



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118414170 A

(43) 申请公布日 2024. 07. 30

(21) 申请号 202280084624.9

(22) 申请日 2022.12.20

(30) 优先权数据

63/292,101 2021.12.21 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.06.20

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/IB2022/000772 2022.12.20

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/118961 EN 2023.06.29

(71) 申请人 尹图赛利有限公司

地址 韩国大田市

(72) 发明人 朴泰教 柳曜燮 金璇暎 丁头焕

徐东勋 李相光 河智贤 崔知惠

全喆民 郑明和 金惠媛 梁恩惠

金雅各布 李超熙 李享傲

徐范硕 宋真我 金世娜 俞在度

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

专利代理师 缪策 甘玲

(51) Int.Cl.

A61K 47/60 (2006.01)

A61K 47/68 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07D 403/04 (2006.01)

C07D 471/04 (2006.01)

C07H 3/04 (2006.01)

C07H 3/02 (2006.01)

C07H 17/00 (2006.01)

C07D 495/14 (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01)

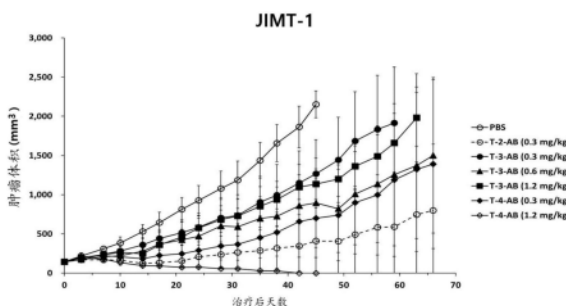
权利要求书83页 说明书238页 附图3页

(54) 发明名称

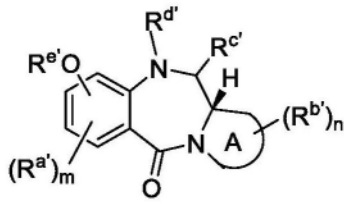
包含具有极性基团的毒素的抗体药物缀合物及其用途

(57) 摘要

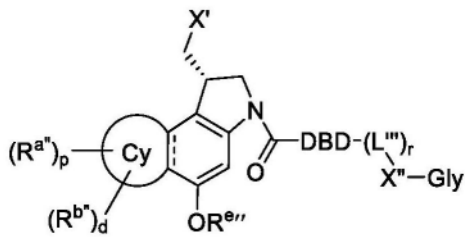
本公开涉及由至少一种糖、硫酸酯或磺酸酯官能化的药物和毒素;包含所述药物或毒素和可裂解接头的药物缀合物;以及包含所述药物或毒素、可裂解接头和靶向部分的靶向缀合物。本公开还涉及使用本公开的化合物和缀合物治疗癌症、自身免疫性疾病和炎性疾病的方法。



1. 一种药物缀合物,所述药物缀合物包含由式(VII)或式(VIII)表示的化合物和接头基团:



(VII); 或



(VIII);

或其药学上可接受的盐;

其中:

A是杂环;

每个 R^a' 和 R^b' 独立地是卤素、氨基、羟基、乙酰基、羟烷基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;

两个偕位 R^b' 任选地一起形成氧代或 $=CH_2$;或两个 R^b' 与间插原子一起任选地构成环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;

R^c' 是磺酸酯、硫酸酯、羟基、氨基或硫醇;

R^d' 是 $-L''-Gly$ 、氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;

前提条件是至少一个 R^c' 是磺酸酯或硫酸酯,或者至少一个 R^d' 是 $-L''-Gly$;

R^e' 是氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;

m 是选自0-3的整数;

n 是选自0-8的整数,只要价数允许;

环 Cy 选自芳基、杂芳基、环烷基或杂环烷基;

$==$ 是单键或双键;

X' 是卤素;

X'' 是 $-NR-$ 、 $-S-$ 或 $-O-$;

R 是氢或烷基;

每个 R^a'' 和 R^b'' 独立地是卤素、氨基、羟基、烷氧基、乙酰基、羟烷基、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、 $=O$ 、羧基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基或 $-(L''')_r-X''-Gly$;

d 是选自0-4的整数;

r 是0-1的整数;

每个L''是键或接头,

R^{e''}是氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;

p是选自0-4的整数;

DBD是DNA结合结构域;

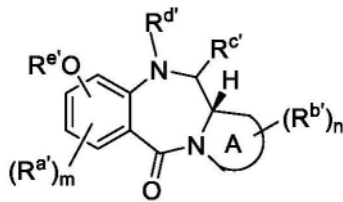
L''是键或接头;并且

Gly是单糖、二糖或寡糖。

2. 如权利要求1所述的药物缀合物,其中每个L''是C₁₀-C₁₀₀直链或支链、饱和或不饱和亚烷基部分,任选地包含一个或更多个双键和/或三键。

3. 如权利要求1所述的药物缀合物,其中每个p和每个d独立地是0-1的整数。

4. 如权利要求1所述的药物缀合物,其中所述化合物由式(VII)表示:



(VII);

或其药学上可接受的盐。

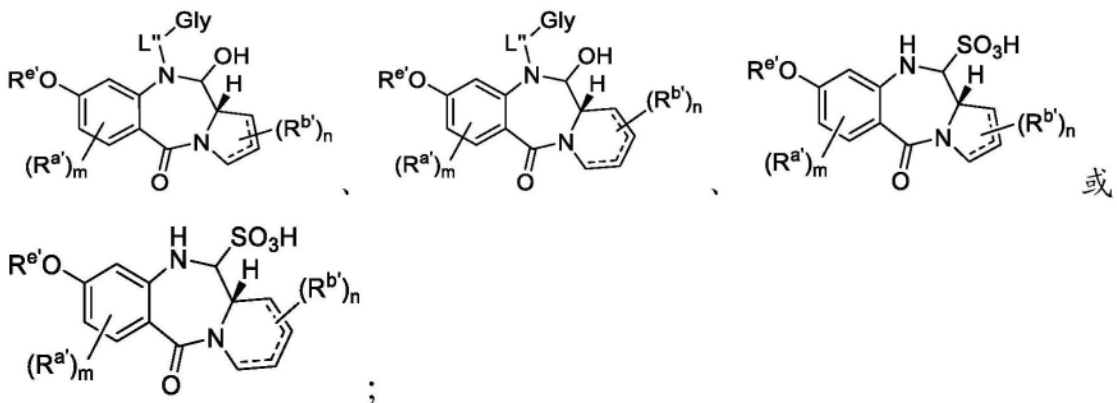
5. 如权利要求1-4中任一项所述的药物缀合物,其中A是5至6元杂环。

6. 如权利要求1-5中任一项所述的药物缀合物,其中R^{c'}是羟基。

7. 如权利要求1-6中任一项所述的药物缀合物,其中R^{d'}是氢、C₁₋₆烷基、C₃₋₁₀环烷基、3至10元杂环烷基、C₆₋₁₀芳基或5至10元杂芳基。

8. 如权利要求7所述的药物缀合物,其中R^{d'}是L''-Gly。

9. 如权利要求4所述的药物缀合物,其中所述化合物选自:



或其药学上可接受的盐;

其中---是单键或双键。

10. 如权利要求1-9中任一项所述的药物缀合物,其中R^{a'}是卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、C₁₋₆烷基、C₂₋₆烯基、C₂₋₆炔基、C₃₋₁₀环烷基、4至10元杂环烷基、C₆₋₁₀芳基或5至10元杂芳基。

11. 如权利要求1-10中任一项所述的药物缀合物,其中两个偕位R^{b'}一起形成=CH₂。

12. 如权利要求1-10中任一项所述的药物缀合物,其中两个R^{b'}与间插原子一起构成环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基。

13. 如权利要求12所述的药物缀合物,其中两个R^{b'}与间插原子一起构成芳基或杂芳基。

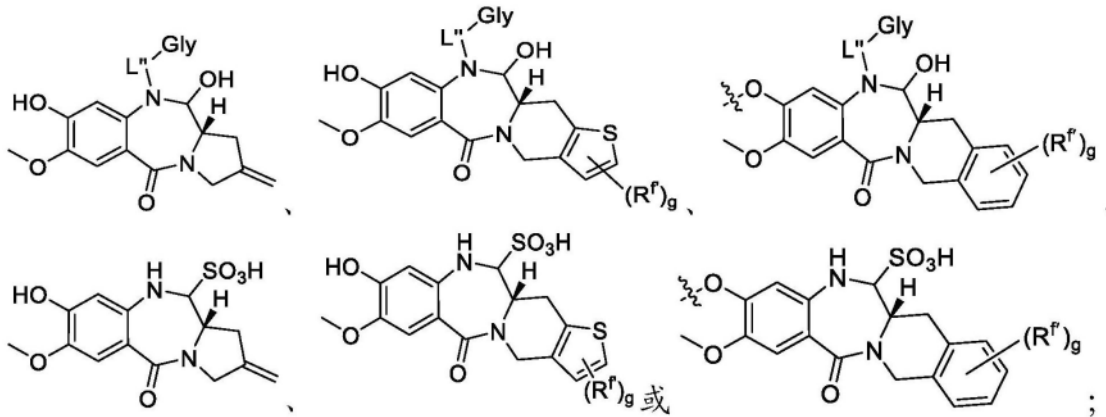
14. 如权利要求12所述的药物缀合物,其中两个R^{b'}与间插原子一起构成芳基。

15. 如权利要求1-14中任一项所述的药物缀合物,其中R^{e'}是氢、C₁₋₆烷基、C₃₋₁₀环烷基、3至10元杂环烷基、C₆₋₁₀芳基或5至10元杂芳基。

16. 如权利要求15所述的药物缀合物,其中R^{e'}是氢、C₁₋₆烷基或C₃₋₁₀环烷基。

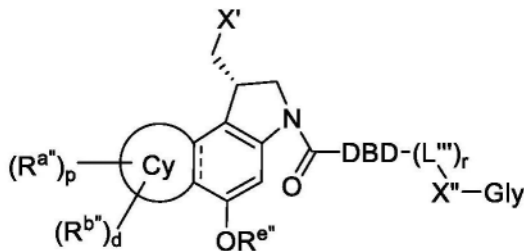
17. 如权利要求16所述的药物缀合物,其中R^{e'}是氢。

18. 如权利要求4或9所述的药物缀合物,其中所述化合物选自:



或其药学上可接受的盐。

19. 如权利要求1所述的药物缀合物,其中所述化合物由式(VIII)表示:



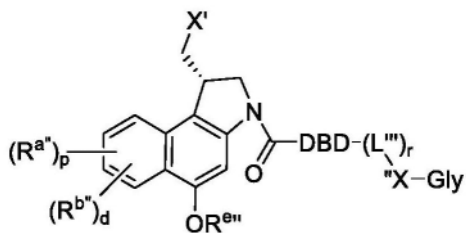
(VIII);

或其药学上可接受的盐。

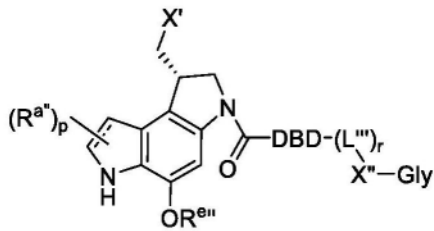
20. 如权利要求19所述的药物缀合物,其中Cy是苯基。

21. 如权利要求19所述的药物缀合物,其中Cy是吡咯烷或吡咯。

22. 如权利要求19所述的药物缀合物,其中所述化合物由式(VIIIa)或式(VIIIb)表示:



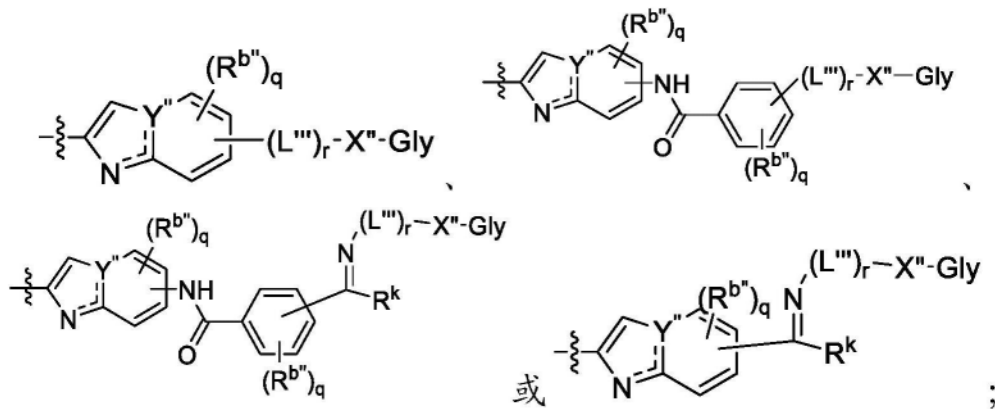
(VIIIa);



(VIIIb);

或其药学上可接受的盐。

23. 如权利要求19-22中任一项所述的药物缀合物,其中所述DBD-(L''')_r-X''-Gly单元选自:



或其药学上可接受的盐;

其中:

Y''是C或N;

X''选自-NR-、-S-或-O-;

R是氢或烷基;

r是0-1的整数;

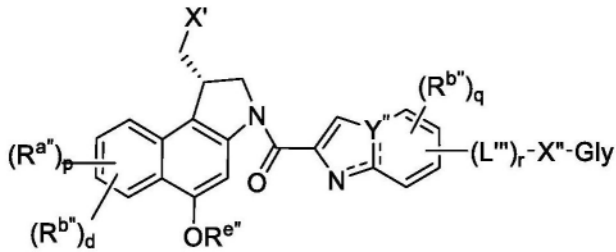
每个R^{b''}独立地是卤素、氨基、羟基、乙酰基、羟烷基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基或-(L''')_r-X''-Gly;

R^k是烷基,优选C₁-C₃烷基;

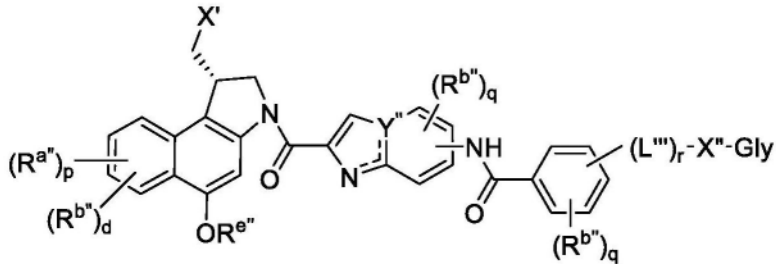
q是选自0-3的整数;并且

==是单键或双键。

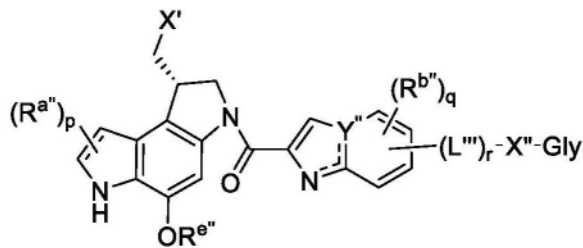
24. 如权利要求19-23中任一项所述的药物缀合物,其中所述化合物由式(VIIIc)、式(VIIIId)、式(VIIIe)或式(VIII f)表示:



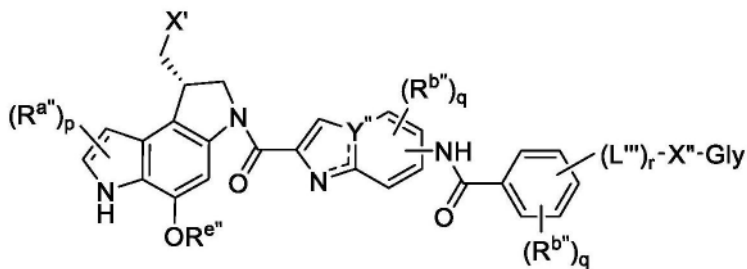
(VIIIc);



(VIIId);



(VIIIe);



(VIIIf);

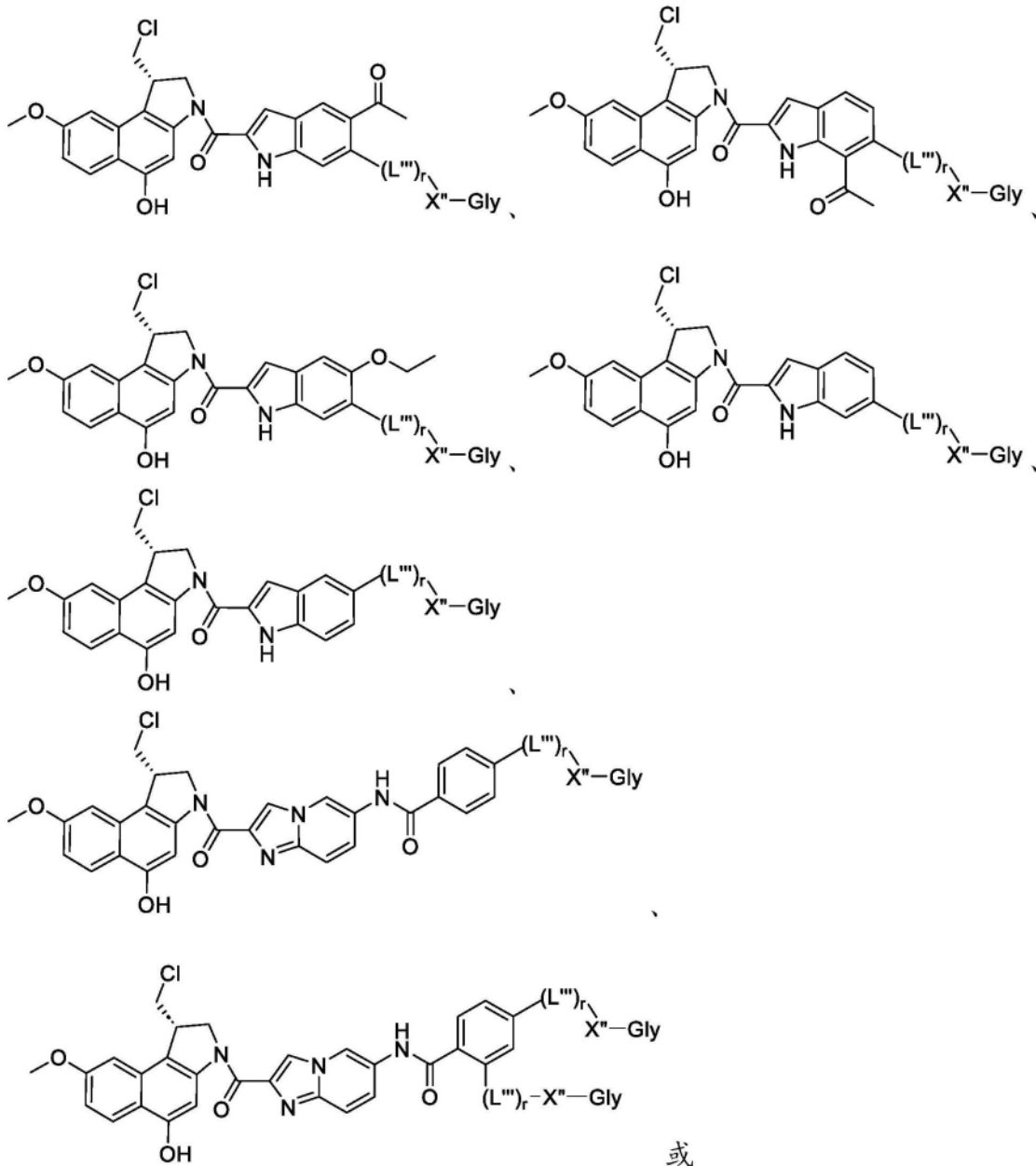
或其药学上可接受的盐。

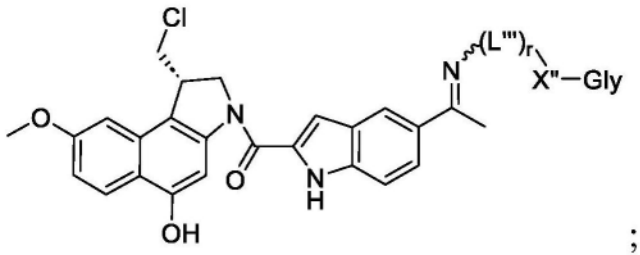
25. 如权利要求19-24中任一项所述的药物缀合物, 其中:

每个 $R^{a''}$ 独立地是卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、=O、羧基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基; 并且

每个 $R^{b''}$ 独立地是卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、 C_{1-6} 烷基、杂烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-10} 环烷基、4至10元杂环烷基、 C_{6-10} 芳基或5至10元杂芳基。

26. 如权利要求19-25中任一项所述的药物缀合物,其中X'是Cl。
 27. 如权利要求19-26中任一项所述的药物缀合物,其中X'是Br。
 28. 如权利要求19-27中任一项所述的药物缀合物,其中Y''是C。
 29. 如权利要求19-27中任一项所述的药物缀合物,其中Y''是N。
 30. 如权利要求19-29中任一项所述的药物缀合物,其中R^{e'}是氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基。
 31. 如权利要求30所述的药物缀合物,其中R^{em}是氢、C₁₋₆烷基、C₃₋₁₀环烷基、3至10元杂环烷基、C₆₋₁₀芳基或5至10元杂芳基。
 32. 如权利要求31所述的药物缀合物,其中R^{em}是氢、C₁₋₆烷基或C₃₋₁₀环烷基。
 33. 如权利要求32所述的药物缀合物,其中R^{em}是氢。
 34. 如权利要求19所述的药物缀合物,其中所述化合物选自:

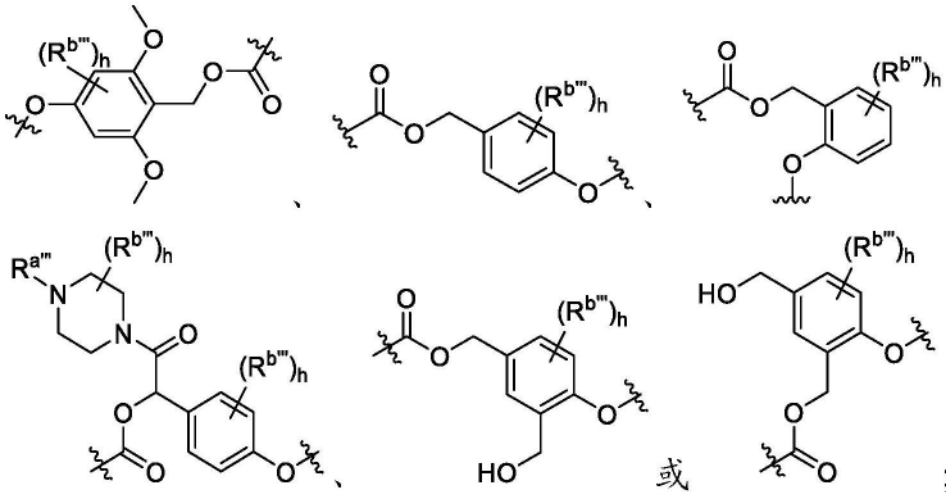




或其药学上可接受的盐。

35. 如权利要求19-34中任一项所述的药物缀合物,其中L''是键。

36. 如权利要求19-34中任一项所述的药物缀合物,其中L''是选自以下的接头:



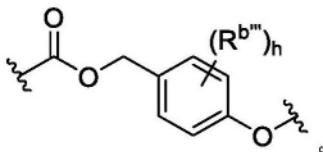
其中:

R'''是氢、卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、=O、羧基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;并且

每个R'''独立地是氢、卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;并且

h是选自0-4的整数,只要价数允许。

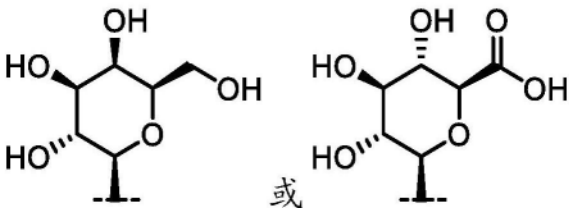
37. 如权利要求36所述的药物缀合物,其中L''是



38. 如权利要求1-37中任一项所述的药物缀合物,其中Gly是单糖。

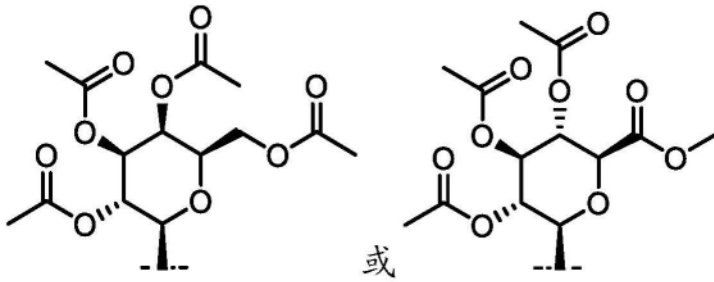
39. 如权利要求38所述的药物缀合物,其中Gly是选自葡萄糖、葡萄糖醛酸、岩藻糖和半乳糖的单糖。

40. 如权利要求39所述的药物缀合物,其中Gly是



任选地,其中1个或更多个-OH基团被保护基掩蔽。

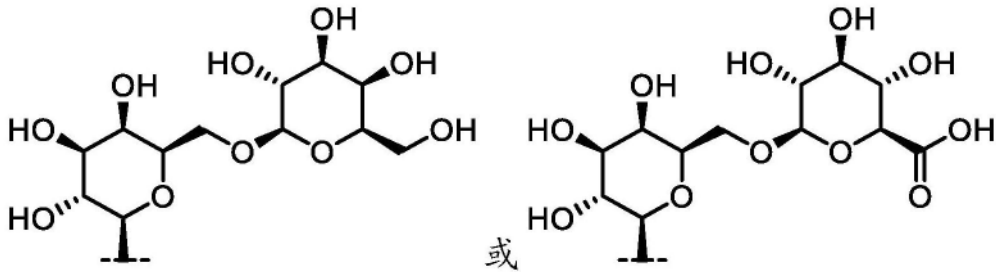
41. 如权利要求40所述的药物缀合物,其中Gly是



42. 如权利要求1-37中任一项所述的药物缀合物,其中Gly是二糖。

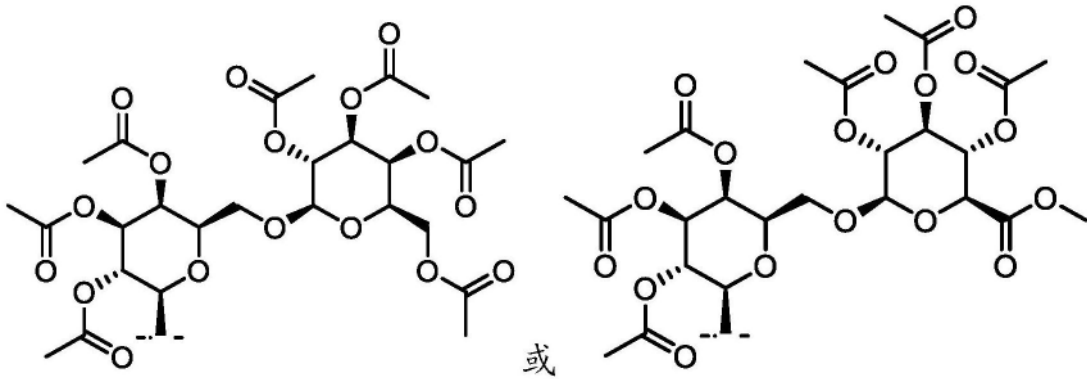
43. 如权利要求42所述的药物缀合物,其中Gly是包含葡萄糖、葡萄糖醛酸、岩藻糖、半乳糖或它们的组合的二糖。

44. 如权利要求43所述的药物缀合物,其中Gly是



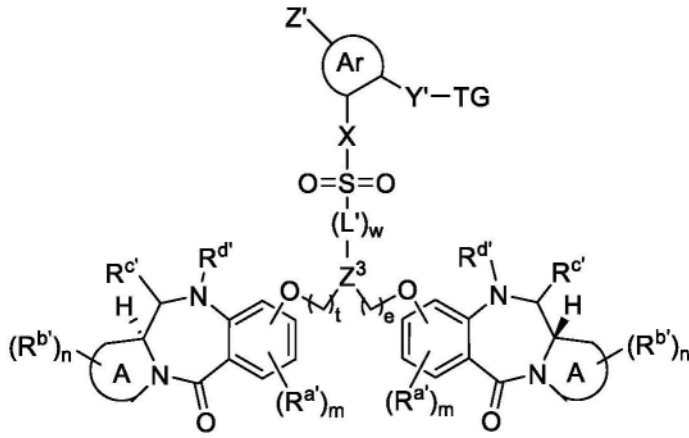
任选地,其中1个或更多个-OH基团被保护基掩蔽。

45. 如权利要求44所述的药物缀合物,其中Gly是

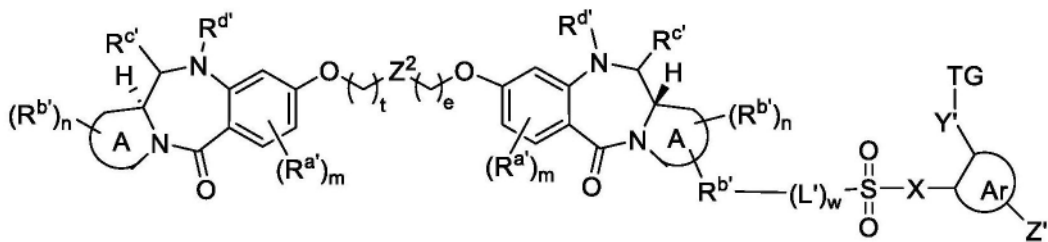


46. 如权利要求1-45中任一项所述的药物缀合物,其中X”在异头位置处与Gly偶联。

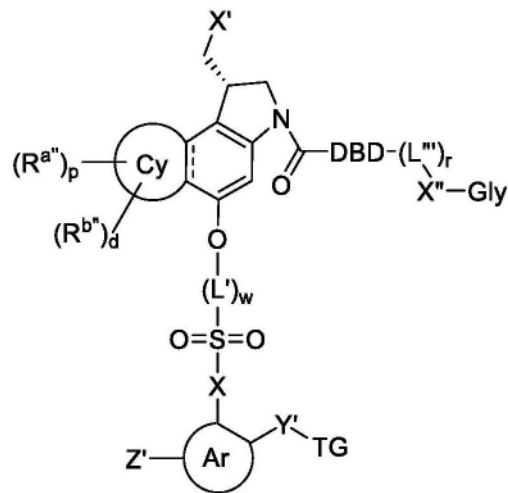
47. 如权利要求1-46中任一项所述的药物缀合物,所述药物缀合物由式(IX)、式(X)或式(XI)表示:



(IX);



(X); 或



(XI);

或其药学上可接受的盐;

其中:

Z' 是偶联基团;

Ar 是芳基、杂芳基、环烷基或杂环烷基;

Y' 是 $-(CR^b_2)_y N(R^a)-$ 、 $-(CR^b_2)_y O-$ 或 $-(CR^b_2)_y S-$, 其定位使得如果 y 是 1, 则 N、O 或 S 原子连接至 TG;

TG是触发基团,当其被激活时会生成N、O或S原子,所述原子能够与SO₂反应以置换(Q)_q-(L')_w并且形成包括X-SO₂和Ar的间插原子的5至6元环;

X是-O-、-C(R^b)₂-或-N(R^c)-;

L'是间隔部分,如果存在的话,所述间隔部分经由选自O、S和N的杂原子连接至SO₂,并且经选择以使得L'与SO₂之间的键的断裂促进所述活性剂的释放;

w是选自0-1的整数;

r是0-1的整数;

Z²是连接基团;

Z³是连接基团;

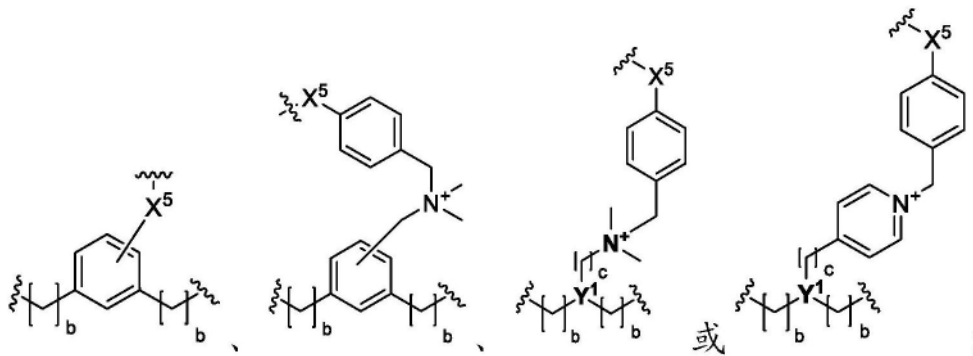
R^a、R^b和R^c各自独立地是氢或低级烷基;

y是选自0-1的整数;

t是1-5的整数;并且

e是1-5的整数。

48. 如权利要求47所述的药物缀合物,其中Z³选自:



其中:

X⁵是-O-或-NR^x-;

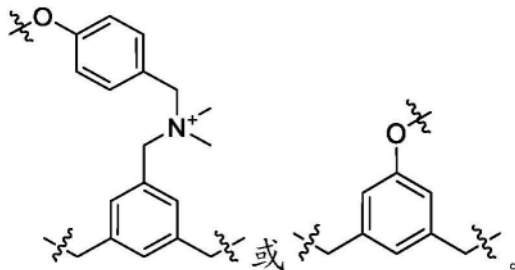
Y¹是CR^y或N;

R^x和R^y各自独立地是氢或C₁₋₆烷基;

每个b独立地是1-3的整数;并且

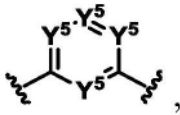
c是1-5的整数。

49. 如权利要求48所述的药物缀合物,其中Z³选自:



50. 如权利要求47所述的药物缀合物,其中Z²是亚甲基。

51. 如权利要求47所述的药物缀合物,其中Z²是



其中:

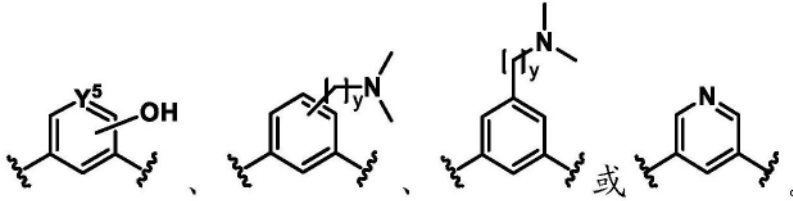
Y^5 是 CR^{Y1} 或N,前提条件是仅一个 Y^5 是N;

R^{Y1} 是H、羟基、氨基、酰胺基或 $(CH_2)_y(R^{Y1a})$;

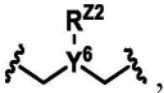
R^{Y1a} 是氨基(例如仲氨基或叔氨基)、芳基(例如苯基)或杂芳基;并且

y 是具有1至约10的值的整数。

52.如权利要求51所述的药物缀合物,其中 Z^2 是



53.如权利要求47所述的药物缀合物,其中 Z^2 是



其中:

Y^6 是 CR^{Y2} 或N;

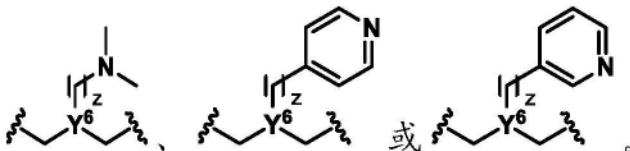
R^{Y2} 是H或烷基,优选低级烷基;

R^{Z2} 是 $(CH_2)_z R^{Z2a}$;

R^{Z2a} 是氨基(优选叔氨基)、芳基(例如苯基)或杂芳基;并且

z 是具有0至约10的值的整数。

54.如权利要求53所述的药物缀合物,其中 Z^2 是



55.如权利要求47-54中任一项所述的药物缀合物,其中Ar是芳基。

56.如权利要求55所述的药物缀合物,其中Ar是 C_{6-10} 芳基。

57.如权利要求56所述的药物缀合物,其中Ar是苯基。

58.如权利要求47-54中任一项所述的药物缀合物,其中Ar是杂芳基。

59.如权利要求58所述的药物缀合物,其中Ar是5至10元杂芳基。

60.如权利要求47-59中任一项所述的药物缀合物,其中 Y' 是 $-(CR^b_2)_y N(R^a)-$ 或 $-(CR^b_2)_y O^-$ 。

61.如权利要求60所述的药物缀合物,其中 Y' 是 $-(CR^b_2)_y O^-$ 。

62.如权利要求60或61所述的药物缀合物,其中 y 是0。

63.如权利要求60或61所述的药物缀合物,其中 y 是1。

64.如权利要求47-63中任一项所述的药物缀合物,其中X是 $-O-$ 或 $-N(R^c)-$ 。

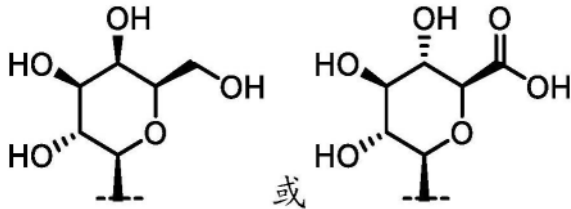
65. 如权利要求64所述的药物缀合物,其中X是-O-。

66. 如权利要求47-65中任一项所述的药物缀合物,其中L'是间隔部分,并且形成-O-、-OC(O)-、-OC(O)O-、-NHC(O)O-或-OC(O)NH-键联,包括所述活性剂的杂原子。

67. 如权利要求47-66中任一项所述的药物缀合物,其中TG是单糖。

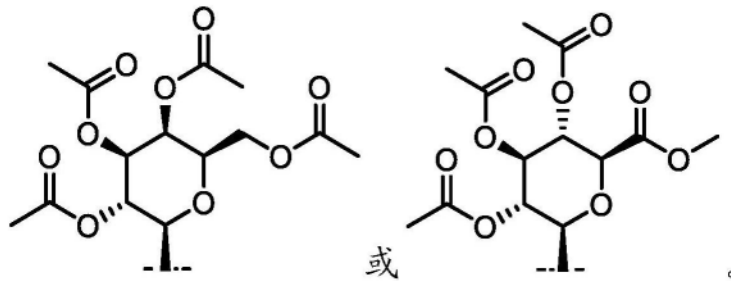
68. 如权利要求67所述的药物缀合物,其中TG是选自葡萄糖、葡萄糖醛酸、岩藻糖和半乳糖的单糖。

69. 如权利要求68所述的药物缀合物,其中TG是



任选地,其中1个或更多个-OH基团被保护基掩蔽。

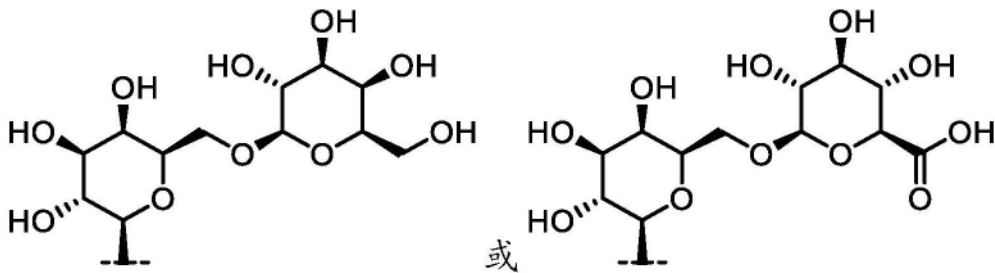
70. 如权利要求69所述的药物缀合物,其中TG是



71. 如权利要求47-66中任一项所述的药物缀合物,其中TG是二糖。

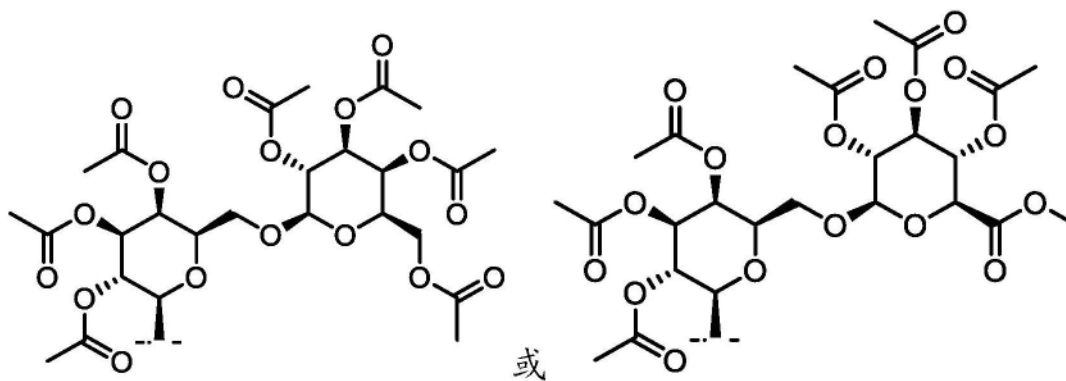
72. 如权利要求71所述的药物缀合物,其中TG是包含葡萄糖、葡萄糖醛酸、岩藻糖、半乳糖或它们的组合的二糖。

73. 如权利要求72所述的药物缀合物,其中TG是



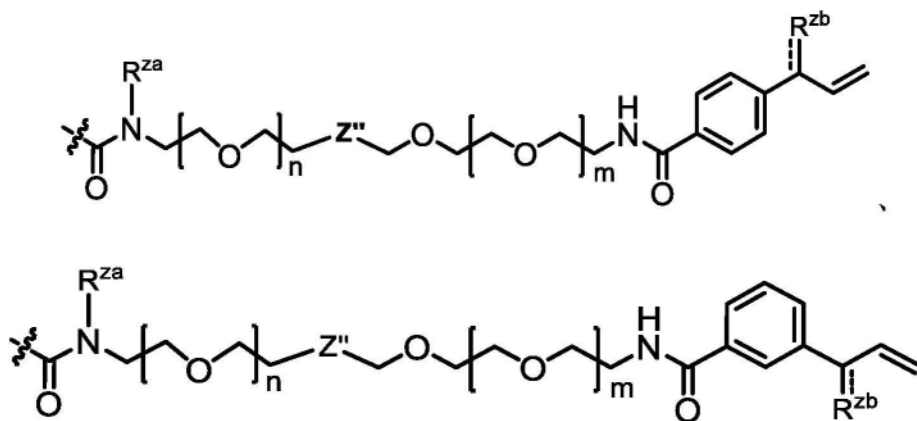
任选地,其中1个或更多个-OH基团被保护基掩蔽。

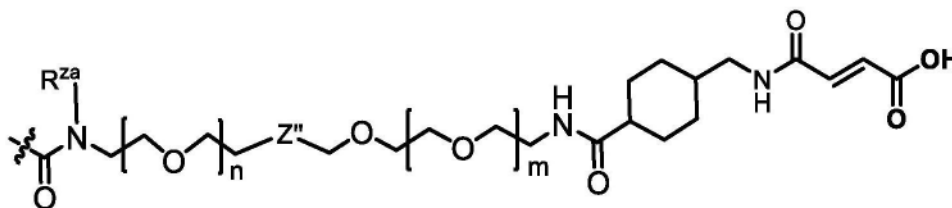
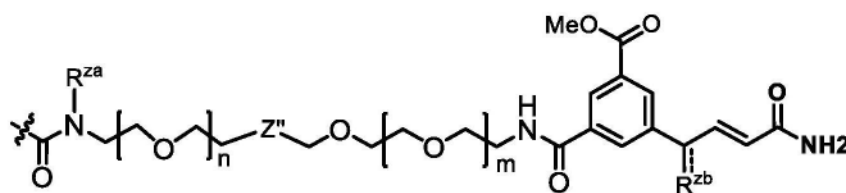
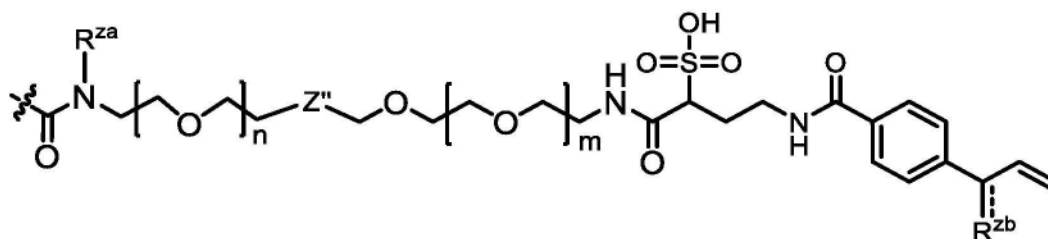
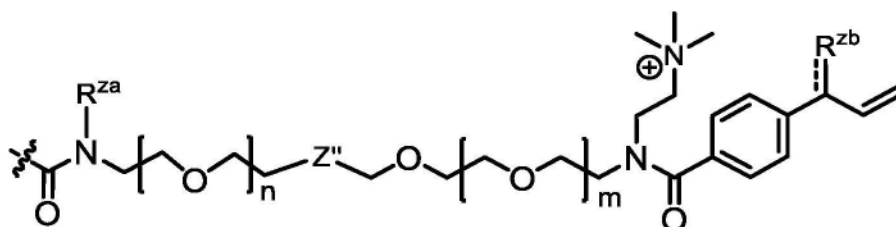
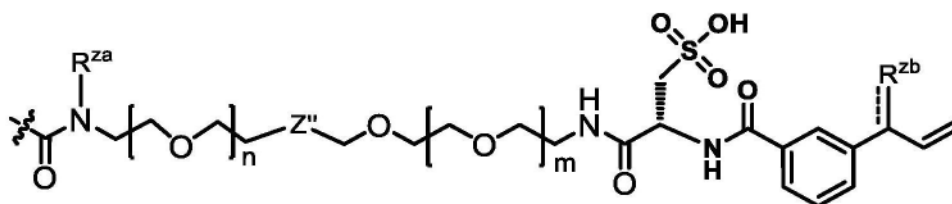
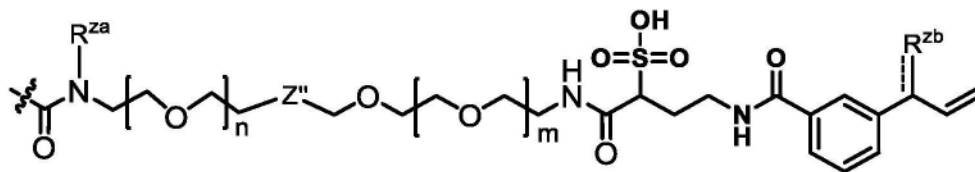
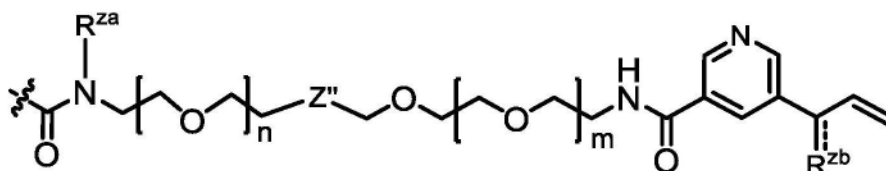
74. 如权利要求73所述的药物缀合物,其中TG是

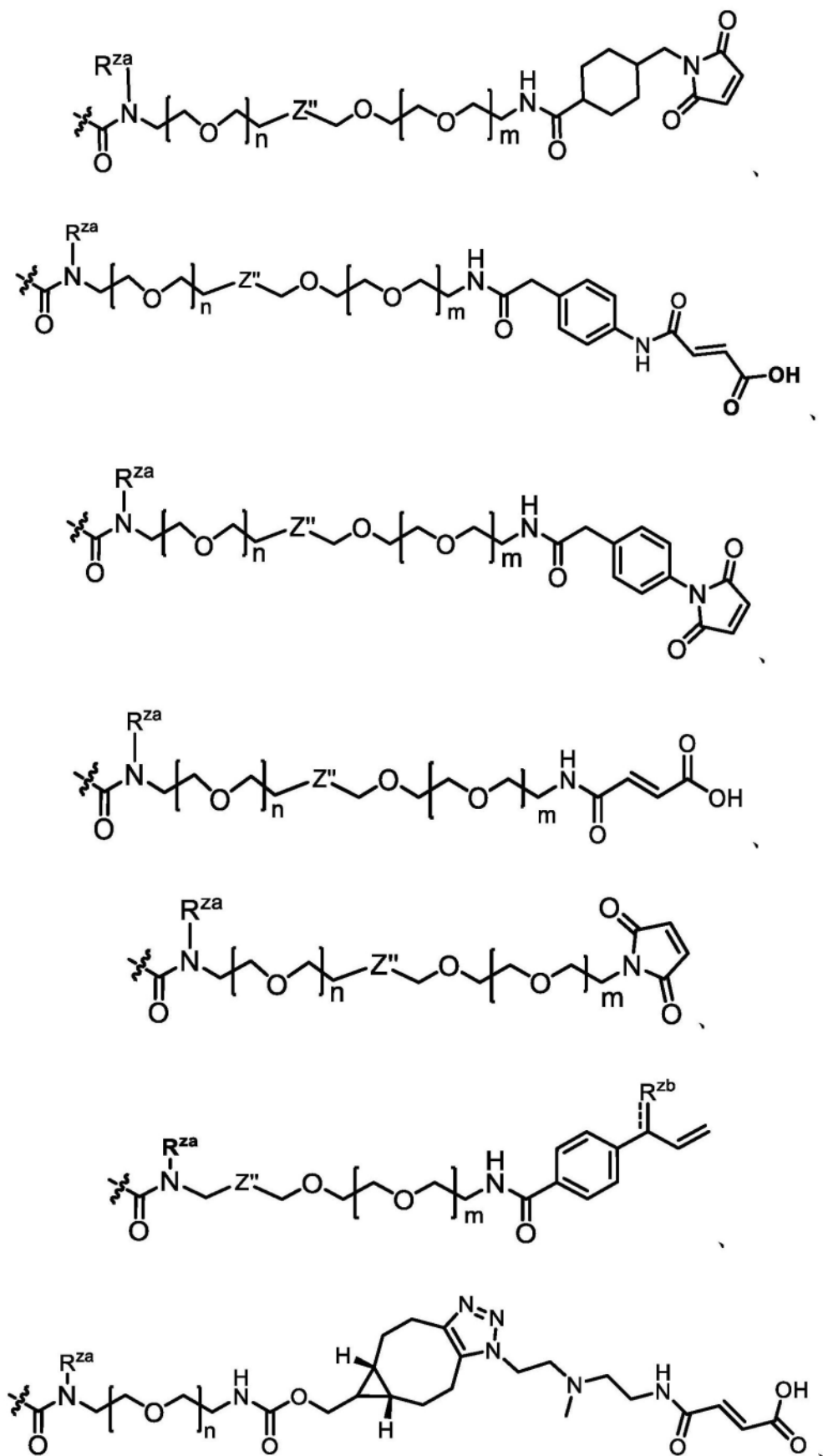


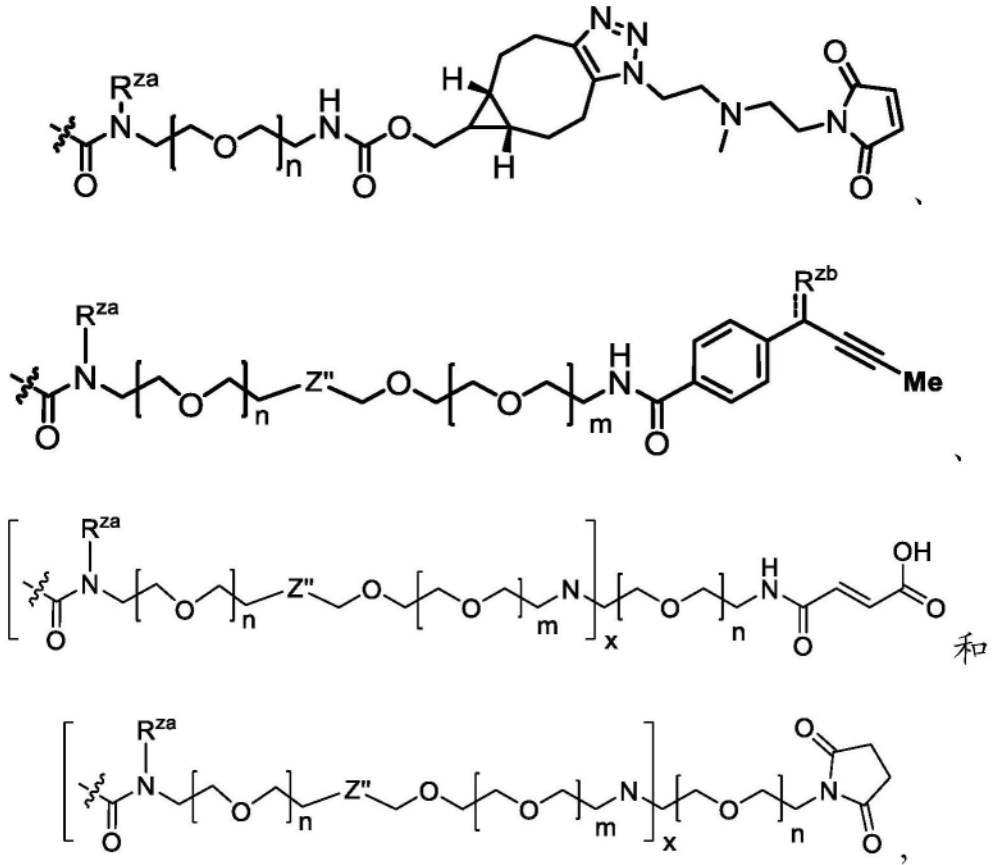
75. 如权利要求47-74中任一项所述的药物缀合物,其中Y'在异头位置处与TG偶联。

76. 如权利要求47-75中任一项所述的缀合物,其中Z'选自









其中：

R^{za}是H或甲基；

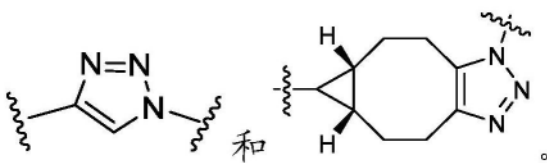
R^{zb}是-OH、=O或=NH₂；

m和n各自独立地是选自1-10的整数；

x是选自1-2的整数；

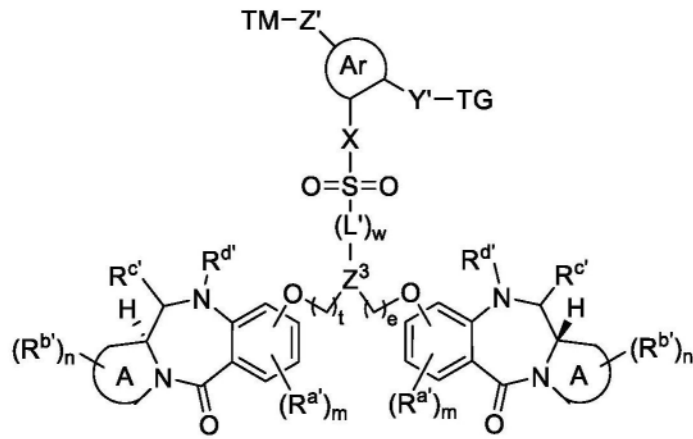
-----单键或双键；并且

Z''选自

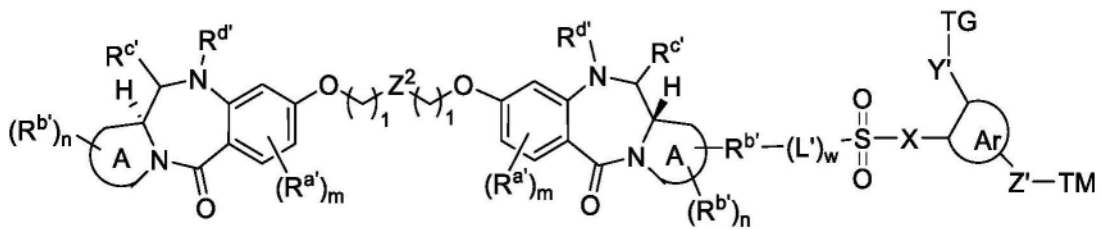


77. 一种靶向药物缀合物,所述靶向药物缀合物包含权利要求1-76中任一项所述的药物缀合物和TM(靶向部分)。

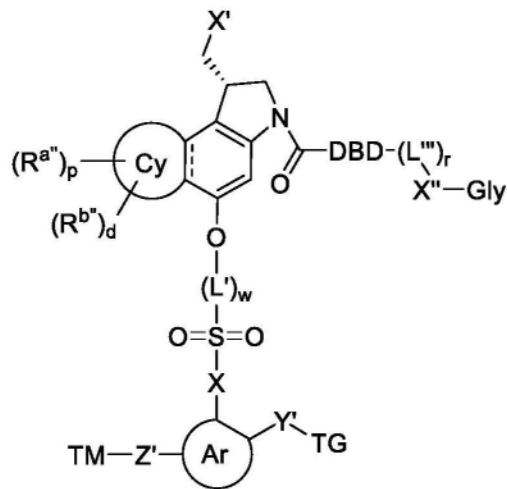
78. 如权利要求77所述的靶向药物缀合物,所述靶向药物缀合物由式(XII)、式(XIII)或式(XIV)表示：



(XII);



(XIII); 或

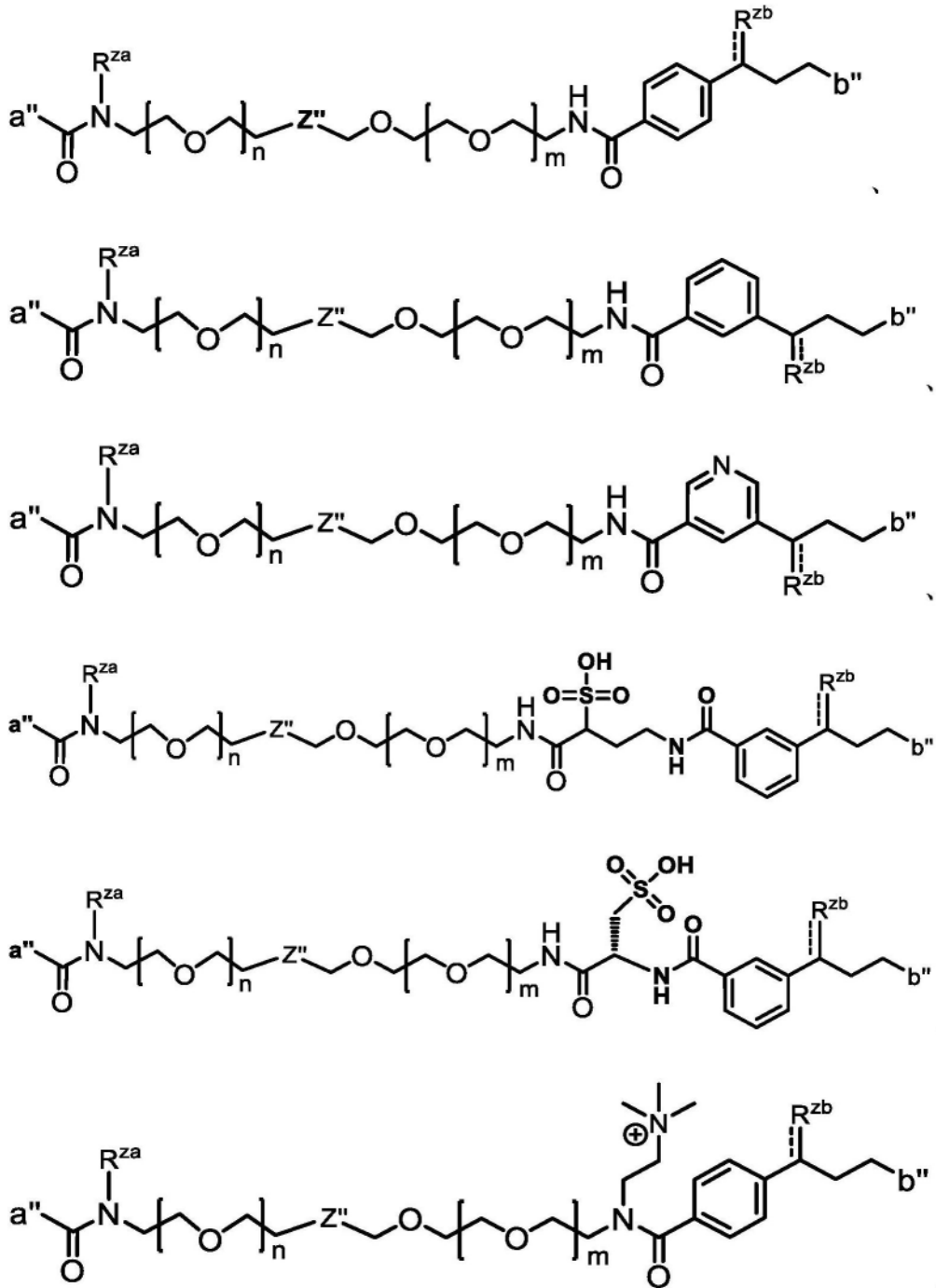


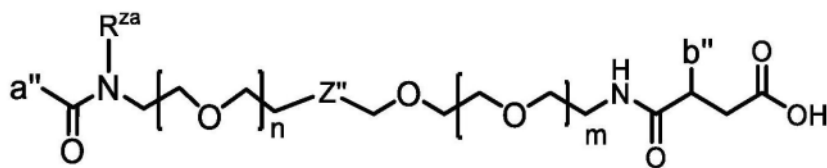
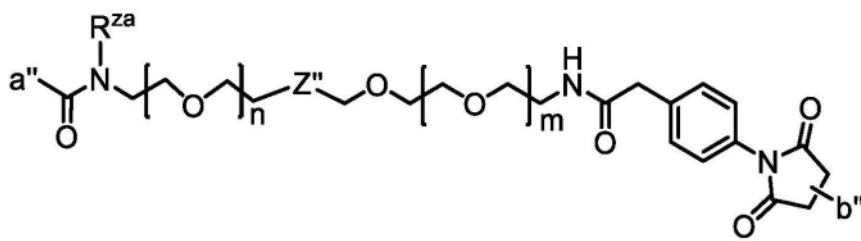
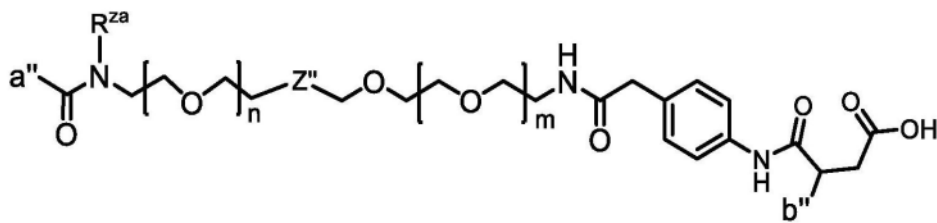
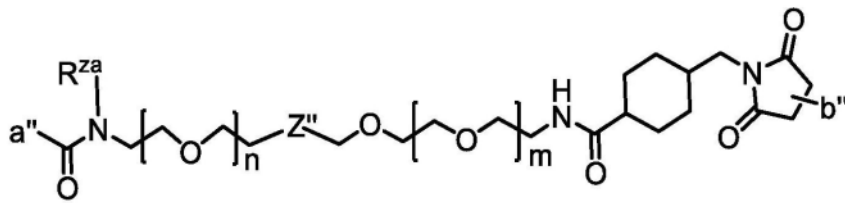
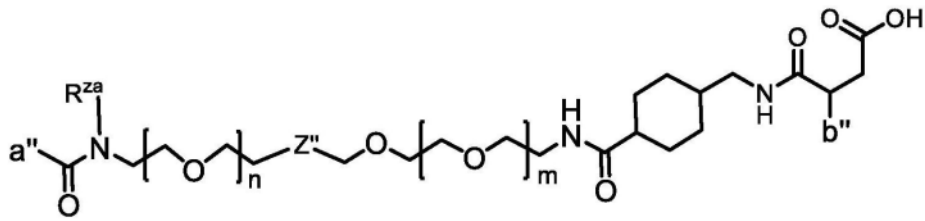
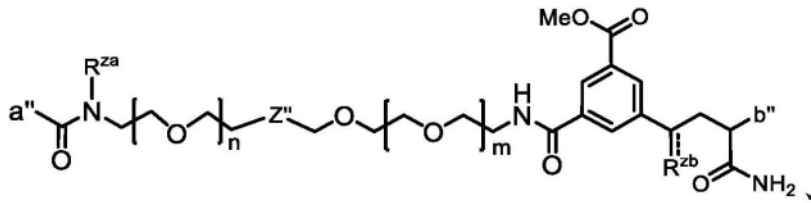
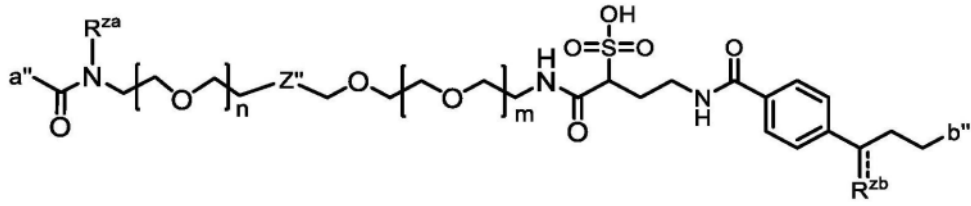
(XIV);

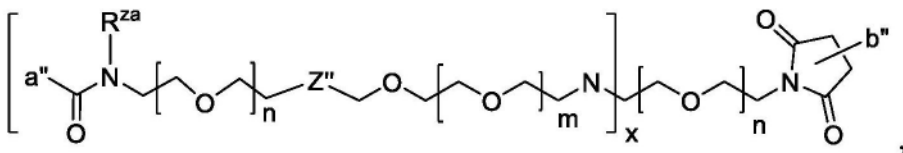
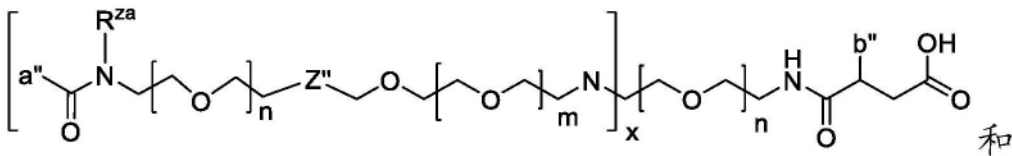
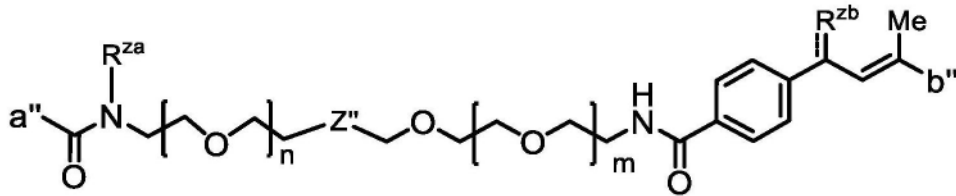
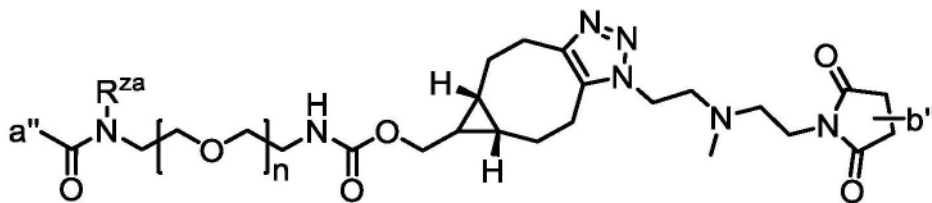
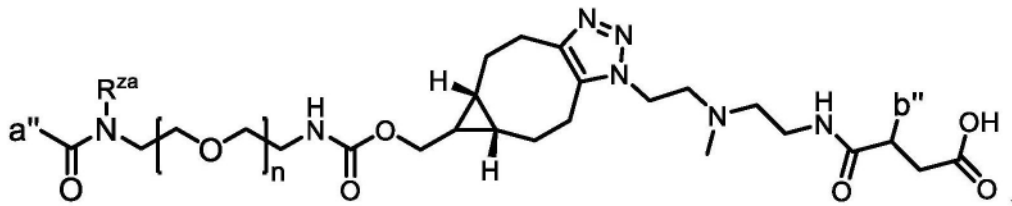
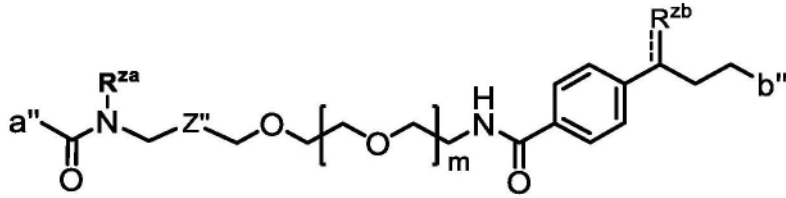
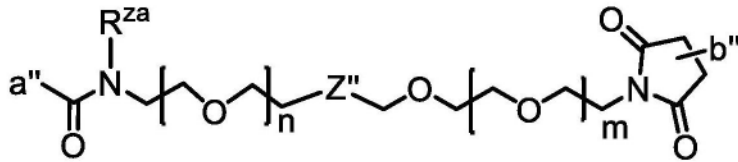
或其药学上可接受的盐；

其中TM是靶向部分。

79. 如权利要求78所述的靶向药物缀合物,其中Z'选自







其中R^{za}是H或甲基；

R^{zb}是-OH、=O或=NH₂；

n和m各自独立地是选自1-10的整数；

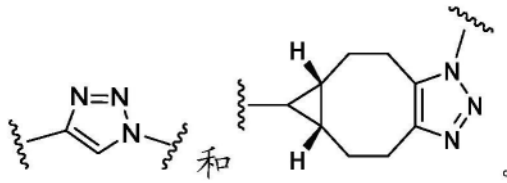
x是选自1-2的整数；

——单键或双键；

a'表示Z'与药物缀合物之间的键；

b'表示Z'与TM之间的键；并且

Z''选自



80. 如权利要求77-79中任一项所述的靶向药物缀合物,其中所述TM是纳米颗粒、免疫球蛋白、核酸、蛋白质、寡肽、多肽、抗体、抗原性多肽的片段或重复体。

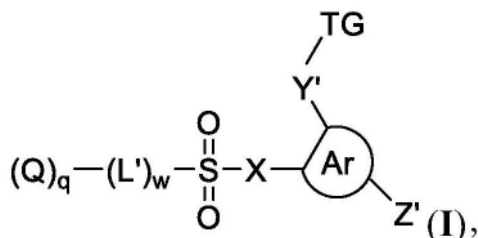
81. 如权利要求80所述的靶向药物缀合物,其中所述TM是选自以下的抗体:完整多克隆抗体、完整单克隆抗体、抗体片段、单链Fv(scFv)突变体、多特异性抗体、双特异性抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人类抗体、包含抗体的抗原决定簇部分的融合蛋白以及包含抗原识别位点的其它经修饰免疫球蛋白分子。

82. 如权利要求80所述的靶向药物缀合物,其中所述抗体选自莫罗单抗-CD3、阿昔单抗、利妥昔单抗、达克珠单抗、帕利珠单抗、英夫利昔单抗、曲妥珠单抗(赫赛汀)、依那西普、巴利昔单抗、吉妥珠单抗奥唑米星、阿仑单抗、替伊莫单抗、阿达木单抗、阿法西普、奥马珠单抗、依法珠单抗、托西莫单抗- I^{131} 、西妥昔单抗、贝伐单抗、那他珠单抗、雷珠单抗、帕尼单抗、依库珠单抗、利洛西普、培塞利珠单抗、罗米司亭、AMG-531、CNT0-148、CNT0-1275、ABT-874、LEA-29Y、贝利木单抗、TACI-Ig、第二代抗CD20、ACZ-885、托珠单抗、阿利珠单抗、美泊利单抗、帕妥珠单抗、Humax CD20、替西木单抗(CP-675 206)、替西木单抗、MDX-010、IDEC-114、伊妥珠单抗奥佐霉素、HuMax EGFR、阿柏西普、HuMax-CD4、Ala-Ala、ChAglyCD3、TRX4、卡妥索单抗、IGN101、MT-201、普瑞戈夫单抗、CH-14.18、WX-G250、AMG-162、AAB-001、莫维组单抗、MEDI-524、依芬古单抗、奥罗瑞巴、雷昔库单抗、第三代抗CD20、LY2469298和维妥组单抗。

83. 一种药物缀合物,所述药物缀合物包含活性剂和连接基团;其中所述活性剂被极性基团取代。

84. 如权利要求83所述的药物缀合物,其中所述极性基团选自糖、硫酸酯或磺酸酯。

85. 如权利要求83所述的药物缀合物,所述药物缀合物具有式(I)的结构:



或其药学上可接受的盐;

其中:

Z'是偶联基团;

Ar是芳基、杂芳基、环烷基或杂环烷基;

Y'是 $-(CR^b_2)_yN(R^a)-$ 、 $-(CR^b_2)_yO-$ 或 $-(CR^b_2)_yS-$,其定位使得如果y是1,则N、O或S原子连接

至TG;

TG是触发基团,当其被激活时会生成N、O或S原子,所述原子能够与SO₂反应以置换(Q)_q-(L')_w并且形成包括X-SO₂和Ar的间插原子的5至6元环;

X是-O⁻、-C(R^b)₂⁻或-N(R^c)⁻;

L'是间隔部分,如果存在的话,所述间隔部分经由选自O、S和N的杂原子连接至SO₂,并且经选择以使得L'与SO₂之间的键的断裂促进所述活性剂的释放;

每个Q独立地是被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的活性剂;

q是选自1至3的整数;

w和y各自独立地是0或1;并且

R^a、R^b和R^c各自独立地是氢或C₁₋₆烷基;或两个R^b与它们所连接的原子一起构成3至5元环;

前提条件是当w是0时,q是1。

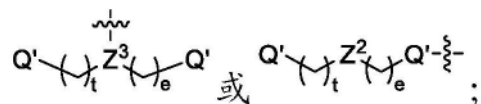
86. 如权利要求85所述的药物缀合物,其中每个Q独立地选自被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的化学治疗剂或被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的毒素。

87. 如权利要求86所述的药物缀合物,其中所述活性剂是被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的化学治疗剂。

88. 如权利要求85所述的药物缀合物,其中每个Q独立地选自被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的免疫调节化合物,被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的抗癌剂,被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的抗病毒剂,被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的抗细菌剂,被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的抗真菌剂,或被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的抗寄生虫剂,和被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的鹅膏蕈碱。

89. 如权利要求86所述的药物缀合物,其中每个Q独立地选自被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的苯二氮平,被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的倍癌霉素,被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的澳瑞他汀,被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的微管溶素,被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的SN-38,被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的PNU,或被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的依喜替康。

90. 如权利要求89所述的药物缀合物,其中每个Q独立地由以下表示:



其中:

Z²是连接基团;

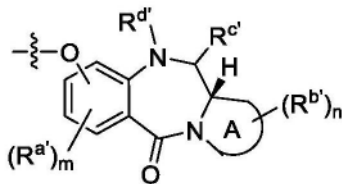
Z³是连接基团;

t是1-5的整数;

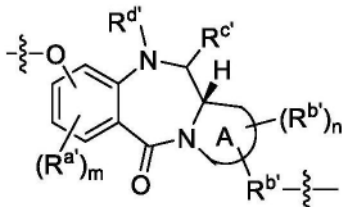
e是1-5的整数;并且

每个Q'独立地是经修饰的苯二氮平。

91. 如权利要求90所述的药物缀合物,其中每个Q'独立地由式(IIa)或式(IIb)表示:



(IIa); 或



(IIb);

或其药学上可接受的盐;

其中:

每个A是杂环;

每个 $R^{a'}$ 独立地是卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、烷基(优选低级烷基)、烯基、炔基、环烷基、芳基或杂环,优选五元环或六元环;任选地,与一个或更多个芳基或杂芳基环稠合或被其取代;

每个 $R^{b'}$ 独立地是卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基或杂环,优选五元环或六元环;任选地,与一个或更多个芳基或杂芳基环稠合或被其取代;

或者两个偕位 $R^{b'}$ 任选地一起形成氧代或 $=CH_2$;或两个 $R^{b'}$ 与间插原子一起任选地构成环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基,任选地被一个或更多个 R^f 取代

每个 R^f 独立地是卤素、羟基、-O-Gly、氰基、硝基、烷基、卤代烷基、环烷基、羧基、氨基、氨基烷基($-CH_2NH_2$ 、 $-CH_2NH(Me)$ 或 $-CH_2N(Me)_2$)、芳基或杂芳基;

$R^{c'}$ 是磺酸酯、硫酸酯、羟基、氨基或硫醇;

$R^{d'}$ 是-L"-Gly、氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;

前提条件是至少一个 $R^{c'}$ 是磺酸酯或硫酸酯,或者至少一个 $R^{d'}$ 是-L"-Gly;

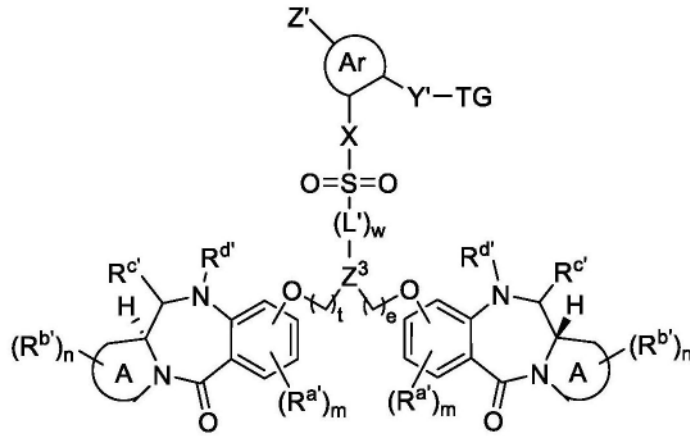
L"是键或接头;

m是选自0-3的整数;

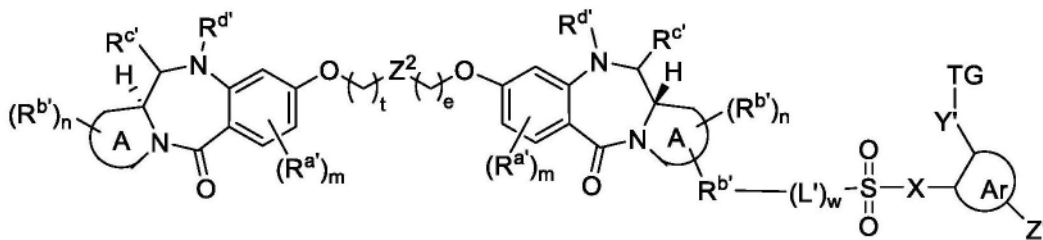
n是选自0-8的整数,只要价数允许;并且

Gly是糖基,优选单糖、二糖或寡糖。

92. 如权利要求90或91所述的药物缀合物,其中所述药物缀合物由式(IIIa)或式(IIIb)表示:



(IIIa); 或



(IIIb);

或其药学上可接受的盐。

93. 如权利要求90-92中任一项所述的药物缀合物,其中A是5至6元杂环。

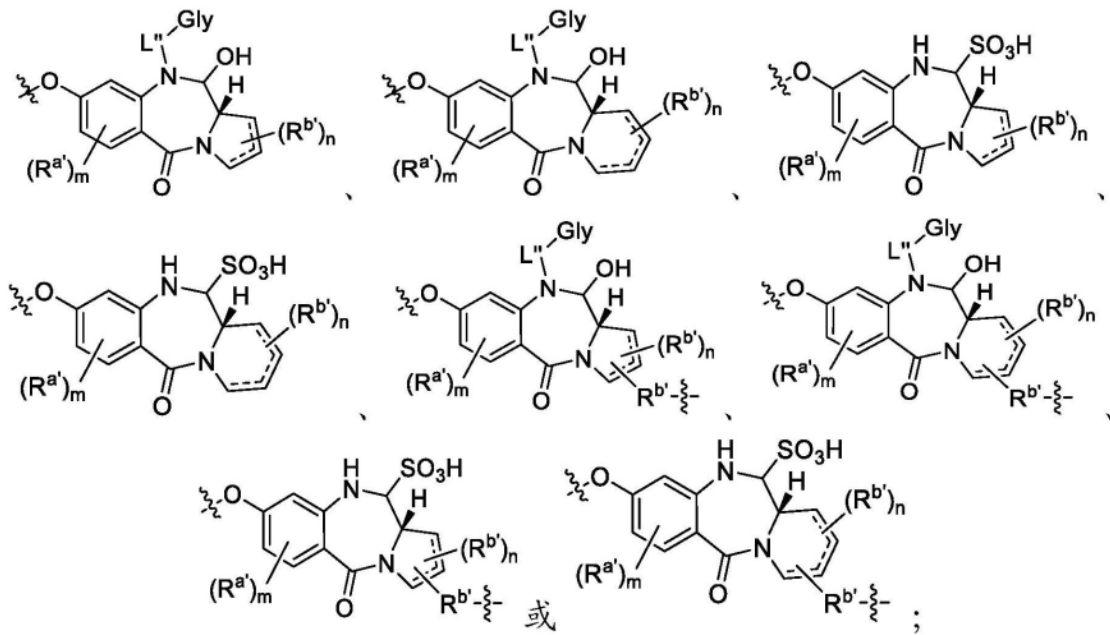
94. 如权利要求90-93中任一项所述的药物缀合物,其中 $R^{c'}$ 是羟基。

95. 如权利要求90-93中任一项所述的药物缀合物,其中 $R^{c'}$ 是磺酸酯或硫酸酯。

96. 如权利要求90-93中任一项所述的药物缀合物,其中 $R^{d'}$ 是 $-L''-Gly$ 。

97. 如权利要求90-93中任一项所述的药物缀合物,其中 $R^{d'}$ 是氢。

98. 如权利要求90所述的药物缀合物,其中每个 Q' 独立地选自:



或其药学上可接受的盐；

其中—是单键或双键。

99. 如权利要求90-98中任一项所述的药物缀合物,其中 R^a 是卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-10} 环烷基、4至10元杂环烷基、 C_{6-10} 芳基或5至10元杂芳基。

100. 如权利要求90-99中任一项所述的药物缀合物,其中一个 R^b 是烷基或两个偕位 R^b 一起形成烯基。

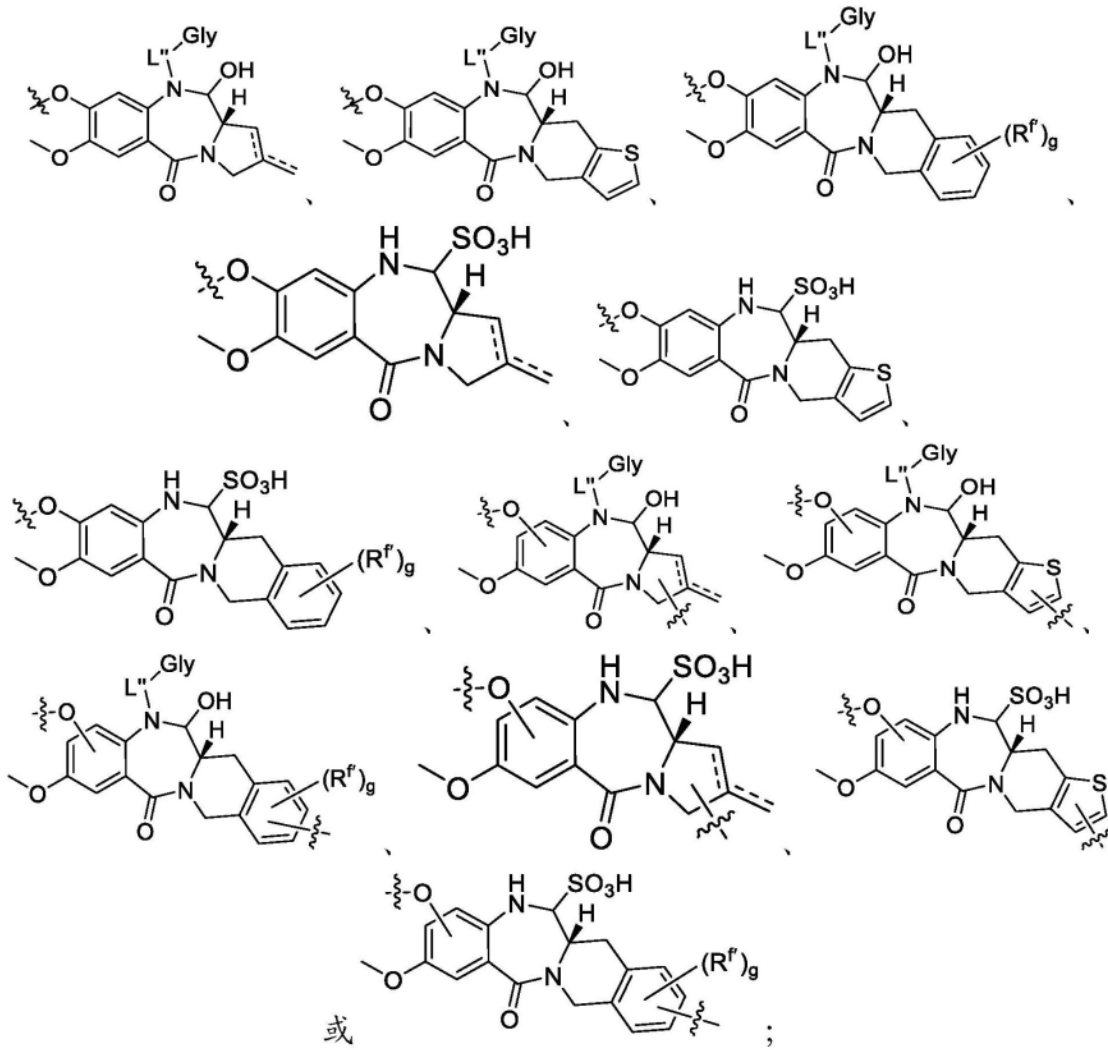
101. 如权利要求90-99中任一项所述的药物缀合物,其中两个 R^b 与间插原子一起构成环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;优选地,其中所述芳基或杂芳基是任选地被一个或更多个 R^f 取代的6元芳基或杂芳基。

102. 如权利要求101所述的药物缀合物,其中两个 R^b 与间插原子一起构成芳基或杂芳基;优选地,其中所述芳基或杂芳基是任选地被一个或更多个 R^f 取代的6元芳基或杂芳基。

103. 如权利要求101所述的药物缀合物,其中两个 R^b 与间插原子一起构成芳基。

104. 如权利要求101所述的药物缀合物,其中两个 R^b 与间插原子一起构成杂芳基。

105. 如权利要求90或98所述的药物缀合物,其中每个 Q' 独立地选自:

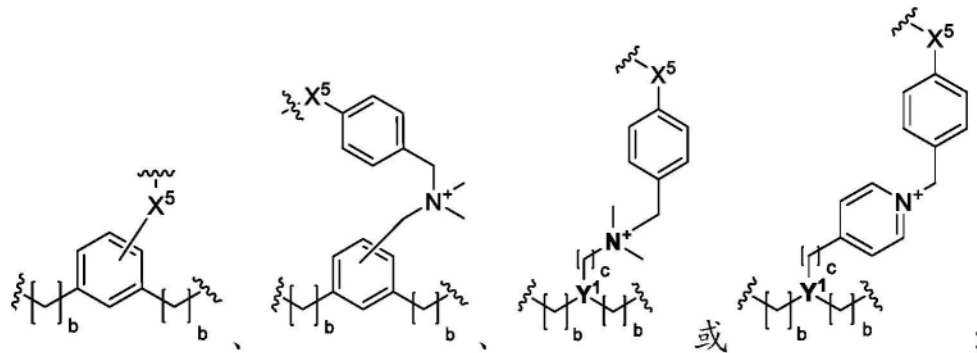


或其药学上可接受的盐；

其中==是单键或双键；并且

其中g是0-4的整数。

106. 如权利要求90-105中任一项所述的药物缀合物,其中Z³选自:



其中:

X⁵是-O-或-NR^x-;

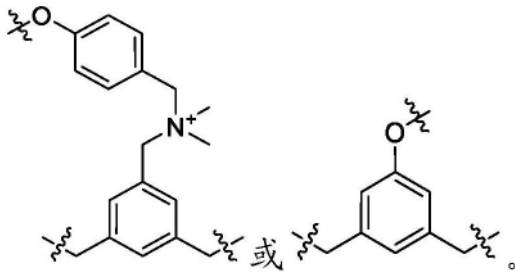
Y¹是CR^y或N;

R^y是氢或C₁₋₆烷基;

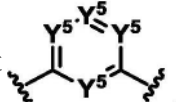
每个b独立地是1-3的整数;并且

c是1-5的整数。

107. 如权利要求106所述的药物缀合物,其中Z³选自:



108. 如权利要求90-105中任一项所述的药物缀合物,其中Z²是亚甲基。

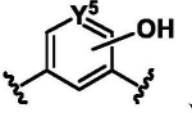
109. 如权利要求90-105中任一项所述的药物缀合物,其中Z²是  , 其中:

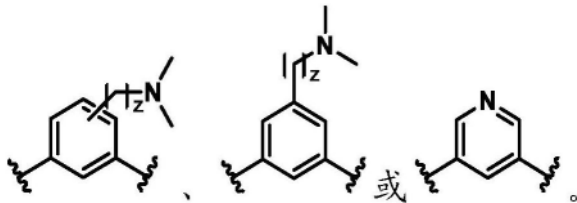
Y⁵是CR^{Y1}或N,前提条件是仅一个Y⁵是N;

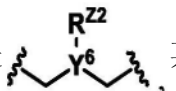
R^{Y1}是H、羟基、氨基、酰胺基或(CH₂)_z(R^{Y1a});

R^{Y1a}是氨基(例如仲氨基或叔氨基)、芳基(例如苯基)或杂芳基;并且

z是具有1至约10的值的整数。

110. 如权利要求109所述的药物缀合物,其中Z²是 



111. 如权利要求90-105中任一项所述的药物缀合物,其中Z²是  , 其中:

Y⁶是CR^{Y2}或N;

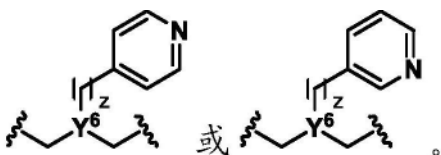
R^{Y2}是H或烷基,优选低级烷基;

R^{Z2}是(CH₂)_zR^{Z2a};

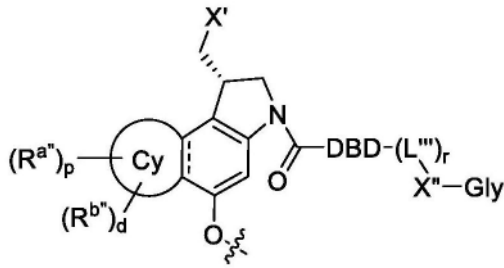
R^{Z2a}是氨基(优选叔氨基)、芳基(例如苯基)或杂芳基;并且

z是具有0至约10的值的整数。

112. 如权利要求111所述的药物缀合物,其中Z²是 



113. 如权利要求89所述的药物缀合物,其中每个Q独立地是式(IV)的基团:



(IV);

或其药学上可接受的盐；

其中：

环Cy选自芳基、杂芳基、环烷基或杂环烷基；

===是单键或双键；

X'是卤素；

X''选自-NR-、-S-或-O-；

每个R^a和R^b独立地是卤素、氨基、羟基、烷氧基、乙酰基、羟烷基、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、=O、羧基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基或-(L'')_r-X''-Gly；

p是选自0-4的整数；

d是选自0-4的整数；

r是0-1的整数；

DBD是DNA结合结构域；

每个L''是键或接头，并且

Gly是单糖、二糖或寡糖。

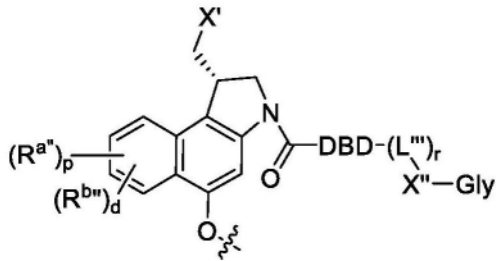
114. 如权利要求113所述的药物缀合物，其中每个L''是C₁₀-C₁₀₀直链或支链、饱和或不饱和亚烷基部分，任选地包含一个或更多个双键和/或三键。

115. 如权利要求113所述的药物缀合物，其中每个p和每个d独立地是0-1的整数。

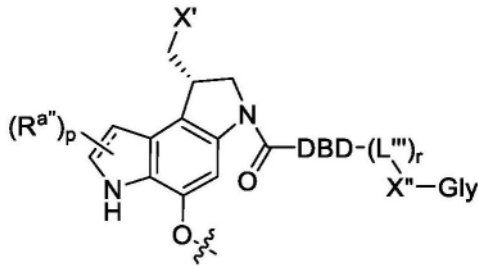
116. 如权利要求113所述的药物缀合物，其中Cy是苯基。

117. 如权利要求113所述的药物缀合物，其中Cy是吡咯烷或吡咯。

118. 如权利要求113-117中任一项所述的药物缀合物，其中每个Q独立地是式(IVa)或式(IVb)的基团：



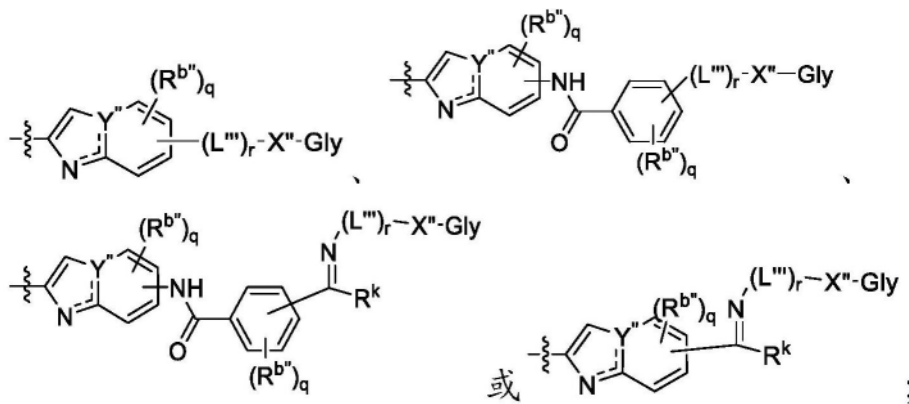
(IVa);



(IVb);

或其药学上可接受的盐。

119. 如权利要求113-118中任一项所述的药物缀合物,其中所述DBD-(L'')_r-X''-Gly单元选自:



或其药学上可接受的盐;

其中:

Y''是C或N;

X''选自-NR-、-S-或-O-;

R是氢或烷基;

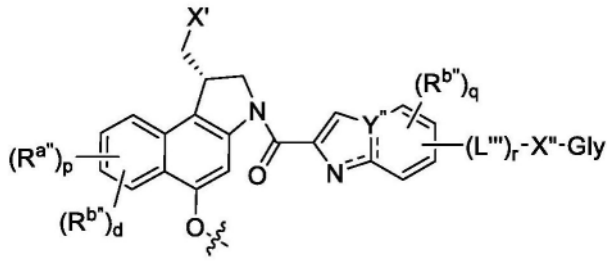
每个R^{b''}独立地是卤素、氨基、羟基、乙酰基、羟烷基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基或-(L'')_r-X''-Gly;

R^k是烷基或羟烷基,优选C₁-C₃烷基;

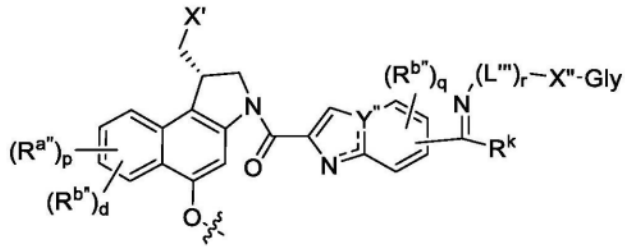
q是选自0-3的整数;并且

===是单键或双键。

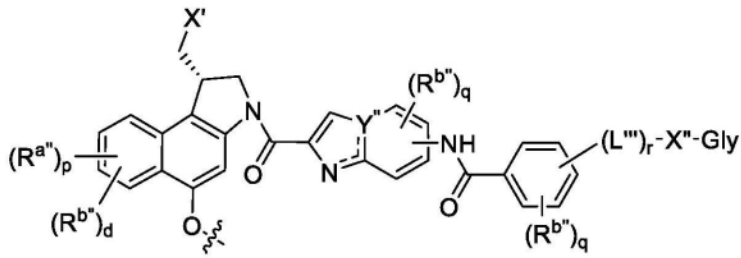
120. 如权利要求119所述的药物缀合物,其中每个Q独立地选自式(IVc)、式(IVd)、式(IVe)、式(IVf)、式(IVg)、式(IVh)、式(IVi)或式(IVj)的基团:



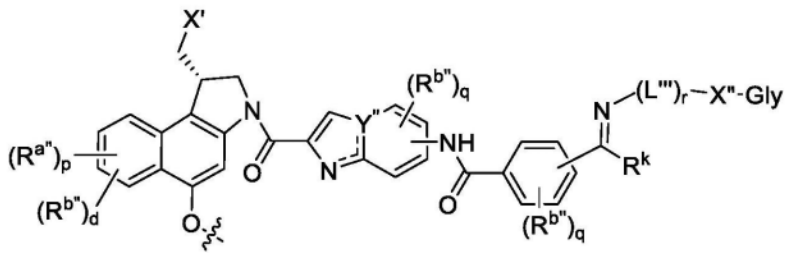
(IVc);



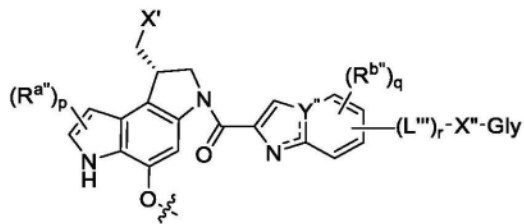
(IVd);



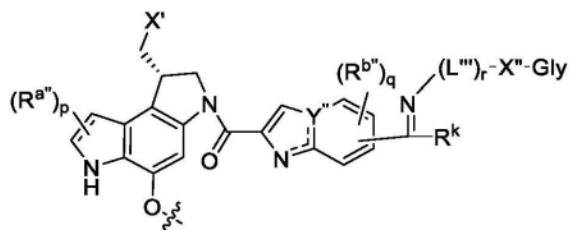
(IVe);



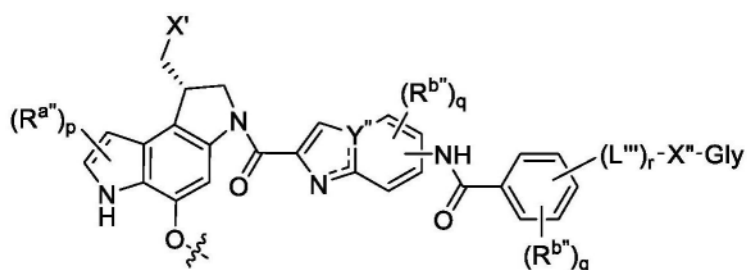
(IVf);



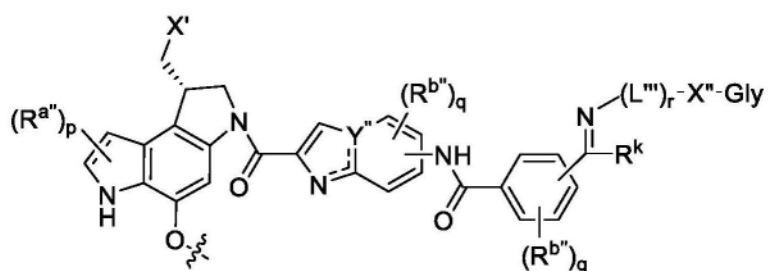
(IVg);



(IVh);



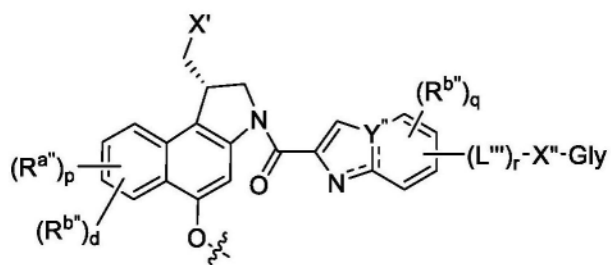
(IVi);



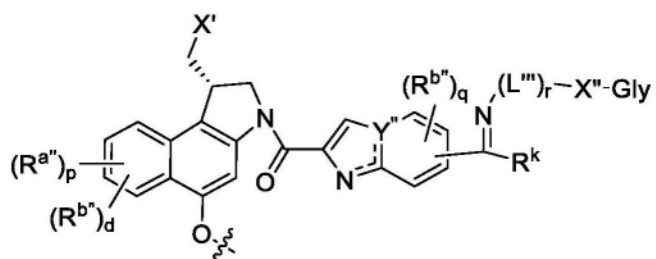
(IVj);

或其药学上可接受的盐。

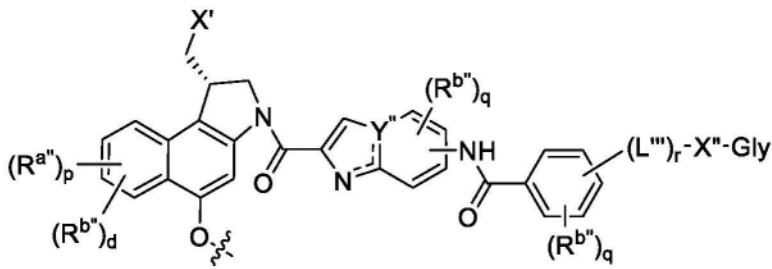
121. 如权利要求120所述的药物缀合物,其中每个Q独立地选自式(IVc)、式(IVd)、式(IVe)或式(IVf)的基团:



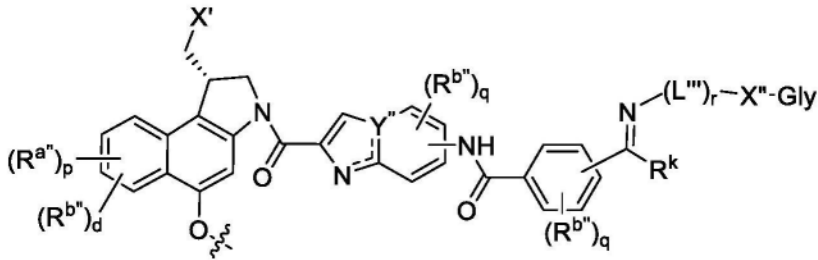
(IVc);



(IVd);



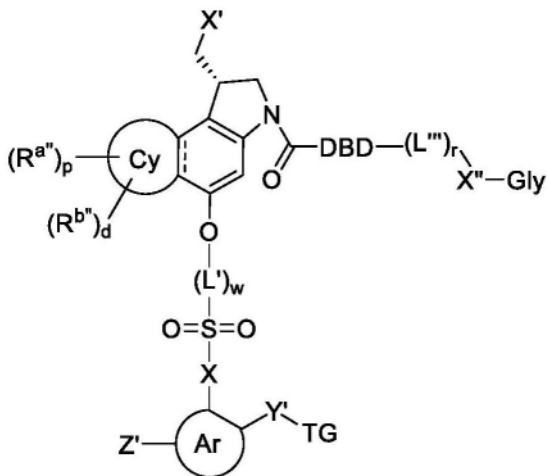
(IVe);



(IVf);

或其药学上可接受的盐。

122. 如权利要求113-121中任一项所述的药物缀合物,其中所述药物缀合物由式(V)表示:



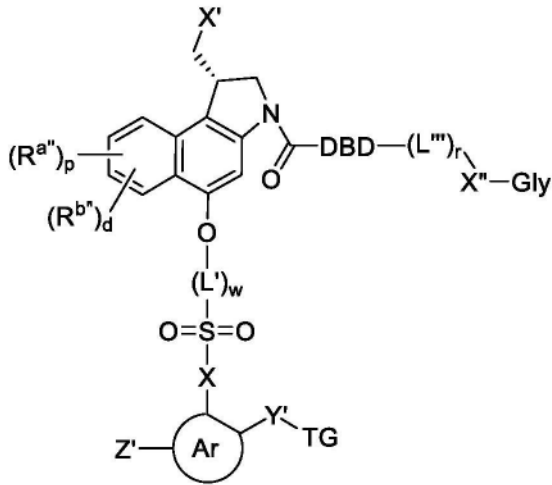
(V);

或其药学上可接受的盐。

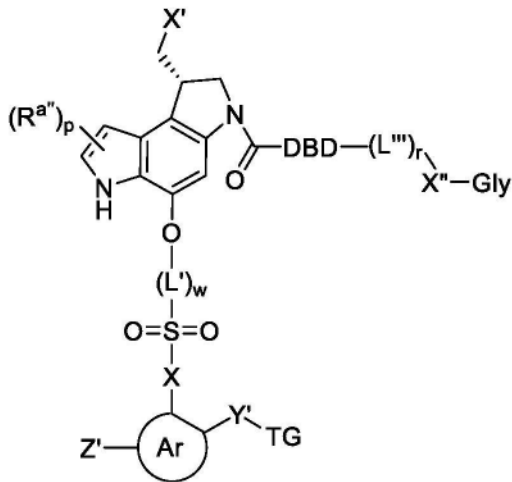
123. 如权利要求122所述的药物缀合物,其中Cy是苯基。

124. 如权利要求122所述的药物缀合物,其中Cy选自吡咯烷或吡咯。

125. 如权利要求122所述的药物缀合物,其中所述药物缀合物由式(Va)或式(Vb)表示:



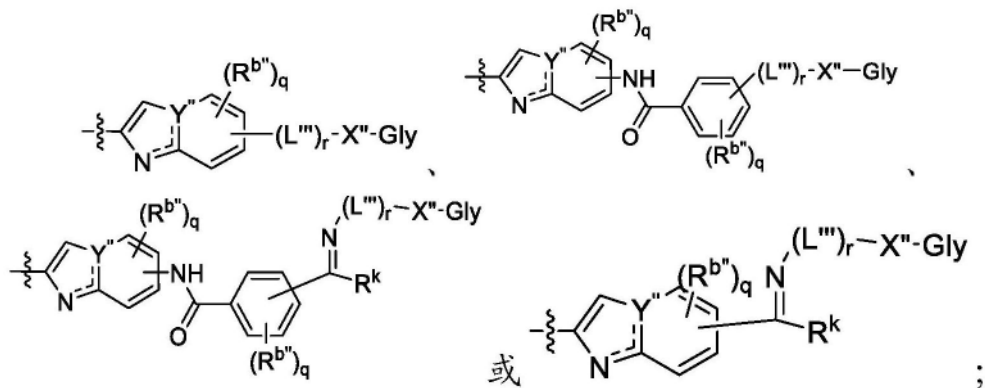
(Va);



(Vb);

或其药学上可接受的盐。

126. 如权利要求122-125中任一项所述的药物缀合物,其中所述DBD- (L''') _r-X''-Gly单元选自:



或其药学上可接受的盐;

其中:

Y^o是C或N;

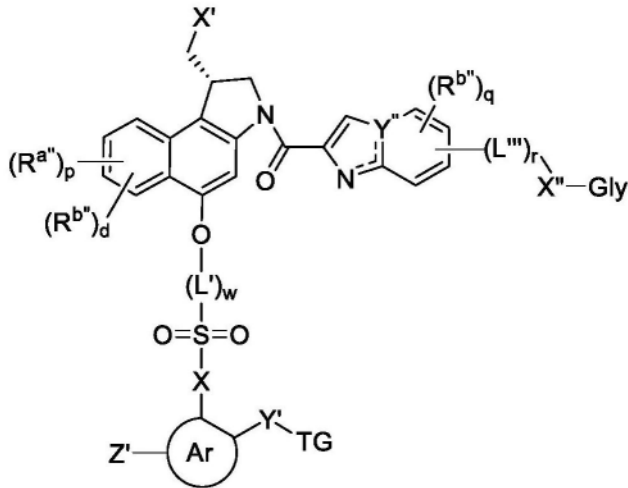
每个R^b独立地是卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;

R^k是烷基或羟烷基,优选C₁-C₃烷基;

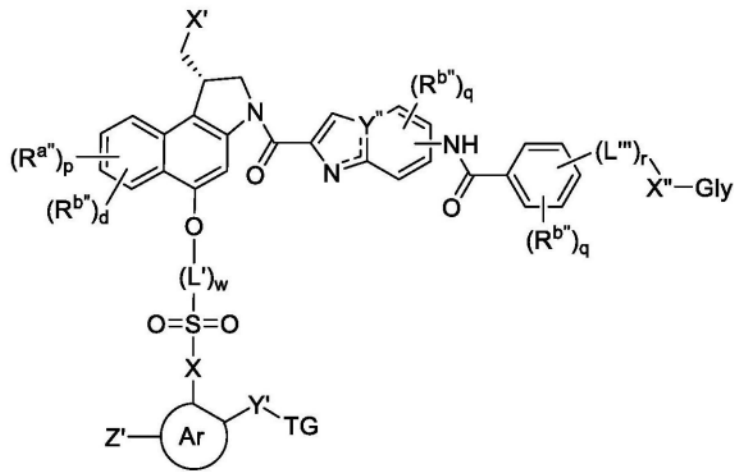
q是选自0-3的整数;并且

==是单键或双键。

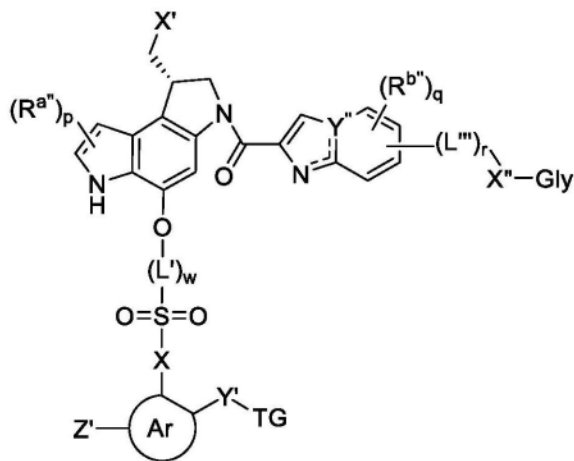
127. 如权利要求126所述的药物缀合物,其中所述药物缀合物选自式(Vc)、式(Vd)、式(Ve)或式(Vf)的基团:



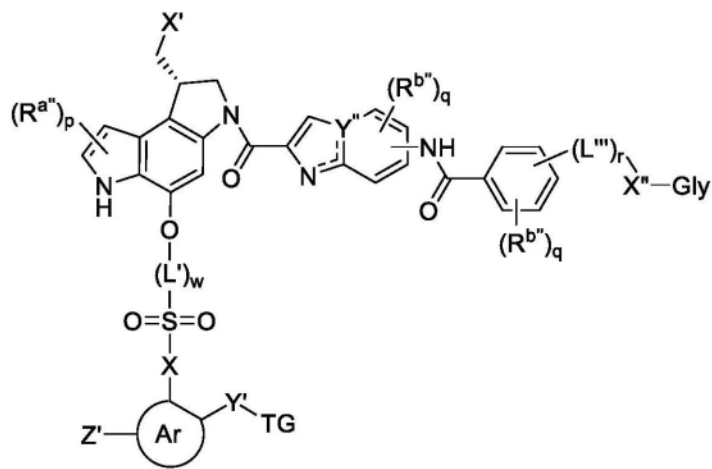
(Vc);



(Vd);



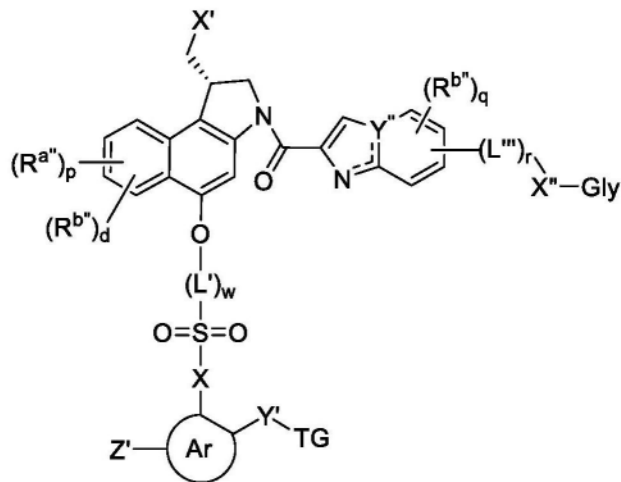
(Ve);



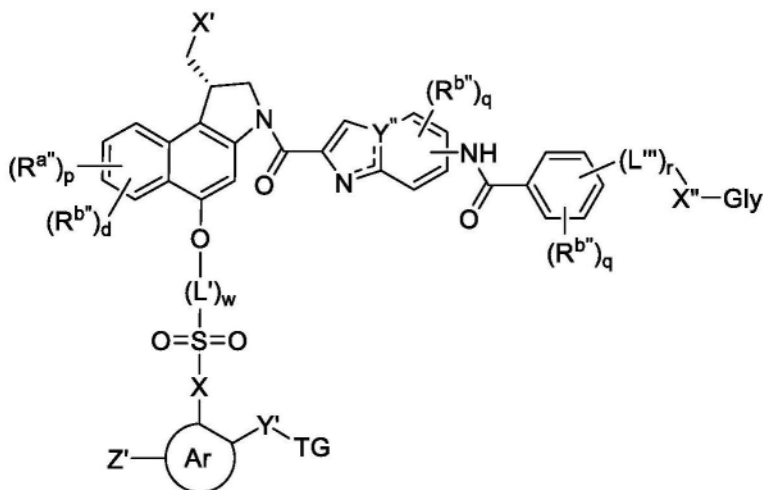
(Vf);

或其药学上可接受的盐。

128. 如权利要求127所述的药物缀合物,其中所述药物缀合物由式(Vc)或式(Vd)表示:



(Vc); 或



(Vd);

或其药学上可接受的盐。

129. 如权利要求113-128中任一项所述的药物缀合物,其中:

每个 R^a 独立地是氢、卤素、氨基、羟基、烷氧基、乙酰基、羟烷基、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、=O、羧基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基或 $(L''')_r-X''-Gly$;并且

每个 R^b 独立地是氢、卤素、氨基、羟基、烷氧基、乙酰基、羟烷基、氰基、硝基、烷基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基或 $(L''')_r-X''-Gly$ 。

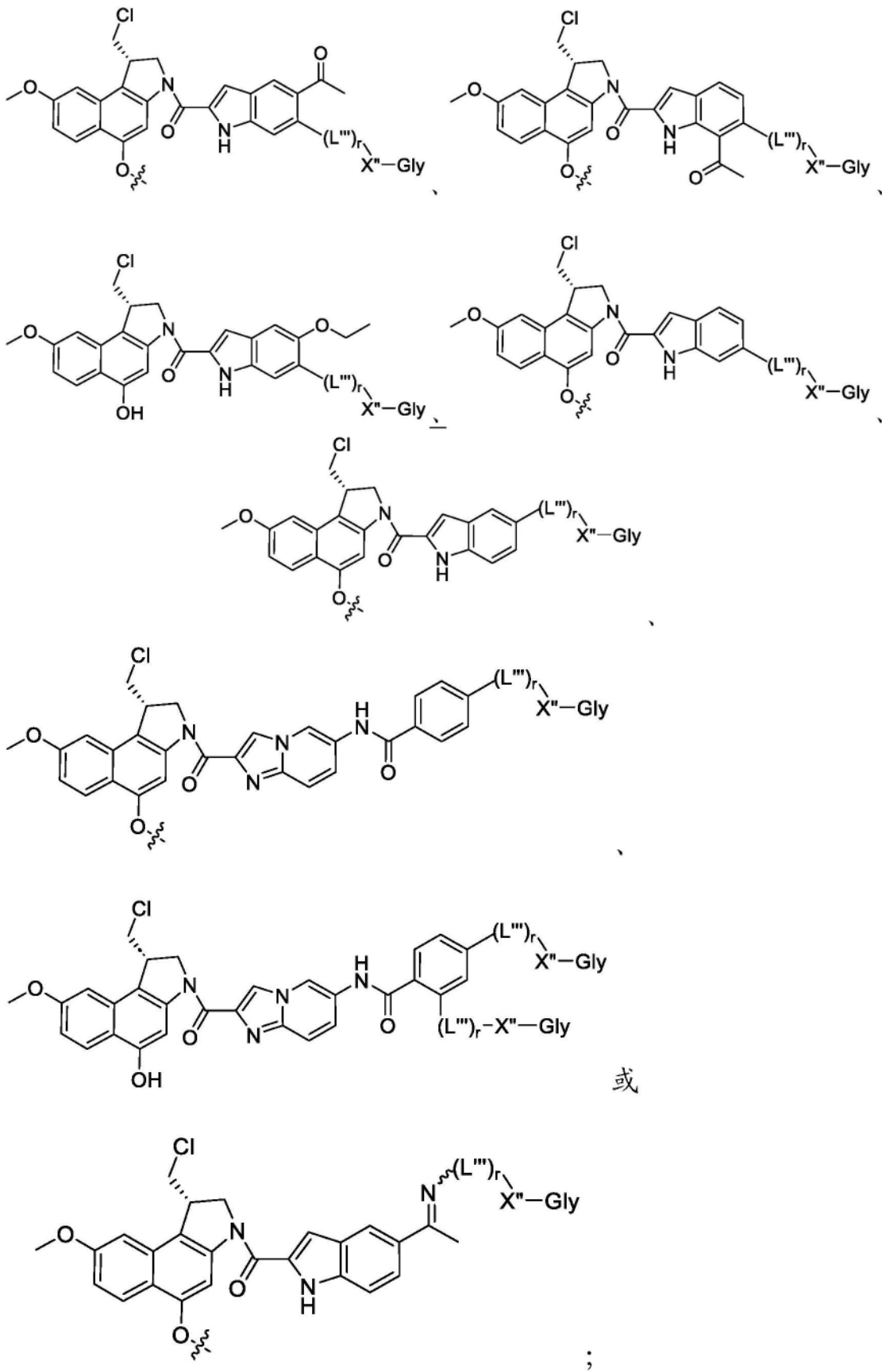
130. 如权利要求113-129中任一项所述的药物缀合物,其中 X' 是Cl。

131. 如权利要求113-129中任一项所述的药物缀合物,其中 X' 是Br。

132. 如权利要求113-131中任一项所述的药物缀合物,其中 Y'' 是C。

133. 如权利要求113-131中任一项所述的药物缀合物,其中 Y'' 是N。

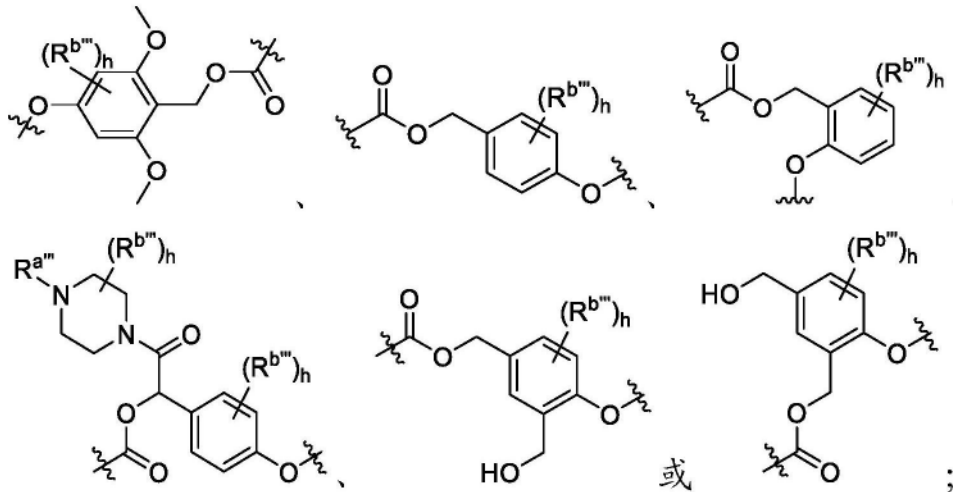
134. 如权利要求113-133中任一项所述的药物缀合物,其中Q选自:



或其药学上可接受的盐。

135. 如权利要求113-134中任一项所述的药物缀合物,其中 L''' 是键。

136. 如权利要求113-134中任一项所述的药物缀合物,其中L''是选自以下的接头:



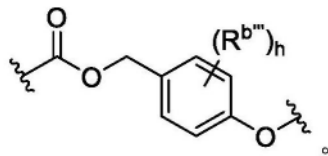
其中:

R''''独立地是氢、卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、=O、羧基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;并且

每个R''''独立地是氢、卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;并且

h是选自0-4的整数,只要价数允许。

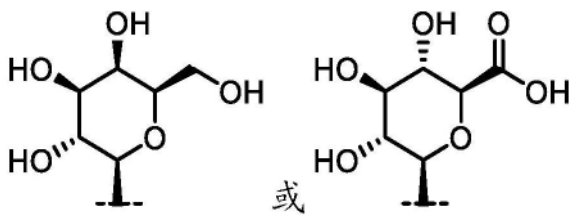
137. 如权利要求136所述的药物缀合物,其中L''是



138. 如权利要求91-137中任一项所述的药物缀合物,其中Gly是单糖。

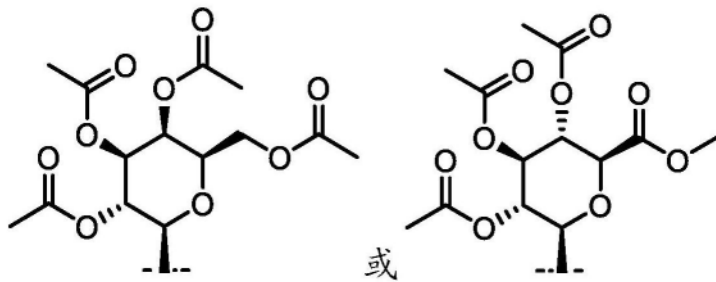
139. 如权利要求138所述的药物缀合物,其中Gly是选自葡萄糖、葡萄糖醛酸、岩藻糖和半乳糖的单糖。

140. 如权利要求139所述的药物缀合物,其中Gly是



任选地,其中1个或更多个-OH基团被保护基掩蔽。

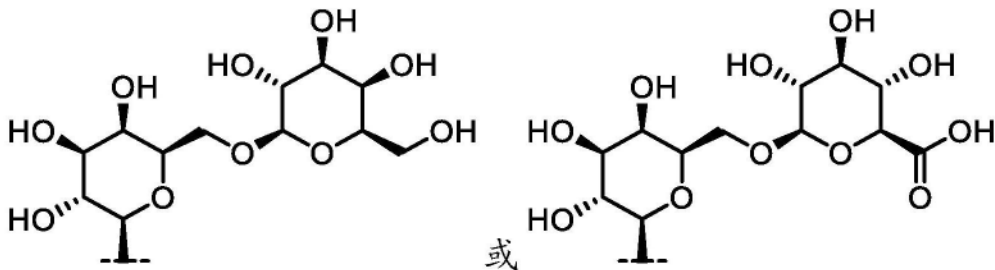
141. 如权利要求140所述的药物缀合物,其中Gly是



142. 如权利要求91-137中任一项所述的药物缀合物,其中Gly是二糖。

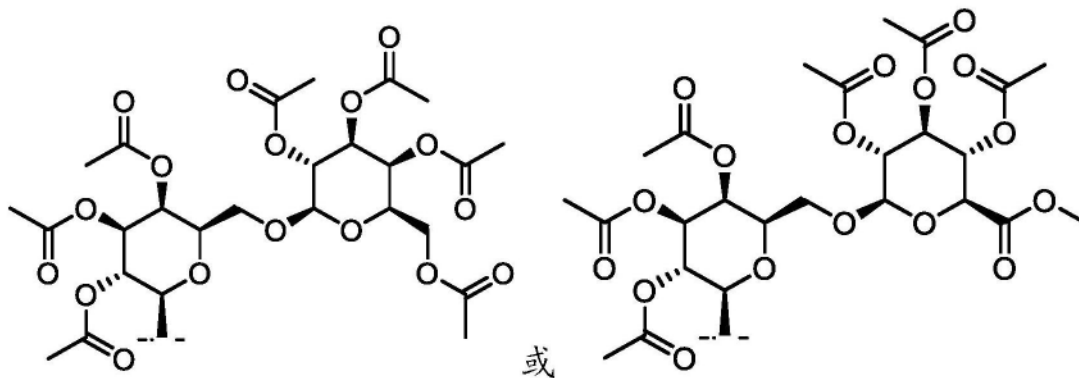
143. 如权利要求142所述的药物缀合物,其中Gly是包含葡萄糖、葡萄糖醛酸、岩藻糖、半乳糖或它们的组合的二糖。

144. 如权利要求143所述的药物缀合物,其中Gly是



任选地,其中1个或更多个-OH基团被保护基掩蔽。

145. 如权利要求144所述的药物缀合物,其中Gly是



146. 如权利要求90-145中任一项所述的药物缀合物,其中X”或L”在异头位置处与Gly偶联。

147. 如权利要求85-146中任一项所述的药物缀合物,其中Ar是芳基。

148. 如权利要求147所述的药物缀合物,其中Ar是C₆₋₁₀芳基。

149. 如权利要求148所述的药物缀合物,其中Ar是苯基。

150. 如权利要求85-145中任一项所述的药物缀合物,其中Ar是杂芳基。

151. 如权利要求150所述的药物缀合物,其中Ar是5至10元杂芳基。

152. 如权利要求85-151中任一项所述的药物缀合物,其中Y’是-(CR^b₂)_yN(R^a)-或-(CR^b₂)_yO⁻。

153. 如权利要求152所述的药物缀合物,其中Y’是-(CR^b₂)_yO⁻。

154. 如权利要求152或153所述的药物缀合物,其中y是0或1。

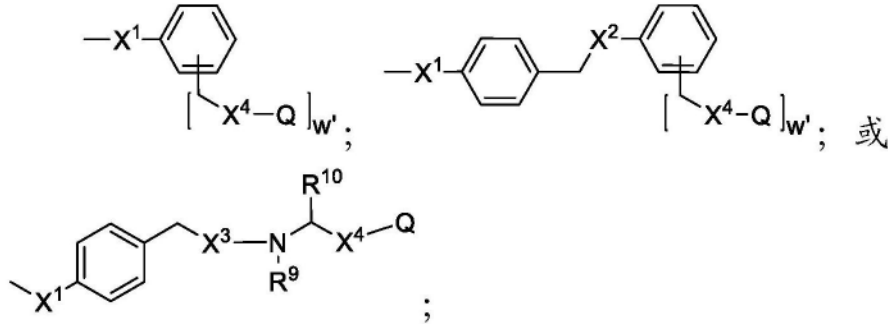
155. 如权利要求152或153所述的药物缀合物,其中y是1。

156. 如权利要求85-155中任一项所述的药物缀合物,其中X是-O-、-C(R^b)₂-或-N(R^c)-。

157. 如权利要求156所述的药物缀合物,其中X是-O-。

158. 如权利要求85-157中任一项所述的药物缀合物,其中L'是间隔部分,并且形成-O-、-OC(O)-、-OC(O)O-或-OC(O)NH-键联,包括所述活性剂的杂原子。

159. 如权利要求158所述的药物缀合物,其中Q-(L')_w-选自



其中:

X⁴不存在,或者形成-O-、-OC(O)-、-OC(O)O-或-OC(O)NH-键联,包括Q的杂原子;

X¹是-O-或-NR^a-;

R^a是氢或烷基;

X²是-O-、-OC(O)-、-OC(O)O-或-OC(O)NH-;

X³是-OC(=O)-;

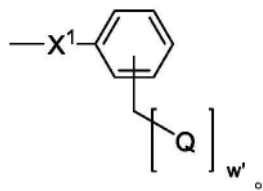
w'是具有1-5的值的整数;

R⁹和R¹⁰各自独立地是氢、烷基、芳基或杂芳基,其中烷基、芳基和杂芳基未被取代或被一个或多个例如选自烷基、-(CH₂)_uNH₂、-(CH₂)_uNR^{u1}R^{u2}和-(CH₂)_uSO₂R^{u3}的取代基取代;

R^{u1}、R^{u2}和R^{u3}各自独立地是氢、烷基、芳基或杂芳基;并且

u是具有1-10的值的整数。

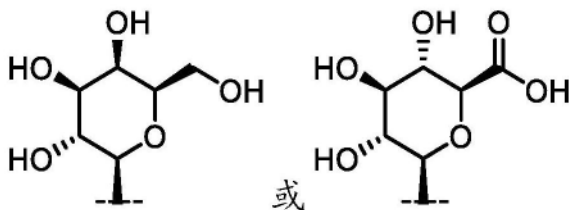
160. 如权利要求159所述的药物缀合物,其中Q-(L')_w-是



161. 如权利要求85-160中任一项所述的药物缀合物,其中TG是单糖。

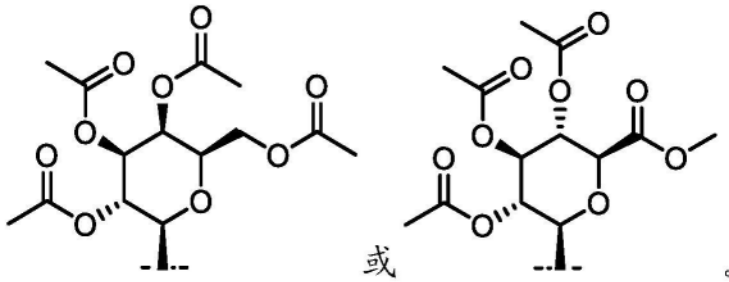
162. 如权利要求161所述的药物缀合物,其中TG是选自葡萄糖、葡萄糖醛酸、岩藻糖和半乳糖的单糖。

163. 如权利要求162所述的药物缀合物,其中TG是



任选地,其中1个或多个-OH基团被保护基掩蔽。

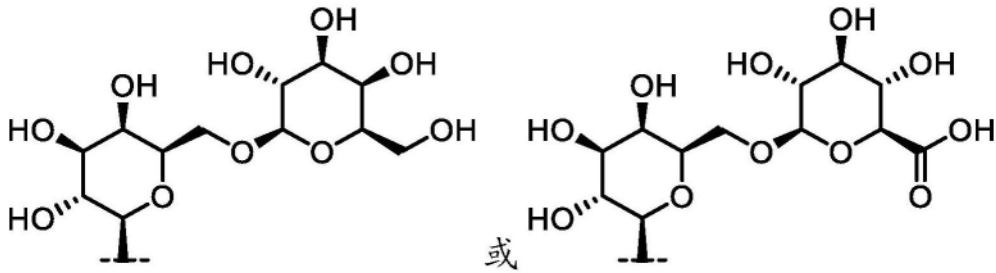
164. 如权利要求163所述的药物缀合物,其中TG是



165. 如权利要求85-160中任一项所述的药物缀合物,其中TG是二糖。

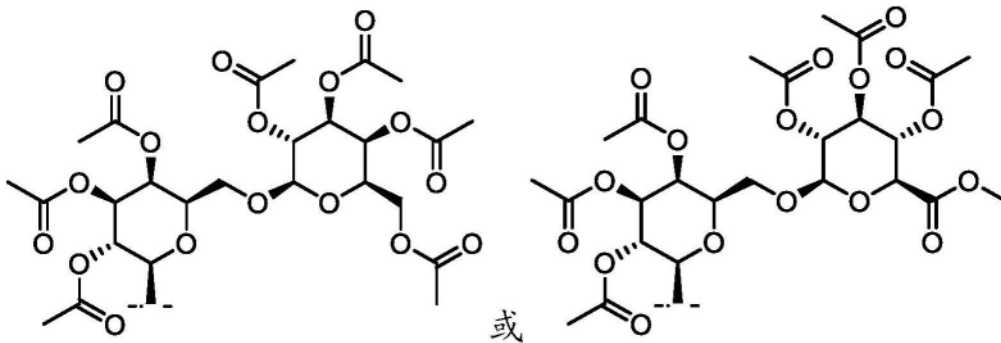
166. 如权利要求165所述的药物缀合物,其中TG是包含葡萄糖、葡萄糖醛酸、岩藻糖、半乳糖或它们的组合的二糖。

167. 如权利要求166所述的药物缀合物,其中TG是



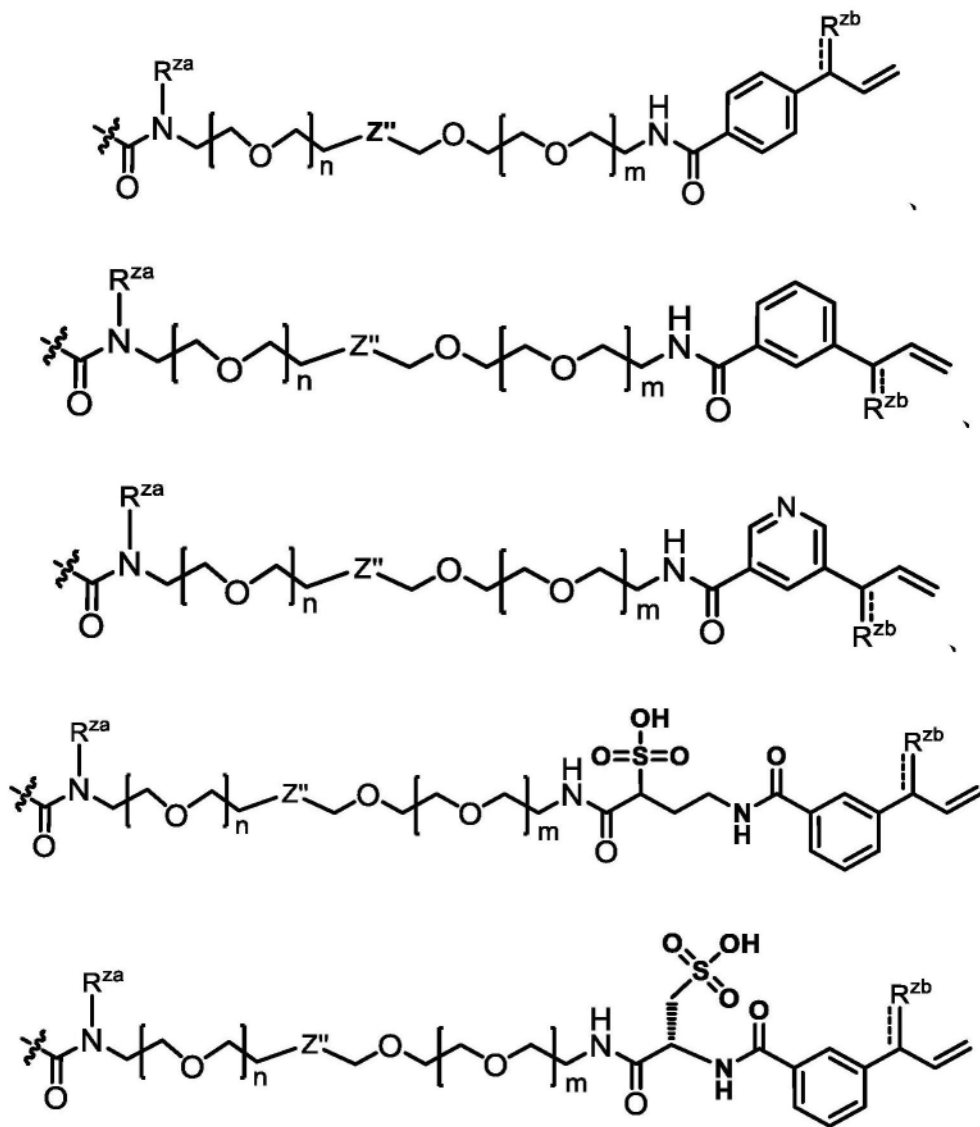
任选地,其中1个或更多个-OH基团被保护基掩蔽。

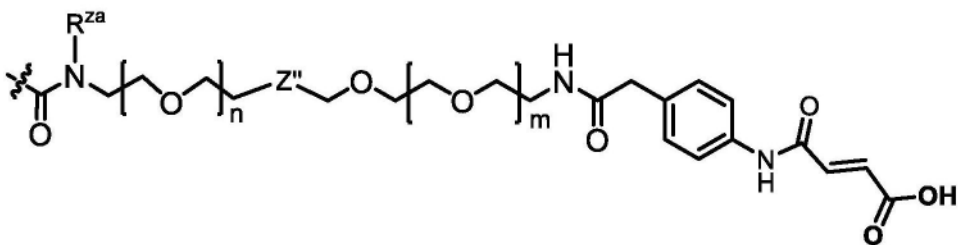
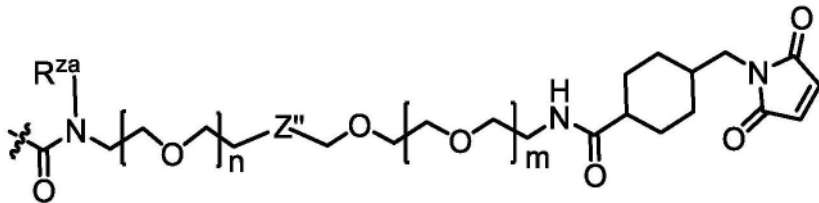
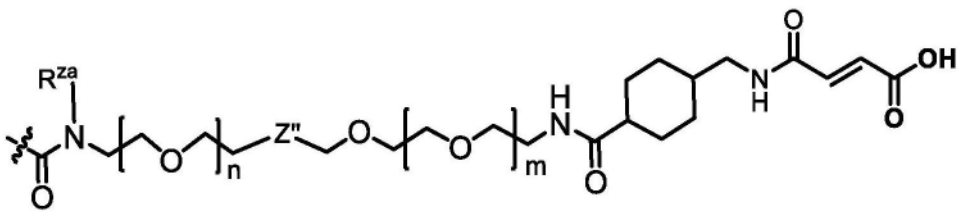
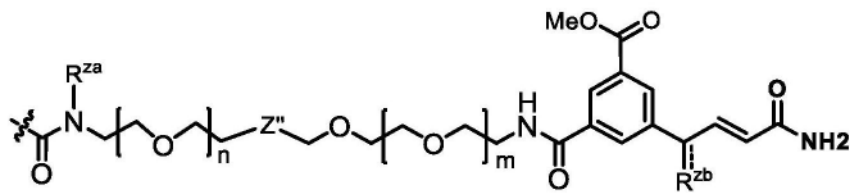
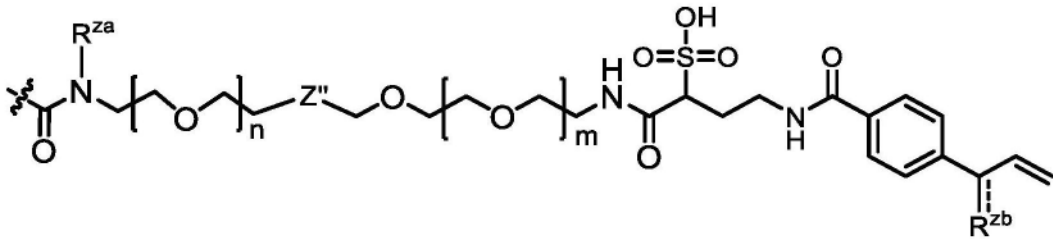
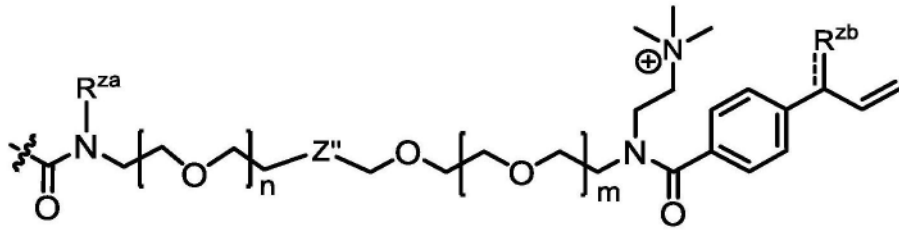
168. 如权利要求167所述的药物缀合物,其中TG是

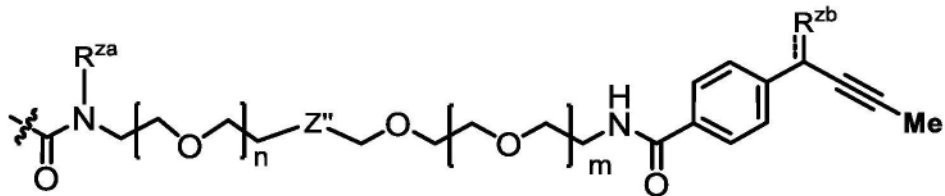
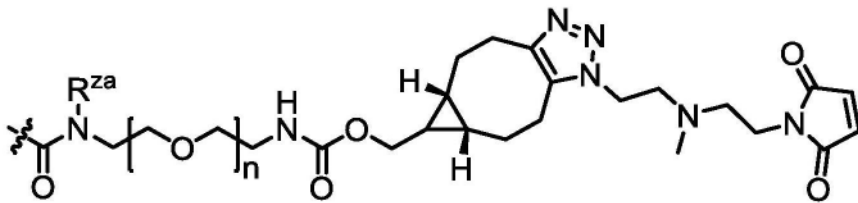
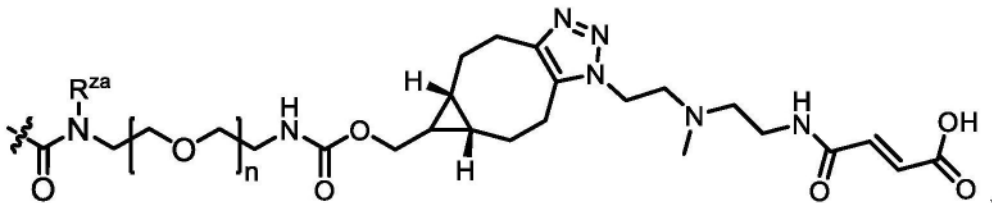
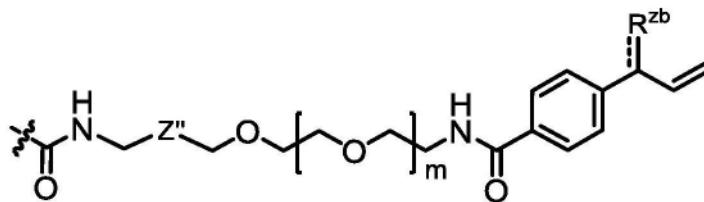
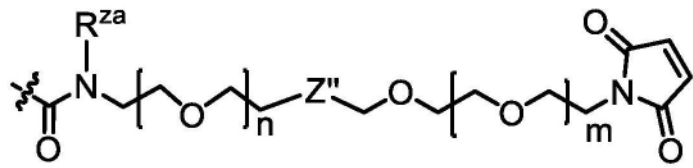
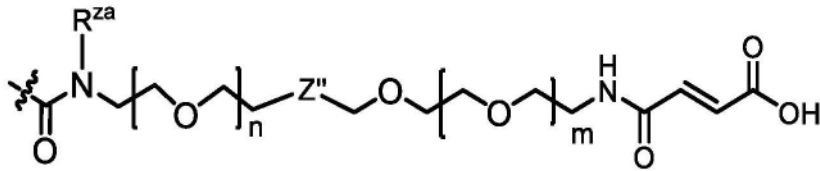
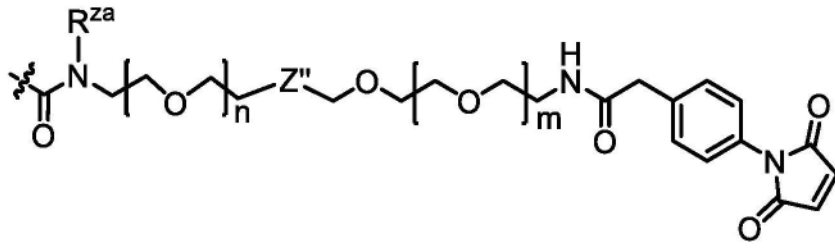


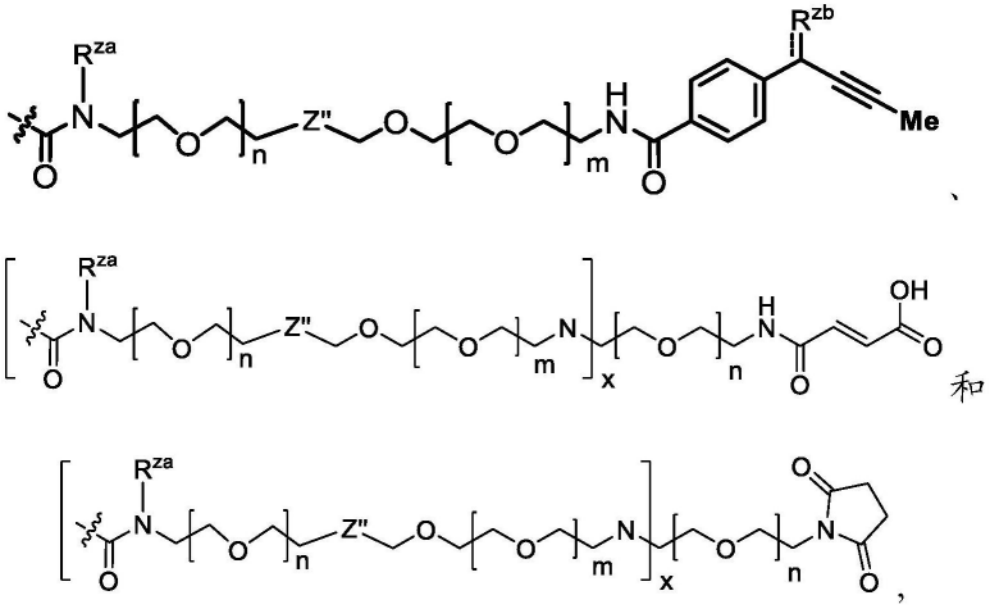
169. 如权利要求85-168中任一项所述的药物缀合物,其中L'在异头位置处与TG偶联。

170. 如权利要求85-169中任一项所述的缀合物,其中Z'选自









其中：

R^{za} 是H或甲基；

R^{zb} 是-OH、=O或=NHOH；

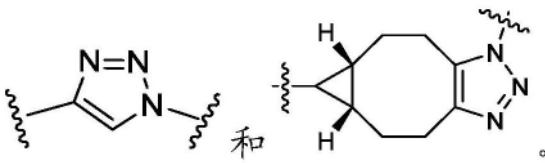
n和m各自独立地是选自1-10的整数；

x是选自1-2的整数；

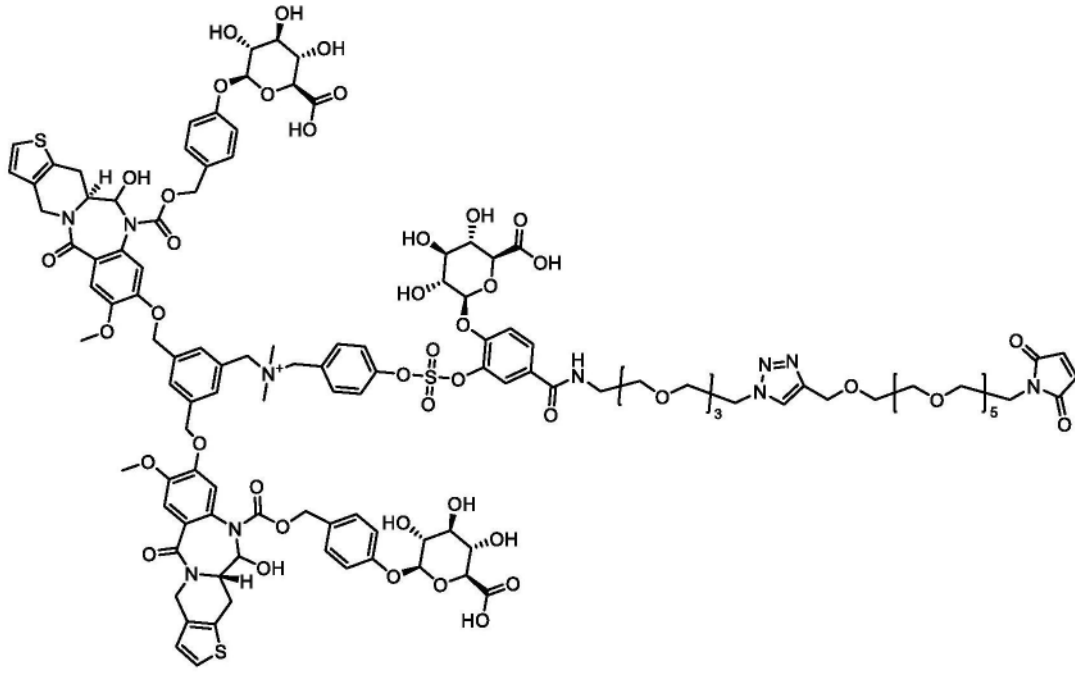
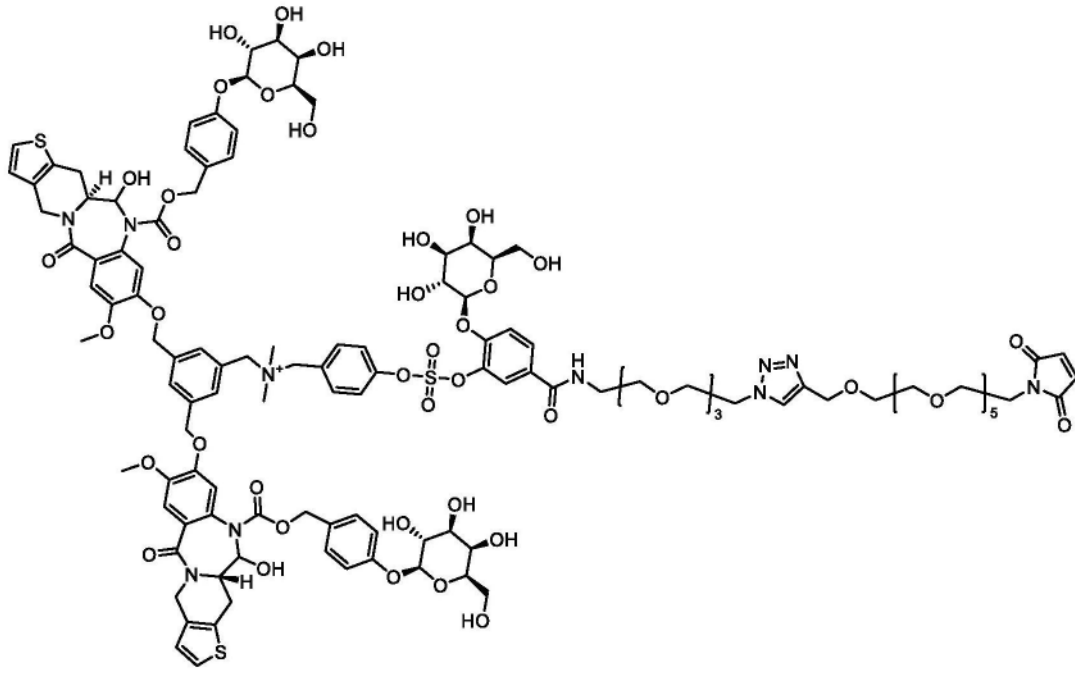
$\text{---}\text{Z}''\text{---}$ 表示 Z'' 与药物缀合物之间的键；

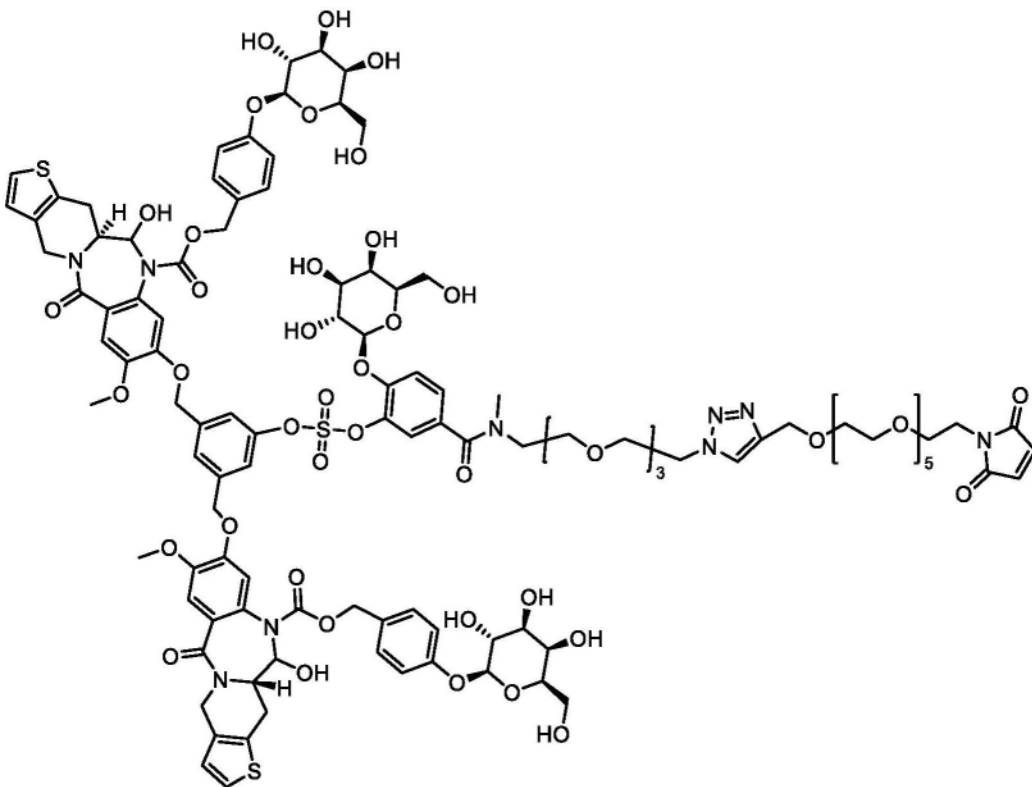
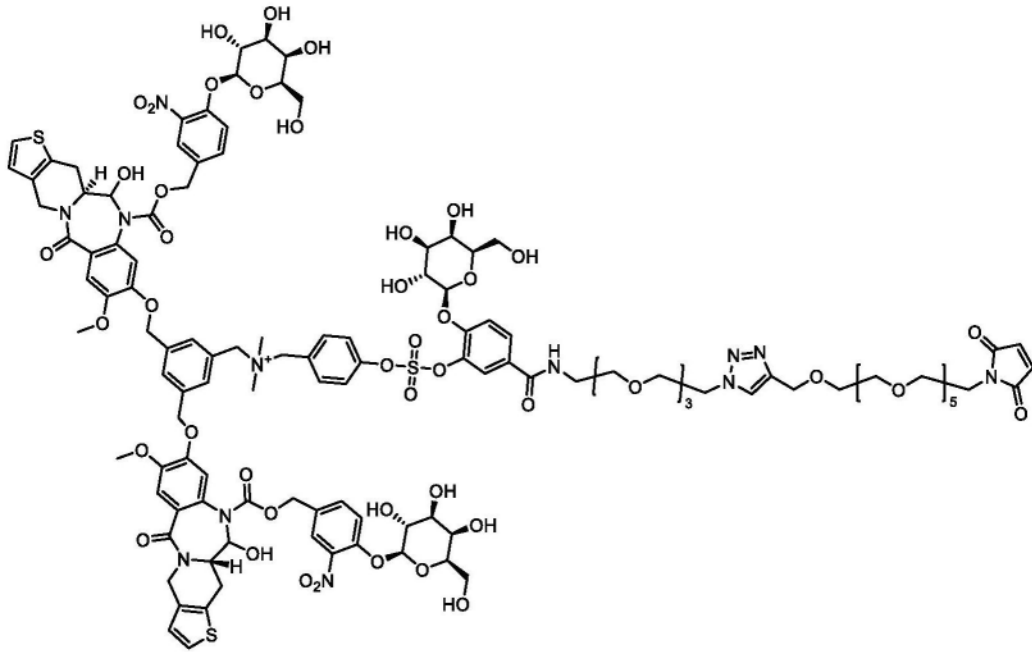
$\text{---}\text{---}$ 单键或双键；并且

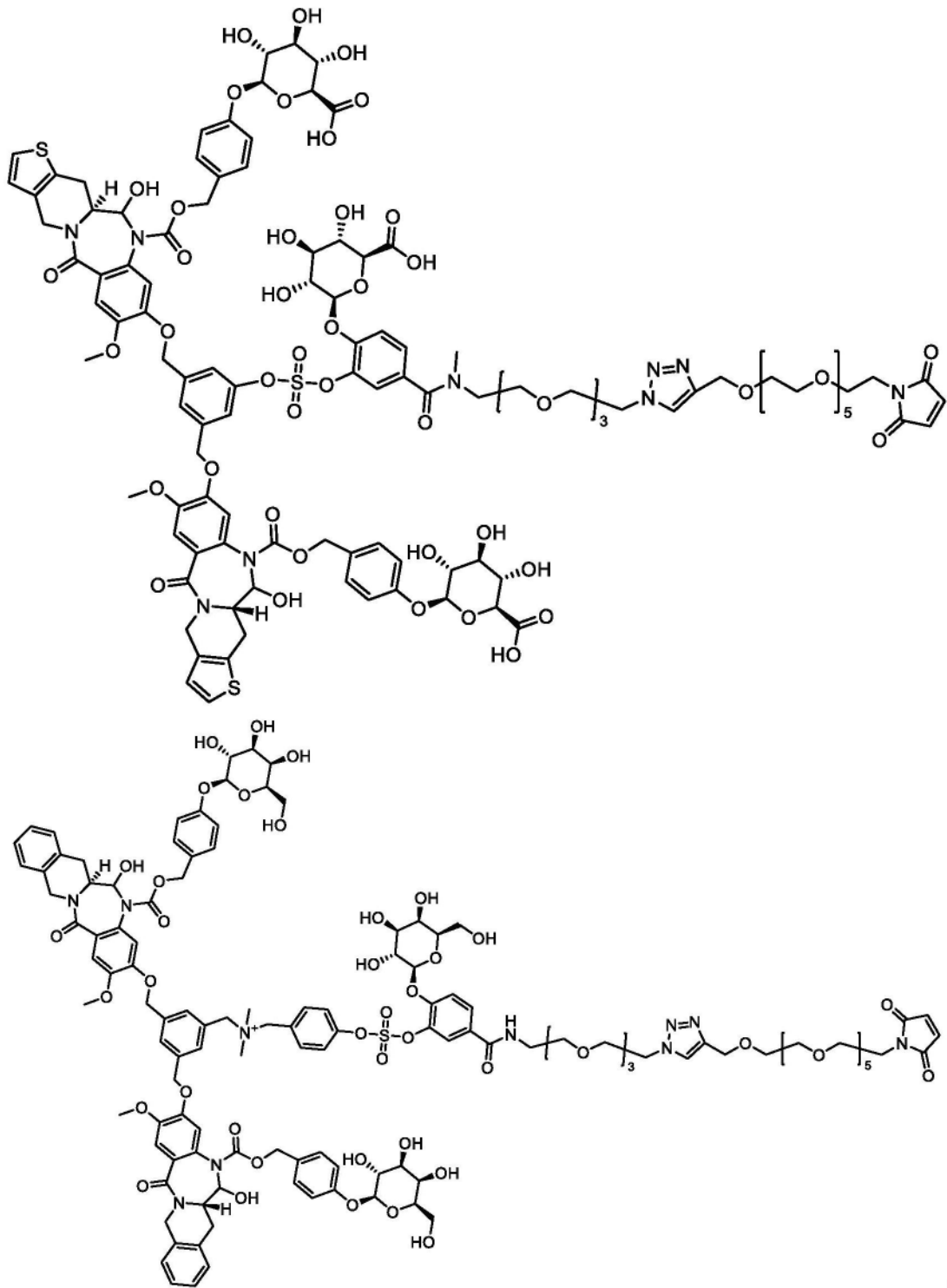
Z'' 选自

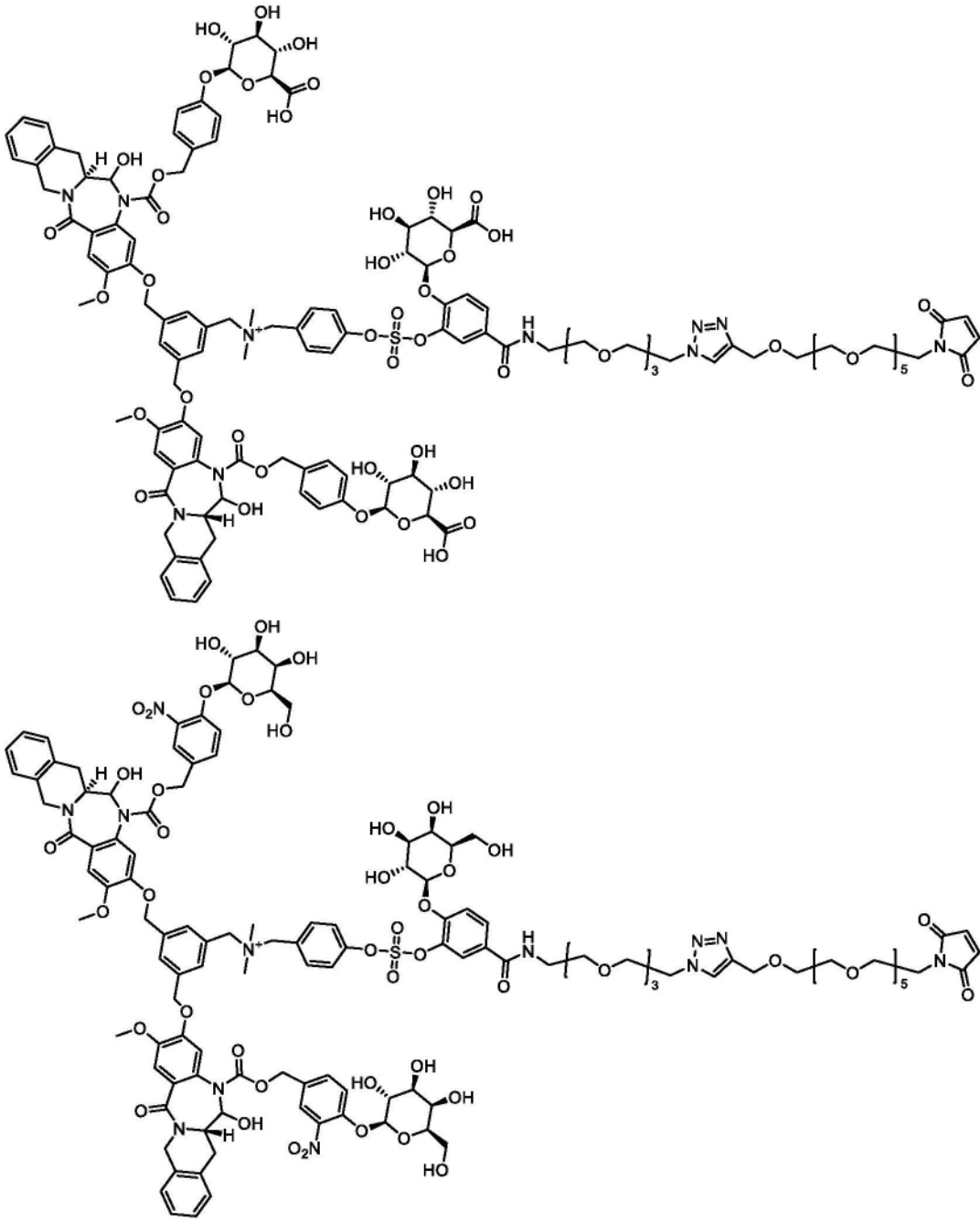


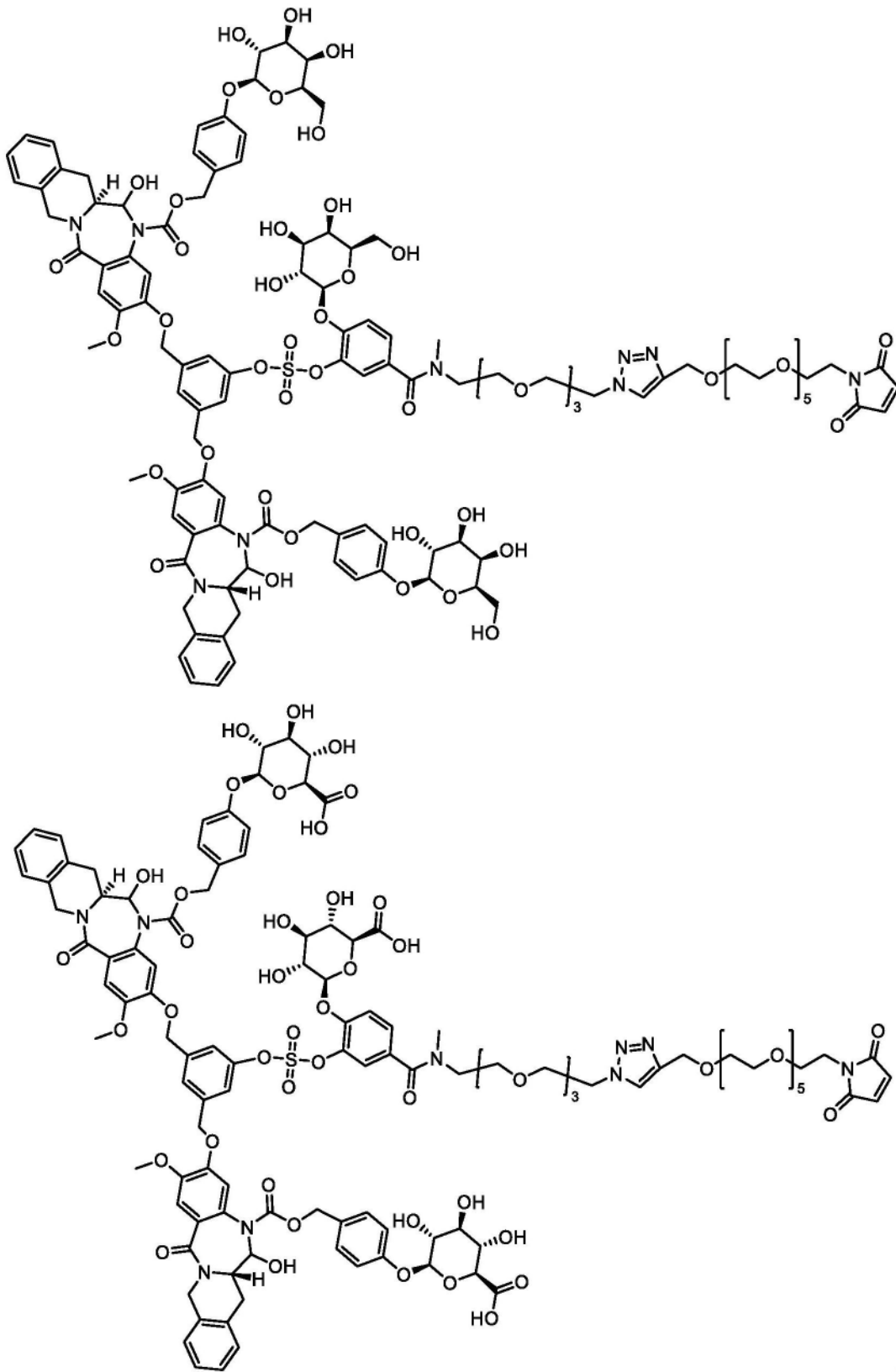
171. 如权利要求85所述的药物缀合物,其中所述药物缀合物选自

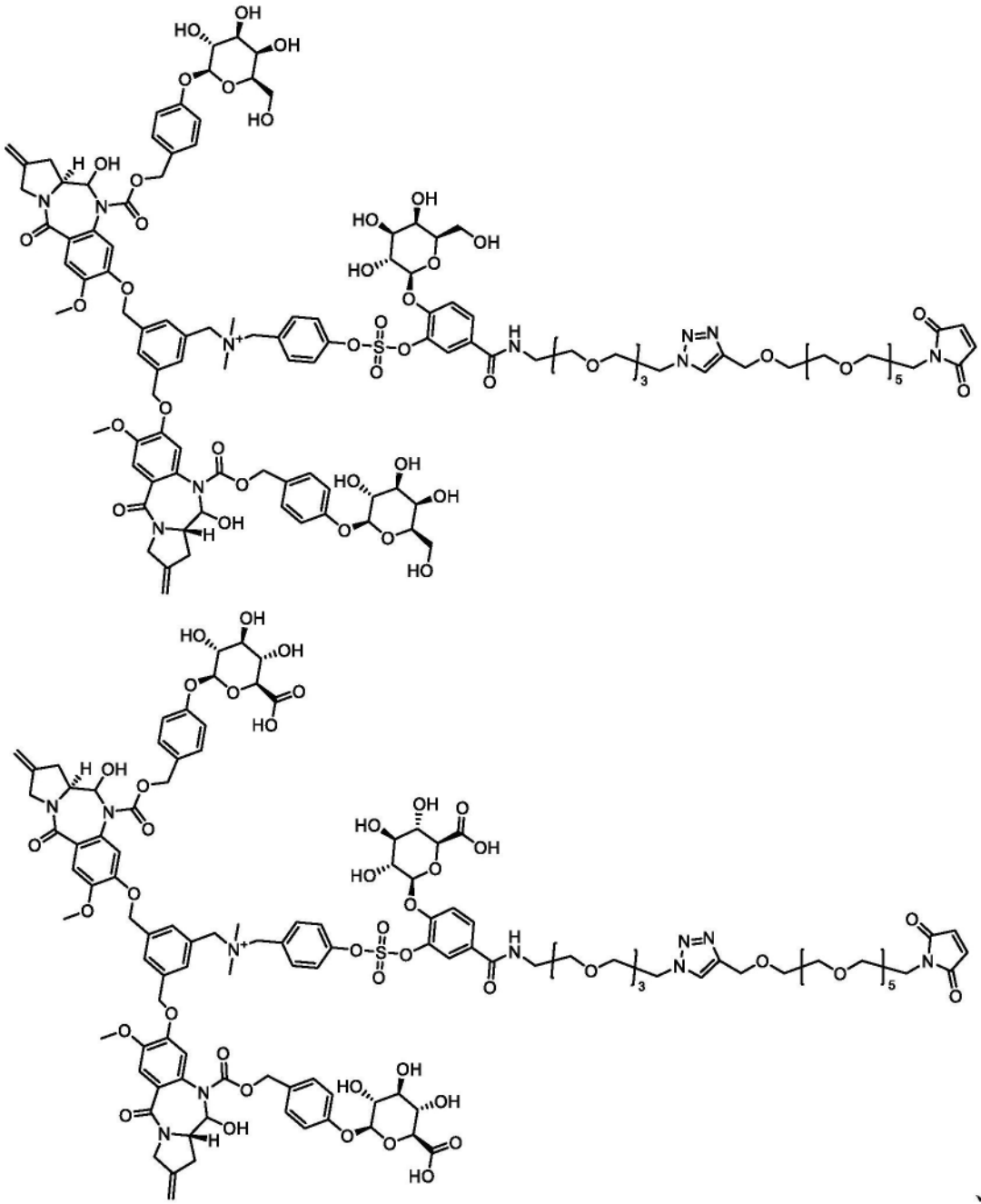


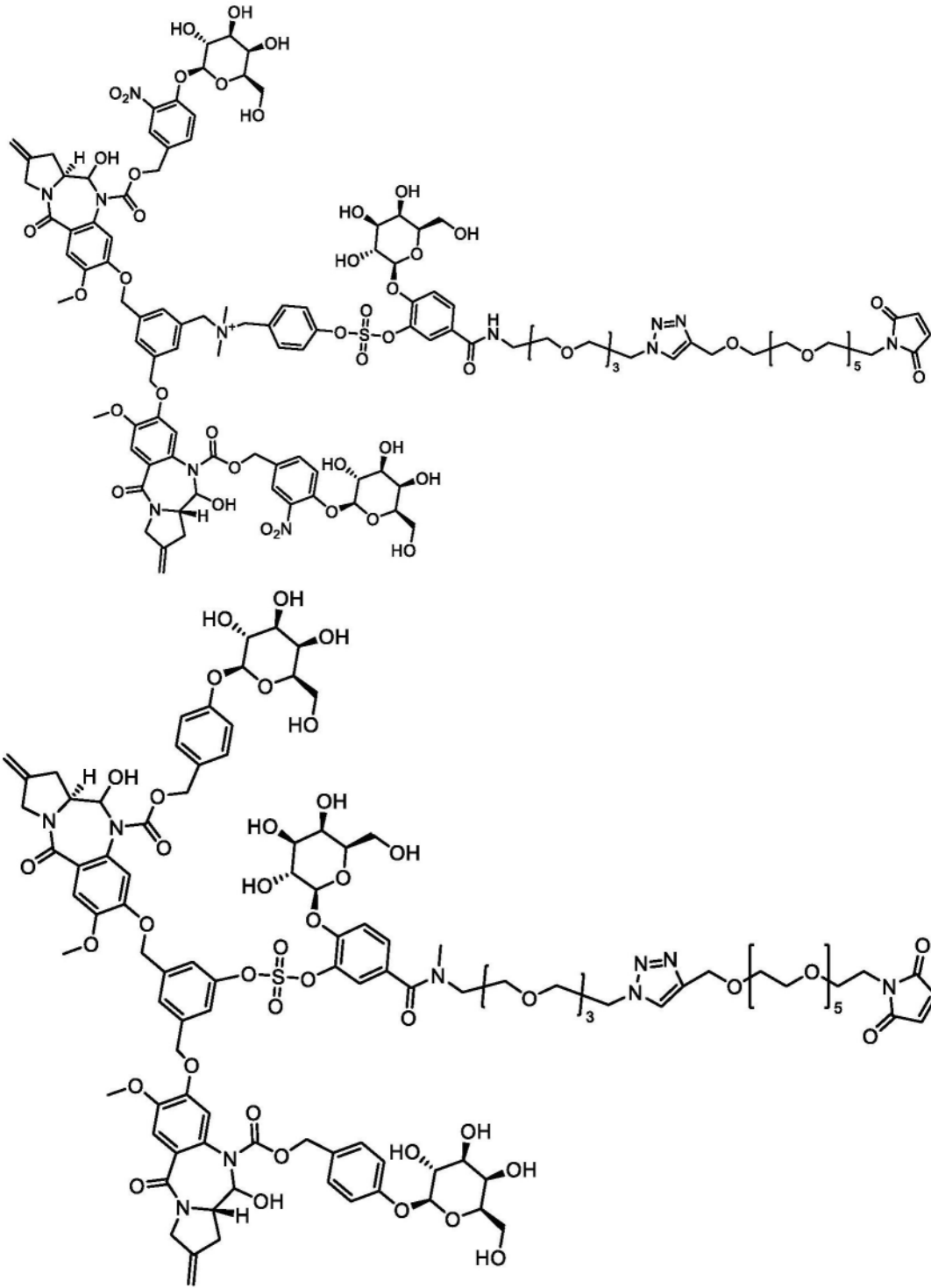


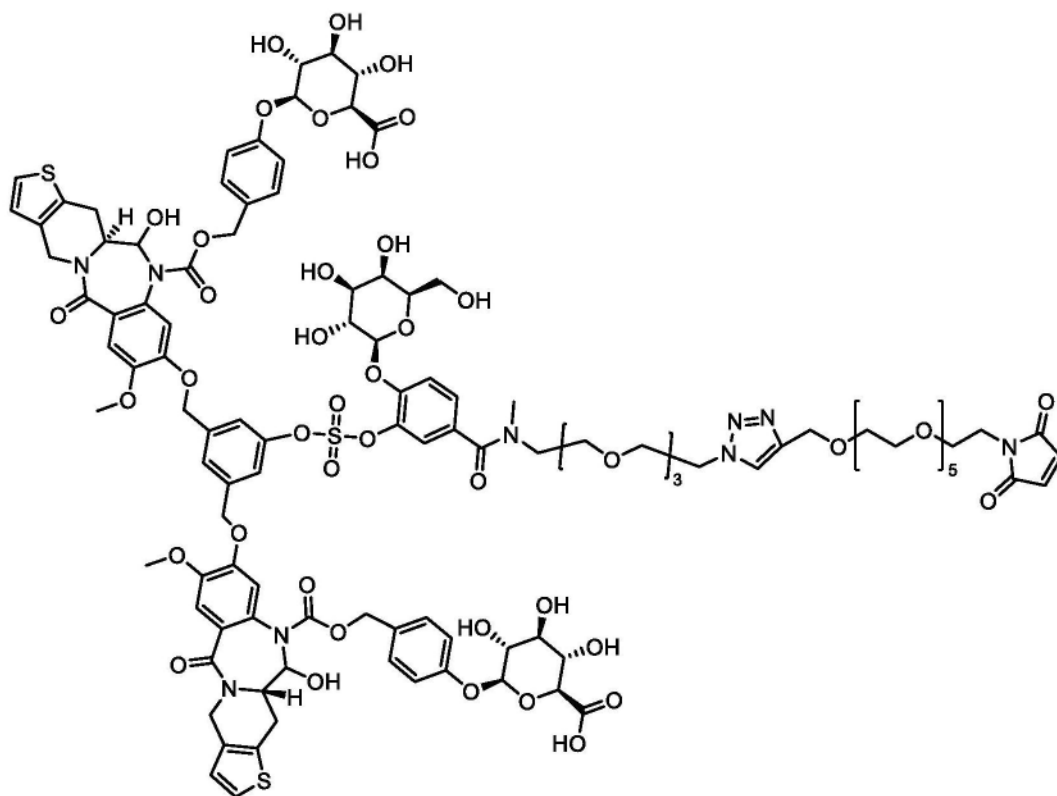
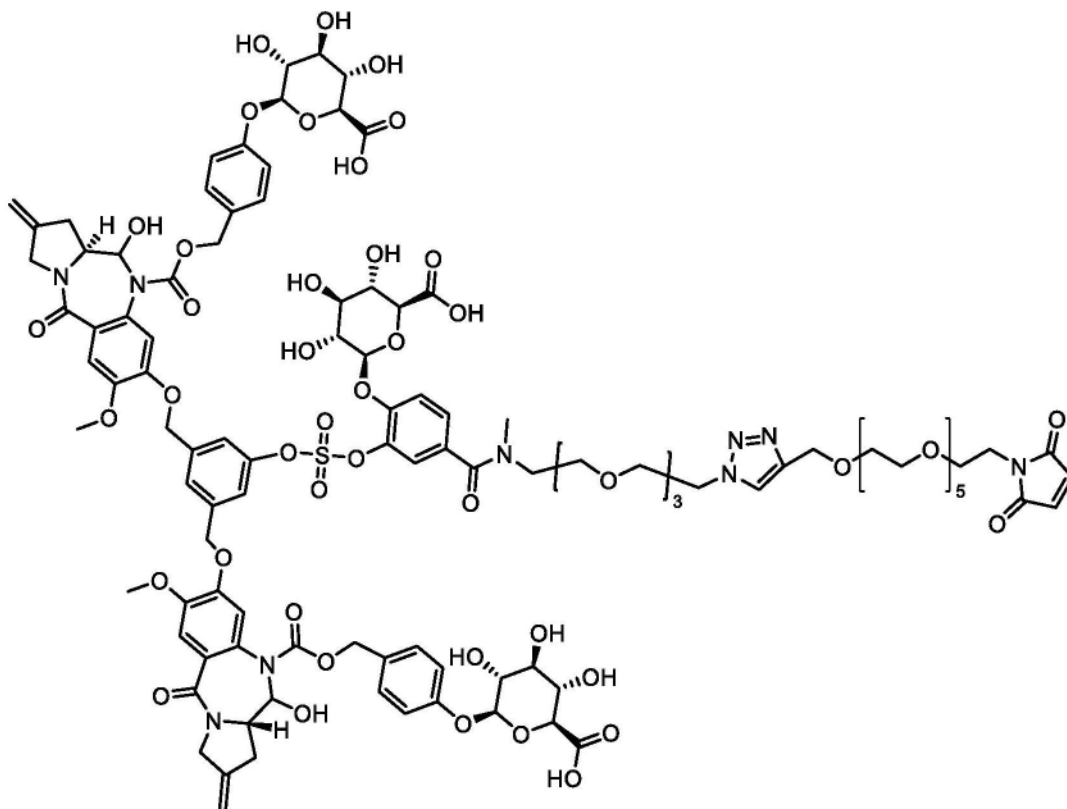




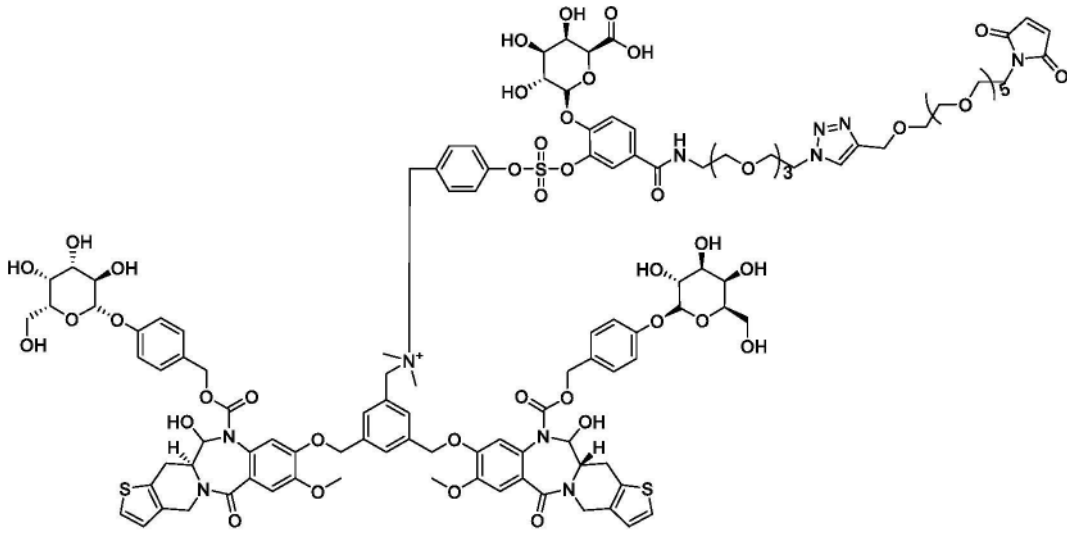








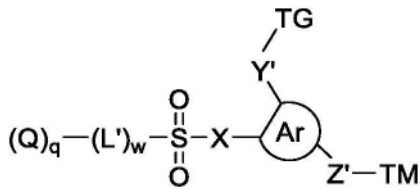
和



或其药学上可接受的盐。

172. 一种药物组合物,所述药物组合物包含权利要求1-171中任一项所述的药物缀合物。

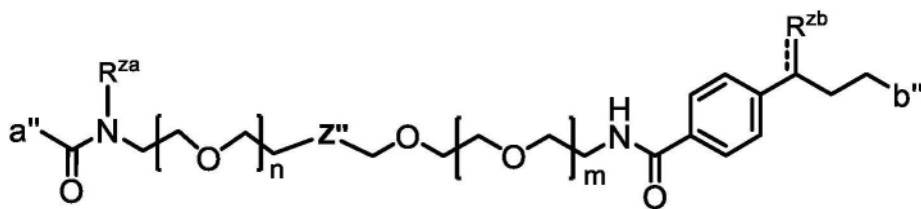
173. 一种式(VI)的靶向药物缀合物,所述靶向药物缀合物包含与权利要求85-171中任一项所述的药物缀合物缀合的TM(靶向部分):

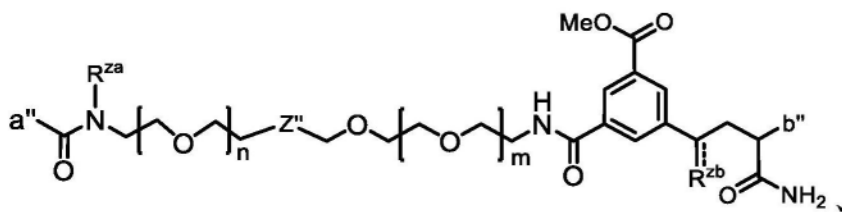
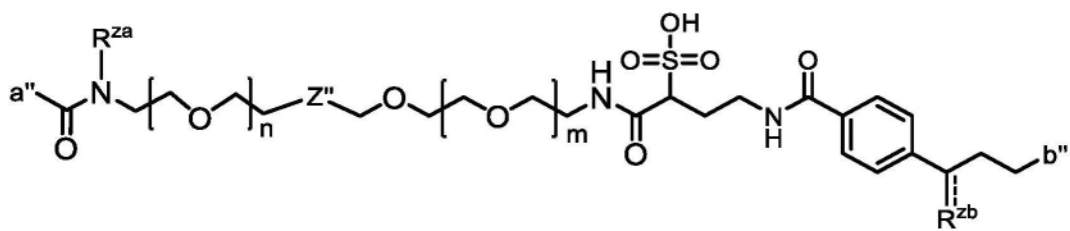
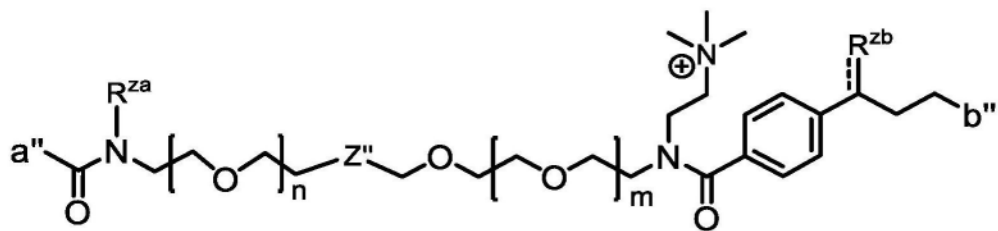
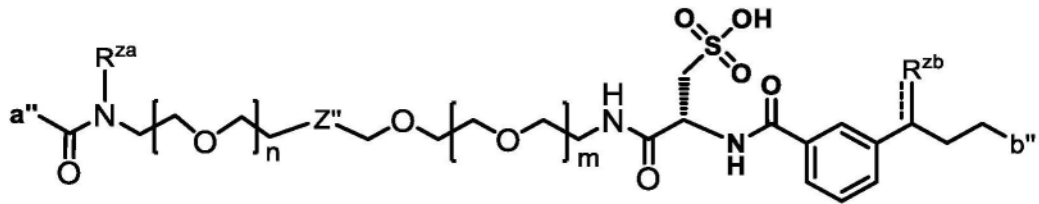
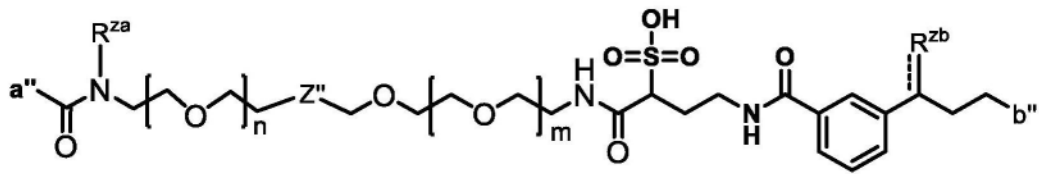
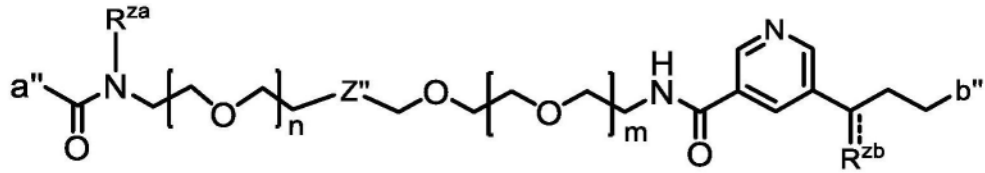
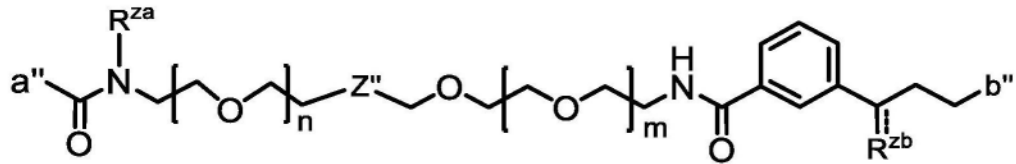


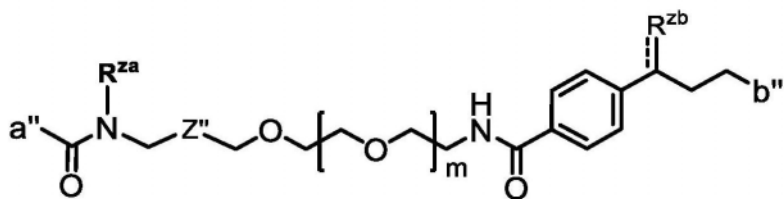
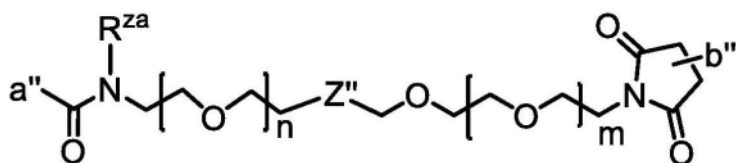
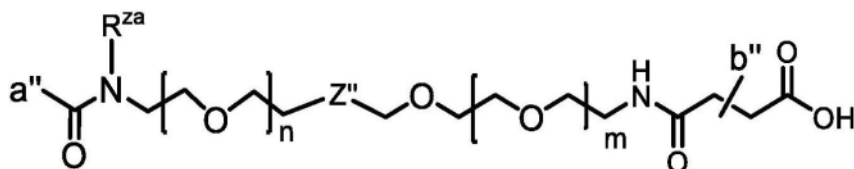
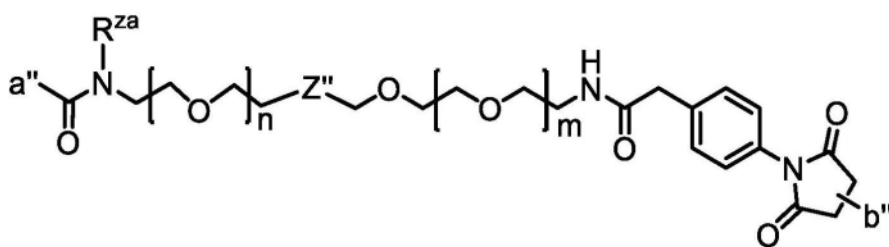
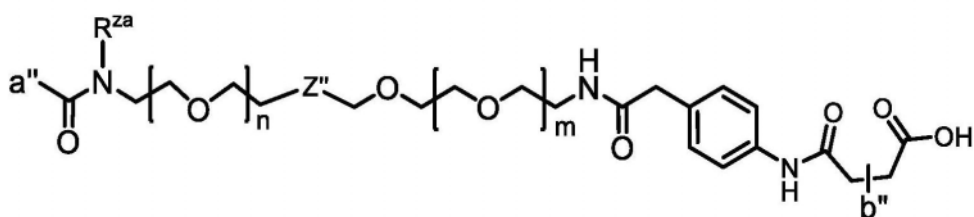
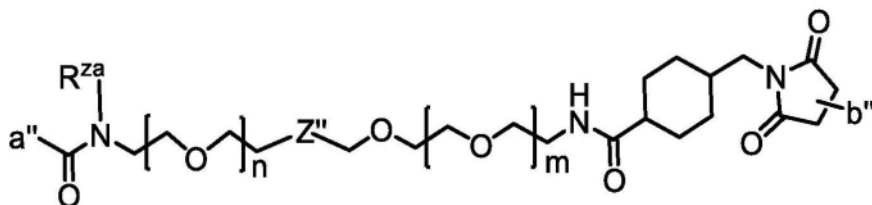
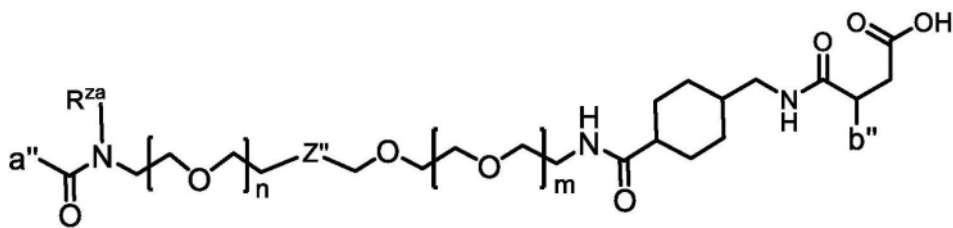
(VI);

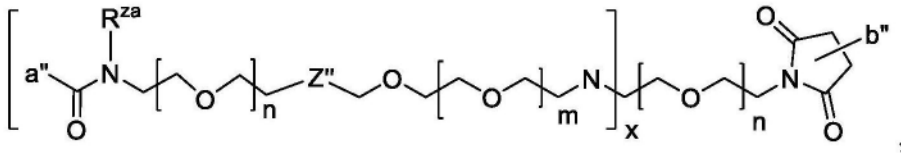
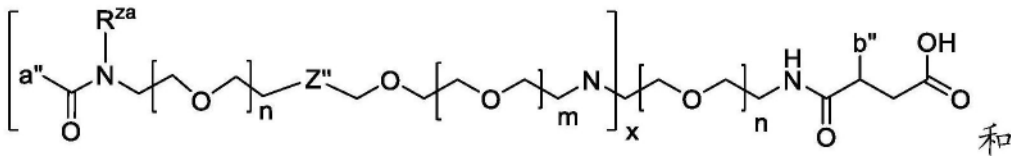
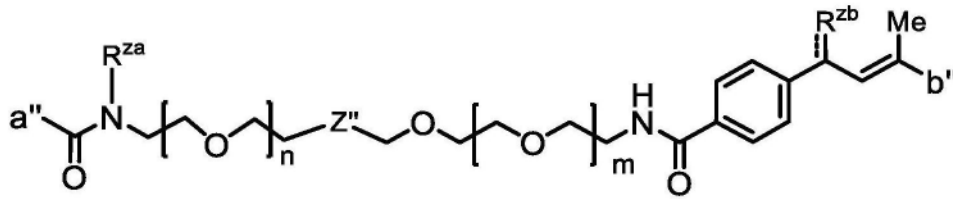
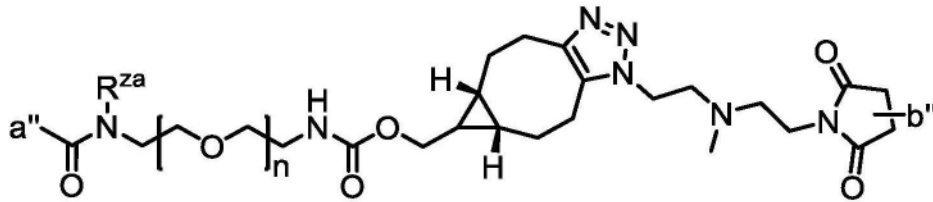
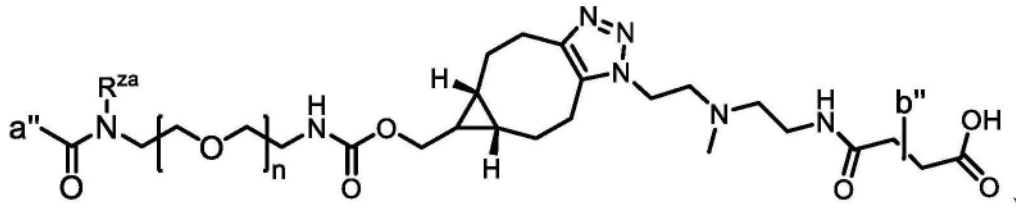
其中TM是靶向部分。

174. 如权利要求173所述的缀合物,其中Z'选自









其中

R^{za}是H或甲基；

R^{zb}是-OH、=O或=NOH；

-----单键或双键；

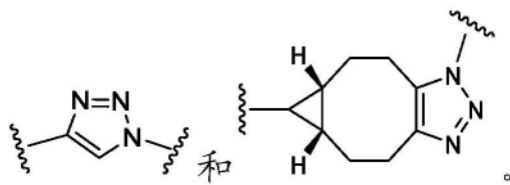
n和m各自独立地是选自1-10的整数；

x是选自1-2的整数；

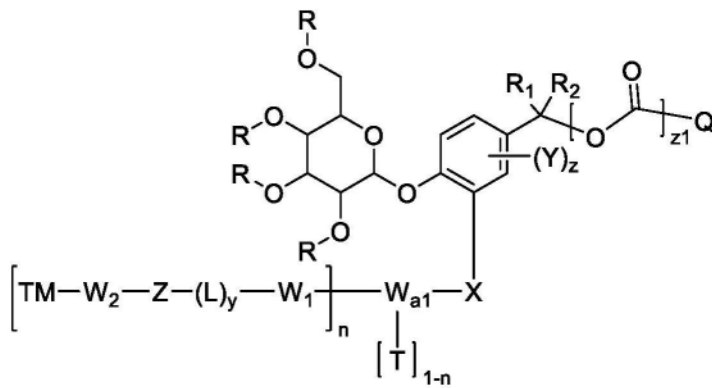
a''表示Z'与药物缀合物之间的键；

b''表示Z'与TM之间的键；并且

Z'选自



175. 一种式(VIb)的靶向药物缀合物,所述靶向药物缀合物包含与权利要求83或84所述的药物缀合物缀合的TM(靶向部分):



(Vib);

其中:

TM是靶向部分;

R是氢或羟基保护基;

X是-C(O)-、-NH-、-O-或-S-;

Q是被糖、磺酸酯或硫酸酯取代的活性剂;

T是 $\text{B}'-\text{U1}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{X}_3)_{\text{p4}}-(\text{CH}_2)_{\text{p3}}-\text{W}_{\text{a4}}-\text{Q}_2-\text{W}_{\text{a3}}-\text{W}_1$;

n是选自0或1的整数;

Y是氢、卤代 C_1-C_8 烷基、卤素、氰基或硝基; z是选自1-3的整数, 并且如果z是不小于2的整数, 则Y可以彼此相同或不同;

z1是选自0或1的整数;

W_1 是 $-\text{W}_{\text{a2}}-(\text{CH}_2)_{\text{a1}}-\text{W}_{\text{b1}}-\text{Q}_1-$;

W_2 是 $-\text{W}_{\text{a4}}-\text{Q}_2-\text{W}_{\text{a3}}-$;

W_{a1} 和 W_{a2} 各自独立地是-NH-、-C(=O)-或- CH_2- ;

W_{a3} 和 W_{a4} 各自独立地是-NH-、-C(=O)-、- CH_2- 、-C(=O)NH-、-NHC(=O)-或亚三唑基;

W_{b1} 是酰胺键或亚三唑基;

L是作为连接 W_{a2} 和Z的接头的氨基酸、肽或酰胺键;

Z是单键、- $\text{W}_{\text{a5}}-(\text{CH}_2)_{\text{a2}}-\text{W}_{\text{b2}}-(\text{CH}_2)_{\text{a3}}-\text{W}_{\text{a6}}$ -或- $\text{W}_{\text{a7}}-(\text{CH}_2)_{\text{a4}}-\text{CR}'\text{R}''-\text{X}''-$;

R' 是 C_1-C_8 烷基或 $\text{TM}-\text{W}_{\text{a8}}-\text{Q}_3-\text{W}_{\text{c1}}-(\text{CH}_2)_{\text{a5}}$;

R'' 是 $\text{TM}-\text{W}_{\text{a8}}-\text{Q}_3-\text{W}_{\text{c1}}-(\text{CH}_2)_{\text{a5}}$;

Q_1 和 Q_3 各自独立地是- $(\text{CH}_2)_{\text{a6}}-(\text{X}_1\text{CH}_2\text{CH}_2)_{\text{b1}}-(\text{CH}_2)_{\text{a7}}$;

X_1 和 X_3 各自独立地是-O-、-S-、-NH-或- CH_2- ;

X'' 是-NHC(=O)- $(\text{CH}_2)_{\text{a8}}-\text{W}_{\text{a9}}$ -或-C(=O)NH- $(\text{CH}_2)_{\text{a8}}-\text{W}_{\text{a9}}$;

W_{a5} 、 W_{a6} 、 W_{a7} 、 W_{a8} 和 W_{a9} 各自独立地是-NH-、-C(=O)-或- CH_2- ;

W_{b2} 是酰胺键或亚三唑基;

W_{c1} 是-NHC(=O)-或-C(=O)NH-;

Q_2 是碳数为1至50的直链或支链的饱和或不饱和亚烷基, 满足以下(i)至(iii)中的任一

项;

(iv) 所述亚烷基中的至少一个-CH₂-被一个或更多个选自-NH-、-C(=O)-、-O-和-S-的杂原子取代,

(v) 至少一个亚芳基或亚杂芳基包含在所述亚烷基中,

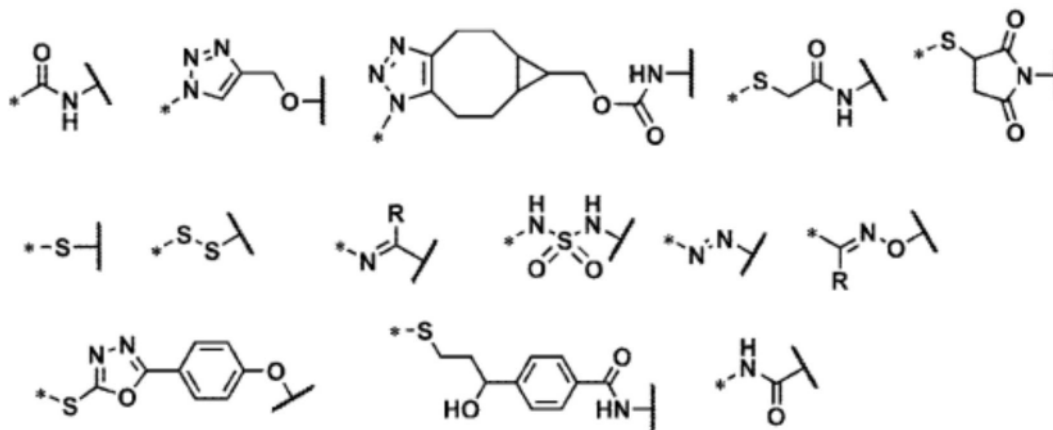
(vi) 所述亚烷基进一步被选自由C₁-C₂₀烷基、C₆-C₂₀芳基C₁-C₈烷基、-(CH₂)_{s1}COOR₃、-(CH₂)_{s1}COR₃、-(CH₂)_{s2}CONR₄R₅和-(CH₂)_{s2}NR₄R₅组成的组的一者或更多者取代;

上述(ii)中的亚芳基或亚杂芳基可以进一步被硝基取代;

R₃、R₄和R₅各自独立地是氢或C₁-C₁₅烷基;

X₂是-O-、-S-、-NH-或-CH₂-;

U₁通过选自以下结构的连接基团在星号(*)的位置处与B'结合:



R是C₁-C₁₀烷基、C₆-C₂₀芳基或C₂-C₂₀杂芳基;

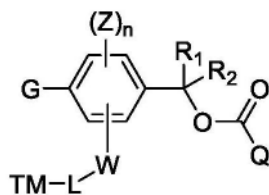
TM和B'各自独立地是配体或蛋白质,所述配体或蛋白质具有将药物选择性靶向特定器官、组织或细胞的特性,即,与受体结合的特性;

a1、a2、a3、a4、a5、a6、a8、b1、p1、p2、p3和p4各自独立地是选自1-10的整数;

a7、y、s1、s2和s4各自独立地是选自0-10的整数;并且

R₁和R₂各自独立是氢、C₁-C₈烷基或C₃-C₈环烷基。

176. 一种式(VIc)的靶向药物缀合物,所述靶向药物缀合物包含与权利要求83或84所述的药物缀合物缀合的TM(靶向部分):



(VIc);

其中:

TM是靶向部分;

G是葡萄糖醛酸部分或其衍生物;

Q是被糖、磷酸酯或硫酸酯取代的活性剂;

W是吸电子基团;

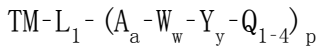
Z是氢、C₁-C₈烷基、卤素、氰基或硝基；

n是选自1-3的整数，并且当n是2或更大的整数时，每个Z彼此相同或不同；

L是连接TM和W的接头；并且

R₁和R₂各自独立是氢、C₁-C₈烷基或C₃-C₈环烷基。

177. 一种式(VId)的靶向药物缀合物，所述靶向药物缀合物包含与权利要求83或84所述的药物缀合物缀合的TM(靶向部分)：



(VId)；

其中TM是靶向部分；

L₁是配体部分；

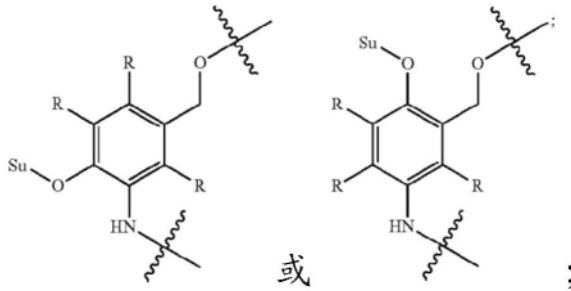
Q是被糖、磷酸酯或硫酸酯取代的活性剂；

-A_a-W_w-Y_y-是接头部分；

A是任选的延伸部分；

a是选自0-3的整数；

每个W独立地是具有下式之一的葡糖苷酸单元：



Su是糖部分；

每个R独立地是氢、卤素、-CN或-NO₂；

w是选自1-2的整数；

Y是任选的自离间隔部分；

y是选自0-2的整数；并且

p是选自1-20的整数。

178. 如权利要求173-177所述的缀合物，其中所述TM是纳米颗粒、免疫球蛋白、核酸、蛋白质、寡肽、多肽、抗体、抗原性多肽的片段或重复体。

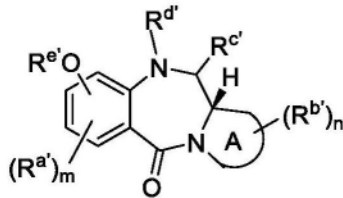
179. 如权利要求178所述的缀合物，其中所述TM是选自以下的抗体：完整多克隆抗体、完整单克隆抗体、抗体片段、单链Fv(scFv)突变体、多特异性抗体、双特异性抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人类抗体、包含抗体的抗原决定簇部分的融合蛋白以及包含抗原识别位点的其它经修饰免疫球蛋白分子。

180. 如权利要求179所述的缀合物，其中所述抗体选自莫罗单抗-CD3、阿昔单抗、利妥昔单抗、达克珠单抗、帕利珠单抗、英夫利昔单抗、曲妥珠单抗(赫赛汀)、依那西普、巴利昔单抗、吉妥珠单抗奥唑米星、阿仑单抗、替伊莫单抗、阿达木单抗、阿法西普、奥马珠单抗、依法珠单抗、托西莫单抗-I¹³¹、西妥昔单抗、贝伐单抗、那他珠单抗、雷珠单抗、帕尼单抗、依库珠单抗、利洛西普、培塞利珠单抗、罗米司亭、AMG-531、CNT0-148、CNT0-1275、ABT-874、LEA-

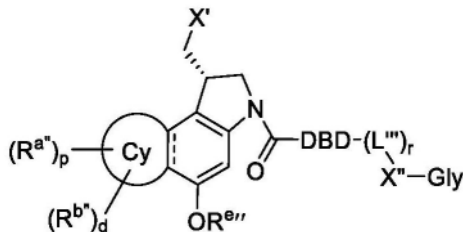
29Y、贝利木单抗、TACI-Ig、第二代抗CD20、ACZ-885、托珠单抗、阿利珠单抗、美泊利单抗、帕妥珠单抗、Humax CD20、替西木单抗 (CP-675 206)、替西木单抗、MDX-010、IDEC-114、伊妥珠单抗奥佐霉素、HuMax EGFR、阿柏西普、HuMax-CD4、Ala-Ala、ChAglyCD3、TRX4、卡妥索单抗、IGN101、MT-201、普瑞戈夫单抗、CH-14.18、WX-G250、AMG-162、AAB-001、莫维组单抗、MEDI-524、依芬古单抗、奥罗瑞巴、雷昔库单抗、第三代抗CD20、LY2469298和维妥组单抗。

181. 一种药物组合物, 所述药物组合物包含权利要求173-180中任一项所述的靶向药物缀合物。

182. 一种化合物, 所述化合物由式 (VII) 或式 (VIII) 表示:



(VII); 或



(VIII);

或其药学上可接受的盐;

其中:

A是杂环;

每个 R^a' 和 R^b' 独立地是卤素、氨基、羟基、乙酰基、羟烷基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;

两个偕位 R^b' 任选地一起形成氧代或 $=CH_2$;或两个 R^b' 与间插原子一起任选地构成环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;

R^c' 是磺酸酯、硫酸酯、羟基、氨基或硫醇;

R^d' 是 $-L''-Gly$ 、氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;

前提条件是至少一个 R^c' 是磺酸酯或硫酸酯,或者至少一个 R^d' 是 $-L''-Gly$;

R^e' 是氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;

m是选自0-3的整数;

n是选自0-8的整数,只要价数允许;

环Cy选自芳基、杂芳基、环烷基或杂环烷基;

---是单键或双键;

X' 是卤素;

X'' 是 $-NR-$ 、 $-S-$ 或 $-O-$;

每个 R^a 和 R^b 独立地是卤素、氨基、羟基、烷氧基、乙酰基、羟烷基、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、=O、羧基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基或 $-(L'')_r-X''-Gly$;

d是选自0-4的整数;

r是选自0-1的整数;

每个 L'' 是键或接头,

R^e 是氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;

p是选自0-4的整数;

DBD是DNA结合结构域;

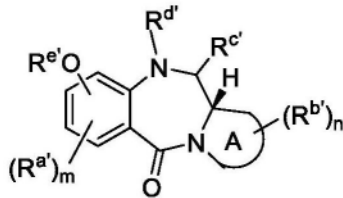
L'' 是键或接头;并且

Gly是单糖、二糖或寡糖。

183. 如权利要求182所述的化合物,其中每个 L'' 是 $C_{10}-C_{100}$ 直链或支链、饱和或不饱和亚烷基部分,任选地包含一个或更多个双键和/或三键。

184. 如权利要求182所述的化合物,其中每个p和每个d独立地是0-1的整数。

185. 如权利要求182所述的化合物,所述化合物由式(VII)表示:



(VII);

或其药学上可接受的盐。

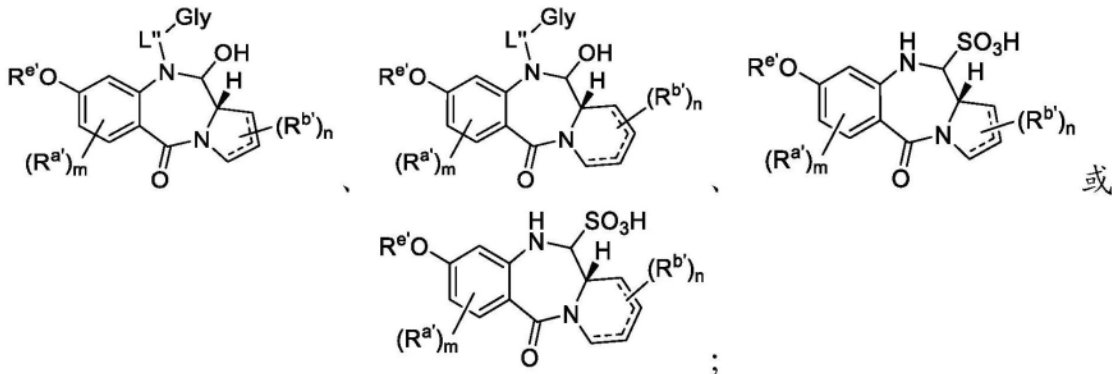
186. 如权利要求182-185中任一项所述的化合物,其中A是5至6元杂环。

187. 如权利要求182-186中任一项所述的化合物,其中 R^c' 是羟基。

188. 如权利要求182-187中任一项所述的化合物,其中 R^d' 是氢、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-10} 环烷基、3至10元杂环烷基、 C_{6-10} 芳基或5至10元杂芳基。

189. 如权利要求188所述的化合物,其中 R^d' 是 $L''-Gly$ 。

190. 如权利要求185所述的化合物,其中所述化合物选自:



或其药学上可接受的盐;

其中 \equiv 是单键或双键。

191. 如权利要求182-190中任一项所述的化合物,其中 R^a 是卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-10} 环烷基、4至10元杂环烷基、 C_{6-10} 芳基或5至10元

杂芳基。

192. 如权利要求182-191中任一项所述的化合物,其中两个偕位R^{b'}一起形成=CH₂。

193. 如权利要求182-191中任一项所述的化合物,其中两个R^{b'}与间插原子一起构成环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基。

194. 如权利要求193所述的化合物,其中两个R^{b'}与间插原子一起构成芳基或杂芳基。

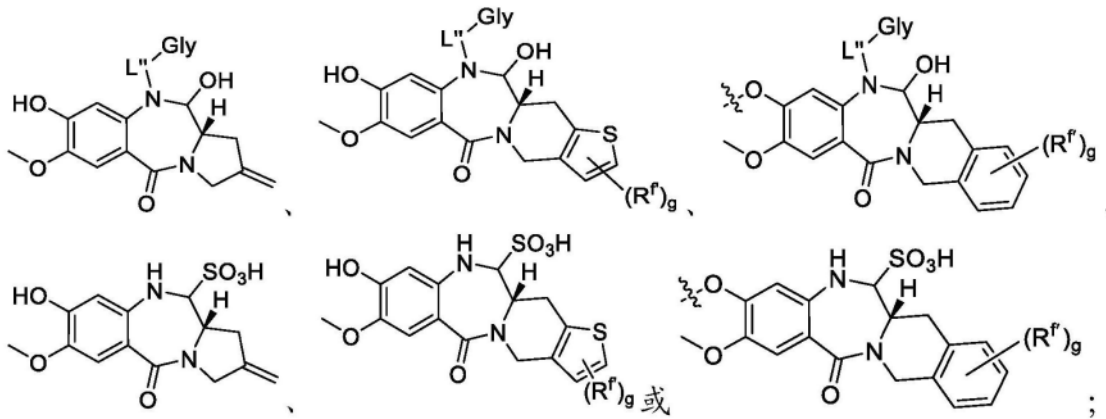
195. 如权利要求193所述的化合物,其中两个R^{b'}与间插原子一起构成芳基。

196. 如权利要求182-195中任一项所述的化合物,其中R^{e'}是氢、C₁₋₆烷基、C₃₋₁₀环烷基、3至10元杂环烷基、C₆₋₁₀芳基或5至10元杂芳基。

197. 如权利要求196所述的化合物,其中R^{e'}是氢、C₁₋₆烷基或C₃₋₁₀环烷基。

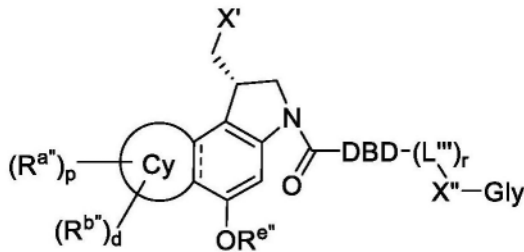
198. 如权利要求197所述的化合物,其中R^{e'}是氢。

199. 如权利要求185或190所述的化合物,其中所述化合物选自:



或其药学上可接受的盐。

200. 如权利要求182所述的化合物,所述化合物由式(VIII)表示:



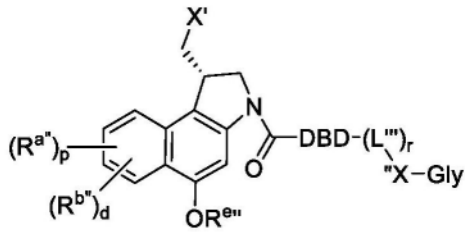
(VIII);

或其药学上可接受的盐。

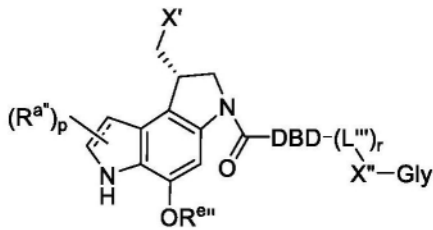
201. 如权利要求200所述的化合物,其中Cy是苯基。

202. 如权利要求200所述的化合物,其中Cy是吡咯烷或吡咯。

203. 如权利要求200所述的化合物,所述化合物具有式(VIIIa)或式(VIIIb)的结构:



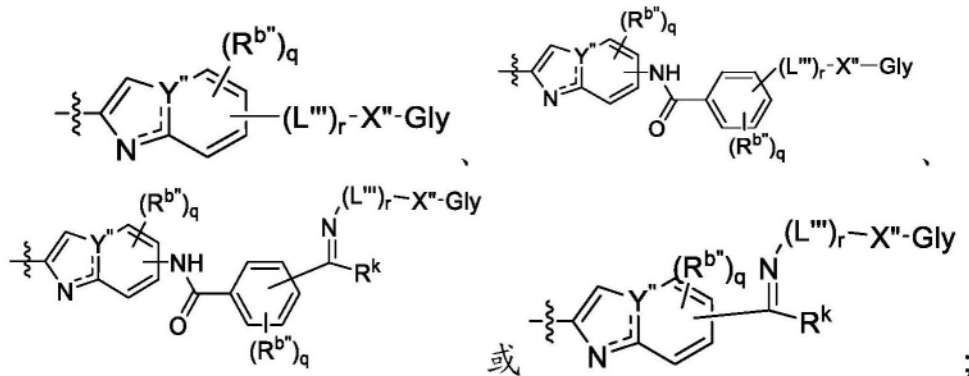
(VIIIa);



(VIIIb);

或其药学上可接受的盐。

204. 如权利要求200-203中任一项所述的化合物,其中所述DBD-(L''')_r-X''-Gly单元选自:



或其药学上可接受的盐;

其中:

Y''是C或N;

X''选自-NR-、-S-或-O-;

R是氢或烷基;

r是0-1的整数;

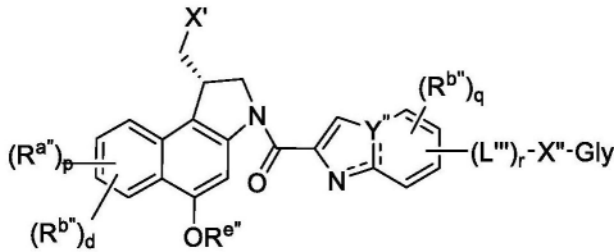
每个R^b独立地是卤素、氨基、羟基、乙酰基、羟烷基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基或-(L''')_r-X''-Gly;

R^k是烷基,优选C₁-C₃烷基;

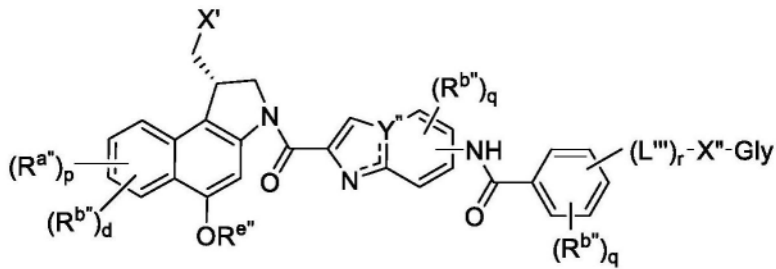
q是选自0-3的整数;并且

===是单键或双键。

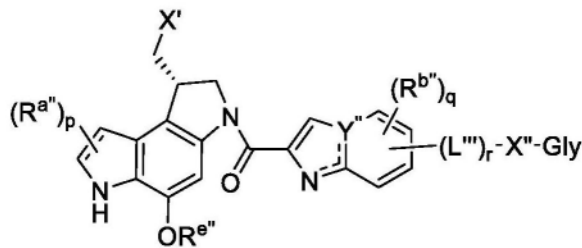
205. 如权利要求200-204中任一项所述的化合物,所述化合物具有式(VIIIc)、式(VIIIId)、式(VIIIe)或式(VIIIIf)的结构:



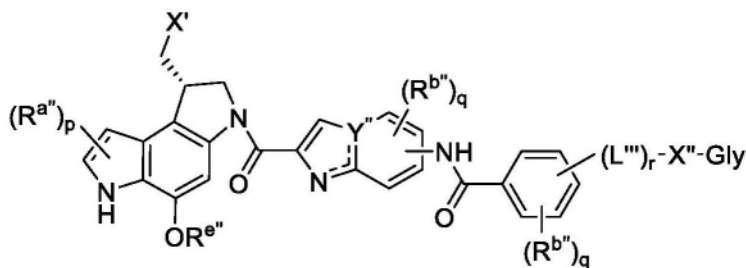
(VIIIc);



(VIIId);



(VIIIe);



(VIIIf);

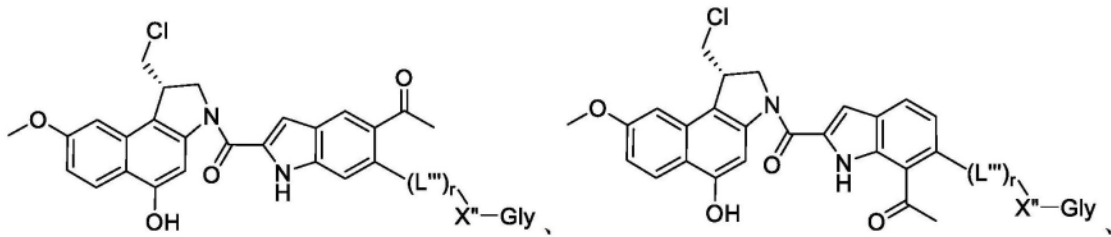
或其药学上可接受的盐。

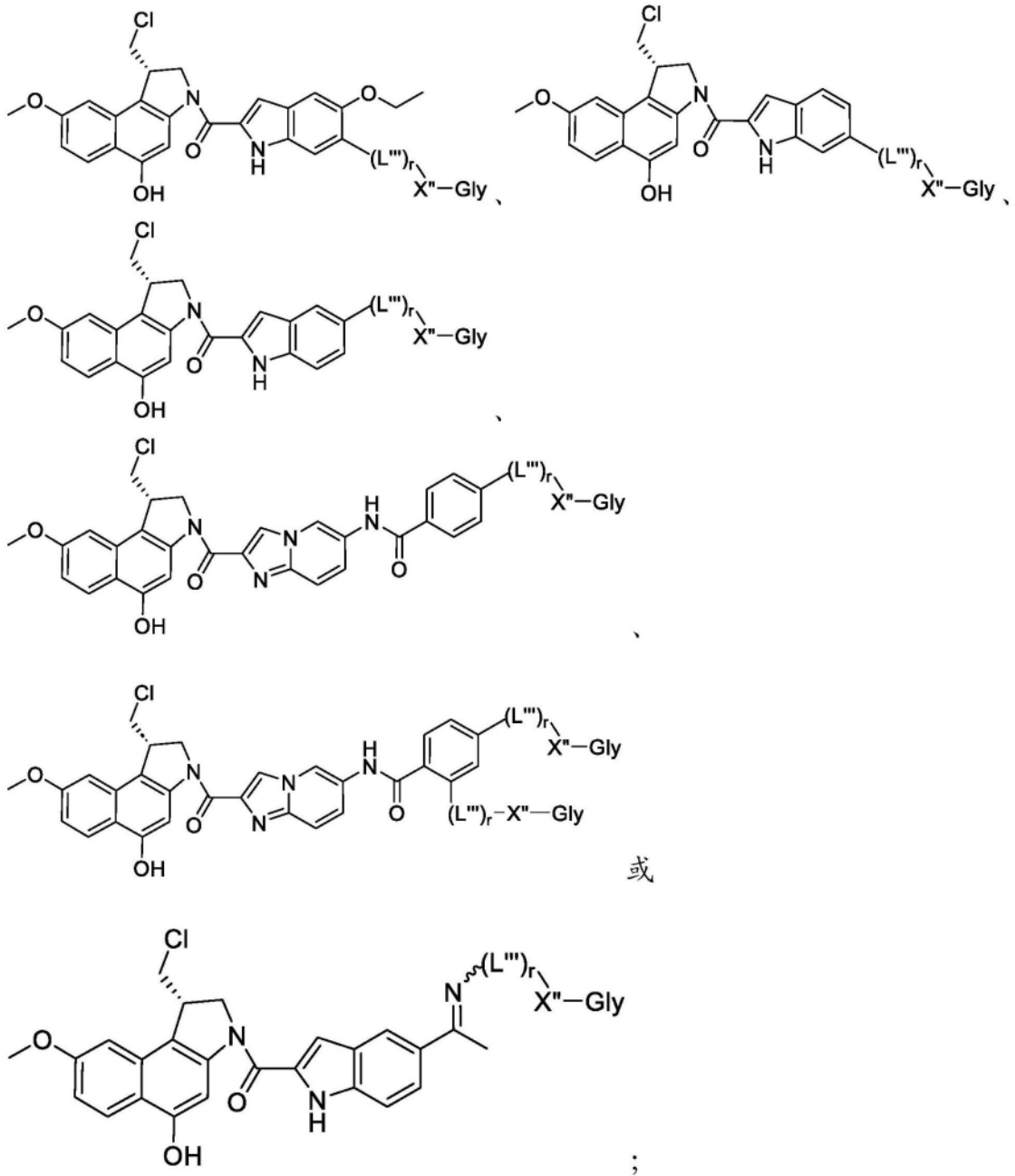
206. 如权利要求200-205中任一项所述的化合物,其中:

每个 R^a'' 独立地是卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、=O、羧基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;并且

每个 R^b'' 独立地是卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、 C_{1-6} 烷基、杂烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-10} 环烷基、4至10元杂环烷基、 C_{6-10} 芳基或5至10元杂芳基。

207. 如权利要求200-206中任一项所述的化合物,其中X'是Cl。
208. 如权利要求200-207中任一项所述的化合物,其中X'是Br。
209. 如权利要求200-208中任一项所述的化合物,其中Y''是C。
210. 如权利要求200-208中任一项所述的化合物,其中Y''是N。
211. 如权利要求200-210中任一项所述的化合物,其中R^{e'}是氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基。
212. 如权利要求211所述的化合物,其中R^{e''}是氢、C₁₋₆烷基、C₃₋₁₀环烷基、3至10元杂环烷基、C₆₋₁₀芳基或5至10元杂芳基。
213. 如权利要求212所述的化合物,其中R^{e'''}是氢、C₁₋₆烷基或C₃₋₁₀环烷基。
214. 如权利要求213所述的化合物,其中R^{e'''}是氢。
215. 如权利要求200所述的化合物,其中所述化合物选自:

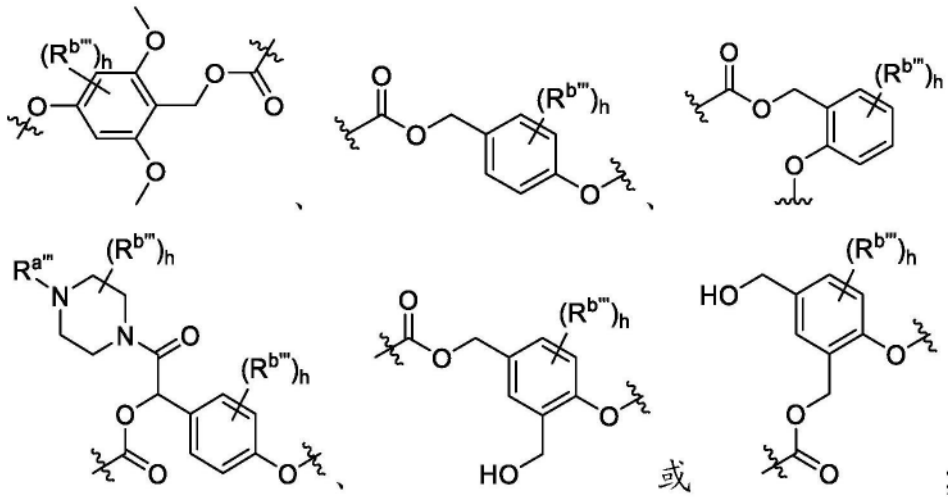




或其药学上可接受的盐。

216. 如权利要求200-215中任一项所述的化合物,其中L''是键。

217. 如权利要求200-215中任一项所述的化合物,其中L''是选自以下的接头:



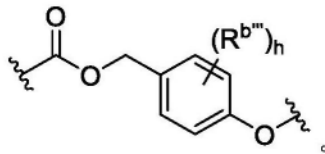
其中：

$R^{a''}$ 是氢、卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、=O、羧基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基；并且

每个 $R^{b''}$ 独立地是氢、卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基；并且

h 是选自 0-4 的整数，只要价数允许。

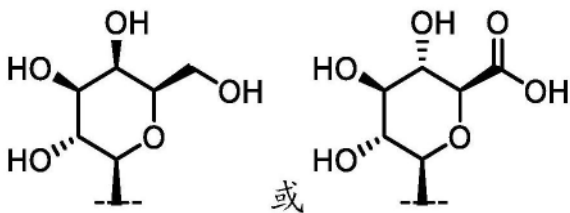
218. 如权利要求 217 所述的化合物，其中 L'' 是



219. 如权利要求 182-218 中任一项所述的化合物，其中 Gly 是单糖。

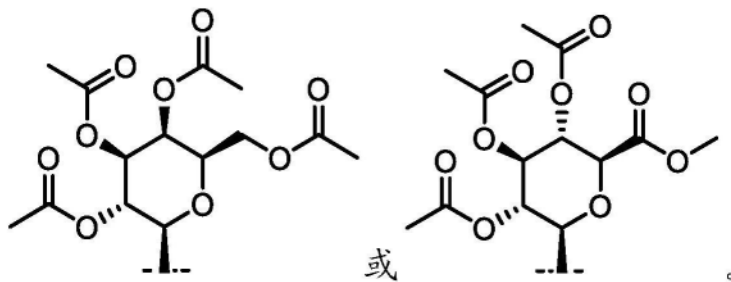
220. 如权利要求 219 所述的化合物，其中 Gly 是选自葡萄糖、葡萄糖醛酸、岩藻糖和半乳糖的单糖。

221. 如权利要求 220 所述的化合物，其中 Gly 是



任选地，其中 1 个或多个 -OH 基团被保护基掩蔽。

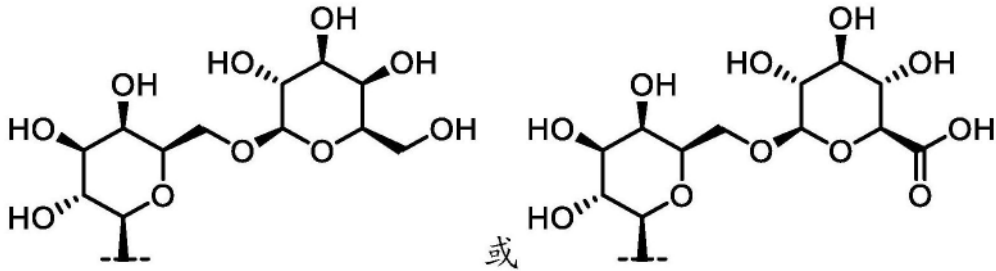
222. 如权利要求 221 所述的化合物，其中 Gly 是



223. 如权利要求182-218中任一项所述的化合物,其中Gly是二糖。

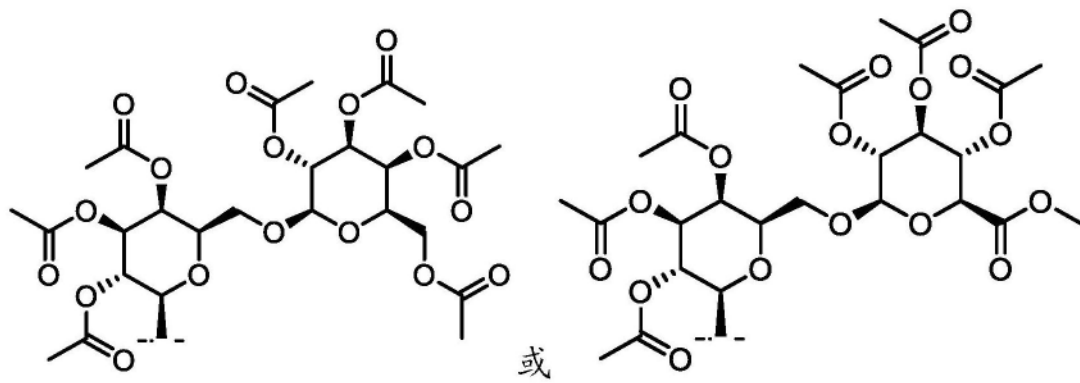
224. 如权利要求223所述的化合物,其中Gly是包含葡萄糖、葡萄糖醛酸、岩藻糖、半乳糖或它们的组合的二糖。

225. 如权利要求224所述的化合物,其中Gly是



任选地,其中1个或更多个-OH基团被保护基掩蔽。

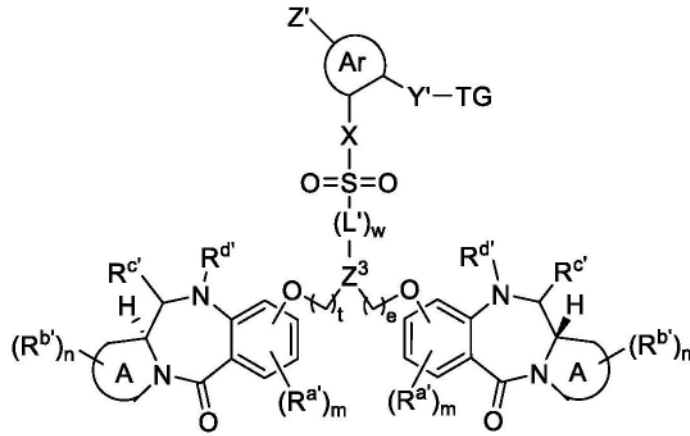
226. 如权利要求225所述的化合物,其中Gly是



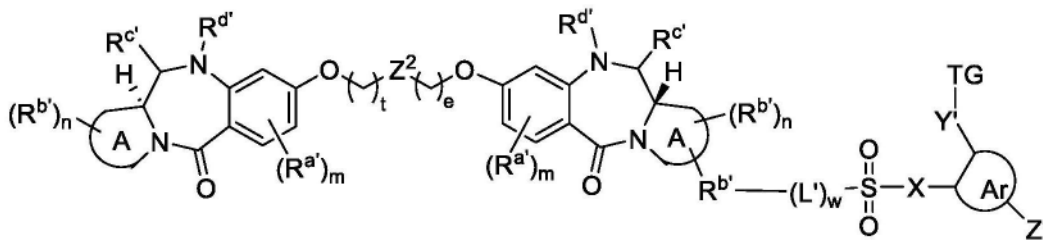
227. 如权利要求182-226中任一项所述的化合物,其中X^{''}在异头位置处与Gly偶联。

228. 一种药物缀合物,所述药物缀合物包含权利要求182-227中任一项所述的化合物和接头基团。

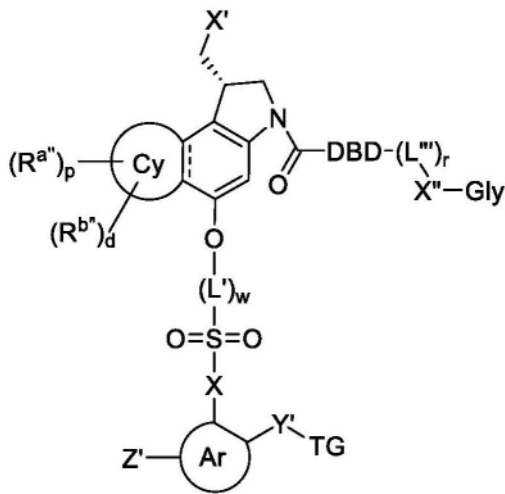
229. 如权利要求228所述的药物缀合物,所述药物缀合物由式(IX)、式(X)或式(XI)表示:



(IX);



(X); 或



(XI);

或其药学上可接受的盐;

其中:

Z' 是偶联基团;

Ar 是芳基、杂芳基、环烷基或杂环烷基;

Y' 是 $-(CR^b)_y N(R^a)-$ 、 $-(CR^b)_y O-$ 或 $-(CR^b)_y S-$, 其定位使得如果 y 是 1, 则 N 、 O 或 S 原子连接至 TG ;

TG是触发基团,当其被激活时会生成N、O或S原子,所述原子能够与SO₂反应以置换(Q)_q-(L')_w并且形成包括X-SO₂和Ar的间插原子的5至6元环;

X是-O-、-C(R^b)₂-或-N(R^c)-;

L'是间隔部分,如果存在的话,所述间隔部分经由选自O、S和N的杂原子连接至SO₂,并且经选择以使得L'与SO₂之间的键的断裂促进所述活性剂的释放;

w是选自0-1的整数;

r是0-1的整数;

Z²是连接基团;

Z³是连接基团;

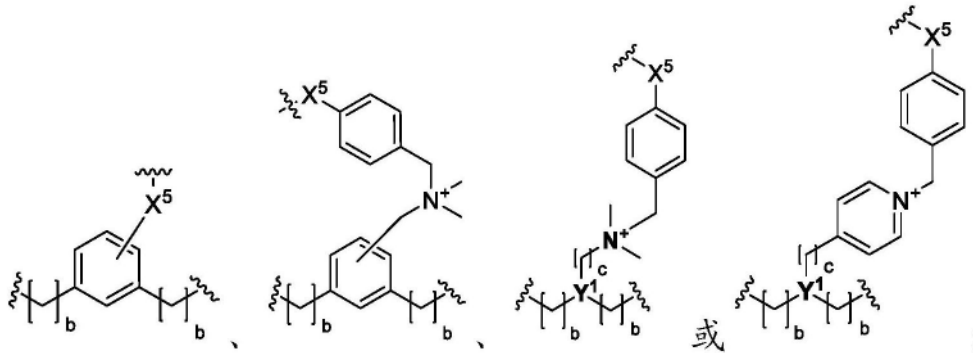
R^a、R^b和R^c各自独立地是氢或低级烷基;

y是选自0-1的整数;

t是1-5的整数;并且

e是1-5的整数。

230. 如权利要求229所述的药物缀合物,其中Z³选自:



其中:

X⁵是-O-或-NR^x-;

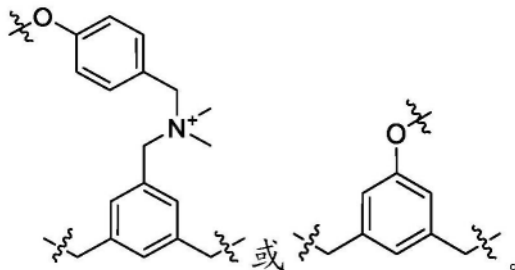
Y¹是CR^y或N;

R^x和R^y各自独立地是氢或C₁₋₆烷基;

每个b独立地是1-3的整数;并且

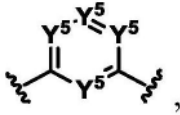
c是1-5的整数。

231. 如权利要求230所述的药物缀合物,其中Z³选自:



232. 如权利要求229所述的药物缀合物,其中Z²是亚甲基。

233. 如权利要求229所述的药物缀合物,其中Z²是



其中:

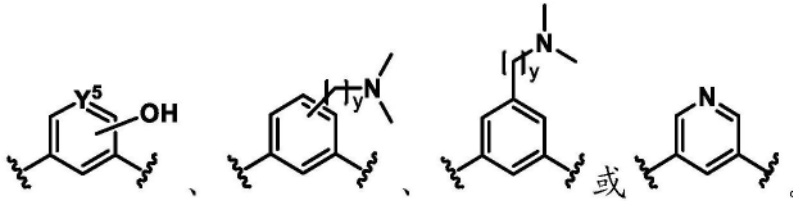
Y^5 是 CR^{Y1} 或N,前提条件是仅一个 Y^5 是N;

R^{Y1} 是H、羟基、氨基、酰胺基或 $(CH_2)_y(R^{Y1a})$;

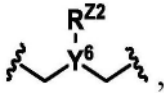
R^{Y1a} 是氨基(例如仲氨基或叔氨基)、芳基(例如苯基)或杂芳基;并且

y 是具有1至约10的值的整数。

234. 如权利要求233所述的药物缀合物,其中 Z^2 是



235. 如权利要求229所述的药物缀合物,其中 Z^2 是



其中:

Y^6 是 CR^{Y2} 或N;

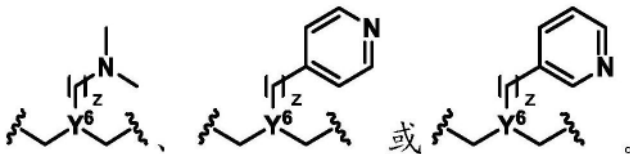
R^{Y2} 是H或烷基,优选低级烷基;

R^{Z2} 是 $(CH_2)_z R^{Z2a}$;

R^{Z2a} 是氨基(优选叔氨基)、芳基(例如苯基)或杂芳基;并且

z 是具有0至约10的值的整数。

236. 如权利要求235所述的药物缀合物,其中 Z^2 是



237. 如权利要求229-236中任一项所述的药物缀合物,其中Ar是芳基。

238. 如权利要求237所述的药物缀合物,其中Ar是 C_{6-10} 芳基。

239. 如权利要求238所述的药物缀合物,其中Ar是苯基。

240. 如权利要求229-236中任一项所述的药物缀合物,其中Ar是杂芳基。

241. 如权利要求240所述的药物缀合物,其中Ar是5至10元杂芳基。

242. 如权利要求229-241中任一项所述的药物缀合物,其中 Y' 是 $-(CR^b)_y N(R^a)-$ 或 $-(CR^b)_y O^-$ 。

243. 如权利要求242所述的药物缀合物,其中 Y' 是 $-(CR^b)_y O^-$ 。

244. 如权利要求242或243所述的药物缀合物,其中 y 是0。

245. 如权利要求242或243所述的药物缀合物,其中 y 是1。

246. 如权利要求229-245中任一项所述的药物缀合物,其中X是 $-O-$ 或 $-N(R^c)-$ 。

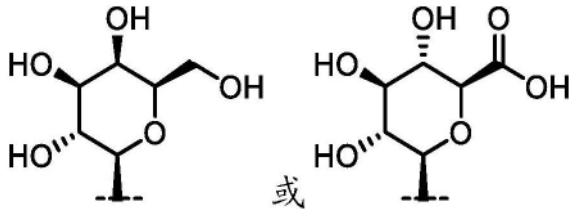
247. 如权利要求246所述的药物缀合物,其中X是-O-。

248. 如权利要求229-247中任一项所述的药物缀合物,其中L'是间隔部分,并且形成-O-、-OC(O)-、-OC(O)O-、-NHC(O)O-或-OC(O)NH-键联,包括所述活性剂的杂原子。

249. 如权利要求229-248中任一项所述的药物缀合物,其中TG是单糖。

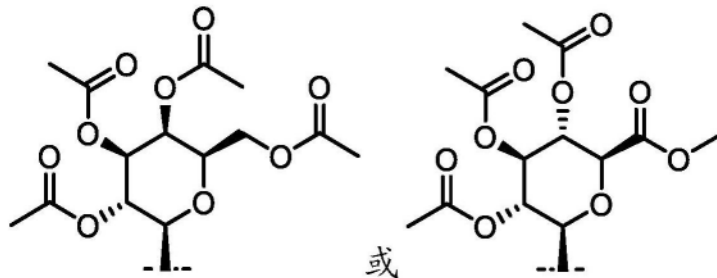
250. 如权利要求249所述的药物缀合物,其中TG是选自葡萄糖、葡萄糖醛酸、岩藻糖和半乳糖的单糖。

251. 如权利要求250所述的药物缀合物,其中TG是



任选地,其中1个或更多个-OH基团被保护基掩蔽。

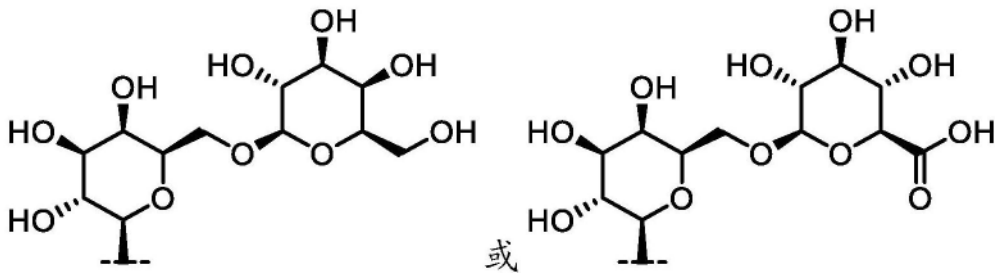
252. 如权利要求251所述的药物缀合物,其中TG是



253. 如权利要求229-254中任一项所述的药物缀合物,其中TG是二糖。

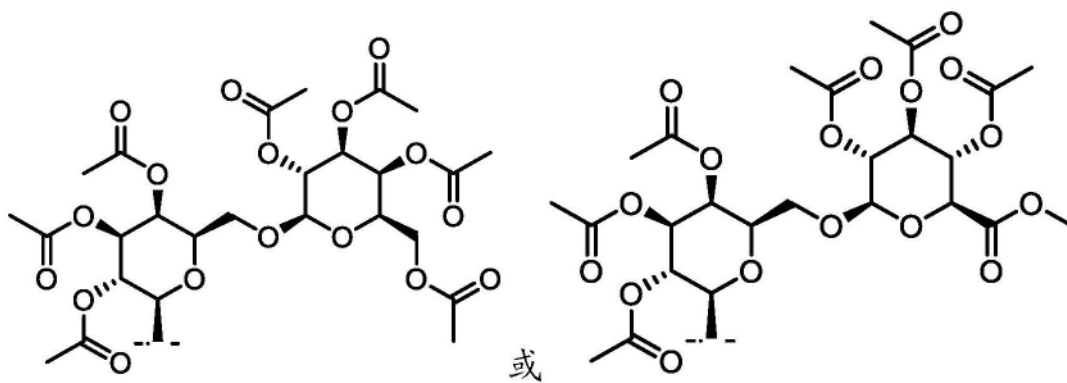
254. 如权利要求253所述的药物缀合物,其中TG是包含葡萄糖、葡萄糖醛酸、岩藻糖、半乳糖或它们的组合的二糖。

255. 如权利要求254所述的药物缀合物,其中TG是



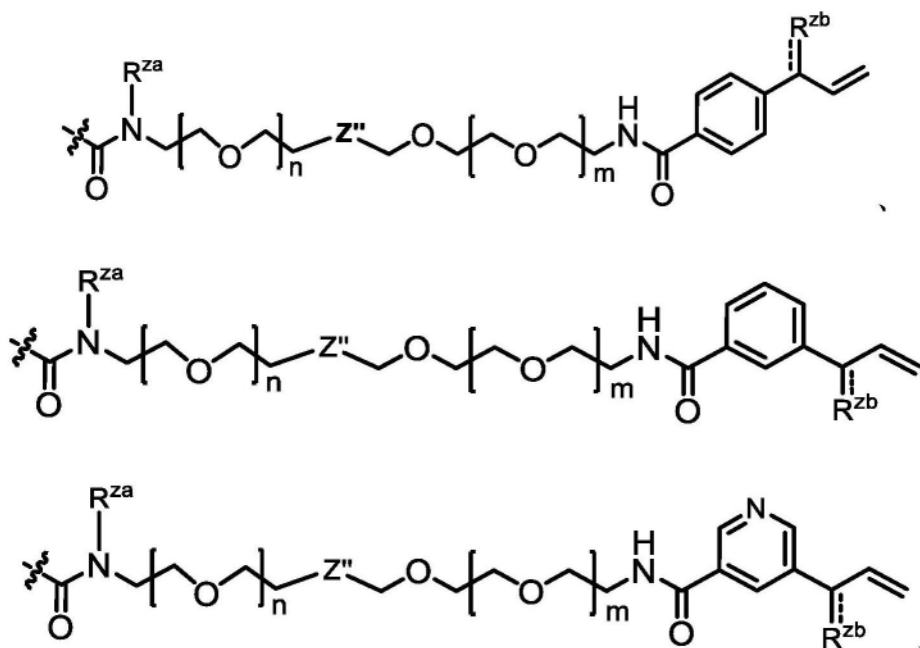
任选地,其中1个或更多个-OH基团被保护基掩蔽。

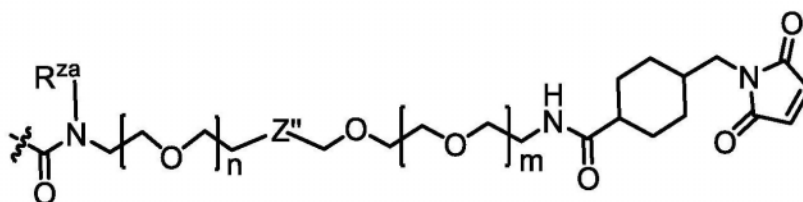
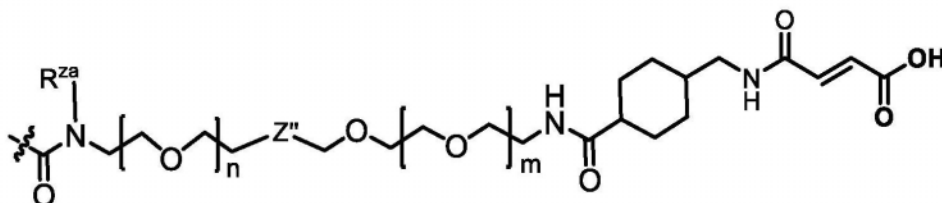
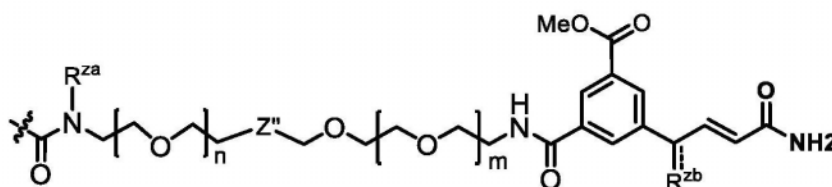
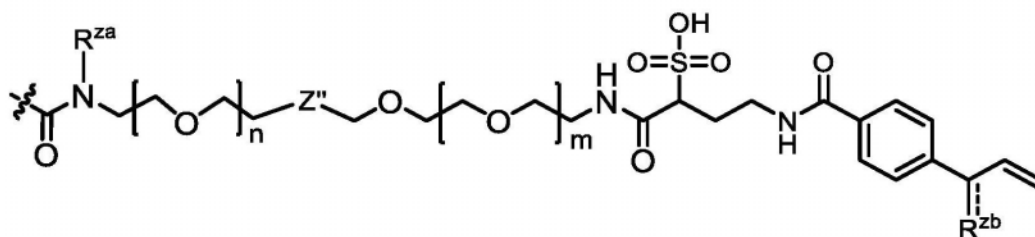
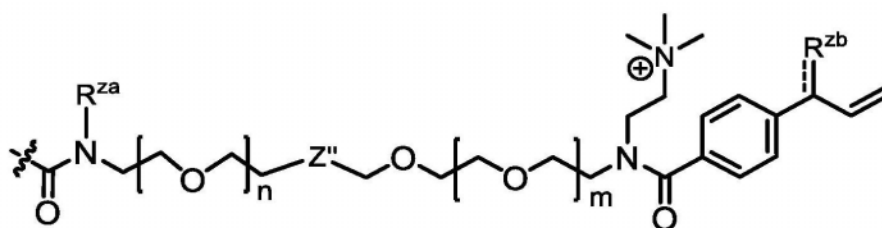
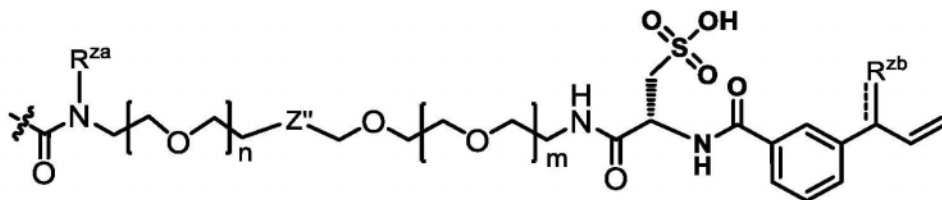
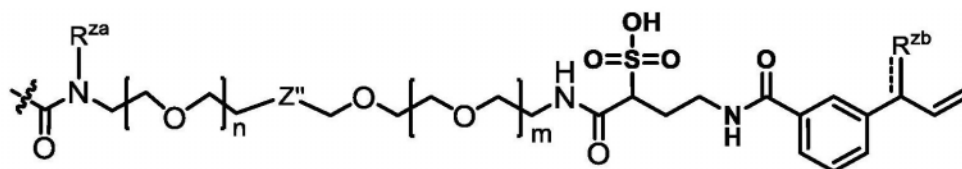
256. 如权利要求255所述的药物缀合物,其中TG是

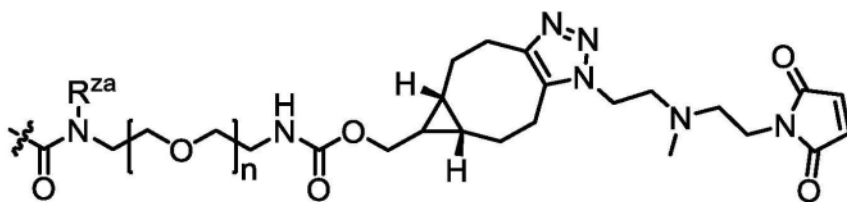
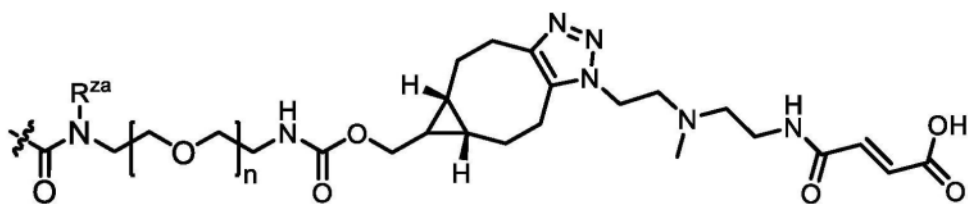
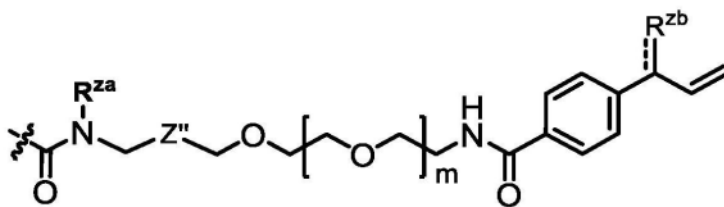
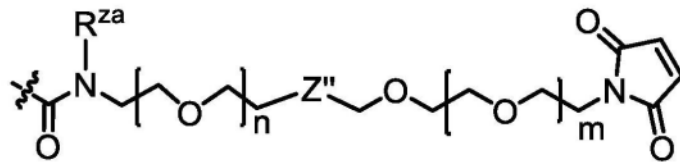
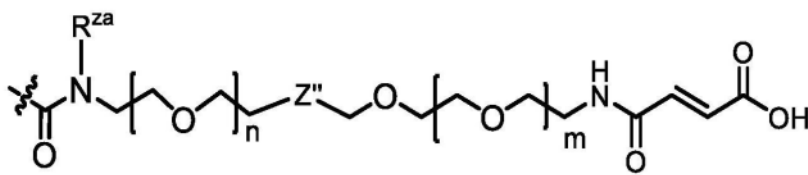
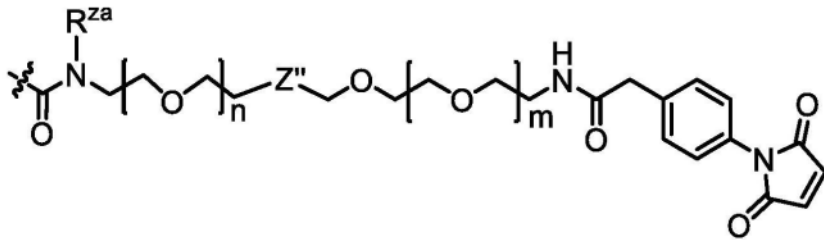
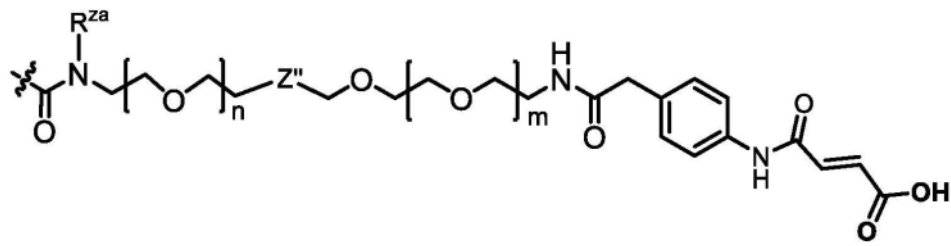


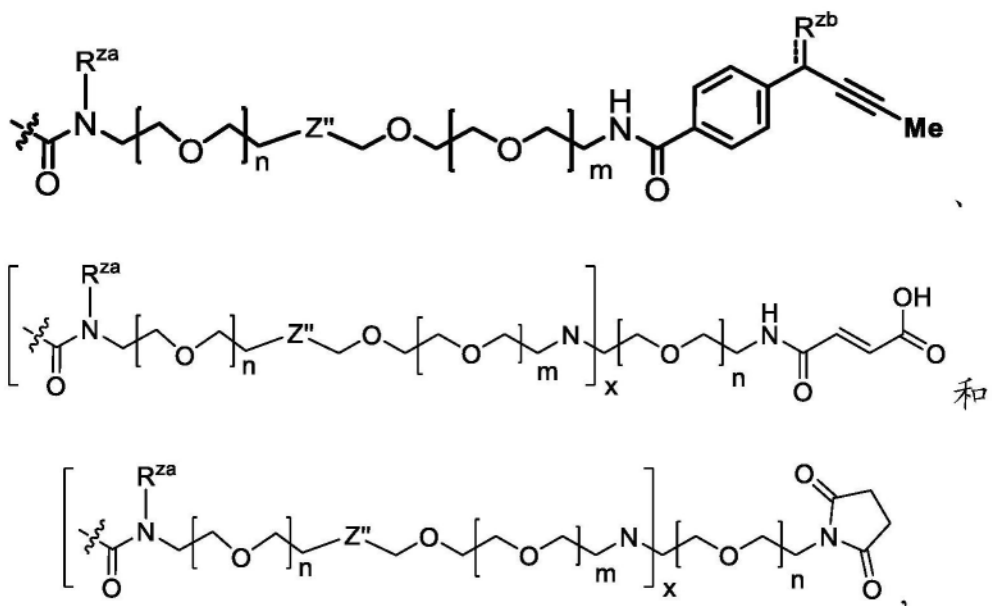
257. 如权利要求229-256中任一项所述的药物缀合物,其中Y'在异头位置处与TG偶联。

258. 如权利要求229-257中任一项所述的缀合物,其中Z'选自









其中：

R^{za} 是H或甲基；

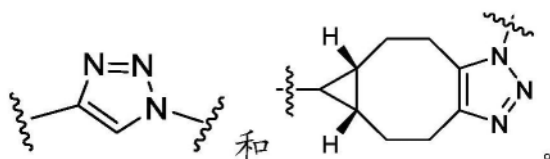
R^{zb} 是-OH、=O或=NOH；

m和n各自是选自1-10的整数；

x是选自1-2的整数；

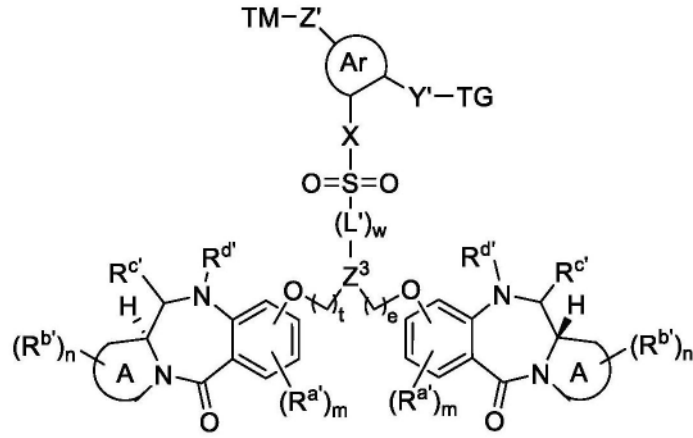
-----单键或双键；并且

Z'' 选自

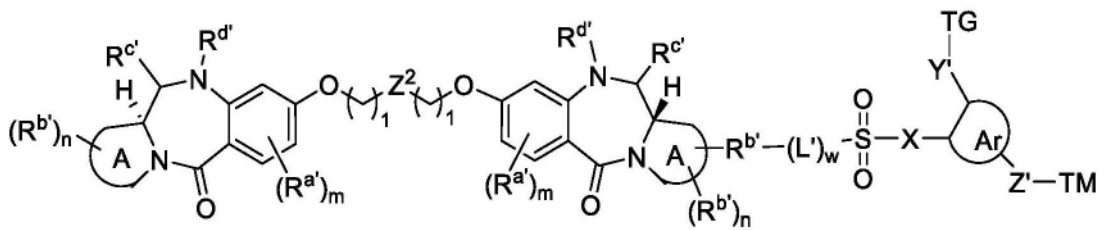


259. 一种靶向药物缀合物,所述靶向药物缀合物包含权利要求228-258中任一项所述的药物缀合物和TM(靶向部分)。

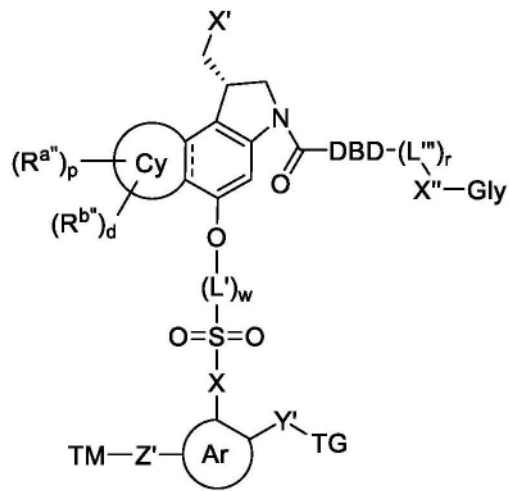
260. 如权利要求259所述的靶向药物缀合物,所述靶向药物缀合物由式(XII)、式(XIII)或式(XIV)表示:



(XII);



(XIII); 或

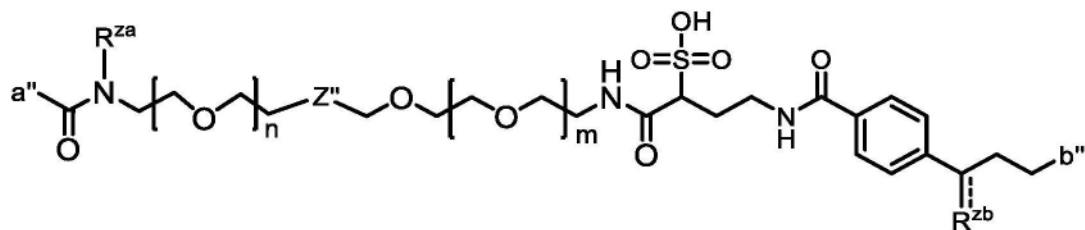
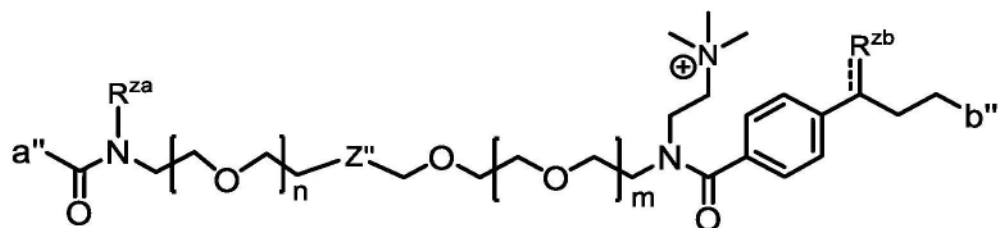
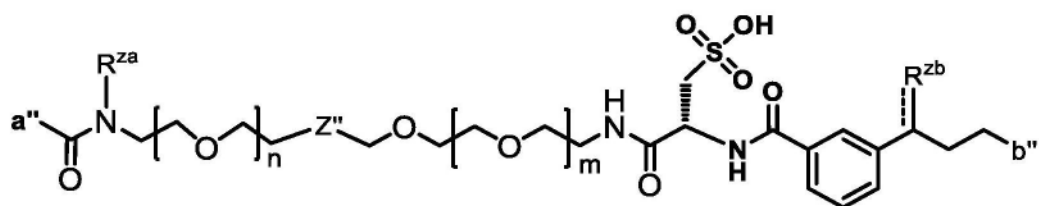
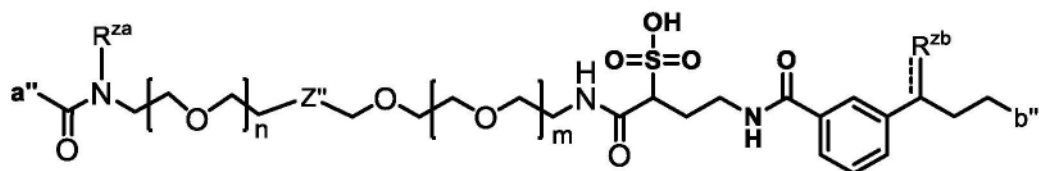
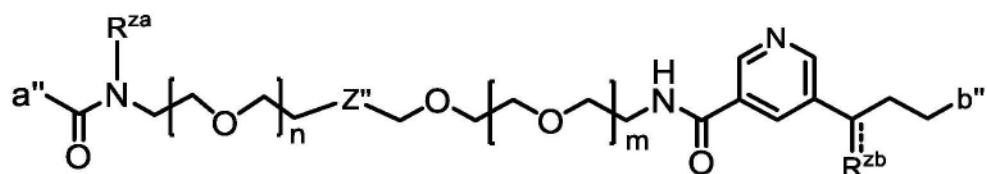
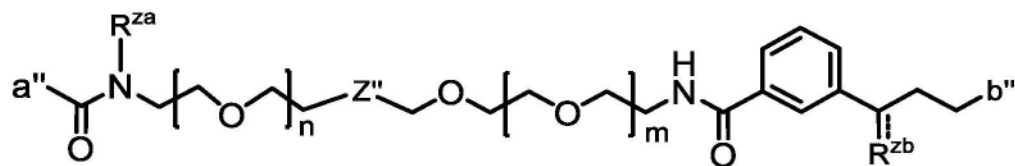
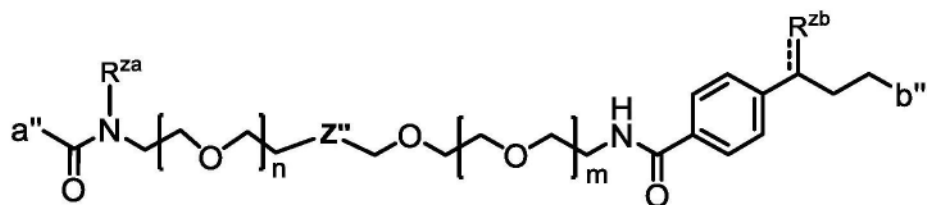


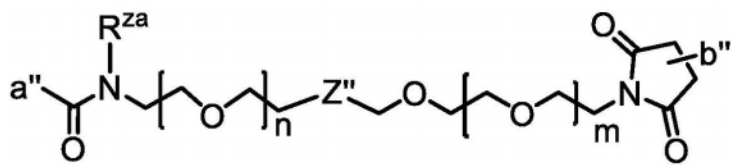
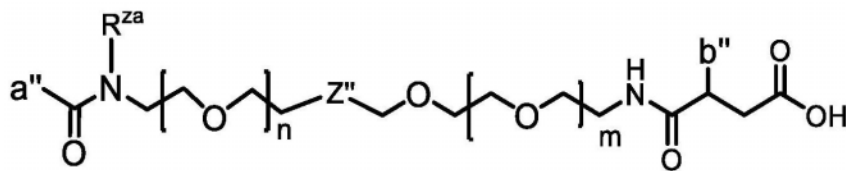
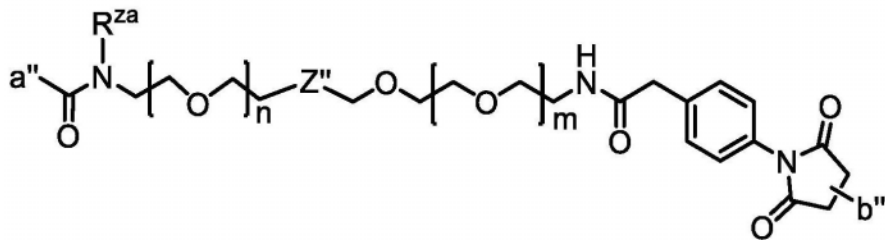
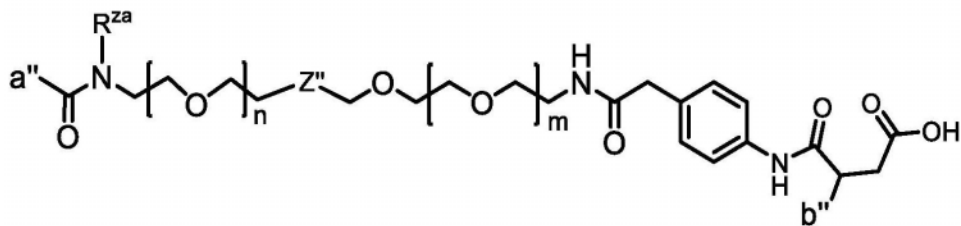
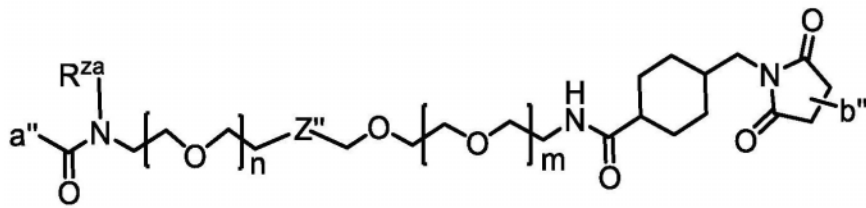
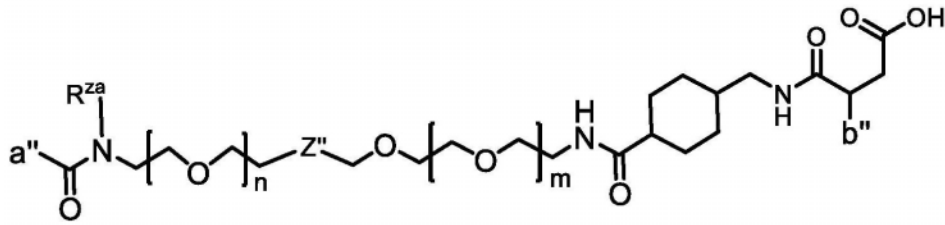
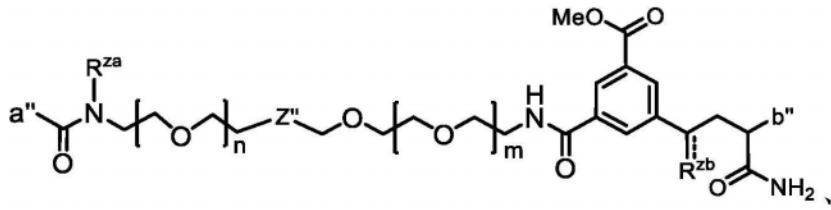
(XIV);

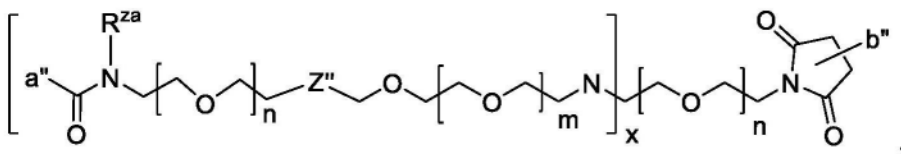
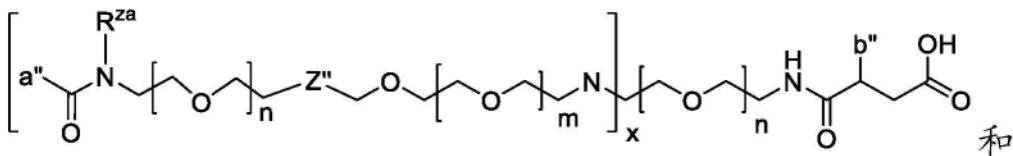
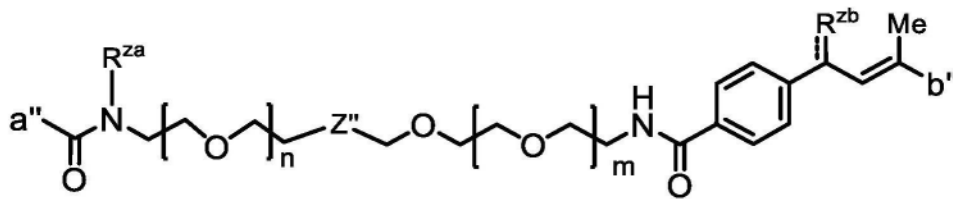
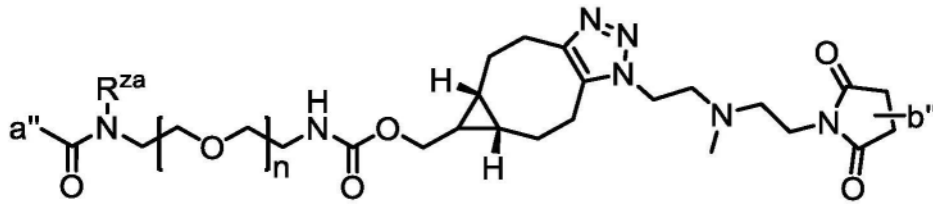
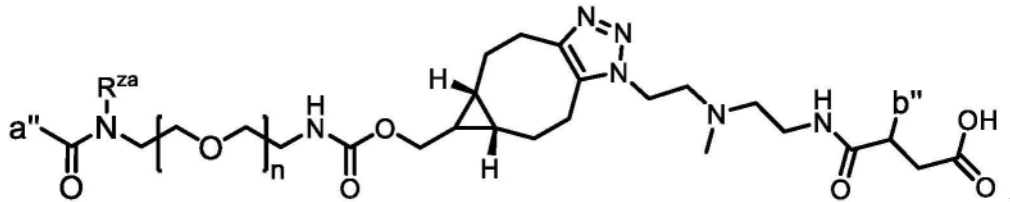
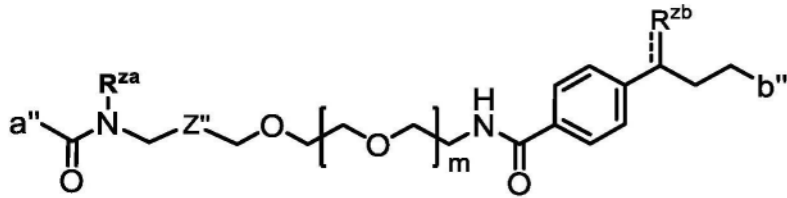
或其药学上可接受的盐；

其中TM是靶向部分。

261. 如权利要求260所述的靶向药物缀合物,其中Z'选自







其中

R^{za}是H或甲基;

R^{zb}是-OH、=O或=NOH;

n和m各自独立地是选自1-10的整数;

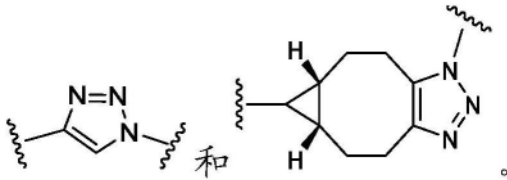
x是选自1-2的整数;

-----单键或双键;

a''表示Z'与药物缀合物之间的键;

b''表示Z'与TM之间的键;并且

Z''选自



262. 如权利要求259-261中任一项所述的靶向药物缀合物,其中所述TM是纳米颗粒、免疫球蛋白、核酸、蛋白质、寡肽、多肽、抗体、抗原性多肽的片段或重复体。

263. 如权利要求262所述的靶向药物缀合物,其中所述TM是选自以下的抗体:完整多克隆抗体、完整单克隆抗体、抗体片段、单链Fv(scFv)突变体、多特异性抗体、双特异性抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人类抗体、包含抗体的抗原决定簇部分的融合蛋白以及包含抗原识别位点的其它经修饰免疫球蛋白分子。

264. 如权利要求262所述的靶向药物缀合物,其中所述抗体选自莫罗单抗-CD3、阿昔单抗、利妥昔单抗、达克珠单抗、帕利珠单抗、英夫利昔单抗、曲妥珠单抗(赫赛汀)、依那西普、巴利昔单抗、吉妥珠单抗奥唑米星、阿仑单抗、替伊莫单抗、阿达木单抗、阿法西普、奥马珠单抗、依法珠单抗、托西莫单抗- I^{131} 、西妥昔单抗、贝伐单抗、那他珠单抗、雷珠单抗、帕尼单抗、依库珠单抗、利洛西普、培塞利珠单抗、罗米司亭、AMG-531、CNT0-148、CNT0-1275、ABT-874、LEA-29Y、贝利木单抗、TACI-Ig、第二代抗CD20、ACZ-885、托珠单抗、阿利珠单抗、美泊利单抗、帕妥珠单抗、Humax CD20、替西木单抗(CP-675 206)、替西木单抗、MDX-010、IDEC-114、伊妥珠单抗奥佐霉素、HuMax EGFR、阿柏西普、HuMax-CD4、Ala-Ala、ChAglyCD3、TRX4、卡妥索单抗、IGN101、MT-201、普瑞戈夫单抗、CH-14.18、WX-G250、AMG-162、AAB-001、莫维组单抗、MEDI-524、依芬古单抗、奥罗瑞巴、雷昔库单抗、第三代抗CD20、LY2469298和维妥组单抗。

265. 一种治疗癌症的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用权利要求1-264中任一项所述的化合物、药物缀合物、靶向药物缀合物或药物组合物。

266. 如权利要求265所述的方法,其中所述癌症选自白血病、淋巴瘤、乳腺癌、结肠癌、卵巢癌、膀胱癌、前列腺癌、神经胶质瘤、肺癌、支气管癌、结直肠癌、胰腺癌、食道癌、肝癌、尿膀胱癌、肾癌、肾盂癌、口腔癌、咽癌、子宫体癌或黑色素瘤。

267. 一种治疗自身免疫性疾病或炎性疾病的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用权利要求1-264中任一项所述的化合物、药物缀合物、靶向药物缀合物或药物组合物。

268. 如权利要求267所述的方法,其中所述自身免疫性疾病或炎性疾病选自B细胞介导的自身免疫性疾病或炎性疾病,例如系统性红斑狼疮(SLE)、类风湿性关节炎(RA)、特发性血小板减少性紫癜(ITP)、瓦尔登斯特伦氏高丙种球蛋白血症、干燥综合征、多发性硬化症(MS)或狼疮性肾炎。

包含具有极性基团的毒素的抗体药物缀合物及其用途

[0001] 相关申请的交叉引用

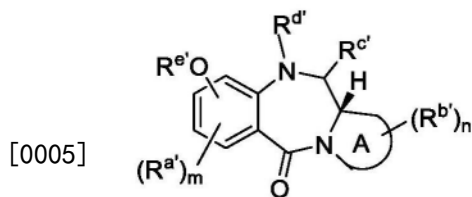
[0002] 本申请要求2021年12月21日提交的美国临时专利申请号63/292,101的优先权益。此申请的全文通过引用并入本文。

背景技术

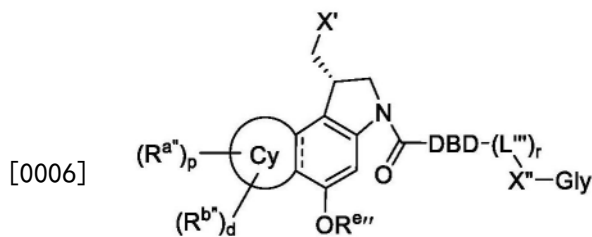
[0003] 可裂解药物缀合物有可能将抗体或其它靶向基团的结合特异性与化学治疗剂的效力结合起来。由于靶向可以使药物准确地递送至目标癌细胞并且在特定条件下释放,同时最大限度地减少对健康细胞的附带损害,因此这种技术提高了治疗剂的功效并降低了不良反应的风险。然而,常规治疗显示药物非选择性摄取至正常细胞和癌细胞中,并且它们的治疗作用并不显著。非选择性摄取主要是由于接头-药物的疏水性,并且尽管正在进行降低接头-药物疏水性的研究,但迄今为止取得的成功有限。

发明内容

[0004] 在某些方面,本文提供了药物缀合物,所述药物缀合物包含由式(VII)或式(VIII)表示的化合物和接头基团:



(VII); 或



(VIII);

[0007] 或其药学上可接受的盐;

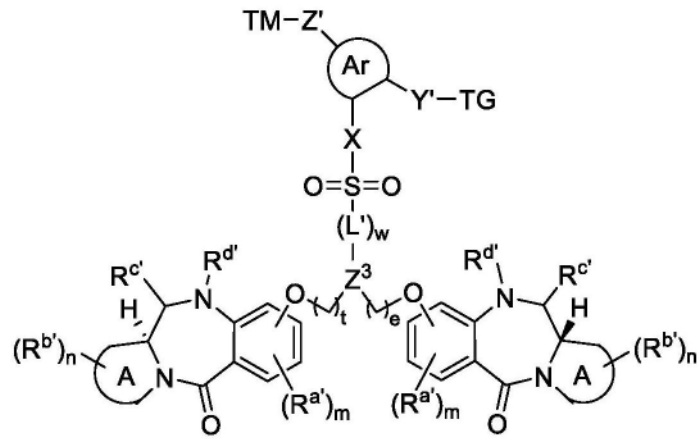
[0008] 其中:

[0009] A是杂环;

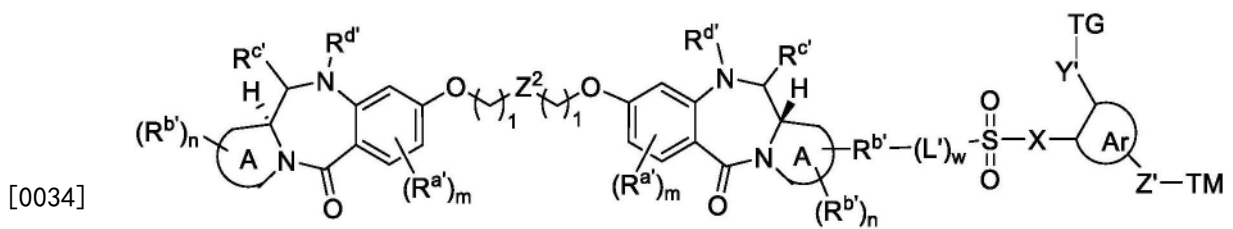
[0010] 每个 R^a 和 R^b 独立地是卤素、氨基、羟基、乙酰基、羟烷基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;

[0011] 两个偕位 R^b 任选地一起形成氧代或 $=CH_2$;或两个 R^b 与间插原子一起任选地构成环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;

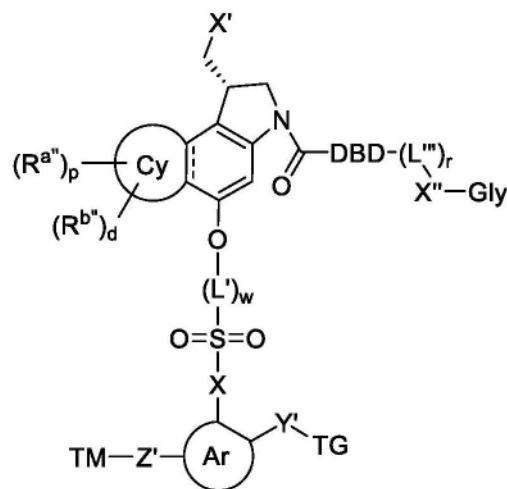
- [0012] R^c 是磺酸酯、硫酸酯、羟基、氨基或硫醇；
- [0013] R^d 是-L''-Gly、氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基；
- [0014] 前提条件是至少一个R^c 是磺酸酯或硫酸酯，或者至少一个R^d 是-L''-Gly；
- [0015] R^e 是氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基；
- [0016] m是选自0-3的整数；
- [0017] n是选自0-8的整数，只要价数允许；
- [0018] 环Cy选自芳基、杂芳基、环烷基或杂环烷基；
- [0019] ---是单键或双键；
- [0020] X' 是卤素；
- [0021] X'' 是-NR-、-S-或-O-；
- [0022] R是氢或烷基；
- [0023] 每个R^a 和R^b 独立地是卤素、氨基、羟基、烷氧基、乙酰基、羟烷基、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、=O、羧基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基或-(L''')_r-X''-Gly；
- [0024] d是选自0-4的整数；
- [0025] r是0-1的整数；
- [0026] 每个L''' 是键或接头，
- [0027] R^e 是氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基；
- [0028] p是选自0-4的整数；
- [0029] DBD是DNA结合结构域；
- [0030] L'' 是键或接头；并且
- [0031] Gly是单糖、二糖或寡糖。
- [0032] 在某些方面，本文提供了靶向药物缀合物，所述靶向药物缀合物包含药物缀合物，所述药物缀合物包含本公开的化合物、接头基团和靶向部分。
- [0033] 在某些实施方案中，靶向药物缀合物是由式 (XII)、式 (XIII) 或式 (XIV) 表示的化合物：



(XII);



(XIII); 或



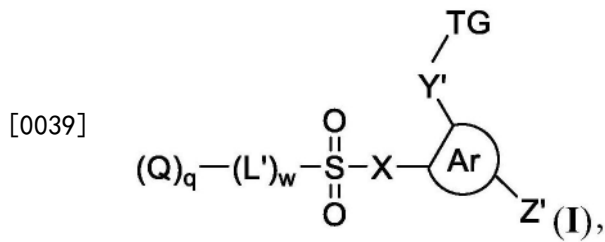
(XIV);

[0035] 或其药学上可接受的盐;

[0036] 其中TM是靶向部分。

[0037] 在某些方面,本文提供了包含活性剂和连接基团的药物缀合物;其中所述活性剂被极性基团取代。在一些实施方案中,极性基团选自糖、硫酸酯或磺酸酯。

[0038] 在一些实施方案中,包含活性剂和连接基团的药物缀合物是式(I)的药物缀合物:



[0040] 或其药学上可接受的盐；

[0041] 其中：

[0042] Z' 是偶联基团；

[0043] Ar 是芳基、杂芳基、环烷基或杂环烷基；

[0044] Y' 是 $-(CR^b)_y N(R^a)-$ 、 $-(CR^b)_y O-$ 或 $-(CR^b)_y S-$ ，其定位使得如果 y 是 1，则 N、O 或 S 原子连接至 TG；

[0045] TG 是触发基团，当其被激活时会生成 N、O 或 S 原子，所述原子能够与 SO_2 反应以置换 $(Q)_q - (L')_w$ 并且形成包括 X- SO_2 和 Ar 的间插原子的 5 至 6 元环；

[0046] X 是 $-O-$ 、 $-C(R^b)_2-$ 或 $-N(R^c)-$ ；

[0047] L' 是间隔部分，如果存在的话，所述间隔部分经由选自 O、S 和 N 的杂原子连接至 SO_2 ，并且经选择以使得 L' 与 SO_2 之间的键的断裂促进活性剂的释放；

[0048] 每个 Q 独立地是被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的活性剂；

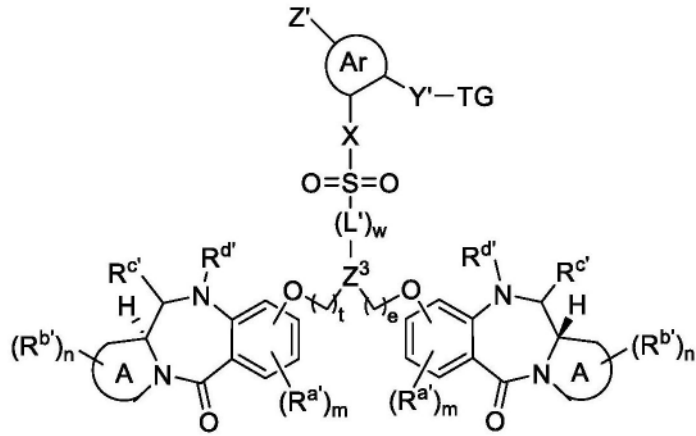
[0049] q 是 1 至 3 的整数；

[0050] w 和 y 各自独立地是 0 或 1；并且

[0051] R^a 、 R^b 和 R^c 各自独立地是氢或 C_{1-6} 烷基；或两个 R^b 与它们所连接的原子一起构成 3 至 5 元环；

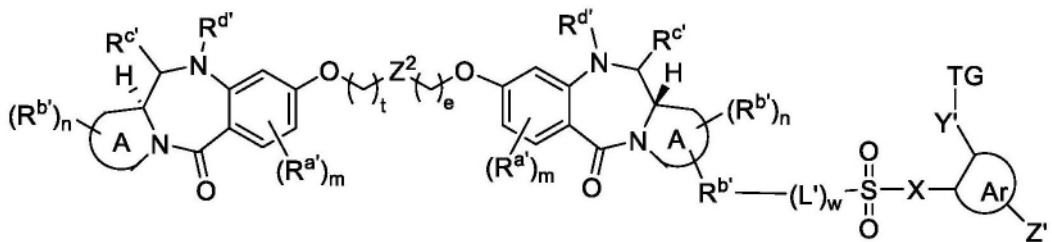
[0052] 前提条件是当 w 是 0 时，q 是 1。

[0053] 在某些实施方案中，药物缀合物是式 (IIIa) 或式 (IIIb) 化合物：



[0054]

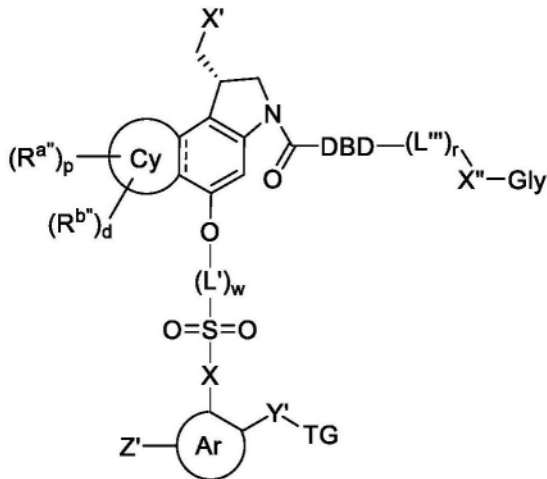
(IIIa); 或



(IIIb);

[0055] 或其药学上可接受的盐。

[0056] 在进一步的实施方案中, 药物缀合物是由式 (V) 表示的化合物:

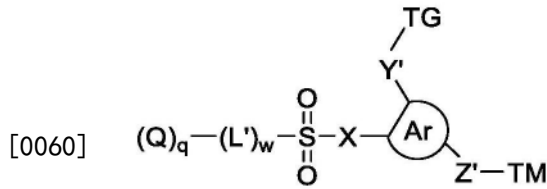


[0057]

(V);

[0058] 或其药学上可接受的盐。

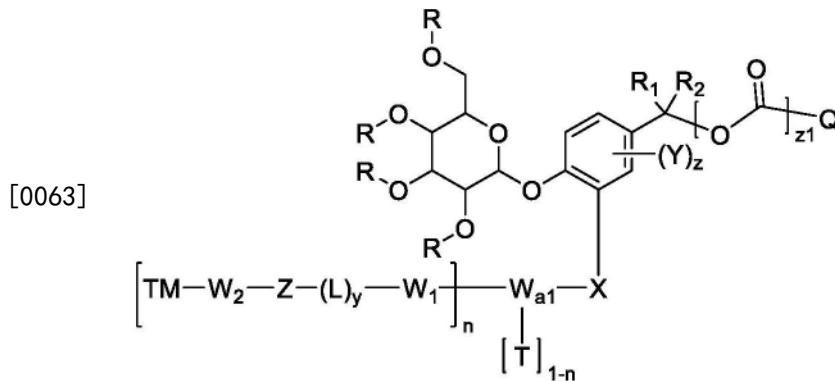
[0059] 在进一步的方面, 本文提供了式 (VI) 的靶向药物缀合物, 所述靶向药物缀合物包含缀合至本公开的药物缀合物中的任一者的靶向部分:



(VI);

[0061] 其中TM是靶向部分。

[0062] 在更进一步的方面,本文提供了式(VIb)的靶向药物缀合物,所述靶向药物缀合物包含缀合至本公开的缀合物的靶向部分:



(VIb);

[0064] 其中:

[0065] TM是靶向部分;

[0066] R是氢或羟基保护基;

[0067] X是-C(O)-、-NH-、-O-或-S-;

[0068] Q是被糖、磺酸酯或硫酸酯取代的活性剂;

[0069] T是 $\text{B}'-\text{U1}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{X}_3)_{\text{p4}}-(\text{CH}_2)_{\text{p3}}-\text{W}_{\text{a4}}-\text{Q}_2-\text{W}_{\text{a3}}-\text{W}_1$;

[0070] n是选自0或1的整数;

[0071] Y是氢、卤代C₁-C₈烷基、卤素、氰基或硝基; z是选自1-3的整数,并且如果z是不小于2的整数,则Y可以彼此相同或不同;

[0072] z1是选自0或1的整数;

[0073] W₁是 $-\text{W}_{\text{a2}}-(\text{CH}_2)_{\text{a1}}-\text{W}_{\text{b1}}-\text{Q}_1-$;

[0074] W₂是 $-\text{W}_{\text{a4}}-\text{Q}_2-\text{W}_{\text{a3}}-$;

[0075] W_{a1}和W_{a2}各自独立地是-NH-、-C(=O)-或-CH₂-;

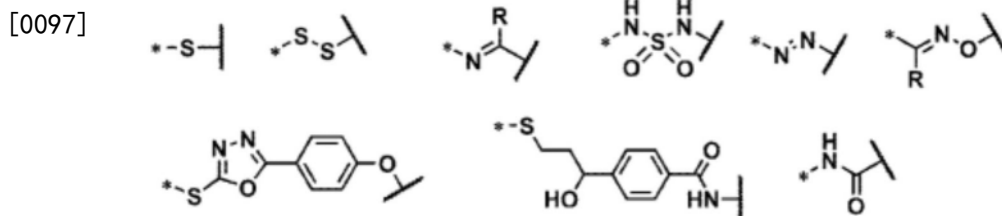
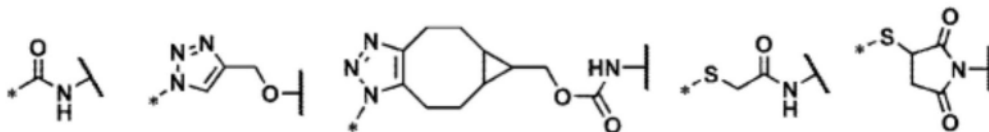
[0076] W_{a3}和W_{a4}各自独立地是-NH-、-C(=O)-、-CH₂-、-C(=O)NH-、-NHC(=O)-或亚三唑基;

[0077] W_{b1}是酰胺键或亚三唑基;

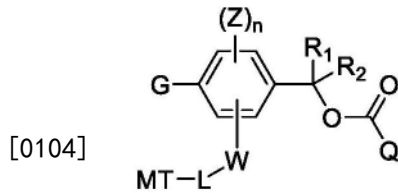
[0078] L是作为连接W_{a2}和Z的接头的氨基酸、肽或酰胺键;

[0079] Z是单键、-W_{a5}-(CH₂)_{a2}-W_{b2}-(CH₂)_{a3}-W_{a6}-或-W_{a7}-(CH₂)_{a4}-CR'R''-X'''-;

- [0081] R'是C₁-C₈烷基或TM-W_{a8}-Q₃-W_{c1}-(CH₂)_{a5}-;
- [0082] R''是TM-W_{a8}-Q₃-W_{c1}-(CH₂)_{a5}-;
- [0083] Q₁和Q₃各自独立地是-(CH₂)_{a6}-(X₁CH₂CH₂)_{b1}-(CH₂)_{a7}-;
- [0084] X₁和X₃各自独立地是-O-、-S-、-NH-或-CH₂-;
- [0085] X''是-NHC(=O)-(CH₂)_{a8}-W_{a9}-或-C(=O)NH-(CH₂)_{a8}-W_{a9}-;
- [0086] W_{a5}、W_{a6}、W_{a7}、W_{a8}和W_{a9}各自独立地是-NH-、-C(=O)-或-CH₂-;
- [0087] W_{b2}是酰胺键或亚三唑基;
- [0088] W_{c1}是-NHC(=O)-或-C(=O)NH-;
- [0089] Q₂是碳数为1至50的直链或支链的饱和或不饱和亚烷基,满足以下(i)至(iii)中的任一项;
- [0090] (i)所述亚烷基中的至少一个-CH₂-被一个或更多个选自-NH-、-C(=O)-、-O-和-S-的杂原子取代,
- [0091] (ii)至少一个亚芳基或亚杂芳基包含在所述亚烷基中,
- [0092] (iii)所述亚烷基进一步被选自由C₁-C₂₀烷基、C₆-C₂₀芳基C₁-C₈烷基、-(CH₂)_{s1}COOR₃、-(CH₂)_{s1}COR₃、-(CH₂)_{s2}CONR₄R₅和-(CH₂)_{s2}NR₄R₅组成的组的一者或更多者取代;
- [0093] 上述(ii)中的亚芳基或亚杂芳基可以进一步被硝基取代;
- [0094] R₃、R₄和R₅各自独立地是氢或C₁-C₁₅烷基;
- [0095] X₂是-O-、-S-、-NH-或-CH₂-;
- [0096] U₁通过选自以下结构的连接基团在星号(*)的位置处与B'结合:



- [0098] R是C₁-C₁₀烷基、C₆-C₂₀芳基或C₂-C₂₀杂芳基;
- [0099] TM和B'各自独立地是配体或蛋白质,所述配体或蛋白质具有将药物选择性靶向特定器官、组织或细胞的特性,即,与受体结合的特性;
- [0100] a1、a2、a3、a4、a5、a6、a8、b1、p1、p2、p3和p4各自独立地是选自1-10的整数;
- [0101] a7、y、s1、s2和s4各自独立地是选自0-10的整数;并且
- [0102] R₁和R₂各自独立是氢、C₁-C₈烷基或C₃-C₈环烷基。
- [0103] 在更进一步的方面,本文提供了式(VIc)的靶向药物缀合物,所述靶向药物缀合物包含缀合至本公开的药物缀合物的靶向部分:

**(VIc);**

[0105] 其中:

[0106] TM是靶向部分;

[0107] G是葡萄糖醛酸部分或其衍生物;

[0108] Q是被糖、磺酸酯或硫酸酯取代的活性剂;

[0109] W是吸电子基团;

[0110] Z是氢、 C_1 - C_8 烷基、卤素、氰基或硝基;

[0111] n是选自1-3的整数,并且当n是2或更大的整数时,每个Z彼此相同或不同;

[0112] L是连接TM和W的接头;并且

[0113] R_1 和 R_2 各自独立是氢、 C_1 - C_8 烷基或 C_3 - C_8 环烷基。

[0114] 在某些方面,本文提供了式(VIId)的靶向药物缀合物,所述靶向药物缀合物包含缀合至本公开的药物缀合物的靶向部分:

[0115] $TM-L_1-(A_a-W_w-Y_y-Q_{1-4})_p$

[0116] (VIId);

[0117] 其中TM是靶向部分;

[0118] L_1 是配体部分;

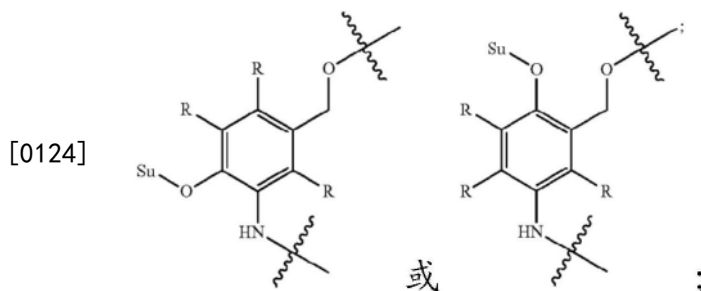
[0119] Q是被糖、磺酸酯或硫酸酯取代的活性剂;

[0120] $-A_a-W_w-Y_y-$ 是接头部分;

[0121] A是任选的延伸部分;

[0122] a是选自0-3的整数;

[0123] 每个W独立地是具有下式之一的葡萄糖苷酸单元:



[0125] Su是糖部分;

[0126] 每个R独立地是氢、卤素、-CN或- NO_2 ;

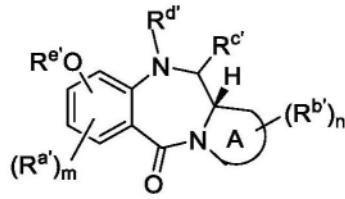
[0127] w是选自1-2的整数;

[0128] Y是任选的自离(self-immolative)间隔部分;

[0129] y是选自0-2的整数;并且

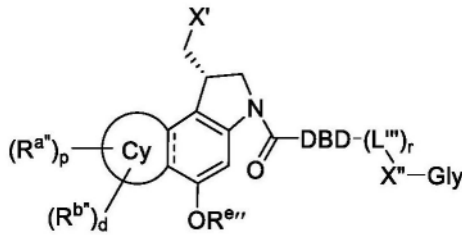
[0130] p是选自1-20的整数。

[0131] 在又进一步的方面,本文提供了式(VII)或式(VIII)化合物:



(VII); 或

[0132]



(VIII);

[0133] 或其药学上可接受的盐;

[0134] 其中:

[0135] A是杂环;

[0136] 每个 R^a' 和 R^b' 独立地是卤素、氨基、羟基、乙酰基、羟烷基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;

[0137] 两个偕位 R^b' 任选地一起形成氧代或 $=CH_2$;或两个 R^b' 与间插原子一起任选地构成环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;

[0138] R^c' 是磺酸酯、硫酸酯、羟基、氨基或硫醇;

[0139] R^d' 是 $-L''-Gly$ 、氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;

[0140] 前提条件是至少一个 R^c' 是磺酸酯或硫酸酯,或者至少一个 R^d' 是 $-L''-Gly$;

[0141] R^e' 是氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;

[0142] m是选自0-3的整数;

[0143] n是选自0-8的整数,只要价数允许;

[0144] 环Cy选自芳基、杂芳基、环烷基或杂环烷基;

[0145] --- 是单键或双键;

[0146] X' 是卤素;

[0147] X'' 是 $-NR-$ 、 $-S-$ 或 $-O-$;

[0148] 每个 R^a'' 和 R^b'' 独立地是卤素、氨基、羟基、烷氧基、乙酰基、羟烷基、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、 $=O$ 、羧基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基或 $-(L''')_r-X''-Gly$;

[0149] d是选自0-4的整数;

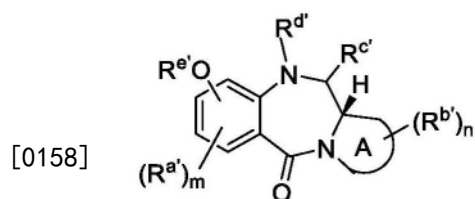
[0150] r是选自0-1的整数;

[0151] 每个 L''' 是键或接头,

[0152] R^e'' 是氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;

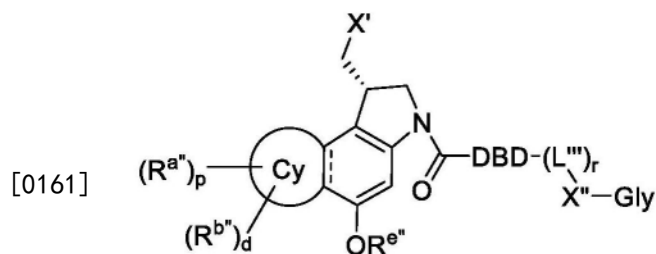
[0153] p是选自0-4的整数;

- [0154] DBD是DNA结合结构域；
 [0155] L'是键或接头；并且
 [0156] Gly是单糖、二糖或寡糖。
 [0157] 在某些实施方案中,化合物是式(VII)化合物:



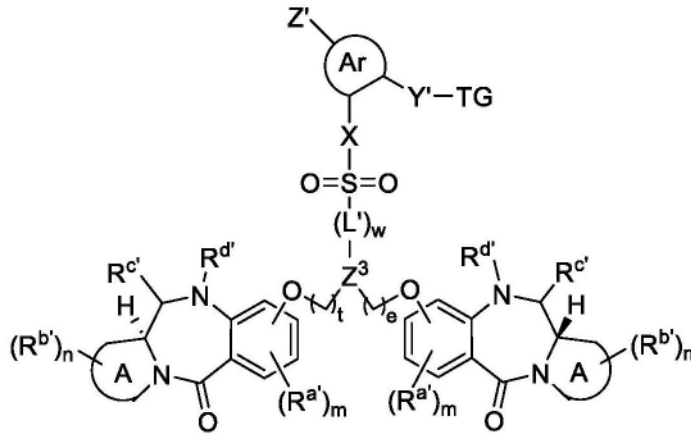
(VII);

- [0159] 或其药学上可接受的盐。
 [0160] 在进一步的实施方案中,化合物是式(VIII)化合物:



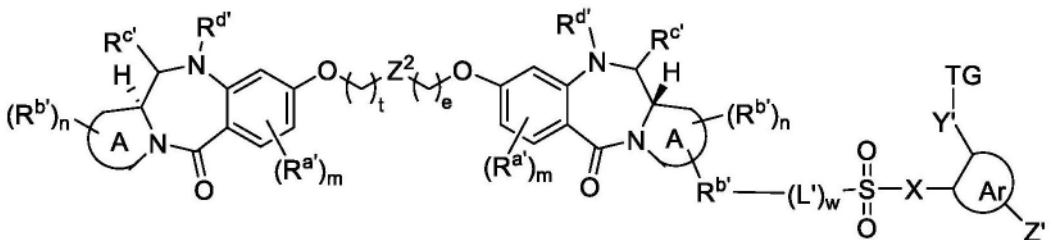
(VIII);

- [0162] 或其药学上可接受的盐。
 [0163] 在某些方面,本文提供了药物缀合物,所述药物缀合物包含所公开的化合物中的任一者和接头基团。在某些实施方案中,药物缀合物是式(IX)、式(X)或式(XI)化合物:

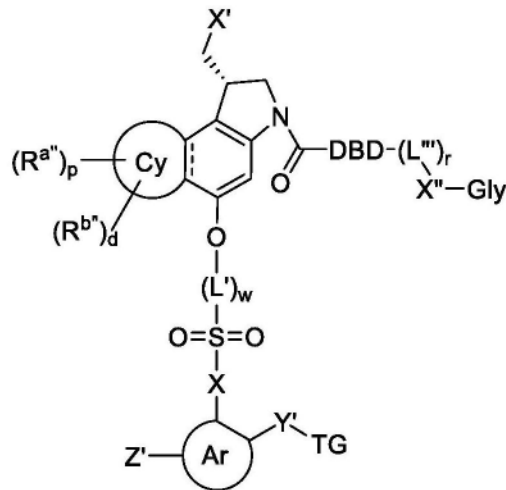


(IX);

[0164]



(X); 或



(XI);

[0165] 或其药学上可接受的盐;

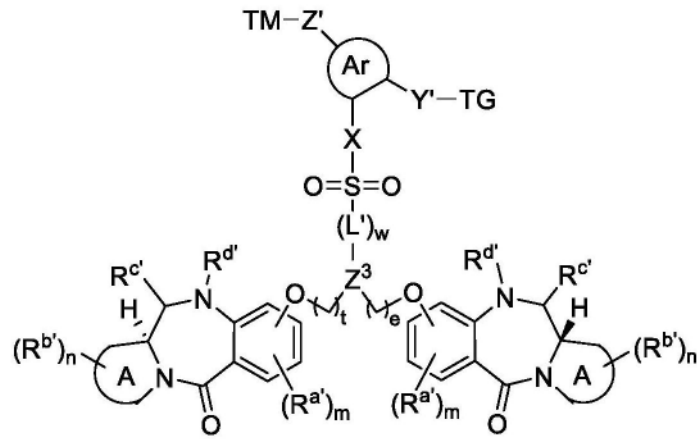
[0166] 其中:

[0167] Z' 是偶联基团;

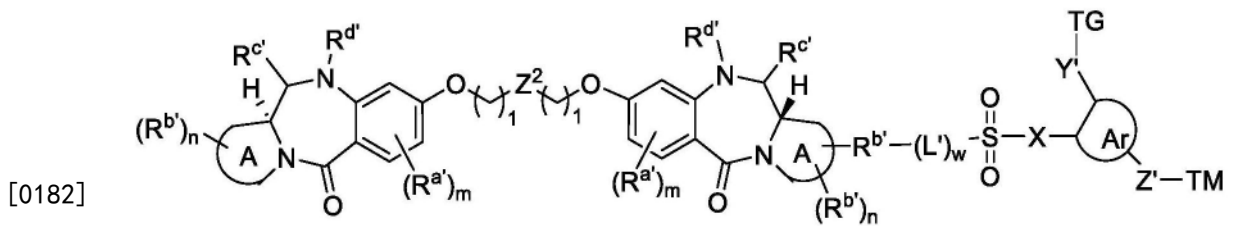
[0168] Ar 是芳基、杂芳基、环烷基或杂环烷基;

[0169] Y' 是 $-(CR^b)_yN(R^a)-$ 、 $-(CR^b)_yO-$ 或 $-(CR^b)_yS-$, 其定位使得如果 y 是 1, 则 N、O 或 S 原子连接至 TG;

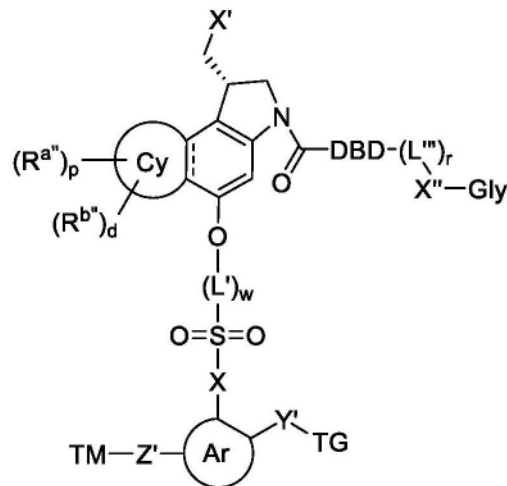
- [0170] TG是触发基团,当其被激活时会生成N、O或S原子,所述原子能够与SO₂反应以置换(Q)_q-(L')_w并且形成包括X-SO₂和Ar的间插原子的5至6元环;
- [0171] X是-O-、-C(R^b)₂-或-N(R^c)-;
- [0172] L'是间隔部分,如果存在的话,所述间隔部分经由选自O、S和N的杂原子连接至SO₂,并且经选择以使得L'与SO₂之间的键的断裂促进活性剂的释放;
- [0173] w是选自0-1的整数;
- [0174] r是0-1的整数;
- [0175] Z²是连接基团;
- [0176] Z³是连接基团;
- [0177] R^a、R^b和R^c各自独立地是氢或低级烷基;
- [0178] y是选自0-1的整数;
- [0179] t是1-5的整数;并且
- [0180] e是1-5的整数。
- [0181] 在进一步的方面,本文提供了靶向药物缀合物,所述靶向药物缀合物包含本文所提供的药物缀合物中的任一者和靶向部分。在某些实施方案中,药物缀合物是式(XII)、式(XIII)或式(XIV)化合物:



(XII);



(XIII); 或



(XIV);

[0183] 或其药学上可接受的盐;

[0184] 其中TM是靶向部分。

[0185] 在更进一步的方面,本文提供了治疗癌症的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用本文所提供的化合物、药物缀合物、靶向药物缀合物或药物组合物中的任一者。在某些实施方案中,癌症选自白血病、淋巴瘤、乳腺癌、结肠癌、卵巢癌、膀胱癌、前列腺癌、神经胶质瘤、肺癌、支气管癌、结直肠癌、胰腺癌、食道癌、肝癌、尿膀胱癌、肾癌、肾盂癌、口腔癌、

咽癌、子宫体癌或黑色素瘤。

[0186] 在又进一步的方面,本文提供了治疗自身免疫性疾病或炎性疾病的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用本文所提供的化合物、药物缀合物、靶向药物缀合物或药物组合物中的任一者。在某些实施方案中,自身免疫性疾病或炎性疾病选自B细胞介导的自身免疫性疾病或炎性疾病,例如系统性红斑狼疮(SLE)、类风湿性关节炎(RA)、特发性血小板减少性紫癜(ITP)、瓦尔登斯特伦氏高丙种球蛋白血症(Waldenström's hypergammaglobulinaemia)、干燥综合征(Sjogren's syndrome)、多发性硬化症(MS)或狼疮性肾炎。

附图说明

[0187] 图1A显示了T-2-AB、T-3-AB和T-4-AB在JIMT-1异种移植模型中的体内功效。

[0188] 图1B显示了T-103-AB、T-104-AB、T-116-AB和T-117-AB在JIMT-1异种移植模型中的体内功效。

[0189] 图2A显示了seco-MCBI-HAI倍癌毒素(duocarmycin)有效负荷的血浆稳定性,其中A指示未取代的毒素-接头缀合物,并且B指示糖取代的毒素-接头缀合物。

[0190] 图2B显示了seco-DUBA倍癌毒素有效负荷的血浆稳定性,其中C指示未取代的毒素-接头缀合物,并且D指示糖取代的毒素-接头缀合物。

具体实施方式

[0191] 本文提供了可用于治疗癌症和/或自身免疫性疾病或炎性疾病的化合物、药物缀合物和靶向药物缀合物。化合物、药物缀合物和靶向药物缀合物可以来源于已用糖、硫酸酯或磺酸酯修饰的各类毒素有效负荷。化合物、药物缀合物和靶向药物缀合物可以显著减少药物的非特异性摄取。

[0192] 本文所公开的技术的一些组分,包括可裂解接头技术和靶向部分,进一步描述于WO 2019/008441、WO 2019/229536、WO 2020/141459、WO 2020/141460、PCT/IB2021/000445、US16,472,983、US14,898,932和US 11,996,009中,各自通过引用整体并入本文。

[0193] 定义

[0194] 除非本文另有定义,否则本申请中所用的科学和技术术语应具有本领域普通技术人员通常理解的含义。一般来说,本文所描述的与化学、细胞和组织培养、分子生物学、细胞和癌症生物学、神经生物学、神经化学、病毒学、免疫学、微生物学、药理学、遗传学以及蛋白质和核酸化学结合使用的术语和技术是本领域中众所周知和常用的那些。

[0195] 除非另有指示,否则本公开的方法和技术一般是根据本领域中众所周知并且如本说明书通篇引用和论述的各种一般性和更具体参考文献中描述的常规方法来执行。参见例如“Principles of Neural Science”, McGraw-Hill Medical, New York, N.Y. (2000); Motulsky, “Intuitive Biostatistics”, Oxford University Press, Inc. (1995); Lodish 等人, “Molecular Cell Biology, 第4版”, W.H. Freeman & Co., New York (2000); Griffiths 等人, “Introduction to Genetic Analysis, 第7版”, W.H. Freeman & Co., N.Y. (1999); 和 Gilbert 等人, “Developmental Biology, 第6版”, Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA (2000)。

[0196] 除非本文另有定义,否则本文所用的化学术语是根据本领域中的常规用法来使用,如由“The McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms”,Parker S.编,McGraw-Hill,San Francisco,C.A.(1985)所例示。

[0197] 所有上述内容以及本申请中提及的任何其它公布、专利和公布的专利申请都通过引用明确并入本文。在发生冲突的情况下,将以本说明书(包括其具体定义)为准。

[0198] 术语“剂”在本文中用于表示化合物(诸如有机或无机化合物、化合物的混合物)、生物高分子(诸如核酸、抗体,包括其部分以及人源化、嵌合和人类抗体以及单克隆抗体、蛋白质或其部分,例如肽、脂质、碳水化合物)或由生物材料诸如细菌、植物、真菌或动物(特别是哺乳动物)细胞或组织制成的提取物。剂包括例如结构已知的剂和结构未知的剂。此类剂抑制AR或促进AR降解的能力可以使它们适合作为本公开的方法和组合物中的“治疗剂”。

[0199] “患者”、“受试者”或“个体”可互换使用并且是指人类或非人类动物。这些术语包括哺乳动物,诸如人类、灵长类动物、家畜动物(包括牛、猪等)、伴侣动物(例如犬、猫等)以及啮齿动物(例如小鼠和大鼠)。

[0200] “治疗”疾患或患者是指采取措施以获得有益的或所需的结果,包括临床结果。如本文所用以及如本领域中充分理解,“治疗”是用于获得有益的或所需的结果(包括临床结果)的方法。有益的或所需的临床结果可以包括但不限于一种或更多种症状或疾患的减轻或改善、疾病程度的减小、疾病状态的稳定(即,不恶化)、疾病扩散的预防、疾病进展的延缓或减慢、疾病状态的改善或缓和以及缓解(无论是部分缓解还是全部缓解),无论是可检测的还是不可检测的。“治疗”还可以意指与未接受治疗时预期的存活相比延长存活。

[0201] 术语“预防”是本领域公认的,并且当相对于疾患诸如局部复发(例如疼痛)、疾病诸如癌症、征候诸如心力衰竭或任何其它医学疾患使用时是本领域中众所周知的,并且包括施用组合物,相对于不接受所述组合物的受试者,所述组合物减少受试者的医学疾患的症状的频率,或延缓其发作。因此,癌症的预防包括例如减少接受预防性治疗的患者群体相对于未治疗对照群体的可检测癌性生长的数目,和/或延缓治疗群体相对于未治疗对照群体的可检测癌性生长的出现,例如,以统计上和/或临床上显著的量。

[0202] 向受试者“施用(administering/administration)”物质、化合物或剂可以使用本领域技术人员已知的多种方法中的一种来实施。举例来说,化合物或剂可以通过以下方式施用:静脉内、动脉内、真皮内、肌内、腹膜内、皮下、经眼部、舌下、口服(通过摄入)、鼻内(通过吸入)、脊柱内、脑内和透皮(通过吸收,例如通过皮肤管)。化合物或剂还可以适当地通过可再装填或可生物降解聚合物装置或为化合物或剂提供延长的、缓慢的或受控的释放的其它装置(例如贴剂和泵剂)或制剂来引入。施用还可以例如进行一次、多次和/或在一个或多个延长时间段内进行。

[0203] 向受试者施用物质、化合物或剂的适当方法还将取决于例如受试者的年龄和/或身体状况以及化合物或剂的化学和生物特性(例如溶解性、可消化性、生物利用度、稳定性和毒性)。在一些实施方案中,例如通过摄入向受试者口服施用化合物或剂。在一些实施方案中,口服施用的化合物或剂在延长释放或缓慢释放制剂中,或者使用用于此种缓慢或延长释放的装置来施用。

[0204] 如本文所用,短语“联合施用”是指两种或更多种不同治疗剂的任何形式的施用,使得当先前施用的治疗剂在体内仍然有效时施用第二剂(例如,两种剂在患者中同时有效,

其可以包括两种剂的协同作用)。举例来说,不同的治疗化合物可以在同一制剂中或在单独的制剂中同时或依序施用。因此,接受此种治疗的个体可以受益于不同治疗剂的组合作用。

[0205] 药物或剂的“治疗有效量”或“治疗有效剂量”是药物或剂当向受试者施用时将具有预期的治疗作用的量。完全治疗作用不一定通过施用一次剂量而出现,并且可能仅在施用一系列剂量后才出现。因此,可以在一次或更多次施用中施用治疗有效量。受试者所需的精确有效量将取决于例如受试者的身材、健康和年龄,以及所治疗的疾患(诸如癌症或MDS)的性质和程度。技术人员可以容易地通过常规实验来确定给定情况的有效量。

[0206] 如本文所用,术语“任选的”或“任选地”意指随后描述的事件或情形可能发生或可能不发生,并且所述描述包括其中事件或情形发生的情况以及其中事件或情形不发生的情况。举例来说,“任选取代的烷基”是指烷基可以被取代以及其中烷基未被取代的情况。

[0207] 应理解,本公开的化合物上的取代基和取代模式可以由本领域普通技术人员选择以得到化学稳定的化合物,所述化合物可以通过本领域中已知的技术以及下文所阐述的那些方法由易于获得的起始材料容易地合成。如果取代基本身被多于一个基团取代,则应理解,这多个基团可以处于同一碳上或处于不同的碳上,只要得到稳定的结构即可。

[0208] 如本文所用,术语“任选取代的”是指用指定取代基置换给定结构中的一至六个氢原子,所述取代基包括但不限于:羟基、羟烷基、烷氧基、卤素、烷基、硝基、硅基、酰基、酰氧基、芳基、环烷基、杂环基、氨基、氨基烷基、氰基、卤代烷基、卤代烷氧基、-OC(O)-CH₂-O-烷基、-OP(O)(O-烷基)₂或-CH₂-OP(O)(O-烷基)₂。优选地,“任选取代的”是指用以上所提及的取代基置换给定结构中的一至四个氢原子。更优选地,一至三个氢取代基被以上所提及的取代基置换。应理解,取代基可以被进一步取代。

[0209] 如本文所用,术语“烷基”是指饱和脂肪族基团,包括但不限于C₁-C₁₀直链烷基或C₁-C₁₀支链烷基。优选地,“烷基”基团是指C₁-C₆直链烷基或C₁-C₆支链烷基。最优选地,“烷基”基团是指C₁-C₄直链烷基或C₁-C₄支链烷基。“烷基”的实例包括但不限于甲基、乙基、1-丙基、2-丙基、正丁基、仲丁基、叔丁基、1-戊基、2-戊基、3-戊基、新戊基、1-己基、2-己基、3-己基、1-庚基、2-庚基、3-庚基、4-庚基、1-辛基、2-辛基、3-辛基或4-辛基等。“烷基”基团可以被任选取代。

[0210] 术语“酰基”是本领域公认的,并且是指由通式烃基C(O)-,优选烷基C(O)-表示的基团。

[0211] 术语“酰基氨基”是本领域公认的,并且是指被酰基取代的氨基,并且可以例如由通式烃基C(O)NH-表示。

[0212] 术语“酰氧基”是本领域公认的,并且是指由通式烃基C(O)O-,优选烷基C(O)O-表示的基团。

[0213] 术语“烷氧基”是指连接有氧的烷基。代表性烷氧基包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、叔丁氧基等。

[0214] 术语“烷氧基烷基”是指被烷氧基取代的烷基,并且可以由通式烷基-O-烷基表示。

[0215] 术语“烷基”是指饱和脂肪族基团,包括直链烷基、支链烷基、环烷基(脂环族)基团、烷基取代的环烷基和环烷基取代的烷基。在优选的实施方案中,直链或支链烷基在其主链中具有30个或更少的碳原子(例如,对于直链为C₁₋₃₀,对于支链为C₃₋₃₀),并且更优选20个或更少。术语“低级烷基”是指具有1-6个碳原子的烷基。

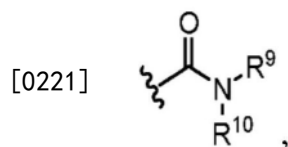
[0216] 此外,在整个说明书、实施例和权利要求书中使用的术语“烷基”旨在包括未取代和取代的烷基,后者是指在烃主链的一个或多个碳原子上具有置换氢的取代基的烷基部分,包括卤代烷基,诸如三氟甲基和2,2,2-三氟乙基等。

[0217] 当与诸如酰基、酰氧基、烷基、烯基、炔基或烷氧基的化学部分结合使用时,术语“C_{x-y}”或“C_x-C_y”意指包括在链中含有x至y个碳的基团。C₀烷基指示氢,其中基团处于末端位置,如果在内部则为键。举例来说,C₁₋₆烷基在链中含有一至六个碳原子。

[0218] 如本文所用,术语“烷基氨基”是指被至少一个烷基取代的氨基。

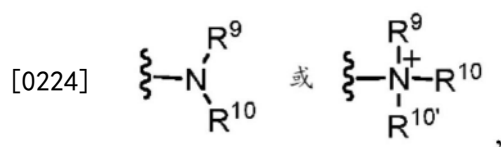
[0219] 如本文所用,术语“烷硫基”是指被烷基取代的硫醇基,并且可以由通式烷基S-表示。

[0220] 如本文所用,术语“酰胺”是指基团



[0222] 其中R⁹和R¹⁰各自独立地表示氢或烃基,或者R⁹和R¹⁰与它们所连接的N原子一起形成在环结构中具有4至8个原子的杂环。

[0223] 术语“胺”和“氨基”是本领域公认的,并且是指未取代的和取代的胺及其盐,例如,可以由下式表示的部分



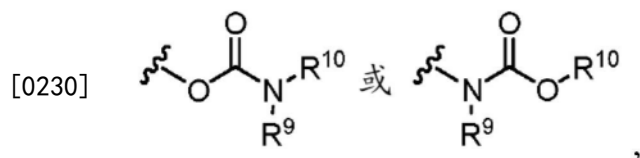
[0225] 其中R⁹、R¹⁰和R^{10'}各自独立地表示氢或烃基,者R⁹和R¹⁰与它们所连接的N原子一起形成在环结构中具有4至8个原子的杂环。

[0226] 如本文所用,术语“氨基烷基”是指被氨基取代的烷基。

[0227] 如本文所用,术语“芳烷基”是指被芳基取代的烷基。

[0228] 如本文所用,术语“芳基”包括取代或未取代的单环芳香族基团,其中环的每个原子是碳。环优选是5至7元环,更优选6元环。术语“芳基”还包括具有两个或更多个环的多环系统,其中两个或更多个碳是两个相邻环共有的,其中至少一个环是芳香族的,例如,其它环可以是环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基和/或杂环基。芳基包括苯、萘、菲、苯酚、苯胺等。

[0229] 术语“氨基甲酸酯”是本领域公认的,并且是指以下基团



[0231] 其中R⁹和R¹⁰独立地表示氢或烃基。

[0232] 如本文所用,术语“碳环基烷基”是指被碳环基团取代的烷基。

[0233] 术语“碳环”包括5-7元单环和8-12元双环。双环碳环的每个环可以选自饱和、不饱和和芳香族环。碳环包括双环分子,其中在两个环之间共用一个、两个或三个或更多个原

子。术语“稠合碳环”是指双环碳环,其中每个环与另一个环共用两个相邻原子。稠合碳环的每个环可以选自饱和、不饱和和芳香族环。在示例性实施方案中,芳香族环(例如苯基)可以与饱和或不饱和环(例如环己烷、环戊烷或环己烯)稠合。在价数允许时,饱和、不饱和和芳香族双环的任何组合都包括在碳环的定义中。示例性“碳环”包括环戊烷、环己烷、双环[2.2.1]庚烷、1,5-环辛二烯、1,2,3,4-四氢萘、双环[4.2.0]辛-3-烯、萘和金刚烷。示例性稠合碳环包括十氢萘、萘、1,2,3,4-四氢萘、双环[4.2.0]辛烷、4,5,6,7-四氢-1H-茚和双环[4.1.0]庚-3-烯。“碳环”可以在能够携带氢原子的任何一个或更多个位置处被取代。

[0234] 如本文所用,术语“碳环基烷基”是指被碳环基团取代的烷基。

[0235] 术语“碳酸酯”是本领域公认的,并且是指基团 $-OCO_2-$ 。

[0236] 如本文所用,术语“羧基”是指由式 $-CO_2H$ 表示的基团。

[0237] 如本文所用,术语“酯”是指基团 $-C(O)OR^9$,其中 R^9 表示烷基。

[0238] 如本文所用,术语“醚”是指通过氧连接至另一个烷基的烷基。因此,烷基的醚取代基可以是烷基-0-。醚可以是对称的或不对称的。醚的实例包括但不限于杂环-0-杂环和芳基-0-杂环。醚包括“烷氧基烷基”基团,其可以由通式烷基-0-烷基表示。

[0239] 如本文所用,术语“卤代”和“卤素”意指卤素,并且包括氯(Cl)、氟(F)、溴(Br)和碘(I)。

[0240] 如本文所用,术语“杂芳烷基(hetaralkyl)”和“杂芳烷基(heteroaralkyl)”是指被杂芳基取代的烷基。

[0241] 术语“杂芳基(heteroaryl)”和“杂芳基(hetaryl)”包括取代或未取代的芳香族单环结构,优选5至7元环,更优选5至6元环,其环结构包含至少一个杂原子,优选一至四个杂原子,更优选一个或两个杂原子。术语“杂芳基(heteroaryl)”和“杂芳基(hetaryl)”还包括具有两个或更多个环的多环系统,其中两个或更多个碳是两个相邻环共有的,其中至少一个环是杂芳香族的,例如,其它环可以是环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基和/或杂环基。杂芳基包括例如吡咯、呋喃、噻吩、咪唑、噁唑、噻唑、吡唑、吡啶、吡嗪、哒嗪和嘧啶等。

[0242] 如本文所用,术语“杂原子”意指除碳或氢以外的任何元素的原子。优选的杂原子是氮、氧和硫。

[0243] 如本文所用,术语“杂环基烷基”是指被杂环基团取代的烷基。

[0244] 术语“杂环基”、“杂环”和“杂环的”是指取代或未取代的非芳香族环结构,优选3至10元环,更优选3至7元环,其环结构包含至少一个杂原子,优选一至四个杂原子,更优选一个或两个杂原子。术语“杂环基”和“杂环的”还包括具有两个或更多个环的多环系统,其中两个或更多个碳是两个相邻环共有的,其中至少一个环是杂环的,例如,其它环可以是环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基和/或杂环基。杂环基包括例如哌啶、哌嗪、吡咯烷、吗啉、内酯、内酰胺等。

[0245] 如本文所用,术语“烃基”是指通过不具有 $=O$ 或 $=S$ 取代基的碳原子键合的基团,并且通常具有至少一个碳-氢键和主要为碳的主链,但是可以任选地包含杂原子。因此,出于本申请的目的,如甲基、乙氧基乙基、2-吡啶基和甚至三氟甲基的基团被认为是烃基,但是诸如乙酰基(其在连接碳上具有 $=O$ 取代基)和乙氧基(其通过氧而不是碳连接)的取代基不是烃基。烃基包括但不限于芳基、杂芳基、碳环、杂环、烷基、烯基、炔基和它们的组合。

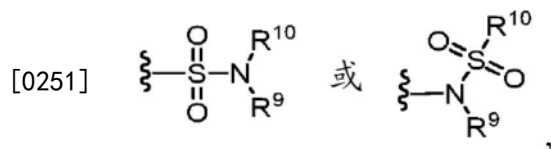
[0246] 如本文所用,术语“羟烷基”是指被羟基取代的烷基。

[0247] 当与诸如酰基、酰氧基、烷基、烯基、炔基或烷氧基的化学部分结合使用时,术语“低级”意指包括其中取代基中有十个或更少原子,优选六个或更少原子的基团。举例来说,“低级烷基”是指含有十个或更少,优选六个或更少的碳原子的烷基。在某些实施方案中,本文所定义的酰基、酰氧基、烷基、烯基、炔基或烷氧基取代基分别是低级酰基、低级酰氧基、低级烷基、低级烯基、低级炔基或低级烷氧基,无论它们是单独出现还是与其它取代基组合出现,诸如在叙述羟烷基和芳烷基中(在这种情况下,例如,当计算烷基取代基中的碳原子时,不计算芳基内的原子)。

[0248] 术语“多环基”、“多环”和“多环的”是指两个或更多个环(例如环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基和/或杂环基),其中两个或更多个原子是两个相邻环共用的,例如,环是“稠合环”。多环的每个环可以是取代或未取代的。在某些实施方案中,多环的每个环在环中含有3至10个原子,优选5至7个原子。

[0249] 术语“硫酸酯”是本领域公认的,并且是指基团 $-OSO_3H$ 或其药学上可接受的盐。

[0250] 术语“磺酰胺”是本领域公认的,并且是指由以下通式表示的基团



[0252] 其中 R^9 和 R^{10} 独立地表示氢或烃基。

[0253] 术语“亚砷”是本领域公认的,并且是指基团 $-S(O)-$ 。

[0254] 术语“磺酸酯”是本领域公认的,并且是指基团 SO_3H 或其药学上可接受的盐。

[0255] 术语“亚硫酸酯”是本领域公认的,并且是指基团 $-OS(O)OH$ 或其药学上可接受的盐。

[0256] 术语“硫酸酯”是本领域公认的,并且是指基团 $-OSO_3H$ 或其药学上可接受的盐。

[0257] 术语“砷”是本领域公认的,并且是指基团 $-S(O)_2-$ 。

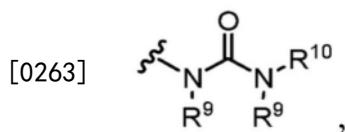
[0258] 术语“取代的”是指在主链的一个或更多个碳上具有置换氢的取代基的部分。将理解,“取代”或“被……取代”包括隐含的条件,即,此种取代是根据被取代原子和取代基的允许价数,并且所述取代产生稳定的化合物,例如,其不会自发地进行诸如通过重排、环化、消除等的转化。如本文所用,术语“取代的”预期包括有机化合物的所有可允许的取代基。在广义方面,可允许的取代基包括有机化合物的非环状的和环状的、支链的和非支链的、碳环的和杂环的、芳香族的和非芳香族的取代基。可允许的取代基可以是一个或更多个取代基并且对于适当的有机化合物是相同或不同的。出于本公开的目的,杂原子(诸如氮)可以具有氢取代基和/或满足杂原子价数的本文所描述的有机化合物的任何可允许的取代基。取代基可以包括本文所描述的任何取代基,例如卤素、羟基、羰基(诸如羧基、烷氧基羰基、甲酰基或酰基)、硫羰基(诸如硫酯、硫代乙酸酯或硫代甲酸酯)、烷氧基、磷酰基、磷酸酯、膦酸酯、次膦酸酯、氨基、酰胺基、脒、亚胺、氰基、硝基、叠氮基、巯基、烷硫基、硫酸酯、磺酸酯、氨磺酰基、磺酰胺基、磺酰基、杂环基、芳烷基或芳香族或杂芳香族部分。本领域技术人员将理解,在适当情况下,烃链上取代的部分本身可以被取代。

[0259] 如本文所用,术语“硫代烷基”是指被硫醇基团取代的烷基。

[0260] 如本文所用,术语“硫酯”是指基团 $-C(O)SR^9$ 或 $-SC(O)R^9$,其中 R^9 表示烃基。

[0261] 如本文所用,术语“硫醚”等同于醚,其中氧被硫置换。

[0262] 术语“脲”是本领域公认的,并且可以由以下通式表示



[0264] 其中R⁹和R¹⁰独立地表示氢或烃基。

[0265] 如本文所用,术语“调节”包括抑制或遏制功能或活性(诸如细胞增殖)以及增强功能或活性。

[0266] “药学上可接受的盐”或“盐”在本文中用于指代适用于治疗患者或与患者的治疗相容的酸加成盐或碱加成盐。

[0267] 如本文所用,术语“药学上可接受的酸加成盐”意指由式I表示的任何碱化合物的任何无毒的有机或无机盐。形成适合盐的示例性无机酸包括盐酸、氢溴酸、硫酸和磷酸以及金属盐,诸如正磷酸一氢钠和硫酸氢钾。形成适合盐的说明性有机酸包括一元羧酸、二元羧酸和三元羧酸,诸如乙醇酸、乳酸、丙酮酸、丙二酸、琥珀酸、戊二酸、富马酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、抗坏血酸、马来酸、苯甲酸、苯乙酸、肉桂酸和水杨酸以及磺酸,诸如对甲苯磺酸和甲磺酸。可以形成一元酸盐或二元酸盐,并且此类盐可以呈水合形式、溶剂化形式或基本上无水形式存在。一般来说,式I化合物的酸加成盐更易溶于水和各种亲水性有机溶剂,并且与它们的游离碱形式相比,一般展现出更高的熔点。适当盐的选择是本领域技术人员已知的。可以使用其它非药学上可接受的盐,例如草酸盐,例如,用于分离供实验室使用的本公开的化合物,或用于随后转化为药学上可接受的酸加成盐。

[0268] 如本文所用,术语“药学上可接受的碱加成盐”意指由式I表示的任何酸化合物或其任何中间体的任何无毒的有机或无机碱加成盐。形成适合盐的说明性无机碱包括氢氧化锂、氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化钙、氢氧化镁或氢氧化钡。形成适合盐的说明性有机碱包括脂肪族、脂环族或芳香族有机胺,诸如甲胺、三甲胺和甲基吡啶或氨。适当盐的选择将是本领域技术人员已知的。

[0269] 可用于本公开的方法和组合物的许多化合物在其结构中具有至少一个立构中心。这个立构中心可以呈R或S构型存在,所述R和S符号是根据Pure Appl.Chem. (1976), 45, 11-30中描述的规则来使用。本公开考虑所有立体异构形式,诸如化合物的对映异构体和非对映异构体形式、其盐、前药或混合物(包括立体异构体的所有可能混合物)。参见例如WO 01/062726。

[0270] 在某些实施方案中,本公开的化合物可以是外消旋的。在某些实施方案中,本公开的化合物可以富含一种对映异构体。举例来说,本公开的化合物可以具有大于约30% ee、40% ee、50% ee、60% ee、70% ee、80% ee、90% ee、95% ee、96% ee、97% ee、98% ee、99% ee或更高ee。

[0271] 如本领域中一般理解,在没有立体化学的情况下绘制的单键并不指示化合物的立体化学。式I化合物提供了未指示立体化学的化合物的实例。

[0272] 在某些实施方案中,本公开的组合物或化合物可以被富集以主要提供化合物的一种对映异构体。对映异构体富集的组合物或化合物可以包含例如至少60摩尔%的一种对映异构体,或更优选至少75摩尔%、90摩尔%、95摩尔%或甚至99摩尔%。在某些实施方案中,

富含一种对映异构体的化合物基本上不含其它对映异构体,其中基本上不含意指与例如组合物或化合物混合物中的其它对映异构体的量相比,所讨论的物质占小于10%、或小于5%、或小于4%、或小于3%、或小于2%、或小于1%。举例来说,如果组合物或化合物含有98克的第一对映异构体和2克的第二对映异构体,则可以说其含有98摩尔%的第一对映异构体和仅2摩尔%的第二对映异构体。

[0273] 此外,含有烯基的某些化合物可以作为Z(同侧)或E(异侧)异构体存在。在每种情况下,本公开包括混合物和单独的个别异构体两者。

[0274] 一些化合物也可以呈互变异构形式存在。尽管未在本文所描述的式中明确指示,但此类形式意图包括在本公开的范围之内。

[0275] “前药”或“药学上可接受的前药”是指在施用之后在宿主中被代谢(例如水解或氧化)以形成本公开的化合物(例如式I化合物)的化合物。前药的典型实例包括在活性化合物的官能部分上具有生物不稳定或可裂解(保护)基团的化合物。前药包括可以被氧化、还原、胺化、脱胺化、羟基化、脱羟基化、水解、脱水解、烷基化、脱烷基化、酰化、脱酰化、磷酸化或脱磷酸化以产生活性化合物的化合物。使用酯或氨基磷酸酯作为生物不稳定或可裂解(保护)基团的前药的实例公开于美国专利6,875,751、7,585,851和7,964,580中,其公开内容通过引用并入本文。本公开的前药被代谢以产生式I化合物。本公开在其范围内包括本文所描述的化合物的前药。适合前药的选择和制备的常规程序例如在“Design of Prodrugs” H. Bundgaard编,Elsevier,1985中描述。

[0276] 如本文所用,术语“溶解度的对数”、“LogS”或“logS”在本领域中用于定量化合物的水溶性。化合物的水溶性显著影响其吸收和分布特征。低溶解度通常伴随着不良吸收。LogS值是以摩尔/升为单位测量的溶解度的单位剥离对数(以10为底数)。

[0277] 如本文所用,术语“糖基”是指由任何天然糖、其代谢物/分解代谢物、其前药或它们的组合形成的单价取代基。这个术语包括直链和支链形式的寡糖和多糖,以及 α 和 β 构型或它们的任何组合。多糖的优选链长是一个或两个(即,单糖或二糖)。在某些优选的实施方案中,糖基是指由葡萄糖、岩藻糖、半乳糖、甘露糖、木糖、半乳糖胺、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸、甘露糖醛酸、唾液酸、艾杜糖醛酸、神经氨酸、其衍生物或它们的组合形成的取代基。

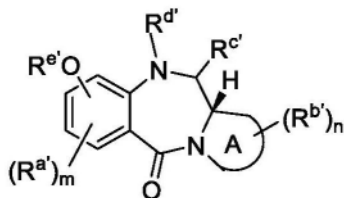
[0278] 毒素有效载荷

[0279] 许多毒素有效载荷适用于本发明公开的缀合物。在某些实施方案中,毒素有效负荷选自被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的化学治疗剂或被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的毒素。在进一步的实施方案中,活性剂是被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的化学治疗剂。在更进一步的实施方案中,毒素有效载荷独立地选自被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的免疫调节化合物,被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的抗癌剂,被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的抗病毒剂,被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的抗细菌剂,被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的抗真菌剂,或被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的抗寄生虫剂。

[0280] 在又进一步的实施方案中,毒素有效负荷独立地选自被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的苯二氮平(benzodiazepine),被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的倍癌霉素,被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的澳瑞他汀(auristatin),被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的微管溶素(tubulysin),被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的SN-38,被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的PNU,或被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的依喜替康(exatecan),被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的鹅膏蕈碱(amanitin)。

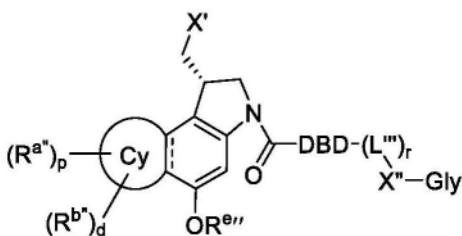
[0281] 在又进一步的实施方案中,毒素有效载荷可以在一个或更多个选自-C(O)-、-O-、-NH-、-S-和-C(O)O-的官能团上进行官能化。在进一步的实施方案中,所述官能团被糖、硫酸酯或磺酸酯官能化。在一些实施方案中,毒素有效负荷可以包含通过选自酯、酰胺、硫基、氨基甲酸酯、肟、脞等的官能团与糖结合的经修饰部分。在一些实施方案中,毒素有效负荷可以包含与诸如磺酸酯(参见例如WO 2006/111759 A1)、硫酸酯、亚硫酸酯等极性基团结合的经修饰部分。

[0282] 在又进一步的方面,本文提供了式(VII)或式(VIII)化合物:



(VII); 或

[0283]



(VIII);

[0284] 或其药学上可接受的盐;

[0285] 其中:

[0286] A是杂环;

[0287] 每个R^{a'}和R^{b'}独立地是卤素、氨基、羟基、乙酰基、羟烷基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;

[0288] 两个偕位R^{b'}任选地一起形成氧代或=CH₂;或两个R^{b'}与间插原子一起任选地构成环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;

[0289] R^{c'}是磺酸酯、硫酸酯、羟基、氨基或硫醇;

[0290] R^{d'}是-L''-Gly、氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;

[0291] 前提条件是至少一个R^{c'}是磺酸酯或硫酸酯,或者至少一个R^{d'}是-L''-Gly;

[0292] R^{e'}是氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;

[0293] m是选自0-3的整数;

[0294] n是选自0-8的整数,只要价数允许;

[0295] 环Cy选自芳基、杂芳基、环烷基或杂环烷基;

[0296] ==是单键或双键;

[0297] X'是卤素;

[0298] X''是-NR-、-S-或-O-;

[0299] 每个 R^a 和 R^b 独立地是卤素、氨基、羟基、烷氧基、乙酰基、羟烷基、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、=O、羧基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基或 $-(L'')_r-X''-Gly$;

[0300] d是选自0-4的整数;

[0301] r是选自0-1的整数;

[0302] 每个 L'' 是键或接头,

[0303] R^c 是氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;

[0304] p是选自0-4的整数;

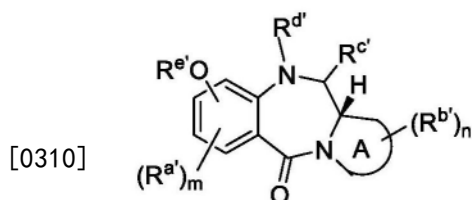
[0305] DBD是DNA结合结构域;

[0306] L'' 是键或接头;并且

[0307] Gly是单糖、二糖或寡糖。

[0308] 在某些实施方案中,每个 L'' 是 $C_{10}-C_{100}$ 直链或支链、饱和或不饱和亚烷基部分,任选地包含一个或更多个双键和/或三键。在进一步的实施方案中,每个p和每个d独立地是0-1的整数。

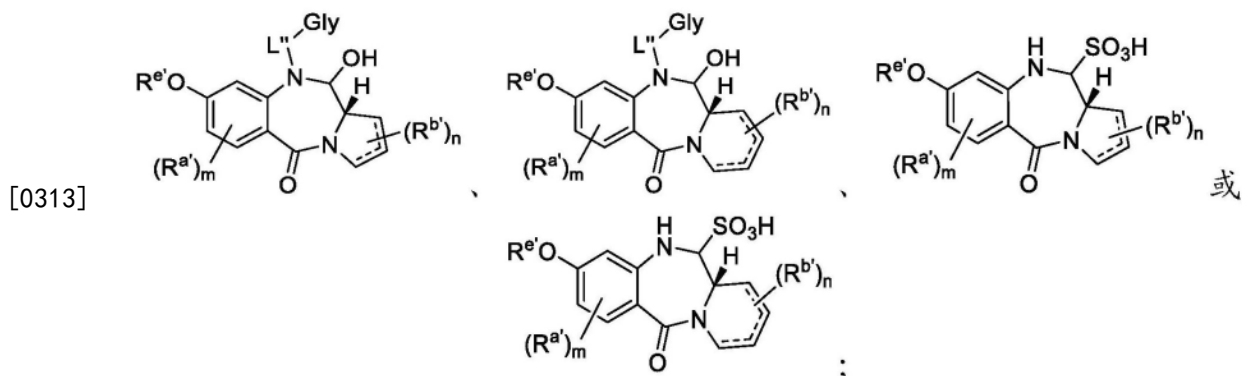
[0309] 在更进一步的实施方案中,化合物由式(VII)表示:



(VII);

[0311] 或其药学上可接受的盐。

[0312] 在又进一步的实施方案中,A是5至6元杂环。在某些实施方案中, R^c 是羟基。在进一步的实施方案中, R^d 是氢、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-10} 环烷基、3至10元杂环烷基、 C_{6-10} 芳基或5至10元杂芳基。在更进一步的实施方案中, R^d 是 $L''-Gly$ 。在又进一步的实施方案中,化合物选自:



[0314] 或其药学上可接受的盐;

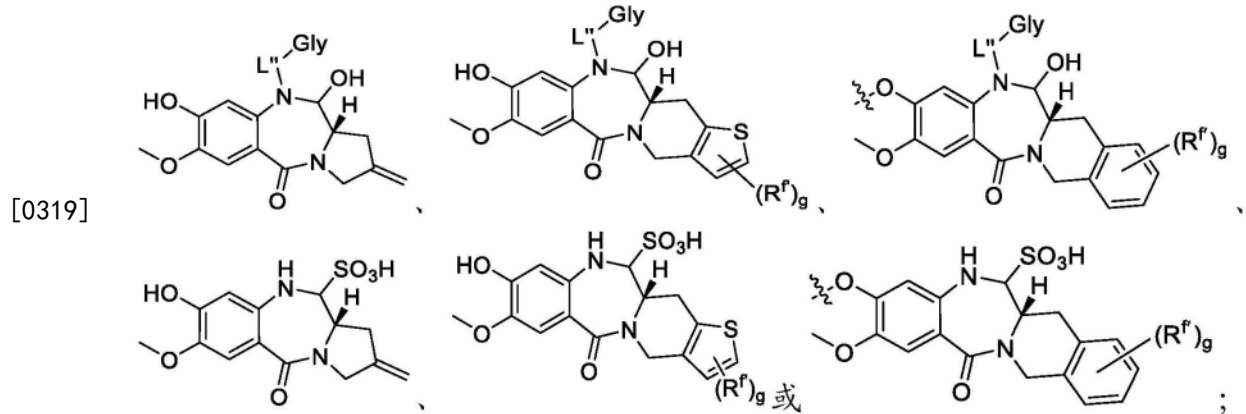
[0315] 其中==是单键或双键。

[0316] 在某些实施方案中, R^a 是卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-10} 环烷基、4至10元杂环烷基、 C_{6-10} 芳基或5至10元杂芳基。在进一步的实施方案中,两个偕位 R^b 一起形成 $=CH_2$ 。在更进一步的实施方案中,两个 R^b 与间插原子一起构成环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基。在又进一步的实施方案中,两个 R^b 与间插原子一起构成

芳基或杂芳基。在某些实施方案中,两个R^{b'}与间插原子一起构成芳基。

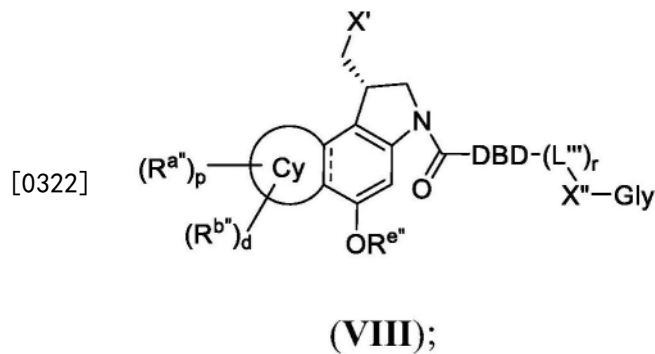
[0317] 在进一步的实施方案中,R^{e'}是氢、C₁₋₆烷基、C₃₋₁₀环烷基、3至10元杂环烷基、C₆₋₁₀芳基或5至10元杂芳基。在更进一步的实施方案中,R^{e'}是氢、C₁₋₆烷基或C₃₋₁₀环烷基。在又进一步的实施方案中,R^{e'}是氢。

[0318] 在某些实施方案中,化合物选自:



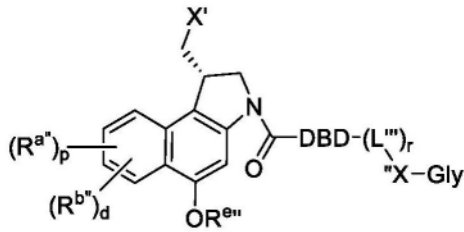
[0320] 或其药学上可接受的盐。

[0321] 在进一步的实施方案中,化合物由式(VIII)表示:



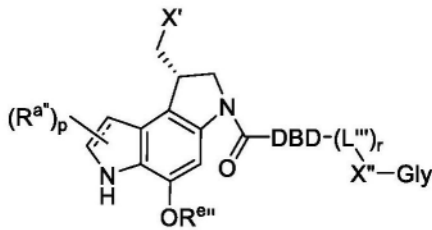
[0323] 或其药学上可接受的盐。

[0324] 在更进一步的实施方案中,Cy是苯基。在又进一步的实施方案中,Cy是吡咯烷或吡咯。在某些实施方案中,化合物由式(VIIIa)或式(VIIIb)表示:



(VIIIa);

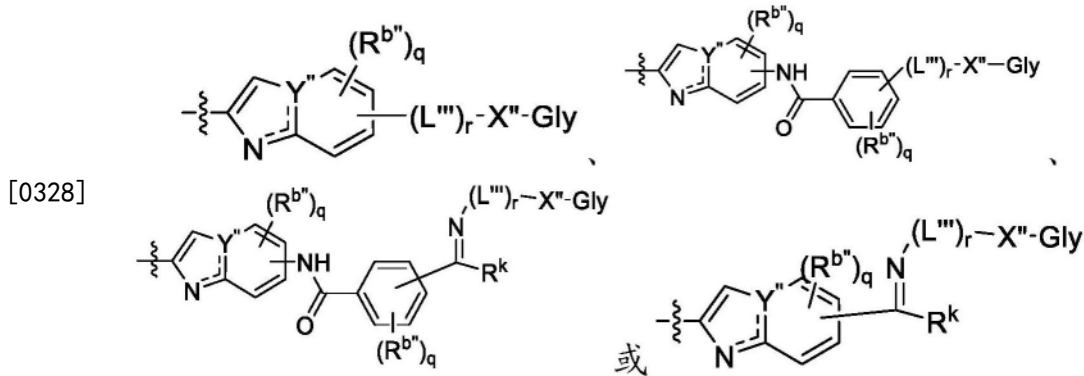
[0325]



(VIIIb);

[0326] 或其药学上可接受的盐。

[0327] 在进一步的实施方案中, DBD-(L''') r-X''-Gly 单元选自:



[0329] 或其药学上可接受的盐;

[0330] 其中:

[0331] Y'' 是 C 或 N;

[0332] X'' 选自 -NR-、-S- 或 -O-;

[0333] R 是氢或烷基;

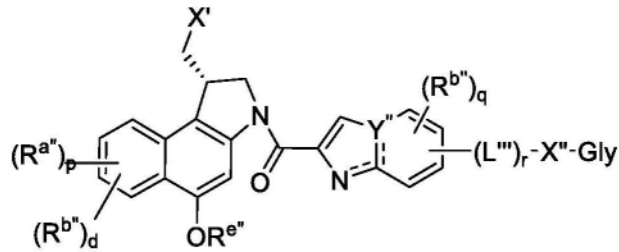
[0334] r 是选自 0-1 的整数;

[0335] 每个 R^b 独立地是卤素、氨基、羟基、乙酰基、羟烷基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基或 -(L''') r-X''-Gly;[0336] R^k 是烷基, 优选 C₁-C₃ 烷基;

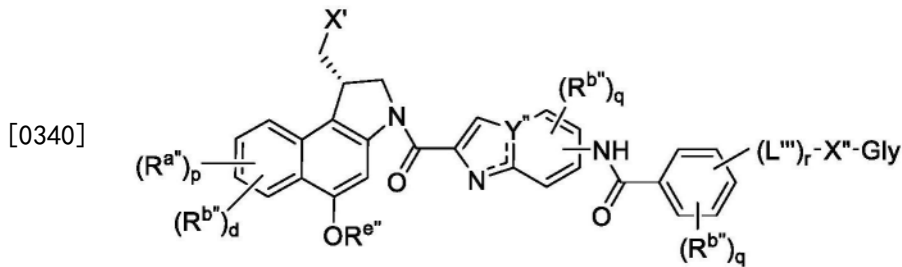
[0337] q 是选自 0-3 的整数; 并且

[0338] == 是单键或双键。

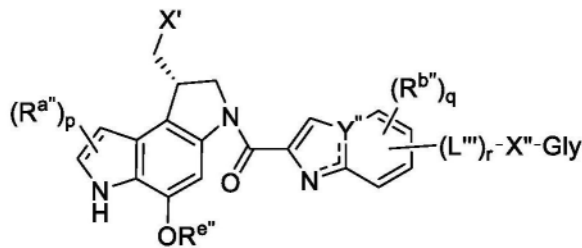
[0339] 在更进一步的实施方案中, 化合物由式 (VIIIc)、式 (VIII d)、式 (VIII e) 或式 (VIII f) 表示:



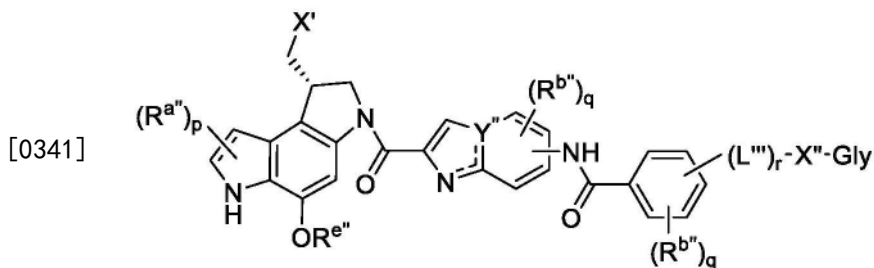
(VIIIc);



(VIIId);



(VIIIe);



(VIIIf);

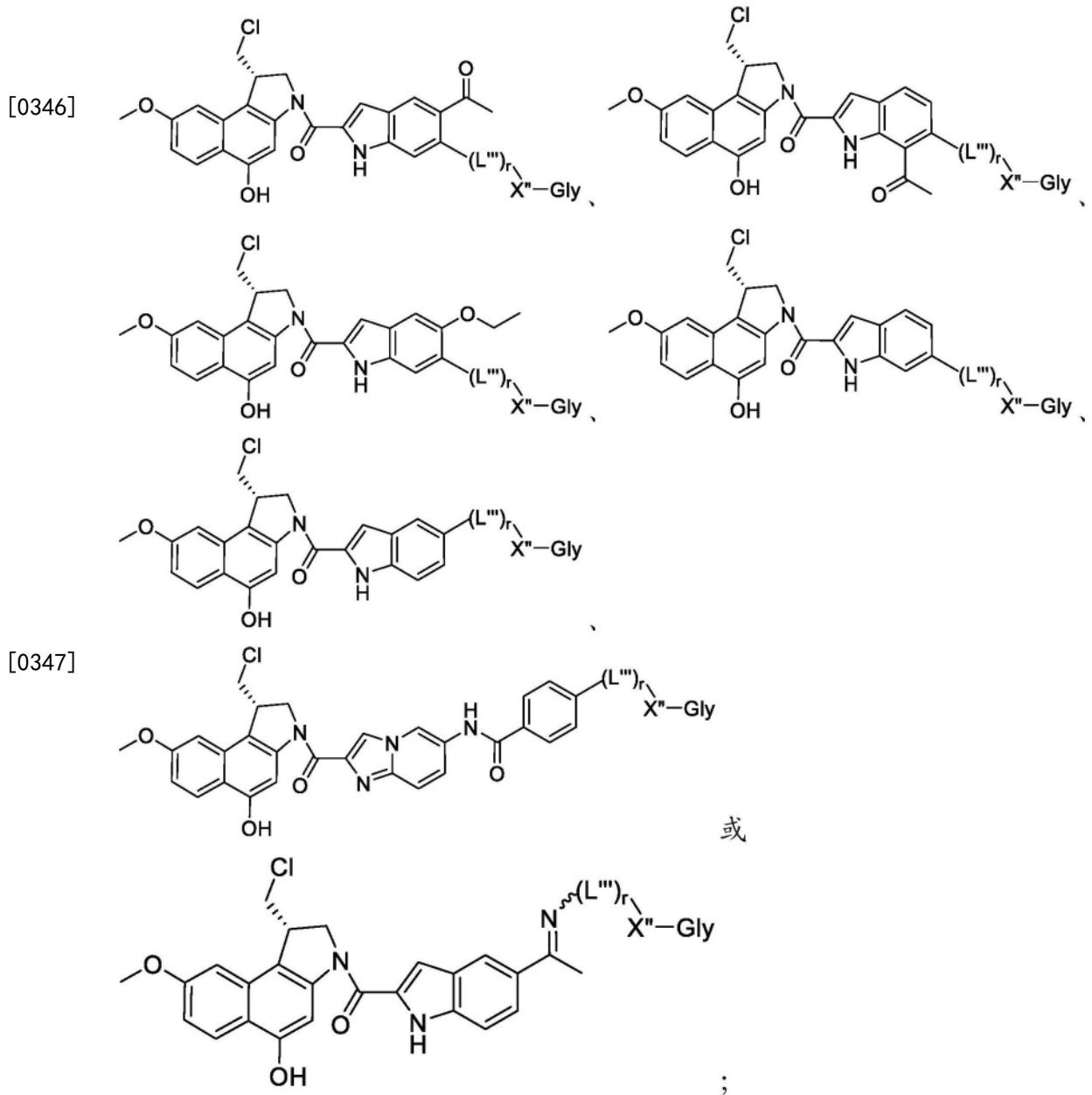
[0342] 或其药学上可接受的盐。

[0343] 在又进一步的实施方案中,每个 $R^{a''}$ 独立地是卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、=O、羧基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;并且每个 $R^{b''}$ 独立地是卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、 C_{1-6} 烷基、杂烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-10} 环烷基、4至10元杂环烷基、 C_{6-10} 芳基或5至10元杂芳基。

[0344] 在某些实施方案中, X' 是-Cl。在进一步的实施方案中, X' 是Br。在又进一步的实施方案中, Y'' 是C。在某些实施方案中, Y'' 是N。在进一步的实施方案中, $R^{e''}$ 是氢、烷基、烯基、炔

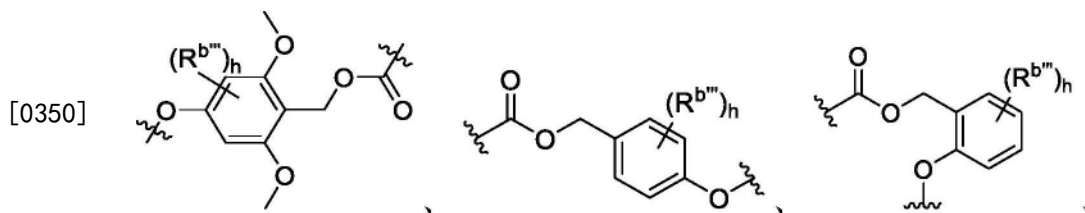
基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基。在更进一步的实施方案中, R^e 是氢、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₁₀ 环烷基、3至10元杂环烷基、C₆₋₁₀ 芳基或5至10元杂芳基。在又进一步的实施方案中, R^e 是氢、C₁₋₆ 烷基或C₃₋₁₀ 环烷基。在某些实施方案中, R^e 是氢。

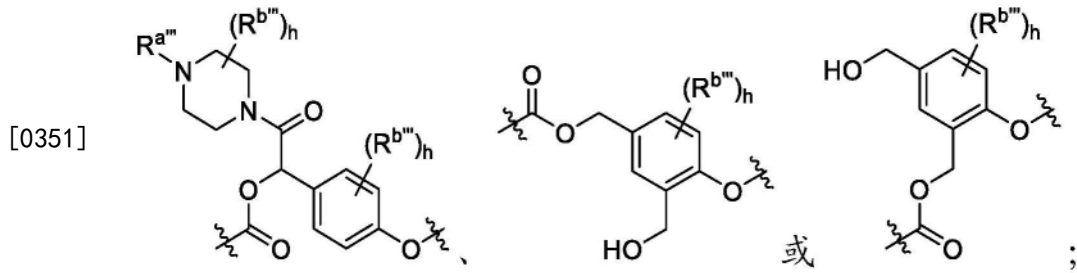
[0345] 在某些实施方案中, 化合物选自:



[0348] 或其药学上可接受的盐。

[0349] 在进一步的实施方案中, L'' 是键。在更进一步的实施方案中, L'' 是选自以下的接头:





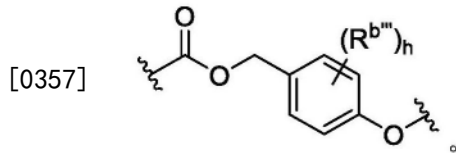
[0352] 其中:

[0353] $R^{a''}$ 是氢、卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、=O、羧基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;并且

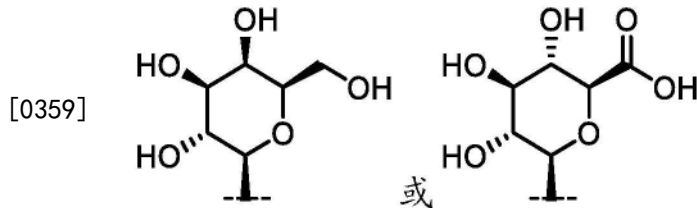
[0354] 每个 $R^{b'''}$ 独立地是氢、卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;并且

[0355] h 是选自0-4的整数,只要价数允许。

[0356] 在又进一步的实施方案中, L'' 是

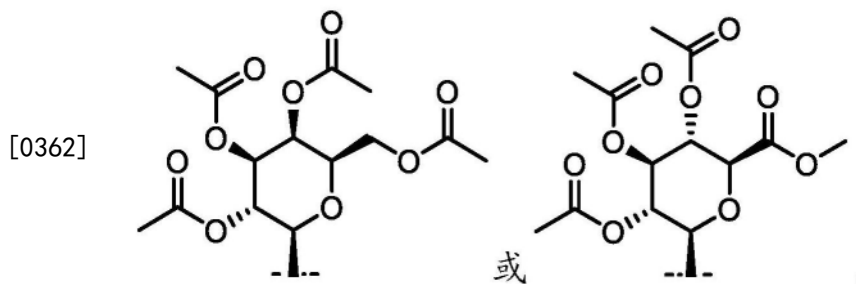


[0358] 在某些实施方案中,Gly是单糖。在进一步的实施方案中,Gly是选自葡萄糖、葡萄糖醛酸、岩藻糖和半乳糖的单糖。在更进一步的实施方案中,Gly是

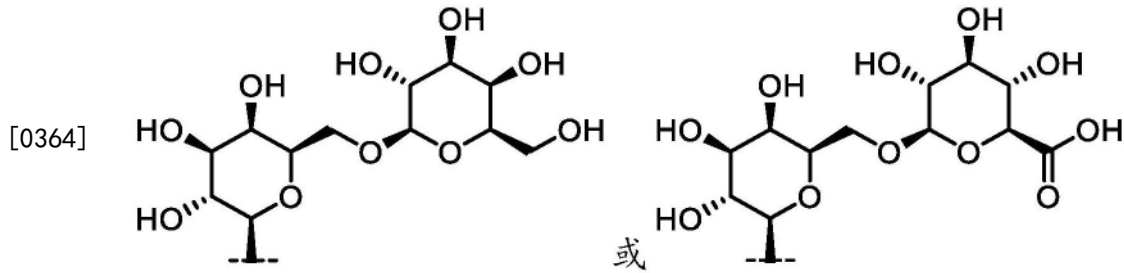


[0360] 任选地,其中1个或更多个-OH基团被保护基掩蔽。

[0361] 在又进一步的实施方案中,Gly是

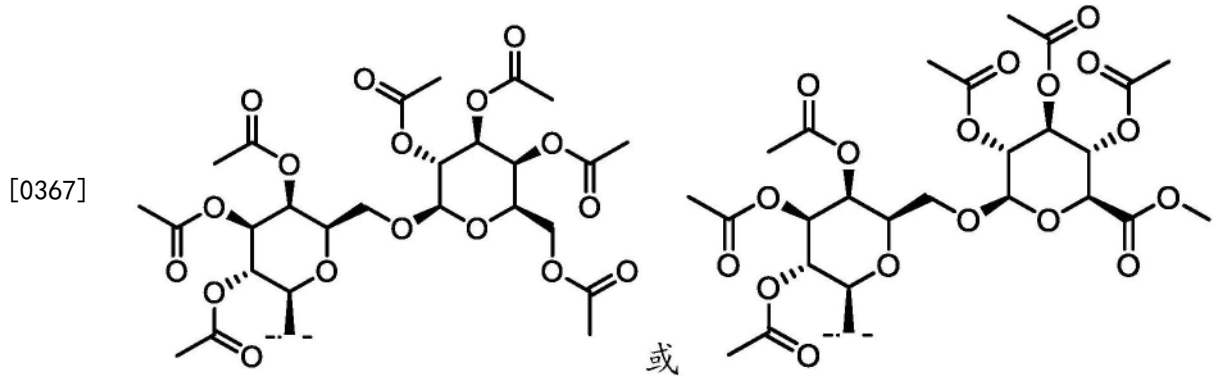


[0363] 在某些实施方案中,Gly是二糖。在进一步的实施方案中,Gly是包含葡萄糖、葡萄糖醛酸、岩藻糖、半乳糖或它们的组合的二糖。在更进一步的实施方案中,Gly是



[0365] 任选地,其中1个或更多个-OH基团被保护基掩蔽。

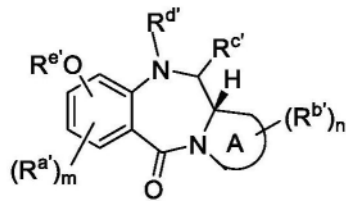
[0366] 在某些实施方案中,Gly是



[0368] 在某些实施方案中,X''在异头位置处与Gly偶联。

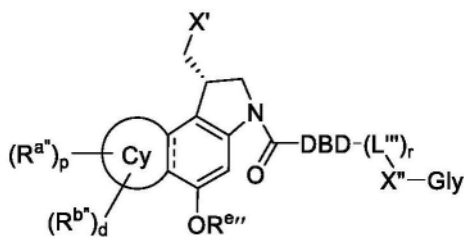
[0369] 药物缀合物

[0370] 在某些方面,本文提供了药物缀合物,所述药物缀合物包含由式(VII)或式(VIII)表示的化合物和接头基团:



(VII); 或

[0371]



(VIII);

[0372] 或其药学上可接受的盐;

[0373] 其中:

[0374] A是杂环;

[0375] 每个R^a和R^b独立地是卤素、氨基、羟基、乙酰基、羟烷基、烷氧基、氰基、硝基、烷

基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基；

[0376] 两个偕位R^{b'} 任选地一起形成氧代或=CH₂；或两个R^{b'} 与间插原子一起任选地构成环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基；

[0377] R^{c'} 是磺酸酯、硫酸酯、羟基、氨基或硫醇；

[0378] R^{d'} 是-L''-Gly、氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基；

[0379] 前提条件是至少一个R^{c'} 是磺酸酯或硫酸酯，或者至少一个R^{d'} 是-L''-Gly；

[0380] R^{e'} 是氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基；

[0381] m是选自0-3的整数；

[0382] n是选自0-8的整数，只要价数允许；

[0383] 环Cy选自芳基、杂芳基、环烷基或杂环烷基；

[0384] ==是单键或双键；

[0385] X' 是卤素；

[0386] X'' 是-NR-、-S-或-O-；

[0387] R是氢或烷基；

[0388] 每个R^{a''} 和R^{b''} 独立地是卤素、氨基、羟基、烷氧基、乙酰基、羟烷基、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、=O、羧基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基或-(L''')_r-X''-Gly；

[0389] d是选自0-4的整数；

[0390] r是0-1的整数；

[0391] 每个L'' 是键或接头，

[0392] R^{e''} 是氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基；

[0393] p是选自0-4的整数；

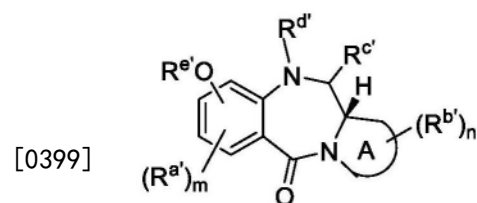
[0394] DBD是DNA结合结构域；

[0395] L'' 是键或接头；并且

[0396] Gly是单糖、二糖或寡糖。

[0397] 在某些实施方案中，每个L'' 是C₁₀-C₁₀₀直链或支链、饱和或不饱和亚烷基部分，任选地包含一个或更多个双键和/或三键。在进一步的实施方案中，每个p和每个d独立地是0-1的整数。

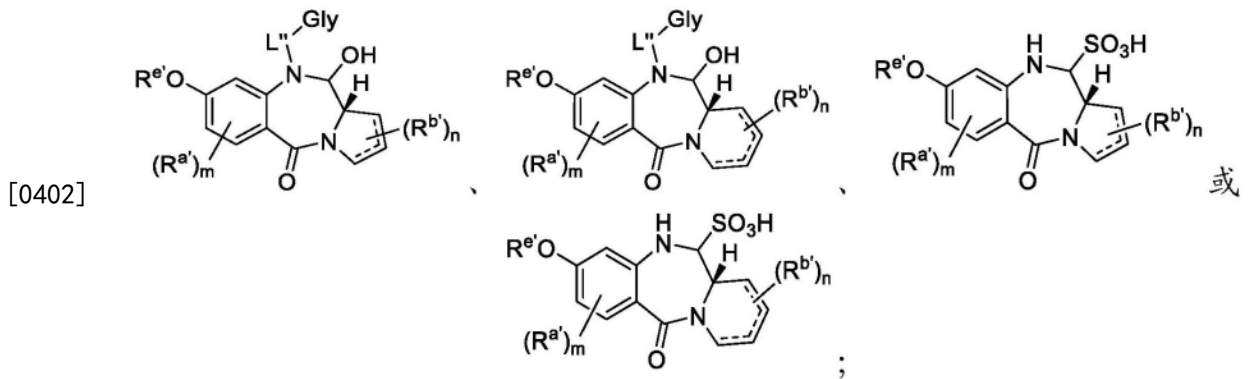
[0398] 在更进一步的实施方案中，药物缀合物包括式(VII)化合物：



(VII);

[0400] 或其药学上可接受的盐。

[0401] 在又进一步的实施方案中，A是5至6元杂环。在某些实施方案中，R^{c'} 是羟基。在进一步的实施方案中，R^{d'} 是氢、C₁₋₆烷基、C₃₋₁₀环烷基、3至10元杂环烷基、C₆₋₁₀芳基或5至10元杂芳基。在更进一步的实施方案中，R^{d'} 是L''-Gly。在又进一步的实施方案中，化合物选自：



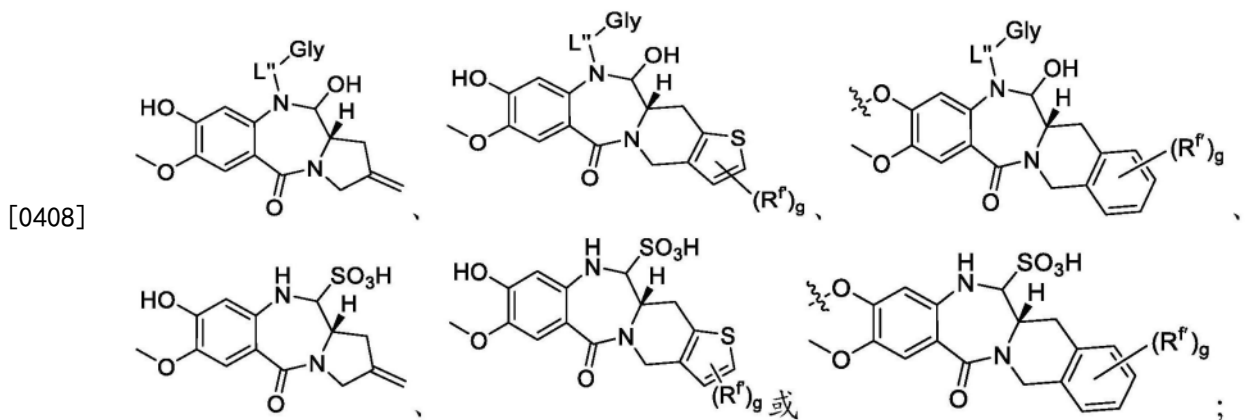
[0403] 或其药学上可接受的盐;

[0404] 其中==是单键或双键。

[0405] 在某些实施方案中, R^{a'} 是卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、C₁₋₆烷基、C₂₋₆烯基、C₂₋₆炔基、C₃₋₁₀环烷基、4至10元杂环烷基、C₆₋₁₀芳基或5至10元杂芳基。在进一步的实施方案中, 两个偈位R^{b'} 一起形成=CH₂。在更进一步的实施方案中, 两个R^{b'} 与间插原子一起构成环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基。在又进一步的实施方案中, 两个R^{b'} 与间插原子一起构成芳基或杂芳基。在某些实施方案中, 两个R^{b'} 与间插原子一起构成芳基。

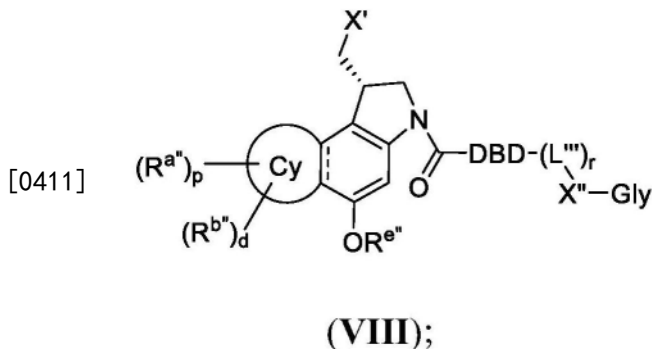
[0406] 在进一步的实施方案中, R^{e'} 是氢、C₁₋₆烷基、C₃₋₁₀环烷基、3至10元杂环烷基、C₆₋₁₀芳基或5至10元杂芳基。在更进一步的实施方案中, R^{e'} 是氢、C₁₋₆烷基或C₃₋₁₀环烷基。在又进一步的实施方案中, R^{e'} 是氢。

[0407] 在某些实施方案中, 化合物选自:



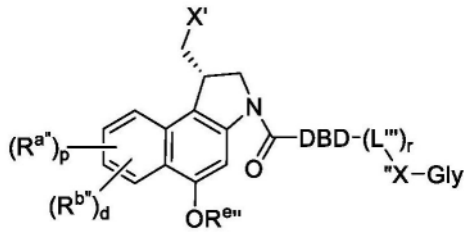
[0409] 或其药学上可接受的盐。

[0410] 在进一步的实施方案中, 化合物由式 (VIII) 表示:



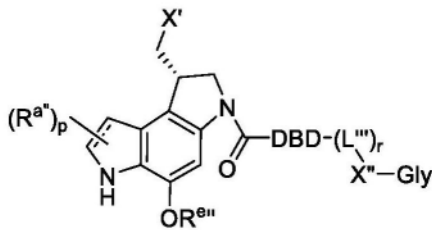
[0412] 或其药学上可接受的盐。

[0413] 在更进一步的实施方案中,Cy是苯基。在又进一步的实施方案中,Cy是吡咯烷或吡咯。在某些实施方案中,化合物由式(VIIIa)或式(VIIIb)表示:



(VIIIa);

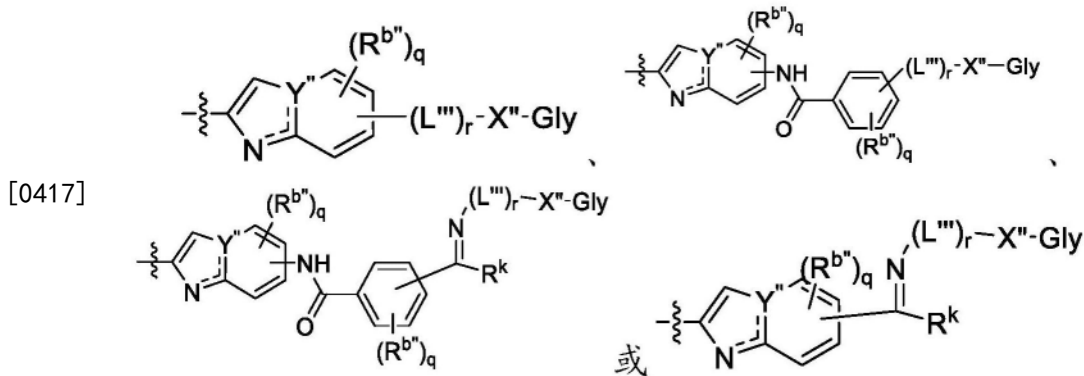
[0414]



(VIIIb);

[0415] 或其药学上可接受的盐。

[0416] 在进一步的实施方案中,DBD-(L''')_r-X''-Gly单元选自:



[0418] 或其药学上可接受的盐;

[0419] 其中:

[0420] Y''是C或N;

[0421] X''选自-NR-、-S-或-O-;

[0422] R是氢或烷基;

[0423] r是选自0-1的整数;

[0424] 每个R^{b''}独立地是卤素、氨基、羟基、乙酰基、羟烷基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基或-(L''')_r-X''-Gly;

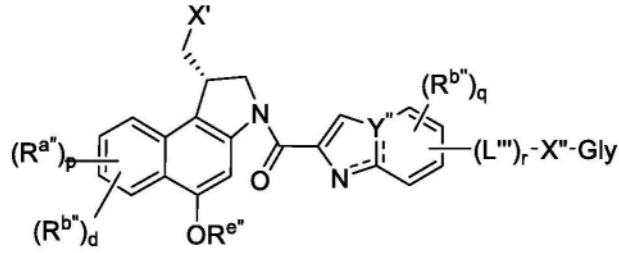
[0425] R^k是烷基,优选C₁-C₃烷基;

[0426] q是选自0-3的整数;并且

[0427] == 是单键或双键。

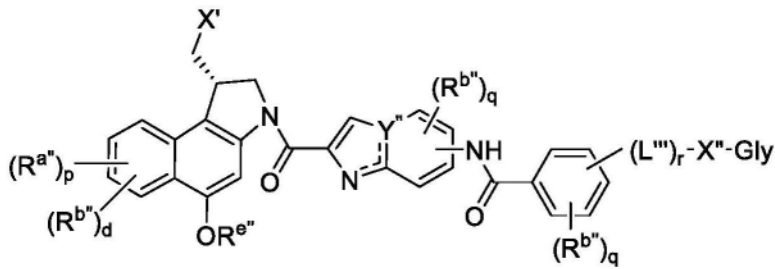
[0428] 在更进一步的实施方案中,化合物由式(VIIIc)、式(VIII d)、式(VIII e)或式

(VIIIf) 表示:

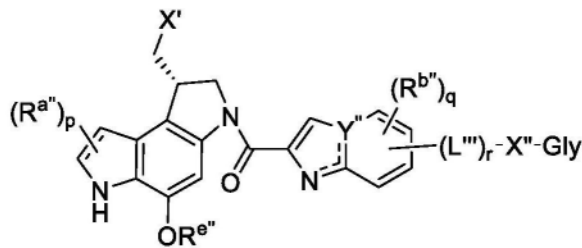


(VIIIc);

[0429]

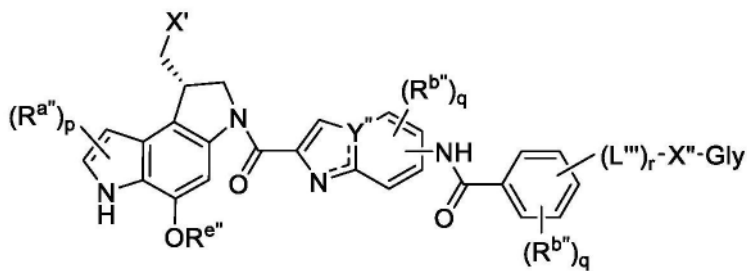


(VIIId);



(VIIIe);

[0430]



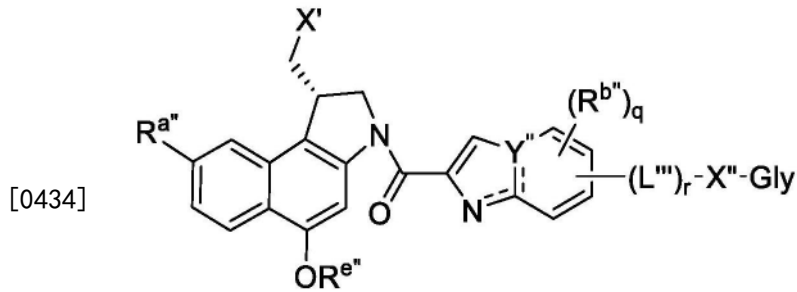
(VIIIf);

[0431] 或其药学上可接受的盐。

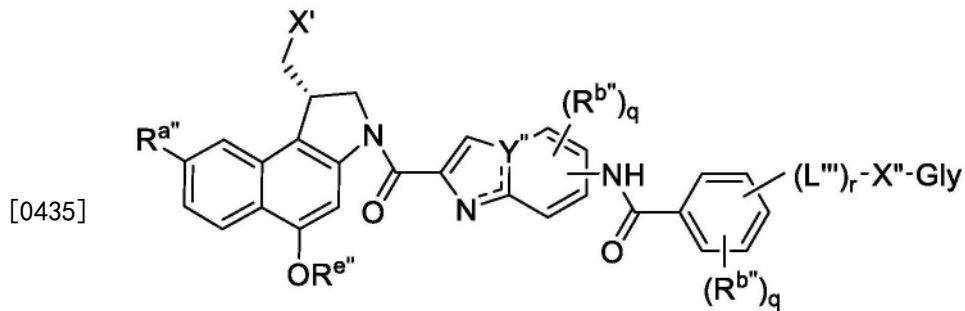
[0432] 在又进一步的实施方案中,每个 $R^{a''}$ 独立地是卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、=O、羧基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;并且每个 $R^{b''}$ 独立地是卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、 C_{1-6} 烷基、杂烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-10} 环烷基、4至10元杂环烷基、 C_{6-10} 芳基或5至10元杂芳基。在某些优选的实施方案中,至少一个 $R^{a''}$ 是烷氧基,例如甲氧基、乙氧基或丙氧基。在某些实施方案中, X' 是-Cl。在进一步的实施方案中, X' 是

Br。在又进一步的实施方案中，Y”是C。在某些实施方案中，Y”是N。在进一步的实施方案中，R^{e'}是氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基。在更进一步的实施方案中，R^{e''}是氢、C₁₋₆烷基、C₃₋₁₀环烷基、3至10元杂环烷基、C₆₋₁₀芳基或5至10元杂芳基。在又进一步的实施方案中，R^{e'}是氢、C₁₋₆烷基或C₃₋₁₀环烷基。在某些实施方案中，R^{e''}是氢。

[0433] 在某些实施方案中，至少一个R^{a''}在8位处。在进一步的实施方案中，p是1，d是0，并且R^{a''}在8位处，即，化合物由式(VIIIg)或式(VIIIh)表示：

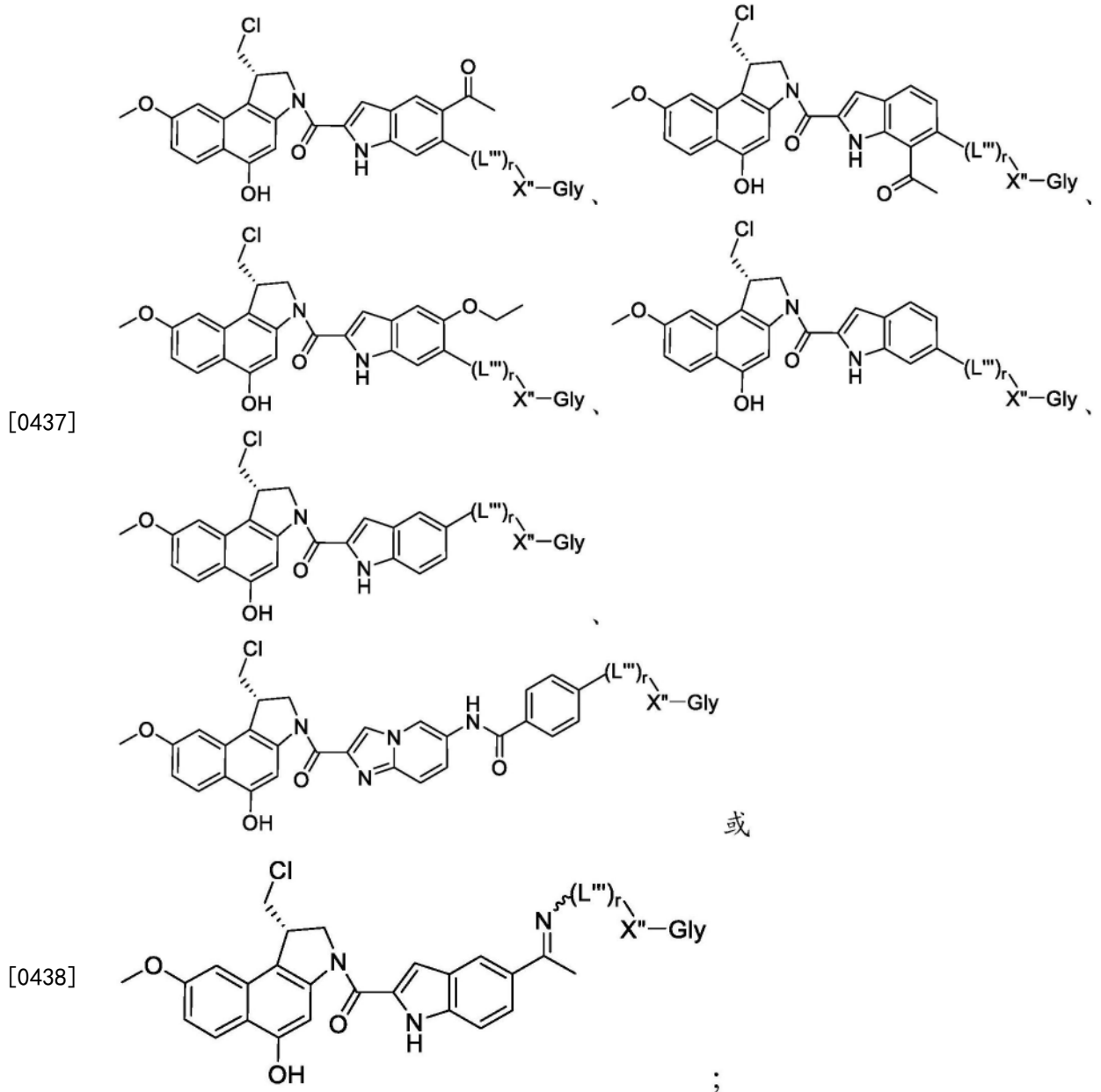


(VIIIg);



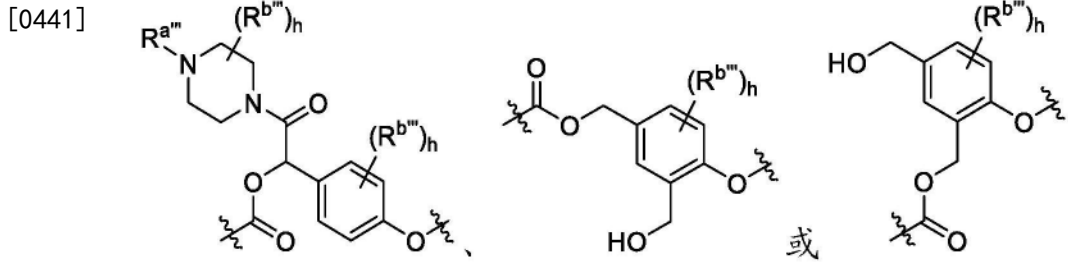
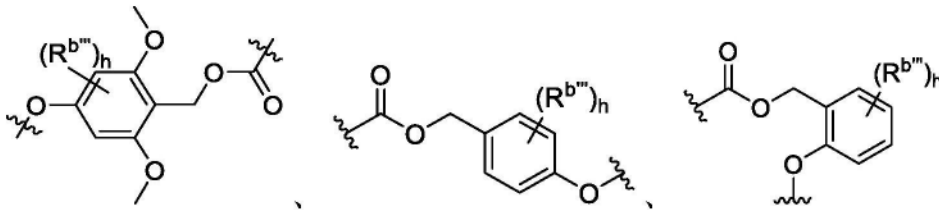
(VIIIh);

[0436] 或其药学上可接受的盐。在式(VIIIg)或式(VIIIh)的某些实施方案中，R^{a''}是烷氧基，例如甲氧基、乙氧基或丙氧基，优选甲氧基。在某些此类实施方案中，化合物选自：



[0439] 或其药学上可接受的盐。

[0440] 在进一步的实施方案中, L'' 是键。在更进一步的实施方案中, L'' 是选自以下的接头:



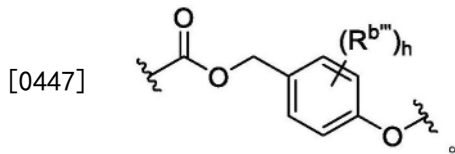
[0442] 其中:

[0443] R^{a''} 是氢、卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、=O、羧基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;并且

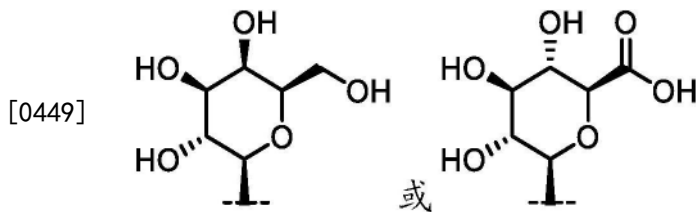
[0444] 每个R^{b''} 独立地是氢、卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;并且

[0445] h是选自0-4的整数,只要价数允许。

[0446] 在又进一步的实施方案中,L'' 是

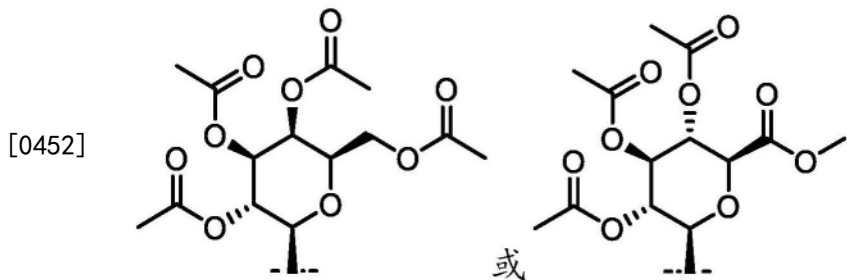


[0448] 在某些实施方案中,Gly是单糖。在进一步的实施方案中,Gly是选自葡萄糖、葡萄糖醛酸、岩藻糖和半乳糖的单糖。在更进一步的实施方案中,Gly是

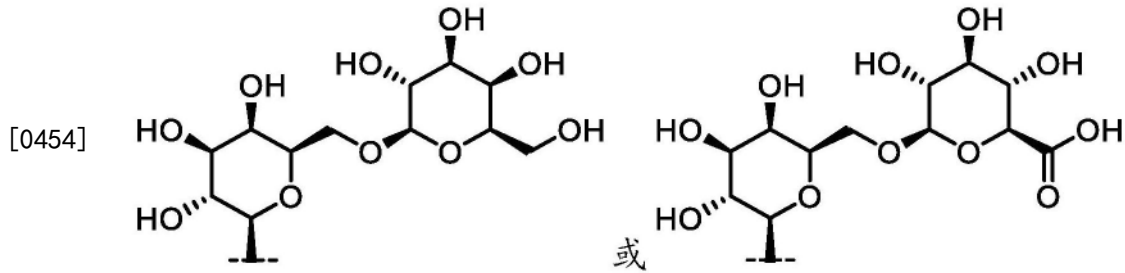


[0450] 任选地,其中1个或更多个-OH基团被保护基掩蔽。

[0451] 在又进一步的实施方案中,Gly是

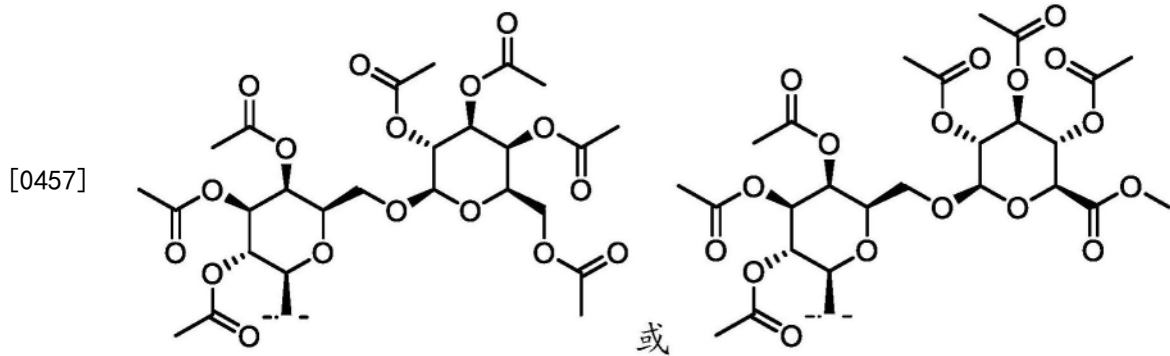


[0453] 在某些实施方案中,Gly是二糖。在进一步的实施方案中,Gly是包含葡萄糖、葡萄糖醛酸、岩藻糖、半乳糖或它们的组合的二糖。在更进一步的实施方案中,Gly是



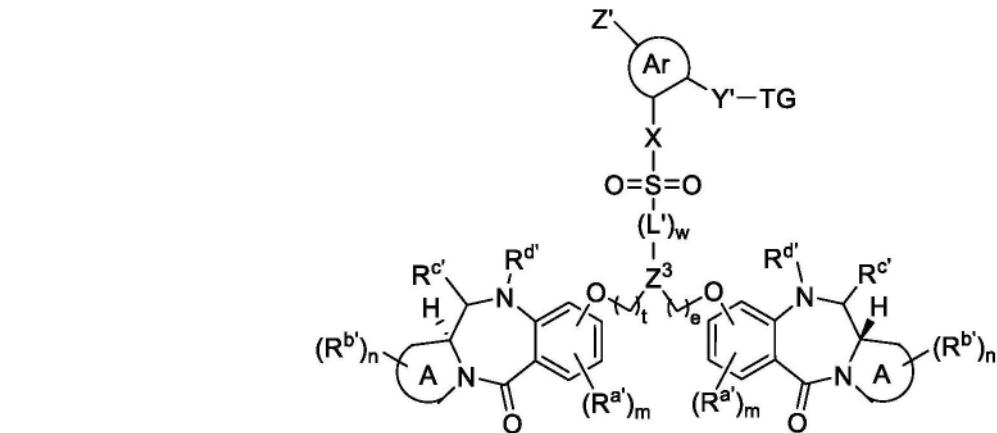
[0455] 任选地,其中1个或更多个-OH基团被保护基掩蔽。

[0456] 在某些实施方案中,Gly是

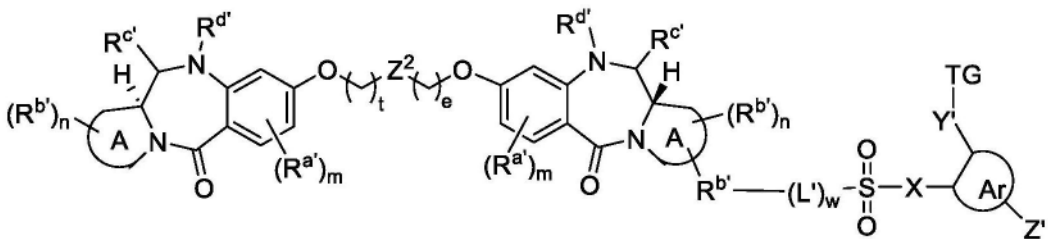


[0458] 在某些实施方案中,X”在异头位置处与Gly偶联。

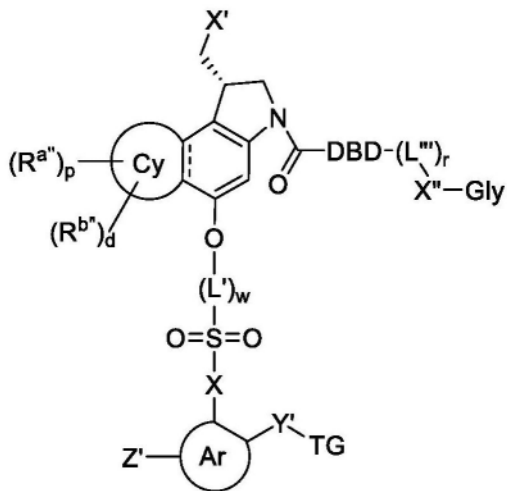
[0459] 在某些方面,本文提供了药物缀合物,所述药物缀合物包含所公开的化合物中的任一者和接头基团。在某些实施方案中,药物缀合物是式(IX)、式(X)或式(XI)化合物:



(IX);



(X); 或



[0461]

(XI);

[0462] 或其药学上可接受的盐;

[0463] 其中:

[0464] Z' 是偶联基团;

[0465] Ar 是芳基、杂芳基、环烷基或杂环烷基;

[0466] Y' 是 $-(CR^b_2)_yN(R^a)-$ 、 $-(CR^b_2)_yO-$ 或 $-(CR^b_2)_yS-$, 其定位使得如果 y 是 1, 则 N、O 或 S 原子连接至 TG;[0467] TG 是触发基团, 当其被激活时会生成 N、O 或 S 原子, 所述原子能够与 SO_2 反应以置换 $(Q)_q-(L')_w$ 并且形成包括 X- SO_2 和 Ar 的间插原子的 5 至 6 元环;[0468] X 是 $-O-$ 、 $-C(R^b)_2-$ 或 $-N(R^c)-$;[0469] L' 是间隔部分, 如果存在的话, 所述间隔部分经由选自 O、S 和 N 的杂原子连接至 SO_2 , 并且经选择以使得 L' 与 SO_2 之间的键的断裂促进活性剂的释放;

[0470] w 是选自 0-1 的整数;

[0471] r 是 0-1 的整数;

[0472] Z² 是连接基团;[0473] Z³ 是连接基团;[0474] R^a、R^b 和 R^c 各自独立地是氢或低级烷基;

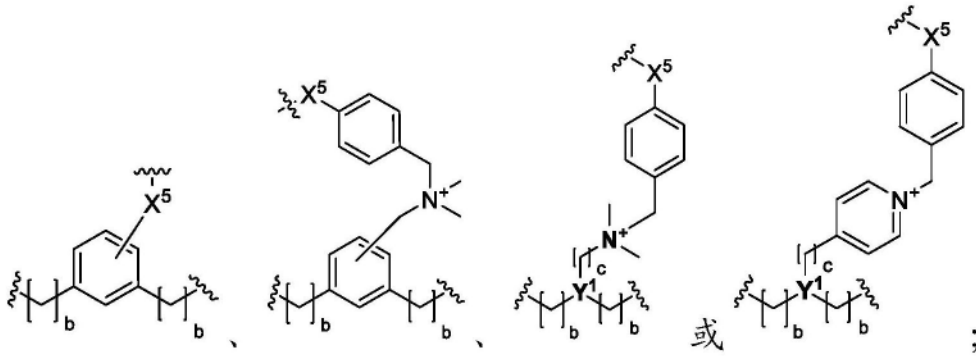
[0475] y 是选自 0-1 的整数;

[0476] t 是 1-5 的整数; 并且

[0477] e 是 1-5 的整数。

[0478] 在某些实施方案中, Z³ 选自:

[0479]



[0480]

其中:

[0481]

X⁵是-O-或-NR^x-;

[0482]

Y¹是CR^y或N;

[0483]

R^x和R^y各自独立地是氢或C₁₋₆烷基;

[0484]

每个b独立地是1-3的整数;并且

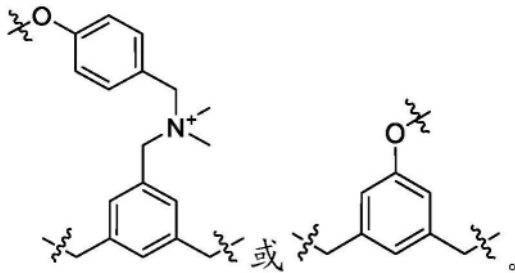
[0485]

c是1-5的整数。

[0486]

在进一步的实施方案中,Z³选自:

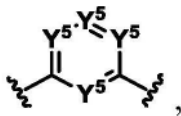
[0487]



[0488]

在更进一步的实施方案中,Z²是亚甲基。在又进一步的实施方案中,Z²是

[0489]



[0490]

其中:

[0491]

Y⁵是CR^{Y1}或N,前提条件是仅一个Y⁵是N;

[0492]

R^{Y1}是H、羟基、氨基、酰胺基或(CH₂)_y(R^{Y1a});

[0493]

R^{Y1a}是氨基(例如仲氨基或叔氨基)、芳基(例如苯基)或杂芳基;并且

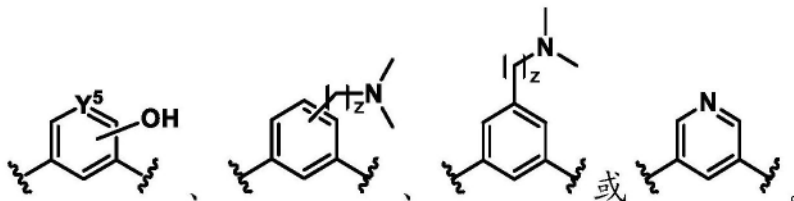
[0494]

y是具有1至约10的值的整数。

[0495]

在某些实施方案中,Z²是

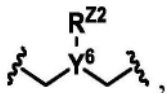
[0496]



[0497]

在进一步的实施方案中,Z²是:

[0498]



[0499] 其中:

[0500] Y^6 是 CR^{Y2} 或N;

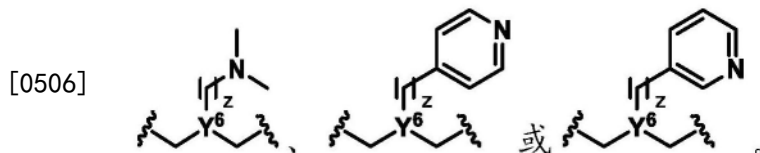
[0501] R^{Y2} 是H或烷基,优选低级烷基;

[0502] R^{Z2} 是 $(CH_2)_z R^{Z2a}$;

[0503] R^{Z2a} 是氨基(优选叔氨基)、芳基(例如苯基)或杂芳基;并且

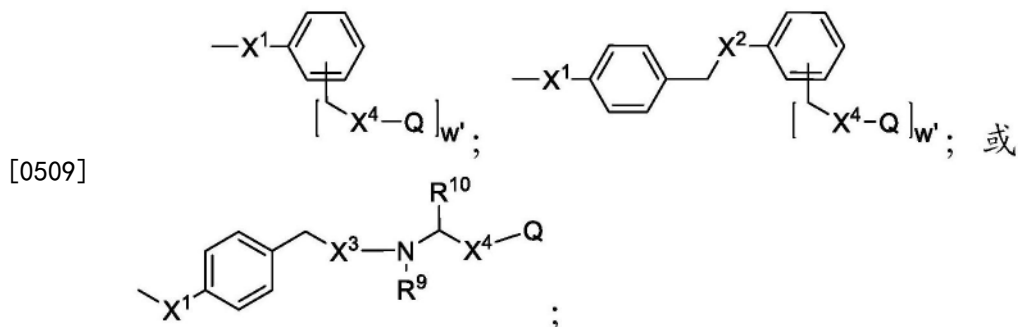
[0504] z 是具有0至约10的值的整数。

[0505] 在更进一步的实施方案中, Z^2 是:



[0507] 在进一步的实施方案中,Ar是芳基。在更进一步的实施方案中,Ar是 C_{6-10} 芳基。在又进一步的实施方案中,Ar是苯基。在某些实施方案中,Ar是杂芳基。在进一步的实施方案中,Ar是5至10元杂芳基。在更进一步的实施方案中, Y' 是 $-(CR^b)_y N(R^a)-$ 或 $-(CR^b)_y O-$ 。在又进一步的实施方案中, Y' 是 $-(CR^b)_y O-$ 。在某些实施方案中, y 是0。在进一步的实施方案中, y 是1。在更进一步的实施方案中, X 是 $-O-$ 、 $C(R^b)(R^c)-$ 或 $N(R^c)-$ 。在又进一步的实施方案中, X 是 $-O-$ 。在某些实施方案中, L' 是间隔部分,并且形成 $-O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)O-$ 、 $-NHC(O)O-$ 或 $-OC(O)NH-$ 键联,包括活性剂的杂原子。

[0508] 在某些实施方案中, L' 选自



[0510] 其中:

[0511] X^4 不存在,或者形成 $-O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)O-$ 或 $-OC(O)NH-$ 键联,包括Q的杂原子;

[0512] X^1 是 $-O-$ 或 $-NR^a-$;

[0513] X^2 是 $-O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)O-$ 或 $-OC(O)NH-$;

[0514] X^3 是 $-OC(=O)-$;

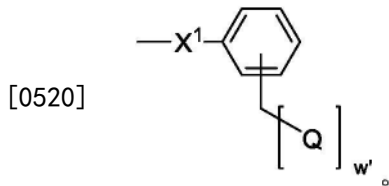
[0515] w' 是具有1、2、3、4或5的值的整数;

[0516] R^9 和 R^{10} 各自独立地是氢、烷基、芳基或杂芳基,其中烷基、芳基和杂芳基未被取代或被一个或多个例如选自烷基、 $-(CH_2)_u NH_2$ 、 $-(CH_2)_u NR^{u1}R^{u2}$ 和 $-(CH_2)_u SO_2 R^{u3}$ 的取代基取代;

[0517] R^{u1} 、 R^{u2} 和 R^{u3} 各自独立地是氢、烷基、芳基或杂芳基;并且

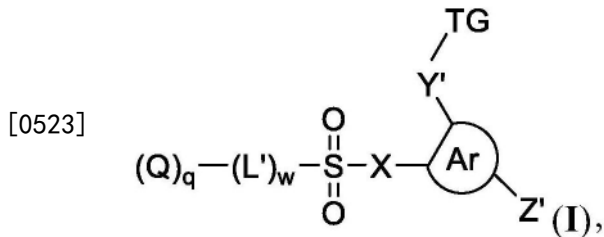
[0518] u 是具有1至约10的值的整数。

[0519] 在更进一步的实施方案中, L' 是



[0521] 在某些方面,本文提供了药物缀合物,所述药物缀合物包含本公开的毒素有效负荷化合物中的任一者(活性剂)和连接基团;其中所述活性剂被极性基团取代。在一些实施方案中,极性基团选自糖、硫酸酯或磺酸酯。

[0522] 在一些实施方案中,包含活性剂和连接基团的药物缀合物是式(I)的药物缀合物:



[0524] 或其药学上可接受的盐;

[0525] 其中:

[0526] Z' 是偶联基团;

[0527] Ar 是芳基、杂芳基、环烷基或杂环烷基;

[0528] Y' 是 $-(CR^b_2)_yN(R^a)-$ 、 $-(CR^b_2)_yO-$ 或 $-(CR^b_2)_yS-$, 其定位使得如果 y 是 1, 则 N、O 或 S 原子连接至 TG;

[0529] TG 是触发基团, 当其被激活时会生成 N、O 或 S 原子, 所述原子能够与 SO_2 反应以置换 $(Q)_q - (L')_w$ 并且形成包括 X- SO_2 和 Ar 的间插原子的 5 至 6 元环;

[0530] X 是 $-O-$ 、 $-C(R^b)_2-$ 或 $-N(R^c)-$;

[0531] L' 是间隔部分, 如果存在的话, 所述间隔部分经由选自 O、S 和 N 的杂原子连接至 SO_2 , 并且经选择以使得 L' 与 SO_2 之间的键的断裂促进活性剂的释放;

[0532] 每个 Q 独立地是被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的活性剂;

[0533] q 是 1 至 3 的整数;

[0534] w 和 y 各自独立地是 0 或 1; 并且

[0535] R^a 、 R^b 和 R^c 各自独立地是氢或 C_{1-6} 烷基; 或两个 R^b 与它们所连接的原子一起构成 3 至 5 元环;

[0536] 前提条件是当 w 是 0 时, q 是 1。

[0537] 在某些实施方案中, 每个 Q 独立地选自被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的化学治疗剂或被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的毒素。在进一步的实施方案中, 活性剂是被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的化学治疗剂。在更进一步的实施方案中, 每个 Q 独立地选自被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的免疫调节化合物, 被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的抗癌剂, 被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的抗病毒剂, 被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的抗细菌剂, 被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的抗真菌剂, 或被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的抗寄生虫剂。

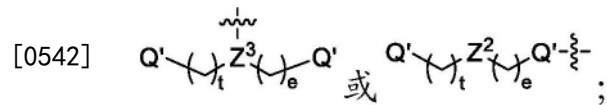
[0538] 在又进一步的实施方案中, 每个 Q 独立地选自被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的苯二氮平, 被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的倍癌霉素, 被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的澳瑞他汀, 被糖、

硫酸酯或磺酸酯取代的微管溶素,被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的SN-38,被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的PNU,或被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的依喜替康,被糖、硫酸酯或磺酸酯取代的鹅膏蕈碱。

[0539] 在某些实施方案中,Q可以是通过连接基团与糖键合的经修饰部分。在更进一步的实施方案中,Q可以是通过选自-C(O)-、-OH、-NH-、-SH、-COH、-COOH等的官能团与糖键合的经修饰部分。在又进一步的实施方案中,Q可以是通过选自酯、酰胺、硫基、氨基甲酸酯、脞、脞等的官能团与糖键合的经修饰部分。

[0540] 在某些实施方案中,Q可以包含通过选自酯、酰胺、硫基、氨基甲酸酯、脞、脞等的官能团与糖键合的经修饰部分。在更进一步的实施方案中,Q可以包含与诸如磺酸酯、硫酸酯、亚硫酸酯等极性基团键合的经修饰部分。

[0541] 在某些实施方案中,每个Q独立地由以下表示:



[0543] 其中:

[0544] Z^2 是连接基团;

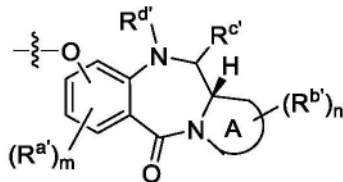
[0545] Z^3 是连接基团;

[0546] t是1-5的整数;

[0547] e是1-5的整数;

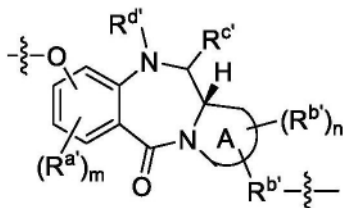
[0548] 并且每个Q'独立地是经修饰的苯二氮平。

[0549] 在进一步的实施方案中,每个Q'独立地由式(IIa)或式(IIb)表示:



(IIa); 或

[0550]



(IIb);

[0551] 或其药学上可接受的盐;

[0552] 其中:

[0553] 每个A是杂环;

[0554] 每个 R^a' 独立地是卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、烷基(优选低级烷基)、烯基、炔基、环烷基、芳基或杂环,优选五元环或六元环;任选地,与一个或更多个芳基或杂芳

基环稠合或被其取代；

[0555] 每个R^{b'}独立地是卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基或杂环,优选五元环或六元环;任选地,与一个或更多个芳基或杂芳基环稠合或被其取代;

[0556] 或者两个偕位R^{b'}任选地一起形成氧代或=CH₂;或两个R^{b'}与间插原子一起任选地构成环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基,任选地被一个或更多个R^{f'}取代

[0557] 每个R^{f'}独立地是卤素、羟基、-O-Gly、氰基、硝基、烷基、卤代烷基、环烷基、羧基、氨基、氨基烷基(-CH₂NH₂、-CH₂NH(Me)或-CH₂N(Me)₂)、芳基或杂芳基;

[0558] R^{c'}是磺酸酯、硫酸酯、羟基、氨基或硫醇;

[0559] R^{d'}是-L''-Gly、氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;

[0560] 前提条件是至少一个R^{c'}是磺酸酯或硫酸酯,或者至少一个R^{d'}是-L''-Gly;

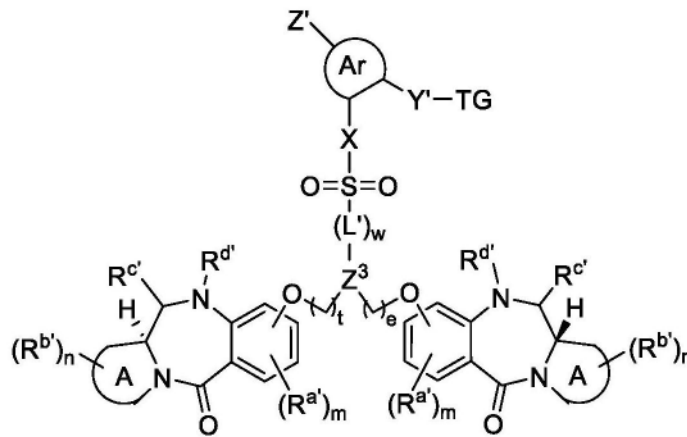
[0561] m是选自0-3的整数;

[0562] n是选自0-8的整数,只要价数允许;并且

[0563] Gly是糖基,优选地,其中Gly是单糖、二糖或寡糖。

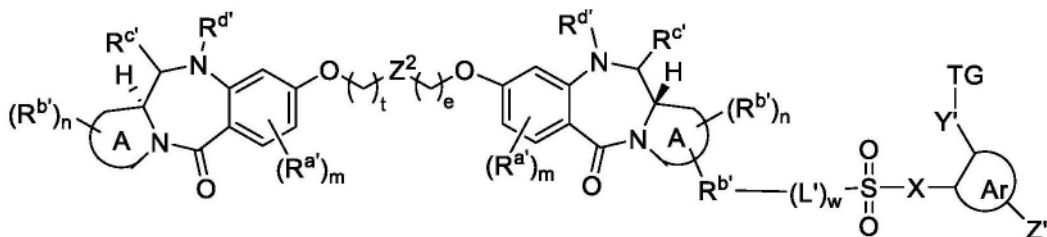
[0564] 如将理解,在式(IIb)中,R^{b'}(或如上文所描述的两个偕位R^{b'}一起)的实例之一将充当与缀合物的其余部分的连接点(例如,其中Q是 $\text{Q}'\text{-}\underset{\text{t}}{\text{Y}}\text{-}\underset{\text{e}}{\text{Y}}\text{-}\overset{\text{Z}^2}{\text{Y}}\text{-}\text{Q}'\text{-}\overset{\text{t}}{\text{Y}}\text{-}\overset{\text{e}}{\text{Y}}$)。根据下文所提供的定义,缀合物的其余部分可以被理解为R^{b'}的那个(或那些)实例上的取代基。此种(此类)R^{b'}实例因此选自上文所列的取代基,所述取代基可以成为二价的,例如氨基、烷氧基、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基或杂环,优选五元环或六元环,任选地与一个或更多个芳基或杂芳基环稠合或被其取代。当两个偕位R^{b'}一起形成连接点时,它们同样选自潜在二价的取代基,例如=CH₂;或者它们与间插原子一起形成环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基,任选地被一个或更多个如本文进一步描述的R^{f'}取代。

[0565] 在某些实施方案中,药物缀合物由式(IIIa)或式(IIIb)表示:



[0566]

(IIIa); 或



(IIIb);

[0567] 或其药学上可接受的盐。

[0568] 在本文的一些实施方案中, 药物缀合物由式 (IIIa) 或式 (IIIb) 表示, 其中:

[0569] 每个A是杂环;

[0570] 每个R^{a'}独立地是卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、烷基(优选低级烷基)、烯基、炔基、环烷基、芳基或杂环, 优选五元环或六元环; 任选地, 与一个或多个芳基或杂芳基环稠合或被其取代;[0571] 每个R^{b'}独立地是卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基或杂环, 优选五元环或六元环; 任选地, 与一个或多个芳基或杂芳基环稠合或被其取代;[0572] 或者两个偕位R^{b'}任选地一起形成氧代或=CH₂; 或两个R^{b'}与间插原子一起任选地构成环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基, 任选地被一个或多个R^{f'}取代[0573] 每个R^{f'}独立地是卤素、羟基、-O-Gly、氰基、硝基、烷基、卤代烷基、环烷基、羧基、氨基、氨基烷基(-CH₂NH₂、-CH₂NH(Me)或-CH₂N(Me)₂)、芳基或杂芳基;[0574] R^{c'}是磺酸酯、硫酸酯、羟基、氨基或硫醇;[0575] R^{d'}是-L''-Gly、氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;[0576] 前提条件是至少一个R^{c'}是磺酸酯或硫酸酯, 或者至少一个R^{d'}是-L''-Gly;

[0577] m是选自0-3的整数;

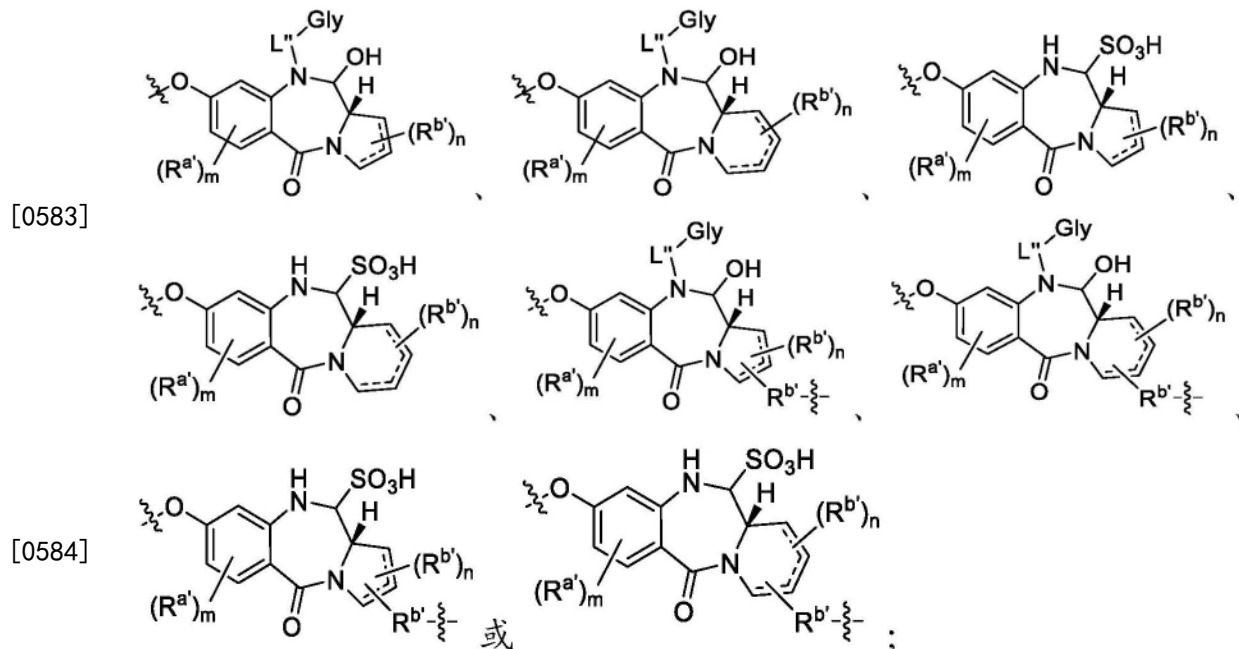
[0578] n是选自0-8的整数, 只要价数允许; 并且

[0579] Gly是糖基, 优选地, 其中Gly是单糖、二糖或寡糖。

[0580] 在本文的一些实施方案中,式(IIIa)和式(IIIb)分别被称为式(IX)和式(X),如其上下文中将显而易见。

[0581] 在某些实施方案中,A是5至6元杂环。在进一步的实施方案中, R^c 是羟基。在更进一步的实施方案中, R^c 是磺酸酯或硫酸酯。在又进一步的实施方案中, R^d 是-L"-Gly。在某些实施方案中, R^d 是氢。

[0582] 在某些实施方案中,每个Q'独立地选自:



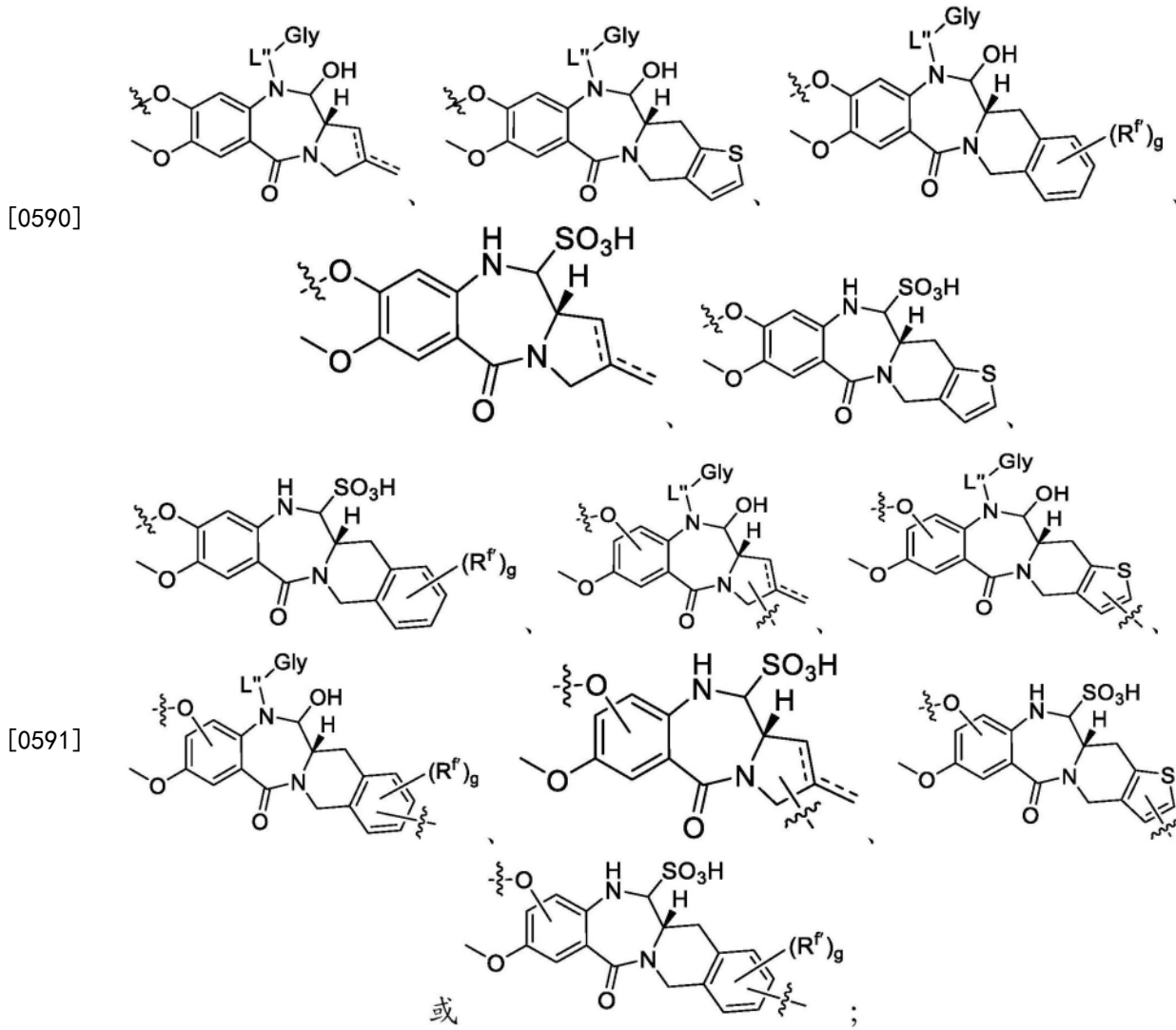
[0585] 或其药学上可接受的盐;

[0586] 其中—是单键或双键。

[0587] 在进一步的实施方案中, R^a 是卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-10} 环烷基、4至10元杂环烷基、 C_{6-10} 芳基或5至10元杂芳基。在更进一步的实施方案中,一个 R^b 是烷基,或者两个偕位 R^b 一起形成烯基。在又进一步的实施方案中,两个 R^b 与间插原子一起构成环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;优选地,其中所述芳基或杂芳基是任选地被一个或更多个 R^f 取代的6元芳基或杂芳基。

[0588] 在更进一步的实施方案中,两个 R^b 与间插原子一起构成环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基;优选地,其中所述芳基或杂芳基是任选被一个或更多个 R^f 取代的6元芳基或杂芳基。在进一步的实施方案中,两个 R^b 与间插原子一起构成芳基。在更进一步的实施方案中,两个 R^b 与间插原子一起构成杂芳基。

[0589] 在某些实施方案中,每个Q'独立地选自:

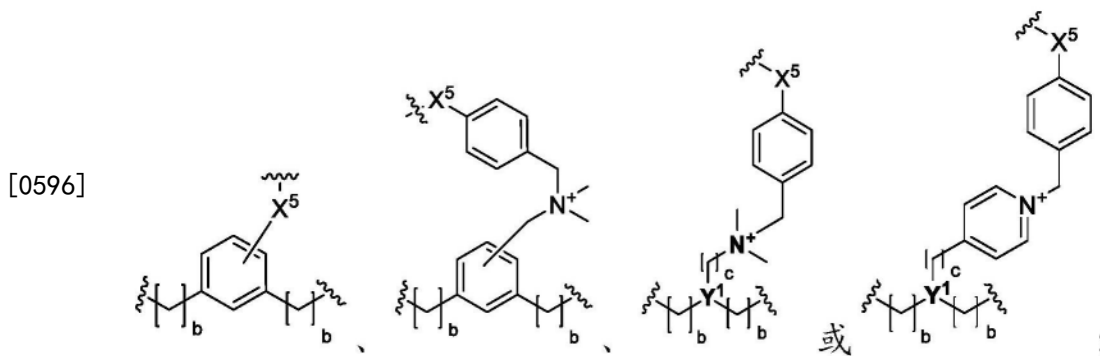


[0592] 或其药学上可接受的盐;

[0593] 其中 \equiv 是单键或双键;并且

[0594] 其中g是0-4的整数。

[0595] 在某些实施方案中, Z^3 选自:



[0597] 其中:

[0598] X^5 是-O-或-NR^x-;

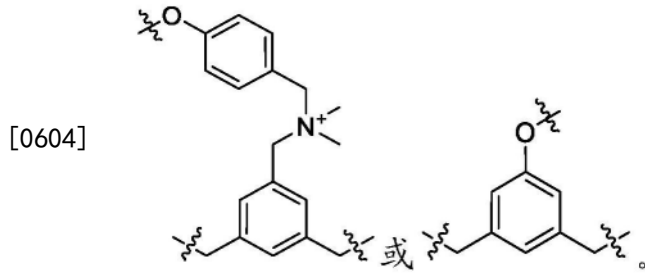
[0599] Y¹是CR^y或N;

[0600] R^y是氢或C₁₋₆烷基;

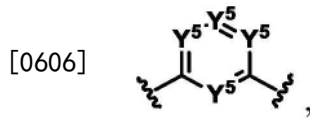
[0601] 每个b独立地是1-3的整数;并且

[0602] c是1-5的整数。

[0603] 在进一步的实施方案中, Z^3 选自:



[0605] 在更进一步的实施方案中, Z^2 是亚甲基。在又进一步的实施方案中, Z^2 是



[0607] 其中:

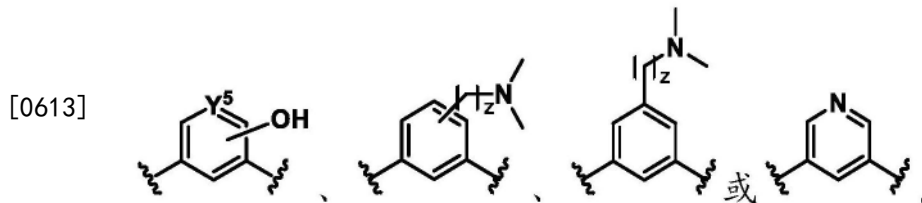
[0608] Y^5 是 CR^{Y1} 或N,前提条件是仅一个 Y^5 是N;

[0609] R^{Y1} 是H、羟基、氨基、酰胺基或 $(CH_2)_y(R^{Y1a})$;

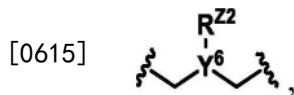
[0610] R^{Y1a} 是氨基(例如仲氨基或叔氨基)、芳基(例如苯基)或杂芳基;并且

[0611] y是具有1至约10的值的整数。

[0612] 在某些实施方案中, Z^2 是



[0614] 在进一步的实施方案中, Z^2 是:



[0616] 其中:

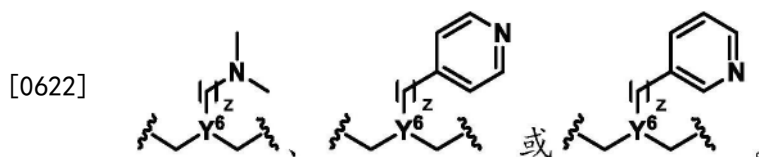
[0617] Y^6 是 CR^{Y2} 或N;

[0618] R^{Y2} 是H或烷基,优选低级烷基;

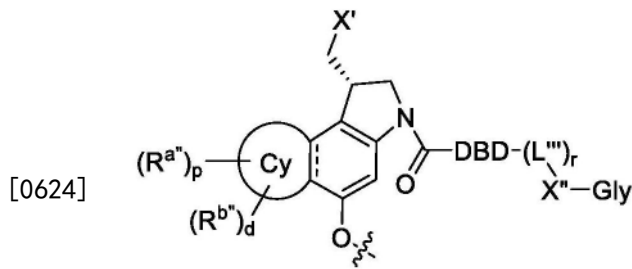
[0619] R^{Z2} 是 $(CH_2)_z R^{Z2a}$;

[0620] R^{Z2a} 是氨基(优选叔氨基)、芳基(例如苯基)或杂芳基;并且z是具有0至约10的值的整数。

[0621] 在更进一步的实施方案中, Z^2 是:



[0623] 在又进一步的实施方案中,每个Q独立地是式(IV)的基团:



(IV);

[0625] 或其药学上可接受的盐;

[0626] 其中:

[0627] 环Cy选自芳基、杂芳基、环烷基或杂环烷基;

[0628] ==是单键或双键;

[0629] X'是卤素;

[0630] X''选自-NR-、-S-或-O-;

[0631] 每个R^a和R^b独立地是卤素、氨基、羟基、烷氧基、乙酰基、羟烷基、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、=O、羧基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基或-(L''')_r-X''-Gly;

[0632] p是选自0-4的整数;

[0633] d是选自0-4的整数;

[0634] r是0-1的整数;

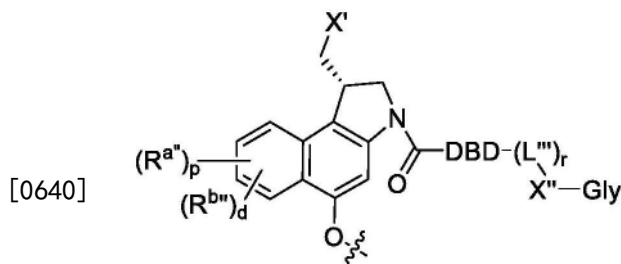
[0635] DBD是DNA结合结构域;

[0636] 每个L'''是键或接头,并且

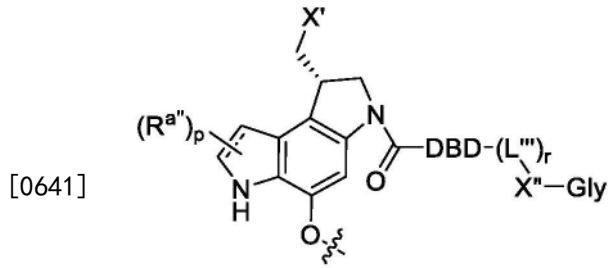
[0637] Gly是单糖、二糖或寡糖。

[0638] 在更进一步的实施方案中,每个L'''是C₁₀-C₁₀₀直链或支链、饱和或不饱和亚烷基部分,任选地包含一个或多个双键和/或三键。在又进一步的实施方案中,每个p和每个d独立地是0-1的整数。在某些实施方案中,Cy是苯基。在进一步的实施方案中,Cy是吡咯烷或吡咯。

[0639] 在某些实施方案中,每个Q独立地是式(IVa)或式(IVb)的基团:



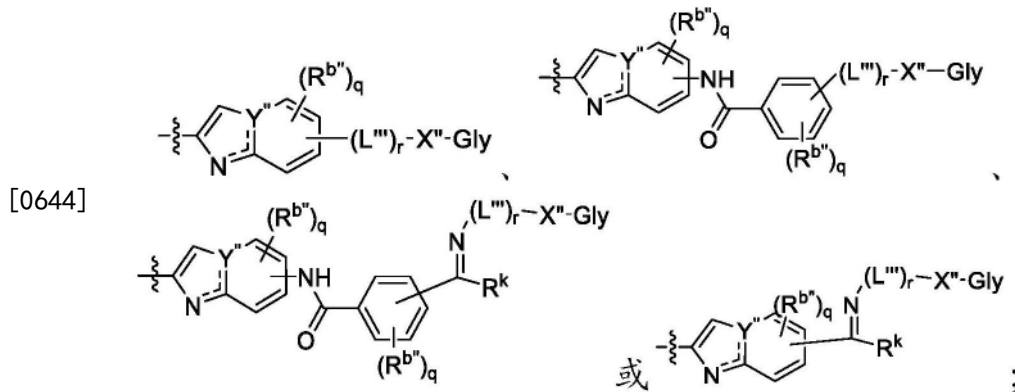
(IVa);



(IVb);

[0642] 或其药学上可接受的盐。

[0643] 在进一步的实施方案中, DBD- (L''') _r-X''-Gly单元选自:



[0645] 或其药学上可接受的盐;

[0646] 其中:

[0647] Y''是C或N;

[0648] X''选自-NR-、-S-或-O-;

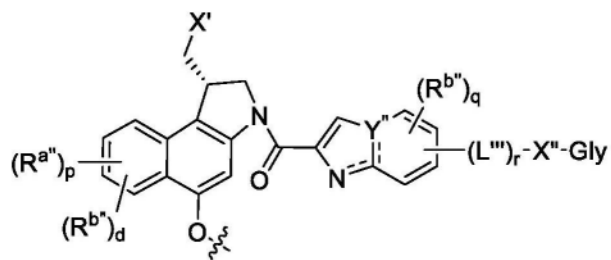
[0649] 每个R^{b''}独立地是卤素、氨基、羟基、乙酰基、羟烷基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基或 (L''') _r-X''-Gly;

[0650] R^k是烷基或羟烷基, 优选C₁-C₃烷基;

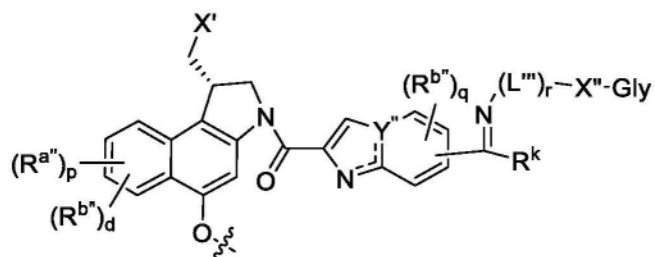
[0651] q是选自0-3的整数; 并且

[0652] ==是单键或双键。

[0653] 在更进一步的实施方案中, 每个Q独立地选自式(IVc)、式(IVd)、式(IVe)、式(IVf)、式(IVg)、式(IVh)、式(IVi)或式(IVj)的基团。

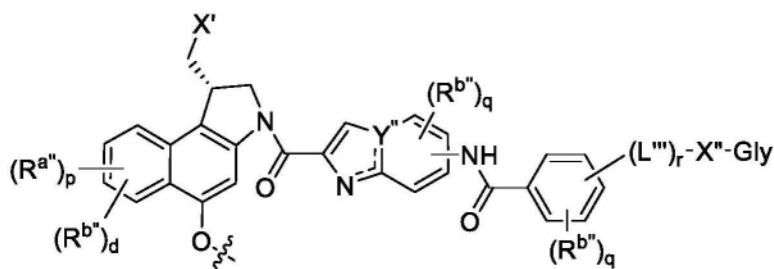


(IVc);

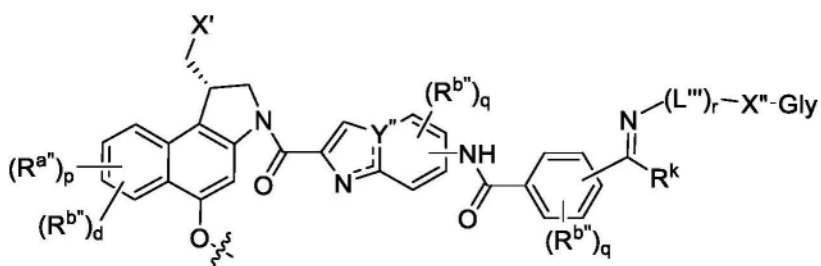


(IVd);

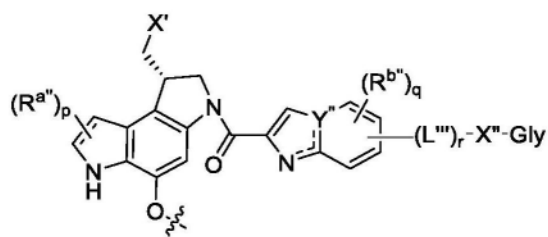
[0654]



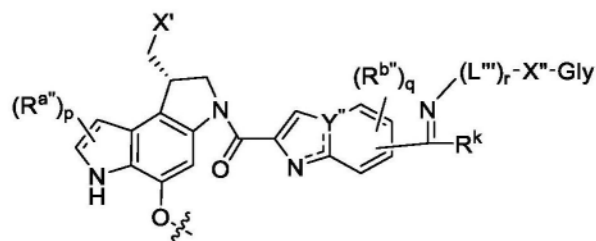
(IVe);



(IVf);

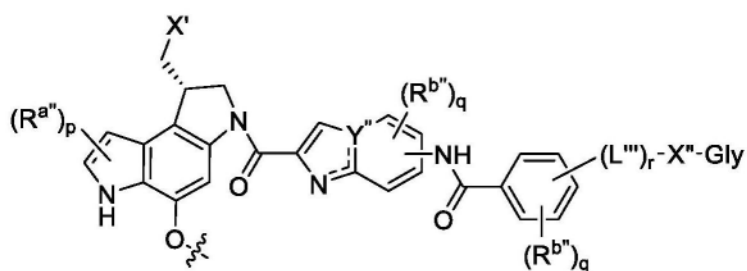


(IVg);

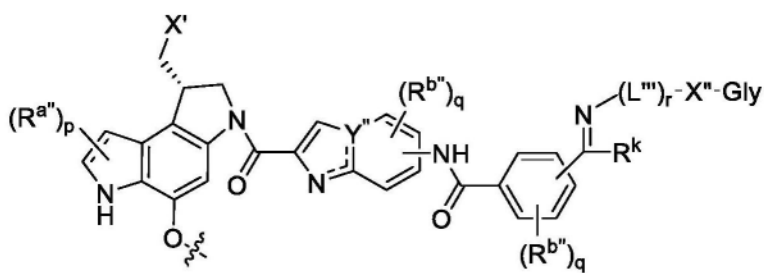


(IVh);

[0655]



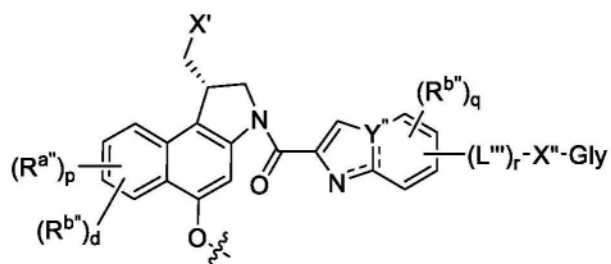
(IVi);



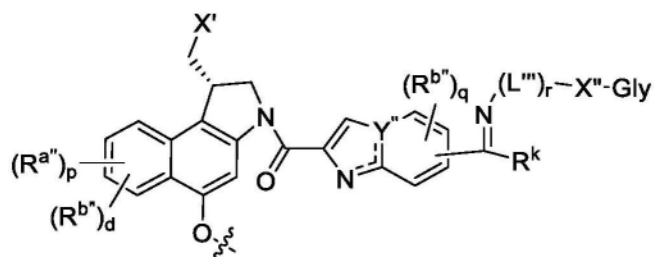
(IVj);

[0656] 或其药学上可接受的盐。

[0657] 在优选的实施方案中,每个Q独立地选自式(IVc)、式(IVd)、式(IVe)或式(IVf)的基团:

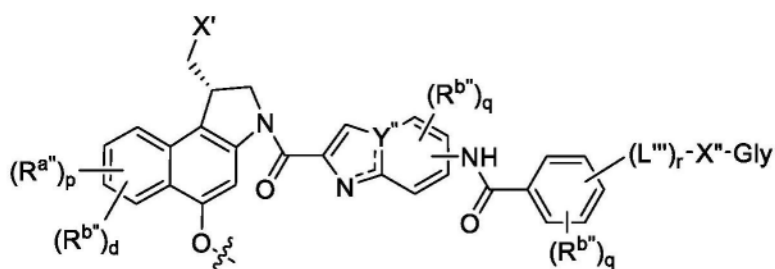


(IVc);

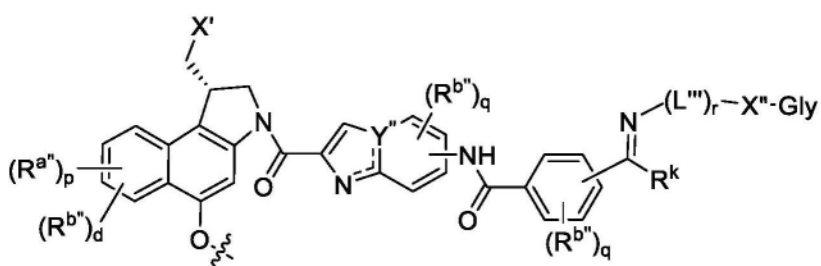


(IVd);

[0658]



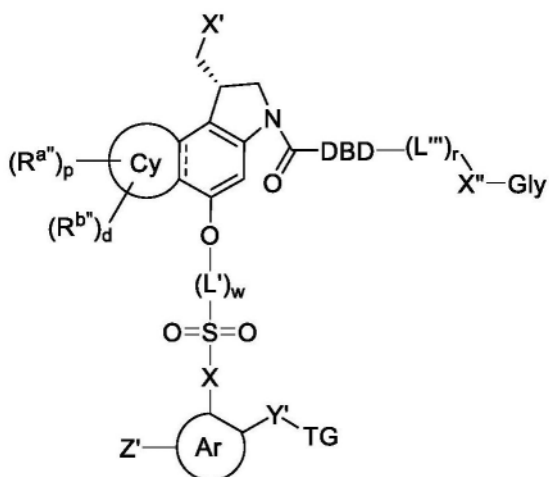
(IVe);



(IVf);

[0659] 或其药学上可接受的盐。

[0660] 在某些实施方案中, 药物缀合物由式 (V) 表示:



[0661]

(V);

[0662] 或其药学上可接受的盐;

[0663] 其中:

[0664] Z' 是偶联基团;

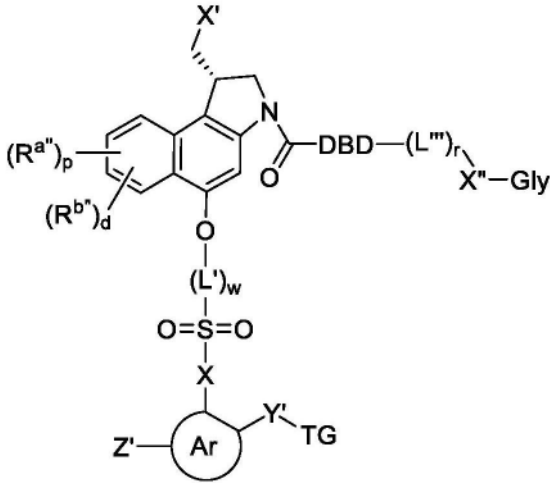
[0665] Ar 是芳基、杂芳基、环烷基或杂环烷基;

[0666] Y' 是 $-(CR^b_2)_yN(R^a)-$ 、 $-(CR^b_2)_yO-$ 或 $-(CR^b_2)_yS-$, 其定位使得如果 y 是 1, 则 N、O 或 S 原子连接至 TG;[0667] TG 是触发基团, 当其被激活时会生成 N、O 或 S 原子, 所述原子能够与 SO_2 反应以置换 $(Q)_q - (L')_w$ 并且形成包括 X- SO_2 和 Ar 的间插原子的 5 至 6 元环;[0668] X 是 $-O-$ 、 $-C(R^b)_2-$ 或 $-N(R^c)-$;[0669] L' 是间隔部分, 如果存在的话, 所述间隔部分经由选自 O、S 和 N 的杂原子连接至 SO_2 , 并且经选择以使得 L' 与 SO_2 之间的键的断裂促进活性剂的释放; 并且

[0670] r 是 0-1 的整数。

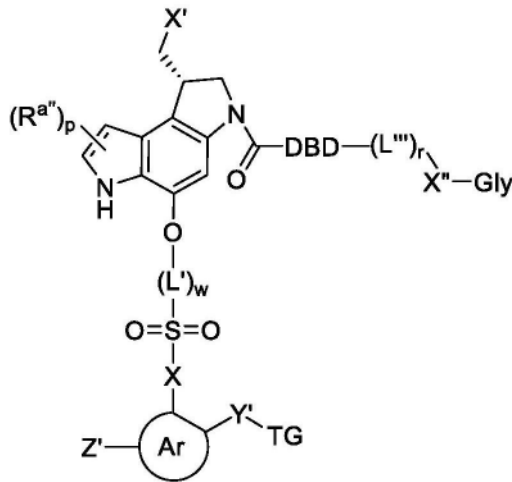
[0671] 在本文的一些实施方案中, 式 (V) 被称为式 (XI), 如从上下文中将显而易见。

[0672] 在进一步的实施方案中, Cy 是苯基。在更进一步的实施方案中, Cy 选自吡咯烷或吡咯。在又进一步的实施方案中, 药物缀合物由式 (Va) 或式 (Vb) 表示:



(Va);

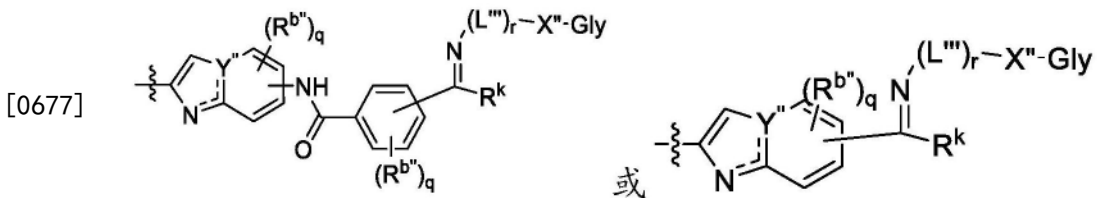
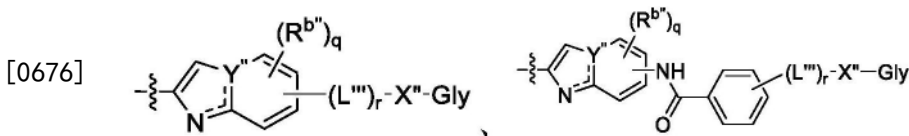
[0673]



(Vb);

[0674] 或其药学上可接受的盐。

[0675] 在某些实施方案中, DBD- (L''')_r-X''-Gly 单元选自:



[0678] 或其药学上可接受的盐;

[0679] 其中:

[0680] Y'' 是C或N;

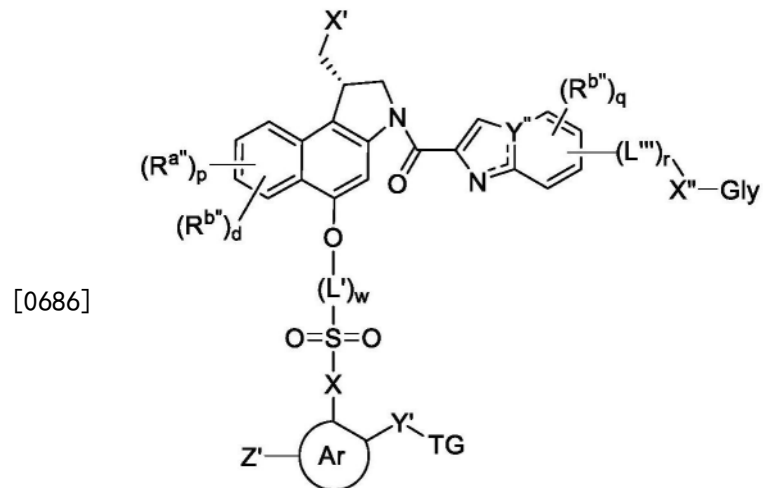
[0681] 每个 $R^{b''}$ 独立地是卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基；

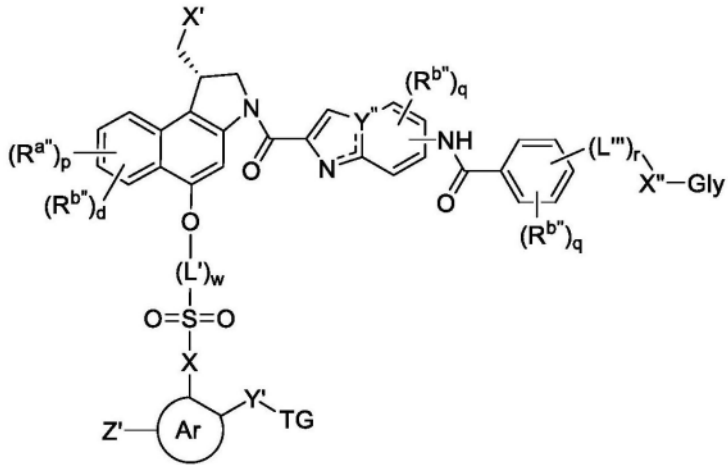
[0682] R^k 是烷基或羟烷基, 优选 C_1-C_3 烷基；

[0683] q 是选自0-3的整数；并且

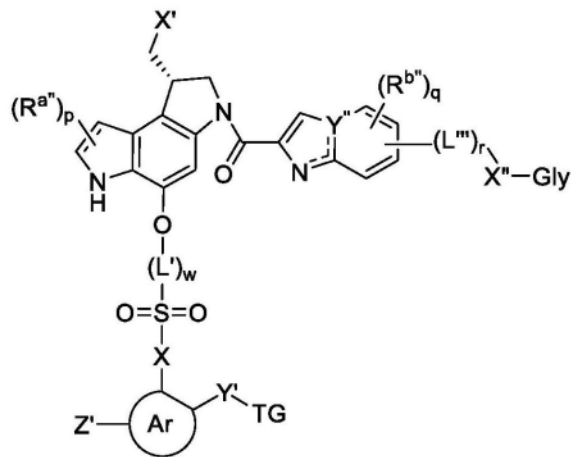
[0684] \equiv 是单键或双键。

[0685] 在某些实施方案中, 药物缀合物选自式 (Vc)、式 (Vd)、式 (Ve) 或式 (Vf) 的基团：



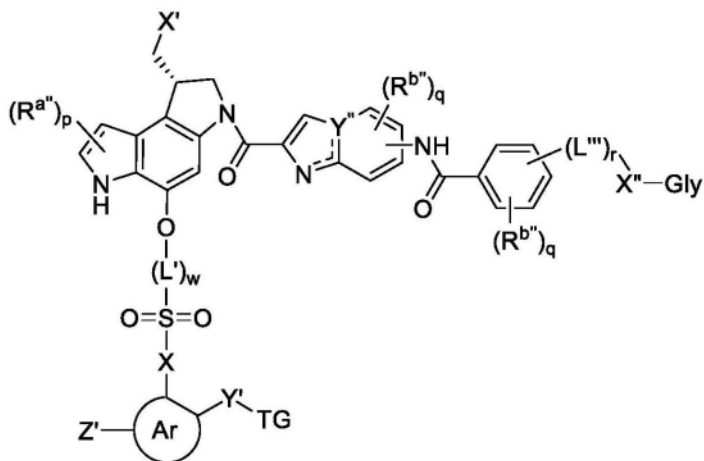


(Vd);



[0687]

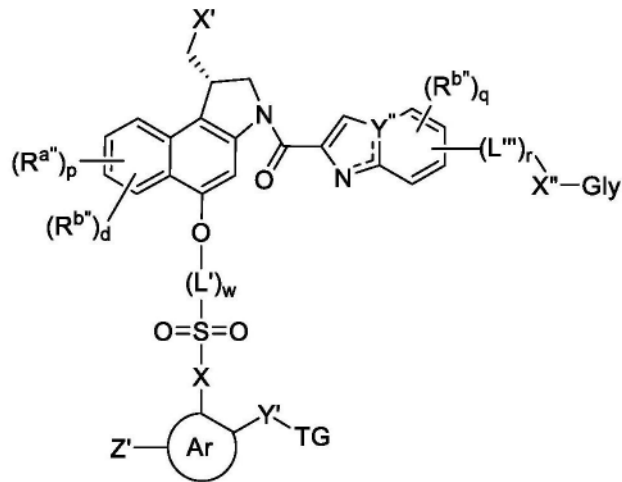
(Ve);



(Vf);

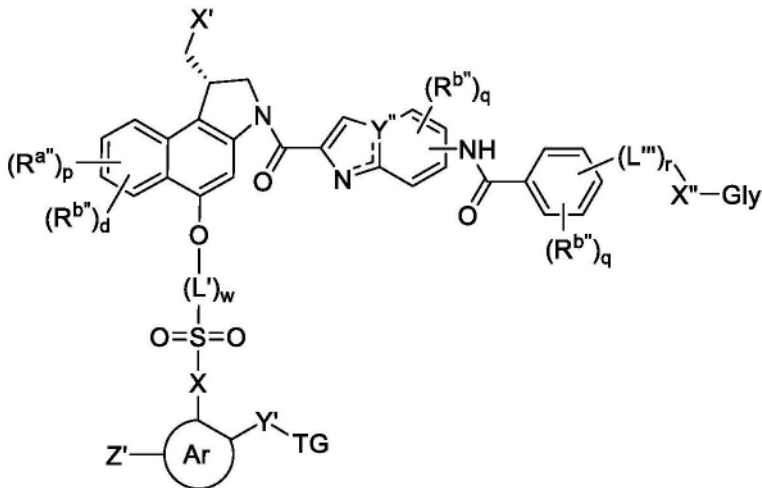
[0688] 或其药学上可接受的盐。

[0689] 在优选的实施方案中, 药物缀合物由式 (Vc) 或式 (Vd) 表示:



(Vc); 或

[0690]



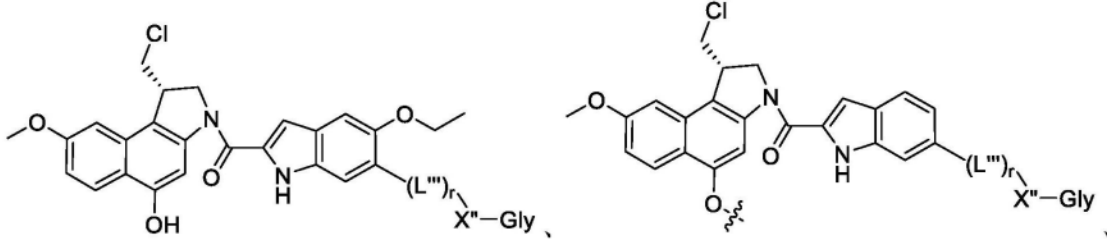
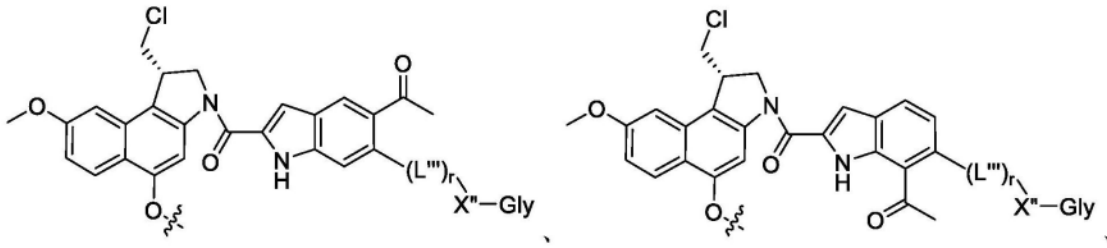
(Vd);

[0691] 或其药学上可接受的盐。

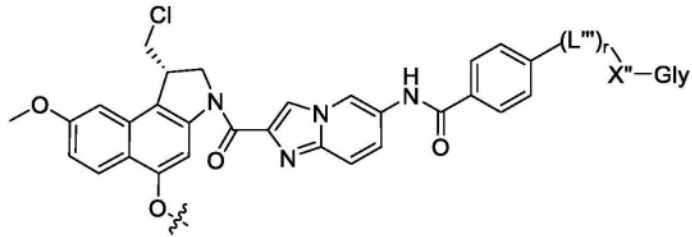
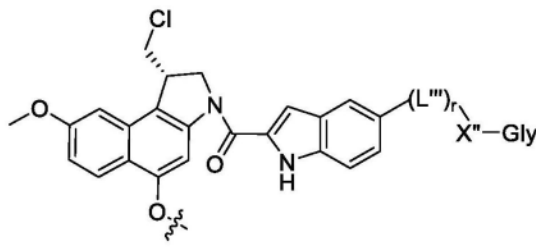
[0692] 在某些实施方案中,每个 $R^{a''}$ 独立地是氢、卤素、氨基、羟基、烷氧基、乙酰基、羟烷基、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、=O、羧基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基或 $(L''')_r-X''-Gly$;并且每个 $R^{b''}$ 独立地是氢、卤素、氨基、羟基、烷氧基、乙酰基、羟烷基、氰基、硝基、烷基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基或 $(L''')_r-X''-Gly$ 。

[0693] 在进一步的实施方案中, X' 是Cl。在更进一步的实施方案中, X' 是Br。在又进一步的实施方案中, Y'' 是C。在某些实施方案中, Y'' 是N。

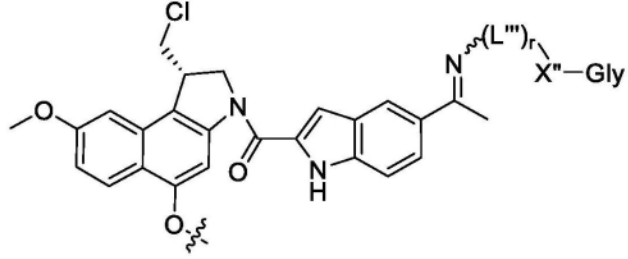
[0694] 在某些实施方案中,Q选自:



[0695]

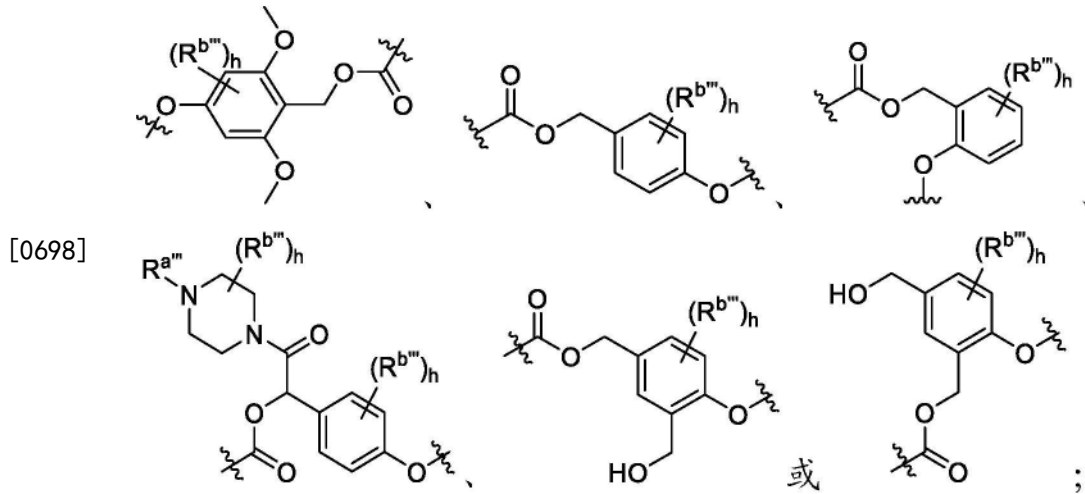


或



[0696] 或其药学上可接受的盐。

[0697] 在进一步的实施方案中, L'' 是键。在更进一步的实施方案中, L'' 是选自以下的接头:



[0699] 其中：

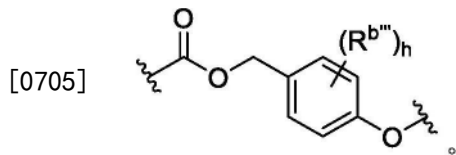
[0700] 每个 $R^{a''}$ 独立地是氢、卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、=O、羧基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基；并且

[0701] 每个 $R^{b''}$ 独立地是氢、卤素、氨基、羟基、烷氧基、氰基、硝基、烷基、杂烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基；

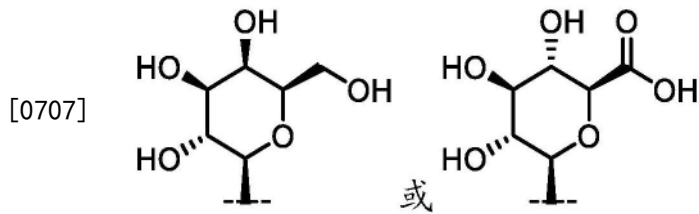
[0702] h 是选自0-4的整数，只要价数允许；并且

[0703] \sim 是与相邻官能团的连接点。

[0704] 在又进一步的实施方案中， L'' 是

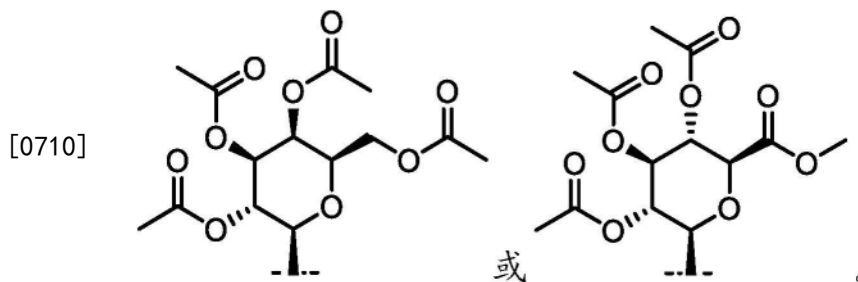


[0706] 在某些实施方案中，Gly是单糖。在进一步的实施方案中，Gly是选自葡萄糖、葡萄糖醛酸、岩藻糖和半乳糖的单糖。在更进一步的实施方案中，Gly是



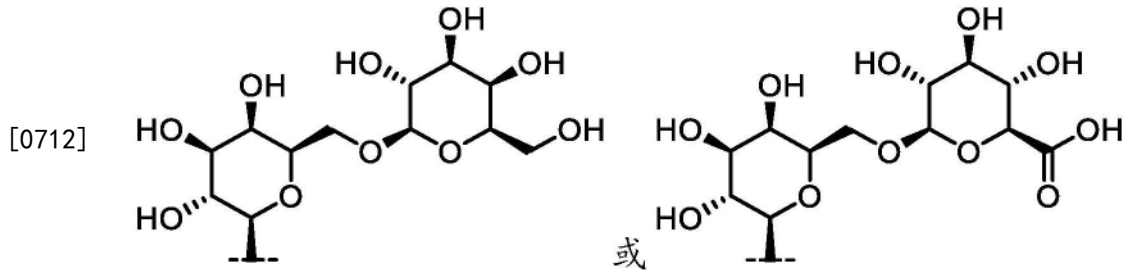
[0708] 任选地，其中1个或多个-OH基团被保护基掩蔽。

[0709] 在又进一步的实施方案中，Gly是



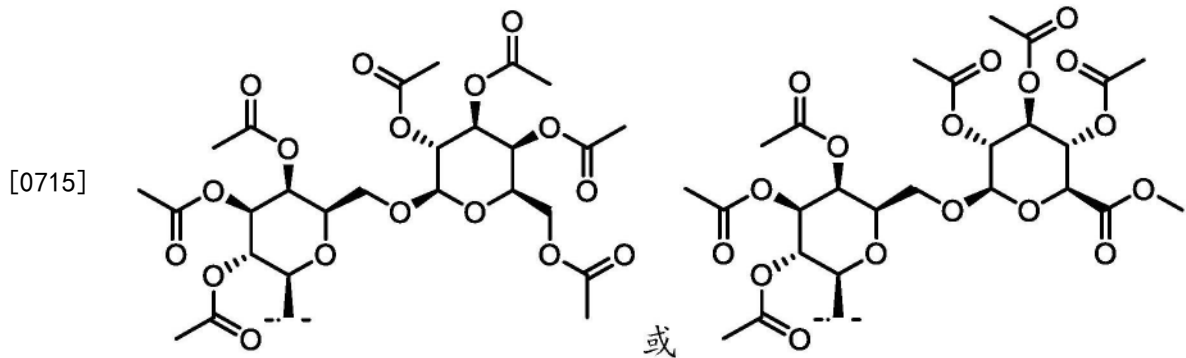
[0711] 在某些实施方案中，Gly是二糖。在进一步的实施方案中，Gly是包含葡萄糖、葡萄

糖醛酸、岩藻糖、半乳糖或它们的组合的二糖。在更进一步的实施方案中,Gly是



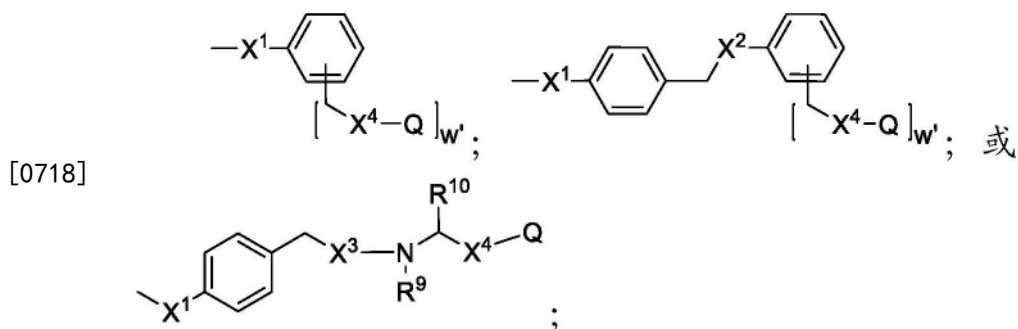
[0713] 任选地,其中1个或多个-OH基团被保护基掩蔽。

[0714] 在又进一步的实施方案中,Gly是



[0716] 在某些实施方案中,X”或L”在异头位置处与Gly偶联。在进一步的实施方案中,Ar是芳基。在更进一步的实施方案中,Ar是C₆₋₁₀芳基。在又进一步的实施方案中,Ar是苯基。在某些实施方案中,Ar是杂芳基。在进一步的实施方案中,Ar是5至10元杂芳基。在更进一步的实施方案中,Y’是-(CR^b)_yN(R^a)-或-(CR^b)_yO-。在又进一步的实施方案中,Y’是-(CR^b)_yO-。在某些实施方案中,y是0或1。在进一步的实施方案中,y是1。在更进一步的实施方案中,X是-O-、C(R^b)₂-或-N(R^c)-。在又进一步的实施方案中,X是-O-。在某些实施方案中,L’是间隔部分,并且形成-O-、-OC(O)-、-OC(O)O-或-OC(O)NH-键联,包括活性剂的杂原子。

[0717] 在某些实施方案中,Q-(L’)_w-选自:



[0719] 其中:

[0720] X⁴不存在,或者形成-O-、-OC(O)-、-OC(O)O-或-OC(O)NH-键联,包括Q的杂原子;

[0721] X¹是-O-或-NR^a-;

[0722] X²是-O-、-OC(O)-、-OC(O)O-或-OC(O)NH-;

[0723] X³是-OC(=O)-;

[0724] w’是具有1、2、3、4或5的值的整数;

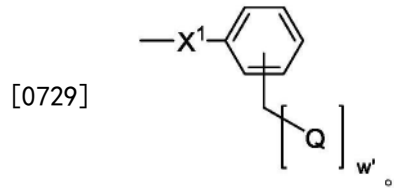
[0725] R⁹和R¹⁰各自独立地是氢、烷基、芳基或杂芳基,其中烷基、芳基和杂芳基未被取代

或被一个或多个例如选自烷基、 $-(CH_2)_uNH_2$ 、 $-(CH_2)_uNR^{u1}R^{u2}$ 和 $-(CH_2)_uSO_2R^{u3}$ 的取代基取代；

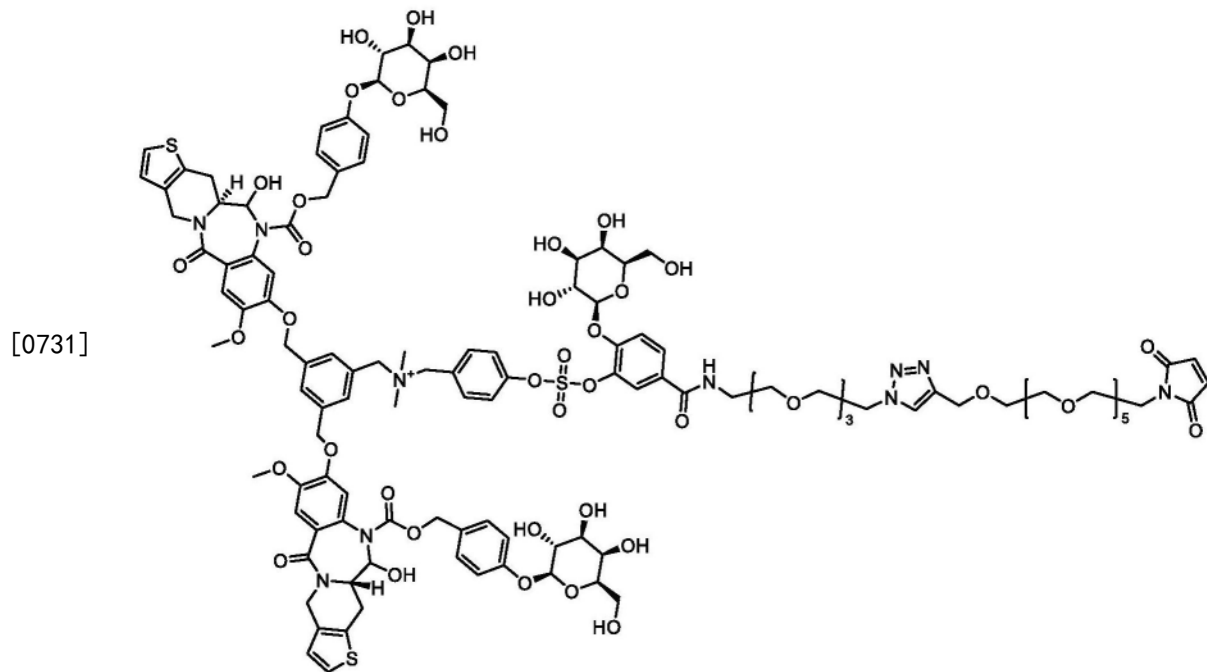
[0726] R^{u1} 、 R^{u2} 和 R^{u3} 各自独立地是氢、烷基、芳基或杂芳基；并且

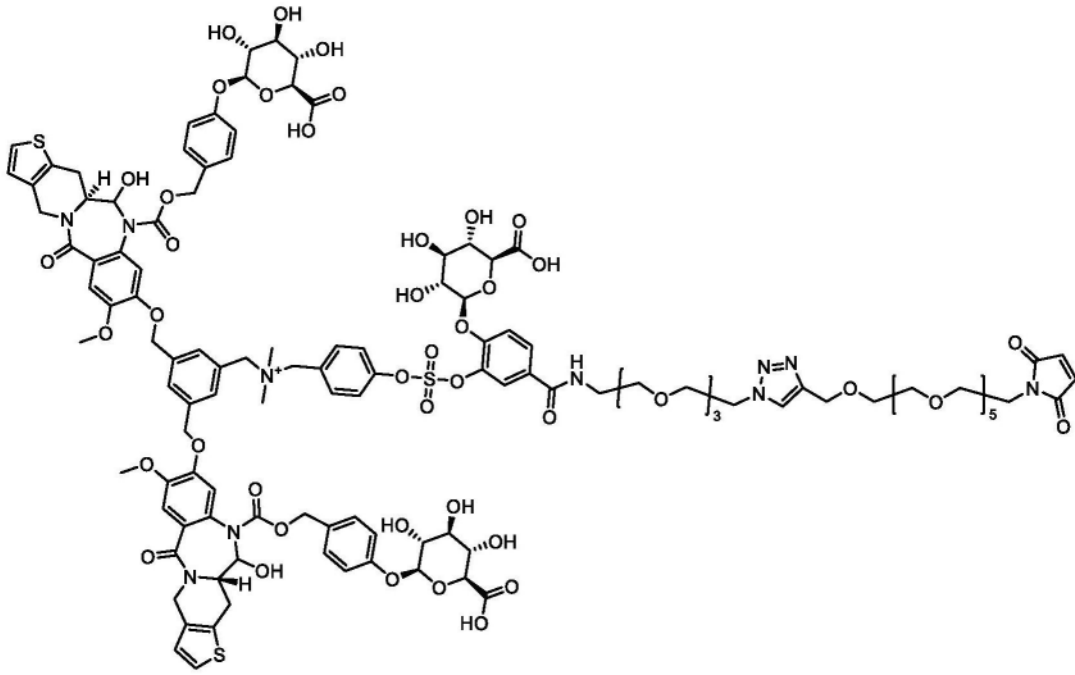
[0727] u 是具有1至约10的值的整数。

[0728] 在进一步的实施方案中， $Q-(L')_w$ -选自：

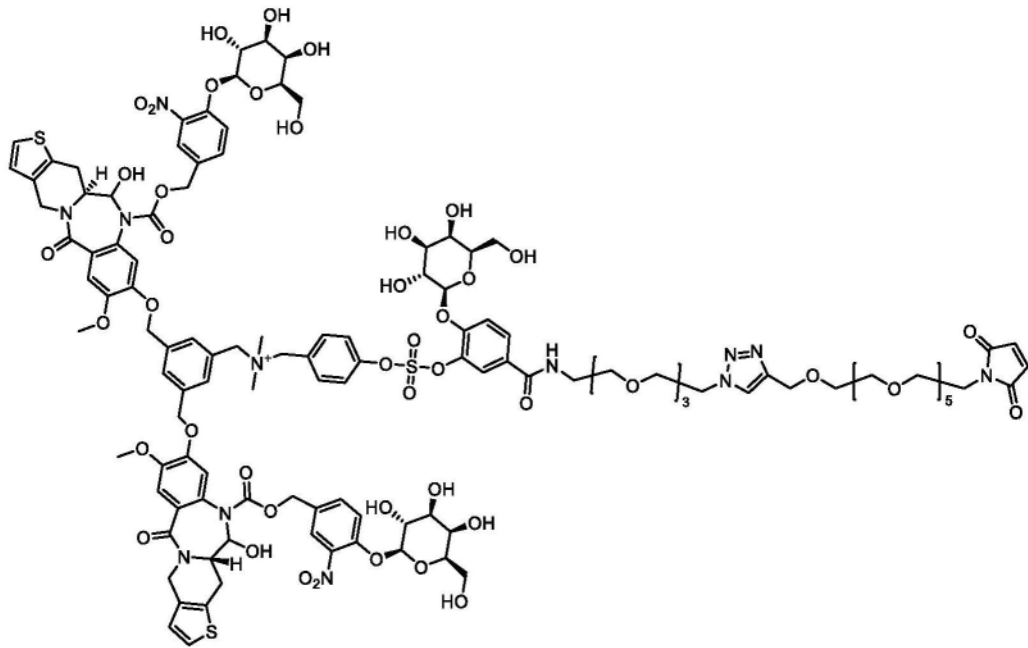


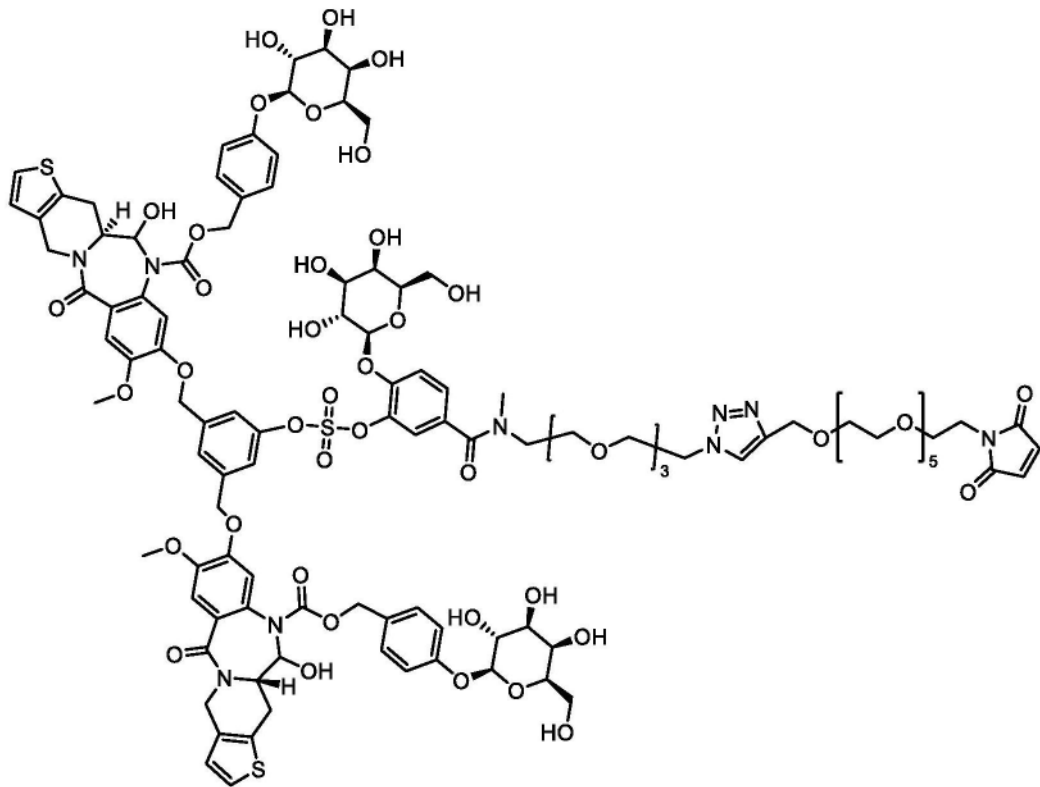
[0730] 在某些实施方案中，药物缀合物选自：



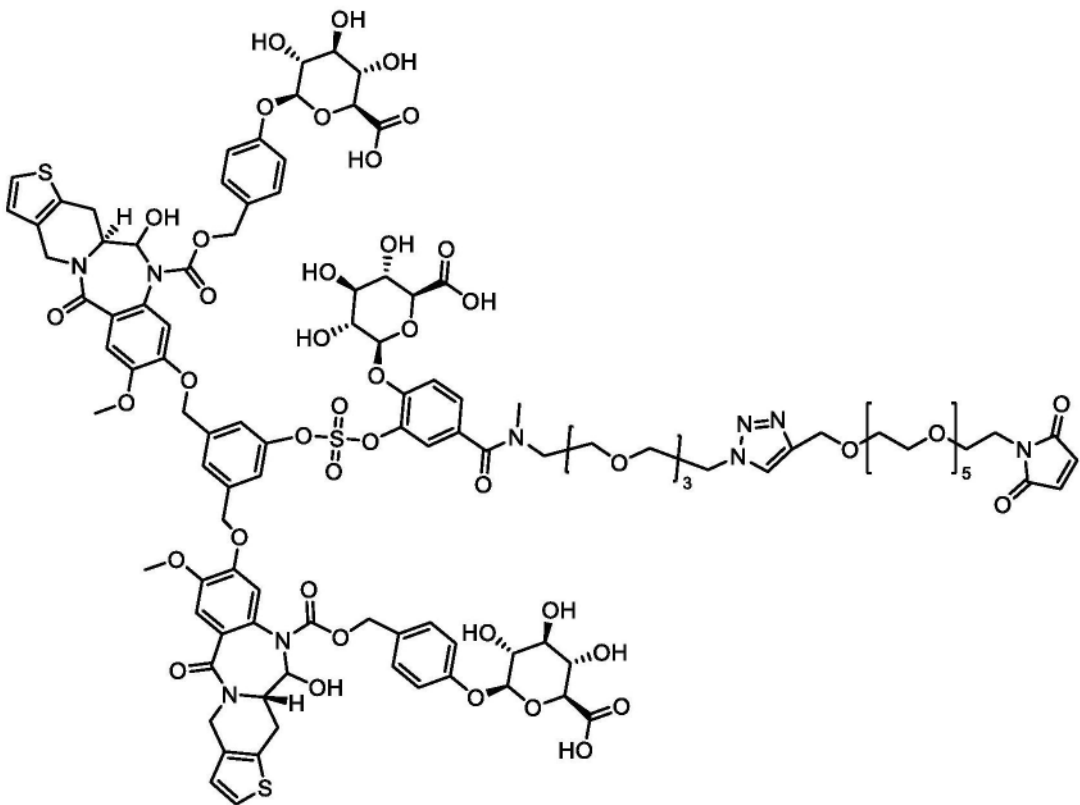


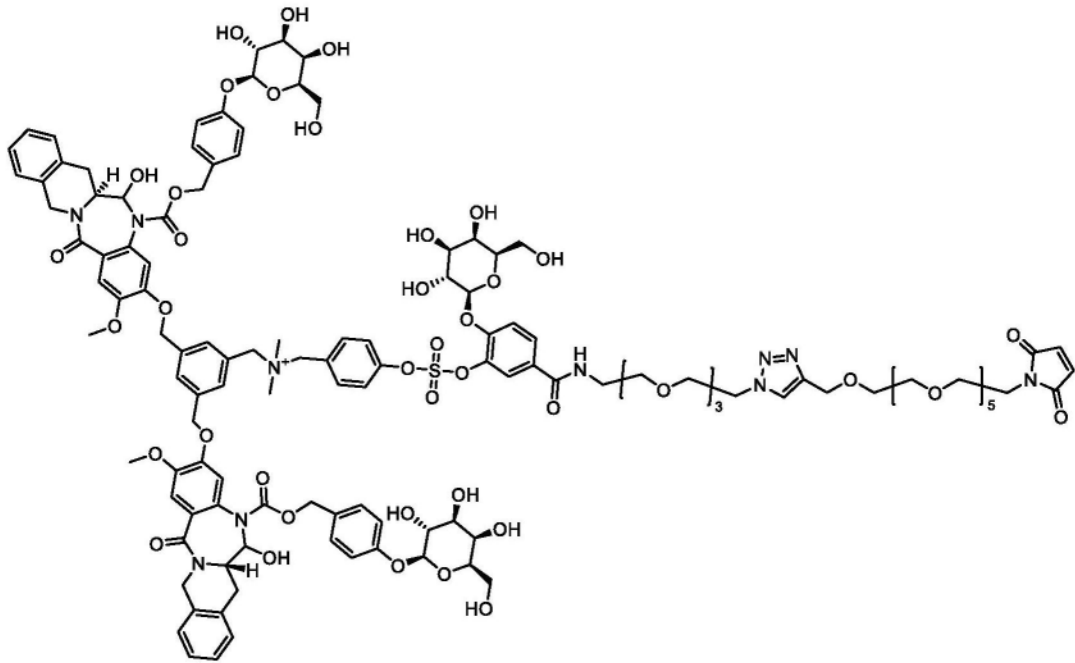
[0732]



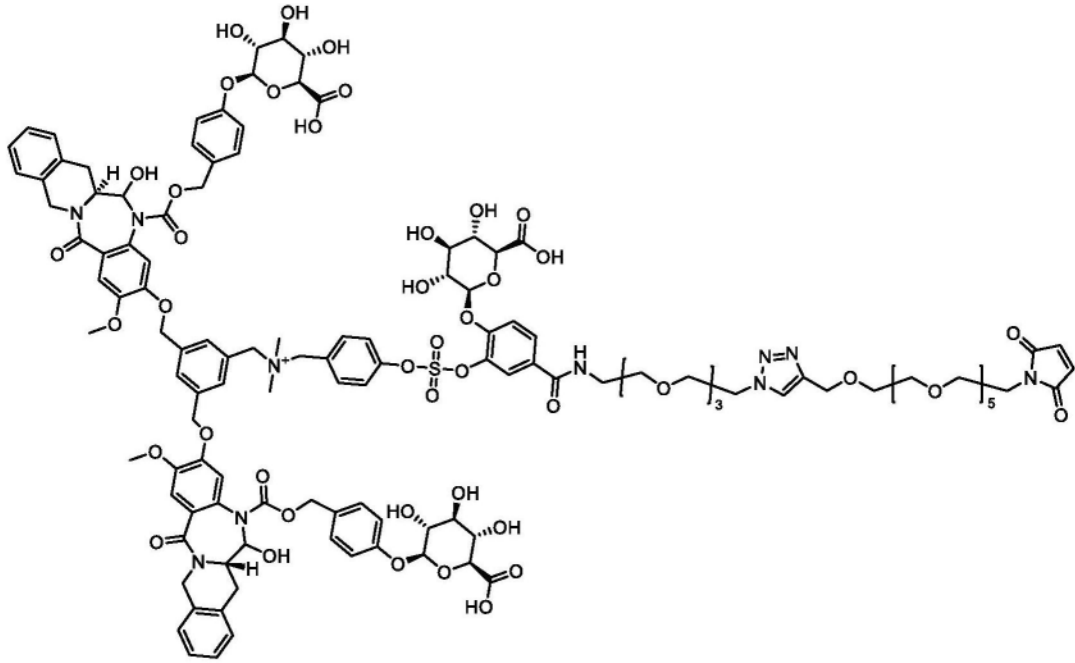


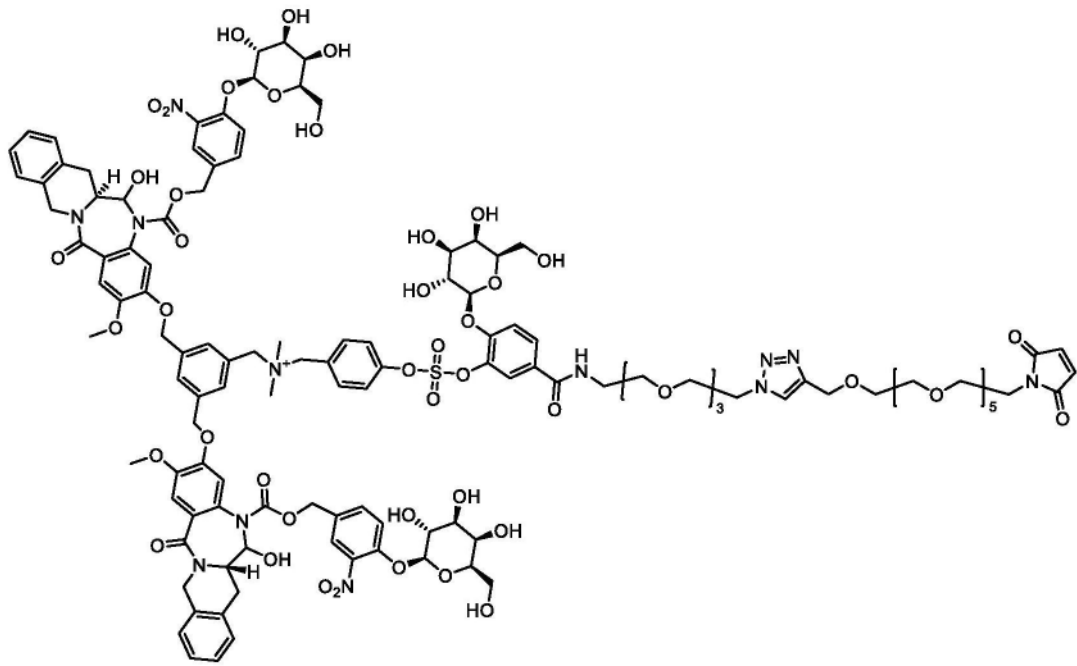
[0733]



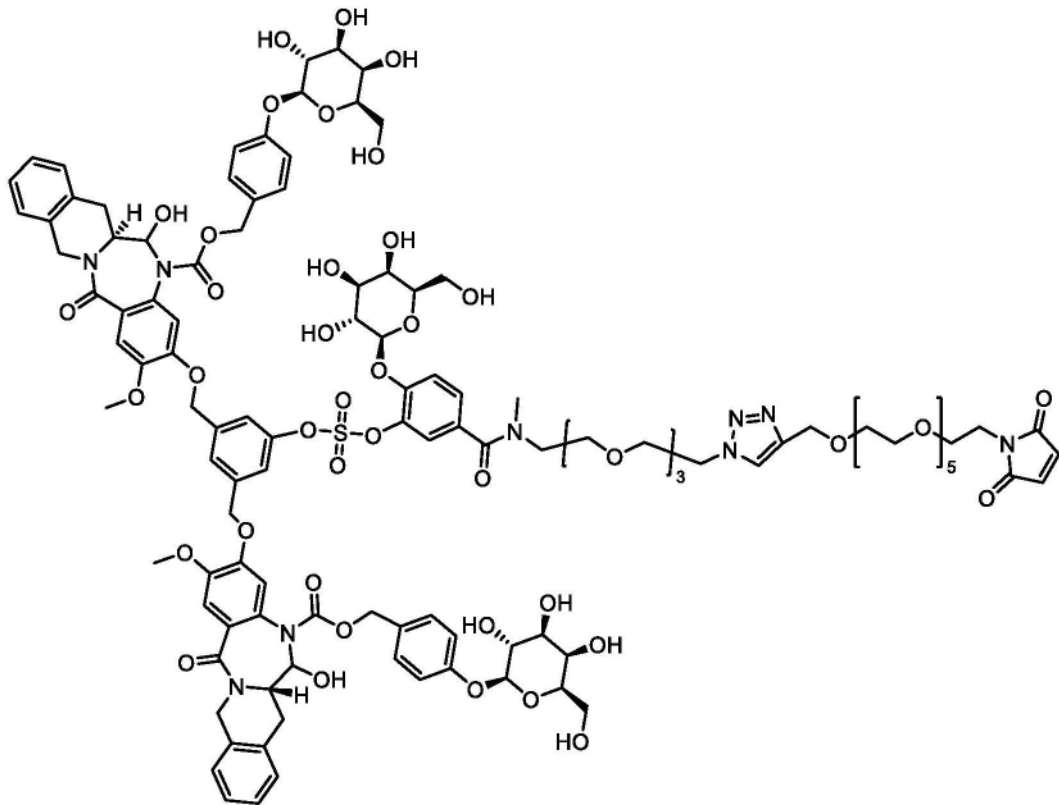


[0734]

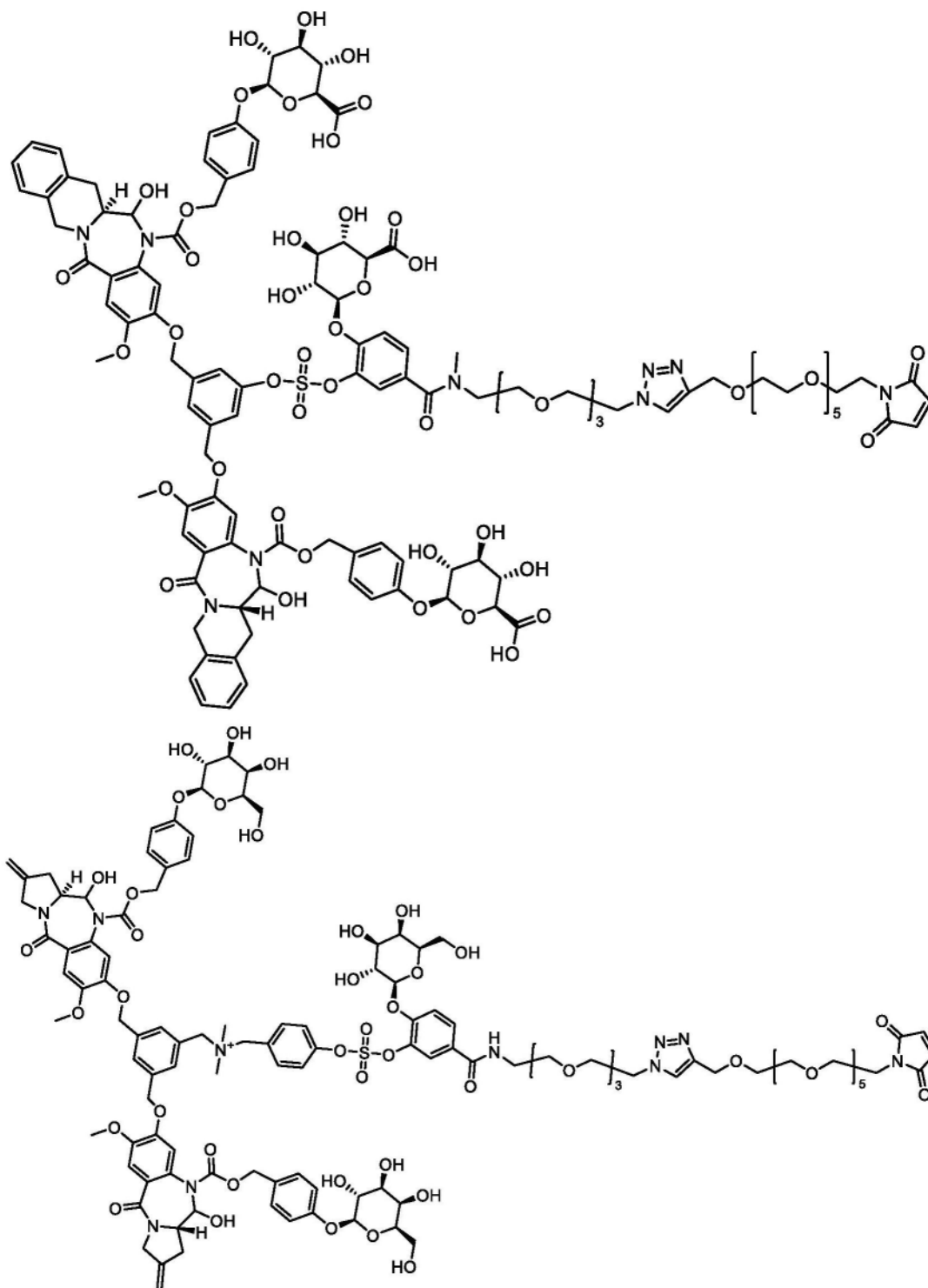


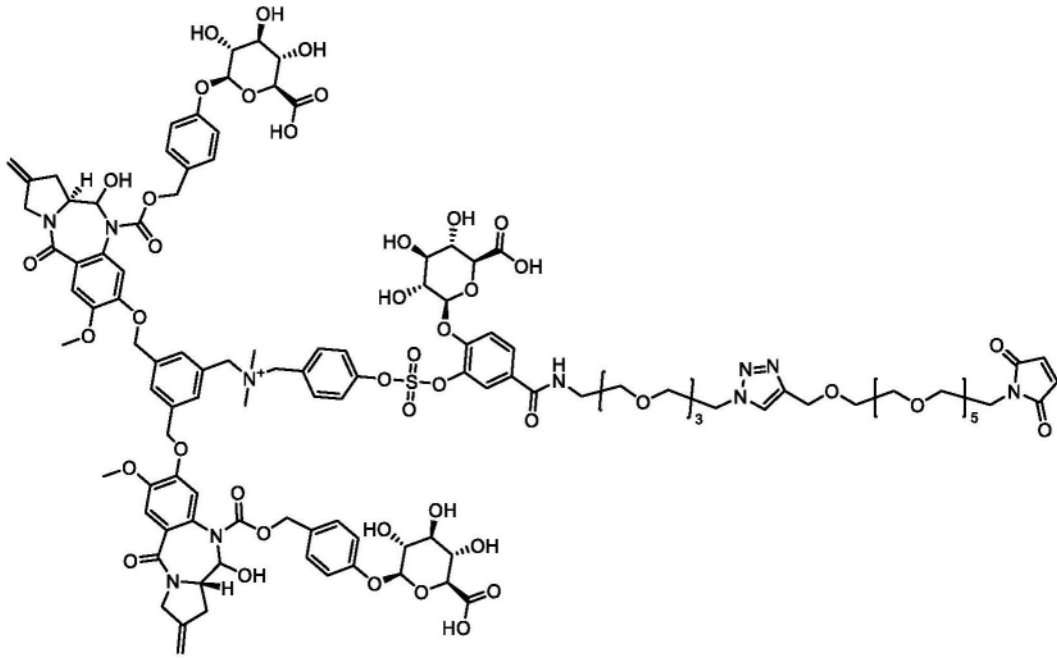


[0735]

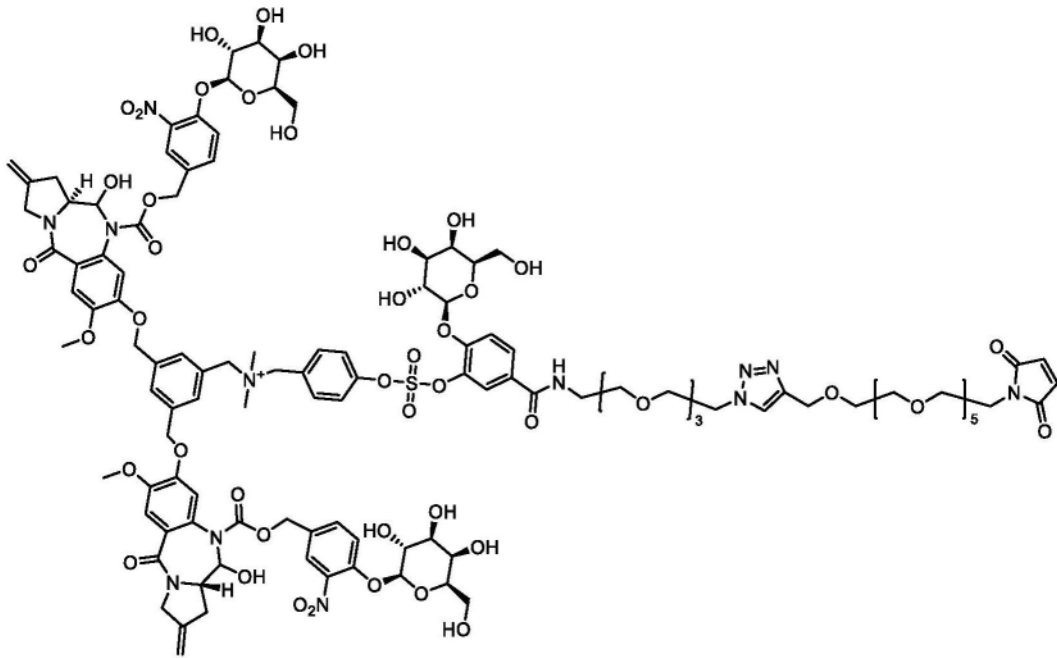


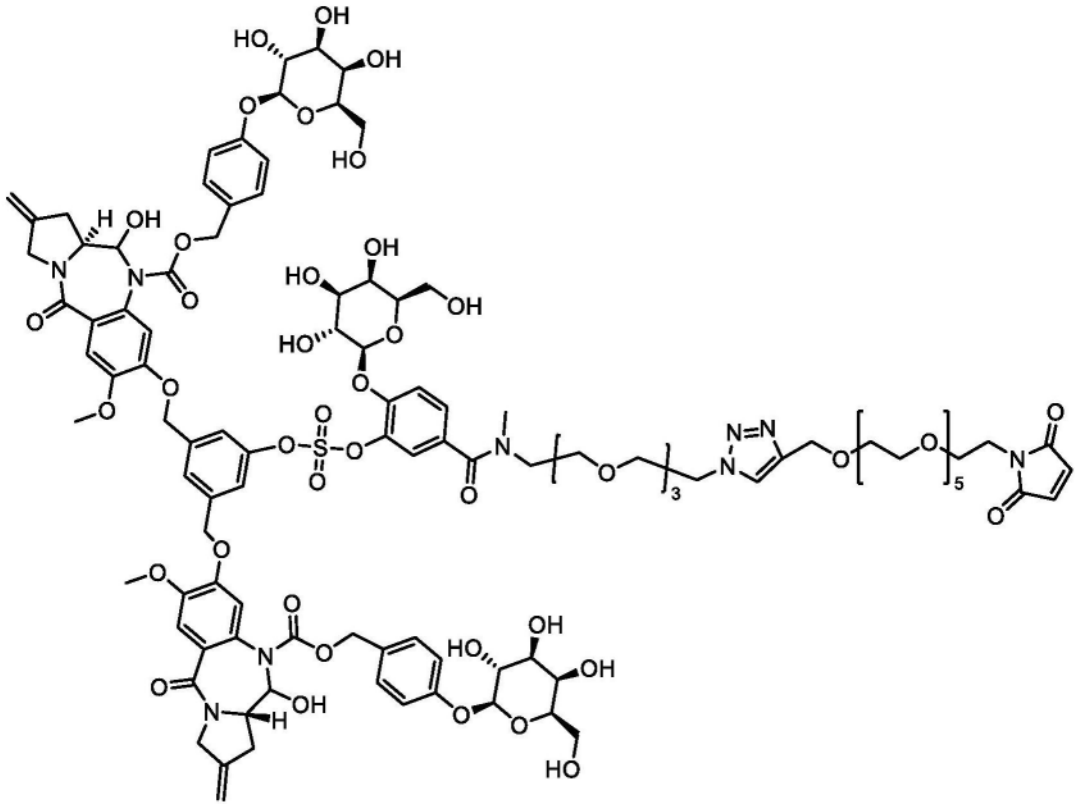
[0736]



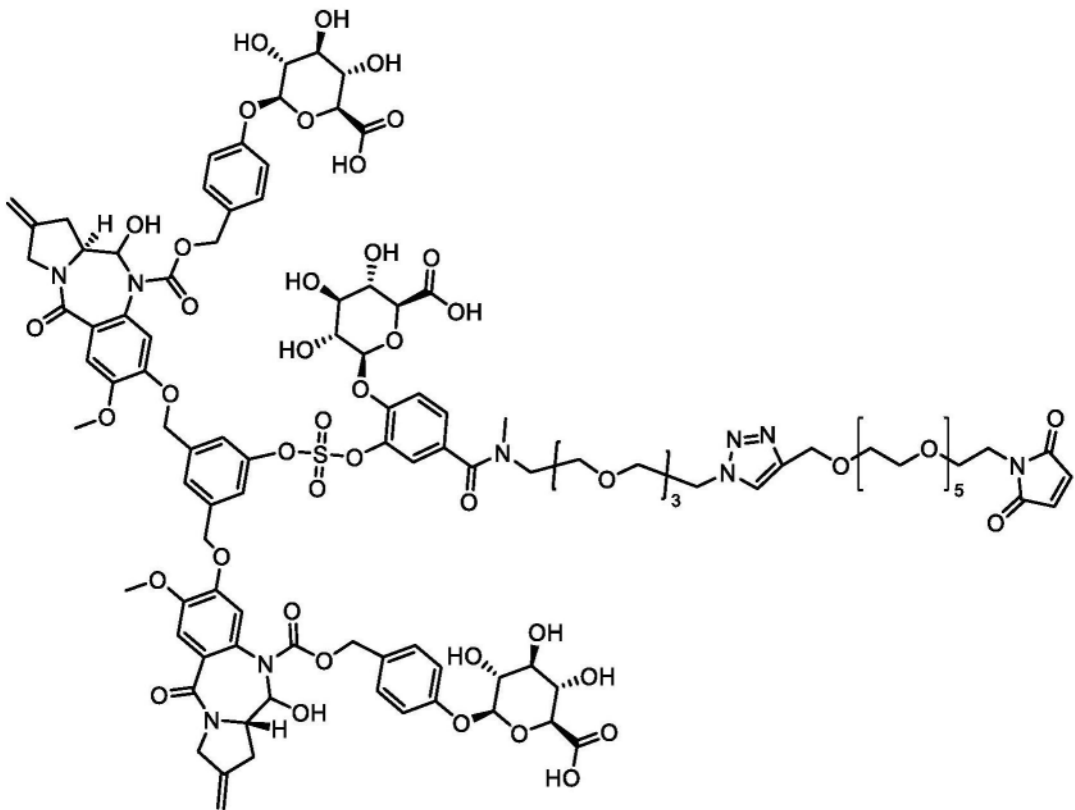


[0737]

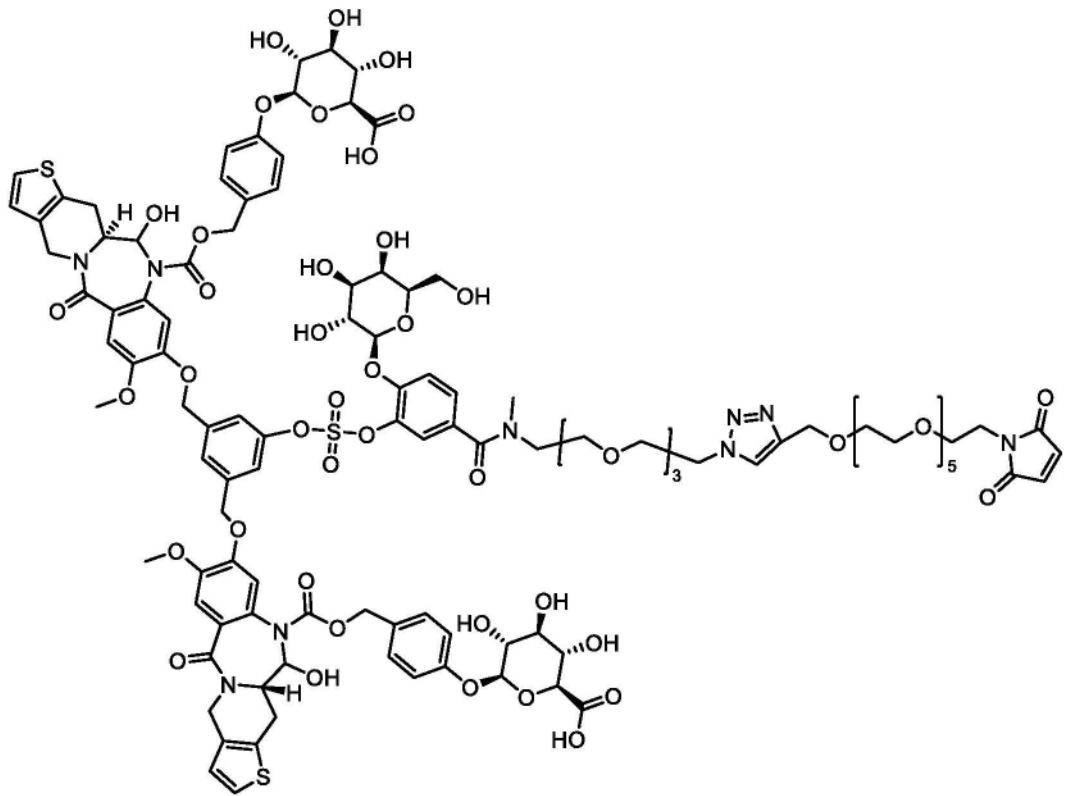




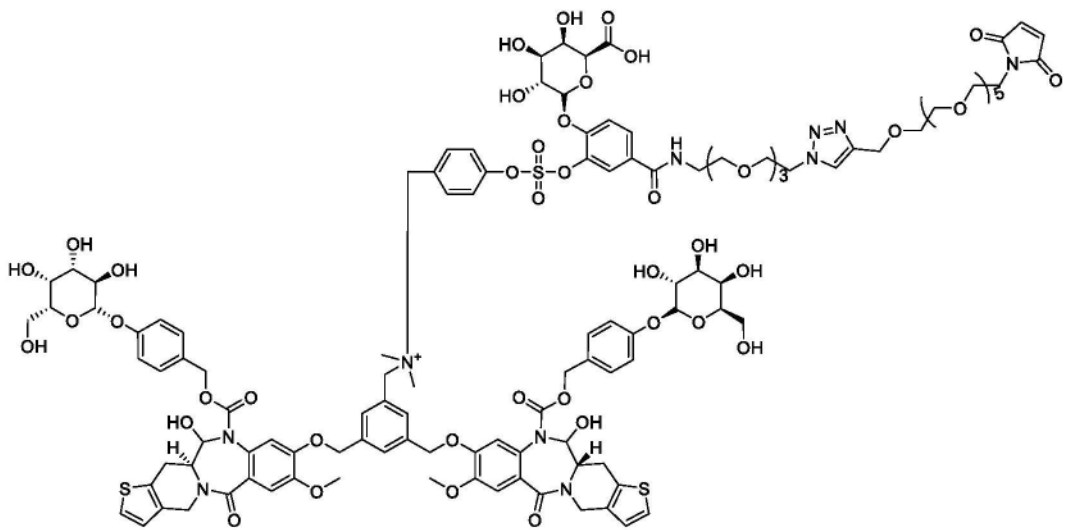
[0738]



[0739]



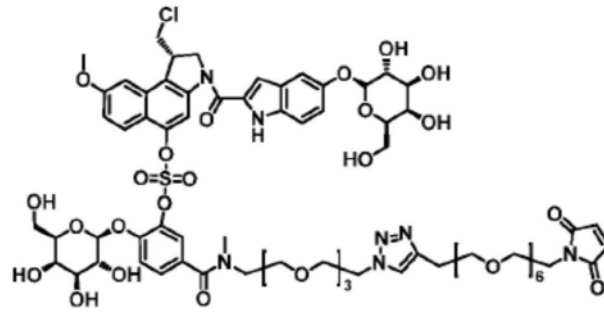
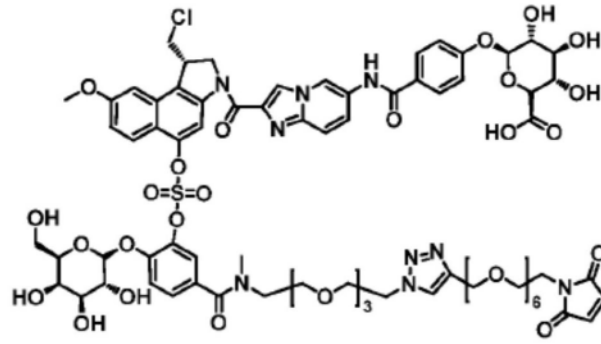
和



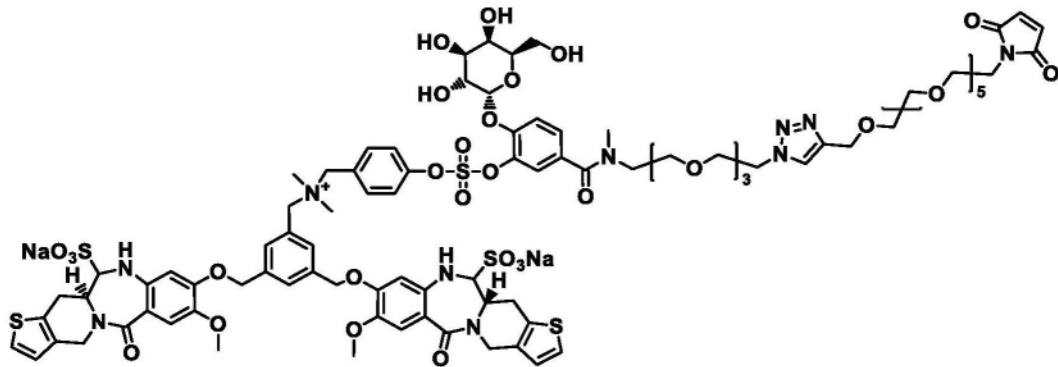
;

[0740] 或其药学上可接受的盐。

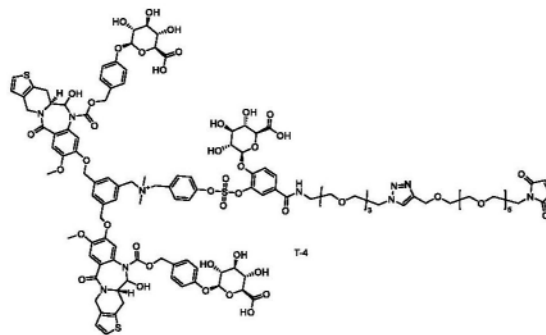
[0741] 在某些实施方案中, 药物缀合物不选自:



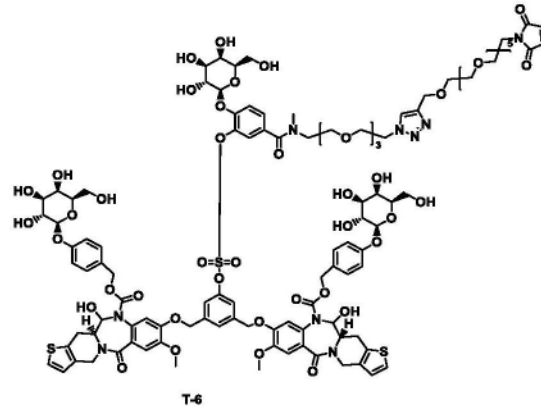
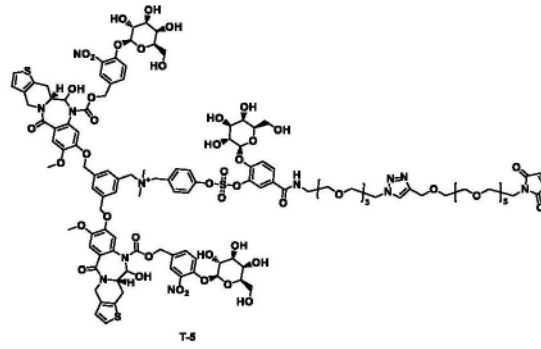
[0742]



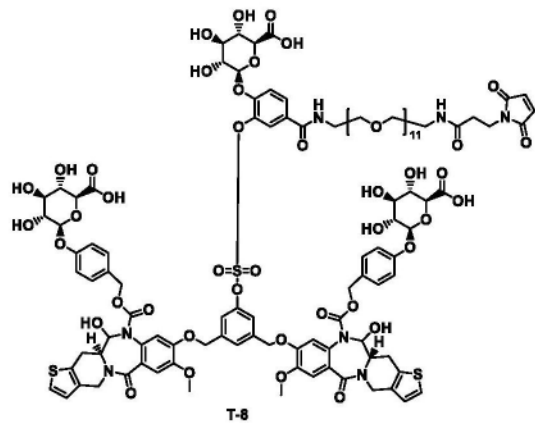
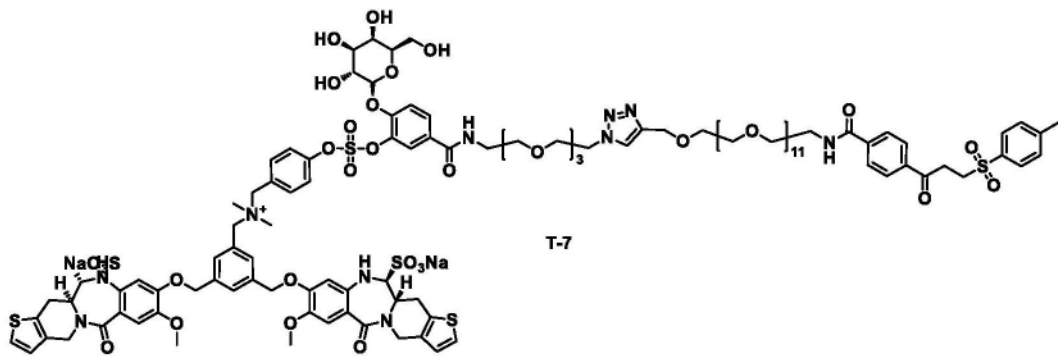
T-2

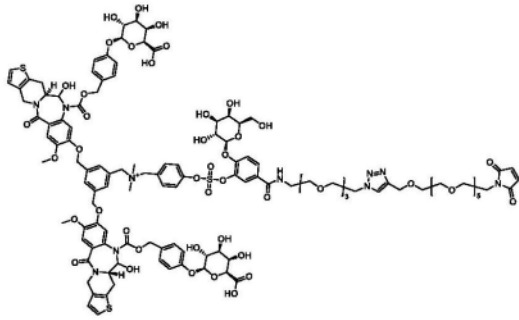
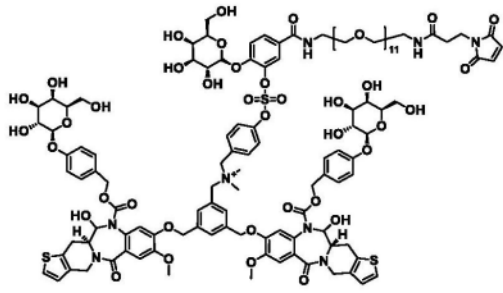


T-4

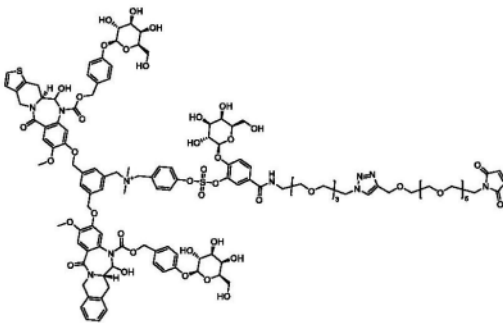
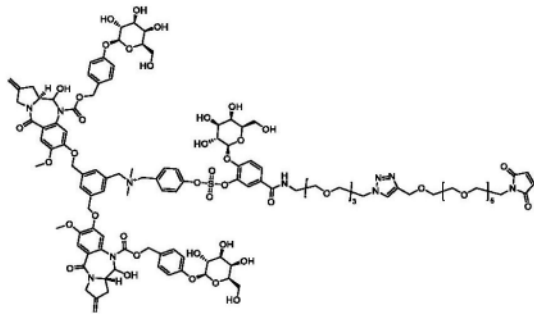
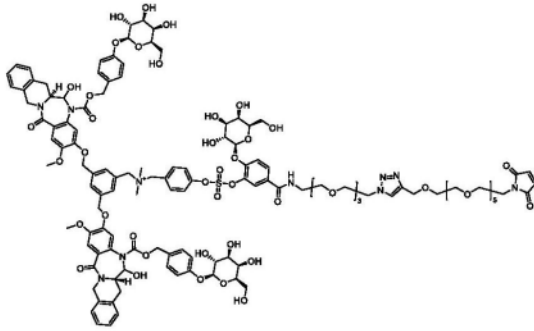


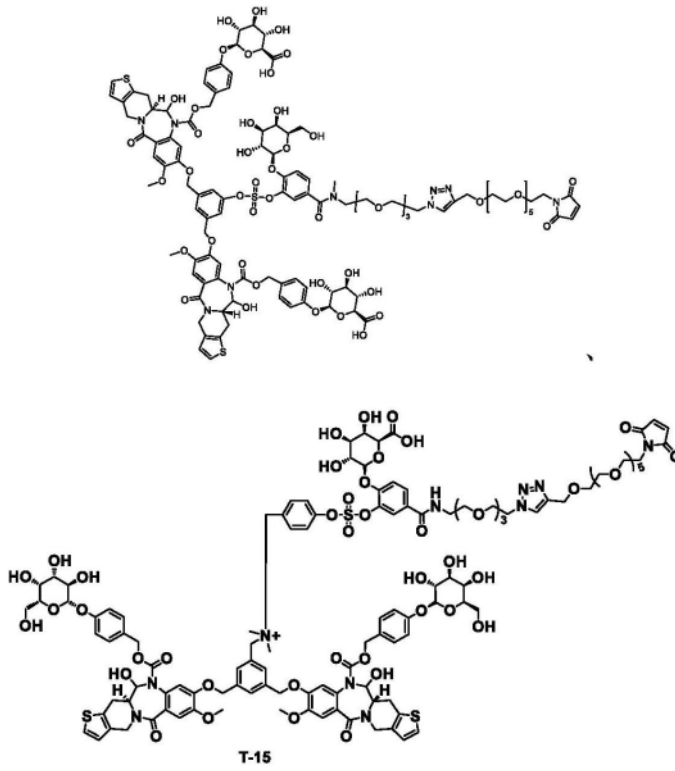
[0743]



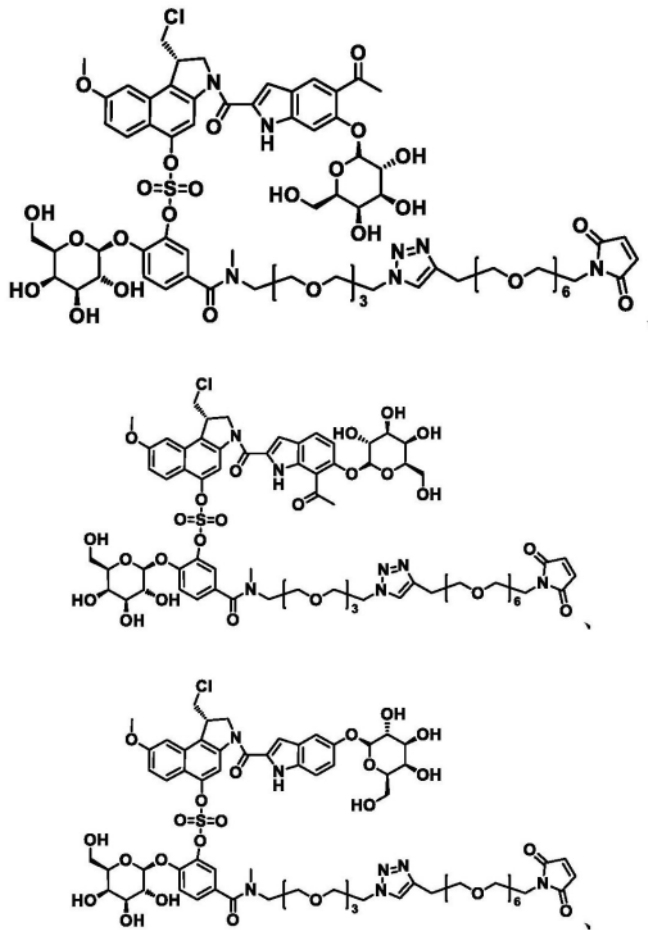


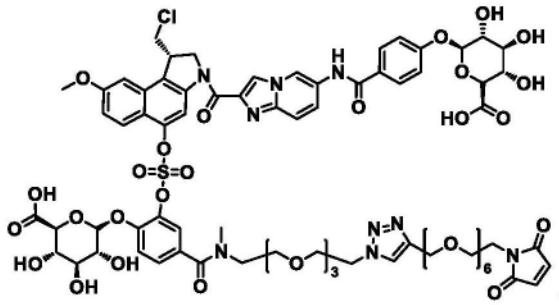
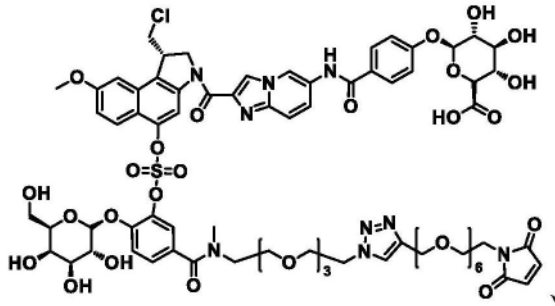
[0744]



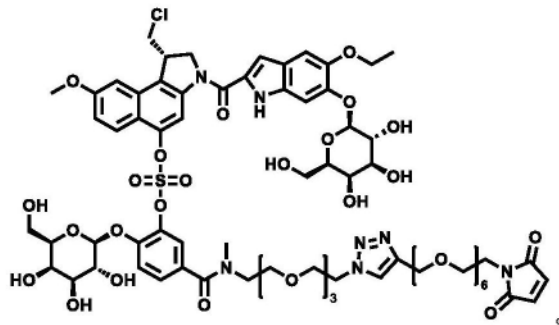
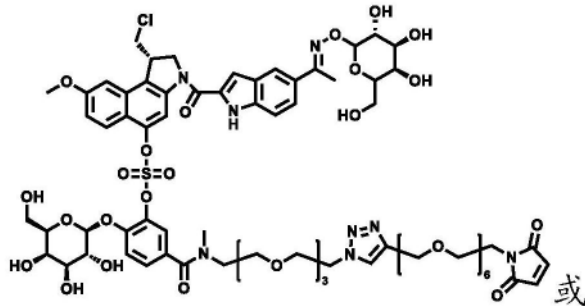


[0745]





[0746]

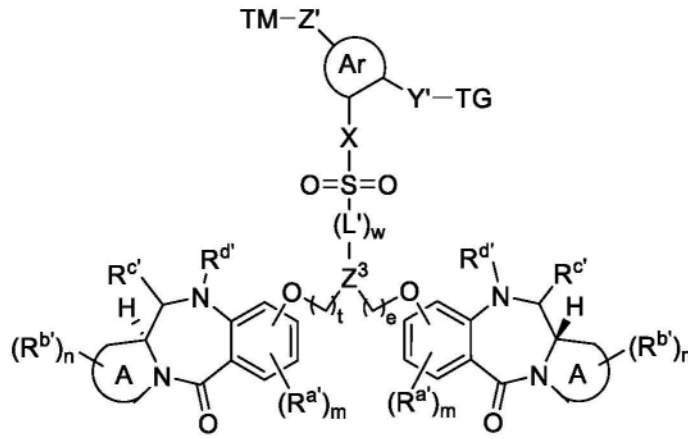


[0747] 在某些实施方案中, 药物缀合物不是US2022/0047717中公开的化合物。

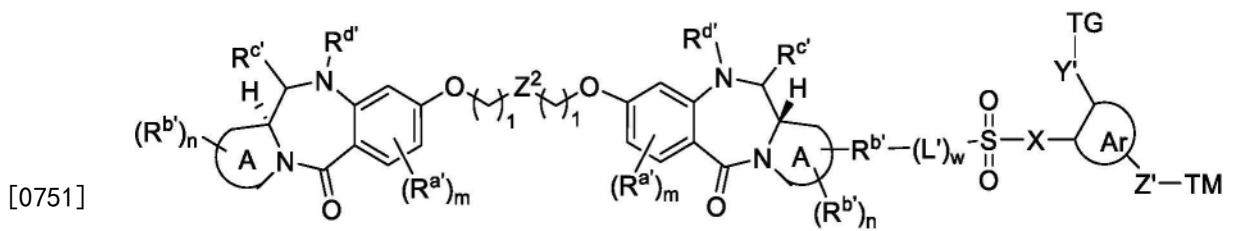
[0748] 靶向药物缀合物

[0749] 在某些方面, 本文提供了靶向药物缀合物, 所述靶向药物缀合物包含药物缀合物, 所述药物缀合物包含本公开的化合物、接头基团和靶向部分。

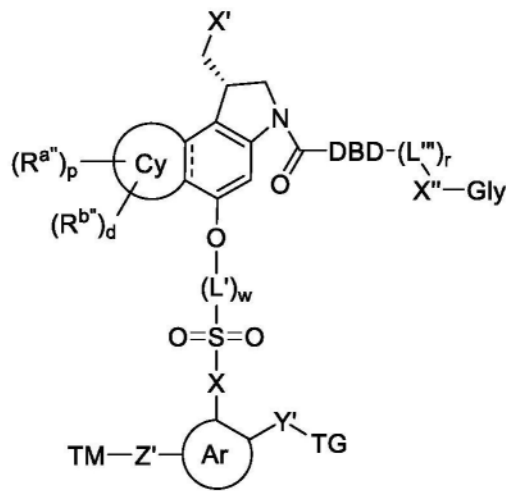
[0750] 在某些实施方案中, 靶向药物缀合物是由式 (XII)、式 (XIII) 或式 (XIV) 表示的化合物:



(XII);



(XIII); 或

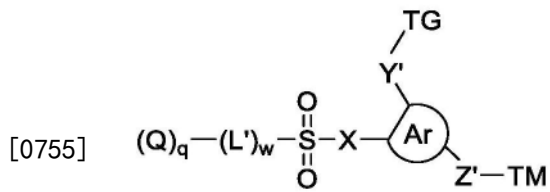


(XIV);

[0752] 或其药学上可接受的盐;

[0753] 其中TM是靶向部分。

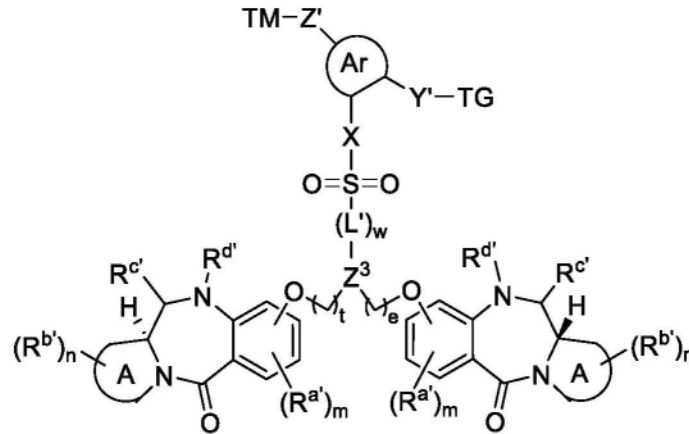
[0754] 在某些方面,本公开的药物缀合物还包含靶向部分。在进一步的方面,本文提供了式(VI)的靶向药物缀合物,所述靶向药物缀合物包含缀合至本公开的药物缀合物中的任一者的靶向部分:



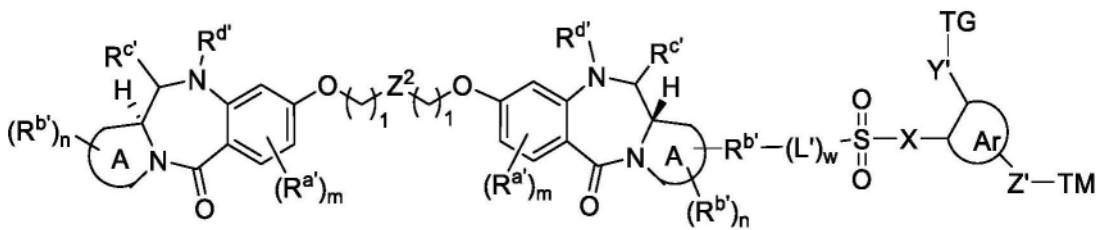
(VI);

[0756] 其中TM是靶向部分。

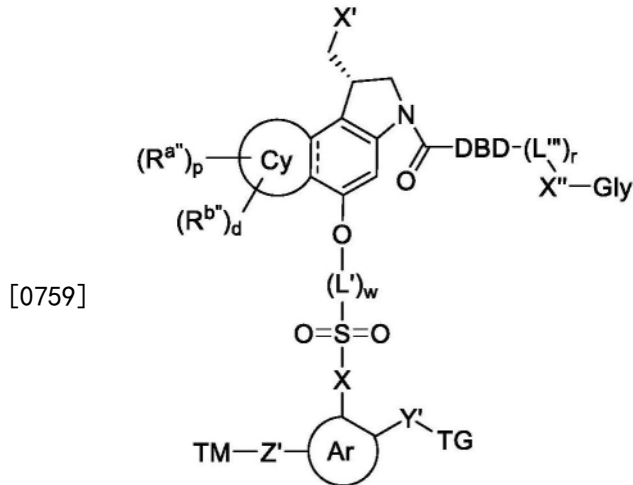
[0757] 在某些实施方案中,靶向药物缀合物是式 (XII)、式 (XIII) 或式 (XIV) 化合物:



(XII);



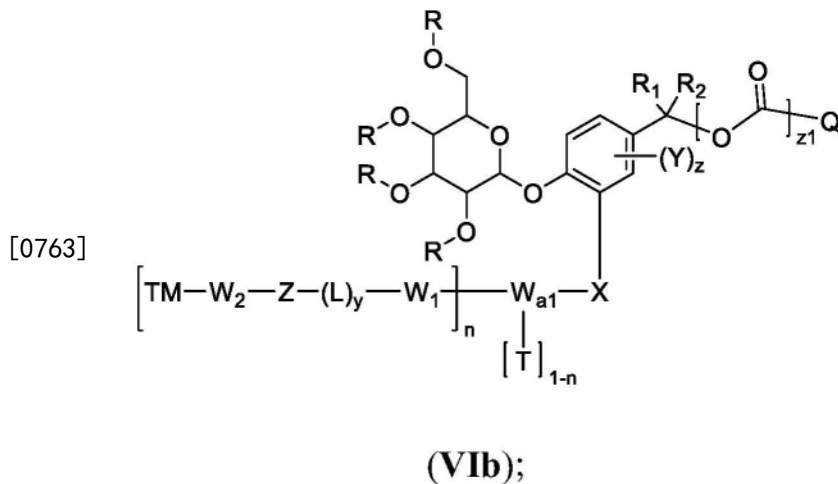
(XIII); 或



[0760] 或其药学上可接受的盐;

[0761] 其中TM是靶向部分。

[0762] 在更进一步的方面,本文提供了式(VIb)的靶向药物缀合物,所述靶向药物缀合物包含缀合至本公开的药物缀合物的靶向部分:



[0764] 其中:

[0765] TM是靶向部分;

[0766] R是氢或羟基保护基;

[0767] X是-C(O)-、-NH-、-O-或-S-;

[0768] Q是被糖、磺酸酯或硫酸酯取代的活性剂;

[0769] T是 $B'-U1-(CH_2CH_2X_3)_{p4}-(CH_2)_{p3}-Wa_4-Q_2-W_{a3}-W_1$;

[0770] n是选自0或1的整数;

[0771] Y是氢、卤代C₁-C₈烷基、卤素、氰基或硝基; z是选自1-3的整数,并且如果z是不小于2的整数,则Y可以彼此相同或不同;

[0772] z₁是选自0或1的整数;

[0773] W_1 是 $\left| -W_{a2}-(CH_2)_{a1}-W_{b1}-Q_1 \right|$;

[0774] W_2 是 $\left| -W_{a4}-Q_2-W_{a3} \right|$;

[0775] W_{a1} 和 W_{a2} 各自独立地是-NH-、-C(=O)-或-CH₂-;

[0776] W_{a3} 和 W_{a4} 各自独立地是-NH-、-C(=O)-、-CH₂-、-C(=O)NH-、-NHC(=O)-或亚三唑基;

[0777] W_{b1} 是酰胺键或亚三唑基;

[0778] L是作为连接 W_{a2} 和Z的接头的氨基酸、肽或酰胺键;

[0779] Z是单键、- W_{a5} - (CH₂)_{a2}- W_{b2} - (CH₂)_{a3}- W_{a6} -或- W_{a7} - (CH₂)_{a4}-CR'R''-X'''-;

[0780] R'是C₁-C₈烷基或TM- W_{a8} -Q₃- W_{c1} - (CH₂)_{a5}-;

[0781] R''是TM- W_{a8} -Q₃- W_{c1} - (CH₂)_{a5}-;

[0782] Q₁和Q₃各自独立地是-(CH₂)_{a6}-(X₁CH₂CH₂)_{b1}-(CH₂)_{a7}-;

[0783] X₁和X₃各自独立地是-O-、-S-、-NH-或-CH₂-;

[0784] X''''是-NHC(=O)-(CH₂)_{a8}- W_{a9} -或-C(=O)NH-(CH₂)_{a8}- W_{a9} -;

[0785] W_{a5} 、 W_{a6} 、 W_{a7} 、 W_{a8} 和 W_{a9} 各自独立地是-NH-、-C(=O)-或-CH₂-;

[0786] W_{b2} 是酰胺键或亚三唑基;

[0787] W_{c1} 是-NHC(=O)-或-C(=O)NH-;

[0788] Q₂是碳数为1至50的直链或支链的饱和或不饱和亚烷基,满足以下(i)至(iii)中的任一项;

[0789] (i)所述亚烷基中的至少一个-CH₂-被一个或多个选自-NH-、-C(=O)-、-O-和-S-的杂原子取代,

[0790] (ii)至少一个亚芳基或亚杂芳基包含在所述亚烷基中,

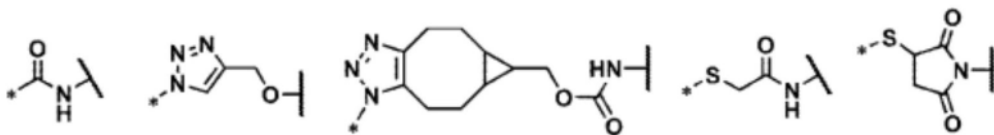
[0791] (iii)所述亚烷基进一步被选自由C₁-C₂₀烷基、C₆-C₂₀芳基C₁-C₈烷基、-(CH₂)_{s1}COOR₃、-(CH₂)_{s1}COR₃、-(CH₂)_{s2}CONR₄R₅和-(CH₂)_{s2}NR₄R₅组成的一组的一者或更多者取代;

[0792] 上述(ii)中的亚芳基或亚杂芳基可以进一步被硝基取代;

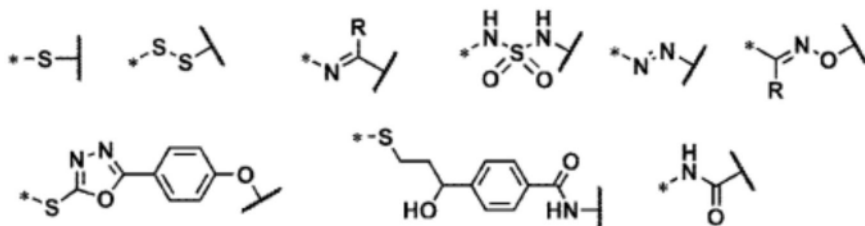
[0793] R₃、R₄和R₅各自独立地是氢或C₁-C₁₅烷基;

[0794] X₂是-O-、-S-、-NH-或-CH₂-;

[0795] U₁通过选自以下结构的连接基团在星号(*)的位置处与B'结合:



[0796]



[0797] R是C₁-C₁₀烷基、C₆-C₂₀芳基或C₂-C₂₀杂芳基;

[0798] TM和B'各自独立地是配体或蛋白质,所述配体或蛋白质具有将药物选择性靶向特

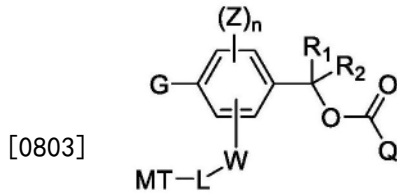
定器官、组织或细胞的特性,即,与受体结合的特性;

[0799] a1、a2、a3、a4、a5、a6、a8、b1、p1、p2、p3和p4各自独立地是选自1-10的整数;

[0800] a7、y、s1、s2和s4各自独立地是选自0-10的整数;并且

[0801] R_1 和 R_2 各自独立是氢、 C_1-C_8 烷基或 C_3-C_8 环烷基。

[0802] 在更进一步的方面,本文提供了式(VIc)的靶向药物缀合物,所述靶向药物缀合物包含缀合至本公开的药物缀合物的靶向部分:



(VIc);

[0804] 其中:

[0805] TM是靶向部分;

[0806] G是葡萄糖醛酸部分或其衍生物;

[0807] Q是被糖、磺酸酯或硫酸酯取代的活性剂;

[0808] W是吸电子基团;

[0809] Z是氢、 C_1-C_8 烷基、卤素、氰基或硝基;

[0810] n是选自1-3的整数,并且当n是2或更大的整数时,每个Z彼此相同或不同;

[0811] L是连接TM和W的接头;并且

[0812] R_1 和 R_2 各自独立是氢、 C_1-C_8 烷基或 C_3-C_8 环烷基。

[0813] 在某些方面,本文提供了式(VId)的靶向药物缀合物,所述靶向药物缀合物包含缀合至本公开的药物缀合物的靶向部分:

[0814] $TM-L_1-(A_a-W_w-Y_y-Q_{1-4})_p$

[0815] (VId);

[0816] 其中TM是靶向部分;

[0817] L_1 是配体部分;

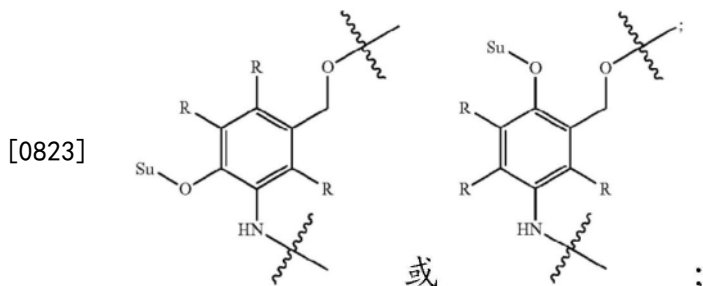
[0818] Q是被糖、磺酸酯或硫酸酯取代的活性剂;

[0819] $-A_a-W_w-Y_y-$ 是接头部分;

[0820] A是任选的延伸部分;

[0821] a是选自0-3的整数;

[0822] 每个W独立地是具有下式之一的葡萄糖苷酸单元:



- [0824] Su是糖部分；
 [0825] 每个R独立地是氢、卤素、-CN或-NO₂；
 [0826] w是选自1-2的整数；
 [0827] Y是任选的自离(self-immolative)间隔部分；
 [0828] y是选自0-2的整数；并且
 [0829] p是选自1-20的整数。

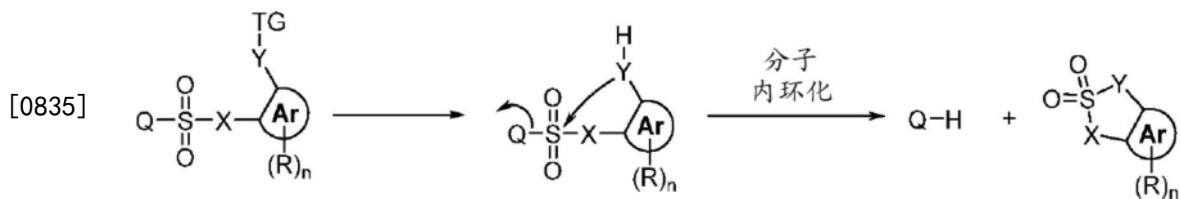
[0830] 活性剂的释放

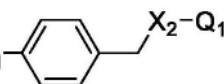
[0831] 如上文所描述,在某些实施方案中,本文所公开的化合物和缀合物能够在激活触发基团的化学反应之后通过分子内环化反应解离一种或更多种活性剂。在某些实施方案中,化学反应是物理化学反应和/或生物化学反应。

[0832] 在一些实施方案中,本文所公开的化合物和缀合物包含在Ar上邻近X(例如O)的原子处引入的亲核官能团(Y或Y')。通常,亲核官能团被触发基团(TG)掩蔽,如下文进一步详述。活化后,触发基团释放亲核官能团以与附近的SO₂部分进行分子内环化反应,最终释放一种或更多种式(II)、式(IIa)或式(IIb)化合物。在一些此类实施方案中,一种或更多种活性剂在化学反应、物理化学反应和/或生物化学反应(参见例如反应方案1)之后通过分子内环化反应而释放,或者活性剂在分子内环化反应(参见例如反应方案2)之后通过1,6-消除或1,4-消除而释放。

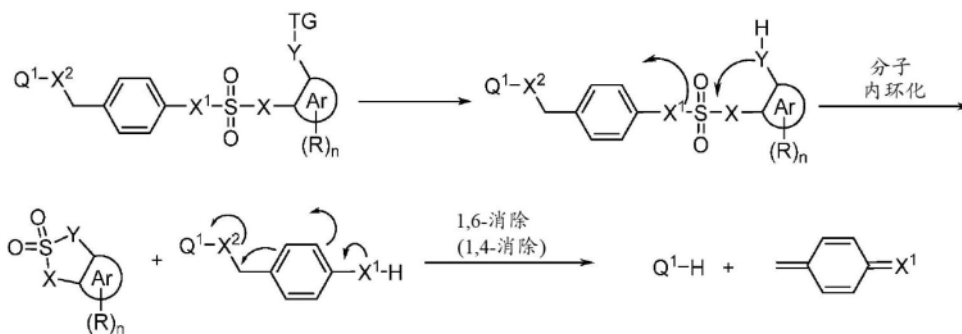
[0833] 作为示例,当Y是-Y'-TG并且Q是直接缀合至SO₂基团的活性剂时,所述活性剂可以通过反应方案1中所示的机制而释放:

[0834] 反应方案1

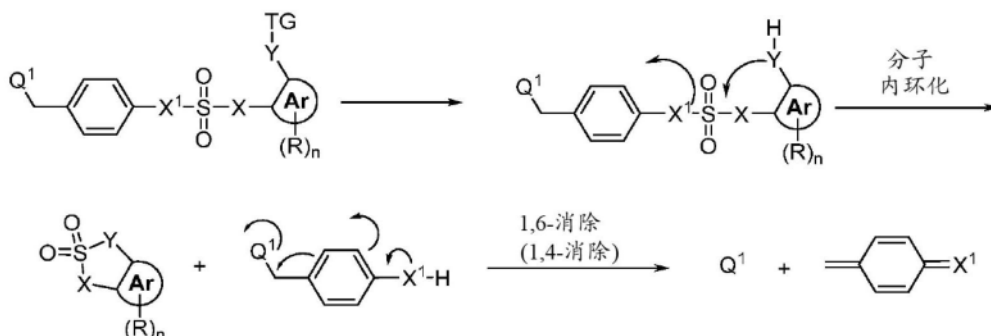


[0836] 当Q是 $^*-X_1$ --X₂-Q₁时,Q¹可以通过反应方案2中所示的机制而释放:

[0837] 反应方案2



[0838]



[0839] 在一些实施方案中, Q^1 当释放时是包含至少一种选自 $-C(O)-$ 、 $-OH$ 、 $-NH-$ 、 $-SH$ 、 $-COH$ 和 $-COOH$ 的官能团的活性剂。根据这些实施方案, 如本文进一步描述, Q^1 通过 $-C(O)-$ 、 $-OH$ 、 $-NH-$ 、 $-SH$ 、 $-COH$ 和 $-COOH$ 缀合至如本文所描述的化合物, 例如通过选自酯、酰胺、硫酯、氨基甲酸酯、脲、脞、脞等的官能团。在一些此类实施方案中, 使用 Q^2 代替 Q^1 , 并且 Q^2 是含胺基团的药物。在其它实施方案中, Q^2 是能够与胺单元结合的活性剂。在其它实施方案中, Q^2 能够在 Q^2 释放后以其具有胺基团的原始形式解离, 其中活性剂可以是药物、毒素、亲和配体、用于检测的探针或它们的组合。

[0840] 在一些实施方案中, 本文所公开的化合物和缀合物是化学和生理学稳定的。在一些此类实施方案中, 本文所公开的化合物和缀合物在其中活性剂在血液中极少解离的状态下到达期望的靶细胞, 从而选择性释放药物。

[0841] 触发基团 (TG)

[0842] 在一些实施方案中, 本公开的缀合物包含触发基团 (TG)。TG 是能够通过化学反应, 诸如生物反应裂解、优选选择性裂解的基团。一般来说, 触发基团用于掩蔽 Y' 基团的亲核性质, 从而为本文所公开的化合物和缀合物提供稳定性 (例如, 通过在缀合物到达靶位置或经历预定触发条件之前防止自离 (self-immolation) 或分子内环化)。如上文所描述, 在激活后, 触发基团释放亲核 Y 基团并且允许发生自离或分子内环化。

[0843] 在一些实施方案中, TG 包含可以由 TEV、胰蛋白酶、凝血酶、组织蛋白酶 B、组织蛋白酶 D、组织蛋白酶 K、半胱天冬酶 1、基质金属蛋白酶 (MMP) 等识别的序列 (诸如肽序列) 或部分, 所述序列或部分可以被酶 (例如氧化还原酶、转移酶、水解酶、裂解酶、异构酶、连接酶等) 水解, 并且/或者可以包括选自硫酸酯、磷酸二酯、磷脂、酯、 β -半乳糖、 β -葡萄糖、岩藻糖、寡糖等的部分。

[0844] 在一些实施方案中, TG 包含可以在亲核试剂条件下裂解的反应性化学部分或官能团 (例如硅基醚、2-N-酰基硝基苯磺酰胺、不饱和乙烯基硫醚、激活后的磺酰胺、丙二醛-吡

啉衍生物、乙酰丙酰酯、脞或酰脞)。

[0845] 在一些实施方案中, TG可以包含可在碱性试剂条件下裂解的反应性化学部分或官能团(例如2-氰基乙酯、乙二醇二琥珀酸酯、2-磺酰基乙酯、烷基硫酯或苯硫基酯)。

[0846] 在一些实施方案中, TG可以包含可通过光照射裂解的反应性化学部分或官能团(例如2-硝基苯甲基衍生物、苯甲酰甲酯、8-喹啉基苯磺酸酯、香豆素、磷酸三酯、双芳基脞或双马烷(bimane)双硫代丙酸衍生物)。

[0847] 在一些实施方案中, TG可以包含可通过还原剂条件裂解的反应性化学部分或官能团(例如羟胺、二硫化物、乙酰丙酸酯、硝基或4-硝基苯甲基衍生物)。

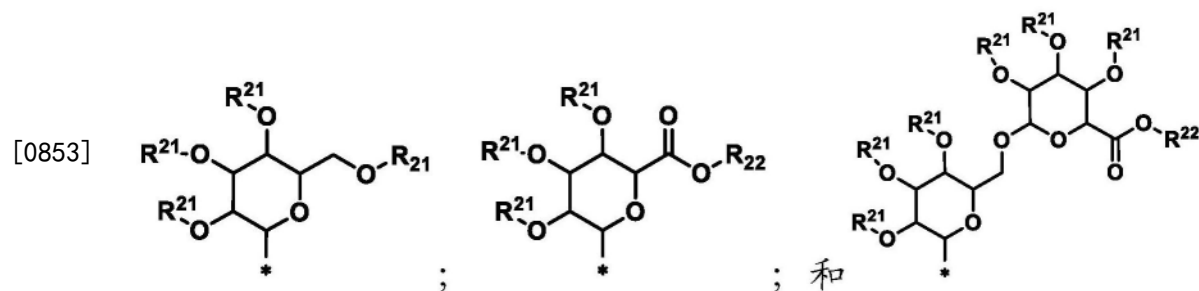
[0848] 在一些实施方案中, TG可以包含可使用酸性条件裂解的反应性化学部分或官能团(例如糖、叔丁基氨基甲酸酯类似物、二烷基或二芳基二烷氧基硅烷、原酸酯、缩醛、乌头酰基(aconityl)、脞、 β -硫代丙酸酯、氨基磷酸酯、亚胺、三苯甲基、乙烯基醚、聚缩酮和2-(二苯基膦基)苯甲酸烷基酯衍生物; 烷基酯、8-羟基喹啉酯和吡啶甲酸酯)。

[0849] 在一些实施方案中, TG可以包含可在氧化条件下裂解的反应性化学部分或官能团(例如硼酸酯、邻位二醇、对甲氧基苯甲基衍生物或硒化合物)。

[0850] 在某些优选的实施方案中, TG含糖, 其可以在酸性或酶促条件下裂解。在某些优选的实施方案中, 触发基团是 $-\text{NO}_2$, 其可以在还原条件下裂解。在某些优选的实施方案中, 触发基团是硼酸酯, 其可以在氧化条件下裂解。在某些优选的实施方案中, 触发基团是酯, 其可以在酸性、碱性或酶促条件下裂解。在某些优选的实施方案中, 引发基团是脞, 其可以在亲核条件下或在酸性条件下裂解。在某些优选的实施方案中, 触发基团是羟胺, 其可以在还原条件下裂解。

[0851] 糖触发基团

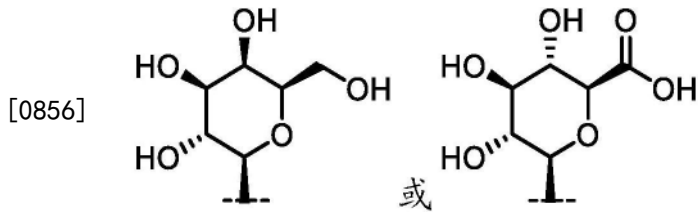
[0852] 在一些实施方案中, 本文所公开的化合物和缀合物含糖触发基团, 例如选自以下的触发基团:



[0854] 其中每个 R^{21} 独立地是氢或经选择以使得 $\text{O}-\text{R}^{21}$ 是羟基保护基(例如乙酰基); 并且 R^{22} 是氢或低级烷基(例如 C_1-C_6 烷基)。在某些实施方案中, 羟基保护基能够用于有机合成中, 包括但不限于: 甲基醚、甲氧基甲基醚、甲硫基甲基醚、2-甲氧基乙氧基甲基醚、双(2-氯乙氧基)甲基醚、四氢吡喃基醚、四氢噻喃基醚、4-甲氧基四氢吡喃基醚、4-甲氧基四氢噻喃基醚、四氢呋喃基醚、1-乙氧基乙基醚、1-甲基-1-甲氧基乙基醚、2-(苯基硒基)乙基醚、叔丁基醚、烯丙基醚、苯甲基醚、邻硝基苯甲基醚、三苯基甲基醚、 α -萘基二苯基甲基醚、对甲氧基苯基二苯基甲基醚、9-(9-苯基-10-氧代)蒽基醚、三甲基硅基醚、异丙基二甲基硅基醚、叔丁基二甲基硅基醚、叔丁基二苯基硅基醚、三苯甲基硅基醚、三异丙基硅基醚、甲酸酯、乙酸酯、三氯乙酸酯、苯氧基乙酸酯、异丁酸酯、新戊酸酯、金刚酸酯、苯甲酸酯、2,4,6-三甲基苯甲酸酯、甲基碳酸酯、2,2,2-三氯乙基碳酸酯、烯丙基碳酸酯、对硝基苯基碳酸酯、

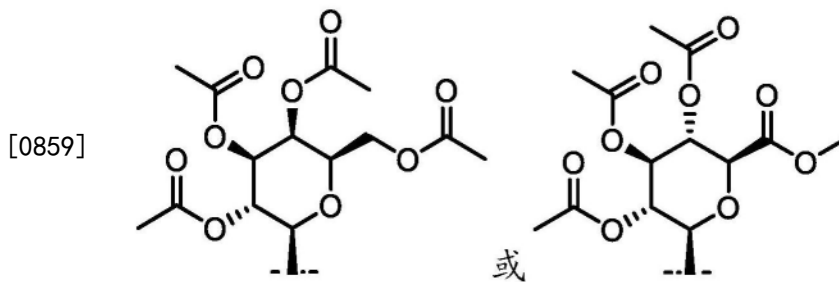
苯甲基碳酸酯、对硝基苯甲基碳酸酯、S-苯甲基硫代碳酸酯、N-苯基氨基甲酸酯、硝酸酯、2,4-二硝基苯基次磺酸酯等,但不限于此。

[0855] 在某些实施方案中,TG是单糖。在进一步的实施方案中,TG是选自葡萄糖、葡萄糖醛酸、岩藻糖和半乳糖的单糖。在更进一步的实施方案中,TG是

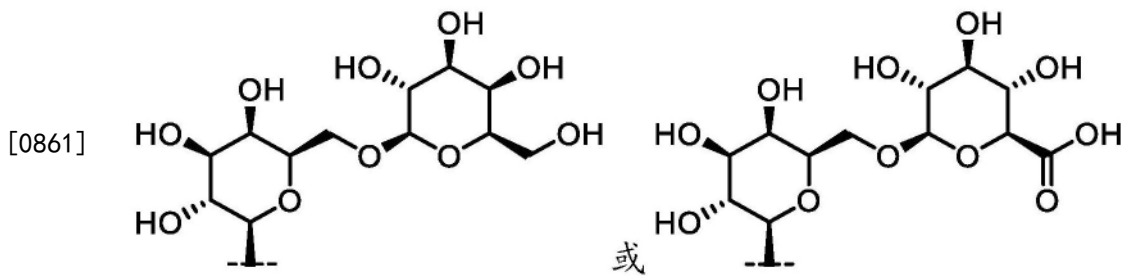


[0857] 任选地,其中1个或更多个-OH基团被保护基掩蔽。

[0858] 在又进一步的实施方案中,TG是

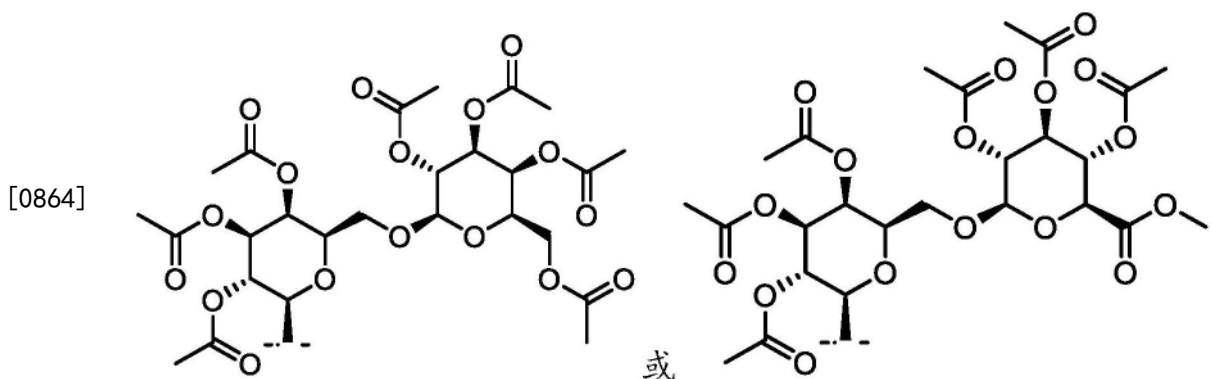


[0860] 在某些实施方案中,TG是二糖。在进一步的实施方案中,TG是包含葡萄糖、葡萄糖醛酸、岩藻糖、半乳糖或它们的组合的二糖。在更进一步的实施方案中,TG是



[0862] 任选地,其中1个或更多个-OH基团被保护基掩蔽。

[0863] 在又进一步的实施方案中,TG是



[0865] 在某些实施方案中,Y'或L'在异头位置处与TG偶联。

[0866] 作为触发基团的保护基

[0867] 在一些实施方案中,TG是能够通过化学反应、物理化学反应和/或生物反应裂解的

基团。在某些实施方案中, TG是保护基。在一些此类实施方案中, 保护基是胺基保护基、醇保护基或硫醇保护基。

[0868] 胺保护基

[0869] 在某些实施方案中, 胺保护基是能够用于有机合成中的通用保护基, 包括但不限于: 间硝基苯基氨基甲酸酯、3,5-二甲氧基苯基氨基甲酸酯、邻硝基苯基氨基甲酸酯、苯基(邻硝基苯基)氨基甲酸酯、烷基氨基甲酸酯、9-苄基氨基甲酸酯、2,2,2-三氯乙基氨基甲酸酯、2-三甲基硅乙基氨基甲酸酯(Teoc)、叔丁基氨基甲酸酯(Boc)、乙烯基氨基甲酸酯(Voc)、烯丙基氨基甲酸酯(Alloc)、1-异丙基烯丙基氨基甲酸酯(Ipaoc)、8-喹啉基氨基甲酸酯、N-羟基哌啶基氨基甲酸酯、苯基氨基甲酸酯、对甲氧基苯基氨基甲酸酯、对硝基苯基氨基甲酸酯、二苯基氨基甲酸酯、乙酰胺、氯乙酰胺、三氯乙酰胺、苯基乙酰胺、苯甲酰胺、N-邻苯二甲酰亚胺、N-2,3-二苯基马来酰亚胺、N-2,5-二甲基吡咯、N-1,1-二甲基硫代亚甲基胺、N-苯亚甲基胺、苯次磺酰胺、邻硝基苯次磺酰胺、三苯基甲基次磺酰胺、对甲苯磺酰胺、甲磺酰胺等, 但不限于此。

[0870] 醇保护基

[0871] 在某些实施方案中, 醇保护基是能够用于有机合成中的通用保护基, 包括但不限于: 甲基醚、甲氧基甲基醚(MOM醚)、苯甲氧基甲基醚(BOM醚)、2-(三甲基硅基)乙氧基甲基醚(SEM醚)、苯硫基甲基醚(PTM醚)、2,2-二氯-1,1-二氟乙基醚、对溴苯甲酰甲基醚、氯丙基甲基醚、异丙基醚、环己基醚、4-甲氧基苯甲基、2,6-二氯苯甲基醚、4-(二甲氨基羰基)苯甲基醚、9-苄基甲基醚、4-吡啶甲基醚、甲硫基甲基醚(MTM醚)、2-甲氧基乙氧基甲基醚(MEM醚)、双(2-氯乙氧基)甲基醚、四氢吡喃基醚(THP醚)、四氢噻喃基醚、4-甲氧基四氢吡喃基醚、4-甲氧基四氢噻喃基醚、四氢呋喃基醚、1-乙氧基乙基醚、1-甲基-1-甲氧基乙基醚、2-(苯基硒基)乙基醚、叔丁基醚、烯丙基醚、苯甲基醚、邻硝基苯甲基醚、三苯基甲基醚、 α -萘基二苯基甲基醚、对甲氧基苯基二苯基甲基醚、9-(9-苯基-10-氧代)苄基醚、三甲基硅基醚(TMS醚)、异丙基二甲基硅基醚、叔丁基二甲基硅基醚(TBDMS醚)、叔丁基二苯基硅基醚、三苯基硅基醚、三异丙基硅基醚、甲酸酯、乙酸酯、三氯乙酸酯、苯氧基乙酸酯、异丁酸酯、新戊酸酯、金刚酸酯、苯甲酸酯、2,4,6-三甲基苯甲酸酯(Mesitoate)、甲基碳酸酯、2,2,2-三氯乙基碳酸酯、烯丙基碳酸酯、对硝基苯基碳酸酯、苯基碳酸酯、对硝基苯基碳酸酯、S-苯基硫代碳酸酯、N-苯基氨基甲酸酯、硝酸酯、2,4-二硝基苯基次磺酸酯、二甲基亚膦酰基酯(DMP酯)、二甲基硫代亚膦酰基酯(MPT酯)、芳基甲磺酸酯、芳基甲苯磺酸酯等, 但不限于此。

[0872] 硫醇保护基

[0873] 在某些实施方案中, 硫醇保护基能够用于有机合成中, 包括但不限于: S-苯基硫醚、S-对甲氧基苯基硫醚、S-邻羟基或对羟基或乙酰氧基苯基硫醚、S-对硝基苯基硫醚、S-4-吡啶甲基硫醚、S-2-吡啶甲基N-氧化物硫醚、S-9-苄基甲基硫醚、S-9-苄基甲基硫醚、S-甲氧基甲基单硫缩醛、A-乙酰基衍生物、S-苯甲酰基衍生物、S-(N-乙基氨基甲酸酯)、S-(N-甲氧基甲基氨基甲酸酯)等, 但不限于此。

[0874] 从药物缀合物至靶向部分的偶联基团(连接基团)

[0875] 在一些实施方案中, 本文所公开的化合物和缀合物包含通过共价键连接每个TM和Ar的连接基团。典型的连接基团是稳定的、不可水解的部分, 例如C₁₀-C₁₀₀直链或支链、饱和

或不饱和亚烷基。在某些实施方案中,连接单元满足以下四个标准中的至少两项,并且更优选至少三项:

[0876] (i) 亚烷基部分中的至少一个-CH₂-被一个或更多个选自-NH-、-C(=O)、-O-、-S-和-P-的杂原子置换;

[0877] (ii) 至少一个亚杂芳基包含在亚烷基部分中;

[0878] (iii) 至少一个氨基酸部分、糖键、肽键或酰胺键包含在亚烷基部分中;和

[0879] (iv) 亚烷基还可以被一个或更多个选自由C₁-C₂₀烷基、C₆-C₂₀芳基C₁-C₈烷基、-(CH₂)_sCOOH和-(CH₂)_pNH₂组成的组的取代基取代,其中s是具有0至10的值的整数,并且p是具有1至约10的值的整数。

[0880] 在某些实施方案中,连接单元包含以下中的至少两项,并且更优选至少三项:

[0881] (i) 至少一个选自-NH-、-C(=O)、-O-、-S-和-P-的杂原子;

[0882] (ii) 至少一个亚杂芳基;

[0883] (iii) 至少一个氨基酸部分、糖键、肽键或酰胺键;和

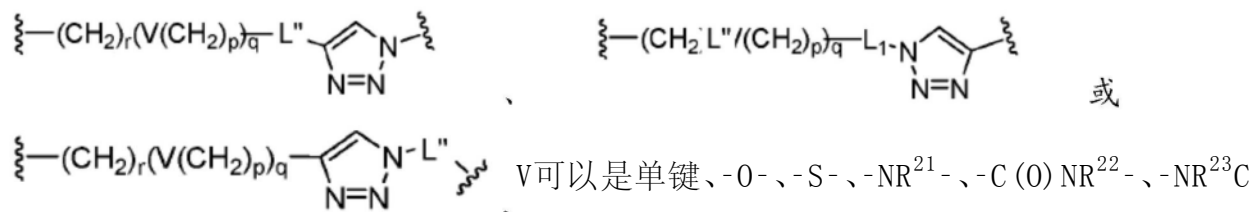
[0884] (iv) 亚烷基还可以被一个或更多个选自由C₁-C₂₀烷基、C₆-C₂₀芳基C₁-C₈烷基、-(CH₂)_sCOOH和-(CH₂)_pNH₂组成的组的取代基取代,其中s是具有0至10的值的整数,并且p是具有1至约10的值的整数。

[0885] 在其它实施方案中,连接每个TM和Ar的连接基团包含通过点击化学反应产生的官能团。

[0886] 在替代性实施方案中,连接单元包含能够参与点击化学反应的反应性官能团。

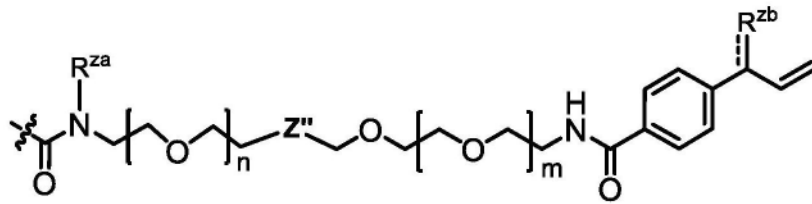
[0887] 点击化学反应是可以在温和条件下进行的反应,并且对于生物分子中不常见的官能团(例如叠氮基、乙炔基等)具有极高选择性。因此,这种反应可以在复杂的触发基团、靶向部分等存在下进行。此外,点击化学具有高度反应特异性。举例来说,叠氮基与乙炔基之间的点击化学反应选择性进行,而不受分子中存在的其它官能团的干扰。举例来说,叠氮化物-乙炔点击化学可以得到高产率的三唑部分。

[0888] 因此,在一些实施方案中,连接每个TM和Ar的连接基团包括

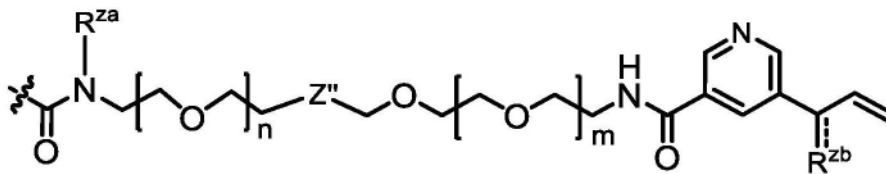
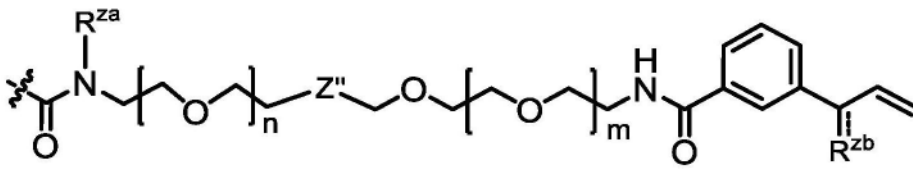


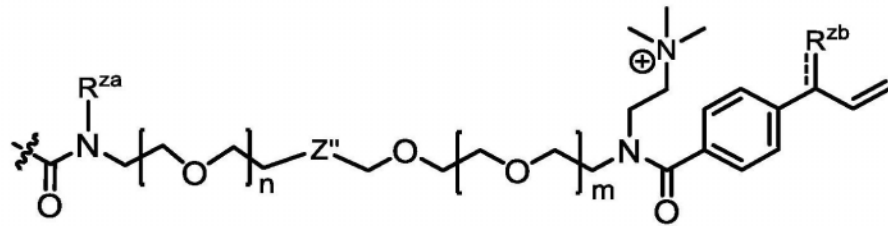
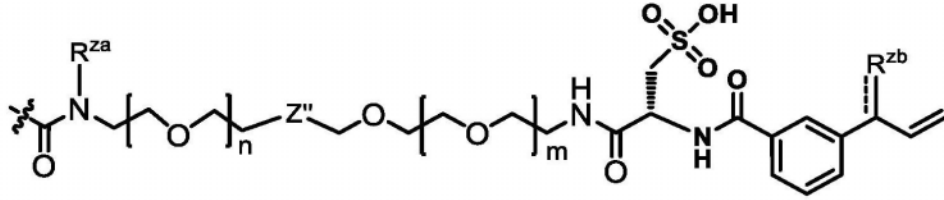
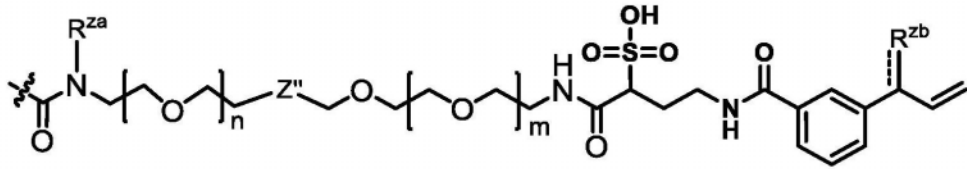
(O)-、-NR²⁴SO₂-或-SO₂NR²⁵- ,R²¹至R²⁵可以各自独立地是氢、(C₁-C₆)烷基、(C₁-C₆)烷基(C₆-C₂₀)芳基或(C₁-C₆)烷基(C₃-C₂₀)杂芳基,r可以是具有1至约10的值的整数,p可以是具有0至约10的值的整数,q可以是具有1至约10的值的整数,并且L''可以是单键。

[0889] 各种连接基团适用于本发明公开的药物缀合物。当不存在靶向部分(即,药物缀合物不是靶向药物缀合物)时,连接基团包含可以与靶向部分反应的末端反应性官能部分。在一些实施方案中,Z'选自

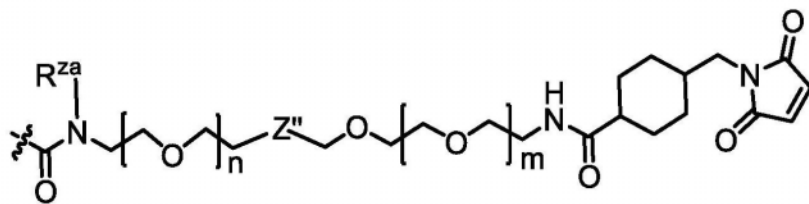
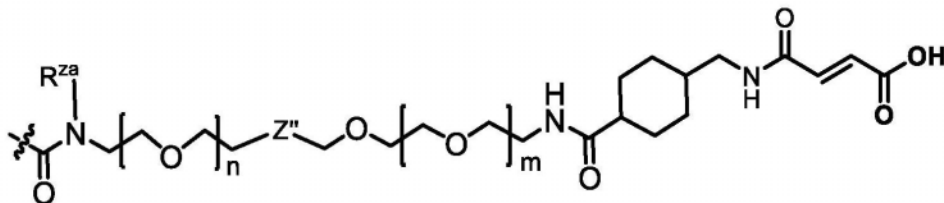
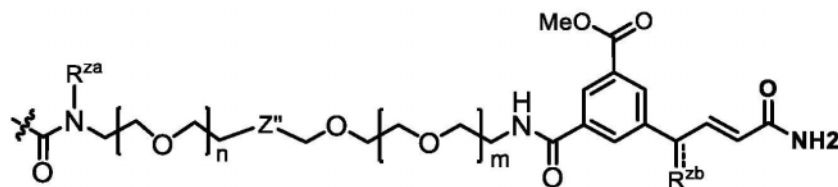
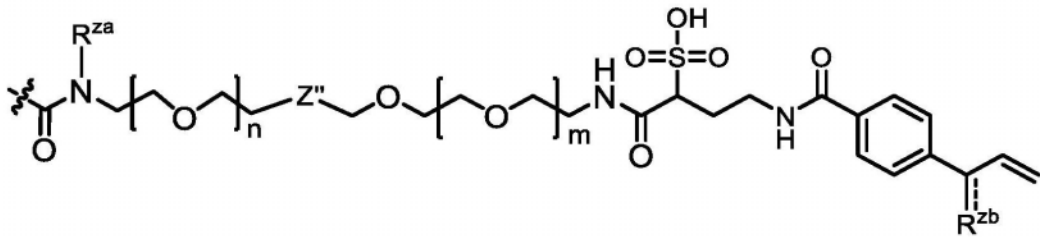


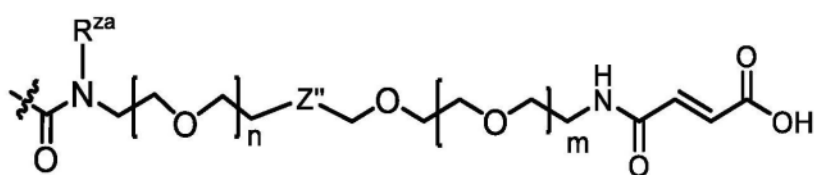
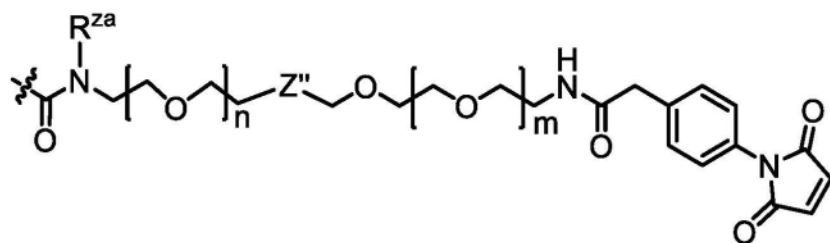
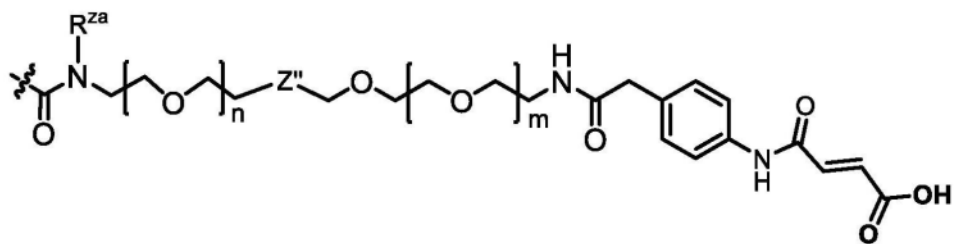
[0890]



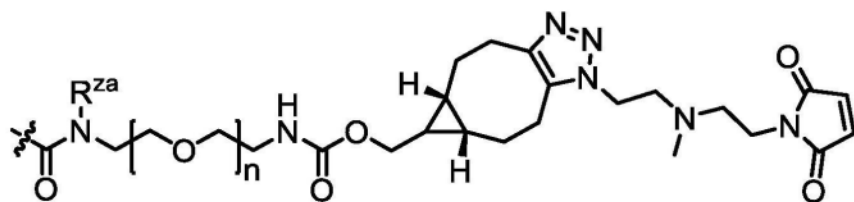
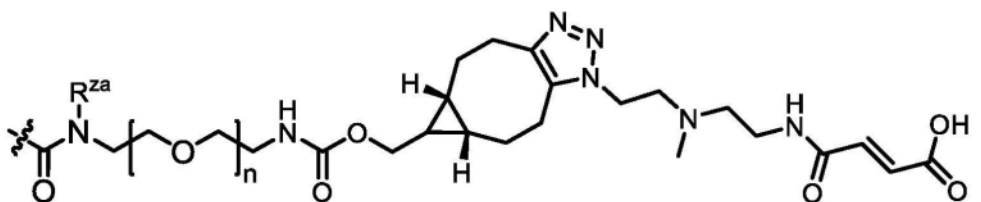
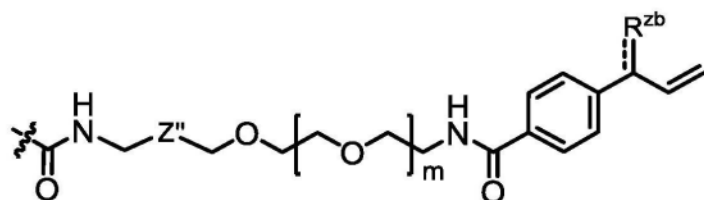
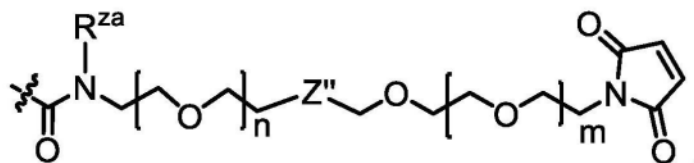


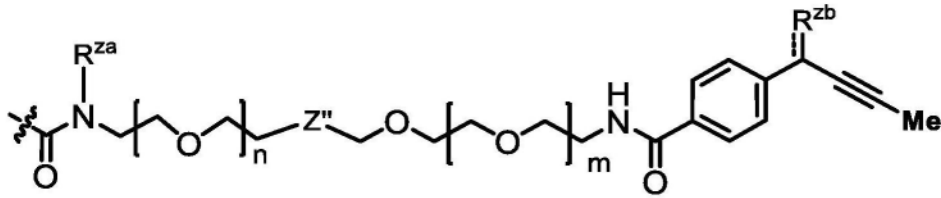
[0891]



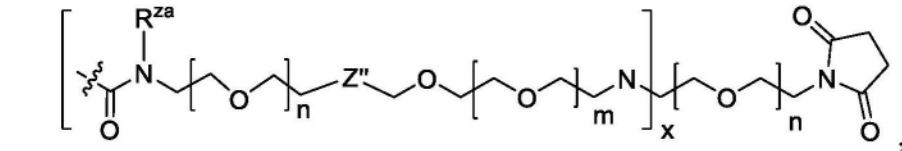
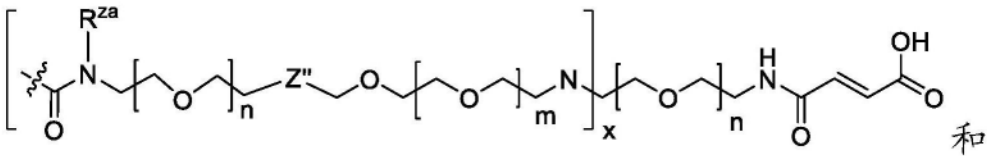
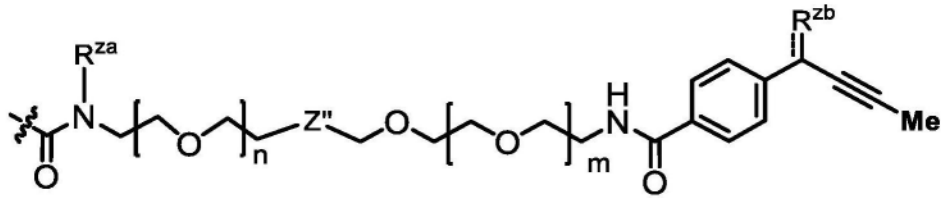


[0892]





[0893]



[0894] 其中：

[0895] R^{za} 是H或甲基；

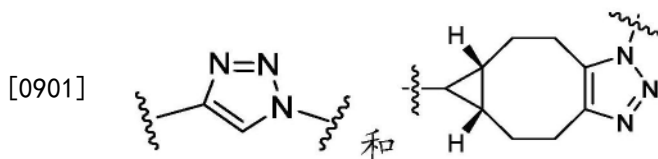
[0896] R^{zb} 是-OH、=O或=NHOH；

[0897] n和m各自独立地是选自1-10的整数；x是选自1-2的整数；

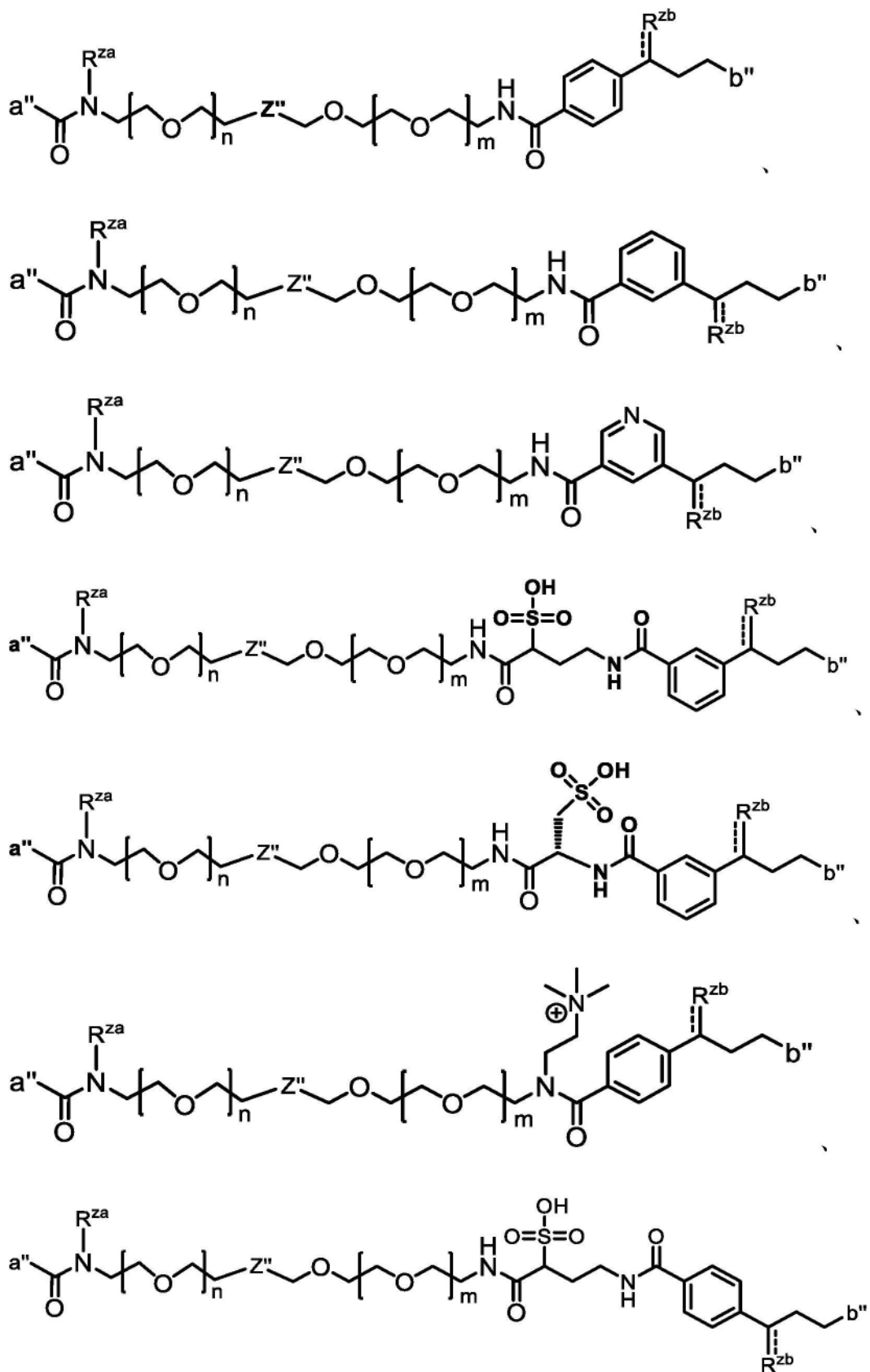
[0898] $\text{---}\xi\text{---}$ 表示Z'与药物缀合物之间的键；

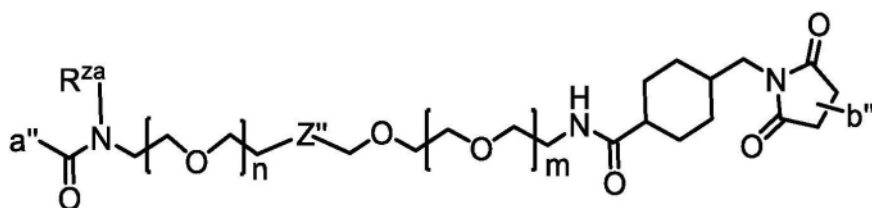
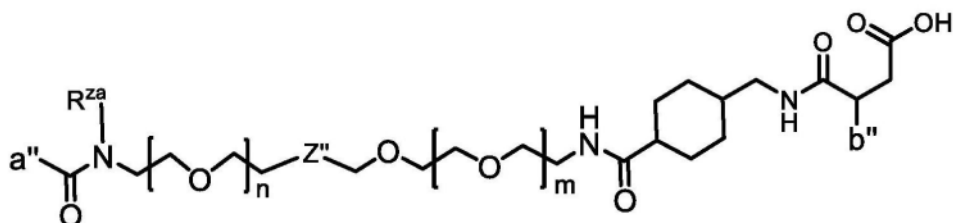
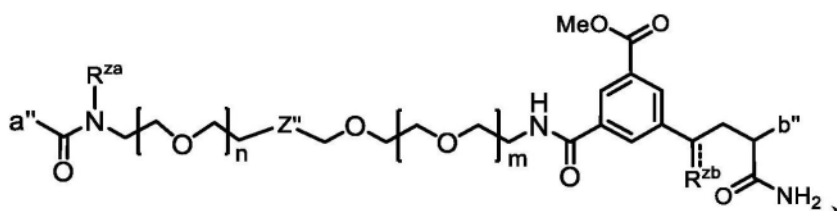
[0899] ----- 单键或双键；

[0900] Z''选自

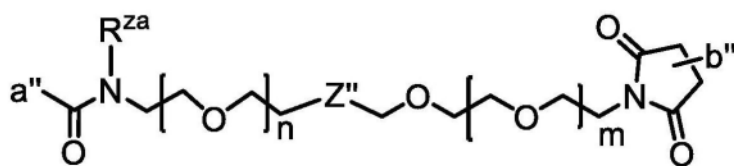
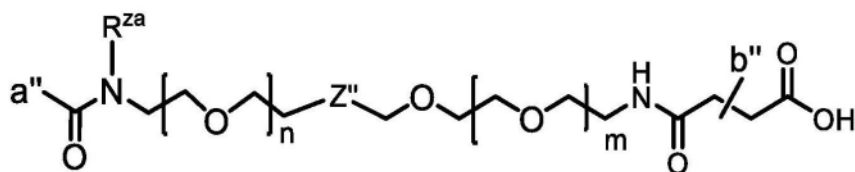
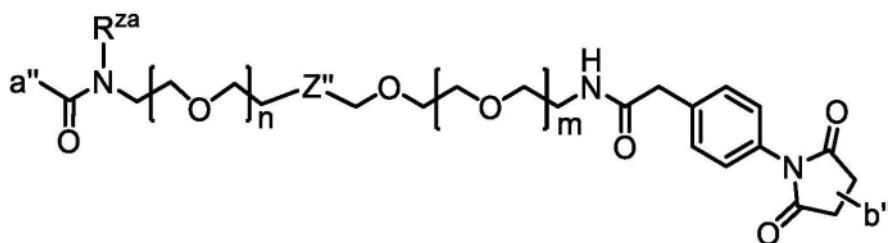
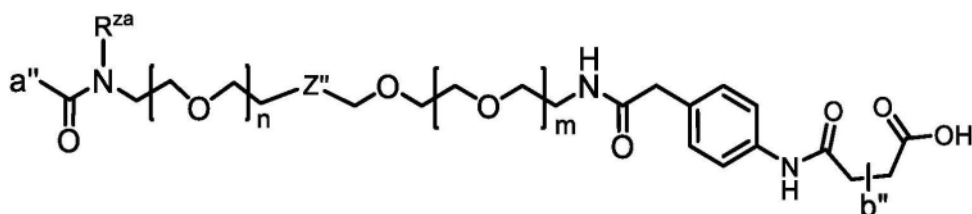


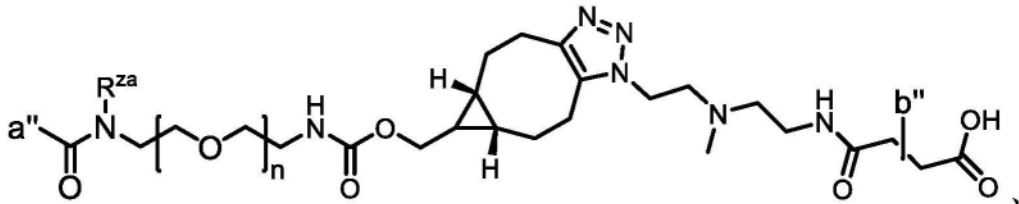
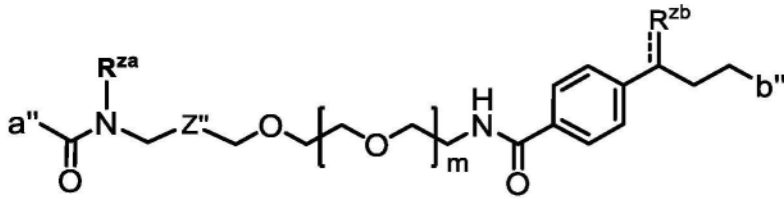
[0902] 在进一步的实施方案中,当存在靶向部分(即,药物缀合物是靶向药物缀合物)时,连接基团将缀合物连接至靶向部分。在一些实施方案中,Z'选自



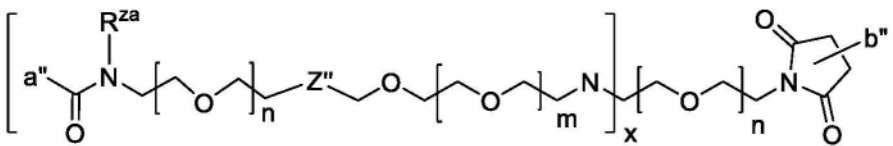
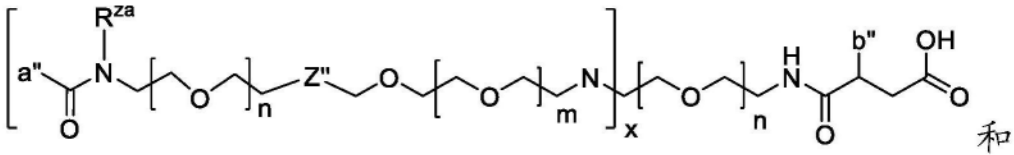
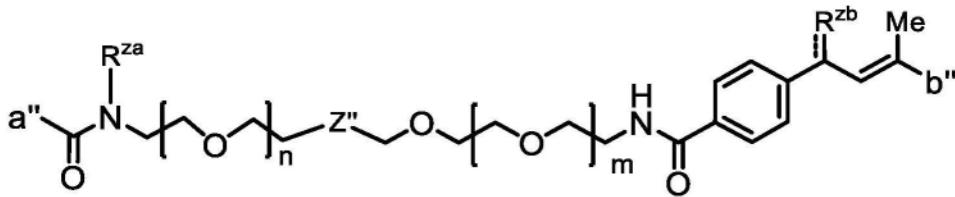
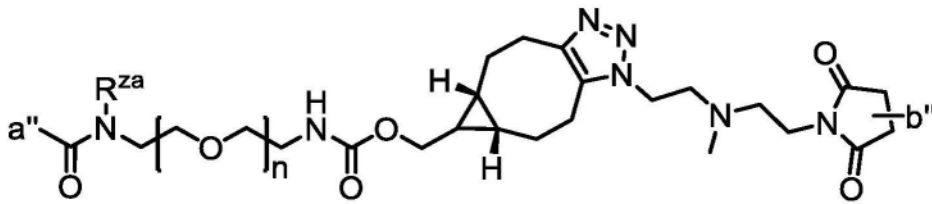


[0903]





[0904]



[0905]

其中

[0906]

R^{za}是H或甲基;

[0907]

R^{zb}是-OH、=O或=NHOH;

[0908]

-----单键或双键;

[0909]

n和m各自独立地是选自1-10的整数;

[0910]

x是选自1-2的整数;

[0911]

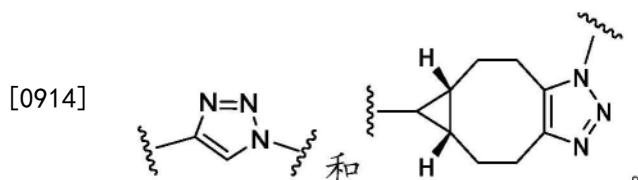
a''表示Z'与药物缀合物之间的键;

[0912]

b''表示Z'与TM之间的键;并且

[0913]

Z''选自



[0915] 靶向部分

[0916] 本公开的化合物和缀合物还可以包含一个或更多个配体或靶向部分TM。在一些实施方案中,配体或靶向部分是任何分子识别元件,其可以通过例如非共价键合,诸如氢键合、金属配位、疏水力、范德华力(van der Waals force)、 π - π 相互作用、卤素键合、静电和/或电磁效应与至少一种其它分子发生特异性相互作用。在某些实施方案中,TM选自纳米颗粒、免疫球蛋白、核酸、蛋白质、寡肽、多肽、抗体、抗原性多肽的片段、重复体(repebody)等。

[0917] 本公开的化合物和缀合物可以包含一个或更多个靶向部分。在某些实施方案中,靶向部分是纳米颗粒、免疫球蛋白、核酸、蛋白质、寡肽、多肽、抗体、抗原性多肽的片段或重复体。在进一步的实施方案中,靶向部分是选自以下的抗体:完整多克隆抗体、完整单克隆抗体、抗体片段、单链Fv(scFv)突变体、多特异性抗体、双特异性抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人类抗体、包含抗体的抗原决定簇部分的融合蛋白以及包含抗原识别位点的其它经修饰免疫球蛋白分子。

[0918] 在更进一步的实施方案中,抗体选自莫罗单抗(Muromonab)-CD3、阿昔单抗(Abciximab)、利妥昔单抗(Rituximab)、达克珠单抗(Daclizumab)、帕利珠单抗(Palivizumab)、英夫利昔单抗(Infliximab)、曲妥珠单抗(Trastuzumab)(赫赛汀(herceptin))、依那西普(Etanercept)、巴利昔单抗(Basiliximab)、吉妥珠单抗奥唑米星(Gemtuzumabozogamicin)、阿仑单抗(Alemtuzumab)、替伊莫单抗(Ibritumomab tiuxetan)、阿达木单抗(Adalimumab)、阿法西普(Alefacept)、奥马珠单抗(Omalizumab)、依法珠单抗(Efalizumab)、托西莫单抗(Tositumomab)- I^{131} 、西妥昔单抗(Cetuximab)、贝伐单抗(Bevacizumab)、那他珠单抗(Natalizumab)、雷珠单抗(Ranibizumab)、帕尼单抗(Panitumumab)、依库珠单抗(Eculizumab)、利洛西普(Rilonacept)、培塞利珠单抗(Certolizumab pegol)、罗米司亭(Romiplostim)、AMG-531、CNT0-148、CNT0-1275、ABT-874、LEA-29Y、贝利木单抗(Belimumab)、TACI-Ig、第二代抗CD20、ACZ-885、托珠单抗(Tocilizumab)、阿利珠单抗(Atlizumab)、美泊利单抗(Mepolizumab)、帕妥珠单抗(Pertuzumab)、Humax CD20、替西木单抗(Tremelimumab)(CP-675 206)、替西木单抗(Ticilimumab)、MDX-010、IDEC-114、伊妥珠单抗奥佐霉素(Inotuzumabozogamicin)、HuMax EGFR、阿柏西普(Aflibercept)、HuMax-CD4、Ala-Ala、ChAglyCD3、TRX4、卡妥索单抗(Catumaxomab)、IGN101、MT-201、普瑞戈夫单抗(Pregovomab)、CH-14.18、WX-G250、AMG-162、AAB-001、莫维组单抗(Motavizumab)、MEDI-524、依芬古单抗(Efungumab)、奥罗瑞巴(Aurograb)、雷昔库单抗(Raxibacumab)、第三代抗CD20、LY2469298和维妥组单抗(Veltuzumab)。

[0919] 在一些实施方案中,TM包含通过共价键(例如肽键)缀合的两个或更多个独立选择的天然氨基酸或非天然氨基酸,并且肽可以包含2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多个通过肽键缀合的天然氨基酸或非天然氨基酸。在一些实施方案中,配体包含较短的氨基酸序列(例如天然蛋白质的片段或合成多肽片段)以及全长蛋白质

(例如预工程化的蛋白质)。

[0920] 在一些实施方案中, TM选自与受体结合的抗体、激素、药物、抗体类似物(例如非IgG)、蛋白质、寡肽、多肽等。在某些实施方案中, TM将药物选择性靶向特定器官、组织或细胞中。在其它实施方案中, TM特异性结合至癌细胞中与正常细胞相比过度表达的受体, 并且可以分为单克隆抗体(mAb)或抗体片段和低分子非抗体。优选地, TM选自肽、肿瘤细胞特异性肽、肿瘤细胞特异性适体、肿瘤细胞特异性碳水化合物、肿瘤细胞特异性单克隆抗体、多克隆抗体和在文库筛选中鉴定的抗体片段。

[0921] 示例性配体或靶向部分包括但不限于肉碱、肌醇、硫辛酸、吡哆醛、抗坏血酸、烟酸、泛酸、叶酸、核黄素、硫胺素、生物素、维生素B₁₂、其它水溶性维生素(维生素B)、脂溶性维生素(维生素A、D、E、K)、RGD(Arg-Gly-Asp)、NGR(Asn-Gly-Arg)、转铁蛋白、VIP(血管活性肠肽)受体、APRPG(Ala-Pro-Arg-Pro-Gly)肽、TRX-20(硫氧还蛋白-20)、整合素、核仁素、氨肽酶N(CD13)、内皮糖蛋白(endoglin)、血管上皮生长因子受体、低密度脂蛋白受体、转铁蛋白受体、生长抑素受体、蛙皮素(bombesin)、神经肽Y、黄体生成素释放激素受体、叶酸受体、表皮生长因子受体、转化生长因子、成纤维细胞生长因子受体、脱唾液酸糖蛋白受体、半乳糖凝集素3受体、E-选择素受体、透明质酸受体、前列腺特异性膜抗原(PSMA)、胆囊收缩素A受体、胆囊收缩素B受体、盘状蛋白结构域受体、粘蛋白受体、阿片受体、纤溶酶原受体、缓激肽受体、胰岛素受体、胰岛素样生长因子受体、血管紧张素AT1受体、血管紧张素AT2受体、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子受体(GM-CSF受体)、半乳糖胺受体、 σ 2受体、 δ 样3(DLL-3)、氨肽酶P、黑素转铁蛋白、瘦素、破伤风毒素Tet1、破伤风毒素G23、RVG(狂犬病病毒糖蛋白)肽、HER2(人表皮生长因子受体2)、GPNMB(糖蛋白非转移性b)、Ley、CA6、CanAng、SLC44A4(溶质载体家族44成员4)、CEACAM5(癌胚抗原相关细胞粘附分子5)、粘连蛋白4(Nectin-4)、碳酸酐酶9、TNNB2、5T4、CD30、CD37、CD74、CD70、PMEL17、EphA2(肝配蛋白A2受体)、Trop-2、SC-16、组织因子、ENPP-3(AGS-16)、SLITRK6(SLIT和NTRK样家族成员6)、CD27、Lewis Y抗原、LIV1、GPR161(G蛋白偶联受体161)、PBR(外周型苯二氮平受体)、MERTK(Mer受体酪氨酸激酶)受体、CD71、LLT1(凝集素样转录物1或CLEED2D)、白介素22受体、 σ 1受体、过氧化物酶体增殖物激活受体、DLL3、C4.4a、cKIT、肝配蛋白A、CTLA4(细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4)、FGFR2b(成纤维细胞生长因子受体2b)、N-乙酰胆碱受体、促性腺激素释放激素受体、胃泌素释放肽受体、骨形态发生蛋白受体1B型(BMPRI1B)、E16(LAT1、SLC7A5)、STEAP1(前列腺六跨膜上皮抗原)、0772P(CA125、MUC16)、MPF(MSLN、间皮素)、Napi3b(SLC34A2)、Sema5b(信号素5b(semaphorin 5b))、ETBR(内皮素B型受体)、MSG783(RNF124)、STEAP2(前列腺六跨膜上皮抗原2)、TrpM4(瞬时受体电位阳离子5通道, M亚家族, 成员4)、CRIPTO(畸胎瘤源性生长因子)、CD21、CD79b、FcRH2(IFGP4)、HER2(ErbB2)、NCA(CEACM6)、MDP(DPEP1)、IL20R- α (IN20Ra)、短蛋白聚糖(Brevican)(BCAN)、EphB2R、ASLG659(B7h)、CD276、PSCA(前列腺干细胞抗原前体)、GEDA、BAFF-R(BR3)、CD22(BL-CAM)、CD79a、CXCR5、HLA-DOB、P2X5、CD72、LY64、FcRH1、IRTA2、TENB2、SSTR2、SSTR5、SSTR1、SSTR3、SSTR4、ITGAV(整合素 α 5)、ITGB6(整合素 β 6)、MET、MUC1、EGFRvIII、CD33、CD19、IL2RA(白介素2受体 α)、AXL、BCMA、CTA(癌睾丸抗原)、CD174、CLEC14A、GPR78、CD25、CD32、LGR5(GPR49)、CD133(凸素(Prominin))、ASG5、ENPP3(外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶3)、PRR4(脯氨酸丰富蛋白4)、GCC(鸟苷酸环化酶2C)、Liv-1(SLC39A6)、CD56、CanAg、TIM-1、RG-1、B7-H4、PTK7、CD138、紧密连接蛋白(Claudins)、Her3

(ErbB3)、RON(MST1R)、CD20、TNC(肌腱蛋白C)、FAP、DKK-1、CD52、CS1(SLAMF7)、膜联蛋白A1、V-CAM、gp100、MART-1、MAGE-1(黑色素瘤抗原编码基因1)、MAGE-3(黑色素瘤相关抗原3)、BAGE、GAGE-1、MUM-1(多发性骨髓瘤癌基因1)、CDK4、TRP-1(gp75)、TAG-72(肿瘤相关糖蛋白72)、神经节苷脂GD2、GD3、GM2、GM3、VEP8、VEP9、My1、VIM-D5、D156-22、OX40、RNAK、PD-L1、TNFR1、TNFR2等。

[0922] 靶标

[0923] 在一些实施方案中,分子识别元件的一个或更多个靶标与一种或更多种特定细胞或组织类型特异性相关。在一些实施方案中,靶标与一种或更多种特定疾病状态特异性相关。在一些实施方案中,靶标与一个或更多个特定发育阶段特异性相关。举例来说,细胞类型特异性标志物在所述细胞类型中的表达水平通常比在参考细胞群体中高至少2倍。在一些实施方案中,细胞类型特异性标志物以比其在参考群体中的平均表达高至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、至少10倍、至少50倍、至少100倍或至少1,000倍的水平存在。细胞类型特异性标志物的检测或测量有可能将所关注的一种或多种细胞类型与许多、大多数或所有其它类型的细胞区分开来。在一些实施方案中,靶标可以包含蛋白质、碳水化合物、脂质和/或核酸,如本文所描述。

[0924] 在一些实施方案中,如果物质特异性结合至靶向部分,诸如核酸靶向部分,则所述物质被认为是“靶向的”。在一些实施方案中,靶向部分(诸如核酸靶向部分)在严格条件下特异性结合至靶标。

[0925] 在某些实施方案中,本文所描述的缀合物和化合物包含特异性结合至与器官、组织、细胞、细胞外基质组分和/或细胞内区室相关的一种或更多种靶标(例如抗原)的靶向部分。在一些实施方案中,本文所描述的缀合物和化合物包含特异性结合至与特定器官或器官系统相关的靶标的靶向部分。在一些实施方案中,本文所描述的缀合物和化合物包含特异性结合至一个或更多个细胞内靶标(例如细胞器、细胞内蛋白)的靶向部分。在一些实施方案中,本文所描述的缀合物和化合物包含特异性结合至与患病器官、组织、细胞、细胞外基质组分和/或细胞内区室相关的靶标的靶向部分。在一些实施方案中,本文所描述的缀合物和化合物包含特异性结合至与特定细胞类型(例如内皮细胞、癌细胞、恶性细胞、前列腺癌细胞等)相关的靶标的靶向部分。

[0926] 在一些实施方案中,本文所描述的缀合物和化合物包含结合至对一种或更多种特定组织类型(例如肝组织对比前列腺组织)具有特异性的靶标的靶向部分。在一些实施方案中,本文所描述的缀合物和化合物包含结合至对一种或更多种特定细胞类型(例如T细胞对比B细胞)具有特异性的靶标的靶向部分。在一些实施方案中,本文所描述的缀合物和化合物包含结合至对一种或更多种特定疾病状态(例如肿瘤细胞对比健康细胞)具有特异性的靶标的靶向部分。在一些实施方案中,本文所描述的缀合物和化合物包含结合至对一个或更多个特定发育阶段(例如干细胞对比分化细胞)具有特异性的靶标的靶向部分。

[0927] 在一些实施方案中,靶标可以是排他地或主要与一种或几种细胞类型、与一种或几种疾病和/或与一个或几个发育阶段相关的标志物。细胞类型特异性标志物在所述细胞类型中的表达水平通常比在参考细胞群体中高至少2倍,所述参考细胞群体可以由例如含有大约等量的来自多个(例如5-10个或更多个)不同组织或器官的细胞的混合物组成。在一些实施方案中,细胞类型特异性标志物以比其在参考群体中的平均表达高至少3倍、至少4

倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、至少10倍、至少50倍、至少100倍或至少1000倍的水平存在。细胞类型特异性标志物的检测或测量有可能将所关注的一种或多种细胞类型与许多、大多数或所有其它类型的细胞区分开来。

[0928] 在一些实施方案中,靶标包含蛋白质、碳水化合物、脂质和/或核酸。在一些实施方案中,靶标包含蛋白质和/或其特征部分,诸如肿瘤标志物、整合素、细胞表面受体、跨膜蛋白、细胞间蛋白、离子通道、膜转运蛋白、酶、抗体、嵌合蛋白、糖蛋白等。在一些实施方案中,靶标包含碳水化合物和/或其特征部分,诸如糖蛋白、糖(例如单糖、二糖、多糖)、糖萼(glycocalyx)(即,大多数真核细胞的外表面上的碳水化合物丰富外周区)等。在一些实施方案中,靶标包含脂质和/或其特征部分,诸如油、脂肪酸、甘油酯、激素、类固醇(例如胆固醇、胆汁酸)、维生素(例如维生素E)、磷脂、鞘脂、脂蛋白等。在一些实施方案中,靶标包含核酸和/或其特征部分,诸如DNA核酸;RNA核酸;经修饰的DNA核酸;经修饰的RNA核酸;包括DNA、RNA、经修饰的DNA和经修饰的RNA的任何组合的核酸。

[0929] 许多标志物是本领域中已知的。典型标志物包括细胞表面蛋白,例如受体。示例性受体包括但不限于转铁蛋白受体;LDL受体;生长因子受体,诸如表皮生长因子受体家族成员(例如EGFR、Her2、Her3、Her4)或血管内皮生长因子受体、细胞因子受体、细胞粘附分子、整合素、选择素和CD分子。标志物可以是恶性细胞中排他地存在或以较高量存在的分子,例如肿瘤抗原。

[0930] 抗体-药物缀合物(ADC)

[0931] 在一些实施方案中,TM是抗体,并且Q是药物。因此,本文所公开的化合物和缀合物可以用于将抗体缀合至药物部分以形成靶向药物缀合物,所述靶向药物缀合物是抗体-药物缀合物(ADC)。抗体-药物缀合物(ADC)与其它靶向药物缀合物一样,可以提高治疗疾病(例如癌症)方面的治疗功效,这是因为ADC能够选择性地将一种或更多种药物部分递送至靶组织,诸如肿瘤相关抗原。因此,在某些实施方案中,本公开提供了用于治疗用途,例如治疗癌症的ADC。

[0932] 本公开的ADC包含连接至一种或更多种药物部分的抗体。ADC的特异性由抗体的特异性限定。在一个实施方案中,抗体与一种或更多种内部递送至癌细胞的细胞毒性药物连接。

[0933] 下文提供了可以用于本公开的ADC中的药物的实例。术语“药物”、“剂”和“药物部分”在本文中可互换使用。术语“连接的”和“缀合的”在本文中也可互换使用,并且指示抗体和部分是共价连接的。

[0934] 在某些方面,本公开涉及ADC、包含ADC的组合物、治疗方法和配制ADC组合物的方法。ADC包含缀合至细胞毒性化合物的抗体或抗体片段。在一些实施方案中,细胞毒性化合物经由接头缀合至抗体。在其它实施方案中,细胞毒性化合物直接连接至抗体。本公开涵盖的抗体、接头和细胞毒性化合物的类型描述于下文。

[0935] 抗体

[0936] ADC的抗体可以是通常但不一定特异性结合在所关注的靶细胞表面上表达的任何抗原的任何抗体。抗原不需要,但在一些实施方案中,能够将其结合的ADC内化至细胞中。所关注的靶细胞可以包括需要诱导细胞凋亡的细胞。靶抗原可以在所关注的靶细胞上表达的任何蛋白质、糖蛋白、多糖、脂蛋白等,但通常是在靶细胞上独特表达而在正常或健康细胞

上不表达的蛋白质,或者与正常或健康细胞相比在靶细胞上过度表达的蛋白质,使得ADC选择性靶向所关注的特定细胞,诸如肿瘤细胞。如技术人员将了解,所选择的特定抗原以及因此的抗体将取决于所需的所关注靶细胞的身份。在具体实施方案中,ADC的抗体是适合施用于人类的抗体。

[0937] 抗体(Ab)和免疫球蛋白(Ig)是具有相同结构特征的糖蛋白。虽然抗体展现出对特定靶标的结合特异性,但免疫球蛋白包括抗体和缺乏靶标特异性的其它抗体样分子。原生抗体和免疫球蛋白通常是约150,000道尔顿的异四聚糖蛋白,其由两条相同的轻(L)链和两条相同的重(H)链组成。每条重链在一端具有可变结构域(VH),后面是多个恒定结构域。每条轻链在一端具有可变结构域(VL)并且在其另一端具有恒定结构域。

[0938] 提及“VH”是指抗体的免疫球蛋白重链(包括Fv、scFv或Fab的重链)的可变区。提及“VL”是指免疫球蛋白轻链(包括Fv、scFv、dsFv或Fab的轻链)的可变区。

[0939] 本文中的术语“抗体”以最广义使用并且是指特异性结合至特定抗原或与特定抗原发生免疫反应的免疫球蛋白分子,并且包括多克隆、单克隆、基因工程化和其它修饰形式的抗体,包括但不限于鼠类抗体、嵌合抗体、人源化抗体、异源缀合抗体(例如双特异性抗体、双抗体、三抗体和四抗体)以及抗体的抗原结合片段,包括例如Fab'、F(ab')₂、Fab、Fv、rIgG和scFv片段。术语“scFv”是指单链Fv抗体,其中来自传统抗体的重链和轻链的可变结构域已连接形成一条链。

[0940] 抗体可以是鼠类、人类、人源化、嵌合的,或来源于其它物种。抗体是由能够识别并结合至特异性抗原的免疫系统生成的蛋白质。(Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik(2001) *Immuno Biology*, 第5版, Garland Publishing, New York)。靶抗原一般具有由多种抗体上的CDR识别的许多结合位点,也称为表位。特异性结合至不同表位的每种抗体具有不同的结构。因此,一种抗原可以具有一种以上的相应抗体。抗体包括全长免疫球蛋白分子或全长免疫球蛋白分子的免疫活性部分,即,含有免疫特异性结合所关注靶标的抗原的抗原结合位点的分子或其部分,此类靶标包括但不限于癌细胞或产生与自身免疫性疾病相关的自身免疫抗体的细胞。本文所公开的免疫球蛋白可以是任何类型(例如IgG、IgE、IgM、IgD和IgA)、类别(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)或亚类的免疫球蛋白分子。免疫球蛋白可以来源于任何物种。然而,在一个方面,免疫球蛋白是人类、鼠类或兔来源的。

[0941] 术语“抗体片段”是指全长抗体的一部分,一般是靶标结合区或可变区。抗体片段的实例包括Fab、Fab'、F(ab')₂和Fv片段。“Fv”片段是含有完全靶标识别和结合位点的最小抗体片段。这个区域由紧密非共价缔合的一个重链可变结构域和一个轻链可变结构域的二聚体(VH-VL二聚体)组成。正是以每个可变结构域的三个CDR相互作用的这种构型限定了VH-VL二聚体表面上的靶标结合位点。通常,六个CDR赋予抗体靶标结合特异性。然而,在一些情况下,甚至单个可变结构域(或仅包含三个对靶标具有特异性的CDR的一半Fv)也可以具有识别并结合靶标的能力。“单链Fv”或“scFv”抗体片段包含单条多肽链中抗体的VH和VL结构域。一般来说,Fv多肽还包含VH与VL结构域之间的多肽接头,所述接头使scFv能够形成靶标结合所需的结构。“单结构域抗体”由对靶标展现出足够亲和力的单个VH或VL结构域组成。在具体实施方案中,单结构域抗体是骆驼化抗体(参见例如Riechmann, 1999, *Journal of Immunological Methods* 231:25-38)。

[0942] Fab片段含有轻链的恒定结构域和重链的第一恒定结构域(CH1)。Fab'片段与Fab

片段的不同之处在于其在重链CH1结构域的羧基端添加了几个残基,包括来自抗体铰链区的一个或更多个半胱氨酸。F(ab')₂片段是通过F(ab')₂胃蛋白酶消化产物的铰链半胱氨酸处的二硫键裂解而产生。抗体片段的额外化学偶联是本领域普通技术人员已知的。

[0943] 轻链和重链可变结构域均具有互补决定区(CDR),也称为高变区。可变结构域的更加高度保守的部分称为框架(FR)。如本领域中已知,描绘抗体高变区的氨基酸位置/边界可以变化,这取决于上下文和本领域中已知的各种定义。可变结构域内的一些位置可以被视为混合高变位置,因为这些位置在一组标准下可以被视为在高变区内,而在另一组标准下被视为在高变区外。这些位置中的一者或更多者也可以在扩展的高变区中找到。每条链中的CDR通过FR区紧密结合在一起,并且与来自另一条链的CDR一起有助于形成抗体的靶标结合位点(参见Kabat等人, *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institute of Health), Bethesda, Md. 1987)。除非另有指示,否则如本文所用,免疫球蛋白氨基酸残基的编号是根据Kabat等人的免疫球蛋白氨基酸残基编号系统来进行。

[0944] 在某些实施方案中,本公开的ADC的抗体是单克隆抗体。术语“单克隆抗体”(mAb)是指来源于单个拷贝或克隆的抗体,包括例如任何真核、原核或噬菌体克隆,而不是指产生其的方法。优选地,本公开的单克隆抗体存在于同质或基本上同质的群体中。单克隆抗体包括完整分子,以及能够特异性结合至蛋白质的抗体片段(诸如Fab和F(ab')₂片段)。Fab和F(ab')₂片段缺乏完整抗体的Fc片段,从动物循环中更快清除,并且可能比完整抗体具有更少的非特异性组织结合(Wahl等人, 1983, *J. Nucl. Med* 24:316)。可用于本公开的单克隆抗体可以使用本领域中已知的多种技术来制备,包括使用杂交瘤、重组和噬菌体展示技术或它们的组合。本公开的抗体包括嵌合抗体、灵长类抗体、人源化抗体或人类抗体。

[0945] 虽然在大多数情况下抗体仅由基因编码的氨基酸组成,但在一些实施方案中,可能在特定位置处掺入非编码氨基酸。可以掺入抗体中用于控制化学计量和连接位置的非编码氨基酸的实例以及制备此类经修饰抗体的方法在Tian等人, 2014, *Proc Nat'l Acad Sci USA* 111(5):1766-1771和Axup等人, 2012, *Proc Nat'l Acad Sci USA* 109(40):16101-16106中论述,其全部内容通过引用并入本文。

[0946] 在某些实施方案中,本文所描述的ADC的抗体是嵌合抗体。如本文所用,术语“嵌合”抗体是指具有来源于非人类免疫球蛋白(诸如大鼠或小鼠抗体)的可变序列和通常选自人类免疫球蛋白模板的人类免疫球蛋白恒定区的抗体。用于产生嵌合抗体的方法是本领域中已知的。参见例如Morrison, 1985, *Science* 229(4719):1202-7; Oi等人, 1986, *BioTechniques* 4:214-221; Gillies等人, 1985, *J. Immunol. Methods* 125:191-202; 美国专利号5,807,715; 4,816,567; 和4,816,397,其通过引用整体并入本文。

[0947] 在某些实施方案中,本文所描述的ADC的抗体是人源化抗体。非人类(例如鼠类)抗体的“人源化”形式是嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白链或其片段(诸如Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂或抗体的其它靶标结合子结构域),所述形式含有来源于非人类免疫球蛋白的最小序列。一般来说,人源化抗体将包含基本上全部的至少一个且通常两个可变结构域,其中全部或基本上全部的CDR区对应于非人类免疫球蛋白的那些CDR区并且全部或基本上全部的FR区是人类免疫球蛋白序列的那些FR区。人源化抗体还可以包含至少一部分免疫球蛋白恒定区(Fc),通常是人类免疫球蛋白共有序列的至少一部分恒定区。抗体人源化的方法是本领域中已知的。参见例如Riechmann等人, 1988, *Nature* 332:323-7; 美国专利号5,530,101; 5,

585,089;5,693,761;5,693,762;和Queen等人的美国专利号6,180,370;EP239400;PCT公布WO 91/09967;美国专利号5,225,539;EP592106;EP519596;Padlan,1991,Mol.Immunol.,28:489-498;Studnicka等人,1994,Prot.Eng.7:805-814;Roguska等人,1994,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 91:969-973;和美国专利号5,565,332,其全部特此通过引用整体并入。

[0948] 在某些实施方案中,本文所描述的ADC的抗体是人类抗体。完全“人类”抗体对于人类患者的治疗性处理可能是理想的。如本文所用,“人类抗体”包括具有人类免疫球蛋白的氨基酸序列的抗体,并且包括从人类免疫球蛋白文库或从一种或更多种人类免疫球蛋白转基因且不表达内源免疫球蛋白的动物分离的抗体。人类抗体可以通过本领域中已知的多种方法来制备,包括使用来源于人类免疫球蛋白序列的抗体文库的噬菌体展示方法。参见美国专利号4,444,887、4,716,111、6,114,598、6,207,418、6,235,883、7,227,002、8,809,151和美国公开申请号2013/189218,其内容通过引用整体并入本文。人类抗体也可以使用不能表达功能性内源免疫球蛋白但可以表达人类免疫球蛋白基因的转基因小鼠来产生。参见例如美国专利号5,413,923;5,625,126;5,633,425;5,569,825;5,661,016;5,545,806;5,814,318;5,885,793;5,916,771;5,939,598;7,723,270;8,809,051和美国公布申请号2013/117871,其通过引用整体并入本文。另外,还可以与诸如Medarex(Princeton,N.J.)、Astellas Pharma(Deerfield,Ill.)和Regeneron(Tarrytown,N.Y.)的公司合作,以使用与上文所描述类似的技术提供针对所选抗原的人类抗体。可以使用称为“引导选择”的技术来生成识别所选表位的完全人类抗体。在这种方法中,所选非人类单克隆抗体,例如小鼠抗体,用于引导识别相同表位的完全人类抗体的选择(Jespers等人,1988,Biotechnology 12:899-903)。

[0949] 在某些实施方案中,本文所描述的ADC的抗体是灵长类抗体。术语“灵长类抗体”是指包含猴可变区和人恒定区的抗体。用于产生灵长类抗体的方法是本领域中已知的。参见例如美国专利号5,658,570;5,681,722;和5,693,780,其通过引用整体并入本文。

[0950] 在某些实施方案中,本文所描述的ADC的抗体是双特异性抗体或双可变结构域抗体(DVD)。双特异性和DVD抗体是对至少两种不同抗原具有结合特异性的单克隆抗体,通常是人类或人源化抗体。DVD描述于例如美国专利号7,612,181中,其公开内容通过引用并入本文。

[0951] 在某些实施方案中,本文所描述的ADC的抗体是衍生化抗体。举例来说但不作限制,衍生化抗体通常通过糖基化、乙酰化、聚乙二醇化、磷酸化、酰胺化、通过已知保护基/阻断基衍生化、蛋白水解性裂解、与细胞配体或其它蛋白质连接等进行修饰。可以通过已知技术进行多种化学修饰中的任一者,包括但不限于特定化学裂解、乙酰化、甲酰化、衣霉素代谢合成等。另外,衍生物可以含有一种或更多种非天然氨基酸,例如使用ambrx技术(参见例如Wolfson,2006,Chem.Biol.13(10):1011-2)。

[0952] 在某些实施方案中,本文所描述的ADC的抗体具有相对于相应的野生型序列已被修饰以改变至少一种恒定区介导的生物效应功能的序列。举例来说,在一些实施方案中,可以修饰抗体以相对于未修饰的抗体减少至少一种恒定区介导的生物效应功能,例如减少与Fc受体(FcR)的结合。FcR结合可以通过使FcR相互作用所必需的特定区域处抗体的免疫球蛋白恒定区区段发生突变来减少(参见例如Canfield和Morrison,1991,J.Exp.Med 173:

1483-1491;和Lund等人,1991,J.Immunol.147:2657-2662)。

[0953] 在某些实施方案中,本文所描述的ADC的抗体被修饰以相对于未修饰的抗体获得或改善至少一种恒定区介导的生物效应功能,例如,以增强Fc γ R相互作用(参见例如US2006/0134709)。举例来说,可以根据本文所描述的方法产生具有以比相应野生型恒定区更大的亲和力结合Fc γ RIIA、Fc γ RIIB和/或Fc γ RIIIA的恒定区的抗体。

[0954] 在某些具体实施方案中,本文所描述的ADC的抗体是结合肿瘤细胞的抗体,诸如针对细胞表面受体或肿瘤相关抗原(TAA)的抗体。在尝试发现用于癌症诊断和疗法的有效细胞靶标时,研究人员试图鉴定跨膜或其它肿瘤相关多肽,这些多肽与在一种或更多种正常非癌细胞上的表达相比在一种或更多种特定类型的癌细胞表面上特异性表达。通常,此类肿瘤相关多肽在癌细胞表面的表达比在非癌细胞表面上的表达更丰富。此类细胞表面受体和肿瘤相关抗原是本领域中已知的,并且可以准备用于使用本领域中众所周知的方法和信息来生成抗体。

[0955] 示例性细胞表面受体和TAA

[0956] 本文所描述的ADC的抗体可以靶向的细胞表面受体和TAA的实例包括但不限于下表1中列出的各种受体和TAA。为方便起见,与这些抗原相关的信息(全部是本领域中已知的)列于下文,并且包括名称、替代名称、Genbank登录号和一种或多种主要参考,遵循国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information,NCBI)的核酸和蛋白质序列识别惯例。与列出的细胞表面受体和TAA相对应的核酸和蛋白质序列可在诸如GenBank的公共数据库中获得。

[0957] 表I.

[0958]

4-1BB
5AC
5T4
甲胎蛋白
血管生成素 2
ASLG659
TCL1
BMPR1B
短蛋白聚糖(BCAN、BEHAB)
C2-42 抗原
C5
CA-125
CA-125 (仿制品)
CA-IX (碳酸酐酶 9)
CCR4
CD140a
CD152
CD19
CD20
CD200
CD21 (C3DR) 1)

[0959]

CD22 (B 细胞受体 CD22-B 亚型)
CD221
CD23 (gE 受体)
CD28
CD30 (TNFRSF8)
CD33
CD37
CD38 (环状 ADP 核糖水解酶)
CD4
CD40
CD44 v6
CD51
CD52
CD56
CD70
CD72 (Lyb-2、B 细胞分化抗原 CD72)
CD74
CD79a (CD79A、CD79 α 、免疫球蛋白相关 α) Genbank 登录号 NP_001774.10)
CD79b (CD79B、CD79 β 、B29)
CD80
CEA
CEA 相关抗原
ch4D5
CLDN18.2
CRIPTO (CR、CR1、CRGF、TDGF1 畸胎瘤源性生 长因子)
CTLA-4
CXCR5
DLL4
DR5
E16 (LAT1、SLC7A5) EGFL7
EGFR
EpCAM
EphB2R (DRT、ERK、Hek5、EPHT3、Tyro5)
上皮唾蛋白(Episialin)
ERBB3
ETBR (内皮素 B 型受体)
FCRH1 (Fc 受体样蛋白 1)
FcRH2 (IFGP4、IRTA4、SPAP1、SPAP1B、SPAP1C、

[0960]

含有磷酸酶锚定蛋白的 SH2 结构域
纤连蛋白额外结构域 B
叶酸受体 1
卷曲受体
GD2
GD3 神经节苷脂
GEDA
GPNMB
HER1
HER2 (ErbB2)
HER2/neu
HER3
HGF
HLA-DOB
HLA-DR
人散射因子受体激酶
IGF-1 受体
IgG4
IL-13
IL20R α (IL20Ra、ZCYTOR7)
IL-6
ILGF2
ILFR1R
整合素 α
整合素 $\alpha5\beta1$
整合素 $\alpha v\beta3$
IRTA2 (免疫球蛋白超家族受体易位相关 2, 基因染色体 1q21)
Lewis-Y 抗原
LY64 (RP105)
MCP-1
MDP (DPEP1)
MPF (MSLN、SMR、间皮素、巨核细胞增强因子)
MS4A1
MSG783 (RNF124、假设蛋白 FLJ20315)
MUC1
粘蛋白 CanAg
Napi3 (NAPI-3B、NPTIIb、SLC34A2、II 型钠依赖性磷酸盐转运蛋白 3b)
NCA (CEACAM6)

P2X5 (嘌呤受体 P2X 配体门控离子通道 5)
PD-1
PDCD1
PDGF-R α
前列腺特异性膜抗原
PSCA (前列腺干细胞抗原前体)
PSCA hlg
RANKL
RON
SDC1
Sema 5b
SLAMF7 (CS-1)
STEAP1
STEAP2 (HGNC_8639、PCANAP1、STAMP1、STEAP2、STMP、前列腺癌相关基因 1)
TAG-72
TEM1
[0961] 肌腱蛋白 C
TENB2 (TMEFF2、托莫调节蛋白(tomoregulin)、TPEF、HPP1、TR)
TGF- β
TRAIL-E2
TRAIL-R1
TRAIL-R2
TrpM4 (BR22450、FLJ20041、TRPM4、TRPM4B、瞬时受体电位阳离子通道亚家族 M 成员 4)
TA CTAA16.88
TWEAK-R
TYRP1 (糖蛋白 75)
VEGF
VEGF-A
EGFR-1
VEGFR-2
波形蛋白(Vimentin)

[0962] 示例性抗体

[0963] 有待用于本公开的ADC的示例性抗体包括但不限于3F8 (GD2)、阿巴伏单抗 (Abagovomab) (CA-125 (仿制品))、阿德木单抗 (Adecatumumab) (EpCA M)、阿托珠单抗 (Afutuzumab) (CD20)、培戈-阿拉赛珠单抗 (Alacizumab pego 1) (VEGFR2)、ALD518 (IL-6)、阿仑单抗 (Alemtuzumab) (CD52)、喷替酸阿妥莫单抗 (Altumomab pentetate) (CEA)、阿麦

妥单抗 (Amatuximab) (间皮素)、马安那莫单抗 (Anatumomabmafentox) (TAG-72)、阿泊利单抗 (Apolizumab) (HLA-DR)、阿西莫单抗 (Arcitumomab) (CEA)、巴维昔单抗 (Bavituximab) (磷脂酰丝氨酸)、贝妥莫单抗 (Bectumomab) (CD22)、贝利木单抗 (Belimumab) (BAFF)、贝索单抗 (Besilesomab) (CEA相关抗原)、贝伐单抗 (VEGF-A)、莫比伐单抗 (Bivatuzumab mertansine) (CD44 v6)、贝林妥欧单抗 (Blinatumomab) (CD19)、维布妥昔单抗 (Brentuximab vedotin) ((CD30(TNFRSF8))、莫坎妥珠单抗 (Cantuzumab mertansine) (粘蛋白CanAg)、雷坎妥珠单抗 (Cantuzumab ravidansine) (MUC1)、卡罗单抗喷地肽 (Capromab pendetide) (前列腺癌细胞)、卡芦单抗 (Carlumab) (MCP-1)、卡妥索单抗 (Catumaxomab) (EpCAM、CD3)、CC49 (Tag-72)、cBR96-DOX ADC (Lewis-Y抗原)、西妥昔单抗 (EGFR)、泊西他组单抗 (Citatumomabogatox) (EpCAM)、西妥木单抗 (Cixutumumab) (IGF-1受体)、泰坦-克利妥珠单抗 (Clivatuzumab tetraxetan) (MUC1)、可那木单抗 (Conatumumab) (TRAIL-E2)、达西组单抗 (Dacetuzumab) (CD40)、达罗托组单抗 (Dalotuzumab) (胰岛素样生长因子1受体)、达雷木单抗 (Deratumumab) ((CD38 (环状ADP核糖水解酶))、登赛珠单抗 (Demcizumab) (DLL4)、地诺单抗 (Denosumab) (RANKL)、地莫单抗 (Detumomab) (B淋巴瘤细胞)、曲齐妥单抗 (Drozitumab) (DR5)、度司妥单抗 (Dusigitumab) (ILGF2)、依美昔单抗 (Ecromeximab) (D3神经节苷脂)、依库珠单抗 (Eculizumab) (C5)、依决洛单抗 (Edrecolomab) (EpCAM)、埃罗妥珠单抗 (Elotuzumab) (SLAMF7)、艾西莫单抗 (Elsilimomab) (IL-6)、依那妥组单抗 (Enavatuzumab) (TWEAK受体)、依诺苏单抗 (Enoticumab) (DLL4)、恩妥昔单抗 (Ensituximab) (5AC)、西依匹莫单抗 (Epitumomabcituxetan) (上皮唾蛋白)、依帕珠单抗 (Epratuzumab) (CD22)、厄妥索单抗 (Ertumaxomab) ((HER2/neu、CD3))、埃达组单抗 (Etancizumab) (整合素 $\alpha\beta3$)、法妥组单抗 (Farletuzumab) (叶酸受体1)、FBTA05 (CD20)、非拉妥组单抗 (Ficlatuzumab) (HGF)、芬妥木单抗 (Figitumumab) (IGF-1受体)、法兰妥单抗 (Flanvotumab) ((TYRP1 (糖蛋白75))、非苏木单抗 (Fresolimumab) (TGF-1)、加利昔单抗 (Galiximab) (CD80)、加尼妥单抗 (Ganitumab) (IGF-I)、吉妥珠单抗奥唑米星 (CD33)、吉妥昔单抗 (Girentuximab) ((碳酸酐酶9 (CA-IX))、维汀-格仑妥木单抗 (Glebatumabvedotin) (GPNMB)、替伊莫单抗 (Ibiritumomab tiuxetan) (CD20)、艾芦库单抗 (Icrucumab) (VEGFR-1)、伊戈伏单抗 (Igovomab) (CA-125)、IMAB362 (CLDN18.2)、伊马曲单抗 (Imgatuzumab) (EGFR)、雷英妥昔单抗 (Indatuximabravtansine) (SDC1)、英妥木单抗 (Intetumumab) (CD51)、伊珠单抗奥唑米星 (Inotuzumabozogamicin) (CD22)、伊匹单抗 (Ipilimumab) (CD152)、伊妥木单抗 (Iratumumab) ((CD30 (TNFRSF8))、拉贝珠单抗 (Labetuzumab) (CEA)、兰洛利珠单抗 (Lambrolizumab) (PDCD1)、来沙木单抗 (Lexatumumab) (TRAIL-R2)、林妥珠单抗 (Lintuzumab) (CD33)、莫星-洛沃妥珠单抗 (Lorvotuzumabmertansine) (CD56)、卢卡木单抗 (Lucatumumab) (CD40)、鲁昔单抗 (Lumiliximab) ((CD23 (IgE受体))、马帕木单抗 (Mapatumumab) (TRAIL-R1)、玛格妥昔单抗 (Margetuximab) (ch4DS)、马妥珠单抗 (Matuzumab) (EGFR)、米拉组单抗 (Milatuzumab) (CD74)、米妥莫单抗 (Mitumomab) (GD3神经节苷脂)、莫格利珠单抗 (Mogamulizumab) (CCR4)、莫赛妥莫单抗 (Moxetumomabpasudotox) (CD22)、他那可洛单抗 (Nacolomabtafenatox) (C2-42抗原)、埃托-那普妥莫单抗 (Naptumomabestafenatox) (5T4)、那呐妥单抗 (Narnatumab) (RON)、那他珠单抗 (Natalizumab) (整合素 $\alpha4$)、耐昔妥珠

单抗(Necitumumab) (EGFR)、奈伐苏单抗(Nesvacumab) (血管生成素2)、尼妥珠单抗(Nimotuzumab) (EGFR)、纳武单抗(Nivolumab) (IgG4)、奥卡妥珠单抗(Ocaratuzumab) (CD20)、奥法木单抗(Ofatumumab) (CD20)、奥拉单抗(Olaratumab) (PDGF-R α)、奥那妥组单抗(Onartuzumab) (人散射因子受体激酶)、昂妥昔珠单抗(Ontuxizumab) (TEM1)、莫奥珠单抗(Oportuzumabmonato) (EpCAM)、奥戈伏单抗(Oregovomab) (CA-125)、奥乐妥珠单抗(Otlertuzumab) (CD37)、帕尼单抗(Panitumumab) (EGFR)、帕尼库单抗(Pankomab) (MUC1的肿瘤特异性糖基化)、帕萨妥珠单抗(Parsatuzumab) (EGFL7)、帕曲妥单抗(Patritumab) (HER3)、佩图莫单抗(Pemtumomab) (MUC1)、帕妥珠单抗(Pertuzumab) (HER2/neu)、匹地利珠单抗(Pidilizumab) (PD-1)、维汀-匹那妥珠单抗(Pinatuzumabvedotin) (CD22)、普林木单抗(Pritumumab) (波形蛋白)、雷妥莫单抗(Racotumomab) (N-羟乙酰神经氨酸)、雷曲妥单抗(Radretumab) (纤连蛋白额外结构域B)、雷莫芦单抗(Ramucirumab) (VEGFR2)、利妥木单抗(Rilotumumab) (HGF)、利妥昔单抗(Rituximab) (CD20)、罗妥木单抗(Robatuzumab) (IGF-1受体)、沙马组单抗(Samalizumab) (CD200)、沙妥莫单抗喷地肽(Satumomabpendetide) (TAG-72)、瑟瑞妥单抗(Seribantumab) (ERBB3)、西罗珠单抗(Sibrotuzumab) (FAP)、SGN-CD19A (CD19)、SGN-CD33A (CD33)、司妥昔单抗(Siltuximab) (IL-6)、索利托单抗(Solitumab) (EpCAM)、索尼普西珠单抗(Sonepcizumab) (鞘氨醇-1-磷酸)、他贝芦单抗(Tabalumab) (BAFF)、泰坦-他卡妥珠单抗(Tacatuzumab tetraxetan) (甲胎蛋白)、帕他普莫单抗(Taplutumomab paptox) (CD19)、替妥莫单抗(Tenatumomab) (肌腱蛋白C)、替妥木单抗(Tepratumumab) (CD221)、TGN1412 (CD28)、替西利木单抗(Ticilimumab) (CTLA-4)、替加组单抗(Tigatuzumab) (TRAIL-R2)、TNX-650 (IL-13)、托维妥单抗(Tovetumab) (CD40a)、曲妥珠单抗(HER2/neu)、TRBS07 (GD2)、替西木单抗(CTLA-4)、西莫白介素单抗(Tucotuzumab celmoleukin) (EpCAM)、乌妥昔单抗(Ublituximab) (MS4A)、乌瑞芦单抗(Urelumab) (4-1BB)、凡德他尼(Vandetanib) (VEGF)、万替妥单抗(Vantictumab) (卷曲受体)、伏洛昔单抗(Volociximab) (整合素 $\alpha 5\beta 1$)、玛汀-沃瑟妥珠单抗(Vorsetuzumab mafodotin) (CD70)、伏妥莫单抗(Votumumab) (肿瘤抗原CTAA16.88)、扎芦木单抗(Zalutumumab) (EGFR)、扎木单抗(Zanolimumab) (CD4)和扎妥昔单抗(Zatuximab) (HER1)。

[0964] 抗体制备方法

[0965] ADC的抗体可以通过免疫球蛋白轻链和重链基因在宿主细胞中的重组表达来制备。举例来说,为了重组表达抗体,用一种或更多种携带编码抗体的免疫球蛋白轻链和重链的DNA片段的重组表达载体转染宿主细胞,使得轻链和重链在宿主细胞中表达,并且任选地分泌至培养宿主细胞的培养基中,可以从所述培养基回收抗体。标准重组DNA方法用于获得抗体重链和轻链基因,将这些基因掺入重组表达载体中并且将载体引入宿主细胞中,诸如以下文献中描述的那些方法:Molecular Cloning; A Laboratory Manual, 第二版(Sambrook, Fritsch和Maniatis(编), Cold Spring Harbor, N.Y., 1989), Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel, F.M.等人编, Greene Publishing Associates, 1989), 和美国专利号4,816,397。

[0966] 在一个实施方案中, Fc变体抗体与其野生型等效物类似, 但其Fc结构域有所变化。为了生成编码此类Fc变体抗体的核酸, 可以合成编码野生型抗体的Fc结构域或Fc结构域的一部分(称为“野生型Fc结构域”)的DNA片段并且用作使用常规诱变技术生成如本文所描述

的抗体的诱变模板;或者,可以直接合成编码抗体的DNA片段。

[0967] 一旦获得编码野生型Fc结构域的DNA片段,可以通过标准重组DNA技术进一步操作这些DNA片段,例如,以将恒定区基因转化为全长抗体链基因。在这些操作中,编码CH的DNA片段可操作地连接至编码另一种蛋白质的另一个DNA片段,诸如抗体可变区或柔性接头。如在此上下文中所用,术语“可操作地连接”旨在意指两个DNA片段被连接,使得由两个DNA片段编码的氨基酸序列保持在框内。

[0968] 为了表达Fc变体抗体,将如上文所描述获得的编码部分或全长轻链和重链的DNA插入表达载体中,使得基因可操作地连接至转录和翻译控制序列。在此上下文中,术语“可操作地连接”旨在意指将抗体基因接合至载体中,使得载体内的转录和翻译控制序列发挥其调控抗体基因的转录和翻译的预期功能。选择与所用表达宿主细胞相容的表达载体和表达控制序列。可以将变体抗体轻链基因和抗体重链基因插入单独的载体中,或者更典型地,将两个基因插入同一表达载体中。

[0969] 通过标准方法将抗体基因插入表达载体中(例如接合抗体基因片段和载体上的互补限制性位点,或者如果不存在限制性位点则进行平端接合)。在插入变体Fc结构域序列之前,表达载体可以已携带抗体可变区序列。另外或替代地,重组表达载体可以编码促进抗体链从宿主细胞分泌的信号肽。可以将抗体链基因克隆至载体中,使得信号肽框内连接至抗体链基因的氨基端。信号肽可以是免疫球蛋白信号肽或异源信号肽(即,来自非免疫球蛋白的信号肽)。

[0970] 除了抗体链基因之外,重组表达载体还携带控制抗体链基因在宿主细胞中表达的调控序列。术语“调控序列”旨在包括控制抗体链基因的转录或翻译的启动子、增强子和其它表达控制元件(例如聚腺苷酸化信号)。此类调控序列描述于例如Goeddel, *Gene Expression Technology: Methods in Enzymology* 185 (Academic Press, San Diego, Calif., 1990) 中。本领域技术人员将了解,表达载体的设计,包括调控序列的选择,可以取决于诸如待转化的宿主细胞的选择、所需蛋白质的表达水平等因素。适用于哺乳动物宿主细胞表达的调控序列包括指导哺乳动物细胞中高水平的蛋白质表达的病毒元件,诸如来源于巨细胞病毒(CMV)的启动子和/或增强子(诸如CMV启动子/增强子)、猿猴病毒40(SV40)(诸如SV40启动子/增强子)、腺病毒(例如腺病毒主要晚期启动子(AdMLP))和多瘤病毒。对于病毒调控元件及其序列的进一步描述,参见例如Stinski的美国专利号5,168,062、Bell等人的美国专利号4,510,245和Schaffner的美国专利号4,968,615。

[0971] 除了抗体链基因和调控序列之外,重组表达载体还可以携带额外的序列,诸如调控载体在宿主细胞中复制的序列(例如复制起点)和选择性标志基因。选择性标志基因有助于选择已引入载体的宿主细胞(参见例如美国专利号4,399,216、4,634,665和5,179,017,全部属于Axel等人)。举例来说,选择性标志基因通常赋予已引入载体的宿主细胞对诸如G418、嘌呤霉素(puromycin)、杀稻瘟菌素(blasticidin)、潮霉素(hygromycin)或甲氨蝶呤(methotrexate)的药物的抗性。适合的选择性标志基因包括二氢叶酸还原酶(DHFR)基因(用于具有甲氨蝶呤选择/扩增的DHFR-宿主细胞)和neo基因(用于G418选择)。为了表达轻链和重链,通过标准技术将编码重链和轻链的一种或多种表达载体转染至宿主细胞中。术语“转染”的各种形式旨在涵盖通常用于将外源DNA引入原核或真核宿主细胞中的多种技术,例如电穿孔、脂转染、磷酸钙沉淀、DEAE-葡聚糖转染等。

[0972] 有可能在原核或真核宿主细胞中表达抗体。在某些实施方案中,抗体的表达在真核细胞,例如哺乳动物宿主细胞中进行,以最佳分泌正确折叠且具有免疫活性的抗体。用于表达重组抗体的示例性哺乳动物宿主细胞包括中国仓鼠卵巢(CHO细胞)(包括DHFR-CHO细胞,描述于Urlaub和Chasin,1980,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4216-4220中,与DHFR选择性标志物一起使用,例如,如Kaufman和Sharp,1982,Mol.Biol.159:601-621中所描述)、NS0骨髓瘤细胞、COS细胞、293细胞和SP2/0细胞。当将编码抗体基因的重组表达载体引入哺乳动物宿主细胞中时,通过培养宿主细胞一段足以允许抗体在宿主细胞中表达或将抗体分泌至宿主细胞生长的培养基中的时间来产生抗体。可以使用标准蛋白质纯化方法从培养基中回收抗体。宿主细胞还可以用于产生完整抗体的部分,诸如Fab片段或scFv分子。

[0973] 在一些实施方案中,ADC的抗体可以是双功能抗体。其中一条重链和一条轻链对一种抗原具有特异性并且另一条重链和轻链对第二种抗原具有特异性的此类抗体可以通过标准化学交联方法将抗体与第二种抗体交联来产生。双功能抗体还可以通过表达经工程化以编码双功能抗体的核酸来制备。

[0974] 在某些实施方案中,双重特异性抗体,即使用同一结合位点结合一种抗原和第二种不相关抗原的抗体,可以通过使轻链和/或重链CDR中的氨基酸残基发生突变来产生。示例性的第二种抗原包括促炎细胞因子(诸如淋巴毒素、干扰素 γ 或白介素1)。双重特异性抗体可以例如通过使抗原结合位点周围的氨基酸残基发生突变来产生(参见例如Bostrom等人,2009,Science323:1610-1614)。双重功能抗体可以通过表达经工程化以编码双重特异性抗体的核酸来制备。

[0975] 还可以通过化学合成来产生抗体(例如通过Solid Phase Peptide Synthesis,第2版,1984The Pierce Chemical Co.,Rockford,Ill.中描述的方法)。还可以使用无细胞平台来生成抗体(参见例如Chu等人,Biochemia第2期,2001(Roche Molecular Biologicals))。

[0976] Fc融合蛋白的重组表达方法描述于Flanagan等人,Methods in Molecular Biology,等378卷:Monoclonal Antibodies:Methods and Protocols中。

[0977] 一旦通过重组表达已产生抗体,即可以通过本领域中已知的用于纯化免疫球蛋白分子的任何方法进行纯化,例如通过色谱法(例如离子交换色谱法,亲和色谱法,特别是通过在蛋白A或蛋白G选择之后对抗原的亲和色谱法,和定径柱色谱法(sizing column chromatography))、离心、差异溶解度或通过任何其它用于纯化蛋白质的标准技术。

[0978] 一旦分离,即可以在必要时进一步纯化抗体,例如通过高效液相色谱法(参见例如Fisher,Laboratory Techniques In Biochemistry And Molecular Biology(Work和Burdon编,Elsevier,1980)),或通过SuperdexTM75柱(Pharmacia Biotech AB,Uppsala,Sweden)上的凝胶过滤色谱法。

[0979] 制备抗体的通用方法

[0980] 本领域中已知的各种程序可以用于产生针对给定靶标(诸如B7-H3、肿瘤相关抗原或其它靶标)或针对衍生物、片段、类似物、同源物或其直系同源物的多克隆或单克隆抗体。(参见例如Antibodies:A Laboratory Manual,Harlow E和Lane D,1988,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,NY,通过引用并入本文)。

[0981] 可以通过众所周知的技术来纯化抗体,诸如使用蛋白A或蛋白G的亲和色谱法,其

主要提供免疫血清的IgG级分。随后或替代地,可以将作为所寻求的免疫球蛋白的靶标的特异性抗原或其表位固定在柱上以通过免疫亲和色谱法来纯化免疫特异性抗体。免疫球蛋白的纯化例如由D.Wilkinson(*The Scientist*,The Scientist,Inc.出版,Philadelphia PA,第14卷,第8期(2000年4月17日),第25-28页)论述。

[0982] 在一些实施方案中,可以用于本文所公开的实施方案中的抗体是单克隆抗体。举例来说,通过使用本文所提供的实施方案中阐述的程序来生成单克隆抗体。还可以例如通过用在其表面上表达高水平的给定靶标的细胞转染子的组合对BALB/c小鼠进行免疫来生成抗体。然后筛选由骨髓瘤/B细胞融合产生的杂交瘤对所选靶标的反应性。

[0983] 举例来说,使用杂交瘤方法,诸如由Kohler和Milstein,*Nature*,256:495(1975)描述的那些方法来制备单克隆抗体。在杂交瘤方法中,通常用免疫剂对小鼠、仓鼠或其它适当宿主动物进行免疫以引发淋巴细胞产生或能够产生将特异性结合至免疫剂的抗体。或者,可以在体外使淋巴细胞免疫。

[0984] 免疫剂将通常包括蛋白抗原、其片段或其融合蛋白。一般来说,如果需要人类来源的细胞,则使用外周血淋巴细胞,或者如果需要非人类哺乳动物来源,则使用脾细胞或淋巴结细胞。然后使用适合的融合剂(诸如聚乙二醇)将淋巴细胞与永生化细胞系融合以形成杂交瘤细胞(Goding,*Monoclonal Antibodies:Principles and Practice*,Academic Press,(1986)第59-103页)。永生化细胞系通常是转化的哺乳动物细胞,特别是啮齿动物、牛和人类来源的骨髓瘤细胞。通常,采用大鼠或小鼠骨髓瘤细胞系。杂交瘤细胞可以在适合的培养基中培养,所述培养基优选地含有一种或更多种抑制未融合的永生化细胞生长或存活物质。举例来说,如果亲本细胞缺乏次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转移酶(HGPRT或HPRT),则杂交瘤的培养基通常将包含次黄嘌呤、氨基蝶呤和胸苷(“HAT培养基”),这些物质会阻止HGPRT缺乏细胞的生长。

[0985] 优选的永生化细胞系是能够有效融合,支持所选抗体产生细胞稳定地高水平表达抗体,并且对培养基(诸如HAT培养基)敏感的那些细胞系。更优选的永生化细胞系是鼠类骨髓瘤系,其可以例如从索尔克研究所细胞分配中心(Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, California)和美国菌种保藏中心(American Type Culture Collection, Manassas, Virginia)获得。人骨髓瘤和小鼠-人异源骨髓瘤细胞系也已被描述用于产生单克隆抗体。(参见Kozbor, *J. Immunol.*, 133:3001(1984); Brodeur等人, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, Marcel Dekker, Inc., New York, (1987)第51-63页)。

[0986] 然后可以测定其中培养杂交瘤细胞的培养基中针对抗原的单克隆抗体的存在。优选地,由杂交瘤细胞产生的单克隆抗体的结合特异性是通过免疫沉淀或通过体外结合测定法,诸如放射免疫测定法(RIA)或酶联免疫吸附测定法(ELISA)来确定。此类技术和测定法是本领域中已知的。单克隆抗体的结合亲和力可以例如通过Munson和Pollard, *Anal. Biochem.*, 107:220(1980)的斯卡查德分析(Scatchard analysis)来确定。此外,在单克隆抗体的治疗应用中,重要的是鉴定对靶抗原具有高度特异性和高结合亲和力的抗体。

[0987] 鉴定出所需的杂交瘤细胞后,可以通过有限稀释程序对克隆体进行亚克隆,并且通过标准方法生长。(参见Goding,*Monoclonal Antibodies:Principles and Practice*, Academic Press, (1986)第59-103页)。适用于此目的的培养基包括例如杜尔贝科改良伊格

尔培养基(Dulbecco's Modified Eagle's Medium)和RPMI-1640培养基。或者,杂交瘤细胞可以作为哺乳动物的腹水在体内生长。

[0988] 可以通过常规免疫球蛋白纯化程序,诸如蛋白A-琼脂糖、羟基磷灰石色谱法、凝胶电泳、透析或亲和色谱法,从培养基或腹水中分离或纯化由亚克隆体分泌的单克隆抗体。

[0989] 单克隆抗体也可以通过重组DNA方法制备,诸如美国专利号4,816,567中描述的那些方法。编码单克隆抗体的DNA可以被容易地分离并且使用常规程序(例如通过使用能够特异性结合至编码鼠类抗体的重链和轻链的基因的寡核苷酸探针)进行测序。杂交瘤细胞充当此种DNA的优选来源。一旦分离,即可以将DNA置于表达载体中,然后将所述表达载体转染至宿主细胞,诸如猿猴COS细胞、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或不另外生成免疫球蛋白的骨髓瘤细胞中,以在重组宿主细胞中合成单克隆抗体。还可以例如通过用人类重链和轻链恒定结构域的编码序列取代同源鼠类序列(参见美国专利号4,816,567;Morrison,Nature 368, 812-13(1994))或通过将非免疫球蛋白多肽的全部或部分编码序列共价连接至免疫球蛋白编码序列来修饰DNA。此种非免疫球蛋白多肽可以取代抗体的恒定结构域,或者可以取代抗体的一个抗原组合位点的可变结构域以产生嵌合二价抗体。

[0990] 可以用于本文所公开的实施方案中的单克隆抗体包括人源化抗体或人类抗体。这些抗体适合施用于人类而不引起人类针对所施用的免疫球蛋白的免疫反应。抗体的人源化形式是主要由人类免疫球蛋白的序列组成的嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白链或其片段(诸如Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂或抗体的其它抗原结合子序列),并且含有来源于非人类免疫球蛋白的最小序列。举例来说,通过遵循Winter和同事的方法(Jones等人,Nature,321:522-525(1986);Riechmann等人,Nature,332:323-327(1988);Verhoeyen等人,Science,239:1534-1536(1988)),通过用啮齿动物CDR或CDR序列取代人类抗体的相应序列进行人源化。(还参见美国专利号5,225,539)。在一些情况下,人类免疫球蛋白的Fv框架残基由相应非人类残基置换。人源化抗体还包含例如既不在受体抗体中也不在导入的CDR或框架序列中发现的残基。一般来说,人源化抗体包括基本上全部的至少一个且通常两个可变结构域,其中全部或基本上全部的CDR区对应于非人类免疫球蛋白的那些CDR区并且全部或基本上全部的框架区是人类免疫球蛋白共有序列的那些框架区。人源化抗体最佳地还包括免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分,通常是人类免疫球蛋白的免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分(Jones等人,1986;Riechmann等人,1988;和Presta,Curr.Op.Struct.Biol.,2:593-596(1992))。

[0991] 完全人类抗体是其中轻链和重链的整个序列(包括CDR)源自人类基因的抗体分子。此类抗体在本文中被称为“人类抗体”或“完全人类抗体”。单克隆抗体可以通过使用三源杂交瘤技术;人类B细胞杂交瘤技术(参见Kozbor等人,1983Immunol Today 4:72);以及产生单克隆抗体的EBV杂交瘤技术(参见Cole等人,1985Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy,Alan R.Liss,Inc.,第77-96页)来制备。可以利用单克隆抗体并且可以通过使用人类杂交瘤(参见Cote等人,1983.Proc Natl Acad Sci USA 80:2026-2030)或在体外用爱泼斯坦巴尔病毒(Epstein Barr Virus)转化人类B细胞(参见Cole等人,1985Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy,Alan R.Liss,Inc.,第77-96页)来产生。

[0992] 另外,还可以使用额外技术来产生人类抗体,包括噬菌体展示文库。(参见

Hoogenboom和Winter, *J. Mol. Biol.*, 227:381 (1991); Marks等人, *J. Mol. Biol.*, 222:581 (1991)。类似地,可以通过将人类免疫球蛋白基因座引入转基因动物,例如其中内源免疫球蛋白基因已部分或完全灭活的小鼠中来制备人类抗体。攻击后,观察到人类抗体的产生,这在包括基因重排、组装和抗体谱的所有方面都与人类中观察到的抗体非常类似。这种方法描述于例如以下文献中:美国专利号5,545,807;5,545,806;5,569,825;5,625,126;5,633,425;5,661,016;和Marks等人, *Bio/Technology* 10,779-783 (1992); Lonberg等人, *Nature* 368 856-859 (1994); Morrison, *Nature* 368,812-13 (1994); Fishwild等人, *Nature Biotechnology* 14,845-51 (1996); Neuberger, *Nature Biotechnology* 14,826 (1996); 以及Lonberg和Huszar, *Intern. Rev. Immunol.* 13 65-93 (1995)。

[0993] 另外,可以使用转基因非人类动物来产生人类抗体,这些动物被修饰以产生完全人类抗体,而不是动物对抗原攻击作出反应产生的内源性抗体。(参见PCT公布W094/02602)。非人类宿主中编码重链和轻链免疫球蛋白的内源基因已失能,并且编码人类重链和轻链免疫球蛋白的活性基因座被插入宿主的基因组中。举例来说,使用含有必需的人类DNA区段的酵母人工染色体来掺入人类基因。然后,通过杂交含有少于修饰的完整补体的中间转基因动物来获得提供所有所需修饰的动物作为后代。此种非人类动物的实例是称为XenomouseTM的小鼠,如PCT公布W0 96/33735和W0 96/34096中所公开。这种动物产生的B细胞分泌完全人类免疫球蛋白。抗体可以从在用所关注的免疫原免疫后的动物直接获得,例如作为多克隆抗体的制剂,或者从来源于动物的永生B细胞,诸如产生单克隆抗体的杂交瘤获得。另外,可以回收并表达编码具有人类可变区的免疫球蛋白的基因以直接获得抗体,或者可以进一步修饰以获得抗体的类似物,诸如单链Fv(scFv)分子。

[0994] 产生缺乏内源免疫球蛋白重链表达的非人类宿主(以小鼠为例)的方法的实例公开于美国专利号5,939,598中。非人类宿主可以通过如下方法获得,所述方法包括使J区段基因从胚胎干细胞中的至少一个内源重链基因座缺失以防止所述基因座的重排并防止重排的免疫球蛋白重链基因座的转录物形成,所述缺失是通过含有编码选择性标志物的基因的靶向载体来实现;以及从胚胎干细胞产生转基因小鼠,其体细胞和生殖细胞含有编码选择性标志物的基因。

[0995] 一种用于产生所关注的抗体(诸如人类抗体)的方法公开于美国专利号5,916,771中。这种方法包括将含有编码重链的核苷酸序列的表达载体引入培养的一个哺乳动物宿主细胞中,将含有编码轻链的核苷酸序列的表达载体引入另一哺乳动物宿主细胞中,以及融合两个细胞以形成杂交细胞。杂交细胞表达含有重链和轻链的抗体。

[0996] 在这种程序的进一步改进中,用于鉴定免疫原上的临床相关表位的方法和用于选择以高亲和力特异性结合至相关表位的抗体的相关方法公开于美国公布U.S. 2003/009212中。

[0997] 抗体可以通过含有编码上文所描述的单链抗体的DNA区段的载体来表达。

[0998] 这些可以包括载体、脂质体、裸DNA、佐剂辅助DNA、基因枪、导管等。载体包括诸如W0 93/64701中描述的化学缀合物,其具有靶向部分(例如细胞表面受体的配体)和核酸结合部分(例如聚赖氨酸);病毒载体(例如DNA或RNA病毒载体);诸如美国专利号7,186,697中描述的融合蛋白,其为含有靶部分(例如对靶细胞具有特异性的抗体)和核酸结合部分(例如鱼精蛋白)的融合蛋白;质粒;噬菌体等。载体可以是染色体的、非染色体的或合成的。

[0999] 优选的载体包括病毒载体、融合蛋白和化学缀合物。逆转录病毒载体包括莫洛尼鼠白血病病毒。优选DNA病毒载体。这些载体包括痘载体,诸如正痘或禽痘载体;疱疹病毒载体,诸如I型单纯疱疹病毒(HSV)载体(参见Geller,A.I.等人,J.Neurochem,64:487(1995);Lim,F.等人,DNA Cloning:Mammalian Systems,D.Glover编(Oxford Univ.Press,Oxford England)(1995);Geller,A.I.等人,Proc Natl.Acad.Sci.:U.S.A.90:7603(1993);Geller,A.I.等人,Proc Natl.Acad.Sci USA 87:1149(1990);腺病毒载体(参见LeGal LaSalle等人,Science,259:988(1993);Davidson等人,Nat.Genet 3:219(1993);Yang等人,J.Virol.69:2004(1995);和腺相关病毒载体(参见Kaplitt,M.G.等人,Nat.Genet.8:148(1994))。

[1000] 痘病毒载体将基因引入细胞的细胞质中。禽痘病毒载体仅促成核酸的短期表达。腺病毒载体、腺相关病毒载体和单纯疱疹病毒(HSV)载体是将核酸引入神经细胞中优选的。腺病毒载体所促成的表达时间(约2个月)比腺相关病毒(约4个月)短,而腺相关病毒又比HSV载体短。选择的特定载体将取决于靶细胞和所治疗的疾患。引入可以通过标准技术进行,例如感染、转染、转导或转化。基因转移模式的实例包括例如裸DNA、CaPO₄沉淀、DEAE葡聚糖、电穿孔、原生质体融合、脂转染、细胞显微注射和病毒载体。

[1001] 所述载体可以用于靶向基本上任何所需的靶细胞。举例来说,可以使用立体定位注射将载体(例如腺病毒、HSV)引导至所需位置。另外,可以使用微型泵输注系统(诸如SynchroMed输注系统)通过脑室内(icv)输注来递送颗粒。一种基于整体流动的方法(称为对流)也已证明有效地将大分子递送至脑部的扩展区域,并且可用于将载体递送至靶细胞。(参见Bobo等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 91:2076-2080(1994);Morrison等人,Am.J.Physiol.266:292-305(1994))。可以使用的其它方法包括导管、静脉内、肠胃外、腹膜内和皮下注射,以及口服或其它适合的施用途径。

[1002] 双特异性抗体是对至少两种不同抗原具有结合特异性的抗体。在当前情况下,其中一种结合特异性是针对诸如B7-H3或其任何片段的靶标。第二结合靶标是任何其它抗原,并且有利地是细胞表面蛋白或受体或受体亚基。

[1003] 许多制备双特异性抗体的方法是本领域中已知的。传统上,双特异性抗体的重组产生是基于两个免疫球蛋白重链/轻链对的共表达,其中两条重链具有不同的特异性(Milstein和Cuello,Nature,305:537-539(1983))。由于免疫球蛋白重链和轻链的随机分类,这些杂交瘤(四源杂交瘤)产生十种不同抗体分子的潜在混合物,其中只有一种具有正确的双特异性结构。正确分子的纯化通常通过亲和色谱步骤来完成。类似的程序公开于1993年5月13日公布的WO 93/08829和Traunecker等人,EMBO J.,10:3655-3659(1991)中。

[1004] 可以用于本文所公开的实施方案中的双特异性和/或单价抗体可以使用多种本领域公认的技术中的任一者来制备,包括2011年8月16日提交的申请WO 2012/023053中公开的那些技术,所述申请的内容特此通过引用整体并入。WO 2012/023053中描述的方法生成结构与人类免疫球蛋白相同的双特异性抗体。这种类型的分子由独特重链多肽的两个拷贝、与恒定κ结构域融合的第一轻链可变区和与恒定λ结构域融合的第二轻链可变区组成。每个组合位点展现出不同的抗原特异性,重链和轻链对此均有贡献。轻链可变区可以属于λ或κ家族,并且优选地分别与λ和κ恒定结构域融合。这是优选的,以避免非天然多肽连接的产生。然而,还有可能通过将κ轻链可变结构域与恒定λ结构域融合以获得第一特异性并且

将 λ 轻链可变结构域与恒定 κ 结构域融合以获得第二特异性来获得可以用于本文所公开的实施方案中的双特异性抗体。WO 2012/023053中描述的双特异性抗体被称为IgG $\kappa\lambda$ 抗体或“ $\kappa\lambda$ 体”，一种新的完全人类双特异性IgG形式。这种 $\kappa\lambda$ 体形式允许亲和纯化与具有与标准单克隆抗体无法区分的特征的标准IgG分子无法区分的双特异性抗体，并且因此与先前的形式相比更有利。

[1005] 所述方法的一个必要步骤是鉴定具有不同抗原特异性并且共享相同重链可变结构域的两个抗体Fv区(每个由可变轻链和可变重链结构域组成)。已经描述了多种用于生成单克隆抗体及其片段的方法。(参见例如Antibodies: A Laboratory Manual, Harlow E和Lane D, 1988, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 通过引用并入本文)。完全人类抗体是其中轻链和重链的序列(包括CDR 1和2)源自人类基因的抗体分子。CDR3区可以是人类来源的或通过合成手段设计。此类抗体在本文中被称作“人类抗体”或“完全人类抗体”。人类单克隆抗体可以通过使用三源杂交瘤技术；人类B细胞杂交瘤技术(参见Kozbor等人, 1983 Immunol Today 4:72)；以及产生人类单克隆抗体的EBV杂交瘤技术(参见Cole等人, 1985 Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc., 第77-96页)来制备。可以利用人类单克隆抗体并且可以通过使用人类杂交瘤(参见Cote等人, 1983. Proc Natl Acad Sci USA 80:2026-2030)或通过在外用爱泼斯坦巴尔病毒转化人类B细胞(参见Cole等人, 1985 Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc., 第77-96页)来产生。

[1006] 单克隆抗体例如通过用靶抗原或其免疫原性片段、衍生物或变体对动物进行免疫而生成。或者，用含有编码靶抗原的核酸分子的载体转染的细胞对动物进行免疫，使得靶抗原被表达并与转染细胞的表面缔合。多种适用于产生异种非人类动物的技术是本领域中众所周知的。参见例如美国专利号6,075,181和6,150,584，其特此通过引用整体并入。

[1007] 或者，通过筛选含有与靶抗原结合的抗体或抗原结合结构域序列的文库来获得抗体。这种文库例如在噬菌体中作为与噬菌体外壳蛋白的蛋白质或肽融合体来制备，所述噬菌体外壳蛋白在组装的噬菌体颗粒的表面上表达，并且编码DNA序列包含在噬菌体颗粒内(即，“噬菌体展示文库”)。

[1008] 然后筛选由骨髓瘤/B细胞融合产生的杂交瘤对靶抗原的反应性。举例来说，使用杂交瘤方法，诸如由Kohler和Milstein, Nature, 256:495 (1975)描述的那些方法来制备单克隆抗体。在杂交瘤方法中，通常用免疫剂对小鼠、仓鼠或其它适当宿主动物进行免疫以引发淋巴细胞产生或能够产生将特异性结合至免疫剂的抗体。或者，可以在体外使淋巴细胞免疫。

[1009] 尽管并非完全不可能，但偶然鉴定具有相同重链可变结构域但针对不同抗原的不同抗体的可能性极小。事实上，在大多数情况下，重链对抗原结合表面有很大贡献，并且序列上的变化也最大。特别地，重链上的CDR3是在序列、长度和结构上最多样化的CDR。因此，对不同抗原具有特异性的两种抗体几乎总是携带不同的重链可变结构域。

[1010] 申请美国专利号9,926,382中公开的方法克服了这种限制，并且极大地促进了通过使用抗体文库来分离具有相同重链可变结构域的抗体，其中重链可变结构域对于所有文库成员都是相同的，并且因此多样性仅限于轻链可变结构域。此类文库描述于例如美国专利号8,921,281和申请WO 2011/084255中，其各自特此通过引用整体并入。然而，由于轻链

可变结构域与重链可变结构域联合表达,因此两个结构域均有助于抗原结合。为了进一步促进这个过程,可以并行使用含有相同重链可变结构域和多样化的 λ 可变轻链或 κ 可变轻链的抗体文库来体外选择针对不同抗原的抗体。这种方法能够鉴定具有共同重链的两种抗体,但一种携带 λ 轻链可变结构域并且另一种携带 κ 轻链可变结构域,这两种抗体可以用作生成完整免疫球蛋白形式的双特异性抗体的构建块。可以用于本文所公开的实施方案中的双特异性抗体可以具有不同的同种型,并且可以修饰它们的Fc部分以改变与不同Fc受体的结合特性,并且以这种方式改变抗体的效应功能及其药代动力学特性。已经描述了多种修饰Fc部分的方法,并且这些方法适用于可以在本文所公开的实施方案中使用的抗体。(参见例如Strohl,WR Curr Opin Biotechnol 2009(6):685-91;美国专利号6,528,624;2009年1月9日提交的PCT/US2009/0191199)。

[1011] 共同的重链和两条不同的轻链在单个细胞中共表达,以允许组装可以用于本文所公开的实施方案中的双特异性抗体。如果所有多肽都以相同水平表达并同样良好地组装以形成免疫球蛋白分子,则单特异性(相同轻链)和双特异性(两条不同轻链)的比率应为50%。然而,不同的轻链可能以不同的水平表达和/或不以相同的效率组装。因此,使用调节不同多肽的相对表达的手段来补偿它们的内在表达特征或与共同重链组装的不同倾向。这种调节可以经由启动子强度、使用具有不同效率的内部核糖体进入位点(IRES)或可以在转录或翻译水平上起作用以及作用于mRNA稳定性的其它类型的调控元件来实现。不同强度的不同启动子可以包括CMV(立即早期巨细胞病毒启动子);EF1-1 α (人类延伸因子1 α 亚基启动子);Ubc(人类泛素C启动子);SV40(猿猴病毒40启动子)。也已描述了哺乳动物和病毒来源的不同IRES。(参见例如Hellen CU和Sarnow P. Genes Dev 2001 15:1593-612)。这些IRES在长度和核糖体招募效率方面可能有很大差异。此外,有可能通过引入IRES的多个拷贝来进一步调节活性(Stephen等人2000 Proc Natl Acad Sci USA 97:1536-1541)。表达的调节还可以通过细胞的多次连续转染来实现,以增加表达一种或另一种轻链的单个基因的拷贝数并且因此改变它们的相对表达。本文所提供的实施例证明了控制不同链的相对表达对于最大化双特异性抗体的组装和总产量至关重要。

[1012] 重链和两条轻链的共表达在细胞培养物上清液中生成三种不同抗体的混合物:两种单特异性二价抗体和一种双特异性二价抗体。后者必须从混合物中纯化以获得所关注的分子。本文所描述的方法通过使用与 κ 或 λ 轻链恒定结构域特异性相互作用的亲和色谱介质,诸如CaptureSelect Fab κ 和CaptureSelect Fab λ 亲和基质(BAC BV, Holland)极大地促进了这个纯化过程。这种多步骤亲和色谱纯化方法是有效的并且一般适用于可以在本文所公开的实施方案中使用的抗体。这与必须针对来源于四源杂交瘤或其它表达抗体混合物的细胞系的每种双特异性抗体开发和优化的特定纯化方法形成鲜明对比。事实上,如果混合物中不同抗体的生物化学特征相似,则使用标准色谱技术(诸如离子交换色谱法)对它们进行分离可能具有挑战性或不可能的。

[1013] 其它适合的纯化方法包括US2013/0317200中公开的那些方法,其内容特此通过引用整体并入。

[1014] 在产生双特异性抗体的其它实施方案中,具有所需结合特异性的抗体可变结构域(抗体-抗原组合位点)可以与免疫球蛋白恒定结构域序列融合。优选与免疫球蛋白重链恒定结构域融合,所述免疫球蛋白重链恒定结构域包含铰链区、CH2和CH3区的至少一部分。优

选的是,在至少一个融合体中存在含有轻链结合所必需的位点的第一重链恒定区(CH1)。将编码免疫球蛋白重链融合体和(如果需要的话)免疫球蛋白轻链的DNA插入单独的表达载体中,并且共转染至适合的宿主生物体中。对于生成双特异性抗体的进一步细节,参见例如 Suresh等人, *Methods in Enzymology*, 121:210(1986)。

[1015] 根据W0 96/27011中描述的另一种方法,可以对一对抗体分子之间的界面进行工程化以使从重组细胞培养物中回收的异二聚体的百分比最大化。优选的界面包括抗体恒定结构域的CH3区的至少一部分。在这种方法中,来自第一抗体分子的界面的一个或更多个小氨基酸侧链被较大侧链(例如酪氨酸或色氨酸)置换。通过用较小氨基酸侧链(例如丙氨酸或苏氨酸)置换大氨基酸侧链,在第二抗体分子的界面处产生与一个或多个大侧链相同或相似尺寸的补偿“空腔”。这提供了一种提高异二聚体相对于其它不需要的最终产物(如同二聚体)的产量的机制。

[1016] 文献中已经描述了从抗体片段生成双特异性抗体的技术。举例来说,可以使用化学连接来制备双特异性抗体。所产生的双特异性抗体可以用作酶的选择性固定的剂。

[1017] 还已经描述了直接从重组细胞培养物中制备和分离双特异性抗体片段的各种技术。举例来说,已经使用亮氨酸拉链产生双特异性抗体。Kostelny等人, *J. Immunol.* 148(5): 1547-1553(1992)。来自Fos和Jun蛋白的亮氨酸拉链肽通过基因融合连接至两种不同抗体的Fab'部分。抗体同二聚体在铰链区被还原形成单体,然后再氧化形成抗体异二聚体。这种方法也可以用于产生抗体同二聚体。Hollinger等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448(1993)描述的“双抗体”技术提供了用于制备双特异性抗体片段的替代机制。所述片段包含通过接头连接至轻链可变结构域(V_L)的重链可变结构域(V_H),所述接头太短而不允许同一链上的两个结构域之间配对。因此,一个片段的 V_H 和 V_L 结构域被迫与另一个片段的互补 V_L 和 V_H 结构域配对,从而形成两个抗原结合位点。还已经报道了另一种通过使用单链Fv(sFv)二聚体制造双特异性抗体片段的策略。参见Gruber等人, *J. Immunol.* 152:5368(1994)。

[1018] 考虑具有两种以上价态的抗体。举例来说,可以制备三特异性抗体。Tutt等人, *J. Immunol.* 147:60(1991)。

[1019] 示例性双特异性抗体可以结合至两个不同表位,其中至少一者源于可以在本文所公开的实施方案中使用的蛋白抗原。或者,免疫球蛋白分子的抗抗原臂可以与结合至白细胞上的触发分子的臂组合,以将细胞防御机制集中于表达特定抗原的细胞,所述触发分子诸如T细胞受体分子(例如CD2、CD3、CD28或B7)或IgG的Fc受体(Fc γ R),诸如Fc γ RI(CD64)、Fc γ RII(CD32)和Fc γ RIII(CD16)。双特异性抗体也可以用于将细胞毒性剂引导至表达特定抗原的细胞。这些抗体具有抗原结合臂和结合细胞毒性剂或放射性核素螯合剂的臂,诸如EOTUBE、DPTA、DOTA或TETA。另一种所关注的双特异性抗体结合本文所描述的蛋白抗原并且进一步结合组织因子(TF)。

[1020] 异源缀合抗体也在本公开的范围内。异源缀合抗体由两个共价连接的抗体组成。举例来说,已经提出了此类抗体将免疫系统细胞靶向不需要的细胞(参见美国专利号4,676,980),以及用于治疗HIV感染(参见W0 91/00360;W0 92/200373;EP 03089)。预期可以使用合成蛋白质化学(包括涉及交联剂的那些)在体外制备抗体。举例来说,可以使用二硫键交换反应或通过形成硫醚键来构建免疫毒素。适用于这个目的的试剂的实例包括亚氨基

硫醇酯和甲基-4-巯基丁酰亚氨酸酯,以及例如美国专利号4,676,980中公开的那些。

[1021] 可能需要在效应功能方面修饰可以用于本文所公开的实施方案中的抗体,以增强例如抗体在治疗癌症和/或与异常B7-H3表达和/或活性相关的其它疾病和病症中的有效性。举例来说,可以将一个或多个半胱氨酸残基引入Fc区中,从而允许在这个区域中形成链间二硫键。由此生成的同二聚抗体可以具有改善的内化能力和/或增加的补体介导的细胞杀伤和抗体依赖性细胞毒性(ADCC)。(参见Caron等人,J.Exp Med.,176:1191-1195(1992)和Shopes,J.Immunol.,148:2918-2922(1992))。或者,可以对抗体进行工程化,以使其具有双重Fc区并且从而可以具有增强的补体溶解和ADCC能力。(参见Stevenson等人,Anti-Cancer Drug Design,3:219-230(1989))。

[1022] 缀合抗体

[1023] 本公开还关于缀合抗体,在本文中也称为免疫缀合物,其包含缀合至细胞毒性剂,诸如毒素(例如细菌、真菌、植物或动物来源的酶活性毒素,或其片段),或放射性同位素(即,放射性缀合物)的抗体或其抗原结合片段。

[1024] 在一些实施方案中,毒素是微管抑制剂或其衍生物。在一些实施方案中,毒素是多拉司他汀(dolastatin)或其衍生物。在一些实施方案中,毒素是澳瑞他汀E、澳瑞他汀F、AFP、MMAF、MMAE、MMAD、DMAF或DMAE。在一些实施方案中,毒素是美登木素生物碱(maytansinoid)或美登木素生物碱衍生物。在一些实施方案中,毒素是DM1或DM4。在一些实施方案中,毒素是核酸损伤毒素。在一些实施方案中,毒素是倍癌霉素或其衍生物。在一些实施方案中,毒素是卡奇霉素(calicheamicin)或其衍生物。在一些实施方案中,剂是吡咯并苯二氮平或其衍生物。在一些实施方案中,剂是依沙替康(exatecane)或其衍生物。在一些实施方案中,剂是鹅膏蕈碱或其衍生物。

[1025] 可以使用的酶活性毒素及其片段包括白喉A链、白喉毒素的非结合活性片段、外毒素A链(来自铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*))、蓖麻毒蛋白A链(ricin A chain)、相思豆毒蛋白A链(abrin A chain)、蒴莲根毒蛋白A链(modeccin A chain)、 α -八叠球菌素(alpha-sarcin)、油桐蛋白、石竹素蛋白、美洲商陆蛋白(PAPI、PAPII和PAP-S)、苦瓜抑制剂、麻疯树毒蛋白(curcin)、巴豆毒蛋白(crotin)、皂草抑制剂、白树毒蛋白(gelonin)、丝裂霉素(mitogellin)、局限曲菌素(restrictocin)、酚霉素(phenomycin)、伊诺霉素(enomycin)和单端孢霉烯(tricothecene)。多种放射性核素可用于产生放射性缀合抗体。实例包括 ^{212}Bi 、 ^{131}I 、 ^{131}In 、 ^{90}Y 和 ^{186}Re 。

[1026] 抗体和细胞毒性剂的缀合物可以使用多种双功能蛋白偶联剂来制备,诸如N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫醇)丙酸酯(SPDP)、亚氨基硫杂环戊烷(IT)、酰亚胺酯的双功能衍生物(诸如二甲基己二酰亚胺盐酸盐)、活性酯(诸如二琥珀酰亚胺基辛二酸酯)、醛(诸如戊二醛)、双叠氮化合物(诸如双(对叠氮苯甲酰基)己二胺)、双重氮衍生物(诸如双(对重氮苯甲酰基)-乙二胺)、二异氰酸酯(诸如甲苯2,6-二异氰酸酯)和双活性氟化合物(诸如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)。举例来说,可以如Vitetta等人,Science 238:1098(1987)中所描述来制备蓖麻毒蛋白免疫毒素。碳-14标记的1-异硫氰酰苯甲基-3-甲基二亚乙基三胺五乙酸(MX-DTPA)是用于将放射性核苷酸缀合至抗体的示例性螯合剂。(参见W094/11026)。

[1027] 本领域普通技术人员将认识到,可以将多种可能的部分偶联至可以用于本文所公开的实施方案中的所得抗体。(参见例如“Conjugate Vaccines”,Contributions to

Microbiology and Immunology, J.M. Cruse和R.E. Lewis, Jr (编), Carger Press, New York, (1989), 其全部内容通过引用并入本文)。

[1028] 只要抗体和另一部分保留各自的活性, 可以通过将两个分子结合的任何化学反应来实现偶联。这种连接可以包括许多化学机制, 例如共价结合、亲和结合、嵌入、配位结合和络合。然而, 优选的结合是共价结合。共价结合可以通过现有侧链的直接缩合或通过掺入外部桥接分子来达成。许多二价或多价连接剂可用于将蛋白质分子(诸如本公开的抗体)与其它分子偶联。举例来说, 代表性偶联剂可以包括有机化合物, 诸如硫酯、碳二亚胺、琥珀酰亚胺酯、二异氰酸酯、戊二醛、重氮苯和六亚甲基二胺。这个清单并非旨在穷举本领域中已知的各种类别的偶联剂, 而是较常见的偶联剂的示例。(参见Killen和Lindstrom, Jour. Immun. 133:1335-2549 (1984); Jansen等人, Immunological Reviews 62:185-216 (1982); 和Vitetta等人, Science 238:1098 (1987))。

[1029] 适合的接头描述于文献中。(参见例如Ramakrishnan, S.等人, Cancer Res. 44:201-208 (1984), 描述了MBS (M-马来酰亚胺基苯甲酰基-N-羟基琥珀酰亚胺酯)的用途)。还参见美国专利号5,030,719, 描述了通过寡肽接头与抗体偶联的卤化乙酰肼衍生物的用途。特别优选的接头包括: (i) EDC (1-乙基-3-(3-二甲氨基-丙基)碳二亚胺盐酸盐); (ii) SMPT (4-琥珀酰亚胺基氧羰基- α -甲基- α -(2-吡啶基-二硫代)-甲苯 (Pierce Chem. Co., 目录号(21558G)); (iii) SPDP (琥珀酰亚胺基-6-[3-(2-吡啶基二硫代)丙酰胺基]己酸酯 (Pierce Chem. Co., 目录号21651G)); (iv) 磺基-LC-SPDP (磺基琥珀酰亚胺基-6-[3-(2-吡啶基二硫代)-丙酰胺]己酸酯 (Pierce Chem. Co., 目录号2165-G)); 和(v) 缀合至EDC的磺基-NHS (N-羟基磺基-琥珀酰亚胺: Pierce Chem. Co., 目录号24510)。

[1030] 上文所描述的接头含有具有不同属性的组分, 由此使得缀合物具有不同的物理化学性质。举例来说, 烷基羧酸酯的磺基-NHS酯比芳香族羧酸酯的磺基-NHS酯更稳定。含有NHS酯的接头比磺基-NHS酯的溶解度更差。此外, 接头SMPT含有空间位阻的二硫键, 并且可以形成稳定性增强的缀合物。二硫键一般比其它键更不稳定, 因为二硫键在体外裂解, 导致可用的缀合物较少。特别地, 磺基-NHS可以增强碳二亚胺偶联的稳定性。碳二亚胺偶联(诸如EDC)与磺基-NHS联合使用时, 形成的酯比单独的碳二亚胺偶联反应更耐水解。

[1031] 本文所公开的抗体还可以配制为免疫脂质体。含有抗体的脂质体可以通过任何适合的方法来制备, 诸如Epstein等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82:3688 (1985); Hwang等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:4030 (1980); 以及美国专利号4,485,045和4,544,545中所描述。具有增强的循环时间的脂质体公开于美国专利号5,013,556中。

[1032] 特别有用的脂质体可以通过反相蒸发方法用包含磷脂酰胆碱、胆固醇和PEG衍生的磷脂酰乙醇胺 (PEG-PE) 的脂质组合物生成。将脂质体通过限定孔径的过滤器挤出, 以得到具有所需直径的脂质体。本公开的抗体的Fab'片段可以经由二硫键交换反应缀合至脂质体, 如Martin等人, J. Biol. Chem., 257:286-288 (1982) 中所描述。

[1033] 抗B7-H3抗体的用途

[1034] 将了解, 根据本公开的治疗实体的施用将与掺入制剂中的适合载体、赋形剂和其它剂一起施用, 以提供改善的转移、递送、耐受性等。大量适当的制剂可以在所有药物化学家已知的处方集中找到: Remington's Pharmaceutica l Sciences (第15版, Mack Publishing Company, Easton, PA (1975)), 特别是其中Blaug, Seymour的第87章。这些制剂

包括例如散剂、糊剂、软膏、果胶、蜡、油、脂质、含脂质(阳离子或阴离子)的囊泡(诸如 Lipofectin™)、DNA缀合物、无水吸收糊剂、水包油和油包水乳液、乳液碳蜡(各种分子量的聚乙二醇)、半固体凝胶和含碳蜡的半固体混合物。任何前述混合物可以适于根据本公开的治疗和疗法,前提条件是制剂中的活性成分不被制剂灭活并且制剂与施用途径生理相容并耐受。还参见Baldrick P.“Pharmaceutical excipient development:the need for preclinical guidance.”Regul.ToxicolPharmacol.32(2):210-8(2000),Wang W.“Lyophilization and development of solid protein pharmaceuticals.”Int.J.Pharm.203(1-2):1-60(2000),Charman WN“Lipids,lipophilic drugs,and oral drug delivery-some emerging concepts.”JPharm Sci.89(8):967-78(2000),Powell等人“Compendium of excipients for parenteral formulations”PDA J Pharm Sci Technol.52:238-311(1998)以及其中对与药物化学家熟知的制剂、赋形剂和载体相关的额外信息的引用。

[1035] 本公开的治疗制剂(包括本公开的缀合物)用于治疗或减轻与癌症相关的症状,作为非限制性实例,诸如白血病、淋巴瘤、乳腺癌、结肠癌、卵巢癌、膀胱癌、前列腺癌、神经胶质瘤、肺癌和支气管癌、结直肠癌、胰腺癌、食道癌、肝癌、尿膀胱癌、肾癌和肾盂癌、口腔癌和咽癌、子宫体癌和/或黑色素瘤。本公开还提供了治疗或减轻与癌症相关的症状的方法。治疗方案可以包括鉴定受试者,例如,使用例如标准方法鉴定罹患癌症(或有发展成癌症的风险)的人类患者。

[1036] 本公开的治疗制剂(包括识别B7-H3和任意的第二靶标的本公开的缀合物)可以用于治疗或减轻与自身免疫性疾病和/或炎性疾病相关的症状,所述疾病诸如B细胞介导的自身免疫性疾病和/或炎性疾病,作为非限制性实例,包括系统性红斑狼疮(SLE)、类风湿性关节炎(RA)、特发性血小板减少性紫癜(ITP)、瓦尔登斯特伦氏高丙种球蛋白血症、干燥综合征、多发性硬化症(MS)和/或狼疮性肾炎。

[1037] 治疗的效用可以与用于诊断或治疗特定免疫相关病症的任何适合的方法相关联来确定。免疫相关病症的一种或更多种症状的减轻指示缀合物具有临床益处。

[1038] 针对诸如B7-H3、肿瘤相关抗原或其它抗原的靶标的缀合物可以用于与这些靶标的定位和/或定量相关的方法中,例如用于测量适当生理样品内这些靶标的水平、用于诊断方法、用于蛋白质成像等。举例来说,含有抗体源性抗原结合结构域的对任何这些靶标或其衍生物、片段、类似物或同源物具有特异性的缀合物可以用作药理活性化合物(以下称为“治疗剂”)。

[1039] 本公开的缀合物可以用于使用标准技术,诸如免疫亲和、色谱法或免疫沉淀来分离特定靶标。本公开的缀合物可以在诊断上用于监测组织中的蛋白质水平,作为临床测试程序的一部分,例如以确定给定治疗方案的功效。可以通过将抗体与可检测物质偶联(即,物理连接)来有助于检测。可检测物质的实例包括各种酶、辅基、荧光材料、发光材料、生物发光材料和放射性材料。适合酶的实例包括辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶或乙酰胆碱酯酶;适合辅基复合物的实例包括链霉亲和素/生物素和亲和素/生物素;适合荧光材料的实例包括伞形酮、荧光素、异硫氰酸荧光素、罗丹明(rhodamine)、二氯三嗪基胺荧光素、丹磺酰氯或藻红蛋白(phycoerythrin);发光材料的实例包括鲁米诺(luminol);生物发光材料的实例包括荧光素酶、虫荧光素和水母素(aequorin);并且适合放射性材料的实

例包括¹²⁵I、¹³¹I、³⁵S或³H。

[1040] 本公开的缀合物可以用作治疗剂。此类剂一般将用于治疗或预防与受试者中给定靶标的异常表达或激活相关的疾病或病状。将缀合物制剂,优选对其靶抗原具有高特异性和高亲和力的缀合物制剂施用于受试者,并且一般将由于其与靶标的结合而具有作用。缀合物的施用可以消除或抑制或干扰靶标的信号传导功能。缀合物的施用可以消除或抑制或干扰靶标与其天然结合的内源配体的结合。

[1041] 本公开的缀合物的治疗有效量一般涉及达成治疗目标所需的量。如上文所指出,这可能是抗体与其靶抗原之间的结合相互作用,在某些情况下,其干扰靶标的功能和/或与抗体缀合的活性剂的作用。此外,需要施用的量将取决于抗体对其特异性抗原的结合亲和力/或活性剂的效力,并且还将取决于施用的抗体从其所施用的其它受试者的自由体积中耗尽的速率。作为非限制性实例,本公开的缀合物的治疗有效剂量的常用范围可以是约0.1mg/kg体重至约50mg/kg体重。常用给药频率可以在例如每天两次至每周一次的范围内。

[1042] 本公开的缀合物可以呈药物组合物的形式施用以治疗多种疾病和病症。制备此类组合物所涉及的原则和考虑因素以及组分选择的指南在例如以下文献中提供:Remington: The Science And Practice Of Pharmacy第19版(Alfonso R.Gennaro等人编)Mack Pub.Co.,Easton,Pa.:1995;Drug Absorption Enhancement:Concepts,Possibilities,Limitations,And Trends,Harwood Academic Publishers,Langhorne,Pa.,1994;和Peptide And Protein Drug Delivery(Advances In Parenteral Sciences,第4卷),1991,M.Dekker,New York。

[1043] 制剂还可以含有对正在治疗的特定适应症所必需的超过一种活性化合物,优选具有不会不利地相互影响的互补活性的那些。替代地或另外,组合物可以包含增强其功能的剂,诸如细胞毒性剂、细胞因子、化学治疗剂或生长抑制剂。此类分子适当地以有效达到预期目的的量组合存在。

[1044] 活性成分也可以包埋在例如通过凝聚技术或通过界面聚合制备的微胶囊(例如分别为羟甲基纤维素或明胶微胶囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊)中、包埋在胶体药物递送系统(例如脂质体、白蛋白微球、微乳液、纳米颗粒和纳米胶囊)中或包埋在巨乳液中。

[1045] 有待用于体内施用的制剂优选是无菌的。这易于通过经由无菌过滤膜过滤来实现。

[1046] 可以制备持续释放制剂。持续释放制剂的适合实例包括含有抗体的固体疏水性聚合物的半透性基质,所述基质呈成形制品的形式,例如膜或微胶囊。持续释放基质的实例包括聚酯、水凝胶(例如聚(甲基丙烯酸2-羟乙酯)或聚(乙烯醇))、聚丙交酯(美国专利号3,773,919)、L-谷氨酸和L-谷氨酸 γ -乙酯的共聚物、不可降解的乙烯-乙酸乙烯酯、可降解的乳酸-乙醇酸共聚物(诸如LUPRON DEPOTTM) (由乳酸-乙醇酸共聚物和醋酸亮丙瑞林(leuprolide acetate)组成的可注射微球)和聚-D-(-)-3-羟基丁酸。虽然诸如乙烯-乙酸乙烯酯和乳酸-乙醇酸的聚合物能够释放分子超过100天,但某些水凝胶释放蛋白质的时间较短。

[1047] 根据本公开的缀合物可以用作检测样品中给定靶标(或其蛋白质片段)的存在的剂。在一些实施方案中,缀合物含有可检测标记。抗体可以是多克隆的,或更优选单克隆的。可以使用完整抗体或其片段(例如F_{ab}、scFv或F_{(ab)₂})。术语“生物样品”旨在包括从受试者分

离的组织、细胞和生物流体,以及受试者体内存在的组织、细胞和流体。因此,术语“生物样品”的使用包括血液和血液的级分或组分,包括血清、血浆或淋巴液。也就是说,本公开的检测方法可以用于在体外以及体内检测生物样品中的分析物mRNA、蛋白质或基因组DNA。举例来说,用于检测分析物mRNA的体外技术包括北方杂交和原位杂交。用于检测分析物蛋白质的体外技术包括酶联免疫吸附测定(ELISA)、蛋白质印迹、免疫沉淀和免疫荧光。检测分析物基因组DNA的体外技术包括南方杂交。进行免疫测定的程序描述于例如以下文献中:“ELISA:Theory and Practice:Methods in Molecular Biology”,第42卷,J.R.Crowther(编)Human Press,Totowa,NJ,1995;“Immunoassay”,E.Diamandis和T.Christopoulos,Academic Press,Inc.,San Diego,CA,1996;和“Practice and Theory of Enzyme Immunoassays”,P.Tijssen,Elsevier Science Publishers,Amsterdam,1985。此外,用于检测分析物蛋白质的体内技术包括将标记的抗分析物缀合物引入受试者体内。举例来说,抗体可以用放射性标志物标记,所述放射性标志物在受试者中的存在和位置可以通过标准成像技术进行检测。

[1048] 药物组合物

[1049] 在某些方面,本文提供了药物组合物,所述药物组合物包含本公开的化合物、药物缀合物或靶向药物缀合物。

[1050] 抗体-药物缀合物可以用于将活性剂转移至受试者的靶细胞,以使用任何适合的制备组合物的方法治疗受试者。在一些方面,本公开涉及包含如本文所描述的抗体-药物缀合物的组合物(例如药物组合物)。

[1051] 本公开的组合物和方法可以用于治疗有需要的个体。在某些实施方案中,个体是哺乳动物,诸如人类或非人类哺乳动物。当施用于动物,诸如人类时,组合物或化合物优选以药物组合物形式施用,所述药物组合物包含例如本公开的化合物和药学上可接受的载体。药学上可接受的载体是本领域中众所周知的,并且包括例如水溶液,诸如水或生理缓冲盐水或其它溶剂或媒剂,诸如二醇、甘油、油(诸如橄榄油)或可注射的有机酯。在优选的实施方案中,当此类药物组合物施用于人类时,特别是用于侵入性施用途径(即,诸如规避通过上皮屏障的运输或扩散的注射或植入的途径)时,水溶液是无热原的或基本上无热原的。可以选择赋形剂,例如以实现剂的延迟释放或选择性靶向一种或更多种细胞、组织或器官。药物组合物可以呈剂量单位形式,诸如用于复原的冻干剂、散剂、溶液、注射剂等。

[1052] 药学上可接受的载体可以含有生理学上可接受的剂,所述剂例如起到稳定化合物(诸如本公开的化合物)、增加其溶解度或增加其吸收的作用。此类生理学上可接受的剂包括例如碳水化合物,诸如葡萄糖、蔗糖或葡聚糖;抗氧化剂,诸如抗坏血酸或谷胱甘肽;螯合剂;低分子量蛋白质或其它稳定剂或赋形剂。药学上可接受的载体(包括生理学上可接受的剂)的选择取决于例如组合物的施用途径。制剂或药物组合物可以是自乳化药物递送系统或自微乳化药物递送系统。药物组合物(制剂)也可以是脂质体或其它聚合物基质,其中可以掺入例如本公开的化合物。举例来说,包含磷脂或其它脂质的脂质体是无毒的、生理学上可接受的和可代谢的载体,这些载体制备和施用相对简单。

[1053] 本文采用短语“药学上可接受的”来指代在合理医学判断的范围内、适用于与人类和动物组织接触而无过量毒性、刺激、过敏反应或其它问题或并发症、与合理的效益/风险比相称的那些化合物、材料、组合物和/或剂型。

[1054] 药物组合物(制剂)可以通过多种施用途径中的任一者施用于受试者。举例来说,化合物可以简单地溶解或悬浮于无菌水中。适当的施用途径和适用于其的组合物的细节可以在例如美国专利号6,110,973、5,763,493、5,731,000、5,541,231、5,427,798、5,358,970和4,172,896以及其中引用的专利中找到。

[1055] 制剂可以方便地以单位剂型存在并且可以通过药学领域中任何适合的方法来制备。可以与载体材料组合产生单一剂型的活性成分的量将取决于所治疗的宿主、特定施用模式而变化。可以与载体材料组合产生单一剂型的活性成分的量一般是产生治疗作用的化合物的量。一般来说,在百分之百中,这种量将在约1%至约99%活性成分的范围,优选约5%至约70%,最优选约10%至约30%。

[1056] 制备这些制剂或组合物的方法包括使活性化合物,诸如本公开的化合物与载体和任选的一种或更多种辅助成分缔合的步骤。一般来说,通过将本公开的化合物与液体载体、或精细分开的固体载体、或两者均匀且密切地缔合,然后必要时使产物成形来制备制剂。

[1057] 如本文所用,短语“肠胃外施药”和“肠胃外施用”意指除了肠内施用和局部施用以外的通常通过注射进行的施用模式,并且包括但不限于静脉内、眼内(诸如玻璃体内)、肌内、动脉内、鞘内、囊内、眼眶内、心内、真皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内以及胸骨内注射和输注。适合于肠胃外施用的药物组合物包含一种或更多种活性化合物与一种或更多种药学上可接受的无菌等渗水性或非水性溶液、分散液、悬浮液或乳液,或可以在临用前复原成无菌可注射溶液或分散液的无菌散剂的组合,所述组合可以含有抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂、使制剂与预期接受者的血液等渗的溶质、或助悬剂或增稠剂。

[1058] 可以用于本公开的药物组合物中的适合的水性和非水性载体的实例包括水、乙醇、多元醇(诸如甘油、丙二醇、聚乙二醇等)和它们的适合混合物、植物油(诸如橄榄油)和可注射有机酯(诸如油酸乙酯)。举例来说,可以通过使用诸如卵磷脂的包衣材料,在分散液的情况下通过维持所需粒度,以及通过使用表面活性剂来维持适当流动性。

[1059] 这些组合物还可以含有佐剂,诸如防腐剂、润湿剂、乳化剂和分散剂。通过包含各种抗细菌剂和抗真菌剂,例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸等,可以确保防止微生物的作用。也可能期望在组合物中包含等渗剂,诸如糖、氯化钠等。另外,可以通过包含延迟吸收的剂,诸如单硬脂酸铝和明胶来实现可注射药物形式的延长吸收。

[1060] 在一些情况下,为了延长药物的作用,期望减缓药物从皮下或肌内注射的吸收。这可以通过使用水溶性差的结晶或无定形材料的液体悬浮液来实现。药物的吸收速率则取决于其溶解速率,溶解速率进而可以取决于晶体大小和晶形。或者,通过将药物溶解或悬浮于油媒剂中来完成肠胃外施用的药物形式的延迟吸收。

[1061] 通过在可生物降解聚合物,诸如聚丙交酯-聚乙交酯中形成主题化合物的微囊化基质来制备可注射贮库形式。取决于药物与聚合物的比率和所用特定聚合物的性质,可以控制药物释放速率。其它可生物降解聚合物的实例包括聚(原酸酯)和聚(酸酐)。也可以通过将药物包埋在与身体组织相容的脂质体或微乳液中来制备贮库可注射制剂。

[1062] 为了用于本公开的方法,可以本身或作为含有例如0.1%至99.5%(更优选0.5%至90%)的活性成分与药学上可接受的载体组合的药物组合物来提供活性化合物。

[1063] 引入的方法也可以由可再装填或可生物降解装置提供。关于药物(包括蛋白质生

物制药)的受控递送,近年来已经开发了各种持续释放聚合物装置并在体内进行了测试。包括可生物降解和不可降解的聚合物二者在内的多种生物相容性聚合物(包括水凝胶)可用于形成植入物,以在特定靶标部位持续释放化合物。

[1064] 药物组合物中活性成分的实际剂量水平可以变化,以便获得对于特定患者、组合物和施用模式有效达成所需治疗反应,而对患者无毒的活性成分的量。

[1065] 所选的剂量水平将取决于多种因素,包括采用的特定化合物或化合物的组合或其酯、盐或酰胺的活性;施用途径;施用时间;采用的一种或多种特定化合物的排泄速率;治疗的持续时间;与采用的一种或多种特定化合物组合使用的其它药物、化合物和/或材料;所治疗患者的年龄、性别、体重、疾患、一般健康状况先前病史;以及医学领域中众所周知的类似因素。

[1066] 具有本领域中的普通技艺的医师或兽医可以容易地判定和开具治疗有效量的所需药物组合物。举例来说,医师或兽医可以按低于为达成所需治疗作用所需水平的水平开始药物组合物或化合物剂量并且逐渐增加剂量,直至达成所需作用。“治疗有效量”意指足以引起所需治疗作用的化合物的浓度。一般应理解,化合物的有效量将根据受试者的体重、性别、年龄和病史而变化。影响有效量的其它因素可以包括但不限于患者疾患的严重程度、所治疗的病症、化合物的稳定性和(如果需要的话)与本公开的化合物一起施用的另一种类型的治疗剂。通过多次施用所述剂可以递送更大的总剂量。确定功效和剂量的许多方法是本领域技术人员已知的(Isselbacher等人(1996)Harrison's Principles of Internal Medicine第13版,1814-1882,通过引用并入本文)。

[1067] 一般来说,本公开的组合物和方法中使用的活性化合物的适合日剂量将是作为有效产生治疗作用的最低剂量的化合物的量。此种有效剂量一般将取决于上文所描述的因素。

[1068] 接受这种治疗的患者可以是任何有需要的动物,包括灵长类动物,特别是人类;和其它哺乳动物,诸如马、牛、猪、绵羊、猫和狗;家禽;以及一般的宠物。

[1069] 在某些实施方案中,本公开的化合物可以单独使用或与另一种类型的治疗剂联合施用。

[1070] 润湿剂、乳化剂和润滑剂(诸如月桂基硫酸钠和硬脂酸镁)以及着色剂、释放剂、包衣剂、甜味剂、调味剂和芳香剂、防腐剂和抗氧化剂也可以存在于组合物中。

[1071] 药学上可接受的抗氧化剂的实例包括:(1)水溶性抗氧化剂,诸如抗坏血酸、盐酸半胱氨酸、硫酸氢钠、焦亚硫酸钠、亚硫酸钠等;(2)油溶性抗氧化剂,诸如抗坏血酸棕榈酸酯、丁基化羟基茴香醚(BHA)、丁基化羟基甲苯(BHT)、卵磷脂、没食子酸丙酯、 α -生育酚等;和(3)金属螯合剂,诸如柠檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨糖醇、酒石酸、磷酸等。

[1072] 组合物可以按可注射形式制备成液体溶液或悬浮液。适合于注射的固体形式还可以制备成例如乳液,或用囊封在脂质体中的抗体-药物缀合物制备。抗体-药物缀合物可以与药学上可接受的载体组合,所述载体包括不诱导产生对接受所述载体的受试者有害的抗体的任何载体。适合的载体通常包括代谢缓慢的大型高分子,例如蛋白质、多糖、聚乳酸、聚乙醇酸、聚合氨基酸、氨基酸共聚物、脂质聚集体等。

[1073] 组合物还可以含有稀释剂,例如水、盐水、甘油和乙醇。辅助物质,例如润湿剂或乳化剂、pH缓冲物质等也可以存在于其中。组合物可以通过注射进行肠胃外施用,其中此种注

射可以是皮下注射或肌肉注射。在一些实施方案中,可以将组合物施用于肿瘤中。可以将组合物插入(例如注射)至肿瘤中。额外的制剂适合于其它施用形式,诸如栓剂或口服施用。口服组合物可以作为溶液、悬浮液、片剂、丸剂、胶囊或持续释放制剂施用。

[1074] 组合物可以依与剂量和制剂相容的方式施用。组合物优选包含治疗有效量的抗体-药物缀合物。剂量可以取决于待治疗的受试者、受试者的健康和身体状况、期望的保护程度和其它相关因素而变化。活性成分(例如抗体-药物缀合物)的确切量可以取决于医生的判断。举例来说,可以将治疗有效量的抗体-药物缀合物或含有其的组合物施用于罹患癌症或肿瘤的患者以治疗癌症或肿瘤。

[1075] 根据本公开的抗体-药物缀合物或含有其的组合物可以按其药学上可接受的盐的形式施用。在一些实施方案中,根据本发明的抗体-药物缀合物或含有其的组合物可以与药学上可接受的载体、药学上可接受的赋形剂和/或药学上可接受的添加剂一起施用。药学上可接受的盐、赋形剂和添加剂的有效量和类型可以使用标准方法测量(参见例如 Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, PA, 第18版, 1990)。

[1076] 在一些实施方案中,本公开涉及一种治疗受试者的癌症的方法,所述方法包括向所述受试者施用包含如本文所描述的抗体-药物缀合物的药物组合物。在优选的实施方案中,受试者是哺乳动物。举例来说,受试者可以选自啮齿动物、兔类动物、猫、犬、猪、绵羊、牛、马和灵长类动物。在某些优选的实施方案中,受试者是人类。

[1077] 本公开的缀合物(本文中也称为“活性化合物”)及其衍生物、片段、类似物和同源物可以掺入适合于施用的药物组合物中。此类组合物通常包含缀合物和药学上可接受的载体。如本文所用,术语“药学上可接受的载体”旨在包括与药物施用相容的任何和所有溶剂、分散介质、包衣、抗菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等。适合的载体描述于最新版本 Remington's Pharmaceutical Sciences 中,这是本领域中的标准参考文本,其通过引用并入本文。此类载体或稀释剂的优选实例包括但不限于水、盐水、林格氏溶液(ringer's solution)、右旋糖溶液和5%人血清白蛋白。还可以使用脂质体和非水性媒剂(诸如不挥发性油)。用于药学活性物质的此类介质和剂的用途是本领域中众所周知的。除非任何常规介质或剂与活性化合物不相容,否则预期将其用于组合物中。补充性活性化合物也可以掺入组合物中。

[1078] 本公开的药物组合物被配制为与其预期的施用途径相容。施用途径的实例包括肠胃外施用,例如静脉内、皮内和皮下施用。用于肠胃外、皮内或皮下施加的溶液或悬浮液可以包含以下组分:无菌稀释剂,诸如注射用水、盐水溶液、不挥发性油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其它合成溶剂;抗菌剂,诸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(EDTA);缓冲剂,诸如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐;以及用于调节张力的剂,诸如氯化钠或右旋糖。pH可以用酸或碱来调节,诸如盐酸或氢氧化钠。肠胃外制剂可以封装在由玻璃或塑料制成的安瓿、一次性注射器或多剂量小瓶中。

[1079] 适合于可注射用途的药物组合物包括无菌水溶液(在可溶于水的情况下)或分散液和用于临时制备无菌可注射溶液或分散液的无菌粉末。对于静脉内施用,适合的载体包括生理盐水、抑菌水、Cremophor EL™ (BASF, Parsippany, N.J.) 或磷酸盐缓冲盐水(PBS)。在所有情况下,组合物必须无菌并且应该是易于注射的流体。组合物必须在制备和储存条件

下稳定并且必须针对诸如细菌和真菌的微生物的污染作用而防腐。载体可以是溶剂或分散介质,所述溶剂或分散介质含有例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇和液体聚乙二醇等)和它们的适合混合物。举例来说,可以通过使用诸如卵磷脂的包衣,在分散液的情况下通过维持所需粒度,以及通过使用表面活性剂来维持适当流动性。可以通过各种抗细菌剂和抗真菌剂,例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、抗坏血酸、硫柳汞(thimerosal)等来防止微生物的作用。在许多情况下,将优选在组合物中包含等渗剂,例如糖、多元醇(诸如甘露糖醇、山梨糖醇)、氯化钠。可以通过在组合物中包含延迟吸收剂,例如单硬脂酸铝和明胶来延长可注射组合物的吸收。

[1080] 可以通过将所需量的活性化合物与一种上文所列举的成分或成分的组合掺入适当的溶剂中,按照需要,接着进行过滤灭菌来制备无菌可注射溶液。一般来说,通过将活性化合物掺入无菌媒剂中来制备分散液,所述媒剂含有基础分散介质和来自上文列举的那些的所需其它成分。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下,制备方法是真空干燥和冷冻干燥,所述方法从其先前无菌过滤的溶液中得到活性成分和任何额外期望的成分的粉末。

[1081] 在某些实施方案中,将活性化合物与将防止化合物从体内快速消除的载体一起制备,诸如受控释放制剂,包括植入物和微囊化递送系统。可以使用可生物降解、生物相容的聚合物,诸如乙烯乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、胶原、聚原酸酯和聚乳酸。制备此类制剂的方法对于本领域技术人员将显而易见。这些材料还可以从Alza Corporation和Nova Pharmaceuticals, Inc商业获得。脂质体悬浮液(包括具有针对病毒抗原的单克隆抗体的靶向受感染细胞的脂质体)也可以用作药学上可接受的载体。这些可以根据适合的方法制备,例如,如美国专利号4,522,811中所描述。

[1082] 为了施用方便和剂量均匀配制剂量单位形式的口服或肠胃外组合物是特别有利的。如本文所用,剂量单位形式是指适合作为用于待治疗的受试者的单一剂量的物理上离散单位;每个单位含有经计算以产生期望治疗作用的与所需药物载体缔合的预定量的活性化合物。本公开的剂量单位形式的规格由以下因素支配并且直接取决于以下因素:活性化合物的独特特征和有待达成的特定治疗作用,以及混配此种用于治疗个体的活性化合物的领域中的固有限制。

[1083] 药物组合物可以与施用说明书一起包括在容器、包装或分配器中。

[1084] 治疗方法

[1085] 本文所公开的化合物和缀合物可以用于诱导细胞凋亡的方法中。

[1086] 凋亡失调与多种疾病有关,包括例如自身免疫性疾病(例如系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、移植物抗宿主病、重症肌无力或干燥综合征)、慢性炎症疾患(例如牛皮癣、哮喘或克罗恩氏病(Crohn's disease))、过度增殖性疾病(例如乳腺癌、肺癌)、病毒感染(例如疱疹、乳头状瘤或HIV)以及其它疾患,诸如骨关节炎和动脉粥样硬化。本文所描述的化合物、缀合物和组合物可以用于治疗或改善这些疾病中的任一者。此类治疗一般涉及向罹患所述疾病的受试者施用足以提供治疗益处的量的本文所描述的化合物、缀合物或组合物。所施用的化合物、缀合物或组合物的抗体的特性将取决于所治疗的疾病-因此抗体应结合在抑制将有益的细胞类型中表达的细胞表面抗原。所达成的治疗益处还将取决于所治疗的特定疾病。在某些情况下,当作为单一疗法施用时,本文所公开的化合物和组合物可以治疗

或改善疾病本身或疾病的症状。在其它情况下,本文所公开的化合物和组合物可以是包括其它剂的总体治疗方案的一部分,所述其它剂与抑制剂或本文所公开的化合物和组合物一起治疗或改善所治疗的疾病或疾病的症状。对于本领域技术人员来说,可以与本文所公开的化合物和组合物辅助或一起施用的可用于治疗或改善特定疾病的剂是显而易见的。

[1087] 尽管在任何治疗方案中总是希望绝对治愈,但达成治愈并不需要提供治疗益处。治疗益处可以包括停止或减缓疾病的进展、使疾病消退但不治愈、和/或改善或减缓疾病症状的进展。与统计平均值相比存活期延长和/或生活质量改善也可以被视为治疗益处。

[1088] 一类涉及凋亡失调并且对全世界造成重大健康负担的特定疾病是癌症。在具体实施方案中,本文所公开的化合物和组合物可以用于治疗癌症。癌症可以是例如实体肿瘤或血液肿瘤。可以用本文所公开的化合物和组合物治疗的癌症包括但不限于膀胱癌、脑癌、乳腺癌、骨髓癌、宫颈癌、慢性淋巴细胞白血病、结直肠癌、食道癌、肝细胞癌、成淋巴细胞白血病、滤泡性淋巴瘤、T细胞或B细胞来源的淋巴恶性肿瘤、黑色素瘤、骨髓性白血病、骨髓瘤、口腔癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、慢性淋巴细胞白血病、骨髓瘤、前列腺癌、小细胞肺癌和脾癌。本文所公开的化合物和组合物在治疗癌症中可能特别有益,因为抗体可以用于特异性靶向肿瘤细胞,从而潜在地避免或改善可能与全身施用未缀合的抑制剂相关的不期望的副作用和/或毒性。一个实施方案关于一种治疗涉及内在凋亡失调的疾病的方法,所述方法包括向患有涉及凋亡失调的疾病的受试者施用有效提供治疗益处的量的本文所公开的化合物和组合物,其中本文所公开的化合物和组合物的配体结合其内在凋亡失调的细胞上的细胞表面受体。一个实施方案关于一种治疗癌症的方法,实施方法包括向患有癌症的受试者以有效提供治疗益处的量施用本文所公开的化合物和组合物,其中配体能够结合癌细胞表面上表达的细胞表面受体或肿瘤相关抗原。

[1089] 在致癌性癌症的背景下,治疗益处除了包括上文所讨论的作用之外,还可以具体包括停止或减缓肿瘤生长的进展、使肿瘤生长减退、根除一个或更多个肿瘤和/或与所治疗的癌症类型和阶段的统计平均值相比提高患者存活率。在一个实施方案中,所治疗的癌症是致癌性癌症。

[1090] 本文所公开的化合物和缀合物可以作为单一疗法施用以提供治疗益处,或者可以辅助其它化学治疗剂和/或放射疗法施用或与其它化学治疗剂和/或放射疗法一起施用。可以利用本文所公开的化合物和组合物作为辅助疗法的化学治疗剂可以是靶向的(例如ADC、蛋白激酶抑制剂等)或非靶向的(例如非特异性细胞毒性剂,诸如放射性核苷酸、烷基化剂和插入剂)。可以与本文所公开的化合物和组合物一起辅助施用的非靶向化学治疗剂包括但不限于甲氨蝶呤、紫杉醇、L-天冬酰胺酶、巯嘌呤、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(cisplatin)、卡铂(carboplatin)、丝裂霉素(mitomycin)、达卡巴嗪(dacarbazine)、丙卡巴嗪(procarbazine)、拓扑替康(topotecan)、氮芥、癌得星(Cytosan)、依托泊苷(etoposide)、5-氟尿嘧啶、BCNU、伊立替康(irinotecan)、喜树碱(camptothecin)、博来霉素、多柔比星(doxorubicin)、伊达比星(idarubicin)、柔红霉素(daunorubicin)、放线菌素D(dactinomycin)、普卡霉素(plicamycin)、米托蒽酮(mitoxantrone)、天冬酰胺酶、长春碱(vinblastine)、长春新碱(vincristine)、长春瑞滨(vinorelbine)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、卡奇霉素(calicheamicin)和多烯紫杉醇(docetaxel)。

[1091] 可能不能作为单一疗法有效治疗癌症的本文所公开的化合物和缀合物可以辅助其它化学治疗剂或放射疗法或与其它化学治疗剂或放射疗法一起施用以提供治疗益处。一个实施方案关于一种方法,其中以有效使肿瘤细胞对标准化学疗法和/或放射疗法敏感的量施用本文所公开的化合物或组合物。因此,在治疗癌症的背景下,“治疗益处”包括将本文所公开的化合物和组合物作为化学治疗剂和/或放射疗法的辅助或与化学治疗剂和/或放射疗法一起,施用于尚未开始此种疗法的患者或已出现但尚未表现出抗药迹象的患者,或施用于已开始表现出抗药迹象的患者,作为使肿瘤对化学疗法和/或放射疗法敏感的手段。

[1092] 在一些方面,本公开提供了药物组合物,所述药物组合物包含如本文所描述的抗体药物缀合物,任选地还包含治疗有效量的化学治疗剂。

[1093] 在某些方面,本文提供了治疗癌症的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用本公开的化合物、药物缀合物、靶向药物缀合物或药物组合物中的一者或更多者。

[1094] 在某些实施方案中,癌症选自白血病、淋巴瘤、乳腺癌、结肠癌、卵巢癌、膀胱癌、前列腺癌、神经胶质瘤、肺癌、支气管癌、结直肠癌、胰腺癌、食道癌、肝癌、尿膀胱癌、肾癌、肾盂癌、口腔癌、咽癌、子宫体癌或黑色素瘤。

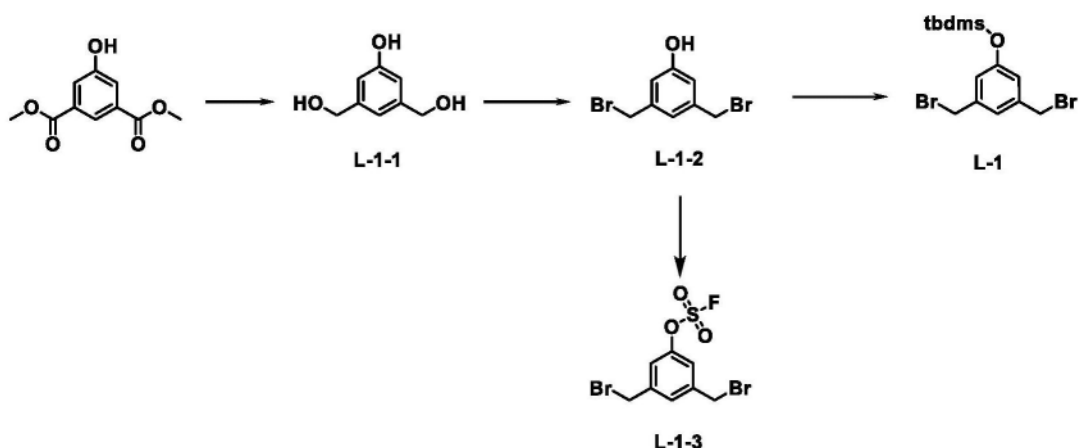
[1095] 在进一步的方面,本文提供了治疗自身免疫性疾病或炎性疾病的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用本公开的化合物、药物缀合物、靶向药物缀合物或药物组合物中的一者或更多者。

[1096] 在某些实施方案中,自身免疫性疾病或炎性疾病选自B细胞介导的自身免疫性疾病或炎性疾病,例如系统性红斑狼疮(SLE)、类风湿性关节炎(RA)、特发性血小板减少性紫癜(ITP)、瓦尔登斯特伦氏高丙种球蛋白血症、干燥综合征、多发性硬化症(MS)或狼疮性肾炎。

[1097] 在下文中,将通过实施例详细描述本公开的配置,但以下实施例仅用于帮助理解本公开。本公开的范围不限于此。此外,除非另有具体描述,否则本说明书中描述的试剂、溶剂和起始材料可以容易地从商业供应商获得。

[1098] 实施例

[1099] 实施例1:化合物L-1的制备



[1100]

[1101] 化合物L-1-1的制备

[1102] 在 -78°C 下于 N_2 气氛下向5-羟基间苯二甲酸二甲酯(5g, 23.79mmol)于无水THF(300mL)中的溶液中逐滴添加LAH(3.6g, 95.15mmol)。在室温下搅拌反应混合物17小时。反

应完成后,添加15% NaOH溶液(4mL)、H₂O(8mL)和EA(100mL),然后搅拌反应混合物1小时。过滤混合物并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物L-1-1(3.02g, 82%)。

[1103] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ9.21(s, 1H), 6.66(s, 1H), 6.58(s, 2H), 5.07(t, J=6.0Hz, 2H), 4.38(d, J=4.6Hz, 4H)

[1104] 化合物L-1-2的制备

[1105] 在N₂气氛下将化合物L-1-1(2g, 12.97mmol)溶解于HBr(5.0mL, 33%, 于AcOH)中。在60℃下搅拌18小时后,通过添加NaHCO₃溶液(pH约8)淬灭反应物。然后将蒸馏水(50mL)和EA(100mL×2)添加至反应混合物中。经无水Na₂SO₄干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物L-1-2(2.9g, 80%)。

[1106] ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ6.99(s, 1H), 6.81(s, 2H), 4.85(s, 1H), 4.41(s, 2H)。

[1107] 化合物L-1-3的制备

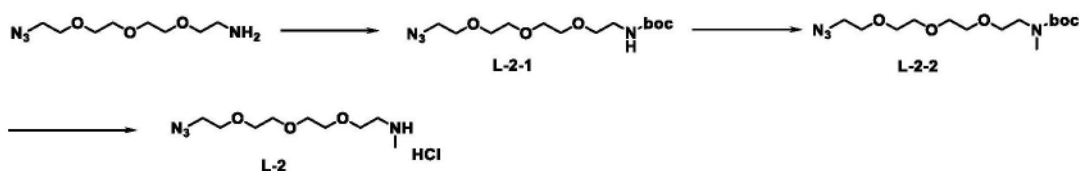
[1108] 在室温下于N₂气氛下向化合物L-1-2(1.0g, 3.57mmol)于DCM(35mL)中的溶液中添加TEA(0.45mL, 3.21mmol)。经由气球引入SO₂F₂气体,并且在室温下搅拌混合物1小时。然后用DCM(50mL)洗涤混合物并且添加水(30mL)。用NaHCO₃水溶液洗涤有机层,经无水Na₂SO₄干燥,过滤,并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物L-5(941.7mg, 73%)。

[1109] 化合物L-1的制备

[1110] 在室温下于N₂气氛下向化合物L-1-2(100mg, 0.36mmol)于无水DCM(3mL)中的溶液中添加咪唑(27mg, 0.39mmol)和TBDMSCl(59mg, 0.39mmol)。搅拌16小时后,将蒸馏水(50mL)和EA(100mL)添加至反应混合物中。经无水Na₂SO₄干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物L-1(110mg, 79%)。

[1111] ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ7.00(s, 1H), 6.80(s, 2H), 4.41(s, 4H), 0.99(s, 9H), 0.21

[1112] 实施例2:化合物L-2的制备



[1113]

[1114] 化合物L-2-1的制备

[1115] 在室温下于N₂气氛下用NaHCO₃(3.8g, 45.8mmol, 2.0当量)和BOC₂O(6.0g, 27.5mmol, 1.2当量)处理11-叠氨基-3,6,9-三氧杂十一烷-1-胺(Aldrich, CAS134179-38-7, 5.0g, 22.9mmol)于1,4-二噁烷(100mL)和H₂O(25mL)中的均质溶液,然后搅拌6小时。用水(50mL)淬灭反应物并且用DCM(100mL×3)萃取。经无水Na₂SO₄干燥有机层,过滤,并且在减压下浓缩。通过柱色谱法(1%至3% MeOH/DCM)纯化残余物,获得呈无色油状的化合物L-2-1(7.2g, 99%)。

[1116] ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ5.03(brs, 1H), 3.72-3.60(m, 10H), 3.98-3.52(m, 1H), 3.43-3.36(m, 1H), 3.35-3.24(m, 1H), 1.26(s, 9H)。

[1117] EI-MS m/z: 319(M⁺+1)。

[1118] 化合物L-2-2的制备

[1119] 在0℃下于N₂气氛下向化合物L-8(2g, 6.282mmol)于DMF(25mL)中的溶液中添加氢

化钠(301mg, 12.56mmol, 60%)。10分钟后,在相同温度下于 N_2 气氛下添加碘甲烷(3.9mL, 62.82mmol)。在室温下于 N_2 气氛下搅拌反应物3小时。反应完成后,用2N HCl(10mL)淬灭反应混合物并且用EA(500mL \times 3)萃取。经 Na_2SO_4 干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。产生呈黄色油状的化合物L-2-2(3.3g, 定量),其未经进一步纯化即使用。

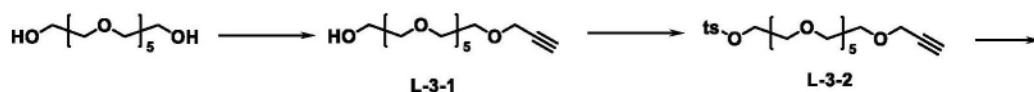
[1120] 1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 3.70-3.62(m, 12H), 3.4(t, $J=5.2$ Hz, 4H), 2.91(s, 3H), 1.46(s, 9H)。

[1121] 化合物L-2的制备

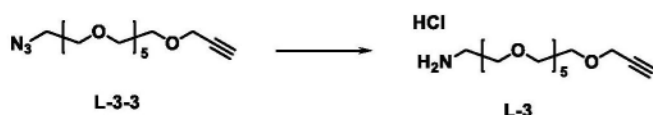
[1122] 在 $0^\circ C$ 下于 N_2 气氛下向化合物L-2-2(3.3g, 6.282mmol)于 CH_2Cl_2 (70mL)中的溶液中添加含4N HCl的二噁烷(25mL)。在 $0^\circ C$ 下于 N_2 气氛下搅拌反应物1小时。反应完成后,在减压下浓缩反应混合物。产生呈黄色油状的化合物L-2(1.8g, 100%),其未经进一步纯化即使用。

[1123] 1H NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 3.92(t, $J=4.8$ Hz, 2H), 3.73-3.69(m, 10H), 3.45(t, $J=5.2$ Hz, 2H), 3.22-3.16(m, 2H), 2.77(t, $J=5.6$ Hz, 3H), 2.35(brs, 1H)。

[1124] 实施例3:化合物L-3的制备



[1125]



[1126] 化合物L-3-1的制备

[1127] 在 $0^\circ C$ 下于 N_2 气氛下用1M *t*-BuOK(9.4mL, 4.9mmol)、炔丙基溴(1.0mL, 9.4mmol)处理六乙二醇(5.0g, 18.0mmol)于无水THF(20mL)中的溶液。使反应混合物升温至室温并且搅拌过夜。用EA(50mL \times 2)、 H_2O (20mL)萃取混合物。经 Na_2SO_4 干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过色谱法纯化残余物,获得化合物L-3-1(2.4g, 80%)。

[1128] 1H NMR(400Hz, $CDCl_3$) δ 4.21(s, 2H), 3.7-3.6(m, 24H), 3.05(brs, 1H), 2.43(s, 1H)。

[1129] 化合物L-3-2的制备

[1130] 在室温下于 N_2 气氛下用TEA(4.78mL, 34.32mmol, 2.6当量)、*p*Ts-Cl(5.03g, 26.40mmol, 2.0当量)处理化合物L-3-1(4.23g, 13.2mmol)于无水DCM(45mL)中的澄清溶液并且搅拌过夜。用水(50mL)稀释反应物并且用DCM(100mL \times 2)萃取。经无水 Na_2SO_4 干燥所获得的有机层,过滤,并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得呈无色油状的化合物L-3-2(6.09g, 97%)。

[1131] 1H NMR(400Hz, $CDCl_3$) δ 7.80(d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.35(d, $J=8.8$ Hz, 2H), 4.22-4.20(m, $J=$, 2H), 4.16(t, $J=4.8$ Hz, 2H), 3.93-3.58(m, 22H), 2.45(s, 3H); EI-MS m/z : 475(M^+ + 1)。

[1132] 化合物L-3-3的制备

[1133] 在室温下于 N_2 气氛下用 NaN_3 (1.25mg, 19.25mmol, 1.5当量)处理化合物L-3-2(6.09g, 12.83mmol)于DMF(45mL)中的澄清溶液并且搅拌过夜。用水(50mL)稀释反应物并且用DCM(100mL \times 3)萃取。经无水 Na_2SO_4 干燥所获得的有机层,过滤,并且在减压下浓缩。通过

柱色谱法(HeX:EA=1:4)纯化残余物,获得呈微黄色油状的化合物L-3-3(3.52g,79%)。

[1134] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 4.23-4.22(m, 2H), 3.80-3.62(m, 22H), 3.44-3.38(m, 2H), 2.46-2.42(m, 1H)

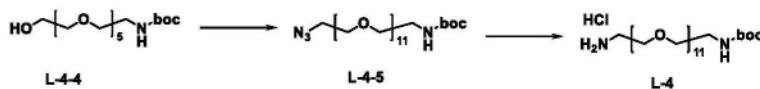
[1135] 化合物L-3的制备

[1136] 在0℃下于 N_2 气氛下用5% HCl溶液(48mL)、三苯基膦(3.47g, 13.25mmol)处理化合物L-3-3(3.52g, 10.19mmol)于EA(24mL)、乙醚(24mL)中的澄清溶液并且搅拌过夜。用 H_2O (30mL)稀释混合物。用DCM(100mL×3)萃取水层。在高真空下浓缩水相,获得化合物L-3(2.73g, 75%); EI-MS m/z : 320(M^+ 1)。

[1137] 实施例4:化合物L-4的制备



[1138]



[1139] 化合物L-4-1的制备

[1140] 在室温下于 N_2 气氛下用KI(294mg, 1.77mmol)、 Ag_2O (4.92g, 19.48mmol)、p-TsCl(3.7g, 19.48mmol)处理六乙二醇(5.0g, 17.71mmol)于无水DCM(178mL)中的溶液并且搅拌过夜。经CELITE®过滤反应混合物,并且用DCM(100mL)洗涤CELITE®塞。在减压下浓缩滤液。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物L-4-1(5.98g, 73%)。

[1141] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 7.80(d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.35(d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 4.16(t, $J=4.8\text{Hz}$, 2H), 3.71-3.58(m, 22H), 2.88(br, 1H), 2.45(s, 3H)。

[1142] 化合物L-4-2的制备

[1143] 在室温下于 N_2 气氛下用 NaN_3 (1.34g, 20.55mmol)处理化合物L-4-1(5.98g, 13.7mmol)于DMF(30mL)中的溶液处理并且在110℃下搅拌1小时。在减压下浓缩反应混合物。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物L-4-2(4.1g, 97%)。

[1144] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 3.72-3.60(m, 22H), 3.39(t, $J=4.8\text{Hz}$, 2H), 2.78(br, 1H)。

[1145] 化合物L-4-3的制备

[1146] 在室温下于 N_2 气氛下用三乙胺(2.0mL, 14.22mmol)、p-TsCl(2.4g, 12.36mmol)处理化合物L-4-2(1.9g, 6.18mmol)于DCM(20mL)中的溶液并且搅拌过夜。在减压下浓缩反应混合物。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物L-4-3(2.58g, 91%)。

[1147] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 7.80(d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.35(d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 4.16(t, $J=4.8\text{Hz}$, 2H), 3.70-3.61(m, 16H), 3.56(s, 1H), 3.39(t, $J=4.8\text{Hz}$, 2H), 2.45(s, 3H)。

[1148] EI-MS m/z : 462(M^+ 1)。

[1149] 化合物L-4-4的制备

[1150] 在室温下于 H_2 气氛下用5% Pd/C(1.04g, 0.49mmol)处理化合物L-4-2(1.0g, 3.25mmol)于EtOH(5mL)中的溶液并且搅拌4小时。经CELITE®过滤混合物以去除Pd/C,并且在减压下浓缩。将残余物溶解于DCM(25mL)中。添加 BOC_2O (852.1mg, 3.9mmol)并且在室温下搅拌所得混合物3小时。在减压下浓缩混合物。通过柱色谱法纯化残余物,产生化合物L-4-4

(330mg, 28%)。

[1151] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 5.19 (brs, 1H), 3.73 (t, $J=4.8\text{Hz}$, 2H), 3.67 (s, 12H), 3.63-3.60 (m, 6H), 3.54 (t, $J=5.2\text{Hz}$, 2H), 3.34-3.27 (m, 1H), 1.44 (s, 9H)。

[1152] EI-MS m/z : 382 (M^+)。

[1153] 化合物L-4-5的制备

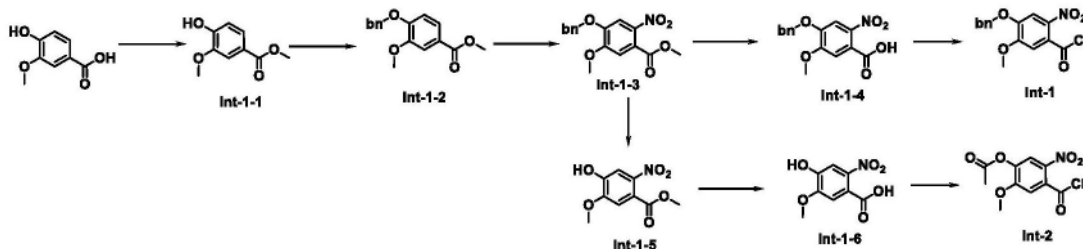
[1154] 在 0°C 下于 N_2 气氛下用NaH(60%分散液,于矿物油中,47.2mg,1.18mmol)处理化合物L-4-4(450mg,1.18mmol)于无水THF(10mL)中的溶液并且搅拌20分钟。向其中添加化合物L-4-4(544.5mg,1.18mmol)的溶液。使反应物升温至室温并且搅拌过夜。使反应物冷却,用MeOH(5mL)淬灭并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物L-4-5(582.9mg,74%)。

[1155] 化合物L-4的制备

[1156] 以与实施例3的化合物L-3的制备方法类似的方式合成化合物L-4(定量,无色油状物)。

[1157] EI-MS m/z : 645 (M^+)。

[1158] 实施例5:化合物Int-1和Int-2的制备



[1159]

[1160] 化合物Int-1-1的制备

[1161] 在 0°C 下于 N_2 气氛下向香草酸(50.0g,0.30mol)于MeOH(700mL)中的溶液中逐滴添加 SOCl_2 (207mL,2.85mol)。在室温下搅拌15小时后,用饱和 NaHCO_3 水溶液将反应物调节至pH 7至8,然后用蒸馏水(100mL)和EA(400mL)稀释。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物Int-1-1(54.2g,定量)。

[1162] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.64 (dd, $J=6.4, 1.6\text{Hz}$, 1H), 7.55 (s, 1H), 6.94 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 6.05 (s, 1H), 3.95 (s, 3H), 3.89 (s, 3H)。

[1163] 化合物Int-1-2的制备

[1164] 在室温下用 K_2CO_3 (61.6g,0.45mol)、苯甲基溴(39.0mL,0.33mol)处理化合物Int-1-1(54.2g,0.30mol)于DMF(200mL)中的溶液并且在 100°C 下搅拌6小时。将反应混合物冷却至室温并且用蒸馏水(100mL)和EA(400mL)稀释。经 Na_2SO_4 干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物Int-1-2(79.8g,98%)。

[1165] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.60 (dd, $J=6.4, 2.0\text{Hz}$, 1H), 7.56 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 7.44-7.31 (m, 5H), 6.89 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 5.22 (s, 2H), 3.94 (s, 3H), 3.88 (s, 3H)。

[1166] 化合物Int-1-3的制备

[1167] 在 0°C 下于 N_2 气氛下向化合物Int-1-2(79.8g,0.29mol)于乙酸酐(550mL)中的溶液中逐份添加硝酸铜(II)半(五水合物)(75.0g,0.32mol)并且在 0°C 下搅拌6小时。用冰水(800mL)淬灭反应混合物。过滤固体并且用蒸馏水(100mL)和己烷(400mL)洗涤,获得化合物

Int-1-3(85.5g,92%)。

[1168] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) δ 7.52(s, 1H), 7.45-7.35(m, 5H), 7.08(s, 1H), 5.22(s, 2H), 3.98(s, 3H), 3.91(s, 3H)。

[1169] 化合物Int-1-4的制备

[1170] 向化合物Int-1-3(85.5g,0.27mol)于THF(800mL)和MeOH(300mL)中的溶液中添加2N NaOH(404mL,0.81mol)。在65℃下搅拌5小时后,将反应物冷却至室温并且通过添加2N HCl溶液调节至pH 2,然后用蒸馏水(100mL)和EA(300mL×2)萃取。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。收集残余固体并且用己烷洗涤,获得化合物Int-1-4(79.2g,97%)。

[1171] ^1H NMR(400MHz, DMSO-d_6) δ 7.69(s, 1H), 7.47-7.35(m, 5H), 7.03(s, 1H), 5.24(s, 2H), 3.91(s, 3H)。

[1172] 化合物Int-1的制备

[1173] 在0℃下于 N_2 气氛下向化合物Int-1-4(100mg,0.33mmol)于无水THF(500 μL)和无水DCM(1.5mL)中的溶液中缓慢逐滴添加草酰氯(42.4 μL)和1滴DMF。搅拌30分钟后,在减压下浓缩反应混合物。化合物Int-1未经进一步纯化即直接用于下一步骤中。

[1174] 化合物Int-1-5的制备

[1175] 在0℃下于 N_2 气氛下向化合物Int-1-3(5.0g,15.8mmol)于DCM(300mL)中的溶液中缓慢逐滴添加甲磺酸(50mL)于DCM(100mL)中的溶液并且搅拌2小时。用 NaHCO_3 溶液淬灭反应混合物并且用 H_2O (100mL)萃取。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物Int-1-5(2.54g,71%)

[1176] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) δ 7.48(s, 1H), 7.14(s, 1H), 6.05(s, 1H), 4.02(s, 3H), 3.89(s, 3H)。

[1177] 化合物Int-1-6的制备

[1178] 在 N_2 气氛下用6N NaOH溶液(4.4ml,26.4mmol)处理化合物Int-1-5(2.0g,8.8mmol)于1,4-二噁烷(28ml)中的溶液并且在40℃下搅拌4小时。使反应混合物冷却至0℃,并且用2N HCl酸化。用EA/ H_2O 萃取混合物。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层,过滤,在减压下浓缩并且真空干燥,获得白色固体Int-1-6(2.0g,定量)。

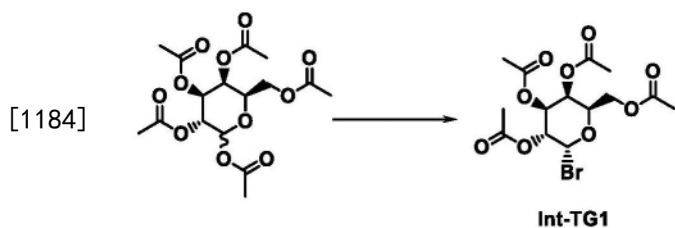
[1179] ^1H NMR(400MHz, DMSO-d_6) δ 10.60(s, 1H), 7.305(s, 1H), 7.24(s, 1H), 3.89(s, 3H)

[1180] 化合物Int-2的制备

[1181] 在 N_2 气氛下用TEA(1.8ml,13.1mmol)、DMAP(0.2g,1.75mmol)处理化合物Int-1-6(1.87g,8.77mmol)于乙酸酐(1.0ml,10.5mmol)中的溶液并且在室温下搅拌3.5小时。用EA/ H_2O 萃取反应混合物。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层,过滤,在减压下浓缩并且真空干燥,获得白色固体Int-2(2.2g棕色固体,49%)。

[1182] ^1H NMR(400MHz, DMSO-d_6): δ 7.981(s, 1H), 7.451(s, 1H), 3.933(s, 3H), 2.294(s, 3H)。

[1183] 实施例6:化合物Int-TG1的制备

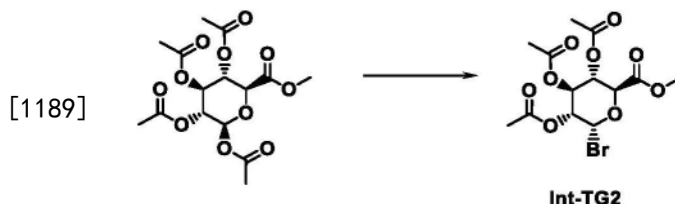


[1185] 化合物Int-TG1的制备

[1186] 在0℃下于N₂气氛下将β-D-半乳糖五乙酸酯(Alfa, CAS 4163-60-4, 5.0g, 12.81mmol)溶解于含33% HBr的AcOH(20mL)中。将混合物升温至室温。在室温下搅拌4小时后,在减压下浓缩混合物,然后添加EA(1000mL)和饱和碳酸氢钠水溶液(1000mL)。经无水Na₂SO₄干燥有机层,过滤,并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物Int-TG1(5.2g, 99%)。

[1187] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ6.70 (d, J=4.0Hz, 1H), 5.52 (d, J=2.4Hz, 1H), 5.41 (dd, J=7.6, 2.8Hz, 1H), 5.05 (dd, J=6.4, 4.0Hz, 1H), 4.49 (t, J=6.4Hz, 1H), 4.22-4.09 (m, 2H), 2.16-2.01 (m, 12H)。

[1188] 实施例7:化合物Int-TG2的制备



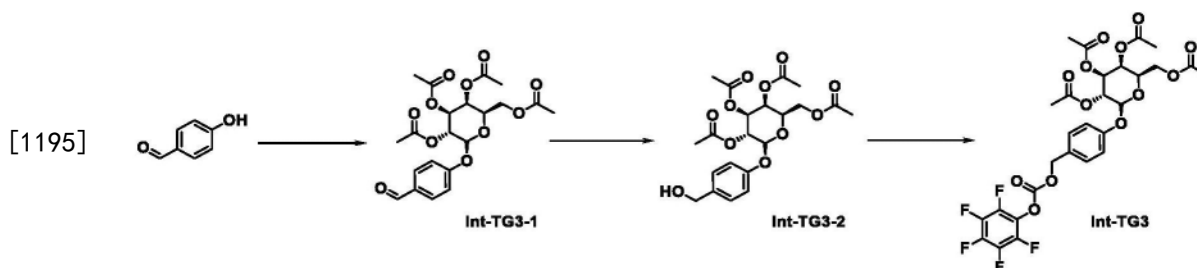
[1190] 化合物Int-TG2的制备

[1191] 经由与实施例6中所描述的类似的方法合成化合物Int-TG2。

[1192] 产率80%

[1193] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ6.654 (d, J=4.0Hz, 1H), 5.627 (t, J=10.0Hz, 1H), 5.252 (dd, J=10.4Hz, 9.6Hz, 1H), 4.865 (dd, J=10.0Hz, 4.0Hz, 1H), 4.593 (d, J=10.4Hz, 1H), 3.777 (s, 3H), 2.113 (s, 3H), 2.071 (s, 3H), 2.065 (s, 3H)

[1194] 实施例8:化合物Int-TG3的制备



[1196] 化合物Int-TG3-1的制备

[1197] 在室温下于N₂气氛下用Ag₂O(38.0g, 0.164mol)处理化合物Int-TG1(18.5g, 45.0mmol)、4-羟基苯甲醛(5.0g, 40.9mmol)、分子筛(10.0g)于ACN(150mL)中的溶液并且搅拌3小时。经硅藻土垫过滤反应混合物并且在减压下浓缩滤液。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物Int-TG3-1(16.0g, 86%)

[1198] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ9.93 (s, 1H), 7.86 (d, J=6.8Hz, 2H), 7.11 (d, J=6.8Hz,

2H), 5.52-5.47 (m, 2H), 5.18-5.14 (m, 2H), 4.24-4.11 (m, 3H), 2.19 (s, 3H), 2.07 (s, 6H), 2.02 (s, 3H)。

[1199] 化合物Int-TG3-2的制备

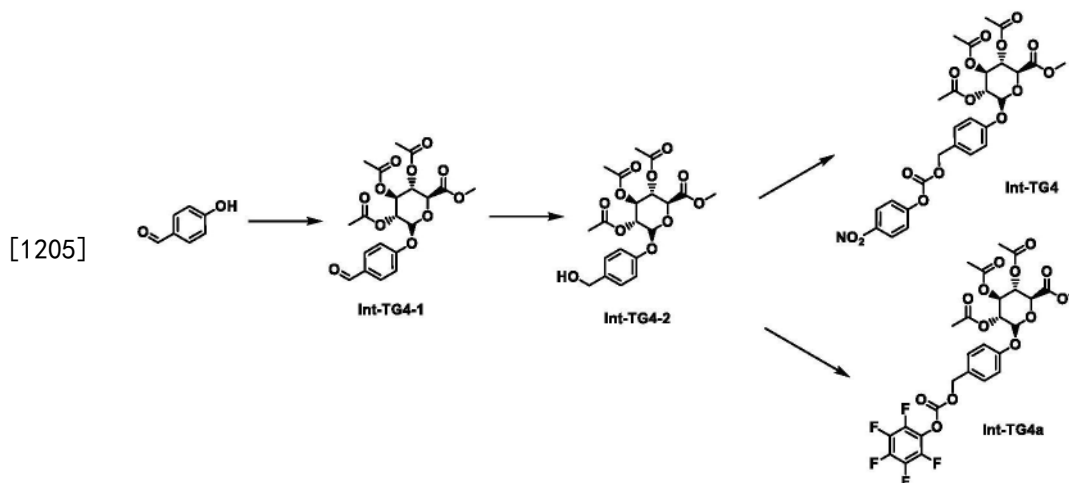
[1200] 在0℃下于N₂气氛下用NaBH₄ (113mg, 2.98mmol) 处理化合物Int-TG3-1 (540mg, 1.19mmol) 于无水THF (15mL) 中的溶液并且在0℃下搅拌10分钟。在室温下搅拌4小时后, 用H₂O和EA稀释反应物。经Na₂SO₄干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法(EA:HEX = 1:1) 纯化残余物, 获得化合物Int-TG3-2 (430mg, 79%)。

[1201] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ7.30 (d, J=8.8Hz, 2H), 6.99 (d, J=8.8Hz, 2H), 5.51-5.54 (m, 2H), 5.11 (dd, J=10.8Hz, 1H), 5.03 (d, J=8.0Hz, 1H), 4.65 (d, J=5.6 2H) 4.25-4.04 (m, 3H), 2.19 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.01 (s, 3H)。

[1202] 化合物Int-TG3的制备

[1203] 在室温下于N₂气氛下用双(碳酸五氟苯酯) (1.3g, 3.3mmol) 处理化合物Int-TG3-2 (1.0g, 2.2mmol) 于无水DMF (6.0ml) 中的溶液并且搅拌3小时。用EA (20mL × 2)、H₂O (30mL) 萃取反应混合物。经无水Na₂SO₄干燥有机层, 过滤, 在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化反应混合物, 获得化合物Int-TG3 (1.4g, 98%)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃): δ7.384 (d, J=8.8Hz, 2H), 7.039 (d, J=8.4Hz, 2H), 5.529-5.465 (m, 2H), 5.280 (s, 2H), 5.141-5.068 (m, 2H), 4.262-4.070 (m, 4H), 2.195 (s, 3H), 2.078 (s, 3H), 2.073 (s, 3H), 2.025 (s, 3H)。

[1204] 实施例9: 化合物Int-TG4和Int-TG4a的制备



[1206] 经由与实施例8中所描述的类似的方法合成化合物Int-TG4-1 (产率72%)。

[1207] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ9.93 (s, 1H), 7.86 (d, J=6.8Hz, 2H), 7.11 (d, J=6.8Hz, 2H), 5.52-5.47 (m, 2H), 5.18-5.14 (m, 2H), 4.24-4.11 (m, 3H), 2.19 (s, 3H), 2.07 (s, 6H), 2.02 (s, 3H)。

[1208] 化合物Int-TG4-2的制备

[1209] 在0℃下于N₂气氛下向化合物Int-TG4-1 (2.06g, 4.70mmol) 于DCM (50mL) 中的溶液中逐滴添加NaBH₄ (191mg, 5.04mmol) 于甲醇 (50mL) 中的溶液并且搅拌30分钟。用饱和氯化铵水溶液 (263mL) 稀释反应混合物, 并且依次使用二氯甲烷 (88mL × 3) 和乙酸乙酯 (88mL × 3) 萃取水层。经无水Na₂SO₄干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩, 得到白色泡沫状物 (2.02g, 98%)。产物未经进一步纯化即用于下一步骤中, 获得化合物Int-TG4-2。

[1210] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.31 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 6.99 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 5.35-5.28 (m, 3H), 5.13 (d, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 4.64 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 2H), 4.18-4.16 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 2.12-2.04 (m, 9H)。

[1211] 化合物Int-TG4的制备

[1212] 在室温下于氮气气氛下用双(PNP) (517mg, 1.70mmol)、DIPEA (0.395mL, 2.27mmol) 处理化合物Int-TG4-2 (500mg, 1.14mmol) 于DMF (7mL) 中的溶液并且搅拌2小时。用 H_2O 和DCM萃取反应混合物。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得呈白色泡沫状的化合物Int-TG4 (645mg, 95%)。

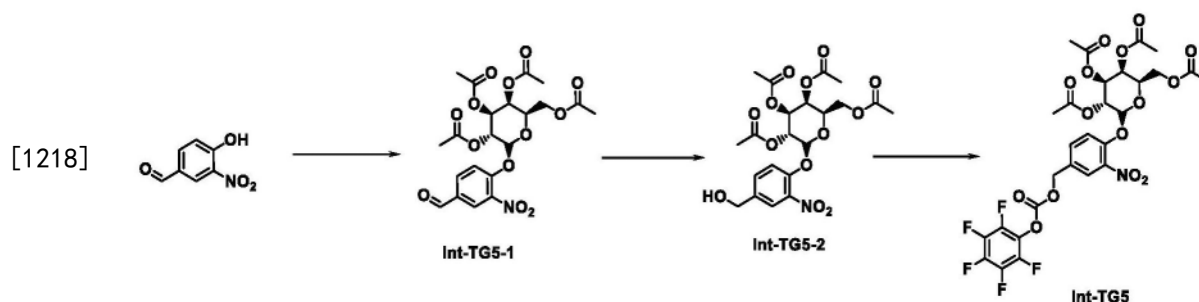
[1213] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 8.27 (d, $J=9.2\text{Hz}$, 2H), 7.38-7.36 (m, 4H), 7.03 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 2H), 5.36-5.28 (m, 3H), 5.24 (s, 2H), 5.17 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 4.20-4.18 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 2.06-2.04 (m, 9H)。

[1214] 化合物Int-TG4a的制备

[1215] 产率98%

[1216] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.54 (dd, $J=8.8, 4.8\text{Hz}$, 2H), 7.03 (dd, $J=4.4, 8.8\text{Hz}$, 2H), 5.37-5.26 (m, 5H), 5.18 (d, $J=6.8\text{Hz}$, 2H), 4.21-4.18 (m, 2H), 3.73 (s, 3H), 2.09-2.06 (m, 9H)。

[1217] 实施例10: 化合物Int-TG5的制备



[1219] 经由与实施例9中所描述的类似的方法合成化合物Int-TG5。

[1220] 化合物Int-TG5-1

[1221] 产率定量

[1222] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 9.98 (s, 1H), 8.31 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 8.07 (dd, $J=2.0\text{Hz}$, 8.8Hz, 1H), 7.48 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 5.59 (dd, $J=7.6\text{Hz}$, 10.4Hz, 1H), 5.49 (d, $J=3.2\text{Hz}$, 1H), 5.20 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 5.13 (dd, $J=3.6\text{Hz}$, 10.4Hz, 1H), 4.28-4.09 (m, 3H), 2.20 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.04 (s, 3H)。

[1223] 化合物Int-TG5-2

[1224] 产率96%

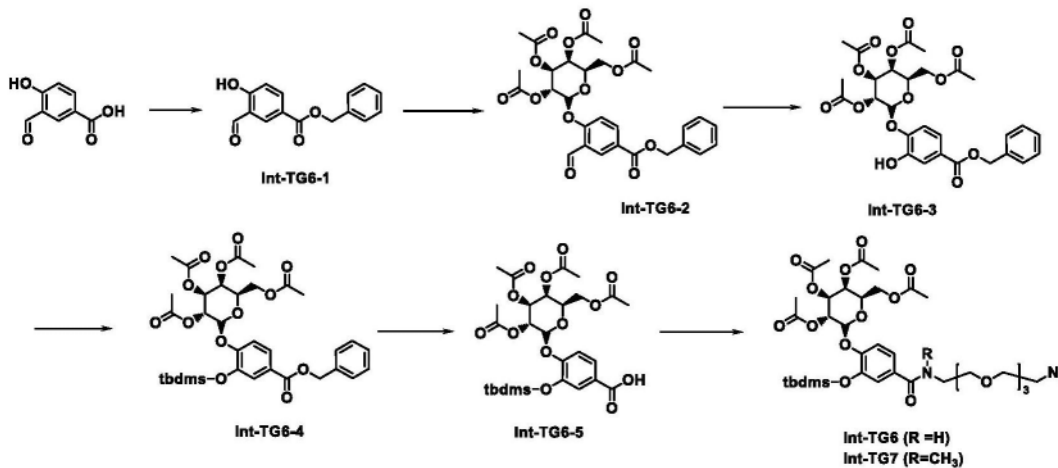
[1225] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.81 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 7.52 (dd, $J=2.0\text{Hz}$, 8.8Hz, 1H), 7.35 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 5.54 (dd, $J=8.0\text{Hz}$, 10.4Hz, 1H), 5.47 (d, $J=3.2\text{Hz}$, 1H), 5.10 (dd, $J=3.6\text{Hz}$, 10.4Hz, 1H), 5.05 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 4.73 (d, $J=6.0\text{Hz}$, 2H), 4.28-4.04 (m, 3H), 2.19 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.02 (s, 3H)。

[1226] 化合物Int-TG5

[1227] 产率84%

[1228] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.89 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 7.60 (dd, $J=2.0\text{Hz}$, 8.4Hz, 1H), 7.41 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 5.56 (dd, $J=8.0\text{Hz}$, 10.4Hz, 1H), 5.48 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 5.32 (s, 2H), 5.13-5.09 (m, 2H), 4.28-4.07 (m, 3H), 2.19 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 2.02 (s, 3H)。

[1229] 实施例11: 化合物Int-TG6和Int-TG7的制备



[1230]

[1231] 化合物Int-TG6-1的制备

[1232] 在室温下于 N_2 气氛下用苯甲基溴 (5.1mL, 43.06mmol) 和 NaHCO_3 (2.53g, 43.06mmol) 处理3-甲酰基-4-羟基苯甲酸 (5g, 43.06mmol) 于DMF (100mL) 中的溶液并且搅拌过夜。用EA (200mL \times 2) 和蒸馏水 (100mL) 萃取反应混合物。经无水 Na_2SO_4 干燥所获得的有机层, 过滤, 并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物Int-TG6-1 (2.56g, 39%)。

[1233] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 11.41 (s, 1H), 9.95 (s, 1H), 8.34 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 8.23 (dd, $J=6.4\text{Hz}$, 2.4Hz, 1H), 7.46-7.35 (m, 5H), 7.04 (d, $J=9.2\text{Hz}$, 1H), 5.37 (s, 2H)。

[1234] 化合物Int-TG6-2的制备

[1235] 在室温下于 N_2 气氛下用分子筛 (8g)、 Ag_2O (3.62g, 15.61mmol) 处理化合物Int-TG6-1 (1.0g, 3.90mmol)、化合物Int-TG1 (1.6g, 3.90mmol) 于无水ACN (30mL) 中的溶液并且搅拌1小时。经CELITE®过滤反应混合物并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物Int-TG6-2 (2.1g, 92%)。

[1236] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 10.34 (s, 1H), 8.55 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 8.26 (dd, $J=6.8$, 2.0Hz, 1H), 7.45-7.35 (m, 5H), 7.17 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 5.63-5.60 (m, 1H), 5.50 (d, $J=3.6\text{Hz}$, 1H), 5.37 (s, 2H), 5.23 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 5.16 (dd, $J=7.2$, 3.6Hz, 1H), 4.24-4.10 (m, 4H), 2.20 (s, 3H), 2.10-2.03 (m, 9H)。

[1237] 化合物Int-TG6-3的制备

[1238] 在 0°C 下于 N_2 气氛下用m-CPBA (2.65g, 10.74mmol) 处理化合物Int-TG6-2 (2.1g, 3.58mmol) 于DCM (30mL) 中的溶液并且搅拌7小时。通过添加饱和碳酸氢钠 (40mL \times 2) 淬灭反应混合物。分离混合物并且用盐水洗涤有机层, 经 Na_2SO_4 干燥, 过滤, 并且在减压下浓缩。在 0°C 下于 N_2 气氛下将残余物溶解于氯仿 (5mL) 中并且用水合肼 (261 μL , 5.37mmol) 处理。搅拌1小时后。用EA (30mL \times 2) 萃取反应混合物并且添加1M HCl水溶液 (10mL)。经无水 Na_2SO_4 干燥所获得的有机层, 过滤并且在减压下浓缩, 获得化合物Int-TG6-3 (1.1g, 55%)。

[1239] EI-MS m/z : 574 (M^+Na)

[1240] 化合物Int-TG6-4的制备

[1241] 在0℃下于N₂气氛下用TBDMS-OTf (224μL, 0.97mmol)、Et₃N (207μL, 1.46mmol) 处理化合物Int-TG6-3 (280mg, 0.49mmol) 于DCM (5mL) 中的溶液并且搅拌1.5小时。通过添加柠檬酸 (20ml) 淬灭反应混合物。用盐水 (20mL) 洗涤有机层, 经Na₂SO₄干燥, 过滤, 并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物Int-TG6-4 (246.3mg, 68%)。

[1242] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ7.67 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.44-7.34 (m, 5H), 7.02 (d, J=8.4Hz, 1H), 5.49-5.44 (m, 2H), 5.30 (s, 2H), 5.19 (d, J=7.6Hz, 1H), 5.10 (dd, J=6.8, 3.2Hz, 1H), 4.20-4.11 (m, 2H), 4.05 (t, J=6.8Hz, 2H), 2.19 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 2.01 (d, J=6.0Hz, 6H), 1.02 (s, 9H), 0.20 (d, J=15.6Hz, 6H)。

[1243] 化合物Int-TG6-5的制备

[1244] 在室温下于H₂下向化合物Int-TG6-4 (283.2mg, 0.41mmol) 于EA (5mL) 中的溶液中添加Pd/C (5%, 87.5mg, 0.04mmol)。搅拌混合物1小时并且经CELITE®过滤, 然后在减压下浓缩。化合物Int-TG6-5未经进一步纯化即直接用于下一步骤中 (246mg, 定量)。

[1245] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ7.67 (d, J=8.8Hz, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.05 (d, J=8.4Hz, 1H), 5.49-5.45 (m, 2H), 5.22 (d, J=7.6Hz, 1H), 5.12 (dd, J=7.2, 3.6Hz, 1H), 4.20-4.06 (m, 4H), 2.19 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.02 (d, J=7.6Hz, 6H), 1.01 (s, 9H), 0.21 (d, J=15.2Hz, 6H)。

[1246] 化合物Int-TG6的制备

[1247] 在室温下于N₂气氛下用PyBOP (275mg, 0.53mmol)、DIPEA (176μL, 1.02mmol) 处理化合物Int-TG6-5 (243.2mg, 0.41mmol) 和11-叠氮基-3,6,9-三氧杂十一烷-1-胺 (Aldrich, CAS134179-38-7, 89.5mg, 0.41mmol) 于DMF (5mL) 中的溶液并且搅拌2小时。用EA (30mL × 2) 和蒸馏水 (10mL) 萃取反应物。经无水Na₂SO₄干燥所获得的有机层, 过滤, 并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物Int-TG6 (272.8mg, 84%)。

[1248] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ7.34 (s, 1H), 7.31 (d, J=9.2Hz, 1H), 7.02 (d, J=8.0Hz, 1H), 6.73 (s, 1H), 5.48-5.44 (m, 2H), 5.19 (d, J=7.6Hz, 1H), 5.10 (dd, J=6.4, 3.6Hz, 1H), 4.20-4.10 (m, 2H), 4.06 (t, J=6.4Hz, 2H), 3.66 (s, 14H), 3.38 (t, J=4.4Hz, 2H), 2.19 (s, 3H), 2.02 (t, J=8.4Hz, 9H), 1.00 (s, 9H), 0.20 (d, J=14.4Hz, 6H)。

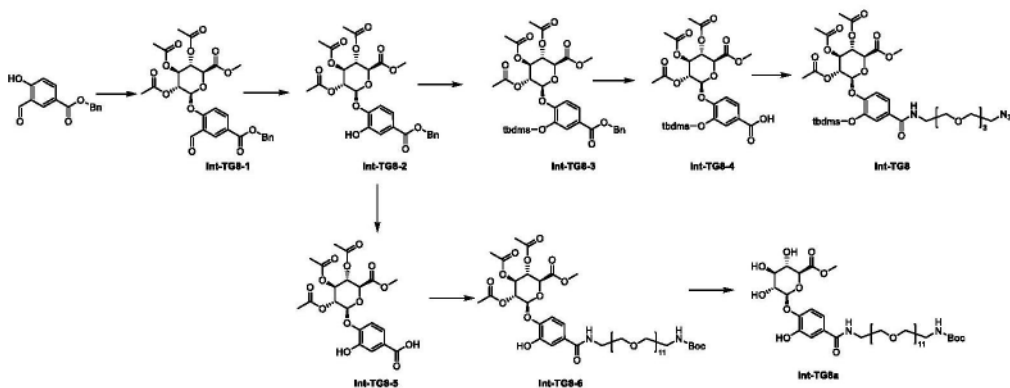
[1249] EI-MS m/z: 799 (M⁺+1)。

[1250] 化合物Int-TG7的制备

[1251] 在0℃下于N₂气氛下用DIPEA (0.77mL, 4.38mmol)、PyBOP (1.09g, 2.1mmol) 处理化合物Int-TG1-6 (1.05g, 1.75mmol)、L-12 (565mg, 2.1mmol) 于DMF (10mL) 中的溶液并且在室温下搅拌2小时。向反应物中添加H₂O (250mL) 并且用EA (250mL × 3) 萃取。经Na₂SO₄干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物Int-TG7 (1.17g, 83%)。

[1252] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ7.00-6.96 (m, 2H), 6.90 (s, 1H), 5.48-5.43 (m, 2H), 5.16 (d, J=8.0Hz, 1H), 5.10 (dd, J=3.2, 10.4Hz, 1H), 4.20-4.11 (m, 2H), 4.05 (t, J=7.2Hz, 1H), 3.76-3.49 (m, 14H), 3.46-3.39 (m, 2H), 3.10-3.04 (m, 3H), 2.19 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 0.99 (s, 9H), 0.21 (s, 3H), 0.17 (s, 3H); EI-MS m/z: 813 (M⁺+1)。

[1253] 实施例12: 化合物Int-TG8和int-TG8a的制备



[1254]

[1255] 经由与实施例11中所描述的类似的方法合成化合物Int-TG8。

[1256] 化合物Int-TG8-1

[1257] 产率65%

[1258] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 10.32 (s, 1H), 8.54 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 8.28 (dd, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 7.45-7.35 (m, 5H), 7.16 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 5.39-5.34 (m, 6H), 4.28-4.26 (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 2.11-2.06 (m, 9H)。

[1259] 化合物Int-TG8-2

[1260] 产率63%

[1261] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.66 (d, $J=2\text{Hz}$, 1H), 7.60 (dd, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 7.43-7.31 (m, 5H), 7.00 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 6.13 (s, 1H), 5.41-5.28 (m, 5H), 5.12 (d, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 4.23 (d, $J=9.2\text{Hz}$, 1H), 3.76 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.06 (d, $J=3.6\text{Hz}$, 6H)。

[1262] 化合物Int-TG8-3

[1263] 产率70%

[1264] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.60 (dd, $J=2.0, 2.0\text{Hz}$, 1H), 7.43 (d, $J=0.8\text{Hz}$, 1H), 7.48-7.32 (m, 5H), 7.01 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 5.40-5.26 (m, 6H), 4.18 (d, $J=9.2\text{Hz}$, 1H), 3.72 (s, 3H), 2.09-2.04 (m, 9H), 0.99 (s, 9H), 0.18 (d, $J=12.8\text{Hz}$, 1H)。

[1265] 化合物Int-TG8-4

[1266] 产率定量

[1267] EI-MS m/z : 607 ($\text{M}^+\text{+Na}$)

[1268] 化合物Int-TG8-5

[1269] 产率96%

[1270] $^1\text{H NMR}$ (400Hz, DMSO-d_6) δ 9.73 (brs, 1H), 7.44 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 7.37 (dd, $J=2.4, 6.4\text{Hz}$, 1H), 7.08 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 5.61 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 2H), 5.45 (t, $J=9.6\text{Hz}$, 1H), 5.15-5.02 (m, 2H), 4.67 (d, $J=10\text{Hz}$, 1H), 3.63 (s, 3H), 2.04-1.98 (m, 9H)。

[1271] EI-MS m/z : 785 ($\text{M}^+\text{+1}$)

[1272] 化合物Int-TG8-6

[1273] 产率78%

[1274] EI-MS m/z : 1097 ($\text{M}^+\text{+1}$)

[1275] 化合物Int-TG8

[1276] 产率85%

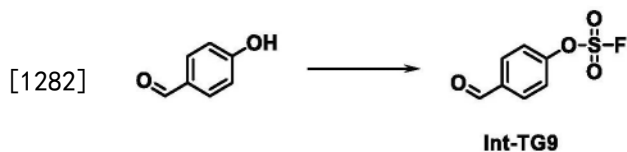
[1277] EI-MS m/z : 785 (M^+ +1)

[1278] 化合物Int-TG8a

[1279] 产率70%

[1280] EI-MS m/z : 971 (M^+ +1)

[1281] 实施例13: 化合物Int-TG9的制备

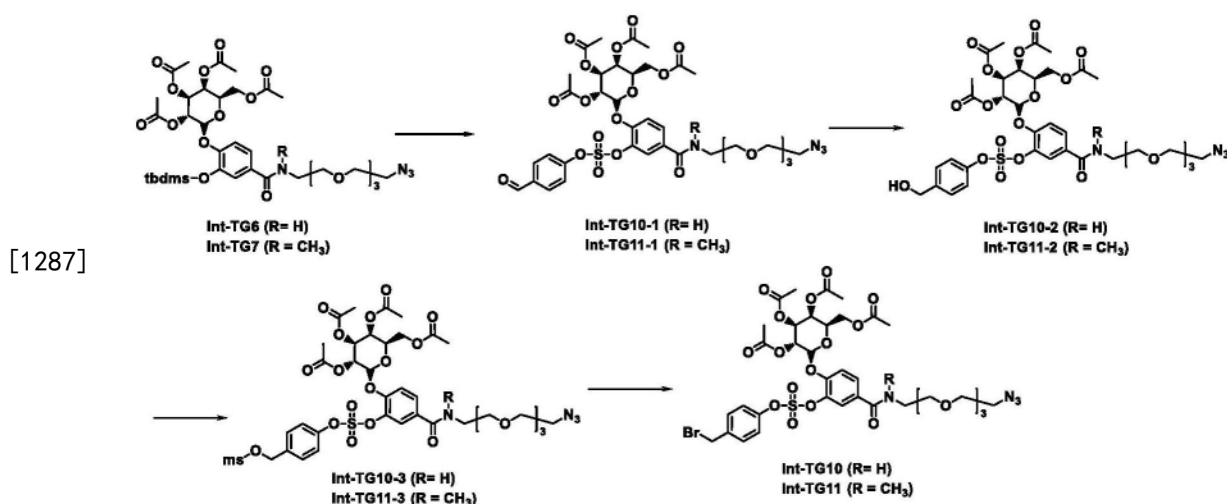


[1283] 化合物Int-TG9的制备

[1284] 在室温下于 N_2 气氛下向4-羟基苯甲醛(1g, 8.19mmol)于DCM(3mL)中的溶液中添加 Et_3N (2.28mL, 16.38mmol)。经由气球引入 SO_2F_2 气体, 并且在室温下搅拌混合物2小时。然后用DCM(30mL \times 3)和盐水(30mL)洗涤混合物, 并且经无水 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物Int-TG9(790mg, 63%)。

[1285] 1H NMR (400Hz, $CDCl_3$) δ 10.06 (s, 1H), 8.05 (d, $J=8.0$ Hz, 2H), 7.55 (d, $J=8.8$ Hz, 2H)。

[1286] 实施例14: 化合物Int-TG10和Int-TG11的制备



[1288] 化合物Int-TG10-1的制备

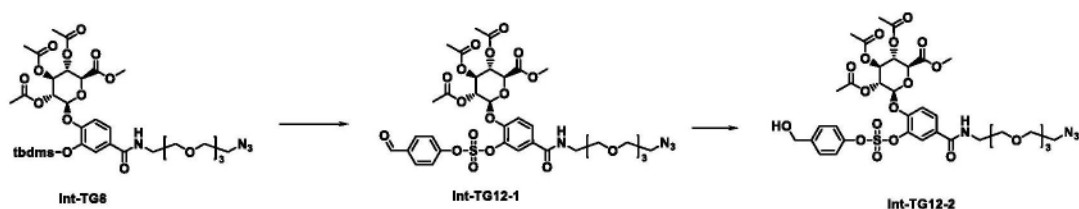
[1289] 在室温下于 N_2 气氛下用BEMP(292 μ L, 1.0mmol)处理化合物Int-TG6(2.0g, 2.5mmol)、Int-TG9(560mg, 2.75mmol)于无水ACN(25mL)中的溶液并且搅拌4小时。用水(20mL)淬灭反应物并且用EA(30mL \times 2)萃取。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤, 并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得呈白色泡沫固体状的化合物Int-TG10-1(1.7g, 81%)。

[1290] EI-MS m/z : 869 (M^+ +1)。

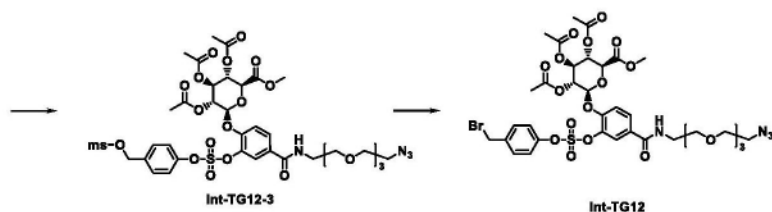
[1291] 化合物Int-TG10-2的制备

[1292] 在0 $^\circ$ C下于 N_2 气氛下用 $NaBH_4$ (150mg, 3.91mmol)处理化合物Int-TG10-1(1.7g, 1.96mmol)于无水THF(45mL)中的溶液并且搅拌2小时。用水(30mL)淬灭反应物并且用EA(50mL \times 2)萃取。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤, 并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得呈白色泡沫固体状的化合物Int-TG10-2(1.17g, 69%)。

- [1293] EI-MS m/z :871 ($M^+ + 1$)。
- [1294] 化合物Int-TG10-3的制备
- [1295] 在0℃下于 N_2 气氛下用甲磺酰氯 (312 μ L, 4.0mmol)、TEA (940 μ L, 6.72mmol) 处理化合物Int-TG10-2 (1.17g, 1.34mmol) 于无水THF (40mL) 中的溶液并且搅拌过夜。用水 (20mL) 淬灭反应物并且用DCM (60mL \times 2) 萃取。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤, 并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得呈白色泡沫固体状的化合物Int-TG10-3 (1.25g, 98%)。
- [1296] EI-MS m/z :949 ($M^+ + 1$)。
- [1297] 化合物Int-TG10的制备
- [1298] 在室温下于 N_2 气氛下用LiBr (570mg, 6.58mmol) 处理化合物Int-TG10-3 (1.25g, 1.32mmol) 于无水THF (40mL) 中的溶液并且搅拌3小时。用水 (30mL) 稀释反应物并且用DCM (50mL \times 3) 萃取。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤, 并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得呈白色泡沫固体状的化合物Int-TG10 (1.2g, 98%)。
- [1299] EI-MS m/z :933 (M^+), 935 ($M^+ + 2$)。
- [1300] 经由制备化合物Int-TG10的类似合成途径合成化合物Int-TG11。
- [1301] 化合物Int-TG11-1的制备
- [1302] 产率80%
- [1303] 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 10.04 (s, 1H), 8.00 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.57 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.44-7.27 (m, 3H), 5.57-5.51 (m, 1H), 5.47 (d, $J=3.2$ Hz, 1H), 5.14-5.10 (m, 2H), 4.27-4.09 (m, 3H), 3.76-3.53 (m, 14H), 3.42-3.36 (m, 2H), 3.12-3.04 (m, 3H), 2.19 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.02 (s, 3H); EI-MS m/z :883 ($M^+ + 1$)。
- [1304] 化合物Int-TG11-2的制备
- [1305] 产率81%
- [1306] 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.47-7.42 (m, 2H), 7.40-7.31 (m, 3H), 7.24-7.21 (m, 2H), 5.54-5.45 (m, 2H), 5.11-5.07 (m, 2H), 4.74-4.70 (m, 2H), 4.25-4.21 (m, 1H), 4.17-4.12 (m, 1H), 4.06 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 3.74-3.44 (m, 12H), 3.37 (t, $J=4.8$ Hz, 2H), 3.07-3.04 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 2.06 (s, 6H), 2.02 (s, 3H)。
- [1307] 化合物Int-TG11-3的制备
- [1308] 产率98%
- [1309] EI-MS m/z :963 ($M^+ + 1$)。
- [1310] 化合物Int-TG11的制备
- [1311] 产率90%
- [1312] 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.53-7.41 (m, 4H), 7.37-7.33 (m, 2H), 7.29-7.28 (m, 1H), 5.59-5.55 (m, 1H), 5.47 (d, $J=3.2$ Hz, 1H), 5.13-5.09 (m, 2H), 4.26-4.22 (m, 1H), 4.18-4.08 (m, 2H), 3.80-3.48 (m, 12H), 3.37 (t, $J=5.2$ Hz, 2H), 3.12-3.06 (s, 3H), 2.19 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.02 (s, 3H); EI-MS m/z :948 ($M^+ + 1$)。
- [1313] 实施例15: 化合物Int-TG12的制备



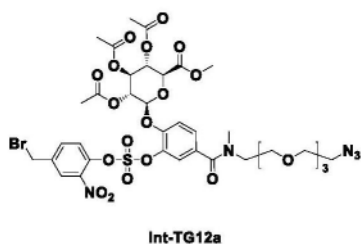
[1314]

[1315] 化合物Int-TG12-1的制备

[1316] 在室温下于 N_2 气氛下用DBU (7.6 μ L, 0.052mmol) 处理化合物Int-TG8 (100mg, 0.13mmol) 和化合物Int-TG9 (31.8mg, 0.16mmol) 于无水ACN (2.5mL) 中的溶液并且搅拌5小时。用 H_2O (10mL) 和EA (15mL \times 2) 萃取反应混合物。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物Int-TG12-1 (54.5mg, 50%)。

[1317] EI-MS m/z : 855 (M^+ +1)。[1318] 化合物Int-TG12a的制备

[1319]



[1320] 经由制备化合物Int-TG12的类似合成途径合成化合物Int-TG11a。

[1321] 经由与实施例14中所描述的类似的合成途径合成化合物Int-TG12。

[1322] 化合物Int-TG12-2

[1323] 产率77%

[1324] EI-MS m/z : 857 (M^+ +1)。[1325] 化合物Int-TG12-3

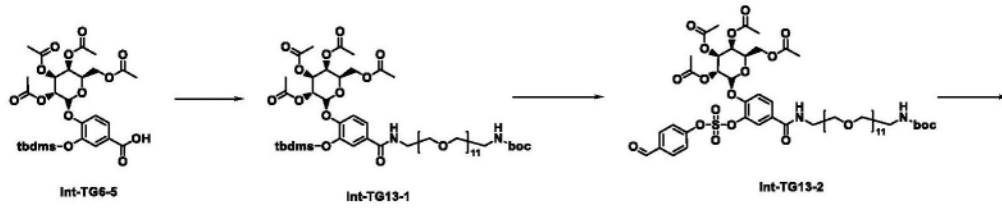
[1326] 产率98%

[1327] EI-MS m/z : 935 (M^+ +1)。[1328] 化合物Int-T12

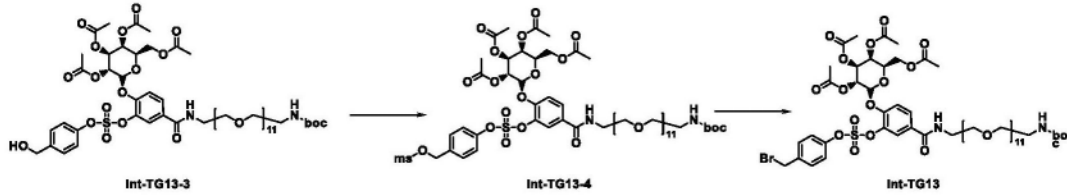
[1329] 产率81%

[1330] EI-MS m/z : 920 (M^+ +1)。

[1331] 实施例16: 化合物Int-TG13的制备



[1332]



[1333] 经由与实施例11和实施例14中所描述的类似的合成方法合成化合物Int-TG13。

[1334] 化合物Int-TG13-1的制备

[1335] 产率72%,无色油状物

[1336] EI-MS m/z : 1226 (M^+ +1)。

[1337] 化合物Int-TG13-2的制备

[1338] 产率82%,无色油状物

[1339] EI-MS m/z : 1296 (M^+ +1)。

[1340] 化合物Int-TG13-3的制备

[1341] 产率75%,无色油状物

[1342] EI-MS m/z : 1298 (M^+ +1)。

[1343] 化合物Int-TG13-4的制备

[1344] 产率82%,无色油状物

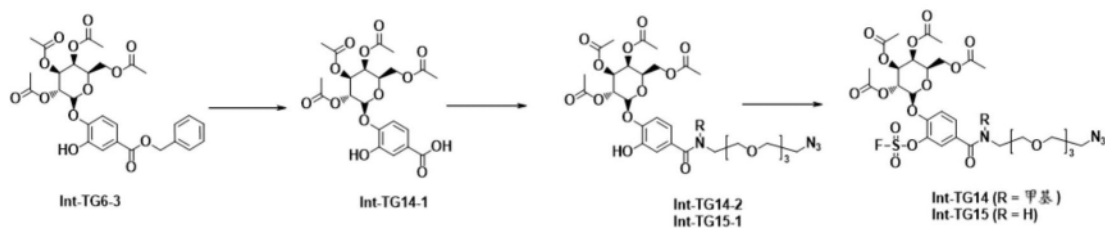
[1345] EI-MS m/z : 1376 (M^+ +1)。

[1346] 化合物Int-TG13的制备

[1347] 产率82%,无色油状物

[1348] EI-MS m/z : 1361 (M^+ +1)。

[1349] 实施例17: 化合物Int-TG14和Int-TG15的制备



[1350] 化合物Int-TG14-1的制备

[1351] 经由实施例11中制备Int-TG6-5的类似方法合成化合物Int-TG14-1。

[1352] 产率99%

[1353] $^1\text{H NMR}$ (400Hz, CDCl_3) δ 7.67 (s, 1H), 7.62 (dd, $J=6.4, 2.0\text{Hz}$, 1H), 7.02 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 5.51-5.45 (m, 2H), 5.16 (dd, $J=7.2, 3.6\text{Hz}$, 1H), 5.04 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 4.21-4.09 (m, 4H), 2.20 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.01 (d, $J=7.6\text{Hz}, 8.4\text{Hz}$)。

[1354] 化合物Int-TG14-2的制备

[1355] 在室温下于N₂气氛下用PyBOP(807.2mg, 1.55mmol)、DIPEA(520μL, 2.98mmol)处理化合物Int-TG14-1(578mg, 1.19mmol)和化合物L-2(384.8mg, 1.43mmol)于DMF(12mL)中的溶液并且搅拌1小时。用EA(40mL×2)和蒸馏水(25mL)萃取反应物。经无水Na₂SO₄干燥所获得的有机层,过滤,并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物Int-TG14-2(660mg, 80%)。

[1356] EI-MS m/z: 699 (M⁺+1)。

[1357] 化合物Int-TG15-1的制备

[1358] 经由制备化合物Int-TG14-2的类似方法合成化合物Int-TG14-1。

[1359] 产率76%

[1360] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.36-7.31 (m, 2H), 7.01 (d, J=8.0Hz, 1H), 6.64-6.58 (m, 1H), 6.06 (brs, 1H), 5.50-5.46 (m, 2H), 5.14 (dd, J=7.6, 3.2Hz, 1H), 4.99 (d, J=8.0Hz, 1H), 4.28-4.08 (m, 3H), 3.70-3.64 (m, 14H), 3.46 (t, J=5.2Hz, 2H), 2.18 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.04 (s, 3H)

[1361] EI-MS m/z: 685 (M⁺+1)。

[1362] 化合物Int-TG14的制备

[1363] 在室温下于N₂气氛下向化合物Int-TG14-2(480mg, 0.69mmol)于DCM(10mL)中的溶液添加Et₃N(335μL, 2.4mmol)。经由气球引入SO₂F₂气体,并且在室温下搅拌混合物3小时。然后用DCM(30mL×3)和盐水(30mL)洗涤混合物,并且经无水Na₂SO₄干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物Int-TG14(430mg, 80%)。

[1364] EI-MS m/z: 781 (M⁺+1)。

[1365] 化合物Int-TG15的制备

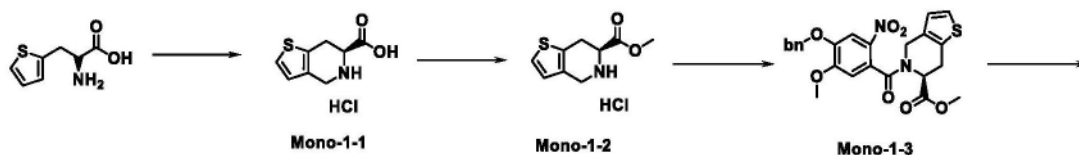
[1366] 经由制备化合物Int-TG14的类似方法合成化合物Int-TG15。

[1367] 产率86%

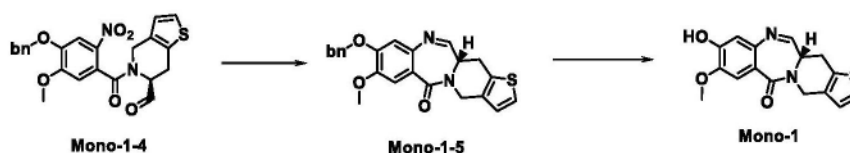
[1368] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.86 (s, 1H), 7.83 (dd, J=6.4, 2.0Hz, 1H), 7.31 (d, J=8.4Hz, 1H), 6.89-6.83 (m, 1H), 5.61-5.56 (m, 1H), 5.50-5.48 (m, 1H), 5.18 (d, J=8.0Hz, 1H), 5.13 (dd, J=7.2, 3.2Hz, 1H), 4.27-4.10 (m, 4H), 3.70-3.62 (m, 14H), 3.37 (t, J=5.2Hz, 2H), 2.20 (s, 3H), 2.08 (s, 6H), 2.02 (s, 3H)

[1369] EI-MS m/z: 767 (M⁺+1)。

[1370] 实施例18: 化合物Mono-1的制备



[1371]



[1372] 通过在与文献W0 2020/089687中所描述的类似的方法进行反应来获得Mono-1

[1373] 化合物Mono-1-1的制备

[1374] 产率77%

[1375] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 9.95 (brs, 1H), 7.48 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 1H), 6.94 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 1H), 4.48-4.44 (m, 1H), 4.28 (d, $J=15.6\text{Hz}$, 1H), 4.18 (d, $J=16.0\text{Hz}$, 1H), 3.39 (dd, $J=11.6, 5.2\text{Hz}$, 1H), 3.17-3.10 (m, 1H)。EI-MS m/z : 184 (M^+ 1)。

[1376] 化合物Mono-1-2的制备

[1377] 产率99%

[1378] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 10.22 (brs, 2H), 7.49 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 1H), 6.94 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 1H), 4.65-4.61 (m, 1H), 4.30 (d, $J=15.6\text{Hz}$, 1H), 4.19 (d, $J=15.6\text{Hz}$, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.60 (dd, $J=11.6, 5.2\text{Hz}$, 1H), 3.21-3.14, (m, 1H)。EI-MS m/z : 198 (M^+ 1)。

[1379] 化合物Mono-1-3的制备

[1380] 产率89%

[1381] EI-MS m/z : 483 (M^+ 1)。

[1382] 化合物Mono-1-4的制备

[1383] 产率85%

[1384] EI-MS m/z : 453 (M^+ 1)。

[1385] 化合物Mono-1-5的制备

[1386] 产率85%

[1387] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.55 (d, $J=5.6\text{Hz}$, 1H), 7.47 (m, 5H), 7.22 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 1H), 6.95 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 1H), 6.85 (s, 1H), 5.26-5.14 (m, 2H), 4.98 (d, $J=16.4\text{Hz}$, 1H), 4.44 (d, $J=16.8\text{Hz}$, 1H), 4.08-4.02 (m, 1H), 3.98 (s, 3H), 3.32-3.26 (m, 1H)。

[1388] EI-MS m/z : 453 (M^+ 1)。

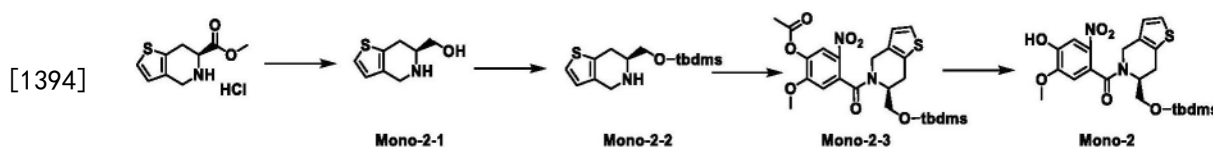
[1389] 化合物Mono-1的制备

[1390] 产率82%

[1391] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.58 (d, $J=5.6\text{Hz}$, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.23 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 1H), 6.95 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 1H), 6.89 (s, 1H), 6.06 (s, 1H), 5.30 (s, 1H), 4.99 (d, $J=16.4\text{Hz}$, 1H), 4.44 (d, $J=16.4\text{Hz}$, 1H), 4.10-4.04 (m, 1H), 3.99 (s, 3H), 3.32-3.26 (m, 1H)。

[1392] EI-MS m/z : 315 (M^+ 1)。

[1393] 实施例19: 化合物Mono-2的制备



[1395] 化合物Mono-2-1的制备

[1396] 在 0°C 下于 N_2 气氛下用1M LAH的THF溶液(5.31ml, 5.31mmol)处理化合物Mono-1-1(1g, 4.28mmol)于20ml无水THF中的溶液并且搅拌15小时。用水(5.3ml)、15% NaOH(5.3ml)、 H_2O (16.0mL)淬灭反应混合物并且搅拌30分钟。过滤无机固体并且用EA洗涤。经 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩, 获得呈红色固体状的化合物Mono-2-1(652mg, 3.85mmol, 90%), 其未经进一步纯化即使用。

[1397] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.08 (d, $J=4.8$, 1H), 6.73 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 1H), 4.01-3.88 (m, 2H), 3.80 (dd, $J=11.2\text{Hz}$, 1H), 3.55 (dd, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 3.13-3.07 (m, 1H), 2.78-2.74

(m, 1H), 2.60-2.51 (m, 1H); ET-MS m/z : 170.0 ($M^+ + 1$)。

[1398] 化合物Mono-2-2的制备

[1399] 在0℃下于N₂气氛下用咪唑(844mg, 12.41mmol)、TBDMS-Cl(686mg, 4.55mmol)处理化合物Mono-2-1(700mg, 4.14mmol)于无水DCM(20ml)中的溶液并且在室温下搅拌4小时。用H₂O(100mL)、DCM(100mL×3)萃取反应混合物。经Na₂SO₄干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物Mono-2-2(792mg, 67%)。

[1400] ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ7.07(d, J=5.2Hz, 1H), 6.75(d, J=5.2Hz, 1H), 4.04-3.92(m, 2H), 3.77(dd, J=9.6Hz, 1H), 3.65(dd, J=9.6Hz, 1H), 3.05-3.00(m, 1H), 2.75-2.71(m, 1H), 2.65-2.59(m, 1H); ET-MS m/z : 284.1 ($M^+ + 1$)。

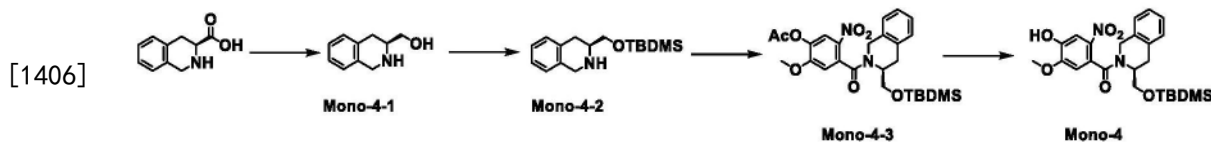
[1401] 化合物Mono-2-3的制备

[1402] 在0℃下于N₂气氛下用DIPEA(0.85ml, 4.89mmol)处理化合物Int-2(536mg, 1.96mmol)和化合物Mono-2-2(666mg, 2.35mmol)于无水DMF(1.8ml)中的溶液并且在室温下搅拌3小时。用EA/H₂O萃取反应混合物。经无水Na₂SO₄干燥有机层,过滤,在减压下浓缩。通过柱色谱法(EA/HEX:1/1)纯化反应混合物,获得黄色固体Mono-2-3(758.5mg, 76%); EI-MS m/z : 521 ($M^+ + 1$)。

[1403] 化合物Mono-2的制备

[1404] 在0℃下于N₂气氛下用K₂CO₃(63.7mg, 0.461mmol)处理化合物Mono-2-3(200mg, 0.384mmol)于MeOH(4.5ml)中的溶液并且搅拌20分钟。用EA/H₂O萃取反应混合物。经无水Na₂SO₄干燥有机层,过滤,在减压下浓缩并且真空干燥,获得黄色固体Mono-2(189.8mg, 定量); EI-MS m/z : 479 ($M^+ + 1$)。

[1405] 实施例20:化合物Mono-4的制备



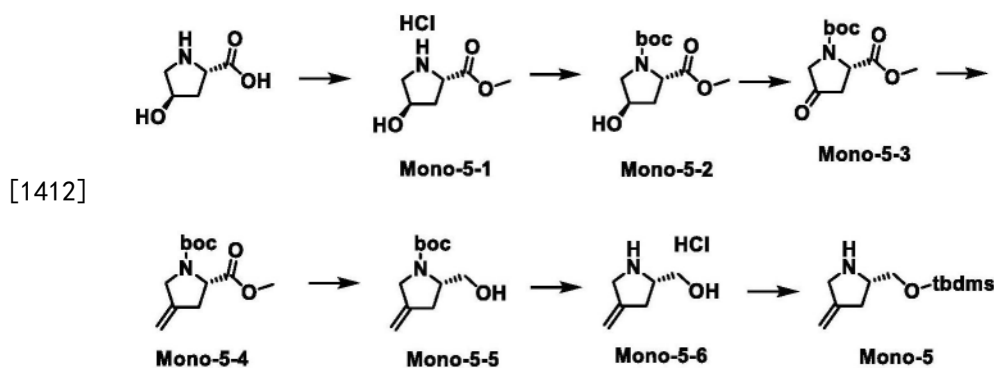
[1407] 经由与实施例19中所描述的类似的方法合成化合物Mono-4。

[1408] 化合物Mono-4的制备

[1409] 产率93%

[1410] ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ8.04-7.98(m, 1H), 7.26-7.19(m, 3H), 7.00-6.75(m, 2H), 4.41-4.22(m, 2H), 3.92(s, 3H), 3.86(s, 1H), 3.76-3.66(m, 1H), 3.51-3.42(m, 1H), 3.23-2.68(m, 2H), 0.89-0.73(m, 9H), 0.05-0.08(m, 6H); EI-MS m/z : 473 ($M^+ + 1$)。

[1411] 实施例21:化合物Mono-5的制备



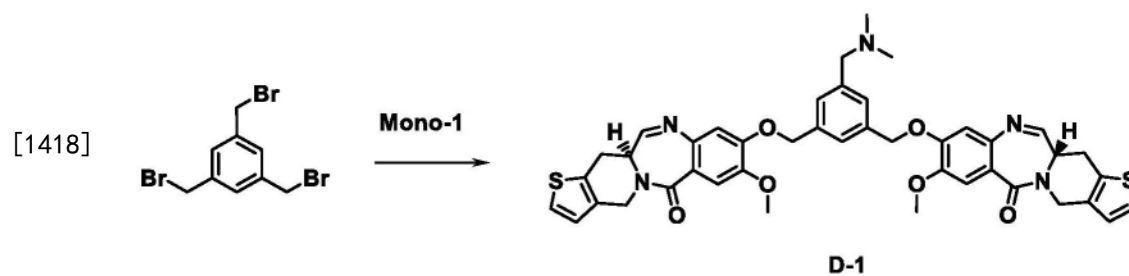
[1413] 通过在与Journal of Medicinal Chemistry,2001,第44卷,第5期,737中所描述的类似的方法中进行反应来获得化合物Mono-5。

[1414] 化合物Mono-5的制备

[1415] 产率67%

[1416] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 4.95-4.90 (m, 2H) , 3.69-3.54 (m, 4H) , 3.35-3.27 (m, 1H) , 2.46-2.44 (m, 1H) , 2.27-2.25 (m, 1H) , 0.89 (s, 9H) , 0.05 (s, 6H)

[1417] 实施例22:化合物D-1的制备

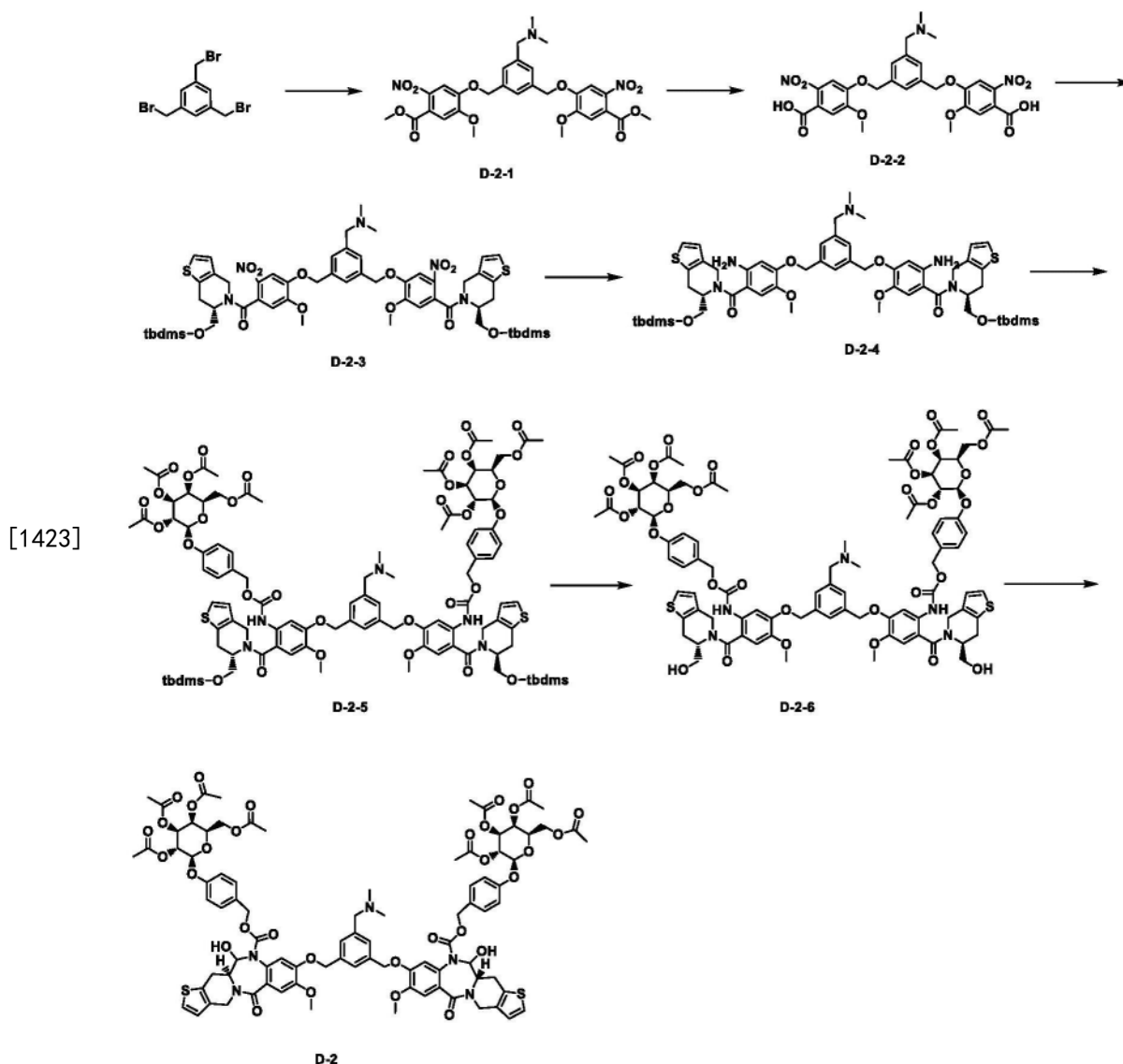


[1419] 化合物D-1的制备

[1420] 在室温下于 N_2 气氛下用 K_2CO_3 (44.2mg, 0.32mmol) 处理化合物Mono-1 (100mg, 0.32mmol)、1,3,5-三(溴甲基)苯 (56.6mg, 0.16mmol) 于DMF (2.0mL) 中的溶液, 搅拌6小时。用二甲胺 (0.5mL) 处理反应混合物并且搅拌30分钟。通过制备型HPLC纯化混合物, 获得化合物D-1 (29mg, 23%)。

[1421] EI-MS m/z : 788 ($\text{M}^+ + 1$)。

[1422] 实施例23:化合物D-2的制备



[1424] 化合物D-2-1的制备

[1425] 在室温下于 N_2 气氛下用 K_2CO_3 (44.2mg, 0.32mmol, 1.0当量) 处理1,3,5-三(溴甲基)苯 (3.9g, 11.0mmol)、化合物Int-2 (4.96g, 21.9mmol) 于DMF (10.0mL) 中的溶液, 搅拌6小时。用二甲胺 (5.0mL) 处理反应混合物并且搅拌30分钟。用蒸馏水 (50mL) 和DCM (100mL \times 2) 稀释反应混合物。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物D-2-1 (2.74g, 41%)。

[1426] 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.50 (s, 2H), 7.41 (d, $J=12.0$ Hz, 3H), 7.08 (s, 2H), 5.20 (s, 4H), 3.97 (s, 6H), 3.91 (s, 6H), 3.47 (s, 2H), 2.25 (s, 6H); EI-MS m/z : 614 (M^+ +1)。

[1427] 化合物D-2-2的制备

[1428] 向化合物D-2-1 (2.74g, 4.46mmol) 于THF (75mL) 和 H_2O (50mL) 中的溶液中添加LiOH (937mg, 22.33mmol)。搅拌5小时后。在减压下浓缩反应混合物。将残余物冷却至 $0^\circ C$ 并且通过添加2N HCl溶液调节至pH 2, 然后过滤固体并且用 H_2O (30mL)、EA (100mL) 洗涤, 获得化合物D-2-2 (2.5g, 96%)。

[1429] 1H NMR (400MHz, $DMSO-d_6$) δ 7.71 (s, 2H), 7.60 (d, $J=17.6$ Hz, 3H), 7.32 (s, 2H), 5.30 (s, 4H), 3.91 (s, 6H), 2.67 (s, 6H); EI-MS m/z : 586 (M^+ +1)。

[1430] 化合物D-2-3的制备

[1431] 在室温下于N₂气氛下用PyBop (3.5g, 6.40mmol)、DIPEA (2.2mL, 12.8mmol) 处理化合物D-2-2 (1.5g, 2.56mmol)、化合物Mono-2 (1.52g, 5.38mmol) 于DMF (50.0ml) 中的溶液中, 搅拌2小时。用蒸馏水 (100mL) 和EA (100mL × 2) 稀释反应混合物。经无水Na₂SO₄干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物D-2-3 (2.7g, 94%); EI-MS m/z: 1116 (M⁺)。

[1432] 化合物D-2-4的制备

[1433] 在室温下于H₂下用5% Pd/C (5.1g, 2.42mmol) 处理化合物D-2-3 (2.7g, 2.42mmol) 于EA (50.0ml) 中的溶液并且搅拌1小时。经CELITE®过滤反应混合物, 然后在减压下浓缩, 获得化合物D-2-4 (1.87g, 93%); EI-MS m/z: 1056 (M⁺)。

[1434] 化合物D-2-5的制备

[1435] 在室温下于N₂气氛下用HOBT (13.0mg, 0.095mmol)、DIPEA (36uL, 0.208mmol) 处理化合物D-2-4 (100mg, 0.095mmol)、Int-TG3 (189mg, 0.28mmol) 于无水THF (3.0ml) 中的溶液, 搅拌44小时。用蒸馏水 (10mL) 和EA (20mL × 2) 萃取反应混合物并且用饱和NH₄Cl (50mL) 洗涤有机层。经无水Na₂SO₄干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物D-2-5 (76mg, 40%); EI-MS m/z: 2017 (M⁺)。

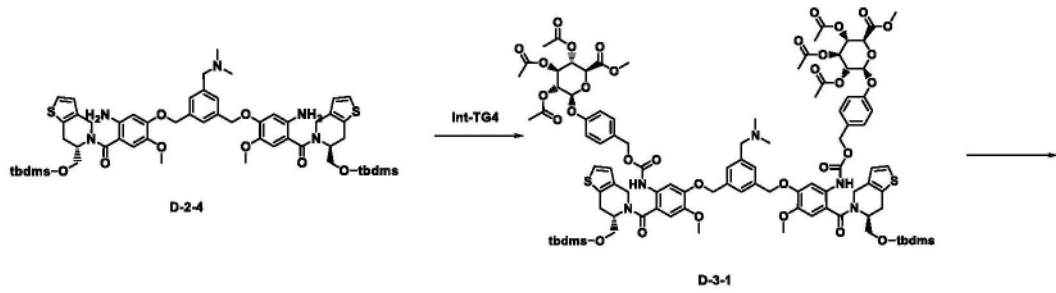
[1436] 化合物D-2-6的制备

[1437] 在0°C下于N₂气氛下用TFA/ACN (1.0mL) 处理化合物D-2-5 (116.7mg, 0.06mmol) 于ACN (2.0ml)、H₂O (800uL) 中的溶液, 搅拌2小时。通过制备型HPLC纯化残余物, 获得化合物D-2-6 (83.3mg, 80%); EI-MS m/z: 1788 (M⁺)。

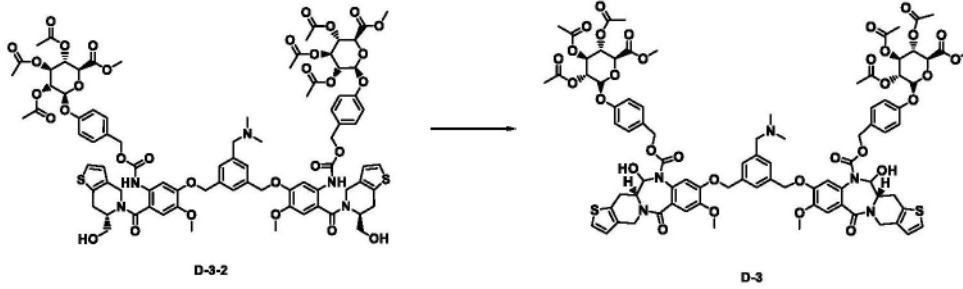
[1438] 化合物D-2的制备

[1439] 在0°C下于N₂气氛下用戴斯-马丁高碘烷 (Dess-Martin periodinane) (45.4mg, 0.11mmol) 处理化合物D-2-6 (83.3mg, 0.046mmol) 于无水DCM (3.0ml) 中的溶液, 搅拌4小时。用蒸馏水 (10mL) 和EA (30mL × 2) 稀释反应混合物。经无水Na₂SO₄干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过制备型HPLC纯化残余物, 获得化合物D-2 (59.3mg, 71%); EI-MS m/z: 1784 (M⁺)。

[1440] 实施例24: 化合物D-3的制备



[1441]



[1442] 经由与实施例23中所描述的类似的方法合成化合物D-3。

[1443] 化合物D-3-1

[1444] 产率9%

[1445] EI-MS m/z : 1989 (M^+)。[1446] 化合物D-3-2

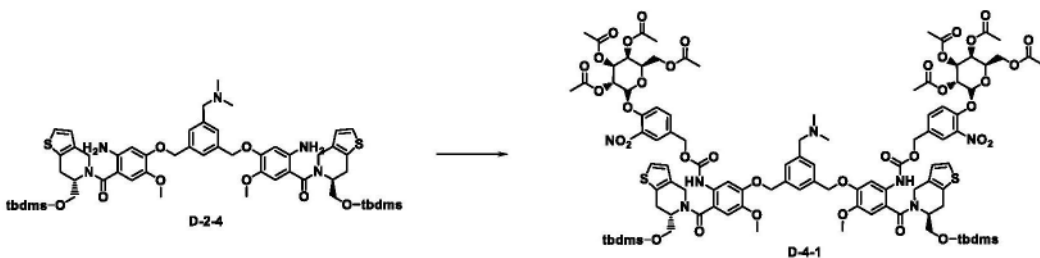
[1447] 产率65%

[1448] EI-MS m/z : 1760 (M^+)。[1449] 化合物D-3

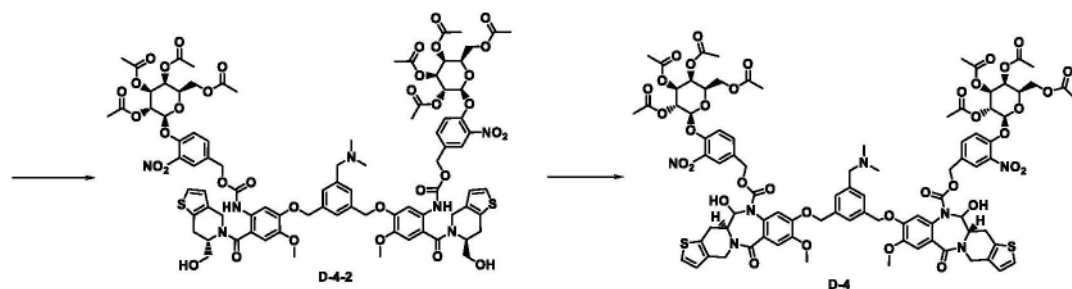
[1450] 产率48%

[1451] EI-MS m/z : 1756 (M^+)。

[1452] 实施例25: 化合物D-4的制备



[1453]



[1454] 经由与实施例23中所描述的类似的方法合成化合物D-4。

[1455] 化合物D-4-1

[1456] 产率56%

[1457] EI-MS m/z :1054.42 (M^+ /2), 2107.27 (M^+)。

[1458] 化合物D-4-2

[1459] 产率77%

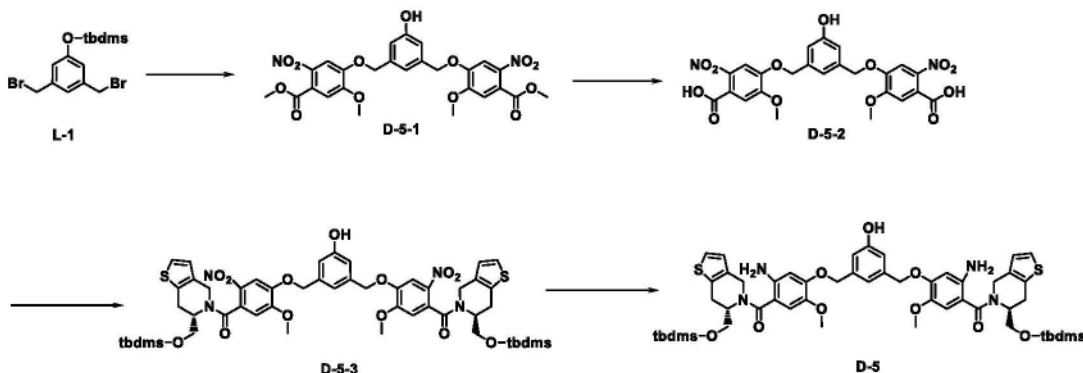
[1460] EI-MS m/z :1879.18 ($M+1$)。

[1461] 化合物D-4

[1462] 产率74%

[1463] EI-MS m/z :1874.36 (M^+)。

[1464] 实施例26:化合物D-5的制备



[1465]

[1466] 化合物D-5-1的制备

[1467] 在室温下于 N_2 气氛下用 K_2CO_3 (166mg, 1.20mmol) 处理化合物L-1 (189mg, 0.48mmol)、化合物Int-2 (239.6mg, 1.05mmol) 于DMF (5.0mL) 中的溶液, 搅拌6小时。用EA (30mL \times 2)、 H_2O (15mL) 萃取反应混合物。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物D-5-1 (227.8mg, 83%)。

[1468] 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.49 (s, 2H), 7.09 (s, 2H), 7.05 (s, 1H), 6.90 (s, 2H), 5.16 (s, 4H), 3.98 (s, 6H), 3.91 (s, 6H)。

[1469] 化合物D-5-2的制备

[1470] 在室温下用LiOH (83.5mg, 2.0mol) 处理化合物D-5-1 (277.8mg, 0.4mol) 于THF (6.0mL)、 H_2O (4.0mL) 中的溶液并且搅拌3小时。在减压下浓缩反应混合物。将残余物冷却至 $0^\circ C$ 并且通过添加2N HCl溶液调节至pH 2, 然后过滤固体并且用 H_2O (30mL)、乙醚 (100mL) 洗涤, 获得化合物D-5-2 (207.6mg, 96%)。

[1471] 1H NMR (400MHz, $DMSO-d_6$) δ 9.72 (brs, 1H), 7.65 (s, 2H), 7.29 (s, 1H), 6.94 (s, 1H), 6.84 (s, 1H), 5.17 (s, 4H), 3.91 (s, 6H)。

[1472] 化合物D-5-3的制备

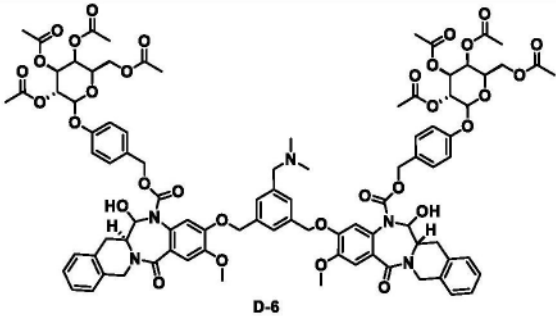
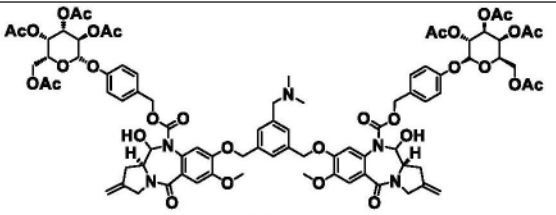
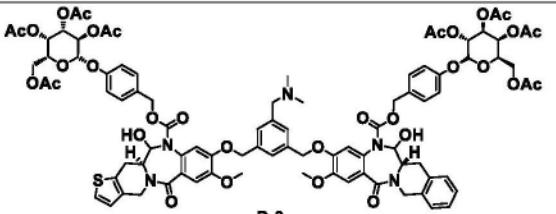
[1473] 在室温下于 N_2 气氛下用PyBop (143.4g, 0.28mmol)、DIPEA (96 μ L, 0.55mmol) 处理化合物D-5-2 (60g, 0.11mmol)、化合物Mono-2-2 (68.7mg, 0.24mmol) 于DMF (5.0ml) 中的溶液, 搅拌1小时。用蒸馏水 (10mL) 和EA (30mL \times 2) 稀释反应混合物。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物D-5-3 (73.1mg, 62%); EI-MS m/z :1076 (M^+)。

[1474] 化合物D-5的制备

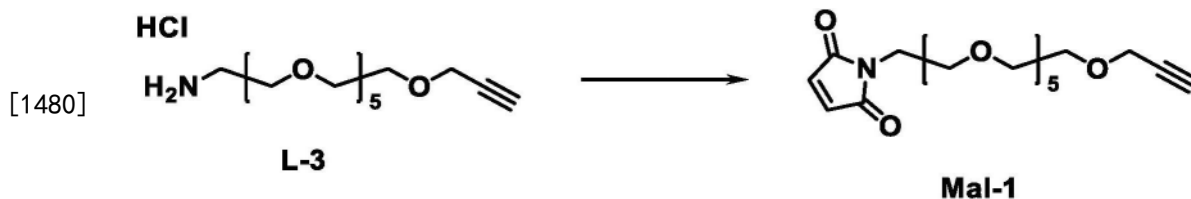
[1475] 在室温下于 H_2 下用5% Pd/C (128.6g, 0.06mmol) 处理化合物D-5-3 (65mg,

0.06mmol) 于EA (4.0ml) 中的溶液并且搅拌1小时。经CELITE®过滤反应混合物,然后在减压下浓缩,获得化合物D-5 (54.6mg, 89%) ;EI-MS m/z : 1016 (M^+)。

[1476] 表1. 经由实施例23中所描述的合成途经合成的化合物。

化合物	结构	分析数据
[1477] D-6		产率 76% EI-MS m/z : 1773 ($M^+ + 1$)
[1478] D-7		产率 83% EI-MS m/z : 836.98 ($M^+ / 2$), 1673 ($M^+ + 1$)
[1478] D-8		产率 68% EI-MS m/z : 890.01 ($M^+ / 2 + 1$), 1779 ($M^+ + 1$)。

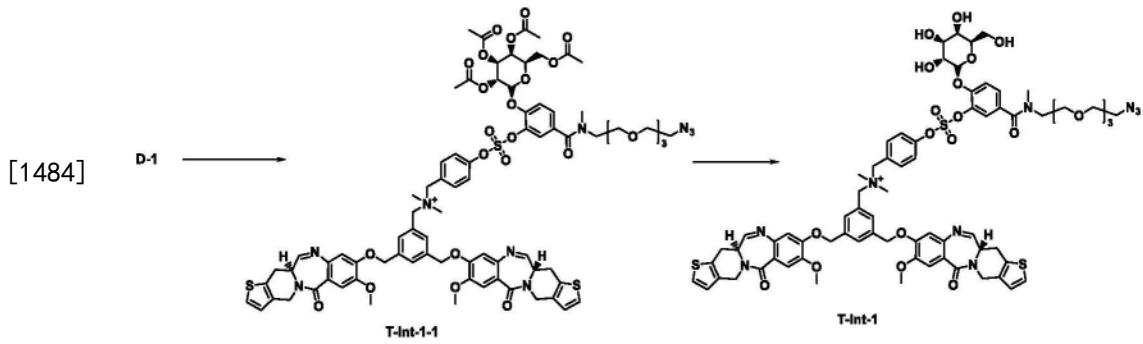
[1479] 实施例27: 化合物Ma1-1的制备



[1481] 在0°C下于N₂气氛下用N-甲氧基羰基马来酰亚胺 (417.5mg, 2.69mmol) 处理化合物L-3 (957.9mg, 2.69mmol) 于饱和NaHCO₃ (25mL) 中的溶液并且搅拌3小时。用EA (50mL × 6) 萃取反应物。经Na₂SO₄干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法 (Hex:EA = 1:5) 纯化残余物, 获得呈微黄色油状的化合物Ma1-1 (690.1mg, 64%)。

[1482] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 6.71 (s, 2H), 4.21 (d, J = 2.4Hz, 2H), 3.75-3.58 (m, 24H), 2.44 (t, J = 2.4Hz, 1H); EI-MS m/z : 400 ($M^+ + 1$)。

[1483] 实施例28: 化合物T-Int-1的制备



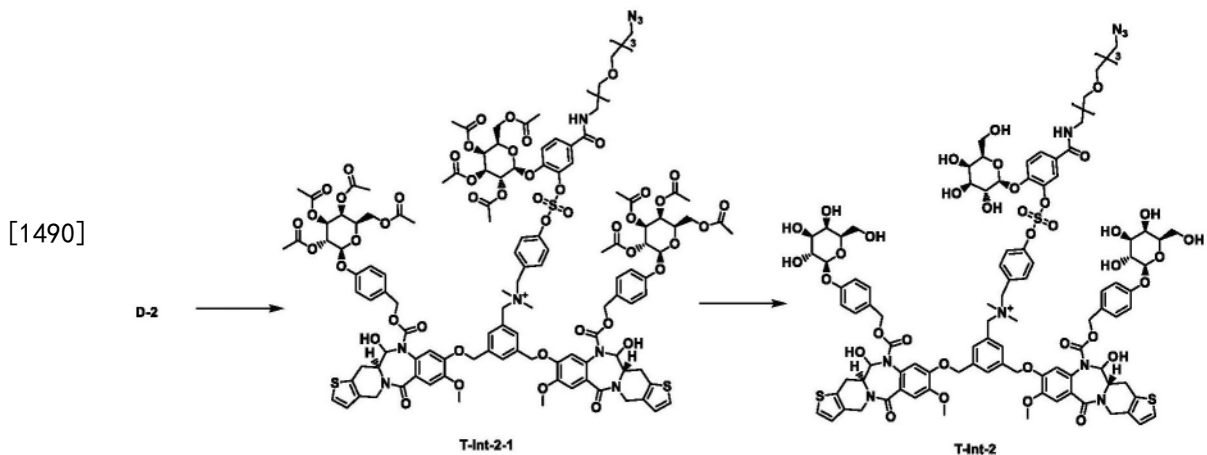
[1485] 化合物T-Int-1-1的制备

[1486] 在室温下于 N_2 气氛下用DIPEA (18 μ L, 0.104mmol) 处理化合物D-1 (34mg, 0.052mmol) 和化合物Int-TG11 (64.2mg, 0.068mmol) 于DMF (2.0mL) 中的溶液并且搅拌3小时。分离混合物并且通过制备型HPLC纯化, 获得化合物T-Int-1-1 (52.8mg, 74%); EI-MS m/z : 1656 (M^+ +1)。

[1487] 化合物T-Int-1的制备

[1488] 在0 $^{\circ}$ C下于 N_2 气氛下用 K_2CO_3 (26.4mg, 0.19mmol) 处理化合物T-Int-1-1 (52.8mg, 0.032mmol) 于MeOH (2.0mL) 中的溶液并且搅拌1小时。分离混合物并且通过制备型HPLC纯化, 获得化合物T-Int-1 (41.1mg, 86%); EI-MS m/z : 1488 (M^+ +1)。

[1489] 实施例29: 化合物T-Int-2的制备



[1491] 经由与实施例26中所描述的类似的方法合成化合物T-Int-2。

[1492] 化合物T-Int-2-1

[1493] 产率73%

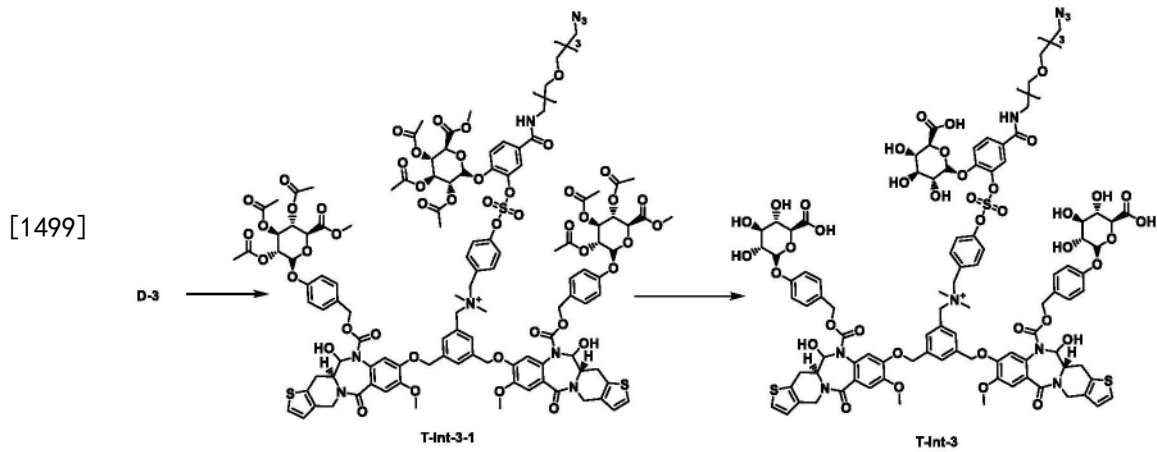
[1494] EI-MS m/z : 2638 (M^+)。

[1495] 化合物T-Int-2

[1496] 产率68%

[1497] EI-MS m/z : 2134 (M^+)。

[1498] 实施例30: 化合物T-Int-3的制备



[1500] 以与实施例24和26中所描述的类似的方式合成化合物T-Int-3。

[1501] 化合物T-Int3-1

[1502] 产率80%

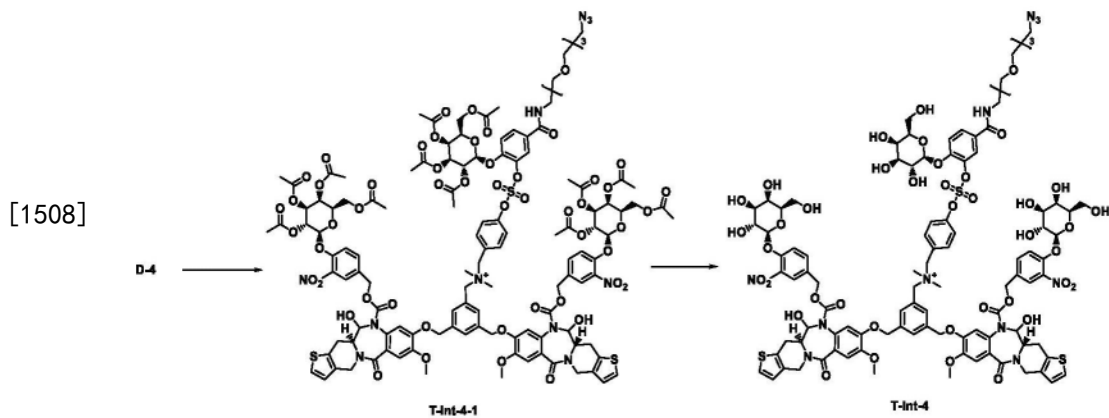
[1503] EI-MS m/z : 2596 (M^+)。

[1504] 化合物T-Int-3

[1505] 产率64%

[1506] EI-MS m/z : 2176 (M^+)。

[1507] 实施例31: 化合物T-Int-4的制备



[1509] 经由与实施例26中所描述的类似的合成途径合成化合物T-Int-4。

[1510] 化合物T-Int4-1

[1511] 产率68%

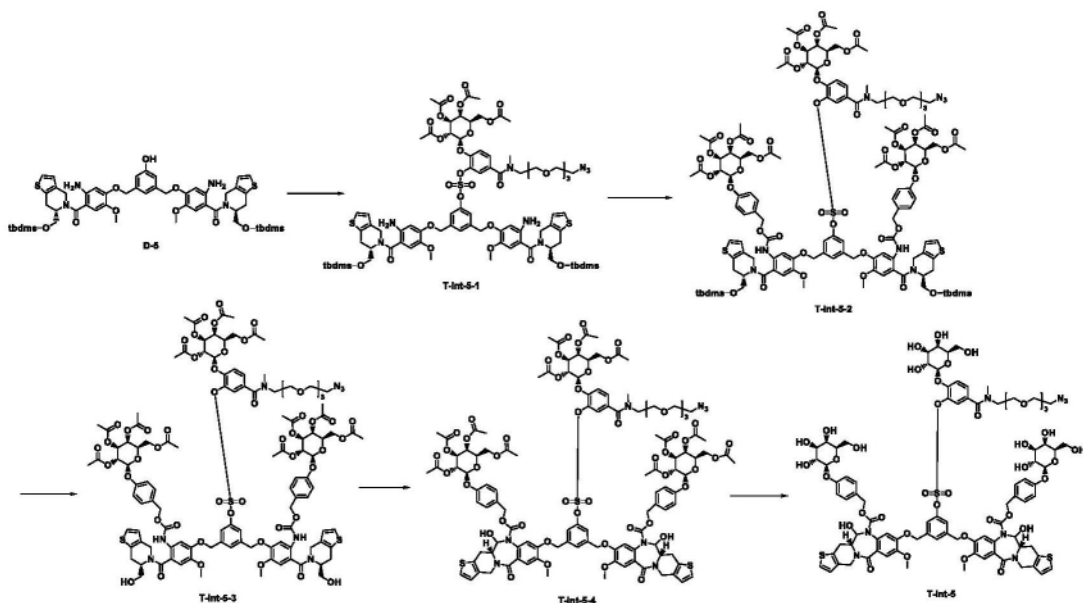
[1512] EI-MS m/z : 1112.20 ($M^+/2$)。

[1513] 化合物T-Int-4

[1514] 产率63%

[1515] EI-MS m/z : 1311 ($M^+/2$), 2623 (M^+)。

[1516] 实施例32: 化合物T-Int-5的制备



[1517]

[1518] 化合物T-Int-5-1的制备

[1519] 在室温下于 N_2 气氛下用BEMP (11.5 μ l, 0.0394mmol) 处理化合物D-5 (100mg, 0.0934mmol)、化合物Int-TG14 (84.5mg, 0.1083mmol) 于无水ACN (1.5ml) 中的溶液并且搅拌6小时。用EA (10mL \times 2)、 H_2O (5mL) 萃取反应混合物。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤, 在减压下浓缩。通过制备型HPLC纯化反应混合物, 获得化合物T-Int-5-1 (68.3mg, 46%); EI-MS m/z : 888 ($M^+/2$), 1776 (M^+)。

[1520] 化合物T-Int-5-2的制备

[1521] 在室温下于 N_2 气氛下用DIPEA (6.4 μ l, 0.0372mmol)、HOBt (2.3mg, 0.0169mmol \times 4) 处理化合物T-Int-5-1 (30mg, 0.0169mmol)、化合物Int-TG3 (33.6mg, 0.0507mmol \times 2) 于无水THF (1.5mL) 中的溶液并且搅拌44小时。用EA/ H_2O 萃取反应混合物。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤, 在减压下浓缩。通过制备型TLC纯化反应混合物, 获得化合物T-Int-5-2 (35.7mg, 78%); EI-MS m/z : 1369 ($M^+/2$), 2737 (M^+)。

[1522] 化合物T-Int-5-3的制备

[1523] 在 $0^\circ C$ 下于 N_2 气氛下向化合物T-Int-5-2 (35.7mg, 0.013mmol) 于ACN (0.6ml) 中的溶液中逐滴添加TFA/ACN溶液 (0.3ml, 1:1) 并且搅拌2.5小时。通过制备型HPLC纯化反应混合物, 获得化合物T-Int-5-3 (22mg, 67%); EI-MS m/z : 1255 ($M^+/2$), 2509 (M^++1)。

[1524] 化合物T-Int-5-4的制备

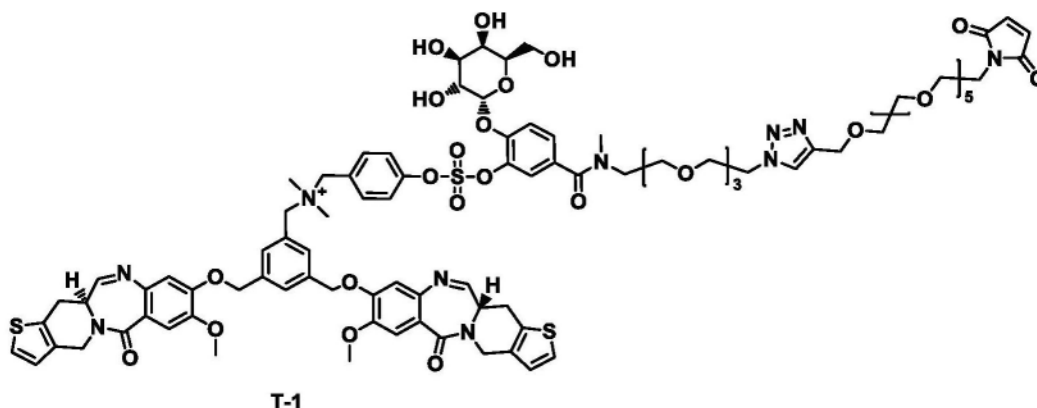
[1525] 在 $0^\circ C$ 下于 N_2 气氛下用戴斯-马丁高碘烷 (8.6mg, 0.02mmol) 处理化合物T-Int-5-3 (22mg, 0.001mmol) 于无水DCM (2.0ml) 中的溶液并且在室温下搅拌过夜。用EA (10mL \times 2)、 H_2O (3mL) 萃取反应混合物。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤, 在减压下浓缩。通过制备型HPLC纯化反应混合物, 获得化合物T-Int-5-4 (19.6mg, 89%)。

[1526] EI-MS m/z : 1252 ($M^+/2$), 2504 (M^++1)。[1527] 化合物T-Int-5的制备

[1528] 在 $0^\circ C$ 下用 K_2CO_3 (9.5mg, 0.047mmol) 处理化合物T-Int-5-4 (19.6mg, 0.008mmol) 于MeOH/ACN (1.0ml/1.0ml) 中的溶液并且搅拌2.5小时。通过制备型HPLC纯化反应混合物, 获得化合物T-Int-5 (10.3mg, 66%); EI-MS m/z : 1000 ($M^+/2$), 2000 (M^+)。

[1529] 实施例33:化合物T-1的制备

[1530]

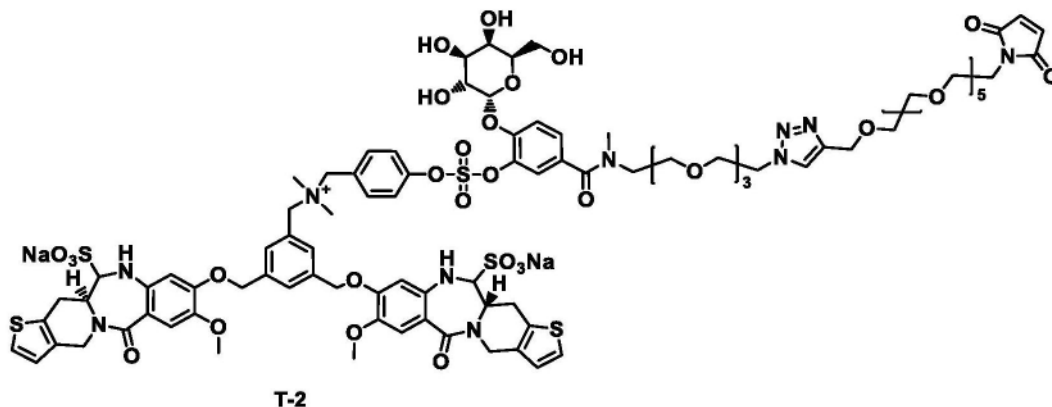


T-1

[1531] 在室温下于 N_2 氮气氛围下用1M抗坏血酸钠($13\mu\text{L}$, 0.013mmol)和 $0.1\text{M}\text{CuSO}_4$ ($26\mu\text{L}$, 0.0026mmol)处理化合物T-Int-1 (10mg , 0.007mmol)、Mal-1 (4.0mg , 0.010mmol)于EtOH (3.2mL)、 H_2O (0.8mL)中的溶液并且搅拌40分钟。通过制备型HPLC纯化反应混合物,获得化合物T-1 (6.6mg , 51%); EI-MS m/z : 1888 (M^+)。

[1532] 实施例34:化合物T-2的制备

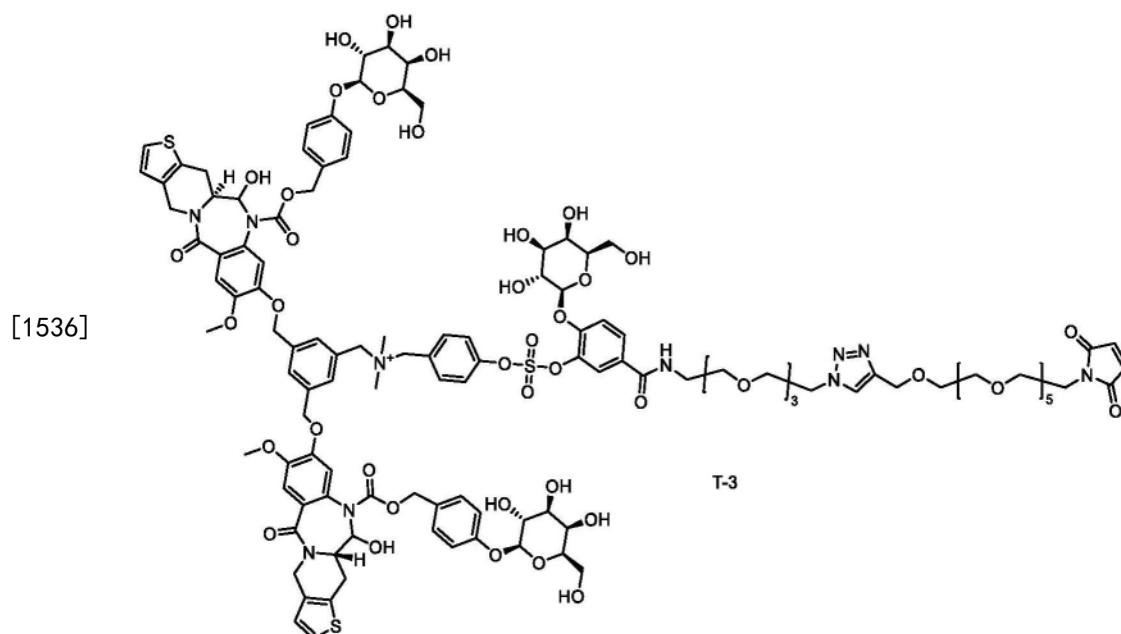
[1533]



T-2

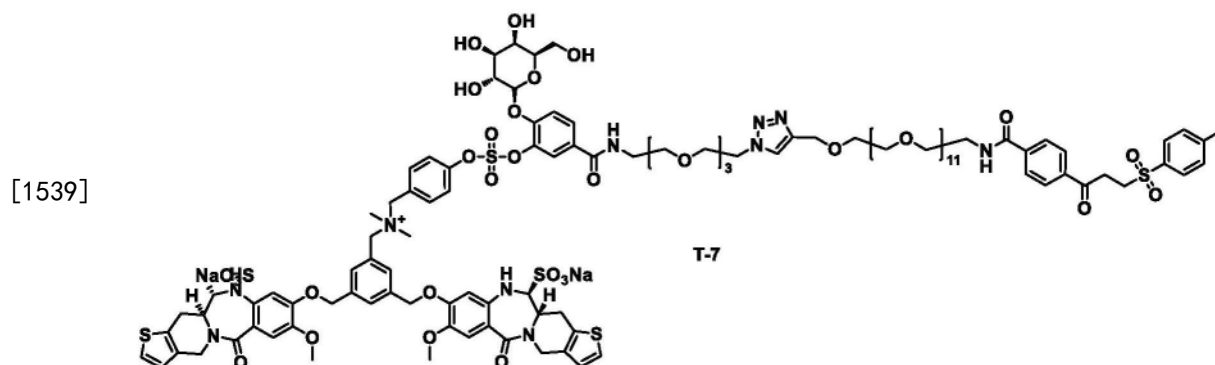
[1534] 在室温下用 NaHSO_3 处理化合物T-1 (2.4mg , 0.0013mmol)于含 0.1% 甲酸的 H_2O (1.0mL)中的溶液并且搅拌6小时。将反应混合物冷冻干燥,获得化合物T-2 (2.7mg , 定量)。

[1535] 实施例35:化合物T-3的制备



[1537] 在室温下于 N_2 气氛下用CuBr (0.5mg, 0.0035mmol) 处理化合物T-Int-2 (2.5mg, 0.0012mmol)、Mal-2 (1.4mg, 0.0035mmol) 于DMSO (200uL)、 H_2O (200uL) 中的溶液, 搅拌1小时。通过制备型HPLC (含0.1%甲酸的水/含0.1%甲酸的ACN) 纯化反应混合物, 获得化合物T-23 (1.8mg, 61%); EI-MS m/z : 1267 ($M^+/2$), 2534 (M^++1)。

[1538] 实施例36: 化合物T-7的制备



[1540] 经由与文献W02020/089687中所描述的类似的合成途径合成T-7。

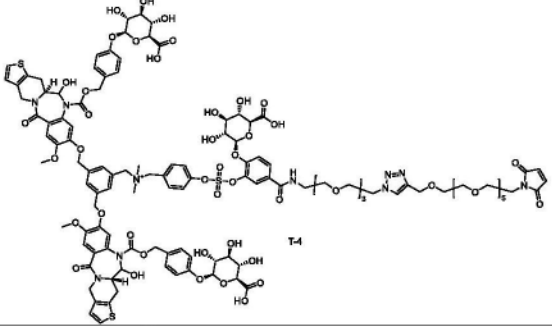
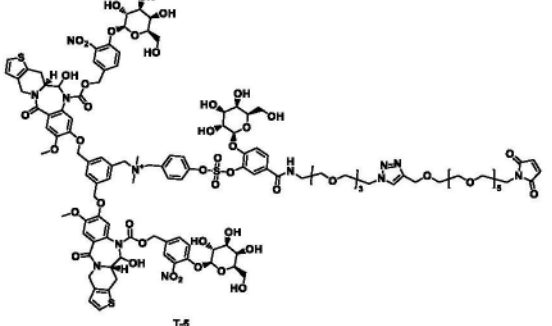
[1541] 产率92%:

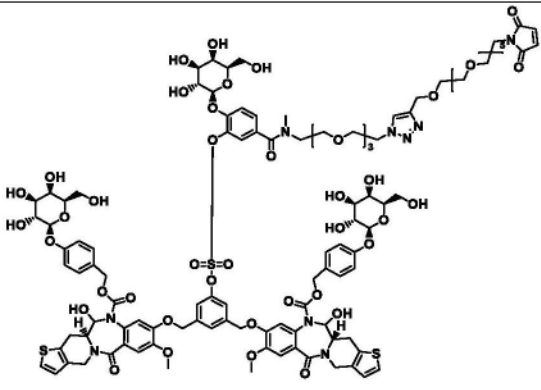
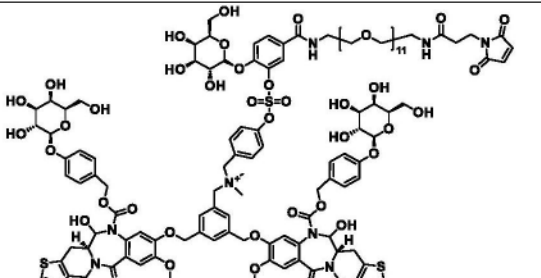
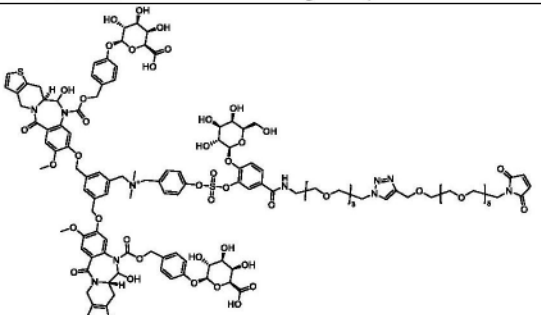
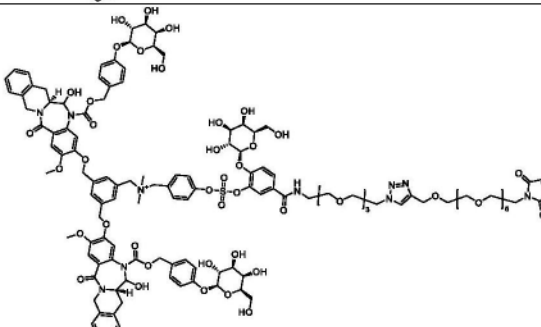
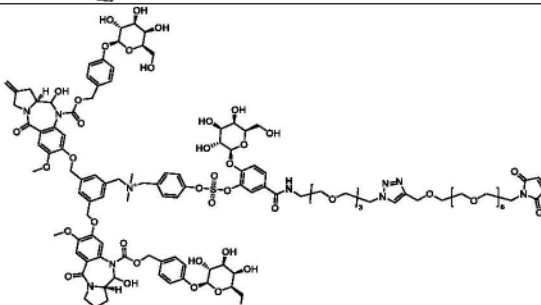
[1542] ESI-MS m/z : 2580 (M^+)。

[1543] 实施例37: 额外化合物的制备

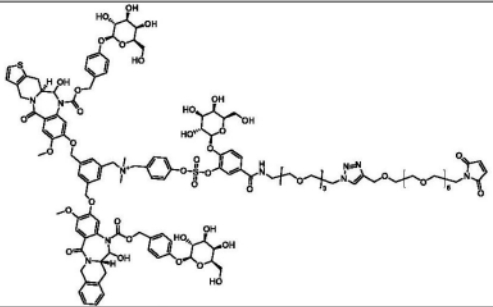
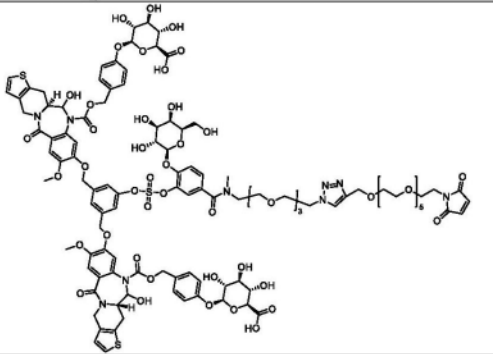
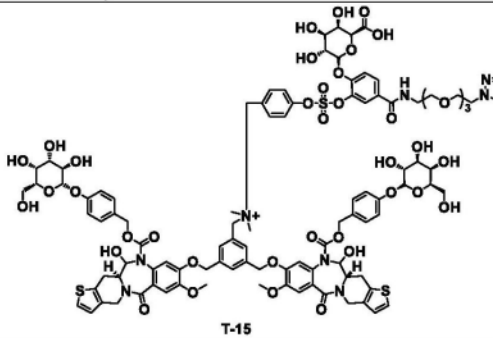
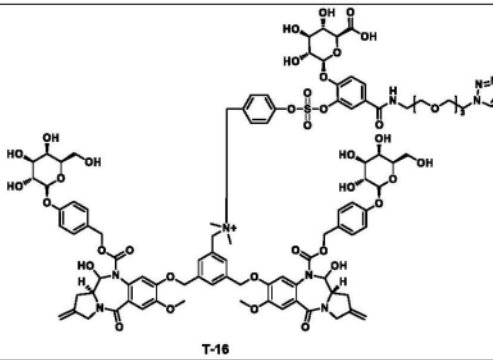
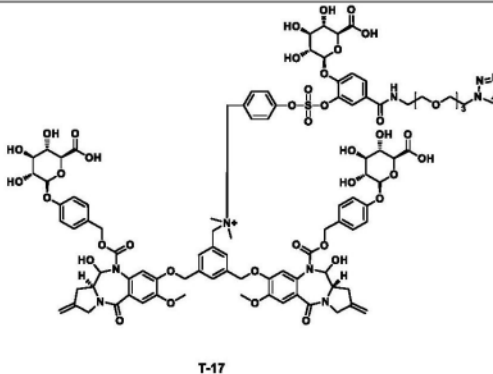
[1544] 表2: 经由与实施例33中所描述的类似的合成途径合成的化合物。

[1545]

化合物	结构	分析数据
T-4		产率 58% EI-MS m/z: 1288 ($M^+/2$), 2576 (M^++1)。
T-5		产率 63% ESI-MS m/z: 1312($M^+/2$), 2623(M^+)。

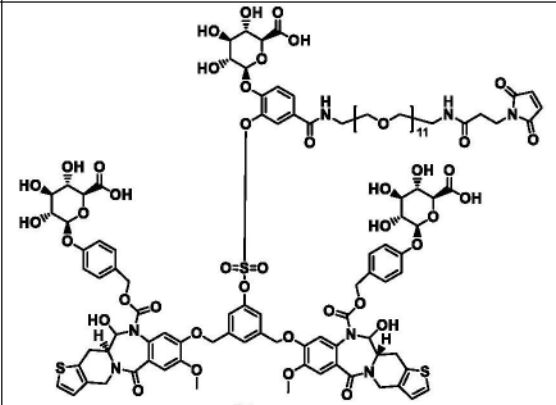
T-6	 <p style="text-align: center;">T-6</p>	产率 63% ESI-MS m/z: 1200 (M ⁺ /2), 2399 (M ⁺)。
T-9		产率 60% ESI-MS m/z: 1305 (M ⁺ /2)。
T-10		产率 54% ESI-MS m/z: 1281 (M/2) ⁺ , 2562 (M ⁺ +1)
T-11		产率 74% EI-MS m/z: 1260 (M+2+1), 2519 (M+)。
T-12		产率 63% EI-MS m/z: 1210 (M+2)。

[1546]

T-13		产率 70% EI-MS m/z: 1263 (M+2)。
T-14		产率 54% ESI-MS m/z: 1281 (M/2) ⁺¹ , 2562 (M ⁺ +1)
T-15	 <p style="text-align: center;">T-15</p>	产率 68% ESI-MS m/z: 1273 (M ⁺ /2)
T-16	 <p style="text-align: center;">T-16</p>	产率 75% ESI-MS m/z: 1218.33 (M ⁺ /2)
T-17	 <p style="text-align: center;">T-17</p>	产率 78% ESI-MS m/z: 1231.87 (M ⁺ /2), 2464.14 (M ⁺ +1)。

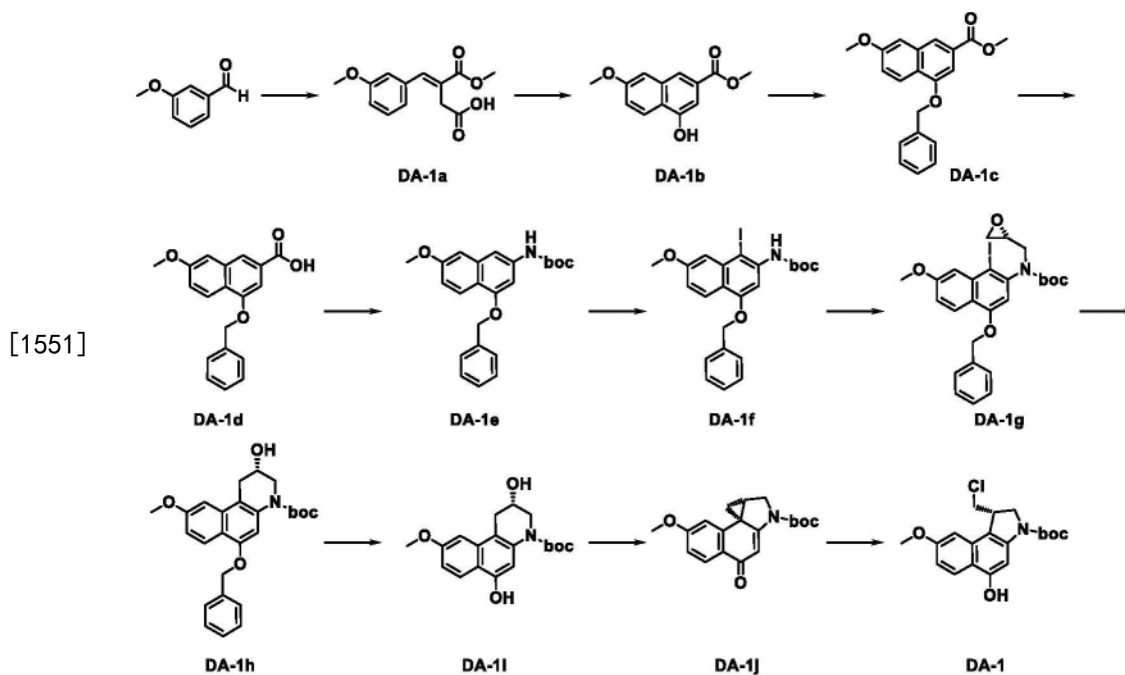
[1547]

[1548] 表3:经由与实施例30中所描述的类似的合成途径合成的化合物。

化合物	结构	分析数据
T-8		产率 47% EI-MS m/z: 1253 (M ⁺ /2)

[1549]

[1550] 实施例38:化合物DA-1的制备



[1552] 化合物DA-1a的制备

[1553] 在室温下于N₂气氛下向琥珀酸二甲酯(9.58mL, 73.4mmol)的溶液添加0.5M NaOMe的MeOH溶液(220mL, 110mmol)和间茴香醛(10g, 73.4mmol)。在80℃下搅拌反应混合物1小时。在室温下冷却反应混合物并且在减压下浓缩。然后用2M盐酸中和,并且用水稀释。用EA萃取产物。经无水Na₂SO₄干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。产生呈橙色油状的化合物DA-1a(18.3g, 定量),其未经进一步纯化即使用。

[1554] 化合物DA-1b的制备

[1555] 在室温下于N₂气氛下向化合物DA-1a(18.3g, 73.4mmol)于无水THF(40mL)中的溶液中添加TFAA(11.2mL, 80.74mmol)。在80℃下搅拌反应混合物1小时。用K₂CO₃水溶液中和反应混合物。用EtOAc萃取产物。经NaSO₄干燥有机层,过滤,并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物DA-1b(8.3g, 48%)。

[1556] ¹H NMR(400Hz, CDCl₃) δ8.14-8.11(m, 2H), 8.28(s, 1H), 7.24-7.20(m, 3H), 3.96(s, 3H), 3.94(s, 3H)

[1557] EI-MS m/z : 233 (M^+ + 1)。

[1558] 化合物DA-1c的制备

[1559] 在0℃下于N₂气氛下向化合物DA-1b (6.1g, 26.2mmol) 于无水DMF (25mL) 中的溶液中添加K₂CO₃ (5.43g, 39.3mmol) 和苯甲基溴 (3.4mL, 28.8mmol)。在80℃下搅拌反应混合物3小时。在室温下冷却反应混合物。然后用2M盐酸中和, 并且用水稀释。用EA萃取产物。经无水Na₂SO₄干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物DA-1c (5.2g, 61%)。

[1560] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ 8.25 (d, J = 8.8Hz, 1H), 8.21 (s, 1H), 7.55 (d, J = 6.8Hz, 1H), 7.45-7.42 (m, 2H), 7.38-7.35 (m, 2H), 7.24-7.17 (m, 2H), 5.29 (s, 2H), 3.97 (s, 3H), 3.93 (s, 3H)

[1561] EI-MS m/z : 323 (M^+ + 1)。

[1562] 化合物DA-1d的制备

[1563] 在N₂气氛下向化合物DA-1c (5.2g, 16.1mmol) 于甲苯 (30mL) 和MeOH (50mL) 中的溶液中添加4M NaOH (32.2mL, 129mmol)。搅拌4小时后, 浓缩至1/3体积, 然后用4M HCl酸化。用EA萃取产物。经无水Na₂SO₄干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。产生呈橙色油状的化合物DA-1d (4.55g, 92%), 其未经进一步纯化即使用。

[1564] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ 8.28 (d, J = 8.8Hz, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.57-7.52 (m, 2H), 7.47-7.36 (m, 4H), 7.25-7.23 (m, 2H), 5.30 (s, 2H), 3.99 (s, 3H)

[1565] EI-MS m/z : 309 (M^+ + 1)。

[1566] 化合物DA-1e的制备

[1567] 在N₂气氛下向化合物DA-1d (4.20g, 13.6mmol) 于甲苯 (25.0mL) 中的溶液中添加TEA (2.08mL, 14.96mmol)、DPPA (3.20mL, 14.96mmol) 和t-BuOH (3.40mL, 35.36mmol)。在80℃下搅拌反应混合物1.5小时。在室温下冷却混合物后, 添加EtOAc和Na₂CO₃水溶液, 并且分离各层。经无水Na₂SO₄干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物DA-1e (4.49g, 87%)。

[1568] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ 8.11 (d, J = 9.2Hz, 1H), 7.51 (d, J = 7.6Hz, 2H), 7.44-7.40 (m, 2H), 7.37-7.34 (m, 2H), 7.01-6.97 (m, 2H), 6.87 (d, J = 1.6Hz, 1H), 6.58 (s, 1H), 5.21 (s, 2H), 3.88 (s, 3H), 1.55 (s, 9H)

[1569] EI-MS m/z : 379 (M^+)。

[1570] 化合物DA-1f的制备

[1571] 在室温下于N₂气氛下向化合物DA-1e (8.70g, 22.9mmol) 于DMSO (115mL) 中的溶液中添加NIS (5.40g, 24.0mmol)。搅拌1小时后, 用EtOAc萃取反应混合物。经无水Na₂SO₄干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物DA-1f (10.5g, 91%)。

[1572] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ 8.15 (d, J = 8.8Hz, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.56-7.52 (m, 2H), 7.45-7.41 (m, 2H), 7.38-7.36 (m, 2H), 7.02 (dd, J = 8.8, 2.4Hz, 1H), 5.26 (s, 2H), 3.97 (s, 3H), 1.58 (s, 9H)

[1573] EI-MS m/z : 506 (M^+ + 1)。

[1574] 化合物DA-1g的制备

[1575] 将化合物DA-1f (1.0g, 1.98mmol) 溶解于DMF (7.30mL) 中, 在0℃下用60% NaH

(119mg, 2.97mmol) 去质子化, 并且在室温下用3-硝基苯磺酸(S)-缩水甘油酯(617mg, 2.38mmol) 烷基化1.5小时。通过添加 NH_4Cl 水溶液淬灭反应物, 并且用EtOAc萃取混合物。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物DA-1g(1.04g, 94%)。

[1576] ^1H NMR(400Hz, CDCl_3) δ 8.25-8.17(m, 1H), 7.92(s, 1H), 7.54-7.49(m, 2H), 7.43-7.34(m, 3H), 7.17-7.13(m, 1H), 6.91-6.69(m, 1H), 5.32-5.17(m, 2H), 3.99(s, 3H), 3.48-3.41(m, 1H), 3.17-3.14(m, 1H), 2.43-2.41(m, 1H), 1.59(d, $J=6.8\text{Hz}$, 2H), 1.56(s, 9H)

[1577] EI-MS m/z : 583(M^+Na)。

[1578] 化合物DA-1h的制备

[1579] 在 -40°C 下于 N_2 气氛下向化合物DA-1g(2.0g, 3.56mmol)于无水THF(23.0mL)中的溶液中添加1.3M Turbo格氏试剂(grignard)的THF溶液(22.0mL, 28.5mmol)。搅拌20分钟后, 并且使温度缓慢升至室温。再搅拌混合物3小时, 然后用饱和 NH_4Cl 水溶液淬灭。用EtOAc萃取混合物。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物DA-1h(1.30g, 85%)。

[1580] ^1H NMR(400Hz, CDCl_3) δ 8.21(dd, $J=8.0, 2.0\text{Hz}$, 1H), 7.54(d, $J=1.2\text{Hz}$, 1H), 7.52-7.41(m, 3H), 7.13(s, 1H), 7.10-7.07(m, 2H), 5.21(s, 2H), 3.92(s, 3H), 1.54(s, 9H)

[1581] EI-MS m/z : 436(M^+1)。

[1582] 化合物DA-1i的制备

[1583] 在 H_2 气氛下向化合物DA-1h(1.0g, 2.30mmol)于THF(55mL)和甲醇(37mL)中的溶液中添加甲酸铵(2.18g, 34.5mmol)和5% Pd/C(1.47g, 0.690mmol)。在室温下搅拌反应混合物1小时。经CELITE®过滤反应混合物并且在减压下浓缩。化合物DA-1i未经进一步纯化即直接用于下一步骤中(810mg, 定量)。

[1584] ^1H NMR(400Hz, CDCl_3) δ 8.06(d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 7.11-7.07(m, 2H), 7.03(d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 4.44-4.38(m, 1H), 3.92(s, 3H), 3.86-3.82(m, 2H), 3.31(dd, $J=16.8, 6.0\text{Hz}$, 1H), 2.95(dd, $J=16.8, 5.2\text{Hz}$, 1H), 1.96(d, $J=5.6\text{Hz}$, 1H), 1.55(s, 9H)

[1585] EI-MS m/z : 345(M^+)。

[1586] 化合物DA-1j的制备

[1587] 在 H_2 气氛下向化合物DA-1i(810mg, 2.35mmol)于甲苯(78.0mL)中的溶液中添加ADDP(2.98g, 11.8mmol)和 Bu_3P (2.95g, 11.8mmol)。在室温下搅拌反应混合物1小时。在减压下浓缩反应混合物。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物DA-1j(570mg, 74%)

[1588] ^1H NMR(400Hz, CDCl_3) δ 8.17(d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 6.92(dd, $J=8.8, 2.4\text{Hz}$, 1H), 6.731(s, 1H), 6.29(d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H), 4.02-3.94(m, 2H), 3.85(s, 3H), 2.72-2.68(m, 1H), 1.59-1.58(m, 1H), 1.56(s, 9H), 1.46(t, $J=4.8\text{Hz}$, 1H),

[1589] EI-MS m/z : 328(M^+1)。

[1590] 化合物DA-1的制备

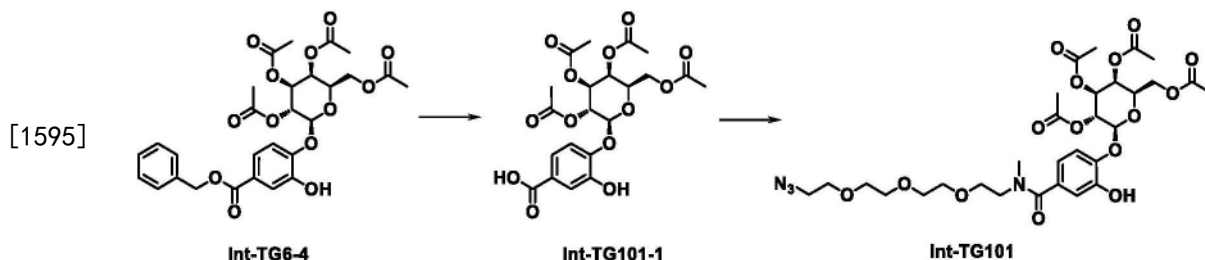
[1591] 将化合物DA-1j(570mg, 1.74mmol)溶解于EA(29.0mL)中。在 -78°C 下于 H_2 气氛下添加含4M HCl的1,4-二噁烷(2.50mL)。搅拌20分钟后, 在减压下浓缩反应混合物。化合物DA-1未经进一步纯化即直接用于下一步骤中(640mg, 99%)。

[1592] ^1H NMR(400Hz, CDCl_3) δ 8.08(d, $J=9.2\text{Hz}$, 1H), 7.54-7.52(m, 1H), 6.99(dd, $J=$

9.2, 2.4Hz, 1H), 6.86 (d, J=2.4Hz, 1H), 4.24-4.22 (m, 1H), 4.15-4.09 (m, 2H), 3.92-3.87 (m, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.42 (t, J=12.0Hz, 1H), 1.60 (s, 9H)

[1593] EI-MS m/z : 364 (M^+ + 1)。

[1594] 实施例39: 化合物Int-TG101的制备



[1596] 化合物Int-TG101-1的制备

[1597] 在室温下于 H_2 下向化合物Int-TG6-4 (5.4g, 9.40mmol) 于EA (470mL) 中的溶液添加Pd/C (5%, 500mg, 0.235mmol)。搅拌混合物4.5小时并且经CELITE®过滤, 然后在减压下浓缩。化合物Int-TG101-1未经进一步纯化即直接用于下一步骤中 (4.97g, 定量)。

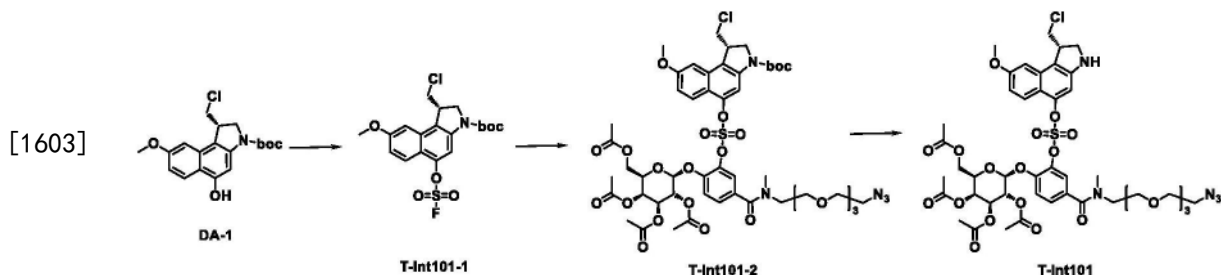
[1598] 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.67 (s, 1H), 7.62 (dd, J=6.4, 2.0Hz, 1H), 7.02 (d, J=8.4Hz, 1H), 5.51-5.45 (m, 2H), 5.16 (dd, J=7.2, 3.6Hz, 1H), 5.04 (d, J=8.0Hz, 1H), 4.21-4.09 (m, 4H), 2.20 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.01 (d, J=7.6Hz, 8.4H)。

[1599] 化合物Int-TG101的制备

[1600] 在 $0^\circ C$ 下于 N_2 气氛下向化合物Int-TG101-1 (1.07g, 2.21mmol) 于DMF (11.0mL) 中的溶液中添加化合物L-2 (730mg, 2.72mmol)、PyBOP (1.38g, 2.65mmol) 和DIPEA (0.96mL, 5.53mmol)。在室温下搅拌反应混合物1小时。用水淬灭反应物并且用EtOAc萃取。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物Int-TG101 (1.17g, 76%)。

[1601] EI-MS m/z : 699 (M^+)。

[1602] 实施例40: 化合物T-Int101的制备



[1604] 化合物T-Int101-1的制备

[1605] 在室温下于 N_2 气氛下向化合物DA-1 (330mg, 0.907mmol) 于DCM (15.0mL) 中的溶液中添加 Et_3N (0.510mL, 3.63mmol)。经由气球引入 SO_2F_2 气体, 并且在室温下搅拌混合物45分钟。用DCM萃取混合物。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物T-Int101-1 (306mg, 76%)。

[1606] 1H NMR (400Hz, $CDCl_3$) δ 8.20-7.82 (m, 1H), 7.93 (d, J=9.6Hz, 1H), 7.16 (dd, J=9.2, 2.4Hz, 1H), 6.94 (d, J=2.0Hz, 1H), 4.31 (brs, 1H), 4.18-4.11 (m, 1H), 4.01-3.89 (m, 2H), 3.95 (s, 3H), 3.50 (t, J=11.2Hz, 1H), 1.60 (s, 9H)

[1607] EI-MS m/z :468 (M^+Na)。

[1608] 化合物T-Int101-2的制备

[1609] 在0℃下于 N_2 气氛下向化合物T-Int101-1 (150mg, 0.336mmol) 于DMF (1.50mL) 中的溶液中添加Int-TG101 (247mg, 0.353mmol) 和BEMP (84 μ L, 0.302mmol)。在室温下搅拌反应混合物40分钟。用水淬灭反应物并且用EtOAc萃取。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物T-Int101-2 (344mg, 91%)。

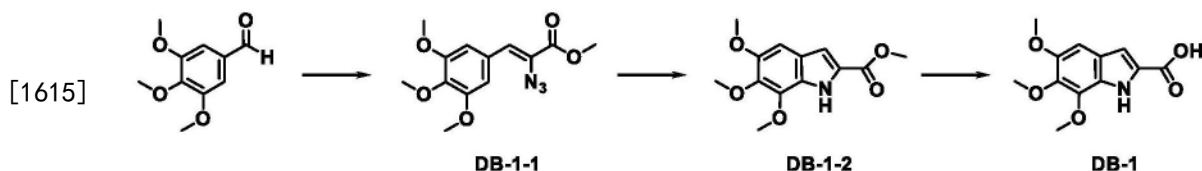
[1610] EI-MS m/z :1124 (M^+)。

[1611] 化合物T-Int101的制备

[1612] 在室温下于 N_2 气氛下向化合物T-Int101-2 (140mg, 0.124mmol) 于DCM (6.0mL) 中的溶液中添加4.0M氯化氢于1,4-二噁烷 (2.0mL) 中的溶液。搅拌1.5小时后, 用DCM稀释反应混合物并且在减压下浓缩。化合物T-Int101未经进一步纯化即用于下一步骤中。(128mg, 97%)

[1613] EI-MS m/z :1024 (M^+)。

[1614] 实施例41: 化合物DB-1的制备



[1616] 化合物DB-1-1的制备

[1617] 在-20℃下于 N_2 气氛下向0.5M甲醇钠于甲醇中的溶液 (52.8mL, 26.4mmol) 中添加3,4,5-三甲氧基苯甲醛 (650mg, 3.31mmol) 和叠氮基乙酸甲酯 (3.81g, 33.1mmol, CAS编号1816-92-8) 于MeOH (5.30mL) 中溶液中。在0℃下搅拌反应混合物6小时。添加冷水后, 通过过滤收集所得沉淀物。用水洗涤固体并且在真空中干燥, 获得呈黄色固体状的化合物DB-1-1 (640mg, 66%)。

[1618] 1H NMR (400Hz, $CDCl_3$) δ 7.10 (s, 2H), 6.85 (s, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.90 (s, 6H), 3.89 (s, 3H)

[1619] 化合物DB-1-2的制备

[1620] 在室温下于 N_2 气氛下化合物DB-1-1 (100mg, 0.341mmol) 于对二甲苯 (3.40mL) 中的溶液。在180℃下搅拌反应混合物30分钟。在室温下冷却反应混合物并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物DB-1-2 (92.0mg, 定量)。

[1621] 1H NMR (400Hz, $CDCl_3$) δ 7.10 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 6.82 (s, 1H), 4.08 (s, 3H), 3.93 (d, $J=1.2$ Hz, 6H), 3.90 (s, 3H)

[1622] EI-MS m/z :266 (M^+1)。

[1623] 化合物DB-1的制备

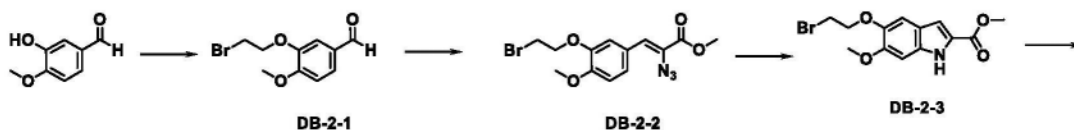
[1624] 在0℃下于 N_2 气氛下向化合物DB-1-2 (1.0g, 3.77mmol) 于甲醇/ H_2O /1,4-二噁烷 (10.0mL/5.00mL/10.0mL) 中的溶液中添加一水合氢氧化锂 (316mg, 7.54mmol)。在室温下搅拌反应混合物5小时。用HCl淬灭反应物后, 通过过滤收集所得沉淀物。用水洗涤固体并且在真空中干燥, 获得呈白色固体状的化合物DB-1 (830mg, 88%)。

[1625] 1H NMR (400Hz, $CDCl_3$) δ 7.24 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 6.84 (s, 1H), 4.09 (s, 3H), 3.94 (s,

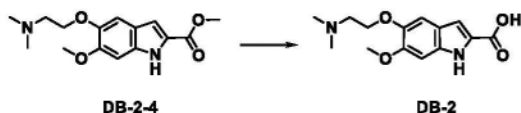
3H), 3.91 (s, 3H)

[1626] EI-MS m/z : 252 (M^+ + 1)。

[1627] 实施例42: 化合物DB-2的制备



[1628]



[1629] 化合物DB-2-1的制备

[1630] 在 N_2 气氛下向异香草醛 (5.0g, 32.9mmol) 于1.6N NaOH溶液 (41.1mL) 中的溶液中添加1,2-二溴乙烷 (17.1mL, 197mmol)。使混合物回流过夜。反应完成后, 在室温下冷却混合物。用MC萃取反应混合物。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物DB-2-1 (5.60g, 66%)。

[1631] 1H NMR (400Hz, $CDCl_3$) δ 9.85 (s, 1H), 7.53-7.50 (m, 1H), 7.42 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.01 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 4.40 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 3.97 (s, 3H), 3.70 (t, $J=6.8$ Hz, 2H)

[1632] EI-MS m/z : 260 (M^+ + 1)。

[1633] 以与实施例41中化合物DB-1-2的制备方法类似的方式合成化合物DB-2-2和DB-2-3。

[1634] 化合物DB-2-2

[1635] 产率18%

[1636] 1H NMR (400Hz, $CDCl_3$) δ 7.56 (d, $J=2.0$ Hz, 1H), 7.39 (dd, $J=8.4, 2.0$ Hz, 1H), 6.90 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 6.86 (s, 1H), 4.38 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 3.69 (t, $J=6.8$ Hz, 2H)

[1637] 化合物DB-2-3

[1638] 产率73%

[1639] 1H NMR (400Hz, $CDCl_3$) δ 7.14 (s, 1H), 7.11-7.10 (m, 1H), 6.86 (s, 1H), 4.35 (t, $J=6.8$ Hz, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.92 (s, 3H), 3.69 (t, $J=6.8$ Hz, 2H)

[1640] EI-MS m/z : 329 (M^+ + 1)。

[1641] 化合物DB-2-4的制备

[1642] 在 N_2 气氛下向化合物DB-2-3 (100mg, 0.305mmol) 于DMF (2.50mL) 中的溶液中添加二甲胺 (0.77mL, 1.53mmol) 和碳酸钾 (42.2mg, 0.305mmol)。在室温下搅拌反应混合物1小时。用水淬灭反应物并且用EtOAc萃取。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物DB-2-4 (90.0mg, 定量)。

[1643] EI-MS m/z : 293 (M^+ + 1)。

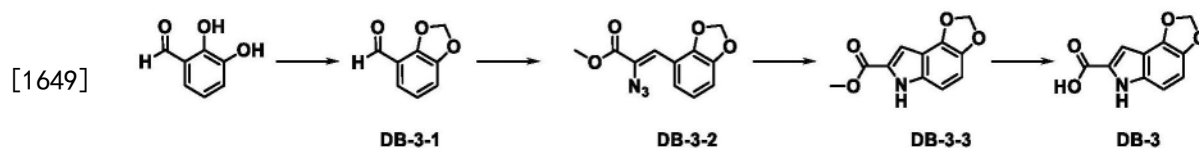
[1644] 化合物DB-2的制备

[1645] 在 $0^\circ C$ 下于 N_2 气氛下用2N NaOH溶液 (0.92mL, 1.85mmol) 处理化合物DB-2-4 (45.0mg, 0.154mmol) 于甲醇 (1.0mL) 中的溶液, 搅拌过夜。通过制备型HPLC纯化混合物, 获得化合物DB-2 (53mg, 定量)。

[1646] $^1\text{H NMR}$ (400Hz, CDCl_3) δ 11.6 (s, 1H), 7.24 (s, 1H), 6.97 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 6.92 (s, 1H), 4.24 (t, $J=4.8\text{Hz}$, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.48-3.44 (m, 2H), 2.86 (s, 6H)

[1647] EI-MS m/z : 279 ($M^+ + 1$)。

[1648] 实施例43: 化合物DB-3的制备



[1650] 化合物DB-3-1的制备

[1651] 在 0°C 下向2,3-二羟基苯甲醛(5.0g, 36.2mmol)于DMF(100mL)中的溶液中添加碳酸钾(15.1g, 109mmol)。搅拌反应混合物1小时后, 添加二溴甲烷(7.55mL, 109mmol)。在 75°C 下搅拌反应混合物4小时。用2N HCl淬灭反应物并且用EtOAc萃取。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物DB-3-1(4.08g, 75%)。

[1652] $^1\text{H NMR}$ (400Hz, CDCl_3) δ 10.1 (s, 1H), 7.29 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 7.03 (d, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 6.94 (t, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 6.14 (s, 2H)

[1653] EI-MS m/z : 151 ($M^+ + 1$)。

[1654] 以与实施例41的化合物DB-1的制备方法类似的方式合成化合物DB-3。

[1655] 化合物DB-3-2

[1656] 产率79%

[1657] $^1\text{H NMR}$ (400Hz, CDCl_3) δ 7.75-7.72 (m, 1H), 7.03 (s, 1H), 6.86 (t, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 6.80 (dd, $J=8.0, 1.6\text{Hz}$, 1H), 6.00 (s, 2H), 3.91 (s, 3H)

[1658] 化合物DB-3-3

[1659] 产率31%

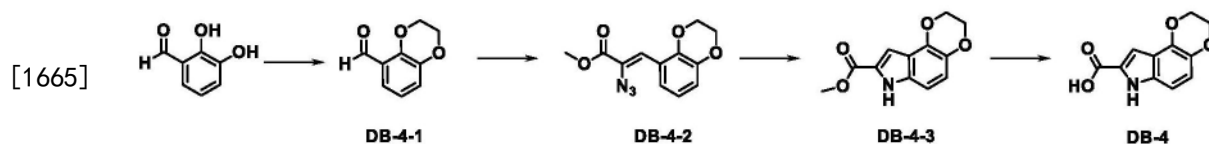
[1660] $^1\text{H NMR}$ (400Hz, CDCl_3) δ 7.13-7.11 (m, 1H), 6.99 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 6.90 (dd, $J=8.4, 0.8\text{Hz}$, 1H), 6.05 (s, 2H), 3.94 (s, 3H); EI-MS m/z : 438 (2M)。

[1661] 化合物DB-3

[1662] 产率27%

[1663] $^1\text{H NMR}$ (400Hz, 甲醇- D_4) δ 6.91-6.81 (m, 3H), 5.94 (s, 2H); EI-MS m/z : 206 ($M^+ + 1$)。

[1664] 实施例44: 化合物DB-4的制备



[1666] 经由与实施例43中所描述的类似的方法合成化合物DB-4。

[1667] 化合物DB-4-1

[1668] 产率92%

[1669] $^1\text{H NMR}$ (400Hz, CDCl_3) δ 10.36 (s, 1H), 7.39 (dd, $J=7.6, 2.0\text{Hz}$, 1H), 7.10 (dd, $J=8.0, 1.6\text{Hz}$, 1H), 6.93-6.89 (m, 1H), 4.40-4.37 (m, 2H), 4.34-4.31 (m, 2H)。

[1670] 化合物DB-4-2

[1671] 产率75%

[1672] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 7.80-7.76(m, 1H), 7.29(s, 1H), 6.88(s, 1H), 6.86(s, 1H), 4.34-4.31(m, 2H), 4.27-4.25(m, 2H), 3.91(s, 3H)。

[1673] 化合物DB-4-3

[1674] 产率65%

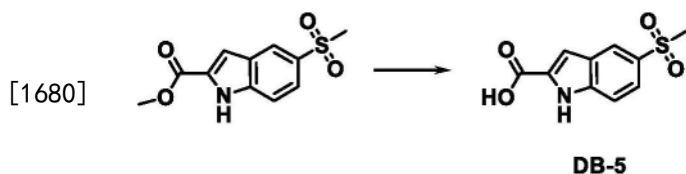
[1675] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 7.22-7.21(m, 1H), 6.93-6.87(m, 2H), 4.41-4.39(m, 2H), 4.32-4.30(m, 2H), 3.93(s, 3H); EI-MS m/z : 467 (2M)。

[1676] 化合物DB-4

[1677] 产率71%

[1678] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 7.06(s, 1H), 6.89(d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 6.80(d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 4.36-4.34(m, 2H), 4.26-4.25(m, 2H)

[1679] 实施例45: 化合物DB-5的制备

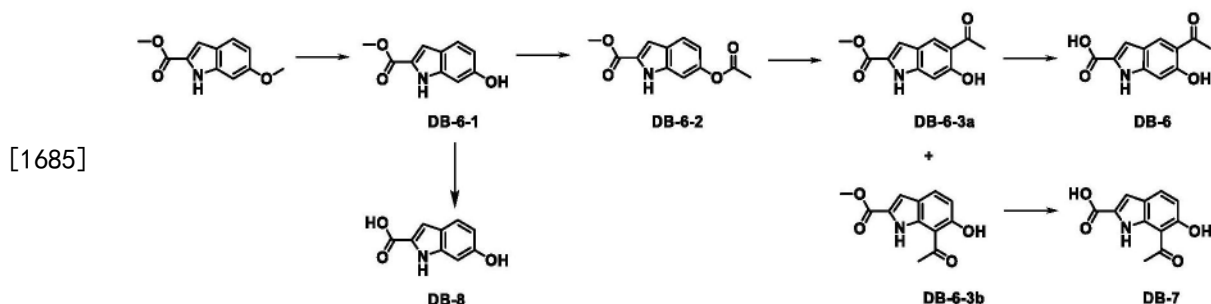


[1681] 以与实施例44的化合物DB-4的制备方法类似的方式合成化合物DB-5。

[1682] 产率99%

[1683] ^1H NMR (400Hz, DMSO) δ 12.3(s, 1H), 8.30(d, $J=1.6\text{Hz}$, 1H), 7.75(dd, $J=9.2$, 2.0Hz, 1H), 7.64(d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 7.32(d, $J=1.2\text{Hz}$, 1H), 3.18(s, 3H); EI-MS m/z : 239 (M⁺)。

[1684] 实施例46: 化合物DB-6、DB-7和DB-8的制备



[1686] 化合物DB-6-1的制备

[1687] 在 -40°C 下于 N_2 气氛下向6-甲氧基-1H-咪唑-2-甲酸甲酯(2g, 9.74mmol)于无水DCM(97mL)中的溶液中逐滴添加三溴化硼(39mL, 37.96mmol, 1M, 于DCM中)。在 0°C 下搅拌5小时后,通过添加 NaHCO_3 溶液(50mL)淬灭反应物并且用DCM(250mL \times 3)、 H_2O (200mL)萃取。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物DB-6-1(1.5g, 80%)。

[1688] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 8.69(brs, 1H), 7.54(d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 7.46(dd, $J=2.0$, 1.2Hz, 1H), 6.83-6.82(m, 1), 6.74(dd, $J=8.8$, 2.4Hz, 1H), 4.88(s, 1H), 3.92(s, 3H)。

[1689] EI-MS m/z : 191 (M⁺)。

[1690] 化合物DB-6-2的制备

[1691] 在 N_2 气氛下向化合物DB-6-1(700mg, 3.66mmol)于无水DCM(25mL)中的溶液中添加

乙酸酐(0.38ml, 4.03mmol)和TEA(1.02ml, 7.32mmol)。在室温下搅拌2小时后,用EA(250ml × 3)、H₂O(200ml)萃取混合物。经无水Na₂SO₄干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物DB-6-2(800mg, 94%)。

[1692] ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ8.88(brs, 1H), 7.67(d, J=8.8Hz, 1H), 7.21-7.17(m, 2H), 6.91-6.88(m, 1H), 3.95(s, 3H), 2.34(s, 3H)。

[1693] EI-MS m/z: 234(M⁺+1)。

[1694] 化合物DB-6-3a和DB-6-3b的制备

[1695] 在室温下于N₂气氛下向化合物DB-6-2(10mg, 0.043mmol)中添加三氟化硼乙醚(0.005ml, 0.043mmol)和乙酸(0.005ml, 0.086mmol)。在110℃下搅拌1小时后,通过添加NaHCO₃溶液(0.5mL)淬灭反应物并且用EA(15ml × 3)、H₂O(10ml)萃取。经无水Na₂SO₄干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物DB-6-3a(4.6mg, 46%)。

[1696] ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ12.28(s, 1H), 8.81(s, 1H), 8.18(s, 1H), 7.23-7.21(m, 1H), 6.87(s, 1H), 3.95(s, 3H), 2.72(s, 3H)。

[1697] EI-MS m/z: 234(M⁺+1)。

[1698] 化合物DB-6-3b

[1699] 产率48%

[1700] ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ9.06(s, 1H), 7.78(d, J=8.8Hz, 1H), 7.22(d, J=2.0Hz, 1H), 6.84(d, J=8.8Hz, 1H), 3.95(s, 3H), 2.86(s, 3H); EI-MS m/z: 234(M⁺+1)。

[1701] 化合物DB-6和DB-7的制备

[1702] 在N₂气氛下向化合物DB-6-3a(14mg, 0.06mmol)于MeOH(1mL)和H₂O(0.5mL)中的溶液中添加一水合氢氧化锂(7.6mg, 0.18mmol)。在60℃下搅拌3小时后,通过添加2N HCl溶液(1mL)淬灭反应物并且用EA(15ml × 3)、H₂O(10ml)萃取。经无水Na₂SO₄干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。产生化合物DB-6(13mg, 100%),其未经进一步纯化即使用。

[1703] ¹H NMR(400MHz, MeOH-d₄) δ8.34(s, 1H), 7.18(d, J=0.8Hz, 1H), 6.80(s, 1H), 2.70(s, 3H)。

[1704] EI-MS m/z: 220(M⁺+1)。

[1705] 化合物DB-6-7

[1706] 产率99%

[1707] ¹H NMR(400MHz, MeOH-d₄) δ7.68(d, J=8.4Hz, 1H), 6.97(s, 1H), 6.72(d, J=8.8Hz, 1H), 2.76(s, 3H); EI-MS m/z: 220(M⁺+1)。

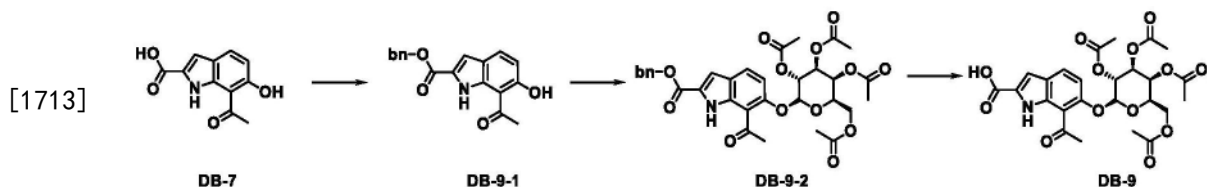
[1708] 化合物DB-8的制备

[1709] 以与实施例46的化合物DB-6的制备方法类似的方式合成化合物DB-8。

[1710] 产率99%

[1711] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ11.32(s, 1H), 9.32(s, 1H), 7.41(dd, J=8.8, 2.8Hz, 1H), 6.96(s, 1H), 6.77(s, 1H), 6.61-6.58(m, 1H); EI-MS m/z: 178(M⁺+1)。

[1712] 实施例47: 化合物DB-9的制备



[1714] 化合物DB-9-1的制备

[1715] 在室温下于 N_2 气氛下向化合物DB-7 (90mg, 0.411mmol) 于DMF (2mL) 中的溶液中添加DIPEA (0.193mL, 1.13mmol) 和苯甲基溴 (0.079mL, 0.658mmol)。在室温下于 N_2 气氛下搅拌反应物4小时。反应完成后,用EA (50mL \times 3)、 H_2O (50mL) 萃取反应混合物。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层,过滤,并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物DB9-1 (99mg, 78%)。

[1716] 1H NMR (400Hz, $CDCl_3$) δ 9.06 (s, 1H), 7.77 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.47-7.36 (m, 5H), 7.27 (s, 1H), 6.84 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 5.40 (s, 2H), 2.82 (s, 3H)。

[1717] EI-MS m/z : 310 (M^+ + 1)。

[1718] 化合物DB-9-2的制备

[1719] 在室温下于 N_2 气氛下向化合物DB-9-1 (5mg, 0.411mmol) 于无水DMF (2mL) 中的溶液中添加Int-TG1 (66.5mg, 0.162mmol)、氧化银 (56.3mg, 0.243mmol) 和分子筛 (200mg)。在相同温度下搅拌18小时后,经CELITE®过滤反应物,然后在减压下浓缩。通过制备型HPLC纯化反应混合物,获得化合物DB-9-2 (3.2mg, 31%)。

[1720] 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 10.95 (s, 1H), 7.81 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.47-7.33 (m, 5H), 7.24 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 6.94 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 5.61 (dd, $J=10.4, 8.0$ Hz, 1H), 5.49 (d, $J=3.2$ Hz, 1H), 5.39 (s, 2H), 5.34 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 5.17 (dd, $J=10.4, 3.6$ Hz, 1H), 4.31-4.05 (m, 3H), 2.71 (s, 3H), 2.22 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 2.03 (s, 3H)。

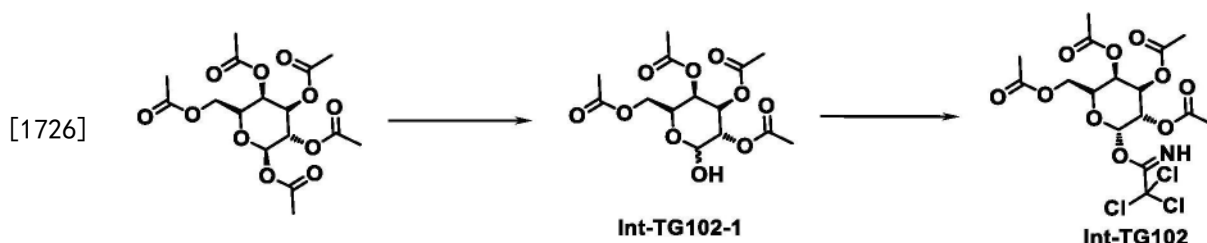
[1721] EI-MS m/z : 662 (M^+ + Na)。

[1722] 化合物DB-9的制备

[1723] 在室温下于 H_2 下向化合物DB-9-2 (3.2mg, 0.005mmol) 于MeOH (1mL) 中的溶液中添加Pd/C (5%, 1mg, 0.0005mmol)。搅拌混合物1小时并且经CELITE®过滤,然后在减压下浓缩。化合物DB-9未经进一步纯化即直接用于下一步骤中 (2.7mg, 100%)。

[1724] EI-MS m/z : 572 (M^+ + Na)。

[1725] 实施例48: 化合物Int-TG102的制备



[1727] 化合物Int-TG102-1的制备

[1728] 在室温下于 N_2 气氛下向 β -D-半乳糖五乙酸酯 (1g, 2.56mmol) 于THF (10mL) 中的溶液中添加3-(二甲氨基)1-丙胺 (1.61mL, 12.8mmol)。在相同温度下搅拌3小时后,用EA (250mL \times 3)、 H_2O (200mL) 萃取反应物。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。

产生化合物Int-TG102-1(891mg,100%),其未经进一步纯化即使用。

[1729] EI-MS m/z :371(M^{++Na})。

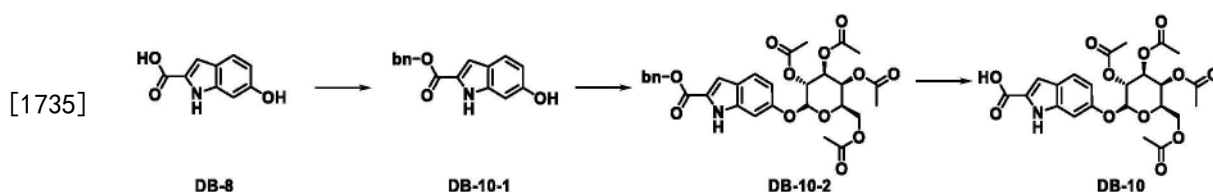
[1730] 化合物Int-TG102的制备

[1731] 在0℃下于N₂气氛下向化合物Int-TG102-1(891mg,2.56mmol)于DCM(10mL)中的溶液中添加三氯乙腈(2.57mL,25.6mmol)和DBU(0.3mL,2.05mmol)。在室温下搅拌30分钟后,用DCM(250ml×3)、H₂O(200ml)萃取反应物。经无水Na₂SO₄干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物Int-TG102(880mg,70%)。

[1732] ¹H NMR(400MHz,CDC1₃) δ8.70(s,1H),6.61(d,J=3.6Hz,1H),5.57(dd,J=2.8,0.8Hz,1H),5.55-5.35(m,2H),4.44(t,J=7.6Hz,1H),4.19-4.06(m,2H),2.17(s,3H),2.04(s,3H),2.03(s,3H),2.02(s,3H)。

[1733] EI-MS m/z :515(M^+Na)。

[1734] 实施例49:化合物DB-10的制备



[1736] 化合物DB-10-1的制备

[1737] 在室温下于N₂气氛下向化合物DB-8(100mg,0.564mmol)于DMF(10mL)中的溶液中添加DIPEA(0.275mL,1.579mmol)和苯甲基溴(0.1mL,0.846mmol)。在相同温度下搅拌5小时后,用EA(100ml×3)、H₂O(100ml)萃取反应混合物。经无水Na₂SO₄干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物DB-10-1(109mg,73%)。

[1738] ¹H NMR(400MHz,CDC1₃) δ8.70(s,1H),7.53(d,J=8.8Hz,1H),7.47-7.36(m,5H),7.22(dd,J=2.4,1.2Hz,1H),6.81-6.80(m,1H),6.73(dd,J=8.8,2.4Hz,1H),5.37(s,2H),4.88(s,1H)。

[1739] EI-MS m/z :268(M^+1)。

[1740] 化合物DB-10-2的制备

[1741] 在-10℃下于N₂气氛下向化合物DB-10-1(50mg,0.187mmol)于无水DCM(4.5mL)中的溶液中添加化合物Int-TG101(184mg,0.374mmol)和三氟化硼乙醚(0.023mL,0.187mmol)。在相同温度下搅拌30分钟后,用EA(50ml×3)、H₂O(30ml)萃取反应混合物。经无水Na₂SO₄干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物DB-10-2(50mg,45%)。

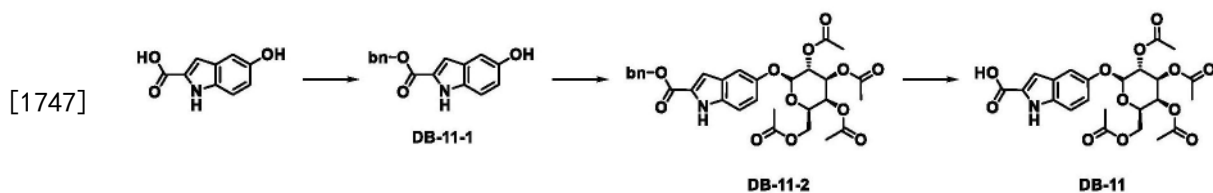
[1742] ¹H NMR(400MHz,CDC1₃) δ8.80(s,1H),7.58(d,J=8.8Hz,1H),7.47-7.38(m,5H),7.24-7.23(m,1H),7.03(d,J=2.0Hz,1H),6.88(dd,J=8.8,2.0Hz,1H),5.55-5.47(m,2H),5.38(s,2H),5.14-5.07(m,2H),4.27(dd,J=11.2,6.4Hz,1H),4.19-4.07(m,2H),2.20(s,3H),2.11(s,3H),2.06(s,3H),2.02(s,3H)。

[1743] 化合物DB-10的制备

[1744] 在室温下于H₂下向化合物DB-10-2(40mg,0.187mmol)于MeOH(3mL)中的溶液中添加Pd/C(5%,8mg,0.004mmol)。搅拌混合物1小时并且经CELITE®过滤,然后在减压下浓缩。化合物DB-10未经进一步纯化即直接用于下一步骤中(34mg,100%)。

[1745] EI-MS m/z :508 (M^+ +1)。

[1746] 实施例50:化合物DB-11的制备



[1748] 经由与实施例49中所描述的类似的方法合成化合物DB-11。

[1749] 化合物DB-11-1

[1750] 产率43%

[1751] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 8.76 (s, 1H), 7.46-7.38 (m, 5H), 7.29 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 7.15 (dd, $J=2.0, 1.2\text{Hz}$, 1H), 7.05 (d, $J=2.8\text{Hz}$, 2H), 6.93 (dd, $J=8.8, 2.4\text{Hz}$, 1H), 5.38 (s, 2H), 4.61 (s, 1H); EI-MS m/z :268 (M^+ +1)。

[1752] 化合物DB-11-2

[1753] 产率96%

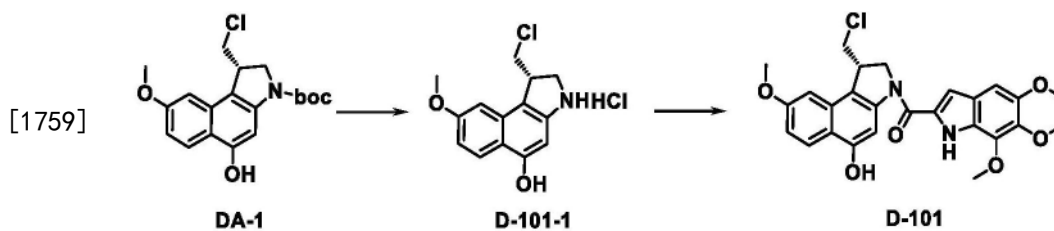
[1754] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 8.84 (s, 1H), 7.45-7.28 (m, 7H), 7.20 (dd, $J=2.4, 1.2$, 1H), 7.06 (dd, $J=8.8, 2.4\text{Hz}$, 1H), 5.53-5.46 (m, 2H), 5.39 (s, 2H), 5.11 (dd, $J=10.4, 3.6\text{Hz}$, 1H), 5.02 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 4.26 (dd, $J=11.2, 6.8\text{Hz}$, 1H), 4.18 (dd, $J=11.2, 6.4\text{Hz}$, 1H), 4.08-4.04 (m, 1H), 2.20 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.01 (s, 3H); EI-MS m/z :598 (M^+ +1)。

[1755] 化合物DB-11

[1756] 产率100%

[1757] EI-MS m/z :507 (M^+)。

[1758] 实施例51:化合物D-101的制备



[1760] 化合物D-101-1的制备

[1761] 在 0°C 下于 N_2 气氛下向化合物DA-1 (100mg, 0.274mmol) 于无水DCM (5.5mL) 中的溶液中添加氯化氢溶液 (3mL, 4.0M, 于二噁烷中)。在室温下搅拌3小时后,在减压下浓缩反应混合物。产生化合物D-101-1 (82mg, 100%), 其未经进一步纯化即使用。

[1762] EI-MS m/z :264 (M^+ +1)。

[1763] 化合物D-101的制备

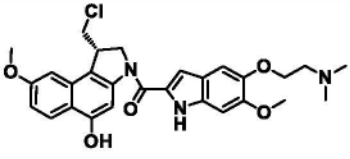
[1764] 在室温下于 N_2 气氛下向化合物D-101-1 (7.0mg, 0.023mmol) 于DMF (1mL) 中的溶液中添加化合物DB-1 (8.6mg, 0.035mmol) 和EDCI (13.2mg, 0.069mmol)。在相同温度下搅拌2小时后,通过制备型HPLC纯化反应混合物,获得化合物D-101 (6.5mg, 58%)。

[1765] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, $\text{MeOH}-d_4$) δ 8.09 (d, $J=9.2\text{Hz}$, 1H), 7.60 (brs, 1H), 7.06-6.98 (m, 4H), 4.65 (d, $J=4.8\text{Hz}$, 2H), 4.10-4.07 (m, 1H), 4.05 (s, 3H), 3.97 (dd, $J=11.2, 3.2\text{Hz}$, 1H),

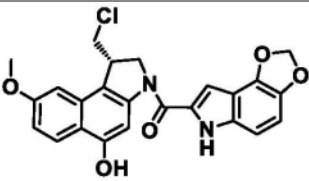
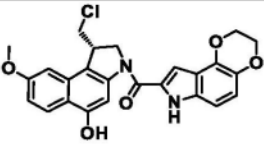
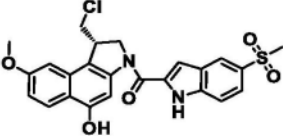
3.93 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 3.64 (dd, $J=11.2, 9.2$ Hz, 1H)。

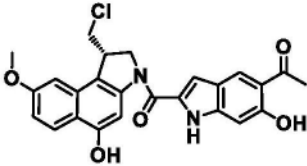
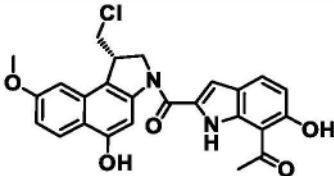
[1766] EI-MS m/z : 496 (M^+)。

[1767] 表4: 经由与实施例51中所描述的类似的合成途径合成的化合物。

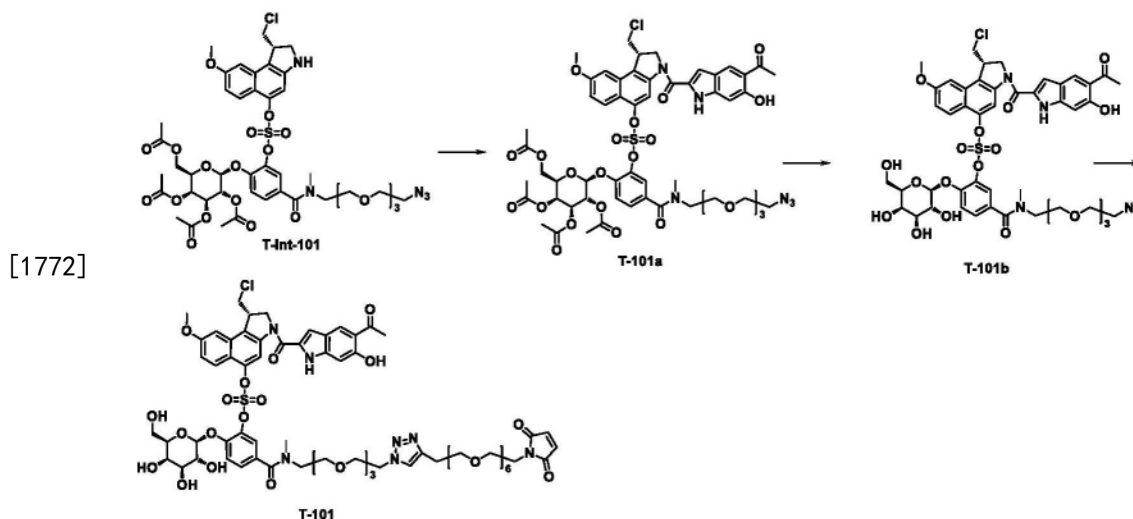
化合物	结构	表征数据
[1768] D-102		产率 68% $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.57 (s, 1H), 10.33 (s, 1H), 9.63 (brs, 1H), 8.01 (d, $J=9.2$

[1769]

		Hz, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.11 - 7.09 (m, 2H), 7.03 (s, 1H), 6.98 (dd, $J = 9.2, 2.4$ Hz, 1H), 4.75 (t, $J = 10.4$ Hz, 1H), 4.53 (d, $J = 10.4$ Hz, 1H), 4.29 (t, $J = 4.4$ Hz, 2H), 4.19 (t, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.05 (dd, $J = 11.2, 3.2$ Hz, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.82 - 3.81 (m, 1H), 3.54 - 3.51 (m, 2H), 2.94 (s, 3H), 2.93 (s, 3H); EI-MS m/z : 524 (M^+).
D-103		产率 60% $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.76 (s, 1H), 10.34 (s, 1H), 8.02 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.12 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H), 7.05 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.01 - 6.97 (m, 3H), 6.07 (s, 2H), 4.80 (t, $J = 10.4$ Hz, 1H), 4.53 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H), 4.19 (t, $J = 2.0$ Hz, 1H), 4.05 (dd, $J = 11.2, 3.2$ Hz, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.87 (dd, $J = 11.2, 7.2$ Hz, 1H); EI-MS m/z : 451 ($M^+ + 1$).
D-104		产率 62% $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.09 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.09 - 6.95 (m, 4H), 6.84 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 5.34 (t, $J = 4.8$ Hz, 1H), 4.70 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 4.60 (s, 1H), 4.39 - 4.37 (m, 2H), 4.29 - 4.27 (m, 2H), 4.14 - 4.06 (m, 1H), 4.01 - 3.97 (m, 1H), 3.94 (s, 3H); EI-MS m/z : 465 ($M^+ + 1$).
D-105		产率 60% $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12.31 (s, 1H), 10.37 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.03 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.77 (dd, $J = 8.8, 2.0$ Hz, 1H), 7.70 (d, $J = 8.8$

		Hz, 1H), 7.44 (s, 1H), 7.13 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H), 7.05 (dd, $J = 9.2, 2.4$ Hz, 1H), 4.80 (t, $J = 10.0$ Hz, 1H), 4.55 (d, $J = 10.8$ Hz, 1H), 4.23 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.05 (dd, $J = 11.2, 3.2$ Hz, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.87 (dd, $J = 11.2, 7.6$ Hz, 1H), 3.20 (s, 3H); EI-MS m/z : 485 (M^{+1}).
[1770]	D-106 	产率 59% $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12.11 (s, 1H), 11.77 (s, 1H), 10.35 (s, 1H), 8.44 (s, 1H), 8.02 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 7.12 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.00 (dd, $J = 9.2, 2.4$ Hz, 1H), 6.85 (s, 1H), 4.78 (t, $J = 9.2$ Hz, 1H), 4.54 (dd, $J = 10.8, 1.6$ Hz, 1H), 4.22 (t, $J = 2.0$ Hz, 1H), 4.05 (dd, $J = 11.2, 3.2$ Hz, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.85 (dd, $J = 10.8, 7.6$ Hz, 1H), 2.72 (s, 3H); EI-MS m/z : 465 (M^{+1}).
	D-107 	产率 58% $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.08 (s, 1H), 10.35 (s, 1H), 8.01 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.84 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.25 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.11 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 6.99 (dd, $J = 9.2, 2.8$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.54 (s, 1H), 4.75 (t, $J = 10.8$ Hz, 1H), 4.55 (dd, $J = 10.8, 1.6$ Hz, 1H), 4.23 (t, $J = 9.2$ Hz, 1H), 4.05 (dd, $J = 10.8, 2.8$ Hz, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.87 (dd, $J = 11.2, 7.6$ Hz, 1H), 2.71 (s, 3H). EI-MS m/z : 465 (M^{+1}).

[1771] 实施例52:化合物T-101的制备



[1773] 化合物T-101a的制备

[1774] 在室温下于 N_2 气氛下向化合物T-int-101 (35mg, 0.033mmol) 于DMF (0.3mL) 中的溶液中添加化合物DB-6 (8.7mg, 0.04mmol) 和EDCI (19mg, 0.099mmol)。在相同温度下搅拌1小时后, 通过制备型HPLC纯化反应混合物, 获得化合物T-101a (29mg, 69%)。

[1775] EI-MS m/z : 1225 (M^+)。

[1776] 化合物T-101b的制备

[1777] 在 $0^\circ C$ 下于 N_2 气氛下向化合物T-101a (4mg, 0.0032mmol) 于MeOH (0.5mL) 中的溶液中添加碳酸钾 (4.5mg, 0.032mmol)。在相同温度下搅拌1小时后, 通过制备型HPLC纯化反应混合物, 获得化合物T-101b (2.8mg, 82%)。

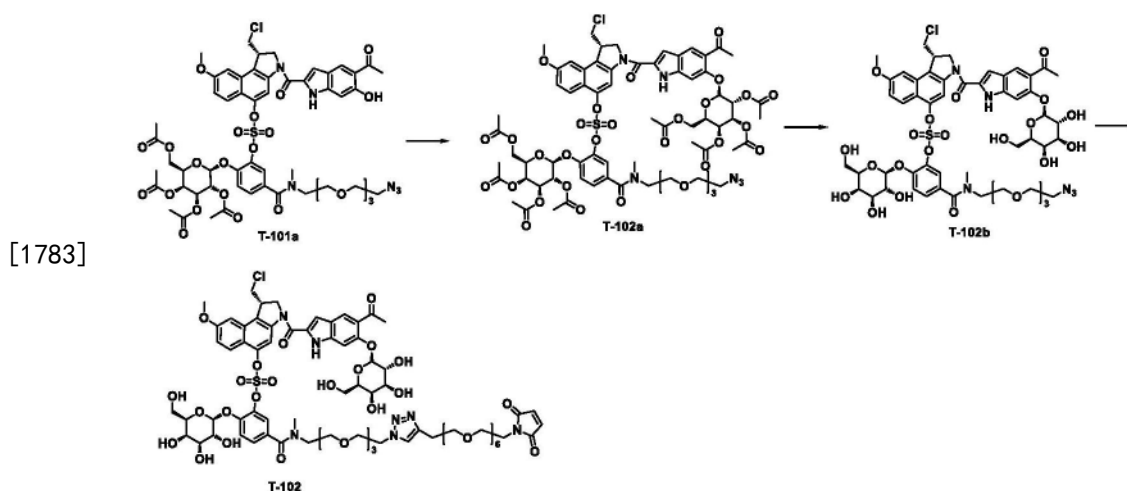
[1778] EI-MS m/z : 1057 (M^+)。

[1779] 化合物T-101的制备

[1780] 在室温下于 N_2 氮气气氛下用CuBr (5.1mg, 0.036mmol) 处理化合物T-101b (6.3mg, 0.006mmol)、Ma1-1 (4.8mg, 0.012mmol) 于DMSO (2mL) 中的溶液并且搅拌1小时。通过制备型HPLC纯化反应混合物, 获得化合物T-101 (5.3mg, 61%)。

[1781] EI-MS m/z : 1456 (M^+)。

[1782] 实施例53: 化合物T-102的制备



[1784] 化合物T-102a的制备

[1785] 在室温下于N₂气氛下向化合物T-101a (10mg, 0.008mmol) 于无水DMF (0.3mL) 中的溶液中添加BGal-Br (67mg, 0.16mmol)、氧化银 (55mg, 0.24mmol) 和分子筛 (20mg)。在相同温度下搅拌5小时后, 经CELITE®过滤反应物, 然后在减压下浓缩。通过制备型HPLC纯化反应混合物, 获得化合物T-102a (2.7mg, 22%)。

[1786] EI-MS m/z: 1555 (M⁺)。

[1787] 化合物T-102b的制备

[1788] 在0℃下于N₂气氛下向化合物T-102a (2.7mg, 0.0017mmol) 于MeOH (0.4mL) 和DCM (0.1mL) 中的溶液中添加碳酸钾 (2.4mg, 0.017mmol)。在相同温度下搅拌1小时后, 通过制备型HPLC纯化反应混合物, 获得化合物T-102b (1.7mg, 80%)。

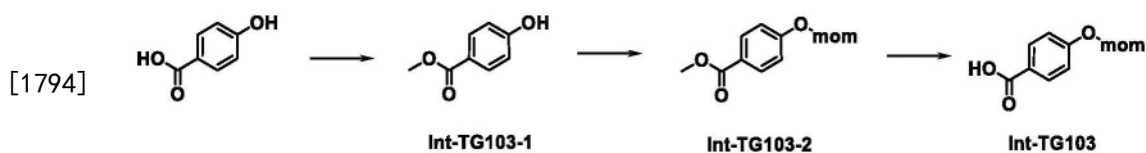
[1789] EI-MS m/z: 1219 (M⁺)。

[1790] 化合物T-102的制备

[1791] 在室温下于N₂氮气气氛下用CuBr (1.5mg, 0.011mmol) 处理化合物T-102b (2.2mg, 0.0018mmol)、Mal-1 (1.4mg, 0.036mmol) 于DMSO (2mL) 中的溶液并且搅拌1小时。通过制备型HPLC纯化反应混合物, 获得化合物T-102 (1.8mg, 62%)。

[1792] EI-MS m/z: 1619 (M⁺)

[1793] 实施例54: 化合物Int-TG103的制备



[1795] 化合物Int-TG103-1的制备

[1796] 在0℃下于N₂气氛下向4-羟基苯甲酸 (5.0g, 36.2mmol) 于甲醇 (150mL) 中的溶液中添加亚硫酸氯 (26.3mL, 362mmol)。在室温下搅拌反应混合物4小时。用NaHCO₃水溶液淬灭反应物并且用EtOAc萃取。经无水Na₂SO₄干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物Int-TG103-1 (4.87g, 89%)。

[1797] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ 7.87 (d, J=8.8Hz, 2H), 6.82 (d, J=9.2Hz, 2H), 3.85 (s, 3H)

[1798] EI-MS m/z: 153 (M⁺+1)。

[1799] 化合物Int-TG103-2的制备

[1800] 在0℃下于N₂气氛下向化合物Int-TG103-1 (1.0g, 6.57mmol) 于MC (22.0mL) 中的溶液中添加DIPEA (2.3mL, 13.4mmol) 和MOM-Cl (0.55mL, 7.23mmol)。在室温下搅拌反应混合物6小时。用水淬灭反应物并且用EtOAc萃取。经无水Na₂SO₄干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物Int-TG103-2 (1.14g, 88%)。

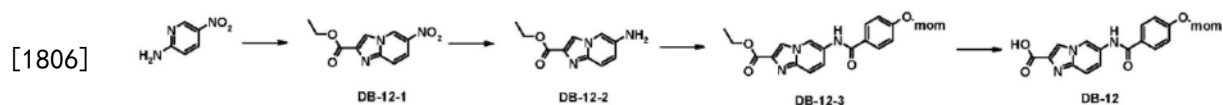
[1801] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ 8.01-7.97 (m, 2H), 7.07-7.04 (m, 2H), 5.23 (s, 2H), 3.89 (s, 3H), 3.48 (s, 3H)

[1802] 化合物Int-TG103的制备

[1803] 在0℃下于N₂气氛下向化合物Int-TG103-2 (1.14g, 5.81mmol) 于甲醇/H₂O/1,4-二噁烷 (16.0mL/8.0mL/16.0mL) 中的溶液中添加一水合氢氧化锂 (975mg, 23.2mmol)。在室温下搅拌反应混合物5小时。用2N HCl淬灭反应物并且用EtOAc萃取。经无水Na₂SO₄干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。化合物Int-TG103未经进一步纯化即用于下一步骤中。(995mg, 94%)

[1804] ^1H NMR (400Hz, MeOH- D_4) δ 7.96 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 7.08 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 5.25 (s, 2H), 3.55 (s, 3H)

[1805] 实施例55: 化合物DB-12的制备



[1807] 化合物DB-12-1的制备

[1808] 在 N_2 气氛下向2-氨基-5-硝基吡啶 (5.0g, 35.9mmol) 于乙醇 (72.0mL) 中的溶液中添加溴丙酮酸乙酯 (6.31mL, 50.3mmol)。使混合物回流过夜。反应完成后, 在室温下冷却混合物。添加冷水后, 通过过滤收集所得沉淀物。用水洗涤固体并且在真空中干燥, 获得呈棕色固体状的化合物DB-12-1 (6.28g, 74%)。

[1809] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 9.30-9.29 (m, 1H), 8.38 (s, 1H), 8.05 (dd, $J=10, 2.4\text{Hz}$, 1H), 7.81 (d, $J=10\text{Hz}$, 1H), 4.53-4.47 (m, 2H), 1.44 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 3H)

[1810] EI-MS m/z : 236 (M^+ + 1)。

[1811] 化合物DB-12-2的制备

[1812] 将化合物DB-12-1 (2.0g, 8.50mmol) 于甲醇 (20.0mL) 中的悬浮液冷却至 0°C , 并且逐滴添加盐酸 (6.4mL), 接着以小份添加锌 (2.22g, 34.0mmol)。搅拌反应混合物30分钟。接下来, 添加甲醇 (14mL), 并且用浓氨淬灭反应物。过滤悬浮液并且用甲醇洗涤残余物。浓缩合并的滤液, 并且将残余物悬浮于氯仿 (70mL)、水 (30mL) 和浓氨 (30mL, 30%溶液) 的混合物中。搅拌混合物直至其变得澄清。分离各层, 并且将水层用氯仿萃取一次。用饱和NaCl水溶液洗涤合并的有机层, 经 MgSO_4 干燥, 过滤, 并且在减压下浓缩。化合物DB-12-2未经进一步纯化即用于下一步骤中。(1.12g, 64%)

[1813] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 8.01 (s, 1H), 7.54-7.51 (m, 2H), 6.86 (dd, $J=9.6, 2.4\text{Hz}$, 1H), 4.45 (m, 2H), 3.53 (s, 2H), 1.47 (t, $J=6.8\text{Hz}$, 3H)

[1814] 化合物DB-12-3的制备

[1815] 向化合物DB-12-2 (1.12g, 5.46mmol) 于DMA (18mL) 中的溶液中添加化合物Int-TG102 (995mg, 5.46mmol) 和EDC \cdot HCl (1.26g, 6.55mmol)。在室温下搅拌所得混合物过夜。随后, 浓缩反应混合物。将残余物溶解于水和 CH_2Cl_2 中, 并且分离各层。用水洗涤有机层, 经 Na_2SO_4 干燥, 并浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物DB-12-3 (927mg, 46%)。

[1816] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 9.33-9.32 (m, 1H), 8.45 (d, $J=0.8\text{Hz}$, 1H), 7.97-7.93 (m, 2H), 7.61-7.52 (m, 2H), 7.18-7.15 (m, 2H), 5.28 (s, 1H), 4.62 (s, 1H), 4.44-4.38 (m, 2H), 3.48 (s, 3H), 1.41 (t, $J=6.8\text{Hz}$, 3H)

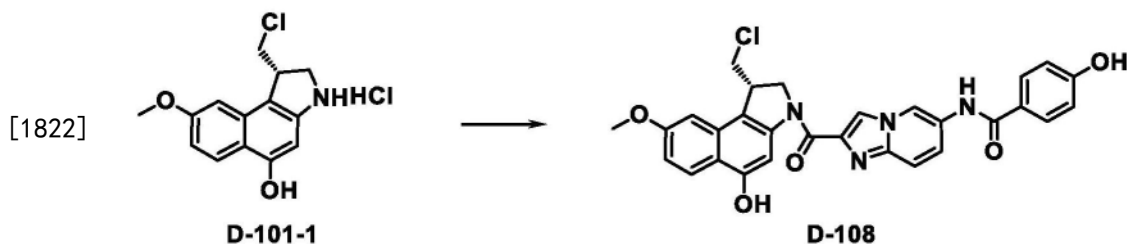
[1817] 化合物DB-12的制备

[1818] 向化合物DB-12-3 (300mg, 0.812mmol) 于1,4-二噁烷/ H_2O (1.5mL/1.5mL) 中的溶液中添加2N NaOH (3.0mL)。在 70°C 下搅拌所得混合物1小时。在 70°C 下搅拌混合物1小时。接下来, 将混合物冷却至室温, 添加水, 并且用4M盐酸溶液酸化混合物。过滤所得悬浮液, 并且干燥残余物, 得到呈黄棕色固体状的化合物DB-12 (242mg, 87%)。

[1819] ^1H NMR (400Hz, DMSO) δ 10.37 (s, 1H), 9.47 (s, 1H), 7.99 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.67 (t, $J=14\text{Hz}$, 2H), 7.17 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 5.26 (s, 2H), 3.38 (s, 3H)

[1820] EI-MS m/z :342 (M^+ +1)。

[1821] 实施例56:化合物D-108的制备

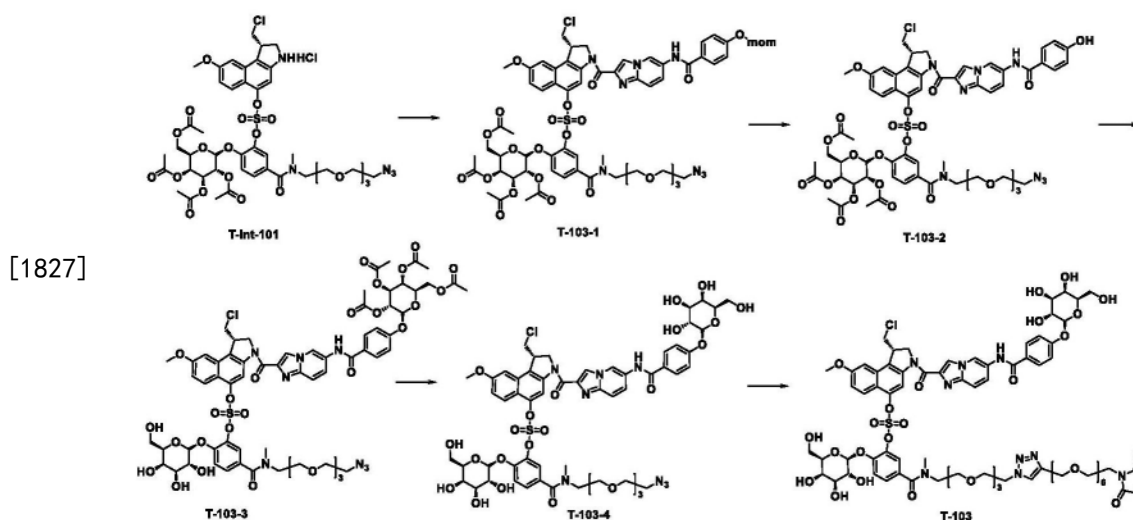


[1823] 经由与实施例51中所描述的类似的方法合成化合物D-108。

[1824] 产率23%

[1825] EI-MS m/z :588 (M^+ +1)。

[1826] 实施例57:化合物T-103的制备



[1828] 化合物T-103-1的制备

[1829] 在室温下于 N_2 气氛下向化合物T-Int-101 (70mg, 0.0660mmol) 于DMF (1.2mL) 中的溶液中添加化合物DB-12 (22.5mg, 0.0660mmol) 和EDCI (37.9mg, 0.198mmol)。在相同温度下搅拌1小时后,通过制备型HPLC纯化反应混合物,获得化合物T-103-1 (48.3mg, 54%)。

[1830] EI-MS m/z :1347 (M^+)

[1831] 化合物T-103-2的制备

[1832] 在 0°C 下于 N_2 气氛下向化合物T-103-1 (48.3mg, 0.0358mmol) 于MC (2.0mL) 中的溶液中添加含4N HCl的1,4-二噁烷 (0.7mL)。在相同温度下搅拌1小时后,通过制备型HPLC纯化反应混合物,获得化合物T-103-2 (43.5mg, 93%)。

[1833] EI-MS m/z :1303 (M^+)。

[1834] 化合物T-103-3的制备

[1835] 在室温下于 N_2 气氛下向化合物T-103-2 (43.5mg, 0.0334mmol) 于无水ACN (1.0mL) 中的溶液中添加 β Gal-Br (192mg, 0.468mmol)、氧化银 (171mg, 0.73mmol) 和分子筛 (90mg)。在相同温度下搅拌过夜后,经CELITE®过滤反应物,然后在减压下浓缩。通过制备型HPLC纯化反应混合物,获得化合物T-103-3 (33.1mg, 61%)。

[1836] EI-MS m/z :1635 (M^+ +1)。

[1837] 化合物T-103-4的制备

[1838] 在0℃下于N₂气氛下向化合物T-103-3 (33.1mg, 0.0203mmol) 于甲醇 (2.0mL) 中的溶液中添加碳酸钾 (28.1mg, 0.203mmol)。在相同温度下搅拌1小时后, 通过制备型HPLC纯化反应混合物, 获得化合物T-103-4 (21.2mg, 81%)。

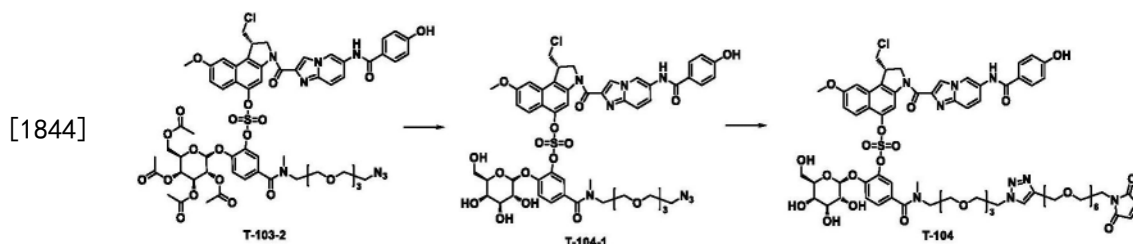
[1839] EI-MS m/z: 1297 (M⁺)。

[1840] 化合物T-103的制备

[1841] 在室温下于N₂氮气气氛下用CuBr (3.3mg, 0.0231mmol) 处理化合物T-103-4 (5.0mg, 0.00385mmol)、Ma1-1 (3.08mg, 0.00771mmol) 于DMSO (2mL) 中的溶液并且搅拌1小时。通过制备型HPLC纯化反应混合物, 获得化合物T-103 (5.4mg, 82%)。

[1842] EI-MS m/z: 1697 (M⁺)。

[1843] 实施例58: 化合物T-104的制备



[1845] 经由与实施例52中所描述的类似的方法合成化合物T-104。

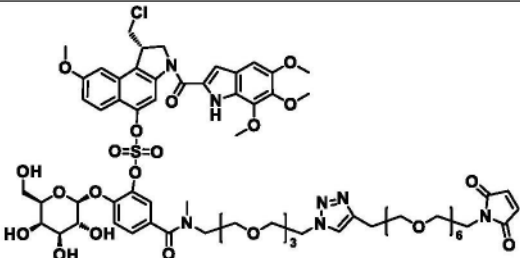
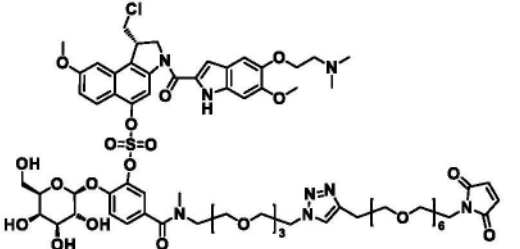
[1846] 化合物T-104-1的制备

[1847] 产率97%; EI-MS m/z: 1135 (M⁺)。

[1848] 化合物T-104的制备

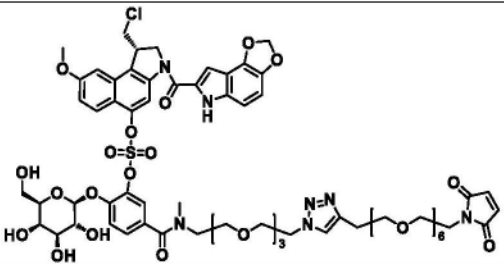
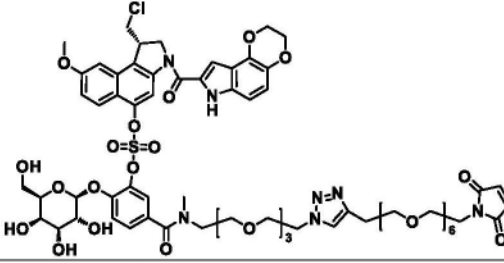
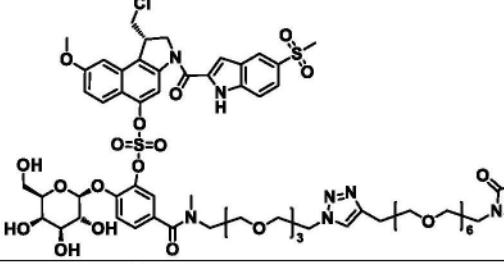
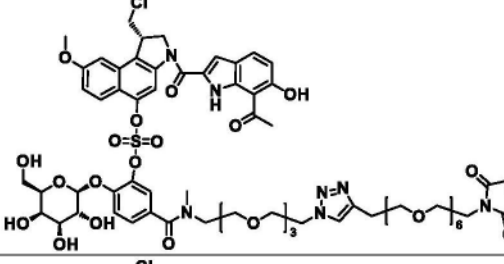
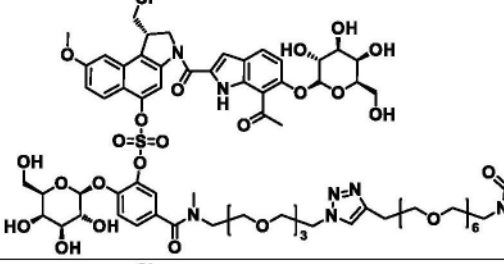
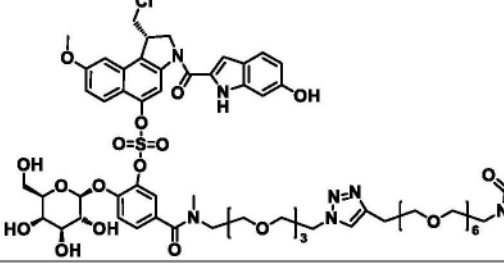
[1849] 产率64%; EI-MS m/z: 1535 (M⁺)。

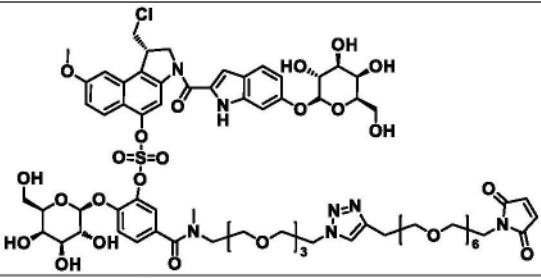
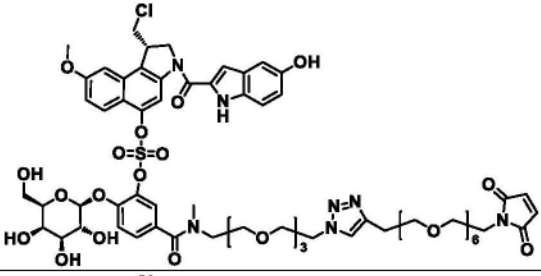
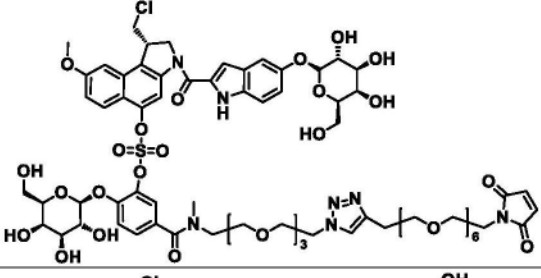
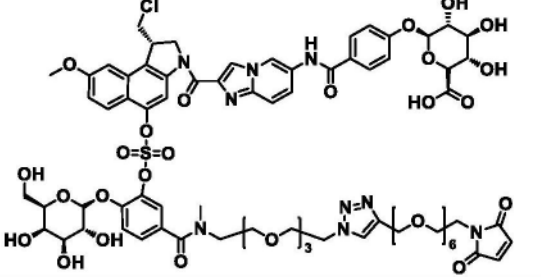
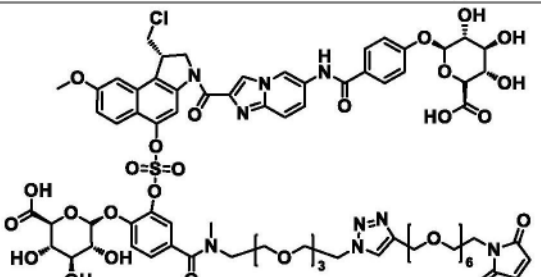
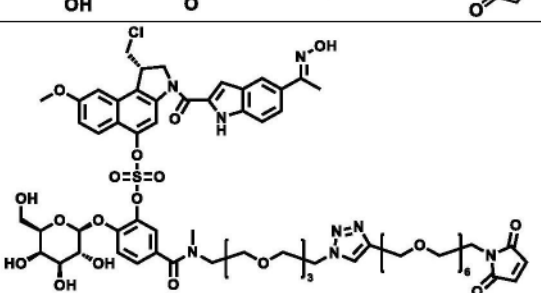
[1850] 表5: 经由与实施例52和57中所描述的类似的合成途径合成的化合物。

化合物	结构	分析数据
T-105		产率 43% EI-MS m/z: 1488 (M ⁺)。
T-106		产率 64% EI-MS m/z: 1516 (M ⁺)。

[1851]

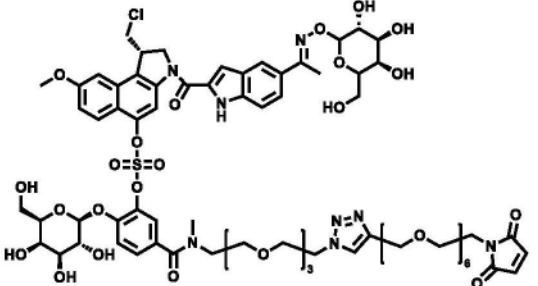
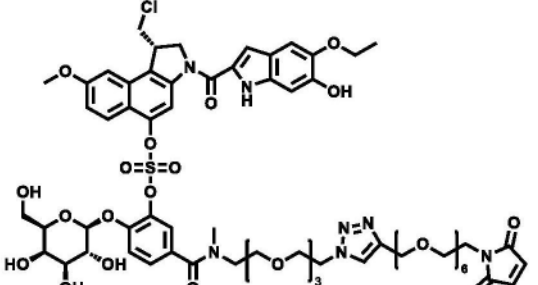
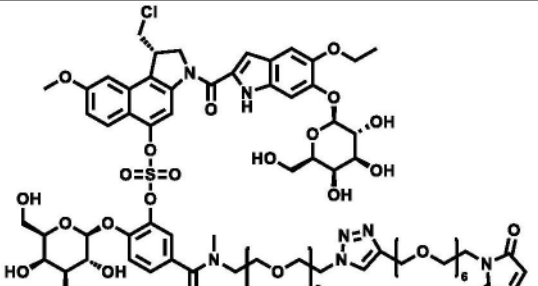
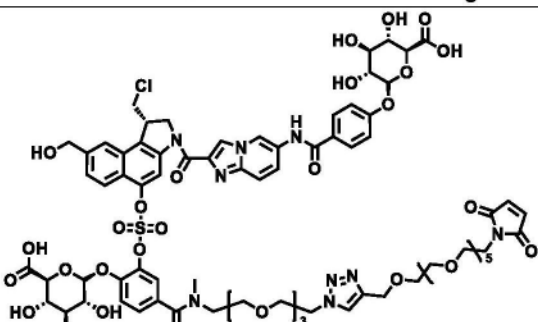
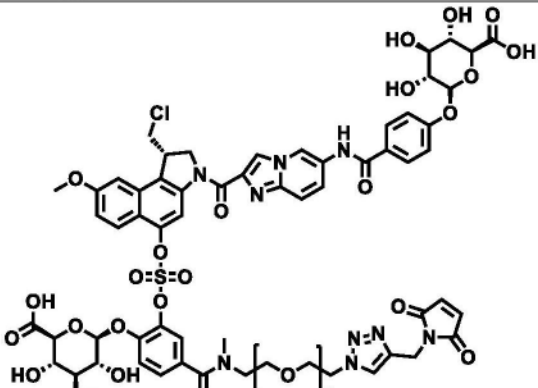
[1852]

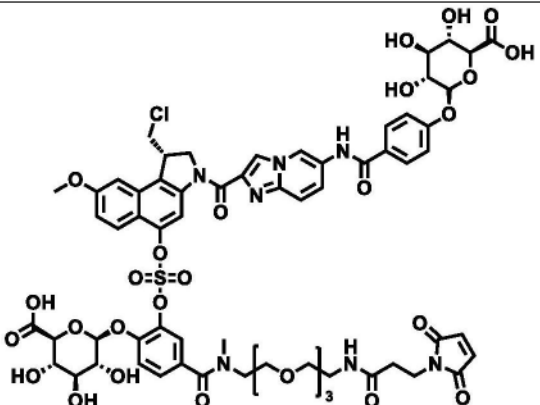
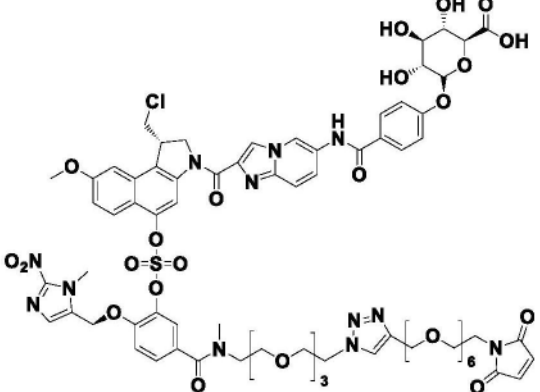
T-107		产率 32% EI-MS m/z: 1442 (M ⁺).
T-108		产率 32% EI-MS m/z: 1456 (M ⁺).
T-109		产率 70% EI-MS m/z: 1476 (M ⁺).
T-110		产率 66% EI-MS m/z: 1456 (M ⁺).
T-111		产率 67% EI-MS m/z: 1619 (M ⁺).
T-112		产率 84% EI-MS m/z: 1414 (M ⁺).

T-113		产率 83% EI-MS m/z: 1577 (M ⁺).
T-114		产率 68% EI-MS m/z: 1414 (M ⁺).
T-115		产率 84% EI-MS m/z: 1577 (M ⁺).
T-116		产率 97% EI-MS m/z: 1709 (M ⁺).
T-117		进行中 产率 30% EI-MS m/z: 1725 (M ⁺).
T-118		产率 80% EI-MS m/z: 1455 (M ⁺).

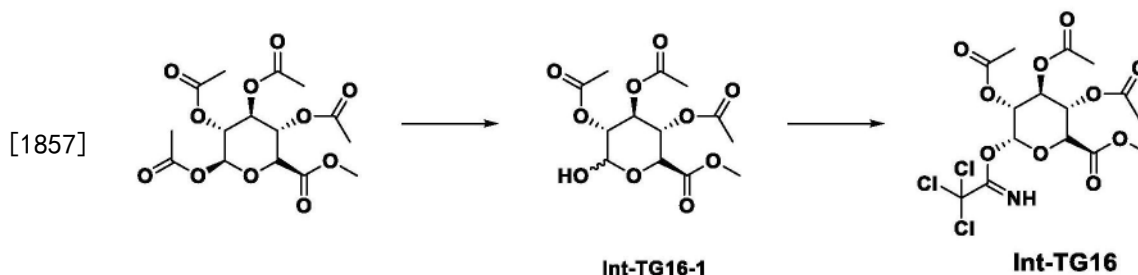
[1853]

[1854]

T-119		产率 45% EI-MS m/z: 1618 (M ⁺)。
T-120		产率 60% ESI-MS m/z: 1458 (M ⁺)。
T-121		产率 60% ESI-MS m/z: 1621 (M ⁺)。
T-138		产率 71% ESI-MS m/z: 863 (M+2)
T-139		产率 69% ESI-MS m/z: 731.16 (M+2 +1), 1460.38 (M+)

[1855]		产率 18% ESI-MS m/z: 726.67 (M+2 +1), 1451.46 (M+)
		ESI-MS m/z: 1668.86 (M+)

[1856] 实施例59:化合物Int-TG16的制备



[1858] 化合物Int-TG16-1的制备

[1859] 在 N_2 气氛下向化合物1,2,3,4-四-O-乙酰基- β -D-葡萄糖醛酸甲酯(10.0g, 26.6mmol)于无水DMF(133mL)中的溶液中添加苯甲胺(3.48mL, 319mmol)。在室温下搅拌反应混合物3小时。当反应完成时,用EA和 H_2O 稀释混合物。再用EA洗涤水层。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物Int-TG16-1(7.03g, 79%)。

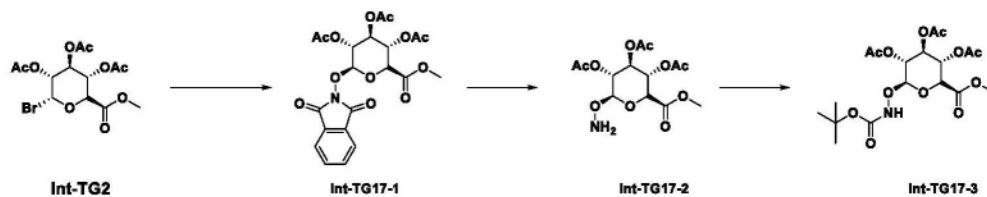
[1860] 1H NMR(400Hz, $CDCl_3$) δ 5.31-5.30 (m, 1H), 4.94-4.91 (m, 1H), 4.61-4.60 (m, 1H), 4.44 (d, $J=5.2$ Hz, 2H), 3.75 (s, 3H), 2.04-2.03 (m, 9H)

[1861] 化合物Int-TG16的制备

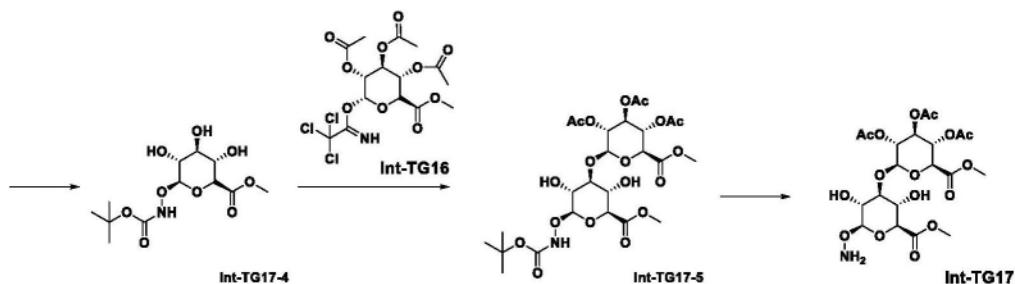
[1862] 在 $0^\circ C$ 下于 N_2 气氛下向化合物Int-TG16-1(7.03g, 21.0mmol)于无水MC(210mL)中的溶液中添加 CCl_3CN (31.6mL, 315mmol)和DBU(1.57ml, 10.5mmol)。在室温下搅拌反应混合物2小时。当反应完成时,用MC和 H_2O 稀释混合物。再用EA洗涤水层。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物Int-TG16(7.98g, 79%)。

[1863] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 8.73 (s, 1H), 7.27-7.23 (m, 1H), 5.66-5.60 (m, 1H), 5.30-2.25 (m, 1H), 5.17-5.14 (m, 1H), 4.52-4.49 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 2.10-1.99 (m, 9H)

[1864] 实施例60: 化合物Int-TG17的制备



[1865]



[1866] 化合物Int-TG-17-1的制备

[1867] 在室温下于 N_2 气氛下向化合物Int-TG2 (11.69g, 29.42mmol)、N-羟基邻苯二甲酰亚胺(4g, 24.52mmol)于无水DCM(163mL)中的溶液中添加四丁基硫酸氢铵(1.66g, 4.9mmol)和1M Na_2CO_3 (49.04mL, 49.04mmol)。在相同温度下搅拌反应混合物2小时。当反应完成时,用DCM和 H_2O 稀释混合物。再用DCM洗涤水层。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物Int-TG17-1 (7.4g, 63%)。

[1868] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 7.88-7.86 (m, 2H), 7.79-7.77 (m, 2H), 5.39-5.31 (m, 3H), 5.15 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 4.13-4.06 (m, 1H), 3.77 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.03 (s, 3H)

[1869] ESI-MS m/z : 480 ($\text{M}^+ + 1$)。

[1870] 化合物Int-TG17-2的制备

[1871] 在室温下于 N_2 气氛下向化合物Int-TG17-1 (4.4g, 9.18mmol)于MeOH(46mL)中的溶液中添加一水合肼(0.468mL, 9.64mmol)。在相同温度下搅拌反应混合物30分钟。当反应完成时,添加饱和 NaHCO_3 (5mL)并且用MC萃取。经 NaSO_4 干燥有机层,过滤,并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物Int-TG17-2 (3.1g, 97%)。

[1872] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 5.91 (s, 2H), 5.31-5.19 (m, 2H), 5.11-5.07 (m, 1H), 4.78 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 4.11 (d, $J=9.2\text{Hz}$, 1H), 3.77 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 2.03 (s, 3H)。

[1873] 化合物Int-TG17-3的制备

[1874] 在室温下于 N_2 气氛下向化合物Int-TG17-2 (1g, 2.86mmol)于无水THF (19mL)中的溶液中添加 Boc_2O (3.12g, 14.3mmol)和TEA (0.798mL, 5.72mmol)。在相同温度下搅拌反应混合物15小时。当反应完成时,用EA和 H_2O 萃取混合物。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物Int-TG17-3 (620mg, 48%)。

[1875] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 7.71 (s, 1H), 5.32-5.23 (m, 2H), 5.17-5.13 (m, 1H), 4.90 (d, $J=6.8\text{Hz}$, 1H), 4.14 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 3.76 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 1.47 (s, 9H)

[1876] ESI-MS m/z : 472 (M^+Na)。

[1877] 化合物Int-TG17-4的制备

[1878] 在 -10°C 下于 N_2 气氛下向化合物Int-TG17-3 (20mg, 0.044mmol) 于MeOH (1.5mL) 中的溶液中添加NaOMe (0.5M, 于MeOH中, 0.267mL, 0.133mmol)。搅拌10分钟后, 将混合物升温至 0°C 并且在相同温度下再搅拌1小时30分钟。当反应完成时, 用2M HCl酸化混合物。用EA和 H_2O 萃取反应混合物。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。产生化合物Int-TG17-4 (13mg, 90%), 其未经进一步纯化即使用。

[1879] ^1H NMR (400Hz, MeOH- d_4) δ 4.44 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 3.77 (d, $J=9.6\text{Hz}$, 1H), 3.66 (s, 3H), 3.41 (t, $J=8.8\text{Hz}$, 4H), 3.32 (t, $J=8.8\text{Hz}$, 2H), 3.23 (t, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 1.36 (s, 9H)

[1880] ESI-MS m/z : 346 (M^+Na)。

[1881] 化合物Int-TG17-5的制备

[1882] 在 -10°C 下于 N_2 气氛下向化合物Int-TG17-4 (70mg, 0.21mmol)、C-2 (201mg, 0.42mmol) 于无水MC (3.5mL) 中的溶液中添加 $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (0.013mL, 0.11mmol)。在 -10°C 下搅拌反应混合物45分钟。反应完成后, 用DCM和 H_2O 稀释混合物。再用DCM洗涤水层。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物Int-TG17-5 (37.5mg, 27%)。

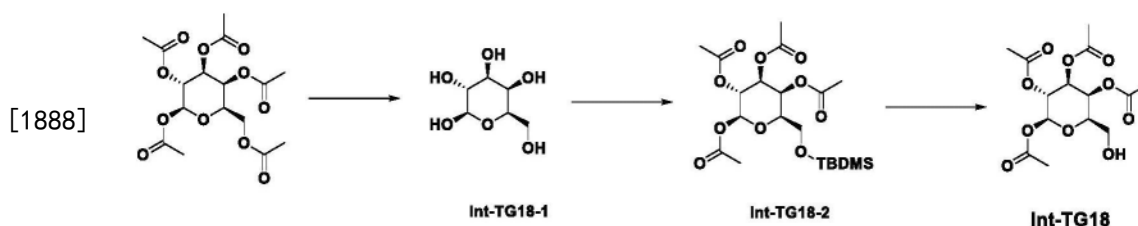
[1883] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 7.46 (s, 1H), 5.30 (t, $J=4.8\text{Hz}$, 2H), 5.20 (t, $J=9.6\text{Hz}$, 1H), 5.09-5.04 (m, 1H), 4.78 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 4.60 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 4.15-4.07 (m, 2H), 3.91 (d, $J=9.6\text{Hz}$, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.81-3.76 (m, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.64 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 3.57-3.52 (m, 1H), 2.06 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 1.48 (s, 9H)

[1884] 化合物Int-TG17的制备

[1885] 在 0°C 下于 N_2 气氛下向化合物Int-TG17-5 (18mg, 0.028mmol) 于无水DCM (1mL) 中的溶液中添加三氟乙酸 (0.2mL)。搅拌10分钟后, 将反应混合物升温至室温并且再搅拌1小时。当反应完成时, 用DCM稀释混合物并且在减压下浓缩。化合物Int-TG17未经进一步纯化即直接用于下一步骤中 (15.2mg, 100%)。

[1886] ESI-MS m/z : 539 (M^+)

[1887] 实施例61: 化合物Int-TG18的制备



[1889] 化合物Int-TG18-1的制备

[1890] 在室温下于 N_2 气氛下向1,2,3,4,6-五-O-乙酰基- β -D-吡喃半乳糖 (2.0g, 5.12mmol) 于MeOH (51mL)、 H_2O (15mL) 中的溶液中添加TEA (5.7mL, 41mmol)。在相同温度下搅拌反应混合物4小时。当反应完成时, 用甲苯 (250mL) 稀释混合物并且在减压下浓缩3小时。化合物Int-TG18-1未经进一步纯化即直接用于下一步骤中 (923mg, 100%)。

[1891] ^1H NMR (400Hz, D_2O) δ 5.23 (d, $J=3.6\text{Hz}$, 1H), 4.55 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 4.06 (t, $J=6.4\text{Hz}$, 1H), 3.95 (d, $J=2.8\text{Hz}$, 1H), 3.90 (d, $J=3.2\text{Hz}$, 1H), 3.82-3.59 (m, 6H), 3.46 (t, $J=$

8.4Hz, 1H)

[1892] 化合物Int-TG18-2的制备

[1893] 在室温下于N₂气氛下向化合物Int-TG18-1 (500mg, 2.77mmol) 于吡啶 (9.2mL) 中的悬浮液中添加TBDMS-Cl (438mg, 2.90mmol)。3小时后, 将乙酸酐 (2.62mL, 27.7mmol) 添加至反应混合物中。在相同温度下再搅拌反应混合物18小时。当反应完成时, 将2N-HCl (5mL) 添加至反应混合物中并且用EA和H₂O稀释混合物。再用EA洗涤水层。经无水Na₂SO₄干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物Int-TG18-2 (830mg, 65%)。

[1894] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ5.69 (d, J=8.4Hz, 1H), 5.53 (dd, J=3.6, 1.2Hz, 1H), 5.36-5.30 (m, 1H), 5.10 (dd, J=10.8, 3.6Hz, 1H), 3.89-3.85 (m, 1H), 3.76-3.71 (m, 2H), 3.60 (dd, J=9.6, 8.4Hz, 1H), 2.15 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 0.85 (s, 9H), 0.01 (s, 6H)

[1895] ESI-MS m/z: 485 (M⁺+Na)。

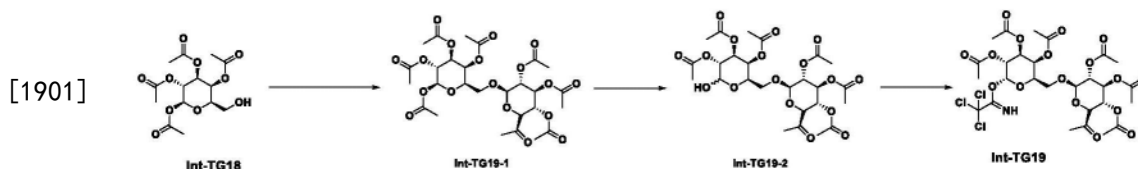
[1896] 化合物Int-TG18的制备

[1897] 在0℃下于N₂气氛下向化合物Int-TG18-2 (530mg, 1.14mmol) 于无水THF (3.5mL)、吡啶 (3.5mL) 中的溶液中添加HF吡啶 (1.71mL, 1.71mmol)。在室温下搅拌反应混合物4小时。当反应完成时, 在0℃下将饱和NaHCO₃ (5mL) 添加至反应混合物中并且用EA和H₂O稀释混合物。再用EA洗涤水层。经无水Na₂SO₄干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物Int-TG18 (290mg, 73%)。

[1898] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ5.72 (d, J=8.4Hz, 1H), 5.43 (dd, J=3.6, 0.8Hz, 1H), 5.37 (dd, J=10.4, 5.2Hz, 1H), 5.11 (dd, J=10.4, 3.2Hz, 1H), 4.31-3.82 (m, 1H), 3.91-3.87 (m, 1H), 3.77-3.71 (m, 1H), 3.56-3.49 (m, 1H), 2.20 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.02 (s, 3H)

[1899] ESI-MS m/z: 371 (M⁺+Na)

[1900] 实施例62: 化合物Int-TG19的制备



[1902] 化合物Int-TG19-1的制备

[1903] 在-10℃下于N₂气氛下向化合物Int-TG18 (500mg, 1.43mmol) 和化合物Int-TG16 (823mg, 1.72mmol) 于无水DCM (14.3mL) 和分子筛 (1g) 中的溶液中添加BF₃·OEt₂ (0.176mL, 1.43mmol)。在相同温度下搅拌反应混合物1小时。当反应完成时, 用DCM过滤反应混合物并且用DCM和H₂O稀释滤液。再用DCM洗涤水层。经无水Na₂SO₄干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物Int-TG19-1 (650mg, 68%)。

[1904] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ5.72-5.66 (m, 1H), 5.47-5.29 (m, 4H), 5.17-5.04 (m, 1H), 4.96-4.92 (m, 1H), 4.61-4.55 (m, 1H), 4.15-4.10 (m, 1H), 4.03-3.98 (m, 1H), 3.89-3.80 (m, 1H), 3.78-3.72 (m, 3H), 2.21-2.12 (m, 6H), 2.05-1.98 (m, 12H), 1.54-1.53 (m, 3H)

[1905] 化合物Int-TG19-2的制备

[1906] 在室温下于N₂气氛下向化合物Int-TG19-1 (50mg, 0.075mmol) 于无水DMF (0.2mL)

中的溶液中添加苯甲胺 (0.01mL, 0.09mmol)。在相同温度下搅拌反应混合物6小时。当反应完成时,用EA和H₂O稀释混合物。再用EA洗涤水层。经无水Na₂SO₄干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物Int-TG19-2 (35mg, 75%)。

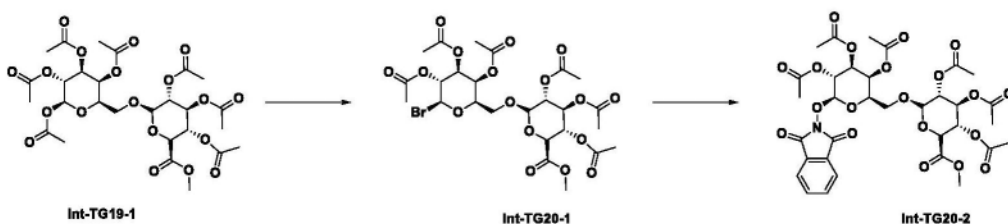
[1907] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ5.51 (d, J=3.2Hz, 1H), 5.41-5.39 (m, 2H), 5.27-2.23 (m, 2H), 4.97-4.93 (m, 1H), 4.70 (d, J=6.8Hz, 1H), 4.51-4.49 (m, 1H), 4.44 (d, J=5.6Hz, 2H), 4.09-4.04 (m, 1H), 3.94-3.92 (m, 1H), 3.8 (s, 3H), 2.22-1.98 (m, 18H)

[1908] 化合物Int-TG19的制备

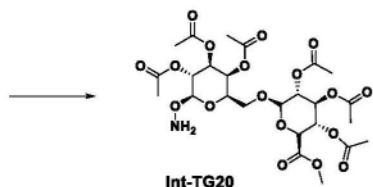
[1909] 在0℃下于N₂气氛下向化合物Int-TG19-2 (15mg, 0.024mmol) 于无水DCM (0.2mL) 中的溶液中添加CCl₃CN (0.029mL, 0.36mmol) 和DBU (0.002mL, 0.012mmol)。在室温下搅拌反应混合物3小时。当反应完成时,用DCM和H₂O稀释混合物。再用DCM洗涤水层。经无水Na₂SO₄干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物Int-TG19 (8mg, 44%)。

[1910] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ8.67 (s, 1H), 6.56 (d, J=3.6Hz, 1H), 5.53 (s, 1H), 5.42-5.30 (m, 3H), 5.21-5.17 (m, 3H), 4.95-4.93 (m, 1H), 4.62 (d, J=7.6Hz, 1H), 4.39-4.38 (m, 1H), 4.03-4.01 (m, 1H), 3.76 (s, 3H), 2.16 (s, 3H), 2.03-2.00 (m, 15H)

[1911] 实施例63: 化合物Int-TG20的制备



[1912]



[1913] 化合物Int-TG20-1的制备

[1914] 以与实施例1的化合物L-1-2的制备方法类似的方式合成Int-TG20-1。

[1915] 产率70%

[1916] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ6.69 (d, J=4Hz, 1H), 5.53-5.46 (m, 2H), 5.42-5.38 (m, 1H), 5.30 (s, 1H), 5.18-5.13 (m, 1H), 5.05-5.00 (m, 2H), 4.99-4.86 (m, 1H), 4.49-4.48 (m, 1H), 4.34-4.31 (m, 1H), 3.79 (s, 3H), 2.18-2.00 (m, 18H)

[1917] 化合物Int-TG20-2的制备

[1918] 在N₂气氛下向化合物Int-TG20-1 (50mg, 0.0729mmol) 于无水MC (0.5mL) 中的溶液中添加N-羟基邻苯二甲酰亚胺 (11.9mg, 0.0729mmol)、四丁基硫酸氢铵 (5mg, 0.0146mmol) 和1M Na₂CO₃ (146uL, 0.146mmol)。在室温下搅拌反应混合物2小时。用MC萃取产物。经无水Na₂SO₄干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过硅胶柱色谱法纯化残余物,获得化合物Int-TG20-2 (34mg, 61%)。

[1919] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ8.10-7.98 (m, 1H), 7.89-7.87 (m, 2H), 7.82-7.78 (m, 2H),

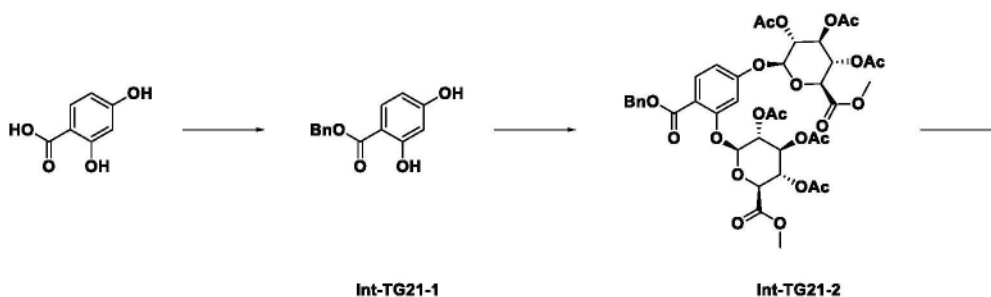
5.52-5.39 (m, 4H) , 5.14-5.06 (m, 2H) , 4.99-4.97 (m, 2H) , 4.90-4.85 (m, 2H) , 4.30-4.27 (m, 1H) , 3.75 (s, 3H) , 2.25 (s, 3H) , 2.19 (s, 3H) , 2.07 (s, 3H) , 2.02-2.00 (m, 9H)

[1920] 化合物Int-TG20的制备

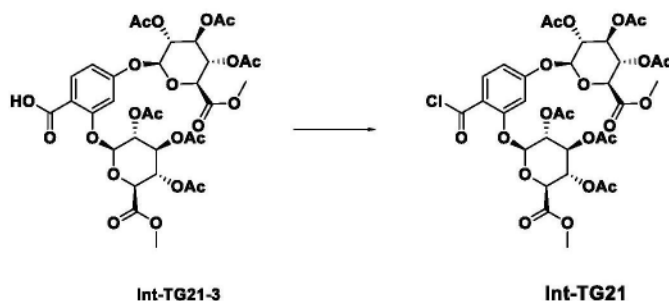
[1921] 以与实施例60的化合物Int-TG17-2的制备方法类似的方式合成Int-TG20。

[1922] ESI-MS m/z : 638 ($M^+ + 1$)

[1923] 实施例64: 化合物Int-TG21的制备



[1924]



[1925] 化合物Int-TG21-1的制备

[1926] 在室温下于 N_2 气氛下向2,4-二羟基苯甲酸(3.0g, 19.5mmol)于无水DMF(27.8mL, 0.7M)中的溶液中添加碳酸钾(2.34g, 23.4mmol)。搅拌30分钟后,用苯甲基溴(3.47mL, 29.3mmol)处理混合物。在 $50^\circ C$ 下搅拌混合物16小时,然后用饱和 NaH_3CO_3 水溶液淬灭。用EtOAc萃取产物。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物Int-TG21-1(4.47g, 94%)。

[1927] 1H NMR (400Hz, $CDCl_3$) δ 10.95 (s, 1H) , 7.90 (dd, $J=8.8, 4.4$ Hz, 1H) , 7.42-7.38 (m, 5H) , 6.40 (s, 1H) , 6.35 (d, $J=2.8$ Hz, 1H) , 5.37 (s, 2H) , 6.16 (s, 1H)

[1928] 化合物Int-TG21-2的制备

[1929] 在 N_2 气氛下向化合物Int-TG21-1(50mg, 0.205mmol)于无水ACN(1.0mL, 0.2M)中的溶液中添加乙酰溴- α -D-葡萄糖醛酸甲酯(325mg, 0.819mmol)和氧化银(285mg, 1.23mmol)。在室温下搅拌反应混合物16小时。反应完成后,经CELITE®过滤混合物并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物Int-TG21-2(50.6mg, 28%)。

[1930] 1H NMR (400Hz, $CDCl_3$) δ 7.80 (d, $J=8.8$ Hz, 1H) , 7.40-7.35 (m, 5H) , 6.91 (s, 1H) , 6.71 (dd, $J=8.8, 2.4$ Hz, 1H) , 5.35-5.20 (m, 10H) , 4.28-4.22 (m, 2H) , 3.78-3.71 (m, 6H) , 2.0-2.02 (m, 18H)

[1931] ESI-MS m/z : 876 (M^+)。

[1932] 化合物Int-TG21-3的制备

[1933] 在室温下于 H_2 气氛下向化合物Int-TG21-2(50.6mg, 0.0577mmol)于MeOH(3mL)、

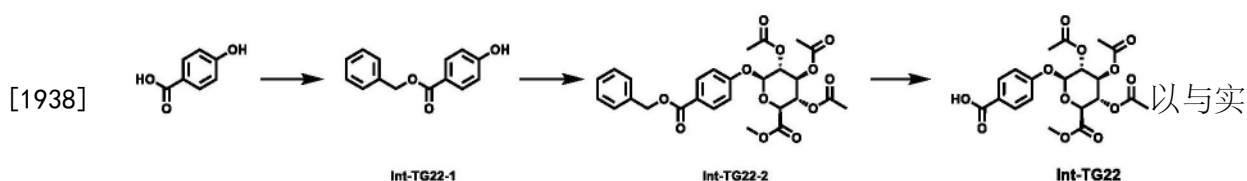
THF (1mL) 中的溶液中添加5% 钯碳(用约55% 水润湿, 12.3mg, 0.00577mmol)。搅拌混合物2 小时并且经CELITE® 过滤, 然后在减压下浓缩。化合物Int-TG21-3 未经进一步纯化即直接用于下一步骤中(45.4mg, 100%)。

[1934] ESI-MS m/z : 787 ($M^+ + 1$)

[1935] 化合物Int-TG21的制备

[1936] 在0℃ 下于 N_2 气氛下向化合物Int-TG21-3 (45.4mg, 0.0577mmol) 于无水ACN (1.2mL, 0.05M) 中的溶液中添加DMF (催化剂) 和草酰氯 (14.8uL, 0.173mmol)。在室温下搅拌反应混合物30分钟。反应完成后, 在减压下浓缩混合物。粗化合物Int-TG21 未经进一步纯化即直接用于下一步骤中(46.5mg, 100%)。

[1937] 实施例65: 化合物Int-TG22的制备



施例64的方法类似的方式合成Int-TG-22。

[1939] 化合物Int-TG22-1

[1940] 产率44%

[1941] 1H NMR (400Hz, $CDCl_3$) δ 8.02-7.98 (m, 2H), 7.45-7.34 (m, 5H), 6.87-6.84 (m, 2H), 5.34 (s, 2H)

[1942] 化合物Int-TG-22-2

[1943] 产率87%

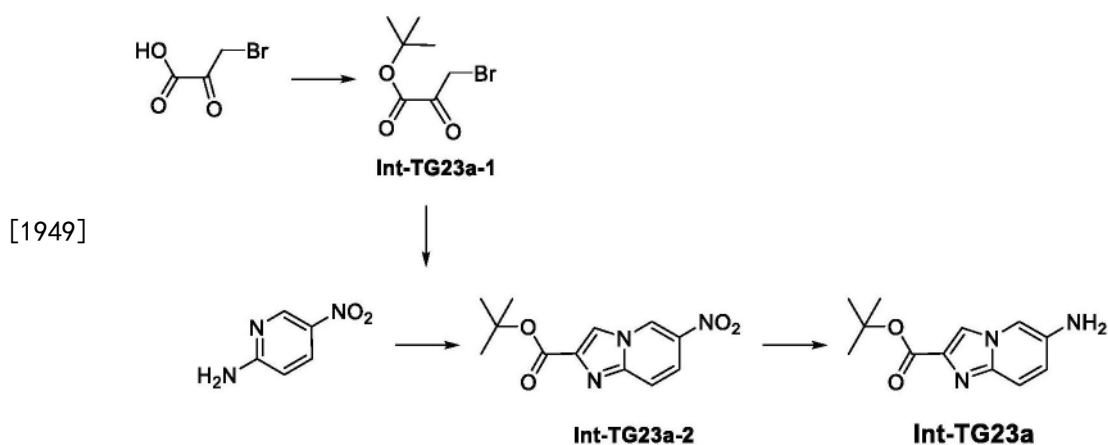
[1944] 1H NMR (400Hz, $CDCl_3$) δ 8.05-8.03 (m, 2H), 7.45-7.34 (m, 5H), 7.02-7.00 (m, 2H), 5.48-5.29 (m, 6H), 4.25-4.21 (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 2.05-2.04 (m, 9H)

[1945] 化合物Int-TG22

[1946] 产率97%

[1947] 1H NMR (400Hz, $CDCl_3$) δ 8.07-8.04 (m, 2H), 7.06-7.00 (m, 2H), 5.41-5.26 (m, 4H), 4.25-4.23 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 2.07-2.04 (m, 9H)

[1948] 实施例66: 化合物Int-TG23a的制备



[1950] 化合物Int-TG-23a-1的制备

[1951] 在N₂气氛下向圆底烧瓶中添加无水DCM(190mL)。用Ar对溶剂进行脱气,并且将MgSO₄(23.1g,0.912mol)、H₂SO₄(2.57mL,0.0479mol)添加至反应烧瓶中并在室温下剧烈搅拌10分钟。在室温下于N₂气氛下将溴丙酮酸(8.00g,0.0479mol)、t-BuOH(22.7mL,0.240mol)添加至反应混合物中并且严密密封烧瓶。在室温下搅拌反应混合物5天。通过添加水(95mL)、饱和NaHCO₃水溶液淬灭反应混合物直至观察不到进一步的气体逸出,同时保持温度低于30℃。分离各相并且用DCM萃取水相。用饱和NaCl溶液洗涤合并的有机层,经无水MgSO₄干燥并过滤。小心地在减压下去除溶剂,获得呈无水油状的化合物Int-TG-23a-1(9.25g,86%)。

[1952] ¹H-NMR(400MHz,CDCl₃) δ4.27(s,2H),1.57(s,9H)。

[1953] 化合物Int-TG-23a-2的制备

[1954] 在N₂气氛下向2-氨基-5-硝基吡啶(14.7g,0.106mol)于叔丁醇/乙醇(3:1)(530mL)中的溶液中添加化合物Int-TG-23a-1(33.0mL,0.148mol)。使混合物回流过夜。反应完成后,在减压下浓缩混合物。用DCM(500mL)萃取残余物。经无水Na₂SO₄干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,得到呈黄色固体状的化合物Int-TG-23a-2(24.4mg,87%)。

[1955] ¹H-NMR(400MHz,CDCl₃) δ9.27(dd,J=2,0.8Hz,1H),8.29(s,1H),8.01(dd,J=10,2.4Hz,1H),6.92(dd,J=10,0.8Hz,1H),1.59(s,9H);

[1956] ESI-MS m/z:264(M⁺+1)。

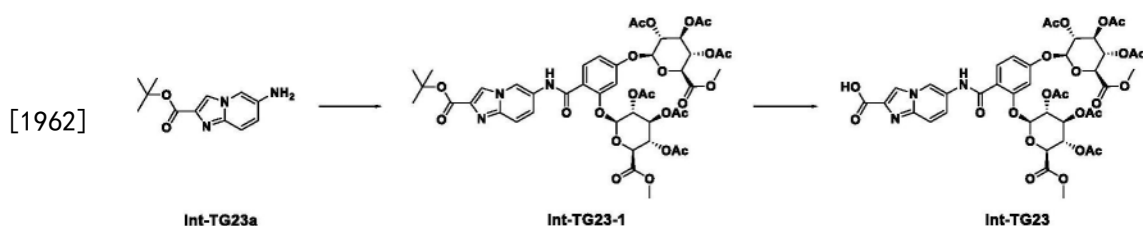
[1957] 化合物Int-TG-23a的制备

[1958] 用Zn(124mg,19.0mmol)、NH₄Cl(203mg,3.80mmol)处理化合物Int-TG-23a-2(50mg,0.190mmol)于THF/H₂O(4:1)(3.8mL)中的溶液。在室温下搅拌反应混合物1小时。经CELITE®过滤反应混合物,并且用EtOAc(100mL)萃取滤液。经无水Na₂SO₄干燥合并的有机层,过滤,并且在减压下浓缩,获得化合物Int-TG-23a(42g,100%)。

[1959] ¹H-NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ8.21(s,1H),7.65(s,1H),7.36(d,J=9.2Hz,1H),6.92(d,J=8.0Hz,1H),5.09(s,2H),1.50(s,9H);

[1960] ESI-MS m/z:234(M⁺+1)。

[1961] 实施例67:化合物Int-TG23的制备



[1963] 化合物Int-TG23-1的制备

[1964] 在室温下于N₂气氛下向化合物Int-TG23a(12.0mg,0.0514mmol)于无水THF(0.5mL)中的溶液中添加Int-TG21(45.5mg,0.0566mmol)和DIPEA(13.4μL,0.0771mmol)。在相同温度下搅拌反应混合物1.5小时。通过添加2N HCl水溶液淬灭反应物,并且用EtOAc萃取混合物。经无水Na₂SO₄干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物Int-TG23-1(22.9mg,44%)。

[1965] ¹H NMR(400Hz,CDCl₃) δ9.32(s,1H),9.09(s,1H),8.18(d,J=9.2Hz,1H),8.12(s,

1H), 7.68 (d, J=9.2Hz, 1H), 7.34 (d, J=1.6Hz, 1H), 6.73 (dd, J=8.8, 2.0Hz, 1H), 6.81 (s, 1H), 5.49-5.29 (m, 8H), 4.32-4.26 (m, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 2.18-2.07 (m, 18H), 1.65 (s, 9H)

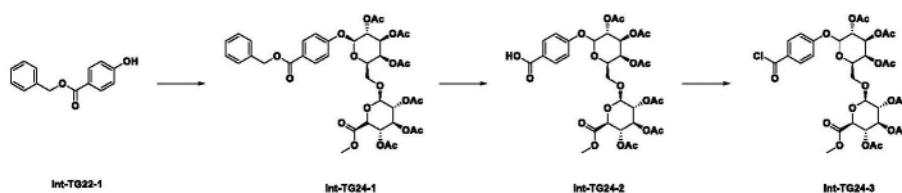
[1966] ESI-MS m/z: 1002 (M⁺+1)。

[1967] 化合物Int-TG23的制备

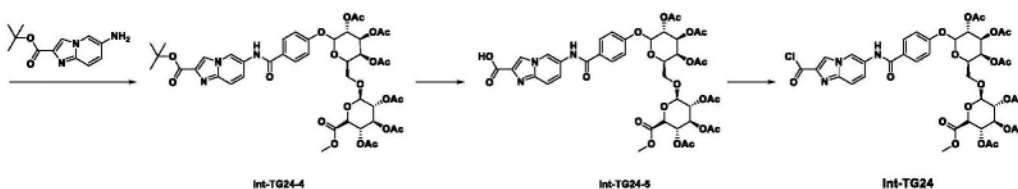
[1968] 在室温下于N₂气氛下向化合物Int-TG23-1 (8.6mg, 0.00858mmol) 于1,4-二噁烷 (43uL) 中的溶液添加含4M HCl的二噁烷 (500uL)。在50℃下搅拌1小时后,在减压下浓缩混合物。粗化合物Int-TG23未经进一步纯化即直接用于下一步骤中 (8.4mg, 100%)。

[1969] ESI-MS m/z: 946 (M⁺+1)。

[1970] 实施例68: 化合物Int-TG24的制备



[1971]



[1972] 化合物Int-TG24-1至Int-TG24-3的制备

[1973] 以与实施例64的方法类似的方式合成Int-TG24-1、Int-TG24-2和Int-TG24-3。

[1974] 化合物Int-TG24-1

[1975] 产率86%

[1976] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ 8.08 (d, J=8.8Hz, 2H), 7.46-7.36 (m, 5H), 7.02 (d, J=8.8Hz, 2H), 5.51-5.44 (m, 2H), 5.36 (s, 3H), 5.22-5.20 (m, 2H), 5.12-5.10 (m, 2H), 5.03-4.98 (m, 1H), 4.58 (d, J=7.6Hz, 1H), 4.11-4.08 (m, 2H), 4.01-3.98 (m, 2H), 3.93-3.89 (m, 2H), 3.75 (s, 3H), 2.17 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.02-2.00 (m, 9H), 1.84 (s, 3H)

[1977] 化合物Int-TG24-2

[1978] 产率96%

[1979] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ 8.08 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.04 (d, J=8.0Hz, 2H), 5.50-5.44 (m, 2H), 5.21-5.10 (m, 4H), 5.03-4.99 (m, 1H), 4.59 (d, J=7.6Hz, 1H), 4.13-4.10 (m, 1H), 3.97-3.89 (m, 2H), 3.78-3.75 (m, 4H), 2.18 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.01-2.00 (m, 9H), 1.85 (s, 3H),

[1980] 化合物Int-TG24-3

[1981] 产率100%

[1982] 化合物Int-TG24-4的制备

[1983] 以与实施例67的化合物Int-TG23-1的制备方法类似的方式合成Int-TG24-4。

[1984] 产率71%

[1985] ESI-MS m/z : 958 ($M^+ + 1$)

[1986] 化合物Int-TG24-5的制备

[1987] 在室温下于 N_2 气氛下向化合物Int-TG24-4 (52mg, 0.054mmol) 于无水MC (1.0mL) 中的溶液中添加TFA (0.3mL)。在室温下搅拌17小时后, 在减压下浓缩混合物。粗化合物Int-TG24-5未经进一步纯化即直接用于下一步骤中 (49mg, 100%)。

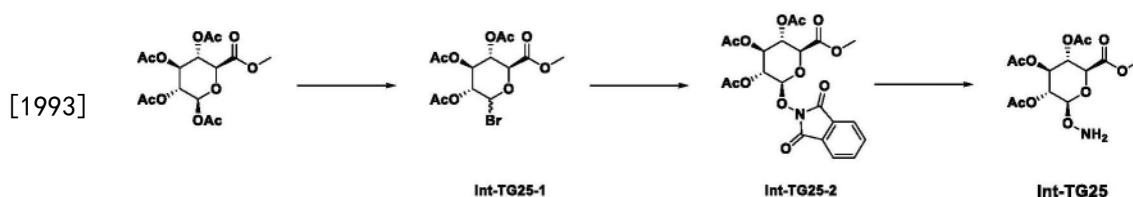
[1988] ESI-MS m/z : 902 ($M^+ + 1$)

[1989] 化合物Int-TG24的制备

[1990] 以与实施例64的化合物Int-TG21的方法类似的方式合成Int-TG24。

[1991] 产率100%

[1992] 实施例69: 化合物Int-TG25的制备



[1994] 化合物Int-TG25-1的制备

[1995] 在 0°C 下于 N_2 气氛下乙酰溴- α -D-葡萄糖醛酸甲酯 (3.0g, 7.97mmol) 于33wt.% 溴化氢的AcOH溶液中的溶液。在室温下搅拌反应混合物3小时, 然后在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 产生化合物Int-TG25-1 (2.50g, 79%)。

[1996] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 6.65 (d, $J=4\text{Hz}$, 1H), 5.62 (t, $J=9.6\text{Hz}$, 1H), 5.25 (t, $J=9.6\text{Hz}$, 1H), 4.86 (d, $J=4\text{Hz}$, 1H), 4.58 (d, $J=10.4\text{Hz}$, 1H), 3.75 (s, 3H), 2.07-2.05 (m, 9H)

[1997] 化合物Int-TG25-2的制备

[1998] 在 -10°C 下于 N_2 气氛下向化合物Int-TG25-1 (2.07g, 5.21mmol) 于无水DCM (30mL) 中的溶液中添加N-羟基邻苯二甲酰亚胺 (850mg, 5.21mmol) 和四丁基硫酸氢铵 (354mg, 1.04mmol) 和1M碳酸钠溶液 (10.4mL, 10.42mmol)。在室温下搅拌反应混合物8小时。用 H_2O (100mL) 稀释反应混合物。用DCM ($2 \times 100\text{mL}$) 萃取所得混合物。经无水 Na_2SO_4 干燥合并的有机层, 过滤并浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 产生化合物Int-TG25-2 (1.66g, 66%)。

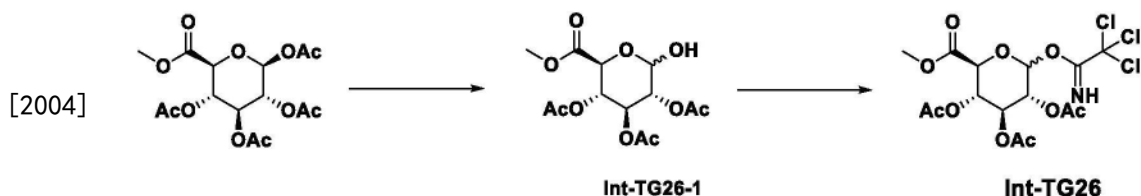
[1999] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 7.88-7.85 (m, 2H), 7.78-7.76 (m, 2H), 5.38-5.29 (m, 3H), 5.14 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 4.11-4.07 (m, 1H), 3.76 (s, 3H), 2.19 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.03 (s, 3H)

[2000] 化合物Int-TG25的制备

[2001] 在室温下于 N_2 气氛下向化合物Int-TG25 (1.07g, 2.23mmol) 于无水MeOH (20mL) 中的溶液中添加一水合肼 (114 μl , 2.34mmol)。在室温下搅拌反应混合物20分钟。用饱和碳酸氢钠溶液 (40mL) 稀释反应混合物。用DCM ($2 \times 50\text{mL}$) 萃取所得混合物。经无水 Na_2SO_4 干燥合并的有机层, 过滤并浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 产生化合物Int-TG25 (1.07g, 96%)。

[2002] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 5.90 (s, 1H), 5.27-5.21 (m, 2H), 5.08 (m, 1H), 4.77 (d, $J=8\text{Hz}$, 1H), 4.12-4.09 (m, 1H), 3.74 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.04-2.02 (m, 6H)

[2003] 实施例70: 化合物Int-TG26的制备



[2005] 化合物Int-TG26-1的制备

[2006] 在 N_2 气氛下向1,2,3,4-四-O-乙酰基- β -D-葡萄糖醛酸甲酯(3.0g, 7.97mmol)于无水DMF(25mL)中的溶液中添加苯甲胺(1.05ml, 9.56mmol)。在室温下搅拌反应混合物4小时。用 H_2O (30mL)稀释反应混合物。用EA(2×30mL)萃取所得混合物。经无水 Na_2SO_4 干燥合并的有机层,过滤并浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,产生化合物Int-TG26-1(2.04g, 77%)。

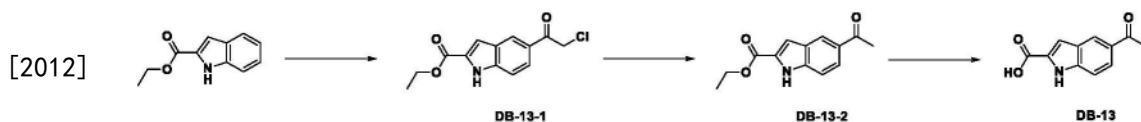
[2007] 1H NMR(400Hz, $CDCl_3$) δ 5.61-5.56(m, 2H), 5.20(t, $J=9.2$ Hz, 1H), 4.94-4.92(m, 1H), 4.59(d, $J=10$ Hz, 1H), 3.75(s, 3H), 2.09(s, 3H), 2.06-2.03(m, 6H)

[2008] 化合物Int-TG26的制备

[2009] 在 $0^\circ C$ 下于 N_2 气氛下向化合物Int-TG26-1(434mg, 1.30mmol)于无水DCM(5mL)中的溶液中添加三氯乙腈(1.3mL, 13.0mmol)和DBU(97 μ l, 0.65mmol)。在 $0^\circ C$ 下搅拌反应混合物5小时。在真空中浓缩反应物。通过快速色谱法纯化残余物,得到标题化合物Int-TG26(437mg, 71%)。

[2010] 1H NMR(400Hz, $CDCl_3$) δ 8.73(s, 1H), 6.64(d, $J=3.6$ Hz, 1H), 5.63(t, $J=10$ Hz, 1H), 5.27(t, $J=10$ Hz, 1H), 5.15(dd, $J=6.8, 3.6$ Hz, 1H), 4.50(d, $J=10$ Hz, 1H), 3.76(s, 3H), 2.07-2.04(m, 6H), 2.02(s, 3H)

[2011] 实施例71:化合物DB-13的制备



[2013] 化合物DB-13-1的制备

[2014] 在 $0^\circ C$ 下于 N_2 气氛下向氯化铝(1.41g, 10.58mmol)于二氯乙烷(15mL)中的溶液中添加氯乙酰氯(841 μ l, 10.58mmol)。向反应混合物中缓慢逐滴添加吲哚-2-甲酸乙酯(1g, 5.29mmol)于二氯乙烷(15mL)中的溶液。在室温下搅拌反应混合物5小时。用冰水(70mL)稀释反应混合物,并且用EA(2×100mL)萃取并用饱和碳酸氢钠溶液(150mL)洗涤。经无水 Na_2SO_4 干燥合并的有机层,过滤并浓缩。化合物DB-13-1未经进一步纯化即直接用于下一步骤中(1.4g, 100%)。

[2015] 1H NMR(400Hz, $CDCl_3$) δ 9.21(s, 1H), 8.38(s, 1H), 7.98(m, 1H), 7.50(d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.34(s, 1H), 4.79(s, 2H), 4.44(q, $J=7.2$ Hz, 2H), 1.43(t, $J=7.2$ Hz, 3H)

[2016] 化合物DB-13-2的制备

[2017] 在室温下于 N_2 气氛下向化合物DB-13-1(1.4g, 5.27mmol)于无水THF(32mL)中的溶液中添加锌粉(965mg, 14.75mmol)和AcOH(8mL)。在室温下搅拌反应混合物2小时并过滤,并且在真空中浓缩。用 H_2O (70mL)稀释所得混合物并且用EA(2×80mL)萃取。经无水 Na_2SO_4 干燥合并的有机层,过滤并浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,产生化合物DB-13-2(1.03g, 84%)。

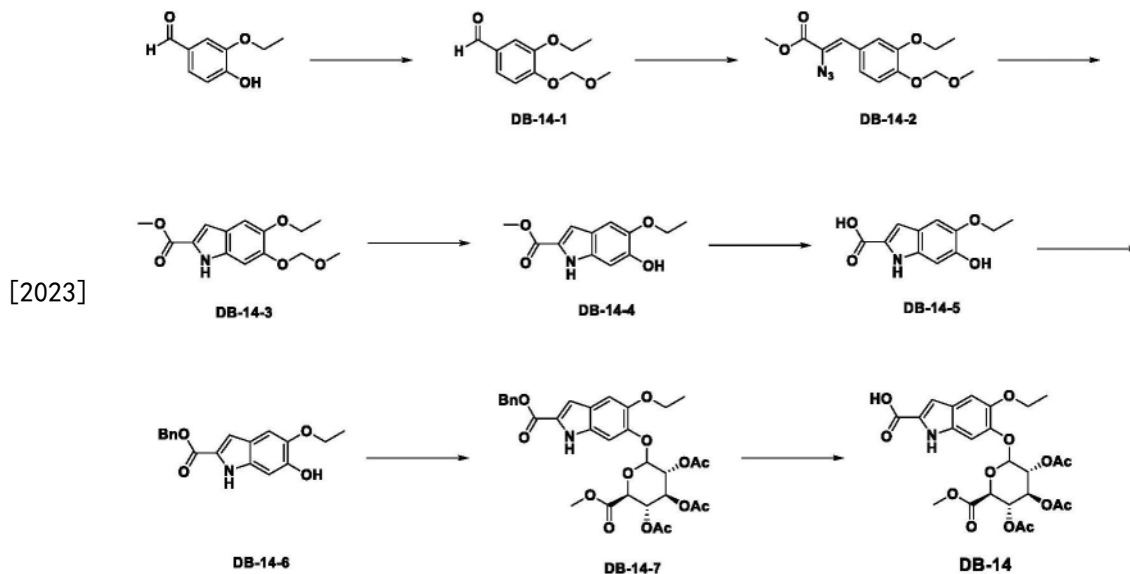
[2018] 1H NMR(400Hz, $CDCl_3$) δ 9.19(s, 1H), 8.37(s, 1H), 7.99(d, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.46(d, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.33(s, 1H), 4.44(q, $J=7.2$ Hz, 2H), 2.68(s, 3H), 1.44(t, $J=7.2$ Hz, 3H)

[2019] 化合物DB-13的制备

[2020] 在0℃下于N₂气氛下向DB-13-2 (535mg, 2.31mmol) 于MeOH/H₂O/1,4-二噁烷 (4mL/4mL/4mL) 中的溶液中添加一水合氢氧化锂 (41mg, 23.1mmol)。在室温下搅拌反应混合物2小时。用HCl淬灭反应物后,用H₂O (10mL) 稀释反应混合物并且用EA (2×20mL) 萃取。经无水Na₂SO₄干燥合并的有机层,过滤并浓缩。化合物DB-13未经进一步纯化即用于下一步骤中 (444mg, 95%)。

[2021] ¹H NMR (400Hz, DMSO-d₆) δ12.14 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 7.84 (d, J=8.8Hz, 1H), 7.48 (d, J=8.8Hz, 1H), 7.26 (s, 1H), 2.60 (s, 3H)

[2022] 实施例72: 化合物DB-14的制备



[2024] 化合物DB-14-1的制备

[2025] 在0℃下于N₂气氛下向3-乙氧基-4-羟基苯甲醛 (6.11g, 36.8mmol) 于无水DCM (100mL) 中的溶液中添加氯甲基甲醚 (3.07mL, 40.4mmol) 和DIPEA (12.8ml, 73.6mmol)。在室温下搅拌反应混合物2.5小时。用H₂O (200mL) 稀释反应混合物。用DCM (2×200mL) 萃取所得混合物。经无水Na₂SO₄干燥合并的有机层,过滤并浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,产生化合物DB-14-1 (1.03g, 82%)。

[2026] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ9.86 (s, 1H), 7.41 (s, 1H), 7.41-7.40 (m, 1H), 7.27-7.25 (m, 1H), 5.32 (s, 2H), 4.18 (q, J=6.8Hz, 2H), 3.53 (s, 3H), 1.48 (t, J=6.8Hz, 3H)

[2027] 化合物DB-14-2的制备

[2028] 在-10℃下于N₂气氛下向化合物DB-14-1 (6.3g, 29.97mmol) 于无水MeOH (25mL) 中的溶液中添加叠氮基乙酸甲酯 (13.8g, 0.12mol) 于MeOH (75mL) 中的溶液和5M甲醇钠溶液 (24mL, 0.12mol)。在室温下搅拌反应混合物18小时。用H₂O (150mL) 稀释反应混合物。用EA (2×200mL) 萃取所得混合物。经无水Na₂SO₄干燥合并的有机层,过滤并浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,产生化合物DB-14-2 (4.54g, 49%)。

[2029] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ7.53 (s, 1H), 7.30-7.26 (m, 1H), 7.25-7.14 (m, 1H), 6.86 (s, 1H), 5.26 (s, 2H), 4.37-4.35 (m, 2H), 4.16-4.14 (m, 2H), 3.52 (s, 3H), 1.49 (t, J=6.8Hz, 3H), 1.40 (t, J=6.8Hz, 3H)

[2030] 化合物DB-14-3的制备

[2031] 在室温下于N₂气氛下化合物DB-14-2(4.5g, 14.64mmol)于对二甲苯(3.40mL)中的溶液。在180℃下搅拌反应混合物30分钟。在室温下冷却反应混合物并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,产生化合物DB-14-3(2.68g, 66%)。

[2032] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ8.72 (s, 1H) , 7.19 (s, 1H) , 7.10-7.09 (m, 2H) , 5.28 (s, 2H) , 4.13 (q, J=7.2Hz, 2H) , 3.92 (s, 3H) , 3.55 (s, 3H) , 1.49 (t, J=7.2Hz, 3H) , 1.40 (t, J=6.8Hz, 3H)

[2033] 化合物DB-14-4的制备

[2034] 在室温下于N₂气氛下向化合物DB-14-3(1g, 3.58mmol)于无水DCM(15mL)中的溶液中添加4.0M氯化氢于1,4-二噁烷(4.0mL)中的溶液。搅拌1.5小时后,用DCM稀释反应混合物并且在减压下浓缩。化合物DB-14-4未经进一步纯化即用于下一步骤中(842mg, 100%)。

[2035] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ8.65 (s, 1H) , 7.09 (m, 1H) , 7.02 (s, 1H) , 6.93 (s, 1H) , 5.98 (s, 1H) , 4.13 (q, J=7.2Hz, 2H) , 3.96 (s, 3H) , 1.49 (t, J=7.2Hz, 3H)

[2036] 化合物DB-14-5的制备

[2037] 在0℃下于N₂气氛下向化合物DB-14-4(842mg, 3.58mmol)于MeOH/H₂O/1,4-二噁烷(10.0mL/5.00mL/10.0mL)中的溶液中添加一水合氢氧化锂(751mg, 17.9mmol)。在50℃下搅拌反应混合物6小时。用HCl淬灭反应物后,通过过滤收集所得沉淀物。用水洗涤固体并且在真空中干燥,获得呈白色固体状的化合物DB-14-5(792mg, 100%)。

[2038] ESI-MS m/z: 222 (M⁺+1)。

[2039] 化合物DB-14-6的制备

[2040] 在N₂气氛下向化合物DB-14-5(790mg, 3.57mmol)于无水DMF(10mL)中的溶液中添加DIPEA(933μl, 5.34mmol)和苯甲基溴(510μl, 4.28mmol)。在60℃下搅拌反应混合物3小时。在室温下冷却反应混合物。用H₂O(30mL)稀释反应混合物。用EA(2×30mL)萃取所得混合物。经无水Na₂SO₄干燥合并的有机层,过滤并浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,产生化合物DB-14-6(940mg, 85%)。

[2041] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ8.65 (s, 1H) , 7.47-7.38 (m, 5H) , 7.15 (s, 1H) , 7.00 (s, 1H) , 6.91 (s, 1H) , 5.99 (s, 1H) , 5.38 (s, 2H) , 4.15 (q, J=7.2Hz, 2H) , 1.48 (t, J=7.2Hz, 3H)

[2042] 化合物DB-14-7的制备

[2043] 在-10℃下于N₂气氛下向化合物DB-14-6(95mg, 0.305mmol)于无水DCM(5mL)中的溶液中添加化合物Int-TG25-1(220mg, 0.458mmol)和三氟化硼乙醚(57μl, 0.458mmol)。在相同温度下搅拌30分钟后,用DCM(30mL×3)、H₂O(30mL)萃取反应混合物。经无水Na₂SO₄干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,产生化合物DB-14-7(184mg, 95%)。

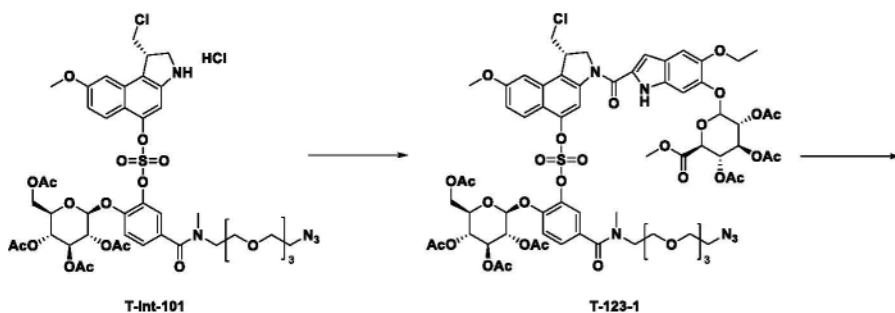
[2044] ESI-MS m/z: 628 (M⁺+1)。

[2045] 化合物DB-14的制备

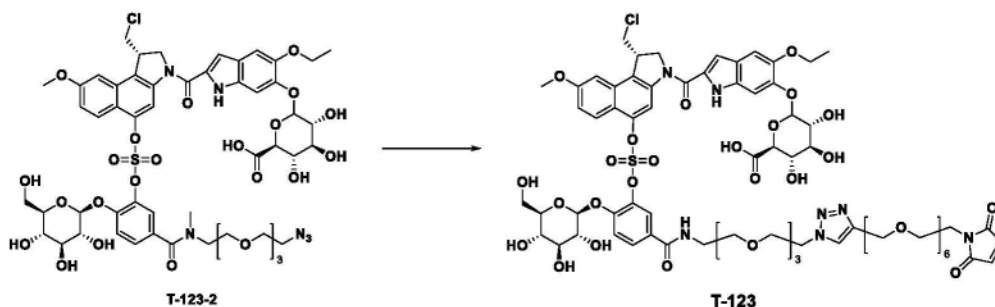
[2046] 在室温下于H₂下向化合物DB-14-7(184mg, 0.298mmol)于无水MeOH(4mL)中的溶液中添加Pd/C(5%, 63mg, 0.029mmol)。搅拌混合物1小时并且经CELITE®过滤,然后在减压下浓缩。化合物DB-14未经进一步纯化即直接用于下一步骤中(149mg, 95%)。

[2047] ESI-MS m/z: 538 (M⁺+1)。

[2048] 实施例73: 化合物T-122的制备



[2063]



[2064] 化合物T-123-1的制备

[2065] 在室温下于 N_2 气氛下向化合物T-Int-101 (10mg, 9.42 μ mol) 于无水DMF (0.6mL) 中的溶液中添加化合物DB-14 (6.07mg, 11.31 μ mol) 和EDCI (2.7mg, 14.13 μ mol)。在相同温度下搅拌1小时后,通过制备型HPLC纯化反应混合物,产生化合物T-123-1 (4.0mg, 27%)。

[2066] ESI-MS m/z : 1544 (M^+)。

[2067] 化合物T-123-2的制备

[2068] 在 0°C 下于 N_2 气氛下向T-123-1 (4.0mg, 2.59 μ mol) 于MeOH/ H_2O /1,4-二噁烷 (0.3mL/0.3mL/0.3mL) 中的溶液中添加一水合氢氧化锂 (0.87mg, 20.72 μ mol)。在 -20°C 下搅拌反应混合物2小时。用2N HCl淬灭反应物后,通过制备型HPLC纯化反应混合物,产生化合物T-123-2 (2.6mg, 81%)。

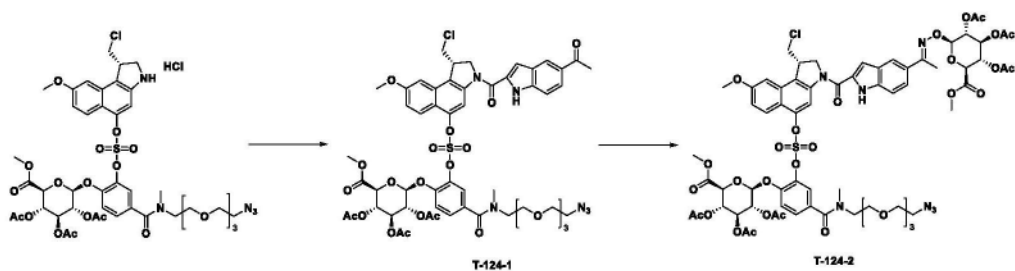
[2069] ESI-MS m/z : 1236 (M^+)。

[2070] 化合物T-123的制备

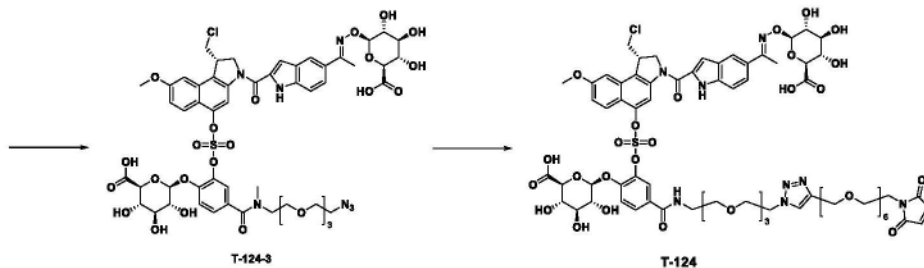
[2071] 在室温下于 N_2 气氛下用CuBr (1.81mg, 12.6 μ mol) 处理化合物T-123-2 (2.6mg, 2.1 μ mol)、Mal-1 (1.68mg, 4.21 μ mol) 于DMSO (600 μ L) 中的溶液并且搅拌1小时。通过制备型HPLC纯化反应混合物,产生化合物T-123 (2.1mg, 61%)。

[2072] ESI-MS m/z : 1635 (M^+)。

[2073] 实施例75: 化合物T-124的制备



[2074]



[2075] 经由与实施例73中所描述的类似的合成途径合成化合物T-124 (77.8mg, 74%)。

[2076] 化合物T-124-1

[2077] 产率74%

[2078] ESI-MS m/z : 1195 (M^+)。

[2079] 化合物T-124-2

[2080] 产率87%

[2081] ESI-MS m/z : 1526 (M^+)。

[2082] 化合物T-124-3

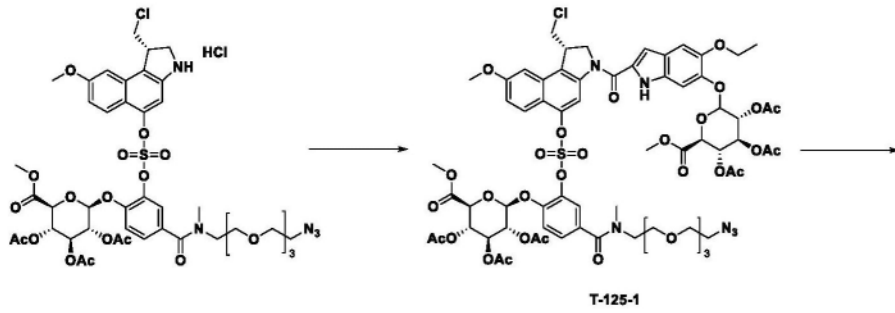
[2083] 产率84%

[2084] ESI-MS m/z : 1246 (M^+)。

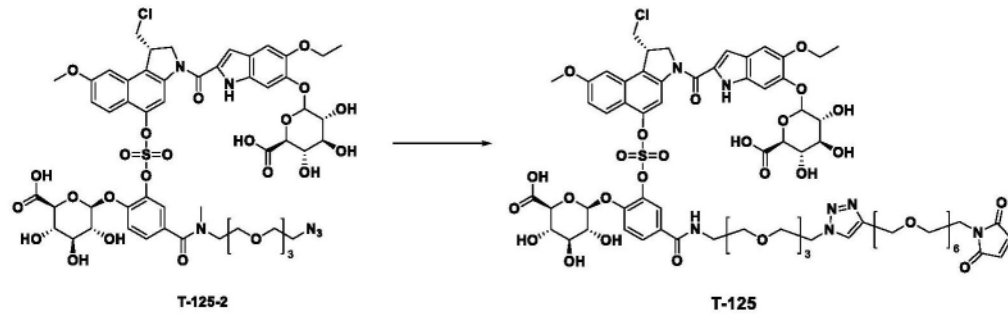
[2085] 化合物T-124

[2086] 产率86%

[2087] ESI-MS m/z : 1646 (M^+)。[2088] 实施例76: 化合物T-125的制备



[2089]



[2090] 经由与实施例74中所描述的类似的合成途径合成化合物T-125。

[2091] 化合物T-125-1

[2092] 产率82%

[2093] ESI-MS m/z : 1529 (M^+)。

[2094] 化合物T-125-2

[2095] 产率61%

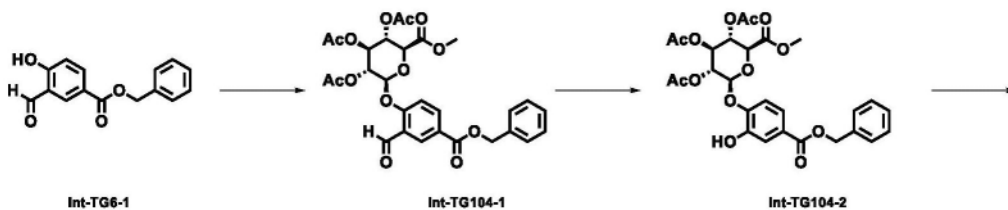
[2096] ESI-MS m/z : 1249 (M^+)。

[2097] 化合物T-125

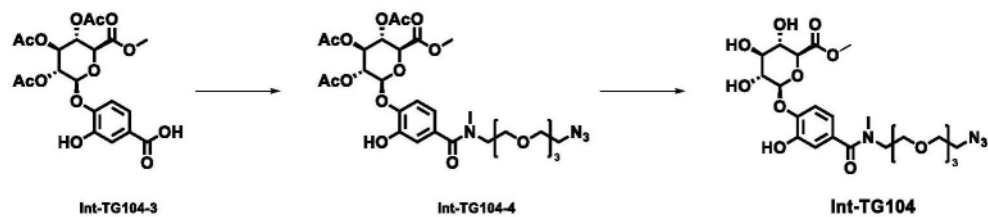
[2098] 产率95%

[2099] ESI-MS m/z : 1649 (M^+)。

[2100] 实施例77: 化合物Int-TG104的制备



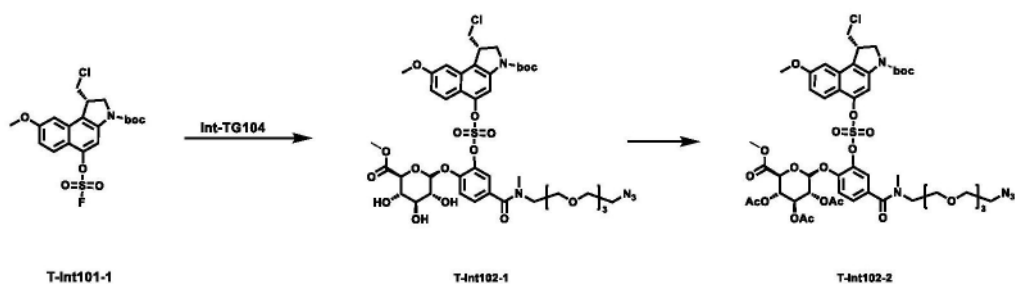
[2101]



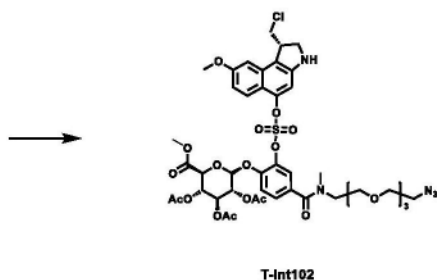
[2102] 化合物Int-TG104-1至Int-TG104-4的制备

[2103] 以与实施例11的方法类似的方式合成Int-TG104-1至Int-TG104-4。

- [2104] 化合物Int-TG104-1
- [2105] 产率70%
- [2106] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 10.33 (s, 1H) , 8.55 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H) , 8.28 (dd, $J=8.8$, 2.4Hz, 1H) , 7.45-7.35 (m, 5H) , 7.17 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H) , 5.39-5.36 (m, 6H) , 4.30-4.25 (m, 1H) , 3.72 (s, 3H) , 2.09-2.05 (m, 9H) 。
- [2107] ESI-MS m/z : 595 (M^+Na) 。
- [2108] 化合物Int-TG104-2
- [2109] 产率86%
- [2110] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 7.67 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H) , 7.61 (dd, $J=8.4$, 2.4Hz, 1H) , 7.44-7.32 (m, 5H) , 7.00 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H) , 6.05 (s, 1H) , 5.41-5.25 (m, 5H) , 5.11 (d, $J=7.2\text{Hz}$, 1H) , 4.22 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H) , 3.77 (s, 3H) , 2.11-2.06 (m, 9H) 。
- [2111] ESI-MS m/z : 583 (M^+Na) 。
- [2112] 化合物Int-TG104-3
- [2113] 产率100%
- [2114] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 7.68 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H) , 7.63 (dd, $J=8.4$, 2.4Hz, 1H) , 7.03 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H) , 5.43-5.29 (m, 3H) , 5.14 (d, $J=7.2\text{Hz}$, 1H) , 4.24 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H) , 3.78 (s, 3H) , 2.12-2.07 (m, 9H) 。
- [2115] ESI-MS m/z : 493 (M^+Na) 。
- [2116] 化合物Int-TG104-4
- [2117] 产率80%
- [2118] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 7.06-6.89 (m, 3H) , 6.32-6.23 (m, 1H) , 5.40-5.27 (m, 3H) , 5.05 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H) , 4.19 (d, $J=9.2\text{Hz}$, 1H) , 3.84-3.46 (m, 17H) , 3.39 (t, $J=5.6\text{Hz}$, 2H) , 3.09-3.04 (m, 3H) , 2.12-2.06 (m, 9H) 。
- [2119] ESI-MS m/z : 685 (M^++1)
- [2120] 化合物Int-TG104的制备
- [2121] 在 0°C 下于 N_2 气氛下向Int-TG104-4 (70.2mg, 0.103mmol) 于甲醇/MC (2.5mL/0.5mL) 中的溶液中添加 K_2CO_3 (42.7mg, 0.309mmol) 。在相同温度下搅拌1小时30分钟后, 通过制备型HPLC纯化反应混合物, 获得化合物Int-TG104 (36.7mg, 64%) 。
- [2122] ESI-MS m/z : 559 (M^++1)
- [2123] 实施例78: 化合物T-Int102的制备



[2124]



[2125] 化合物T-Int102-1的制备

[2126] 以与实施例40的方法类似的方式合成T-Int102-1。

[2127] 产率23%

[2128] ESI-MS m/z : 984 (M^+)。

[2129] 化合物T-Int102-2的制备

[2130] 在室温下于 N_2 气氛下向T-Int102-1 (8.1mg, 0.00823mmol) 溶解于吡啶 (0.16mL) 中的溶液中添加DMAP (0.10mg, 0.000823mmol) 和乙酸酐 (9.34 μ L, 0.0411mmol)。在相同温度下搅拌5小时30分钟后, 通过制备型HPLC纯化反应混合物, 获得化合物T-Int102-2 (9.1mg, 100%)。

[2131] ESI-MS m/z : 1110 (M^+)。

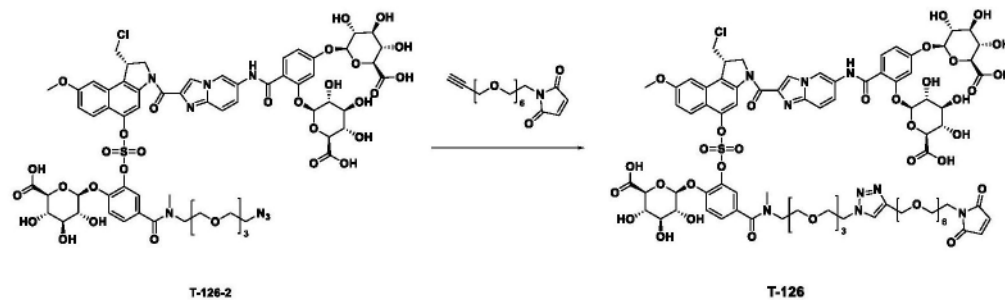
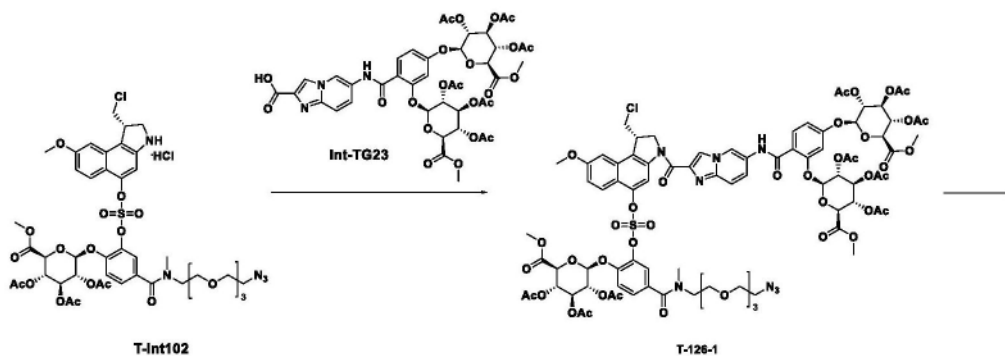
[2132] 化合物T-Int102的制备

[2133] 以与实施例40的方法类似的方式合成T-Int102。

[2134] 产率100%

[2135] ESI-MS m/z : 1010 (M^+)。

[2136] 实施例79: 化合物T-126的制备



[2138] 化合物T-126-1的制备

[2139] 在室温下于 N_2 气氛下向T-Int102 (8.95mg, 0.00855mmol) 于无水DMF (0.5mL) 中的溶液中添加Int-TG23 (8.4mg, 0.00855mmol) 和EDCI (4.92mg, 0.0257mmol)。在相同温度下搅拌35分钟后,通过制备型HPLC纯化反应混合物,获得化合物T-126-1 (7.0mg, 42%)。

[2140] ESI-MS m/z : 1938 (M^+)

[2141] 化合物T-126-2的制备

[2142] 在 $-30^\circ C$ 下于 N_2 气氛下向T-126-1 (7.0mg, 0.00361mmol) 于THF (0.2mL)、MeOH (40 μ L)、 H_2O (110 μ L) 中的溶液中添加一水合氢氧化锂 (5.30mg, 0.126mmol)。在相同温度下搅拌1.5小时后,通过制备型HPLC纯化反应混合物,获得化合物T-126-2 (4.6mg, 84%)。

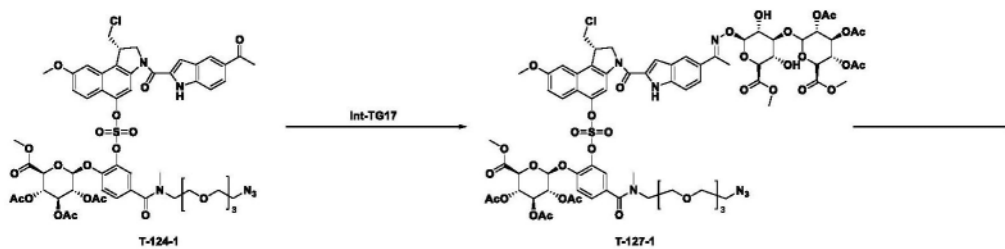
[2143] ESI-MS m/z : 1517 (M^+)。

[2144] 化合物T-126的制备

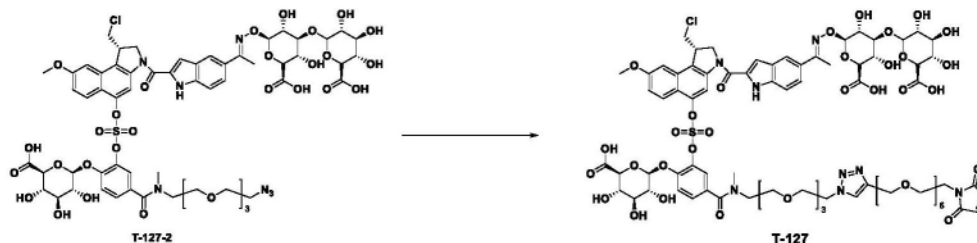
[2145] 在室温下于 N_2 气氛下向化合物T-126-2 (4.6mg, 0.00303mmol) 于脱气DMSO (1.5mL) 中的溶液中添加Ma1-1 (2.42mg, 0.00606mmol), 用CuBr (2.61mg, 0.0182mmol) 处理并且搅拌30分钟。通过制备型HPLC纯化反应混合物,获得化合物T-126 (4.82mg, 83%)。

[2146] ESI-MS m/z : 1917 (M^+)。

[2147] 实施例80: 化合物T-127的制备



[2148]



[2149] 化合物T-127-1的制备

[2150] 在室温下于 N_2 气氛下向化合物T-124-1 (15.2mg, 0.0127mmol) 溶解于甲醇 (0.5mL) 中的溶液中添加化合物Int-TG17 (15.2mg, 0.0281mmol)。在相同温度下搅拌1天后, 通过硅胶柱色谱法纯化反应混合物, 获得化合物T-127-1 (14mg, 64%)。

[2151] ESI-MS m/z : 858 ($\text{M}^+/2$)。

[2152] 化合物T-127-2和T-127的制备

[2153] 以与实施例74的方法类似的方式合成T-127-2和T-127。

[2154] 化合物T-127-2

[2155] 产率60%

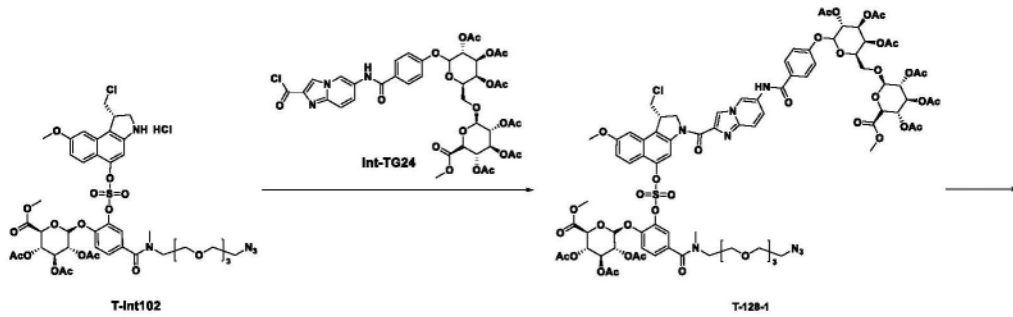
[2156] ESI-MS m/z : 1422 (M^+)。

[2157] 化合物T-127

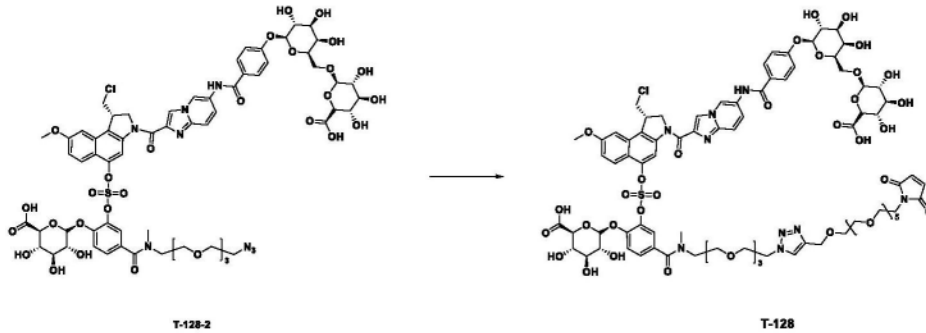
[2158] 产率87%

[2159] ESI-MS m/z : 911 ($\text{M}^+/2$)。

[2160] 实施例81: 化合物T-128的制备



[2161]



[2162] 化合物T-128-1的制备

[2163] 在室温下于 N_2 气氛下向T-Int102(17mg, 0.0166mmol)于无水THF(0.5mL)中的溶液中添加Int-TG24(15.3mg, 0.0066mmol)和DIPEA(5.8 μ L, 0.033mmol)。在相同温度下搅拌1.5小时后,通过制备型HPLC纯化反应混合物,获得化合物T-128-1(22mg, 70%)。

[2164] ESI-MS m/z : 947 ($M^+/2$)

[2165] 化合物T-128-2和T-128的制备

[2166] 以与实施例79的方法类似的方式合成T-128-2和T-128。

[2167] 化合物T-128-2

[2168] 产率78%

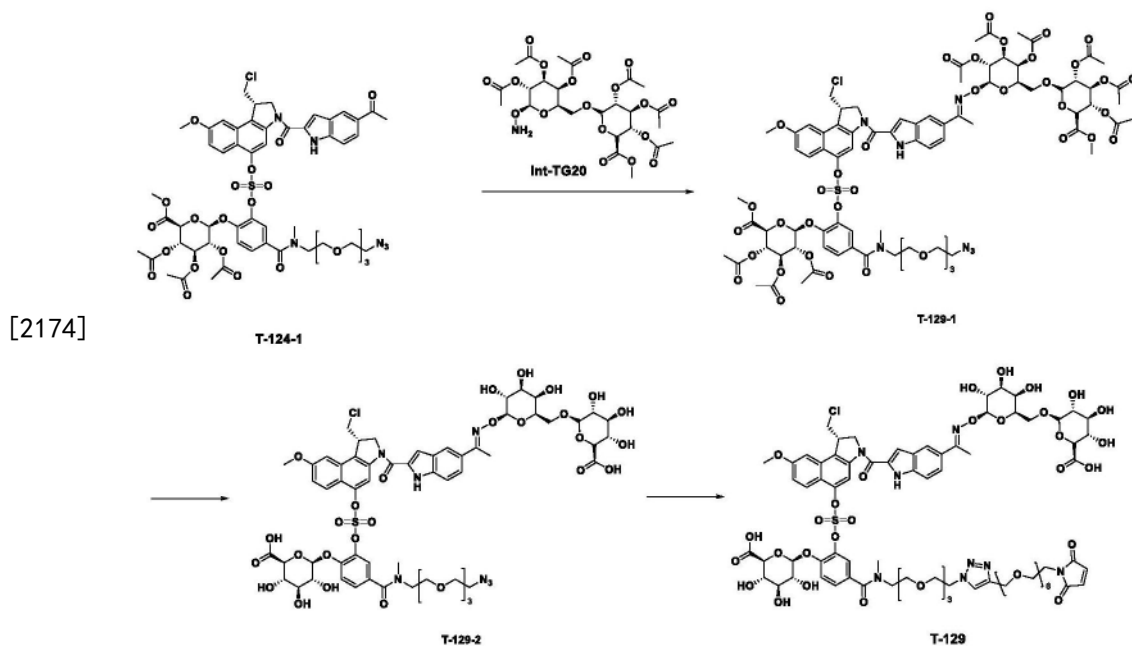
[2169] ESI-MS m/z : 744 ($M^+/2$)

[2170] 化合物T-128

[2171] 产率52%

[2172] ESI-MS m/z : 944 ($M^+/2$)

[2173] 实施例82: 化合物T-129的制备



[2175] 化合物T-129-1的制备

[2176] 在室温下于N₂气氛下向T-124-1 (9.1mg, 0.0076mmol) 溶解于DMSO (0.15mL) 中的溶液中添加Int-TG20 (9.2mg, 0.0144mmol)、苯胺 (3.46μL, 0.038mmol) 和TFA (1滴)。在相同温度下搅拌3天后,通过制备型HPLC纯化反应混合物,获得化合物T1-1 (3.9mg, 28%)。

[2177] ESI-MS m/z: 907 (M⁺/2)

[2178] 化合物T-129-2和T-129的制备

[2179] 以与实施例79的方法类似的方式合成T4-2。

[2180] 化合物T-129-2

[2181] 产率66%

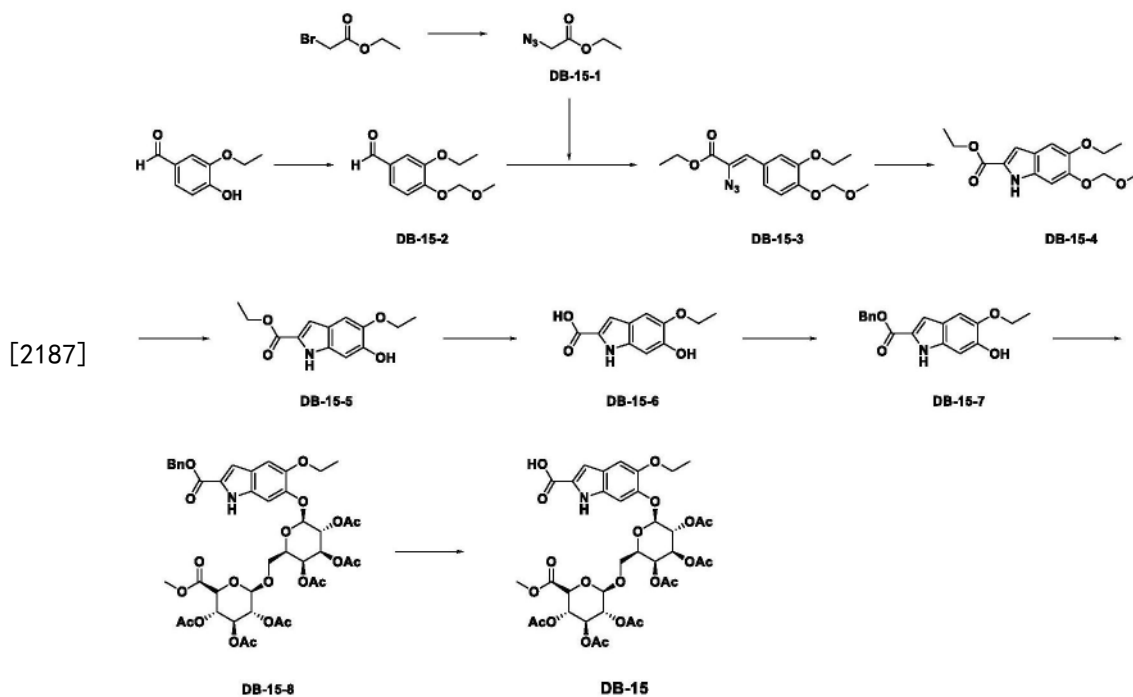
[2182] ESI-MS m/z: 704 (M⁺/2)。

[2183] 化合物T-129

[2184] 产率92%

[2185] ESI-MS m/z: 1808 (M⁺)。

[2186] 实施例83: 化合物DB-15的制备



[2188] 化合物DB-15-1的制备

[2189] 在0℃下于N₂气氛下向溴乙酸乙酯(10g, 59.9mmol)于丙酮(62.5mL)中的溶液中添加含叠氮化钠(9.73g, 150mmol)的水(50mL)。在室温下搅拌反应混合物1小时。用MC萃取产物。经无水Na₂SO₄干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。化合物DB-15-1未经进一步纯化即用于下一步骤中。(6.17g, 80%)

[2190] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ4.28-4.22 (m, 2H), 3.85 (s, 2H), 1.30 (t, J=7.2Hz, 3H)

[2191] 化合物DB-15-2的制备

[2192] 以与实施例54的方法类似的方式合成DB-15-2。

[2193] 产率100%

[2194] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ9.87 (s, 1H), 7.43 (s, 1H), 7.41 (d, J=2.0Hz, 1H), 7.27 (d, J=7.6Hz, 1H), 5.32 (s, 2H), 4.21-4.16 (m, 2H), 3.53 (s, 3H), 1.49 (t, J=7.2Hz, 3H)

[2195] 化合物DB-15-3的制备

[2196] 在0℃下于N₂气氛下向乙醇钠(3.50mL, 3.50mmol)于乙醇(32.0mL)中的溶液中添加DB-15-2(1.0g, 4.76mmol)、DB-15-1(1.84g, 14.3mmol)和ETFPA(1.70mL, 14.3mmol)。在室温下搅拌反应混合物3小时。通过添加NH₄Cl水溶液淬灭反应物, 并且用EtOAc萃取混合物。经无水Na₂SO₄干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。化合物Int5-1未经进一步纯化即用于下一步骤中。

[2197] (1.16g, 76%)

[2198] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ7.54 (d, J=7.6Hz, 1H), 7.29 (dd, J=8.8, 2.0Hz, 1H), 7.13 (d, J=8.4Hz, 1H), 6.86 (s, 1H), 5.26 (s, 2H), 4.39-4.34 (m, 2H), 4.18-4.13 (m, 2H), 3.52 (s, 3H), 1.48 (t, J=6.8Hz, 3H), 1.38 (t, J=7.2Hz, 3H)

[2199] 化合物DB-15-4的制备

[2200] 以与实施例42的方法类似的方式合成DB-15-4。

[2201] 产率65%

[2202] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 7.19 (s, 1H), 7.11-7.10 (m, 1H), 7.08 (s, 1H), 5.28 (s, 2H), 4.41-4.35 (m, 2H), 4.16-4.10 (m, 2H), 3.55 (s, 3H), 1.48 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 3H), 1.40 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 3H)

[2203] 化合物DB-15-5的制备

[2204] 以与化合物实施例57的方法类似的方式合成DB-15-5。

[2205] 产率100%

[2206] ^1H NMR (400Hz, DMSO) δ 11.34 (s, 1H), 9.05 (s, 1H), 6.98 (d, $J=30.8\text{Hz}$, 1H), 6.82 (s, 2H), 4.28-4.27 (m, 2H), 3.99-3.98 (m, 2H), 3.57 (s, 1H), 1.34-1.31 (m, 6H)

[2207] 化合物DB-15-6的制备

[2208] 在 0°C 下于 N_2 气氛下向DB-15-5 (139mg, 0.558mmol) 于THF/ H_2O (2.7/1.0mL) 中的溶液中添加一水合氢氧化锂 (117mg, 2.79mmol)。在 50°C 下搅拌反应混合物7小时。通过添加2M HCl溶液淬灭反应物, 并且用EtOAc萃取混合物。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。化合物DB-15-6未经进一步纯化即用于下一步骤中。(123mg, 100%)

[2209] ^1H NMR (400Hz, DMSO) δ 11.22 (s, 1H), 8.98 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.89 (s, 1H), 6.81 (s, 1H), 4.04-3.98 (m, 2H), 1.35 (t, $J=6.4\text{Hz}$, 3H)

[2210] 化合物DB-15-7的制备

[2211] 以与实施例47的方法类似的方式合成DB-15-7。

[2212] 产率75%

[2213] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 8.64 (s, 1H), 7.44-7.40 (m, 5H), 7.14 (s, 1H), 6.99 (s, 1H), 6.90 (s, 1H), 5.97 (s, 1H), 5.29 (s, 1H), 4.16-4.11 (m, 2H), 1.25 (t, $J=3.6\text{Hz}$, 3H)

[2214] 化合物DB-15-8的制备

[2215] 以与实施例60的制备方法类似的方式合成DB-15-8Int5-8。

[2216] 产率77%

[2217] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 7.45-7.34 (m, 5H), 7.21 (s, 1H), 7.14 (s, 1H), 7.07 (s, 1H), 5.61-5.56 (m, 1H), 5.42-5.19 (m, 6H), 5.07-5.03 (m, 1H), 4.92 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 4.54 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 4.11-4.09 (m, 1H), 3.96-3.94 (m, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.75 (s, 1H), 2.17 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.03-2.01 (m, 9H), 1.83 (s, 3H), 1.41 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 3H)

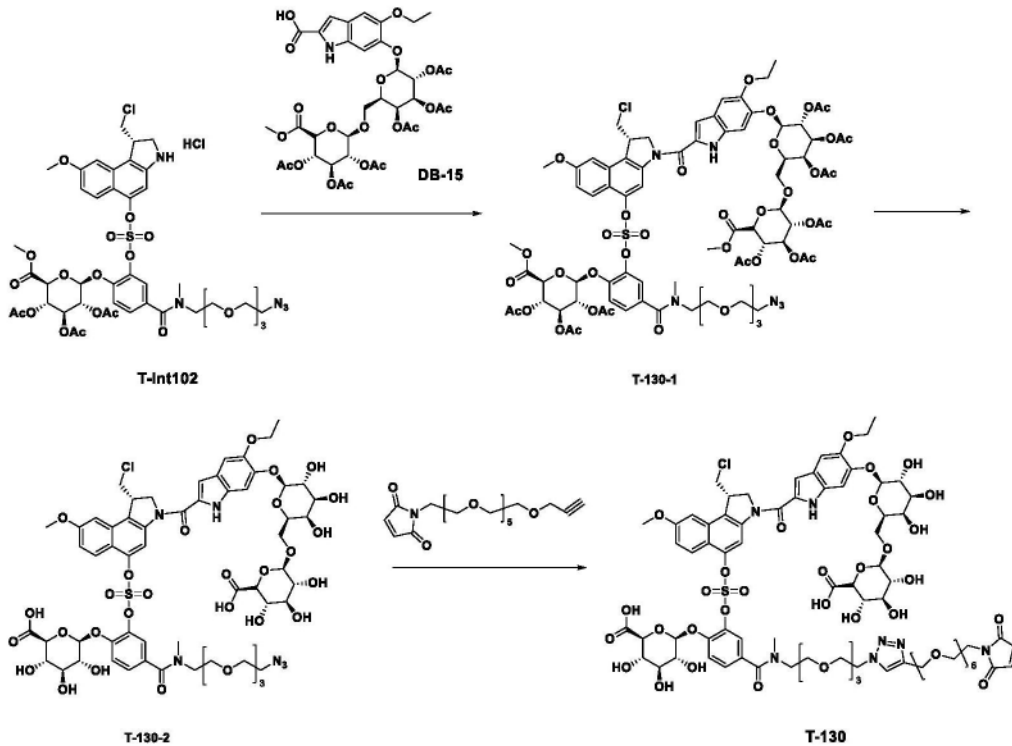
[2218] 化合物DB-15的制备

[2219] 以与实施例47的方法类似的方式合成DB-15。

[2220] 产率100%

[2221] ESI-MS m/z : 826 ($\text{M}^+ + 1$)

[2222] 实施例84: 化合物T-130的制备



[2223] 以与实施例79的方法类似的方式合成T-130。

[2224] 化合物T-130-1

[2225] 产率28%

[2226] ESI-MS m/z : 1818 (M^+)

[2227] 化合物T-130-2

[2228] 产率84%

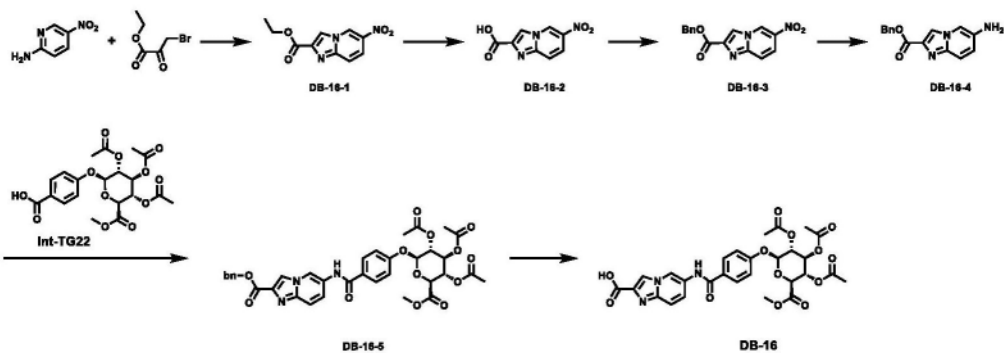
[2229] ESI-MS m/z : 1411 (M^+)。

[2230] 化合物T-130

[2231] 产率81%

[2232] ESI-MS m/z : 906 ($M^+/2$)

[2233] 实施例85: 化合物DB-16的制备



[2235] 化合物DB-16-1的制备

[2236] 在 N_2 气氛下向2-氨基-5-硝基吡啶(5.0g, 35.9mmol)于乙醇(72mL)中的溶液中添加溴丙酮酸乙酯(6.31mL, 50.3mmol)。使反应混合物回流17小时。反应完成后,在减压下浓缩混合物。过滤残余物并且用乙醚洗涤。化合物DB-16-1未经进一步纯化即用于下一步骤

中。(6.28g, 74%)

[2237] $^1\text{H NMR}$ (400Hz, CDCl_3) δ 9.30-9.29 (m, 1H), 8.38 (s, 1H), 8.05 (dd, $J=10, 2.4\text{Hz}$, 1H), 7.81 (d, $J=10\text{Hz}$, 1H), 4.53-4.47 (m, 2H), 1.44 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 3H)

[2238] EI-MS m/z : 236 ($\text{M}^+ + 1$)。

[2239] 化合物DB-16-2的制备

[2240] 以与实施例83的制备方法类似的方式合成DB-16-2。

[2241] 产率71%

[2242] $^1\text{H NMR}$ (400Hz, CDCl_3) δ 9.76-9.75 (m, 1H), 8.62 (s, 1H), 8.15-8.12 (m, 1H), 7.74 (d, $J=10\text{Hz}$, 1H)

[2243] 化合物DB-16-3的制备

[2244] 以与实施例64的方法类似的方式合成DB-16-3。

[2245] 产率56%

[2246] $^1\text{H NMR}$ (400Hz, CDCl_3) δ 9.28-9.27 (m, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.05-8.02 (m, 1H), 7.80-7.78 (m, 1H), 7.50-7.48 (m, 2H), 7.39-7.37 (m, 3H), 5.46 (s, 2H)

[2247] 化合物DB-16-4的制备

[2248] 在 N_2 气氛下向DB-16-3 (100mg, 0.336mmol) 于无水THF (0.67mL) 中的溶液中添加二水合氯化锡 (341mg, 1.51mmol)。在 45°C 下搅拌反应混合物4小时。通过添加2N NaOH溶液淬灭反应物, 并且用EtOAc萃取混合物。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物DB-16-4 (82.3g, 92%)。

[2249] ESI-MS m/z : 268 ($\text{M}^+ + 1$)

[2250] 化合物DB-16-5的制备

[2251] 以与实施例79的方法类似的方式合成DB-16-5。

[2252] 产率33%

[2253] ESI-MS m/z : 704 ($\text{M}^+ + 1$)

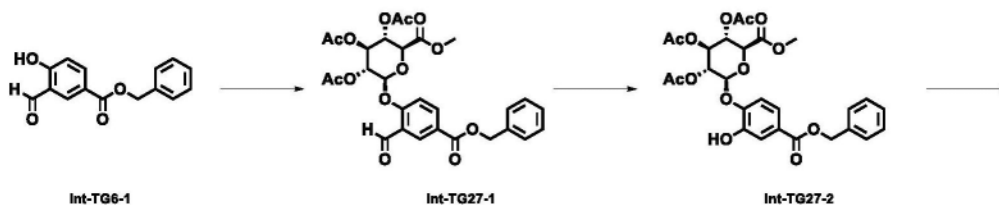
[2254] 化合物DB-16的制备

[2255] 以与实施例47的方法类似的方式合成DB-16。

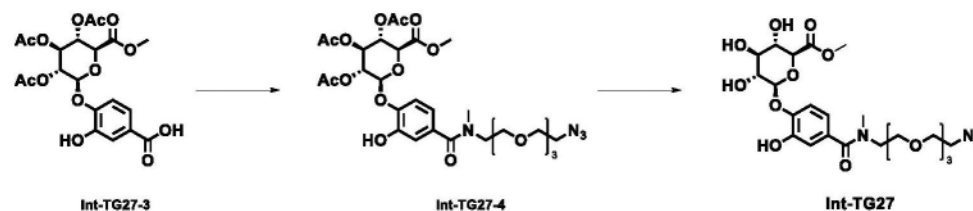
[2256] 产率57%

[2257] ESI-MS m/z : 614 ($\text{M}^+ + 1$)

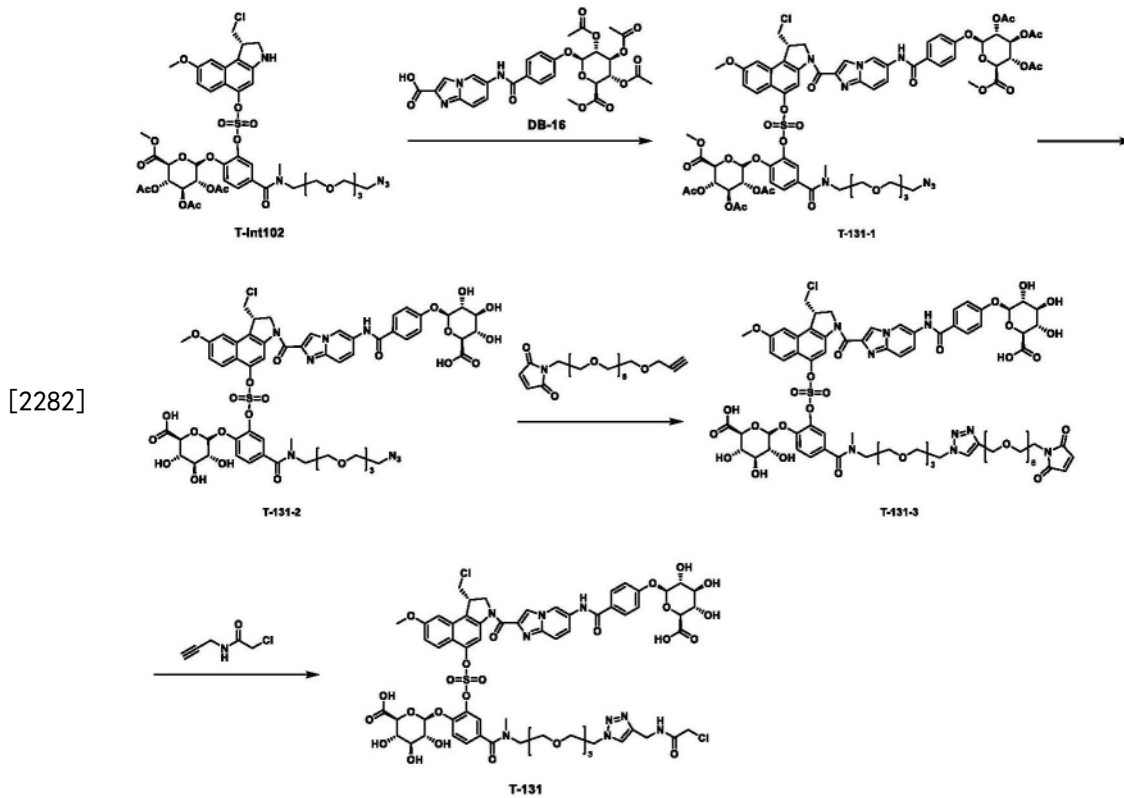
[2258] 实施例86: 化合物Int-TG27的制备



[2259]



- [2260] 化合物Int-TG27-1至Int-TG27-4的制备
- [2261] 以与实施例11的方法类似的方式合成Int-TG27-1至Int-TG27-4。
- [2262] 化合物Int-TG27-1
- [2263] 产率70%
- [2264] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 10.33 (s, 1H), 8.55 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 8.28 (dd, $J=8.8$, 2.4Hz, 1H), 7.45-7.35 (m, 5H), 7.17 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 5.39-5.36 (m, 6H), 4.30-4.25 (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 2.09-2.05 (m, 9H)。
- [2265] ESI-MS m/z : 595 (M^+Na)。
- [2266] 化合物Int-TG27-2
- [2267] 产率86%
- [2268] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 7.67 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 7.61 (dd, $J=8.4$, 2.4Hz, 1H), 7.44-7.32 (m, 5H), 7.00 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 6.05 (s, 1H), 5.41-5.25 (m, 5H), 5.11 (d, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 4.22 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 3.77 (s, 3H), 2.11-2.06 (m, 9H)。
- [2269] ESI-MS m/z : 583 (M^+Na)。
- [2270] 化合物Int-TG27-3
- [2271] 产率100%
- [2272] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 7.68 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 7.63 (dd, $J=8.4$, 2.4Hz, 1H), 7.03 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 5.43-5.29 (m, 3H), 5.14 (d, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 4.24 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 3.78 (s, 3H), 2.12-2.07 (m, 9H)。
- [2273] ESI-MS m/z : 493 (M^+Na)。
- [2274] 化合物Int-TG27-4
- [2275] 产率80%
- [2276] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 7.06-6.89 (m, 3H), 6.32-6.23 (m, 1H), 5.40-5.27 (m, 3H), 5.05 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 4.19 (d, $J=9.2\text{Hz}$, 1H), 3.84-3.46 (m, 17H), 3.39 (t, $J=5.6\text{Hz}$, 2H), 3.09-3.04 (m, 3H), 2.12-2.06 (m, 9H)。
- [2277] ESI-MS m/z : 685 (M^++1)
- [2278] 化合物Int-TG27的制备
- [2279] 在 0°C 下于 N_2 气氛下向Int-TG27-4 (70.2mg, 0.103mmol) 于甲醇/MC (2.5mL/0.5mL) 中的溶液中添加 K_2CO_3 (42.7mg, 0.309mmol)。在相同温度下搅拌1.5小时后,通过制备型HPLC纯化反应混合物,获得化合物Int8 (36.7mg, 64%)。
- [2280] ESI-MS m/z : 559 (M^++1)
- [2281] 实施例87: 化合物T-131的制备



[2283] 以与实施例84的方法类似的方式合成T-131。

[2284] 化合物T-131-1

[2285] 产率84%

[2286] ESI-MS m/z : 803 (M^+ /2)

[2287] 化合物T-131-2

[2288] 产率90%

[2289] ESI-MS m/z : 1325 (M^+)

[2290] 化合物T-131-3

[2291] 产率86%

[2292] ESI-MS m/z : 863 (M^+ /2)

[2293] 化合物T-131的制备

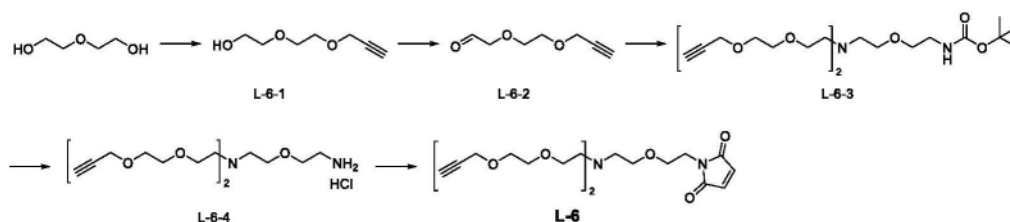
[2294] 在室温下于 N_2 气氛下向化合物T-131-3 (5.3mg, 0.00400mmol) 溶解于DMSO (2.0mL) 中的溶液中添加10mM 2-氯-N-丙-2-炔基乙酰胺的DMSO溶液 (0.80mL, 0.000800mmol) 和CuBr (1.72mL, 0.012mmol)。在相同温度下搅拌2.5小时后, 通过制备型HPLC纯化反应混合物, 获得化合物T-131 (5.32mg, 91%)。

[2295] ESI-MS m/z : 1457.22 (M^+)

[2296] 实施例88: 化合物L-5的制备

[2314] ESI-MS m/z : 205 ($M^+ + 1$)。

[2315] 实施例89: 化合物L-6的制备



[2316]

[2317] 化合物L-6-1的制备

[2318] 在0℃下于N₂气氛下用t-BuOK (5.71ml, 50.8mmol)、炔丙基溴 (80% w/w) (7.49mL, 50.3mmol) 处理二甲二醇 (10.7g, 10.1mmol) 于无水THF (150mL) 中的溶液。使反应混合物升温至室温并且搅拌过夜。经CELITE®过滤反应混合物, 并且用DCM (300mL) 洗涤CELITE®塞。在减压下浓缩滤液。通过柱色谱法纯化残余物, 获得呈黄色油状的化合物L-6-1 (5.38g, 74%)。

[2319] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ 4.21 (d, J=2.4Hz, 2H), 3.74-3.70 (m, 6H), 3.62-3.60 (m, 2H), 2.45 (t, J=2.4Hz, 1H)。

[2320] 化合物L-6-2的制备

[2321] 将三颈圆底烧瓶中的空气用N₂置换3-4次。将草酰氯 (595μL, 6.94mmol) 于无水DCM (3mL) 中的溶液添加至三颈圆底烧瓶中。在-78℃下将DMSO (985μL, 13.9mmol) 于无水DCM (3mL) 中的溶液缓慢逐滴添加至反应混合物中。30分钟后, 在-78℃下将化合物L-6-1 (500mg, 3.47mmol) 于无水DCM (12mL) 中的溶液缓慢逐滴添加至反应混合物中。1.5小时后, 在-78℃下逐滴添加三甲胺 (2.9mL, 20.8mmol)。在-78℃下搅拌反应混合物15分钟, 然后缓慢升温至0℃, 并且搅拌45分钟。反应完成后, 用H₂O (30mL) 萃取反应混合物并且用饱和NH₄Cl 溶液 (30mL) 洗涤。经无水Na₂SO₄干燥合并的有机层, 过滤, 并且在减压下浓缩。通过硅胶柱色谱法纯化残余物, 获得呈黄色油状的化合物L-6-2 (191mg, 39%)。

[2322] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ 9.74 (d, J=0.8Hz, 1H), 4.22 (d, J=2.4Hz, 2H), 4.17 (d, J=0.8Hz, 2H), 3.79-3.74 (m, 4H), 2.45 (t, J=2.8Hz, 1H)。

[2323] 化合物L-6-3的制备

[2324] 在0℃下于N₂气氛下将化合物bLD-Int1-2 (70mg, 0.490mmol)、化合物L-5 (50mg, 0.245mmol) 于无水DCM (1.3mL) 中的溶液搅拌10分钟。在0℃下于N₂气氛下向反应混合物中添加NaBH(OAc)₃ (104mg, 0.490mmol)。在室温下搅拌反应混合物2小时。化合物L-6-2消失后, 用H₂O (100mL)/DCM (100mL) 萃取反应混合物。经无水Na₂SO₄干燥合并的有机层, 过滤, 并且在减压下浓缩。通过硅胶柱色谱法纯化残余物, 获得呈黄色油状的化合物L-6-3 (46mg, 41%)。

[2325] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ 5.25 (s, 1H), 4.20 (s, 4H), 3.67-3.49 (m, 16H), 3.29 (s, 2H), 2.81-2.78 (m, 4H), 2.44 (m, 2H), 1.44 (s, 9H);

[2326] ESI-MS m/z : 457 ($M^+ + 1$)。

[2327] 化合物L-6-4的制备

[2328] 在0℃下将化合物L-6-3 (45mg, 0.986mmol) 溶解于无水DCM (1mL) 中。向反应混合物中添加4M HCl的二噁烷溶液 (0.422mL, 1.69mmol), 并且在0℃下搅拌30分钟。使反应混合物

升温至室温并且搅拌4小时。反应完成后,在减压下浓缩反应混合物,获得呈黄色油状的化合物L-6-4(41mg,100%)。

[2329] ^1H NMR (400Hz, DMSO) δ 4.18 (d, $J=5.2\text{Hz}$, 4H), 4.08-4.00 (m, 6H), 3.67-3.64 (m, 16H), 3.30 (s, 2H), 2.49 (t, $J=2.4\text{Hz}$, 2H);

[2330] ESI-MS m/z : 357 (M^++1)。

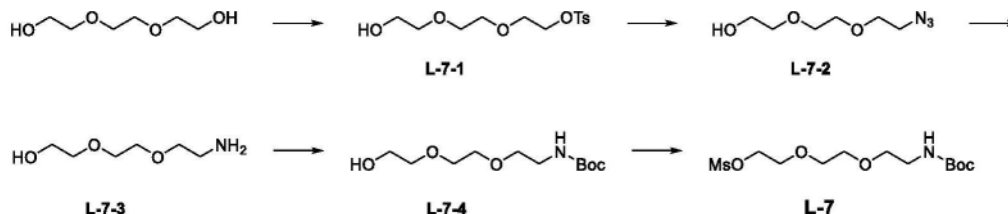
[2331] 化合物L-6的制备

[2332] 在0℃下将化合物L-6-4 (38.7mg, 0.0986mmol) 溶解于饱和 NaHCO_3 溶液 (329 μL) 中并且在0℃下搅拌30分钟。向反应混合物中添加N-甲氧羰基马来酰亚胺 (16.8mg, 0.108mmol), 然后在0℃下搅拌3小时。UPLC-MS指示反应完成后,用EtOAc (10mL) / H_2O (10mL) 萃取反应混合物。经无水 Na_2SO_4 干燥合并的有机层并过滤,并且在减压下浓缩。通过硅胶柱色谱法纯化残余物,获得呈黄色油状的化合物L-6 (19.4mg, 45%)。

[2333] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 6.71 (s, 2H), 4.19 (d, $J=4.8\text{Hz}$, 4H), 3.68-3.53 (m, 18H), 2.77-2.74 (m, 6H), 2.44 (t, $J=2.4\text{Hz}$, 2H);

[2334] ESI-MS m/z : 437 (M^++1)。

[2335] 实施例90: 化合物L-7的制备



[2336]

[2337] 化合物L-7-1的制备

[2338] 在 N_2 气氛下用KI (553mg, 3.33mmol)、 Ag_2O (9.26g, 39.9mmol)、p-TsCl (6.35g, 33.3mmol) 处理三乙二醇 (5.0g, 33.3mmol) 于无水DCM (150mL) 中的溶液并且在室温下搅拌过夜。经CELITE®过滤反应混合物,并且用DCM (100mL) 洗涤CELITE®塞。在减压下浓缩滤液。通过硅胶柱色谱法纯化残余物,获得呈黄色油状的化合物L-7-1 (7.49g, 74%)。

[2339] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 7.81 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 2H), 7.34 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 2H), 4.17 (m, 2H), 3.72-3.70 (m, 4H), 3.62-3.58 (m, 6H), 2.45 (s, 3H)。

[2340] 化合物L-7-2的制备

[2341] 在室温下于 N_2 气氛下用 NaN_3 (2.40g, 36.9mmol)、NaI (369mg, 24.6mmol) 处理化合物L-7-1 (7.49g, 24.6mmol) 于水/丙酮 (1:1) (43mL) 中的溶液并且在60℃下搅拌23小时。在减压下浓缩反应混合物。用EtOAc萃取残余物。经无水 MgSO_4 干燥合并的有机层,过滤,并且在减压下浓缩,获得呈黄色油状的化合物L-1-2 (4.31g, 100%)。

[2342] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 3.74-3.60 (m, 10H), 3.40 (m, 2H), 2.21 (br s, 1H)。

[2343] 化合物L-7-3的制备

[2344] 在 H_2 气氛下用5% Pd/C (55% 润湿) (5.11g, 0.984mmol) 处理L-7-2 (4.31g, 24.6mmol) 于EtOH (123mL) 中的溶液并且在室温下搅拌3小时。经CELITE®过滤混合物以去除Pd/C,并且在减压下浓缩,产生呈黄色油状的化合物L-7-3 (3.67mg, 100%)。

[2345] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 3.74-3.62 (m, 10H), 2.88 (m, 2H)

[2346] 化合物L-7-4的制备

[2347] 在0℃下向化合物L-7-3 (3.67g, 24.6mmol) 于乙醇 (61ml) 中的溶液中添加二碳酸二叔丁酯 (5.37g, 24.6mmol) 于乙醇 (61ml) 中的溶液。在室温下搅拌反应混合物过夜。在减压下浓缩反应混合物, 获得呈黄色油状的化合物L-7-4 (4.51g, 74%)。

[2348] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 5.30 (s, 1H), 3.76-3.56 (m, 10H), 3.38-3.31 (m, 2H), 2.35 (s, 1H), 1.45 (s, 9H)

[2349] ESI-MS m/z : 272 (M^+ +Na)。

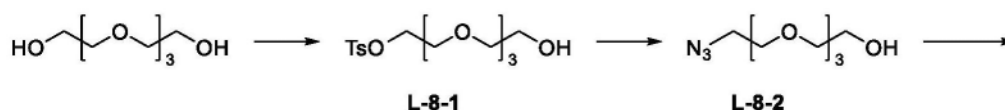
[2350] 化合物L-7的制备

[2351] 在室温下向化合物L-7-4 (3.5g, 14.0mmol)、DMAP (171mg, 1.4mmol) 和TEA (2.5ml, 18.25mmol) 于DCM (35ml) 中的溶液中添加甲磺酰氯 (1.3ml, 16.85mmol)。在室温下搅拌反应混合物过夜。蒸发反应混合物。用 NH_4Cl 溶液稀释粗混合物并且用EA萃取。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩, 获得呈黄色油状的化合物L-7 (4.45g, 99%)。

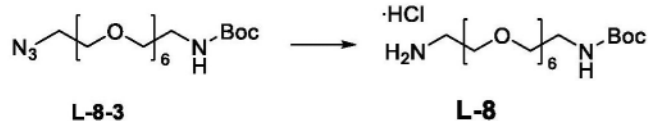
[2352] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 4.94 (s, 1H), 4.46-4.40 (m, 2H), 3.79-3.77 (m, 2H), 3.67-3.63 (m, 4H), 3.54 (t, $J=5.2\text{Hz}$, 2H), 3.33-3.31 (m, 2H), 3.08 (s, 3H), 1.45 (s, 9H);

[2353] ESI-MS m/z : 350 (M^+ +Na)。

[2354] 实施例91: 化合物L-8的制备



[2355]



[2356] 化合物L-8-1的制备

[2357] 在0℃下向四乙二醇 (15.28g, 78.68mmol) 于THF (16ml) 中的溶液中添加2M NaOH溶液 (3.9ml, 7.87mmol), 然后在0℃下搅拌1小时。在0℃下将对甲苯磺酰氯 (1.50g, 7.87mmol) 于THF (10ml) 中的溶液逐滴添加至反应混合物中, 然后在0℃下搅拌3小时。蒸发反应混合物。通过柱色谱法 (EtOAc:Hex = 2:1) 纯化粗混合物, 获得呈无水油状的化合物L-8-1 (2.11g, 77%)。

[2358] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.81 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.35 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 2H), 4.17 (t, $J=5.6\text{Hz}$, 2H), 3.71-3.61 (m, 14H), 2.45 (s, 3H);

[2359] ESI-MS m/z : 349 (M^+ +1)。

[2360] 化合物L-8-2的制备

[2361] 在室温下于 N_2 气氛下向化合物L-8-1 (2.11g, 6.07mmol) 于DMF (14mL) 中的溶液中添加叠氮化钠 (1.89g, 29.1mmol)。在70℃下搅拌反应混合物2小时。过滤反应混合物并且用EtOAc/ H_2O 洗涤。用 H_2O 稀释滤液并且用EtOAc萃取。经 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩, 获得呈黄色油状的化合物L-8-2 (1.35g, 定量)。

[2362] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 3.75-3.73 (m, 2H), 3.71-3.66 (m, 10H), 3.63-3.61 (m, 2H), 3.41 (t, $J=5.6\text{Hz}$, 2H), 2.47 (brs, 1H);

[2363] ESI-MS m/z : 220 (M^+ +1)。

[2364] 化合物L-8-3的制备

[2365] 在0℃下于N₂气氛下向氢化钠(60%, 18.2mg, 0.46mmol)于THF(1.2mL)中的溶液中添加化合物L-8-2(100mg, 0.46mmol)于无水THF(1.0ml)中的溶液,然后在0℃下搅拌30分钟。在室温下将化合物L-7(149mg, 0.46mmol)于无水THF(1.0ml)中的溶液添加至反应混合物中。在室温下搅拌反应混合物2小时。用H₂O稀释反应混合物并且用DCM萃取。经无水Na₂SO₄干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法(EtOAc)纯化残余物,获得呈无色油状的化合物L-8-3(124mg, 60%)。

[2366] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ5.04 (s, 1H), 3.69-3.53 (m, 24H), 3.39 (t, J=5.6Hz, 2H), 3.34-3.30 (m, 2H), 1.44 (s, 9H);

[2367] ESI-MS m/z: 451 (M⁺+1)。

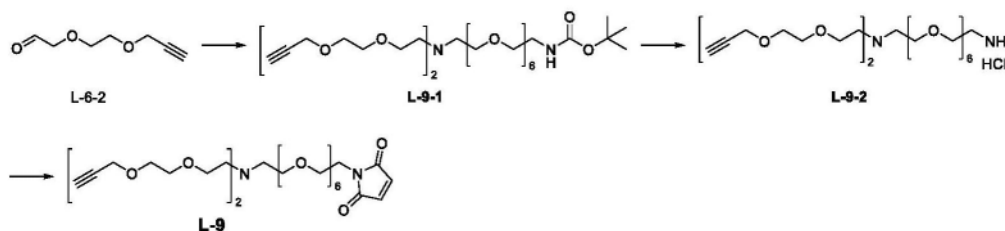
[2368] 化合物L-8的制备

[2369] 向化合物L-8-3(200mg, 0.44mmol)于THF/乙醚/H₂O(2:1:1)(1.2mL)中的溶液中添加TPP(128mg, 0.49mmol),然后在室温下搅拌过夜。添加1N HCl溶液以淬灭反应混合物(pH约3)。用H₂O稀释粗混合物并且用DCM萃取。在减压下浓缩水层,获得呈无水油状的化合物L-8(186mg, 91%)。

[2370] ¹H NMR (400Hz, CDCl₃) δ8.31 (brs, 1H), 7.94 (brs, 2H), 3.97-3.57 (m, 24H), 3.32 (t, J=4.8Hz, 2H), 3.24-3.18 (m, 2H), 1.44 (s, 9H)

[2371] ESI-MS m/z: 425 (M⁺+1)。

[2372] 实施例92: 化合物L-9的制备



[2374] 经由实施例89的类似方法合成化合物L-9。

[2375] 化合物L-9-1

[2376] 产率38%

[2377] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ5.05 (br s, 1H), 4.20 (d, J=2.4Hz, 4H), 3.65-3.61 (m, 36H), 3.31 (m, 2H), 2.78 (m, 6H), 2.44 (m, 2H), 1.44 (s, 9H);

[2378] ESI-MS m/z: 677 (M⁺+1)。

[2379] 化合物L-9-2

[2380] 产率100%

[2381] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ8.07 (br s, 2H), 4.18 (d, J=2.4Hz, 4H), 4.07-3.95 (m, 6H), 3.73-3.63 (m, 34H), 3.18 (s, 2H), 2.48 (s, 2H);

[2382] ESI-MS m/z: 577 (M⁺+1)。

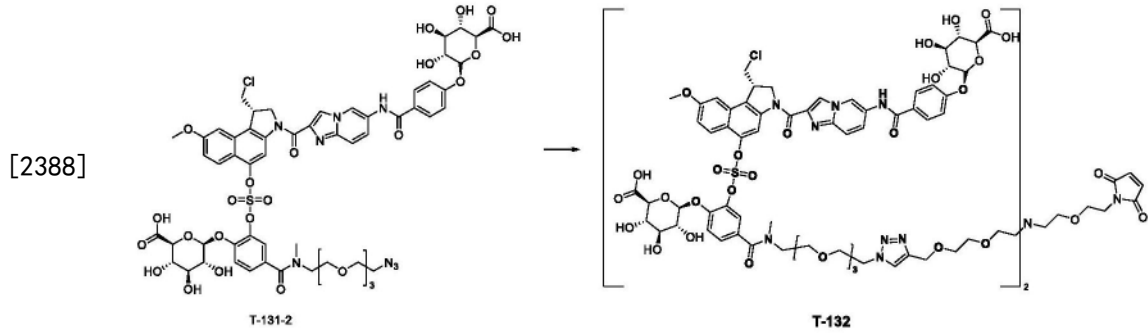
[2383] 化合物L-9

[2384] 产率57%

[2385] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ6.69 (s, 2H), 4.18 (d, J=2.4Hz, 4H), 3.65-3.58 (m, 38H), 2.77-2.76 (m, 6H), 2.43 (s, 2H);

[2386] ESI-MS m/z: 657 (M⁺+1)。

[2387] 实施例93:化合物T-132的制备



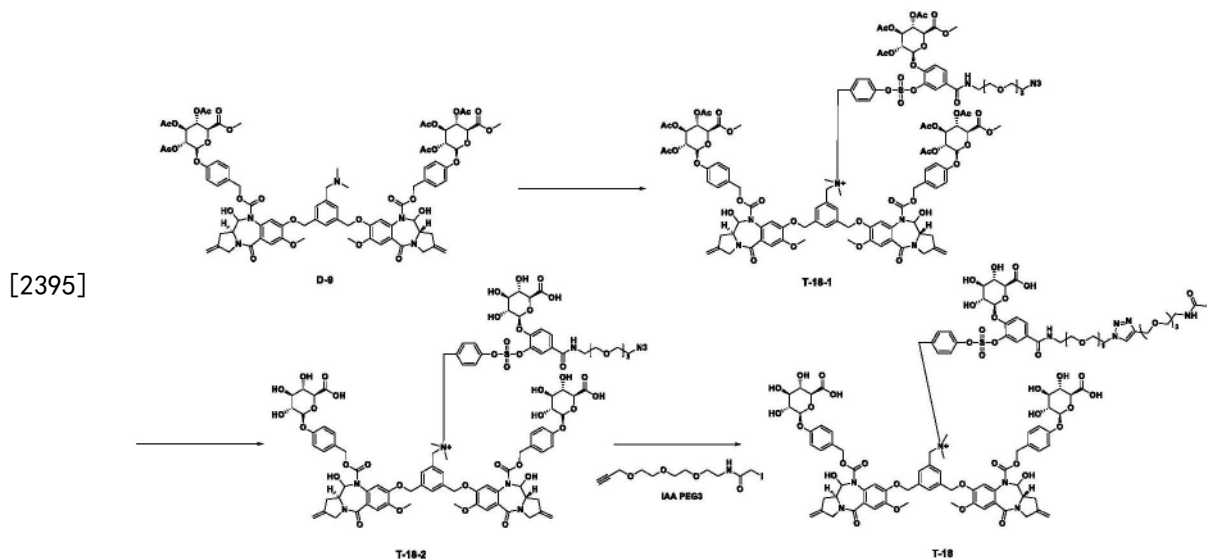
[2389] 在室温下于 N_2 氮气气氛下用CuBr (0.81mg, 0.00566mmol) 处理化合物T-131-2 (5mg, 0.03077mmol)、化合物L-6 (1.23mg, 0.00283mmol) 于DMSO (4.0mL) 中的溶液并且搅拌30分钟。通过制备型HPLC纯化反应混合物, 获得呈白色固体状的化合物ITC03-423 (2.2mg, 34%)。

[2390] ESI-MS m/z : 1544 ($M^+/2$), 1029 ($M^+/3$)。

[2391] 表6: 经由与实施例93中所描述的类似的合成途径合成的化合物。

化合物	结构	分析数据
[2392] T-133		产率 59% ESI-MS m/z : 1467 ($M^+/2$), 979 ($M^+/3$)
T-134		产率 94% ESI-MS m/z : 1465 ($M^+/2$), 977 ($M^+/3$)
[2393] T-135		产率 41% ESI-MS m/z : 1654 ($M^+/2$), 1103 ($M^+/3$)。

[2394] 实施例94:化合物T-18的制备



[2396] 化合物T-18-1的制备

[2397] 在室温下于N₂气氛下用DIPEA (10.1μL, 0.058mmol) 处理化合物D-9 (48.7mg, 0.029mmol) 和化合物Int-TG12 (29.5mg, 0.032mmol) 于DMF (1.1mL) 中的溶液并且搅拌3.5小时。分离混合物并且通过制备型HPLC纯化, 获得化合物T-18-1 (62mg, 85%)。

[2398] ESI-MS m/z: 1256.78 (M⁺/2), 2512.16 (M⁺)。

[2399] 化合物T-18-2的制备

[2400] 在-5℃下于N₂气氛下用LiOH H₂O (7.3mg, 0.17mmol) 处理化合物T-18-1 (62mg, 0.025mmol) 于MeOH/H₂O (1/1, 4.0mL) 中的溶液并且搅拌2.5小时。使用2N HCl将反应混合物调节至pH 4。分离混合物并且通过制备型HPLC纯化, 获得化合物T-18-2 (35.8mg, 72%)。

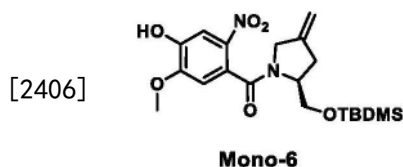
[2401] ESI-MS m/z: 1018.16 (M⁺/2), 2036.38 (M⁺)。

[2402] 化合物T-18的制备

[2403] 在室温下于氮气气氛下用CuBr (1.8mg, 0.013mmol) 处理化合物T-18-2 (8.5mg, 0.0041mmol)、IAA PEG3 (2.0mg, 0.00566mmol) 于DMSO (0.1mL) 中的溶液并且搅拌1小时。通过制备型HPLC纯化反应混合物, 获得化合物T-18 (5.9mg, 59%)。

[2404] ESI-MS m/z: 1231.87 (M⁺/2), 2464.14 (M⁺+1)。

[2405] 实施例95:化合物Mono-6的制备



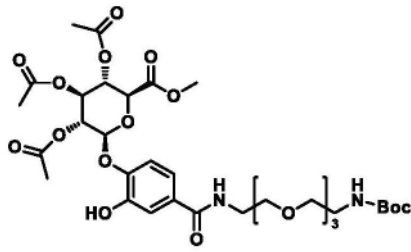
[2407] 通过与实施例19中所描述的类似的方法进行反应来获得化合物Mono-6。

[2408] 产率99%

[2409] ESI-MS m/z: 423.19 (M⁺+1)

[2410] 实施例96:化合物Int-TG29的制备

[2411]

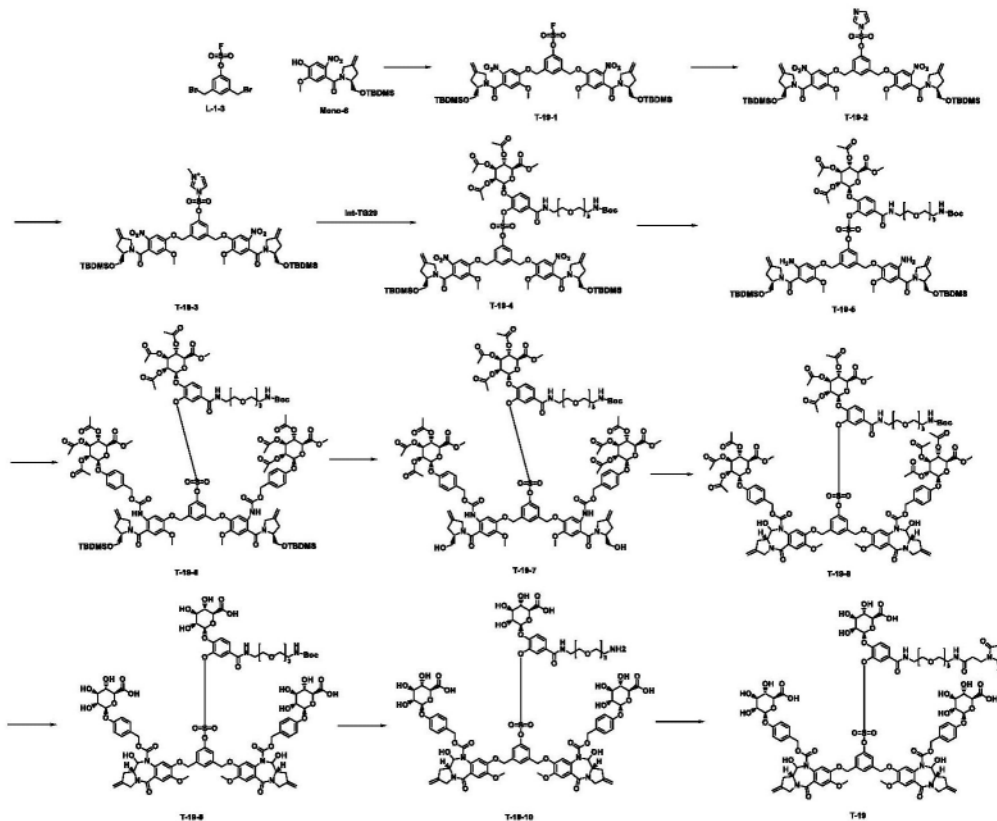
**Int-TG29**

[2412] 通过以与实施例12中所描述的类似的方法进行反应来获得化合物Int-TG29。

[2413] 产率85.3%

[2414] ESI-MS m/z : 745.24 (M^+ +1)[2415] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 5.05 (br s, 1H), 4.20 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 4H), 3.65-3.61 (m, 36H), 3.31 (m, 2H), 2.78 (m, 6H), 2.44 (m, 2H), 1.44 (s, 9H);[2416] ESI-MS m/z : 677 (M^+ +1)。[2417] 实施例97: 化合物T-19的制备

[2418]



[2419] 化合物T-19-1的制备

[2420] 在室温下于 N_2 气氛下用 K_2CO_3 (33mg, 0.237mmol) 处理化合物L-1-3 (39mg, 0.108mmol)、化合物Mono-6 (100mg, 0.237mmol) 于DMF (5.0mL) 中的溶液, 搅拌2.5小时。用EA (100mL \times 2)、 H_2O (100mL) 萃取反应混合物。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物T-19-1 (99.6mg, 89%)。[2421] ESI-MS m/z : 1045.13 (M^+), 1068.25 (M^+ +23)

[2422] 化合物T-19-2的制备

[2423] 在 0°C 下于 N_2 气氛下用 Cs_2CO_3 (28mg, 0.086mmol) 处理化合物T-19-1 (75mg,

0.072mmol)、咪唑(236.34mg, 0.093mmol)于无水ACN(3.0mL)中的溶液,搅拌5.5小时。用EA(100mL×2)、H₂O(100mL)萃取反应混合物。经无水Na₂SO₄干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物T-19-2(60.3mg, 77%)。

[2424] ESI-MS m/z: 1093.23(M⁺), 1116.25(M⁺+23)

[2425] 化合物T-19-3的制备

[2426] 在0℃下于N₂气氛下将化合物T-19-2(55mg, 0.05mmol)、三氟甲磺酸甲酯(7.4μl, 0.065mmol)于乙醚(3.0mL)中的溶液搅拌20分钟。过滤固体并且用乙醚洗涤,然后在减压下浓缩,获得化合物T-19-3(43.5mg, 98%)。

[2427] ESI-MS m/z: 1108.13(M⁺)。

[2428] 化合物T-19-4的制备

[2429] 在室温下于N₂气氛下用2,6-二甲基吡啶(11.5μl, 0.099mmol)处理化合物T-19-3(43.5mg, 0.049mmol)、Int-TG29(44.2mg, 0.059mmol)于无水DCM(0.5mL)中的溶液,搅拌3小时。用EA(100mL×2)、H₂O(50mL)萃取反应混合物。经无水Na₂SO₄干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物T-19-4(58.8mg, 66%)。

[2430] ESI-MS m/z: 1770.15(M⁺+1), 1792.2(M⁺+23)

[2431] 化合物T-19-5的制备

[2432] 在室温下于N₂气氛下用Zn(29mg, 0.445mmol)、NH₄Cl(47.5mg, 0.889mmol)处理化合物T-19-4(24.3mg, 0.022mmol)于THF/H₂O(4/1, 0.5ml)中的溶液并且搅拌7小时。经CELITE®过滤反应混合物,然后在减压下浓缩,获得化合物T-19-5(22mg, 94%)。

[2433] ESI-MS m/z: 1710.35(M⁺), 1732.22(M⁺+23)

[2434] 化合物T-19-6的制备

[2435] 在室温下于N₂气氛下用HOBt(1.74mg, 0.013mmol×2)处理化合物T-19-5(22mg, 0.013mmol)、化合物Int-TG3(25.1mg, 0.039mmol×1.3)于无水THF(0.2mL)中的溶液并且搅拌40小时。用EA/H₂O萃取反应混合物。经无水Na₂SO₄干燥有机层,过滤,在减压下浓缩。通过制备型TLC纯化反应混合物,获得化合物T-19-6(20.8mg, 67%)。

[2436] ESI-MS m/z: 1322.29(M⁺/2)。

[2437] 化合物T-19-7的制备

[2438] 在0℃下于N₂气氛下向化合物T-19-6(20.8mg, 0.008mmol)于ACN/H₂O(1/1, 0.8ml)中的溶液中逐滴添加TFA(30μl, 0.394mmol)并且搅拌1小时。用EA/H₂O萃取反应混合物。经无水Na₂SO₄干燥有机层,过滤,在减压下浓缩。通过制备型TLC纯化反应混合物,获得化合物T-19-7(16mg, 84%)。

[2439] ESI-MS m/z: 1207.46(M⁺/2) 1157.16((M⁺-Boc)/2)。

[2440] 化合物T-19-8的制备

[2441] 在0℃下于N₂气氛下用戴斯-马丁高碘烷(7.0mg, 0.0166mmol)处理化合物T-19-7(16mg, 0.0066mmol)于无水DCM(0.2ml)中的溶液并且在室温下搅拌2小时。用DCM(10mL×2)、H₂O(3mL)萃取反应混合物。经无水Na₂SO₄干燥有机层,过滤,在减压下浓缩,获得化合物T-19-8(15.8mg, 99%)。

[2442] ESI-MS m/z: 1206.22(M⁺/2), 2433.78(M⁺+23), 1156.34((M⁺-Boc)/2)。

[2443] 化合物T-19-9的制备

[2444] 在-5℃下于N₂气氛下用LiOH H₂O(4.1mg, 0.0983mmol)处理化合物T-19-8(15.8mg, 0.0065mmol)于MeOH/H₂O/THF(1/1/1, 1.0mL)中的溶液并且搅拌2.5小时。使用2N HCl将反应混合物调节至pH 4。分离混合物并且通过制备型HPLC纯化,获得化合物T-19-9(4.6mg, 35%)。

[2445] ESI-MS m/z: 995.07 (M⁺/2), 1990.26 (M⁺+1)。

[2446] 化合物T-19-10的制备

[2447] 在0℃下于N₂气氛下用TFA(80uL)处理化合物T-19-9(6.6mg, 0.0033mmol)于无水DCM(0.3mL)中的溶液并且搅拌1小时。在减压下浓缩混合物并且冷冻干燥,获得化合物T-19-10(7.3mg, 定量)。

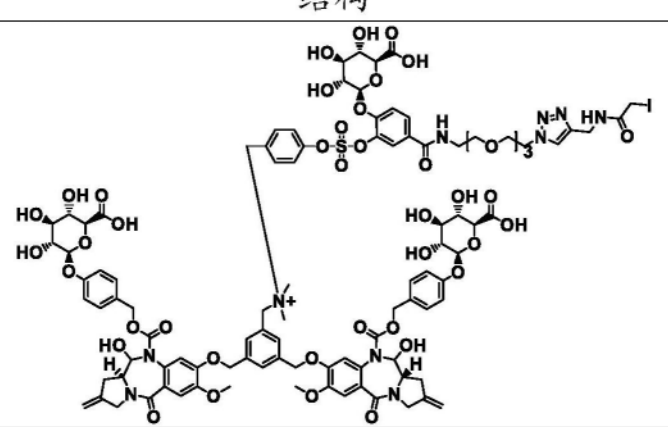
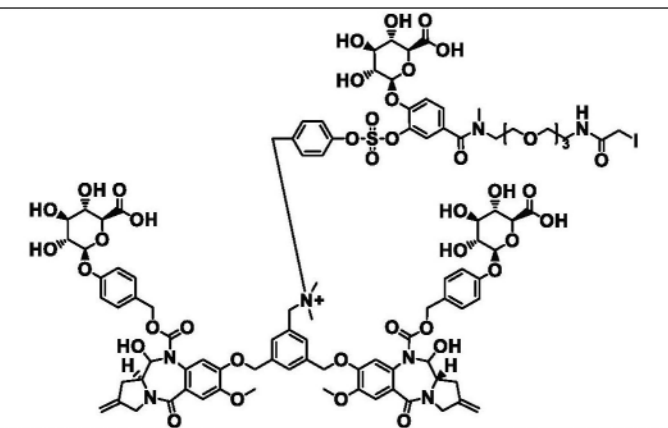
[2448] ESI-MS m/z: 945.51 (M⁺/2), 1889.64 (M⁺)。

[2449] 化合物T-19的制备

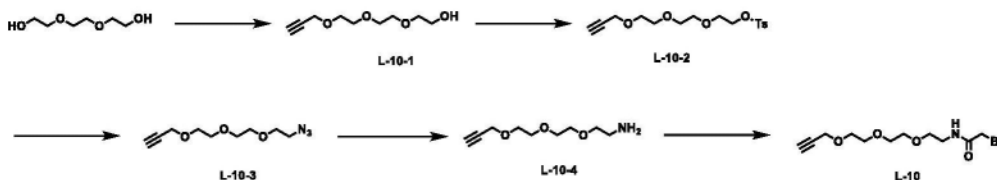
[2450] 在0℃下于N₂气氛下用DIPEA(1.7uL, 0.0096mmol)处理化合物T-19-10(7.3mg, 0.0039mmol)、3-(马来酰亚胺基)丙酸(1.3mg, 0.0046mmol)于无水DMF(0.2mL)中的溶液并且在室温下搅拌6.5小时。分离混合物并且通过制备型HPLC纯化,获得化合物T-19(1.8mg, 60%)。

[2451] ESI-MS m/z: 1021.19 (M⁺/2)

[2452] 表7: 经由与实施例94中所描述的类似的合成途径合成的化合物。

化合物	结构	分析数据
[2453] T-20		产率 52% ESI-MS m/z: 1143 (M/2)
[2454] T-21		产率 67% ESI-MS m/z: 1110 (M2)

[2455] 实施例98: 化合物L-10的制备



[2456]

[2457] 化合物L-10-1至L-10-4的制备

[2458] 通过与实施例3中所描述的类似的合成途径合成化合物L-10-1至L-10-4。

[2459] 化合物L-10-1

[2460] 产率73%

[2461] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 4.21 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 2H), 3.76-3.65 (m, 10H), 3.64-3.59 (m, 2H), 2.44 (t, $J=2.4\text{Hz}$, 1H)

[2462] 化合物L-10-2

[2463] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.79 (d, $J=7.2\text{Hz}$, 2H), 7.33 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 2H), 4.20-4.12 (m, 4H), 3.68-3.58 (m, 10H), 2.44 (s, 3H), 2.42 (t, $J=2.4\text{Hz}$, 1H)

[2464] 化合物L-10-3

[2465] 产率73%

[2466] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 4.19 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 2H), 3.69-3.56 (m, 10H), 3.38 (m, 2H), 2.42 (t, $J=2.4\text{Hz}$, 1H)[2467] ESI-MS m/z : 236 (M^+Na)。

[2468] 化合物L-10-4

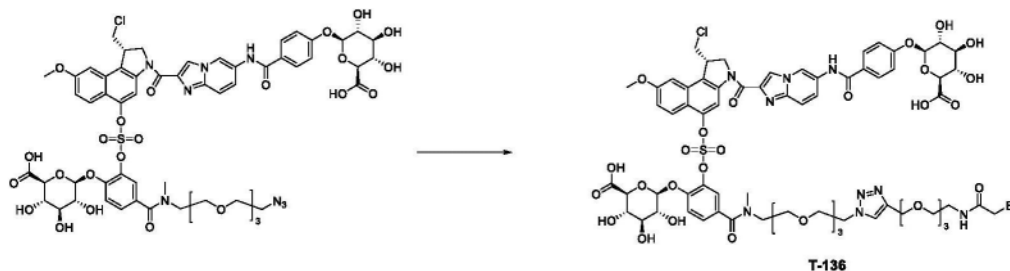
[2469] 产率85%

[2470] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 4.14 (d, $J=1.6\text{Hz}$, 2H), 3.62-3.50 (m, 10H), 2.97-2.93 (m, 2H), 2.50 (m, 1H)

[2471] 化合物L-10的制备

[2472] 在室温下于 N_2 气氛下用DIPEA (240 μL , 1.84mmol)、溴乙酸N-琥珀酰亚胺酯 (260mg, 1.10mmol) 处理化合物L-10-4 (172mg, 0.92mmol) 于无水THF (3.0mL) 中的溶液并且搅拌1小时。用EA (40mL \times 2)、 H_2O (20mL) 萃取反应物。经 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法 (仅EA至5% MeOH/EA) 纯化残余物, 获得呈白色固体状的化合物L-10 (228mg, 80%)。[2473] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 6.95 (brs, 1H), 4.21 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 2H), 3.39 (s, 2H), 3.75-3.62 (m, 8H), 3.60 (t, $J=5.6\text{Hz}$, 2H), 3.50 (t, $J=5.2\text{Hz}$, 2H), 2.44 (t, $J=2.4\text{Hz}$, 1H)[2474] ESI-MS m/z : 309 (M^++1)。

[2475] 实施例99: 化合物T-136的制备



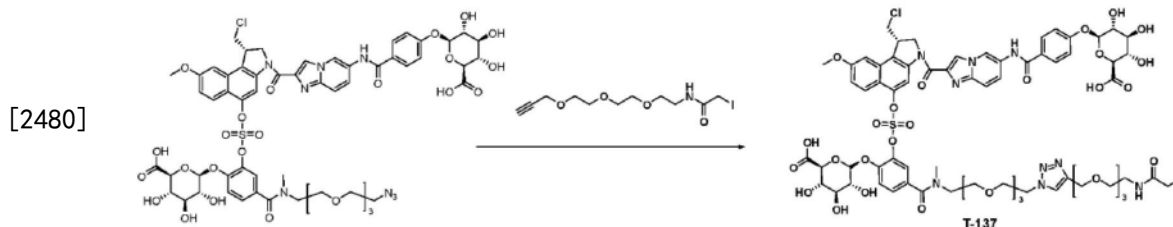
[2476]

[2477] 在室温下于 N_2 氮气气氛下用CuBr (1.62mg, 0.011mmol) 处理以与实施例57的方法

类似的方式合成的化合物 (5.0mg, 0.0038mmol) 和 L-9 (1.74mg, 0.056mmol) 于 DMSO (1.0mL) 中的溶液并且搅拌 40 分钟。通过制备型 HPLC 纯化反应混合物, 获得化合物 T-136 (5.76mg, 94%)。

[2478] ESI-MS m/z : 1634 (M^+ 1)。

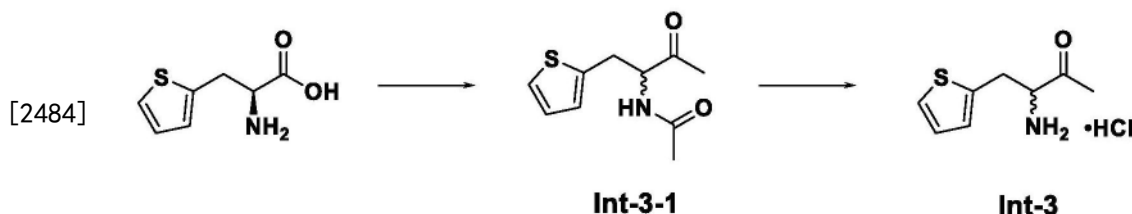
[2479] 实施例 100: 化合物 T-137 的制备



[2481] 经由与实施例 99 中所描述的类似的合成途径合成化合物 T-137 (11.7mg, 92.6%)。

[2482] ESI-MS m/z : 1681 (M^+ 1)。

[2483] 实施例 101: 化合物 Int-3 的制备



[2485] 化合物 Int-3-1 的制备

[2486] 在室温下于 N_2 气氛下用乙酸酐 (0.5ml) 处理 3-(2-噻吩基)-L-丙氨酸 (150mg, 0.87mmol) 于吡啶 (0.85ml) 中的溶液, 并且加热至 $90^\circ C$ 并搅拌过夜。当反应完成时, 在减压下浓缩反应混合物, 然后用 H_2O (6mL) 和乙醚 (10ml) 和 1N HCl (4ml) 稀释。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物 Int-3-1 (120mg, 65%)。

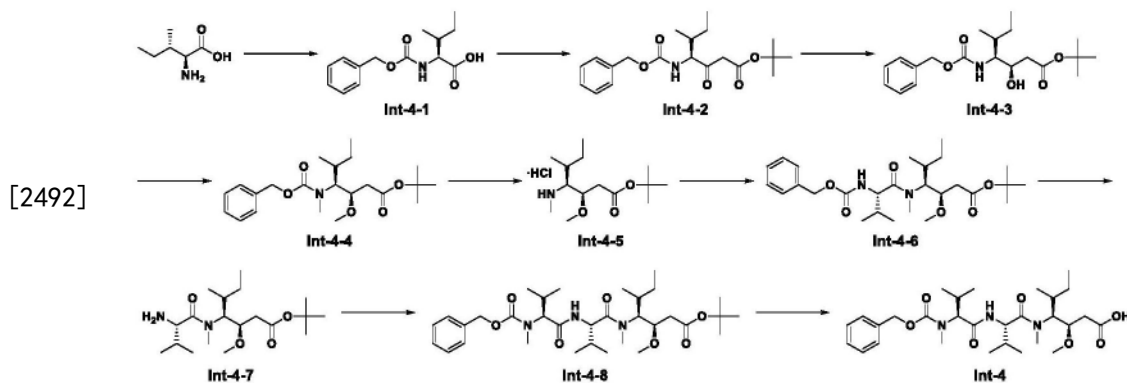
[2487] 1H NMR (400Hz, $CDCl_3$) δ 7.15 (d, $J=4.8Hz$, 1H), 6.92 (ddd, $J=5.6-3.6Hz$, 1H), 6.77 (d, $J=3.2Hz$, 1H), 6.27 (宽峰, 1H), 4.82 (ddd, $J=6.8-5.6Hz$, 1H), 3.46-3.32 (DDDd, $J=30-0.8Hz$, 2H), 2.23 (s, 3H), 2.20 (s, 3H)。

[2488] 化合物 Int-3 的制备

[2489] 在室温下于 N_2 气氛下用 6M HCl (8ml) 处理 Int-3-1 (80mg, 0.37mmol) 于 EtOH (8ml) 中的溶液并且加热至 $90^\circ C$ 持续 3 小时。当反应完成时, 在减压下浓缩反应混合物。产生化合物 Int-3 (70mg, 89%), 其未经进一步纯化即使用。

[2490] 1H NMR (400Hz, $DMSO-d_6$) δ 8.39 (宽峰, 2H), 7.46-7.42 (m, 1H), 7.02-6.99 (m, 2H), 4.37 (宽峰, 1H), 3.48-3.42 (m, 2H), 2.21 (s, 3H)。

[2491] 实施例 102: 化合物 Int-4 的制备



[2493] 化合物Int-4-1的制备

[2494] 在0℃下向L-异亮氨酸(5.0g, 38.12mmol)和NaOH(3.1g, 76.23mmol)于H₂O(40ml)中的溶液中逐滴添加氯甲酸苯甲酯(6.5ml, 45.74mmol)。在室温下搅拌反应混合物2小时, 通过添加1N HCl溶液(pH约3)淬灭反应物。然后用H₂O(50ml)稀释并且用EA(100ml×3)萃取。经无水Na₂SO₄干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法(EA:Hex=1:5)纯化残余物, 获得呈棕色液体状的化合物Int-4-1(8.1g, 80%)。

[2495] ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ7.37-7.34(m, 5H), 5.24(d, J=8.0Hz, 1H), 5.12(s, 2H), 4.41-4.38(m, 1H), 1.96(brs, 1H), 1.52-1.42(m, 1H), 1.26-1.15(m, 1H), 0.99-0.92(m, 6H)。

[2496] ESI-MS m/z: 266(M⁺+1)。

[2497] 化合物Int-4-2的制备

[2498] 在0℃下于N₂气氛下向化合物Int-4-1(1.0g, 3.77mmol)于THF(5.4mL)中的溶液中添加CDI(672mg, 4.15mmol)于THF(3.1ml)中的溶液。在室温下将化合物Int-2-1和CDI的混合物搅拌2小时, 然后冷却至-78℃。在-78℃下向2.5M正丁基锂溶液(于Hex中, 4.5ml, 11.31mmol)中添加THF(6.7ml), 然后将二异丙胺(1.6ml, 11.31mmol)逐滴添加至正丁基锂溶液中。在-78℃下将二异丙基氨基锂(LDA)溶液搅拌40分钟, 然后在-78℃下将乙酸叔丁酯添加至LDA溶液中。在-78℃下将LDA和乙酸叔丁酯的混合物搅拌1小时, 然后在-78℃下添加化合物Int-4-1和CDI的混合物。在-78℃下搅拌反应混合物3小时。用H₂O(20mL)淬灭反应混合物并且用EA(20mL×3)萃取。经无水Na₂SO₄干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法(EA:Hex=1:10)纯化残余物, 获得呈棕色液体状的化合物Int-4-2(0.90g, 66%)。

[2499] ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ7.36-7.26(m, 5H), 5.34(d, J=8.4Hz, 1H), 5.11(s, 2H), 4.48-4.44(m, 1H), 3.45(d, J=3.2Hz, 2H), 2.02-1.95(m, 1H), 1.46(s, 9H), 1.36-1.26(m, 1H), 1.12-0.88(m, 7H)。

[2500] ESI-MS m/z: 386(M⁺+Na)。

[2501] 化合物Int-4-3的制备

[2502] 在-78℃下于N₂气氛下向化合物Int-4-2(3.5g, 9.60mmol)于MeOH(19ml)中的溶液中添加NaBH₄(726mg, 19.20mmol)。在-78℃下搅拌反应混合物4小时。用H₂O(50ml)稀释反应混合物并且用EA(50ml×3)萃取。经Na₂SO₄干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法(EA:Hex=1:5)纯化残余物, 获得呈黄色油状的化合物Int-4-3(3.3g, 94%)。

[2503] ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ7.51-7.31(m, 5H), 5.11(s, 2H), 4.64(d, J=10.0Hz, 1H), 4.00-3.94(m, 1H), 3.65-3.60(m, 1H), 3.33(d, J=4.4Hz, 1H), 2.53-2.48(m, 1H), 2.41-2.35(m, 1H), 1.88-1.82(m, 1H), 1.62-1.58(m, 1H), 1.46(s, 9H), 1.04-0.85(m, 6H)。

[2504] ESI-MS m/z : 366 ($M^+ + 1$)。

[2505] 化合物Int-4-4的制备

[2506] 在 -78°C 下于 N_2 气氛下向化合物Int-4-3 (633mg, 1.73mmol) 于THF (7ml) 中的溶液中添加双(三甲基硅基)氨基锂溶液 (1.0M, 于THF中, 4.3ml, 4.33mmol)。在 -78°C 下搅拌反应混合物10分钟, 然后将六甲基磷酰胺 (0.9ml, 5.19mmol) 添加至反应混合物中。将反应混合物升温至 -20°C , 然后将三氟甲磺酸甲酯 (0.76ml, 6.92mmol) 逐滴添加至反应混合物中。在 -20°C 下搅拌反应混合物1小时。在 0°C 下用 H_2O (10ml) 淬灭反应混合物。用NaCl溶液 (10ml) 稀释粗混合物并且用EA (20ml \times 3) 萃取。经 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法 (EA:Hex=1:10) 纯化残余物, 获得呈浅黄色油状的化合物Int-4-4 (555mg, 82%)。

[2507] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.35-7.26 (m, 5H), 5.18-5.08 (m, 2H), 4.15-4.00 (m, 1H), 3.93-3.84 (m, 1H), 3.40-3.29 (m, 3H), 2.79-2.78 (m, 3H), 2.47-2.28 (m, 2H), 1.73 (brs, 1H), 1.54-1.45 (m, 10H), 1.13-1.00 (m, 1H), 0.99-0.81 (m, 6H)。

[2508] ESI-MS m/z : 394 ($M^+ + 1$)。

[2509] 化合物Int-4-5的制备

[2510] 在 0°C 下向化合物Int-4-4 (537mg, 1.37mmol) 于tBuOH/ H_2O (10/1, 5.5ml) 中的溶液中添加4N HCl的二噁烷溶液 (0.34ml, 1.37mmol) 和5% Pd/C (290mg, 0.14mmol)。在室温下搅拌反应混合物2小时。经CELITE®过滤反应混合物, 并且用MeOH (50ml) 洗涤CELITE®塞。在减压下浓缩滤液, 获得呈黄色油状的化合物Int-4-5 (412mg, 定量)。

[2511] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 9.48 (brs, 1H), 9.03 (brs, 1H), 4.02 (s, 1H), 3.40 (s, 3H), 3.10 (s, 1H), 2.83-2.65 (m, 5H), 2.05 (s, 1H), 1.78 (s, 1H), 1.45-1.44 (m, 10H), 1.14-0.99 (m, 6H)。

[2512] ESI-MS m/z : 260 ($M^+ + 1$)。

[2513] 化合物Int-4-6的制备

[2514] 在 0°C 下向化合物Int-4-5 (408mg, 1.38mmol) 于ACN (3ml) 中的溶液中添加二异丙基乙胺 (0.36ml, 2.07mmol)。在 0°C 下将反应混合物添加至N,N'-二环己基碳二亚胺 (341mg, 1.66mmol) 和N-苯甲氧羰基-L-缬氨酸 (416mg, 1.66mmol) 于ACN (4ml) 中的溶液中。在 45°C 下搅拌反应混合物48小时。用NaCl溶液稀释反应混合物并且用EA萃取。经 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法 (EA:Hex=1:5) 纯化残余物, 获得呈无色油状的化合物Int-4-6 (440mg, 65%)。

[2515] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.34-7.26 (m, 5H), 5.52 (d, $J=9.2\text{Hz}$, 1H), 5.10 (s, 2H), 4.73 (brs, 1H), 4.54-4.50 (m, 1H), 4.00-3.88 (m, 1H), 3.34 (s, 3H), 2.96-2.76 (m, 3H), 2.47-2.27 (m, 2H), 2.03-1.95 (m, 1H), 1.46-1.43 (m, 10H), 1.39-1.34 (m, 1H), 1.08-0.81 (m, 13H)。

[2516] ESI-MS m/z : 493 ($M^+ + 1$)。

[2517] 化合物Int-4-7的制备

[2518] 在室温下向化合物Int-4-6 (430mg, 0.87mmol) 于t-BuOH/ H_2O (10/1, 11ml) 中的溶液中添加5% Pd/C (186mg, 0.09mmol)。在室温下于 H_2 气氛下搅拌反应混合物2小时。经CELITE®过滤反应混合物, 并且用MeOH (30ml) 洗涤CELITE®塞。在减压下浓缩滤液, 获得呈无色油状的化合物Int-4-7 (317mg, 定量)。

[2519] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 4.80 (brs, 2H), 3.99-3.85 (m, 1H), 3.74-3.69 (m, 1H), 3.49

3.39 (m, 1H), 3.38-3.36 (m, 3H), 2.93-2.76 (m, 3H), 2.48-2.43 (m, 1H), 2.36-2.28 (m, 1H), 1.92-1.88 (m, 1H), 1.62-1.57 (m, 1H), 1.46 (s, 9H), 1.10-0.86 (m, 14H)。

[2520] ESI-MS m/z : 359 ($M^+ + 1$)。

[2521] 化合物Int-4-8的制备

[2522] 在0℃下于 N_2 气氛下向化合物Int-4-7 (314mg, 0.87mmol)、N-甲基-N-[(苯基甲氧基)羰基]-L-缬氨酸 (255mg, 0.96mmol) 和PyBOP (593mg, 1.14mmol) 于ACN (9ml) 中的溶液中添加二异丙基乙胺 (0.38ml, 2.19mmol)。在室温下搅拌反应混合物3小时。用NaCl溶液 (20ml) 稀释反应混合物并且用EA (20ml \times 3) 萃取。经 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法 (EA:Hex = 1:5) 纯化残余物, 获得呈白色固体状的化合物Int-2-8 (390mg, 74%)。

[2523] 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.34-7.26 (m, 5H), 6.51-6.20 (m, 1H), 5.25-5.09 (m, 2H), 4.69 (t, $J=8.8$ Hz, 1H), 4.24-3.88 (m, 2H), 3.35 (s, 3H), 2.98-2.88 (m, 6H), 2.47-2.17 (m, 3H), 2.05-1.98 (m, 1H), 1.73-1.61 (m, 1H), 1.46 (s, 9H), 1.33-1.26 (m, 2H), 1.05-0.67 (m, 19H)。

[2524] ESI-MS m/z : 606 ($M^+ + 1$)。

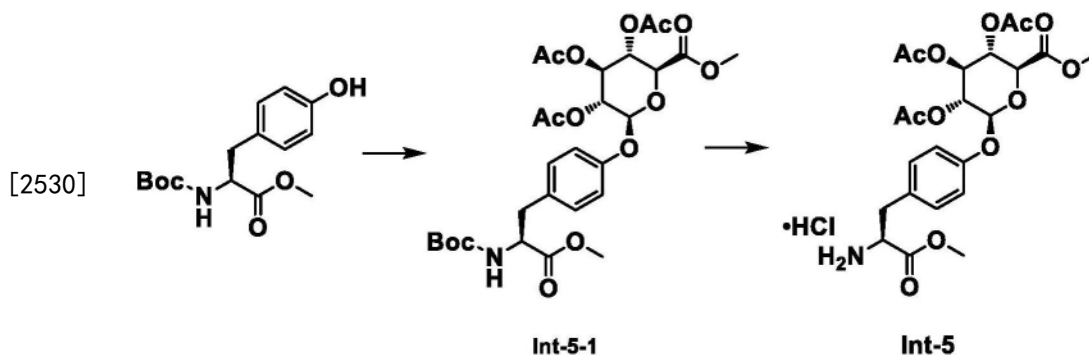
[2525] 化合物Int-4的制备

[2526] 在0℃下于 N_2 气氛下向化合物Int-4-8 (387mg, 0.64mmol) 于DCM (1.3ml) 中的溶液中添加三氟乙酸 (1.3ml) 于DCM (1.3ml) 中的溶液。在室温下搅拌反应混合物5小时。蒸发反应混合物, 获得呈棕色固体状的化合物Int-4 (439mg, 定量)。

[2527] 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.41-7.28 (m, 5H), 6.94 (brs, 1H), 5.23-5.10 (m, 2H), 4.63 (t, $J=8.4$ Hz, 1H), 4.18-4.05 (m, 1H), 3.89 (brs, H), 3.38 (s, 3H), 3.08-2.91 (m, 6H), 2.63-2.44 (m, 2H), 2.24-2.19 (m, 1H), 2.03-1.90 (m, 1H), 1.71 (brs, 1H), 1.33-1.26 (m, 2H), 1.09-0.71 (m, 19H)。

[2528] ESI-MS m/z : 550 ($M^+ + 1$)。

[2529] 实施例103: 化合物Int-5的制备



[2531] 化合物Int-5-1的制备

[2532] 在0℃下于 N_2 气氛下向N-Boc-L-酪氨酸甲酯 (250mg, 0.84mmol) 和Int-TG26 (567mg, 1.18mmol) 于无水DCM (10ml) 中的溶液中添加分子筛 (500mg)。搅拌反应混合物10分钟, 并且在0℃下将三氟化硼乙醚 (145 μ L, 1.18mmol) 逐滴添加至反应混合物中, 然后在相同温度下搅拌10分钟。反应完成后, 经CELITE®过滤并且用MeOH洗涤, 然后在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物Int-5-1 (277mg, 54%)。

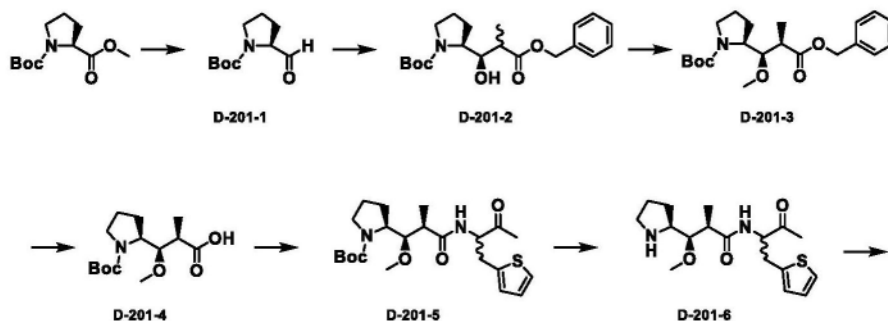
[2533] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 7.04 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 6.91 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 5.35-5.26 (m, 3H), 5.11 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 4.95 (d, $J=8\text{Hz}$, 1H), 4.55-4.53 (m, 1H), 4.18-4.15 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.11-3.00 (m, 2H), 2.06 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 1.41 (s, 9H), 1.97-1.86 (m, 4H), 1.48-1.43 (m, 9H)。

[2534] 化合物Int-5的制备

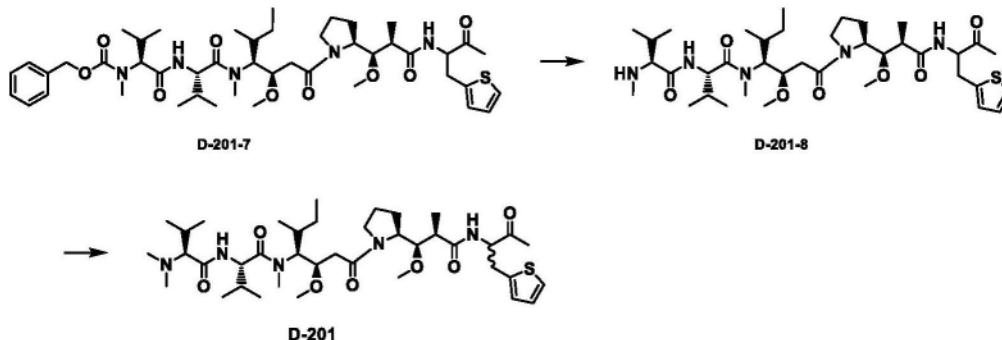
[2535] 在 0°C 下于 N_2 气氛下向化合物Int-5-1 (140mg, 0.22mmol) 于DCM (2mL) 中的溶液中添加含4N HCl的二噁烷 (1.3mL)。在室温下于 N_2 气氛下搅拌反应物4小时。反应完成后, 在减压下浓缩反应混合物。产生呈红色固体状的化合物Int-5 (125mg, 定量), 其未经进一步纯化即使用。

[2536] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 7.23 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 6.97 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 5.35-5.23 (m, 3H), 5.16 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 4.30-4.28 (m, 1H), 4.23-4.21 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 3.71 (s, 3H), 3.35-3.33 (m, 2H), 2.05-2.03 (m, 9H)

[2537] 实施例104: 化合物D-201的制备



[2538]



[2539] 化合物D-201-1的制备

[2540] 在 -78°C 下于 N_2 气氛下用1M DIBAL-H (43mL) 逐滴处理N-Boc-L-脯氨酸甲酯 (5g, 21.80mmol) 于无水甲苯 (40mL) 中的溶液。在 -78°C 下搅拌反应混合物3小时。反应完全后, 在 -78°C 下用MeOH (33mL)、 H_2O (33mL) 逐滴淬灭并且缓慢升温至室温。用DCM (100mL) 萃取混合物。用盐水洗涤有机层并且经无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物D-201-1 (3.5g, 81%)。

[2541] ^1H NMR (400Hz, CDCl_3) δ 9.56-9.45 (m, 1H), 4.21-4.03 (m, 1H), 3.55-3.44 (m, 2H), 1.97-1.86 (m, 4H), 1.48-1.43 (m, 9H)。

[2542] 化合物D-201-2的制备

[2543] 在 -78°C 下于 N_2 气氛下用二异丙胺 (0.56mL, 4.01mmol) 处理2.5M正丁基锂的己烷溶液 (1.6mL, 4.01mmol) 于无水THF (9mL) 中的溶液。搅拌反应混合物10分钟, 并且在 -78°C 下

将丙酸苯甲酯于无水THF (2ml) 中的溶液逐滴添加至反应混合物中。将化合物D-201-1置于另一个圆形烧瓶中,在-78℃下溶解于无水THF (2.5ml) 中,然后在-78℃下通过套管将这种溶液转移至反应混合物中并且搅拌1小时。反应完成后,在-78℃下添加NH₄Cl溶液 (4.6ml),然后用EA (10ml × 3), H₂O (20ml) 萃取反应混合物。用盐水洗涤有机层并且经无水Na₂SO₄干燥,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物D-201-2 (547mg, 60%)。

[2544] ESI-MS m/z: 385 (M+Na)。

[2545] 化合物D-201-3的制备

[2546] 在0℃下于N₂气氛下用碘甲烷 (1ml) 和60%氢化钠 (259mg) 逐滴处理化合物D-201-2 (1.18g, 3.24mmol) 于DMF (6.5ml) 中的溶液。在相同温度下搅拌反应混合物1小时。反应完成后,在0℃下用H₂O逐滴淬灭 (变得澄清),然后用EA (10ml × 4)、H₂O (20ml) 萃取反应混合物。经无水Na₂SO₄干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物D-201-3 (379mg, 31%)。

[2547] ESI-MS m/z: 399 (M⁺+Na)。

[2548] 化合物D-201-4的制备

[2549] 在室温下于H₂气氛下用5% Pd/C (1.8g, 0.84mmol) 处理化合物D-201-3 (6.4g, 16.95mmol) 于叔丁醇 (108ml) 和H₂O (12ml) 中的溶液并且搅拌2小时,并且经CELITE®过滤并用MeOH洗涤,然后在减压下浓缩。化合物D-201-4未经进一步纯化即直接用于下一步骤中 (4.87g, 定量)。

[2550] ESI-MS m/z: 309 (M⁺+Na)。

[2551] 化合物D-201-5的制备

[2552] 在0℃下于N₂气氛下用DIPEA (0.29ml, 1.70mmol) 和PyBOP (265mg, 0.51mmol) 处理化合物D-201-4 (142mg, 0.49mmol) 和化合物Int-3 (70mg, 0.34mmol) 于无水ACN (1.4ml) 中的溶液。在室温下搅拌反应混合物13小时。反应完成后,用H₂O (1ml) 淬灭,然后用DCM (10ml × 2)、H₂O (10ml) 萃取反应混合物。经无水Na₂SO₄干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物D-201-5 (45mg, 30%)。

[2553] ESI-MS m/z: 439 (M⁺)。

[2554] 化合物D-201-6的制备

[2555] 在0℃下于N₂气氛下向化合物D-201-5 (548mg, 1.24mmol) 于DCM (20mL) 中的溶液中添加含4N HCl的二噁烷 (10ml)。在室温下于N₂气氛下搅拌反应物3小时。反应完成后,在减压下浓缩反应混合物。产生呈红色固体状的化合物D-201-6 (464mg, 定量),其未经进一步纯化即使用。

[2556] ESI-MS m/z: 339 (M⁺)。

[2557] 化合物D-201-7的制备

[2558] 在0℃下于N₂气氛下用DIPEA (0.04ml, 0.24mmol) 和PyBOP (62mg, 0.12mmol) 处理化合物D-201-6 (30mg, 0.08mmol) 和化合物Int-4 (43.9mg, 0.08mmol) 于无水ACN (0.5ml) 中的溶液。在室温下搅拌反应混合物3小时。反应完成后,用H₂O (1ml) 淬灭,然后用DCM (4ml × 2)、H₂O (5ml) 萃取反应混合物。经无水Na₂SO₄干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物D-201-7 (63mg, 91%)。

[2559] ESI-MS m/z: 870 (M)。

[2560] 化合物D-201-8的制备

[2561] 在N₂气氛下将化合物D-201-7 (115mg, 0.13mmol) 添加至含33wt% HBr的乙酸 (0.6ml) 中, 并且在室温下搅拌反应混合物30分钟。随后, 通过旋转蒸发去除溶剂, 并且将残余物用3ml 甲基叔丁基醚洗涤两次, 得到浅棕色油状物。将所得油状物与3ml 异丙醇混合并且蒸发至干。在室温下在5摩尔过量的TEA存在下将所得油状物与3ml E.A. 一起搅拌30分钟。小心地过滤浆液以去除三乙基溴化铵, 并且将滤液在减压下蒸发至干。产生呈黄色粘稠固体状的化合物D-201-8 (97.2mg, 定量), 其未经进一步纯化即使用。

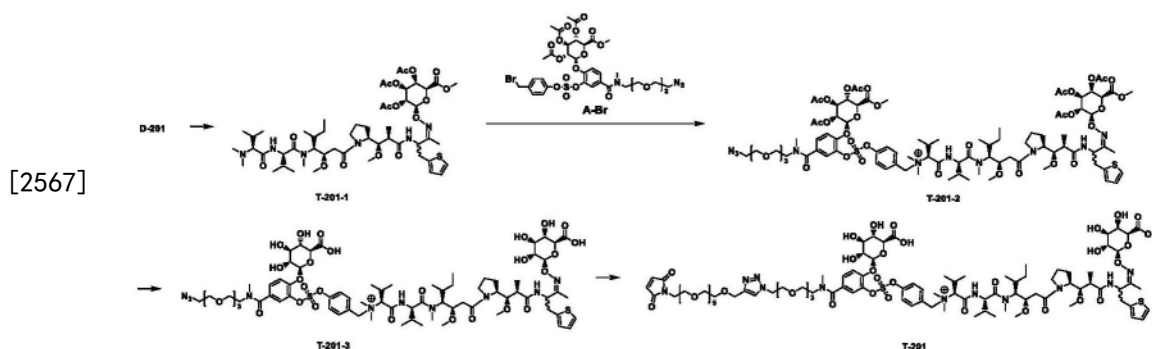
[2562] ESI-MS m/z: 736 (M)。

[2563] 化合物D-201的制备

[2564] 在室温下于N₂气氛下搅拌化合物D-201-8 (97mg, 0.13mmol) 和37wt.% 甲醛的H₂O溶液 (29μL, 0.39mmol) 和AcOH (148μL, 2.6mmol) 于DMF (1.8mL) 中的溶液。1小时后, 在相同温度下于N₂气氛下添加氰基硼氢化钠 (16mg, 0.26mmol)。在室温下于N₂气氛下搅拌反应物3小时。反应完成后, 用EA (5mL × 3) 和H₂O (5ml) 萃取反应混合物。经Na₂SO₄干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物, 获得化合物D-201 (63mg, 63%)。

[2565] ESI-MS m/z: 772 (M⁺+Na)。

[2566] 实施例105: 化合物T-201的制备



[2568] 化合物T-201-1的制备

[2569] 在室温下于N₂气氛下用苯胺 (16μL, 0.37mmol) 和TFA (0.3μL, pH. 4) 处理化合物D-201 (57mg, 0.07mmol) 和化合物Int-TG17-2 (39.8mg, 0.11mmol) 于DMSO (0.15mL) 中的溶液, 搅拌3小时。反应完成后, 用ACN稀释混合物并且通过制备型HPLC纯化, 获得化合物T-201-1 (80mg, 88%)。

[2570] ESI-MS m/z: 1103 (M⁺+Na)。

[2571] 化合物T-201-2的制备

[2572] 在室温下于N₂气氛下用DIPEA (24μL, 0.13mmol) 处理化合物T-201-1 (75mg, 0.06mmol) 和化合物A-Br (97mg, 0.10mmol) 于无水ACN (0.5mL) 中的溶液并且搅拌42小时。反应完成后, 用ACN稀释混合物并且通过制备型HPLC纯化, 获得化合物T-201-2 (40mg, 29%)。

[2573] ESI-MS m/z: 967 (M/2)。

[2574] 化合物T-201-3的制备

[2575] 在-15°C下用LiOH (6.5mg, 0.15mmol) 处理化合物T-201-2 (20mg, 0.01mmol) 于THF (0.68mL) 和MeOH (0.68mL) 和H₂O (0.34mL) 中的溶液并且搅拌5小时。反应完成后, 用2N HCl (调节至pH. 2) 淬灭混合物并且在减压下浓缩以干燥有机溶剂。用H₂O和ACN稀释残余物并且

通过制备型HPLC纯化,获得化合物T-201-3(11mg,64%)。

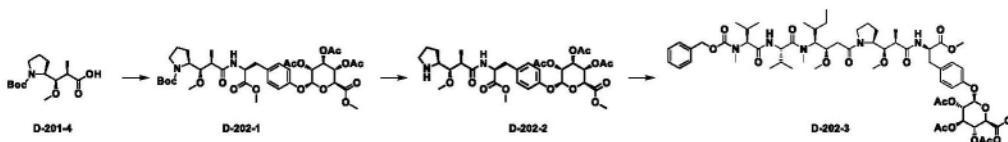
[2576] ESI-MS m/z :827(M/2)。

[2577] 化合物T-201的制备

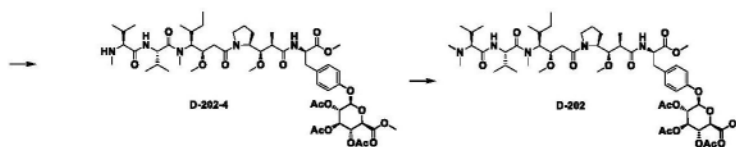
[2578] 在室温下于 N_2 氮气气氛下用CuBr(2.8mg,0.01994mmol)处理化合物T-201-3(11mg,0.00664mmol)、Mal-1(2.92mg,0.00731mmol)于无水DMSO(0.66mL)中的溶液并且搅拌1小时。通过制备型HPLC纯化反应混合物,获得化合物T-201(9.8mg,72%)。

[2579] ESI-MS m/z :1027(M/2)。

[2580] 实施例106:化合物D-202的制备



[2581]



[2582] 化合物D-202-1的制备

[2583] 在 $0^{\circ}C$ 下于 N_2 气氛下用DIPEA(0.13ml,0.76mmol)和PyBOP(128mg,0.24mmol)处理化合物Int-5(105mg,0.19mmol)和化合物D-201-4(65mg,0.22mmol)于无水ACN(0.65ml)中的溶液。在室温下搅拌反应混合物2小时。反应完成后,用 H_2O (1ml)淬灭,然后用DCM(4ml \times 2)、 H_2O (4ml)萃取反应混合物。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物D-202-1(103mg,70%)。

[2584] ESI-MS m/z :781(M^+)。

[2585] 化合物D-202-2的制备

[2586] 在 $0^{\circ}C$ 下于 N_2 气氛下向化合物D-202-1(242mg,0.30mmol)于DCM(6mL)中的溶液中添加含4N HCl的二噁烷(2ml)。在室温下于 N_2 气氛下搅拌反应物3小时。反应完成后,在减压下浓缩反应混合物。产生化合物D-202-2(222mg,定量),其未经进一步纯化即使用。

[2587] ESI-MS m/z :681(M^+)。

[2588] 化合物D-202-3的制备

[2589] 在 $0^{\circ}C$ 下于 N_2 气氛下用DIPEA(0.21ml,1.23mmol)和PyBOP(242mg,0.46mmol)处理化合物D-202-2(222mg,0.30mmol)和化合物Int-4(179mg,0.32mmol)于无水ACN(1.5ml)中的溶液。在室温下搅拌反应混合物5小时。反应完成后,用 H_2O (1ml)淬灭,然后用DCM(4ml \times 2)、 H_2O (5ml)萃取反应混合物。经无水 Na_2SO_4 干燥有机层,过滤并且在减压下浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,获得化合物D-202-3(337mg,90%)。

[2590] ESI-MS m/z :1213(M^+)。

[2591] 化合物D-202-4的制备

[2592] 在室温下于 H_2 气氛下用5% Pd/C(64.4mg,0.0303mmol)处理化合物D-202-3(367.1mg,0.303mmol)于t-BuOH/ H_2O (91,3ml)中的溶液并且搅拌1小时。经CELITE®过滤反应混合物,然后在减压下浓缩,获得化合物D-202-4(296mg,91%)。

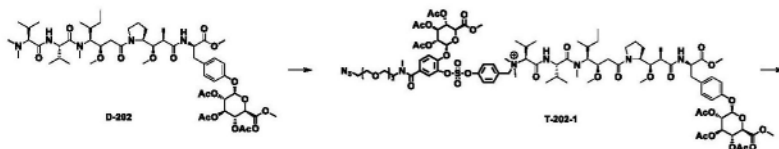
[2593] ESI-MS m/z :1078 (M)。

[2594] 化合物D-202的制备

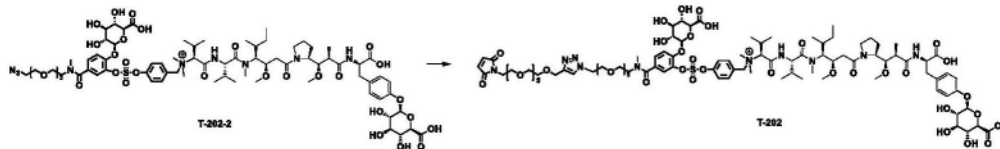
[2595] 在室温下于 N_2 气氛下搅拌化合物D-202-4 (45mg, 0.04mmol) 和37wt.% 甲醛的 H_2O 溶液 (10 μ L, 0.12mmol) 和AcOH (53 μ L, 0.82mmol) 于DMF (0.5mL) 中的溶液。15小时后, 在相同温度下于 N_2 气氛下添加氰基硼氢化钠 (5.8mg, 0.08mmol)。在室温下于 N_2 气氛下搅拌反应物30分钟。反应完成后, 用EA (10mL \times 3) 和 H_2O (10ml) 萃取反应混合物。经 Na_2SO_4 干燥有机层, 过滤并且在减压下浓缩。通过制备型HPLC纯化残余物, 获得化合物D-202 (35mg, 77%)。

[2596] ESI-MS m/z :1092 (M)。

[2597] 实施例107: 化合物T-202的制备



[2598]



[2599] 化合物T-202-1的制备

[2600] 在室温下于 N_2 气氛下用DIPEA (16 μ L, 0.08mmol) 处理化合物D-202 (25mg, 0.02mmol) 和化合物A-Br (64mg, 0.06mmol) 于无水ACN (0.22mL) 中的溶液并且搅拌52小时。反应完成后, 用ACN稀释混合物并且通过制备型HPLC纯化, 获得化合物T-202-1 (14mg, 33%)。

[2601] ESI-MS m/z :973 (M/2)。

[2602] 化合物T-202-2的制备

[2603] 在-25 $^{\circ}C$ 下用LiOH (4.5mg, 0.1086mmol) 处理化合物T-202-1 (14mg, 0.0072mmol) 于THF (0.20mL) 和MeOH (0.05mL) 和 H_2O (0.05mL) 中的溶液并且搅拌6小时。反应完成后, 用2N HCl (调节至pH.2) 淬灭混合物并且在减压下浓缩以干燥有机溶剂。用 H_2O 和ACN稀释残余物并且通过制备型HPLC纯化, 获得化合物T-202-2 (6.5mg, 63%)。

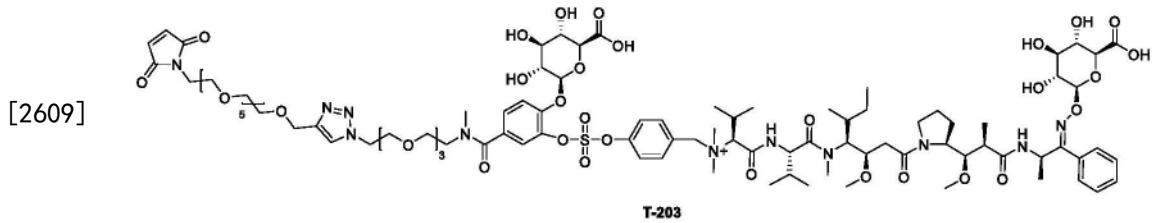
[2604] ESI-MS m/z :825 (M/2)。

[2605] 化合物T-202的制备

[2606] 在室温下于 N_2 氮气气氛下用CuBr (5.6mg, 0.0393mmol) 处理化合物T-202-2 (6.5mg, 0.0039mmol)、Mal-1 (1.72mg, 0.0043mmol) 于无水DMSO (0.3mL) 中的溶液并且搅拌3小时。通过制备型HPLC纯化反应混合物, 获得化合物T-202 (5.8mg, 72%)。

[2607] ESI-MS m/z :1025 (M/2)。

[2608] 实施例108: 化合物T-203的制备

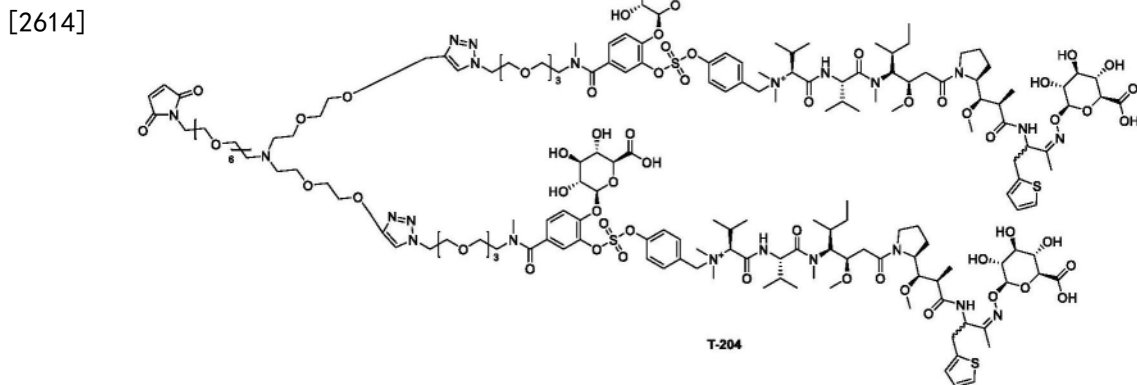
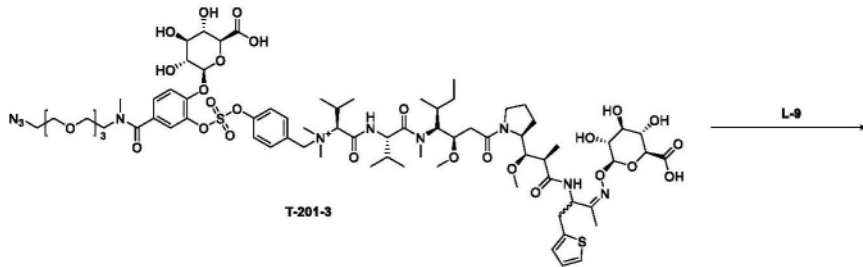


[2610] 以与实施例107的方法类似的方式合成化合物T-203。

[2611] 产率83%

[2612] ESI-MS m/z : 1017.19 ($M^+/2$), 2033.98 (M^+)

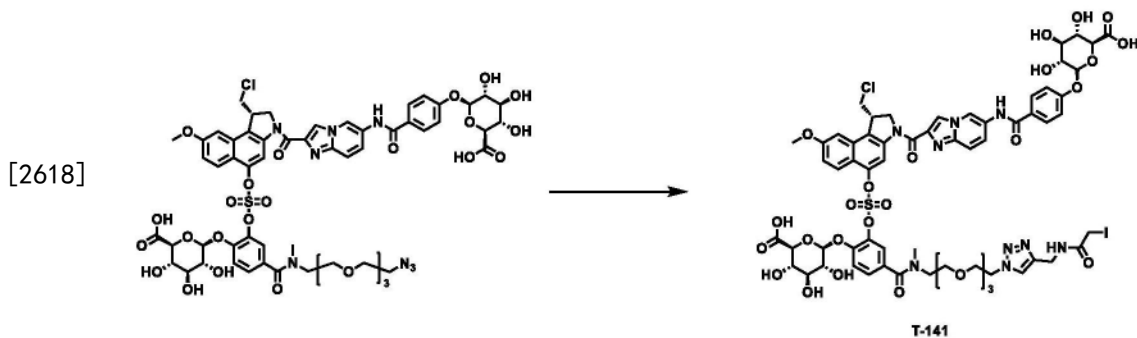
[2613] 实施例109: 化合物T-204的制备



[2615] 在室温下于 N_2 氮气气氛下用CuBr (0.54mg, 0.0038mmol) 处理化合物T-201-3 (4.6mg, 0.0027mmol)、L-9 (0.83mg, 0.0013mmol) 于DMSO (0.4mL) 中的溶液并且搅拌1小时。通过制备型HPLC纯化反应混合物, 获得化合物T-204 (3.79mg, 50.5%)。

[2616] ESI-MS m/z : 1982.38 ($M^+/2$), 1321.94 ($M^+/3$), 991.85 ($M^+/4$)。

[2617] 实施例110: 化合物T-141的制备

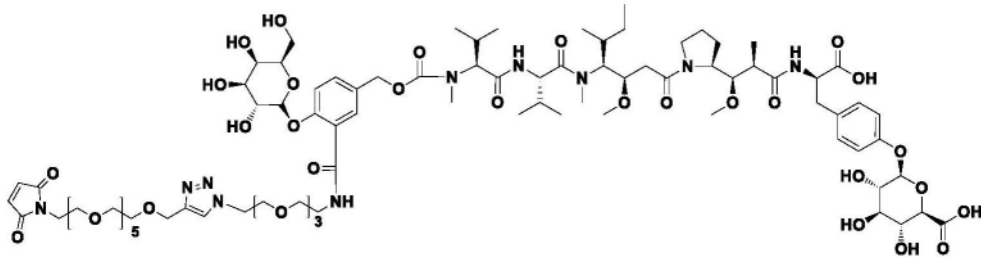


[2619] 经由与实施例99中所描述的类似的合成途径合成化合物T-141 (55%)。

[2620] ESI-MS m/z : 775.17 ($M^+/2+1$), 1548.67 (M^+)

[2621] 实施例111: 化合物T-142的制备

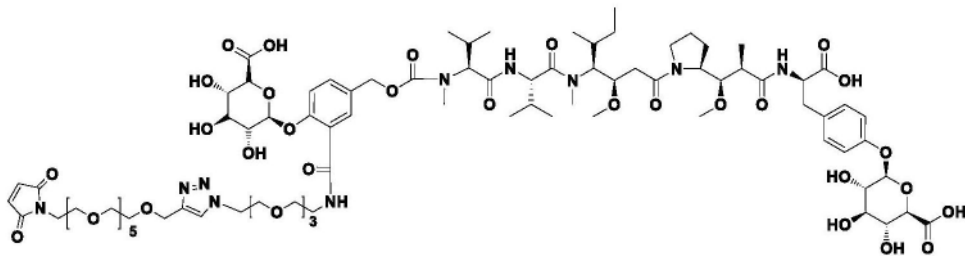
[2622]



[2623] 通过以与文献US16,472,983中所描述的类似的方法进行反应来获得化合物T-142。

[2624] 实施例112: 化合物T-143的制备

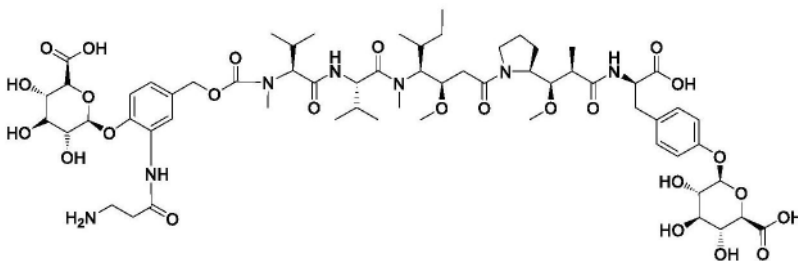
[2625]



[2626] 通过以与文献US16,472,983中所描述的类似的方法进行反应来获得化合物T-143。

[2627] 实施例113: 化合物T-144的制备

[2628]



[2629] 通过以与文献US11,996,009中所描述的类似的方法进行反应来获得化合物T-144。

[2630] 实施例114: 用于缀合的抗体的还原/氧化

[2631] 在37°C下用4mM Tris-HCl pH 7.3和1mM EDTA中的约20倍过量的TCEP(三(2-羧乙基)膦酸盐)还原半胱氨酸工程化的单克隆抗体1小时。以另一种方式,在37°C下用20mM磷酸钠pH 6.5中的约5000倍过量的L-半胱氨酸还原半胱氨酸工程化的单克隆抗体(B7H3、DLL3、HER2)1小时。将还原的thiomab稀释并负载至PD-10柱或PBS(pH 6.5)中的vivaspin(MWCO,30kDa)上,并且用20mM PBS洗脱。将洗脱的还原thiomab在4°C下储存过夜,以便有效重折叠。

[2632] 通过从溶液在280nm处的吸光度确定还原的抗体浓度以及通过与DTNB(Aldrich, CAS编号D8130)反应并确定在412nm处的吸光度以确定硫醇浓度来检查硫醇/Ab值。

[2633] 实施例115: 缀合方法1: (Thiomab缀合)

[2634] 在浓度为1-3mM的二甲亚砜(DMSO)中配制接头-毒素的储备溶液。向还原的抗体于20mM磷酸钠(pH 6.5)中的溶液中添加相对于每个抗体的半胱氨酸约1.5-2.5摩尔过量的接头毒素,诸如具有硫醇反应性官能团(诸如马来酰亚胺)的T-2-AB至T-6-AB、T-10-AB、T-

107-AB至T-113-AB。使缀合反应在40℃下进行1小时。使用PD-10柱从过量的未反应接头-毒素中纯化抗体-药物缀合物,并且立即使用Vivaspin (MWC0, 30kDa) 将缓冲液更换为50mM硼酸盐缓冲液 (pH 8.5-9.2)。在37℃下孵育所得溶液22小时。冷却所得溶液,将缓冲液更换为PBS (pH 6.5-7.3),并且通过HIC纯化以去除任何杂质。将最终样品浓缩至5-10mg/ml蛋白质,并且使用HIC和/或RP-HPLC条件检查DAR。

[2635] 实施例116:缀合方法2:(随机缀合)

[2636] 用4mM Tris pH 7.3和1mM EDTA中的10摩尔过量的TCEP(三(2-羧乙基)膦)盐酸盐处理溶解于PBS (pH6.5-7.3)中的抗体。在37℃下孵育1小时后,将所得混合物和接头-毒素(相对于抗体8-10摩尔过量)在含有高达5%v/v的4mM Tris缓冲液、1mM EDTA (pH 7.3)的DMSO中混合在一起。在40℃下孵育反应物1小时后,通过PD-10柱和Vivaspin (MWC0, 30kDa)洗脱来更换缓冲液,并且用PBS (pH 6.5)洗脱。

[2637] 实施例117:缀合方法3:(2步缀合方法)

[2638] 用PBS缓冲液 (pH7.4) 稀释半胱氨酸工程化的抗体溶液 (1-3mmol, 于缓冲系统中, pH6.5)。添加DMSO,接着添加接头毒素(实施例36的T-7)于DMSO中的溶液。DMA的最终浓度为4-10%。在室温下缓缓搅动所得混合物3小时。将羟胺 (8.86μL, 1,500mmol) 添加至所得混合物中并且在37℃下孵育8小时,以阻断可逆的解缀合反应。负载缀合混合物并且通过PD-10柱洗脱以去除过量的药物-接头中间体和其它杂质。(US20110003969)

[2639] 实施例118:用于缀合的抗体的还原/氧化

[2640] 在37℃下用PBS缓冲液pH 7.4和10mM EDTA中的约20倍过量的TCEP(三(2-羧乙基)膦盐酸盐)还原半胱氨酸工程化的单克隆抗体1小时。将还原的thiomab稀释并负载至PD-10柱或PBS (pH 7.4)中的vivaspin (MWC0, 30kDa)上,并且用PBS (pH 7.4)洗脱。为了氧化还原的thiomab抗体 (B7H3、DLL3、HER2),在37℃下处理相对于抗体浓度5当量的DHAA持续2小时。通过从溶液在280nm处的吸光度确定还原的抗体浓度以及通过与DTNB (Aldrich, CAS编号D8130)反应并确定在412nm处的吸光度以确定硫醇浓度来检查硫醇/Ab值。通过使用RP-HPLC分析测定来检查重折叠率(约94%)。

[2641] 实施例119:缀合方法4:(Thiomab缀合)

[2642] 在浓度为5mM的50%二甲基乙酰胺 (DMA) 中配制接头-毒素的储备溶液。将还原的thiomab抗体溶液在含有高达10%v/v的50mM硼酸盐缓冲液 (pH 8.6)和5mM EDTA的DMA中混合在一起。随后添加相对于每个抗体的半胱氨酸约6.0摩尔过量的接头-毒素 (T-18、T-131、T-136、T-137)。使缀合反应在37℃下进行1小时或在30℃下进行3小时。此后,添加N-乙酰基-L-半胱氨酸(相对于抗体6.0摩尔过量)并且在室温下孵育0.5小时。使用PD-10柱从过量的未反应接头-毒素中纯化抗体-药物缀合物,并且立即使用Vivaspin (MWC0, 30kDa)将缓冲液更换为配制缓冲液。将最终样品浓缩至5-10mg/ml蛋白质,并且使用HIC、RP和/或SEC-HPLC条件检查DAR和单体%。

[2643] 实施例120:缀合方法5:(随机缀合)

[2644] 用PBS pH 7.4和5mM EDTA中的3摩尔过量的TCEP(三(2-羧乙基)膦)盐酸盐处理抗体。在37℃下孵育2小时后,将所得混合物和接头-毒素(相对于抗体4.6-5.5摩尔过量)在含有高达10%v/v的30mM硼酸盐缓冲液 (pH 8.8)的DMSO中混合在一起。在37℃下孵育反应物2小时后,添加N-乙酰基-L-半胱氨酸(相对于抗体4.6-5.5摩尔过量)并且在室温下孵育0.5

小时。此后,通过PD-10柱和Vivaspin (MWC0, 30kDa) 洗脱来更换缓冲液,并且用PBS (pH6.5) 洗脱。

[2645] 实施例121:抗体-药物缀合物的纯化

[2646] 通过HIC柱 (Proteomix HIC Butyl-NP5, 21.2×150mm, 5μm) 纯化由上述缀合方法获得的抗体-药物缀合物。使用50mM磷酸钠 (pH 7.0) 中的1.5M硫酸铵作为流动相A并且使用50mM磷酸钠 (pH 7.0) 中的5%乙腈作为流动相B产生梯度。使用在20分钟内10%至100% B的梯度从柱中洗脱缀合物。使用HIC方法分析完整抗体-药物缀合物的平均DAR值。

[2647] 实施例122:蛋白质-药物缀合物的体外分析

[2648] 在JIMT-1、Calu-6、CHO-K1、CCRF-CEM Raji、NCI-H69、NCI-N87癌细胞上评估缀合物。将癌细胞于100μL培养基中以每孔2,000至4,000个细胞的密度接种于96孔板中,并且培养6或24小时。通过1:3至1:10从50nM至0.0003nM的连续稀释来处理ADC。将DMSO中的系列化合物稀释液以每孔50μL添加至96孔板的一式三份孔中。所有测定都一式三份进行,并且在三个独立实验中获得结果。在37℃下于空气中5% CO₂的潮湿气氛中将板孵育6天。通过MTT测定来确定细胞活力。将溶解于PBS缓冲溶液 (5mg/mL) 中的15uL 3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-二苯基溴化四唑 (MTT) 染料或15μL4-(3-[4-碘苯基]-2-[4-硝基-苯基]-2H-5-四唑)-1,3-苯磺酸盐 (WST-1) 添加至板的每个孔中。将活细胞中线粒体氧化还原酶还原MTT染料所形成的甲臞溶解于DMSO中,使用450nm或550nm处的吸光度测量甲臞。使用S形剂量反应非线性回归曲线拟合 (GraphPad software Inc.) 生成IC₅₀。

[2649] 表8:所选缀合物的体外活性;缀合物含有每个抗体两种药物

[2650]

IC ₅₀ (nM) ±SD					
ADC	JIMT-1	Calu-6	Raji	CCRF-CE M	CHO-K1
T-2-AB	0.010±0.004	N/A	N/A	N/A	2.103±0.44 9
T-3-AB	0.007±0.003	N/A	N/A	N/A	N/A
T-4-AB	0.023±0.013	0.038±0.004	8.540±1.188	2.837±0.1 15	34.10±7.37 0
T-5-AB	0.016±0.003	0.024±0.004	N/A	N/A	N/A
T-6-AB	0.023±0.006	0.044±0.006	10.94±1.837	11.42±1.9 78	100-500
T-8-AB	0.036±0.002	0.044±0.003	>250	76.31±10. 95	N/A
T-9-AB	0.015±0.007	0.049±0.008	3.075±0.605	4.563±0.7 07	N/A
T-10-AB	0.019±0.004	0.066±0.005	211.1±34.95	45.05±.31 24	N/A
T-11-AB	0.042±0.004	0.027±0.001	6.896±1.240	7.610±0.5 12	N/A
T-12-AB	0.072±0.016	0.291±0.033	>250	197.2±41. 11	N/A
T-13-AB	0.029±0.023	0.093±0.018	5.253±0.453	8.932±1.1 44	N/A
T-14-AB	0.020±0.009	0.066±0.007	272.2±17.64	62.09±0.4 30	N/A
T-15-AB	0.017±0.005	0.069±0.008	47.38±2.636	22.73±2.4 80	N/A
T-102-AB	0.009±0.002	0.096±0.004	N/A	12.54±0.5 90	14.60±1.69
T-103-AB	0.44±0.31	0.14±0.01	N/A	N/A	N/A
T-104-AB	0.20±0.09	0.075±0.001	5.63	5.84±0.52	N/A
T-110-AB	0.070±0.003	0.265±0.011	N/A	3.726±0.0 72	14.19±0.11 0
T-111-AB	0.085±0.006	N/A	N/A	N/A	N/A
T-112-AB	0.081±0.002	0.053±0.005	N/A	3.368±0.0 57	8.935±0.68 3
T-113-AB	0.101±0.009	0.061±0.001	N/A	N/A	N/A
T-115-AB	0.114±0.008	0.092±0.009	N/A	N/A	N/A
T-116-AB	0.32±0.22	1.16±0.22	500-1000	989±50	N/A
T-117-AB	0.30±0.13	1.62±0.19	500-1000	1006±29	N/A
T-118-AB	0.007±0.001	0.019±0.004	1.64±0.38	1.830±0.1 02	N/A
T-119-AB	0.010±0.002	0.075±0.004	35.2±1.6	41.26±9.7 0	N/A
T-120-AB	0.030±0.007	0.071±0.023	6.14±0.65	2.57±0.39	N/A
T-121-AB	0.029±0.006	0.864±0.232	152.9±30.3	136.4±27. 4	N/A
T-122-AB	0.051±0.005	1.70±0.74	169.9±67.5	137.4±38.	N/A

	T-125-AB2 (1.8)	0.12 ± 0.12	N/A	55.4 ± 54.9
	T-126-AB2 (1.9)	0.21 ± 0.05	N/A	452 ± 471
	T-135-AB2 (3.6)	0.03 ± 0.01	N/A	N/A
	T-1-AB3 (2.0)	N/A	5.479	0.024±0.006
	T-2-AB3 (1.6)	N/A	16.53 ±1.710	0.017 ±0.001
	T-3-AB3 (1.8)	N/A	131.0±73.28	0.087±0.020
[2656]	T-109-AB3 (1.8)	N/A	N/A	0.147 ±0.017
	T-116-AB3 (2.0)	N/A	159.8±22.91	0.208±0.043
	T-117-AB3 (1.8)	N/A	148.7±19.60	0.322±0.178
	AB1: 抗体(DLL3 SA4717)			
	AB2: 半胱氨酸工程化的抗体(DLL3 V205C)			
	AB3: 半胱氨酸工程化的抗体(HER2 A114C)			

[2657] 实施例123:体内功效

[2658] 使用JIMT-1细胞系在表达靶标的异种移植模型中进行体内功效研究。在6周龄雌性BALB/c裸小鼠的右侧皮下(SC)植入 5×10^6 个细胞来建立人类乳腺癌JIMT-1异种移植植物。当组平均肿瘤体积达到约 $150 \pm 20 \text{mm}^3$ 时,将小鼠随机分组以接受测试剂(ADC)或媒介剂对照(PBS)。通过尾静脉注射(6.4mL/kg)静脉内(IV)施用ADC或PBS。每周用卡尺测量肿瘤两次,肿瘤体积计算为:(长×长×宽)/2。单剂量施用ADC(T-2-AB、T-3-AB和T-4-AB)会减少JIMT-1乳腺癌异种移植植物的肿瘤生长。单剂量施用0.3和1.2mg/kg的T-4AB后观察到剂量依赖性抗肿瘤活性。这些结果示于图1A中。单剂量施用3.6和14.4mg/kg的T-103-AB后观察到剂量依赖性抗肿瘤活性。这些结果示于图1B中。

[2659] 实施例124:血浆稳定性

[2660] 将每种化合物A、B、C、D和用作标准物质的甲基苯基砷溶解于DMSO中,以制成10mM浓度。然后,将人血浆(Biochemed 752PR-SC-PMG)、小鼠血浆(Biochemed 029-APSC-MP)和大鼠血浆(Biochemed 031-APSC-MP)中的每一者与化合物和MPS混合,以制成100 μM 最终浓度(最终3% DMSO)。在37 $^\circ\text{C}$ 水浴中孵育所得血浆混合物。在反应前和反应后1天、2天、4天和7天获取等分试样,其中每个等分试样为100 μL 。为了淬灭反应物,添加两倍体积的乙腈,接着短暂涡旋并离心以使血浆蛋白沉淀。收集离心后获得的每个上清液并且通过HPLC进行分析。在小鼠和人血浆中检测和定量化合物A、B、C和D长达7天(>95%)。这项研究证明了糖取代的毒素-接头缀合物接头在血浆中具有极佳稳定性。

[2661] 糖取代的毒素-接头缀合物的血浆稳定性结果示于图2A和图2B中。标记为A或C的数据代表未取代的毒素-接头缀合物,其中标记为B或D的数据代表糖取代的毒素-接头缀合物。

[2662] 实施例125:细胞摄取

[2663] 通过与实施例119中所描述的类似的方法进行细胞摄取研究。

[2664] 未取代或经糖基取代的倍癌霉素有效负荷的细胞摄取研究结果示于下表中。

[2665] 表11:所选缀合物的体外活性;缀合物含有每个抗体两种药物

ADC	IC ₅₀ (nM) ±SD		TI (CHO-K1/JIMT-1)
	JIMT-1 (阳性)	CHO-K1 (阴性)	
T-101-AB	0.007±0.001	2.59±0.24	370
T-102-AB	0.009±0.002	14.60±.69	1622.22

[2667] 表12:所选缀合物的体外活性;缀合物含有每个抗体两种药物

ADC	IC ₅₀ (nM) ±SD		TI (CCRF-CEM/JIMT-1)
	JIMT-1	CCRF-CEM	
T-104-AB	0.20±0.09	5.84±0.52	29.20
T-103-AB	0.44±0.31	34.2±0.8	77.73
T-116-AB	0.32±0.22	989±50	3090.63
T-117-AB	0.30±0.13	1006±29	3353.33

[2669] 援引并入

[2670] 本文中所提及的所有出版物和专利都特此通过引用整体并入,如同每个个别的出版物或专利具体地和个别地被指示为通过引用并入。在有冲突的情况下,将以本申请(包括本文中的任何定义)为准。

[2671] 等效方案

[2672] 虽然已经讨论了本公开的具体实施方案,但以上说明书是说明性的而非限制性的。在审阅本说明书和所附权利要求书后,本公开的许多变化对本领域技术人员来说将变得显而易见。本公开的完整范围应该通过参考权利要求书连同其等效方案的完整范围以及本说明书连同此类变化方案来确定。

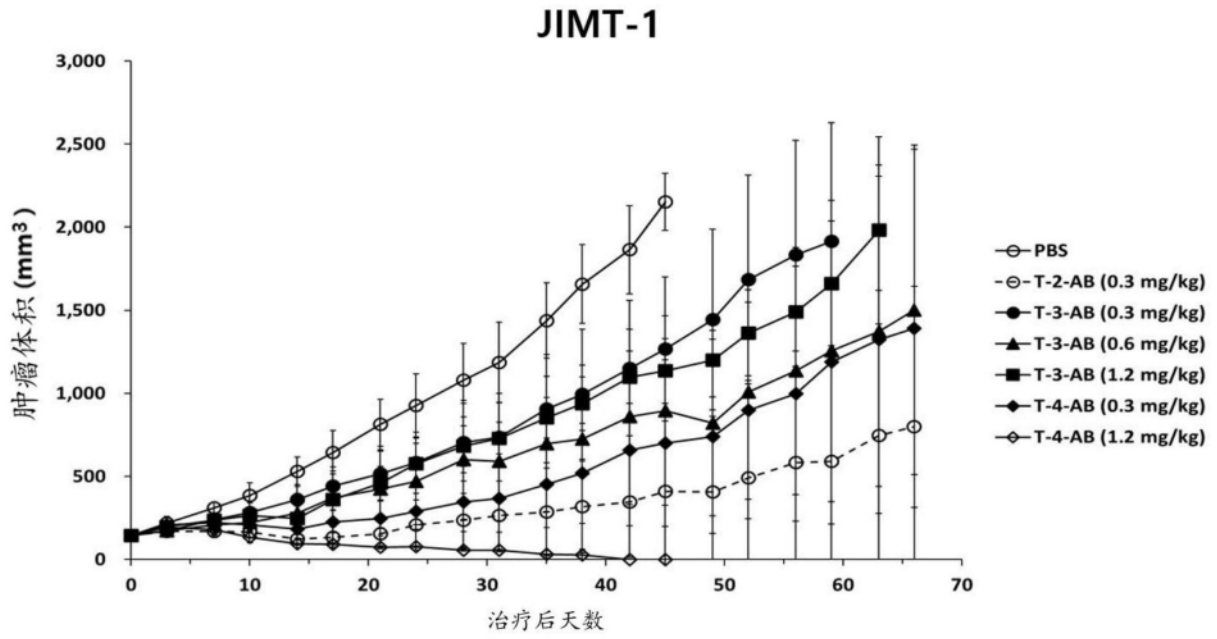


图1A

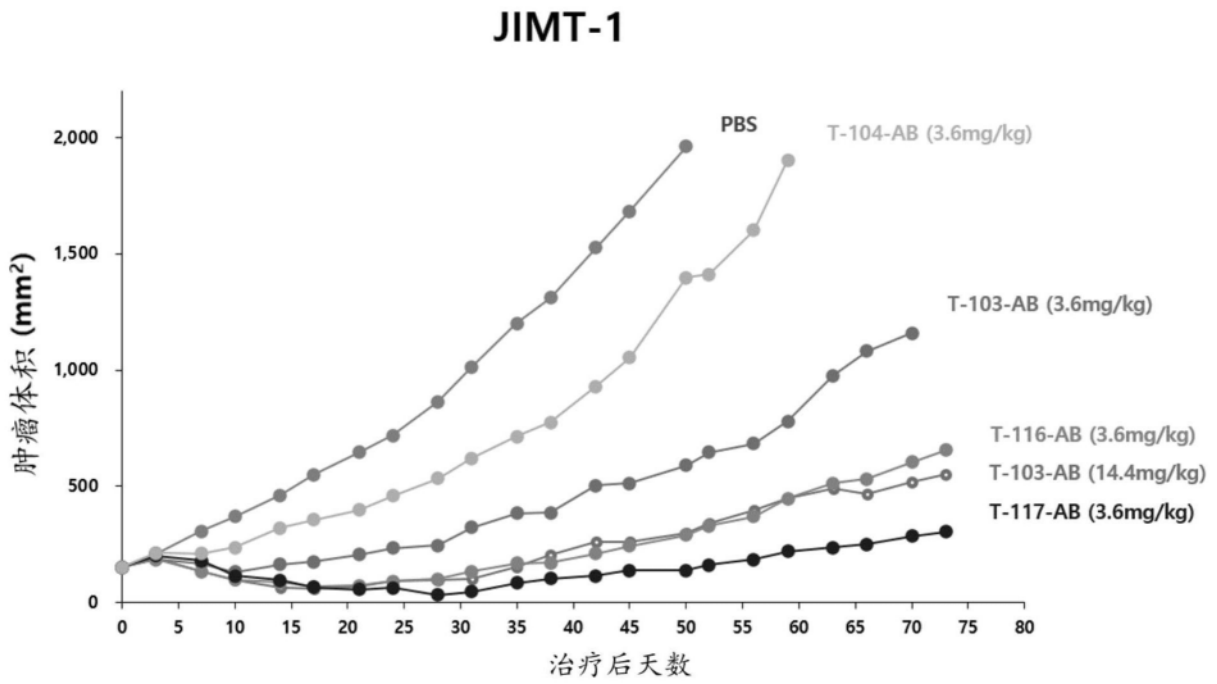


图1B

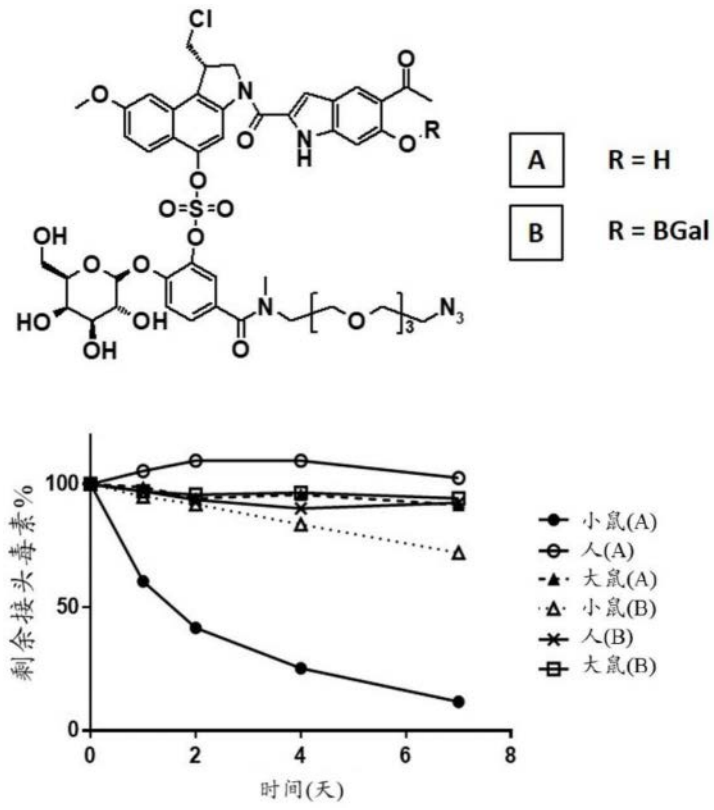


图2A

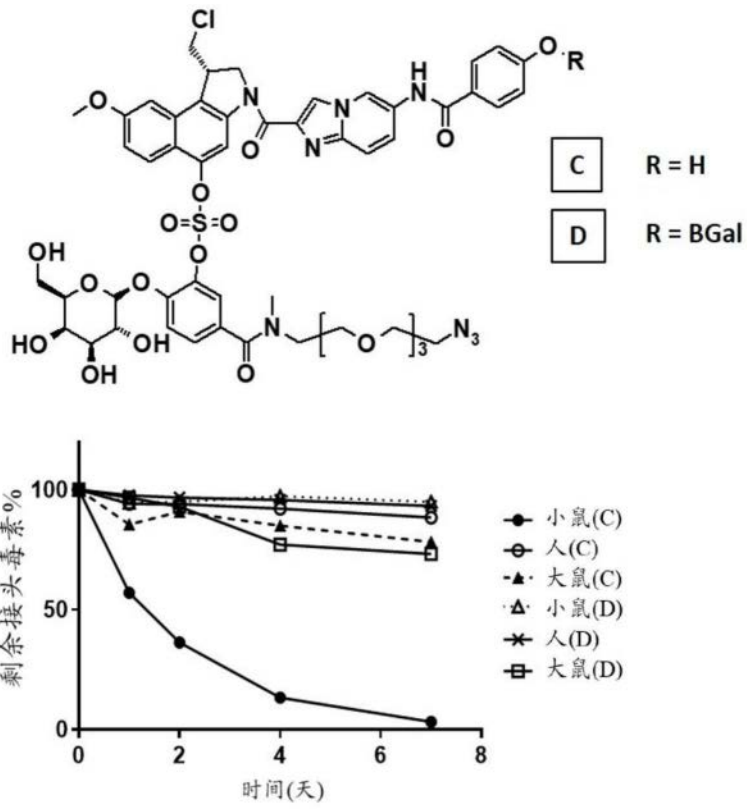


图2B