



## (12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105358174 B

(45)授权公告日 2019.03.15

(21)申请号 201480027374.0

J.R.里奇 B.J.赫伯格 T.H.H.谢

(22)申请日 2014.03.14

E.M.J.布克 J.巴布库克

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105358174 A

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

代理人 罗文锋 杨思捷

(43)申请公布日 2016.02.24

(30)优先权数据

61/792020 2013.03.15 US

61/792066 2013.03.15 US

(51)Int.Cl.

A61K 38/04(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

A61K 31/18(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2015.11.13

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2014/029463 2014.03.14

(87)PCT国际申请的公布数据

W02014/144871 EN 2014.09.18

(73)专利权人 醇活有限公司

地址 加拿大英属哥伦比亚省

(56)对比文件

CN 1282336 A, 2001.01.31,

Karl A. Werbovetz et al., "Selective Antimicrotubule Activity of N1-Phenyl-3, 5-dinitro-N4,N4-di-n-propylsulfanilamide (GB-II-5) against Kinetoplastid Parasites".《Mol Pharmacol》.2003,第64卷(第6期),

审查员 江涵

(72)发明人 G.C.温特斯 A.L.曼德尔

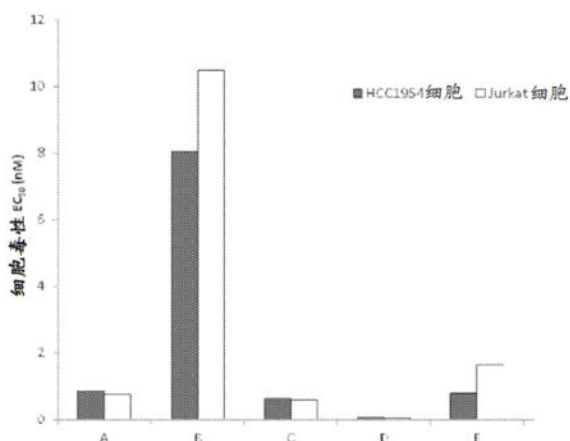
权利要求书18页 说明书151页 附图17页

(54)发明名称

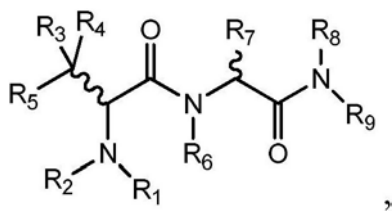
具细胞毒性和抗有丝分裂的化合物以及其使用方法

(57)摘要

公开了具有细胞毒性和/或抗有丝分裂活性的化合物。还公开了与此类化合物的制备和使用相关的方法以及包含此类化合物的药物组合物。还公开了具有以下结构的组合物:(T)-(L)-(D), 其中(T)是靶向部分,(L)是可选的连接基,且(D)是具有细胞毒性和/或抗有丝分裂活性的化合物。



1. 一种化合物,其具有以下结构(I):



(I)

其中:

R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>独立地为H或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;或R<sub>2</sub>与R<sub>5</sub>稠合且形成哌啶基;

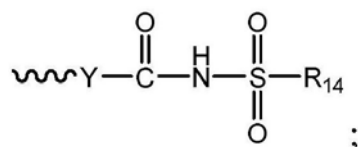
R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>独立地为H或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;

R<sub>5</sub>为R或Ar;或R<sub>5</sub>与R<sub>2</sub>稠合且形成哌啶基;

R<sub>6</sub>为H;

R<sub>7</sub>和R<sub>8</sub>独立地为H或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基;且

R<sub>9</sub>是:



其中,

R为具有直链、分支链或非芳族环状骨架的含有一至六个碳原子、零或一个氮原子和零或一个硫原子的饱和或不饱和部分,且所述碳原子任选独立地经以下各项取代: =O、=S、OH、-OR<sub>10</sub>、-O<sub>2</sub>CR<sub>10</sub>、-SH、-SR<sub>10</sub>、-SOCR<sub>10</sub>、-NH<sub>2</sub>、-NHR<sub>10</sub>、-N(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>、-NHCOR<sub>10</sub>、-NR<sub>10</sub>COR<sub>10</sub>、-I、-Br、-Cl、-F、-CN、-CO<sub>2</sub>H、-CO<sub>2</sub>R<sub>10</sub>、-CHO、-COR<sub>10</sub>、-CONH<sub>2</sub>、-CONHR<sub>10</sub>、-CON(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>、-COSH、-COSR<sub>10</sub>、-NO<sub>2</sub>、-SO<sub>3</sub>H、-SOR<sub>10</sub>或-SO<sub>2</sub>R<sub>10</sub>,其中R<sub>10</sub>为直链、分支链或环状C<sub>1-10</sub>饱和或不饱和烷基;

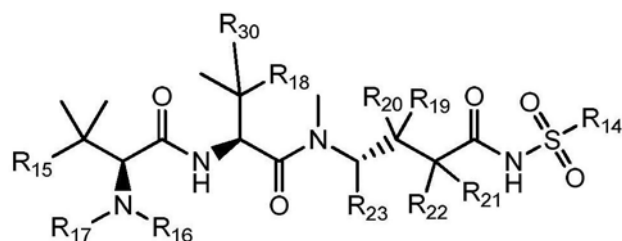
Y为直链饱和或不饱和C<sub>1-6</sub>烷基,任选地经R取代;和

R<sub>14</sub>选自任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基、任选地经取代的杂芳基;

或其药学上可接受的盐。

2. 如权利要求1所述的化合物,其具有以下结构之一:

(a)



(Ia)

其中:

R<sub>14</sub>选自任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基和任选地经取代的杂芳基；

R<sub>15</sub>选自任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基和任选地经取代的杂芳基；

R<sub>16</sub>选自H和C<sub>1-6</sub>烷基；

R<sub>17</sub>选自H和C<sub>1-6</sub>烷基；

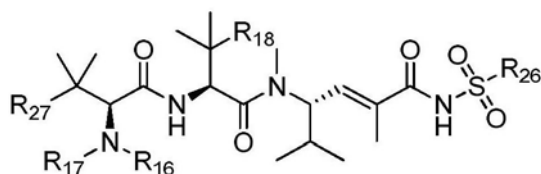
R<sub>18</sub>和R<sub>30</sub>独立地选自H、C<sub>1-6</sub>烷基和-SH,条件是R<sub>18</sub>和R<sub>30</sub>不能都是H;

R<sub>19</sub>、R<sub>20</sub>、R<sub>21</sub>和R<sub>22</sub>各自独立地为H或C<sub>1-6</sub>烷基,其中R<sub>19</sub>和R<sub>20</sub>中至少一个是H;或R<sub>20</sub>与R<sub>21</sub>形成双键,R<sub>19</sub>是H,且R<sub>22</sub>是H或C<sub>1-6</sub>烷基;且

R<sub>23</sub>选自H和C<sub>1-6</sub>烷基；

或其药学上可接受的盐;或

(b)



(Ib)

其中：

R<sub>26</sub>选自任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基和任选地经取代的杂芳基；

R<sub>27</sub>选自任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基和任选地经取代的杂芳基；

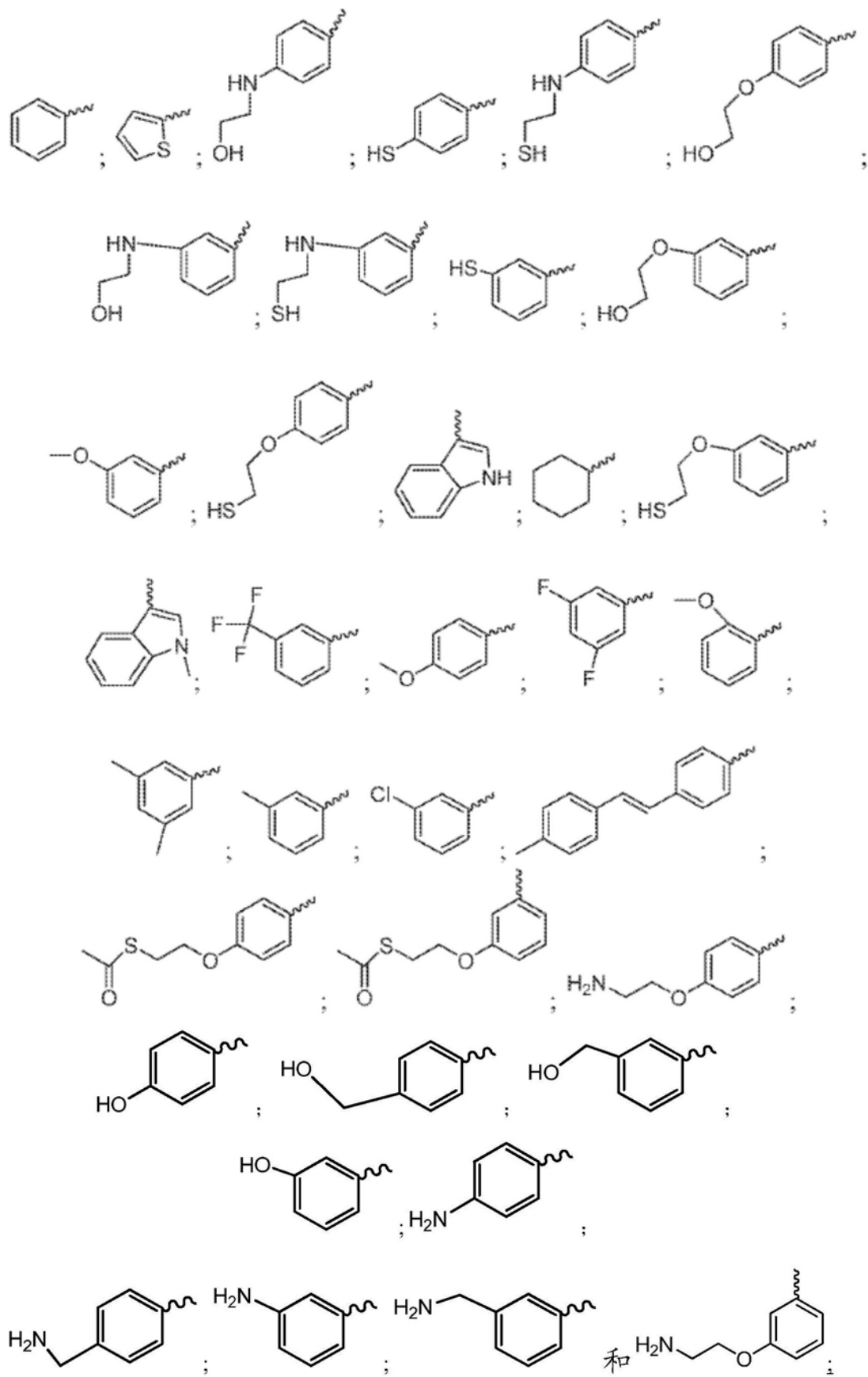
R<sub>16</sub>选自H和C<sub>1-6</sub>烷基；

R<sub>17</sub>选自H和C<sub>1-6</sub>烷基;和

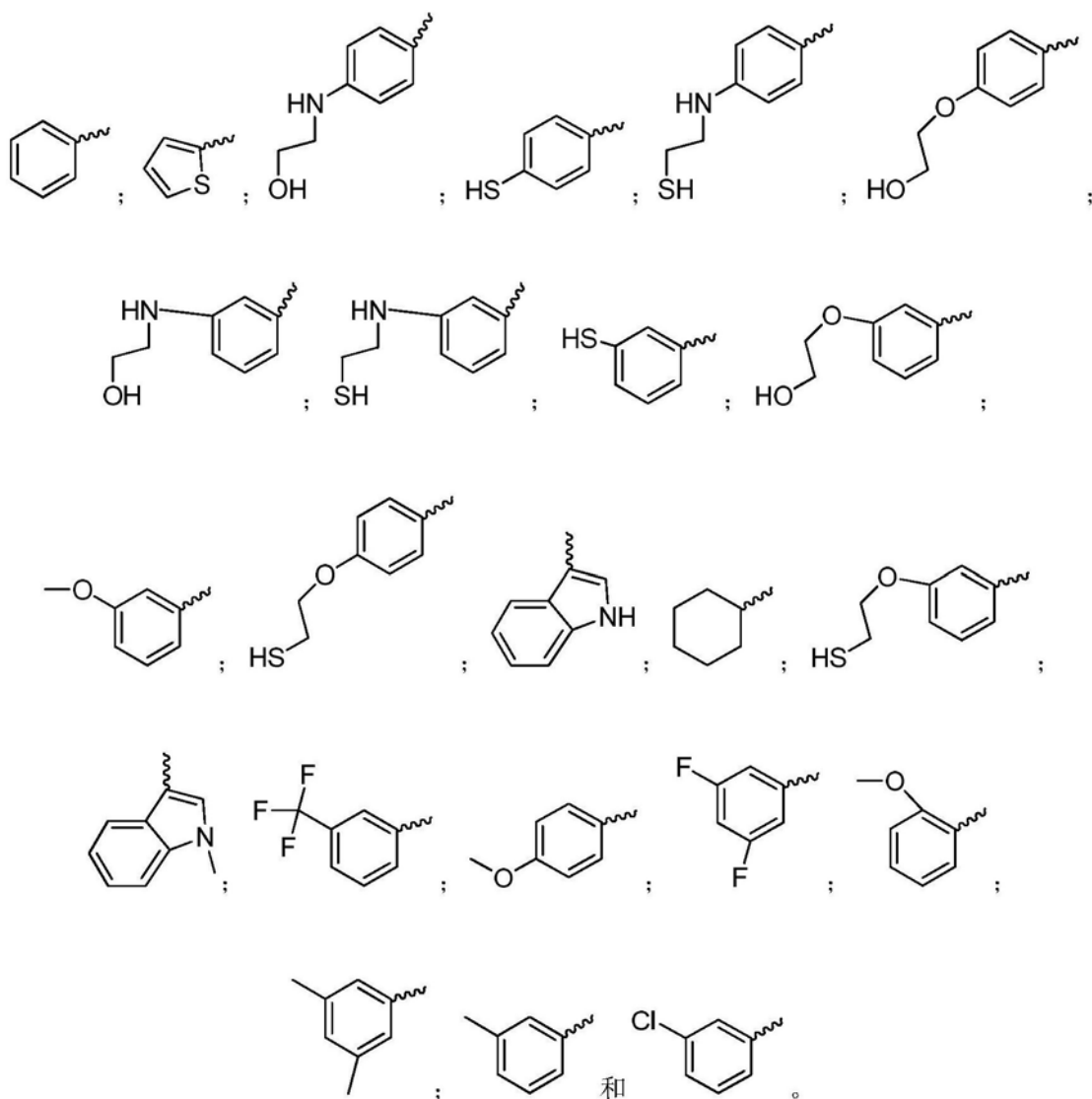
R<sub>18</sub>选自C<sub>1-6</sub>烷基和-SH,

或其药学上可接受的盐。

3.如权利要求2所述的化合物,其中(Ia)中R<sub>15</sub>选自:







4. 如权利要求2所述的化合物, 其中 (Ia) 中的R<sub>15</sub>和 (Ib) 中的R<sub>27</sub>为各自独立任选取代的苯基。

5. 如权利要求2至4中任一项所述的化合物, 其中: (a)  $R_{16}$ 、 $R_{17}$ 和 $R_{18}$ 各自是甲基, 或 (b)  $R_{16}$ 为H,  $R_{17}$ 为甲基, 和 $R_{18}$ 为甲基。

6. 如权利要求2至4中任一项所述的化合物, 其中 (Ia) 中的 $R_{14}$ 和 (Ib) 中的 $R_{26}$ 各自独立为任选地经取代的烷基或任选地经取代的芳基。

7. 如权利要求2至4中任一项所述的化合物, 其中 (Ia) 中的R<sub>14</sub>和 (Ib) 中的R<sub>26</sub>各自独立为任选地经取代的芳烷基或任选地经取代的苯基

8. 如权利要求6所述的化合物, 其中: (a) R<sub>16</sub>、R<sub>17</sub>和R<sub>18</sub>各自是甲基, 或 (b) R<sub>16</sub>为H, R<sub>17</sub>为甲基, 和R<sub>18</sub>为甲基。

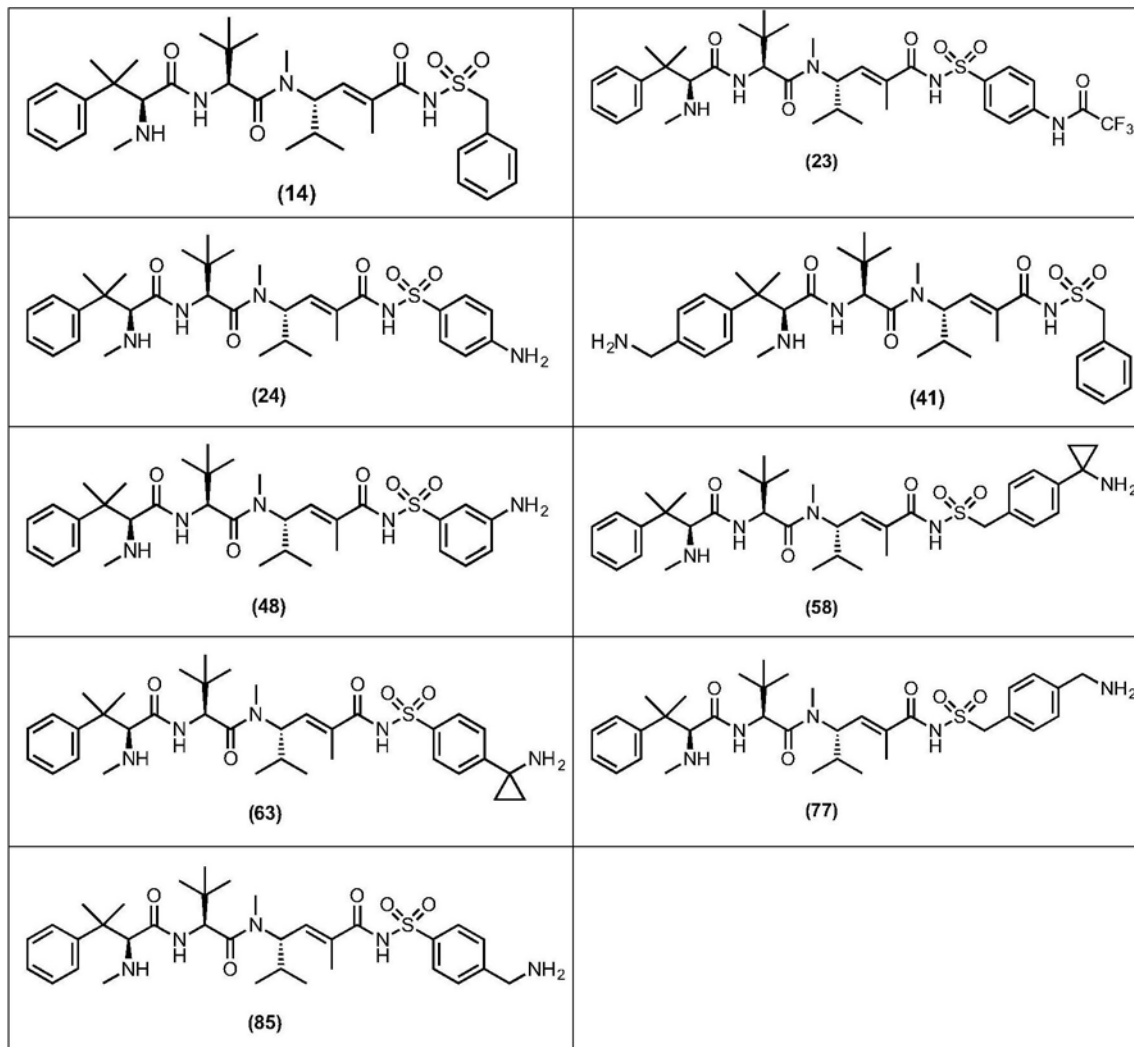
9. 如权利要求1至4中任一项所述的化合物, 其中:

(a) 各任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基和任选地经取代的杂芳基独立地任选地经以下各项取代： $=O$ 、 $=S$ 、 $-OH$ 、 $-OR_{24}$ 、 $-O_2CR_{24}$ 、 $-SH$ 、 $-SR_{24}$ 、 $-SO_2CR_{24}$ 、 $-NH_2$ 、 $-N_3$ 、 $-NHR_{24}$ 、 $-N(R_{24})_2$ 、 $-NHCOR_{24}$ 、 $-NR_{24}COR_{24}$ 、 $-I$ 、 $-Br$ 、 $-Cl$ 、 $-F$ 、 $-CN$ 、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2R_{24}$ 、 $-CHO$ 、 $-COR_{24}$ 、 $-CONH_2$ 、 $-CONHR_{24}$ 、 $-$

CON(R<sub>24</sub>)<sub>2</sub>、-COSH、-COSR<sub>24</sub>、-NO<sub>2</sub>、-SO<sub>3</sub>H、-SOR<sub>24</sub>或-SO<sub>2</sub>R<sub>24</sub>,其中各R<sub>24</sub>独立地为任选地经卤素、-OH或-SH取代的烷基,和/或

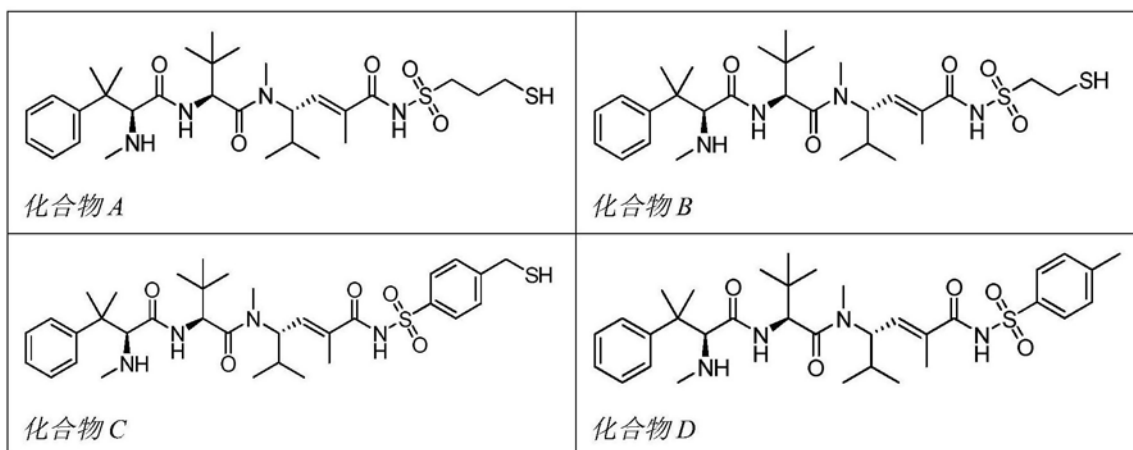
(b) 各任选地经取代的芳基和任选地经取代的杂芳基独立地选自任选地经取代的苯基、任选地经取代的萘基、任选地经取代的噻吩基、和任选地经取代的吡啶基。

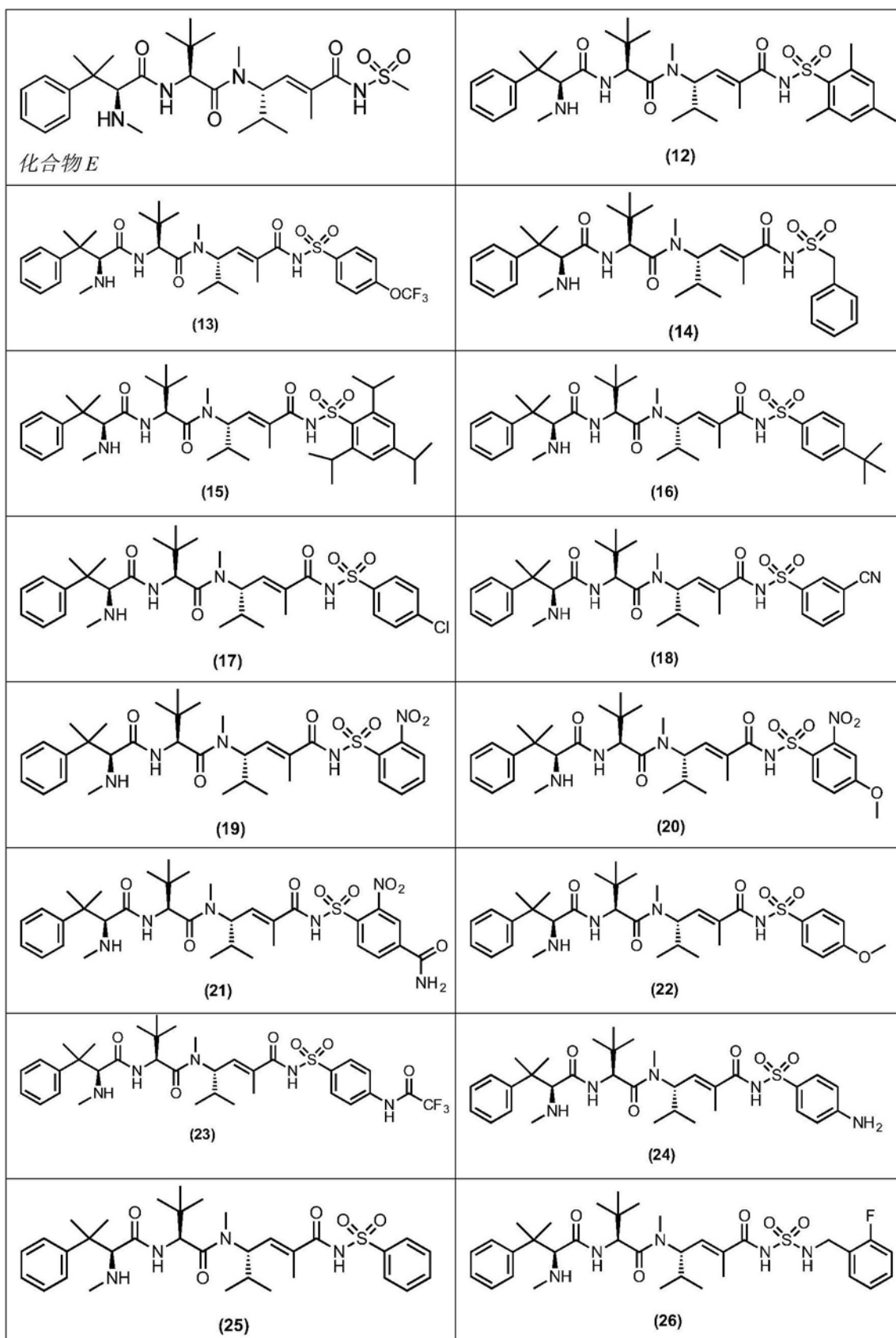
10. 如权利要求2所述的化合物,其中所述化合物具有以下结构之一:

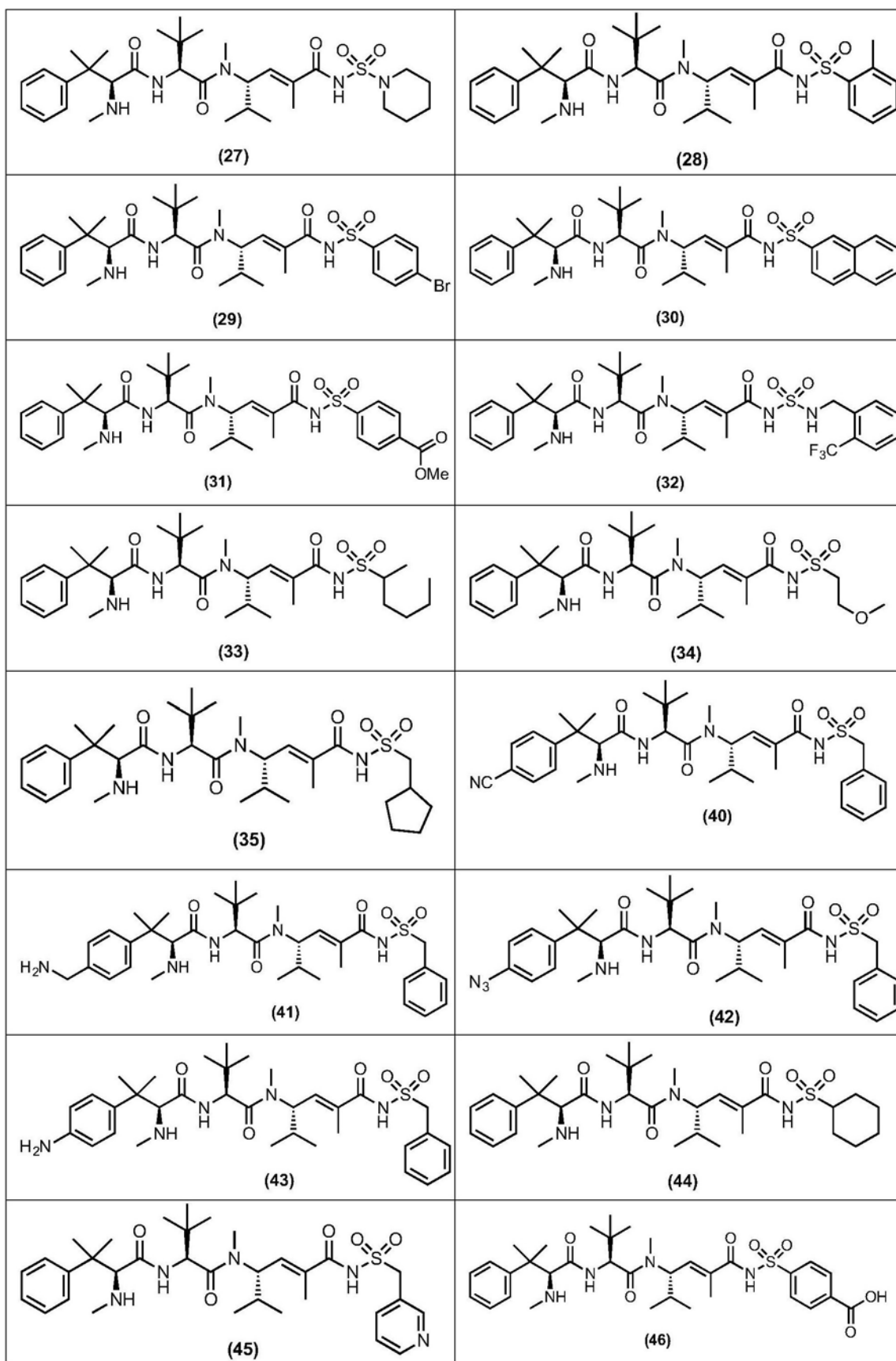


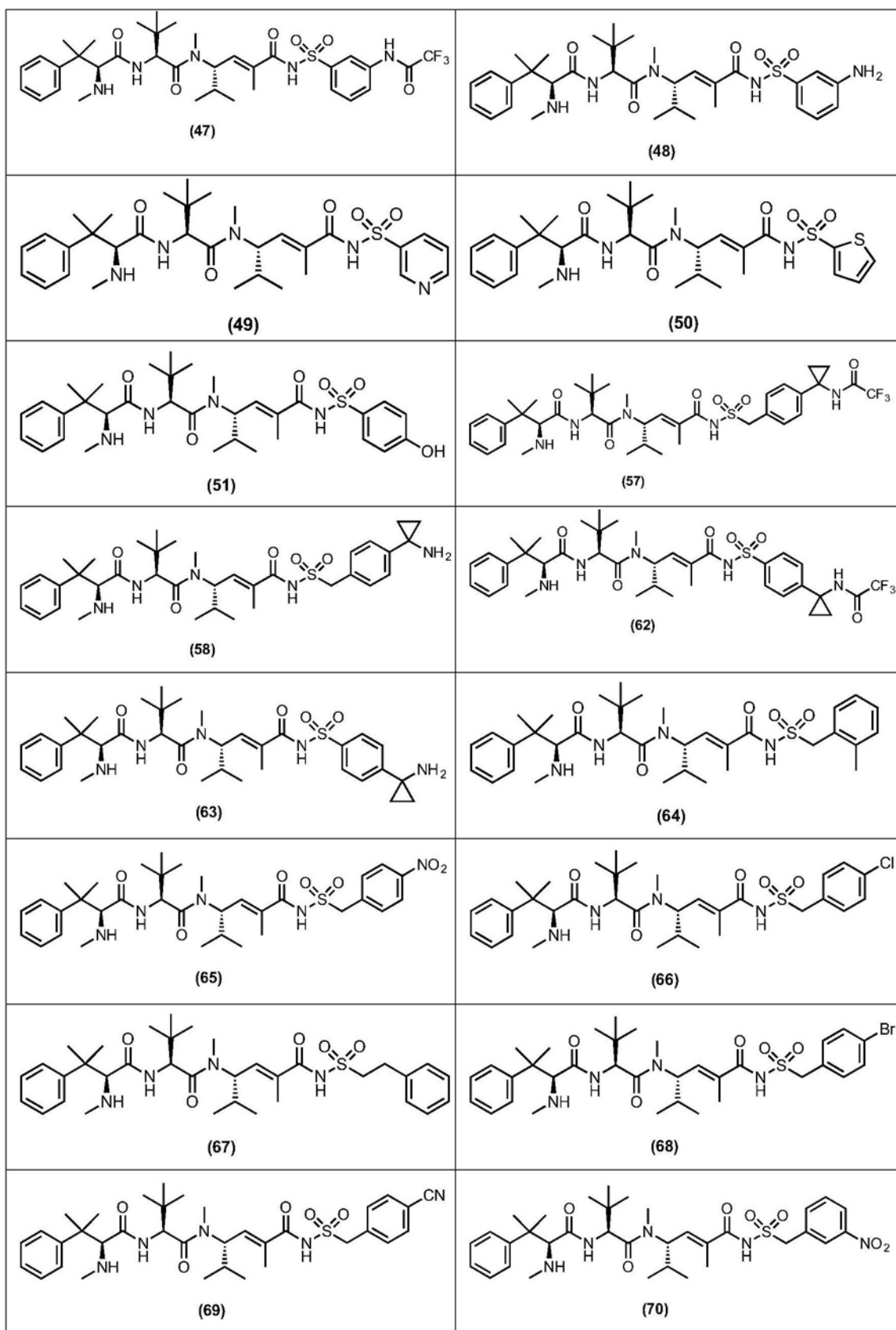
或其药学上可接受的盐。

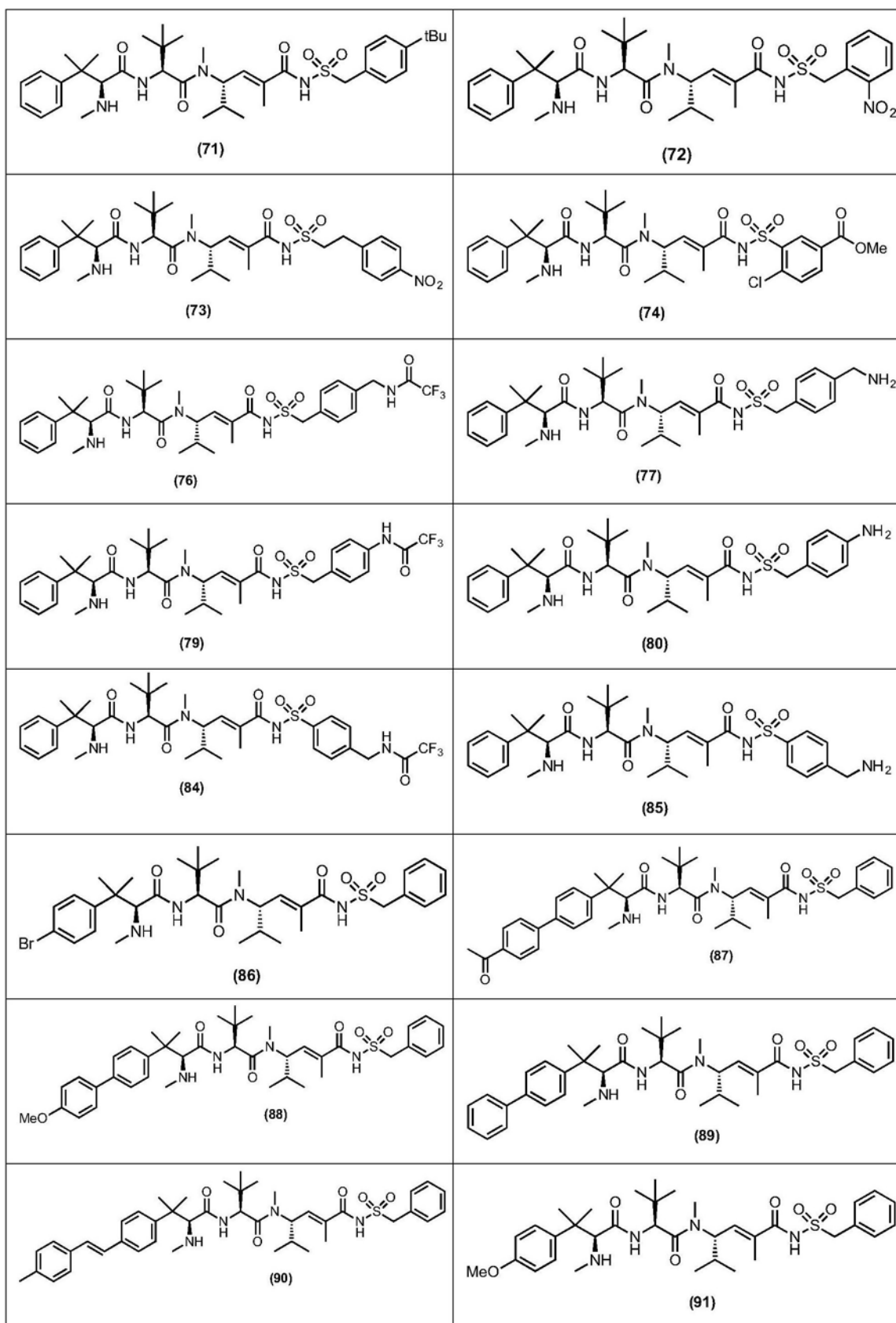
11. 具有以下结构的化合物:

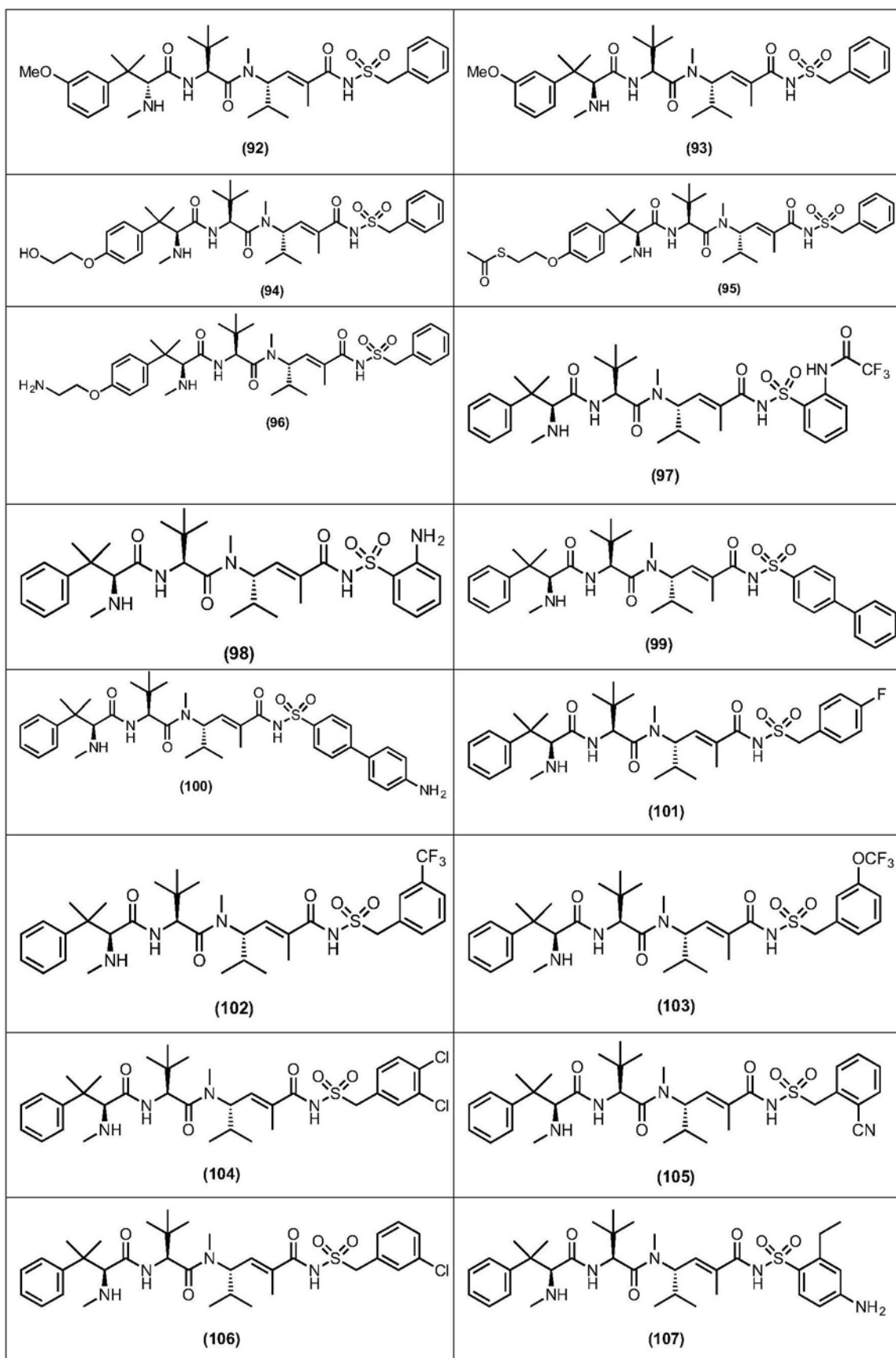




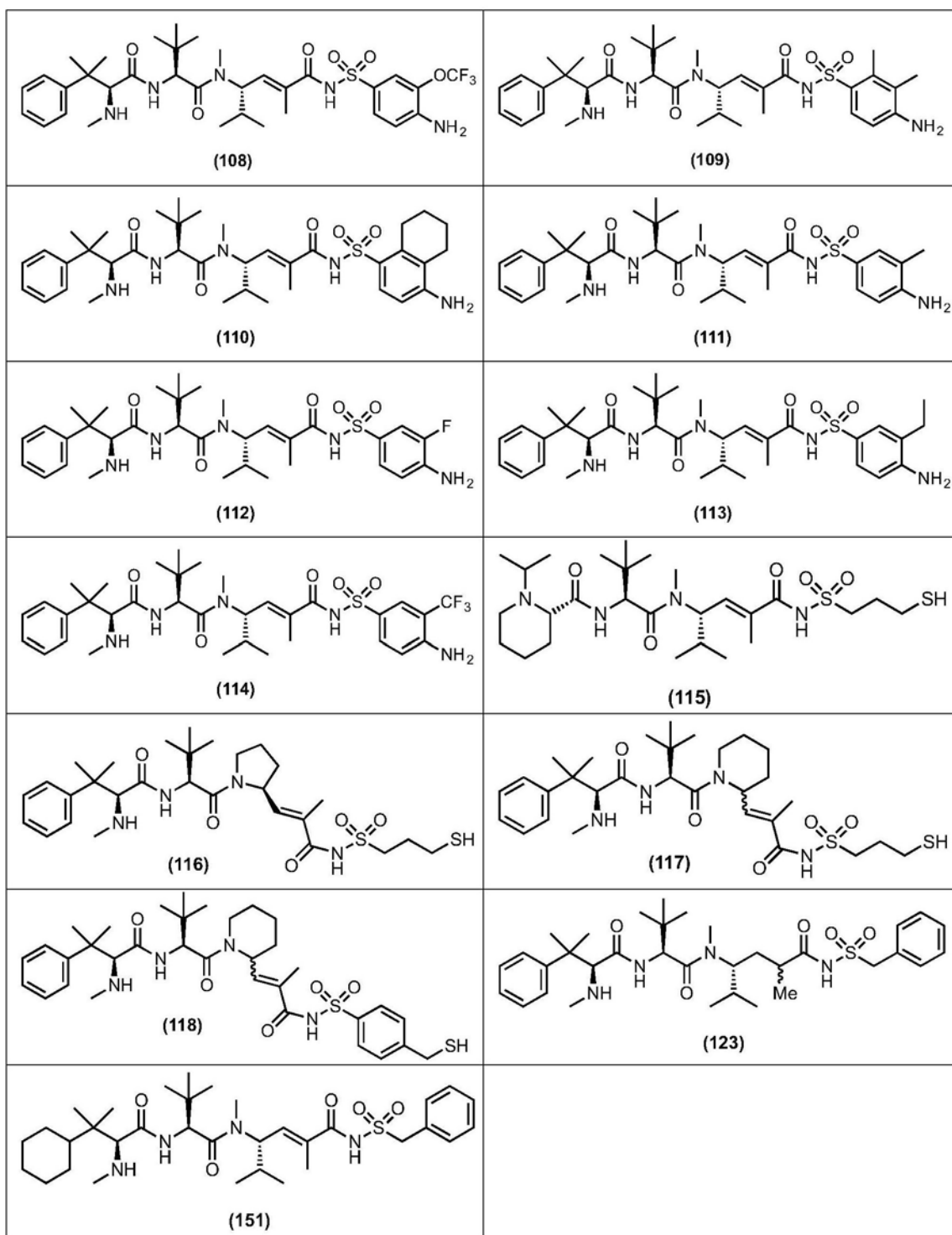






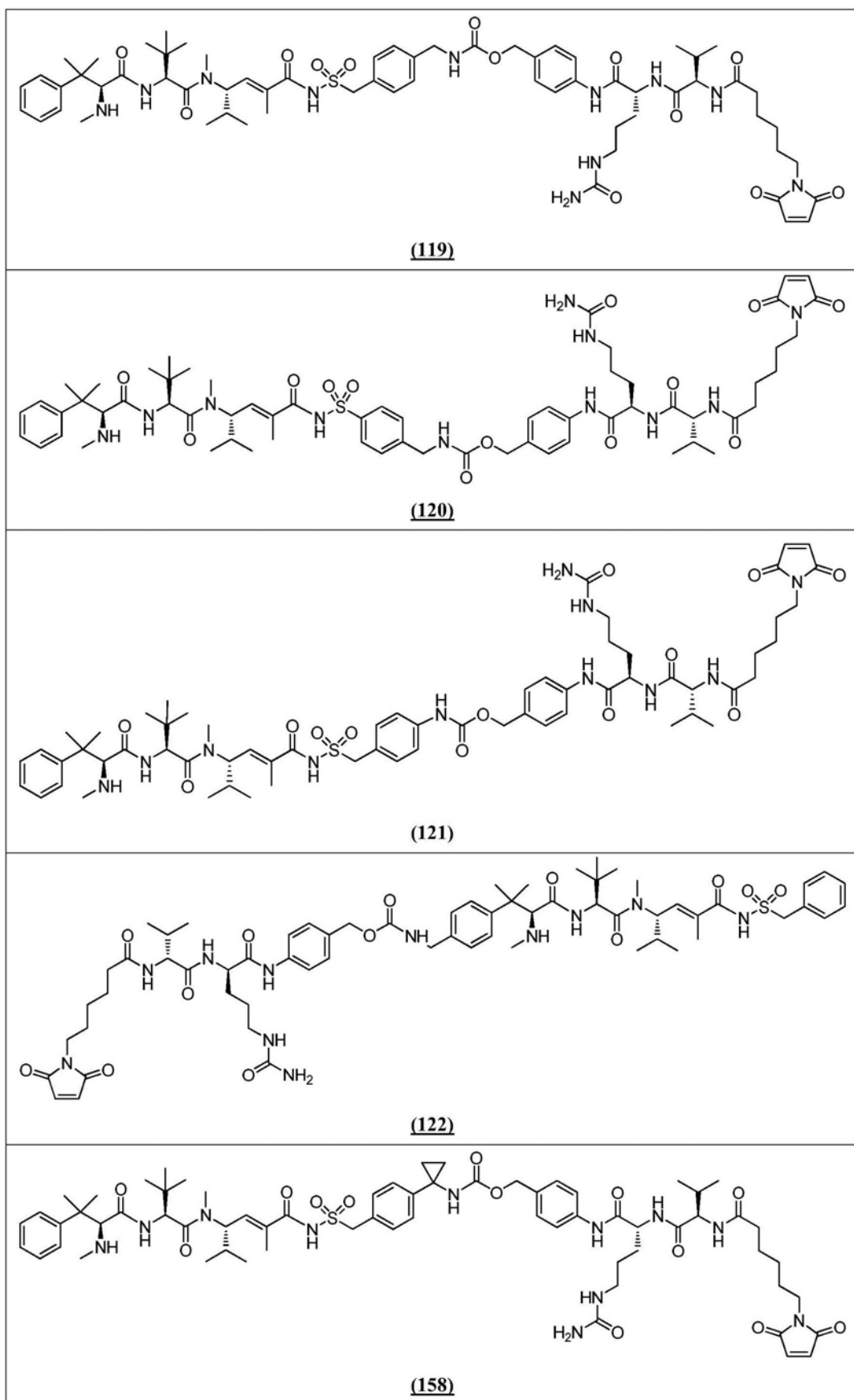


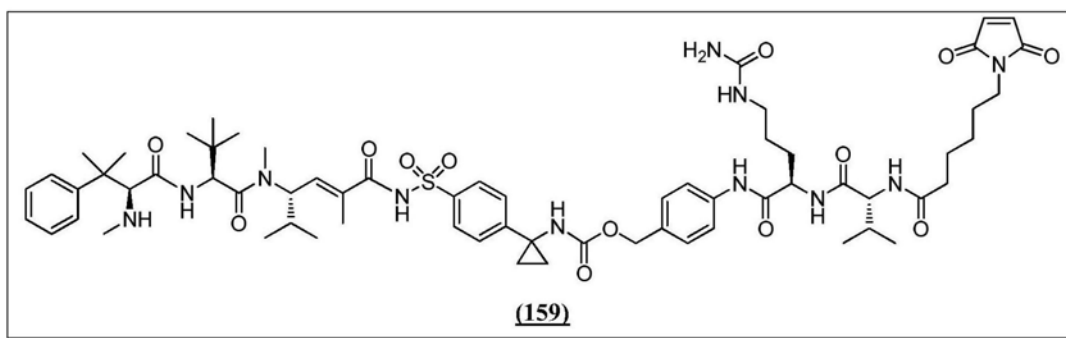




或其药学上可接受的盐。

12. 具有以下结构之一的连接基-药物缀合物：





13. 一种组合物,其具有以下结构(VI):

(T) - (L) - (D)

(VI)

其中(T)是靶向部分,(L)是连接基,且(D)是如权利要求1至11中任一项所述的化合物;任选其中(D)的C末端或N末端经修饰以形成与(L)的连接点。

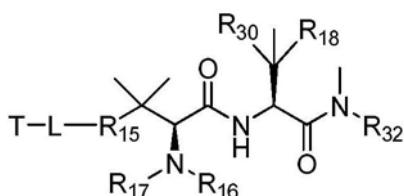
14. 一种组合物,其具有以下结构(T) - (L) - (PT)

(VII)

其中(T)是靶向部分,(L)是可选的连接基,且(PT)是微管破坏性肽毒素,

其中(T) - (L) - (PT)具有以下结构之一:

(a)

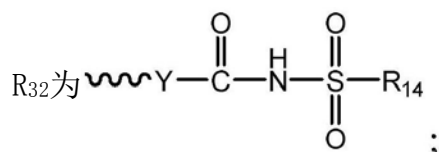


其中:

R<sub>15</sub>选自任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基和任选地经取代的杂芳基;

R<sub>16</sub>和R<sub>17</sub>独立地选自H和C<sub>1-6</sub>烷基;

R<sub>18</sub>和R<sub>30</sub>独立地选自H、C<sub>1-6</sub>烷基和-SH,前提条件是R<sub>18</sub>和R<sub>30</sub>不可以都为H;



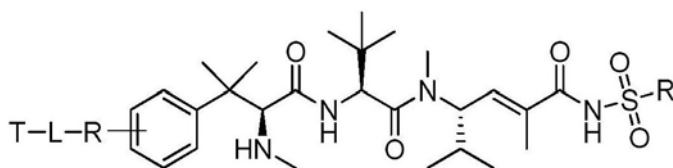
其中:

R为具有直链、分支链或非芳族环状骨架的含有一至六个碳原子、零或一个氮原子和零或一个硫原子的饱和或不饱和部分,且所述碳原子任选独立地经以下各项取代: =O、=S、OH、-OR<sub>10</sub>、-O<sub>2</sub>CR<sub>10</sub>、-SH、-SR<sub>10</sub>、-SOCR<sub>10</sub>、-NH<sub>2</sub>、-NHR<sub>10</sub>、-N(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>、-NHCOR<sub>10</sub>、-NR<sub>10</sub>COR<sub>10</sub>、-I、-Br、-Cl、-F、-CN、-CO<sub>2</sub>H、-CO<sub>2</sub>R<sub>10</sub>、-CHO、-COR<sub>10</sub>、-CONH<sub>2</sub>、-CONHR<sub>10</sub>、-CON(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>、-COSH、-COSR<sub>10</sub>、-NO<sub>2</sub>、-SO<sub>3</sub>H、-SOR<sub>10</sub>或-SO<sub>2</sub>R<sub>10</sub>,其中R<sub>10</sub>为直链、分支链或环状C<sub>1-10</sub>饱和或不饱和烷基;

Y为直链饱和或不饱和C<sub>1-6</sub>烷基,任选地经R取代;和

R<sub>14</sub>选自任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基和任选地经取代的杂芳基;或

(b)



其中

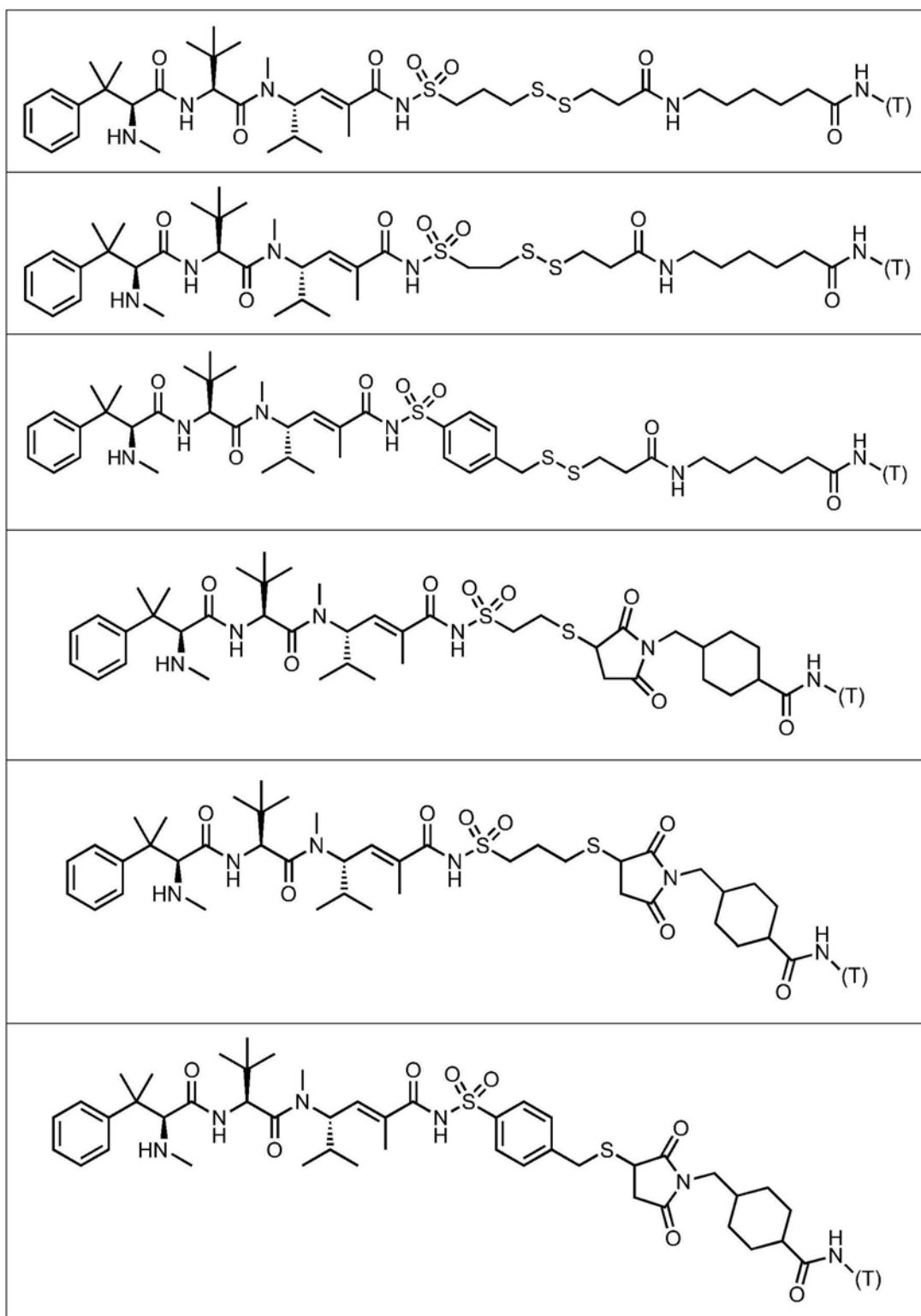
R为具有直链、分支链或非芳族环状骨架的含有一至六个碳原子、零或一个氮原子和零或一个硫原子的饱和或不饱和部分,且所述碳原子任选独立地经以下各项取代: $=O$ 、 $=S$ 、 $OH$ 、 $-OR_{10}$ 、 $-O_2CR_{10}$ 、 $-SH$ 、 $-SR_{10}$ 、 $-SOCR_{10}$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR_{10}$ 、 $-N(R_{10})_2$ 、 $-NHCOR_{10}$ 、 $-NR_{10}COR_{10}$ 、 $-I$ 、 $-Br$ 、 $-Cl$ 、 $-F$ 、 $-CN$ 、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2R_{10}$ 、 $-CHO$ 、 $-COR_{10}$ 、 $-CONH_2$ 、 $-CONHR_{10}$ 、 $-CON(R_{10})_2$ 、 $-COSH$ 、 $-COSR_{10}$ 、 $-NO_2$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SOR_{10}$ 或 $-SO_2R_{10}$ ,其中 $R_{10}$ 为直链、分支链或环状 $C_{1-10}$ 饱和或不饱和烷基。

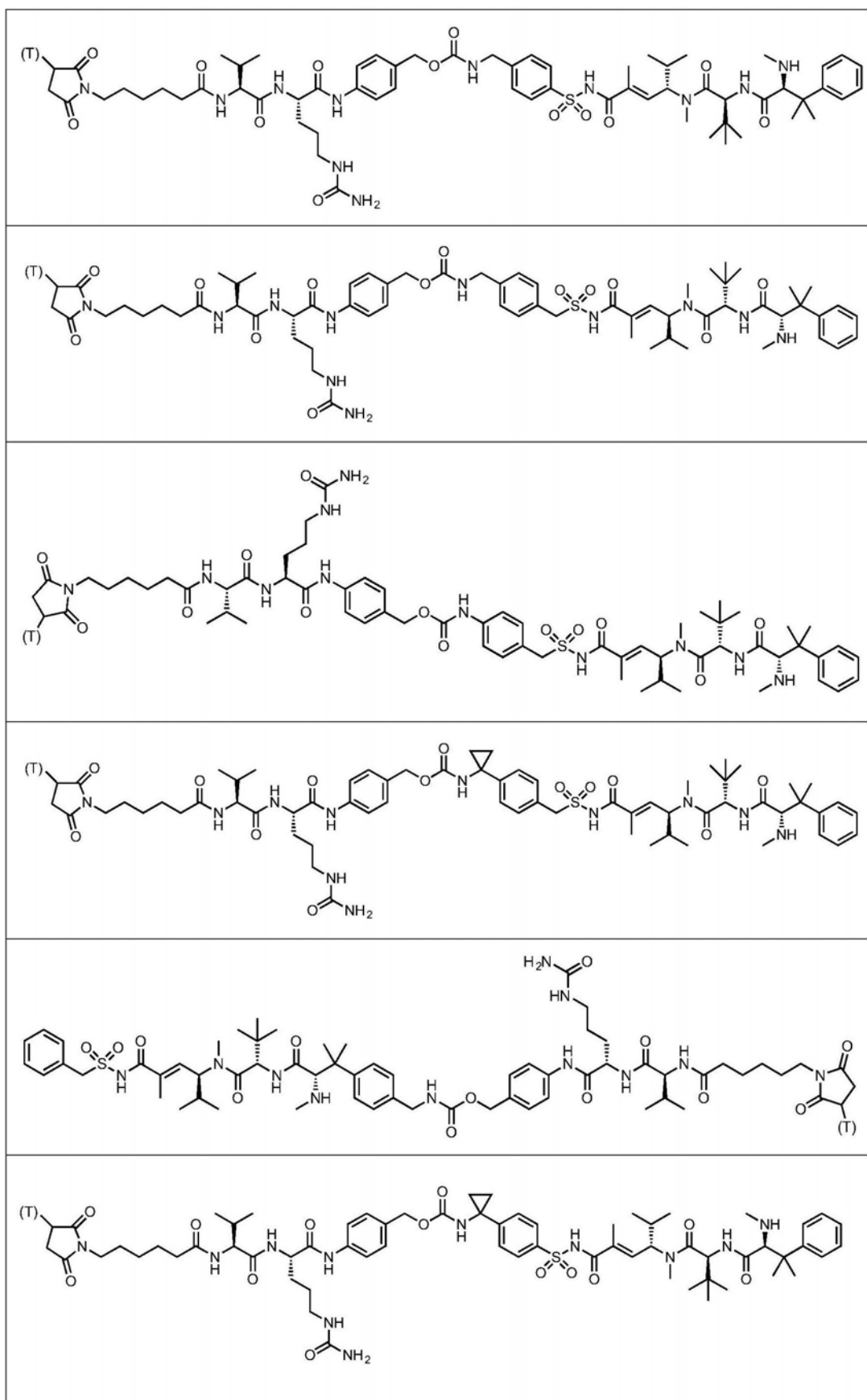
15. 权利要求14所述的组合物,其中(L)存在并且为可裂解或不可裂解的连接基,任选地其中(L)是包含自降解组分可裂解连接基。

16. 权利要求15所述的组合物,其中(L)包含6-[3'-(2-吡啶基二硫)-丙酰胺基]己酸磺酸基琥珀酰亚胺酯(磺酸基-LC-SPDP)、4-[N-马来酰亚胺基甲基]环己烷-1-甲酸琥珀酰亚胺酯(SMCC)、对氨基苯甲基氨甲酰基(PABC)或马来酰亚胺己酰基-缬氨酸-瓜氨酸-PABC(MC-VC-PABC)。

17. 权利要求13或14所述的组合物,其中(T)为抗体或抗体片段、任选单克隆抗体或抗体片段、双特异性抗体或抗体片段,或多特异性抗体或抗体片段。

18. 权利要求13所述的组合物,其中(T)-(L)-(D)具有以下结构之一:





其中 (T) 是抗体或抗体片段。

19. 权利要求18所述的组合物, 其中 (T) 为单克隆抗体或抗体片段、双特异性抗体或抗

体片段,或多特异性抗体或抗体片段。

20.一种药物组合物,其包含权利要求1-11中任一项所述的化合物,或如权利要求13-19中任一项所述的组合物,和药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

21.权利要求1-11中任一项所述的化合物,或如权利要求13-19中任一项所述的组合物在制备用于在患有癌症的哺乳动物中治疗癌症,抑制肿瘤生长或增加存活的药物中的用途。

## 具细胞毒性和抗有丝分裂的化合物以及其使用方法

[0001] 对现有申请的引用

[0002] 本申请要求2013年3月15日提交的美国临时申请号61/792,020和2013年3月15日提交的美国临时申请号61/792,066的权益,各临时申请的公开内容以全文引用的方式并入本文中。

[0003] 背景

### 发明领域

[0004] 本发明涉及生物学活性化合物、包含其的组合物以及使用此类生物学活性化合物和组合物治疗癌症和其它疾病的方法。

[0005] 相关领域的描述

[0006] Talpir, R.等(1994) Tetrahedron Lett. 35:4453-6描述了天然存在的化合物哈密特林(hemiasterlin),这是一种能在细胞中造成微管解聚和有丝分裂停滞的获自海绵的稳定三肽。哈密特林由罕见且非常拥挤的氨基酸组成,这些特征被认为有助于其活性。许多团体已经修饰哈密特林的特定结构元件以评估结构-活性关系和评定哈密特林类似物的活性。参见例如Zask等, Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters, 14:4353-4358, 2004; Zask等, J Med Chem, 47:4774-4786, 2004; Yamashita等, Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters, 14:5317-5322, 2004; PCT/GB96/00942; WO 2004/026293; WO96/33211; 和U.S. 7,579,323。

[0007] 已经描述了在“A区段”或氨基末端区段中具有修饰的哈密特林类似物(参见例如Zask等, J Med Chem, 47:4774-4786, 2004; Yamashita等, Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters, 14:5317-5322, 2004; U.S. 7,579,323)。U.S. 7,579,323公开了一种哈密特林类似物,称为HTI-286,其中以苯基置换吡啶部分。HTI-286展现了有效的抗有丝分裂活性且已经在用于治疗癌症的临床试验中加以评定(Ratain等, Proc Am Soc Clin Oncol, 22:129, 2003)。

[0008] 还已经报告了在“D区段”或羧基末端区段中具有修饰的哈密特林类似物(参见例如WO 2004/026293; Zask等, Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters, 14:4353-4358, 2004; Zask等, J Med Chem, 47:4774-4786, 2004)。羧基末端上的大多数修饰所产生的化合物与母体羧酸相比具有实质上降低的效力。参见例如WO 2004/026293,特别是表12。Zask等(J Med Chem, 47:4774-4786, 2004)还报告了使用简单环状和非环状胺制备的酰胺类似物展现出显著降低的效力(降低一至三个数量级)。在很少的耐受修饰中, Zask等(Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters, 14:4353-4358, 2004)报告了在羧基末端添加酯化环状氨基酸产生具有含脯氨酰样酯末端的四肽类似物,其中一些在测试癌细胞系中展现出了与母体化合物相当的效力。

[0009] 非常需要有效的具细胞毒性和抗有丝分裂的组合物用来治疗许多毁灭性病症,包括癌症。尽管已经产生了多种哈密特林类似物,但有许多种(包括多种在羧基末端具有修饰的化合物)展现出了降低的效力,这就限制了在医学治疗方法中的实用性。

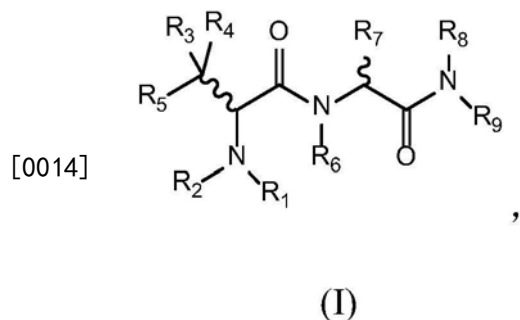


[0010] 出于上述原因,尽管在这一领域中已经取得了进展,但仍需要具有优选的特征从而使其适合于治疗多种病症(包括癌症)的其它有效的抗有丝分裂和细胞毒性化合物。本发明满足了这些需要并且还提供了相关优点。

[0011] 发明简述

[0012] 简而言之,本发明涉及生物学活性化合物、包含其的组合物以及使用此类化合物和组合物的方法。

[0013] 在一个实施方案中,提供了具有以下结构(I)的化合物:



[0015] 其中:

[0016] R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>独立地选自:H和具有直链、分支链或非芳族环状骨架且含有一至十个碳原子的饱和或不饱和部分,且所述碳原子任选地经以下各项取代:-OH、-I、-Br、-Cl、-F、-CN、-CO<sub>2</sub>H、-CHO、-COSH或-NO<sub>2</sub>;或R<sub>2</sub>与R<sub>5</sub>稠合且形成环;

[0017] R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>独立地选自:H、R、ArR-,或R<sub>3</sub>与R<sub>4</sub>接合以形成环;

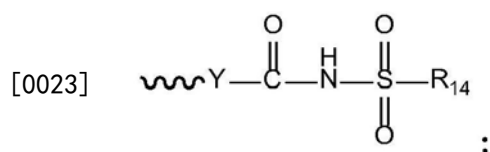
[0018] R<sub>5</sub>选自:H、R、ArR-和Ar;

[0019] 或R<sub>5</sub>与R<sub>2</sub>稠合且形成环;

[0020] R<sub>6</sub>选自:H、R和ArR-;

[0021] R<sub>7</sub>和R<sub>8</sub>独立地选自:H、R和ArR-;且

[0022] R<sub>9</sub>为:



[0024] 其中,

[0025] R定义为具有直链、分支链或非芳族环状骨架且含有一至十个碳原子、零至四个氮原子、零至四个氧原子和零至四个硫原子的饱和或不饱和部分,且所述碳原子任选地经以下各项取代: =O、=S、OH、-OR<sub>10</sub>、-O<sub>2</sub>CR<sub>10</sub>、-SH、-SR<sub>10</sub>、-SOCR<sub>10</sub>、-NH<sub>2</sub>、-NHR<sub>10</sub>、-N(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>、-NHCOR<sub>10</sub>、-NR<sub>10</sub>COR<sub>10</sub>、-I、-Br、-Cl、-F、-CN、-CO<sub>2</sub>H、-CO<sub>2</sub>R<sub>10</sub>、-CHO、-COR<sub>10</sub>、-CONH<sub>2</sub>、-CONHR<sub>10</sub>、-CON(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>、-COSH、-COSR<sub>10</sub>、-NO<sub>2</sub>、-SO<sub>3</sub>H、-SOR<sub>10</sub>、-SO<sub>2</sub>R<sub>10</sub>,其中R<sub>10</sub>为直链、分支链或环状C<sub>1-10</sub>饱和或不饱和烷基;

[0026] 由R<sub>3</sub>与R<sub>4</sub>接合形成的环是在R的定义内的三至七元非芳族环状骨架,

[0027] Y定义为选自以下各项的部分:直链饱和或不饱和C<sub>1-6</sub>烷基,任选地经R、ArR-或X取代;并且,

[0028] X定义为选自以下各项的部分:-OH、-OR、=O、=S、-O<sub>2</sub>CR、-SH、-SR、-SOCR、-NH<sub>2</sub>、-

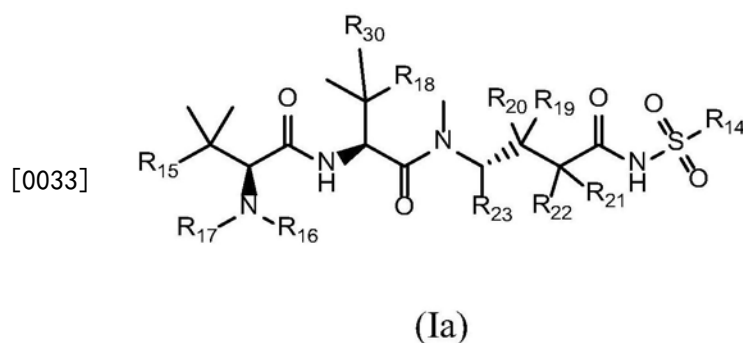
NHR、-N(R)<sub>2</sub>、-NHCOR、-NRCOR、-I、-Br、-Cl、-F、-CN、-CO<sub>2</sub>H、-CO<sub>2</sub>R、-CHO、-COR、-CONH<sub>2</sub>、-CONHR、-CON(R)<sub>2</sub>、-COSH、-COSR、-NO<sub>2</sub>、-SO<sub>3</sub>H、-SOR和-SO<sub>2</sub>R；

[0029] R<sub>14</sub>选自任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基和任选地经取代的杂芳基、COR<sub>24</sub>、-CSR<sub>24</sub>、-OR<sub>24</sub>和-NHR<sub>24</sub>，其中各R<sub>24</sub>独立地为任选地经卤素、-OH或-SH取代的烷基；

[0030] 或其立体异构体、前药或药学上可接受的盐。

[0031] 在一个实施方案中，Ar是选自以下各项的芳环：苯基、萘基、蒽基、吡咯基。

[0032] 在一个实施方案中，提供了具有以下结构(Ia)的化合物：



[0034] 其中：

[0035] R<sub>14</sub>选自任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基、任选地经取代的杂芳基、-COR<sub>24</sub>、-CSR<sub>24</sub>、-OR<sub>24</sub>和-NHR<sub>24</sub>，其中各R<sub>24</sub>独立地为任选地经卤素、-OH或-SH取代的烷基；

[0036] R<sub>15</sub>选自任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基和任选地经取代的杂芳基；

[0037] R<sub>16</sub>选自H和C<sub>1-6</sub>烷基；

[0038] R<sub>17</sub>选自H和C<sub>1-6</sub>烷基；

[0039] R<sub>18</sub>和R<sub>30</sub>独立地选自H、C<sub>1-6</sub>烷基和-SH，条件是R<sub>18</sub>和R<sub>30</sub>不能都是H；

[0040] R<sub>19</sub>、R<sub>20</sub>、R<sub>21</sub>和R<sub>22</sub>独立地为H和C<sub>1-6</sub>烷基，R<sub>19</sub>和R<sub>20</sub>中至少一个是H；或R<sub>20</sub>与R<sub>21</sub>形成双键，R<sub>19</sub>是H，且R<sub>22</sub>是H或C<sub>1-6</sub>烷基；且

[0041] R<sub>23</sub>选自H和C<sub>1-6</sub>烷基；

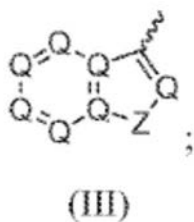
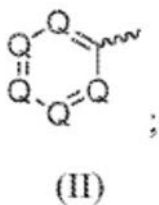
[0042] 或其立体异构体、前药或药学上可接受的盐。

[0043] 在另一个实施方案中，各任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基和任选地经取代的杂芳基独立地任选地经以下各项取代：=O、=S、-OH、-OR<sub>24</sub>、-O<sub>2</sub>CR<sub>24</sub>、-SH、-SR<sub>24</sub>、-SO<sub>2</sub>CR<sub>24</sub>、-NH<sub>2</sub>、-N<sub>3</sub>、-NHR<sub>24</sub>、-N(R<sub>24</sub>)<sub>2</sub>、-NHCOR<sub>24</sub>、-NR<sub>24</sub>COR<sub>24</sub>、-I、-Br、-Cl、-F、-CN、-CO<sub>2</sub>H、-CO<sub>2</sub>R<sub>24</sub>、-CHO、-COR<sub>24</sub>、-CONH<sub>2</sub>、-CONHR<sub>24</sub>、-CON(R<sub>24</sub>)<sub>2</sub>、-COSH、-COSR<sub>24</sub>、-NO<sub>2</sub>、-SO<sub>3</sub>H、-SOR<sub>24</sub>或-SO<sub>2</sub>R<sub>24</sub>，其中各R<sub>24</sub>独立地为任选地经卤素、-OH或-SH取代的烷基

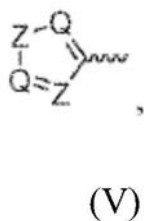
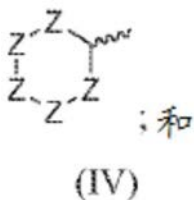
[0044] 在另一个实施方案中，各任选地经取代的芳基和任选地经取代的杂芳基独立地选自任选地经取代的苯基、任选地经取代的萘基、任选地经取代的蒽基、任选地经取代的菲基、任选地经取代的呋喃基、任选地经取代的吡咯基、任选地经取代的噻吩基、任选地经取代的苯并呋喃基、任选地经取代的苯并噻吩基、任选地经取代的喹啉基、任选地经取代的异

喹啉基、任选地经取代的咪唑基、任选地经取代的噻唑基、任选地经取代的噁唑基和任选地经取代的吡啶基。

[0045] 在另一个实施方案中,  $R_{15}$ 选自以下结构(II)、(III)、(IV)、(V)之一:



[0046]



[0047] 其中:

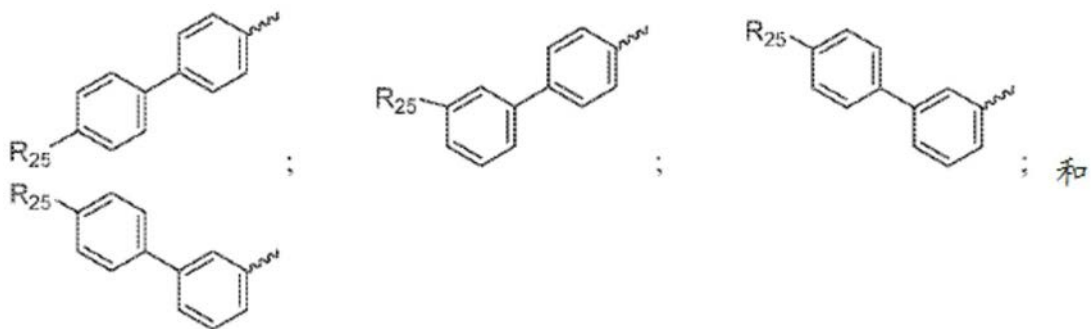
[0048] Q为 $CR_{25}$ 或N;

[0049] Z为C( $R_{25}$ )<sub>2</sub>、NR<sub>25</sub>、S或O;

[0050] 各 $R_{25}$ 独立地选自H、-OH、-R<sub>24</sub>、-OR<sub>24</sub>、-O<sub>2</sub>CR<sub>24</sub>、-SH、-SR<sub>24</sub>、-SOCR<sub>24</sub>、-NH<sub>2</sub>、-N<sub>3</sub>、-NHR<sub>24</sub>、-N(R<sub>24</sub>)<sub>2</sub>、-NHCOR<sub>24</sub>、-NR<sub>24</sub>COR<sub>24</sub>、-R<sub>24</sub>NH<sub>2</sub>、-I、-Br、-Cl、-F、-CN、-CO<sub>2</sub>H、-CO<sub>2</sub>R<sub>24</sub>、-CHO、-COR<sub>24</sub>、-CONH<sub>2</sub>、-CONHR<sub>24</sub>、-CON(R<sub>24</sub>)<sub>2</sub>、-COSH、-COSR<sub>24</sub>、-NO<sub>2</sub>、-SO<sub>3</sub>H、-SOR<sub>24</sub>或-SO<sub>2</sub>R<sub>24</sub>, 其中各R<sub>24</sub>独立地为任选地经卤素、-OH或-SH取代的烷基。

[0051] 在另一个实施方案中,  $R_{15}$ 选自:

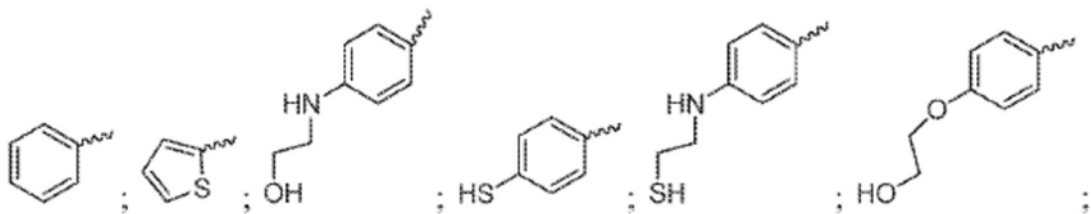
[0052]

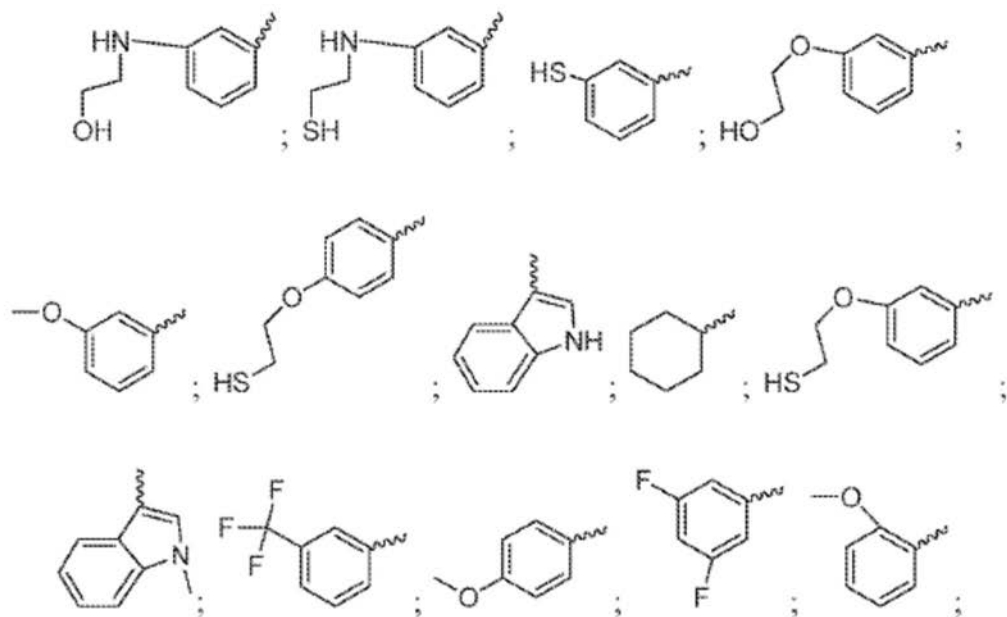


[0053] 其中各 $R_{25}$ 独立地选自H、-OH、- $R_{24}$ 、-OR<sub>24</sub>、-O<sub>2</sub>CR<sub>24</sub>、-SH、-SR<sub>24</sub>、-SOCR<sub>24</sub>、-NH<sub>2</sub>、-N<sub>3</sub>、-NHR<sub>24</sub>、-N(R<sub>24</sub>)<sub>2</sub>、-NHCOR<sub>24</sub>、-NR<sub>24</sub>COR<sub>24</sub>、-R<sub>24</sub>NH<sub>2</sub>、-I、-Br、-Cl、-F、-CN、-CO<sub>2</sub>H、-CO<sub>2</sub>R<sub>24</sub>、-CHO、-COR<sub>24</sub>、-CONH<sub>2</sub>、-CONHR<sub>24</sub>、-CON(R<sub>24</sub>)<sub>2</sub>、-COSH、-COSR<sub>24</sub>、-NO<sub>2</sub>、-SO<sub>3</sub>H、-SOR<sub>24</sub>或-SO<sub>2</sub>R<sub>24</sub>,其中各 $R_{24}$ 独立地为任选地经卤素、-OH或-SH取代的烷基。

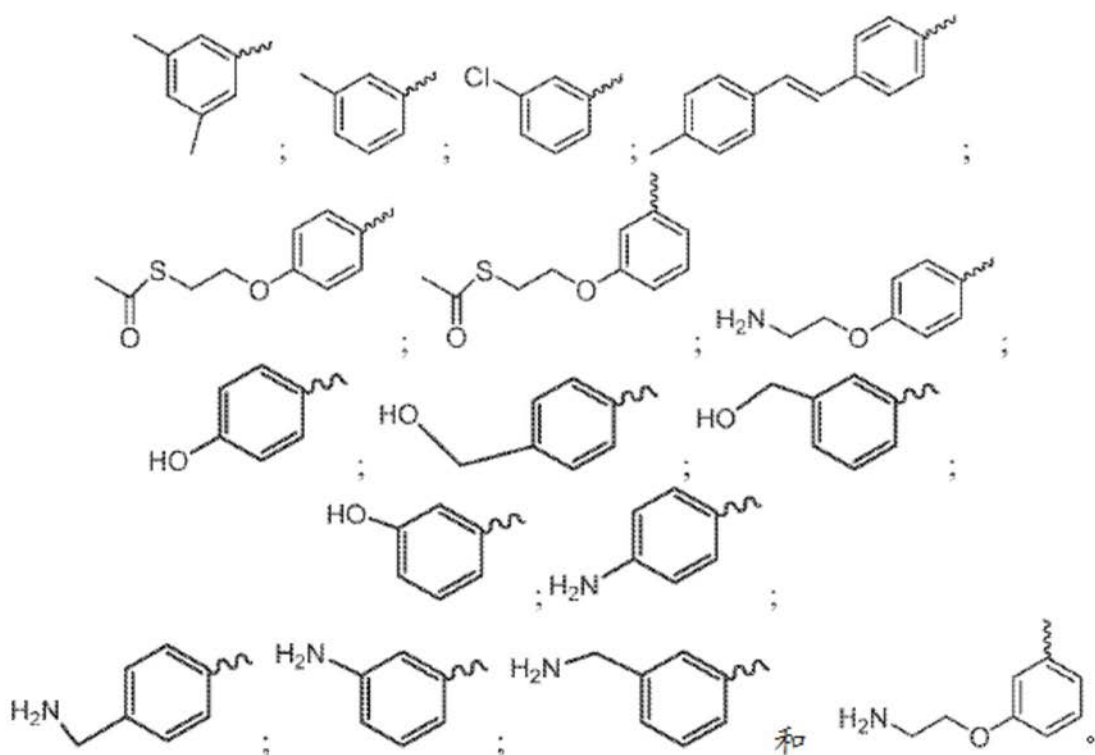
[0054] 在另一个实施方案中, $R_{15}$ 选自:

[0055]



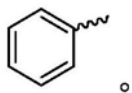


[0056]



[0057] 在另一个实施方案中, R<sub>15</sub>是:

[0058]



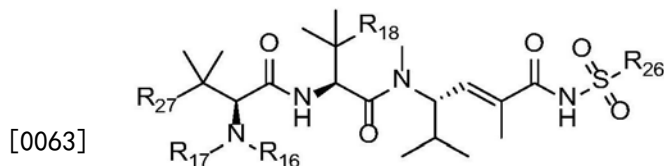
[0059] 在另一个实施方案中, R<sub>16</sub>、R<sub>17</sub>、R<sub>18</sub>和R<sub>30</sub>各自是甲基。

[0060] 在另一个实施方案中, R<sub>16</sub>是H, R<sub>17</sub>是甲基, R<sub>18</sub>是甲基, 且R<sub>30</sub>是甲基。

[0061] 应理解,如以上所阐述的具有结构(Ia)的化合物的任何实施方案和如以上所阐述的本文中针对具有结构(Ia)的化合物中的R<sub>14</sub>、R<sub>15</sub>、R<sub>16</sub>、R<sub>17</sub>、R<sub>18</sub>、R<sub>19</sub>、R<sub>20</sub>和R<sub>30</sub>基团所阐述的任何特定取代基可以独立地与其它实施方案和/或具有结构(I)的化合物的取代基组合,形成

以上未明确阐述的本发明实施方案。另外,在针对特定实施方案和/或权利要求中的任何特定 $R_{14}$ 、 $R_{15}$ 、 $R_{16}$ 、 $R_{17}$ 、 $R_{18}$ 、 $R_{19}$ 、 $R_{20}$ 和 $R_{30}$ 列出了取代基列表的情况下,应理解,可以从所述特定实施方案和/或权利要求中删除各个别取代基且其余取代基列表应被视为在本发明的范围内。

[0062] 在一个实施方案中,提供了具有以下结构 (Ib) 的化合物:



(Ib)

[0064] 其中:

[0065]  $R_{26}$ 选自任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基和任选地经取代的杂芳基;

[0066]  $R_{27}$ 选自任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基和任选地经取代的杂芳基;

[0067]  $R_{16}$ 选自H和C<sub>1-6</sub>烷基;

[0068]  $R_{17}$ 选自H和C<sub>1-6</sub>烷基;且

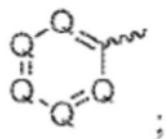
[0069]  $R_{18}$ 选自C<sub>1-6</sub>烷基和-SH,

[0070] 或其立体异构体、前药或药学上可接受的盐。

[0071] 在另一个实施方案中,各任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基和任选地经取代的杂芳基独立地任选地经以下各项取代: =O、=S、-OH、-OR<sub>28</sub>、-O<sub>2</sub>CR<sub>28</sub>、-SH、-SR<sub>28</sub>、-SOCR<sub>28</sub>、-NH<sub>2</sub>、-N<sub>3</sub>、-NHR<sub>28</sub>、-N(R<sub>28</sub>)<sub>2</sub>、-NHCOR<sub>28</sub>、-NR<sub>28</sub>COR<sub>28</sub>、-I、-Br、-Cl、-F、-CN、-CO<sub>2</sub>H、-CO<sub>2</sub>R<sub>28</sub>、-CHO、-COR<sub>28</sub>、-CONH<sub>2</sub>、-CONHR<sub>28</sub>、-CON(R<sub>28</sub>)<sub>2</sub>、-COSH、-COSR<sub>28</sub>、-NO<sub>2</sub>、-SO<sub>3</sub>H、-SOR<sub>28</sub>或-SO<sub>2</sub>R<sub>28</sub>, 其中各R<sub>28</sub>独立地为任选地经卤素、-OH或-SH取代的烷基。

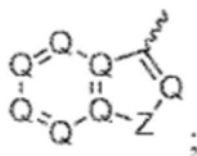
[0072] 在另一个实施方案中,各任选地经取代的芳基和任选地经取代的杂芳基独立地选自任选地经取代的苯基、任选地经取代的萘基、任选地经取代的蒽基、任选地经取代的菲基、任选地经取代的呋喃基、任选地经取代的吡咯基、任选地经取代的噻吩基、任选地经取代的苯并呋喃基、任选地经取代的苯并噻吩基、任选地经取代的喹啉基、任选地经取代的异喹啉基、任选地经取代的咪唑基、任选地经取代的噻唑基、任选地经取代的噁唑基和任选地经取代的吡啶基。

[0073] 在另一个实施方案中, $R_{27}$ 选自以下结构 (II)、(III)、(IV)、(V) 之一:

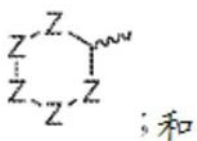


(II)

[0074]

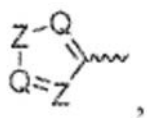


(III)



(IV)

[0075]



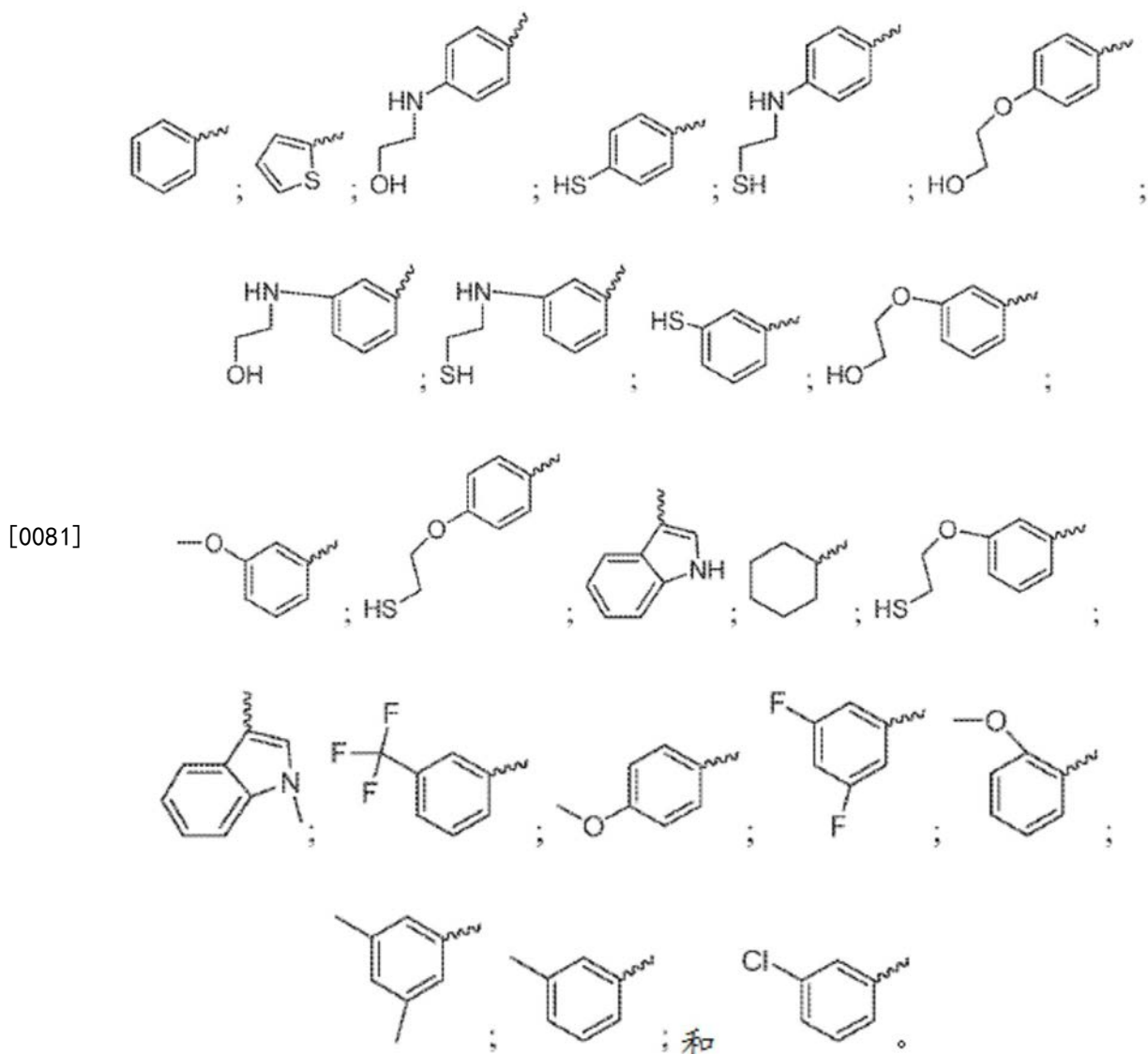
(V)

[0076] 其中：

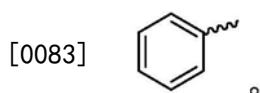
[0077] Q为CR<sub>29</sub>或N；[0078] Z为C(R<sub>29</sub>)<sub>2</sub>、NR<sub>29</sub>、S或O；

[0079] 各R<sub>29</sub>独立地选自H、-OH、-OR<sub>28</sub>、-O<sub>2</sub>CR<sub>28</sub>、-SH、-SR<sub>28</sub>、-SO<sub>2</sub>CR<sub>28</sub>、-NH<sub>2</sub>、-N<sub>3</sub>、-NHR<sub>28</sub>、-N(R<sub>28</sub>)<sub>2</sub>、-NHCOR<sub>28</sub>、-NR<sub>28</sub>COR<sub>28</sub>、-I、-Br、-Cl、-F、-CN、-CO<sub>2</sub>H、-CO<sub>2</sub>R<sub>28</sub>、-CHO、-COR<sub>28</sub>、-CONH<sub>2</sub>、-CONHR<sub>28</sub>、-CON(R<sub>28</sub>)<sub>2</sub>、-COSH、-COSR<sub>28</sub>、-NO<sub>2</sub>、-SO<sub>3</sub>H、-SOR<sub>28</sub>或-SO<sub>2</sub>R<sub>28</sub>，其中各R<sub>28</sub>独立地为任选地经卤素、-OH或-SH取代的烷基。

[0080] 在另一个实施方案中，R<sub>27</sub>选自：



[0082] 在另一个实施方案中, R<sub>27</sub>是:



[0084] 在另一个实施方案中, R<sub>16</sub>、R<sub>17</sub>和R<sub>18</sub>各自是甲基。

[0085] 在另一个实施方案中, R<sub>16</sub>是H, R<sub>17</sub>是甲基, 且R<sub>18</sub>是甲基。

[0086] 应理解, 如以上所阐述的具有结构 (Ib) 的化合物的任何实施方案和如以上所阐述的本文中针对具有结构 (Ib) 的化合物中的R<sub>25</sub>、R<sub>26</sub>、R<sub>16</sub>、R<sub>17</sub>、R<sub>18</sub>、R<sub>18</sub>和R<sub>20</sub>基团所阐述的任何特定取代基可以独立地与其它实施方案和/或具有结构 (I) 的化合物的取代基组合, 形成以上未明确阐述的本发明实施方案。另外, 在针对特定实施方案和/或权利要求中的任何特定R<sub>25</sub>、R<sub>26</sub>、R<sub>16</sub>、R<sub>17</sub>、R<sub>18</sub>、R<sub>18</sub>和R<sub>20</sub>列出了取代基列表的情况下, 应理解, 可以从所述特定实施方案和/或权利要求中删除各个别取代基且其余取代基列表应被视为在本发明的范围内。

[0087] 在一个实施方案中, 本发明提供了一种制造具有结构 (I)、(Ia) 或 (Ib) 的化合物的方法。

[0088] 在另一个实施方案中, 提供了一种包含具有结构 (I)、(Ia) 或 (Ib) 的化合物或其立



体异构体、药学上可接受的盐或前药和药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物。

[0089] 在另一个实施方案中,提供了在治疗中使用具有结构(I)、(Ia)或(Ib)的化合物或其立体异构体、药学上可接受的盐或前药的方法。确切地说,本发明提供了一种治疗哺乳动物的癌症的方法,所述方法包括向有需要的哺乳动物施用有效量的具有结构(I)、(Ia)或(Ib)的化合物或其立体异构体、药学上可接受的盐或前药,或包含具有结构(I)、(Ia)或(Ib)的化合物或其立体异构体、药学上可接受的盐或前药和药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物。

[0090] 在另一个实施方案中,本发明提供了一种抑制哺乳动物的肿瘤生长的方法,所述方法包括向有需要的哺乳动物施用有效量的具有结构(I)、(Ia)或(Ib)的化合物或其立体异构体、药学上可接受的盐或前药,或包含具有结构(I)、(Ia)或(Ib)的化合物或其立体异构体、药学上可接受的盐或前药和药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物。

[0091] 在另一个实施方案中,本发明提供了在体外使用具有结构(I)、(Ia)或(Ib)的化合物或其立体异构体、药学上可接受的盐或前药杀死癌细胞的方法。在另一个实施方案中,本发明提供了一种在哺乳动物体内杀死癌细胞的方法,所述方法包括向有需要的哺乳动物施用有效量的具有结构(I)、(Ia)或(Ib)的化合物或其立体异构体、药学上可接受的盐或前药,或包含具有结构(I)、(Ia)或(Ib)的化合物或其立体异构体、药学上可接受的盐或前药和药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物。

[0092] 在另一个实施方案中,本发明提供了一种增加患有癌症的哺乳动物的存活时间的方法,所述方法包括向所述哺乳动物施用有效量的具有结构(I)、(Ia)或(Ib)的化合物或其立体异构体、药学上可接受的盐或前药,或包含具有结构(I)、(Ia)或(Ib)的化合物或其立体异构体、药学上可接受的盐或前药和药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物。

[0093] 在一个实施方案中,提供了包含直接或间接地与靶向部分连接的具有结构(I)、(Ia)或(Ib)的生物学活性化合物或其立体异构体、药学上可接受的盐或前药的组合物。

[0094] 在一个实施方案中,本发明提供了具有以下结构的组合物:

[0095] (T)-(L)-(D)

[0096] (VI)

[0097] 其中(T)是靶向部分,(L)是可选的连接基,且(D)是具有结构(I)、(Ia)或(Ib)的化合物或其立体异构体、药学上可接受的盐或前药。若存在(L),则(D)共价连接于(L),或若不存在(L),则(D)共价连接于(T)。

[0098] 在一个特定实施方案中,(D)是具有结构(Ib)的化合物。

[0099] 在一个实施方案中,所述靶向部分是抗体。因此,在一个实施方案中,提供了包含具有结构(I)、(Ia)或(Ib)的化合物或其立体异构体、药学上可接受的盐或前药的抗体-药物缀合物(ADC)。

[0100] 在一个实施方案中,本发明提供了一种制造具有结构(VI)的组合物方法。

[0101] 在另一个实施方案中,提供了一种包含具有结构(VI)的组合物或其立体异构体、药学上可接受的盐或前药和药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物。

[0102] 在另一个实施方案中,提供了在治疗中使用具有结构(VI)的组合物方法。确切

地说,本发明提供了一种治疗哺乳动物的癌症的方法,所述方法包括向有需要的哺乳动物施用有效量的具有结构(VI)的组合物或包含具有结构(VI)的组合物和药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物。

[0103] 在另一个实施方案中,本发明提供了一种抑制哺乳动物的肿瘤生长的方法,所述方法包括向有需要的哺乳动物施用有效量的具有结构(VI)的组合物或包含具有结构(VI)的组合物和药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物。

[0104] 在另一个实施方案中,本发明提供了一种在体外使用具有结构(VI)的组合物杀死癌细胞的方法。在另一个实施方案中,本发明提供了一种在哺乳动物体内杀死癌细胞的方法,所述方法包括向有需要的哺乳动物施用有效量的具有结构(VI)的组合物或包含具有结构(VI)的组合物和药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物。

[0105] 在另一个实施方案中,本发明提供了一种增加患有癌症的哺乳动物的存活时间的方法,所述方法包括向有需要的哺乳动物施用有效量的具有结构(VI)的组合物或包含具有结构(VI)的组合物和药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物。

[0106] 在参考以下详细描述后,本发明的这些和其它方面将显而易见。

[0107] 附图简述

[0108] 图1示出了化合物A至E各自对两个细胞系(HCC1954和Jurkat)的细胞毒性数据(EC<sub>50</sub>)汇总。

[0109] 图2示出了化合物A对两个细胞系(HCC1954和Jurkat)的细胞毒性数据曲线图。

[0110] 图3示出了化合物B对两个细胞系(HCC1954和Jurkat)的细胞毒性数据曲线图。

[0111] 图4示出了化合物C对两个细胞系(HCC1954和Jurkat)的细胞毒性数据曲线图。

[0112] 图5示出了化合物D对两个细胞系(HCC1954和Jurkat)的细胞毒性数据曲线图。

[0113] 图6示出了化合物E对两个细胞系(HCC1954和Jurkat)的细胞毒性数据曲线图。

[0114] 图7示出了体外用抗体-药物缀合物T-LC-SPDP-A(曲妥珠单抗,LC-SPDP连接基,化合物A)和T-SMCC-A(曲妥珠单抗,SMCC连接基,化合物A)对HCC 1954细胞的细胞杀死曲线。EC<sub>50</sub>值示于图中。

[0115] 图8示出了体外用抗体-药物缀合物T-SPDP-B(曲妥珠单抗,LC-SPDP连接基,化合物B)和T-SMCC-A(曲妥珠单抗,SMCC连接基,化合物B)对HCC 1954细胞的细胞杀死曲线。EC<sub>50</sub>值示于图中。

[0116] 图9示出了体外用抗体-药物缀合物T-LC-SPDP-C(曲妥珠单抗,LC-SPDP连接基,化合物C)对HCC 1954细胞的细胞杀死曲线。EC<sub>50</sub>值示于图中。

[0117] 图10示出了体外用抗体-药物缀合物T-MCvcPABC-85(曲妥珠单抗,MCvc PABC连接基,化合物85)、T-MCvcPABC-77(曲妥珠单抗,MCvc PABC连接基,化合物77)和T-MCvcPABC-80(曲妥珠单抗,MCvc PABC连接基,化合物80)对HCC 1954细胞的细胞杀死曲线。EC<sub>50</sub>值示于图中。

[0118] 图11示出了体外用抗体-药物缀合物C-MCvcPABC-77(西妥昔单抗,MCvc PABC连接基,化合物77)对BxPC-3细胞的细胞杀死曲线和体外用抗体-药物缀合物C-MCvcPABC-77(西妥昔单抗,MCvc PABC连接基,化合物77)对HPAF-II细胞的细胞杀死曲线。EC<sub>50</sub>值示于图中。

[0119] 图12示出了体外用抗体-药物缀合物T-MCvcPABC-77(曲妥珠单抗,MCvc PABC连接基,化合物77)、T-MCvcPABC-85(曲妥珠单抗,MCvc PABC连接基,化合物85)、T-MCvcPABC-58

(曲妥珠单抗, MCvc PABC连接基, 化合物58) 和T-MCvcPABC-63 (曲妥珠单抗, MCvc PABC连接基, 化合物63) 对HCC1954细胞的细胞杀死曲线。 $EC_{50}$ 值示于图中。

[0120] 图13示出了体外用抗体-药物缀合物T-MCvcPABC-77 (曲妥珠单抗, MCvc PABC连接基, 化合物77)、T-MCvcPABC-63 (曲妥珠单抗, MCvc PABC连接基, 化合物63)、T-MCvcPABC-85 (曲妥珠单抗, MCvc PABC连接基, 化合物85)、T-MCvcPABC-77 (曲妥珠单抗, MCvc PABC连接基, 化合物77) 和T-MCvcPABC-80 (曲妥珠单抗, MCvc PABC连接基, 化合物80) 对NCI-N87细胞的细胞杀死曲线。 $EC_{50}$ 值示于图中。

[0121] 图14示出了在具有确定肿瘤的雌性无胸腺裸鼠中施用化合物F、化合物14或化合物23对肿瘤体积的体内结果。

[0122] 图15示出了在具有确定肿瘤的雌性NOD/SCID  $\gamma$  小鼠中施用如所指示的不同剂量的抗体-药物缀合物T-MCC-DM1 (曲妥珠单抗, MCC连接基, 类美登素DM1) 或如所指示的不同剂量的T-MCvcPABC-77对肿瘤体积的体内结果。

[0123] 图16示出了在具有确定肿瘤的雌性NOD/SCID  $\gamma$  小鼠中施用3mg/kg 抗体-药物缀合物T-MCvcPABC-63或3mg/kg T-MCvcPABC-77对肿瘤体积的体内结果。

[0124] 图17示出了体外用抗体-药物缀合物T-SPDP-140 (曲妥珠单抗, LC-SPDP连接基, 化合物140) 和T-SMCC-140 (曲妥珠单抗, SMCC连接基, 化合物140) 对HCC 1954细胞的细胞杀死曲线。化合物140是通过其N末端氨基酸的侧链连接。 $EC_{50}$ 值示于图中。

[0125] 图18示出了体外用抗体-药物缀合物T-SPDP-142 (曲妥珠单抗, LC-SPDP连接基, 化合物142) 和T-SMCC-142 (曲妥珠单抗, SMCC连接基, 化合物142) 对HCC 1954细胞的细胞杀死曲线。化合物142是通过其N末端氨基酸的侧链连接。 $EC_{50}$ 值示于图中。

[0126] 图19示出了体外用抗体-药物缀合物T-MCvcPABC-58 (曲妥珠单抗, MCvc PABC连接基, 化合物58) 和T-MCvcPABC-41 (曲妥珠单抗, MCvc PABC连接基, 化合物41) 对HCC1954细胞的细胞杀死曲线, 且示出了体外用抗体-药物缀合物T-MCvcPABC-58 (曲妥珠单抗, MCvc PABC连接基, 化合物58) 和T-MCvcPABC-41 (曲妥珠单抗, MCvc PABC连接基, 化合物41) 对NCI-N87细胞的细胞杀死曲线。化合物41是通过其N末端氨基酸的侧链连接。化合物58是通过其N末端氨基酸的侧链连接。 $EC_{50}$ 值示于图中。 $EC_{50}$ 值示于图中。

[0127] 详细描述

[0128] 在以下描述中, 阐述某些特定细节以便提供对本发明的不同实施方案的透彻理解。然而, 本领域技术人员应理解, 可以在无这些细节的情况下实施本发明。

[0129] 除非上下文另有要求, 否则贯穿本说明书和权利要求书, 词语“包含”和其变化形式应被解释为开放的包括首尾的意义, 也就是同“包括但不限于”。

[0130] 贯穿本说明书, 对“一个实施方案”或“实施方案”的引用意指结合所述实施方案描述的具体特征、结构或特点被包括在本发明的至少一个实施方案中。因而, 贯穿本说明书, 在不同位置出现的短语“在一个实施方案中”或“在实施方案中”未必都引用同一实施方案。此外, 在一个或多个实施方案中, 具体的特征、结构或特点可以用任何合适的方式组合。

[0131] 除非另外陈述, 否则如本文中所使用的以下术语和短语意在具有以下含义。当本文中使用的商品名时, 申请人意在独立地包括所述商品名产品的商品名产品制剂、同类药物和活性药物成分。

[0132] “氨基”是指-NH<sub>2</sub>取代基。



且是饱和或不饱和的且通过单键与所述分子的其余部分连接。单环取代基包括例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基。多环取代基包括例如金刚烷基、降茛基、十氢萘基、7,7-二甲基-双环[2.2.1]庚基等等。除非本说明书中另外明确陈述,否则环烷基可以任选地经取代。

[0148] “环烷基烷基”是指具有式- $R_bR_d$ 的取代基,其中 $R_d$ 是如以上所定义的亚烷基链且 $R_g$ 是如以上所定义的环境基取代基。除非本说明书中另外明确陈述,否则环烷基烷基可以任选地经取代。

[0149] “稠合”是指本文中所描述的任何环结构与本发明化合物中的现存环结构稠合。当稠合环是杂环基环或杂芳基环时,成为稠合杂环基环或稠合杂芳基环的一部分的现存环结构上的任何碳原子均可置换为氮原子。

[0150] “卤基”或“卤素”是指溴基、氯基、氟基或碘基。

[0151] “卤烷基”是指由一个或多个如以上所定义的卤基取代基取代的如以上所定义的烷基取代基,例如三氟甲基、二氟甲基、三氯甲基、2,2,2-三氟乙基、1,2-二氟乙基、3-溴-2-氟丙基、1,2-二溴甲基等等。除非本说明书中另外明确陈述,否则卤烷基可以任选地经取代。

[0152] “杂环基”或“杂环状环”是指由2至12个碳原子以及1至6个选自氮、氧和硫的杂原子组成的稳定3至18元非芳环取代基。除非本说明书中另外明确陈述,否则杂环基取代基可以是单环、双环、三环或四环状环系统,其可以包括稠合或桥连环系统;且杂环基取代基中的氮、碳或硫原子可以任选地氧化;氮原子可以任选地季铵化;且杂环基取代基可以是部分或完全饱和的。此类杂环基取代基的实例包括但不限于二氧戊环基、噻吩基[1,3]二噻烷基、十氢异喹啉基、咪唑啉基、咪唑烷基、异噻唑烷基、异噁唑烷基、吗啉基、八氢吲哚基、八氢异吲哚基、2-氧代哌嗪基、2-氧代哌啶基、2-氧代吡咯烷基、噁唑烷基、哌啶基、哌嗪基、4-哌啶酮基、吡咯烷基、吡唑烷基、奎宁环基、噻唑烷基、四氢呋喃基、三噻烷基、四氢吡喃基、硫代吗啉基、硫杂吗啉基、1-氧代-硫代吗啉基和1,1-二氧代-硫代吗啉基。除非本说明书中另外明确陈述,否则杂环基可以任选地经取代。

[0153] “N-杂环基”是指如以上所定义的杂环基取代基,其含有至少一个氮且其中所述杂环基取代基与分子的其余部分的连接点是通过所述杂环基取代基中的氮原子。除非本说明书中另外明确陈述,否则N-杂环基可以任选地经取代。

[0154] “杂环基烷基”是指具有式- $R_bR_e$ 的取代基,其中 $R_b$ 是如以上所定义的亚烷基链且 $R_e$ 是如以上所定义的杂环基取代基,并且如果杂环基是含氮杂环基,则杂环基可以在氮原子处连接于烷基取代基。除非本说明书中另外明确陈述,否则杂环基烷基可以任选地经取代。

[0155] “杂芳基”是指包含氢原子、1至13个碳原子、1至6个选自氮、氧和硫的杂原子和至少一个芳环的5至14元环系统取代基。出于本发明的目的,杂芳基取代基可以是单环、双环、三环或四环状环系统,其可以包括稠合或桥连环系统;且杂芳基取代基中的氮、碳或硫原子可以任选地氧化;氮原子可以任选地季铵化。实例包括但不限于吡啶基、吡啶基、苯并咪唑基、苯并噻唑基、苯并呋喃基、苯并二氧杂环戊烯基、苯并呋喃基、苯并噁唑基、苯并噻唑基、苯并噻二唑基、苯并[b][1,4]二氧杂环庚烷基、1,4-苯并二噁烷基、苯并萘呋喃基、苯并噁唑基、苯并二氧杂环戊烯基、苯并二氧杂环庚烯基、苯并吡喃基、苯并吡喃酮基、苯并呋喃基、苯并呋喃酮基、苯并噻吩基(苯硫基)、苯并三唑基、苯并[4,6]咪唑并[1,2-a]吡啶基、呋

唑基、噌啉基、二苯并呋喃基、二苯并苯硫基、呋喃基、呋喃酮基、异噻唑基、咪唑基、吡唑基、吡啶基、吡啶基、异吡啶基、吡啶基、异吡啶基、异喹啉基、吡啶基、异噻唑基、萘啶基、噻二唑基、2-氧氮杂环庚三烯、噻唑基、环氧乙烷基、1-氧化吡啶基、1-氧化嘧啶基、1-氧化吡嗪基、1-氧化哒嗪基、1-苯基-1H-吡咯基、吩嗪基、吩噻嗪基、吩噻嗪基、酞嗪基、蝶啶基、嘌呤基、吡咯基、吡唑基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、哒嗪基、喹啉基、喹啉基、喹啉基、奎宁环基、异喹啉基、四氢喹啉基、噻唑基、噻二唑基、三唑基、四唑基、三嗪基和苯硫基(即噻吩基)。除非本说明书中另外明确陈述,否则杂芳基可以任选地经取代。

[0156] “N-杂芳基”是指如以上所定义的杂芳基取代基,其含有至少一个氮且其中所述杂芳基取代基与分子的其余部分的连接点是通过所述杂芳基取代基中的氮原子。除非本说明书中另外明确陈述,否则N-杂芳基可以任选地经取代。

[0157] “杂芳基烷基”是指具有式 $-R_bR_f$ 的取代基,其中 $R_b$ 是如以上所定义的亚烷基链且 $R_f$ 是如以上所定义的杂芳基取代基。除非本说明书中另外明确陈述,否则杂芳基烷基可以任选地经取代。

[0158] 本文中所使用的术语“经取代”意指以上基团(即,烷基、亚烷基、烷氧基、烷基氨基、烷硫基、芳基、芳烷基、环烷基、环烷基烷基、卤烷基、杂环基、N-杂环基、杂环基烷基、杂芳基、N-杂芳基和/或杂芳基烷基)中的任一个,其中至少一个氢原子由与非氢原子的键置换,所述非氢原子是诸如但不限于:卤素原子,诸如F、Cl、Br和I;诸如羟基、烷氧基和酯基的基团中的氧原子;诸如叠氮化物、胺、酰胺、烷基胺、二烷基胺、芳基胺、烷基芳基胺、二芳基胺、N-氧化物、酰亚胺和烯胺的基团中的氮原子;诸如三烷基甲硅烷基、二烷基芳基甲硅烷基、烷基二芳基甲硅烷基和三芳基甲硅烷基的基团中的硅原子;和各种其它基团中的其它杂原子。“经取代”还意指以上基团中的任一个,其中一个或多个氢原子由与杂原子的高阶键(例如双键或三键)置换,所述杂原子是诸如氧代基、羰基、羧基和酯基中的氧;和诸如亚胺、肟、腙和肟的基团中的氮。举例来说,“经取代”包括以上基团中的任一个,其中一个或多个氢原子经 $-NR_gR_h$ 、 $-NR_gC(=O)R_h$ 、 $-NR_gC(=O)NR_gR_h$ 、 $-NR_gC(=O)OR_h$ 、 $-NR_gC(=NR_g)NR_gR_h$ 、 $-NR_gSO_2R_h$ 、 $-OC(=O)NR_gR_h$ 、 $-OR_g$ 、 $-SR_g$ 、 $-SOR_g$ 、 $-SO_2R_g$ 、 $-OSO_2R_g$ 、 $-SO_2OR_g$ 、 $=NSO_2R_g$ 和 $-SO_2NR_gR_h$ 置换。“经取代”还意指以上基团中的任一个,其中一个或多个氢原子经 $-C(=O)R_g$ 、 $-C(=O)OR_g$ 、 $-C(=O)NR_gR_h$ 、 $-CH_2SO_2R_g$ 、 $-CH_2SO_2NR_gR_h$ 置换。在上文中, $R_g$ 和 $R_h$ 是相同或不同的且独立地为氢、烷基、烷氧基、烷基氨基、硫代烷基、芳基、芳烷基、环烷基、环烷基烷基、卤烷基、杂环基、N-杂环基、杂环基烷基、杂芳基、N-杂芳基和/或杂芳基烷基。“经取代”还意指以上基团中的任一个,其中一个或多个氢原子经与氨基、氰基、羟基、亚胺基、硝基、氧代基、硫代基、卤基、烷基、烷氧基、烷基氨基、硫代烷基、芳基、芳烷基、环烷基、环烷基烷基、卤烷基、杂环基、N-杂环基、杂环基烷基、杂芳基、N-杂芳基和/或杂芳基烷基的键置换。另外,上述取代基各自还可以任选地经一个或多个以上取代基取代。

[0159] 如本文中所使用的术语“保护基”是指本领域中已知可在合成程序期间保护反应性基团(包括而限于羟基和氨基)免于不希望的反应的不稳定化学部分。经保护基保护的羟基和氨基在本文中分别被称为“受保护的羟基”和“受保护的氨基”。典型地选择性地和/或正交地使用保护基在其它反应位点反应期间保护位点,且随后可以去除以留下未受保护的基团原样存在或可用于进一步反应。如本领域中已知的保护基一般描述于Greene和Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 第3版, John Wiley&Sons, New York

(1999) 中。诸多基团可以呈前驱物形式被选择性地并入本发明化合物中。举例来说,氨基可以作为叠氮基放入本发明化合物中,其可以在合成中在希望的时间点被化学转化成氨基。一般来说,诸多基团受到保护或作为前驱物存在,从而将对改变母体分子的其它区域以便在适当的时间转化成其最终基团的反应是惰性的。其它代表性保护基或前体基团论述于以下文献中: Agrawal等, *Protocols for Oligonucleotide Conjugates*, Humana Press编; New Jersey, 1994; 第26卷第1-72页。“羟基保护基”的实例包括但不限于叔丁基、叔丁氧基甲基、甲氧基甲基、四氢吡喃基、1-乙氧基乙基、1-(2-氯乙氧基)乙基、2-三甲基甲硅烷基乙基、对氯苯基、2,4-二硝基苯基、苯甲基、2,6-二氯苯甲基、二苯基甲基、对硝基苯甲基、三苯基甲基、三甲基甲硅烷基、三乙基甲硅烷基、叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基二苯基甲硅烷基(TBDPS)、三苯基甲硅烷基、苯甲酰基甲酸酯、乙酸酯、氯乙酸酯、三氯乙酸酯、三氟乙酸酯、新戊酯、苯甲酸酯、对苯基苯甲酸酯、9-芴甲基碳酸酯、甲磺酸酯和甲苯磺酸酯。“氨基保护基”的实例包括但不限于氨基甲酸酯保护基,诸如2-三甲基甲硅烷基乙氧基羰基(Teoc)、1-甲基-1-(4-联苯基)乙氧基羰基(Bpoc)、叔丁氧基羰基(BOC)、烯丙氧基羰基(Alloc)、9-芴基甲氧基羰基(Fmoc)和苯甲氧基羰基(Cbz); 酰胺保护基,诸如甲酰基、乙酰基、三卤代乙酰基、苯甲酰基和硝基苯基乙酰基; 磺酰胺保护基,诸如2-硝基苯磺酰基; 以及亚胺和环状酰亚胺保护基,诸如酞酰亚胺基和二硫杂琥珀酰基。

[0160] “前药”意指可以在生理条件下或通过溶剂分解转化成本发明的生物学活性化合物的化合物。因而,术语“前药”是指本发明化合物的药学上可接受的代谢前驱物。前药在施用于有需要的受试者时可以是无活性的,但在体内转化成本发明的活性化合物。在一个实施方案中,前药在体内快速转化以产生本发明的母体化合物,例如,通过在血液中水解。在一个实施方案中,前药在血浆或血液中可以是稳定的。在一个实施方案中,前药可以是本发明化合物的靶向形式。前药化合物在哺乳动物生物体中通常具有溶解性、组织相容性或延迟释放的优点(参见Bundgard, H., *Design of Prodrugs* (1985), 第7-9页, 第21-24页(Elsevier, Amsterdam))。前药的讨论提供于以下文献中: Higuchi, T.等, *A.C.S. Symposium Series*, 第14卷; 和 *Bioreversible Carriers in Drug Design*, Edward B. Roche编, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987。

[0161] 术语“前药”意在包括任何共价键合的载体,当这样的前药施用于哺乳动物受试者时,其在体内释放本发明的活性化合物。如本文中所公开的缀合物,包括ADC,是具有结构(I)、(Ia)或(Ib)的组合物的此类前药。本发明化合物的前药可以通过如下方式修饰本发明化合物中所存在的官能团进行制备: 所述修饰在常规操作中或在体内被裂解为本发明的母体化合物。前药包括如下的本发明化合物,其中羟基、氨基或巯基与任何基团键合,在本发明化合物的前药施用于哺乳动物受试者时,所述基团裂解而分别形成游离羟基、游离氨基或游离巯基。前药的实例包括但不限于本发明化合物中的醇官能团的乙酸酯、甲酸酯和苯甲酸酯衍生物,或胺官能团的酰胺衍生物。

[0162] 本发明还意图涵盖通过使一个或多个原子被具有不同的原子质量或质量数的原子置换的经同位素标记的所有药学上可接受的具有结构(I)、(Ia)或(Ib)的化合物。可以并入所公开的化合物中的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、氟、氯和碘的同位素,分别诸如<sup>2</sup>H、<sup>3</sup>H、<sup>11</sup>C、<sup>13</sup>C、<sup>14</sup>C、<sup>13</sup>N、<sup>15</sup>N、<sup>15</sup>O、<sup>17</sup>O、<sup>18</sup>O、<sup>31</sup>P、<sup>32</sup>P、<sup>35</sup>S、<sup>18</sup>F、<sup>36</sup>Cl、<sup>123</sup>I和<sup>125</sup>I。这些经放射性标记的化合物可用于帮助通过表征例如作用位点或作用模式或者对药理学上重要的作用位点

的结合亲和力和来测定或测量化合物的有效性。某些经同位素标记的具有结构(I)、(Ia)或(Ib)的化合物,例如,并入放射性同位素的那些,可用于药物和/或底物组织分布研究中。鉴于放射性同位素氚(即, $^3\text{H}$ )和碳-14(即, $^{14}\text{C}$ )的易于并入性和即时检测手段,其特别适用于这一目的。

[0163] 用较重的同位素(诸如氘(即, $^2\text{H}$ ))进行取代由于更大的代谢稳定性而可以提供某些治疗优势,例如,增加体内半衰期或减少剂量需求,且因此在一些情况下可能是优选的。

[0164] 用诸如 $^{11}\text{C}$ 、 $^{18}\text{F}$ 、 $^{15}\text{O}$ 和 $^{13}\text{N}$ 的正电子发射同位素进行取代可用于正电子发射断层成像(PET)研究中用来检查底物受体占用率。经同位素标记的具有结构(I)、(Ia)或(Ib)的化合物一般可以通过本领域技术人员已知的常规技术或通过以下所阐述的制备和实施例中所述的使用适当的经同位素标记的试剂代替先前采用的未经标记的试剂的方法类似的方法来制备。

[0165] 本发明还意在涵盖所公开的化合物的体内代谢产物。这些产物可以通过所施用的化合物的主要由于酶促过程引起的例如氧化、还原、水解、酰胺化、酯化等而产生。因此,本发明包括通过包括向哺乳动物施用本发明化合物持续足以产生其代谢产物的时间段的方法所产生的化合物。这样的产物典型地通过将经放射性标记的本发明化合物以可检测的剂量施用于诸如大鼠、小鼠、豚鼠、猴的动物或施用于人类,允许代谢足够的时间且从尿液、血液或其它生物样品中分离出其转化产物来进行鉴别。

[0166] “稳定的化合物”和“稳定的结构”意指足够稳定以从反应混合物中分离至有用的纯度且配制成有效的治疗剂的化合物。

[0167] “抗体”在本文中以其最广泛意义使用,且确切地说,涵盖完整单克隆抗体、多克隆抗体、由至少两种完整抗体形成的多特异性抗体(例如双特异性抗体)和抗体片段,只要其展现出所需生物学活性即可。术语“抗体”是指全长免疫球蛋白分子或全长免疫球蛋白分子的功能活性部分,即,含有免疫特异性结合目标靶抗原或其部分的抗原结合位点的分子。本文中所公开的免疫球蛋白可以属于免疫球蛋白分子的任何类型(例如,IgG、IgE、IgM、IgD和IgA)、类别(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)或亚类。免疫球蛋白可以来源于任何物种。在一个方面,免疫球蛋白具有人类、鼠类或兔起源。在另一个方面,所述抗体是多克隆、单克隆、多特异性(例如,双特异性)、人类、人源化或嵌合抗体、线性抗体、单链抗体、双抗体、巨型抗体、微型抗体、Fv、Fab片段、F(ab')片段、F(ab')<sub>2</sub>片段、由Fab表达库产生的片段、抗独特型(抗Id)抗体、以上任一者的免疫特异性结合靶抗原的CDR和表位结合片段。

[0168] 如本文中所使用的术语“单克隆抗体”是指获自实质上同源的抗体群体的抗体,即,构成所述群体的个别抗体除了可微量存在的可能天然存在的突变外是同一的。单克隆抗体包括“嵌合”抗体,其中重链和/或轻链的一部分与来源于特定物种或属于特定抗体类别或亚类的抗体中的相应序列同一或同源,而所述链的其余部分与来源于另一个物种或属于另一个抗体类别或亚类的抗体以及所述抗体的片段中的相应序列同一或同源(参见例如美国专利号4,816,567;和Morrison等,1984,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 81:6851-6855)。单克隆抗体还包括可能含有完全人类恒定区和来自于非人类来源的CDR的人源化抗体。

[0169] “完整”抗体是包含抗原结合可变区以及轻链恒定域(CL)和重链恒定域C<sub>H1</sub>、C<sub>H2</sub>和C<sub>H3</sub>的抗体。恒定域可以是天然序列恒定域(例如,人类天然序列恒定域)或其氨基酸序列变异体。



[0170] “抗体片段”包含完整抗体的一部分,优选地包含其抗原结合或可变区。抗体片段的实例包括Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>和Fv片段;双抗体;线性抗体;单链抗体分子;巨型抗体;微型抗体;和由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0171] “分离的”抗体是从其天然环境组分中鉴别并分离和/或回收的抗体。其天然环境的污染组分是会干扰所述抗体的诊断性或治疗性用途的物质,并且可以包括酶、激素和其它蛋白质或非蛋白质溶解物。在一些实施方案中,所述抗体将纯化至(1)如通过罗氏法所测定大于95%重量的抗体,且最优选多于99重量%;(2)足以通过使用转杯式测序仪获得N末端或内部氨基酸序列的至少15个残基的程度;或(3)通过在还原或非还原条件下使用考马斯蓝或优选地银染色的SDS-PAGE确定达到均质。经分离的抗体包括重组细胞内的原位抗体,因为所述抗体的天然环境中的至少一种组分将不存在。然而,通常分离的抗体将通过至少一个纯化步骤来制备。

[0172] “结合”目标抗原的抗体是能够以充分的亲和力结合该抗原的抗体,使得所述抗体可用于靶向表达所述抗原的细胞。

[0173] “天然序列”多肽是与来源于自然界的多肽具有相同氨基酸序列的多肽。这样的天然序列多肽可以从自然界中分离,或可以通过重组或合成手段来产生。因而,天然序列多肽可以具有天然存在的人类多肽、鼠类多肽或来自于任何其它哺乳动物物种的多肽的氨基酸序列。

[0174] 术语“细胞内代谢物”是指由本发明组合物(例如,抗体药物缀合物(ADC))的细胞内代谢过程或反应产生的化合物。代谢过程或反应可以是酶促过程,诸如标的组合物的肽连接基的蛋白水解裂解或标的组合物内诸如胺、酯或酰胺的官能团的水解。在缀合物(包括ADC)的情况下,细胞内代谢物包括但不限于已经过细胞内分离,即,在进入之后扩散、摄取或转运至细胞中(例如,通过细胞内酶对ADC进行酶促裂解)的抗体和游离药物。

[0175] 在缀合物(包括ADC)的情况下,术语“细胞内裂解的”和“细胞内裂解”是指对本发明组合物的细胞内代谢过程或反应,其中药物部分(D)与靶向部分(T)(例如抗体)之间的共价连接,例如连接基(L),被破坏,从而导致游离药物在细胞内从(T)解离。在一个实施方案中,标的组合物的裂解部分因而是细胞内代谢物(例如,T-T-L片段、D-L片段、D)。因此,在一个实施方案中,本发明所提供的组合物是具有结构(VI)的组合物裂解产物,所述裂解产物包括包含结构(I)、(Ia)或(Ib)或其立体异构体的组合物。类似地,微管破坏性肽毒素(PT)与靶向部分(T)(例如抗体)之间的连接基(L)可能在细胞内被破坏,从而导致PT在细胞内从(T)解离。标的组合物的裂解部分因而是细胞内代谢物(例如,T-T-L片段、PT-L片段、PT)。因此,在一个实施方案中,本发明所提供的组合物是具有结构(VII)的组合物裂解产物,所述裂解产物包括包含结构(I)、(Ia)或(Ib)或其立体异构体的组合物。

[0176] 术语“细胞外裂解”是指对本发明组合物的细胞外代谢过程或反应,其中药物部分(D)与靶向部分(T)(例如抗体)之间的共价连接,例如连接基(L),被破坏,从而导致游离药物在细胞外从(T)解离。在一个实施方案中,标的组合物的裂解部分因而最初是细胞外代谢物(例如,T-T-L片段、D-L片段、D),其可以通过扩散和细胞渗透或转运而移动到细胞内。因此,在一个实施方案中,本发明所提供的组合物是具有结构(VI)的组合物裂解产物,所述裂解产物包括包含结构(I)、(Ia)或(Ib)或其立体异构体的组合物。类似地,微管破坏性肽毒素(PT)与靶向部分(T)(例如抗体)之间的连接基(L)可能在细胞外被破坏,从而导致PT在

细胞外从(T)解离。标的组合物的裂解部分因而最初是细胞外代谢物(例如,T、T-L片段、PT-L片段、PT)。因此,在一个实施方案中,本发明所提供的组合物是具有结构(VII)的组合物的裂解产物,所述裂解产物包括包含结构(I)、(Ia)或(Ib)或其立体异构体的组合物。

[0177] “哺乳动物”包括人类以及诸如实验室动物和家养宠物(例如,猫、狗、猪、牛、绵羊、山羊、马、兔)的家畜和诸如野生动物等非家畜。

[0178] “可选的”或“任选地”意指随后描述的事件或情况可能发生或可能不发生,且该描述包括发生所述事件或情况的情形和不发生所述事件或情况的情形。举例来说,“任选地经取代的芳基”意指芳基取代基可能被取代或可能未被取代,且该描述包括经取代的芳基取代基和未经取代的芳基取代基。

[0179] “药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂”包括但不限于已经被美国食品和药品管理局(或另一个管辖机构的其它类似管理机构)批准为可接受用于人类或家畜的任何佐剂、载体、赋形剂、助流剂、甜味剂、稀释剂、防腐剂、染料/着色剂、增味剂、表面活性剂、润湿剂、分散剂、悬浮剂、稳定剂、等渗剂、溶剂或乳化剂。

[0180] “药学上可接受的盐”包括酸加成盐和碱加成盐。

[0181] “药学上可接受的酸加成盐”是指保留游离碱的生物有效性和性质的那些盐,其在生物学上或其它方面不是不合需要的,且其是与无机酸和有机酸形成的,无机酸诸如但不限于盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等等,有机酸诸如但不限于乙酸、2,2-二氯乙酸、己二酸、海藻酸、抗坏血酸、天冬氨酸、苯磺酸、苯甲酸、4-乙酰胺基苯甲酸、樟脑酸、樟脑-10-磺酸、癸酸、己酸、辛酸、碳酸、肉桂酸、柠檬酸、环拉酸、十二烷基硫酸、乙烷-1,2-二磺酸、乙磺酸、2-羟基乙磺酸、甲酸、富马酸、粘酸、龙胆酸、葡庚糖酸、葡萄糖酸、葡萄糖醛酸、谷氨酸、戊二酸、2-氧代-戊二酸、甘油磷酸、乙醇酸、马尿酸、异丁酸、乳酸、乳糖醛酸、月桂酸、马来酸、苹果酸、丙二酸、扁桃酸、甲磺酸、粘液酸、萘-1,5-二磺酸、萘-2-磺酸、1-羟基-2-萘甲酸、烟酸、油酸、乳清酸、草酸、棕榈酸、帕莫酸、丙酸、焦谷氨酸、丙酮酸、水杨酸、4-氨基水杨酸、癸二酸、硬脂酸、琥珀酸、酒石酸、硫氰酸、对甲苯磺酸、三氟乙酸、十一碳烯酸等等。

[0182] “药学上可接受的碱加成盐”是指保留游离酸的生物有效性和性质的那些盐,其在生物学上或其它方面不是不合需要的。这些盐是通过向游离酸中加入无机碱或有机碱来制备。来源于无机碱的盐包括但不限于钠盐、钾盐、锂盐、铵盐、钙盐、镁盐、铁盐、锌盐、铜盐、锰盐、铝盐等等。优选的无机盐是铵盐、钠盐、钾盐、钙盐和镁盐。来源于有机碱的盐包括但不限于以下各物的盐:伯胺、仲胺和叔胺、经取代的胺(包括天然存在的经取代的胺)、环状胺和碱性离子交换树脂,诸如氨、异丙胺、三甲胺、二乙胺、三乙胺、三丙胺、二乙醇胺、乙醇胺、丹醇、2-二甲基氨基乙醇、2-二乙基氨基乙醇、二环己基胺、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、咖啡碱、普鲁卡因、海巴明、胆碱、甜菜碱、苄乙苄胺、苄星青霉素、乙二胺、葡萄糖胺、甲基葡萄糖胺、可可碱、三乙醇胺、缓血酸胺、嘌呤、哌嗪、哌啶、N-乙基哌啶、聚胺树脂等等。特别优选的有机碱是异丙胺、二乙胺、乙醇胺、三甲胺、二环己基胺、胆碱和咖啡碱。

[0183] 通常,结晶产生本发明化合物的溶剂合物。如本文中所用,术语“溶剂合物”是指包含一个或多个本发明化合物分子和一个或多个溶剂分子的聚集物。溶剂可以是水,在这种情况下溶剂合物可以是水合物。替代地,溶剂可以是有机溶剂。因此,本发明化合物可以作为包括单水合物、二水合物、半水合物、倍半水合物、三水合物、四水合物等水合物以及相对应的溶剂化形式存在。本发明化合物可以是真溶剂化物,而在其它情况下,本发明化合物可

以仅保留不定水或是水加一些不定溶剂的混合物。

[0184] “药物组合物”是指本发明化合物和本领域中公认的用于将生物学活性化合物递送到哺乳动物(例如人类)的介质的制剂。这样的介质包括所有药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

[0185] 本文中欲治疗的病症的非限制性实例包括良性和恶性肿瘤;白血病和淋巴恶性肿瘤,特别是乳腺癌、卵巢癌、胃癌、子宫内膜癌、唾液腺癌、肺癌、肾癌、结肠癌、甲状腺癌、胰腺癌、前列腺癌或膀胱癌;神经元、神经胶质、星形细胞、下丘脑和其它腺体、巨噬细胞、上皮、基质和囊胚腔病症、自体免疫性疾病、炎症性疾病、纤维化和传染病。鉴于所述特征且特别是标的组合物的效力,本领域技术人员应显而易见,可以指示本发明化合物用于治疗需要对细胞发挥细胞毒性或细胞毒性效应的任何疾病。

[0186] 在一个实施方案中,使用本发明组合物来治疗自体免疫性疾病。对负责产生自体免疫性抗体的细胞的抗原具有免疫特异性的抗体可以获自任何组织(例如,大学科学工作者或公司,诸如Genentech)或通过本领域技术人员或已知的任何方法产生,诸如例如化学合成或重组表达技术。在另一个实施方案中,用于治疗自体免疫性疾病的可用免疫特异性配位体抗体包括但不限于抗核抗体;抗ds DNA;抗ss DNA、抗心磷脂抗体IgM、IgG;抗磷脂抗体IgM、IgG;抗SM抗体;抗线粒体抗体;

[0187] 甲状腺抗体;微粒体抗体;甲状腺球蛋白抗体;抗SCL-70;抗Jo;抗U1RNP;抗La/SSB;抗SSA;抗SSB;抗壁细胞抗体;抗组蛋白;抗RNP;C-ANCA;P-ANCA;抗着丝点;抗纤维蛋白和抗GBM抗体。在某些优选的实施方案中,可用于本发明方法中的抗体可以结合活化淋巴细胞上所表达的受体或受体复合物。

[0188] 所述受体或受体复合物可以包含免疫球蛋白基因超家族成员、TNF受体超家族成员、整合素、细胞因子受体、趋化因子受体、主要组织相容性蛋白、凝集素或补体控制蛋白。合适的免疫球蛋白超家族成员的非限制性实例是CD2、CD3、CD4、CD8、CD19、CD22、CD28、CD79、CD90、CD152/CTLA-4、PD-1和ICOS。

[0189] 合适的TNF受体超家族成员的非限制性实例是CD27、CD40、CD95/Fas、CD134/OX40、CD137/4-1BB、TNF-R1、TNFR-2、RANK、TACI、BCMA、骨保护素、Apo2/TRAIL-R1、TRAIL-R2、TRAIL-R3、TRAIL-R4和APO-3。合适的整合素的非限制性实例是CD11a、CD11b、CD11c、CD18、CD29、CD41、CD49a、CD49b、CD49c、CD49d、CD49e、CD49f、CD103和CD104。合适的凝集素的非限制性实例是C型、S型和I型凝集素。

[0190] 在一个实施方案中,所述配位体是结合与自体免疫性疾病相关的活化淋巴细胞的抗体。

[0191] 以免疫细胞的不当活化为特征并且可以通过本文中所描述的方法来治疗或预防的免疫学疾病可以例如通过引起所述病症的过敏性反应的类型进行分类。这些反应典型地分成四种类型:过敏反应、细胞毒性(细胞溶解性)反应、免疫复合物反应或细胞介导的免疫性(CMI)反应(也称为延迟型过敏性(DTH)反应)。(参见例如Fundamental Immunology(William E.Paul编,Raven Press,N.Y.,第3版,1993)。

[0192] 此类免疫学疾病的具体实例包括以下:变形性关节炎、自体免疫性脱髓鞘性疾病(例如,多发性硬化、变态反应性脑脊髓炎)、内分泌性眼病、葡萄膜炎、全身性红斑狼疮、重症肌无力、葛雷氏病、肾小球性肾炎、自体免疫性肝病、炎症性肠病(例如克罗恩氏病)、过敏

症、变态反应、舍格伦氏综合征、I型糖尿病、原发性胆汁性肝硬化、韦格纳氏肉芽肿病、纤维肌痛、多肌炎、皮肤肌炎、多发性内分泌性衰竭、施密特氏综合征、自体免疫性葡萄膜炎、阿狄森氏病、肾上腺炎、甲状腺炎、桥本氏甲状腺炎、自体免疫性甲状腺病、恶性贫血、胃萎缩、慢性肝炎、狼疮样肝炎、动脉粥样硬化、亚急性皮肤红斑狼疮、甲状旁腺机能减退、德雷斯勒氏综合征、自体免疫性血小板减少症、特发性血小板减少性紫癜、溶血性贫血、寻常天疱疮、天疱疮、疱疹样皮炎、斑秃、类天疱疮、硬皮病、进行性全身性硬化、CREST综合征(钙质沉着症、雷诺氏现象、食道运动障碍、指趾硬皮病)和毛细血管扩张症)、男女自体免疫性不育症、强直性脊柱炎、溃疡性结肠炎、混合型结缔组织病、结节性多动脉炎、全身性坏死性脉管炎、特应性皮炎、特应性鼻炎、古德帕斯彻氏综合征、恰加斯氏病、结节病、风湿热、哮喘、反复性流产、抗磷脂综合征、农民肺、多形性红斑、心切开术后综合征、库兴氏综合征、自体免疫性慢性活动型肝炎、饲鸟者肺、中毒性表皮坏死溶解、阿尔波特氏综合征、牙槽炎、过敏性牙槽炎、纤维性肺泡炎、间质性肺病、结节性红斑、坏疽性脓皮病、输血反应、高安氏动脉炎、风湿性多肌痛、颞动脉炎、血吸虫病、巨细胞性动脉炎、蛔虫病、曲霉病、阿司匹林哮喘三联症、湿疹、淋巴瘤样肉芽肿病、白塞氏病、卡普兰氏综合征、川崎氏病、登革热、脑脊髓炎、心内膜炎、心内膜心肌纤维化、内眼炎、持久性隆起性红斑、银屑病、胎儿成红细胞增多症、嗜酸细胞性筋膜炎、舒尔曼综合征、费尔蒂综合征、丝虫病、睫状体炎、慢性睫状体炎、异色性睫状体炎、富克斯氏睫状体炎、IgA肾病、亨-舍二氏紫癜、移植物对抗宿主疾病、移植排斥、心脏病、兰伯特-伊顿综合征、复发性多软骨炎、冷球蛋白血症、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、伊文氏综合征和自体免疫性性腺衰竭。因此，本文中所描述的方法涵盖治疗B淋巴细胞病症(例如全身性红斑狼疮、古德帕斯彻氏综合征、变形性关节炎和I型糖尿病)、Th1-淋巴细胞病症(例如变形性关节炎、多发性硬化、银屑病、舍格伦氏综合征、桥本氏甲状腺炎、葛雷氏病、原发性胆汁性肝硬化、韦格纳氏肉芽肿病、肺结核或急性移植物对抗宿主疾病)或Th2淋巴细胞病症(例如特应性皮炎、全身性红斑狼疮、变应性哮喘、鼻结膜炎、过敏性鼻炎、欧门氏综合征、系统性硬化或慢性移植物对抗宿主疾病)。一般来说，涉及树突状细胞的病症包括Th1淋巴细胞或Th2淋巴细胞病症。

[0193] 在某些实施方案中，所述免疫学病症是T细胞介导的，其可以包括活化的T细胞。可以施用ADC或ADC衍生物来消耗此类活化的T细胞。

[0194] 在一个实施方案中，可以使用本发明组合物来治疗纤维化。纤维化可以发生于体内的许多组织中，典型地作为发炎或损伤的结果，实例包括但不限于：肺部，肺纤维化、特发性肺纤维化、囊性纤维化；肝脏，肝硬化；心脏，心内膜心肌纤维化、陈旧性心肌梗塞、心房纤维化；其它，纵隔纤维化(纵隔软组织)、骨髓纤维化(骨髓)、腹膜后纤维化(腹膜后腔软组织)、进行性大块纤维化(肺)；矿工肺尘埃沉着病并发症、肾源性全身性纤维化(皮肤)、克罗恩氏病(肠)、瘢痕瘤(皮肤)、硬皮病/全身性硬化(皮肤、肺)、关节纤维化(膝盖、肩、其它关节)、佩罗尼氏病(阴茎)、杜普伊特伦氏挛缩(手、手指)和粘连性肩关节囊炎的一些形式(肩)。

[0195] 关于传染病，本发明组合物可以直接用于某些传染物或病原体，或可以用于对携带或以其它方式提供传染物或病原体的宿主细胞发挥细胞抑制性或细胞毒性作用。

[0196] “有效量”或“治疗有效量”是指本发明化合物在施用于哺乳动物、优选人类时足以实现特定适应症(例如，哺乳动物、优选人类中的癌症或肿瘤细胞)的治疗(如以下所定义)

的量。构成“治疗有效量”的本发明化合物的量将取决于化合物、病状和其严重程度、施用方式和欲治疗的哺乳动物的年龄而变化,但可以由本领域普通技术人员根据其自己的知识和本发明按照常规决定。

[0197] 如本文中所使用的“治疗(treating/treatment)”涵盖在患有目标疾病或病状的哺乳动物、优选人类中对目标疾病或病状进行治疗,且包括:

[0198] (i) 防止在哺乳动物中发生所述疾病或病状,具体地说,在此类哺乳动物倾向于所述病状但尚未诊断为患有所述病状时;

[0199] (ii) 抑制所述疾病或病状,即,阻止其发展;

[0200] (iii) 缓解所述疾病或病状,即,使所述疾病或病状消退;或

[0201] (iv) 缓解由所述疾病或病状引起的症状,即,在未解决潜在的疾病或病状的情况下缓解疼痛。

[0202] 化合物的治疗有效量就癌症治疗来说可以减少癌细胞数目;减小肿瘤尺寸;抑制(即,在一定程度上减缓且优选地终止)癌细胞浸入周围器官中;抑制(即,在一定程度上减缓且优选地终止)肿瘤转移;在一定程度上抑制肿瘤生长;增加存活时间;和/或在一定程度上减轻与癌症相关的一种或多种症状。在药物可以预防现存癌细胞生长及/或杀死现存癌细胞的程度上,其可以是细胞抑制性的和/或细胞毒性的。本发明化合物优选地是细胞毒性的。对于癌症疗法,可以例如通过评价疾病进展时间(TTP)和/或测定反应率(RR)来衡量效力。

[0203] “有效量”就欲实现的特定结果来说是足以实现所需结果的量。举例来说,就杀死癌细胞来说,药物的“有效量”在被提到时是指足以产生杀死效应的药物用量。

[0204] 预期使用本发明化合物治疗的实性肿瘤包括但不限于:肉瘤、纤维肉瘤、粘液肉瘤、脂肪肉瘤、软骨肉瘤、骨肉瘤、脊索瘤、血管肉瘤、内皮肉瘤、淋巴管肉瘤、淋巴管内皮肉瘤、滑膜瘤、间皮瘤、尤文氏肉瘤、平滑肌肉瘤、横纹肌肉瘤、结肠癌、结肠直肠癌、肾癌、胰腺癌、骨癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、食道癌、胃癌(例如胃肠癌)、口腔癌、鼻咽癌、鳞状细胞癌(例如肺部)、基底细胞癌、腺癌(例如肺部)、汗腺癌、皮脂腺癌、乳头状癌、乳头状腺癌、囊腺癌、髓样癌、支气管癌、肾细胞癌、肝癌、胆管癌、绒膜癌、精原细胞瘤、胚胎癌、威尔姆氏肿瘤、子宫颈癌、子宫癌、睾丸癌、小细胞肺癌、膀胱癌、肺癌、非小细胞肺癌、上皮细胞癌、神经胶质瘤、成胶质细胞瘤、多形性星形细胞瘤、成神经管细胞瘤、颅咽管瘤、室管膜瘤、松果体瘤、成血管细胞瘤、听神经瘤、寡树突胶质瘤、皮肤癌、黑素瘤、成神经细胞瘤和成视网膜细胞瘤。预期使用本发明化合物治疗的血源性癌症包括但不限于急性成淋巴细胞性白血病“ALL”、急性成淋巴细胞B细胞白血病、急性成淋巴细胞性T细胞白血病、急性成髓细胞性白血病“AML”、急性早幼粒细胞白血病“APL”、急性成单核细胞性白血病、急性红白血病性白血病、急性成巨核细胞性白血病、急性髓单核细胞性白血病、急性非淋巴细胞性白血病、急性未分化性白血病、慢性粒细胞性白血病“CML”、慢性淋巴细胞性白血病“CLL”、毛细胞白血病和多发性骨髓瘤。预期使用本发明化合物治疗的急性和慢性白血病包括但不限于:成淋巴细胞性白血病、骨髓源性白血病、淋巴细胞性白血病和骨髓性白血病。预期使用本发明化合物治疗的淋巴瘤包括但不限于:何杰金氏病、非何杰金氏淋巴瘤、多发性骨髓瘤、瓦尔登斯特伦氏巨球蛋白血症、重链病和真性红血球增多症。预期使用本发明化合物治疗的其它癌症包括但不限于:腹膜癌、肝细胞癌、肝癌、唾液癌、外阴癌、甲状腺癌、阴茎癌、

肛门癌、头颈癌、肾细胞癌、急性退行发育性大细胞癌和皮肤退行发育性大细胞癌。

[0205] 癌症,包括但不限于肿瘤、转移或以不受控制的或不希望的细胞生长为特征的其它疾病或病症,可以通过施用本发明化合物加以治疗或预防。

[0206] 在其它实施方案中,提供了用于治疗或预防癌症的方法,包括向有需要的患者施用有效量的本文中所公开的化合物与额外治疗方法的组合。在一个实施方案中,所述额外治疗方法包括用化学治疗剂治疗。在一个实施方案中,所述化学治疗剂是未发现利用其的癌症治疗难治愈的化学治疗剂。在另一个实施方案中,所述化学治疗剂是已发现利用其的癌症治疗难治愈的化学治疗剂。本发明化合物可以在所述化学治疗剂之前、之后或同时施用。

[0207] 在一个实施方案中,所述额外治疗方法是放射疗法。本发明化合物可以在所述放射之前、之后或同时施用。

[0208] 本发明化合物还可以施用于已进行或将进行作为癌症疗法的手术的患者。

[0209] 在一个具体实施方案中,本发明化合物与所述化学治疗剂或与放射疗法同时施用。在另一个具体实施方案中,所述化学治疗剂或放射疗法是在施用本发明化合物之前或之后施用,在一个方面,在施用本发明化合物之前或之后至少1小时、5小时、12小时、一天、一周、一个月,在其它方面,在施用本发明化合物之前或之后若干个月(例如至多三个月)。

[0210] 化学治疗剂可以经一系列疗程施用。可以施用本文中所列出的或本领域中已知的任一种化学治疗剂或化学治疗剂组合。关于放射,可以使用任何放射疗法方案,取决于欲治疗的癌症类型。举例来说,但不具限制性,可以施用x射线辐射;确切地说,高能兆伏(大于1MeV能量的辐射)可以用于深部肿瘤,而电子束和中电压x射线辐射可以用于皮肤癌。还可以施用发射 $\gamma$ 射线的放射性同位素,诸如镭、钴和其它元素的放射性同位素。

[0211] 另外,提供了利用本发明化合物的癌症治疗方法作为化学疗法或放射疗法的替代方案,其中所述化学疗法或放射疗法已经被证明或可能被证明对于所治疗的受试者的毒性过大,例如,导致不可接受或无法忍受的副作用。另外,提供了利用本发明化合物的癌症治疗方法作为手术的替代方案,其中所述手术已经被证明或可能被证明对于所治疗的受试者是不可接受或无法忍受的。

[0212] 本发明化合物还能以体外或离体方式使用,例如用于治疗某些癌症,包括但不限于白血病和淋巴瘤,此类治疗包括自体干细胞移植。这可能涉及多步骤方法,其中收集动物的自体造血干细胞且清洗掉所有癌细胞,随后在有或无伴随高剂量放射疗法的情况下经由施用高剂量的本发明化合物消除所述动物的其余骨髓细胞群体,且将干细胞移植回所述动物中。随后在骨髓功能恢复的同时提供支持性护理且所述动物恢复。

[0213] 用于治疗癌症的方法还包括向有需要的患者施用有效量的本发明化合物和作为抗癌剂的另一种治疗剂。合适的抗癌剂包括但不限于氨甲蝶呤、紫杉酚、左旋天冬酰胺、巯基嘌呤、硫鸟嘌呤、羟基脲、阿糖胞苷、环磷酰胺、异环磷酰胺、亚硝基脲、顺铂、卡铂、丝裂霉素、达卡巴嗪、丙卡巴嗪、拓扑替康、氮芥类、癌得星、依托泊苷、5-氟尿嘧啶、BCNU、伊立替康、喜树碱、博来霉素、多柔比星、伊达比星、道诺霉素、放线菌素D、更生霉素、普卡霉素、米托蒽醌、天冬酰胺酶、长春花碱、长春新碱、长春地辛、长春瑞滨、太平洋紫杉醇和多烯紫杉醇。

[0214] 化学治疗剂的其它实例包括烷基化剂,诸如硫替派和CYTOXAN®环磷酰胺;烷

基磺酸酯, 诸如白消安、曲奥舒凡、英丙舒凡和哌泊舒凡; 氮丙啶, 诸如苯并多巴(benzodopa)、卡巴醌、美妥替哌和乌瑞替派; 乙烯亚胺和甲基蜜胺, 包括六甲蜜胺、三乙烯蜜胺、三乙烯磷酰胺、三乙烯硫代磷酰胺和三甲基蜜胺; TLK 286 (TELCYTA™); 聚乙酰(尤其是布拉他辛和布拉他辛酮); 6-9-四氢大麻酚(屈大麻酚、MARINOL®);  $\beta$ -拉帕酮; 拉帕醇; 秋水仙碱; 桦木酸; 喜树碱(包括合成类似物拓扑替康(HYCAMTIN®)、CPT-11(伊立替康, CAMPTOSAR®)、乙酰基喜树碱、东莨菪素和9-氨基喜树碱); 苔藓抑素; 海绵抑素; CC-1065(包括其阿多来新、卡折来新和比折来新合成类似物); 足叶草毒素; 足叶草酸; 替尼泊苷; 念珠藻素(特别是念珠藻素1和及念珠藻素8); 多拉司他汀; 倍癌霉素(包括合成类似物KW-2189和CB1-TM1); 艾榴塞洛素; 水鬼蕉碱; 葡枝珊瑚醇; 海绵抑素; 氮芥类, 诸如苯丁酸氮芥、萘氮芥、胆磷酰胺、雌氮芥、异环磷酰胺、氮芥、氧化氮芥盐酸盐、美法仑、新氮芥、胆甾醇对苯乙酸氮芥、松龙苯芥、氯乙环磷酰胺和尿嘧啶氮芥; 三嗪, 诸如达卡巴嗪; 亚硝基脲, 诸如卡莫司汀、吡葡亚硝脲、福莫司汀、洛莫司汀、尼莫司汀和雷莫司汀; 表鬼臼毒素, 诸如依托泊苷、替尼泊苷、拓扑替康、9-氨基喜树碱、喜树碱或克雷斯托; 二磷酸盐, 诸如氯膦酸盐; 抗生素, 诸如烯二炔类抗生素(例如卡奇霉素, 尤其是卡奇霉素  $\gamma$  11和卡奇霉素  $\omega$  11(参见例如Agnew, Chem. Intl. Ed. Engl., 33:183-186(1994)) 和蒽环类, 诸如卡那霉素、AD 32、阿柔比星、道诺霉素、右雷佐生、DX-52-1、表柔比星、GPX-100、伊达比星、KRN5500、美诺立尔、达内霉素(包括达内霉素A)、埃斯培拉霉素、新制癌菌素发色团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、重氮丝氨酸、博来霉素(例如A2和B2)、放线菌素C、卡柔比星、洋红霉素、嗜癌菌素、色霉素、更生霉素、地托比星、6-重氮基-5-氧代-L-正亮氨酸、ADRIAMYCIN® 多柔比星(包括吗啉基多柔比星、氰基吗啉基多柔比星、2-吡咯啉基多柔比星、脂质体多柔比星和脱氧多柔比星)、衣索比星、麻西罗霉素、丝裂霉素(诸如丝裂霉素C)、霉酚酸、诺加霉素、橄榄霉素、培洛霉素、紫菜霉素、嘌呤霉素、三铁阿霉素、罗多比星、链黑菌素、链脲霉素、杀结核菌素、乌苯美司、净司他丁和佐柔比星; 光动力学疗法, 诸如维替泊芬(BPD-MA)、酞菁、光敏剂Pc4和脱甲氧基竹红菌素A(2BA-2-DMHA); 叶酸类似物, 诸如二甲叶酸、蝶罗呤和三甲曲沙; 嘌呤类似物, 诸如氟达拉滨、6-巯基嘌呤、硫咪嘌呤和硫鸟嘌呤; 嘧啶类似物, 诸如安西他滨、阿扎胞苷、6-氮尿苷、卡莫氟、阿糖胞苷、阿糖胞嘧啶、双去氧尿苷、去氧氟尿苷、依诺他滨和氟尿苷; 雄激素, 诸如卡鲁睾酮、丙酸屈他雄酮、环硫雄醇、美雄烷和睾内酯; 抗肾上腺剂, 诸如氨鲁米特、米托坦和曲洛司坦; 叶酸补充剂, 诸如亚叶酸(甲酰四氢叶酸); 醋葡内酯; 抗叶酸抗增生剂, 诸如ALIMTA®、LY231514、培美曲塞、二氢叶酸还原酶抑制剂, 诸如氨甲蝶呤和三甲曲沙; 抗代谢物, 诸如5-氟尿嘧啶(5-FU)和其前药, 诸如UFT、S-1和卡培他滨、氟尿苷、去氧氟尿苷和雷替曲塞; 以及胸苷酸合酶抑制剂和甘氨酸酰胺核苷酸甲酰基转移酶抑制剂, 诸如雷替曲塞(TOMUDEX®, TDX); 二氢嘧啶脱氢酶抑制剂, 诸如恩尿嘧啶; 醛磷酰胺糖苷; 氨基乙酰丙酸; 安吡啶; 贝斯尿嘧啶; 比生群; 依达曲沙; 地磷酰胺; 秋水仙胺; 地吡醌; 依氟鸟氨酸; 依利醋铵; 埃博霉素; 依托格鲁; 硝酸镓; 羟基脲; 蘑菇多糖; 洛尼达宁; 类美登素, 诸如美登素和安丝菌素; 丙脒脲; 米托蒽醌; 莫哌达醇; 二胺硝吡啶; 喷司他丁; 蛋胺氮芥; 吡柔比星; 洛索蒽醌; 2-乙基酰肼; 丙卡巴肼; PSK® 聚糖复合物(JHS Natural Products, Eugene,



Oreg.) ; 雷佐生 ; 根霉素 ; 西佐喃 ; 螺旋锗 ; 细交链孢菌酮酸 ; 三亚胺醌 ; 2,2',2''-三氯三乙胺 ; 单端孢霉烯 (尤其是 T-2 毒素、疣孢霉素 A、杆孢菌素 A 和蛇形菌素) ; 乌拉坦 ; 长春地辛 (ELDISINE®、FILDESIN®) ; 达卡巴嗪 ; 甘露醇氮芥 ; 二溴甘露醇 ; 二溴卫矛醇 ; 双溴丙基哌嗪 ; 加西托辛 ; 阿糖胞苷 (“Ara-C”) ; 环磷酰胺 ; 噻替派 ; 紫杉醇和紫杉烷, 例如 TAXOL® 太平洋紫杉醇 (Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.)、ABRAXANE™ 无氢化蓖麻油白蛋白工程改造太平洋紫杉醇纳米颗粒制剂 (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Ill.) 和 TAXOTERE® 多烯紫杉醇 (Rhone-Poulenc Rorer, Antony, France) ; 氯尿嘧啶 ; 吉西他滨 (GEMZAR®) ; 6-硫鸟嘌呤 ; 巯基嘌呤 ; 铂 ; 铂类似物或基于铂的类似物, 诸如顺铂、奥沙利铂和卡铂 ; 长春花碱 (VELBAN®) ; 依托泊苷 (VP-16) ; 异环磷酰胺 ; 米托蒽醌 ; 长春新碱 (ONCOVIN®) ; 长春花生物碱 ; 长春瑞滨 (NAVELBINE®) ; 万珂 ; 雷利度胺 ; 沙利度胺 ; IMiD3 ; 洛伐他汀 ; 异搏定 ; 毒胡萝卜素 ; 1-甲基-4-苯基吡啶鎓 ; 细胞周期抑制剂, 诸如星孢菌素 ; 能灭瘤 ; 依达曲沙 ; 道诺霉素 ; 米托蒽醌 ; 氨基蝶呤 ; 希罗达 ; 伊班膦酸盐 ; 拓扑异构酶抑制剂 RFS 2000 ; 二氟甲基鸟氨酸 (DMFO) ; 维生素 D3 类似物, 诸如 EB 1089、CB 1093 和 KH 1060 ; 类视黄醇, 诸如视黄酸 ; 以上各物中任一种的药学上可接受的盐、酸或衍生物 ; 以及以上各物中两种或更多种的组合, 诸如 CHOP (环磷酰胺、多柔比星、长春新碱和泼尼松龙组合疗法的缩写) 和 FOLFOX (奥沙利铂 (ELOXATIN™) 与 5-FU 和甲酰四氢叶酸组合的治疗方案的缩写)。

[0215] 用于调节或抑制对肿瘤的激素作用的抗激素剂, 诸如抗雌激素和选择性雌激素受体调节剂 (SERM), 包括例如他莫西芬 (包括 NOLVADEX® 他莫西芬)、雷洛昔芬、甲地孕酮、屈洛昔芬、4-羟基他莫昔芬、曲沃昔芬、雷洛西芬、LY117018、奥那司酮和 FARESTON® 托瑞米芬 ; 抑制可调节肾上腺中的雌激素产生的酶芳香酶的芳香酶抑制剂, 诸如例如 4(5)-咪唑、氨鲁米特、MEGASE® 醋酸甲地孕酮、AROMASIN® 依西美坦、福美坦、法倔唑、RIVISOR® 伏氯唑、FEMARA® 来曲唑和 ARIMIDEX® 阿那曲唑 ; 和抗雄激素, 诸如氟他米特、比卡米特、尼鲁米特、比卡米特、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) ; 反义寡核苷酸, 特别是那些抑制牵涉异常细胞增殖的信号传导途径中的基因表达的反义寡核苷酸, 诸如例如 PKC- $\alpha$ 、Raf、H-Ras 和表皮生长因子受体 (EGF-R) ; 疫苗, 诸如基因疗法疫苗, 例如 ALLOVECTIN® 疫苗、LEUVECTIN® 疫苗和 VAXID® 疫苗 ; PROLEUKIN® rIL-2 ; LURTOTECAN® 拓扑异构酶 I 抑制剂 ; ABARELIX® rmRH ; 和以上各物中任一者的药学上可接受的盐、酸或衍生物。

[0216] 本发明化合物或其药学上可接受的盐可以含有一个或多个不对称中心, 且因而可能产生对映异构体、非对映异构体和就绝对立体化学来说可以被定义为 (R)-或 (S)-, 或对于氨基酸来说被定义为 (D)-或 (L)-的其它立体异构体形式。本发明意在包括所有这些可能的异构体以及其外消旋和光学纯形式。光学活性 (+) 和 (-)、(R)-和 (S)-或 (D)-和 (L)-异构体可以使用手性合成子或手性试剂来制备, 或使用例如色谱法和分步结晶的常规技术来拆



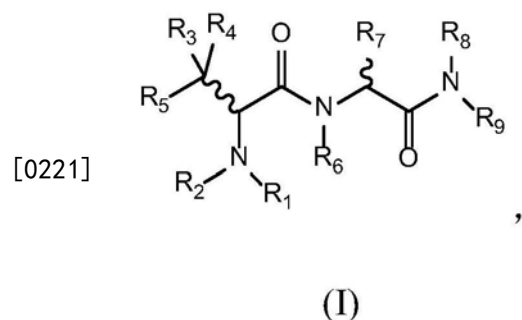
分。用于制备/分离个别对映异构体的常规技术包括由合适的光学纯前驱物进行手性合成或使用例如手性高效液相色谱法 (HPLC) 拆分外消旋物(或者盐或衍生物的外消旋物)。当本文中所描述的化合物包含烯属双键或其它几何不对称中心时,且除非另外说明,否则意图所述化合物包括E和Z几何异构体。同样,还意图包括所有互变异构形式。

[0217] “立体异构体”是指由通过相同的键键合的相同原子组成但具有不同且不可互换的三维结构的化合物。本发明包括各种立体异构体和其混合物,且包括“对映异构体”,对映异构体是指其分子互为不可重叠的镜像的两个立体异构体。

[0218] “互变异构体”是指从分子的一个原子到同一分子的另一个原子的质子位移。本发明包括任何所述化合物的互变异构体。

[0219] 新颖化合物

[0220] 在一个实施方案中,提供了具有以下结构 (I) 的化合物:



[0222] 其中:

[0223]  $R_1$ 和 $R_2$ 独立地选自:H和具有直链、分支链或非芳族环状骨架且含有一至十个碳原子的饱和或不饱和部分,且所述碳原子任选地经以下各项取代:-OH、-I、-Br、-Cl、-F、-CN、-CO<sub>2</sub>H、-CHO、-COSH或-NO<sub>2</sub>;或 $R_2$ 与 $R_5$ 稠合且形成环;

[0224]  $R_3$ 和 $R_4$ 独立地选自:H、R、ArR-,或 $R_3$ 与 $R_4$ 接合以形成环;

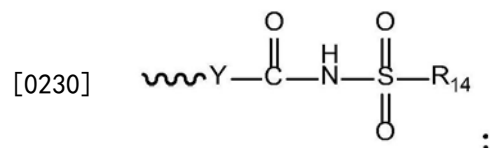
[0225]  $R_5$ 选自:H、R、ArR-和Ar;

[0226] 或 $R_5$ 与 $R_2$ 稠合且形成环;

[0227]  $R_6$ 选自:H、R和ArR-;

[0228]  $R_7$ 和 $R_8$ 独立地选自:H、R和ArR-;且

[0229]  $R_9$ 是:



[0231] 其中,

[0232] R定义为具有直链、分支链或非芳族环状骨架且含有一至十个碳原子、零至四个氮原子、零至四个氧原子和零至四个硫原子的饱和或不饱和部分,且所述碳原子任选地经以下各项取代: =O、=S、OH、-OR<sub>10</sub>、-O<sub>2</sub>CR<sub>10</sub>、-SH、-SR<sub>10</sub>、-SOCR<sub>10</sub>、-NH<sub>2</sub>、-NHR<sub>10</sub>、-N(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>、-NHCOR<sub>10</sub>、-NR<sub>10</sub>COR<sub>10</sub>、-I、-Br、-Cl、-F、-CN、-CO<sub>2</sub>H、-CO<sub>2</sub>R<sub>10</sub>、-CHO、-COR<sub>10</sub>、-CONH<sub>2</sub>、-CONHR<sub>10</sub>、-CON(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>、-COSH、-COSR<sub>10</sub>、-NO<sub>2</sub>、-SO<sub>3</sub>H、-SOR<sub>10</sub>、-SO<sub>2</sub>R<sub>10</sub>,其中R<sub>10</sub>为直链、分支链或环状C<sub>1-10</sub>饱和或不饱和烷基;

[0233] 由R<sub>3</sub>与R<sub>4</sub>接合形成的环是在R的定义内的三至七元非芳族环状骨架,

[0234] Y定义为选自以下各项的部分:直链饱和或不饱和C<sub>1-6</sub>烷基,任选地经R、ArR-或X取代;并且,

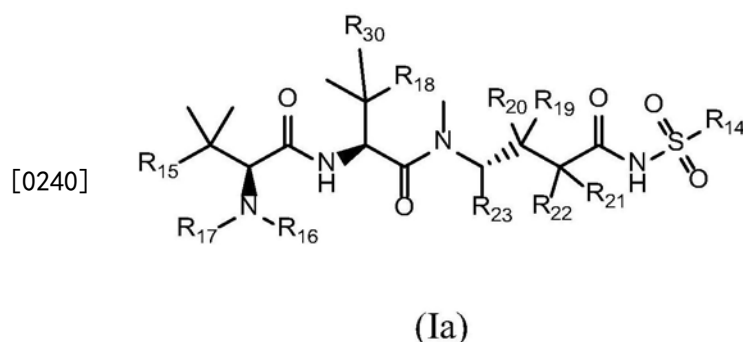
[0235] X定义为选自以下各项的部分:-OH、-OR、=O、=S、-O<sub>2</sub>CR、-SH、-SR、-SO<sub>2</sub>CR、-NH<sub>2</sub>、-NHR、-N(R)<sub>2</sub>、-NHCOR、-NRCOR、-I、-Br、-Cl、-F、-CN、-CO<sub>2</sub>H、-CO<sub>2</sub>R、-CHO、-COR、-CONH<sub>2</sub>、-CONHR、-CON(R)<sub>2</sub>、-COSH、-COSR、-NO<sub>2</sub>、-SO<sub>3</sub>H、-SOR和-SO<sub>2</sub>R;

[0236] R<sub>14</sub>选自任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基和任选地经取代的杂芳基、COR<sub>24</sub>、-CSR<sub>24</sub>、-OR<sub>24</sub>和-NHR<sub>24</sub>,其中各R<sub>24</sub>独立地为任选地经卤素、-OH或-SH取代的烷基;

[0237] 或其立体异构体、前药或药学上可接受的盐。

[0238] 在一个实施方案中,Ar是选自以下各项的芳环:苯基、萘基、蒽基、吡咯基。

[0239] 在一个实施方案中,提供了具有以下结构(Ia)的化合物:



[0241] 其中:

[0242] R<sub>14</sub>选自任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基、任选地经取代的杂芳基、-COR<sub>24</sub>、-CSR<sub>24</sub>、-OR<sub>24</sub>和-NHR<sub>24</sub>,其中各R<sub>24</sub>独立地为任选地经卤素、-OH或-SH取代的烷基;

[0243] R<sub>15</sub>选自任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基和任选地经取代的杂芳基;

[0244] R<sub>16</sub>选自H和C<sub>1-6</sub>烷基;

[0245] R<sub>17</sub>选自H和C<sub>1-6</sub>烷基;

[0246] R<sub>18</sub>和R<sub>30</sub>独立地选自H、C<sub>1-6</sub>烷基和-SH,条件是R<sub>18</sub>和R<sub>30</sub>不能都是H;

[0247] R<sub>19</sub>、R<sub>20</sub>、R<sub>21</sub>和R<sub>22</sub>独立地为H和C<sub>1-6</sub>烷基,R<sub>19</sub>和R<sub>20</sub>中至少一个是H;或R<sub>20</sub>与R<sub>21</sub>形成双键,R<sub>19</sub>是H,且R<sub>22</sub>是H或C<sub>1-6</sub>烷基;且

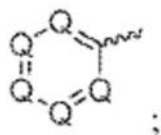
[0248] R<sub>23</sub>选自H和C<sub>1-6</sub>烷基;

[0249] 或其立体异构体、前药或药学上可接受的盐。

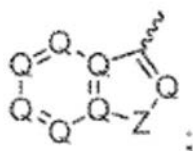
[0250] 在另一个实施方案中,各任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基和任选地经取代的杂芳基独立地任选地经以下各项取代:=O、=S、-OH、-OR<sub>24</sub>、-O<sub>2</sub>CR<sub>24</sub>、-SH、-SR<sub>24</sub>、-SO<sub>2</sub>CR<sub>24</sub>、-NH<sub>2</sub>、-N<sub>3</sub>、-NHR<sub>24</sub>、-N(R<sub>24</sub>)<sub>2</sub>、-NHCOR<sub>24</sub>、-NR<sub>24</sub>COR<sub>24</sub>、-I、-Br、-Cl、-F、-CN、-CO<sub>2</sub>H、-CO<sub>2</sub>R<sub>24</sub>、-CHO、-COR<sub>24</sub>、-CONH<sub>2</sub>、-CONHR<sub>24</sub>、-CON(R<sub>24</sub>)<sub>2</sub>、-COSH、-COSR<sub>24</sub>、-NO<sub>2</sub>、-SO<sub>3</sub>H、-SOR<sub>24</sub>或-SO<sub>2</sub>R<sub>24</sub>,其中各R<sub>24</sub>独立地为任选地经卤素、-OH或-SH取代的烷基

[0251] 在另一个实施方案中,各任选地经取代的芳基和任选地经取代的杂芳基独立地选自任选地经取代的苯基、任选地经取代的萘基、任选地经取代的蒽基、任选地经取代的菲基、任选地经取代的呋喃基、任选地经取代的吡咯基、任选地经取代的噻吩基、任选地经取代的苯并呋喃基、任选地经取代的苯并噻吩基、任选地经取代的喹啉基、任选地经取代的异喹啉基、任选地经取代的咪唑基、任选地经取代的噻唑基、任选地经取代的噁唑基和任选地经取代的吡啶基。

[0252] 在另一个实施方案中, $R_{15}$ 选自以下结构(II)、(III)、(IV)、(V)之一:

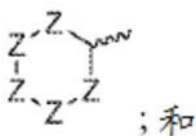


(II)

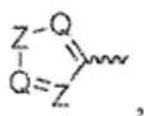


(III)

[0253]



(IV)



(V)

[0254] 其中:

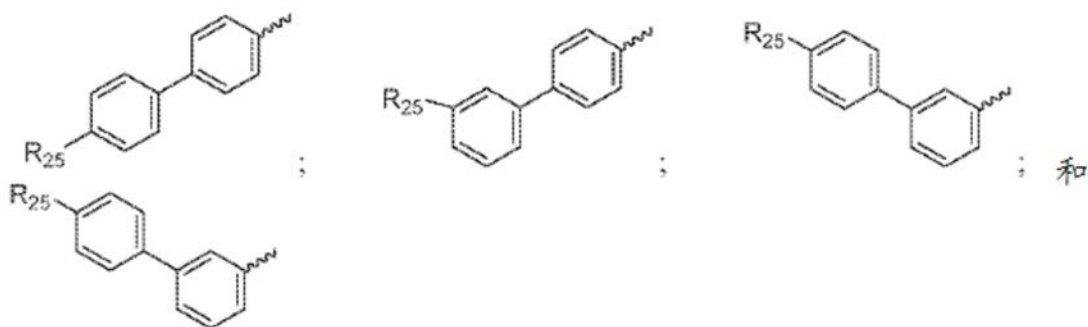
[0255] Q为 $CR_{25}$ 或N;

[0256] Z为 $C(R_{25})_2$ 、 $NR_{25}$ 、S或O;

[0257] 各 $R_{25}$ 独立地选自H、-OH、 $-R_{24}$ 、 $-OR_{24}$ 、 $-O_2CR_{24}$ 、-SH、 $-SR_{24}$ 、 $-SOCR_{24}$ 、 $-NH_2$ 、 $-N_3$ 、 $-NHR_{24}$ 、 $-N(R_{24})_2$ 、 $-NHCOR_{24}$ 、 $-NR_{24}COR_{24}$ 、 $-R_{24}NH_2$ 、-I、-Br、-Cl、-F、-CN、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2R_{24}$ 、-CHO、 $-COR_{24}$ 、 $-CONH_2$ 、 $-CONHR_{24}$ 、 $-CON(R_{24})_2$ 、-COSH、 $-COSR_{24}$ 、 $-NO_2$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SOR_{24}$ 或 $-SO_2R_{24}$ ,其中各 $R_{24}$ 独立地为任选地经卤素、-OH或-SH取代的烷基。

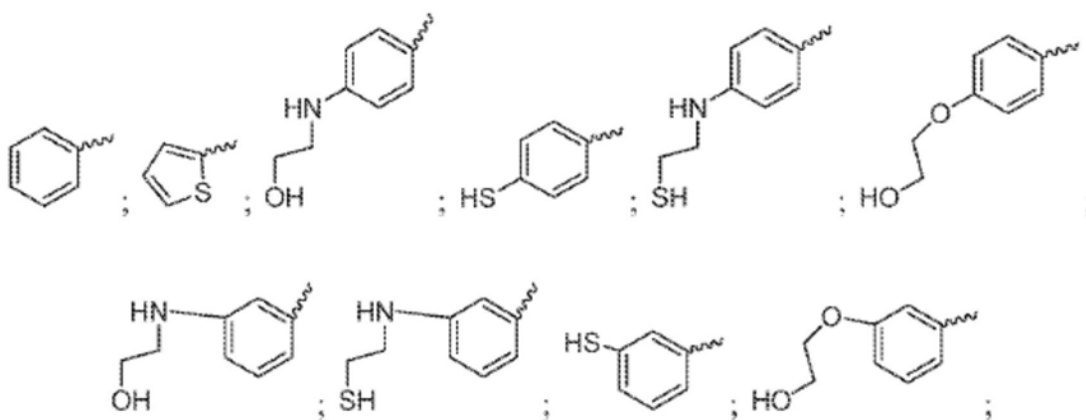
[0258] 在另一个实施方案中, $R_{15}$ 选自:

[0259]

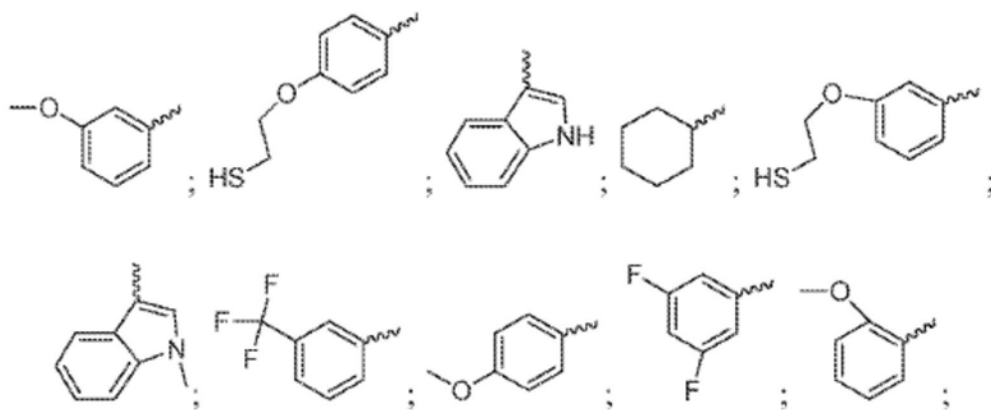


[0260] 其中各 $R_{25}$ 独立地选自H、-OH、- $R_{24}$ 、-OR $_{24}$ 、-O $_{2}$ CR $_{24}$ 、-SH、-SR $_{24}$ 、-SOCR $_{24}$ 、-NH $_2$ 、-N $_3$ 、-NHR $_{24}$ 、-N(R $_{24}$ ) $_2$ 、-NHCOR $_{24}$ 、-NR $_{24}$ COR $_{24}$ 、-R $_{24}$ NH $_2$ 、-I、-Br、-Cl、-F、-CN、-CO $_2$ H、-CO $_2$ R $_{24}$ 、-CHO、-COR $_{24}$ 、-CONH $_2$ 、-CONHR $_{24}$ 、-CON(R $_{24}$ ) $_2$ 、-COSH、-COSR $_{24}$ 、-NO $_2$ 、-SO $_3$ H、-SOR $_{24}$ 或-SO $_2$ R $_{24}$ ，其中各 $R_{24}$ 独立地为任选地经卤素、-OH或-SH取代的烷基。

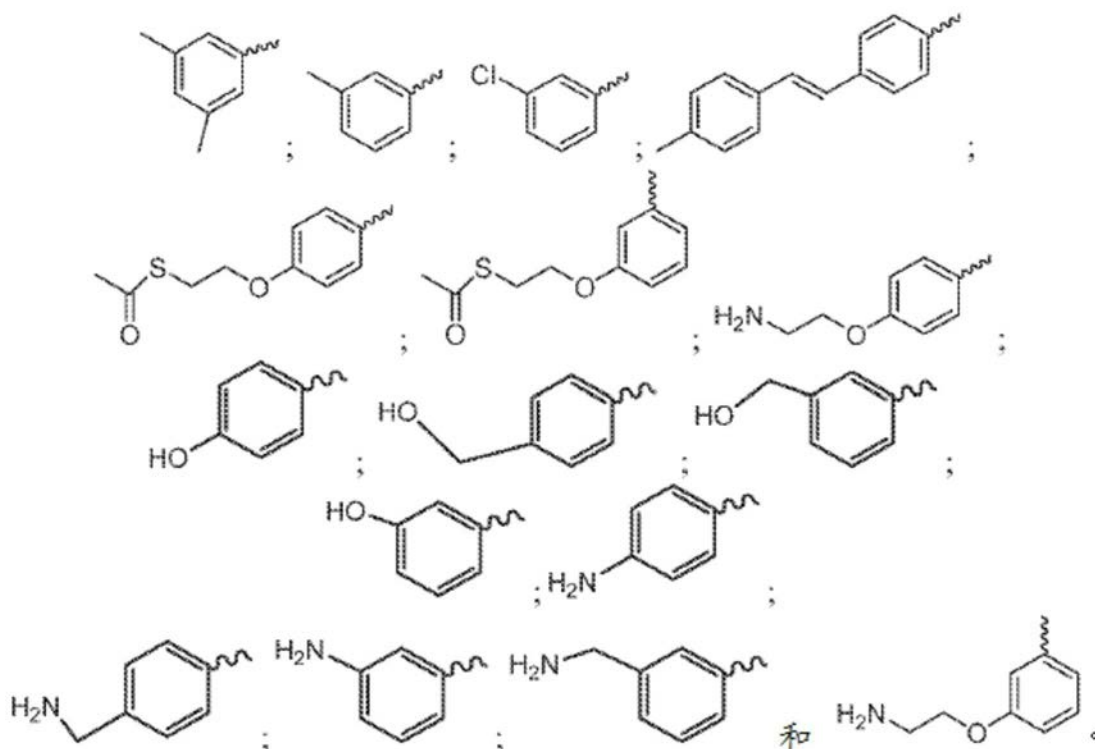
[0261] 在另一个实施方案中， $R_{15}$ 选自：



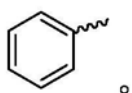
[0262]



[0263]

[0264] 在另一个实施方案中, R<sub>15</sub>是:

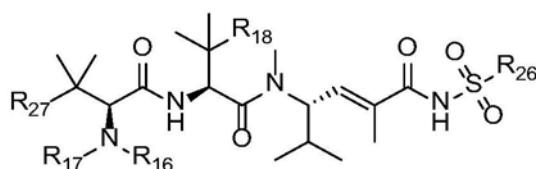
[0265]

[0266] 在另一个实施方案中, R<sub>16</sub>、R<sub>17</sub>、R<sub>18</sub>和R<sub>30</sub>各自是甲基。[0267] 在另一个实施方案中, R<sub>16</sub>是H, R<sub>17</sub>是甲基, R<sub>18</sub>是甲基, 且R<sub>30</sub>是甲基。

[0268] 应理解, 如以上所阐述的具有结构 (Ia) 的化合物的任何实施方案和如以上所阐述的本文中针对具有结构 (Ia) 的化合物中的R<sub>14</sub>、R<sub>15</sub>、R<sub>16</sub>、R<sub>17</sub>、R<sub>18</sub>、R<sub>19</sub>、R<sub>20</sub>和R<sub>30</sub>基团所阐述的任何特定取代基可以独立地与其它实施方案和/或具有结构 (I) 的化合物的取代基组合, 形成以上未明确阐述的本发明实施方案。另外, 在针对特定实施方案和/或权利要求中的任何特定R<sub>14</sub>、R<sub>15</sub>、R<sub>16</sub>、R<sub>17</sub>、R<sub>18</sub>、R<sub>19</sub>、R<sub>20</sub>和R<sub>30</sub>列出了取代基列表的情况下, 应理解, 可以从所述特定实施方案和/或权利要求中删除各个别取代基且其余取代基列表应被视为在本发明的范围内。

[0269] 在一个实施方案中, 提供了具有以下结构 (Ib) 的化合物:

[0270]



(Ib)

[0271] 其中:

[0272] R<sub>26</sub>选自任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基和任选地经取代的杂芳基;

[0273]  $R_{27}$ 选自任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基和任选地经取代的杂芳基；

[0274]  $R_{16}$ 选自H和 $C_{1-6}$ 烷基；

[0275]  $R_{17}$ 选自H和 $C_{1-6}$ 烷基；且

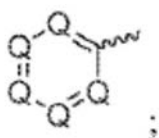
[0276]  $R_{18}$ 选自 $C_{1-6}$ 烷基和-SH，

[0277] 或其立体异构体、前药或药学上可接受的盐。

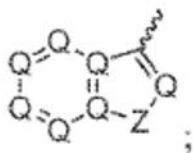
[0278] 在另一个实施方案中，各任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基和任选地经取代的杂芳基独立地任选地经以下各项取代： $=O$ 、 $=S$ 、 $-OH$ 、 $-OR_{28}$ 、 $-O_2CR_{28}$ 、 $-SH$ 、 $-SR_{28}$ 、 $-SOCR_{28}$ 、 $-NH_2$ 、 $-N_3$ 、 $-NHR_{28}$ 、 $-N(R_{28})_2$ 、 $-NHCOR_{28}$ 、 $-NR_{28}COR_{28}$ 、 $-I$ 、 $-Br$ 、 $-Cl$ 、 $-F$ 、 $-CN$ 、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2R_{28}$ 、 $-CHO$ 、 $-COR_{28}$ 、 $-CONH_2$ 、 $-CONHR_{28}$ 、 $-CON(R_{28})_2$ 、 $-COSH$ 、 $-COSR_{28}$ 、 $-NO_2$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SOR_{28}$ 或 $-SO_2R_{28}$ ，其中各 $R_{28}$ 独立地为任选地经卤素、 $-OH$ 或 $-SH$ 取代的烷基。

[0279] 在另一个实施方案中，各任选地经取代的芳基和任选地经取代的杂芳基独立地选自任选地经取代的苯基、任选地经取代的萘基、任选地经取代的蒽基、任选地经取代的菲基、任选地经取代的呋喃基、任选地经取代的吡咯基、任选地经取代的噻吩基、任选地经取代的苯并呋喃基、任选地经取代的苯并噻吩基、任选地经取代的喹啉基、任选地经取代的异喹啉基、任选地经取代的咪唑基、任选地经取代的噻唑基、任选地经取代的噁唑基和任选地经取代的吡啶基。

[0280] 在另一个实施方案中， $R_{27}$ 选自以下结构(II)、(III)、(IV)、(V)之一：

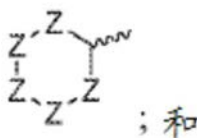


(II)

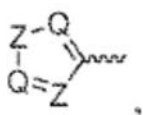


(III)

[0281]



(IV)



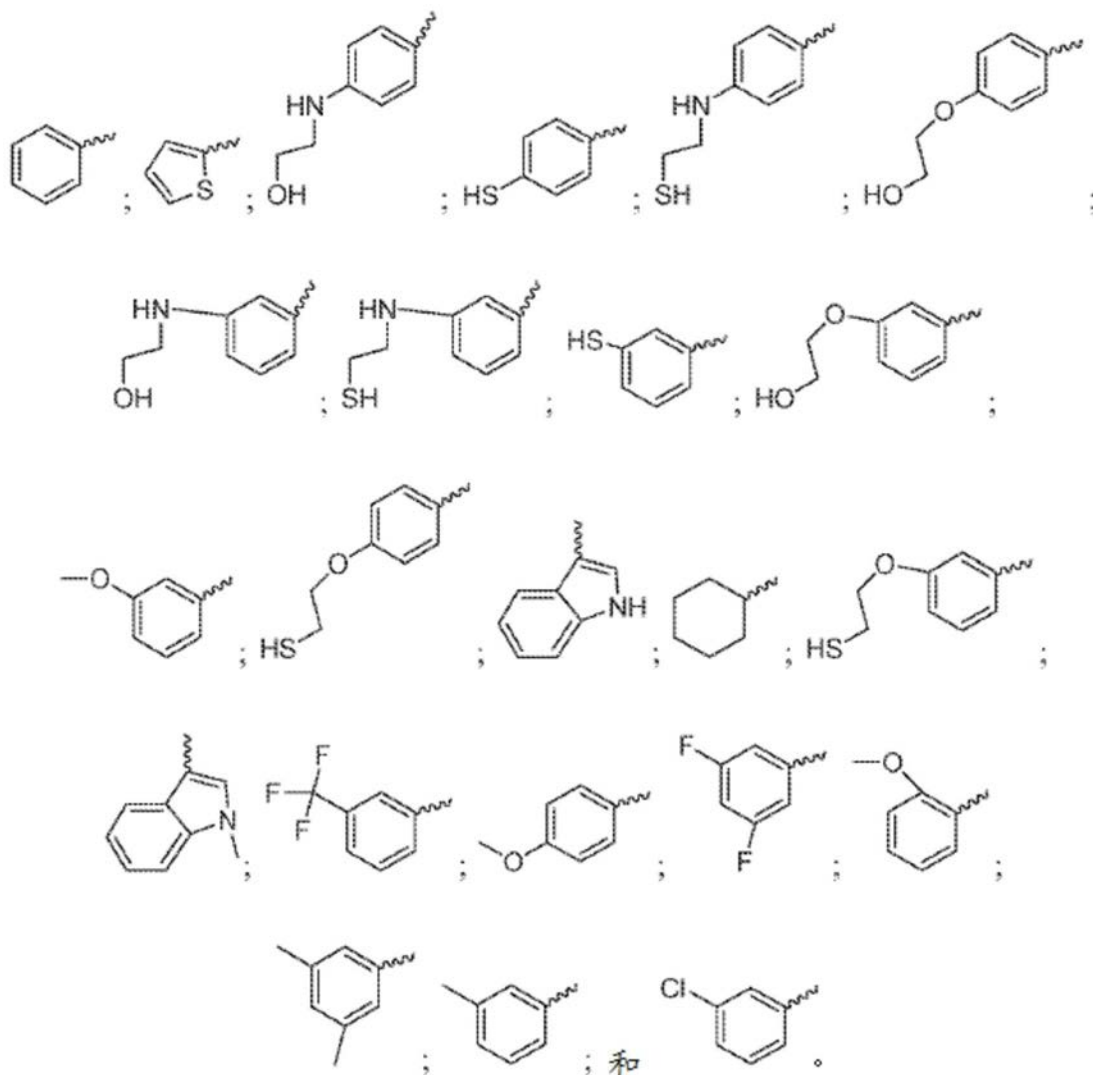
(V)

[0282] 其中：

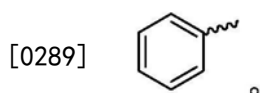
[0283] Q为CR<sub>29</sub>或N；[0284] Z为C(R<sub>29</sub>)<sub>2</sub>、NR<sub>29</sub>、S或O；

[0285] 各R<sub>29</sub>独立地选自H、-OH、-OR<sub>28</sub>、-O<sub>2</sub>CR<sub>28</sub>、-SH、-SR<sub>28</sub>、-SO<sub>2</sub>CR<sub>28</sub>、-NH<sub>2</sub>、-N<sub>3</sub>、-NHR<sub>28</sub>、-N(R<sub>28</sub>)<sub>2</sub>、-NHCOR<sub>28</sub>、-NR<sub>28</sub>COR<sub>28</sub>、-I、-Br、-Cl、-F、-CN、-CO<sub>2</sub>H、-CO<sub>2</sub>R<sub>28</sub>、-CHO、-COR<sub>28</sub>、-CONH<sub>2</sub>、-CONHR<sub>28</sub>、-CON(R<sub>28</sub>)<sub>2</sub>、-COSH、-COSR<sub>28</sub>、-NO<sub>2</sub>、-SO<sub>3</sub>H、-SOR<sub>28</sub>或-SO<sub>2</sub>R<sub>28</sub>，其中各R<sub>28</sub>独立地为任选地经卤素、-OH或-SH取代的烷基。

[0286] 在另一个实施方案中，R<sub>27</sub>选自：



[0287]

[0288] 在另一个实施方案中, R<sub>27</sub>是:[0290] 在另一个实施方案中, R<sub>16</sub>、R<sub>17</sub>和R<sub>18</sub>各自是甲基。[0291] 在另一个实施方案中, R<sub>16</sub>是H, R<sub>17</sub>是甲基, 且R<sub>18</sub>是甲基。

[0292] 应理解, 如以上所阐述的具有结构 (Ib) 的化合物的任何实施方案和如以上所阐述的本文中针对具有结构 (Ib) 的化合物中的R<sub>25</sub>、R<sub>26</sub>、R<sub>16</sub>、R<sub>17</sub>、R<sub>18</sub>、R<sub>18</sub>和R<sub>20</sub>基团所阐述的任何特定取代基可以独立地与其它实施方案和/或具有结构 (I) 的化合物的取代基组合, 形成以上未明确阐述的本发明实施方案。另外, 在针对特定实施方案和/或权利要求中的任何特定R<sub>25</sub>、R<sub>26</sub>、R<sub>16</sub>、R<sub>17</sub>、R<sub>18</sub>、R<sub>18</sub>和R<sub>20</sub>列出了取代基列表的情况下, 应理解, 可以从所述特定实施方案和/或权利要求中删除各个别取代基且其余取代基列表应被视为在本发明的范围内。

[0293] 在一个实施方案中, 本发明提供了一种制造具有结构 (I)、(Ia) 或 (Ib) 的化合物的方法。

[0294] 包含新颖化合物的缀合物

[0295] 具有结构 (I)、(Ia) 或 (Ib) 的化合物可以用于形成缀合物, 例如抗体-药物缀合物



(ADC)。因此,在本发明的一个实施方案中,提供了具有以下结构的缀合物组合物:

[0296] (T) - (L) - (D)

[0297] (VI)

[0298] 其中(T)是靶向部分,(L)是可选的连接基,且(D)是具有以下结构(I)、(Ia)或(Ib)的化合物。在一个实施方案中,(T)是抗体。因此,在一个实施方案中,提供了包含具有结构(I)、(Ia)或(Ib)的化合物(D)的抗体-药物缀合物(ADC)。

[0299] 如本领域技术人员应了解,多种手段可用来共价连接(T) - (L) - (D)。任何已知的方法都可以用来连接缀合物组分。任何已知的连接基技术都可以用来将(T)连接于(D)。此外,(T)、(L)和(D)可以用如本领域技术人员所认可的任何合适的方式加以修饰,以便促进缀合物形成。

[0300] 靶向部分(T)

[0301] 标的组合物的靶向部分(T)在其范围内包括能与跟指定靶细胞群体相关的受体、抗原或其它接受部分结合或反应性缔合或复合的任何(T)单元。(T)是与设法靶向的细胞群体的部分结合、复合或反应的分子。在一个方面中,(T)用于向与(T)反应的特定靶细胞群体递送药物(D)。此类(T)包括但不限于大分子量蛋白质,诸如例如全长抗体、抗体片段、较小分子量蛋白质、多肽或肽、凝集素、糖蛋白、非肽、维生素、营养转运分子(诸如但不限于转铁蛋白)或任何其它细胞结合分子或物质。

[0302] (T)可以与连接基单元(L)或药物(D)形成键。(T)可以经由(T)的杂原子与(L)单元形成键。可能存在于(T)上的杂原子包括硫(在一个实施方案中,来自于(T)的硫氢基)、氧(在一个实施方案中,来自于(T)的羰基、羧基或羟基)和氮(在一个实施方案中,来自于(T)的伯氨基或仲氨基)。这些杂原子在(T)的天然状态下(例如天然存在的抗体)可以存在于(T)上,或可以经由化学修饰而被引入(T)中。

[0303] 在一个实施方案中,(T)具有硫氢基且(T)经由所述硫氢基的硫原子与(L)键合。在另一个实施方案中,(T)具有一个或多个可以经过化学修饰以引入一个或多个硫氢基的赖氨酸残基。(T)经由硫氢基与(L)单元键合。可用于修饰赖氨酸的试剂包括但不限于S-乙酰基硫代乙酸N-琥珀酰亚胺酯(SATA)和2-亚氨基硫烷盐酸盐(Traut试剂)。

[0304] 在另一个实施方案中,(L)可以具有一个或多个可以经过化学修饰以具有一个或多个硫氢基的碳水化合物基团。(T)经由硫氢基的硫原子与(L)键合。在另一个实施方案中,(T)可以具有一个或多个可以被氧化以提供醛(--CHO)基的碳水化合物基团(参见例如Laguzza等,1989,J. Med. Chem. 32 (3): 548-55)。相应的醛可以与(L)的一部分上的反应性部位形成键。可以与(T)上的羰基反应的反应性部位包括但不限于肼和羟胺。用于修饰蛋白质以便连接或缔合(D)的其它方案描述于Coligan等,Current Protocols in Protein Science,第2卷,John Wiley&Sons(2002)中,该文献以引用的方式并入本文中。

[0305] (T)可以包括例如蛋白质、多肽或肽,包括但不限于转铁蛋白、表皮生长因子(“EGF”)、铃蟾素、胃泌素、胃泌素释放肽、血小板衍生生长因子、IL-2、IL-6、转化生长因子(“TGF”) (诸如TGF- $\alpha$ 或TGF- $\beta$ )、牛痘生长因子(“VGF”)、胰岛素和胰岛素样生长因子I和II、凝集素和来自于低密度脂蛋白的载脂蛋白。

[0306] (T)还可以包括抗体,诸如多克隆抗体或单克隆抗体。所述抗体可以针对特定抗原决定子,包括例如癌细胞抗原、病毒抗原、微生物抗原、蛋白质、肽、碳水化合物、化学品、核

酸或其片段。产生多克隆抗体的方法在本领域中是已知的。针对目标抗原的单克隆抗体(mAb)可以通过使用本领域中已知的任何技术来制备。这些包括但不限于起初由Kohler和Milstein(1975,Nature 256,495-497)描述的杂交瘤技术、人类B细胞杂交瘤技术(Kozbor等,1983,Immunology Today 4:72)和EBV杂交瘤技术(Cole等,1985,Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy,Alan R.Liss,Inc.,第77-96页)。选定淋巴细胞抗体法(SLAM)(Babcook,J.S.等,A novel strategy for generating monoclonal antibodies from single,isolated lymphocytes producing antibodies of defined specificities.Proc Natl Acad Sci USA,1996.93(15):第7843-8页)和(McLean GR,Olsen OA,Watt IN,Rathanaswami P,Leslie KB,Babcook JS,Schrader JW.Recognition of human cytomegaloVirus by human primary immunoglobulins identifies an innate foundation to an adaptive immune response.J Immunol.2005年4月15日;174(8):4768-78)。这样的抗体可以属于任何免疫球蛋白类别,包括IgG、IgM、IgE、IgA和IgD和其任何亚类。可以在体外或体内培养产生本发明所使用的mAb的杂交瘤。

[0307] 单克隆抗体可以是例如人类单克隆抗体、人源化单克隆抗体、抗体片段或嵌合抗体(例如人类-小鼠抗体)。人类单克隆抗体可以通过本领域中已知的许多技术中的任一种来制造(例如Teng等,1983,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 80:7308-7312;Kozbor等,1983,Immunology Today 4:72-79;和Olsson等,1982,Meth.Enzymol.92:3-16)。还参见Huse等,1989,Science 246:1275-1281;和McLean等,J Immunol.2005年4月15日;174(8):4768-78。

[0308] 所述抗体还可以是双特异性抗体。用于制造双特异性抗体的方法在本领域中是已知的。全长双特异性抗体的传统产生是基于共表达两个免疫球蛋白重链-轻链配对,其中所述两个链具有不同的特异性(参见例如Milstein等,1983,Nature 305:537-539;国际公布号WO 93/08829;Traunecker等,1991,EMBO J.10:3655-3659)。

[0309] 根据一种不同的方法,使具有所需结合特异性的抗体可变域(抗体-抗原结合部位)与免疫球蛋白恒定域序列融合。所述融合优选地与包含铰链、 $C_{H2}$ 和 $C_{H3}$ 区的至少一部分的免疫球蛋白重链恒定域进行。其优选具有含有至少一种融合物中所存在的轻链结合所必需的位点的第一重链恒定区( $C_{H1}$ )。将具有编码免疫球蛋白重链融合物和需要时免疫球蛋白轻链的序列的核酸插入个别表达载体中,且载体共转染至合适的宿主生物体中。当结构中所使用的三种多肽链的不相等比率提供最佳产率时,这在调节实施方案中的三种多肽片段的相互比例方面提供了灵活性。然而,当至少两种多肽链以相等比率表达导致高产率时或当所述比率不具有特别意义时,有可能在一种表达载体中插入两种或所有三种多肽链的编码序列。

[0310] 举例来说,双特异性抗体可以具有在一个臂中具有第一结合特异性的杂合免疫球蛋白重链和在另一个臂中提供第二结合特异性的杂合免疫球蛋白重链-轻链配对。这种不对称结构有助于分离所需双特异性化合物与不需要的免疫球蛋白链组合,因为仅一半双特异性分子中存在免疫球蛋白轻链提供了容易的分离方式(国际公布号WO 94/04690),该文献以全文引用的方式并入本文中。

[0311] 关于产生双特异性抗体的其它细节,参见例如Suresh等,1986,Methods in Enzymology 121:210;Rodrigues等,1993,J.Immunology 151:6954-6961;Carter等,1992,Bio/Technology 10:163-167;Carter等,1995,J.Hematotherapy 4:463-470;Merchant等,

1998, *Nature Biotechnology* 16:677-681。使用这样的技术,可以制备双特异性抗体以用于治疗或预防如本文中定义的疾病。

[0312] 双功能抗体还描述于欧洲专利公布号EPA 0 105 360中。如该参考文献中所公开,杂合或双功能抗体可以用生物学手段(即,细胞融合技术)或用化学手段(尤其是利用交联剂或二硫桥形成试剂)得到,并且可以包含整个抗体或其片段。用于获得这样的杂合抗体的方法公开于例如国际公布W0 83/03679和欧洲专利公布号EPA 0 217 577中,两者都以引用的方式并入本文中。

[0313] 所述抗体还可以是免疫特异性结合靶抗原(例如,癌症抗原、病毒抗原、微生物抗原或者与细胞或基质结合的其它抗体)的抗体的功能活性片段、衍生物或类似物。在这方面,“功能活性”意指所述片段、衍生物或类似物能够识别与得到所述片段、衍生物或类似物的抗体所识别的抗原相同的抗原。具体地说,在一个示例性实施方案中,可以通过缺失特异性识别抗原的CDR序列C末端的架构和CDR序列来增强免疫球蛋白分子独特型的抗原性。为了确定那些CDR序列结合所述抗原,可以通过本领域中已知的任何结合测定法(例如BIAcore测定)将含有CDR序列的合成肽与所述抗原一起用于结合测定(参见例如Kabat等,1991, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*,第5版, National Institute of Health, Bethesda, Md.; Kabat等,1980, *J. Immunology* 125 (3):961-969)。

[0314] 其它可用的抗体包括抗体片段,诸如但不限于F(ab')<sub>2</sub>片段、Fab片段、Fab'、Fv片段以及抗体的重链和轻链二聚体,或其任何最小片段,诸如Fv或单链抗体(SCA)(例如,如以下文献中所描述:美国专利号4,946,778; Bird,1988, *Science* 242:423-42; Huston等,1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883; 和Ward等,1989, *Nature* 334:544-54)。

[0315] 还可以使用包含人类和非人类部分的重组抗体,诸如嵌合和人源化单克隆抗体,其可以使用标准重组DNA技术制造。(参见例如美国专利号4,816,567和美国专利号4,816,397。)人源化抗体是具有一或多个来自于非人类物种的互补性决定区(CDR)和来自于人类免疫球蛋白分子的架构区的来自于非人类物种的抗体分子。(参见例如美国专利号5,585,089。)可以通过本领域中已知的重组DNA技术产生嵌合和人源化单克隆抗体,例如使用以下文献中所描述的方法:国际公布号W0 87/02671;欧洲专利公布号0 184 187;欧洲专利公布号0 171 496;欧洲专利公布号0 173 494;国际公布号W0 86/01533;美国专利号4,816,567;欧洲专利公布号012023; Berter等,1988, *Science* 240:1041-1043; Liu等,1987, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:3439-3443; Liu等,1987, *J. Immunol.* 139:3521-3526; Sun等,1987, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:214-218; Nishimura等,1987, *Cancer. Res.* 47:999-1005; Wood等,1985, *Nature* 314:446-449; Shaw等,1988, *J. Natl. Cancer Inst.* 80:1553-1559; Morrison,1985, *Science* 229:1202-1207; Oi等,1986, *BioTechniques* 4:214; 美国专利号5,225,539; Jones等,1986, *Nature* 321:552-525; Verhoeyan等,1988, *Science* 239:1534; 和Beidler等,1988, *J. Immunol.* 141:4053-4060。

[0316] 可以使用完全人类抗体。可以例如使用不能够表达内源性免疫球蛋白重链和轻链基因但可以表达人类重链和轻链基因的转基因小鼠来制备人类抗体。用选定的抗原,例如整个本发明多肽或其一部分以正常方式使转基因小鼠免疫。可以使用常规杂交瘤技术获得针对所述抗原的单克隆抗体。使转基因小鼠携带的人类免疫球蛋白转基因在B细胞分化期间重排,且随后进行类别转换和体细胞突变。因而,使用这样的技术有可能产生治疗上有用

的IgG、IgA、IgM和IgE抗体。关于这种用于产生人类抗体的技术的概述,参见Lonberg和Huszar (1995, *Int. Rev. Immunol.* 13:65-93)。关于这种用于产生人类抗体和人类单克隆抗体的技术和用于产生这样的抗体的方案的详细论述,参见例如美国专利号5,625,126、5,633,425、5,569,825、5,661,016和5,545,806。

[0317] 识别选定表位的人类抗体还可以使用被称为“导向选择”的技术来产生。在这种方法中,使用选定的非人类单克隆抗体,例如小鼠抗体,来指导识别同一表位的完全人类抗体的选择。(参见例如Jespersen等,1994, *Biotechnology* 12:899-903。)还可以使用本领域中已知的各种技术来产生人类抗体,包括噬菌体呈现库(参见例如Hoogenboom和Winter,1991, *J. Mol. Biol.* 227:381; Marks等,1991, *J. Mol. Biol.* 222:581; Quan和Carter,2002, “The rise of monoclonal antibodies as therapeutics”, *Anti-IgE and Allergic Disease*, Jardieu, P.M. 和 Fick Jr., R.B 编, Marcel Dekker, New York, N.Y., 第20章, 第427-469页)。

[0318] 在其它实施方案中,所述抗体是抗体或其功能活性片段的融合蛋白质。举例来说,抗体可以经由共价键(例如肽键)在N末端或C末端融合于不是所述抗体的另一种蛋白质的氨基酸序列(或其部分,诸如蛋所述白质中具有至少10、20或50个氨基酸的部分)。

[0319] 抗体还包括经修饰的类似物和衍生物,即,通过共价连接任何类型的分子,只要这样的共价连接允许所述抗体保留其抗原结合免疫特异性即可。举例来说,而不具限制性,抗体的衍生物和类似物包括经过进一步修饰,例如通过糖基化、乙酰化、聚乙二醇化、磷酸化、酰胺化、利用已知的保护/屏蔽基团衍生化、蛋白水解裂解、键联于细胞抗体单元或其它蛋白质等。许多化学修饰中的任一种都可以通过已知的技术进行,包括但不限于特异性化学裂解、乙酰化、甲酰化、在衣霉素存在下进行代谢合成等。另外,所述类似物或衍生物可以含有一个或多个非天然氨基酸。

[0320] 所述抗体可以在与Fc受体相互作用的氨基酸残基中具有修饰(例如取代、缺失或添加)。确切地说,抗体包括在被鉴别为参与抗Fc结构域与FcRn受体之间的相互作用的氨基酸残基中具有修饰的抗体(参见例如国际公布号W0 97/34631,该文献以全文引用的方式并入本文中)。靶抗原免疫特异性抗体可以获自市面或其它来源或通过本领域技术人员已知的任何方法产生,诸如例如化学合成或重组表达技术。编码癌细胞抗原免疫特异性抗体的核苷酸序列可以例如从GenBank数据库或其类似数据库、文献出版物或通过常规克隆和测序而获得。

[0321] 可用于治疗癌症的抗体的实例包括但不限于人源化抗HER2单克隆抗体赫赛汀®(曲妥珠单抗; Genentech); 用于治疗非何杰金氏淋巴瘤患者的嵌合抗CD20单克隆抗体RITUXAN®(利妥昔单抗; Genentech); 用于治疗卵巢癌的鼠类抗体OvaRex (AltaRex Corporation, MA); 用于治疗结肠直肠癌的鼠类IgG2a抗体Panorex (Glaxo Wellcome, NC); 用于治疗诸如头颈癌的表皮生长因子阳性癌症的抗EGFR IgG嵌合抗体西妥昔单抗尔必得舒 (Imclone Systems Inc., NY); 用于治疗肉瘤的人源化抗体维他辛 (MedImmune, Inc., MD); 用于治疗慢性淋巴细胞性白血病 (CLL) 的人源化IgG1抗体Campath 1/H (Leukosite, MA); 用于治疗急性骨髓性白血病 (AML) 的人源化抗CD33IgG抗体Smart MI95 (Protein Design Labs, Inc., CA); 用于治疗非何杰金氏淋巴瘤的人源化抗CD22IgG抗体LymphoCide (Immunomedics, Inc., NJ); 用于治疗非何杰金氏淋巴瘤的人源化抗HLA-DR抗体Smart ID10 (Protein Design Labs, Inc., CA); 用于治疗非何杰金氏淋巴瘤的经放射性标记的鼠类抗

HLA-Dr10抗体Oncolym (Techniclone, Inc., CA); 用于治疗何杰金氏病或非何杰金氏淋巴瘤的人源化抗CD2mAb Allomune (BioTransplant, CA); 用于治疗肺癌和结肠直肠癌的抗VEGF人源化抗体安维汀 (Genentech, Inc., CA); 用于治疗非何杰金氏淋巴瘤的抗CD22抗体依帕珠单抗 (Immunomedics, Inc., NJ和Amgen, CA); 和用于治疗结肠直肠癌的人源化抗CEA抗体CEAcide (Immunomedics, NJ)。

[0322] 可用于治疗癌症的其它抗体包括但不限于针对以下抗原的抗体(括号中指出了示例性癌症): CA125 (卵巢癌)、CA15-3 (癌瘤)、CA19-9 (癌瘤)、L6 (癌瘤)、Lewis Y (癌瘤)、Lewis X (癌瘤)、甲胎蛋白 (癌瘤)、CA 242 (结肠直肠癌)、胎盘碱性磷酸酶 (癌瘤)、前列腺特异性膜抗原 (前列腺癌)、前列腺酸性磷酸酶 (前列腺癌)、表皮生长因子 (癌瘤)、MAGE-1 (癌瘤)、MAGE-2 (癌瘤)、MAGE-3 (癌瘤)、MAGE-4 (癌瘤)、抗转铁蛋白受体 (癌瘤)、p97 (黑素瘤)、MUC1-KLH (乳腺癌)、CEA (结肠直肠癌)、gp100 (黑素瘤)、MART1 (黑素瘤)、前列腺特异性抗原 (PSA) (前列腺癌)、IL-2受体 (T细胞白血病和淋巴瘤)、CD20 (非何杰金氏淋巴瘤)、CD52 (白血病)、CD33 (白血病)、CD22 (淋巴瘤)、人绒毛膜促性腺激素 (癌瘤)、CD38 (多发性骨髓瘤)、CD40 (淋巴瘤)、粘蛋白 (癌瘤)、P21 (癌瘤)、MPG (黑素瘤) 和Neu致癌基因产物 (癌瘤)。一些特定可用抗体包括但不限于BR96mAb (Trail等, 1993, Science 261:212-215); BR64 (Trail等, 1997, Cancer Research 57:100-105); 针对CD40抗原的mAb, 诸如S2C6mAb (Francisco等, 2000, Cancer Res. 60:3225-3231) 以及其嵌合和人源化变异体、针对cD33抗原的mab; 针对EphA2抗原的mab; 针对CD70抗原的mAb, 诸如1F6mAb和2F2mAb以及其嵌合和人源化变异体; 和针对CD30抗原的mAb, 诸如AC10 (Bowen等, 1993, J. Immunol. 151:5896-5906; Wahl等, 2002, Cancer Res. 62 (13):3736-42) 以及其嵌合和人源化变异体。可以使用且已经回顾了结合肿瘤相关抗原的许多其它内在化抗体(参见例如Franke等, 2000, Cancer Biother. Radiopharm. 15:45976; Murray, 2000, Semin. Oncol. 27:6470; Breitling等, Recombinant Antibodies, John Wiley, and Sons, New York, 1998)。

[0323] 抗体还可以是结合靶细胞或靶细胞群体上所存在的抗原的抗体。举例来说, 与一种或多种正常(例如, 非癌细胞)细胞相比, 一个或多个特定类型的靶细胞(例如癌细胞)的表面上可以特异性表达跨膜多肽和其它标记物。通常, 这样的标记物与正常细胞的表面上的那些相比更丰富地表达于靶细胞表面上, 或展现更大的免疫原性。这样的细胞表面抗原多肽的鉴别使得能够特异性地靶向细胞以便经由基于抗体的疗法进行破坏。因而, 在一些实施方案中, 所述抗体包括但不限于针对肿瘤相关抗原(TAA)的抗体。这样的肿瘤相关抗原在本领域中是已知的, 并且可以使用本领域中熟知的方法和信息制备以用于产生抗体。

[0324] 还参见EP2552957、W0/2012/116453、W0/2012/032080。还参见Zybody™, <http://www.zyngenia.com/technology.html>。还参见仅有人类重链的抗体技术, <http://www.crescendobiologics.com/>。还参见W02010001251, 基于酵母的人类抗体基于酵母的平台<http://www.adimab.com/science-and-technology/technology-overview/>; mAbLogix™ 平台<http://www.dna.com/technology>; 单克隆发现平台<http://www.igenica.com/technology/>; W02009/157771; EP2560993; W02013004842; W02012166560。

[0325] 连接基部分(L)

[0326] 标的组合物任选地还包括连接基部分(L)。(L)是可用于连接(D)和(T)以形成缀合物组合物T-L-D的双官能化合物。这样的缀合物允许选择性递送药物至靶细胞(例如肿瘤细

胞)。(L)包括二价取代基,诸如烷基二基、芳基二基、杂芳基二基、诸如 $-(CR_2)_nO(CR_2)_n-$ 的部分、烷氧基重复单元(例如聚乙烯氧基、PEG、聚亚甲氧基)和烷基氨基重复单元(例如,聚乙烯氨基、Jeffamine<sup>TM</sup>);以及二酸酯和酰胺,包括琥珀酸酯、琥珀酰胺、二甘醇酸酯、丙二酸酯和己酰胺。

[0327] 可以使用具有反应性部位的(L)单元结合(D)和(T)来制备标的组合物。在一些实施方案中,(L)所具有的反应性部位具有对(T)上所存在的亲核基团具有反应性的亲电子基团。(T)上的可用亲核基团包括但不限于巯基、羟基和氨基。(T)的亲核基团的杂原子对(L)上的亲电子基团具有反应性且与(L)形成共价键。可用的亲电子基团包括但不限于马来酰亚胺基和卤代乙酰胺基。(T)上的亲核基团为连接于(L)提供了便利的部位。

[0328] 在另一个实施方案中,(L)所具有的反应性部位具有对(T)上所存在的亲电子基团具有反应性的亲核基团。(T)上的可用亲电子基团包括但不限于醛和酮羰基。(L)的亲核基团的杂原子可以与(T)上的亲电子基团反应且与(T)形成共价键。(L)上的可用亲核基团包括但不限于酰肼、肟、氨基、肼、硫半卡腓、肼羧酸酯和芳基酰肼。(T)上的亲电子基团为连接于(L)提供了便利的部位。

[0329] 羧酸官能团和氯甲酸酯官能团也是针对(L)的可用反应部位,因为它们可以与(D)的氨基反应以形成酰胺键联。还可用作反应部位的是(L)上的碳酸酯官能团,诸如但不限于对硝基苯基碳酸酯,其可以与(D)的氨基反应以形成氨基甲酸酯键联。

[0330] 应了解,现有技术中所教授的任何连接基部分且特别是针对用于药物递送情形下所教授的那些,可以用于本发明中。不限制先前叙述的范围,在一个实施方案中,(L)包含W0 2012/113847中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中,(L)包含U.S.8,288,352中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中,(L)包含U.S.5,028,697中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中,(L)包含U.S.5,006,652中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中,(L)包含U.S.5,094,849中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中,(L)包含U.S.5,053,394中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中,(L)包含U.S.5,122,368中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中,(L)包含U.S.5,387,578中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中,(L)包含U.S.5,547,667中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中,(L)包含U.S.5,622,929中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中,(L)包含U.S.5,708,146中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中,(L)包含U.S.6,468,522中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中,(L)包含U.S.6,103,236中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中,(L)包含U.S.6,638,509中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中,(L)包含U.S.6,214,345中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中,(L)包含U.S.6,759,509中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中,(L)包含W02007/103288中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中,(L)包含W0 2008/083312中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中,(L)包含W0 2003/068144中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中,(L)包含W0 2004/016801中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中,(L)包含W0 2009/134976中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中,(L)包含W0 2009/134952中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中,(L)包含W0 2009/134977中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中,(L)包含W0 2002/08180中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中,(L)包含W0 2004/043493中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中,(L)包含W0 2007/018431中所公开的

连接基部分。在另一个实施方案中, (L) 包含W0 2003/026577中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中, (L) 包含W0 2005/077090中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中, (L) 包含W0 2005/082023中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中, (L) 包含W0 2007/011968中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中, (L) 包含W02007/038658中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中, (L) 包含W0 2007/059404中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中, (L) 包含W0 2006/110476中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中, (L) 包含W0 2005/112919中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中, (L) 包含W0 2008/103693中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中, (L) 包含U.S. 6,756,037中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中, (L) 包含U.S. 7,087,229中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中, (L) 包含U.S. 7,122,189中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中, (L) 包含U.S. 7,332,164中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中, (L) 包含U.S. 5,556,623中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中, (L) 包含U.S. 5,643,573中所公开的连接基部分。在另一个实施方案中, (L) 包含U.S. 5,665,358中所公开的连接基部分。

[0331] 还可以使用包含自降解组分的连接基(L)。举例来说, 参见美国专利号6,214,345。自降解组分的一个实例是对氨基苯甲基胺甲酰基(PABC)。

[0332] 市售连接基可用于本发明中。举例来说, 如本文中所显示, 可以使用市售可裂解连接基6-[3'-(2-吡啶基二硫)-丙酰胺基]己酸磺酸基琥珀酰亚胺酯(磺酸基-LC-SPDP: Thermo Pierce目录号21650) 和非可裂解连接基4-[N-马来酰亚胺基甲基]环己烷-1-甲酸琥珀酰亚胺酯(SMCC:Thermo Pierce目录号22360)。

[0333] 还参见W02012171020、W02010138719、例如得自Concortis的市售连接基的范围<http://www.concortis.com/home>。还参见Kim等, BIOCONJUGATE CHEMISTRY, 21 (8):1513-1519 AUG 2010。还参见EP2326349。还参见无铜点击化学连接基, Angew. Chem. Int. Ed., 2010, 49, 第9422-9425页; ChemBioChem, 2011, 12, 第1309-1312页; <http://www.synaffix.com/technology/>。

#### [0334] 药物部分(D)

[0335] (D)是具有如本文中所描述的结构(I)、(Ia)或(Ib)的化合物。本领域技术人员应认识到, 可以适当地修饰具有结构(I)、(Ia)或(Ib)的化合物, 以促进与(L)的缀合反应, 或如果(L)不存在, 则促进与(T)的缀合反应, 和缀合物(T)-(L)-(D)或(T)-(D)的形成。可以使用(D)上的任何连接点。在一个实施方案中, (D)的C末端形成(T)-(L)-(D)缀合物中的连接点。在另一个实施方案中, (D)的N末端形成(T)-(L)-(D)缀合物中的连接点。在另一个实施方案中, (D)的侧链形成(T)-(L)-(D)缀合物中的连接点。

#### [0336] 包含微管破坏性肽毒素的新颖缀合物

[0337] 在本发明的一个实施方案中, 提供了缀合物, 其包含通过N末端氨基酸的侧链共价连接于所述缀合物中的微管破坏性肽毒素。在一个实施方案中, 所述微管破坏性肽毒素是哈密特林或其类似物, 且所述毒素通过所述毒素肽的N末端氨基酸的侧链内的吡啶部分共价连接于所述缀合物中。在另一个实施方案中, 所述微管破坏性肽毒素是HTI-286或其类似物, 且所述毒素通过所述毒素肽的N末端氨基酸的侧链内的苯基共价连接于所述缀合物中。在一个实施方案中, 所述微管破坏性肽毒素是如本文中所公开的具有结构(I)、(Ia)或(Ib)的化合物。



[0338] 标的组合物具有抗有丝分裂活性和以下结构:

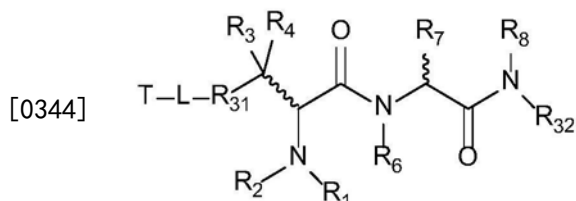
[0339] (T) - (L) - (PT)

[0340] (VII)

[0341] 其中(T)是如本文中所描述的靶向部分,(L)是如本文中所描述的可选的连接基,且(PT)是通过(PT)的N末端氨基酸的侧链共价连接于(L)的微管破坏性肽毒素,或如果(L)不存在,则(PT)通过(PT)的N末端氨基酸的侧链共价连接于(T)。

[0342] 在一个实施方案中,(T)是抗体。因此,在一个实施方案中,提供了抗体-药物缀合物(ADC),其包含通过N末端氨基酸的侧链连接于所述缀合物的微管破坏性肽毒素。

[0343] 在一个实施方案中,(T) - (L) - (PT)具有以下结构:



[0345] 其中,

[0346]  $R_1$ 和 $R_2$ 独立地选自:H和具有直链、分支链或非芳族环状骨架且含有一至十个碳原子的饱和或不饱和部分,且所述碳原子任选地经以下各项取代:-OH、-I、-Br、-Cl、-F、-CN、-CO<sub>2</sub>H、-CHO、-COSH或-NO<sub>2</sub>;

[0347]  $R_3$ 和 $R_4$ 独立地选自:H、R、ArR-,或 $R_3$ 与 $R_4$ 接合以形成环;

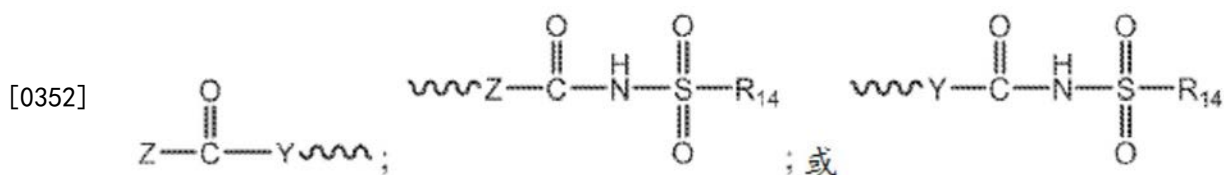
[0348]  $R_{31}$ 选自:H、R'、ArR-、Ar-R-Ar、R-Ar-Ar、Ar-Ar-R和Ar,其中各R和各Ar可以经取代,且零至十个杂原子可以置换所述链中的碳原子,举例来说,O或S或N可以并入所述碳链

中;在一个实施方案中,其中R'是 , 其中m是1至15的整数;

[0349]  $R_6$ 选自:H、R和ArR-;

[0350]  $R_7$ 和 $R_8$ 独立地选自:H、R和ArR-;且

[0351]  $R_{32}$ 选自:



[0353] 其中,

[0354] Z定义为选自以下各项的部分:-OH、-OR、-SH、-SR、-NH<sub>2</sub>、-NRCH(R<sub>11</sub>)COOH和-NHCH(R<sub>11</sub>)COOH,其中R<sub>11</sub>是具有下式的部分:R或-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>NR<sub>12</sub>R<sub>13</sub>,其中n=1至4且R<sub>12</sub>和R<sub>13</sub>独立地选自:H、R和-C(NH)(NH<sub>2</sub>),

[0355] Y定义为选自以下各项的部分:直链饱和或不饱和C<sub>1-6</sub>烷基,任选地经R、ArR-或X取代;并且,

[0356] X定义为选自以下各项的部分:-OH、-OR、=O、=S、-O<sub>2</sub>CR、-SH、-SR、-SOCR、-NH<sub>2</sub>、-NHR、-N(R)<sub>2</sub>、-NHCOR、-NRCOR、-I、-Br、-Cl、-F、-CN、-CO<sub>2</sub>H、-CO<sub>2</sub>R、-CHO、-COR、-CONH<sub>2</sub>、-CONHR、-CON(R)<sub>2</sub>、-COSH、-COSR、-NO<sub>2</sub>、-SO<sub>3</sub>H、-SOR和-SO<sub>2</sub>R;



[0357]  $R_{14}$ 选自任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基和任选地经取代的杂芳基、 $COR_{24}$ 、 $-CSR_{24}$ 、 $-OR_{24}$ 和 $-NHR_{24}$ ，其中各 $R_{24}$ 独立地为任选地经卤素、 $-OH$ 或 $-SH$ 取代的烷基；

[0358]  $R$ 定义为具有直链、分支链或非芳族环状骨架且含有一至十个碳原子、零至四个氮原子、零至四个氧原子和零至四个硫原子的饱和或不饱和部分，且所述碳原子任选地经以下各项取代： $=O$ 、 $=S$ 、 $OH$ 、 $-OR_{10}$ 、 $-O_2CR_{10}$ 、 $-SH$ 、 $-SR_{10}$ 、 $-SOCR_{10}$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR_{10}$ 、 $-N(R_{10})_2$ 、 $-NHCOR_{10}$ 、 $-NR_{10}COR_{10}$ 、 $-I$ 、 $-Br$ 、 $-Cl$ 、 $-F$ 、 $-CN$ 、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2R_{10}$ 、 $-CHO$ 、 $-COR_{10}$ 、 $-CONH_2$ 、 $-CONHR_{10}$ 、 $-CON(R_{10})_2$ 、 $-COSH$ 、 $-COSR_{10}$ 、 $-NO_2$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SOR_{10}$ 、 $-SO_2R_{10}$ ，其中 $R_{10}$ 为直链、分支链或环状 $C_{1-10}$ 饱和或不饱和烷基；

[0359] 由 $R_3$ 与 $R_4$ 接合形成的环是在 $R$ 的定义内的三至七元非芳族环状骨架，

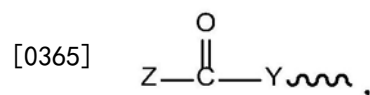
[0360]  $Y$ 定义为选自以下各项的部分：直链饱和或不饱和 $C_{1-6}$ 烷基，任选地经 $R$ 、 $ArR$ 或 $X$ 取代；并且，

[0361]  $X$ 定义为选自以下各项的部分： $-OH$ 、 $-OR$ 、 $=O$ 、 $=S$ 、 $-O_2CR$ 、 $-SH$ 、 $-SR$ 、 $-SOCR$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR$ 、 $-N(R)_2$ 、 $-NHCOR$ 、 $-NRCOR$ 、 $-I$ 、 $-Br$ 、 $-Cl$ 、 $-F$ 、 $-CN$ 、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2R$ 、 $-CHO$ 、 $-COR$ 、 $-CONH_2$ 、 $-CONHR$ 、 $-CON(R)_2$ 、 $-COSH$ 、 $-COSR$ 、 $-NO_2$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SOR$ 和 $-SO_2R$ ；

[0362] 或其立体异构体、前药或药学上可接受的盐。

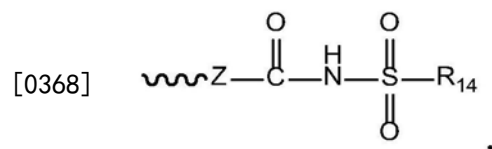
[0363] 在一个实施方案中， $Ar$ 是选自以下各项的芳环：苯基、萘基、蒽基、吡咯基。

[0364] 在一个实施方案中， $R_{32}$ 是：



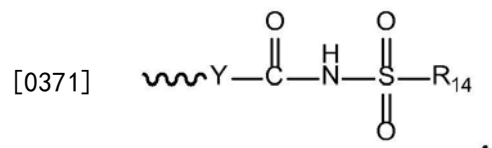
[0366] 其中 $Z$ 和 $Y$ 如以上所定义。

[0367] 在一个实施方案中， $R_{32}$ 是：



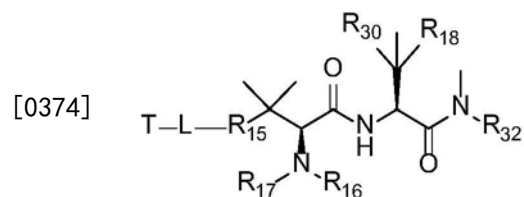
[0369] 其中 $Z$ 和 $R_{14}$ 如以上所定义。

[0370] 在一个实施方案中， $R_{32}$ 是：



[0372] 其中 $y$ 和 $R_{14}$ 如以上所定义。

[0373] 在另一个实施方案中， $(T)-(L)-(PT)$ 具有以下结构：



[0375] 其中，

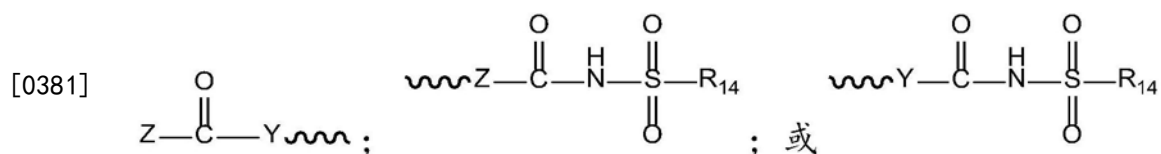
[0376]  $R_{15}$ 选自任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基和任选地经取代的杂芳基；

[0377]  $R_{16}$ 选自H和 $C_{1-6}$ 烷基；

[0378]  $R_{17}$ 选自H和 $C_{1-6}$ 烷基；

[0379]  $R_{18}$ 和 $R_{30}$ 独立地选自H、 $C_{1-6}$ 烷基和-SH,条件是 $R_{18}$ 和 $R_{30}$ 取代基不能都是H；

[0380]  $R_{32}$ 选自：



[0382] 其中，

[0383] Z定义为选自以下各项的部分： $-OH$ 、 $-OR$ 、 $-SH$ 、 $-SR$ 、 $-NH_2$ 、 $-NRCH(R_{11})COOH$ 和 $-NHCH(R_{11})COOH$ ，其中 $R_{11}$ 是具有下式的部分： $R$ 或 $-(CH_2)_nNR_{12}R_{13}$ ，其中 $n=1$ 至4且 $R_{12}$ 和 $R_{13}$ 独立地选自： $H$ 、 $R$ 和 $-C(NH)(NH_2)$ ，

[0384] R定义为具有直链、分支链或非芳族环状骨架且含有一至十个碳原子、零至四个氮原子、零至四个氧原子和零至四个硫原子的饱和或不饱和部分，且所述碳原子任选地经以下各项取代： $=O$ 、 $=S$ 、 $OH$ 、 $-OR_{10}$ 、 $-O_2CR_{10}$ 、 $-SH$ 、 $-SR_{10}$ 、 $-SO_2CR_{10}$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR_{10}$ 、 $-N(R_{10})_2$ 、 $-NHCOR_{10}$ 、 $-NR_{10}COR_{10}$ 、 $-I$ 、 $-Br$ 、 $-Cl$ 、 $-F$ 、 $-CN$ 、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2R_{10}$ 、 $-CHO$ 、 $-COR_{10}$ 、 $-CONH_2$ 、 $-CONHR_{10}$ 、 $-CON(R_{10})_2$ 、 $-COSH$ 、 $-COSR_{10}$ 、 $-NO_2$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SOR_{10}$ 、 $-SO_2R_{10}$ ，其中 $R_{10}$ 为直链、分支链或环状 $C_{1-10}$ 饱和或不饱和烷基；

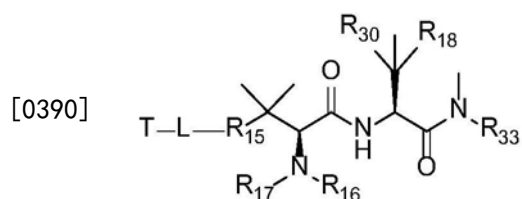
[0385] 由 $R_3$ 与 $R_4$ 接合形成的环是在R的定义内的三至七元非芳族环状骨架，

[0386] Y定义为选自以下各项的部分：直链饱和或不饱和 $C_{1-6}$ 烷基，任选地经R、ArR-或X取代；并且，

[0387] X定义为选自以下各项的部分： $-OH$ 、 $-OR$ 、 $=O$ 、 $=S$ 、 $-O_2CR$ 、 $-SH$ 、 $-SR$ 、 $-SO_2CR$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR$ 、 $-N(R)_2$ 、 $-NHCOR$ 、 $-NRCOR$ 、 $-I$ 、 $-Br$ 、 $-Cl$ 、 $-F$ 、 $-CN$ 、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2R$ 、 $-CHO$ 、 $-COR$ 、 $-CONH_2$ 、 $-CONHR$ 、 $-CON(R)_2$ 、 $-COSH$ 、 $-COSR$ 、 $-NO_2$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SOR$ 和 $-SO_2R$ ；

[0388] 或其立体异构体、前药或药学上可接受的盐。

[0389] 在另一个实施方案中，(T)-(L)-(PT)具有以下结构：



[0391] 其中，

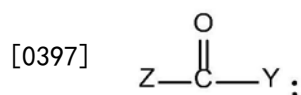
[0392]  $R_{15}$ 选自任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基和任选地经取代的杂芳基；

[0393]  $R_{16}$ 选自H和 $C_{1-6}$ 烷基；

[0394]  $R_{17}$ 选自H和 $C_{1-6}$ 烷基；

[0395]  $R_{18}$ 和 $R_{30}$ 独立地选自H、 $C_{1-6}$ 烷基和-SH,条件是 $R_{18}$ 和 $R_{30}$ 取代基不能都是H；

[0396]  $R_{33}$ 是：



[0398] 其中,

[0399] Z如以上所定义,

[0400] R定义为具有直链、分支链或非芳族环状骨架且含有一至十个碳原子、零至四个氮原子、零至四个氧原子和零至四个硫原子的饱和或不饱和部分,且所述碳原子任选地经以下各项取代: =O、=S、OH、-OR<sub>10</sub>、-O<sub>2</sub>CR<sub>10</sub>、-SH、-SR<sub>10</sub>、-SO<sub>2</sub>CR<sub>10</sub>、-NH<sub>2</sub>、-NHR<sub>10</sub>、-N(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>、-NHCOR<sub>10</sub>、-NR<sub>10</sub>COR<sub>10</sub>、-I、-Br、-Cl、-F、-CN、-CO<sub>2</sub>H、-CO<sub>2</sub>R<sub>10</sub>、-CHO、-COR<sub>10</sub>、-CONH<sub>2</sub>、-CONHR<sub>10</sub>、-CON(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>、-COSH、-COSR<sub>10</sub>、-NO<sub>2</sub>、-SO<sub>3</sub>H、-SOR<sub>10</sub>、-SO<sub>2</sub>R<sub>10</sub>, 其中R<sub>10</sub>为直链、分支链或环状C<sub>1-10</sub>饱和或不饱和烷基;

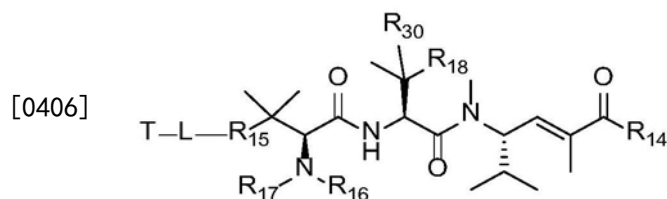
[0401] 由R<sub>3</sub>与R<sub>4</sub>接合形成的环是在R的定义内的三至七元非芳族环状骨架,

[0402] Y定义为选自以下各项的部分: 直链饱和或不饱和C<sub>1-6</sub>烷基, 任选地经R、ArR-或X取代; 并且,

[0403] X定义为选自以下各项的部分: -OH、-OR、=O、=S、-O<sub>2</sub>CR、-SH、-SR、-SO<sub>2</sub>CR、-NH<sub>2</sub>、-NHR、-N(R)<sub>2</sub>、-NHCOR、-NRCOR、-I、-Br、-Cl、-F、-CN、-CO<sub>2</sub>H、-CO<sub>2</sub>R、-CHO、-COR、-CONH<sub>2</sub>、-CONHR、-CON(R)<sub>2</sub>、-COSH、-COSR、-NO<sub>2</sub>、-SO<sub>3</sub>H、-SOR和-SO<sub>2</sub>R;

[0404] 或其立体异构体、前药或药学上可接受的盐。

[0405] 在另一个实施方案中, (T)-(L)-(PT) 具有以下结构:



[0407] 其中,

[0408] R<sub>14</sub>选自任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基、任选地经取代的杂芳基、-COR<sub>24</sub>、-CSR<sub>24</sub>、-OR<sub>24</sub>、-SR<sub>24</sub>和-NHR<sub>24</sub>, 其中各R<sub>24</sub>独立地为任选地经卤素、-OH或-SH取代的烷基;

[0409] R<sub>15</sub>选自任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基和任选地经取代的杂芳基;

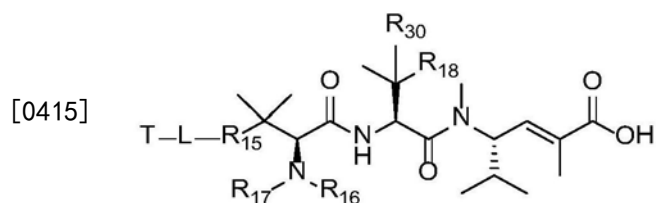
[0410] R<sub>16</sub>选自H和C<sub>1-6</sub>烷基;

[0411] R<sub>17</sub>选自H和C<sub>1-6</sub>烷基;

[0412] R<sub>18</sub>和R<sub>30</sub>独立地选自H、C<sub>1-6</sub>烷基和-SH, 条件是R<sub>18</sub>和R<sub>30</sub>取代基不能都是H;

[0413] 或其立体异构体、前药或药学上可接受的盐。

[0414] 在另一个实施方案中, (T)-(L)-(PT) 具有以下结构:



[0416] 其中,

[0417]  $R_{14}$ 选自任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基、任选地经取代的杂芳基、 $-\text{COR}_{24}$ 、 $-\text{CSR}_{24}$ 、 $-\text{OR}_{24}$ 、 $-\text{SR}_{24}$ 和 $-\text{NHR}_{24}$ ,其中各 $R_{24}$ 独立地为任选地经卤素、 $-\text{OH}$ 或 $-\text{SH}$ 取代的烷基;

[0418]  $R_{15}$ 选自任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基和任选地经取代的杂芳基;

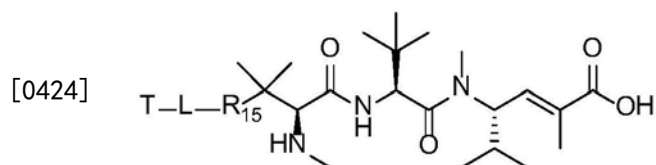
[0419]  $R_{16}$ 选自H和 $\text{C}_{1-6}$ 烷基;

[0420]  $R_{17}$ 选自H和 $\text{C}_{1-6}$ 烷基;

[0421]  $R_{18}$ 和 $R_{30}$ 独立地选自H、 $\text{C}_{1-6}$ 烷基和 $-\text{SH}$ ,条件是 $R_{18}$ 和 $R_{30}$ 取代基不能都是H;

[0422] 或其立体异构体、前药或药学上可接受的盐。

[0423] 在另一个实施方案中,(T)-(L)-(PT)具有以下结构:

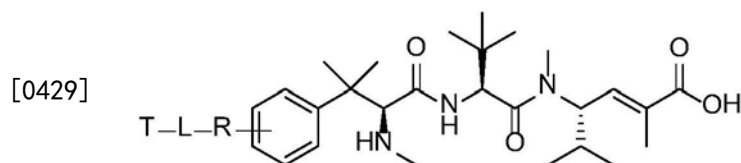


[0425] 其中,

[0426]  $R_{15}$ 选自任选地经取代的烷基、任选地经取代的烷基氨基、任选地经取代的环烷基、任选地经取代的芳基、任选地经取代的杂环基和任选地经取代的杂芳基;

[0427] 或其立体异构体、前药或药学上可接受的盐。

[0428] 在另一个实施方案中,(T)-(L)-(PT)具有以下结构:

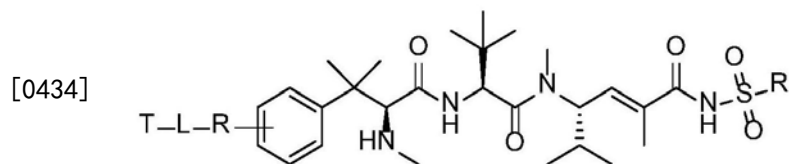


[0430] 其中,

[0431] R定义为具有直链、分支链或非芳族环状骨架且含有一至十个碳原子、零至四个氮原子、零至四个氧原子和零至四个硫原子的饱和或不饱和部分,且所述碳原子任选地经以下各项取代: $=\text{O}$ 、 $=\text{S}$ 、 $\text{OH}$ 、 $-\text{OR}_{10}$ 、 $-\text{O}_2\text{CR}_{10}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SR}_{10}$ 、 $-\text{SOCR}_{10}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHR}_{10}$ 、 $-\text{N}(\text{R}_{10})_2$ 、 $-\text{NHCOR}_{10}$ 、 $-\text{NR}_{10}\text{COR}_{10}$ 、 $-\text{I}$ 、 $-\text{Br}$ 、 $-\text{Cl}$ 、 $-\text{F}$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}_{10}$ 、 $-\text{CHO}$ 、 $-\text{COR}_{10}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{CONHR}_{10}$ 、 $-\text{CON}(\text{R}_{10})_2$ 、 $-\text{COSH}$ 、 $-\text{COSR}_{10}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{SOR}_{10}$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}_{10}$ ,其中 $R_{10}$ 为直链、分支链或环状 $\text{C}_{1-10}$ 饱和或不饱和烷基,

[0432] 或其立体异构体、前药或药学上可接受的盐。

[0433] 在另一个实施方案中,(T)-(L)-(PT)具有以下结构:



[0435] 其中,

[0436] R定义为具有直链、分支链或非芳族环状骨架且含有一至十个碳原子、零至四个氮

原子、零至四个氧原子和零至四个硫原子的饱和或不饱和部分,且所述碳原子任选地经以下各项取代: =O、=S、OH、-OR<sub>10</sub>、-O<sub>2</sub>CR<sub>10</sub>、-SH、-SR<sub>10</sub>、-SO<sub>2</sub>CR<sub>10</sub>、-NH<sub>2</sub>、-NHR<sub>10</sub>、-N(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>、-NHCOR<sub>10</sub>、-NR<sub>10</sub>COR<sub>10</sub>、-I、-Br、-Cl、-F、-CN、-CO<sub>2</sub>H、-CO<sub>2</sub>R<sub>10</sub>、-CHO、-COR<sub>10</sub>、-CONH<sub>2</sub>、-CONHR<sub>10</sub>、-CON(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>、-COSH、-COSR<sub>10</sub>、-NO<sub>2</sub>、-SO<sub>3</sub>H、-SOR<sub>10</sub>、-SO<sub>2</sub>R<sub>10</sub>,其中R<sub>10</sub>为直链、分支链或环状C<sub>1-10</sub>饱和或不饱和烷基,

[0437] 或其立体异构体、前药或药学上可接受的盐。

[0438] 在本发明的另一个实施方案中,(PT)是哈密特林类似物,诸如US 7,579,323中所公开的那些,该专利出于所有目的以全文引用的方式并入在此。

[0439] 在合成包含微管破坏性肽毒素的缀合物,包括ADC时,通过N末端氨基酸的侧链的肽键联保持若干个优点。如本文中所显示,此类肽毒素的侧链可服从有助于形成共价连接缀合物而无损于效力的化学修饰和操作。如本文中所显示,此类缀合物是能够递送肽毒素有效负荷的有效细胞毒性组合物。

#### [0440] 施用

[0441] 出于施用的目的,本发明化合物可以作为原始化学物质施用或可以配制为药物组合物。本发明的药物组合物包含具有结构(I)、(Ia)或(Ib)的化合物和药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。具有结构(I)、(Ia)或(Ib)的化合物以能有效治疗特定目标疾病或病状的量,例如,以足以治疗癌症或肿瘤细胞生长的量存在于组合物中且优选地对患者具有可接受的毒性。具有结构(I)、(Ia)或(Ib)的化合物的活性可以由本领域技术人员来测定,例如,如以下实施例中所描述。适当的浓度和剂量可以由本领域技术人员容易地决定。

[0442] 呈纯物质形式或呈适当药物组合物形式的本发明化合物或其药学上可接受的盐的施用可以经由发挥类似效用的药剂的任何已接受的施用模式来进行。本发明的药物组合物可以通过组合本发明化合物与适当的药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂来制备,且可以配制成固体、半固体、液体或气体形式的制剂,诸如片剂、胶囊剂、粉剂、颗粒剂、软膏、溶液、栓剂、注射剂、吸入剂、凝胶剂、微球体和气雾剂。施用此类药物组合物的典型途径包括而限于口服、局部、透皮、吸入、肠胃外、舌下、口腔、直肠、阴道和鼻内。如本文中所使用的术语肠胃外包括皮下注射、静脉内、肌肉内、胸骨内注射或输注技术。本发明的药物组合物经配制以允许其中所含的活性成分在所述组合物施用于患者后具有生物可利用性。将施用于受试者或患者的组合物呈一种或多种剂量单位形式,其中举例来说,片剂可以是单个剂量单位,且呈气雾剂形式的本发明化合物的容器可以容纳多个剂量单位。制备此类剂型的实际方法是已知的,或对于本领域技术人员显而易见;例如,参见Remington: The Science and Practice of Pharmacy,第20版(Philadelphia College of Pharmacy and Science,2000)。欲施用的组合物在任何情况下都将含有治疗有效量的本发明化合物或其药学上可接受的盐,以便根据本发明的教授内容治疗目标疾病或病状。

[0443] 本发明的药物组合物可以呈固体或液体形式。在一个方面中,载体是颗粒,使得所述组合物例如呈片剂或粉剂形式。载体可以是液体,从而所述组合物是例如口服糖浆、可注射液或可用于例如吸入施用的气雾剂。

[0444] 当意在用于口服施用时,本发明的药物组合物典型地呈固体或液体形式,其中半固体、半液体、悬浮液和凝胶形式包括在本文中视为固体或液体的形式内。

[0445] 作为用于口服施用的固体组合物,药物组合物可配制成粉剂、颗粒剂、压制片剂、

药丸、胶囊剂、咀嚼胶、压片或类似形式。此类固体组合物典型地将含有一种或多种惰性稀释剂或可食用载体。另外,可以存在以下各项中的一种或多种:粘合剂,诸如羧甲基纤维素、乙基纤维素、微晶纤维素、黄蓍树胶或明胶;赋形剂,诸如淀粉、乳糖或糊精;崩解剂,诸如海藻酸、海藻酸钠、Primogel、玉米淀粉等等;润滑剂,诸如硬脂酸镁或Sterotex;助流剂,诸如胶体二氧化硅;甜味剂,诸如蔗糖或糖精;调味剂,诸如薄荷油、水杨酸甲酯或橙香精;和着色剂。

[0446] 当所述药物组合物呈胶囊(例如,明胶胶囊)形式时,除以上类型的物质以外,它还可以含有液体载体,诸如聚乙二醇或油。

[0447] 本发明的药物组合物可以呈液体形式,例如酏剂、糖浆、溶液、乳液或悬浮液。作为两个实例,所述液体可以用于口服施用或用于通过注射递送。当意欲用于口服施用时,除本发明化合物以外,本发明的药物组合物典型地还含有甜味剂、防腐剂、染料/着色剂和风味增强剂中的一种或多种。在意欲通过注射施用的组合物中,可以包括表面活性剂、防腐剂、润湿剂、分散剂、悬浮剂、缓冲剂、稳定剂和等渗剂中的一种或多种。

[0448] 本发明的液体药物组合物,无论它们是溶液、悬浮液或其它类似形式,都可以包括以下佐剂中的一种或多种:无菌稀释剂,诸如注射用水、盐水溶液(优选生理盐水)、林格氏溶液、等渗氯化钠、可以充当溶剂或悬浮介质的不挥发油(诸如合成甘油单酯或甘油二酯)、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其它溶剂;抗菌剂,例如苯甲醇或对羟基苯甲酸甲酯;抗氧化剂,诸如抗坏血酸或亚硫酸氢钠;螯合剂,诸如乙二胺四乙酸;缓冲剂,诸如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐;以及张力调节剂,诸如氯化钠或葡萄糖。所述肠胃外制剂可以包装在安瓿、一次性注射器或由玻璃或塑料制成的多剂量管形瓶中。生理盐水是优选的佐剂。可注射药物组合物优选地是无菌的。

[0449] 意欲用于肠胃外或口服施用的本发明液体药物组合物应含有一定量的本发明化合物,使得将获得合适的剂量。

[0450] 本发明的药物组合物可能意在用于局部施用,在这种情况下,所述载体可以适当包含溶液、乳液、软膏或凝胶基质。所述基质例如可以包含以下各项中的一种或多种:矿脂、羊毛脂、聚乙二醇、蜂蜡、矿物油、稀释剂(诸如水和醇)以及乳化剂和稳定剂。增稠剂可以存在于用于局部施用的药物组合物中。如果意欲用于透皮施用,则所述组合物可以包括透皮贴剂或离子透入装置。

[0451] 本发明的药物组合物可能意在用于直肠施用,例如呈栓剂形式,所述栓剂将在直肠中熔融并释放药物。用于直肠施用的组合物可以含有油性基质作为合适的无刺激性赋形剂。这样的基质包括而限于羊毛脂、可可脂和聚乙二醇。

[0452] 本发明的药物组合物可以包括能改变固体或液体剂量单位的物理形式的各种物质。举例来说,所述组合物可以包括能在活性成分周围形成包覆壳体的物质。形成所述包覆壳体的物质典型地是惰性的,并且可以选自例如糖、虫胶和其它肠溶包衣剂。替代地,所述活性成分可以包装在明胶胶囊中。

[0453] 本发明的药物组合物可以制备成可作为气雾剂施用的剂量单位。术语气雾剂用于表示从胶体性系统到由加压包装组成的系统的各种系统。可以通过液化或压缩气体或者通过能分配活性成分的适合泵系统来递送。本发明化合物的气雾剂可以在单相、双相或三相系统中递送,以递送所述活性成分。所述气雾剂的递送包括必要的容器、激活器、阀门、子容

器等,这些可以共同形成试剂盒。本领域技术人员无需过度实验就可以确定优选的气雾剂。

[0454] 本发明的药物组合物可以通过制药领域内所熟知的方法来制备。举例来说,意欲通过注射施用的药物组合物可以通过将本发明化合物与无菌蒸馏水组合以形成溶液来制备。可以加入表面活性剂以促进形成均质溶液或悬浮液。表面活性剂是与本发明化合物非共价相互作用从而促进所述化合物溶解或均匀悬浮于水性递送系统中的化合物。

[0455] 本发明化合物或其药学上可接受的盐是以治疗有效量施用,所述量将取决于多种因素而变化,包括所采用的特定化合物的活性;所述化合物的代谢稳定性和作用时长;患者的年龄、体重、一般健康状况、性别和饮食;施用模式和时间;排泄速率;药物组合;特定病症或病状的严重程度;和进行治疗的受试者。

[0456] 本发明化合物或其药学上可接受的盐还可以在施用一种或多种其它治疗剂的同时、之前或之后施用。这样的组合疗法包括施用包含本发明化合物和一种或多种其它活性剂的单一药物剂量制剂,以及施用呈其自身单独药物剂量制剂形式的本发明化合物和各活性剂。举例来说,本发明化合物和另一种活性剂可以在诸如片剂或胶囊剂的单一口服剂量组合物中施用,或各药剂在单独口服剂量制剂中施用。在使用单独剂量制剂的情况下,本发明化合物和一种或多种其它活性剂可以基本上在同一时间(即,同时)施用,或在单独错开的时间(即,相继)给药;组合疗法应理解为包括所有这些方案。

[0457] 应理解,在本发明描述中,所描绘的式中的取代基和/或变量的组合只有在这样有助于产生稳定化合物时才是允许的。

[0458] 本领域技术人员应了解,在本文中所描述的合成方法中,中间化合物的官能团可能需要通过合适的保护基加以保护。这样的官能团包括羟基、氨基、巯基和羧酸。如以上所描述,适合于羟基的保护基包括三烷基甲硅烷基或二芳基烷基甲硅烷基(例如,叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基二苯基甲硅烷基或三甲基甲硅烷基)、四氢吡喃基、苯甲基等等,且适合于氨基、脒基和胍基的保护基包括叔丁氧基羰基、苯甲氧基羰基等等。适合于巯基的保护基包括-C(O)-R''(其中R''是烷基、芳基或芳基烷基)、对甲氧基苯甲基、三苯甲基等等。适合于羧酸的保护基包括烷基、芳基或芳基烷基酯。可以根据本领域技术人员已知的和如本文中所描述的标准技术添加或去除保护基。保护基的使用详细描述于Green, T.W. 和 P.G.M. Wutz, *Protective Groups in Organic Synthesis* (1999), 第3版, Wiley 中。如本领域技术人员应了解,保护基还可以是聚合树脂,诸如王氏树脂、Rink树脂或2-氯三苯甲基氯树脂。

[0459] 本领域技术人员还应了解,虽然本发明化合物的受保护衍生物可能不具有这样的药理学活性,但其可以施用于哺乳动物且此后在体内代谢以形成具有药理学活性的本发明化合物。这样的衍生物因此可以被描述为“前药”。本发明化合物的所有前药均包括在本发明的范围内。

[0460] 此外,以游离碱或游离酸形式存在的本发明化合物可以通过利用本领域技术人员已知的方法用适当的无机或有机碱或酸处理而转化成其药学上可接受的盐。本发明化合物的盐可以通过标准技术转化成其游离碱或游离酸形式。

[0461] 以下实施例说明制造本发明化合物,即,具有结构(I)、(Ia)、(Ib)、(VI)和(VII)的化合物的各种方法。应理解,本领域技术人员也许能够通过类似的方法或通过组合本领域技术人员已知的其它方法来制造这些化合物。还应理解,本领域技术人员将能够用与以下

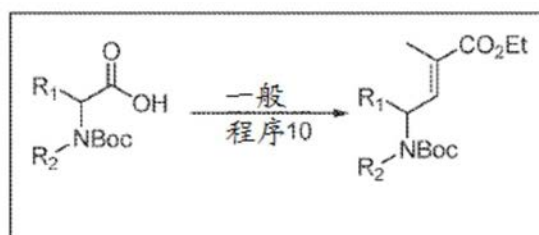
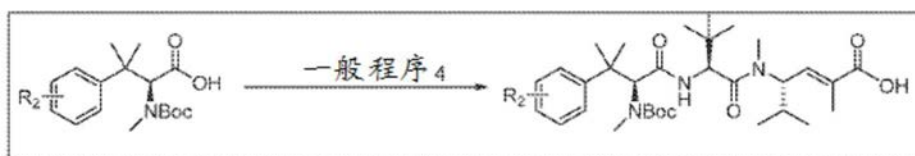
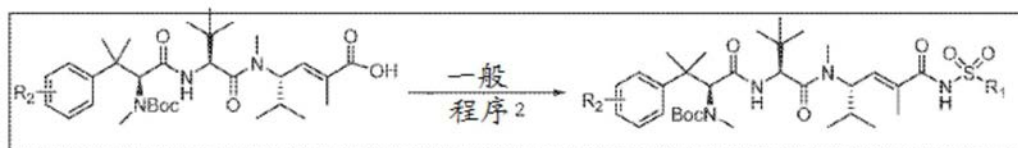
所描述类似的方式通过使用适当的起始组分和视需要修改合成参数来制造以下未明确以下说明的具有结构 (I)、(Ia)、(Ib)、(VI) 或 (VII) 的其它化合物。一般来说,起始组分可以获自诸多来源,诸如Sigma Aldrich、Lancaster Synthesis, Inc.、Maybridge、Matrix Scientific、TCI和Fluorochem USA等,或根据本领域技术人员已知的来源合成(参见例如Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 第5版 (Wiley, December 2000)) 或如本文中所描述进行制备。

[0462] 出于说明而非限制的目的提供以下实施例。

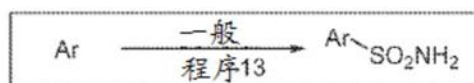
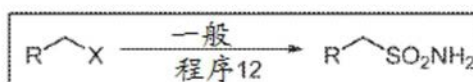
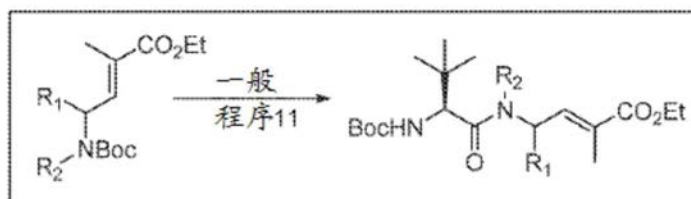
## 实施例

[0463] 一般合成流程

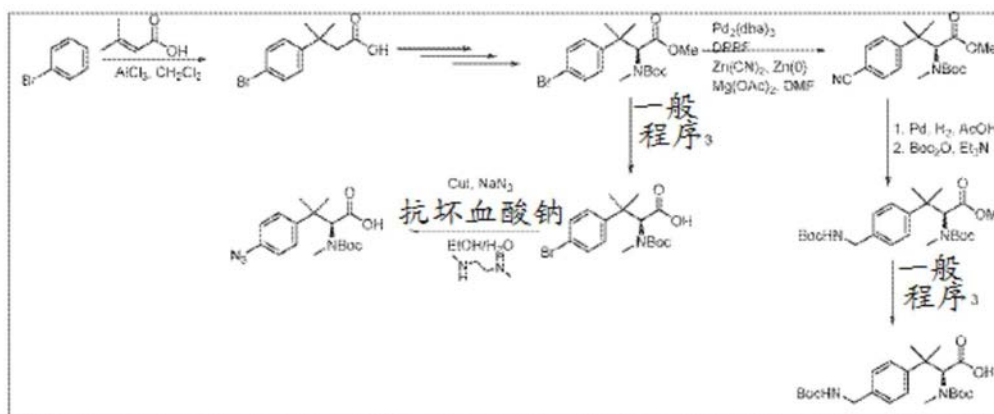
[0464] 一般流程



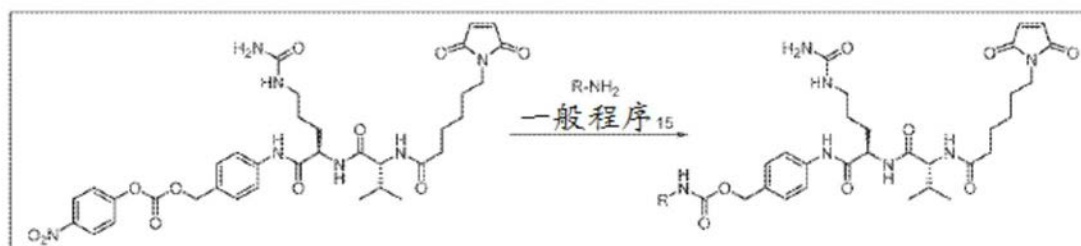
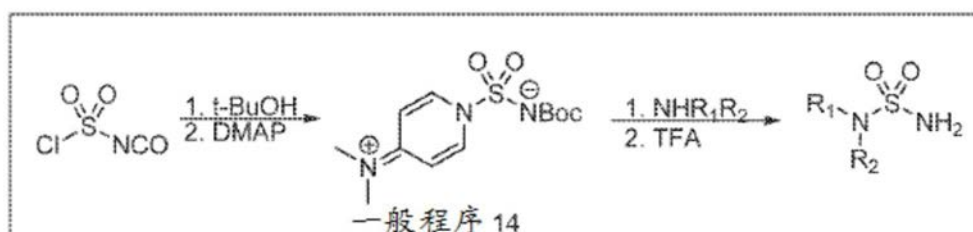
[0465]







[0466]



[0467] 一般程序1-三氟乙酰胺安装

[0468] 向胺于1,4-二噁烷中的搅拌悬浮液中加入三氟乙酸酐(1.1当量)。反应混合物从悬浮液过渡到溶液且再回到悬浮液。通过TLC和/或HPLC-MS监测反应进度完成。在起始物质完全消耗后,用己烷或乙醚稀释反应物,在布氏漏斗上过滤且在减压下干燥所得固体,得到纯三氟乙酰胺。

[0469] 一般程序2-DCC/DMAP介导的N-酰基磺酰胺形成

[0470] 向酸于二氯甲烷中的搅拌溶液中加入磺酰胺溶液(1.3当量,于二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺或其混合物中,根据需要)。加入二环己基碳化二亚胺(1.2当量),且随后加入N,N-二甲基氨基吡啶(1.2当量)。通过HPLC-MS监测反应过程(典型地16h),且可以通过加入乙醚使过量副产物沉淀。通过过滤去除固体且用1:1乙醚/二氯甲烷洗涤。浓缩所合并的有机层,且通过硅胶色谱法或任选地制备型HPLC纯化残余物,得到所需N-酰基磺酰胺。

[0471] 一般程序3-一般皂化

[0472] 向含有三氟乙酰胺或酯的结构于1,4-二噁烷或甲醇中的溶液中加入氢氧化锂(10当量)和水(10%v/v)。允许在室温下搅拌反应物或任选地加热至50℃。通过HPLC-MS监测反应过程。完毕后,在减压下去除挥发性物质,必要时对水层进行pH值调节且相继用二氯甲烷或乙酸乙酯洗涤。汇集有机相,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩。反应产物“依原样”使用或根据需

要通过硅胶色谱法加以纯化。

[0473] 一般程序4-HATU介导的肽键形成

[0474] 在0℃下向羧酸于最少量的二氯甲烷或N,N-二甲基甲酰胺或其混合物中的搅拌溶液中加入HATU(当量)和N,N-二异丙基乙胺(4当量)。继续搅拌短暂诱导期(5至20分钟),此时向反应中加入胺的二氯甲烷溶液。允许反应物升温至室温且通过HPLC-MS监测进度。完毕后,在减压下去除挥发性物质,且通过硅胶色谱法或逆相HPLC纯化残余物质,从而以足够的纯度提供酰胺。

[0475] 一般程序7-Boc基团去除

[0476] 向经Boc保护的结构于二氯甲烷中的溶液中加入10%v/v三氟乙酸。通过HPLC-MS监测反应过程。完毕后,在减压下去除所有挥发性物质。通过逆相HPLC、硅胶色谱法或从冷甲醇/二氯甲烷/乙醚混合物中沉淀来纯化残余物质。

[0477] 一般程序8-Pd催化的铃木交叉偶合

[0478] 在环境温度下,在N<sub>2</sub>下将芳基溴、芳基(或烯基)硼酸(1.5当量)、Pd(OAc)<sub>2</sub>(10mol%)、2-(二叔丁基膦基)联苯(20mol%)和K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>(3当量)于THF中的悬浮液搅拌16h(或50℃,2h)。用醚稀释所得棕色反应混合物且用1MNaOH(3×)洗涤。合并水性洗涤液且用醚(2×)萃取。合并有机物,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤,在真空中浓缩且经由硅胶柱色谱法(用MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>混合物洗提)进行纯化,得到交叉偶合产物。

[0479] 一般程序9-Cu催化的乌尔曼交叉偶合(甲氧基安装)

[0480] 在95℃下,在N<sub>2</sub>下将芳基溴、CuBr(20mol%)、NaOMe(20当量,4.9M于MeOH中)和EtOAc(1.5当量)的混合物搅拌16h。用H<sub>2</sub>O稀释所得混合物且倒入冷(0℃)搅拌1M柠檬酸中。搅拌10min之后,用EtOAc(4×)萃取混合物。合并有机物,用H<sub>2</sub>O(2×)和盐水(1×)洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并在真空中浓缩。产物不经过进一步纯化即用于下一步骤。

[0481] 一般程序10-插烯氨基酯合成

[0482] 将如Nieman J.A.等,J.Nat.Prod.2003,66,183-199所描述的温勒伯酰胺合成、还原和其随后烯化的程序不加修改即用于所需市售氨基酸。

[0483] 一般程序11-建立Boc-t-亮氨酸-(Me)-插烯氨基酸

[0484] 根据Nieman J.A.等,J.Nat.Prod.2003,66,183-199所描述的程序,在不加修改的情况下将插烯氨基酯脱保护且与Boc-t-亮氨酸偶合。

[0485] 一般程序12-由卤代烷形成磺酰胺

[0486] 向所需卤代烷于2:1H<sub>2</sub>O/EtOH中的悬浮液中加入亚硫酸钠(1.2当量)。将所得混合物加热至回流后维持6至24h。随后将反应物冷却至室温,在减压下去除溶剂以去除乙醇且使产物沉淀。过滤烷基磺酸钠,收集且在真空中干燥。随后使这些固体悬浮于二氯甲烷中且在搅拌下加入五氯化磷(2当量)。将所得悬浮液加热至回流后维持2h且允许冷却至室温。随后将反应物冷却至0℃且逐滴加入水以消耗过量五氯化磷。将混合物转移至分液漏斗且用盐水洗涤有机相,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩,得到所需磺酰氯。随后将如此得到的氯化物溶解于THF中且在0℃下逐滴加入浓氢氧化铵搅拌水溶液中。加入完毕后,在减压下浓缩反应物且用水和乙酸乙酯稀释。用盐水洗涤有机相,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩,得到纯度足以进一步使用的所需磺酰胺。

[0487] 一般程序13-从经取代的芳基化合物形成磺酰胺

[0488] 向经所需芳基取代的化合物于氯仿中的搅拌混合物中加入氯磺酸(4当量)。将反应物加热至70℃后维持1h且允许冷却至室温。加入亚硫酸氯(2当量)且再次将反应物加热至70℃后维持1h。在减压下浓缩反应容器中的内容物,得到油,随后溶解于两倍甲苯中且在减压下浓缩以去除残余的酸。将剩余物质溶解于THF中且在0℃下逐滴加入到搅拌浓氢氧化铵溶液中。加入完毕后,在减压下浓缩反应物且使残余物分配在乙酸乙酯与水之间。用盐水洗涤有机相,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩,得到纯度足以进一步使用的所需苯基磺酰胺。

[0489] 一般程序14-氨基磺酰胺形成

[0490] 用于产生所需氨基磺酰胺的程序是由Winum, J.-Y.等, Org Lett, 2001, 3 (14), 2241-2243改编而来

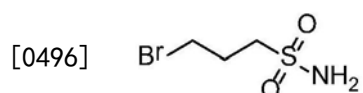
[0491] 一般程序15-MC-VC-PABC-毒素的制备

[0492] 将适当的中间物胺或苯胺溶解于DMF (~90mg/mL) 中, 且向其中加入1-羟基苯并三唑水合物(0.3当量), 随后依序加入如Firestone等, US6214345中所描述的获自市面的MC-VC-PABC-PNP(碳酸4-(R)-2-(R)-2-(6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苯甲酯4-硝基苯酯(1.3当量)和吡啶(25当量)。覆盖反应物以防止光照且在环境温度下搅拌24至48h。可以通过浓缩混合物且直接对粗产物进行快速色谱法, 或替代地, 可以用DMSO将其稀释至适当的体积且直接注入制备型HPLC上以得到纯MC-VC-PABC-R结构来纯化反应混合物。

[0493] 所有磺酰胺和氨基磺酰胺或以下程序中所使用的物质的前驱物是购自市面且必要时经过处理以使其适合使用。确切地说, 除非下文另外指出, 否则采用一般程序1、12、13和14来处理市售起始物质。本文中所公开的含有N-酰基磺酰胺的化合物的氨基磺酰胺类似物可以由本领域技术人员基于本文中的教授内容和本领域中的知识来合成且包括在本发明的范围内。

[0494] 代表性化合物

[0495] 实施例1



[0497] 3-溴丙烷-1-磺酰胺

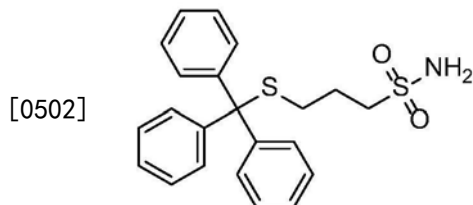
[0498] 向溴化钾(1.904g)于水(2.8mL)中的搅拌浆液中加入1,3-丙磺酸内酯。在搅拌下将反应物加热至60℃后维持1h且允许冷却至室温。在搅拌下加入乙醇(~45mL)且形成沉淀物。在布氏漏斗上过滤悬浮液且收集固体并在高真空中干燥过夜, 得到呈白色固体状的3-溴丙烷-1-磺酸钾(2.90g, 12.0mmol)。

[0499] 将以上固体加入配备有搅拌棒的圆底烧瓶中。以单次加料方式加入五氯化磷(3.22g, 1.3当量)且轻轻振荡烧瓶以混合固体。观察到形成气体且固体稍微熔融。向混合物中加入一滴水且观察到强烈气体逸出, 同时反应混合物更显著熔融。将烧瓶浸入70℃油浴中且处理熔融的混合物以试图使其尽可能均匀。加热10分钟之后, 允许烧瓶冷却至室温且装入冰(~60mL)和乙醚(~80mL)并剧烈搅拌。将双相混合物转移至分液漏斗, 用盐水洗涤有机层, 随后经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并浓缩至~25mL的总体积。将醚层加入100mL圆底烧瓶中, 加入搅拌棒且在冰浴中将烧瓶冷却至0℃。在强烈搅拌下加入氨(NH<sub>4</sub>OH, 28%水溶液, 5mL)且形成乳液。在乳液已经平息之后, 加入盐水(~20mL)和乙醚(~20mL)且将混合物转移至

分液漏斗。分离有机相,经MgSO<sub>4</sub>干燥并浓缩,得到呈浓糖浆状的标题化合物(0.782g),其静置时固化。

[0500] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ (ppm) = 2.24 (p, 2H, J=6.5Hz), 3.12 (t, 2H, J=6.5Hz), 3.66 (t, 2H, J=6.5Hz), 6.91 (s, 2H)。

#### [0501] 实施例2

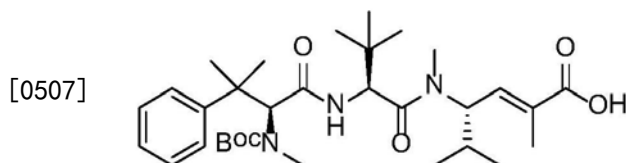


#### [0503] 3-(苯甲基硫)丙烷-1-磺酰胺

[0504] 在0℃下向三苯基甲硫醇(0.276g)于N,N-二甲基甲酰胺中的搅拌溶液中加入氢化钠(0.04g, 1当量)。在鼓泡停止之后,一次性加入呈固体状的3-溴丙烷-1-磺酰胺(0.100g, 0.5当量)且允许反应物升温至室温。通过HPLC-MS和TLC(40%EtOAc/己烷)监测反应进度。2h之后,用水(~0.5mL)淬灭反应物且在旋转蒸发器上在高真空下浓缩。使所得油分配在乙酸乙酯与盐水之间,转移至分液漏斗且用盐水洗涤有机相,经MgSO<sub>4</sub>干燥,浓缩并通过快速色谱法(5-50%EtOAc/己烷)进行纯化,得到呈白色结晶固体状的标题化合物(0.135g)。

[0505] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) = 1.77-1.85 (m, 2H), 2.35 (t, 2H, J=6.5Hz), 2.95-2.99 (t, 2H, J=6.5Hz), 7.22-7.33 (m, 9H), 7.40-7.45 (m, 6H)

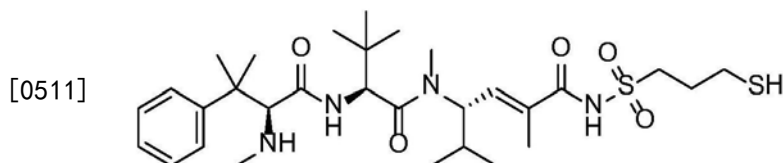
#### [0506] 实施例3



[0508] (6S, 9S, 12S, E)-9-叔丁基-12-异丙基-2,2,5,11,14-五甲基-4,7,10-三氧代-6-(2-苯基丙-2-基)-3-氧杂-5,8,11-三氮杂十五-13-烯-15-酸

[0509] 根据Nieman J.A.等, J.Nat.Prod.2003, 66, 183-199合成。

#### [0510] 实施例4



[0512] (S, E)-N-(3-巯基丙基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺(化合物A)

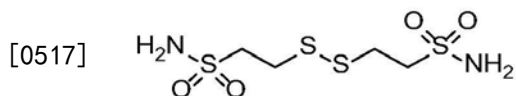
[0513] 根据一般程序2和7(包括三异丙基三甲硅烷(2当量))至程序9由实施例2和3合成实施例4。

[0514] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) = 0.88 (3H, d, J=6.2Hz), 0.94 (3H, d, J=6.2Hz), 1.08 (s, 9H), 1.40 (s, 3H), 1.48 (s, 3H), 1.94 (d, 3H, J=1.29Hz), 2.03-2.16 (m, 3H), 2.41 (s, 3H), 2.67 (t, 2H, J=9.76Hz), 3.16 (s, 3H), 3.46-3.50 (m, 2H), 4.08 (br s, 1H), 4.94 (s, 1H),

5.07 (t, 1H, J=10.0Hz), 6.59 (d, 1H, J=9.5Hz), 7.32-7.37 (m, 1H), 7.41-7.48 (m, 2H), 7.50-7.57 (m, 2H)。

[0515] 使用上述方法产生以下类似化合物。

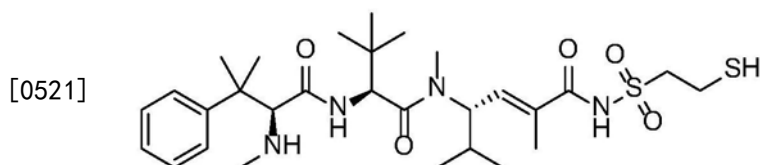
[0516] 实施例5



[0518] 2,2'-二硫烷二基二乙磺酰胺

[0519] 如Lemaire, H.和Rieger, M in J.Org.Chem., 1961, 1330-1331所描述进行合成。

[0520] 实施例6



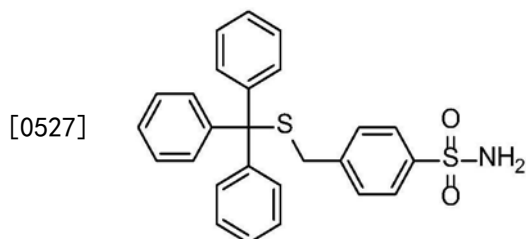
[0522] (S,E)-N-(2-巯基乙基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺 (化合物B)

[0523] 向(6S,9S,12S,E)-9-叔丁基-12-异丙基-2,2,5,11,14-五甲基-4,7,10-三氧代-6-(2-苯基丙-2-基)-3-氧杂-5,8,11-三氮杂十五-13-烯-15-酸(0.138g, 2.4当量)于二氯甲烷(4mL)中的溶液中加入2,2'-二硫烷二基二乙磺酰胺(0.028g)、二异丙基碳化二亚胺(0.044mL, 2.4当量)和N,N-二甲基吡啶(0.034g, 2.8当量)。继续搅拌16h, 此时TLC分析(含5%MeOH(含5%AcOH)的70/30CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/己烷)指示二硫烷二磺酰胺完全消耗。用己烷(~5mL)稀释反应物, 过滤以去除固体, 浓缩且通过快速色谱法纯化所得油。

[0524] 随后将经过色谱纯化的物质溶解于二氯甲烷(3mL)中, 加入搅拌棒, 随后是三氟乙酸(0.60mL)和三异丙基甲硅烷(0.20mL)。混合物立即变成黄色, 该颜色在5分钟内褪去且通过HPLC-MS监测所述物质向所需产物的转化。完全转化后, 将反应物浓缩至干燥且通过快速色谱法(含0-15%MeOH(含5%AcOH)的80/20CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/己烷)纯化残余物。HPLC-MS显示这种分离物是游离硫醇和二硫化物的混合物。

[0525] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) = 0.88 (3H, d, J=6.2Hz), 0.93 (3H, d, J=6.2Hz), 1.07 (s, 9H), 1.40 (s, 3H), 1.47 (s, 3H), 1.91-2.05 (m, 5H), 2.32 (s, 3H), 2.67 (t, 2H, J=9.76Hz), 3.07-3.18 (m, 5H), 3.52-3.59 (m, 2H), 3.85 (s, 1H), HH 4.08 (br s, 1H), 4.93 (s, 1H), 5.09 (t, 1H, J=10.0Hz), 6.76 (d, 1H, J=9.5Hz), 7.29-7.35 (m, 1H), 7.39-7.46 (m, 2H), 7.49-7.5s (m, 2H)。C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub>计算值[M+H]<sup>+</sup>=598.15amu; 实验值m/z=598.16。

[0526] 实施例7

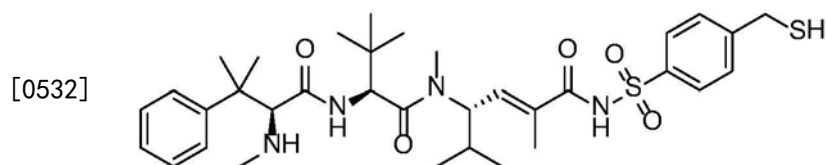


[0528] 4-(三苯甲基硫代甲基)苯磺酰胺

[0529] 在0℃下向三苯基甲硫醇(0.276g,2当量)于N,N-二甲基甲酰胺(3mL)中的搅拌溶液中加入氢化钠(在矿物油中的60%w/w分散液,0.04g,2当量)。当鼓泡停止时,一次性加入4-(溴甲基)苯磺酰胺(0.125g,1当量)且允许反应物升温至室温。HPLC-MS在20分钟时指示完全转化。用乙酸(~0.2mL)淬灭反应物,在真空中浓缩至干燥且随后使残余物分配在乙酸乙酯与盐水之间。分离有机层,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤,浓缩且通过快速色谱法(0-50%乙酸乙酯/己烷)进行纯化。将含有所需物质的级分浓缩至干燥,获得呈无色固体状的所需化合物(0.200g)。

[0530] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ (ppm) = 3.38 (s, 2H), 7.24-7.35 (m, 7H), 7.36-7.44 (m, 12H), 7.67-7.73 (m, 2H)

[0531] 实施例8

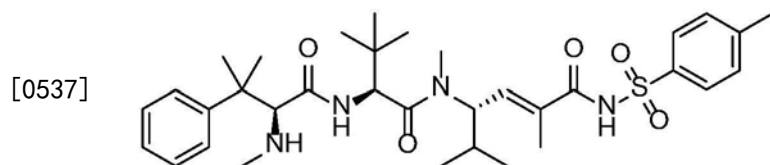


[0533] (S,E)-N-(4-(巯基甲基)苯基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺(化合物C)。

[0534] 根据一般程序2和7,由实施例3和7制备标题化合物。

[0535] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) = 0.88 (d, 3H, J=6.2Hz), 0.91 (d, 3H, J=6.2Hz), 1.06 (s, 9H), 1.38 (s, 3H), 1.47 (s, 3H), 1.86 (s, 3H), 1.99-2.05 (m, 1H), 2.41 (s, 3H), 2.67 (t, 2H, J=9.76Hz), 3.14 (s, 3H), 3.80 (s, 2H), HH 4.10 (br s, 1H), 4.93 (s, 1H), 5.00 (t, 1H, J=10.0Hz), 6.54 (d, 1H, J=9.5Hz), 7.30-7.51 (m, 5H), 7.52-7.58 (m, 2H), 7.90-7.97 (m, 2H)。C<sub>34</sub>H<sub>50</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub>计算值[M+H]<sup>+</sup>=659.25amu;实验值m/z=659.37。

[0536] 实施例9

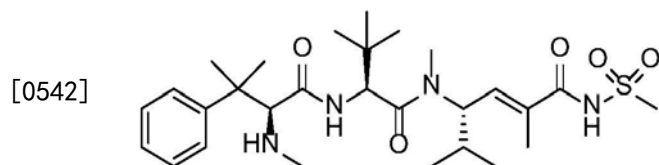


[0538] (S,E)-2,5-二甲基-N-甲苯磺酰基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺(化合物D)

[0539] 使用一般程序2和7,由实施例3和甲苯磺酰基磺酰胺制备标题化合物。

[0540] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm) = 0.88-0.94 (m, 6H), 1.06 (s, 9H), 1.35 (s, 3H), 1.45 (s, 3H), 1.86 (s, 3H), 2.02-2.11 (m, 1H), 2.44 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 3.17 (s, 3H), HH 4.35 (s, 1H), 4.89-4.99 (m, 2H), 6.48 (d, 1H, J=9.5Hz), 7.30-7.43 (m, 4H), 7.43-7.50 (m, 2H), 7.51-7.57 (m, 2H)。C<sub>34</sub>H<sub>50</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>S计算值[M+H]<sup>+</sup>=627.15amu;实验值m/z=627.31。

[0541] 实施例10

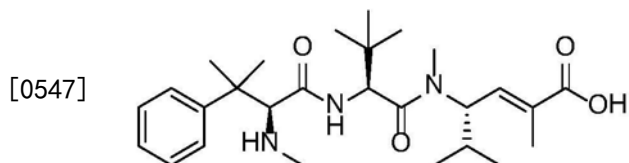


[0543] (S,E)-2,5-二甲基-N-(甲基磺酰基)-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺(化合物E)

[0544] 使用一般程序2和7,由实施例3和甲磺酰胺制备标题化合物。

[0545]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm) = 0.87-0.98 (3H (m, 6H), 1.09 (s, 9H), 1.40 (s, 3H), 1.49 (s, 3H), 1.97 (s, 3H), 2.03-2.13 (m, 1H), 2.52 (s, 3H), 2.67 (t, 2H,  $J=9.76\text{Hz}$ ), 3.18 (s, 3H), 3.31 (s, 3H), 4.38 (s, 1H), 4.94 (d, 1H,  $J=8.2\text{Hz}$ ), 5.07 (t, 1H,  $J=10.0\text{Hz}$ ), 6.54 (d, 1H,  $J=9.5\text{Hz}$ ), 7.30-7.40 (m, 1H), 7.40-7.51 (m, 2H), 7.51-7.59 (m, 2H)。  $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$  计算值  $[\text{M}+\text{H}]^+=551.30\text{amu}$ ; 实验值  $m/z=551.34$ 。

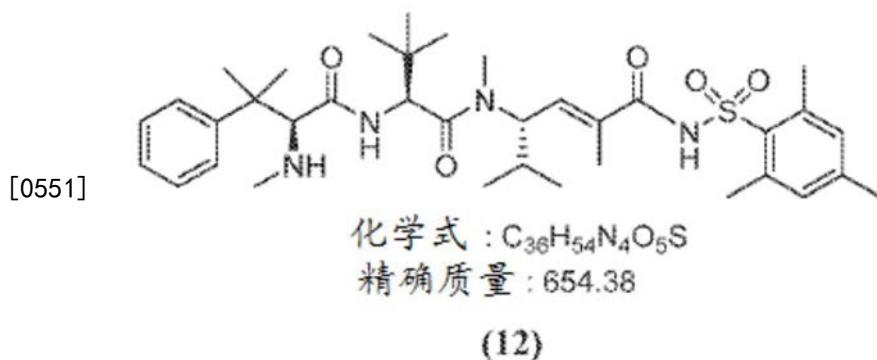
[0546] 实施例11



[0548] (S,E)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酸(化合物F)

[0549] 使用如Nieman等, J. Nat. Prod. 2003, 66, 183-199所描述的方法合成标题化合物。

[0550] 实施例12



[0552] (S,E)-N-(均三甲苯基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

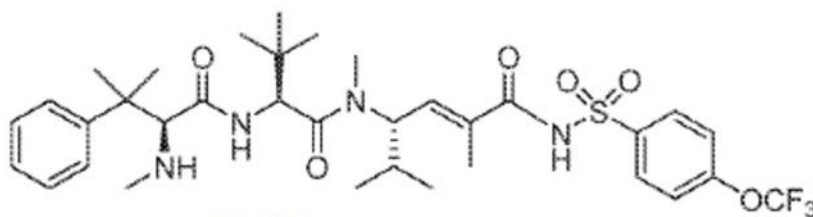
[0553] 使用一般程序2和7,由实施例3和均三甲苯基磺酰胺制备标题化合物。

[0554]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.60-7.55 (m, 2H), 7.47 (m, 2H), 7.37 (m, 1H), 7.03 (s, 2H), 6.50 (d,  $J=6\text{Hz}$ , 1H), 5.06-4.91 (m, 3H), 4.34 (s, 1H), 3.17 (s, 3H), 2.68 (s, 6H), 2.51 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 2.07 (m, 6.6Hz, 2H), 1.87 (s, 3H), 1.48 (s, 3H), 1.36 (s, 3H), 1.09-1.04 (m,  $J=16.8\text{Hz}$ , 10H), 0.92 (t,  $J=6.3\text{Hz}$ , 6H)。

[0555]  $\text{C}_{36}\text{H}_{54}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$  计算值  $m/z=654.38$ ; 实验值  $[\text{M}+\text{H}]^+=655.03$

[0556] 实施例13

[0557]

化学式: C<sub>34</sub>H<sub>47</sub>F<sub>3</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S

精确质量: 696.32

(13)

[0558] (S,E)-2,5-二甲基-N-(4-(三氟甲氧基)苯基磺酰基)-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

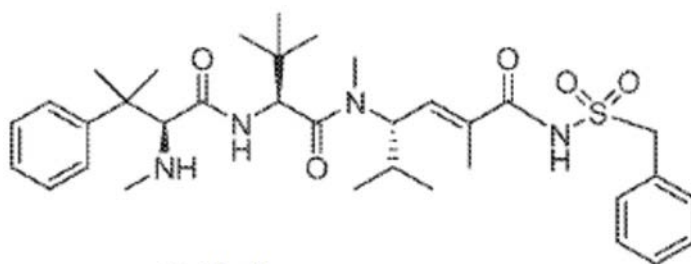
[0559] 使用一般程序2和7,由实施例3和4-三氟甲氧基苯基磺酰胺制备标题化合物。

[0560] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ 8.16 (dd, J=8.7, 1.4Hz, 1H), 7.69-7.28 (m, 4H), 6.52 (d, J=9.2Hz, 1H), 5.02-4.95 (m, 1H), 4.92 (s, 0H), 4.35 (s, 1H), 3.17 (s, 1H), 2.51 (s, 1H), 2.05 (ddd, J=15.9, 10.9, 3.7Hz, 1H), 1.87 (s, 1H), 1.47 (s, 1H), 1.36 (s, 1H), 1.07 (s, 4H), 0.91 (t, J=6.1Hz, 3H)。

[0561] C<sub>34</sub>H<sub>47</sub>F<sub>3</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S 计算值 m/z=696.32; 实验值 [M+H]<sup>+</sup>=697.26

[0562] 实施例14

[0563]

化学式: C<sub>34</sub>H<sub>50</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>S

精确质量: 626.35

(14)

[0564] (S,E)-N-(苯甲基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

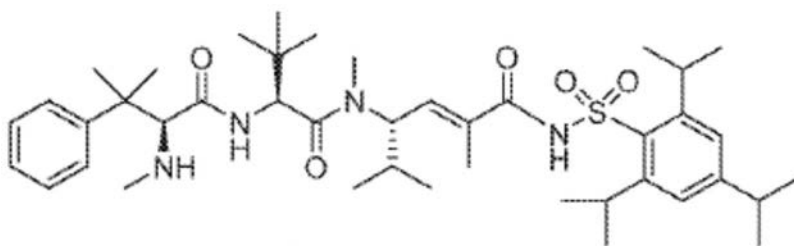
[0565] 使用一般程序2和7,由实施例3和苯甲基磺酰胺制备标题化合物。

[0566] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ 7.56 (d, J=7.9Hz, 2H), 7.47 (t, J=7.3Hz, 2H), 7.38 (brs, 6H), 6.39 (d, J=9.4Hz, 1H), 5.06 (t, J=10.0Hz, 1H), 4.93 (s, 1H), 4.75 (s, 2H), 4.36 (s, 1H), 3.13 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 2.06-1.95 (m, 4H), 1.48 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.09 (s, 9H), 0.90 (t, J=6.2Hz, 6H)。

[0567] C<sub>34</sub>H<sub>47</sub>F<sub>3</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S 计算值 m/z=626.35; 实验值 [M+H]<sup>+</sup>=626.99

[0568] 实施例15





[0569]

化学式:  $C_{42}H_{66}N_4O_5S$   
 精确质量: 738.48

(15)

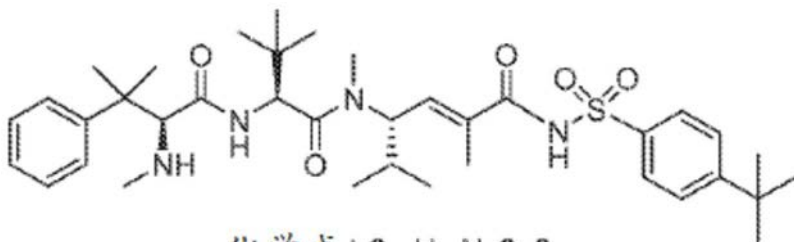
[0570] (S,E)-2,5-二甲基-N-(2,4,6-三异丙基苯基磺酰基)-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[0571] 使用一般程序2和7,由实施例3和2,4,6-三异丙基苯基磺酰胺制备标题化合物。

[0572]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.61-7.53 (m, 2H), 7.47 (t,  $J=7.8$ Hz, 2H), 7.41-7.33 (m, 1H), 7.27 (s, 2H), 6.50 (dd,  $J=9.6, 1.8$ Hz, 1H), 5.05 (t,  $J=10.0$ Hz, 1H), 4.92 (s, 1H), 4.43-4.26 (m, 3H), 3.16 (s, 3H), 2.94 (dd,  $J=14.3, 7.4$ Hz, 1H), 2.51 (s, 3H), 2.07-1.99 (m, 2H), 1.90 (d,  $J=1.4$ Hz, 3H), 1.48 (s, 4H), 1.39 (s, 3H), 1.33-1.22 (m, 18H), 1.11 (s, 2H), 1.06 (s, 9H), 0.91 (t,  $J=6.0$ Hz, 7H)。

[0573]  $C_{42}H_{66}N_4O_5S$  计算值  $m/z=738.48$ ; 实验值  $[M+H]^+=738.10$

[0574] 实施例16



[0575]

化学式:  $C_{37}H_{56}N_4O_5S$   
 精确质量: 668.40

(16)

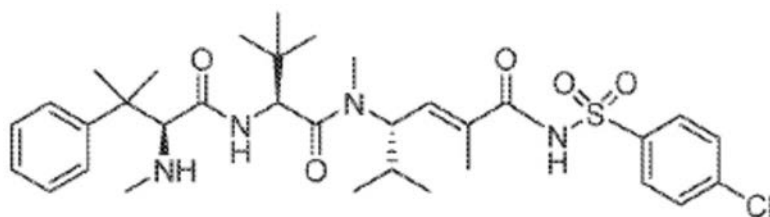
[0576] (S,E)-N-(4-叔丁基苯基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[0577] 使用一般程序2和7,由实施例3和4-叔丁基苯基磺酰胺制备标题化合物。

[0578]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.98 (d,  $J=8.6$ Hz, 2H), 7.64 (d,  $J=8.6$ Hz, 2H), 7.55 (d,  $J=7.9$ Hz, 2H), 7.47 (t,  $J=7.7$ Hz, 3H), 7.37 (t,  $J=7.1$ Hz, 1H), 6.48 (dd,  $J=9.6, 1.8$ Hz, 1H), 4.99 (t,  $J=10.0$ Hz, 1H), 4.92 (s, 1H), 4.35 (s, 1H), 3.16 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 1.87 (d,  $J=1.4$ Hz, 3H), 1.47 (s, 3H), 1.38 (s, 10H), 1.06 (s, 9H), 0.91 (t,  $J=6.2$ Hz, 7H)。

[0579]  $C_{42}H_{66}N_4O_5S$  计算值  $m/z=668.40$ ; 实验值  $[M+H]^+=669.28$

[0580] 实施例17



[0581]

化学式:  $C_{33}H_{47}ClN_4O_5S$ 

精确质量: 646.30

(17)

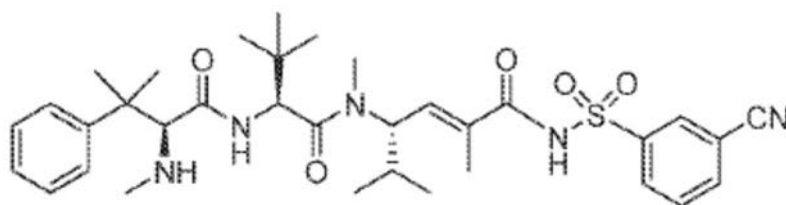
[0582] (S,E)-N-(4-氯苯基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[0583] 使用一般程序2和7,由实施例3和4-氯苯基磺酰胺制备标题化合物。

[0584]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  8.03 (d,  $J=8.7$ Hz, 2H), 7.60 (d,  $J=8.7$ Hz, 2H), 7.57-7.51 (m, 2H), 7.47 (dd,  $J=8.6, 6.9$ Hz, 2H), 7.42-7.32 (m, 1H), 6.50 (dd,  $J=9.2, 1.7$ Hz, 1H), 4.96 (dd,  $J=10.9, 9.1$ Hz, 2H), 4.92 (s, 1H), 4.35 (s, 1H), 3.17 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 2.14-2.03 (m, 1H), 2.01 (s, 1H), 1.87 (d,  $J=1.4$ Hz, 3H), 1.46 (s, 3H), 1.36 (s, 3H), 1.07 (s, 9H), 0.91 (dd,  $J=6.5, 4.6$ Hz, 7H)。

[0585]  $C_{33}H_{47}ClN_4O_5S$  计算值  $m/z=646.30$ ; 实验值  $[M+H]^+=647.20$

[0586] 实施例18



[0587]

化学式:  $C_{34}H_{47}N_5O_5S$ 

精确质量: 637.33

(18)

[0588] (S,E)-N-(3-氰基苯基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

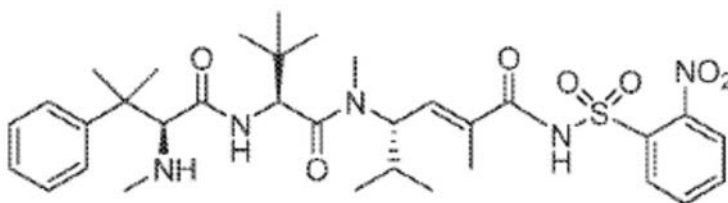
[0589] 使用一般程序2和7,由实施例3和3-氰基苯基磺酰胺制备标题化合物。

[0590]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  8.38 (s, 1H), 8.31 (dt,  $J=8.0, 1.5$ Hz, 1H), 8.02-7.92 (m, 1H), 7.75 (t,  $J=7.9$ Hz, 1H), 7.53 (d,  $J=1.2$ Hz, 1H), 7.48 (dd,  $J=8.6, 6.9$ Hz, 2H), 7.43-7.33 (m, 1H), 6.55 (dd,  $J=9.3, 1.7$ Hz, 1H), 4.93 (d,  $J=5.4$ Hz, 2H), 4.35 (s, 1H), 3.18 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 2.15-1.98 (m, 2H), 1.87 (d,  $J=1.4$ Hz, 3H), 1.45 (s, 3H), 1.32 (s, 3H), 1.07 (s, 9H), 0.92 (dd,  $J=6.6, 3.9$ Hz, 7H)。

[0591]  $C_{34}H_{47}N_5O_5S$  计算值  $m/z=637.33$ ; 实验值  $[M+H]^+=638.00$

[0592] 实施例19

[0593]

化学式:  $C_{33}H_{47}N_5O_7S$ 

精确质量: 657.32

(19)

[0594] (S,E)-2,5-二甲基-N-(2-硝基苯基磺酰基)-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

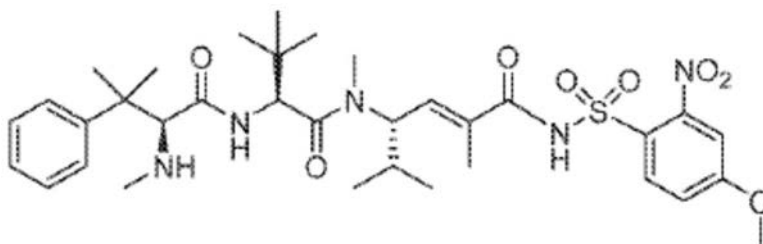
[0595] 使用一般程序2和7,由实施例3和2-硝基苯基磺酰胺制备标题化合物。

[0596]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  8.36-8.27 (m, 1H), 7.82 (dd,  $J=5.9, 3.8$ Hz, 3H), 7.61-7.51 (m, 2H), 7.47 (dd,  $J=8.6, 6.9$ Hz, 2H), 7.42-7.31 (m, 1H), 6.63 (dd,  $J=9.5, 1.7$ Hz, 1H), 5.03 (t,  $J=10.0$ Hz, 1H), 4.93 (s, 1H), 4.36 (s, 1H), 3.18 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 2.12-2.01 (m, 1H), 1.88 (d,  $J=1.4$ Hz, 3H), 1.48 (s, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.06 (s, 9H), 0.97-0.86 (m, 6H)。

[0597]  $C_{34}H_{47}N_5O_7S$  计算值  $m/z=657.32$ ; 实验值  $[M+H]^+=658.21$

[0598] 实施例20

[0599]

化学式:  $C_{34}H_{49}N_5O_8S$ 

精确质量: 687.33

(20)

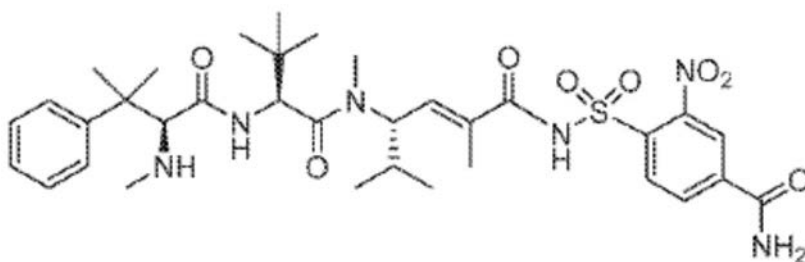
[0600] (S,E)-N-(4-甲氧基-2-硝基苯基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[0601] 使用一般程序2和7,由实施例3和2-硝基-4-甲氧基苯基磺酰胺制备标题化合物。

[0602]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  8.24 (d,  $J=8.9$ Hz, 1H), 7.59-7.51 (m, 2H), 7.47 (t,  $J=7.6$ Hz, 2H), 7.44-7.25 (m, 4H), 6.60 (dd,  $J=9.2, 1.7$ Hz, 1H), 5.03 (t,  $J=10.0$ Hz, 1H), 4.93 (s, 1H), 4.36 (s, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.18 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 2.13-2.02 (m, 1H), 1.89 (d,  $J=1.4$ Hz, 3H), 1.48 (s, 3H), 1.38 (s, 3H), 1.11 (s, 2H), 1.06 (s, 9H), 0.99-0.88 (m, 6H)。

[0603]  $C_{34}H_{49}N_5O_8S$  计算值  $m/z=687.33$ ; 实验值  $[M+H]^+=689.23$

[0604] 实施例21



[0605]

化学式:  $C_{34}H_{48}N_6O_8S$ 

精确质量: 700.33

(21)

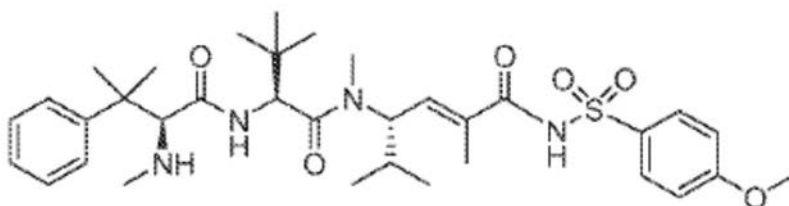
[0606] 4-(N-((S,E)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰基)氨磺酰基)-3-硝基苯甲酰胺

[0607] 使用一般程序2和7,由实施例3和3-硝基-4-氨磺酰基苯甲酰胺制备标题化合物。

[0608]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  8.35 (d,  $J=8.0$ Hz, 1H), 8.22 (d,  $J=8.0$ Hz, 2H), 7.59-7.51 (m, 2H), 7.47 (t,  $J=7.6$ Hz, 2H), 7.37 (t,  $J=7.3$ Hz, 1H), 6.70-6.57 (m, 1H), 5.04 (t,  $J=10.0$ Hz, 1H), 4.94 (s, 1H), 4.37 (s, 1H), 3.17 (s, 3H), 2.52 (s, 3H), 2.05 (ddd,  $J=10.3, 7.4, 5.5$ Hz, 1H), 1.87 (d,  $J=1.4$ Hz, 3H), 1.48 (s, 3H), 1.38 (s, 3H), 1.06 (s, 9H), 0.92 (dd,  $J=14.7, 6.8$ Hz, 6H)。

[0609]  $C_{34}H_{48}N_6O_8S$  计算值  $m/z=700.33$ ; 实验值  $[M+H]^+=701.28$

[0610] 实施例22



[0611]

化学式:  $C_{34}H_{50}N_4O_6S$ 

精确质量: 642.35

(22)

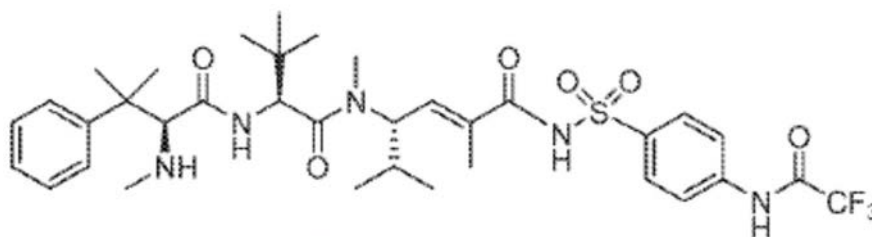
[0612] (S,E)-N-(4-甲氧基苯基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[0613] 使用一般程序2和7,由实施例3和4-甲氧基苯基磺酰胺制备标题化合物。

[0614]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.97 (d,  $J=9.0$ Hz, 2H), 7.54 (d,  $J=7.5$ Hz, 2H), 7.46 (t,  $J=7.6$ Hz, 2H), 7.36 (t,  $J=7.2$ Hz, 1H), 7.06 (d,  $J=9.0$ Hz, 2H), 6.48 (dd,  $J=9.3, 1.9$ Hz, 1H), 4.97 (t,  $J=9.9$ Hz, 1H), 4.92 (s, 1H), 4.22 (s, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.15 (s, 3H), 2.46 (s, 3H), 2.10-1.99 (m, 2H), 1.86 (d,  $J=1.4$ Hz, 3H), 1.46 (s, 3H), 1.36 (s, 3H), 1.06 (s, 9H), 0.94-0.84 (m, 6H)。

[0615]  $C_{34}H_{50}N_4O_6S$  计算值  $m/z=642.35$ ; 实验值  $[M+H]^+=643.31$

[0616] 实施例23



[0617]

化学式:  $C_{35}H_{48}F_3N_5O_6S$   
 精确质量: 723.33

(23)

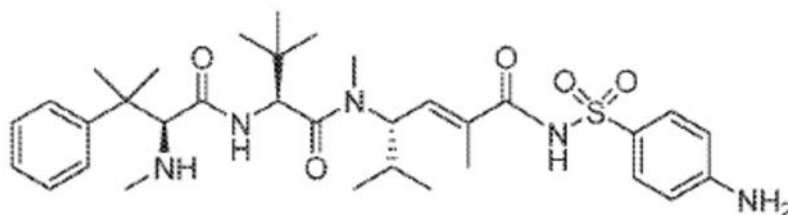
[0618] (S,E)-2,5-二甲基-N-(4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基磺酰基)-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[0619] 使用一般程序2和7,由实施例3和2,2,2-三氟-N-(4-氨磺酰基苯基)乙酰胺制备标题化合物。

[0620]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  8.06 (d,  $J=8.9$ Hz, 2H), 7.88 (d,  $J=8.9$ Hz, 2H), 7.52 (d,  $J=7.1$ Hz, 2H), 7.49-7.40 (m, 3H), 7.35 (dd,  $J=8.1, 6.1$ Hz, 1H), 6.47 (dd,  $J=9.2, 1.8$ Hz, 1H), 4.33 (s, 1H), 3.15 (s, 3H), 2.48 (s, 3H), 2.13-1.96 (m, 2H), 1.85 (d,  $J=1.4$ Hz, 3H), 1.43 (s, 3H), 1.33 (s, 3H), 1.04 (s, 9H), 0.89 (dd,  $J=6.8, 4.7$ Hz, 6H)。

[0621]  $C_{35}H_{48}F_3N_5O_6S$  计算值  $m/z=723.33$ ; 实验值  $[M+H]^+=724.08$

[0622] 实施例24



[0623]

化学式:  $C_{33}H_{49}N_5O_5S$   
 精确质量: 627.35

(24)

[0624] (S,E)-N-(4-氨基苯基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

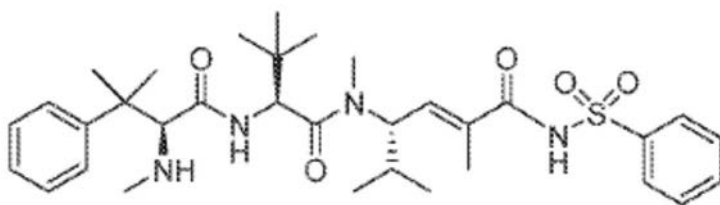
[0625] 使用一般程序2、3和7,由实施例3和2,2,2-三氟-N-(4-氨磺酰基苯基)乙酰胺制备标题化合物。

[0626]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.71 (d,  $J=8.8$ Hz, 2H), 7.55 (d,  $J=7.6$ Hz, 2H), 7.47 (d,  $J=6.9$ Hz, 2H), 7.37 (t,  $J=6.8$ Hz, 1H), 6.67 (d,  $J=8.8$ Hz, 2H), 6.44 (dd,  $J=9.2, 1.6$ Hz, 1H), 4.97 (t,  $J=9.7$ Hz, 1H), 4.92 (s, 1H), 4.36 (s, 1H), 3.16 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 2.16-2.00 (m, 1H), 1.87 (d,  $J=1.4$ Hz, 3H), 1.46 (s, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.07 (s, 9H), 0.92 (d,  $J=6.4$ Hz, 3H), 0.91 (d,  $J=6.3$ Hz, 3H)。

[0627]  $C_{33}H_{49}N_5O_5S$  计算值  $m/z=627.35$ ; 实验值  $[M+H]^+=628.35$

[0628] 实施例25

[0629]

化学式:  $C_{33}H_{48}N_4O_5S$ 

精确质量: 612.33

(25)

[0630] (S,E)-2,5-二甲基-N-(苯基磺酰基)-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

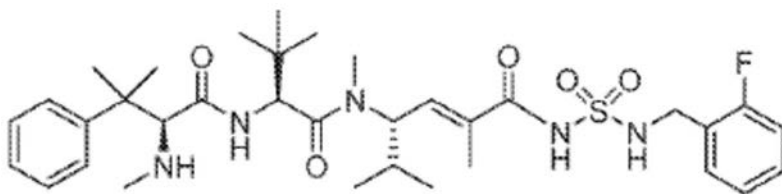
[0631] 使用一般程序2和7,由实施例3和苯基磺酰胺制备标题化合物。

[0632]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  8.06-7.95 (m, 2H), 7.63-7.40 (m, 8H), 7.40-7.30 (m, 1H), 6.53 (dd,  $J=9.3, 1.6$ Hz, 1H), 5.05-4.95 (m, 1H), 4.22 (s, 1H), 3.14 (s, 3H), 2.45 (s, 3H), 2.09-1.95 (m, 1H), 1.85 (d,  $J=1.4$ Hz, 3H), 1.46 (s, 3H), 1.36 (s, 3H), 1.06 (s, 9H), 0.89 (dd,  $J=11.9, 6.5$ Hz, 7H)。

[0633]  $C_{33}H_{48}N_4O_5S$ 计算值 $m/z=612.33$ ;实验值 $[M+H]^+=613.06$

[0634] 实施例26

[0635]

化学式:  $C_{34}H_{50}FN_5O_5S$ 

精确质量: 659.35

(26)

[0636] (S,E)-N-(N-(2-氟苯甲基)氨基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[0637] 根据一般程序14,由2-氟苯甲胺制备2-氟苯甲基氨基磺酰胺;使用一般程序2和7,由实施例3和2-氟苯甲基氨基磺酰胺制备标题化合物。

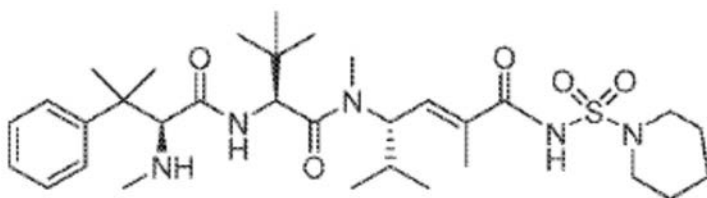
[0638]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.63-7.41 (m, 6H), 7.41-7.26 (m, 3H), 7.14 (td,  $J=7.5, 1.2$ Hz, 1H), 7.07 (ddd,  $J=9.5, 8.2, 1.1$ Hz, 1H), 6.37 (dd,  $J=9.4, 1.7$ Hz, 1H), 5.07-4.97 (m, 1H), 4.37 (s, 1H), 4.33 (s, 2H), 3.15 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 2.10-1.97 (m, 1H), 1.83 (d,  $J=1.4$ Hz, 3H), 1.49 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.09 (s, 9H), 0.97-0.84 (m, 6H)。

[0639]  $C_{34}H_{50}FN_5O_5S$ 计算值 $m/z=659.35$ ;实验值 $[M+H]^+=660.28$

[0640] 实施例27



[0641]

化学式:  $C_{32}H_{53}N_5O_5S$ 

精确质量: 619.38

(27)

[0642] (S,E)-2,5-二甲基-N-(哌啶-1-基磺酰基)-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

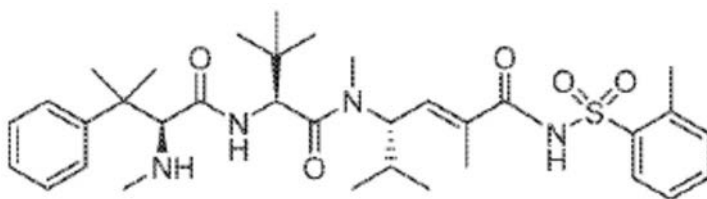
[0643] 根据一般程序14,由哌啶合成哌啶-1-磺酰胺;使用一般程序2和7,由实施例3和哌啶-1-磺酰胺制备标题化合物。

[0644]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.55 (d,  $J=1.2$ Hz, 1H), 7.47 (t,  $J=7.6$ Hz, 3H), 7.42-7.29 (m, 1H), 6.48 (dd,  $J=9.7, 1.8$ Hz, 1H), 5.05 (t,  $J=10.0$ Hz, 1H), 4.39 (s, 1H), 3.18 (s, 3H), 2.52 (s, 3H), 2.07 (d,  $J=10.5$ Hz, 1H), 1.96 (d,  $J=1.4$ Hz, 3H), 1.61 (ddd,  $J=20.0, 10.3, 5.4$ Hz, 9H), 1.49 (s, 4H), 1.39 (s, 3H), 1.09 (s, 9H), 0.99-0.84 (m, 9H)。

[0645]  $C_{32}H_{53}N_5O_5S$  计算值  $m/z=619.38$ ; 实验值  $[M+H]^+=620.38$

[0646] 实施例28

[0647]

化学式:  $C_{34}H_{50}N_4O_5S$ 

精确质量: 626.35

(28)

[0648] (S,E)-2,5-二甲基-N-(邻甲苯基磺酰基)-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

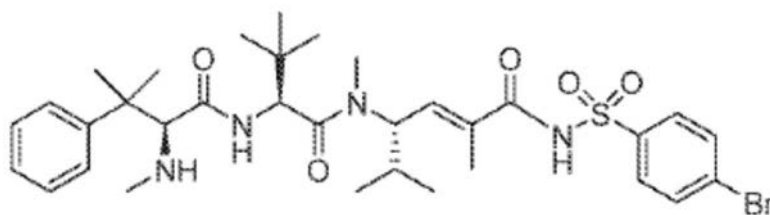
[0649] 使用一般程序2和7,由实施例3和2-甲苯磺酰胺制备标题化合物。

[0650]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  8.10 (dd,  $J=8.0, 1.4$ Hz, 1H), 7.60-7.33 (m, 11H), 6.52 (dd,  $J=9.6, 1.7$ Hz, 1H), 5.04-4.90 (m, 2H), 4.35 (s, 1H), 3.18 (s, 3H), 2.67 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 2.15-2.03 (m, 2H), 2.01 (s, 1H), 1.87 (d,  $J=1.4$ Hz, 3H), 1.46 (s, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.07 (s, 9H), 0.92 (t,  $J=6.3$ Hz, 6H)。

[0651]  $C_{34}H_{50}N_4O_5S$  计算值  $m/z=626.35$ ; 实验值  $[M+H]^+=627.05$

[0652] 实施例29

[0653]

化学式:  $C_{33}H_{47}BrN_4O_5S$ 

精确质量: 690.25

(29)

[0654] (S,E)-N-(4-溴苯基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

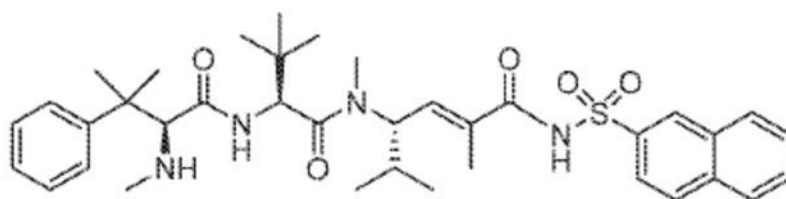
[0655] 使用一般程序2和7,由实施例3和4-溴苯基磺酰胺制备标题化合物。

[0656]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.95 (d,  $J=8.3$ Hz, 2H), 7.76 (d,  $J=8.0$ Hz, 2H), 7.55 (d,  $J=7.5$ Hz, 2H), 7.47 (dd,  $J=8.6, 6.9$ Hz, 2H), 7.41-7.29 (m, 1H), 6.51 (d,  $J=9.0$ Hz, 1H), 4.35 (s, 1H), 3.16 (s, 3H), 2.50 (s, 3H), 2.06 (dt,  $J=10.7, 6.3$ Hz, 1H), 1.87 (s, 3H), 1.46 (s, 3H), 1.36 (s, 3H), 1.07 (s, 9H), 0.91 (dd,  $J=6.9, 4.9$ Hz, 8H)。

[0657]  $C_{33}H_{47}BrN_4O_5S$  计算值  $m/z=690.25$ ; 实验值  $[M+H]^+=691.17, 693.18$

[0658] 实施例30

[0659]

化学式:  $C_{37}H_{50}N_4O_5S$ 

精确质量: 662.35

(30)

[0660] (S,E)-2,5-二甲基-N-(萘-2-基磺酰基)-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

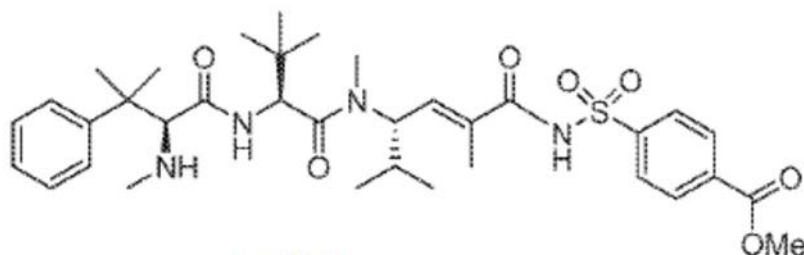
[0661] 使用一般程序2和7,由实施例3和2-萘基磺酰胺制备标题化合物。

[0662]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  8.69-8.62 (m, 1H), 8.47 (d,  $J=8.2$ Hz, 1H), 8.14-7.95 (m, 5H), 7.71 (dddd,  $J=18.4, 8.2, 6.9, 1.4$ Hz, 2H), 7.57-7.50 (m, 2H), 7.46 (dd,  $J=8.6, 6.9$ Hz, 2H), 7.42-7.33 (m, 1H), 6.50 (dd,  $J=9.3, 1.5$ Hz, 1H), 4.92-4.87 (m, 1H), 4.34 (s, 1H), 3.16 (s, 3H), 2.50 (s, 3H), 2.13-1.99 (m, 1H), 1.85 (d,  $J=1.4$ Hz, 3H), 1.44 (s, 3H), 1.34 (s, 3H), 1.04 (s, 9H), 0.90 (dd,  $J=6.6, 4.0$ Hz, 6H)。

[0663]  $C_{37}H_{50}N_4O_5S$  计算值  $m/z=662.35$ ; 实验值  $[M+H]^+=663.32$

[0664] 实施例31





化学式:  $C_{35}H_{50}N_4O_7S$   
精确质量: 670.34

(31)

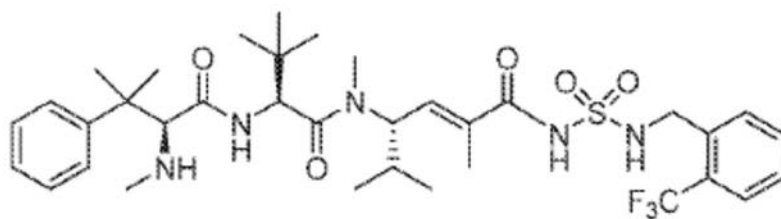
[0666] 4-(N-((S,E)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰基)氨磺酰基)苯甲酸甲酯

[0667] 使用一般程序2和7,由实施例3和4-羧甲基苯基磺酰胺制备标题化合物。

[0668]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  8.24-8.10 (m, 4H), 7.58-7.50 (m, 2H), 7.47 (dd,  $J$  = 8.6, 6.9Hz, 2H), 7.41-7.33 (m, 1H), 6.52 (dd,  $J$  = 9.2, 1.6Hz, 1H), 4.35 (s, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.18 (s, 3H), 2.50 (s, 3H), 2.15-2.00 (m, 1H), 1.86 (d,  $J$  = 1.4Hz, 3H), 1.45 (s, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.07 (s, 9H), 0.91 (dd,  $J$  = 6.7, 3.8Hz, 6H)。

[0669]  $C_{35}H_{50}N_4O_7S$  计算值  $m/z$  = 670.34; 实验值  $[M+H]^+$  = 671.10

[0670] 实施例32



化学式:  $C_{35}H_{50}F_3N_5O_5S$   
精确质量: 709.35

(32)

[0672] (S,E)-2,5-二甲基-N-(N-(2-(三氟甲基)苯基)氨磺酰基)-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

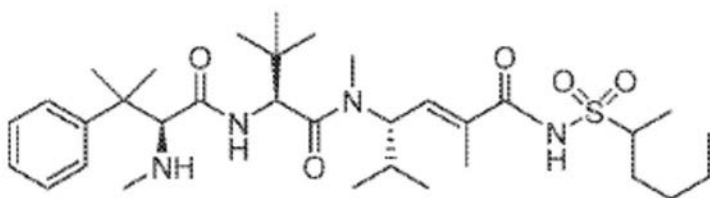
[0673] 使用一般程序2和7,由实施例3和2-三氟甲基苯基磺酰胺制备标题化合物。

[0674]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.78 (d,  $J$  = 7.9Hz, 1H), 7.74-7.67 (m, 1H), 7.64 (dd,  $J$  = 8.1, 6.7Hz, 1H), 7.60-7.52 (m, 2H), 7.48 (dd,  $J$  = 8.5, 6.8Hz, 4H), 7.42-7.33 (m, 1H), 6.48-6.40 (m, 1H), 5.11-5.02 (m, 1H), 4.45 (s, 2H), 4.37 (s, 1H), 3.17 (s, 3H), 2.52 (s, 3H), 2.11-1.99 (m, 2H), 1.92 (d,  $J$  = 1.4Hz, 3H), 1.49 (s, 3H), 1.40 (s, 3H), 1.09 (s, 9H), 0.92 (dd,  $J$  = 9.3, 6.7Hz, 6H)。

[0675]  $C_{35}H_{50}F_3N_5O_5S$  计算值  $m/z$  = 709.35; 实验值  $[M+H]^+$  = 710.02

[0676] 实施例33

[0677]



化学式:  $C_{33}H_{56}N_4O_5S$   
 精确质量: 620.40

(33)

[0678] (4S,E)-N-(己-2-基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

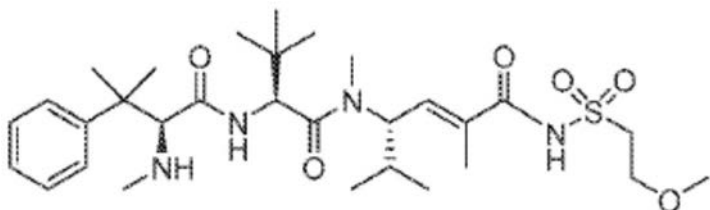
[0679] 使用一般程序2和7,由实施例3和己烷-2-磺酰胺制备标题化合物。

[0680]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.56-7.48 (m, 2H), 7.42 (t,  $J=7.8$ Hz, 2H), 7.31 (t,  $J=7.3$ Hz, 1H), 6.58-6.50 (m, 1H), 5.05 (t,  $J=10.0$ Hz, 1H), 4.92 (s, 1H), 3.84 (s, 1H), 3.65 (dt,  $J=10.8, 4.3$ Hz, 1H), 3.14 (s, 3H), 2.32 (s, 3H), 2.09-1.96 (m, 2H), 1.93 (d,  $J=1.4$ Hz, 3H), 1.61-1.27 (m, 3H), 1.06 (s, 9H), 0.98-0.90 (m, 6H), 0.87 (d,  $J=6.5$ Hz, 3H)。

[0681]  $C_{33}H_{56}N_4O_5S$  计算值  $m/z=620.40$ ; 实验值  $[M+H]^+=621.55$

[0682] 实施例34

[0683]



化学式:  $C_{30}H_{50}N_4O_6S$   
 精确质量: 594.35

(34)

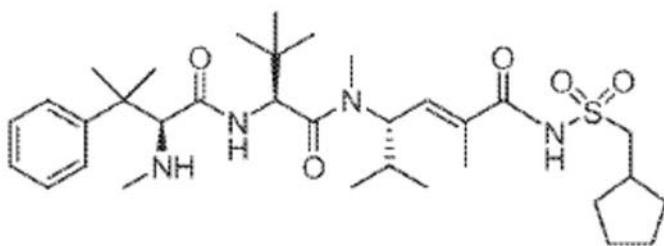
[0684] (S,E)-N-(2-甲氧基乙基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[0685] 使用一般程序2和7,由实施例3和2-甲氧基乙磺酰胺制备标题化合物。

[0686]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.56 (d,  $J=7.8$ Hz, 2H), 7.47 (t,  $J=7.6$ Hz, 2H), 7.37 (t,  $J=7.3$ Hz, 1H), 6.51 (d,  $J=9.4$ Hz, 1H), 5.07 (t,  $J=10.0$ Hz, 1H), 4.95 (s, 1H), 4.33 (s, 1H), 3.82 (t,  $J=5.8$ Hz, 2H), 3.70 (q,  $J=5.2$ Hz, 2H), 3.18 (s, 3H), 2.50 (s, 3H), 2.18-2.00 (m, 1H), 1.95 (d,  $J=1.4$ Hz, 3H), 1.49 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.09 (s, 9H), 0.93 (dd,  $J=14.8, 6.6$ Hz, 6H)。

[0687]  $C_{30}H_{50}N_4O_6S$  计算值  $m/z=594.35$ ; 实验值  $[M+H]^+=595.44$

[0688] 实施例35



[0689]

化学式:  $C_{33}H_{54}N_4O_5S$ 

精确质量: 618.38

(35)

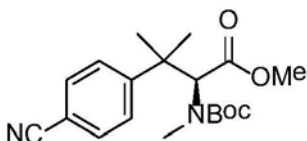
[0690] (S,E)-N-(环戊基甲基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[0691] 使用一般程序2和7,由实施例3和环戊基甲基磺酰胺制备标题化合物。

[0692]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.61-7.52 (m, 2H), 7.48 (dd,  $J=8.6, 6.9$ Hz, 2H), 7.38 (t,  $J=7.4$ Hz, 1H), 6.54 (dd,  $J=9.4, 1.7$ Hz, 1H), 5.06 (t,  $J=10.0$ Hz, 1H), 4.94 (s, 1H), 4.37 (s, 1H), 3.52 (dd,  $J=7.0, 5.4$ Hz, 3H), 3.18 (s, 3H), 2.52 (s, 3H), 2.35 (p,  $J=8.1$ Hz, 1H), 2.16-1.89 (m, 6H), 1.77-1.53 (m, 4H), 1.49 (s, 3H), 1.45-1.26 (m, 5H), 1.09 (s, 9H), 0.93 (dd,  $J=11.3, 6.7$ Hz, 6H)。

[0693]  $C_{33}H_{54}N_4O_5S$  计算值  $m/z=618.38$ ; 实验值  $[M+H]^+=619.54$

[0694] 实施例36



[0695]

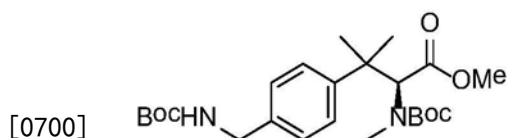
(36)

[0696] (S)-2-(叔丁氧基羰基(甲基)氨基)-3-(4-氰基苯基)-3-甲基丁酸甲酯

[0697] 在氮气浴下向实施例38的甲酯 (0.06g, 0.15mmol)、三(二亚苯基丙酮)二钯 (0.014g, 0.015mmol)、1,1'-双(二苯基膦)二茂铁 (0.02g, 0.25当量)、乙酸镁 (0.013g, 0.06mmol)、锌粉 (0.004g, 0.06mmol) 和氰化锌 (0.0264g, 0.225mmol) 的混合物中加入N,N-二甲基甲酰胺/水 (0.8/0.08mL)。用氮气对反应物进行充气,随后密封管形瓶且浸入105℃油浴中。允许搅拌反应物过夜且允许冷却至室温。HPLC-MS分析指示转化成所需产物的好转化率。在减压下浓缩反应物,悬浮于 $CH_2Cl_2$ 中且通过硅胶色谱法 (15-25% EtOAc/己烷) 纯化所得悬浮液,得到呈无色油状的最终化合物 (0.036g, 69%)。

[0698]  $^1H$  NMR (400MHz, 氯仿- $d$ )  $\delta$  7.69-7.35 (m, 4H), 5.24 (s, 1H), 3.54 (s, 3H), 2.74 (s, 3H), 1.51 (s, 3H), 1.45-1.25 (m, 12H)。

[0699] 实施例37



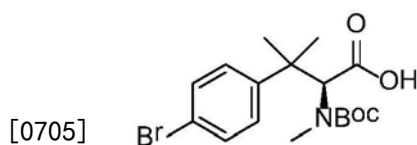
(37)

[0701] (S)-2-(叔丁氧基羰基(甲基)氨基)-3-(4-((叔丁氧基羰基氨基)甲基)苯基)-3-甲基丁酸甲酯

[0702] 向振荡容器中的苯甲腈(0.300g,0.87mmol)于甲醇/乙酸(10:1,9mL)中的溶液中加入钯黑。将烧瓶中装入60psi氢气且将振荡器开启24h。此时,用减压H<sub>2</sub>吹扫容器。用甲醇稀释反应物且将悬浮液滤过硅藻土垫。将滤液浓缩至微黄色油且再溶解于二氯甲烷(5mL)中。在0℃下随搅拌向溶液中加入二碳酸叔丁酯(0.524g,2.0当量)和三乙胺(0.846mL,5当量)。允许搅拌反应物3h,此时HPLC-MS指示胺完全消耗。在减压下浓缩反应物,且通过硅胶色谱法(乙醚/己烷,15-30%)进行纯化,产生呈无色油状的标题化合物(0.232g,60%)。

[0703] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,氯仿-d) δ7.38(dd,J=16.6,8.0Hz,2H),7.23(d,J=7.7Hz,2H),5.27(s,1H),4.31(s,2H),3.61(s,3H),2.78(s,3H),1.50-1.61(m,6H),1.47(d,J=15.2Hz,18H)。

[0704] 实施例38



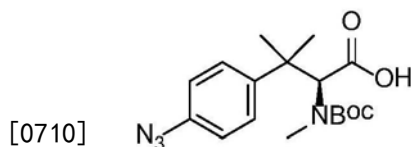
(38)

[0706] (S)-3-(4-溴苯基)-2-(叔丁氧基羰基(甲基)氨基)-3-甲基丁酸

[0707] 向(S)-3-(4-溴苯基)-2-(叔丁氧基羰基(甲基)氨基)-3-甲基丁酸甲酯(0.710g,1.77mmol)于1,4-二噁烷(4mL)中的搅拌溶液中加入水(1mL)(2mL)和单水合氢氧化锂(0.367g,8.9mmol)。将反应物加热至50℃且通过HPLC监测到反应完毕。将反应物冷却至室温,用1M柠檬酸酸化至pH 3且在减压下浓缩至接近干燥。使残余物溶解于~20mL乙酸乙酯中,用盐水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩,得到分析纯的物质,不经过进一步处理即使用。

[0708] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,氯仿-d) δ7.44(d,J=8.3Hz,2H),7.33(d,J=8.3Hz,2H),5.18(s,1H),2.71(s,3H),1.60-1.42(m,15H)。

[0709] 实施例39



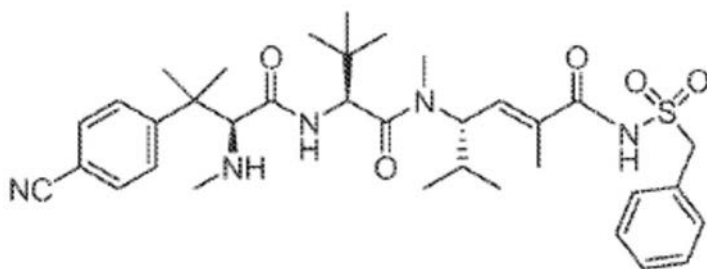
(39)

[0711] (S)-3-(4-叠氮苯基)-2-(叔丁氧基羰基(甲基)氨基)-3-甲基丁酸

[0712] 向含有磁性搅拌棒的开放压力管中加入实施例38 (0.690g, 1.8mmol)、碘化铜(I) (0.034g, 0.18mmol)、叠氮化钠 (0.350g, 5.4mmol)、N1,N2-二甲基乙烷-1,2-二胺 (0.029mL, 0.27mmol)、抗坏血酸钠 (0.036g, 0.18mmol)、氢氧化钠 (0.072g, 1.8mmol)、乙醇 (6mL) 和水 (1mL)。用氮气对悬浮液进行充气, 密封容器且随强烈搅拌浸入105℃油浴中。在24h过程中通过HPLC-MS监测反应过程, 此时剩余极少起始物质。用乙酸乙酯 (~20mL) 稀释反应物且用盐水洗涤。用~20mL乙酸乙酯萃取水层2×。合并有机层, 经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤且在减压下浓缩。通过硅胶色谱法 (含20-65% EtOAc (含2% v/v AcOH) 的己烷) 纯化残余物, 得到呈无色油状的标题化合物 (0.475g, 75%)。

[0713] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ7.44 (d, J=8.6Hz, 2H), 6.99 (dd, J=9.0, 3.4Hz, 2H), 5.24 (s, 1H), 2.71 (s, 3H), 1.63-1.38 (m, 18H)。

[0714] 实施例40



[0715]

化学式: C<sub>35</sub>H<sub>49</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>S  
精确质量: 651.35

(40)

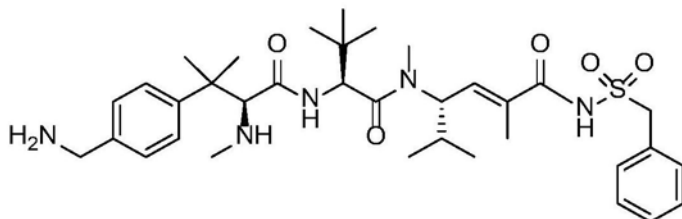
[0716] (S,E)-N-(苯甲基磺酰基)-4-((S)-2-((S)-3-(4-氰基苯基)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-2,5-二甲基己-2-烯酰胺

[0717] 使用一般程序3、4和7, 由实施例36和(S,E)-4-((S)-2-氨基-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-N-(苯甲基磺酰基)-2,5-二甲基己-2-烯酰胺制备标题化合物。

[0718] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ7.83 (d, J=8.2Hz, 2H), 7.73 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.38 (d, J=2.6Hz, 5H), 6.39 (dd, J=9.2, 1.8Hz, 1H), 5.04 (t, J=10.1Hz, 1H), 4.91 (s, 1H), 4.75 (s, 2H), 4.34 (s, 1H), 3.12 (s, 3H), 2.54 (s, 3H), 2.05-1.97 (m, 2H), 1.95 (d, J=1.5Hz, 3H), 1.52 (s, 3H), 1.41 (s, 3H), 1.09 (s, 9H), 0.91 (dd, J=11.2, 4.8Hz, 6H)。

[0719] C<sub>35</sub>H<sub>49</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>S计算值m/z=651.35; 实验值[M+H]<sup>+</sup>=652.4

[0720] 实施例41



[0721]

(41)

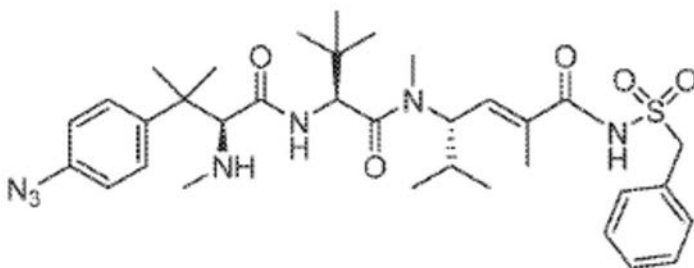
[0722] (S,E)-4-((S)-2-((S)-3-(4-(氨基甲基)苯基)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-2,5-二甲基己-2-烯酰胺

基)-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-N-(苯甲基磺酰基)-2,5-二甲基己-2-烯酰胺

[0723] 使用一般程序3、4和7,由实施例37和(S,E)-4-((S)-2-氨基-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-N-(苯甲基磺酰基)-2,5-二甲基己-2-烯酰胺制备标题化合物。

[0724]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.63 (t,  $J=8.8\text{Hz}$ , 2H), 7.54 (d,  $J=8.3\text{Hz}$ , 2H), 7.49-7.43 (m, 3H), 7.39 (m, 2H), 6.39 (d,  $J=9.4\text{Hz}$ , 1H), 5.05-4.97 (m, 1H), 4.75 (s, 2H), 4.35 (s, 3H), 4.16 (s, 2H), 3.14 (s, 3H), 2.54 (s, 3H), 2.03 (m, 1H), 1.95 (s, 3H), 1.51 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.31 (s, 3H), 1.09 (s, 9H), 0.98-0.81 (m, 6H)。

[0725] 实施例42



[0726]

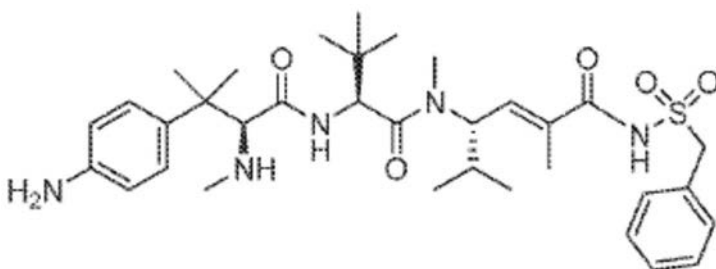
化学式:  $\text{C}_{34}\text{H}_{49}\text{N}_7\text{O}_5\text{S}$   
精确质量: 667.35  
(42)

[0727] (S,E)-4-((S)-2-((S)-3-(4-叠氮苯基)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-N-(苯甲基磺酰基)-2,5-二甲基己-2-烯酰胺

[0728] 使用一般程序4和7,由实施例39和(S,E)-4-((S)-2-氨基-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-N-(苯甲基磺酰基)-2,5-二甲基己-2-烯酰胺制备标题化合物。

[0729]  $\text{C}_{34}\text{H}_{49}\text{N}_7\text{O}_5\text{S}$  计算值  $m/z=667.35\text{amu}$ ; 实验值  $[\text{M}+\text{H}]^+=668.4$

[0730] 实施例43



[0731]

化学式:  $\text{C}_{34}\text{H}_{51}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$   
精确质量: 641.36  
(43)

[0732] (S,E)-4-((S)-2-((S)-3-(4-氨基苯基)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-N-(苯甲基磺酰基)-2,5-二甲基己-2-烯酰胺

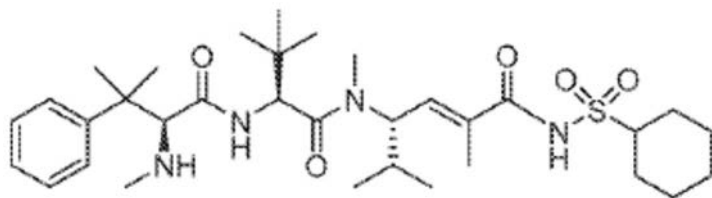
[0733] 向经Boc保护的实施例42 (0.035g, 0.046mmol) 于乙醇 (1.6mL) 和水 (0.5mL) 中的搅拌溶液中加入锌粉 (0.015g, 0.23mmol) 和氯化铵 (0.025g, 0.46mmol)。1h之后, HPLC-MS指示起始物质完全消耗。用氢氧化铵 (~0.1mL) 淬灭反应物且用乙酸乙酯 (5mL) 稀释。过滤反应物, 用乙酸乙酯 (5mL) 洗涤固体且将双相滤液转移至分液漏斗。用乙酸乙酯 (5mL) 将水相洗

涤两次且合并有机相,用盐水洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩。通过硅胶色谱法(5-15% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)纯化反应产物,得到无色玻璃状的经Boc保护的中间物(0.027g,66%)。根据一般程序7将所述中间物脱除保护基,得到标题化合物。

[0734] C<sub>34</sub>H<sub>51</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>S计算值m/z=641.36amu;实验值[M+H]<sup>+</sup>=642.4

[0735] 实施例44

[0736]



化学式: C<sub>33</sub>H<sub>54</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>S  
精确质量: 618.38

(44)

[0737] (S,E)-N-(环己基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

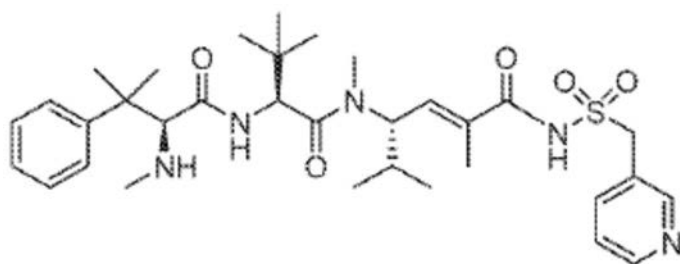
[0738] 使用一般程序2和7,由实施例3和环己基磺酰胺制备标题化合物。

[0739] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ 7.61-7.52 (m, 2H), 7.47 (dd, J=8.6, 6.9Hz, 2H), 7.36 (t, J=7.5Hz, 1H), 6.61-6.50 (m, 1H), 5.11-4.99 (m, 1H), 4.94 (s, 1H), 4.28 (s, 1H), 3.59-3.51 (m, 1H), 3.18 (s, 3H), 2.48 (s, 3H), 2.20-2.00 (m, 4H), 1.97-1.87 (m, 6H), 1.78-1.69 (m, 1H), 1.60 (td, J=14.2, 10.9Hz, 2H), 1.48 (s, 3H), 1.44-1.23 (m, 6H), 1.09 (s, 9H), 0.93 (dd, J=13.7, 6.6Hz, 7H)。

[0740] C<sub>33</sub>H<sub>54</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>S计算值m/z=618.38;实验值[M+H]<sup>+</sup>=619.47

[0741] 实施例45

[0742]



化学式: C<sub>33</sub>H<sub>49</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>S  
精确质量: 627.35

(45)

[0743] (S,E)-2,5-二甲基-N-(吡啶-3-基甲基磺酰基)-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[0744] 使用一般程序2和7,由实施例3和吡啶-3-甲磺酰胺制备标题化合物。

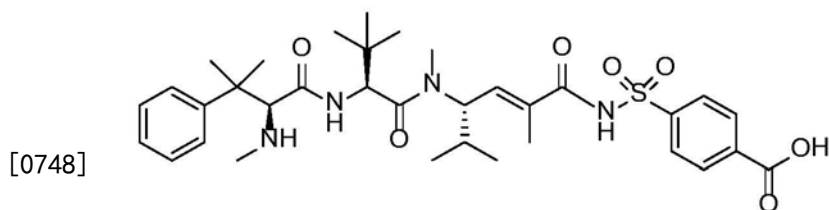
[0745] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ 8.55 (d, J=1.7Hz, 1H), 8.48 (dd, J=5.0, 1.6Hz, 1H), 7.89 (d, J=8.0Hz, 0H), 7.55 (d, J=7.6Hz, 2H), 7.50-7.39 (m, 2H), 7.35 (s, 1H), 6.52 (dd, J=9.6, 2.0Hz, 1H), 5.05 (s, 0H), 4.94 (s, 1H), 4.64 (s, 2H), 4.19 (s, 1H), 3.11 (s, 3H), 2.45



(s, 3H), 1.91 (d, J=1.5Hz, 3H), 1.48 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.07 (s, 8H), 0.89 (dd, J=15.1, 6.5Hz, 6H)。

[0746] C<sub>33</sub>H<sub>54</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>S 计算值 m/z=627.35; 实验值 [M+H]<sup>+</sup>=628.35

[0747] 实施例46



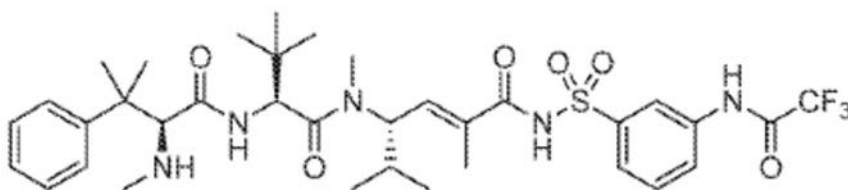
(46)

[0749] 4-(N-((S,E)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰基)氨磺酰基)苯甲酸

[0750] 使用一般程序2、3和7,由实施例3和4-氨磺酰基苯甲酸甲酯制备标题化合物。

[0751] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ 8.25-8.07 (m, 4H), 7.54 (d, J=7.8Hz, 2H), 7.47 (t, J=7.6Hz, 2H), 7.37 (t, J=7.3Hz, 1H), 6.55 (d, J=9.3Hz, 1H), 4.98 (t, J=9.9Hz, 1H), 4.92 (s, 1H), 4.36 (s, 1H), 3.16 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 2.06 (q, J=9.0, 7.7Hz, 1H), 1.88 (s, 3H), 1.46 (s, 3H), 1.36 (s, 3H), 1.06 (s, 9H), 0.91 (t, J=6.0Hz, 6H)

[0752] 实施例47



[0753]

化学式: C<sub>35</sub>H<sub>48</sub>F<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>S  
 精确质量: 723.33  
 分子量: 723.85

(47)

[0754] (S,E)-2,5-二甲基-N-(3-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基磺酰基)-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[0755] 使用一般程序2和7,由实施例3和2,2,2-三氟-N-(3-氨磺酰基苯基)乙酰胺制备标题化合物。

[0756] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ 8.49 (p, J=2.2Hz, 1H), 7.90 (dtd, J=6.0, 4.8, 2.9Hz, 2H), 7.64-7.56 (m, 1H), 7.53 (tt, J=5.4, 4.3, 1.8Hz, 2H), 7.51-7.42 (m, 2H), 7.41-7.28 (m, 1H), 6.56-6.38 (m, 1H), 4.97 (s, 1H), 4.90 (d, J=3.3Hz, 1H), 4.35 (s, 1H), 3.16 (d, J=15.5Hz, 3H), 2.49 (d, J=14.2Hz, 3H), 2.14-2.01 (m, 1H), 1.89-1.83 (m, 3H), 1.57-1.28 (m, 6H), 1.14-0.94 (m, 9H), 0.95-0.85 (m, 6H)。

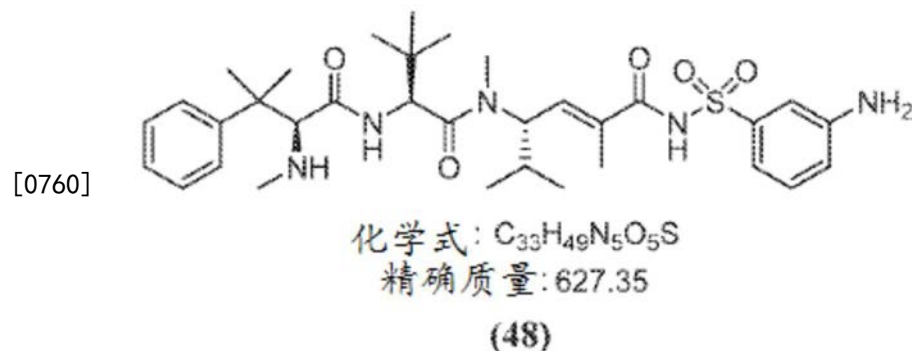
[0757] <sup>13</sup>C NMR (101MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ 172.26, 168.81, 167.10, 167.00, 144.95, 141.82,



138.82, 138.47, 135.31, 130.71, 130.38, 128.91, 127.36, 126.65, 126.32, 121.39, 71.20, 66.92, 57.87, 57.78, 42.05, 35.83, 34.15, 32.66, 30.84, 29.79, 26.95, 21.39, 19.84, 19.82, 15.45, 14.03。

[0758]  $^{19}\text{F}$  NMR (377MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$ -76.96, -77.07。 $\text{C}_{35}\text{H}_{48}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$ 计算值 $m/z=723.33\text{amu}$ ;  
实验值 $[\text{M}+\text{H}]^+=724.30$ ,  $[\text{M}+\text{Na}]^+=746.30$

[0759] 实施例48



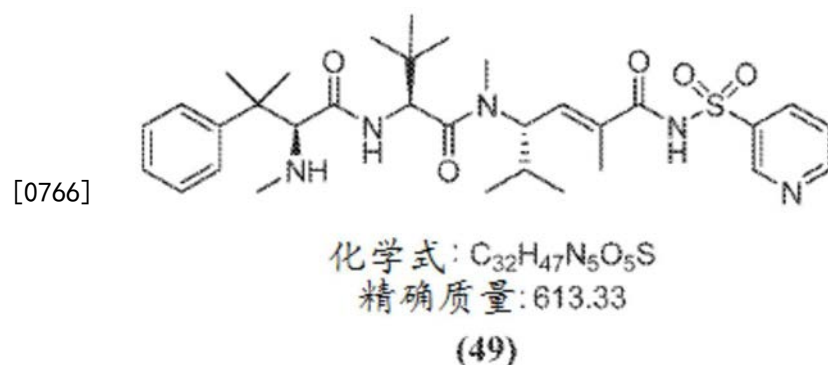
[0761] (S,E)-N-(3-氨基苯基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[0762] 使用一般程序2、3和7,由实施例3和2,2,2-三氟-N-(3-氨基磺酰基苯基)乙酰胺制备标题化合物。

[0763]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$ 7.55 (d,  $J=7.5\text{Hz}$ , 2H), 7.51-7.45 (m, 2H), 7.43-7.20 (m, 4H), 6.97 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 1H), 6.48 (d,  $J=9.4\text{Hz}$ , 1H), 5.02-4.89 (m, 2H), 4.36 (s, 1H), 3.17 (s, 3H), 2.50 (s, 3H), 2.14-2.00 (m, 1H), 1.88 (d,  $J=1.4\text{Hz}$ , 3H), 1.46 (s, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.07 (s, 9H), 0.92 (d,  $J=6.3\text{Hz}$ , 3H), 0.90 (s, 3H)。

[0764]  $\text{C}_{33}\text{H}_{49}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$ 计算值 $m/z=627.35$ ;实验值 $[\text{M}+\text{H}]^+=628.36$

[0765] 实施例49



[0767] (S,E)-2,5-二甲基-N-(吡啶-3-基磺酰基)-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

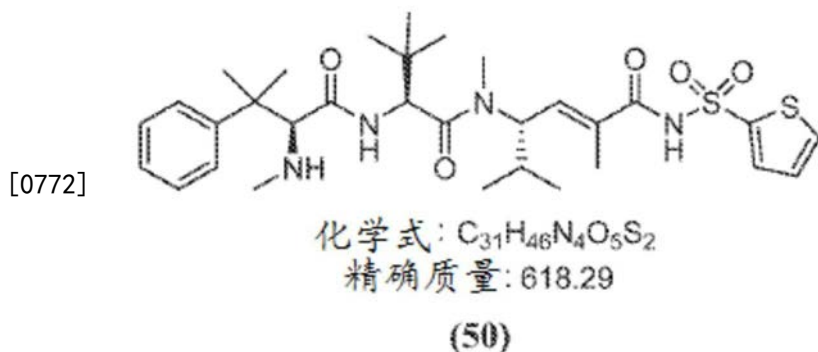
[0768] 使用一般程序2和7,由实施例3和吡啶-3-磺酰胺制备标题化合物。

[0769]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$ 9.18 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 8.46 (dt,  $J=8.2, 1.8\text{Hz}$ , 1H), 7.65 (dd,  $J=8.1, 4.9\text{Hz}$ , 1H), 7.54 (d,  $J=7.3\text{Hz}$ , 2H), 7.47 (t,  $J=7.8\text{Hz}$ , 2H), 7.37 (t,  $J=7.3\text{Hz}$ , 1H), 6.54 (d,  $J=9.3\text{Hz}$ , 1H), 5.01-4.88 (m, 2H), 4.36 (s, 1H), 3.18 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 2.15-2.01 (m, 1H), 1.86 (d,  $J=1.4\text{Hz}$ , 3H), 1.46 (s, 3H), 1.33 (s, 3H), 1.07 (s, 9H), 0.92

(d, J=3.3Hz, 3H), 0.91 (d, J=3.5Hz, 3H)。

[0770]  $C_{32}H_{47}N_5O_5S$  计算值  $m/z=613.33$ ; 实验值  $[M+H]^+=614.23$

[0771] 实施例50



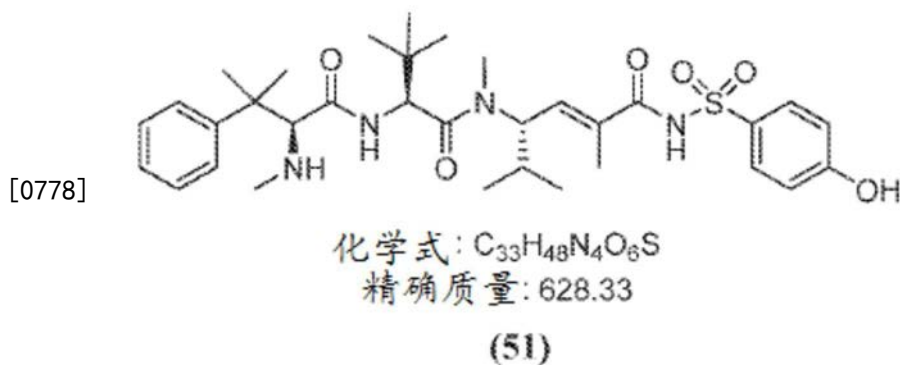
[0773] (S,E)-2,5-二甲基-N-(噻吩-2-基磺酰基)-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[0774] 使用一般程序2和7,由实施例3和噻吩-2-磺酰胺制备标题化合物。

[0775]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.93-7.82 (m, 2H), 7.55 (d, J=8.3Hz, 1H), 7.48 (t, J=7.8Hz, 2H), 7.37 (t, J=7.2Hz, 1H), 7.15 (dd, J=5.0, 3.8Hz, 1H), 6.51 (d, J=9.1Hz, 1H), 5.02-4.93 (m, 2H), 4.36 (s, 1H), 3.18 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 2.15-2.01 (m, 1H), 1.89 (d, J=1.4Hz, 3H), 1.46 (s, 3H), 1.34 (s, 3H), 1.08 (s, 9H), 0.93 (d, J=4.8Hz, 3H), 0.91 (d, J=4.7Hz, 3H)。

[0776]  $C_{31}H_{46}N_4O_5S_2$  计算值  $m/z=618.29$ ; 实验值  $[M+H]^+=619.24$

[0777] 实施例51



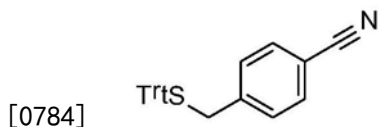
[0779] (S,E)-N-(4-羟基苯基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[0780] 使用一般程序2和7,由实施例3和4-(叔丁基二甲基甲硅烷氧基)苯磺酰胺制备标题化合物。

[0781]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.89 (d, J=8.8Hz, 2H), 7.55 (d, J=7.0Hz, 1H), 7.47 (t, J=7.6Hz, 2H), 7.37 (t, J=7.3Hz, 1H), 6.91 (d, J=8.9Hz, 2H), 6.46 (d, J=9.2Hz, 1H), 4.97 (d, J=10.2Hz, 1H), 4.92 (s, 1H), 4.33 (s, 1H), 3.16 (s, 3H), 2.50 (s, 3H), 2.11-2.00 (m, 1H), 1.87 (d, J=1.4Hz, 3H), 1.46 (s, 3H), 1.36 (s, 3H), 1.07 (s, 9H), 0.92 (d, J=6.5Hz, 4H), 0.89 (d, J=6.7Hz, 3H)。

[0782]  $C_{33}H_{48}N_4O_6S$  计算值  $m/z=628.33$ ; 实验值  $[M+H]^+=629.38$

## [0783] 实施例52

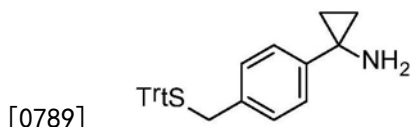


## [0785] 4-(三苯甲基硫代甲基)苯甲腈

[0786] 在0℃下,在N<sub>2</sub>下将含三苯甲基硫醇(1.48g,5.36mmol,1.05当量)的THF(5mL)逐滴加入氢化钠(在矿物油中的60%分散液,214mg,5.36mmol,1.05当量)于THF(5mL)中的搅拌悬浮液中。15min之后,加入含4-(溴甲基)苯甲腈(1.00g,5.10mmol,1.0当量)的THF(5mL)且允许反应物达到室温。1h之后,TLC指示起始物质完全转化。通过加入饱和氯化铵,随后加入一些dH<sub>2</sub>O来淬灭反应物。用乙醚将混合物萃取三次,用饱和盐水洗涤,经硫酸钠干燥,并浓缩成粘稠黄色油。通过快速色谱法纯化,得到呈淡白色粉末状的标题化合物(1.76g,88%)。

[0787] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,氯仿-d) δ7.52(d,J=8.2Hz,2H),7.47(d,J=7.1Hz,6H),7.33(t,J=7.5Hz,6H),7.26(t,J=7.2Hz,3H),7.19(d,J=8.2Hz,2H),3.40(s,2H)。C<sub>27</sub>H<sub>21</sub>N<sub>2</sub>S计算值m/z=391.14。实验值[M+Na]<sup>+</sup>=414.13。R<sub>f</sub>=0.32(10%EtOAc/Hex)。

## [0788] 实施例53

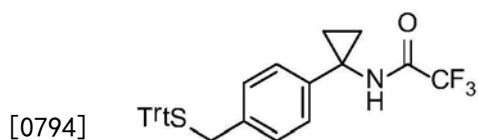


## [0790] 1-(4-(三苯甲基硫代甲基)苯基)环丙胺

[0791] 在N<sub>2</sub>气氛下将4-(三苯甲基硫代甲基)苯甲腈(1.47g,3.75mmol,1.0当量)溶解于40mL THF中,随后冷却至-78℃。向这种溶液中加入Ti(O-iPr)<sub>4</sub>(1.21mL,4.13mmol,1.1当量),随后经5min逐滴加入乙基溴化镁(3M,2.75mL,8.26mmol,2.2当量)。去除干冰浴,允许溶液达到室温。在室温下45min之后,向现在非常暗的反应混合物中加入BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O(0.93mL,7.51mmol,2.0当量)。再搅拌2.5h之后,用5mL 2M HCl淬灭反应物,随后用约15mL 2M NaOH调节pH值至强碱性。向混合物中加入一些水,随后用75mL EtOAc将其萃取三次、用dH<sub>2</sub>O洗涤一次、用饱和盐水洗涤一次,经硫酸钠干燥且浓缩至透明油。通过快速色谱法纯化所述物质,得到呈透明油状的标题化合物(680mg,36%)。

[0792] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,氯仿-d) δ7.49(d,J=7.8Hz,6H),7.33(t,J=7.7Hz,6H),7.26(t,J=7.2Hz,3H),7.20(d,J=8.2Hz,2H),7.11(d,J=8.2Hz,2H),3.32(s,2H),1.06(dd,J=7.9,5.0Hz,2H),0.95(dd,J=7.9,4.7Hz,2H)。C<sub>29</sub>H<sub>27</sub>N<sub>2</sub>S计算值m/z=421.19。实验值[M+H]<sup>+</sup>=422.19。R<sub>f</sub>=0.21(50%EtOAc/Hex)。

## [0793] 实施例54

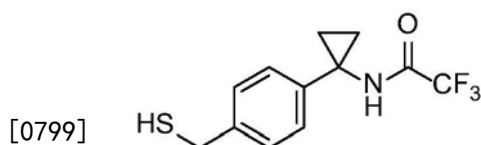
**(54)**

[0795] 2,2,2-三氟-N-(1-(4-(三苯甲基硫代甲基)苯基)环丙基)乙酰胺

[0796] 向1-(4-(三苯甲基硫代甲基)苯基)环丙胺(680mg, 1.61mmol, 1.0当量)于CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中的搅拌溶液中加入三氟乙酸酐(0.448mL, 3.22mmol, 2.0当量)和三乙胺(0.45mL, 3.22mmol, 2.0当量)。两小时之后, TLC和HPLC指示起始物质完全转化。通过加入3mL NaHCO<sub>3</sub>淬灭反应物, 随后加入一些dH<sub>2</sub>O, 且用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>将混合物萃取三次。用饱和盐水洗涤所合并的有机物, 经硫酸钠干燥并浓缩成黄色发泡体, 得到纯度足以移至下一步骤的标题化合物(715mg, 86%)。

[0797] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ7.48 (d, J=7.7Hz, 6H), 7.32 (t, J=7.6Hz, 6H), 7.25 (t, J=7.2Hz, 3H), 7.19 (d, J=8.2Hz, 2H), 7.10 (d, J=8.3Hz, 2H), 6.83 (s, 1H), 3.31 (s, 2H), 1.40-1.24 (m, 4H)。C<sub>31</sub>H<sub>26</sub>F<sub>3</sub>NOS计算值m/z=517.17。实验值[M+Na]<sup>+</sup>=540.25。R<sub>f</sub>=0.71 (50%EtOAc/Hex)。

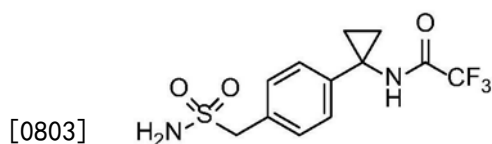
[0798] 实施例55

**(55)**

[0800] 2,2,2-三氟-N-(1-(4-(巯基甲基)苯基)环丙基)乙酰胺

[0801] 用2.5mL TFA处理含2,2,2-三氟-N-(1-(4-(三苯甲基硫代甲基)苯基)环丙基)乙酰胺(715mg, 1.38mmol, 1.0当量)的5mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>。1min之后, 加入TIPSH(0.42mL, 2.1mmol, 1.5当量), 使黄色褪去。30min之后, TLC指示反应完毕。浓缩混合物, 随后与CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>一起共蒸发一次且与甲苯一起共蒸发两次。通过快速色谱法纯化残余物, 得到呈白色固体状的标题化合物(261mg, 69%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ7.35-7.23 (m, 4H), 6.87 (s, 1H), 3.74 (d, J=7.6Hz, 2H), 1.77 (t, J=7.6Hz, 1H), 1.36 (s, 4H)。R<sub>f</sub>=0.47 (20%EtOAc/Hex)。

[0802] 实施例56

**(56)**

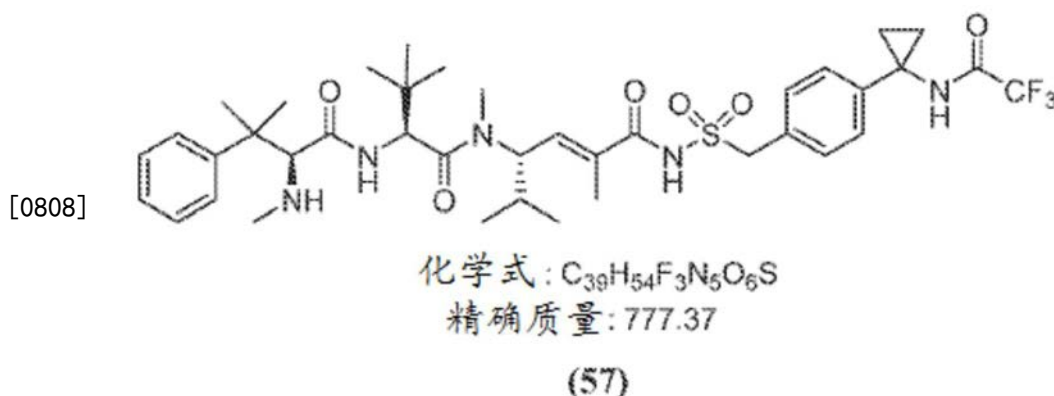
[0804] 2,2,2-三氟-N-(1-(4-(氨磺酰基甲基)苯基)环丙基)乙酰胺

[0805] 向2,2,2-三氟-N-(1-(4-(巯基甲基)苯基)环丙基)乙酰胺(220mg, 0.799mmol, 1.0

当量)于乙腈中的搅拌溶液中加入dH<sub>2</sub>O(0.029mL,1.6mmol,2.0当量)、四丁基氯化铵(110mg,0.40mmol,0.5当量),随后加入N-氯琥珀酰亚胺(320mg,2.40mmol,3.0当量)。20分钟之后,TLC未见起始物质。90min之后,加入浓NH<sub>4</sub>OH(0.18mL,3.2mmol,4.0当量)。10分钟之后,加入1mL NH<sub>4</sub>Cl,且用EtOAc萃取混合物三次。用dH<sub>2</sub>O将所合并的有机物洗涤两次,用饱和盐水洗涤一次,经硫酸钠干燥,并浓缩成透明的油。通过快速色谱法纯化残余物,得到呈白色固体状的标题化合物(192mg,74%)。

[0806] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ10.21(s,1H),7.31(d,J=8.2Hz,2H),7.16(d,J=8.3Hz,2H),6.85(s,2H),4.23(s,2H),1.27(dt,J=6.1,2.3Hz,4H)。R<sub>f</sub>=0.26(50%EtOAc/Hex)。

[0807] 实施例57



[0809] (S,E)-2,5-二甲基-N-(4-(1-(2,2,2-三氟乙酰胺基)环丙基)苯甲基磺酰基)-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[0810] 使用一般程序2和7,由实施例3和实施例56制备标题化合物。

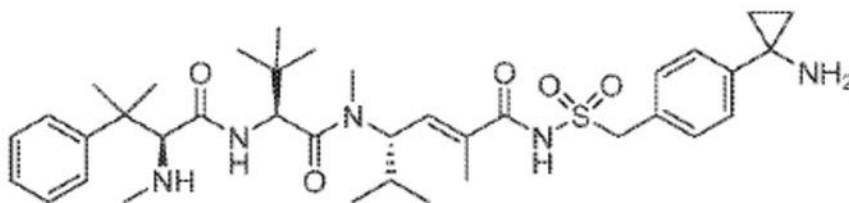
[0811] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) δ7.56(d,J=8.4Hz,2H),7.48(t,J=7.7Hz,2H),7.37(t,J=7.4Hz,1H),7.32(d,J=8.5Hz,2H),7.28(d,J=8.5Hz,2H),6.37(d,J=9.6Hz,1H),5.07(t,J=10.0Hz,1H),4.94(s,1H),4.72(s,2H),4.37(s,1H),3.13(s,3H),2.52(s,3H),2.08-1.96(m,1H),1.96(d,J=1.5Hz,3H),1.49(s,3H),1.40(s,3H),1.35-1.27(m,4H),1.10(s,9H),0.92(d,J=7.1Hz,3H),0.89(d,J=6.8Hz,3H)。

[0812] <sup>13</sup>C NMR(101MHz,MeOD) δ170.93,168.81,165.64,143.58,142.24,136.87,134.19,130.64,129.00,127.63,127.53,125.95,125.61,69.90,57.10,57.02,56.39,40.73,34.55,34.25,32.80,30.60,29.33,28.39,25.57,20.11,18.38,18.34,16.21,16.15,14.04,12.85。

[0813] C<sub>39</sub>H<sub>54</sub>F<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>S计算值m/z=777.37;实验值[M+H]<sup>+</sup>=778.55

[0814] 实施例58

[0815]

化学式:  $C_{37}H_{55}N_5O_5S$ 

精确质量: 681.39

(58)

[0816] (S,E)-N-(4-(1-氨基环丙基)苯甲基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

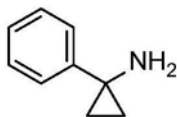
[0817] 使用一般程序2、3和7,由实施例3和实施例56制备标题化合物。

[0818]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.56 (d,  $J=8.7$ Hz, 2H), 7.51 (s, 4H), 7.47 (t,  $J=7.6$ Hz, 2H), 7.37 (t,  $J=7.3$ Hz, 1H), 6.49 (d,  $J=9.5$ Hz, 1H), 5.07 (t,  $J=10.0$ Hz, 1H), 4.94 (s, 1H), 4.81 (d,  $J=14.0$ Hz, 1H), 4.77 (d,  $J=13.8$ Hz, 1H), 4.39 (s, 1H), 3.16 (s, 3H), 2.52 (s, 3H), 2.11-1.99 (m, 1H), 1.97 (d,  $J=1.5$ Hz, 3H), 1.49 (s, 8H), 1.45-1.41 (m, 2H), 1.40 (s, 3H), 1.34-1.26 (m, 2H), 1.10 (s, 9H), 0.93 (d,  $J=6.2$ Hz, 3H), 0.90 (d,  $J=6.3$ Hz, 3H)。

[0819]  $^{13}C$  NMR (101MHz, MeOD)  $\delta$  170.94, 169.00, 165.69, 143.57, 137.54, 137.12, 134.38, 131.43, 129.66, 128.98, 127.51, 125.98, 69.85, 65.51, 57.68, 57.15, 56.39, 40.72, 36.16, 34.51, 32.80, 30.68, 29.42, 28.40, 25.61, 20.14, 18.42, 18.39, 14.05, 12.86, 11.80。

[0820]  $C_{37}H_{55}N_5O_5S$  计算值  $m/z=681.39$ ; 实验值  $[M+H]^+=682.49$

[0821] 实施例59



[0822]

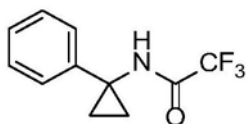
(59)

[0823] 1-苯基环丙胺

[0824] 如Bertus, P., Szymoniak, J. J. Org. Chem., 2003, 68, 7133-7136中所描述, 由苯甲腈 (1.0mL, 9.7mmol) 制备标题化合物, 得到270mg (21%)。

[0825]  $^1H$  NMR (400MHz, 氯仿- $d$ )  $\delta$  7.44-7.28 (m, 4H), 7.27-7.15 (m, 1H), 1.18-1.06 (m, 2H), 1.07-0.95 (m, 2H)。Rf=0.28 (5%  $NH_4OH/MeOH/CH_2Cl_2$ )。

[0826] 实施例60



[0827]

(60)

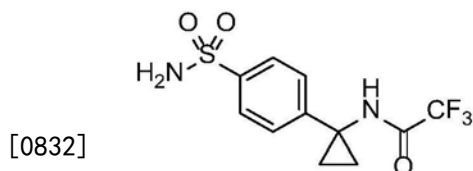
[0828] 2,2,2-三氟-N-(1-苯基环丙基)乙酰胺

[0829] 向1-苯基环丙胺 (270mg, 2.03mmol, 1.0当量) 于二噁烷 (5mL) 中的搅拌溶液中加入

三氟乙酸酐(0.310mL, 2.23mmol, 1.1当量)。5min之后, TLC指示起始物质完全转化。浓缩混合物, 随后与CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>一起共蒸发一次且与甲苯一起共蒸发一次, 产生呈薄片状白色粉末状的标题化合物(453mg, 97%)。

[0830] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ7.47-7.15 (m, 5H), 6.88 (s, 1H), 1.65 (s, 4H)。C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O计算值m/z=229.07。实验值[M+H]<sup>+</sup>=230.14。R<sub>f</sub>=0.82 (5% (5%NH<sub>4</sub>OH/MeOH)/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)

[0831] 实施例61



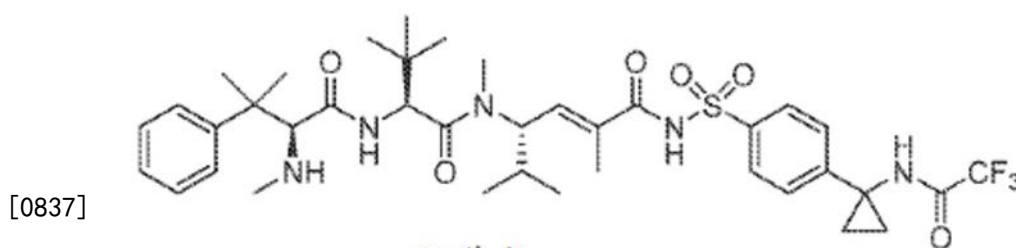
(61)

[0833] 2,2,2-三氟-N-(1-(4-氨磺酰基苯基)环丙基)乙酰胺

[0834] 在0℃下向搅拌的氯磺酸(0.78mL, 11.8mmol, 6.0当量)中逐份加入固体2,2,2-三氟-N-(1-苯基环丙基)乙酰胺(450mg, 1.96mmol, 1.0当量), 从而保持温度较低。完全加入之后, 将混合物加热至50℃。10分钟之后, 气体逸出停止, 且允许反应物冷却。将混合物缓慢加入一烧杯冰中, 注意泼溅。滤出留在冰中的固体。在真空中干燥此固体且随后溶解于THF(4mL)中。加入浓NH<sub>4</sub>OH(0.44mL, 7.85mmol, 4.0当量), 使溶液变成黑绿色。2min之后, TLC指示磺酰氯中间物完全消耗。加入2M HCl直到颜色褪去, 随后用EtOAc将混合物萃取三次、用饱和NaHCO<sub>3</sub>洗涤一次、用饱和盐水洗涤一次, 经硫酸钠干燥且浓缩成薄片状固体。通过快速色谱法纯化粗物质, 产生呈白色固体状的标题化合物(235mg, 39%)。

[0835] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ10.28 (s, 1H), 7.76 (d, J=8.5Hz, 2H), 7.32 (d, J=8.1Hz, 2H), 7.31 (s, 2H), 1.42-1.35 (m, 2H), 1.35-1.27 (m, 2H)。C<sub>11</sub>H<sub>11</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S计算值m/z=308.04。实验值[M+H]<sup>+</sup>=309.07。R<sub>f</sub>=0.27 (50%EtOAc/Hex)。

[0836] 实施例62



化学式: C<sub>38</sub>H<sub>52</sub>F<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>S  
精确质量: 763.36

(62)

[0838] (S,E)-2,5-二甲基-N-(4-(1-(2,2,2-三氟乙酰胺基)环丙基)苯基磺酰基)-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[0839] 使用一般程序2和7, 由实施例3和实施例61制备标题化合物。

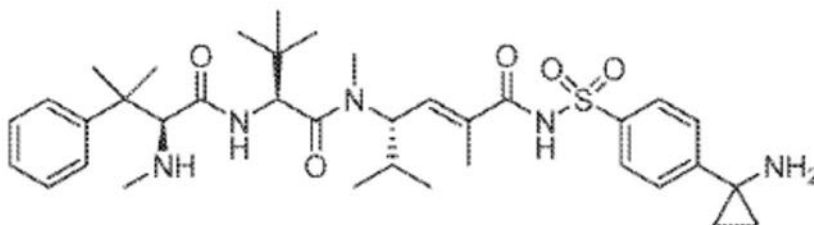
[0840] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ8.00 (d, J=8.6Hz, 2H), 7.55 (d, J=7.6Hz, 2H), 7.48 (t,



$J=7.7\text{Hz}, 2\text{H}$ ),  $7.48-7.33\text{ (m, 4H)}$ ,  $6.47\text{ (dd, } J=9.4, 1.6\text{Hz, 1H)}$ ,  $5.00\text{ (t, } J=10.0\text{Hz, 1H)}$ ,  $4.92\text{ (s, 1H)}$ ,  $4.35\text{ (s, 1H)}$ ,  $3.15\text{ (s, 3H)}$ ,  $2.51\text{ (s, 3H)}$ ,  $2.11-2.00\text{ (m, 1H)}$ ,  $1.86\text{ (d, } J=1.4\text{Hz, 3H)}$ ,  $1.47\text{ (d, } J=6.2\text{Hz, 3H)}$ ,  $1.45\text{ (s, 2H)}$ ,  $1.43\text{ (s, 2H)}$ ,  $1.38\text{ (s, 3H)}$ ,  $1.06\text{ (s, 9H)}$ ,  $0.91\text{ (d, } J=6.1\text{Hz, 3H)}$ ,  $0.89\text{ (d, } J=6.2\text{Hz, 3H)}$ 。

[0841]  $\text{C}_{37}\text{H}_{50}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$  计算值  $m/z=763.36$ ; 实验值  $[\text{M}+\text{H}]^+=764.45$

[0842] 实施例63



[0843]

化学式:  $\text{C}_{36}\text{H}_{53}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$

精确质量: 667.38

(63)

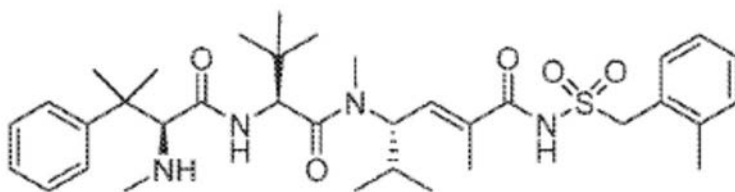
[0844] (S,E)-N-(4-(1-氨基环丙基)苯基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[0845] 使用一般程序2、3和7,由实施例3和2,2,2-三氟-N-(1-(4-氨基磺酰基苯基)环丙基)乙酰胺制备标题化合物。

[0846]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  8.13 (d,  $J=8.5\text{Hz}, 2\text{H}$ ), 7.66 (d,  $J=8.6\text{Hz}, 2\text{H}$ ), 7.55 (d,  $J=7.2\text{Hz}, 2\text{H}$ ), 7.47 (t,  $J=7.6\text{Hz}, 2\text{H}$ ), 7.37 (t,  $J=7.2\text{Hz}, 1\text{H}$ ), 6.50 (dd,  $J=9.4, 1.7\text{Hz}, 1\text{H}$ ), 5.02 (t,  $J=10.0\text{Hz}, 1\text{H}$ ), 4.93 (d,  $J=4.9\text{Hz}, 1\text{H}$ ), 4.38 (s, 1H), 3.16 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 2.12-1.99 (m, 1H), 1.84 (d,  $J=1.4\text{Hz}, 3\text{H}$ ), 1.51-1.46 (m, 5H), 1.46-1.42 (m, 2H), 1.38 (s, 3H), 1.07 (s, 9H), 0.91 (dd,  $J=6.7, 1.7\text{Hz}, 6\text{H}$ )。

[0847]  $\text{C}_{36}\text{H}_{53}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$  计算值  $m/z=667.38$ ; 实验值  $[\text{M}+\text{H}]^+=668.40$

[0848] 实施例64



[0849]

化学式:  $\text{C}_{35}\text{H}_{52}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$

精确质量: 640.37

(64)

[0850] (S,E)-2,5-二甲基-N-(2-甲基苯基磺酰基)-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[0851] 使用一般程序2和7,由实施例3和2-甲基苯基磺酰胺制备标题化合物。

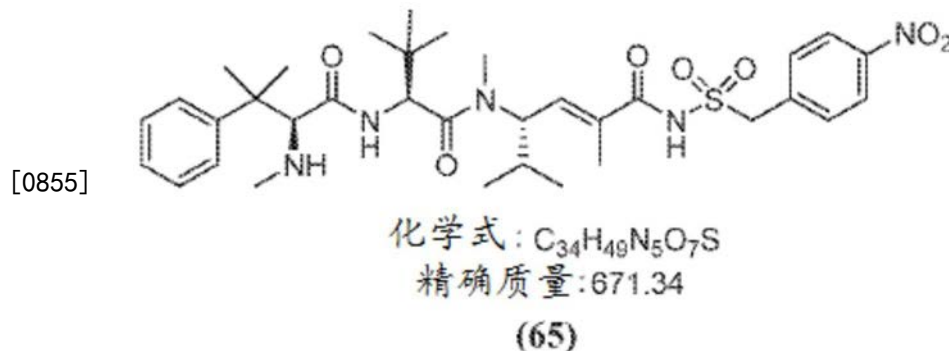
[0852]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  7.61-7.52 (m, 2H), 7.48 (t,  $J=7.6\text{Hz}, 2\text{H}$ ), 7.37 (t,  $J=7.3\text{Hz}, 1\text{H}$ ), 7.30-7.23 (m, 3H), 7.22-7.14 (m, 1H), 6.48 (dd,  $J=9.3, 1.7\text{Hz}, 1\text{H}$ ), 5.08 (t,  $J=$



10.0Hz, 1H), 4.94 (s, 1H), 4.81 (s, 2H), 4.34 (s, 1H), 3.15 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 2.48 (s, 3H), 2.08-2.00 (m, 1H), 1.98 (d, J=1.1Hz, 3H), 1.49 (s, 3H), 1.40 (s, 3H), 1.10 (s, 9H), 0.93 (d, J=6.6Hz, 3H), 0.91 (d, J=6.6Hz, 3H)。

[0853]  $C_{35}H_{52}N_4O_5S$  计算值  $m/z=640.37$ ; 实验值  $[M+H]^+=641.41$

[0854] 实施例65



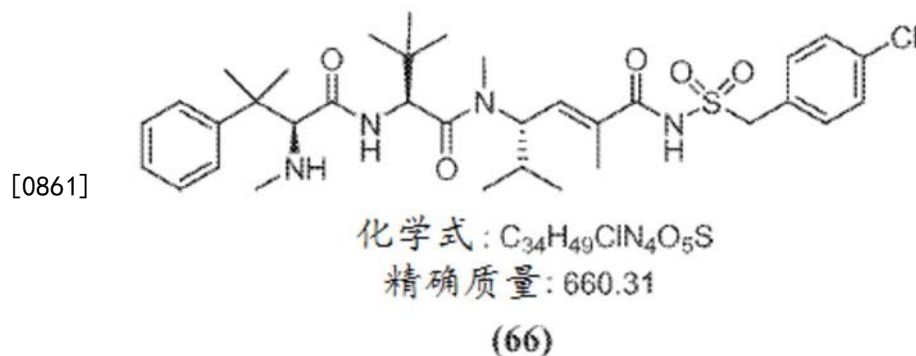
[0856] (S,E)-2,5-二甲基-N-(4-硝基苯甲基磺酰基)-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[0857] 使用一般程序2和7,由实施例3和4-硝基苯甲基磺酰胺制备标题化合物。

[0858]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  8.18 (d, J=8.7Hz, 2H), 7.64 (d, J=8.7Hz, 2H), 7.52 (d, J=7.5Hz, 2H), 7.42 (t, J=7.7Hz, 2H), 7.31 (t, J=7.3Hz, 1H), 6.55 (d, J=9.4Hz, 1H), 5.04 (t, J=10.0Hz, 1H), 4.92 (s, 1H), 4.63 (s, 2H), 3.08 (s, 3H), 2.32 (s, 3H), 1.95 (dt, J=11.4, 6.6Hz, 4H), 1.89 (d, J=1.4Hz, 3H), 1.46 (s, 3H), 1.38 (s, 3H), 1.05 (s, 9H), 0.89 (d, J=6.5Hz, 3H), 0.85 (d, J=6.5Hz, 3H)。

[0859]  $C_{34}H_{49}N_5O_7S$  计算值  $m/z=671.34$ ; 实验值  $[M+H]^+=672.36$

[0860] 实施例66



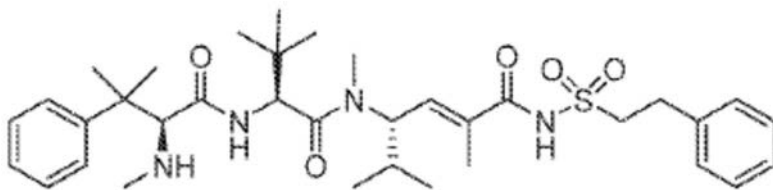
[0862] (S,E)-N-(4-氯苯甲基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[0863] 使用一般程序2和7,由实施例3和4-氯苯甲基磺酰胺制备标题化合物。

[0864]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.56 (d, J=7.9Hz, 2H), 7.48 (t, J=7.6Hz, 2H), 7.44-7.34 (m, 5H), 6.39 (d, J=9.5Hz, 1H), 5.06 (t, J=10.0Hz, 1H), 4.94 (s, 1H), 4.75 (s, 2H), 4.35 (s, 1H), 3.13 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 2.06-1.95 (m, 1H), 1.95 (d, J=1.4Hz, 3H), 1.49 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.09 (s, 9H), 0.91 (d, J=6.1Hz, 3H), 0.89 (d, J=5.9Hz, 3H)。

[0865]  $C_{34}H_{49}ClN_4O_5S$  计算值  $m/z=660.31$ ; 实验值  $[M+H]^+=661.32$

## [0866] 实施例67



[0867]

化学式:  $C_{35}H_{52}N_4O_5S$ 

精确质量: 640.37

(67)

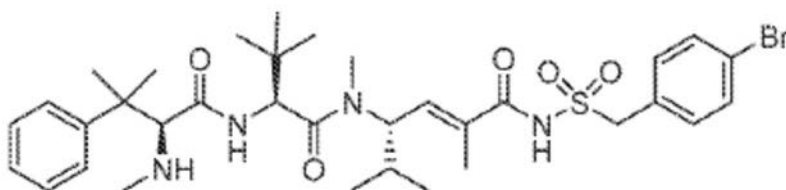
[0868] (S,E)-2,5-二甲基-N-(苯乙基磺酰基)-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[0869] 使用一般程序2和7,由实施例3和高苯甲基磺酰胺制备标题化合物。

[0870]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.56 (d,  $J=7.6$ Hz, 2H), 7.48 (t,  $J=7.5$ Hz, 2H), 7.38 (t,  $J=7.4$ Hz, 1H), 7.34-7.28 (m, 2H), 7.28-7.20 (m, 3H), 6.47 (dd,  $J=9.2, 1.7$ Hz, 1H), 5.03 (t,  $J=10.0$ Hz, 1H), 4.94 (s, 1H), 4.36 (d,  $J=2.3$ Hz, 2H), 3.78 (td,  $J=7.5, 4.1$ Hz, 2H), 3.17 (s, 3H), 3.12 (t,  $J=7.8$ Hz, 2H), 2.51 (s, 3H), 2.14-2.01 (m, 1H), 1.89 (d,  $J=1.4$ Hz, 3H), 1.49 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.09 (s, 9H), 0.94 (d,  $J=6.6$ Hz, 3H), 0.91 (d,  $J=6.6$ Hz, 3H)。

[0871]  $C_{35}H_{52}N_4O_5S$  计算值  $m/z=640.37$ ; 实验值  $[M+H]^+=641.36$

## [0872] 实施例68



[0873]

化学式:  $C_{34}H_{49}BrN_4O_5S$ 

精确质量: 704.26

(68)

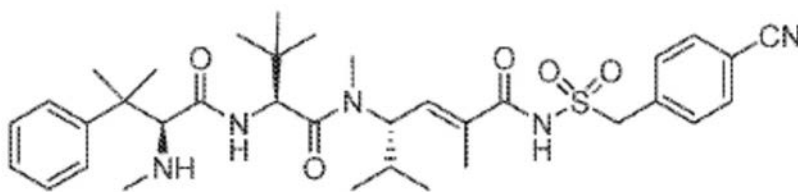
[0874] (S,E)-N-(4-溴苯基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[0875] 使用一般程序2和7,由实施例3和4-溴苯基磺酰胺制备标题化合物。

[0876]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.60-7.51 (m, 4H), 7.48 (t,  $J=7.7$ Hz, 2H), 7.39 (s, 1H), 7.31 (d,  $J=8.3$ Hz, 2H), 6.38 (d,  $J=9.3$ Hz, 1H), 5.06 (t,  $J=10.0$ Hz, 1H), 4.93 (s, 1H), 4.74 (s, 2H), 4.36 (s, 1H), 3.13 (s, 3H), 2.52 (s, 3H), 2.03-1.98 (m, 1H), 1.95 (d,  $J=1.4$ Hz, 3H), 1.49 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.09 (s, 9H), 0.91 (d,  $J=6.1$ Hz, 3H), 0.89 (d,  $J=6.3$ Hz, 3H)

[0877]  $C_{34}H_{49}BrN_4O_5S$  计算值  $m/z=704.26$ ; 实验值  $[M+H]^+=705.23$

## [0878] 实施例69



[0879]

化学式:  $C_{35}H_{49}N_5O_5S$ 

精确质量: 651.35

(69)

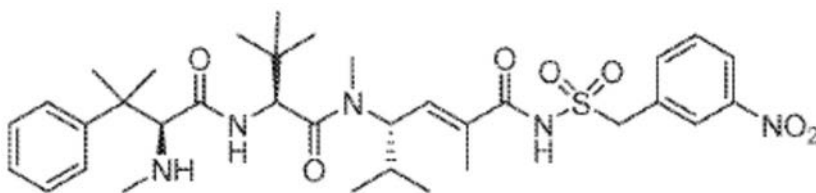
[0880] (S,E)-N-(4-氰基苯甲基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[0881] 使用一般程序2和7,由实施例3和4-氰基苯甲基磺酰胺制备标题化合物。

[0882]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.77 (d,  $J=8.3$ Hz, 2H), 7.64-7.53 (m, 4H), 7.48 (t,  $J=7.7$ Hz, 2H), 7.38 (t,  $J=7.3$ Hz, 1H), 6.41 (dd,  $J=9.3, 1.7$ Hz, 1H), 5.05 (t,  $J=10.0$ Hz, 1H), 4.94 (s, 1H), 4.87 (s, 2H), 4.36 (s, 1H), 3.14 (s, 3H), 2.52 (s, 3H), 2.06-1.98 (m, 1H), 1.95 (d,  $J=1.4$ Hz, 3H), 1.49 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.09 (s, 9H), 0.91 (d,  $J=4.0$ Hz, 3H), 0.90 (d,  $J=4.0$ Hz, 3H)。

[0883]  $C_{35}H_{49}N_5O_5S$  计算值  $m/z=651.35$ ; 实验值  $[M+H]^+=652.38$

[0884] 实施例70



[0885]

化学式:  $C_{34}H_{49}N_5O_7S$ 

精确质量: 671.34

(70)

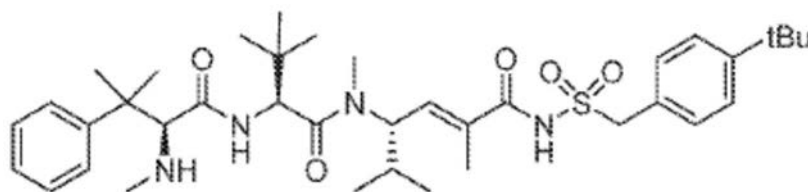
[0886] (S,E)-2,5-二甲基-N-(3-硝基苯甲基磺酰基)-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[0887] 使用一般程序2和7,由实施例3和3-硝基苯甲基磺酰胺制备标题化合物。

[0888]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  8.29 (d,  $J=8.0$ Hz, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.83 (d,  $J=7.8$ Hz, 1H), 7.67 (t,  $J=8.0$ Hz, 1H), 7.56 (d,  $J=7.2$ Hz, 2H), 7.48 (t,  $J=7.7$ Hz, 2H), 7.38 (t,  $J=7.3$ Hz, 1H), 6.43 (dd,  $J=9.4, 1.7$ Hz, 1H), 5.05 (t,  $J=10.0$ Hz, 1H), 4.93 (s, 2H), 4.93 (s, 1H), 4.36 (s, 1H), 3.13 (s, 3H), 2.52 (s, 3H), 2.08-1.98 (m, 1H), 1.96 (d,  $J=1.4$ Hz, 3H), 1.48 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.07 (s, 9H), 0.89 (d,  $J=6.6$ Hz, 3H), 0.88 (d,  $J=6.6$ Hz, 3H)。

[0889]  $C_{34}H_{49}N_5O_7S$  计算值  $m/z=671.34$ ; 实验值  $[M+H]^+=672.39$

[0890] 实施例71



化学式:  $C_{38}H_{58}N_4O_5S$

精确质量: 682.41

(71)

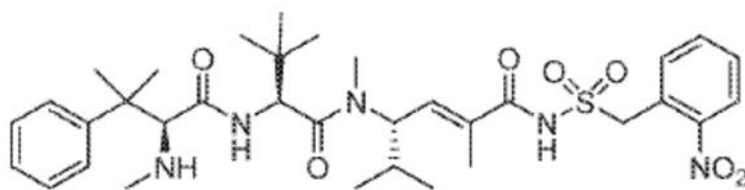
[0892] (S,E)-N-(4-叔丁基苯甲基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[0893] 使用一般程序2和7,由实施例3和4-叔丁基苯甲基磺酰胺制备标题化合物。

[0894]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.56 (d,  $J=7.6$ Hz, 2H), 7.48 (t,  $J=7.7$ Hz, 2H), 7.43 (d,  $J=8.2$ Hz, 2H), 7.38 (t,  $J=7.3$ Hz, 1H), 7.30 (d,  $J=8.2$ Hz, 2H), 6.39 (dd,  $J=9.4, 1.6$ Hz, 1H), 5.07 (t,  $J=10.0$ Hz, 1H), 4.93 (s, 1H), 4.72 (s, 2H), 4.37 (s, 1H), 3.13 (s, 3H), 2.52 (s, 3H), 2.06-1.98 (m, 1H), 1.96 (d,  $J=1.4$ Hz, 3H), 1.49 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.33 (s, 9H), 1.10 (s, 9H), 0.92 (d,  $J=6.6$ Hz, 3H), 0.89 (d,  $J=6.5$ Hz, 3H)。

[0895]  $C_{38}H_{58}N_4O_5S$  计算值  $m/z=682.41$ ; 实验值  $[M+H]^+=683.47$

[0896] 实施例72



化学式:  $C_{34}H_{49}N_5O_7S$

精确质量: 671.34

(72)

[0898] (S,E)-2,5-二甲基-N-(2-硝基苯甲基磺酰基)-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

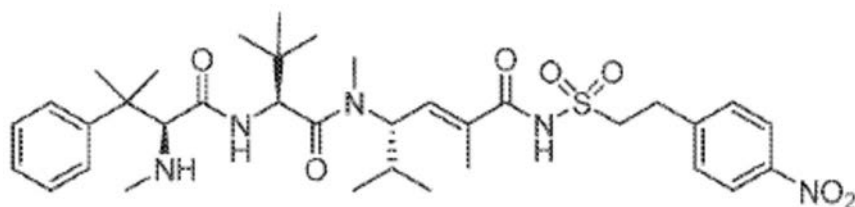
[0899] 使用一般程序2和7,由实施例3和2-硝基苯甲基磺酰胺制备标题化合物。

[0900]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  8.03 (dd,  $J=8.0, 1.4$ Hz, 1H), 7.72 (td,  $J=7.5, 1.5$ Hz, 1H), 7.65 (td,  $J=7.7, 1.6$ Hz, 1H), 7.60 (dd,  $J=7.6, 1.6$ Hz, 1H), 7.56 (d,  $J=7.2$ Hz, 2H), 7.48 (t,  $J=7.7$ Hz, 2H), 7.38 (t,  $J=7.3$ Hz, 1H), 6.43 (dd,  $J=9.4, 1.6$ Hz, 1H), 5.31 (d,  $J=14.2$ Hz, 1H), 5.26 (d,  $J=15.3$ Hz, 1H), 5.06 (t,  $J=10.0$ Hz, 1H), 4.94 (s, 1H), 4.37 (s, 1H), 3.15 (s, 3H), 2.52 (s, 3H), 2.08-1.98 (m, 1H), 1.96 (d,  $J=1.4$ Hz, 3H), 1.49 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.10 (s, 9H), 0.92 (d,  $J=6.6$ Hz, 3H), 0.90 (d,  $J=6.6$ Hz, 3H)。

[0901]  $C_{34}H_{49}N_5O_7S$  计算值  $m/z=671.34$ ; 实验值  $[M+H]^+=672.39$

[0902] 实施例73

[0903]

化学式:  $C_{35}H_{51}N_5O_7S$ 

精确质量: 685.35

(73)

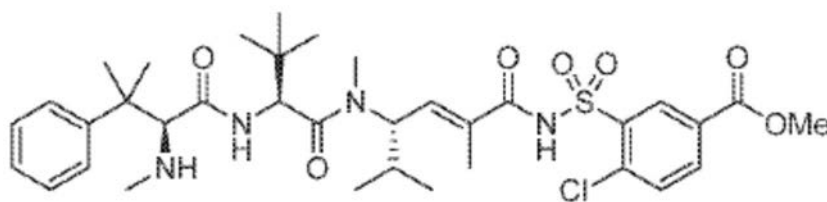
[0904] (S,E)-2,5-二甲基-N-(4-硝基苯乙基磺酰基)-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[0905] 使用一般程序2和7,由实施例3和4-硝基-高苯甲基磺酰胺制备标题化合物。

[0906]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  8.19 (d,  $J=8.7$ Hz, 2H), 7.58-7.51 (m, 4H), 7.47 (t,  $J=7.6$ Hz, 2H), 7.37 (t,  $J=7.3$ Hz, 1H), 6.47 (dd,  $J=9.5, 1.7$ Hz, 1H), 5.00 (t,  $J=10.0$ Hz, 1H), 4.93 (s, 1H), 4.36 (s, 1H), 3.91 (dd,  $J=14.9, 8.5$ Hz, 1H), 3.84 (dd,  $J=12.9, 8.5$ Hz, 1H), 3.28 (t,  $J=7.5$ Hz, 2H), 3.16 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 2.12-1.98 (m, 1H), 1.87 (d,  $J=1.4$ Hz, 3H), 1.48 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.08 (s, 9H), 0.91 (d,  $J=6.6$ Hz, 3H), 0.91 (d,  $J=6.6$ Hz, 3H)。

[0907]  $C_{35}H_{51}N_5O_7S$  计算值  $m/z=685.35$ ; 实验值  $[M+H]^+=686.38$

[0908] 实施例74



[0909]

化学式:  $C_{35}H_{49}ClN_4O_7S$ 

精确质量: 704.30

分子量: 705.30

(74)

[0910] 4-氯-3-(N-((S,E)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰基)氨磺酰基)苯甲酸甲酯

[0911] 使用一般程序2和7,由实施例3和4-氯-3-氨磺酰基苯甲酸甲酯制备标题化合物。

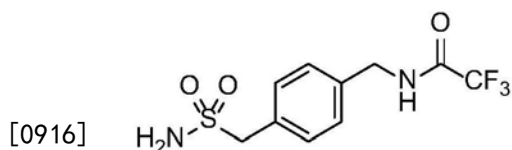
[0912]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  8.80 (d,  $J=2.1$ Hz, 1H), 8.20 (dd,  $J=8.3, 2.1$ Hz, 1H), 7.71 (d,  $J=8.3$ Hz, 1H), 7.59-7.52 (m, 2H), 7.47 (t,  $J=7.7$ Hz, 2H), 7.40-7.32 (m, 1H), 6.63-6.56 (m, 1H), 5.02 (t,  $J=10.0$ Hz, 1H), 4.37 (s, 1H), 3.98 (s, 3H), 3.18 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 2.13-2.00 (m, 1H), 1.86 (d,  $J=1.4$ Hz, 3H), 1.47 (s, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.06 (s, 9H), 0.96-0.87 (m, 6H)。

[0913]  $^{13}C$  NMR (101MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  170.87, 165.65, 164.87, 143.61, 137.01, 136.04, 134.29, 133.23, 131.81, 129.16, 128.98, 128.88, 127.50, 125.98, 69.81, 65.53, 57.39, 56.35, 56.15, 55.37, 51.86, 40.70, 34.51, 32.77, 30.80, 29.39, 28.44, 26.18, 25.56,

20.06, 18.40, 14.06, 12.74。

[0914]  $C_{35}H_{49}ClN_4O_7S$  计算值  $m/z = 704.30 amu$ ; 实验值  $[M+H]^+ = 705.25$ ,  $[M+Na]^+ = 727.25$

[0915] 实施例75



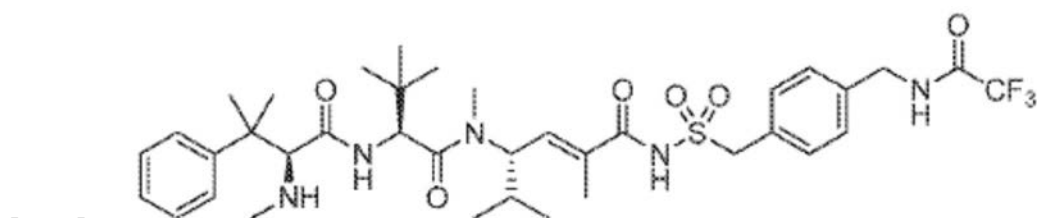
(75)

[0917] 2,2,2-三氟-N-(4-(氨磺酰基甲基)苯基)乙酰胺

[0918] 使用一般程序1,由市售(4-(氨基甲基)苯基)甲磺酰胺和TFAA合成标题化合物。

[0919]  $^1H$  NMR (400MHz, 丙酮- $d_6$ )  $\delta$  9.05 (s, 1H), 7.48-7.40 (m, 2H), 7.40-7.32 (m, 2H), 6.17 (s, 1H), 4.56 (d,  $J = 6.1 Hz$ , 2H), 4.35 (s, 2H)

[0920] 实施例76



化学式:  $C_{37}H_{52}F_3N_5O_6S$

精确质量: 751.36

分子量: 751.90

(76)

[0922] (S,E)-2,5-二甲基-N-(4-((2,2,2-三氟乙酰胺基)甲基)苯基磺酰基)-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[0923] 使用一般程序2和7,由实施例3和实施例75制备标题化合物。

[0924]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.57-7.49 (m, 2H), 7.45 (t,  $J = 7.5 Hz$ , 2H), 7.33 (p,  $J = 8.8, 7.9 Hz$ , 5H), 6.37 (d,  $J = 9.7 Hz$ , 1H), 5.09-5.00 (m, 1H), 4.69 (s, 2H), 4.44 (s, 2H), 4.30 (s, 1H), 3.10 (s, 3H), 2.45 (d,  $J = 17.5 Hz$ , 3H), 2.02-1.87 (m, 4H), 1.46 (s, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.07 (s, 9H), 0.95-0.81 (m, 6H)。

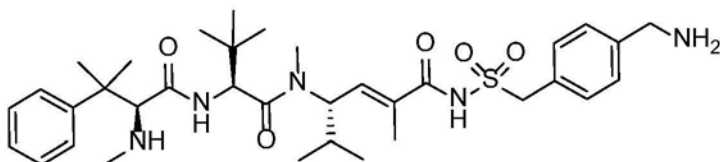
[0925]  $^{19}F$  NMR (377MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  -76.94, -77.24。

[0926]  $C_{37}H_{52}F_3N_5O_6S$  计算值  $m/z = 751.36 amu$ ; 实验值  $[M+H]^+ = 752.46$ ,  $[M+Na]^+ = 774.38$

[0927] 实施例77



[0928]



(77)

[0929] (S,E)-N-(4-(氨基甲基)苯甲基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

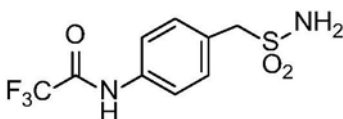
[0930] 使用一般程序2、3和7,由实施例3和实施例75制备。

[0931]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.60–7.54 (m, 2H), 7.54–7.50 (m, 4H), 7.47 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 2H), 7.37 (t,  $J=7.4\text{Hz}$ , 1H), 6.49 (dd,  $J=9.5, 1.5\text{Hz}$ , 1H), 5.07 (t,  $J=10.0\text{Hz}$ , 1H), 4.94 (s, 1H), 4.83 (d,  $J=14.3\text{Hz}$ , 1H), 4.79 (d,  $J=13.9\text{Hz}$ , 1H), 4.38 (s, 1H), 4.16 (s, 2H), 3.16 (s, 3H), 2.52 (s, 3H), 2.10–2.00 (m, 1H), 1.97 (d,  $J=1.4\text{Hz}$ , 3H), 1.49 (s, 3H), 1.40 (s, 3H), 1.10 (s, 9H), 0.93 (d,  $J=6.9\text{Hz}$ , 3H), 0.91 (d,  $J=7.0\text{Hz}$ , 3H)。

[0932]  $\text{C}_{35}\text{H}_{53}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$  计算值  $m/z=655.4$ ; 实验值  $[\text{M}+\text{H}]^+=656.3$ ,  $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}=328.8$ 。

[0933] 实施例78

[0934]



(78)

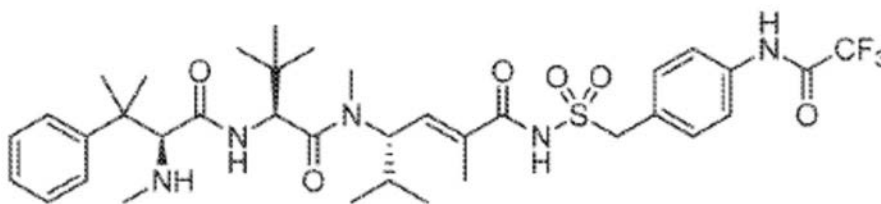
[0935] 2,2,2-三氟-N-(4-(氨磺酰基甲基)苯基)乙酰胺

[0936] 使用一般程序1,由市售(4-氨基苯基)甲磺酰胺和TFAA合成标题化合物。

[0937]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.31 (s, 1H), 7.79–7.51 (m, 2H), 7.51–7.23 (m, 2H), 6.85 (s, 2H), 4.27 (s, 2H)。

[0938] 实施例79

[0939]



化学式:  $\text{C}_{36}\text{H}_{50}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$

精确质量: 737.34

分子量: 737.87

(79)

[0940] (S,E)-2,5-二甲基-N-(4-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯甲基磺酰基)-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

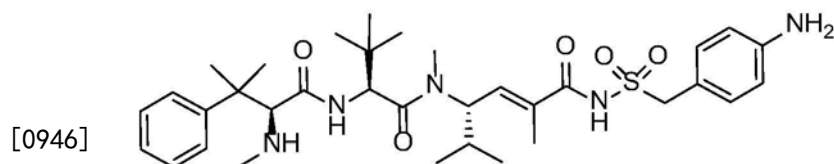
[0941] 使用一般程序2和7,由实施例3和实施例78制备标题化合物。

[0942]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  7.68 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 2H), 7.54 (d,  $J=7.1\text{Hz}$ , 2H), 7.45 (t,  $J=7.6\text{Hz}$ , 2H), 7.37 (dd,  $J=10.6, 5.0\text{Hz}$ , 3H), 6.34 (d,  $J=9.4\text{Hz}$ , 1H), 5.04 (t,  $J=10.1\text{Hz}$ , 2H), 4.74 (s, 2H), 4.35 (s, 1H), 3.10 (s, 3H), 2.49 (s, 3H), 2.02–1.94 (m, 1H), 1.93 (d,  $J=1.4\text{Hz}$ , 3H), 1.46 (s, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.06 (s, 9H), 0.88 (d,  $J=6.3\text{Hz}$ , 3H), 0.86 (s, 3H)。

[0943]  $^{19}\text{F}$  NMR (377MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  -76.97, -77.05。

[0944]  $\text{C}_{36}\text{H}_{50}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$  计算值  $m/z=737.34\text{amu}$ ; 实验值  $[\text{M}+\text{H}]^+=738.38$ ,  $[\text{M}+\text{Na}]^+=760.35$

[0945] 实施例80



(80)

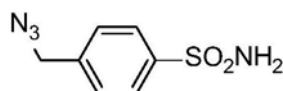
[0947] (S,E)-N-(4-氨基苯基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[0948] 使用一般程序2、3和7,由实施例3和实施例78制备标题化合物。

[0949]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  7.56 (d,  $J=7.6\text{Hz}$ , 2H), 7.48 (t,  $J=7.7\text{Hz}$ , 2H), 7.37 (t,  $J=7.3\text{Hz}$ , 1H), 7.20 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 6.87 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 6.39 (d,  $J=9.4\text{Hz}$ , 1H), 5.07 (t,  $J=10.0\text{Hz}$ , 1H), 4.95 (s, 1H), 4.64 (s, 2H), 4.38 (s, 1H), 3.14 (s, 3H), 2.52 (s, 3H), 2.07–1.98 (m, 1H), 1.96 (d,  $J=1.4\text{Hz}$ , 3H), 1.49 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.10 (s, 9H), 0.92 (d,  $J=6.7\text{Hz}$ , 3H), 0.90 (d,  $J=6.4\text{Hz}$ , 3H)。

[0950]  $\text{C}_{34}\text{H}_{51}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$  计算值  $m/z=641.4$ ; 实验值  $[\text{M}+\text{H}]^+=642.3$ 。

[0951] 实施例81



(81)

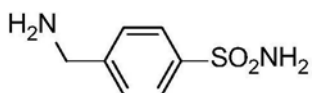
[0953] 4-(叠氮甲基)苯磺酰胺

[0954] 向4-(溴甲基)苯磺酰胺(0.50g)于N,N-二甲基甲酰胺(1mL)中的搅拌溶液中加入叠氮化钠(0.20g)。将悬浮液加热至50℃后维持3小时,此时在减压下去除溶剂。使残余物分配在乙酸乙酯与水之间。用盐水洗涤有机相,经硫酸镁干燥,过滤并浓缩至干燥,得到呈糖浆状的标题化合物,其在静置时固化。

[0955]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 氯仿- $\text{d}$ )  $\delta$  8.06–7.91 (m, 2H), 7.58–7.44 (m, 2H), 4.96 (s, 2H), 4.48 (s, 2H)。

[0956] 实施例82





[0957]

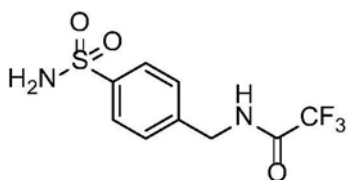
**(82)**

[0958] 4-(氨基甲基)苯磺酰胺

[0959] 向配备有磁性搅拌器的圆底烧瓶中的4-(叠氮甲基)苯磺酰胺(0.354g)于甲醇(10mL)中的溶液中加入10%Pd/C(~0.05g)。在减压下排空烧瓶中的气体且装入氢气。将这种排空和装料重复三次,此时将悬浮液搅拌过夜。在16h时,TLC分析指示起始物质完全消耗。用甲醇(40mL)稀释反应物,加入硅藻土且使混合物滤过烧结玻璃漏斗。将所得溶液浓缩至干燥。<sup>1</sup>H NMR表明物质在此阶段的干净程度足以不经过纯化即进一步使用。

[0960] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ7.77(m,2H),7.53(m,2H),5.76(s,2H),3.76(d,J=11.9Hz,2H)。

[0961] 实施例83



[0962]

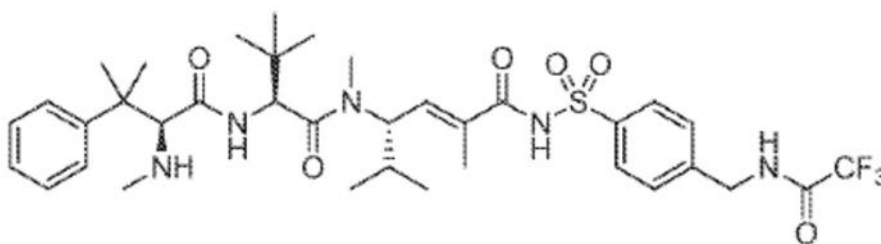
**(83)**

[0963] 2,2,2-三氟-N-(4-氨磺酰基苯甲基)乙酰胺

[0964] 根据一般程序1,通过4-(氨基甲基)苯磺酰胺与TFAA的反应合成标题化合物,<sup>1</sup>H NMR光谱因旋转异构体而变得复杂。

[0965] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ7.91-7.75(m,2H),7.55-7.31(m,4H),4.72(m,2H),4.47(d,J=6.0Hz,1H),3.18(s,2H)。

[0966] 实施例84



[0967]

化学式: C<sub>36</sub>H<sub>50</sub>F<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>S

精确质量: 737.34

分子量: 737.87

**(84)**

[0968] (S,E)-2,5-二甲基-N-(4-((2,2,2-三氟乙酰胺基)甲基)苯基磺酰基)-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

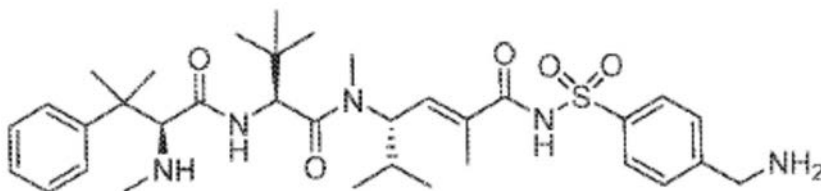
[0969] 使用一般程序2和7,由实施例3和实施例83制备标题化合物。

[0970]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  8.02 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 7.58–7.42 (m, 7H), 7.35 (t,  $J=7.3\text{Hz}$ , 1H), 6.46 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H), 4.97 (d,  $J=10.4\text{Hz}$ , 1H), 4.54 (s, 2H), 4.33 (s, 1H), 3.14 (s, 3H), 2.48 (s, 3H), 2.11–1.97 (m, 1H), 1.83 (d,  $J=1.4\text{Hz}$ , 3H), 1.53 (s, 1H), 1.44 (s, 3H), 1.34 (s, 3H), 1.04 (s, 9H), 0.89 (d,  $J=3.9\text{Hz}$ , 3H), 0.88 (d,  $J=4.1\text{Hz}$ , 3H)。

[0971]  $^{19}\text{F}$  NMR (377MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  -76.94, -77.26。

[0972]  $\text{C}_{36}\text{H}_{50}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$  计算值  $m/z=737.34\text{amu}$ ; 实验值  $[\text{M}+\text{H}]^+=738.39$ ,  $[\text{M}+\text{Na}]^+=760.41$

[0973] 实施例85



[0974]

化学式:  $\text{C}_{34}\text{H}_{51}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$

精确质量: 641.36

(85)

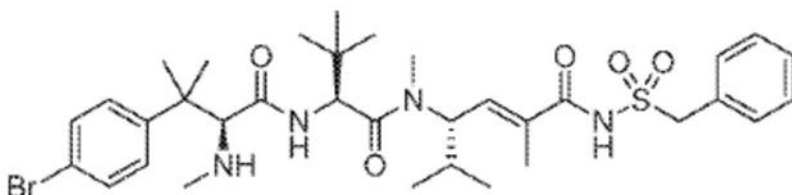
[0975] (S,E)-N-(4-(氨基甲基)苯基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[0976] 使用一般程序2、3和7,由实施例3和实施例83制备。

[0977]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  8.13 (d,  $J=8.3\text{Hz}$ , 2H), 7.68 (d,  $J=8.3\text{Hz}$ , 2H), 7.55 (d,  $J=7.6\text{Hz}$ , 2H), 7.47 (t,  $J=7.7\text{Hz}$ , 2H), 7.37 (t,  $J=7.3\text{Hz}$ , 1H), 6.51 (dd,  $J=9.2, 1.8\text{Hz}$ , 1H), 5.01 (t,  $J=10.0\text{Hz}$ , 1H), 4.37 (s, 1H), 4.24 (s, 2H), 3.17 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 2.13–1.97 (m, 1H), 1.84 (d,  $J=1.4\text{Hz}$ , 3H), 1.47 (s, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.07 (s, 9H), 0.91 (dd,  $J=6.7, 2.0\text{Hz}$ , 7H)。

[0978]  $\text{C}_{34}\text{H}_{51}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$  计算值  $m/z=641.36\text{amu}$ ; 实验值  $[\text{M}+\text{H}]^+=642.4$

[0979] 实施例86



[0980]

化学式:  $\text{C}_{34}\text{H}_{49}\text{BrN}_4\text{O}_5\text{S}$

精确质量: 704.26

分子量: 705.75

(86)

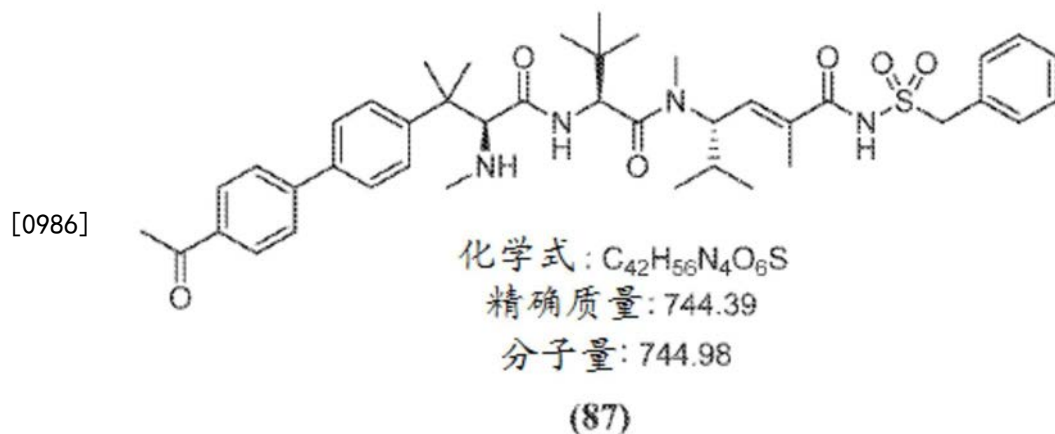
[0981] (S,E)-N-(苯基磺酰基)-4-((S)-2-((S)-3-(4-溴苯基)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-2,5-二甲基己-2-烯酰胺

[0982] 使用一般程序4和7,由实施例38和(S,E)-4-((S)-2-氨基-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-N-(苯基磺酰基)-2,5-二甲基己-2-烯酰胺制备标题化合物。

[0983]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  7.62 (t,  $J=9.2\text{Hz}$ , 2H), 7.50–7.43 (m, 2H), 7.38 (d,  $J=2.2\text{Hz}$ , 5H), 6.38 (dd,  $J=9.5, 1.8\text{Hz}$ , 1H), 5.05 (t,  $J=10.0\text{Hz}$ , 1H), 4.92 (s, 1H), 4.75 (d,  $J=2.2\text{Hz}$ , 2H), 4.30 (s, 1H), 3.12 (s, 3H), 2.53 (s, 3H), 2.06–1.97 (m, 1H), 1.95 (d,  $J=1.5\text{Hz}$ , 3H), 1.47 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.09 (s, 9H), 0.94–0.86 (m, 6H)。

[0984]  $\text{C}_{34}\text{H}_{49}\text{BrN}_4\text{O}_5\text{S}$  计算值  $m/z=704.26\text{amu}$ ; 实验值  $[\text{M}+\text{H}]^+=705.29$ ,  $[\text{M}+\text{Na}]^+=727.36$

[0985] 实施例87



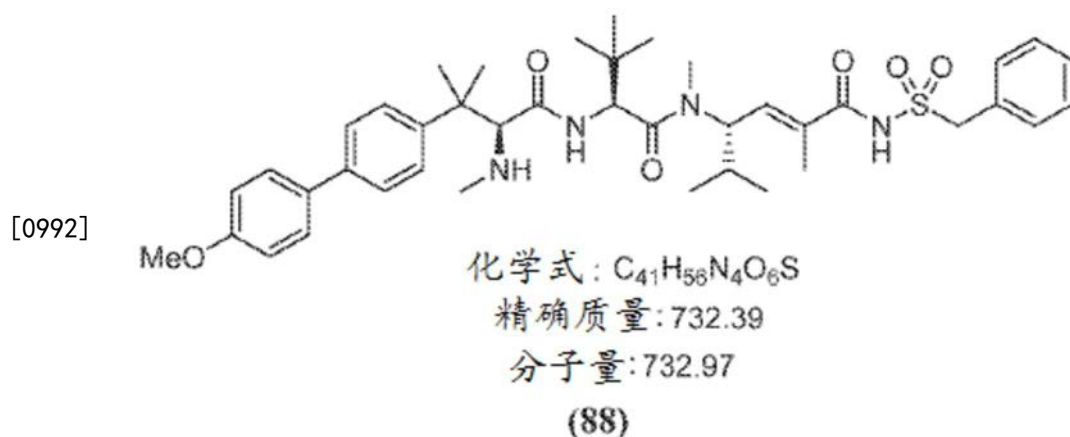
[0987] (S,E)-4-((S)-2-((S)-3-(4'-乙酰基联苯-4-基)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-N-(苯甲基磺酰基)-2,5-二甲基己-2-烯酰胺

[0988] 根据一般程序8,由经Boc保护的实施例86和4-乙酰基苯基硼酸制备标题化合物。

[0989]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  8.15–8.08 (m, 2H), 7.86–7.76 (m, 4H), 7.66 (dd,  $J=14.7, 8.4\text{Hz}$ , 2H), 7.38 (d,  $J=4.9\text{Hz}$ , 5H), 6.39 (d,  $J=9.3\text{Hz}$ , 1H), 5.05 (t,  $J=10.1\text{Hz}$ , 1H), 4.94 (s, 1H), 4.75 (d,  $J=4.1\text{Hz}$ , 2H), 4.37 (d,  $J=16.1\text{Hz}$ , 1H), 3.13 (d,  $J=3.4\text{Hz}$ , 3H), 2.67 (s, 3H), 2.53 (d,  $J=11.6\text{Hz}$ , 3H), 2.01 (s, 1H), 1.96 (d,  $J=1.5\text{Hz}$ , 3H), 1.54 (d,  $J=3.7\text{Hz}$ , 3H), 1.44 (s, 3H), 1.09 (d,  $J=2.7\text{Hz}$ , 9H), 0.96–0.83 (m, 6H)。

[0990]  $\text{C}_{42}\text{H}_{56}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$  计算值  $m/z=744.39\text{amu}$ ; 实验值  $[\text{M}+\text{H}]^+=745.42$ ,  $[\text{M}+\text{Na}]^+=767.36$

[0991] 实施例88



[0993] (S,E)-N-(苯甲基磺酰基)-4-((S)-2-((S)-3-(4'-甲氧基联苯-4-基)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-2,5-二甲基己-2-烯酰胺

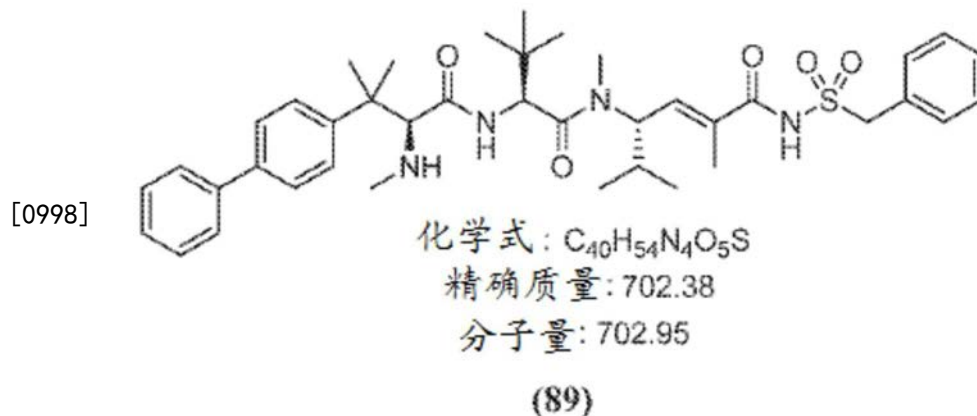
[0994] 根据一般程序8,由经Boc保护的实施例86和4-甲氧基苯基硼酸制备标题化合物。

[0995]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  7.74–7.53 (m, 6H), 7.38 (d,  $J=4.7\text{Hz}$ , 5H), 7.08–6.99

(m, 2H), 6.43–6.35 (m, 1H), 5.06 (s, 1H), 4.94 (s, 1H), 4.75 (d, J=4.1Hz, 2H), 4.38 (s, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.13 (s, 3H), 2.54 (s, 3H), 1.99 (d, J=11.0Hz, 1H), 1.96 (d, J=1.5Hz, 3H), 1.51 (s, 3H), 1.43 (s, 3H), 1.09 (s, 9H), 0.96–0.85 (m, J=6.0, 5.1Hz, 6H)。

[0996]  $C_{41}H_{56}N_4O_6S$  计算值  $m/z = 732.39 \text{amu}$ ; 实验值  $[M+H]^+ = 733.41$ ,  $[M+Na]^+ = 755.40$

[0997] 实施例89



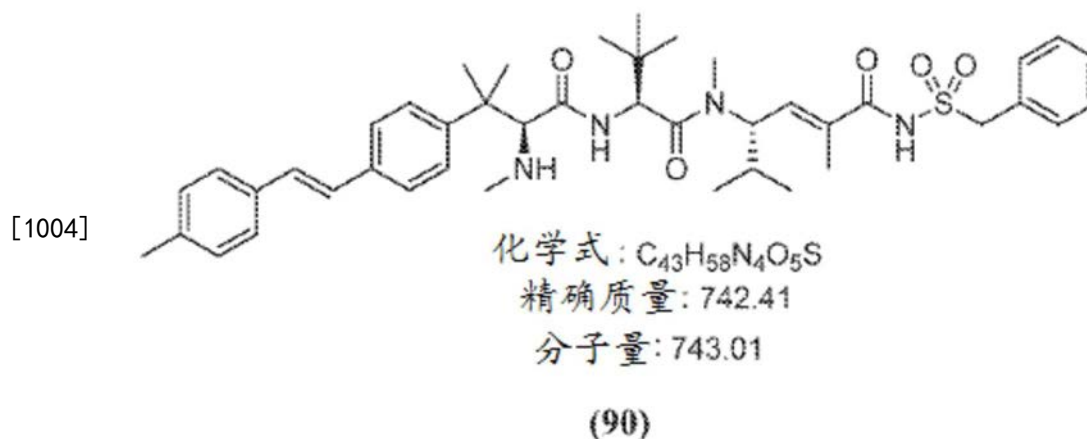
[0999] (S,E)-N-(苯甲基磺酰基)-4-((S)-2-((S)-3-(联苯-4-基)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-2,5-二甲基己-2-烯酰胺

[1000] 根据一般程序8,由经Boc保护的实施例86和苯基硼酸制备标题化合物。

[1001]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.86–7.51 (m, 6H), 7.48 (t, J=7.6Hz, 2H), 7.43–7.33 (m, 6H), 6.39 (d, J=9.5Hz, 1H), 5.06 (t, J=10.1Hz, 1H), 4.94 (s, 1H), 4.75 (d, J=3.3Hz, 2H), 4.37 (d, J=14.4Hz, 1H), 3.13 (d, J=3.7Hz, 3H), 2.55 (d, J=4.5Hz, 3H), 2.06–1.97 (m, 1H), 1.96 (d, J=1.5Hz, 3H), 1.52 (s, 3H), 1.44 (d, J=4.5Hz, 3H), 1.09 (d, J=5.6Hz, 9H), 0.96–0.83 (m, 6H)。

[1002]  $C_{40}H_{54}N_4O_5S$  计算值  $m/z = 702.38 \text{amu}$ ; 实验值  $[M+H]^+ = 703.40$ ,  $[M+Na]^+ = 725.45$

[1003] 实施例90



[1005] (S,E)-N-(苯甲基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-(4-(4-甲基苯乙烯基)苯基)丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

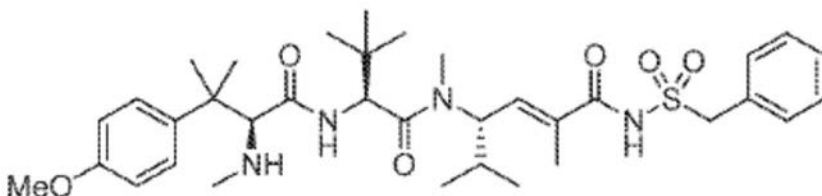
[1006] 根据一般程序8,由经Boc保护的实施例86和(E)-4-甲基苯乙烯基硼酸制备标题化合物。

[1007]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.65 (d, J=8.2Hz, 2H), 7.54 (d, J=8.2Hz, 2H), 7.47 (d,

J=7.8Hz, 2H), 7.38 (s, 5H), 7.26–7.11 (m, 4H), 6.39 (d, J=9.3Hz, 1H), 5.06 (t, J=10.0Hz, 1H), 4.97–4.91 (m, 1H), 4.76 (s, 2H), 4.36 (s, 1H), 3.12 (d, J=8.9Hz, 3H), 2.54 (s, 3H), 2.37 (s, 3H), 2.05–1.97 (m, 1H), 1.97–1.93 (m, 3H), 1.49 (s, 3H), 1.41 (s, 3H), 1.09 (d, J=3.5Hz, 9H), 0.91 (t<sub>q</sub>, J=10.8, 4.9Hz, 6H)。

[1008]  $\text{C}_{43}\text{H}_{58}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$  计算值  $m/z = 742.41 \text{ amu}$ ; 实验值  $[\text{M}+\text{H}]^+ = 743.44$ ,  $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 765.41$

[1009] 实施例91



[1010]

化学式:  $C_{35}H_{52}N_4O_6S$

精确质量: 656.36

分子量: 656.88

(91)

[1011] (S,E)-N-(苯甲基磺酰基)-4-((S)-2-((S)-3-(4-甲氧基苯基)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-2,5-二甲基己-2-烯酰胺

[1012] 根据一般程序9,由经Boc保护的实施例86制备标题化合物。

[1013] 主要非对映异构体:

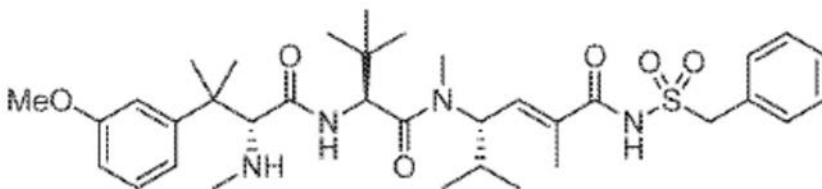
[1014]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  7.44 (dd,  $J=12.9, 8.6\text{Hz}$ , 2H), 7.40–7.34 (m, 5H), 7.00 (t,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H), 6.38 (d,  $J=9.2\text{Hz}$ , 1H), 5.05 (t,  $J=9.9\text{Hz}$ , 1H), 4.93 (s, 1H), 4.75 (d,  $J=1.8\text{Hz}$ , 2H), 4.29 (s, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.12 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 2.04–1.98 (m, 1H), 1.95 (d,  $J=1.4\text{Hz}$ , 3H), 1.45 (s, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.09 (s, 9H), 0.92–0.86 (m, 6H)。

[1015] 次要非对映异构体:

[1016]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  7.44 (dd,  $J=12.9, 8.6\text{Hz}$ , 2H), 7.40–7.34 (m, 5H), 7.00 (t,  $J=8.4\text{Hz}$ , 2H), 6.38 (d,  $J=9.2\text{Hz}$ , 1H), 4.99 (t,  $J=10.1\text{Hz}$ , 1H), 4.93 (s, 1H), 4.75 (d,  $J=1.8\text{Hz}$ , 2H), 4.26 (s, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.11 (s, 3H), 2.47 (s, 3H), 2.04–1.98 (m, 1H), 1.92 (d,  $J=1.4\text{Hz}$ , 3H), 1.53 (s, 3H), 1.48 (s, 3H), 0.94 (s, 9H), 0.92–0.86 (m, 6H)。

[1017]  $\text{C}_{35}\text{H}_{52}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$  计算值  $m/z = 656.36 \text{ amu}$ ; 实验值  $[\text{M}+\text{H}]^+ = 657.35$ ,  $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 679.25$

## [1018] 实施例92



[ 1019 ]

化学式:  $C_{35}H_{52}N_4O_6S$

精确质量: 656.36

分子量: 656.88

(92)

[1020] (S,E)-N-(苯甲基磺酰基)-4-((S)-2-((R)-3-(3-甲氧基苯基)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-2,5-二甲基己-2-烯酰胺

[1021] 根据一般程序9,由经Boc保护的(S,E)-N-(苯甲基磺酰基)-4-((S)-2-((S)-3-(3-溴苯基)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-2,5-二甲基己-2-烯酰胺制备标题化合物。这两种非对映异构体产物由非对映异构不纯的起始物质产生且可通过制备规模HPLC分离。

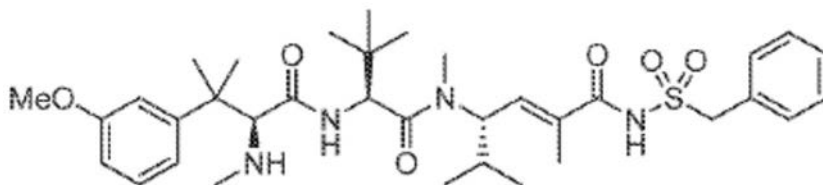
[1022] 主要非对映异构体:

[1023]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.51-7.32 (m, 6H), 7.14-7.07 (m, 1H), 7.06 (t,  $J$  = 2.2Hz, 1H), 6.98-6.90 (m, 1H), 6.38 (dd,  $J$  = 9.6, 1.7Hz, 1H), 4.99 (t,  $J$  = 10.3Hz, 1H), 4.93 (s, 1H), 4.75 (d,  $J$  = 1.8Hz, 2H), 4.32 (s, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.11 (s, 3H), 2.47 (s, 3H), 2.04-1.96 (m, 1H), 1.93 (d,  $J$  = 1.4Hz, 3H), 1.54 (s, 3H), 1.47 (s, 3H), 0.96 (s, 9H), 0.89 (dd,  $J$  = 6.6, 3.4Hz, 6H)。

[1024] 次要非对映异构体:参考实施例93(紧接下文)的 $^1\text{H}$  NMR光谱数据

[1025]  $\text{C}_{35}\text{H}_{52}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$ 计算值 $m/z$  = 656.36amu;实验值 $[\text{M}+\text{H}]^+$  = 657.36,  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  = 679.29

[1026] 实施例93



[1027]

化学式:  $\text{C}_{35}\text{H}_{52}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$

精确质量: 656.36

分子量: 656.88

(93)

[1028] (S,E)-N-(苯甲基磺酰基)-4-((S)-2-((S)-3-(3-甲氧基苯基)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-2,5-二甲基己-2-烯酰胺

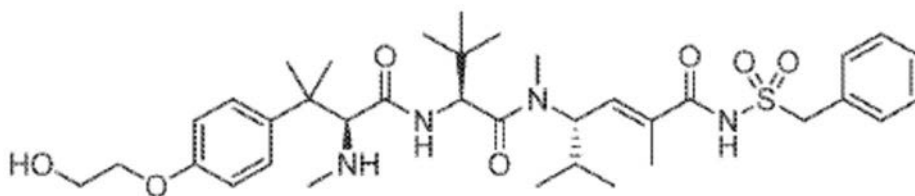
[1029] 根据实施例92制备标题化合物。这两种非对映异构体产物由非对映异构不纯的起始物质产生且可通过制备规模HPLC分离。

[1030]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.39 (d,  $J$  = 5.5Hz, 6H), 7.11 (dd,  $J$  = 4.9, 2.8Hz, 3H), 6.38 (d,  $J$  = 9.4Hz, 1H), 5.06 (d,  $J$  = 9.5Hz, 1H), 4.93 (s, 1H), 4.76 (s, 2H), 4.35 (s, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.13 (s, 3H), 2.52 (s, 3H), 2.05-1.97 (m, 1H), 1.95 (d,  $J$  = 1.6Hz, 3H), 1.46 (s, 3H), 1.38 (s, 3H), 1.09 (s, 9H), 0.90 (t,  $J$  = 6.6Hz, 6H)。

[1031]  $\text{C}_{35}\text{H}_{52}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$ 计算值 $m/z$  = 656.36amu;实验值 $[\text{M}+\text{H}]^+$  = 657.36,  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  = 679.32

[1032] 实施例94





[1033]

化学式:  $C_{36}H_{54}N_4O_7S$ 

精确质量: 686.37

分子量: 686.90

(94)

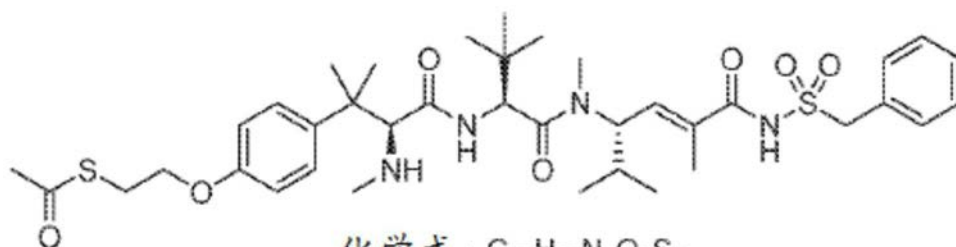
[1034] (S,E)-N-(苯甲基磺酰基)-4-((S)-2-((S)-3-(4-(2-羟基乙氧基)苯基)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-2,5-二甲基己-2-烯酰胺

[1035] 如下制备标题化合物: 在130℃下, 在 $N_2$ 下将经Boc保护的实施例86、CuI (10mol%)、3,4,7,8-四甲基-1,10-菲咯啉 (20mol%)、 $CS_2CO_3$  (2.5当量) 和乙二醇 (90当量) 的混合物搅拌20h。用 $H_2O$ 稀释所得混合物, 用1M柠檬酸小心地酸化且用 $CH_2Cl_2$  (5×) 萃取。合并有机物, 用盐水 (1×) 洗涤, 经 $MgSO_4$ 干燥, 过滤, 在真空中浓缩且经由硅胶柱色谱 (用AcOH/EtOAc/己烷混合物洗提) 进行纯化, 得到交叉偶合产物, 随后脱除保护基且根据一般程序7加以纯化。

[1036]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.46 (d,  $J=8.8Hz$ , 2H), 7.38 (d,  $J=2.5Hz$ , 5H), 7.05 (d,  $J=8.4Hz$ , 2H), 6.38 (d,  $J=9.5Hz$ , 1H), 5.05 (t,  $J=10.1Hz$ , 1H), 4.93 (s, 1H), 4.76 (s, 2H), 4.28 (d,  $J=11.0Hz$ , 1H), 4.13-4.04 (m, 2H), 3.90 (t,  $J=4.6Hz$ , 2H), 3.12 (d,  $J=6.2Hz$ , 3H), 2.50 (d,  $J=16.9Hz$ , 3H), 2.05-1.97 (m, 1H), 1.94 (d,  $J=11.0Hz$ , 3H), 1.56-1.34 (m, 6H), 1.09 (s, 9H), 0.90 (t,  $J=6.4Hz$ , 6H)。

[1037]  $C_{36}H_{54}N_4O_7S$  计算值  $m/z=686.37amu$ ; 实验值  $[M+H]^+=687.42$ ,  $[M+Na]^+=709.37$

[1038] 实施例95



[1039]

化学式:  $C_{38}H_{56}N_4O_7S_2$ 

精确质量: 744.36

分子量: 745.00

(95)

[1040] 硫代乙酸S-2-(4-((S)-4-((S)-1-(((S,E)-2,5-二甲基-6-氧代-6-(苯甲基磺酰胺基)己-4-烯-3-基)(甲基氨基)-3,3-二甲基-1-氧代丁-2-基氨基)-2-甲基-3-(甲基氨基)-4-氧代丁-2-基)苯氧基)乙酯

[1041] 如下制备标题化合物: 将三丁基膦 (6当量) 加入偶氮二甲酸二叔丁酯 (6当量) 于THF中的冷 (0℃) 搅拌溶液中。0.5h之后, 加入经Boc保护的实施例94 (1当量) 于THF中的溶

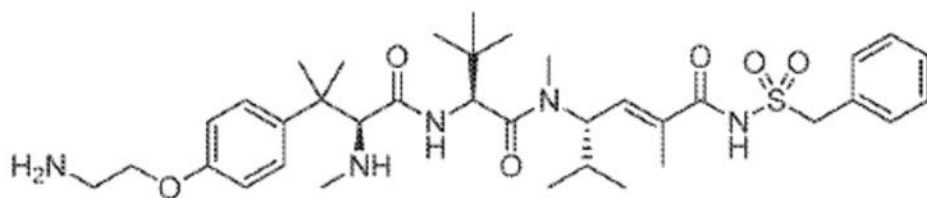
液,随后加入AcSH(4.5当量)于THF中的溶液。在0℃下将浅黄色混合物搅拌1h,随后在环境温度下搅拌23h。在真空中浓缩所得混合物,溶解于EtOAc中且相继用1MHC1(2×)、饱和NH<sub>4</sub>Cl(1×)和盐水(1×)洗涤。经MgSO<sub>4</sub>干燥有机物,过滤,在真空中浓缩且经由硅胶柱色谱法(用AcOH/EtOAc/己烷混合物洗提)加以纯化,得到经Boc保护的硫代乙酸酯产物(HPLC/MS-[M+Na]<sup>+</sup>=867.47)。

[1042] 将硫代乙酸酯溶解于CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中且用TFA处理。搅拌1h之后,在真空中浓缩反应混合物。将黄色/棕色残余物溶解于最少量的CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中,冷却至0℃且用醚处理以使所需氨基硫代乙酸酯作为灰白色固体沉淀析出,两个合成步骤的产率是10%。

[1043] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,甲醇-d<sub>4</sub>) δ7.46(d,J=8.7Hz,2H),7.38(d,J=2.4Hz,5H),7.03(d,J=8.6Hz,2H),6.38(d,J=9.5Hz,1H),5.05(t,J=10.0Hz,1H),4.93(s,1H),4.75(s,2H),4.27(d,J=11.4Hz,1H),4.14(t,J=6.6Hz,2H),3.28(t,J=6.6Hz,2H),3.11(d,J=6.6Hz,3H),2.49(d,J=15.5Hz,3H),2.38(s,3H),2.05-1.97(m,1H),1.95(s,3H),1.45(s,3H),1.37(s,3H),1.08(s,9H),0.96-0.85(m,6H)。

[1044] C<sub>38</sub>H<sub>56</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>S<sub>2</sub>计算值m/z=744.36amu;实验值[M+H]<sup>+</sup>=745.39,[M+Na]<sup>+</sup>=777.32

[1045] 实施例96



[1046]

化学式: C<sub>36</sub>H<sub>55</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>S

精确质量: 685.39

分子量: 685.92

(96)

[1047] (S,E)-4-((S)-2-((S)-3-(4-(2-氨基乙氧基)苯基)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-N-(苯甲基磺酰基)-2,5-二甲基己-2-烯酰胺

[1048] 如下制备标题化合物:将Et<sub>3</sub>N(4当量)加入MsCl(3.7当量)于CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中的冷(0℃)搅拌溶液中。2min之后,加入经Boc保护的实施例94于CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中的溶液。将浅黄色混合物冷搅拌5min,且随后在环境温度下搅拌72h。用EtOAc稀释所得混合物且相继用1M柠檬酸(1×)、1M NaHCO<sub>3</sub>(1×)和盐水(1×)洗涤。经MgSO<sub>4</sub>干燥有机物,过滤且在真空中浓缩,得到所述甲磺酸酯化醇(HPLC/MS-[M+Na]<sup>+</sup>=887.42),其不经进一步纯化即用于下一步骤中。

[1049] 将甲磺酸酯溶解于DMF中且用NaN<sub>3</sub>(7当量)处理。在环境温度下将所得悬浮液搅拌18h且随后在60℃下搅拌5h。用H<sub>2</sub>O稀释反应混合物,用1MHC1酸化且用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(4×)萃取。经MgSO<sub>4</sub>干燥所合并的有机物,过滤且在真空中浓缩,得到叠氮产物(HPLC/MS-[M+Na]<sup>+</sup>=834.44),其不经进一步纯化即用于下一步骤中。

[1050] 将所述叠氮化物溶解于THF/H<sub>2</sub>O(10:1)中且用三丁基膦(3.5当量)处理。在环境温度下将混合物搅拌21h且随后在真空中浓缩。将所得残余物溶解于EtOAc中且相继用1MHC1(3×)、1MNaHCO<sub>3</sub>(3×)、H<sub>2</sub>O(2×)和盐水(2×)洗涤。经MgSO<sub>4</sub>干燥有机物,过滤,在真空中浓缩且经由硅胶柱色谱法(用MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>混合物洗提)加以纯化,得到呈白色固体状的伯胺



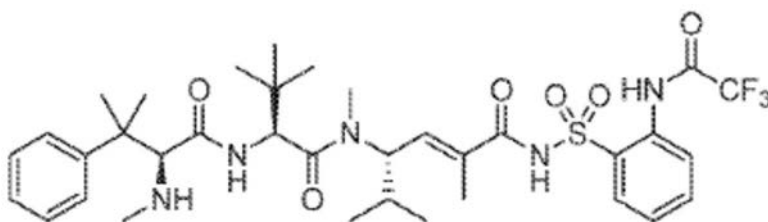
(HPLC/MS- $[M+H]^+=786.45$ )。

[1051] 将所述胺溶解于 $CH_2Cl_2$ 中且用TFA处理。搅拌1h之后,在真空中浓缩反应混合物。将灰白色固体残余物溶解于最少量的MeOH中,冷却至0℃且用醚处理以使所需二胺产物呈灰白色固体状沉淀析出,四个合成步骤的产率是6%。

[1052]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$ 7.50 (d,  $J=8.6Hz$ , 2H), 7.37 (s, 5H), 7.09 (d,  $J=8.6Hz$ , 2H), 6.41 (d,  $J=9.4Hz$ , 1H), 5.02 (t,  $J=10.0Hz$ , 1H), 4.91 (s, 1H), 4.70 (s, 2H), 4.27 (t,  $J=5.0Hz$ , 2H), 3.40 (t,  $J=5.0Hz$ , 2H), 3.37 (s, 1H), 3.12 (s, 3H), 2.47 (s, 3H), 2.06-1.95 (m, 1H), 1.94 (d,  $J=1.4Hz$ , 3H), 1.45 (s, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.08 (s, 9H), 0.89 (dd,  $J=9.7$ , 6.6Hz, 6H)。

[1053]  $C_{38}H_{55}N_5O_6S$ 计算值 $m/z=685.39amu$ ;实验值 $[M+H]^+=686.32$ ,  $[M+Na]^+=708.27$ ,  $[M+2H]/2]^{2+}=343.77$

[1054] 实施例97



[1055]

化学式:  $C_{35}H_{48}F_3N_5O_6S$

精确质量: 723.33

分子量: 723.85

(97)

[1056] (S,E)-2,5-二甲基-N-(2-(2,2,2-三氟乙酰胺基)苯基磺酰基)-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

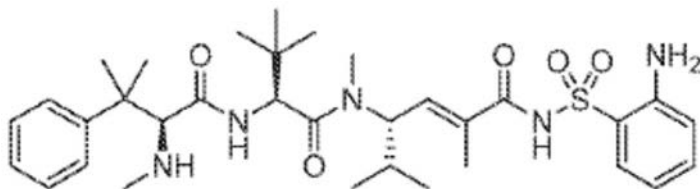
[1057] 根据一般程序2和7,由实施例3和2,2,2-三氟-N-(2-氨磺酰基苯基)乙酰胺制备标题化合物。

[1058]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$ 8.27 (d,  $J=8.4Hz$ , 1H), 8.05 (d,  $J=7.8Hz$ , 1H), 7.67 (t,  $J=7.9Hz$ , 1H), 7.54 (d,  $J=8.1Hz$ , 2H), 7.48 (t,  $J=7.7Hz$ , 2H), 7.40 (dt,  $J=13.3$ , 7.4Hz, 2H), 6.57 (d,  $J=9.2Hz$ , 1H), 4.92 (s, 2H), 4.34 (s, 1H), 3.17 (s, 3H), 2.50 (s, 3H), 2.06 (m, 1H), 1.87 (d,  $J=1.3Hz$ , 3H), 1.45 (s, 3H), 1.33 (s, 3H), 1.07 (s, 9H), 0.91 (dd,  $J=6.6$ , 3.5Hz, 6H)。

[1059]  $^{19}F$  NMR (377MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$ -76.96, -77.73。

[1060]  $C_{35}H_{48}F_3N_5O_6S$ 计算值 $m/z=723.33amu$ ;实验值 $[M+H]^+=723.34$ ,  $[M+Na]^+=746.23$

[1061] 实施例98



[1062]

化学式:  $C_{33}H_{49}N_5O_5S$ 

精确质量: 627.35

分子量: 627.84

(98)

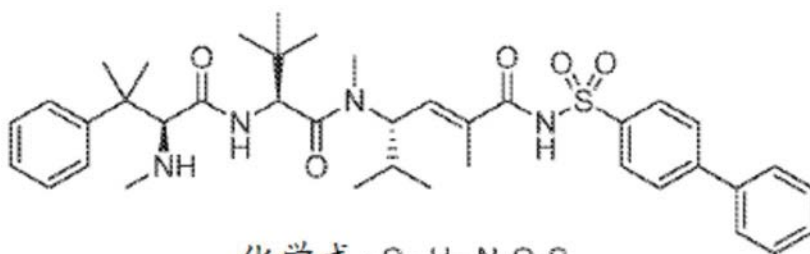
[1063] (S,E)-N-(2-氨基苯基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[1064] 根据一般程序2、3和7,由实施例3和2,2,2-三氟-N-(2-氨基磺酰基苯基)乙酰胺制备标题化合物。

[1065]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.75 (dd,  $J=8.2, 1.5$ Hz, 1H), 7.55 (d,  $J=7.8$ Hz, 2H), 7.48 (t,  $J=7.7$ Hz, 2H), 7.38 (t,  $J=7.4$ Hz, 1H), 7.33-7.27 (m, 1H), 6.81 (d,  $J=8.2$ Hz, 1H), 6.69 (t,  $J=7.5$ Hz, 1H), 6.49 (dd,  $J=9.1, 1.5$ Hz, 1H), 4.97 (t,  $J=10.1$ Hz, 1H), 4.92 (s, 1H), 4.35 (s, 1H), 3.17 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 2.07 (m, 1H), 1.88 (d,  $J=1.4$ Hz, 3H), 1.46 (s, 3H), 1.36 (s, 3H), 1.06 (s, 9H), 0.92 (t,  $J=6.8$ Hz, 6H)。

[1066]  $C_{33}H_{49}N_5O_5S$  计算值  $m/z=627.35$ amu; 实验值  $[M+H]^+=628.36$ ,  $[M+Na]^+=650.37$ ,  $[(M+2H)/2]^{2+}=314.76$

[1067] 实施例99



[1068]

化学式:  $C_{39}H_{52}N_4O_5S$ 

精确质量: 688.37

分子量: 688.92

(99)

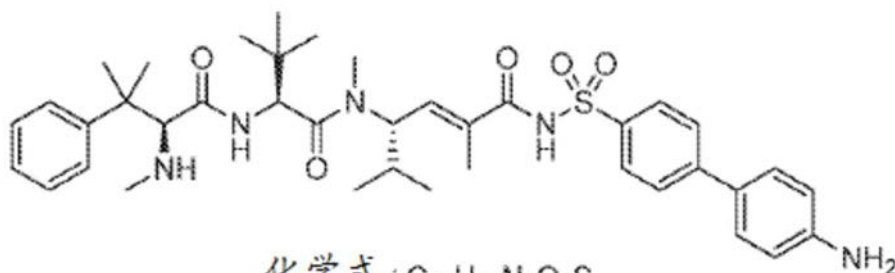
[1069] (S,E)-N-(联苯-4-基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[1070] 根据一般程序8和7,使用经Boc保护的实施例56与苯基硼酸制备标题化合物。

[1071]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  8.12 (d,  $J=8.3$ Hz, 2H), 7.83 (d,  $J=8.4$ Hz, 2H), 7.71 (d,  $J=7.7$ Hz, 2H), 7.52 (dd,  $J=11.6, 7.6$ Hz, 4H), 7.45 (t,  $J=7.3$ Hz, 3H), 7.36 (t,  $J=7.2$ Hz, 1H), 6.52 (d,  $J=9.4$ Hz, 1H), 4.96 (t,  $J=9.5$ Hz, 1H), 4.92 (s, 1H), 4.33 (s, 1H), 3.18 (s, 3H), 2.50 (s, 3H), 2.14-2.03 (m, 1H), 1.88 (s, 3H), 1.45 (s, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.07 (s, 9H), 0.92 (t,  $J=6.9$ Hz, 6H)。

[1072]  $C_{39}H_{52}N_4O_5S$  计算值  $m/z = 688.37$  amu; 实验值  $[M+H]^+ = 689.10$ ,  $[M+Na]^+ = 711.32$

[1073] 实施例100



[1074]

化学式:  $C_{39}H_{53}N_5O_5S$

精确质量: 703.38

分子量: 703.93

(100)

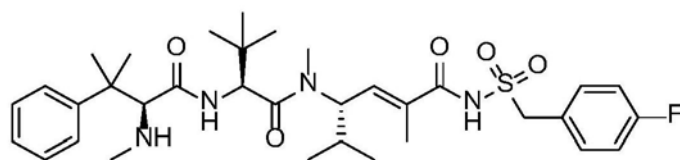
[1075] (S,E)-N-(4'-氨基联苯-4-基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[1076] 根据一般程序8和7,使用经Boc保护的实施例68与4-(叔丁氧基羰基氨基)苯基硼酸制备标题化合物。

[1077]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  8.05 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H), 7.75 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H), 7.59-7.51 (m, 4H), 7.45 (t,  $J = 7.7$  Hz, 2H), 7.36 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 6.91 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 6.50 (d,  $J = 9.1$  Hz, 1H), 4.98-4.92 (m, 1H), 4.91 (s, 1H), 4.34 (s, 1H), 3.18 (s, 3H), 2.50 (s, 3H), 2.13-2.03 (m, 1H), 1.88 (d,  $J = 1.4$  Hz, 3H), 1.45 (s, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.06 (s, 9H), 0.92 (t,  $J = 6.2$  Hz, 6H)。

[1078]  $C_{39}H_{53}N_5O_5S$  计算值  $m/z = 703.38$  amu; 实验值  $[M+H]^+ = 704.26$ ,  $[M+Na]^+ = 726.41$ ,  $[M+2H]/2^{2+} = 352.77$

[1079] 实施例101



[1080]

(101)

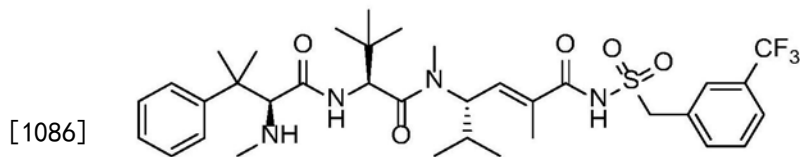
[1081] (S,E)-N-(4-氟苯甲基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[1082] 根据一般程序2和7,由实施例3和4-氟苯甲基磺酰胺制备标题化合物。

[1083]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.60-7.52 (m, 2H), 7.48 (t,  $J = 7.7$  Hz, 2H), 7.44-7.34 (m, 3H), 7.18-7.05 (m, 2H), 6.41 (dd,  $J = 9.5, 1.7$  Hz, 1H), 5.06 (t,  $J = 10.0$  Hz, 1H), 4.94 (s, 1H), 4.74 (s, 2H), 4.35 (s, 1H), 3.13 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 2.07-1.97 (m, 1H), 1.95 (d,  $J = 1.4$  Hz, 3H), 1.48 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.09 (s, 9H), 0.90 (t,  $J = 6.3$  Hz, 6H)。

[1084]  $C_{34}H_{49}FN_4O_5S$  计算值  $m/z = 644.34$ ; 实验值  $[M+H]^+ = 645.32$

[1085] 实施例102

**(102)**

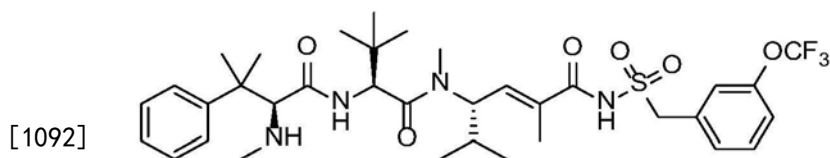
[1087] (S,E)-2,5-二甲基-N-(3-(三氟甲基)苯甲基磺酰基)-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[1088] 根据一般程序2和7,由实施例3和3-三氟苯甲基磺酰胺制备标题化合物。

[1089]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.74-7.64 (m, 3H), 7.61 (d,  $J=7.7\text{Hz}$ , 1H), 7.60-7.54 (m, 2H), 7.48 (t,  $J=7.7\text{Hz}$ , 2H), 7.38 (t,  $J=7.3\text{Hz}$ , 1H), 6.42 (dd,  $J=9.4, 1.7\text{Hz}$ , 1H), 5.06 (t,  $J=10.0\text{Hz}$ , 1H), 4.93 (s, 1H), 4.36 (s, 1H), 3.13 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 2.07-1.97 (m, 1H), 1.95 (d,  $J=1.4\text{Hz}$ , 3H), 1.48 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.08 (s, 9H), 0.89 (d,  $J=6.5\text{Hz}$ , 6H)。

[1090]  $\text{C}_{35}\text{H}_{49}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$  计算值  $m/z=694.34$ ; 实验值  $[\text{M}+\text{H}]^+=695.38$

[1091] 实施例103

**(103)**

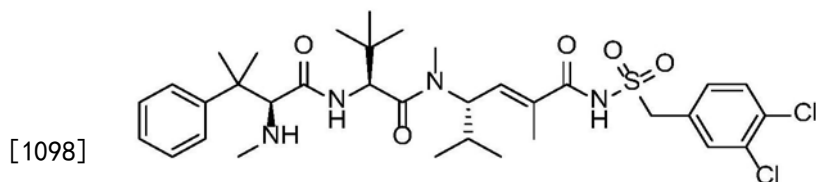
[1093] (S,E)-2,5-二甲基-N-(3-(三氟甲氧基)苯甲基磺酰基)-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[1094] 根据一般程序2和7,由实施例3和3-三氟甲氧基苯甲基磺酰胺制备标题化合物。

[1095]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.56 (d,  $J=7.8\text{Hz}$ , 2H), 7.48 (t,  $J=7.9\text{Hz}$ , 3H), 7.43-7.36 (m, 2H), 7.32 (d,  $J=9.3\text{Hz}$ , 2H), 6.43 (dd,  $J=9.4, 1.7\text{Hz}$ , 1H), 5.06 (t,  $J=10.0\text{Hz}$ , 1H), 4.93 (s, 1H), 4.82 (s, 2H), 4.35 (s, 1H), 3.13 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 2.07-1.97 (m, 1H), 1.95 (d,  $J=1.4\text{Hz}$ , 3H), 1.48 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.08 (s, 9H), 0.90 (dd,  $J=6.6, 4.3\text{Hz}$ , 6H)。

[1096]  $\text{C}_{35}\text{H}_{49}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$  计算值  $m/z=710.33$ ; 实验值  $[\text{M}+\text{H}]^+=711.38$

[1097] 实施例104

**(104)**

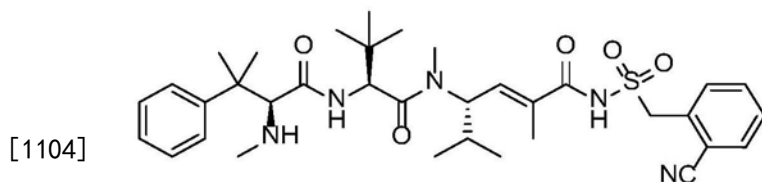
[1099] (S,E)-N-(3,4-二氯苯甲基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[1100] 根据一般程序2和7,由实施例3和3,4-二氯苯甲基磺酰胺制备标题化合物。

[1101]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.56 (td,  $J=5.2, 4.5, 1.9\text{Hz}$ , 4H), 7.48 (t,  $J=7.7\text{Hz}$ , 2H), 7.38 (t,  $J=7.3\text{Hz}$ , 1H), 7.33 (dd,  $J=8.4, 2.1\text{Hz}$ , 1H), 6.41 (dd,  $J=9.5, 1.8\text{Hz}$ , 1H), 5.06 (t,  $J=10.0\text{Hz}$ , 1H), 4.93 (s, 1H), 4.77 (s, 2H), 4.36 (s, 1H), 3.14 (s, 3H), 2.52 (s, 3H), 2.07-1.97 (m, 1H), 1.95 (d,  $J=1.4\text{Hz}$ , 3H), 1.49 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.08 (s, 9H), 0.90 (dd,  $J=6.6, 4.9\text{Hz}$ , 6H)。

[1102]  $\text{C}_{34}\text{H}_{48}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$  计算值  $m/z=694.27$ ; 实验值  $[\text{M}+\text{H}]^+=695.32$

[1103] 实施例105



### (105)

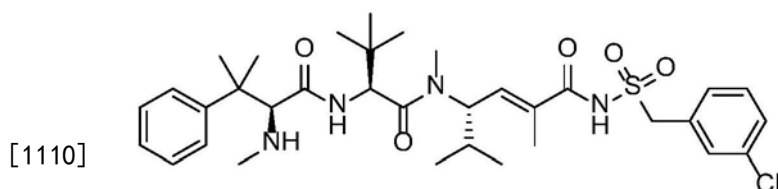
[1105] (S,E)-N-(2-氰基苯基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[1106] 根据一般程序2和7,由实施例3和2-氰基苯基磺酰胺制备标题化合物。

[1107]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.81 (dd,  $J=7.7, 1.3\text{Hz}$ , 1H), 7.72 (td,  $J=7.7, 1.3\text{Hz}$ , 1H), 7.66 (d,  $J=7.7\text{Hz}$ , 1H), 7.62-7.59 (m, 1H), 7.58-7.53 (m, 2H), 7.48 (t,  $J=7.7\text{Hz}$ , 2H), 7.38 (t,  $J=7.3\text{Hz}$ , 1H), 6.50 (d,  $J=9.4\text{Hz}$ , 1H), 5.08 (dd,  $J=10.6, 9.3\text{Hz}$ , 1H), 4.99 (s, 2H), 4.95 (s, 1H), 4.36 (s, 1H), 3.16 (s, 3H), 2.52 (s, 3H), 2.09-1.99 (m, 1H), 1.98 (d,  $J=1.4\text{Hz}$ , 3H), 1.49 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.10 (s, 9H), 0.94 (d,  $J=6.6\text{Hz}$ , 3H), 0.91 (d,  $J=6.6\text{Hz}$ , 3H)。

[1108]  $\text{C}_{35}\text{H}_{49}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$  计算值  $m/z=651.35$ ; 实验值  $[\text{M}+\text{H}]^+=652.38$

[1109] 实施例106



### (106)

[1111] (S,E)-N-(3-氯苯基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

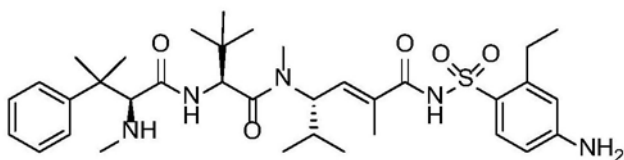
[1112] 根据一般程序2和7,由实施例3和3-氯苯基磺酰胺制备标题化合物。

[1113]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.58-7.53 (m, 2H), 7.48 (t,  $J=7.6\text{Hz}$ , 2H), 7.43-7.34 (m, 4H), 7.32 (d,  $J=7.5\text{Hz}$ , 1H), 6.42 (d,  $J=9.5\text{Hz}$ , 1H), 5.06 (t,  $J=10.0\text{Hz}$ , 1H), 4.94 (s, 1H), 4.74 (s, 2H), 4.33 (s, 1H), 3.13 (s, 3H), 2.50 (s, 3H), 2.07-1.97 (m, 1H), 1.95 (d,  $J=1.4\text{Hz}$ , 3H), 1.48 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.08 (s, 9H), 0.90 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 6H)。

[1114]  $\text{C}_{34}\text{H}_{49}\text{ClN}_4\text{O}_5\text{S}$  计算值  $m/z=660.31$ ; 实验值  $[\text{M}+\text{H}]^+=661.32$

[1115] 实施例107

[1116]



## (107)

[1117] (S,E)-N-(4-氨基-2-乙基苯基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

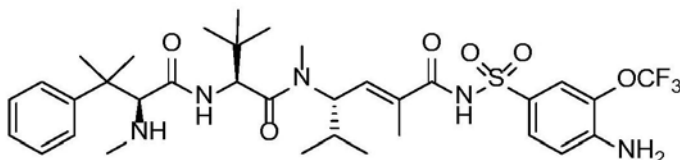
[1118] 根据一般程序2和7,由实施例3和2-乙基苯甲基磺酰胺制备标题化合物。

[1119]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.79 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 7.55 (d,  $J=7.9\text{Hz}$ , 2H), 7.48 (t,  $J=7.6\text{Hz}$ , 2H), 7.37 (t,  $J=7.4\text{Hz}$ , 1H), 6.57 (d,  $J=2.3\text{Hz}$ , 1H), 6.54 (dd,  $J=8.8, 2.4\text{Hz}$ , 1H), 6.46 (d,  $J=9.4\text{Hz}$ , 1H), 5.01 (t,  $J=10.0\text{Hz}$ , 1H), 4.92 (s, 1H), 4.34 (s, 1H), 3.16 (s, 3H), 2.99-2.90 (m, 2H), 2.50 (s, 3H), 2.11-2.00 (m, 1H), 1.87 (d,  $J=1.4\text{Hz}$ , 3H), 1.47 (s, 3H), 1.38 (s, 3H), 1.22 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 3H), 1.06 (s, 9H), 0.91 (dd,  $J=6.6\text{Hz}$ , 6H)。

[1120]  $\text{C}_{35}\text{H}_{53}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$  计算值  $m/z=655.38$ ; 实验值  $[\text{M}+\text{H}]^+=656.4$

[1121] 实施例108

[1122]



## (108)

[1123] (S,E)-N-(4-氨基-3-(三氟甲氧基)苯基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

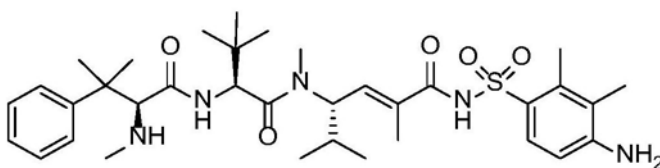
[1124] 根据一般程序2、3和7,由实施例3和2,2,2-三氟-N-(4-氨基磺酰基-2-(三氟甲氧基)苯基)乙酰胺制备标题化合物。

[1125]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.81-7.75 (m, 1H), 7.71 (dd,  $J=8.7, 2.1\text{Hz}$ , 1H), 7.55 (d,  $J=7.9\text{Hz}$ , 2H), 7.47 (t,  $J=7.6\text{Hz}$ , 2H), 7.37 (t,  $J=7.1\text{Hz}$ , 1H), 6.89 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 6.51-6.42 (m, 1H), 4.98 (t,  $J=10.0\text{Hz}$ , 1H), 4.92 (t,  $J=4.1\text{Hz}$ , 1H), 4.37 (s, 1H), 3.16 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 2.12-2.01 (m, 1H), 1.88 (d,  $J=1.4\text{Hz}$ , 3H), 1.47 (s, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.07 (s, 9H), 0.92 (dd,  $J=6.6\text{Hz}$ , 6H)。

[1126]  $\text{C}_{34}\text{H}_{48}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$  计算值  $m/z=711.33$ ; 实验值  $[\text{M}+\text{H}]^+=712.4$

[1127] 实施例109

[1128]



## (109)

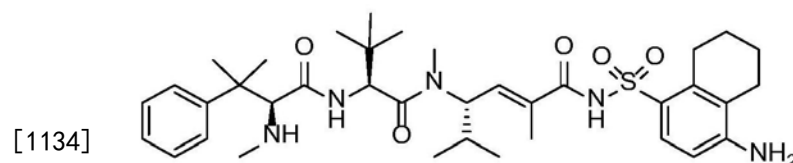
[1129] (S,E)-N-(4-氨基-2,3-二甲基苯基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[1130] 根据一般程序2、3和7,由实施例3和2,2,2-三氟-N-(4-氨磺酰基-2,3-二甲基苯基)乙酰胺制备标题化合物。

[1131]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  7.75 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 7.55 (d,  $J=7.9\text{Hz}$ , 2H), 7.47 (t,  $J=7.7\text{Hz}$ , 2H), 7.37 (t,  $J=6.9\text{Hz}$ , 1H), 6.63 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 6.46 (d,  $J=9.7\text{Hz}$ , 1H), 5.00 (t,  $J=10.0\text{Hz}$ , 1H), 4.93 (s, 1H), 4.32 (s, 1H), 3.17 (s, 3H), 2.54 (s, 3H), 2.49 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.08-2.02 (m, 1H), 1.87 (d,  $J=1.4\text{Hz}$ , 3H), 1.47 (s, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.07 (s, 9H), 0.92 (dd,  $J=6.8, 6.5\text{Hz}$ , 6H)。

[1132]  $\text{C}_{35}\text{H}_{53}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$  计算值  $m/z=655.38$ ; 实验值  $[\text{M}+\text{H}]^+=656.4$

[1133] 实施例110



(110)

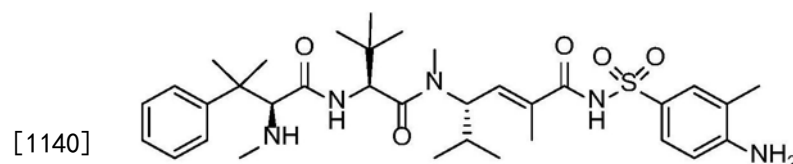
[1135] (S,E)-N-(4-氨基-5,6,7,8-四氢萘-1-基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[1136] 根据一般程序2、3和7,由实施例3和2,2,2-三氟-N-(4-氨磺酰基-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺制备标题化合物。

[1137]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  7.74 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 7.55 (d,  $J=7.9\text{Hz}$ , 2H), 7.48 (t,  $J=7.6\text{Hz}$ , 2H), 7.38 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 1H), 6.60 (d,  $J=8.7\text{Hz}$ , 1H), 6.46 (d,  $J=9.2\text{Hz}$ , 1H), 5.00 (t,  $J=10.0\text{Hz}$ , 1H), 4.95-4.91 (m, 1H), 4.36 (s, 1H), 3.17 (s, 3H), 3.10-3.05 (m, 2H), 2.51 (s, 3H), 2.46 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 2H), 2.10-2.02 (m, 1H), 1.88 (s, 3H), 1.87-1.75 (m, 4H), 1.47 (s, 3H), 1.38 (s, 3H), 1.07 (s, 9H), 0.92 (dd,  $J=7.1\text{Hz}$ , 6H)。

[1138]  $\text{C}_{37}\text{H}_{55}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$  计算值  $m/z=681.39$ ; 实验值  $[\text{M}+\text{H}]^+=682.4$

[1139] 实施例111



(111)

[1141] (S,E)-N-(4-氨基-3-甲基苯基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

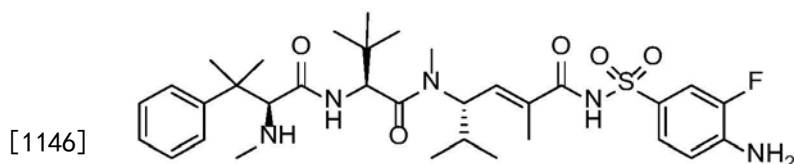
[1142] 根据一般程序2、3和7,由实施例3和2,2,2-三氟-N-(2-甲基-4-氨磺酰基苯基)乙酰胺制备标题化合物。

[1143]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  7.64 (s, 1H), 7.61 (dd,  $J=8.5, 2.3\text{Hz}$ , 1H), 7.57-7.51

(m, 2H), 7.48 (t, J=7.7Hz, 2H), 7.41-7.35 (m, 1H), 6.71 (d, J=8.5Hz, 1H), 6.43 (dd, J=9.3, 1.6Hz, 1H), 4.96 (t, J=10.0Hz, 1H), 4.92 (s, 1H), 4.35 (s, 1H), 3.16 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 2.17 (s, 3H), 2.10-2.01 (m, 1H), 1.87 (d, J=1.4Hz, 3H), 1.46 (s, 3H), 1.36 (s, 3H), 1.07 (s, 9H), 0.91 (dd, J=6.3Hz, 6H)。

[1144]  $C_{34}H_{51}N_5O_5S$  计算值  $m/z=641.36$ ; 实验值  $[M+H]^+=642.4$

[1145] 实施例112



### (112)

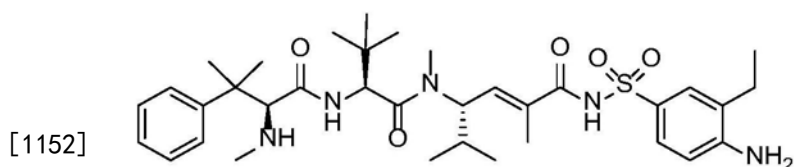
[1147] (S,E)-N-(4-氨基-3-氟苯基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[1148] 根据一般程序2、3和7,由实施例3和2,2,2-三氟-N-(2-氟-4-氨基磺酰基苯基)乙酰胺制备标题化合物。

[1149]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.62-7.55 (m, 3H), 7.54 (s, 1H), 7.48 (t, J=7.7Hz, 2H), 7.37 (t, J=7.3Hz, 1H), 6.85 (t, J=8.6Hz, 1H), 6.45 (d, J=9.3Hz, 1H), 4.98 (t, J=9.9Hz, 1H), 4.92 (s, 1H), 4.34 (s, 1H), 3.16 (s, 3H), 2.50 (s, 3H), 2.12-2.00 (m, 1H), 1.88 (d, J=1.4Hz, 3H), 1.46 (s, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.07 (s, 9H), 0.91 (dd, J=6.8Hz, 6H)。

[1150]  $C_{33}H_{48}FN_5O_5S$  计算值  $m/z=645.34$ ; 实验值  $[M+H]^+=646.4$

[1151] 实施例113



### (113)

[1153] (S,E)-N-(4-氨基-3-乙基苯基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

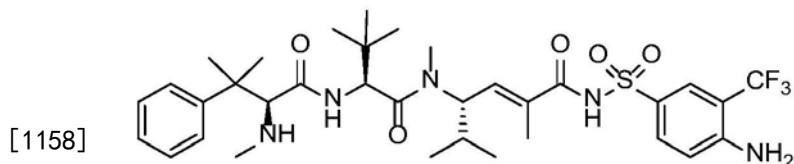
[1154] 根据一般程序2、3和7,由实施例3和2,2,2-三氟-N-(2-乙基-4-氨基磺酰基苯基)乙酰胺制备标题化合物。

[1155]  $^1H$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.66 (d, J=2.3Hz, 1H), 7.61 (dd, J=8.6, 2.3Hz, 1H), 7.55 (d, J=7.6Hz, 2H), 7.48 (t, J=7.7Hz, 2H), 7.37 (t, J=7.3Hz, 1H), 6.71 (d, J=8.5Hz, 1H), 6.43 (dd, J=9.3, 1.7Hz, 1H), 4.96 (t, J=9.9Hz, 1H), 4.92 (s, 1H), 4.35 (s, 1H), 3.16 (s, 3H), 2.54 (dd, J=7.4, 2.2Hz, 2H), 2.51 (s, 3H), 2.12-1.99 (m, 1H), 1.87 (d, J=1.4Hz, 3H), 1.46 (s, 3H), 1.36 (s, 3H), 1.27 (t, J=7.5Hz, 3H), 1.07 (s, 9H), 0.91 (dd, J=6.4Hz, 6H)

[1156]  $C_{35}H_{53}N_5O_5S$  计算值  $m/z=655.38$ ; 实验值  $[M+H]^+=656.5$

[1157] 实施例114



**(114)**

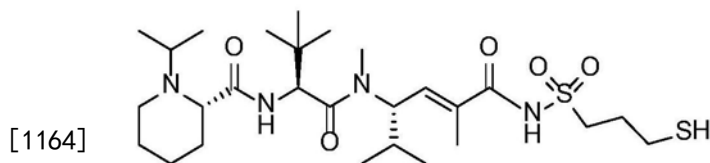
[1159] (S,E)-N-(4-氨基-3-(三氟甲基)苯基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰胺

[1160] 根据一般程序2、3和7,由实施例3和2,2,2-三氟-N-(2-三氟甲基-4-氨磺酰基苯基)乙酰胺制备标题化合物。

[1161]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  8.04 (s, 1H), 7.87 (d,  $J=8.8\text{Hz}$ , 1H), 7.55 (d,  $J=7.6\text{Hz}$ , 2H), 7.48 (t,  $J=7.3\text{Hz}$ , 2H), 7.36 (dd,  $J=14.5, 7.4\text{Hz}$ , 1H), 6.89 (d,  $J=8.9\text{Hz}$ , 1H), 6.47 (d,  $J=9.3\text{Hz}$ , 1H), 4.99 (t,  $J=10.2\text{Hz}$ , 1H), 4.92 (s, 1H), 4.33 (s, 1H), 3.16 (s, 3H), 2.50 (s, 3H), 2.11–2.00 (m, 1H), 1.88 (s, 3H), 1.47 (s, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.07 (s, 9H), 0.91 (dd,  $J=7.0\text{Hz}$ , 6H)。

[1162]  $\text{C}_{34}\text{H}_{48}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$  计算值  $m/z=695.33$ ; 实验值  $[\text{M}+\text{H}]^+=696.4$

[1163] 实施例115

**(115)**

[1165] (S)-1-异丙基-N-((S)-1-(((S,E)-6-(3-巯基丙基磺酰胺基)-2,5-二甲基-6-氧代己-4-烯-3-基)(甲基)氨基)-3,3-二甲基-1-氧代丁-2-基)哌啶-2-甲酰胺

[1166] 向(S,E)-4-((S)-2-(叔丁氧基羰基氨基)-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-2,5-二甲基己-2-烯酸乙酯(0.373g, 0.905mmol)于 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (5mL)中的溶液中加入三氟乙酸(2mL)。通过HPLC监测反应且在起始物质完全转化后在减压下浓缩。将N-异丙基-哌啶甲酸(0.200g, 1.3当量)溶解于 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (5mL)中且在 $0^\circ\text{C}$ 下搅拌,向其中加入HBTU(0.450g, 1.3当量)和N,N-二异丙基乙胺(0.400 $\mu\text{L}$ , 2.5当量)。10分钟之后,将以上脱除保护基的二肽作为 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 溶液( $\sim 1\text{mL}$ )加入。通过HPLC监测到反应中二肽完全消耗,此时在减压下浓缩全部反应物。将粗反应混合物溶解于 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 中且通过硅胶色谱法(含1–20%MeOH(5% $\text{NH}_4\text{OH}$ )的 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )加以纯化。

[1167] 在1,4-二噁烷中用LiOH皂化所得酯。将所得羧酸(0.128g, 0.29mmol)溶解于 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (5mL)中且向搅拌溶液中加入二环己基碳二亚胺(0.084g, 1.4当量)、N,N-二甲基氨基吡啶(0.05g, 1.4当量)和3-(三苯甲基硫代)丙烷-1-磺酰胺(0.174g, 1.5当量)。将所得混合物搅拌过夜且通过HPLC-MS监测反应进度。当反应完毕时,在减压下浓缩混合物且通过硅胶色谱法(5–30%MeOH/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )纯化残余物,得到呈无色油状的母体化合物S-三苯甲基衍生物(0.056g)。

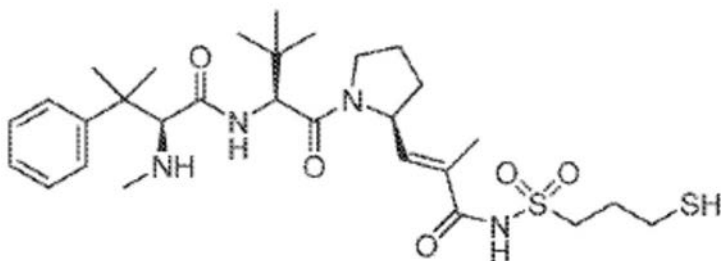
[1168]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.44–7.35 (m, 6H), 7.36–7.15 (m, 9H), 6.56 (dd,  $J=9.1$ ,

1.7Hz, 1H), 5.03 (dd,  $J=10.6, 9.3\text{Hz}$ , 1H), 4.73 (s, 1H), 4.05 (dd,  $J=11.5, 3.3\text{Hz}$ , 1H), 3.51-3.37 (m, 2H), 3.25-3.15 (m, 2H), 3.09 (s, 3H), 2.92 (td,  $J=12.5, 2.9\text{Hz}$ , 1H), 2.31 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 2H), 2.18-1.70 (m, 15H), 1.61 (ddt,  $J=12.8, 8.4, 4.9\text{Hz}$ , 1H), 1.28 (dd,  $J=30.1, 6.7\text{Hz}$ , 7H), 1.04 (s, 9H), 0.88 (dd,  $J=37.3, 6.5\text{Hz}$ , 6H)。

[1169] 最后, 将经三苯甲基保护的硫醇溶解于 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3mL) 中且加入三氟乙酸 (0.6mL) 与三异丙基甲硅烷 (0.1mL)。通过HPLC-MS监测反应且在完毕后在减压下浓缩至干燥。将残余物溶解于含几滴乙醇的 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (~0.8mL) 中且在冰浴中冷却至 $0^\circ\text{C}$ 。随强烈搅拌加入冷乙醚 (~3mL) 以产生白色沉淀物, 通过在布氏漏斗上过滤进行收集, 在高真空下干燥, 产生呈无定形白色固体状的母体化合物。

[1170]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  6.52 (d,  $J=9.0\text{Hz}$ , 1H), 5.06 (dd,  $J=10.7, 8.8\text{Hz}$ , 1H), 4.73 (s, 1H), 4.16-4.04 (m, 1H), 3.69-3.56 (m, 2H), 3.48 (dd,  $J=13.3, 7.2\text{Hz}$ , 2H), 3.15 (s, 3H), 3.03-2.94 (m, 1H), 2.68 (t,  $J=6.9\text{Hz}$ , 1H), 2.24-1.77 (m, 11H), 1.61 (s, 1H), 1.31 (dd,  $J=27.2, 6.7\text{Hz}$ , 6H), 1.06 (s, 9H), 0.91 (dd,  $J=34.1, 6.6\text{Hz}$ , 6H)。

[1171] 实施例116



[1172]

化学式:  $\text{C}_{29}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}_2$   
 精确质量: 594.29  
 (116)

[1173] (S)-N-((S)-1-((S)-2-((E)-3-(3-巯基丙基磺酰胺基)-2-甲基-3-氧代丙-1-烯基)吡咯烷-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁-2-基)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺

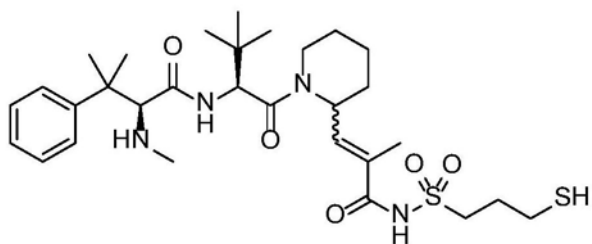
[1174] 根据一般程序10、11、2、3、7和得自于Nieman J.A.等, J.Nat.Prod. 2003, 66, 183-199的其它程序, 由Boc-脯氨酸和实施例2合成标题化合物。化合物分离为大约1:1比率的两种非对映异构体。

[1175]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.57-7.12 (m, 5H), 6.39 (dd,  $J=9.4, 1.6\text{Hz}$ , 0.5H), 6.31 (dd,  $J=8.2, 1.5\text{Hz}$ , 0.5H), 4.72 (q,  $J=7.5\text{Hz}$ , 0.5H), 4.66-4.56 (m, 0.5H), 4.40 (s, 0.5H), 4.28 (d,  $J=11.9\text{Hz}$ , 1H), 3.81 (m, 0.5H), 3.76-3.56 (m, 3H), 2.77-2.64 (m, 2H), 2.59 (m, 3H), 2.39-2.22 (m, 1H), 2.18-1.72 (m, 7H), 1.61-1.33 (m, 6H), 1.15-0.85 (m, 11H)。

[1176]  $\text{C}_{29}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}_2$  计算值 $m/z=594.35$ ; 实验值 $[M+H]^+=595.3$

[1177] 实施例117

[1178]

**(117)**

[1179] (S)-N-((S)-1-(2-(3-(3-巯基丙基磺酰胺基)-2-甲基-3-氧代丙-1-烯基)哌啶-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁-2-基)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺

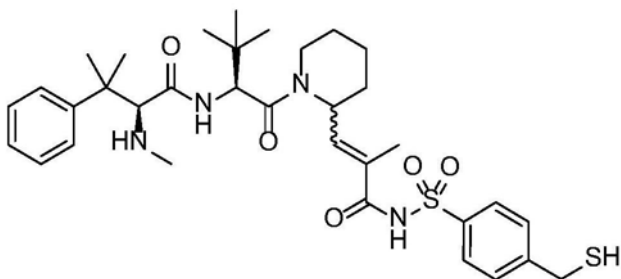
[1180] 根据一般程序10、11、2、3、7和得自于Nieman J.A.等人, J.Nat.Prod.2003,66,183-199的其它程序,由Boc-高脯氨酸和实施例2合成标题化合物。化合物分离为大约2:3比率的两非对映异构体。

[1181]  $^1\text{H}$  NMR (600MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  7.55 (d,  $J=7.8\text{Hz}$ , 1H), 7.46 (m, 3H), 7.38 (m, 1H), 6.81 (d,  $J=8.3\text{Hz}$ , 0.6H), 6.79 (d,  $J=7.8\text{Hz}$ , 0.4H), 5.66 (m, 0.6H), 5.12 (m, 0.4H), 5.05 (s, 0.6H), 4.86 (s, 0.4H), 4.42 (d,  $J=14.9\text{Hz}$ , 0.4H), 4.35 (s, 0.6H), 4.26 (s, 0.4H), 4.12 (d,  $J=13.8\text{Hz}$ , 0.6H), 3.64 (d,  $J=7.6\text{Hz}$ , 1H), 3.63 (d,  $J=7.4\text{Hz}$ , 1H), 3.39 (m, 0.6H), 2.94 (td,  $J=13.8, 2.6\text{Hz}$ , 0.4H), 2.68 (t,  $J=6.7\text{Hz}$ , 2H), 2.56 (m, 3H), 2.10 (m, 3.5H), 1.97 (s, 1.5H), 1.90-1.70 (m, 7H), 1.65-1.29 (m, 6H), 1.07 (s, 3.5H), 1.04 (s, 4.5H) ppm。

[1182]  $\text{C}_{30}\text{H}_{47}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}_2$  计算值  $m/z=608.31$ ; 实验值  $[\text{M}+\text{H}]^+=609.32$

[1183] 实施例118

[1184]

**(118)**

[1185]

[1186] (S)-N-((S)-1-(2-(3-(4-(巯基甲基)苯基磺酰胺基)-2-甲基-3-氧代丙-1-烯基)哌啶-1-基)-3,3-二甲基-1-氧代丁-2-基)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺

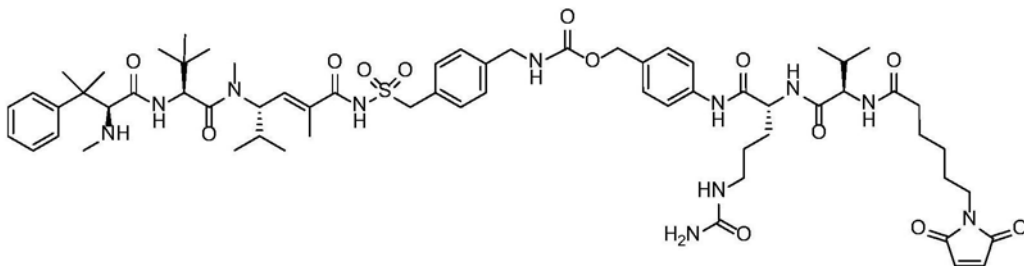
[1187] 根据一般程序10、11、2、3、7和得自于Nieman J.A.等, J.Nat.Prod.2003,66,183-199的其它程序,由Boc-高脯氨酸和实施例7合成标题化合物。化合物分离为大约2:3比率的两非对映异构体。

[1188]  $^1\text{H}$  NMR (600MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  8.02 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 0.8H), 8.00 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1.2H), 7.58 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 1H), 7.54 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 7.45 (t,  $J=8.2\text{Hz}$ , 2H), 7.40 (d,  $J=7.2\text{Hz}$ , 0.6H), 7.36 (m, 1H), 7.31 (t,  $J=7.1\text{Hz}$ , 0.4H), 6.74 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 1H), 5.59 (m, 0.6H), 5.06 (m, 0.4H), 5.02 (s, 0.6H), 4.84 (s, 0.4H), 4.39 (d,  $J=12.5\text{Hz}$ , 0.4H), 4.34 (s, 0.6H), 4.20 (s, 0.4H), 4.08 (d,  $J=12.0\text{Hz}$ , 0.6H), 3.83 (s, 1.2H), 3.73 (s, 0.8H), 3.35 (m, 0.6H), 2.93

(td, J=13.6, 3.0 Hz, 0.4H), 2.55 (m, 3H), 2.00 (s, 1H), 1.90-1.51 (m, 7H), 1.51-1.30 (m, 4H), 1.30 (s, 1H), 1.15 (s, 1H), 1.04 (s, 3.5H), 1.01 (s, 4.5H) ppm.

[1189]  $\text{C}_{34}\text{H}_{47}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}_2$  计算值  $m/z=656.31$ ; 实验值  $[\text{M}+\text{H}]^+=657.30$

[1190] 实施例119



(119)

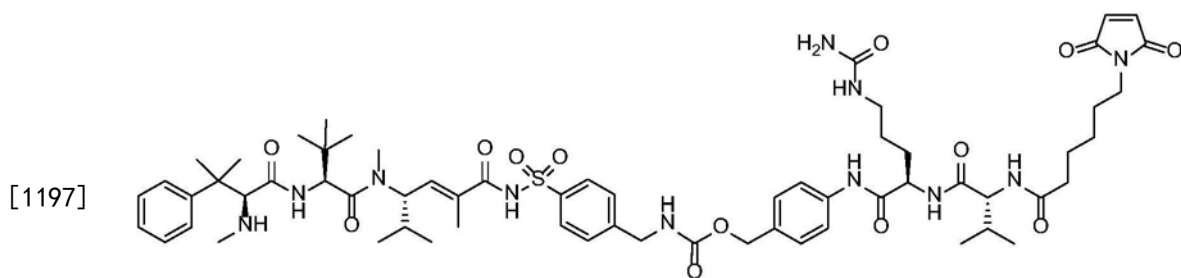
[1192] MC-VC-PABC-77

[1193] 通过应用一般程序15和7,由经Boc保护的实施例77制备标题化合物。

[1194]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  7.58 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 2H) , 7.49 (d,  $J=7.5\text{Hz}$ , 2H) , 7.38 (t,  $J=7.7\text{Hz}$ , 2H) , 7.36-7.24 (m, 6H) , 7.22 (d,  $J=7.8\text{Hz}$ , 2H) , 6.81 (s, 2H) , 6.57 (d,  $J=9.1\text{Hz}$ , 1H) , 5.08 (s, 2H) , 5.04 (t,  $J=10.0\text{Hz}$ , 1H) , 4.91 (s, 1H) , 4.53 (dd,  $J=9.0, 5.1\text{Hz}$ , 1H) , 4.40 (s, 2H) , 4.28 (s, 2H) , 4.19 (d,  $J=7.4\text{Hz}$ , 1H) , 3.49 (t,  $J=7.1\text{Hz}$ , 2H) , 3.26-3.11 (m, 2H) , 3.07-2.93 (m, 3H) , 2.30 (t,  $J=7.4\text{Hz}$ , 2H) , 2.18 (s, 3H) , 2.15-2.05 (m, 1H) , 1.99-1.91 (m, 1H) , 1.89 (s, 3H) , 1.83-1.72 (m, 1H) , 1.72-1.53 (m, 7H) , 1.44 (s, 3H) , 1.37 (s, 3H) , 1.35-1.27 (m, 2H) , 1.03 (s, 9H) , 1.00 (d,  $J=6.8\text{Hz}$ , 3H) , 0.99 (d,  $J=6.7\text{Hz}$ , 3H) , 0.88 (d,  $J=6.5\text{Hz}$ , 3H) , 0.82 (d,  $J=6.6\text{Hz}$ , 3H) 。

[1195]  $\text{C}_{64}\text{H}_{91}\text{N}_{11}\text{O}_{13}\text{S}$  计算值  $m/z = 1253.7$ ; 实验值  $[\text{M}+\text{H}]^+ = 1254.8$ 。

[1196] 实施例120



(120)

[1198] 4-(N-((S,E)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己-2-烯酰基)氨磺酰基)苯甲基氨基甲酸4-((R)-2-((R)-2-(6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苯甲酯

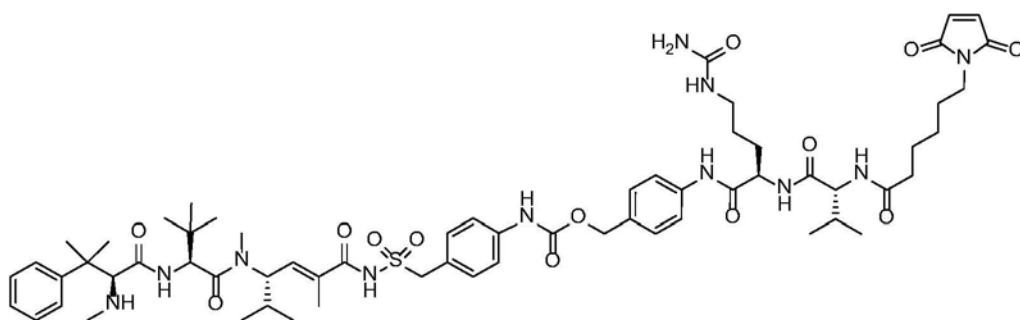
[1199] MC-VC-PABC-85

[1200] 通过将一般程序15和7应用于经Boc保护的实施例85来制备标题化合物。

[1201]  $C_{63}H_{89}N_{11}O_{13}S$  计算值  $m/z = 1239.6$ ; 实验值  $[M+H]^+ = 1240.9$ 。

[1202] 实施例121

[1203]



(121)

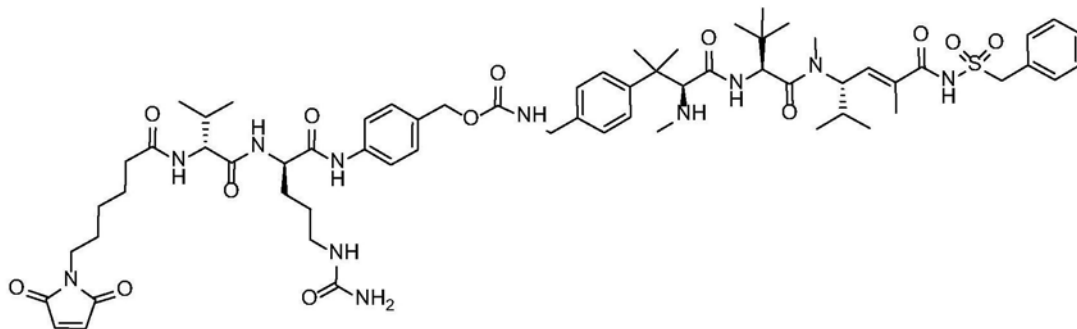
[1204] MC-VC-PABC-80

[1205] 通过将一般程序15和7应用于经Boc保护的实施例80来制备标题化合物。

[1206]  $C_{63}H_{89}N_{11}O_{13}S$  计算值  $m/z = 1239.6$ ; 实验值  $[M+H]^+ = 1240.9$ 。

[1207] 实施例122

[1208]



(122)

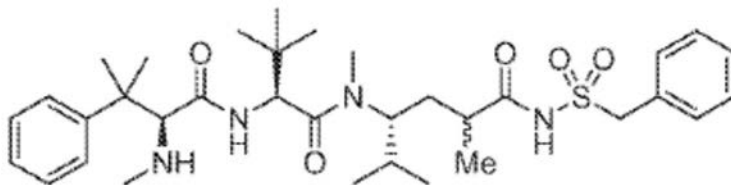
[1209] MC-VC-PABC-41

[1210] 通过将一般程序15应用于实施例41来制备标题化合物。

[1211]  $C_{64}H_{91}N_{11}O_{13}S$  计算值  $m/z = 1253.65$ ; 实验值  $[M+H]^+ = 1254.75$ ,  $[M+2H]^{2+} = 628.20$ 。

[1212] 实施例123

[1213]



化学式:  $C_{34}H_{52}N_4O_5S$

精确质量: 628.37

分子量: 628.87

(123)

[1214] (R)-N-(苯甲基磺酰基)-2,5-二甲基-4-((S)-N,3,3-三甲基-2-((S)-3-甲基-2-

(甲基氨基)-3-苯基丁酰胺基)丁酰胺基)己酰胺

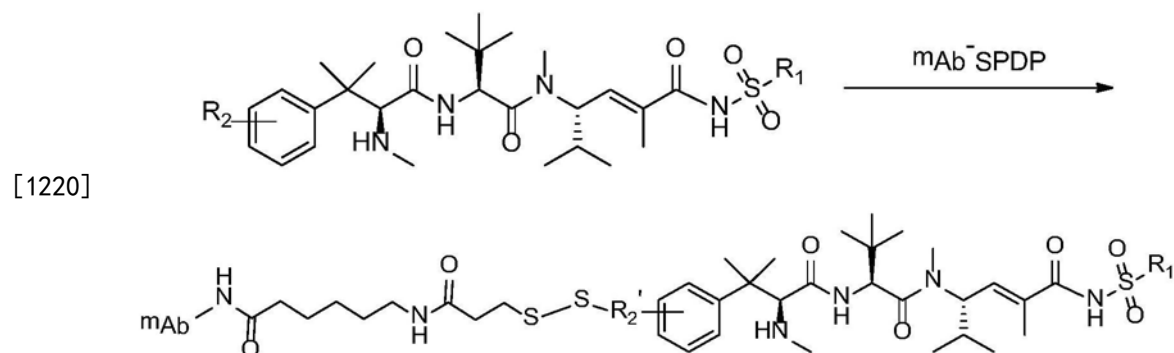
[1215] 在环境温度下,在 $H_2$ 气氛(1atm)下搅拌实施例14和10%钯/碳(25mol%Pd)于冰醋酸中的悬浮液。142h之后,使反应悬浮液通过硅藻土床,用MeOH(5 $\times$ )冲洗且在真空中浓缩。使残余淡棕色粗制膜溶解且在制备型HPLC(30-70%MeCN/ $H_2O$ +0.1%TFA)上纯化并冻干,得到呈浅黄色固体状的一种还原产物非对映异构体,产率15%。

[1216]  $^1H$  NMR(400MHz,甲醇- $d_4$ )  $\delta$ 7.55(d,  $J$ =7.2Hz, 2H), 7.46(t,  $J$ =7.8Hz, 2H), 7.43-7.31(m, 6H), 5.01(s, 1H), 4.79(d,  $J$ =14.1Hz, 1H), 4.65(d,  $J$ =14.1Hz, 1H), 4.35(s, 1H), 4.24(s, 1H), 3.07(s, 3H), 2.52(s, 3H), 2.27(m,  $J$ =10.3, 7.0, 3.2Hz, 1H), 2.14(ddd,  $J$ =13.5, 10.6, 2.7Hz, 2H), 1.78(d,  $J$ =8.6Hz, 1H), 1.47(s, 3H), 1.34(s, 3H), 1.15(d,  $J$ =6.9Hz, 3H), 1.14(s, 9H), 1.04(d,  $J$ =6.6Hz, 3H), 0.82(d,  $J$ =6.6Hz, 3H)。

[1217]  $C_{34}H_{52}N_4O_5S$ 计算值 $m/z$ =628.37amu;实验值 $[M+H]^+$ =629.6,  $[M+Na]^+$ =651.6

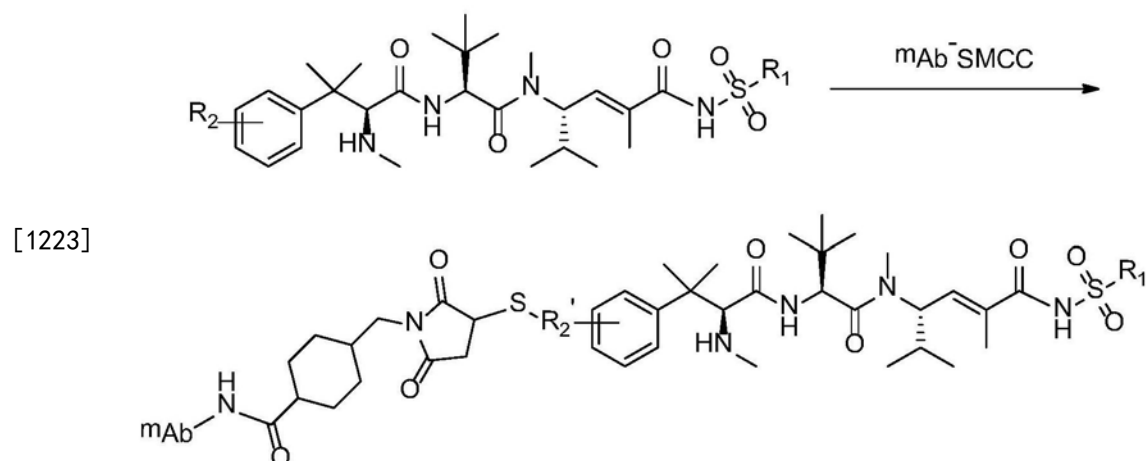
[1218] (T)-(L)-(D)的一般合成流程

[1219] 使用LC-SPDP和SMCC连接基



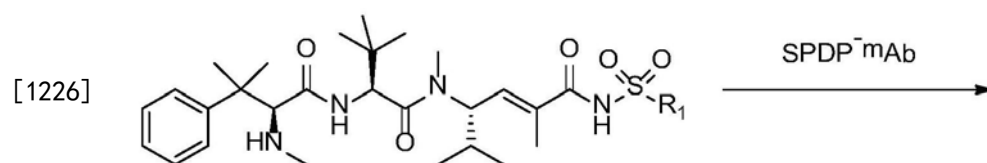
[1221] mAb-SPDP-S- $R_2'$ -肽-NHSO $_2$ R $_1$

[1222] 使用以下所描述的SPDP键联法产生组合物。注意 $R_2'$ 与 $R_2$ 不同,因为 $R_2$ 包括 $R_2'$ -S。

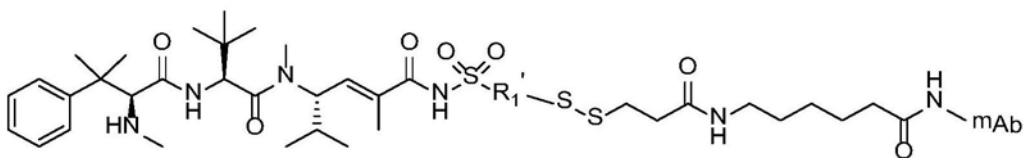


[1224] mAb-SMCC-S- $R_2'$ -肽-NHSO $_2$ R $_1$

[1225] 使用以下所描述的SMCC键联法产生组合物。注意 $R_2'$ 与 $R_2$ 不同,因为 $R_2$ 包括 $R_2'$ -S。



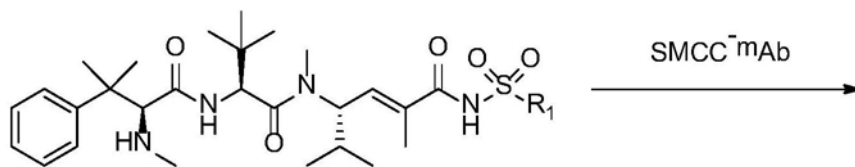
[1227]



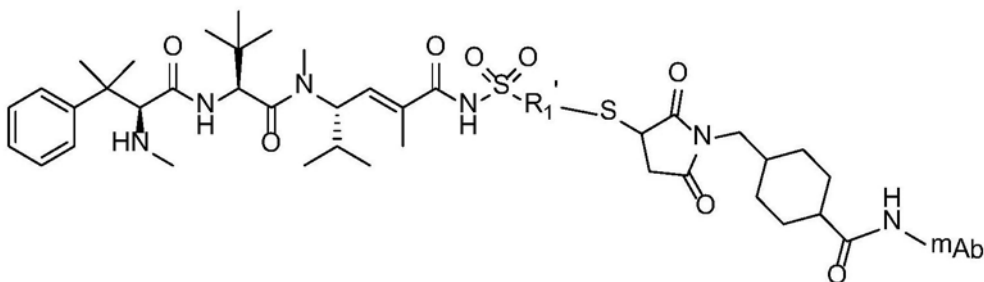
[1228]

肽-NHSO<sub>2</sub>R<sub>1</sub>'-S-SPDP

[1229]

使用以下所描述的SPDP键联法产生组合物。注意R<sub>1</sub>'与R<sub>1</sub>不同,因为R<sub>1</sub>包括R<sub>1</sub>'-S。

[1230]



[1231]

肽-NHSO<sub>2</sub>R<sub>1</sub>'-S-SMCC

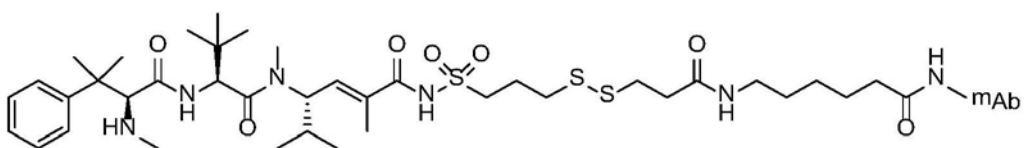
[1232]

使用以下所描述的SMCC键联法产生组合物。注意R<sub>1</sub>'与R<sub>1</sub>不同,因为R<sub>1</sub>包括R<sub>1</sub>'-S。

[1233]

实施例124

[1234]

**(124)**

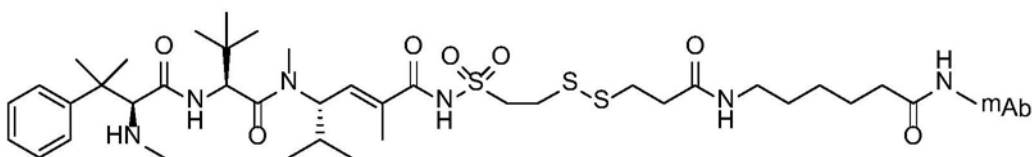
[1235]

使用以上化合物A合成法和以下所描述的SPDP键联法来产生(化合物A-SPDP-mAb)。

[1236]

实施例125

[1237]

**(125)**

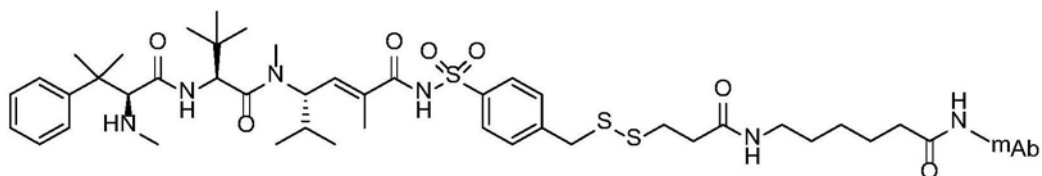
[1238]

使用以上化合物B合成法和以下所描述的SPDP键联法来产生(化合物B-SPDP-mAb)。

[1239]

实施例126

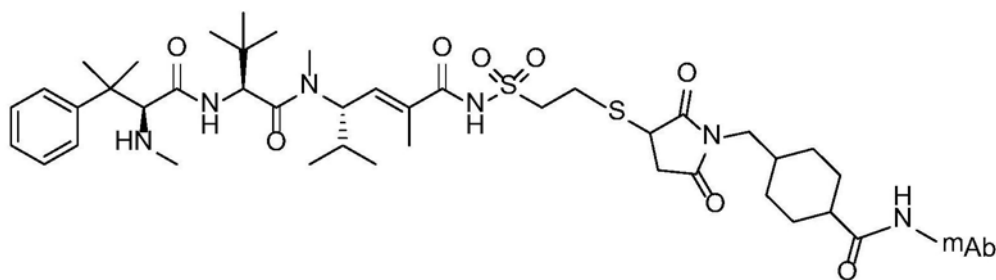
[1240]

**(126)**

[1241] 使用以上化合物C合成法和以下所描述的SPDP键联法来产生(化合物C-SPDP-mAb)。

[1242] 实施例127

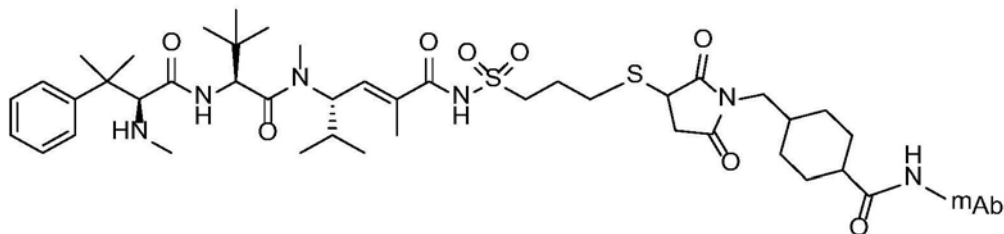
[1243]

**(127)**

[1244] 使用以上化合物B合成法和以下所描述的SMCC键联法来产生(化合物B-SMCC-mAb)。

[1245] 实施例128

[1246]

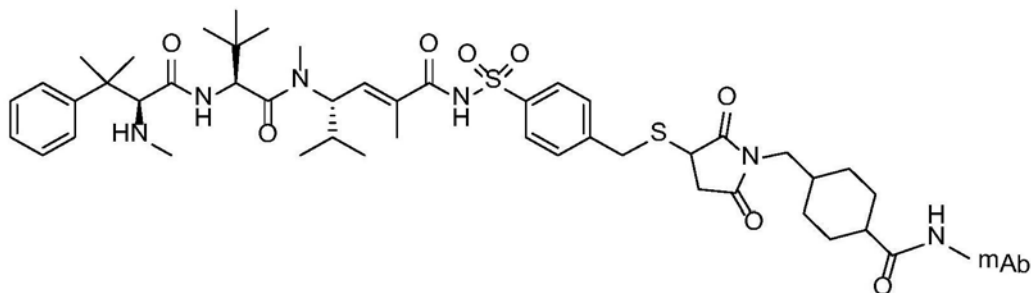
**(128)**

[1247] 使用以上化合物A合成法和以下所描述的SMCC键联法来产生(化合物A-SMCC-mAb)。

[1248] 实施例129



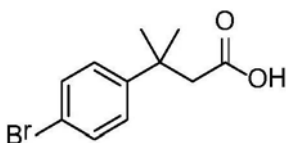
[1249]

**(129)**

[1250] 使用以上化合物C合成法和以下所描述的SMCC键联法来产生(化合物C-SMCC-mAb)。

[1251] 实施例130

[1252]

**(130)**

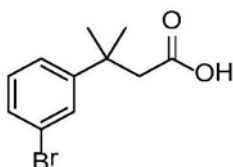
[1253] 3-甲基-3-(4-溴苯基)-丁酸

[1254] 向溴苯(4.70g, 30.0mmol)和3,3-二甲基丙烯酸(1.00g, 10.0mmol)于在NH<sub>4</sub>Cl(水溶液)/冰浴中冷却至-10℃的20mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中的强烈搅拌溶液中逐份加入固体AlCl<sub>3</sub>,从而保持内部温度低于-5℃。在加入之后,溶液变成黄色,随后变成棕色。一小时之后,LC和TLC分析指示有限的试剂完全消耗。随后通过加入1M柠檬酸淬灭反应物,使得棕色褪成黄色。用20mL Et<sub>2</sub>O将所得稀薄悬浮液萃取四次,用NaCl(饱和溶液)洗涤所合并的有机物,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(固体)干燥,且在真空中浓缩,同时加热至45℃以去除溶剂和残余溴苯。所得油缓慢固化。粗制固体在己烷中再结晶,得到呈白色棱晶簇状的标题化合物(1.29g, 50%)。

[1255] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ(ppm) 7.42(d, J=8.6Hz, 2H), 7.23(d, J=8.6Hz, 2H), 2.63(s, 2H), 1.43(s, 6H)。C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>BrO<sub>2</sub>计算值[M+H]<sup>+</sup>=257.02amu; 实验值m/z=257.03。R<sub>f</sub>=0.21(20%(2%AcOH/EtOAc)/Hex)。

[1256] 实施例131

[1257]

**(131)**

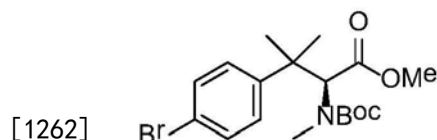
[1258] 3-甲基-3-(3-溴苯基)-丁酸

[1259] 用与Nieman J.A.等人,J.Nat.Prod.2003,66,183-199中的3-甲基-3-苯基丁酸相同的方式,使用溴苯代替苯作为溶剂且用从1M柠檬酸中简单萃取反应混合物和连续三次从

己烷中再结晶代替酸碱处理来制备标题化合物。从富含所需间位异构体的粗产物(2:1混合物),可以获得呈白色粗短针状的标题化合物,纯度大于95%。

[1260]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 氯仿-d)  $\delta$  (ppm) 7.49 (t,  $J=1.9\text{Hz}$ , 1H), 7.34 (ddd,  $J=7.9, 1.9, 1.0\text{Hz}$ , 1H), 7.29 (ddd,  $J=7.9, 1.9, 1.0\text{Hz}$ , 1H), 7.18 (t,  $J=7.9\text{Hz}$ , 1H), 2.64 (s, 2H), 1.44 (s, 6H)。C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>BrO<sub>2</sub>计算值  $[\text{M}+\text{H}]^+=257.02\text{amu}$ ; 实验值  $m/z=257.01$ 。R<sub>f</sub>=0.21 (20% (2% AcOH/EtOAc)/Hex)。

[1261] 实施例132

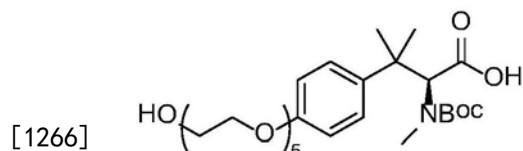


### (132)

[1263] (S)-3-(4-溴苯基)-2-(叔丁氧基羰基(甲基)氨基)-3-甲基丁酸甲酯

[1264] 根据Nieman等关于合成(S)-2-(叔丁氧基羰基(甲基)氨基)-3-甲基-3-苯基丁酸甲酯所描述的程序顺序,由实施例130合成标题化合物。

[1265] 实施例133



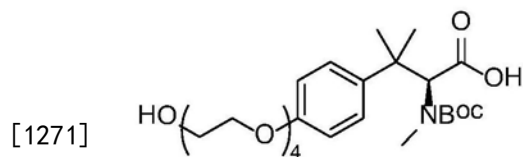
### (133)

[1267] (S)-2-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)-3-(4-((14-羟基-3,6,9,12-四氧杂十四烷基)氧基)苯基)-3-甲基丁酸

[1268] 向实施例68 (157mg, 0.405mmol) 于五乙二醇 (1.5mL) 中的搅拌溶液中加入CsCO<sub>3</sub> (330mg, 1.01mmol)、3,4,7,8-四甲基-1,10-菲咯啉 (57mg, 0.24mmol) 和CuI (23mg, 0.12mmol)。使氮气吹入烧瓶中,随后将其密封且加热至130℃,溶液快速变到红色到棕色到黑色。40h之后,通过HPLC分析,反应看起来接近完毕。因而,允许混合物冷却至环境温度,用H<sub>2</sub>O稀释,且转移至具有搅拌棒的大厄伦美厄烧瓶。用1M柠檬酸将该混合物小心地酸化至pH~3,注意不允许泡沫状混合物溢出。随后用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>将混合物萃取五次,用NaCl (饱和溶液) 洗涤所合并的有机萃取物,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (固体) 干燥且在真空中浓缩,产生约300mg粗制油。通过快速色谱法 (1-10% MeOH/(2% AcOH/EtOAc)) 进行纯化,产生作为大约2:1比率的一组N-Boc旋转异构体存在的呈透明膜状的标题化合物 (66mg, 30%)。

[1269]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 氯仿-d)  $\delta$  (ppm) 7.35 (d,  $J=7.8\text{Hz}$ , 1.3H), 7.30 (d,  $J=7.6\text{Hz}$ , 0.7H), 6.87 (d,  $J=7.1\text{Hz}$ , 2H), 5.07 (s, 0.7H), 4.93 (s, 0.3H), 4.14 (m, 2H), 3.86 (m, 2H), 3.70 (m, 16H), 2.83 (s, 1H), 2.72 (s, 2H), 1.54 (s, 3H), 1.49 (s, 3H), 1.45 (s, 9H)。C<sub>27</sub>H<sub>45</sub>NO<sub>10</sub>计算值  $[\text{M}+\text{H}]^+=544.31\text{amu}$ ; 实验值  $m/z=544.36$ 。R<sub>f</sub>=0.36 (5% MeOH/(2% AcOH/EtOAc))。

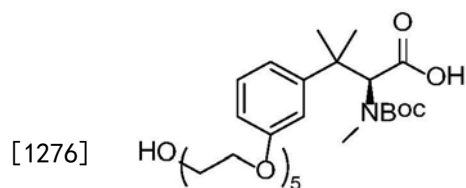
[1270] 实施例134

**(134)**

[1272] (S)-2-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)-3-(4-(2-(2-(2-(2-羟基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)苯基)-3-甲基丁酸

[1273] 根据以上方法,由实施例68(132mg,0.341mmol)、CsCO<sub>3</sub>(278mg,0.853mmol)、3,4,7,8-四甲基-1,10-菲咯啉(24mg,0.10mmol)和CuI(10mg,0.051mmol)制备标题化合物。快速色谱法(1-10%MeOH/(2%AcOH/EtOAc))得到呈大约2:1比率的N-Boc旋转异构体形式的透明油状标题化合物(66mg,38%)。

[1274] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,氯仿-d) δ(ppm) 7.34(d,J=8.4Hz,1.3H),7.29(d,J=8.1Hz,0.7H),6.85(d,J=8.4Hz,2H),5.05(s,0.7H),4.91(s,0.3H),4.13(t,J=4.6Hz,2H),3.87-3.79(m,2H),3.76-3.60(m,10H),3.59(t,J=4.1Hz,2H),2.80(s,1H),2.69(s,2H),1.53(s,3H),1.48(s,3H),1.44(s,9H)。C<sub>25</sub>H<sub>41</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub>计算值[M+H]<sup>+</sup>=500.29amu;实验值m/z=500.36。R<sub>f</sub>=0.46(5%MeOH/(2%AcOH/EtOAc))。

**[1275] 实施例135****(135)**

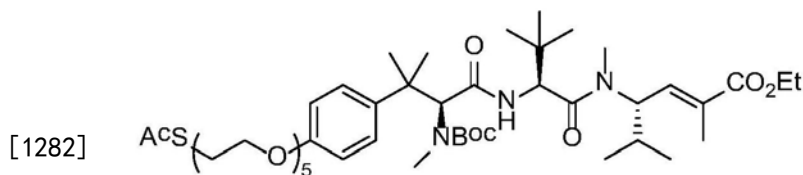
[1277] (S)-3-(3-((14-羟基-3,6,9,12-四氧杂十四烷基)氧基)苯基)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酸

[1278] 通过按照Neiman等中的程序,由实施例131制备标题化合物的前驱物(S)-3-(3-溴苯基)-2-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)-3-甲基丁酸。

[1279] 因而,按照以上程序,将含(S)-3-(3-溴苯基)-2-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)-3-甲基丁酸(166mg,0.43mmol)、CsCO<sub>3</sub>(330mg,1.01mmol)、3,4,7,8-四甲基-1,10-菲咯啉(31mg,0.13mmol)和CuI(12.3,0.060mmol)的1.5mL五乙二醇加热至130℃后维持两天,在快速色谱法(1-10%MeOH/(2%AcOH/EtOAc))之后获得呈大约2:1比率的N-Boc旋转异构体形式的透明油状标题化合物(73mg,31%)。

[1280] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,氯仿-d) δ(ppm) 7.17(t,J=7.8Hz,1H),7.14-7.07(m,1H),7.07-6.93(m,2H),6.74(d,J=8.0Hz,1H),5.11(s,0.7H),4.93(s,0.3H),4.25-4.03(m,2H),3.91-3.77(m,2H),3.78-3.66(m,2H),3.69-3.43(s,14H),2.72(s,1H),2.65(s,1H),1.51(s,3H),1.49(s,3H),1.45(s,9H)。C<sub>27</sub>H<sub>45</sub>N<sub>3</sub>O<sub>10</sub>计算值[M+H]<sup>+</sup>=544.31amu;实验值m/z=544.34。

## [1281] 实施例136



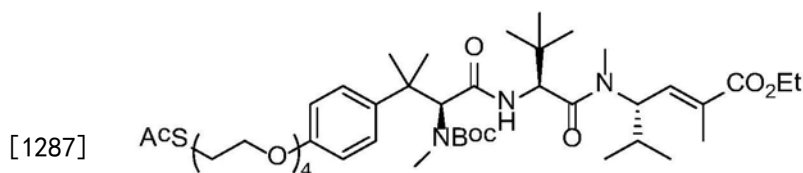
## (136)

[1283] (6S,9S,12S,E)-9-(叔丁基)-12-异丙基-2,2,5,11,14-五甲基-4,7,10-三氧代-6-(2-(4-((16-氧代-3,6,9,12-四氧杂-15-硫杂十七烷基)氧基)苯基)丙-2-基)-3-氧杂-5,8,11-三氮杂十五-13-烯-15-酸乙酯

[1284] 按照与Nieman等中的一般偶合程序中所描述相同的化学计量和程序使(S)-2-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)-3-(4-((14-羟基-3,6,9,12-四氧杂十四烷基)氧基)苯基)-3-甲基丁酸(65mg,0.120mmol)与(S,E)-4-((S)-2-氨基-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-2,5-二甲基己-2-烯酸乙酯在HATU和DIPEA存在下偶合,在通过快速色谱法(1-10%MeOH/(2%AcOH/EtOAc))纯化之后得到中间物游离醇。接下来,在0℃下,在N<sub>2</sub>下向含三苯基膦(40mg,0.15mmol)的0.75mL THF中一次性加入偶氮二甲酸二叔丁酯(35mg,0.15mmol)。35分钟之后,白色沉淀物坠落析出且反应物变得难以搅拌。向该悬浮液中,加入中间物醇(42mg,0.050mmol)于0.75mL THF中的溶液,从而将沉淀物稀释至足以恢复搅拌。五分钟后,加入含硫代乙酸(5.7mg,0.075mmol)的0.05mL THF,使得所有黄色从混合物中褪去。30min之后,允许反应物升温至环境温度。再过15min之后沉淀物消失,且通过TLC和LCMS分析显示几乎完全转化。再过40分钟之后,在真空中浓缩反应混合物,随后直接进行快速色谱法(40-100%EtOAc/Hex,随后10%MeOH/EtOAc),产生呈透明膜状的标题化合物(26mg,57%)。

[1285] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,氯仿-d)δ(ppm)7.43(d,J=8.4Hz,1.3H),7.31(d,J=8.3Hz,0.7H),6.97-6.72(m,2H),6.62(dd,J=9.3,1.6Hz,1H),6.14(d,J=9.6Hz,1H),5.22(s,0.7H),5.12-4.99(m,1H),4.84(s,0.3H),4.69(d,J=9.3Hz,0.3H),4.60(d,J=8.9Hz,0.7H),4.19(q,J=7.2Hz,2H),4.09(td,J=4.6,2.3Hz,2H),3.84(t,J=4.9Hz,2H),3.77-3.70(m,2H),3.70-3.61(m,10H),3.59(t,J=6.4Hz,2H),3.07(t,J=6.4Hz,2H),2.97-2.91(m,3H),2.84(s,3H),2.32(s,3H),1.87(s,3H),1.49(s,3H),1.43(s,9H),1.35(s,3H),1.30(t,J=7.1Hz,3H),0.87(d,J=6.6Hz,3H),0.80(d,J=16.6Hz,3H),0.77(s,9H)。C<sub>46</sub>H<sub>77</sub>N<sub>3</sub>O<sub>12</sub>S计算值[M+H]<sup>+</sup>=896.53amu;实验值m/z=896.77。R<sub>f</sub>=0.56(80%EtOAc/Hex)。

## [1286] 实施例137



## (137)

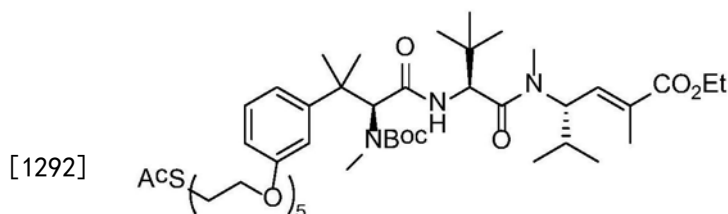
[1288] (6S,9S,12S,E)-9-(叔丁基)-12-异丙基-2,2,5,11,14-五甲基-4,7,10-三氧代-

6-(2-(4-((13-氧代-3,6,9-三氧杂-12-硫杂十四烷基)氧基)苯基)丙-2-基)-3-氧杂-5,8,11-三氮杂十五-13-烯-15-酸乙酯

[1289] 按照与上文所描述相同的程序,由(S)-2-((叔丁氧基羰基)(甲基)氨基)-3-(4-(2-(2-(2-(2-羟基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)苯基)-3-甲基丁酸(66mg,0.065mmol)制备标题化合物,在快速色谱法(20-100%EtOAc/Hex)之后得到呈透明膜状的32mg(57%)。

[1290]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz,氯仿-d) $\delta$ (ppm) 7.44(d,J=8.5Hz,1.3H),7.32(d,J=8.5Hz,0.7H),6.95-6.77(m,2H),6.62(dd,J=9.2,1.7Hz,1H),6.09(d,J=9.1Hz,1H),5.24(s,0.7H),5.13-4.95(m,1H),4.84(s,0.3H),4.69(d,J=9.6Hz,0.3H),4.60(d,J=9.0Hz,0.7H),4.19(q,J=7.1Hz,2H),4.09(td,J=4.7,2.4Hz,2H),3.84(t,J=4.9Hz,2H),3.72(dd,J=5.7,3.2Hz,2H),3.70-3.65(m,2H),3.66-3.62(m,4H),3.60(t,J=6.5Hz,2H),3.09(t,J=6.5Hz,2H),2.96-2.88(m,3H),2.84(s,3H),2.33(s,3H),1.88(d,J=3.5Hz,3H),1.49(s,2H),1.43(d,J=5.5Hz,11H),1.35(s,2H),1.30(t,J=7.1Hz,2H),0.87(d,J=6.6Hz,3H),0.80(d,J=15.9Hz,3H),0.76(s,9H)。C<sub>44</sub>H<sub>73</sub>N<sub>3</sub>O<sub>11</sub>S计算值[M+H]<sup>+</sup>=852.51amu;实验值m/z=852.79。R<sub>f</sub>=0.60(60%EtOAc/Hex)。

[1291] 实施例138



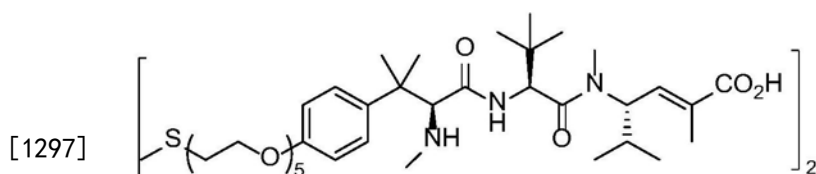
### (138)

[1293] (6S,9S,12S,E)-9-(叔丁基)-12-异丙基-2,2,5,11,14-五甲基-4,7,10-三氧代-6-(2-(3-((16-氧代-3,6,9-三氧杂-12-硫杂十四烷基)氧基)苯基)丙-2-基)-3-氧杂-5,8,11-三氮杂十五-13-烯-15-酸乙酯

[1294] 按照与上文所描述相同的程序,由(S)-3-(3-((14-羟基-3,6,9,12-四氧杂十四烷基)氧基)苯基)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酸(73mg,0.080mmol)制备标题化合物,在快速色谱法20-100%EtOAc/Hex)之后得到呈透明膜状的66mg(47%)。

[1295]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz,氯仿-d) $\delta$ (ppm) 7.25-6.92(m,3H),6.78-6.70(m,1H),6.62(d,J=8.9Hz,1H),6.12(d,J=8.9Hz,1H),5.26(s,0.7H),5.12-4.99(m,1H),4.89(s,0.3H),4.74-4.56(m,1H),4.19(q,J=7.2Hz,1H),4.16-4.03(m,2H),3.84(td,J=5.0,3.2Hz,2H),3.77-3.61(m,14H),3.60(t,J=6.4Hz,2H),3.09(t,J=6.5Hz,2H),2.97-2.75(m,6H),2.33(s,3H),1.91-1.83(m,3H),1.52-1.35(m,16H),1.26(t,J=7.1Hz,3H),0.87(d,J=6.0Hz,3H),0.81(d,J=12.9Hz,3H),0.77(s,9H)。C<sub>46</sub>H<sub>77</sub>N<sub>3</sub>O<sub>12</sub>S计算值[M+H]<sup>+</sup>=896.53amu;实验值m/z=896.68。R<sub>f</sub>=0.61(75%EtOAc/Hex)。

[1296] 实施例139



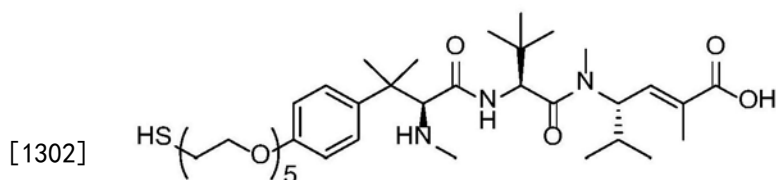
(139)

[1298] (S,E)-4-((S)-2-((S)-3-(4-((14-巯基-3,6,9,12-四氧杂十四烷基)氧基)苯基)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-2,5-二甲基己-2-烯酸二硫化物

[1299] 完全根据Nieman等中所描述的方法,由(6S,9S,12S,E)-9-(叔丁基)-12-异丙基-2,2,5,11,14-五甲基-4,7,10-三氧代-6-(2-(4-((16-氧代-3,6,9,12-四氧杂-15-硫杂十七烷基)氧基)苯基)丙-2-基)-3-氧杂-5,8,11-三氮杂十五-13-烯-15-酸乙酯(26mg, 0.029mmol)通过皂化制备标题化合物,随后以TFA促进Boc去除,在完全去除过量TFA之后得到呈透明玻璃状的标题化合物(16mg,90%)。

[1300]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  (ppm) 8.43 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 1H), 7.47 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 7.08-6.94 (m, 2H), 6.80 (dq,  $J=9.9, 1.5\text{Hz}$ , 1H), 5.08 (t,  $J=10.1\text{Hz}$ , 1H), 4.94 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 1H), 4.32 (s, 1H), 4.21-4.12 (m, 2H), 3.93-3.81 (m, 3H), 3.76 (t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 2H), 3.76-3.72 (m, 2H), 3.72-3.62 (m, 10H), 3.17 (s, 3H), 2.92 (t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 2H), 2.61-2.47 (m, 3H), 2.14-2.00 (m, 1H), 1.94 (d,  $J=1.5\text{Hz}$ , 3H), 1.46 (s, 3H), 1.40 (d,  $J=7.7\text{Hz}$ , 3H), 1.09 (s, 9H), 0.94 (d,  $J=5.0\text{Hz}$ , 3H), 0.92 (d,  $J=4.8\text{Hz}$ , 3H)。C<sub>74</sub>H<sub>124</sub>N<sub>6</sub>O<sub>18</sub>S<sub>2</sub>计算值[M+H]<sup>+</sup>=1449.85amu;实验值m/z=1450.49。

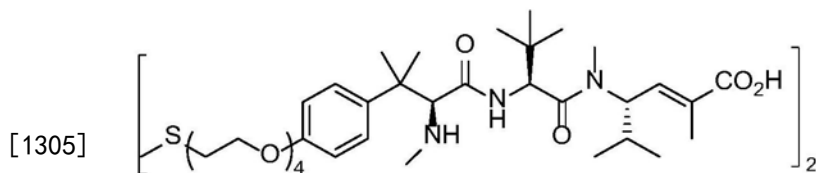
[1301] 实施例140



(140)

[1303] 根据以下方法还原实施例139的化合物,产生标的化合物。

[1304] 实施例141



(141)

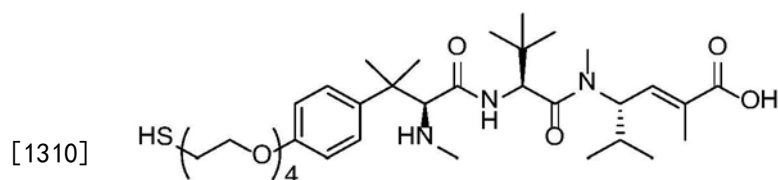
[1306] (S,E)-4-((S)-2-((S)-3-(4-(2-(2-(2-(2-巯基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)苯基)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-2,5-二甲基己-2-烯酸

## 二硫化物

[1307] 完全根据Nieman等中所描述的方法,由(6S,9S,12S,E)-9-(叔丁基)-12-异丙基-2,2,5,11,14-五甲基-4,7,10-三氧代-6-(2-(4-((13-氧代-3,6,9-三氧杂-12-硫杂十四烷基)氧基)苯基)丙-2-基)-3-氧杂-5,8,11-三氮杂十五-13-烯-15-酸乙酯(32mg, 0.037mmol)通过皂化制备标题化合物,随后以TFA促进Boc去除,在完全去除过量TFA之后得到呈透明玻璃状的标题化合物(29mg,86%)。

[1308]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  (ppm) 8.39 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 1H), 7.44 (d,  $J=8.9\text{Hz}$ , 2H), 7.01 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 6.77 (d,  $J=7.9\text{Hz}$ , 1H), 5.05 (t,  $J=10.1\text{Hz}$ , 1H), 4.92 (d,  $J=8.3\text{Hz}$ , 1H), 4.28 (s, 1H), 4.15 (dd,  $J=5.8, 3.4\text{Hz}$ , 2H), 3.89-3.80 (m, 2H), 3.73 (t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 2H), 3.72-3.69 (m, 2H), 3.69-3.60 (m, 6H), 3.14 (s, 3H), 2.89 (t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 2H), 2.50 (s, 3H), 2.11-1.97 (m, 1H), 1.91 (d,  $J=1.4\text{Hz}$ , 3H), 1.43 (s, 3H), 1.36 (s, 3H), 1.06 (s, 9H), 0.92-0.87 (m, 6H)。C<sub>70</sub>H<sub>118</sub>N<sub>6</sub>O<sub>16</sub>S<sub>2</sub>计算值 $[\text{M}+\text{H}]^+=1361.80\text{amu}$ ;实验值 $m/z=1362.26$ 。

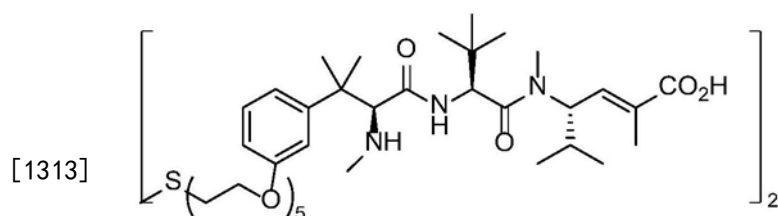
## [1309] 实施例142



## (142)

[1311] 根据以下方法还原实施例141的化合物,产生标的化合物。

## [1312] 实施例143



## (143)

[1314] (S,E)-4-((S)-2-((S)-3-(3-((14-巯基-3,6,9,12-四氧杂十四烷基)氧基)苯基)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-2,5-二甲基己-2-烯酸

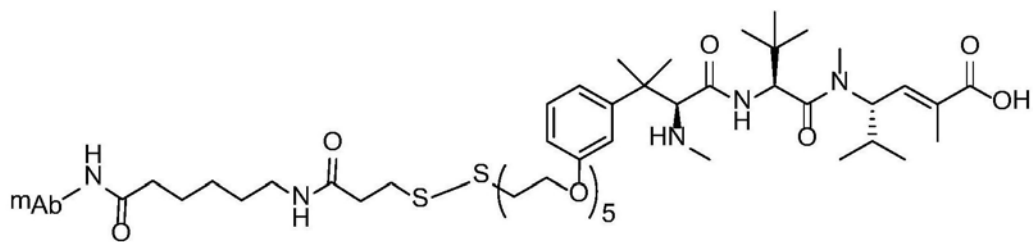
[1315] 完全根据Nieman等中所描述的方法,由(6S,9S,12S,E)-9-(叔丁基)-12-异丙基-2,2,5,11,14-五甲基-4,7,10-三氧代-6-(2-(3-((16-氧代-3,6,9,12-四氧杂-15-硫杂十七烷基)氧基)苯基)丙-2-基)-3-氧杂-5,8,11-三氮杂十五-13-烯-15-酸乙酯(56mg, 0.029mmol)通过皂化制备标题化合物,随后以TFA促进Boc去除,在完全去除过量TFA之后得到呈灰白色发泡体状的标题化合物(43mg,82%)。

[1316]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  (ppm) 8.48 (d,  $J=8.3\text{Hz}$ , 1H), 7.47-7.29 (m, 1H), 7.21-7.04 (m, 1H), 6.95 (t,  $J=9.4\text{Hz}$ , 1H), 6.80 (d,  $J=9.7\text{Hz}$ , 1H), 5.08 (t,  $J=10.1\text{Hz}$ , 1H), 4.97-4.94 (m, 1H), 4.38 (s, 1H), 4.24-4.13 (m, 2H), 3.95-3.82 (m, 2H), 3.80-3.58 (m, 14H), 3.17





[1327]

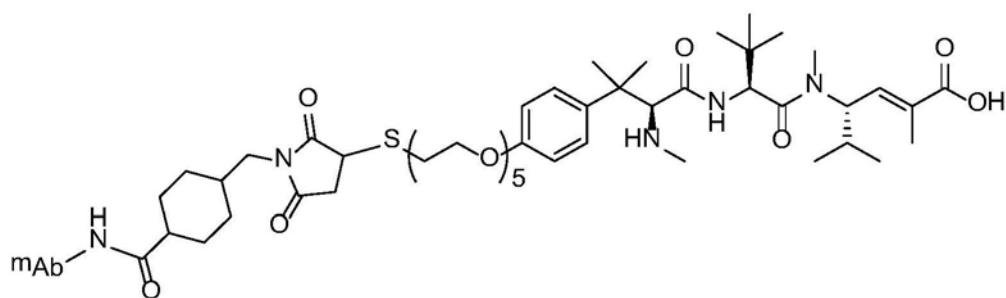


(147)

[1328] 使用以上化合物144合成法和以下所描述的SPDP键联法来产生 (mAb-SPDP-化合物144)。

[1329] 实施例148

[1330]

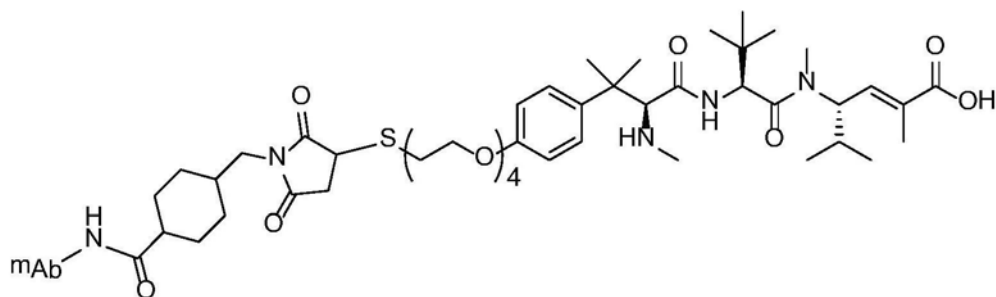


(148)

[1331] 使用以上化合物140合成法和以下所描述的SMCC键联法来产生 (mAb-SMCC-化合物140)。

[1332] 实施例149

[1333]

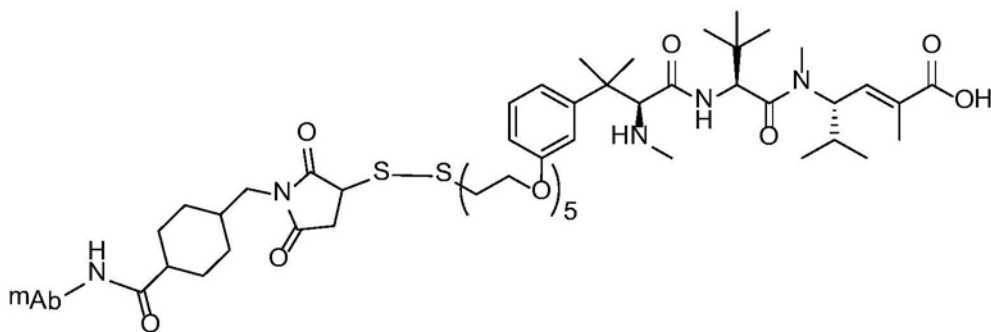


(149)

[1334] 使用以上化合物142合成法和以下所描述的SMCC键联法来产生 (mAb-SMCC-化合物142)。

[1335] 实施例150

[1336]



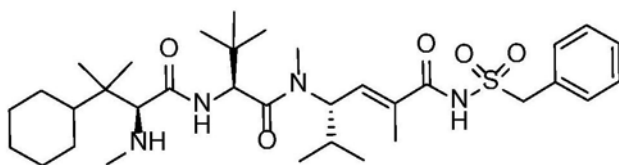
(150)

[1337] 使用以上化合物144合成法和以下所描述的SMCC键联法来产生 (mAb-SMCC-化合物144)。

[1338] 其它实施例

[1339] 实施例151

[1340]



[1341]

(151)

[1342] (S,E)-N-(苯甲基磺酰基)-4-((S)-2-((S)-3-环己基-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-2,5-二甲基己-2-烯酰胺

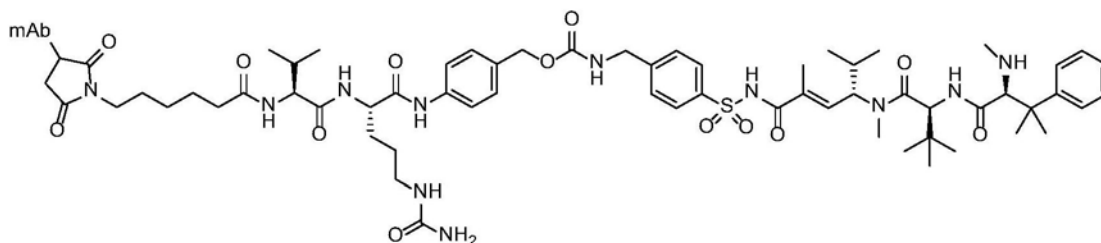
[1343] 通过应用一般程序4和7,由如Zask等,J.Med.Chem.2004,47,(19),4774-4786所制备的(S)-2-(叔丁氧基羰基(甲基)氨基)-3-环己基-3-甲基丁酸和使用一般程序10、11、3和2制备的(S,E)-4-((S)-2-氨基-N,3,3-三甲基丁酰胺基)-N-(苯甲基磺酰基)-2,5-二甲基己-2-烯酰胺合成标题化合物。

[1344]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.38 (s, 5H), 6.37 (dd,  $J=9.4, 1.7\text{Hz}$ , 1H), 5.01 (t,  $J=10.0\text{Hz}$ , 1H), 4.91 (s, 1H), 4.75 (s, 2H), 4.01 (s, 1H), 3.10 (s, 3H), 2.66 (s, 3H), 2.05-1.91 (m, 4H), 1.91-1.67 (m, 6H), 1.45-1.28 (m, 3H), 1.29-1.01 (m, 17H), 0.95-0.75 (m, 9H)。

[1345]  $\text{C}_{34}\text{H}_{56}\text{N}_{4}\text{O}_5\text{S}$  计算值  $m/z=632.40$ ; 实验值  $[\text{M}+\text{H}]^+=633.35$

[1346] 实施例152

[1347]

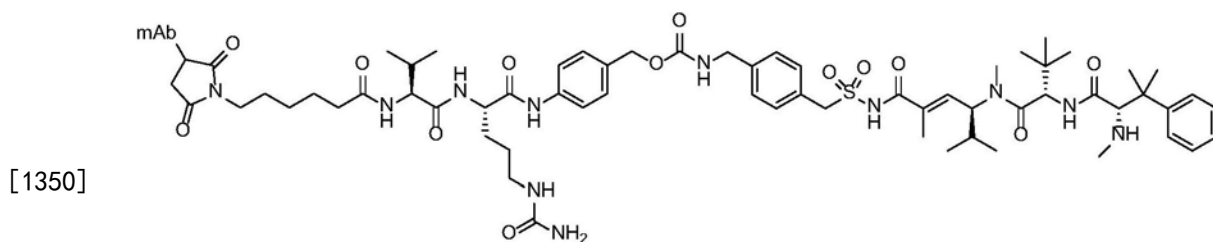


(152)

[1348] 使用以上实施例化合物120和以下所描述的一般MCvcPABC缀合法来产生 (mAb-

MCvcPABC-化合物85)。

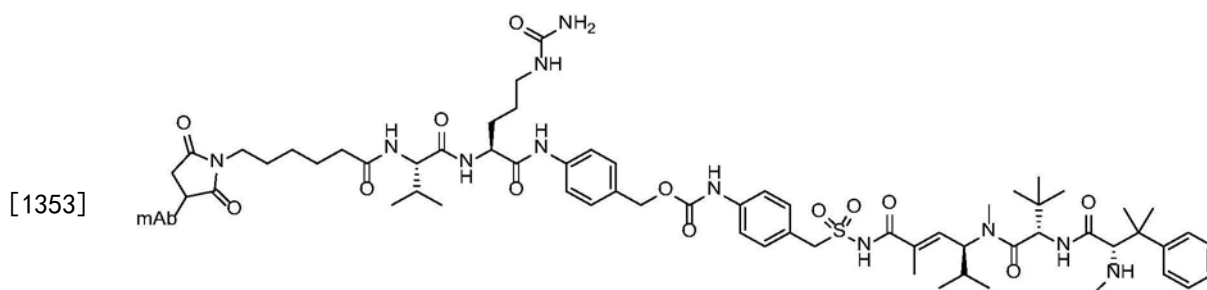
[1349] 实施例153



**(153)**

[1351] 使用以上实施例化合物119和以下所描述的一般MCvcPABC缀合法来产生 (mAb-MCvcPABC-化合物77)。

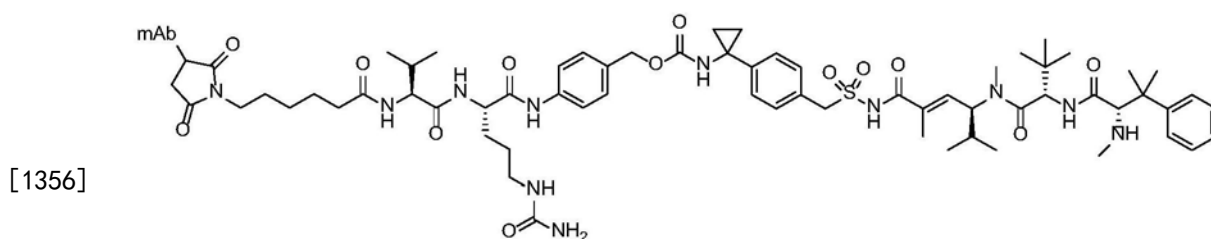
[1352] 实施例154



**(154)**

[1354] 使用以上实施例化合物121和以下所描述的MCvcPABC缀合法来产生 (mAb-MCvcPABC-化合物80)。

[1355] 实施例155

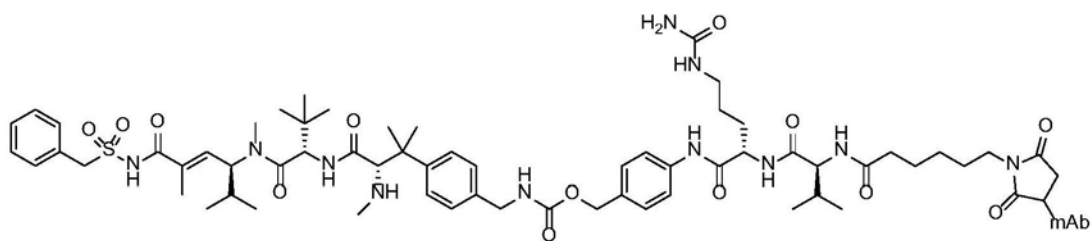


**(155)**

[1357] 使用以下实施例化合物158 (MCvcPABC58) 和以下所描述的MCvcPABC缀合法来产生 (mAb-MCvcPABC-化合物58)。

[1358] 实施例156

[1359]

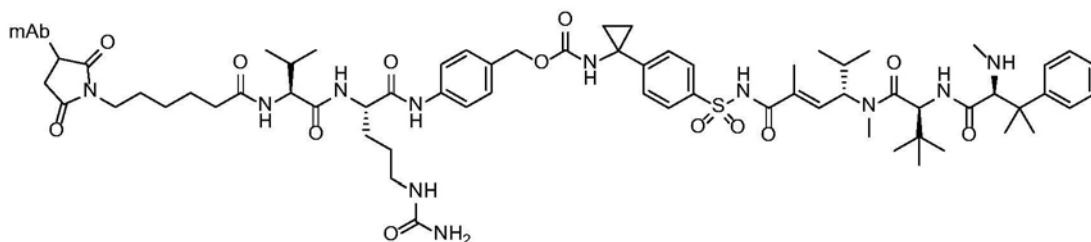


(156)

[1360] 使用以上实施例化合物122和以下所描述的MCvcPABC缀合法来产生 (mAb-MCvcPABC-化合物41)。

[1361] 实施例157

[1362]

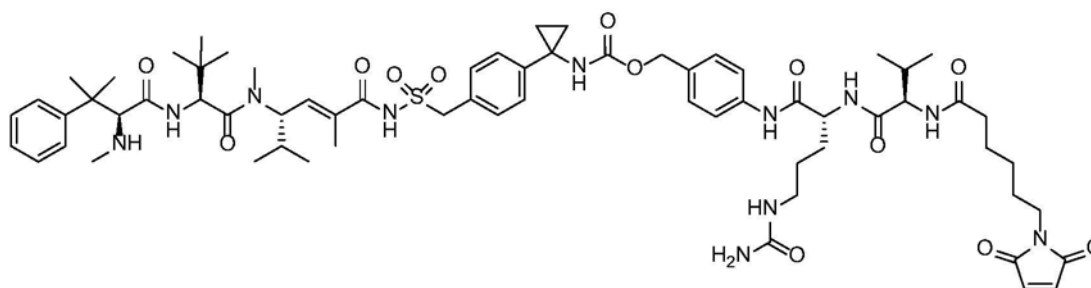


(157)

[1363] 使用以下实施例化合物159 (MCvcPABC830) 和以下所描述的MCvcPABC缀合法来产生 (mAb-MCvcPABC-化合物63)。

[1364] 实施例158

[1365]



(158)

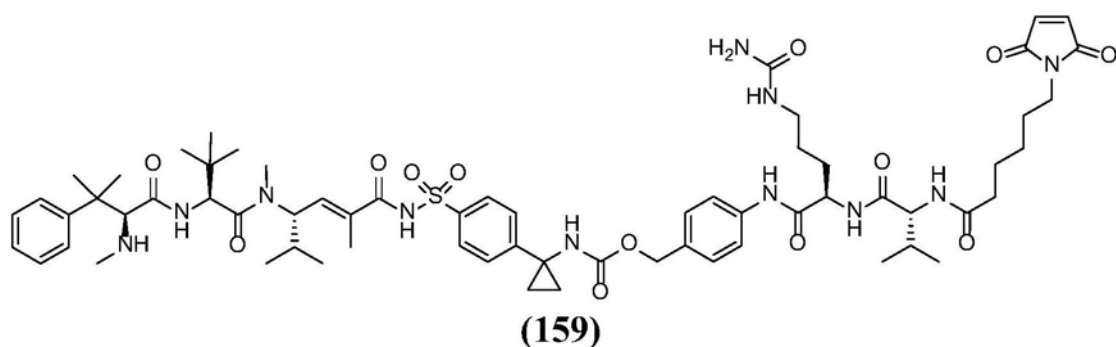
[1366] 通过将一般程序15和7应用于经Boc保护的实施例58来制备标题化合物。

[1367]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  7.60 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 2H), 7.56 (d,  $J=7.8\text{Hz}$ , 2H), 7.47 (t,  $J=7.6\text{Hz}$ , 2H), 7.37 (t,  $J=7.3\text{Hz}$ , 1H), 7.33 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 2H), 7.26 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 2H), 7.22 (d,  $J=7.9\text{Hz}$ , 2H), 6.81 (s, 2H), 6.37 (d,  $J=9.3\text{Hz}$ , 1H), 5.13-5.01 (m, 3H), 4.96 (s, 1H), 4.70 (s, 2H), 4.56-4.51 (m, 1H), 4.38 (s, 1H), 4.23-4.16 (m, 1H), 3.50 (t,  $J=7.1\text{Hz}$ , 2H), 3.27-3.19 (m, 1H), 3.18-3.04 (m, 4H), 2.52 (s, 3H), 2.30 (t,  $J=7.4\text{Hz}$ , 2H), 2.15-2.05 (m, 1H), 1.96 (s, 3H), 1.98-1.88 (m, 1H), 1.83-1.73 (m, 1H), 1.64 (dq,  $J=23.1, 7.3\text{Hz}$ , 7H), 1.48 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.37-1.30 (m, 2H), 1.27 (s, 2H), 1.21 (s, 2H), 1.08 (s, 9H), 1.00 (d,  $J=6.7\text{Hz}$ , 3H), 0.99 (d,  $J=6.8\text{Hz}$ , 3H), 0.91 (d,  $J=6.6\text{Hz}$ , 3H), 0.88 (d,  $J=6.5\text{Hz}$ , 3H)。

[1368]  $\text{C}_{66}\text{H}_{93}\text{N}_{11}\text{O}_{13}\text{S}$  计算值  $m/z=1279.7$ ; 实验值  $[\text{M}+\text{H}]^+=1281.0$ 。

[1369] 实施例159

[1370]



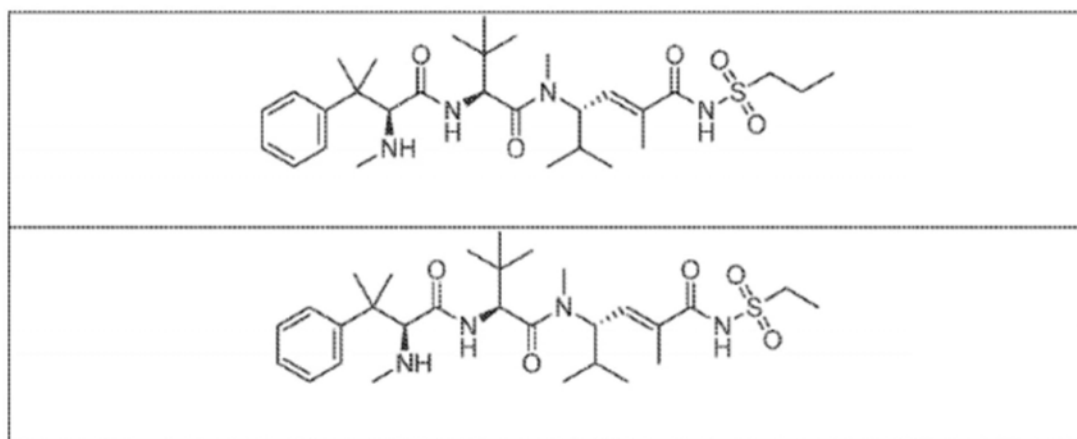
[1371] 通过将一般程序15和7应用于经Boc保护的实施例63来制备标题化合物。

[1372]  $C_{65}H_{91}N_{11}O_{13}S$  计算值 $m/z=1265.7$ ; 实验值 $[M+H]^+=1266.7$ 

[1373] 本领域技术人员应理解,也许有可能在修改一个或多个参数的情况下进行以上流程中所示的化学转化。作为实例,替代非亲核溶剂可能适合于化学反应,诸如THF、DMF、甲苯等。反应温度可以变化。替代试剂可能适合于充当正常情况下用于酰胺形成反应的脱水或酸活化剂,诸如五氟苯基酯、NHS酯、EDAC、HBTU、HOBT等。

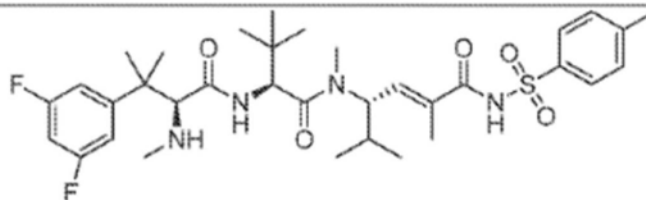
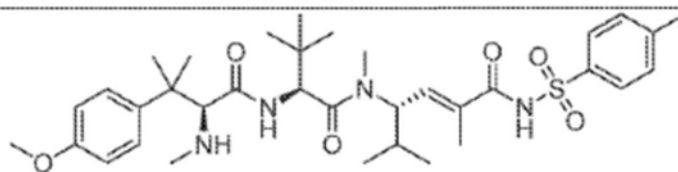
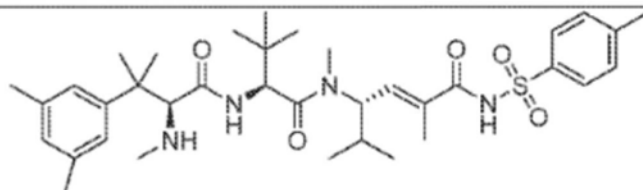
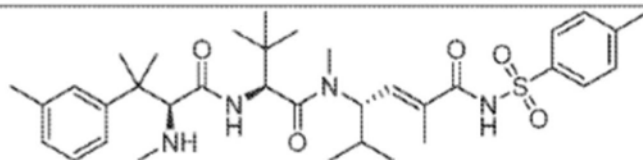
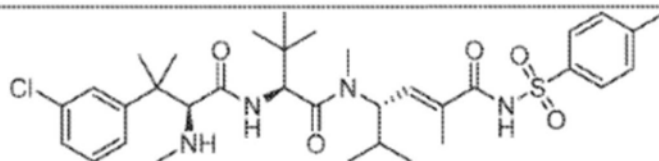
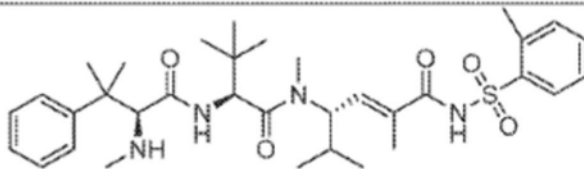
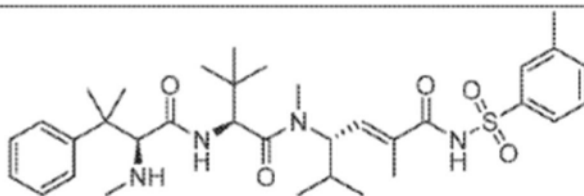
[1374] 其它代表性化合物

[1375] 可以根据上述程序制备以下代表性化合物。如本领域技术人员应认识到,以下化合物可使用W0 2004/026293的公开内容得到前驱反应物且应用一般程序与适当的磺酰胺而合成取得。

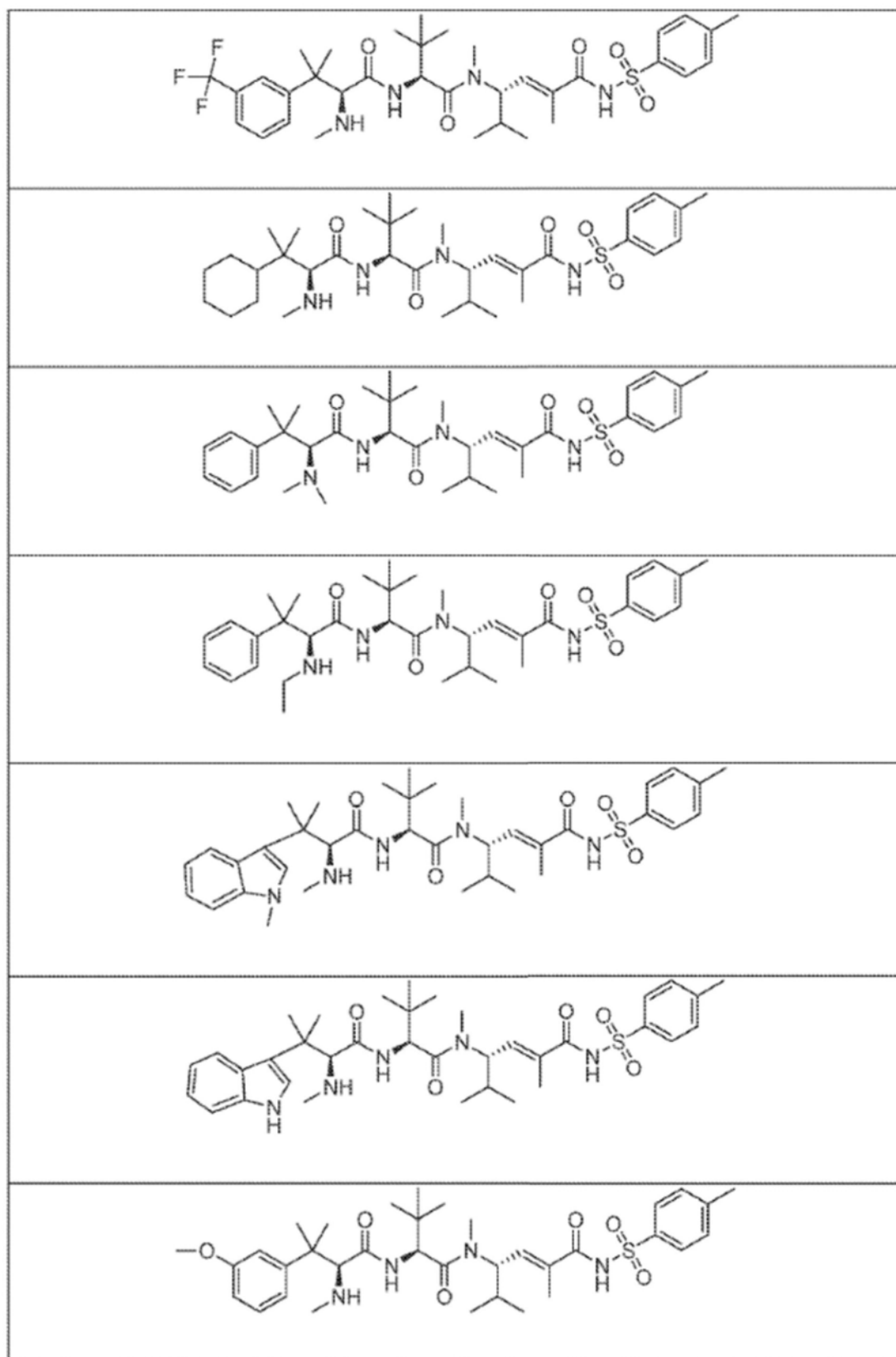


[1376]

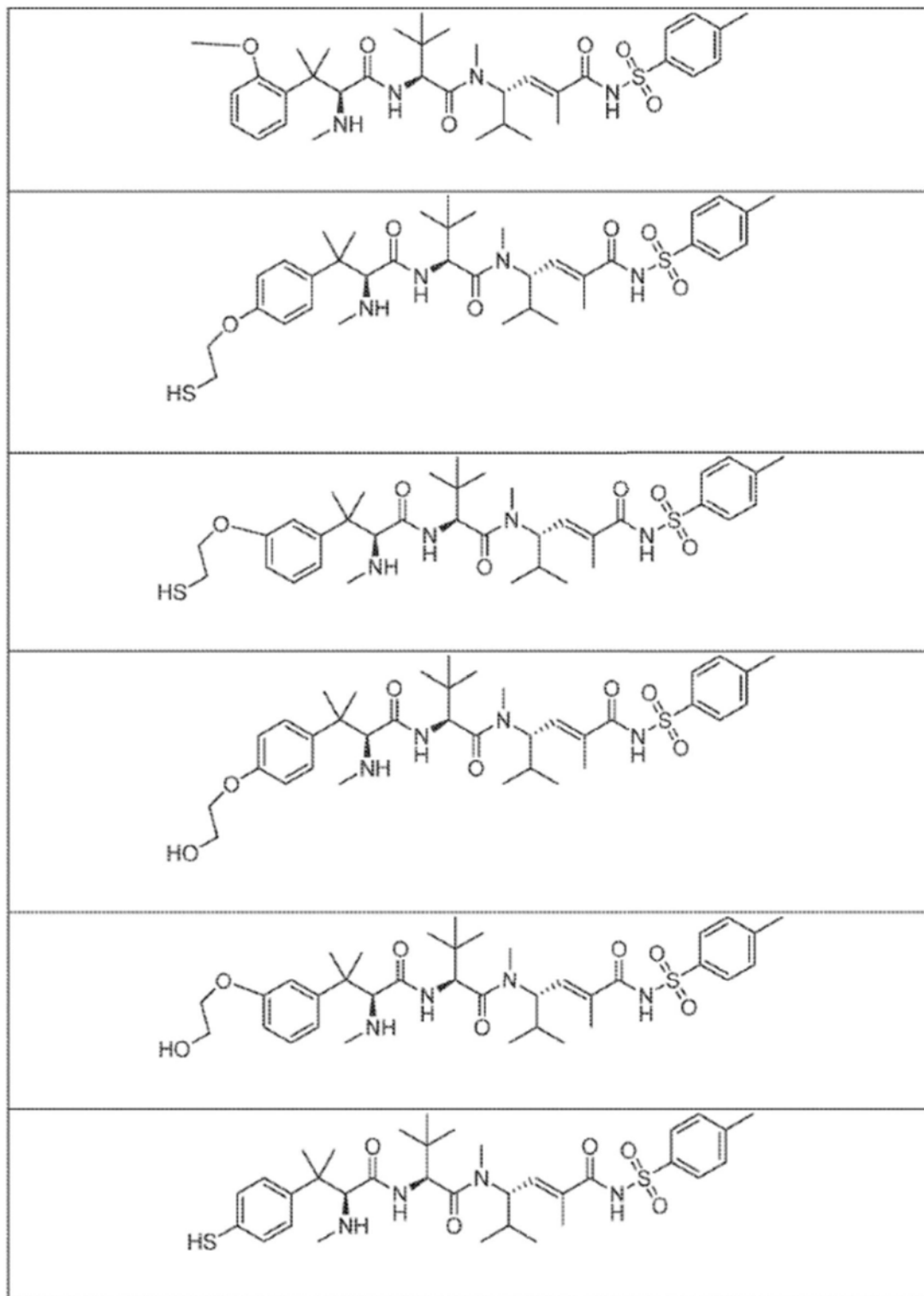
[1377]



[1378]

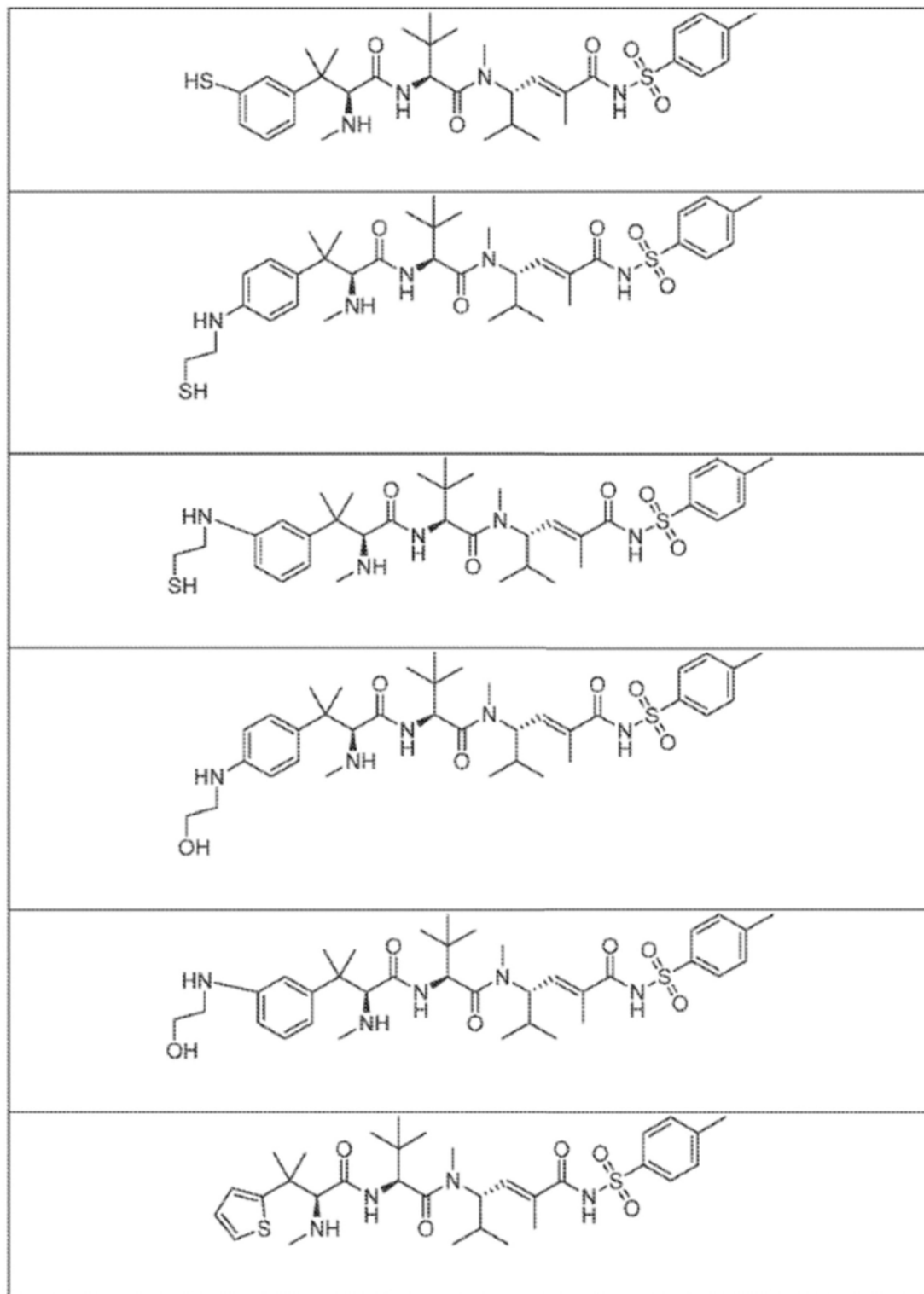


[1379]

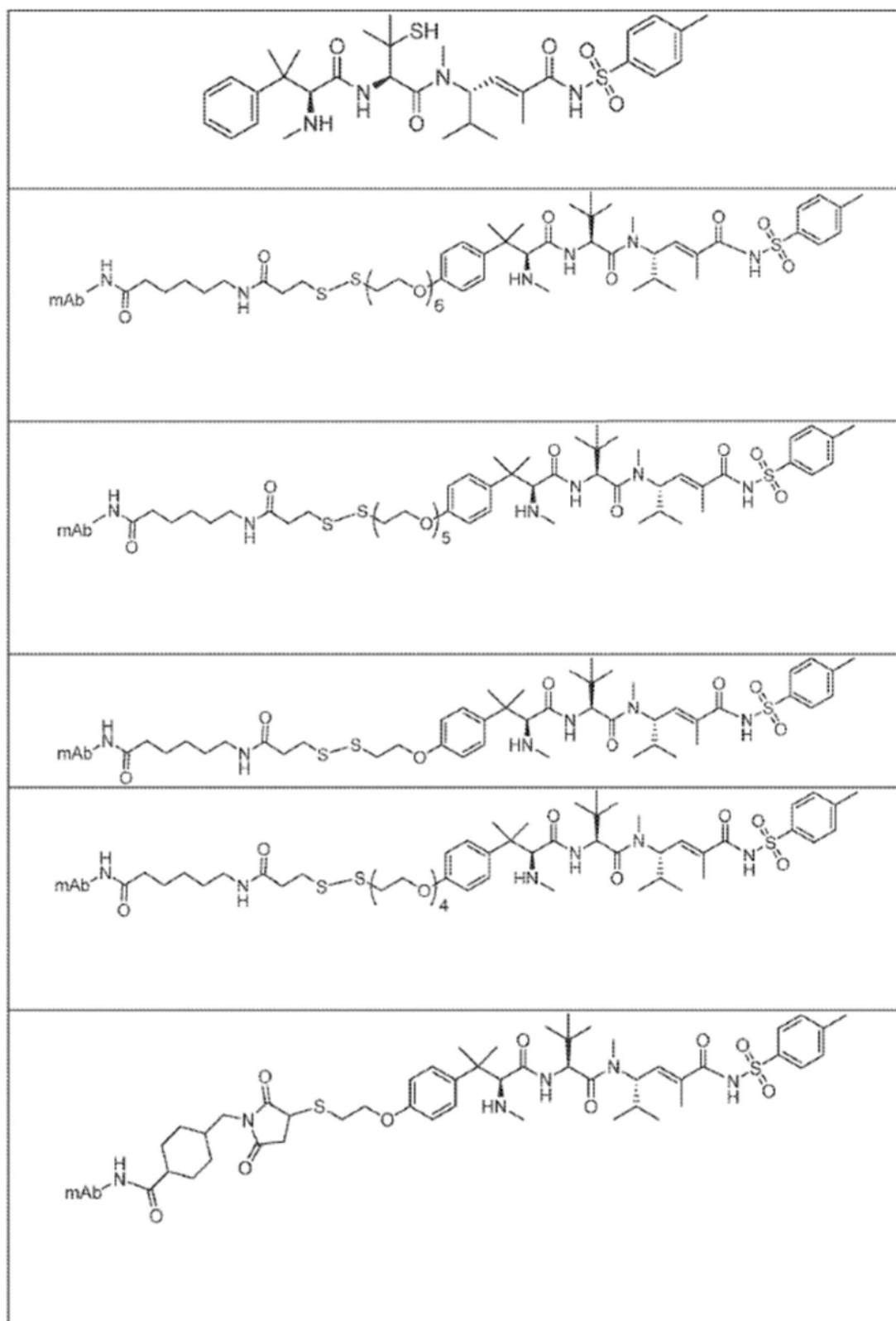




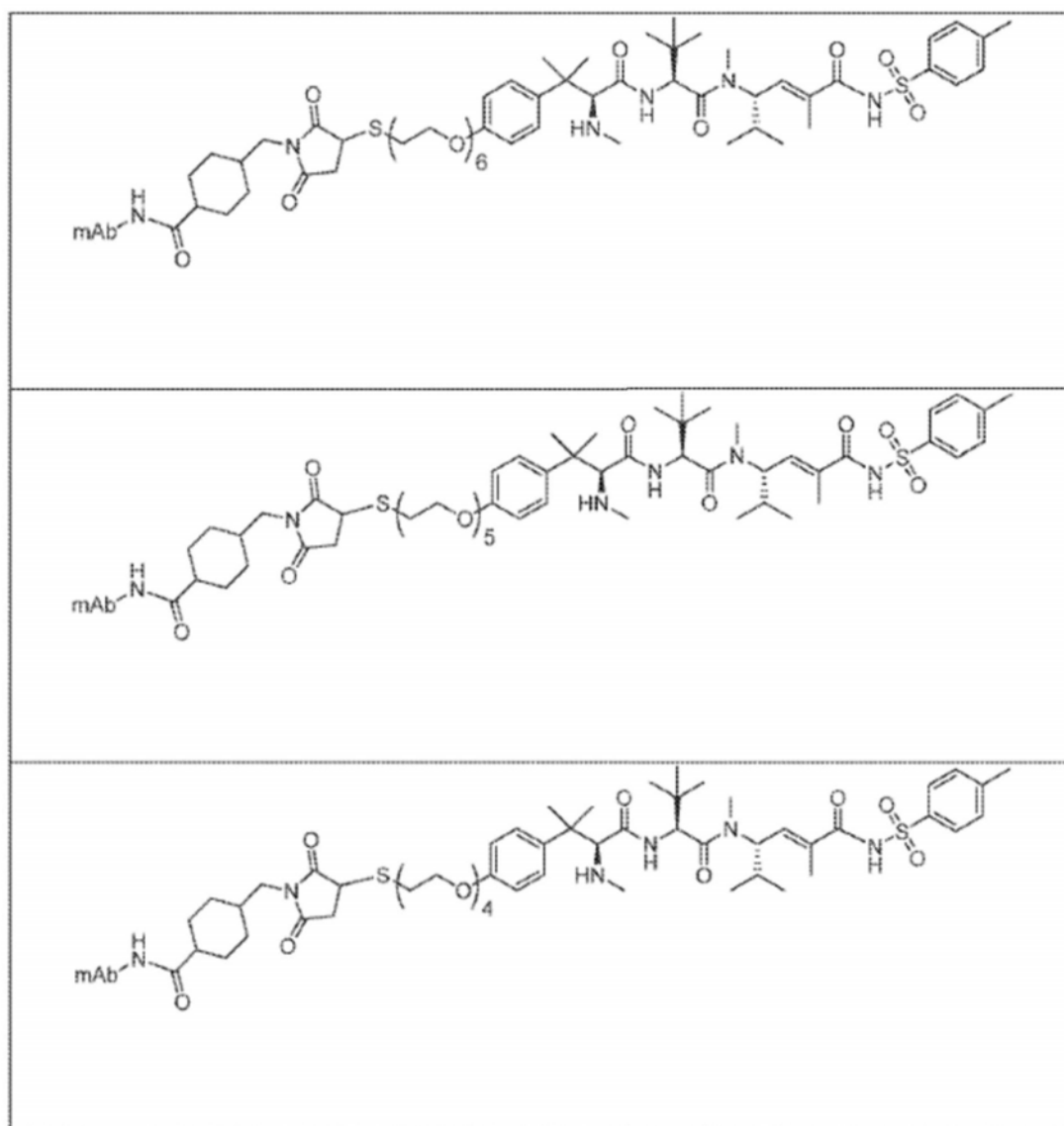
[1380]



[1381]



[1382]



[1383] 实施例1:

[1384] 生物学测定

[1385] 表格1至8汇总了标的化合物对诸多细胞系的细胞毒性活性。图1汇总了化合物A、B、C、D和E在使用人乳房癌细胞系HCC1954或人T细胞白血病细胞系Jurkat测试时的数据。图2至6示出了个别化合物A至E的细胞毒性数据曲线。表2至6汇总了其它细胞毒性测定的结果。

[1386] 所使用的细胞系:人T细胞白血病细胞系Jurkat (ATCC:TIB-152);HCC1954 (ATCC:CRL.2338);人胰腺癌细胞系:AsPC-1 (ATCC:CRL-1682)、BxPC-3 (ATCC:CRL.1687)、HPAF-II (ATCC:CRL.1997)、MiaPaCa2 (ATCC:CRL.1420)、PANC-1 (ATCC:CRL.1469)、Capan-1 (ATCC:HTB-79)、Capan-2 (ATCC:HTB-80) 和人胃癌细胞系NCI-N87 (ATCC:CRL.5822);AML-193 (ATCC:CRL.9589)、CCRF-CEM (ATCC:CCL-119)、DU145 (ATCC:HTB-81)、PC-3 (ATCC:CRL.1435)、A-431 (ATCC:CRL.1555)、HT-29 (ATCC:HTB-38)、A-172 (ATCC:CRL.1620)、NCI-H358 (ATCC:CRL.5807)、A549 (ATCC:CCL-185)、CoLo-205 (ATCC:CCL-222)、MDA-MB-231 (ATCC:HTB-26)、OVCAR-3 (ATCC:HTB-161)、OV-90 (ATCC:CRL.11732)、OE19 (Sigma:

96071721)、RT112/84(Sigma:85061106)。

[1387] 在加入化合物前一天,使用完全生长培养基将HCC1954AsPC-1、BxPC-3、HPAF-II、MiaPaCa2、PANC-1、Capan-1、Capan-2和NCI-N87细胞以2500个细胞/100微升( $\mu\text{L}$ )培养基的密度加入到经组织培养物处理过的不透明壁96孔微量滴定板中。在 $37^{\circ}\text{C}/5\%\text{CO}_2$ 下将这些粘附细胞系细胞孵育一夜,以允许细胞附着于微量滴定板表面。在加入化合物当天,使用与HCC1954相同的生长培养基,以2500个细胞/100 $\mu\text{L}$ 向单独的96孔微量滴定板中加入Jurkat细胞。首先使用二甲亚砜连续稀释化合物,且随后将所制备的稀释液以五倍最终浓度加入完全生长培养基,随后1:3滴定化合物,八个步骤。各微量滴定板以一式六份包括无化合物的对照(仅生长培养基)。以一式三份加入所制备的化合物被滴定液(25 $\mu\text{L}$ /孔)。在 $37^{\circ}\text{C}/5\%\text{CO}_2$ 下将细胞和化合物被滴定液孵育三夜。培育之后,使用**CellTiter-Glo®**试剂,通过向各测定孔中加入30 $\mu\text{L}$ 所制备的**CellTiter-Glo®**来测量细胞活力。将测定物在暗处孵育至少二十分钟,随后使用微板光度计(500ms积分时间)测量发光。使用上文所提到的仅有生长培养基的对照将所收集的相对发光单位(RLU)转化成细胞毒性%(细胞毒性% =  $1 - [\text{孔RLU}/\text{仅培养基对照平均RLU}]$ )。

[1388] 使用GraphPad Prism,使用三参数非线性回归曲线拟合产生 $\text{EC}_{50}$ 值。

[1389] 表1:化合物的细胞毒性

化合物	HCC1954 细胞 (HER2+)		Jurkat 细胞 (HER2-)	
	$\text{EC}_{50}$ (nM)	$\text{EC}_{50}$ 范围 (nM)	$\text{EC}_{50}$ (nM)	$\text{EC}_{50}$ 范围 (nM)
A	0.86	0.3765 至 1.966	0.78	0.5970 至 1.013
B	8.1	4.778 至 13.56	10.5	6.221 至 17.70
C	0.67	0.3738 至 1.186	0.57	0.4088 至 0.8085
D	0.061	0.04550 至 0.08050	0.043	0.03127 至 0.05921
E	0.79	0.5418 至 1.140	1.67	1.223 至 2.268

[1391] 表2:化合物的细胞毒性

[1392]

	HCC1954			Jurkat		
	EC <sub>50</sub> (nM)	EC <sub>50</sub> 范围 (nM)	R <sup>2</sup>	EC <sub>50</sub> (nM)	EC <sub>50</sub> 范围 (nM)	R <sup>2</sup>
A	3	1.582 至 5.228	0.9158	5	3.127 至 6.641	0.9647
B	13	10.50 至 16.27	0.9878	59	33.41 至 104.5	0.9257
C	1.3	0.7970 至 1.977	0.9493	1.9	1.248 至 2.896	0.9562
D	0.06	0.04550 至 0.08050	0.9656	0.04	0.03127 至 0.05921	0.9497
E	0.79	0.5418 至 1.140	0.9314	1.67	1.223 至 2.268	0.9518

[1393] 表3: 化合物对Jurkat细胞的细胞毒性

[1394]

化合物	EC <sub>50</sub> (nM)
A	4.5

[1395]

B	59
115	36
C	1.9
118	13
D	0.033
E	1.67
12	0.030
13	0.038
14	0.007
14	0.015
15	7.604
16	0.041
17	0.325
18	1.358
19	0.152
22	0.021
47	0.261
24	0.070
48	0.208
23	0.031
28	0.021
29	0.121
30	0.109

31	0.094
74	0.087
25	0.050
26	0.105
49	2.5
50	0.171
27	0.157
32	0.265

[1396]

76	0.328
79	0.386
84	1.393
80	0.389
51	0.247
57	0.566
58	0.816
34	0.200
97	1.616
44	0.114
45	0.869
42	D.165

[1397] 表4:化合物对HCC-1954细胞的细胞毒性

[1398]

化合物	EC <sub>50</sub> (nM)
A	2.1
B	13
115	172
C	1.3
D	0.06
E	0.79
79	0.241
80	0.207

[1399] 表5:化合物对不同的肿瘤细胞系的细胞毒性 (EC<sub>50</sub>) (nM)

[1400]

化合物	NCI-N87	AsPC-1	BxPC-3	HPAF-II	MiaPaCa2	PANC-1	Capan-1	Capan-2
D	0.272	0.1704	0.06635	0.177	0.136	0.806	-	-
14	0.175	0.206	0.0458	0.172	0.204	1.356	2.081	1.103
24	-	0.5857	0.2704	0.396	0.566	2.181	-	-
23	0.402	-	-	-	-	-	-	-
77	-	15.53	36.5	17.240	94.290	97.190		

63	-	0.9697	0.6973	0.826	1.018	3.997	-	-
----	---	--------	--------	-------	-------	-------	---	---

[1401] 表6: 化合物对Jurkat的细胞毒性

[1402]

化合物	EC <sub>50</sub> (nM)
108	0.017
110	0.031
107	0.043
114	0.056
112	0.064
98	0.077
109	0.087
91	0.109
64	0.138
66	0.145
93	0.196
103	0.209
104	0.272
95	0.288
102	0.289
97	0.307
68	0.337
45	0.373
92	0.485
72	0.531
67	0.562
33	0.636
88	0.641
105	0.731
105	0.753
35	0.832

## [1403]

70	0.856
71	1.021
62	1.195
44	1.479
13	1.515
69	1.564
94	1.673
73	2.684
96	10.260
111	~0.1178
91	0.109
93	0.196
95	0.288
97	0.307
92	0.485
88	0.641
62	1.195
94	1.673
96	10.260
64	0.138
66	0.145
103	0.209
104	0.272
102	0.289
68	0.337
72	0.531
105	0.731
105	0.753
70	0.856
71	1.021
69	1.564

## [1404]

46	—
108	0.017
110	0.031
107	0.043
114	0.056
112	0.064



98	0.077
109	0.087
111	0.12
97	0.307
45	0.373
44	1.479
67	0.562
33	0.636
35	0.832
72	2.684

[1405] 表7:对Jurkat的细胞毒性

[1406]

化合物	EC <sub>50</sub> (nM)
107	0.043
108	0.017
109	0.087
110	0.031
111	0.12
112	0.064
114	0.056

[1407] 表8:对不同的细胞系的细胞毒性

肿瘤细胞系	化合物-14 (EC <sub>50</sub> ) (nM)
AML-193	0.191

[1408]

CCRF-CEM	0.130
DUI45	0.649
PC-3	0.455
A-431	0.191
HT-29	0.167
HCC-1954	0.131
A-172	0.598
NCI-N87	0.325
Jurkat	0.068
BxPC-3	0.196
NCI-H358	0.311
Mia PaCa-2	0.332
A549	0.860
Colo-205	~ 0.3168
PANC-1	0.759
MDA-MB-231	1.242
AsPC-1	0.334
HPAF-II	~ 0.3850
OVCAR-3	0.090
OV-90	0.515
OE19	0.210
RT112/84	0.178

[1409] 实施例2: 示例性抗体-药物缀合物

[1410] 抗体-药物缀合物-示例性连接基

[1411] 如本领域技术人员应认可, 用于缀合物形成的特定连接基将取决于反应物化合物

中用于键形成的反应基团。作为一个实例,且在本发明的范围内,可以使用具有硫醇部分的化合物进行缀合物形成。在一些本发明实施例中,可以将市售可裂解连接基6-[3'-(2-吡啶基二硫)-丙酰胺基]己酸磺酸基琥珀酰亚胺酯(磺酸基-LC-SPDP;Thermo Pierce目录号21650)和非可裂解连接基4-[N-马来酰亚胺基甲基]环己烷-1-甲酸琥珀酰亚胺酯(SMCC;Thermo Pierce目录号22360)用于抗体-药物缀合反应。偶合程序是以两个主要步骤进行:1)经由与抗体伯胺基团(赖氨酸残基)和连接基的N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)酯部分反应将连接基并入抗体上,和2)使所并入的马来酰亚胺基(SMCC)或2-吡啶基二硫基(LC-SPDP)与含硫醇的化合物反应。

[1412] 用可裂解连接基(LC-SPDP)或非可裂解连接基(SMCC)活化抗体

[1413] 将抗体(赫赛汀)稀释于磷酸钾pH 8(磺酸基-LC-SPDP)或D-PBS(Invitrogen) pH 7.4(SMCC)中达5mg/mL。向经过稀释的抗体中加入新溶解的连接基,超纯水用于磺酸基-LC-SPDP或无水N,N-二甲基乙酰胺(DMA)用于SMCC。10至14倍摩尔过量的SMCC:抗体或磺酸基-LC-SPDP:抗体引起并入5至7个连接基/抗体。在28℃下将连接基-抗体“活化”反应物孵育2小时。孵育之后,使用40kda Zeba尺寸排阻色谱法/脱盐柱(Thermo Pierce,目录号87771或87772,视规模而定)从各抗体样品中去除未反应的连接基。在相同的色谱步骤期间,在制备时交换缓冲液以用于下一反应;磷酸盐缓冲液/EDTA pH 6.5(LC-SPDP),或柠檬酸盐缓冲液/EDTA pH 5(SMCC)。随后使用微板改适BCA测定法(Thermo Pierce,目录号23225)测定经过纯化的制剂的总蛋白含量对比抗体标准曲线。为了估计连接基并入程度,用过量(与蛋白质浓度相比~10倍)半胱氨酸进行小规模反应。10分钟孵育之后,使用5,5-二硫-双(2-硝基苯甲酸)(埃尔曼试剂,Thermo Pierce,目录号22582)检测未反应的半胱氨酸。通过从半胱氨酸标准曲线内插所述浓度,通过从所使用的半胱氨酸的已知浓度减去测定值来确定连接基浓度。

[1414] 含硫醇的化合物与连接基活化抗体的反应

[1415] 在偶合反应的第二步中,通过首先使用磷酸盐缓冲液/EDTA pH 6.5(LC-SPDP)或柠檬酸盐缓冲液/EDTA pH 5(SMCC)将制剂稀释至2mg/mL来利用活化抗体。使用前,使用TCEP-琼脂糖珠粒还原含硫醇的n-酰基磺酰胺化合物或类美登素DM1,以确保硫醇基可用于与所并入的连接基反应。简而言之,使用磷酸盐缓冲液/EDTA pH 6.5将化合物稀释至5mM。在水溶解度有问题的情况下,加入小体积的37%HC1(1:300)且这足以得到5mM化合物溶液。使用前用磷酸盐缓冲液/EDTA/10%DMA平衡TCEP-琼脂糖珠粒(Thermo Pierce,目录号77712)。将化合物稀释液与TCEP-琼脂糖珠粒一起旋转至少0.5小时或至多3小时。通过在不包括TCEP-琼脂糖的过滤器上离心来收集经还原的化合物。使用埃尔曼试剂测量还原程度和硫醇浓度(与半胱氨酸标准曲线相比较)。随后,与先前测定的连接基浓度相比,以约2倍的摩尔过量将经过还原的含硫醇的化合物加入到活化的抗体样品中。为了监测偶合反应有效性,通过将各化合物以与缀合反应中所使用的稀释因子相同的稀释因子稀释于磷酸盐缓冲液/EDTA pH 6.5或柠檬酸盐缓冲液/EDTA pH 5中来制备“过夜”缀合对照。其余化合物储备液冷冻在-80℃下。在环境温度下将反应物和过夜对照孵育过夜。次日早晨,将冷冻的化合物储备液解冻且完全像“过夜”对照那样制备各化合物的另一份对照,这是“新鲜”对照。将小体积的各缀合反应与使用埃尔曼试剂的过夜化合物对照和新鲜化合物对照相比较。使用40kda Zeba尺寸排阻/脱盐柱从ADC中纯化除去未反应的化合物;在同一步骤期间将缓冲

液交换成D-PBS pH 7.4 (Invitrogen)。

[1416] 随后分析经过纯化的ADC:总蛋白质含量(BCA测定,Pierce microBCA方案)、对抗原结合的相对亲和力(平衡天然结合)和HER2阳性细胞(HCC1954)对比HER2阴性细胞(Jurkat)的选择性细胞毒性杀死。

[1417] 细胞毒性测定

[1418] 表9和10汇总了当使用人乳腺癌细胞系HCC1954或人T细胞白血病细胞系Jurkat测试时包含化合物A、B或C的ADC的细胞毒性活性。图7至9示出了如所指示的个别组合物的细胞毒性数据曲线。

[1419] 在加入测试制品前一天,使用完全生长培养基以2500个细胞/100微升( $\mu\text{L}$ )培养基的密度将HCC1954细胞加入经过组织培养物处理的不透明壁96孔微量滴定板。在 $37^{\circ}\text{C}/5\% \text{CO}_2$ 下将HCC1954细胞孵育一夜,以允许所述细胞附着于微量滴定板表面。在加入测试制品当天,使用与HCC1954相同的生长培养基,以2500个细胞/100 $\mu\text{L}$ 向单独的96孔微量滴定板中加入Jurkat细胞。为了比较ADC杀死与获自游离化合物的ADC杀死,首先使用二甲亚砜或DMA连续稀释n-酰基磺酰胺化合物,且随后将所制备的稀释液以五倍最终浓度加入完全生长培养基,随后1:3滴定化合物,八个步骤。为了测试ADC,以五倍最终浓度将其直接稀释于生长培养基中,随后1:3滴定ADC,八个步骤。各微量滴定板以一式六份包括不存在测试制品的对照(仅生长培养基)。将所制备的化合物/ADC被滴定液一式三份加入(25 $\mu\text{L}$ /孔)HCC1954细胞和Jurkat细胞。在 $37^{\circ}\text{C}/5\% \text{CO}_2$ 下将细胞和被滴定液孵育三夜。培育之后,使用CellTiter-Glo<sup>®</sup>试剂,通过向各测定孔中加入30 $\mu\text{L}$ 所制备的CellTiter-Glo<sup>®</sup>来测量细胞活力。将测定物在暗处孵育至少二十分钟,随后使用微板光度计(500ms积分时间)测量发光。使用上文所提到的仅有生长培养基的对照将所收集的相对发光单位(RLU)转化成细胞毒性%(细胞毒性% =  $1 - [\text{孔RLU} / \text{仅培养基对照平均RLU}]$ )。

[1420] 数据指出标的化合物对所使用的两种细胞系都是活性细胞毒素。LC-SPDP连接的化合物缀合物显示了有效的HER2阳性HCC1954细胞杀死。在高剂量ADC下观察到Jurkat细胞杀死,这是由于细胞培养基中存在 $\beta$ -巯基乙醇,其引起游离化合物的释放(数据未示出)。

[1421]

表9：细胞毒性-1号偶合

		HCC1954		Jurkat	
		最佳拟合	范围	最佳拟合	范围
		EC <sub>50</sub> (nM)	EC <sub>50</sub> (nM)	EC <sub>50</sub> (nM)	EC <sub>50</sub> (nM)
SMCC连接的	赫赛汀-SMCC-化合物A	6.5	2.740至15.22	332	134.6至819.0
	赫赛汀-SMCC-化合物B	66	26.48至165.1	83	48.29至144.0
	赫赛汀-SMCC-化合物C	6	2.966至12.79	12	6.594至20.26
LC-SPDP连接的	赫赛汀-LC-SPDP-化合物A	0.86	0.6660至1.121	21	13.74至32.68
	赫赛汀-LC-SPDP-化合物B	0.068	0.02234至0.2093	11	7.028至15.91
	赫赛汀-LC-SPDP-化合物C	0.070	0.02590至0.1914	2	1.521至3.613
游离化合物	化合物A	2.1	1.352至3.280	1.1	0.7580至1.473
	化合物B	8.1	4.778至13.56	10	6.221至17.70
	化合物C	-	-	-	-

[1422]

表10: 细胞毒性 - 2 号偶合

		HCC1954			Jurkat	
		最佳拟合	范围	最佳拟合	范围	
		EC <sub>50</sub> (nM)	EC <sub>50</sub> (nM)	EC <sub>50</sub> (nM)	EC <sub>50</sub> (nM)	
SMCC 连接的	赫赛汀-SMCC- 化合物 A	15	8.266 至 27.50	50	28.62 至 87.34	
	赫赛汀-SMCC- 化合物 B	未进行				
	赫赛汀-SMCC- 化合物 C					
LC-SPDP 连接的	赫赛汀-LC-SPDP- 化合物 A	0.061	0.01410 至 0.2672	8.7	5.852 至 12.96	
	赫赛汀-LC-SPDP- 化合物 B	0.22	0.1381 至 0.3441	14	9.469 至 21.41	
	赫赛汀-LC-SPDP- 化合物 C	0.042	0.01371 至 0.1275	1.6	1.160 至 2.110	
游离化合物	化合物 A	0.86	0.3765 至 1.966	0.78	0.5970 至 1.013	
	化合物 B	9.2	5.300 至 15.98	36	20.52 至 64.36	
	化合物 C	0.67	0.3738 至 1.186	0.57	0.4088 至 0.8085	

[1423] 通过EsiToF质谱分析抗体-药物缀合物 (ADC)

[1424] 使用电喷雾电离飞行时间 (EsiToF) 质谱仪-QStar XL杂合四极-TOF LC/MSMS- (AB Sciex) 来测定ADC的分子量和评估药物对抗体比 (DAR)。EsiToF MS仪器配备有电喷雾电离涡轮喷雾源。以阳离子模式进行数据获取,且使用Analyst QS 1.1软件在质量范围2000m/z



至4000m/z内获取样品的总离子流。离子源是在5.2KV离子喷雾针电压和25(任意单位)雾化(气体1)、30(任意单位)气幕、150V去簇电压和150℃温度下操作。通过在注射器和注射泵帮助下经由熔融硅石毛细管直接输注将ADC测试样品溶液以5μL/min引入离子源。

[1425] 制备ADC样品用于ESI-ToFMS分析

[1426] 使用EndoS (IgGZERO)<sup>TM</sup>内切糖苷酶对所有ADC样品进行去糖基化且在EsiToF-MS分析前用水交换缓冲液。简而言之,使原始ADC样品跑过100K MWC0 Amicon浓缩器以便在磷酸钠缓冲液中进行缓冲液交换。随后用处于含150mM NaCl的磷酸钠裂解缓冲液中的IgGZERO (1单位/1μg抗体)处理经过缓冲液交换的样品,且在37℃下孵育30分钟。使用100K MWC0 Amicon浓缩器再次用水对所得去糖基化ADC进行缓冲液交换,且在分析前用含0.1%甲酸的乙腈/水(50/50v/v%)稀释至3.0μg/μL的浓度。

[1427] 分析指出抗体负载的DAR范围在4至7之间(数据未示出)。

[1428] 实施例3:示例性抗体-药物缀合物

[1429] 由MCvcPABC-毒素制备抗体-药物缀合物,一般方法:

[1430] 向抗体(1至10mg/mL)于25mM硼酸钠、25mM氯化钠、1mM DTPA (pH 8.0)中的溶液中加入来自于处于同一缓冲液中的新制备储备液(1至10mM)的TCEP(2.0至3.0摩尔当量)。将溶液彻底混合且在37℃下孵育两个小时,随后在冰上冷却。在一些情况下,用含有1mM DTPA的冰冷磷酸盐缓冲盐水(最终蛋白质浓度2.0mg/mL)或冰冷25mM硼酸钠、25mM氯化钠、1mM DTPA (pH 8.0)进一步稀释经过还原的抗体溶液,获得最终蛋白质浓度在1与4mg/mL之间的溶液。向存储在冰上的经过还原的蛋白质溶液中加入得自于10mM DMSO储备溶液的马来酰亚胺官能化毒素(10至12摩尔当量)。立即通过倒置彻底混合缀合反应物,且在冰上允许缀合继续进行大约1小时的时间段,随后通过经磷酸盐缓冲盐水或10mM柠檬酸钠、150mM氯化钠pH 5.5预平衡过的Zeba自旋脱盐柱(40KDa MWC0;Peirce)进行纯化。汇集洗脱液,灭菌过滤(Steriflip, Millipore)且存储在4℃下。

[1431] 分析经过纯化的ADC的总蛋白质含量(二喹啉甲酸测定, Pierce microBCA方案, 目录号23225)。通过还原PAGE和非还原PAGE、HPLC-HIC、SEC和RP-UPLC-MS来表征ADC产物。参考非还原PAGE,由HIC和LC-MS数据的整理分析获得平均DAR和药物分布。平均DAR估计值正常在3.5至4.5范围内。如(上文/下文)所描述进行ADC对抗原结合(平衡天然结合)的相对亲和力和力。通过测试抗原阳性和抗原阴性细胞系的杀死来评估抗体药物缀合物的选择性细胞毒性。

[1432] 利用抗体药物缀合物对抗原阳性细胞的选择性体外细胞毒性进行测定:

[1433] 针对所制备的各缀合物显示了抗原阳性细胞系(包括HCC1954、NCI-N87、HPAF-II和BxPC-3细胞系)相对于抗原阴性Jurkat细胞的选择性杀死。示例性ADC对若干个抗原阳性细胞系的细胞毒性汇总于所指示的图和表9至13中。另外,测试了表11中以(\*)指出的缀合物且显示了对人乳腺癌细胞系的有效细胞杀死活性(数据未示出了)。简而言之,细胞是获自ATCC且如所提供的产品单中所描述进行培养。将细胞以25000个细胞/mL(2500个细胞/孔)种在Costar 3904黑壁平底96孔板中。将粘附细胞系细胞在37℃下在5%CO<sub>2</sub>气氛中孵育一夜,以允许所述细胞附着于微量滴定板表面,而悬浮(Jurkat)细胞紧邻使用前接种。将ADC以五倍所需最终浓度直接稀释于适当的细胞生长培养基中。随后滴定这些ADC,正常情况下1:3,经八个步骤。各微量滴定板以一式六份包括不存在测试制品的对照(仅生长培养

基)。以一式三份向所测定的各细胞系中加入所制备的ADC被滴定液(25 $\mu$ L/孔)。将细胞和被滴定液在37 $^{\circ}$ C/5%CO<sub>2</sub>下孵育三夜(Jurkat)和五夜(所有其它细胞系)。培育之后,使用CellTiter-Glo<sup>®</sup>试剂,通过向各测定孔中加入30 $\mu$ L所制备的CellTiter-Glo<sup>®</sup>来测量细胞活力。将所述混合物在暗处孵育至少二十分钟,随后使用微板光度计(500ms积分时间)测量所发射的光。使用上文所提到的仅有生长培养基的对照将所收集的相对发光单位(RLU)转化成细胞毒性%(细胞毒性%=1-[孔RLU/仅培养基对照平均RLU])。对数据(细胞毒性%对比ADC浓度(log<sub>10</sub>(nM)))进行绘图且使用GraphPad Prism软件5.02版通过非线性回归法加以分析,以获得EC<sub>50</sub>估计值。

[1434] 药物对抗体比(DAR)的估算:

[1435] 通过疏水性相互作用色谱法和高效液相色谱-质谱法评估毒素-连接基与抗体的平均缀合度。这些技术描述于以下文献中:Antibody Drug Conjugates, Methods in Molecular Biology第1045卷,2013.第275-284页.L.Ducry编;和Asish B.Chakraborty, Scott J.Berger和John C.Gebler, Characterization of an IgG1 Monoclonal Antibody and related Sub-structures by LC/ESI-TOF/MS: Application note, Waters Corporation.2007年3月.720002107EN。

[1436] 方法1.疏水性相互作用色谱法

[1437] 在与Agilent 1100系列HPLC连接的TSKgel Butyl-NPR柱(Tosoh Bioscience; 4.6mm $\times$ 35mm内径;2.5 $\mu$ m粒度)上对抗体药物缀合物进行疏水性相互作用色谱(HIC)。以4mg/mL以上注入样品(5 $\mu$ L)。必要时,对ADC进行浓缩,随后使用PALL Nanosep Omega离心浓缩装置(部件号OD010C34)注入。采用线性梯度洗提,起始于95%流动相A/5%流动相B,在12分钟的时间段内过渡到5%流动相A/95%流动相B(流动相A:1.5M硫酸铵+25mM磷酸钠,pH 6.95和流动相B:25%异丙醇、75%25mM磷酸钠,pH 6.95)。注入未经修饰的抗体提供了鉴别DAR=0的峰的手段。基于280nm下的吸光率检测抗体。

[1438] 方法2.用于DAR估算的超高效液相色谱-质谱

[1439] 使用逆相超高效液相色谱串联ESI-QToF-质谱(UPLC-ESI-QToF-MS)来表征抗体药物缀合物在用二硫苏糖醇还原之后的药物缀合程度。所述表征是使用与具有电喷雾离子源的Quatro-Premier QToF质谱仪耦合的Acquity-UPLC(H类)Bio(WATERS Corporation)进行。对经还原的ADC样品的UPLC分析是在70 $^{\circ}$ C下,利用PolymerX 5u PR-1100A 50 $\times$ 2.0mm柱(Phenomenex, Inc.)和利用由溶剂A:乙腈/水/三氟乙酸/甲酸(10/90/0.1/0.1, v/v%)和溶剂B:乙腈/甲酸(100/0.1, v/v%)组成的流动相来进行。用起始于溶剂A/溶剂B(80/20v/v)和流速0.3ml/min经25min达到溶剂A/溶剂B(40/60, v/v%),经2分钟达到溶剂A/溶剂B(10/90, v/v%),随后平衡回到初始条件的线性梯度来洗提经过还原的ADC样品的组分。总运行时间是30分钟。在500-4500m/z范围上使用MassLynx数据获取软件(Waters Corporation)获取ESI-ToF MS总离子流(TIC)数据。以阳离子V模式获取样品组分质量数据,且ESI源在以下条件下操作:源温度:150 $^{\circ}$ C,退溶温度:350 $^{\circ}$ C,退溶气体:800L/h,样品锥电压:60V,毛细管电压:3.0kV,退溶气体:氮气,和碰撞气体:氩气。通过MaxEnt1算法对各峰的加和TIC质谱进行解卷积,以产生峰组分的中性粒子质量数据。

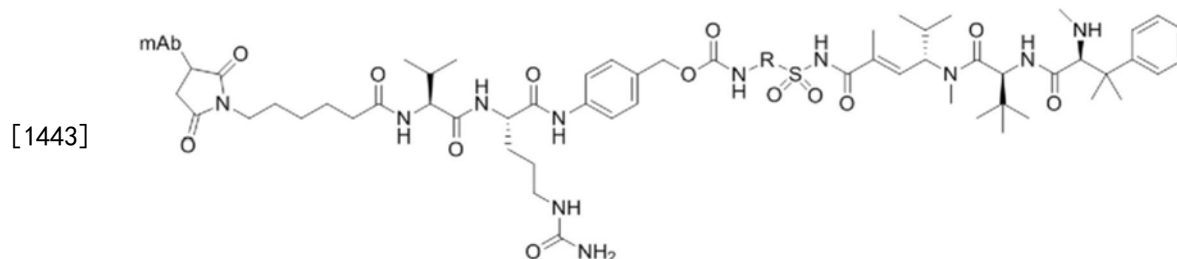
[1440] 制备经过还原的ADC样品用于UPLC/ESI-ToF MS分析

[1441] 还原ADC( $\sim$ 1 $\mu$ g/ $\mu$ L溶液)的抗体中的二硫键以产生轻链和重链是在60 $^{\circ}$ C下使用



20mM DTT进行20分钟。对于UPLC/ESI-ToF-MS分析,采用5至10 $\mu$ L经过还原的ADC样品的注入体积。

[1442] 用于说明目的示例性ADC (PABC) :



[1444] 注:T=曲妥珠单抗,其在本文中与“赫赛汀”可互换使用;VC=缬氨酸-瓜氨酸;C=西妥昔单抗(爱必妥(Erbix))

[1445] 表11:ADC细胞毒性 (EC<sub>50</sub>,nM)

[1446]

ADC	JIMT-1	NCI-N87	HCC1954
*T-VC-PABC-85	-	-	0.021
*T-VC-PABC-77	0.046	0.002	0.069
*T-VC-PABC-77	-	-	0.023
C-VC-PABC - 77	-	-	-
*T-VC-PABC-80	-	-	0.018
*T-VC-PABC-58	-	-	0.030
*T-VC-PABC-63	-	-	-

[1447] 表12:ADC细胞毒性 (EC<sub>50</sub>,nM)

[1448]

ADC	AsPC- 1	BxPC- 3	HPAF II	PANC- 1	OE19	A549
T-VC- PABC-77					0.01047	
西妥昔 单抗- VC-PABC -77	0.00401	0.03673	0.02657	0.1441		0.09405

[1449] 表13:ADC细胞毒性 (EC<sub>50</sub>,nM)

[1450]

ADC	CAPAN-1	CAPAN-2
T-VC-PABC-77	2.035	-
C-VC-PABC-77	-	0.115

[1451] 实施例4:毒素在携带PC-3肿瘤的小鼠中的效力研究

[1452] 测试制品是经静脉内施用。剂量如图14中所指示,各剂量接近于最大耐受剂量。每七天递送一次测试制品注射,持续四个重复/注射剂(化合物D),或每七天注射一次持续三个重复/注射剂(化合物23)。媒剂:6.3%海藻糖、0.05%Tween20、20mM柠檬酸盐缓冲液,pH 5.0,4℃。

[1453] 程序概述

[1454] 在实验第0天,将三十六(66)只购自Harlan Laboratories的7至8周龄雌性无胸腺裸鼠在背部经皮下接种 $5 \times 10^6$ 个PC-3肿瘤细胞。每周一、周三和周五测量肿瘤。在肿瘤尺寸达到150至200mm<sup>3</sup>后(实验第27至34天),通过使各组间的平均肿瘤尺寸平衡将动物分配至4个处理组之一。用如所指示的相应化合物处理动物,且继续每周一、周三和周五测量肿瘤。数据示出了到实验第54天或直到肿瘤尺寸达到800mm<sup>3</sup>的动物结果。

[1455] PC-3细胞

[1456] 细胞制备-组织培养:

[1457] PC-3人前列腺腺癌细胞系是在2002年获自ATCC(目录号CRL-1435)。

[1458] 细胞来源于冷冻管形瓶中的实验室储备液,其是由ATCC原始管形瓶冷冻,经测试呈支原体阴性且保持在实验室液氮罐中。收集具有第3号至第10号继代和80%至90%汇合的细胞培养物以用于体内研究。使细胞在37℃下在5%CO<sub>2</sub>环境中在补充有2mM L-谷氨酰胺和10%FBS的汉姆氏F12培养基中生长。每周一次以分流比1:3至1:6对细胞进行继代培养并且扩展。培养基每周更新一次。

[1459] 细胞制备-收集用于植入

[1460] 用2mL新鲜胰蛋白酶/EDTA溶液(0.25%胰蛋白酶与EDTA 4Na)将细胞简单冲洗一次,随后吸出额外的胰蛋白酶/EDTA。随后加入1.5mL胰蛋白酶/EDTA,将烧瓶水平放置以确保细胞被胰蛋白酶/EDTA覆盖。随后在37℃下将细胞孵育几分钟。在倒置显微镜下观察细胞,以确保细胞层分散,随后加入新鲜培养基,且取出50μL细胞悬浮液样品并且与锥虫蓝混合(1:1),且使用Cellometer Auto T4进行细胞计数和细胞活力评估。以1,000rpm将细胞离心7min且吸出上清液。随后使细胞再悬浮细胞于生长培养基中达到适当的浓度以便接种。注射体积是每只动物100μL。

[1461] 肿瘤细胞植入-SC背部

[1462] 第0天,在异氟烷麻醉下使用27/28号针以100μL体积将 $5.0 \times 10^6$ 个肿瘤细胞经皮下植入小鼠背部。

[1463] 动物圈养

[1464] 将动物圈养在通风笼中,每笼2至5只动物,12小时光/暗循环动物随意接受无菌食物和水,且动物的圈养和使用是根据加拿大动物保护协会的指导方针进行。对动物进行无菌处理,且每10至14天换笼一次。

[1465] 数据收集(肿瘤尺寸)

[1466] 每周一、周三和周五监测小鼠的肿瘤发展。用测径规测量已确立的肿瘤的尺寸。根据等式 $L \times W^2/2$ 计算肿瘤体积,其中长度(mm)是肿瘤的较长轴。在肿瘤测量时还将动物称重。允许肿瘤生长至最大800mm<sup>3</sup>。

[1467] 机构动物保护委员会

[1468] 英属哥伦比亚大学动物保护委员会(ACC)在进行研究前回顾和批准了所使用的方

法以确保研究计划是根据加拿大动物保护协会的指导方针。在研究期间,动物的保护、圈养和使用是根据加拿大动物保护协会的指导方针进行。

[1469] 分析方法

[1470] 肿瘤体积×实验天数生长曲线

[1471] 对各组在各治疗日的肿瘤体积进行绘图。各组的生长曲线在第一只动物达到肿瘤尺寸实验终点(800mm<sup>3</sup>)的时间点或研究的最后一天截止。将组生长曲线截止值之前退出研究的任何动物完全从研究中去除。

[1472] 动物排除

[1473] 从研究中去除具有溃疡性肿瘤、被迫使动物安乐死、具有700mm<sup>3</sup>或较小肿瘤体积的任何动物,且不参与数据分析(除了最终肿瘤体积比治疗当天高出>2.0倍的复发日)。

[1474] 实施例5:在使用NOD SCID  $\gamma$  小鼠的NCI-N87肿瘤模型中探寻抗体药物缀合物的效力剂量范围

[1475] 测试制品是经静脉内施用,仅进行一次治疗。“T”是指曲妥珠单抗。剂量如图15中所指示。媒剂:20mM柠檬酸钠、6.3%海藻糖、0.02%Tween-20, pH 5, 4℃。

[1476] 程序概述

[1477] 在实验第0天,将购自The Jackson Laboratory的七十六(76)只7至8周龄雌性NOD/SCID  $\gamma$  小鼠(NSG) (JAX® Mice)在下背部经皮下接种含 $5 \times 10^6$ 个NCI-N87肿瘤细胞的基质胶。每周一、周三和周五测量肿瘤。在肿瘤尺寸达到150至200mm<sup>3</sup>后(实验第27天),通过使各组间的平均肿瘤尺寸平衡将动物分配至10个处理组之一。用如所指示的相应化合物处理动物,且继续每周一、周三和周五测量肿瘤。数据示出了到实验第50天或直到肿瘤尺寸达到800mm<sup>3</sup>的动物结果。

[1478] 细胞制备-组织培养

[1479] NCI-N87细胞

[1480] NCI-N87人胃癌细胞来源于细胞毒性疗法前获取的高分化胃癌肝转移。使该肿瘤作为异种移植物在无胸腺裸鼠中继代三代,随后确立细胞系。NCI-N87细胞是在2013年根据MTA获自ATCC(目录号CRL-5822)且在RADIL经测试对支原体和小鼠病原体呈阴性(RADIL证书号:10556-2013)。

[1481] 细胞来源于冷冻管形瓶中的实验室储备液,其是由ATCC原始管形瓶冷冻且保持在实验室液氮罐中。收集具有第3号至第10号继代和80%至90%汇合的细胞培养物以用于体内研究。使NCI-N87细胞在37℃下在5%CO<sub>2</sub>环境中在含1.0mM L-谷氨酰胺和10%FBS的RPMI 1640培养基中生长。每周一次或两次以分流比1:3或1:4对细胞进行继代培养并且扩展。培养基每周更新一次。将细胞与5%DMSO一起冷冻。

[1482] 细胞制备-收集用于植入

[1483] 用无Ca、Mg的汉克斯平衡盐溶液将细胞简单冲洗一次。加入新鲜胰蛋白酶/EDTA溶液(0.25%胰蛋白酶与EDTA 4Na),且将烧瓶水平放置以确保细胞被胰蛋白酶/EDTA覆盖,且随后吸出额外的胰蛋白酶/EDTA。在37℃下将细胞孵育几分钟。在倒置显微镜下观察细胞,以确保细胞层分散,随后加入新鲜培养基。随后收集50 $\mu$ L细胞悬浮液且与锥虫蓝混合(1:1),且在血细胞计数器上进行细胞计数和活力评估。活力应 $\geq 90\%$ 。在125RCF(1000rpm)下将细胞离心7min且吸出上清液。使细胞再悬浮于冷生长培养基中达到2倍所需最终浓度

( $100 \times 10^6/\text{mL}$ )。将悬浮液与基质胶混合(在冰上)(1:1)。使用所得细胞悬浮液( $50 \times 10^6$ 个细胞/ $\text{mL}$ )以注射体积 $100\mu\text{L}$ 对每只动物递送 $5 \times 10^6$ 个细胞。与基质胶接触的所有设备(针、注射器、移液管尖端)在注射前都经过冷冻。

[1484] 肿瘤细胞植入-皮下(NCI-N87)

[1485] 接种前,在各小鼠的下背部剃出大约 $2 \times 2\text{cm}$ 区域且用酒精清洁。第0天,在异氟烷麻醉下使用27/28号针以 $100\mu\text{L}$ 体积将 $5.0 \times 10^6$ 个肿瘤细胞经皮下植入小鼠背部。

[1486] 动物圈养

[1487] 将动物圈养在通风笼中,每笼2至5只动物,12小时光/暗循环。动物随意接受无菌食物和水,且动物的圈养和使用是根据加拿大动物保护协会的指导方针进行。对动物进行无菌处理,且每10至14天换笼一次。

[1488] 数据收集(肿瘤尺寸)

[1489] 每周一、周三和周五监测小鼠的肿瘤发展。用测径规测量已确立的肿瘤的尺寸。根据等式 $L \times W^2/2$ 计算肿瘤体积,其中长度(mm)是肿瘤的较长轴。在肿瘤测量时还将动物称重。允许肿瘤生长至最大 $800\text{mm}^3$ 。

[1490] 机构动物保护委员会

[1491] 英属哥伦比亚大学动物保护委员会(ACC)在进行研究前回顾和批准了所使用的方法以确保研究计划是根据加拿大动物保护协会的指导方针。在研究期间,动物的保护、圈养和使用是根据加拿大动物保护协会的指导方针进行。

[1492] 分析

[1493] 肿瘤体积 $\times$ 实验天数生长曲线

[1494] 对各组在各治疗日的肿瘤体积进行绘图。各组的生长曲线在第一只动物达到肿瘤尺寸实验终点( $800\text{mm}^3$ )的时间点或研究的最后一天截止。将组生长曲线截止值之前退出研究的任何动物完全从研究中去除。

[1495] 动物排除

[1496] 从研究中去除具有溃疡性肿瘤、被迫使动物安乐死、具有 $700\text{mm}^3$ 或较小肿瘤体积的任何动物,且不参与数据分析(除了最终肿瘤体积比治疗当天高出 $>2.0$ 倍的复发日)。

[1497] 实施例6:在使用NOD SCID  $\gamma$ 小鼠的NCI-N87肿瘤模型中对抗体药物缀合物的效力比较

[1498] 测试制品是经静脉内施用,施用一次。剂量如图16中所指示。“T”是指曲妥珠单抗。媒剂:20mM柠檬酸钠、6.3%海藻糖、0.02%Tween-20, pH 5,  $4^\circ\text{C}$ 。

[1499] 程序概述

[1500] 在实验第0天,将购自The Jackson Laboratory的二十四(24)只7至8周龄雌性NOD/SCID  $\gamma$ 小鼠(NSG)(JAX® Mice)在下背部经皮下接种含 $5 \times 10^6$ 个NCI-N87肿瘤细胞的基质胶。每周一、周三和周五测量肿瘤。在肿瘤尺寸达到150至 $200\text{mm}^3$ 后(实验第27天),通过使各组间的平均肿瘤尺寸平衡将动物分配至3个处理组之一。用如所陈述的相应化合物处理动物,且继续每周一、周三和周五测量肿瘤。数据显示到实验第88天或直到肿瘤尺寸达到 $800\text{mm}^3$ 的动物结果。

[1501] 细胞制备-组织培养

[1502] NCI-N87细胞

[1503] NCI-N87人胃癌细胞来源于细胞毒性疗法前获取的高分化胃癌肝转移。使该肿瘤作为异种移植物在无胸腺裸鼠中继代三代,随后确立细胞系。NCI-N87细胞是在2013年根据MTA获自ATCC(目录号CRL-5822)且在RADIL经测试对支原体和小鼠病原体呈阴性(RADIL证书号:10556-2013)。

[1504] 细胞来源于冷冻管形瓶中的实验室储备液,其是由ATCC原始管形瓶冷冻且保持在实验室液氮罐中。收集具有第3号至第10号继代和80%至90%汇合的细胞培养物以用于体内研究。使NCI-N87细胞在37℃下在5%CO<sub>2</sub>环境中在含1.0mM L-谷氨酰胺和10%FBS的RPMI 1640培养基中生长。每周一次或两次以分流比1:3或1:4对细胞进行继代培养并且扩展。培养基每周更新一次。将细胞与5%DMSO一起冷冻。

[1505] 细胞制备-收集用于植入

[1506] 用无Ca、Mg的汉克斯平衡盐溶液将细胞简单冲洗一次。加入新鲜胰蛋白酶/EDTA溶液(0.25%胰蛋白酶与EDTA 4Na),且将烧瓶水平放置以确保细胞被胰蛋白酶/EDTA覆盖,且随后吸出额外的胰蛋白酶/EDTA。在37℃下将细胞孵育几分钟。在倒置显微镜下观察细胞,以确保细胞层分散,随后加入新鲜培养基。随后收集50μL细胞悬浮液且与锥虫蓝混合(1:1),且在血细胞计数器上进行细胞计数和活力评估。活力应≥90%。在125RCF(1000rpm)下将细胞离心7min且吸出上清液。使细胞再悬浮于冷生长培养基中达到2倍所需最终浓度( $100 \times 10^6$ /mL)。将悬浮液与基质胶混合(在冰上)(1:1)。使用所得细胞悬浮液( $50 \times 10^6$ 个细胞/mL)以注射体积100μL对每只动物递送 $5 \times 10^6$ 个细胞。与基质胶接触的所有设备(针、注射器、移液管尖端)在注射前都经过冷冻。

[1507] 肿瘤细胞植入-皮下(NCI-N87)

[1508] 接种前,在各小鼠的下背部剃出大约2×2cm区域且用酒精清洁。第0天,在异氟烷麻醉下使用27/28号针以100μL体积将 $5.0 \times 10^6$ 个肿瘤细胞经皮下植入小鼠背部。

[1509] 动物圈养

[1510] 将动物圈养在通风笼中,每笼2至5只动物,12小时光/暗循环。动物随意接受无菌食物和水,且动物的圈养和使用是根据加拿大动物保护协会的指导方针进行。对动物进行无菌处理,且每10至14天换笼一次。

[1511] 数据收集(肿瘤尺寸)

[1512] 每周一、周三和周五监测小鼠的肿瘤发展。用测径规测量已确立的肿瘤的尺寸。根据等式 $L \times W^2/2$ 计算肿瘤体积,其中长度(mm)是肿瘤的较长轴。在肿瘤测量时还将动物称重。允许肿瘤生长至最大800mm<sup>3</sup>。

[1513] 机构动物保护委员会

[1514] 英属哥伦比亚大学动物保护委员会(ACC)在进行研究前回顾和批准了所使用的方法以确保研究计划是根据加拿大动物保护协会的指导方针。在研究期间,动物的保护、圈养和使用是根据加拿大动物保护协会的指导方针进行。

[1515] 分析方法

[1516] 肿瘤体积×实验天数生长曲线

[1517] 对各组在各治疗日的肿瘤体积进行绘图。各组的生长曲线在第一只动物达到肿瘤尺寸实验终点(800mm<sup>3</sup>)的时间点或研究的最后一天截止。将组生长曲线截止值之前退出研究的任何动物完全从研究中去除。

[1518] 动物排除

[1519] 从研究中去除具有溃疡性肿瘤、被迫使动物安乐死、具有 $700\text{mm}^3$ 或较小肿瘤体积的任何动物,且不参与数据分析(除了最终肿瘤体积比治疗当天高出 $>2.0$ 倍的复发日)。

[1520] 所有美国专利、美国专利申请公布、美国专利申请、外国专利、外国专利申请和本说明书中参考的非专利公开文献都以全文引用的方式并入本文中,其程度不与本发明描述相抵触。

[1521] 从上文应了解,虽然本文中出于说明的目的已经描述了本发明的具体实施方案,但可以在不脱离本发明的精神和范围的情况下进行各种修改。因此,除所附权利要求书以外,本发明不受限制。

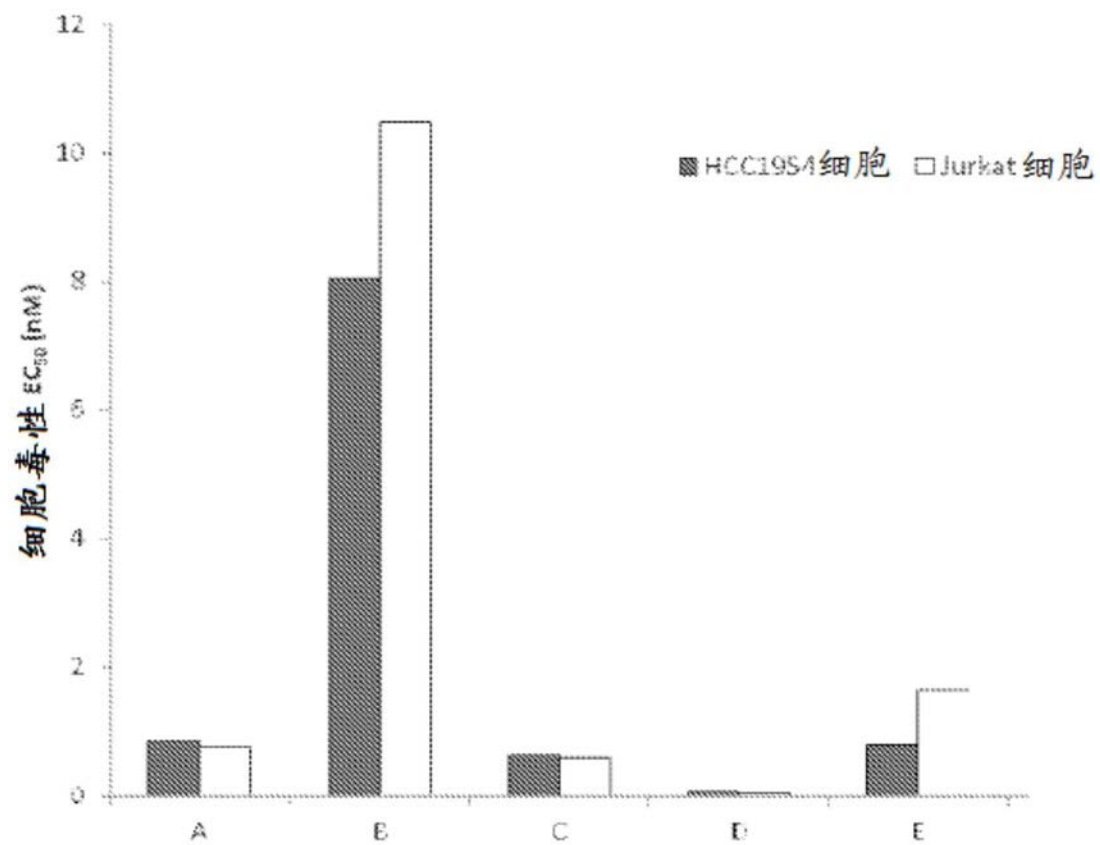


图1

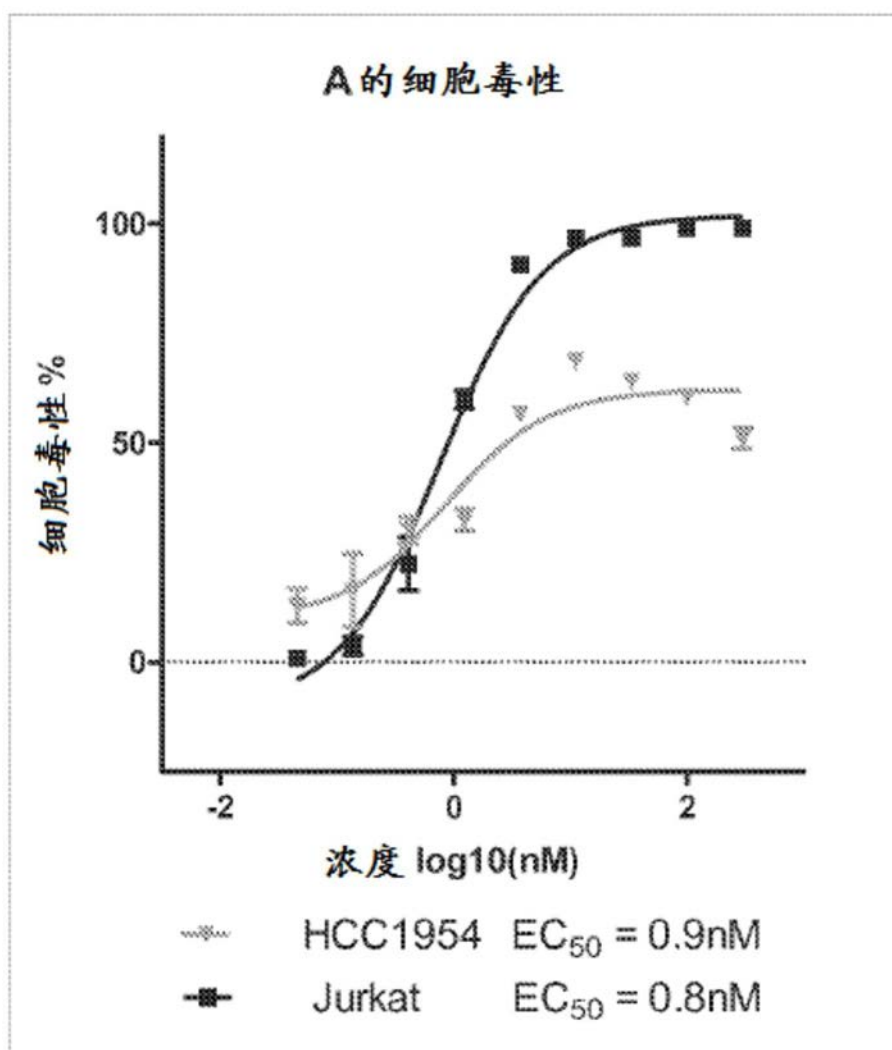


图2



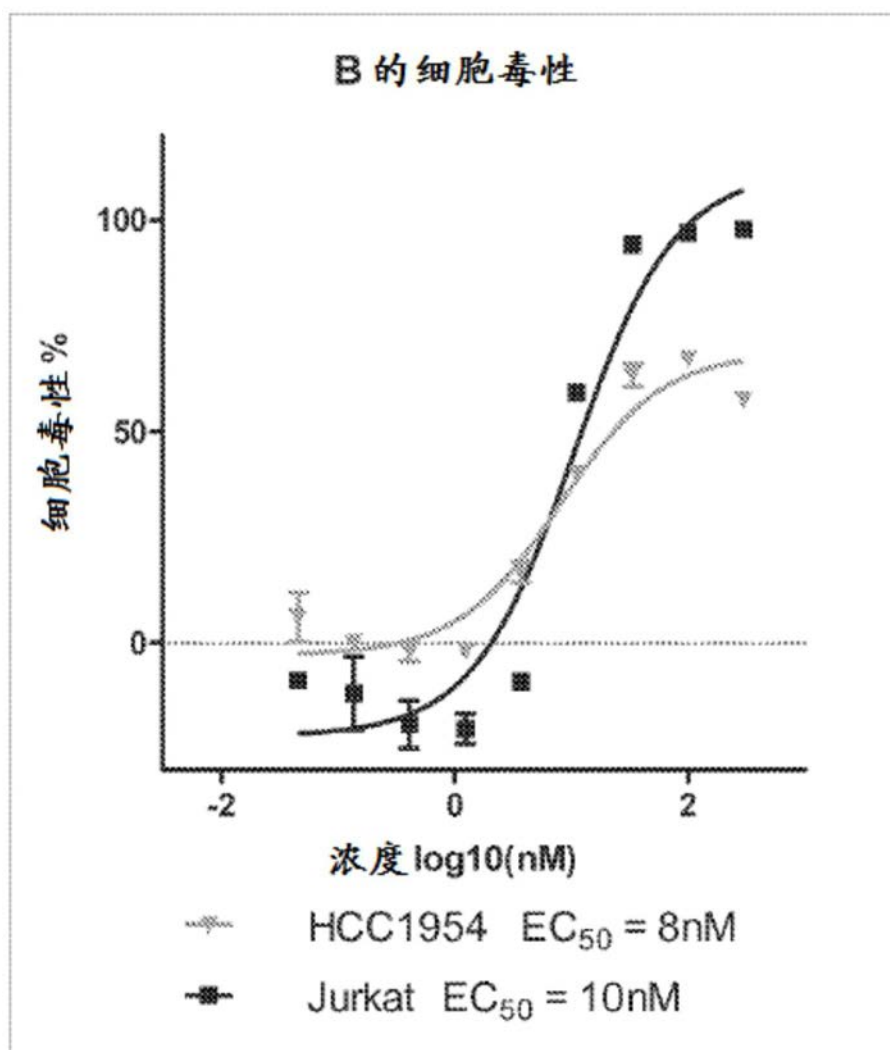


图3

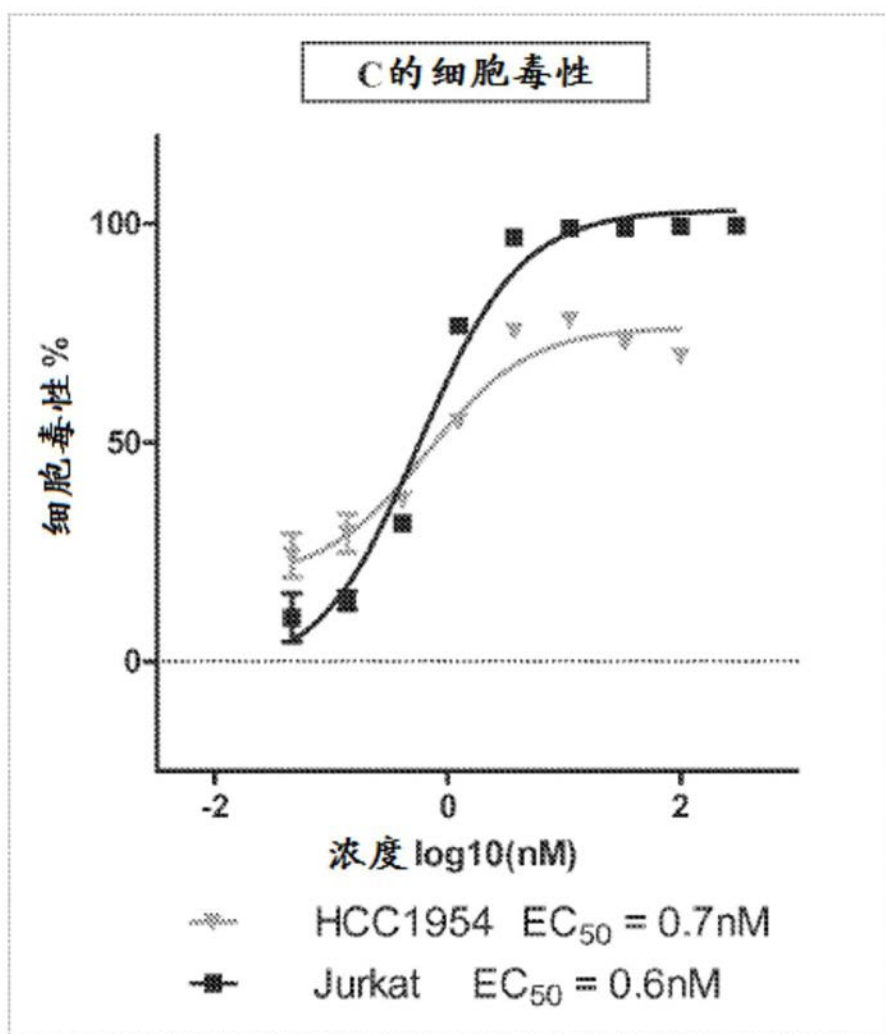


图4

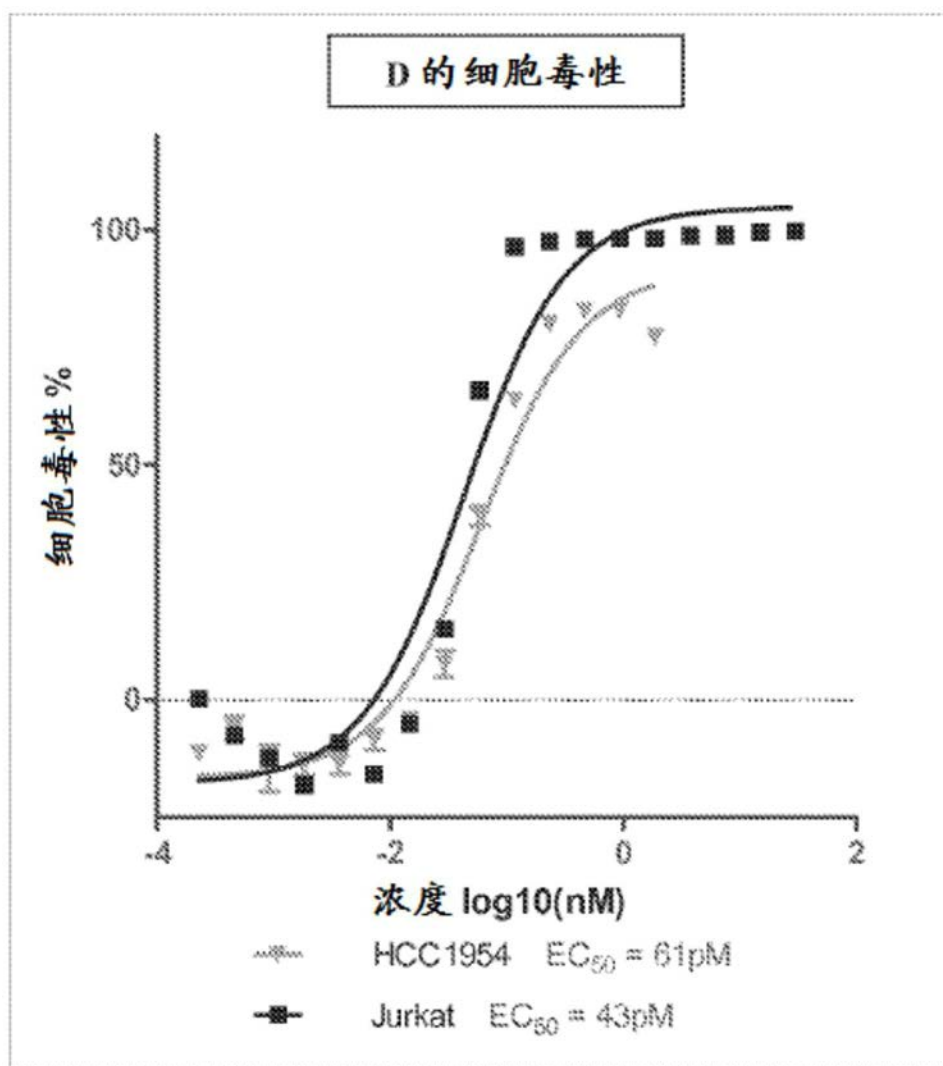


图5

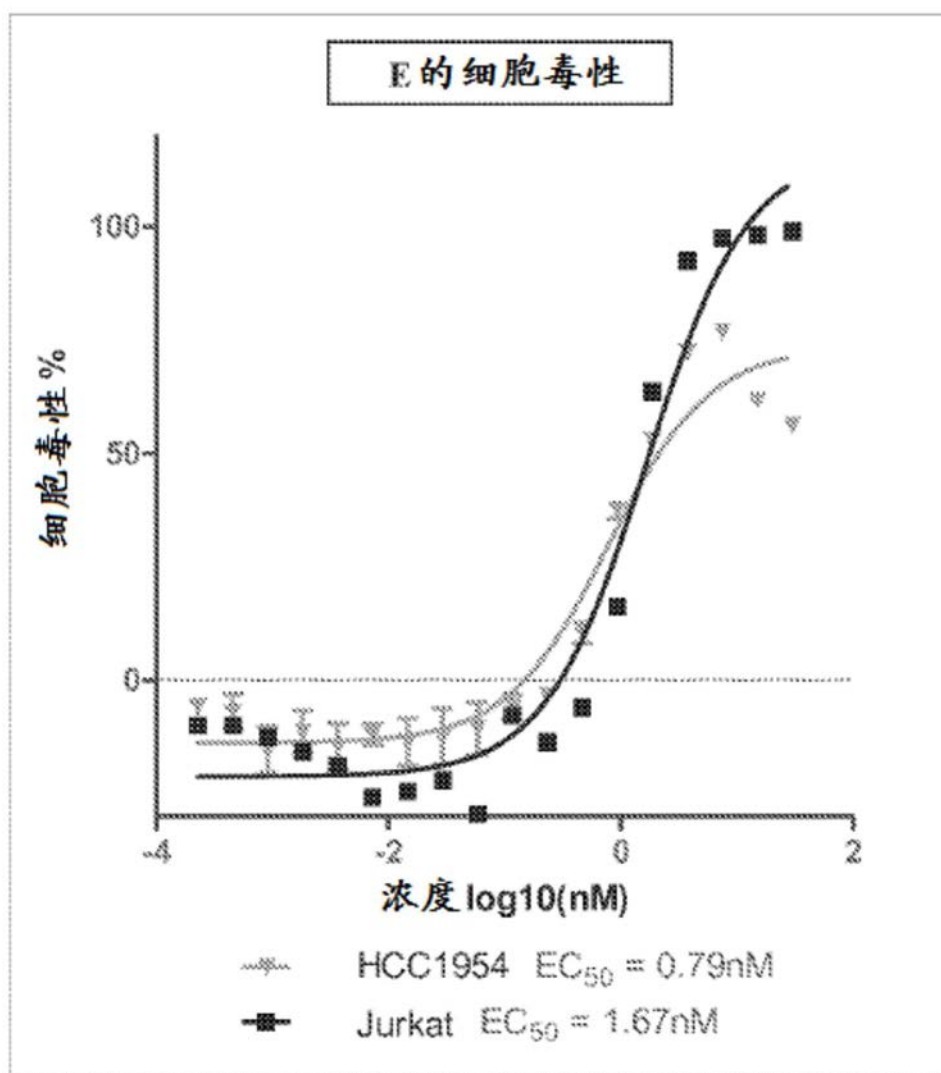


图6

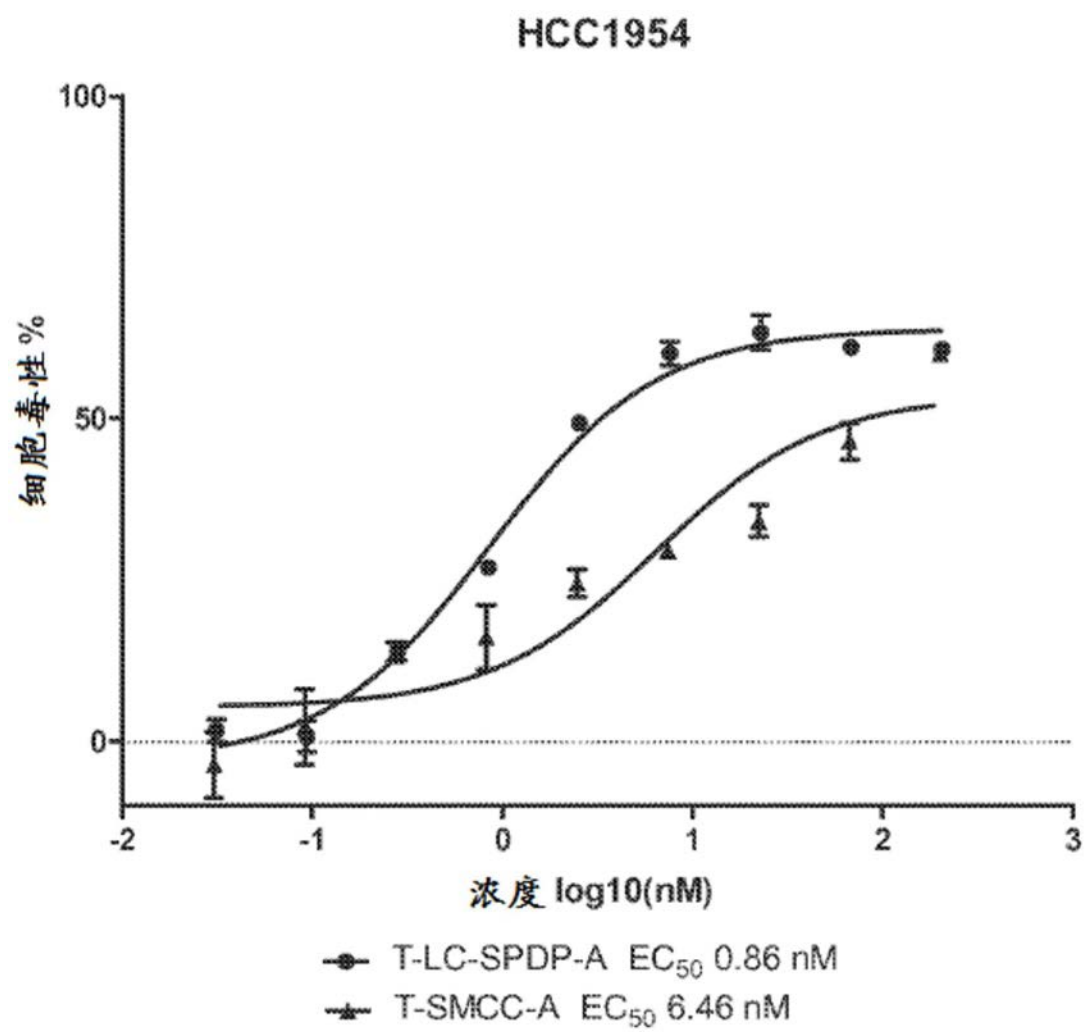


图7

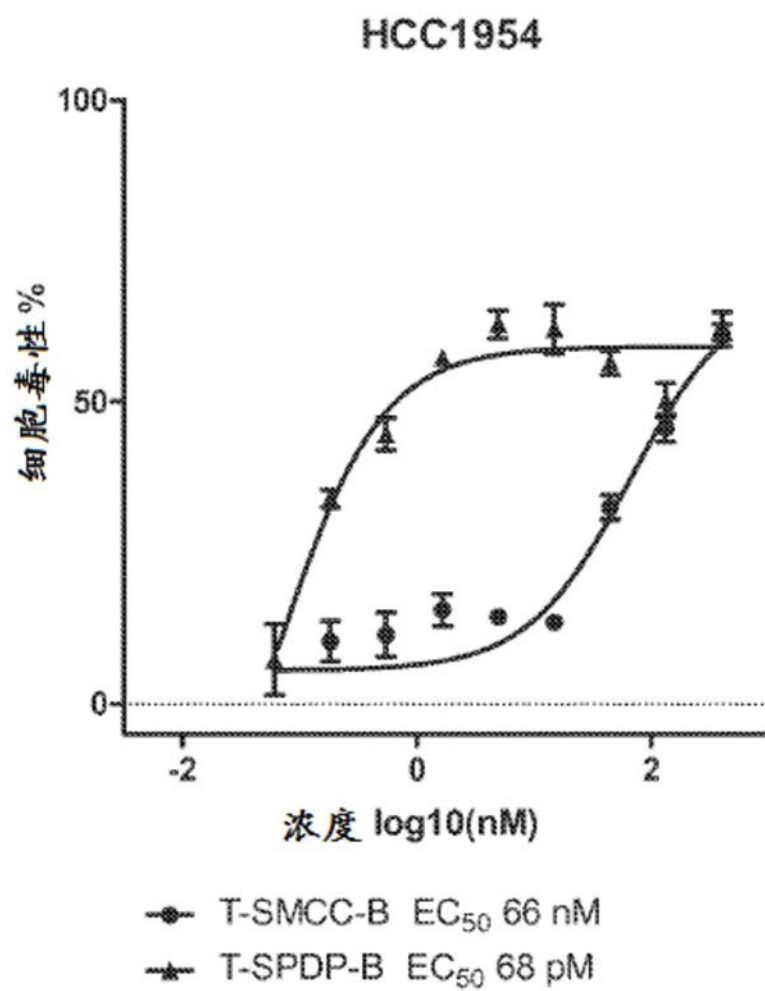


图8

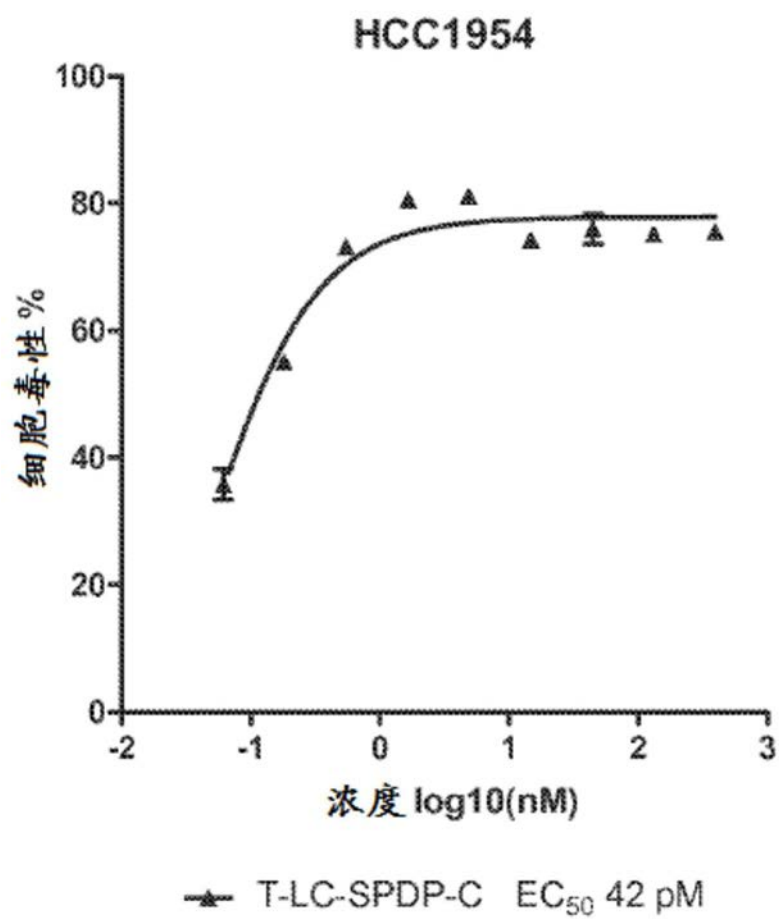


图9

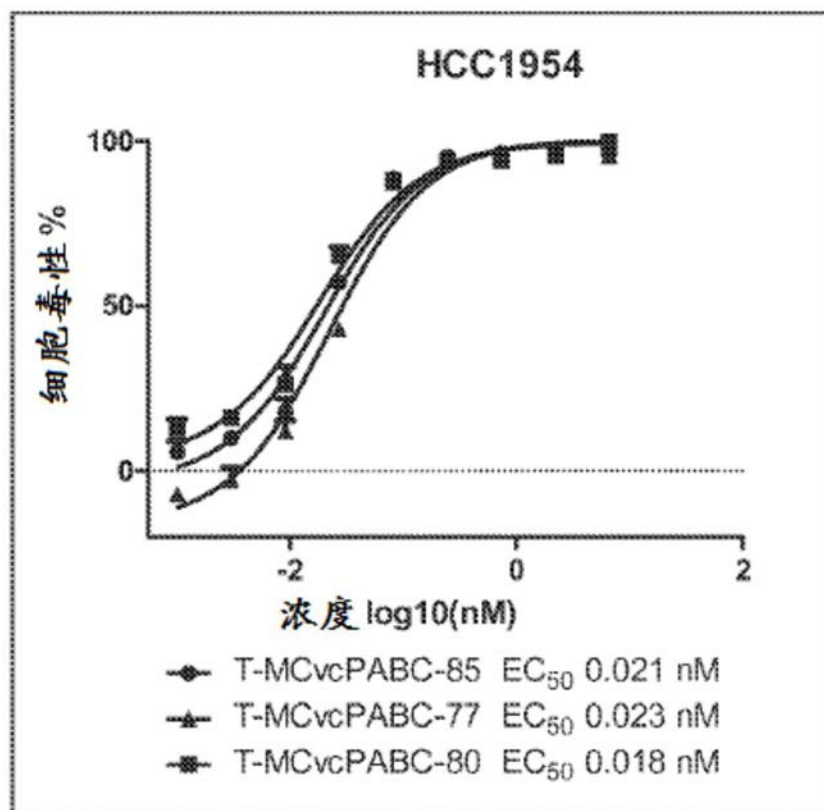


图10



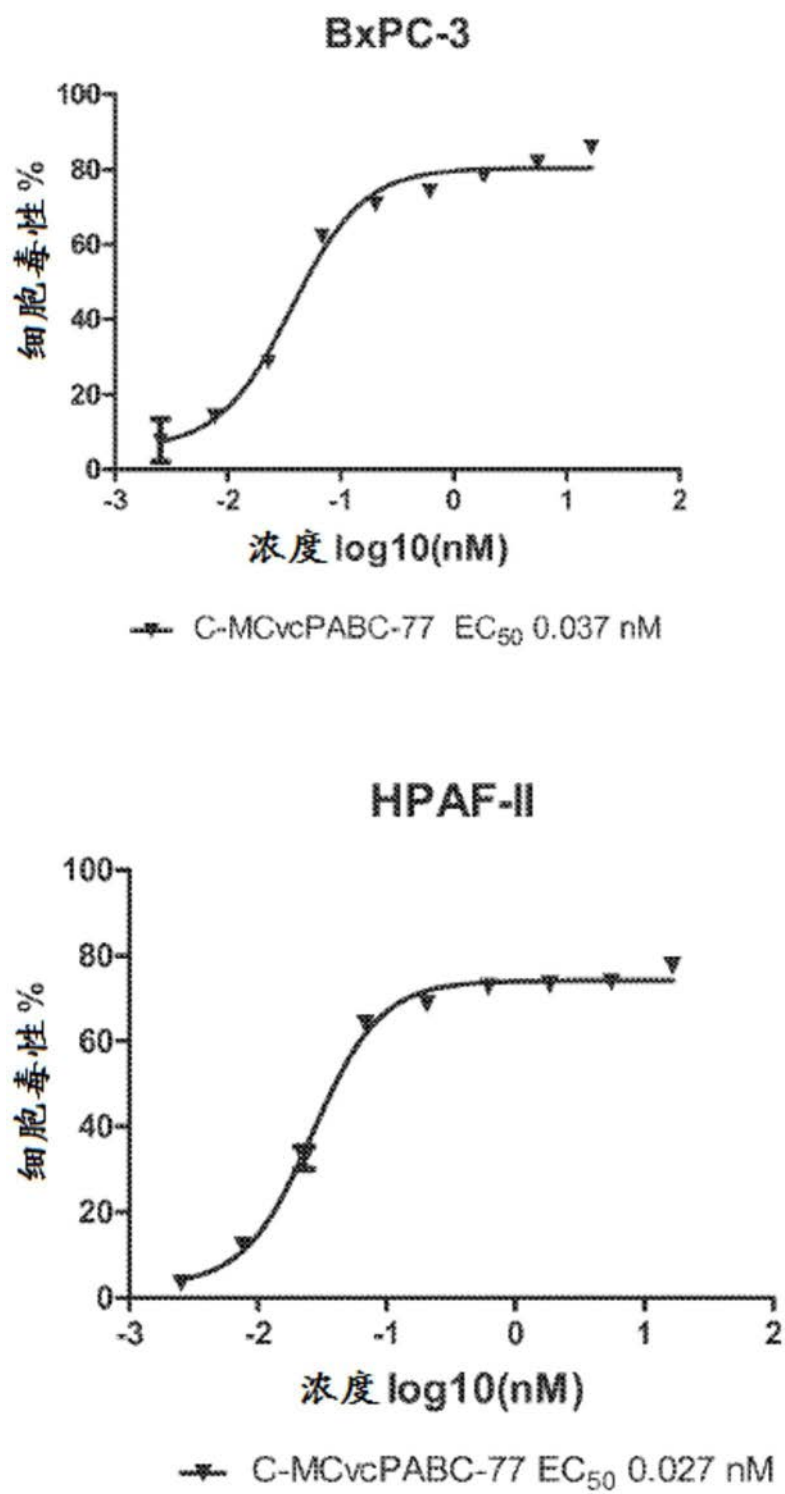


图11

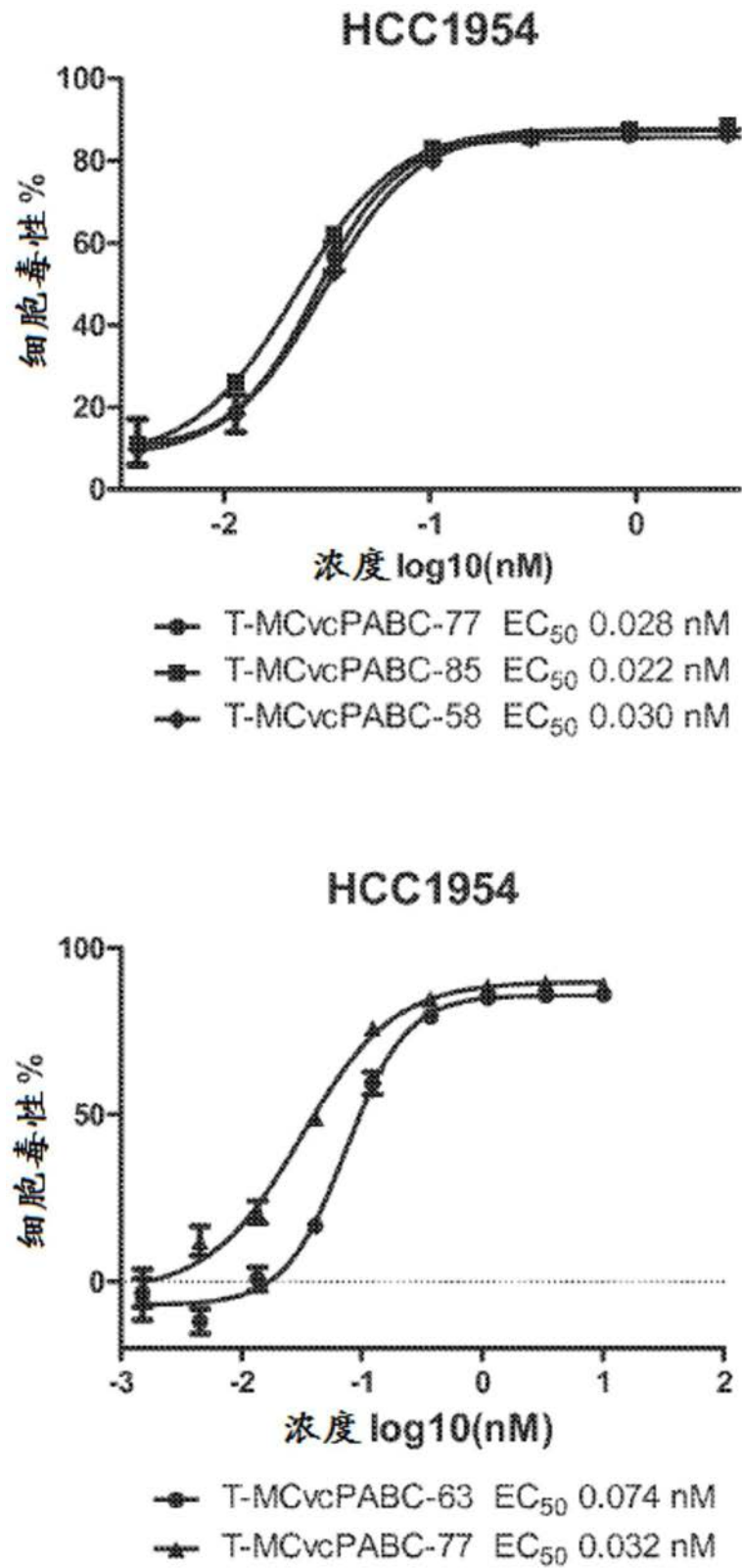


图12

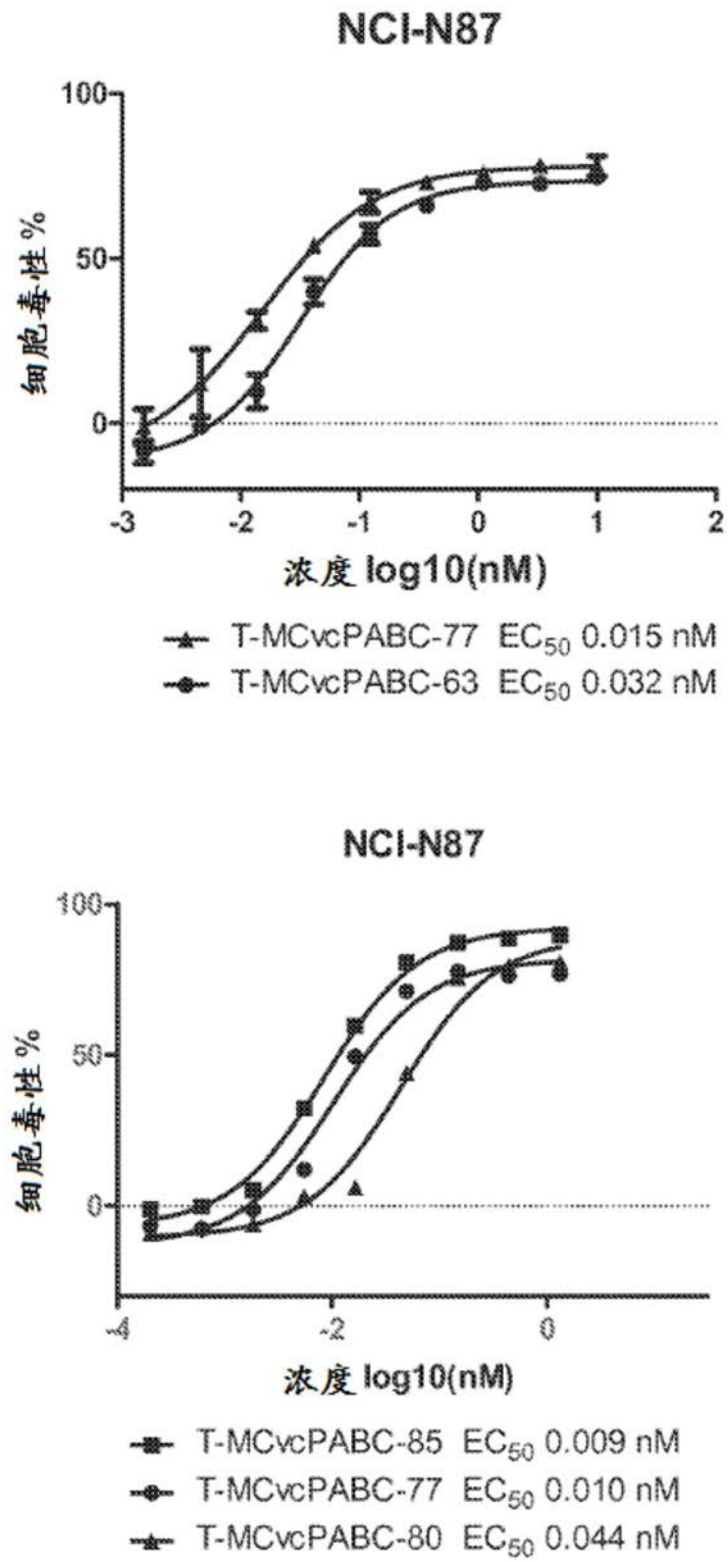


图13

剂量接近MTD时的游离化合物效力

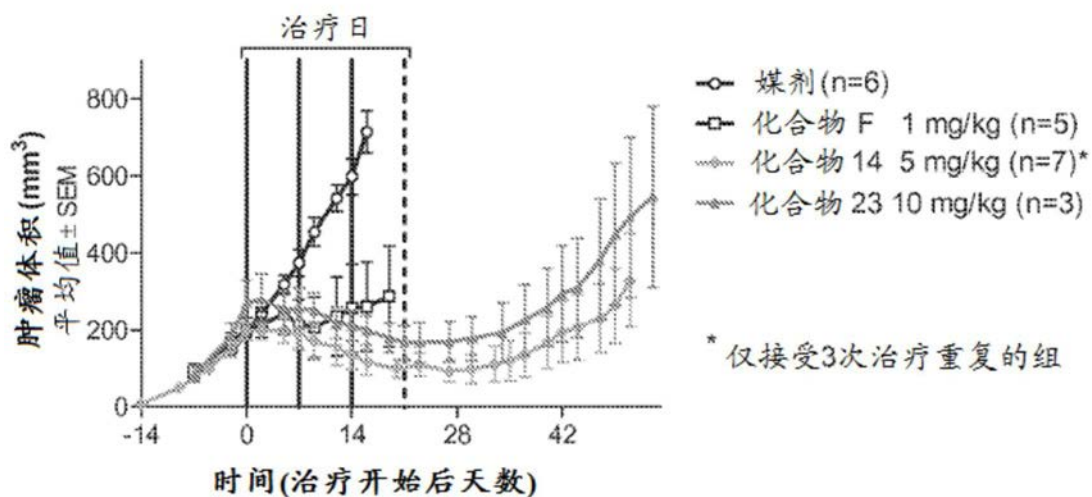


图14

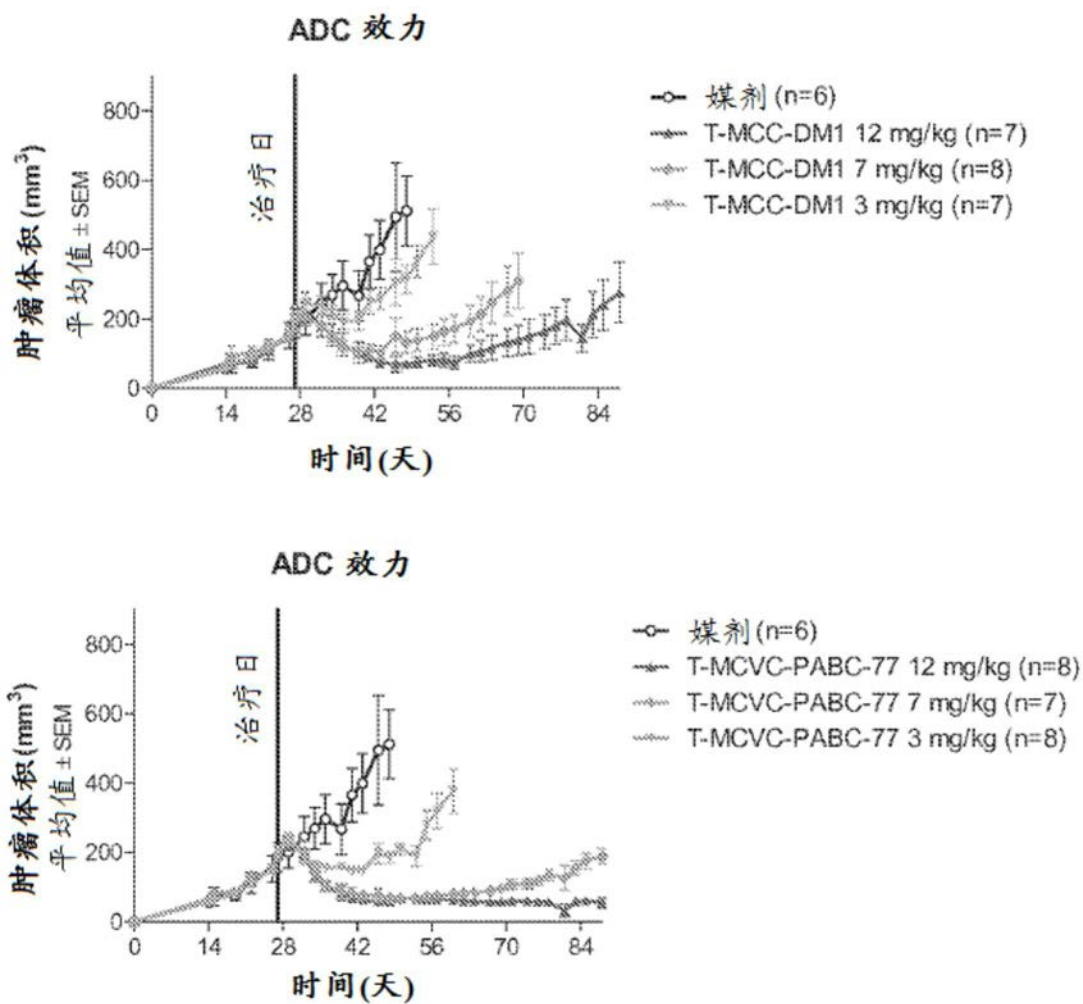


图15

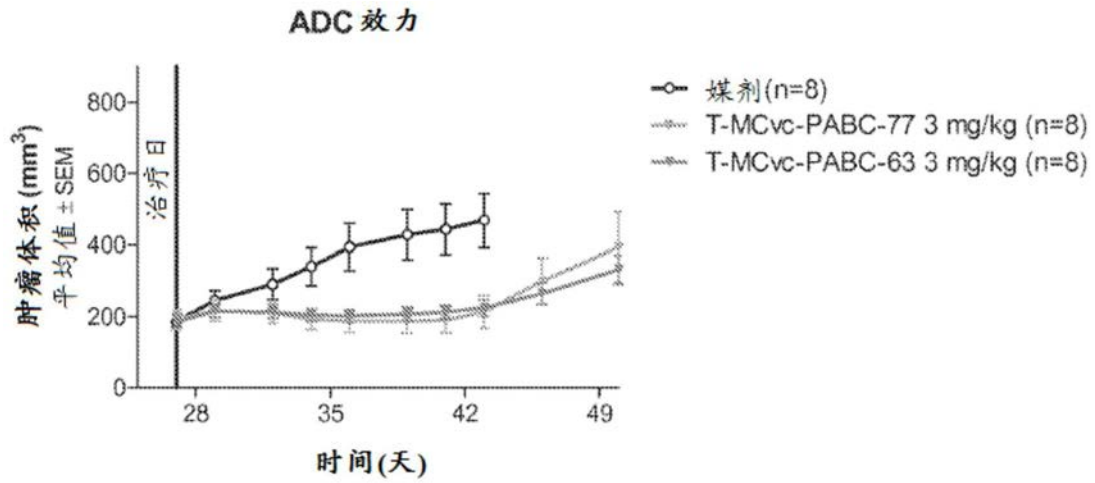


图16

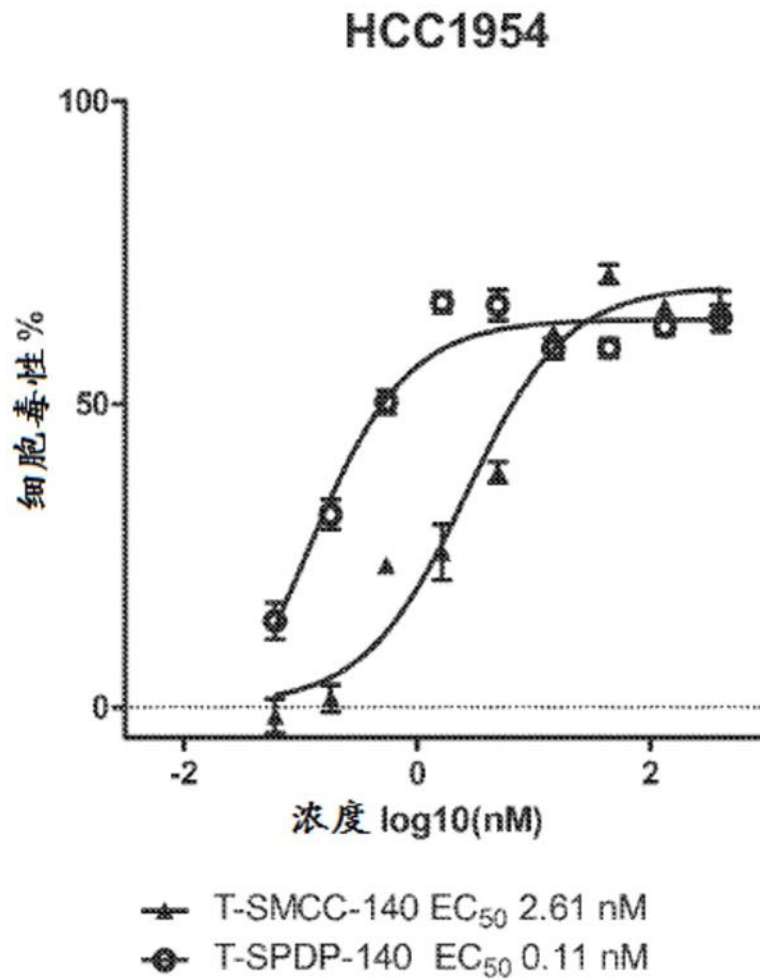


图17

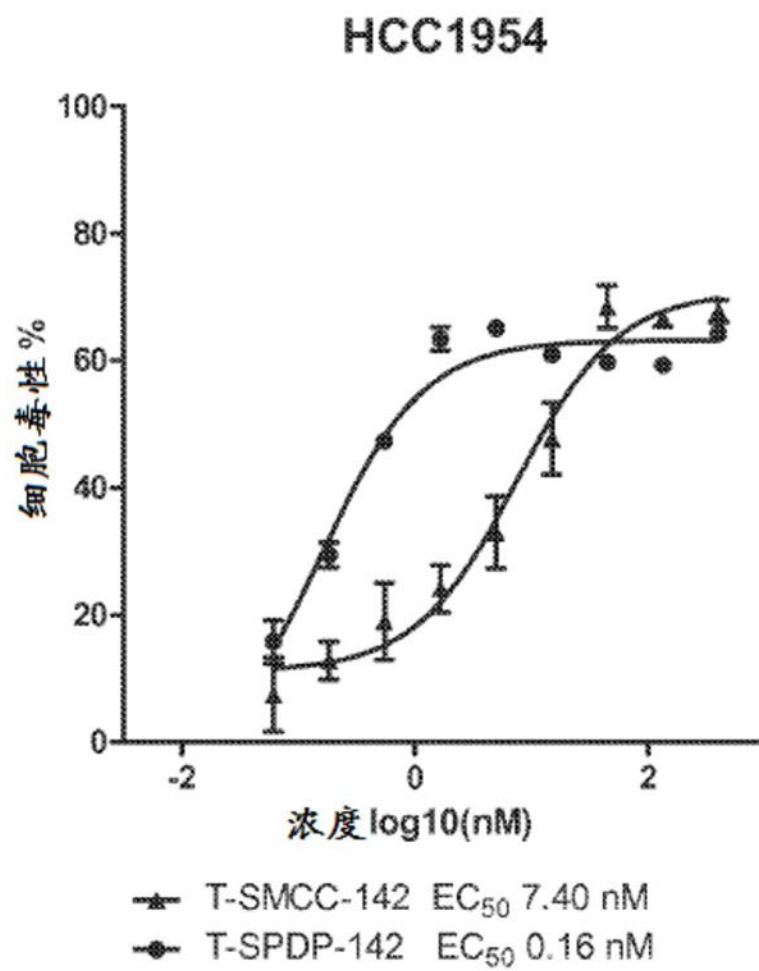


图18

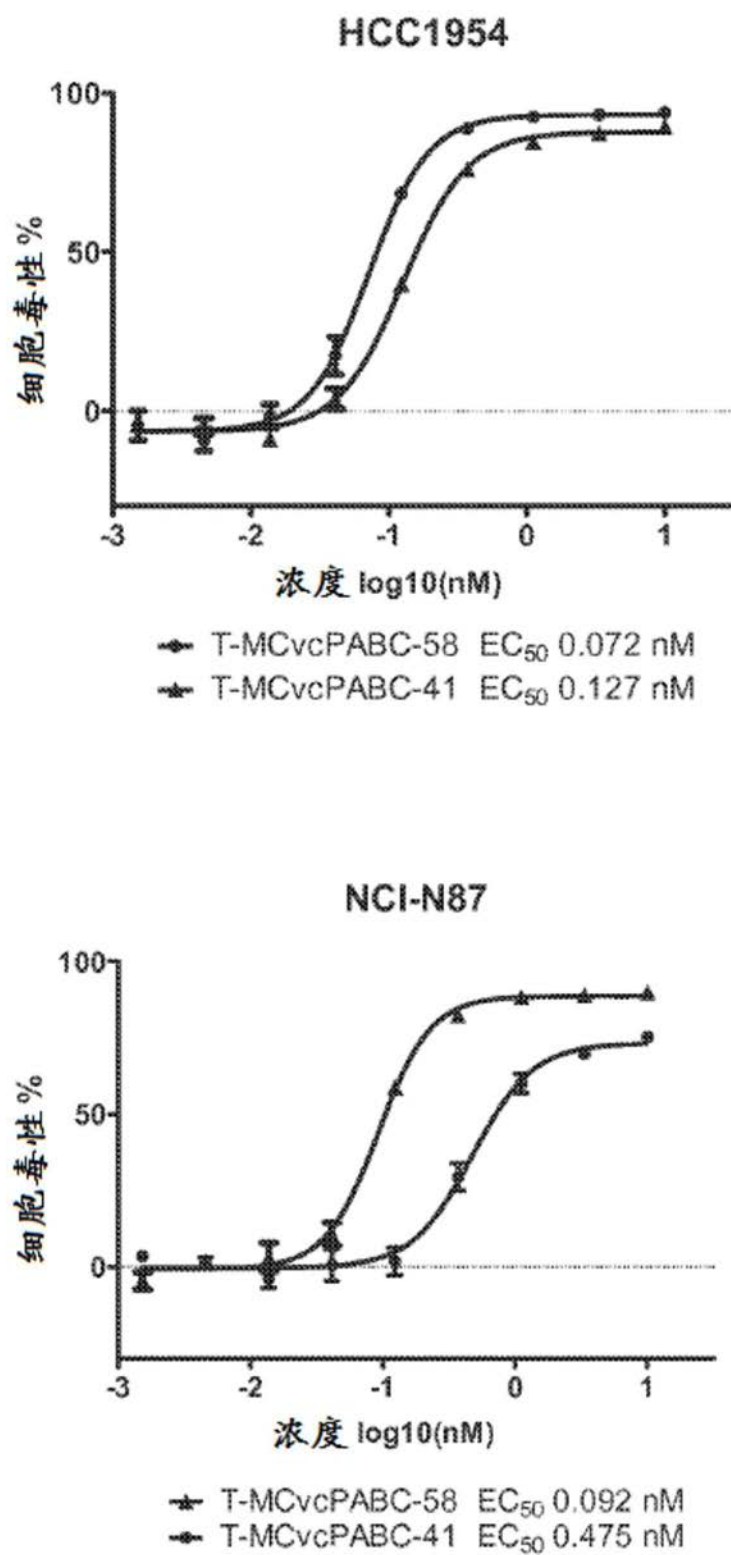


图19