202440611

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202440611 A

(43)公開日： 中華民國 113 (2024) 年 10 月 16 日

(21)申請案號：112146695 (22)申請日： 中華民國 112 (2023) 年 11 月 30 日

(51)Int. Cl.： *C07K7/64 (2006.01)* *C07K1/06 (2006.01)*
A61K38/12 (2006.01) *A61P35/00 (2006.01)*
A61P29/00 (2006.01) *A61P37/00 (2006.01)*

(30)優先權：2022/11/30 中國大陸 2022115304381
2023/03/03 中國大陸 2023102062995
2023/03/15 中國大陸 2023102618188
2023/03/31 中國大陸 202310349519X
2023/09/05 中國大陸 2023111444895

(71)申請人：大陸商上海翰森生物醫藥科技有限公司 (中國大陸) SHANGHAI HANSOH BIOMEDICAL CO., LTD. (CN)
中國大陸
大陸商江蘇豪森藥業集團有限公司 (中國大陸) JIANGSU HANSOH PHARMACEUTICAL GROUP CO., LTD. (CN)
中國大陸

(72)發明人：董加強 DONG, JIAQIANG (CN) ；俞 文勝 YU, WENSHENG (US) ；陳遠 CHEN, YUAN (CN) ；程寶 CHENG, BAO (CN) ；龔珍 GONG, ZHEN (CN)

(74)代理人：李彥慶；林宗武

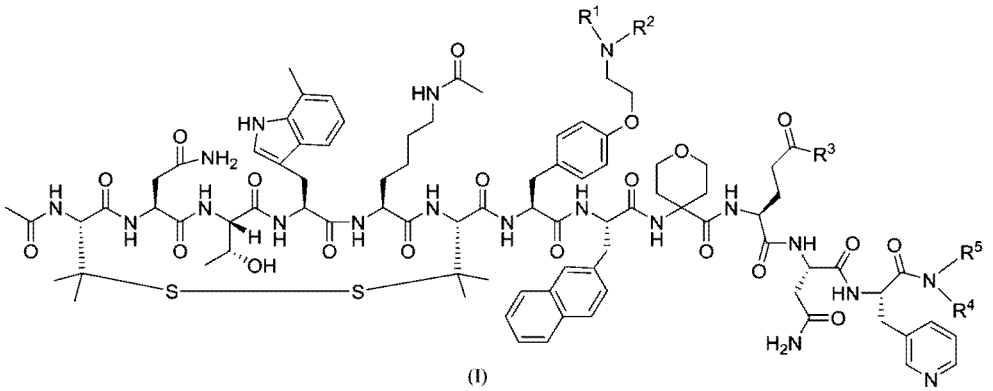
申請實體審查：無 申請專利範圍項數：13 項 圖式數：0 共 204 頁

(54)名稱

多肽抑制劑、其製備方法和應用

(57)摘要

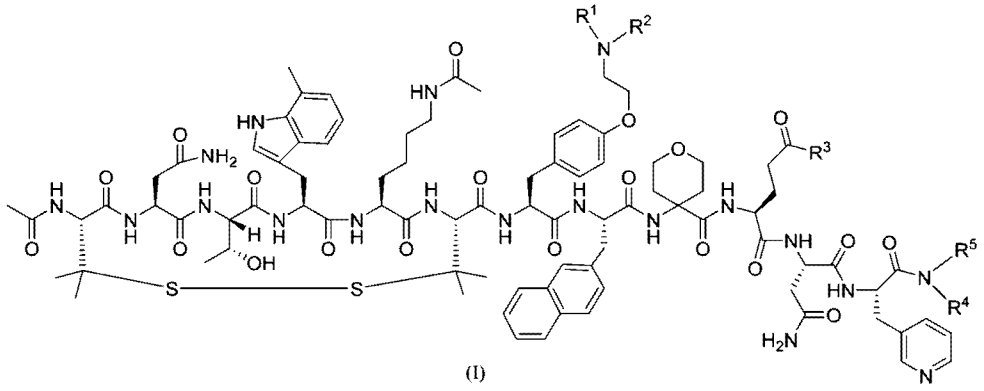
本發明涉及一種多肽抑制劑、其製備方法和應用。特別地，本發明涉及通式(Ⅰ)所示的化合物、其製備方法及含有該化合物的藥物組合物，及其作為抑制劑在治療多種炎症性、自身免疫疾病和癌症的用途，其中通式(Ⅰ)中的各取代基與說明書中的定義相同。



(I)

The present invention relates to a polypeptide inhibitor, and preparation method therefor and application thereof. In particular, the present invention relates to a compound shown in general formula (I), a preparation

method therefor and a pharmaceutical composition containing the compound, and use of the compound as an inhibitor in the treatment of inflammatory, autoimmune diseases and cancer, wherein the definition of each substituent in the general formula (I) is the same as that in the specification.



(I)

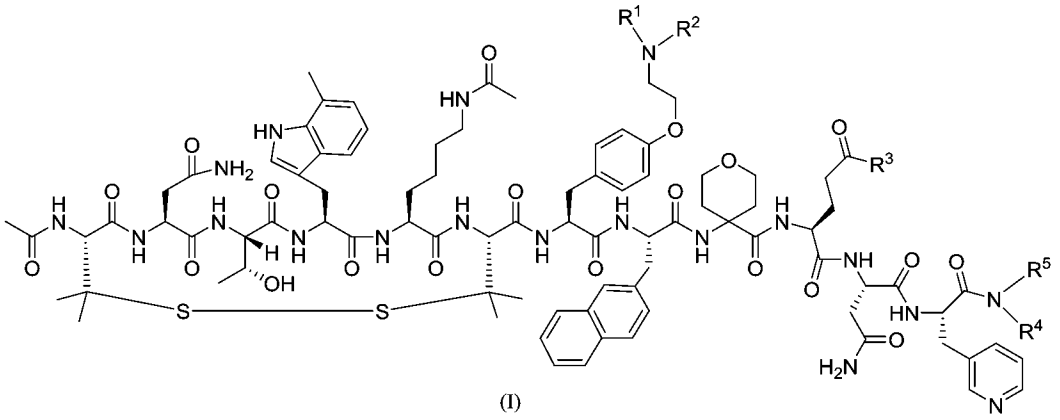
【發明摘要】

【中文發明名稱】多肽抑制劑、其製備方法和應用

【英文發明名稱】A polypeptide inhibitor, and preparation method therefor and application thereof

【中文】

本發明涉及一種多肽抑制劑、其製備方法和應用。特別地，本發明涉及通式(I)所示的化合物、其製備方法及含有該化合物的藥物組合物，及其作為抑制劑在治療多種炎症性、自身免疫疾病和癌症的用途，其中通式(I)中的各取代基與說明書中的定義相同。

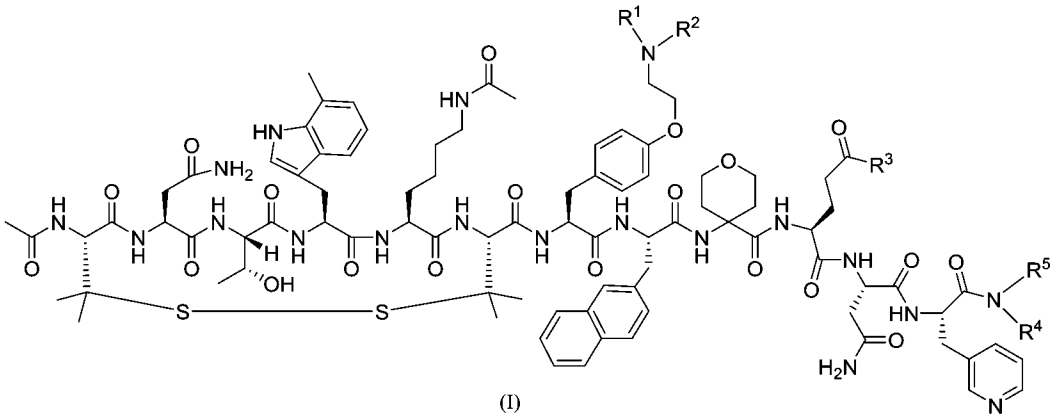


(I)

【英文】

The present invention relates to a polypeptide inhibitor, and preparation method therefor and application thereof. In particular, the present invention relates to a compound shown in general formula (I), a preparation method therefor and a pharmaceutical composition containing the compound, and use of the compound as an inhibitor in the treatment of inflammatory, autoimmune diseases and cancer, wherein

the definition of each substituent in the general formula (I) is the same as that in the specification.



(I)

【指定代表圖】無

【代表圖之符號簡單說明】無

【發明說明書】

【中文發明名稱】多肽抑制劑、其製備方法和應用

【英文發明名稱】A polypeptide inhibitor, and preparation method therefor and application thereof

【技術領域】

【0001】本發明屬於生物醫藥領域，具體涉及一種多肽抑制劑及其製備方法和應用。

【0002】本申請要求申請日為 2022 年 11 月 30 日的中國專利申請 2022115304381 的優先權。本申請引用上述中國專利申請的全文；

【0003】本申請要求申請日為 2023 年 03 月 03 日的中國專利申請 2023102062995 的優先權。本申請引用上述中國專利申請的全文；

【0004】本申請要求申請日為 2023 年 03 月 15 日的中國專利申請 2023102618188 的優先權。本申請引用上述中國專利申請的全文；

【0005】本申請要求申請日為 2023 年 03 月 31 日的中國專利申請 202310349519X 的優先權。本申請引用上述中國專利申請的全文；

【0006】本申請要求申請日為 2023 年 09 月 05 日的中國專利申請 2023111444895 的優先權。本申請引用上述中國專利申請的全文。

【先前技術】

【0007】細胞因子 IL23 在人體的天然免疫和適應性免疫中扮演重要角色。IL-23 誘導淋巴細胞表達炎性細胞因子，其中最顯著的有輔助性 T 細胞（TH17）、固有淋巴樣細胞（ILC）和 γδT 細胞。IL-23 異二聚受體由兩個亞單位 IL-23R 和 IL-12Rβ1 組成，IL-23R 是 IL-23 途徑獨有的亞單位。IL-12Rβ1 與 IL-12 受體共享。

類似地，IL-23 細胞因子由兩個亞單位 p19 和 p40 組成，p19 亞單位為 IL-23 獨有，p40 與 IL-12 共享。

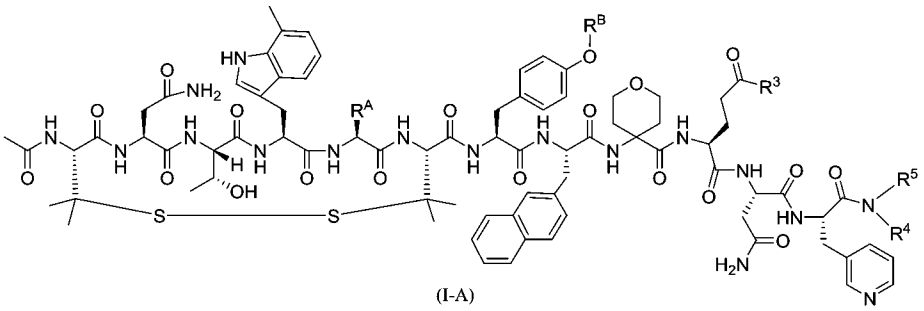
【0008】IL-23 為 Th17 細胞生成和存活提供必要條件。與此同時大量臨床前模型和臨床實踐的證據表明，Th17 細胞在包括炎性腸病、銀屑病、類風濕性關節炎、系統性紅斑狼瘡(SLE)和多發性硬化(MS)的許多自體免疫疾病的病理學中發揮著至關重要的作用。來自臨床前模型和臨床實踐的證據表明阻斷 IL23 信號的轉導在自體免疫疾病的治療時是有效的，但是 IL-23 和 IL-12 途徑共享配體以及受體亞單位的性質意味著更加複雜的生物學過程，而且腫瘤發生，感染易感性以及自體免疫紊亂等數據表明 IL-23 阻斷相較 IL-12 阻斷似乎在效果和安全性方面具有治療優勢。

【0009】抗體療法的局限性包括高昂的生產成本，更差的穩定性，對運輸、儲存、使用以及生產時的條件要求更高，並且通常在治療時需要輸注或注射，這對患者依從性來說是一種挑戰。抗體免疫抑制療法通常是全身性的，接受治療的結核病患者會面臨復發以及其他嚴重感染的風險。因此在很多發展中國家開展抗 TNF 或者抗 IL23 療法時需要排除較高比例的潛伏結核或乙型肝炎（HBV）患者。系統性抗體療法半衰期很長，以至於產生抗藥抗體（ADA）中和抗體藥物並導致療效下降。抗 TNF 抗體的間歇性劑量大大增加了 ADA 發展的可能性，這會增加患者的治療風險。

【0010】因此，本發明的目的：通過阻斷 IL-23R 來特異性阻斷 IL-23 異二聚受體的分子、包括這些分子的組合物、篩選這些分子的方法以及使用這些分子用以治療多種炎症性、自身免疫疾病和癌症的方法。這些分子應具有良好的親和力以及特異性，並且分佈於炎症疾病組織，這樣不會顯著影響系統免疫。

【發明內容】

【0011】本發明的目的在於提供一種通式(I-A)所示的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其中通式(I-A)所示的化合物結構如下：



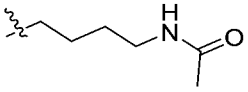
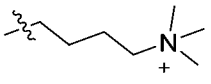
(I-A)

其中：

R^A選自-$(CH_2)_{mA}$-R^{AA}；

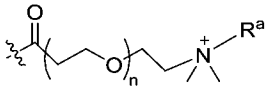
R^{AA}選自-NH_2，-N^+H_3，-$N^+(CH_3)_3$或-NH-C(O)-CH_3；

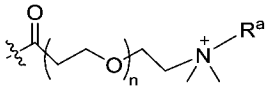
m^A選自 1-6 的整數；

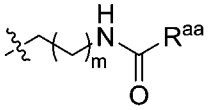
優選地，R^A選自  或  ；

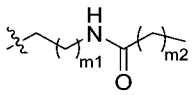
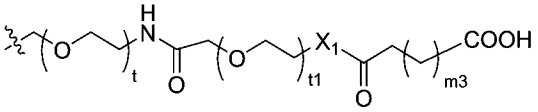
R^B選自-$(CH_2)_{mB}$-R^{BB}；

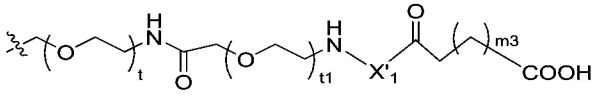
R^{BB}選自-NR^1R^2，-$N^+(R^1)_2R^2$或-NH-C(O)-R^1；

R^1選自 H，烷基，  或胺基酸，優選地，R^1選自 H，烷基；

R^2選自 H，烷基，  或胺基酸；

R^a選自 H，烷基，  或胺基酸；

R^{aa}選自烷基，  ，  ，

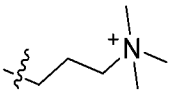
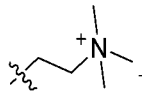
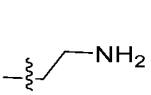
 或胺基酸；

X_1選自胺基酸；

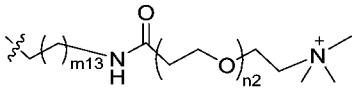
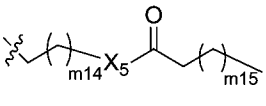
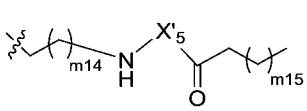
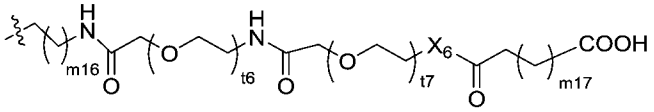
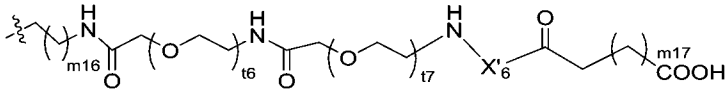
X'_1選自胺基酸；

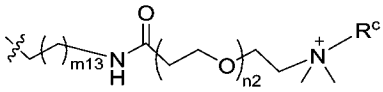
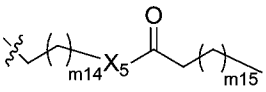
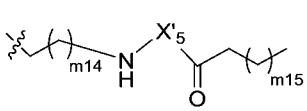
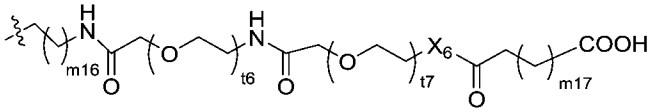
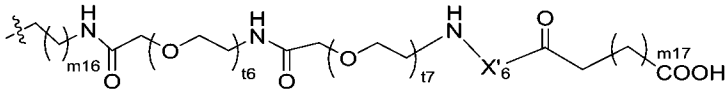
優選地，R^{BB}選自-NH_2，-N^+H_3，-$N^+(CH_3)_3$或-NH-C(O)-CH_3；

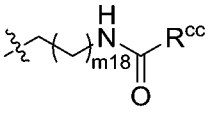
m^B 選自 1-6 的整數；

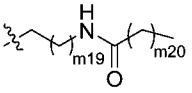
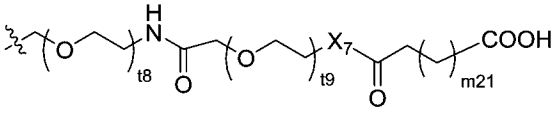
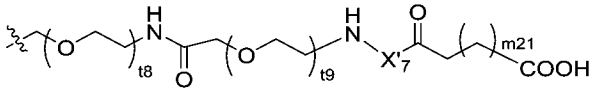
優選地，R^B 選自  ， 或  ；

R^3 選自羥基，烷基，$-NR^6R^7$ 或胺基酸；

R^6 選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$， ， ，  ， 或胺基酸；

R^7 選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$， ， ，  ， 或胺基酸；

R^c 選自 H，烷基， 或胺基酸；

R^{cc} 選自烷基， ， ， 或胺基酸；

X_5 選自胺基酸；

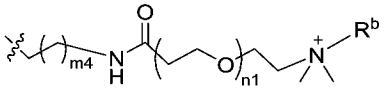
X'_5 選自胺基酸；

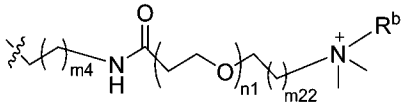
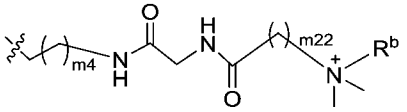
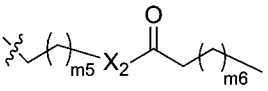
X_6 選自胺基酸；

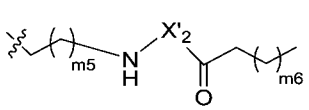
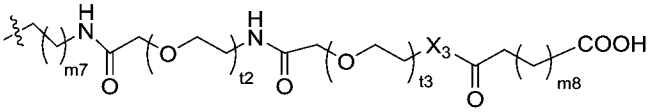
X'_6 選自胺基酸；

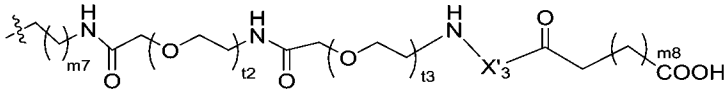
X_7 選自胺基酸；

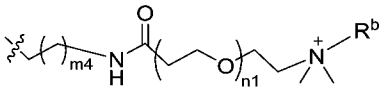
X'_7 選自胺基酸；

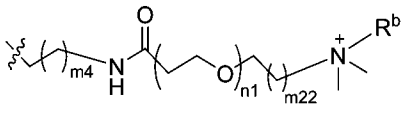
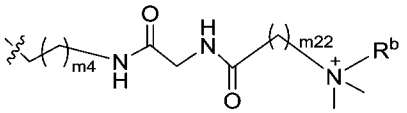
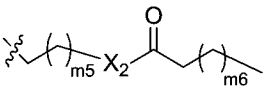
R^4選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

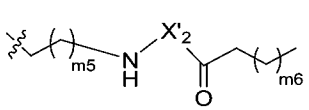
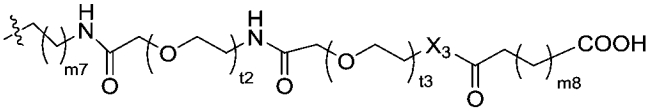
，，，

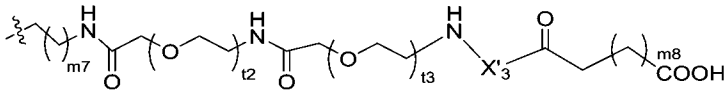
，，

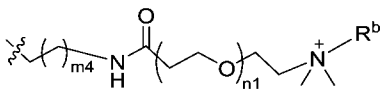
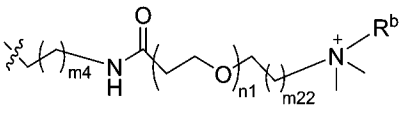
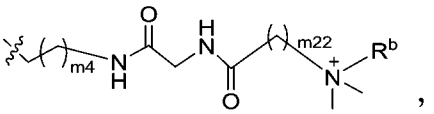
或胺基酸；

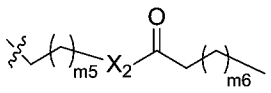
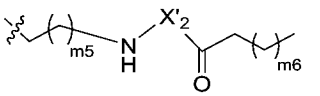
R^5選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

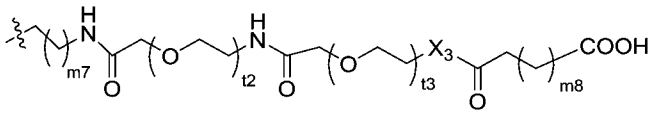
，，，

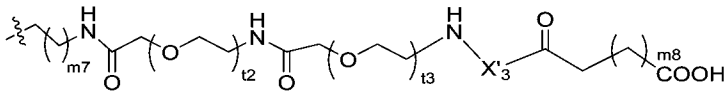
，，

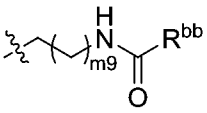
或胺基酸；優選地，選自

，，，

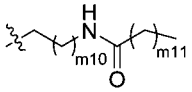
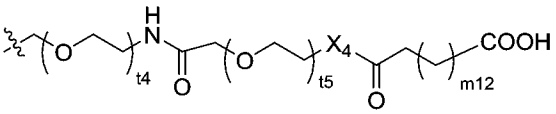
，，

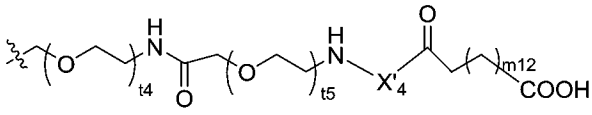
，

；



R^b選自 H，烷基，或胺基酸，所述烷基可以進一步被羥基或烷氧基取代；

R^{bb}選自烷基，，，

或胺基酸；

X_2選自胺基酸；

X'_2選自胺基酸；

X_3選自胺基酸；

X'_3選自胺基酸；

X_4選自胺基酸；

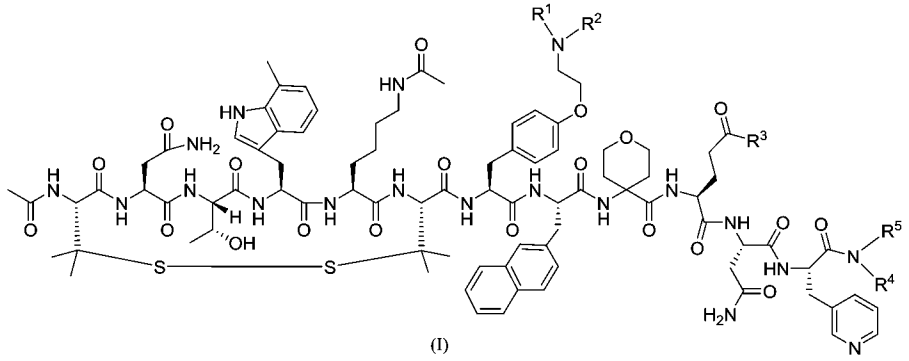
X'_4選自胺基酸；

n1~n2 各自獨立地選自 0-12 的整數；

t2~t9 各自獨立地選自 0-12 的整數；

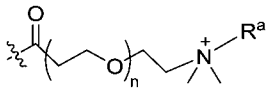
m4~m22 各自獨立地選自 0-24 的整數。

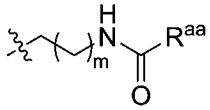
【0012】本發明的目的在於提供一種通式(Ⅰ)所示的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其中通式(Ⅰ)所示的化合物結構如下：

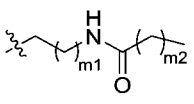
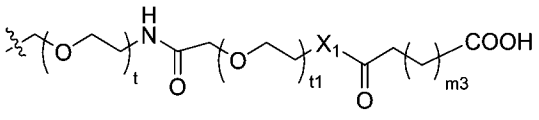


(I)

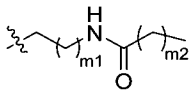
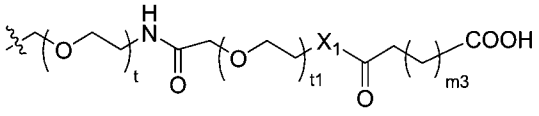
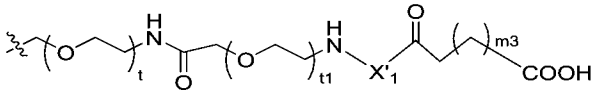
其中：

R^1和R^2各自獨立地選自 H，烷基，或胺基酸；

R^a選自 H，烷基，或胺基酸；

R^{aa}選自烷基，，或胺基酸；

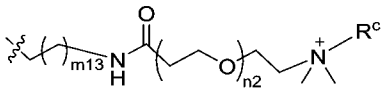
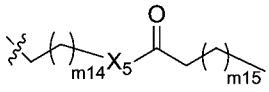
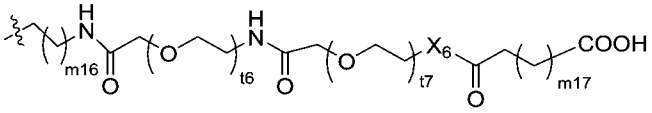
X_1選自胺基酸；

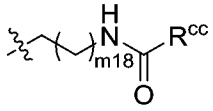
優選地，R^{aa}選自烷基，，，或胺基酸；

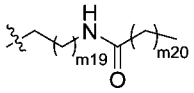
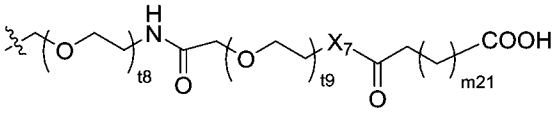
X_1選自胺基酸；

X'_1選自胺基酸；

R^3選自羥基，烷基，$-NR^6R^7$或胺基酸；

R^6和R^7各自獨立地選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，或胺基酸；

R^c選自 H，烷基，或胺基酸；

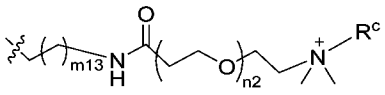
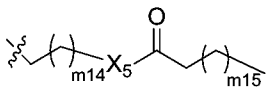
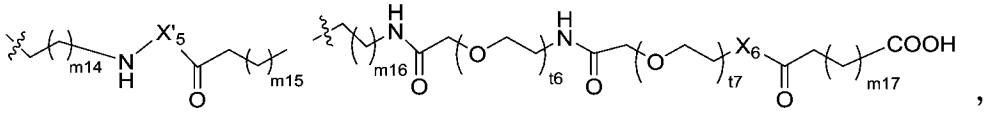
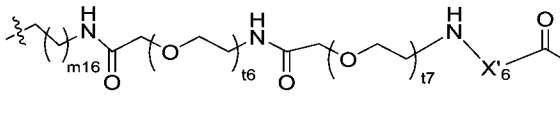
R^{cc}選自烷基，，或胺基酸；

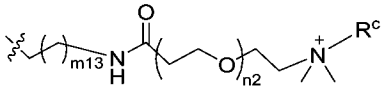
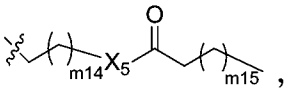
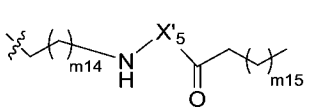
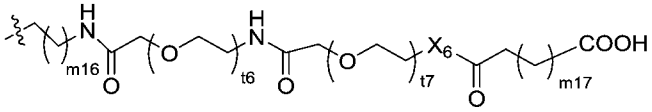
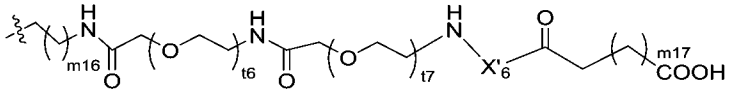
X_5選自胺基酸；

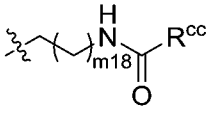
X_6選自胺基酸；

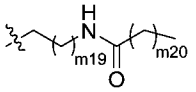
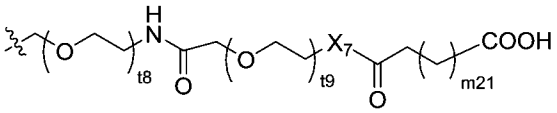
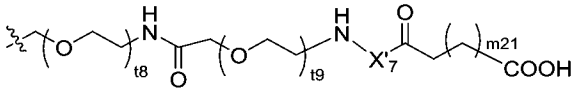
X_7選自胺基酸；

優選地，R^3選自羥基，烷基，$-NR^6R^7$或胺基酸；

R^6選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，或胺基酸；

R^7選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，，或胺基酸；

R^c選自 H，烷基，或胺基酸；

R^{cc}選自烷基，，，或胺基酸；

X_5選自胺基酸；

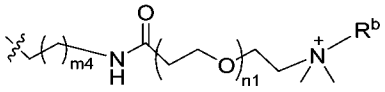
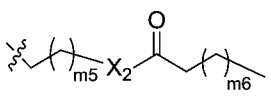
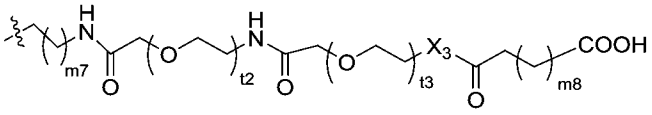
X'_5選自胺基酸；

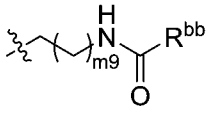
X_6選自胺基酸；

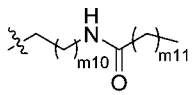
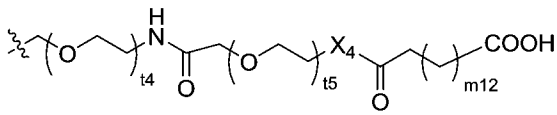
X'_6選自胺基酸；

X_7選自胺基酸；

X'_7選自胺基酸；

R^4和 R^5各自獨立地選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，或胺基酸；

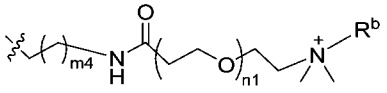
R^b選自 H，烷基，或胺基酸；

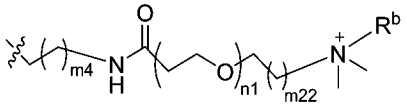
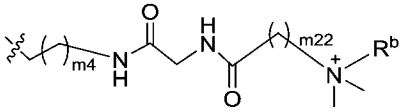
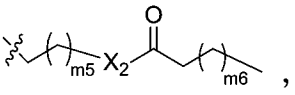
R^{bb}選自烷基，，或胺基酸；

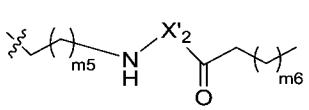
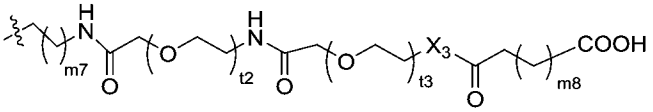
X_2選自胺基酸；

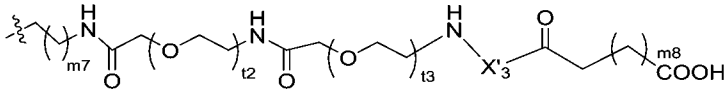
X_3選自胺基酸；

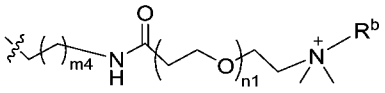
X_4選自胺基酸；

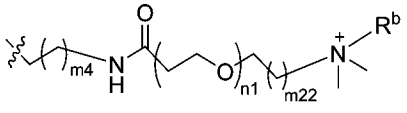
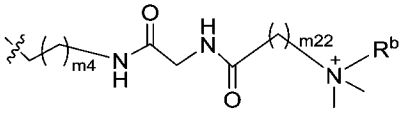
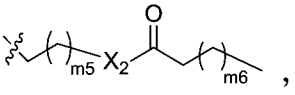
優選地，R^4選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

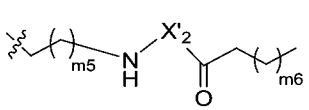
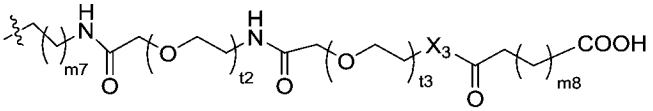
，，，

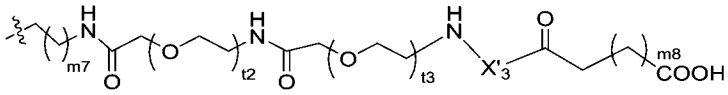
，，

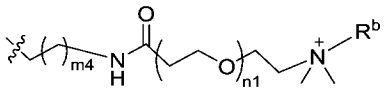
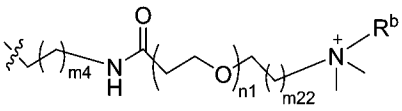
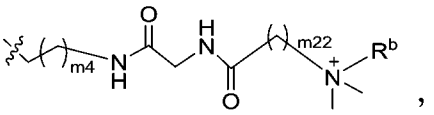
或胺基酸；

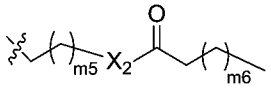
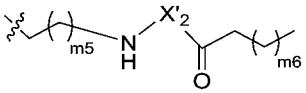
R^5選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

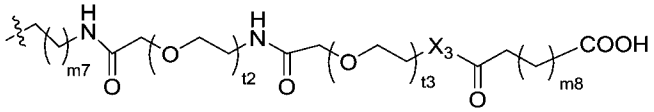
，，，

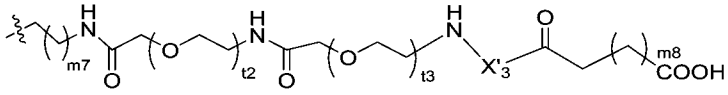
，，

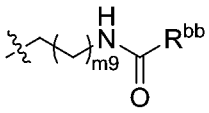
或胺基酸；優選地，選自

，，，

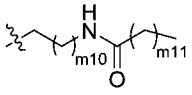
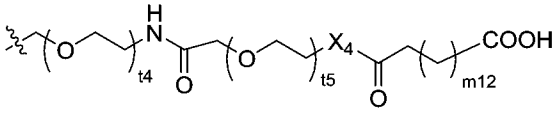
，，

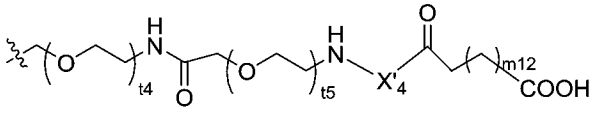
，

；



R^b選自 H，烷基，　　或胺基酸，所述烷基可以進一步被羥基或烷氧基取代；

R^{bb}選自烷基，，，

或胺基酸；

X_2選自胺基酸；

X'_2選自胺基酸；

X_3選自胺基酸；

X'_3選自胺基酸；

X_4選自胺基酸；

X'_4選自胺基酸；

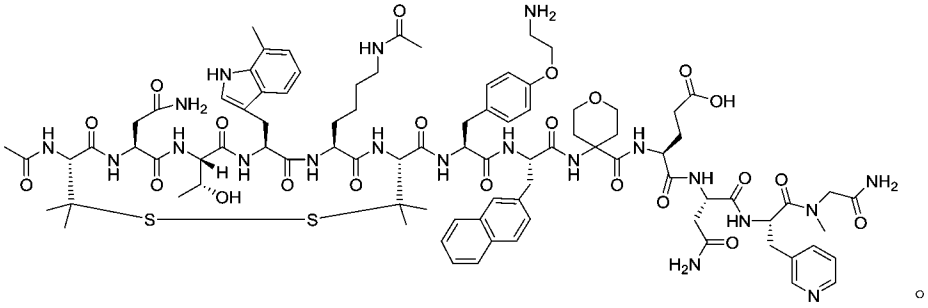
n~n2 各自獨立地選自 0-12 的整數；

t~t9 各自獨立地選自 0-12 的整數；

m~m21 各自獨立地選自 0-24 的整數；

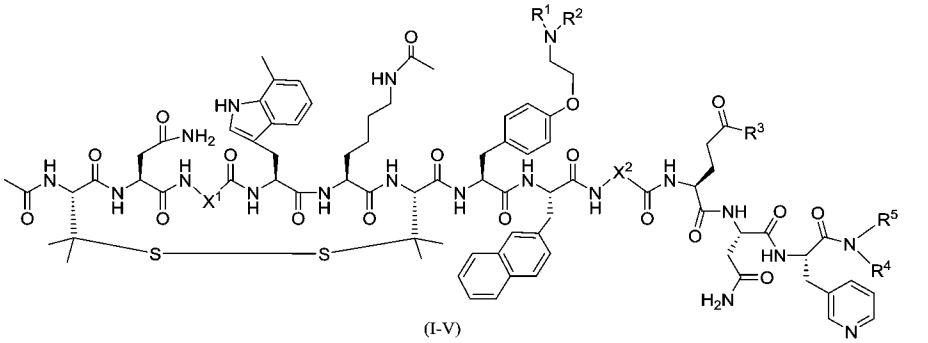
m22 選自 0-24 的整數；

所述化合物不為



。

【0013】本發明的另一個目的在於提供一種通式(I-V)所示的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其中通式(I-V)所示的化合物結構如下：

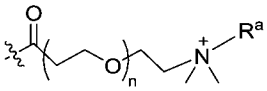


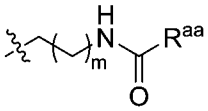
(I-V)

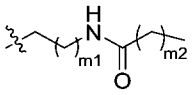
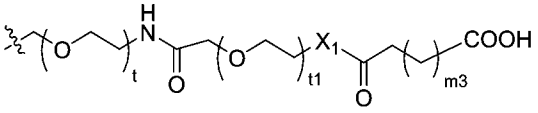
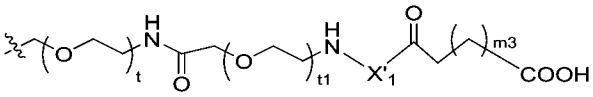
其中：

X^1選自胺基酸；

X^2選自胺基酸；

R^1和R^2各自獨立地選自H，烷基，或胺基酸；

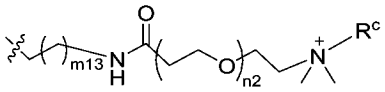
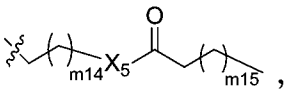
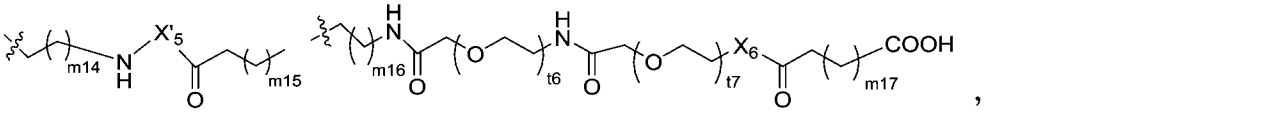
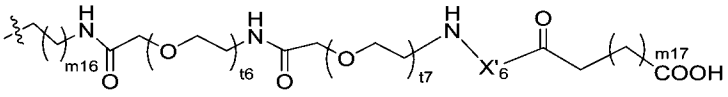
R^a選自H，烷基，或胺基酸；

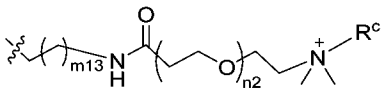
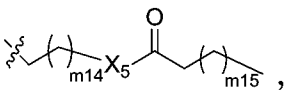
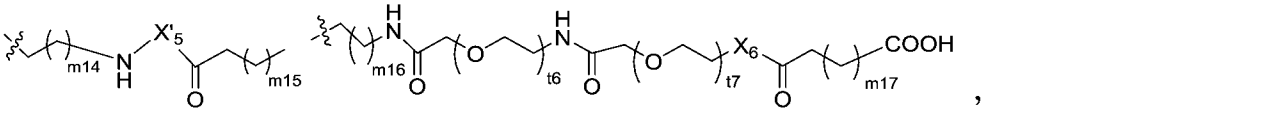
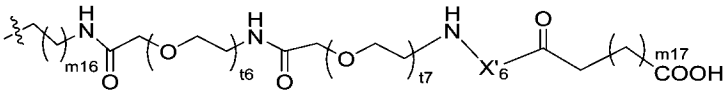
R^{aa}選自烷基，，，或胺基酸；

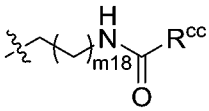
X_1選自胺基酸；

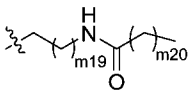
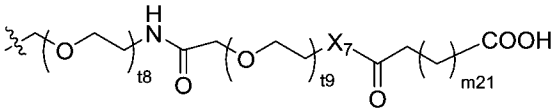
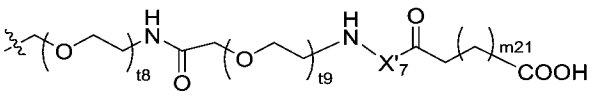
X'_1選自胺基酸；

R^3選自羥基，烷基，$-NR^6R^7$或胺基酸；

R^6選自H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，或胺基酸；

R^7選自H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，或胺基酸；

R^c選自H，烷基，或胺基酸；

R^{cc}選自烷基，，，或胺基酸；

X_5選自胺基酸；

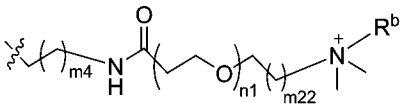
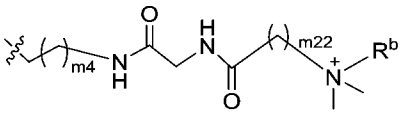
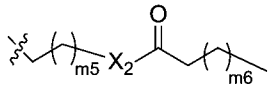
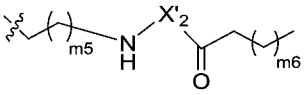
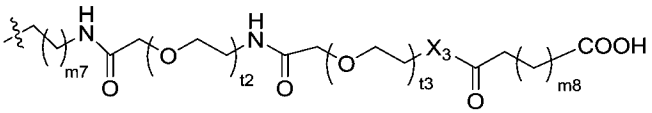
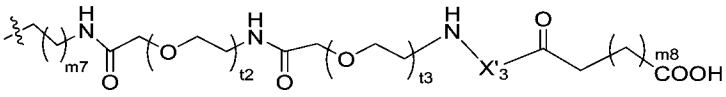
X'_5選自胺基酸；

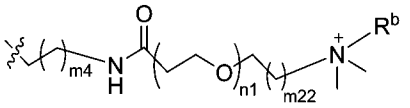
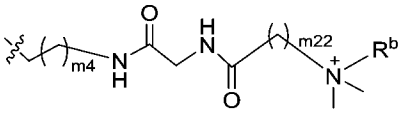
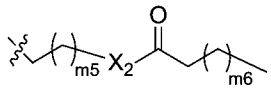
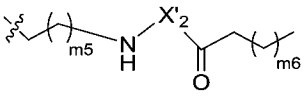
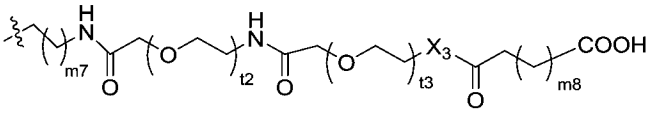
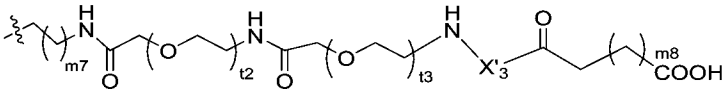
X_6選自胺基酸；

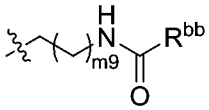
X'_6選自胺基酸；

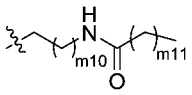
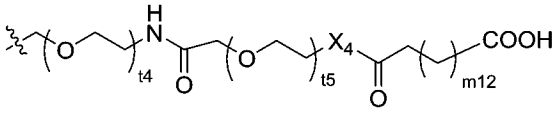
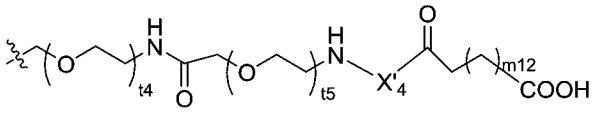
X_7選自胺基酸；

X'_7選自胺基酸；

R^4選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，，，或胺基酸；

R^5選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，，，或胺基酸；

R^b選自 H，烷基，或胺基酸，所述烷基可以進一步被羥基或烷氧基取代；

R^{bb}選自烷基，，，或胺基酸；

X_2選自胺基酸；

X'_2選自胺基酸；

X_3選自胺基酸；

X'_3選自胺基酸；

X_4選自胺基酸；

X'_4選自胺基酸；

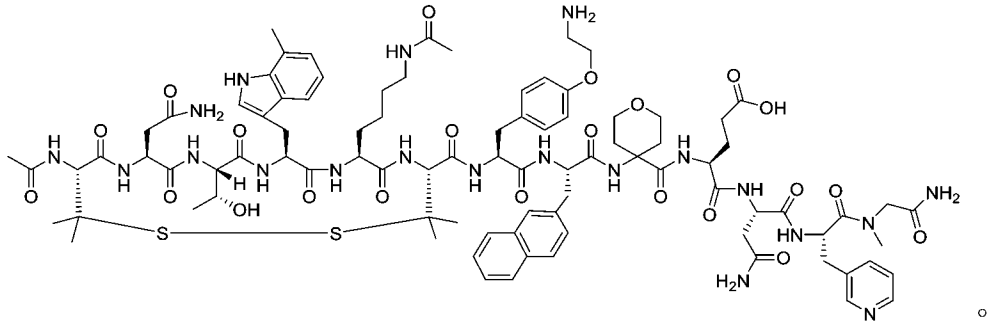
n~n2各自獨立地選自0-12的整數；

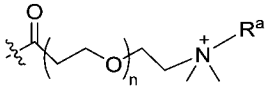
t~t9各自獨立地選自0-12的整數；

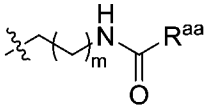
m~m21各自獨立地選自0-24的整數；

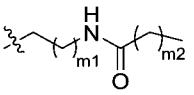
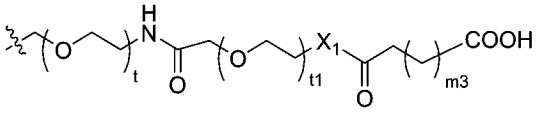
m22選自0-24的整數；

所述化合物不為

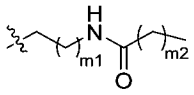
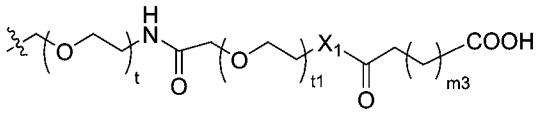
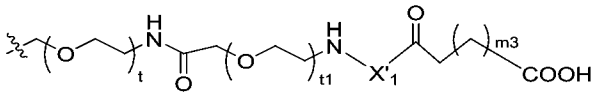
。

【0014】本發明優選地實施方案中，所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，R^1和R^2各自獨立地選自H，烷基，或胺基酸；

R^a選自H，烷基，或胺基酸；

R^{aa}選自烷基，，或胺基酸；

X_1選自胺基酸；

優選地，R^{aa}選自烷基，，，或胺基酸；

X_1選自胺基酸；

X'_1選自胺基酸；

R^3選自羥基；

R^4和R^5各自獨立地選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$；

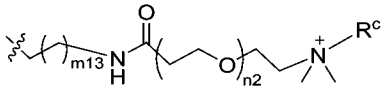
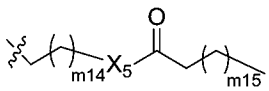
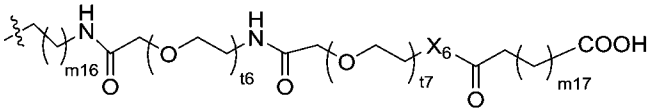
n 選自 0-12 的整數；

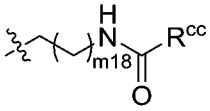
t~t1 各自獨立地選自 0-12 的整數；

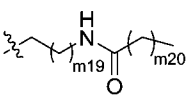
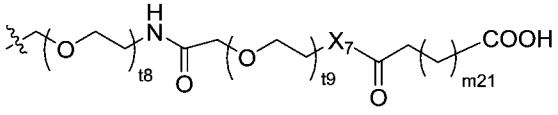
m~m3 各自獨立地選自 0-24 整數。

【0015】本發明優選地實施方案中，所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，R^1和R^2選自 H；

R^3選自羥基，烷基，$-NR^6R^7$或胺基酸；

R^6和R^7各自獨立地選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，或胺基酸；

R^c選自 H，烷基，或胺基酸；

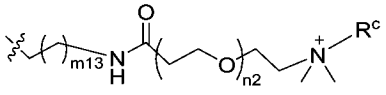
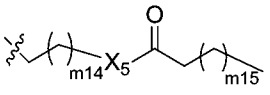
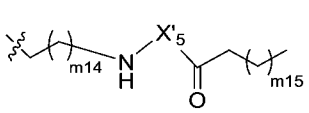
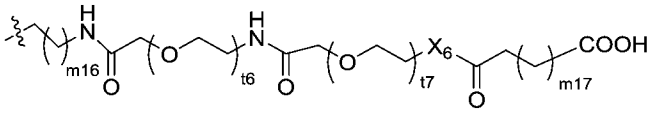
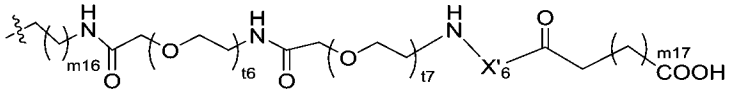
R^{cc}選自烷基，，或胺基酸；

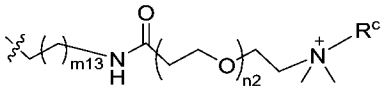
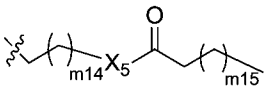
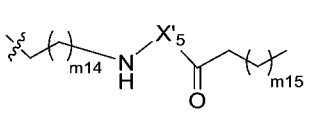
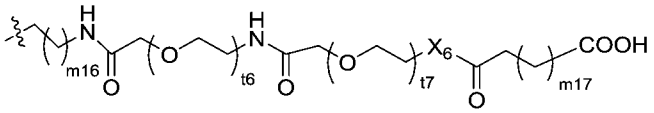
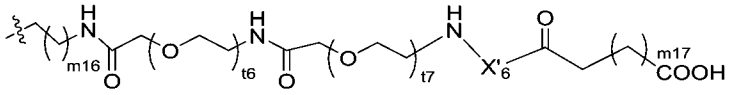
X_5選自胺基酸；

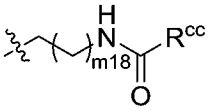
X_6選自胺基酸；

X_7選自胺基酸；

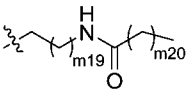
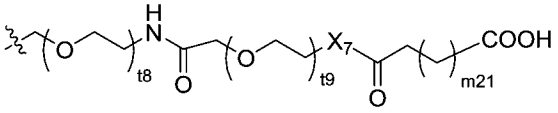
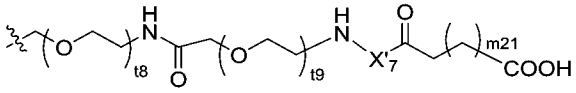
優選地，R^3選自羥基，烷基，$-NR^6R^7$或胺基酸；

R^6選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，，或胺基酸；

R^7選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，，或胺基酸；



R^c選自 H，烷基，或胺基酸；

R^{cc}選自烷基，，，或胺基酸；

X_5選自胺基酸；

X'_5選自胺基酸；

X_6選自胺基酸；

X'_6選自胺基酸；

X_7選自胺基酸；

X'_7選自胺基酸；

R^4和 R^5各自獨立地選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$；

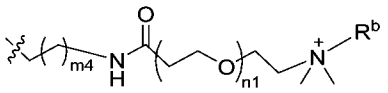
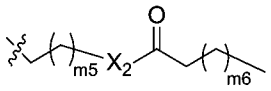
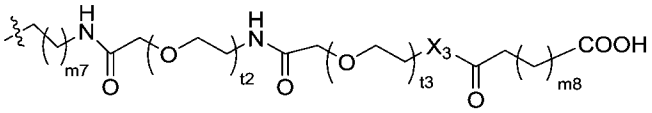
n2 選自 0-12 的整數；

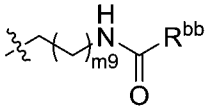
t6~t9 各自獨立地選自 0-12 的整數；

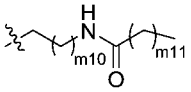
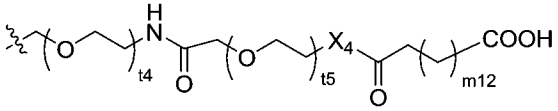
m13~m21 各自獨立地選自 0-24 的整數。

【0016】本發明優選地實施方案中，所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，R^1和 R^2選自 H；

R^3選自羥基；

R^4和 R^5各自獨立地選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，或胺基酸；

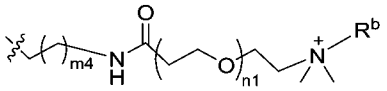
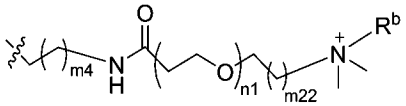
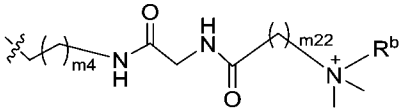
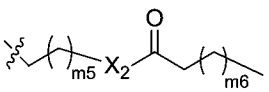
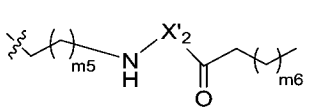
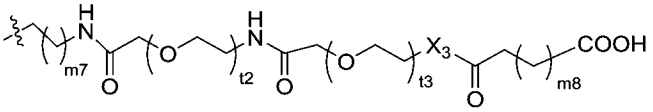
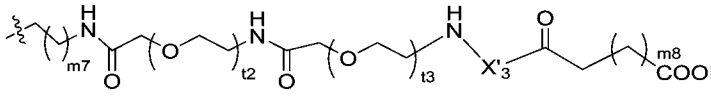
R^b選自 H，烷基，或胺基酸；

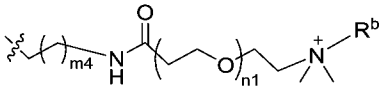
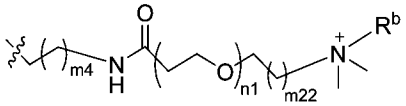
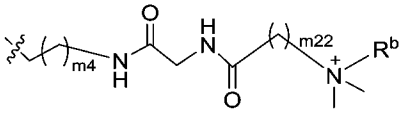
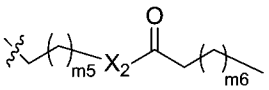
R^{bb}選自烷基，，或胺基酸；

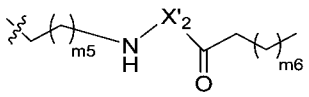
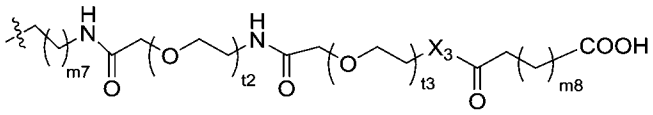
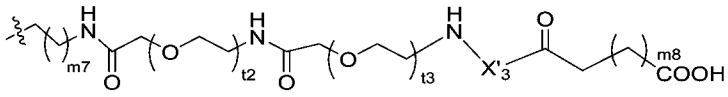
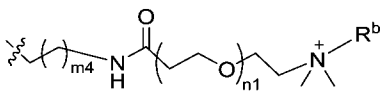
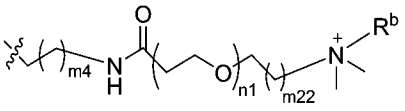
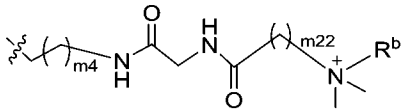
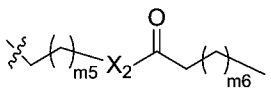
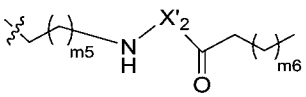
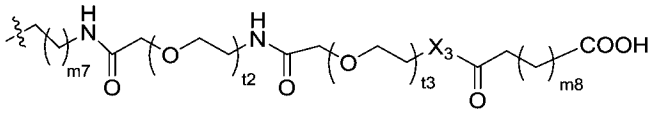
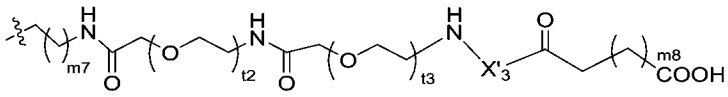
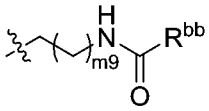
X_2選自胺基酸；

X_3選自胺基酸；

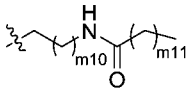
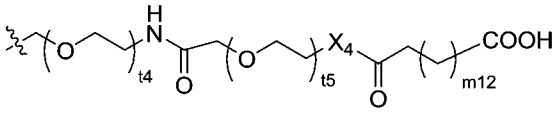
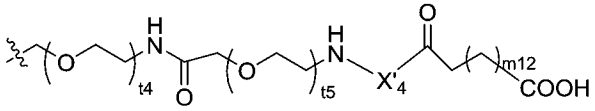
X_4選自胺基酸；

優選地，R^4選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，，，，或胺基酸；

R^5選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，，


，
，或胺基酸；優選地，選自
，
，
，
，
，
，
；

R^b選自 H，烷基，或胺基酸，所述烷基可以進一步被羥基或烷氧基取代；

R^{bb}選自烷基，
，
，或胺基酸；

X_2選自胺基酸；

X'_2選自胺基酸；

X_3選自胺基酸；

X'_3選自胺基酸；

X_4選自胺基酸；

X'_4選自胺基酸；

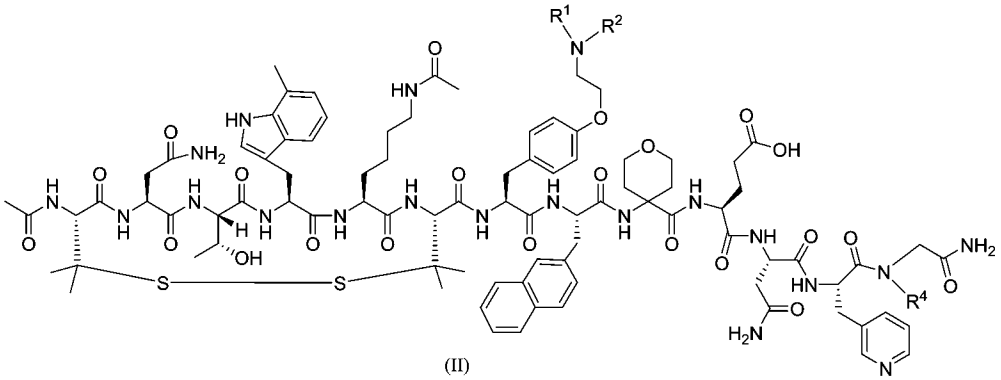
n1 選自 0-12 的整數；

t2~t5 各自獨立地選自 0-12 的整數；

m4~m12 各自獨立地選自 0-24 的整數；

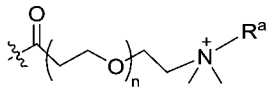
m22 選自 0-24 的整數。

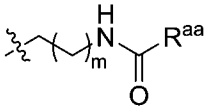
【0017】本發明優選地實施方案中，所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，所述化合物進一步如通式（II）所示：

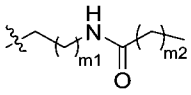
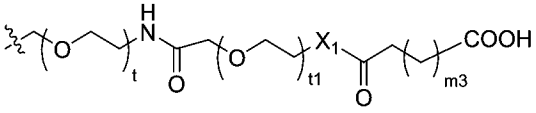


(II)

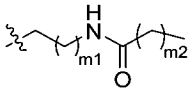
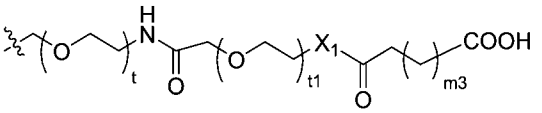
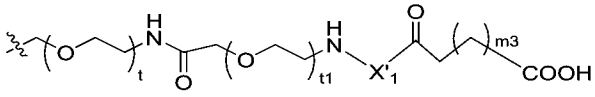
其中：

R^1 和 R^2 各自獨立地選自 H，烷基， 或胺基酸；

R^a 選自 H，烷基， 或胺基酸；

R^{aa} 選自烷基，， 或胺基酸；

X_1 選自胺基酸；

優選地，R^{aa} 選自烷基，，， 或胺基酸；

X_1 選自胺基酸；

X'_1 選自胺基酸；

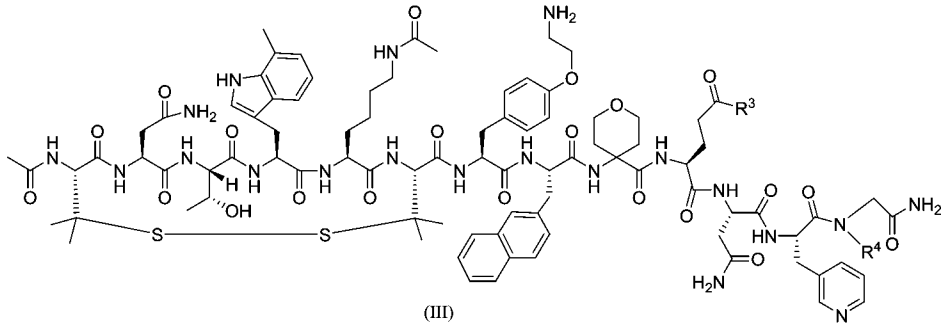
R^4 選自 H 或烷基；

n 選自 0-12 的整數；

t~t1 各自獨立地選自 0-12 的整數；

m~m3 各自獨立地選自 0-24 的整數。

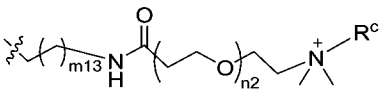
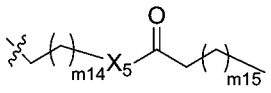
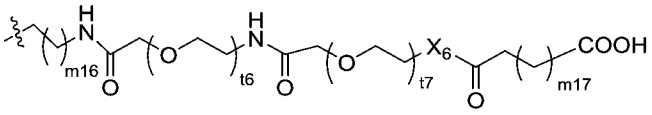
【0018】本發明優選地實施方案中，所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，所述化合物進一步如通式（III）所示：

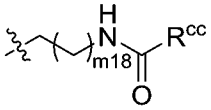


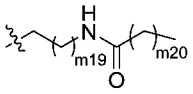
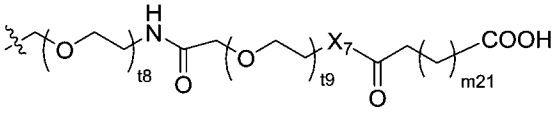
(III)

其中：

R^3選自羥基，烷基，$-NR^6R^7$或胺基酸；

R^6和R^7各自獨立地選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，或胺基酸；

R^c選自 H，烷基，或胺基酸；

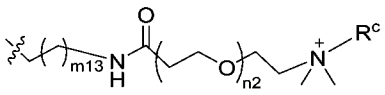
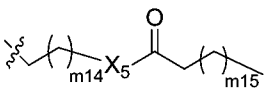
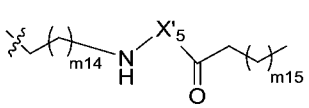
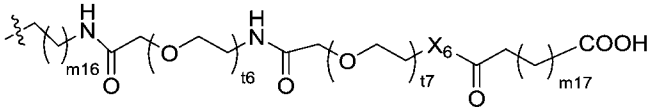
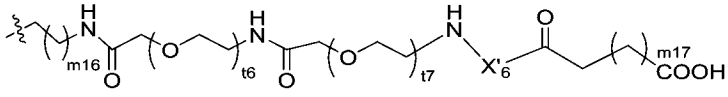
R^{cc}選自烷基，，或胺基酸；

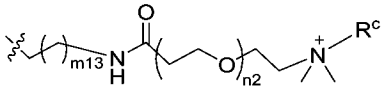
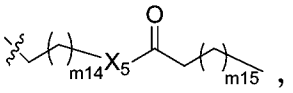
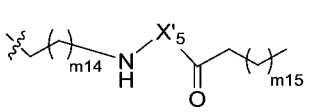
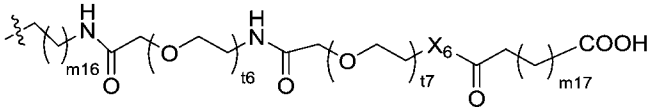
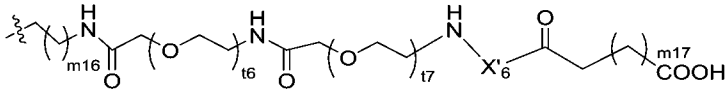
X_5選自胺基酸；

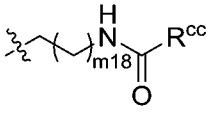
X_6選自胺基酸；

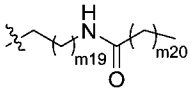
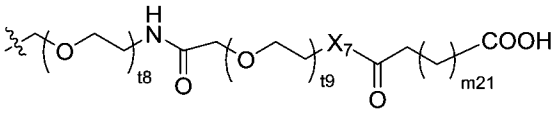
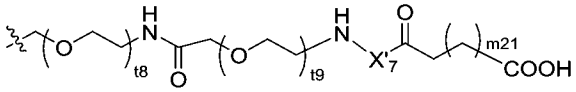
X_7選自胺基酸；

優選地，R^3選自羥基，烷基，$-NR^6R^7$或胺基酸；

R^6選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，，或胺基酸；

R^7選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，，或胺基酸；

R^c選自 H，烷基，或胺基酸；

R^{cc}選自烷基，，，或胺基酸；

X_5選自胺基酸；

X'_5選自胺基酸；

X_6選自胺基酸；

X'_6選自胺基酸；

X_7選自胺基酸；

X'_7選自胺基酸；

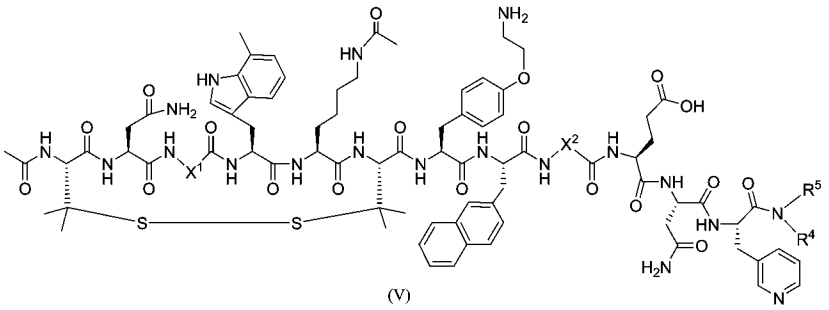
R^4選自 H 或烷基；

n2 選自 0-12 的整數；

t6~t9 各自獨立地選自 0-12 的整數；

m13~m21 各自獨立地選自 0-24 的整數。

【0019】本發明優選地實施方案中，所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，所述化合物進一步如通式(V)所示的化合物結構如下：

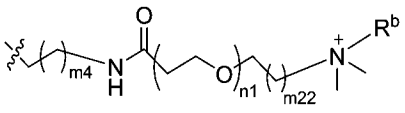
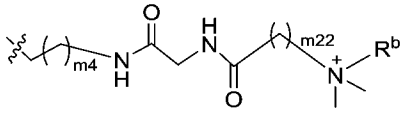
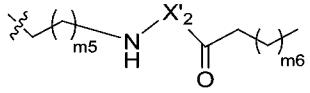
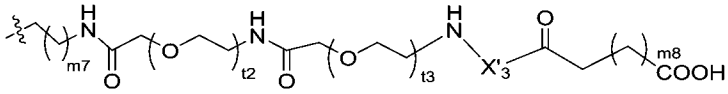


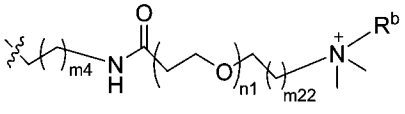
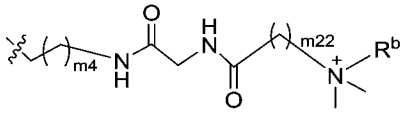
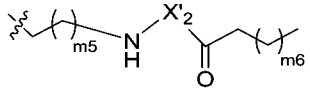
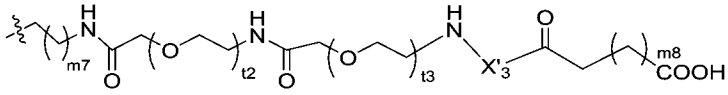
(V)

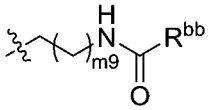
其中：

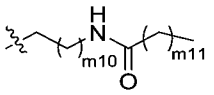
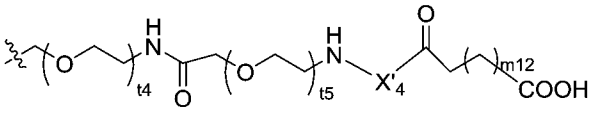
X^1選自胺基酸；

X^2選自胺基酸；

R^4選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，或胺基酸；

R^5選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，或胺基酸；

R^b選自 H，烷基，或胺基酸，所述烷基可以進一步被羥基或烷氧基取代；

R^{bb}選自烷基，，或胺基酸；

X'_2選自胺基酸；

X'_3選自胺基酸；

X_4選自胺基酸；

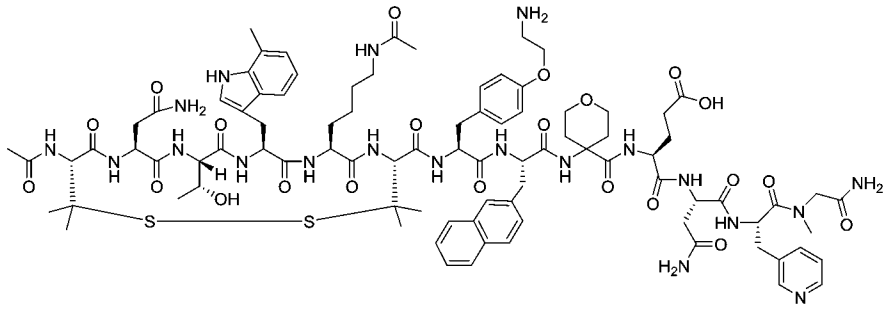
n1 選自 0-12 的整數；

t2~t5 各自獨立地選自 0-12 的整數；

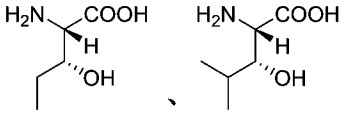
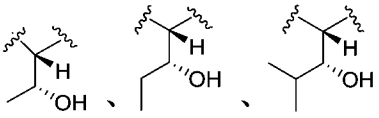
m4~m12 各自獨立地選自 0-24 的整數；

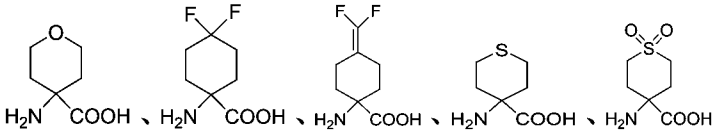
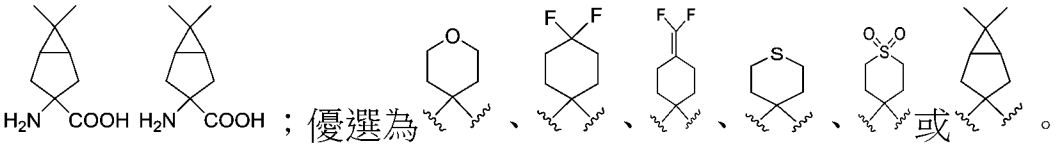
m22 選自 0-12 的整數；

所述化合物不為

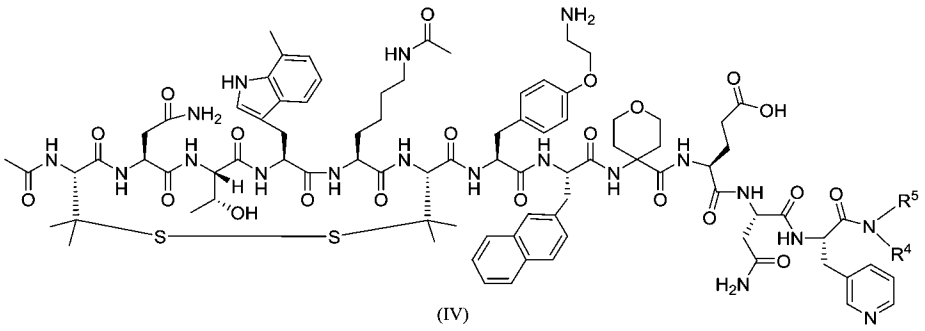


。

【0020】本發明優選地實施方案中，所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，X^1選自 Thr、；優選為。

【0021】本發明優選地實施方案中，所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，X^2選自；優選為。

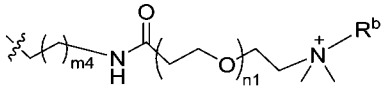
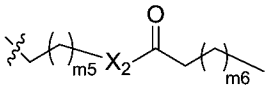
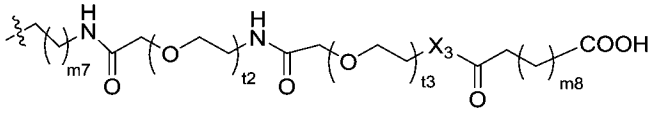
【0022】本發明優選地實施方案中，所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，所述化合物進一步如通式（IV）所示：

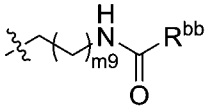


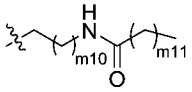
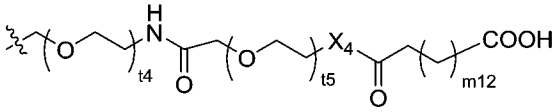
(IV)

其中：

R^4選自 H 或烷基；

R^5選自烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，或胺基酸；

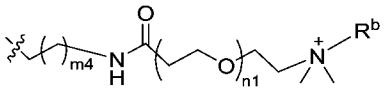
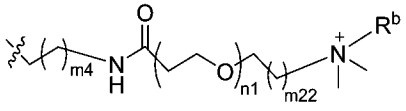
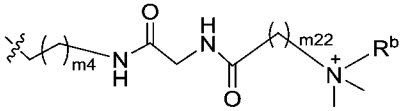
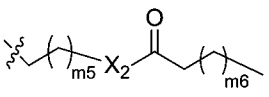
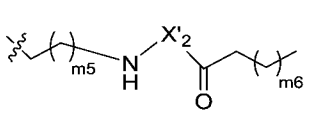
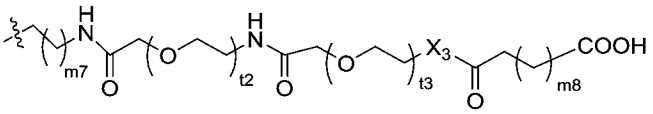
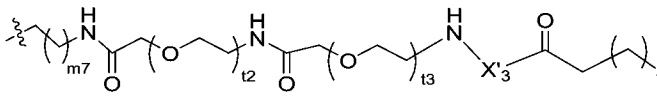
R^b選自 H，烷基，或胺基酸；

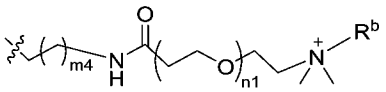
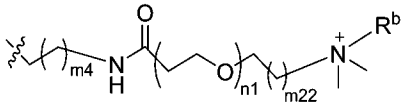
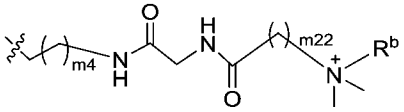
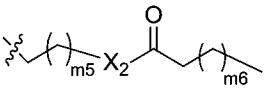
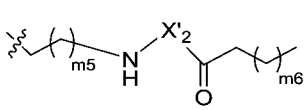
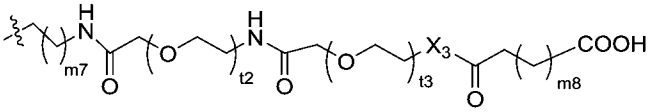
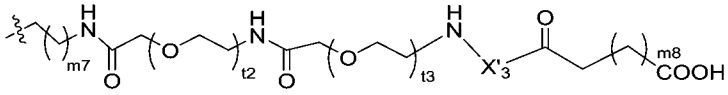
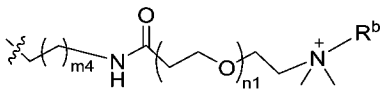
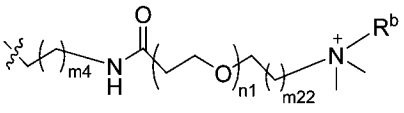
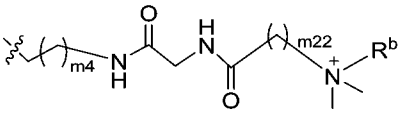
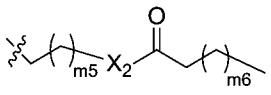
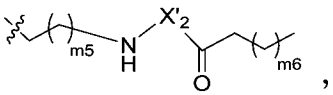
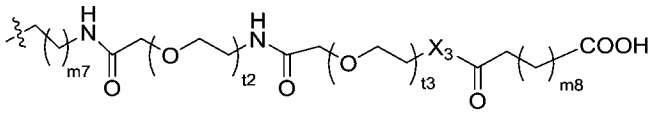
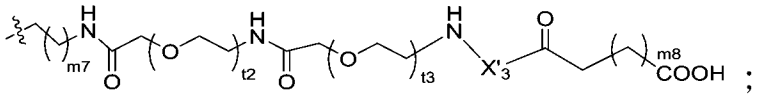
R^{bb}選自烷基，，或胺基酸；

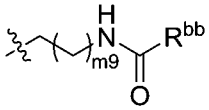
X_2選自胺基酸；

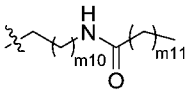
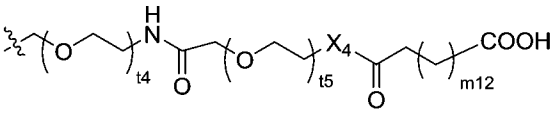
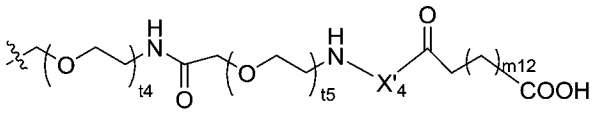
X_3選自胺基酸；

X_4選自胺基酸；

優選地，R^4選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，，，，或胺基酸；

R^5選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，，，，或胺基酸；優選地，選自，，，，，，；

R^b選自 H，烷基，或胺基酸，所述烷基可以進一步被羥基或烷氧基取代；

R^{bb}選自烷基，，，或胺基酸；

X_2選自胺基酸；

X'_2選自胺基酸；

X_3選自胺基酸；

X'_3選自胺基酸；

X_4選自胺基酸；

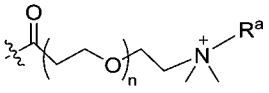
X'_4選自胺基酸；

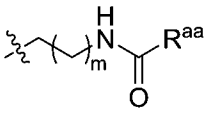
n1 選自 0-12 的整數；

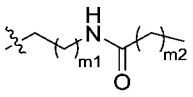
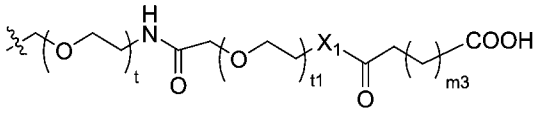
t2~t5 各自獨立地選自 0-12 的整數；

m4~m12 各自獨立地選自 0-24 的整數；

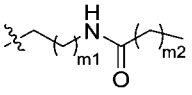
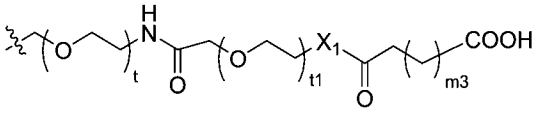
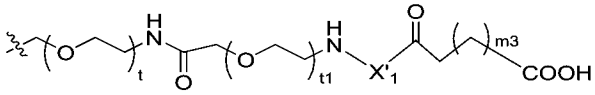
m22 選自 0-24 的整數。

【0023】本發明優選地實施方案中，所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，R^1 選自 H，C_{1-6} 烷基， 或胺基酸；

R^a 選自 H，C_{1-6} 烷基， 或胺基酸；

R^{aa} 選自 C_{1-6} 烷基，， 或胺基酸；

X_1 選自胺基酸；

優選地，R^{aa} 選自 C_{1-6} 烷基，，， 或胺基酸；

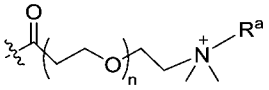
X_1 選自胺基酸；

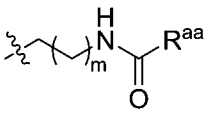
X'_1 選自胺基酸；

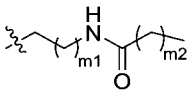
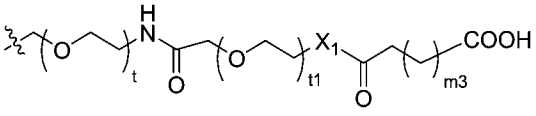
n 選自 0-12 的整數；

t~t1 各自獨立地選自 0-12 的整數；

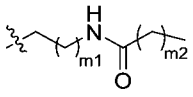
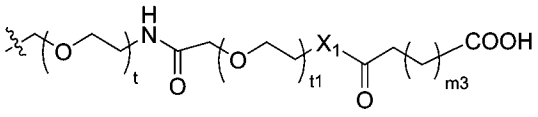
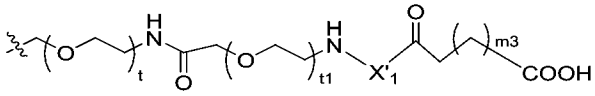
m~m3 各自獨立地選自 0-24 的整數。

【0024】本發明優選地實施方案中，所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，R^2 選自 H，C_{1-6} 烷基， 或胺基酸；

R^a 選自 H，C_{1-6} 烷基， 或胺基酸；

R^{aa}選自 C_{1-6}烷基，，或胺基酸；

X_1選自胺基酸；

優選地，R^{aa}選自 C_{1-6}烷基，，，或胺基酸；

X_1選自胺基酸；

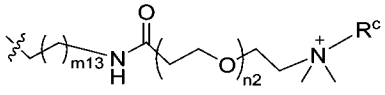
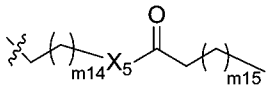
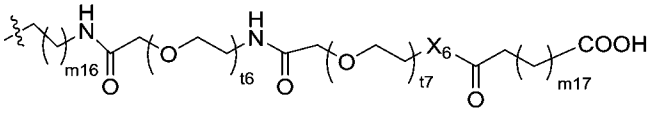
X'_1選自胺基酸；

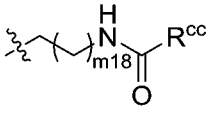
n 選自 0-12 的整數；

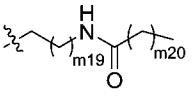
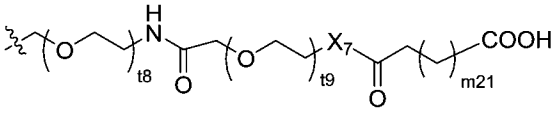
t~t1 各自獨立地選自 0-12 的整數；

m~m3 各自獨立地選自 0-24 的整數。

【0025】本發明優選地實施方案中，所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，R^3選自羥基，C_{1-6}烷基，$-NR^6R^7$或胺基酸；

R^6和 R^7各自獨立地選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，或胺基酸；

R^c選自 H，烷基，或胺基酸；

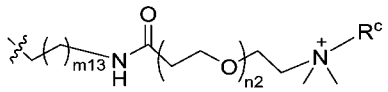
R^{cc}選自烷基，，或胺基酸；

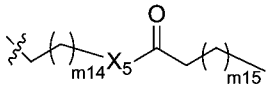
X_5選自胺基酸；

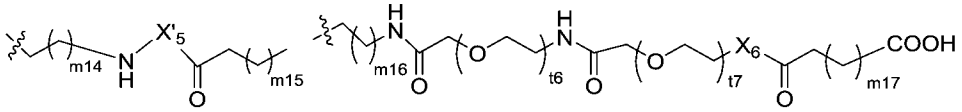
X_6選自胺基酸；

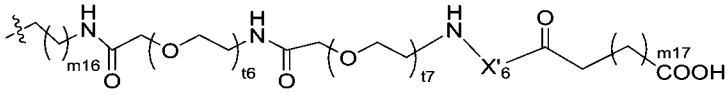
X_7選自胺基酸；

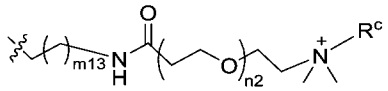
優選地，R^3選自羥基，C_{1-6}烷基，$-NR^6R^7$或胺基酸；

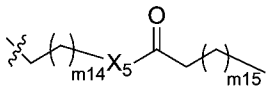
R^6選自 H，C_{1-6}烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

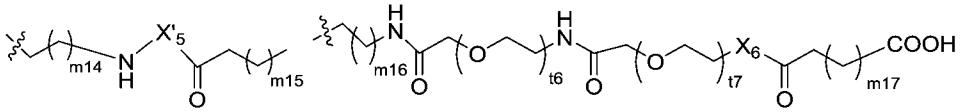
，

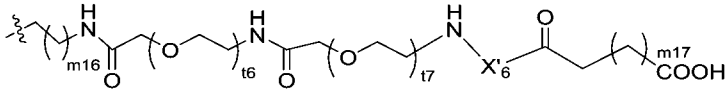
，

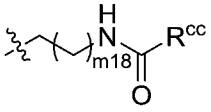
或胺基酸；

R^7選自 H，C_{1-6}烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

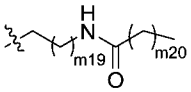
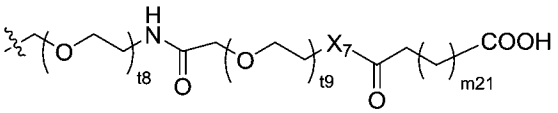
，

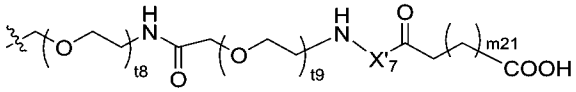
，

或胺基酸；



R^c選自 H，C_{1-6}烷基，　　或胺基酸；

R^{cc}選自 C_{1-6}烷基，，，

或胺基酸；

X_5選自胺基酸；

X'_5選自胺基酸；

X_6選自胺基酸；

X'_6選自胺基酸；

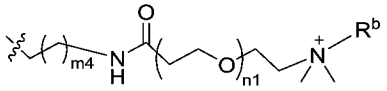
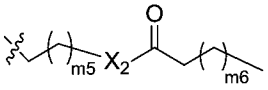
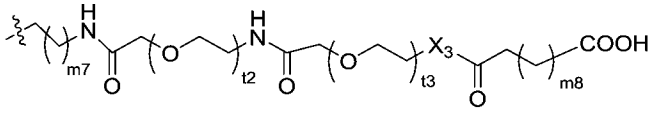
X_7選自胺基酸；

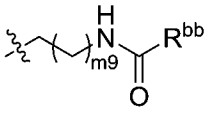
X'_7選自胺基酸；

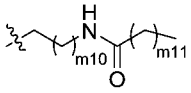
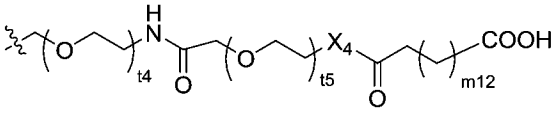
n2 選自 0-12 的整數；

t6~t9 各自獨立地選自 0-12 的整數；

m13~m21 各自獨立地選自 0-24 的整數。

【0026】本發明優選地實施方案中，所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，R^4 選自 H，C_{1-6} 烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，或胺基酸；

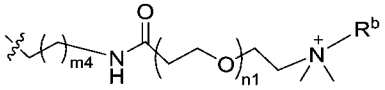
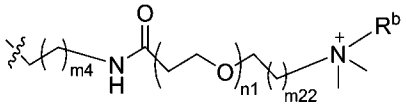
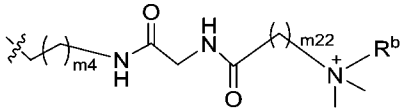
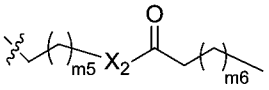
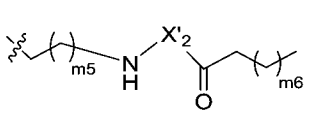
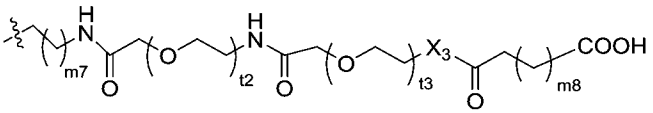
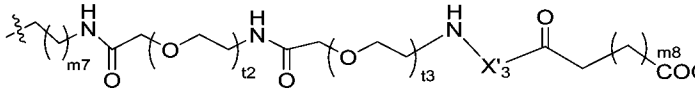
R^b 選自 H，C_{1-6} 烷基，或胺基酸；

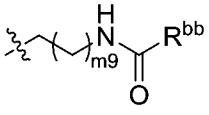
R^{bb} 選自 C_{1-6} 烷基，，或胺基酸；

X_2 選自胺基酸；

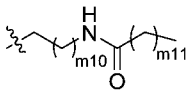
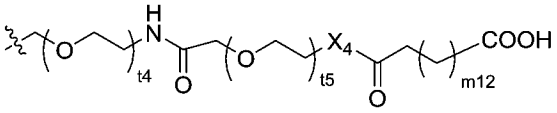
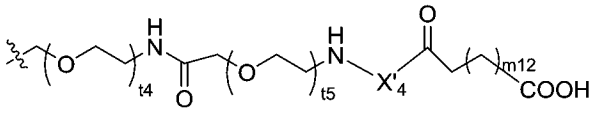
X_3 選自胺基酸；

X_4 選自胺基酸；

優選地，R^4 選自 H，C_{1-6} 烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，，，，或胺基酸；



R^b 選自 H，C_{1-6} 烷基，或胺基酸，所述烷基可以進一步被羥基或烷氧基取代；

R^{bb}選自 C_{1-6}烷基，，，或胺基酸；

X_2選自胺基酸；

X'_2選自胺基酸；

X_3選自胺基酸；

X'_3選自胺基酸；

X_4選自胺基酸；

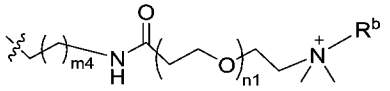
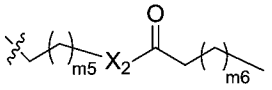
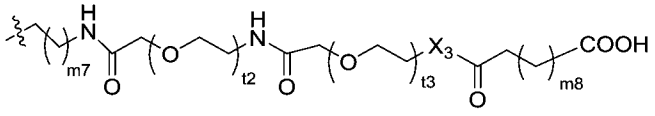
X'_4選自胺基酸；

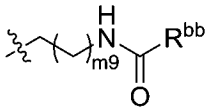
n1 選自 0-12 的整數；

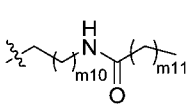
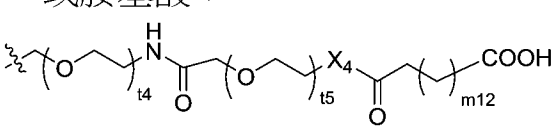
t2~t5 各自獨立地選自 0-12 的整數；

m4~m12 各自獨立地選自 0-24 的整數；

m22 選自 0-24 的整數。

【0027】本發明優選地實施方案中，所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，R^5選自 H，C_{1-6}烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，或胺基酸；

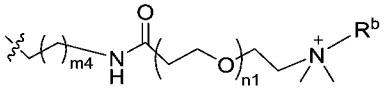
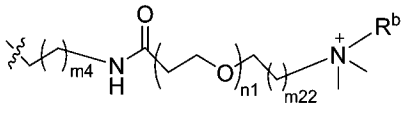
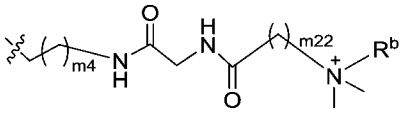
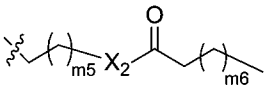
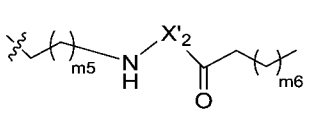
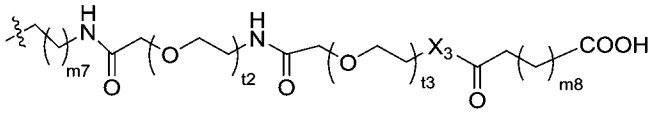
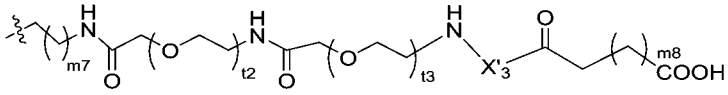
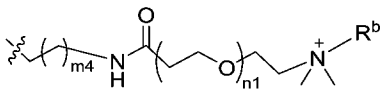
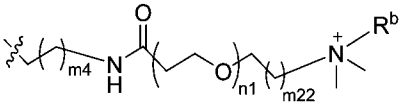
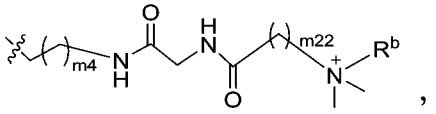
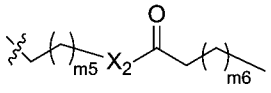
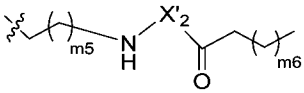
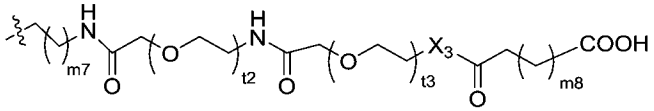
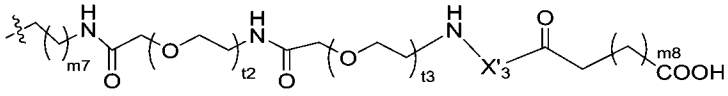
R^b選自 H， C_{1-6}烷基，或胺基酸；

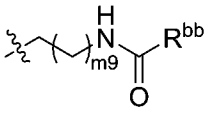
R^{bb}選自 C_{1-6}烷基，，或胺基酸；

X_2選自胺基酸；

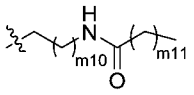
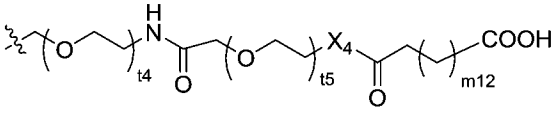
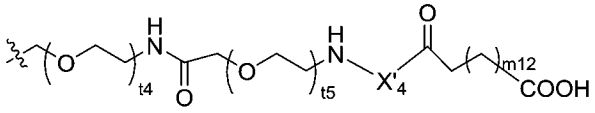
X_3選自胺基酸；

X_4選自胺基酸；

優選地，R^5選自 H，C_{1-6}烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，，，，或胺基酸，進一步優選地，選自，，，，，，；



R^b選自 H，C_{1-6}烷基，或胺基酸，所述烷基可以進一步被羥基或烷氧基取代；

R^{bb}選自 C_{1-6}烷基，，，或胺基酸；

X_2選自胺基酸；

X'_2選自胺基酸；

X_3選自胺基酸；

X'_3選自胺基酸；

X_4選自胺基酸；

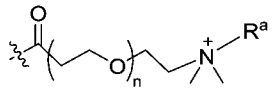
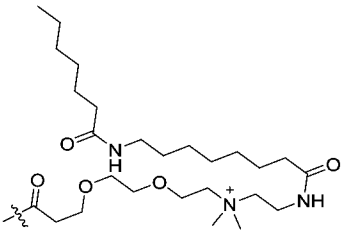
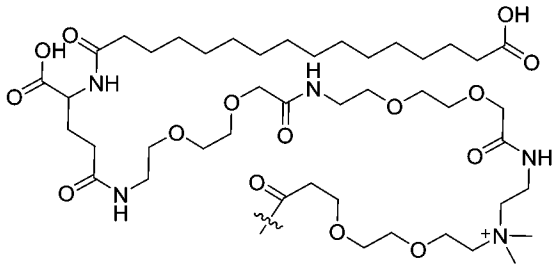
X'_4選自胺基酸；

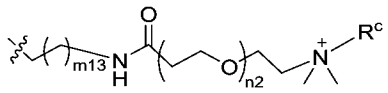
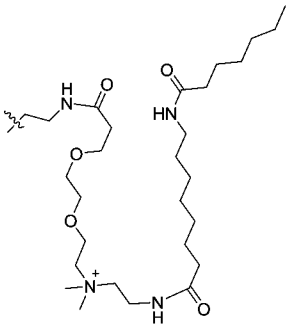
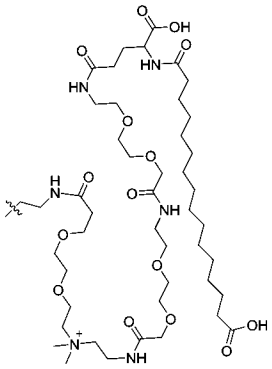
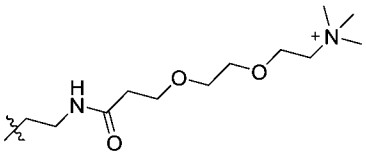
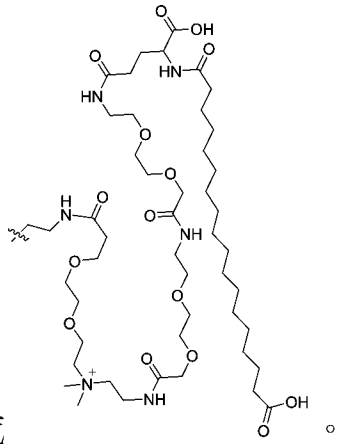
n1 選自 0-12 的整數；

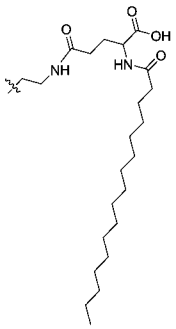
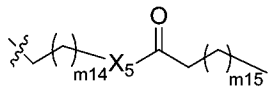
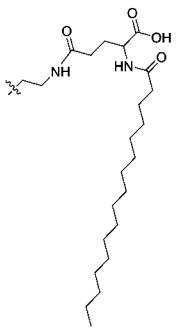
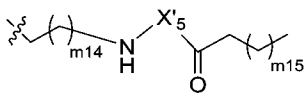
t2~t5 各自獨立地選自 0-12 的整數；

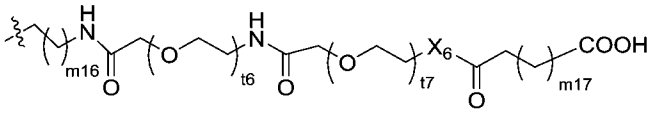
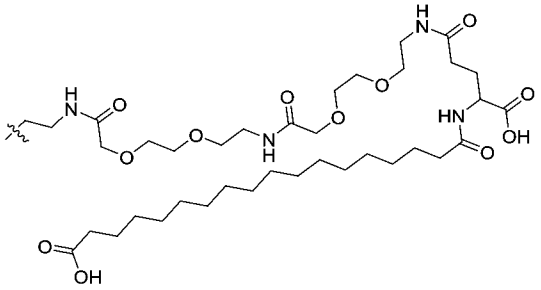
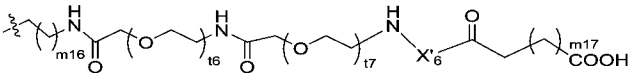
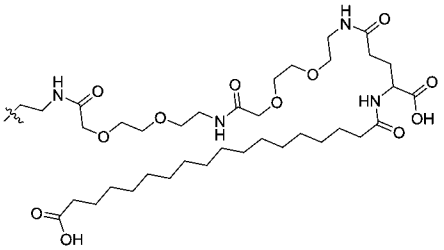
m4~m12 各自獨立地選自 0-24 的整數；

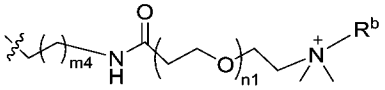
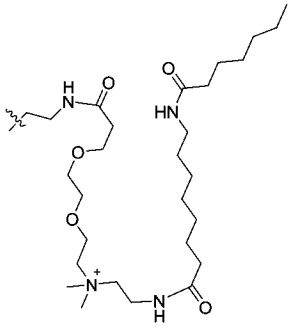
m22 選自 0-24 的整數。

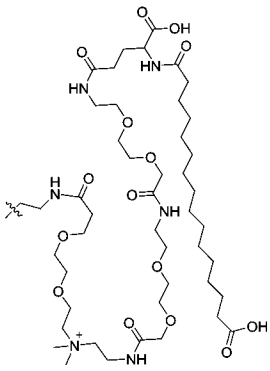
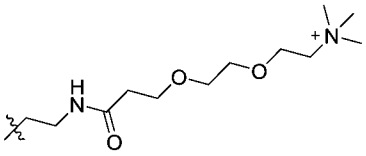
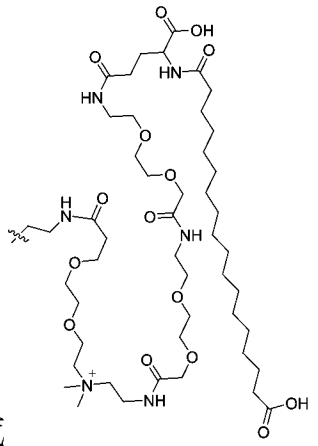
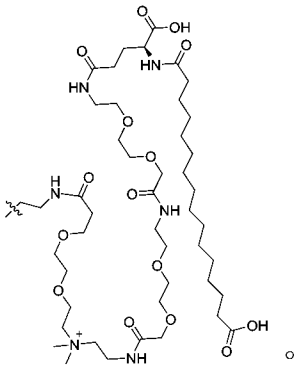
【0028】本發明優選地實施方案中，所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，選自或。

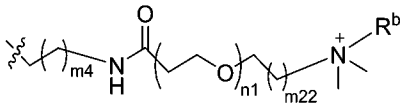
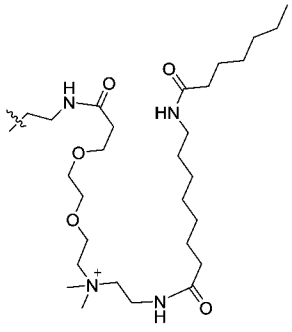
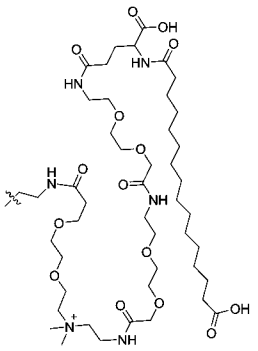
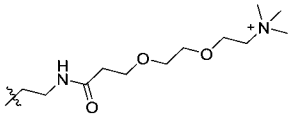
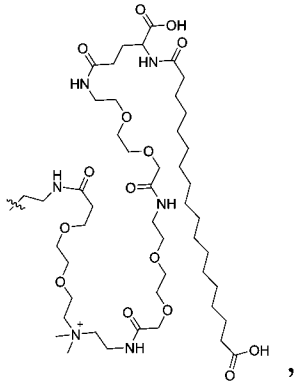
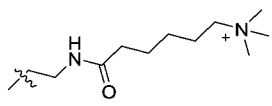
【0029】本發明優選地實施方案中，所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，選自，，或。

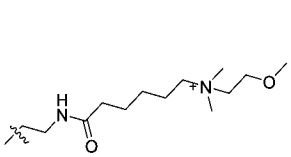
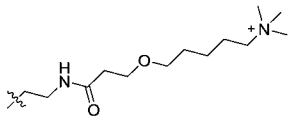
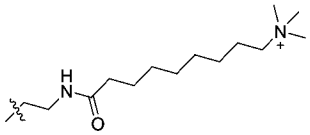
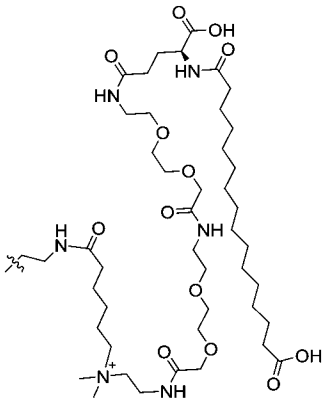
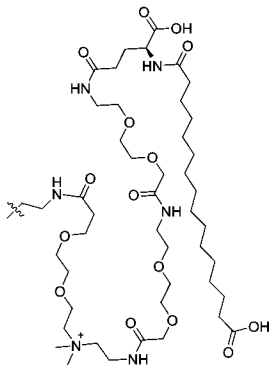
【0030】本發明優選地實施方案中，所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，；選自或者，選自。

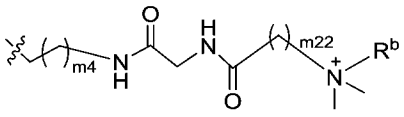
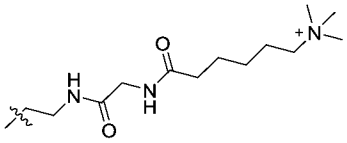
【0031】本發明優選地實施方案中，所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，選自；或者，選自。

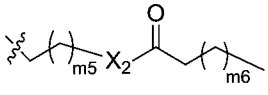
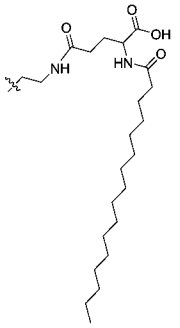
【0032】本發明優選地實施方案中，所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，選自，

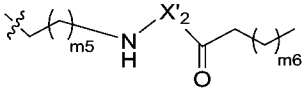
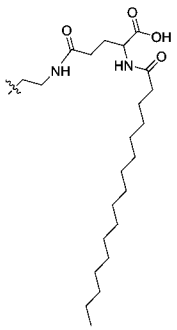

，
或
；優選自
。

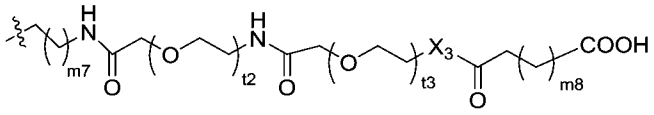
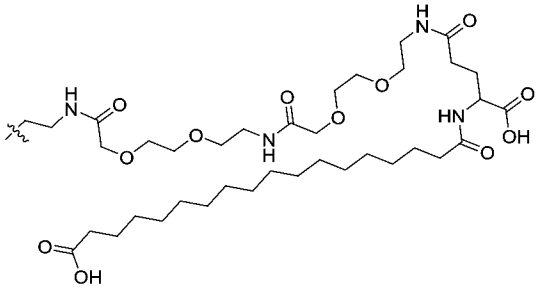
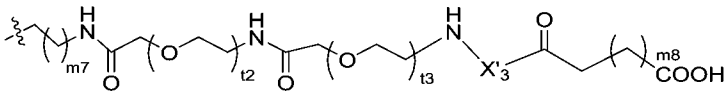
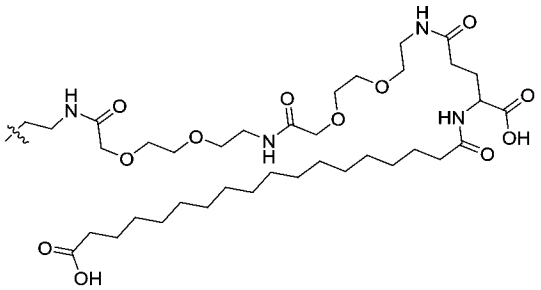
【0033】本發明優選地實施方案中，所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，
選自
，
，
，
，
，


，
，
或
；優選自
。

本發明優選地實施方案中，所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，
選自
。

【0034】本發明優選地實施方案中，所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，
選自
；

或者，
選自
。

【0035】本發明優選地實施方案中，所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，選自，或者選自。

【0036】本發明優選地實施方案中，所述胺基酸為 Gly， Ala，Val，Leu，Ile，Phe，Trp，Tyr，Asp，His，Asn，Glu，Lys，Gln，Met，Arg，Ser，Thr，Cys 或 Pro；

優選地，任基酸為 Gln；

更優選地，胺基酸為 Gln 或 Glu。

【0037】本發明進一步實施方式中，所述的 n 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

n1 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

n2 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t1 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t2 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t3 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t4 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t5 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t6 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t7 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t8 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t9 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

m 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m1 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m2 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m3 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m4 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m5 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m6 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m7 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m8 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m9 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m10 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m11 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m12 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m13 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m14 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m15 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m16 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m17 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

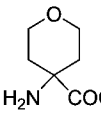
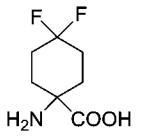
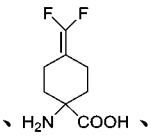
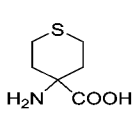
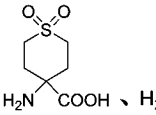
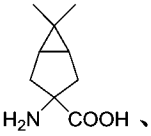
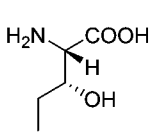
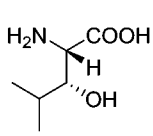
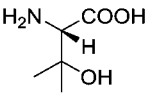
m18 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

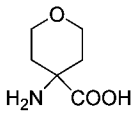
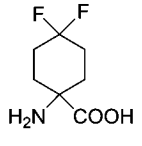
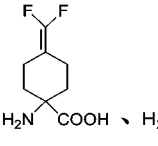
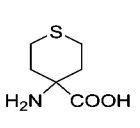
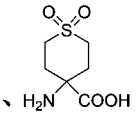
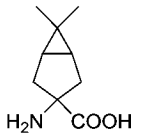
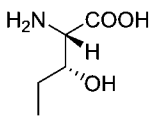
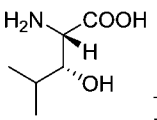
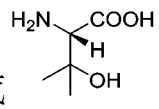
m19 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m20 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m21 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24。

m22 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24。

【0038】本發明優選地實施方案中，所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其特徵在於，胺基酸為 Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Phe、Trp、Tyr、Asp、His、Asn、Glu、Lys、Gln、Met、Arg、Ser、Thr、Cys、Pro、、、、、、、、或；

優選地，胺基酸為 Glu、Thr、、、、、、、、或。

【0039】本發明還提供製備上述化合物、其立體異構體或其藥學上可接受的鹽的方法，其特徵在於，基於固相或液相合成；

優選地，所述合成方法包括：

1）基於固相合成方法，合成樹脂肽；

2）將步驟 1）得到的樹脂肽進行切割，得到多肽中間體；

3）多肽中間體與側鏈進行縮合反應；

4）將步驟 3）得到的肽段脫除保護基後，成環得到終產物；

進一步優選地，所述合成方法包括：

1）基於 Fmoc 方法的固相合成方法，合成樹脂肽，乙酸酐封端；

2）將步驟 1）得到的樹脂肽進行切割，得到多肽中間體；

3）多肽中間體與側鏈採用偶聯劑進行縮合反應；

4）將步驟 3）得到的肽段脫除保護基後，通過二硫鍵氧化成環得到終產物。

【0040】本發明進一步涉及一種藥物組合物，其包括治療有效劑量的所述化合物、其立體異構體或其藥學上可接受的鹽以及一種或多種藥學上可接受的載體、稀釋劑或賦形劑。

【0041】在本發明的優選地實施方案中，所述藥物組合物選自片劑、膠囊劑、液體製劑或注射劑。

【0042】在本發明的優選地實施方案中，所述藥物組合物為速釋製劑或緩釋製劑。

【0043】在本發明的某些實施方案中，所述化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，可以通過任何便利的方法給予，例如，通過口服，腸胃外，口腔，舌下，鼻腔，直腸，鞘內或經皮給予，以及相應地調整的藥物組合物。

【0044】在本發明的某些實施方案中，所述化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，可以配製成液體或固體製劑，例如糖漿劑，混懸劑，乳劑，片劑，膠囊劑，粉劑，顆粒劑，或錠劑。

【0045】本發明進一步涉及所述化合物、其立體異構體或其藥學上可接受的鹽，或其藥物組合物在製備 IL-23R 抑制劑藥物中的應用。本發明進一步涉及所述化合物、其立體異構體或其藥學上可接受的鹽，或其藥物組合物在製備治療炎症性、自身免疫疾病和癌症，如炎症性腸病(IBD)、潰瘍性結腸炎、克隆氏病、乳糜瀉(非熱帶性口炎性腹瀉)、與血清陰性關節病相關的腸病、顯微鏡下結腸炎、膠原性結腸炎、嗜酸性球性胃腸炎、與放射性療法或化學療法相關的結腸炎、與如白血球黏附缺乏症-1 的先天性免疫病症相關的結腸炎、慢性肉芽腫

病、1b 型肝糖貯積病、赫曼斯基-普拉克症候群、薛迪克-東氏症候群和韋-奧二氏症候群、在直腸結腸切除術和回腸肛管吻合術之後造成的結腸袋炎、胃腸癌、胰臟炎、胰島素依賴型糖尿病、乳房炎、膽囊炎、膽管炎、膽管周圍炎、慢性支氣管炎、慢性鼻竇炎、哮喘、牛皮癬、牛皮癬性關節炎、腸易激綜合症(IBS)、多發性硬化(MS)、銀屑病、銀屑病關節炎、類風濕性關節炎、尋常性天皰瘡、器官移植排斥、克隆病、系統性紅斑狼瘡(SLE)或糖尿病疾病藥物中的應用。

【0046】本發明進一步涉及所述化合物、其立體異構體或其藥學上可接受的鹽，或其藥物組合物在製備治療炎症性、自身免疫疾病和癌症，如炎症性腸病(IBD)、潰瘍性結腸炎、克隆氏病、乳糜瀉(非熱帶性口炎性腹瀉)、與血清陰性關節病相關的腸病、顯微鏡下結腸炎、膠原性結腸炎、嗜酸性球性胃腸炎、與放射性療法或化學療法相關的結腸炎、與如白血球黏附缺乏症-1 的先天性免疫病症相關的結腸炎、慢性肉芽腫病、1b 型肝糖貯積病、赫曼斯基-普拉克症候群、薛迪克-東氏症候群和韋-奧二氏症候群、在直腸結腸切除術和回腸肛管吻合術之後造成的結腸袋炎、胃腸癌、胰臟炎、胰島素依賴型糖尿病、乳房炎、膽囊炎、膽管炎、膽管周圍炎、慢性支氣管炎、慢性鼻竇炎、哮喘、牛皮癬、牛皮癬性關節炎、腸易激綜合症(IBS)、多發性硬化(MS)、銀屑病、銀屑病關節炎、類風濕性關節炎、尋常性天皰瘡、器官移植排斥、克隆病、系統性紅斑狼瘡(SLE)或糖尿病疾病疾病的方法。

【0047】本發明進一步涉及一種治療預防和/或治療預製備治療炎症性、自身免疫疾病和癌症，如炎症性腸病(IBD)、潰瘍性結腸炎、克隆氏病、乳糜瀉(非熱帶性口炎性腹瀉)、與血清陰性關節病相關的腸病、顯微鏡下結腸炎、膠原性結腸炎、嗜酸性球性胃腸炎、與放射性療法或化學療法相關的結腸炎、與如白血球黏附缺乏症-1 的先天性免疫病症相關的結腸炎、慢性肉芽腫病、1b 型肝糖貯積病、赫曼斯基-普拉克症候群、薛迪克-東氏症候群和韋-奧二氏症候群、在

直腸結腸切除術和回腸肛管吻合術之後造成的結腸袋炎、胃腸癌、胰臟炎、胰島素依賴型糖尿病、乳房炎、膽囊炎、膽管炎、膽管周圍炎、慢性支氣管炎、慢性鼻竇炎、哮喘、牛皮癬、牛皮癬性關節炎、腸易激綜合症(IBS)、多發性硬化(MS)、銀屑病、銀屑病關節炎、類風濕性關節炎、尋常性天皰瘡、器官移植排斥、克隆病、系統性紅斑狼瘡(SLE)或糖尿病疾病疾病的方法，其包括向患者施用治療有效劑量的所述化合物其立體異構體或其藥學上可接受的鹽，或其藥物組合物。

【0048】本發明還涉及治療哺乳動物中的炎症性、自身免疫疾病和癌症，如炎症性腸病(IBD)、潰瘍性結腸炎、克隆氏病、乳糜瀉(非熱帶性口炎性腹瀉)、與血清陰性關節病相關的腸病、顯微鏡下結腸炎、膠原性結腸炎、嗜酸性球性胃腸炎、與放射性療法或化學療法相關的結腸炎、與如白血球黏附缺乏症-1 的先天性免疫病症相關的結腸炎、慢性肉芽腫病、1b 型肝糖貯積病、赫曼斯基-普拉克症候群、薛迪克-東氏症候群和韋-奧二氏症候群、在直腸結腸切除術和回腸肛管吻合術之後造成的結腸袋炎、胃腸癌、胰臟炎、胰島素依賴型糖尿病、乳房炎、膽囊炎、膽管炎、膽管周圍炎、慢性支氣管炎、慢性鼻竇炎、哮喘、牛皮癬、牛皮癬性關節炎、腸易激綜合症(IBS)、多發性硬化(MS)、銀屑病、銀屑病關節炎、類風濕性關節炎、尋常性天皰瘡、器官移植排斥、克隆病、系統性紅斑狼瘡(SLE)或糖尿病等病症的方法，其包括向所述哺乳動物施用治療有效量的本發明的化合物或其藥學上可接受的鹽、酯、前藥、溶劑化物、水合物或衍生物。

【0049】在一些實施方案中，本方法涉及炎症性、自身免疫疾病和癌症，如炎症性腸病(IBD)、潰瘍性結腸炎、克隆氏病、乳糜瀉(非熱帶性口炎性腹瀉)、與血清陰性關節病相關的腸病、顯微鏡下結腸炎、膠原性結腸炎、嗜酸性球性胃腸炎、與放射性療法或化學療法相關的結腸炎、與如白血球黏附缺乏症-1 的

先天性免疫病症相關的結腸炎、慢性肉芽腫病、1b 型肝糖貯積病、赫曼斯基-普拉克症候群、薛迪克-東氏症候群和韋-奧二氏症候群、在直腸結腸切除術和回腸肛管吻合術之後造成的結腸袋炎、胃腸癌、胰臟炎、胰島素依賴型糖尿病、乳房炎、膽囊炎、膽管炎、膽管周圍炎、慢性支氣管炎、慢性鼻竇炎、哮喘、牛皮癬、牛皮癬性關節炎、腸易激綜合症(IBS)、多發性硬化(MS)、銀屑病、銀屑病關節炎、類風濕性關節炎、尋常性天皰瘡、器官移植排斥、克隆病、系統性紅斑狼瘡(SLE)或糖尿病；

優選炎症性腸病，關節炎或銀屑病。

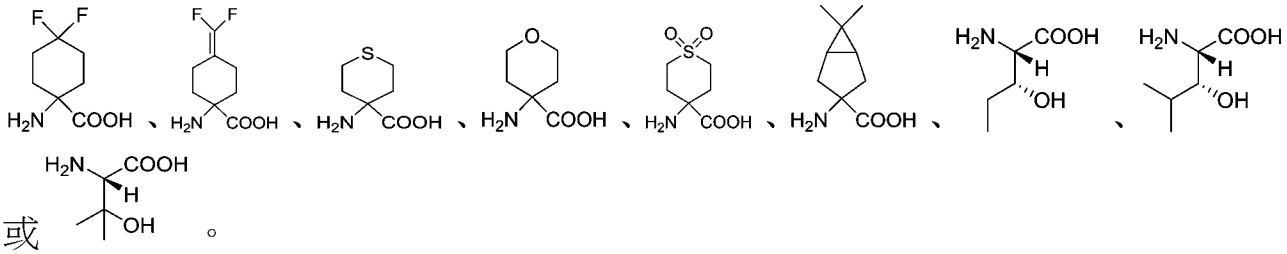
發明的詳細說明

【0050】除非本文中另外定義，否則本專利申請中所用的科學及技術術語應具有一般本發明所屬技術領域具有通常知識者通常所理解的含義。一般而言，本文所述的與化學、分子生物學、細胞及癌症生物學、免疫學、微生物學、藥理學及蛋白質及核酸化學結合使用的命名法及此類學科的技術為本領域所熟知且常用的命名法及技術。

【0051】術語「肽」廣泛地是指通過肽鍵接合在一起的兩個或更多個胺基酸的序列。應理解，此術語不暗指胺基酸聚合物的特定長度，還不意欲暗示或區分使用重組技術、化學或酶促合成產生的多肽或天然存在的多肽。術語肽包括環肽。

【0052】術語「胺基酸」指任何及所有胺基酸及其殘基，包括天然存在的胺基酸(例如，a-胺基酸)、非天然胺基酸、經修飾胺基酸、合成的胺基酸或罕見的胺基酸，其包括 D-胺基酸及 L-胺基酸兩者。天然胺基酸包括自然界中發現的胺基酸，諸如組合至肽鏈中以形成大量蛋白質的構造組塊的 23 個胺基酸。這些立體異構體主要為 L 立體異構體，但細菌包膜及一些抗生素中存在一些 D-胺基酸。20 個「標準」天然胺基酸為丙胺酸(Ala)；精胺酸(Arg)；天冬醯胺酸(Asn)；

天冬胺酸(Asp)；半胱胺酸(Cys)；麩醯胺酸(Gln)；麩胺酸(Glu)；甘胺酸(Gly)；組胺酸(His)；異白胺酸(Ile)；白胺酸(Leu)；離胺酸(Lys)；甲硫胺酸(Met)；苯丙胺酸(Phe)；脯胺酸(Pro)；絲胺酸(Ser)；蘇胺酸(Thr)；色胺酸(Trp)；酪胺酸(Tyr)；和纈胺酸(Val)。「非標準」天然胺基酸為吡咯離胺酸(發現於甲烷類生物體及其他真核生物中)、硒半胱胺酸(存在於許多非真核生物以及大多數真核生物中)及N-甲醯甲硫胺酸(由細菌、粒線體及葉綠體中的起始密碼子 AUG 編碼)。「非天然」或「非天然胺基酸」為天然存在或化學合成的非蛋白型胺基酸(即，非天然編碼或發現於遺傳密碼中的胺基酸)。已知超過 140 個非天然胺基酸且可能有成千上萬個組合。「非天然」胺基酸的示例包括 β-胺基酸(β^3 及 β^2)、高胺基酸、脯胺酸衍生物及丙酮酸衍生物、3 取代的丙胺酸衍生物、甘胺酸衍生物、環取代的苯丙胺酸及酪胺酸衍生物、線性核胺基酸、二胺基酸、D-二胺基酸、α-甲基胺基酸及 N-甲基胺基酸。非天然或非天然胺基酸還包括經修飾的胺基酸。「經修飾」胺基酸包括已經化學修飾以包括非天然存在於胺基酸上的基團或化學部分的胺基酸(例如天然胺基酸)。優選地，本發明所述的非天然胺基酸包括但不限於，



或 。

【0053】術語「烷基」指飽和脂肪族烴基團，其為包含 1 至 20 個碳原子的直鏈或支鏈基團，優選含有 1 至 8 個碳原子的烷基，更優選 1 至 6 個碳原子的烷基，最優選 1 至 3 個碳原子的烷基。非限制性實例包括甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、三級丁基、二級丁基、正戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1,1,2-三甲基丙基、1,1-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、2,2-

二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2,3-二甲基丁基、正庚基、2-甲基己基、3-甲基己基、4-甲基己基、5-甲基己基、2,3-二甲基戊基、2,4-二甲基戊基、2,2-二甲基戊基、3,3-二甲基戊基、2-乙基戊基、3-乙基戊基、正辛基、2,3-二甲基己基、2,4-二甲基己基、2,5-二甲基己基、2,2-二甲基己基、3,3-二甲基己基、4,4-二甲基己基、2-乙基己基、3-乙基己基、4-乙基己基、2-甲基-2-乙基戊基、2-甲基-3-乙基戊基、正壬基、2-甲基-2-乙基己基、2-甲基-3-乙基己基、2,2-二乙基戊基、正癸基、3,3-二乙基己基、2,2-二乙基己基，及其各種支鏈異構體等。更優選的是含有 1 至 6 個碳原子的低級烷基，非限制性實施例包括甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、三級丁基、二級丁基、正戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1,1,2-三甲基丙基、1,1-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2,3-二甲基丁基等。

【0054】本發明所述的氫原子均可被其同位素氘所取代，本發明涉及的實施例化合物中的任一氫原子也均可被氘原子取代。

「羥基」指-OH 基團。

「THF」指四氫呋喃。

「MeOH」指甲醇。

「DMF」指 *N*,*N*-二甲基甲醯胺。

「TFA」指三氟乙酸。

「TEA」指三乙胺。

「MeI」指碘甲烷。

「DMA」指 *N*,*N*-二甲基乙醯胺。

「Et_2O」指乙醚。

「DCM」指二氯甲烷。

「DMAP」指 4-二甲胺基吡啶。

「DCC」指二環己基碳二亞胺。

「DCE」指 1,2 二氯乙烷。

「DIEA」指 *N*,*N*-二異丙基乙胺。

「NBS」指 *N*-溴代琥珀醯亞胺。

「NIS」指 *N*-碘代丁二醯亞胺。

「Cbz-Cl」指氯甲酸苄酯。

「$Pd_2(dba)_3$」指三(二亞苄基丙酮)二鈀。

「Dppf」指 1,1'-雙二苯基膦二茂鐵。

「HATU」指 2-(7-氧化苯並三氮唑)-*N*,*N*,*N*',*N*'-四甲基脲六氟磷酸酯。

「KHMDS」指六甲基二矽基胺基鉀。

「LiHMDS」指雙三甲基矽基胺基鋰。

「MeLi」指甲基鋰。

「n-BuLi」指正丁基鋰。

「$NaBH(OAc)_3$」指三乙醯氧基硼氫化鈉。

【0055】「藥物組合物」表示含有一種或多種本文所述化合物或其生理學上/可藥用的鹽或前體藥物與其他化學組分的混合物，以及其他組分例如生理學/可藥用的載體和賦形劑。藥物組合物的目的是促進對生物體的給藥，利於活性成分的吸收進而發揮生物活性。

【0056】「可藥用鹽」是指本發明化合物的鹽，這類鹽用於哺乳動物體內時具有安全性和有效性，且具有應有的生物活性。

【圖式簡單說明】

【0057】無

【實施方式】

【0058】以下結合實施例進一步描述本發明，但這些實施例並非限制著本發明的範圍。

【0059】實施例

【0060】本發明的化合物結構是通過核磁共振 (NMR) 或/和液質聯用色譜 (LC-MS)來確定的。NMR 化學位移(δ)以百萬分之一 (ppm) 的單位給出。NMR 的測定是用 Bruker AVANCE-400 核磁儀，測定溶劑為氘代二甲基亞碸 (DMSO-d_6)，氘代甲醇 (CD_3OD) ，氘代氯仿 ($CDCl_3$) 或氘水（D_2O），內標為四甲基矽烷 (TMS)。

【0061】液質聯用色譜 LC-MS 的測定用電噴霧離子色譜：Thermo.Scientific-LTQ-XL，HPLC 的測定使用 Agilent 1260 高壓液相色譜儀（Phenomenex Gemini C18，4.6×150mm，5μm 色譜柱）。薄層層析矽膠板使用煙臺黃海 HSGF254 或青島 GF254 矽膠板，TLC 採用的規格是 0.15 mm～0.20 mm，薄層層析分離純化產品採用的規格是 0.4 mm～0.5 mm。柱層析一般使用煙臺黃海矽膠 200～300 目矽膠為載體。

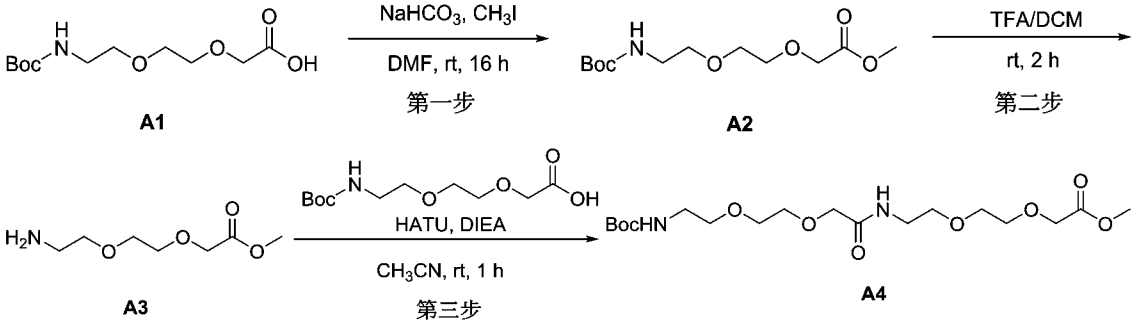
【0062】本發明實施例中的起始原料是已知的並且可以在市場上買到，或者可以採用或按照本領域已知的方法來合成。

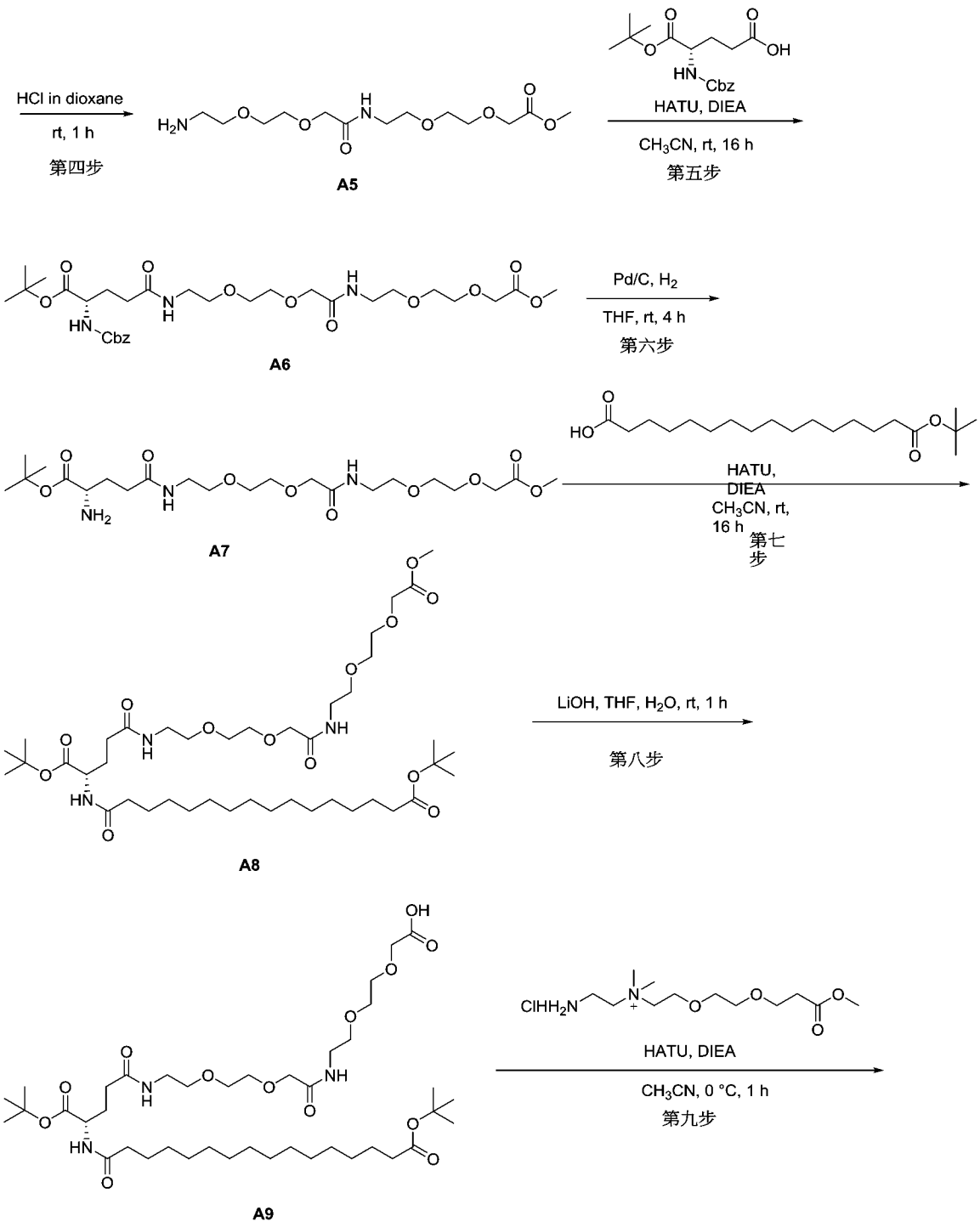
【0063】在無特殊說明的情況下，本發明的所有反應均在連續的磁力攪拌下，在乾燥氮氣或氬氣氛下進行，溶劑為乾燥溶劑，反應溫度單位為攝氏度。

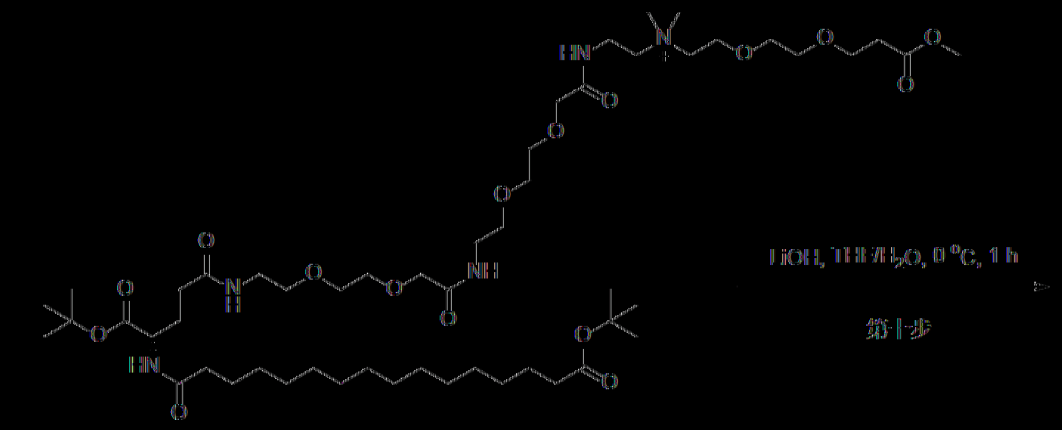
【0064】中間體及實施例中純化化合物採用的矽膠柱色譜法的洗脫劑的體系和薄層色譜法的展開劑體系包括：A：二氯甲烷和甲醇體系，B：正己烷和乙

酸乙酯體系，C：二氯甲烷和丙酮體系，溶劑的體積比根據化合物的極性不同而進行調節，也可以加入少量的三乙胺和醋酸等鹼性或酸性試劑進行調節。

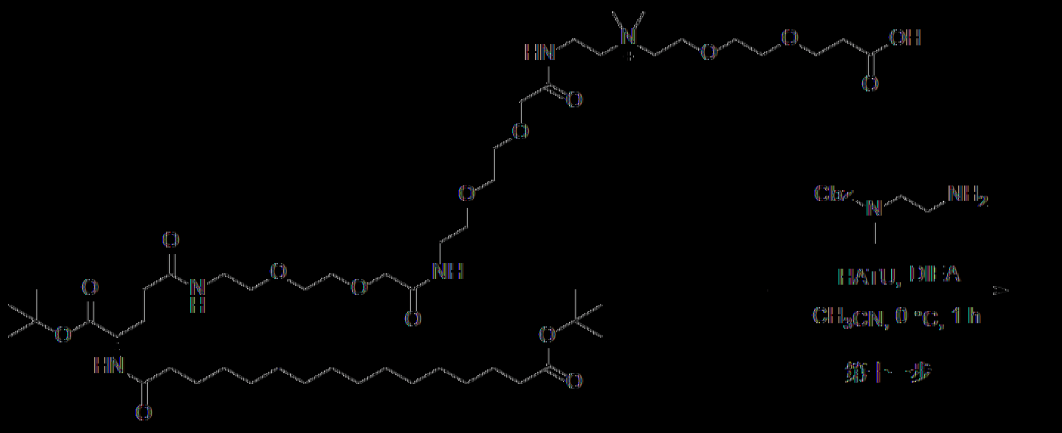
【0065】中間體 A



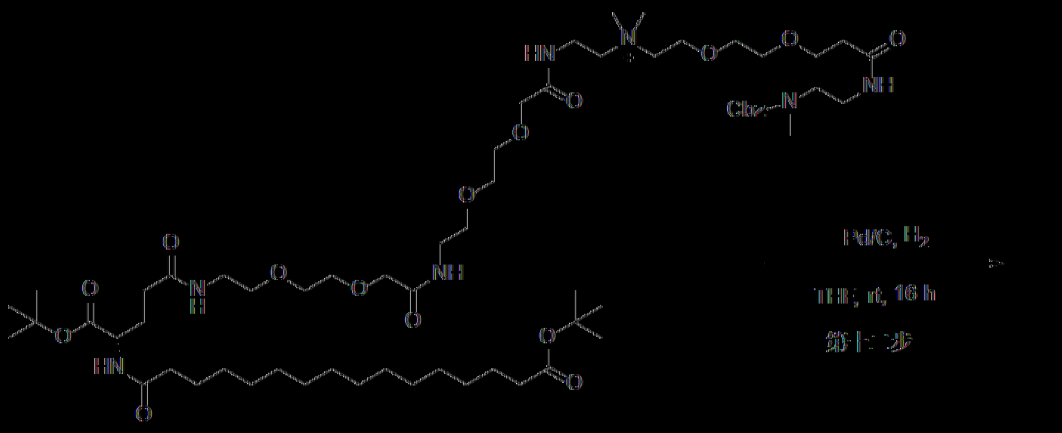

HCl in dioxane
rt, 1 h
第四步
A5
HATU, DIEA
CH3CN, rt, 16 h
第五步
Pd/C, H2
THF, rt, 4 h
第六步
A6
A7
HATU, DIEA
CH3CN, rt, 16 h
第七步
LiOH, THF, H2O, rt, 1 h
第八步
A8
HATU, DIEA
CH3CN, 0 °C, 1 h
第九步
A9



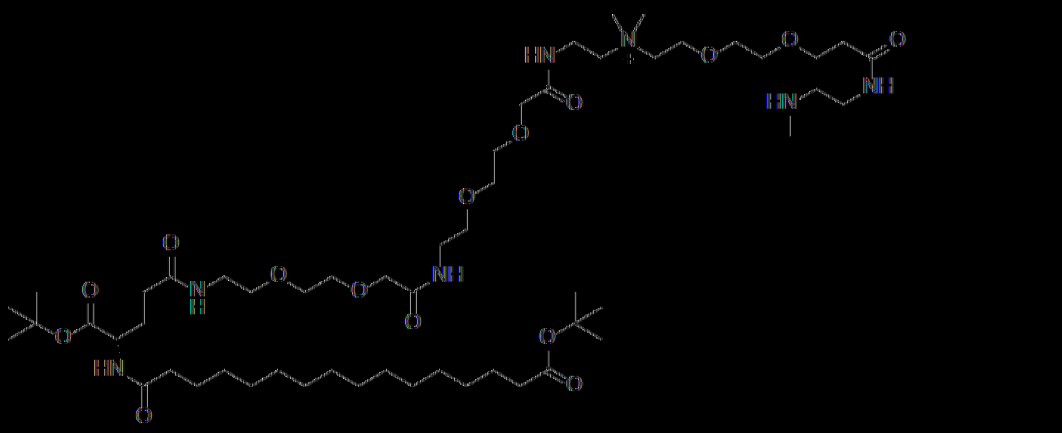
A10



A11



A12



中間體A

【0066】第一步

在室溫下，向化合物 A1 (50 g, 0.19 mol)的 DMF (350 mL) 中的溶液中加入 $NaHCO_3$ (79.8 g，0.95 mol）和 MeI（80.9 g，0.57 mol）。將混合物在 30 °C 下攪拌 16 小時，然後用水稀釋並用乙酸乙酯萃取。 合併的有機層用飽和食鹽水洗滌，經 Na_2SO_4 乾燥後過濾，濃縮濾液得到化合物 A2（55 g），該粗產物可直接用於下步反應中。

LC/MS：$[M+H]^+$ -100= 178.0。

【0067】第二步

將化合物 A2 (10 g，36.06 mmol)溶於 TFA/DCM (v:v=1:2, 100 mL)中，在室溫下攪拌 2 小時。反應液濃縮後得化合物 A3（10 g），該粗產物可直接用於下步反應中。

LC/MS：$[M+H]^+$ = 178.1。

【0068】第三步

在 0 °C 下，向化合物 A1 (9.5 g, 36 mmol)的 CH_3CN (250 mL)溶液中加入化合物 A3 (6.4 g, 36 mmol)、DIEA (23.3 g, 180 mmol)和 HATU (13.6 g, 36 mmol)，反應液在室溫下攪拌 1 小時，用水稀釋後經乙酸乙酯萃取三次。合併的有機層用飽和食鹽水洗滌，經 Na_2SO_4 乾燥後過濾。濃縮濾液，殘餘物經矽膠柱色譜純化(0%-5%，MeOH/DCM)得到化合物 A4（15 g），產率：98.7%。

LC/MS：$[M+H]^+$-100= 323.2。

【0069】第四步

將化合物 A4 (9.1 g，21.54 mmol)溶於 HCl/dioxane (4N，100 mL)中，在室溫下攪拌 1 小時。反應液濃縮後得化合物 A5（7 g），該粗產物可直接用於下步反應中。

LC/MS：$[M+H]^+$ = 323.4。

【0070】第五步

在 0 °C 下，向(S)-4-(((苄氧基)羰基)胺基)-5-(三級丁氧基)-5-氧代戊酸 (7.2 g, 21.34 mmol)的 CH_3CN(80 mL)溶液中加入化合物 A5 (6.88 g, 21.34 mmol)、DIEA (13.79 g, 106.71 mmol)和 HATU (8.05 g, 21.34 mmol)，反應液在室溫下攪拌 16 小時。混合物用食鹽水稀釋後用乙酸乙酯萃取三次。合併的有機層用飽和食鹽水洗滌，經 Na_2SO_4 乾燥後過濾。濾液濃縮，殘餘物經矽膠柱色譜純化(0%-5%，MeOH/DCM)得到化合物 A6（7 g），產率：51.1%。

LC/MS：$[M+H]^+$= 642.6。

【0071】第六步

在室溫下向化合物 A6 (7 g, 10.91 mmol) 的 THF (150 mL) 溶液中加入 10% Pd/C (700 mg)，混合物在氫氣氛圍下（1.5 個大氣壓）室溫攪拌 16 小時。 反應液經矽藻土過濾，濾液減壓濃縮得到化合物 A7（5.07 g），產率：91.6%。

LC/MS：$[M+H]^+$= 508.4。

【0072】第七步

在 0 °C 下，向十六烷二酸單三級丁酯 (4.45 g, 12.99 mmol)的 CH_3CN (80 mL) 溶液中加入化合物 A7 (5.07 g, 10 mmol)、DIEA (6.45 g, 50 mmol)和 HATU (4.45 g, 13 mmol)，反應液在室溫下攪拌 16 小時後用食鹽水稀釋，再用 EtOAc 萃取三次。合併的有機層用飽和食鹽水洗滌，經 Na_2SO_4 乾燥後過濾。濃縮濾液，殘餘物經矽膠柱色譜純化(0%-5%，MeOH/DCM)得到化合物 A8（7.7 g），產率：92.6%。

LC/MS：$[M+H]^+$= 832.7；

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 4.24 (dd, *J* = 9.1, 5.1 Hz, 1H), 4.16 (s, 2H), 4.00 (s, 2H), 3.73 (s, 3H), 3.69 (dt, *J* = 5.3, 2.7 Hz, 4H), 3.66 – 3.62 (m, 4H), 3.56 (dt, *J* = 8.4, 5.5 Hz, 4H), 3.44 (t, *J* = 5.4 Hz, 2H), 3.37 (t, *J* = 5.5 Hz, 2H), 2.29 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H),

2.25 – 2.16 (m, 4H), 2.10 (qd, *J* = 7.6, 5.3 Hz, 1H), 1.89 (dt, *J* = 16.5, 7.5 Hz, 1H), 1.64 – 1.52 (m, 4H), 1.45 (d, *J* = 9.1 Hz, 18H), 1.29 (s, 20H)。

【0073】第八步

在 0 °C 下，向化合物 A8（4 g，4.81 mmol）的 THF（40 mL）溶液中加 LiOH（0.23 g，9.61 mmol）的水（10 mL）溶液，在此溫度下反應 1 小時。向反應液中加 1N HCl 調節 pH=4，水相用 EtOAc 萃取三次。合併的有機層用飽和食鹽水洗滌，經 Na_2SO_4 乾燥後過濾。減壓濃縮濾液得化合物 A9（4 g），該粗產物可直接用於下步反應中。

LC/MS：$[M+H]^+$= 818.7。

【0074】第九步

在 0 °C 下，向化合物 A9 (3.5 g, 4.28 mmol)的 CH_3CN (40 mL)溶液中依次加入 DIEA (3.32 g, 25.67 mmol)、HATU (1.94 g, 5.13 mmol)和 2-胺基-N-(2-(2-(3-甲氧基-3-氧代丙氧基)乙氧基)乙基)-*N*,*N*-二甲基乙烷-1-銨的鹽酸鹽(1.92 g, 6.42 mmol)，然後將溶液在 0°C 下攪拌 1 小時。混合物經減壓濃縮，殘餘物經反向柱層析色譜純化(5%-40%，40%-70%，CH_3CN/0.03%TFA/water)得到化合物 A10（為 TFA 鹽，2.16 g），產率：43.7%。

LC/MS：$[M]^+$= 1062.8。

【0075】第十步

在 0 °C 下，向化合物 A10（2 g，1.88 mmol）的 THF（20 mL）溶液中加入 LiOH 水溶液（135 mg，5.64 mmol，10 mL），在此溫度下反應 1 小時。反應液濃縮除去 THF，向殘餘物中滴加 1N HCl 調節 pH=7，混合物經反向柱層析色譜純化(5%-40%，40%-70%，CH_3CN/0.03%TFA/water)得到化合物 A11（為 TFA 鹽，0.7 g），產率：35.5%。

LC/MS：$[M]^+$= 1048.8。

【0076】第十一步

在 0 °C 下，向化合物 A11 (0.7 g, 0.67 mmol)的 CH_3CN (10 mL)溶液中依次加入 DIEA (517 mg, 4.0 mmol)、HATU (302 mg, 0.8 mmol)和 2-胺基-N-(2-(2-(3-甲氧基-3-氧代丙氧基)乙氧基)乙基)-*N*,*N*-二甲基乙烷-1-銨的鹽酸鹽(208 mg, 1.0 mmol)，然後將溶液在 0 °C 下攪拌 1 小時。混合物減壓濃縮，殘餘物經反向柱層析色譜純化(5%-40%，40%-70%，CH_3CN/0.03%TFA/water)得到化合物 A12（為 TFA 鹽，820 mg），產率：99.2%。

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$= 620.4。

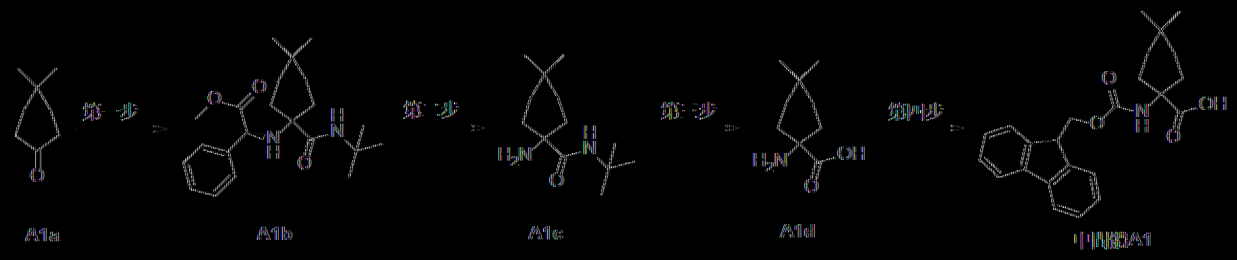
【0077】第十二步

在室溫下向化合物A12 (700 mg, 0.56 mmol) 的 THF (20 mL) 溶液中加入 10% Pd/C (70 mg)，反應在氫氣氛圍下（1.5 個大氣壓）室溫下攪拌 16 小時。 反應液經矽藻土過濾，濾液減壓濃縮，殘餘物經反向柱層析色譜純化(5%-40%，40%-70%，CH_3CN/0.03%TFA/water)得到化合物中間體 A（為 TFA 鹽，600 mg），產率：95.1%。

LC/MS：$[M]^+$= 1104.7。

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 4.24 (dd, *J* = 9.2, 5.2 Hz, 1H), 4.02 (d, *J* = 14.0 Hz, 4H), 3.94 (s, 2H), 3.74 (q, *J* = 6.1 Hz, 4H), 3.71 – 3.63 (m, 14H), 3.61 – 3.54 (m, 6H), 3.48 (dt, *J* = 10.6, 5.6 Hz, 4H), 3.40 – 3.35 (m, 2H), 3.22 (s, 6H), 3.13 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 2.73 (s, 3H), 2.51 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 2.29 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 2.26 – 2.17 (m, 4H), 2.11 (ddd, *J* = 15.6, 10.3, 6.6 Hz, 1H), 1.95 – 1.82 (m, 1H), 1.59 (dt, *J* = 22.3, 7.1 Hz, 4H), 1.45 (d, *J* = 9.0 Hz, 18H), 1.29 (s, 20H)。

【0078】中間體 A1



[0079] 第一步

將L-苯甘胺酸（3.35 g, 40.26 mmol）溶於甲醇（150 mL），冷卻至-78 °C，依次滴加6,6-二甲基雙環[3.1.0]己烷-3-酮 A1a（CAS: 13855-29-3, 5.0 g, 40.26 mmol）的甲醇溶液（20 mL）和異氰酸三級丁酯的甲醇溶液（20 mL），逐漸升至室溫反應24小時。反應液濃縮後溶於200 mL乙醚打漿，過濾掉不溶物，濾液濃縮後殘餘物用矽膠柱層析（EA/PE體系梯度洗脫）得化合物(2S)-2-((3-(三級丁基胺基)甲醯基)-6,6-二甲基雙環[3.1.0]己烷-3-基)胺基)-2-苯基乙酸甲酯 A1b (10.5 g)，產率：70.0%。

LC/MS: [M+H]+ 373.3。

[0080] 第二步

將(2S)-2-((3-(三級丁基胺基)甲醯基)-6,6-二甲基雙環[3.1.0]己烷-3-基)胺基)-2-苯基乙酸甲酯 A1b (10.0 g, 26.84 mmol)和氫氧化鈉（1.13 g, 8.05 mmol）溶於甲醇（200 mL），氮氣置換三次，保持氮氣氛圍，室溫反應16小時。反應液用矽藻土過濾，濾液濃縮後溶於乙醚（150 mL），用2N稀鹽酸（50 mL）萃取兩次，合併水相，用碳酸鉀固體調節pH至8，乙醚（100 mL）萃取兩次，減壓濃縮得3-胺基-N-(三級丁基)-6,6-二甲基雙環[3.1.0]己烷-3-甲醯胺 A1c (4.9 g)，產率：81.4%。

LC/MS: [M+H]+ 225.2。

[0081] 第三步

將 3-胺基-N-(三級丁基)-6,6-二甲基雙環[3.1.0]己烷-3-甲醯胺 A1c (4.9 g, 21.84 mmol)溶於 6N 鹽酸（50 mL），回流反應 16 小時。反應液冷至室溫，用乙醚萃取洗滌，收集水相，減壓濃縮得 3-胺基-6,6-二甲基雙環[3.1.0]己烷-3-羧酸 A1d（鹽酸鹽，4.4 g），產率：98%。

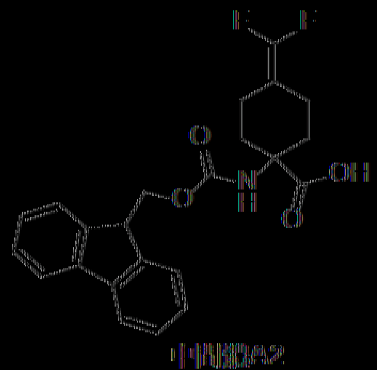
LC/MS: $[M+H]^+$=170.1。

[0082] 第四步

將 3-胺基-6,6-二甲基雙環[3.1.0]己烷-3-羧酸 A1d(鹽酸鹽，4.4 g，21.39 mmol）溶於碳酸氫鈉溶液（100 mL），加入 9-芴甲基-N-琥珀醯亞胺基碳酸酯（10.79 g，32.09 mmol）的二氧六環溶液（80 mL），室溫反應 1 小時。反應液用乙酸乙酯（100 mL）萃取兩次，合併有機相後，用水洗滌。水相用 2N 稀鹽酸調節 pH 至 2，再次用乙酸乙酯（50 mL）萃取兩次。合併有機相，無水硫酸鈉乾燥，過濾，濾液濃縮後殘餘物用矽膠柱層析（MeOH/DCM 體系梯度洗脫）得中間體 A1 3-(((9*H*-芴-9-基)甲氧基)羰基)胺基)-6,6-二甲基雙環[3.1.0]己烷-3-羧酸 (5.6 g)，產率：66.9%。

LC/MS: $[M-H]^-$=390.2。

[0083] 中間體 A2

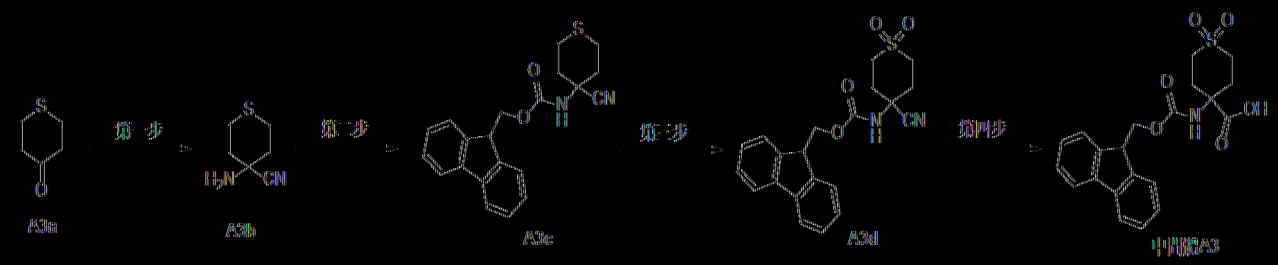


中間體A2

參考中間體 A1 的合成方法，經 4-(二氟甲基)環己酮(CAS: 137780-61-1)及後續類似實驗操作，得中間體 A2 1-((((9*H*-芴-9-基)甲氧基)羰基)胺基)-4-(二氟甲基)環己烷-1-甲酸。

LC/MS: [M+H]+: 412.1。

[0084] 中間體 A3



[0085] 第一步

在 0 °C 下，向四氫噻喃 4-酮 A3a (50 g, 431.0 mmol)的甲醇溶液(30 mL)中加入氨的甲醇溶液(7M，300 mL)，保持 0°C 攪拌 3 h。然後滴加二甲基氯矽烷 (44.9 g，452.6 mmol)，滴畢，逐漸升至室溫攪拌 1.5 h。反應液濃縮得淺棕色油狀物，0 °C 下使用石油醚(300 mL)打漿，有固體析出。過濾後乾燥，得 4-胺基四氫噻喃 4-甲腈 A3b (61.5 g)，無需進一步純化直接投入下步反應。

LC/MS: [M+H]+: 143.1。

[0086] 第二步

將 A3b (61.5 g，433.0 mmol)溶於二氧六環(300 mL)和水(300 mL)的混合溶液中，加入碳酸鈉(55.1 g，519.7 mmol)。將氯甲酸 9-芴基甲酯(117.6 g，454.7mmol)的二氧六環 (100 mL)溶液，在 0°C 下滴入反應液中，轉至室溫攪拌 1 h。反應液加水(400mL)打漿，過濾得白色固體，所得固體用石油醚(300mL)打漿，過濾乾燥得(9*H*-芴-9-基)甲基(4-氰基四氫-2*H*-噻喃-4-基)胺基甲酸酯 A3c (124 g)，產率：79%。

LC/MS: [M+H]+: 365.2。

[0087] 第三步

將(9*H*-芴-9-基)甲基(4-氰基四氫-2*H*-噻喃-4-基)胺基甲酸酯 A3c (50.0 g, 137.4 mmol)溶於二氯甲烷(150 mL)，0 °C 下分批加入 85%的間氯過氧苯甲酸(83.7 g，

412.1 mmol)，逐漸升至室溫攪拌過夜。反應液過濾，濾餅用二氯甲烷/甲醇=10:1(800 mL)溶清後，用飽和碳酸氫鈉溶液洗(300 mL*4)。有機相乾燥後濃縮得(9*H*-芴-9-基)甲基(4-氰基-1,1-二氧四氫-2*H*-噻喃-4-基）胺基甲酸酯 A3d (38.1 g)，產率：28.2%。

LC/MS: $[M+H]^+$=396.2。

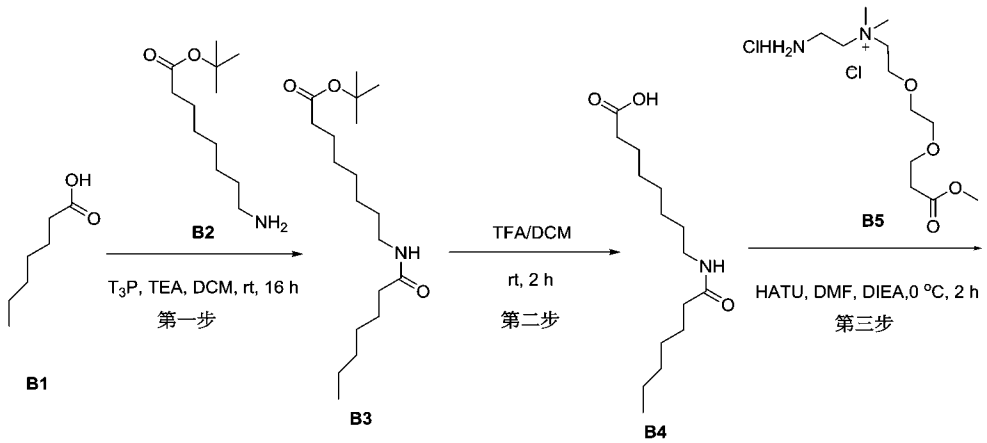
【0088】第四步

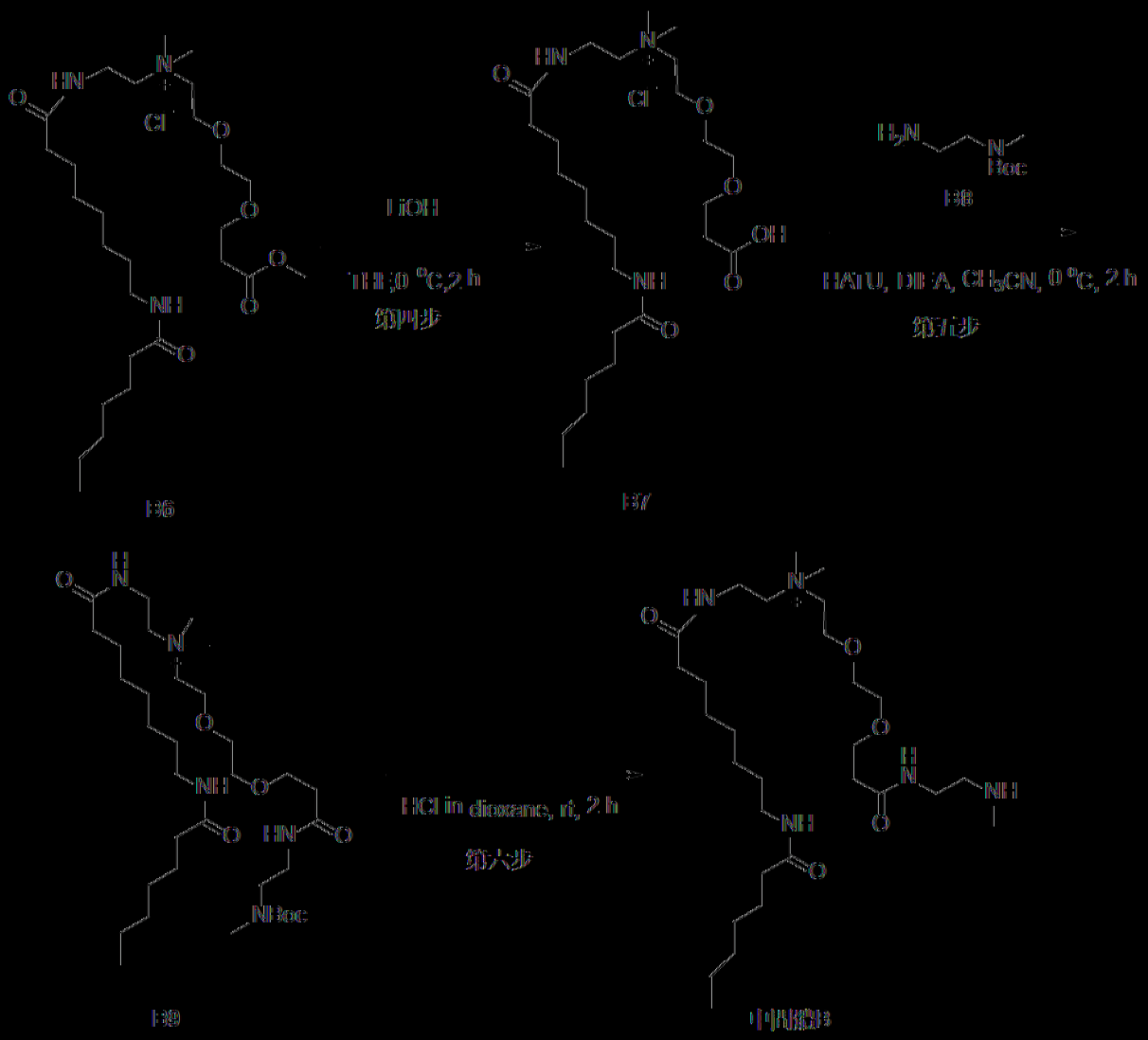
將 A3d (38.1 g，96.2 mmol)溶於 4N 的鹽酸二氧六環溶液(300 mL)，再加入濃鹽酸(400mL)，90 °C 下攪拌 30 h。反應液中濃縮至 200 mL，加水(400 mL)打漿有固體析出，過濾所得固體用乙酸乙酯(200 mL)打漿，過濾乾燥所得固體即為【0089】中間體 A3 (12.77 g，純度：97.80 %)。

LC/MS: $[M+H]^+$= 416.2;

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.91 (d, 3H),7.72 (d, 2H), 7.43 (t, 2H), 7.35 (td, 2H), 4.35 (d, 2H), 4.25 (t, 1H), 3.09 (s, 4H), 2.46 (s, 2H), 2.29 (s, 2H).

【0090】中間體 B





[0091] 第一步

在室溫下，向化合物 B1 (2.1 g，16.13 mmol)的 DCM (21 mL)的溶液中加入化合物 B2 (3.5 g, 16.25 mmol)和 TEA (4.93 g，48.72 mmol)。再在冰浴下加入 T_3P (50%，20.69 g，32.51 mmol)。混合物在室溫下攪拌 16 小時後，濃縮加入乙酸乙酯和水，水相繼續用乙酸乙酯萃取兩次。合併的有機相用 1M HCl 洗滌，再用飽和 $NaHCO_3$ 溶液洗滌，經 Na_2SO_4 乾燥後過濾，濃縮濾液得到化合物 B3 (5 g)，產率：94.6%。該粗產物可直接用於下一步反應中。

LC/MS：[M+H]+ = 272.2。

[0092] 第二步

將化合物 B3 (5 g，15.27 mmol)溶於 TFA/DCM (v:v=1:1, 50 mL) 的溶液中，在室溫下攪拌 2 小時。反應液濃縮後用適量的 DCM 溶解後再濃縮，重複 3 次，乾燥並濃縮 DCM 後得到化合物 B4 (2.7 g)，產率：65.2%。該粗產物可直接用於下一步反應中。

LC/MS：$[M+H]^+$=272.2。

【0093】第三步

在室溫下，向化合物 B4 (2.7 g，9.95 mmol)的 DMF (30 mL)的溶液中加入化合物 B5 (4.47 g，14.92 mmol)。冰浴下冷卻後，向上述溶液中加入 HATU (4.54 g，11.94 mmol)和 DIEA(7.71 g，59.69 mmol)。將混合物在 0°C 下攪拌 2 小時，然後濃縮，向殘餘物中加入適量 CH_3CN 溶解，經反向柱層析色譜純化(5%-40%，40%-70%，CH_3CN/0.03%TFA/water)得到化合物 B6 (1.5 g)，產率：29.4%。

LC/MS：$[M]^+$=516.4。

【0094】第四步

在冰浴下，向化合物 B6 (1.5 g，2.9 mmol)的 THF(15 mL)溶液中加入 LiOH (244 mg，5.8 mmol)，在 0°C 下攪拌 2 小時。反應液用 1 M HCl 調節 pH 至中性後濃縮，殘餘物用適量的 CH_3CN 溶解，經反向柱層析色譜純化(5%-40%，40%-70%，CH_3CN/0.03%TFA/water)得到化合物 B7 (1.3 g)，產率：89.6%。

LC/MS：$[M]^+$=502.4。

【0095】第五步

室溫下，向化合物 B7 (1.1 g，2.2 mmol)的 CH_3CN (10 mL)溶液中加入化合物 B8 (763 mg，4.4 mmol)。冰浴下冷卻後加入 HATU (1.0 g，2.6 mmol)和 DIEA(1.41 g，10.9 mmol)。混合物在 0 °C 下攪拌 2 小時後濃縮，殘餘物中加入適量 CH_3CN 溶解，經反向柱層析色譜純化(5%-40%，40%-70%，CH_3CN/0.03%TFA/water)得到化合物 B9 (1.3 g)，產率：89.8%。

LC/MS：[M]+：658.6。

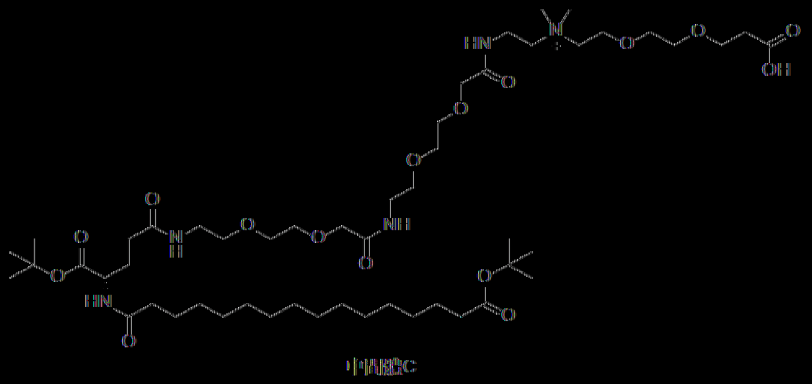
[0096] 第六步

將化合物 B9 (1.3 g，1.97 mmol)溶於 HCl/dioxane (4N，100 mL)中，在室溫下攪拌 2 小時。反應液濃縮後得到化合物中間體 B (為鹽酸鹽，1.08 g)，產率：98.2%。

LC/MS：[M]+：558.6;

^{1}H NMR (400 MHz, MeOD) δ 3.94 (s, 2H), 3.76 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 3.66 (t, *J* = 4.5 Hz, 8H), 3.52 (dd, *J* = 12.9, 6.7 Hz, 4H), 3.27 – 3.07 (m, 10H), 2.73 (s, 3H), 2.52 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.23 (td, *J* = 17.6, 3.8 Hz, 4H), 1.61 (s, 4H), 1.50 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H), 1.33 (d, *J* = 9.9 Hz, 12H), 0.91 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H)。

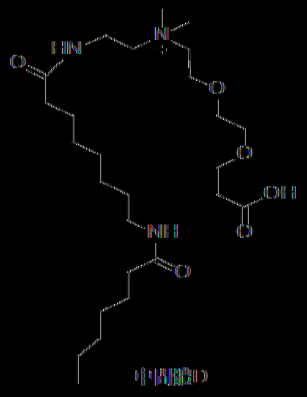
[0097] 中間體 C



中間體C

參考 WO 2021/127460 的製備方法合成中間體 C。

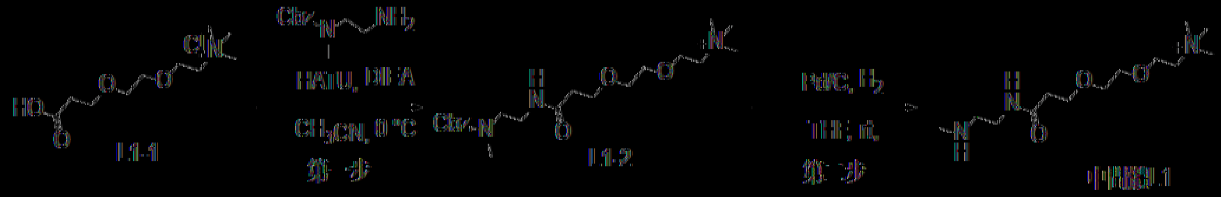
[0098] 中間體 D



中間體D

參考 WO 2021/041770 的製備方法合成中間體 D。

[0099] 中間體 L1



[0100] 第一步

在 0 °C 下，向化合物 L1-1 (0.9 g, 3.52 mmol)的 CH_3CN (25 mL)溶液中依次加入 DIEA (2.73 g, 21.1 mmol)、HATU (1.61 g, 4.22 mmol)和 *N*-Cbz-*N*-甲基乙二胺(鹽酸鹽，1.29 g, 5.28 mmol)，然後將溶液在 0 °C 下攪拌 1 小時。混合物減壓濃縮，殘餘物經反向柱析析色譜純化(CH_3CN/0.03%TFA/water，0~100%梯度洗脫)得到化合物 L1-2（為 TFA 鹽，1.35 g），產率：73%。

LC/MS：$[M]^+$：410.3。

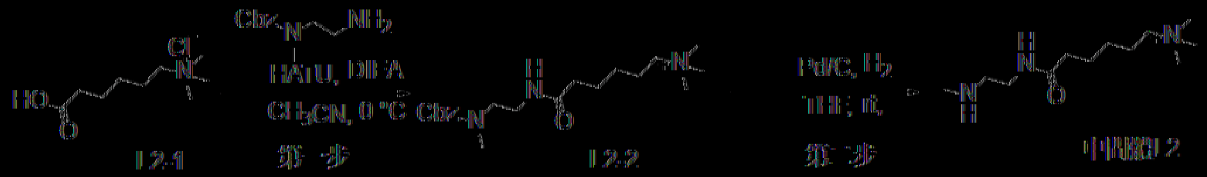
[0101] 第二步

在室溫下向化合物 L1-2 (1.2 g, 2.29 mmol) 的 THF (50 mL) 溶液中加入 10% Pd/C (120 mg)，反應在氫氣氛圍下（1.5 個大氣壓）室溫下攪拌 16 小時。反應液經矽藻土過濾，濾液減壓濃縮，殘餘物經反向柱析析色譜純化(CH_3CN/0.03%TFA/water，0~100%梯度洗脫)得到化合物中間體 L1（為 TFA 鹽，760 mg），產率：85%。

LC/MS：$[M]^+$：276.2。

^1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 3.99 - 3.91 (m, 2H), 3.77 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 3.70 - 3.62 (m, 4H), 3.62 - 3.52 (m, 4H), 3.23 (s, 9H), 3.10 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.57 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H).

[0102] 中間體 L2



[0103] 第一步

在 0 °C 下，向化合物 L2-1 (0.6 g, 2.86 mmol)的 CH_3CN (20 mL)溶液中依次加入 DIEA (2.22 g, 17.2 mmol)、HATU (1.31 g, 3.43 mmol)和 *N*-Cbz-*N*-甲基乙二胺(鹽酸鹽，1.05 g, 4.29 mmol)，然後將溶液在 0 °C 下攪拌 1 小時。混合物減壓濃縮，殘餘物經反向柱析析色譜純化(CH_3CN/0.03%TFA/water，0~100%梯度洗脫)得到化合物 L2-2（為 TFA 鹽，1.17 g），產率：86%。

LC/MS：$[M]^+$：364.3。

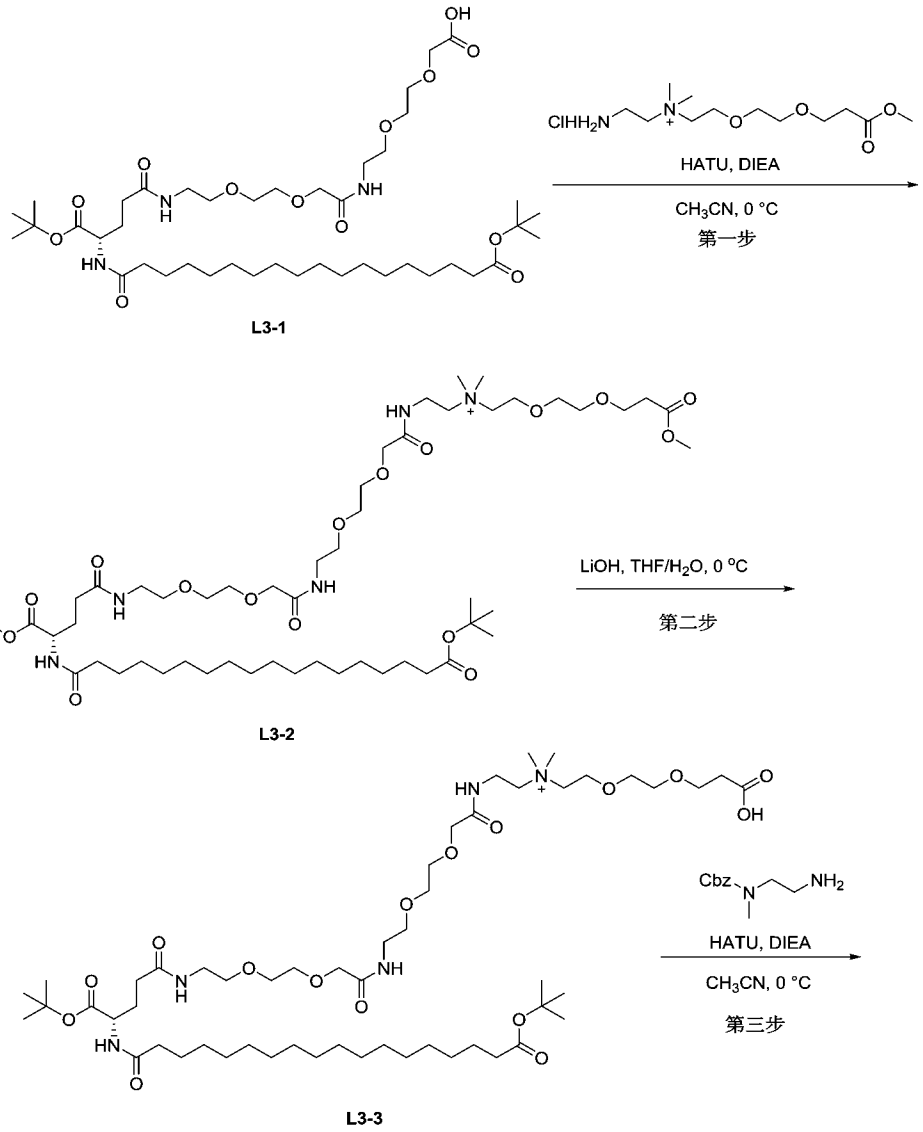
[0104] 第二步

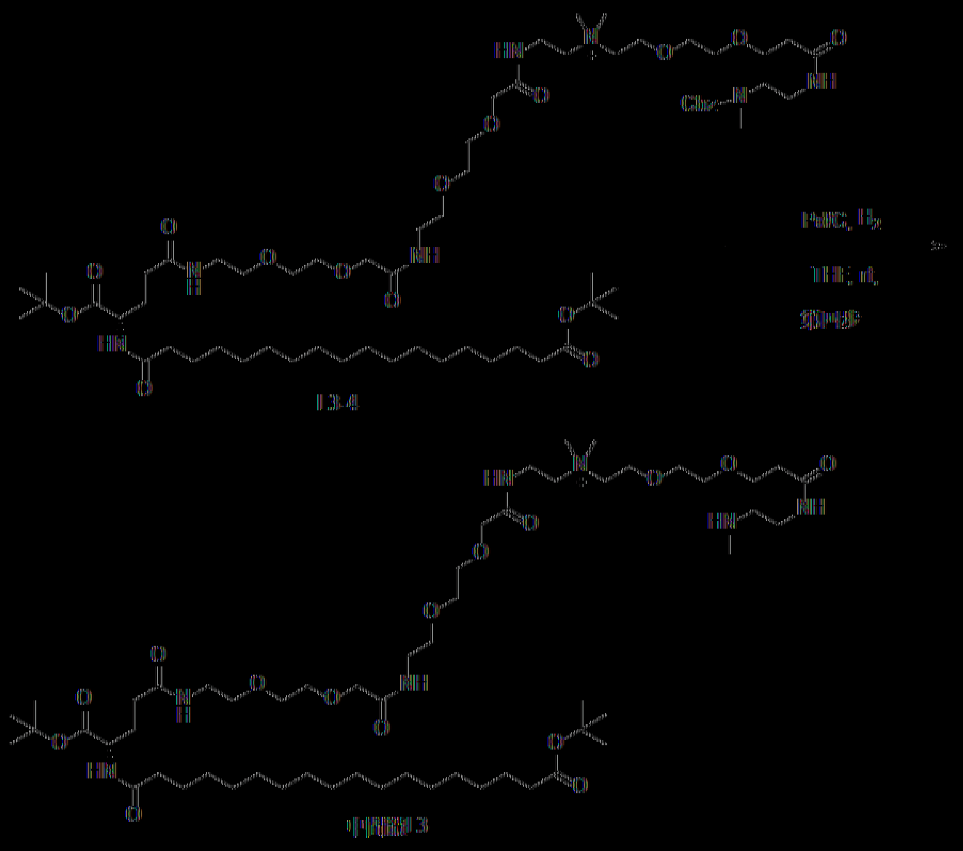
在室溫下向化合物 L2-2 (1.0 g, 2.29 mmol) 的 THF (50 mL) 溶液中加入 10% Pd/C (100 mg)，反應在氫氣氛圍下（1.5 個大氣壓）室溫下攪拌 16 小時。反應液經矽藻土過濾，濾液減壓濃縮，殘餘物經反向柱析析色譜純化(CH_3CN/0.03%TFA/water，0~100%梯度洗脫)得到化合物中間體 L2（為 TFA 鹽，0.66 mg），產率：92%。

LC/MS：$[M]^+$：230。

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.47-8.37 (m, 2H), 3.35 - 3.21 (m, 4H), 3.05 (s, 9H), 2.79 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 2.53 - 2.45 (m, 3H), 2.16-2.09 (m, 2H), 1.72 - 1.62 (m, 2H), 1.60-1.51 (m, 2H), 1.29-1.21 (m, 2H).

[0105] 中間體 L3


HATU, DIEA
CH3CN, 0 °C
第一步
L3-1
LiOH, THF/H2O, 0 °C
第二步
L3-2
HATU, DIEA
CH3CN, 0 °C
第三步
L3-3



[0106] 第一步

在 0 °C 下，向化合物 L3-1 (CAS: 1118767-16-0, 4.0 g, 4.73 mmol)的 CH_3CN (45 mL)溶液中依次加入 DIEA (3.67 g, 28.37 mmol)、HATU (2.16 g, 5.67 mmol)和 2-胺基-N-(2-(2-(3-甲氧基-3-氧代丙氧基)乙氧基)乙基)-*N*,*N*-二甲基乙烷-1-銨的鹽酸鹽(2.13 g, 7.09 mmol)，然後將溶液在 0°C 下攪拌 1 小時。混合物經減壓濃縮，殘餘物經反向柱層析色譜純化(5%-40%，40%-70%，CH_3CN/0.03%TFA/water)得到化合物 L3-2（為 TFA 鹽，3.05 g），產率：53.6%。

LC/MS：$[M]^+$：1090.8。

[0107] 第二步

在 0 °C 下，向化合物 L3-2（2.4 g，1.99 mmol）的 THF（24 mL）溶液中加入 LiOH 水溶液（143 mg，5.97 mmol，12 mL），在此溫度下反應 1 小時。反應液濃縮除去 THF，向殘餘物中滴加 1N HCl 調節 pH=7，混合物經反向柱層析色

譜純化(5%-40%，40%-70%，CH_3CN/0.03%TFA/water)得到化合物 L3-3（為 TFA 鹽，1.1 g），產率：46.4%。

LC/MS：$[M]^+$= 1076.7。

【0108】第三步

在 0 °C 下，向化合物 L3-3 (0.8 g, 0.67 mmol)的 CH_3CN (12 mL)溶液中依次加入 DIEA (521 mg, 4.03 mmol)、HATU (306 mg, 0.81 mmol)和 *N*-Cbz-*N*-甲基乙二胺(鹽酸鹽，245 mg, 1.01 mmol)，然後將溶液在 0 °C 下攪拌 1 小時。混合物減壓濃縮，殘餘物經反向柱層析色譜純化(5%-40%，40%-70%，CH_3CN/0.03%TFA/water)得到化合物 L3-4（為 TFA 鹽，870 mg），產率：93.8%。

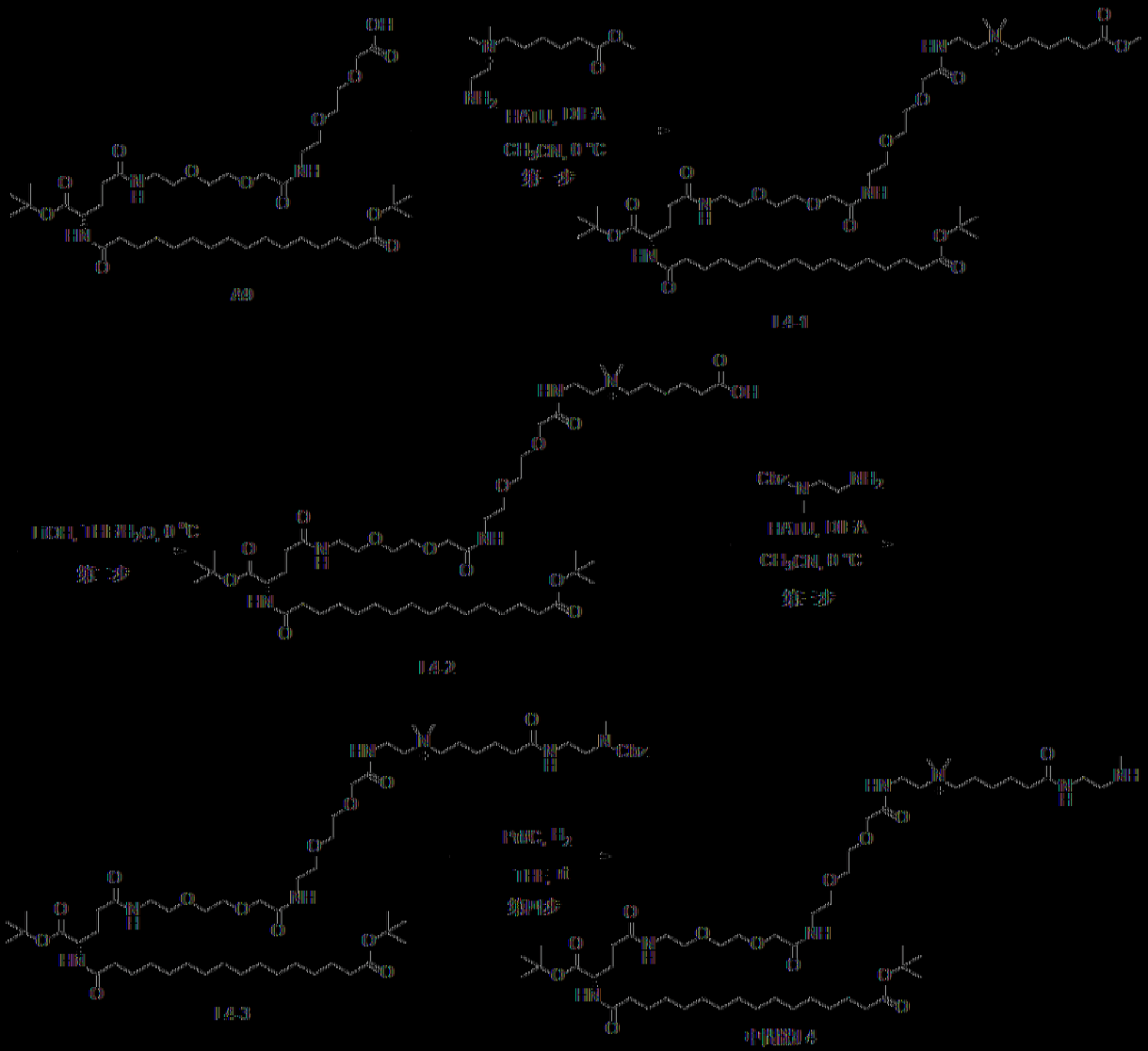
LC/MS：$[(M+H)/2]^+$= 632.9。

【0109】第四步

在室溫下向化合物 L3-4 (650 mg, 0.56 mmol) 的 THF (20 mL) 溶液中加入 10% Pd/C (65 mg)，反應在氫氣氛圍下（1.5 個大氣壓）室溫下攪拌 16 小時。反應液經矽藻土過濾，濾液減壓濃縮，殘餘物經反向柱層析色譜純化(5%-40%，40%-70%，CH_3CN/0.03%TFA/water)得到化合物中間體 L3（為 TFA 鹽，570 mg），產率：97.1%。

LC/MS：$[M]^+$= 1132.8。

【0110】中間體 L4



A9　　I4-1　　I4-2　　I4-3　　中間體4

[0111] 第一步

在 0 °C 下，向化合物 A9 (3.0 g, 3.67 mmol)的 CH_3CN (40 mL)溶液中依次加入 DIEA (2.84 g, 22.0 mmol)、HATU (1.67 g, 4.40 mmol)和 *N*-(2-胺基乙基)-6-甲氧基-*N*,*N*-二甲基-6-氧代-1-己烷-1-銨的鹽酸鹽(1.4 g, 5.50 mmol)，然後將溶液在 0°C 下攪拌 1 小時。混合物經減壓濃縮，殘餘物經反向柱層析色譜純化(5%-40%，40%-70%，CH_3CN/0.03%TFA/water)得到化合物 I4-1 （為 TFA 鹽，1.75 g），產率：42.2%。

LC/MS：$[M]^+$：1016.7。

[0112] 第二步

在 0 °C 下，向化合物 L4-1（1.4 g，1.24 mmol）的 THF（15 mL）溶液中加入 LiOH 水溶液（89 mg，3.71 mmol，5 mL），在此溫度下反應 1 小時。反應液濃縮除去 THF，向殘餘物中滴加 1N HCl 調節 pH=7，混合物經反向柱層析色譜純化(5%-40%，40%-70%，CH_3CN/0.03%TFA/water)得到化合物 L4-2（為 TFA 鹽，740 mg），產率：53.6%。

LC/MS：$[M]^+$= 1002.7。

【0113】第三步

在 0 °C 下，向化合物 L3-3 (0.7 g, 0.63 mmol)的 CH_3CN (10 mL)溶液中依次加入 DIEA (486 mg, 3.76 mmol)、HATU (286 mg, 0.75 mmol)和 *N*-Cbz-*N*-甲基乙二胺(鹽酸鹽，229 mg, 0.94 mmol)，然後將溶液在 0 °C 下攪拌 1 小時。混合物減壓濃縮，殘餘物經反向柱層析色譜純化(5%-40%，40%-70%，CH_3CN/0.03%TFA/water)得到化合物 L4-3（為 TFA 鹽，770 mg），產率：94.0%。

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$= 596.9。

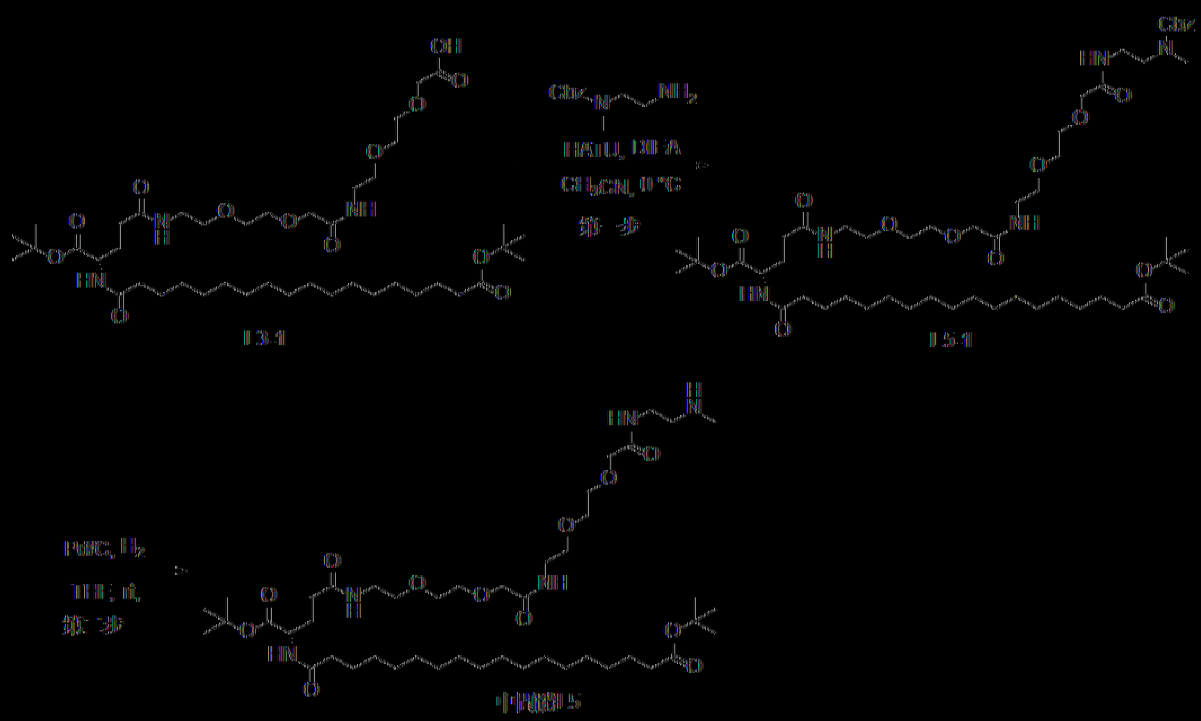
【0114】第四步

在室溫下向化合物 L4-3 (0.7 g, 0.56 mmol) 的 THF (20 mL) 溶液中加入 10% Pd/C (70 mg)，反應在氫氣氛圍下（1.5 個大氣壓）室溫下攪拌 16 小時。反應液經矽藻土過濾，濾液減壓濃縮，殘餘物經反向柱層析色譜純化(5%-40%，40%-70%，CH_3CN/0.03%TFA/water)得到化合物中間體 L4（為 TFA 鹽，590 mg），產率：93.9%。

LC/MS：$[M]^+$= 1044.8。

^{1}H NMR (400 MHz, MeOD) δ 4.31-4.23 (m, 1H), 4.04 (d, *J* = 10.8 Hz, 4H), 3.77-3.67 (m, 10H), 3.64-3.56 (m, 4H), 3.53-3.45 (m, 6H), 3.43-3.36 (m, 4H), 3.20-3.12 (m, 8H), 2.75 (s, 3H), 2.37-2.20 (m, 8H), 2.18-2.09 (m, 1H), 1.98-1.81 (m, 4H), 1.79-1.70 (m, 2H), 1.69-1.53 (m, 5H), 1.47 (d, *J* = 8.0 Hz, 18H), 1.31 (s, 20H).

[0115] 中間體 L5



[0116] 第一步

在 0 °C 下，向化合物 L3-1 (2 g, 2.36 mmol)的 CH_3CN (20 mL)溶液中依次加入 DIEA (1.83 g, 14.2 mmol)、HATU (1.08 g, 2.84 mmol)和 *N*-Cbz-*N*'-甲基乙二胺(鹽酸鹽，864 mg, 3.55 mmol)，然後將溶液在 0 °C 下攪拌 1 小時。混合物減壓濃縮，殘餘物經反向柱析色譜純化(CH_3CN/0.03%TFA/water，0~100%梯度洗脫)得到化合物 L5-1 (1.9 g)，產率：71.6%。

LC/MS：$[M+H]^+$：1036.7。

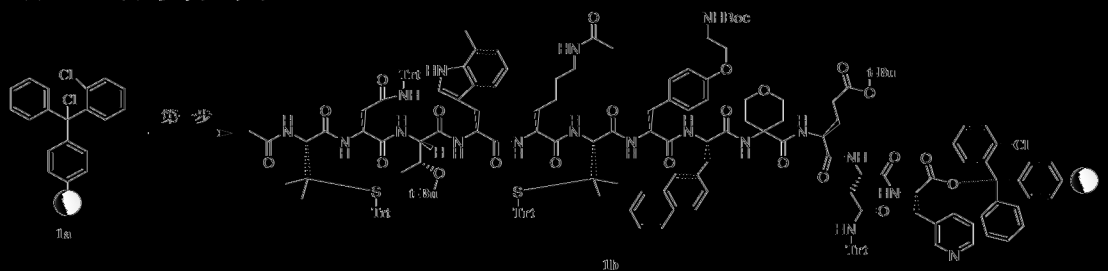
[0117] 第二步

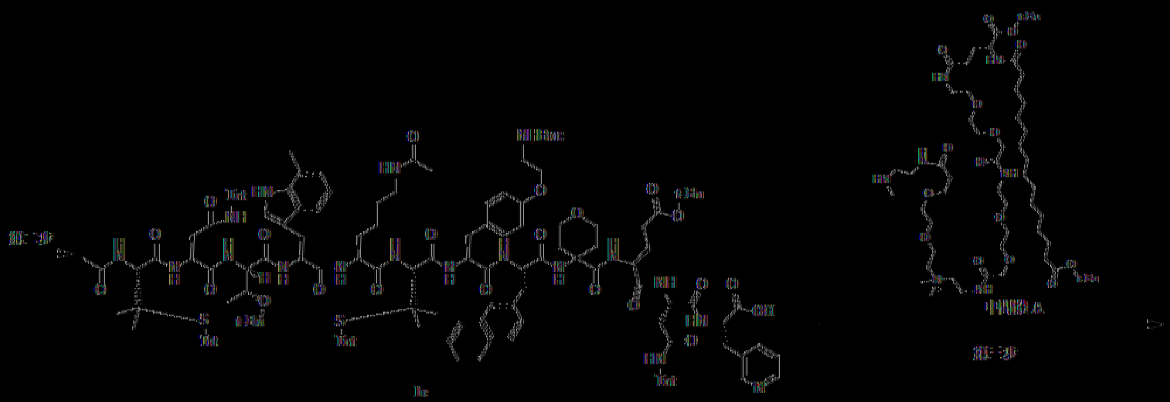
在室溫下向化合物 L1-2 (1.2 g, 1.16 mmol) 的 THF (30 mL) 溶液中加入 10% Pd/C (120 mg)，反應在氫氣氛圍下（1.5 個大氣壓）室溫下攪拌 16 小時。反應液經矽藻土過濾，濾液減壓濃縮，殘餘物經反向柱析色譜純化(CH_3CN/0.03%TFA/water，0~100%梯度洗脫)得到化合物中間體 L5（940 mg），產率：90%。

LC/MS：[M+H]$^+$：902.6。

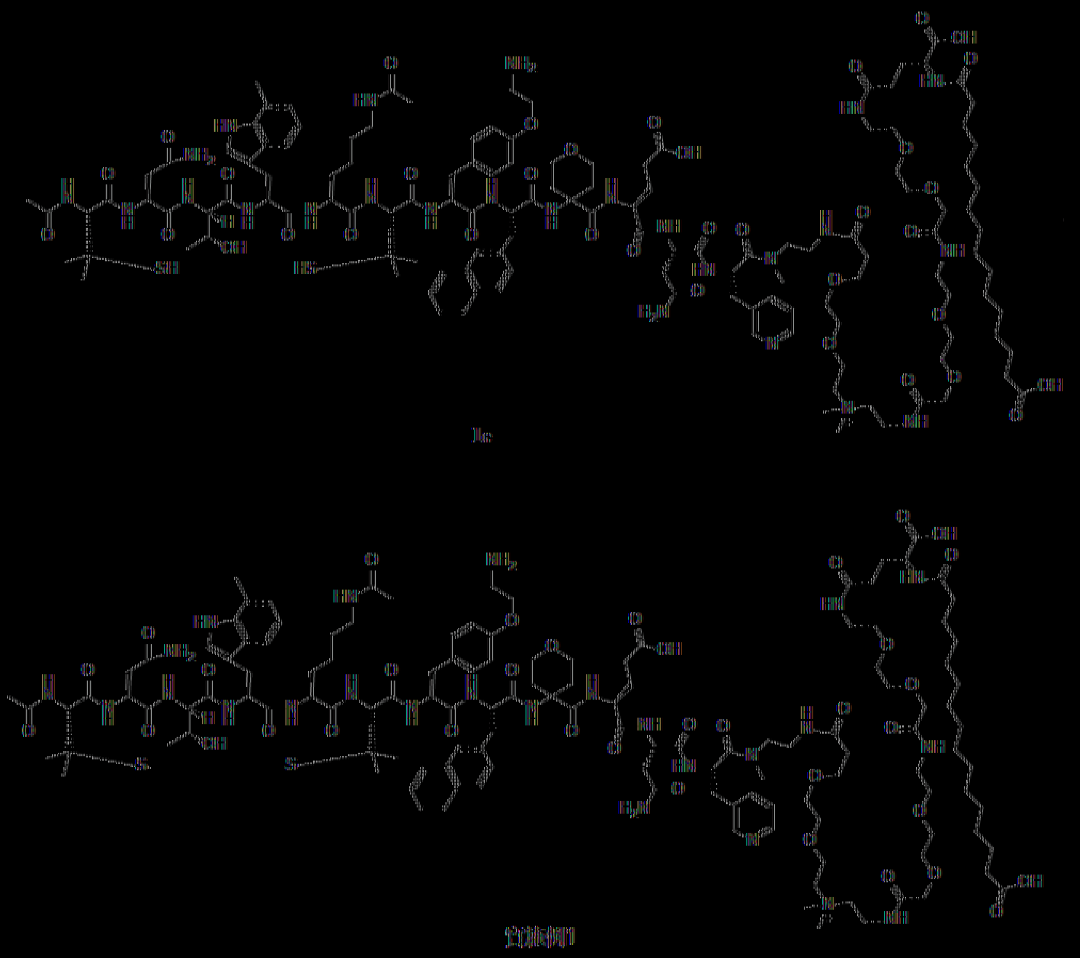
^{1}H NMR (400 MHz, MeOD) δ 4.27 (dd, *J* = 9.1, 5.2 Hz, 1H), 4.04 (d, *J* = 5.9 Hz, 4H), 3.70 (s, 6H), 3.68 (d, *J* = 5.6 Hz, 3H), 3.62 (dd, *J* = 12.1, 6.8 Hz, 3H), 3.56 (dd, *J* = 9.5, 5.7 Hz, 4H), 3.51 – 3.44 (m, 3H), 3.41 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H), 3.08 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 2.67 (s, 3H), 2.31 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 2.28 – 2.19 (m, 5H), 2.13 (dd, *J* = 13.7, 5.9 Hz, 1H), 2.05 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 1.91 (dd, *J* = 13.9, 9.1 Hz, 1H), 1.61 (dd, *J* = 16.0, 8.1 Hz, 4H), 1.48 (d, *J* = 9.0 Hz, 18H), 1.31 (s, 24H).

|0118| 實施例 1









[0119] 第一步：全保護的直鏈肽合成

[0120] 1.1 接樹脂

1.1.1 秤取 0.6 g 2-CTC Resin(替代度 S=1.08 mmol/g) 和 178 mg N-FMOC-L-3-吡啶基丙胺酸，(0.2 mmol,取代度 0.33) 加入到反應柱中，再加入 DCM(10mL)，隨後加入 0.6 mL DIEA 全反應柱氮氣鼓氣 2 hrs，然後加入 0.6 mL MeOH 全反應柱氮氣繼續鼓氣 30mins，排廢，直至沒有液體流出，加入 DMF(30mL) 洗滌 5 次每次 1min，排廢，直至沒有液體流出。

1.1.2 加入 20%的哌啶/DMF(15 mL)全反應柱中，氮氣鼓起 20mim，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF(30mL)洗滌 5 次每次 1min，排廢，直至沒有液體流出。茚三酮檢測，樹脂藍色。

[0121] 1.2.胺基酸的偶聯

【0122】1.2.1 Fmoc-Asn(Trt)-OH 的偶聯

原料	投料量
Fmoc-Asn(Trt)-OH	3.0eq
HBTU	2.85eq
DIEA	6.00eq

1. 秤取 Fmoc-Asn(Trt)-OH(3.0eq)加入到上述樹脂中，加入 DIEA(6.00eq)補加 5mL DMF 至反應柱中，鼓氮氣，待胺基酸溶解後加入 HBTU(2.85eq)。調節好氮氣使樹脂均勻鼓起。

2. 在 25℃的環境中反應 0.5h，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

3. 抽掉反應液，用 DMF 洗滌 5 次(20mL 每次)，每次 1min，排廢，直至沒有液體流出。

【0123】1.2.2 Fmoc-Glu(OtBu)-OH 的偶聯

原料	投料量
Fmoc-Glu(OtBu)-OH	3.0eq
HBTU	2.85eq
DIEA	6.00eq

1. 加入 20%的哌啶/DMF(20mL)至反應柱中，氮氣鼓起 20min，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF(20mL)洗滌 5 次，每次 1min，排廢，直至沒有液體流出。茚三酮檢測，樹脂藍色。

2. 秤取 Fmoc-Glu(OtBu)-OH(3.0eq)加入到上述樹脂中，加入 DIEA(6.00eq)補加 5mL DMF 至反應柱中，鼓氮氣，待胺基酸溶解後加入 HBTU(2.85eq)。調節好氮氣使樹脂均勻鼓起。

3. 在 25℃的環境中反應 0.5h，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4. 抽掉反應液，用 DMF 洗滌 5 次(20mL 每次)，每次 1min，排廢，直至沒有液體流出。

【0124】1.2.3 Fmoc-Thp(Gly)-OH 的偶聯

原料	投料量
Fmoc-Thp(Gly)-OH	3.0eq
HATU	2.85eq
DIEA	6.00eq

1. 加入 20%的哌啶/DMF(20mL)至反應柱中，氮氣鼓起 20min，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF(20mL)洗滌 5 次，每次 1min，排廢，直至沒有液體流出。茚三酮檢測，樹脂藍色。

2. 秤取 Fmoc-Thp(Gly)-OH(3.0eq)加入到上述樹脂中，加入 DIEA(6.00eq)補加 5mL DMF 至反應柱中，鼓氮氣，待胺基酸溶解後加入 HATU(2.85eq)。調節好氮氣使樹脂均勻鼓起。

3. 在 25℃的環境中反應 0.5h，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4. 抽掉反應液，用 DMF 洗滌 5 次，每次 1min，排廢，直至沒有液體流出。

【0125】1.2.4 Fmoc-2Nal-OH 的偶聯

原料	投料量
Fmoc-2Nal-OH	3.0eq
HATU	2.85eq
DIEA	6.00eq

1. 加入 20%的哌啶/DMF(20mL)至反應柱中，氮氣鼓起 20min，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF(20mL)洗滌 5 次，每次 1min，排廢，直至沒有液體流出。四氯苯醌檢測，樹脂綠色。

2. 秤取 Fmoc-2-Nal-OH(3.0eq)加入到上述樹脂中，加入 DIEA(6.00eq)補加 5mL DMF 至反應柱中，鼓氮氣，待胺基酸溶解後加入 HATU(2.85eq)。調節好氮氣使樹脂均勻鼓起。

3. 在 25℃的環境中反應 0.5h，四氯苯醌檢測，樹脂無色透明。

4. 抽掉反應液，用 DMF 洗滌 5 次(20mL 每次)，每次 1min，排廢，直至沒有液體流出。

【0126】1.2.5 Fmoc-4-[2-(Boc-amino)ethoxy]-L-Phenylalanine 的偶聯

原料	投料量
Fmoc-4-[2-(Boc-amino)ethoxy]-L-Phenylalanine	3.0eq
HBTU	2.85eq
DIEA	6.00eq

1．加入 20%的哌啶/DMF(20mL)至反應柱中，氮氣鼓起 20min，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF(20mL)洗滌 5 次，每次 1min，排廢，直至沒有液體流出。茚三酮檢測，樹脂藍色。

2. 秤取 Fmoc-4-[2-(Boc-amino)ethoxy]-L-Phenylalanine (3.0eq)加入到上述樹脂中，加入 DIEA(6.00eq)補加 5mL DMF 至反應柱中，鼓氮氣，待胺基酸溶解後加入 HBTU(2.85eq)。調節好氮氣使樹脂均勻鼓起。

3. 在 25℃的環境中反應 0.5h，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4. 抽掉反應液，用 DMF 洗滌 5 次(20mL 每次)，每次 1min，排廢，直至沒有液體流出。

【0127】1.2.6 Fmoc-Pen(Trt)-OH 的偶聯

原料	投料量
Fmoc-Pen(Trt)-OH	3.0eq

HBTU	2.85eq
DIEA	6.00eq

1.加入 20%的哌啶/DMF(20mL)至反應柱中，氮氣鼓起 20min，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF(20mL)洗滌 5 次，每次 1min，排廢，直至沒有液體流出。茚三酮檢測，樹脂藍色。

2.秤取 Fmoc-Pen(Trt)-OH(3.0eq)加入到上述樹脂中，加入 DIEA(6.00eq)補加 5mL DMF 至反應柱中，鼓氮氣，待胺基酸溶解後加入 HBTU(2.85eq)。調節好氮氣使樹脂均勻鼓起。

3.在 25℃的環境中反應 0.5h，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4.抽掉反應液，用 DMF 洗滌 5 次(20mL 每次)，每次 1min，排廢，直至沒有液體流出。

【0128】1.2.7 Fmoc-Lys(Ac)-OH 的偶聯

原料	投料量
Fmoc-Lys(Ac)-OH	3.0eq
HBTU	2.85eq
DIEA	6.00eq

1.加入 20%的哌啶/DMF(20mL)至反應柱中，氮氣鼓起 20min，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF(20mL)洗滌 5 次，每次 1min，排廢，直至沒有液體流出。茚三酮檢測，樹脂藍色。

2.秤取 Fmoc-Lys(Ac)-OH (3.0eq)加入到上述樹脂中，加入 DIEA(6.00eq)補加 5mL DMF 至反應柱中，鼓氮氣，待胺基酸溶解後加入 HBTU(2.85eq)。調節好氮氣使樹脂均勻鼓起。

3.在 25℃的環境中反應 0.5h，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4.抽掉反應液，用 DMF 洗滌 5 次(20mL 每次)，每次 1min，排廢，直至沒有液體流出。

【0129】1.2.8 Fmoc-(7Me)Trp-OH 的偶聯

原料	投料量
Fmoc-(7Me)Trp-OH	3.0eq
HATU	2.85eq
DIEA	6.00eq

1.加入 20%的哌啶/DMF(20mL)至反應柱中，氮氣鼓起 20min，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF(20mL)洗滌 5 次，每次 1min，排廢，直至沒有液體流出。茚三酮檢測，樹脂藍色。

2.秤取 Fmoc-(7Me)Trp-OH (3.0eq)加入到上述樹脂中，加入 DIEA(6.00eq)補加 5mL DMF 至反應柱中，鼓氮氣，待胺基酸溶解後加入 HBTU(2.85eq)。調節好氮氣使樹脂均勻鼓起。

3.在 25℃的環境中反應 0.5h，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4.抽掉反應液，用 DMF 洗滌 5 次(20mL 每次)，每次 1min，排廢，直至沒有液體流出。

【0130】1.2.9 Fmoc-Thr(Tbu)-OH 的偶聯

原料	投料量
Fmoc-Thr(Tbu)-OH	3.0eq
HBTU	2.85eq
DIEA	6.00eq

1.加入 20%的哌啶/DMF(20mL)至反應柱中，氮氣鼓起 20min，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF(20mL)洗滌 5 次，每次 1min，排廢，直至沒有液體流出。茚三酮檢測，樹脂藍色。

2.秤取 Fmoc-Thr(Tbu)-OH (3.0eq)加入到上述樹脂中，加入 DIEA(6.00eq)補加 5mL DMF 至反應柱中，鼓氮氣，待胺基酸溶解後加入 HBTU(2.85eq)。調節好氮氣使樹脂均勻鼓起。

3.在 25℃的環境中反應 0.5h，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4.抽掉反應液，用 DMF 洗滌 5 次(20mL 每次)，每次 1min，排廢，直至沒有液體流出。

【0131】1.2.10 Fmoc-Asn(Trt)-OH 的偶聯

原料	投料量
Fmoc-Asn(Trt)-OH	3.0eq
HBTU	2.85eq
DIEA	6.00eq

1.加入 20%的哌啶/DMF(20mL)至反應柱中，氮氣鼓起 20min，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF(20mL)洗滌 5 次，每次 1min，排廢，直至沒有液體流出。茚三酮檢測，樹脂藍色。

2.秤取 Fmoc-Asn (Trt)-OH(3.0eq)加入到上述樹脂中，加入 DIEA(6.00eq)補加 5mL DMF 至反應柱中，鼓氮氣，待胺基酸溶解後加入 HBTU(2.85eq)。調節好氮氣使樹脂均勻鼓起。

3.在 25℃的環境中反應 0.5h，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4.抽掉反應液，用 DMF 洗滌 5 次(20mL 每次)，每次 1min，排廢，直至沒有液體流出。

【0132】1.2.11 Fmoc-Pen(Trt)-OH的偶聯

原料	投料量
Fmoc-Pen(Trt)-OH	3.0eq
HBTU	2.85eq
DIEA	6.00eq

1.加入20%的哌啶/DMF(20mL)至反應柱中，氮氣鼓起20min，排廢，直至沒有液體流出。加入DMF(20mL)洗滌5次，每次1min，排廢，直至沒有液體流出。茚三酮檢測，樹脂藍色。

2.秤取Fmoc-Pen(Trt)-OH(3.0eq)加入到上述樹脂中，加入DIEA(6.00eq)補加5mL DMF至反應柱中，鼓氮氣，待胺基酸溶解後加入HBTU(2.85eq)。調節好氮氣使樹脂均勻鼓起。

3.在25℃的環境中反應0.5h，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4.抽掉反應液，用DMF洗滌5次(20mL每次)，每次1min，排廢，直至沒有液體流出。

【0133】1.2.12 Ac_2O封端

原料	投料量
Ac_2O	5.0eq
DIEA	6.00eq

1.加入20%的哌啶/DMF(20mL)至反應柱中，氮氣鼓起20min，排廢，直至沒有液體流出。加入DMF(20mL)洗滌5次，每次1min，排廢，直至沒有液體流出。茚三酮檢測，樹脂藍色。

2.加入DMF (10 mL)，DIEA(6.00eq), Ac_2O(5.0eq)加入到上述樹脂中，鼓氮氣，調節好氮氣使樹脂均勻鼓起。

3.在 25℃的環境中反應 10 min，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4.抽掉反應液，用 DMF 洗滌 5 次(20mL 每次)，每次 1min，排廢，直至沒有液體流出。

【0134】第二步：全保護的直鏈肽切割

2.1 用 DMF 洗滌 5 次(20mL 每次)，每次 1min，排廢，直至沒有液體流出

2.2 用 MeOH(20mL)收縮樹脂，每次 3min，排廢，直至沒有液體流出，然後用甲三級醚 20 mL 洗樹脂三次，將樹脂用氮氣吹乾，備用.

2.3 將配好的 20% HFIP/DCM 溶液 50 mL 倒入反應器內，鼓氮氣，反應 30min 一次，切割三次後，將所有濾液收集起來，減壓濃縮乾，再加入 DCM 50 mL 繼續減壓濃縮乾。

2.4 加入乙腈 100 mL，水 100 mL 超聲至產物均勻分散，然後使用凍乾機凍乾，得到中間體 1c 500mg, 純度 75%，產率 62%。

LC/MS：$[M+H]^+$=3012.7；$[M+H-243]^+$= 2769.7

【0135】第三步：中間體 1c 與中間體 A 縮合

取上述中間體 1c 200 mg (0.06 mmol), 加入 DMF 1 mL，DIEA (3eq, 0.18 mmol), 再加入中間體 A (77 mg, 0.06 mmol, 1eq),再緩慢滴加 HATU(23 mg, 0.06 mmol, 1eq) 溶在 DMF 0.2 mL 中），使用 Tof-LCMS 檢測原料消耗完全，產物極性非常小，梯度 80-100，2min. LC/MS：$[M]^+$=4099.20, $[M-243]^+$=3856.2.

反應完全後使用油泵將 DMF 旋乾，備用

【0136】第四步：直鏈肽的切割

4.1．按如下體積配置切割液

試劑	比例
TFA	90

Tis	2.5
H_2O	2.5
Mpr	5.0

將第三步得到的粗肽加入配好的切割液，在搖床震盪 2.5h，過濾，濾液加入到 10 倍體積冰異丙醚中，離心，再用異丙醚洗滌 3 次。在真空乾燥 2h 得到粗肽。LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1402.8；$[(M+2H)/3]^+$= 936.1。

【0137】第五步：二硫鍵的氧化

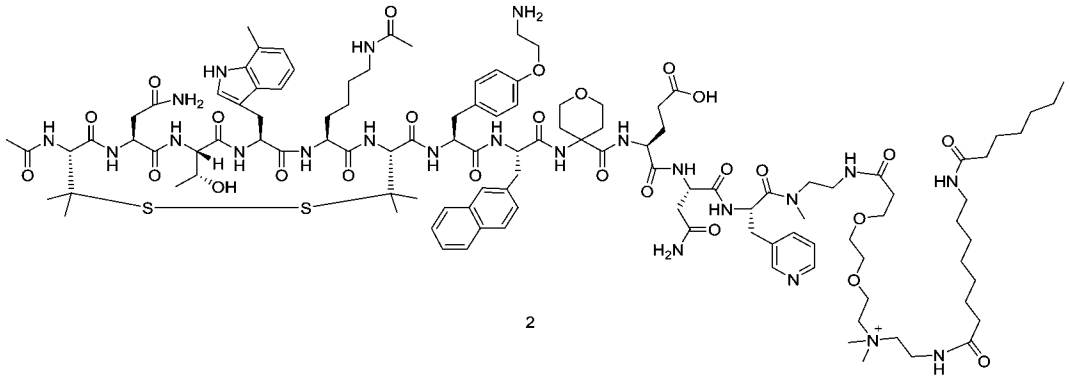
5.1 將第四步得到的粗肽 160 mg，加入水 100 mL, 乙腈 100 mL,溶解澄清後緩慢滴加 0.1M 的 I_2/MeOH 直至溶液變成亮黃色。繼續攪拌 5 分鐘黃色沒有消失，然後滴加 0.1 M 硫代硫酸鈉至黃色消失，攪拌兩分鐘無變化後，將樣品凍乾純化得到 43mg 產物實施例 1，純度 97.41%，產率：18.7%。

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1401.8；$[(M+2H)/3]^+$= 935.1。

純化條件:

分離條件	
溶解條件	Dissolve in 30% CH_3CN-H_2O
儀器	Gilson GX-281
流動相	A: H_2O (0.075% TFA in H_2O)
	B: CH_3CN
梯度	30-60%-60 min.保留時間: 21 min
柱型	Gemini,5μm,c18,110A+luna,c18,10μm,100A
流速	20 mL/Min
檢測波長	214/254 nm
柱溫	30 °C

【0138】實施例 2

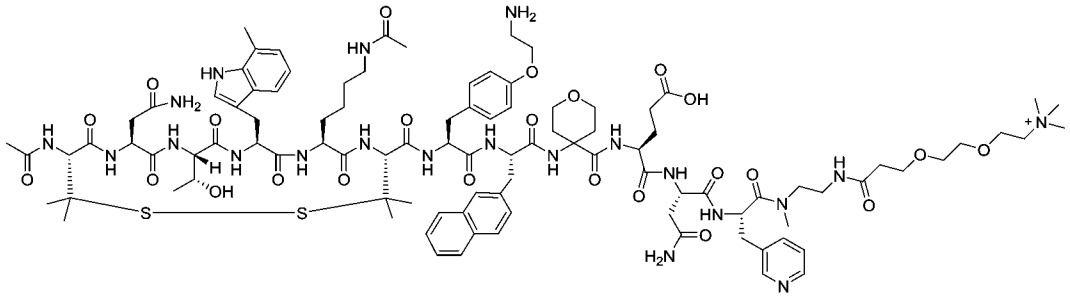


2

參考實施例 1 的合成方法，經中間體 B 與多肽中間體 1c 的反應及後續類似實驗操作，得到 26.4 mg 產物實施例 2，純度 92.94%，產率：13.6%。

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1184.8；$[(M+2H)/3]^+$= 790.2。

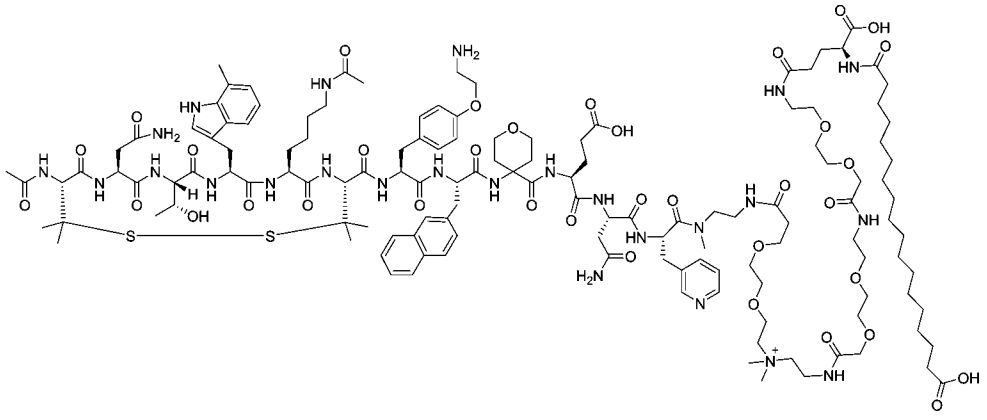
【0139】實施例 3



參考實施例 1 的合成方法，經中間體 L1 與多肽中間體 1c 的反應及後續類似實驗操作，得 42.0 mg 產物實施例 3，純度 96.4%，產率：20.2%。

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1043.5。

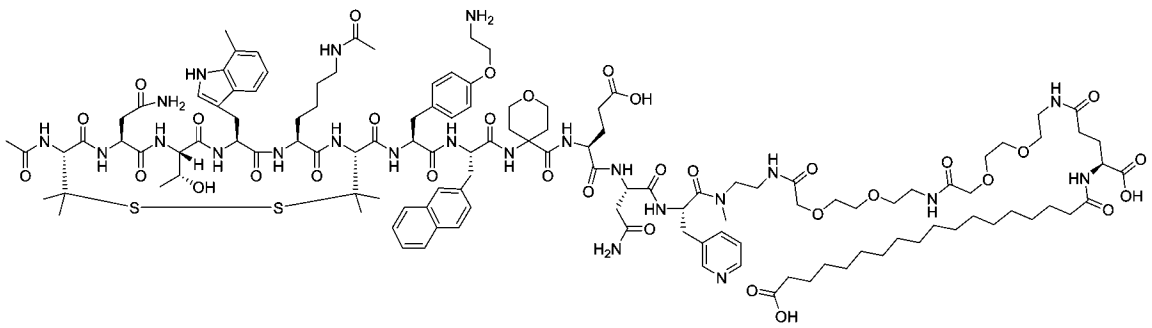
【0140】實施例 4



參考實施例 1 的合成方法，經中間體 L3 與多肽中間體 1c 的反應及後續類似實驗操作，得 28.1mg 產物實施例 4，純度：96.2%，產率：14.9%。

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1415.7；$[(M+2H)/3]^+$= 944.2。

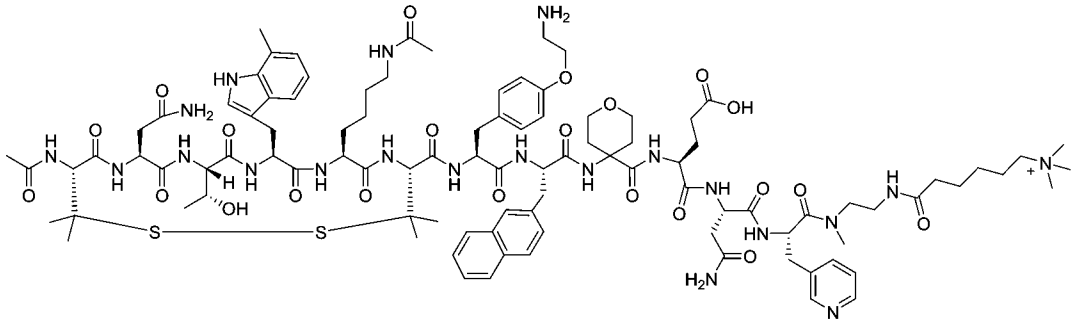
【0141】實施例 6



參考實施例 1 的合成方法，經中間體 L5 與多肽中間體 1c 的反應及後續類似實驗操作，得 31.2 mg 產物實施例 6，純度：97.8%，產率：18.1%。

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1300.1；$[(M+2H)/3]^+$= 867.1。

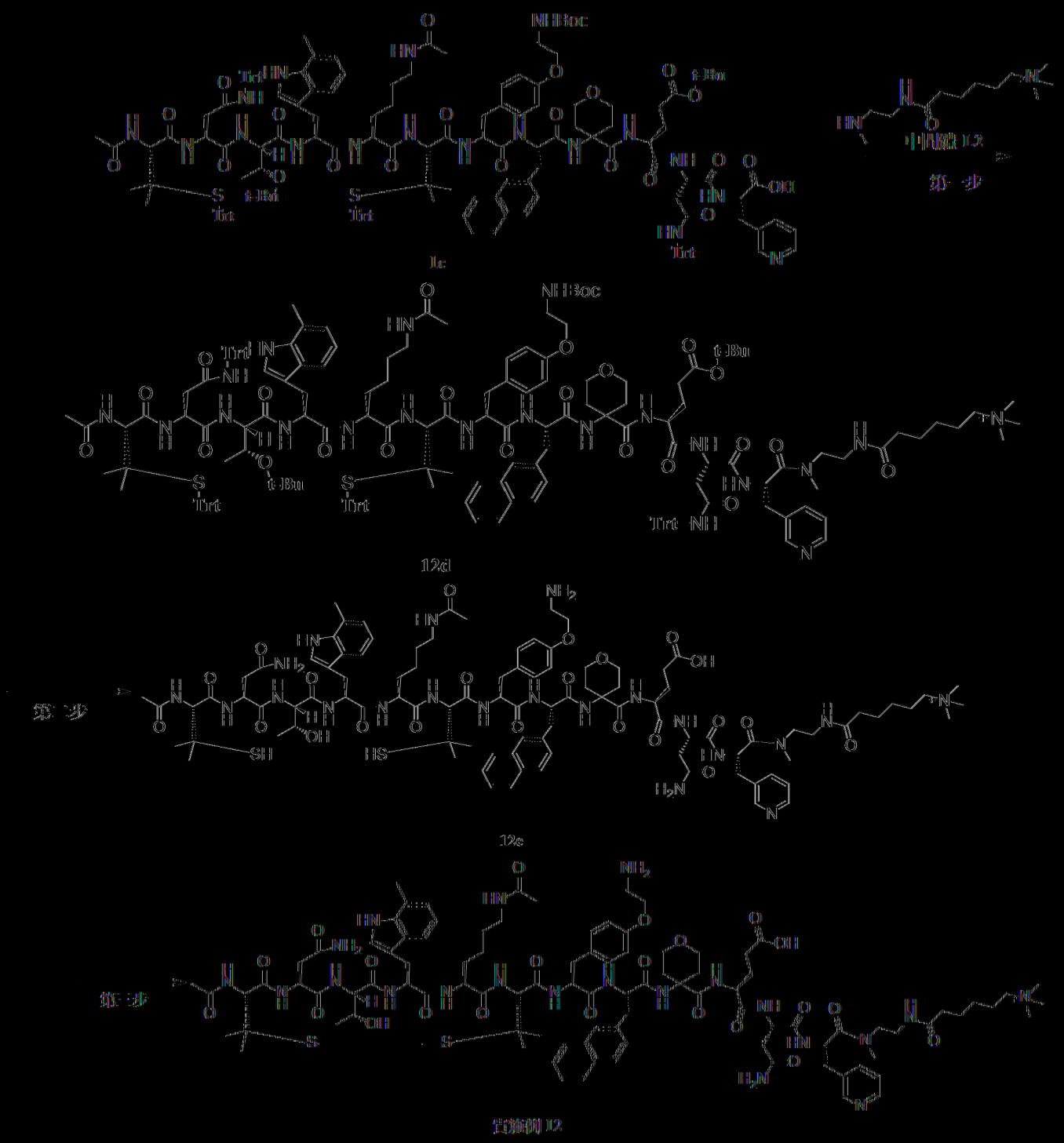
【0142】實施例 12



參考實施例 1 的合成方法，經中間體 L2 與多肽中間體 1c 的反應及後續類似實驗操作，得 23.8 mg 產物實施例 12，純度：95.7%，產率：17.5%。

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1020.5。

【0143】實施例 12 還可用以下方法製備：



[0144] 第一步：中間體1c與中間體L2縮合

取上述中間體1c（200 mg，0.06 mmol），加入DMF（1 mL），DIEA（10eq，0.6 mmol），再加入中間體L2（28 mg，0.12 mmol，2eq），再緩慢滴加HATU

（69 mg, 0.18 mmol, 3eq）溶在 DMF（0.2 mL）中，使用 Tof-LCMS 檢測原料消耗完全。反應完全後將 DMF 旋乾，得中間體 12d，備用。

【0145】第二步：脫保護基

按如下體積配置切割液

試劑	比例
TFA	92.5
Tis	2.5
H_2O	2.5
DTT	2.5

將上步得到的中間體 12d 加入配好的切割液，在搖床震盪 2.5 小時，過濾，濾液加入到 10 倍體積冰異丙醚中，離心，再用異丙醚洗滌 3 次，真空乾燥 2 小時得到中間體 12e。

【0146】第三步：二硫鍵的氧化與純化、轉鹽

將上述得到的中間體 12e（190 mg），加入水（160 mL），乙腈（40 mL），溶解澄清後緩慢滴加 0.1M 的 I_2/MeOH，直至溶液變成亮黃色。繼續攪拌 5 分鐘黃色沒有消失，然後滴加 0.1 M 硫代硫酸鈉至黃色消失，攪拌兩分鐘無變化後，得實施例 12 反應液。

【0147】3.1 純化

將反應液經下述純化條件進行純化。

【0148】純化條件:

分離條件	
溶解條件	Dissolve in 30%ACN-H_2O
儀器	漢邦 NEWSTYLE 製備型色譜儀

流動相	A: H_2O (0.1% TFA in H_2O)
	B: CH_3CN
梯度	25-60%-60 min. Retention time: 30 min
柱型	Waters Xselect CSH C18（20×250mm，10μm）
流速	15 mL/Min
檢測波長	214/254 nm
柱溫	室溫

純化液經 RP-HPLC 檢測後，合併純度合格部分，用純化水稀釋一倍後備用。

【0149】3.2 轉鹽及凍乾

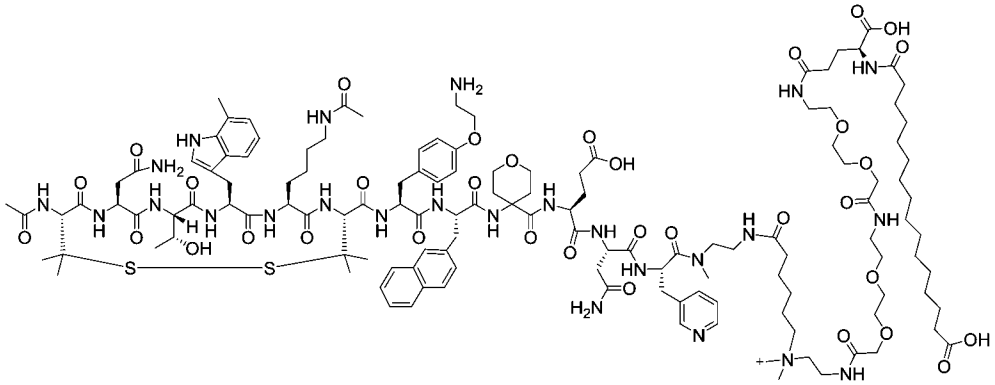
轉鹽條件:

分離條件	
溶解條件	上步所得
儀器	漢邦 NEWSTYLE 製備型色譜儀
流動相	A: 0 .5%AcOH/水
	B: 0 .5%AcOH/ACN
	C：0.15M （NH4OAc/水）
梯度	5%MPB/ MPC（20min）-5%MPB/MPA（20min）-60%MPB/MPA（10min）
柱型	Waters Xselect CSH C18（20×250mm，10μm）
流速	15 mL/Min
檢測波長	214/254 nm
柱溫	室溫

使用相同製備型 RP- HPLC 柱用含 5%MPB 的 MPA 在 15ml/min 下平衡 15 分鐘。(MPA＝0 .5%AcOH/水，MPB＝0 .5%AcOH/ACN，MPC＝0 .15M NH_4OAc/水)。將稀釋後的純化液在 15ml/min 下負載至色譜柱上。用 5%MPB/ MPC 洗滌 20 分鐘，隨後用 5%MPB/MPA 洗滌 20 分鐘，最後用 60%MPB/MPA 將產品洗脫下來。減壓濃縮除去有機溶劑，凍乾得到終產物實施例 12，35 mg，純度 96.1 %，收率：18.4%.

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1020.5。

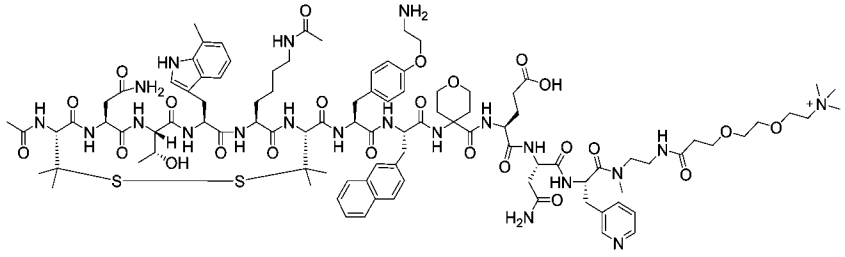
【0150】實施例 20

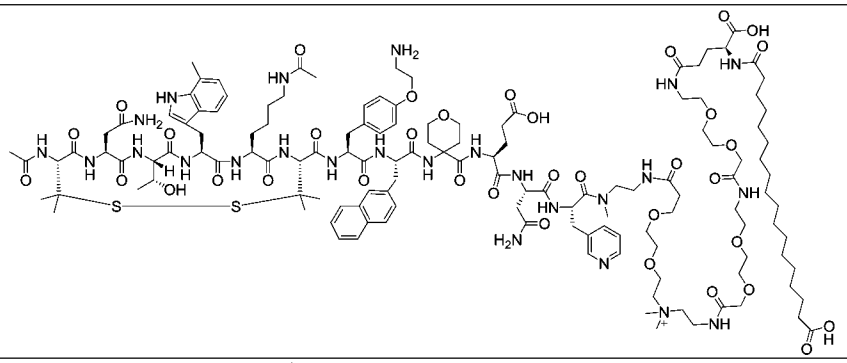
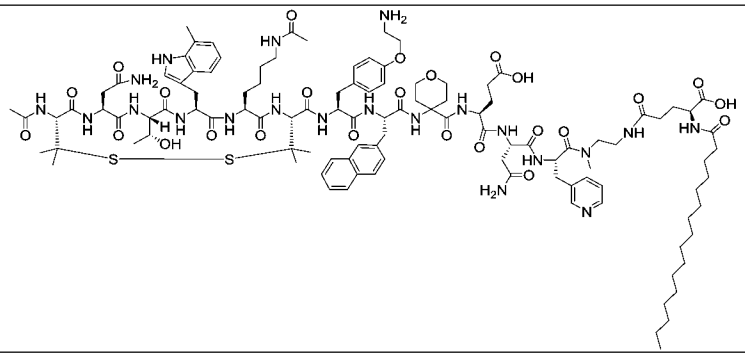
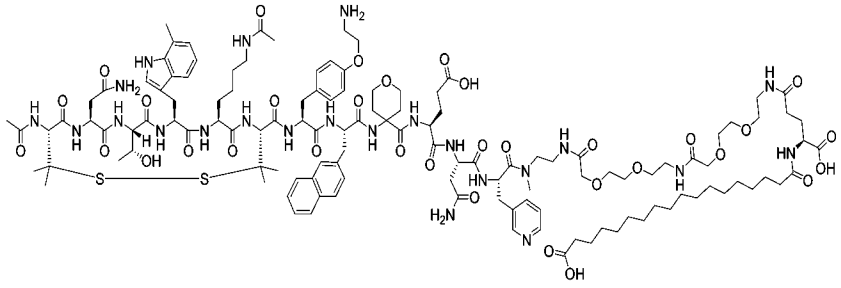
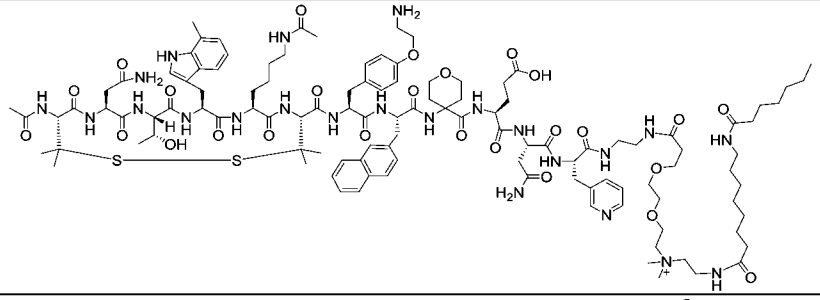
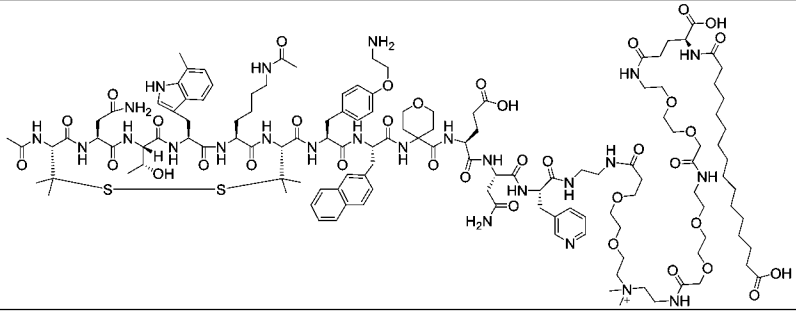


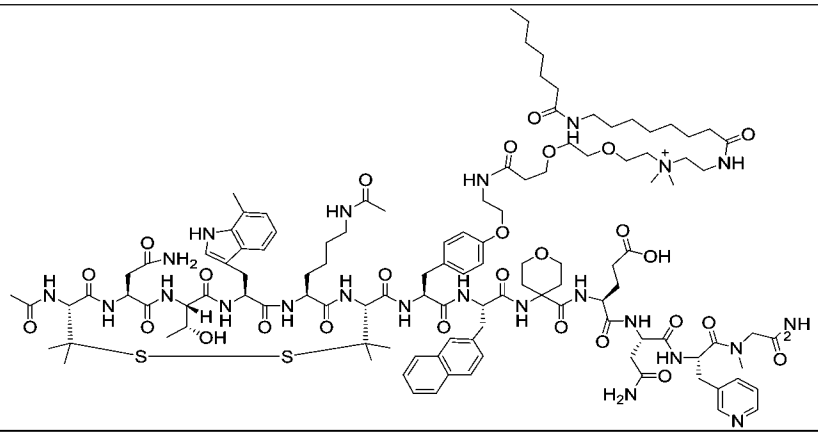
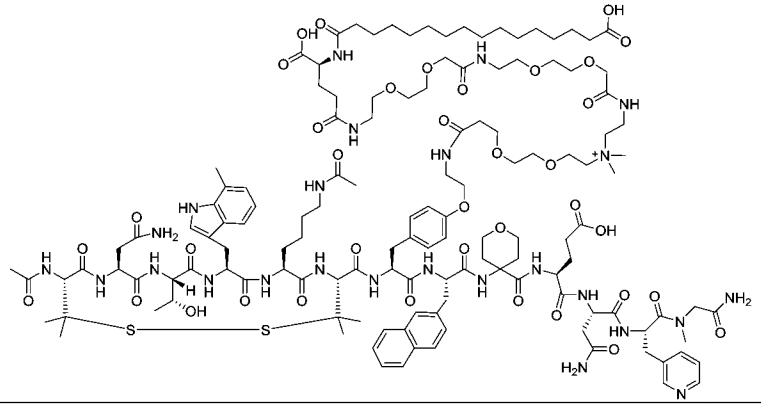
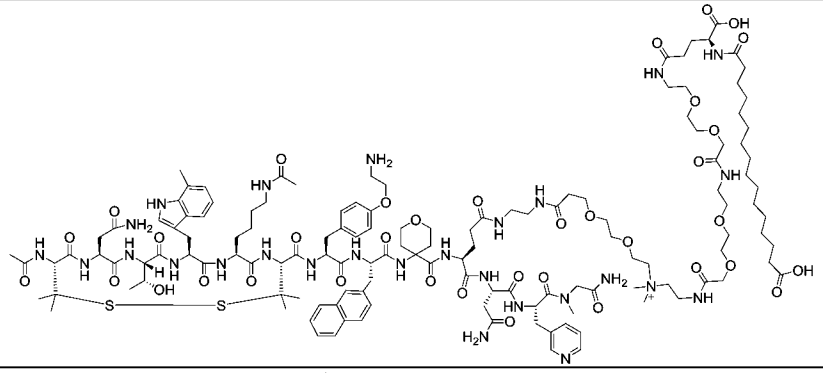
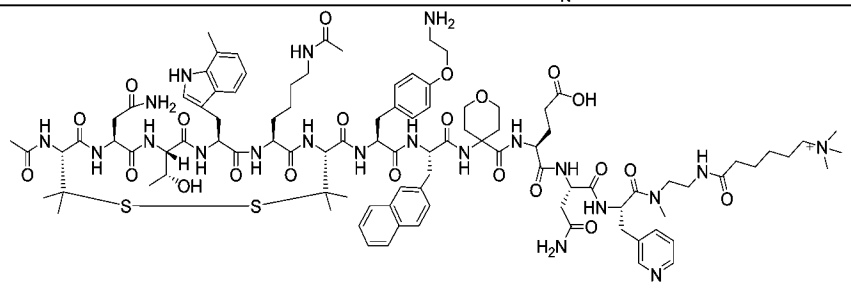
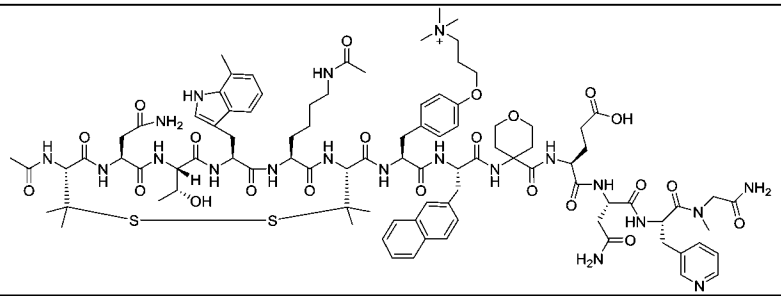
參考實施例 1 的合成方法，經中間體 L4 與多肽中間體 1c 的反應及後續類似實驗操作，得 35.1 mg 產物實施例 20，純度：97.1%，產率：19.1%。

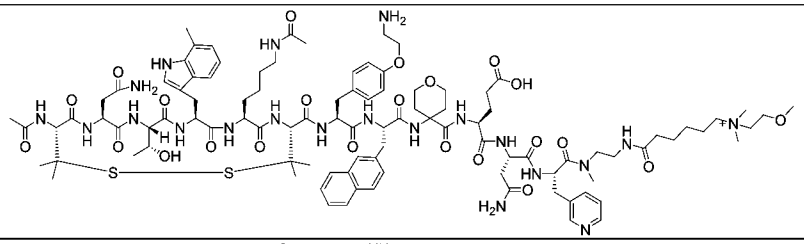
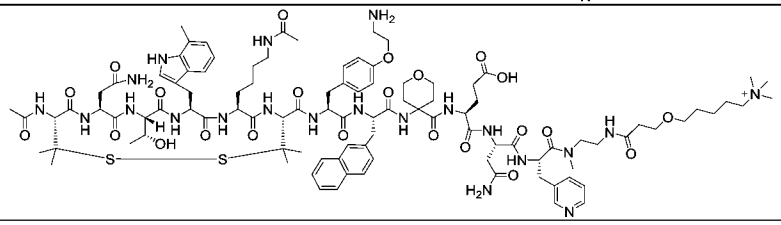
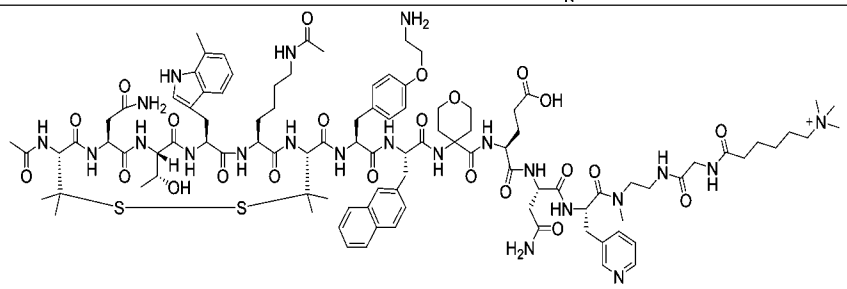
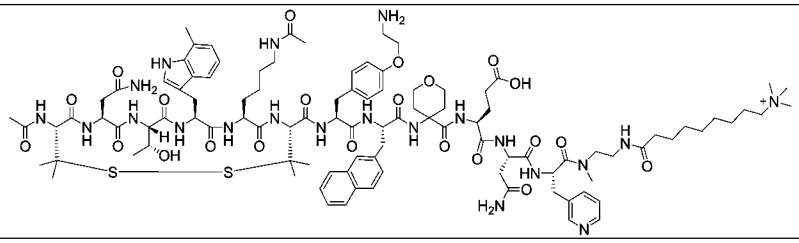
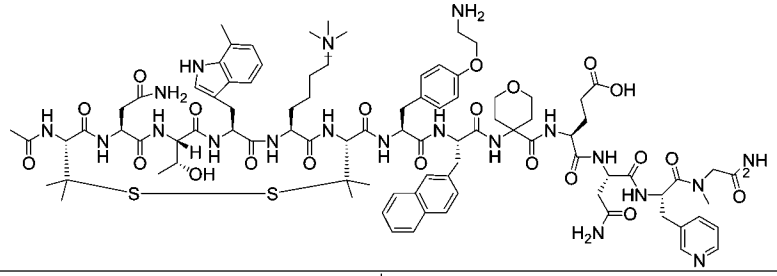
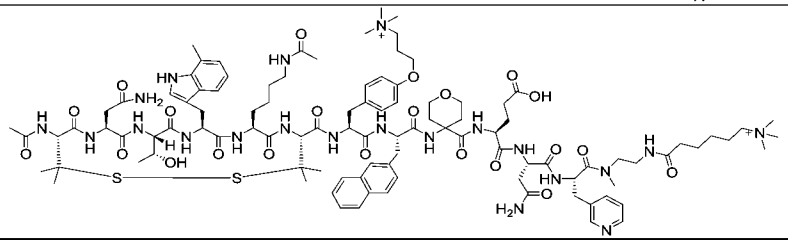
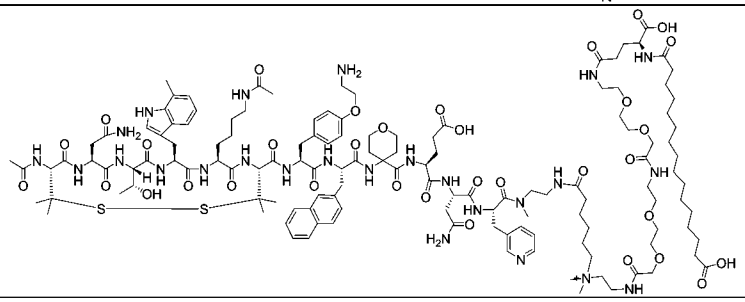
LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1378.7；$[(M+2H)/3]^+$= 919.5。

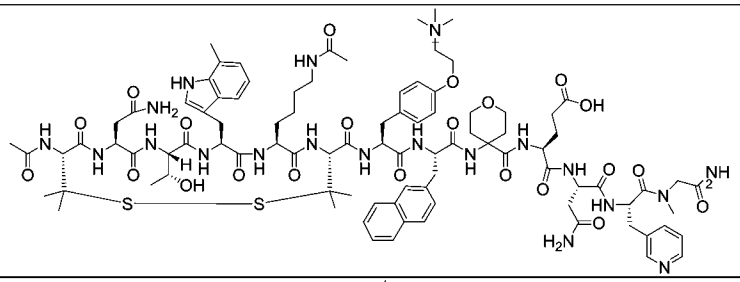
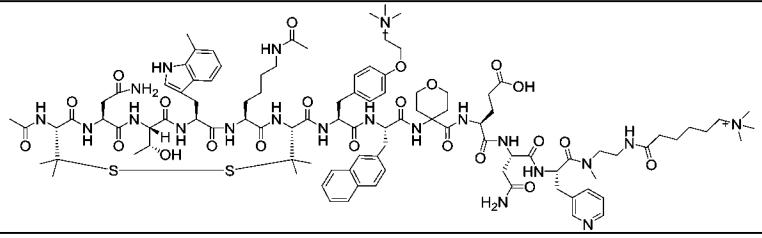
【0151】其他實施例參考上述製備方法製備：

序號	結構	MS m/z (ESI)
3		1043.5 $[(M+H)/2]^+$

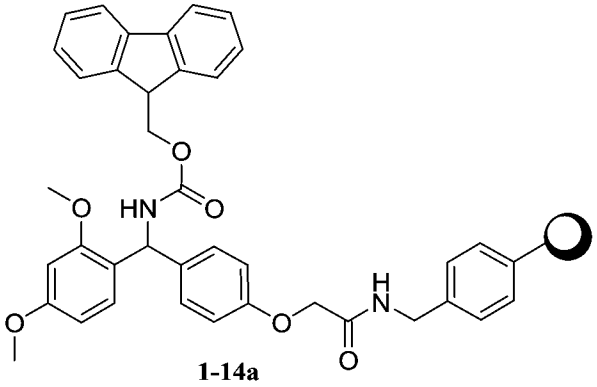
4		1415.7 $[(M+H)/2]^+$
5		1126.2 $[(M+H)/2]^+$
6		1300.1 $[(M+H)/2]^+$
7		1177.9 $[(M+H)/2]^+$
8		1394.7 $[(M+H)/2]^+$

9		1191.6 $[(M+H)/2]^+$
10		1408.7 $[(M+H)/2]^+$
11		1429.6 $[(M+H)/2]^+$
12		1020.5 $[(M+H)/2]^+$
13		978.0 $[(M+H)/2]^+$

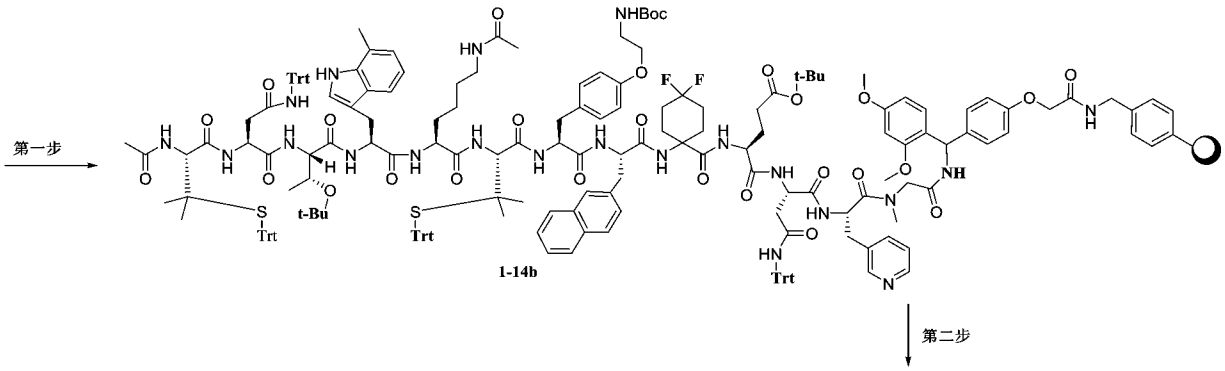
14		1042.5 $[(M+H)/2]^+$
15		1042.5 $[(M+H)/2]^+$
16		1049.0 $[(M+H)/2]^+$
17		1041.5 $[(M+H)/2]^+$
18		949.4 $[(M+H)/2]^+$
19		1048.5 $[M/2]^+$
20		1378.7 $[(M+H)/2]^+$

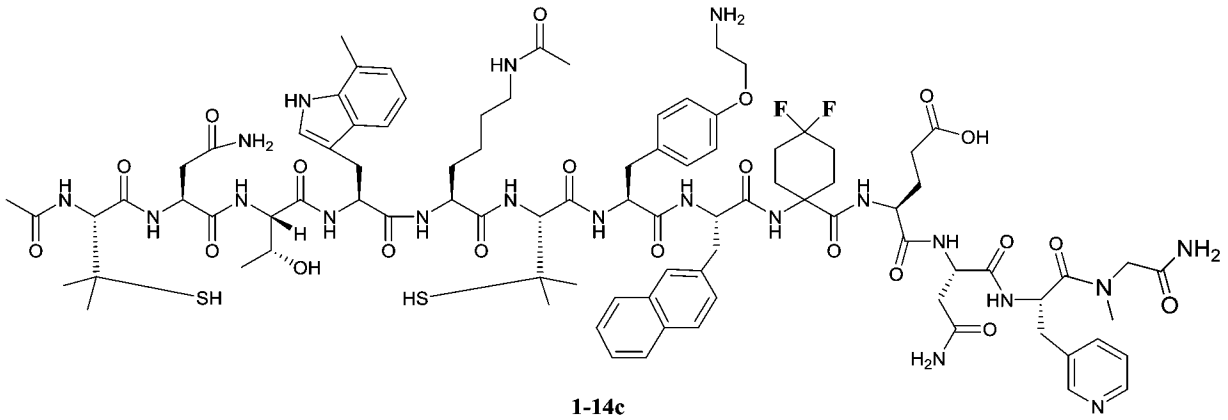
21		970.9 $[(M+H)/2]^+$
22		1041.5 $[M/2]^+$

【0152】實施例 1-14

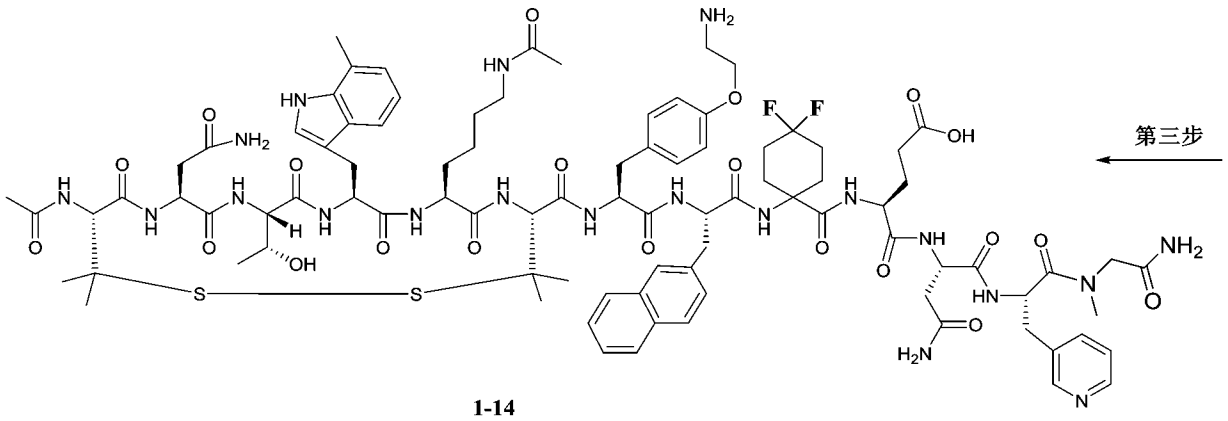


1-14a





1-14c



1-14

【0153】第一步：全保護的直鏈肽固相合成

【0154】1.1 掛樹脂

1.1.1 溶脹

秤取 Rink Amide-AM Resin（1-14a , 0.4g，替代度 0.5-0.7 mmol/g）加入至反應柱中，加入 DMF（10mL），氮氣鼓泡 20 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。

1.1.2 掛樹脂

1）加入 20%的哌啶/DMF（10 mL），氮氣鼓泡 30 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF（10mL）洗滌 5 次每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。

取樣，茚三酮檢測，樹脂呈藍色。

2）秤取芴甲氧羰醯基肌胺酸（186.6 mg，0.6 mmol）、*N,N'*-二異丙基碳二亞胺（76 mg）和 1-羥基苯並三氮唑（81mg）加入到反應柱中。

3）加入 DMF（10mL）溶解，氮氣鼓泡 4 小時。

4）抽乾溶劑。樹脂依次用 DMF（10 mL）、異丙醇（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）洗滌。每次洗滌保持氮氣鼓泡並攪拌 2~3 分鐘後再抽乾溶劑。

取樣，茚三酮檢測，樹脂無色。

【0155】1.2.胺基酸的偶聯

【0156】1.2.1 Fmoc-3-(4-吡啶基)-*L*-丙胺酸的偶聯

原料	投料量
Fmoc-3-(4-吡啶基)-*L*-丙胺酸	3.0eq
N,N'-二異丙基碳二亞胺（DIC）	3.0eq
1-羥基苯並三氮唑（HOBt）	3.0eq

1）加入 20%的哌啶/DMF（10 mL）至反應柱中，氮氣鼓泡 20 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF（10 mL）洗滌 5 次，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。

取樣，四氯苯醌檢測，樹脂藍色。

2）秤取 Fmoc-3-(4-吡啶基)-*L*-丙胺酸（234 mg）、*N,N'*-二異丙基碳二亞胺（76 mg）和 1-羥基苯並三氮唑（81mg）加入到反應柱中。

3）加入 DMF（10 mL）溶解，氮氣鼓泡，室溫下反應 3 小時。

取樣，四氯苯醌檢測，樹脂無色透明。

4）抽乾溶劑，樹脂依次用 10 mL DMF（10 mL）、10 mL 異丙醇（10 mL）、10 mL DMF（10 mL）、10 mL DMF（10 mL）、10 mL DMF（10 mL）洗滌。每次洗滌保持氮氣鼓泡並攪拌 2~3 分鐘後再抽乾溶劑。

【0157】1.2.2 Fmoc-Asn(Trt)-OH 的偶聯

原料	投料量

Fmoc-Asn(Trt)-OH	3.0eq
N,N'-二異丙基碳二亞胺（DIC）	3.0eq
1-羥基苯並三氮唑（HOBt）	3.0eq

1）加入 20%的哌啶/DMF（10 mL）至反應柱中，氮氣鼓泡 20 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF（10 mL）洗滌 5 次，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。

取樣，茚三酮檢測，樹脂藍色。

2）秤取 Fmoc-Asn(Trt)-OH（358 mg）、*N,N'*-二異丙基碳二亞胺（76 mg）和 1-羥基苯並三氮唑（81mg）加入到反應柱中。

3）加入 DMF（10 mL）溶解,氮氣鼓泡，室溫下反應 3 小時。

取樣，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4）抽乾溶劑，樹脂依次用 DMF（10 mL）、異丙醇（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）洗滌。每次洗滌保持氮氣鼓泡並攪拌 2~3 分鐘後再抽乾溶劑。

【0158】1.2.3 Fmoc-Glu(OtBu)-OH 的偶聯

原料	投料量
Fmoc-Glu(OtBu)-OH	3.0eq
N,N'-二異丙基碳二亞胺（DIC）	3.0eq
1-羥基苯並三氮唑（HOBt）	3.0eq

1）加入 20%的哌啶/DMF（10 mL）至反應柱中，氮氣鼓泡 20 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF（10 mL）洗滌 5 次，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。

取樣，茚三酮檢測，樹脂藍色。

2）秤取 Fmoc-Glu(OtBu)-OH（255 mg）、*N,N'*-二異丙基碳二亞胺（76 mg）

和 1-羥基苯並三氮唑（81mg）加入到反應柱中。

3）加入 DMF（10 mL）溶解,氮氣鼓泡，室溫下反應 3 小時。

取樣，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4）抽乾溶劑，樹脂依次用 DMF（10 mL）、異丙醇（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）洗滌。每次洗滌保持氮氣鼓泡並攪拌 2~3 分鐘後再抽乾溶劑。

【0159】1.2.4 1-(9*H*-芴-9-基甲氧基羰基胺基)-4,4-二氟-環己烷甲酸的偶聯

原料	投料量
1-(9*H*-芴-9-基甲氧基羰基胺基)-4,4-二氟-環己烷甲酸	3.0eq
N,N'-二異丙基碳二亞胺（DIC）	3.0eq
1-羥基苯並三氮唑（HOBt）	3.0eq

1）加入 20%的哌啶/DMF（10 mL）至反應柱中，氮氣鼓泡 20 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF（10 mL）洗滌 5 次，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。

取樣，茚三酮檢測，樹脂藍色。

2）秤取 1-(9*H*-芴-9-基甲氧基羰基胺基)-4,4-二氟-環己烷甲酸（241 mg）、*N,N'*-二異丙基碳二亞胺（76 mg）和 1-羥基苯並三氮唑（81mg）加入到反應柱中。

3）加入 DMF（10 mL）溶解,氮氣鼓泡，室溫下反應 3 小時。

取樣，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4）抽乾溶劑，樹脂依次用 DMF（10 mL）、異丙醇（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）洗滌。每次洗滌保持氮氣鼓泡並攪拌 2~3 分鐘後再抽乾溶劑。

【0160】1.2.5 Fmoc-2Nal-OH 的偶聯

原料	投料量
Fmoc-2Nal-OH	3.0eq
N,N'-二異丙基碳二亞胺（DIC）	3.0eq
1-羥基苯並三氮唑（HOBt）	3.0eq

1）加入 20%的哌啶/DMF（10 mL）至反應柱中，氮氣鼓泡 20 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF（10 mL）洗滌 5 次，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。

取樣，四氯苯醌檢測，樹脂紅褐色。

2）秤取 Fmoc-2Nal-OH（262 mg）、*N,N'*-二異丙基碳二亞胺（76 mg）和 1-羥基苯並三氮唑（81mg）加入到反應柱中。

3）加入 DMF（10 mL）溶解，氮氣鼓泡，室溫下反應 3 小時。

取樣，四氯苯醌檢測，樹脂無色透明。

4）抽乾溶劑，樹脂依次用 DMF（10 mL）、異丙醇（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）洗滌。每次洗滌保持氮氣鼓泡並攪拌 2~3 分鐘後再抽乾溶劑。

【0161】1.2.6 Fmoc-4-[2-(Boc-amino)ethoxy]-*L*-Phenylalanine 的偶聯

原料	投料量
Fmoc-4-[2-(Boc-amino)ethoxy]-*L*-Phenylalanine	3.0eq
N,N'-二異丙基碳二亞胺（DIC）	3.0eq
1-羥基苯並三氮唑（HOBt）	3.0eq

1）加入 20%的哌啶/DMF（10 mL）至反應柱中，氮氣鼓泡 20 分鐘，排廢，

直至沒有液體流出。加入 DMF（10 mL）洗滌 5 次，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。

取樣，茚三酮檢測，樹脂藍色。

2）秤取 Fmoc-4-[2-(Boc-amino)ethoxy]-*L*-Phenylalanine（328 mg）、*N,N'*-二異丙基碳二亞胺（76 mg）和 1-羥基苯並三氮唑（81mg）加入到反應柱中。

3）加入 DMF（10mL）溶解，氮氣鼓泡，室溫下反應 3 小時。

取樣，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4）抽乾溶劑，樹脂依次用 DMF（10 mL）、異丙醇（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）洗滌。每次洗滌保持氮氣鼓泡並攪拌 2~3 分鐘後再抽乾溶劑。

【0162】1.2.7 Fmoc-Pen(Trt)-OH 的偶聯

原料	投料量
Fmoc-Pen(Trt)-OH	3.0eq
N,N'-二異丙基碳二亞胺（DIC）	3.0eq
1-羥基苯並三氮唑（HOBt）	3.0eq

1）加入 20%的哌啶/DMF（10 mL）至反應柱中，氮氣鼓泡 20 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF（10 mL）洗滌 5 次，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。

取樣，茚三酮檢測，樹脂藍色。

2）秤取 Fmoc-Pen(Trt)-OH（368 mg）、*N,N'*-二異丙基碳二亞胺（76 mg）和 1-羥基苯並三氮唑（81mg）加入到反應柱中。

3）加入 DMF（10 mL）溶解，氮氣鼓泡，室溫下反應 3 小時。

取樣，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4）抽乾溶劑，樹脂依次用 DMF（10 mL）、異丙醇（10 mL）、DMF（10 mL）、

DMF（10 mL）、DMF（10 mL）洗滌。每次洗滌保持氮氣鼓泡並攪拌 2~3 分鐘後再抽乾溶劑。

【0163】1.2.8 Fmoc-Lys(Ac)-OH 的偶聯

原料	投料量
Fmoc-Lys(Ac)-OH	3.0eq
N,N'-二異丙基碳二亞胺（DIC）	3.0eq
1-羥基苯並三氮唑（HOBt）	3.0eq

1）加入 20%的哌啶/DMF（10 mL）至反應柱中，氮氣鼓泡 20 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF（10 mL）洗滌 5 次，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。

取樣，茚三酮檢測，樹脂藍色。

2）秤取 Fmoc-Lys(Ac)-OH（246 mg）、*N,N'*-二異丙基碳二亞胺（76 mg）和 1-羥基苯並三氮唑（81mg）加入到反應柱中。

3）加入 DMF（10 mL）溶解，氮氣鼓泡，室溫下反應 3 小時。

取樣，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4）抽乾溶劑，樹脂依次用 DMF（10 mL）、異丙醇（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）洗滌。每次洗滌保持氮氣鼓泡並攪拌 2~3 分鐘後再抽乾溶劑。

【0164】1.2.9 Fmoc-(7Me)Trp-OH 的偶聯

原料	投料量
Fmoc-(7Me)Trp-OH	3.0eq
N,N'-二異丙基碳二亞胺（DIC）	3.0eq
1-羥基苯並三氮唑（HOBt）	3.0eq

1）加入 20%的哌啶/DMF（10 mL）至反應柱中，氮氣鼓泡 20 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF（10 mL）洗滌 5 次，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。

取樣，茚三酮檢測，樹脂藍色。

2）秤取 Fmoc-(7Me)Trp-OH（264 mg）、*N,N'*-二異丙基碳二亞胺（76 mg）和 1-羥基苯並三氮唑（81mg）加入到反應柱中。

3）加入 DMF（10 mL）溶解，氮氣鼓泡，室溫下反應 3 小時。

取樣，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4）抽乾溶劑，樹脂依次用 DMF（10 mL）、異丙醇（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）洗滌。每次洗滌保持氮氣鼓泡並攪拌 2~3 分鐘後再抽乾溶劑。

【0165】1.2.10 Fmoc-Thr(Tbu)-OH 的偶聯

原料	投料量
Fmoc-Thr(Tbu)-OH	3.0eq
N,N'-二異丙基碳二亞胺（DIC）	3.0eq
1-羥基苯並三氮唑（HOBt）	3.0eq

1）加入 20%的哌啶/DMF（10 mL）至反應柱中，氮氣鼓泡 20 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF（10 mL）洗滌 5 次，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。

取樣，茚三酮檢測，樹脂藍色。

2）秤取 Fmoc-Thr(Tbu)-OH（238 mg）、*N,N'*-二異丙基碳二亞胺（76 mg）和 1-羥基苯並三氮唑（81mg）加入到反應柱中。

3）加入 DMF（10 mL）溶解，氮氣鼓泡，室溫下反應 3 小時。

取樣，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4）抽乾溶劑，樹脂依次用 DMF（10 mL）、異丙醇（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）洗滌。每次洗滌保持氮氣鼓泡並攪拌 2~3 分鐘後再抽乾溶劑。

【0166】1.2.11 Fmoc-Asn(Trt)-OH 的偶聯

原料	投料量
Fmoc-Asn(Trt)-OH	3.0eq
N,N'-二異丙基碳二亞胺（DIC）	3.0eq
1-羥基苯並三氮唑（HOBt）	3.0eq

1）加入 20%的哌啶/DMF（10 mL）至反應柱中，氮氣鼓泡 20 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF（10 mL）洗滌 5 次，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。

取樣，茚三酮檢測，樹脂藍色。

2）秤取 Fmoc-Asn(Trt)-OH（358 mg）、*N,N'*-二異丙基碳二亞胺（76 mg）和 1-羥基苯並三氮唑（81mg）加入到反應柱中。

3）加入 DMF（10 mL）溶解，氮氣鼓泡，室溫下反應 3 小時。

取樣，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4）抽乾溶劑，樹脂依次用 DMF（10 mL）、異丙醇（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）洗滌。每次洗滌保持氮氣鼓泡並攪拌 2~3 分鐘後再抽乾溶劑。

【0167】1.2.12 Fmoc-Pen(Trt)-OH 的偶聯

原料	投料量
Fmoc-Pen(Trt)-OH	3.0eq

N,N'-二異丙基碳二亞胺（DIC）	3.0eq
1-羥基苯並三氮唑（HOBt）	3.0eq

1）加入20%的哌啶/DMF（10 mL）至反應柱中，氮氣鼓泡20分鐘，排廢，直至沒有液體流出。加入DMF（10 mL）洗滌5次，每次1分鐘，排廢，直至沒有液體流出。

取樣，茚三酮檢測，樹脂藍色。

2）秤取Fmoc-Pen(Trt)-OH（368 mg）、*N,N'*-二異丙基碳二亞胺（76 mg）和1-羥基苯並三氮唑（81mg）加入到反應柱中。

3）加入DMF（10 mL）溶解，氮氣鼓泡，室溫下反應3小時。

取樣，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4）抽乾溶劑，樹脂依次用DMF（10 mL）、異丙醇（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）洗滌。每次洗滌保持氮氣鼓泡並攪拌2~3分鐘後再抽乾溶劑。

【0168】1.2.13 Ac_2O封端

原料	投料量
乙酸酐（Ac_2O）	5.0eq
N,N-二異丙基乙胺（DIEA）	6.00eq

1）加入20%的哌啶/DMF（10 mL）至反應柱中，氮氣鼓泡20分鐘，排廢，直至沒有液體流出。加入DMF（10 mL）洗滌5次，每次1分鐘，排廢，直至沒有液體流出。

取樣，茚三酮檢測，樹脂藍色。

2）加入DCM (10 mL)，DIEA（6.0eq），Ac_2O（5.0eq）加入到上述樹脂中，鼓氮氣，調節好氮氣使樹脂均勻鼓泡。

3）在室溫下反應 30 分鐘。

取樣，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4）樹脂依次用 DMF（10 mL）、異丙醇（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）、DMF（10 mL）洗滌。每次洗滌保持氮氣鼓泡並攪拌 2~3 分鐘後再抽乾溶劑。

5）收樣洗滌：樹脂用異丙醚（10 mL）氮氣鼓泡並攪拌洗滌 2~3 分鐘，抽乾。再重複此操作三次，得到樹脂肽 1-14b。

【0169】第二步：直鏈肽的裂解與脫保護

按如下體積配置切割液

試劑	比例%
三氟乙酸（TFA）	92.5
三異丙基矽烷（Tis）	2.5
二硫蘇糖醇（DTT）	2.5
H_2O	2.5

將得到的樹脂肽 1-14b 加入 10 mL 配好的切割液，在 25 ℃水浴搖床震盪 2.5 小時，過濾，濾液加入到 10 倍體積冰異丙醚中，離心，棄去上清液。再用異丙醚洗滌 3 次，真空乾燥 2 小時得到粗肽 1-14c。

【0170】第三步：二硫鍵的氧化

將上述得到的粗肽 1-14c（190 mg）加入到水（100 mL）和乙腈（100 mL）中，溶解澄清後向其中緩慢滴加 0.1M 的 I_2/MeOH，直至溶液變成亮黃色。繼續攪拌 5 分鐘黃色沒有消失，然後滴加 0.1 M 硫代硫酸鈉至黃色消失，攪拌兩分鐘無變化後，將樣品經下述純化條件進行純化。

【0171】純化條件:

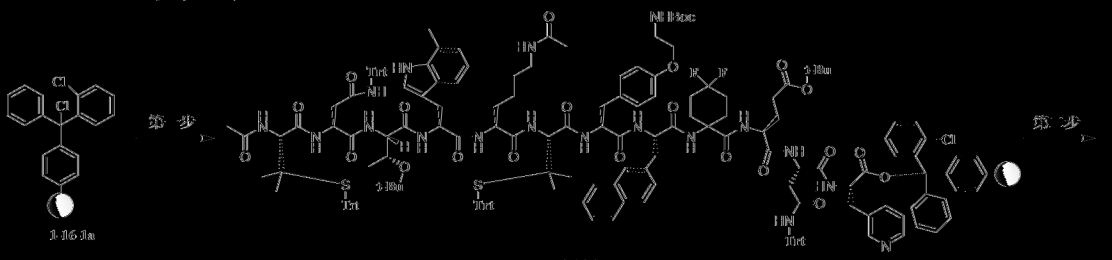
分離條件

溶解條件	Dissolve in 30%ACN-H_2O
儀器	漢邦 NEWSTYLE 製備型色譜儀
流動相	A: H_2O (0.1% TFA in H_2O) B: CH_3CN
梯度	30-60% 60 min. Retention time: 30 min
柱型	Waters Xselect CSH C18（50×250mm，10μm）
流速	7 mL/Min
檢測波長	214/254 nm
柱溫	室溫

將純化液減壓濃縮除去有機溶劑，凍乾得到 45 mg 終產物實施例 1-14，純度 97.5 %，收率：11.7%。

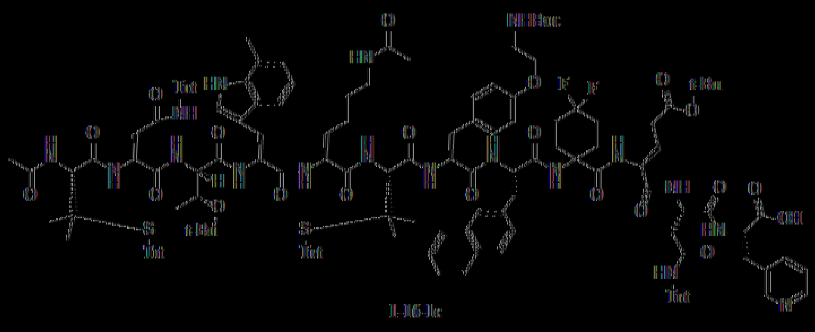
MS：m/z：1931.8, $[M+H]^+$；m/z：966.4, $[M+2H]^{2+}$。

(0172) 實施例 1-16-1

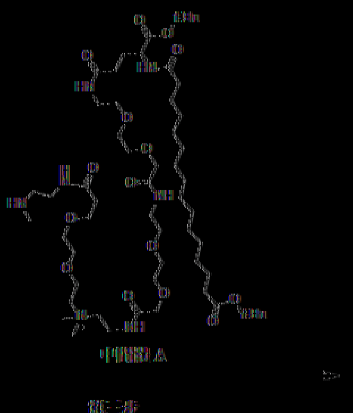


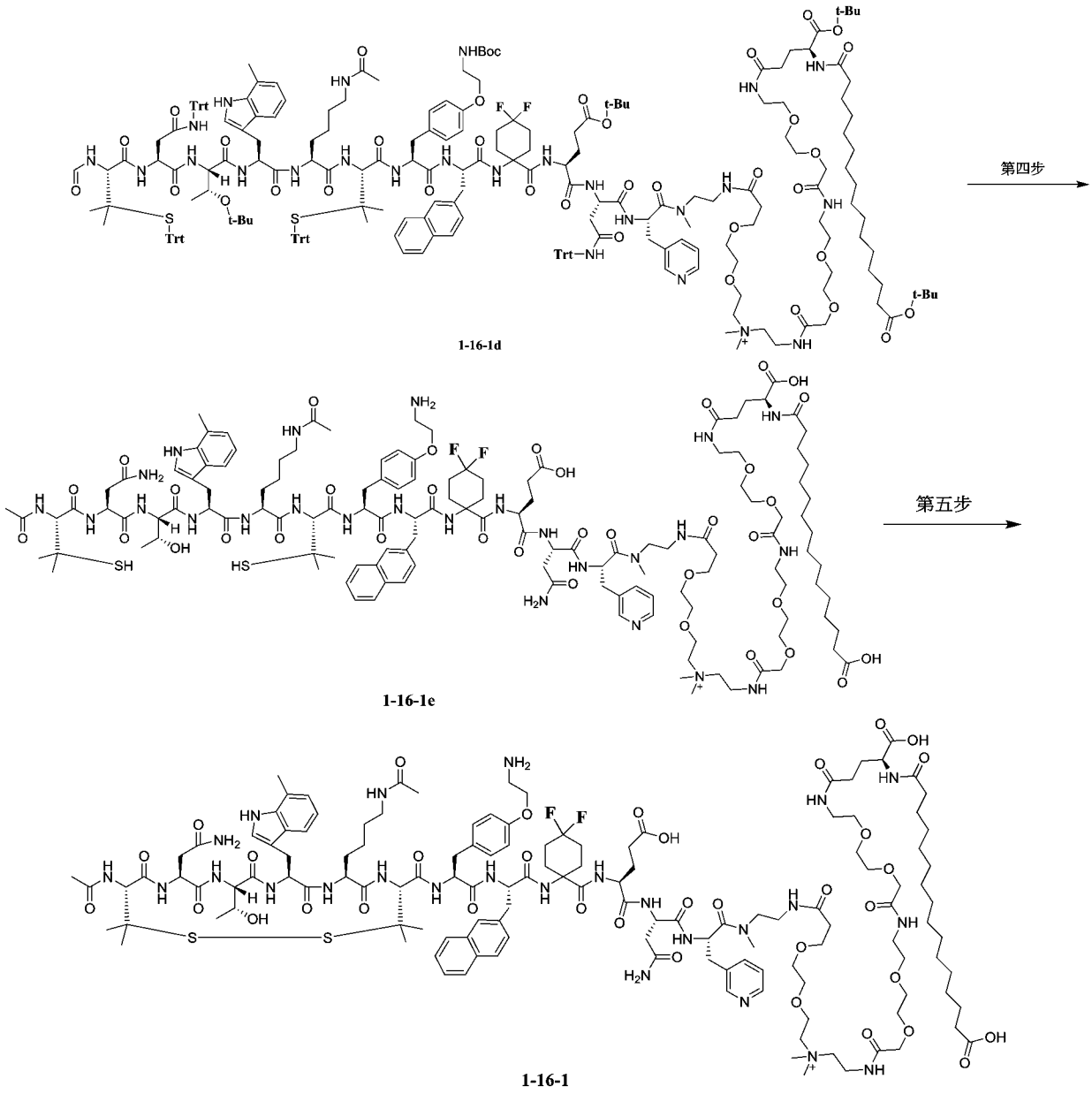
1-16-1a

1-16-1b



1-16-1c





【0173】第一步：全保護的直鏈肽合成

【0174】1.1 掛樹脂

1.1.1 秤取 0.6 g 2-CTC Resin (1-16-1a,替代度 S=1.08 mmol/g) 和 78 mg *N*-Fmoc-*L*-3-吡啶基丙胺酸，(0.2 mmol,取代度 0.33) 加入到反應柱中，再加入 DCM (10 mL), 隨後加入 0.6 mL DIEA 至反應柱氮氣鼓氣 2 小時，然後加入 0.6 mL MeOH 至反應柱氮氣繼續鼓氣 30 分鐘，排廢，直至沒有液體流出，加入 DMF (30 mL) 洗滌 5 次每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。

1.1.2 加入 20%的哌啶/DMF(15 mL)至反應柱中，氮氣鼓起 20 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF (30mL)洗滌 5 次每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。茚三酮檢測，樹脂藍色。

【0175】1.2.胺基酸的偶聯

【0176】1.2.1 Fmoc-Asn(Trt)-OH 的偶聯

原料	投料量
Fmoc-Asn(Trt)-OH	358 mg, 3.0eq
HBTU	216 mg, 2.85eq
DIEA	155 mg, 6.00eq

1. 秤取 Fmoc-Asn(Trt)-OH(358 mg, 3.0eq)加入到上述樹脂中，加入 DIEA (155 mg, 6.00eq)補加 5mL DMF 至反應柱中，鼓氮氣，待胺基酸溶解後加入 HBTU (216 mg, 2.85eq)。調節好氮氣使樹脂均勻鼓起。

2. 在 25 ℃的環境中反應 0.5 小時，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

3. 抽掉反應液，用 DMF 洗滌 5 次(20 mL 每次)，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。

【0177】1.2.2 Fmoc-Glu(OtBu)-OH 的偶聯

原料	投料量
Fmoc-Glu(OtBu)-OH	255 mg, 3.0eq
HBTU	216 mg, 2.85eq
DIEA	155 mg, 6.00eq

1. 加入 20%的哌啶/DMF(20 mL)至反應柱中，氮氣鼓起 20 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF (20 mL)洗滌 5 次，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。茚三酮檢測，樹脂藍色。

2. 秤取 Fmoc-Glu(OtBu)-OH(255 mg, 3.0eq)加入到上述樹脂中，加入 DIEA (155 mg, 6.00eq)補加 5 mL DMF 至反應柱中，鼓氮氣，待胺基酸溶解後加入 HBTU (216 mg, 2.85eq)。調節好氮氣使樹脂均勻鼓起。

3. 在 25 ℃的環境中反應 0.5 小時，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4. 抽掉反應液，用 DMF 洗滌 5 次(20 mL 每次)，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。

【0178】1.2.3 1-(9*H*-芴-9-基甲氧基羰基胺基)-4,4-二氟-環己烷甲酸的偶聯

原料	投料量
1-(9*H*-芴-9-基甲氧基羰基胺基)-4,4-二氟-環己烷甲酸	241 mg, 3.0eq
HATU	217 mg, 2.85eq
DIEA	155 mg, 6.00eq

1. 加入 20%的哌啶/DMF (20 mL)至反應柱中，氮氣鼓起 20 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF (20 mL)洗滌 5 次，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。茚三酮檢測，樹脂藍色。

2. 秤取 1-(9*H*-芴-9-基甲氧基羰基胺基)-4,4-二氟-環己烷甲酸 (CAS: 1986905-26-3, 241 mg, 3.0eq)加入到上述樹脂中，加入 DIEA (155 mg, 6.00eq)補加 5 mL DMF 至反應柱中，鼓氮氣，待胺基酸溶解後加入 HATU (217 mg, 2.85eq)。調節好氮氣使樹脂均勻鼓起。

3. 在 25 ℃的環境中反應 0.5 小時，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4. 抽掉反應液，用 DMF 洗滌 5 次，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。

【0179】1.2.4 Fmoc-2Nal-OH 的偶聯

原料	投料量
Fmoc-2Nal-OH	262 mg, 3.0eq
HATU	217 mg, 2.85eq
DIEA	155 mg, 6.00eq

1. 加入 20%的哌啶/DMF (20 mL)至反應柱中，氮氣鼓起 20 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF (20 mL)洗滌 5 次，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。四氯苯醌檢測，樹脂綠色。

2. 秤取 Fmoc-2-Nal-OH (262 mg, 3.0eq)加入到上述樹脂中，加入 DIEA (155 mg, 6.00eq)補加 5mL DMF 至反應柱中，鼓氮氣，待胺基酸溶解後加入 HATU (217 mg, 2.85eq)。調節好氮氣使樹脂均勻鼓起。

3. 在 25 ℃的環境中反應 0.5 小時，四氯苯醌檢測，樹脂無色透明。

4. 抽掉反應液，用 DMF 洗滌 5 次(20 mL 每次)，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。

【0180】1.2.5 Fmoc-4-[2-(Boc-amino)ethoxy]-*L*-Phenylalanine 的偶聯

原料	投料量
Fmoc-4-[2-(Boc-amino)ethoxy]-*L*-Phenylalanine	328 mg, 3.0eq
HBTU	216 mg, 2.85eq
DIEA	155 mg, 6.00eq

1．加入 20%的哌啶/DMF(20mL)至反應柱中，氮氣鼓起 20 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF(20mL)洗滌 5 次，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。茚三酮檢測，樹脂藍色。

2. 秤取 Fmoc-4-[2-(Boc-amino)ethoxy]-*L*-Phenylalanine (328 mg, 3.0eq)加入到上述樹脂中，加入 DIEA (155 mg, 6.00eq)補加 5 mL DMF 至反應柱中，鼓氮氣，待胺基酸溶解後加入 HBTU (216 mg, 2.85eq)。調節好氮氣使樹脂均勻鼓起。

3. 在 25 ℃的環境中反應 0.5 小時，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4. 抽掉反應液，用 DMF 洗滌 5 次(20 mL 每次)，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。

【0181】1.2.6 Fmoc-Pen(Trt)-OH 的偶聯

原料	投料量
Fmoc-Pen(Trt)-OH	368 mg, 3.0eq
HBTU	216 mg, 2.85eq
DIEA	155 mg, 6.00eq

1.加入 20%的哌啶/DMF (20 mL)至反應柱中，氮氣鼓起 20 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF (20 mL)洗滌 5 次，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。茚三酮檢測，樹脂藍色。

2.秤取 Fmoc-Pen(Trt)-OH(368 mg, 3.0eq)加入到上述樹脂中，加入 DIEA (155 mg, 6.00eq)補加 5 mL DMF 至反應柱中，鼓氮氣，待胺基酸溶解後加入 HBTU (216 mg, 2.85eq)。調節好氮氣使樹脂均勻鼓起。

3.在 25 ℃的環境中反應 0.5 小時，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4.抽掉反應液，用 DMF 洗滌 5 次(20mL 每次)，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。

【0182】1.2.7 Fmoc-Lys(Ac)-OH 的偶聯

原料	投料量
Fmoc-Lys(Ac)-OH	246 mg, 3.0eq

HBTU	216 mg, 2.85eq
DIEA	155 mg, 6.00eq

1.加入 20%的哌啶/DMF (20 mL)至反應柱中，氮氣鼓起 20 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF (20 mL)洗滌 5 次，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。茚三酮檢測，樹脂藍色。

2.秤取 Fmoc-Lys(Ac)-OH (246 mg, 3.0eq)加入到上述樹脂中，加入 DIEA (155 mg, 6.00eq)補加 5 mL DMF 至反應柱中，鼓氮氣，待胺基酸溶解後加入 HBTU (216 mg, 2.85eq)。調節好氮氣使樹脂均勻鼓起。

3.在 25 ℃的環境中反應 0.5 小時，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4.抽掉反應液，用 DMF 洗滌 5 次(20mL 每次)，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。

【0183】1.2.8 Fmoc-(7Me)Trp-OH 的偶聯

原料	投料量
Fmoc-(7Me)Trp-OH	264 mg, 3.0eq
HATU	217 mg, 2.85eq
DIEA	155 mg, 6.00eq

1.加入 20%的哌啶/DMF (20 mL)至反應柱中，氮氣鼓起 20 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF (20 mL)洗滌 5 次，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。茚三酮檢測，樹脂藍色。

2.秤取 Fmoc-(7Me)Trp-OH (264 mg, 3.0eq)加入到上述樹脂中，加入 DIEA (155 mg, 6.00eq)補加 5 mL DMF 至反應柱中，鼓氮氣，待胺基酸溶解後加入 HATU (217 mg, 2.85eq)。調節好氮氣使樹脂均勻鼓起。

3.在 25 ℃的環境中反應 0.5 小時，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4.抽掉反應液，用 DMF 洗滌 5 次(20mL 每次)，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。

【0184】1.2.9 Fmoc-Thr(Tbu)-OH 的偶聯

原料	投料量
Fmoc-Thr(Tbu)-OH	238mg, 3.0eq
HBTU	216 mg, 2.85eq
DIEA	155 mg, 6.00eq

1.加入 20%的哌啶/DMF (20 mL)至反應柱中，氮氣鼓起 20 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF (20 mL)洗滌 5 次，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。茚三酮檢測，樹脂藍色。

2.秤取 Fmoc-Thr(Tbu)-OH (238 mg, 3.0eq)加入到上述樹脂中，加入 DIEA (155 mg, 6.00eq)補加 5 mL DMF 至反應柱中，鼓氮氣，待胺基酸溶解後加入 HBTU (216 mg, 2.85eq)。調節好氮氣使樹脂均勻鼓起。

3.在 25 ℃的環境中反應 0.5 小時，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4.抽掉反應液，用 DMF 洗滌 5 次(20 mL 每次)，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。

【0185】1.2.10 Fmoc-Asn(Trt)-OH 的偶聯

原料	投料量
Fmoc-Asn(Trt)-OH	358 mg, 3.0eq
HBTU	216 mg, 2.85eq
DIEA	155 mg, 6.00eq

1.加入 20%的哌啶/DMF (20 mL)至反應柱中，氮氣鼓起 20 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF (20 mL)洗滌 5 次，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。茚三酮檢測，樹脂藍色。

2.秤取 Fmoc-Asn(Trt)-OH(358 mg, 3.0eq)加入到上述樹脂中，加入 DIEA (155 mg, 6.00eq)補加 5 mL DMF 至反應柱中，鼓氮氣，待胺基酸溶解後加入 HBTU (216 mg, 2.85eq)。調節好氮氣使樹脂均勻鼓起。

3.在 25 ℃的環境中反應 0.5 小時，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4.抽掉反應液，用 DMF 洗滌 5 次(20 mL 每次)，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。

【0186】1.2.11 Fmoc-Pen(Trt)-OH 的偶聯

原料	投料量
Fmoc-Pen(Trt)-OH	368 mg, 3.0eq
HBTU	216 mg, 2.85eq
DIEA	155 mg, 6.00eq

1.加入 20%的哌啶/DMF (20 mL)至反應柱中，氮氣鼓起 20 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF (20mL)洗滌 5 次，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。茚三酮檢測，樹脂藍色。

2.秤取 Fmoc-Pen(Trt)-OH(368 mg, 3.0eq)加入到上述樹脂中，加入 DIEA (155 mg, 6.00eq)補加 5 mL DMF 至反應柱中，鼓氮氣，待胺基酸溶解後加入 HBTU (216 mg, 2.85eq)。調節好氮氣使樹脂均勻鼓起。

3.在 25 ℃的環境中反應 0.5 小時，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4.抽掉反應液，用 DMF 洗滌 5 次(20 mL 每次)，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。

【0187】1.2.12 Ac_2O 封端

原料	投料量
Ac_2O	102 mg, 5.0eq
DIEA	155 mg, 6.00eq

1.加入 20%的哌啶/DMF (20 mL)至反應柱中，氮氣鼓起 20 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。加入 DMF (20 mL)洗滌 5 次，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出。茚三酮檢測，樹脂藍色。

2.加入 DMF (10 mL)，DIEA (155 mg, 6.00eq), Ac_2O (102 mg, 5.0eq)加入到上述樹脂中，鼓氮氣，調節好氮氣使樹脂均勻鼓起。

3.在 25 ℃的環境中反應 10 分鐘，茚三酮檢測，樹脂無色透明。

4.抽掉反應液，用 DMF 洗滌 5 次(20 mL 每次)，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出，得到直鏈肽 1-16-1b。

【0188】第二步：全保護的直鏈肽切割

2.1 用 DMF 洗滌 5 次(20 mL 每次)，每次 1 分鐘，排廢，直至沒有液體流出

2.2 用 MeOH (20 mL)收縮樹脂，每次 3 分鐘，排廢，直至沒有液體流出，然後用甲三級醚 20 mL 洗樹脂三次，將樹脂用氮氣吹乾，備用.

2.3 將配好的 20% HFIP/DCM 溶液 50 mL 倒入反應器內，鼓氮氣，反應 30 分鐘一次，切割三次後，將所有濾液收集起來，減壓濃縮乾，再加入 DCM 50 mL 繼續減壓濃縮乾。

2.4 加入乙腈 100 mL，水 100 mL 超聲至產物均勻分散，然後使用凍乾機凍乾，得到中間體 1-16-1c 480 mg, 純度 76%，產率 60%。

LC/MS：$[M+H]^+$=3044.4；$[M+H-243]^+$= 2801.4

【0189】第三步：中間體 1-16-1c 與中間體 A 縮合

取上述中間體 1-16-1c (200 mg，0.06 mmol), 加入 DMF 1 mL，DIEA (3eq, 0.18 mmol),再加入中間體 A (77 mg, 0.06 mmol, 1eq),再緩慢滴加 HATU(23 mg, 0.06 mmol, 1eq, 溶在 DMF 0.2 mL 中），使用 Tof-LCMS 檢測原料消耗完全, 使用油泵將 DMF 旋乾，得到中間體 1-16-1d 粗品, 備用。

LC/MS：$[M]^+$=4130.2, $[M-243]^+$=3887.2.

【0190】第四步：直鏈肽的切割

4.1．按如下體積配置切割液

試劑	比例
TFA	90
Tis	2.5
H_2O	2.5
Mpr	5.0

將第三步得到的粗肽加入配好的切割液，在搖床震盪 2.5h，過濾，濾液加入到 10 倍體積冰異丙醚中，離心，再用異丙醚洗滌 3 次。在真空乾燥 2h 得到粗肽 1-16-1e。

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1419.2；$[(M+2H)/3]^+$= 946.5。

【0191】第五步：二硫鍵的氧化

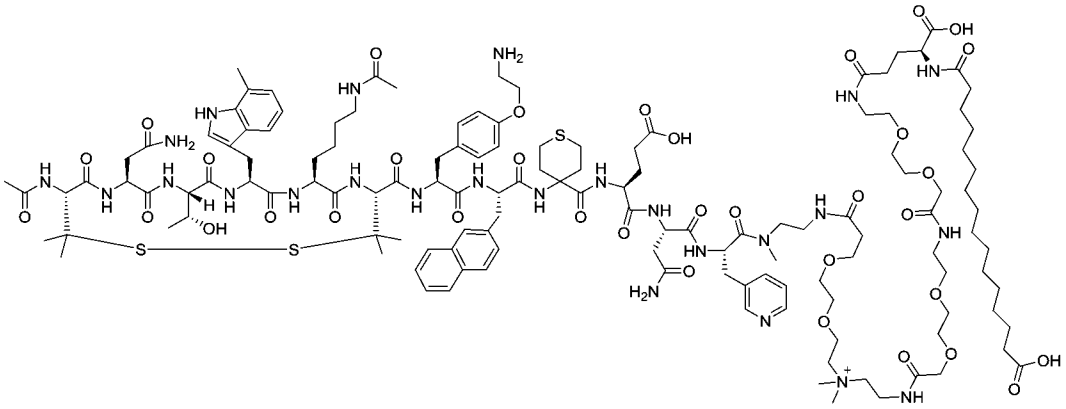
5.1 將第四步得到的粗肽 1-16-1e 160 mg，加入水 100 mL, 乙腈 100 mL,溶解澄清後緩慢滴加 0.1M 的 I_2/MeOH 直至溶液變成亮黃色。繼續攪拌 5 分鐘黃色沒有消失，然後滴加 0.1 M 硫代硫酸鈉至黃色消失，攪拌兩分鐘無變化後，將樣品凍乾純化得到 42 mg 產物實施例 1-16-1，純度 97.1%，產率：18.0%。

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1418.2；$[(M+2H)/3]^+$= 945.8。

【0192】純化條件:

分離條件	
溶解條件	Dissolve in 10%ACN-H_2O
儀器	Waters 2545 泵，waters 2489 檢測器
流動相	A: H_2O (0.1% TFA in H_2O)
	B: CH_3CN
梯度	B%, 10-30%-5min, 30-40%-45 min. Retention time: 20 min
柱型	Welch LP-C18（21.2h LP-C，10μm）
流速	20 mL/min
檢測波長	220/254 nm
柱溫	室溫

【0193】實施例 3-16-1

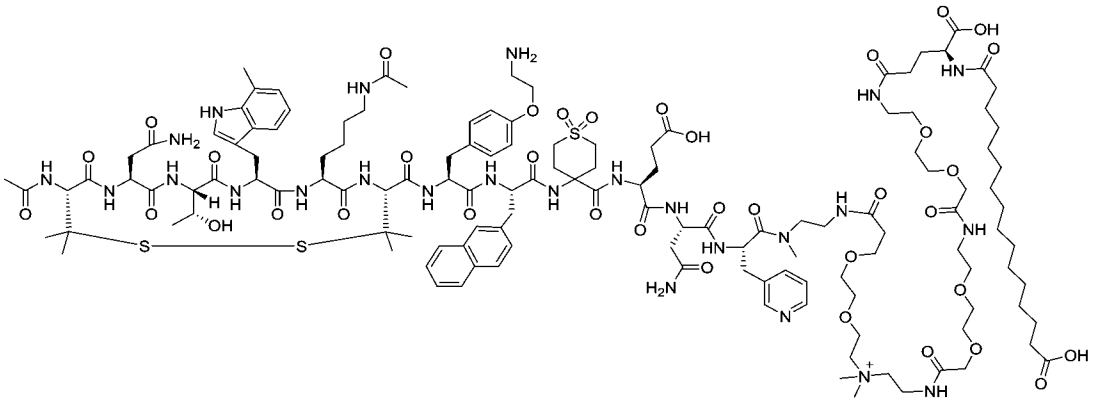


【0194】實施例 3-16-1 可以參照如下方法製備：

參考實施例1-16-1的製備方法，其中第一步直鏈肽固相合成中的1-(9*H*-芴-9-基甲氧基羰基胺基)-4,4-二氟-環己烷甲酸替換為(9*H*-芴-9-基)甲基(4-氰基四氫-2*H*-噻喃-4-基)胺基甲酸酯 A3c，得到 120 mg 產物實施例 3-16-1，純度 98.5%，產率：23.0%。

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1409.6；$[(M+2H)/3]^+$= 940.8。

【0195】實施例 4-16-1



【0196】實施例 4-16-1 可以參照如下方法製備：

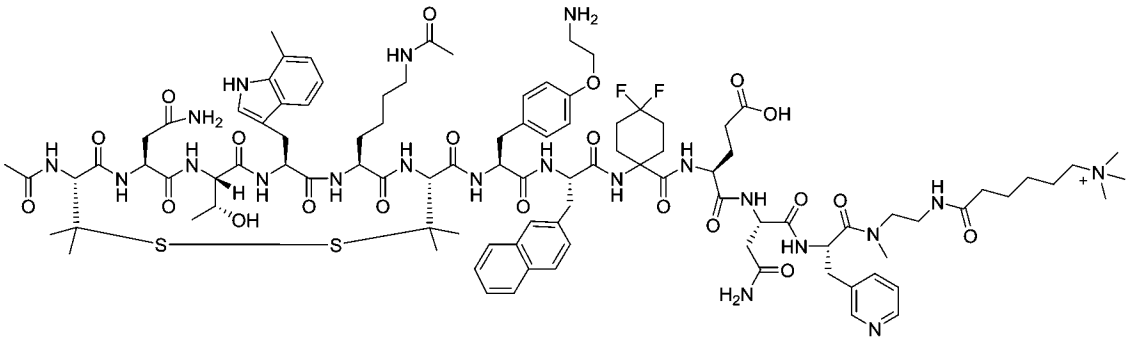
參考實施例1-16-1的製備方法，其中第一步直鏈肽固相合成中的1-(9*H*-芴-9-基甲氧基羰基胺基)-4,4-二氟-環己烷甲酸替換為中間體 A3，得到 110 mg 產物實施例 4-16-1，純度 99.4%，產率：21.0%。

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1425.7；$[(M+2H)/3]^+$= 951.0。

純化條件:

分離條件	
溶解條件	Dissolve in 10%ACN-H_2O
儀器	Waters 2545 泵，waters 2489 檢測器
流動相	A: H_2O (0.1% TFA in H_2O)
	B: CH_3CN
梯度	B%, 10-30%-5min, 30-40%-45 min. Retention time: 20 min
柱型	Welch LP-C18（21.2h LP-C，10μm）
流速	20 mL/min
檢測波長	220/254 nm
柱溫	室溫

【0197】實施例 1-19

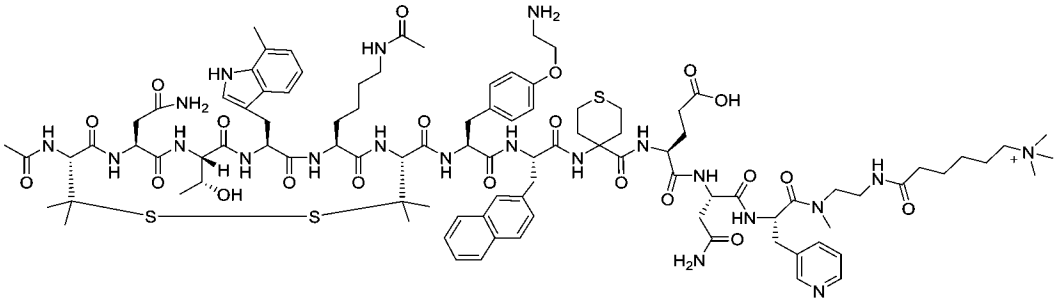


實施例 1-19 可以參照如下方法製備：

參考實施例 1-16-1 的製備方法，其中第三步直鏈肽與側鏈偶合中的中間體 A 替換為中間體 L2，得到 110 mg 產物實施例 1-19，純度 95.1%，產率：15.4%。

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1037.5；$[(M+2H)/3]^+$=692.4。

【0198】實施例 3-19

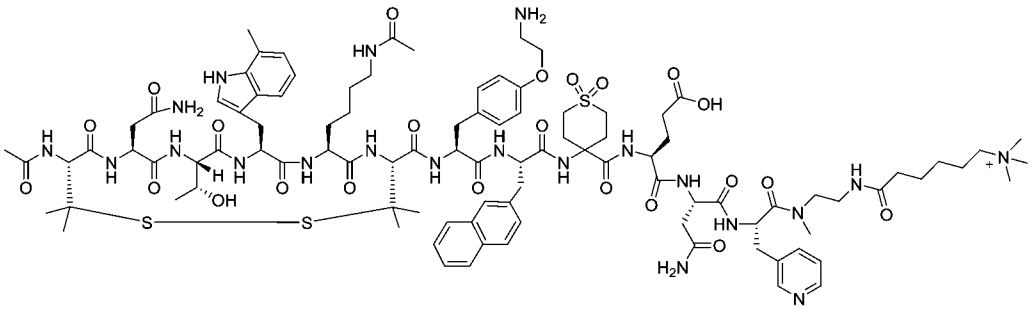


【0199】實施例 3-19 可以參照如下方法製備：

參考實施例 1-16-1 的製備方法，其中第一步直鏈肽固相合成中的 1-(9*H*-芴-9-基甲氧基羰基胺基)-4,4-二氟-環己烷甲酸替換為(9*H*-芴-9-基)甲基(4-氰基四氫-2*H*-噻喃-4-基)胺基甲酸酯 A3c，第三步直鏈肽與側鏈偶合中的側鏈中間體 A 替換為中間體 L2，得到 110 mg 產物實施例 3-19，純度 99.0%，產率：15.4%。

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1028.5；$[(M+2H)/3]^+$=686.4。

【0200】實施例 4-19

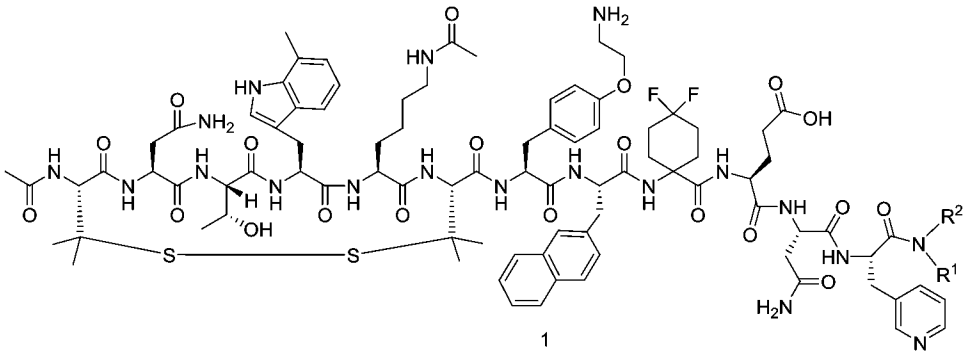


【0201】實施例 4-19 可以參照如下方法製備：

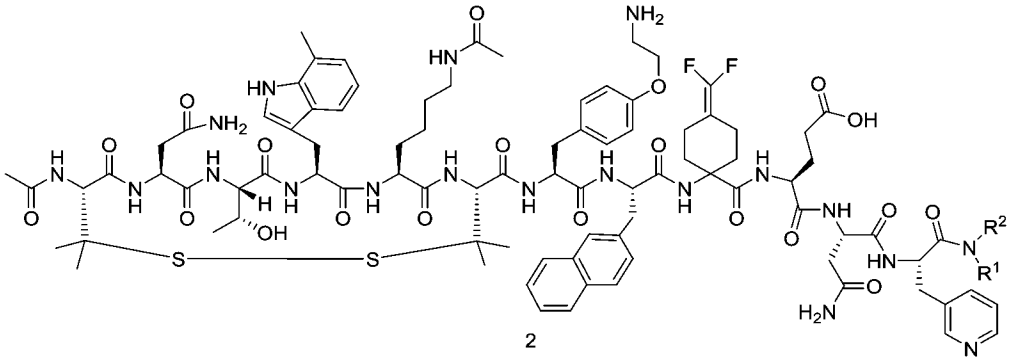
參考實施例1-16-1的製備方法，其中第一步直鏈肽固相合成中的1-(9*H*-芴-9-基甲氧基羰基胺基)-4,4-二氟-環己烷甲酸替換為中間體 A3，第三步直鏈肽與側鏈偶合中的側鏈中間體 A 替換為中間體 L2，得到 102 mg 產物實施例 4-19，純度 99.8%，產率：14.2%。

LC/MS：$[(M+H)/2]^+$=1044.5；$[(M+2H)/3]^+$=697.0。

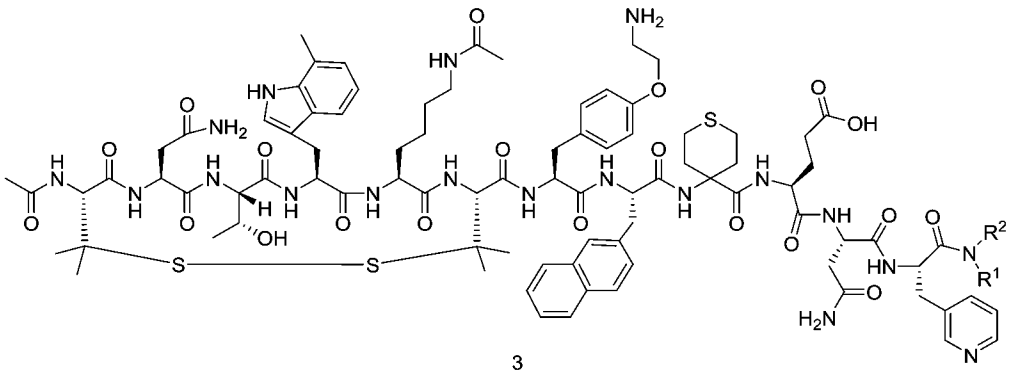
下述實施例可參考上述製備方法製備：



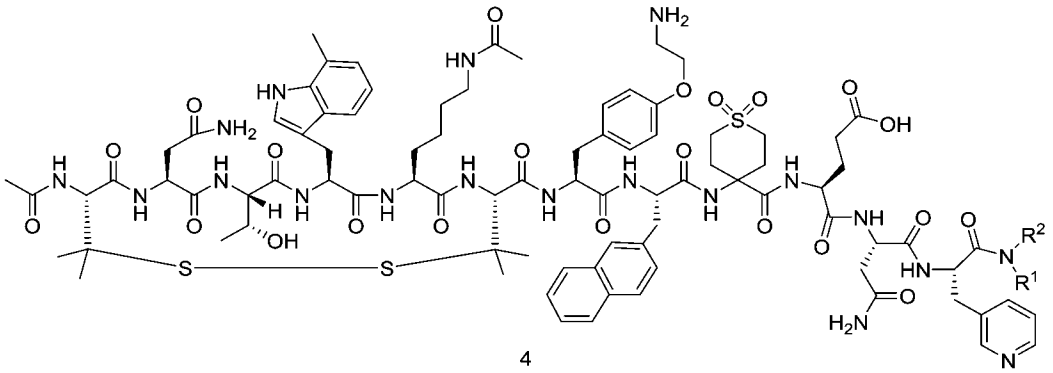
1



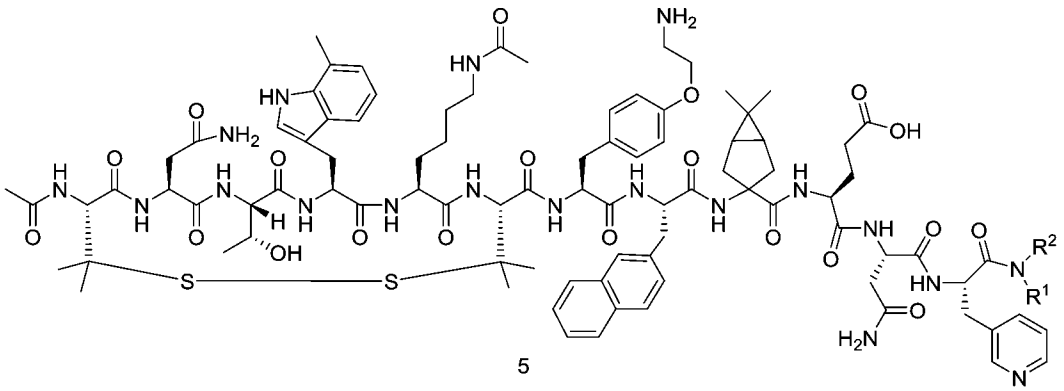
2



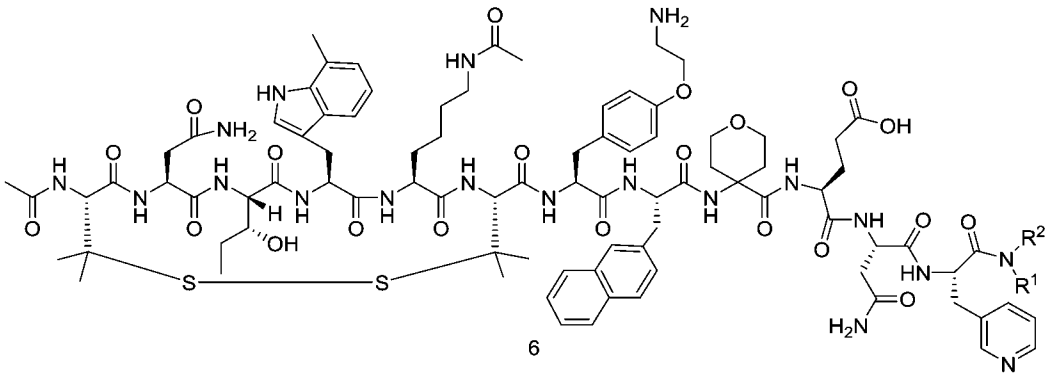
3



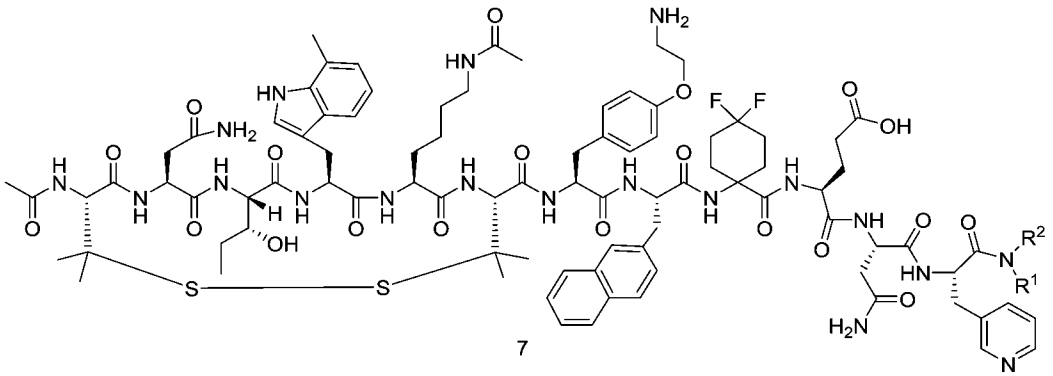
4



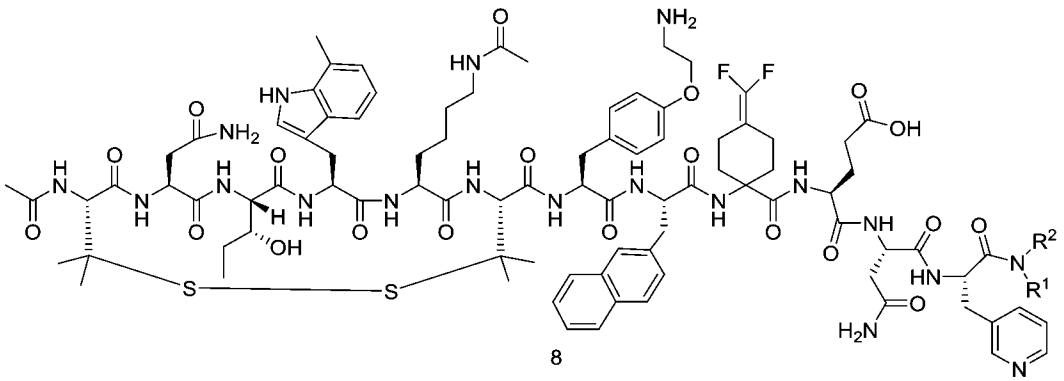
5



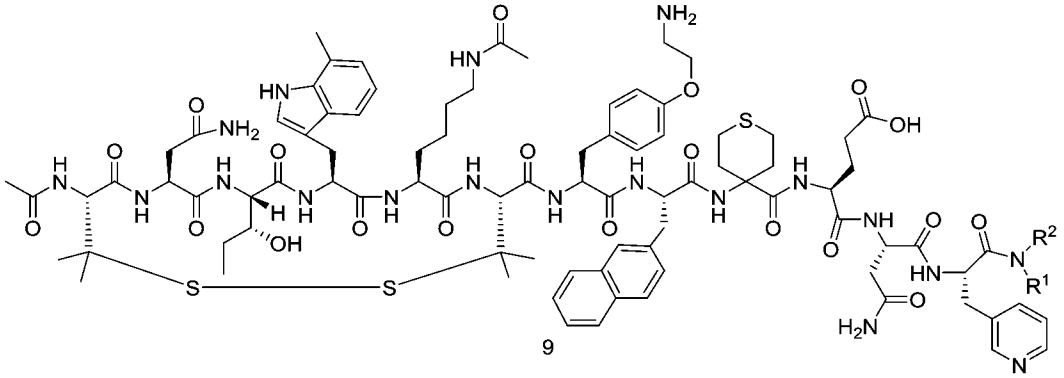
6



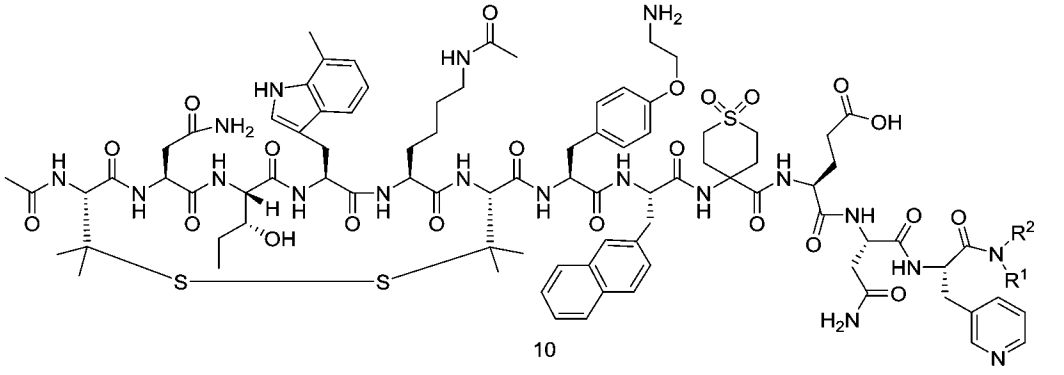
7



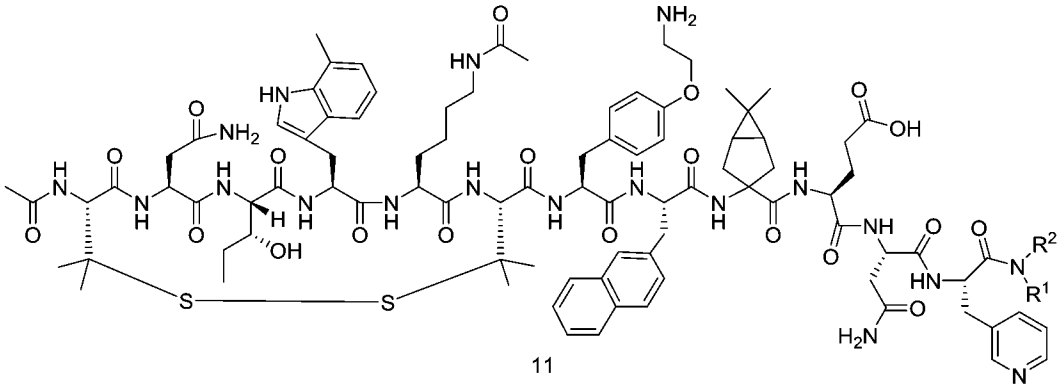
8



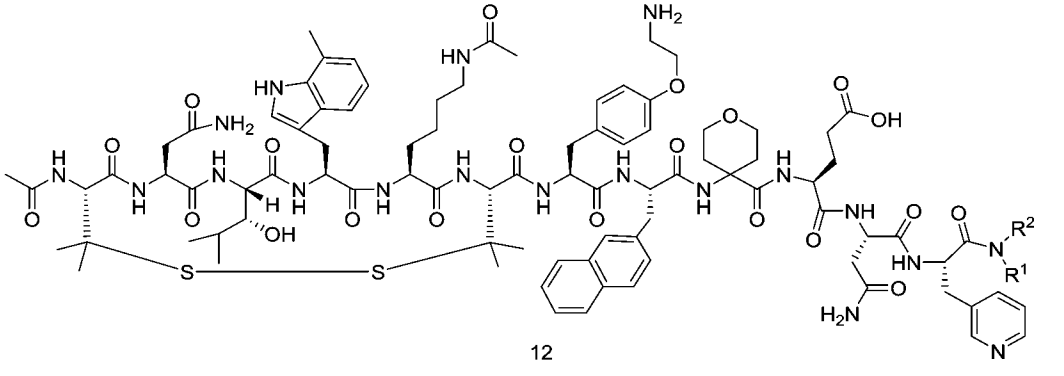
9



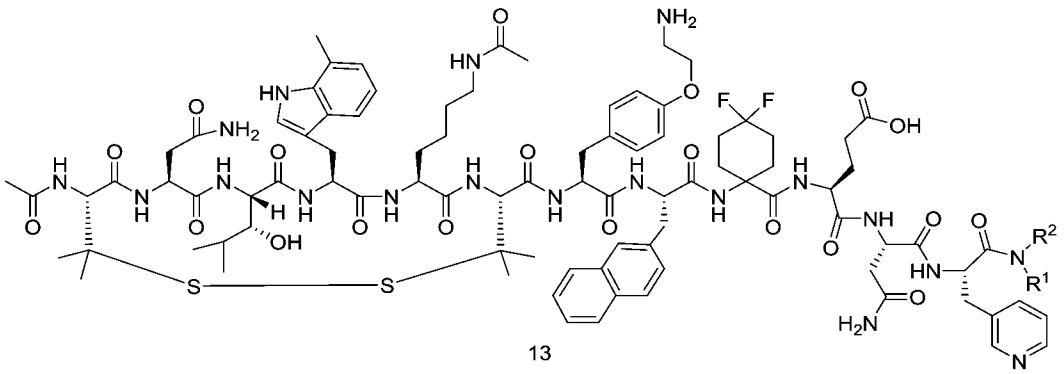
10



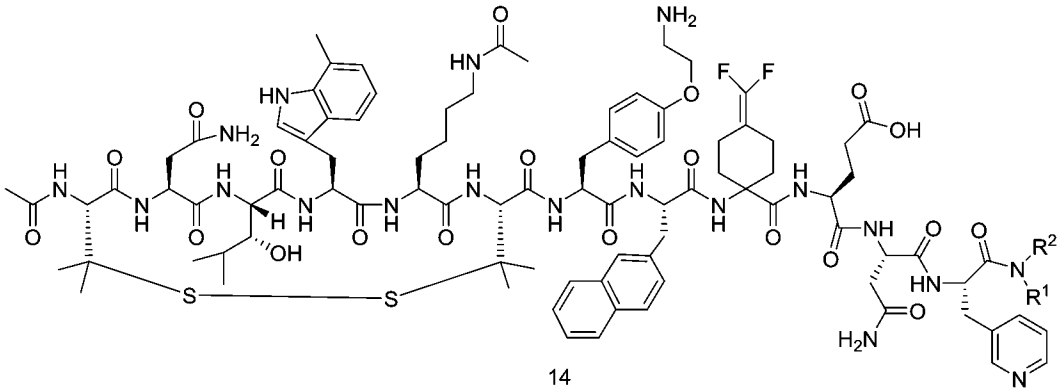
11



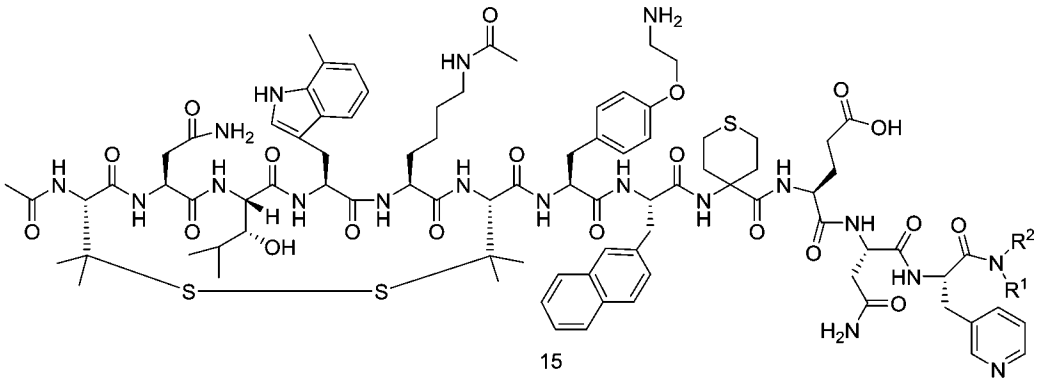
12



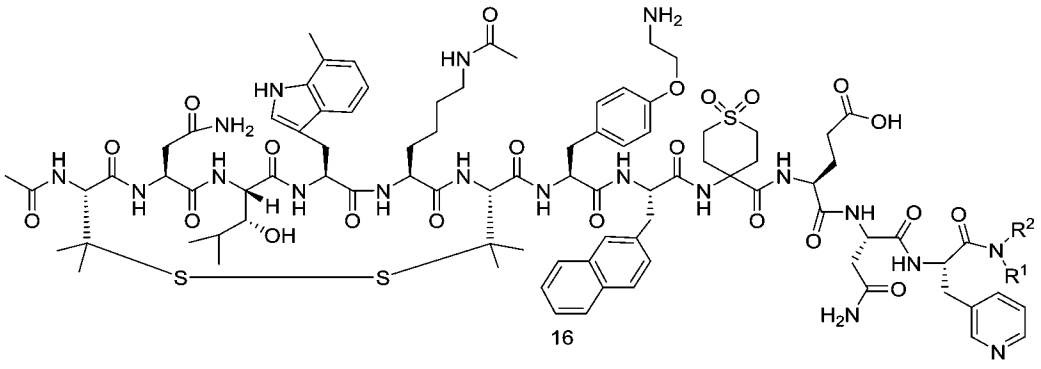
13



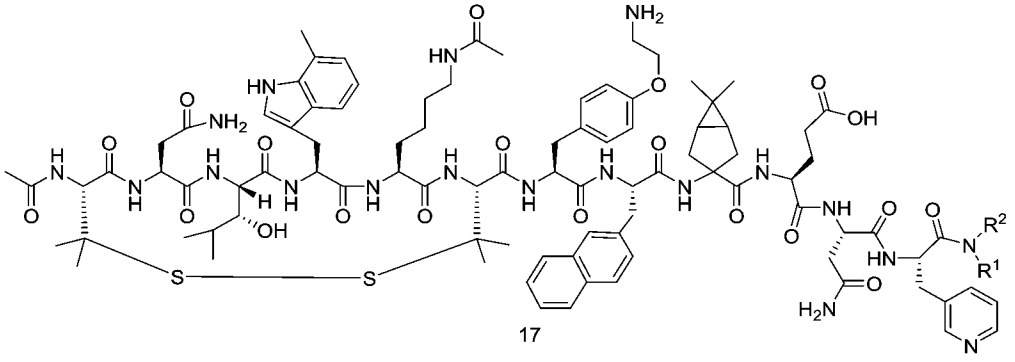
14



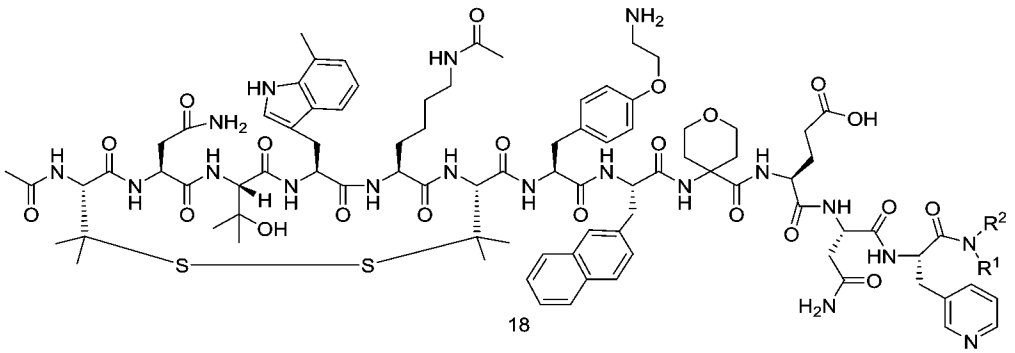
15



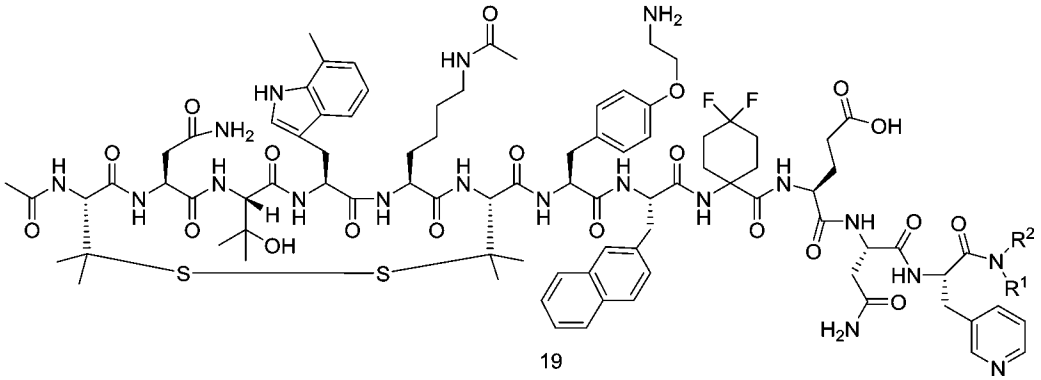
16



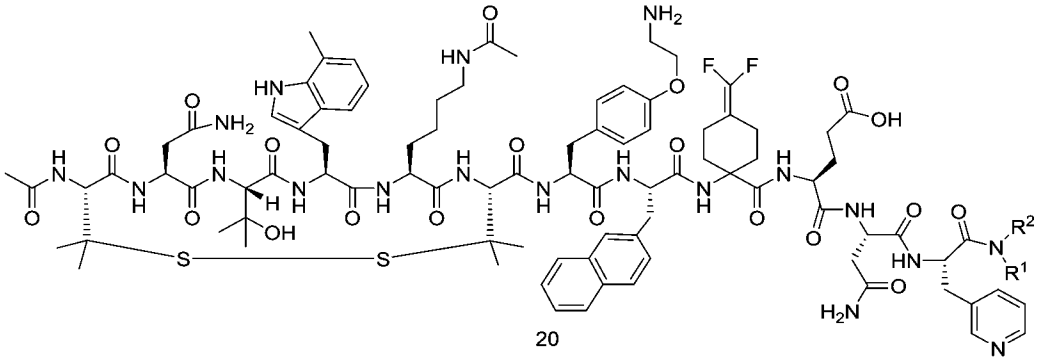
17



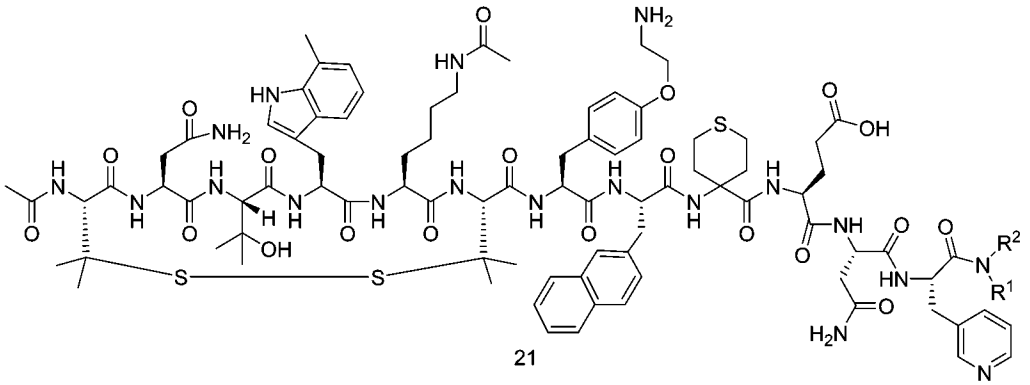
18



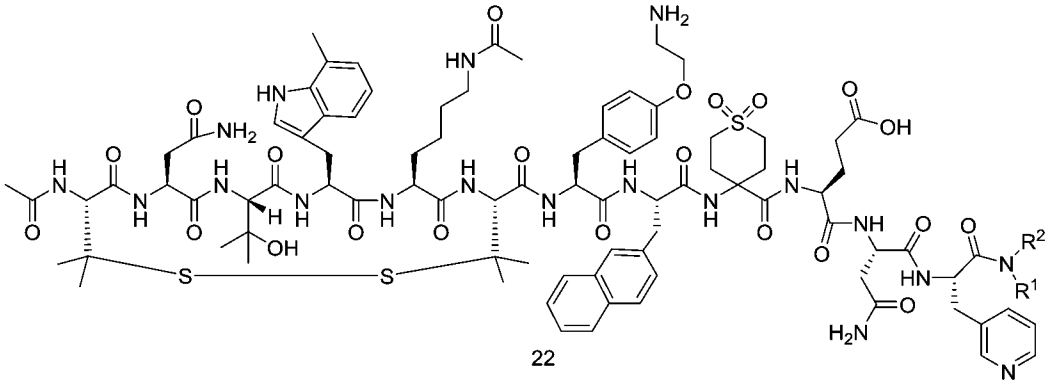
19



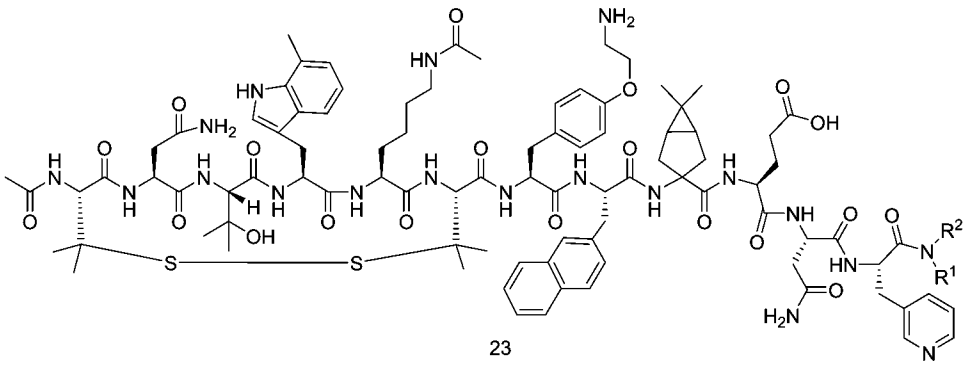
20



21



22

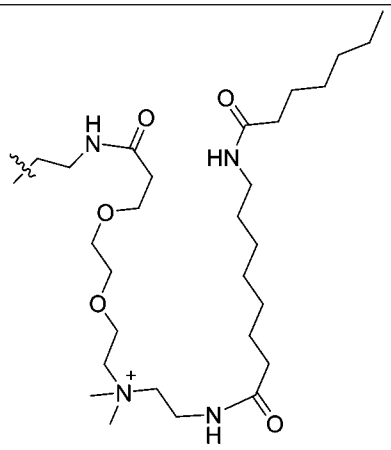


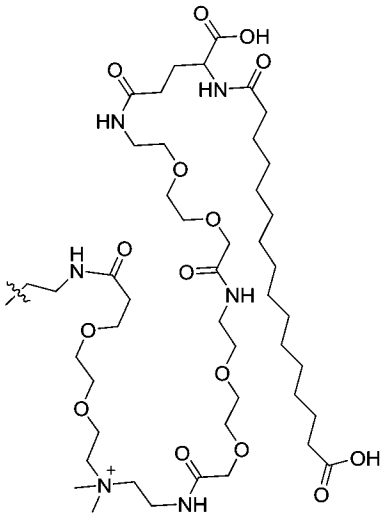
23

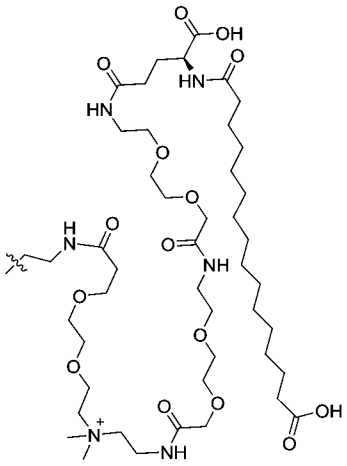
其中，R^1和R^2選自以下結構

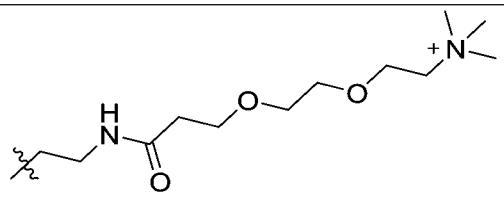
表 1

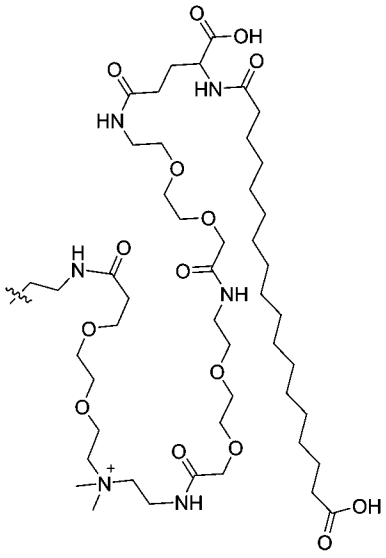
通式	R^2	化合物	R^1	化合物	R^1
1	$-CH_2C(O)NH_2$	1-1	-H	1-14	$-CH_3$
2		2-1		2-14	
3		3-1		3-14	
4		4-1		4-14	
5		5-1		5-14	
6		6-1		6-14	
7		7-1		7-14	
8		8-1		8-14	
9		9-1		9-14	
10		10-1		10-14	
11		11-1		11-14	
12		12-1		12-14	
13		13-1		13-14	
14		14-1		14-14	
15		15-1		15-14	
16		16-1		16-14	
17		17-1		17-14	
18		18-1		18-14	
19		19-1		19-14	
20		20-1		20-14	
21		21-1		21-14	
22		22-1		22-14	
23		23-1		23-14	

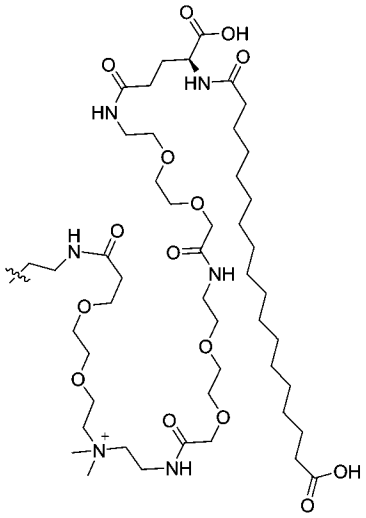
1		1-2		1-15	
2		2-2		2-15	
3		3-2		3-15	
4		4-2		4-15	
5		5-2		5-15	
6		6-2		6-15	
7		7-2		7-15	
8		8-2		8-15	
9		9-2		9-15	
10		10-2		10-15	
11		11-2		11-15	
12		12-2		12-15	
13		13-2		13-15	
14		14-2		14-15	
15		15-2		15-15	
16		16-2		16-15	
17		17-2		17-15	
18		18-2		18-15	
19		19-2		19-15	
20		20-2		20-15	
21		21-2		21-15	
22		22-2		22-15	
23		23-2		23-15	

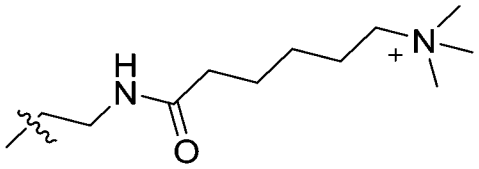
1		1-3		1-16	
2		2-3		2-16	
3		3-3		3-16	
4		4-3		4-16	
5		5-3		5-16	
6		6-3		6-16	
7		7-3		7-16	
8		8-3		8-16	
9		9-3		9-16	
10		10-3		10-16	
11		11-3		11-16	
12		12-3		12-16	
13		13-3		13-16	
14		14-3		14-16	
15		15-3		15-16	
16		16-3		16-16	
17		17-3		17-16	
18		18-3		18-16	
19		19-3		19-16	
20		20-3		20-16	
21		21-3		21-16	
22		22-3		22-16	
23		23-3		23-16	

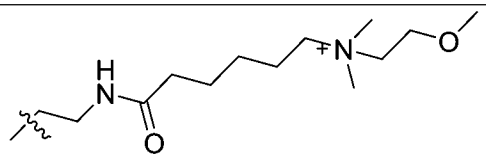
1		1-3-1		1-16-1	
2		2-3-1		2-16-1	
3		3-3-1		3-16-1	
4		4-3-1		4-16-1	
5		5-3-1		5-16-1	
6		6-3-1		6-16-1	
7		7-3-1		7-16-1	
8		8-3-1		8-16-1	
9		9-3-1		9-16-1	
10		10-3-1		10-16-1	
11		11-3-1		11-16-1	
12		12-3-1		12-16-1	
13		13-3-1		13-16-1	
14		14-3-1		14-16-1	
15		15-3-1		15-16-1	
16		16-3-1		16-16-1	
17		17-3-1		17-16-1	
18		18-3-1		18-16-1	
19		19-3-1		19-16-1	
20		20-3-1		20-16-1	
21		21-3-1		21-16-1	
22		22-3-1		22-16-1	
23		23-3-1		23-16-1	

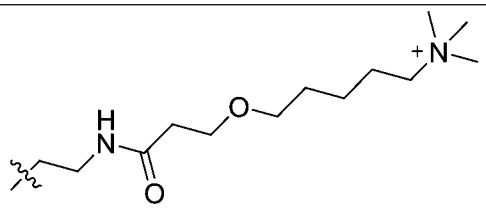
1		1-4		1-17	
2		2-4		2-17	
3		3-4		3-17	
4		4-4		4-17	
5		5-4		5-17	
6		6-4		6-17	
7		7-4		7-17	
8		8-4		8-17	
9		9-4		9-17	
10		10-4		10-17	
11		11-4		11-17	
12		12-4		12-17	
13		13-4		13-17	
14		14-4		14-17	
15		15-4		15-17	
16		16-4		16-17	
17		17-4		17-17	
18		18-4		18-17	
19		19-4		19-17	
20		20-4		20-17	
21		21-4		21-17	
22		22-4		22-17	
23		23-4		23-17	

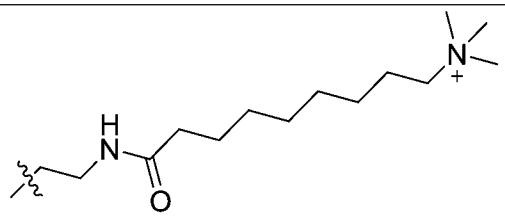
1		1-5		1-18	
2		2-5		2-18	
3		3-5		3-18	
4		4-5		4-18	
5		5-5		5-18	
6		6-5		6-18	
7		7-5		7-18	
8		8-5		8-18	
9		9-5		9-18	
10		10-5		10-18	
11		11-5		11-18	
12		12-5		12-18	
13		13-5		13-18	
14		14-5		14-18	
15		15-5		15-18	
16		16-5		16-18	
17		17-5		17-18	
18		18-5		18-18	
19		19-5		19-18	
20		20-5		20-18	
21		21-5		21-18	
22		22-5		22-18	
23		23-5		23-18	

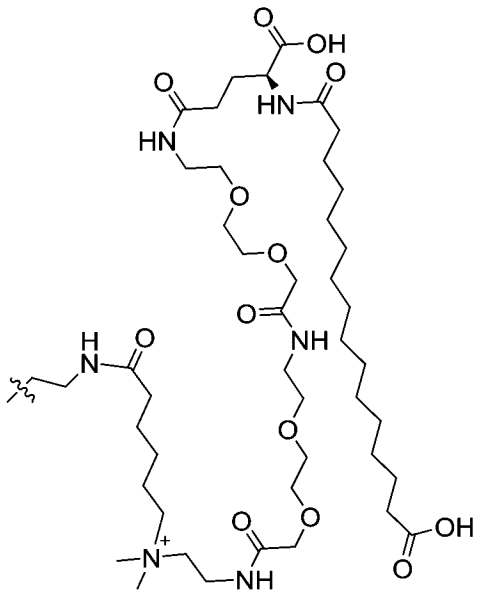
1		1-5-1		1-18-1	
2		2-5-1		2-18-1	
3		3-5-1		3-18-1	
4		4-5-1		4-18-1	
5		5-5-1		5-18-1	
6		6-5-1		6-18-1	
7		7-5-1		7-18-1	
8		8-5-1		8-18-1	
9		9-5-1		9-18-1	
10		10-5-1		10-18-1	
11		11-5-1		11-18-1	
12		12-5-1		12-18-1	
13		13-5-1		13-18-1	
14		14-5-1		14-18-1	
15		15-5-1		15-18-1	
16		16-5-1		16-18-1	
17		17-5-1		17-18-1	
18		18-5-1		18-18-1	
19		19-5-1		19-18-1	
20		20-5-1		20-18-1	
21		21-5-1		21-18-1	
22		22-5-1		22-18-1	
23		23-5-1		23-18-1	

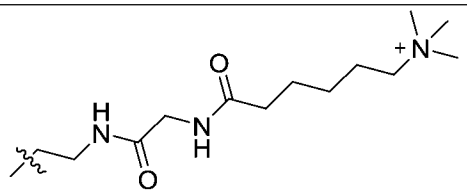
1		1-6		1-19	
2		2-6		2-19	
3		3-6		3-19	
4		4-6		4-19	
5		5-6		5-19	
6		6-6		6-19	
7		7-6		7-19	
8		8-6		8-19	
9		9-6		9-19	
10		10-6		10-19	
11		11-6		11-19	
12		12-6		12-19	
13		13-6		13-19	
14		14-6		14-19	
15		15-6		15-19	
16		16-6		16-19	
17		17-6		17-19	
18		18-6		18-19	
19		19-6		19-19	
20		20-6		20-19	
21		21-6		21-19	
22		22-6		22-19	
23		23-6		23-19	

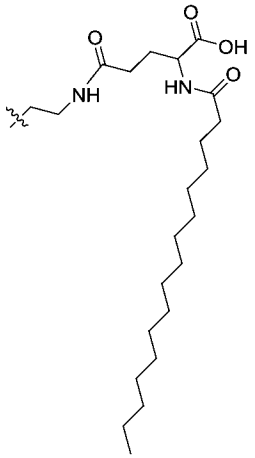
1		1-7		1-20	
2		2-7		2-20	
3		3-7		3-20	
4		4-7		4-20	
5		5-7		5-20	
6		6-7		6-20	
7		7-7		7-20	
8		8-7		8-20	
9		9-7		9-20	
10		10-7		10-20	
11		11-7		11-20	
12		12-7		12-20	
13		13-7		13-20	
14		14-7		14-20	
15		15-7		15-20	
16		16-7		16-20	
17		17-7		17-20	
18		18-7		18-20	
19		19-7		19-20	
20		20-7		20-20	
21		21-7		21-20	
22		22-7		22-20	
23		23-7		23-20	

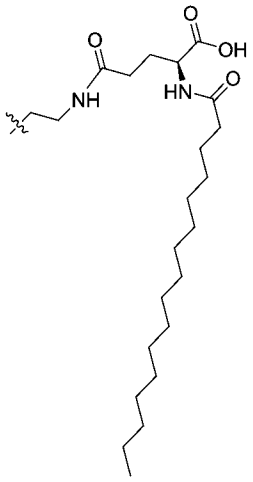
1		1-8		1-21	
2		2-8		2-21	
3		3-8		3-21	
4		4-8		4-21	
5		5-8		5-21	
6		6-8		6-21	
7		7-8		7-21	
8		8-8		8-21	
9		9-8		9-21	
10		10-8		10-21	
11		11-8		11-21	
12		12-8		12-21	
13		13-8		13-21	
14		14-8		14-21	
15		15-8		15-21	
16		16-8		16-21	
17		17-8		17-21	
18		18-8		18-21	
19		19-8		19-21	
20		20-8		20-21	
21		21-8		21-21	
22		22-8		22-21	
23		23-8		23-21	

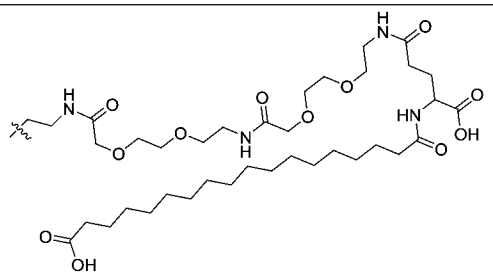
1		1-9		1-22	
2		2-9		2-22	
3		3-9		3-22	
4		4-9		4-22	
5		5-9		5-22	
6		6-9		6-22	
7		7-9		7-22	
8		8-9		8-22	
9		9-9		9-22	
10		10-9		10-22	
11		11-9		11-22	
12		12-9		12-22	
13		13-9		13-22	
14		14-9		14-22	
15		15-9		15-22	
16		16-9		16-22	
17		17-9		17-22	
18		18-9		18-22	
19		19-9		19-22	
20		20-9		20-22	
21		21-9		21-22	
22		22-9		22-22	
23		23-9		23-22	

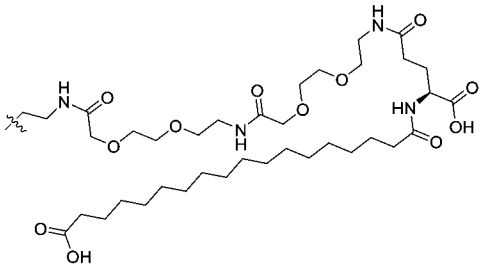
1		1-10		1-23	
2		2-10		2-23	
3		3-10		3-23	
4		4-10		4-23	
5		5-10		5-23	
6		6-10		6-23	
7		7-10		7-23	
8		8-10		8-23	
9		9-10		9-23	
10		10-10		10-23	
11		11-10		11-23	
12		12-10		12-23	
13		13-10		13-23	
14		14-10		14-23	
15		15-10		15-23	
16		16-10		16-23	
17		17-10		17-23	
18		18-10		18-23	
19		19-10		19-23	
20		20-10		20-23	
21		21-10		21-23	
22		22-10		22-23	
23		23-10		23-23	

1		1-11		1-24	
2		2-11		2-24	
3		3-11		3-24	
4		4-11		4-24	
5		5-11		5-24	
6		6-11		6-24	
7		7-11		7-24	
8		8-11		8-24	
9		9-11		9-24	
10		10-11		10-24	
11		11-11		11-24	
12		12-11		12-24	
13		13-11		13-24	
14		14-11		14-24	
15		15-11		15-24	
16		16-11		16-24	
17		17-11		17-24	
18		18-11		18-24	
19		19-11		19-24	
20		20-11		20-24	
21		21-11		21-24	
22		22-11		22-24	
23		23-11		23-24	

1		1-12		1-25	
2		2-12		2-25	
3		3-12		3-25	
4		4-12		4-25	
5		5-12		5-25	
6		6-12		6-25	
7		7-12		7-25	
8		8-12		8-25	
9		9-12		9-25	
10		10-12		10-25	
11		11-12		11-25	
12		12-12		12-25	
13		13-12		13-25	
14		14-12		14-25	
15		15-12		15-25	
16		16-12		16-25	
17		17-12		17-25	
18		18-12		18-25	
19		19-12		19-25	
20		20-12		20-25	
21		21-12		21-25	
22		22-12		22-25	
23		23-12		23-25	

1		1-12-1		1-25-1	
2		2-12-1		2-25-1	
3		3-12-1		3-25-1	
4		4-12-1		4-25-1	
5		5-12-1		5-25-1	
6		6-12-1		6-25-1	
7		7-12-1		7-25-1	
8		8-12-1		8-25-1	
9		9-12-1		9-25-1	
10		10-12-1		10-25-1	
11		11-12-1		11-25-1	
12		12-12-1		12-25-1	
13		13-12-1		13-25-1	
14		14-12-1		14-25-1	
15		15-12-1		15-25-1	
16		16-12-1		16-25-1	
17		17-12-1		17-25-1	
18		18-12-1		18-25-1	
19		19-12-1		19-25-1	
20		20-12-1		20-25-1	
21		21-12-1		21-25-1	
22		22-12-1		22-25-1	
23		23-12-1		23-25-1	

1		1-13		1-26	
2		2-13		2-26	
3		3-13		3-26	
4		4-13		4-26	
5		5-13		5-26	
6		6-13		6-26	
7		7-13		7-26	
8		8-13		8-26	
9		9-13		9-26	
10		10-13		10-26	
11		11-13		11-26	
12		12-13		12-26	
13		13-13		13-26	
14		14-13		14-26	
15		15-13		15-26	
16		16-13		16-26	
17		17-13		17-26	
18		18-13		18-26	
19		19-13		19-26	
20		20-13		20-26	
21		21-13		21-26	
22		22-13		22-26	
23		23-13		23-26	

1		1-13-1		1-26-1	
2		2-13-1		2-26-1	
3		3-13-1		3-26-1	
4		4-13-1		4-26-1	
5		5-13-1		5-26-1	
6		6-13-1		6-26-1	
7		7-13-1		7-26-1	
8		8-13-1		8-26-1	
9		9-13-1		9-26-1	
10		10-13-1		10-26-1	
11		11-13-1		11-26-1	
12		12-13-1		12-26-1	
13		13-13-1		13-26-1	
14		14-13-1		14-26-1	
15		15-13-1		15-26-1	
16		16-13-1		16-26-1	
17		17-13-1		17-26-1	
18		18-13-1		18-26-1	
19		19-13-1		19-26-1	
20		20-13-1		20-26-1	
21		21-13-1		21-26-1	
22		22-13-1		22-26-1	
23		23-13-1		23-26-1	

【0202】生物學測試評價

以下結合測試例進一步描述解釋本發明，但這些實施例並非意味著限制本發明的範圍。

【0203】測試例 1：本發明化合物與 IL23 競爭結合 IL23R 實驗

【0204】1.1 實驗目的：測定本發明化合物和 IL23 競爭結合 IL23R 的效率

【0205】1.2 實驗儀器和試劑：

1.2.1 儀器

儀器名稱	廠家	規格型號
EnVision	PerkinElmer	ENVISION 2015

1.2.2 試劑

試劑材料	廠家	貨號
IL23/IL23R BINDING ASSAY KITS	PerkinElmer	64BDPIL23PEH
White 384-shallow well Microplate	PerkinElmer	6008280

【0206】1.3 實驗方法：

將本發明化合物在 IL23/IL23R BINDING ASSAY KITS（PerkinElmer Cat#64BDPIL23PEH）中篩選。本發明化合物篩選使用多孔板（適合 HTRF 測定）的形式進行，通常先向多孔板孔中分別加入 2 μl 若干本發明化合物和 KIT 中的 STANDARD SOLUTIONS，所有的孔需要加入 4μl Tag1-IL23、4μTag2-IL23R 以及 10 μL of pre-mixed Anti-Tag1 Eu Cryptate Antibody and Anti-Tag2 d2 reagent。使用不透光覆膜將多孔板避光，室溫孵育 2 小時後去除不透光覆膜，使用 HTRF 兼容的檢測儀器讀取信號值以檢測 IC_{50} 值。

【0207】1.4 實驗數據處理方法

抑制率計算如下:

% inhibition =(Signal cmpd-Signal Ave_PC)/(Signal Ave_VC-Signal Ave_PC)×100。H=Ave (DMSO) ；L= Ave (Guselkumab)

計算化合物的 IC_{50} 值:

利用 Graphpad 中的 log(inhibitor) vs. response -- Variable slope (four parameters) 對 HTRF 實驗結果數據進行非線性回歸擬合，擬合曲線並得出 IC_{50} 值。

Y=Bottom + (Top-Bottom)/(1+10^((LogIC_{50}-X)*HillSlope))

X: log of inhibitor concentration; Y: % Inhibition

【0208】1.5 實驗結果：

實施例	IL23 競爭結合 IL23R IC_{50} (nM)
1	1.20
2	0.23
3	1.23
6	1.25
12	1.14
1-14	1.14
3-14	1.09
4-14	1.11
1-16-1	2.73
3-16-1	1.24
4-16-1	1.23
1-19	1.35

3-19	1.13
4-19	1.18

【0209】1.6 實驗結論：本發明的優選實施例化合物與 IL23 競爭結合 IL23R 抑制試驗中顯示優異的生物活性。

【0210】測試例 2：本發明化合物與 IL12 競爭結合 IL12Rβ1 實驗

【0211】2.1 實驗目的：測定本發明化合物與 IL12 競爭結合 IL12Rβ1 的效率

【0212】2.2 實驗儀器和試劑

2.2.1 儀器

儀器名稱	廠家	規格型號
EnVision	PerkinElmer	ENVISION 2015

2.2.2 試劑

試劑材料	廠家	貨號
IL12/IL12RB1 BINDING ASSAY KITS	PerkinElmer	64BDIL12PEG
White 384-shallow well Microplate	PerkinElmer	6008280

【0213】2.3 實驗方法：

將本發明化合物在 IL12/IL12RB1 BINDING ASSAY KITS（PerkinElmer Cat# 64BDIL12PEG）中篩選。本發明化合物篩選使用多孔板（適合 HTRF 測定）的形式進行，通常先向多孔板孔中分別加入 2μl 若干本發明化合物和 KIT 中的 STANDARD SOLUTIONS，所有的孔需要加入 4μl Tag1-IL12、4μl Tag2-IL12Rb1 以及 10μL of pre-mixed Anti-Tag1 Eu Cryptate Antibody and Anti-Tag2 XL665

reagent。使用不透光覆膜將多孔板避光，室溫孵育 2 小時後去除不透光覆膜，使用 HTRF 兼容的檢測儀器讀取信號值以檢測 IC_{50} 值。

【0214】2.4 實驗數據處理方法

抑制率計算如下:

% inhibition =(Signal cmpd-Signal Ave_PC)/(Signal Ave_VC-Signal Ave_PC)×100。H=Ave (DMSO) ；L= Ave (Guselkumab)

計算化合物的 IC_{50} 值:

利用 Graphpad 中的 log(inhibitor) vs. response -- Variable slope (four parameters) 對 HTRF 實驗結果數據進行非線性回歸擬合，擬合曲線並得出 IC_{50} 值。

Y=Bottom + (Top-Bottom)/(1+10^((LogIC_{50}-X)*HillSlope))

X: log of inhibitor concentration; Y: % Inhibition

【0215】2.5 實驗結論：

通過以上方案得出本發明所示的化合物在與 IL12 競爭結合 IL12Rβ1 抑制試驗中顯示出大於 1000nM (IC_{50})的生物活性。

【0216】測試例 3：本發明化合物阻斷 hIL23 激活 DB 細胞中 STAT3 磷酸化的實驗

【0217】3.1 實驗目的：在 DB 細胞中測定本發明化合物對於 hIL23 激活 STAT3 磷酸化的抑制活性

【0218】3.2 實驗儀器和試劑

3.2.1 儀器

儀器名稱	廠家	規格型號
EnVision	PerkinElmer	ENVISION 2015

3.2.2 試劑

試劑材料	廠家	貨號

DB cell	ATCC	CRL-2289
胎牛血清（FBS）	GIBCO	10099-141
RPMI Medium 1640	GIBCO	A10491-01
Guselkumab	武漢科斯坦生物	CSD00323
Recombinant Human IL-23 Protein	R&D	1290-IL-010/CF
PathScan Phospho-Stat3 (Tyr705) Sandwich ELISA Kit	CST	7300C

【0219】3.3 實驗方法：將上述產生的化合物加入 DB（ATCC Cat#CRL-2289）細胞抑制 rhIL-23 細胞因子的信號轉導。化合物篩選使用多孔板（適合 ELISA 測定）的形式進行，通常在上述若干本發明化合物存在的情況下，使用 rhIL-23(0.5nM，R&D SYSTEMS)對 6.25×10^6 細胞/毫升的 DB 細胞在含 10%FBS 的 RPMI 培養基(Invitrogen)中加以刺激，半小時後使用 50 μL 2×裂解液 (CST)冰上裂解。裂解物使用 PathScan Phospho-Stat3 (Tyr705) Sandwich ELISA Kit（CST Cat#7300C）測定 p-STAT3 含量，以此計算本發明化合物阻斷 DB 細胞上 rhIL23 信號轉導的活性。

【0220】3.4 實驗數據處理方法

抑制率計算如下:

Inhibition%=(Ave_H-Sample)/(Ave_H-Ave_L)×100

H=Ave (DMSO) ；L= Ave (Guselkumab)

計算化合物的 IC_{50} 值:

利用 Graphpad 中的 log(inhibitor) vs. response -- Variable slope (four parameters) 對 ELISA 實驗結果數據進行非線性回歸擬合，擬合曲線並得出 IC_{50} 值。

Y=Bottom + (Top-Bottom)/(1+10^((LogIC_{50}-X)*HillSlope))

X: log of inhibitor concentration; Y: % Inhibition

【0221】3.5 實驗結果：

實施例	pStat3 IC_{50} (pM)
1	25.0
2	10.0
3	1.4
12	6.0
1-14	1.4
3-14	1.4
4-14	1.6
1-16-1	4.8
3-16-1	8.9
4-16-1	3.6
1-19	0.5
3-19	0.9
4-19	0.1

【0222】3.6 實驗結論：本發明的優選實施例化合物對於 hIL23 激活 STAT3 磷酸化的抑制試驗中顯示出優異的抑制活性。

【0223】測試例 4：大鼠藥代動力學測定

【0224】4.1. 研究目的：以 SD 大鼠為受試動物，研究實施例化合物口服或 IV 給藥在大鼠體內（血漿）的藥代動力學行為。

【0225】4.2. 試驗方案

4.2.1 試驗藥品：

本發明實施化合物，自製。

4.2.2 試驗動物：

SD 大鼠每組 3 只，雄性。上海傑思捷實驗動物有限公司，動物生產許可證號(SCXK（滬）2013-0006 N0.311620400001794)。

4.2.3 藥物配製：

口服給藥藥物配製：20%Labrasol

20%Labrasol: 稱量 40 ml Labrasol 至 500ml 玻璃瓶，加 PBS 至 200ml，磁力攪拌使其完全溶解，配製成 20%Labrasol。

秤取實施例化合物溶於該溶液中，搖勻，超聲 5 分鐘，得到無色澄清溶液，濃度為 0.5 mg/mL。

靜脈給藥藥物配製：PBS

秤取實施例化合物溶於該溶液中，渦旋、超聲 5 分鐘，過 0.22μm 濾膜，得到無色澄清溶液，濃度為 0.2 mg/mL。

4.2.4 給藥：

SD 大鼠每組 3 只，雄性；禁食過夜後分別 PO 給藥，劑量為 5 mg/kg，給藥體積 10 mL/kg。

SD 大鼠每組 3 只，雄性；禁食一夜後分別 IV 給藥，劑量為 1 mg/kg，給藥體積 5 mL/kg。

4.2.5 樣品採集：

於給藥前和給藥後 0.083h（IV），0.25h，0.5 h，1.0 h，2.0 h，4.0 h，6.0 h，8.0 h，24.0 h 頸靜脈採血 0.2 mL，置於 EDTA-2K 試管中，4℃ 6000 rpm 離心 6min 分離血漿，於-20°C 保存；給藥後 4 h 進食。

【0226】4.3 樣品處理：

1）血漿樣品 50 μL 加入 200 μL 乙腈沉澱，混合後 4500rpm 離心 15 分鐘。

2）取處理後上清溶液進行 LC/MS/MS 分析待測化合物的濃度，LC/MS/MS 分析儀器：AB Sciex Triple Quad 6500+。

【0227】4.4 液相分析：

液相條件：Shimadzu LC-30AD 泵

色譜柱：HALO 90A PFP 2.7μm 2.1×30mm 移動相：A 液為 5%乙腈水溶液（0.1%甲酸），B 液為 95%乙腈水溶液（0.1%甲酸）

流速：0.6 mL/min

洗脫時間：0-2.0 分鐘，洗脫液如下：

時間/分鐘	A 液	B 液
0.20	95%	5%
1.50	5%	95%
1.70	5%	95%
1.71	95%	5%
2.00	95%	5%

【0228】4.5. 試驗結果與分析

藥代動力學主要參數用WinNonlin 8.1計算得到。

實施	藥代實驗(IV 給藥,1 mg/kg)				
例	血藥濃	曲線面積	半衰期	平均滯留	清除率

	度				時間	
	C_0(ng/mL)	AUC_{0-t} (ng/mL×h)	$AUC_{0-\infty}$ (ng/mL×h)	$t_{1/2}$(h)	MRT(h)	CL(mL/min/kg)
PN-235	4292	2617	2671	0.7	0.9	6.2
1	10268	45367	46708	4.9	6.1	0.35
1-16-1	12648	46149	47609	5.0	6.2	0.35
3-16-1	15062	41550	42565	4.7	5.4	0.39
4-16-1	17405	51530	53332	5.1	6.3	0.31

【0229】4.6 實驗結論：

數據顯示在大鼠藥代動力學評價實驗中，本發明的優選實施例化合物相對於 PN-235 具有更強的血藥濃度和更高的暴露量。

【0230】測試例 5：比格犬藥代動力學測定

【0231】5.1. 研究目的：以比格犬為受試動物，研究實施例化合物 IV 給藥在大鼠體內（血漿）的藥代動力學行為。

【0232】5.2. 試驗方案

5.2.1 試驗藥品：

本發明實施化合物，自製。

5.2.2 試驗動物：

比格犬每組 3 只，雄性，儀征安立卿生物科技有限公司。

5.2.3 藥物配製：

靜脈給藥藥物配製：PBS

秤取實施例化合物溶於該溶液中，渦旋、超聲 5 分鐘，過 0.22μm 濾膜，得到無色澄清溶液，濃度為 0.1 mg/mL。

5.2.4 給藥：

比格犬每組 3 只，雄性；禁食一夜後分別 IV 給藥，劑量為 0.2 mg/kg，給藥體積 2 mL/kg。

5.2.5 樣品採集：

於給藥前和給藥後 0.083h（IV），0.25 h，0.5 h ，1 h，2 h，4 h，6 h，8 h ，24 h，48 h，72 h，96 h，120 h，144 h，168 h 前肢靜脈採血 0.5mL，置於 EDTA-2K 試管中，4℃ 6000 rpm 離心 6min 分離血漿，於-20°C 保存；給藥後 4 h 進食。

【0233】5.3 樣品處理：

1）血漿樣品 50 μL 加入 200 μL 乙腈沉澱，混合後 4500rpm 離心 15 分鐘。

2）取處理後上清溶液進行 LC/MS/MS 分析待測化合物的濃度，LC/MS/MS 分析儀器：AB Sciex Triple Quad 6500+。

【0234】5.4 液相分析：

液相條件：ExionLC

色譜柱：ACQUITYTM Premier Peptide CSH C18 130A 1.7μm 2.1*100 mm Column 流動相：A 液為 5%乙腈水溶液（0.1%甲酸），B 液為 95%乙腈水溶液（0.1%甲酸）

流速：0.6 mL/min

洗脫時間：0-2.0 分鐘，洗脫液如下：

時間 (min)	流速	A (%)	B

	(mL/min)		(%)
0.00	0.6	95.0	5.0
0.20	0.6	95.0	5.0
2.00	0.6	5.0	95.0
2.50	0.6	5.0	95.0
2.60	0.6	80.0	20.0
2.80	0.6	5.0	95.0
2.90	0.6	95.0	5.0
3.50	0.6	95.0	5.0

【0235】5.5. 試驗結果與分析

藥代動力學主要參數用WinNonlin 8.1計算得到。

實施例	藥代實驗(IV 給藥,0.2 mg/kg)					
	血藥濃度	曲線面積		半衰期	平均滯留時間	清除率
	C_0(ng/mL)	AUC_{0-t} (ng/mL×h)	$AUC_{0-\infty}$ (ng/mL×h)	$t_{1/2}$(h)	MRT(h)	CL(mL/min/kg)
PN-235	1251	2016	2031	4.1	3.1	1.68
1-16-1	2749	68798	76403	53.8	66.9	0.04
4-16-1	3190	96145	112150	91.7	80.6	0.03

【0236】5.6 實驗結論：

數據顯示在犬藥代動力學評價實驗中，本發明的優選實施例化合物相對於PN-235 具有更強的血藥濃度和更高的暴露量。

【0237】測試例 6：本發明化合物溶解度測定

【0238】6.1 研究目的：研究化合物在PBS中的溶解度。

【0239】6.2 實驗儀器和試劑：

儀器和試劑	型號	來源
pH7.4等滲液（PBS）	/	實驗室配製
電子天平	2.1g/XPR2	梅特勒托利多
移液器	2-20μL	Eppendorf
渦旋混合器	LAB DANCER	IKA
超聲波清洗器	SL2200LHC	上海科導超聲儀器有限公司

【0240】6.3 實驗方法：

秤取2mg左右的化合物，加入適量的PBS溶液，超聲10s，溶清。室溫放置過夜未見析出。

【0241】6.4 實驗結果與結論：

在室溫條件下，本發明的優選實施例化合物呈現出優異的溶解度優勢，如實施例1-16-1溶解度在39.58 ~59.38mg/mL；實施例4-16-1溶解度大於124.75mg/mL。

【0242】測試例 7： 本發明化合物在胃腸道模擬液中的穩定性

【0243】7.1 研究目的：研究實施例化合物在胃腸道模擬液中的穩定性。

【0244】7.2 實驗儀器和試劑：

7.2.1 試劑

乙腈（F22M4L201，Fisher）、三氟乙酸（17110655，TEDIA）、氫氧化鈉（20170616，國藥）、胰酶（20220811，滬試）、胃蛋白酶（20220909，滬試）、磷酸二氫鉀（20210528，沃凱）、氯化鈉（20200105，滬試）、鹽酸（20181203，國藥）、無水磷酸二氫鈉（20200602，滬試）、3F Powder（FFF-0723-B，Biorelevant）、冰醋酸（20181112，國藥）。

7.2.2 儀器

高效液相色譜儀（1260，Agilent）、電子天平（MCE-C，Sartorius）、pH計（Five Easy Plus，METTLER TOLEDO）、移液器（500-5000μL，100-1000μL，10-100μL，Eppendorf）、超聲波清洗器（SK5200LHC，上海科導超聲儀器有限公司）。

【0245】7.3 實驗方法：

7.3.1 流動相和胃腸道模擬液的配製

0.05%三氟乙酸水溶液：量取 2L 的純化水，加 1mL 的三氟乙酸，混勻後超聲即得。

0.05%三氟乙酸乙腈溶液：量取 2L 的乙腈，加 1mL 的三氟乙酸，混勻後超聲即得。

SIF（E）：秤取 69.48mg 磷酸二氫鉀、108.49mg 胰酶，加純化水 10mL，混勻後，用 1N 氫氧化鈉水溶液（約 210μL）調節 pH 至 6.76。

SGF（E）：秤取 21.64mg 氯化鈉、33.70mg 胃蛋白酶，加純化水 10mL，加鹽酸 20μL，用 1N 氫氧化鈉水溶液（約 120μL）調節 pH 至 1.98。

FaSSIF：秤取 0.42g 氫氧化鈉、3.43g 無水磷酸二氫鈉、6.19g 氯化鈉，加純化水 1L，超聲使其溶解後用 1N 氫氧化鈉或 1N 鹽酸水溶液調節 pH 至 6.50，加入 2.24g 3F Powder，攪拌至溶解即得。

FeSSIF：秤取 4.04g 氫氧化鈉、8.65g 冰醋酸、11.87g 氯化鈉，加純化水 1L，超聲使其溶解後用 1N 氫氧化鈉或 1N 鹽酸水溶液調節 pH 至 5.0，加入 11.2g 3F Powder，攪拌至溶解即得。

7.3.2 穩定性測定

秤取 2mg 左右化合物，加入適量純化水，超聲使其溶清，作為化合物的 Stock 溶液。取 Stock 溶液 50μL，分別加入 950μLSGF、FaSSIF、FeSSIF、SGF（E）和 SIF（E），混勻後，考察不同的時間點的樣品穩定性。

【0246】7.4 液相分析：

液相色譜條件如下：

流動相	A：0.05%三氟乙酸水溶液；B：0.05%三氟乙酸		
色譜柱	Waters XBridge C18（4.6*150mm，3.5μm）		
柱溫	40℃		
樣品盤溫	37℃		
流速	1.0mL/min		
波長	210nm		
進樣體積	20μL		
梯度方法	時間（min）	A%	B%
	0.00	90.0	10.0
	9.00	10.0	90.0
	11.00	10.0	90.0
	11.50	90.0	10.0
	15.00	90.0	10.0

【0247】7.5 試驗結果與分析

本發明的優選實施例化合物在胃腸模擬液中具有優異的穩定性。

【0248】測試例 8： 本發明化合物在肝微粒體中體外代謝穩定性考察

【0249】8.1 研究目的：研究本實施例化合物在小鼠、大鼠、犬和人肝微粒體中的 I 相及部分 II 相代謝穩定性情況。

【0250】8.2 實驗試劑

8.2.1 試劑

本發明化合物（自製）、肝微粒體（H0610/M1000/D1000，Xenotech）、磷酸緩衝液（Lot#SLBS7904 和 Lot#SLBR3106V，pH 7.4， Gibco）、NADPH（還原型煙醯胺腺嘌呤二核苷酸磷酸，上海畢得醫藥科技股份有限公司）、UDPGA（Sigma），Alamethicin（Lot#GR3226732-1，百靈威）、甲醇（Merck）、乙腈（Merck）、DMSO（Sigma）、7-Hydroxycoumarin（百靈威）。

8.2.2 藥物配置

受試化合物用 DMSO 配置為 10 mM 儲備液，於-20 於 C 冰箱保存待用。

【0251】8.3 實驗步驟

1）配製緩衝液

取 1M 的 $K_2HPO_4 \cdot PO_2O$ (AR 級) 4.01 mL 和 1M 的 KH_2PO_4 (AR 級) 0.99 mL，超純水溶解並定容至 50 mL，配製終濃度為 100 mM 的磷酸緩衝液。

2）配製化合物工作液

化合物的工作液配製：將 1 μL 化合物儲備溶液加入 999 μL 磷酸緩衝液，終濃度為 10 μM。根據化合物性質，可適當調整配置比例，調整最終濃度。

3）配製肝微粒體工作液

156.3 μL 20 mg/mL 微粒體，用 100 mM 磷酸緩衝液稀釋到 5 mL，混勻，終濃度為 0.625 mg/mL。

4）準備 NADPH 和 UDPGA

秤取 33.3 mg 的 NADPH 和 25.8 mg 的 UDPGA，加入 2 mL 的 100 mM 磷酸緩衝液，終濃度均為 20 mM。

5）準備打孔劑（Alamethicin）

秤取 1 mg Alamethicin 加入 200 μL 甲醇，配製成 5 mg/mL 的溶液。再從該溶液中取出 10 μL，加入 990 μL 磷酸緩衝液中（pH 7.4），終濃度為 50 μg/mL。

6）配製反應終止液

用乙腈稀釋內標做終止液，儲存在 2-8 稀釋冰箱。

7）孵育流程

在 96 孔板中依次加入 400 μL 配製好的肝微粒體、25 μL 化合物工作液（10 μM）和 25 μL Alamethicin（50 μg/mL），於 37 μg 預孵育 10 min。隨後加入 50 μL 配製好的 NADPH/UDPGA 啟動反應，37 應，孵育，反應體系的總體積為 500 μL，各成分最終含量：本實施例化合物（0.5 μM）、肝微粒體（0.5 mg/mL）、NADPH（1 mM）、UDPGA（1 mM）、Alamethicin（2.5 μg/mL）。

分別在 0, 5, 15, 30, 60 和 120 min 時間點取出 50 μL，加入 200 μL 含有內標的冷終止液終止樣品反應，3500 rpm 離心 10min，取上清液進 LC-MS/MS 分析。

【0252】8.4 生物分析

1) 色譜條件

儀器:島津 LC-20 AD

色譜柱：Phenomenex Gemiu® C18（50*4.6 mm，5 μm 粒徑）

流動相：A：乙腈，B: 0.1 % 甲酸溶液

沖洗梯度：0.2~1.6min 5%A 到 95%A，3.0~3.1min 95%A 到 5%A

流速：1.0ml/min

運行時間：4.0min

進樣體積：5 μL

2) 質譜條件

儀器: API4000 型液相色譜質譜聯用儀，AB Sciex 公司

離子源：電噴霧離子化源（ESI）

乾燥氣體：N2，溫度 500 體 C

電噴霧電壓：5000V

檢測方式：正離子檢測

掃描方式：反應監測（MRM）方式

掃描時間：0.8401s

【0253】8.5 數據處理

將原始數據按照以下公式進行計算：

剩餘率%= 任一時間點化合物與內標的峰面積比值/0 分鐘時化合物與內標的峰面積比值×鐘時化

$T_{1/2}=0.693/K_e$，其中 K_e 表示消除速率常數。

通過 K_e 計算體外肝微粒體固有清除率（CL_{int}）和肝固有清除率（$CL_{int,liver}$）

CL_{int} = 0.693 / $T_{1/2}$ /微粒體蛋白含量（孵育時微粒體濃度 mg/mL）

$CL_{int,liver}$ = CL_{int} nt 肝臟中微粒體蛋白量（mg/g）×肝重體重比

根據充分攪拌模型（well-stirred model），推算體內肝清除率（CL）

CL =（$CL_{int,liver}$ nt,liver 率）/（$CL_{int,liver}$ nt,liver 率），其中 fu 表示血液中的游離分數，默認為 1。

公式中的參數見下表

種屬	體重（kg）	肝血流量（mL/min/kg）	微粒體蛋白量（mg/g liver weight）	肝重體重比（g/kg body weight）

小鼠	0.025	90	45	60
大鼠	0.25	72	61	40
猴	5	44	45	32
犬	12	55	55	32
人	70	20	40	24

【0254】8.6 實驗結論：

結果表明，本發明的優選實施例化合物在各種屬肝微粒體中均呈現穩定的代謝效果。

【0255】測試例 9：本發明化合物在肝/腎組織勻漿中的代謝穩定性

【0256】9.1 實驗目的：用於檢測本實施例化合物在大鼠、犬、猴肝/腎組織中的代謝穩定性。

【0257】9.2 實驗試劑

大鼠肝組織勻漿（藥明康德）、猴肝組織勻漿（藥明康德）、犬肝組織勻漿（藥明康德）、人肝組織勻漿（BioreclamationIVT，S06585）、大鼠腎組織勻漿（藥明康德）、猴腎組織勻漿（藥明康德）、犬腎組織勻漿（藥明康德）、人腎組織勻漿（BioreclamationIVT，S06585）。

【0258】9.3 實驗步驟

1）溶液配製

受試化合物工作溶液：用 995μL 二甲基亞碸（工作溶液濃度：50μM，100%DMSO）稀釋 5μL 化合物儲備溶液（10mM 二甲基亞亞碸溶液）；

對照地洛瑞林（Deslorelin）工作溶液：用 495μL 二甲基亞碸（工作溶液濃度：100μM，100%DMSO）稀釋 5μL Deslorelin 儲備溶液（10mM 在二甲基亞亞碸（DMSO）中）；

對照司美格魯肽（Semagulide）工作溶液：用 450μL 二甲基亞碸（工作溶液濃度：100μM，100%DMSO）稀釋 50μL Semaguliide 儲備溶液（1mM 二甲基亞亞碸溶液）。

2）孵育過程

實驗前，將合併的冷凍肝/腎勻漿在 37℃的水浴中解凍。

將 98μL/孔的空白肝/腎勻漿等分試樣加入所有 96 孔反應板中。（空白，T0、T10、T30、T60 和 T120）

將 2μL/孔的工作溶液（50 或 100μM）等分試樣加入除空白外的所有反應板中。（T0、T10、T30、T60 和 T120）

將所有含有化合物和肝/腎勻漿混合物的反應板在 37°C 水浴中孵育。

將反應板在 37°C 下孵育，並啟動計時器。

孵育結束時，將 100μL 4%H_3PO_4與 100μL 樣品混合，然後加入 800μL 停止溶液（以甲苯磺丁脲和拉貝洛爾為內標的甲醇）以沉澱蛋白質。充分混合。

將每個板密封並搖動 20 分鐘

搖動後，將每個板在 4000rpm 和 4°C 下離心 20 分鐘

離心後，將 150μL 上清液從每個反應板轉移到其相應的生物醯化板中。

在 LC-MS/MS 分析之前，密封每個生物分析板並振盪 10 分鐘。

【0259】9.4 數據處理

試驗化合物在肝/腎臟勻漿中孵育後的剩餘百分比使用以下方程式計算：

% 剩餘= 100 x (PAR 孵育時間點 / PAR 在 T0 時間)，其中 PAR 是分析物與內標物（is）的峰面積比，孵育時間點為 T0（0 分鐘）、Tn（n=0、10、30、60、120 分鐘）。

【0260】9.5 實驗結論

結果表明，本發明的優選實施例化合物在肝組織和腎組織勻漿中具有優異的穩定性。

【0261】測試例 10：本發明化合物在血漿中的穩定性考察

【0262】10.1 研究目的：研究本實施例化合物在小鼠、大鼠、犬、人血漿中的穩定性情況。

【0263】10.2 實驗儀器

離心機(Eppendorf 5804R/5424R)、渦旋儀(IKA VORTEX GENIUS 3)、移液槍(Eppendorf 10~100μL, Eppendorf 100~1000μL， RAININ 0.5~10μL)、水浴鍋(上海恒科)。

【0264】10.3 實驗步驟

1）溶液配製

血漿製備：動物或人全血採集後，裝入含有抗凝劑的試管中，3500 rpm 離心 10 min ,收集上層淡黃色血漿；

10 μM 受試化合物工作溶液：用 DMSO 配置儲備液，用 100 mM 磷酸緩衝液配置工作液；

10 μM 陽性對照工作溶液：

普魯卡因：秤取 2.36 mg 普魯卡因，並用 1 mL DMSO 稀釋成 10 mM 儲備液；移取 10 μL of 10 mM 儲備液 至 1 mL 100 mM 磷酸緩衝液中，終濃度為 100 μM；

依那普利：秤取 4.93 mg 依那普利，並用 1 mL DMSO 稀釋成 10 mM 儲備液；移取 10 μL of 10 mM 儲備液至 1 mL 100 mM 磷酸緩衝液中，終濃度為 100 μM。

2）孵育過程

在 96 孔板中，依次加入 285 μL 血漿、15 μL 10 μM 化合物（受試化合物、陽性對照），37℃ 孵育。

在 0、15、30、60、90、120 min(取點可微調)時分別取出 40 μL，加入 160 μL 含有內標的乙腈終止液。

離心(3500rpm,10min)後取 50 μL 上清液，加入 50 μL DDH_2O 稀釋後 LC-MS/MS 進樣。

【0265】 10.4 生物分析

1）色譜條件

儀器:島津 LC-20 AD

色譜柱：Phenomenex Gemiu ® C_{18}（50*4.6 mm ，5 μm 粒徑）

流動相：A：乙腈，B: 0.1% 甲酸溶液

沖洗梯度：0~8 min：5% A ->95% A，2.0~2.1 min：90%A ->5% A

流速：0.8 mL/min

運行時間：5.0 min

進樣體積：5 μL

2）質譜條件

儀器: API4000 型液相色譜質譜聯用儀，美國 AB 公司

離子源：電噴霧離子化源（ESI）

乾燥氣體：N2，溫度 500℃

電噴霧電壓：5500V

檢測方式：正離子檢測

掃描方式：反應監測（MRM）方式

掃描時間：0.1s

【0266】10.5 實驗結果和數據處理

所有計算均使用 Microsoft Excel 進行。峰面積比由提取的離子色譜圖確定。

通過以下方程計算在每個時間點殘留的化合物百分比：

剩餘百分比 t 小時（%）=峰面積比 t 小時/峰面積比 0 小時˝時˝比

式中，峰面積比 t hr 為對照化合物和試驗化合物在 t min 時的峰面積比；

斜率值 k 通過母體藥物剩餘百分比與孵育時間曲線的自然對數的線性回歸確定。

體外半衰期（體外 $t_{1/2}$）由斜率值確定：

體外 $t_{1/2}$=-（0.693/k）

實施例	4h 剩餘率%				$t_{1/2}$ (h)			
	人	大鼠	小鼠	犬	人	大鼠	小鼠	犬
1	94.29	98.65	93.76	99.66	64.63	75.72	31.96	148.36
1-16-1	94.81	103.76	103.59	90.47	41.28	603.43	2005.26	75.50
4-16-1	96.56	98.72	113.80	101.32	94.50	74.87	∞	∞

【0267】10.6 實驗結論：

本發明的優選實施例化合物在小鼠、大鼠、犬、人血漿中均呈現出優異的穩定性。

【0268】測試例 11：本發明化合物在 IL23 誘導大鼠耳炎模型中的體內藥效學研究

【0269】11.1 實驗目的：評價化合物在 IL23 誘導大鼠耳炎模型中的體內藥效。

【0270】11.2 實驗儀器與試劑

11.2.1 實驗儀器

冰箱（BCD-268TN，Haier）、生物安全櫃（BSC-1300II A2，上海博訊實業有限公司醫療設備廠）、超淨工作臺（CJ-2F，蘇州市馮氏實驗動物設備有限公司）、電動移液助吸器（Easypet 3，Eppendorf）、恒溫水浴鍋（HWS-12，上海一恒科學）、超聲波清洗器（115F0032，上海科導）、純水儀（Pacific TII，Thermo）、磁力攪拌器（08-2G，馳久）、電子天平（CPA2202S，賽多利斯）、電子天平（BSA2202S-CW，賽多利斯）、超聲波細胞粉碎機（JY92-IIN，寧波新芝）、千分尺（MDC-25PX，三豐）。

11.2.2 實驗試劑

IL-23 Protein, Rat, Recombinant（CT045-R08H，Sino Biological）、PBS（10010-049，gibco）、促滲劑、異氟烷（R510-22-10，瑞沃德）、4%組織細胞固定液（AR-0211，鼎國）。

【0271】11.3 實驗步驟

11.3.1 動物採購

SD 大鼠，6-8 周，雄性，購自江蘇集萃藥康生物科技股份有限公司。

11.3.2 耳炎模型建立

a, 動物適應一周後，用記號筆標記尾號，動物進行秤重後，按照體重隨機分組；

b, 造模前一天（即 D-1），按實驗設計及分組對動物進行灌胃給藥操作；

c, rrIL-23 用 PBS 稀釋至 50μg/ml 濃度，分裝至 1ml 離心管，-80℃儲存備用；

d, 造模第一天（即 D0），按實驗設計及分組對動物進行灌胃給藥操作，半小時後用異氟烷麻醉大鼠，測量右耳初始厚度後，向右耳皮內注射 IL-23（1μg，20μL）或 20μL PBS；

e, 造模第二天（即 D1），按實驗設計及分組對動物進行灌胃給藥操作，半小時後用異氟烷麻醉大鼠，測量右耳初始厚度後，向右耳皮內注射 IL-23（1μg，20μL）或 20μL PBS；

f, 造模第三天（即 D2），按實驗設計及分組對動物進行灌胃給藥操作，半小時後用異氟烷麻醉大鼠，測量右耳初始厚度後，向右耳皮內注射 IL-23（1μg，20μL）或 20μL PBS；

g, 造模第四天（即 D3），按實驗設計及分組對動物進行灌胃給藥操作，半小時後用異氟烷麻醉大鼠，測量右耳初始厚度後，向右耳皮內注射 IL-23（1μg，20μL）或 20μL PBS；

h, 實驗第五天（即 D4），測量最終右耳厚度。按實驗設計及分組對動物進行灌胃給藥操作，1h 後動物安樂死，取血及耳組織樣本。耳朵分兩份，一份速凍，用於炎症因子 mRNA 檢測；另一份用 4%組織細胞固定液固定做組織學處理和分析（HE 染色）；血漿用於 PK 檢測。

【0272】11.4 數據處理：

a, 各組動物每天的耳厚度減去初始耳厚度（耳增厚），與 Model 組（Vehicle）進行比較。

b, 實驗最後一天 Day4-Day0 耳厚的結果用 Graphpad prism 9 作圖分析。運用 One-way ANOVA Dunnett 檢驗進行耳厚變化的組間差異分析，$p<0.05$ 認為有顯著性差異。耳厚抑制率(%)=[1-(給藥組平均值/模型組平均值)]×100%。

【0273】11.5 實驗結果：

實施例	Day 4 抑制率，10 mg/kg

PN-235 (BID)	55.35%
1 (QD)	51.22%
1-16-1 (QD)	70.77%
4-16-1 (QD)	56.60%

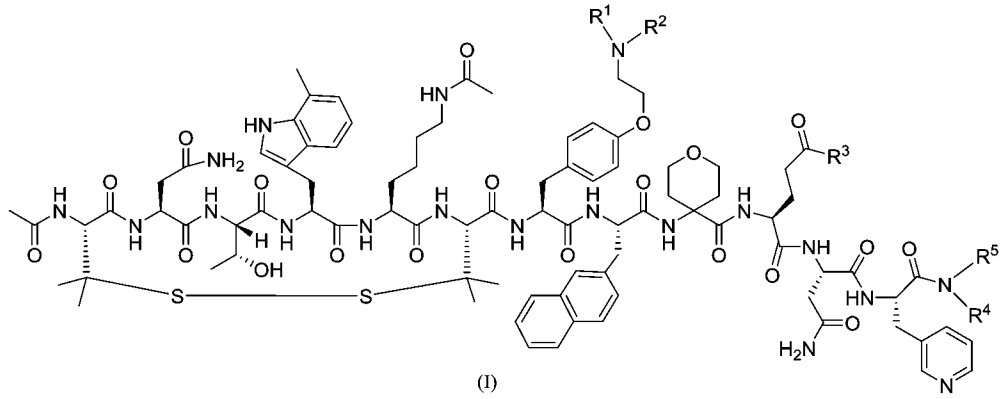
【0274】11.6 實驗結論：在IL23誘導大鼠耳炎模型中，本發明的優選實施例化合物能有效抑制耳增厚，其在一天一次給藥方式下比PN-235一天兩次給藥的抑制耳增厚效果還要顯著，實現延長給藥週期的目的。

【符號說明】

【0275】無

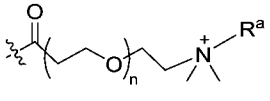
【發明申請專利範圍】

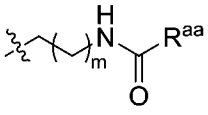
【請求項1】一種通式(I)所示的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，

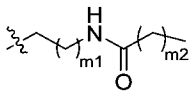
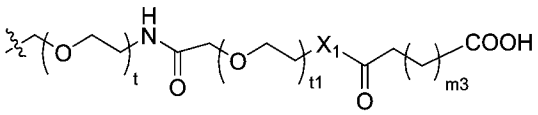


(I)

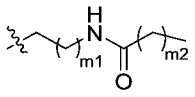
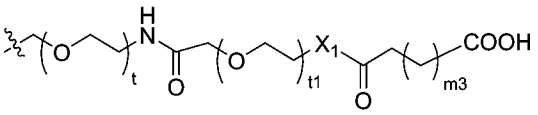
其中：

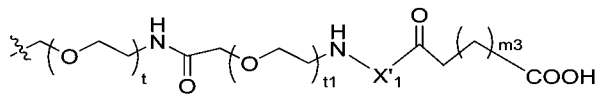
R^1和R^2各自獨立地選自 H，烷基， 或胺基酸；

R^a選自 H，烷基,  或胺基酸；

R^{aa}選自烷基，， 或胺基酸；

X_1選自胺基酸；

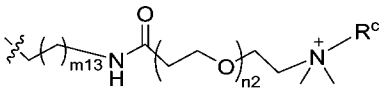
優選地，R^{aa}選自烷基，，，

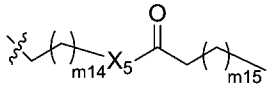
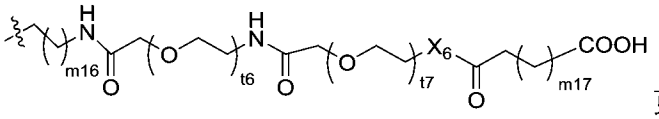
 或胺基酸；

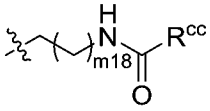
X_1選自胺基酸；

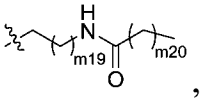
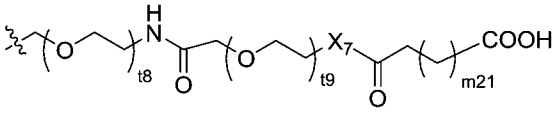
X'_1選自胺基酸；

R^3選自羥基，烷基，$-NR^6R^7$或胺基酸；

R^6和R^7各自獨立地選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

，或胺基酸；

R^c選自 H，烷基，或胺基酸；

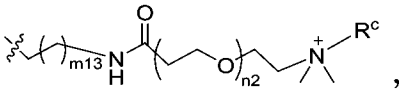
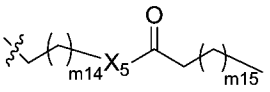
R^{cc}選自烷基，，或胺基酸；

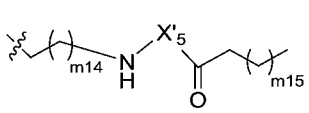
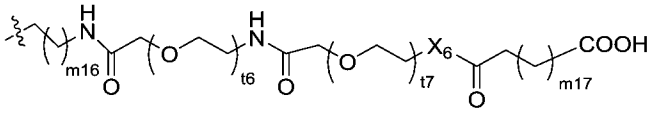
X_5選自胺基酸；

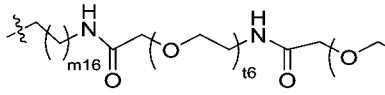
X_6選自胺基酸；

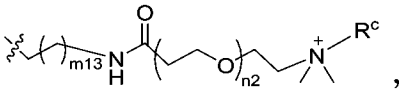
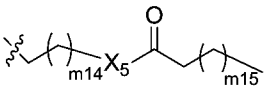
X_7選自胺基酸；

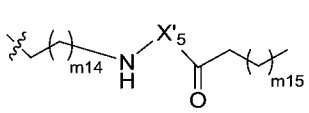
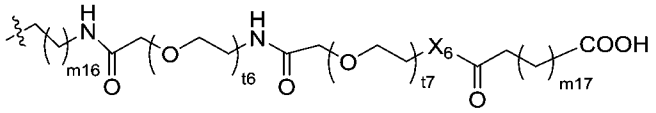
優選地，R^3選自羥基，烷基，$-NR^6R^7$或胺基酸；

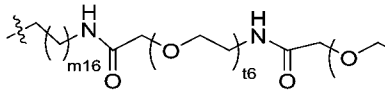
R^6選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，

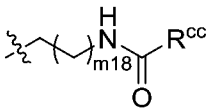
，，

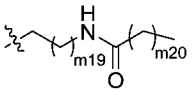
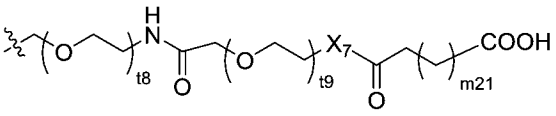
或胺基酸；

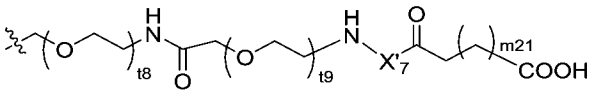
R^7選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，

，，

或胺基酸；

R^c選自 H，烷基，或胺基酸；

R^{cc}選自烷基，，，

或胺基酸；

X_5選自胺基酸；

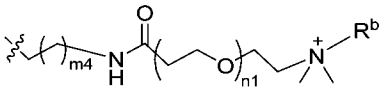
X'_5選自胺基酸；

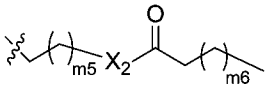
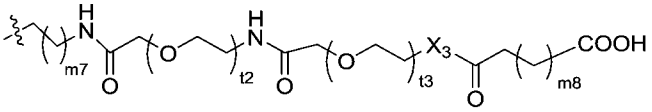
X_6選自胺基酸；

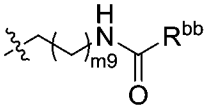
X'_6選自胺基酸；

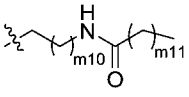
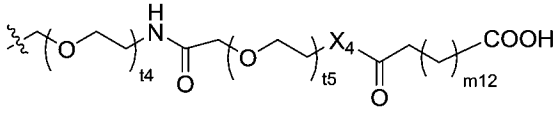
X_7選自胺基酸；

X'_7選自胺基酸；

R^4和R^5各自獨立地選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

，或胺基酸；

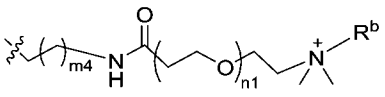
R^b選自 H，烷基，或胺基酸；

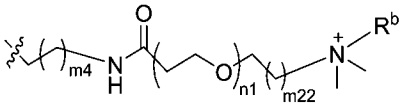
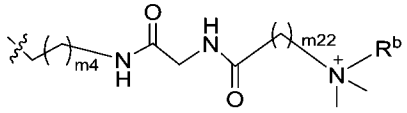
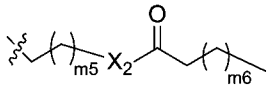
R^{bb}選自烷基，，或胺基酸；

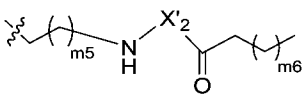
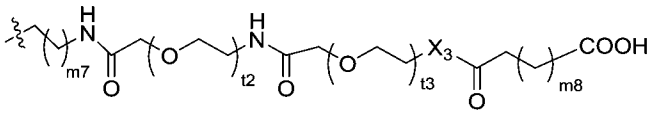
X_2選自胺基酸；

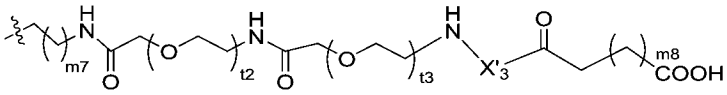
X_3選自胺基酸；

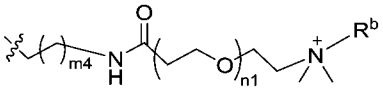
X_4選自胺基酸；

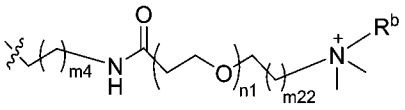
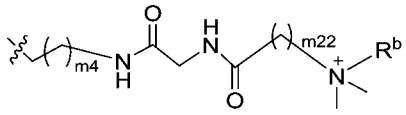
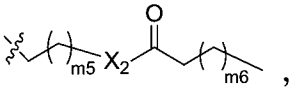
優選地，R^4選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

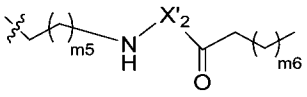
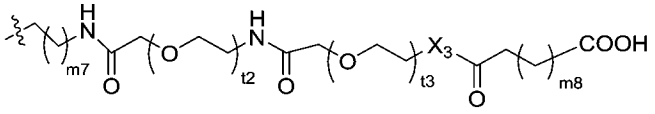
，，，

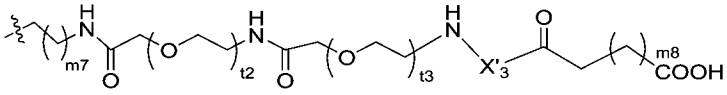

，
，

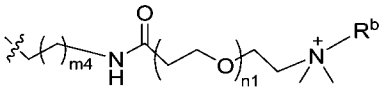
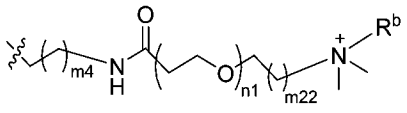

或胺基酸；

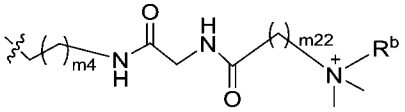
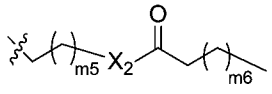
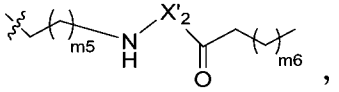
R^5選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，
，

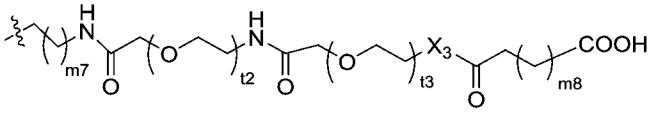

，
，
，

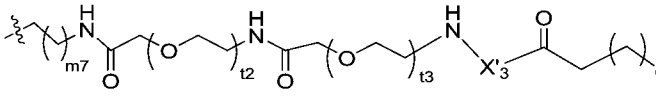

，
，

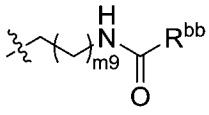

或胺基酸；優選地，選自

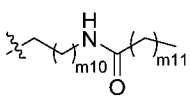
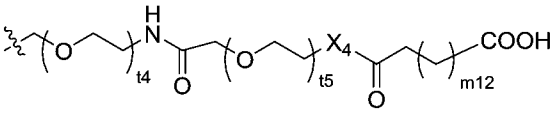

，
，

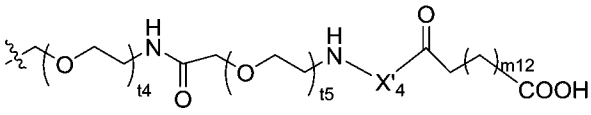

，
，
，


，


；

R^b選自 H，烷基，
或胺基酸，所述烷基可以進一步被羥基或烷氧基取代；

R^{bb}選自烷基，
，
，


或胺基酸；

X_2選自胺基酸；

X'_2選自胺基酸；

X_3選自胺基酸；

X'_3選自胺基酸；

X_4選自胺基酸；

X'_4選自胺基酸；

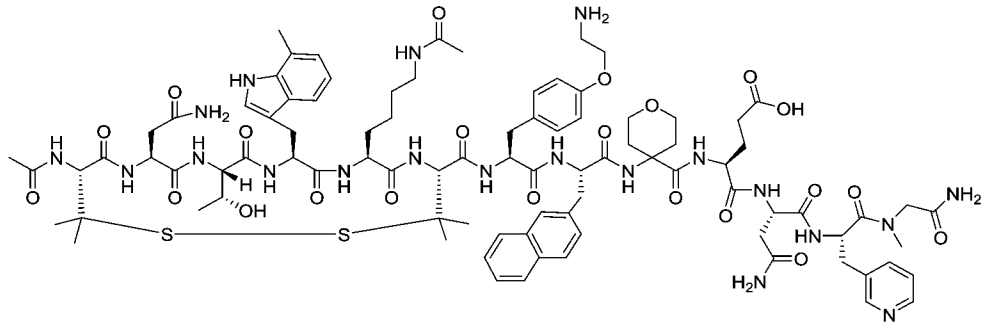
n~n2 各自獨立地選自 0-12 的整數；

t~t9 各自獨立地選自 0-12 的整數；

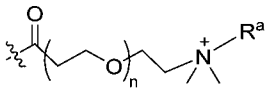
m~m21 各自獨立地選自 0-24 的整數；

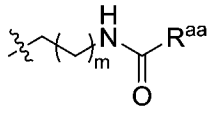
m22 選自 0-24 的整數；

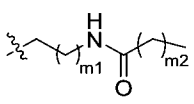
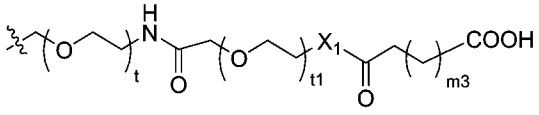
所述化合物不為


；

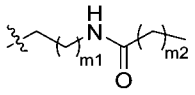
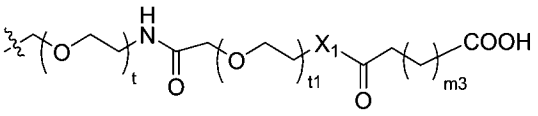
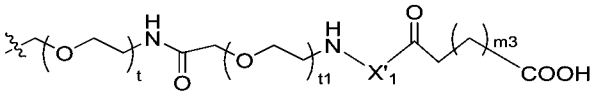
優選地，

R^1和 R^2各自獨立地選自 H，烷基，或胺基酸；

R^a選自 H，烷基，或胺基酸；

R^{aa}選自烷基，，或胺基酸；

X_1選自胺基酸；

優選地，R^{aa}選自烷基，，，或胺基酸；

X_1選自胺基酸；

X'_1選自胺基酸；

R^3選自羥基；

R^4和R^5各自獨立地選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$；

n 選自 0-12 的整數；

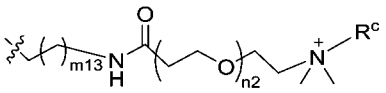
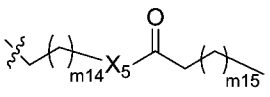
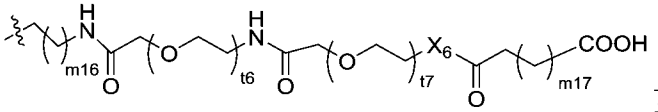
t~t1 各自獨立地選自 0-12 的整數；

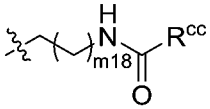
m~m3 各自獨立地選自 0-24 的整數；

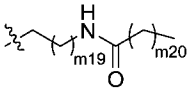
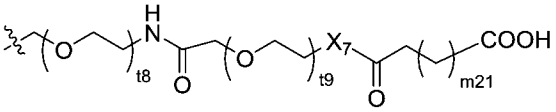
或，

R^1和R^2選自 H；

R^3選自羥基，烷基，$-NR^6R^7$或胺基酸；

R^6和R^7各自獨立地選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，或胺基酸；

R^c選自 H，烷基，或胺基酸；

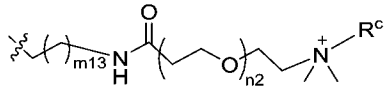
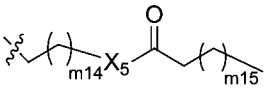
R^{cc}選自烷基，，或胺基酸；

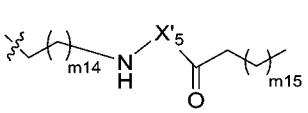
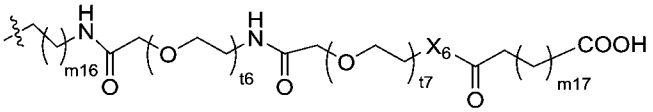
X_5選自胺基酸；

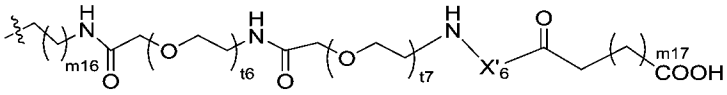
X_6選自胺基酸；

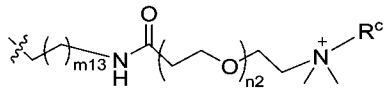
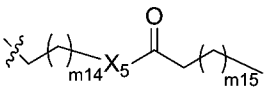
X_7選自胺基酸；

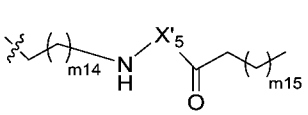
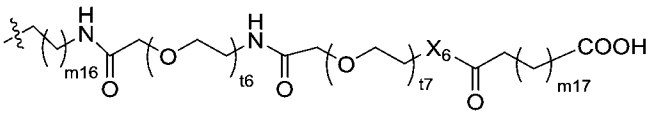
優選地，R^3 選自羥基，烷基，$-NR^6R^7$ 或胺基酸；

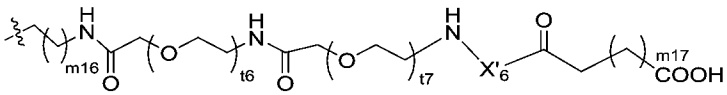
R^6 選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，

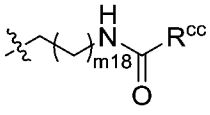

，

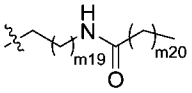
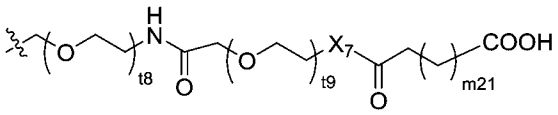
或胺基酸；

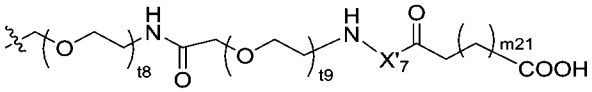
R^7 選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，


，

或胺基酸；

R^c 選自 H，烷基，或胺基酸；

R^{cc} 選自烷基，，，

或胺基酸；

X_5 選自胺基酸；

X'_5 選自胺基酸；

X_6 選自胺基酸；

X'_6 選自胺基酸；

X_7 選自胺基酸；

X'_7 選自胺基酸；

R^4 和 R^5 各自獨立地選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$；

n2 選自 0-12 的整數；

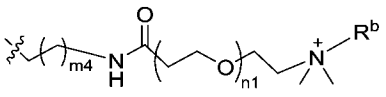
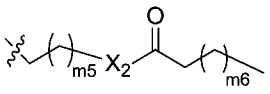
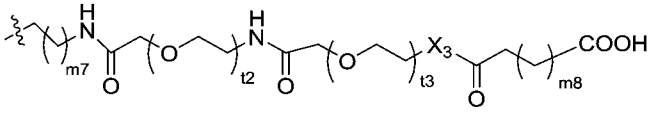
t6~t9 各自獨立地選自 0-12 的整數；

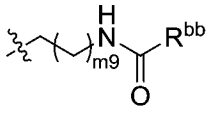
m13~m21 各自獨立地選自 0-24 的整數；

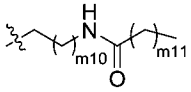
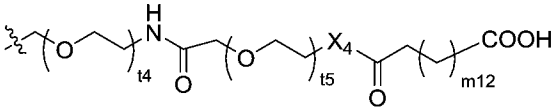
或，

R^1 和 R^2 選自 H；

R^3 選自羥基；

R^4 和 R^5 各自獨立地選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，或胺基酸；

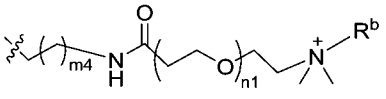
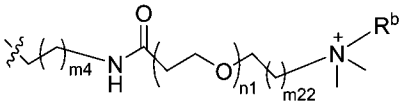
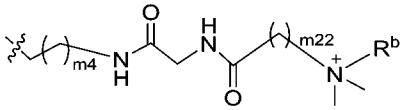
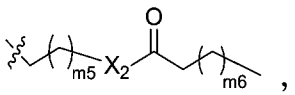
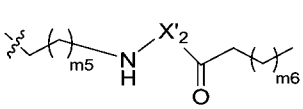
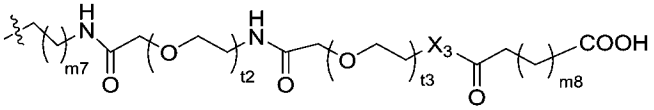
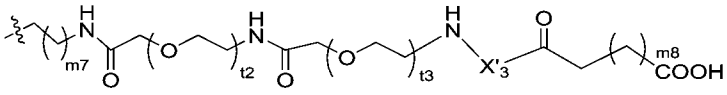
R^b 選自 H，烷基，或胺基酸；

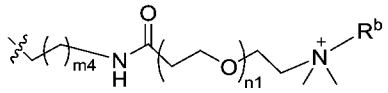
R^{bb} 選自烷基，，或胺基酸；

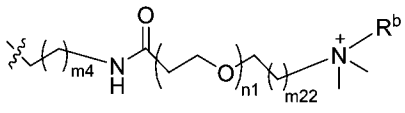
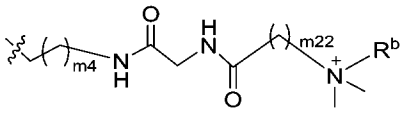
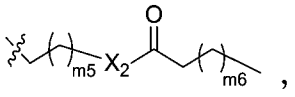
X_2 選自胺基酸；

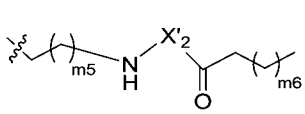
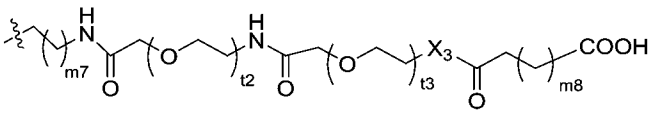
X_3 選自胺基酸；

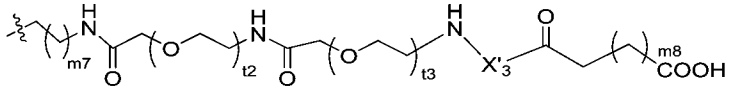
X_4 選自胺基酸；

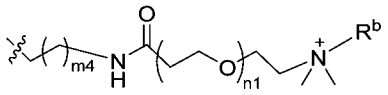
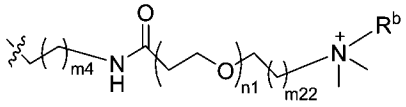
優選地，R^4 選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，，，，或胺基酸；

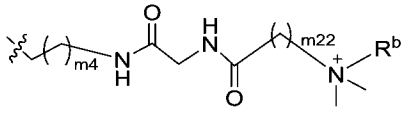
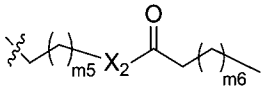
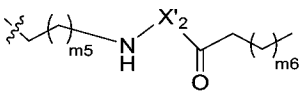
R^5選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

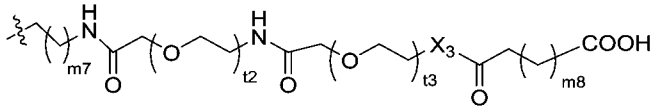
，，，

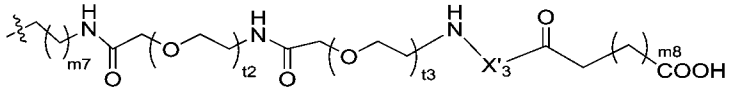
，，

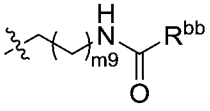
或胺基酸；優選地，選自

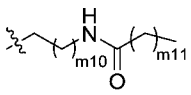
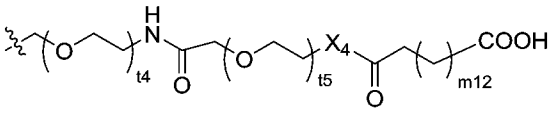
，，

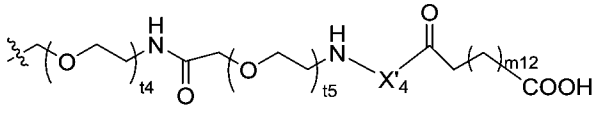
，，，

，

；

R^b選自 H，烷基，或胺基酸，所述烷基可以進一步被羥基或烷氧基取代；

R^{bb}選自烷基，，，

或胺基酸；

X_2選自胺基酸；

X'_2選自胺基酸；

X_3選自胺基酸；

X'_3選自胺基酸；

X_4選自胺基酸；

X'_4選自胺基酸；

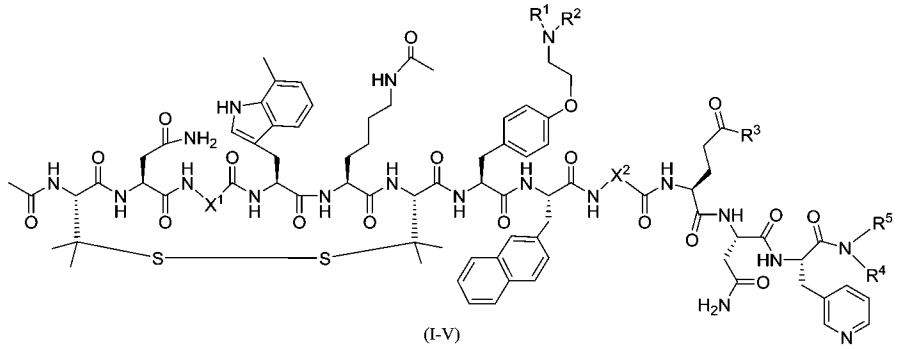
n1 選自 0-12 的整數；

t2~t5 各自獨立地選自 0-12 的整數；

m4~m12 各自獨立地選自 0-24 的整數；

m22 選自 0-24 的整數。

【請求項2】一種通式(I-V)所示的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，

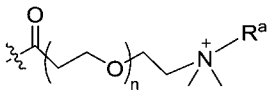


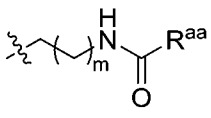
(I-V)

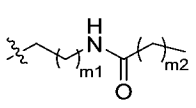
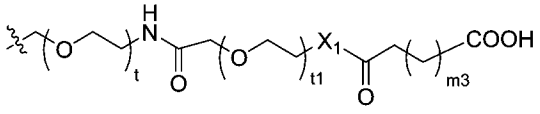
其中：

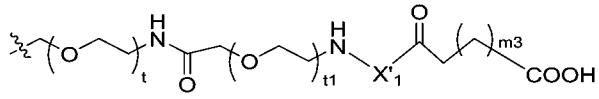
X^1選自胺基酸；

X^2選自胺基酸；

R^1和R^2各自獨立地選自 H，烷基， 或胺基酸；

R^a選自 H，烷基， 或胺基酸；

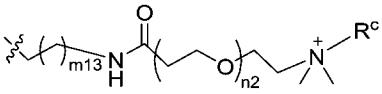
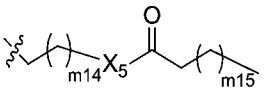
R^{aa}選自烷基，，，

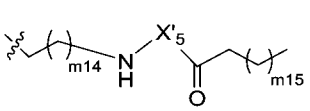
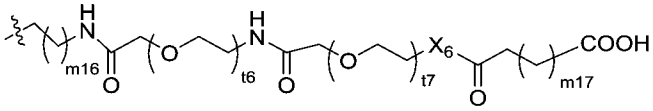
 或胺基酸；

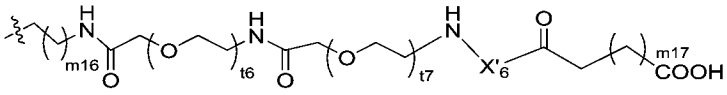
X_1選自胺基酸；

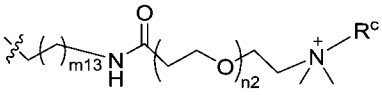
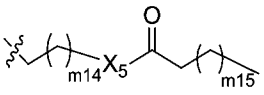
X'_1選自胺基酸；

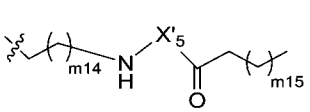
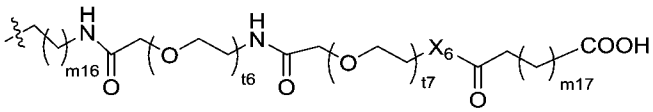
R^3選自羥基，烷基，$-NR^6R^7$或胺基酸；

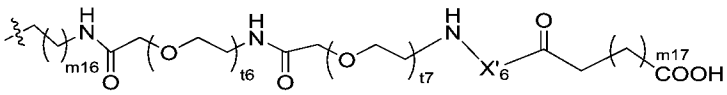
R^6選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，

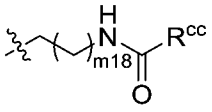
，，

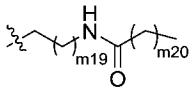
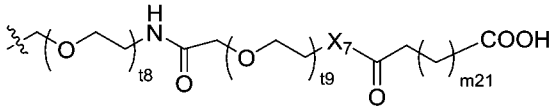
或胺基酸；

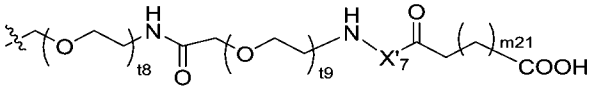
R^7選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，

，，

或胺基酸；

R^c選自 H，烷基，或胺基酸；

R^{cc}選自烷基，，，

或胺基酸；

X_5選自胺基酸；

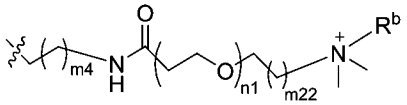
X'_5選自胺基酸；

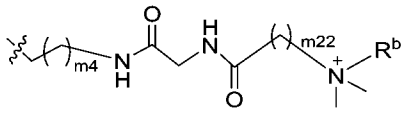
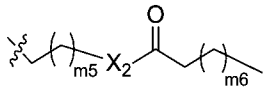
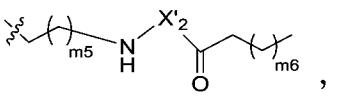
X_6選自胺基酸；

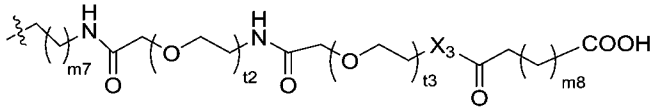
X'_6選自胺基酸；

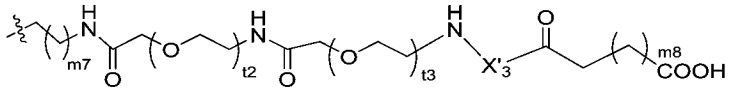
X_7選自胺基酸；

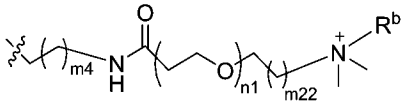
X'_7選自胺基酸；

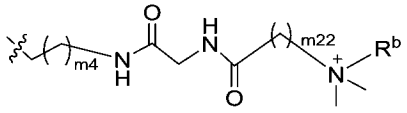
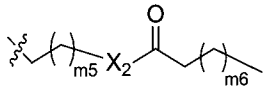
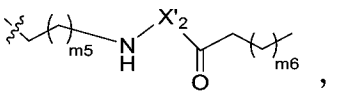
R^4選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

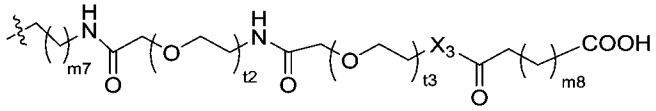
，，，

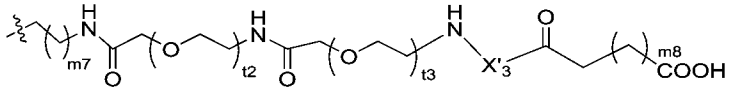
，

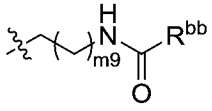
或胺基酸；

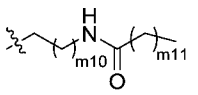
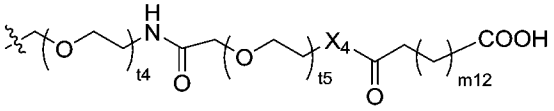
R^5選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

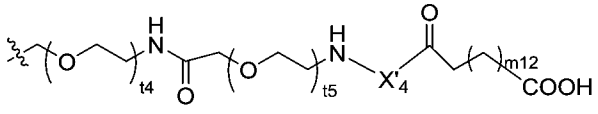
，，，

，

或胺基酸；

R^b選自 H，烷基，或胺基酸，所述烷基可以進一步被羥基或烷氧基取代；

R^{bb}選自烷基，，，

或胺基酸；

X_2選自胺基酸；

X'_2選自胺基酸；

X_3選自胺基酸；

X'_3選自胺基酸；

X_4選自胺基酸；

X'_4選自胺基酸；

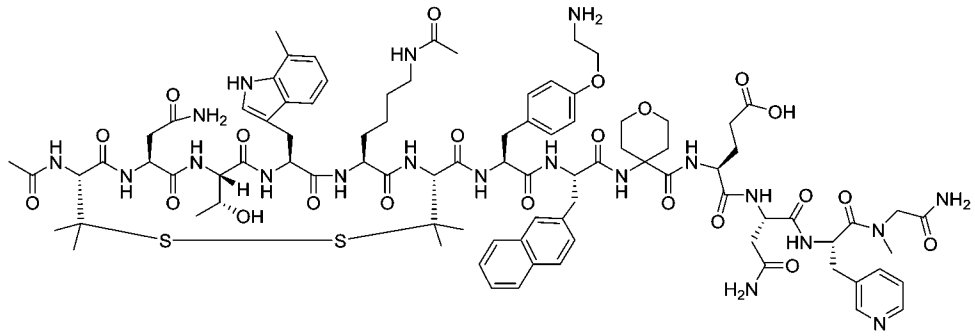
n~n2 各自獨立地選自 0-12 的整數；

t~t9 各自獨立地選自 0-12 的整數；

m~m21 各自獨立地選自 0-24 的整數；

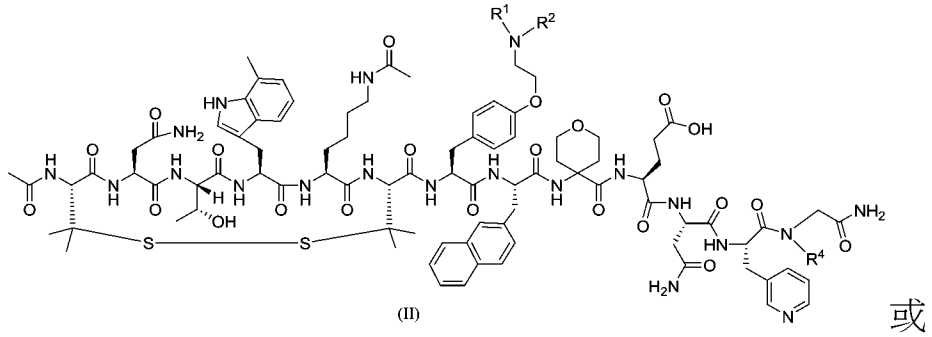
m22 選自 0-24 的整數；

所述化合物不為



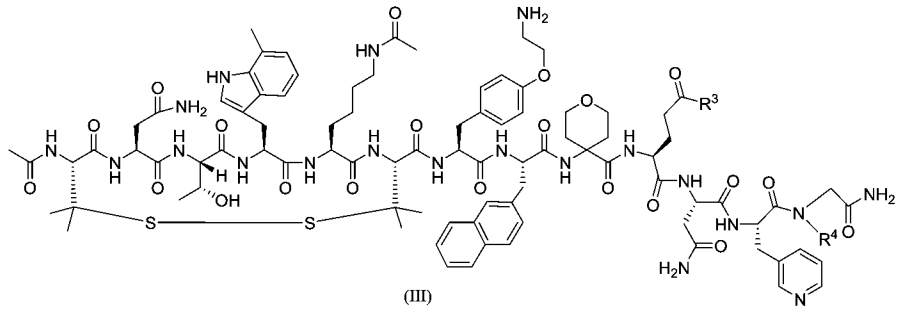
。

【請求項3】如請求項 1-2 任一項所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其中所述化合物進一步如通式（II）或（III）所示：



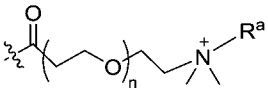
(II)

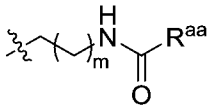
或

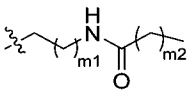
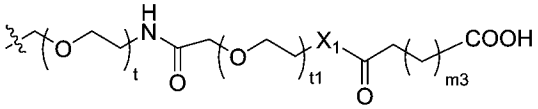


(III)

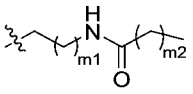
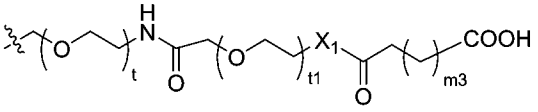
其中：

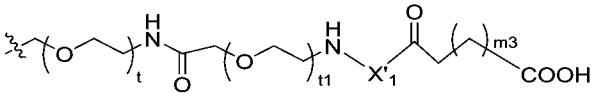
R^1和R^2各自獨立地選自 H，烷基， 或胺基酸；

R^a選自 H，烷基， 或胺基酸；

R^{aa}選自烷基，， 或胺基酸；

X_1選自胺基酸；

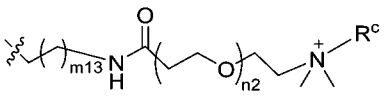
優選地，R^{aa}選自烷基，，，

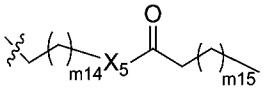
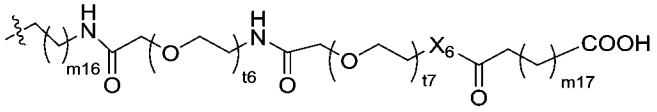
 或胺基酸；

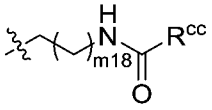
X_1選自胺基酸；

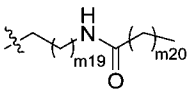
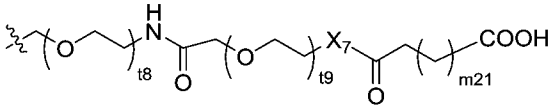
X'_1選自胺基酸；

R^3選自羥基，烷基，$-NR^6R^7$或胺基酸；

R^6和R^7各自獨立地選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

， 或胺基酸；

R^c選自 H，烷基， 或胺基酸；

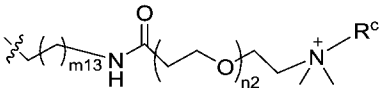
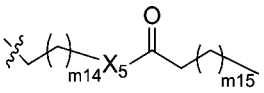
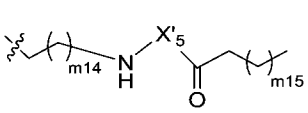
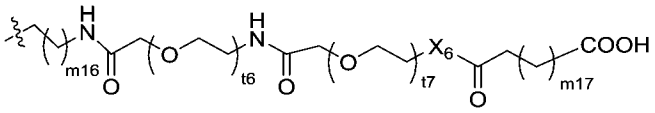
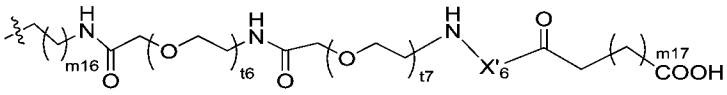
R^{cc}選自烷基，， 或胺基酸；

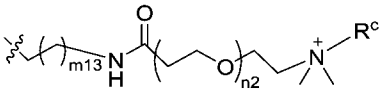
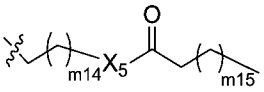
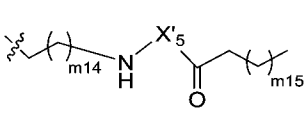
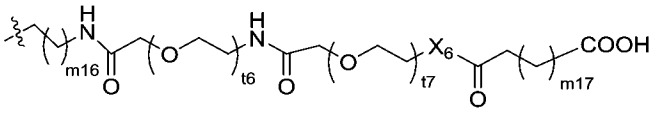
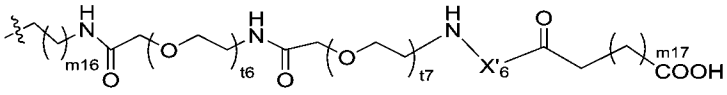
X_5選自胺基酸；

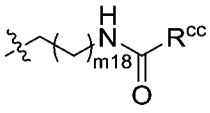
X_6選自胺基酸；

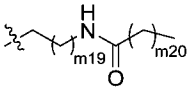
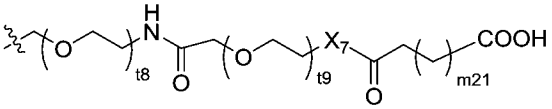
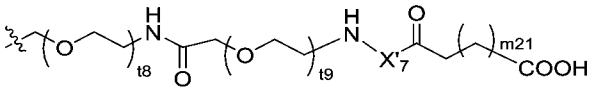
X_7選自胺基酸；

優選地，R^3選自羥基，烷基，$-NR^6R^7$或胺基酸；

R^6選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，，或胺基酸；

R^7選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，，或胺基酸；

R^c選自 H，烷基，或胺基酸；

R^{cc}選自烷基，，，或胺基酸；

X_5選自胺基酸；

X'_5選自胺基酸；

X_6選自胺基酸；

X'_6選自胺基酸；

X_7選自胺基酸；

X'_7選自胺基酸；

R^4選自 H 或烷基；

n 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t1 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

m 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m1 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m2 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m3 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

n2 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t6 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t7 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t8 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t9 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

m13 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m14 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m15 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m16 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

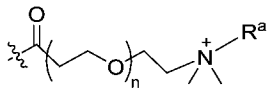
m17 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

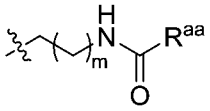
m18 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

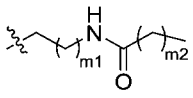
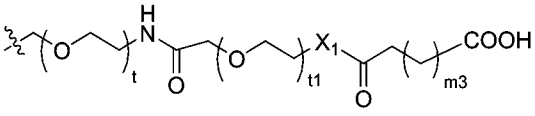
m19 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m20 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

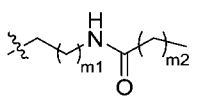
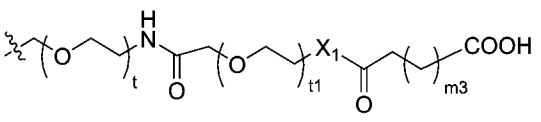
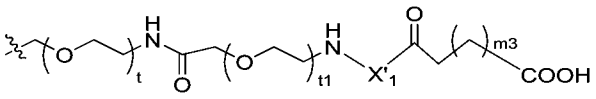
m21 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24。

【請求項4】如請求項 1-3 任一項所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其中 R^1 選自 H，C_{1-6} 烷基， 或胺基酸；

R^a 選自 H，C_{1-6} 烷基， 或胺基酸；

R^{aa} 選自 C_{1-6} 烷基，， 或胺基酸；

X_1 選自胺基酸；

優選地，R^{aa} 選自 C_{1-6} 烷基，，， 或胺基酸；

X_1 選自胺基酸；

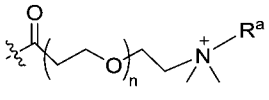
X'_1 選自胺基酸；

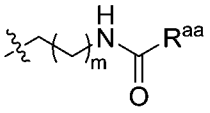
n 選自 0-12 的整數；

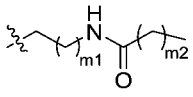
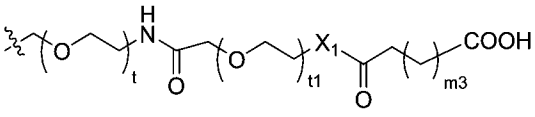
t~t1 各自獨立地選自 0-12 的整數；

m~m3 各自獨立地選自 0-24 的整數；

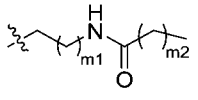
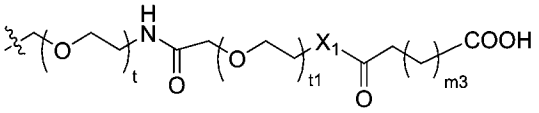
和/或，

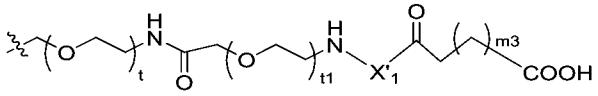
R^2 選自 H，C_{1-6} 烷基， 或胺基酸；

R^a 選自 H，C_{1-6} 烷基， 或胺基酸；

R^{aa} 選自 C_{1-6} 烷基，， 或胺基酸；

X_1 選自胺基酸；

優選地，R^{aa} 選自 C_{1-6} 烷基，，，

 或胺基酸；

X_1 選自胺基酸；

X'_1 選自胺基酸；

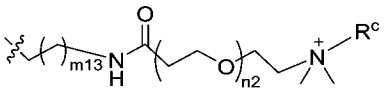
n 選自 0-12 的整數；

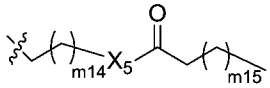
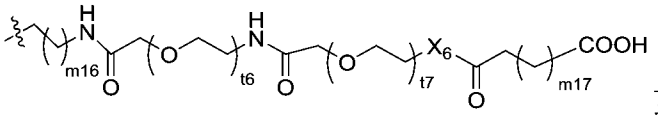
t~t1 各自獨立地選自 0-12 的整數;

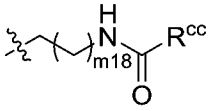
m~m3 各自獨立地選自 0-24 的整數；

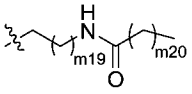
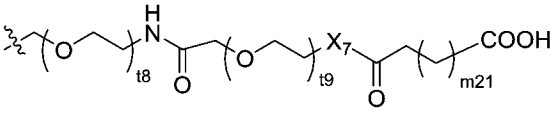
和/或，

R^3 選自羥基，C_{1-6} 烷基，$-NR^6R^7$ 或胺基酸；

R^6和R^7各自獨立地選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

，或胺基酸；

R^c選自 H，烷基，或胺基酸；

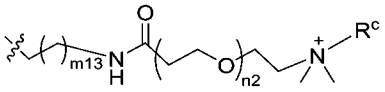
R^{cc}選自烷基，，或胺基酸；

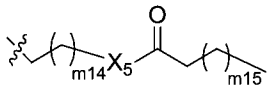
X_5選自胺基酸；

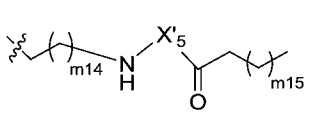
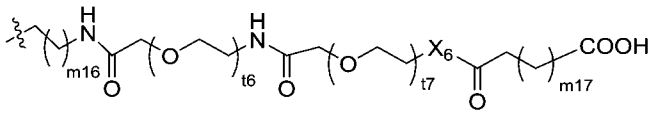
X_6選自胺基酸；

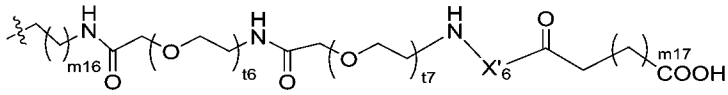
X_7選自胺基酸；

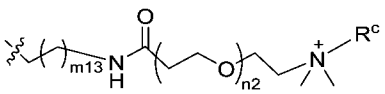
優選地，R^3選自羥基，C_{1-6}烷基，$-NR^6R^7$或胺基酸；

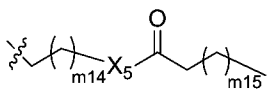
R^6選自 H，C_{1-6}烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

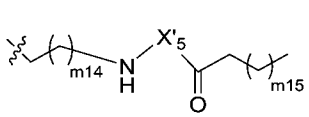
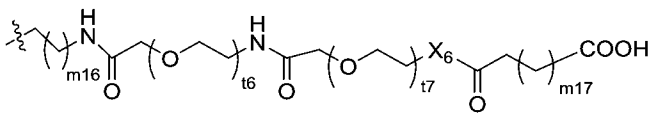
，

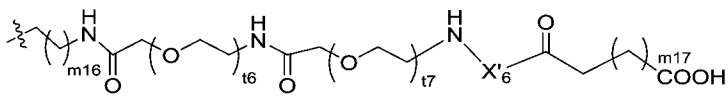
，

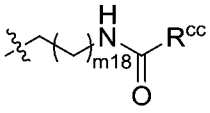
或胺基酸；

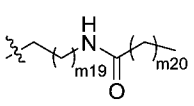
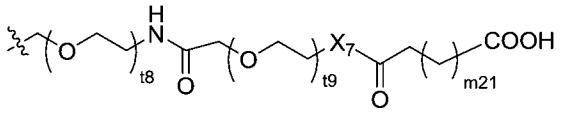
R^7選自 H，C_{1-6}烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

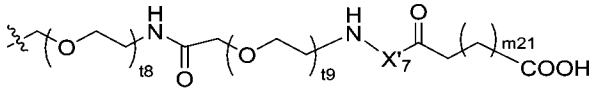
，

，

或胺基酸；

R^c 選自 H，C_{1-6}烷基， 或胺基酸；

R^{cc} 選自 C_{1-6}烷基，，，

或胺基酸；

X_5 選自胺基酸；

X'_5 選自胺基酸；

X_6 選自胺基酸；

X'_6 選自胺基酸；

X_7 選自胺基酸；

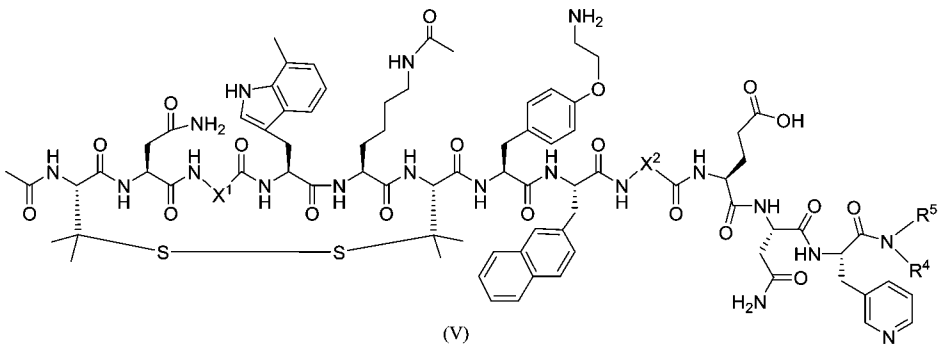
X'_7 選自胺基酸；

n2 選自 0-12 的整數；

t6~t9 各自獨立地選自 0-12 的整數；

m13~m21 各自獨立地選自 0-24 的整數。

【請求項5】如請求項 2 所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其中所述化合物進一步如通式(V)所示：

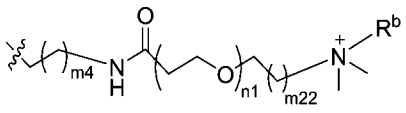


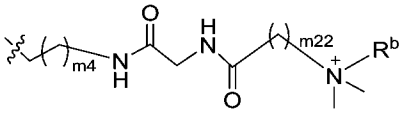
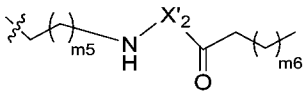
(V)

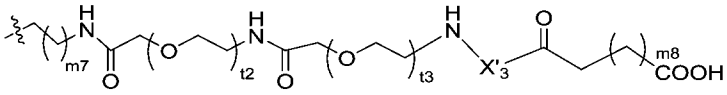
其中：

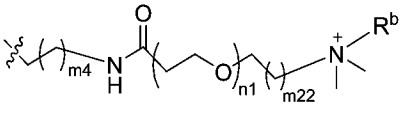
X^1 選自胺基酸；

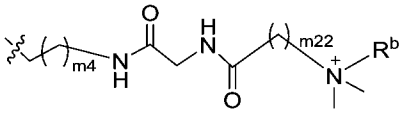
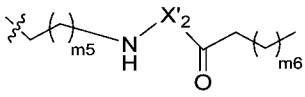
X^2選自胺基酸；

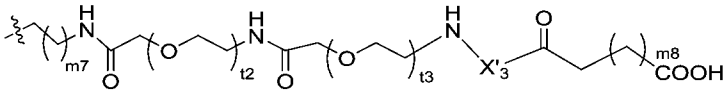
R^4選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

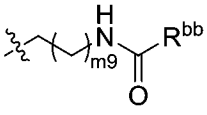
，，

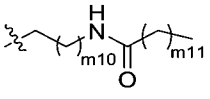
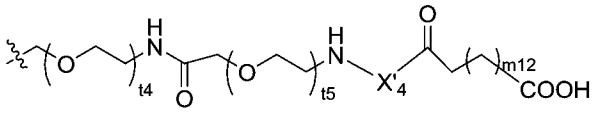
或胺基酸；

R^5選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

，，

或胺基酸；

R^b選自 H，烷基，或胺基酸，所述烷基可以進一步被羥基或烷氧基取代；

R^{bb}選自烷基，，或胺基酸；

X'_2選自胺基酸；

X'_3選自胺基酸；

X_4選自胺基酸；

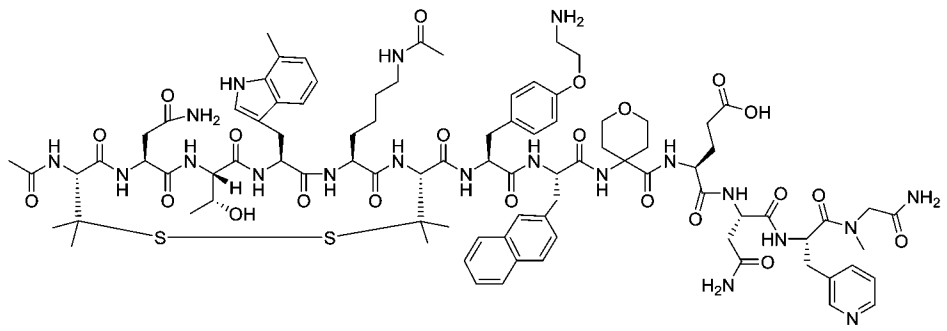
n1 選自 0-12 的整數；

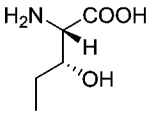
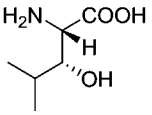
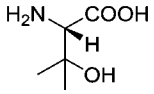
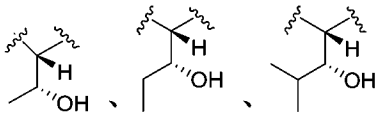
t2~t5 各自獨立地選自 0-12 的整數；

m4~m12 各自獨立地選自 0-24 的整數；

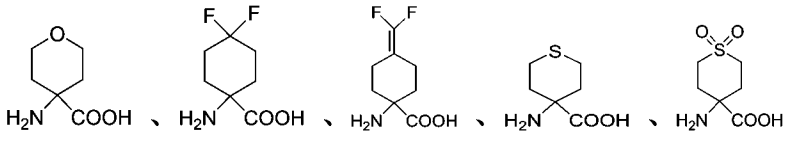
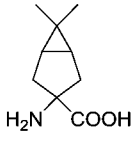
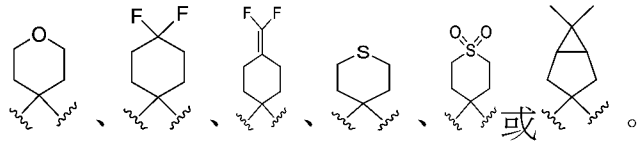
m22 選自 0-12 的整數；

所述化合物不為

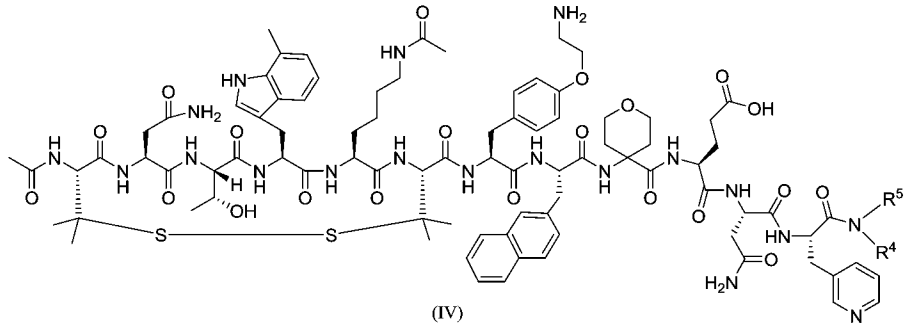


【請求項6】如請求項 2 或 5 任一項所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其中 X^1 選自選自 Thr、、或；優選為；

和/或，

X^2 選自或；優選為。

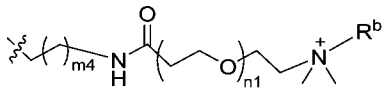
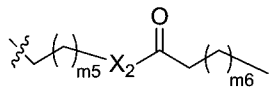
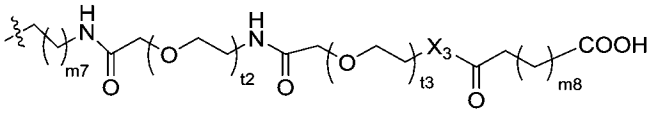
【請求項7】如請求項 1-2 或 5 任一項所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其中所述化合物進一步如通式（IV）所示：

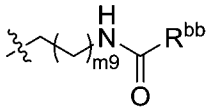


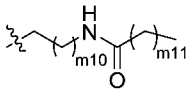
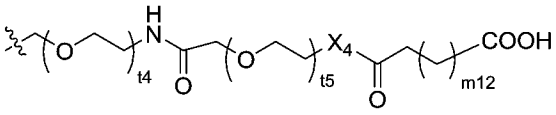
(IV)

其中：

R^4 選自 H 或烷基；

R^5選自烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，或胺基酸；

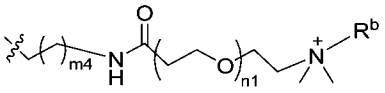
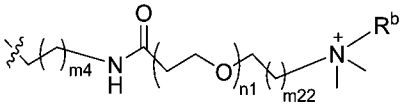
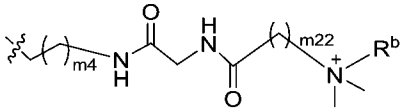
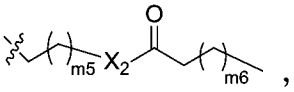
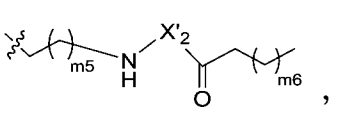
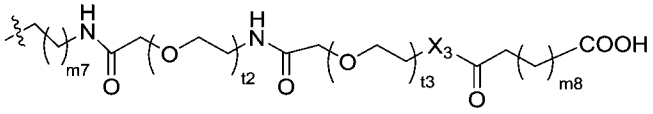
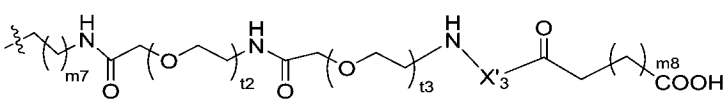
R^b選自 H，烷基，或胺基酸；

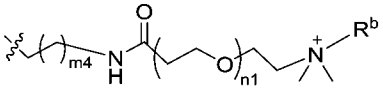
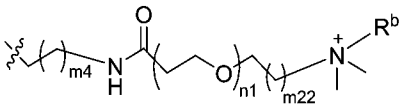
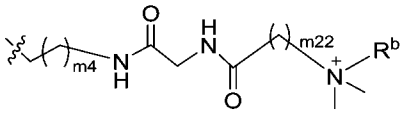
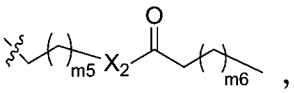
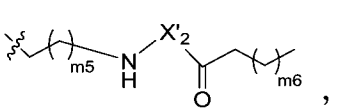
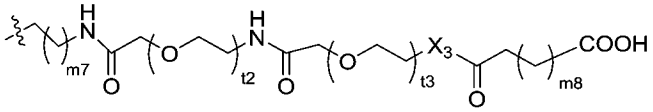
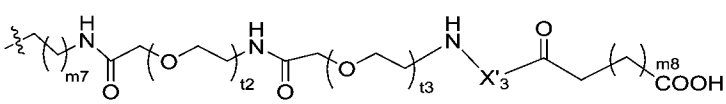
R^{bb}選自烷基，，或胺基酸；

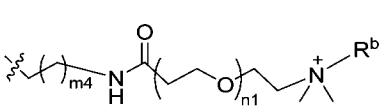
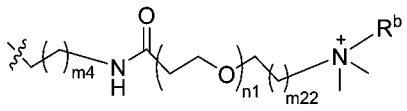
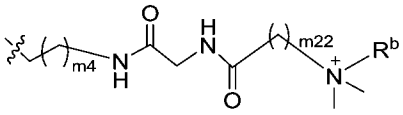
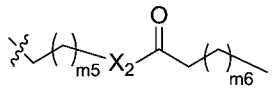
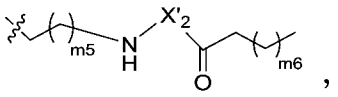
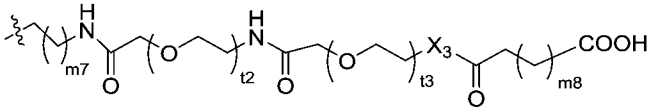
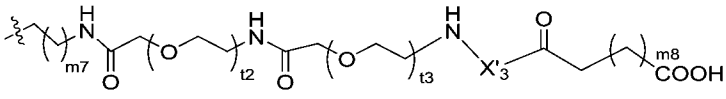
X_2選自胺基酸；

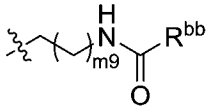
X_3選自胺基酸；

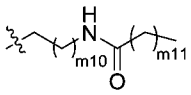
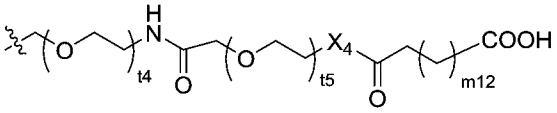
X_4選自胺基酸；

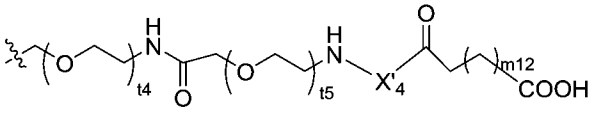
優選地，R^4選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，，，，或胺基酸；

R^5選自 H，烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，，，，或胺基酸；優選地，選自


，

，

，

，

，

，

；

R^b選自 H，烷基，或胺基酸，所述烷基可以進一步被羥基或烷氧基取代；

R^{bb}選自烷基，，，

或胺基酸；

X_2選自胺基酸；

X'_2選自胺基酸；

X_3選自胺基酸；

X'_3選自胺基酸；

X_4選自胺基酸；

X'_4選自胺基酸；

n1 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t2 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t3 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t4 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

t5 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11 或 12；

m4 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m5 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m6 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m7 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m8 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

m9 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

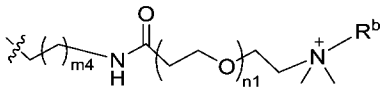
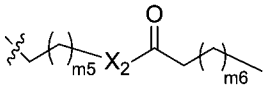
m10 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

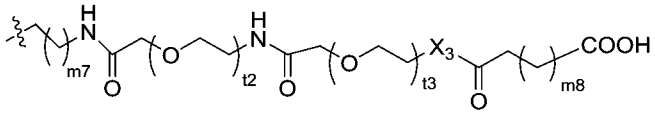
m11 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

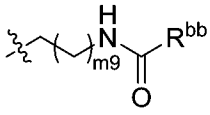
m12 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24；

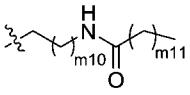
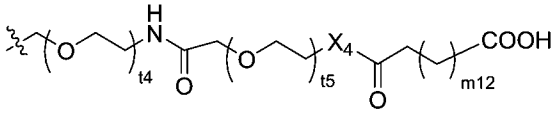
m22 選自 0，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13，14，15，16，17，18，19，20，21，22，23 或 24。

【請求項8】如請求項 1-2 或 4-7 任一項所述的化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其中 R^4 選自 H，C_{1-6} 烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，


，

，


或胺基酸；

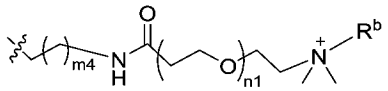
R^b 選自 H，C_{1-6} 烷基，或胺基酸；

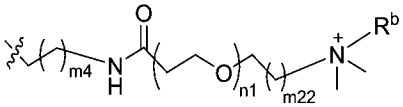
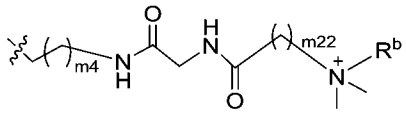
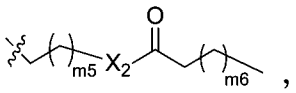
R^{bb} 選自 C_{1-6} 烷基，，或胺基酸；

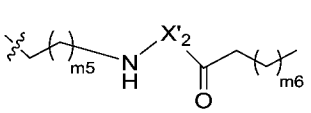
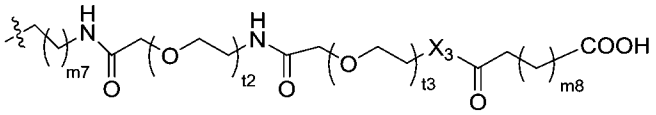
X_2 選自胺基酸；

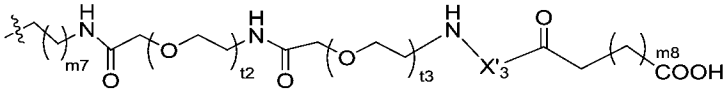
X_3 選自胺基酸；

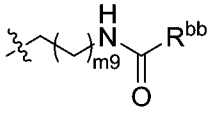
X_4 選自胺基酸；

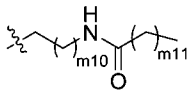
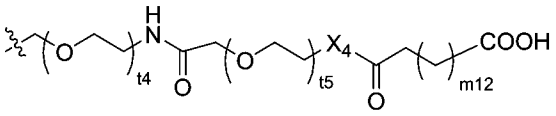
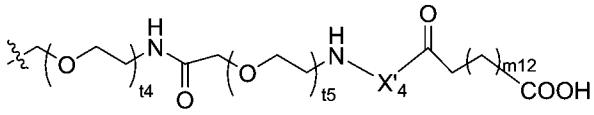
優選地，R^4 選自 H，C_{1-6} 烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，

，，，

，，

或胺基酸；

R^b 選自 H，C_{1-6} 烷基，或胺基酸，所述烷基可以進一步被羥基或烷氧基取代；

R^{bb}選自 C_{1-6}烷基，，，或胺基酸；

X_2選自胺基酸；

X'_2選自胺基酸；

X_3選自胺基酸；

X'_3選自胺基酸；

X_4選自胺基酸；

X'_4選自胺基酸；

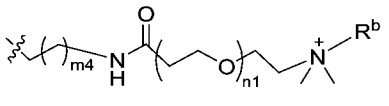
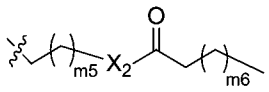
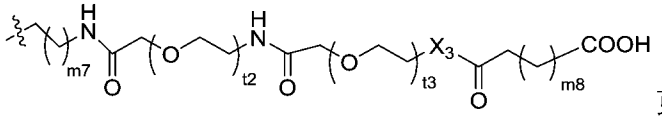
n1 選自 0-12 的整數；

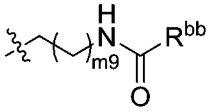
t2~t5 各自獨立地選自 0-12 的整數；

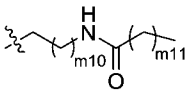
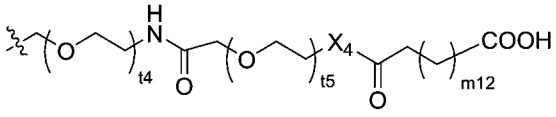
m4~m12 各自獨立地選自 0-24 的整數；

m22 選自 0-24 的整數；

和/或，

R^5選自 H，C_{1-6}烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，或胺基酸；

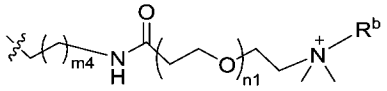
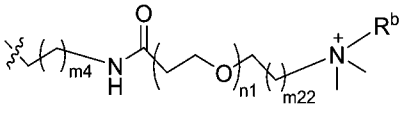
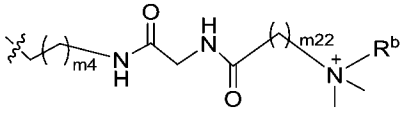
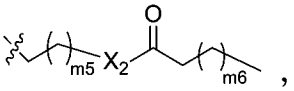
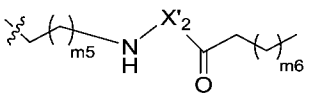
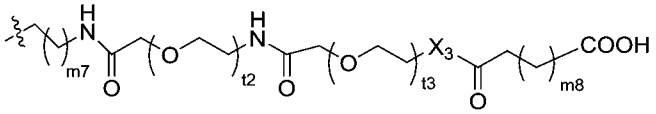
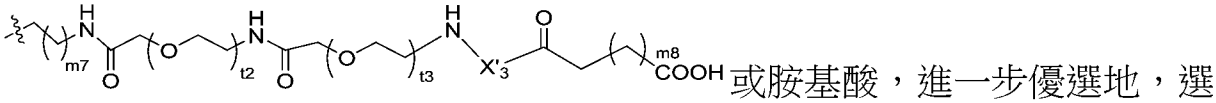
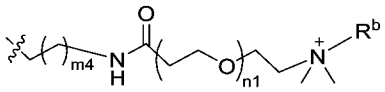
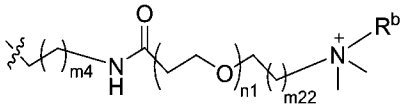
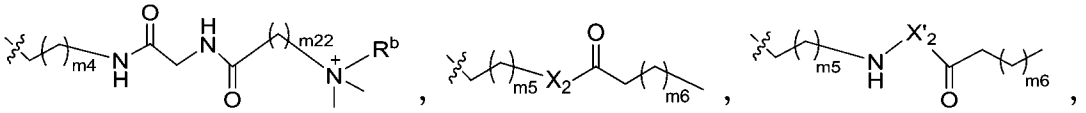
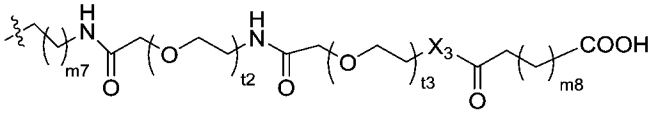
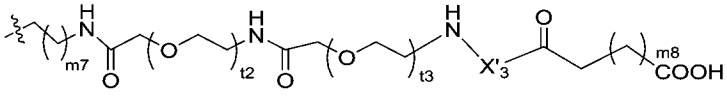
R^b選自 H， C_{1-6}烷基，或胺基酸；

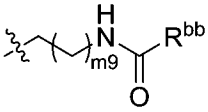
R^{bb}選自 C_{1-6}烷基，，或胺基酸；

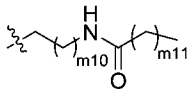
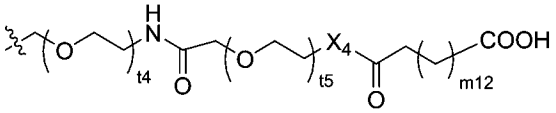
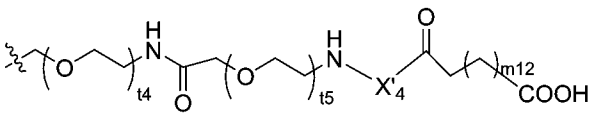
X_2選自胺基酸；

X_3選自胺基酸；

X_4選自胺基酸；

優選地，R^5選自 H，C_{1-6}烷基，$-CH_2C(O)NH_2$，，，，，，，或胺基酸，進一步優選地，選自，，，，，，；

R^b選自 H，C_{1-6}烷基，或胺基酸，所述烷基可以進一步被羥基或烷氧基取代；

R^{bb}選自 C_{1-6}烷基，，，或胺基酸；

X_2選自胺基酸；

X'_2選自胺基酸；

X_3選自胺基酸；

X'_3選自胺基酸；

X_4選自胺基酸；

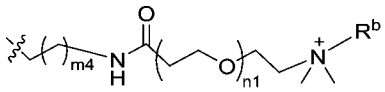
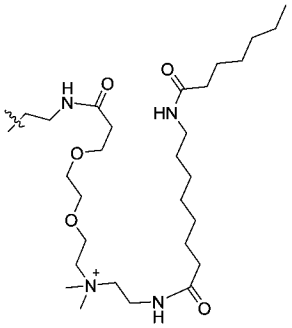
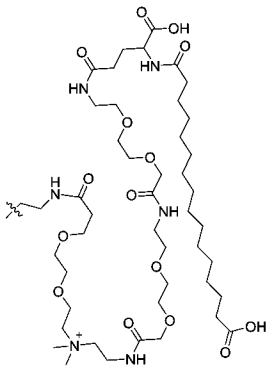
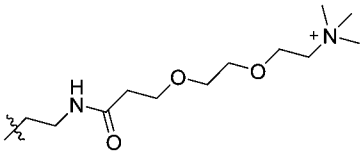
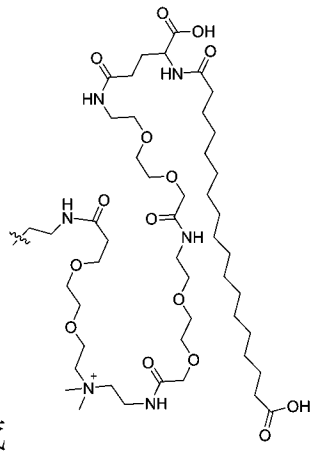
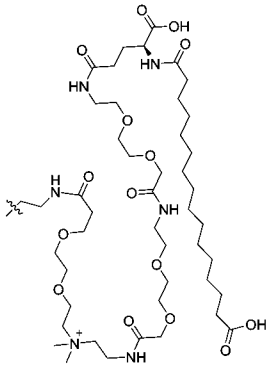
X'_4選自胺基酸；

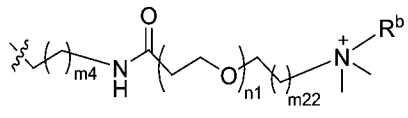
n1 選自 0-12 的整數；

t2~t5 各自獨立地選自 0-12 的整數；

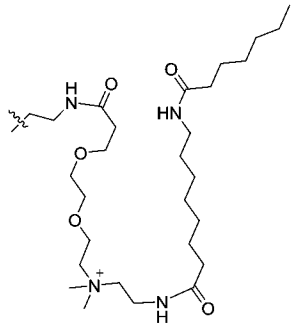
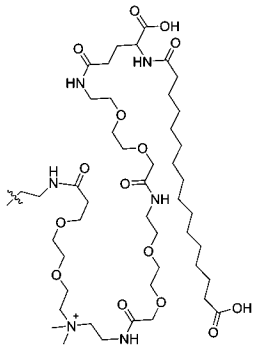
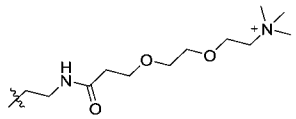
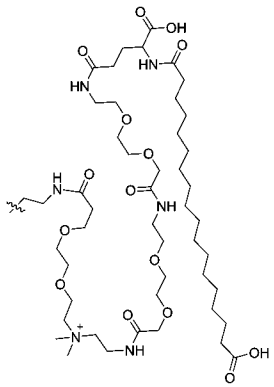
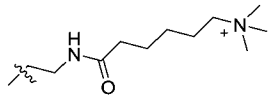
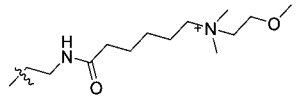
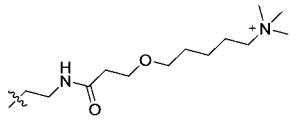
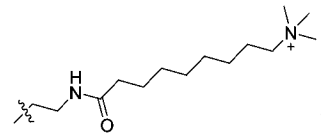
m4~m12 各自獨立地選自 0-24 的整數；

m22 選自 0-24 的整數；

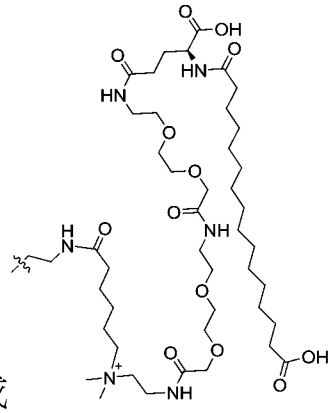
優選地，選自，，或；優選自；



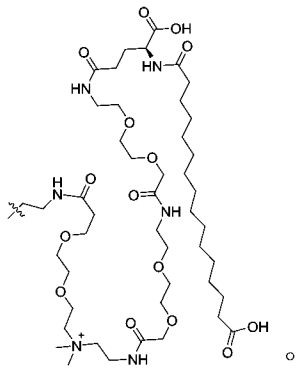
選自

或

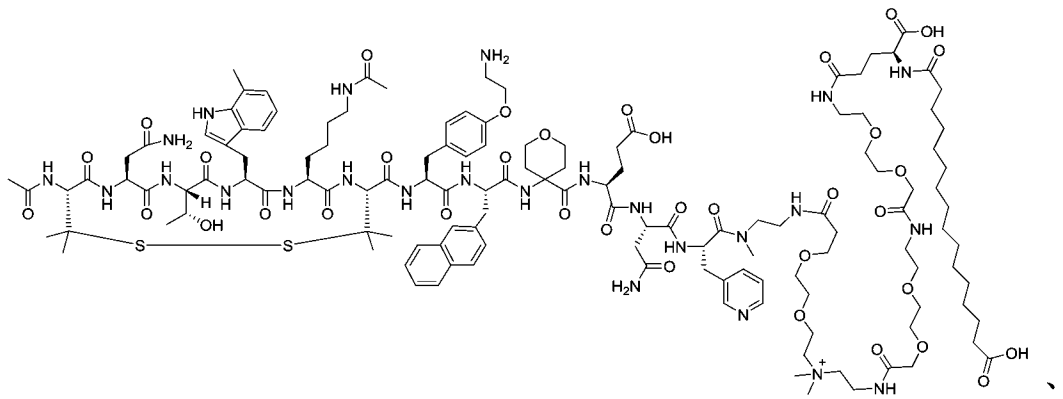


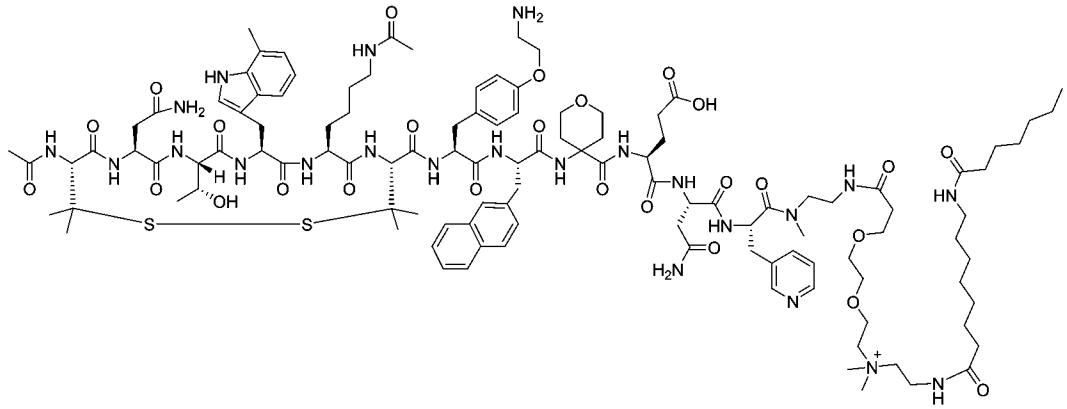
；優選自

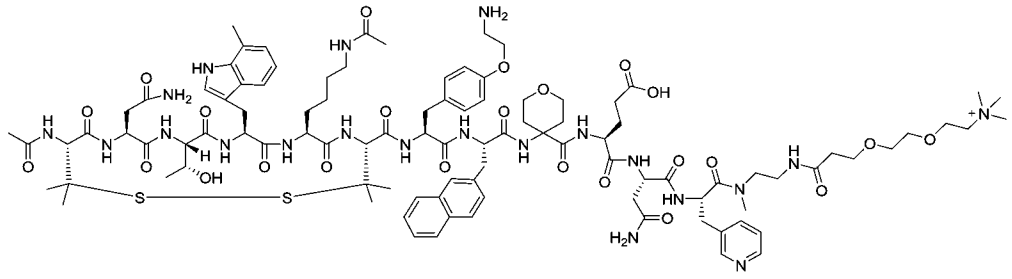


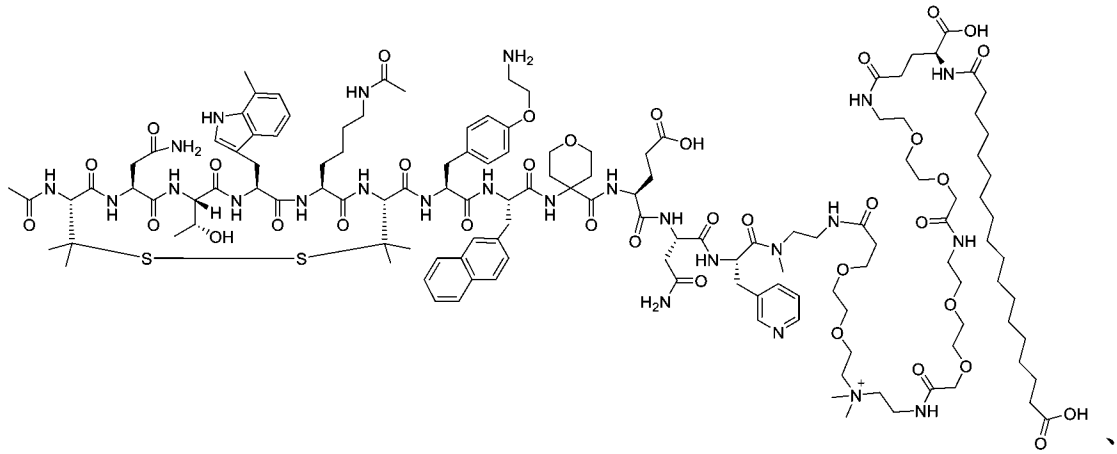
。

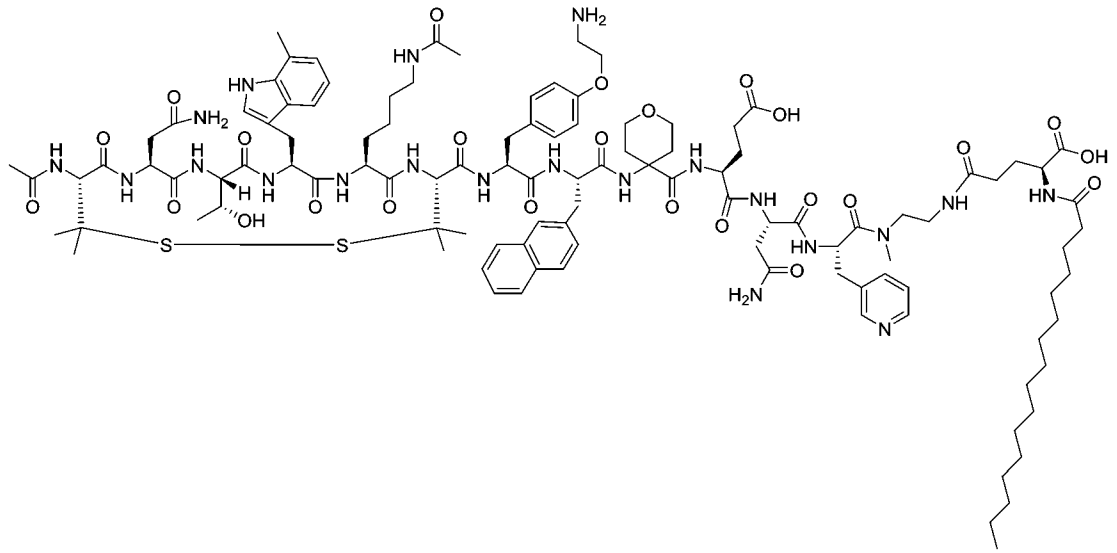
【請求項9】一種化合物、其立體異構體或其藥學上可接受鹽，其中選自如下化合物：



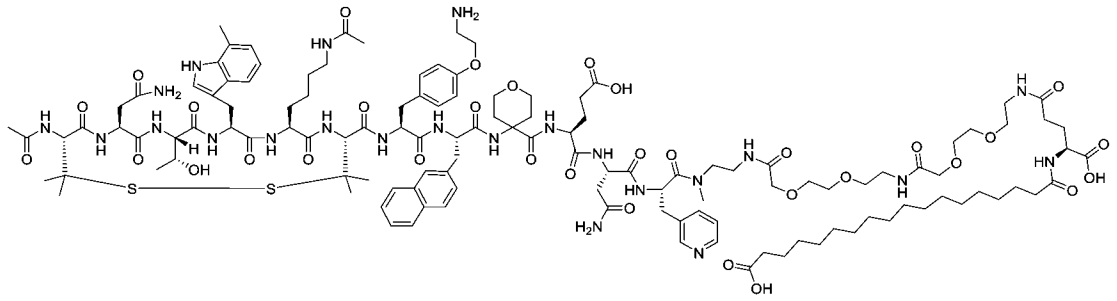




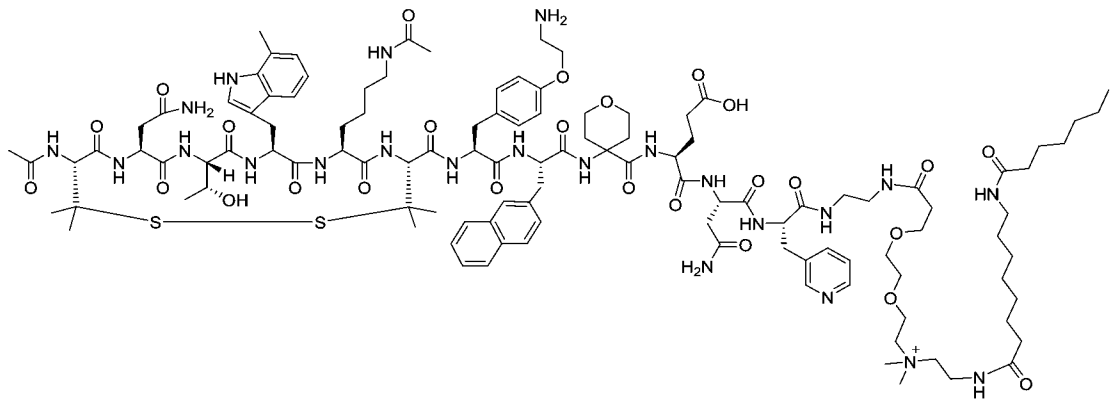




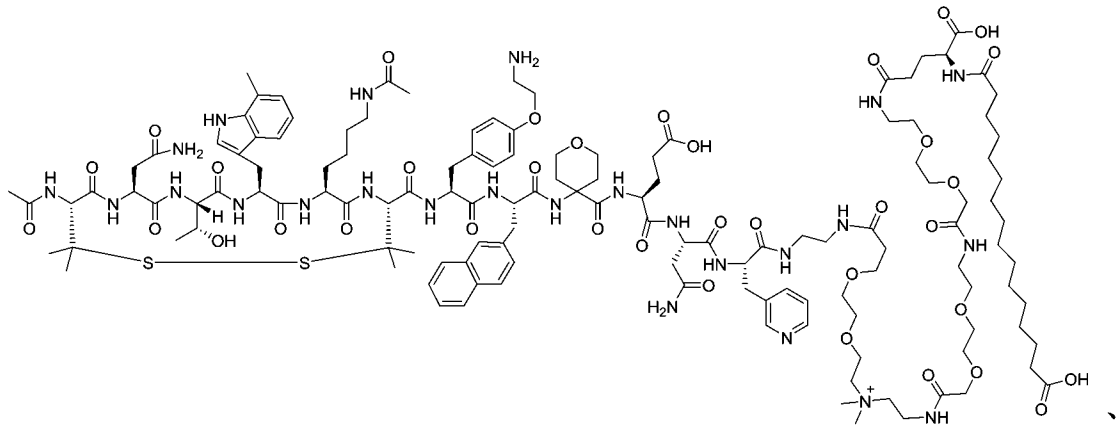
、



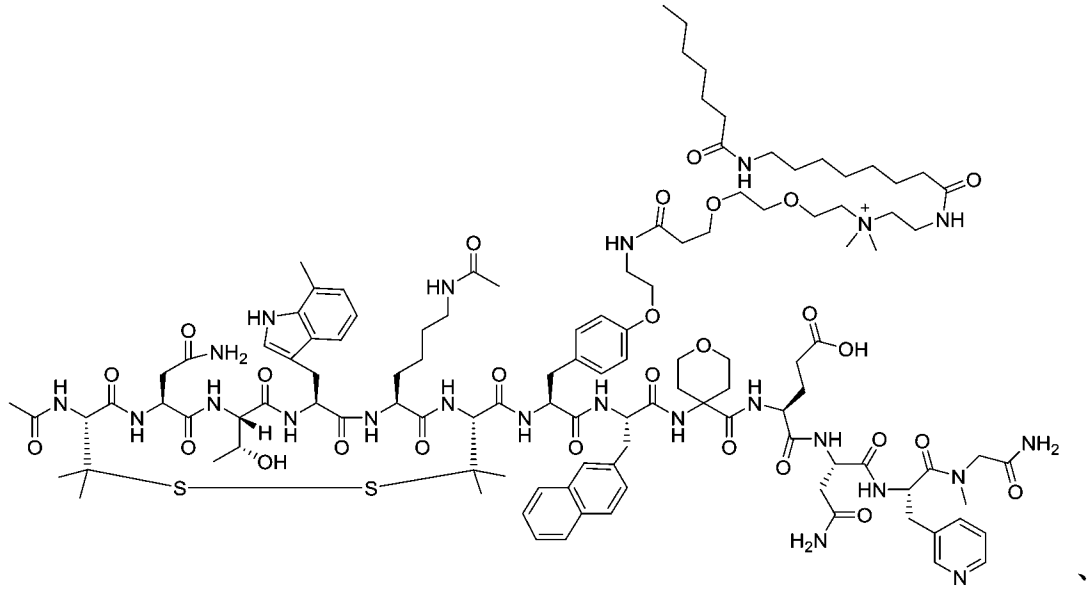
、

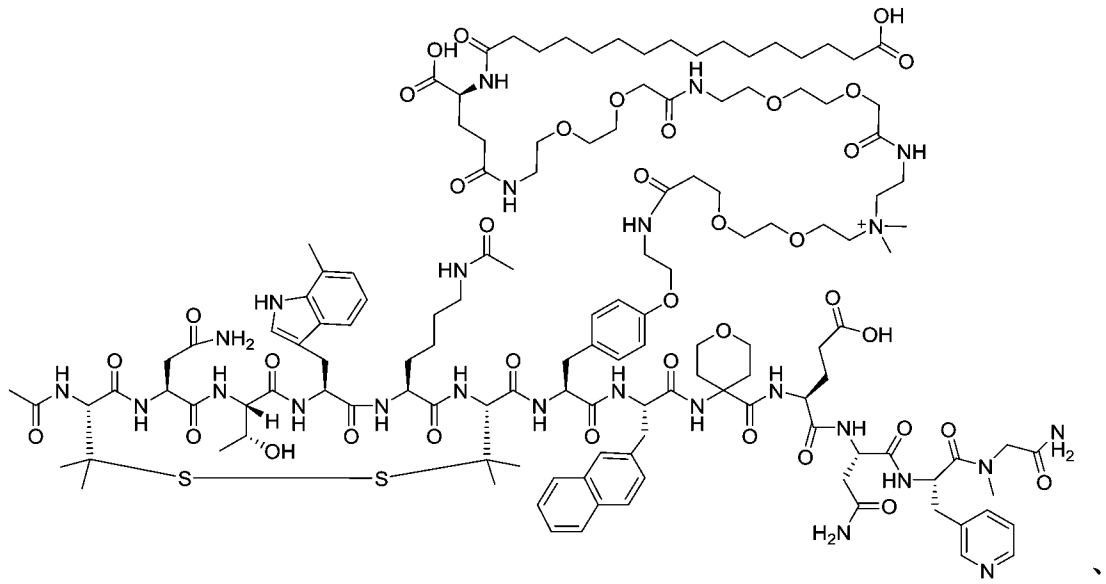


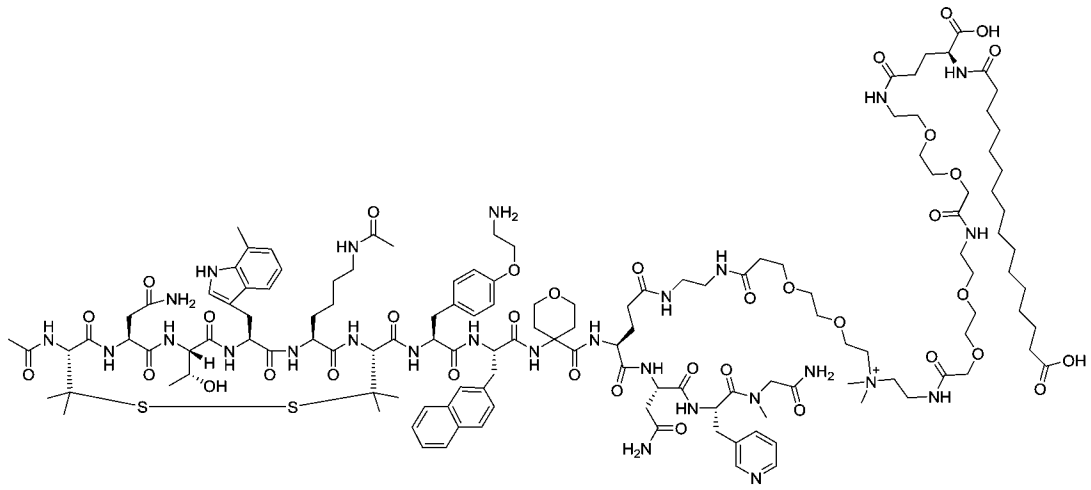
、

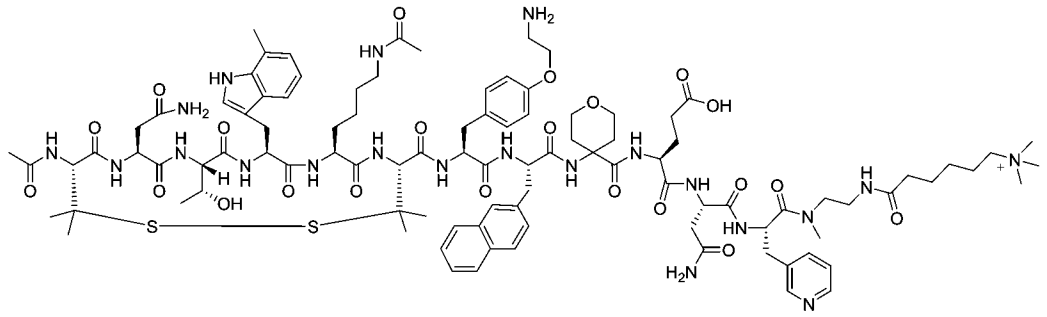


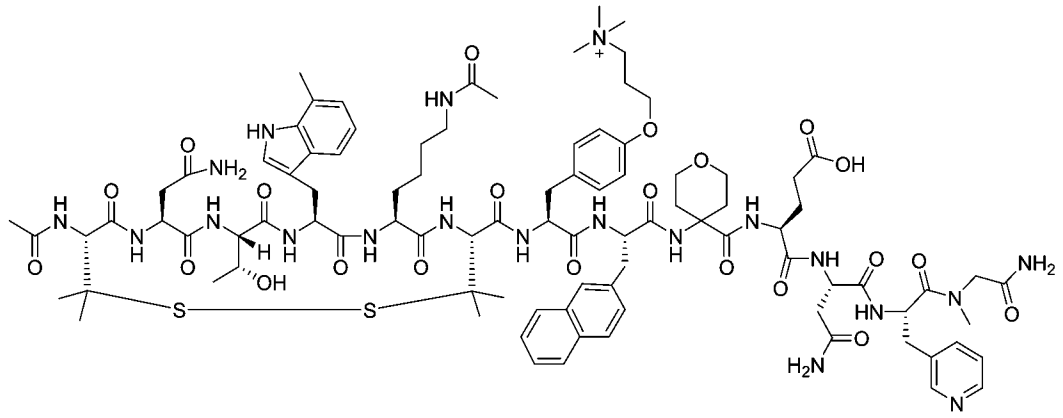
、

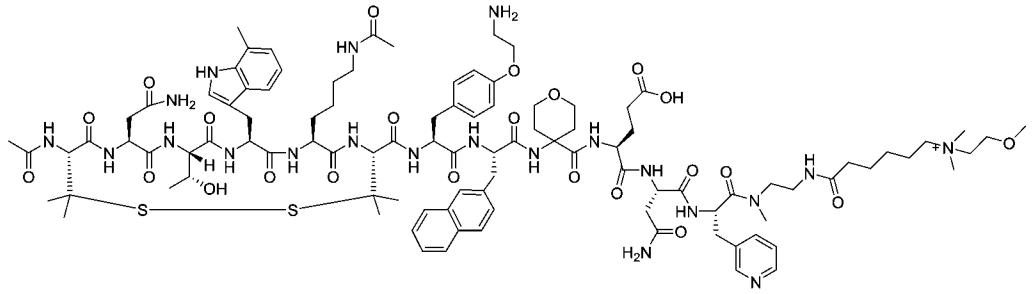


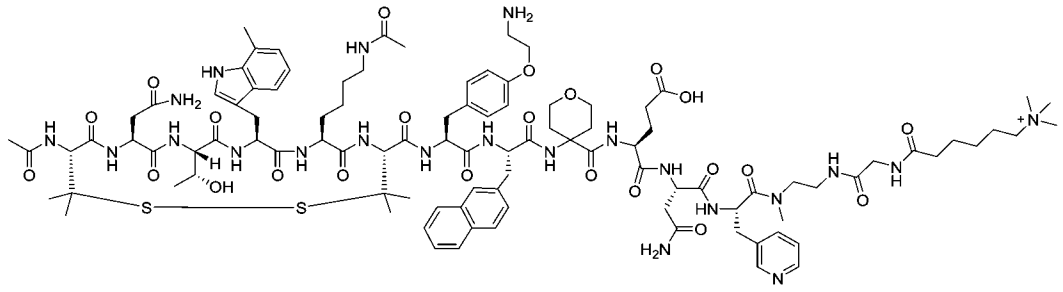


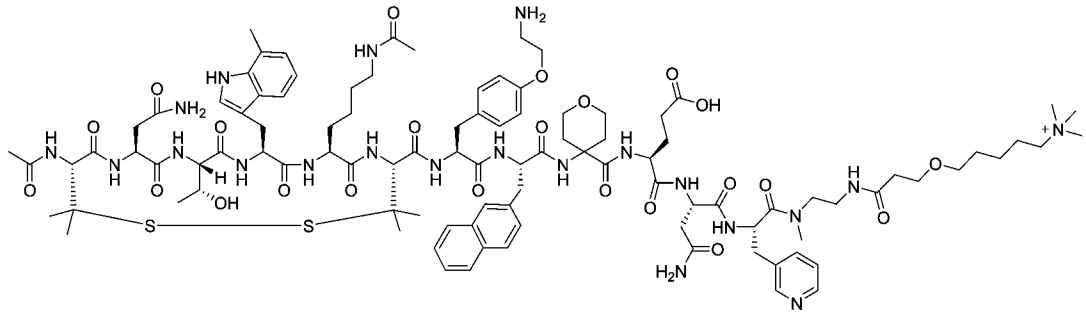


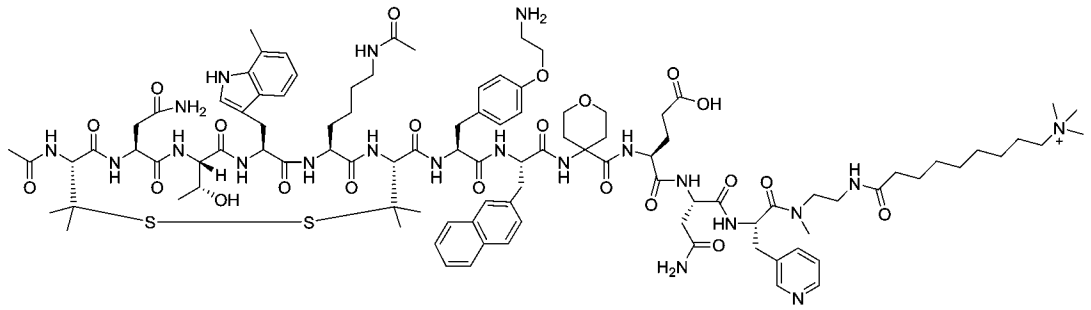




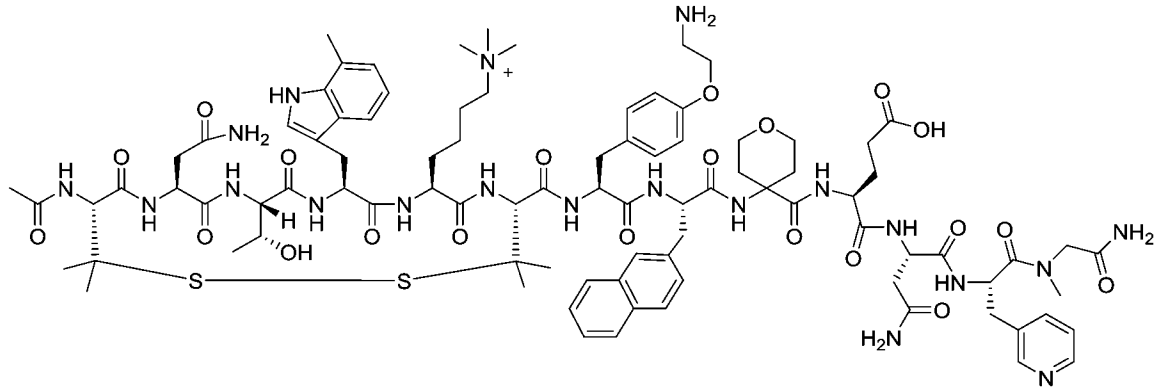




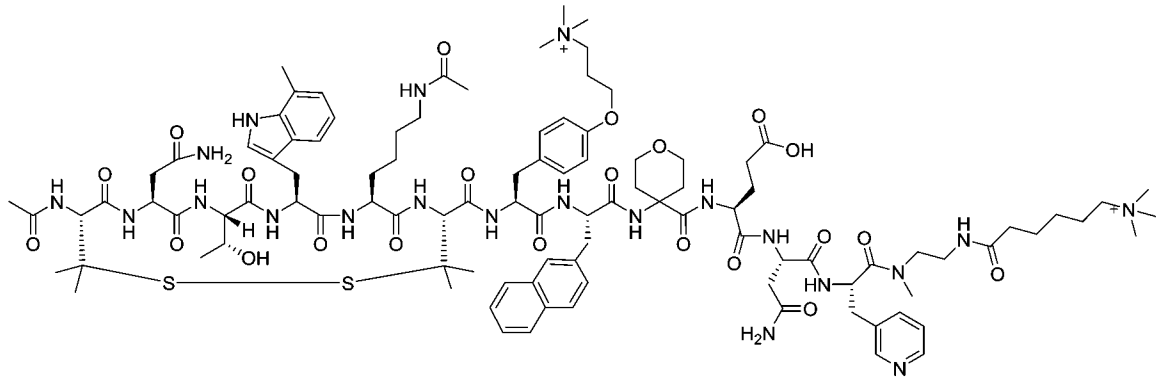




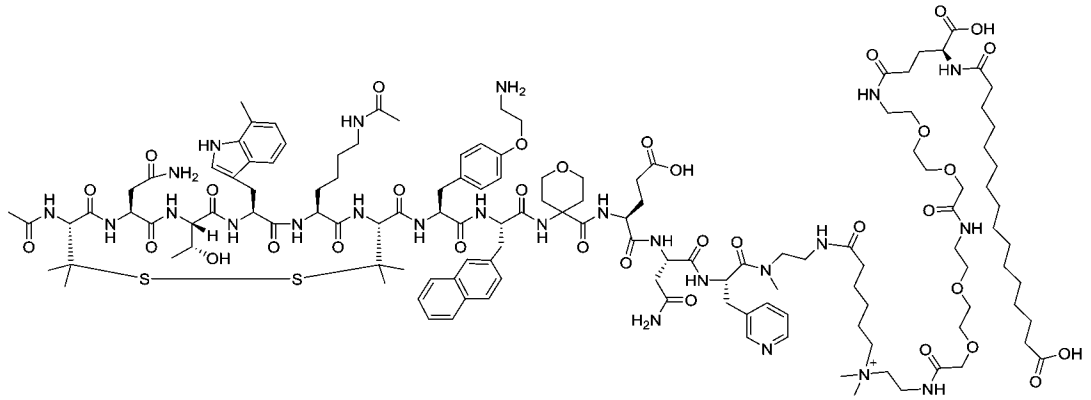
、



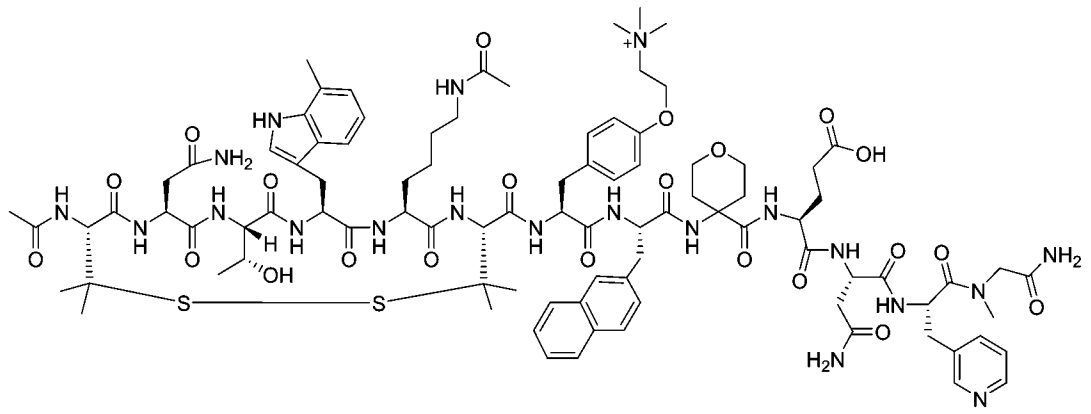
、



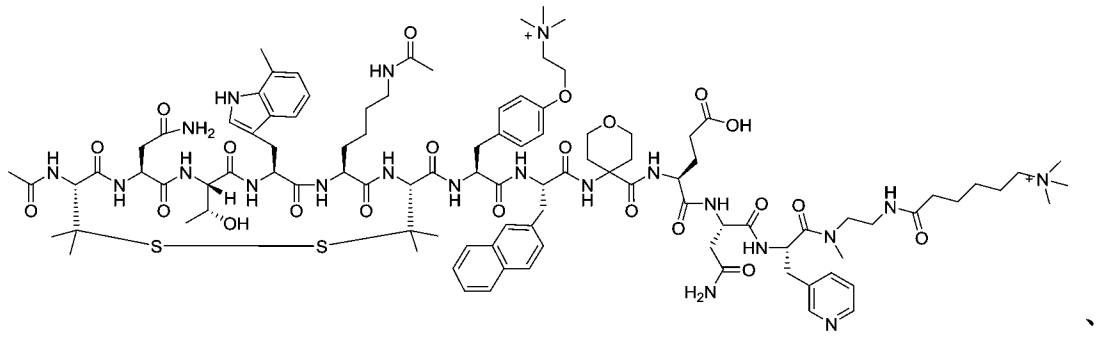
、



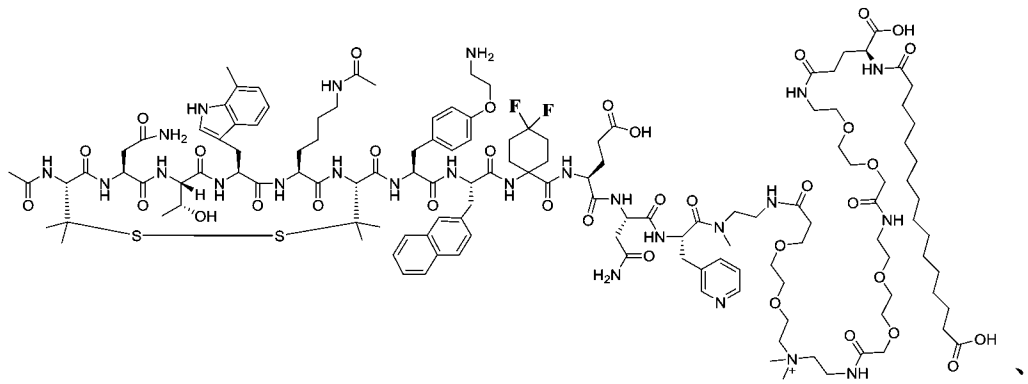
、



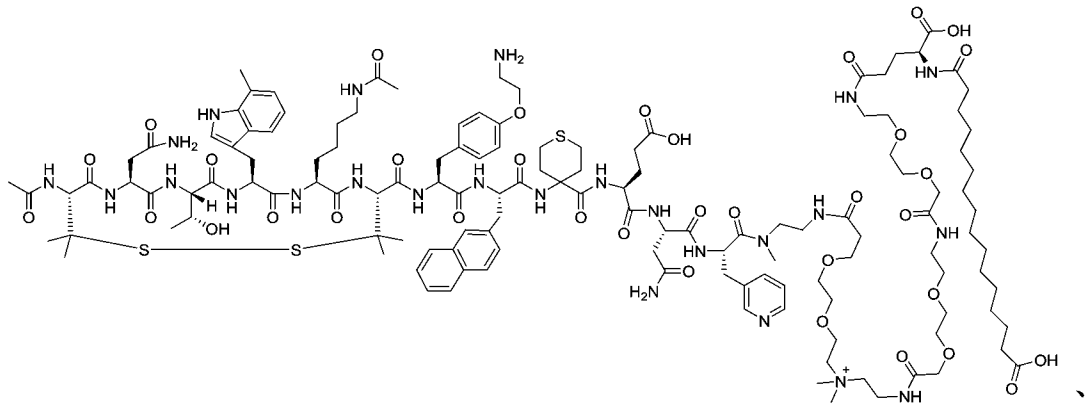
、



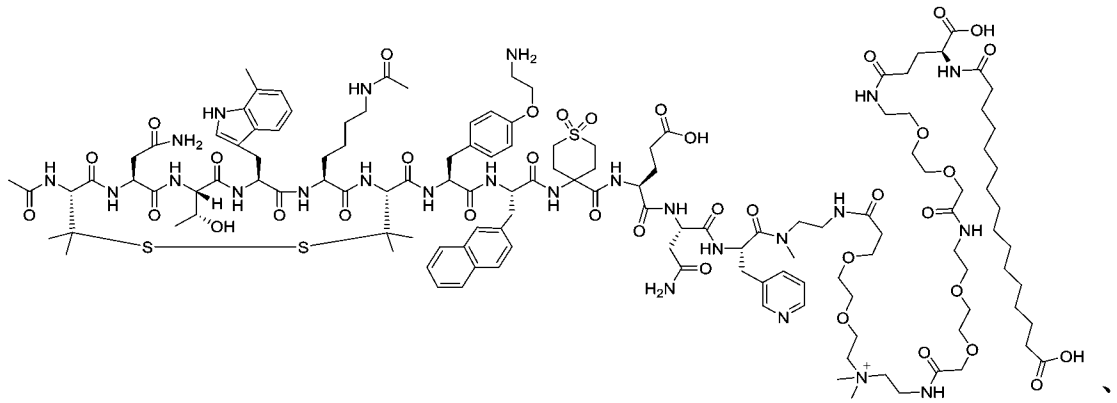
、



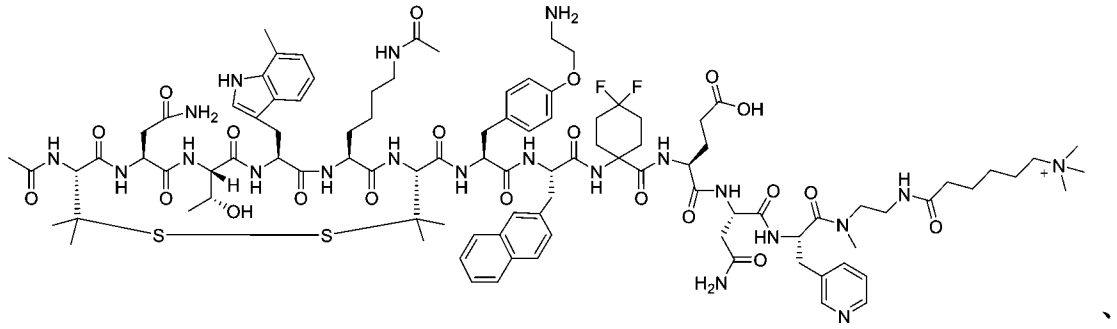
、



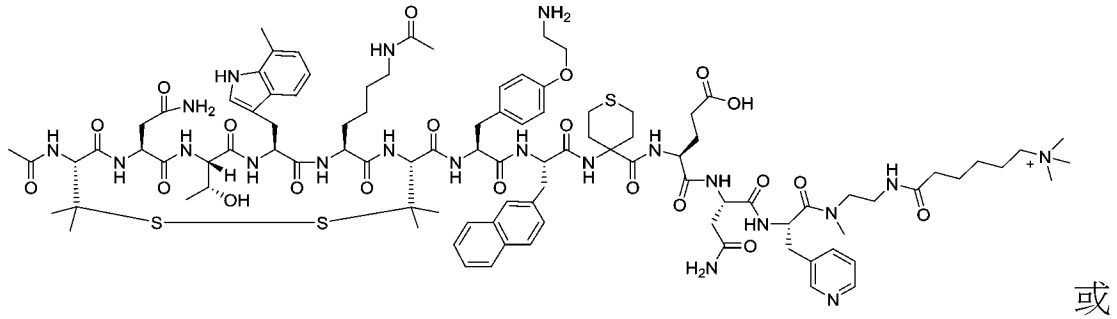
、



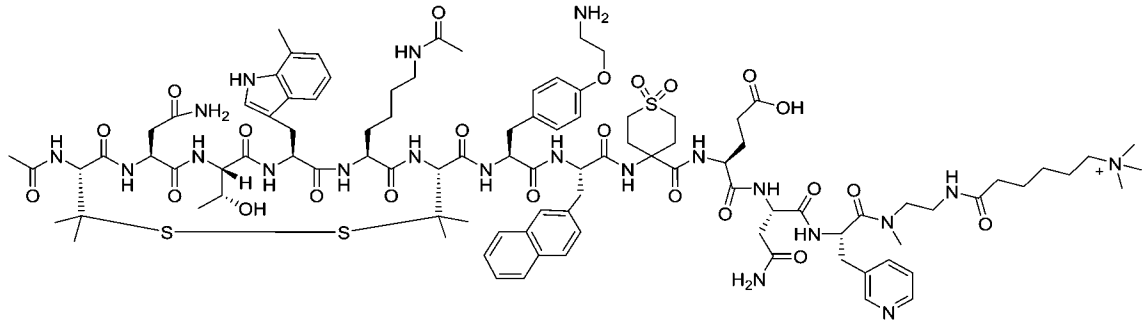
、



、



或



。

【請求項10】一種製備如請求項 1-9 任一項所述化合物、其立體異構體或其藥學上可接受的鹽的方法，其中基於固相或液相合成；

優選地，所述合成方法包括：

1）基於固相合成方法，合成樹脂肽；

2）將步驟 1）得到的樹脂肽進行切割，得到多肽中間體；

3）多肽中間體與側鏈進行縮合反應；

4）將步驟 3）得到的肽段脫除保護基後，成環得到終產物；

進一步優選地，所述合成方法包括：

1）基於 Fmoc 方法的固相合成方法，合成樹脂肽，乙酸酐封端；

2）將步驟 1）得到的樹脂肽進行切割，得到多肽中間體；

3）多肽中間體與側鏈採用偶聯劑進行縮合反應；

4）將步驟 3）得到的肽段脫除保護基後，通過二硫鍵氧化成環得到終產物。

【請求項11】一種藥物組合物，其包括治療有效劑量的如請求項 1-9 任一項所述化合物、其立體異構體或其藥學上可接受的鹽以及一種或多種藥學上可接受的載體、稀釋劑或賦形劑。

【請求項12】一種如請求項 1-9 任一項所述化合物、其立體異構體或其藥學上可接受的鹽，或如請求項 11 所述的藥物組合物在製備 IL-23R 抑制劑藥物中的應用。

【請求項13】一種如請求項 1-9 任一項所述化合物、其立體異構體或其藥學上可接受的鹽，或如請求項 11 所述的藥物組合物在製備治療炎症性、自身免疫疾病和癌症，如炎症性腸病(IBD)、潰瘍性結腸炎、克隆氏病、乳糜瀉(非熱帶性口炎性腹瀉)、與血清陰性關節病相關的腸病、顯微鏡下結腸炎、膠原性結腸炎、嗜酸性球性胃腸炎、與放射性療法或化學療法相關的結腸炎、與如白血球黏附缺乏症-1 的先天性免疫病症相關的結腸炎、慢性肉芽腫病、1b 型肝糖貯積病、赫曼斯基-普拉克症候群、薛迪克-東氏症候群和韋-奧二氏症候群、在直腸結腸切除術和回腸肛管吻合術之後造成的結腸袋炎、胃腸癌、胰臟炎、胰島素依賴型糖尿病、乳房炎、膽囊炎、膽管炎、膽管周圍炎、慢性支氣管炎、慢性鼻竇炎、哮喘、牛皮癬、牛皮癬性關節炎、腸易激綜合症(IBS)、多發性硬化(MS)、

銀屑病、銀屑病關節炎、類風濕性關節炎、尋常性天皰瘡、器官移植排斥、克隆病、系統性紅斑狼瘡(SLE)或糖尿病疾病藥物中的應用；優選炎症性腸病(IBD)、類風濕性關節炎或銀屑病。