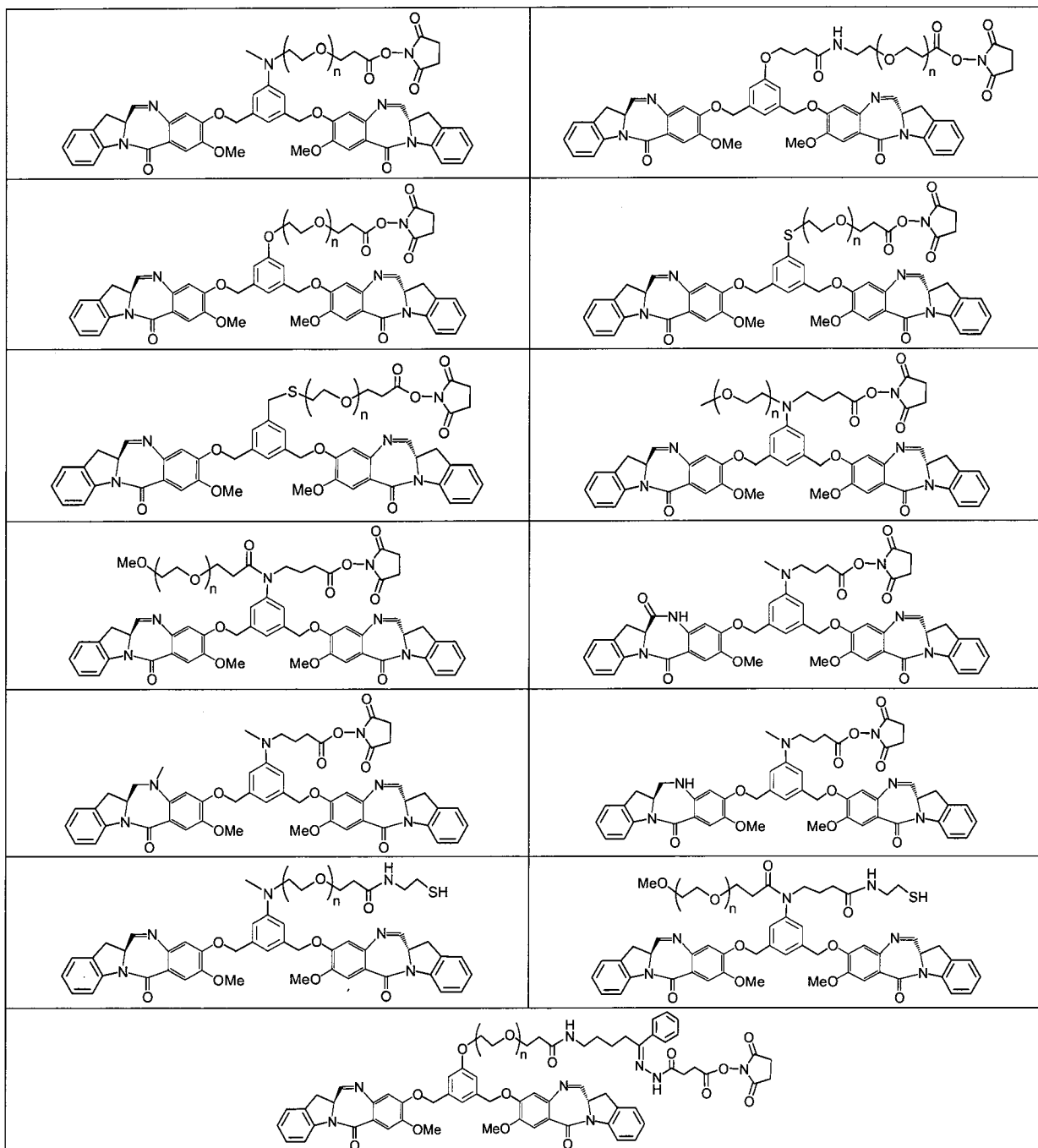
注释: Z'' =H、SMe、SPy、SPy-NO₂、Ac; X''' =NHS;

[0313] 表 5. 本发明的代表性化合物的结构 (待续)

[0314]

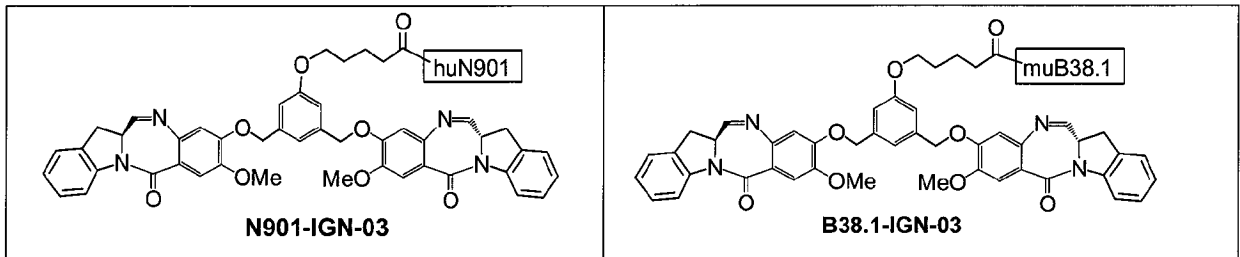


[0315]

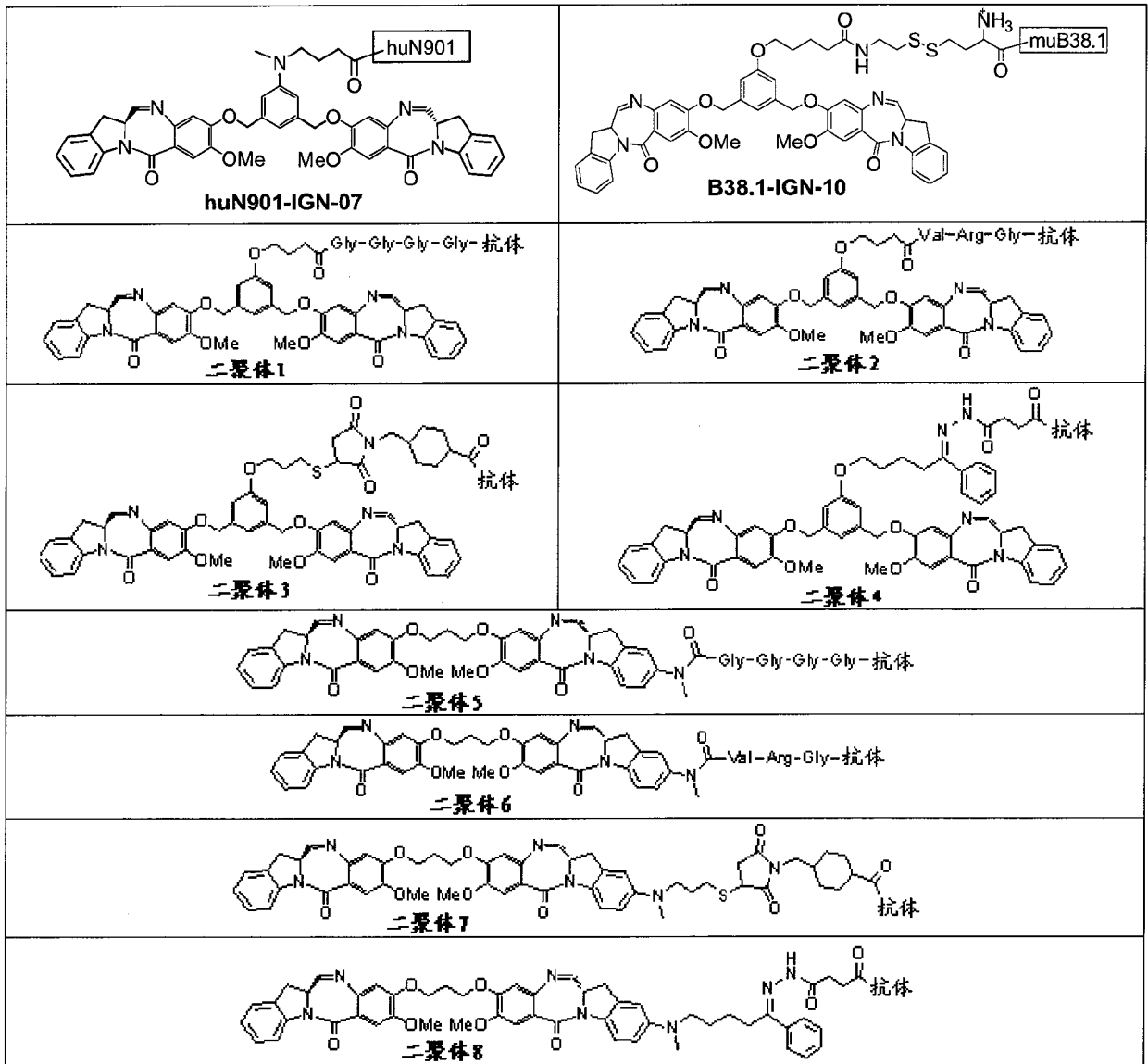


[0316] 表 6. 本发明代表性钼合物的结构

[0317]



[0318]



[0319] 表 7. 来自本发明实施例的化合物的结构

[0320]

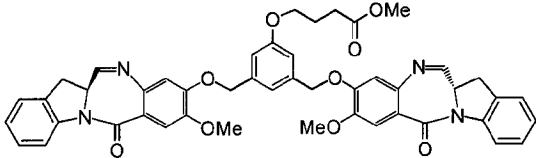
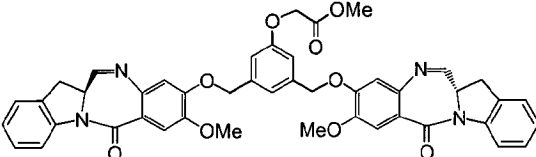
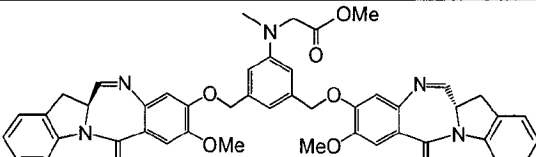
结构	化合物编号	实施例编号
	6	1
	7	1
	8	1

[0321]

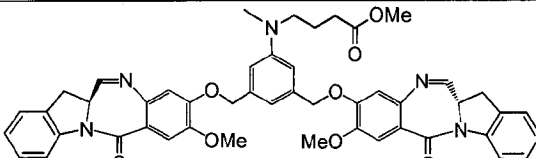
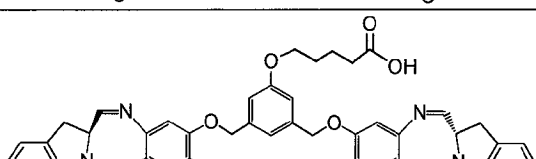
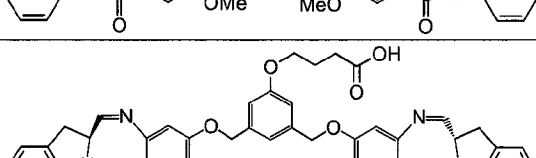
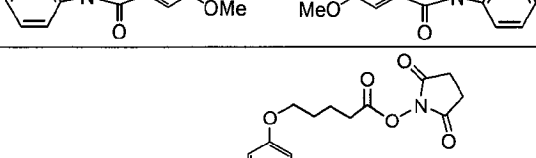
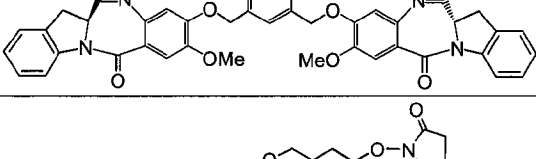
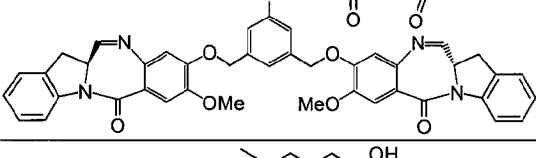
	12	2
	13	2
	14	2
	15	3
	18	4
	19	5
	34	6

[0322] 表 8. 来自本发明实施例的化合物的结构 (待续)

[0323]

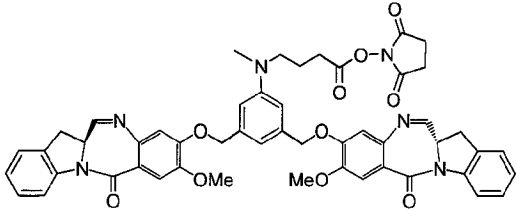
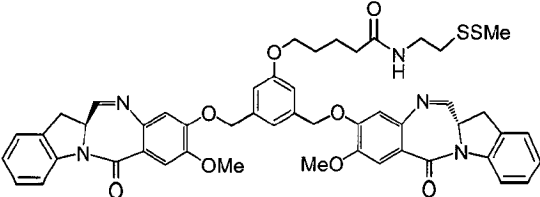
结构	化合物编号	实施例编号
	35	6
	36	6
	39	6

[0324]

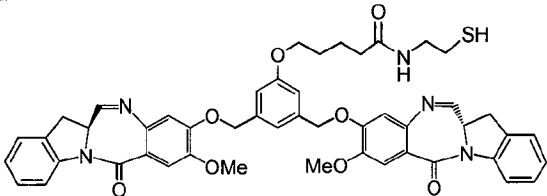
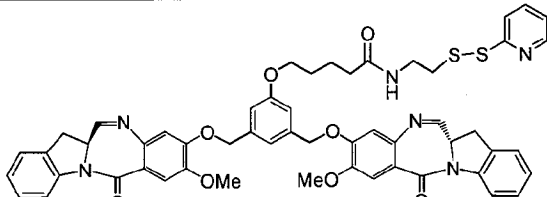
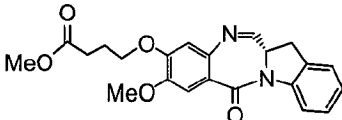
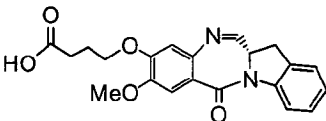
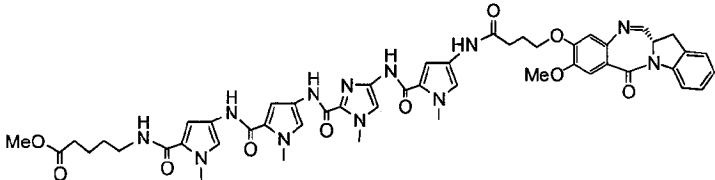
	40	6
	41	7
	42	7
	43	7
	44	7
	45	7

[0325] 表 9. 来自本发明实施例的化合物的结构 (待续)

[0326]

结构	化合物编号	实施例编号
	46	7
	48	8

[0327]

	49	8
	51	9
	125	10
	126	10
	127	10

[0328] 细胞毒性化合物的合成

[0329] 本发明的代表性单体化合物 (由吲哚啉并苯并二氮杂萘化合物 8 示例) 的制备方法示于图 1。从商购可得的吲哚啉 -2- 羧酸 1 开始, 通过与甲醇中的亚硫酸酐反应以定量收率制备其甲酯 2。将吲哚啉 -2- 羧酸甲酯 2 与酰氯 4、或直接与酸 3 偶联, 以提供酰胺 5, 用二异丁基铝 (DIBAL) 将酰胺 5 进一步还原成醛 6。尽管很多方法可用于将式 5 的硝基

官能团还原为相应的氨基,但是在此实施例中,在酸性条件下用甲醇进一步处理后,双硫磺酸钠用于方便地将醛 6 转化为闭环的化合物 7。除去苄基保护基以提供单体 8。

[0330] 本发明的式 14 的咪唑烷并苯并二氮杂萘单体化合物的制备方法示于图 2。从商购可得的化合物 9 开始,通过用甲醇中的亚硫酸氯处理以定量收率制备其甲酯 10。将化合物 10 脱保护,然后与乙酰氯 4 或直接与酸 3 偶联以提供酰胺 11,酰胺 11 被进一步转化为醛 12。通过在酸性条件下用甲醇进一步处理后,用双硫磺酸钠处理,然后有效地转化为闭环的化合物 13,从而实现硝基的还原。除去苄基保护基以提供单体 14。

[0331] 本发明的代表性二聚体化合物的制备方法示于图 3-5 和 7。通过将式 8 或式 14 的单体与具有两个离去基团(例如 Br、I、三氟甲基磺酸酯、甲磺酸酯或甲苯磺酸酯)的化合物反应,制备二聚体。

[0332] 通过将甲酯转化为离去基团的相应的反应性酯(例如但不限于,N-羟基琥珀酰亚胺酯、N-羟基酞酰亚胺酯、酞酰亚胺酯、N-羟基磺基-琥珀酰亚胺酯、对-硝基苯基酯、二硝基苯基酯、五氟苯基酯),制备具有可与抗体反应的连接体的二聚体。用于合成可连接二聚体的代表性实例示于图 8。经由可还原键或非可还原键能与细胞结合剂连接的具有硫醇或二硫部分的二聚体的合成示于图 9 和 10。通过图 11 所示的步骤,由苄基醇化合物 52 实现缺少羰基的 B 环修饰的单体 58。异吲啉并单体 66 可从异吲啉 59 制备,如图 12 所概述。连接体也可与吲啉并部分直接连接。吲啉并-2-羧酸甲酯可经由图 13 所示的步骤转化为可连接二聚体 82。具有 PEG 部分的可连接二聚体的合成示于图 14 和 15。

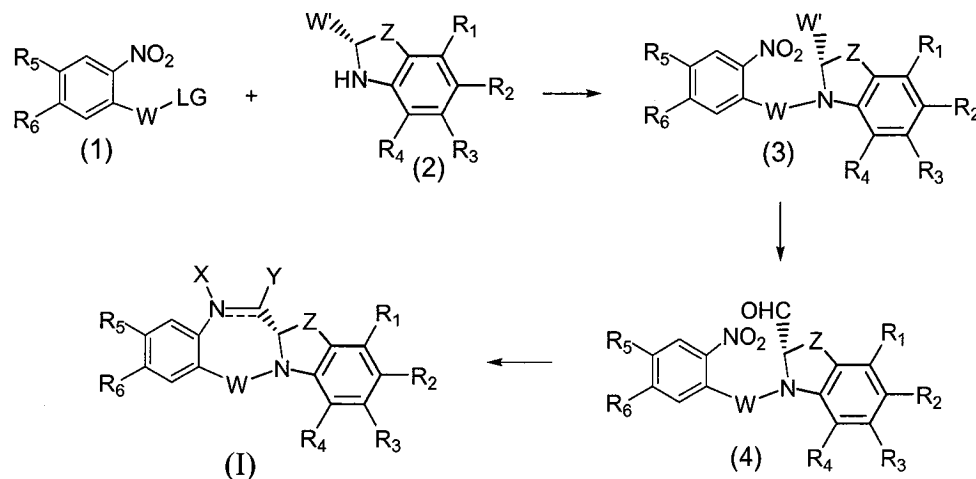
[0333] 因此,在一方面,本发明提供制备用于式 (I) 的咪唑啉并苯并二氮杂萘 (IBD) 单体的方法(图 1),所述方法包括以下步骤:

[0334] a) 将式 (1) 化合物与式 (2) 化合物偶联,得到式 (3) 化合物;

[0335] b) 将式 (3) 化合物转化为式 (4) 的醛;以及

[0336] c) 将式 (4) 化合物转化为式 (I) 化合物,

[0337]



[0338] 其中 LG 是离去基团; W' 是 $COOR$ 或 CH_2OW'' , 其中 R 具有与上文相同的定义并且 W'' 是保护基; $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, W, Z, X, Y$ 和 $=$ 具有与上述相同的定义。

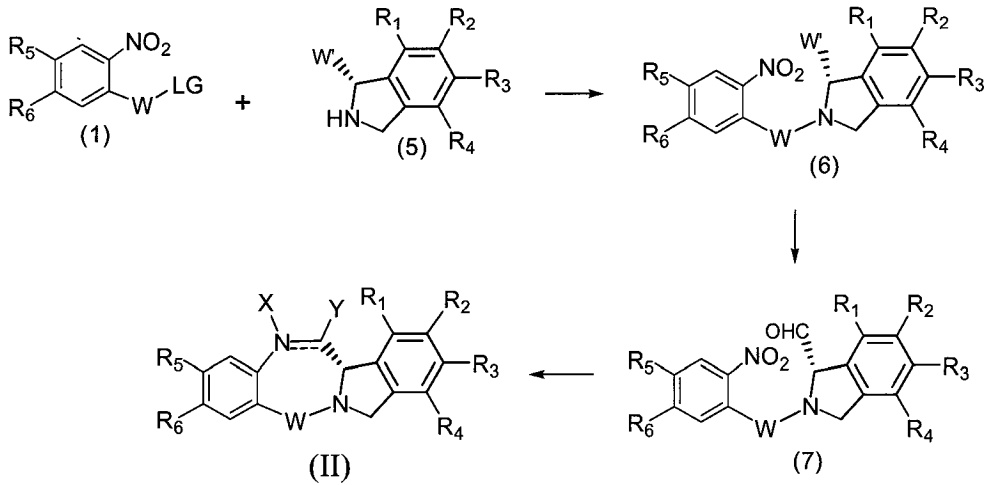
[0339] 本发明的另一方面提供用于制备式 (II) 化合物的方法,所述方法包括以下步骤:

[0340] a) 将式 (1) 化合物与式 (5) 化合物偶联,得到式 (6) 化合物;

[0341] b) 将式 (6) 化合物转化为式 (7) 的醛; 以及

[0342] c) 将式 (7) 化合物转化为式 (II) 的化合物,

[0343]



[0344] 其中 LG 是离去基团; W' 是 COOR 或 CH₂OW", 其中 R 具有与上文相同的定义并且 W" 是保护基; R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆、W、X、Y 和 = 具有与上述相同的定义。

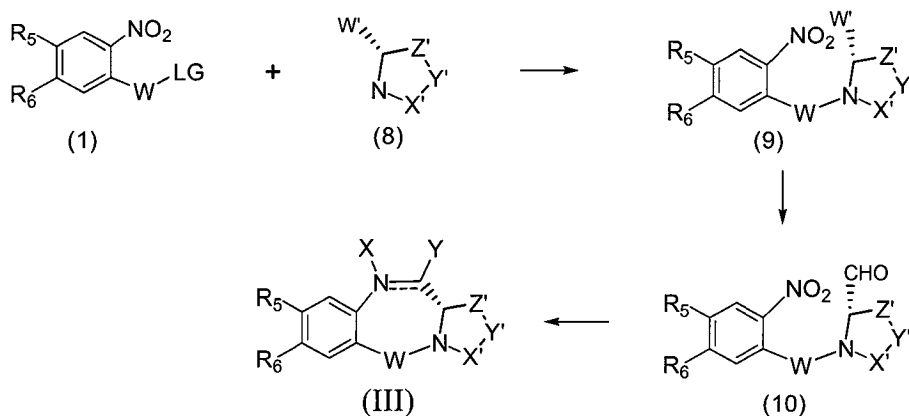
[0345] 本发明的另一方面提供用于制备式 (III) 化合物的方法, 所述方法包括以下步骤:

[0346] a) 将式 (1) 化合物与式 (8) 化合物偶联, 得到式 (9) 化合物;

[0347] b) 将式 (9) 化合物转化为式 (10) 的醛; 以及

[0348] c) 将式 (10) 化合物转化为式 (III) 的化合物,

[0349]

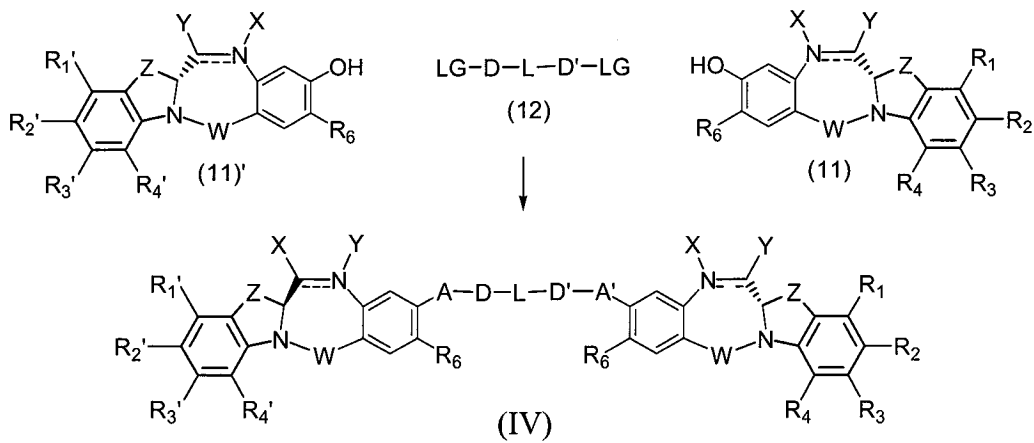


[0350] 其中 LG 是离去基团; W' 是 COOR 或 CH₂OW", 其中 R 具有与上文相同的定义并且 W" 是保护基; R₅、R₆、W、X、Y、X'、Y'、Z' 和 = 具有与上述相同的定义。

[0351] 本发明的另一方面提供用于制备式 (IV) 化合物的方法, 所述方法包括以下步骤:

[0352] 将式 (11) 化合物、式 (11)' 化合物与式 (12) 化合物偶联, 得到式 (IV) 化合物,

[0353]



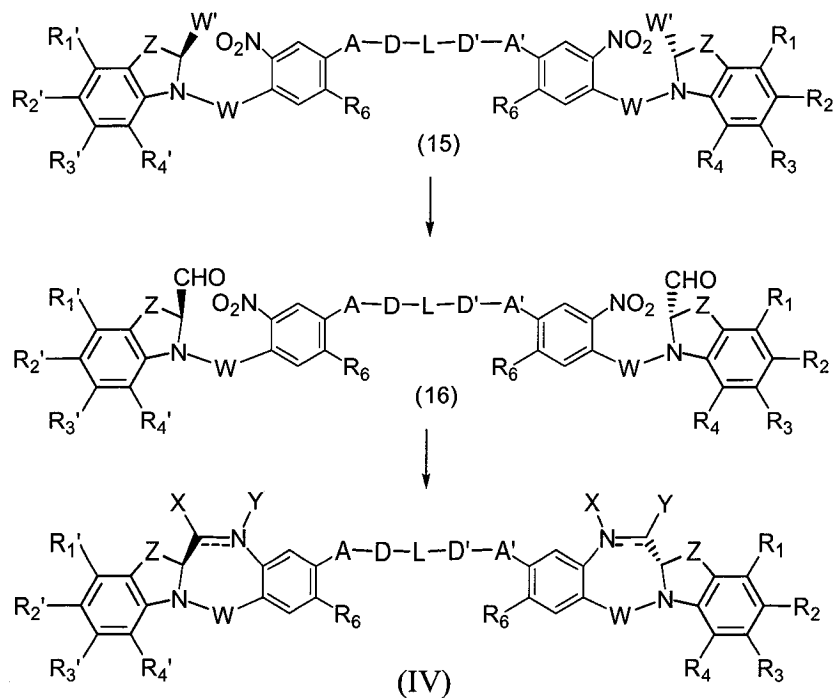
[0354] 其中 LG 是离去基团 ;R₁、R₂、R₃、R₄、R₁'、R₂'、R₃'、R₄'、R₆、W、X、Y、Z、A、A'、D、D'、L 和 \equiv 具有与上述相同的定义。

[0355] 本发明的另一方面提供用于制备本发明的式 (IV) 化合物的替代方法,所述方法包括以下步骤 :

[0356] a) 将式 (15) 化合物转化为式 (16) 的醛 ;以及

[0357] b) 将式 (16) 化合物转化为式 (IV) 化合物,

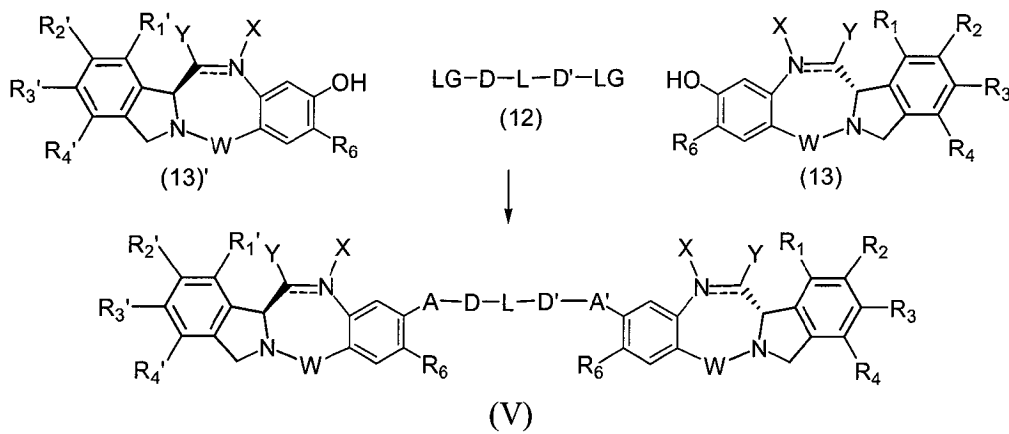
[0358]



[0359] 其中 W' 是 COOR 或 CH₂OW'', 其中 R 具有与上文相同的定义并且 W'' 是保护基 ;R₁、R₂、R₃、R₄、R₁'、R₂'、R₃'、R₄'、R₆、W、X、Y、Z、A、A'、D、D'、L 和 \equiv 具有与上述相同的定义。

[0360] 本发明的另一方面提供用于制备式 (V) 化合物的方法,所述方法包括以下步骤 :将式 (13) 化合物、式 (13)' 化合物与式 (12) 化合物偶联以得到式 (V) 化合物,

[0361]



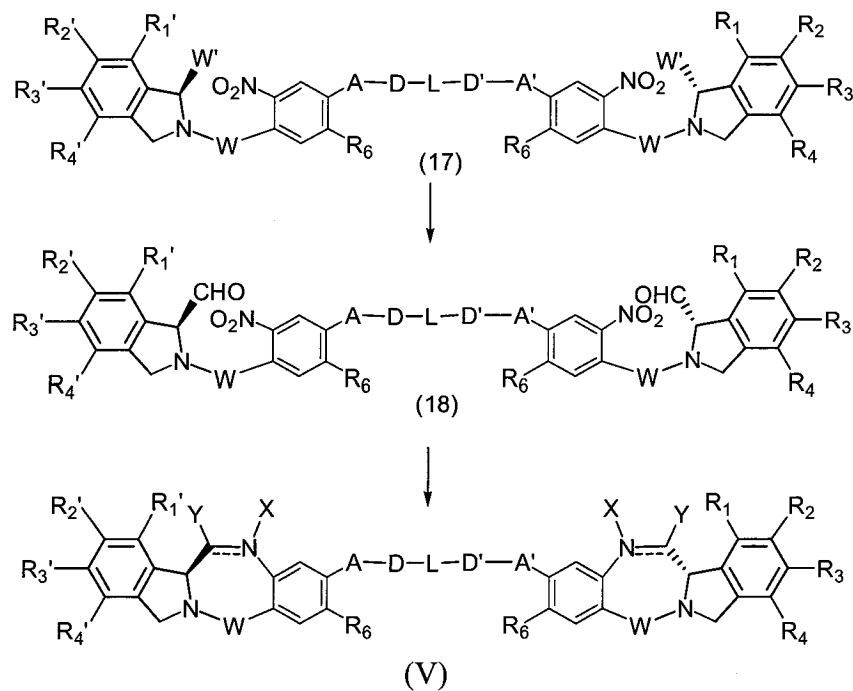
[0362] 其中 LG 是离去基团； R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_1' 、 R_2' 、 R_3' 、 R_4' 、 R_6 、W、X、Y、A、A'、D、D'、L 和 \equiv 具有与上述相同的定义。

[0363] 本发明的另一方面提供用于制备本发明的式 (V) 化合物的替代方法，所述方法包括以下步骤：

[0364] a) 将式 (17) 化合物转化为式 (18) 的醛；以及

[0365] b) 将式 (18) 化合物转化为式 (V) 的化合物，

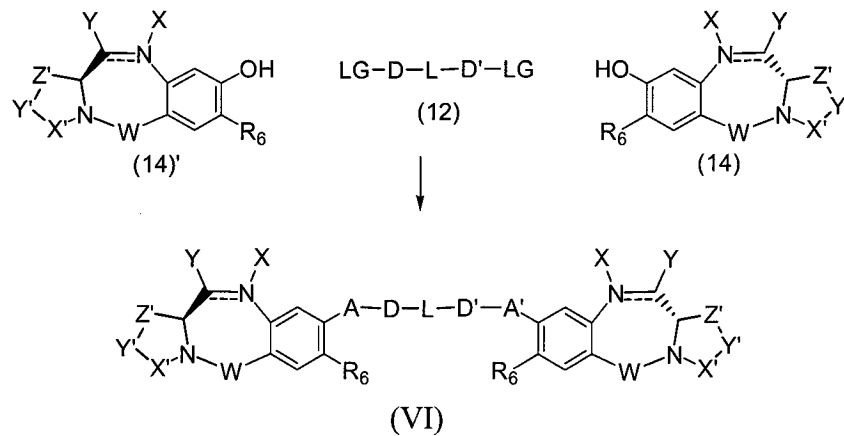
[0366]



[0367] 其中 W' 是 COOR 或 CH₂OW''，其中 R 具有与上文相同的定义并且 W'' 是保护基； R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_1' 、 R_2' 、 R_3' 、 R_4' 、 R_6 、W、X、Y、A、A'、D、D'、L 和 \equiv 具有与上述相同的定义。

[0368] 本发明的另一方面提供用于制备本发明的式 (VI) 化合物的方法，所述方法包括以下步骤：将式 (14) 化合物、式 (14)' 化合物和式 (12) 化合物偶联以得到式 (VI) 化合物，

[0369]



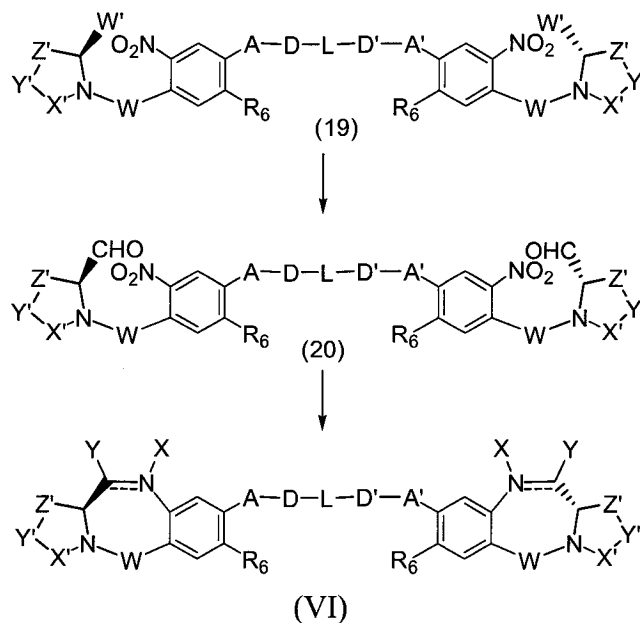
[0370] 其中 LG 是离去基团；R₆、W、X、Y、X'、Y'、Z'、A、A'、D、D'、L 和 \equiv 具有与上述相同的定义。

[0371] 本发明的另一方面提供用于制备本发明的式 (VI) 化合物的方法，所述方法包括以下步骤：

[0372] a) 将式 (19) 化合物转化为式 (20) 的醛；以及

[0373] b) 将式 (20) 化合物转化为式 (VI) 化合物，

[0374]



[0375] 其中 W' 是 COOR 或 CH₂OW''，其中 R 具有与上文相同的定义并且 W'' 是保护基；R₆、W、X、Y、X'、Y'、Z'、A、A'、D、D'、L 和 \equiv 具有与上述相同的定义。

[0376] 化合物的体外细胞毒性

[0377] 可以针对本发明的细胞毒性化合物（例如，吡啶并苯并二氮杂草或噁唑烷并苯并二氮杂草）、其衍生物、其二聚体或其轭合物的体外抑制各种癌性细胞系的增殖的能力，评价它们的体外细胞毒性（图 31、32 中的表 1、2）。例如，细胞系（例如人乳腺癌细胞系 SK-Br-3、或人表皮样癌细胞系 KB）可用于评估这些新化合物的细胞毒性。可将待评价的细胞暴露于化合物达 72 小时，并且通过已知方法在直接测定中测量细胞的存活分数。IC₅₀ 值然后可由测定值计算。

[0378] 对一组癌细胞系测试的本发明化合物的体外细胞毒性的实例以及它们的数据示于表1。测试的所有吡啶并苯并二氮杂^草二聚体化合物高度有效, IC₅₀值在低皮摩尔范围内。IGN-09 保留大多数其对多药抗性 细胞系例如 COLO205-MDR 的效能 (IC₅₀仅比 COLO205 高 4 倍)。本发明的化合物的细胞毒性是用于癌症治疗的其它 DNA 相互影响药物 (例如多柔比星、美法仑和顺铂) 的 1000 至 10,000 倍。在直接比较中, 将具有非连接体的化合物 IGN1 (化合物 18) 和 IGN09 (化合物 15) 的效能与具有连接体的化合物 IGN03 (化合物 34) 和 IGN05 (化合物 36) 比较, 测试它们针对代表性细胞系 Ramos 的效能。如表 2 所示, 所有四种化合物高度有效, IC₅₀值小于 1 皮摩尔, 表明连接体的掺合不影响效能。

[0379] 细胞结合剂

[0380] 本发明的化合物 (例如, 吡啶并苯并二氮杂^草或噁唑烷并苯并二氮杂^草)、其衍生物、其二聚体或其轭合物作为治疗剂的有效性取决于仔细选择适当的细胞结合剂。细胞结合剂可以是目前已知的或者变成已知的任何种类, 并且还包括肽和非肽。通常, 这些可以是抗体 (尤其是单克隆抗体)、淋巴因子、激素、生长因子、维生素、营养素转运分子 (例如转铁蛋白)、或任何其它细胞结合分子或物质。

[0381] 可以使用的细胞结合剂的更具体的实例包括:

[0382] 多克隆抗体;

[0383] 单克隆抗体;

[0384] 抗体片段例如 Fab、Fab' 和 F(ab')₂、Fv (Parham, J. Immunol. 131 : 2895-2902(1983); Spring 等人 J. Immunol. 113 : 470-478(1974); Nisonoff 等人 Arch. Biochem. Biophys. 89 : 230-244(1960));

[0385] 干扰素 (例如 α -、 β -、 γ -);

[0386] 淋巴因子例如 IL-2、IL-3、IL-4、IL-6;

[0387] 激素例如胰岛素、TRH (促甲状腺激素释放激素)、MSH (黑素细胞刺激激素)、类固醇激素, 例如雄激素和雌激素;

[0388] 生长因子和集落刺激因子例如 EGF、TGF- α 、FGF、VEGF、G-CSF、M-CSF 和 GM-CSF (Burgess, Immunology Today 5 : 155-158(1984));

[0389] 转铁蛋白 (O' Keefe 等人 J. Biol. Chem. 260 : 932-937(1985)); 和

[0390] 维生素, 例如叶酸盐。

[0391] 单克隆抗体技术允许生产极高特异性的以特异性单克隆抗体形式的细胞结合剂。尤其在本领域中众所周知的是通过用目标抗原例如完整靶细胞、分离自靶细胞的抗原、全病毒、减弱的全病毒以及病毒蛋白质 (例如病毒壳蛋白质) 使小鼠、大鼠、仓鼠或任何其它哺乳动物免疫而产生单克隆抗体的技术。也可以使用致敏人细胞。产生单克隆抗体的另一种方法是使用 scFv (单链可变区), 特别是人 scFv 的噬菌体文库 (参见例如, Griffiths 等人, 美国专利 No. 5, 885, 793 和 5, 969, 108; McCafferty 等人, W092/01047; Liming 等人, W099/06587)。此外, 也可使用在美国专利 No. 5, 639, 641 中公开的表面重塑抗体, 如嵌合抗体和人化抗体。适当的细胞结合剂的选择是取决于待靶向的特定细胞种群的选择的问题, 但是一般而言如果适当的抗体是可用的, 优选人单克隆抗体。

[0392] 例如, 单克隆抗体 MY9 是与 CD33 抗原特异性结合的鼠 IgG₁ 抗体 {J. D. Griffin 等

人 8Leukemia Res., 521 (1984)} 并且如果靶细胞表达在急性骨髓性白血病 (AML) 的疾病中的 CD33, 则可以使用单克隆抗体 MY9。同样地, 单克隆抗体抗 -B4 是在 B 细胞上与 CD19 抗原结合的鼠 IgG₁ {Nadler 等人, 131J. Immunol. 244-250 (1983)} 并且如果靶细胞是 B 细胞或例如在非霍奇金淋巴瘤中表达这种抗原的患病细胞, 或慢性淋巴母细胞白血病 HuB4 是源自鼠抗 -B4 抗体的表面重塑抗体, 则可以使用单克隆抗体抗 -B4 (Roguska 等人, 1994, Proc. Natl. Acad. Sci., 91, 第 969-973 页)。HuN901 是与在小细胞肺癌、多发性骨髓瘤、卵巢癌和其它实体肿瘤 (包括神经内分泌癌症) 上表达的 CD56 抗原结合的人化抗体 (Roguska 等人, 1994, Proc. Natl. Acad. Sci., 91, 第 969-973 页)。B38.1 是靶向 EpCAM 的嵌合抗体。也可以使用靶向在数种实体肿瘤上表达的 EGF 受体的全人抗体, 例如帕尼单抗 (panitumumab) (Van Cutsem 等人, J Clin Oncol. 2007; 25 (13): 1658-1664)。包含本发明的轭合物和修饰的细胞结合剂的细胞结合剂可以是目前已知的或变成已知的任何种类, 并且还包括肽和非肽。细胞结合剂可以是具有特异性或非特异性方式结合细胞的任何化合物。通常, 这些可以是抗体 (特别是单克隆抗体和抗体片段)、干扰素、淋巴因子、激素、生长因子、维生素、营养素转运分子 (例如转铁蛋白) 或任何其它细胞结合分子或物质。

[0393] 当细胞结合剂是抗体时, 其与为多肽的抗原结合并且可以是跨膜分子 (例如受体) 或配体例如生长因子。示例性抗原包括分子例如肾素; 生长激素, 包括人生长激素和牛生长激素; 生长激素释放因子; 甲状旁腺素激素; 甲状腺刺激激素; 脂蛋白; α -1-抗胰蛋白酶; 胰岛素 A-链; 胰岛素 B-链; 胰岛素原; 滤泡刺激激素; 降钙素; 促黄体激素; 胰高血糖素; 凝血因子例如因子 vmc、因子 IX、组织因子 (TF) 和血管性假性血友病因子 (von Willebrands factor); 抗-凝血因子例如蛋白质 C; 心房利尿钠因子; 肺表面活性剂; 纤溶酶原激活物, 例如尿激酶或人尿或组织型纤溶酶原激活剂 (t-PA); 铃蟾肽; 凝血酶; 造血生长因子; 肿瘤坏死因子- α 和 - β ; 脑啡肽酶; RANTES (调节活化正常 T 细胞表达和分泌的因子); 人巨噬细胞炎症性蛋白 (MIP-1- α); 血清白蛋白, 例如人血清白蛋白; 苗勒氏管抑制物质; 松弛素 A-链; 松弛素 B-链; prorelaxin; 小鼠促性激素相关肽; 微生物蛋白, 例如 β -内酰胺酶; DNA 酶; IgE; 细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 (CTLA), 例如 CTLA-4; 抑制素; 激活素; 血管内皮生长因子 (VEGF); 激素或生长因子受体; 蛋白质 A 或 D; 类风湿因子; 神经营养因子, 例如骨源性神经营养因子 (BDNF)、神经营养因子 -3、-4、-5 或 -6 (NT-3、NT4、NT-5 或 NT-6)、或神经生长因子例如 NGF- β ; 血小板源性生长因子 (PDGF); 成纤维细胞生长因子例如 aFGF 和 bFGF; 表皮生长因子 (EGF); 转化生长因子 (TGF) 例如 TGF- α 和 TGF- β , 包括 TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3、TGF- β 4 或 TGF- β 5; 胰岛素样生长因子 -I 和 -II (IGF-I 和 IGF-II); des(1-3)-IGF-I (脑 IGF-I)、胰岛素样生长因子结合蛋白、EpCAM、GD3、FLT3、PSMA、PSCA、MUC1、MUC16、STEAP、CEA、TENB2、EphA 受体、EphB 受体、叶酸盐受体、FOLR1、间皮素 (mesothelin)、cripto、 $\alpha_v\beta_6$ 、整联蛋白、VEGF、VEGFR、转铁蛋白受体、IRTA1、IRTA2、IRTA3、IRTA4、IRTA5; CD 蛋白质例如 CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD14、CD19、CD20、CD21、CD22、CD25、CD26、CD28、CD30、CD33、CD36、CD37、CD38、CD40、CD44、CD52、CD55、CD56、CD59、CD70、CD79、CD80、CD81、CD103、CD105、CD134、CD137、CD138、CD152 或在美国公开 No. 20080171040 或美国公开 No. 20080305044 公开的与一种或多种肿瘤相关抗原或细胞表面受体结合的抗体, 所述美国公开通过引用全文并入; 红细胞生成素; 骨诱导因子; 免疫毒素; 骨形态发生蛋白 (BMP); 干扰素, 例如干扰素 - α 、- β 和 - γ ; 集落刺激因子 (CSF), 例

如 M-CSF、GM-CSF 和 G-CSF；白细胞介素 (IL)，例如 IL-1 至 IL-10；超氧化物歧化酶；T 细胞受体；表面膜蛋白质；衰变加速因子；病毒抗原，例如 HIV 包被蛋白的一部分；转运蛋白；归巢受体；地址素；调节蛋白质；整联蛋白，例如 CD11a、CD11b、CD11c、CD18、ICAM、VLA-4 和 VCAM；肿瘤相关抗原，例如 HER2、HER3 或 HER4 受体；任意上述列出的多肽的片段。

[0394] 此外，与髓样细胞结合的 GM-CSF 可用作来自急性骨髓性白血病的患病细胞的细胞结合剂。与活化 T 细胞结合的 IL-2 可用于预防移植排斥、用于治疗 and 预防移植物抗宿主病以及用于治疗急性 T 细胞白血病。与黑素细胞结合的 MSH 可用于治疗黑素瘤。叶酸可用于靶向在卵巢和其它肿瘤上表达的叶酸盐受体。表皮生长因子可用于靶向鳞癌例如肺鳞癌以及头和颈鳞癌。生长抑素可用于靶向神经母细胞瘤和其它肿瘤类型。

[0395] 乳腺癌和睾丸癌可分别用雌激素（或雌激素类似物）或雄激素（或雄激素类似物）作为细胞结合剂顺利地靶向。

[0396] 细胞毒性轭合物的生产

[0397] 本发明还提供细胞毒性化合物 - 细胞结合剂轭合物，其包含经由多种连接体与一种或多种细胞毒性化合物连接的细胞结合剂，所述连接体包括但不限于，二硫化物连接体、硫醚连接体、酰胺键合的连接体、肽酶敏感性连接体、酸敏感性连接体、酯酶敏感性连接体。本发明的代表性细胞毒性轭合物是抗体 / 细胞毒性化合物、抗体片段 / 细胞毒性化合物、表皮生长因子 (EGF) / 细胞毒性化合物、黑素细胞刺激激素 (MSH) / 细胞毒性化合物、甲状腺刺激激素 (TSH) / 细胞毒性化合物、生长抑素 / 细胞毒性化合物、叶酸盐 / 细胞毒性化合物、雌激素 / 细胞毒性化合物、雌激素类似物 / 细胞毒性化合物、雄激素 / 细胞毒性化合物、以及雄激素类似物 / 细胞毒性化合物。

[0398] 在优选的实施方案中，本发明提供吡啶并苯并二氮杂萘二聚体 - 细胞结合剂轭合物，其包含通过共价键连接的细胞毒性剂和细胞结合剂。连接体可在肿瘤 / 不需要的增殖细胞的部位断裂，从而以多种方式将细胞毒性剂递送至其靶点。连接体例如通过低 pH (腺)、还原性环境 (二硫化物)、蛋白酶解 (酰胺 / 肽键) 或通过酶促反应 (酯酶 / 糖苷酶) 断裂。

[0399] 在优选的方面，本发明的代表性细胞毒性轭合物是抗体 / 吡啶并苯并二氮杂萘二聚体、抗体片段 / 吡啶并苯并二氮杂萘二聚体、表皮生长因子 (EGF) / 吡啶并苯并二氮杂萘二聚体、黑素细胞刺激激素 (MSH) / 吡啶并苯并二氮杂萘二聚体、甲状腺刺激激素 (TSH) / 吡啶并苯并二氮杂萘二聚体、生长抑素 / 吡啶并苯并二氮杂萘二聚体、叶酸盐 / 吡啶并苯并二氮杂萘二聚体、雌激素 / 吡啶并苯并二氮杂萘二聚体、雌激素类似物 / 吡啶并苯并二氮杂萘二聚体、前列腺特异性膜抗原 (PSMA) 抑制剂 / 吡啶并苯并二氮杂萘二聚体、蛋白裂解酶抑制剂 / 吡啶并苯并二氮杂萘二聚体、设计的锚蛋白重复蛋白 (DARP) / 吡啶并苯并二氮杂萘二聚体、雄激素 / 吡啶并苯并二氮杂萘二聚体和雄激素类似物 / 吡啶并苯并二氮杂萘二聚体。

[0400] 含有二硫化物的细胞毒性轭合物可通过将含有硫醇的细胞毒性剂 (例如 49) 与适当修饰的细胞结合剂反应而制备。可以通过使用凝胶过滤、离子交换色谱法、陶瓷羟基磷灰

石 (CHT) 色谱法、疏水相互作用色谱法 (CHT)、切向流过滤 (TFF)、或通过 HPLC 纯化这些轭合物以除去非连接的细胞毒性剂。

[0401] 抗体在含水缓冲液中的溶液可与摩尔过量的抗体修饰剂例如 N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫基)丙酸酯 (SPDP) 或 N-琥珀酰亚胺基-4-(2-吡啶基二硫基)丁酸酯 (SPDB) 孵育以引入二硫基吡啶基。然后将修饰抗体与含有硫醇的细胞毒性剂例如化合物 49 反应以生产二硫化物连接的抗体-吡啶并苯并二氮杂萘二聚体轭合物。细胞毒性剂-细胞结合剂轭合物然后可使用任何上述方法纯化。

[0402] 可选地,抗体可与摩尔过量的抗体修饰剂例如 2-亚氨基硫杂环戊烷、L-高半胱氨酸硫代内酯(或衍生物)、或 N-琥珀酰亚胺基-S-乙酰基硫代乙酸酯 (SATA) 孵育以引入巯基。修饰抗体然后与适当的含有二硫化物的细胞毒性剂例如化合物 51 反应以引入二硫化物连接的抗体-细胞毒性剂轭合物。抗体-细胞毒性剂轭合物然后通过凝胶过滤或其它上述方法纯化。

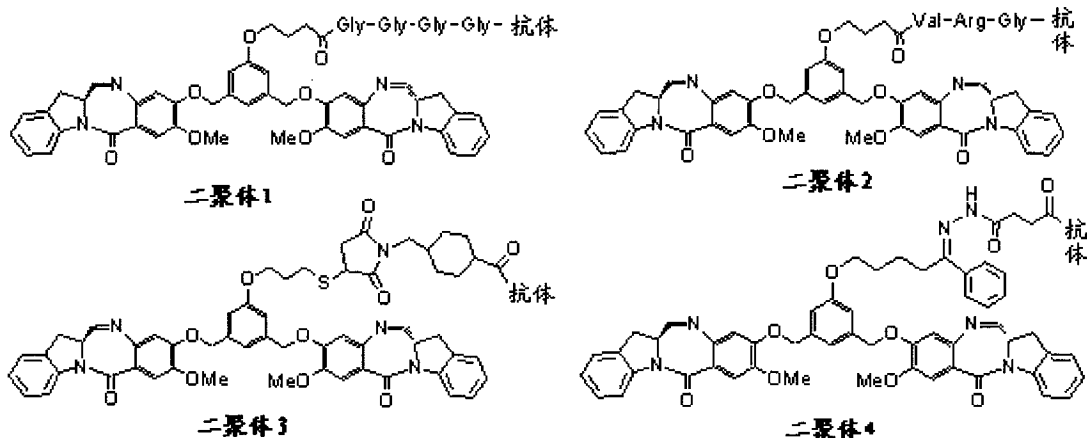
[0403] 每抗体分子结合的细胞毒性分子的数目可用分光光度法通过测量在 280nm 和 330nm 的吸光度的比值来确定。1-10 个细胞毒性分子/抗体分子可通过这种方法连接。连接的细胞毒性分子/抗体分子的优选的平均数为 2-5,最优为 3-4.5。

[0404] 可选地,抗体在含水缓冲液中的溶液可与摩尔过量的抗体-修饰剂例如 N-琥珀酰亚胺基-4-(N-马来酰亚胺甲基)-环己烷-1-羧酸酯孵育以引入马来酰亚胺,或可与 N-琥珀酰亚胺基-4-(碘代乙酰基)-氨基苯甲酸酯 (SIAB) 孵育以引入碘代乙酰基。修饰的抗体然后与含有硫醇的细胞毒性剂反应以生成硫醚连接的抗体-细胞毒性剂轭合物。抗体-细胞毒性剂轭合物然后通过凝胶过滤或其它上述方法或本领域技术人员已知的方法纯化。

[0405] 含有终止于 N-羟基琥珀酰亚胺基 (NHS) 酯的连接体的细胞毒性剂例如化合物 43、44 和 46 可与抗体反应以引入直接酰胺连接的轭合物,例如 huN901-IGN-03 和 huN901-IGN-07。抗体-细胞毒性剂轭合物然后通过凝胶过滤或其它上述方法纯化。

[0406] 下述细胞结合剂/细胞毒性剂轭合物可使用适当的连接体来制备。具有肽可裂解的连接体的二聚体 1 和 2 可由相应的 NHS 酯制备,二聚体 3 可通过将适当的含有硫醇的细胞毒性剂与 SMCC 修饰的细胞结合剂反应而制备,以及酸敏感性脲二聚体 4 可通过含有烷基、芳基酮的细胞毒性剂与酰肼修饰的细胞结合剂缩合而制备。

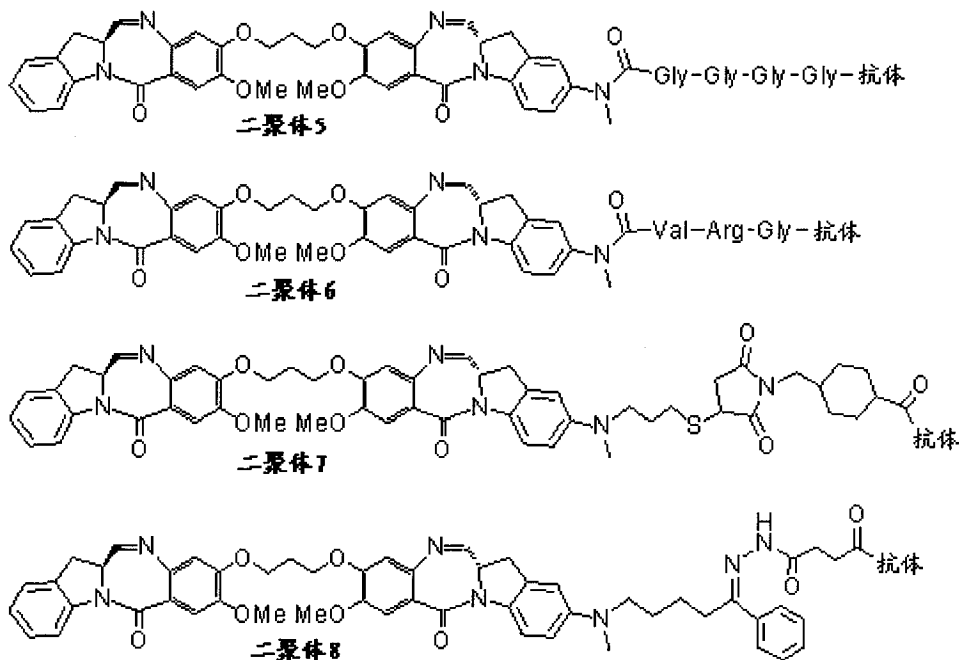
[0407]



[0408] 不对称吡啶并苯并二氮杂萘二聚体轭合物例如二聚体 5-8 也可用与上文所述

的类似的方法来制备。

[0409]



[0410] 可以评价本发明的细胞结合剂与细胞毒性剂的轭合物体外抑制各种不需要的细胞系的增殖的能力。例如，细胞系例如人结肠癌系 COLO205、横纹肌肉瘤细胞系 RH-30 和多发性骨髓瘤细胞系 MOLP-8 可用于评估这些轭合物的细胞毒性。待评价的细胞可以暴露于化合物 1-5 天，并且通过已知方法在直接测定中测量细胞的存活分数。IC₅₀值然后可由测定结果计算。

[0411] 本发明的抗体 - 细胞毒性剂轭合物的体外效能和靶特异性的实例示于图 21-26。细胞毒性剂 / 抗体比率为 1-3 的所有轭合物对抗原阳性癌症细胞具有极高细胞毒性，IC₅₀在低皮摩尔范围内。抗原阴性细胞系当暴露于同一轭合物时保持存活。吡啶并苯并二氮杂萘二聚体的轭合物与抗体 huN901 (抗 -CD56) 和 muB38. 1 (抗 -EpCAM) 的靶特异性是 > 1000。例如，B38. 1-IGN-3 轭合物杀死抗原阳性 COLO205 细胞，其中 IC₅₀值为 1. 86pM，而抗原阴性 Namalwa 细胞系的敏感性低约 200 倍，其中 IC₅₀值为 336. 3pM，表明抗原特异性。此外，轭合物对多药抗性 COLO 205MDR 细胞也高度有效，其中 IC₅₀值为 16pM。类似地，huN901-IGN3 轭合物高度有效，其中抗原阳性 RH30 细胞的 IC₅₀值为 15pM (图 22)。另外过量的未轭合的 huN901 抗体废除这种细胞毒性效应 (IC₅₀> 3nM)，表明抗原 - 特异性。另一种 huN901-IGN 轭合物 (huN901-IGN-07) 也对表达 RH-30 细胞的抗原表现出高效能，其中载药量独立于细胞毒性和对于具有 1. 2、2. 0 和 3. 0 个连接药物 / 抗体分子的轭合物的 IC₅₀值分别为 16pM、3pM 和 2pM (图 23)。用对抗原阳性 Molp-8 细胞的 huN901-IGN07 和 huN901-IGN03 获得类似结果。对于 1. 2、2. 0 和 3. 0 的 IGN07 负载，Hu901-IGN07 得到的 IC₅₀值分别为 5pM、3pM 和 2pM (图 24)。huN901-IGN07 和 IGN03 轭合物对抗原阴性的 Namalwa 细胞的有效性大幅减少，IC₅₀值范围为 1000pM 至 > 3000pM (图 25)。B38. 1-IGN10 轭合物也特异性有效地杀死抗原阳性 COLO 205 细胞，其中 IC₅₀为 17pM，而对于抗原阴性 Ramos 细胞，则有效性下降 (170pM) (图 26)。

[0412] 在一个实例中，测量细胞结合剂 / 细胞毒性剂轭合物的体内效力。具有人 MOLP-8

肿瘤的裸小鼠用 huN901-IGN-07 轭合物处理,并且相比之下,观察到显著的肿瘤消退,未治疗小鼠肿瘤生长快速(图 27)。

[0413] 本发明的吡啶并苯并二氮杂^草二聚体结合并且烷基化在相隔 4 个碱基对的相反链上含有鸟嘌呤残基的双链 DNA(dsDNA)。图 28-30 显示来自反相离子对色谱法测定的数据,显示 IGN-01、IGN-02 和 IGN-09 与 dsDNA 结合与交联的速率。吡啶并基团(IGN-01)比噁唑基团(IGN-02)优先快速的 DNA 结合和链间交联(ICL)。IGN1-DNA 加成物形成的初始速率取决于 DNA 序列。IGN1 与含有内部 GATC 基序的 DNA 的结合比与具有 GTAC 序列的 DNA 的结合更快。用脱氧肌苷(I)(不含 C-2 氨基)代替鸟嘌呤(G)的 DNA 探针显示不与 IGN-1 反应(图 29)。

[0414] 本发明的各种化合物针对一组细胞系的 IC₅₀值列于图 31 中。本发明的可连接和不可连接的化合物的体外效能的比较示于图 32。连接体的并入不显著影响母化合物的效能。

[0415] 组合物和使用方法

[0416] 本发明还包括组合物(例如,药物组合物),其包含新型苯并二氮杂^草化合物(例如,吡啶并苯并二氮杂^草或噁唑烷并苯并二氮杂^草)、其衍生物或其轭合物(和/或其溶剂合物、水合物和/或盐)和载体(可药用载体)。本发明还包括组合物(例如,药物组合物),其包含新型苯并二氮杂^草化合物、其衍生物或其轭合物(和/或其溶剂合物、水合物和/或盐)和载体(可药用载体),还包含第二治疗剂。本发明组合物可用于抑制哺乳动物(例如,人)中的异常细胞生长或治疗增殖性病症。本发明组合物也可用于治疗哺乳动物(例如,人)中的抑郁、焦虑、应激、恐怖症、惊恐、烦躁不安、精神疾病、痛苦和炎症疾病。

[0417] 本发明还包括抑制哺乳动物(例如,人)中的异常细胞生长或治疗增殖性病症的方法,所述方法包括向所述哺乳动物施用单独或与第二治疗剂组合的治疗有效量的新型苯并二氮杂^草化合物(例如,吡啶并苯并二氮杂^草或噁唑烷并苯并二氮杂^草)、其衍生物或其轭合物(和/或其溶剂合物和盐)或其组合物。

[0418] 本发明还提供治疗方法,包括向需要治疗的个体施用有效量的任何上述轭合物。

[0419] 同样地,本发明提供用于在选择的细胞种群中诱导细胞死亡的方法,所述方法包括将靶细胞或含有靶细胞的组织与有效量的细胞毒性剂接触,所述细胞毒性剂包含本发明的任何细胞毒性化合物-细胞结合剂(例如,与细胞结合剂连接的吡啶并苯并二氮杂^草或噁唑烷并苯并二氮杂^草二聚体)、其盐或溶剂合物。靶细胞是可与细胞结合剂结合的细胞。

[0420] 如有需要,其它活性剂(例如其它抗肿瘤剂)可与轭合物一起施用。

[0421] 适合的可药用的载体、稀释剂和赋形剂是众所周知的,并且可由本领域普通技术人员按临床表现凭证确定。

[0422] 适合的载体、稀释剂和/或赋形剂的实例包括:(1) Dulbecco 磷酸盐缓冲盐水, pH 约 7.4, 含有或不含有约 1mg/ml 至 25mg/ml 人血清白蛋白、(2) 0.9% 盐水(0.9% w/v NaCl)和(3) 5% (w/v) 葡萄糖;并且还可包含抗氧化剂例如色胺和稳定剂例如 Tween20。

[0423] 用于这些选择的细胞种群中诱导细胞死亡的方法可在体外、体内或离体实施。

[0424] 体外应用的实例包括在将自体骨髓移植到同一患者中之前进行自体骨髓治疗以便杀死患病细胞或恶性细胞；在进行骨髓移植之前进行骨髓的治疗以便杀死感受态 T 细胞和预防移植物抗宿主病 (GVHD)；进行细胞培养物治疗以便杀死除不表达靶抗原的所需变体之外的所有细胞；或以便杀死表达不需要抗原的变体。

[0425] 非临床体外用途的条件由本领域普通技术人员容易确定。

[0426] 临床离体应用的实例是在癌症治疗或自身免疫疾病治疗中的自体移植之前从骨髓移除肿瘤细胞或淋巴细胞，或者在移植之前从自体或异源骨髓或组织移除 T 细胞和其它淋巴细胞以便防止 GVHD。可如下进行治疗。从患者或其它个体中收获骨髓，然后在约 37°C、在加入有浓度范围为约 10 μ M 至 1pM 的本发明细胞毒性剂的、含有血清的培养基中孵育约 30 分钟至约 48 小时。孵育的浓度和时间（即剂量）的确切条件由本领域普通技术人员容易确定。在孵育后，用含有血清的培养基洗涤骨髓细胞，并且根据已知方法静脉内送回患者。在患者接受其它治疗（例如烧蚀化疗过程或在收获骨髓时间与再输注受治疗的细胞之间进行的全身照射）的情况下，使用标准医疗器械在液氮中冷冻贮存受治疗的骨髓细胞。

[0427] 对于临床体内应用，本发明的细胞毒性剂将以溶液或冻干粉末形式提供，其被测试用于不育和内毒素水平。适合的轭合物施用方案的实例如下。以静脉内推注形式每周给予轭合物，持续 4 周。在可加有 5 至 10ml 人血清白蛋白的 50 至 1000ml 正常盐水中给予推注剂量。每次施用的剂量将为 10 μ g 至 2000mg，静脉内施用（范围为每天 100ng 至 20mg/kg）。治疗四周后，患者可继续接受每周的治疗。关于施用途径、赋形剂、稀释剂、剂量、时间等的具体临床方案可由本领域普通技术人员按临床表现凭证确定。

[0428] 可根据在选择选择的细胞种群中诱导细胞死亡的体内或离体方法治疗的医疗条件的实例包括任何类型的恶性肿瘤（包括，例如肺癌、乳腺癌、结肠癌、前列腺癌、肾癌、胰腺癌、卵巢癌和淋巴器官癌）；自身免疫疾病，例如全身性红斑狼疮、类风湿性关节炎和多发性硬化；移植物排斥，例如肾移植排斥、肝移植排斥、肺移植排斥、心脏移植排斥和骨髓移植排斥；移植物抗宿主病；病毒感染，例如 CMV 感染、HIV 感染、AIDS 等；以及寄生虫感染，例如贾第鞭毛虫病、阿米巴病、血吸虫病和由本领域普通技术人员确定的其它寄生虫感染。

[0429] 癌症治疗及其剂量、施用途径和推荐用法在本领域中已知并且在文献如 Physician's Desk Reference (PDR) 中描述。PDR 公开了已用于治疗各种癌症的活性剂的剂量。给药方案和这些上述化疗药物的治疗有效剂量将取决于被治疗的具体癌症、疾病程度和本领域熟练内科医生所熟悉的其它因素，并且可以由内科医生确定。PDR 的内容通过引用全部明确地并入本文。本领域技术人员可使用下述参数中的一个或多个参数来检查 PDR，以确定给药方案以及可按照本发明教义使用的化学治疗剂和轭合物的剂量。这些参数包括：

[0430] 综合指数

[0431] 制造商

[0432] 产品（公司的药名或作为商标登记的药名）

[0433] 类别指数

[0434] 通用 / 化学指数（非商标常用药名）

[0435] 药疗法的颜色图像

[0436] 产品信息（与 FDA 标签一致）

[0437] 化学信息

[0438] 功能 / 作用

[0439] 适应症和禁忌症

[0440] 试验研究、副作用、警示

[0441] 类似物和衍生物

[0442] 细胞毒性剂领域的技术人员将容易理解本文所述的每种细胞毒性剂可以以这样的方式进行修饰,以使所得化合物仍保留起始化合物的特异性和 / 或活性。熟练技术人员也应理解很多可以使用这些化合物代替本文所述的细胞毒性剂。因此,本发明的细胞毒性剂包括本文所述的化合物的类似物和衍生物。

[0443] 本文引用的所有参考文献和下面的实施例通过引用全文明确地并入。

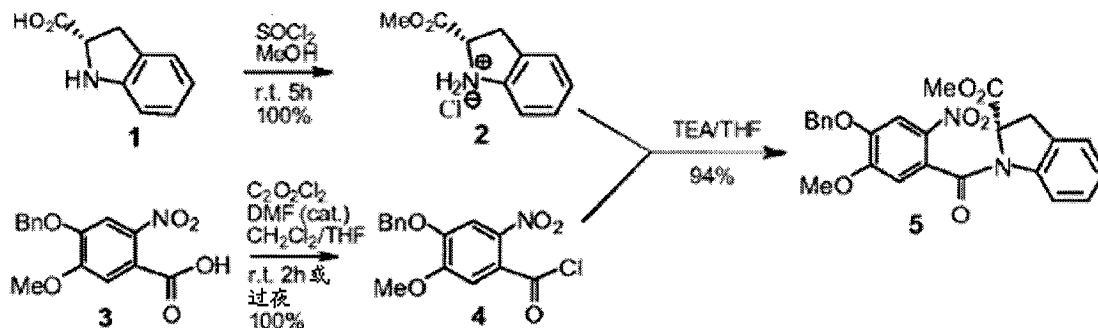
实施例

[0444] 现在通过引用非限制性实例对本发明进行举例说明。除非另有说明,所有百分数、比率、部分等均按重量计。所有试剂购自 Aldrich Chemical Co., New Jersey 或其它商业来源。在 Bruker 400MHz 仪器上获得核磁共振 (^1H NMR) 光谱,在使用电喷雾离子化在 Bruker Daltonics Esquire3000 仪器上获得质谱。

[0445] 实施例 1

[0446] (2S)-1-[5-甲氧基-2-硝基-4-(苯基甲氧基)-苯甲酰基]-2-吡啶啉羧酸甲酯

[0447]



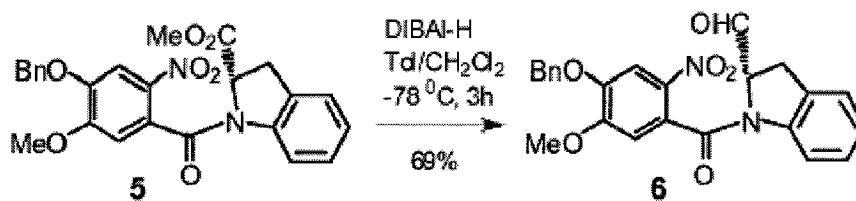
[0448] 在室温、向搅拌的 4-苄氧基-5-甲氧基-2-硝基苯甲酸 3 (7.01g, 23.1mmol) 在无水二氯甲烷 (100mL) 和 THF (10mL) 中的溶液加入草酰氯 (4.1mL, 46.2mmol) 和 DMF (30 μ L, 0.38mmol)。加入 DMF 后形成大量气泡。将混合物搅拌过夜 (通常在 3 小时内结束反应), 然后通过真空旋转蒸发除去溶剂。通过加入无水二氯甲烷和高真空将残余物再一次共蒸发, 得到为黄色固体的乙酰氯 4, 其被直接用于下一步。

[0449] 在 0 $^{\circ}$ C、向搅拌的中的溶液 (s)-(-)-吡啶啉-2-羧酸 1 (3.43g, 21.0mmol) 在无水甲醇 (42mL) 逐滴加入亚硫酰氯 (3.1mL, 42.0mmol)。30 分钟后移除冰浴, 将混合物继续在室温下搅拌 5 小时。在减压下除去溶剂, 将残余物进一步在高真空下干燥, 得到甲酯 2, 将其在 500mL 圆底烧瓶中溶于无水 THF (70mL) 中。将溶液冷却至 0 $^{\circ}$ C, 加入三乙胺 (9.7mL, 69.3mmol), 然后在 0 $^{\circ}$ C 经由插管快速加入刚制备的在无水 THF (70mL) 中的乙酰氯 4。将混合物在 0 ~ 5 $^{\circ}$ C 搅拌另外的 1.5 小时, 然后在室温搅拌 30 分钟。通过加入冷 5% HCl 淬灭

反应,然后用乙酸乙酯和水稀释。将水层用乙酸乙酯萃取三次。随后将合并的有机层用盐水、饱和碳酸氢钠和盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤。将溶剂在减压下蒸发,经由硅胶色谱法(己烷/乙酸乙酯,2:1,1.5:1)纯化残余物,得到为黄色固体的(2S)-1-[5-甲氧基-2-硝基-4-(苯基甲氧基)-苯甲酰基]-2-吲哚啉羧酸甲酯 5(9.1g, $y = 94\%$)。 ^1H NMR(400Hz, CDCl_3):该化合物表现为三种不同的旋转异构体。 δ 8.27(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 0.3H), 7.90(s, 0.1H), 7.82(s, 0.6H), 7.79(s, 0.3H), 7.50-7.28(m, 5.4H), 7.20-7.09(m, 1.3H), 7.05(s, 0.6H), 6.97-6.81(m, 1.6H), 6.76(s, 0.1H), 5.85(d, $J = 8.0\text{Hz}$, 0.1H), 5.70(d, $J = 8.0\text{Hz}$, 0.6H), 5.45-5.41(m, 0.6H), 5.33-5.21(m, 2.1H), 4.55(dd, $J_1 = 10.8\text{Hz}$, $J_2 = 2.8\text{Hz}$, 0.3H), 3.98(s, 1.8H), 3.94(s, 0.9H), 3.83-3.81(m, 2.4H), 3.62(dd, $J_1 = 16.4\text{Hz}$, $J_2 = 11.4\text{Hz}$, 1H), 3.56(s, 0.9H), 3.27-3.13(m, 1H); ^{13}C NMR(400Hz, CDCl_3):171.5, 164.7, 155.2, 154.4, 148.6, 148.3, 140.3, 137.4, 135.11, 135.05, 130.5, 129.2, 128.7, 128.4, 127.9, 127.6, 127.5, 126.7, 125.5, 124.8, 124.3, 123.9, 117.6, 112.4, 110.1, 109.2, 108.8, 71.3, 71.2, 61.5, 60.2, 60.1, 56.7, 56.5, 52.5, 52.4, 33.6, 31.4; HRMS(ESI, m/z): 计算值 463.1505($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 实测值 463.1516。

[0450] (2S)-1-[5-甲氧基-2-硝基-4-(苯基甲氧基)-苯甲酰基]-2-吲哚啉醛 6:

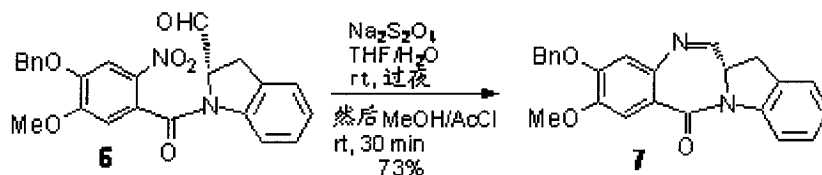
[0451]



[0452] 在 -78°C 、于 30 分钟内经由注射泵向甲酯 5(4.4g, 9.5mmol) 在无水二氯甲烷(11mL) 和甲苯(33mL) 中的溶液逐滴加入 dibal-H (19mL, 在甲苯中的 1.0M)。将混合物在 -78°C 继续搅拌 3 小时, TLC(己烷/AcOEt, 1:1.5) 显示原料几乎耗尽。在 -78°C 用甲醇(0.4mL) 和 5% HCl(30mL) 淬灭反应。加入乙酸乙酯(100mL), 除去干冰/丙酮浴。将混合物在室温搅拌 30 分钟, 然后转移至分液漏斗。将水层用 AcOEt 萃取两次, 并且将合并的有机层用盐水、饱和碳酸氢钠和盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥。将其滤过硅藻土, 在减压下除去溶剂(温度 $< 35^\circ\text{C}$)。将快速色谱法纯化残余物(己烷/AcOEt, 1.5:1, 1:1, 1:1.5), 得到为黄色固体的醛 6(2.85g, $y = 69\%$)。 ^1H NMR(400Hz, CDCl_3):该化合物表现为三种不同的旋转异构体。 δ 10.02(s, 0.3H), 9.85(s, 0.5H), 9.45(s, 0.2H), 8.32-8.31(m, 0.2H), 7.93(s, 0.3H), 7.83(s, 0.5H), 7.79(s, 0.2H), 7.53-7.34(m, 5.2H), 7.26-7.14(m, 1.3H), 7.08(s, 0.5H), 7.01-6.94(m, 1H), 6.91-6.82(m, 1H), 5.78(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 0.3H), 5.71(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 0.5H), 5.52-5.48(m, 0.5H), 5.35-5.21(m, 2.3H), 4.53-4.50(m, 0.2H), 4.06(s, 1.5H), 3.98(s, 0.6H), 3.94(s, 0.9H), 3.63-3.17(m, 2H); HRMS(ESI, m/z): 计算值 433.1400($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 实测值 433.1387。

[0453] 化合物 7:

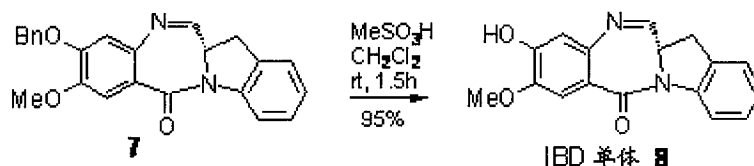
[0454]



[0455] 向搅拌的醛 6 (2.16g, 5mmol) 在 THF (230mL) 中的溶液加入去离子水 (150mL) 和双硫磺酸钠 (85%, 4.61g, 22.5mmol)。所得的略微混浊的溶液在加入另外 5mL 去离子水后变得澄清。将澄清混合物在室温搅拌 16 小时, 加入 30mL MeOH。在搅拌另外 2 小时后, 在减压下除去溶剂 (浴温低于 35°C)。将残余物悬浮于乙腈中, 蒸发以助于除去任意剩余的水。通过置于高真空数小时将所得的白色固体进一步完全干燥。将残余物悬浮于二氯甲烷/甲醇 (1 : 1) 中, 将其滤过硅藻土。用二氯甲烷/甲醇 (1 : 1) 彻底洗涤烧瓶和固体。将滤液在减压下吹脱。将残余物溶于甲醇 (50mL) 中, 然后逐滴加入乙酰氯 (1.8mL, 25mmol)。将混合物在室温搅拌 30 分钟, 在减压下浓缩 (浴温低于 35°C) 以除去一半甲醇。用饱和碳酸氢钠萃取剩余部分, 然后加入二氯甲烷 (150mL) 和水 (100mL)。用二氯甲烷萃取水层 (2×100mL), 将合并的有机层用盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤。在减压下除去溶剂, 通过硅胶色谱法 (己烷 /AcOEt, 1 : 1, 1 : 1.3, 1 : 1.5) 纯化残余物, 得到为黄色固体的化合物 7 (1.41g, $y = 73\%$)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃) : δ 8.26 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.83 (d, $J = 4.4\text{Hz}$, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.46–7.23 (m, 7H), 7.11–7.08 (m, 1H), 6.86 (s, 1H), 5.23 (d, $J = 12\text{Hz}$, 1H), 5.18 (d, $J = 12\text{Hz}$, 1H), 4.44 (ddd, $J_1 = 11.2\text{Hz}$, $J_2 = 4.4\text{Hz}$, $J_3 = 4.0\text{Hz}$, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.67 (dd, $J_1 = 16.4\text{Hz}$, $J_2 = 11.2\text{Hz}$, 1H), 3.46 (dd, $J_1 = 16.4\text{Hz}$, $J_2 = 4.0\text{Hz}$, 1H); ¹³C NMR (400Hz, CDCl₃) : δ 163.8, 163.0, 150.9, 148.3, 141.96, 139.97, 136.0, 129.4, 128.6, 128.1, 128.08, 127.3, 124.7, 124.69, 120.7, 116.8, 111.9, 111.3, 70.8, 56.2, 54.9, 32.5; HRMS (ESI, m/z) : 计算值 385.1552 (M+H)⁺, 实测值 385.1592。

[0456] 吡啶并苯并二氮杂草 (IBD) 单体 8:

[0457]

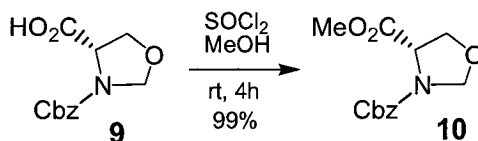


[0458] 在室温、向搅拌的原料 7 (1.41g, 3.67mmol) 在二氯甲烷 (26mL) 中的溶液加入刚混合的甲磺酸 (26mL) 在二氯甲烷 (52mL) 中的溶液。将混合物在室温搅拌 1.5 小时, 用二氯甲烷稀释 (100mL)。将混合物倒在冰 (~200g)/MeOH (10mL) 上。用饱和 NaHCO₃、固体 NaHCO₃ 和水将所得溶液的 pH 调节至 7。分离混合物, 用盐水洗涤二氯甲烷层。将合并的水层用乙酸乙酯萃取 (3×80mL)。将乙酸乙酯层合并, 用盐水洗涤。将二氯甲烷和乙酸乙酯合并, 经无水硫酸钠干燥, 过滤。除去溶剂, 通过硅胶色谱法 (CH₂Cl₂/MeOH, 20 : 1, 15 : 1) 纯化残余物 (1.26g), 得到为黄色固体的 IBD 单体 8 (1.02g, $y = 95\%$)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃) : δ 8.29 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.91 (d, $J = 4.8\text{Hz}$, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.32–7.28 (m, 2H), 7.13 (t, $J = 7.2\text{Hz}$, 1H), 6.94 (s, 1H), 6.02 (s, -OH), 4.50 (dt, $J_1 = 10.8\text{Hz}$, $J_2 = 4.4\text{Hz}$, 1H), 4.02 (s, 3H), 3.73 (dd, $J_1 = 16.8\text{Hz}$, $J_2 = 10.8\text{Hz}$, 1H), 3.52 (dd, $J_1 = 16.8\text{Hz}$, $J_2 = 3.6\text{Hz}$, 1H); HRMS (ESI, m/z) : 计算值 295.1083 (M+H)⁺, 实测值 295.1076。

[0459] 实施例 2

[0460] (s)-(-)-3-(苄氧基羰基)-4-噁唑烷羧酸甲酯 10:

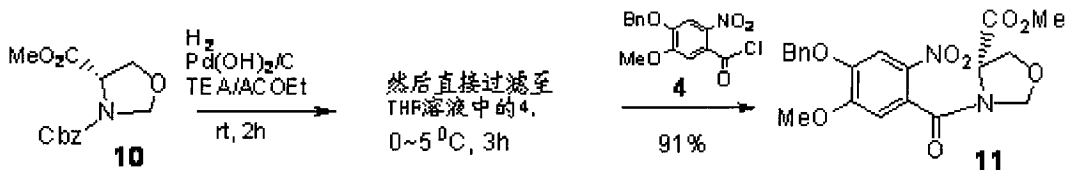
[0461]



[0462] 在 0℃、向搅拌的 (s)-(-)-3-(苄氧基羰基)-4-噁唑烷羧酸 9 (1.75g, 6.96mmol) 在无水甲醇 (15mL) 中的溶液加入亚硫酰氯 (1.02mL, 13.9mmol)。30 分钟后, 移除冰/水浴, 将反应混合物继续在室温搅拌 3.5 小时。通过加入饱和碳酸氢钠淬灭反应, 用二氯甲烷稀释 (100mL) 和水 (50mL)。分离混合物, 将水层用二氯甲烷萃取 (2×50mL)。用盐水洗涤合并的有机层, 经无水硫酸钠干燥, 过滤。在减压下除去溶剂, 通过硅胶色谱法 (己烷/AcOEt, 1.5 : 1) 纯化残余物, 得到为无色油的 (s)-(-)-3-(苄氧基羰基)-4-噁唑烷羧酸甲酯 10 (1.84g, y = 99%)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃): 该化合物表现为一对不同的旋转异构体。δ 7.35 (bs, 5H), 5.22-4.99 (m, 4H), 4.53-4.45 (m, 1H), 4.22-4.09 (m, 2H), 3.76 (s, 1.5H), 3.65 (s, 1.5H); MS (m/z): 实测值 288.0 (M+Na)⁺。

[0463] 化合物 11:

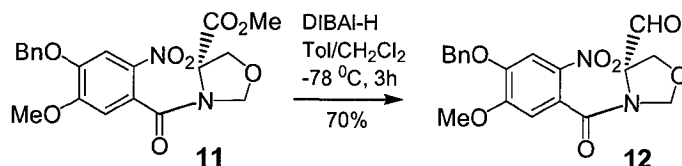
[0464]



[0465] 向搅拌的 (s)-(-)-3-(苄氧基羰基)-4-噁唑烷羧酸甲酯 10 (1.04g, 3.92mmol) 在乙酸乙酯 (16mL) 中的溶液加入三乙胺 (1.4mL, 10mmol) 和氢氧化钯碳 (20%, 267mg, 0.337mmol)。通过真空除去反应烧瓶中的空气, 然后应用氢气球, 将混合物在氢气气氛下于室温搅拌 2 小时。在 0℃、向乙酰氯 4 (按照上述的操作由 1.3g, 4.3mmol 4-苄氧基-5-甲氧基-2-硝基苯甲酸 2 制备) 在无水 THF (15mL) 中的溶液加入三乙胺 (1.1mL, 7.9mmol), 然后通过过滤硅藻土加入上述氢化反应混合物。用无水 THF (15mL) 洗涤钯催化剂/硅藻土。将所得混合物在 0℃ 搅拌 3 小时。用乙酸乙酯和饱和氯化铵将其稀释。通过加入 5% 盐酸将混合物的 pH 调节至 6~7。分离混合物, 用乙酸乙酯 (2×80mL) 萃取水层。用盐水洗涤合并的有机层, 经无水硫酸钠干燥, 过滤。在减压下除去溶剂, 通过硅胶色谱法 (己烷/AcOEt, 1 : 2, 1 : 3) 纯化残余物, 得到为浅黄色固体的化合物 11 (1.49g, y = 91%)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃): 该化合物表现为一对不同的旋转异构体。δ 7.78 (s, 0.5H), 7.75 (s, 0.5H), 7.48-7.37 (m, 5H), 6.97 (s, 0.5H), 6.91 (s, 0.5H), 5.39 (d, J = 4.8Hz, 0.5H), 5.26-5.23 (m, 2.5H), 4.95 (dd, J₁ = 7.2Hz, J₂ = 4.4Hz, 0.5H), 4.81 (d, J = 3.6Hz, 0.5H), 4.67 (d, J = 3.6Hz, 0.5H), 4.37-4.30 (m, 1H), 4.25-4.11 (m, 1.5H), 4.02 (s, 1.5H), 3.97 (s, 1.5H), 3.87 (s, 1.5H), 3.67 (s, 1.5H); HRMS (ESI, m/z): 计算值 417.1298 (M+H)⁺, 实测值 417.1305。

[0466] 醛 12:

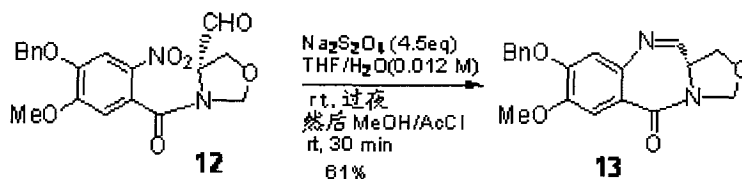
[0467]



[0468] 在 -78°C、在 30 分钟内经由注射泵向搅拌的甲酯 **11** (1.49g, 3.6mmol) 在无水二氯甲烷 (4mL) 和甲苯 (12mL) 中的溶液逐滴加入 dibal-H (6.5mL, 在甲苯中的 1.0M)。将混合物继续搅拌 2 小时。在 -78°C、用甲醇 (146μL, 3.6mmol) 和 5% HCl (30mL) 淬灭反应。加入乙酸乙酯 (100mL), 移除干冰 / 丙酮浴。将混合物在室温搅拌 30 分钟, 然后转移至分液漏斗。将水层用 AcOEt 萃取两次。将所有的有机层合并, 用盐水、饱和碳酸氢钠和盐水洗涤。将其经无水硫酸钠干燥, 滤过硅藻土。在减压下蒸发滤液, 通过硅胶色谱法 (己烷 / AcOEt, 1 : 5, 1 : 10) 纯化残余物, 得到为浅黄色固体的醛 **12** (980mg, $y = 70\%$)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃) : 该化合物表现为一对不同的旋转异构体。δ 9.83 (s, 0.67H), 9.45 (s, 0.33H), 7.77 (s, 0.67H), 7.72 (s, 0.33H), 7.45-7.37 (m, 5H), 6.90 (s, 1H), 5.31-5.19 (m, 3H), 4.77 (bs, 1H), 4.67-4.56 (m, 1H), 4.36-3.94 (m, 5H); HRMS (ESI, m/z) : 计算值 387.1192 (M+H)⁺, 实测值 387.1184。

[0469] 化合物 **13** :

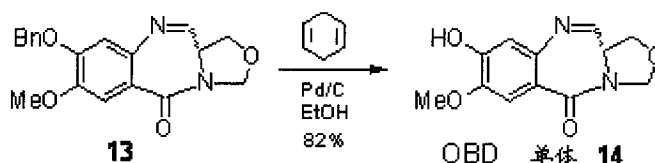
[0470]



[0471] 向搅拌的醛 **12** (154mg, 0.4mmol) 在 THF (21mL) 中的溶液加入去离子水 (14mL) 和双硫磺酸钠 (85%, 369mg, 1.8mmol)。将澄清混合物在室温搅拌 16 小时, 加入 5mL MeOH。另外搅拌 2 小时后, 在减压下除去溶剂 (浴温低于 35°C)。将残余物悬浮于乙腈中, 将其蒸发以助于除去剩余的水。通过置于高真空数小时将所得的白色固体进一步完全干燥。将残余物悬浮于二氯甲烷 / 甲醇 (2 : 1) 中, 将其滤过硅藻土。将烧瓶和固体用二氯甲烷 / 甲醇 (1 : 1) 彻底洗涤。将滤液在减压下吹脱。将残余物溶于甲醇 (5mL) 中, 快速加入刚制备的乙酰氯 (0.15mL) / MeOH (5mL) 溶液。将混合物在室温搅拌 30 分钟, 通过加入饱和碳酸氢钠淬灭反应。用二氯甲烷和水将其稀释。将两层分离, 将水层用二氯甲烷萃取。将合并的二氯甲烷层用盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥。在减压下除去溶剂, 得到 127mg 粗产物。将水层与洗涤液合并, 用 KHSO₄ 酸化至 pH2 ~ 3。在减压下将其浓缩一半 (温度 < 40°C), 用二氯甲烷萃取。将合并的二氯甲烷用饱和碳酸氢钠和盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥。过滤, 在减压下蒸发滤液。将残余物与上述 127mg 粗产物合并, 通过硅胶色谱法 (己烷 / AcOEt, 1 : 3, 1 : 5, 1 : 8) 纯化, 得到为无色泡沫的化合物 **13** (80mg, $y = 61\%$)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃) : δ 7.77 (d, J = 4.0Hz, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.46-7.28 (m, 5H), 6.88 (s, 1H), 5.28 (d, J = 5.2Hz, 1H), 5.23 (d, J = 12Hz, 1H), 5.17 (d, J = 12Hz, 1H), 5.05 (d, J = 5.2Hz, 1H), 4.49 (dd, J₁ = 9.6Hz, J₂ = 3.2Hz, 1H), 4.33 (dd, J₁ = 9.6Hz, J₂ = 6.4Hz, 1H), 3.96 (s, 3H), 3.83 (dd, J₁ = 6.4Hz, J₂ = 3.2Hz, 1H); MS (m/z) : 实测值 361.1 (M+Na)⁺, 379.1 (M+H₂O+Na)⁺, 339.1 (M+H)⁺

[0472] 噁唑烷并苯并二氮杂萘 (OBD) 单体 14:

[0473]

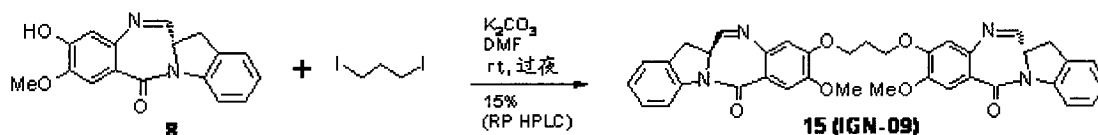


[0474] 用氩气化合物 13 (90mg, 0.27mmol) 和 Pd/C (10%, 90mg) 在无水乙醇 (1.5mL) 中的溶液鼓泡。加入 1,4-环己二烯 (496 μ l, 5.3mmol), 继续氩气鼓泡 3 小时直至原料消失 (TLC, 二氯甲烷/甲醇 10 : 1)。然后将混合物滤过硅藻土, 用甲醇洗涤硅藻土。在减压下蒸发滤液, 得到 63mg 为无色泡沫的粗产物, 将其通过硅胶色谱法 (二氯甲烷/甲醇, 20 : 1) 纯化, 得到为白色固体的 OBD 单体 14 (55mg, $y = 82\%$)。 $^1\text{H NMR}$ (400Hz, CDCl_3): 其表现为亚胺和其甲醚的混合物, C11 (R) 和 C11 (S) (2 : 3 : 1)。 δ 7.71 (bs, 1H), 7.43 (s, 0.5H), 7.41 (s, 1H), 7.18 (s, 1.5H), 6.83 (s, 1H), 6.36 (s, 1.5H), 6.13 (s, 0.5H), 5.25 (d, $J = 4.8\text{Hz}$, 0.5H), 5.22-5.20 (m, 1H), 5.14 (d, $J = 5.2\text{Hz}$, 1.5H), 5.10 (d, $J = 4.8\text{Hz}$, 0.5H), 5.05 (d, $J = 5.2\text{Hz}$, 1.5H), 5.00-4.97 (m, 1H), 4.47 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 1.5H), 4.44-4.41 (m, 1H), 4.32 (apt, $J = 8.0\text{Hz}$, 0.5H), 4.28-4.25 (m, 1H), 4.18-4.00 (m, $2 \times 1.5\text{H} + 2 \times 0.5\text{H} = 4\text{H}$), 3.84 (bs, $3 \times 1\text{H} + 0.5\text{H} = 3.5\text{H}$), 3.76 (bs, $3 \times 1.5\text{H} + 1\text{H} = 5.5\text{H}$), 3.73 (s, $3 \times 0.5\text{H} = 1.5\text{H}$), 3.56 (dt, $J_1 = 8.8\text{Hz}$, $J_2 = 2.8\text{Hz}$, 1.5H), 3.34 (s, $3 \times 1.5\text{H} = 4.5\text{H}$), 3.22 (s, $3 \times 0.5\text{H} = 1.5\text{H}$); MS (m/z): 实测值 303.1 ($\text{M} + \text{MeOH} + \text{Na}$) $^+$, 271.1 ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$ 。

[0475] 实施例 3

[0476] 二聚体 15 (IGN-09):

[0477]

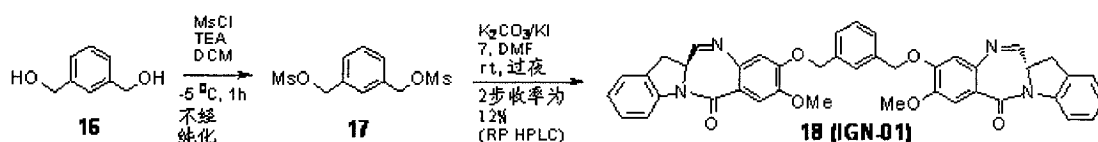


[0478] 向 IBD 单体 8 (147mg, 0.5mmol) 和 1,3-二碘丙烷 (23 μ l, 0.2mmol) 在无水 DMF (1.0mL) 中的溶液加入碳酸钾 (111mg, 0.8mmol)。将混合物在室温搅拌过夜 (16 小时) 用二氯甲烷稀释。将其用饱和氯化铵和盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤。在减压下蒸发滤液, 通过制备型反相 HPLC (C18 柱, 乙腈/水) 纯化残余物, 得到为白色固体的二聚体 15 (IGN-09) (18.9mg, $y = 15\%$)。 $^1\text{H NMR}$ (400Hz, CDCl_3): δ 8.26 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 2H), 7.87 (d, $J = 4.4\text{Hz}$, 2H), 7.55 (s, 2H), 7.26 (s, 4H), 7.12-7.08 (m, 2H), 6.88 (s, 2H), 4.45 (ddd, $J_1 = 10.8\text{Hz}$, $J_2 = 4.4\text{Hz}$, $J_3 = 4.0\text{Hz}$, 2H), 4.36-4.26 (m, 4H), 3.94 (s, 6H), 3.70 (dd, $J_1 = 16.8\text{Hz}$, $J_2 = 10.8\text{Hz}$, 2H), 3.50 (dd, $J_1 = 16.8\text{Hz}$, $J_2 = 4.0\text{Hz}$, 2H), 2.45 (p, $J = 6.0\text{Hz}$, 2H); HRMS (ESI, m/z): 计算值 629.2400 ($\text{M} + \text{H}$) $^+$, 实测值 629.2400。

[0479] 实施例 4

[0480] 二聚体 18 (IGN-01):

[0481]

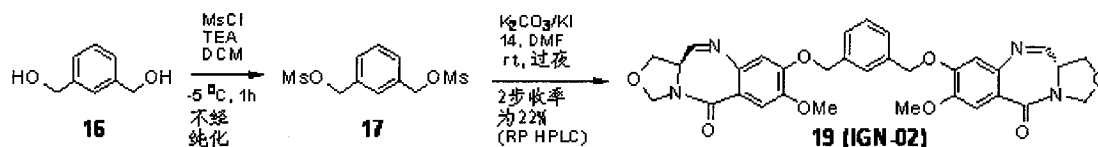


[0482] 在 $-5 \sim -10^\circ\text{C}$ 、向搅拌的 1,3- 苯二甲醇 16 (11mg, 0.08mmol) 在无水二氯甲烷 (0.8mL) 中的溶液加入三乙胺 (33 μl , 0.24mmol), 然后逐滴加入甲磺酰氯 (16 μL , 0.21mmol) 15 分钟。将溶液在 $-5 \sim -10^\circ\text{C}$ 搅拌另外 60 分钟, 用冰 / 水淬灭反应, 用冷乙酸乙酯稀释。分离混合物, 将有机层用冷水洗涤, 经无水硫酸钠干燥。过滤, 通过真空旋转蒸发将滤液蒸发 (温度 $< 35^\circ\text{C}$)。将残余物 17 置于高真空数小时, 然后溶于无水 DMF (1.5mL) 中。随后加入 IBD 单体 7 (94mg, 0.32mmol)、无水碳酸钾 (50mg, 0.36mmol) 和碘化钾 (27mg, 0.16mmol)。将混合物在室温搅拌 17 小时 (通过质谱检验), 用二氯甲烷稀释。将其用盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤。在减压下蒸发滤液, 通过反相 HPLC (C18 柱, $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, 用 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O} = 3 : 1$ 装柱, 搅拌 30 分钟, 离心, 然后注射) 纯化残余物, 得到为白色固体的二聚体 18 (IGN-01, 6.6mg)。 $^1\text{H NMR}$ (400Hz, CDCl_3) : δ 8.21 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 2H), 7.79 (d, $J = 4.4\text{Hz}$, 2H), 7.51 (s, 2H), 7.46 (s, 1H), 7.36 (bs, 3H), 7.23-7.18 (m, 4H), 7.06-7.03 (m, 2H), 6.79 (s, 2H), 5.20 (d, $J = 12.4\text{Hz}$, 2H), 5.14 (d, $J = 12.4\text{Hz}$, 2H), 4.41 (ddd, $J_1 = 10.8\text{Hz}$, $J_2 = 4.4\text{Hz}$, $J_3 = 4.0\text{Hz}$, 2H), 3.92 (s, 6H), 3.64 (dd, $J_1 = 17.2\text{Hz}$, $J_2 = 11.2\text{Hz}$, 2H), 3.42 (dd, $J_1 = 16.8\text{Hz}$, $J_2 = 4.0\text{Hz}$, 2H); HRMS (ESI, m/z): 计算值 691.2557 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 实测值 691.2570。

[0483] 实施例 5

[0484] 二聚体 19 (IGN-02):

[0485]

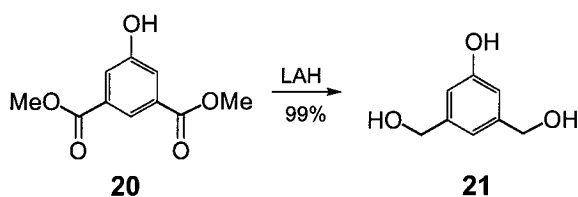


[0486] 在 $-5 \sim -10^\circ\text{C}$ 、向搅拌的 1,3- 苯二甲醇 16 (10mg, 0.074mmol) 在无水二氯甲烷 (0.8mL) 中的溶液加入三乙胺 (31 μl , 0.22mmol), 然后在 15 分钟内逐滴加入甲磺酰氯 (15 μL , 0.19mmol)。将溶液在 $-5 \sim -10^\circ\text{C}$ 搅拌另外 60 分钟, 用冰 / 水淬灭反应, 用冷乙酸乙酯稀释。分离混合物, 将有机层用冷水洗涤, 经无水硫酸钠干燥。过滤, 通过真空旋转蒸发将滤液蒸发 (温度 $< 35^\circ\text{C}$)。将残余物 17 置于高真空, 之后溶于无水 DMF (1.5mL) 中。随后加入 OBD 单体 14 (70mg, 0.28mmol)、无水碳酸钾 (51mg, 0.37mmol) 和碘化钾 (25mg, 0.15mmol)。将混合物在室温搅拌 17 小时 (通过质谱检验), 用二氯甲烷稀释。将其用盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤。在减压下蒸发滤液, 通过反相 HPLC (C18 柱, $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, 用 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O} = 3 : 1$ 装柱, 搅拌 30 分钟, 离心, 然后注射) 纯化残余物, 得到为白色固体的二聚体 19 (IGN-02, 10.0mg)。 $^1\text{H NMR}$ (400Hz, CDCl_3) : δ 7.75 (d, $J = 4.0\text{Hz}$, 2H), 7.50-7.48 (bs, 3H), 7.38 (bs, 3H), 6.83 (s, 2H), 5.26 (d, $J = 5.2\text{Hz}$, 2H), 5.21 (d, $J = 14.4\text{Hz}$, 2H), 5.15 (d, $J = 14.0\text{Hz}$, 2H), 5.03 (d, $J = 5.6\text{Hz}$, 2H), 4.34-4.30 (m, 2H), 3.94 (s, 6H), 3.86-3.76 (m, 2H); HRMS (ESI, m/z): 计算值 599.2142 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 实测值 599.2184。

[0487] 实施例 6

[0488] 三醇 21:

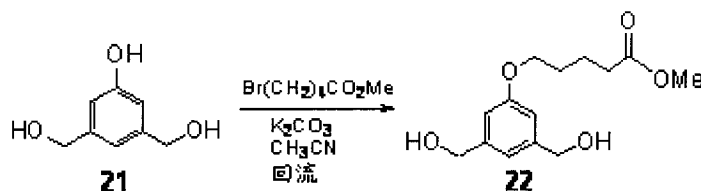
[0489]



[0490] 在 $-20 \sim -30^{\circ}\text{C}$ 、在 30 分钟内经由注射泵向搅拌的二甲基 5-羟基间苯二甲酸 20 (2.1g, 10mmol) 在无水 THF (50mL) 中的溶液加入氢化铝锂 (在 THF 中的 2.0M, 10mL, 20mmol)。30 分钟后移除冷却浴, 将混合物在室温继续搅拌 4 小时。将其冷却至 $0 \sim -10^{\circ}\text{C}$, 用饱和硫酸钠淬灭反应。将混合物用乙腈稀释, 加入 5% 盐酸 (20mL)。将其搅拌 30 分钟, 经无水硫酸钠干燥。将混合物滤过硅藻土, 在减压下蒸发滤液。纯化残余物通过硅胶色谱法 (二氯甲烷 / 甲醇, 10 : 1, 8 : 1, 5 : 1), 得到为无色油的三醇 21 (1.5g, $y = 99\%$), 其在储藏后变为白色固体。 $^1\text{H NMR}$ (400Hz, MeOD) : δ 6.78, (s, 1H), 6.69 (s, 2H), 4.50 (s, 4H)。 $^{13}\text{C NMR}$ (400Hz, MeOD) : δ 158.7, 144.4, 117.8, 113.8, 65.2; MS (m/z) : 实测值 153.0 (M-H) $^-$ 。

[0491] 化合物 22:

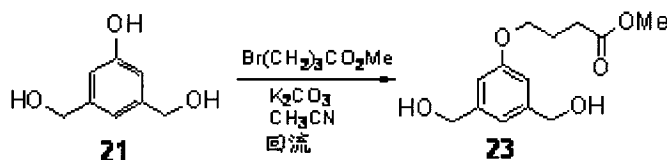
[0492]



[0493] 向三醇 21 (827mg, 5.37mmol) 和 5-溴戊酸甲酯 (998mg, 5.12mmol) 在乙腈 (40mL) 中的溶液加入碳酸钾 (3.71g, 26.9mmol)。将混合物放入 86°C 油浴中, 回流 6 小时。将反应混合物从油浴移除, 冷却至室温, 将溶剂在减压下蒸发 (温度 $< 35^{\circ}\text{C}$)。将残余物用二氯甲烷稀释, 过滤。将滤液用盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤。将滤液在减压下吹脱, 通过硅胶色谱法 (己烷 / 乙酸乙酯, 1 : 2, 1 : 3) 纯化残余物, 得到为白色固体的化合物 22 (1.15g, $y = 84\%$)。 $^1\text{H NMR}$ (400Hz, CDCl_3) : δ 6.89 (s, 1H), 6.80 (s, 2H), 4.62 (s, 4H), 3.98-3.95 (m, 2H), 3.67 (s, 3H), 2.41-2.37 (m, 2H), 2.23 (bs, -OHx2), 1.84-1.78 (m, 4H); MS (m/z) : 实测值 291.1 (M+Na) $^+$ 。

[0494] 化合物 23:

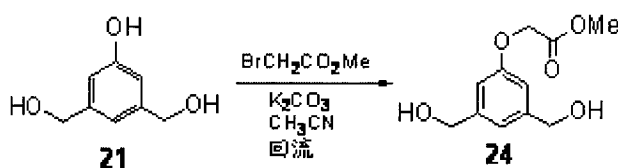
[0495]



[0496] 按照制备化合物 22 的操作, 由三醇 21 (1.16g, 7.53mmol)、4-溴丁酸甲酯 (1.52g, 8.39mmol) 和碳酸钾 (5.2g, 37.6mmol) 合成为白色固体的化合物 23 (1.43g, $y = 75\%$)。 $^1\text{H NMR}$ (400Hz, CDCl_3) : δ 6.90 (s, 1H), 6.80 (s, 2H), 4.62 (s, 4H), 4.00 (t, $J = 6.0\text{Hz}$, 2H), 3.68 (s, 3H), 2.51 (t, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 2.19 (s, -OHx2), 2.13-2.06 (m, 2H); MS (m/z) : 实测值 277.1 (M+Na) $^+$ 。

[0497] 化合物 24:

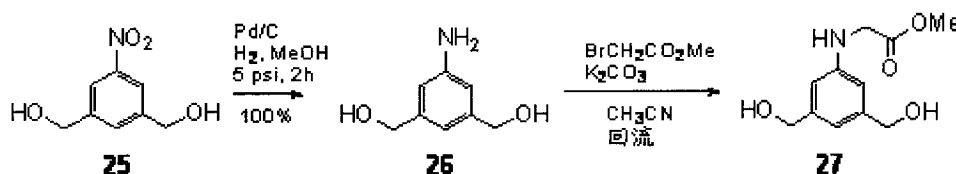
[0498]



[0499] 按照制备化合物 22 的操作,由三醇 21(953mg,6.19mmol)、溴乙酸甲酯(587 μ l,6.19mmol)和碳酸钾(4.3g,31mmol)合成为白色粘性固体的化合物 24(515mg, $y = 37\%$)。 ^1H NMR(400Hz, CDCl_3): δ 6.95(s, 1H), 6.81(s, 2H), 4.64(s, -OHx2), 4.61(s, 4H), 3.81(s, 3H), 2.41(s, 2H); ^{13}C NMR(400Hz, CDCl_3): δ 169.4, 158.1, 143.0, 118.5, 112.1, 65.2, 64.8, 52.3; MS(m/z): 实测值 249.0(M+Na) $^+$ 。

[0500] 化合物 27:

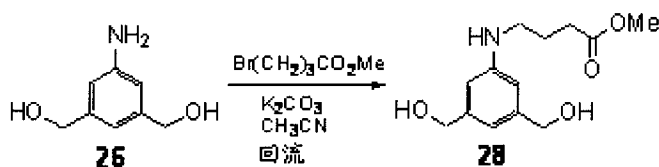
[0501]



[0502] 向 5-硝基间二甲苯- α, α' -二醇 25(1.07g, 5.84mmol) 在甲醇(50mL)中的溶液加入 Pd/C(10%, 311mg, 0.29mmol)。引入氢气代替空气,然后在室温将混合物氢化(H_2 , 5psi)2 小时。将溶液滤过硅藻土,通过真空旋转蒸发将滤液蒸发,得到为白色固体的化合物 26(900mg, $y = 100\%$)。 ^1H NMR(400Hz, MeOD): δ 6.71(s, 1H), 6.66(s, 2H), 4.51(s, 4H); ^{13}C NMR(400Hz, MeOD): δ 148.9, 143.8, 116.7, 114.3, 65.5; 将其溶于无水乙腈(30mL)中,加入溴乙酸乙酯(443 μ l, 4.67mmol)和碳酸钾(807mg, 5.84mmol)。将混合物放入 86 $^\circ\text{C}$ 油浴中,回流 17 小时。将反应混合物从油浴移除,冷却至室温,用二氯甲烷稀释。将其滤过硅藻土,用二氯甲烷洗涤固体。在滤液中出现白色沉淀。通过滤过收集沉淀,得到为白色固体的化合物 27(414mg, $y = 39\%$)。 ^1H NMR(400Hz, MeOD): δ 6.67(s, 1H), 6.53(s, 2H), 4.51(s, 4H), 3.94(s, 2H), 3.73(s, 3H); ^{13}C NMR(400Hz, MeOD): δ 174.0, 149.7, 143.9, 116.2, 111.6, 65.6, 52.6, 46.5; MS(m/z): 实测值 248.0(M+Na) $^+$ 。

[0503] 化合物 28:

[0504]

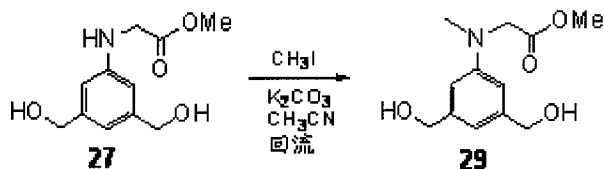


[0505] 向 5-硝基间二甲苯- α, α' -二醇 25(564mg, 3.08mmol) 在甲醇(35mL)中的溶液加入 Pd/C(10%, 164mg, 0.154mmol)。引入氢气代替空气,然后在室温将混合物氢化(H_2 , 5psi)2 小时。将溶液滤过硅藻土,通过真空旋转蒸发将滤液蒸发,得到化合物 26,将其溶解于无水乙腈(15mL)中,加入 4-溴丁酸甲酯(557mg, 3.08mmol)和碳酸钾(426mg, 3.08mmol)。将混合物放入 86 $^\circ\text{C}$ 油浴中,回流 18 小时。将反应混合物从油浴移除,冷却至室温,用二氯甲烷稀释。将其滤过硅藻土,将固体用二氯甲烷/乙腈(1:1)洗涤。在减压下

蒸发滤液,通过硅胶色谱法(Combiflash,二氯甲烷/甲醇)纯化残余物,得到为白色固体的化合物 28(292mg, $y = 37\%$)。 $^1\text{H NMR}$ (400Hz, MeOD) : δ 6.62(s, 1H), 6.55(s, 2H), 4.50(s, 4H), 3.65(s, 3H), 3.13(d, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 2.43(d, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 1.89(p, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H) ; $^{13}\text{C NMR}$ (400Hz, MeOD) : δ 175.9, 150.5, 143.7, 115.5, 111.7, 65.7, 52.2, 44.3, 32.5, 25.8 ; MS(m/z) : 实测值 276.0(M+Na) $^+$ 。

[0506] 化合物 29:

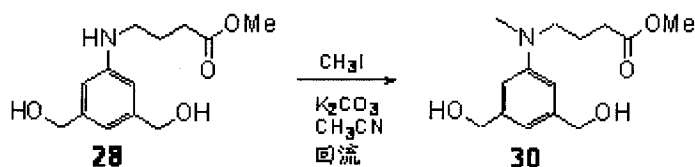
[0507]



[0508] 向化合物 27(230mg, 1.02mmol) 在无水乙腈(7mL) 中的溶液加入碘代甲烷(70 μl , 1.12mmol) 和碳酸钾(155mg, 1.12mmol)。将混合物放入 86 $^{\circ}\text{C}$ 油浴中,回流 17 小时。将反应混合物从油浴移除,冷却至室温,用二氯甲烷稀释。将其滤过硅藻土,将固体用二氯甲烷/甲醇(10 : 1) 洗涤。在减压下蒸发滤液,通过硅胶色谱法(Combiflash,二氯甲烷/甲醇) 纯化残余物,得到为白色固体的化合物 29(98mg, $y = 40\%$)。 $^1\text{H NMR}$ (400Hz, MeOD) : δ 6.70(s, 1H), 6.63(s, 2H), 4.84(s, 2x-OH), 4.54(s, 4H), 4.16(s, 2H), 3.69(s, 3H), 3.05(s, 3H) ; $^{13}\text{C NMR}$ (400Hz, MeOD) : δ 173.6, 150.9, 143.8, 115.6, 111.0, 65.7, 54.9, 52.4, 39.8 ; MS(m/z) : 实测值 262.0(M+Na) $^+$ 。

[0509] 化合物 30:

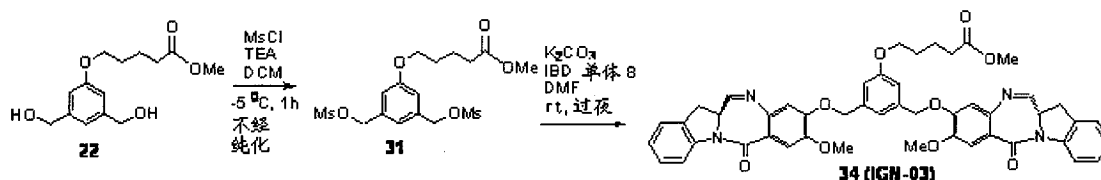
[0510]



[0511] 向化合物 28(151mg, 0.597mmol) 在无水乙腈(4mL) 中的溶液加入碘代甲烷(74 μl , 1.19mmol) 和碳酸钾(99mg, 0.716mmol)。将混合物放入 86 $^{\circ}\text{C}$ 油浴中,回流 17 小时。将反应混合物从油浴移除,冷却至室温,用二氯甲烷稀释。将其滤过硅藻土,将固体用二氯甲烷/甲醇(10 : 1) 洗涤。在减压下蒸发滤液,通过硅胶色谱法(Combiflash,二氯甲烷/甲醇) 纯化残余物,得到为无色油的化合物 30(63mg, $y = 39\%$)。 $^1\text{H NMR}$ (400Hz, MeOD) : δ 6.67(s, 2H), 6.65(s, 1H), 4.54(s, 4H), 3.65(s, 3H), 3.36(t, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 2.92(s, 3H), 2.36(t, $J = 7.2\text{Hz}$, 1H), 1.87(p, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H) ; $^{13}\text{C NMR}$ (400Hz, MeOD) : δ 175.7, 151.3, 143.7, 115.0, 111.4, 65.9, 53.0, 52.2, 38.9, 32.2, 23.3 ; MS(m/z) : 实测值 290.0(M+Na) $^+$ 。

[0512] 化合物 34(IGN-03):

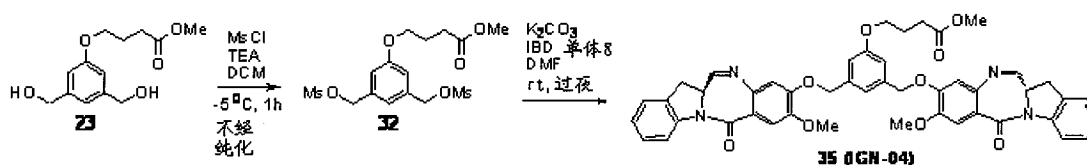
[0513]



[0514] 在 $-5 \sim -10^\circ\text{C}$ 、向搅拌的化合物 22 (80.4mg, 0.3mmol) 在无水二氯甲烷 (2mL) 中的溶液加入三乙胺 (125 μL , 0.9mmol), 然后在 15 分钟内逐滴加入甲磺酰氯 (60 μL , 0.78mmol)。将溶液在 $-5 \sim -10^\circ\text{C}$ 搅拌另外 60 分钟, 用冰/水淬灭反应, 用冷乙酸乙酯稀释。分离混合物, 将有机层用冷水洗涤, 经无水硫酸钠干燥。过滤, 通过真空旋转蒸发将滤液蒸发 (温度 $< 35^\circ\text{C}$)。将残余物 31 置于高真空, 然后溶于无水 DMF (3mL) 中。加入 IBD 单体 7 (221mg, 0.75mmol) 和无水碳酸钾 (207mg, 1.5mmol)。将混合物在室温搅拌 20 小时 (通过质谱检验), 用二氯甲烷稀释。将其用水和盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤。在减压下蒸发滤液, 通过硅胶色谱法 (己烷/乙酸乙酯, 1 : 3, 1 : 4, 1 : 6, 1 : 10, 然后乙酸乙酯/甲醇, 10 : 1) 纯化残余物, 得到为黄色固体的化合物 34 (169mg, $y = 68\%$, 86% 纯度, 根据分析型反相 HPLC 测得)。还收集含有杂质和化合物 34 的级分, 蒸发溶剂, 得到 70mg 浅黄色固体。将两种黄色固体合并, 通过反相 HPLC (C18 柱, $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, 用 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O} = 3 : 1$ 装柱, 搅拌 30 分钟, 离心, 然后注射) 进一步纯化, 得到为白色固体的二聚体 34 (IGN-03, 103mg, $y = 41\%$)。 $^1\text{H NMR}$ (400Hz, CDCl_3): δ 8.27 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 2H), 7.85 (d, $J = 3.2\text{Hz}$, 2H), 7.58 (s, 2H), 7.29–7.24 (m, 4H), 7.12–7.07 (m, 3H), 6.94 (s, 2H), 6.83 (s, 2H), 5.22 (d, $J = 12.8\text{Hz}$, 2H), 5.16 (d, $J = 12.8\text{Hz}$, 2H), 4.47 (dt, $J_1 = 11.2\text{Hz}$, $J_2 = 4.4\text{Hz}$, 2H), 3.98 (bs, 8H), 3.73–3.64 (m, 2H), 3.68 (s, 3H), 3.48 (dd, $J_1 = 16.8\text{Hz}$, $J_2 = 3.6\text{Hz}$, 2H), 2.42–2.38 (m, 2H), 1.83–1.80 (m, 4H); HRMS (ESI, m/z): 计算值 821.3187 ($\text{M}+\text{H}^+$), 实测值 821.3188。

[0515] 化合物 35 (IGN-04):

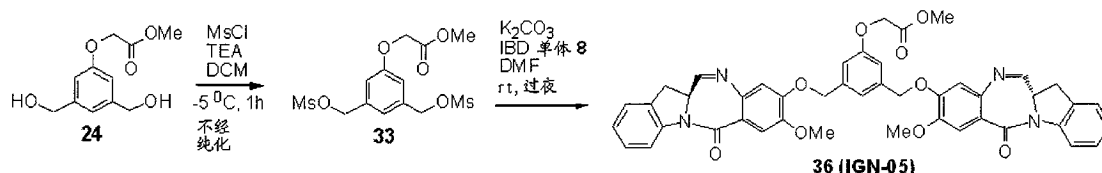
[0516]



[0517] 按照制备化合物 34 的操作, 合成化合物 35 (IGN-04) (151mg, $y = 62\%$, 88% 纯度, 根据分析型反相 HPLC 测得) 为黄色固体。将其的一部分通过反相 HPLC 进一步纯化, 以用于 $^1\text{H NMR}$ 分析。 $^1\text{H NMR}$ (400Hz, CDCl_3): δ 8.17 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 2H), 7.74 (d, $J = 5.2\text{Hz}$, 2H), 7.48 (s, 2H), 7.20–7.15 (m, 4H), 7.03–6.99 (m, 3H), 6.85 (s, 2H), 6.75 (s, 2H), 5.12 (d, $J = 12.8\text{Hz}$, 2H), 5.06 (d, $J = 12.8\text{Hz}$, 2H), 4.37 (dt, $J_1 = 11.2\text{Hz}$, $J_2 = 4.4\text{Hz}$, 2H), 3.93 (t, $J = 6.0\text{Hz}$, 2H), 3.86 (s, 6H), 3.64–3.57 (m, 2H), 3.60 (s, 3H), 3.39 (dd, $J_1 = 16.8\text{Hz}$, $J_2 = 3.6\text{Hz}$, 2H), 2.44 (t, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 2.02 (p, $J = 6.4\text{Hz}$, 2H); HRMS (ESI, m/z): 计算值 807.3030 ($\text{M}+\text{H}^+$), 实测值 807.3008。

[0518] 化合物 36 (IGN-05):

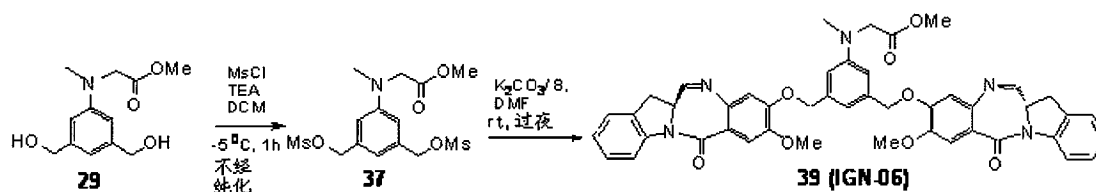
[0519]



[0520] 按照制备化合物 34 的操作, 制备型反相 HPLC 之后合成为白色固体的化合物 36 (IGN-05) (84.5mg, $y = 18\%$)。 $^1\text{H NMR}$ (400Hz, CDCl_3) : δ 8.24 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 2H), 7.79 (d, $J = 4.4\text{Hz}$, 2H), 7.55 (s, 2H), 7.26–7.22 (m, 4H), 7.12–7.07 (m, 3H), 6.96 (s, 2H), 6.81 (s, 2H), 5.18 (d, $J = 12.8\text{Hz}$, 2H), 5.12 (d, $J = 12.8\text{Hz}$, 2H), 4.64 (s, 2H), 4.44 (dt, $J_1 = 10.8\text{Hz}$, $J_2 = 4.4\text{Hz}$, 2H), 3.95 (s, 6H), 3.77 (s, 3H), 3.73–3.62 (m, 2H), 3.44 (dd, $J_1 = 16.8\text{Hz}$, $J_2 = 3.6\text{Hz}$, 2H); HRMS (ESI, m/z): 计算值 779.2717 ($\text{M}+\text{H}^+$), 实测值 779.2703。

[0521] 化合物 39 (IGN-06):

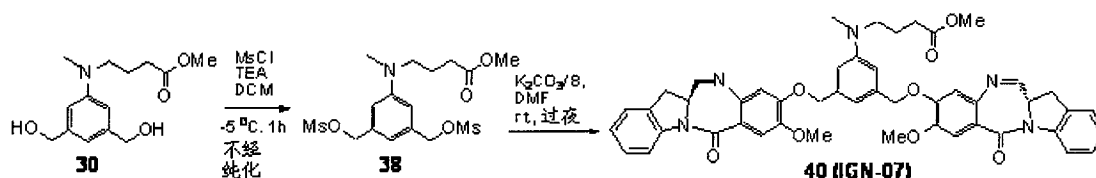
[0522]



[0523] 按照制备化合物 34 的操作, 制备型反相 HPLC 之后合成为白色固体的化合物 39 (IGN-06), 收率为 6%。 $^1\text{H NMR}$ (400Hz, CDCl_3) : δ 8.28 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 2H), 7.86 (d, $J = 4.0\text{Hz}$, 2H), 7.58 (s, 2H), 7.31–7.26 (m, 4H), 7.12 (t, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 6.90–6.86 (m, 3H), 6.72 (s, 2H), 5.22 (d, $J = 12.4\text{Hz}$, 2H), 5.13 (d, $J = 12.4\text{Hz}$, 2H), 4.51–4.46 (m, 2H), 3.99 (s, 6H), 3.74–3.68 (m, 2H), 3.71 (s, 3H), 3.49 (dd, $J_1 = 16.8\text{Hz}$, $J_2 = 3.6\text{Hz}$, 2H), 3.09 (s, 3H); HRMS (ESI, m/z): 计算值 792.3033 ($\text{M}+\text{H}^+$), 实测值 792.3013。

[0524] 化合物 40 (IGN-07):

[0525]

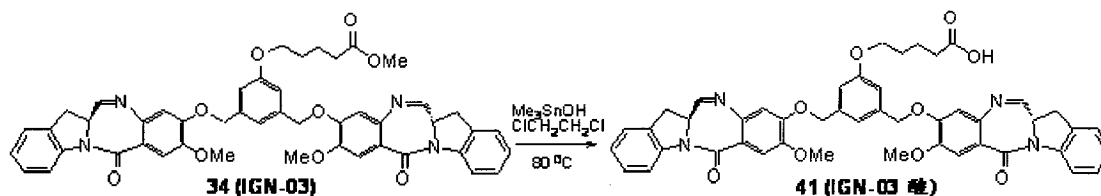


[0526] 按照制备化合物 34 的操作, 制备型反相 HPLC 之后合成为白色固体的化合物 40 (IGN-07), 收率为 21%。 $^1\text{H NMR}$ (400Hz, CDCl_3) : δ 8.27 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 2H), 7.84 (d, $J = 4.4\text{Hz}$, 2H), 7.58 (s, 2H), 7.30–7.23 (m, 4H), 7.21–7.02 (m, 3H), 6.88 (s, 2H), 6.74 (s, 2H), 5.23–5.13 (m, 4H), 4.50–4.42 (m, 2H), 3.99 (s, 6H), 3.74–3.70 (m, 2H), 3.67 (s, 3H), 3.51–3.33 (m, 4H), 2.92 (s, 3H), 2.36–2.30 (m, 2H), 1.93–1.84 (m, 2H); HRMS (ESI, m/z): 计算值 820.3346 ($\text{M}+\text{H}^+$), 实测值 820.3329。

[0527] 实施例 7

[0528] 化合物 41:

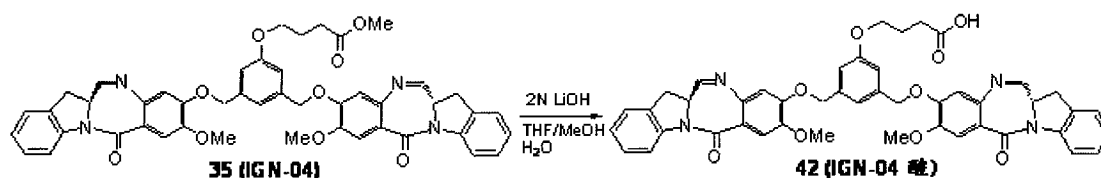
[0529]



[0530] 向化合物 34 (42mg, 0.051mmol) 在无水 1,2-二氯乙烷 (1mL) 中的溶液加入三甲基氢氧化锡 (139mg, 0.77mmol)。将混合物在 78 ~ 82°C (80°C 油浴) 加热, 搅拌过夜。TLC ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 10 : 1) 显示原料消失。将反应混合物冷却至室温, 用二氯甲烷稀释。滴入盐水中的 5% 盐酸、饱和氯化铵和盐水进行洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 蒸发。通过硅胶色谱法 (combiflash, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 从 1 : 0 至 5 : 1) 纯化残余物, 得到为黄色固体 IGN-03 酸 41 (33.8mg, $y = 82\%$)。残余物也可以不经纯化就用于下一步。MS (m/z): 实测值 805.1 ($\text{M}-\text{H}^-$), 823.0 ($\text{M}+\text{H}_2\text{O}-\text{H}^-$), 829.2 ($\text{M}+\text{Na}^+$), 847.2 ($\text{M}+\text{H}_2\text{O}+\text{Na}^+$)。

[0531] 化合物 42:

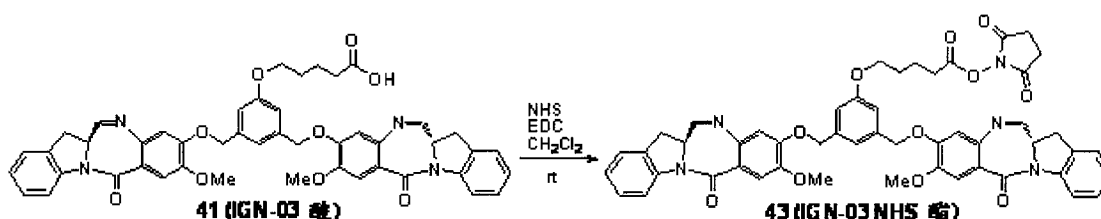
[0532]



[0533] 在 0°C、向搅拌的化合物 35 (32mg, 0.040mmol) 在 THF (0.4mL)、甲醇 (0.1mL) 和去离子水 (0.1mL) 的混合物中的溶液加入刚制备的 2N LiOH (24 μl , 0.048mmol)。移除冷却浴, 将混合物在室温搅拌 8 小时。将反应混合物用乙酸乙酯和水稀释。用 5% 盐酸将混合物的 pH 调节至 4 ~ 5。将其用盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤。在减压下蒸发滤液, 通过制备型反相 HPLC (C18 柱, 乙腈/ H_2O) 纯化残余物, 得到为白色固体的 IGN-04 酸 42 (4.2mg, $y = 13\%$)。MS (m/z): 实测值 791.0 ($\text{M}-\text{H}^-$), 809.0 ($\text{M}+\text{H}_2\text{O}-\text{H}^-$), 815.2 ($\text{M}+\text{Na}^+$), 833.1 ($\text{M}+\text{H}_2\text{O}+\text{Na}^+$)。

[0534] 化合物 43:

[0535]

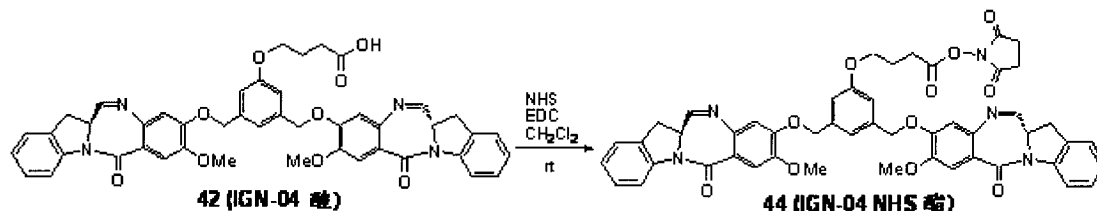


[0536] 向搅拌的 IGN-03 酸 41 (8.9mg, 0.011mmol) 在无水二氯甲烷 (0.2mL) 中的溶液加入 N-羟基琥珀酰亚胺 (2.6mg, 0.022mmol)、N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐 (4.2mg, 0.022mmol) 和少量二甲基氨基吡啶。将混合物在室温搅拌过夜, 用二氯甲烷稀释。用饱和氯化铵和盐水进行洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤。在减压下蒸发滤液。通过硅胶色谱法 (Combiflash, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 从 1 : 0 至 10 : 1) 纯化残余物, 得到为黄色固体的 IGN-03NHS 酯 43 (7.9mg, $y = 79\%$)。反相制备型 HPLC (C18 柱, $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, 用二氯甲烷萃取产物级分) 纯化得到 3.2mg 白色固体, 以用于 ^1H NMR 分析。 ^1H NMR (400Hz, CDCl_3): δ 8.28 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 2H), 7.87 (d, $J = 4.0\text{Hz}$, 2H), 7.59 (s, 2H), 7.31-7.27 (m, 4H), 7.15-7.10 (m, 3H), 6.97 (s, 2H), 6.86 (s, 2H), 5.25 (d, $J = 12.4\text{Hz}$, 2H), 5.18 (d, $J = 12.4\text{Hz}$, 2H), 4.49 (dt, J_1

= 10.8Hz, $J_2 = 4.0\text{Hz}$, 2H), 4.04(t, $J = 5.6\text{Hz}$, 2H), 4.01(s, 6H), 3.72(dd, $J_1 = 16.8\text{Hz}$, $J_2 = 10.8\text{Hz}$, 2H), 3.51(dd, $J_1 = 16.8\text{Hz}$, $J_2 = 4.0\text{Hz}$, 2H), 2.85(bs, 4H), 2.72(t, $J = 6.8\text{Hz}$, 2H), 1.99-1.91(m, 4H); HRMS (ESI, m/z): 计算值 904.3194 (M+H)⁺, 实测值 904.3182。

[0537] 化合物 44:

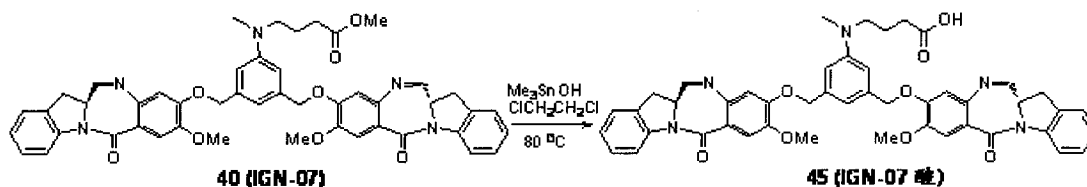
[0538]



[0539] 按照制备化合物 43 的操作, 合成为黄色固体的化合物 44, 收率为 86%。MS (m/z): 实测值 944.2 (M+MeOH+Na)⁺, 976.2 (M+2MeOH+Na)⁺。

[0540] 化合物 45 (IGN-07 酸):

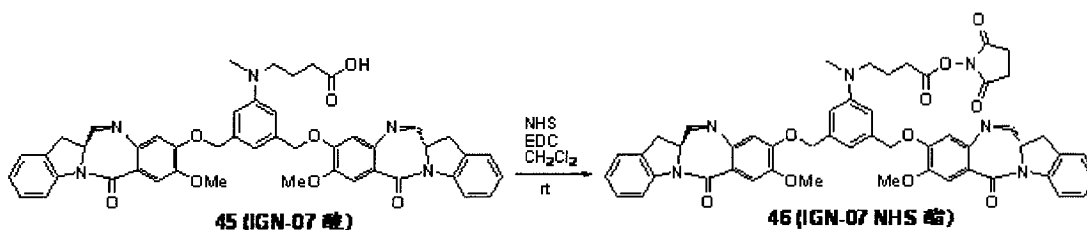
[0541]



[0542] 向化合物 40 (14mg, 0.017mmol) 在无水 1,2-二氯乙烷 (0.5mL) 中的溶液加入三甲基氢氧化锡 (62mg, 0.34mmol)。将混合物在 78 ~ 82°C (80°C 油浴) 加热, 搅拌过夜。TLC (CH₂Cl₂/MeOH, 10 : 1) 显示原料消失。将反应混合物冷却至室温, 用二氯甲烷稀释。用饱和氯化铵和盐水进行洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 蒸发, 得到为浅黄色固体的 IGN-07 酸 45 (29.2mg, 掺杂有三甲基氢氧化锡)。MS (m/z): 实测值 804.1 (M-H)⁻, 822.1 (M+H₂O-H)⁻, 828.2 (M+Na)⁺, 846.2 (M+H₂O+Na)⁺。其不经纯化就用于下一步。

[0543] 化合物 46:

[0544]



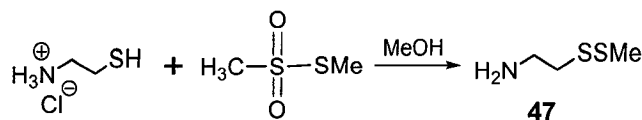
[0545] 向搅拌的得自上述反应的 IGN-07 酸 45 (0.017mmol) 在无水二氯甲烷 (0.5mL) 中的溶液加入 N-羟基琥珀酰亚胺 (6.1mg, 0.051mmol)、N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐 (9.8mg, 0.051mmol) 和少量二甲基氨基吡啶。将混合物在室温搅拌过夜, 用二氯甲烷稀释。用饱和氯化铵和盐水进行洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤。在减压下蒸发滤液。通过硅胶色谱法 (Combiflash, CH₂Cl₂/MeOH, 从 1 : 0 至 10 : 1) 纯化残余物, 得到为黄色固体的 IGN-07NHS 酯 46 (9.1mg, 由 IGN-07 的两步收率为 59%)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃): δ 8.25(d, $J = 7.6\text{Hz}$, 2H), 7.82(d, $J = 4.4\text{Hz}$, 2H), 7.55(s, 2H), 7.26-7.18(m, 5H), 7.09(t, $J = 7.6\text{Hz}$, 2H), 6.84(s, 2H), 6.74(s, 2H), 5.21(d, $J = 12.4\text{Hz}$, 2H), 5.15(d,

$J = 12.4\text{Hz}, 2\text{H}$), $4.46\text{--}4.42(\text{m}, 2\text{H})$, $3.98(\text{s}, 6\text{H})$, $3.72\text{--}3.64(\text{m}, 2\text{H})$, $3.44\text{--}3.37(\text{m}, 4\text{H})$, $2.95(\text{s}, 3\text{H})$, $2.74(\text{bs}, 4\text{H})$, $2.57(\text{t}, J = 7.2\text{Hz}, 2\text{H})$, $1.95(\text{t}, J = 7.2\text{Hz}, 2\text{H})$; HRMS (ESI, m/z): 计算值 $903.3354(\text{M}+\text{H})^+$, 实测值 903.3347 。

[0546] 实施例 8

[0547] 化合物 47:

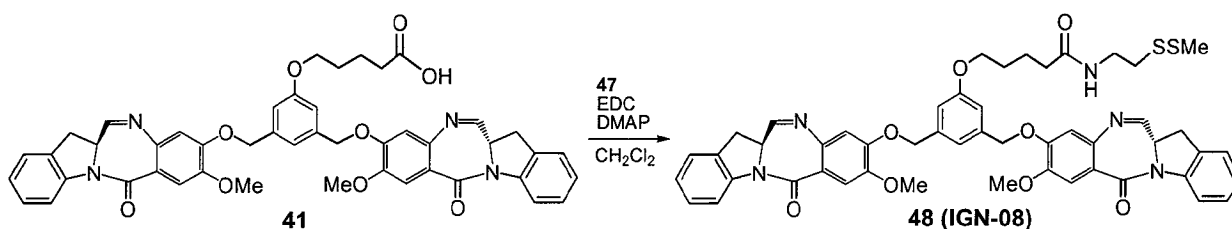
[0548]



[0549] 在 0°C 、向搅拌的半胱胺盐酸盐 ($568\text{mg}, 5\text{mmol}$) 在无水甲醇 (15mL) 中的溶液加入甲基硫代磺酸 S-甲酯 ($519\ \mu\text{l}, 5.5\text{mmol}$)。将混合物在室温搅拌过夜。加入三乙胺 ($1.4\text{mL}, 10\text{mmol}$), 在减压下除去溶剂。将残余物溶于 50mL 无水二氯甲烷, 得到化合物 47 在二氯甲烷 (假定 100% 收率) 中的 0.1M 溶液。溶液的等分试样 (0.2mL) 用于下一步反应。将溶液的剩余部分用二氯甲烷稀释, 用饱和碳酸氢钠和盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤。在减压下蒸发滤液, 通过硅胶色谱法 (含有 1% 三乙胺的 $10:1$ 二氯甲烷/甲醇) 纯化残余物, 得到为无色油的化合物 47 ($82\text{mg}, y = 13\%$, 由于其良好的水溶性, 产物在含水处理中损失)。 ^1H NMR ($400\text{Hz}, \text{CDCl}_3$): δ $3.02(\text{t}, J = 6.4\text{Hz}, 2\text{H})$, $2.77(\text{t}, J = 6.4\text{Hz}, 2\text{H})$, $2.41(\text{s}, 3\text{H})$, $1.34(\text{bs}, 2\text{H})$ 。

[0550] 化合物 48 (IGN-08):

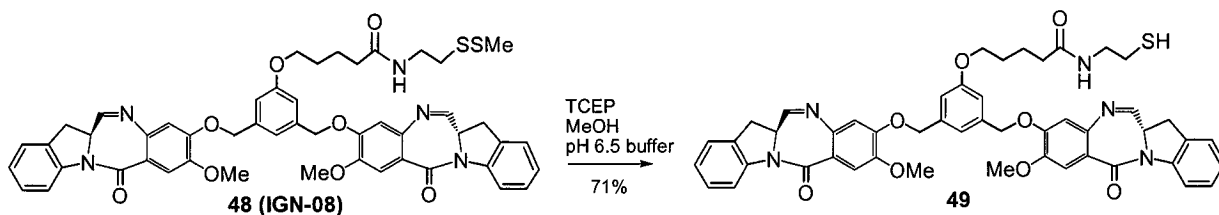
[0551]



[0552] 向含有 IGN-03 酸 41 ($8.1\text{mg}, 0.01\text{mmol}$) 的烧瓶加入上述化合物 47 在无水二氯甲烷 (0.2mL) 中的 0.1M 溶液。加入 N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐 ($3.8\text{mg}, 0.02\text{mmol}$)、三乙胺 ($1.4\ \mu\text{l}, 0.01\text{mmol}$) 和少量二甲基氨基吡啶。将混合物在室温搅拌过夜, 用二氯甲烷稀释。用饱和氯化铵和盐水进行洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤。在减压下蒸发滤液, 通过制备型反相 HPLC (C18 柱, 乙腈/ H_2O) 纯化残余物, 得到为白色固体的化合物 48 ($4.0\text{mg}, y = 44\%$)。 ^1H NMR ($400\text{Hz}, \text{CDCl}_3$): δ $8.25(\text{d}, J = 8.0\text{Hz}, 2\text{H})$, $7.84(\text{d}, J = 4.4\text{Hz}, 2\text{H})$, $7.57(\text{s}, 2\text{H})$, $7.29\text{--}7.24(\text{m}, 4\text{H})$, $7.10(\text{t}, J = 7.6\text{Hz}, 2\text{H})$, $7.06(\text{s}, 1\text{H})$, $6.92(\text{s}, 2\text{H})$, $6.82(\text{s}, 2\text{H})$, $5.22(\text{d}, J = 12.8\text{Hz}, 2\text{H})$, $5.17(\text{d}, J = 12.4\text{Hz}, 2\text{H})$, $4.46(\text{dt}, J_1 = 11.2\text{Hz}, J_2 = 4.4\text{Hz}, 2\text{H})$, $3.98(\text{bs}, 8\text{H})$, $3.69(\text{dd}, J_1 = 16.8\text{Hz}, J_2 = 10.8\text{Hz}, 2\text{H})$, $3.62(\text{d}, J = 6.4\text{Hz}, 1\text{H})$, $3.58(\text{d}, J = 6.0\text{Hz}, 1\text{H})$, $3.48(\text{dd}, J_1 = 17.2\text{Hz}, J_2 = 3.6\text{Hz}, 2\text{H})$, $2.82(\text{t}, J = 6.4\text{Hz}, 2\text{H})$, $2.39(\text{s}, 3\text{H})$, $2.23(\text{t}, J = 6.8\text{Hz}, 2\text{H})$, $1.80\text{--}1.78(\text{m}, 4\text{H})$; HRMS (ESI, m/z): 计算值 $912.3101(\text{M}+\text{H})^+$, 实测值 912.3118 。

[0553] 化合物 49:

[0554]

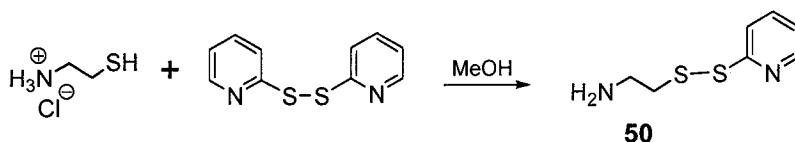


[0555] 向三(2-羧基乙基)膦盐酸盐(TCEP·HCl, 3.8mg, 0.013mmol)在一滴去离子水($\sim 50 \mu\text{L}$)中的悬液逐滴加入饱和碳酸氢钠($\sim 25 \mu\text{L}$),以将pH调至约6~7,然后加入pH6.5缓冲液(0.1M磷酸盐缓冲液, 0.3mL)。将所得混合物加至化合物48(IGN-08, 4.0mg, 0.0044mmol)在甲醇(1.0mL)和乙腈(1.0mL)中的溶液。将溶液在室温搅拌1.5小时,用pH6.5缓冲液和二氯甲烷稀释(通过质谱检验反应,显示仅有产物信号)。分离,用盐水洗涤有机层,经无水硫酸钠干燥,过滤。在减压下蒸发滤液,通过硅胶色谱法(Combiflash, 二氯甲烷/MeOH)纯化残余物,得到为浅黄色固体的产物9(2.7mg, $y = 71\%$)。MS(m/z): 实测值 864.0 ($M-H$)⁻, 932.0 ($M+MeOH+2H_2O-H$)⁻, 888.1 ($M+Na$)⁺, 920.2 ($M+MeOH+Na$)⁺, 952.2 ($M+2MeOH+Na$)⁺。

[0556] 实施例9

[0557] 化合物50:

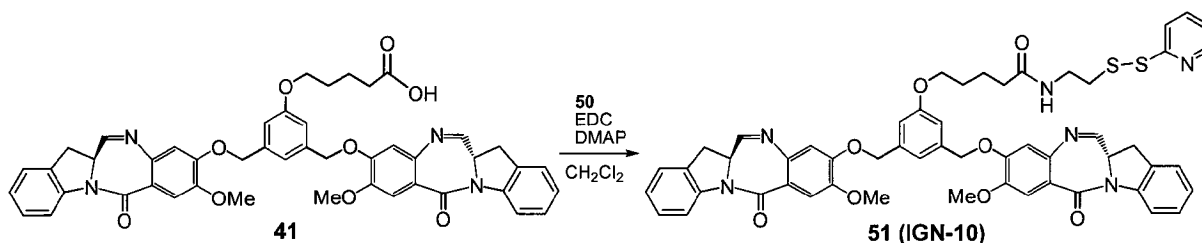
[0558]



[0559] 向搅拌的半胱胺盐酸盐(227mg, 2mmol)在无水甲醇(10mL)中的溶液加入aldrithiol(661mg, 3mmol)。加入aldrithiol后,反应溶液由澄清无色变为澄清黄色。将混合物在室温搅拌21小时。加入三乙胺(279 μL , 2mmol),在减压下除去溶剂。通过硅胶色谱法(Combiflash, 二氯甲烷/甲醇, 1:0至15:1, 含有0.1%三乙胺)纯化残余物,得到为无色油的化合物50(301mg, $y = 81\%$)。¹H NMR(400Hz, CDCl₃): δ 8.52-8.49(m, 1H), 7.69-7.60(m, 2H), 7.15-7.10(m, 1H), 3.04(t, $J = 6.0\text{Hz}$, 2H), 2.92(t, $J = 6.0\text{Hz}$), 1.92(bs, 2H)。

[0560] 化合物51(IGN-10):

[0561]

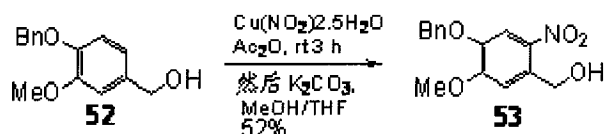


[0562] 向IGN-03酸41(得自0.05mmolIGN-03, 不经纯化)在无水二氯甲烷(1mL)中的溶液加入化合物50(37mg, 0.2mmol)、N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐(38mg, 0.2mmol)和少量二甲基氨基吡啶。将混合物在室温搅拌过夜,用二氯甲烷稀释。用饱和氯化铵和盐水进行洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤。在减压下蒸发滤液。通过硅胶色谱

法 (Combiflash, 二氯甲烷/甲醇, 1 : 0 至 5 : 1) 纯化残余物, 得到 51mg 黄色泡沫, 其通过制备型反相 HPLC (C18 柱, 乙腈/H₂O) 进一步纯化, 得到为黄色固体的化合物 51 (7.4mg, $y = 15\%$)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃) : δ 8.50 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 8.28 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.87 (d, $J = 4.4$ Hz, 2H), 7.63-7.59 (m, 3H), 7.52 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.31-7.21 (m, 4H), 7.14-7.09 (m, 4H), 6.96 (s, 2H), 6.85 (s, 2H), 5.23 (d, $J = 12.8$ Hz, 2H), 5.18 (d, $J = 12.4$ Hz, 2H), 4.49 (dt, $J_1 = 11.2$ Hz, $J_2 = 4.4$ Hz, 2H), 4.03-4.00 (m, 8H), 3.72 (dd, $J_1 = 16.8$ Hz, $J_2 = 11.2$ Hz, 2H), 3.60 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 3.57 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 3.50 (dd, $J_1 = 16.8$ Hz, $J_2 = 3.6$ Hz, 2H), 2.95 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 2.30 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 1.85-1.84 (m, 4H); HRMS (ESI, m/z): 计算值 975.3210 (M+H)⁺, 实测值 975.3190。

[0563] 化合物 53:

[0564]

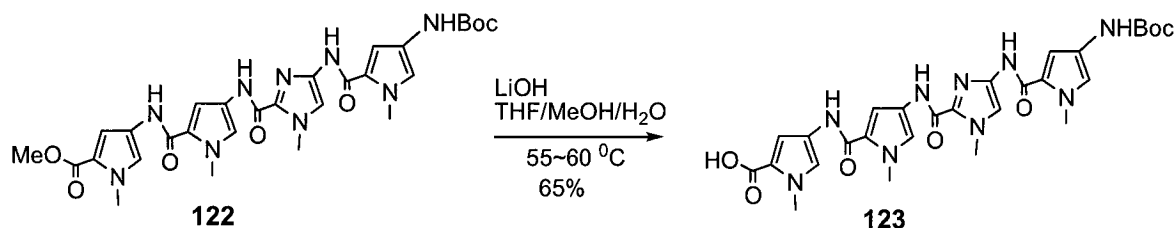


[0565] 在 0°C、向搅拌的 4-苄氧基-3-甲氧基苯甲醇 52 (2.5g, 10mmol) 在乙酸酐 (30mL) 中的溶液分批缓慢加入硝酸铜 (II) 水合物 (2.7g, 11mmol)。将所得的悬液在 0°C 继续搅拌 1 小时, 在室温搅拌 3 小时。将反应混合物倒在冰/水上, 搅拌 1 小时。过滤, 收集黄色固体, 随后将其溶于 MeOH/THF (1 : 1, V/V, 30mL) 中。加入碳酸钾 (2.1g, 15mmol), 将所得混合物在室温搅拌 3 小时。在减压下浓缩, 用二氯甲烷稀释残余物, 用水和盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤。在减压下蒸发滤液, 通过硅胶色谱法 (CH₂Cl₂/MeOH, 20 : 1, 18 : 1, 15 : 1) 纯化残余物, 得到为黄色固体的化合物 53 (1.50g, $y = 52\%$)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃) : δ 7.78 (s, 1H), 7.48-7.33 (m, 5H), 7.20 (s, 1H), 5.18 (s, 2H), 4.96 (s, 2H), 4.01 (s, 3H)。

[0566] 实施例 10

[0567] 化合物 123:

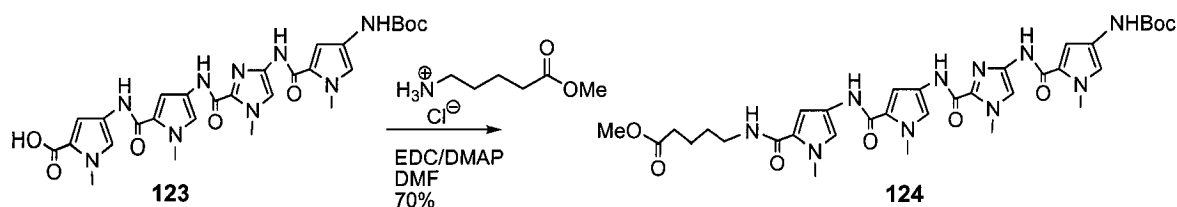
[0568]



[0569] 向搅拌的化合物 122 (137mg, 0.22mmol) 在 THF (1.5mL) 和 MeOH (0.5mL) 中的溶液加入氢氧化锂水合物 (46mg, 1.1mmol) 在去离子水 (0.5mL) 中的溶液。将混合物在 60°C 油浴中搅拌 6 小时。将其冷却至室温, 用乙酸乙酯和水稀释。用 5% 盐酸将 pH 调至 4~5。用乙酸乙酯萃取水层。用饱和碳酸氢钠和盐水洗涤合并的有机层, 经无水硫酸钠干燥, 过滤。吹脱滤液, 得到化合物 123 (87.5mg, $y = 65\%$)。MS (m/z): 实测值 606.1 (M-H)⁻。

[0570] 化合物 124:

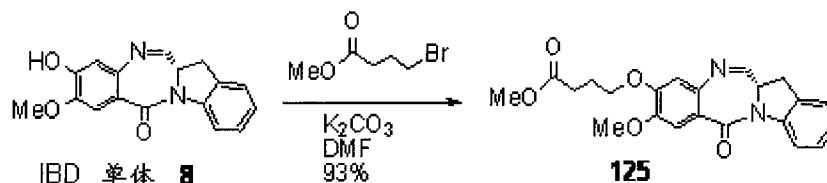
[0571]



[0572] 向酸 123 (87.5mg, 0.14mmol) 在无水 DMF (1mL) 中的溶液加入 DMAP (21mg, 0.17mmol)、5-氨基戊酸甲酯盐酸盐 (26mg, 0.15mmol) 和 EDC (40mg, 0.21mmol)。将混合物在室温搅拌过夜, 用乙酸乙酯稀释。用饱和氯化铵, 盐水、饱和碳酸氢钠和盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤。吹脱滤液, 通过硅胶色谱法 (Combiflash, 二氯甲烷 /MeOH) 纯化残余物, 得到为黄色泡沫的化合物 124 (71mg, $y = 70\%$)。 $^1\text{H NMR}$ (400Hz, CDCl_3): δ 9.07 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.17 (s, 1H), 7.09 (s, 1H), 7.00 (s, 1H), 6.74 (s, 1H), 6.62 (s, 3H), 6.46 (s, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.85 (bs, 12H), 3.34-3.31 (m, 2H), 2.32 (t, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 1.68-1.55 (m, 4H), 1.48 (s, 9H); MS (ESI, m/z): 实测值 721.0 ($\text{M}+\text{H}^+$)。

[0573] 化合物 125:

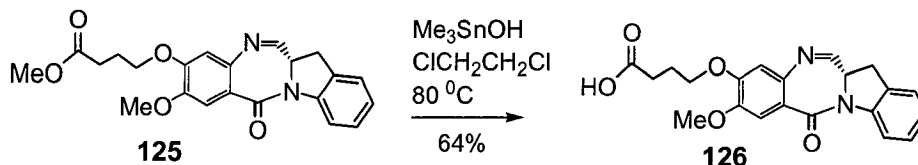
[0574]



[0575] 向 IBD 单体 8 (118mg, 0.4mmol) 和 4-溴丁酸甲酯 (109mg, 0.6mmol) 在无水 DMF (1.5mL) 中的溶液加入碳酸钾 (111mg, 0.8mmol)。将混合物在室温搅拌过夜, 用乙酸乙酯稀释, 用饱和氯化铵和盐水洗涤。经无水硫酸钠干燥, 过滤。在减压下吹脱滤液, 得到为黄色泡沫的化合物 125 (146mg, $y = 93\%$)。 $^1\text{H NMR}$ (400Hz, CDCl_3): δ 8.25 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.84 (d, $J = 4.4\text{Hz}$, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.26-7.22 (m, 2H), 7.10-7.06 (m, 1H), 6.81 (s, 1H), 4.44 (dt, $J_1 = 10.8\text{Hz}$, $J_2 = 4.0\text{Hz}$, 1H), 4.15-4.07 (m, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.68 (s, 3H), 3.67-3.64 (m, 1H), 3.46-3.43 (m, 1H), 2.55 (t, $J = 7.2\text{Hz}$, 2H), 2.22-2.15 (m, 2H); MS (ESI, m/z): 实测值 465.2 ($\text{M}+\text{MeOH}+\text{K}^+$)。

[0576] 化合物 126:

[0577]

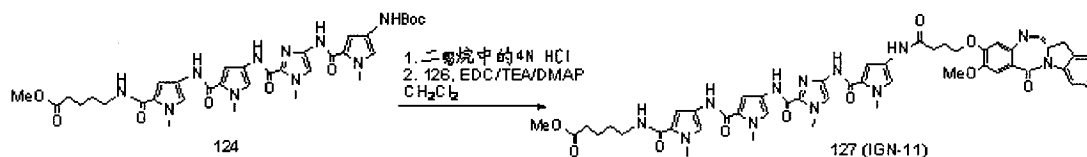


[0578] 将化合物 125 (146mg, 0.37mmol) 和三甲基氢氧化锡 (669mg, 3.7mmol) 在无水 1,2-二氯乙烷 (2mL) 中的混合物加热至 80°C (油浴温度), 在此温度下搅拌 18 小时。移除油浴, 用二氯甲烷稀释混合物, 用盐水 /5% HCl (0.5mL)、饱和碳酸氢钠和盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤。吹脱滤液, 通过硅胶色谱法 (Combiflash, 二氯甲烷 /MeOH) 纯化残余物, 得到为黄色固体的化合物 126 (90mg, $y = 64\%$)。 $^1\text{H NMR}$ (400Hz, CDCl_3): δ 8.26 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.83 (bs, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.30-7.25 (m, 2H), 7.11 (t, $J = 7.6\text{Hz}$, 1H), 6.88 (s, 1H), 4.48 (dt, $J_1 = 11.2\text{Hz}$, $J_2 = 4.0\text{Hz}$, 1H), 4.16-4.13 (m, 2H), 3.94 (s, 3H),

3.71 (dd, $J_1 = 16\text{Hz}$, $J_2 = 11.2\text{Hz}$, 1H), 3.47 (d, $J = 16\text{Hz}$, 1H), 2.60 (t, $J = 6.4\text{Hz}$, 2H), 2.22-2.18 (m, 2H)。

[0579] 化合物 127 (IGN-11):

[0580]



[0581] 向含有化合物 124 (71mg, 0.099mmol) 的烧瓶中加入在二噁烷中的 4N HCl (4mL)。将混合物在室温搅拌 2 小时, 在减压下吹脱。将残余物溶于无水二氯甲烷 (1.5mL) 中。随后加入化合物 126 (42mg, 0.11mmol)、三乙胺 (14 μl , 0.1mmol)、EDC (38mg, 0.2mmol) 和 DMAP (1mg, 0.0099mmol)。将反应混合物在室温搅拌 22 小时, 用二氯甲烷稀释, 用饱和氯化铵和盐水洗涤。经无水硫酸钠干燥, 过滤。在减压下吹脱滤液, 通过硅胶色谱法 (Combiflash, 二氯甲烷/MeOH) 纯化残余物, 得到为黄色固体的化合物 127 (14mg, $y = 49\%$)。HRMS (ESI, m/z): 计算值 983.4164 ($M+H$)⁺, 实测值 983.4167。

[0582] 实施例 11

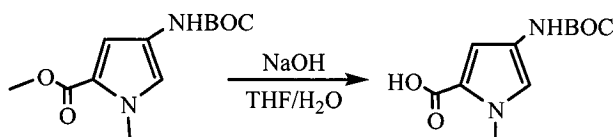
[0583] IGN-03NHS 酯 (化合物 43) 和 IGN-07NHS 酯 (化合物 46) 储备溶液的制备:

[0584] 在二甲基乙酰胺 (DMA) 中, 基于 903.93g/摩尔 (IGN-03NHS 酯) 或 902.95 (IGN-07NHS 酯) 的分子量, 将 IGN-03NHS 酯和 IGN-07NHS 酯的溶液新鲜制备成 0.006M 储备液。用分光光度法、使用在 330nm 确定的参考消光系数测定储备溶液 ($\epsilon_{330\text{nm}} = 15, 231\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)。

[0585] 实施例 12

[0586] 4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-羧酸

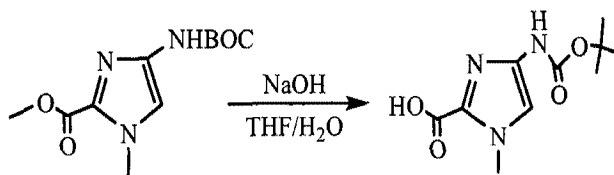
[0587]



[0588] 将 4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-羧酸甲酯 (Eldon E. Baird 和 Peter B. Dervan, J. Am. Chem. Soc. 1996, 118, 6141-6146) (5.0g, 19.67mmol) 在 120mL 1:1 THF/H₂O 中的溶液加入在 30mL 水中的 8g NaOH。将混合物搅拌过夜, 浓缩, 用水稀释, 用 EtAc/己烷 (1:1) 萃取。用 20% H₃PO₄ 将水溶液调至 pH 4.0, 用 EtAc (4×60mL) 萃取。将有机溶液合并, 经 MgSO₄ 干燥, 过滤, 蒸发, 用乙醇/EtAc/己烷结晶, 得到 3.81g (81%) 标题产物。¹H NMR (CD₃OD) 12.79 (s, 1H), 10.48 (br, 1H), 7.51 (s, 1H), 6.99 (s, 1H), 3.78 (s, 3H), 1.49 (s, 9H); ¹³C NMR 158.47, 153.82, 123.64, 121.56, 109.58, 79.52, 37.06, 28.42; MS m/z -239.2 ($M-H$)。

[0589] 4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-羧酸

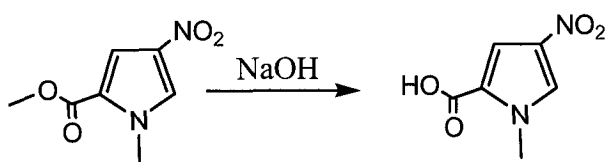
[0590]



[0591] 将4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-羧酸甲酯(5.0g, 19.59mmol)在120ml 1:1 THF/H₂O中的溶液加入在30ml水中的8g NaOH。将混合物搅拌过夜, 浓缩, 用水稀释, 用EtAc/己烷(1:1)萃取。用20% H₃PO₄将水溶液调至pH4.0, 用EtAc萃取(4×60mL)。将有机溶液合并, 经MgSO₄干燥, 过滤, 蒸发, 用乙醇/EtAc/己烷结晶, 得到3.85g(81%)标题产物。¹H NMR(DMSO) 9.32(s, 1H), 7.29(s, 1H), 3.57(s, 3H), 1.42(s, 9H); ¹³C NMR 172.45, 159.78, 136.93, 135.44, 132.85, 79.50, 35.57, 28.07; MS m/z-240.8(M-H)。

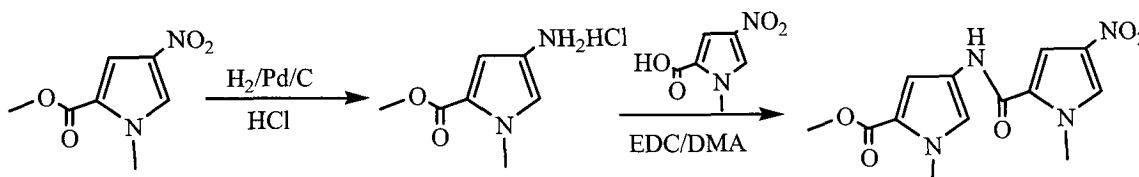
[0592] 1-甲基-4-硝基-1H-吡咯-2-羧酸

[0593]



[0594] 将1-甲基-4-硝基-1H-吡咯-2-羧酸甲酯(5.0g, 27.17mmol)在120ml 1:1 THF/H₂O中的溶液加入在30ml水中的8g NaOH。将混合物搅拌过夜, 浓缩, 用水稀释, 用EtAc/己烷(1:1)萃取。用20% H₃PO₄将水溶液调至pH3~4, 用EtAc萃取(4×60mL)。将有机溶液合并, 经MgSO₄干燥, 过滤, 蒸发, 用乙醇/EtAc/己烷结晶, 得到4.06g(88%)标题产物。¹H NMR(DMSO) 13.12(s, 1H), 8.21(s, 1H), 7.25(s, 1H), 3.91(s, 3H); ¹³C NMR 160.97, 134.01, 129.16, 123.81, 111.38, 37.47; MS m/z-169.1(M-H)。

[0595] 1-甲基-4-(1-甲基-4-硝基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1H-吡咯-2-羧酸甲酯
[0596]

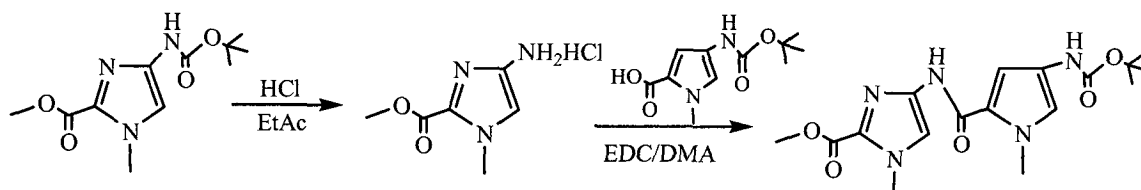


[0597] 在氢化瓶中加入1-甲基-4-硝基-1H-吡咯-2-羧酸甲酯(3.0g, 16.30mmol)、80ml THF、405mg 10% Pd/C和1.3ml HCl(浓)。在真空下排空后, 将瓶放置在30psi氢气下, 振摇5小时。将混合物滤过硅藻土, 蒸发至干, 不经进一步纯化。向干燥混合物加入1-甲基-4-硝基-1H-吡咯-2-羧酸(2.75g, 16.18mmol)、80ml DMA、EDC(8.51g, 44.27mmol)和DIPEA(2.80ml, 16.10mmol)。将混合物在Ar下搅拌过夜, 浓缩, 用THF/EtAc(1:2, 150mL)稀释, 分别用1M NaH₂PO₄/NaCl(浓)和N_aHCO₃(浓)洗涤。分离有机层, 经MgSO₄干燥, 浓缩过滤, 用THF/H₂O结晶, 得到3.74g(75%)标题产物。¹H NMR(DMSO) 10.25(s, 1H), 8.17(s, 1H), 7.25(s, 1H), 6.52(s, 1H), 6.08(s, 1H), 3.90(s, 3H), 3.78(s, 3H), 3.56(s, 3H); ¹³C NMR 157.87, 156.84, 133.76, 128.16, 123.39, 119.13, 118.18, 111.83, 107.50, 104.17, 51.55, 37.41, 36.03; MS m/z+329.1(M+Na)。

[0598] 4-(4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-咪

唑-2-羧酸甲酯

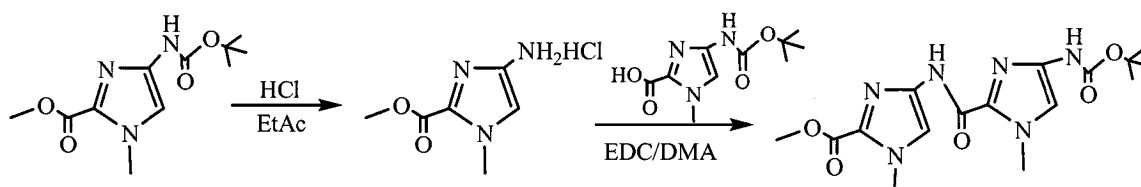
[0599]



[0600] 将4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-羧酸甲酯(2.50g, 9.80mmol)在30ml EtAc的溶液加入6ml HCl(浓)。搅拌45分钟后,将混合物用乙醇和甲苯稀释,浓缩,与乙醇/甲苯(1:1, 3×50mL)共蒸发至干,不经进一步纯化。向干燥化合物加入4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-羧酸(2.35g, 9.8mmol)、EDC(5.60g, 29.1mmol)、DIPEA(1.70ml, 9.8mmol)和80ml DMA。将混合物在Ar下搅拌过夜,浓缩,用THF/EtAc(1:2, 150mL)稀释,分别用1M NaH₂PO₄/NaCl(浓)和NaHCO₃(浓)洗涤。分离有机溶剂层,经MgSO₄干燥,过滤,浓缩,经由用EtAc/DCM(1:25至1:15)洗脱的SiO₂色谱法纯化,得到2.72g(73%)标题产物。¹H NMR(DMF-d₇) 10.27(s, 1H), 9.08(s, 1H), 7.41(s, 1H), 7.32(s, 1H), 7.07(s, 1H), 4.10(s, 3H), 3.93(s, 3H), 3.84(s, 3H), 1.47(s, 9H); ¹³C NMR 162.62, 161.20, 153.82, 145.32, 144.12, 132.56, 128.46, 124.39, 119.83, 79.51, 52.75, 36.06, 35.83, 28.88; MS m/z+400.2(M+Na)。

[0601] 4-(4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-羧酸甲酯

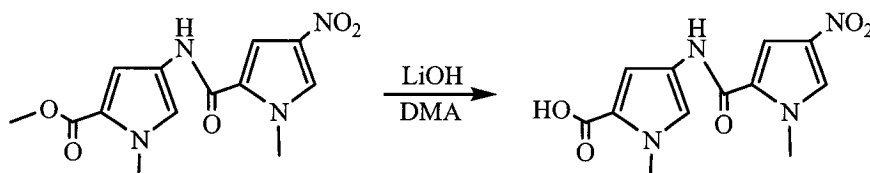
[0602]



[0603] 将4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-羧酸甲酯(2.50g, 9.80mmol)在30ml EtAc中的溶液加入6ml HCl(浓)。搅拌30分钟后,将混合物用乙醇和甲苯稀释,浓缩,与乙醇/甲苯(1:1, 3×50mL)共蒸发至干,化合物不经进一步纯化。向干燥化合物加入4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-羧酸(2.36g, 9.8mmol)、EDC(5.90g, 30.7mmol)、DIPEA(1.70ml, 9.8mmol)和80ml DMA。将混合物在Ar下搅拌过夜,浓缩,用THF/EtAc(1:2, 150mL)稀释,分别用1M NaH₂PO₄/NaCl(浓)和NaHCO₃(浓)洗涤。分离有机溶剂层,经MgSO₄干燥,过滤,浓缩,经由用EtAc/DCM(1:25至1:15)洗脱的SiO₂色谱法纯化,得到2.65g(71.5%)标题产物。¹H NMR(DMSO) 11.17(s, 1H), 10.48(s, 1H), 7.58(s, 1H), 7.32(s, 1H), 4.01(s, 3H), 3.94(s, 3H), 3.92(s, 3H), 1.45(s, 9H); ¹³C NMR 160.60, 157.30, 135.92, 135.45, 132.86, 126.12, 114.83, 79.50, 52.70, 35.58, 34.92, 28.08; MS m/z+401.8(M+Na)。

[0604] 1-甲基-4-(1-甲基-4-硝基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1H-吡咯-2-羧酸

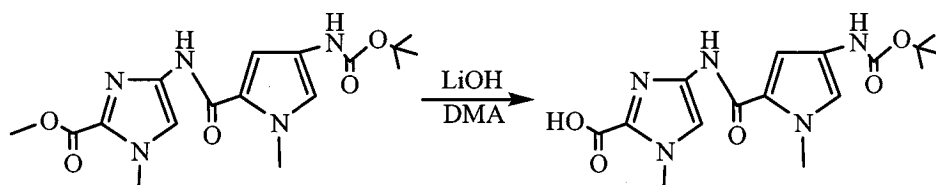
[0605]



[0606] 将1-甲基-4-(1-甲基-4-硝基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1H-吡咯-2-羧酸甲酯 (2.0g, 6.53mmol) 在50ml DMA 中的溶液加入在30ml 水中的2gLiOH。将混合物搅拌过夜, 浓缩, 用水稀释, 用EtAc/己烷(1:1)萃取。用20% H₃PO₄将水溶液调至pH4.0以形成沉淀。过滤沉淀, 用水洗涤, 在真空下用P₂O₅干燥, 得到1.4g(73%) 标题产物。¹HNMR(DMF-d₇) 10.34(br, 1H), 8.17(s, 1H), 7.62(s, 1H), 7.51(s, 1H), 7.00(s, 1H), 4.09(s, 1H), 3.91(s, 1H); ¹³C NMR158.47, 135.61, 129.11, 127.77, 123.65, 121.57, 121.50, 109.48, 108.52, 38.38, 37.05; MSm/z-291.0(M-H)。

[0607] 4-(4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-羧酸

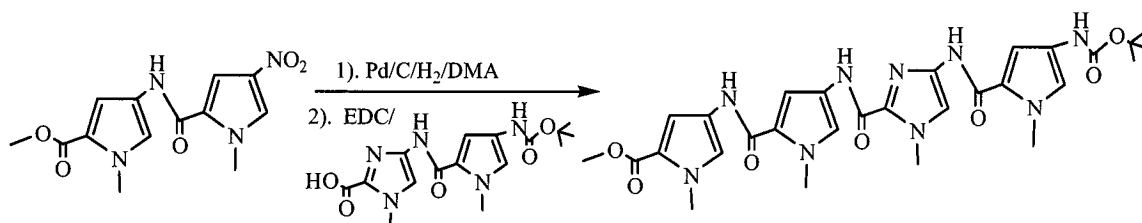
[0608]



[0609] 将4-(4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-羧酸甲酯 (2.0g, 5.30mmol) 在50ml DMA 中的溶液加入在30ml 水中的2g LiOH。将混合物搅拌过夜, 浓缩, 用水稀释, 用EtAc/己烷(1:1)萃取。用20% H₃PO₄将水溶液调至pH4.0以形成沉淀。过滤沉淀, 用水洗涤, 在真空下用P₂O₅干燥, 得到1.44g(75%) 标题产物。¹HNMR(DMSO) 10.41(br, 1H), 9.07(s, 1H), 7.48(s, 1H), 6.97(s, 1H), 6.88(s, 1H), 3.92(s, 1H), 3.81(s, 1H), 1.47(s, 9H); ¹³C NMR160.46, 158.42, 152.85, 145.21, 135.81, 129.11, 127.77, 122.39, 121.57, 113.58, 79.81, 36.06, 35.25, 28.17; MS m/z-362.1(M-H)。

[0610] 4-(4-(4-(4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-羧酸甲酯

[0611]

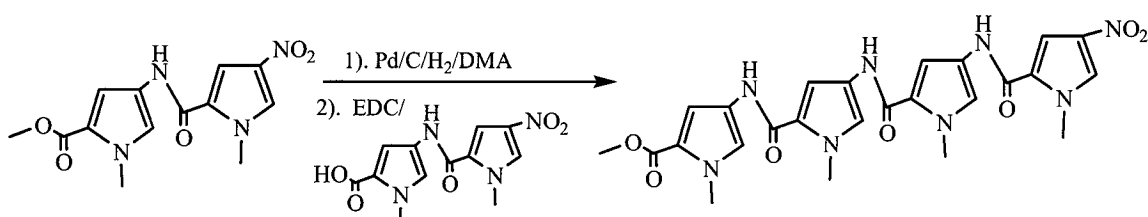


[0612] 在氢化瓶中加入1-甲基-4-(1-甲基-4-硝基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1H-吡咯-2-羧酸甲酯 (1.0g, 3.27mmol)、20ml THF、305mg10% Pd/C(50% 湿) 和0.25ml HCl(浓)。在真空下排空后, 将瓶放置在50psi 氢气下, 振摇4小时。将混合物滤过硅藻土, 蒸发至干, 不经进一步纯化。向干燥混合物加入4-(4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-羧酸 (1.15g, 3.16mmol)、10ml DMA、

EDC(2.0g, 10.4mmol) 和 DIPEA(0.70ml, 4.02mmol)。将混合物在 Ar 下搅拌过夜, 浓缩, 用己烷 /EtAc(1 : 1, 10mL) 和水 10ml 稀释以形成沉淀。过滤沉淀, 1M NaH₂PO₄、1M NaHCO₃和水洗涤, 在真空下用 P₂O₅干燥, 得到 1.61g(82%) 标题产物。¹H NMR(DMF-d₇) 10.29(s, 1H), 10.20(s, 1H), 10.12(s, 1H), 9.08(s, 1H), 7.58(s, 1H), 7.47(d, 1H, J = 1.7Hz), 7.26(d, 1H, J = 1.5Hz), 7.15(d, 1H, J = 1.5Hz), 6.98(s, 1H), 6.91(d, 1H, J = 1.8Hz), 6.86(s, 1H), 3.97(s, 3H), 3.82(s, 3H), 3.73(s, 3H), 3.56(s, 3H), 1.45(s, 9H); ¹³C NMR 162.16, 160.05, 159.90, 157.20, 154.31, 137.88, 135.35, 124.56, 124.39, 124.24, 123.09, 120.09, 119.82, 115.32, 105.58, 102.27, 79.31, 51.51, 38.13, 36.01, 35.80, 35.08, 28.79; MS m/z+644.2(M+Na)。

[0613] 1-甲基-4-(1-甲基-4-(1-甲基-4-(1-甲基-4-硝基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1H-吡咯-2-羧酸甲酯

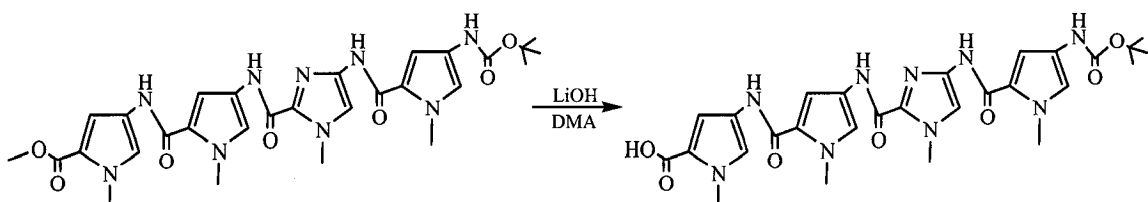
[0614]



[0615] 在氢化瓶中加入 1-甲基-4-(1-甲基-4-硝基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1H-吡咯-2-羧酸甲酯(2.0g, 6.53mmol)、80ml DMA、500mg 10% Pd/C(50%湿)和 0.4ml HCl(浓)。在真空下排空后, 将瓶放置在 50psi 氢气下, 振摇 4 小时。将混合物滤过硅藻土, 蒸发至干, 不经进一步纯化。向干燥混合物加入 1-甲基-4-(1-甲基-4-硝基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1H-吡咯-2-羧酸(1.49g, 5.10mmol)、30ml DMA、EDC(4.0g, 20.8mmol) 和 DIPEA(1.0ml, 5.75mmol)。将混合物在 Ar 下搅拌过夜, 浓缩, 用己烷 /EtAc(1 : 1, 10mL) 和水 10ml 稀释以形成沉淀。过滤沉淀, 用 1M NaH₂PO₄、1M NaHCO₃和水洗涤, 在真空下用 P₂O₅干燥, 得到 2.13g(76%) 标题产物。¹H NMR(DMSO) 10.28(s, 1H), 10.25(s, 1H), 9.78(s, 1H), 8.18(s, 1H), 7.86(s, 1H), 7.52(s, 1H), 7.31(d, 1H, J = 1.7Hz), 7.25(s, 1H), 7.23(s, 1H), 7.17(d, 1H, J = 1.5Hz), 6.98(s, 1H), 6.71(s, 1H), 4.02(s, 3H), 3.94(s, 3H), 3.83(s, 3H), 3.73(s, 3H), 3.56(s, 3H), 1.47(s, 9H); ¹³C NMR 160.78, 158.93, 158.06, 157.81, 135.25, 127.28, 126.36, 123.78, 122.57, 121.91, 121.40, 120.94, 119.65, 110.73, 108.39, 107.34, 103.75, 80.81, 51.57, 39.74, 38.52, 38.22, 37.08, 28.63; MS m/z+573.2(M+Na)。

[0616] 4-(4-(4-(4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-羧酸

[0617]

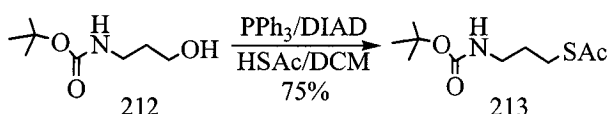


[0618] 向 4-(4-(4-(4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲

基-1H-咪唑-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-羧酸甲酯(510mg, 0.82mmol) 在 10ml DMA 中的溶液加入在 10ml 水中的 0.8g LiOH。将混合物搅拌过夜, 浓缩, 用水稀释, 用 EtAc/ 己烷(1 : 1) 萃取。用 20% H₃PO₄ 将水溶液调至 pH4.0 以形成沉淀。过滤沉淀, 用水洗涤, 在真空下用 P₂O₅ 干燥, 得到 363mg(73%) 标题产物。¹H NMR(DMF-d₇) 10.31(s, 1H), 10.18(s, 1H), 10.11(s, 1H), 9.10(s, 1H), 7.58(s, 1H), 7.54(s, 1H), 7.41(s, 1H), 7.33(s, 1H), 7.21(s, 1H), 7.10(s, 1H), 7.06(s, 1H), 4.10(s, 1H), 3.98(s, 1H), 3.95(s, 1H), 3.93(s, 1H), 1.47(s, 9H); ¹³C NMR 162.16, 160.05, 159.90, 157.20, 154.31, 137.88, 135.35, 124.56, 124.39, 123.51, 123.09, 121.76, 120.09, 119.83, 118.96, 115.32, 109.53, 105.58, 102.27, 79.32, 38.13, 36.02, 35.81, 34.88, 28.79; MS m/z-606.2(M-H)。

[0619] 硫代乙酸 S-3-(叔丁氧基羰基氨基)丙酯

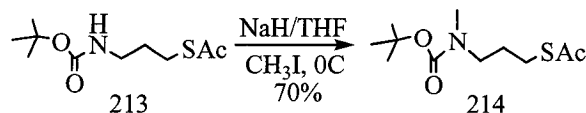
[0620]



[0621] 在 0°C 和 Ar 下、向 3-羟基丙基氨基甲酸叔丁酯(3.22g, 18.37mmol) 在 100ml DCM 中的溶液加入硫代乙酸(2.0ml, 26.73mmol) 和三苯基膦(7.0g, 26.73mmol)。在 0°C 搅拌 15 分钟后, 加入 DIAD(6.0ml, 28.93)。将混合物在 0°C 搅拌 2 小时, 然后在 RT 搅拌过夜。浓缩混合物, 用 120ml EtAc/ 己烷(1 : 2) 稀释, 滤过硅藻土。分别用 NaHCO₃(浓)/NaCl(浓) 和 1M NaH₂PO₄ 洗涤溶液, 经 MgSO₄ 干燥, 过滤, 蒸发, 经由用 EtAc/ 己烷(1 : 7 至 1 : 6) 洗脱的 SiO₂ 色谱法纯化, 得到 3.22g(75%) 标题化合物。¹H NMR(CDCl₃) 3.09(t, 2H, J = 6.5Hz), 2.84(t, 2H, J = 6.9Hz), 2.27(s, 3H), 1.69(dt, 2H, J = 6.8, 13.5Hz), 1.38(s, 9H); ¹³C NMR 196.35, 156.16, 79.50, 39.26, 30.79, 30.24, 28.61, 26.44; MS m/z+256.0(M+Na)。

[0622] 硫代乙酸 S-3-(叔丁氧基羰基(甲基)氨基)丙酯

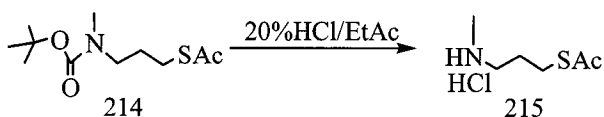
[0623]



[0624] 在 0°C 和 Ar 下、向 NaH(0.57g, 60%, 14.25mmol) 在 20ml THF 中的溶液加入硫代乙酸 S-3-(叔丁氧基羰基氨基)丙酯(1.25g, 5.36mmol)。在 0°C 搅拌 30 分钟后, 将 MeI(1.0ml, 16.06mmol) 加至混合物。在 0°C 继续搅拌 2 小时, 然后在 RT 搅拌过夜。浓缩混合物, 将其再溶于 120ml EtAc/ 己烷(1 : 2) 中, 用 1M NaH₂PO₄/NaCl(浓) 洗涤, 经 MgSO₄ 干燥, 过滤, 蒸发, 经由用 EtAc/ 己烷(1 : 7) 洗脱的 SiO₂ 色谱法纯化, 得到 1.121g(85%) 标题化合物。¹H NMR(CDCl₃) 3.69(t, 2H, J = 7.3Hz), 2.41(t, 2H, J = 7.3Hz), 2.39(s, 3H), 2.03(s, 3H), 1.76(m, 2H), 1.47(s, 9H); ¹³C NMR 173.21, 153.39, 83.28, 43.67, 31.84, 28.26, 28.19, 27.11, 15.65; MS m/z+270.0(M+Na)。

[0625] S-3-(甲基氨基)丙基硫代乙酸酯盐酸盐

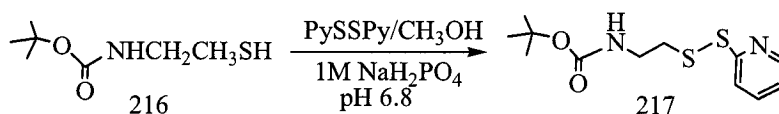
[0626]



[0627] 在RT、向S-3-(叔丁氧基羰基(甲基)氨基)丙基硫代乙酸酯(206mg, 0.834mmol)在4ml EtAc中的溶液加入1.0ml HCl(浓)。将混合物在RT搅拌1小时,用乙醇/甲苯(6ml, 1:1)稀释,蒸发,与乙醇/甲苯(3×10mL)共蒸发,用乙醇/EtAc/己烷结晶,过滤,真空干燥,得到135mg(88%)标题化合物。¹H NMR(CDCl₃) 9.70(br, 1H), 8.56(br, 1H), 3.42(m, 2H), 2.52(m, 2H), 2.35(s, 3H), 2.05(s, 3H), 1.88(m, 2H); ¹³C NMR 174.64, 40.57, 31.57, 27.69, 20.94, 15.62; MS m/z+170.0 (M+Na), 148.10 (M+H)。

[0628] 2-(吡啶-2-基二硫烷基)乙基氨基甲酸叔丁酯(217)

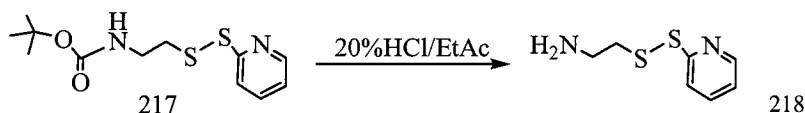
[0629]



[0630] 向2,2'-二巯基吡啶(3.97g, 18.02mmol)在100ml甲醇和80ml 1M NaH₂PO₄, pH 6.8中的溶液加入2-巯乙基氨基甲酸叔丁酯(1.00g, 5.65mmol)在50ml甲醇中的溶液。将混合物在Ar下搅拌过夜,浓缩,用二氯甲烷萃取,经MgSO₄干燥,过滤,蒸发,经由用EtAc/己烷(1:10至1:6)洗脱的SiO₂色谱法纯化,得到1.341g(83%)标题化合物。¹H NMR(CDCl₃) 8.39(m, 1H), 7.56(m, 1H), 7.49(m, 1H), 7.03(m, 1H), 7.00(m, 1H), 3.34(m, 2H), 2.84(m, 2H), 1.37(s, 9H); ¹³C NMR 160.05, 159.39, 159.07, 149.87, 137.21, 120.78, 79.48, 39.58, 38.96, 28.57; MS m/z+309.2 (M+Na)。

[0631] 2-(吡啶-2-基二硫烷基)乙胺

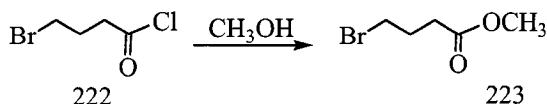
[0632]



[0633] 在RT、2-(吡啶-2-基二硫烷基)乙基氨基甲酸叔丁酯(1.06g, 3.70mmol)在16ml EtAc中的溶液加入4.0ml HCl(浓)。将混合物在RT搅拌0.5小时,用乙醇/甲苯(6ml, 1:1)稀释,蒸发,与乙醇/甲苯(3×10mL)共蒸发,用乙醇/EtAc/己烷结晶,过滤,真空干燥,得到135mg(88%)标题化合物。¹H NMR(CD₃OD) 7.58(m, 1H), 7.47(m, 1H), 7.06(m, 1H), 6.83(m, 1H), 3.34(m, 2H), 3.02(m, 2H); ¹³C NMR 158.69, 149.07, 137.81, 122.48, 120.98, 39.52, 36.94; MS m/z+187.10 (M+H)。

[0634] 4-溴丁酸甲酯(223)

[0635]

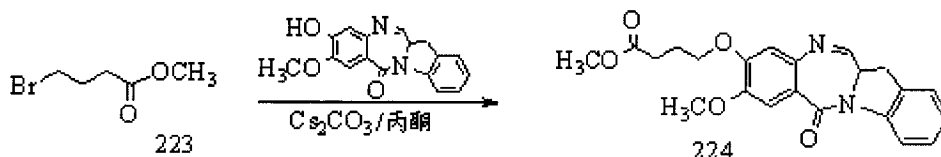


[0636] 在0℃、将4-溴丁酰氯(3.1ml, 25.28mmol)加至15ml干燥甲醇。在0℃和Ar下继续搅拌2小时,然后在RT搅拌过夜。蒸发混合物,用EtAc/己烷(1:5)稀释,滤过SiO₂凝胶,蒸发得到4.50g(99%)标题化合物。¹H NMR(CDCl₃) 3.65(s, 3H), 3.43(t, 2H, J = 6.5Hz), 2.47(t, 2H, J = 7.1Hz), 2.13(dt, 2H, J = 6.7, 13.6Hz); ¹³C NMR 173.08, 51.84, 32.82,

32.34, 27.89; MS $m/z+203.0$ (M+Na)。

[0637] 4-(7-甲氧基-2',3'-苯并[e]-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂萘-8-基氧基)丁酸(Z)-甲酯

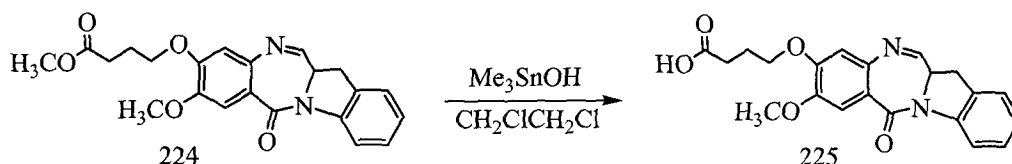
[0638]



[0639] (Z)-2,3-苯并-8-羟基-7-甲氧基-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂萘-5(11aH)-酮(60mg, 0.20mmol) 在 4ml 丙酮中的溶液加入 Cs_2CO_3 (90mg, 0.28mmol), 然后加入 4-溴丁酸甲酯(50mg, 0.27mmol)。将混合物在 Ar 下搅拌过夜, 蒸发, 经由用 EtAc/己烷(1:5 至 1:3) 洗脱的 SiO_2 色谱法纯化, 得到 50.1mg(63%) 标题化合物。 ^1H NMR(CDCl_3) 8.19(d, 1H, $J = 7.9\text{Hz}$), 7.80(d, 1H, $J = 4.2\text{Hz}$), 7.48(s, 1H), 7.19(m, 2H), 7.03(d, 1H, $J = 7.4\text{Hz}$), 6.77(s, 1H), 4.41(m, 1H), 3.88(s, 3H), 3.64(m, 2H), 3.62(s, 3H), 3.42(dd, 1H, $J = 3.4, 13.7\text{Hz}$), 2.50(t, 2H, $J = 7.2\text{Hz}$), 2.12(t, 2H, $J = 6.8\text{Hz}$); ^{13}C NMR, 173.64, 164.12, 163.24, 152.25, 148.41, 142.28, 140.34, 129.69, 128.39, 124.97, 120.85, 117.15, 112.15, 110.68, 68.08, 56.40, 55.18, 51.90, 32.84, 30.64, 24.50; MS $m/z+187.10$ (M+H)。MS $m/z+417.2$ (M+Na), 435.2 (M+Na+ H_2O)。

[0640] 4-(7-甲氧基-2,3-苯并[e]-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂萘-8-基氧基)丁酸

[0641]

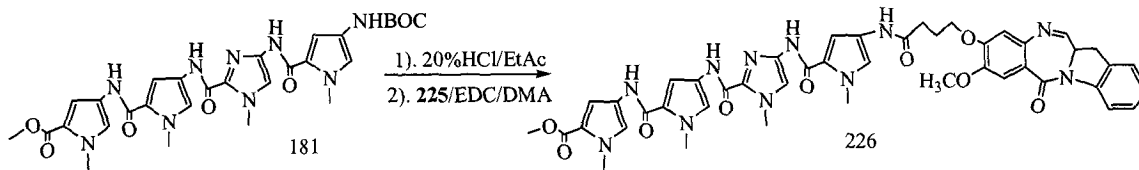


[0642] 在 85°C 和 Ar 下、将 4-(7-甲氧基-2',3'-苯并[e]-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂萘-8-基氧基)丁酸(Z)-甲酯(41mg, 0.104mmol) 和三甲基氢氧化锡(302mg, 1.67mmol) 在 15ml 二氯乙烷中的溶液回流过夜。将混合物用 1M NaH_2PO_4 (pH3.5) 洗涤, 经 MgSO_4 干燥, 过滤, 蒸发, 经由用 EtAc/DCM/HCl(1:25:0.01%) 洗脱的 SiO_2 色谱法纯化, 得到 30mg(76%) 标题化合物。 ^1H NMR(CDCl_3) 8.18(d, 1H, $J = 7.9\text{Hz}$), 7.85(m, 1H), 7.46(s, 1H), 7.20(m, 2H), 7.04(d, 1H, $J = 7.4\text{Hz}$), 6.81(s, 1H), 4.40(m, 1H), 3.86(s, 3H), 3.63(m, 2H), 3.23(dd, 1H, $J = 10.2, 16.3\text{Hz}$), 2.52(t, 2H, $J = 7.2\text{Hz}$), 2.12(t, 2H, $J = 6.8\text{Hz}$); ^{13}C NMR, 173.64, 164.12, 163.24, 152.25, 148.41, 142.28, 140.34, 129.69, 128.39, 125.10, 120.85, 117.19, 112.15, 110.68, 67.94, 56.43, 55.18, 31.81, 30.64, 24.21; MS $m/z-397.0$ (M+ $\text{H}_2\text{O}-\text{H}$)。

[0643] 4-{[4-({4-[4-(4-(7-甲氧基-2',3'-苯并[e]-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂萘-8-基氧基)丁酰基氨基]-1-甲基-1H-吡咯-2-羧

基)氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-羰基]氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-羰基]-氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-羧酸甲酯 (226)

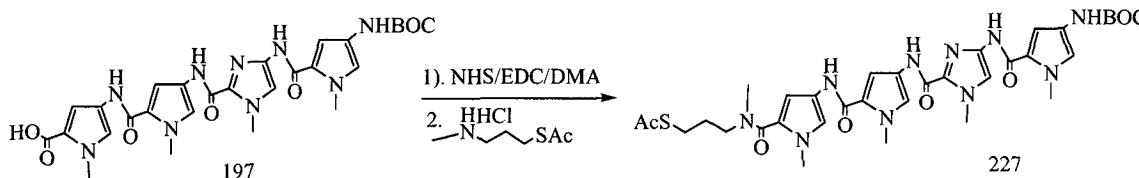
[0644]



[0645] 向 4-(4-(4-(4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-羧酸甲酯 (15mg, 0.024mmol) 在 4ml EtAc 中的溶液加入 1.0ml HCl (浓)。将混合物在 RT 搅拌 0.5 小时,用乙醇/甲苯 (6ml, 1 : 1) 稀释,蒸发,与乙醇/甲苯 (3×10ml) 共蒸发,经真空干燥。固体化合物不经进一步纯化直接使用。向该固体加入 4-(7-甲氧基-2',3'-苯并[e]-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂萘-8-基氧基)丁酸 (6mg, 0.015mmol)、EDC (40mg, 0.21mmol)、DIPEA (4μl, 0.023mmol) 和 1ml DMA。将混合物在 Ar 下搅拌过夜,蒸发,经由 HPLC 制备型 C-18 柱纯化 (Φ10mm×200mm 柱,流速 9mL/min,梯度溶剂系统如下运行:75 : 25 溶剂 A : B 进行 0-5 分钟的时间,接着 40 : 60A : B 进行 15 分钟,然后 20 : 80A : B 进行 25 分钟,最后 10 : 90A : B 进行 30 分钟;溶剂 A-水,溶剂 B-乙腈/二噁烷 (1 : 2)),冻干,得到白色固体 (4.2mg (30%) 标题化合物)。MSm/z-900.3 (M+H₂O-H)。

[0646] S-3-(4-(4-(4-(4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-N,1-二甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)丙基硫代乙酸酯 (227)。

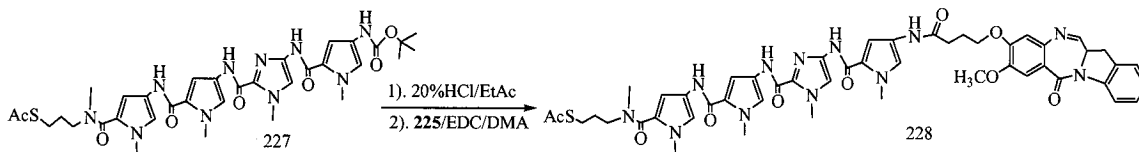
[0647]



[0648] 将 4-(4-(4-(4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-羧酸 (256mg, 0.42mmol), NHS (60mg, 0.52mmol) 和 EDC (500mg, 2.60mmol) 在 4ml DMA 中的溶液在 Ar 下搅拌 2 小时,然后加入 S-3-(甲基氨基)丙基硫代乙酸酯盐酸盐 (76.5mg, 0.42mmol),将混合物保持搅拌 24 小时,蒸发,经由用 THF/DCM (1 : 5 至 1 : 4) 洗脱的 SiO₂ 色谱法纯化,得到 198mg (64%) 标题化合物。¹H NMR (DMSO) 10.21 (s, 1H), 10.09 (s, 1H), 10.06 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 7.76 (d, 1H, J = 1.7Hz), 7.52 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 7.21 (d, 1H, J = 1.7Hz), 6.97 (s, 1H), 6.87 (s, 1H), 3.98 (s, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.66 (m, 2H), 2.85 (s, 3H), 2.60 (m, 2H), 2.01 (s, 3H), 1.45 (s, 9H); ¹³C NMR 173.31, 162.16, 160.05, 159.90, 157.20, 154.31, 137.88, 135.35, 124.56, 124.39, 123.51, 123.09, 121.76, 120.09, 119.83, 118.96, 115.32, 109.53, 105.58, 102.27, 79.32, 43.67, 38.13, 36.02, 35.81, 34.88, 31.84, 28.79, 28.26, 28.21, 27.01; MS m/z+759.2 (M+Na)。

[0649] (Z)-S-3-(4-(4-(4-(4-(4-(7-甲氧基-2,3-苯并[e]-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂萘-8-基氧基)丁酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-N,1-二甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)丙基硫代乙酸酯

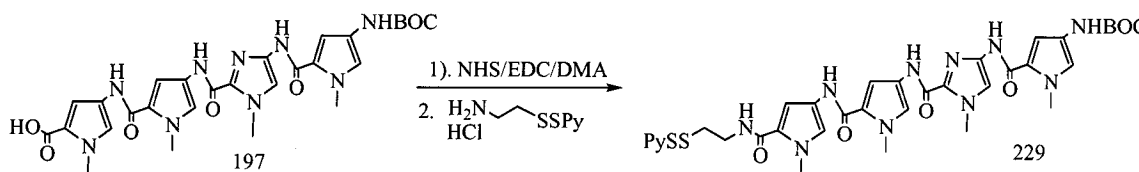
[0650]



[0651] 将 S-3-(4-(4-(4-(4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-N,1-二甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)丙基硫代乙酸酯 (227) (27mg, 0.037mmol) 在 2ml 二噁烷和 0.5ml HCl (浓) 中搅拌 15 分钟, 用乙醇 / 甲苯 (6ml, 1 : 1) 稀释, 蒸发, 与乙醇 / 甲苯 (4×10mL) 共蒸发, 用 EtOH/DCM/己烷结晶, 真空干燥, 得到 21mg 固体。固体化合物不经进一步纯化直接使用。向该固体加入 4-(7-甲氧基-2,3-苯并[e]-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂萘-8-基氧基)丁酸 (10mg, 0.026mmol)、EDC (101mg, 0.52mmol)、DIPEA (5 μ l, 0.028mmol) 和 2ml DMA。将混合物搅拌过夜, 蒸发, 用 DCM 稀释, 用 1M NaH₂PO₄/NaCl (浓) (pH4.0) 洗涤, 经 MgSO₄ 干燥, 过滤, 蒸发, 经由 HPLC 制备型 C-18 柱纯化 (Φ 10mm×200mm 柱, 流速 9mL/min, 梯度溶剂系统如下运行: 75 : 25 溶剂 A : B 进行 0-5 分钟的时间, 接着 40 : 60A : B 进行 15 分钟, 然后 20 : 80A : B 进行 25 分钟, 最后 10 : 90A : B 进行 30 分钟; 溶剂 A-水, 溶剂 B-乙腈 / 二噁烷 (1 : 2)), 冻干, 得到白色固体 8.2mg (32%) 标题化合物。MS m/z-1015.1 (M+H₂O-H), UV ε_{(λ=305nm)}} = 32800M⁻¹cm⁻¹。

[0652] 1-甲基-5-(1-甲基-2-(1-甲基-5-(1-甲基-5-(2-(吡啶-2-基二硫烷基)乙基氨基甲酰基)-1H-吡咯-3-基氨基甲酰基)-1H-吡咯-3-基氨基甲酰基)-1H-咪唑-4-基氨基甲酰基)-1H-吡咯-3-基氨基甲酸叔丁酯 (229)

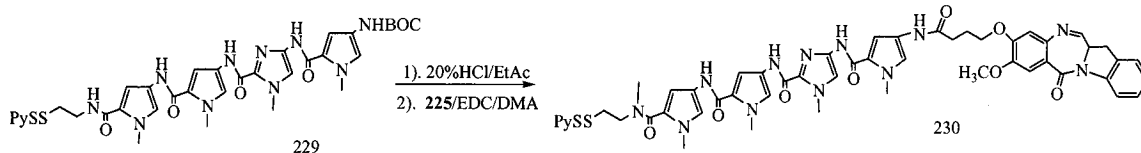
[0653]



[0654] 将 4-(4-(4-(4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-咪唑-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-羧酸 (102mg, 0.17mmol)、2-(吡啶-2-基二硫烷基)乙胺盐酸盐 (40mg, 0.18mmol)、DIPEA (30 μ l, 0.17mmol) 和 EDC (200mg, 1.04mmol) 在 2ml DMA 中的溶液在 Ar 下搅拌 24 小时, 蒸发, 经由用 THF/DCM (1 : 5 至 1 : 4) 洗脱的 SiO₂ 色谱法纯化, 得到 90mg (68%) 标题化合物。¹HNMR (DMSO) 10.93 (s, 1H), 10.19 (s, 1H), 10.06 (s, 1H), 9.03 (s, 1H), 8.81 (m, 1H), 8.29 (m, 1H), 8.03 (m, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.18 (m, 1H), 6.87 (s, 1H), 3.96 (s, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.58 (m, 2H), 2.48 (m, 2H), 1.45 (s, 9H); MS m/z+798.0 (M+Na), 776.0 (M+H)。

[0655] 4-(4-(4-(7-甲氧基-2,3-苯并[e]-1-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂萘-8-基氧基)丁酰氨基)-1-甲基-1H-吡咯-2-甲酰氨基)-1-甲基-N-(1-甲基-5-(1-甲基-5-(甲基(2-(吡啶-2-基二硫烷基)乙基)氨基甲酰基)-1H-吡咯-3-基氨基甲酰基)-1H-吡咯-3-基)-1H-咪唑-2-甲酰胺

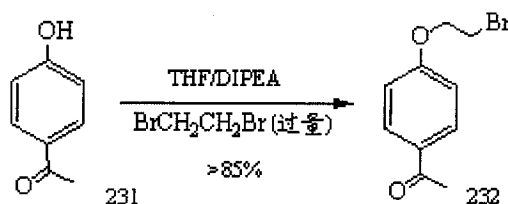
[0656]



[0657] 将 1-甲基-5-(1-甲基-2-(1-甲基-5-(1-甲基-5-(2-(吡啶-2-基二硫烷基)乙基氨基甲酰基)-1H-吡咯-3-基氨基甲酰基)-1H-吡咯-3-基氨基甲酰基)-1H-咪唑-4-基氨基甲酰基)-1H-吡咯-3-基氨基甲酸叔丁酯 (229) (30mg, 0.038mmol) 在 2ml 二噁烷和 0.5ml HCl(浓) 中搅拌 15 分钟, 用乙醇/甲苯 (6ml, 1:1) 稀释, 蒸发, 与乙醇/甲苯 (4×10mL) 共蒸发, 用 EtOH/DCM/己烷结晶, 真空干燥, 得到 19.5mg 固体。固体化合物不经进一步纯化直接使用。向该固体加入 4-(7-甲氧基-2,3-苯并[e]-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂萘-8-基氧基)丁酸 (10mg, 0.026mmol)、EDC(102mg, 0.52mmol)、DIPEA(5μl, 0.028mmol) 和 2ml DMA。将混合物搅拌过夜, 蒸发, 用 DCM 稀释, 用 1MNaH₂PO₄/NaCl(浓) (pH4.0) 洗涤, 经 MgSO₄干燥, 过滤, 蒸发, 经由 HPLC 制备型 C-18 柱纯化 (Φ10mm×200mm 柱, 流速 9mL/min, 梯度溶剂系统如下运行: 75:25 溶剂 A:B 进行 0-5 分钟的时间, 接着 40:60A:B 进行 15 分钟, 然后 20:80A:B 进行 25 分钟, 最后 10:90A:B 进行 30 分钟; 溶剂 A-水, 溶剂 B-乙腈/二噁烷 (1:2)), 冻干, 得到白色固体 7.5mg (27%) 标题化合物。MS m/z-1050.0 (M+H₂O-H), UV ε_(λ=305nm) = 32855M⁻¹cm⁻¹。

[0658] 1-(4-(2-溴乙氧基)苯基)乙酮

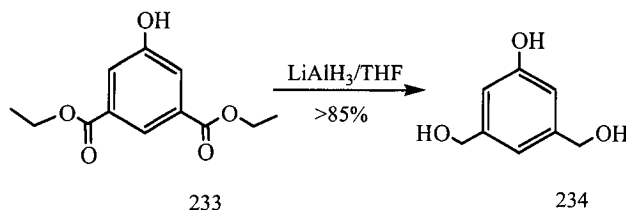
[0659]



[0660] 将 1-(4-羟基苯基)乙酮 (8.2g, 60.2mmol)、碳酸钾 (15.2g, 110.1mmol) 和 KI (1.0g, 6.0mmol) 在 100DMF 中溶液搅拌 5 分钟, 然后加入 1,2-二溴乙烷 (60ml, 696.2mmol)。将混合物搅拌过夜, 蒸发, 用 EtAc/己烷 (1:1) 稀释, 用 0.1M HCl/NaCl(浓) 洗涤, 经 MgSO₄干燥, 过滤, 蒸发, 经由用 EtAc/己烷 (1:3 至 2:3) 洗脱的 SiO₂ 色谱法纯化, 得到 12.41g (85.2%) 标题化合物。¹H NMR(CDCl₃) 7.87(ddd, 2H, J = 2.8, 4.9, 9.7Hz), 6.88(ddd, 2H, J = 2.8, 4.9, 9.6Hz), 4.29(t, 2H, J = 6.2Hz), 3.59(t, 2H, J = 6.2Hz); ¹³C NMR 196.88, 162.11, 131.15, 130.54, 113.80, 68.06, 29.50, 26.62; MS m/z+264.80 (M+Na), 266.80 (M+2+Na)。

[0661] (5-羟基-1,3-亚苯基) 二甲醇

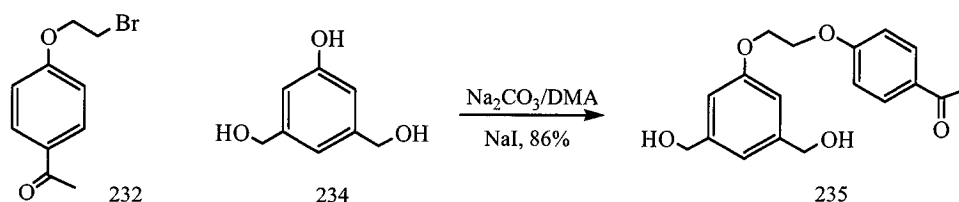
[0662]



[0663] 在 0°C 和 Ar 下、于 15 分钟内向 100ml 2.0M LiAlH₄ 在 THF 中的溶液加入 5-羟基异苯二甲酸二甲酯 (12.3g, 58.5mmol) 在 120ml THF 中的溶液。将混合物在 0°C 搅拌 30 分钟, 然后在 RT 搅拌过夜。在 0°C、用 20ml 甲醇淬灭混合物, 加入 H₃PO₄ 将混合物调至 pH5.0, 滤过硅藻土, 蒸发, 用乙醚/己烷结晶, 得到 76.6 (85%) 标题化合物。¹H NMR (DMSO) 6.68 (s, 1H), 6.61 (s, 2H), 4.69 (s, 4H); MS m/z+177.0 (M+Na)。

[0664] 1-(4-(2-(3,5-二(羟基甲基)苯氧基)乙氧基)苯基)乙酮 (235)

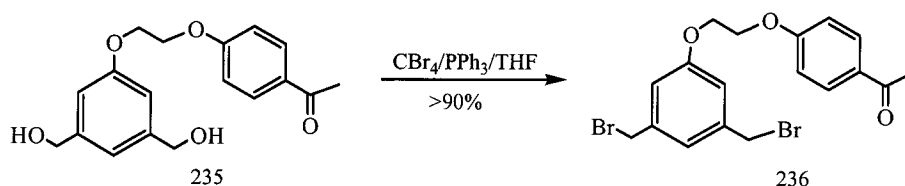
[0665]



[0666] 向搅拌的 (5-羟基-1,3-亚苯基) 二甲醇 (3.0, 20.0mmol)、碳酸钠 (2.5g, 29.0mmol) 和碘化钠 (0.45g, 2.9mmol) 在 60ml DMA 中的溶液加入 1-(4-(2-溴乙氧基)苯基)乙酮 (5.0, 20.57mmol)。将混合物搅拌过夜, 蒸发, 经由用 EtAc/己烷 (4:1 至 5:1) 洗脱的 SiO₂ 色谱法纯化, 得到 5.41g (86%) 标题化合物。¹H NMR (CD₃OD) 7.99 (ddd, 2H, J = 2.8, 4.8, 9.8Hz), 7.07 (ddd, 2H, J = 2.8, 4.7, 9.8Hz), 6.94 (s, 1H), 6.89 (s, 2H), 4.58 (s, 4H), 4.42 (dd, 2H, J = 2.2, 6.1Hz), 4.37 (m, 2H), 2.55 (s, 3H); ¹³C NMR 199.55, 164.66, 160.59, 144.72, 132.03, 131.74, 119.16, 115.64, 113.11, 68.36, 67.87, 65.20, 26.53; MS m/z+339.2 (M+Na)。

[0667] 1-(4-(2-(3,5-二(溴甲基)苯氧基)乙氧基)苯基)乙酮 (236)

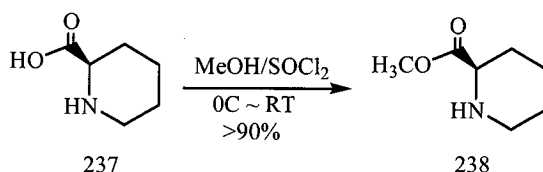
[0668]



[0669] 在 Ar 下将 1-(4-(2-(3,5-二(羟基甲基)苯氧基)乙氧基)苯基)乙酮 (0.216g, 0.68mmol)、四溴化碳 (0.50g, 1.50mmol) 和 PPh₃ (0.40g, 1.52mmol) 在 18ml THF 中搅拌过夜, 过滤。将溶液浓缩, 经由用 EtAc/己烷 (1:4) 洗脱的 SiO₂ 色谱法纯化, 用乙醚/己烷结晶, 得到 277mg (92%) 标题化合物。¹H NMR (CDCl₃) 7.94 (ddd, 2H, J = 2.7, 4.6, 9.6Hz), 7.02 (s, 1H), 6.98 (ddd, 2H, J = 2.7, 4.6, 9.6Hz), 6.91 (d, 2H, J = 1.2Hz), 4.62 (s, 4H), 4.35 (m, 4H), 2.55 (s, 3H); ¹³C NMR 197.05, 162.63, 159.14, 139.98, 130.96, 130.85, 122.57, 155.60, 114.52, 66.78, 66.73, 32.88, 26.57; MS m/z+462.9 (M+Na), 464.9 (M+2+Na)。

[0670] (R)-甲基哌啶-2-羧酸酯 (238)

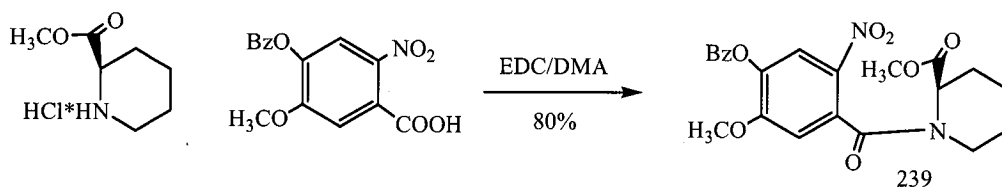
[0671]



[0672] 在 0°C 和 Ar 下、向 (R)-哌啶-2-羧酸 (5.00g, 38.73) 在 150ml 干燥甲醇中的溶液加入亚硫酰氯 (5.2ml, 71.28mmol)。将混合物在 0°C 搅拌 30 分钟, 然后在 RT 过夜, 蒸发, 用 EtOH/己烷结晶, 得到 4.96g (92%) 标题产物。¹H NMR (CD₃OD) 3.67 (s, 3H), 3.57 (m, 1H), 2.79 (m, 1H), 2.69 (m, 1H), 2.01 (m, 1H), 1.98 (m, 1H), 1.73 (m, 1H), 1.55-1.45 (m, 4H); ¹³C NMR 171.22, 62.50, 51.35, 45.35, 29.52, 28.41, 23.82; MSm/z+144.0 (M+H)。

[0673] (R)-甲基 1-(4-(苄氧基)-5-甲氧基-2-硝基苯甲酰基)哌啶-2-羧酸酯 (239)

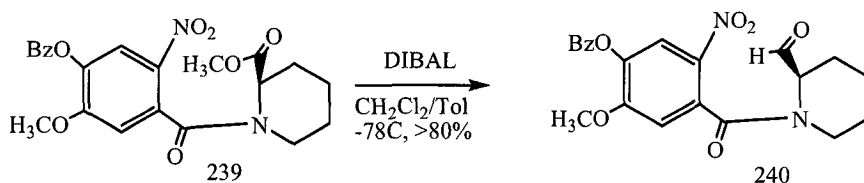
[0674]



[0675] 将 4-(苯甲酰基氧基)-5-甲氧基-2-硝基苯甲酸 (1.70g, 5.61mmol)、(R)-甲基哌啶-2-羧酸酯 (1.05g, 5.84mmol)、EDC (3.90g, 20.31mmol) 和 DIPEA (1.0ml, 5.75mmol) 在 20ml DMA 中搅拌过夜。蒸发混合物, 用 DCM 稀释, 分别用 1M NaH₂PO₄/NaCl (浓) 和 0.1M NaHCO₃/NaCl (浓) 洗涤。分离有机溶剂层, 经 MgSO₄ 干燥, 过滤, 浓缩, 经由用 EtAc/DCM (1 : 15) 洗脱的 SiO₂ 色谱法纯化, 得到 1.772g (74%) 标题产物。¹H NMR (CDCl₃) 7.69 (s, 1H), 7.40-7.38 (m, 2H), 7.35-7.27 (m, 3H), 6.76 (d, 1H), 5.15 (s, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.83 (s, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.18 (m, 2H), 1.70 (m, 2H), 1.47 (m, 4H); ¹³C NMR 171.89, 171.33, 155.10, 154.78, 148.32, 135.59, 129.05, 128.74, 127.80, 109.66, 109.58, 109.41, 71.63, 56.92, 52.70, 52.19, 45.70, 39.92, 27.29, 26.35, 21.63; MSm/z+451.2 (M+Na)。

[0676] (R)-1-(4-(苄氧基)-5-甲氧基-2-硝基苯甲酰基)哌啶-2-甲醛

[0677]

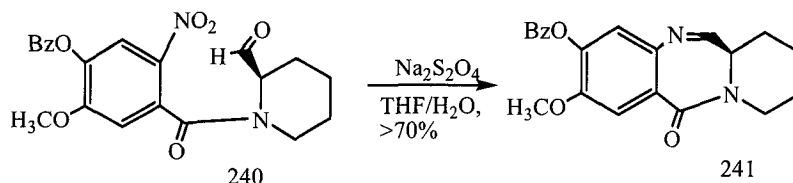


[0678] 在 -78°C 和 Ar 下、于 10 分钟内向 (R)-甲基 1-(4-(苯甲酰基氧基)-5-甲氧基-2-硝基苯甲酰基)哌啶-2-羧酸酯 (1.50g, 3.50mmol) 在 30ml 1 : 1 DCM/苯中的溶液加入 7.5ml 1.0M DIBAL 在甲苯中的溶液。将混合物在 -78°C 搅拌 1 小时, 用 0.5ml 甲醇淬灭反应。用 150ml EtAc 和 100ml 0.2M HCl 稀释混合物。分离有机溶剂层, 水层用 EtOAc (3×80ml) 萃取。合并有机相, 经 MgSO₄ 干燥, 过滤, 浓缩, 经由用 EtAc/己烷 (3 : 2) 洗脱的 SiO₂ 色谱法纯化, 得到 1.52g (90%) 标题产物。¹H NMR (CDCl₃) 9.60 (s, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.65-7.28 (m, 5H), 6.78 (m, 1H), 5.16 (s, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.22 (m, 1H), 3.01 (m, 1H),

2. 20 (m, 1H), 1. 84 (m, 1H), 1. 65-1. 40 (m, 4H); ^{13}C NMR 200. 24, 171. 31, 155. 13, 154. 78, 148. 41, 146. 20, 137. 57, 135. 47, 129. 03, 128. 73, 127. 31, 109. 83, 109. 41, 71. 61, 64. 50, 56. 96, 45. 98, 25. 25, 23. 42, 18. 70; MS m/z +421. 1 (M+Na)。

[0679] (R,Z)-3-(苄氧基)-2-甲氧基-7,8,9,10-四氢苯并[e]吡啶并[1,2-a][1,4]二氮杂草-12(6aH)-酮

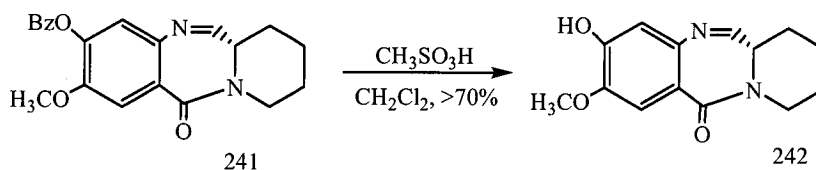
[0680]



[0681] 向 (R)-1-(4-(苄氧基)-5-甲氧基-2-硝基苯甲酰基)哌啶-2-甲醛 (1. 0g, 2. 51mmol) 在 25ml THF 和 15ml 水中的混合溶液加入 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ (3. 0g, 17. 25mmol)。将混合物搅拌 4 小时,用甲醇和二噁烷稀释,蒸发,与二噁烷 (3×60mL) 共蒸发至干。将该固体与 $\text{CH}_3\text{OH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (1 : 1, 80mL) 的混合物进行声处理,过滤,蒸发至固体。将所得固体溶于 CH_3OH (100mL) 中,加入 0. 4ml HCl (浓)。将混合物搅拌 1 小时,用 0. 1M NaHCO_3 中和至 pH3. 0。浓缩,用 CH_2Cl_2 (4×60mL) 萃取。合并有机层,用 1M $\text{NaHCO}_3/\text{NaCl}$ (浓) 洗涤,经 Na_2SO_4 干燥,过滤,蒸发,经由用 EtAc/ CH_2Cl_2 (1 : 3) 洗脱的 SiO_2 色谱法纯化,得到 615mg (70%) 标题产物。 ^1H NMR (CDCl_3), 7. 81 (d, 1H, $J = 5. 7\text{Hz}$), 7. 38 ~ 7. 23 (m, 6H), 6. 74 (s, 1H), 5. 12 (dd, 2H, $J = 2. 3, 21. 8\text{Hz}$), 4. 18 (m, 1H), 3. 88 (d, 3H), 3. 69 (m, 1H), 3. 15 (m, 1H), 1. 99 (m, 1H), 1. 87 (m, 1H), 1. 79 ~ 1. 65 (m, 4H); ^{13}C NMR 167. 76, 163. 31, 150. 72, 148. 48, 140. 09, 136. 46, 128. 87, 128. 28, 127. 53, 121. 77, 111. 01, 71. 02, 56. 41, 49. 84, 39. 93, 24. 76, 23. 21, 18. 62; MS m/z +373. 2 (M+Na), 391. 2 (M+Na+ H_2O), 405. 3 (M+Na+ CH_3OH)。

[0682] (R,Z)-3-羟基-2-甲氧基-7,8,9,10-四氢苯并[e]吡啶并[1,2-a][1,4]二氮杂草-12(6aH)-酮 (242)

[0683]

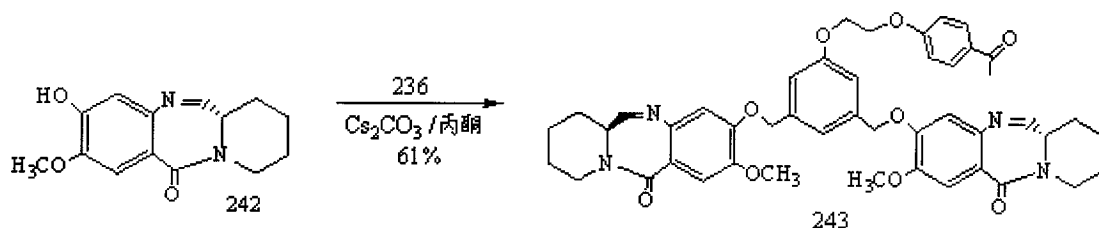


[0684] 在 0℃、向 (R,Z)-3-(苄氧基)-2-甲氧基-7,8,9,10-四氢苯并[e]吡啶并[1,2-a][1,4]二氮杂草-12(6aH)-酮 (241) (215mg, 0. 614mmol) 在 25ml CH_2Cl_2 中的溶液加入 25ml $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$ 。将混合物在 0℃ 搅拌 10 分钟,然后在 RT 搅拌 2 小时,用 CH_2Cl_2 稀释,用冷 1. 0M NaHCO_3 中和,用 CH_2Cl_2 萃取,经 Na_2SO_4 干燥,过滤,蒸发,经由用 $\text{CH}_3\text{OH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (1 : 15) 洗脱的 SiO_2 色谱法纯化,得到 122mg (70%) 标题产物。 ^1H NMR (CDCl_3), 7. 75 (d, 1H, $J = 5. 7\text{Hz}$), 7. 28 (s, 1H), 6. 70 (s, 1H), 4. 08 (m, 1H), 3. 83 (d, 3H), 3. 61 (m, 1H), 3. 08 (m, 1H), 1. 91 (m, 1H), 1. 81 (m, 1H), 1. 71 ~ 1. 55 (m, 4H); ^{13}C NMR 167. 81, 163. 46, 148. 53, 145. 71, 140. 84, 121. 23, 111. 89, 111. 39, 56. 45, 49. 83, 39. 96, 24. 71, 23. 22, 18. 60; MS m/z +283. 7 (M+Na)。

[0685] (5Z,5' z,6aR,6a' R)-3,3'-(5-(2-(4-乙酰基苯氧基)乙氧基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二(氧基)二(2-甲氧基-7,8,9,10-四氢苯并[e]吡啶并[1,2-a][1,

4] 二氮杂萘-12(6aH)-酮 (243)

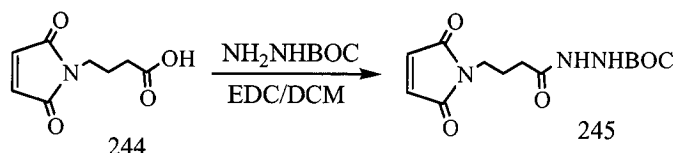
[0686]



[0687] 向搅拌的 (R,Z)-3-羟基-2-甲氧基-7,8,9,10-四氢苯并[e]吡啶并[1,2-a][1,4]二氮杂萘-12(6aH)-酮 (242) (42mg, 0.16mmol)、 Cs_2CO_3 (100mg, 0.307mmol)、KI (3.2mg, 0.018mmol) 在 5ml 丙酮中的溶液加入 1-(4-(2-(3,5-二(溴甲基)苯氧基)乙氧基)苯基)乙酮 (236) (36mg, 0.081mmol)。将混合物搅拌过夜,蒸发,经由 HPLC 制备型 C-18 柱纯化 (Φ 10mm \times 200mm 柱,流速 9mL/min,梯度溶剂系统如下运行:80 : 20 溶剂 A : B 进行 0-5 分钟的时间,接着 50 : 50A : B 进行 15 分钟,然后 30 : 70A : B 进行 25 分钟,最后 10 : 90A : B 进行 30 分钟;溶剂 A-水,溶剂 B-二噁烷) 冻干,得到白色固体 39.1mg (61%) 标题化合物。 ^1H NMR (DMF- d_7), 8.30 (m, 2H), 7.75 (d, 2H, $J = 5.7\text{Hz}$), 7.30 (s, 2H), 7.01 (m, 2H), 6.71 (s, 2H), 6.68 (s, 1H), 6.63 (s, 2H), 5.21 (s, 4H), 4.43 (m, 2H), 4.32 (m, 2H), 4.08 (m, 2H), 3.83 (s, 6H), 3.61 (m, 2H), 3.08 (m, 2H), 2.56 (s, 3H), 1.91 (m, 2H), 1.81 (m, 2H), 1.71 ~ 1.55 (m, 8H); MS m/z +823.2 (M+Na), 839.3 (M+K), 857.3 (M+K+ H_2O); MS m/z -799.2 (M-H)。

[0688] 2-(4-(2,5-二氧化代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丁酰基)胥羧酸叔丁酯 (245)

[0689]



[0690] 将 4-马来酰亚胺丁酸 (245mg, 1.33mmol)、胥羧酸叔丁酯 (201mg, 1.52mmol) 和 EDC (400mg, 2.08mmol) 在 5ml CH_2Cl_2 中的溶液在 Ar 下搅拌过夜,用 1M NaH_2PO_4 /NaCl (浓) 洗涤,经 MgSO_4 干燥,过滤,蒸发,经由用 MeOH/DCM (1 : 25) 洗脱的 SiO_2 色谱法纯化,得到 335mg (85%) 标题化合物。 ^1H NMR (CDCl_3), 7.83 (br, 1H), 6.65 (s, 2H), 6.50 (br, 1H), 3.58 (t, 2H, $J = 6.3\text{Hz}$), 2.15 (t, 2H, $J = 7.0\text{Hz}$), 1.90 (dt, 2H, $J = 6.8, 13.4\text{Hz}$), 1.40 (s, 9H); ^{13}C NMR 171.30, 155.61, 134.41, 82.00, 37.13, 31.38, 28.36, 24.95; MS m/z +320.2 (M+Na)。

[0691] 4-(2,5-二氧化代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丁酰胥三氟乙酸盐 (246)

[0692]

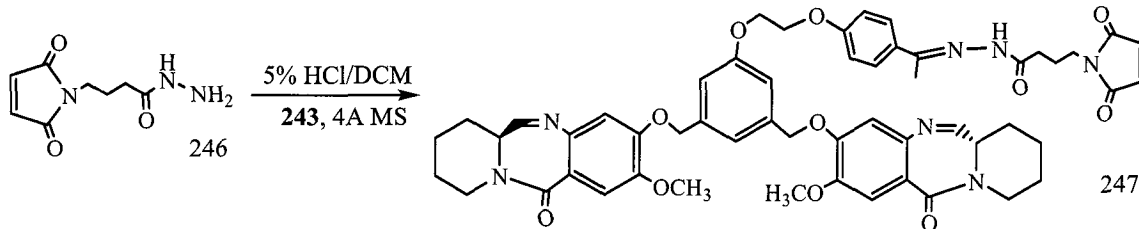


[0693] 向 2-(4-(2,5-二氧化代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丁酰基)-胥羧酸叔丁酯 (245) (200mg, 0.673mmol) 在 8ml DCM 中的溶液加入 2ml TFA。将混合物搅拌 45 分钟,用乙醇/甲苯 (8ml, 1 : 1) 稀释,蒸发,与乙醇/甲苯 (3 \times 10mL) 共蒸发,用乙醇/EtAc/己烷结晶,过滤,在真空下干燥,得到 188mg (90%) 标题化合物。 ^1H NMR (CD_3OD) 6.72 (s, 2H), 5.39 (s,

0.6H), 3.47(t, 2H, J = 6.6Hz), 2.20(m, 2H), 1.85(m, 2H); ^{13}C NMR 172.72, 135.56, 54.93, 39.20, 37.99, 25.20; MS m/z+197.9 (M+H)。

[0694] (E)-N'-(1-(4-(2-(3,5-二((S,Z)-2-甲氧基-12-氧代-6a,7,8,9,10,12-六氢苯并[e]吡啶并[1,2-a][1,4]二氮杂萘-3-基氧基)甲基)苯氧基)乙氧基)苯基)亚乙基)-4-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丁酰肼 (247)

[0695]



[0696] 将 4-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丁酰肼三氟乙酸盐 (246) (3mg, 0.0096mmol), (5Z,5'Z,6aR,6a'R)-3,3'-(5-(2-(4-乙酰基苯氧基)乙氧基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二(氧基)二(2-甲氧基-7,8,9,10-四氢苯并[e]吡啶并[1,2-a][1,4]二氮杂萘-12(6aH)-酮) (243) (7.5mg, 0.0093mmol) 和 50mg 4Å 分子筛在 2ml 干燥 5% Hac 的 DCM 溶液 (前一天用 4Å 分子筛干燥) 中搅拌 2 小时,用 0.5ml DIPEA 中和,蒸发,经由 HPLC 制备型 C-18 柱纯化 (Φ10mm×200mm 柱,流速 9mL/min,梯度溶剂系统如下运行:80:20 溶剂 A:B 进行 0-5 分钟的时间,接着 50:50A:B 进行 15 分钟,然后 30:70A:B 进行 25 分钟,最后 10:90A:B 进行 30 分钟;溶剂 A-水,溶剂 B-甲醇/二噁烷 (2:1)) 冻干,得到白色固体 5.6mg (61%) 标题化合物。MS m/z+1066.3 (M+2CH₃OH+Na)。

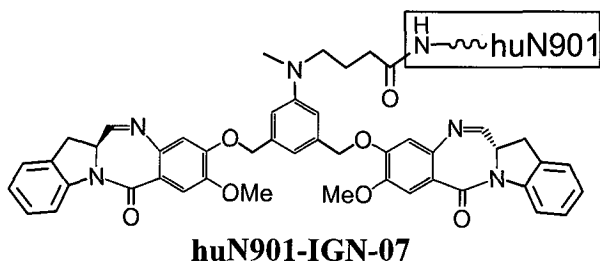
[0697] 实施例 13

[0698] huN901-IGN-07 轭合物的制备:

[0699] 选择与 CD56 抗原结合的 huN901 抗体以用于轭合 IGN 衍生物。在含有 0.05M N-(2-羟基乙基)-哌嗪-N'-2-乙磺酸 (HEPES) 和 2mM 乙二胺四乙酸 (EDTA) 的含水缓冲液 (pH8) 中的浓度为 3mg/mL 的 huN901 抗体溶液用 20 倍摩尔过量的 IGN-07NHS 酯在二甲基乙酰胺 (DMA) 中的溶液处理,以使 DMA 在缓冲液中的最终浓度为 10% v/v。将反应混合物在室温搅拌 120 分钟,然后装载到之前在含有 0.01M 柠檬酸钠、0.135M 氯化钠的含水缓冲液 (pH5.5) 中平衡的 Sphadex G25 凝胶过滤柱 (HiPrep™26/10 脱盐柱 GE#17-5087-01) 上。收集含有轭合抗体的级分,集合以得到产物。将集合的样品用同一洗脱缓冲液 (0.01M 柠檬酸钠,0.135M 氯化钠, pH5.5) 透析过夜以进一步纯化产物。

[0700] 用分光光度法、使用确定的 IGN-07 ($\epsilon_{330\text{nm}} = 15,231\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 和 $\epsilon_{280\text{nm}} = 26,864\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 和 huN901 抗体 ($\epsilon_{280\text{nm}} = 225,000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 的消光系数测定最终轭合物。将每抗体分子 3.1IGN 分子的平均值相连。

[0701]



[0702] IGN-10(化合物 51)储备溶液的制备:

[0703] 在二甲基乙酰胺 (DMA) 中, 基于 975.14g/ 摩尔的分子量, 将 IGN-10 的溶液新鲜制备成 0.004M 储备液。用分光光度法、使用在 330nm 确定的参考消光系数 ($\epsilon_{330\text{nm}} = 15,500\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 测定储备溶液。

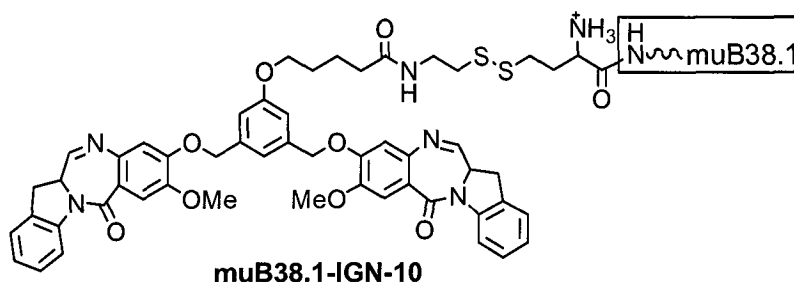
[0704] 实施例 14

[0705] muB38.1-IGN-10 轭合物的制备:

[0706] 选择与 EpCAM 抗原结合的 muB38.1 抗体以用于通过双硫键轭合 IGN 衍生物。在 37°C、在含有磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 的含水缓冲液 (pH7.4) 中浓度为 2.5mg/mL 的 muB38.1 抗体溶液用 120 倍摩尔过量的 1- 同型半胱氨酸硫代内酯处理 12 小时。然后装载到之前在 PBS (pH7.4) 中平衡的 G25 凝胶过滤柱 (HiPrep™26/10 脱盐柱 GE#17-5087-01)。收集含有抗体的级分, 集合, 使用 Ellman 测定法以测定其反应性巯基含量。然后, 修饰抗体用每个游离巯基 4 倍摩尔过量的 IGN-10 (在 DMA 中) 处理, 将其在室温反应 8 小时。将反应混合物装载到先前在含有 0.01M 柠檬酸钠、0.135M 氯化钠 (pH5.5) 的含水缓冲液中的 Sephadex G25 凝胶过滤柱 (HiPrep™26/10 脱盐柱 GE#17-5087-01)。收集含有轭合抗体的级分, 集合以得到产物。将集合的样品用同一洗脱缓冲液 (0.01M 柠檬酸钠, 0.135M 氯化钠, pH5.5) 透析过夜以进一步纯化产物。

[0707] 用分光光度法、使用确定的 IGN-10 ($\epsilon_{330\text{nm}} = 15,500\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 和 $\epsilon_{280\text{nm}} = 26,864\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 和 muB38.1 抗体 ($\epsilon_{280\text{nm}} = 215,525\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 的消光系数测定最终轭合物。将每抗体分子 0.7IGN 分子的平均值相连。

[0708]



[0709] 实施例 15

[0710] 用于测量与双链 DNA (dsDNA) 的 IGN 二聚体结合和烷基化的 DNA 探针:

[0711] 反应条件: 将在 100mM TRIS, 1mM EDTA, pH8 中的 dsDNA (25 μM 最终浓度) 与溶于乙腈 (最终乙腈浓度 < 2% 体积) 中的 3.7 摩尔当量的 IGN-01 (化合物 18), IGN-02 (化合物 19) 或 IGN-09 (化合物 15) 混合。将反应在孵育 15°C (低于 dsDNA 的 T_m), 在混合后不同的时间点时注射 10 μl 等分试样到反相 -HPLC。

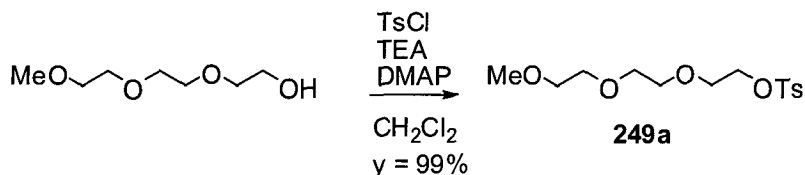
[0712] HPLC 条件: Waters Xbridge C82.1 \times 50mm 柱, 缓冲液 A: 在水中的 100mM 六氟异丙

醇、16.3mM 三乙胺, 缓冲液 B: 甲醇; 98% A → 100% B 进行 32 分钟, 0.25ml/min 流速, 60°C 柱热, 260nm 检测。探针 DNA 峰和所得 IGN/DNA 加成物峰的曲线下面积 (AUC) 用于确定在孵育的每个时间点的交联%。

[0713] DNA 退火: 使用 Peltier 热循环器 (PTC-200, MJ Research) 将单链 DNA (Invitrogen) 退火到 dsDNA 中。将在 100mM TRIS, 1mM EDTA (pH8) 中的 1mM DNA 加热至 80°C, 然后在 15 度步骤中于 90 分钟内逐渐冷却至 4°C。将所得 dsDNA 保持在 4°C, 直至用于测定。在对照实验中, IGN-01、IGN-02 和 IGN-09 未与单链 DNA (ssDNA) 形成共价加成物。

[0714] 实施例 16

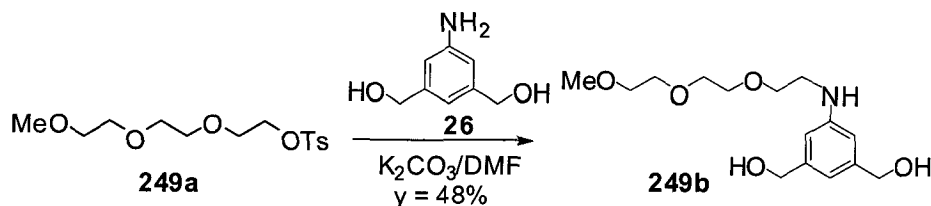
[0715]



[0716] 4-甲基苯磺酸 2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)乙酯:

[0717] 在室温、向搅拌的 2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)乙醇 (1.64g, 10mmol) 在无水二氯甲烷 (30mL) 中的溶液相继加入三乙胺 (2.53g, 25mmol)、甲苯磺酰氯 (3.81g, 20mmol) 和 DMAP (0.061g, 0.5mmol)。将混合物继续搅拌过夜, 通过用乙酸乙酯稀释来进行处理, 过滤除去三乙胺盐酸盐固体。将该固体用乙酸乙酯洗涤, 蒸发滤液。残余物用乙酸乙酯稀释, 过滤, 除去另外的沉淀。蒸发滤液, 得到为液体状的粗产物。通过硅胶色谱法 (二氯甲烷 / 甲醇) 纯化, 得到为油状的化合物 249a (3.16g, 收率 = 99%)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃): δ 7.81 (d, J = 8.0Hz, 2H), 7.35 (d, J = 8.0Hz, 2H), 4.17 (t, J = 3.2Hz, 2H), 3.70 (t, J = 4.8Hz, 2H), 3.64-3.60 (m, 6H), 3.54 (t, J = 4.8Hz, 2H), 3.38 (s, 3H), 2.46 (s, 3H); ¹³C NMR (400Hz, CDCl₃): δ 144.7, 133.0, 129.8, 127.9, 71.9, 70.7, 70.52, 70.50, 69.2, 68.6, 59.0, 21.6; MS (m/z): 实测值 341.1 (M+Na)⁺。

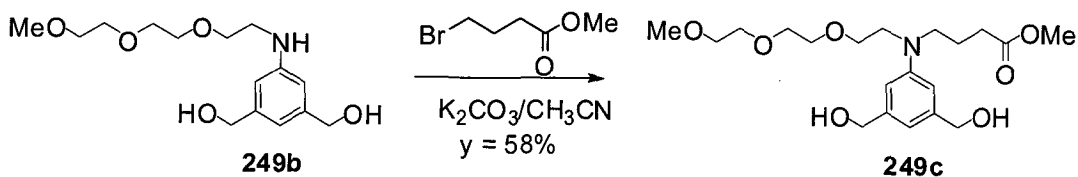
[0718]



[0719] (5-(2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)乙基氨基)-1,3-亚苯基)二甲醇:

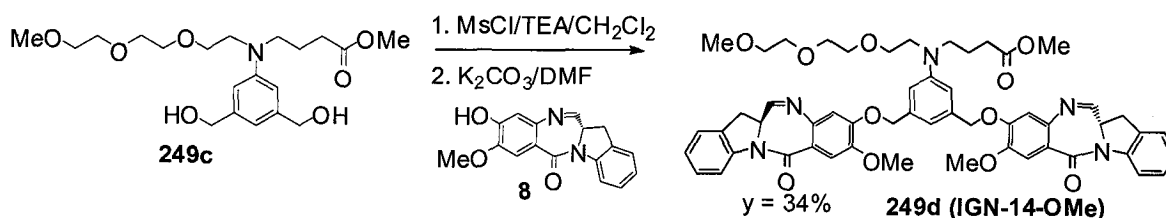
[0720] 向甲苯磺酸酯 249a (1.85g, 5.81mmol) 和苯胺化合物 26 (1.78g, 11.6mmol) 在无水 DMF (9mL) 中的混合物加入无水碳酸钾 (1.61g, 11.6mmol)。将混合物加热至 85°C, 在此温度下搅拌过夜。将溶液冷却至室温, 用二氯甲烷稀释。将其滤过硅藻土, 用二氯甲烷洗涤固体。蒸发滤液, 用二氯甲烷稀释残余物, 再次过滤, 以除去另外的固体。蒸发滤液, 通过硅胶色谱法 (二氯甲烷 / 甲醇) 纯化残余物, 得到为浅黄色油的化合物 249b (835mg, 收率 = 48%)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃): δ 6.60 (s, 1H), 6.47 (s, 2H), 4.48 (s, 4H), 4.31 (bs, 1H), 3.66-3.59 (m, 8H), 3.55-3.52 (m, 2H), 3.36 (s, 3H), 3.24 (t, J = 4.8Hz, 2H); ¹³C NMR (400Hz, CDCl₃): δ 148.5, 142.4, 114.6, 110.7, 71.8, 70.4, 70.3, 70.1, 69.4, 64.9, 58.9, 43.5; MS (m/z): 实测值 322.2 (M+Na)⁺。

[0721]

[0722] 化合物 249c (IGN-14连接体)：

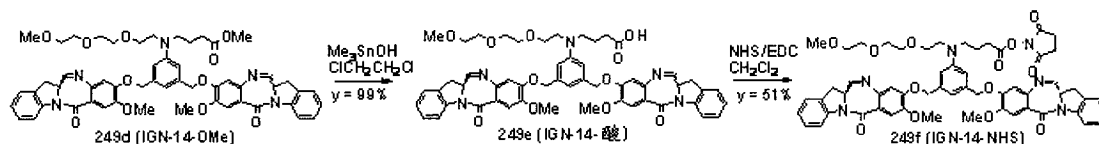
[0723] 向化合物 249b (319mg, 1.07mmol) 和 4-溴丁酸甲酯 (248mg, 1.37mmol) 在无水乙腈 (5mL) 中的溶液加入无水碳酸钾 (177mg, 1.28mmol)。搅拌混合物, 在回流下加热 (86°C 油浴) 过夜。将其冷却至室温, 用二氯甲烷稀释。将混合物滤过硅藻土, 蒸发滤液。通过硅胶色谱法 (二氯甲烷 / 甲醇) 纯化残余物, 得到为无色油的化合物 249c (IGN-14 连接体) (246mg, 收率 = 58%)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃) : δ 6.69 (s, 2H), 6.66 (s, 1H), 4.64 (s, 4H), 3.71 (s, 3H), 3.64-3.62 (m, 8H), 3.57-3.54 (m, 4H), 3.40-3.38 (m, 5H), 2.38 (t, J = 7.2Hz, 2H), 1.93 (p, J = 7.2Hz, 2H); MS (m/z) : 实测值 422.3 (M+Na)⁺。

[0724]

[0725] 化合物 249d (IGN-14-OMe)：

[0726] 向搅拌的化合物 249c (120mg, 0.3mmol) 在无水二氯甲烷 (3mL) 中的溶液加入三乙胺 (146 μl, 1.05mmol)。将混合物冷却至 -10°C, 于 15 分钟内缓慢加入甲磺酰氯 (70 μl, 0.9mmol)。将溶液在 -10°C 至 -5°C 之间继续搅拌 60 分钟, 通过加入冰 / 水淬灭反应。将其用乙酸乙酯稀释, 用冷水洗涤。有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤, 蒸发, 高真空处理得到为无色油的甲磺酸酯。将甲磺酸酯转移到具有乙酸乙酯的 10mL 圆底烧瓶, 蒸发, 然后高真空处理。加入化合物 8 (221mg, 0.75mmol), 然后加入无水 DMF (2mL) 和无水碳酸钾 (207mg, 1.5mmol)。将混合物在室温搅拌过夜。将其用二氯甲烷稀释, 用盐水洗涤。有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤, 蒸发。通过制备型反相 HPLC (C18 柱, 用 CH₃CN/H₂O 洗脱) 纯化残余物, 得到为浅黄色固体的化合物 249d (IGN-14-OMe) (98mg, 收率 = 34%)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃) : δ 8.29 (d, J = 8.0Hz, 2H), 7.86 (d, J = 4.4Hz, 2H), 7.58 (s, 2H), 7.31-7.26 (m, 4H), 7.12 (t, J = 8.0Hz, 2H), 6.88 (s, 2H), 6.83 (s, 1H), 6.76 (s, 2H), 5.18 (dd, J₁ = 23.2Hz, J₂ = 12.4Hz, 4H), 4.49 (dt, J₁ = 10.8Hz, J₂ = 4.4Hz, 2H), 3.99 (s, 6H), 3.73-3.52 (m, 19H), 3.40-3.37 (m, 5H), 2.35 (t, J = 7.2Hz, 2H), 1.90 (p, J = 7.2Hz, 2H); ¹³C NMR (400Hz, CDCl₃) : δ 173.7, 164.9, 163.2, 151.1, 148.5, 148.4, 142.1, 140.2, 137.8, 129.7, 128.2, 124.9, 120.7, 117.0, 113.8, 112.0, 111.4, 110.4, 72.0, 71.3, 70.7, 70.6, 68.6, 59.1, 56.3, 55.0, 51.7, 50.7, 32.7, 31.3, 22.4; MS (m/z) : 实测值 974.6 (M+Na)⁺, 992.7 (M+H₂O+Na)⁺, 1010.7 (M+2H₂O+Na)⁺, 950.3 (M-H)⁻, 1022.3 (M+4H₂O-H)⁻。

[0727]

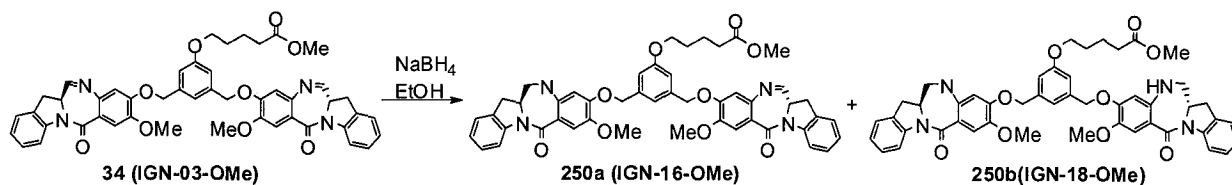


[0728] 化合物 249f (IGN-14-NHS):

[0729] 向化合物 249d (105mg, 0.11mmol) 在无水 1,2-二氯乙烷 (2mL) 中的溶液加入三甲基氢氧化锡 (299mg, 1.65mmol)。将混合物加热至 80°C, 搅拌过夜。将其冷却至室温, 用二氯甲烷稀释, 用饱和氯化钠和 5% 盐酸的混合溶液 (~1mL) 洗涤, 然后用盐水洗涤。有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤, 蒸发。将残余物通过短硅胶柱, 用二氯甲烷/甲醇洗脱, 除去额外的三甲基氢氧化锡。蒸发产物级分, 高真空处理, 得到为黄色固体的酸 249e (102mg, 收率=99%)。MS(m/z): 实测值 936.1 (M-H)⁻, 960.3 (M+Na)⁺。然后, 将化合物 249e 溶于无水二氯甲烷 (1mL) 中。随后加入 N-羟基琥珀酰亚胺 (NHS, 37.5mg, 0.326mmol) 和 N-(3-二甲氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐 (EDC, 62.5mg, 0.326mmol)。将混合物在室温搅拌过夜, 用二氯甲烷稀释, 用盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥。将其过滤, 蒸发, 通过制备型反相 HPLC (C18 柱, 用乙腈/水洗脱) 纯化残余物。将产物级分合并, 用二氯甲烷萃取。有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤, 蒸发, 高真空处理, 得到为浅黄色固体的化合物 249f (IGN-14-NHS) (57.8mg, 收率=51%)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃): δ 8.28 (d, J = 7.6Hz, 2H), 7.86 (d, J = 4.4Hz, 2H), 7.58 (s, 2H), 7.31-7.27 (m, 4H), 7.12 (t, J = 7.6Hz, 2H), 6.87 (s, 2H), 6.81 (s, 1H), 6.74 (s, 2H), 5.23 (dd, J₁ = 26.4Hz, J₂ = 12.4Hz, 4H), 4.49 (dt, J₁ = 10.8Hz, J₂ = 4.4Hz, 2H), 4.00 (s, 6H), 3.73-3.47 (m, 18H), 3.37 (s, 3H), 2.79-2.74 (m, 4H), 2.59 (t, J = 7.2Hz, 2H), 1.97 (p, J = 7.2Hz, 2H); MS(m/z): 实测值 1057.4 (M+Na)⁺。

[0730] 实施例 17

[0731]

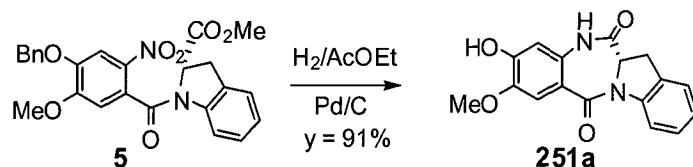


[0732] 化合物 250a (IGN-16-OMe) 和 250b (IGN-18-OMe):

[0733] 在 0°C、向搅拌的化合物 34 (111mg, 0.135mmol) 在无水乙醇 (1.0mL) 和无水二氯甲烷 (0.5mL) 中的溶液加入硼氢化钠 (1.0mg, 0.027mmol)。30 分钟后, 移除冰/水浴, 将反应混合物继续在室温搅拌 3 小时。通过加入饱和氯化铵淬灭反应, 用二氯甲烷稀释。分离混合物, 用盐水洗涤有机层, 经无水硫酸钠干燥, 过滤。在减压下除去溶剂, 通过制备型反相 HPLC (C18 柱, 用乙腈/水洗脱) 纯化残余物, 得到为白色固体的化合物 250a (IGN-16-OMe, 6.6mg) 和 250b (8.0mg)。250a: MS(m/z), 实测值 845.3 (M+Na)⁺, 863.3 (M+H₂O+Na)⁺。250b: ¹H NMR (400Hz, CDCl₃), δ 8.34 (d, J = 8.0Hz, 2H), 7.49 (s, 2H), 7.27-7.03 (m, 6H), 6.89-6.87 (m, 3H), 6.05 (s, 2H), 4.96 (dd, J₁ = 20.8Hz, J₂ = 12.8Hz, 4H), 4.40-4.34 (m, 2H), 3.94-3.91 (m, 2H), 3.87 (s, 6H), 3.67 (s, 3H), 3.53-3.42 (m, 6H), 2.78 (dd, J₁ = 16.8Hz, J₂ = 4.0Hz, 2H), 2.38-2.37 (m, 2H), 1.79-1.77 (m, 4H); MS(m/z), 实测值 847.3 (M+Na)⁺。

[0734] 实施例 18

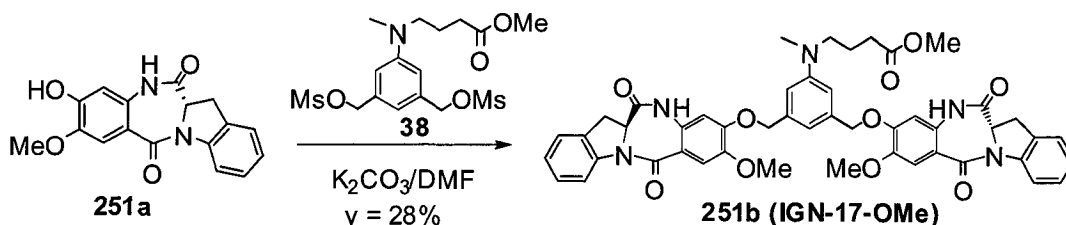
[0735]



[0736] 化合物 251a:

[0737] 向搅拌的化合物 5 (840mg, 1.82mmol) 在乙酸乙酯 (10mL) 中的溶液加入钯碳 (10%, 193mg, 0.182mmol)。将烧瓶短暂真空处理, 用气球中的 H_2 代替。将混合物继续氢化过夜, 滤过硅藻土。将固体用洗涤甲醇, 用 5% 盐酸 (0.1mL) 处理滤液。在减压下吹脱溶液, 通过硅胶色谱法 (二氯甲烷 / 甲醇) 纯化残余物, 得到为白色固体的化合物 251a (512mg, 收率 = 91%)。 1H NMR (400Hz, $CDCl_3$), δ 8.21 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 8.09 (bs, NH), 7.53 (s, 1H), 7.31-7.25 (m, 2H), 7.12 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.61 (s, 1H), 6.22 (bs, 1H), 4.73 (dd, $J_1 = 10.4$ Hz, $J_2 = 2.8$ Hz, 1H), 4.07 (dd, $J_1 = 16.4$ Hz, $J_2 = 2.4$ Hz, 1H), 3.98 (s, 3H), 3.34 (dd, $J_1 = 16.4$ Hz, $J_2 = 10.4$ Hz, 1H); MS (m/z), 实测值 333.1 ($M+Na$)⁺, 308.9 ($M-H$)⁻。

[0738]

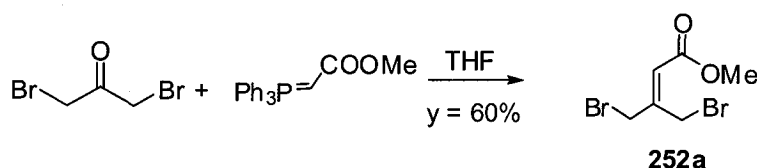


[0739] 化合物 251b (IGN-17-OMe):

[0740] 向化合物 38 (0.165mmol, 按照实施例 6 中所述的操作由 44mg 化合物 30 制备) 和 251a (128mg, 0.413mmol) 在无水 DMF (1.5mL) 中的溶液加入无水碳酸钾 (114mg, 0.825mmol)。将混合物在室温搅拌过夜, 用二氯甲烷稀释, 用盐水洗涤, 经无水硫酸钠和硫酸镁干燥。将其过滤, 蒸发, 通过制备型反相 HPLC (C18 柱, 用乙腈 / 水洗脱) 纯化残余物的一部分, 得到为白色固体的 1.9mg 化合物 251b。通过制备型薄层色谱法 (二氯甲烷 / 甲醇, 12 : 1) 纯化残余物的剩余部分, 得到 36.8mg 为白色固体的产物。分离总共 38.7mg 化合物 251b (IGN-17-OMe) (收率 = 28%)。 1H NMR (400Hz, $CDCl_3$): δ 8.61 (s, 2H), 8.15 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.48 (s, 2H), 7.25 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.20 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.07 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 6.73 (s, 1H), 6.69 (s, 2H), 6.58 (s, 2H), 5.02 (dd, $J_1 = 17.6$ Hz, $J_2 = 13.2$ Hz, 4H), 4.66 (dd, $J_1 = 10.4$ Hz, $J_2 = 2.8$ Hz, 2H), 4.00 (dd, $J_1 = 16.4$ Hz, $J_2 = 2.4$ Hz, 2H), 3.90 (s, 6H), 3.68 (s, 3H), 3.39-3.23 (m, 4H), 2.89 (s, 3H), 2.44-2.30 (m, 2H), 1.91-1.92 (m, 2H); ^{13}C NMR (400Hz, $CDCl_3$): δ 174.5, 169.1, 164.2, 151.6, 149.6, 146.9, 141.2, 137.3, 130.6, 129.4, 127.5, 124.9, 124.8, 119.6, 117.1, 114.2, 112.5, 110.9, 106.0, 71.4, 58.0, 56.2, 51.9, 51.7, 38.3, 31.1, 28.2, 21.8; MS (m/z), 实测值 874.3 ($M+Na$)⁺, 850.2 ($M-H$)⁻。

[0741] 实施例 19

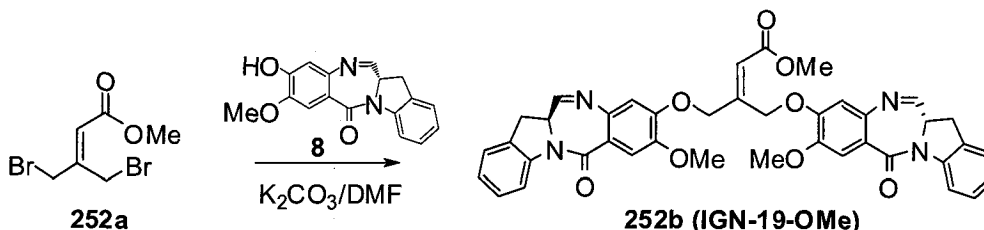
[0742]



[0743] 化合物 252a:

[0744] 将 1,3-二溴丙酮 (0.863g, 纯度 75%, 3.0mmol) 和 (三苯基亚磷基) 乙酸甲酯 (1.505g, 4.5mmol) 在无水 THF (15mL) 中的混合物加热回流 4.5 小时。将溶液冷却至室温, 蒸发。通过硅胶色谱法 (己烷 / 乙酸乙酯) 纯化残余物, 得到为无色液体的化合物 252a (485mg, 收率 = 60%)。¹HNMR (400Hz, CDCl₃): δ 6.06 (s, 1H), 4.76 (s, 2H), 4.19 (s, 2H), 3.79 (s, 3H); ¹³C NMR (400Hz, CDCl₃): δ 165.1, 150.4, 121.3, 51.8, 33.6, 25.5。

[0745]

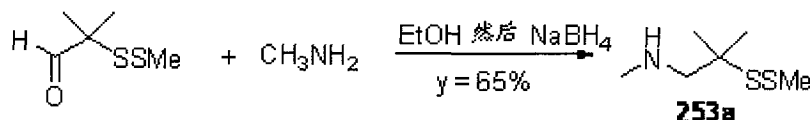


[0746] 化合物 252b (IGN-19-OMe):

[0747] 将化合物 252a (32mg, 0.118mmol)、单体 8 (87mg, 0.294mmol) 和无水碳酸钾 (49mg, 0.353mmol) 在无水 DMF (1mL) 中的混合物在室温搅拌过夜。用二氯甲烷稀释, 用盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥。过滤溶液, 蒸发, 通过硅胶色谱法 (二氯甲烷 / 甲醇) 纯化, 得到 105mg 化合物 252b, 其掺杂有为浅黄色泡沫的副产物。将产物的一部分通过制备型反相 HPLC (C18 柱, 用乙腈 / 水洗脱) 进一步纯化, 得到为白色固体的 10mg 化合物 252b (IGN-19-OMe)。MS (m/z): 实测值 721.2 (M+Na)⁺, 739.2 (M+H₂O+Na)⁺, 757.2 (M+2H₂O+Na)⁺, 697.1 (M-H)⁻, 769.1 (M+4H₂O-H)⁻。

[0748] 实施例 20

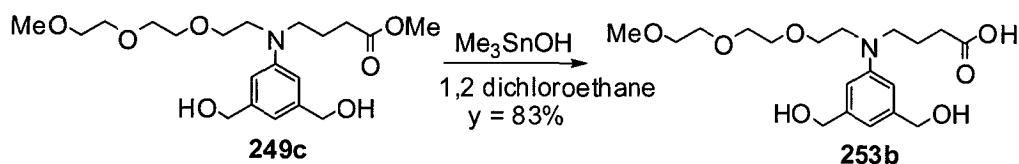
[0749]



[0750] 化合物 253a:

[0751] 向 2-(甲基二硫基)-异丁醛 (690mg, 4.59mmol) 在无水乙醇 (15mL) 中的溶液加入甲胺 (629 μl, 33% wt, 5.05mmol)。将混合物在室温搅拌 4 小时, 冷却至 0°C, 然后加入硼氢化钠 (174mg, 4.59mmol)。1 小时后, 用数滴冷 5% 盐酸淬灭反应, 然后用饱和碳酸氢钠碱化。将混合物用二氯甲烷稀释, 用盐水洗涤。有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤, 在减压下蒸发。通过硅胶色谱法 (在二氯甲烷 / 甲醇中的 0.2% 三乙胺) 纯化残余物, 得到为浅黄色液体的挥发性化合物 253a (491mg, 收率 = 65%)。¹HNMR (400Hz, CDCl₃): δ 2.61 (s, 2H), 2.45 (s, 3H), 2.39 (s, 3H), 1.32 (s, 6H), 1.20 (s, NH); ¹³C NMR (400Hz, CDCl₃): δ 61.2, 51.7, 37.2, 26.5, 25.3; MS (m/z): 实测值 166.0 (M+H)⁺。

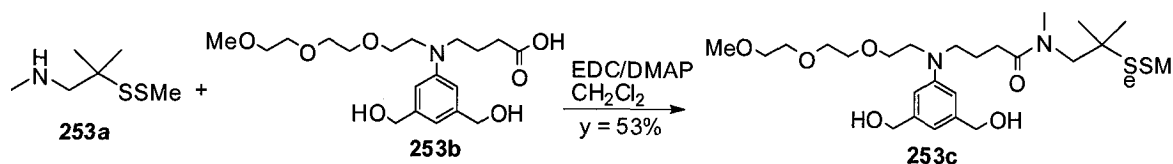
[0752]



[0753] 化合物 253b:

[0754] 将化合物 249c (117mg, 0.293mmol) 和三甲基氢氧化锡 (794mg, 4.39mmol) 在无水 1,2-二氯乙烷 (1.5mL) 中的混合物加热至 80℃, 搅拌过夜。将其冷却至室温, 用二氯甲烷稀释, 用饱和氯化钠和 5% 盐酸 (~1mL) 的混合溶液洗涤, 然后用盐水洗涤。有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤, 蒸发。通过硅胶色谱法 (二氯甲烷 / 甲醇) 纯化残余物, 得到为无色油的酸 253b (93.9mg, 收率 = 99%)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃): δ 6.62 (s, 2H), 6.57 (s, 1H), 4.50 (s, 4H), 3.63-3.54 (m, 8H), 3.53-3.46 (m, 4H), 3.36-3.31 (m, 5H), 2.29 (t, J = 6.8Hz, 2H), 1.83 (p, J = 6.8Hz, 2H); ¹³C NMR (400Hz, CDCl₃): δ 177.0, 148.2, 142.4, 113.8, 110.1, 71.9, 70.7, 70.6, 70.4, 68.8, 65.2, 59.0, 50.8, 50.7, 31.4, 22.3; MS (m/z): 实测值 384.2 (M-H)⁻, 408.4 (M+Na)⁺。

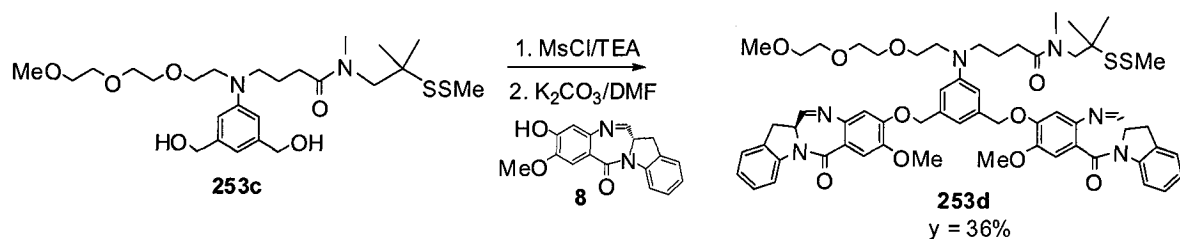
[0755]



[0756] 化合物 253c:

[0757] 向胺 253a (44.3mg, 0.268mmol) 和羧酸 253b (93.3, 0.244mmol) 在无水二氯甲烷 (1.5mL) 中的溶液加入 N-羟基琥珀酰亚胺 (NHS, 70.1mg, 0.365mmol) 和 DMAP (5.95mg, 0.049mmol)。将混合物在室温搅拌过夜, 用二氯甲烷稀释, 用饱和氯化铵和盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 蒸发。通过硅胶色谱法 (二氯甲烷 / 甲醇) 纯化残余物, 得到为无色油的化合物 253c (69.1mg, 收率 = 53%)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃): δ 6.71 (s, 2H), 6.64 (s, 1H), 4.57 (s, 4H), 3.63-3.59 (m, 8H+20H), 3.54-3.51 (m, 4H), 3.38-3.34 (m, 5H), 3.08 (s, 2.35H), 3.00 (s, 0.65H), 2.86 (bs, 2H), 2.43 (s, 3H), 2.34 (t, J = 6.8Hz, 2H), 1.95-1.88 (m, 2H), 1.36 (s, 1.3H), 1.31 (s, 4.7H); ¹³C NMR (400Hz, CDCl₃): δ 173.7, 148.5, 142.7, 113.2, 109.8, 72.0, 70.8, 70.7, 70.6, 68.9, 65.6, 59.1, 56.5, 53.0, 52.2, 51.0, 50.8, 38.8, 30.6, 26.6, 25.6, 22.3; MS (m/z): 实测值 555.5 (M+Na)⁺。

[0758]

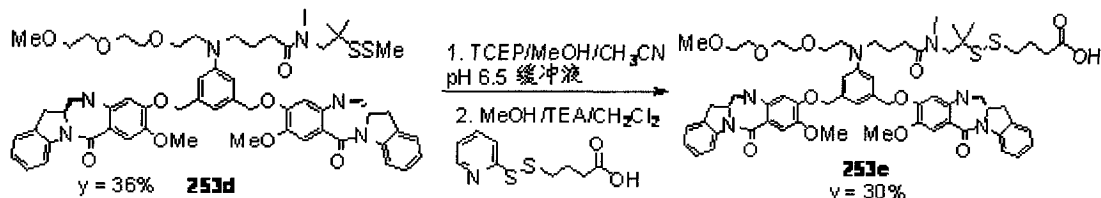


[0759] 化合物 253d:

[0760] 向搅拌的化合物 253c (69.1mg, 0.13mmol) 在无水二氯甲烷 (1.5mL) 中的溶液加入三乙胺 (63 μl, 0.454mmol)。将混合物冷却至 -10℃, 于 15 分钟内缓慢加入甲磺酰氯 (30 μl, 0.389mmol)。将溶液继续在 -10℃ 至 -5℃ 之间搅拌 60 分钟, 通过加入冰 / 水淬灭反应。用乙酸乙酯稀释, 用冷水洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤, 蒸发, 高真空处理, 得到为无色油的甲磺酸酯。将甲磺酸酯转移至含有乙酸乙酯的 10mL 圆底烧瓶, 蒸发, 高真空处理。加入化合物 8 (99mg, 0.338mmol), 然后加入无水 DMF (1mL) 和无水碳酸钾

(90mg, 0.65mmol)。将混合物在室温搅拌过夜。将其用二氯甲烷稀释,用盐水洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤,蒸发。通过硅胶色谱法(二氯甲烷/甲醇)纯化残余物,得到150mg 淡黄色泡沫,将其通过制备型反相 HPLC(C18 柱,用 CH₃CN/H₂O 洗脱)进一步纯化,得到为浅黄色固体的化合物 253d(50.7mg, 收率=36%)。MS(m/z): 实测值 1107.7(M+Na)⁺, 1125.7(M+H₂O+Na)⁺, 1143.7(M+2H₂O+Na)⁺, 1083.4(M-H)⁻, 1155.5(M+4H₂O-H)⁻。

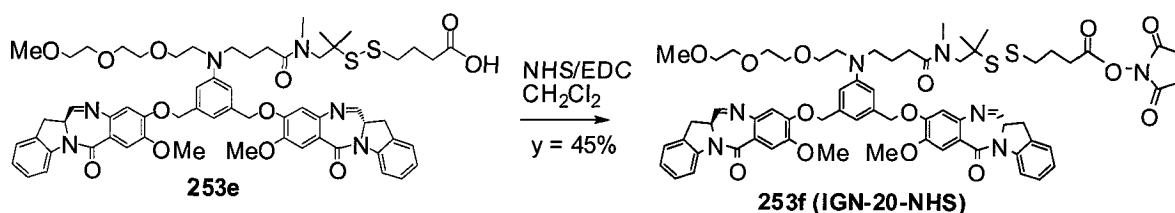
[0761]



[0762] 化合物 253e:

[0763] 向含有三(2-羧基乙基)膦盐酸盐(TCEP, 19.1mg, 0.067mmol)的小瓶加入数滴去离子水。逐滴加入饱和碳酸氢钠,直至通过 pH 试纸指示 pH 为约 7。然后用 pH6.5 磷酸盐缓冲液(0.4mL)稀释,得到新鲜 TCEP 溶液。向搅拌的化合物 253d(24.1mg, 0.022mmol)在甲醇(3mL)和乙腈(1mL)中的溶液加入 TCEP 溶液,在室温搅拌 1.5 小时。将其用二氯甲烷稀释,用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤,蒸发,得到为黄色固体的硫醇(21.9mg),其直接用于下一步(由于聚集,硫醇不能被纯化)。向硫醇(21.9mg, 0.021mmol)在无水二氯甲烷(0.1mL)和甲醇(0.4mL)中的溶液加入 4-(2-吡啶基二硫基)丁酸(24.2mg, 0.105mmol)和三乙胺(29 μl, 0.211mmol)。将混合物在室温搅拌 5 小时,通过饱和氯化铵淬灭反应。将其用二氯甲烷稀释,分离,用盐水洗涤有机层,经无水硫酸钠干燥,过滤,蒸发。通过制备型反相 HPLC(C18 柱,用乙腈/水洗脱)纯化残余物,得到为白色固体的化合物 253e(7.3mg, 收率=30%)。¹H NMR(400Hz, CDCl₃): δ 8.28(d, J = 7.6Hz, 2H), 7.89(bs, 2H), 7.60(bs, 2H), 7.31-7.26(m, 4H), 7.12(t, J = 7.6Hz, 2H), 6.91-6.78(m, 5H), 5.22-5.13(m, 4H), 4.54-4.49(m, 2H), 3.99(s, 6H), 3.68-3.41(m, 20H), 3.38(s, 3H), 3.07(s, 3H), 2.78-2.77(m, 2H), 2.47(bs, 2H), 2.35(bs, 2H), 2.01-1.95(m, 4H), 1.31(s, 6H); MS(m/z): 实测值 1179.7(M+Na)⁺, 1197.7(M+H₂O+Na)⁺, 1073.6(M+H₂O-H)⁻, 1191.5(M+2H₂O-H)⁻。

[0764]



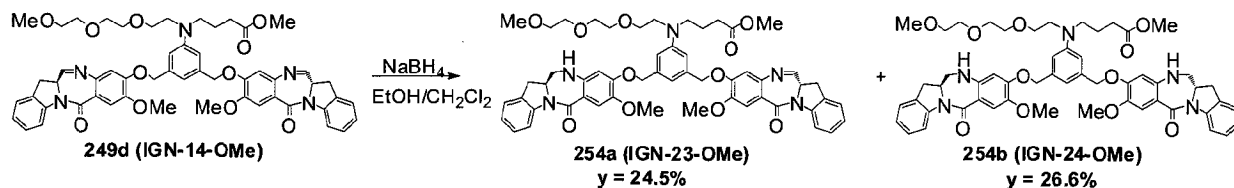
[0765] 化合物 253f:

[0766] 向化合物 253e(9.0mg, 0.00778mmol)在无水二氯甲烷(0.5mL)中的溶液相继加入 N-羟基琥珀酰亚胺(NHS, 2.68mg, 0.023mmol)和 N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC, 4.47mg, 0.023mmol)。将混合物在室温搅拌过夜,用二氯甲烷稀释,用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥。过滤,蒸发,通过制备型反相 HPLC(C18 柱,用乙腈/水洗脱)纯化残余物。将产物级分合并,用二氯甲烷萃取。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤,蒸发,高真空处理,得到为淡黄色泡沫的化合物 253f(IGN-20-NHS)(4.4mg, 收率=45%)。MS(m/z):

实测值 1276.7 (M+Na)⁺。

[0767] 实施例 21

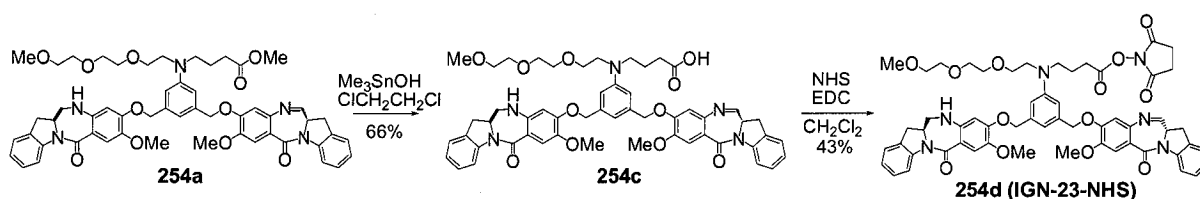
[0768]



[0769] 化合物 254a (IGN-23-OMe) 和 254b (IGN-24-OMe) :

[0770] 在 0℃、向搅拌的化合物 249d (91.8mg, 0.103mmol) 在无水乙醇 (1.0mL) 和无水二氯甲烷 (0.4mL) 中的溶液加入硼氢化钠 (0.4mg, 0.0106mmol)。30 分钟后, 移除冰/水浴, 将反应混合物继续在室温搅拌 3 小时。通过加入饱和氯化铵淬灭反应, 用二氯甲烷稀释。分离混合物, 用盐水洗涤有机层, 经无水硫酸钠干燥, 过滤。在减压下除去溶剂, 通过制备型反相 HPLC (C18 柱, 用乙腈/水洗脱) 纯化残余物, 得到为黄色固体的化合物 254a (IGN-23-OMe, 24.2mg, 收率 = 24.5%) 和 254b (IGN-24-OMe, 26.3mg, 收率 = 26.6%)。254a: ¹H NMR (400Hz, CDCl₃): δ 8.34 (d, J = 8.0Hz, 1H), 8.27 (d, J = 7.6Hz, 1H), 7.83 (d, J = 4.4Hz, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.29-7.02 (m, 6H), 6.87 (s, 1H), 6.75 (s, 1H), 6.70-6.66 (m, 2H), 6.10 (s, 1H), 5.21-5.02 (m, 4H), 4.49-4.39 (m, 2H), 3.99 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 3.64-3.41 (m, 19H), 3.39-3.34 (m, 4H), 2.78 (dd, J₁ = 16.4Hz, J₂ = 3.6Hz, 1H), 2.33 (t, J = 7.2Hz, 2H), 1.90-1.84 (m, 2H); ¹³C NMR (400Hz, CDCl₃): δ 173.8, 166.8, 164.0, 163.5, 152.3, 151.2, 148.7, 148.5, 143.0, 142.1, 140.7, 140.2, 138.5, 137.8, 129.8, 129.7, 128.3, 127.9, 125.0, 124.7, 123.9, 120.9, 117.5, 117.0, 114.6, 113.4, 113.2, 112.1, 111.6, 110.2, 110.1, 104.2, 72.1, 71.4, 71.2, 70.80, 70.76, 70.70, 68.7, 59.2, 57.3, 56.5, 56.4, 55.1, 54.8, 51.8, 50.9, 50.7, 33.3, 32.7, 31.3, 22.4; MS (m/z), 实测值 976.7 (M+Na)⁺, 994.6 (M+H₂O+Na)⁺; 254b: MS (m/z), 实测值 978.7 (M+Na)⁺。

[0771]

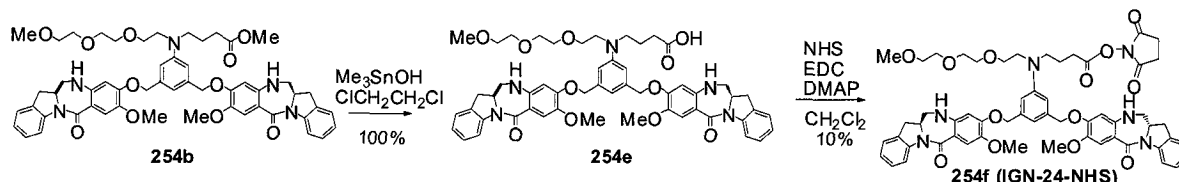


[0772] 化合物 254c 和 254d (IGN-23-NHS) :

[0773] 向化合物 254a (31.8mg, 0.033mmol) 在无水 1,2 二氯乙烷 (1mL) 中的溶液加入三甲基氢氧化锡 (90mg, 0.5mmol)。将混合物加热至 80℃, 搅拌过夜。将其冷却至室温, 用二氯甲烷稀释, 用饱和氯化钠和 5% 盐酸的混合溶液 (~1mL) 洗涤, 然后用盐水洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤, 蒸发。将残余物通过短硅胶柱, 用二氯甲烷/甲醇洗脱, 除去额外的三甲基氢氧化锡。将产物级分蒸发, 高真空处理, 得到为黄色固体的酸 254c (20.8mg, 收率 = 66%)。MS (m/z): 实测值 938.2 (M-H)⁻, 962.3 (M+Na)⁺。然后将化合物 254c (20.8mg, 0.022mmol) 溶于无水二氯甲烷 (1mL) 中。将反应烧瓶短暂真空化, 用氩气代替。随后加入 N-羟基琥珀酰亚胺 (NHS, 5.09mg, 0.044mmol) 和 N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚

胺盐酸盐 (EDC, 8.48mg, 0.044mmol)。将混合物在室温搅拌过夜,用二氯甲烷稀释,用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥。过滤,蒸发,通过制备型反相 HPLC (C18 柱,用乙腈 / 水洗脱) 纯化残余物。将产物级分合并,用二氯甲烷萃取。将有机层经无水硫酸钠干燥,过滤,蒸发,高真空处理,得到为浅黄色固体的化合物 254d (IGN-23-NHS) (9.8mg, 收率 = 43%)。MS (m/z) : 实测值 1059.6 (M+Na)⁺, 1077.6 (M+H₂O+Na)⁺。

[0774]

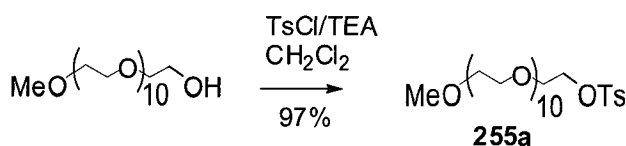


[0775] 化合物 254e 和 254f (IGN-24-NHS) :

[0776] 向化合物 254b (26.3mg, 0.028mmol) 在无水 1,2 二氯乙烷 (1mL) 中的溶液加入三甲基氢氧化锡 (74.6mg, 0.413mmol)。将混合物加热至 80℃, 搅拌过夜。将其冷却至室温, 用二氯甲烷稀释, 用饱和氯化钠和 5% 盐酸的混合溶液 (~1mL) 洗涤, 然后用盐水洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤, 蒸发。将残余物通过短硅胶柱, 用二氯甲烷 / 甲醇洗脱, 除去额外的三甲基氢氧化锡。将产物级分蒸发, 高真空处理, 得到为黄色固体的酸 254e (26mg, 收率 = 100%)。MS (m/z) : 实测值 940.5 (M-H)⁻, 964.6 (M+Na)⁺。然后将化合物 254e (26mg, 0.028mmol) 溶于无水二氯甲烷 (1mL) 中。随后加入 N-羟基琥珀酰亚胺 (NHS, 9.57mg, 0.083mmol), N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐 (EDC, 15.9mg, 0.083mmol) 和 DMAP (0.34mg, 0.0028mmol)。将混合物在室温搅拌过夜, 用二氯甲烷稀释, 用饱和氯化铵和盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥。过滤, 蒸发, 通过制备型反相 HPLC (C18 柱, 用乙腈 / 水洗脱) 纯化残余物。将产物级分合并, 用二氯甲烷萃取。将有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤, 蒸发, 高真空处理, 得到为浅黄色固体的化合物 254f (IGN-24-NHS) (3.0mg, 收率 = 10%)。MS (m/z) : 实测值 1061.7 (M+Na)⁺。注释 : 不应该加入 DMAP, 其可能是低收率的原因。

[0777] 实施例 22

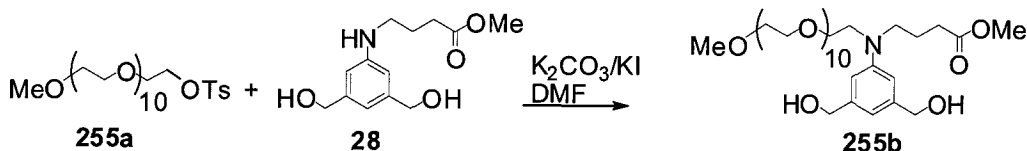
[0778]



[0779] 化合物 255a:

[0780] 在室温、向搅拌的 O-甲基-十一碳乙二醇 (500mg, 0.968mmol) 在无水二氯甲烷 (3mL) 中的溶液相继加入三乙胺 (270 μl, 1.94mmol)、甲苯磺酰氯 (277mg, 1.45mmol) 和 DMAP (5.91mg, 0.048mmol)。将混合物继续搅拌过夜, 通过用乙酸乙酯稀释来处理, 过夜除去三乙胺盐酸盐固体。用乙酸乙酯洗涤固体, 蒸发滤液。残余物用乙酸乙酯稀释, 过滤除去另外的沉淀。将滤液蒸发, 得到为液体的粗产物。将其通过硅胶色谱法 (二氯甲烷 / 甲醇) 纯化, 得到为浅黄色油的化合物 255a (630mg, 收率 = 97%)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃) : δ 7.81 (d, J = 8.0Hz, 2H), 7.35 (d, J = 8.0Hz, 2H), 4.17 (t, J = 4.8Hz, 2H), 3.72-3.54 (m, 42H), 3.39 (s, 3H), 2.46 (s, 3H); MS (m/z) : 实测值 693.6 (M+Na)⁺。

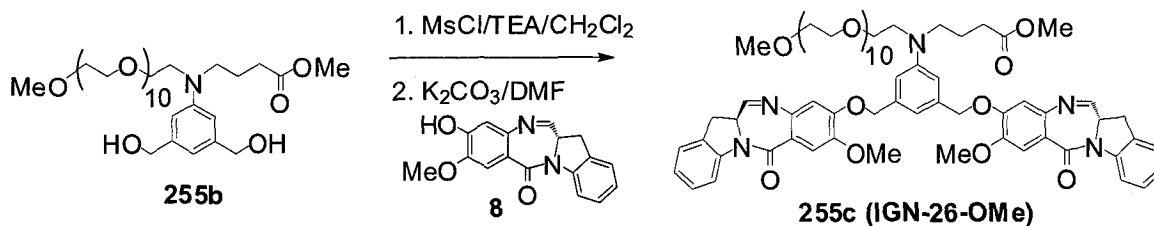
[0781]



[0782] 化合物 255b:

[0783] 向甲苯磺酸酯 255a (630mg, 0.939mmol) 和苯胺 28 (238mg, 0.939mmol) 在无水 DMF (3mL) 中的溶液加入无水碳酸钾 (195mg, 1.409mmol) 和碘化钾 (31.2mg, 0.188mmol)。将混合物加热至 85℃, 在此温度下搅拌过夜。将溶液冷却至室温, 用二氯甲烷稀释。将其滤过硅藻土, 用二氯甲烷洗涤固体。蒸发滤液, 用二氯甲烷稀释残余物, 再次过滤, 除去另外的固体。蒸发滤液, 通过硅胶色谱法 (己烷 / 在 THF 中的 10% 甲醇) 纯化残余物, 得到为无色油的化合物 255b (41.8mg, 收率 = 5.9%)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃): δ 6.66 (s, 2H), 6.65 (s, 1H), 4.60 (s, 4H), 3.69 (s, 3H), 3.66-3.58 (m, 42H), 3.56-3.53 (m, 2H), 3.39-3.36 (m, 5H), 2.52 (宽 s, 20H), 2.36 (t, J = 7.2Hz, 2H), 1.91 (p, J = 7.2Hz, 2H); ¹³C NMR (400Hz, CDCl₃): δ 173.9, 148.5, 142.8, 113.4, 109.9, 72.1, 70.8, 70.7, 68.9, 65.7, 59.2, 51.8, 50.9, 50.7, 31.3, 22.4; MS (m/z): 实测值 774.3 (M+Na)⁺。

[0784]

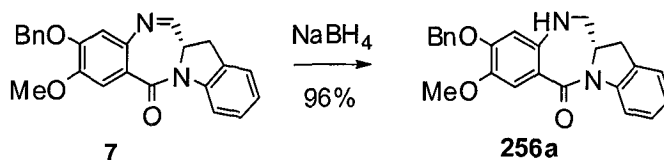


[0785] 化合物 255c (IGN-26-OMe):

[0786] 向搅拌的化合物 255b (41.8mg, 0.056mmol) 在无水二氯甲烷 (1mL) 中的溶液加入三乙胺 (27 μl, 0.196mmol)。将混合物冷却至 -10℃, 在 15 分钟内缓慢加入甲磺酰氯 (12.9 μl, 0.167mmol)。将溶液继续在 -10℃ 至 -5℃ 之间搅拌 60 分钟, 通过加入冰 / 水淬灭反应。将其用乙酸乙酯稀释, 用冷水洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤, 蒸发, 高真空处理, 得到为无色油的甲磺酸酯。MS (m/z): 实测值 930.3 (M+Na)⁺。将甲磺酸酯 (30mg, 0.033mmol) 转移至含有乙酸乙酯的 5mL 圆底烧瓶, 蒸发, 高真空处理。加入化合物 8 (29.2mg, 0.099mmol), 然后加入无水 DMF (0.5mL)、无水碳酸钾 (22.8mg, 0.165mmol) 和碘化钾 (5.5mg, 0.033mmol)。将混合物在室温搅拌过夜。将其用二氯甲烷稀释, 用盐水洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤, 蒸发。通过硅胶色谱法 (己烷 / 在 THF 中的 10% 甲醇) 纯化残余物, 得到 20.5mg 含有化合物 255c 的混合物。将其溶于无水二氯甲烷 (0.3mL) 中。随后在室温加入三乙胺 (4 μl, 0.03mmol), 甲苯磺酰氯 (3.8mg, 0.02mmol) 和 DMAP (0.2mg, 0.002mmol)。将混合物继续搅拌在室温过夜, 然后蒸发。通过硅胶色谱法 (二氯甲烷 / 甲醇) 纯化残余物, 得到 11mg 浅黄色泡沫。将其通过制备型反相 HPLC (C18 柱, 用 CH₃CN/H₂O 洗脱) 进一步纯化, 得到为无色泡沫的化合物 255c (IGN-26-OMe) (1.6mg, 收率 = 2.2%)。MS (m/z): 实测值 1326.5 (M+Na)⁺, 1344.6 (M+H₂O+Na)⁺, 1362.5 (M+2H₂O+Na)⁺。

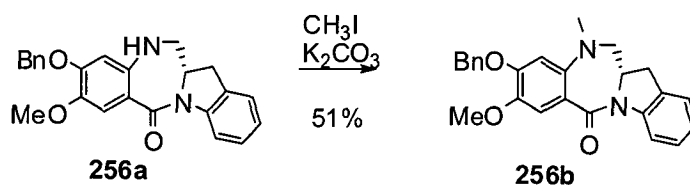
[0787] 实施例 23

[0788]

[0789] 化合物 256a:

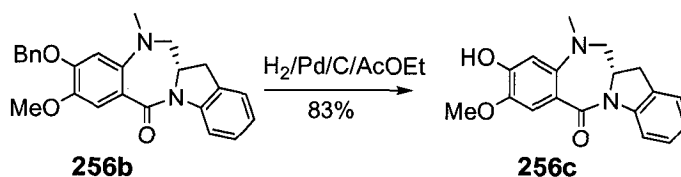
[0790] 在 0℃、向搅拌的化合物 7 (384mg, 1.0mmol) 在无水乙醇 (6mL) 和无水二氯甲烷 (2mL) 中的溶液加入硼氢化钠 (37.8mg, 1.0mmol)。30 分钟后, 移除冰 / 水浴, 将反应混合物继续在室温搅拌过夜。通过加入饱和氯化铵淬灭反应, 用二氯甲烷稀释。分离混合物, 用盐水洗涤有机层, 经无水硫酸钠干燥, 过滤。在减压下除去溶剂, 得到为白色固体的化合物 256a (369mg, 收率 = 96%)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃): δ 8.37 (d, J = 8.0Hz, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.40-7.24 (m, 6H), 7.18 (d, J = 7.2Hz, 1H), 7.05 (t, J = 7.2Hz, 1H), 6.12 (s, 1H), 5.06 (s, 2H), 4.40 (tt, J₁ = 10.0Hz, J₂ = 3.6Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.52-3.41 (m, 3H), 2.78 (dd, J₁ = 16.8Hz, J₂ = 3.6Hz, 1H); ¹³C NMR (400Hz, CDCl₃): δ 166.5, 152.1, 142.73, 142.70, 140.4, 136.3, 129.5, 128.5, 127.9, 127.7, 127.1, 124.5, 123.8, 117.2, 114.5, 112.7, 103.4, 70.5, 57.1, 56.2, 54.5, 33.1; MS (m/z), 实测值 409.2 (M+Na)⁺。

[0791]

[0792] 化合物 256b:

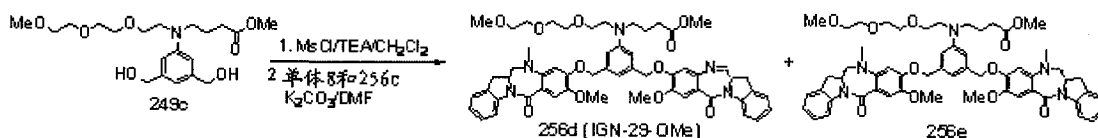
[0793] 向化合物 256a (369mg, 0.955mmol) 在无水乙腈 (9mL) 中的溶液加入碘甲烷 (65 μl, 1.05mmol) 和碳酸钾 (158mg, 1.15mmol)。搅拌混合物, 加热至 82℃, 回流过夜。将反应混合物从油浴移除, 冷却至室温, 用二氯甲烷稀释。将其滤过硅藻土, 在减压下蒸发滤液。通过硅胶色谱法 (己烷 / 乙酸乙酯) 纯化残余物, 得到为无色泡沫的的化合物 256b (195mg, 收率 = 51%)。同时回收 123mg 原料 256a。¹H NMR (400Hz, CDCl₃): δ 8.29 (d, J = 8.0Hz, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.44 (s, 1H), 7.39-7.24 (m, 5H), 7.16 (d, J = 7.2Hz, 1H), 7.04 (t, J = 7.6Hz, 1H), 6.46 (s, 1H), 5.19 (dd, J₁ = 15.2Hz, J₂ = 12.4Hz, 2H), 4.36-4.29 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.38-3.31 (m, 2H), 3.02 (dd, J₁ = 10.8Hz, J₂ = 4.0Hz, 1H), 2.70 (dd, J₁ = 16.8Hz, J₂ = 2.8Hz, 1H), 2.65 (s, 3H); ¹³C NMR (400Hz, CDCl₃): δ 166.9, 151.2, 144.2, 142.1, 141.9, 136.7, 129.8, 128.6, 128.0, 127.8, 127.3, 125.1, 123.9, 121.7, 117.1, 113.5, 104.7, 71.1, 64.2, 57.2, 56.3, 40.2, 32.0; MS (m/z): 实测值 423.2 (M+Na)⁺。

[0794]

[0795] 化合物 256c:

[0796] 向搅拌的化合物 256b (195mg, 0.487mmol) 在乙酸乙酯 (2.5mL) 中的溶液加入钨碳 (10%, 25.9mg, 0.024mmol)。将烧瓶短暂真空处理, 用气球中的 H₂ 代替。将混合物继续氢化过夜, 然后滤过硅藻土。在减压下吹脱滤液, 通过硅胶色谱法 (二氯甲烷 / 甲醇) 纯化残余物, 得到为白色固体的化合物 256c (126mg, 收率 = 83%)。¹H NMR (400Hz, MeOD) : δ 8.14 (d, J = 8.0Hz, 1H), 7.30-7.23 (m, 2H), 7.22 (s, 1H), 7.10 (t, J = 7.6Hz, 1H), 6.56 (s, 1H), 4.46-4.38 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.48-3.37 (m, 2H), 3.12 (dd, J₁ = 10.8Hz, J₂ = 4.4Hz, 1H), 2.84 (dd, J₁ = 16.8Hz, J₂ = 2.8Hz, 1H), 2.80 (s, 3H)。

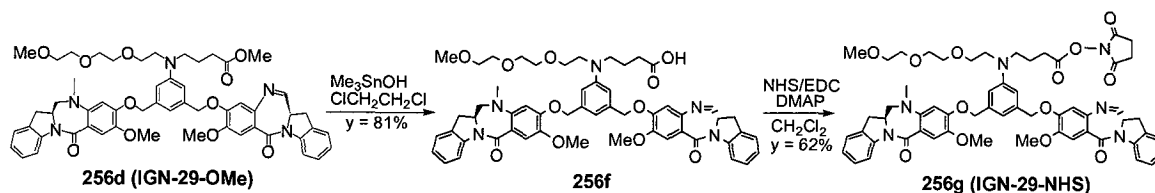
[0797]



[0798] 化合物 256d (IGN-29-OMe) :

[0799] 向搅拌的化合物 249c (136mg, 0.34mmol) 在无水二氯甲烷 (2mL) 中的溶液加入三乙胺 (142 μ l, 1.02mmol)。将混合物冷却至 -10°C, 于 15 分钟内缓慢加入甲磺酰氯 (66 μ l, 0.85mmol)。将溶液继续在 -10°C 至 -5°C 搅拌 60 分钟, 通过加入冰 / 水淬灭反应。将其用乙酸乙酯稀释, 用冷水洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤, 蒸发, 高真空处理, 得到为无色油的甲磺酸酯。将甲磺酸酯转移至含有乙酸乙酯的 10mL 圆底烧瓶, 蒸发, 高真空处理。加入化合物 8 (120mg, 0.41mmol) 和 256c (106mg, 0.34mmol), 然后加入无水 DMF (1.5mL)、无水碳酸钾 (235mg, 1.7mmol)。将混合物在室温搅拌过夜。将其用二氯甲烷稀释, 用盐水洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤, 蒸发。通过制备型反相 HPLC (C18 柱, 用 CH₃CN/H₂O 洗脱) 纯化残余物, 得到为浅黄色固体的化合物 256d (IGN-29-OMe) (46mg, 收率 = 14%) 和化合物 256e。256d : ¹H NMR (400Hz, CDCl₃), δ 8.27 (d, J = 8.0Hz, 2H), 7.84 (d, J = 4.8Hz, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.32-7.04 (m, 7H), 6.87 (s, 1H), 6.82 (s, 1H), 6.76-6.70 (m, 2H), 6.50 (s, 1H), 5.18-5.12 (m, 4H), 4.49-4.43 (m, 1H), 4.40-4.35 (m, 1H), 3.98 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 3.68-3.52 (m, 18H), 3.41-3.36 (m, 6H), 3.08 (dd, J₁ = 10.8Hz, J₂ = 4.4Hz, 1H), 2.56 (dd, J₁ = 16.8Hz, J₂ = 2.8Hz, 1H), 2.70 (s, 3H), 2.34 (t, J = 7.2Hz, 2H), 1.92-1.85 (m, 2H); MS (m/z) : 实测值 990.6 (M+Na)⁺, 1008.6 (M+H₂O+Na)⁺。256e : MS (m/z) : 实测值 1006.6 (M+Na)⁺。

[0800]



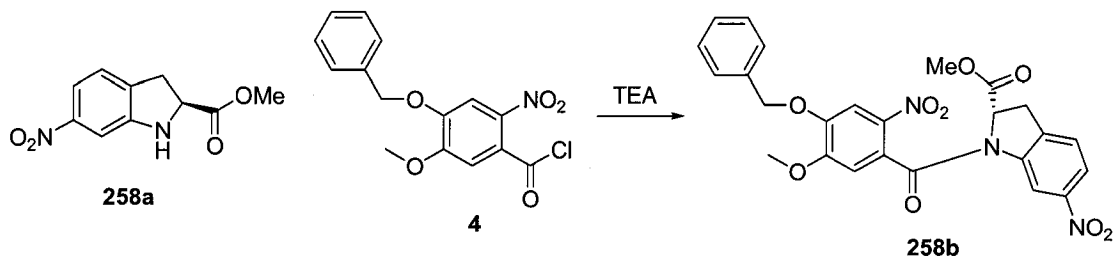
化合物 256f 和化合物 256g (IGN-29-NHS) :

[0801] 向化合物 256d (46mg, 0.048mmol) 在无水 1,2 二氯乙烷 (1.5mL) 中的溶液加入三甲基氢氧化锡 (129mg, 0.71mmol)。将混合物加热至 80°C, 搅拌过夜。将其冷却至室温, 用二氯甲烷稀释, 用饱和氯化钠和 5% 盐酸的混合溶液 (~ 1mL) 洗涤, 然后用盐水洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤, 蒸发。将残余物通过短硅胶柱, 用二氯甲烷 / 甲醇洗脱, 除去额外的三甲基氢氧化锡。将产物级分蒸发, 高真空处理, 得到为黄色固体的酸 256f (36.9mg, 收率 = 81%)。MS (m/z) : 实测值 952.8 (M-H)⁻。然后将化合物 256f (36.9mg,

0.039mmol) 溶于无水二氯甲烷 (0.8mL) 中。随后加入 N- 羟基琥珀酰亚胺 (NHS, 13.4mg, 0.12mmol) 和 N-(3- 二甲基氨基丙基)-N'- 乙基碳二亚胺盐酸盐 (EDC, 22.2mg, 0.12mmol)。将混合物在室温搅拌过夜, 用二氯甲烷稀释, 用盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥。过滤, 蒸发, 通过制备型反相 HPLC (C18 柱, 用乙腈 / 水洗脱) 纯化残余物。将含有产物的级分合并, 用二氯甲烷萃取。将有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤, 蒸发, 高真空处理, 得到为浅黄色固体的化合物 256g (IGN-29-NHS) (25.4mg, 收率 = 62%)。MS(m/z): 实测值 1073.4 (M+Na)⁺, 1091.4 (M+H₂O+Na)⁺, 1103.3 (M+3H₂O-H)⁻。

[0802] 实施例 24

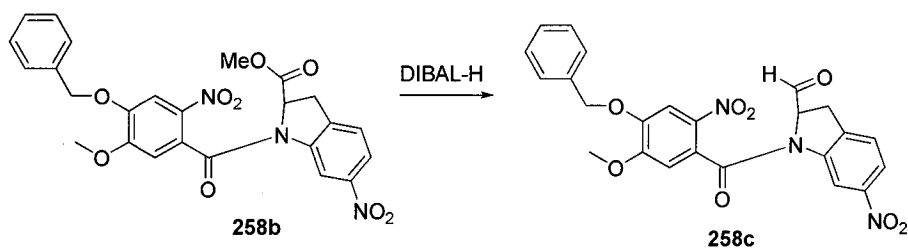
[0803]



[0804] 1-(4-(苄氧基)-5-甲氧基-2-硝基苯甲酰基)-6-硝基吲哚啉-2-羧酸甲酯 (258b):

[0805] 在单独烧瓶中, 将 6-硝基吲哚啉-2-羧酸甲酯 (258a) (0.233g, 1.048mmol) 溶于无水四氢呋喃 (4mL) 中, 冷却至 0°C 冰浴。在另一烧瓶中, 4-(苄氧基)-5-甲氧基-2-硝基苯甲酰氯 (4) (0.371g, 1.153mmol) 溶于无水四氢呋喃 (4mL) 中, 在冰浴中冷却至 0°C。通过注射器向含有吲哚啉的烧瓶中加入三乙胺 (0.438mL, 3.15mmol), 在 0°C 通过插管将乙酰氯 4 快速加至反应混合物。将反应在 0°C 搅拌 90 分钟, 然后在室温搅拌另外 1 小时。然后将反应用 5% HCl 淬灭, 用乙酸乙酯 (3×) 萃取。用盐水洗涤合并的有机层, 经无水硫酸钠干燥, 真空浓缩。通过使用己烷中的 30% 丙酮的硅胶色谱法纯化残余物, 得到为淡黄色泡沫的 1-(4-(苄氧基)-5-甲氧基-2-硝基苯甲酰基)-6-硝基吲哚啉-2-羧酸甲酯 (258b) (0.220g, 0.434mmol, 41.4% 收率)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃): δ 3.30 (m, 1H), 3.60 (s, 3H), 3.69 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 4.64 (dd, 1H, J = 2.4Hz, 10.8), 5.23 (s, 2H), 7.31 (m, 1H), 7.46 (m, 6H), 7.99 (dd, 1H, J = 2.0, 8.0Hz), 9.04 (d, 1H, J = 2.0Hz)。MS(m/z), 实测值 530.1 ([M]⁺+Na)。

[0806]

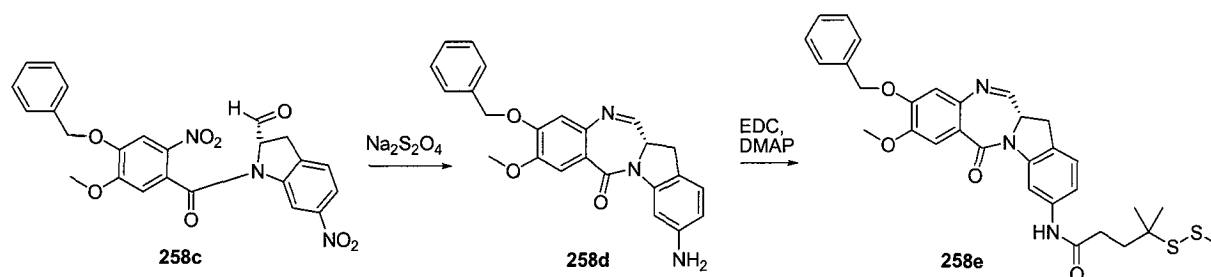


[0807] 1-(4-(苄氧基)-5-甲氧基-2-硝基苯甲酰基)-6-硝基吲哚啉-2-甲醛 (258c):

[0808] 将 1-(4-(苄氧基)-5-甲氧基-2-硝基苯甲酰基)-6-硝基吲哚啉-2-羧酸甲酯 (258b) (1.023g, 2.016mmol) 溶于无水二氯甲烷 (2.5mL) 和甲苯 (7.5mL) 的混合物中, 在干冰丙酮浴中冷却至 -78°C。15 分钟后, 在约 20 分钟的时间内通过注射泵加入 DIBAL-H (1.0M

在 THF) (4.03mL, 4.03mmol)。将所得溶液在 -78°C 搅拌 2 小时, 之后在 -78°C 逐滴加入甲醇 (1ml) 下以淬灭反应。然后将反应用 5% HCl 和乙酸乙酯稀释, 升温至室温。将水层用另外的乙酸乙酯洗涤, 将合并的有机层用盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥。将反应混合物通过硅藻土层, 真空浓缩。将粗残余物通过在己烷中的 40% 丙酮的硅胶色谱法纯化, 得到 1-(4-(苄氧基)-5-甲氧基-2-硝基苯甲酰基)-6-硝基吲哚啉-2-甲醛 (258c) (621mg, 1.301mmol, 64.5% 收率)。 $^1\text{H NMR}$ (400Hz, CDCl_3): δ 3.15-3.60 (m, 2H), 3.90 (s, 0.6H), 3.92 (s, 1.2H), 3.97 (s, 1.2H), 4.57 (d, 0.2H, $J = 4.8\text{Hz}$), 5.21 (m, 2.4H), 5.5 (m, 0.4H), 6.39 (s, 0.4H), 6.46 (s, 0.2H), 6.76 (s, 0.2H), 6.89 (s, 0.4H), 7.01 (s, 0.4H), 7.19-7.41 (m, 5.6H), 7.60-7.77 (m, 1.6H), 7.86-7.91 (m, 0.8H), 8.94 (s, 0.4H), 9.34 (s, 0.4H), 9.74 (s, 0.4H), 9.90 (s, 0.2H)。MS (m/z), 实测值 500.1 ($[\text{M}]^+ + \text{Na}$)。

[0809]

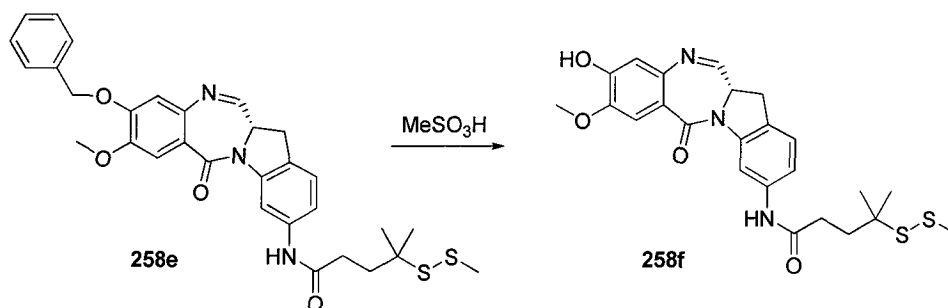


[0810] 化合物 258e:

[0811] 将 1-(4-(苄氧基)-5-甲氧基-2-硝基苯甲酰基)-6-硝基吲哚啉-2-甲醛 (258c) (0.125g, 0.262mmol) 溶于四氢呋喃 (8mL) 和水 (5.33mL)。向该溶液加入亚硫酸氢钠 (0.456g, 2.62mmol), 将反应用隔片盖住, 用指针通气 (不需要氮/氩气), 搅拌过夜。将甲醇加至反应混合物, 搅拌另外的 30 分钟, 此时将反应真空浓缩, 除去所有溶剂。将残余物溶于甲醇和二氯甲烷的 1:1 混合物 (20mL) 中, 留下不会溶解的残余物。将混合物通过在薄硅藻土垫的上层的薄二氧化硅垫, 用甲醇和二氯甲烷的 1:1 混合物彻底漂洗。将滤液再次滤过硅藻土, 然后在搅拌下加入 HCl 在二噁烷中的溶液 (4M), 直至获得 $\sim 3-4$ 的 pH。然后将反应搅拌另外的 30 分钟, 然后加入碳酸氢钠水溶液, 直至反应变为碱性 ($\sim \text{pH}8-9$), 此时加入另外的二氯甲烷, 除去有机层。将水层用另外的二氯甲烷洗涤, 将所得的有机层合并, 用盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 真空浓缩。含有化合物 258d (0.105g, 0.263mmol, 100% 收率) 的残余物不经进一步处理就用于下一步。MS (m/z), 实测值 454.2 ($[\text{M}]^+ + \text{Na} + \text{CH}_3\text{OH}$)。

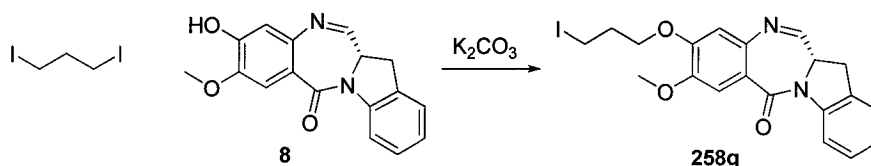
[0812] 在搅拌下、在小瓶中将 4-甲基-4-(甲基二硫烷基)戊酸 (0.061g, 0.313mmol)、EDC (0.060g, 0.313mmol) 和 DMAP (0.038g, 0.313mmol) 溶于二氯甲烷 (1mL) 中。向该混合物加入溶于二氯甲烷 (1.5mL) 中的化合物 258d (0.125g, 0.313mmol), 将混合物在室温搅拌过夜。加入水, 分离各层。将有机层用盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 真空浓缩。使用己烷中的 50% 乙酸乙酯在硅胶柱上纯化残余物, 得到化合物 258e (0.037g, 0.064mmol, 20.54% 收率)。 $^1\text{H NMR}$ (400Hz, CDCl_3): δ 1.27 (s, 6H), 1.97 (t, 2H, $J = 8.0\text{Hz}$), 2.06 (t, 2H, $J = 8.0\text{Hz}$), 2.45 (s, 3H), 3.48 (m, 1H), 3.67 (m, 1H), 3.99 (s, 3H), 4.49 (m, 1H), 5.24 (q, 2H, $J = 8.4\text{Hz}$), 6.90 (s, 1H), 7.22 (d, 1H, $J = 8.0\text{Hz}$), 7.39 (m, 5H), 7.55 (s, 1H), 7.82 (d, 1H, $J = 8.0\text{Hz}$), 7.87 (d, 1H, $J = 4.0\text{Hz}$), 8.07 (s, 1H)。MS (m/z), 实测值 630.3 ($[\text{M}]^+ + \text{Na} + \text{MeOH}$)。

[0813]

[0814] 化合物 258f:

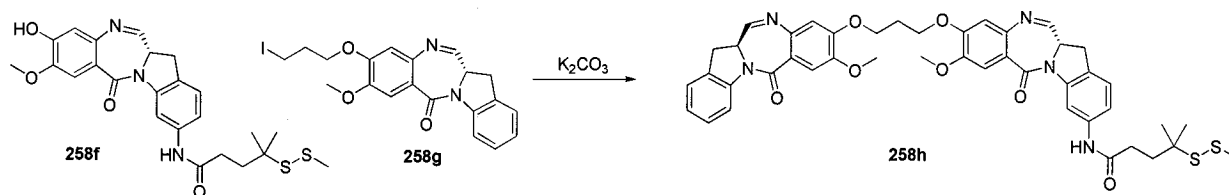
[0815] 将化合物 258e (0.0185g, 0.032mmol) 溶于无水二氯甲烷 (0.5mL), 向该溶液加入溶于无水二氯甲烷 (0.500mL) 中的甲磺酸 (0.021mL, 0.321mmol), 将所得混合物在室温搅拌三小时。将反应倒在冰和甲醇的混合物上, 用碳酸氢钠水溶液中和至 pH7。然后用二氯甲烷稀释溶液, 分离各层。将有机层用盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 真空浓缩。通过使用二氯甲烷中的 3% 甲醇的二氧化硅 ptlc 纯化残余物, 得到 NH(4-甲基-4-甲基二硫基-戊酸酯)-咪唑 IGN 单体 (0.007g, 0.014mmol, 44.9% 收率)。MS (m/z), 实测值 484.0 ($[M]^+-1$)。

[0816]

[0817] 化合物 258g:

[0818] 在室温、于小瓶中、在搅拌下将化合物 8 (0.033g, 0.112mmol) 溶于 DMF (1.5mL) 中。加入 1,3-二碘丙烷 (0.065mL, 0.561mmol), 然后加入碳酸钾 (0.023g, 0.168mmol)。将反应覆盖在箔中, 在室温搅拌过夜。将反应用二氯甲烷稀释, 用氯化铵水溶液和盐水洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤, 真空浓缩。通过使用己烷中的 50% 乙酸乙酯的二氧化硅 ptlc 纯化残余物, 得到化合物 258g (0.018g, 0.039mmol, 34.7% 收率)。MS (m/z), 实测值 533.0 ($[M]^+K$)。

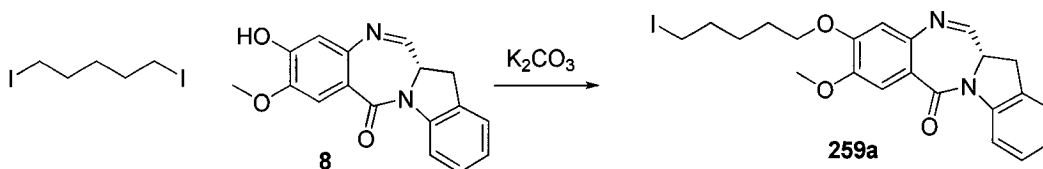
[0819]

[0820] 化合物 258h (IGN-15-SMe):

[0821] 在室温、于小瓶中、在搅拌下将化合物 258f (0.007g, 0.014mmol) 溶于二甲基甲酰胺 (1mL)。加入化合物 8 (6.66mg, 0.014mmol), 然后加入碳酸钾 (1.992mg, 0.014mmol)。将反应覆盖在箔中, 在室温搅拌过夜。将反应用二氯甲烷稀释, 用氯化铵水溶液和盐水洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤, 真空浓缩。通过使用二氯甲烷中的 5% 甲醇的二氧化硅 ptlc 板纯化残余物, 得到化合物 258h (IGN-15-SMe) (0.005g, 7.32 μ mol, 50.8% 收率)。MS (m/z), 实测值 906.3 ($[M]^+Na+2CH_3OH$)。

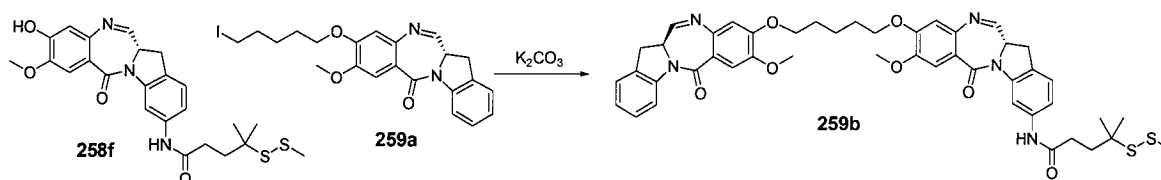
[0822] 实施例 25

[0823]

[0824] 化合物 259a:

[0825] 在室温、于小瓶中、在搅拌下将化合物 8 (0.100g, 0.340mmol) 溶于 DMF (5mL) 中。加入 1,5-二碘戊烷 (0.506ml, 3.40mmol), 然后加入碳酸钾 (0.070g, 0.510mmol)。将反应覆盖在箔中, 在室温搅拌过夜。将反应用二氯甲烷稀释, 用氯化铵水溶液和盐水洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤, 真空浓缩。通过使用己烷中的 50% 乙酸乙酯的二氧化硅 *ptlc* 纯化残余物, 得到化合物 259a (0.045g, 7.32 μ Mol, 27% 收率)。 $^1\text{H NMR}$ (400Hz, CDCl_3): δ 1.64 (m, 2H), 1.94 (M, 4H), 3.24 (t, 2H, $J = 6.5\text{Hz}$), 3.52 (dd, 1H, $J = 4.0, 16.6\text{Hz}$), 3.73 (dd, 1H, $J = 10.5, 16.6\text{Hz}$), 3.98 (s, 3H), 4.12 (m, 2H), 4.50 (dt, 1H, $J = 4.0, 11.2\text{Hz}$), 6.84 (s, 1H), 7.13 (t, 1H, $J = 6.0\text{Hz}$), 7.29 (m, 2H), 7.57 (s, 1H), 7.90 (d, 1H, $J = 4.4\text{Hz}$), 8.29 (d, 1H, $J = 8.0\text{Hz}$)。MS (m/z), 实测值 533.3 ($[\text{M}]^+ + \text{K}$)。

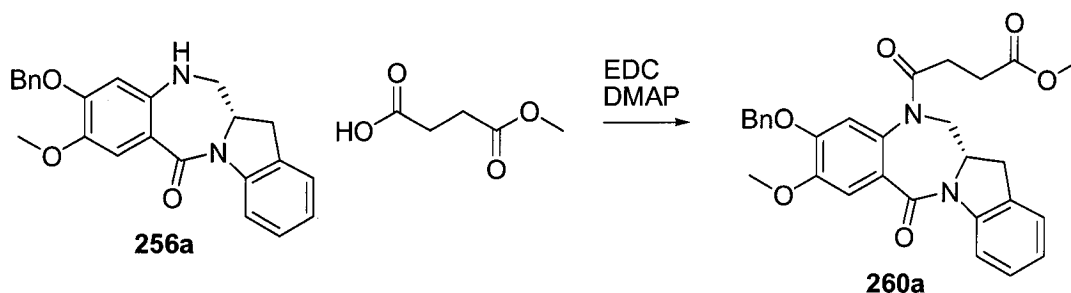
[0826]

[0827] 化合物 259b (IGN-21-SMe):

[0828] 在室温、于小瓶中、在搅拌下将化合物 258f (15mg, 0.031mmol) 溶于二甲基甲酰胺 (1mL) 中。加入化合物 259a (17.42mg, 0.036mmol), 然后加入碳酸钾 (4.27mg, 0.031mmol)。将反应覆盖在箔中, 在室温搅拌过夜。用二氯甲烷稀释反应, 用氯化铵水溶液和盐水洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤, 真空浓缩。通过使用二氯甲烷中的 5% 甲醇的二氧化硅 *ptlc* 纯化残余物, 得到化合物 259a (IGN-15-SMe) (0.006g, 7.32 μ Mol, 22% 收率)。MS (m/z), 实测值 934.1 ($[\text{M}]^+ + \text{Na} + 2\text{CH}_3\text{OH}$)。

[0829] 实施例 26

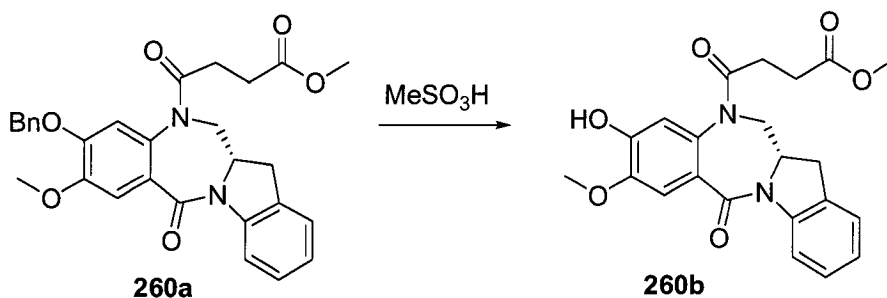
[0830]

[0831] 化合物 260a:

[0832] 将化合物 256a (55mg, 0.142mmol) 溶于无水二氯甲烷中, 然后相继加入 4-甲氧基-4-氧代丁酸 (76mg, 0.575mmol)、EDC (70mg, 0.365mmol) 和 DMAP (8.69mg, 0.071mmol)。

将混合物在室温搅拌过夜,通过 TLC 检验以确保没有原料剩余。然后将反应用水和乙酸乙酯稀释。用乙酸乙酯进一步萃取后,将有机物用盐水洗涤,经硫酸钠干燥,过滤,真空浓缩。通过使用己烷中的 50% 乙酸乙酯的硅胶色谱法纯化粗残余物,得到化合物 260a (54mg, 收率 = 76%)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃): δ 8.21 (d, J = 8.0Hz, 1H), 7.45-7.25 (m, 7H), 7.20 (d, J = 7.2Hz, 1H), 7.08 (t, J = 7.4Hz, 1H), 6.825 (s, 1H), 5.27 (q, J = 15.1Hz, 2H), 4.56 (t, J = 12.6Hz, 1H), 4.35-4.29 (m, 1H), 3.99 (s, 3H), 3.65 (s, 3H), 3.44-3.38 (m, 2H), 2.88 (dd, J₁ = 16.4Hz, J₂ = 2Hz, 1H), 2.58-2.50 (m, 1H), 2.40-2.33 (m, 1H), 2.26-2.18 (m, 1H), 1.99-1.92 (m, 1H); MS (m/z), 实测值 523.1 (M+Na)⁺。

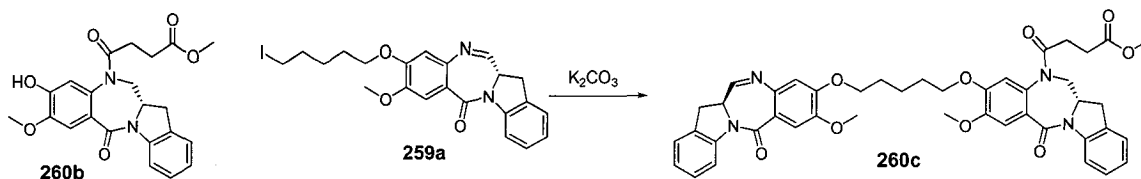
[0833]



[0834] 化合物 260b:

[0835] 向化合物 260a (50mg, 0.100mmol) 在无水二氯甲烷 (11.5mL) 中的溶液逐滴加入甲磺酸 (0.389ml, 5.99mmol), 产生黄色溶液。将反应在室温搅拌,通过 TLC 监控直至在 30 分钟时结束。将其用水和甲醇稀释,然后用饱和碳酸氢钠中和至 pH7。用二氯甲烷萃取水层,经硫酸钠干燥有机层。通过使用二氯甲烷中的 6% 甲醇的硅胶色谱法纯化粗产物,得到化合物 260b (40mg, 收率 = 98%)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃): δ 8.22 (d, J = 8.0Hz, 1H), 7.35 (s, 1H), 7.28 (t, J = 7.8Hz, 1H), 7.22 (d, J = 7.2Hz, 1H), 7.09 (t, J = 7.4Hz, 1H), 6.90 (s, 1H), 6.06 (s, 1H), 4.63 (t, J = 12.6Hz, 1H), 4.38-4.30 (m, 1H), 4.00 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 3.47-3.39 (m, 2H), 2.90 (dd, J₁ = 16.2Hz, J₂ = 2.2Hz, 1H), 2.69-2.59 (m, 2H), 2.52-2.45 (m, 1H), 2.22-2.14 (m, 1H); MS (m/z), 实测值 433 (M+Na)⁺。

[0836]

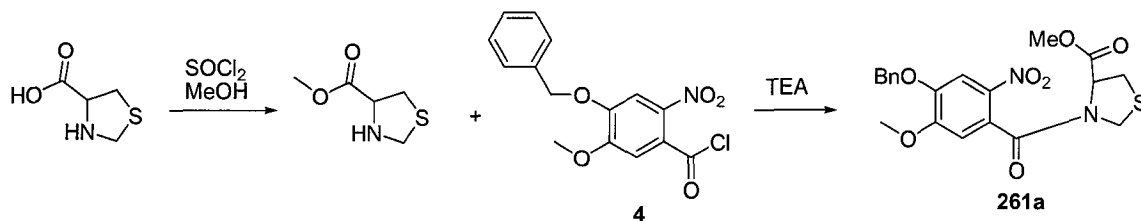


[0837] 化合物 260c:

[0838] 将化合物 260b (20mg, 0.049mmol) 和化合物 259a (30mg, 0.061mmol) 溶于无水 N,N-二甲基甲酰胺 (1mL) 中。加入碳酸钾 (20.20mg, 0.146mmol), 将反应在室温搅拌过夜。用水淬灭反应,用二氯甲烷萃取。将有机物用盐水洗涤,经硫酸钠干燥。通过使用二氯甲烷中的 5% 甲醇的硅胶色谱法纯化粗产物,得到化合物 260c (25mg, 收率 = 66%)。MS (m/z), 实测值 813.5 (M+Na+H₂O)⁺。

[0839] 实施例 27

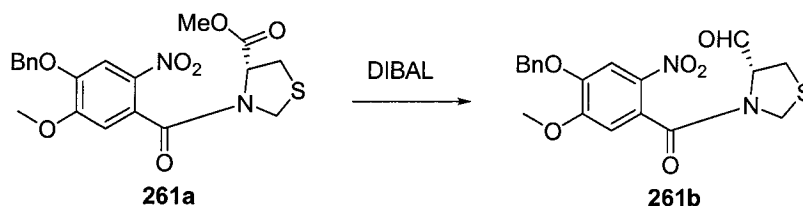
[0840]



[0841] 化合物 261a:

[0842] 将商购可得原料噻唑烷-4-羧酸 (1.3g, 9.59mmol) 溶于无水甲醇 (19.18mL) 中, 在冰浴中冷却至 0℃。逐滴加入亚硫酸氯 (1.40mL, 19.18mmol), 将反应搅拌 30 分钟。除去冰浴, 继续搅拌 4-5 小时或过夜。吹脱溶剂, 将产物置于高真空下, 得到 4-(甲氧基羰基)噻唑烷-3-鎧氯化物。不经进一步纯化并且假定 100% 收率, 将 4-(甲氧基羰基)噻唑烷-3-鎧氯化物 (1.761g, 9.59mmol) 和化合物 4 (3.39g, 10.55mmol) 各自分别溶于四氢呋喃 (32.0mL) 中, 冷却至 0℃。将三乙胺 (4.41mL, 31.6mmol) 加至含有 4-(甲氧基羰基)噻唑烷-3-鎧氯化物的溶液中, 然后经由插管快速加入化合物 4。20 分钟后, 将检验溶液的 pH 以确保其为碱性。将反应在 0℃ 搅拌 1.5 小时, 然后在室温搅拌 30 分钟, 通过 MS 检验。用冷 5% 盐酸淬灭反应, 用冷乙酸乙酯和水稀释。将溶液用乙酸乙酯萃取三次, 将合并的有机物用盐水、饱和碳酸氢钠洗涤, 再用盐水洗涤。将其经硫酸钠干燥, 过滤, 吹脱。通过硅胶色谱法使用 50%~75% 己烷中的乙酸乙酯的梯度纯化粗物质, 得到化合物 261a (4.1g, 收率=99%)。¹HNMR (400Hz, CDCl₃): 该化合物表现为一对不同的旋转异构体。δ 7.78 (s, 0.6H), 7.74 (s, 0.4H), 7.48-7.35 (m, 5H), 6.96 (s, 0.4H), 6.92 (s, 0.6H), 5.40 (dd, J₁ = 7.0Hz, J₂ = 3.4Hz, 0.6H), 5.31-5.22 (m, 2H), 5.13 (d, 9.6Hz, 0.4H), 4.60 (d, J = 9.6Hz, 0.4H), 4.46 (dd, J₁ = 4.4Hz, J₂ = 3.2Hz, 0.4H), 4.36 (d, J = 8.4Hz, 0.6H), 4.26 (d, J = 8.4Hz, 0.6H), 4.02 (s, 1.8H), 3.96 (s, 1.2H), 3.86 (s, 1.8H), 3.71 (s, 1.2H), 3.48-3.43 (m, 0.6H), 3.36-3.29 (m, 1.4H); MS (m/z), 实测值 455.3 (M+Na)⁺。

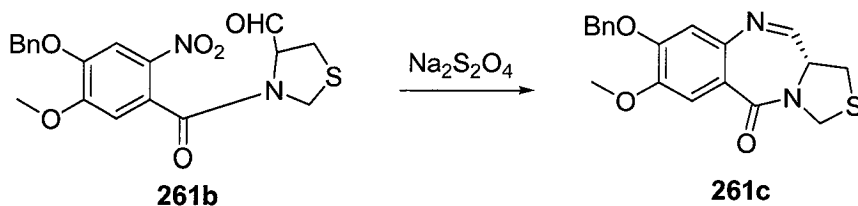
[0843]



[0844] 化合物 261b:

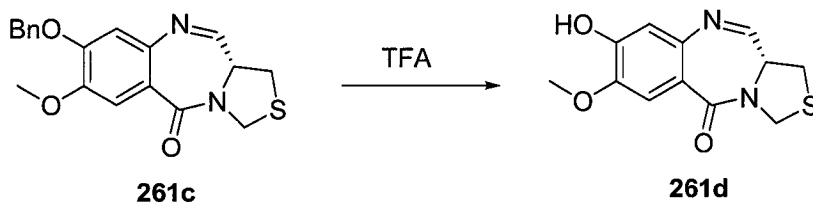
[0845] 将化合物 261a (4.1g, 9.48mmol) 溶于二氯甲烷 (11mL) 和甲苯 (33mL) 中, 然后在丙酮/干冰浴中冷却至 -78℃。使用注射泵在至少 30 分钟内非常缓慢加入氢化二异丁基铝 (18.96mL, 18.96mmol)。将反应在 -78℃ 搅拌 3 小时, 用甲醇 (0.4mL)、然后用 5% 盐酸 (30mL) 淬灭反应。加入乙酸乙酯 (100mL), 移除冰浴。将混合物继续在室温搅拌 30 分钟。使用乙酸乙酯萃取, 将合并的有机物用盐水、饱和碳酸氢钠洗涤, 然后再用盐水洗涤。将其经无水硫酸钠干燥, 滤过硅藻土。通过使用 75% 己烷中的乙酸乙酯的硅胶色谱法纯化粗物质, 得到化合物 261b (2.3g, 收率=60%)。¹HNMR (400Hz, CDCl₃): 该化合物表现为一对旋转异构体。δ 9.80 (s, 0.8H), 9.41 (s, 0.2H), 7.80 (s, 0.8H), 7.73 (s, 0.2H), 7.49-7.36 (m, 5H), 6.91 (s, 0.2H), 6.84 (s, 0.8H), 5.25-5.22 (m, 2H), 4.85-4.73 (m, 1H), 4.35-4.30 (m, 1H), 4.22-4.17 (m, 1H), 4.04-3.97 (m, 3H), 3.40-3.26 (m, 2H); MS (m/z), 实测值 425.0 (M+Na)⁺。

[0846]

[0847] 化合物 261c:

[0848] 将化合物 261b 溶于四氢呋喃 (230mL)、然后溶于水 (150mL) 中。缓慢加入少量亚硫酸氢钠 (5.27g, 25.7mmol)。如果溶液保持混浊, 逐滴加入额外的水直至溶液澄清。将反应用隔片盖住, 用指针通气以能够释放 SO_2 气体, 搅拌过夜。溶液从黄色变为非常苍白、几乎无色的溶液。次日早上, 加入水直至溶液变得澄清, 然后加入甲醇 (30mL)。搅拌另外的 2 小时, 然后蒸发溶剂, 用乙腈再次蒸发残余物至少两次。将白色残余物置于高真空下数小时。将其再溶于甲醇: 二氯甲烷 [1 : 1], 滤过硅藻土, 吹脱。重复过滤步骤, 直至甲醇中的稀释液变得澄清而没有颗粒。将中间体置于高真空下直至完全干燥, 然后溶于无水甲醇 (50ml) 中。在室温逐滴加入乙酰氯 (1.9ml, 26.7mmol), 导致黄色沉淀形成。将其在室温搅拌 30 分钟, 用饱和碳酸氢钠淬灭反应。将混合物用二氯甲烷和水 (130mL/85mL) 稀释, 用二氯甲烷萃取。将水层用硫酸氢钠酸化, 浓缩至对比体积, 然后再次萃取。将合并的有机物用饱和碳酸氢钠和盐水洗涤, 经硫酸钠干燥。通过使用己烷中的 60% 乙酸乙酯的硅胶色谱法纯化吹脱的残余物, 得到化合物 261c (1.2g, 收率 = 59%)。 ^1H NMR (400Hz, CDCl_3): δ 7.69 (d, $J = 4.4\text{Hz}$, 1H), 7.52-7.28 (m, 6H), 6.87 (s, 1H), 5.22 (q, $J = 12.3\text{Hz}$, 2H), 4.85 (d, $J = 10.4\text{Hz}$, 1H), 4.58 (d, $J = 10.4\text{Hz}$, 1H), 4.03-4.02 (m, 1H), 3.98 (s, 3H), 3.51-3.47 (m, 1H), 3.45-3.23 (m, 1H); MS (m/z), 实测值 377.3 (M+Na) $^+$ 。

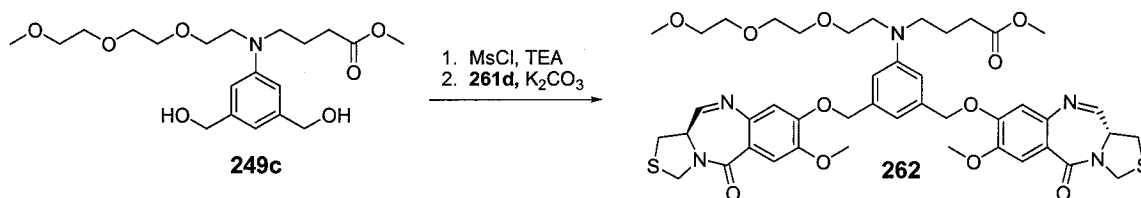
[0849]

[0850] 化合物 261d:

[0851] 将化合物 261c (75mg, 0.212mmol) 溶于无水三氟乙酸 (0.4ml, 5.19mmol) 中。在 50°C 回流约 1 小时, 然后将温度升至 80°C。总共 3 小时后, 蒸发溶剂。通过使用二氯甲烷中的 5% 甲醇的 PTLC 直接纯化残余物, 得到化合物 261d (19.4mg, 35%)。 ^1H NMR (400Hz, CDCl_3): δ 7.72 (d, $J = 4.4\text{Hz}$, 1H), 7.51 (s, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.18 (s, 1H), 4.85 (d, $J = 10.4\text{Hz}$, 1H), 4.58 ($J = 10.4\text{Hz}$, 1H), 4.05-4.02 (m, 1H), 3.99 (s, 3H), 3.50 (dd, $J_1 = 12.4\text{Hz}$, $J_2 = 6\text{Hz}$, 1H), 3.32 (dd, $J_1 = 12.4\text{Hz}$, $J_2 = 2\text{Hz}$, 1H); MS (m/z), 实测值 319.0 (M+Na+MeOH) $^+$ 。

[0852] 实施例 28

[0853]



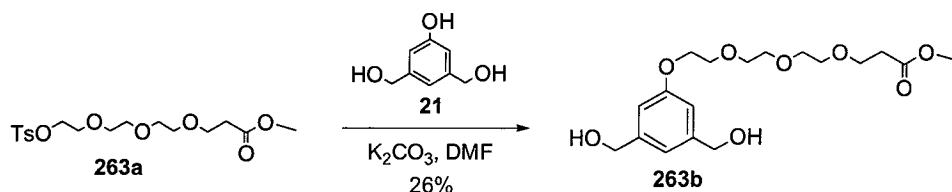
[0854] 化合物 262:

[0855] 将化合物 249c (18mg, 0.045mmol) 溶于无水二氯甲烷 (0.45mL), 然后在冰 / 盐水浴中冷却。首先, 加入三乙胺 (0.022ml, 0.158mmol)、然后加入非常缓慢甲磺酰氯 (10.46 μ l, 0.135mmol)。将混合物继续在冰浴中搅拌 1 小时。用冰 / 水淬灭反应, 用冷乙酸乙酯稀释。分离后, 将有机层再次用冷水洗涤, 经硫酸钠干燥。过滤, 在减压下蒸发, 将温度保持在 200 $^{\circ}$ C 以下, 然后置于高真空下以直接使用。一旦完全干燥, 就将产物和化合物 261d (28.5mg, 0.108mmol) 溶解于无水 N, N-二甲基甲酰胺 (350 μ L) 中。加入碳酸钾 (29.8mg, 0.216mmol)。在室温搅拌过夜后, 将反应用二氯甲烷稀释, 用盐水洗涤, 经硫酸钠干燥, 过滤, 吹脱。

[0856] 首先通过使用二氯甲烷中的 4% 甲醇的硅胶色谱法纯化粗产物, 以除去基线残余物。然后使用反相 HPLC (C18 柱, 用 3 : 1CH₃CN/H₂O 装柱, 离心, 然后注射) 纯化回收的物质, 得到为固体的化合物 262。¹H NMR (400Hz, CDCl₃) : δ 7.68 (dd, $J_1 = 4.4$ Hz, $J_2 = 1.6$ Hz, 2H), 7.51 (s, 2H), 6.86 (s, 2H), 6.78 (s, 1H), 6.71 (s, 2H), 5.16 (dq, $J_1 = 8.4$ Hz, $J_2 = 2.2$, 4H), 4.85 (d, $J = 10.4$ Hz, 2H), 4.58 ($J = 10.4$ Hz, 2H), 4.04-3.97 (m, 7H), 3.68-3.38 (m, 18H), 3.40-3.29 (m, 7H), 2.33 (t, 7.2Hz, 2H), 1.89-1.35 (m, 2H) MS (m/z), 实测值 914.1 (M+Na)⁺。

[0857] 实施例 29 (IGN-13)

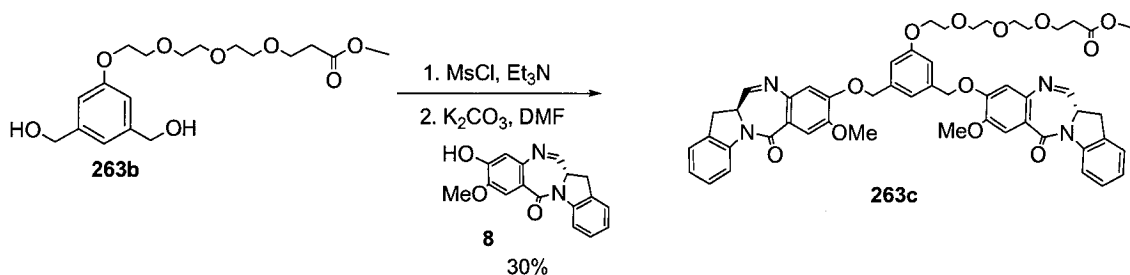
[0858]



[0859] 3-(2-(2-(2-(3,5-二(羟基甲基)苯氧基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸甲酯 (263b):

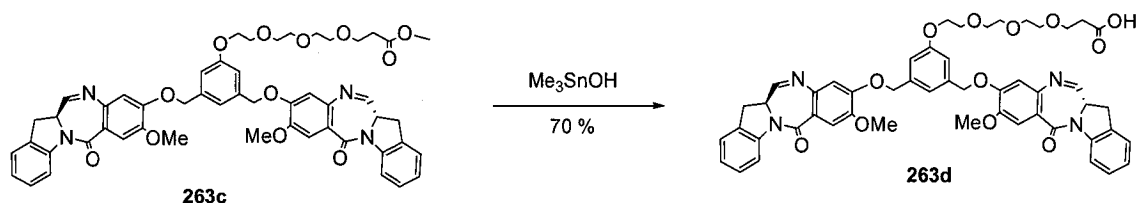
[0860] 向搅拌的 3-(2-(2-(2-(甲苯磺酰基氧基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸酯 (263a) (1.504g, 3.85mmol) 和 (5-羟基-1,3-亚苯基) 二甲醇 (21) (0.54g, 3.50mmol) 在无水 DMF (7.8mL) 中的溶液加入碳酸钾 (0.726g, 5.25mmol)。将反应在 75 $^{\circ}$ C 搅拌 18 小时。将混合物冷却至室温, 用水淬灭反应, 用乙酸乙酯萃取。将有机萃取液用盐水洗涤, 经无水硫酸镁干燥, 过滤, 浓缩。通过硅胶色谱法 (5% MeOH/CH₂Cl₂) 的纯化得到 3-(2-(2-(2-(3,5-二(羟基甲基)苯氧基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸甲酯 (263b) (340mg, 26%)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃) : δ 6.83 (s, 1H), 6.75 (s, 2H), 4.52 (s, 4H), 4.05 (t, $J = 4.8$ Hz, 2H), 3.79 (t, $J = 4.8$ Hz, 2H), 3.70 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.65 (s, 3H), 3.70-3.56 (m, 8H), 3.26 (s, 2H), 2.55 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H); ¹³C NMR (400Hz, CDCl₃) : δ 172.31, 159.1, 143.0, 117.7, 112.1, 70.8, 70.7, 70.5, 70.4, 69.8, 67.5, 66.6, 64.7, 51.8, 34.9; MS (m/z), 实测值 395.2 (M+Na)⁺。

[0861]

[0862] 化合物 263c:

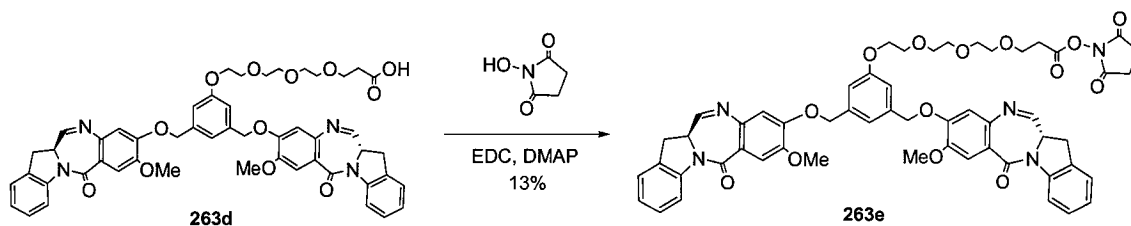
[0863] 向搅拌的 3-(2-(2-(2-(3,5-二(羟基甲基)苯氧基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸甲酯 (263b) (145mg, 0.389mmol) 在无水二氯甲烷 (5.5mL) 中的溶液加入三乙胺 (0.163ml, 1.168mmol)。将混合物冷却至 -5℃, 缓慢加入甲磺酰氯 (0.076ml, 0.973mmol)。在 -5℃ 搅拌 1 小时后, 用冷水淬灭反应, 用冷乙酸乙酯萃取。将有机萃取液用冷水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 在减压下浓缩, 得到 3-(2-(2-(2-(3,5-二((甲基磺酰基氧基)甲基)苯氧基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸甲酯。MS(m/z), 实测值 551.1 (M+Na)⁺。向搅拌的 3-(2-(2-(2-(3,5-二((甲基磺酰基氧基)甲基)苯氧基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸甲酯 (206mg, 0.390mmol) 和化合物 8 (287mg, 0.974mmol) 在无水 DMF (3.9mL) 中的混合物加入碳酸钾 (269mg, 1.949mmol)。将反应在室温搅拌 18 小时。用水淬灭混合物, 用二氯甲烷萃取三次。将有机萃取液用水和盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 真空浓缩。通过快速硅胶色谱法 (5% MeOH/CH₂Cl₂)、然后通过制备型反相 HPLC (C18 柱, 用 CH₃CN/H₂O 洗脱) 纯化, 得到为白色固体的化合物 263c (110mg, 30%)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃): δ 8.18 (d, J = 8.0Hz, 2H), 7.77 (m, 2H), 7.49 (s, 2H), 7.19 (m, 4H), 7.02 (m, 2H), 6.89 (s, 2H), 6.87 (s, 1H), 6.75 (s, 2H), 5.10 (m, 4H), 4.39 (m, 2H), 4.05 (m, 2H), 3.90 (s, 6H), 3.77 (m, 2H), 3.67 (t, J = 6.4Hz, 2H), 3.64 (m, 2H), 3.59 (s, 3H), 3.70-3.54 (m, 8H), 3.40 (m, 2H), 2.51 (t, J = 6.4Hz, 2H); MS (m/z), 实测值 965.3 (M+H₂O+Na)⁺, 983.3 (M+2H₂O+Na)⁺。

[0864]

[0865] 化合物 263d:

[0866] 向化合物 263c (51mg, 0.055mmol) 在 1,2-二氯乙烷 (2.2mL) 的溶液加入氢氧化三甲基锡 (199mg, 1.103mmol)。将溶液在 80℃ 搅拌 18 小时, 然后冷却至室温, 用饱和氯化铵淬灭。将混合物用二氯甲烷萃取。将有机层用盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩。通过硅胶色谱法 (10% MeOH/CH₂Cl₂) 纯化得到化合物 263d (35mg, 70%)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃): δ 8.26 (d, J = 8.0Hz, 2H), 7.88 (m, 2H), 7.58 (s, 2H), 7.28 (m, 4H), 7.11 (m, 3H), 7.00 (s, 2H), 6.88 (s, 2H), 5.21 (m, 4H), 4.49 (m, 2H), 4.18 (m, 2H), 4.00 (s, 6H), 3.89 (m, 2H), 3.79 (m, 2H), 3.70 (m, 10H), 3.51 (m, 2H), 2.62 (m, 2H); MS (m/z), 实测值 909.2 (M-1)⁻, 927.2 (M-1+H₂O)⁻, 945.2 (M-1+2H₂O)⁻。

[0867]

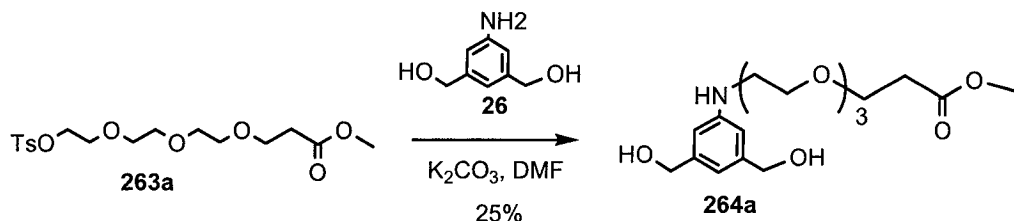


[0868] 化合物 263e:

[0869] 向化合物 263d(30mg, 0.033mmol) 在无水二氯甲烷 (2.5mL) 中的溶液加入 N-羟基琥珀酰亚胺 (9.77mg, 0.082mmol)、EDC(15.78mg, 0.082mmol) 和 DMAP(0.406mg, 3.29 μ Mol)。将反应在室温搅拌 18 小时, 然后用二氯甲烷稀释。将混合物用饱和氯化铵和盐水洗涤。将有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤, 真空浓缩。通过制备型反相 HPLC(C18 柱, 用 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 洗脱) 纯化粗物质。将含有产物的级分用二氯甲烷萃取, 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 在减压下与乙腈共蒸发, 得到为白色固体的化合物 263e(4.5mg, 13%) ;MS(m/z), 实测值 1030.4(M+Na)⁺, 1046.3(M+K)⁺。

[0870] 实施例 30 (IGN-27)

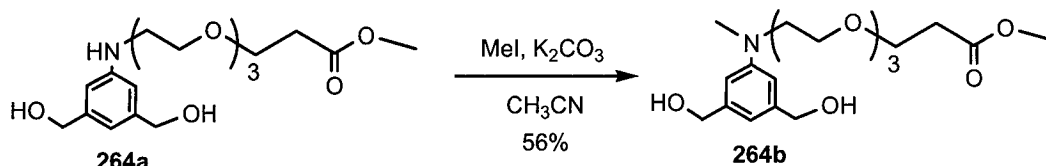
[0871]



[0872] 3-(2-(2-(2-(3,5-二(羟基甲基)苯基氨基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸甲酯 (264a):

[0873] 向 3-(2-(2-(2-(甲苯磺酰基氧基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸甲酯 (263a) (250mg, 0.640mmol) 和 (5-氨基-1,3-亚苯基) 二甲醇 (26) (108mg, 0.704mmol) 在无水 DMF(1.4mL) 中的混合物加入碳酸钾 (133mg, 0.960mmol)。将反应在 80℃ 搅拌 18 小时, 然后冷却至室温。将混合物用水淬灭, 用乙酸乙酯萃取两次。将有机萃取液用盐水洗涤, 经无水硫酸镁干燥, 过滤, 浓缩。通过硅胶色谱法 (5% 甲醇 / 二氯甲烷) 纯化得到 3-(2-(2-(2-(3,5-二(羟基甲基)苯基氨基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸甲酯 (264a) (61mg, 25%) ;¹H NMR(400Hz, CDCl_3) : δ 6.58(s, 1H), 6.47(s, 2H), 4.49(s, 4H), 3.67(t, J = 6.4Hz, 2H), 3.62(s, 3H), 3.64-3.54(m, 10H), 3.21(t, J = 5.2Hz, 2H), 2.51(t, J = 6.4Hz, 2H) ;MS(m/z), 实测值 394.3(M+Na)⁺。

[0874]

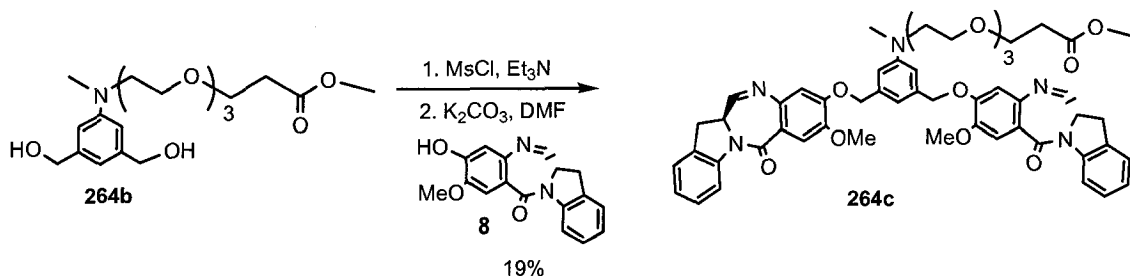


[0875] 化合物 264b:

[0876] 向 3-(2-(2-(2-(3,5-二(羟基甲基)苯基氨基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸甲酯 (264a) (60mg, 0.162mmol) 在乙腈 (1.6mL) 中的溶液加入碘甲烷 (0.013ml, 0.210mmol)

和碳酸钾 (26.8mg, 0.194mmol)。将反应在 82℃ 搅拌 18 小时。将混合物冷却至室温, 然后在减压下除去溶剂。将粗物质用 3 : 1 CH₂Cl₂/MeOH 稀释, 滤过硅藻土。浓缩滤液, 通过用 5% 甲醇 / 二氯甲烷洗脱的硅胶色谱法, 得到化合物 264b (35mg, 56%)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃) : δ 6.58 (s, 3H), 4.52 (s, 4H), 3.64 (t, J = 6.4Hz, 2H), 3.60 (s, 3H), 3.53 (m, 12H), 2.91 (s, 3H), 2.51 (t, J = 6.4Hz, 2H), 2.28 (s, 2H); ¹³C NMR (400Hz, CDCl₃) : δ 172.1, 149.8, 142.4, 113.4, 109.9, 70.7, 70.6, 70.4, 70.3, 68.6, 66.5, 65.6, 52.3, 51.7, 38.9, 34.8; MS (m/z), 实测值 408.4 (M+Na)⁺。

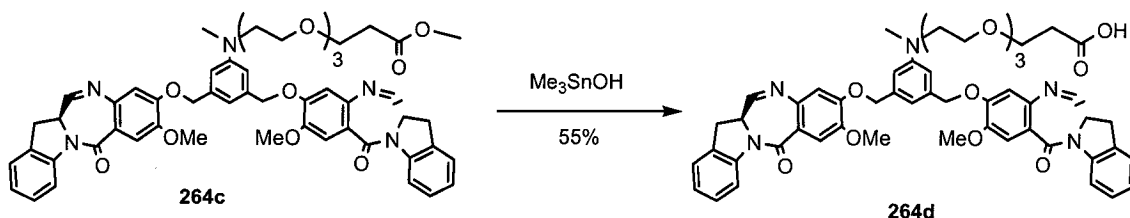
[0877]



[0878] 化合物 264c:

[0879] 向搅拌的化合物 246b (60mg, 0.156mmol) 在无水二氯甲烷 (2.8mL) 中的溶液加入三乙胺 (0.065mL, 0.467mmol)。将混合物冷却至 -5℃, 缓慢加入甲磺酰氯 (0.030mL, 0.389mmol)。在 -5℃ 搅拌 1 小时后, 用冷水淬灭反应, 用冷乙酸乙酯萃取。将有机层用冷水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 在减压下浓缩, 得到二甲磺酸酯中间体。MS (m/z), 实测值 564.0 (M+Na)⁺。向二甲磺酸酯连接体 (49mg, 0.090mmol) 和化合物 8 (66.6mg, 0.226mmol) 在无水 DMF (0.9mL) 中的混合物加入碳酸钾 (62.5mg, 0.452mmol)。将反应在室温搅拌 18 小时, 用水淬灭反应, 用二氯甲烷萃取三次。将有机萃取液用水和盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 真空浓缩。通过快速硅胶色谱法 (5% MeOH/CH₂Cl₂)、通过制备型反相 HPLC (C18 柱, 用 CH₃CN/H₂O 洗脱) 纯化得到为白色固体的化合物 264c (16mg, 19%)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃) : δ 8.18 (d, J = 8.0Hz, 2H), 7.76 (m, 2H), 7.48 (s, 2H), 7.18 (m, 4H), 7.02 (t, J = 7.2Hz, 2H), 6.79 (m, 2H), 6.74 (s, 1H), 6.65 (s, 2H), 5.08 (m, 4H), 4.39 (m, 2H), 3.89 (s, 6H), 3.66 (t, J = 6.4Hz, 2H), 3.62 (m, 2H), 3.60 (s, 3H), 3.53 (m, 12H), 3.40 (m, 2H), 2.91 (s, 3H), 2.51 (t, J = 6.4Hz, 2H); MS (m/z), 实测值 978.3 (M+H₂O+Na)⁺, 996.3 (M+2H₂O+Na)⁺。

[0880]

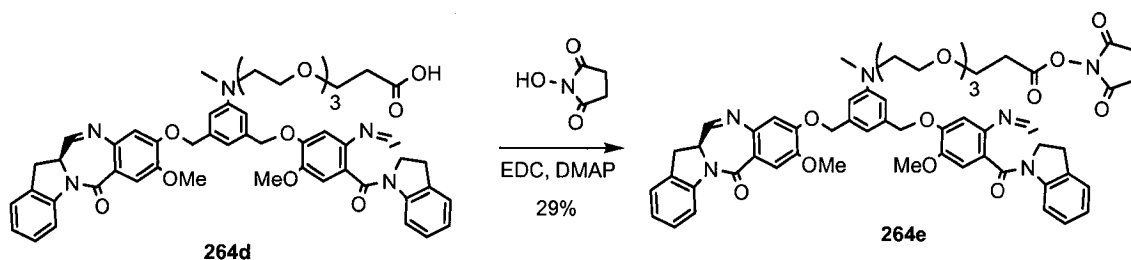


[0881] 化合物 264d:

[0882] 向化合物 264c (26mg, 0.028mmol) 在无水 1,2-二氯乙烷 (1.1mL) 中的溶液加入氢氧化三甲基锡 (100mg, 0.554mmol)。将反应在 80℃ 搅拌 18 小时。将混合物冷却至室温, 用二氯甲烷和饱和氯化铵萃取。将有机萃取液用盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 真空浓缩。通过使用 5% 甲醇 / 二氯甲烷的制备型 TLC 纯化得到化合物 264d (14mg, 55%)。MS (m/

z), 实测值 $922.1 (M-1)^-$, $940.0 (M-1+H_2O)^-$, $958.1 (M-1+2H_2O)^-$ 。

[0883]

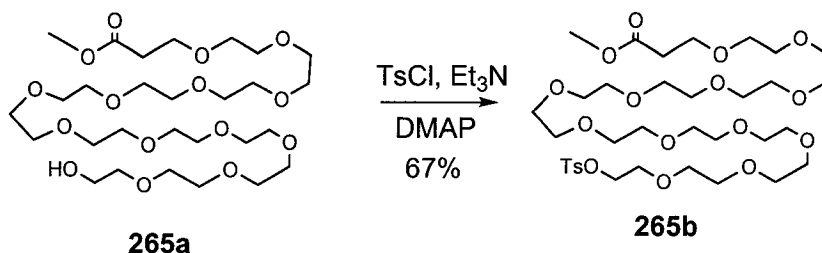


[0884] 化合物 264e:

[0885] 向搅拌的化合物 264d (13mg, 0.014mmol) 在无水二氯甲烷 (1.0mL) 中的溶液加入 N-羟基琥珀酰亚胺 (5.01mg, 0.042mmol)、EDC (8.09mg, 0.042mmol) 和 DMAP (0.172mg, 1.407 μ mol)。将反应在室温搅拌 18 小时。将混合物用二氯甲烷和饱和氯化铵萃取。将有机层用盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 真空浓缩。通过制备型反相 HPLC (C18 柱, 用 CH_3CN/H_2O 洗脱) 纯化粗物质。将含有产物的级分合并, 用二氯甲烷萃取, 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 在减压下与乙腈共蒸发, 得到化合物 264e (4.1mg, 29%)。MS (m/z), 实测值 $1021.3 (M+H)^+$, $1043.2 (M+Na)^+$, $1061.2 (M+H_2O+Na)^+$, $1079.2 (M+2H_2O+Na)^+$ 。

[0886] 实施例 31 (IGN-28)

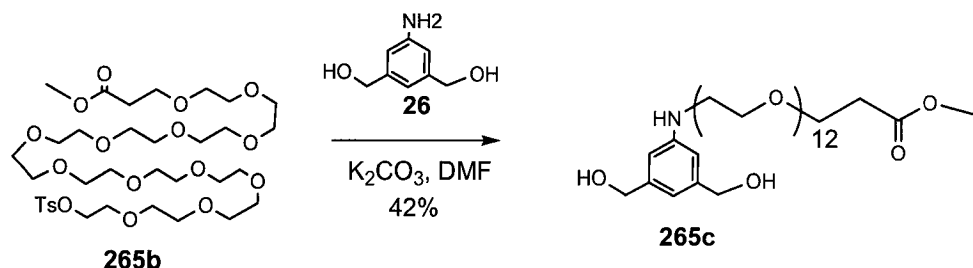
[0887]



[0888] 1-(甲苯磺酰基氧基)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-十二氧杂三十九烷-39-酸甲酯 (265b):

[0889] 在 0°C 、向搅拌的 1-羟基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-十二氧杂三十九烷-39-酸甲酯 (265a) (1.2g, 1.897mmol) 在二氯甲烷 (9.48mL) 中的溶液加入三乙胺 (0.529mL, 3.79mmol)、甲苯磺酰氯 (0.542g, 2.84mmol) 和 DMAP (0.023g, 0.190mmol)。将混合物在 0°C 搅拌 1 小时, 然后在环境温度搅拌三小时, 之后用水淬灭, 用二氯甲烷萃取两次。将有机萃取液用盐水洗涤, 经无水硫酸镁干燥, 过滤, 真空浓缩。通过硅胶色谱法 (5% MeOH/ CH_2Cl_2) 纯化得到为浅黄色油的 1-(甲苯磺酰基氧基)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-十二氧杂三十九烷-39-甲酸酯 (265b) (1.0g, 67%)。 ^1H NMR (400Hz, $CDCl_3$): δ 7.80 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 2H), 7.35 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 2H), 4.16 (t, $J = 4.8\text{Hz}$, 2H), 3.75 (t, $J = 6.4\text{Hz}$, 2H), 3.69 (s, 3H), 3.64 (m, 46H), 2.60 (t, $J = 6.4\text{Hz}$, 2H), 2.45 (s, 3H)。

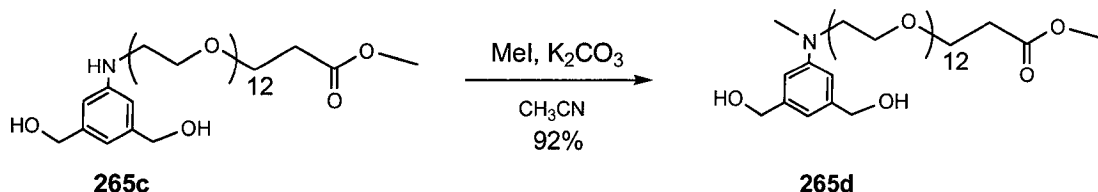
[0890]



[0891] 1-(3,5-二(羟基甲基)苯基氨基)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-十二氧杂三十九烷-39-酸甲酯 (265c):

[0892] 向搅拌的 1-(甲苯磺酰基氧基)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-十二氧杂三十九烷-39-酸甲酯 (265b) (700mg, 0.890mmol) 和 (5-氨基-1,3-亚苯基) 二甲醇 (26) (150mg, 0.978mmol) 在无水 DMF (2.0mL) 中的混合物加入 碳酸钾 (184mg, 1.334mmol)。将反应在 80℃ 搅拌过夜。将混合物冷却至室温, 用水淬灭, 用 10% 甲醇 / 二氯甲烷萃取。将有机层用盐水洗涤, 经无水硫酸镁干燥, 过滤, 真空浓缩。通过硅胶色谱法 (用 5 → 15% MeOH/CH₂Cl₂ 洗脱) 纯化粗产物, 得到 1-(3,5-二(羟基甲基)苯基氨基)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-十二氧杂三十九烷-39-酸甲酯 (265c) (285mg, 42%)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃): δ 6.62 (s, 1H), 6.51 (s, 2H), 4.52 (s, 4H), 3.72 (t, J = 6.4Hz, 2H), 3.65 (s, 3H), 3.61 (m, 48H), 2.94 (s, 2H), 2.63 (s, 1H), 2.57 (t, J = 6.4Hz, 2H); MS (m/z), 实测值 790.4 (M+Na)⁺。

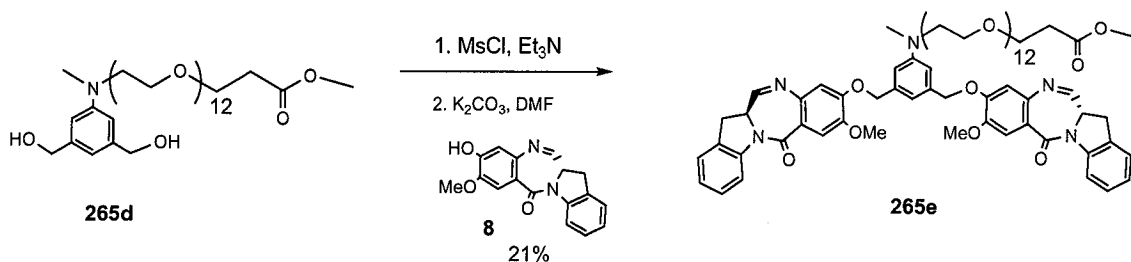
[0893]



[0894] 甲基 2-(3,5-二(羟基甲基)苯基)-5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十二氧杂-2-氮杂四十一烷-41-酸甲酯 (265d):

[0895] 向搅拌的 1-(3,5-二(羟基甲基)苯基氨基)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-十二氧杂三十九烷-39-酸甲酯 (265c) (67mg, 0.087mmol) 在无水 DMF (1.0mL) 中的溶液加入 碘甲烷 (7.06 μl, 0.113mmol) 和 碳酸钾 (14.47mg, 0.105mmol)。将反应在 82℃ 搅拌 18 小时。将混合物冷却至室温, 用水稀释用二氯甲烷萃取。将有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤, 真空浓缩。通过制备型 TLC (10% MeOH/CH₂Cl₂) 纯化得到 2-(3,5-二(羟基甲基)苯基)-5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十二氧杂-2-氮杂四十一烷-41-酸甲酯 (265d) (62mg, 92%)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃): δ 6.65 (s, 3H), 4.59 (d, J = 5.6Hz, 4H), 3.74 (t, J = 6.4Hz, 2H), 3.67 (s, 3H), 3.61 (m, 46H), 3.54 (t, J = 6.0Hz, 2H), 2.98 (s, 3H), 2.59 (t, J = 6.4Hz, 2H), 2.55 (m, 2H); MS (m/z), 实测值 820.5 (M+K)⁺。

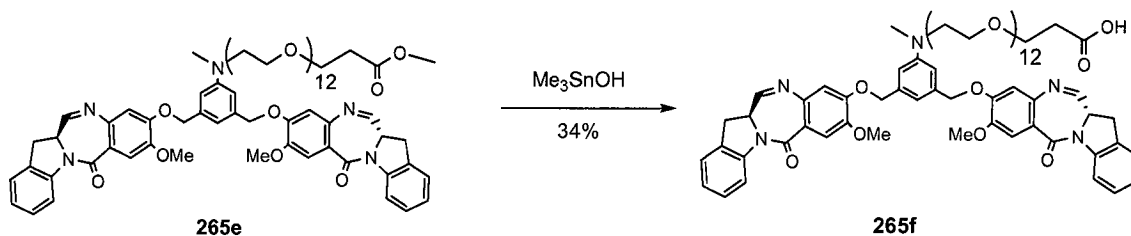
[0896]



[0897] 化合物 265e:

[0898] 向搅拌的 2-(3,5-二(羟基甲基)苯基)-5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十二氧杂-2-氮杂四十一烷-41-酸甲酯 (265d) (71mg, 0.091mmol) 在无二氯甲烷 (1.4mL) 中的溶液加入三乙胺 (0.038mL, 0.272mmol)。将混合物冷却至 -5℃, 缓慢加入甲磺酰氯 (0.018mL, 0.227mmol)。在 -5℃ 搅拌 1 小时后, 将反应用冷水淬灭, 用冷乙酸乙酯萃取。将有机萃取液用冷水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 在减压下浓缩, 得到 2-(3,5-二((甲基磺酰基氧基)甲基)苯基)-5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十二氧杂-2-氮杂四十一烷-41-酸甲酯。MS (m/z), 实测值 960.2 (M+Na)⁺。向 2-(3,5-二((甲基磺酰基氧基)甲基)苯基)-5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十二氧杂-2-氮杂四十一烷-41-酸甲酯 (69mg, 0.074mmol) 和化合物 8 (54.1mg, 0.184mmol) 在无二氯甲烷 (0.8mL) 中的混合物加入碳酸钾 (50.8mg, 0.368mmol)。将反应在室温搅拌 18 小时。用水淬灭反应, 用二氯甲烷萃取两次。剩余的水层用 50% MeOH/CH₂Cl₂ 萃取两次。将合并的有机萃取液用盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 真空浓缩。通过快速硅胶色谱法 (5% MeOH/CH₂Cl₂)、然后通过制备型反相 HPLC (C18 柱, 用 CH₃CN/H₂O 洗脱) 纯化得到化合物 265e (23mg, 23%)。MS (m/z), 实测值 1375.4 (M+Na+H₂O)⁺, 1393.4 (M+Na+2H₂O)⁺。

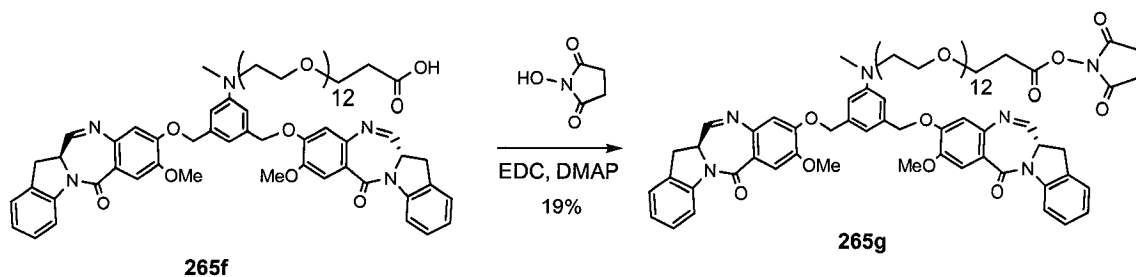
[0899]



[0900] 化合物 265f:

[0901] 向搅拌的化合物 265e (22mg, 0.016mmol) 在无二氯乙烷 (300 μL) 中的溶液加入氢氧化三甲基锡 (44.7mg, 0.247mmol)。将反应在 90℃ 搅拌 18 小时。将混合物冷却至室温, 然后用二氯甲烷稀释。将有机层用含有数滴 5% 浓盐酸的盐水洗涤, 然后单独用盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 真空浓缩。通过制备型 TLC (2×5% MeOH/CH₂Cl₂) 纯化得到化合物 265f (7.5mg, 34%)。MS (m/z), 实测值 1318.4 (M-1)⁻, 1336.4 (M-1+H₂O)⁻, 1354.4 (M-1+2H₂O)⁻。

[0902]

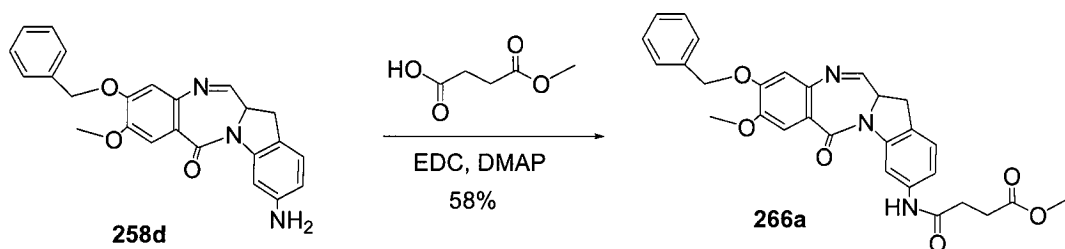


[0903] 化合物 265g:

[0904] 向搅拌的化合物 265f (7.5mg, 5.68 μ mol) 在无二氯甲烷 (400 μ L) 中的溶液加入 N-羟基琥珀酰亚胺 (1.961mg, 0.017mmol)、EDC (3.27mg, 0.017mmol) 和 DMAP (0.069mg, 0.568 μ mol)。将反应在室温搅拌 18 小时。将混合物用二氯甲烷和饱和氯化铵萃取。将有机层用盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 在减压下除去溶剂。通过制备型反相 HPLC (C18 柱, 用 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 洗脱) 纯化粗物质。将含有产物的级分用二氯甲烷萃取, 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 与乙腈共蒸发, 得到化合物 265g (1.5mg, 19%)。MS (m/z), 实测值 1439.9 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺, 1457.9 ($\text{M}+\text{Na}+\text{H}_2\text{O}$)⁺。

[0905] 实施例 32 (IGN-22)

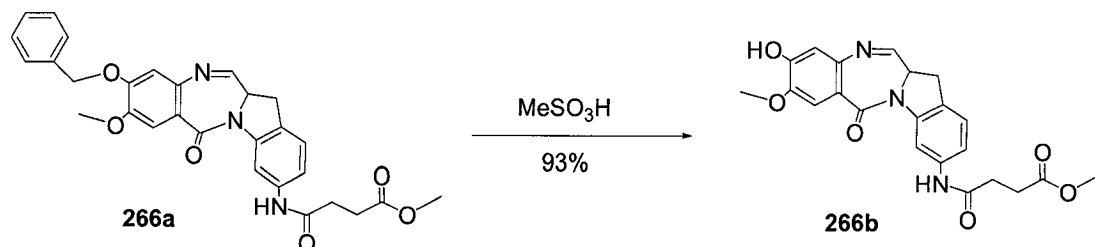
[0906]



[0907] 化合物 266a:

[0908] 向化合物 258d (20mg, 0.050mmol) 在二氯甲烷 (1.0mL) 中的溶液加入琥珀酸单甲酯 (13.23mg, 0.100mmol), 加入 EDC (19.20mg, 0.100mmol) 和 DMAP (3.06mg, 0.025mmol)。将反应在室温搅拌 18 小时。将混合物用水稀释, 用乙酸乙酯萃取。将有机萃取液用盐水洗涤, 过滤, 在减压下浓缩。通过硅胶色谱法 (3% $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$) 纯化得到化合物 266a (15mg, 58%)。MS (m/z), 实测值 568.4 ($\text{M}+\text{Na}+\text{MeOH}$)⁺。

[0909]

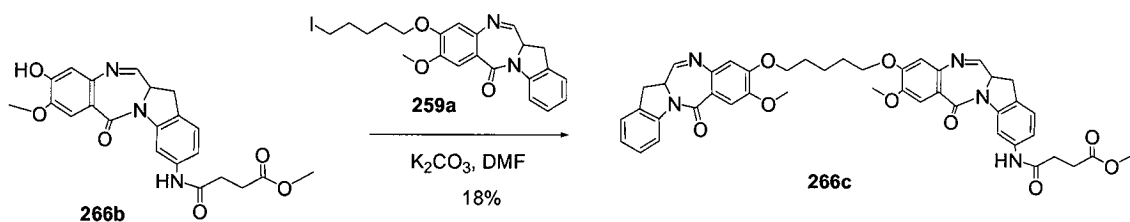


[0910] 化合物 266b:

[0911] 向化合物 266a (15mg, 0.029mmol) 在二氯甲烷 (3.5mL) 中的溶液加入甲磺酸 (0.114mL, 1.753mmol)。将反应在室温搅拌 1 小时, 然后用甲醇和水稀释。将混合物用饱和碳酸氢钠中和至 $\text{pH} = 7$, 用二氯甲烷萃取三次。将有机层经无水硫酸钠干燥, 过滤, 真空浓缩。纯化通过制备型 TLC (2 \times 5% $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$) 得到化合物 266b (11.5mg, 93%)。MS (m/z),

实测值 446.4 (M+Na)⁺, 478.4 (M+Na+MeOH)⁺。

[0912]

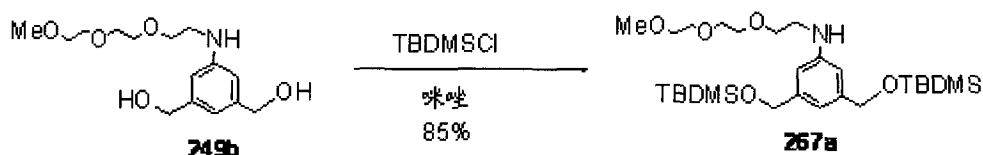


[0913] 化合物 266c:

[0914] 向化合物 266b (11.5mg, 0.027mmol) 和化合物 259a (19.98mg, 0.041mmol) 在无水 DMF (0.5mL) 中的混合物加入碳酸钾 (11.26mg, 0.081mmol)。将反应在室温搅拌 18 小时。用水淬灭混合物, 用二氯甲烷萃取三次。将有机层用盐水洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 过滤, 在减压下浓缩。通过制备型 TLC (5% MeOH/CH₂Cl₂)、通过制备型反相 HPLC (C18 柱, 用 CH₃CN、H₂O 洗脱) 纯化得到化合物 266c (4mg, 18%)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃): δ 8.27 (d, J = 8.0Hz, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.87 (m, 2H), 7.74 (m, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.49 (m, 1H), 7.26 (m, 1H), 7.19 (d, J = 8.8Hz, 1H), 7.10 (m, 1H), 6.82 (m, 2H), 4.49 (m, 2H), 4.12 (m, 4H), 3.95 (s, 6H), 3.71 (s, 3H), 3.48 (m, 4H), 2.75 (m, 2H), 2.66 (m, 2H), 1.98 (m, 4H), 1.70 (m, 2H); MS (m/z), 实测值 824.1 (M+K)⁺。

[0915] 实施例 33 (IGN-31)

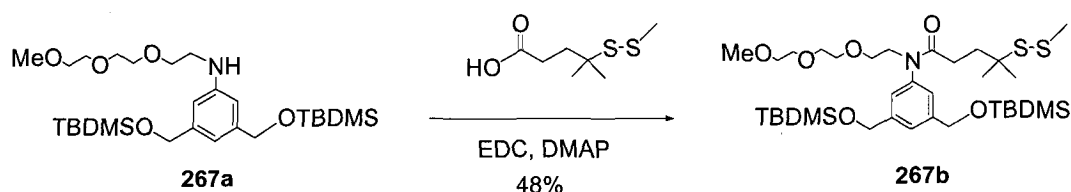
[0916]



[0917] 3,5-二((叔丁基二甲基甲硅烷氧基)甲基)-N-(2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)乙基)苯胺 (267a):

[0918] 向 (5-(2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)乙基氨基)-1,3-亚苯基) 二甲醇 (249b) (0.4g, 1.336mmol) 在二氯甲烷 (6.68mL) 中的溶液加入叔丁基二甲基氯硅烷 (0.604g, 4.01mmol) 和咪唑 (0.318g, 4.68mmol)。将反应在室温搅拌 90 分钟。将混合物用二氯甲烷稀释, 滤过硅藻土。浓缩滤液, 通过用 20% 乙酸乙酯 / 己烷洗脱的硅胶色谱法纯化, 得到 3,5-二((叔丁基二甲基甲硅烷氧基)甲基)-N-(2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)乙基)苯胺 (267a) (600mg, 85%)。MS (m/z), 实测值 550.3 (M+Na)⁺。

[0919]

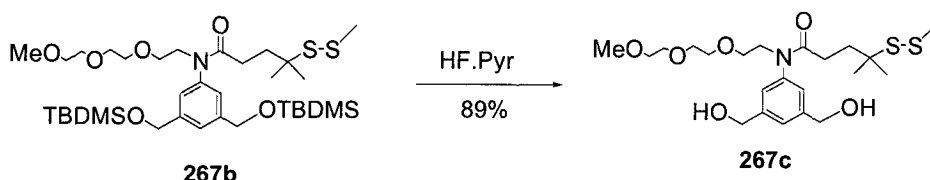


[0920] N-(3,5-二((叔丁基二甲基甲硅烷氧基)甲基)苯基)-N-(2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)乙基)-4-甲基-4-(甲基二硫烷基)戊酰胺 (267b):

[0921] 向 3,5-二((叔丁基二甲基甲硅烷氧基)甲基)-N-(2-(2-(2-甲氧基乙氧基)

乙氧基)乙基)苯胺(267a)(525mg,0.995mmol)和4-甲基-4-(甲基二硫烷基)戊酸(232mg,1.193mmol)在无水二氯甲烷(9.0mL)中的混合物加入EDC(229mg,1.193mmol)和DMAP(12.15mg,0.099mmol)。将反应在室温搅拌5小时。将混合物用二氯甲烷稀释和水稀释。将有机层用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤,在减压下浓缩。通过硅胶色谱法(30%乙酸乙酯/己烷)纯化得到N-(3,5-二((叔丁基二甲基甲硅烷氧基)甲基)苯基)-N-(2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)乙基)-4-甲基-4-(甲基二硫烷基)戊酰胺(267b)(335mg,48%)。

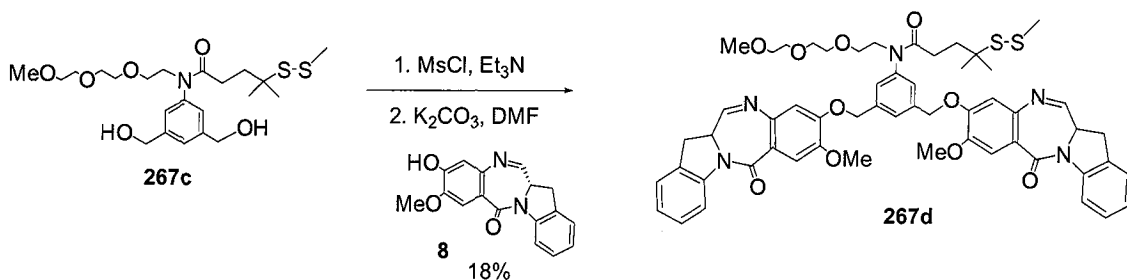
[0922]



[0923] N-(3,5-二(羟基甲基)苯基)-N-(2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)乙基)-4-甲基-4-(甲基二硫烷基)戊酰胺(267c):

[0924] 在0℃、向搅拌的N-(3,5-二((叔丁基二甲基甲硅烷氧基)甲基)苯基)-N-(2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)乙基)-4-甲基-4-(甲基二硫烷基)戊酰胺(267b)(315mg,0.447mmol)在无水乙腈(7.0mL)中的溶液加入无水吡啶(7.00mL),然后滴加HF.吡啶(3.1mL,1mL/100mg)。将反应在0℃搅拌2小时。将其用乙酸乙酯稀释,用饱和碳酸氢钠缓慢淬灭。将混合物用乙酸乙酯萃取三次。将有机层用水和盐水洗涤,经硫酸钠干燥,过滤,浓缩。通过用5% MeOH/CH₂Cl₂洗脱的硅胶色谱法纯化,得到N-(3,5-二(羟基甲基)苯基)-N-(2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)乙基)-4-甲基-4-(甲基二硫烷基)戊酰胺(267c)(190mg,89%)。¹H NMR(400Hz, CDCl₃): δ 7.21(s, 1H), 7.16(s, 2H), 4.63(s, 4H), 3.79(t, J = 5.2, 5.6Hz, 2H), 3.53(m, 6H), 3.48(m, 4H), 3.29(s, 3H), 2.53(s, 2H), 2.27(s, 3H), 2.07(m, 2H), 1.84(m, 2H), 1.08(s, 6H); MS(m/z), 实测值 498.2(M+Na)⁺。

[0925]



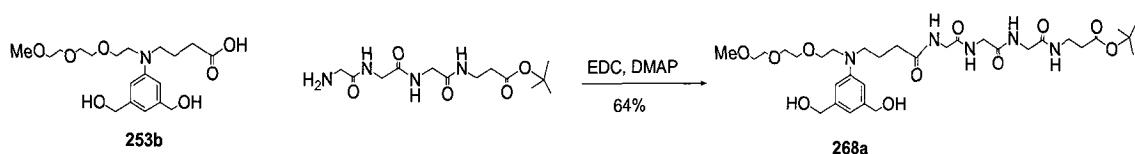
[0926] 化合物 267d:

[0927] 向搅拌的N-(3,5-二(羟基甲基)苯基)-N-(2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)乙基)-4-甲基-4-(甲基二硫烷基)戊酰胺(267c)(72mg,0.151mmol)在无水二氯甲烷(3.0mL)中的溶液加入三乙胺(0.063mL,0.454mmol)。将混合物冷却至-5℃,缓慢加入甲磺酰氯(0.029mL,0.378mmol)。在-5℃搅拌1小时后,用冷水淬灭反应,用冷乙酸乙酯萃取。将有机层用冷水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤,在减压下浓缩,得到(5-(N-(2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)乙基)-4-甲基-4-(甲基二硫烷基)戊酰氨基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二甲磺酸酯。MS(m/z), 实测值 654.1(M+Na)⁺。向(5-(N-(2-(2-(2-甲氧基乙

氧基)乙氧基)乙基)-4-甲基-4-(甲基二硫烷基)戊酰氨基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二甲磺酸酯(89mg,0.141mmol)和化合物8(83mg,0.282mmol)在无水DMF(1.5mL)中的溶液加入碳酸钾(97mg,0.704mmol)。将反应在室温搅拌18小时。用水淬灭混合物,用二氯甲烷萃取两次。将有机层用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤,真空浓缩。通过硅胶色谱法(5% MeOH/CH₂Cl₂)和制备型反相HPLC(C18柱,用CH₃CN/H₂O洗脱)纯化得到化合物267d(27mg,18%)。¹H NMR(400Hz, CDCl₃): δ 8.28(d, J = 4.8Hz, 2H), 7.87(m, 2H), 7.61(s, 2H), 7.37-7.27(m, 7H), 7.13(t, J = 7.2, 7.6Hz, 2H), 6.88(s, 2H), 5.25(m, 4H), 4.50(m, 2H), 4.00(s, 6H), 3.90(m, 2H), 3.73(m, 2H), 3.60(m, 6H), 3.51(m, 6H), 3.30(s, 3H), 2.32(s, 3H), 2.15(m, 2H), 1.90(m, 2H), 1.13(s, 6H); MS(m/z), 实测值 1050.3(M+Na)⁺, 1068.3(M+H₂O+Na)⁺, 1086.3(M+2H₂O+Na)⁺。

[0928] 实施例 34(IGN-32)

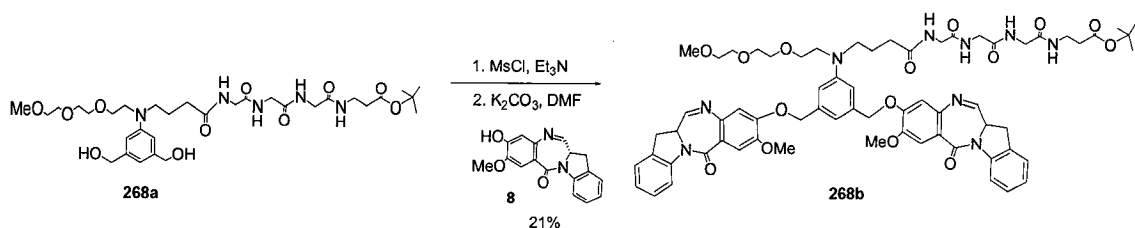
[0929]



[0930] 化合物 268a:

[0931] 向化合物 253b(150mg,0.389mmol)和 3-(2-(2-(2-氨基乙酰氨基)乙酰氨基)乙酰氨基)丙酸叔丁酯(148mg,0.467mmol)在无水DMF(1.5mL)中的混合物加入EDC(90mg,0.467mmol)和DMAP(4.75mg,0.039mmol)。将反应在室温搅拌18小时。通过制备型反相HPLC(C18柱,用CH₃CN/H₂O+0.1%甲酸洗脱)直接纯化混合物。通过制备型TLC(15% MeOH/CH₂Cl₂)进一步纯化,得到化合物268a(170mg,64%)。¹H NMR(400Hz, CDCl₃): δ 7.62(m, 1H), 7.56(m, 1H), 7.38(m, 1H), 7.11(m, 1H), 6.55(s, 2H), 6.52(s, 1H), 4.45(s, 4H), 4.17(s, 2H), 3.63(m, 6H), 3.55-3.40(m, 12H), 3.28(m, 7H), 2.33(t, J = 6.4Hz, 2H), 2.16(m, 2H), 1.79(m, 2H), 1.36(s, 9H); MS(m/z), 实测值 706.3(M+Na)⁺。

[0932]



[0933] 化合物 268b:

[0934] 向搅拌的化合物 268a(59mg,0.086mmol)在无水二氯甲烷(1.75mL)中的溶液加入三乙胺(0.036ml,0.259mmol)。将混合物冷却至-5℃,缓慢加入甲磺酰氯(0.017ml,0.216mmol)。在-5℃搅拌1小时后,用冷水淬灭反应,用冷乙酸乙酯萃取。将有机萃取液用冷水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤,在减压下浓缩,得到所需的二甲磺酸酯中间体。MS(m/z), 实测值 862.3(M+Na)⁺。

[0935] 向二甲磺酸酯中间体(65mg,0.077mmol)和化合物8(114mg,0.387mmol)在无水DMF(1.0mL)中的溶液加入碳酸钾(86mg,0.619mmol)。将反应在室温搅拌18小时,然后用水淬灭,用二氯甲烷萃取三次。将有机层用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤,在减压

下浓缩。通过硅胶色谱法 (2% → 10% MeOH/CH₂Cl₂) 纯化得到化合物 268b (22mg, 21%)。¹H NMR (400Hz, CDCl₃): δ 8.26 (d, J = 8.0Hz, 2H), 7.88 (m, 2H), 7.58 (s, 2H), 7.28 (m, 4H), 7.13 (t, J = 7.2Hz, 2H), 6.89 (s, 2H), 6.81 (s, 1H), 6.73 (s, 2H), 5.19 (m, 4H), 4.48 (m, 2H), 3.99 (s, 6H), 3.7-3.4 (m, 26H), 3.34 (s, 3H), 2.45 (t, J = 6.4Hz, 2H), 2.30 (m, 2H), 1.81 (m, 2H), 1.44 (s, 9H)。

[0936] 实施例 35

[0937] chB38.1-IGN14 轭合物的制备:

[0938] 在含有 0.05M N-(2-羟基乙基)-哌嗪-N'-2-乙磺酸 (HEPES) 和 2mM 乙二胺四乙酸 (EDTA) 的含水缓冲液 (pH8) 中的浓度为 2mg/m 的 chB38.1 抗体溶液用 10 倍摩尔过量的 IGN14-NHS 在二甲基乙酰胺 (DMA) 中的溶液处理, 以使 DMA 在缓冲液中的最终浓度为 10% v/v。将反应混合物在室温搅拌 120 分钟, 然后装载到之前在含有 10mM 组氨酸、250mM 甘氨酸、1% 蔗糖的含水缓冲液 (pH5.5) 中达到平衡的 Sphadex G25 凝胶过滤柱 (HiPrep™26/10 脱盐柱 GE#17-5087-01) 上。收集含有轭合抗体的级分, 集合以得到产物。将集合的样品用同一洗脱缓冲液透析过夜以进一步纯化产物。用分光光度法、使用确定的 IGN-14 ($\epsilon_{330} = 15, 231M^{-1}cm^{-1}$ 和 $\epsilon_{280} = 26, 864M^{-1}cm^{-1}$) 和 chB38.1 抗体 ($\epsilon_{280nm} = 204, 000M^{-1}cm^{-1}$) 的消光系数测定最终轭合物。将每抗体分子 3.3IGN14 分子的平均值相连。

[0939] 实施例 36

[0940] huMy9-6-IGN23 轭合物的制备

[0941] 在含有 0.05M N-(2-羟基乙基)-哌嗪-N'-2-乙磺酸 (HEPES) 和 2mM 乙二胺四乙酸 (EDTA) 的含水缓冲液 (pH8.5) 中的浓度为 2mg/mL 的 huMy9-6 抗体溶液用 12.5 倍摩尔过量的 IGN-07NHS 在二甲基乙酰胺 (DMA)、甘油和蔗糖中的溶液处理。DMA、甘油和蔗糖在缓冲液中的最终溶液分别为 15%、5% 和 5% (v/v)。将反应混合物在室温搅拌 120 分钟, 然后装载到之前在含有 10mM 组氨酸、250mM 甘氨酸、1% 蔗糖的含水缓冲液 (pH5.5) 中达到平衡的 Sphadex G25 凝胶过滤柱 (HiPrep™26/10 脱盐柱 GE#17-5087-01) 上。收集含有轭合抗体的级分, 集合以得到产物。使用 Millipore 离心过滤装置浓缩集合的样品, 然后用同一洗脱缓冲液透析过夜以进一步纯化产物。

[0942] 用分光光度法、使用确定的 IGN-23 ($\epsilon_{330} = 15, 231M^{-1}cm^{-1}$ 和 $\epsilon_{280} = 26, 864M^{-1}cm^{-1}$) 和 uMy9-6 ($\epsilon_{280nm} = 206, 460M^{-1}cm^{-1}$) 的消光系数测定最终轭合物。将每抗体分子 2.2IGN23 分子的平均值相连。

[0943] 实施例 37

[0944] chB38.1-IGN27 轭合物的制备

[0945] 在含有 0.05M N-(2-羟基乙基)-哌嗪-N'-2-乙磺酸 (HEPES) 和 2mM 乙二胺四乙酸 (EDTA) 的含水缓冲液 (pH8.5) 中的浓度为 2mg/mL 的 chB38.1 抗体溶液用 12 倍摩尔过量的 IGN-07NHS 在二甲基乙酰胺 (DMA, 5mM 储备液) 中的溶液处理, 以使 DMA 在缓冲液中的最终浓度为 15% v/v。将反应混合物在室温搅拌 4 小时, 然后装载到之前在含有 PBS 的含水缓冲液 (pH7.4) 中达到平衡的 Sphadex G25 凝胶过滤柱 (HiPrep™26/10 脱盐柱 GE#17-5087-01) 上。收集含有轭合抗体的级分, 集合以得到产物。将集合的样品用同一洗脱缓冲液透析过夜以进一步纯化产物。

[0946] 用分光光度法、使用确定的 IGN-27 ($\epsilon_{330} = 15, 231M^{-1}cm^{-1}$ 和 $\epsilon_{280} = 26, 864M^{-1}cm^{-1}$)

和 chB38.1 抗体 ($e_{280\text{nm}} = 204,000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 的消光系数测定最终轭合物。将每抗体分子 2.9IGN27 分子的平均值相连。

[0947] 实施例 38

[0948] IGN游离药物和 IGN轭合物的体外效能:

[0949] 所用的普遍操作:将 IGN 游离药物或 IGN 轭合物的样品加至 96 孔平底组织培养板,使用系列稀释液滴定以覆盖所需的摩尔范围。将抗原阳性 (Ag+) 或抗原阴性 (Ag-) 细胞以特定的细胞密度加至孔中,所采用的方式是:对于每种对应细胞系的每种药物浓度的样品一式三份。然后,将各板在 37°C 于 5% CO₂ 的气氛下孵育 4-5 天,这取决于细胞系,COLO205 (1,000 个细胞/孔)、Namalwa (3,000 个细胞/孔)-4 天;RH30 (1,000 个细胞/孔)、Ramos (10,000 个细胞/孔)、KB (1,000 个细胞/孔)-5 天)。

[0950] 在孵育期结束时,然后使用基于 WST 的细胞成活力测定法来测定细胞毒性效能,通过用 WST 显色 (2-7 小时) 来测量存活细胞。测量每个孔的吸光度,并且对每种浓度的细胞的存活分数作图以揭示 (轭合物的) 细胞毒性和抗原特异性。

[0951] 针对选自 COLO205、NB-4、LOVO、Namalwa、RH30、Ramos、KB、和 / 或 LOVO 的一组人癌细胞系,测量 IGN 游离药物的细胞毒性以及 IGN 轭合物的效能和特异性。结果示于图 51-58。

[0952] 图 51:表显示 IGN 游离药物针对多个细胞系的高效能 (以 nM 计)。一般而言,发现 IGN 游离药物针对这组细胞系在低皮摩尔范围内是有效的。

[0953] 图 52:(A) 发现 chB38.1-IGN13 轭合物 (3.8IGN/Ab) 针对 COLO205 (Ag+) 细胞在低皮摩尔水平是有效的,并且当用 1M 未轭合的 chB38.1 抗体封闭抗原结合部位时,活性显著减少 (0.26nM),表明此类轭合物的高特异性 (> 260 倍)。(B) 在克隆原性测定中发现 chB38.1-IGN13 轭合物 (3.8IGN/Ab) 针对 LOVO (Ag+) 细胞在低皮摩尔水平 (0.002pM) 是有效的。

[0954] 图 53:发现 huMy9-6-IGN13 轭合物 (3.4IGN/Ab) 针对 NB-4 (Ag+) 细胞 (0.077nM) 在皮摩尔水平是有效的,并且当用 1 μ M huMy9-6 抗体封闭抗原结合部位时,活性显著减少 (0.26nM),表明该轭合物是特异性的。

[0955] 图 54:(A) 发现 chB38.1-IGN14 轭合物 (3.1IGN/Ab) 针对 COLO205 (Ag+) 细胞在亚皮摩尔水平是有效的,并且对 Namalwa (Ag-) 细胞的活性 (0.9nM) 显著减少,表明该轭合物的高特异性 (> 900 倍)。(B) 发现 chB38.1-IGN14 轭合物 (2.6IGN/Ab) 对 LOVO (Ag+) 细胞非常有效 (0.012nM),并且对 Namalwa (Ag-) 细胞的活性 (> 3.0nM) 显著减少,表明该轭合物的高特异性 (> 250 倍)。

[0956] 图 55:发现 huMy9-6-IGN14 轭合物 (3.3IGN/Ab) 对 NB-4 (Ag+) 细胞高度有效 (0.033nM),并且对 Namalwa (Ag-) 细胞的活性 (0.6nM) 显著减少,表明该轭合物的高特异性。

[0957] 图 56:(A) 发现 chB38.1-IGN23 轭合物 (2.5IGN/Ab) 针对 LOVO (Ag+) 细胞在皮摩尔水平是有效的 (0.063nM),并且对 Namalwa (Ag-) 细胞的活性 (> 3.0nM) 显著减少,表明该轭合物的高特异性。(B) 发现 chB38.1-IGN23 轭合物 (2.0IGN/Ab) 对 COLO205 (Ag+) 细胞在皮摩尔水平 (0.006nM) 是有效的,并且当用 1 μ M chB38.1 封闭抗原结合部位时,活性显著减少 (2.5nM),表明该轭合物是特异性的。

[0958] 图 57:发现 chB38.1-IGN29 轭合物 (2.8IGN/Ab) 针对 COLO205 (Ag+) 细胞在皮摩

尔水平 (0.410nM) 是有效的, 并且当用 $1\ \mu\text{M}$ chB38.1 封闭抗原结合部位时, 活性显著减少 (18nM), 表明该轭合物是特异性的。

[0959] 实施例 39

[0960] chR38.1-IGN14轭合物在具有 COL0205肿瘤的裸小鼠中的体内效力:

[0961] 在此项研究中, 研究 chB38.1-IGN14 在具有 COL0205 肿瘤 (一种人结肠癌模型) 的雌性裸小鼠中的抗肿瘤活性。COL0205 肿瘤细胞, 2×10^6 个细胞 / 小鼠以 0.1mL/ 小鼠的体积皮下接种在 5 周龄雌性无胸腺裸小鼠的右肩之上的面积。肿瘤细胞接种后 8 天, 通过肿瘤体积将小鼠随机分组 (每组 $n = 6$)。在随机化那天开始治疗, 各组包括给药 PBS (200 μL / 注射) 给药的对照组、裸露 chB38.1 抗体 (2.8mg/kg)、非靶向 chKTI-IGN14 (50 μg /kg) 轭合物和 chB38.1-IGN14 (50 μg /kg IGN14 剂量 ; 2.5mg/kg 抗体剂量)。按每周时间表施用所有治疗两次 (第 8 和 15 天, 细胞接种后)。箭头表示接种后给药时间。所有治疗的耐受性良好, 平均体重损失与 PBS 对照小鼠中观察到的体重损失相当。示出中值肿瘤体积与时间的关系 (图 58), 数据表明 chB38.1-IGN14 轭合物的抗肿瘤活性。非靶向抗体和裸露抗体均示出未优于用媒介物对照所观察到的活性, 表明用 chB38.1-IGN-14 轭合物所观察到的抗肿瘤活性是抗原特异性的。

[0962] 实施例 40

[0963] 图 59 示出了 chB38.1-IGN14 (脱糖基化抗体) 的质谱。峰为标记的 D1-D7 显示每抗体附接的 IGN14 分子的数目。将每抗体 IGN14 分子的平均数计算为 3.5 (通过 UV-vis 计算的匹配药物负载率)。

IBD 单体 8 的合成路线

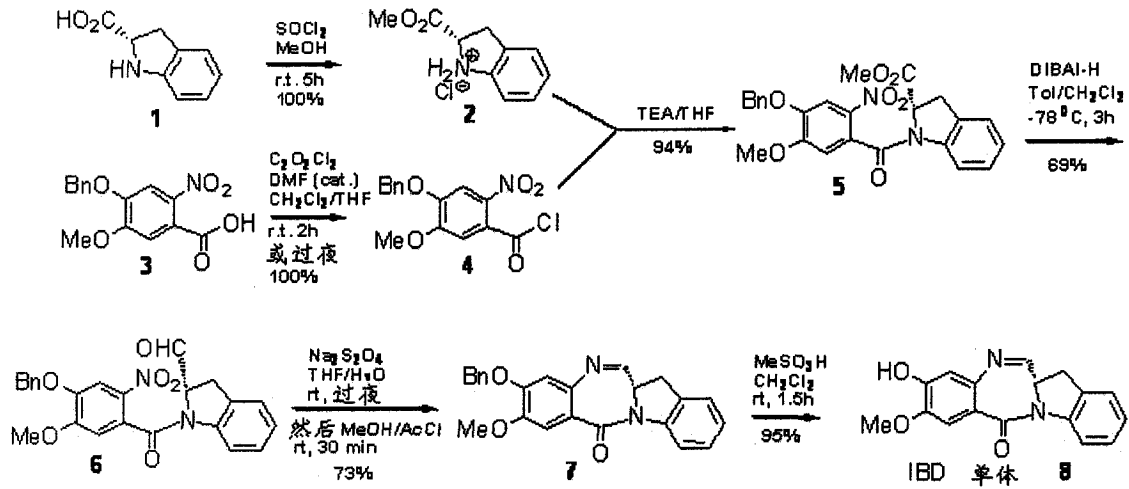


图 1

OBD 单体 14 的合成路线

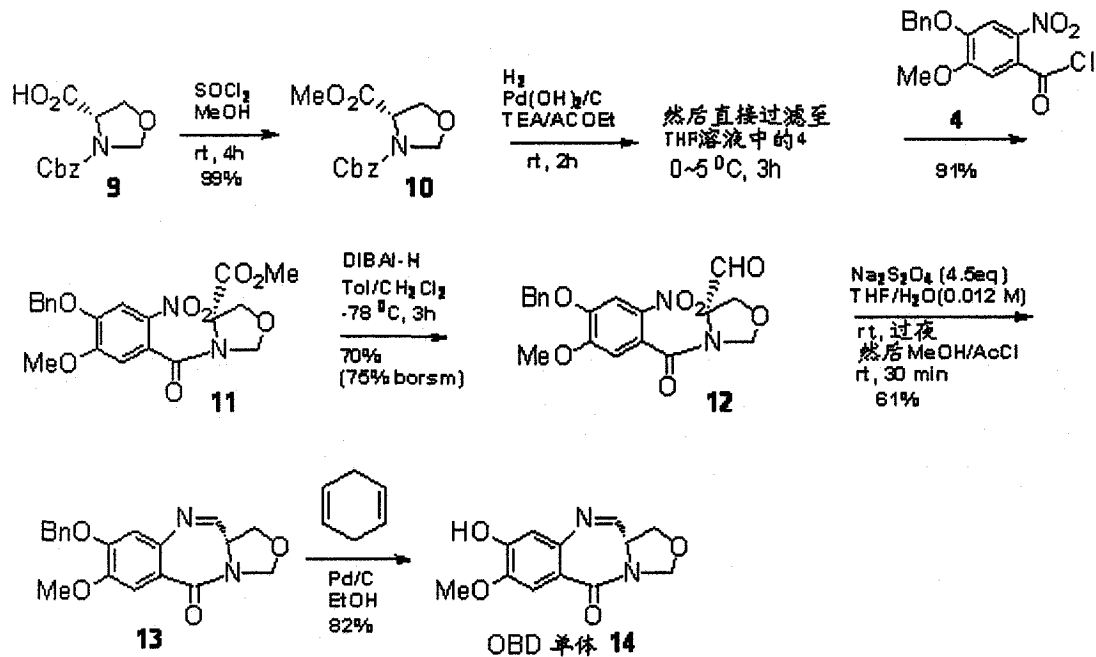


图 2

二聚体 15(IGN-09)的合成路线

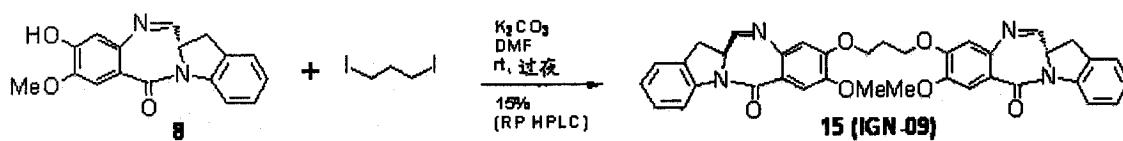


图 3

二聚体 18(IGN-01)的合成路线

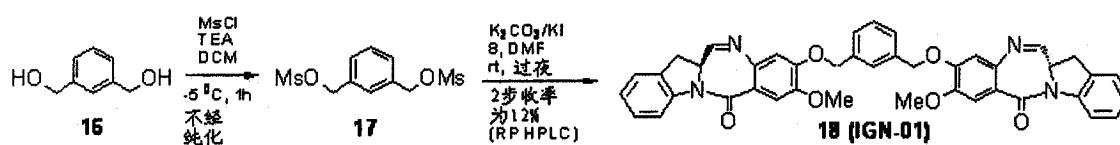


图 4

二聚体 19(IGN-02)的合成路线

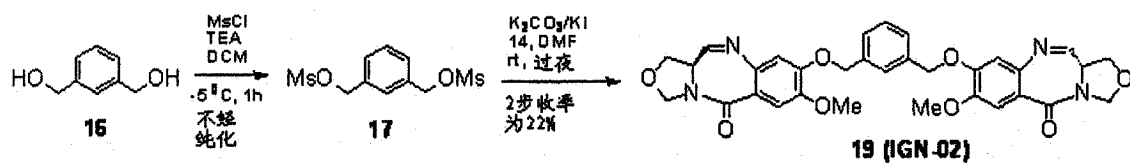


图 5

连接体的合成路线

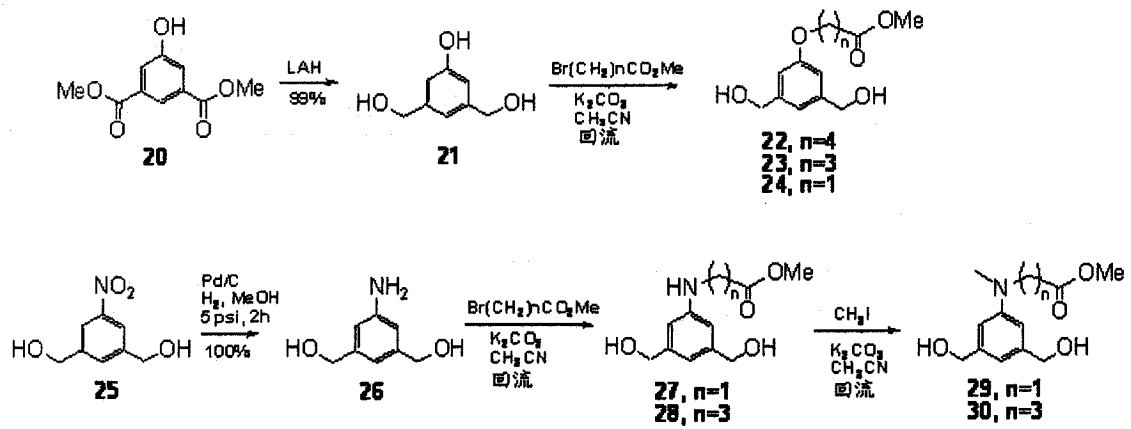


图 6

二聚体 34、35、36、39 和 40(IGN-03~07)的合成路线

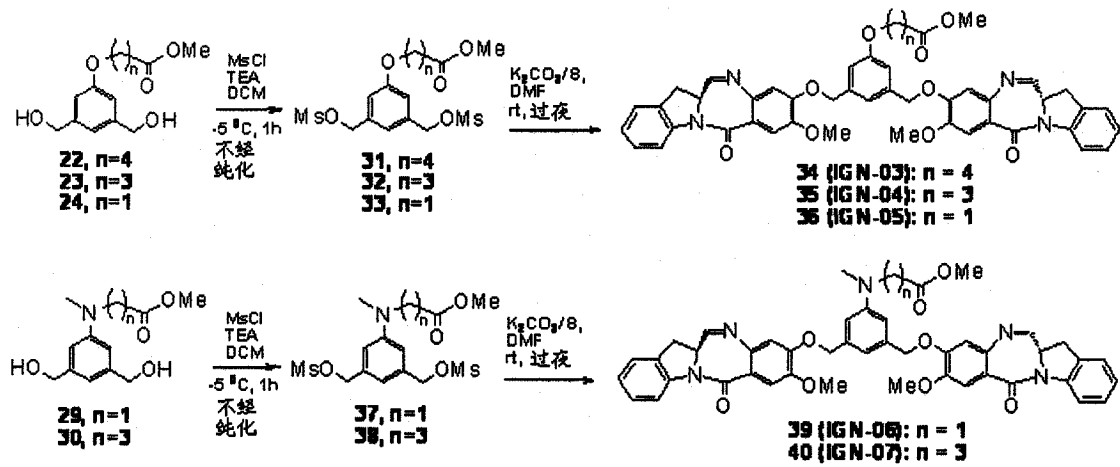


图 7

NHS 酯 43、44 和 46 的合成路线

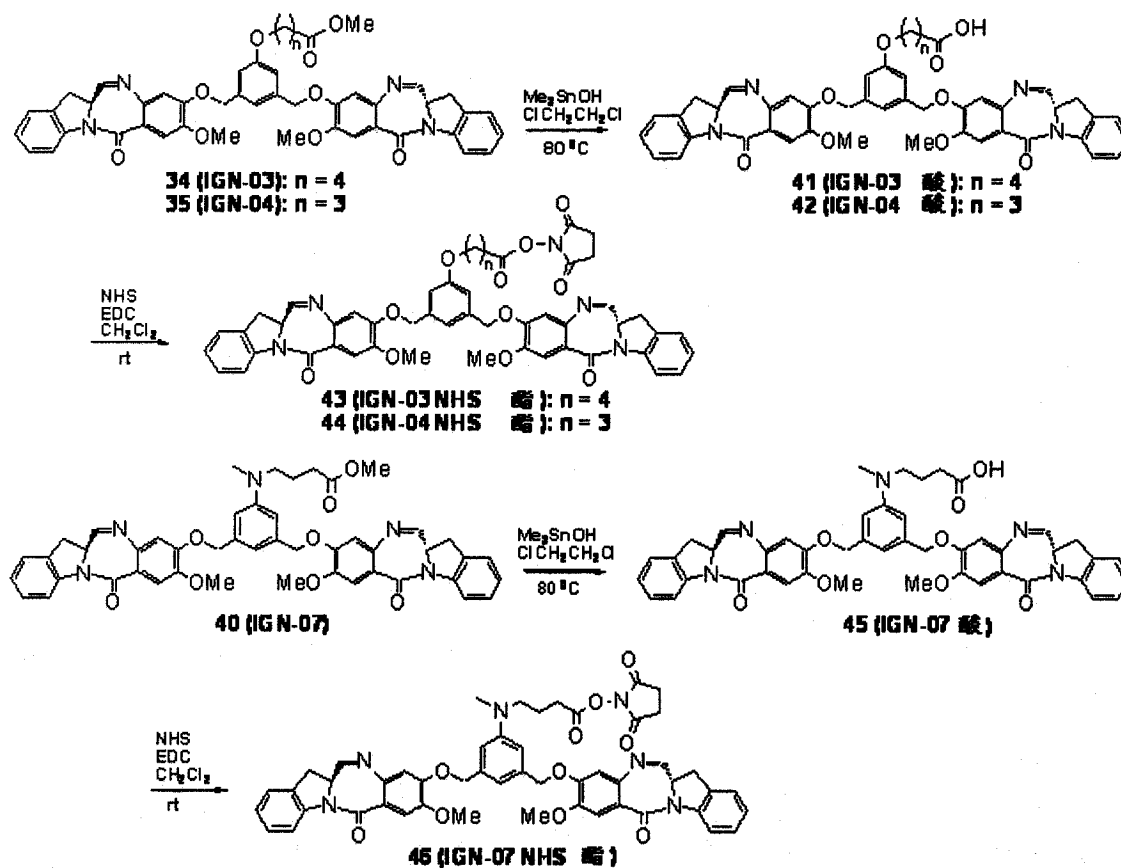


图 8

硫醇 49 的合成路线

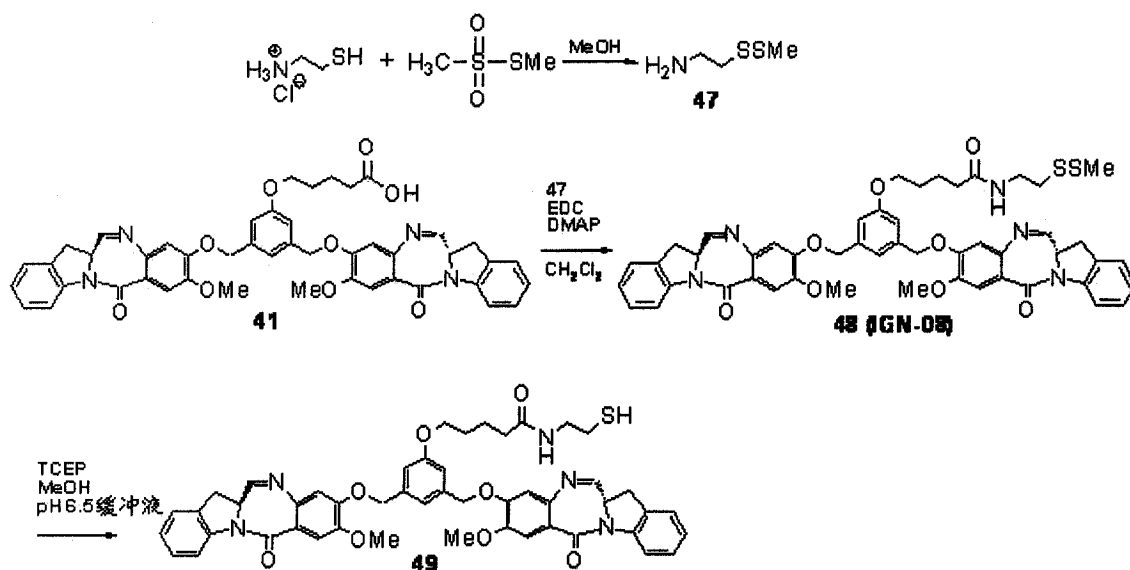


图 9

二硫化物 51 的合成路线

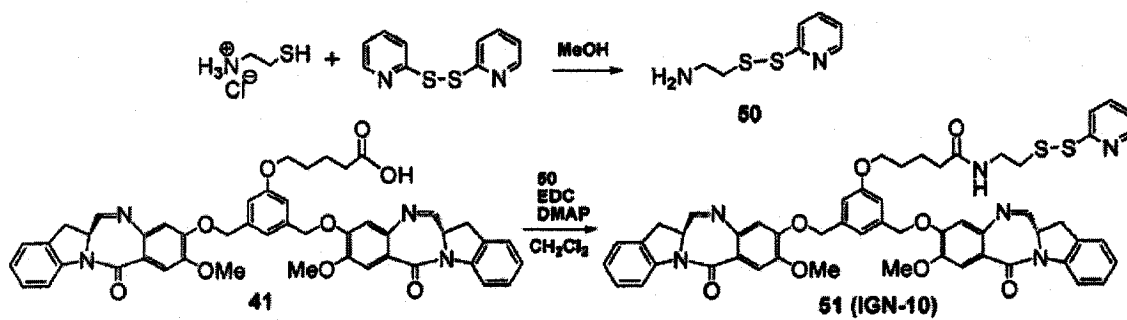


图 10

B 环修饰的单体 58 的合成路线

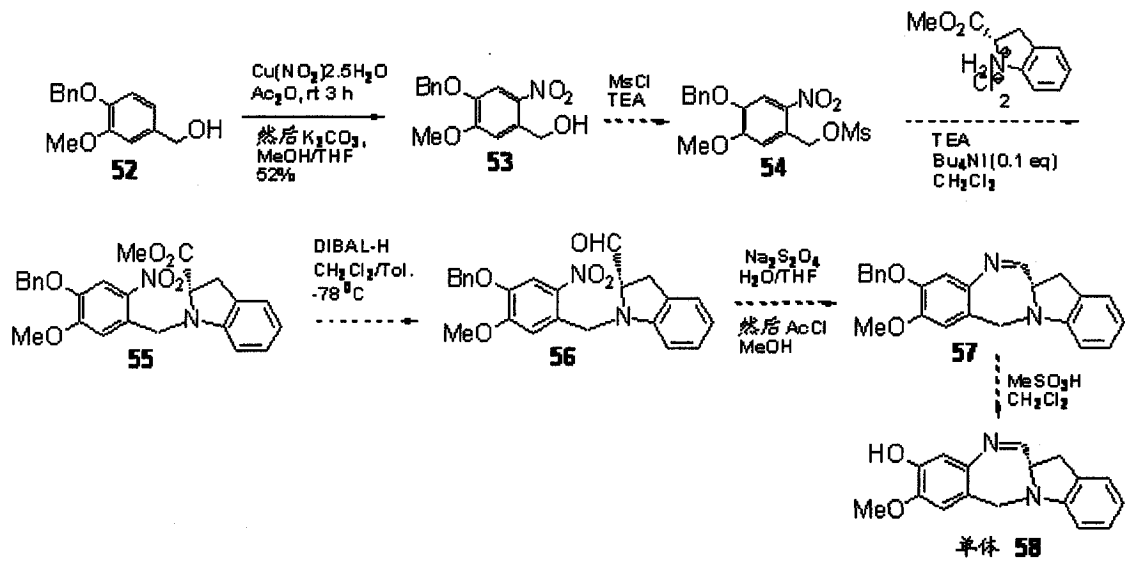


图 11

异吲哚啉并苯并二氮杂萘单体 66 的合成路线

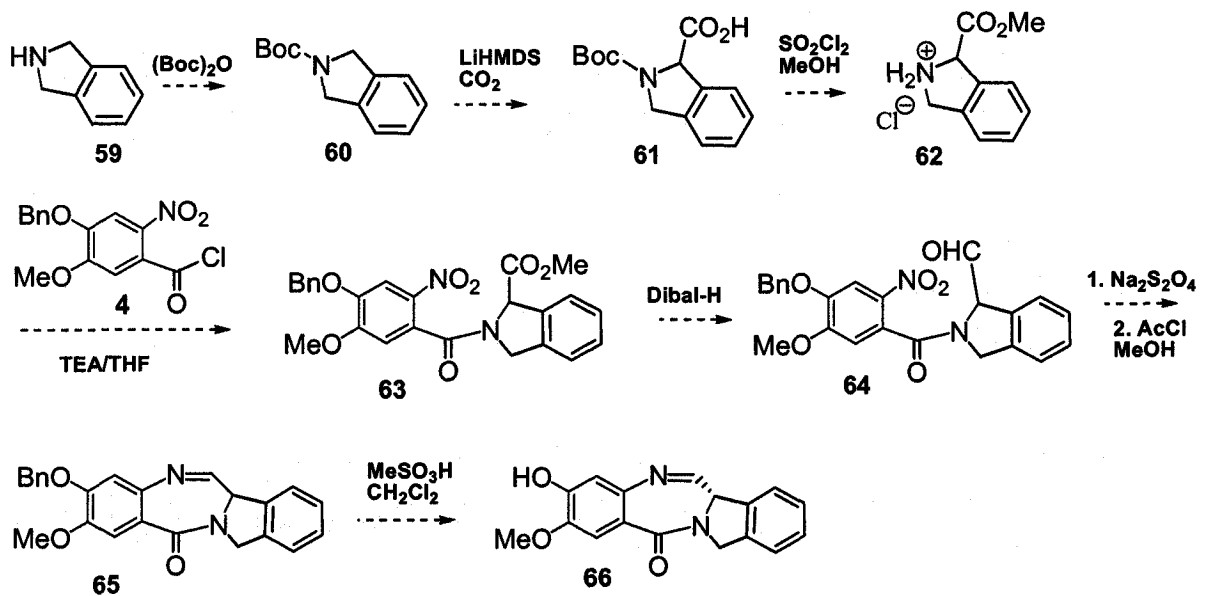


图 12

具有连接到咪唑啉部分的连接体的化合物 82 的合成路线

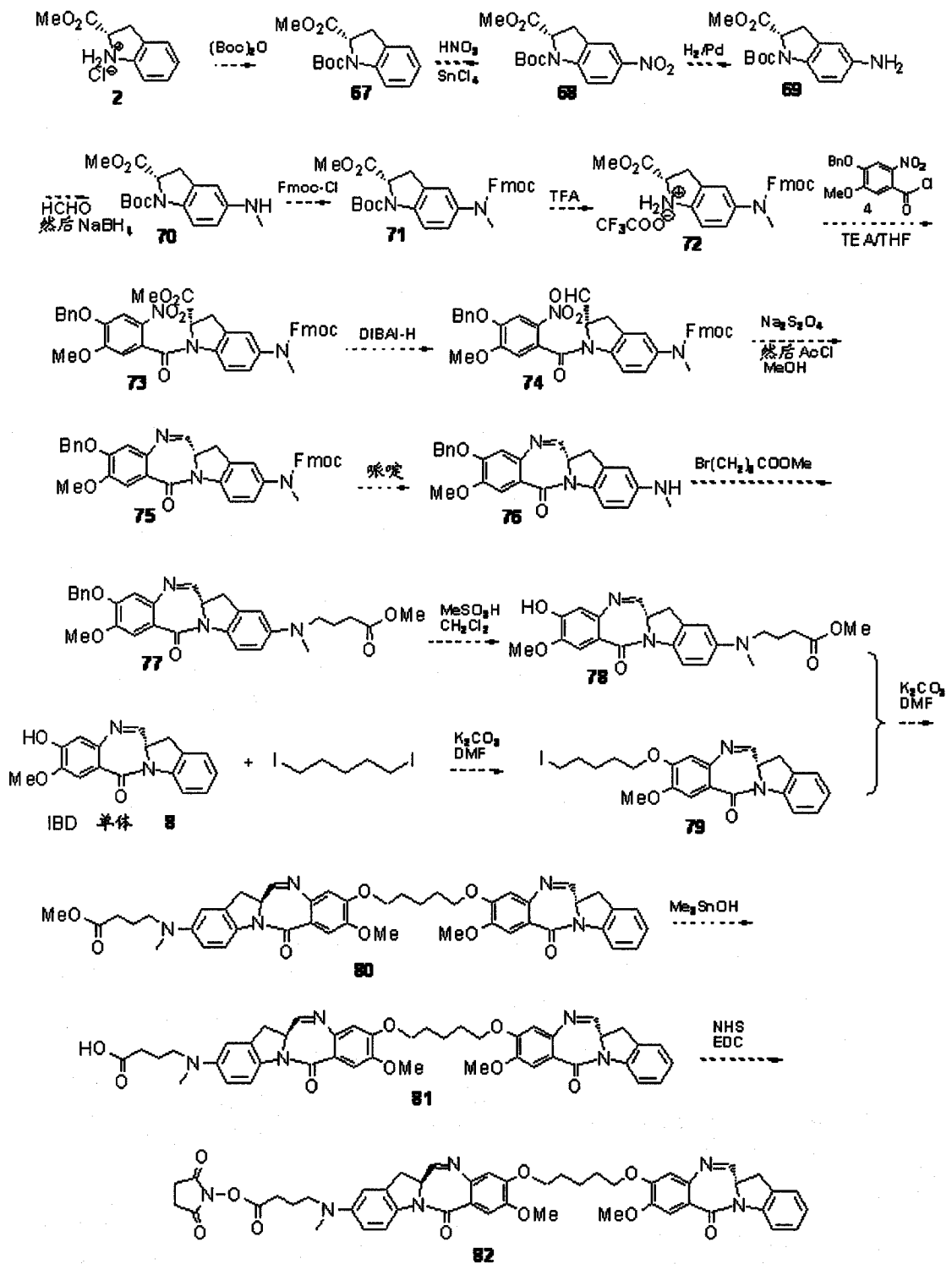


图 13

二聚体 87、88、92、96 和 100 在直链连接体上含有(PEG)_n部分的合成路线

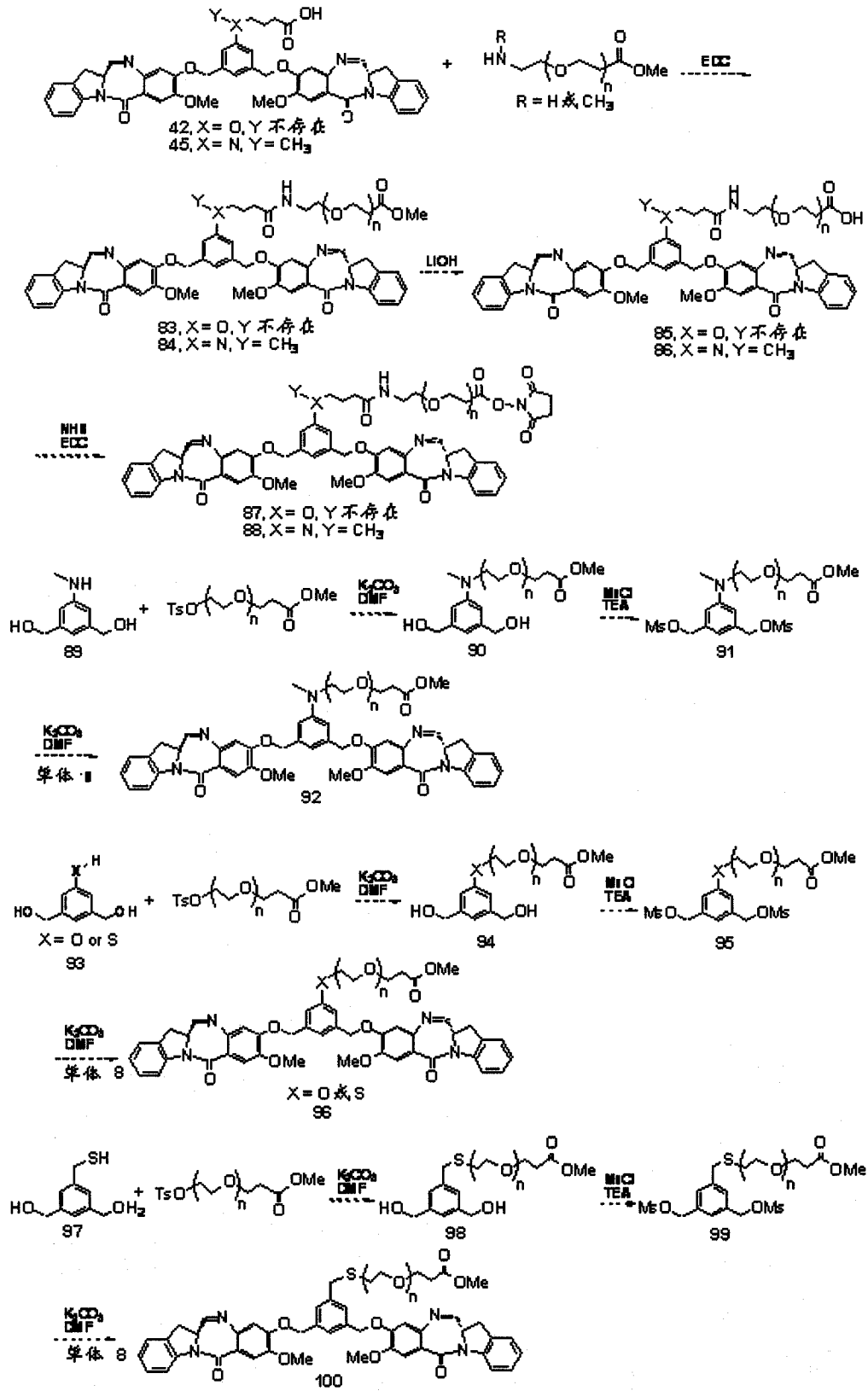


图 14

在支链连接体上含有(PEG)_n 部分的二聚体 **105** 和 **110** 的合成路线

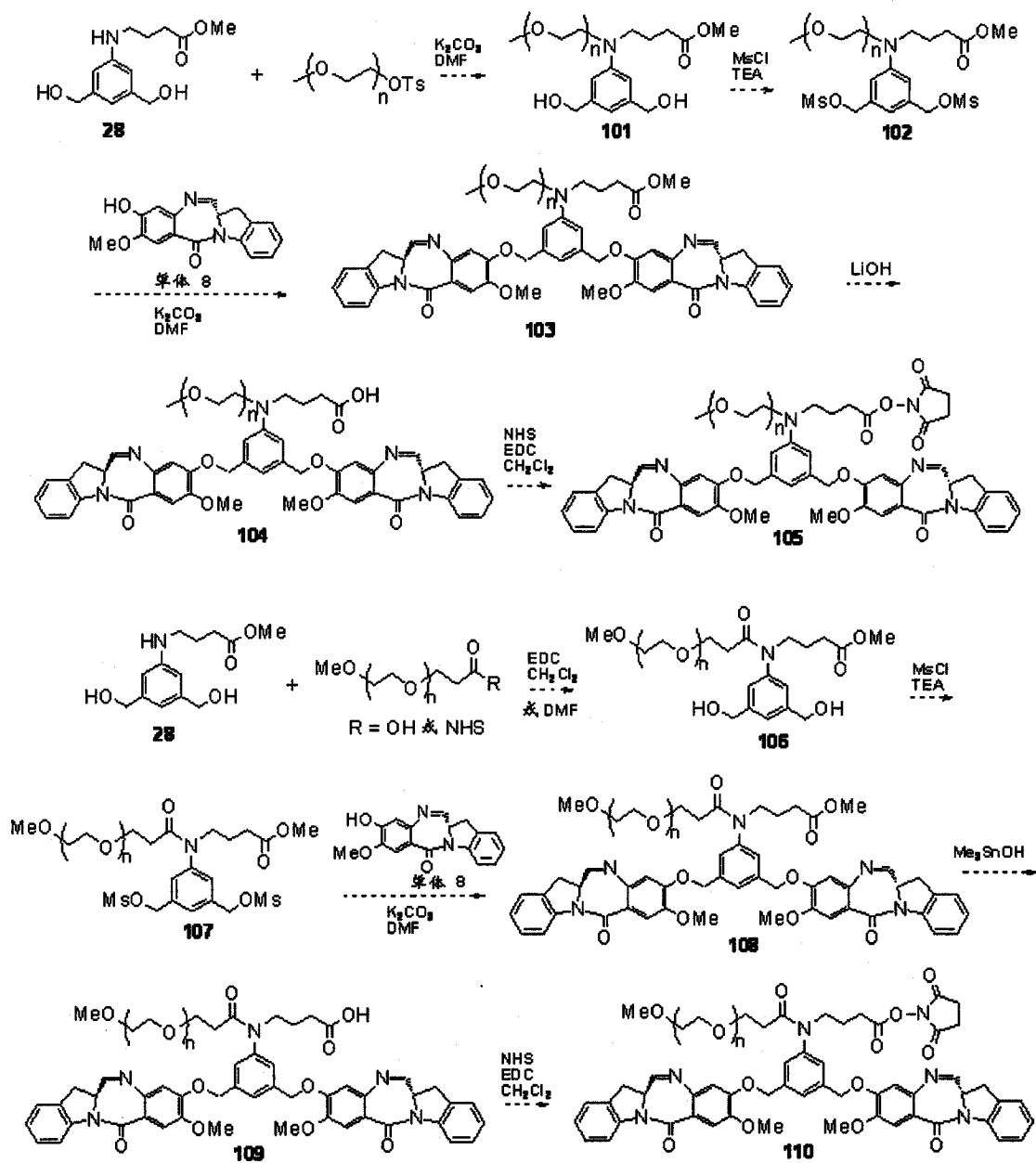


图 15

化合物 115、119 和 121 的合成路线

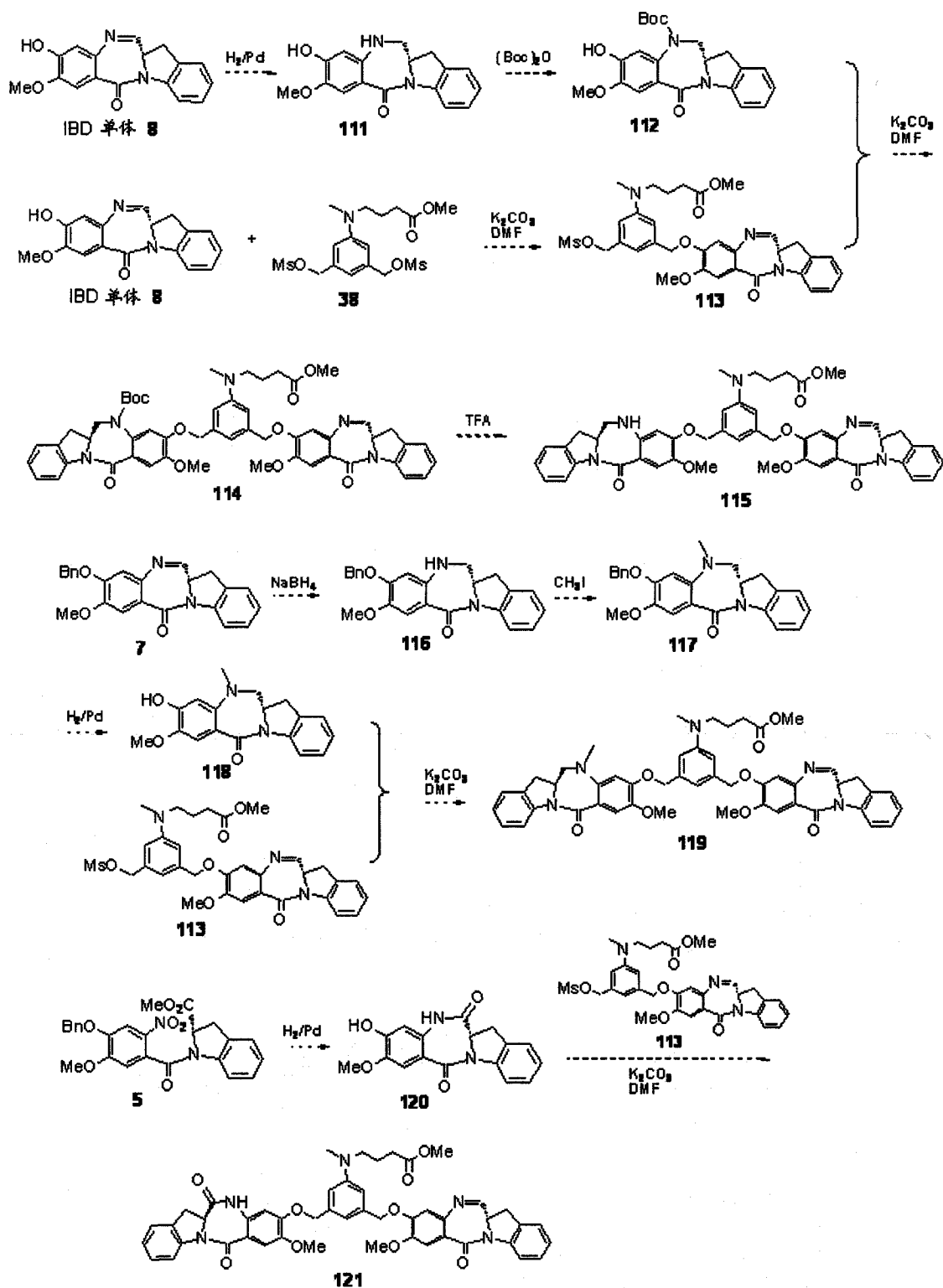


图 16

化合物 127(IGN-11)的合成路线

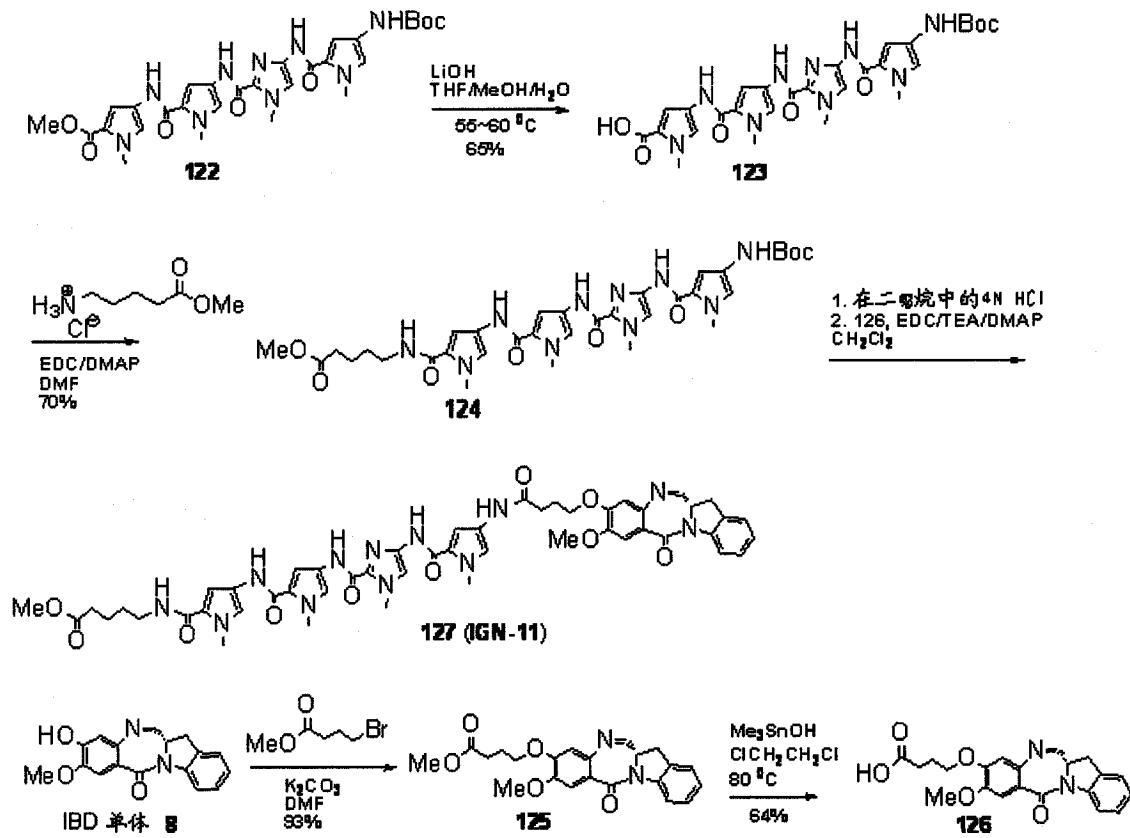


图 17

聚吡咯/多咪唑的组装

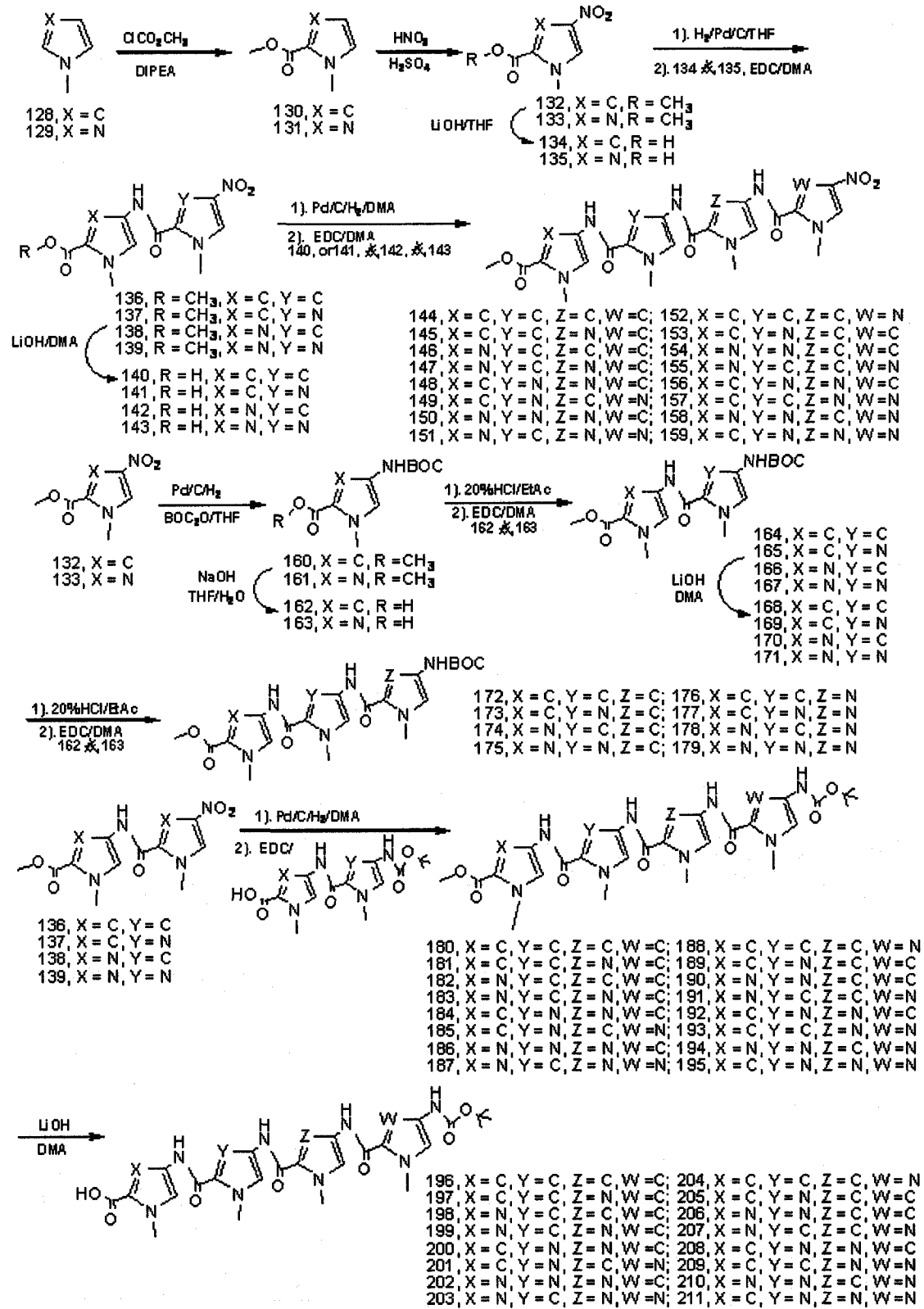


图 18

IBD-多吡咯-咪唑类似物的合成

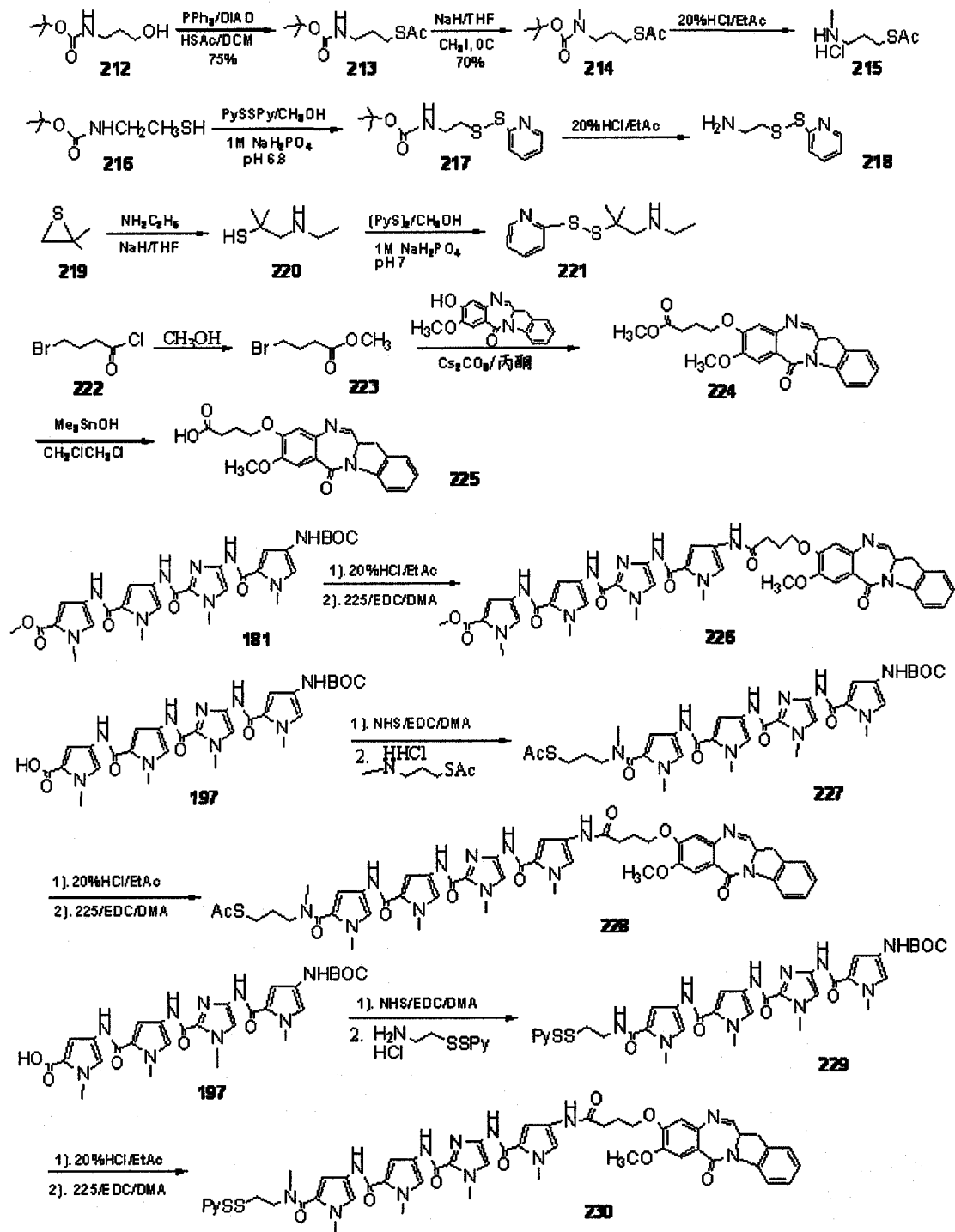


图 19

通过胺键耦合到抗体的哌啶并苯并二氮杂草的合成

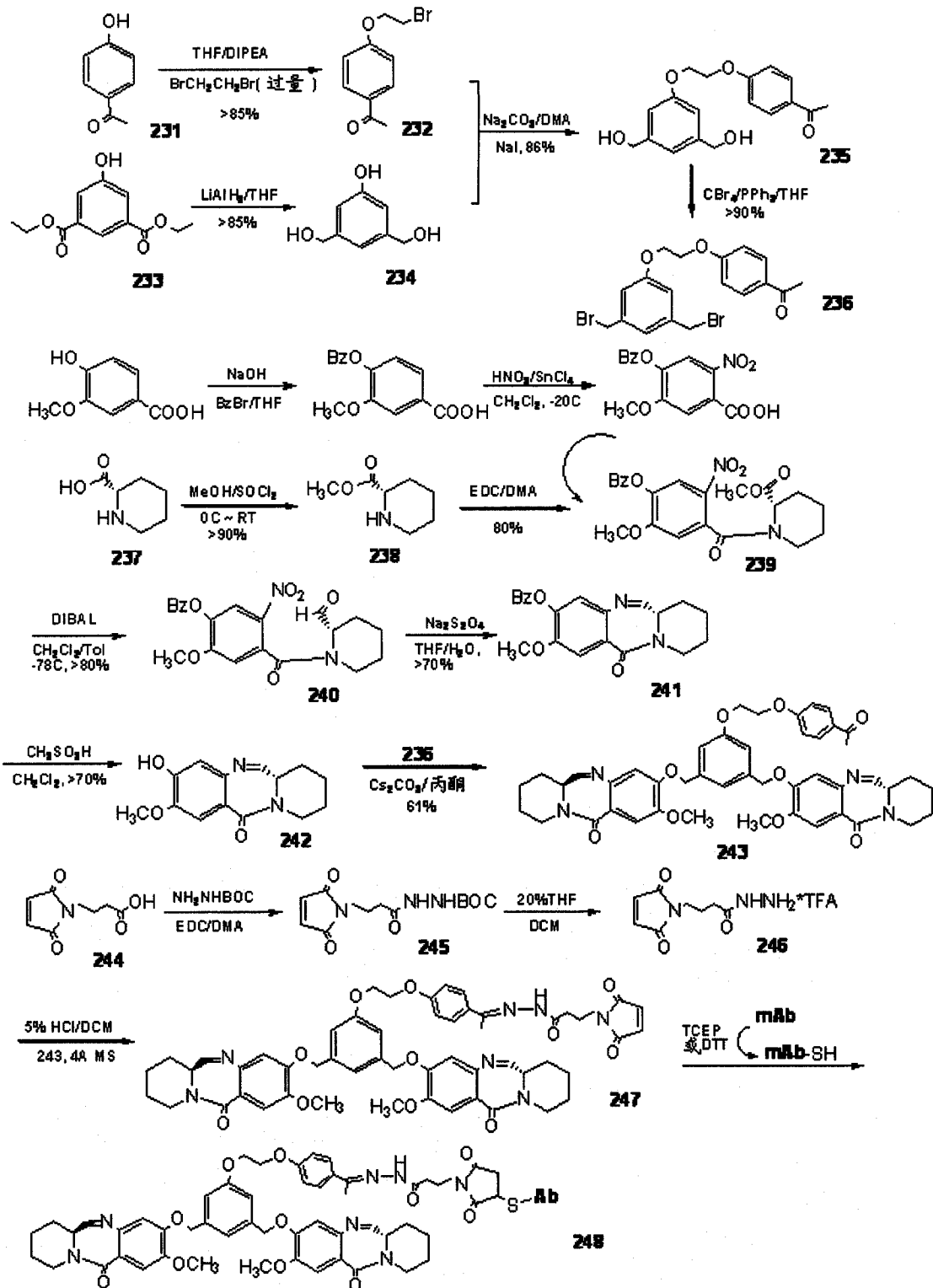


图 20

针对 COLO205(Ag+)、COLO205 MDR(Ag+)和 Namalwa 细胞(Ag-)的 muB38.1-IGN-03 的抗增殖活性

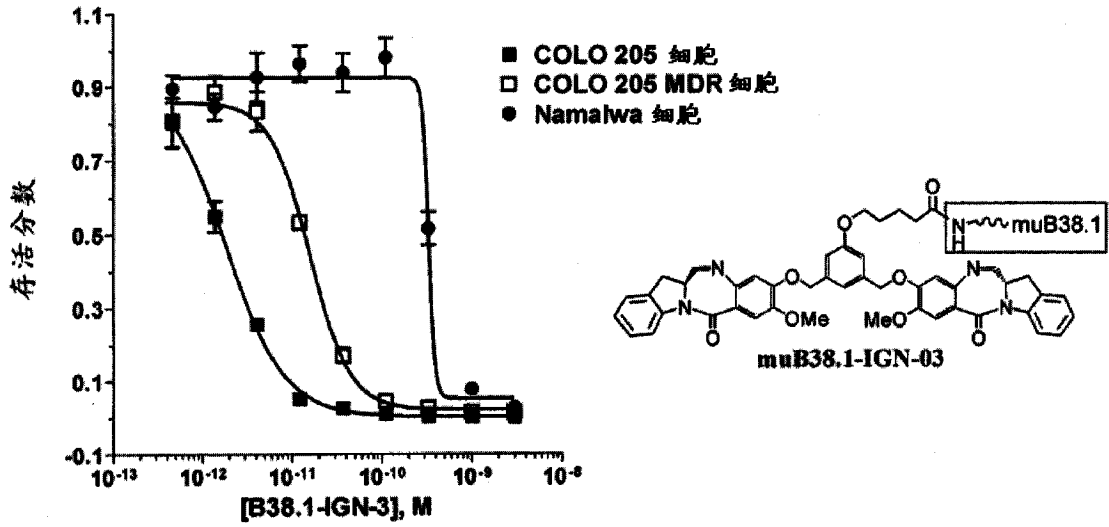


图 21

在使用和未使用 M 1 huN901 封闭抗原结合位点的情况下、针对 RH-30(Ag+)细胞的 huN901-IGN-03 的抗增殖活性

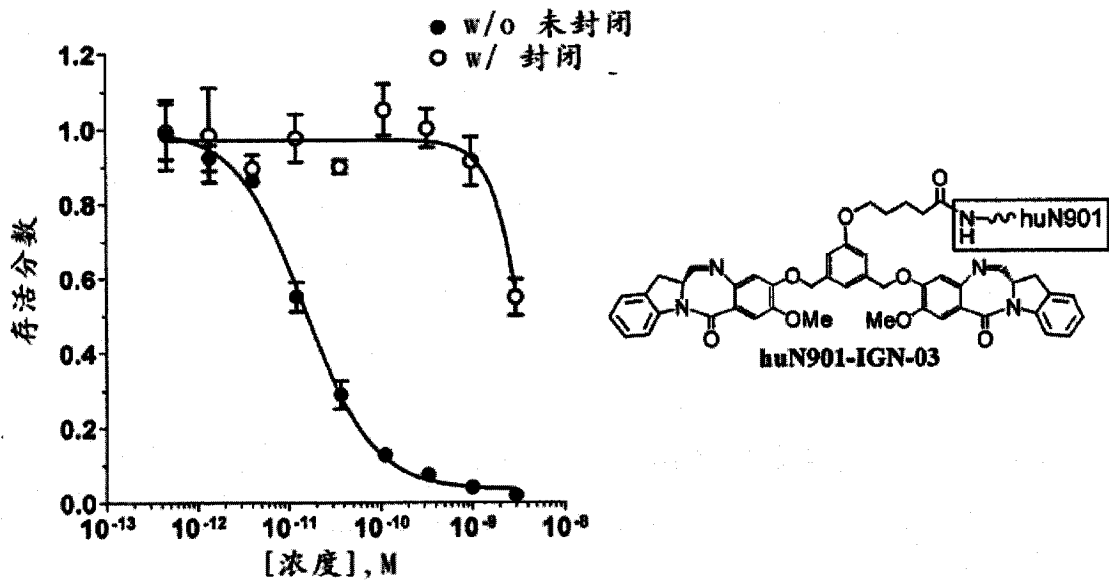


图 22

针对 RH-30(Ag+)细胞的 huN901-IGN-07 的抗增殖活性。以每种抗体 (D/A) 三种不同比率的细胞毒素剂对轭合物进行测试。

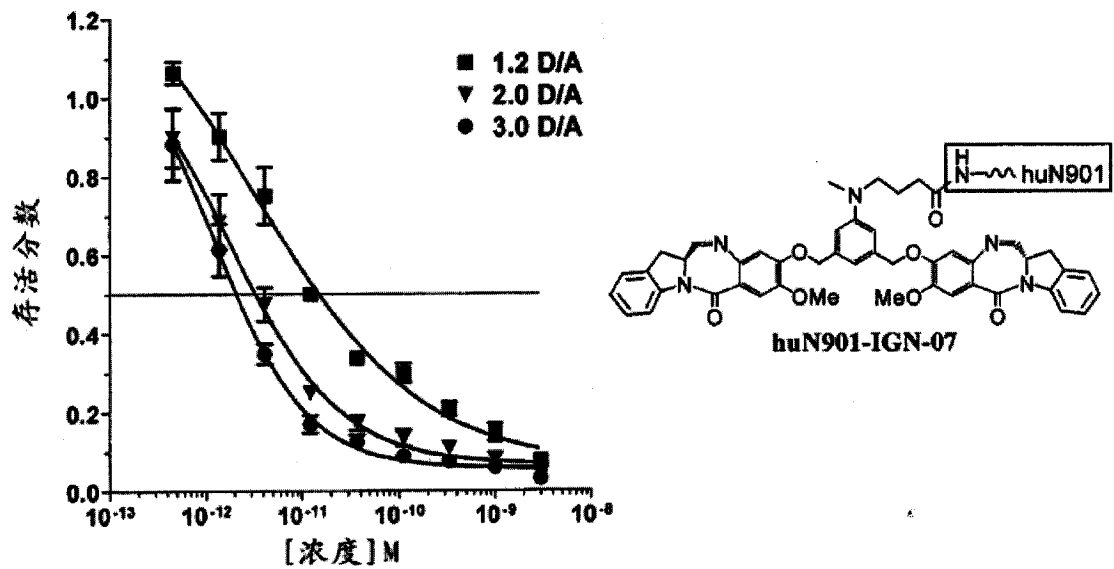


图 23

针对 Molp-8(Ag⁺)细胞的 huN901-IGN-07(1.2-3.0 D/A)和 huN901-IGN-03(1.7 D/A)的抗增殖活性。

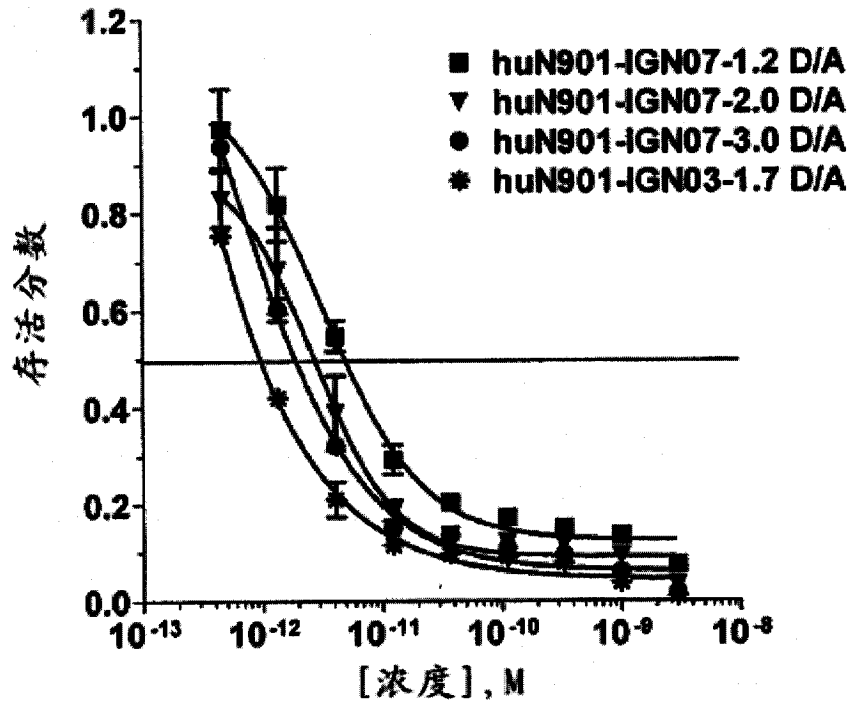


图 24

针对 Namalwa(Ag-)细胞的 huN901-IGN-07(1.2-3.0 D/A)和 huN901-IGN-03(1.7 D/A)的抗增殖活性

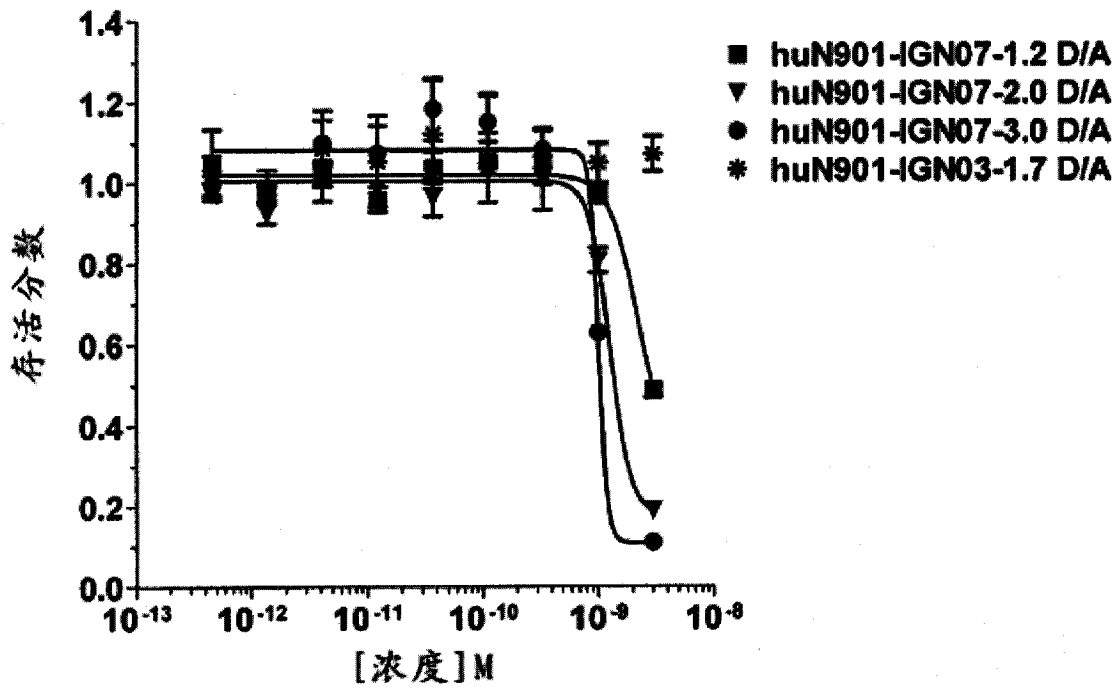


图 25

针对 COLO 205(Ag+)和 Ramos(Ag-)细胞的 muB38.1-IGN-10 的抗增殖活性。

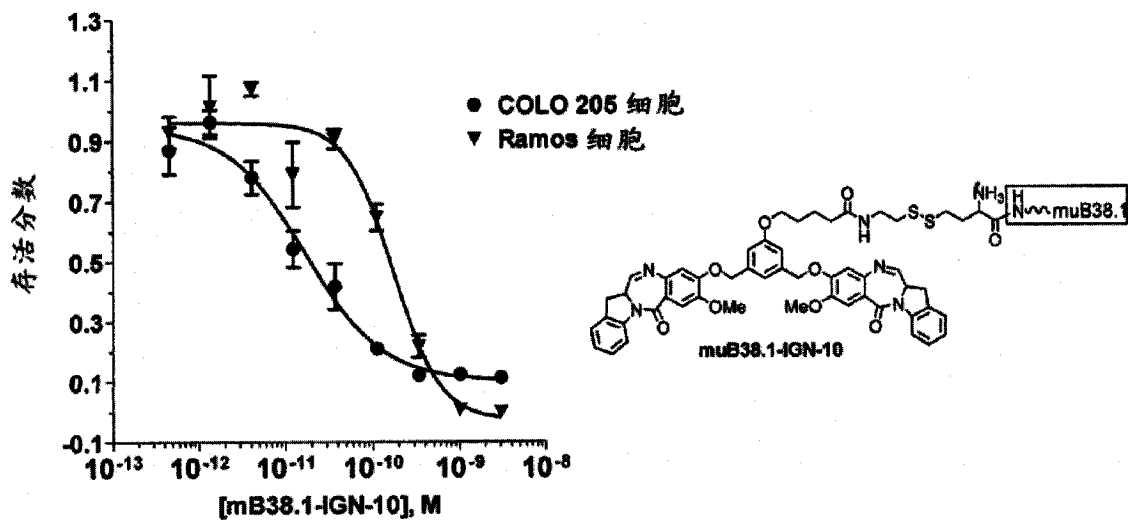


图 26

在具有 Molp-8 肿瘤的裸小鼠中单次 iv 给药 huN901-IGN-07 的肿瘤消退数据

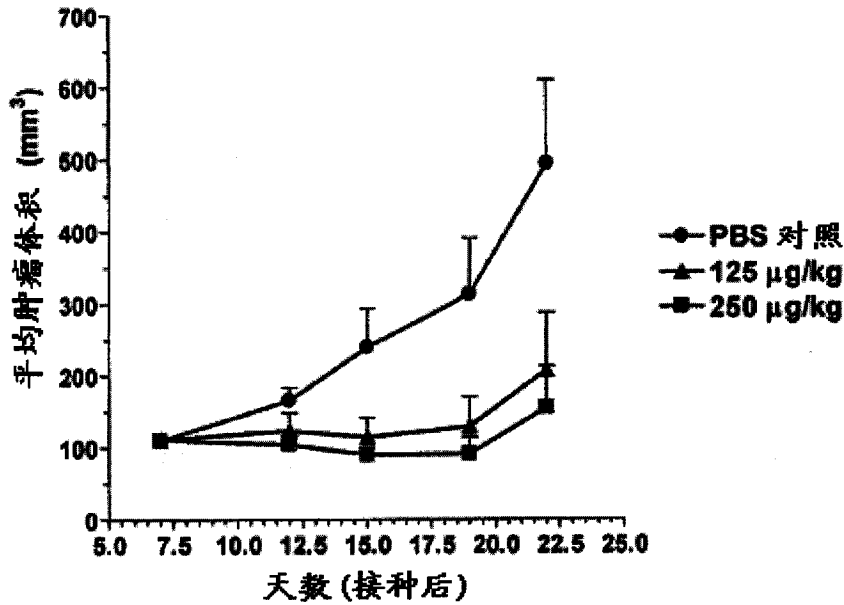


图 27

A) 反相离子对色谱法显示, IGN-1 与在相反链上含有鸟嘌呤的 12 碱基对双链 DNA 探针之间的共价加成物的时间依赖性形成。B) DNA 探针 和 IGN-1-DNA 加成物的 UV-Vis 光谱。

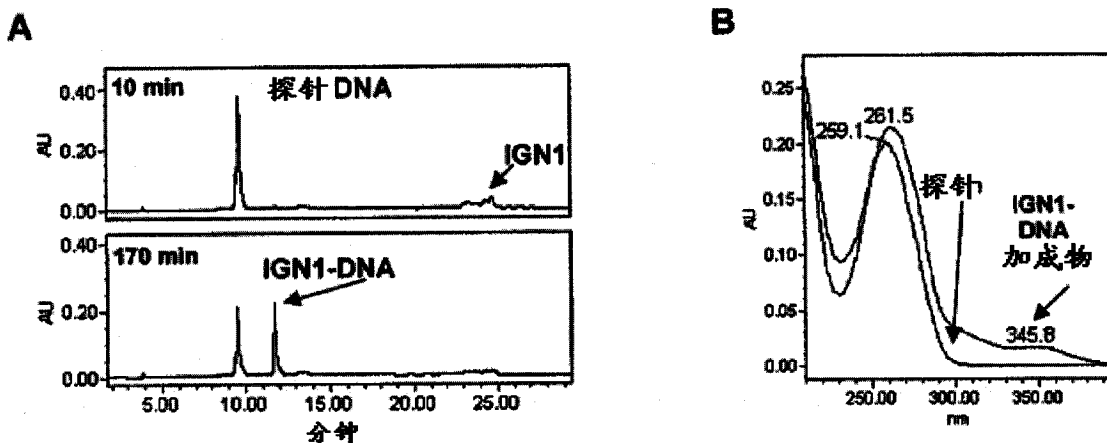


图 28

IGN1-DNA 加成物形成的初始速率取决于 DNA 序列。IGN1 与含有内部 GATC 基序的 DNA 的结合比与具有 GTAC 序列的 DNA 的结合更快。用脱氧肌苷(I)(不含有 C-2 氨基)取代以代替鸟嘌呤(G)的 DNA 探针显示未与 IGN-1 反应。

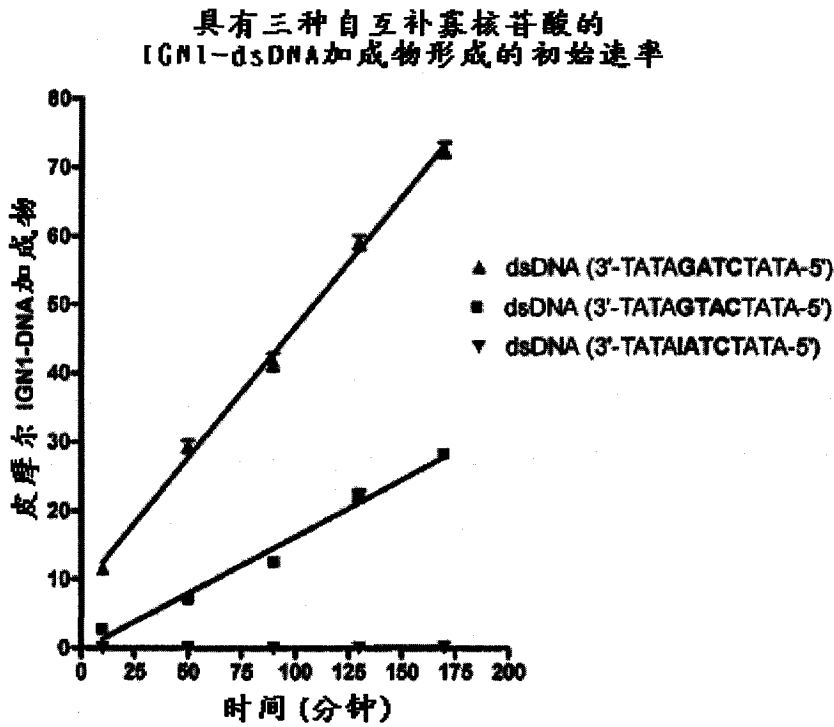
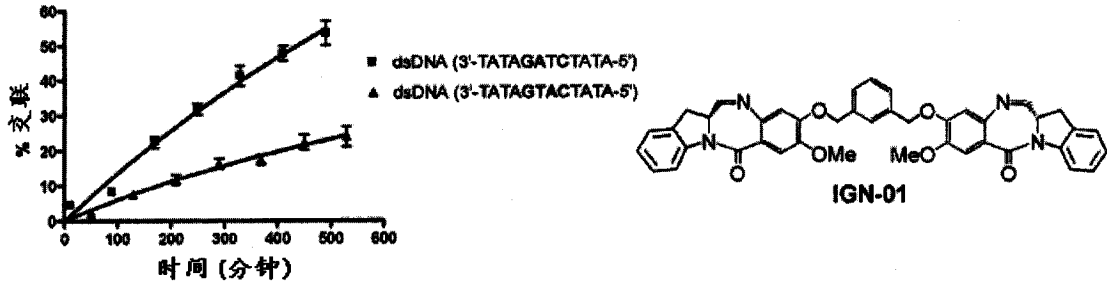
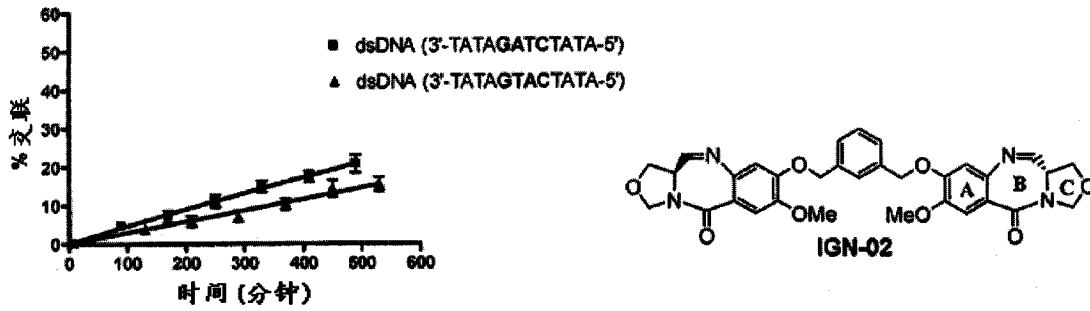


图 29

测试 IGN-01、IGN-02 和 IGN-09 与双链自互补探针 DNA 的结合与交联



IGN-2-dsDNA加成物形成的速率



IGN-9-dsDNA加成物形成的速率

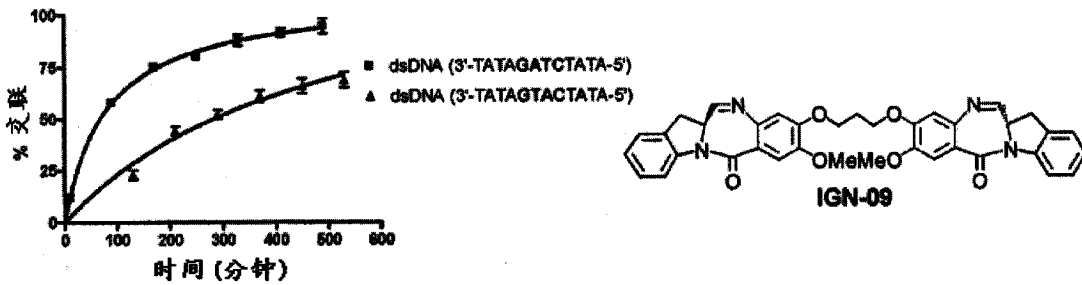


图 30

表 1. 吡啶并苯并二氮杂草二聚体和噁唑烷并苯并二氮杂草二聚体对多种癌细胞系的抗增殖活性。在 5 天连续照射测定中显示所测试的各种化合物的 IC₅₀ 值(pM)。

二聚体	IC ₅₀ s (pM)										
	HL60/ATCC	Ramos	MDA-MB-231	SK-MEL-28	BJAB	Molt-4	RH-30	COLO 205	COLO 205-MDR	Namalwa	Namalwa-MDR
IGN-01	<0.46	<0.46	1.4	44							
IGN-02	450	67	1400	4700							
IGN-03	3.2	0.64	16	14							
IGN-04					1.9	2.7					
IGN-05		0.65			1.0		3.9				
IGN-06		1.5					3.7			4.2	
IGN-07		1.9					5.9			4.7	
IGN-08		5.8					22			7.0	
IGN-09		<0.46					7.8	14	61	1.4	13

图 31

表 2. 在具有和不具有连接体的情况下、二聚体的 IC₅₀ 的比较

Dimers	IC ₅₀ s (pM)
	Ramos 细胞
IGN-01	<0.46
IGN-09	<0.46
IGN-03	0.64
IGN-05	0.65

图 32

吡啶并苯并二氮杂萘(IBD)二聚体的合成路线

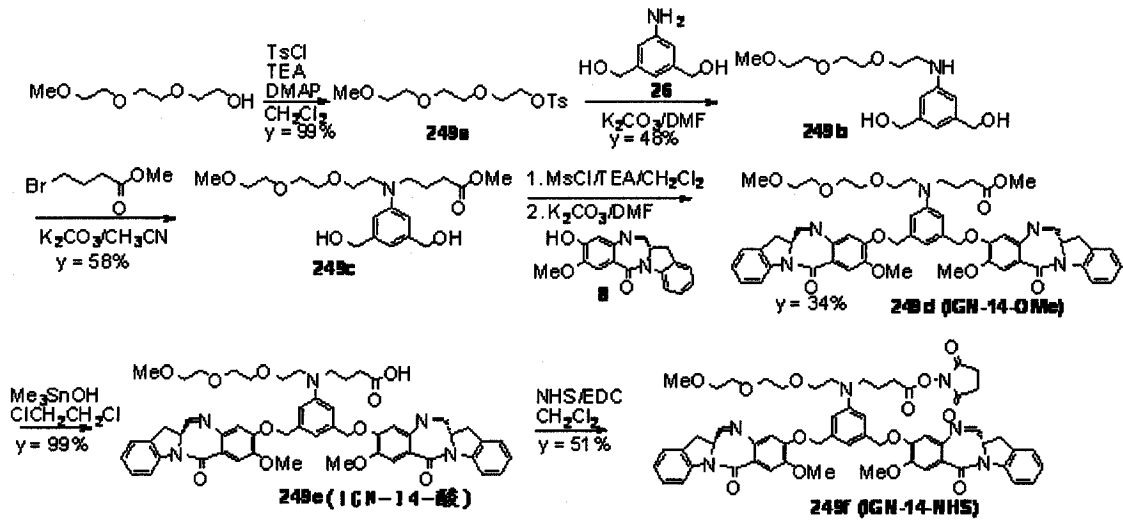


图 33

IBD 二聚体的酯的合成路线

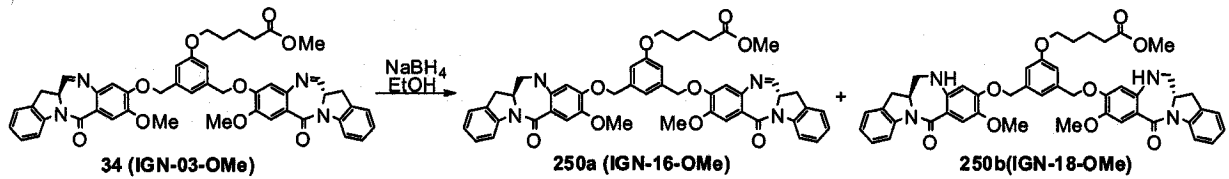


图 34

二聚体 251b(IGN-17-OMe)的合成路线

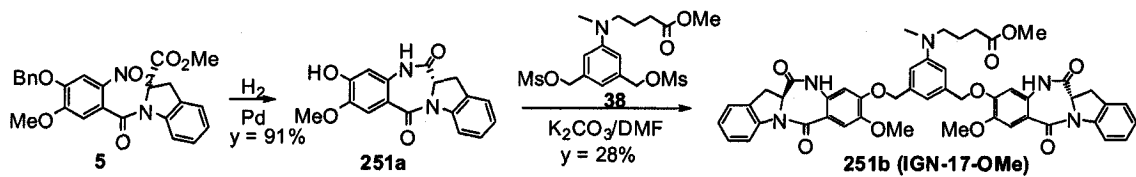


图 35

二聚体 252b(IGN-19-OMe)的合成路线

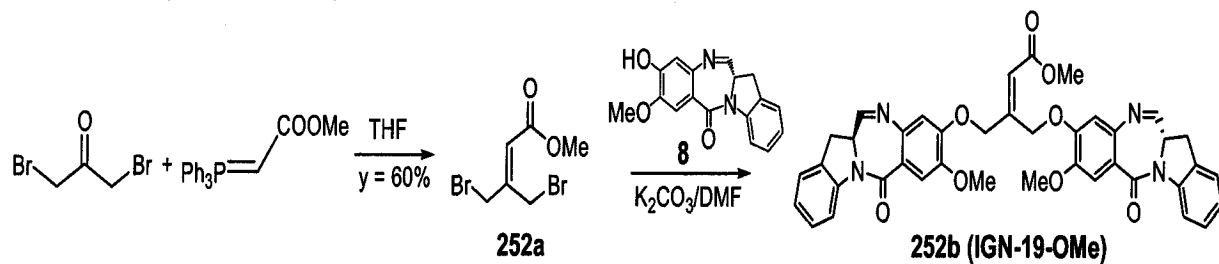


图 36

可连接二聚体的合成路线

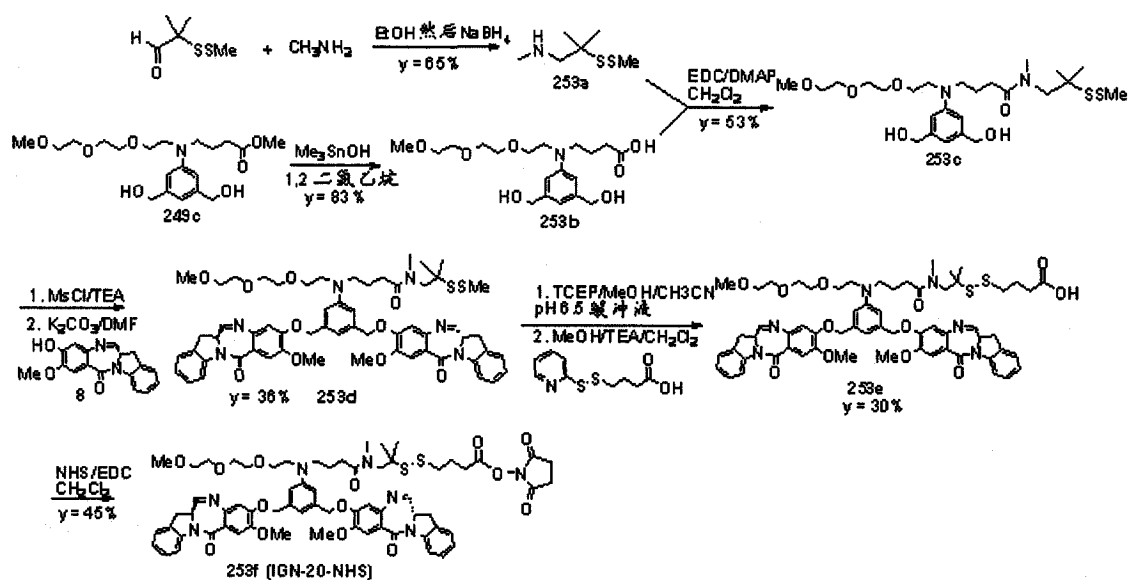


图 37

可连接化合物 254d(IGN-23-NHS)和 254f(IGN-24-NHS)的合成路线

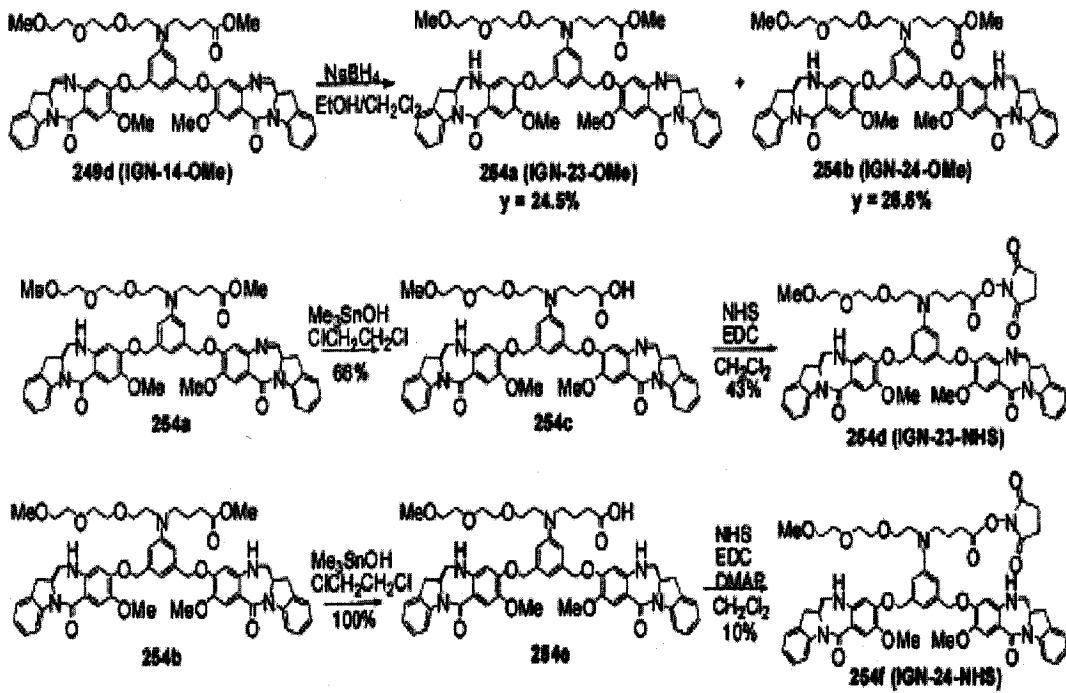


图 38

IBD 二聚体 255c(IGN-26-OMe)的合成路线

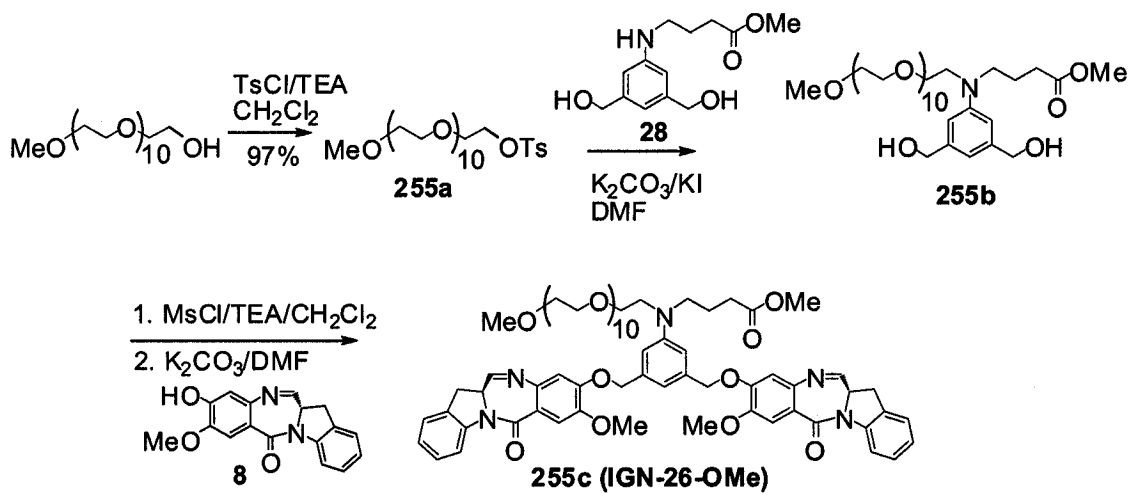


图 39

化合物 256g(IGN-29-NHS)的合成路线

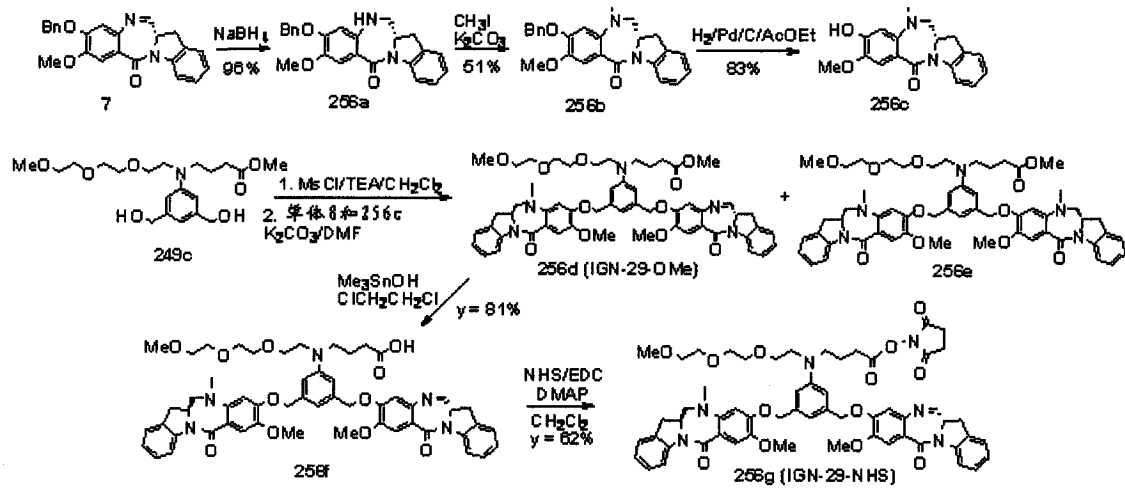


图 40

化合物 257e(IGN-33-NHS)的合成路线

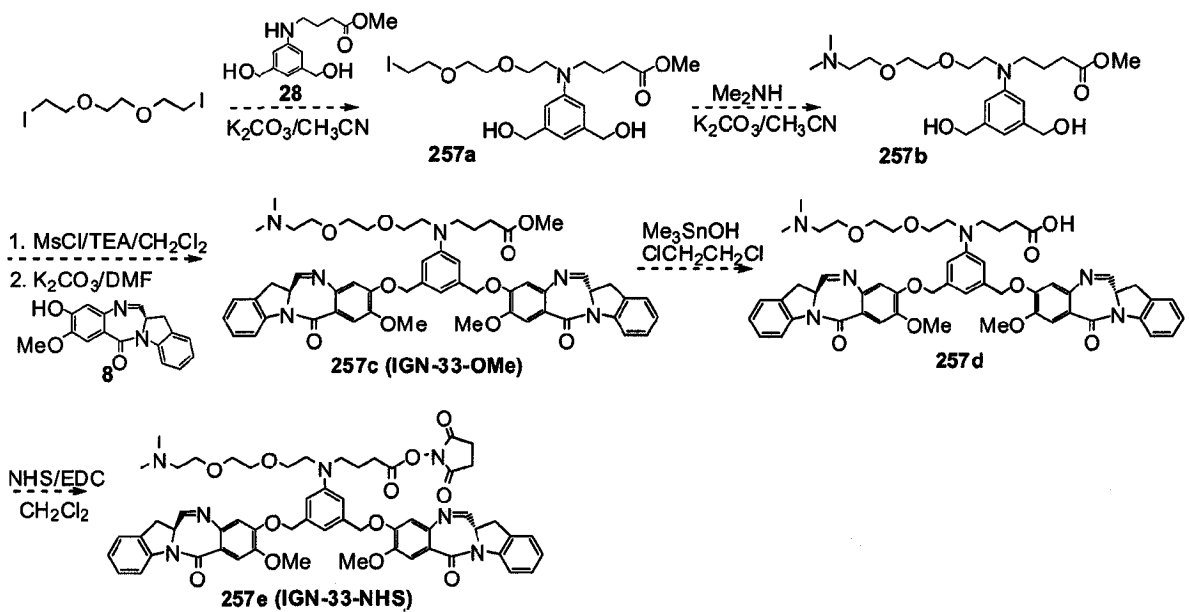


图 41

化合物 258h(IGN-15-SMe)和 259b(IGN-21-SMe)的合成路线

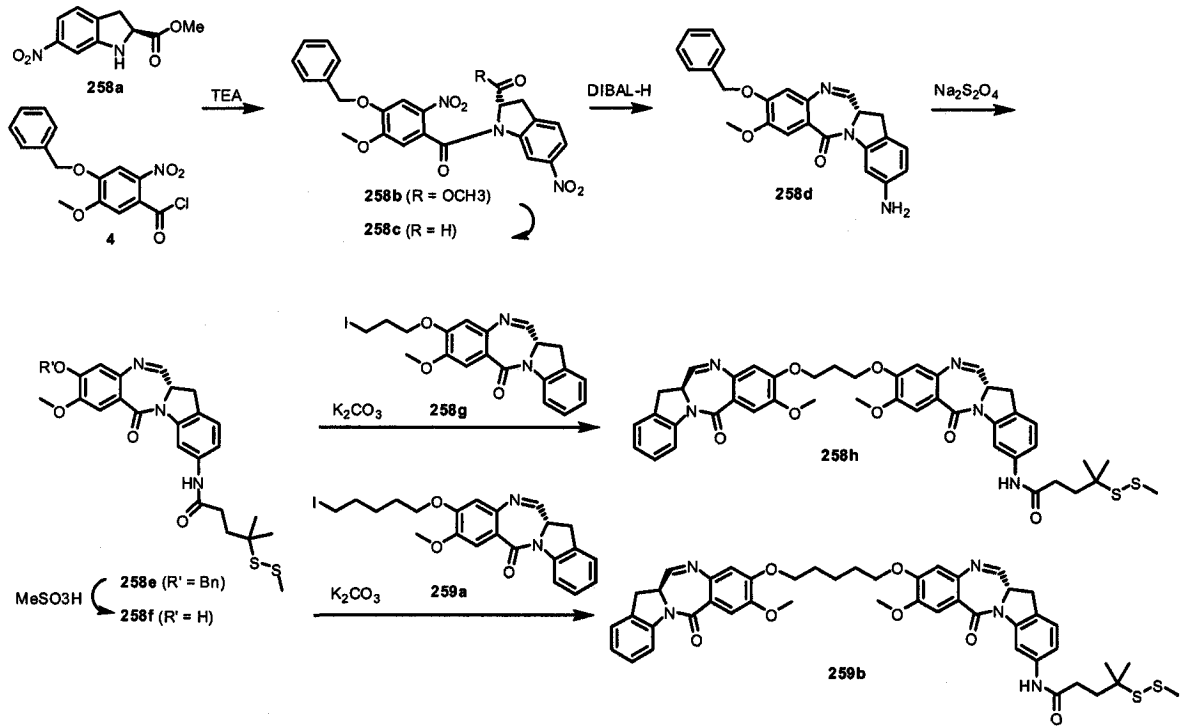


图 42

化合物 260c(IGN-25-OMe)的合成路线

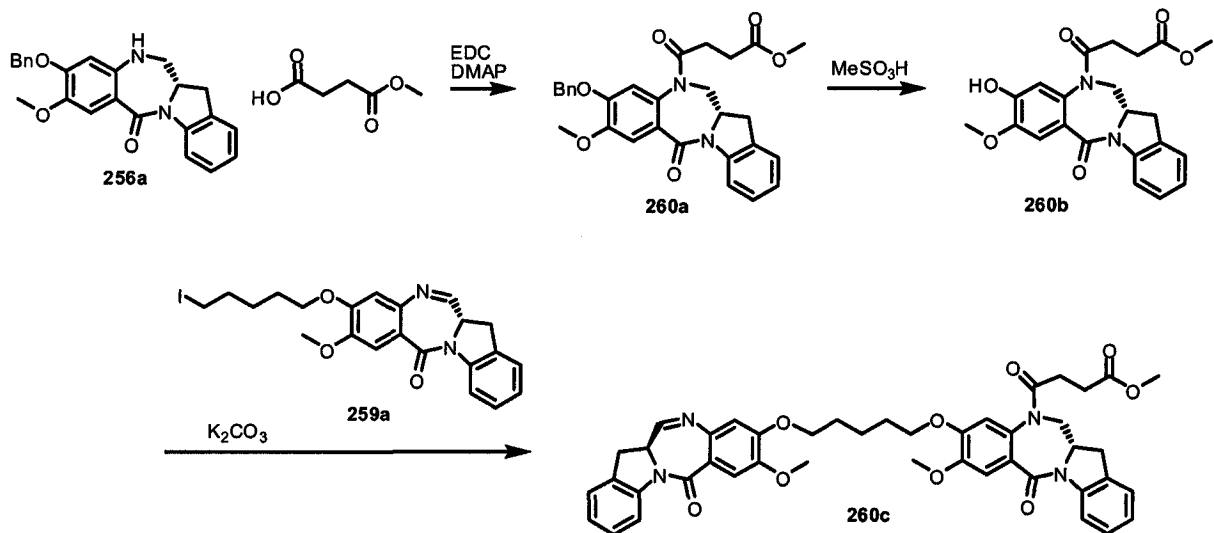


图 43

化合物 261e(TBD 单体)和 262(IGN-30-OMe)的合成路线

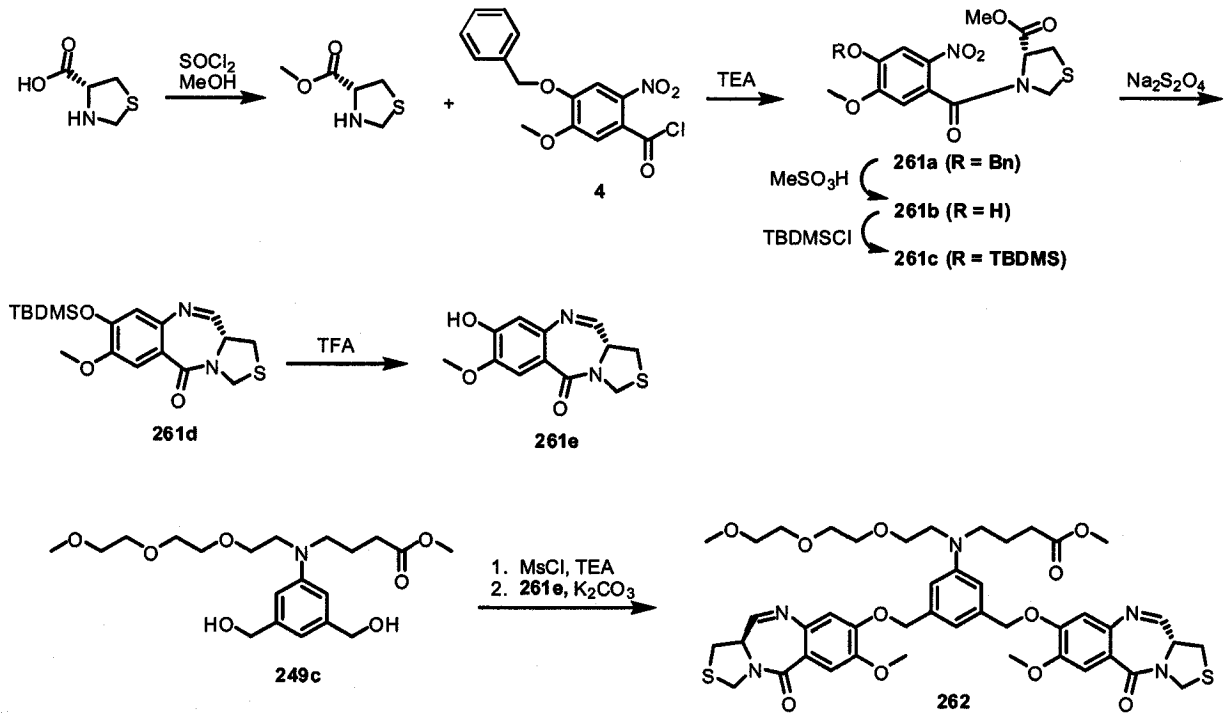


图 44

二聚体 263e(IGN-13-NHS)的合成路线

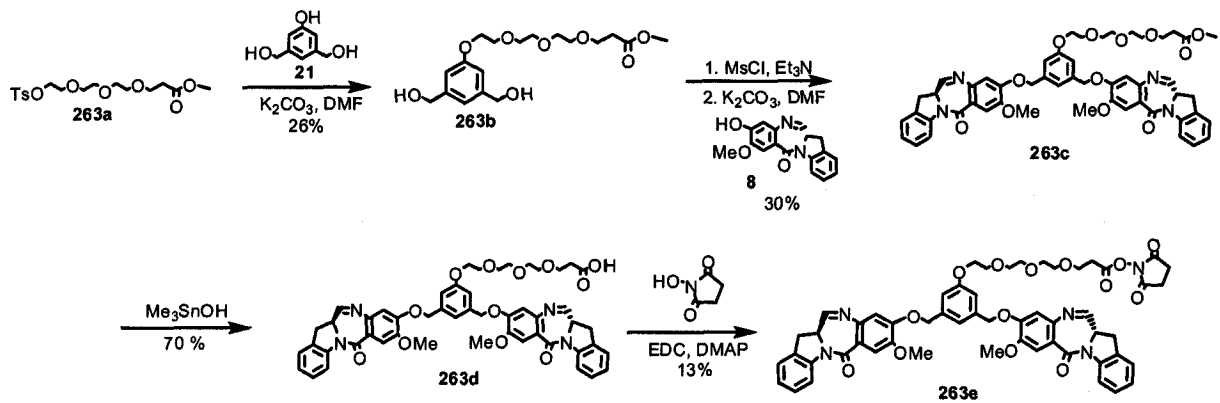


图 45

二聚体 264e(IGN-27-NHS)的合成路线

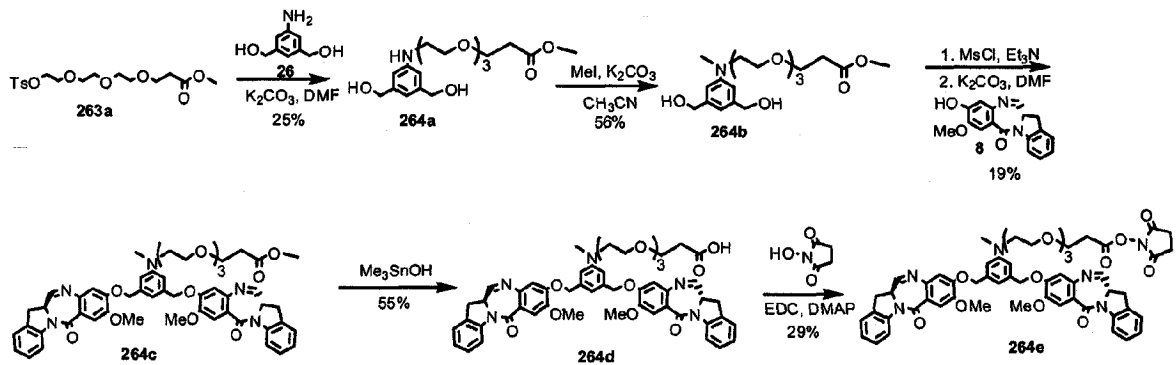


图 46

二聚体 265g(IGN-28-NHS)的合成路线

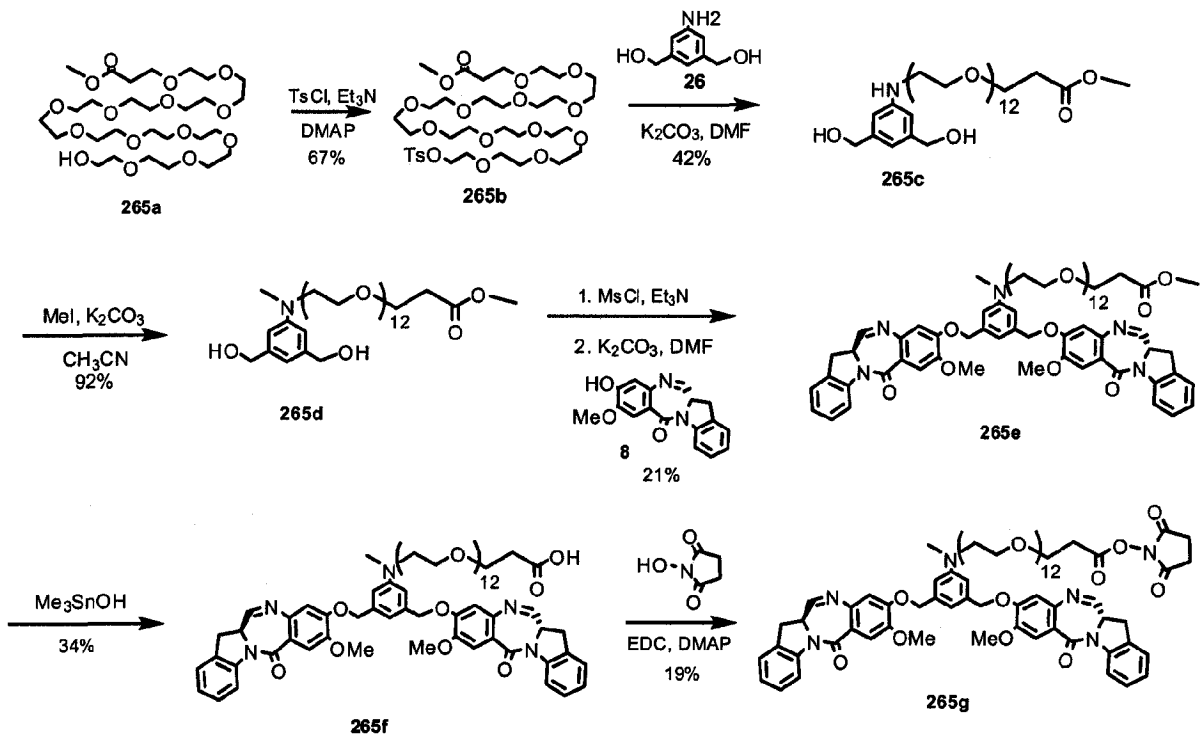


图 47

二聚体 266c(IGN-22-OMe)的合成路线

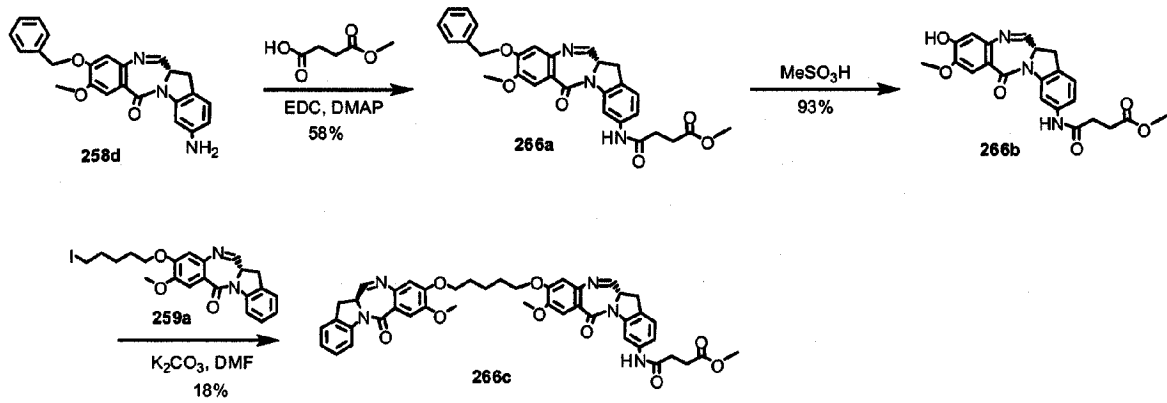


图 48

二聚体 267d(IGN-31-SMe)的合成路线

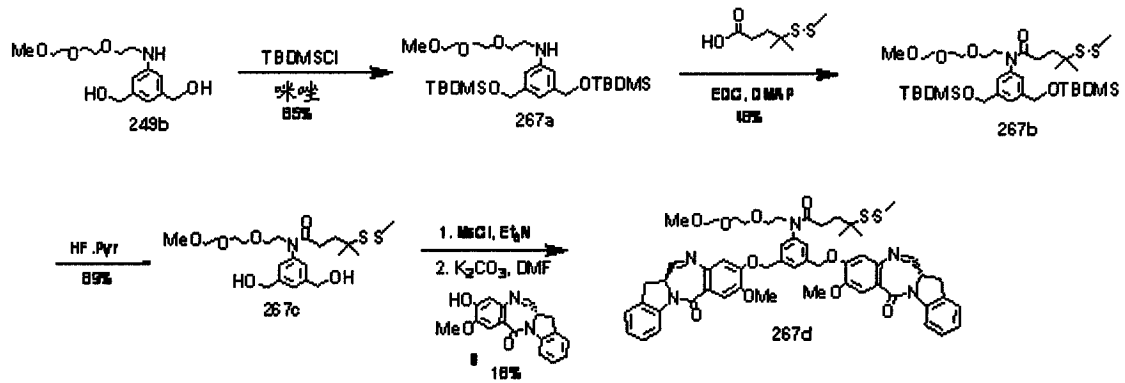


图 49

二聚体 268b(IGN-32-OtBu)的合成路线

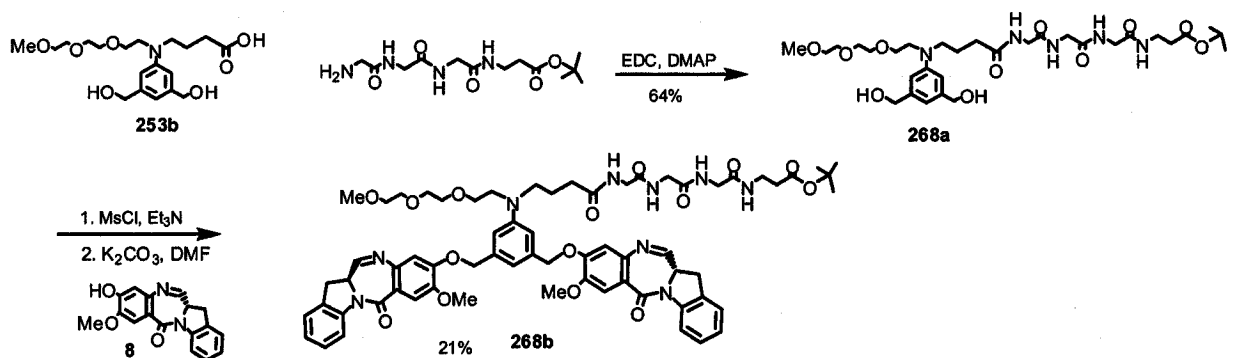


图 50

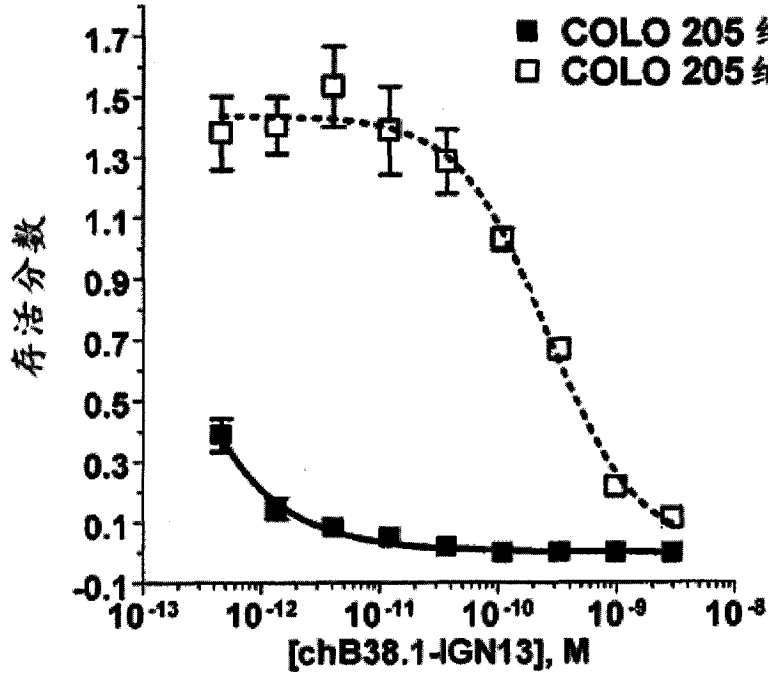
IGN 化合物的体外细胞毒性

IGN	IC50 (nM)					
	Ramos	COLO205	RH-30	Namalwa	KB	LoVo
IGN13-OMe	0.003	0.031	0.009	0.005	0.005	
IGN14-OMe	0.005	0.079	0.025	0.017	0.020	
IGN15-SMe	0.048	3.000	0.520	0.410		
IGN16-OMe	0.003				0.009	0.012
IGN17-OMe	3.000	3.000	0.048	3.000		
IGN18-OMe	0.037				0.890	0.570
IGN19-OMe	0.047				0.350	0.800
IGN20-SMe					1.160	
IGN21-SMe					0.146	
IGN23-OMe					0.138	
IGN24-OMe					0.789	
IGN25-OMe						
IGN26-OMe		3.800		0.200		
IGN27-OMe		0.210		0.015		
IGN28-OMe		1.000		0.130		
IGN30-OMe		2.900		0.320	1.500	

图 51

在封闭和未封闭抗原结合位点的情况下针对(A) COLO 205(Ag+)细胞、以及(B)针对 LOVO(Ag+)细胞的 chB38.1-IGN13 的抗增殖活性

A)



B)

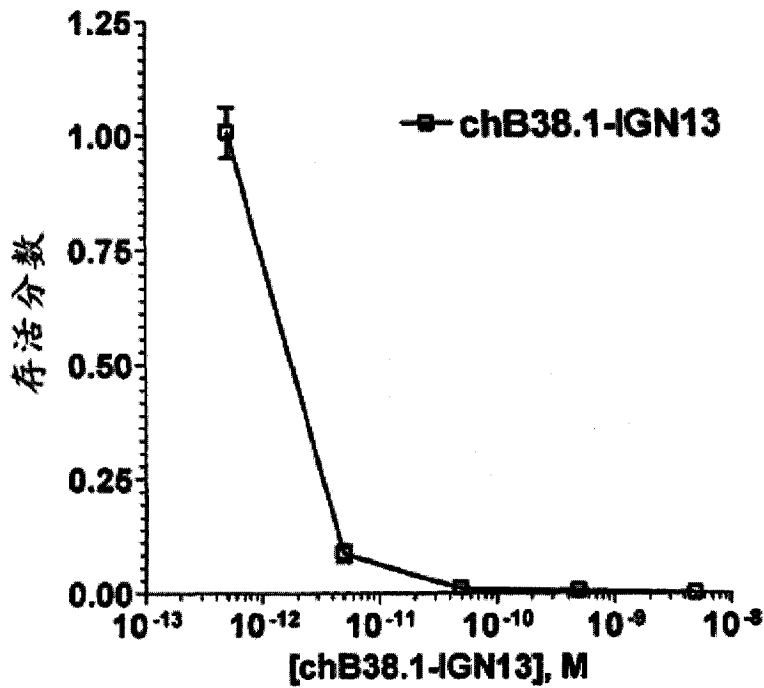


图 52

在封闭和未封闭抗原结合部位的情况下、针对 NB-4(Ag+)细胞的 huMy9-6-IGN13 的抗增殖活性

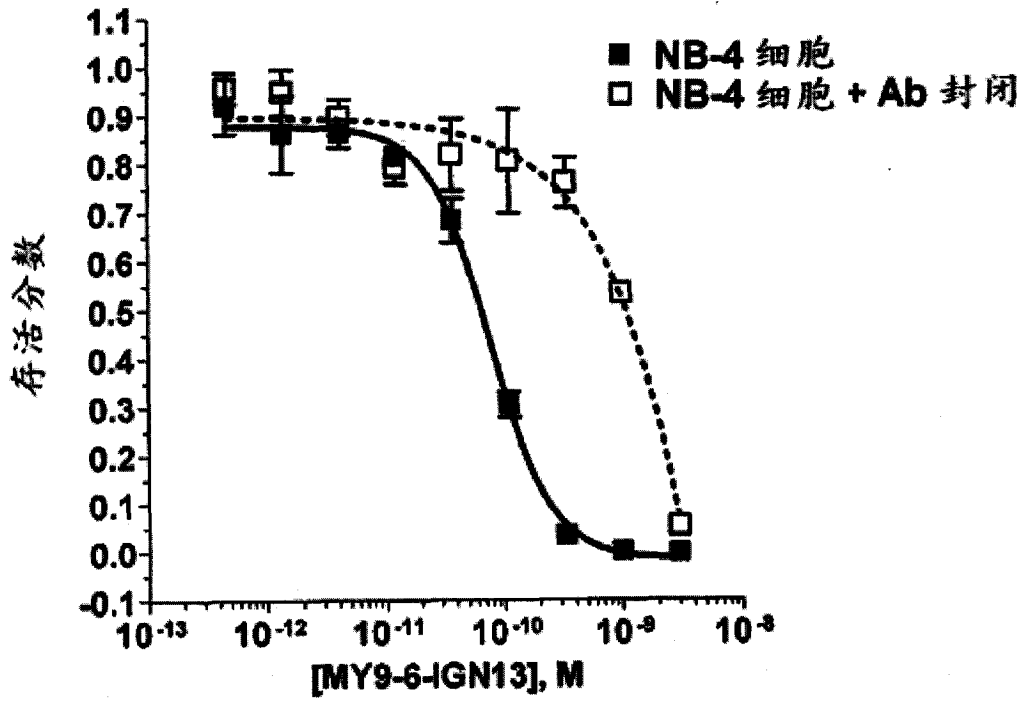
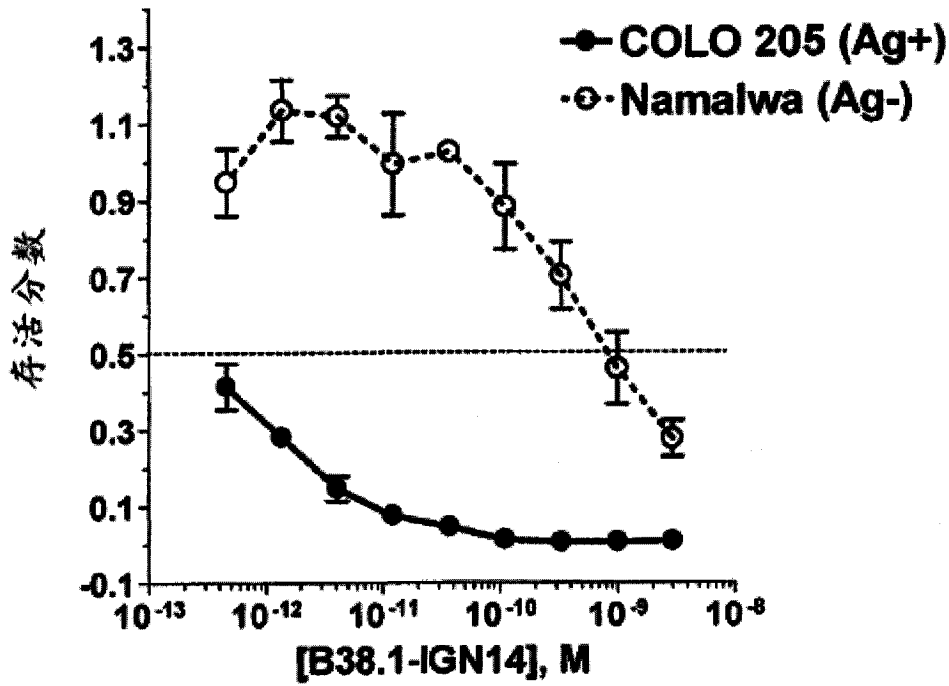


图 53

针对(A) COLO205(Ag+)细胞和(B) LOVO(Ag+)细胞和 Namalwa(Ag-) 细胞的 chB38.1-IGN14 的抗增殖活性

A)



B)

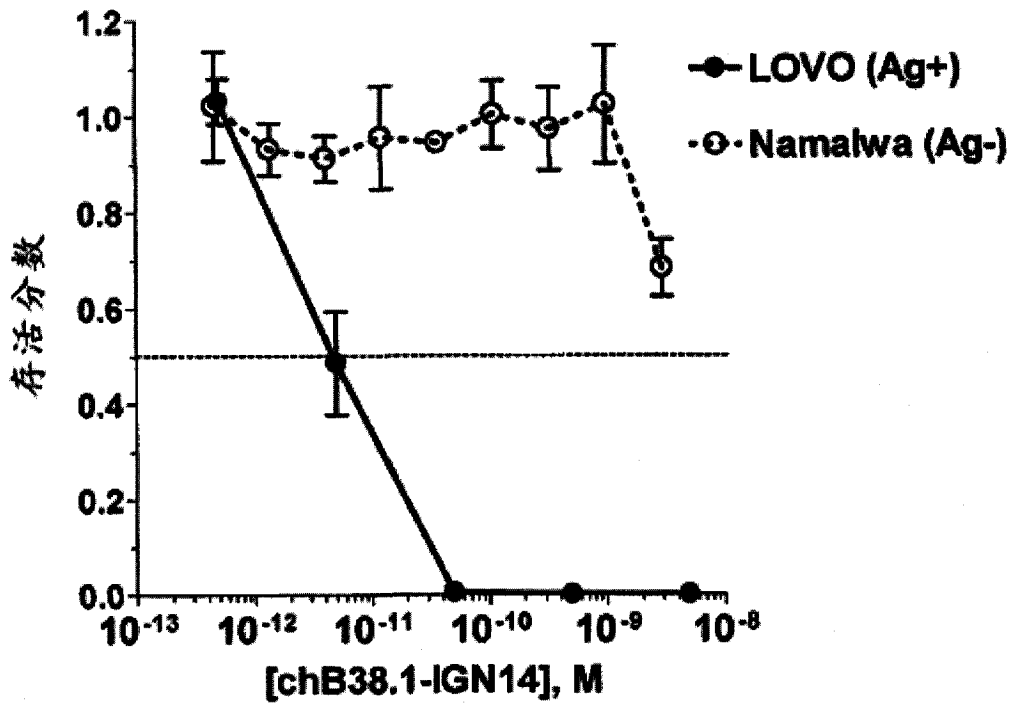


图 54

使用 Namalwa(Ag-)细胞作为对照、针对 NB-4(Ag+)细胞的
huMY9-6-IGN14 的抗增殖活性

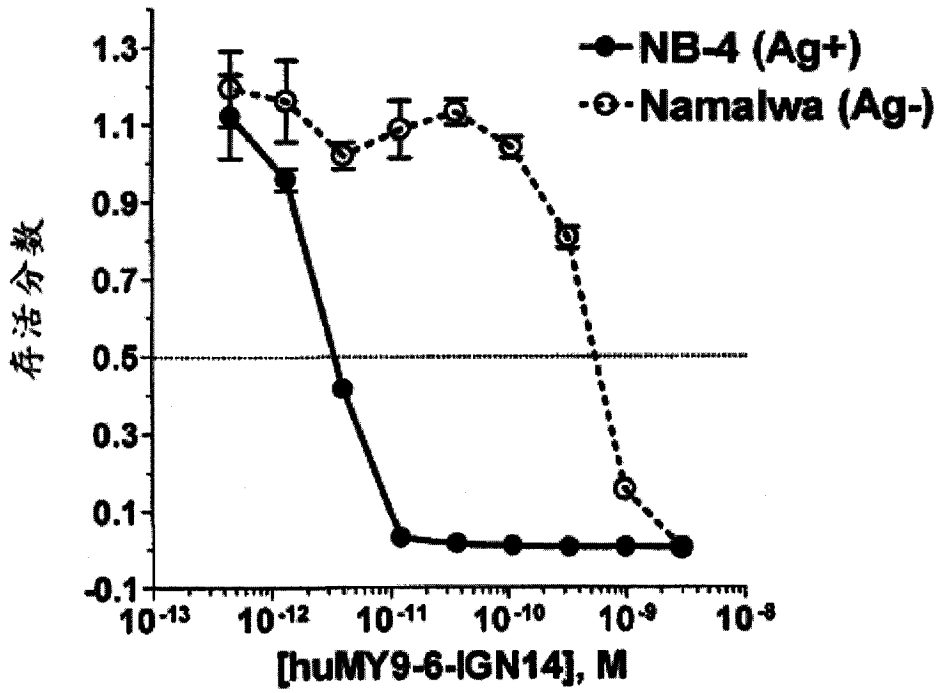


图 55

(A)使用 Namalwa(Ag-)细胞作为对照、针对 LOVO(Ag+)细胞; 以及
 (B)在封闭和未封闭抗原结合部位的情况下、针对 COLO205(Ag+)细
 胞的 chB38.1-IGN23 的抗增殖活性

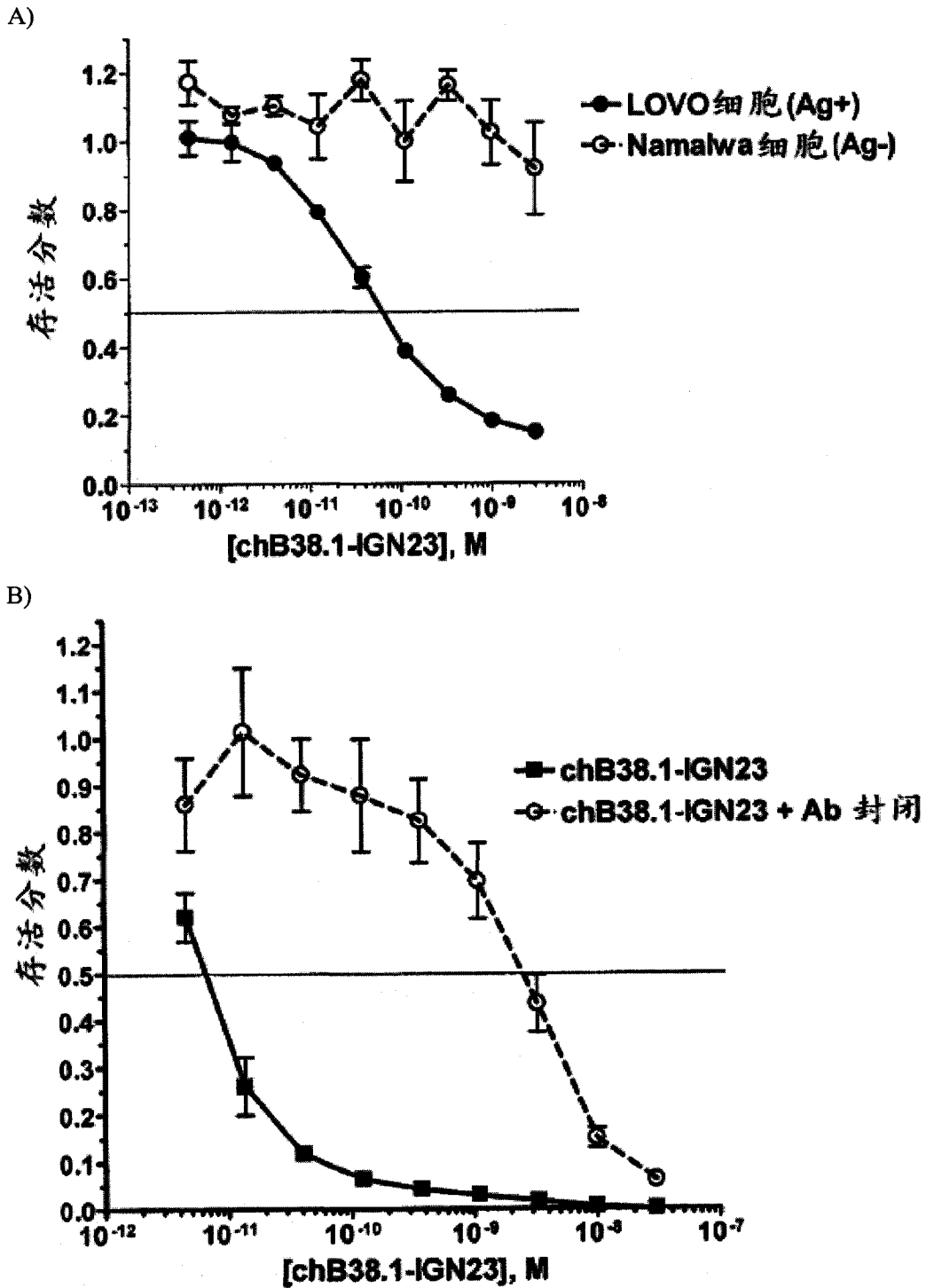


图 56

在封闭和未封闭抗原结合部位的情况下、针对 COLO205(Ag+)细胞的 chB38.1-IGN29 的抗增殖活性。

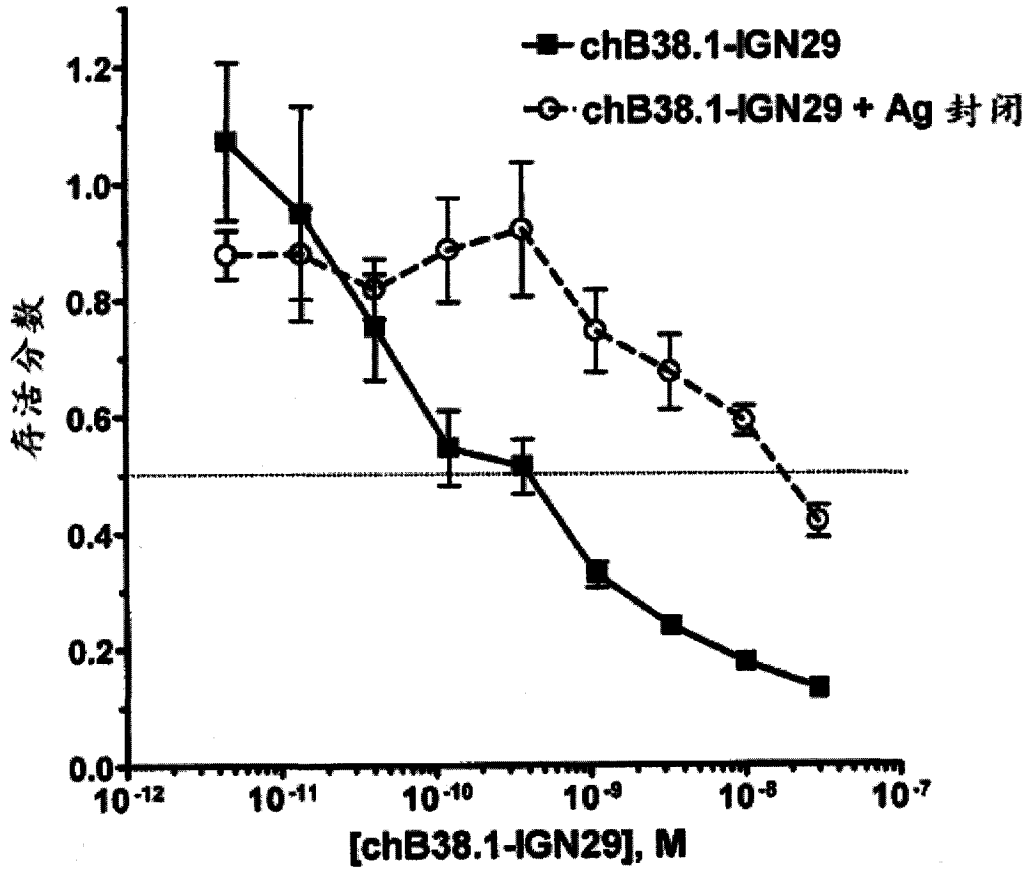


图 57

chB38.1-IGN14 在具有 COLO205 肿瘤的裸小鼠中的体内效力
chB38.1-IGN14在COLO异种移植物中的效力

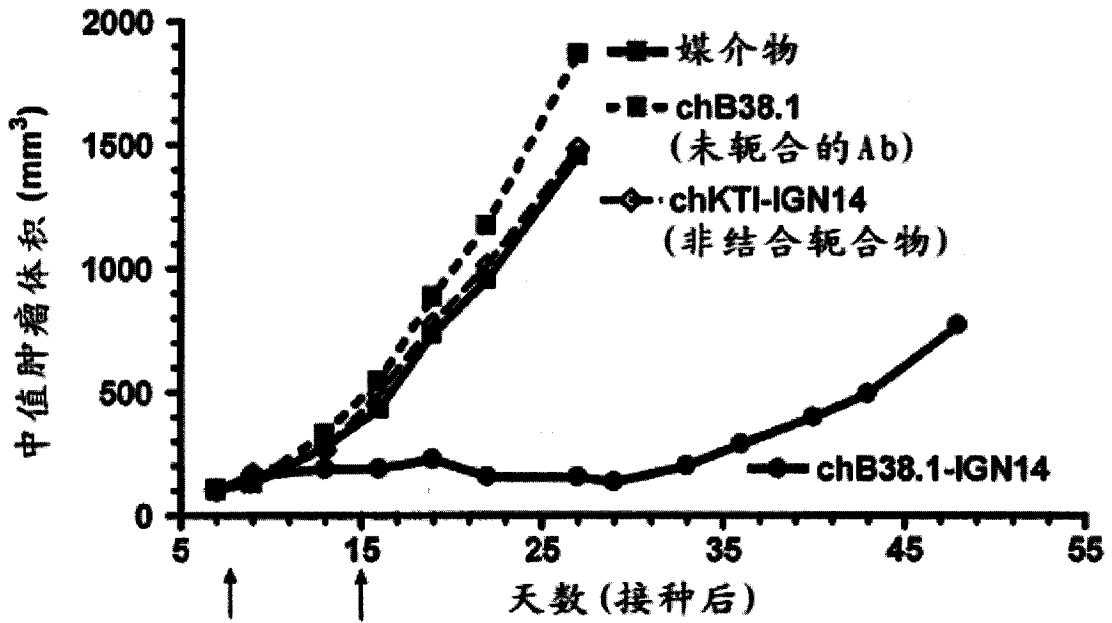


图 58

chB38.1-IGN14 轭合物的 MS 分析

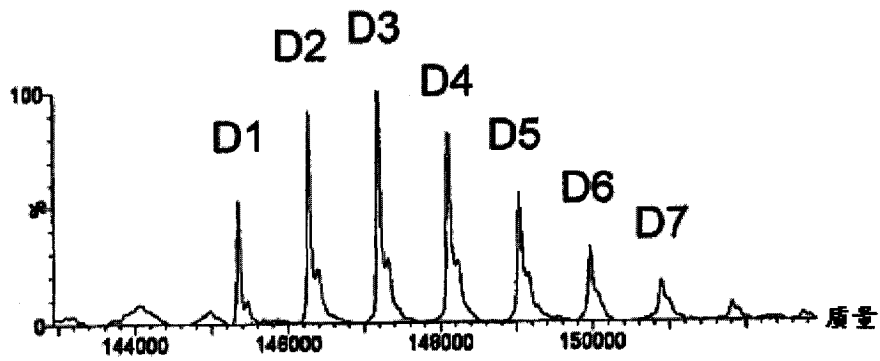


图 59