



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118574642 A

(43) 申请公布日 2024. 08. 30

(21) 申请号 202280089024.1

(22) 申请日 2022.11.16

(30) 优先权数据

63/280,409 2021.11.17 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.07.16

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2022/079973 2022.11.16

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/091957 EN 2023.05.25

(71) 申请人 赛博克萨4公司

地址 美国康涅狄格州

(72) 发明人 罗伯特·约翰·马奎尔

约翰娜·玛丽·森格里

(74) 专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理
有限责任公司 11204

专利代理师 洪欣 伊硕

(51) Int.Cl.

A61K 47/64 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

权利要求书26页 说明书112页
序列表(电子公布) 附图15页

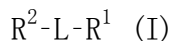
(54) 发明名称

作为治疗剂的肽微管蛋白抑制剂的肽缀合
物

(57) 摘要

本发明涉及肽微管蛋白抑制剂(例如单甲基
奥瑞他汀)的肽缀合物,其可用于治疗疾病如癌
症。

1. 一种式 (I) 化合物:



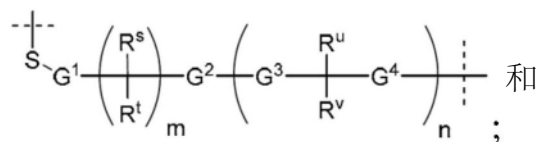
或其药学上可接受的盐, 其中:

R^1 为肽;

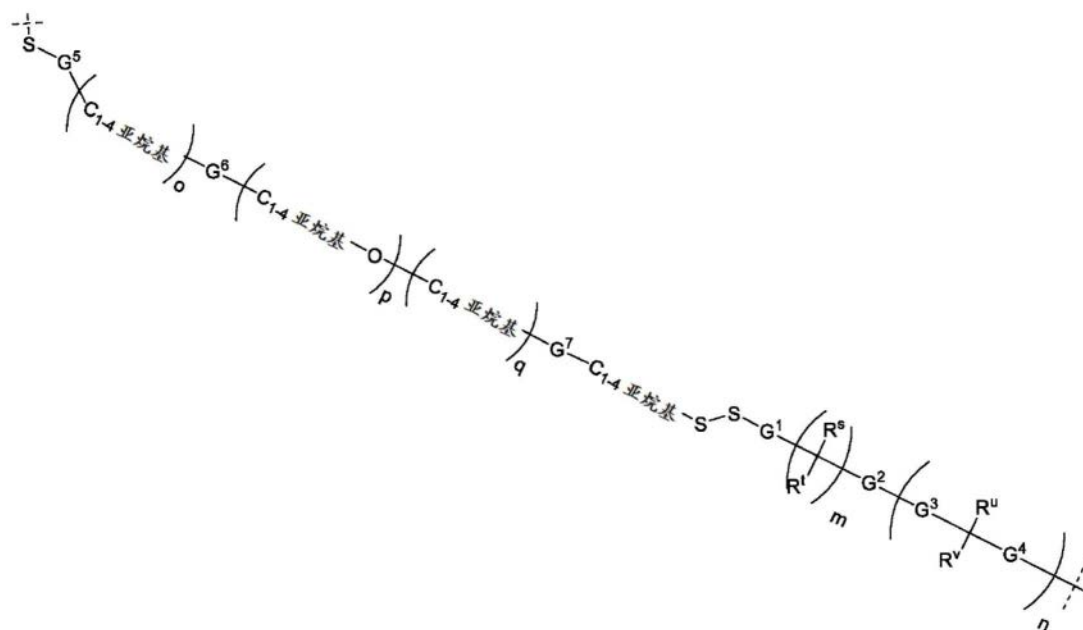
R^2 为奥瑞他汀化合物的基团; 并且

L 为具有选自以下结构的接头:

i)



ii)



其中所述接头的末端S原子与所述肽的半胱氨酸残基键合以形成二硫键; 并且其中:

G^1 选自键、 C_{6-10} 芳基、 C_{3-14} 环烷基、5-14元杂芳基和4-14元杂环烷基, 其中 G^1 的所述 C_{6-10} 芳基、 C_{3-14} 环烷基、5-14元杂芳基和4-14元杂环烷基各自任选地被1、2、3、4或5个独立地选自以下的取代基取代: 卤基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 卤代烷基、CN、 NO_2 、 OR^a 、 SR^a 、 $C(O)R^b$ 、 $C(O)NR^cR^d$ 、 $C(O)OR^a$ 、 $OC(O)R^b$ 、 $OC(O)NR^cR^d$ 、 $C(=NR^e)NR^cR^d$ 、 $NR^cC(=NR^e)NR^cR^d$ 、 $NR^cC(O)R^b$ 、 $NR^cC(O)OR^a$ 、 $NR^cC(O)NR^cR^d$ 、 $NR^cS(O)R^b$ 、 $NR^cS(O)_2R^b$ 、 $NR^cS(O)_2NR^cR^d$ 、 $S(O)R^b$ 、 $S(O)NR^cR^d$ 、 $S(O)_2R^b$ 和 $S(O)_2NR^cR^d$, 其中 G^1 的所述 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基取代基任选地被1、2或3个独立地选自以下的取代基取代: CN、 NO_2 、 OR^a 、 SR^a 、 $C(O)R^b$ 、 $C(O)NR^cR^d$ 、 $C(O)OR^a$ 、 $OC(O)R^b$ 、 $OC(O)NR^cR^d$ 、 $C(=NR^e)NR^cR^d$ 、 $NR^cC(=NR^e)NR^cR^d$ 、 NR^cR^d 、 $NR^cC(O)R^b$ 、 $NR^cC(O)OR^a$ 、 $NR^cC(O)NR^cR^d$ 、 $NR^cS(O)R^b$ 、 $NR^cS(O)_2R^b$ 、 $NR^cS(O)_2NR^cR^d$ 、 $S(O)R^b$ 、 $S(O)NR^cR^d$ 、 $S(O)_2R^b$ 和 $S(O)_2NR^cR^d$;

G^2 选自 $-NR^6C(O)-$ 、 $-NR^6-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-NR^6C(O)-$ 、 $-OC(O)NR^6-$ 和 $-S(O)_2-$;

G^3 选自 C_{6-10} 芳基、 C_{3-14} 环烷基、5-14元杂芳基和4-14元杂环烷基, 其中 G^3 的所述 C_{6-10} 芳基、 C_{3-14} 环烷基、5-14元杂芳基和4-14元杂环烷基各自任选地被1、2、3、4或5个独立地选自

以下的取代基取代: 卤基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 卤代烷基、 CN 、 NO_2 、 OR^{a1} 、 SR^{a1} 、 $C(O)R^{b1}$ 、 $C(O)NR^{c1}R^{d1}$ 、 $C(O)OR^{a1}$ 、 $OC(O)R^{b1}$ 、 $OC(O)NR^{c1}R^{d1}$ 、 $C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}$ 、 $NR^{c1}C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}$ 、 $NR^{c1}R^{d1}$ 、 $NR^{c1}C(O)R^{b1}$ 、 $NR^{c1}C(O)OR^{a1}$ 、 $NR^{c1}C(O)NR^{c1}R^{d1}$ 、 $NR^{c1}S(O)R^{b1}$ 、 $NR^{c1}S(O)_2R^{b1}$ 、 $NR^{c1}S(O)_2NR^{c1}R^{d1}$ 、 $S(O)R^{b1}$ 、 $S(O)NR^{c1}R^{d1}$ 、 $S(O)_2R^{b1}$ 和 $S(O)_2NR^{c1}R^{d1}$, 其中 G^3 的所述 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基取代基任选地被1、2或3个独立地选自以下的取代基取代: CN 、 NO_2 、 OR^{a1} 、 SR^{a1} 、 $C(O)R^{b1}$ 、 $C(O)NR^{c1}R^{d1}$ 、 $C(O)OR^{a1}$ 、 $OC(O)R^{b1}$ 、 $OC(O)NR^{c1}R^{d1}$ 、 $C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}$ 、 $NR^{c1}C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}$ 、 $NR^{c1}R^{d1}$ 、 $NR^{c1}C(O)R^{b1}$ 、 $NR^{c1}C(O)OR^{a1}$ 、 $NR^{c1}C(O)NR^{c1}R^{d1}$ 、 $NR^{c1}S(O)R^{b1}$ 、 $NR^{c1}S(O)_2R^{b1}$ 、 $NR^{c1}S(O)_2NR^{c1}R^{d1}$ 、 $S(O)R^{b1}$ 、 $S(O)NR^{c1}R^{d1}$ 、 $S(O)_2R^{b1}$ 和 $S(O)_2NR^{c1}R^{d1}$;

G^4 选自 $-C(O)-$ 、 $-NR^G C(O)-$ 、 $-NR^G-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-NR^G C(O)-$ 和 $-S(O_2)-$;

G^5 选自键、 C_{6-10} 芳基、 C_{3-14} 环烷基、5-14元杂芳基和4-14元杂环烷基, 其中 G^5 的所述 C_{6-10} 芳基、 C_{3-14} 环烷基、5-14元杂芳基和4-14元杂环烷基各自任选地被1、2、3、4或5个独立地选自以下的取代基取代: 卤基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 卤代烷基、 CN 、 NO_2 、 OR^a 、 SR^a 、 $C(O)R^b$ 、 $C(O)NR^c R^d$ 、 $C(O)OR^a$ 、 $OC(O)R^b$ 、 $OC(O)NR^c R^d$ 、 $C(=NR^e)NR^c R^d$ 、 $NR^c C(=NR^e)NR^c R^d$ 、 $NR^c R^d$ 、 $NR^c C(O)R^b$ 、 $NR^c C(O)OR^a$ 、 $NR^c C(O)NR^c R^d$ 、 $NR^c S(O)R^b$ 、 $NR^c S(O)_2R^b$ 、 $NR^c S(O)_2NR^c R^d$ 、 $S(O)R^b$ 、 $S(O)NR^c R^d$ 、 $S(O)_2R^b$ 和 $S(O)_2NR^c R^d$, 其中 G^5 的所述 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基取代基任选地被1、2或3个独立地选自以下的取代基取代: CN 、 NO_2 、 OR^a 、 SR^a 、 $C(O)R^b$ 、 $C(O)NR^c R^d$ 、 $C(O)OR^a$ 、 $OC(O)R^b$ 、 $OC(O)NR^c R^d$ 、 $C(=NR^e)NR^c R^d$ 、 $NR^c C(=NR^e)NR^c R^d$ 、 $NR^c R^d$ 、 $NR^c C(O)R^b$ 、 $NR^c C(O)OR^a$ 、 $NR^c C(O)NR^c R^d$ 、 $NR^c S(O)R^b$ 、 $NR^c S(O)_2R^b$ 、 $NR^c S(O)_2NR^c R^d$ 、 $S(O)R^b$ 、 $S(O)NR^c R^d$ 、 $S(O)_2R^b$ 和 $S(O)_2NR^c R^d$;

G^6 选自 $-NR^G C(O)-$ 、 $-NR^G-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-NR^G C(O)-$ 、 $-OC(O)NR^G-$ 和 $-S(O_2)-$;

G^7 选自 $-NR^G C(O)-$ 、 $-NR^G-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-NR^G C(O)-$ 、 $-OC(O)NR^G-$ 和 $-S(O_2)-$;

每个 R^s 和 R^t 独立地选自H、卤基、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基;

或每个 R^s 和 R^t 与其所连接的C原子一起形成 C_{3-6} 环烷基环;

R^u 和 R^v 独立地选自H、卤基、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基;

每个 R^G 独立地选自H和 C_{1-4} 烷基;

每个 R^a 、 R^b 、 R^c 、 R^d 、 R^{a1} 、 R^{b1} 、 R^{c1} 和 R^{d1} 独立地选自H、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基, 其中 R^a 、 R^b 、 R^c 、 R^d 、 R^{a1} 、 R^{b1} 、 R^{c1} 和 R^{d1} 的所述 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基任选地被1、2、3、4或5个独立地选自以下的取代基取代: 卤基、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 卤代烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 CN 、 OR^{a2} 、 SR^{a2} 、 $C(O)R^{b2}$ 、 $C(O)NR^{c2}R^{d2}$ 、 $C(O)OR^{a2}$ 、 $OC(O)R^{b2}$ 、 $OC(O)NR^{c2}R^{d2}$ 、 $NR^{c2}C(O)R^{b2}$ 、 $NR^{c2}C(O)NR^{c2}R^{d2}$ 、 $NR^{c2}C(O)OR^{a2}$ 、 $C(=NR^{e2})NR^{c2}R^{d2}$ 、 $NR^{c2}C(=NR^{e2})NR^{c2}R^{d2}$ 、 $S(O)R^{b2}$ 、 $S(O)NR^{c2}R^{d2}$ 、 $S(O)_2R^{b2}$ 、 $NR^{c2}S(O)_2R^{b2}$ 、 $NR^{c2}S(O)_2NR^{c2}R^{d2}$ 和 $S(O)_2NR^{c2}R^{d2}$;

每个 R^{a2} 、 R^{b2} 、 R^{c2} 和 R^{d2} 独立地选自H、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基, 其中 R^{a2} 、 R^{b2} 、 R^{c2} 和 R^{d2} 的所述 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基各自任选地被1、2或3个独立地选自OH、CN、氨基、卤基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 卤代烷基和 C_{1-6} 卤代烷氧基的取代基取代;

每个 R^e 、 R^{e1} 和 R^{e2} 独立地选自H和 C_{1-4} 烷基;

m为0、1、2、3或4;

n为0或1;

o为0或1;

p为1、2、3、4、5或6;并且

q为0或1。

2.一种式(I)化合物:

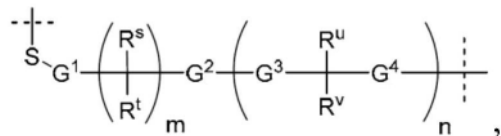
R^2-L-R^1 (I)

或其药学上可接受的盐,其中:

R^1 为肽;

R^2 为奥瑞他汀化合物的基团;并且

L为具有以下结构的接头:



其中所述接头的S原子与肽的半胱氨酸残基键合以形成二硫键;并且其中:

G^1 选自键、 C_{6-10} 芳基、 C_{3-14} 环烷基、5-14元杂芳基和4-14元杂环烷基,其中 G^1 的所述 C_{6-10} 芳基、 C_{3-14} 环烷基、5-14元杂芳基和4-14元杂环烷基各自任选地被1、2、3、4或5个独立地选自以下的取代基取代:卤基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 卤代烷基、CN、 NO_2 、 OR^a 、 SR^a 、 $C(O)R^b$ 、 $C(O)NR^cR^d$ 、 $C(O)OR^a$ 、 $OC(O)R^b$ 、 $OC(O)NR^cR^d$ 、 $C(=NR^e)NR^cR^d$ 、 $NR^cC(=NR^e)NR^cR^d$ 、 $NR^cC(O)R^b$ 、 $NR^cC(O)OR^a$ 、 $NR^cC(O)NR^cR^d$ 、 $NR^cS(O)R^b$ 、 $NR^cS(O)_2R^b$ 、 $NR^cS(O)_2NR^cR^d$ 、 $S(O)R^b$ 、 $S(O)NR^cR^d$ 、 $S(O)_2R^b$ 和 $S(O)_2NR^cR^d$;其中 G^1 的所述 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基取代基任选地被1、2或3个独立地选自以下的取代基取代:CN、 NO_2 、 OR^a 、 SR^a 、 $C(O)R^b$ 、 $C(O)NR^cR^d$ 、 $C(O)OR^a$ 、 $OC(O)R^b$ 、 $OC(O)NR^cR^d$ 、 $C(=NR^e)NR^cR^d$ 、 $NR^cC(=NR^e)NR^cR^d$ 、 NR^cR^d 、 $NR^cC(O)R^b$ 、 $NR^cC(O)OR^a$ 、 $NR^cC(O)NR^cR^d$ 、 $NR^cS(O)R^b$ 、 $NR^cS(O)_2R^b$ 、 $NR^cS(O)_2NR^cR^d$ 、 $S(O)R^b$ 、 $S(O)NR^cR^d$ 、 $S(O)_2R^b$ 和 $S(O)_2NR^cR^d$;

每个 R^s 和 R^t 独立地选自H、卤基、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基;

G^2 选自 $-NR^G C(O)-$ 、 $-NR^G-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-NR^G C(O)-$ 、 $-OC(O)NR^G-$ 和 $-S(O_2)-$;

G^3 选自 C_{6-10} 芳基、 C_{3-14} 环烷基、5-14元杂芳基和4-14元杂环烷基,其中 G^3 的所述 C_{6-10} 芳基、 C_{3-14} 环烷基、5-14元杂芳基和4-14元杂环烷基各自任选地被1、2、3、4或5个独立地选自以下的取代基取代:卤基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 卤代烷基、CN、 NO_2 、 OR^{a1} 、 SR^{a1} 、 $C(O)R^{b1}$ 、 $C(O)NR^{c1}R^{d1}$ 、 $C(O)OR^{a1}$ 、 $OC(O)R^{b1}$ 、 $OC(O)NR^{c1}R^{d1}$ 、 $C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}$ 、 $NR^{c1}C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}$ 、 $NR^{c1}R^{d1}$ 、 $NR^{c1}C(O)R^{b1}$ 、 $NR^{c1}C(O)OR^{a1}$ 、 $NR^{c1}C(O)NR^{c1}R^{d1}$ 、 $NR^{c1}S(O)R^{b1}$ 、 $NR^{c1}S(O)_2R^{b1}$ 、 $NR^{c1}S(O)_2NR^{c1}R^{d1}$ 、 $S(O)R^{b1}$ 、 $S(O)NR^{c1}R^{d1}$ 、 $S(O)_2R^{b1}$ 和 $S(O)_2NR^{c1}R^{d1}$,其中 G^3 的所述 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基取代基任选地被1、2或3个独立地选自以下的取代基取代:CN、 NO_2 、 OR^{a1} 、 SR^{a1} 、 $C(O)R^{b1}$ 、 $C(O)NR^{c1}R^{d1}$ 、 $C(O)OR^{a1}$ 、 $OC(O)R^{b1}$ 、 $OC(O)NR^{c1}R^{d1}$ 、 $C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}$ 、 $NR^{c1}C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}$ 、 $NR^{c1}R^{d1}$ 、 $NR^{c1}C(O)R^{b1}$ 、 $NR^{c1}C(O)OR^{a1}$ 、 $NR^{c1}C(O)NR^{c1}R^{d1}$ 、 $NR^{c1}S(O)R^{b1}$ 、 $NR^{c1}S(O)_2R^{b1}$ 、 $NR^{c1}S(O)_2NR^{c1}R^{d1}$ 、 $S(O)R^{b1}$ 、 $S(O)NR^{c1}R^{d1}$ 、 $S(O)_2R^{b1}$ 和 $S(O)_2NR^{c1}R^{d1}$;

R^u 和 R^v 独立地选自H、卤基、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基;

G^4 选自 $-C(O)-$ 、 $-NR^G C(O)-$ 、 $-NR^G-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-NR^G C(O)-$ 和 $-S(O_2)-$;

每个 R^G 独立地选自H和 C_{1-4} 烷基;

每个 R^a 、 R^b 、 R^c 、 R^d 、 R^{a1} 、 R^{b1} 、 R^{c1} 和 R^{d1} 独立地选自H、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6}

炔基,其中 R^a 、 R^b 、 R^c 、 R^d 、 R^{a1} 、 R^{b1} 、 R^{c1} 和 R^{d1} 的所述 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基任选地被1、2、3、4或5个独立地选自以下的取代基取代:卤基、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 卤代烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、CN、 OR^{a2} 、 SR^{a2} 、 $C(O)R^{b2}$ 、 $C(O)NR^{c2}R^{d2}$ 、 $C(O)OR^{a2}$ 、 $OC(O)R^{b2}$ 、 $OC(O)NR^{c2}R^{d2}$ 、 $NR^{c2}R^{d2}$ 、 $NR^{c2}C(O)R^{b2}$ 、 $NR^{c2}C(O)NR^{c2}R^{d2}$ 、 $NR^{c2}C(O)OR^{a2}$ 、 $C(=NR^{e2})NR^{c2}R^{d2}$ 、 $NR^{c2}C(=NR^{e2})NR^{c2}R^{d2}$ 、 $S(O)R^{b2}$ 、 $S(O)NR^{c2}R^{d2}$ 、 $S(O)_2R^{b2}$ 、 $NR^{c2}S(O)_2R^{b2}$ 、 $NR^{c2}S(O)_2NR^{c2}R^{d2}$ 和 $S(O)_2NR^{c2}R^{d2}$;

每个 R^{a2} 、 R^{b2} 、 R^{c2} 和 R^{d2} 独立地选自H、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基,其中 R^{a2} 、 R^{b2} 、 R^{c2} 和 R^{d2} 的所述 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基各自任选地被1、2或3个独立地选自OH、CN、氨基、卤基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 卤代烷基和 C_{1-6} 卤代烷氧基的取代基取代;

每个 R^e 、 R^{e1} 和 R^{e2} 独立地选自H和 C_{1-4} 烷基;

m为0、1、2、3或4;并且

n为0或1。

3.如权利要求1或2所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^1 为具有5至50个氨基酸的肽。

4.如权利要求1或2所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^1 为能够选择性地将 R^2L -递送穿过具有酸性或缺氧外套膜的细胞膜的肽。

5.如权利要求1或2所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^1 为能够选择性地将 R^2L -递送穿过具有pH小于约6.0的酸性或缺氧外套膜的细胞膜的肽。

6.如权利要求1或2所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^1 为包含以下序列中的至少一者的肽:

ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG (SEQ ID NO.1;Pv1),

AEQNPIYWARYADWLFTTPLLDDLALLVDADECG (SEQ ID NO.2;Pv2),和

ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG (SEQ ID NO.3;Pv3)。

7.如权利要求1或2所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^1 为包含至少以下序列的肽:

ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG (SEQ ID NO.1;Pv1)。

8.如权利要求1或2所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^1 为包含至少以下序列的肽:

AEQNPIYWARYADWLFTTPLLDDLALLVDADECG (SEQ ID NO.2;Pv2)。

9.如权利要求1或2所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^1 为包含至少以下序列的肽:

ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG (SEQ ID NO.3;Pv3)。

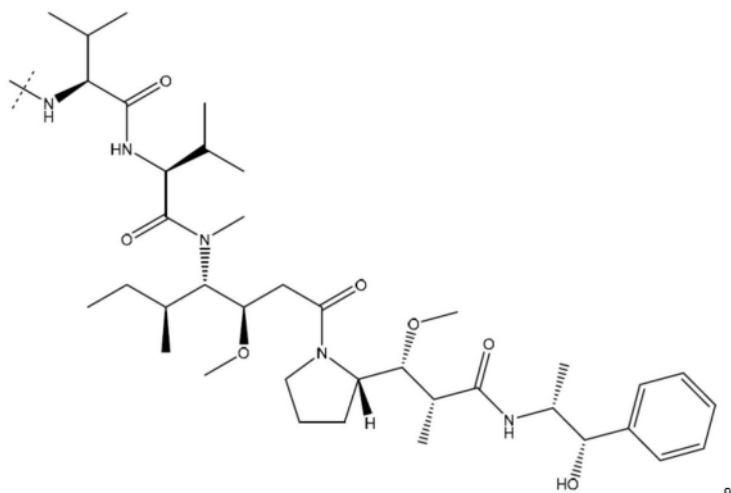
10.如权利要求1-9中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^2 为单甲基奥瑞他汀化合物的基团。

11.如权利要求1-9中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^2 为单甲基奥瑞他汀E的基团。

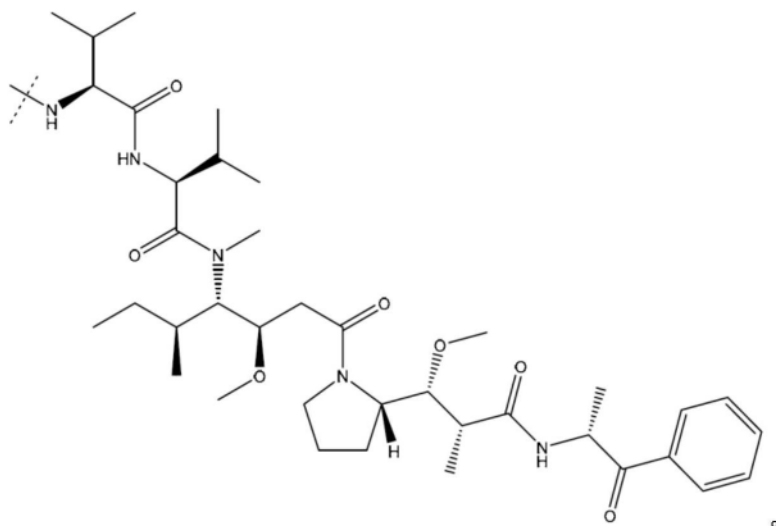
12.如权利要求1-9中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^2 为单甲基奥瑞他汀F的基团。

13.如权利要求1-9中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^2 具有以下结

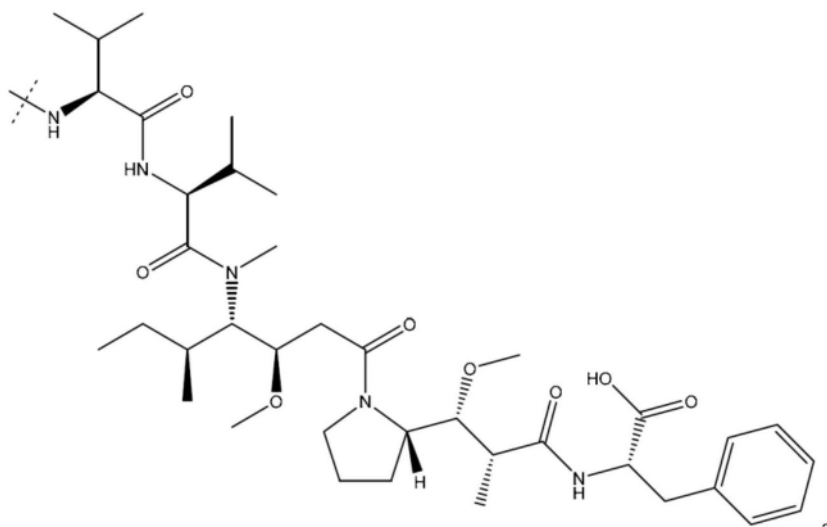
构:



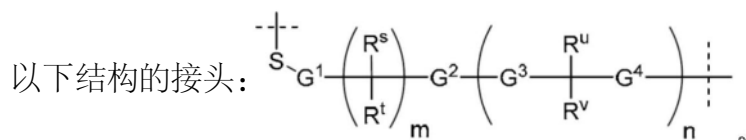
14. 如权利要求1-9中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^2 具有以下结构:



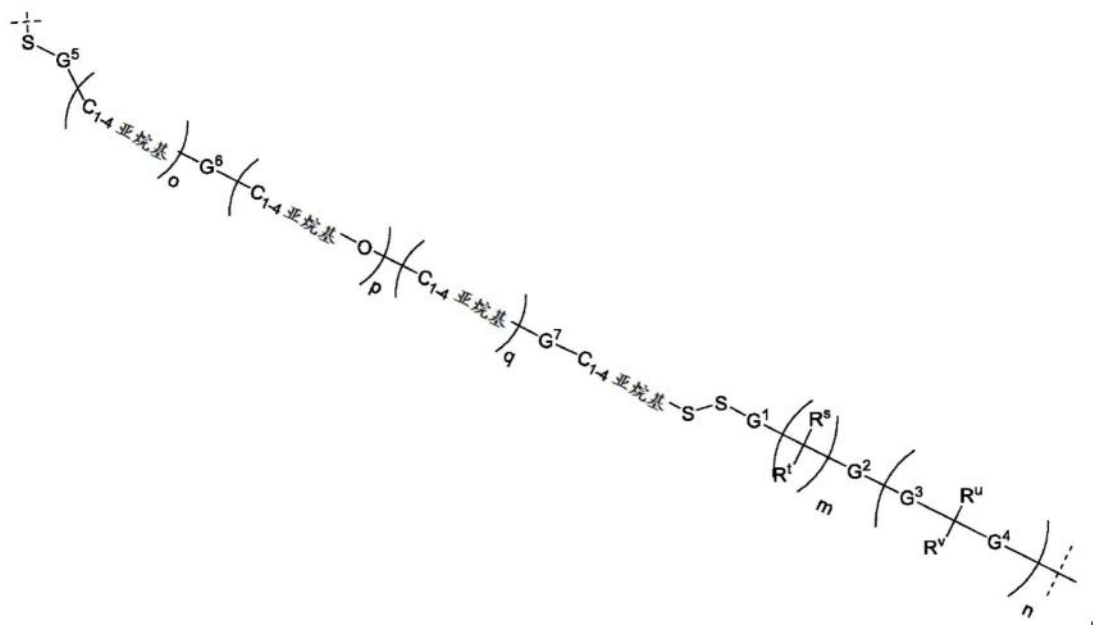
15. 如权利要求1-9中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^2 具有以下结构:



16. 如权利要求1或3-15中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中L为具有



17. 如权利要求1或3-15中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中L为具有以下结构的接头:



18. 如权利要求1-17中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 G^1 选自键、 C_{6-10} 芳基、 C_{3-14} 环烷基、5-14元杂芳基和4-14元杂环烷基。

19. 如权利要求1-17中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 G^1 选自键、苯基和 C_{4-6} 环烷基。

20. 如权利要求1-17中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 G^1 选自键和 C_{3-14} 环烷基。

21. 如权利要求1-17中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 G^1 为键。

22. 如权利要求1-17中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 G^1 为 C_{3-14} 环烷基。

23. 如权利要求1-17中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 G^1 为环戊基或环己基,其中所述环戊基和环己基各自任选地与苯基稠合。

24. 如权利要求1-17中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 G^1 为苯基。

25. 如权利要求1-24中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中每个 R^s 和 R^t 独立地选自H和 C_{1-6} 烷基。

26. 如权利要求1-24中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中每个 R^s 和 R^t 独立地选自H和异丙基。

27. 如权利要求1-24中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中每个 R^s 和 R^t 独立地选自H、甲基和异丙基。

28. 如权利要求1和3-24中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^s 和 R^t 与

其所连接的C原子一起形成环丁基环。

29. 如权利要求1-28中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中m为0、1或2。

30. 如权利要求1-28中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中m为0。

31. 如权利要求1-28中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中m为2。

32. 如权利要求1-31中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 G^2 选自-OC(O)-和-OC(O)NR^G-。

33. 如权利要求1-31中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 G^2 为-OC(O)-。

34. 如权利要求1-33中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 G^3 选自C₆₋₁₀芳基和5-14元杂芳基。

35. 如权利要求1-33中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 G^3 为C₆₋₁₀芳基。

36. 如权利要求1-33中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 G^3 为苯基。

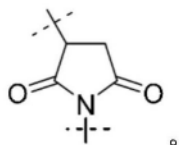
37. 如权利要求1-36中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中R^u和R^v各自为H。

38. 如权利要求1-37中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 G^4 为-OC(O)-。

39. 如权利要求1-38中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中n为0。

40. 如权利要求1-38中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中n为1。

41. 如权利要求1和3-40中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 G^5 为以下基团:



42. 如权利要求1和3-41中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 G^6 为-NR^GC(O)-。

43. 如权利要求1和3-42中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 G^7 为-NR^GC(O)-。

44. 如权利要求1和3-43中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中o为1。

45. 如权利要求1和3-44中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中p为3。

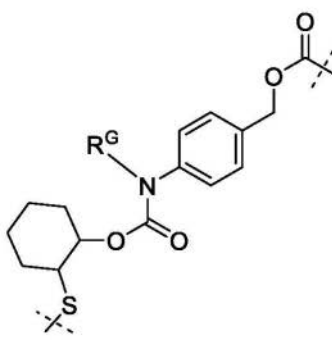
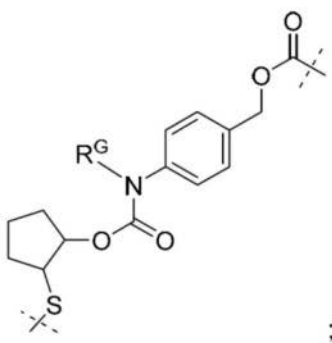
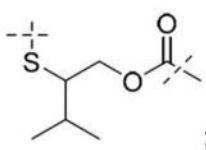
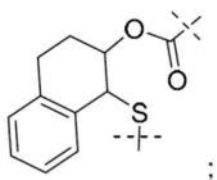
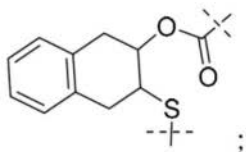
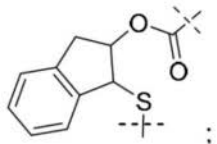
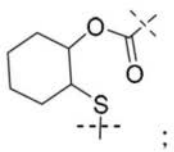
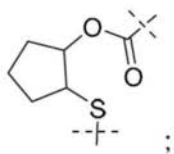
46. 如权利要求1和3-44中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中p为5。

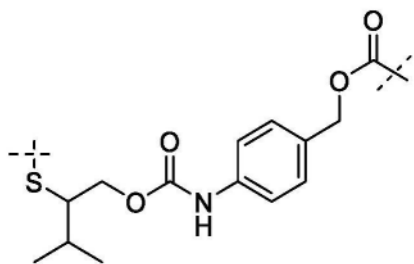
47. 如权利要求1和3-46中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中q为1。

48. 如权利要求1-47中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中每个R^G独立地选自H和甲基。

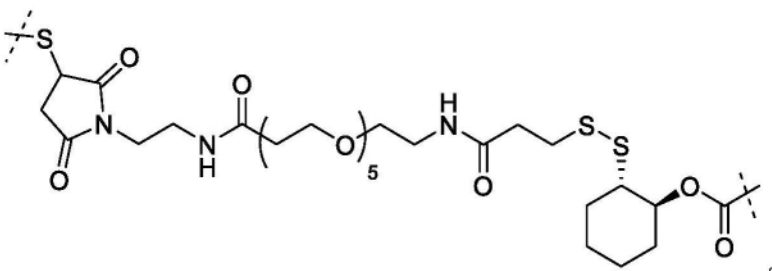
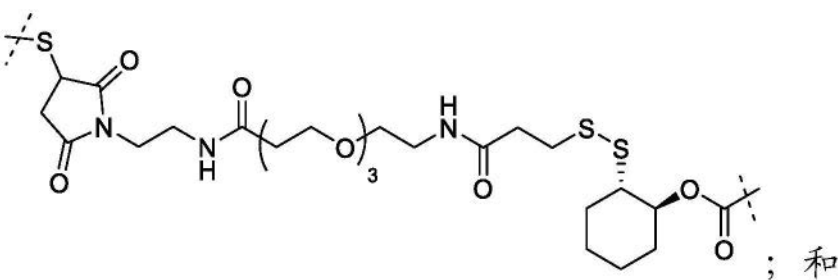
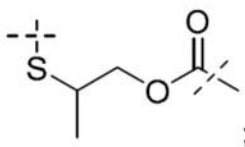
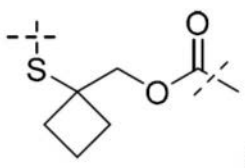
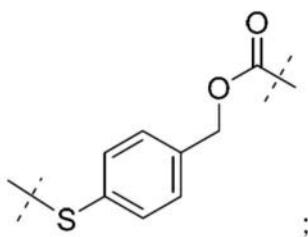
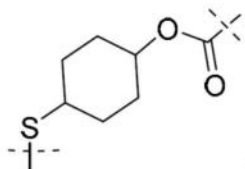
49. 如权利要求1-47中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中每个R^G为H。

50. 如权利要求1-15中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中L具有以下结构之一:

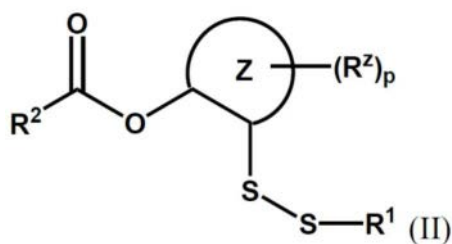




51. 如权利要求1和3-15中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中L具有以下结构之一:



52. 如权利要求1或2所述的化合物,所述化合物具有式(II):



或其药学上可接受的盐,其中:

R^1 为肽;

R^2 为奥瑞他汀化合物的基团;

环Z为单环 C_{5-7} 环烷基环或单环5-7元杂环烷基环;

每个 R^2 独立地选自卤基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 卤代烷基、CN、 NO_2 、 OR^a 、 SR^a 、 $C(O)R^b$ 、 $C(O)NR^cR^d$ 、 $C(O)OR^a$ 、 $OC(O)R^b$ 、 $OC(O)NR^cR^d$ 、 NR^cR^d 、 $NR^cC(O)R^b$ 、 $NR^cC(O)OR^a$ 和 $NR^cC(O)NR^d$;

或两个相邻 R^2 与其所连接的原子一起形成稠合单环 C_{5-7} 环烷基环、稠合单环5-7元杂环烷基环、稠合 C_{6-10} 芳环或稠合6-10元杂芳环,其各自任选地被1、2或3个独立地选自以下的取代基取代: C_{1-6} 烷基、卤基、CN、 NO_2 、 OR^a 、 SR^a 、 $C(O)R^b$ 、 $C(O)NR^cR^d$ 、 $C(O)OR^a$ 、 $OC(O)R^b$ 、 $OC(O)NR^cR^d$ 、 NR^cR^d 、 $NR^cC(O)R^b$ 、 $NR^cC(O)OR^a$ 和 $NR^cC(O)NR^d$;

R^a 、 R^b 、 R^c 和 R^d 各自独立地选自H、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基、 C_{2-4} 炔基,各自任选地被1、2或3个独立地选自以下的取代基取代:卤基、OH、CN和 NO_2 ;并且

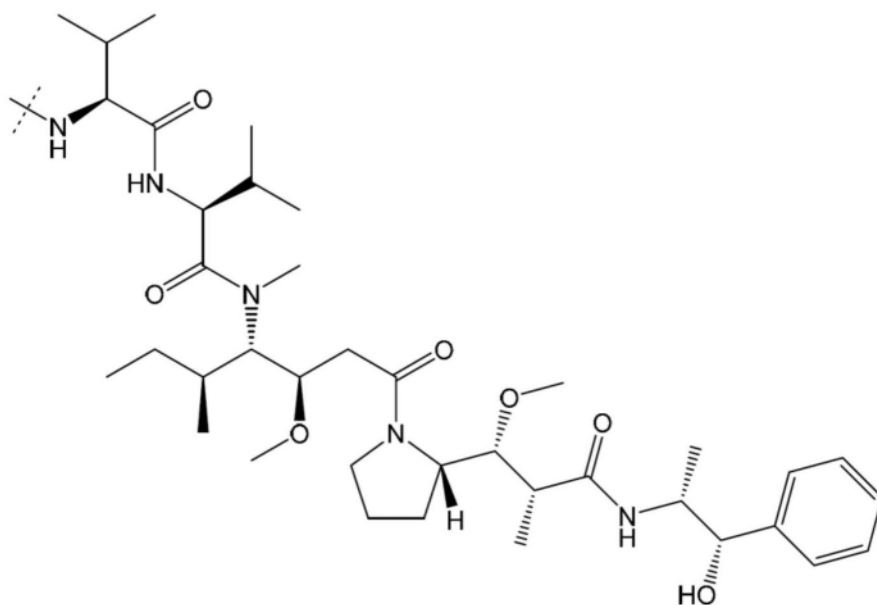
p为0、1、2或3。

53. 如权利要求52所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^1 为包含SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3的序列的肽。

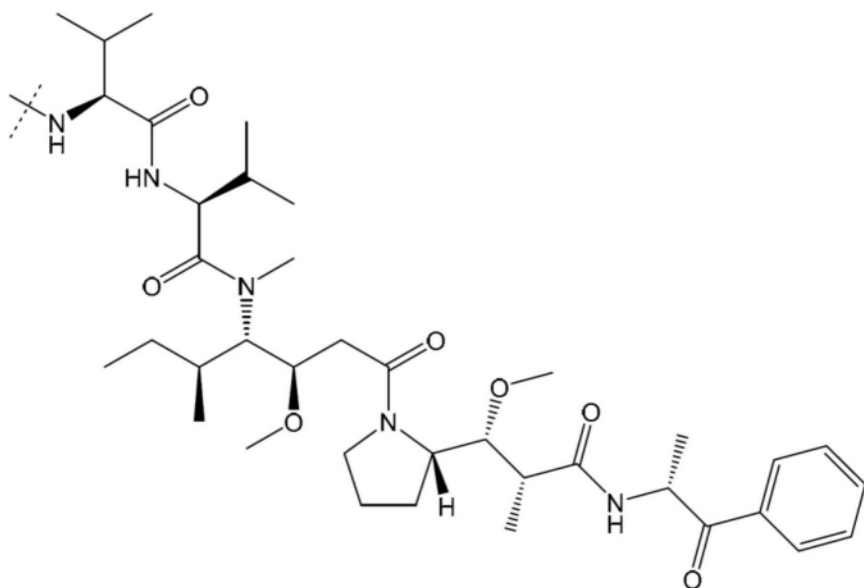
54. 如权利要求52所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^1 为Pv1、Pv2或Pv3。

55. 如权利要求52-54中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^1 经由 R^1 的半胱氨酸残基连接至核心,其中式II中的二硫化物部分的硫原子中的一者来源于所述半胱氨酸残基。

56. 如权利要求52-55中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^2 具有以下结构:



57. 如权利要求52-56中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^2 具有以下结构:



58. 如权利要求52-57中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R^2 经由N原子连接至所述核心。

59. 如权利要求52-58中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中环Z为单环 C_{5-7} 环烷基环。

60. 如权利要求52-58中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中环Z为环戊基环。

61. 如权利要求52-58中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中环Z为环己基环。

62. 如权利要求52-61中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中两个相邻 R^2 与其所连接的原子一起形成稠合单环 C_{5-7} 环烷基环、稠合单环5-7元杂环烷基环、稠合 C_{6-10} 芳环或稠合6-10元杂芳环,其各自任选地被1、2或3个独立地选自以下的取代基取代: C_{1-4} 烷

基、卤基、 CN 、 NO_2 、 OR^a 、 SR^a 、 $\text{C}(\text{O})\text{R}^b$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{NR}^c\text{R}^d$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$ 、 $\text{OC}(\text{O})\text{R}^b$ 、 $\text{OC}(\text{O})\text{NR}^c\text{R}^d$ 、 NR^cR^d 、 $\text{NR}^c\text{C}(\text{O})\text{R}^b$ 、 $\text{NR}^c\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$ 和 $\text{NR}^c\text{C}(\text{O})\text{NR}^c\text{R}^d$ 。

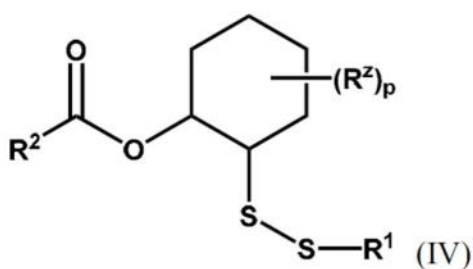
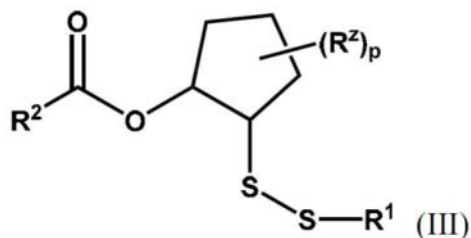
63. 如权利要求52-62中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中p为0。

64. 如权利要求52-62中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中p为1。

65. 如权利要求52-62中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中p为2。

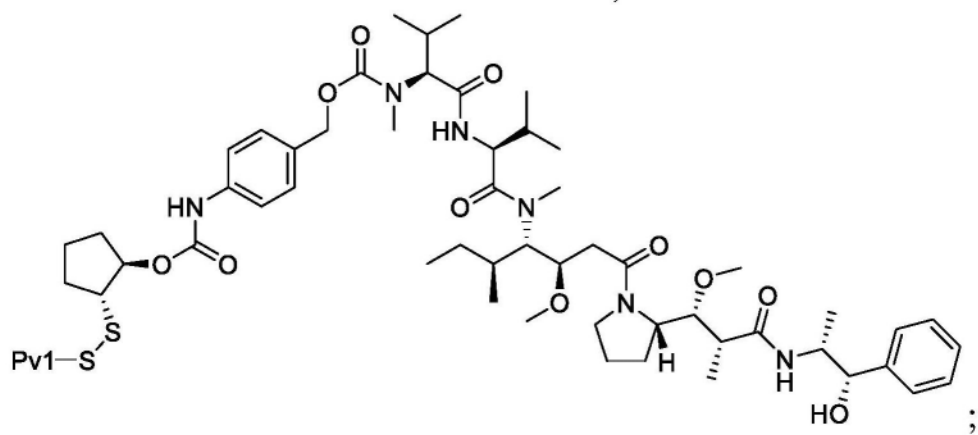
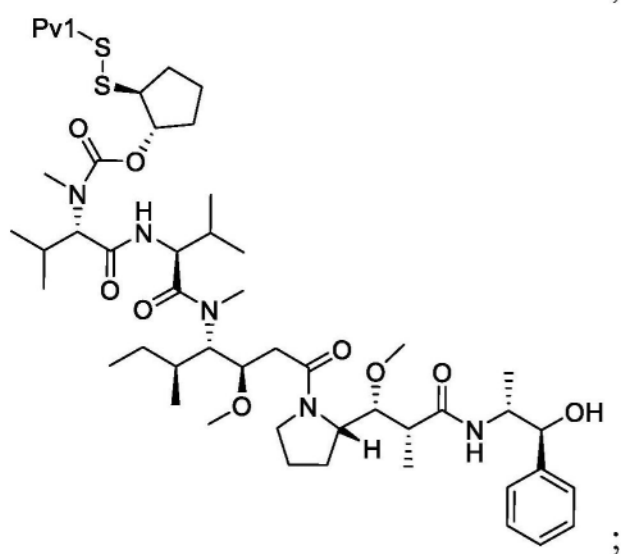
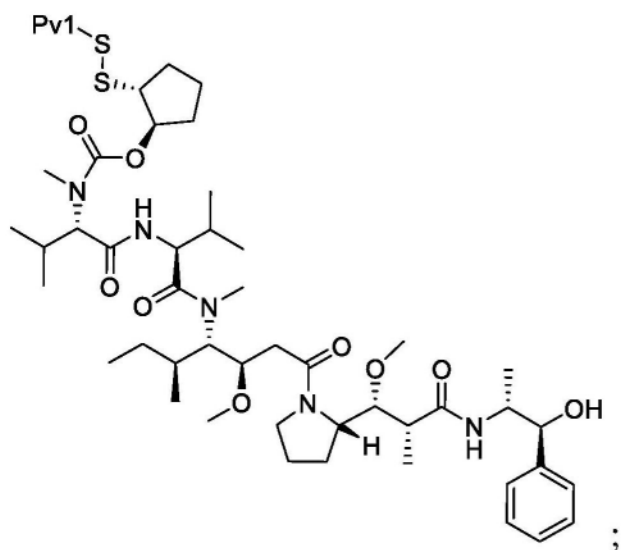
66. 如权利要求52-62中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中p为3。

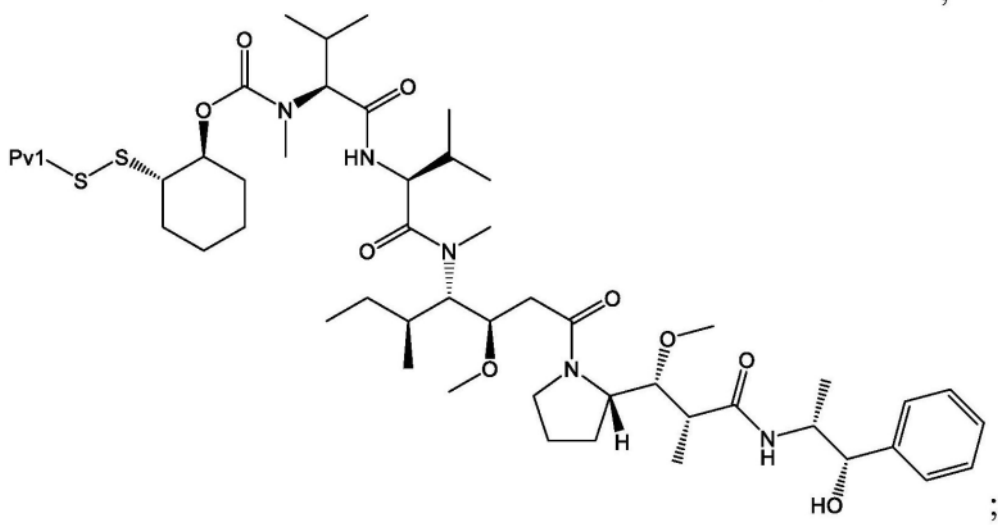
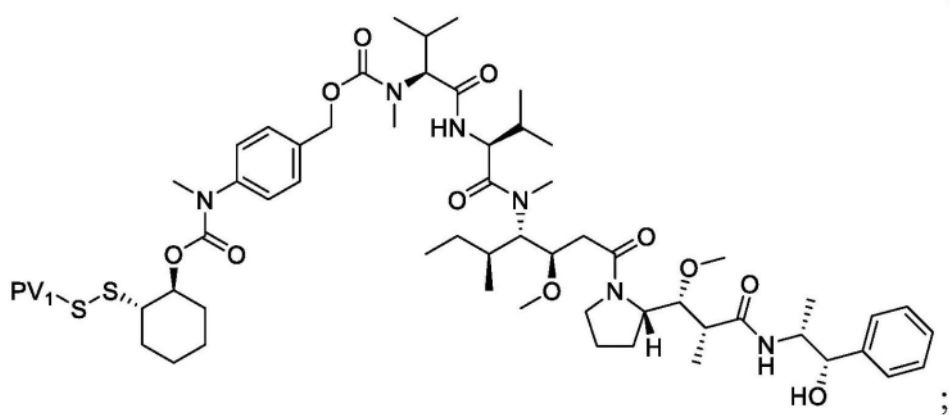
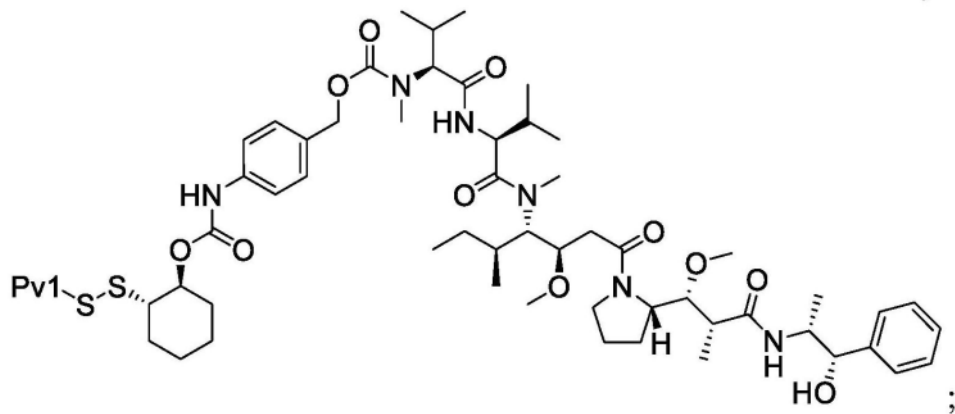
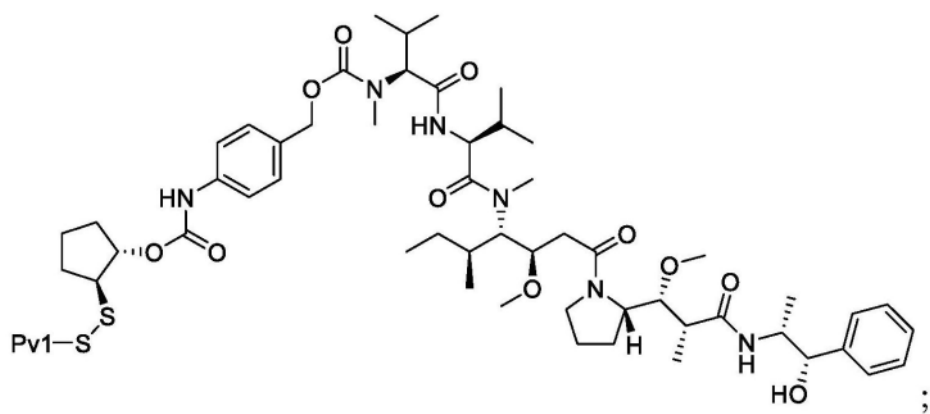
67. 如权利要求52-66中任一项所述的化合物,其中所述化合物具有式(III)或式(IV)：

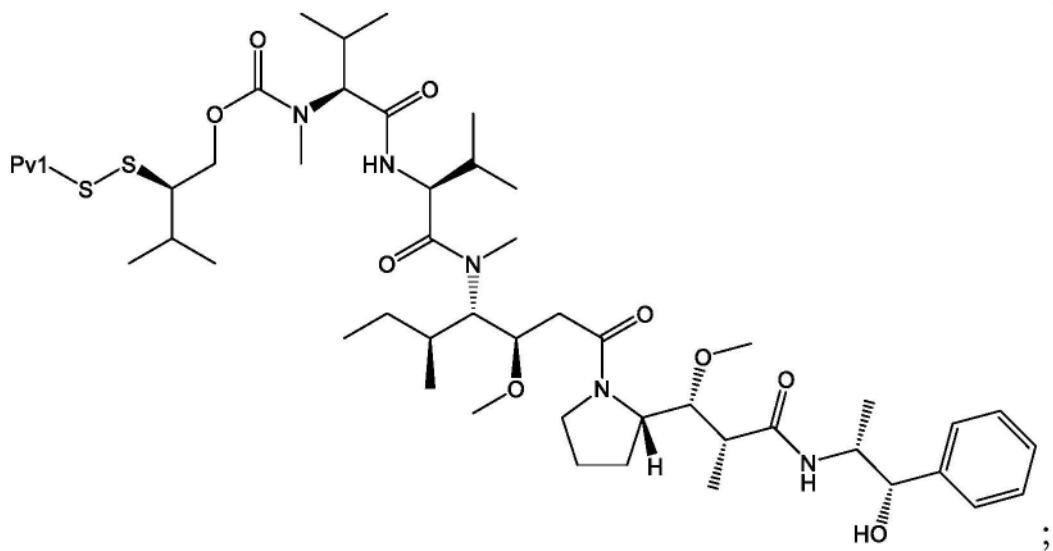
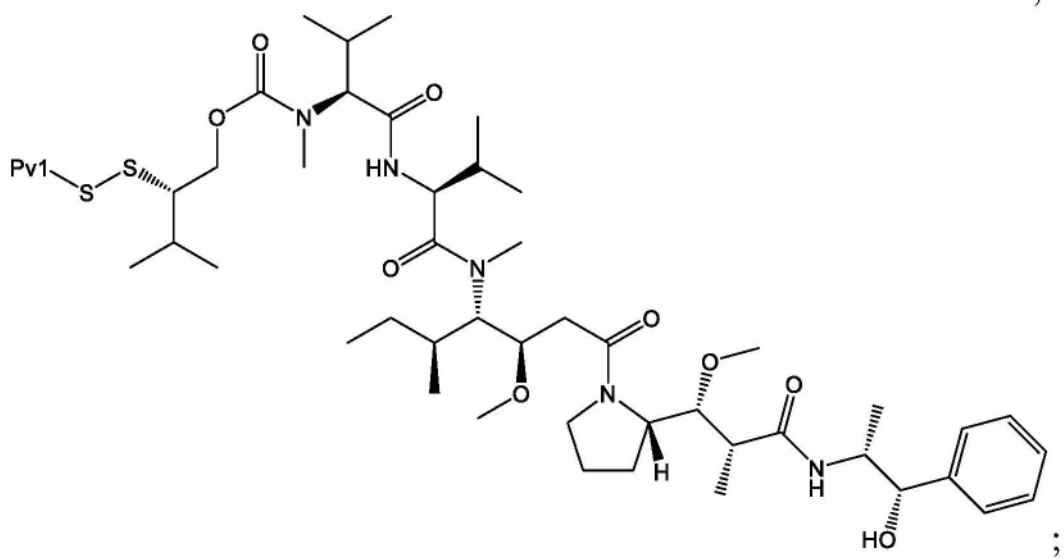
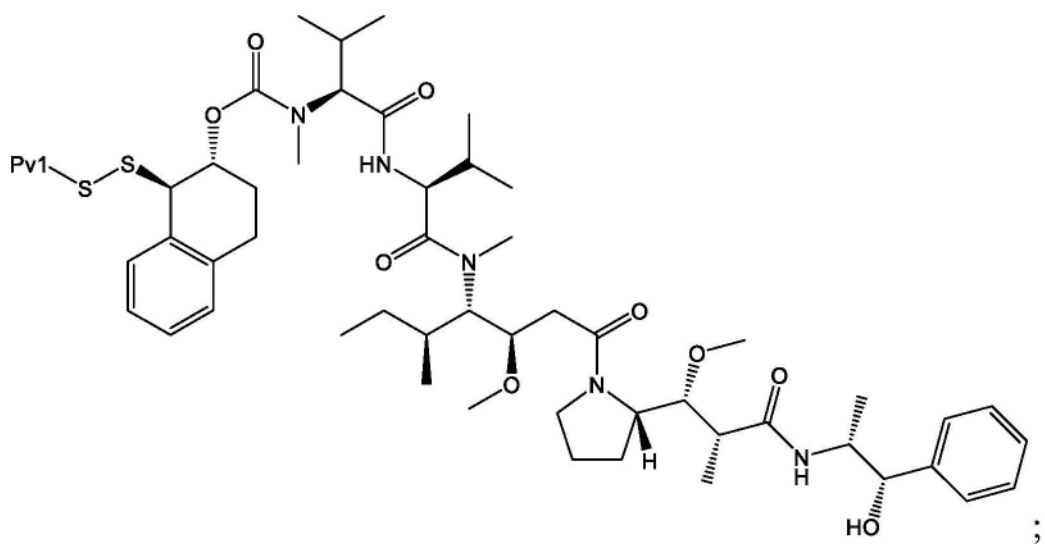


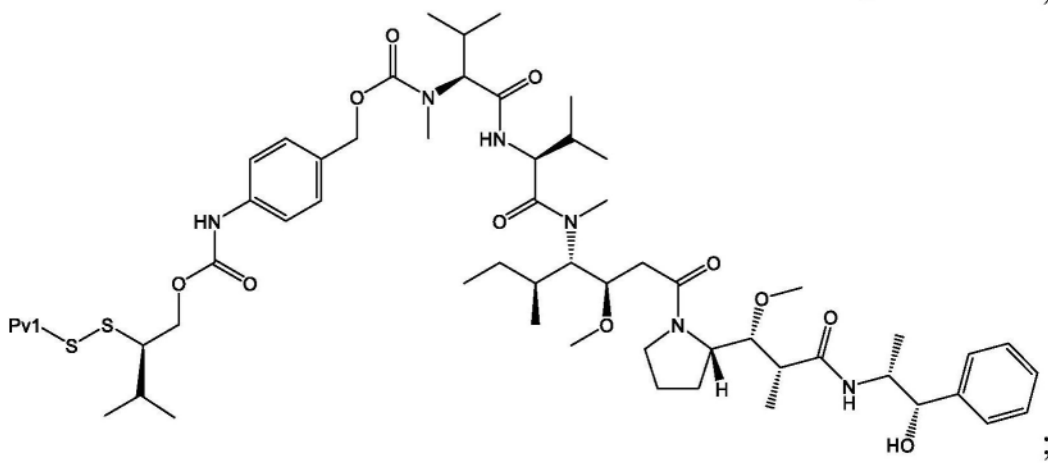
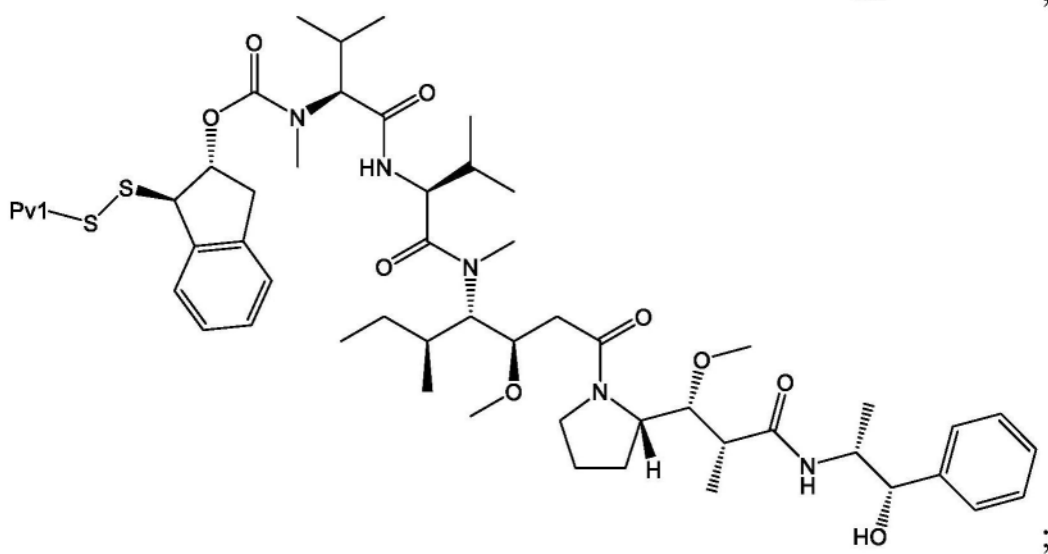
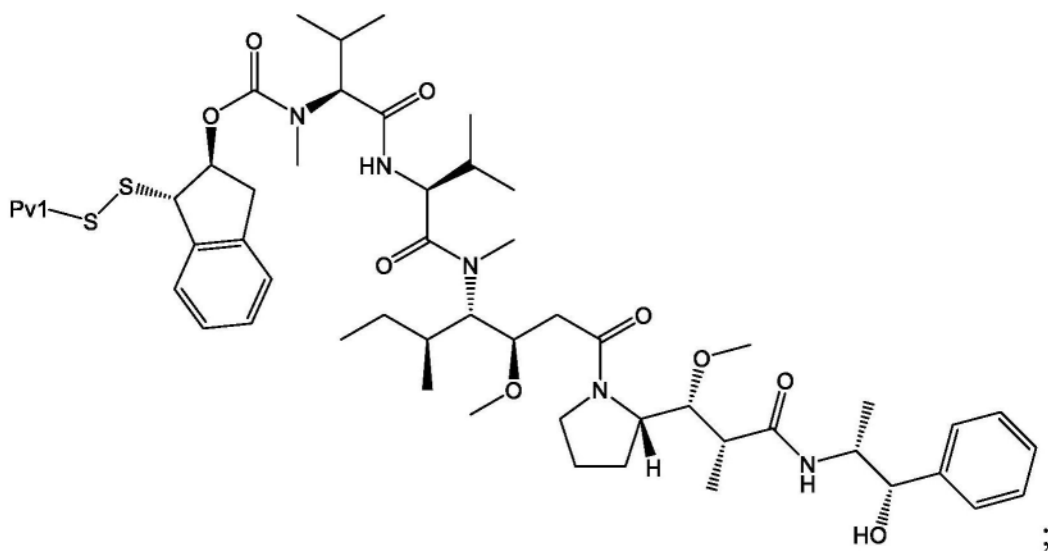
或其药学上可接受的盐。

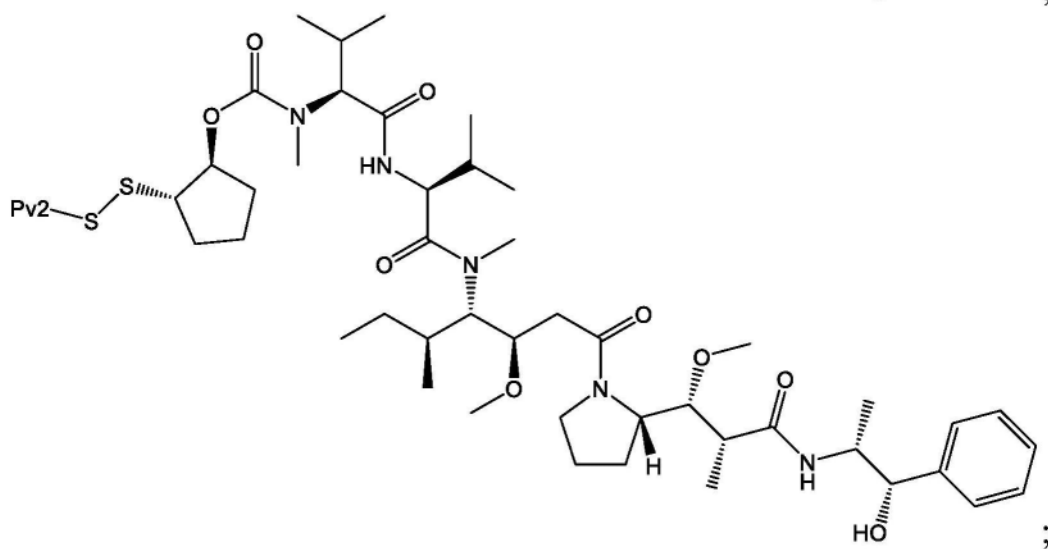
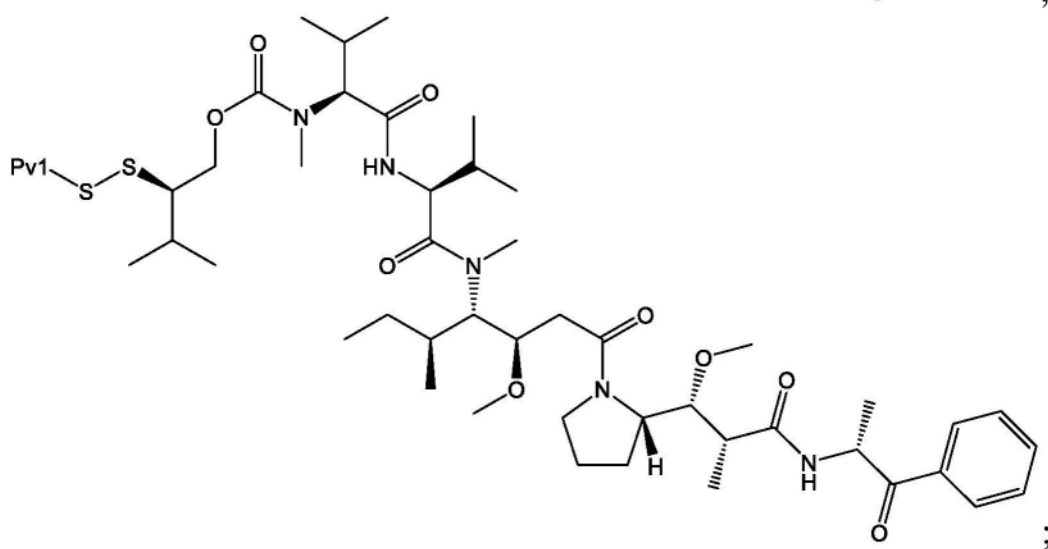
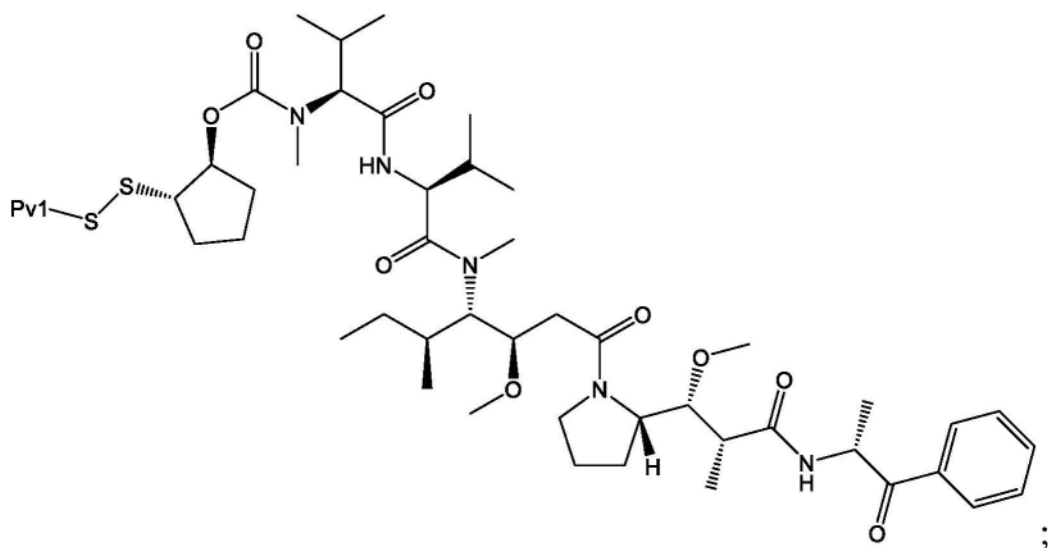
68. 如权利要求1或2所述的化合物,其中所述化合物选自以下中的一者：

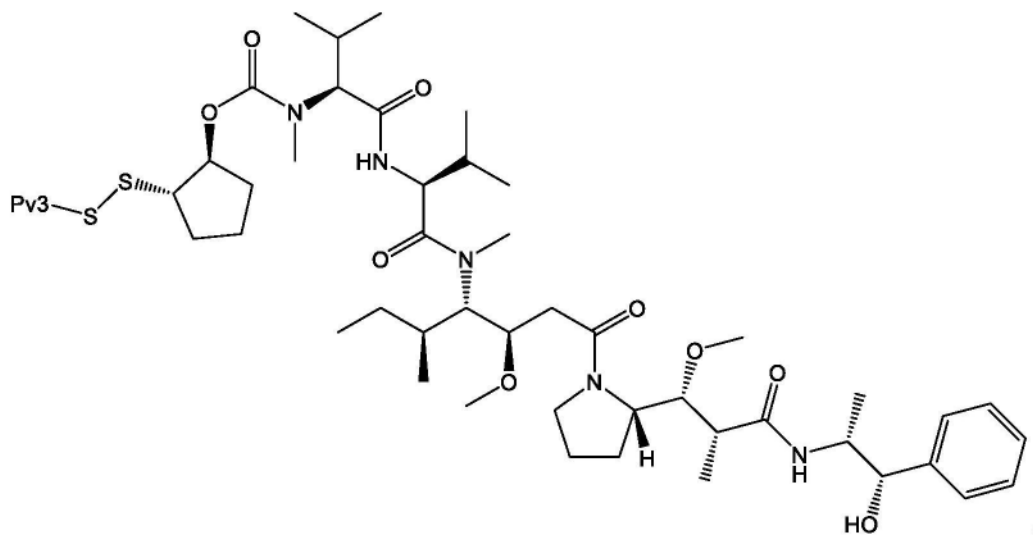












或前述中任一者的药学上可接受的盐,其中:

Pv1为包含以下序列的肽:

ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG (SEQ ID NO:1);

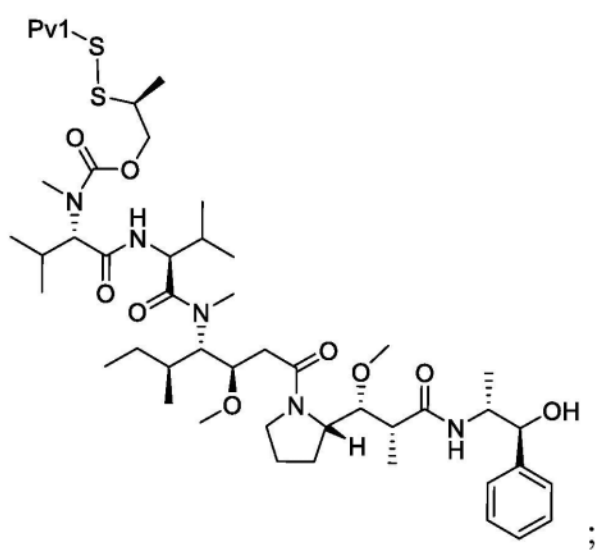
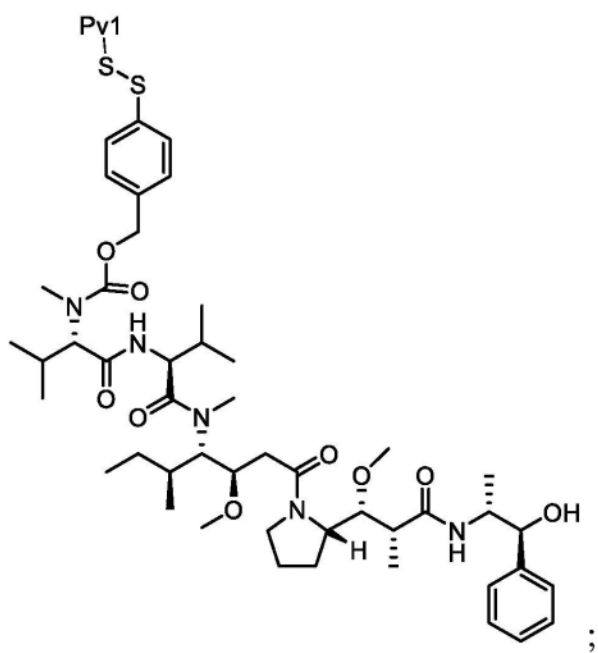
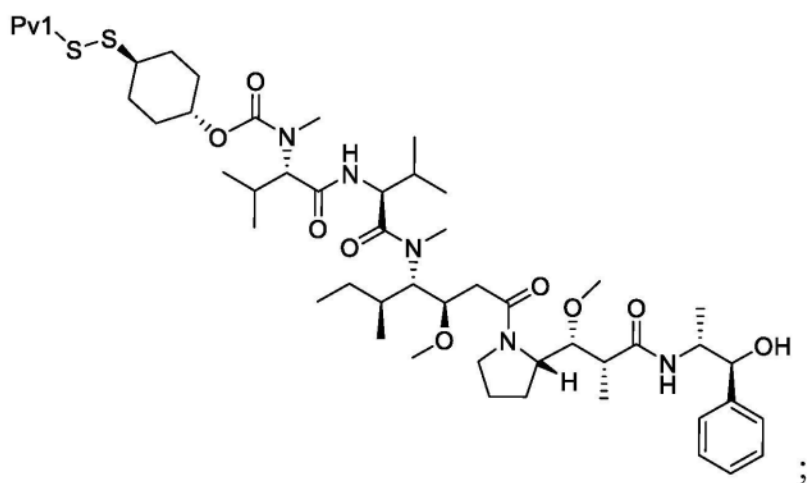
Pv2为包含以下序列的肽:

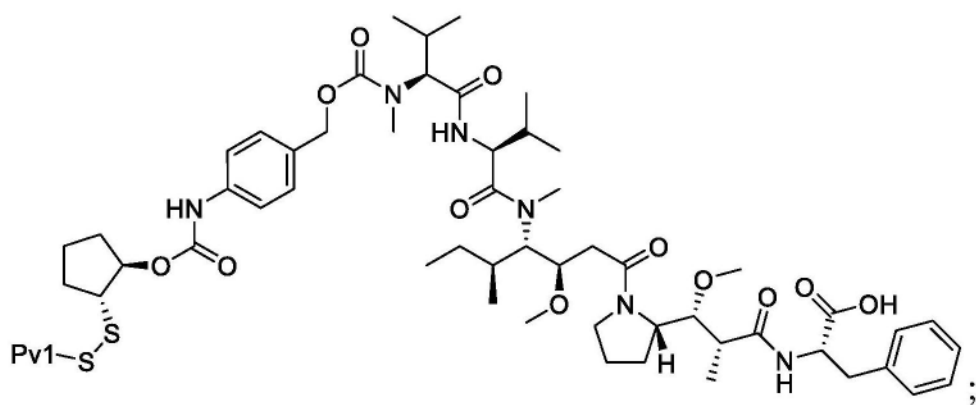
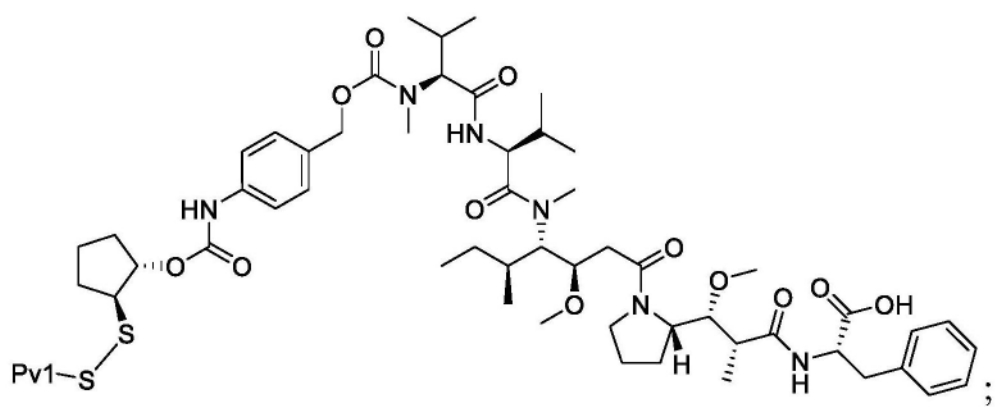
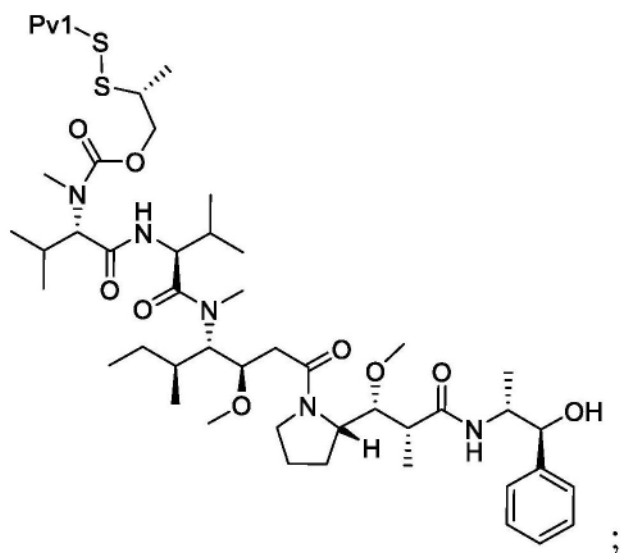
AEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADECG (SEQ ID NO:2);并且

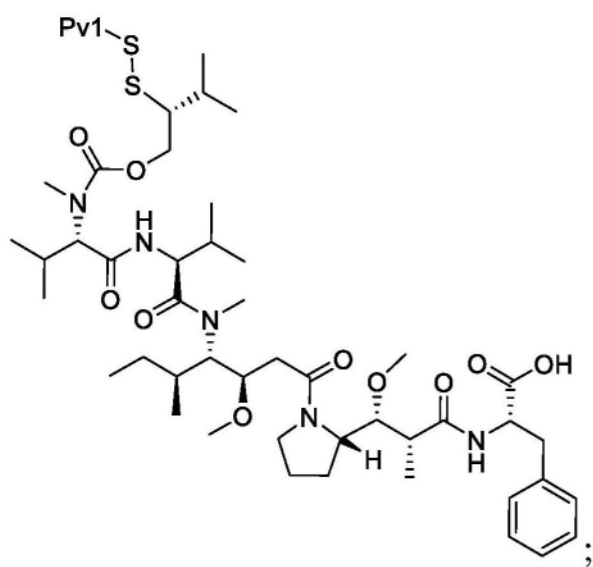
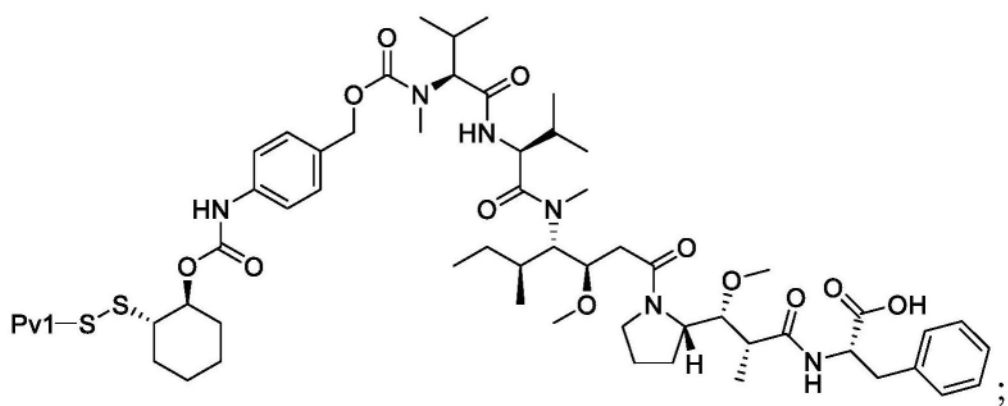
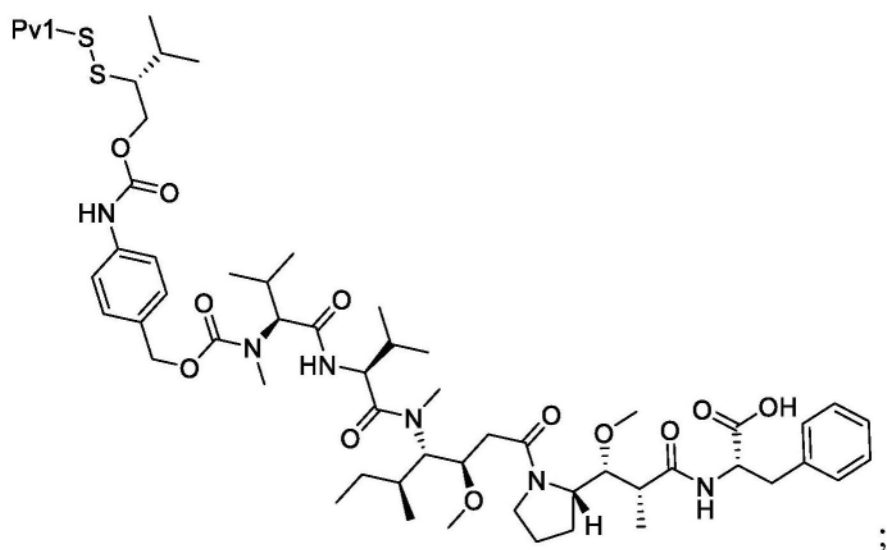
Pv3为包含以下序列的肽:

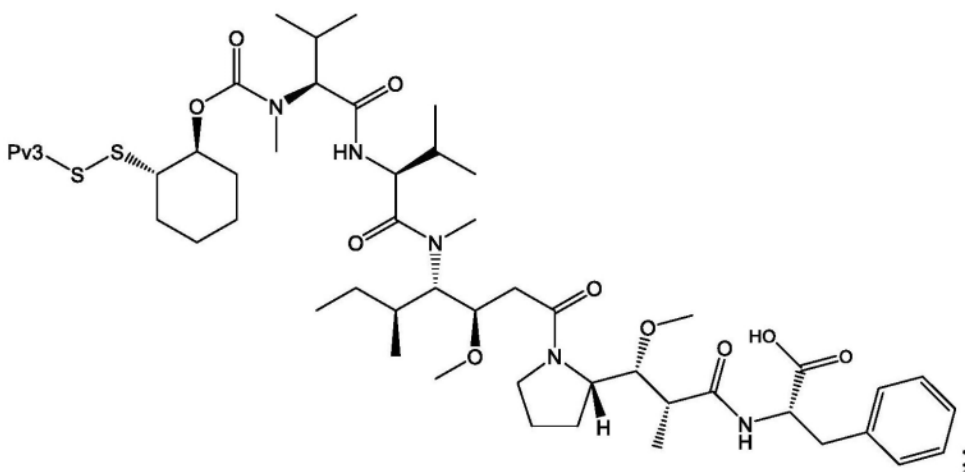
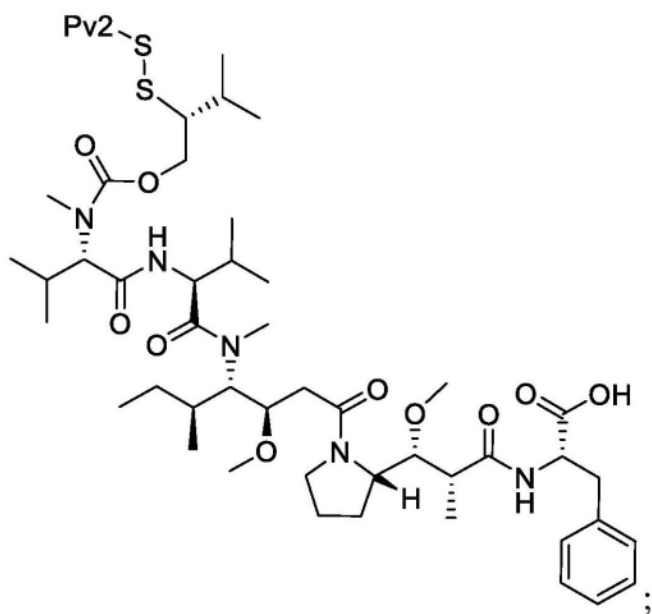
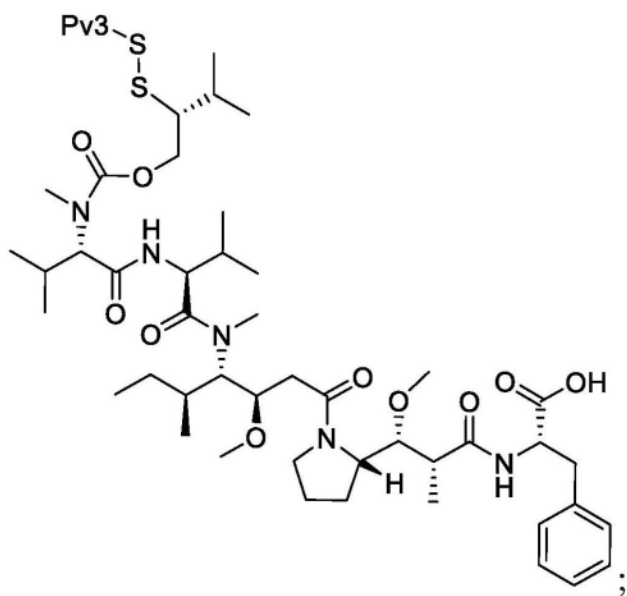
ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG (SEQ ID NO:3)。

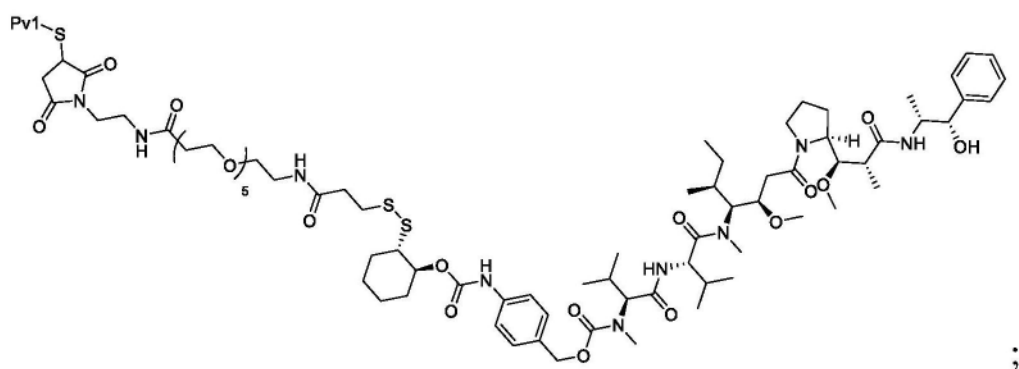
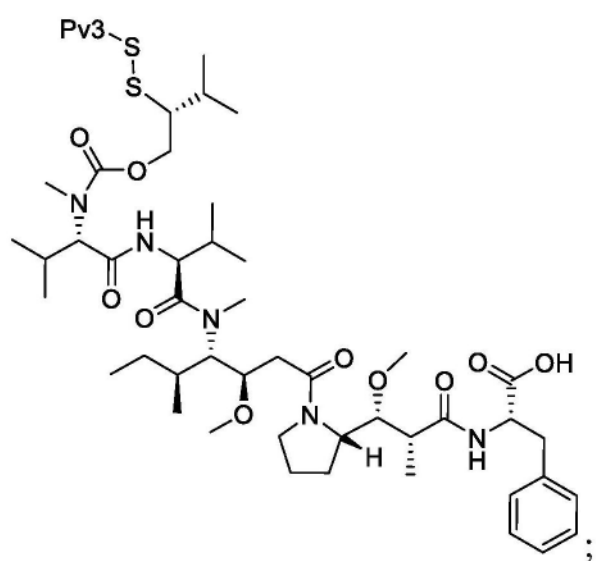
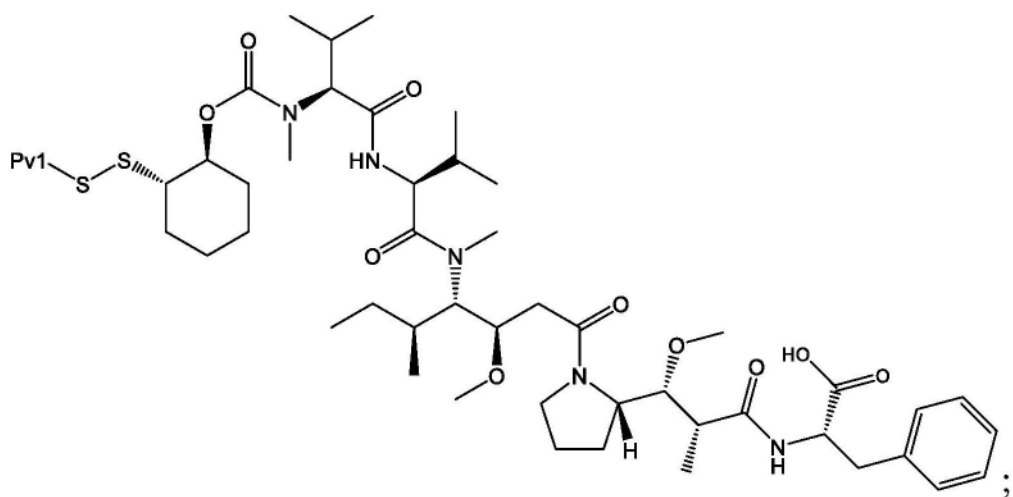
69. 如权利要求1所述的化合物,其中所述化合物选自:

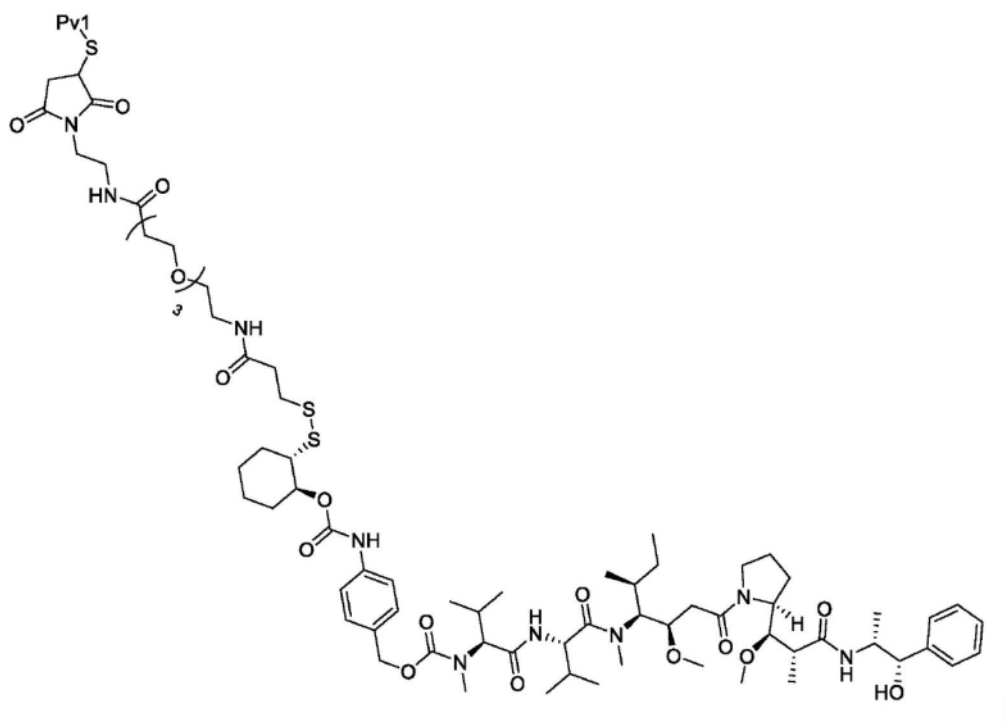












或前述中任一者的药学上可接受的盐,其中:

Pv1为包含以下序列的肽:

ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG (SEQ ID NO:1);

Pv2为包含以下序列的肽:

AEQNPIYWARYADWLFTTPLLDDLLVDADECG (SEQ ID NO:2);并且

Pv3为包含以下序列的肽:

ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG (SEQ ID NO:3)。

70. 一种药物组合物,所述药物组合物包含权利要求1-69中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐。

71. 一种治疗有需要的患者的癌症的方法,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的权利要求1-69中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐。

72. 如权利要求71所述的方法,其中所述癌症选自膀胱癌、骨癌、神经胶质瘤、乳腺癌、宫颈癌、结肠癌、结直肠癌、子宫内膜癌、上皮癌、食道癌、尤文氏肉瘤、胰腺癌、胆囊癌、胃癌、胃肠道肿瘤、头颈癌、肠癌、卡波西肉瘤、肾癌、喉癌、肝癌、肺癌、黑素瘤、前列腺癌、直肠癌、肾透明细胞癌、皮肤癌、胃部癌症、睾丸癌、甲状腺癌和子宫癌。

73. 如权利要求71所述的方法,其中所述癌症选自肺癌、结直肠癌和前列腺癌。

74. 如权利要求73所述的方法,其中所述肺癌为非小细胞肺癌。

75. 如权利要求71所述的方法,其中所述癌症选自霍奇金淋巴瘤、间变性大细胞淋巴瘤(ALCL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、卵巢癌、尿道上皮癌、非小细胞肺癌(NSCLC)、三阴性乳腺癌、鳞状非小细胞肺癌(sqNSCLC)、鳞状头颈癌、非霍奇金淋巴瘤、胰腺癌、慢性髓性白血病(CML)、急性骨髓性白血病(AML)、输卵管癌和腹膜癌。

作为治疗剂的肽微管蛋白抑制剂的肽缀合物

技术领域

[0001] 本发明涉及肽微管蛋白抑制剂(例如单甲基奥瑞他汀(auristatin))的肽缀合物,其可用于治疗疾病如癌症。

[0002] 序列表

[0003] 本申请含有以命名为“43236-0020W01_SL_ST26.XML”的XML文件通过电子形式提交的序列表。所述XML文件创建于2022年11月15日,大小为436,177字节。所述XML文件中的材料特此通过引用整体并入。

[0004] 发明背景

[0005] 癌症是一组以细胞生长的异常控制为特征性疾病。仅在美国,癌症的年发病率估计超过160万。虽然手术、放射线、化学疗法和激素被用于治疗癌症,但其仍为美国第二大主要死亡原因。据估计每年约600,000名美国人将死于癌症。

[0006] 通过全身施用医药剂来治疗人类癌症通常通过减缓或终止癌细胞特征性的不受控复制来起作用。肽微管蛋白抑制剂如尾海兔素(dolastatin)、尾海兔素衍生的奥瑞他汀、单甲基奥瑞他汀(例如单甲基奥瑞他汀E和单甲基奥瑞他汀F)和微管溶素(tubulysin)是一类抑制微管蛋白聚合的抗有丝分裂剂,并且可对广泛范围的癌细胞显示高效能。由于其通常具有高细胞毒性,肽微管蛋白抑制剂(例如单甲基奥瑞他汀)已与肿瘤靶向剂如抗体缀合以减少脱靶效应。即使如此,肽微管蛋白抑制剂(例如单甲基奥瑞他汀)的抗体药物缀合物可表现出若干严重副作用,包括中性粒细胞减少症、神经病变、血小板减少症和眼部毒性。因此,需要将肽微管蛋白抑制剂化合物更有选择性地递送至病变组织。

发明内容

[0007] 本公开尤其提供了一种式(I)化合物:

[0008]
$$R^2-L-R^1 \quad (I)$$

[0009] 或其药学上可接受的盐,其中构成变量在本文中进行定义。

[0010] 本公开进一步提供了一种药物组合物,其包含本公开的化合物或其药学上可接受的盐,和至少一种药学上可接受的载体或赋形剂。

[0011] 本公开还提供了通过向需要此类治疗的人类或其他哺乳动物施用治疗有效量的本公开化合物来治疗疾病或疾患(例如癌症)的方法。在一些实施方案中,所述疾病或疾患的特征在于酸性或缺氧病变组织。

[0012] 本公开还提供了本文所描述的化合物的用途,其用于制造用于疗法中的药剂。本公开还提供了适用于疗法的本文所描述的化合物。

[0013] 本公开还提供了用于合成本公开化合物的方法和可用于这些方法的中间体。

附图说明

[0014] 图1A显示体外HCT116结直肠细胞在与指定浓度的化合物2或未缀合的MMAE一起温育四天后的生长延迟图。

[0015] 图1B显示体外PC3前列腺细胞在与指定浓度的化合物2或未缀合的MMAE一起温育四天后的生长延迟图。

[0016] 图1C显示体外NCI-H1975 NSCLC细胞在与指定浓度的化合物2或未缀合的MMAE一起温育四天后的生长延迟图。

[0017] 图1D显示体外NCI-H292 NSCLC细胞在与指定浓度的化合物2或未缀合的MMAE一起温育四天后的生长延迟图。

[0018] 图2A显示体外HCT116结直肠细胞在与指定剂量的未结合MMAE一起温育24小时后的细胞周期分析。

[0019] 图2B显示体外HCT116结直肠细胞在与指定剂量的化合物2一起温育24小时后的细胞周期分析。

[0020] 图3显示在大鼠中10mg/kg化合物2的单次IV剂量后化合物2和所释放MMAE的血浆浓度图(数据表示为平均值 $\pm$ SD)。

[0021] 图4A显示在携带HCT116结直肠肿瘤的雌性裸鼠中单次腹膜内注射0.5mg/kg MMAE或3mg/kg化合物2后,通过LCMS测定的小鼠肿瘤中未缀合的MMAE的水平的图。

[0022] 图4B显示在携带HCT116结直肠肿瘤的雌性裸鼠中单次腹膜内注射0.5mg/kg MMAE或3mg/kg化合物2后,通过LCMS测定的小鼠肌肉中未缀合的MMAE的水平的图。

[0023] 图4C显示在携带HCT116结直肠肿瘤的雌性裸鼠中单次腹膜内注射0.5mg/kg MMAE或3mg/kg化合物2后,通过LCMS测定的小鼠骨髓中未缀合的MMAE的水平的图。

[0024] 图5A显示在携带HCT116 HER2阴性结直肠侧腹肿瘤的裸鼠中给与0.25mg/kg MMAE或40mg/kg化合物1(7mg/kg MMAE等效)产生的平均肿瘤体积的图。动物每天一次腹膜内给药,总共两天。

[0025] 图5B显示在携带HCT116 HER2阴性结直肠侧腹肿瘤的裸鼠中给与0.25mg/kg MMAE或40mg/kg化合物1(7mg/kg MMAE等效)的体重百分比变化的图。

[0026] 图6A显示在携带PC3前列腺腺癌侧腹肿瘤的裸鼠中给与20mg/kg化合物2产生的平均肿瘤体积的图。动物每周两次每天一次腹膜内给药,持续三周。

[0027] 图6B显示在实施例F的研究中动物的体重百分比变化。数据表示为平均值 $\pm$ SEM。

[0028] 图7A显示在携带NCI-H1975非小细胞肺癌侧腹肿瘤的裸鼠中给与10或20mg/kg化合物2产生的平均肿瘤体积的图。动物每周两次每天一次腹膜内给药,持续三周。

[0029] 图7B显示在实施例G的研究中动物的体重百分比变化。数据表示为平均值 $\pm$ SEM。

[0030] 图8显示连续四天用10mg/kg化合物1和化合物2每天一次给药的裸鼠的体重的图。

[0031] 图9A显示在携带HCT116结直肠肿瘤的雌性裸鼠中单次IP给药10mg/kg化合物7或化合物13后肿瘤中的肽浓度的图(数据表示为平均值 $\pm$ SD)。

[0032] 图9B显示在携带HCT116结直肠肿瘤的雌性裸鼠中单次IP给药10mg/kg化合物7或化合物13后肿瘤中的MMAE浓度的图(数据表示为平均值 $\pm$ SD)。

[0033] 图10A显示在携带HT-29结直肠癌侧腹肿瘤的裸鼠中给药5mg/kg化合物13产生的平均肿瘤体积的图。动物在第0-3天、第5天和第16-19天每天一次腹膜内给药。

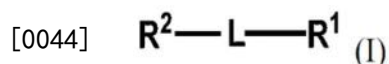
[0034] 图10B显示在实施例J的研究中动物的体重百分比变化。数据表示为平均值 $\pm$ SEM。

[0035] 图11A显示在携带HT-29结直肠癌侧腹肿瘤的裸鼠中给药40和80mg/kg化合物7产生的平均肿瘤体积的图。动物每天一次非经肠内给药,一周连续四天,持续两周。

- [0036] 图11B显示在实施例K的研究中动物的体重百分比变化。数据表示为平均值±SEM。
- [0037] 图12A显示在携带HCT116结直肠肿瘤的雌性裸鼠中单次腹膜内给药10mg/kg化合物13、化合物1或化合物2后肿瘤中的肽浓度的图(数据表示为平均值±SD)。
- [0038] 图12B显示在携带HCT116结直肠肿瘤的雌性裸鼠中单次腹膜内给药10mg/kg化合物13、化合物1或化合物2后肿瘤中的MMAE浓度的图(数据表示为平均值±SD)。
- [0039] 图13A显示在携带HCT116结直肠肿瘤的雌性裸鼠中单次腹膜内注射10mg/kg化合物13、化合物7、化合物5或化合物6后,通过ELISA和LCMS测定小鼠肿瘤中的肽水平的图(数据表示为平均值±SD)。
- [0040] 图13B显示在携带HCT116结直肠肿瘤的雌性裸鼠中单次腹膜内注射10mg/kg化合物13、化合物7、化合物5或化合物6后,通过ELISA和LCMS测定小鼠肿瘤中未缀合的MMAE水平的图(数据表示为平均值±SD)。
- [0041] 图14A显示在携带HCT116结直肠癌侧腹肿瘤的裸鼠中给药1、5和10mg/kg化合物5产生的平均肿瘤体积的图。动物每天一次非经肠内给药,连续四天。
- [0042] 图14B显示在实施例N的研究中动物的体重百分比变化。数据表示为平均值±SEM。

具体实施方式

- [0043] 本文提供了一种式(I)化合物:



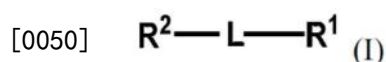
- [0045] 或其药学上可接受的盐,其中:

- [0046] R^1 为肽;

- [0047] R^2 为肽微管蛋白抑制剂的基团;并且

- [0048] L为接头,其共价连接至部分 R^1 和 R^2 。

- [0049] 本文提供了一种式(I)化合物:



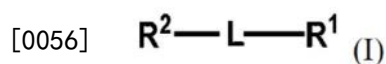
- [0051] 或其药学上可接受的盐,其中:

- [0052] R^1 为具有5至50个氨基酸的肽;

- [0053] R^2 为肽微管蛋白抑制剂的基团;并且

- [0054] L为接头,其共价连接至部分 R^1 和 R^2 。

- [0055] 本文还提供了一种式(I)化合物:



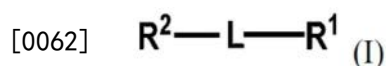
- [0057] 或其药学上可接受的盐,其中:

- [0058] R^1 为能够选择性地递送 R^2 -穿过具有酸性或缺氧外套膜的细胞膜的肽;

- [0059] R^2 为肽微管蛋白抑制剂的基团;并且

- [0060] L为接头,其共价连接至部分 R^1 和 R^2 。

- [0061] 本文提供了一种式(I)化合物:



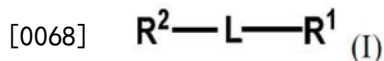
[0063] 或其药学上可接受的盐,其中:

[0064] R^1 为肽;

[0065] R^2 为奥瑞他汀化合物的基团;并且

[0066] L为接头,其共价连接至部分 R^1 和 R^2 。

[0067] 本文提供了一种式(I)化合物:



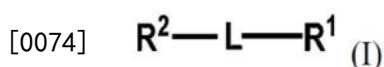
[0069] 或其药学上可接受的盐,其中:

[0070] R^1 为具有5至50个氨基酸的肽;

[0071] R^2 为奥瑞他汀化合物的基团;并且

[0072] L为接头,其共价连接至部分 R^1 和 R^2 。

[0073] 本文还提供了一种式(I)化合物:



[0075] 或其药学上可接受的盐,其中:

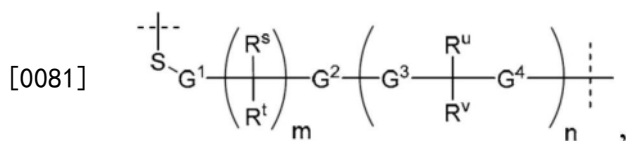
[0076] R^1 为能够选择性地递送 R^2L -穿过具有酸性或缺氧外套膜的细胞膜的肽;

[0077] R^2 为奥瑞他汀化合物的基团;并且

[0078] L为接头,其共价连接至部分 R^1 和 R^2 。

[0079] 在一些实施方案中,所述奥瑞他汀化合物为单甲基奥瑞他汀化合物。

[0080] 在一些实施方案中,L为具有以下结构的接头:



[0082] 其中所述接头的S原子与肽的半胱氨酸残基键合以形成二硫键;并且其中:

[0083] G^1 选自键、 C_{6-10} 芳基、 C_{3-14} 环烷基、5-14元杂芳基和4-14元杂环烷基,其中 G^1 的所述 C_{6-10} 芳基、 C_{3-14} 环烷基、5-14元杂芳基和4-14元杂环烷基各自任选地被1、2、3、4或5个独立地选自以下的取代基取代:卤基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 卤代烷基、CN、 NO_2 、 OR^a 、 SR^a 、 $C(O)R^b$ 、 $C(O)NR^cR^d$ 、 $C(O)OR^a$ 、 $OC(O)R^b$ 、 $OC(O)NR^cR^d$ 、 $C(=NR^e)NR^cR^d$ 、 $NR^cC(=NR^e)NR^cR^d$ 、 NR^cR^d 、 $NR^cC(O)R^b$ 、 $NR^cC(O)OR^a$ 、 $NR^cC(O)NR^cR^d$ 、 $NR^cS(O)R^b$ 、 $NR^cS(O)_2R^b$ 、 $NR^cS(O)_2NR^cR^d$ 、 $S(O)R^b$ 、 $S(O)NR^cR^d$ 、 $S(O)_2R^b$ 和 $S(O)_2NR^cR^d$,其中 G^1 的所述 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基取代基任选地被1、2或3个独立地选自以下的取代基取代:CN、 NO_2 、 OR^a 、 SR^a 、 $C(O)R^b$ 、 $C(O)NR^cR^d$ 、 $C(O)OR^a$ 、 $OC(O)R^b$ 、 $OC(O)NR^cR^d$ 、 $C(=NR^e)NR^cR^d$ 、 $NR^cC(=NR^e)NR^cR^d$ 、 NR^cR^d 、 $NR^cC(O)R^b$ 、 $NR^cC(O)OR^a$ 、 $NR^cC(O)NR^cR^d$ 、 $NR^cS(O)R^b$ 、 $NR^cS(O)_2R^b$ 、 $NR^cS(O)_2NR^cR^d$ 、 $S(O)R^b$ 、 $S(O)NR^cR^d$ 、 $S(O)_2R^b$ 和 $S(O)_2NR^cR^d$;

[0084] 每个 R^s 和 R^t 独立地选自H、卤基、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基;

[0085] G^2 选自 $-NR^G C(O)-$ 、 $-NR^G-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-NR^G C(O)-$ 、 $-OC(O)NR^G-$ 和 $-S(O)_2-$;

[0086] G^3 选自 C_{6-10} 芳基、 C_{3-14} 环烷基、5-14元杂芳基和4-14元杂环烷基,其中 G^3 的所述 C_{6-10} 芳基、 C_{3-14} 环烷基、5-14元杂芳基和4-14元杂环烷基各自任选地被1、2、3、4或5个独立地选自以下的取代基取代:卤基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 卤代烷基、CN、 NO_2 、 OR^{a1} 、 SR^{a1} 、 C

(O)R^{b1}、C(O)NR^{c1}R^{d1}、C(O)OR^{a1}、OC(O)R^{b1}、OC(O)NR^{c1}R^{d1}、C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}、NR^{c1}C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}、NR^{c1}R^{d1}、NR^{c1}R^{d1}、NR^{c1}C(O)R^{b1}、NR^{c1}C(O)OR^{a1}、NR^{c1}C(O)NR^{c1}R^{d1}、NR^{c1}S(O)R^{b1}、NR^{c1}S(O)₂R^{b1}、NR^{c1}S(O)₂NR^{c1}R^{d1}、S(O)R^{b1}、S(O)NR^{c1}R^{d1}、S(O)₂R^{b1}和S(O)₂NR^{c1}R^{d1}，其中G³的所述C₁₋₆烷基、C₂₋₆烯基和C₂₋₆炔基取代基任选地被1、2或3个独立地选自以下的取代基取代：CN、NO₂、OR^{a1}、SR^{a1}、C(O)R^{b1}、C(O)NR^{c1}R^{d1}、C(O)OR^{a1}、OC(O)R^{b1}、OC(O)NR^{c1}R^{d1}、C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}、NR^{c1}C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}、NR^{c1}R^{d1}、NR^{c1}C(O)R^{b1}、NR^{c1}C(O)OR^{a1}、NR^{c1}C(O)NR^{c1}R^{d1}、NR^{c1}S(O)R^{b1}、NR^{c1}S(O)₂R^{b1}、NR^{c1}S(O)₂NR^{c1}R^{d1}、S(O)R^{b1}、S(O)NR^{c1}R^{d1}、S(O)₂R^{b1}和S(O)₂NR^{c1}R^{d1}；

[0087] R^u和R^v独立地选自H、卤基、C₁₋₆烷基和C₁₋₆卤代烷基；

[0088] G⁴选自-C(O)-、-NR^GC(O)-、-NR^G-、-O-、-S-、-C(O)O-、-OC(O)-、-NR^GC(O)-和-S(O₂)-；

[0089] 每个R^G独立地选自H和C₁₋₄烷基；

[0090] 每个R^a、R^b、R^c、R^d、R^{a1}、R^{b1}、R^{c1}和R^{d1}独立地选自H、C₁₋₆烷基、C₁₋₆卤代烷基、C₂₋₆烯基和C₂₋₆炔基，其中R^a、R^b、R^c、R^d、R^{a1}、R^{b1}、R^{c1}和R^{d1}的所述C₁₋₆烷基、C₂₋₆烯基和C₂₋₆炔基任选地被1、2、3、4或5个独立地选自以下的取代基取代：卤基、C₁₋₄烷基、C₁₋₄卤代烷基、C₁₋₆卤代烷基、C₂₋₆烯基、C₂₋₆炔基、CN、OR^{a2}、SR^{a2}、C(O)R^{b2}、C(O)NR^{c2}R^{d2}、C(O)OR^{a2}、OC(O)R^{b2}、OC(O)NR^{c2}R^{d2}、NR^{c2}R^{d2}、NR^{c2}C(O)R^{b2}、NR^{c2}C(O)NR^{c2}R^{d2}、NR^{c2}C(O)OR^{a2}、C(=NR^{e2})NR^{c2}R^{d2}、NR^{c2}C(=NR^{e2})NR^{c2}R^{d2}、S(O)R^{b2}、S(O)NR^{c2}R^{d2}、S(O)₂R^{b2}、NR^{c2}S(O)₂R^{b2}、NR^{c2}S(O)₂NR^{c2}R^{d2}和S(O)₂NR^{c2}R^{d2}；

[0091] 每个R^{a2}、R^{b2}、R^{c2}和R^{d2}独立地选自H、C₁₋₆烷基、C₁₋₆卤代烷基、C₂₋₆烯基和C₂₋₆炔基，其中R^{a2}、R^{b2}、R^{c2}和R^{d2}的所述C₁₋₆烷基、C₁₋₆卤代烷基、C₂₋₆烯基和C₂₋₆炔基各自任选地被1、2或3个独立地选自OH、CN、氨基、卤基、C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基、C₁₋₆卤代烷基和C₁₋₆卤代烷氧基的取代基取代；

[0092] 每个R^e、R^{e1}和R^{e2}独立地选自H和C₁₋₄烷基；

[0093] m为0、1、2、3或4；并且

[0094] n为0或1。

[0095] 本文提供了一种式(I)化合物：

[0096] **R²—L—R¹** (I)

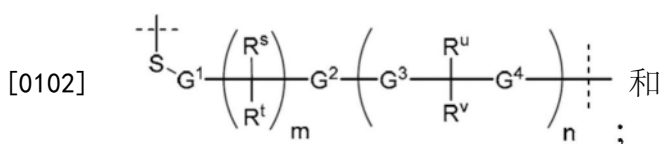
[0097] 或其药学上可接受的盐，其中：

[0098] R¹为肽；

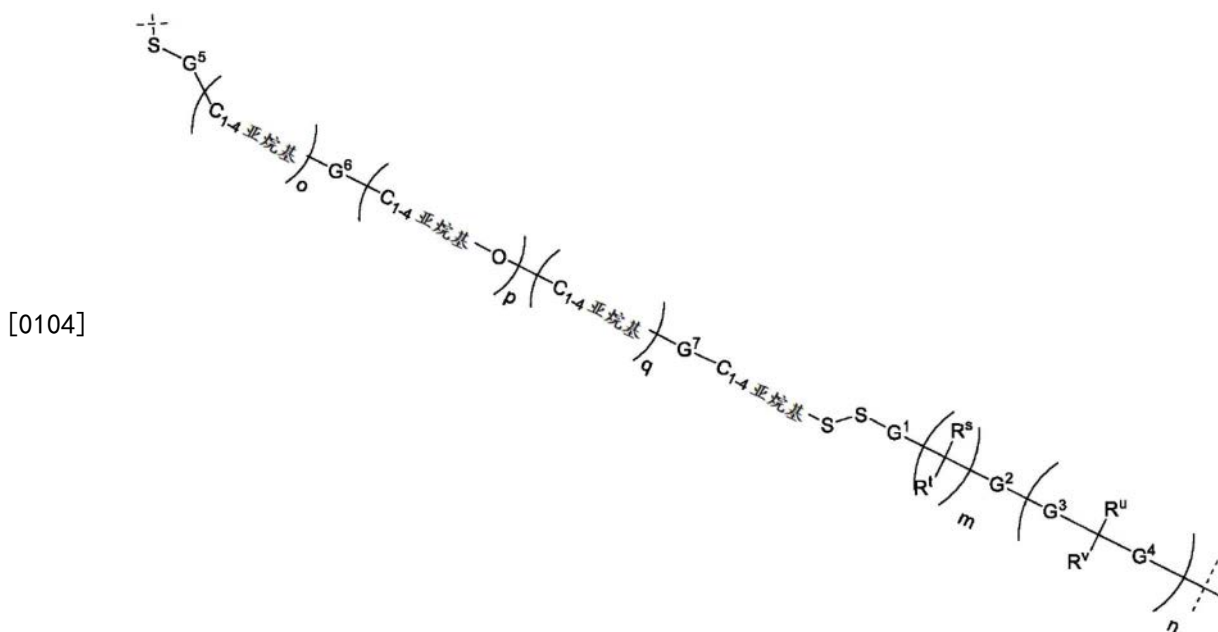
[0099] R²为奥瑞他汀化合物的基团；并且

[0100] L为具有选自以下的结构的接头：

[0101] i)



[0103] ii)



[0105] 其中所述接头的末端S原子与所述肽的半胱氨酸残基键合以形成二硫键;并且其中:

[0106] G^1 选自键、 C_{6-10} 芳基、 C_{3-14} 环烷基、5-14元杂芳基和4-14元杂环烷基,其中 G^1 的所述 C_{6-10} 芳基、 C_{3-14} 环烷基、5-14元杂芳基和4-14元杂环烷基各自任选地被1、2、3、4或5个独立地选自以下的取代基取代:卤基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 卤代烷基、CN、 NO_2 、 OR^a 、 SR^a 、 $C(O)R^b$ 、 $C(O)NR^cR^d$ 、 $C(O)OR^a$ 、 $OC(O)R^b$ 、 $OC(O)NR^cR^d$ 、 $C(=NR^e)NR^cR^d$ 、 $NR^cC(=NR^e)NR^cR^d$ 、 $NR^cC(O)R^b$ 、 $NR^cC(O)OR^a$ 、 $NR^cC(O)NR^cR^d$ 、 $NR^cS(O)R^b$ 、 $NR^cS(O)_2R^b$ 、 $NR^cS(O)_2NR^cR^d$ 、 $S(O)R^b$ 、 $S(O)NR^cR^d$ 、 $S(O)_2R^b$ 和 $S(O)_2NR^cR^d$,其中 G^1 的所述 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基取代基任选地被1、2或3个独立地选自以下的取代基取代:CN、 NO_2 、 OR^a 、 SR^a 、 $C(O)R^b$ 、 $C(O)NR^cR^d$ 、 $C(O)OR^a$ 、 $OC(O)R^b$ 、 $OC(O)NR^cR^d$ 、 $C(=NR^e)NR^cR^d$ 、 $NR^cC(=NR^e)NR^cR^d$ 、 NR^cR^d 、 $NR^cC(O)R^b$ 、 $NR^cC(O)OR^a$ 、 $NR^cC(O)NR^cR^d$ 、 $NR^cS(O)R^b$ 、 $NR^cS(O)_2R^b$ 、 $NR^cS(O)_2NR^cR^d$ 、 $S(O)R^b$ 、 $S(O)NR^cR^d$ 、 $S(O)_2R^b$ 和 $S(O)_2NR^cR^d$;

[0107] G^2 选自 $-NR^G C(O)-$ 、 $-NR^G-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-NR^G C(O)-$ 、 $-OC(O)NR^G-$ 和 $-S(O)_n-$;

[0108] G^3 选自 C_{6-10} 芳基、 C_{3-14} 环烷基、5-14元杂芳基和4-14元杂环烷基,其中 G^3 的所述 C_{6-10} 芳基、 C_{3-14} 环烷基、5-14元杂芳基和4-14元杂环烷基各自任选地被1、2、3、4或5个独立地选自以下的取代基取代:卤基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 卤代烷基、CN、 NO_2 、 OR^{a1} 、 SR^{a1} 、 $C(O)R^{b1}$ 、 $C(O)NR^{c1}R^{d1}$ 、 $C(O)OR^{a1}$ 、 $OC(O)R^{b1}$ 、 $OC(O)NR^{c1}R^{d1}$ 、 $C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}$ 、 $NR^{c1}C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}$ 、 $NR^{c1}R^{d1}$ 、 $NR^{c1}C(O)R^{b1}$ 、 $NR^{c1}C(O)OR^{a1}$ 、 $NR^{c1}C(O)NR^{c1}R^{d1}$ 、 $NR^{c1}S(O)R^{b1}$ 、 $NR^{c1}S(O)_2R^{b1}$ 、 $NR^{c1}S(O)_2NR^{c1}R^{d1}$ 、 $S(O)R^{b1}$ 、 $S(O)NR^{c1}R^{d1}$ 、 $S(O)_2R^{b1}$ 和 $S(O)_2NR^{c1}R^{d1}$,其中 G^3 的所述 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基取代基任选地被1、2或3个独立地选自以下的取代基取代:CN、 NO_2 、 OR^{a1} 、 SR^{a1} 、 $C(O)R^{b1}$ 、 $C(O)NR^{c1}R^{d1}$ 、 $C(O)OR^{a1}$ 、 $OC(O)R^{b1}$ 、 $OC(O)NR^{c1}R^{d1}$ 、 $C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}$ 、 $NR^{c1}C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}$ 、 $NR^{c1}R^{d1}$ 、 $NR^{c1}C(O)R^{b1}$ 、 $NR^{c1}C(O)OR^{a1}$ 、 $NR^{c1}C(O)NR^{c1}R^{d1}$ 、 $NR^{c1}S(O)R^{b1}$ 、 $NR^{c1}S(O)_2R^{b1}$ 、 $NR^{c1}S(O)_2NR^{c1}R^{d1}$ 、 $S(O)R^{b1}$ 、 $S(O)NR^{c1}R^{d1}$ 、 $S(O)_2R^{b1}$ 和 $S(O)_2NR^{c1}R^{d1}$;

[0109] G^4 选自 $-C(O)-$ 、 $-NR^G C(O)-$ 、 $-NR^G-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-NR^G C(O)-$ 和 $-S(O)_2-$;

[0110] G^5 选自键、 C_{6-10} 芳基、 C_{3-14} 环烷基、5-14元杂芳基和4-14元杂环烷基,其中 G^5 的所述

C₆₋₁₀芳基、C₃₋₁₄环烷基、5-14元杂芳基和4-14元杂环烷基各自任选地被1、2、3、4或5个独立地选自以下的取代基取代：卤基、C₁₋₆烷基、C₂₋₆烯基、C₂₋₆炔基、C₁₋₆卤代烷基、CN、NO₂、OR^a、SR^a、C(O)R^b、C(O)NR^cR^d、C(O)OR^a、OC(O)R^b、OC(O)NR^cR^d、C(=NR^e)NR^cR^d、NR^cC(=NR^e)NR^cR^d、NR^cR^d、NR^cC(O)R^b、NR^cC(O)OR^a、NR^cC(O)NR^cR^d、NR^cS(O)R^b、NR^cS(O)₂R^b、NR^cS(O)₂NR^cR^d、S(O)R^b、S(O)NR^cR^d、S(O)₂R^b和S(O)₂NR^cR^d，其中G⁵的所述C₁₋₆烷基、C₂₋₆烯基和C₂₋₆炔基取代基任选地被1、2或3个独立地选自以下的取代基取代：CN、NO₂、OR^a、SR^a、C(O)R^b、C(O)NR^cR^d、C(O)OR^a、OC(O)R^b、OC(O)NR^cR^d、C(=NR^e)NR^cR^d、NR^cC(=NR^e)NR^cR^d、NR^cR^d、NR^cC(O)R^b、NR^cC(O)OR^a、NR^cC(O)NR^cR^d、NR^cS(O)R^b、NR^cS(O)₂R^b、NR^cS(O)₂NR^cR^d、S(O)R^b、S(O)NR^cR^d、S(O)₂R^b和S(O)₂NR^cR^d；

[0111] G⁶选自-NR^GC(O)-、-NR^G-、-O-、-S-、-C(O)O-、-OC(O)-、-NR^GC(O)-、-OC(O)NR^G-和-S(O₂)-；

[0112] G⁷选自-NR^GC(O)-、-NR^G-、-O-、-S-、-C(O)O-、-OC(O)-、-NR^GC(O)-、-OC(O)NR^G-和-S(O₂)-；

[0113] 每个R^s和R^t独立地选自H、卤基、C₁₋₆烷基和C₁₋₆卤代烷基；

[0114] 或每个R^s和R^t与其所连接的C原子一起形成C₃₋₆环烷基环；

[0115] R^u和R^v独立地选自H、卤基、C₁₋₆烷基和C₁₋₆卤代烷基；

[0116] 每个R^G独立地选自H和C₁₋₄烷基；

[0117] 每个R^a、R^b、R^c、R^d、R^{a1}、R^{b1}、R^{c1}和R^{d1}独立地选自H、C₁₋₆烷基、C₁₋₆卤代烷基、C₂₋₆烯基和C₂₋₆炔基，其中R^a、R^b、R^c、R^d、R^{a1}、R^{b1}、R^{c1}和R^{d1}的所述C₁₋₆烷基、C₂₋₆烯基和C₂₋₆炔基任选地被1、2、3、4或5个独立地选自以下的取代基取代：卤基、C₁₋₄烷基、C₁₋₄卤代烷基、C₁₋₆卤代烷基、C₂₋₆烯基、C₂₋₆炔基、CN、OR^{a2}、SR^{a2}、C(O)R^{b2}、C(O)NR^{c2}R^{d2}、C(O)OR^{a2}、OC(O)R^{b2}、OC(O)NR^{c2}R^{d2}、NR^{c2}R^{d2}、NR^{c2}C(O)R^{b2}、NR^{c2}C(O)NR^{c2}R^{d2}、NR^{c2}C(O)OR^{a2}、C(=NR^{e2})NR^{c2}R^{d2}、NR^{c2}C(=NR^{e2})NR^{c2}R^{d2}、S(O)R^{b2}、S(O)NR^{c2}R^{d2}、S(O)₂R^{b2}、NR^{c2}S(O)₂R^{b2}、NR^{c2}S(O)₂NR^{c2}R^{d2}和S(O)₂NR^{c2}R^{d2}；

[0118] 每个R^{a2}、R^{b2}、R^{c2}和R^{d2}独立地选自H、C₁₋₆烷基、C₁₋₆卤代烷基、C₂₋₆烯基和C₂₋₆炔基，其中R^{a2}、R^{b2}、R^{c2}和R^{d2}的所述C₁₋₆烷基、C₁₋₆卤代烷基、C₂₋₆烯基和C₂₋₆炔基各自任选地被1、2或3个独立地选自OH、CN、氨基、卤基、C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基、C₁₋₆卤代烷基和C₁₋₆卤代烷氧基的取代基取代；

[0119] 每个R^e、R^{e1}和R^{e2}独立地选自H和C₁₋₄烷基；

[0120] m为0、1、2、3或4；

[0121] n为0或1；

[0122] o为0或1；

[0123] p为1、2、3、4、5或6；并且

[0124] q为0或1。

[0125] 本文提供了一种式(I)化合物：

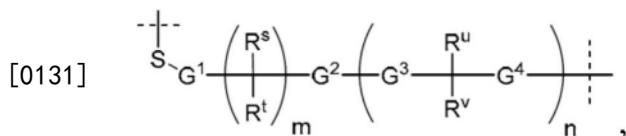
[0126]
$$R^2-L-R^1 \quad (I)$$

[0127] 或其药学上可接受的盐，其中：

[0128] R¹为肽；

[0129] R²为奥瑞他汀化合物的基团；并且

[0130] L为具有以下结构的接头：



[0132] 其中所述接头的S原子与肽的半胱氨酸残基键合以形成二硫键；并且其中：

[0133] G^1 选自键、 C_{6-10} 芳基、 C_{3-14} 环烷基、5-14元杂芳基和4-14元杂环烷基，其中 G^1 的所述 C_{6-10} 芳基、 C_{3-14} 环烷基、5-14元杂芳基和4-14元杂环烷基各自任选地被1、2、3、4或5个独立地选自以下的取代基取代：卤基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 卤代烷基、 CN 、 NO_2 、 OR^a 、 SR^a 、 $\text{C}(\text{O})\text{R}^b$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{NR}^c\text{R}^d$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$ 、 $\text{OC}(\text{O})\text{R}^b$ 、 $\text{OC}(\text{O})\text{NR}^c\text{R}^d$ 、 $\text{C}(=\text{NR}^e)\text{NR}^c\text{R}^d$ 、 $\text{NR}^c\text{C}(=\text{NR}^e)\text{NR}^c\text{R}^d$ 、 $\text{NR}^c\text{C}(\text{O})\text{R}^b$ 、 $\text{NR}^c\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$ 、 $\text{NR}^c\text{C}(\text{O})\text{NR}^c\text{R}^d$ 、 $\text{NR}^c\text{S}(\text{O})\text{R}^b$ 、 $\text{NR}^c\text{S}(\text{O})_2\text{R}^b$ 、 $\text{NR}^c\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^c\text{R}^d$ 、 $\text{S}(\text{O})\text{R}^b$ 、 $\text{S}(\text{O})\text{NR}^c\text{R}^d$ 、 $\text{S}(\text{O})_2\text{R}^b$ 和 $\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^c\text{R}^d$ ，其中 G^1 的所述 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基取代基任选地被1、2或3个独立地选自以下的取代基取代： CN 、 NO_2 、 OR^a 、 SR^a 、 $\text{C}(\text{O})\text{R}^b$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{NR}^c\text{R}^d$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$ 、 $\text{OC}(\text{O})\text{R}^b$ 、 $\text{OC}(\text{O})\text{NR}^c\text{R}^d$ 、 $\text{C}(=\text{NR}^e)\text{NR}^c\text{R}^d$ 、 $\text{NR}^c\text{C}(=\text{NR}^e)\text{NR}^c\text{R}^d$ 、 $\text{NR}^c\text{C}(\text{O})\text{R}^b$ 、 $\text{NR}^c\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$ 、 $\text{NR}^c\text{C}(\text{O})\text{NR}^c\text{R}^d$ 、 $\text{NR}^c\text{S}(\text{O})\text{R}^b$ 、 $\text{NR}^c\text{S}(\text{O})_2\text{R}^b$ 、 $\text{NR}^c\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^c\text{R}^d$ 、 $\text{S}(\text{O})\text{R}^b$ 、 $\text{S}(\text{O})\text{NR}^c\text{R}^d$ 、 $\text{S}(\text{O})_2\text{R}^b$ 和 $\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^c\text{R}^d$ ；

[0134] 每个 R^s 和 R^t 独立地选自H、卤基、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基；

[0135] G^2 选自 $-\text{NR}^G\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{NR}^G-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-C(\text{O})O-$ 、 $-OC(\text{O})-$ 、 $-\text{NR}^G\text{C}(\text{O})-$ 、 $-OC(\text{O})\text{NR}^G-$ 和 $-S(\text{O})_2-$ ；

[0136] G^3 选自 C_{6-10} 芳基、 C_{3-14} 环烷基、5-14元杂芳基和4-14元杂环烷基，其中 G^3 的所述 C_{6-10} 芳基、 C_{3-14} 环烷基、5-14元杂芳基和4-14元杂环烷基各自任选地被1、2、3、4或5个独立地选自以下的取代基取代：卤基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 卤代烷基、 CN 、 NO_2 、 OR^{a1} 、 SR^{a1} 、 $\text{C}(\text{O})\text{R}^{b1}$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{OR}^{a1}$ 、 $\text{OC}(\text{O})\text{R}^{b1}$ 、 $\text{OC}(\text{O})\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$ 、 $\text{C}(=\text{NR}^{e1})\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$ 、 $\text{NR}^{c1}\text{C}(=\text{NR}^{e1})\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$ 、 $\text{NR}^{c1}\text{C}(\text{O})\text{R}^{b1}$ 、 $\text{NR}^{c1}\text{C}(\text{O})\text{OR}^{a1}$ 、 $\text{NR}^{c1}\text{C}(\text{O})\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$ 、 $\text{NR}^{c1}\text{S}(\text{O})\text{R}^{b1}$ 、 $\text{NR}^{c1}\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{b1}$ 、 $\text{NR}^{c1}\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$ 、 $\text{S}(\text{O})\text{R}^{b1}$ 、 $\text{S}(\text{O})\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$ 、 $\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{b1}$ 和 $\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$ ，其中 G^3 的所述 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基取代基任选地被1、2或3个独立地选自以下的取代基取代： CN 、 NO_2 、 OR^{a1} 、 SR^{a1} 、 $\text{C}(\text{O})\text{R}^{b1}$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{OR}^{a1}$ 、 $\text{OC}(\text{O})\text{R}^{b1}$ 、 $\text{OC}(\text{O})\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$ 、 $\text{C}(=\text{NR}^{e1})\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$ 、 $\text{NR}^{c1}\text{C}(=\text{NR}^{e1})\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$ 、 $\text{NR}^{c1}\text{C}(\text{O})\text{R}^{b1}$ 、 $\text{NR}^{c1}\text{C}(\text{O})\text{OR}^{a1}$ 、 $\text{NR}^{c1}\text{C}(\text{O})\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$ 、 $\text{NR}^{c1}\text{S}(\text{O})\text{R}^{b1}$ 、 $\text{NR}^{c1}\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{b1}$ 、 $\text{NR}^{c1}\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$ 、 $\text{S}(\text{O})\text{R}^{b1}$ 、 $\text{S}(\text{O})\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$ 、 $\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{b1}$ 和 $\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$ ；

[0137] R^u 和 R^v 独立地选自H、卤基、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基；

[0138] G^4 选自 $-C(\text{O})-$ 、 $-\text{NR}^G\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{NR}^G-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-C(\text{O})O-$ 、 $-OC(\text{O})-$ 、 $-\text{NR}^G\text{C}(\text{O})-$ 和 $-S(\text{O})_2-$ ；

[0139] 每个 R^G 独立地选自H和 C_{1-4} 烷基；

[0140] 每个 R^a 、 R^b 、 R^c 、 R^d 、 R^{a1} 、 R^{b1} 、 R^{c1} 和 R^{d1} 独立地选自H、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基，其中 R^a 、 R^b 、 R^c 、 R^d 、 R^{a1} 、 R^{b1} 、 R^{c1} 和 R^{d1} 的所述 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基任选地被1、2、3、4或5个独立地选自以下的取代基取代：卤基、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 卤代烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 CN 、 OR^{a2} 、 SR^{a2} 、 $\text{C}(\text{O})\text{R}^{b2}$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{NR}^{c2}\text{R}^{d2}$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{OR}^{a2}$ 、 $\text{OC}(\text{O})\text{R}^{b2}$ 、 $\text{OC}(\text{O})\text{NR}^{c2}\text{R}^{d2}$ 、 $\text{NR}^{c2}\text{R}^{d2}$ 、 $\text{NR}^{c2}\text{C}(\text{O})\text{R}^{b2}$ 、 $\text{NR}^{c2}\text{C}(\text{O})\text{NR}^{c2}\text{R}^{d2}$ 、 $\text{NR}^{c2}\text{C}(\text{O})\text{OR}^{a2}$ 、 $\text{C}(=\text{NR}^{e2})\text{NR}^{c2}\text{R}^{d2}$ 、 $\text{NR}^{c2}\text{C}(=\text{NR}^{e2})\text{NR}^{c2}\text{R}^{d2}$ 、 $\text{S}(\text{O})\text{R}^{b2}$ 、 $\text{S}(\text{O})\text{NR}^{c2}\text{R}^{d2}$ 、 $\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{b2}$ 、 $\text{NR}^{c2}\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{b2}$ 、 $\text{NR}^{c2}\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{c2}\text{R}^{d2}$ 和 $\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{c2}\text{R}^{d2}$ ；

[0141] 每个 R^{a2} 、 R^{b2} 、 R^{c2} 和 R^{d2} 独立地选自H、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基，其中 R^{a2} 、 R^{b2} 、 R^{c2} 和 R^{d2} 的所述 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基各自任选地被1、2或3个独立地选自OH、CN、氨基、卤基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 卤代烷基和 C_{1-6} 卤代烷氧基的取代

基取代;

[0142] 每个 R^e 、 R^{e1} 和 R^{e2} 独立地选自H和 C_{1-4} 烷基;

[0143] m为0、1、2、3或4;并且

[0144] n为0或1。

[0145] 在一些实施方案中,L的左手侧连接至 R^1 并且L的右手侧连接至 R^2 。

[0146] 如本文所用,“肽”是指包含由天然存在的氨基酸残基和任选地一个或多个非天然存在的氨基酸组成的10-50个氨基酸序列的靶向部分。在一些实施方案中, R^1 的肽为20至40个、20至30个氨基酸或30至40个残基的肽。适用于本发明化合物的肽为可经由构象变化或二级结构变化响应于环境pH变化而插入穿过细胞膜的那些肽。以此方式,肽可靶向酸性组织并且选择性地使极性、细胞不可渗透的分子易位穿过细胞膜响应于低胞外pH。在一些实施方案中,肽能够选择性地使缀合部分(例如, R^2L -)递送穿过具有pH小于约6.0的酸性或缺氧外套膜的细胞膜。在一些实施方案中,肽能够选择性地使缀合部分(例如, R^2L -)递送穿过具有pH小于约6.5的酸性或缺氧外套膜的细胞膜。在一些实施方案中,肽能够选择性地使缀合部分(例如, R^2L -)递送穿过具有pH小于约5.5的酸性或缺氧外套膜的细胞膜。在一些实施方案中,肽能够选择性地使缀合部分(例如, R^2L -)递送穿过具有pH在约5.0与约6.0之间的酸性或缺氧外套膜的细胞膜。

[0147] 在某些实施方案中, R^1 的肽包括半胱氨酸残基,其可形成与待递送穿过细胞膜的有效负载部分(例如, R^2L -)的连接位点。在一些实施方案中, R^1 经由 R^1 的半胱氨酸残基连接至L。在一些实施方案中,半胱氨酸残基的硫原子可形成含有二硫键的化合物的二硫键的一部分。

[0148] 可基于pH发生构象变化和插入穿过细胞膜的适合肽描述于例如美国专利8,076,451、9,289,508、10,933,069和美国申请公开第2021/0009536号和第2021/0009719号中(其中的每一者整体并入本文)。其他适合肽描述于例如Weerakkody等人,PNAS110(15),5834-5839(2013年4月9日)中,其也通过引用整体并入本文。

[0149] 在一些实施方案中, R^1 为包含以下序列中的至少一者的肽:

[0150] ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG (SEQ ID NO.1;Pv1),

[0151] AEQNPIYWARYADWLFTTPLLDDLALLVDADECG (SEQ ID NO.2;Pv2),和

[0152] ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG (SEQ ID NO.3;Pv3);

[0153] Ac-AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLDDLALLVDADEGTCG (SEQ ID NO.4;Pv4);

[0154] AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLDDLALLVDADEGTC (SEQ ID No.5;Pv5);和

[0155] AAEQNPIYWWARYADWLFTTPLLDDLALLVDADEGTCG (SEQ ID No.6;Pv6);

[0156] 其中 R^1 经由 R^1 的半胱氨酸残基连接至L。

[0157] 在一些实施方案中, R^1 为包含以下序列中的至少一者的肽:

[0158] ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG (SEQ ID NO.1;Pv1),

[0159] AEQNPIYWARYADWLFTTPLLDDLALLVDADECG (SEQ ID NO.2;Pv2),和

[0160] ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG (SEQ ID NO.3;Pv3);和

[0161] AAEQNPIYWWARYADWLFTTPLLDDLALLVDADEGTCG (SEQ ID No.6;Pv6);

[0162] 其中 R^1 经由 R^1 的半胱氨酸残基连接至L。

[0163] 在一些实施方案中, R^1 为包含以下序列的肽:ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG

(SEQ ID NO.1;Pv1)。

[0164] 在一些实施方案中, R^1 为包含以下序列的肽: AEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADECG (SEQ ID NO.2;Pv2)。

[0165] 在一些实施方案中, R^1 为包含以下序列的肽: ADDQNPWAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG (SEQ ID NO.3;Pv3)。

[0166] 在一些实施方案中, R^1 为包含以下序列的肽: Ac - AA EQNP IY WARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG (SEQ ID NO.4;Pv4)。

[0167] 在一些实施方案中, R^1 为包含以下序列的肽: AA EQNP IY WARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTC (SEQ ID NO.5;Pv5)。

[0168] 在一些实施方案中, R^1 为包含以下序列的肽: AA EQNP IY W WARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG (SEQ ID NO.6;Pv6)。

[0169] 在一些实施方案中, R^1 为由以下序列组成的肽: ADDQNPWRA YLDLLFPTDTLLLDLLWCG (SEQ ID NO.1;Pv1)。

[0170] 在一些实施方案中, R^1 为由以下序列组成的肽: AEQNPIYWAR YADWLFTTPLLLLDLALLVDADECG (SEQ ID NO.2;Pv2)。

[0171] 在一些实施方案中, R^1 为由以下序列组成的肽: ADDQNPWRA YLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG (SEQ ID NO.3;Pv3)。

[0172] 在一些实施方案中, R^1 为由以下序列组成的肽: Ac - AA EQNP IY WARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG (SEQ ID NO.4;Pv4)。

[0173] 在一些实施方案中, R^1 为由以下序列组成的肽: AA EQNP IY WARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTC (SEQ ID NO.5;Pv5)。

[0174] 在一些实施方案中, R^1 为由以下序列组成的肽: AA EQNP IY W WARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG (SEQ ID NO.6;Pv6)。

[0175] 在一些实施方案中, R^1 为包含至少一个选自如表1中所示的SEQ ID NO:7至SEQ ID NO:311的序列的肽。

[0176] 在一些实施方案中, R^1 为由选自如表1中所示的SEQ ID NO:7至SEQ ID NO:311的序列组成的肽。

[0177] 表1.其他 R^1 序列

[0178]

SEQ ID NO.	序列
7	AEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGT
8	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGT
9	AEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGT
10	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCTG
11	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCTG
12	ACEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTG
13	ACEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGT
14	AKEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGT
15	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCKG
16	AKEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGT
17	ACEQNPIYWARYANWLFTTPLLALLNLALLVDADEGTG
18	ACEQNPIYWARYAKWLFTTPLLALLKLALLVDADEGTG
19	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDLALLVNANQGT
20	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLALALLVDADEGT
21	AAEQNPIYWARYAAWLFTTPLLALLDLALLVDADEGT
22	AAEQNPIYWARYADWLFTTALLLLDLALLVDADEGT
23	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLLALLVDADEGT
24	AAEQNPIYWARYAEWLFTTPLLALLDLALLVDADEGT
25	AAEQNPIYWARYADWLFTDPLLALLDLALLVDADEGT
26	GEQNPIYWAQYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCTG
27	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCTG
28	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDALLVDADEGTCTG
29	GGEQNPIYWARYDAWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCTG
30	GGEQNPIYWARYAWDLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCTG
31	AAEQNPIYWARYADWLFTTGALLLLDLALLVDADEGT
32	DDDEDNPIYWARYADWLFTTPLLALLHGALLVDADEGT
33	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLALLHGALLVDADEGTCT
34	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLALLHGALLVNADEGT
35	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLALLHGALLVNANECT
36	AEQNPIYWARYADFLFTTPLLALLDLALLVDADET
37	AEQNPIYFARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGT
38	AEQNPIYFARYADFLFTTPLLALLDLALLWDADET
39	AKEDQNPYWARYADWLFTTPLLALLDLALLVDG

[0179]

40	ACEDQNPYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDG
41	AEDQNPYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDCG
42	AEDQNPYWARYADWLFTTPLLLLELALLVECG
43	AKEDQNPYWRAYADLFTPLTLLDLLALWDG
44	ACEDQNPYWRAYADLFTPLTLLDLLALWDG
45	ACDDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLW
46	TEDADVLLALDLLLLPTTFLWD
47	AEQNPIYWARYADWLFTTPL
48	AEQNPIYWARYADWLFTTPCL
49	ACEQNPIYWARYADWLFTTPL
50	AEQNPIYFARYADWLFTTPL
51	KEDQNPWARYADLLFPTTLAW
52	ACEDQNPWARYADLLFPTTLAW
53	ACEDQNPWARYADWLFTTLLLD
54	ACEEQNPWARYAELLFPTTLAW
55	ACEEQNPWARYAEWLFTTLLLE
56	ACEEQNPWARYLEWLFTTETLLEL
57	GGEQNPIY WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGT
58	ACEQNPIY WARYADWLFTTPLLLLDLALLV
59	WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGTCG
60	WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGCT
61	GGEQNPIY WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGTCG
62	ACEQNPIY WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGT
63	AKEQNPIY WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGT
64	AKEQNPIY WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADECT
65	AAEQNPIY WARYADWLFTTALLLLDLALLV DADEGT
66	ACAEQNPIY WARYADWLFTTGLLLLDLALLV DADEGT
67	AEQNPIY WARYADFLFTTALLLLDLALLV DADE_T
68	AEQNPIY FARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGT
69	AEQNPIY FARYADFLFTTPLLLLDLALLW DADE_T
70	AKEDQNP_Y WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DG
71	ACEDQNP_Y WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DG
72	AEDQNP_Y WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DG
73	AEDQNP_Y WARYADWLFTTPLLLLELALLV ECG
74	AKEDQNP_Y WRAYAD_LFT_PLTLLDLLALW DG
75	ACEDQNP_Y WRAYAD_LFT_PLTLLDLLALW DG
76	AKEDQNDP_Y WARYADWLFTTPLLLLDLALLV G
77	TEDADVLLALDLLLLPTTFLW DAYRAWYPNQECA
78	GGEQNPIY WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGT
79	AEQNPIY WARYADWLFTTPL
80	AEQNPIY WARYADWLFTTPCL

[0180]

81	ACEQNPIY WARYADWLFTTPL
82	ACEQNPIY FARYADWLFTTPL
83	ACDDQNP WRAYLDLLFPTDTLLLDLLW
84	ACEEQNP WRAYLELLFPTETLLLELLW
85	ACDDQNP WARYLDWLFTPTDTLLLDL
86	CDNNNP WRAYLDLLFPTDTLLLDW
87	ACEEQNP WARYLEWLFTPTETLLLEL
88	ACEDQNP WARYADWLFTPTLLLLD
89	ACEEQNP WARYAEWLFTPTLLLLE
90	ACEDQNP WARYADLLFPTTLAW
91	ACEDQNP WARYAELLFPTTLW
92	KEDQNP WARYADLLFPTTLW
93	DDDEDNP IYWARYAHWLFTTPLLLLLHGALLVDADECT
94	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLLLLDGALLVDADECT
95	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLLLLHGALLVNADECT
96	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLLLLHGALLVNANECT
97	DDDEDNPIYWARYADWLFTTPLLLLLHGALLVDADECT
98	ACEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLLDLALLVDADEGIG
99	ACEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLLDLALLVDADET
100	ACEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLLDLALLVDADEGT
101	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
102	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLLDALLVDADEGTCG
103	GGEQNPIYWARYAWDLFTTPLLLLLDLALLVDADEGTCG
104	AAEQNPIYWARYAEWLFTTPLLLLLDLALLVDADEGTCG
105	AAEQNPIYWARYAEWLFTTPLLLLLELALLVDADEGTCG
106	GGEQNPIYWARYDAWLFTTPLLLLLDLALLVDADEGTCG
107	GGEQNPIYWAQYDAWLFTTPLLLLLDLALLVDADEGTCG
108	GGEQNPIYWAQDYAWLFTTPLLLLLDLALLVDADEGTCG
109	AAEQNPIYWARYAAWLFTTPLLLLLDLALLVDADEGTCG
110	ACEQNPIYWARYANWLFTTPLLLLLNLALLVDADEGTG
111	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLLLLHGALLVNANECT
112	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLLLLHGALLVNADECT
113	DDDEDNPIYWARYADWLFTTPLLLLLHGALLVDADECT
114	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLLLLHGALLVDADECT
115	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLLLLDGALLVDADECT
116	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLLDLALLVNANQGT
117	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLLELALLVDADEGTCG
118	AAEQNPIYWARYAEWLFTTPLLLLLELALLVDADEGTCG
119	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLLELALLVDADEGTKC G
120	GGEQNPIYWAQYADWLFTTPLLLLLDLALLVDADEGTCG
121	GGEQNPIYWAQYDAWLFTTPLLLLLDLALLVDADEGTCG

[0181]

122	GGEQNPIYWAWQDYAWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCG
123	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDALLVNANQGT
124	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLALLHGALLVNADECT
125	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLALLHGALLVNANECT
126	ACEQNPIYWARYAKWLFTTPLLALLKLALLVDADEGTG
127	GGEQNPIYWAWQDYAWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCG
128	GGEQNPIYWAWQYDAWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCG
129	GGEQNPIYWAWQYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCG
130	AAEQNPIYWARYAAWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCG
131	AAEQNPIYWARYADWLFTDLPLLALLDLALLVDADEGT
132	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDALLVDADEGTCG
133	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCG
134	AAEQNPIYWARYADWLFTTGLLLALLDLALLVDADEGT
135	AEQNPIYWARYAAWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCG
136	GGEQNPIYWAWQYDAWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCG
137	GGEQNPIYWAWQDYAWLFTTPLLALLDLALLDADEGTCG
138	GGEQNPIYWARYDAWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCG
139	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLALALLVDADEGTCG
140	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCG G EGTK(罗丹明)C(鬼笔环肽)G
141	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLLELALLDADEGTCG
142	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCG
143	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTC(鬼笔环肽)G
144	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCG
145	ACEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADET
146	ACEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTG
147	ACEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGT
148	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDLALLVNANQGT
149	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLALLHGALLVNADECT
150	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLALLHGALLVNANECT
151	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCG
152	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTC(鬼笔环肽)G
153	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLLELALLVDADEGTCG
154	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCG
155	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLALLBGALLVNADECT
156	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLALLDGALLVNADECT
157	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLALLBGALLVNADECT

[0182]

158	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLILBGALLVNANECT
159	DDDEDNPIYWARYADWLFTTPLLILBGALLVDADECT
160	DDDEDNPIYWARYADWTFTTPLLILHGALLVDADECT
161	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLILDGALLVDADECT
162	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLILHGALLVDADECT
163	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLILHGALLVNADECT
164	DDDEDNPIYWARYHWLFTTPLLILHGALLVNANECT
165	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLILHGALLVNANECT
166	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLILHGALLVNADECT
167	DDDEDNPIYWARYADWLFTTPLLILHGALLVDADECT
168	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLILHGALLVDADECT
169	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLILDGALLVDADECT
170	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLILDLALLVNANQGT
171	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLILHGALLVNADECT
172	DDDEDNPIYWARYADWLFTTPLLILHGALLVDADECT
173	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLILHGALLVDADECT
174	DDDEDNPIYWARYAHMLFTTPLLILDGALLVDADECT
175	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLILHGALLVNANECT
176	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLILDGALLVDADECT
177	DDDEDNPIYWARYADWLFTTPLLILHGALLVDADECT
178	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLILHGALLVDADECT
179	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLILHGALLVNADECT
180	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLILHGALLVNANECT
181	AAEQNPIYWARYADWLFTTGLLLILDLALLVDADEGT
182	GGEQNPIYWARYAWDLFTTPLLILDLALLVDADEGTCTG
183	GGEQNPIYWARYDAWLFTTPLLILDLALLVDADEGTCTG
184	GGEQNPIYWAQYDAWLFTTPLLILDLALLVDADEGTCTG
185	GGEQNPIYWAQDYAWLFTTPLLILDLALLVDADEGTCTG
186	AAEQNPIYWARYAAWLFTTPLLILDLALLVDADEGTCTG
187	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLILDALLVDADEGTCTG
188	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLILDLLALLVDADEGTCTG
189	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLILDLLALLVDADEGTCTG
190	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLILLDALLVDADEGTCTG
191	GGEQNPIYWAQYADWLFTTPLLILDLALLVDADEGTCTG
192	GGEQNPIYWAQYDAWLFTTPLLILDLALLVDADEGTCTG
193	GGEQNPIYWAQDYAWLFTTPLLILDLALLVDADEGTCTG
194	GGEQNPIYWAQYDAWLFTTPLLILDLALLVDADEGTCTG
195	GGEQNPIYWAQDYAWLFTTPLLILDLALLVDADEGTCTG
196	GGEQNPIYWAQYADWLFTTPLLILDLALLVDADEGTCTG
197	AAEQNPIYWARYAAWLFTTPLLILDLALLVDADEGTCTG
198	GGEQNPIYWAQDYAWLFTTPLLILDLALLVDADEGTCTG
199	GGEQNPIYWAQYDAWLFTTPLLILDLALLVDADEGTCTG

[0183]

200	GGEQNPIYWAQYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
201	AAEQNPIYWARYAAWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
202	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLELALLVDADEGTCG
203	EGTK(罗丹明)C(鬼笔环肽)G
204	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
205	ACEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTG
206	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTC(鬼笔环肽)G
207	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
208	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLELALLVDADEGTCG
209	AAEQNPIYWARYADWLFTDPLLLLDLALLVDADEGT
210	AAEQNPIYWARYAAWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
211	GGEQNPIYWAQYDAWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
212	GGEQNPIYWAQDYAWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
213	GGEQNPIYWARYDAWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
214	AAEQNPIYWARYAEWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
215	AAEQNPIYWARYAEWLFTTPLLLLELALLVDADEGTCG
216	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLALALLVDADEGTCG
217	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLELALLVDADEGTCG
218	AAEQNPIYWARYAEWLFTTPLLLLELALLVDADEGTCG
219	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLELALLVDADEGTCG
220	ACEQNPIYWARYAKWLFTTPLLLKLALLVDADEGTG
221	ACEQNPIYWARYANWLFTTPLLLNLALLVDADEGTG
222	AAEQNPIYWARYADWLFTTALLLLDLALLVDADEGT
223	AEQNPIYFARYADLLFPTTLAW
224	AEQNPIYWARYADLLFPTTLAF
225	AEQNPIYWARYADLLFPTTLAW
226	ACEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADET
227	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGT
228	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
229	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
230	AKEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADECT
231	CCTCTTACCTCAGTTACA
232	D-Arg8 D-Arg8-CCTCTTACCTCAGTTACA
233	D-Lys4 D-Lys4-CCTCTTACCTCAGTTACA

[0184]

234	S-S-CCTCTTACCTCAGTTACA
235	S-S-CCTCTGACCTCATTTACA
236	D-Arg8-Deca D-Arg8-Deca-CCTCTTACCTCAGTTACA
237	D-Arg8-Deca-错配 D-Arg8-Deca-CCTCTGACCTCATTTACA
238	S-S-CCTCTTACCTCAGTTACA
239	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
240	AEDQNPYWARYDWLFTTPLLLLDLALLVDCG
241	AEDQNPYWARYADWLFTTPLLLLELALLVECG
242	AEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGCT
243	ACEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADET
244	AE-QN-PI YWARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGT-COOH
245	AEDQN-P- YWARYADWLFTTPLLLLDLALLV D---G--COOH
246	AEDQNDP-YWARYADWLFTTPLLLLDLALLV----G--COO H
247	AEQNPI YWARYADFLFTTPLLLLDLALLV DADET-COOH
248	AEQNPI YFARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADET-COOH
249	AEQNPI YFARYADFLFTTPLLLLDLALLW DADET-COOH
250	AE-QN-PI YWARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGCT-COOH
251	AEDQN-PI YWARYADWLFTTPLLLLDLALLV DC--G-T-COOH
252	AEDQNDPI YWARYADWLFTTPLLLLELALLV EC--G-T-COOH
253	螯合剂-ACEEQNPWARYLEWLFPTETLLEL
254	AEQNPIY WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGT-COOH
255	AKEDQNPY WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DG-COOH
256	AKEDQNDPY WARYADWLFTTPLLLLDLALLV G-COOH
257	AEQNPI YWARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGC-生 物素-T-COO H
258	AEDQNP YWARYADWLFTTPLLLLDLALLV DC-生物素 -G-COOH
259	AEDQNP YWARYADWLFTTPLLLLELALLV EC-生物素 -G-COOH
260	ACEQNPIY WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGT
261	ACEDQNPY WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DG
262	ACEDQNPY WRAYADLFTPLTLLDLLALW DG

[0185]

263	ACDDQNP WRAYLDLLFPTDTLLLDLLW
264	WRAYLELLFPTETLLELLW
265	WARYLDWLFPTDTLLLDL
266	WRAYLDLLFPTDTLLLDW
267	WARYLEWLFPTETLLEL
268	WAQYLELLFPTETLLEW
269	WRAYLELLFPTETLLEW
270	WARYADWLFPTTLLLD
271	WARYAEWLFPTTLLLE
272	ACEDQNP WARYADLLFPTTLAW
273	ACEEQNP WARYAELLFPTTLAW
274	Ac-TEDAD VLLALDLLLLPTTFLWDAYRAW YPNQECA-Am
275	CDDDDDDNPY WARYANWLFTTPLLLNGALLV EAEET
276	CDDDDDDNPY WARYAPWLFTTPLLLPGALLV EAEET
277	Ac-AEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLALLVDADEGCT
278	Ac-AEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLALLVDADEGT G
279	ACEQNPIYWARYANWLFTTPLLLNLALLVDADEGT
280	Ac-AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLELALLVDADEGT KCG
281	DDDEDNPIYWARYADWLFTTPLLLHGALLVDADET
282	CDDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLLHGALLVDADET
283	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLLHGALLVDADEGT
284	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLLHGALLVNADEGT
285	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLLHGALLVNANEGT
286	AKEDQNDPYWARYADWLFTTPLLLDLALLVG
287	AEDQNPYWARYADWLFTTPLLLELALLVCG
288	AKDDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWC
289	ACEEQNPWRAYLELLFPTETLLELLW
290	ACDDQNPWARYLDWLFPTDTLLLDL
291	CDNNNPWRAYLDLLFPTDTLLLDW
292	CEEQQPWAQYLELLFPTETLLEW
293	EEQQPWRAYLELLFPTETLLEW
294	CDDDDDDNPY WARYANWLFTTPLLLNGALLVEAEET
295	CDDDDDDNPY WARYAPWLFTTPLLLPGALLVEAEE
296	AEQNPIYFARYADLLFPTTLAW
297	AEQNPIYWARYADLLFPTTLAF
298	AEQNPIYWARYADLLFPTTLAW
299	KEDQNPWARYADLLFPTTLW
300	ACEEQNPQAEYAEWLFPTTLLLE
301	AAEEQNPWARYLEWLFPTETLLEL

[0186]	302	AKEEQNPWARYLEWLFTETLLLEL
	303	AAEQNPYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTGG
	304	XXEXNPYWAXXXXXLFTXXLLLXXXALLVXAXXXTX G
	305	DAAEQNPYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEG TKGG
	306	GGEQNPYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTGG
	307	XXEXNPYWAXXXXXLFTXXLLLXXXALLVXAXXXTG G
	308	DGGEQNDPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADE GCTXGG
	309	AAEQNPYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
	310	AEDQNPYWARYDWLFTTPLLLLDLALLVDCG
	311	GLAGLAGLLGLEGLLGLPLGLLEGLWLGLELEGN

[0187] 通过用半胱氨酸置换非半胱氨酸残基或将半胱氨酸残基附加至N端或C端,可用于本发明中的所述肽中的任一者可经修饰以包括半胱氨酸残基。

[0188] 在一些实施方案中, R^1 的肽为构象受限的肽。构象受限的肽可包括例如巨环肽和订书肽(stapled peptide)。订书肽为由两个氨基酸侧链之间的共价键约束从而形成肽巨环的肽。构象受限的肽描述于例如Guerlavais等人,Annual Reports in Medicinal Chemistry 2014,49,331-345;Chang等人,Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (2013),110(36),E3445-E3454;Tesauro等人,Molecules 2019,24,351-377;Dougherty等人,Journal of Medicinal Chemistry (2019),62(22),10098-10107;和Dougherty等人,Chemical Reviews (2019),119(17),10241-10287中,其中的每一者通过引用整体并入本文。

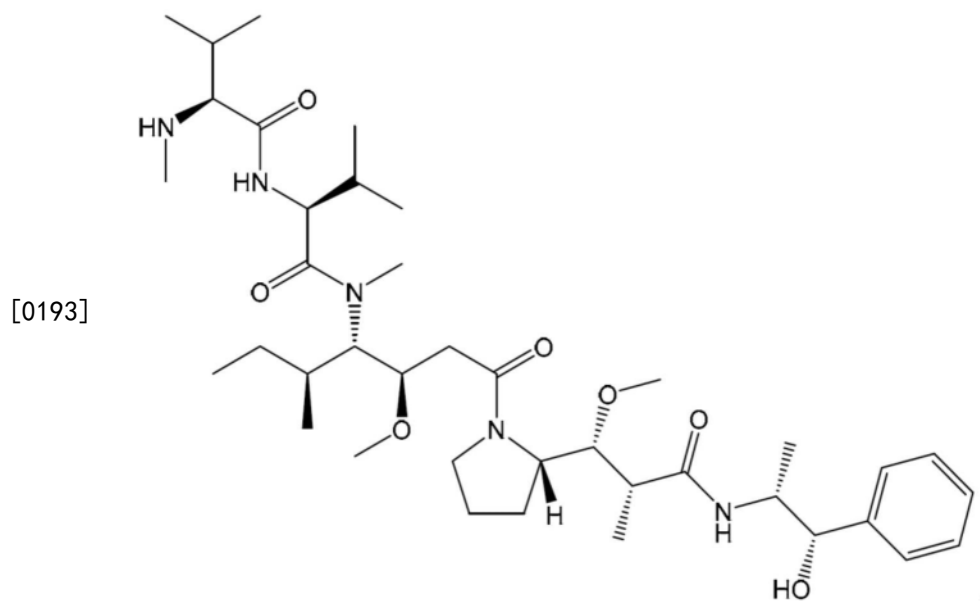
[0189] 在一些实施方案中, R^1 为具有10至50个氨基酸的肽。在一些实施方案中, R^1 为具有20至40个氨基酸的肽。在一些实施方案中, R^1 为具有20至40个氨基酸的肽。在一些实施方案中, R^1 为具有10至20个氨基酸的肽。在一些实施方案中, R^1 为具有20至30个氨基酸的肽。在一些实施方案中, R^1 为具有30至40个氨基酸的肽。

[0190] 术语“肽微管蛋白抑制剂”(例如 R^2)是指包含至少两个氨基酸并且为微管蛋白聚合抑制剂的化合物。在一些实施方案中,所述肽微管蛋白抑制剂为小分子肽微管蛋白抑制剂。在一些实施方案中,所述肽微管蛋白抑制剂小于1500Da。在一些实施方案中,所述肽微管蛋白抑制剂为奥瑞他汀化合物、尾海兔素(dolastatin)、或特吡莱辛(tubulysin),或其衍生物。

[0191] 适合的奥瑞他汀化合物(例如 R^2)包括展示抗微管蛋白活性(例如抑制微管蛋白聚合)的奥瑞他汀衍生物。奥瑞他汀化合物是本领域中已知的并且已用作抗体-药物缀合物的一部分。参见例如S.O.Doronina和P.D.Senter,Cytotoxic Payloads for Antibody-Drug Conjugates (Royal Society for Chemistry,2019),第4章:Auristatin Payloads for Antibody-Drug Conjugates,第73-99页;N.Joubert,A.Beck,C.Dumontet,C.Denevault-Sabourin,Pharmaceuticals,2020,13,245;J.D.Bargh,A.Isidrio-Llobet,J.S.Parker,D.R.Spring,Chem.Soc.Rev.,2019,48,4361-4374;和Kostova,V.,Désos,P.,Starck,J.-

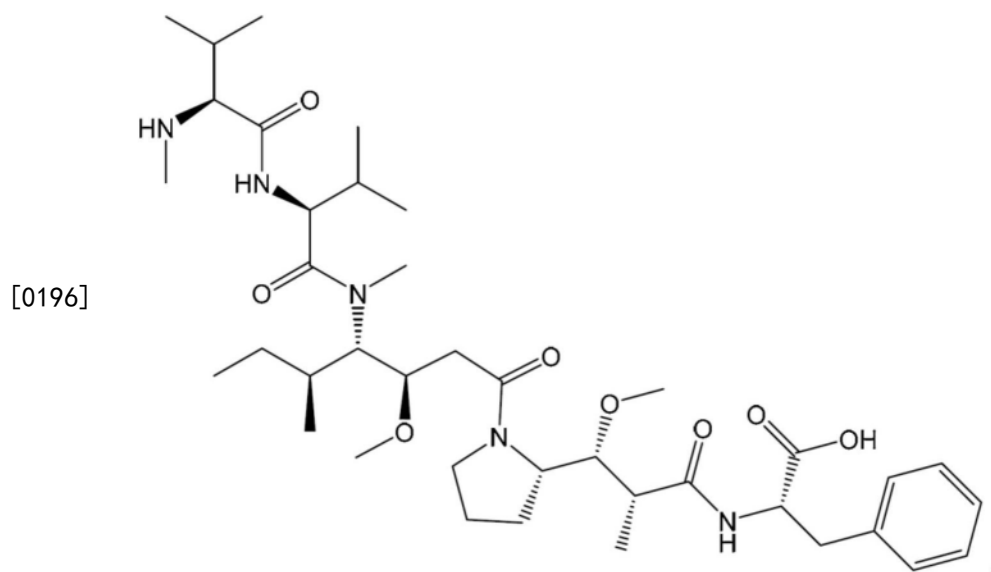
B., Kotschy, A, The Chemistry Behind ADCs, Pharmaceuticals 2021, 14, 442; Mckertish 等人, Biomedicines, 2021, 9(8):872, 第1-25页, 其中的每一者通过引用整体并入本文。

[0192] 在一些实施方案中, 奥瑞他汀为单甲基奥瑞他汀。存在两种主要类别的奥瑞他汀: 单甲基奥瑞他汀E型分子和单甲基奥瑞他汀F化合物。单甲基奥瑞他汀E的结构示于下文:



[0194] 单甲基奥瑞他汀E也可称为“MMAE”。

[0195] 单甲基奥瑞他汀F的结构示于下文:

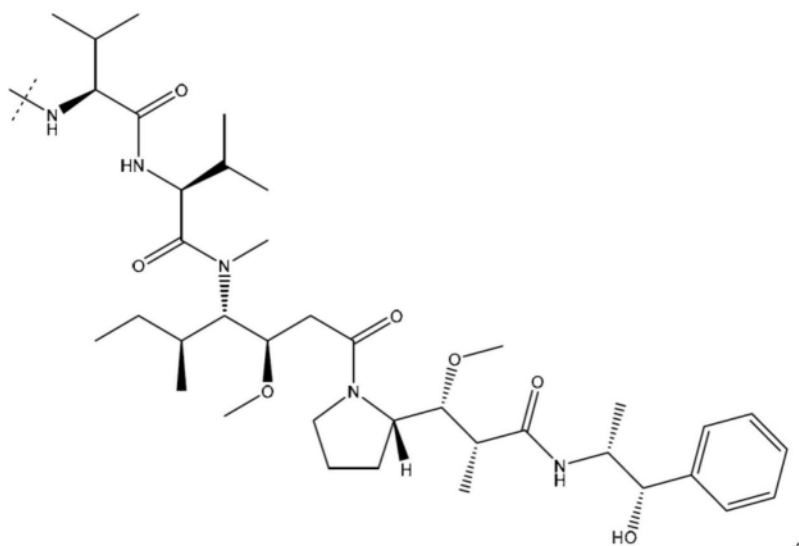


[0197] 单甲基奥瑞他汀F也可称为“MMAF”。

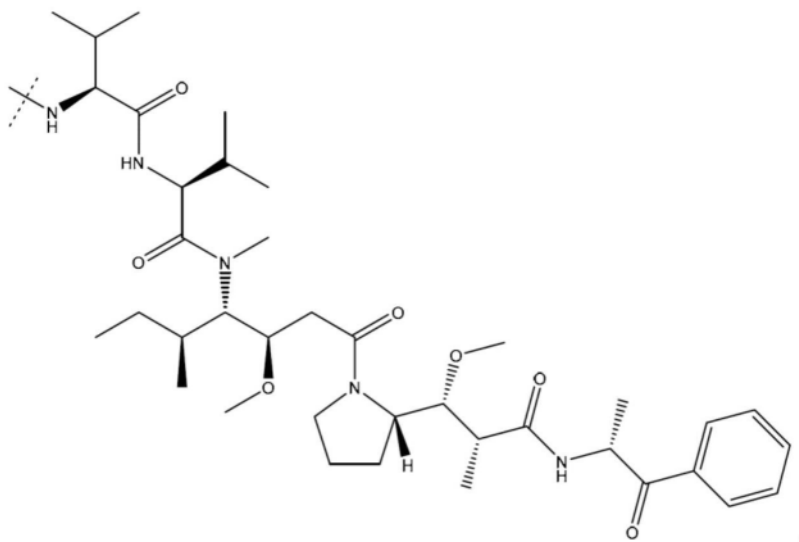
[0198] 在一些实施方案中, R^2 为单甲基奥瑞他汀化合物的基团。

[0199] 在一些实施方案中, R^2 为单甲基奥瑞他汀E的基团。

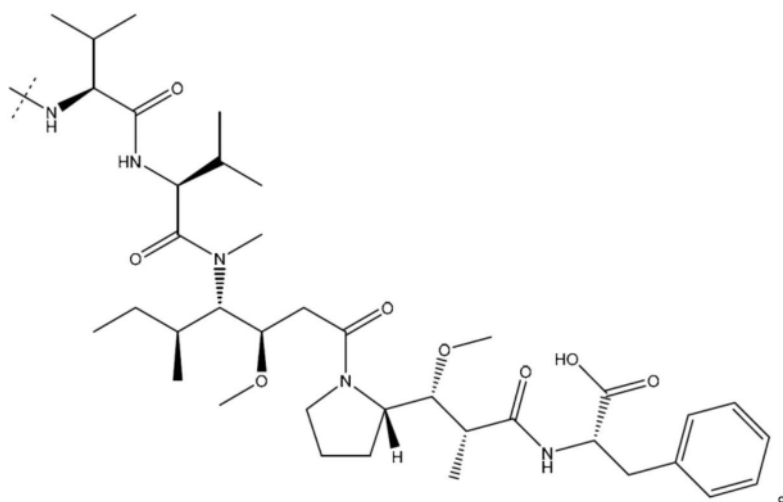
[0200] 在一些实施方案中, R^2 为单甲基奥瑞他汀F的基团。在一些实施方案中, R^2 具有以下结构:



[0202] 在一些实施方案中, R^2 具有以下结构:

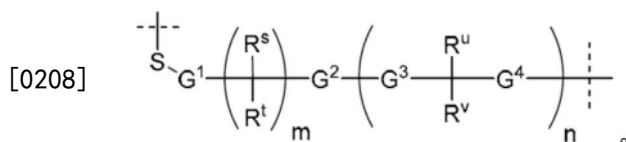


[0204] 在一些实施方案中, R^2 具有以下结构:

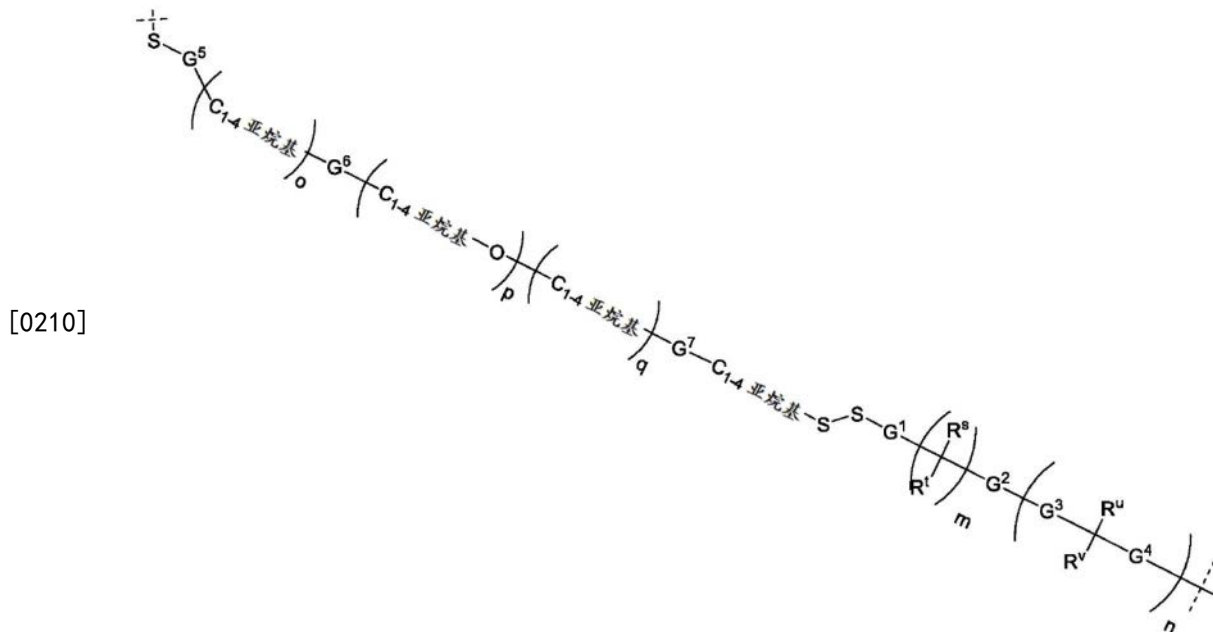


[0206] 在一些实施方案中,L为共价连接R¹和R²的连接部分,并且用以在酸性或缺氧组织附近(例如在患病组织的细胞内部)释放含有R²的部分。

[0207] 在一些实施方案中,L为具有以下结构的接头:



[0209] 在一些实施方案中,L为具有以下结构的接头:



[0211] 在一些实施方案中, G^1 选自键、 C_{6-10} 芳基、 C_{3-14} 环烷基、5-14元杂芳基和4-14元杂环烷基。在一些实施方案中, G^1 选自键、 C_{6-10} 芳基和 C_{3-14} 环烷基。在一些实施方案中, G^1 选自 C_{6-10} 芳基和 C_{3-14} 环烷基。

[0212] 在一些实施方案中, G^1 选自键和 C_{3-14} 环烷基。

[0213] 在一些实施方案中, G^1 为键。

[0214] 在一些实施方案中, G^1 选自键、苯基和 C_{4-6} 环烷基。在一些实施方案中, G^1 选自苯基和 C_{4-6} 环烷基。

[0215] 在一些实施方案中, G^1 为 C_{3-14} 环烷基。

[0216] 在一些实施方案中, G^1 为环戊基或环己基,其中所述环戊基和环己基各自任选地与苯基稠合。

[0217] 在一些实施方案中, G^1 为苯基。

[0218] 在一些实施方案中, G^1 为环戊基、环己基或苯基,其中所述环戊基和环己基各自任选地与苯基稠合。

[0219] 在一些实施方案中,每个 R^s 和 R^t 独立地选自H和 C_{1-6} 烷基。

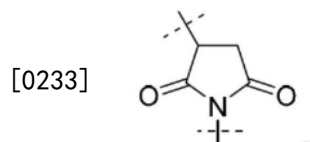
[0220] 在一些实施方案中,每个 R^s 和 R^t 独立地选自H和异丙基。在一些实施方案中,每个 R^s 和 R^t 独立地选自H、甲基和异丙基。

[0221] 在一些实施方案中, R^s 和 R^t 与其所连接的C原子一起形成 C_{4-6} 环烷基。

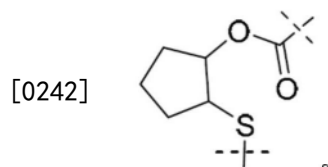
[0222] 在一些实施方案中, R^s 和 R^t 与其所连接的C原子一起形成环丁基环。

[0223] 在一些实施方案中,m为0、1或2。在一些实施方案中,m为0。在一些实施方案中,m为1。在一些实施方案中,m为2。

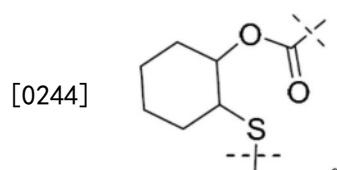
- [0224] 在一些实施方案中, G^2 选自 $-\text{OC}(\text{O})-$ 和 $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}^{\text{G}}-$ 。
- [0225] 在一些实施方案中, G^2 为 $-\text{OC}(\text{O})-$ 。
- [0226] 在一些实施方案中, G^3 选自 C_{6-10} 芳基和 5-14 元杂芳基。
- [0227] 在一些实施方案中, G^3 为 C_{6-10} 芳基。
- [0228] 在一些实施方案中, G^3 为苯基。
- [0229] 在一些实施方案中, R^{U} 和 R^{V} 各自为 H。
- [0230] 在一些实施方案中, G^4 为 $-\text{OC}(\text{O})-$ 。
- [0231] 在一些实施方案中, G^5 为 4-14 元杂环烷基, 其中 G^5 的所述 4-14 元杂环烷基任选地被 1、2、3、4 或 5 个独立地选自以下的取代基取代: 卤基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 卤代烷基、 CN 、 NO_2 、 OR^{a} 、 SR^{a} 、 $\text{C}(\text{O})\text{R}^{\text{b}}$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{NR}^{\text{c}}\text{R}^{\text{d}}$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{OR}^{\text{a}}$ 、 $\text{OC}(\text{O})\text{R}^{\text{b}}$ 、 $\text{OC}(\text{O})\text{NR}^{\text{c}}\text{R}^{\text{d}}$ 、 $\text{C}(=\text{NR}^{\text{e}})\text{NR}^{\text{c}}\text{R}^{\text{d}}$ 、 $\text{NR}^{\text{c}}\text{C}(=\text{NR}^{\text{e}})\text{NR}^{\text{c}}\text{R}^{\text{d}}$ 、 $\text{NR}^{\text{c}}\text{R}^{\text{d}}$ 、 $\text{NR}^{\text{c}}\text{C}(\text{O})\text{R}^{\text{b}}$ 、 $\text{NR}^{\text{c}}\text{C}(\text{O})\text{OR}^{\text{a}}$ 、 $\text{NR}^{\text{c}}\text{C}(\text{O})\text{NR}^{\text{c}}\text{R}^{\text{d}}$ 、 $\text{NR}^{\text{c}}\text{S}(\text{O})\text{R}^{\text{b}}$ 、 $\text{NR}^{\text{c}}\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{\text{b}}$ 、 $\text{NR}^{\text{c}}\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{\text{c}}\text{R}^{\text{d}}$ 、 $\text{S}(\text{O})\text{R}^{\text{b}}$ 、 $\text{S}(\text{O})\text{NR}^{\text{c}}\text{R}^{\text{d}}$ 、 $\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{\text{b}}$ 和 $\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{\text{c}}\text{R}^{\text{d}}$, 其中 G^5 的所述 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基取代基任选地被 1、2 或 3 个独立地选自以下的取代基取代: CN 、 NO_2 、 OR^{a} 、 SR^{a} 、 $\text{C}(\text{O})\text{R}^{\text{b}}$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{NR}^{\text{c}}\text{R}^{\text{d}}$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{OR}^{\text{a}}$ 、 $\text{OC}(\text{O})\text{R}^{\text{b}}$ 、 $\text{OC}(\text{O})\text{NR}^{\text{c}}\text{R}^{\text{d}}$ 、 $\text{C}(=\text{NR}^{\text{e}})\text{NR}^{\text{c}}\text{R}^{\text{d}}$ 、 $\text{NR}^{\text{c}}\text{C}(=\text{NR}^{\text{e}})\text{NR}^{\text{c}}\text{R}^{\text{d}}$ 、 $\text{NR}^{\text{c}}\text{R}^{\text{d}}$ 、 $\text{NR}^{\text{c}}\text{C}(\text{O})\text{R}^{\text{b}}$ 、 $\text{NR}^{\text{c}}\text{C}(\text{O})\text{OR}^{\text{a}}$ 、 $\text{NR}^{\text{c}}\text{C}(\text{O})\text{NR}^{\text{c}}\text{R}^{\text{d}}$ 、 $\text{NR}^{\text{c}}\text{S}(\text{O})\text{R}^{\text{b}}$ 、 $\text{NR}^{\text{c}}\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{\text{b}}$ 、 $\text{NR}^{\text{c}}\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{\text{c}}\text{R}^{\text{d}}$ 、 $\text{S}(\text{O})\text{R}^{\text{b}}$ 、 $\text{S}(\text{O})\text{NR}^{\text{c}}\text{R}^{\text{d}}$ 、 $\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{\text{b}}$ 和 $\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{\text{c}}\text{R}^{\text{d}}$ 。
- [0232] 在一些实施方案中, G^5 为以下基团:



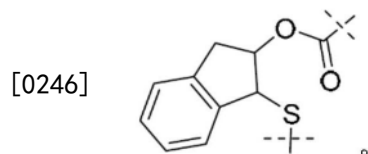
- [0234] 在一些实施方案中, G^6 为 $-\text{NR}^{\text{G}}\text{C}(\text{O})-$ 。
- [0235] 在一些实施方案中, G^7 为 $-\text{NR}^{\text{G}}\text{C}(\text{O})-$ 。
- [0236] 在一些实施方案中, n 为 0。在一些实施方案中, n 为 1。
- [0237] 在一些实施方案中, o 为 0。在一些实施方案中, o 为 1。
- [0238] 在一些实施方案中, p 为 2、3、4 或 5。在一些实施方案中, p 为 3、4 或 5。在一些实施方案中, p 为 3。在一些实施方案中, p 为 4。在一些实施方案中, p 为 5。
- [0239] 在一些实施方案中, q 为 0。在一些实施方案中, q 为 1。
- [0240] 在一些实施方案中, 每个 R^{G} 独立地选自 H 和甲基。在一些实施方案中, 每个 R^{G} 为 H。在一些实施方案中, 每个 R^{G} 为甲基。
- [0241] 在一些实施方案中, L 具有以下结构:



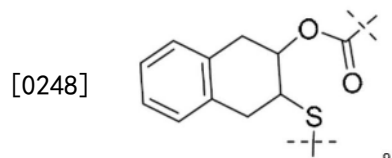
- [0243] 在一些实施方案中, L 具有以下结构:



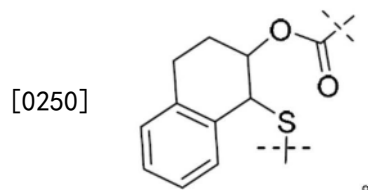
[0245] 在一些实施方案中,L具有以下结构:



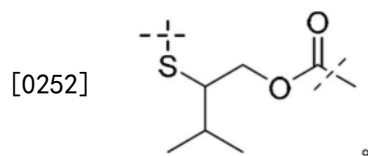
[0247] 在一些实施方案中,L具有以下结构:



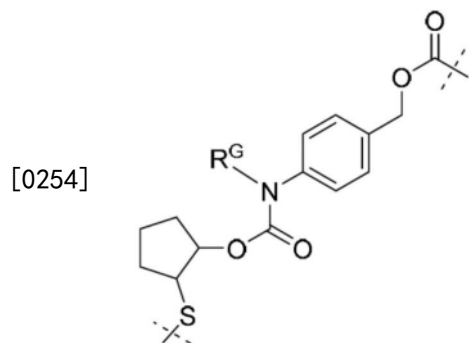
[0249] 在一些实施方案中,L具有以下结构:



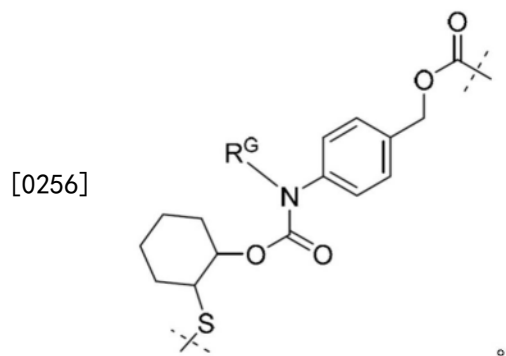
[0251] 在一些实施方案中,L具有以下结构:



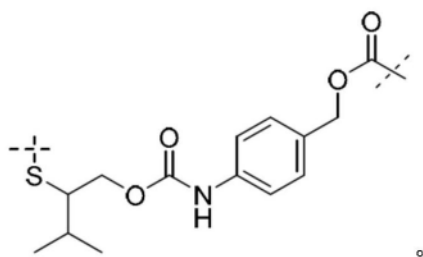
[0253] 在一些实施方案中,L具有以下结构:



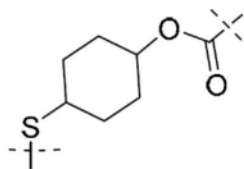
[0255] 在一些实施方案中,L具有以下结构:



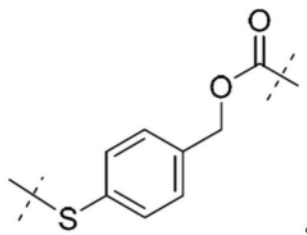
[0257] 在一些实施方案中,L具有以下结构:



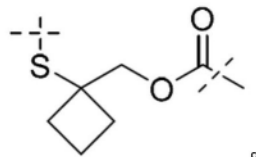
[0258] 在一些实施方案中,L具有以下结构:



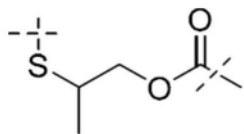
[0259] 在一些实施方案中,L具有以下结构:



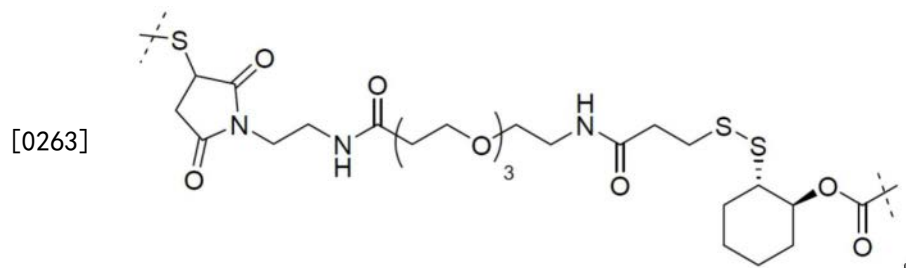
[0260] 在一些实施方案中,L具有以下结构:



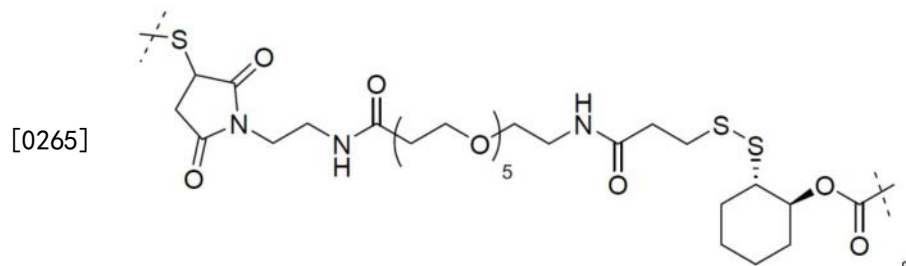
[0261] 在一些实施方案中,L具有以下结构:



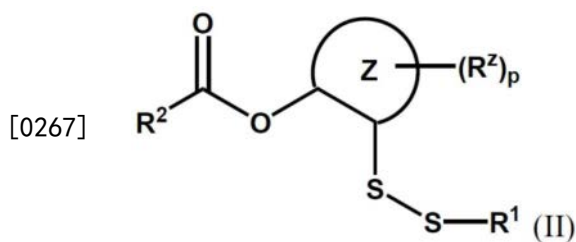
[0262] 在一些实施方案中,L具有以下结构:



[0264] 在一些实施方案中,L具有以下结构:



[0266] 在一些实施方案中,本发明的化合物为一种式(II)化合物:



[0268] 或其药学上可接受的盐,其中:

[0269] R^1 为肽;

[0270] R^2 为肽微管蛋白抑制剂的基团;

[0271] 环Z为单环 C_{5-7} 环烷基环或单环5-7元杂环烷基环;

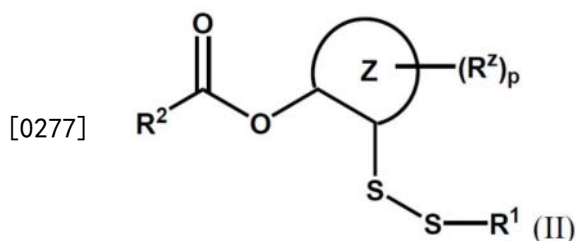
[0272] 每个 R^Z 独立地选自卤基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 卤代烷基、CN、 NO_2 、 OR^a 、 SR^a 、 $C(O)R^b$ 、 $C(O)NR^cR^d$ 、 $C(O)OR^a$ 、 $OC(O)R^b$ 、 $OC(O)NR^cR^d$ 、 NR^cR^d 、 $NR^cC(O)R^b$ 、 $NR^cC(O)OR^a$ 和 $NR^cC(O)NR^cR^d$;

[0273] 或两个相邻 R^Z 与其所连接的原子一起形成稠合单环 C_{5-7} 环烷基环、稠合单环5-7元杂环烷基环、稠合 C_{6-10} 芳环或稠合6-10元杂芳环,其中的每一者任选地被1、2或3个独立地选自以下的取代基取代: C_{1-6} 烷基、卤基、CN、 NO_2 、 OR^a 、 SR^a 、 $C(O)R^b$ 、 $C(O)NR^cR^d$ 、 $C(O)OR^a$ 、 $OC(O)R^b$ 、 $OC(O)NR^cR^d$ 、 NR^cR^d 、 $NR^cC(O)R^b$ 、 $NR^cC(O)OR^a$ 和 $NR^cC(O)NR^cR^d$;

[0274] R^a 、 R^b 、 R^c 和 R^d 各自独立地选自H、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基、 C_{2-4} 炔基,各自任选地被1、2或3个独立地选自以下的取代基取代:卤基、OH、CN和 NO_2 ;并且

[0275] p为0、1、2或3。

[0276] 在一些实施方案中,本发明的化合物为一种式(II)化合物:



[0278] 或其药学上可接受的盐,其中:

[0279] R^1 为肽;

[0280] R^2 为奥瑞他汀化合物的基团;

[0281] 环Z为单环 C_{5-7} 环烷基环或单环5-7元杂环烷基环;

[0282] 每个 R^Z 独立地选自卤基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 卤代烷基、CN、 NO_2 、 OR^a 、 SR^a 、 $C(O)R^b$ 、 $C(O)NR^cR^d$ 、 $C(O)OR^a$ 、 $OC(O)R^b$ 、 $OC(O)NR^cR^d$ 、 NR^cR^d 、 $NR^cC(O)R^b$ 、 $NR^cC(O)OR^a$ 和 $NR^cC(O)NR^cR^d$;

[0283] 或两个相邻 R^Z 与其所连接的原子一起形成稠合单环 C_{5-7} 环烷基环、稠合单环5-7元杂环烷基环、稠合 C_{6-10} 芳环或稠合6-10元杂芳环,其中的每一者任选地被1、2或3个独立地选自以下的取代基取代: C_{1-6} 烷基、卤基、CN、 NO_2 、 OR^a 、 SR^a 、 $C(O)R^b$ 、 $C(O)NR^cR^d$ 、 $C(O)OR^a$ 、 $OC(O)R^b$ 、 $OC(O)NR^cR^d$ 、 NR^cR^d 、 $NR^cC(O)R^b$ 、 $NR^cC(O)OR^a$ 和 $NR^cC(O)NR^cR^d$;

[0284] R^a 、 R^b 、 R^c 和 R^d 各自独立地选自H、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基、 C_{2-4} 炔基,各自任选地被1、2或3个独立地选自以下的取代基取代:卤基、OH、CN和 NO_2 ;并且

[0285] p为0、1、2或3。

[0286] 在式(II)化合物的一些实施方案中, R^1 为包含SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3的序列的肽。

[0287] 在式(II)化合物的一些实施方案中, R^1 为Pv1、Pv2或Pv3。

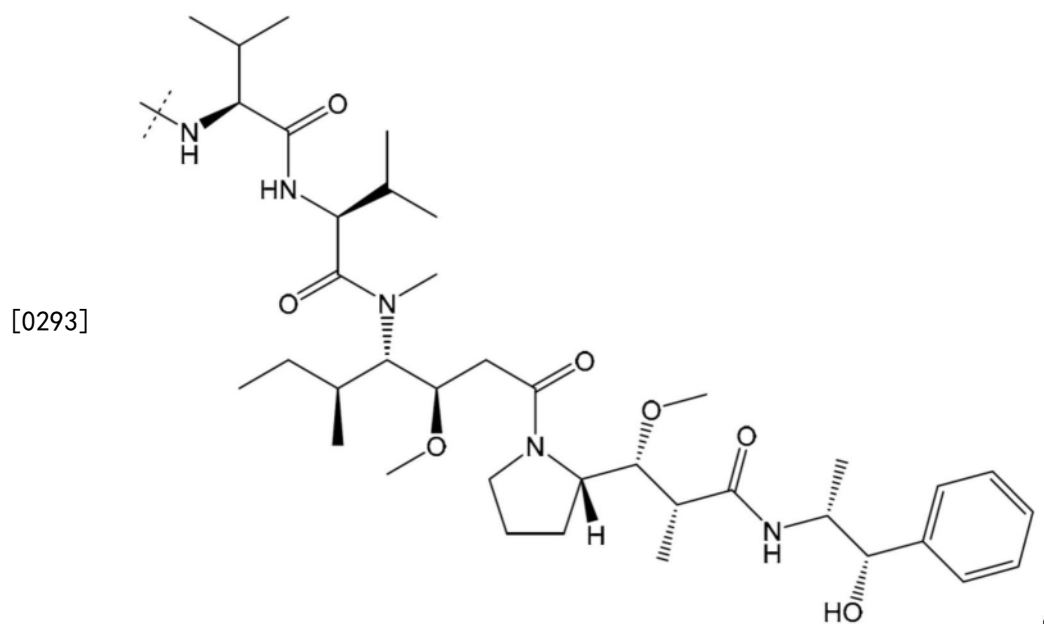
[0288] 在式(II)化合物的一些实施方案中, R^1 经由 R^1 的半胱氨酸残基连接至核心,其中式II中的二硫化物部分的硫原子中的一者来源于半胱氨酸残基。

[0289] 在式(II)化合物的一些实施方案中, R^2 为单甲基奥瑞他汀化合物的基团。

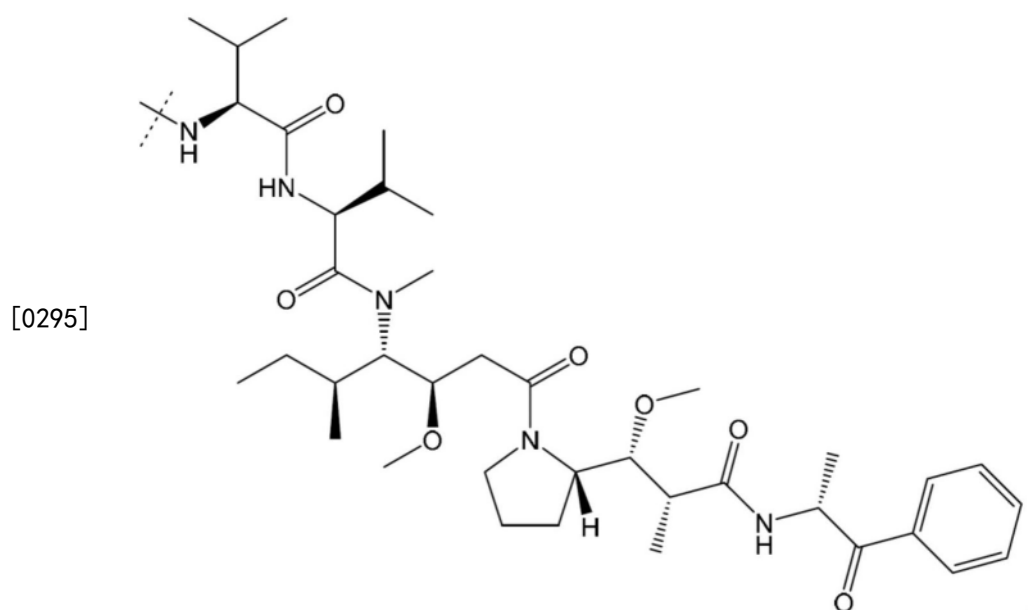
[0290] 在式(II)化合物的一些实施方案中, R^2 为单甲基奥瑞他汀E的基团。

[0291] 在式(II)化合物的一些实施方案中, R^2 为单甲基奥瑞他汀F的基团。

[0292] 在式(II)化合物的一些实施方案中, R^2 具有以下结构:



[0294] 在式(II)化合物的一些实施方案中, R^2 具有以下结构:



[0296] 在式(II)化合物的一些实施方案中,环Z为单环 C_{5-7} 环烷基环。

[0297] 在式 (II) 化合物的一些实施方案中,环Z为环戊基环。

[0298] 在式 (II) 化合物的一些实施方案中,环Z为环己基环。

[0299] 在式 (II) 化合物的一些实施方案中,两个相邻 R^Z 与其所连接的原子一起形成稠合单环 C_{5-7} 环烷基环、稠合单环5-7元杂环烷基环、稠合 C_{6-10} 芳环或稠合6-10元杂芳环,其中的每一者任选地被1、2或3个独立地选自以下的取代基取代: C_{1-4} 烷基、卤基、CN、 NO_2 、 OR^a 、 SR^a 、 $C(O)R^b$ 、 $C(O)NR^cR^d$ 、 $C(O)OR^a$ 、 $OC(O)R^b$ 、 $OC(O)NR^cR^d$ 、 NR^cR^d 、 $NR^cC(O)R^b$ 、 $NR^cC(O)OR^a$ 和 $NR^cC(O)NR^cR^d$ 。

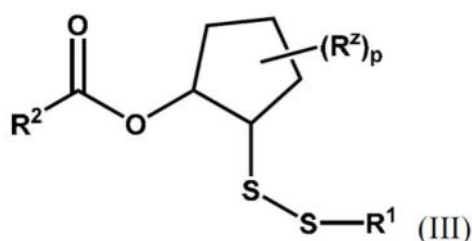
[0300] 在式 (II) 化合物的一些实施方案中,p为0。

[0301] 在式 (II) 化合物的一些实施方案中,p为1。

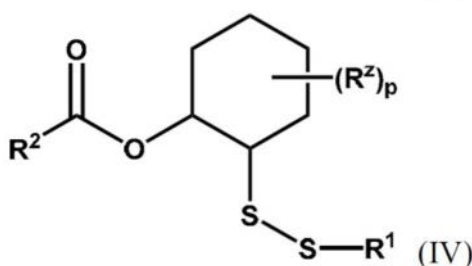
[0302] 在式 (II) 化合物的一些实施方案中,p为2。

[0303] 在式 (II) 化合物的一些实施方案中,p为3。

[0304] 在一些实施方案中,本发明的化合物为式 (III) 或式 (IV) 化合物:



[0305]



[0306] 或其药学上可接受的盐,其中 R^1 、 R^2 、 R^Z 和p如本文所定义。

[0307] 在式 (III) 和式 (IV) 化合物的一些实施方案中, R^1 为包含SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3的序列的肽。

[0308] 在式 (III) 和式 (IV) 化合物的一些实施方案中, R^1 为Pv1、Pv2或Pv3。

[0309] 在式 (III) 和式 (IV) 化合物的一些实施方案中, R^1 经由 R^1 的半胱氨酸残基连接至核心,其中式 (III) 和式 (IV) 中的二硫化物部分的硫原子中的一者来源于半胱氨酸残基。

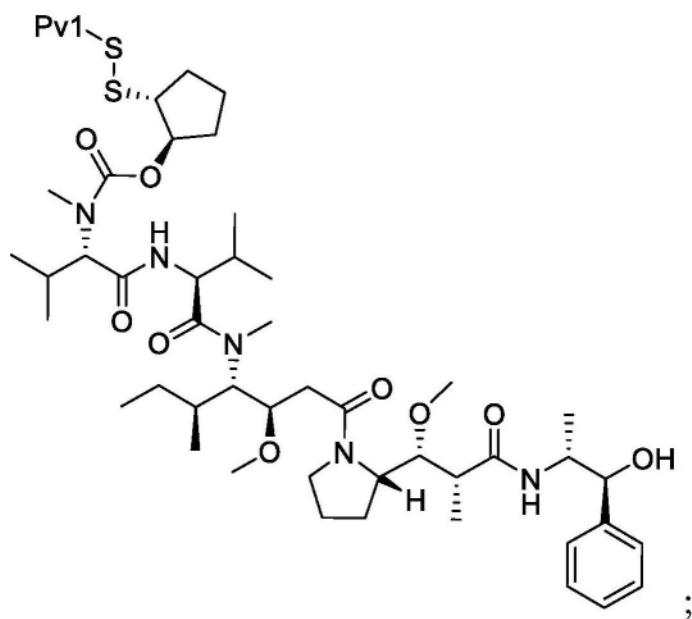
[0310] 在式 (III) 和式 (IV) 化合物的一些实施方案中, R^2 为单甲基奥瑞他汀化合物的基团。

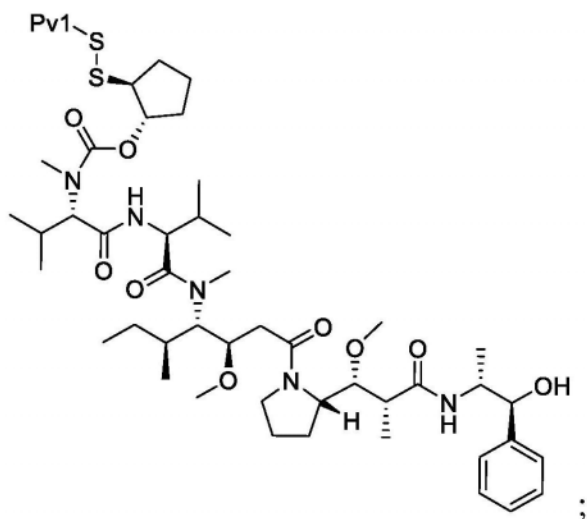
[0311] 在式 (III) 和式 (IV) 化合物的一些实施方案中, R^2 为单甲基奥瑞他汀E的基团。

[0312] 在式 (III) 和式 (IV) 化合物的一些实施方案中, R^2 为单甲基奥瑞他汀F的基团。

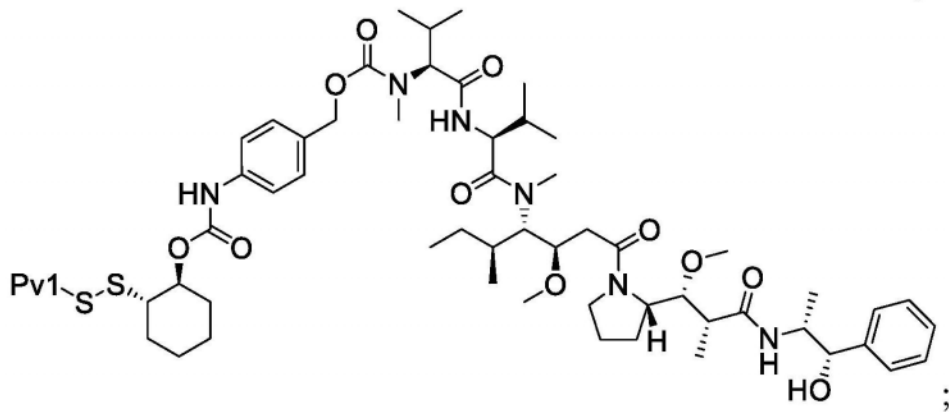
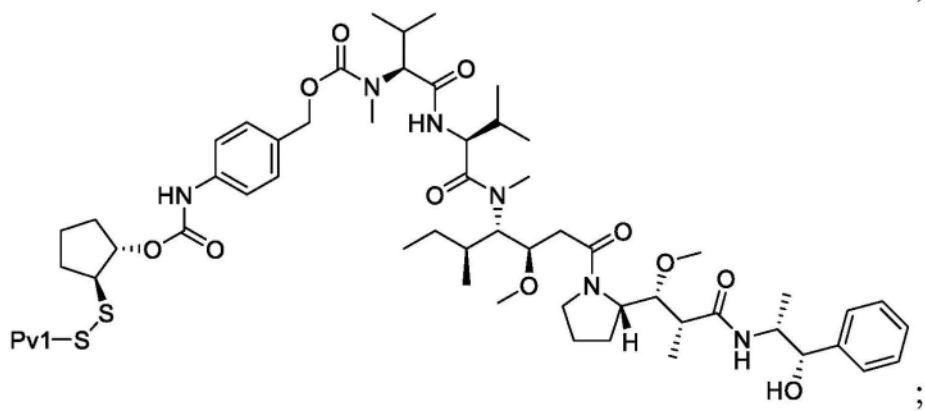
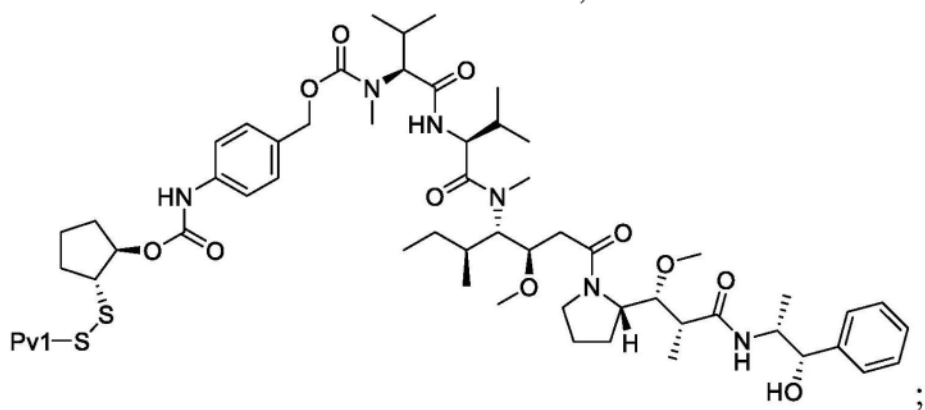
[0313] 在一些实施方案中,所述式 (I) 化合物选自:

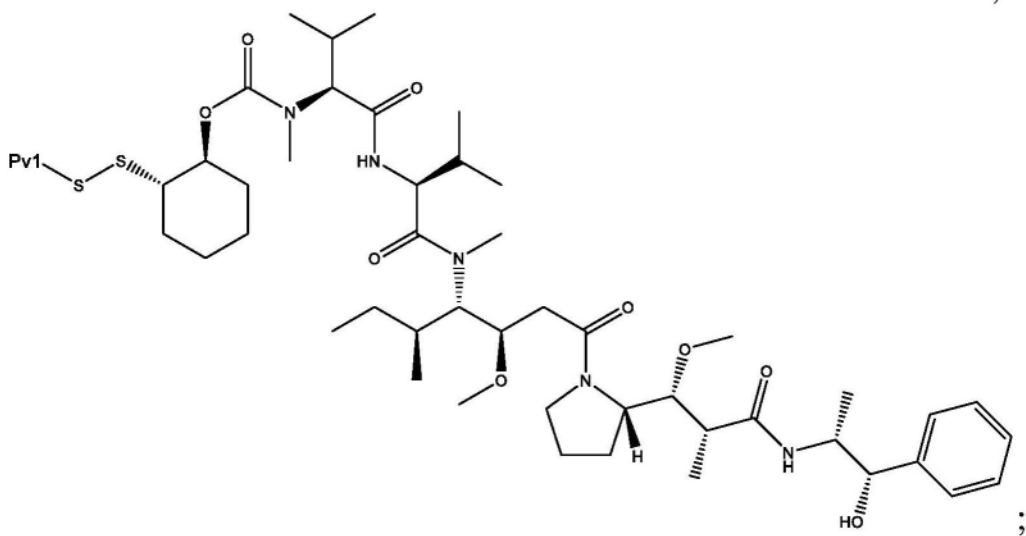
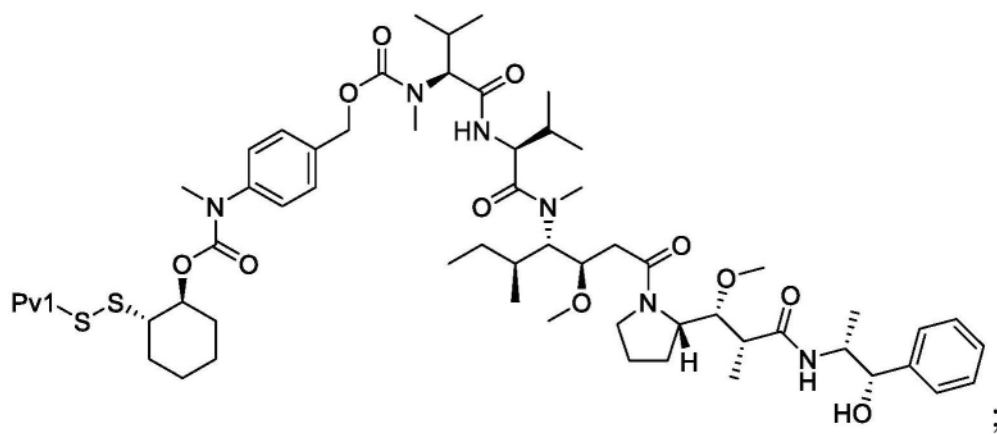
[0314]



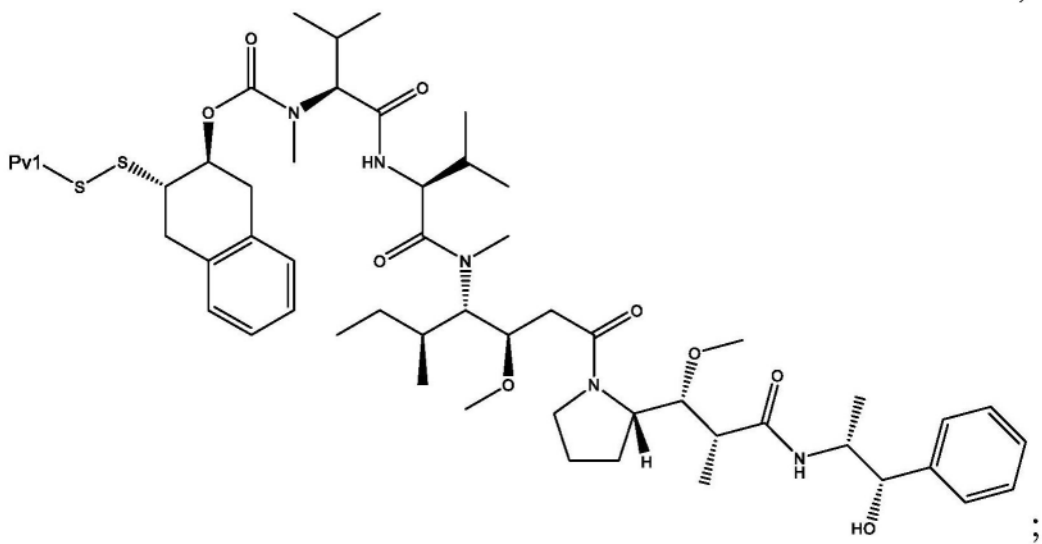


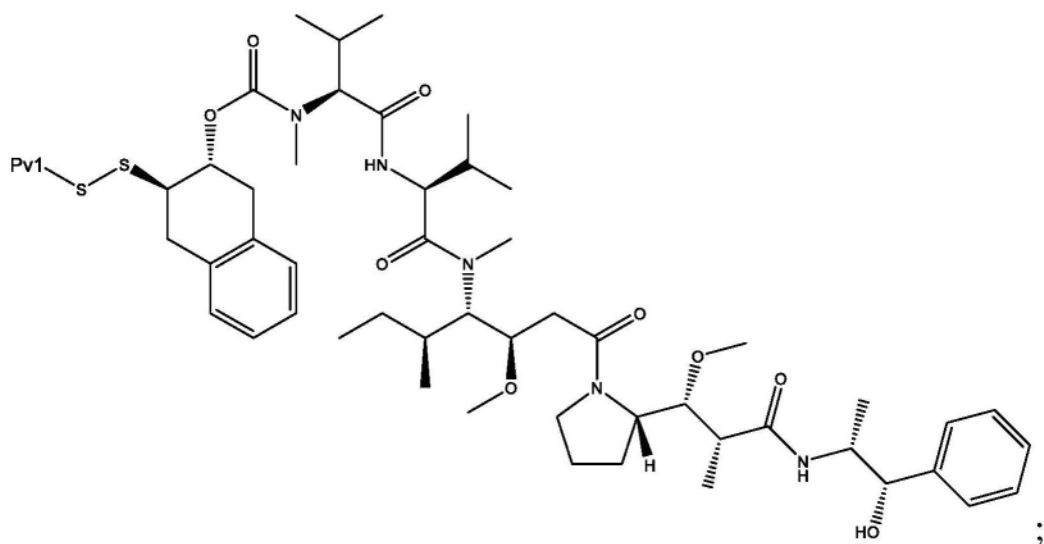
[0315]



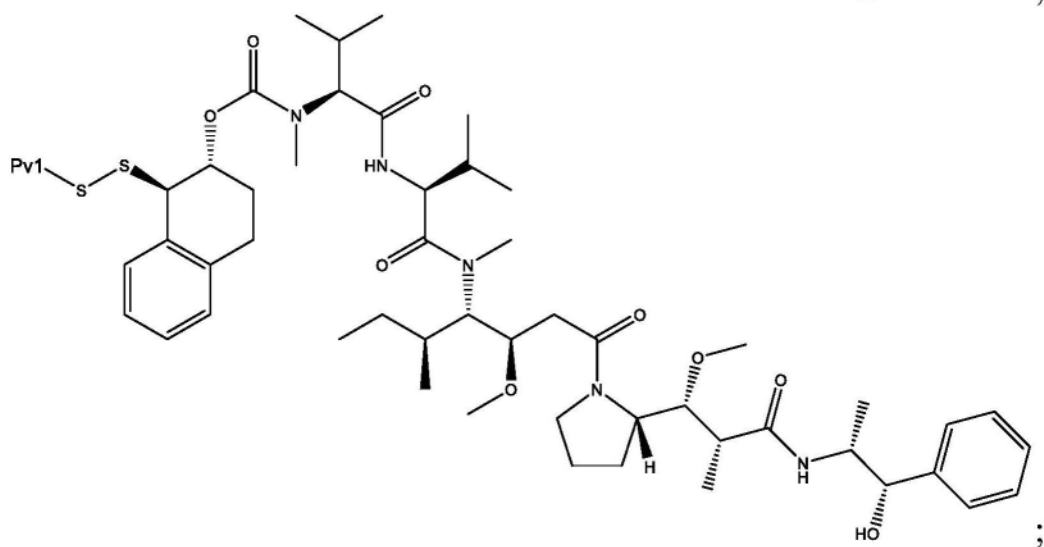
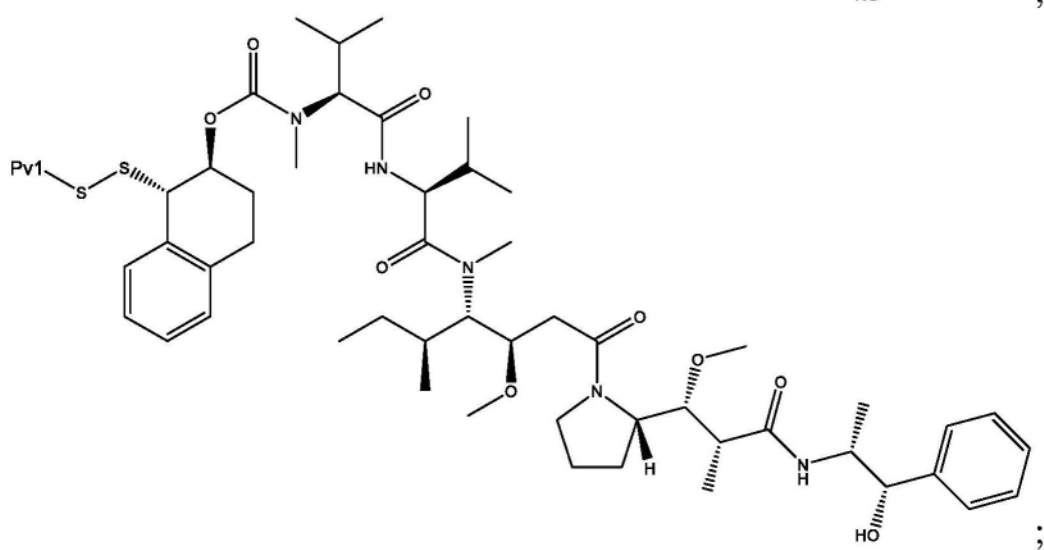


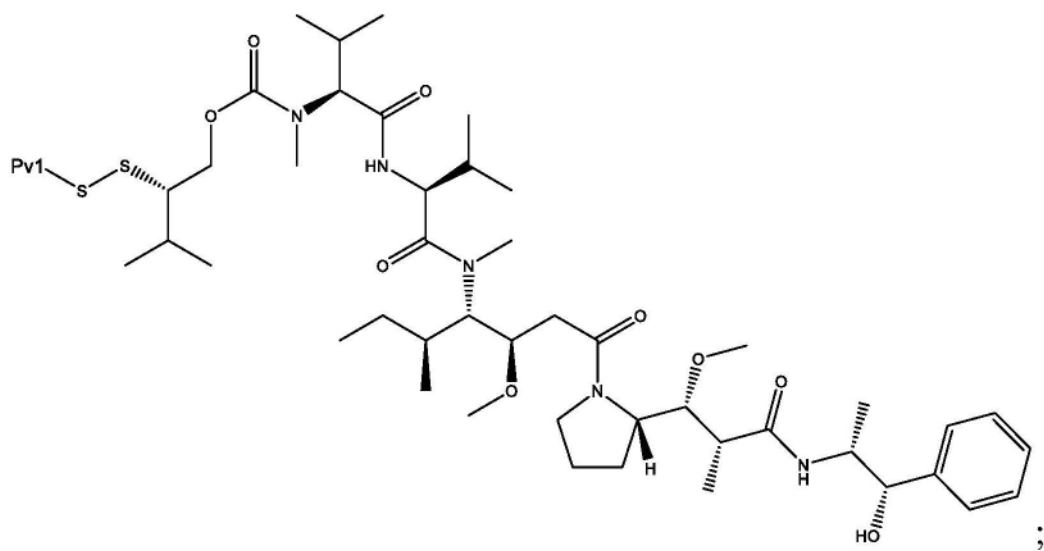
[0316]



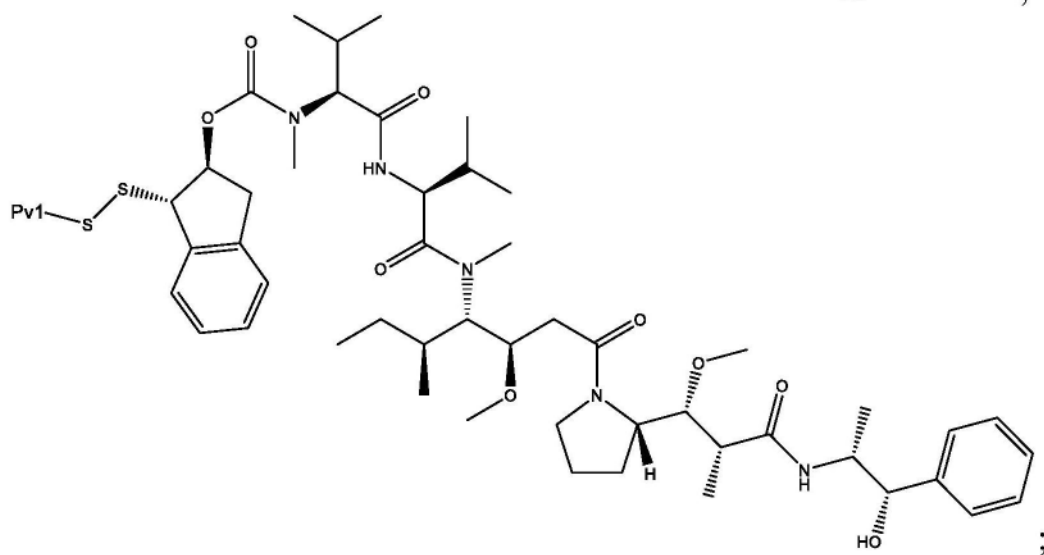
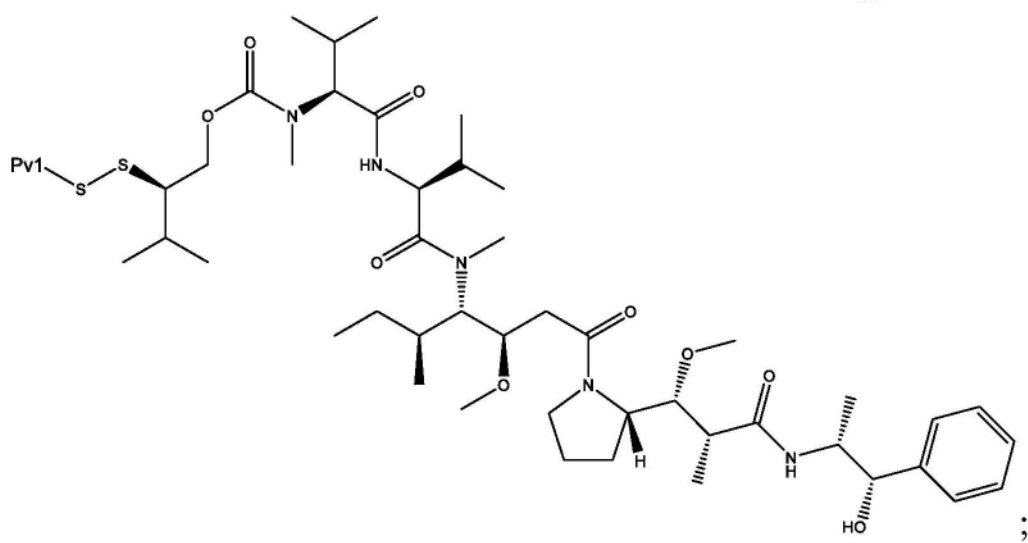


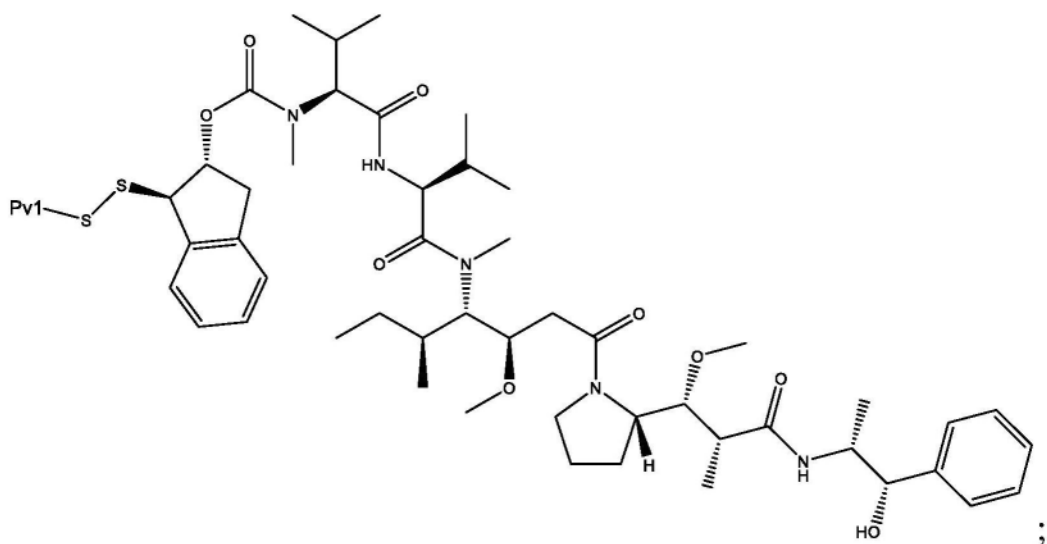
[0317]



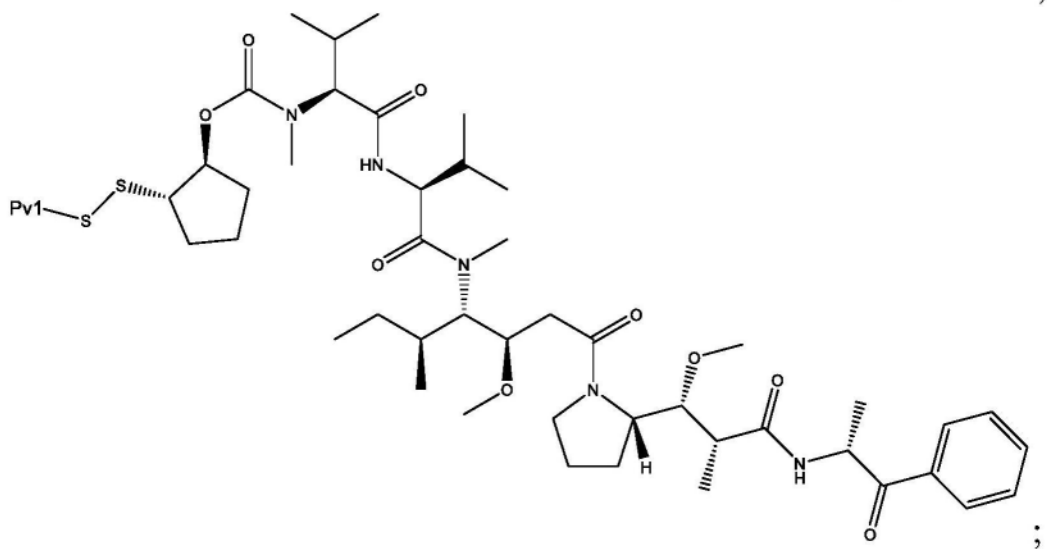
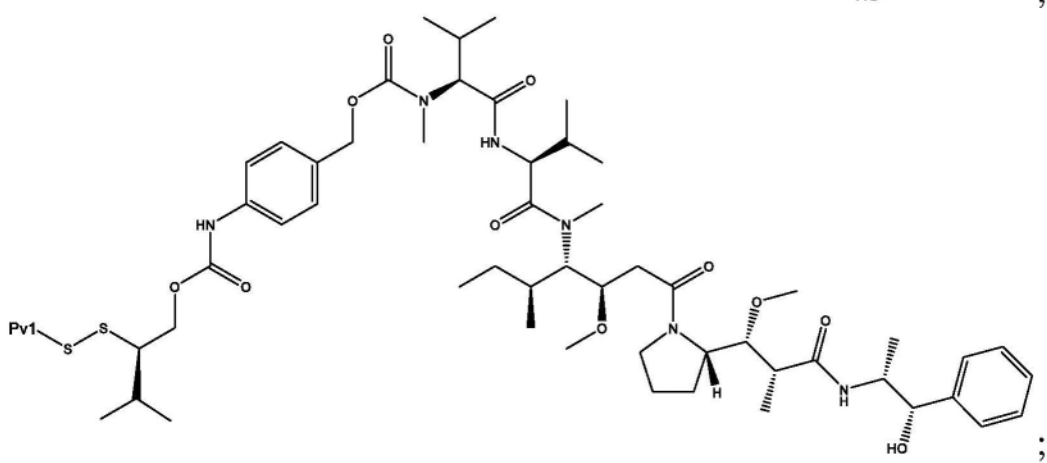


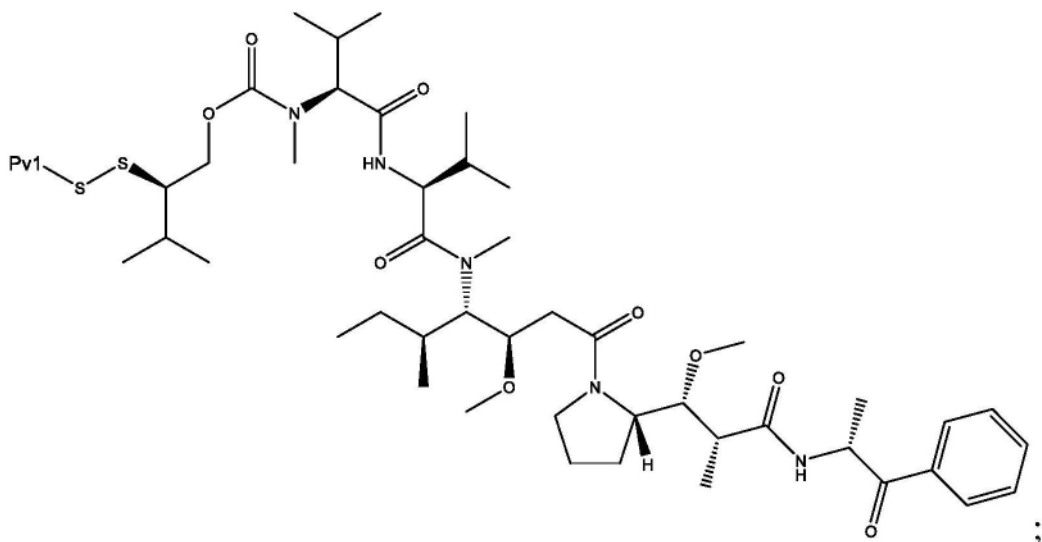
[0318]



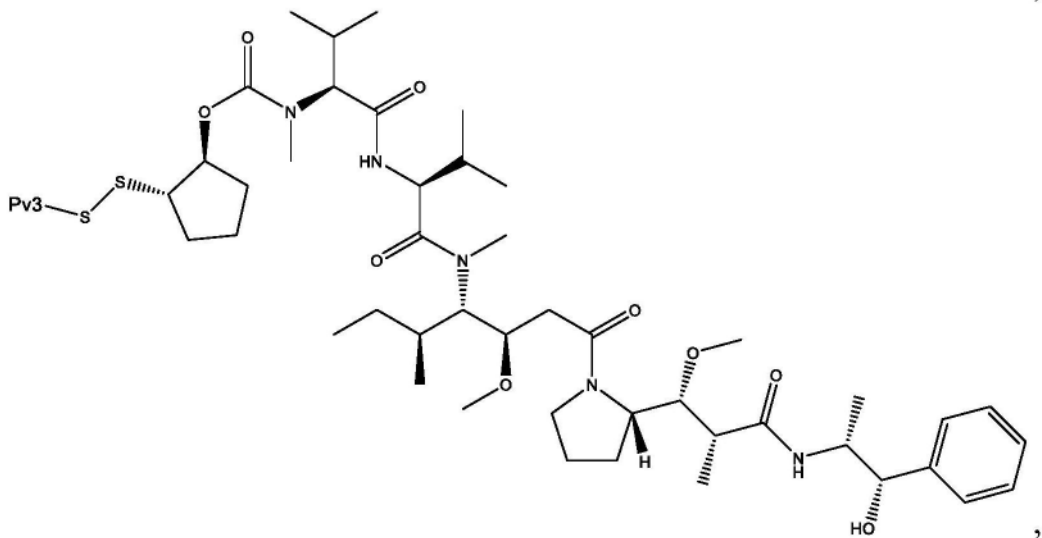
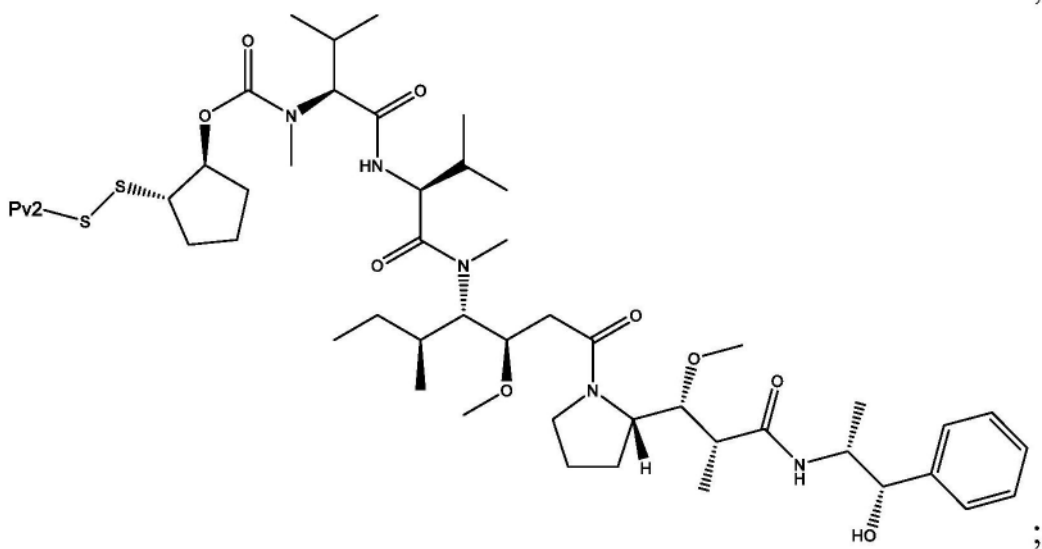


[0319]





[0320]



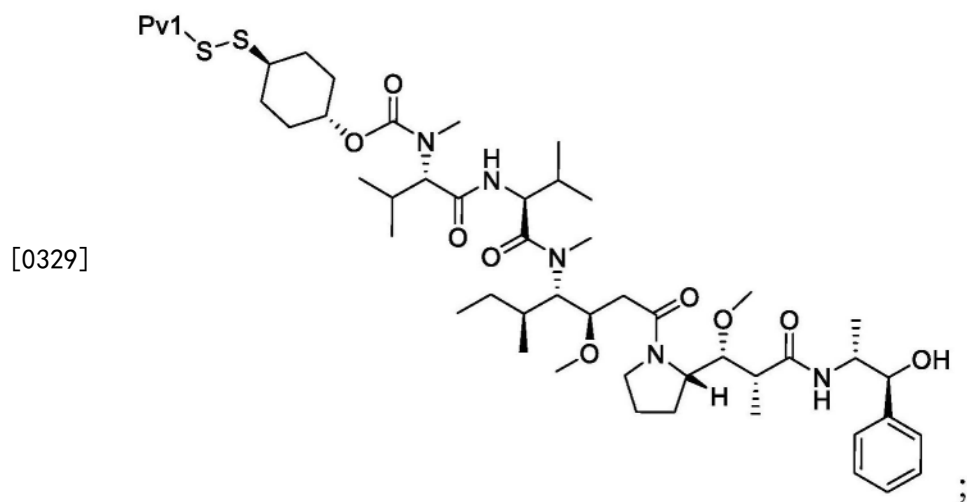
[0321] 或前述中的任一者的药学上可接受的盐,其中:

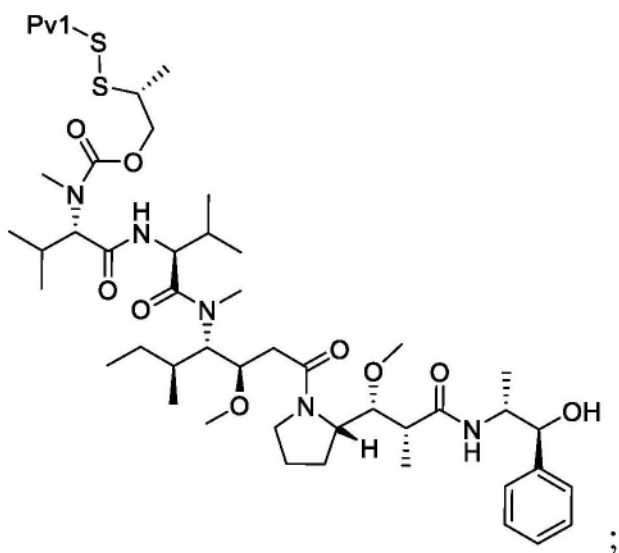
[0322] Pv1为包含以下序列的肽:

[0323] ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG (SEQ ID NO:1);

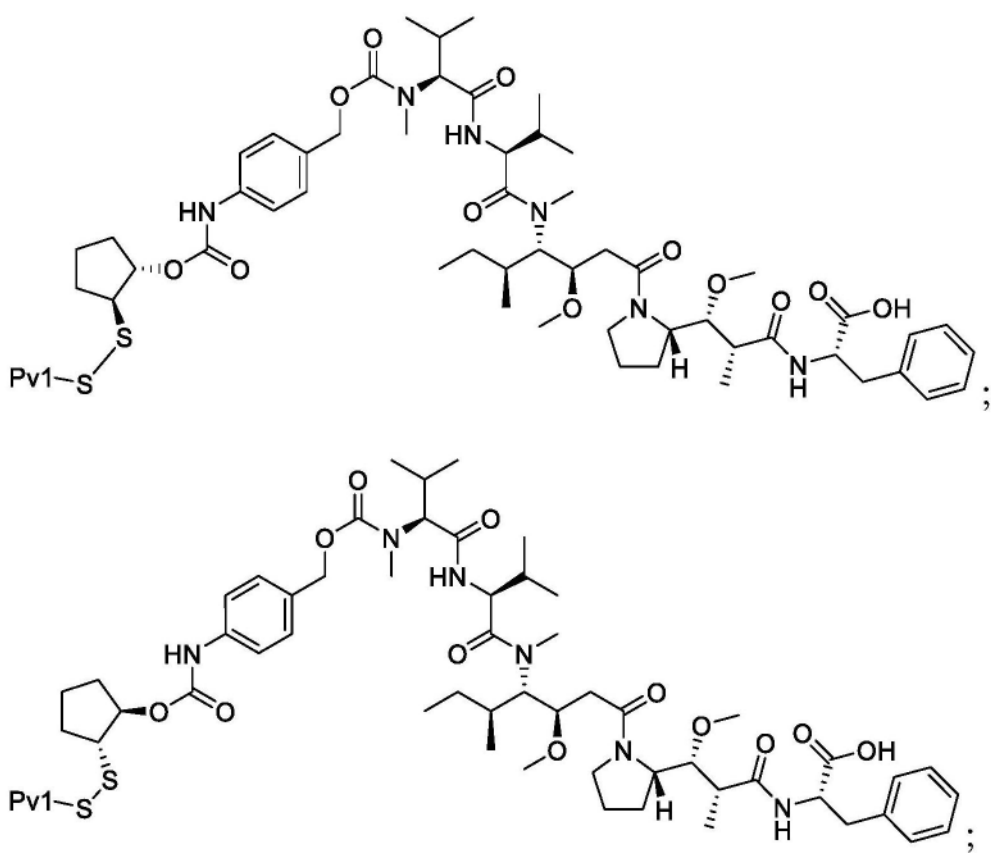
[0324] Pv2为包含以下序列的肽:

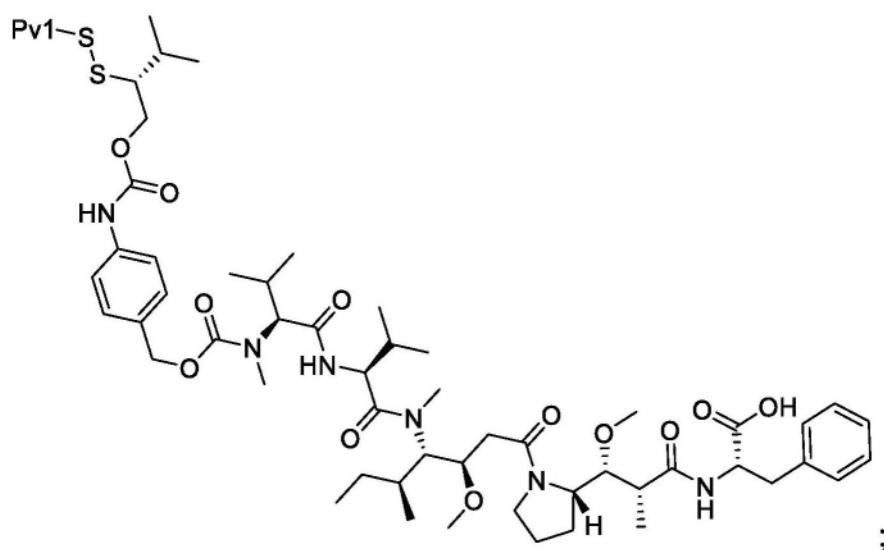
- [0325] AEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLVDADECG (SEQ ID NO:2); 并且
- [0326] Pv3为包含以下序列的肽:
- [0327] ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG (SEQ ID NO:3)。
- [0328] 在一些实施方案中,所述式(I)化合物选自:



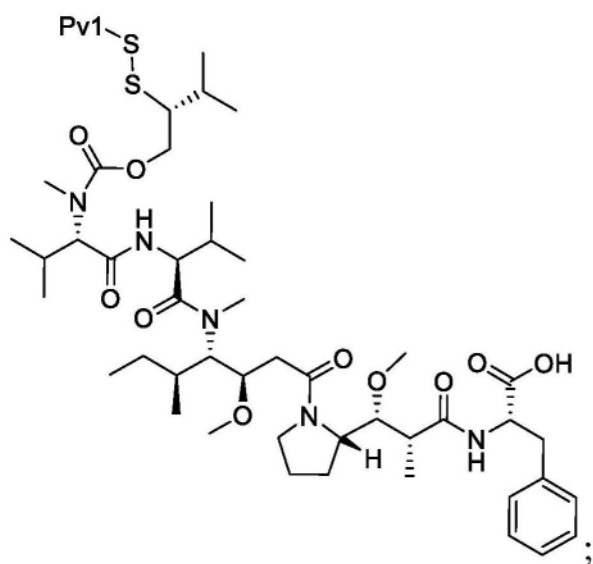
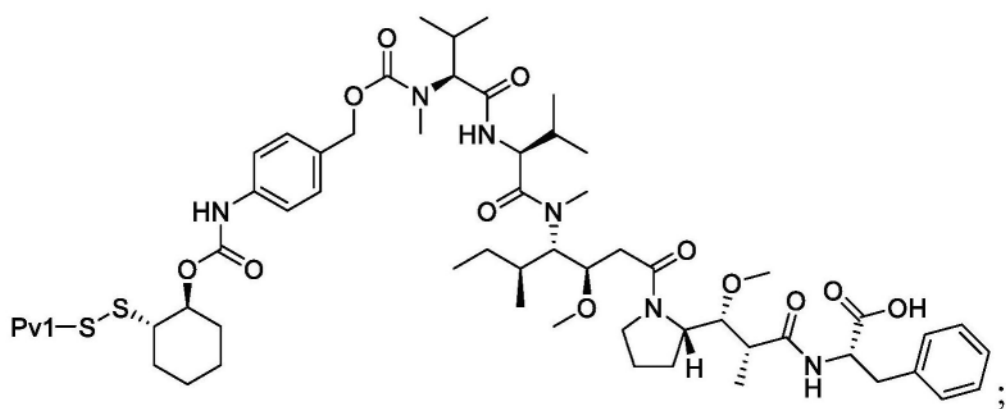


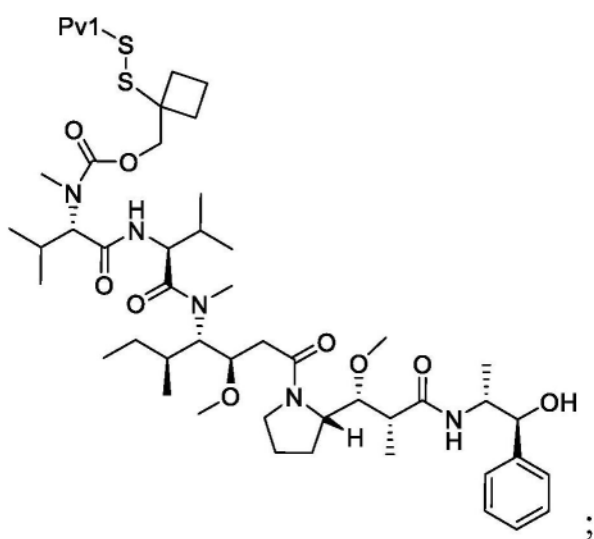
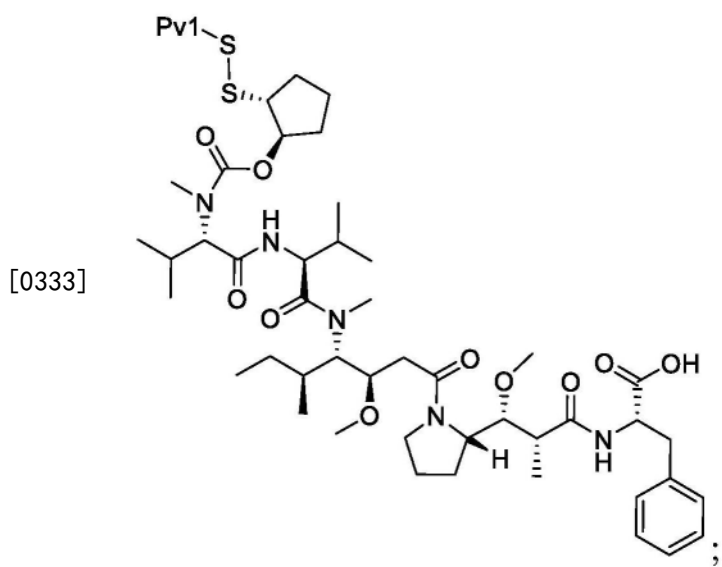
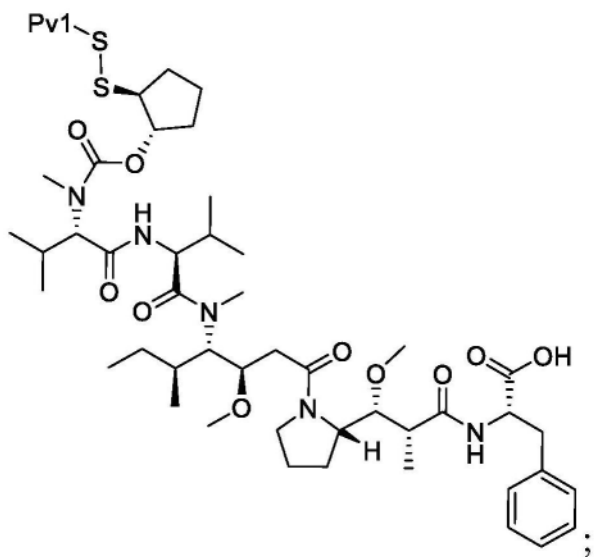
[0331]

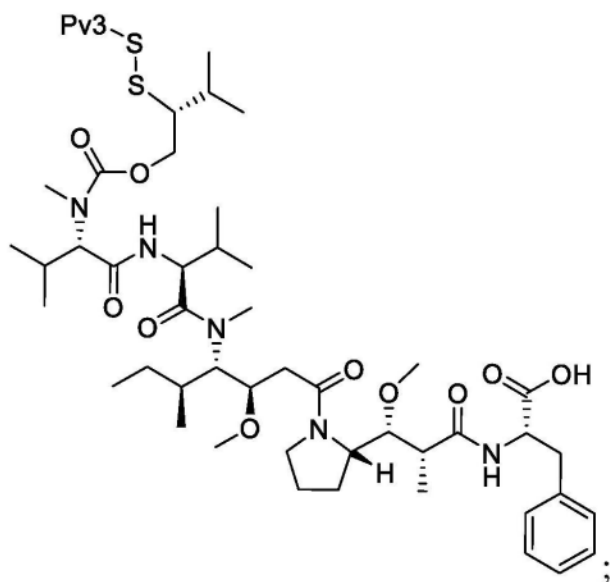




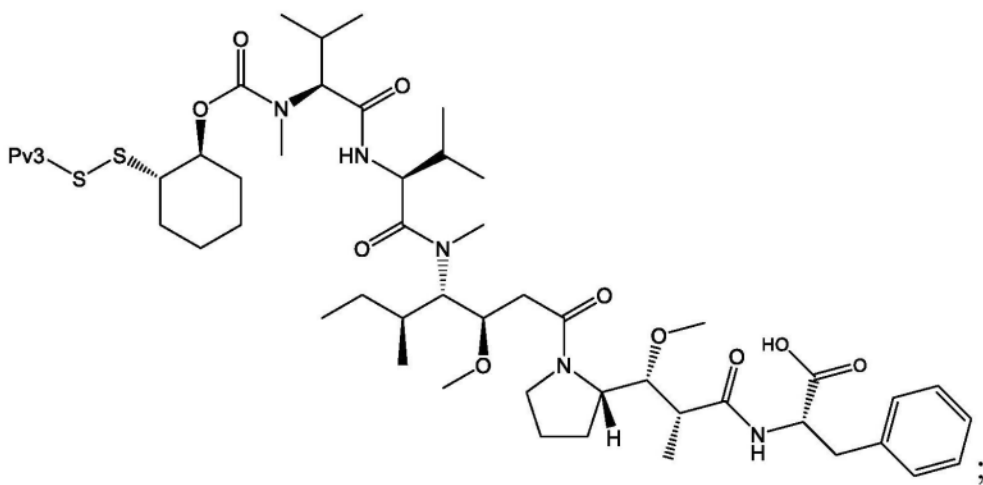
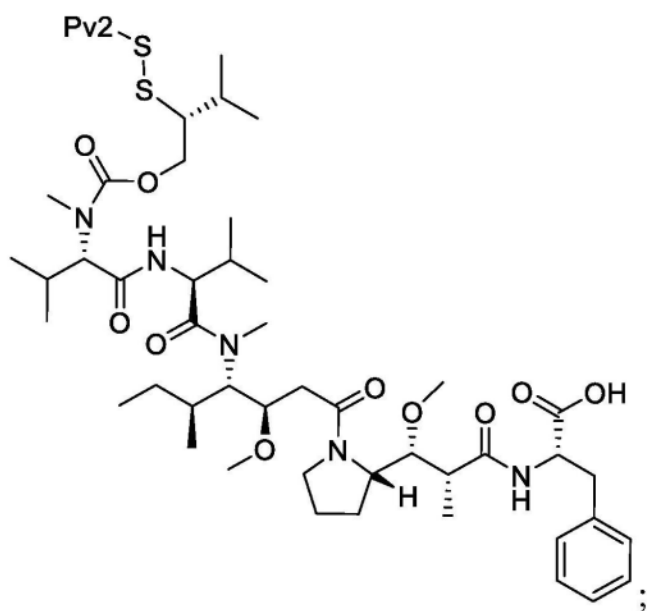
[0332]

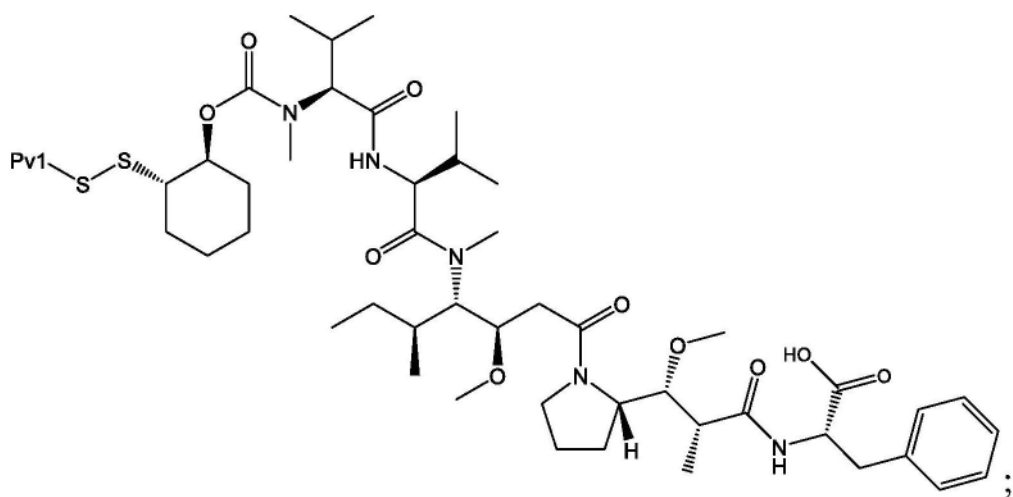




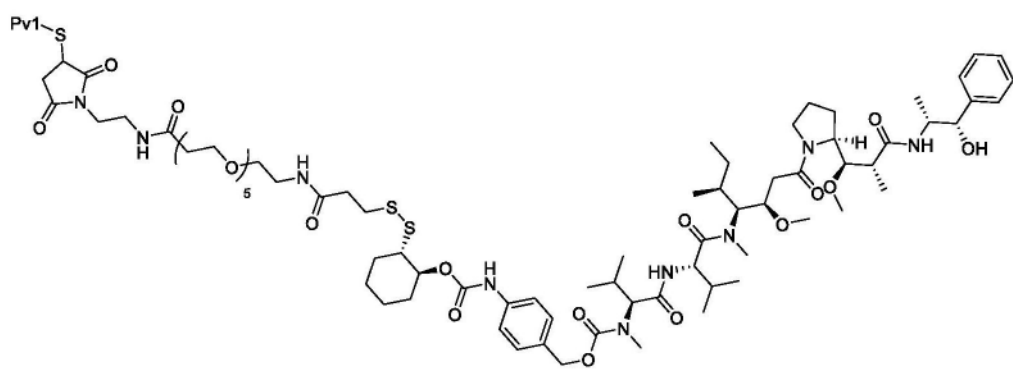
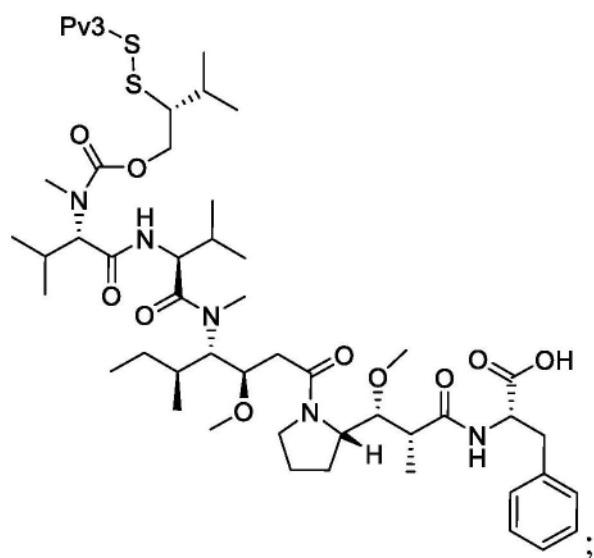


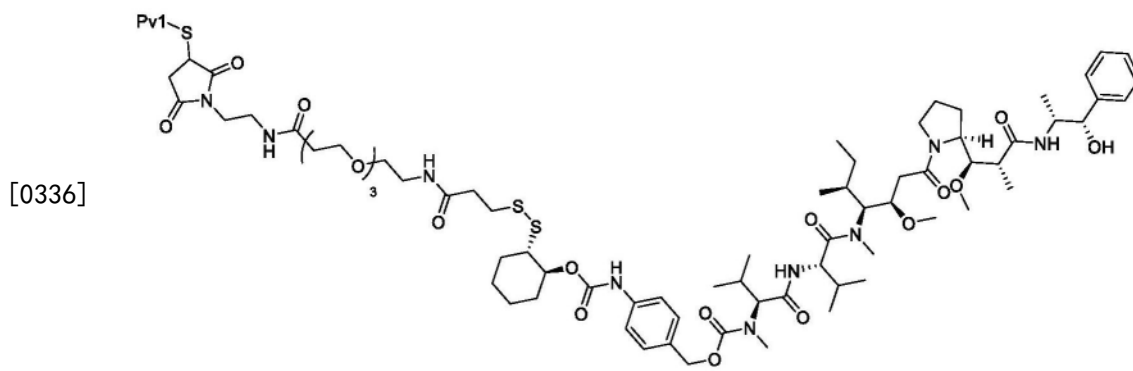
[0334]





[0335]





[0337] 或前述中的任一者的药学上可接受的盐,其中:

[0338] Pv1为包含以下序列的肽:

[0339] ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG (SEQ ID NO:1);

[0340] Pv2为包含以下序列的肽:

[0341] AEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADECG (SEQ ID NO:2);并且

[0342] Pv3为包含以下序列的肽:

[0343] ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG (SEQ ID NO:3)。

[0344] 本发明的分子可例如用例如荧光团、放射性同位素等的探针标记。在一些实施方案中,所述探针为荧光探针,例如LICOR。荧光探针可包括在光激发时可重新发射光的任何部分(例如,荧光团)。

[0345] 氨基酸由IUPAC缩写表示如下:丙氨酸(Ala;A)、精氨酸(Arg;R)、天冬酰胺(Asn;N)、天冬氨酸(Asp;D)、半胱氨酸(Cys;C)、谷氨酰胺(Gln;Q)、谷氨酸(Glu;E)、甘氨酸(Gly;G)、组氨酸(His;H)、异亮氨酸(Ile;I)、亮氨酸(Leu;L)、赖氨酸(Lys;K)、甲硫氨酸(Met;M)、苯丙氨酸(Phe;F)、脯氨酸(Pro;P)、丝氨酸(Ser;S)、苏氨酸(Thr;T)、色氨酸(Trp;W)、酪氨酸(Tyr;Y)、缬氨酸(Val;V)。

[0346] 术语“Pv1”意指ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG,其为SEQ ID No.1的肽。

[0347] 术语“Pv2”意指AEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDA DECG,其为SEQ ID No.2的肽。

[0348] 术语“Pv3”意指ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADEC G,其为SEQ ID No.3的肽。

[0349] 术语“Pv4”意指Ac-AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALL VDADEGTKCG,其为SEQ ID NO.4的肽。

[0350] 术语“Pv5”意指AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVD ADEGTC,其为SEQ ID NO.5的肽。术语“Pv6”意指AAEQNPIYW WARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG,其为SEQ ID NO.6的肽。在本发明的化合物中,肽^{R1}是通过半胱氨酸部分连接至二硫化物接头。

[0351] 术语“酸性和/或缺氧外套膜”是指所讨论的病变组织中细胞的环境,其具有低于7.0并且优选低于6.5的pH。酸性或缺氧外套膜更优选具有约5.5的pH并且最优选具有约5.0的pH。所述式(I)化合物以pH依赖性方式插入穿过具有酸性和/或缺氧外套膜的细胞膜以将^{R2}L插入细胞中,接着裂解接头的二硫键以递送游离^{R2}L(或^{R2}L*,其中L*为降解产物)。由于式(I)化合物为pH依赖性的,因此它们仅在细胞周围存在酸性或缺氧外套膜下优先插入穿过细胞膜,并且不穿过不具有酸性或缺氧外套膜的“正常”细胞的细胞膜。

[0352] 如本文所用的术语“pH敏感性”或“pH依赖性”是指肽^{R1}或是指肽^{R1}或本发明的化合

物插入穿过细胞膜的模式,意指肽对具有酸性或缺氧外套膜的细胞膜脂质双层比中性pH的膜脂质双层具有更高的亲和力。因此,当细胞膜脂质双层具有酸性或缺氧外套膜时(“病变”细胞),本发明的化合物优先插入穿过细胞膜以将 R^2L 插入细胞内部(并且因此如上文所描述递送 R^2H),但当外套膜(细胞膜脂质双层的环境)不为酸性或缺氧时(“正常”细胞),不插入穿过细胞膜。据认为这种优先插入是由于肽 R^1 形成有助于膜插入的螺旋构型而实现的。

[0353] 进一步应理解,出于清楚起见而描述于单独实施方案中的本发明的某些特征也可以组合提供于单一实施方案中(预期组合所述实施方案如同以多重附属形式书写一般)。相反地,为简洁起见而描述于单一实施方案中的本发明的各种特征也可分别或以任何适合的子组合提供。例如,经考虑作为式(I)化合物的实施方案描述的特征可以任何适合组合形式组合。

[0354] 在本说明书中的各种位置处,化合物的某些特征以群组或范围形式公开。具体而言,预期此公开内容包括此类群组和范围的成员的各个和每一个别子组合。例如,具体而言,术语“ C_{1-6} 烷基”旨在单独地公开(但不限于)甲基、乙基、 C_3 烷基、 C_4 烷基、 C_5 烷基和 C_6 烷基。

[0355] 术语“n元”(其中n为整数)通常描述部分中的成环原子的数目,其中成环原子的数目为n。例如,哌啶基为6元杂环烷基环的实例,吡唑基为5元杂芳环的实例,吡啶基为6元杂芳环的实例,并且1,2,3,4-四氢-萘为10元环烷基的实例。

[0356] 在本发明书的各种位置处,可描述定义二价连接基团的变量。具体而言,预期每个连接取代基包括连接取代基的前向和后向形式。例如, $-NR(CR'R'')_n$ 包括 $-NR(CR'R'')_n$ 和 $-(CR'R'')_nNR-$,并且旨在单独公开所述形式中的每一者。在结构需要连接基团的情况下,针对所述基团所列的马库什变量(Markush variables)应理解为连接基团。例如,如果结构需要连接基团并且所述变量的马库什基团定义列出“烷基”或“芳基”,则应理解,“烷基”或“芳基”分别表示亚烷基连接基团或亚芳基连接基团。

[0357] 术语“被取代”意指原子或原子团作为连接至另一基团的“取代基”在形式上置换氢。除非另外指示,否则术语“被取代”是指任何水平的取代,例如单取代、二取代、三取代、四取代或五取代,其中准许此类取代。独立地选择取代基,并且取代可位于可以化学方式接近的任何位置。应理解,给定原子处的取代受价数限制。应理解,给定原子处的取代产生化学稳定分子。短语“任选地被取代”意指未被取代或被取代。术语“被取代”意指氢原子被去除并且被取代基置换。单个二价取代基,例如氧代基,可置换两个氢原子。

[0358] 术语“ C_{n-m} ”指示包括端点的范围,其中n和m为整数并且指示碳数。实例包括 C_{1-4} 、 C_{1-6} 等。

[0359] 单独或与其他术语组合使用的术语“烷基”是指可为直链或支链的饱和烃基。术语“ C_{n-m} 烷基”是指具有n至m个碳原子的烷基。烷基在形式上对应于一个C-H键被烷基与化合物的其余部分的连接点置换的烷烃。在一些实施方案中,烷基含有1至6个碳原子、1至4个碳原子、1至3个碳原子或1至2个碳原子。烷基部分的实例包括但不限于化学基团如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基、仲丁基;高级同系物如2-甲基-1-丁基、正戊基、3-戊基、正己基、1,2,2-三甲基丙基等。

[0360] 单独或与其他术语组合使用的术语“烯基”是指对应于具有一个或多个碳碳双键的烷基的直链或支链烃基。烯基在形式上对应于一个C-H键被烯基与化合物的其余部分的

连接点置换的烯烃。术语“C_{n-m}烯基”是指具有n至m个碳的烯基。在一些实施方案中,烯基部分含有2至6个、2至4个或2至3个碳原子。示例性烯基包括但不限于乙烯基、正丙烯基、异丙烯基、正丁烯基、仲丁烯基等。

[0361] 单独或与其他术语组合使用的术语“炔基”是指对应于具有一个或多个碳碳三键的烷基的直链或支链烃基。炔基在形式上对应于一个C-H键被烷基与化合物的其余部分的连接点置换的炔烃。术语“C_{n-m}炔基”是指具有n至m个碳原子的炔基。示例性炔基包括但不限于乙炔基、丙炔-1-基、丙炔-2-基等。在一些实施方案中,炔基部分含有2至6个、2至4个或2至3个碳原子。

[0362] 单独或与其他术语组合使用的术语“亚烷基”是指二价烷基连接基团。亚烷基在形式上对应于两个C-H键被亚烷基与化合物的其余部分的连接点置换的烷烃。术语“C_{n-m}亚烷基”是指具有n至m个碳原子的亚烷基。亚烷基的实例包括但不限于乙-1,2-二基、乙-1,1-二基、丙-1,3-二基、丙-1,2-二基、丙-1,1-二基、丁-1,4-二基、丁-1,3-二基、丁-1,2-二基、2-甲基-丙-1,3-二基等。

[0363] 术语“氨基”是指式-NH₂的基团。

[0364] 单独或与其他术语组合使用的术语“羰基”是指-C(=O)-基团,其也可写为C(=O)。

[0365] 术语“氰基”或“腈”是指式-C≡N的基团,其也可写为-CN。

[0366] 单独或与其他术语组合使用的术语“卤基”或“卤素”是指氟、氯、溴和碘。在一些实施方案中,“卤基”是指选自F、Cl或Br的卤素原子。在一些实施方案中,卤基为F。

[0367] 如本文所用的术语“卤代烷基”是指其中氢原子中的一者或多者已被卤素原子置换的烷基。术语“C_{n-m}卤代烷基”是指具有n至m个碳原子和至少一个至{2(n-m)+1}个卤素原子的C_{n-m}烷基,其可相同或不同。在一些实施方案中,卤素原子为氟原子。在一些实施方案中,卤代烷基具有1至6个或1至4个碳原子。示例性卤代烷基包括CF₃、C₂F₅、CHF₂、CH₂F、CCl₃、CHCl₂、C₂Cl₅等。在一些实施方案中,卤代烷基为氟烷基。

[0368] 关于成环N原子的术语“被氧化”是指成环N-氧化物。

[0369] 关于成环S原子的术语“被氧化”是指成环磺酰基或成环亚磺酰基。

[0370] 术语“芳族”是指具有一个或多个具有芳族特性(即具有(4n+2)个离域(pi)电子,其中n为整数)的多不饱和环的碳环或杂环。

[0371] 单独或与其他术语组合使用的术语“芳基”是指芳族烃基,其可为单环或多环(例如具有2个稠环)。术语“C_{n-m}芳基”是指具有n至m个环碳原子的芳基。芳基包括例如苯基、萘基等。在一些实施方案中,芳基具有6至约10个碳原子。在一些实施方案中,芳基具有6个碳原子。在一些实施方案中,芳基具有10个碳原子。在一些实施方案中,芳基为苯基。

[0372] 单独或与其他术语组合使用的术语“杂芳基”或“杂芳族”是指具有至少一个选自硫、氧和氮的杂原子环成员的单环或多环芳族杂环。在一些实施方案中,杂芳环具有1、2、3或4个独立地选自氮、硫和氧的杂原子环成员。在一些实施方案中,杂芳基部分中的任何成环N可为N-氧化物。在一些实施方案中,杂芳基具有5-14个环原子,其包括碳原子和1、2、3或4个独立地选自氮、硫和氧的杂原子环成员。在一些实施方案中,杂芳基具有5-10个环原子,其包括碳原子和1、2、3或4个独立地选自氮、硫和氧的杂原子环成员。在一些实施方案中,杂芳基具有5-6个环原子和1或2个独立地选自氮、硫和氧的杂原子环成员。在一些实施方案中,杂芳基为五元或六元杂芳环。在其他实施方案中,杂芳基为八元、九元或十元稠合双环

杂芳环。

[0373] 五元杂芳环为具有五个环原子的杂芳基,其中一个或多个(例如,1、2或3个)环原子独立地选自N、O和S。

[0374] 六元杂芳环为具有六个环原子的杂芳基,其中一个或多个(例如,1、2或3个)环原子独立地选自N、O和S。

[0375] 单独或与其他术语组合使用的术语“环烷基”是指非芳族烃环系统(单环、双环或多环),包括环化烷基和烯基。术语“C_{n-m}环烷基”是指具有n至m个环成员碳原子的环烷基。环烷基可包括单环或多环(例如具有2、3或4个稠环)基团和螺环。环烷基可具有3、4、5、6或7个成环碳(C₃₋₇)。在一些实施方案中,环烷基具有3至6个环成员、3至5个环成员或3至4个环成员。在一些实施方案中,环烷基为单环。在一些实施方案中,环烷基为单环或双环。在一些实施方案中,环烷基为C₃₋₆单环环烷基。环烷基的成环碳原子可任选地被氧化以形成氧代基或硫离子基。环烷基还包括亚环烷基。在一些实施方案中,环烷基为环丙基、环丁基、环戊基或环己基。环烷基的定义中还包括具有一个或多个与环烷基环稠合(即,具有共享的键)的芳环的部分,例如环戊烷、环己烷等的苯并或噻吩基衍生物。含有稠合芳环的环烷基可经由包括稠合芳环的成环原子的任何成环原子连接。环烷基的实例包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环戊烯基、环己烯基、环己二烯基等。在一些实施方案中,环烷基为环丙基、环丁基、环戊基或环己基。

[0376] 单独或与其他术语组合使用的术语“杂环烷基”是指非芳族环或环系统,其可任选地含有一个或多个作为环结构的部分的亚烯基,其具有至少一个独立地选自氮、硫、氧和磷的杂原子环成员,并且其具有4-10个环成员、4-7个环成员或4-6个环成员。术语“杂环烷基”包括单环4元、5元、6元和7元杂环烷基。杂环烷基可包括单环或双环(例如,具有两个稠合或桥联环)或螺环环系统。在一些实施方案中,杂环烷基为具有1、2或3个独立地选自氮、硫和氧的杂原子的单环基团。杂环烷基的成环碳原子和杂原子可任选地被氧化以形成氧代基或硫离子基或其他氧化键联(例如C(O)、S(O)、C(S)或S(O)₂、N-氧化物等),或者氮原子可被季铵化。杂环烷基可经由成环碳原子或成环杂原子连接。在一些实施方案中,杂环烷基含有0至3个双键。在一些实施方案中,杂环烷基含有0至2个双键。杂环烷基的定义中还包括具有一个或多个稠合至杂环烷基环(即,与杂环烷基环具有共同键)的芳环的部分,例如吡啶、吗啉、氮杂卓等的苯并或噻吩基衍生物。含有稠合芳环的环烷基可经由包括稠合芳环的成环原子的任何成环原子连接。杂环烷基的实例包括2-吡咯烷基、吗啉基、氮杂环丁基、四氢呋喃基、四氢吡喃基和哌嗪基。

[0377] 在某些位置,定义或实施方案是指特定环(例如,氮杂环丁烷环、吡啶环等)。除非另外指示,否则这些环可连接至任何环成员,条件是不超出原子的价数。例如,氮杂环丁烷环可在环的任何位置连接,而氮杂环丁烷-3-基环在3位连接。

[0378] 本文所描述的化合物可为不对称的(例如具有一个或多个立构中心)。除非另外指明,否则旨在涵盖所有立体异构体,例如对映异构体和非对映异构体。含有不对称取代的碳原子的本发明化合物可以光学活性或外消旋形式分离。本领域中已知如何由光学非活性起始物质制备光学活性形式的方法,例如通过拆分外消旋混合物或通过立体选择性合成。烯烃、C=N双键等的许多几何异构体也可存在于本文所描述的化合物中,并且所有此类稳定异构体都涵盖于本发明中。本发明化合物的顺式和反式几何异构体经描述并且可以异构体

混合物形式或以经分离的异构体形式分离。

[0379] 化合物的外消旋混合物的拆分可通过本领域中已知的许多方法中的任一者来进行。一种方法包括使用手性拆分酸进行分步重结晶,所述手性拆分酸为光学活性成盐有机酸。用于分步重结晶方法的适合拆分剂为例如光学活性酸,例如酒石酸的D和L形式、二乙酰基酒石酸、二苯甲酰基酒石酸、杏仁酸、苹果酸、乳酸或各种光学活性樟脑磺酸(例如 α -樟脑磺酸)。适用于分步结晶方法的其他拆分剂包括 α -甲基苯甲胺(例如S和R形式或非对映异构纯形式)、2-苯甘氨酸、降麻黄素(norephedrine)、麻黄素(ephedrine)、N-甲基麻黄素、环己基乙胺、1,2-二氨基环己烷等的立体异构纯形式。

[0380] 外消旋混合物的拆分也可通过装填有光学活性拆分剂(例如二硝基苯甲酰基苯基甘氨酸)的柱洗脱来进行。适合的洗脱溶剂组合物可通过本领域技术人员来确定。

[0381] 在一些实施方案中,本发明的化合物具有(R)-构型。在其他实施方案中,所述化合物具有(S)-构型。在具有超过一个手性中心的化合物中,除非另外指示,否则化合物中的每个手性中心可独立地为(R)或(S)。

[0382] 本发明的化合物还包括互变异构形式。互变异构形式由单键与相邻双键的交换以及伴随的质子迁移而产生。互变异构形式包括处于具有相同经验式和总电荷的异构质子化状态的质子转移互变异构体。示例性质子转移互变异构体包括酮-烯醇对、酰胺-亚氨酸对、内酰胺-内酰亚胺对、烯胺-亚胺对并且其中质子可占据杂环系统的两个或更多个位置的环形形式,例如1H-咪唑和3H-咪唑、1H-1,2,4-三唑、2H-1,2,4-三唑和4H-1,2,4-三唑、1H-异吡啶和2H-异吡啶以及1H-吡唑和2H-吡唑。互变异构形式可处于平衡状态或通过适当取代而在空间上锁定为一种形式。

[0383] 本发明的化合物也可包括中间体或最终化合物中出现的原子的所有同位素。同位素包括具有相同原子数但质量数不同的那些原子。例如,氢的同位素包括氕和氘。本发明化合物的一个或多个组成原子可经天然或非天然丰度的原子同位素置换或取代。在一些实施方案中,化合物包括至少一个氕原子。例如,本公开化合物中的一个或多个氢原子可经氕置换或取代。在一些实施方案中,化合物包括两个或更多个氕原子。在一些实施方案中,化合物包括1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个氕原子。将同位素包括至有机化合物中的合成方法是本领域中已知的(Deuterium Labeling in Organic Chemistry by Alan F. Thomas (New York, N.Y., Appleton-Century-Crofts, 1971; The Renaissance of H/D Exchange by Jens Atzrodt, Volker Derdau, Thorsten Fey 和 Jochen Zimmermann, Angew. Chem. Int. Ed. 2007, 7744-7765; The Organic Chemistry of Isotopic Labelling by James R. Hanson, Royal Society of Chemistry, 2011)。经同位素标记的化合物可用于各种研究如NMR光谱法、代谢实验和/或测定法中。

[0384] 经例如氕的较重同位素取代可得到由更大的代谢稳定性产生的某些治疗优势,例如增加的体内半衰期或降低的剂量需求,并且因此在某些情况下可为优选的(A. Kerekes 等人, J. Med. Chem. 2011, 54, 201-210; R. Xu 等人, J. Label Compd. Radiopharm. 2015, 58, 308-312)。

[0385] 如本文所用的术语“化合物”意在包括所描绘结构的所有立体异构体、几何异构体、互变异构体和同位素。所述术语也意指本发明的化合物,无论其如何制备,例如以合成方式、经由生物过程(例如,代谢或酶转化)或其组合。

[0386] 所有化合物和其药学上可接受的盐可与例如水和溶剂(例如水合物和溶剂化物)的其他物质一起存在或可经分离。当呈固态时,本文所描述的化合物和其盐可以各种形式存在,并且可例如呈溶剂化物(包括水合物)的形式。化合物可呈任何固态形式,例如多晶型物或溶剂化物,因此除非另外明确指示,否则本说明书中对化合物和其盐的提及应理解为涵盖化合物的任何固态形式。

[0387] 在一些实施方案中,本发明的化合物或其盐基本上经分离。“基本上经分离”意指化合物至少部分或基本上与其形成或检测所在的环境分离。部分分离可包括例如富含本发明化合物的组合物。基本分离可包括含有按本发明化合物的重量计至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约95%、至少约97%或至少约99%的组合物或其盐。

[0388] 短语“药学上可接受”在本文中用于指在合理医学判断范围内,适用于与人类和动物的组织接触而无过度毒性、刺激、过敏反应或其他问题或并发症、与合理益处/风险比相称的那些化合物、材料、组合物和/或剂型。

[0389] 如本文所用,表述“环境温度”和“室温”是本领域中所理解的,并且通常是指约为进行反应的房间温度的温度,例如反应温度,例如约20℃至约30℃的温度。

[0390] 本发明还包括本文中所描述的化合物的药学上可接受的盐。术语“药学上可接受的盐”是指所公开的化合物的衍生物,其中母体化合物是通过将现有酸或碱部分转化为其盐形式而经修饰。药学上可接受的盐的实例包括但不限于例如胺的碱性残基的无机或有机酸盐;例如羧酸的酸性残基的碱金属或有机盐;等等。本发明的药学上可接受的盐包括例如由无毒性无机或有机酸形成的母体化合物的无毒性盐。本发明的药学上可接受的盐可通过常规化学方法从含有碱性或酸性部分的母体化合物合成。通常,此类盐可通过使游离酸或碱形式的这些化合物与化学计算量的适当碱或酸在水中或在有机溶剂中或在两者的混合物中反应来制备;通常,非水性介质如醚、乙酸乙酯、醇(例如,甲醇、乙醇、异丙醇或丁醇)或乙腈(MeCN)是优选的。适合的盐的列表见于Remington's Pharmaceutical Sciences,第17版,(Mack Publishing Company,Easton,1985),第1418页;Berge等人,J.Pharm.Sci.,1977,66(1),1-19;和Stahl等人,Handbook of Pharmaceutical Salts:Properties, Selection,and Use,(Wiley,2002)中。在一些实施方案中,本文所描述的化合物包括N-氧化物形式。

[0391] 合成

[0392] 本发明的化合物,包括其盐,可使用已知有机合成技术制备,并且可根据众多可能合成途径中的任一者合成,例如下文方案中的那些途径。

[0393] 用于制备本发明化合物的反应可在有机合成领域的技术人员容易选择的适合溶剂中进行。在进行反应的温度下,例如可在溶剂结冰温度至溶剂沸腾温度范围内的温度,适合溶剂可与起始物质(反应物)、中间体或产物基本上不反应。给定反应可在一种溶剂或超过一种溶剂的混合物中进行。取决于特定反应步骤,可用于特定反应步骤的溶剂可通过本领域技术人员选择。

[0394] 本发明化合物的制备可涉及各种化学基团的保护和脱保护。对保护和脱保护的需求和对适当保护基的选择可容易由本领域技术人员确定。保护基的化学描述于例如Kocienski,Protecting Groups,(Thieme,2007);Robertson,Protecting Group

Chemistry, (Oxford University Press, 2000); Smith等人, March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 第6版 (Wiley, 2007); Petursson等人, "Protecting Groups in Carbohydrate Chemistry", J. Chem. Educ., 1997, 74 (11), 1297; 和 Wuts等人, Protective Groups in Organic Synthesis, 第4版, (Wiley, 2006) 中。

[0395] 反应可根据本领域中已知的任何适合方法来进行监测。例如, 产物形成可通过光谱手段如核磁共振光谱法 (例如 ^1H 或 ^{13}C)、红外光谱法、分光光度法 (例如UV-可见)、质谱法或通过色谱法如高效液相色谱法 (HPLC) 或薄层色谱法 (TLC) 进行监测。

[0396] 式 (I) 化合物可例如使用如下所描述的方法制备。

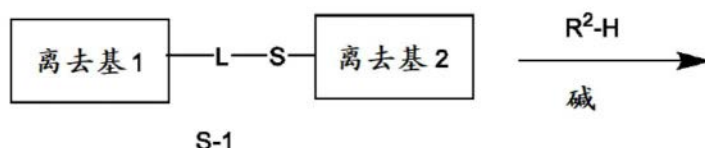
[0397] 肽 R^1 可使用首先由Merrifield在J.A.C.S., 第85卷, 第2149-2154页 (1963) 中描述的固相合成方法来制备, 尽管也可采用其他本领域已知的方法。Merrifield技术是充分理解的并且是用于制备肽的常用方法。用于固相肽合成的有用技术描述于若干书籍中, 例如教科书"Principles of Peptide Synthesis", Bodanszky, Springer Verlag 1984。此合成方法涉及逐步地将经保护氨基酸添加至通过共价键结合至固体树脂颗粒的生长肽链。通过此程序, 通过过滤去除试剂和副产物, 由此消除纯化中间体的必要性。此方法的一般概念取决于链的第一个氨基酸通过共价键连接至固体聚合物, 接着以逐步方式一次一个地添加后续经保护氨基酸直至所需序列被组装。最后, 从固体树脂支撑物去除经保护肽并且裂解掉保护基。

[0398] 氨基酸可连接至任何适合的聚合物。聚合物必须不溶于所使用的溶剂, 必须具有允许准备过滤的稳定物理形式, 并且必须含有第一个经保护氨基酸可通过共价键紧密连接的官能团。各种聚合物适用于此目的, 例如纤维素、聚乙烯醇、聚甲基丙烯酸甲酯和聚苯乙烯。

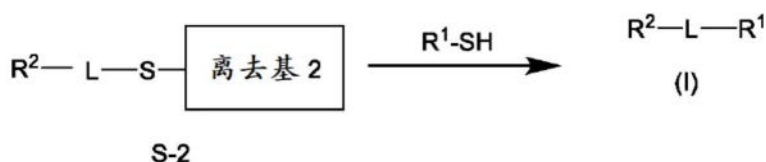
[0399] 本文所提供的各种接头的制备描述于美国专利第10,933,069号和美国申请公开第2021/0009536号和第2021/0009719号中。

[0400] 本发明的化合物可根据以下通用方案制备:

[0401] 方案1:



[0402]



[0403] L为含硫醇部分, 其中化合物S-1的S原子与L形成二硫键。侧接有正交离去基的化合物S-1可与亲核 R^2H 化合物反应, 得到化合物S-2。化合物S-2然后可与参与二硫化物交换反应的含硫醇肽 ($\text{R}^1\text{-SH}$) 反应, 得到式 (I) 化合物。

[0404] 使用方法

[0405] 本文提供了式 (I) 化合物在治疗疾病 (例如癌症或神经退行性疾病) 中的用途。本发明的另一方面为式 (I) 化合物在治疗涉及酸性或缺氧病变组织的疾病 (例如癌症) 中的用

途。缺氧和酸中毒是许多疾病过程(包括癌症)的生理标志。在癌症中,缺氧是引起实体肿瘤内酸环境的发展的一个机制。因此,氢离子必须从细胞(例如,通过质子泵)去除以维持细胞内的正常pH。由于氢离子的此输出,在与正常细胞相比时,癌细胞跨细胞膜脂质双层的pH梯度增加并且胞外环境的pH较低。一种改善细胞毒性剂的功效和治疗指数的方法是充分利用此生理特征以提供相对于健康组织,化合物向缺氧细胞的选择性递送。

[0406] 在这些治疗方法中,治疗有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐可作为单一试剂施用或与其他形式的疗法(例如在癌症的情况下的电离辐射或细胞毒性剂)组合施用。在组合疗法中,如由本领域技术人员将了解,可在其他治疗模式之前、同时或之后施用式(I)化合物。任一治疗方法(单一药剂或与其他形式的疗法的组合)可作为涉及多个剂量或在一段时间内的治疗的治疗过程施用。

[0407] 可使用本公开化合物治疗的癌症的实例包括但不限于膀胱癌、骨癌、神经胶质瘤、乳腺癌、宫颈癌、结肠癌、结直肠癌、子宫内膜癌、上皮癌、食道癌、尤文氏肉瘤(Ewing's sarcoma)、胰腺癌、胆囊癌、胃癌、胃肠道肿瘤、头颈癌、肠癌、卡波西肉瘤(Kaposi's sarcoma)、肾癌、喉癌、肝癌、肺癌、黑素瘤、前列腺癌、直肠癌、肾透明细胞癌、皮肤癌、胃部癌症、睾丸癌、甲状腺癌和子宫癌。在一些实施方案中,所述癌症选自肺癌、结直肠癌和前列腺癌。在一些实施方案中,所述肺癌为非小细胞肺癌。

[0408] 可使用本公开化合物治疗的癌症的实例还包括霍奇金淋巴瘤(Hodgkin lymphoma)、间变性大细胞淋巴瘤(ALCL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、卵巢癌、尿道上皮癌、非小细胞肺癌(NSCLC)、三阴性乳腺癌、鳞状非小细胞肺癌(sqNSCLC)、鳞状头颈癌、非霍奇金淋巴瘤、胰腺癌、慢性骨髓性白血病(CML)、急性骨髓性白血病(AML)、输卵管癌和腹膜癌。

[0409] 可使用本公开化合物治疗的癌症的实例包括但不限于结直肠癌、胃癌、骨癌、胰腺癌、皮肤癌、头或颈癌、皮肤或眼内恶性黑素瘤、子宫癌、卵巢癌、直肠癌、肛门区癌、胃部癌症、睾丸癌、子宫癌、输卵管癌、子宫内膜癌、子宫内膜癌、宫颈癌、阴道癌、外阴癌、霍奇金病(Hodgkin's Disease)、非霍奇金淋巴瘤、食道癌、小肠癌、内分泌系统癌、甲状腺癌、副甲状腺癌、肾上腺癌、软组织肉瘤、尿道癌、阴茎癌、慢性或急性白血病(包括急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、急性淋巴母细胞白血病、慢性淋巴细胞性白血病)、儿童实体肿瘤、淋巴细胞性淋巴瘤、膀胱癌、肾癌或尿道癌、肾盂癌、中枢神经系统(CNS)赘瘤、原发性CNS淋巴瘤、肿瘤血管生成、脊椎肿瘤、脑干神经胶质瘤、垂体腺瘤、卡波西肉瘤、表皮样癌、鳞状细胞癌、T细胞淋巴瘤、环境诱发的癌症(包括石棉诱发的癌症),和所述癌症的组合。

[0410] 在一些实施方案中,可用本公开化合物治疗的癌症包括膀胱癌、骨癌、神经胶质瘤、乳腺癌(例如,三阴性乳腺癌)、宫颈癌、结肠癌、结直肠癌、子宫内膜癌、上皮细胞癌、食道癌、尤文氏肉瘤、胰腺癌、胆囊癌、胃癌、胃肠道肿瘤、头颈癌(上呼吸消化道癌)、肠癌、卡波西肉瘤、肾癌、喉癌、肝癌(例如,肝细胞癌)、肺癌(例如,非小细胞肺癌、腺癌)、黑素瘤、前列腺癌、直肠癌、肾透明细胞癌、皮肤癌、胃部癌症、睾丸癌、甲状腺癌和子宫癌。

[0411] 在一些实施方案中,可用本公开化合物治疗的癌症包括黑素瘤(例如转移性恶性黑素瘤)、肾癌(例如透明细胞癌)、前列腺癌(例如激素难治性前列腺癌)、乳腺癌、三阴性乳腺癌、结肠癌和肺癌(例如非小细胞肺癌和小细胞肺癌)。另外,本公开包括可使用本公开化合物抑制其生长的难治性或复发性恶性病。

[0412] 在一些实施方案中,可使用本公开化合物治疗的癌症包括但不限于实体肿瘤(例如,前列腺癌、结肠癌、食道癌、子宫内膜癌、卵巢癌、子宫癌、肾癌、肝癌、胰腺癌、胃癌、乳腺癌、肺癌、头颈癌、甲状腺癌、神经胶质细胞瘤、肉瘤、膀胱癌等)、血液癌(例如,淋巴瘤、白血病(例如急性淋巴母细胞白血病(ALL)、急性髓细胞白血病(AML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、慢性髓细胞白血病(CML))、DLBCL、外膜细胞淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤(包括复发性或难治性NHL和复发性滤泡性)、霍奇金淋巴瘤或多发性骨髓瘤)和所述癌症的组合。

[0413] 在某些实施方案中,式(I)化合物或其药学上可接受的盐可与化学治疗剂、靶向癌症疗法、免疫疗法或放射疗法组合使用。所述药剂可以单一剂型与本发明化合物组合,或者所述药剂可以单独剂型同时或依序施用。在一些实施方案中,当与式(I)化合物或其药学上可接受的盐一起施用时,与当与对应微管靶向剂(例如, R^2 -H)组合施用时相比,化学治疗剂、靶向癌症疗法、免疫疗法或放射疗法对患者的毒性较小,例如通过显示降低的骨髓毒性。

[0414] 适合的化学治疗剂或其他抗癌剂包括例如烷基化剂(包括但不限于氮芥(nitrogen mustard)、乙烯亚胺衍生物、磺酸烷基酯、亚硝基脲和三氮烯),例如尿嘧啶氮芥、氮芥(chlormethine)、环磷酰胺(CytosanTM)、异环磷酰胺、美法仑(melphalan)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、哌泊溴烷(pipobroman)、三亚乙基-三聚氰胺、三亚乙基硫代磷胺、白消安(busulfan)、卡莫司汀(carmustine)、洛莫司汀(lomustine)、链脲霉素(streptozocin)、达卡巴嗪(dacarbazine)和替莫唑胺(temozolomide)。

[0415] 与本发明的化合物组合使用的其他适合的药剂包括:达卡巴嗪(DTIC),任选地与其他化学疗法药物(例如卡莫司汀(BCNU)和顺铂(cisplatin))一起;“达特茅斯方案(Dartmouth regimen)”,其由DTIC、BCNU、顺铂和他莫昔芬(tamoxifen)组成;顺铂、长春碱(vinblastine)和DTIC的组合;或替莫唑胺。根据本发明的化合物也可与免疫疗法药物组合,包括细胞因子如干扰素 α 、白介素2和肿瘤坏死因子(TNF)。

[0416] 适合的化学治疗剂或其他抗癌剂包括例如抗代谢物(包括但不限于叶酸拮抗剂、嘧啶类似物、嘌呤类似物和腺苷脱氨酶抑制剂),例如甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶、氟尿苷、阿糖胞苷、6-巯基嘌呤、6-硫代鸟嘌呤、磷酸氟达拉滨(fludarabine phosphate)、喷司他丁(pentostatin)和吉西他滨(gemcitabine)。

[0417] 适合的化学治疗剂或其他抗癌剂还包括例如某些天然产物和其衍生物(例如,长春花生物碱(vinca alkaloid)、抗肿瘤抗生素、酶、淋巴因子和表鬼臼毒素(epipodophyllotoxin)),例如长春碱、长春新碱(vincristine)、长春地辛(vindesine)、博来霉素(bleomycin)、放线菌素(dactinomycin)、道诺霉素(daunorubicin)、多柔比星(doxorubicin)、表柔比星(epirubicin)、埃达霉素(idarubicin)、阿糖胞苷(ara-C)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)(TAXOLTM)、光神霉素(mithramycin)、脱氧助间型霉素(deoxycoformycin)、丝裂霉素-C(mitomycin-C)、L-天冬酰胺酶、干扰素(尤其IFN- α)、依托泊苷(etoposide)和替尼泊苷(teniposide)。

[0418] 可与本发明的化合物组合施用的其他细胞毒性剂包括例如诺维本(navelbene)、CPT-11、阿那曲唑(anastrozole)、来曲唑(letrozole)、卡培他滨(capecitabine)、雷洛昔芬(reloxafine)、环磷酰胺、异环磷酰胺(ifosamide)和屈洛昔芬(droloxafine)。

[0419] 细胞毒性剂也是适合的,例如表鬼臼毒素(epipodophyllotoxin);抗肿瘤酶;拓扑异

构酶抑制剂;丙卡巴肼(procarbazine);米托蒽醌(mitoxantrone);铂配位络合物,例如顺铂和卡铂(carboplatin);生物反应调节剂;生长抑制剂;抗激素治疗剂;甲酰四氢叶酸(leucovorin);喃氟啉(tegafur);和造血生长因子。

[0420] 其他抗癌剂包括抗体疗法,例如曲妥珠单抗(trastuzumab)(贺癌平(Herceptin));共刺激分子抗体,例如CTLA-4、4-1BB和PD-1;或细胞因子抗体(IL-10、TGF- α 等)。

[0421] 其他抗癌剂还包括阻断免疫细胞迁移的那些抗癌剂,例如针对趋化因子受体(包括CCR2和CCR4)的拮抗剂。

[0422] 其他抗癌剂还包括增强免疫系统的那些抗癌剂,例如佐剂或过继性T细胞转移。

[0423] 可与本发明的化合物组合施用的抗癌疫苗包括例如树突状细胞、合成肽、DNA疫苗和重组病毒。

[0424] 与本发明的化合物组合使用的其他适合的药剂包括化学疗法组合,例如用于肺癌和其他实体肿瘤的基于铂的双联体(顺铂或卡铂加吉西他滨;顺铂或卡铂加多烯紫杉醇(docetaxel);顺铂或卡铂加太平洋紫杉醇;顺铂或卡铂加培美曲塞(pemetrexed))或吉西他滨加太平洋紫杉醇结合颗粒(Abraxane®)。

[0425] 本发明的化合物可有效地与抗激素剂组合用于治疗乳腺癌和其他肿瘤。适合的实例为抗雌激素剂,其包括但不限于他莫昔芬和托瑞米芬(toremifene);芳香酶抑制剂,其包括但不限于来曲唑(letrozole)、阿那曲唑(anastrozole)和依西美坦(exemestane);肾上腺皮质类固醇(例如泼尼松(prednisone));孕激素(例如醋酸甲地孕酮(megastrol acetate));和雌激素受体拮抗剂(例如氟维司群(fulvestrant))。用于治疗前列腺癌和其他癌症的适合抗激素剂也可与本发明的化合物组合。这些包括抗雄激素,其包括但不限于氟他胺(flutamide)、比卡鲁胺(bicalutamide)和尼鲁米特(nilutamide);促黄体素释放激素(LHRH)类似物,其包括亮丙瑞林(leuprolide)、戈舍瑞林(goserelin)、曲普瑞林(triptorelin)和组氨瑞林(histrelin);LHRH拮抗剂(例如地加瑞克(degarelix));雄激素受体阻断剂(例如恩杂鲁胺(enzalutamide));和抑制雄激素产生的药剂(例如阿比特龙(abiraterone))。

[0426] 本发明的化合物可与其他针对膜受体激酶的药剂组合或依序施用,尤其用于对靶向疗法已产生原发性或获得性耐药性的患者。这些治疗剂包括针对EGFR、Her2、VEGFR、c-Met、Ret、IGFR1或Flt-3和针对癌症相关融合蛋白激酶如Bcr-Abl和EML4-Alk的抑制剂或抗体。针对EGFR的抑制剂包括吉非替尼(gefitinib)和埃罗替尼(erlotinib),并且针对EGFR/Her2的抑制剂包括但不限于达可替尼(dacomitinib)、阿法替尼(afatinib)、拉匹替尼(lapatinib)和奈拉替尼(neratinib)。针对EGFR的抗体包括但不限于西妥昔单抗(cetuximab)、帕尼单抗(panitumumab)和耐昔妥珠单抗(necitumumab)。c-Met的抑制剂可与本发明的化合物组合使用。这些包括奥妥珠单抗(onartumzumab)、替伐尼布(tivantinib)和INC-280。针对Abl(或Bcr-Abl)的药剂包括伊马替尼(imatinib)、达沙替尼(dasatinib)、尼罗替尼(nilotinib)和普纳替尼(ponatinib)并且针对Alk(或EML4-ALK)的那些药剂包括克唑替尼(crizotinib)。

[0427] 血管生成抑制剂与本发明的化合物组合可在一些肿瘤中有效。这些抑制剂包括针对VEGF或VEGFR的抗体或VEGFR激酶抑制剂。针对VEGF的抗体或其他治疗蛋白包括贝伐珠单

抗(bevacizumab)和阿柏西普(aflibercept)。VEGFR激酶的抑制剂和其他抗血管生成抑制剂包括但不限于舒尼替尼(sunitinib)、索拉非尼(sorafenib)、阿西替尼(axitinib)、西地尼布(cediranib)、帕佐泮尼(pazopanib)、瑞戈非尼(regorafenib)、布立尼布(brivanib)和凡德他尼(vandetanib)。

[0428] 胞内信号通路的活化在癌症中是常见的,并且靶向这些通路的组分的药剂已与受体靶向剂组合以增强功效并降低耐药性。可与本发明的化合物组合的药剂的实例包括PI3K-AKT-mTOR通路的抑制剂、Raf-MAPK通路的抑制剂、JAK-STAT通路的抑制剂和蛋白伴随蛋白和细胞周期进程的抑制剂。

[0429] 针对PI3激酶的药剂包括但不限于托皮拉昔布(topilralalisib)、艾德昔布(idelalisib)、布帕昔布(buparlisib)。mTOR的抑制剂如雷帕霉素(rapamycin)、西罗莫司(sirolimus)、替西罗莫司(temsirolimus)和依维莫司(everolimus)可与本发明的化合物组合。其他适合的实例包括但不限于维罗非尼(vemurafenib)和达拉非尼(dabrafenib)(Raf抑制剂)和曲美替尼(trametinib)、司美替尼(selumetinib)和GDC-0973(MEK抑制剂)。一种或多种JAK(例如,卢利替尼(ruxolitinib)、巴瑞替尼(baricitinib)、托法替尼(tofacitinib))、Hsp90(例如,坦螺旋霉素)、周期蛋白依赖性激酶(例如,帕博西尼(palbociclib))、HDAC(例如,帕比司他(panobinostat))、PARP(例如,奥拉帕尼(olaparib))和蛋白酶体(例如,硼替佐米(bortezomib)、卡非佐米(carfilzomib))的抑制剂也可与本发明的化合物组合。可与本发明的化合物组合的PARP抑制剂的另一个实例为他拉唑帕尼(talazoparib)。

[0430] 安全且有效施用大部分的这些化学治疗剂的方法是本领域技术人员已知的。另外,其施用描述于标准文献中。例如,多种化学治疗剂的施用描述于“Physicians’ Desk Reference”(PDR,例如1996版,Medical Economics Company, Montvale, NJ)中,其公开内容通过引用并入本文,如同其整体阐述一般。

[0431] 化合物(治疗剂、活性成分、药物等)的短语“治疗有效量”是指根据待治疗的病症或疾患的临床可接受标准,向需要缓解症状、改善疾患或减缓疾病状况发作的疗法或治疗的受试者施用化合物的量。例如,治疗有效量可为已在体外测定、体内动物测定或临床试验中证实具有所需治疗效果的量。治疗有效量可基于特定剂型、施用方法、治疗方案、治疗的特定疾病或疾患、益处/风险比等以及众多其他因素而变化。

[0432] 所述治疗有效量可获自临床试验、动物模型或体外细胞培养测定。本领域中已知适合于人类使用的有效量可由从动物模型或体外细胞培养测定所确定的有效量计算。例如,如通过Reagan-Shaw等人,FASEB J. 2008:22(3)659-61所报道,“ $\mu\text{g}/\text{ml}$ ”(基于体外细胞培养测定的有效量) = “ mg/kg 体重/天”(小鼠的有效量)。此外,基于小鼠的代谢速率比人类的代谢速率快6倍的事实,可由小鼠的有效量计算人类的有效量。

[0433] 作为使用式(I)化合物与细胞毒性剂组合进行治疗的一个实例,可向患有癌症的患者施用治疗有效量的式(I)化合物作为治疗方案的一部分,所述治疗方案还涉及治疗有效量的电离辐射或细胞毒性剂。在此治疗方案的上下文中,术语“治疗有效”量应理解为意指在组合疗法中有效。癌症治疗领域中的技术人员应理解如何调节剂量以达到最佳治疗结果。

[0434] 类似地,用于治疗非癌性疾病或疾患(例如心血管疾病)的本发明化合物的适当剂

量可容易地由医学领域的技术人员确定。

[0435] 如本文所用的术语“治疗”包括施用化合物或组合物,相对于未接受所述化合物或组合物的受试者,所述化合物或组合物降低受试者中涉及酸性或缺氧病变组织的疾病(例如癌症、中风、心肌梗塞或长期神经退行性疾病)的症状的频率、延迟其发作或减少其进展。这可包括以改善或稳定受试者疾患的方式逆转、减少或抑制症状、临床征象或疾患的潜在病变(例如,肿瘤生长的消退、癌症或减少或改善心肌梗塞、中风或类似心血管疾病中的心肌缺血再灌注损伤)。术语“抑制”或“减少”用于癌症是指与未经治疗的对照群体相比,抑制或减少群体中的肿瘤生长(例如,减小肿瘤大小)的方法。

[0436] 本文所提及的所有出版物(包括专利)都通过引用并入本文,以达到描述和公开例如出版物中所描述的构建体和方法的目的,所述构建体和方法可结合本文所描述的公开内容使用。贯穿本文所论述的出版物仅提供在本申请的申请日之前的公开内容。

[0437] 本文公开了若干类型的范围。当公开或要求保护任何类型的范围时,意图单独地公开或要求保护此范围可合理涵盖的每个可能的数目,包括范围的端点以及其中涵盖的任何子范围和子范围的组合。当公开或要求保护活性成分的治疗有效量的范围时,例如,意图单独地公开或要求保护此范围可涵盖的与本文公开内容一致的每一个可能的数目。例如,公开化合物的治疗有效量可在约1mg/kg至约50mg/kg(受试者的体重)范围内。

[0438] 制剂、剂型和施用

[0439] 为制备本发明的药物组合物,根据常规药物混配技术将式(I)化合物或其药学上可接受的盐作为紧密混合物中的活性成分与药物载体组合,所述载体可根据施用所需的制剂形式(例如,口服或胃肠外)而采用广泛多种形式。在制备呈口服剂型的组合物时,可采用常见药物介质中的任一者,例如,在口服液体剂型(例如悬浮液、酏剂和溶液)的情况下,水、二醇、油、醇、调味剂、防腐剂、着色剂等;或在口服固体剂型(例如散剂、胶囊和片剂)的情况下,载体如淀粉、糖、稀释剂、成粒剂、润滑剂、粘合剂、崩解剂等。由于片剂和胶囊容易施用,因此它们代表最有利的口服单位剂型,在这种情况下显然使用固体药物载体。必要时,片剂可通过标准技术包覆糖衣或包覆肠溶包衣。对于胃肠外剂,载体将通常包含无菌水,尽管可包括其他成分,例如以辅助溶解或用于防腐目的。也可制备可注射悬浮液,在此情况下,可采用适当液体载体、悬浮剂等。医药和医学领域中的技术人员将能够容易地确定用于治疗的特定疾病或疾患的本发明的药物组合物的适合剂量。

[0440] 实施例

[0441] 质谱方法

[0442] 在具有6130B四极杆MS的Agilent 1260Infinity II和具有6125B四极杆MS的Agilent 1290Infinity II上测量质谱。

[0443] 或者,在Applied Biosystems Voyager System 6268上测量Maldi-TOF(基质辅助激光脱附/电离-飞行时间)质谱。样品是作为 α -氰基羟基肉桂酸的基质在AB Science板(部件号V700666)上制备。

[0444] 电喷雾电离(ESI)质谱是在具有1946MSD的Agilent 1100系列LC-MS或Waters Xevo Qtof高分辨率MS上测量,两者都提供质量/电荷物种($m/z=3$)。

[0445] HPLC方法

[0446] HPLC由Agilent 1260Infinity II机器记录。HPLC方法按需要更详细地描述于下

文每个实施例中。

[0447] 接头的制备

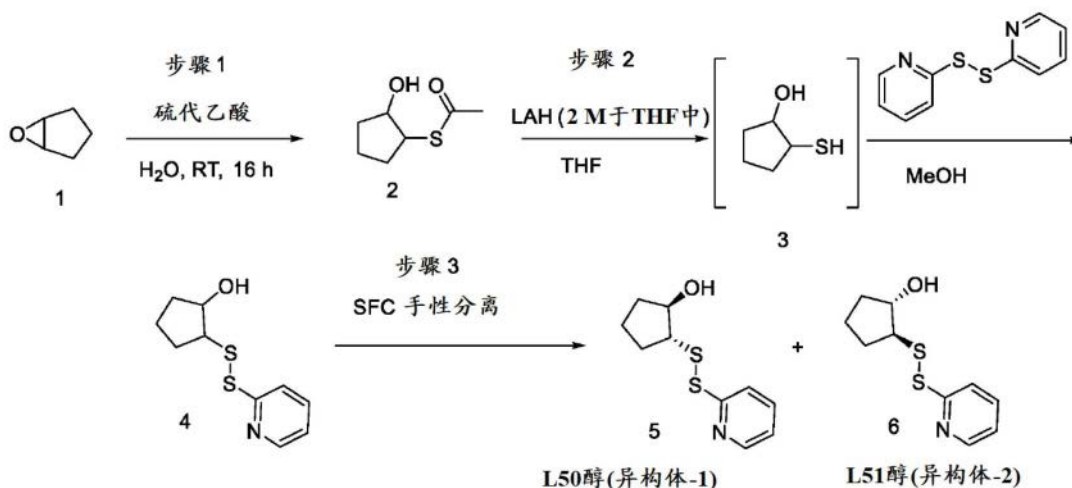
[0448] 本文所提供的各种接头的制备描述于美国专利第10,933,069号和美国申请公开第2021/0009536号和第2021/0009719号中。例如,以下接头的合成描述于美国申请公开第2021/0009719号中:

[0449]

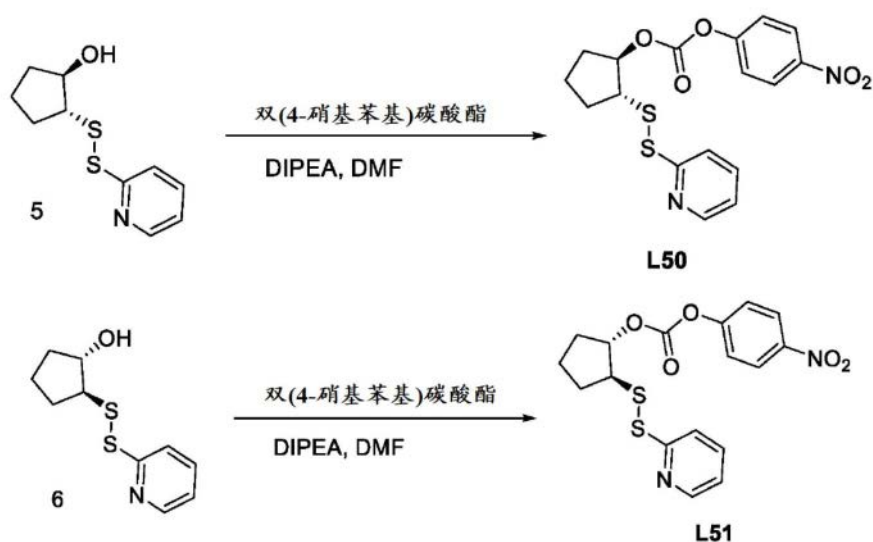
接头名称	结构
L31	
L55*	
L56*	
L61*	
L62*	
L65	
L64	

[0450] *显示相对立体化学。细节参见美国申请公开第2021/0009719号。

[0451] 接头化合物L50和L51的合成



[0452]



[0453] 步骤1:S-硫代乙酸(2-羟基环戊基)酯的合成

[0454] 在室温下向6-氧杂双环[3.1.0]己烷(5g, 59.4mmol)于水(50mL)中的经搅拌溶液中添加硫代乙酸(4.98g, 65.4mmol)。在室温下搅拌反应混合物18小时。反应混合物用饱和NaHCO₃水溶液淬灭并用乙酸乙酯萃取。有机层经Na₂SO₄干燥并蒸发,得到呈无色液体状的S-硫代乙酸(2-羟基环戊基)酯(6.1g, 38.1mmol, 产率64.0%)。粗产物不经纯化即用于下一步骤中。

[0455] 步骤2:2-巯基环戊烷-1-醇的合成

[0456] 在0℃下,向S-硫代乙酸(2-羟基环戊基)酯(6.1g, 38.1mmol)于THF(60ml)中的经搅拌溶液中滴加2.0M含LAH的THF溶液(28.6ml, 57.1mmol)。反应混合物在室温下搅拌3小时。将反应混合物冷却至0℃并且用1.5N HCl水溶液淬灭并用DCM萃取。有机层经Na₂SO₄干燥并蒸发,得到呈无色液体状的2-巯基环戊烷-1-醇(5g, 42.3mmol, 产率111%)。粗产物不经纯化即用于下一步骤中。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ4.90 (s, 1H), 3.78 (s, 1H), 2.93-2.87 (m, 1H), 2.44-2.42 (m, 1H), 2.19-2.05 (m, 1H), 1.96-1.88 (m, 1H), 1.69-1.67 (m, 2H), 1.50-1.35 (m, 2H)。

[0457] 步骤3:2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊-1-醇

[0458] 在0℃下,向2-巯基环戊烷-1-醇(5g, 42.3mmol)于甲醇(60ml)中的经搅拌溶液中添加1,2-二(吡啶-2-基)二硫烷(13.98g, 63.5mmol)。在室温下搅拌反应混合物18小时。将

反应混合物蒸发至干燥。添加冰冷水,用乙酸乙酯萃取。分离有机层,用盐水洗涤,经 Na_2SO_4 干燥并蒸发,得到粗残余物。粗残余物通过快速柱色谱法使用10%乙酸乙酯/石油醚纯化两次,得到呈外消旋混合物形式的2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊-1-醇。LCMS: $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{NOS}_2$ 的 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值:227.04;实验值228.1(M+H)。SFC手性纯度:柱:Lux A1;共溶剂:40% MeOH;流动速率:4mL/min;RT(min):2.98;面积%:49.92;RT(min):4.26;面积%:48.79。HPLC:柱:Atlantis dC18(250X4.6)mm,5 μm ;流动相:A:含0.1% TFA的 H_2O ;流动相:B:含0.1% TFA的ACN;流速:1.0mL/min;RT(min):5.76;纯度(Max):99.41%

[0459] 异构体(1R,2R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊-1-醇(L-50醇)和(1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊-1-醇(L-51醇)的SFC分离

[0460] 异构体通过外消旋2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊-1-醇的SFC纯化分离。在30℃下减压浓缩所得SFC洗脱份异构体-1(第一洗脱峰),得到呈无色油状的(1R,2R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊-1-醇(L-50醇)(1.2g,5.18mmol,12.25%产率)。绝对立体化学指定如Yamshita H.,Bull.Chem.Soc.Jpn.,61,1213-1220(1988)中所阐述。LCMS: $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{NOS}_2$ 的 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值:227.04;实验值228.1(M+H)。HPLC:柱:X-Bridge C8(50x 4.6)mm,3.5 μm ;流动相:A:含0.1% TFA的 H_2O ;流动相:B:含0.1% TFA的ACN;流速:2.0mL/min;RT(min):2.71;纯度(Max):98.19%。SFC手性纯度:柱:Lux A1;共溶剂:40% MeOH;流动速率:40mL/min;RT(min):2.94;面积%:100.0。 ^1H NMR(400MHz, CDCl_3): δ 8.55(s,1H),7.65-7.61(m,1H),7.54-7.51(m,1H),7.21-7.17(m,1H),4.05-4.04(m,1H),3.03(t,J=8.00Hz,1H),2.12-2.05(m,2H),1.72-1.64(m,5H)。

[0461] 接头L50的前体的合成

[0462] 在室温下向(1R,2R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊-1-醇(1.1g,4.84mmol)于DMF(10ml)中的经搅拌溶液中添加双(4-硝基苯基)碳酸酯(2.94g,9.68mmol)和DIPEA(2.51ml,14.52mmol)。在室温下搅拌反应混合物18小时。反应混合物用冰冷水稀释并用乙酸乙酯萃取。有机层用盐水洗涤,经 Na_2SO_4 干燥,得到粗产物。通过反相色谱法使用含0.1% HCOOH 的 H_2O 和ACN纯化粗产物。减压浓缩产物洗脱份,得到纯产物,将其冻干,得到呈淡黄色胶状的((1R,2R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基)碳酸4-硝基苯酯(1.7g,4.32mmol,89%产率)。LCMS: $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}_2$ 的 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值:392.05;实验值392.9(M+H)。HPLC:柱:X-Bridge C8(50x 4.6)mm,3.5 μm ;流动相:A:含0.1% TFA的 H_2O ;流动相:B:含0.1% TFA的ACN;流速:2.0mL/min;RT(min):5.01;纯度(Max):99.73%。SFC手性纯度:柱:YMC Amylose-SA;共溶剂:30% IPA;流动速率:3mL/min;RT(min):4.26;面积%:99.95。 ^1H NMR(400MHz, CDCl_3): δ 8.50(s,1H),8.29-8.27(m,2H),7.71-7.65(m,2H),7.39-7.36(m,2H),7.14-7.11(m,1H),5.25(t,J=3.20Hz,1H),3.60-3.55(m,1H),2.30-2.27(m,2H),2.03-1.79(m,3H),1.70-1.69(m,1H)。

[0463] 接头L51的前体的合成

[0464] 在室温下向(1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊-1-醇(1.1g,4.84mmol)于DMF(10ml)中的经搅拌溶液中添加碳酸双(4-硝基苯基)酯(2.94g,9.68mmol)和DIPEA(2.51ml,14.52mmol)。在室温下搅拌反应混合物18小时。反应混合物用冰冷水稀释并用乙酸乙酯萃取。有机层用盐水洗涤,经 Na_2SO_4 干燥,得到粗产物。通过反相色谱法使用含0.1% HCOOH 的 H_2O 和ACN纯化粗产物。减压浓缩产物洗脱份,得到纯产物,将其冻干,得到呈淡黄色胶状化

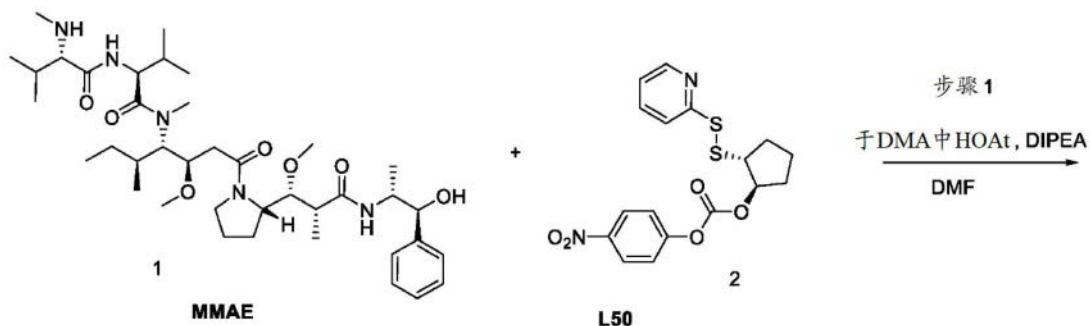
化合物的((1R,2R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基)碳酸4-硝基苯酯(1.7g,4.24mmol,88%产率)。LCMS: $C_{17}H_{16}N_2O_5S_2$ 的[M+]⁺计算值:392.05;实验值392.8(M+H)。HPLC:柱:X-Bridge C8(50x 4.6)mm,3.5 μ m;流动相:A:含0.1% TFA的H₂O;流动相:B:含0.1% TFA的ACN;流动速率:2.0mL/min;RT(min):5.01;纯度(Max):97.86%。SFC手性纯度:柱:YMC Amylose-SA;共溶剂:30% IPA;流动速率:3mL/min;RT(min):3.56;面积%:99.74。¹H NMR(400MHz, CDCl₃): δ 400MHz,CDCl₃: δ 8.50(s,1H),8.29-8.27(m,2H),7.71-7.65(m,2H),7.39-7.36(m,2H),7.14-7.11(m,1H),5.25(t,J=3.20Hz,1H),3.60-3.55(m,1H),2.30-2.27(m,2H),2.03-1.79(m,3H),1.70-1.69(m,1H)。

[0465] 接头L51的替代合成

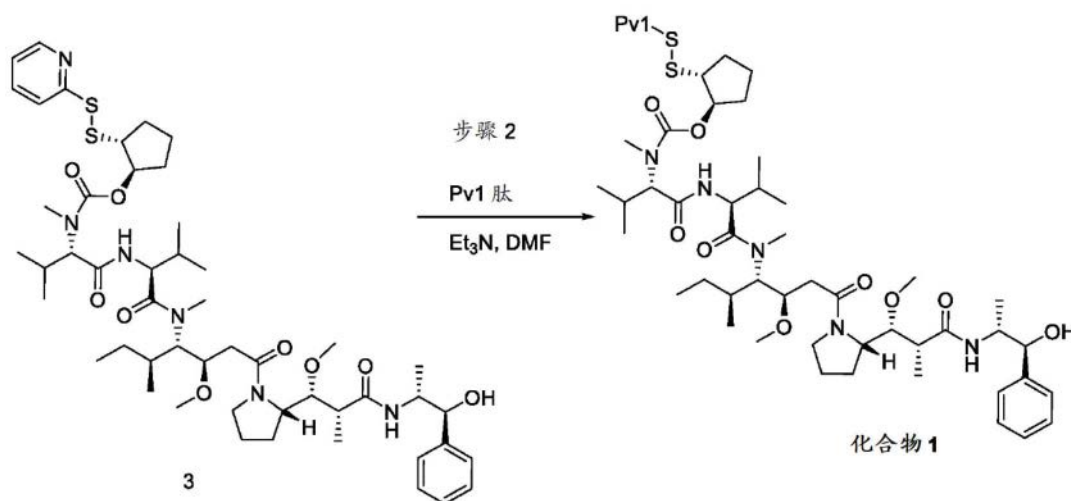
[0466] 接头L51可根据国际申请W0 2022/150596中公开的酶促手性拆分方法制备,所述申请整体并入本文(参见例如W0 2022/150596的实施例11)。

[0467] 本公开化合物的合成

[0468] 实施例1:化合物1的合成



[0469]



[0470] 步骤1:((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸(1R,2R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊酯(3)的合成

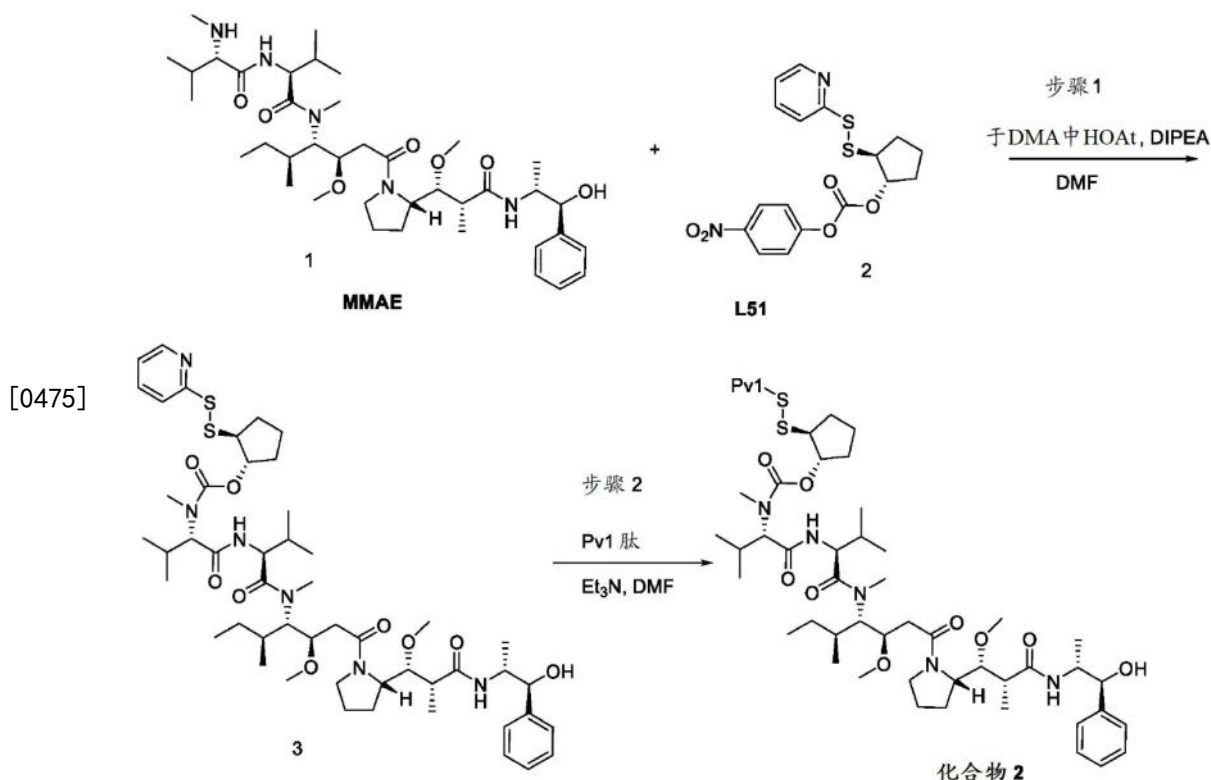
[0471] 在0℃下向(S)-N-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)丁酰胺(150mg,

0.209mmol) 于DMF (1mL) 中的经搅拌溶液中添加((1R,2R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基)碳酸4-硝基苯酯(L50) (98mg, 0.251mmol)。然后, 添加1-羟基-7-氮杂苯并三唑于DMA中的1M 溶液(0.104mL, 0.104mmol) 和DIPEA (0.054mL, 0.313mmol) 并且在室温下搅拌反应混合物18 小时。反应混合物通过制备型使用含0.1% HCOOH的H₂O和ACN纯化。将产物洗脱份冻干, 得到呈白色固体状的((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸(1R,2R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊酯(138mg, 0.140mmol, 67.1%产率)。LCMS: C₅₀H₇₈N₆O₉S₂的[M+H]⁺计算值: 970.53; 实验值971.3 (M+H)。HPLC: 柱: X-Bridge C8 (50X4.6) mm, 3.5μm; 流动相: A: 含0.1% TFA的H₂O; 流动相: B: 含0.1% TFA的ACN; 流速: 2.0mL/min; RT(min): 5.49; 纯度(Max): 98.69%。

[0472] 步骤2: 化合物1的合成

[0473] 在0℃下向((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸(1R,2R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊酯(115mg, 0.118mmol) 于DMF (1.5mL) 中的经搅拌溶液中添加Pv1肽(425.6mg, 0.130mmol) 和三乙胺(0.02mL, 0.141mmol)。反应混合物在室温下搅拌3小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% TFA的H₂O和ACN纯化。将产物洗脱份冻干, 得到呈白色固体状的化合物1 (205mg, 0.049mmol, 41.5%产率)。所获得的产物为双三氟乙酸盐。LCMS: C₁₉₇H₂₉₉F₆N₄₁O₅₂S₂的[M+H]⁺计算值: 4135.15; 实验值1380.3 (M+3)/3。HPLC: 柱: Atlantis dC18 (250X4.6) mm, 5μm; 流动相: A: 含0.1% TFA的H₂O; 流动相: B: 含0.1% TFA的ACN; 流速: 1.0mL/min; RT (min): 12.29; 纯度 (Max): 99.69%

[0474] 实施例2: 化合物2的合成



[0475] 步骤1: ((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸(1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊酯

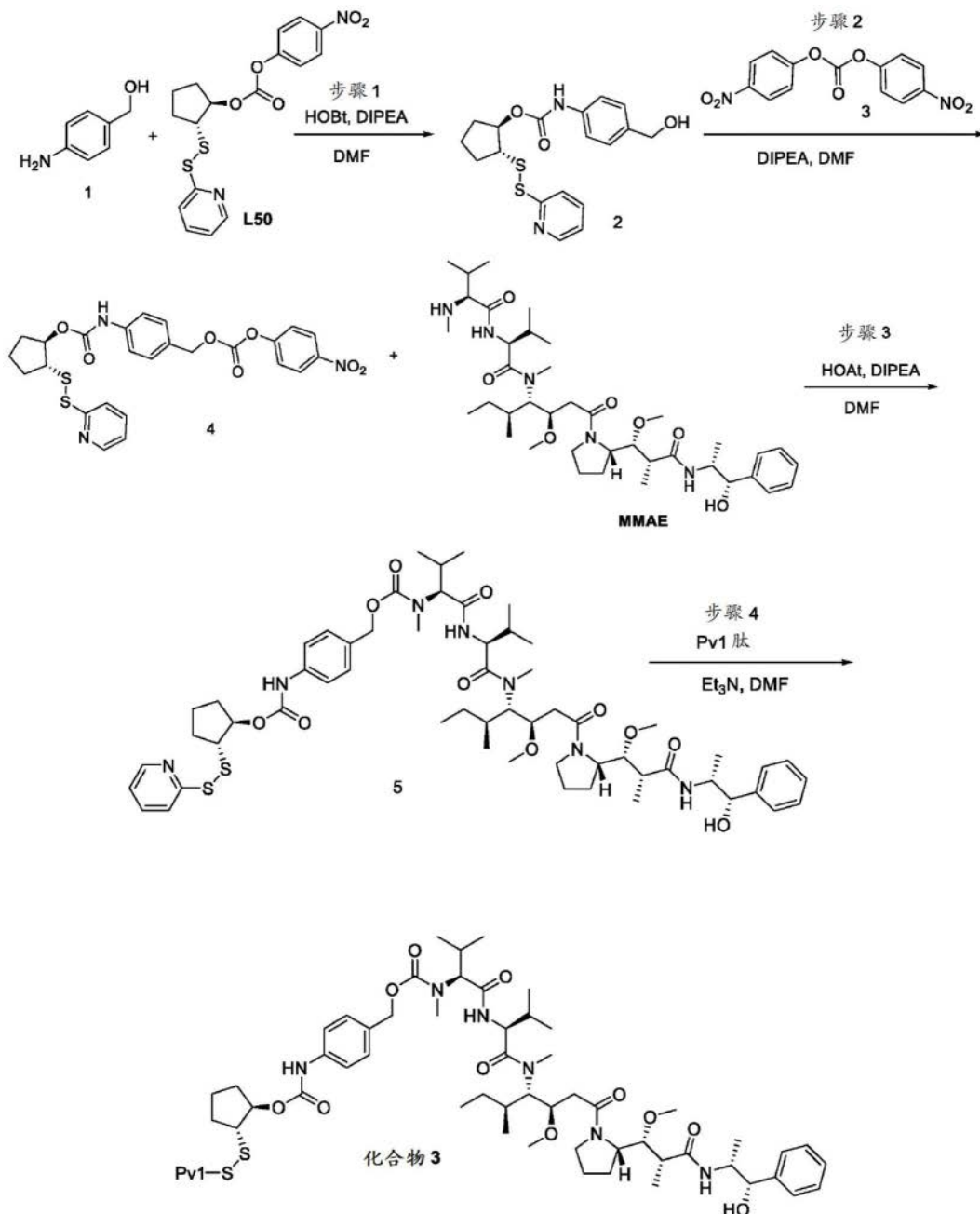
[0477] 在0℃下向(S)-N-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)丁酰胺(180mg, 0.251mmol)于DMF(1mL)中的经搅拌溶液中添加((1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基)碳酸4-硝基苯酯(L51)(118mg, 0.301mmol)。然后,添加1-羟基-7-氮杂苯并三唑于DMA中的1M溶液(0.125ml, 0.125mmol)和DIPEA(0.066ml, 0.376mmol)并且在室温下搅拌反应混合物16小时。反应混合物通过制备型使用含0.1% HCOOH的H₂O和ACN纯化。将产物洗脱份冻干,得到呈白色固体状的((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸(1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊酯(200mg, 0.251mmol, 79%产率)。LCM S: C₅₀H₇₈N₆O₉S₂的[M+H]⁺计算值: 970.53; 实验值 971.4 (M+H)。柱: X-Bridge C8 (50X4.6) mm, 3.5μm; 流动相: A: 含0.1% TFA的H₂O; 流动相: B: 含0.1% TFA的ACN; 流速: 2.0mL/min; RT(min): 5.48; 纯度(Max): 95.59%。

[0478] 步骤2: 化合物2的合成

[0479] 在0℃下向((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-

基) (甲基) 氨基甲酸 (1S, 2S) - 2- (吡啶-2-基二硫烷基) 环戊酯 (200mg, 0.206mmol) 于DMF (2mL) 中的经搅拌溶液中添加Pv1肽 (742.9mg, 0.226mmol) 和三乙胺 (0.035mL, 0.247mmol)。在室温下搅拌反应混合物1小时30分钟。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% TFA的H₂O和ACN纯化。将产物洗脱份冻干, 得到呈白色固体状的化合物2 (410mg, 0.099mmol, 48% 产率)。所获得的产物为双三氟乙酸盐。LCMS: C₁₉₇H₂₉₉F₆N₄₁O₅₂S₂的[M+H]⁺计算值: 4135.15; 实验值1380.0(M+3)/3。HPLC: 柱: Atlantis dC18 (250X4.6) mm, 5μm; 流动相: A: 含0.1% TFA的H₂O; 流动相: B: 含0.1% TFA的ACN; 流速: 1.0mL/min; RT (min): 11.94; 纯度 (Max): 99.66%

[0480] 实施例3: 化合物3的合成



[0482] 步骤1: (1R, 2R) - 2- (吡啶-2-基二硫烷基) 环戊基 (4-羟甲基) 苯基) 氨基甲酸酯的合成

[0483] 用冰冷却(4-氨基苯基)甲醇(120mg, 0.974mmol)和((1R,2R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基)碳酸4-硝基苯酯(L50)(382mg, 0.974mmol)于DMF(1ml)中的经搅拌溶液。向以上溶液中添加HOBt(65.8mg, 0.487mmol)和DIPEA(0.338ml, 1.949mmol)。在室温下搅拌反应混合物18小时。反应混合物用冰冷水稀释,用乙酸乙酯萃取并用盐水洗涤。浓缩有机层,得到粗残余物。粗残余物通过快速柱色谱法使用40%乙酸乙酯/石油醚纯化,得到呈棕色胶状的(1R,2R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基(4-(羟基甲基)苯基)氨基甲酸酯(350mg, 0.876mmol, 90%产率)。LCMS: $C_{18}H_{20}F_6N_2O_3S_2$ 的[M+H]⁺计算值: 376.09; 实验值 377.6(M+H)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): δ 9.61(s, 1H), 8.45(d, J=4.80Hz, 1H), 7.79-7.77(m, 2H), 7.39-7.22(m, 2H), 7.19-7.14(m, 3H), 5.08(t, J=5.60Hz, 1H), 5.00(s, 1H), 4.41(d, J=5.60Hz, 2H), 3.51-3.34(m, 1H), 2.17-2.00(m, 2H), 1.78-1.67(m, 4H)。

[0484] 步骤2: (1R,2R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基(4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酸酯的合成

[0485] 在室温下向(1R,2R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基(4-(羟基甲基)苯基)氨基甲酸酯(0.35g, 0.930mmol)于DMF(5ml)中的经搅拌溶液中添加双(4-硝基苯基)碳酸酯(1.131g, 3.72mmol)和DIPEA(0.242ml, 1.394mmol)。在室温下搅拌反应混合物18小时。反应混合物用冰冷水稀释并用乙酸乙酯萃取。有机层用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥并减压浓缩,得到粗残余物。粗残余物通过快速柱色谱法使用20%乙酸乙酯/石油醚纯化,得到呈棕色胶状的(1R,2R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基(4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酸酯(420mg, 0.740mmol, 80%产率)。LCMS: $C_{25}H_{23}N_3O_7S_2$ 的[M+H]⁺计算值: 541.10; 实验值 542.1(M+H)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): δ 9.78(s, 1H), 8.45(d, J=5.20Hz, 1H), 8.33-8.31(m, 2H), 7.79-7.77(m, 2H), 7.59-7.56(m, 2H), 7.49-7.47(m, 2H), 7.39-7.37(m, 2H), 7.24-7.21(m, 1H), 5.23(s, 2H), 5.03(t, J=2.40Hz, 1H), 3.52-3.51(m, 1H), 2.20-2.10(m, 2H), 1.78-1.68(m, 4H)。

[0486] 步骤3: 4-((((1R,2R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基)氧基)羰基)氨基)苯甲基((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸酯的合成

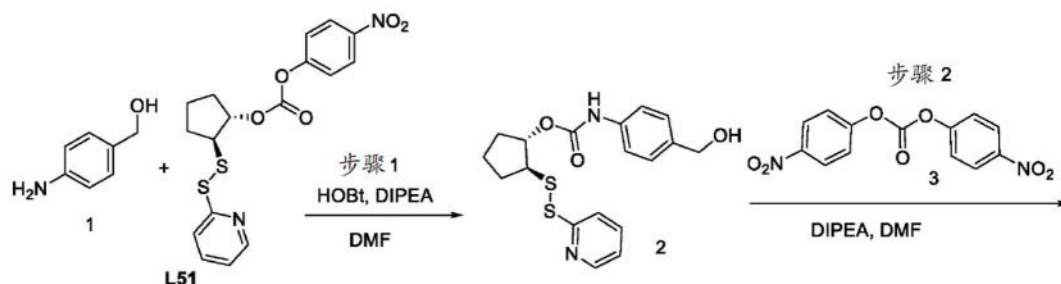
[0487] 在0℃下向(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)丁酰胺(MMAE)(150mg, 0.209mmol)于DMF(1mL)中的经搅拌溶液中添加(1R,2R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基(4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酸酯(113mg, 0.209mmol)、1-羟基-7-氮杂苯并三唑于DMA中的1M溶液(0.104ml, 0.104mmol)和DIPEA(0.054ml, 0.313mmol)。在室温下搅拌反应混合物18小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% HCOOH的H₂O和ACN纯化。将产物洗脱份冻干,得到呈白色固体状的4-((((1R,2R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基)氧基)羰基)氨基)苯甲基((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲

基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸酯(150mg,0.133mmol,63.6%产率)。LCMS: $C_{58}H_{85}N_7O_{11}S_2$ 的 $[M+H]^+$ 计算值:1119.57;实验值1121.4(M+H)。HPLC:柱:Atlantis dc18(250X4.6)mm,5 μ m;流动相:A:含0.1%TFA的 H_2O ;流动相:B:含0.1%TFA的ACN;流速:1.0mL/min;RT(min):13.61;纯度(Max):99.26%

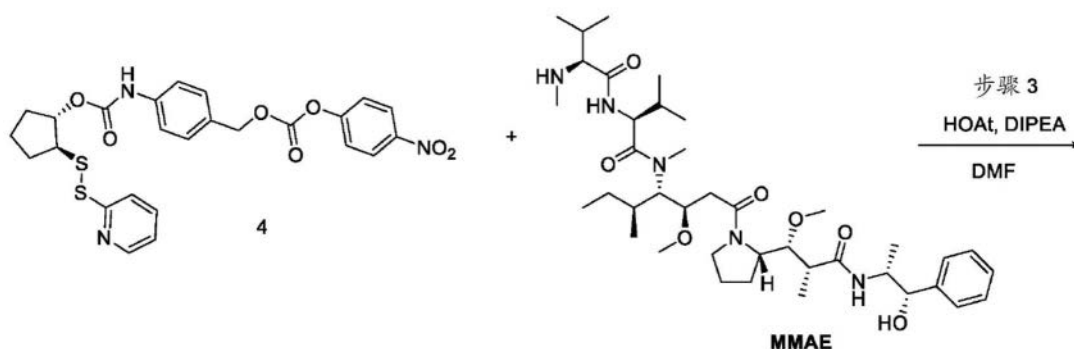
[0488] 步骤4:化合物3的合成

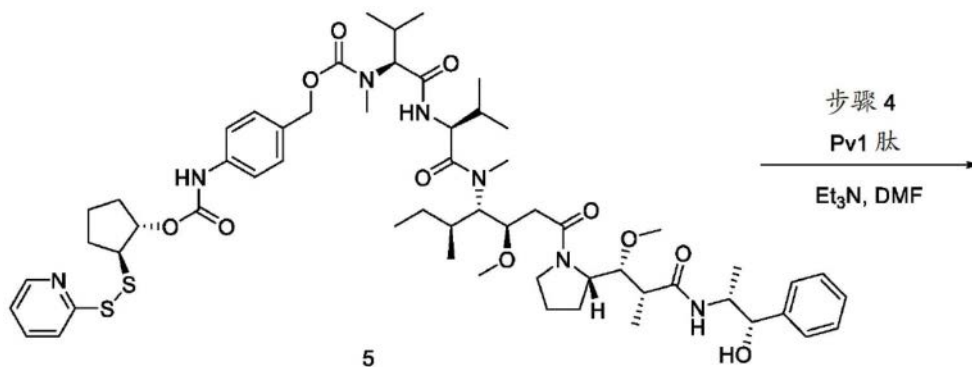
[0489] 向4-((((1R,2R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基)氧基)羰基)氨基)苯甲基((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸酯(60mg,0.054mmol)于DMF(0.5mL)中的冰冷溶液中添加Pv1肽(176mg,0.054mmol)和三乙胺(8.96 μ l,0.064mmol)。在室温下搅拌反应混合物18小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1%TFA的 H_2O 和ACN纯化。将产物洗脱份冻干,得到呈白色固体状的化合物3(65mg,0.015mmol,27.8%产率)。所获得的产物为双三氟乙酸盐。LCMS: $C_{205}H_{306}N_{42}O_{54}S_2$ 的 $[M+H]^+$ 计算值:4284.19;实验值1430.2(M+3)/3。HPLC:柱:Atlantis dc18(250X4.6)mm,5 μ m;流动相:A:含0.1%TFA的 H_2O ;流动相:B:含0.1%TFA的ACN;流速:1.0mL/min;RT(min):12.20;纯度(Max):99.84%。

[0490] 实施例4:化合物4的合成

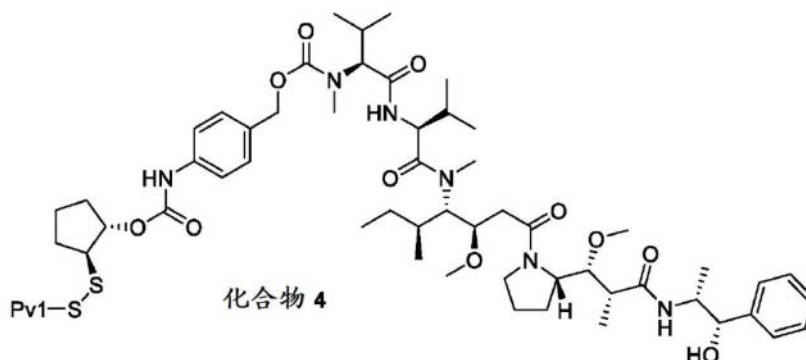


[0491]





[0492]



[0493] 步骤1: (1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基(4-(羟基甲基)苯基)氨基甲酸酯的合成

[0494] 将(1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基2-(4-硝基苯基)乙酸酯(L-51)(380mg,0.974mmol)和(4-氨基苯基)甲醇(120mg,0.974mmol)于DMF(2.5ml)中的经搅拌溶液冷却至0℃。然后,在0℃下添加DIPEA(0.339ml,1.949mmol),接着添加HOBt(74.6mg,0.487mmol)。在室温下搅拌反应混合物18小时。将冰冷水添加至反应混合物中并用乙酸乙酯萃取。乙酸乙酯层经Na₂SO₄干燥并减压浓缩,得到粗产物。粗产物通过快速柱色谱法使用50% EtOAc/石油醚作为洗脱剂纯化。减压蒸发产物洗脱份,得到呈棕色胶状的(1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基(4-(羟基甲基)苯基)氨基甲酸酯(304mg,0.798mmol,82%产率)。LCMS:C₁₈H₂₀F₆N₂O₃S₂的[M+H]⁺计算值:376.09;实验值377.1(M+H)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆):δ9.61(s,1H),8.45(d,J=4.80Hz,1H),7.79-7.77(m,2H),7.39-7.22(m,2H),7.19-7.14(m,3H),5.08(t,J=5.60Hz,1H),5.00(s,1H),4.41(d,J=5.60Hz,2H),3.51-3.34(m,1H),2.17-2.00(m,2H),1.78-1.67(m,4H)。

[0495] 步骤2: (1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基(4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酸酯的合成

[0496] 在0℃下向(1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基(4-(羟基甲基)苯基)氨基甲酸酯(300mg,0.797mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(970mg,3.19mmol)于DMF(5ml)中的溶液中添加DIPEA(0.208ml,1.195mmol)并且在室温下搅拌反应混合物18小时。将冰冷水添加至反应混合物中并用乙酸乙酯萃取。乙酸乙酯层用冷水、盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥并减压浓缩,得到粗产物。粗产物通过快速柱色谱法使用25%乙酸乙酯/石油醚作为洗脱剂纯化。将产物洗脱份减压浓缩,得到呈黄色胶质固体状的(1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基(4-

((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酸酯(330mg, 0.599mmol, 75%产率)。LCMS: $C_{25}H_{23}N_3O_7S_2$ 的 $[M+H]^+$ 计算值: 541.10; 实验值 542.0 (M+H)。 ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 9.78 (s, 1H), 8.45 (d, J=5.20Hz, 1H), 8.31-8.33 (m, 2H), 7.81-7.77 (m, 1H), 7.57 (d, J=8.80Hz, 2H), 7.48 (d, J=8.40Hz, 2H), 7.38 (d, J=8.40Hz, 2H), 7.24-7.21 (m, 1H), 5.23 (s, 2H), 5.03 (t, J=2.40Hz, 1H), 3.54-3.49 (m, 1H), 2.20-2.10 (m, 2H), 1.80-1.67 (m, 4H)。

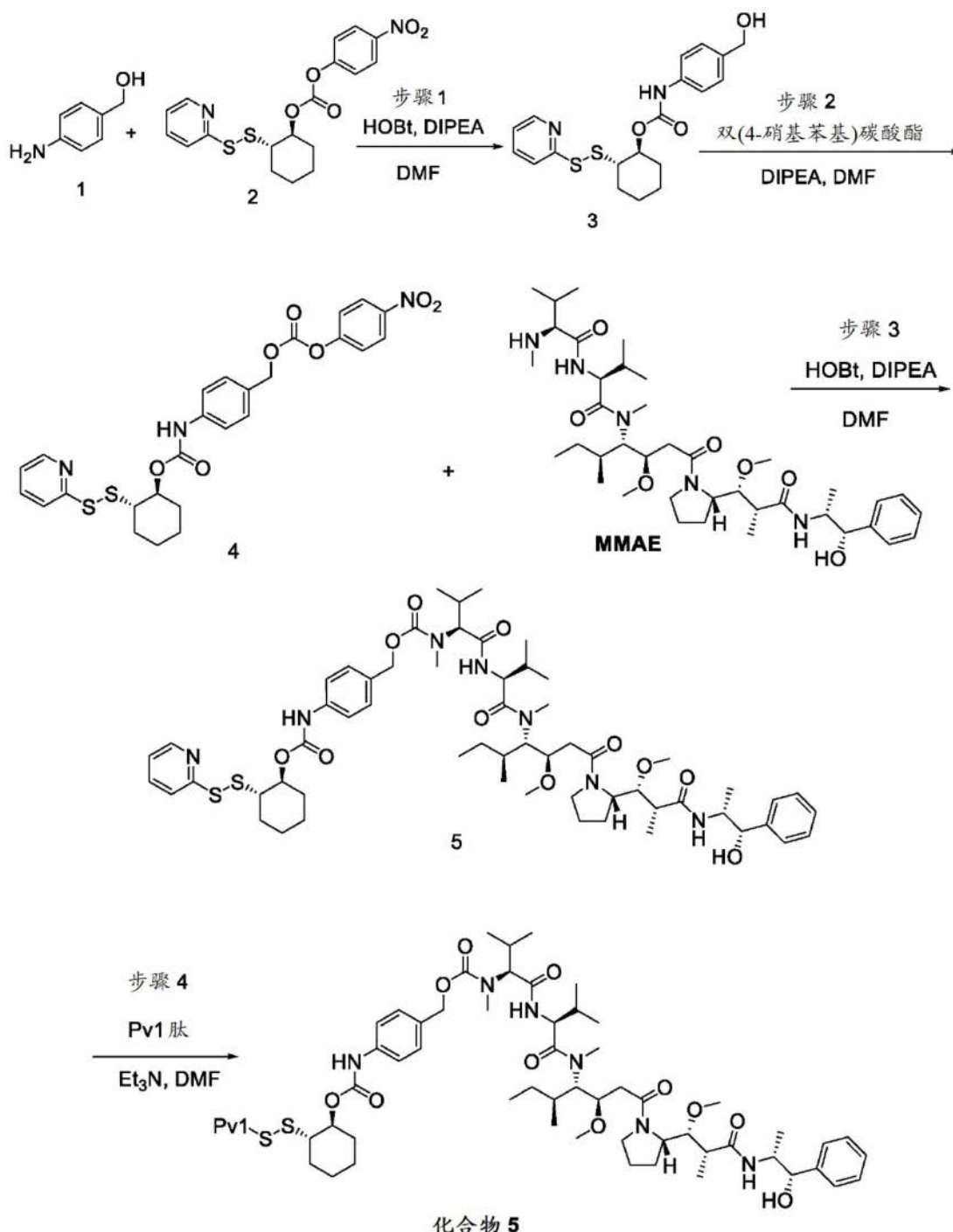
[0497] 步骤3: 4-((((1S, 2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基)氧基)羰基)氨基)苯甲基((S)-1-(((S)-1-(((3R, 4S, 5S)-1-((S)-2-((1R, 2R)-3-(((1S, 2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸酯的合成

[0498] 在0℃下向(S)-N-(((3R, 4S, 5S)-1-((R)-2-((1R, 2R)-3-(((1S, 2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)-N, 3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)丁酰胺(150mg, 0.209mmol)和(1S, 2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基(4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酸酯(113mg, 0.209mmol)于DMF(1mL)中的经搅拌溶液中添加1-羟基-7-氮杂苯并三唑于DMA中的1M溶液(0.104mL, 0.104mmol)和DIP EA(0.055mL, 0.313mmol)。在室温下搅拌反应混合物18小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% HCOOH的H₂O和ACN纯化。将产物洗脱份冻干, 得到呈白色固体状的4-((((1S, 2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基)氧基)羰基)氨基)苯甲基((S)-1-(((S)-1-(((3R, 4S, 5S)-1-((S)-2-((1R, 2R)-3-(((1S, 2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸酯(150mg, 0.129mmol, 61.9%产率)。LCMS: $C_{58}H_{85}N_7O_{11}S_2$ 的 $[M+H]^+$ 计算值: 1119.57; 实验值 1120.6 (M+H)。HPLC: 柱: Atlantis dC18 (250X4.6)mm, 5 μ m; 流动相: A: 含0.1% TFA的H₂O; 流动相: B: 含0.1% TFA的ACN; 流速: 1.0mL/min; RT(min): 13.60; 纯度(Max): 96.55%。

[0499] 步骤4: 化合物4的合成

[0500] 在0℃下向4-((((1S, 2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基)氧基)羰基)氨基)苯甲基((S)-1-(((S)-1-(((3R, 4S, 5S)-1-((S)-2-((1R, 2R)-3-(((1S, 2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸酯(70mg, 0.062mmol)和Pv1肽(203.2mg, 0.062mmol)于DMF(0.75mL)中的经搅拌溶液中添加三乙胺(10.45 μ L, 0.074mmol)。在室温下搅拌反应混合物26小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% TFA的H₂O和ACN纯化。将产物洗脱份冻干, 得到呈白色固体状的化合物4(41mg, 9.56 μ mol, 15.4%产率)。所获得的产物为双三氟乙酸盐。LCMS: $C_{205}H_{306}N_{42}O_{54}S_2$ 的 $[M+H]^+$ 计算值: 4284.19; 实验值 1430.1 (M+3)/3。HPLC: 柱: Atlantis dC18 (250X4.6)mm, 5 μ m; 流动相: A: 含0.1% TFA的H₂O; 流动相: B: 含0.1% TFA的ACN; 流速: 1.0mL/min; RT(min): 12.33; 纯度(Max): 99.61%。

[0501] 实施例5: 化合物5的合成



[0503] 步骤1: (1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环己基(4-(羟基甲基)苯基)氨基甲酸酯的合成

[0504] 用冰冷却(4-氨基苯基)甲醇(20mg,0.162mmol)和((1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环己基)碳酸4-硝基苯酯(79mg,0.195mmol)于DMF(1ml)中的经搅拌溶液。添加DIPEA(0.057ml,0.325mmol)和1H-苯并[d][1,2,3]三唑-1-醇(10.97mg,0.081mmol)并且在室温下搅拌反应混合物36小时。反应混合物用水稀释并用乙酸乙酯萃取。有机层用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥并浓缩,得到粗残余物。粗残余物通过快速柱色谱法使用75-80%乙酸乙酯/石油醚作为洗脱剂纯化。蒸发产物洗脱份,得到呈胶质固体状的(1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环己基(4-(羟基甲基)苯基)氨基甲酸酯(40mg,0.090mmol,55.4%产率)。LCMS:

$C_{19}H_{22}N_2O_3S_2$ 的 $[M+H]^+$ 计算值:390.11;实验值391.1 (M+H)。HPLC:柱:X-Bridge C8(50X4.6) mm,3.5 μ m;流动相:A:含0.1%TFA的 H_2O ;流动相:B:含0.1% TFA的ACN;流速:2.0mL/min;RT (min):3.80;纯度(Max):87.78%。

[0505] 步骤2:(1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环己基(4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酸酯的合成

[0506] 在0℃下向(1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环己基(4-(羟基甲基)苯基)氨基甲酸酯(20mg,0.051mmol)于DMF(1ml)中的经搅拌溶液中添加双(4-硝基苯基)碳酸酯(62.3mg,0.205mmol)和DIPEA(0.013ml,0.077mmol)。在室温下搅拌反应混合物18小时。向反应混合物中添加冰冷水并用乙酸乙酯萃取。乙酸乙酯层经 Na_2SO_4 干燥,减压浓缩,得到粗产物。粗产物通过快速柱色谱法使用15%乙酸乙酯和石油醚作为洗脱剂纯化。将产物洗脱份减压浓缩,得到呈胶质固体状的(1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环己基(4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酸酯(12mg,0.021mmol,40.3%产率)。LCMS: $C_{26}H_{25}N_3O_7S_2$ 的 $[M+H]^+$ 计算值:555.11;实验值555.9 (M+H)。

[0507] 步骤3:(4-((((1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环己基)氧基)羰基)氨基)苯甲基((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸酯的合成

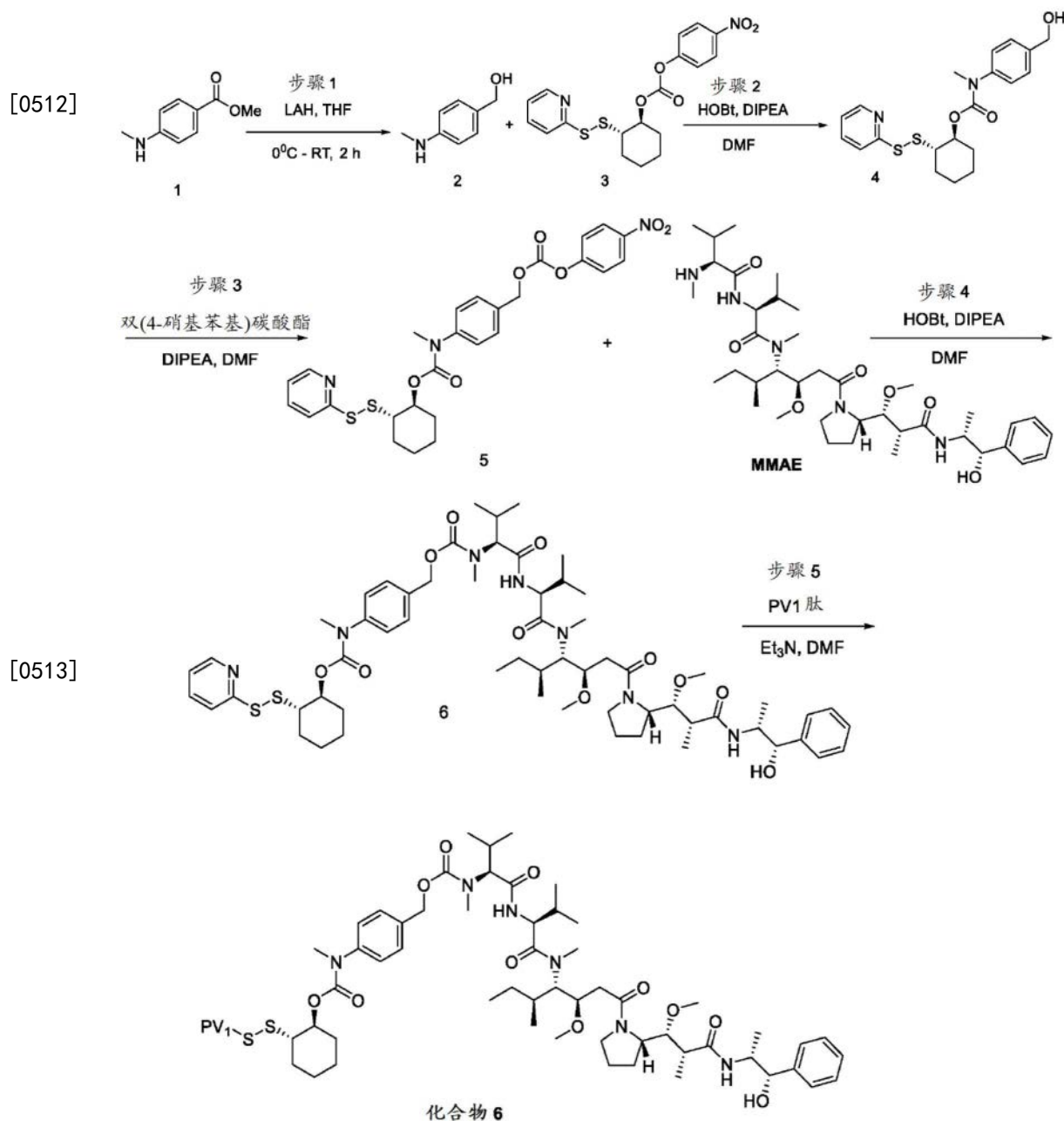
[0508] 用冰冷却(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)丁酰胺(15.51mg,0.022mmol)和(1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环己基(4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酸酯(12mg,0.022mmol)于DMF(0.8mL)中的溶液。向其中添加DIPEA(5.66 μ l,0.032mmol)和1-羟基-7-氮杂苯并三唑于DMA中的1M溶液(10.80 μ l,10.80 μ mol)并且在室温下搅拌反应混合物16小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% $HCOOH$ 的 H_2O 和ACN纯化。将产物洗脱份冻干,得到呈白色固体状的4-((((1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环己基)氧基)羰基)氨基)苯甲基((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸酯(15mg,0.013mmol,60.5%产率)。LCMS: $C_{59}H_{87}N_7O_{11}S_2$ 的 $[M+H]^+$ 计算值:1133.59;实验值1135.1 (M+H)。HPLC:柱:Atlantis dC18(250X4.6)mm,5 μ m;流动相:A:含0.1% TFA的 H_2O ;流动相:B:含0.1% TFA的ACN;流速:1.0mL/min;RT(min):15.62;纯度(Max):98.83%。

[0509] 步骤4:化合物5的合成

[0510] 用冰冷却4-((((1R,2R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环己基)氧基)羰基)氨基)苯甲基((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸酯(15mg,0.013mmol)和Pv1肽(47.7mg,0.015mmol)于DMF(0.5mL)中的溶液。向其中添加

三乙胺 (2.211 μ l, 0.016mmol) 并且在室温下搅拌反应混合物4小时。反应混合物通过制备型 HPLC 使用含 0.1% TFA 的 H₂O 和 ACN 纯化。将产物洗脱份冻干, 得到呈白色固体状的化合物 5 (42mg, 9.58 μ mol, 72.5% 产率)。所获得的产物为双三氟乙酸盐。LCMS: C₂₀₆H₃₀₈N₄₂O₅₄S₂ 的 [M+H]⁺ 计算值: 4298.21; 实验值 1435.0 (M+3)/3。HPLC: 柱: Atlantis dC18 (250X4.6) mm, 5 μ m; 流动相: A: 含 0.1% TFA 的 H₂O; 流动相: B: 含 0.1% TFA 的 ACN; 流速: 1.0mL/min; RT (min): 12.93; 纯度 (Max): 98.12%。

[0511] 实施例6: 化合物6的合成



[0514] 步骤1: (4- (甲基氨基) 苯基) 甲醇的合成

[0515] 在 0°C 下向 4- (甲基氨基) 苯甲酸甲酯 (0.2g, 1.211mmol) 于 THF (2ml) 中的经搅拌溶液中添加 LAH 于 THF 中的 2M 溶液 (0.726ml, 1.453mmol)。在室温下搅拌反应混合物 2 小时。用饱和 NH₄Cl 溶液淬灭反应混合物。分离乙酸乙酯层, 浓缩并通过快速柱色谱法使用 20% 乙酸乙酯/石油醚纯化。蒸发产物洗脱份, 得到呈黄色液体状的 (4- (甲基氨基) 苯基) 甲醇

(150mg, 0.847mmol, 70.0% 产率)。LCMS: $C_8H_{11}NO$ 的 $[M+H]^+$ 计算值: 137.08; 实验值 138.2 (M+H)。 ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 7.03 (d, J=8.40Hz, 2H), 6.50-6.50 (m, 2H), 5.49-5.48 (m, 1H), 4.33 (t, J=5.60Hz, 1H), 4.04 (d, J=6.80Hz, 2H), 2.66 (s, 3H)。

[0516] 步骤2: (1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环己基(4-(羟基甲基)苯基)(甲基)氨基甲酸酯的合成

[0517] 在0℃下向(4-(甲基氨基)苯基)甲醇(30mg, 0.219mmol)于DMF(2ml)中的经搅拌溶液中添加((1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环己基)碳酸4-硝基苯酯(107mg, 0.262mmol)、DIPEA(0.076ml, 0.437mmol)和1H-苯并[d][1,2,3]三唑-1-醇(14.78mg, 0.109mmol)。在80℃下搅拌反应混合物18小时。反应混合物用水稀释并用乙酸乙酯萃取。有机层经 Na_2SO_4 干燥并浓缩, 得到粗残余物。通过快速柱色谱法纯化粗残余物。产物用35%乙酸乙酯/石油醚洗脱。蒸发产物洗脱份, 得到呈黄色液体状的(1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环己基(4-(羟基甲基)苯基)(甲基)氨基甲酸酯(40mg, 0.057mmol, 26.1% 产率)。LCMS: $C_{20}H_{24}N_2O_3S_2$ 的 $[M+H]^+$ 计算值: 404.12; 实验值 405.1 (M+H)。

[0518] 步骤3: (1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环己基甲基(4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酸酯的合成

[0519] 在0℃下向(1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环己基(4-(羟基甲基)苯基)(甲基)氨基甲酸酯(40mg, 0.099mmol)于DMF(1ml)中的经搅拌溶液中添加双(4-硝基苯基)碳酸酯(120mg, 0.396mmol)和DIPEA(0.035ml, 0.198mmol)。在室温下搅拌反应混合物6小时。反应混合物用冰冷水稀释并用乙酸乙酯萃取。有机层用盐水洗涤, 经 Na_2SO_4 干燥并减压浓缩, 得到粗残余物。通过快速柱色谱法纯化粗残余物。产物用20%乙酸乙酯/石油醚洗脱。蒸发产物洗脱份, 得到呈无色胶质固体状的(1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环己基甲基(4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酸酯(25mg, 0.044mmol, 44.3% 产率)。LCMS: $C_{27}H_{27}N_3O_7S_2$ 的 $[M+H]^+$ 计算值: 569.13; 实验值 570.1 (M+H)。

[0520] 步骤4: 4-(甲基(((1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环己基)氧基)羰基)氨基)苯甲基((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸酯的合成

[0521] 在0℃下向(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)丁酰胺(25mg, 0.035mmol)和(1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环己基甲基(4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酸酯(19.83mg, 0.035mmol)于DMF(1mL)中的经搅拌溶液中添加DIPEA(9.12 μ l, 0.052mmol)和1-羟基-7-氮杂苯并三唑于DMA中的1M溶液(0.017ml, 0.017mmol)。在室温下搅拌反应混合物18小时。粗反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% HCOOH的 H_2O 和AC N纯化。将产物洗脱份冻干, 得到呈白色固体状的4-(甲基(((1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环己基)氧基)羰基)氨基)苯甲基((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-

2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸酯(33mg,0.026mmol,74.8%产率)。
LCMS: $C_{60}H_{89}N_7O_{11}S_2$ 的 $[M+H]^+$ 计算值:1147.61;实验值1149.6(M+H)。

[0522] 步骤5:化合物6的合成

[0523] 用冰冷却(1R,2R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环己基(4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-仲丁基)-12-(2-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)-5,8-二异丙基-4,10-二甲基-3,6,9-三氧代-2,13-二氧杂-4,7,10-三氮杂十四烷基)苯基)(甲基)氨基甲酸酯(23mg,0.020mmol)和PV1肽(72.2mg,0.022mmol)于DMF(1ml)中的溶液。向其中添加三乙胺(2.432mg,0.024mmol)。在室温下搅拌反应混合物4小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% TFA的 H_2O 和ACN纯化。将产物洗脱份冻干,得到呈白色固体状的化合物6(45mg,10.03 μ mol,50.1%产率)。所获得的产物为双三氟乙酸盐。LCMS: $C_{207}H_{310}N_{42}O_{54}S_2$ 的 $[M+H]^+$ 计算值:4312.22;实验值1437.7(M-3)/3。HPLC:柱:Atlantis dC18(250X4.6)mm,5 μ m;流动相:A:含0.1% TFA的 H_2O ;流动相:B:含0.1% TFA的ACN;流速:1.0mL/min;RT(min):12.66;纯度(Max):96.18%。

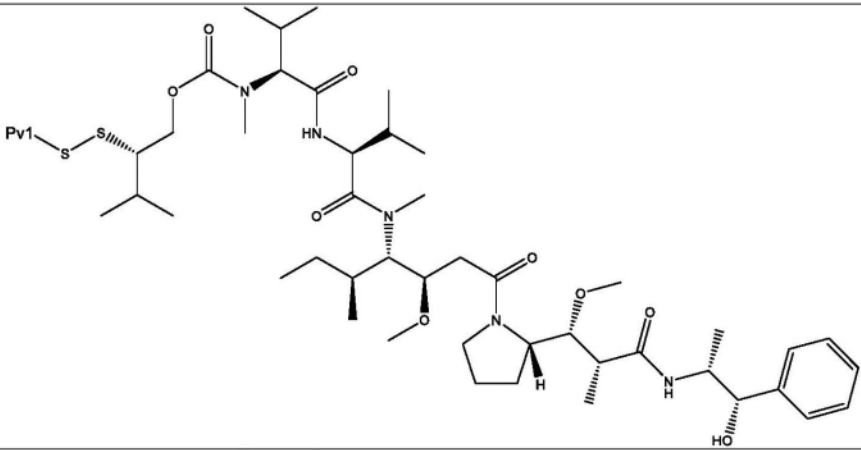
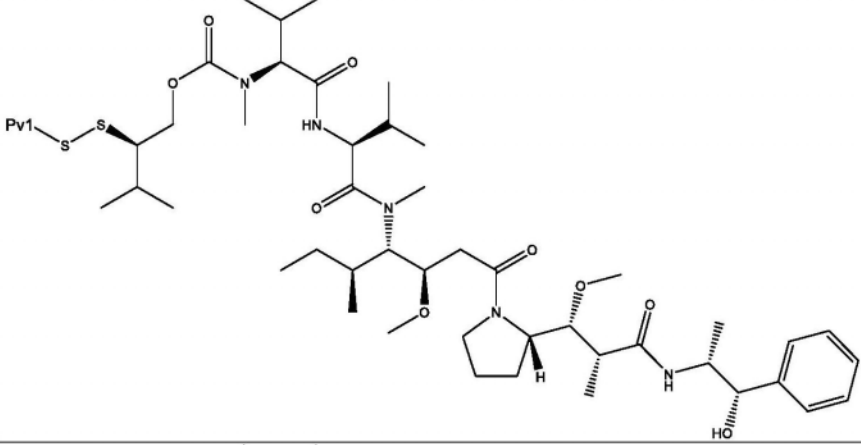
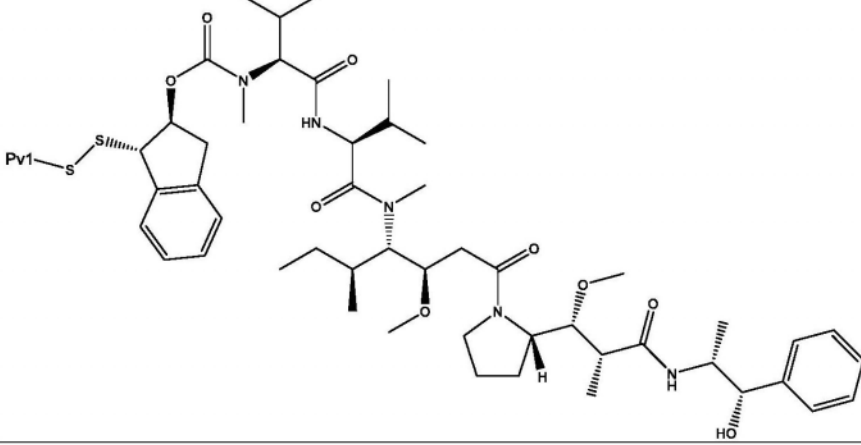
[0524] 以下表2的化合物是使用以上实施例中所描述的程序制备。

[0525] 表2.

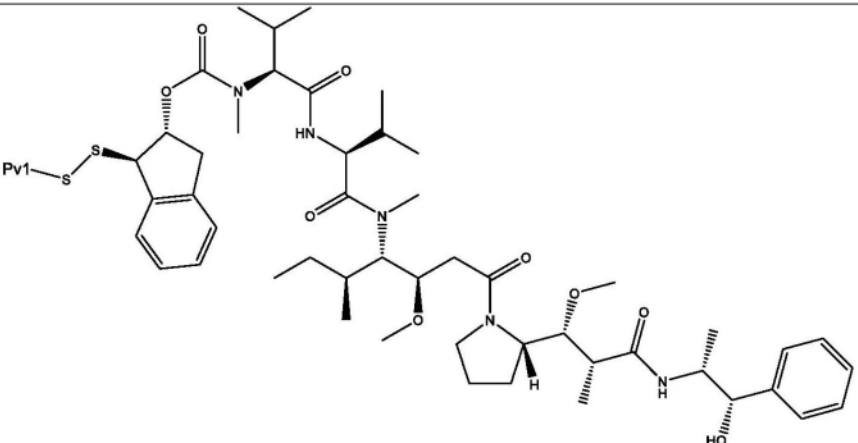
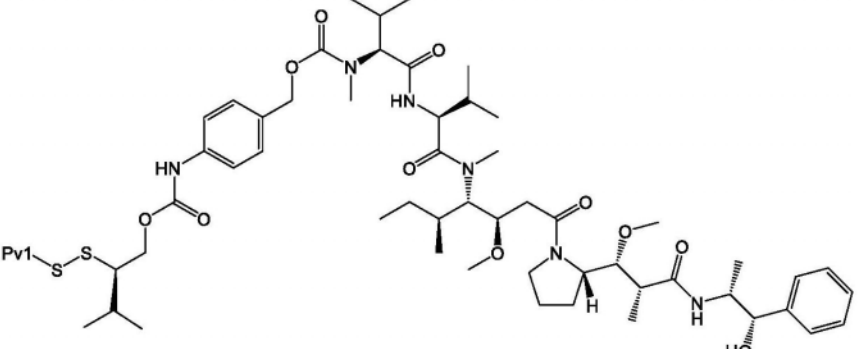
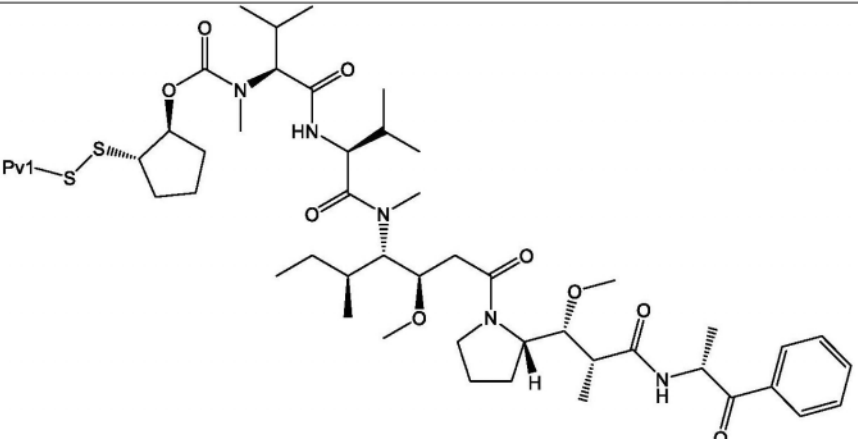
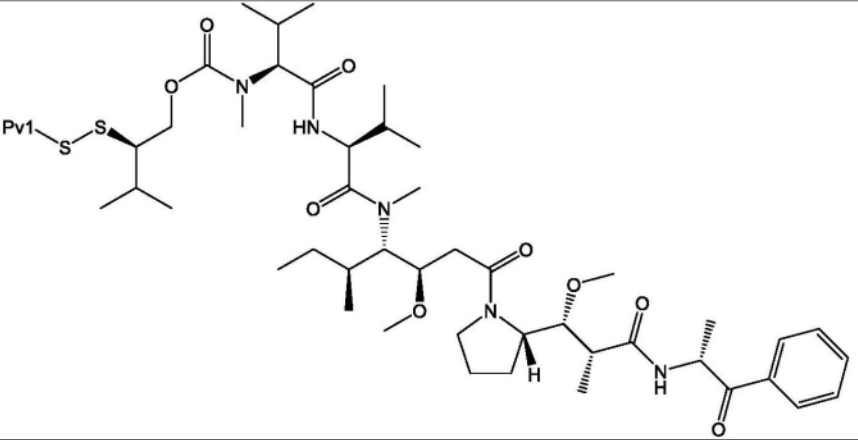
[0526]

实施例	结构
7	
8	

实施例	结构
9	
10	
11	

实施例	结构
12	
13	
14	

[0528]

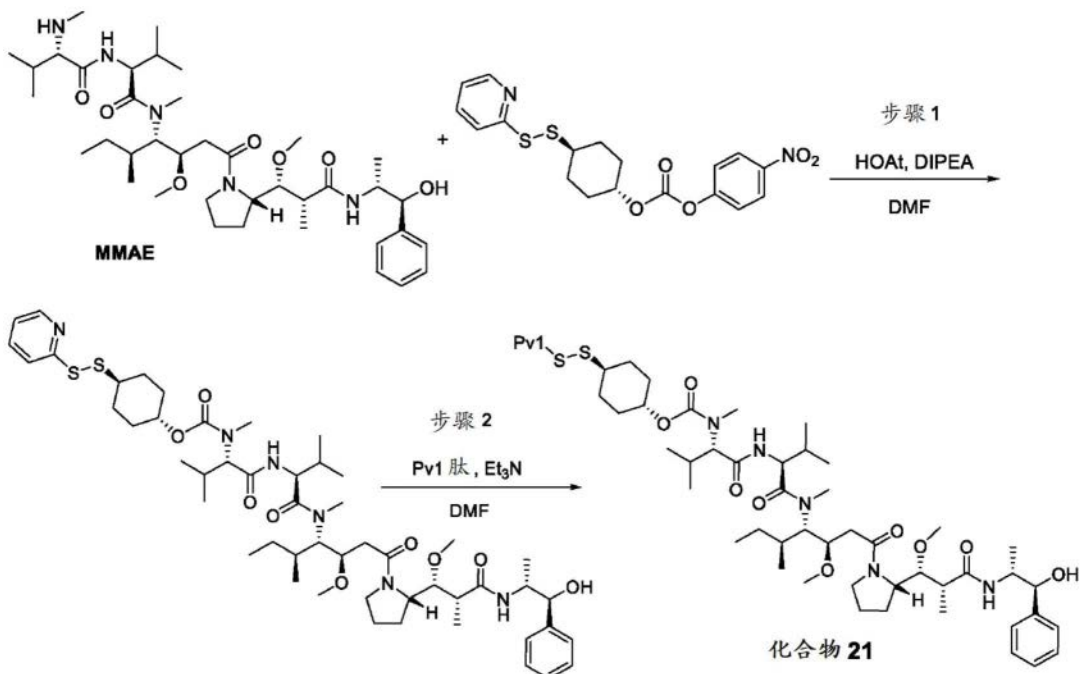
实施例	结构
15	
16	
[0529] 17	
18	

[0530]

实施例	结构
19	
20	

[0531] 实施例21:化合物21的合成

[0532]



[0533] 步骤1:反式-4-(吡啶-2-基二硫烷基)环己基((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-

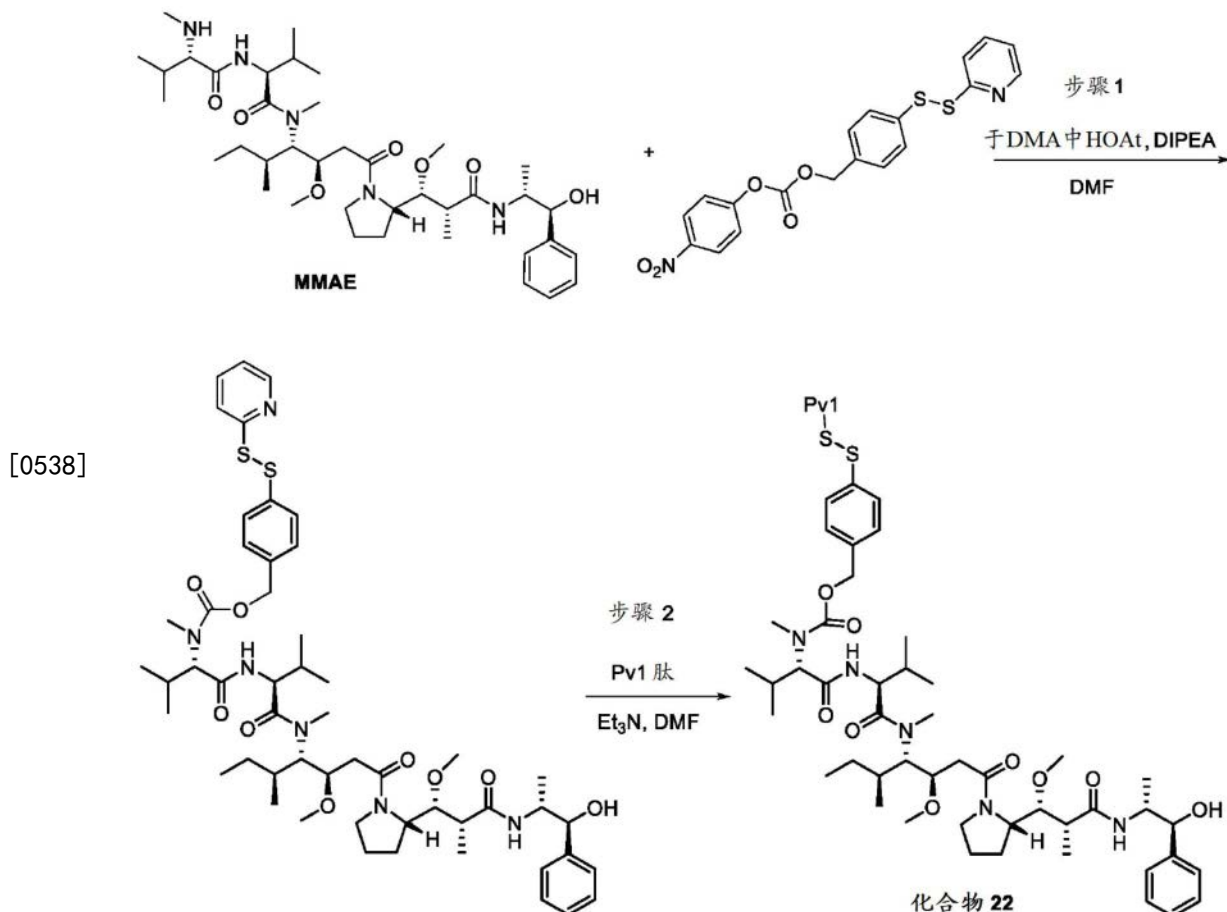
2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸酯的合成

[0534] 在0℃下向(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)丁酰胺(20mg, 0.028mmol)和4-硝基苯基(反式-4-(吡啶-2-基二硫烷基)环己基)碳酸酯(11.32mg, 0.028mmol)于DMF(0.5ml)中的经搅拌溶液中添加DIPEA(7.3μL, 0.042mmol),接着添加含1-羟基-7-氮杂苯并三唑的DMA(13.92μL, 13.92μmol)。在室温下搅拌反应混合物18小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% HCOOH的H₂O和ACN纯化。将制备型洗脱份冻干,得到:呈白色固体状的反式-4-(吡啶-2-基二硫烷基)环己基((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸酯(19mg, 0.019mmol, 69.2%产率)。LCMS: C₅₁H₈₀N₆O₉S₂的[M+H]⁺计算值: 985.34; 实验值 985.3 (M+H)。

[0535] 步骤2: 化合物21的合成

[0536] 将反式-4-(吡啶-2-基二硫烷基)环己基((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸酯(19mg, 0.019mmol)于DMF(0.5ml)中的溶液冷却至0℃。添加Pv1肽(69.54mg, 0.021mmol)和三乙胺(3.22μL, 0.023mmol)并且在室温下搅拌反应混合物1小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% TFA的H₂O和ACN纯化。将制备型洗脱份冻干,得到呈白色固体状的化合物21(80mg, 0.019mmol, 99.9%产率)。所获得的产物为双三氟乙酸盐。LCMS: C₁₉₈H₃₀₁N₄₁O₅₂S₂的[M+H]⁺计算值: 4151.941; 实验值 1384.8 [(M+3)/3]; HPLC: 柱 Atlantis dC18 (250X4.6) mm, 5μm; 流动相A: 含0.1% TFA的MilliQ水; 流动相B: ACN; 流速: 1.0mL/min; RT(min): 11.826; 纯度(Max): 99.71%。

[0537] 实施例22: 化合物22的合成



[0539] 步骤1: 4-(吡啶-2-基二硫烷基)苯甲基((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸酯

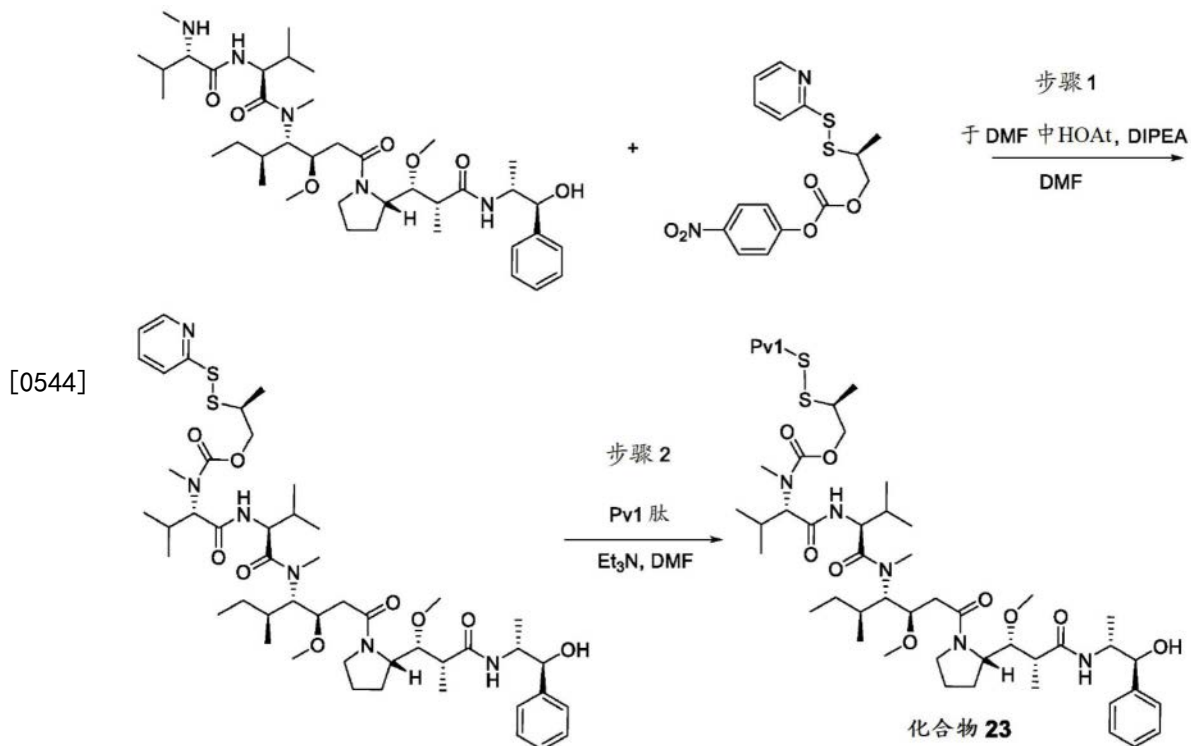
[0540] 在0℃向(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)丁酰胺(50mg, 0.069mmol)和4-硝基苯基(4-(吡啶-2-基二硫烷基)苯甲基)碳酸酯(37.52mg, 0.090mmol)于DMF(1ml)中的经搅拌溶液中添加DIPEA(24.13μL, 0.014mmol), 接着添加含1-羟基-7-氮杂苯并三唑的DMA(0.47ml, 0.035mmol)。在室温下搅拌反应混合物18小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% HCOOH的H₂O和ACN纯化。将制备型洗脱份冻干, 得到: 呈白色固体的4-(吡啶-2-基二硫烷基)苯甲基((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸酯(22mg, 0.022mmol, 31.80%产率)。LCMS: C₅₂H₇₆N₆O₉S₂的[M+H]⁺计算值: 993.333; 实验值994.5。

[0541] 步骤2: 化合物22的合成

[0542] 将4-(吡啶-2-基二硫烷基)苯甲基((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸酯

咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸酯(22mg, 0.022mmol)于DMF(1ml)中的溶液冷却至0℃。添加Pv1肽(80mg, 0.024mmol)和三乙胺(12.34μl, 0.088mmol)并且在室温搅拌反应混合物4小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% TFA的H₂O和ACN纯化。将制备型洗脱份冻干, 得到呈白色固体的化合物22(40mg, 0.022mmol, 43.41%产率)。所获得的产物为双三氟乙酸盐。LCMS: C₁₉₉H₂₉₇N₄₁O₅₂S₂的[M+H]⁺计算值: 4159.920; 实验值1385.1[(M-3)/3]; HPLC: 柱X-Bridge C8(50X4.6)mm, 3.5μm; 流动相:A: 含0.1% TFA的水; 流动相:B: 含0.1% TF A的ACN; 流速: 2.0mL/min; RT(min): 5.52; 纯度(Max): 99.147%。

[0543] 实施例23: 化合物23的合成



[0545] 步骤1: (S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)丙基((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸酯

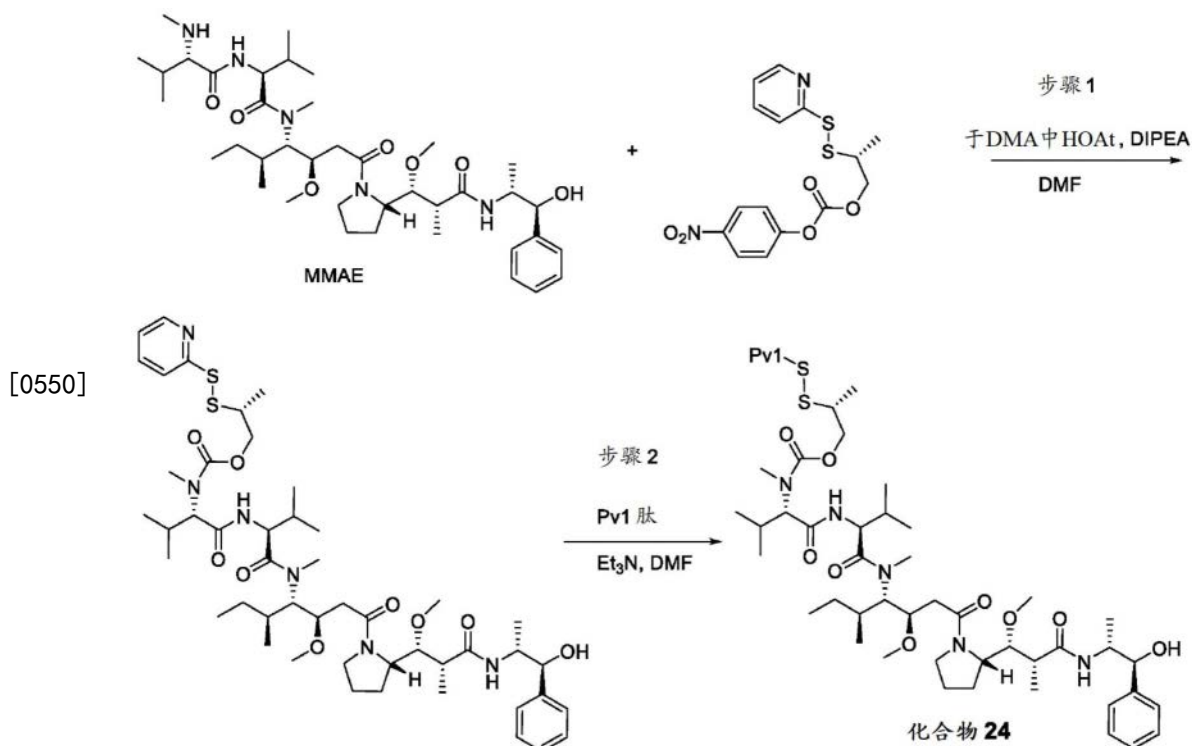
[0546] 在0℃下向(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)丁酰胺(50mg, 0.069mmol)和(S)-4-硝基苯基(2-(吡啶-2-基二硫烷基)丙基)碳酸酯(30.61mg, 0.090mmol)于DMF(1ml)中的经搅拌溶液中添加DIPEA(24.13μL, 0.014mmol), 接着添加含1-羟基-7-氮杂苯并三唑的DMA(0.47ml, 0.035mmol)。在室温下搅拌反应混合物18小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% HCOOH的H₂O和ACN纯化。将制备型洗脱份冻干, 得到: 呈白色固体状的(S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)丙基((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)

氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸酯(40mg,0.041mmol,60.77%产率)。LCMS: $C_{48}H_{76}N_6O_9S_2$ 的 $[M+H]^+$ 计算值:945.289;实验值945.5。

[0547] 步骤2:化合物23的合成

[0548] 将(S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)丙基((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸酯(40mg,0.042mmol)于DMF(1ml)中的溶液冷却至0℃。添加Pv1肽(152mg,0.046mmol)和三乙胺(23.59μl,0.169mmol)并且在室温下搅拌反应混合物4小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1%TFA的H₂O和ACN纯化。将制备型洗脱份冻干,得到呈白色固体状的化合物23(126.3mg,0.030mmol,72.59%产率)。所获得的产物为双三氟乙酸盐。LCMS: $C_{195}H_{297}N_{41}O_{52}S_2$ 的 $[M+H]^+$ 计算值:4111.876;实验值1371.1[(M+3)/3];HPLC:柱X-Bridge C8(50X4.6)mm,3.5μm;流动相:A:含0.1%TFA的水;流动相:B:含0.1%TFA的ACN;流速:2.0mL/min;RT(min):5.43;纯度(Max):98.857%。

[0549] 实施例24:化合物24的合成



[0551] 步骤1:(R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)丙基((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸酯

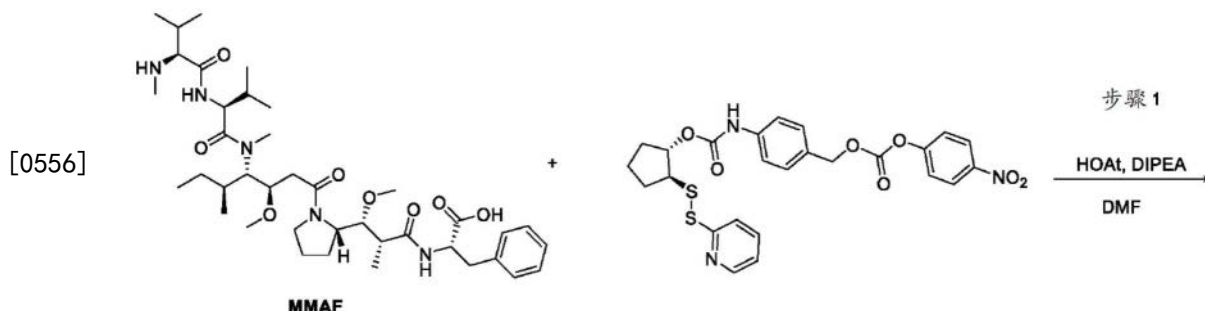
[0552] 在0℃下向(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)丁酰胺(50mg,0.069mmol)和(S)-4-硝基苯基(2-(吡啶-2-基二硫烷基)丙基)碳酸酯(30.619mg,0.083mmol)于DMF(1ml)中的经搅拌溶液中添加DIPEA(24.13μL,0.014mmol),接着添加含1-

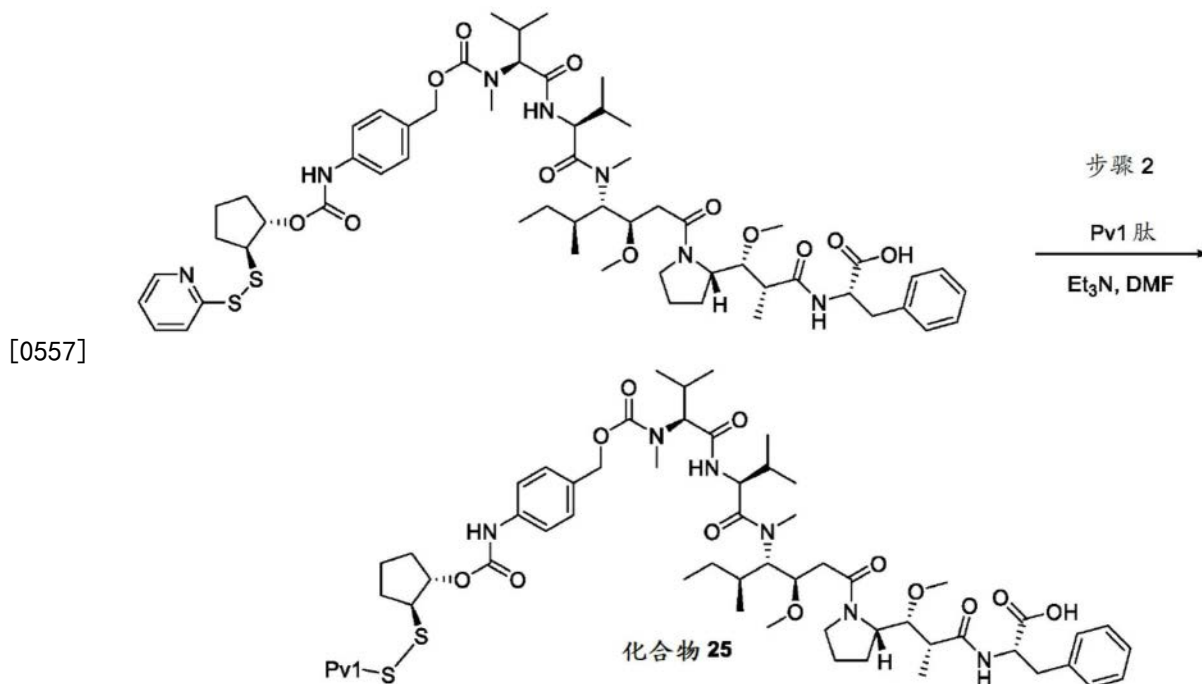
羟基-7-氮杂苯并三唑的DMA (0.47ml, 0.035mmol)。在室温下搅拌反应混合物18小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% HCOOH的H₂O和ACN纯化。将制备型洗脱份冻干, 得到: 呈白色固体状的(R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)丙基((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸酯(40mg, 0.042mmol, 60.77%产率)。LCMS: C₄₈H₇₆N₆O₉S₂的[M+H]⁺计算值: 945.289; 实验值946.4。

[0553] 步骤2: 化合物24的合成

[0554] 将(R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)丙基((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸酯(40mg, 0.042mmol)于DMF(1ml)中的溶液冷却至0℃。添加Pv1肽(138.73mg, 0.042mmol)和三乙胺(11.79μl, 0.084mmol)并且在室温下搅拌反应混合物2小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% TFA的H₂O和ACN纯化。将制备型洗脱份冻干, 得到呈白色固体状的化合物24(40mg, 0.01mmol, 22.98%产率)。所获得的产物为双三氟乙酸盐。LCMS: C₁₉₅H₂₉₇N₄₁O₅₂S₂的[M+H]⁺计算值: 4111.876; 实验值1369.1 [(M-3)/3]; HPLC: 柱X-Bridge C8(50X4.6)mm, 3.5μm; 流动相: A: 含0.1% TFA的水; 流动相: B: 含0.1% TFA的ACN; 流速: 2.0mL/min; RT(min): 5.43; 纯度(Max): 98.413%。

[0555] 实施例25: 化合物25的合成





[0558] 步骤1: ((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基(((4-(((1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基)氧基)羰基)氨基)苯甲基)氧基)羰基)氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸

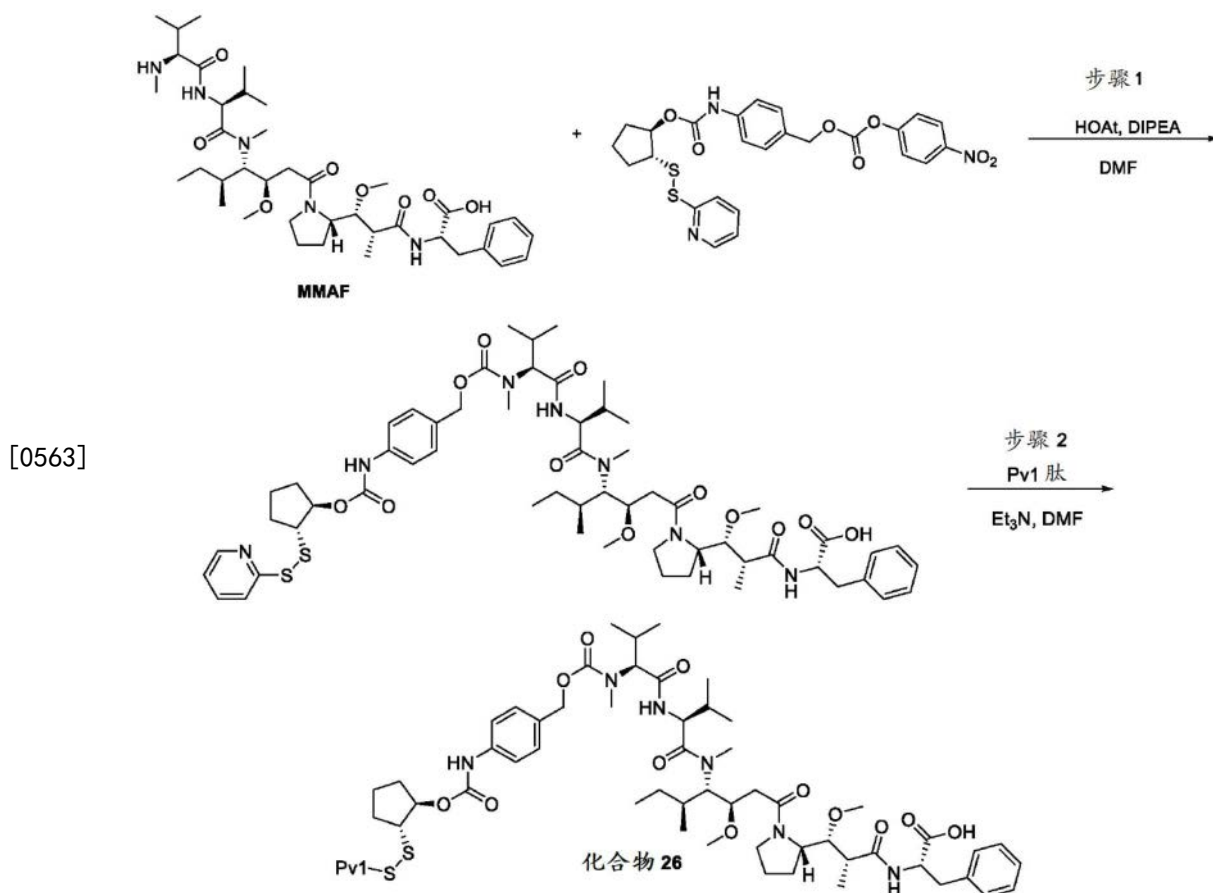
[0559] 在0℃下向((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸(100mg,0.137mmol)和(1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基(4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酸酯(74mg,0.137mmol)于DMF(1ml)中的经搅拌溶液中添加DIPEA(0.036ml,0.205mmol),接着添加含1-羟基-7-氮杂苯并三唑的DMA(0.068ml,0.068mmol)。在室温下搅拌反应混合物18小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% HCOOH的H₂O和ACN纯化。将制备型洗脱份冻干,得到:呈白色固体状的((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基(((4-(((1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基)氧基)羰基)氨基)苯甲基)氧基)羰基)氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸(80mg,0.066mmol,51.61%产率)。LCMS:C₅₈H₈₃N₇O₁₂S₂的[M+H]⁺计算值:1134.459;实验值1134.5。

[0560] 步骤2:化合物25的合成

[0561] 将((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基(((4-(((1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基)氧基)羰基)氨基)苯甲基)氧基)羰基)氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸(50mg,0.044mmol)于DMF(1ml)中的溶液冷却至0℃。添加PV1肽(145mg,0.044mmol)和三乙胺(7.37μl,0.053mmol)并且在室温下搅拌反应混合物18小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% TFA的H₂O和ACN纯化。将制备型洗脱份冻干,得到呈白色固体状的化合物25(40mg,0.01mmol,21.10%产率)。所获得的产物为双三氟乙酸盐。

LCMS: $C_{205}H_{304}N_{42}O_{55}S_2$ 的 $[M+H]^+$ 计算值: 4301.046; 实验值 1434.8 $[(M+3)/3]$; HPLC: 柱 Atlantis dC18 (250X4.6) mm, 5 μ m; 流动相A: 含0.1% TFA的MilliQ水; 流动相B: ACN; 流速: 1.0mL/min; RT(min): 12.056; 纯度 (Max): 99.47%。

[0562] 实施例26: 化合物26的合成



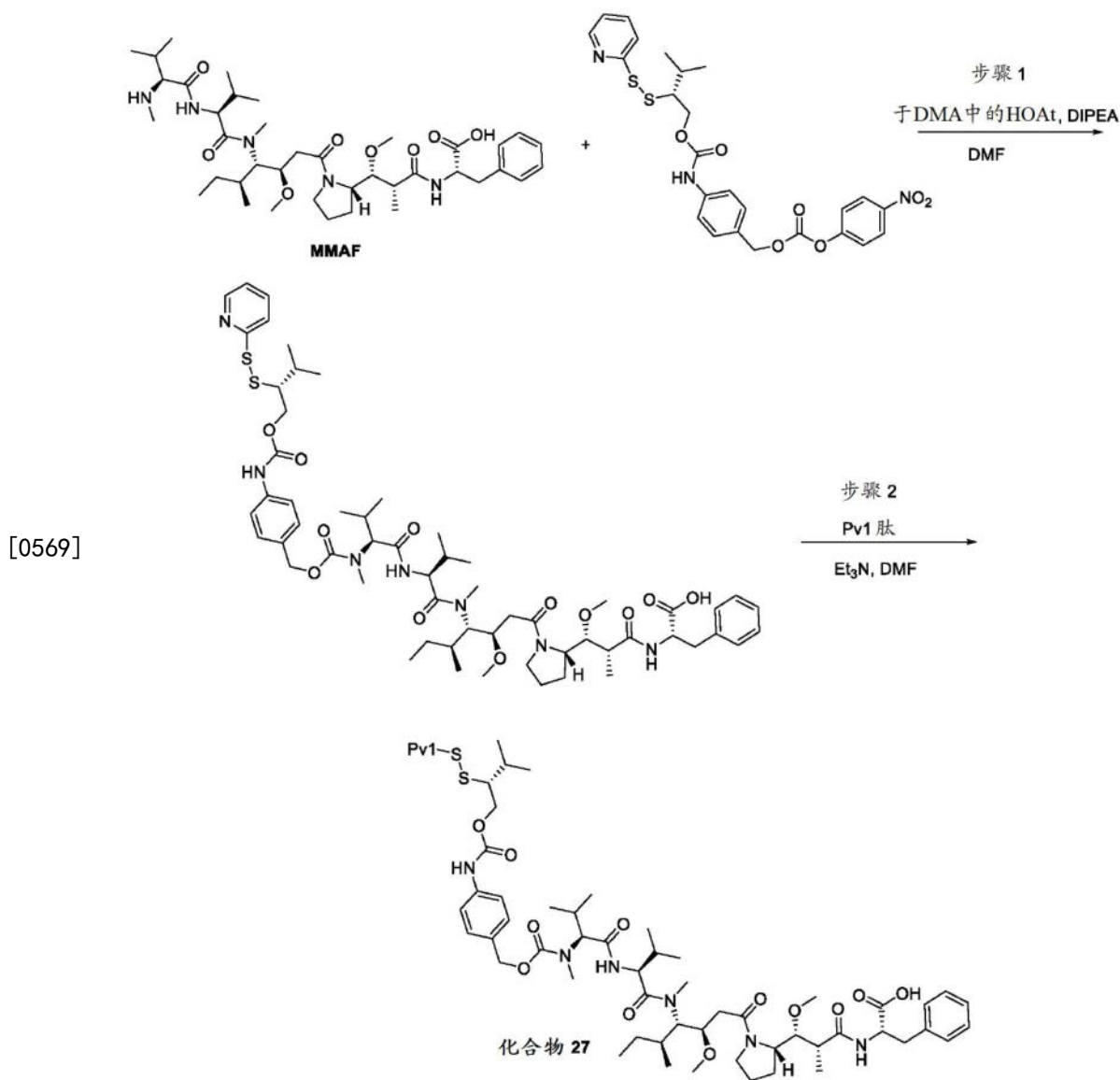
[0564] 步骤1: ((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基((4-(((1R,2R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基)氧基)羰基)氨基)苯甲基)氧基)羰基)氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸

[0565] 在0℃下向((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸(40mg, 0.054mmol)和(1R,2R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基(4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酸酯(29.59mg, 0.054mmol)于DMF(1ml)中的经搅拌溶液中添加DIPEA(14.20 μ l, 0.082mmol),接着添加含1-羟基-7-氮杂苯并三唑的DMA(2.73 μ l, 0.027mmol)。在室温下搅拌反应混合物18小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% HCOOH的 H_2O 和ACN纯化。将制备型洗脱份冻干,得到:呈白色固体状的((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基((4-(((1R,2R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基)氧基)羰基)氨基)苯甲基)氧基)羰基)氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸(35mg, 0.031mmol, 56.46%产率)。LCMS: $C_{58}H_{83}N_7O_{12}S_2$ 的 $[M+H]^+$ 计算值: 1134.459; 实验值 1133.8。

[0566] 步骤2:化合物26的合成

[0567] 将((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基(((4-(((1R,2R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基)氧基)羰基)氨基)苯甲基)氧基)羰基)氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸(35mg,0.031mmol)于DMF(1ml)中的溶液冷却至0℃。添加PV1肽(101.15mg,0.031mmol)和三乙胺(5.16μl,0.037mmol)并且在室温下搅拌反应混合物18小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% TFA的H₂O和ACN纯化。将制备型洗脱份冻干,得到呈白色固体状的化合物26(15mg,0.003mmol,11.30%产率)。所获得的产物为双三氟乙酸盐。LCMS:C₂₀₅H₃₀₄N₄₂O₅₅S₂的[M+H]⁺计算值:4301.046;实验值1434.5[(M+3)/3];HPLC:柱Atlantis dC18(250X4.6)mm,5μm;流动相A:含0.1% TFA的MilliQ水;流动相B:ACN;流速:1.0mL/min;RT(min):12.243;纯度(Max):99.10%。

[0568] 实施例27:化合物27的合成



[0570] 步骤1:((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基(((4-(((R)-3-甲基-2-(吡啶-2-基二硫烷基)丁氧基)羰基)氨基)苯甲基)氧基)

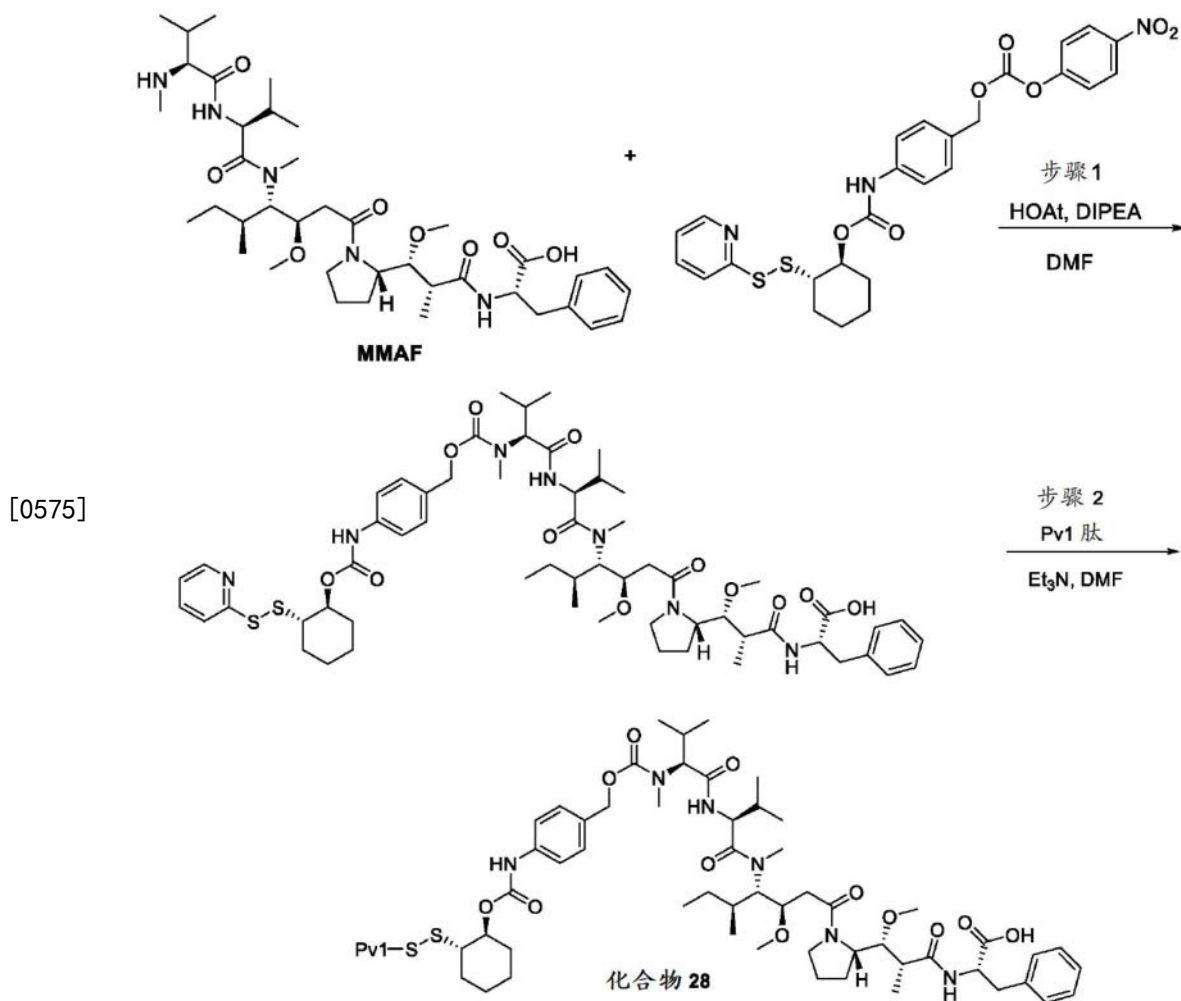
羰基)氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸

[0571] 在0℃下向((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸(40mg,0.054mmol)和(R)-3-甲基-2-(吡啶-2-基二硫烷基)丁基(4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酸酯(1)(29.70mg,0.054mmol)于DMF(1ml)中的经搅拌溶液中添加DIPEA(10.59μl,0.082mmol),接着添加含1-羟基-7-氮杂苯并三唑的DMA(3.71μl,0.027mmol)。在室温下搅拌反应混合物18小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% HCOOH的H₂O和ACN纯化。将制备型洗脱份冻干,得到:呈白色固体状的((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基(((4-(((R)-3-甲基-2-(吡啶-2-基二硫烷基)丁氧基)羰基)氨基)苯甲基)氧基)羰基)氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸(35mg,0.029mmol,56.36%产率)。LCMS:C₅₈H₈₅N₇O₁₂S₂的[M+H]⁺计算值:1136.475;实验值1136.5。

[0572] 步骤2:化合物27的合成

[0573] 将((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基(((4-(((R)-3-甲基-2-(吡啶-2-基二硫烷基)丁氧基)羰基)氨基)苯甲基)氧基)羰基)氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸(35mg,0.031mmol)于DMF(1ml)中的溶液冷却至0℃。添加Pv1肽(100.9mg,0.031mmol)和三乙胺(5.15μl,0.037mmol)并且在室温下搅拌反应混合物18小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% TFA的H₂O和ACN纯化。将制备型洗脱份冻干,得到呈白色固体状的化合物27(64mg,0.014mmol,47.22%产率)。所获得的产物为双三氟乙酸盐。LCMS:C₂₀₅H₃₀₆N₄₂O₅₅S₂的[M+H]⁺计算值:4303.062;实验值1435.4[(M+3)/3];HPLC:柱X-Bridge C8(50X4.6)mm,3.5μm;流动相:A:含0.1% TFA的水;流动相:B:含0.1% TFA的ACN;流速:2.0mL/min;RT(min):5.83;纯度(Max):96.842%。

[0574] 实施例28:化合物28的合成



[0576] 步骤1: ((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基((4-(((1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环己基)氧基)羰基)氨基)苯甲基)氧基)羰基)氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸

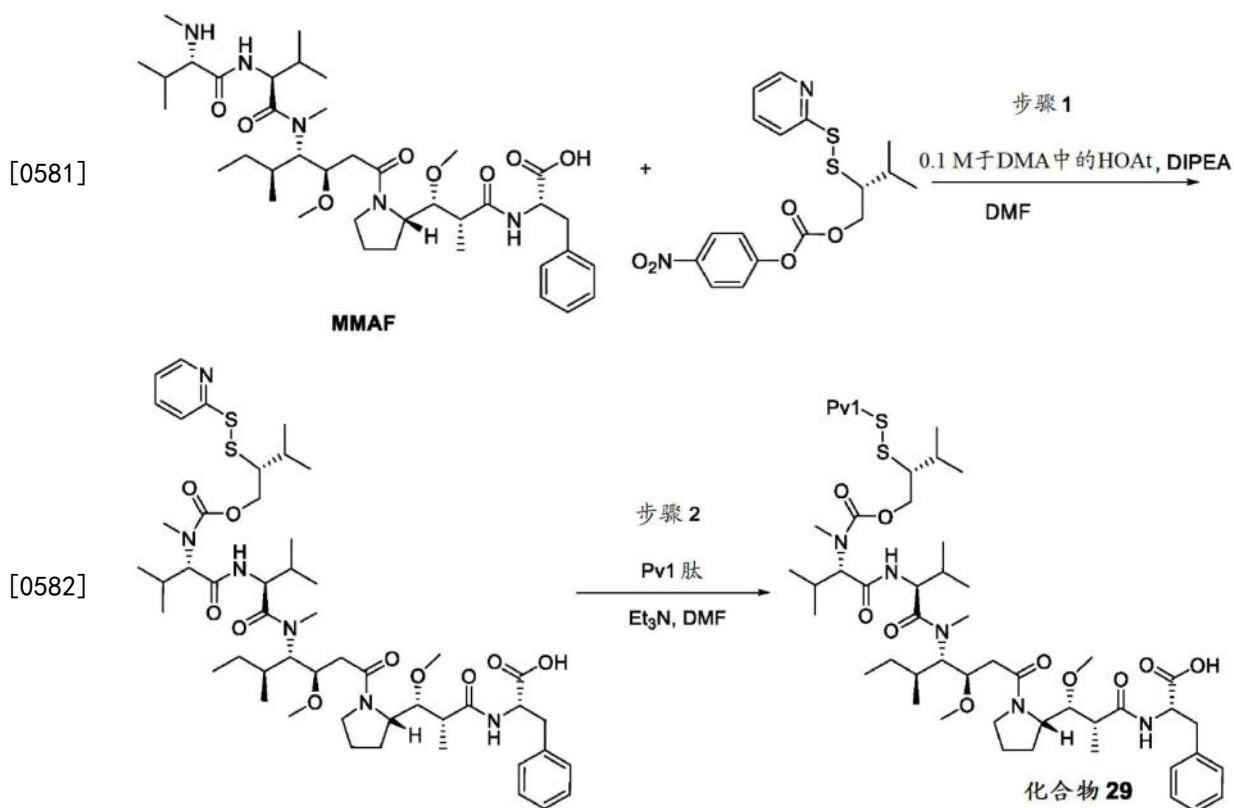
[0577] 在0℃下向((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸(51mg,0.069mmol)和(1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环己基(4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酸酯(38.71mg,0.069mmol)于DMF(1ml)中的经搅拌溶液中添加DIPEA(18.10μl,0.104mmol),接着添加含1-羟基-7-氮杂苯并三唑的DMA(3.48μl,0.034mmol)。在室温下搅拌反应混合物18小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% HCOOH的H₂O和ACN纯化。将制备型洗脱份冻干,得到:呈白色固体状的((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基((4-(((1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环己基)氧基)羰基)氨基)苯甲基)氧基)羰基)氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸(33mg,0.029mmol,41.23%产率)。LCMS: C₅₉H₈₅N₇O₁₂S₂的[M+H]⁺计算值: 1148.486;实验值1148.5。

[0578] 步骤2: 化合物28的合成

[0579] 将((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲

基(((4-((((1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环己基)氧基)羰基)氨基)苯甲基)氧基)羰基)氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸(33mg,0.029mmol)于DMF(1ml)中的溶液冷却至0℃。添加Pv1肽(103.63mg,0.031mmol)和三乙胺(4.80μl,0.034mmol)并且在室温下搅拌反应混合物18小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% TFA的H₂O和ACN纯化。将制备型洗脱份冻干,得到呈白色固体状的化合物28(75mg,0.017mmol,60.49%产率)。所获得的产物为双三氟乙酸盐。LCMS:C₂₀₆H₃₀₆N₄₂O₅₅S₂的[M+H]⁺计算值:4315.073;实验值1439.3[(M+3)/3];HPLC:柱Atlantis dC18(250X4.6)mm,5μm;流动相A:含0.1% TFA的MilliQ水;流动相B:ACN;流速:1.0mL/min;RT(min):12.516;纯度(Max):99.59%。

[0580] 实施例29:化合物29的合成



[0583] 步骤1: ((2R,3R)-3-((R)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基((R)-3-甲基-2-(吡啶-2-基二硫烷基)丁氧基)羰基)氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸

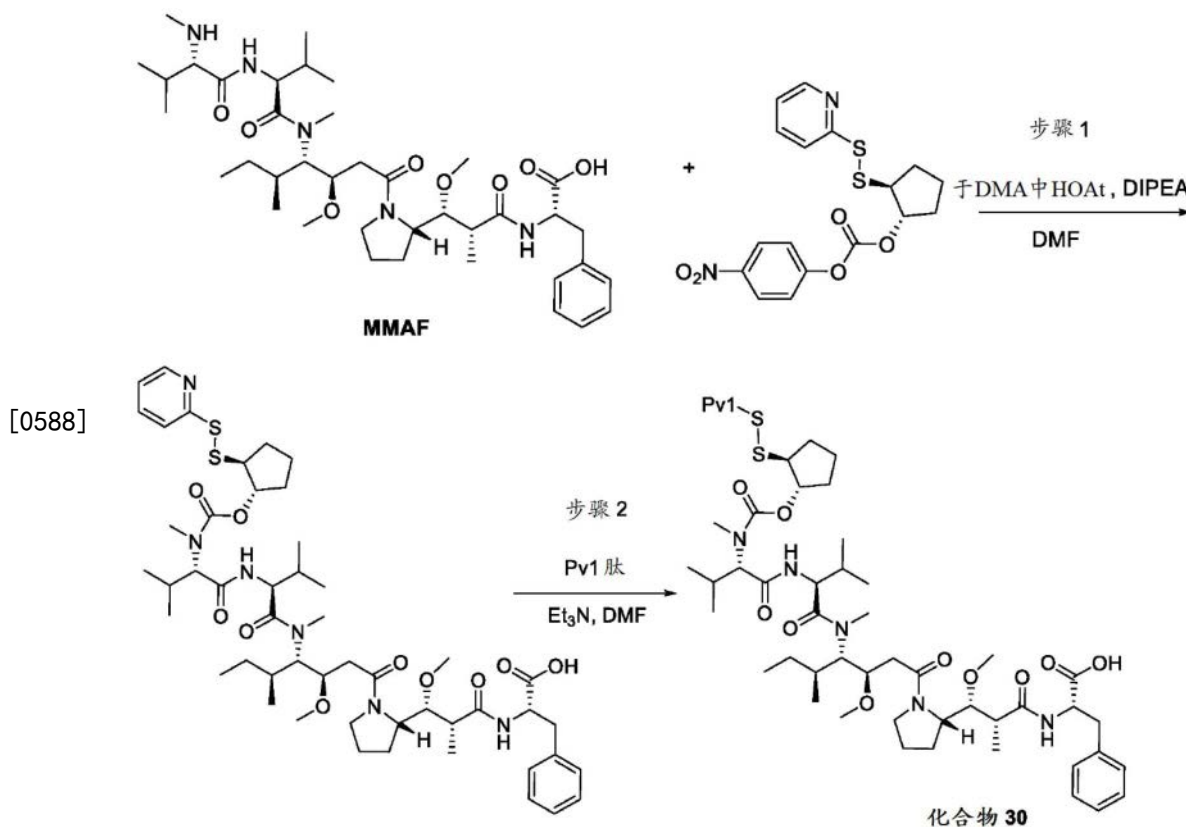
[0584] 在0℃下向((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸(230mg,0.314mmol)和(R)-3-甲基-2-(吡啶-2-基二硫烷基)丁基(4-硝基苯基)碳酸酯(124mg,0.314mmol)于DMF(1ml)中的经搅拌溶液中添加DIPEA(0.11ml,0.628mmol),接着添加含1-羟基-7-氮杂苯并三唑的DMA(0.157ml,0.157mmol)。在室温下搅拌反应混合物18小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% HCOOH的H₂O和ACN纯化。将制备型洗脱份冻干,得到:呈白色固体状的((2R,3R)-3-((R)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基((R)-3-甲基-2-(吡啶-2-基二硫烷基)丁氧基)羰基)氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-

2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸(150mg,0.148mmol,48.35%产率)。LCMS: $C_{50}H_{78}N_6O_{10}S_2$ 的 $[M+H]^+$ 计算值:987.326;实验值986.4(M-H)

[0585] 步骤2:化合物29的合成

[0586] 将((2R,3R)-3-((R)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基((R)-3-甲基-2-(吡啶-2-基二硫烷基)丁氧基)羰基)氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸(150mg,0.152mmol)于DMF(1ml)中的溶液冷却至0℃。添加Pv1肽(498mg,0.152mmol)和三乙胺(41.8μl,0.304mmol)并且在室温下搅拌反应混合物3小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% TFA的H₂O和ACN纯化。将制备型洗脱份冻干,得到呈白色固体状的化合物29(425mg,0.101mmol,67.34%产率)。所获得的产物为双三氟乙酸盐。LCMS: $C_{197}H_{299}N_{41}O_{53}S_2$ 的 $[M+H]^+$ 计算值:4153.913;实验值1385.7[(M+3)/3];HPLC:柱Atlantis dC18(250X4.6)mm,5μm;流动相A:含0.1% TFA的MilliQ水;流动相B:ACN;流速:1.0mL/min;RT(min):12.257;纯度(Max):98.793%。

[0587] 实施例30:化合物30的合成



[0589] 步骤1:((2R,3R)-3-((R)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基(((1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基)氧基)羰基)氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸

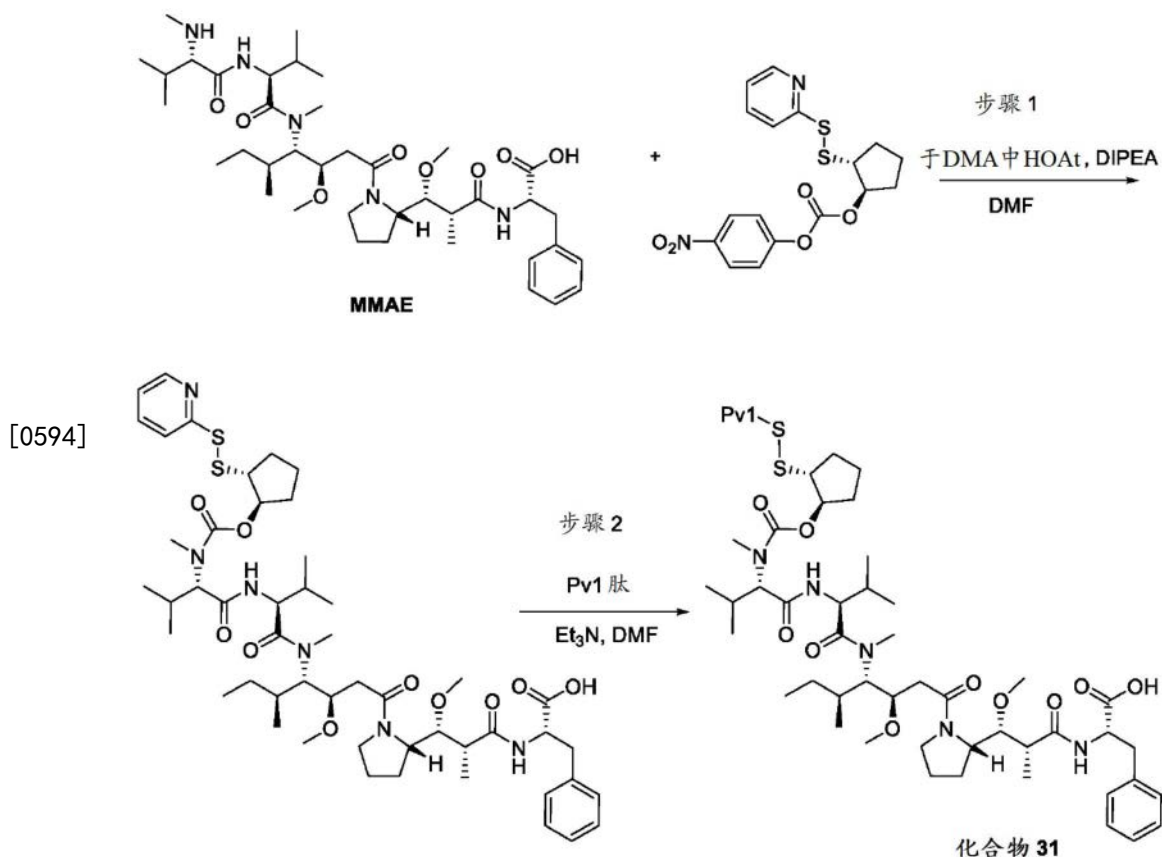
[0590] 在0℃下向((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸(56mg,0.076mmol)和((1S,2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基)碳酸4-硝基苯酯(35.84mg,0.092mmol)于DMF(1ml)中的经搅拌溶液中添加DIPEA

(20.42 μ l, 0.115mmol), 接着添加含1-羟基-7-氮杂苯并三唑的DMA(5.20 μ l, 0.038mmol)。在室温下搅拌反应混合物18小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% HCOOH的H₂O和ACN纯化。将制备型洗脱份冻干, 得到: 呈白色固体状的((2R, 3R)-3-((R)-1-((3R, 4S, 5S)-4-((S)-N, 3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基(((1S, 2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基)氧基)羰基)氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸(2)(45mg, 0.041mmol, 59.69%产率)。LCMS: C₅₀H₇₆N₆O₁₀S₂的[M+H]⁺计算值: 985.310; 实验值983.4(M-H)

[0591] 步骤2: 化合物30的合成

[0592] 将((2R, 3R)-3-((R)-1-((3R, 4S, 5S)-4-((S)-N, 3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基(((1S, 2S)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基)氧基)羰基)氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸(43mg, 0.044mmol)于DMF(1ml)中的溶液冷却至0℃。添加Pv1肽(143mg, 0.044mmol)和三乙胺(12.16 μ l, 0.087mmol)并且在室温下搅拌反应混合物3小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% TFA的H₂O和ACN纯化。将制备型洗脱份冻干, 得到呈白色固体状的化合物30(102mg, 0.024mmol, 56.29%产率)。所获得的产物为双三氟乙酸盐。LCMS: C₁₉₇H₂₉₇N₄₁O₅₃S₂的[M+H]⁺计算值: 4151.897; 实验值1383.1[(M-3)/3]; HPLC: 柱X-Bridge C8(50X4.6)mm, 3.5 μ m; 流动相: A: 含0.1% TFA的水; 流动相: B: 含0.1% TFA的ACN; 流速: 2.0mL/min; RT(min): 5.596; 纯度(Max): 98.55%

[0593] 实施例31: 化合物31的合成



[0595] 步骤1: ((2R, 3R)-3-((R)-1-((3R, 4S, 5S)-4-((S)-N, 3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基(((1R, 2R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基)氧基)羰基)氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-2-((S)-3-甲基-2-(甲基(((1R, 2R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基)氧基)羰基)氨基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸(2)(45mg, 0.041mmol, 59.69%产率)。LCMS: C₅₀H₇₆N₆O₁₀S₂的[M+H]⁺计算值: 985.310; 实验值983.4(M-H)

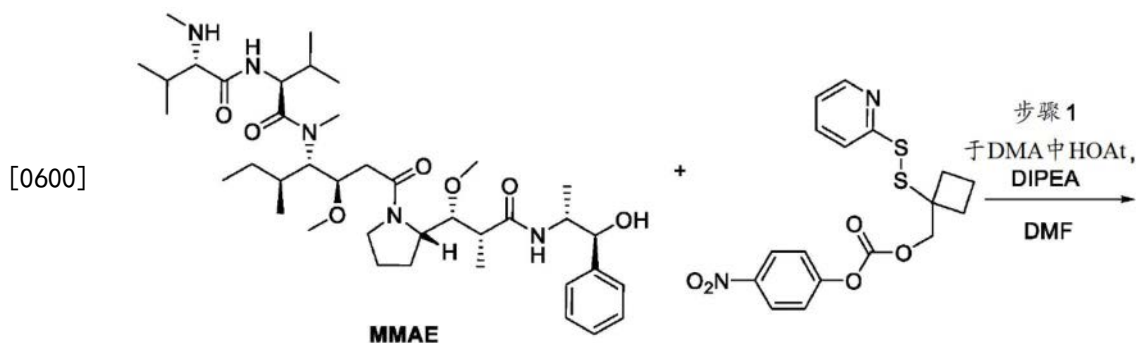
基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸

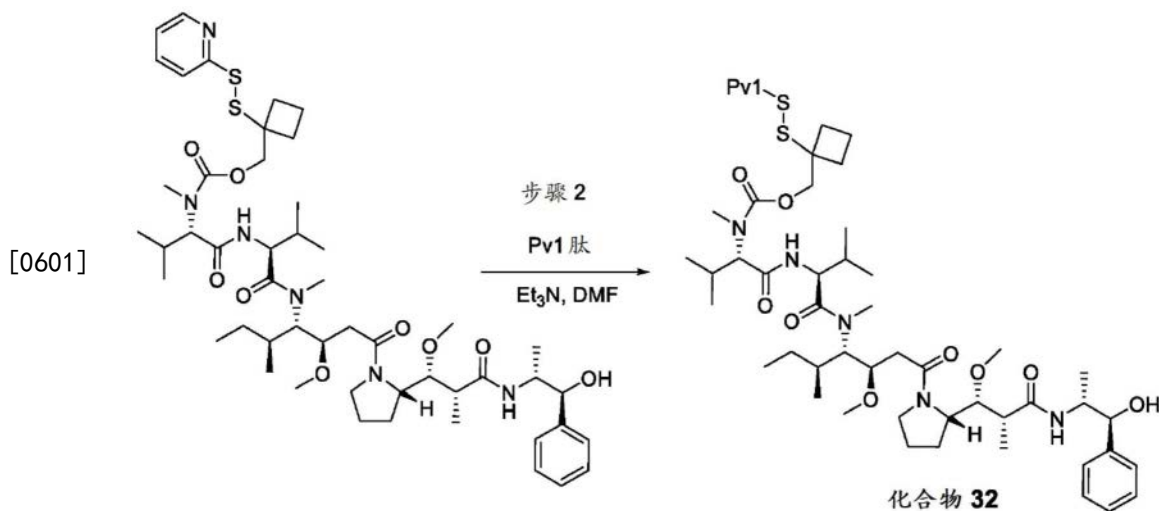
[0596] 在0℃下向((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸(56mg,0.076mmol)和((1R,2R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基)碳酸4-硝基苯酯(35.84mg,0.092mmol)于DMF(1ml)中的经搅拌溶液中添加DIPEA(20.42μl,0.115mmol),接着添加含1-羟基-7-氮杂苯并三唑的DMA(5.20μl,0.038mmol)。在室温下搅拌反应混合物18小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% HC00H的H₂O和ACN纯化。将制备型洗脱份冻干,得到:呈白色固体状的((2R,3R)-3-((R)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基(((1R,2R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基)氧基)羰基)氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸(28mg,0.028mmol,37.14%产率)。LCMS:C₅₀H₇₆N₆O₁₀S₂的[M+H]⁺计算值:985.310;实验值984.4(M-H)

[0597] 步骤2:化合物31的合成

[0598] 将((2R,3R)-3-((R)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基(((1R,2R)-2-(吡啶-2-基二硫烷基)环戊基)氧基)羰基)氨基)丁酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰基)-L-苯丙氨酸(25mg,0.025mmol)于DMF(1ml)中的溶液冷却至0℃。添加Pv1肽(83mg,0.025mmol)和三乙胺(2.56μl,0.025mmol)并且在室温下搅拌反应混合物3小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% TFA的H₂O和ACN纯化。将制备型洗脱份冻干,得到呈白色固体状的化合物31(70mg,0.017mmol,66.44%产率)。所获得的产物为双三氟乙酸盐。LCMS:C₁₉₇H₂₉₇N₄₁O₅₃S₂的[M+H]⁺计算值:4151.897;实验值1384.9[(M+3)/3];HPLC:柱Atlantis dc18(250X4.6)mm,5μm;流动相A:含0.1% TFA的MilliQ水;流动相B:ACN;流速:1.0mL/min;RT(min):12.134;纯度(Max):98.998%

[0599] 实施例32:化合物32的合成





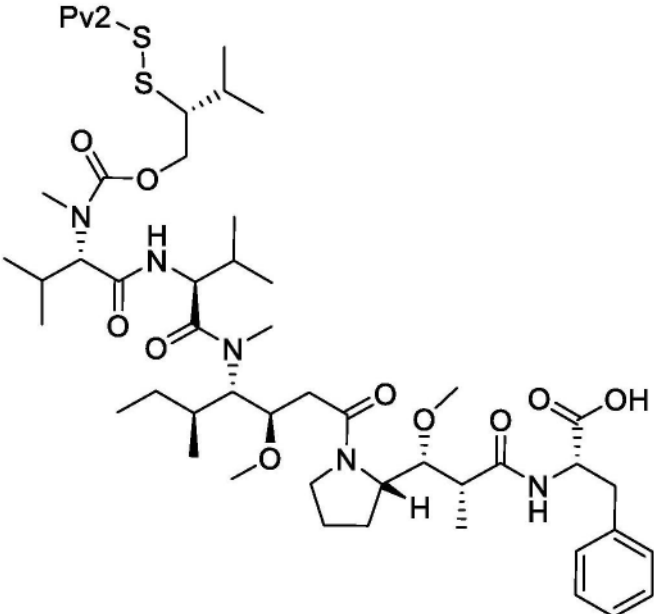
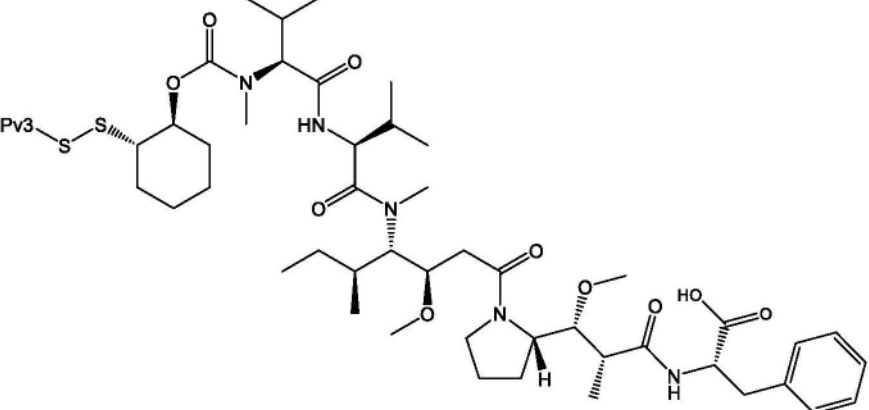
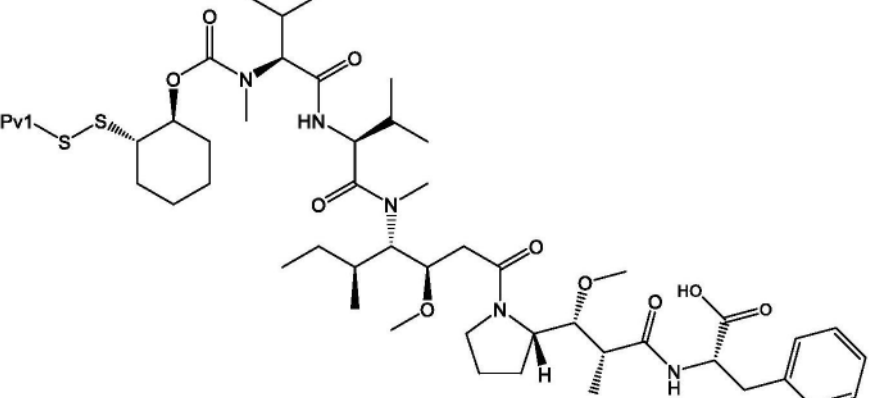
[0602] 步骤1: (1-(吡啶-2-基二硫烷基)环丁基)甲基((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸酯

[0603] 在0℃下向(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)-N,3-二甲基-2-((S)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酰胺基)丁酰胺(50mg, 0.069mmol)和((1-(吡啶-2-基二硫烷基)环丁基)甲基)碳酸4-硝基苯酯(2)(36.55mg, 0.083mmol)于DMF(1ml)中的经搅拌溶液中添加DIPEA(24.13μL, 0.014mmol),接着添加含1-羟基-7-氮杂苯并三唑的DMA(0.47ml, 0.035mmol)。在室温下搅拌反应混合物18小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% HCOOH的H₂O和ACN纯化。将制备型洗脱份冻干,得到:呈白色固体状的(1-(吡啶-2-基二硫烷基)环丁基)甲基((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸酯(35mg, 0.034mmol, 49.45%产率)。LCMS: C₅₀H₇₇N₇O₁₁S₂的[M+H]⁺计算值:1016.324;实验值1015.0(M-H)

[0604] 步骤2:化合物32的合成

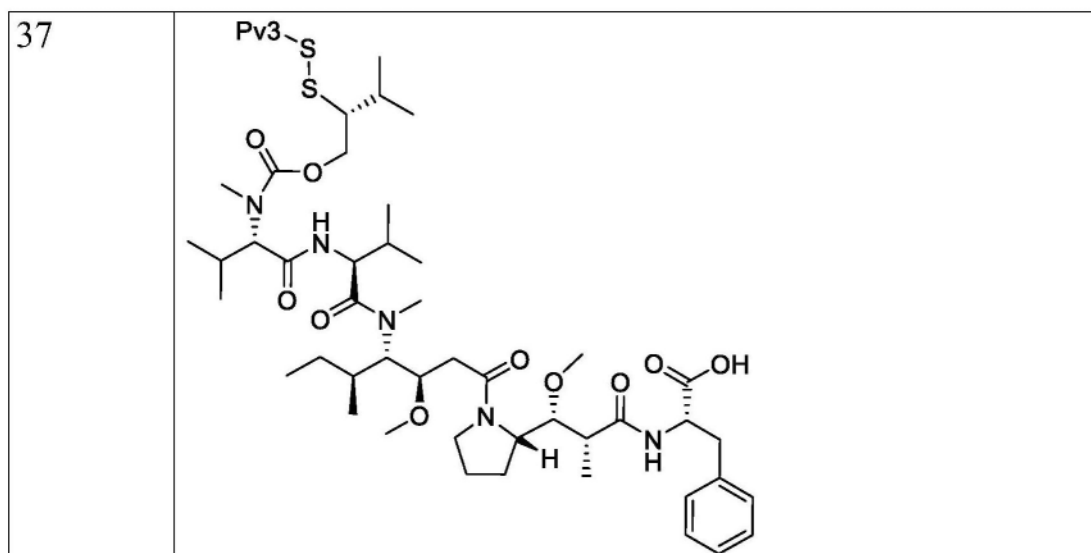
[0605] 将(1-(吡啶-2-基二硫烷基)环丁基)甲基((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-羟基-1-苯基丙-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)(甲基)氨基甲酸酯(35mg, 0.034mmol)于DMF(1ml)中的溶液冷却至0℃。添加Pv1肽(112.9mg, 0.034mmol)和三乙胺(9.6μl, 0.068mmol)并且在室温下搅拌反应混合物4小时。反应混合物通过制备型HPLC使用含0.1% TFA的H₂O和ACN纯化。将制备型洗脱份冻干,得到呈白色固体状的化合物32(82mg, 0.020mmol, 57.45%产率)。所获得的产物为双三氟乙酸盐。LCMS: C₁₉₇H₂₉₉N₄₁O₅₂S₂的[M+H]⁺计算值:4137.914;实验值1378.1[(M-3)/3];HPLC:柱X-Bridge C8(50X4.6)mm, 3.5μm;流动相:A:含0.1% TFA的水;流动相:B:含0.1% TFA的ACN;流速:2.0mL/min;RT(min):5.53;纯度(Max):98.659%

[0606] 以下表3的化合物是使用以上实施例中所描述的程序制备。

34	
35	
36	

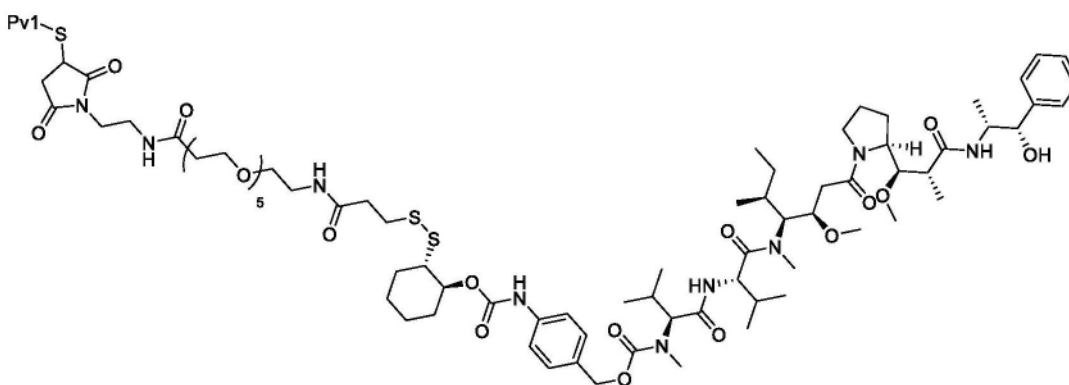
[0609]

[0610]



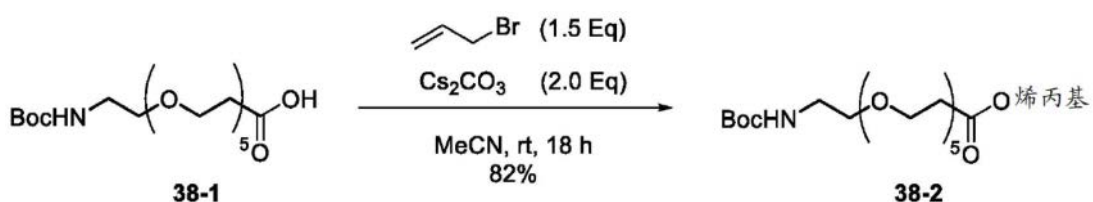
[0611] 实施例38:化合物38的合成

[0612]



[0613] 步骤1:2,2-二甲基-4-氧代-3,8,11,14,17,20-六氧杂-5-氮杂三十三烷-23-酸烯丙酯 (38-2) 的合成

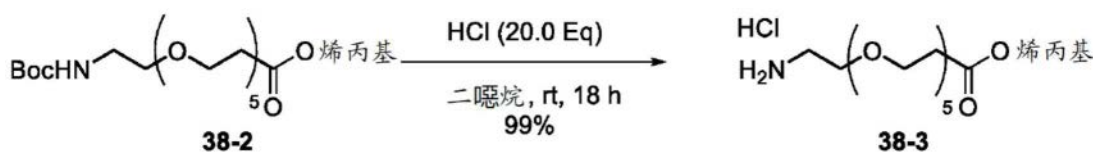
[0614]



[0615] 向38-1 (2.00g, 1.0Eq, 4.88mmol) 于乙腈 (50mL) 中的溶液中添加碳酸铯 (3.18g, 2.0Eq, 9.77mmol) 和烯丙基溴 (630 μ L, 1.50Eq, 7.33mmol)。在室温下搅拌反应混合物18小时。过滤出剩余碳酸铯并且真空去除溶剂。通过快速色谱法 (EtOAc/环己烷, 0% (2CV), 0% 至100% (10CV)) 纯化, 得到呈白色固体状的标题化合物 (1.80g, 82%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) 6.75 (t, J=5.7Hz, 1H), 5.95-5.85 (m, 1H), 5.34-5.24 (m, 1H), 5.22-5.16 (m, 1H), 4.55 (dt, J=5.3, 1.6Hz, 2H), 3.64 (t, J=6.2Hz, 2H), 3.54-3.50 (m, 16H), 3.4 (t, J=6.1Hz, 2H), 3.05 (q, J=6.0Hz, 2H), 2.57 (t, J=6.2Hz, 2H), 1.37 (s, 9H)。

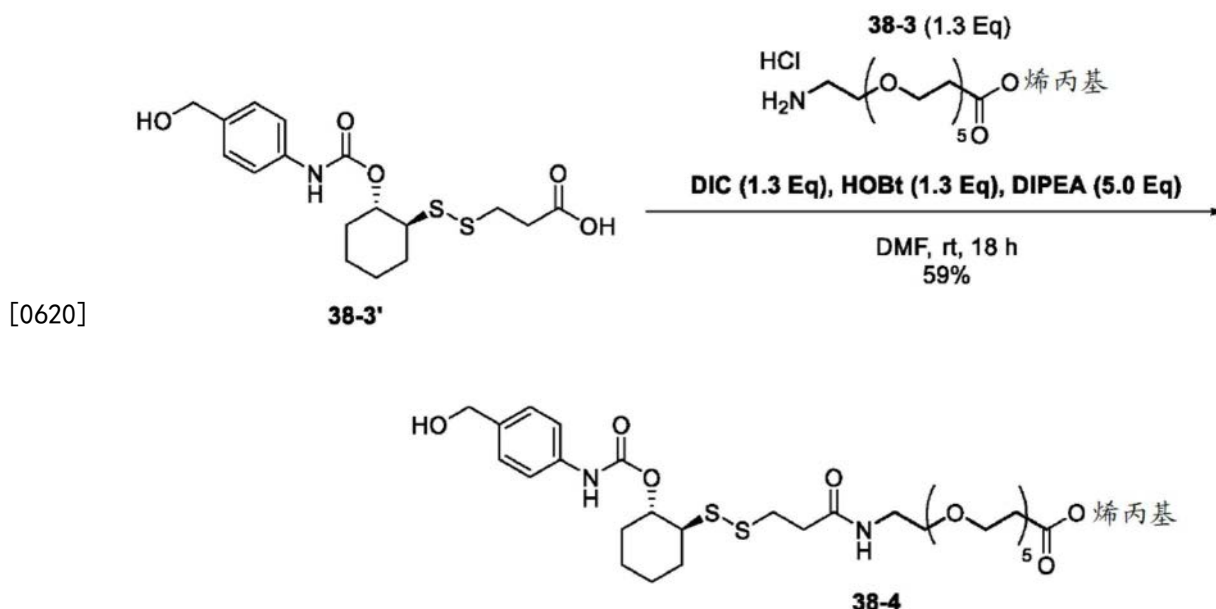
[0616] 步骤2:1-氨基-3,6,9,12,15-五氧杂十八烷-18-酸烯丙酯盐酸盐 (38-3) 的合成

[0617]



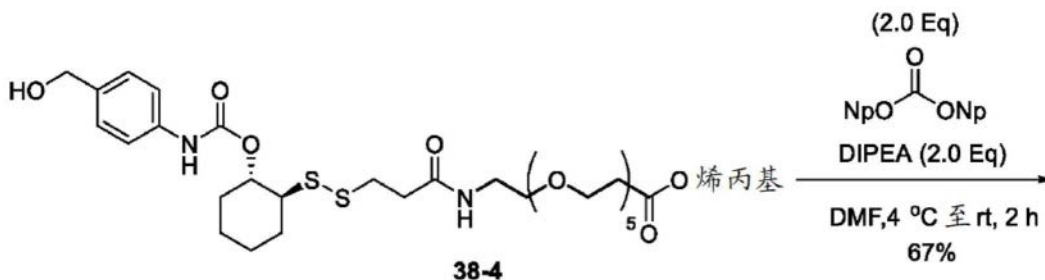
[0618] 向38-2 (1.80g, 1.0Eq, 4.00mmol) 于二噁烷 (20mL) 中的溶液中添加含4N HCl的二噁烷 (20.0mL, 20.0Eq, 80.0mmol) 并且在室温下搅拌反应物18小时。真空浓缩反应物并且用二乙醚湿磨残余物, 得到呈无色油状的标题化合物 (1.55g, 99%)。¹H NMR (400MHz, MeOD-d₄) δ 5.95 (ddt, J=17.2, 10.5, 5.6Hz, 1H), 5.37-5.27 (m, 1H), 5.24-5.20 (m, 1H), 4.61 (dt, J=5.6, 1.5Hz, 2H), 3.68-3.62 (m, 20H), 3.17-3.11 (m, 2H), 2.64 (t, J=6.0Hz, 2H)。

[0619] 步骤3: 1-(((1S, 2S)-2-(((4-(羟基甲基)苯基)氨基甲酰基)氧基)环己基)二硫烷基)-3-氧代-7,10,13,16,19-五氧代-4-氮杂二十二烷-22-酸烯丙酯 (38-4) 的合成

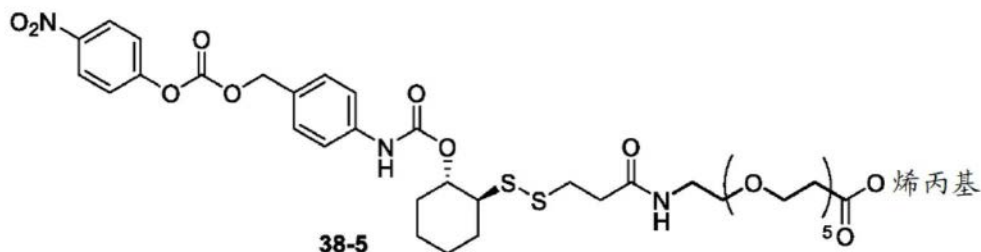


[0621] 向38-3' (500mg, 1.0Eq, 1.30mmol) 于无水DMF (10mL) 中的溶液中添加1H-苯并[d][1,2,3]三唑-1-醇 (228mg, 1.3Eq, 1.69mmol)、N,N'-二异丙基碳化二亚胺 (262μL, 1.3Eq, 1.69mmol) 和N-乙基-N-异丙基丙-2-胺 (838mg, 5.0Eq, 6.49mmol)。搅拌混合物10分钟。接着, 添加含1-氨基-3,6,9,12,15-五氧杂十八烷-18-酸烯丙基酯盐酸盐38-3 (651mg, 1.3Eq, 1.69mmol) 的DMF (10mL) 并且溶液继续在室温下搅拌18小时。混合物通过反相色谱法 (甲醇/水 (0.1%甲酸), 5% (2CV), 5%至95% (12CV), 95% (2CV)) 纯化, 得到呈白色固体状的标题化合物 (545mg, 59%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 9.58 (s, 1H), 7.97 (t, J=5.7Hz, 1H), 7.41 (d, J=8.3Hz, 2H), 7.24-7.16 (m, 2H), 5.90 (ddt, J=17.3, 10.6, 5.4Hz, 1H), 5.38-5.12 (m, 2H), 4.67-4.58 (m, 1H), 4.55 (dt, J=5.4, 1.5Hz, 2H), 4.43-4.37 (m, 2H), 3.64 (t, J=6.2Hz, 2H), 3.52-3.44 (m, 16H), 3.38 (t, J=5.9Hz, 2H), 3.21-3.13 (m, 2H), 2.92-2.81 (m, 3H), 2.59-2.53 (m, 2H), 2.44 (t, J=7.2Hz, 2H), 2.16-2.00 (m, 2H), 1.77-1.26 (m, 6H)。
[C₃₃H₅₃N₂O₁₁S₂]⁺[M+H]⁺的LC-MS (ESI+) 准确质量计算值: 717; 实验值: 717。

[0622] 步骤4: 1-(((1S, 2S)-2-(((4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酰基)氧基)环己基)二硫烷基)-3-氧代-7,10,13,16,19-五氧代-4-氮杂二十二烷-22-酸烯丙酯 (38-5) 的合成

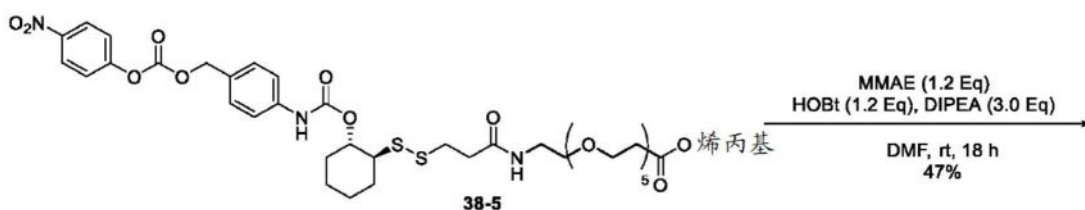


[0623]

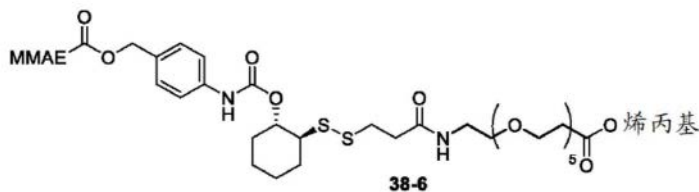


[0624] 在4℃下向38-4 (540mg, 1.0Eq, 753μmol) 于无水DMF (15mL) 中的溶液中添加双(4-硝基苯基)碳酸酯(458mg, 2.0Eq, 1.51mmol)和二异丙基乙胺(388μL, 3.0Eq, 2.26mmol)。使混合物升温至室温并搅拌18小时。混合物通过反相色谱法(甲醇/水(0.1%甲酸), 5% (2CV), 5%至95% (12CV), 95% (2CV))纯化,得到呈白色固体状的标题化合物(444mg, 67%)。¹H NMR (400MHz, MeOD-d₄) δ8.37-8.26 (m, 2H), 7.55-7.43 (m, 4H), 7.42-7.34 (m, 2H), 5.93 (ddt, J=17.2, 10.8, 5.5Hz, 1H), 5.34-5.27 (m, 1H), 5.26-5.23 (m, 2H), 5.22-5.18 (m, 1H), 4.74-4.64 (m, 1H), 4.60-4.56 (m, 2H), 3.73 (t, J=6.2Hz, 2H), 3.61-3.56 (m, 16H), 3.49 (t, J=5.3Hz, 2H), 2.95 (td, J=7.2, 1.8Hz, 2H), 2.88-2.79 (m, 1H), 2.61-2.55 (m, 4H), 2.23-2.12 (m, 2H), 1.82-1.38 (m, 6H), 3个质子最可能被甲醇信号覆盖。[C₄₀H₅₆N₃O₁₅S₂]⁺[M+H]⁺的LC-MS (ESI+) 准确质量计算值:882;实验值:882。

[0625] 步骤5:化合物38-6的合成

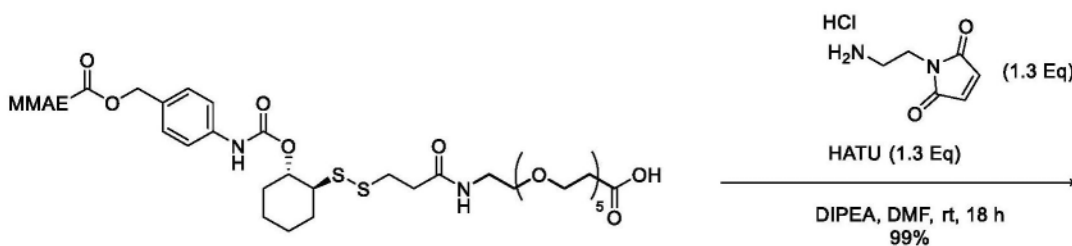


[0626]

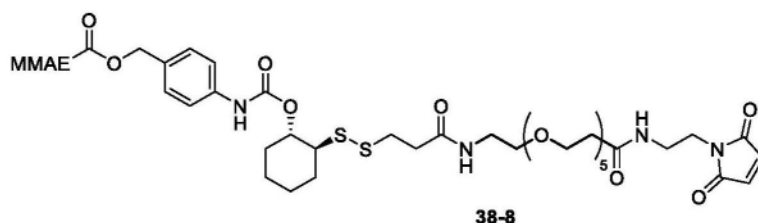


[0627] 向38-5 (400mg, 1.0Eq, 454μmol) 于DMF (4mL) 中的溶液中添加HOBt (93.1mg, 1.2Eq, 544μmol)、DIPEA (234μL, 3.0Eq, 1.36mmol)、MMAE (391mg, 1.2Eq, 544μmol) 和3Å分子筛。在室温下搅拌反应物18小时。混合物通过反相色谱法(甲醇/水(0.1%甲酸), 5% (2CV), 5%至95% (12CV), 95% (2CV))纯化,得到呈疏松白色固体状的标题化合物(313mg, 47%)。[C₇₃H₁₁₈N₇O₁₉S₂]⁺[M+H]⁺的LC-MS (ESI+) 准确质量计算值:1461;实验值:1461。

[0628] 步骤7:化合物38-8的合成

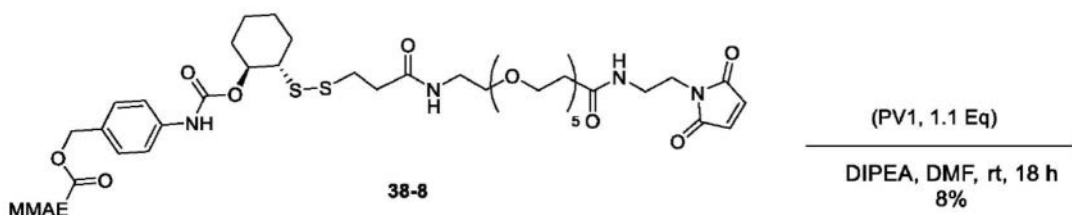


[0629]

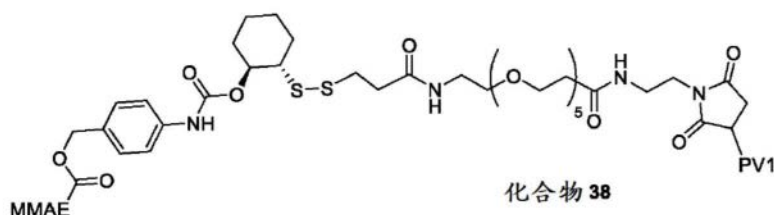


[0630] 向38-7 (60mg, 1.0Eq, 42 μ mol) 于DMF (5mL) 中的溶液中添加HATU (21mg, 1.3Eq, 55 μ mol) 和二异丙基乙胺 (29 μ L, 4.0Eq, 0.17mmol)。在室温下搅拌15分钟后,添加1-(2-氨基乙基)-1H-吡咯-2,5-二酮盐酸盐 (9.7mg, 1.3Eq, 55 μ mol) 于DMF (5mL) 中的溶液并且在室温下搅拌混合物18小时。反应物通过反相色谱法(乙腈/水 (0.1%甲酸), 5% (2CV), 5%至95% (12CV), 95% (2CV)) 纯化,得到呈白色固体状的标题化合物 (65mg, 99%)。[C₇₆H₁₂₀N₉O₂₀S₂]⁺ [M+H]⁺的LC-MS (ESI+) 准确质量计算值:1542.8;实验值:1543.3

[0631] 步骤8:化合物38的合成

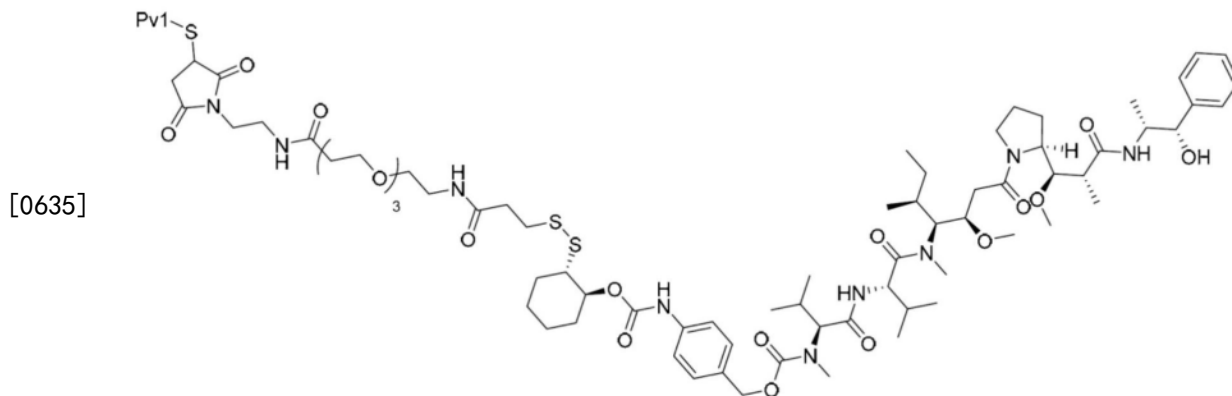


[0632]

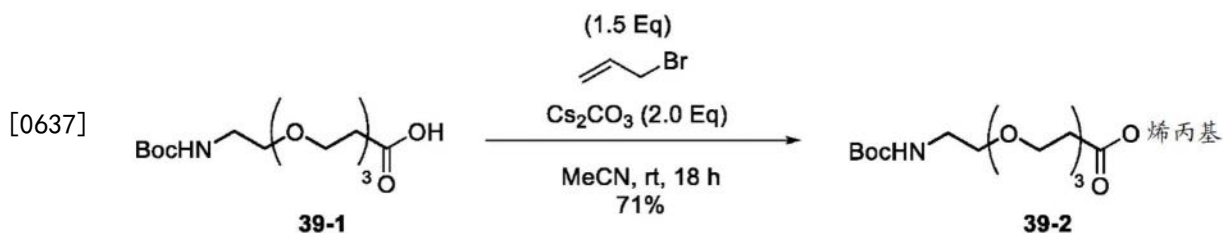


[0633] 向38-8 (65mg, 1.0Eq, 42 μ mol) 于DMF (3mL) 中的溶液中添加Pv1 (150mg, 1.1Eq, 46 μ mol) 和二异丙基乙胺 (51 μ L, 7.0Eq, 0.29mmol)。在室温下搅拌混合物18小时并且通过反相色谱法(乙腈/水 (0.1%甲酸), 5% (2CV), 5%至95% (12CV), 95% (2CV)) 纯化,得到呈白色固体状的化合物38 (16mg, 8%)。HPLC: 96%, 220nm。[C₂₂₈H₃₄₁N₄₄O₆₄S₃]³⁻ [M-3H]³⁻的LC-MS (ESI-) 准确质量计算值:1605.8,实验值:1605.9。[C₂₂₈H₃₄₀N₄₄O₆₄S₃]⁴⁻ [M-4H]⁴⁻的准确质量计算值:1204.1,实验值:1204.1

[0634] 实施例39:化合物39的合成

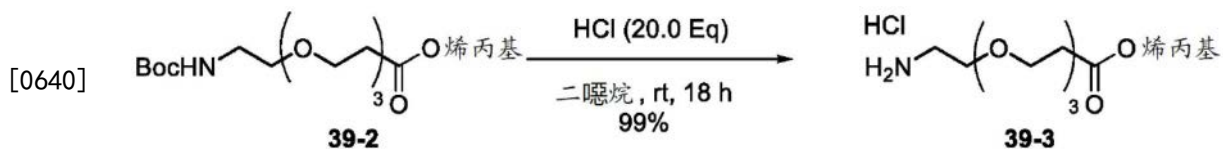


[0636] 步骤1: 2,2-二甲基-4-氧代-3,8,11,14-四氧杂-5-氮杂十七烷-17-酸烯丙酯 (39-2) 的合成



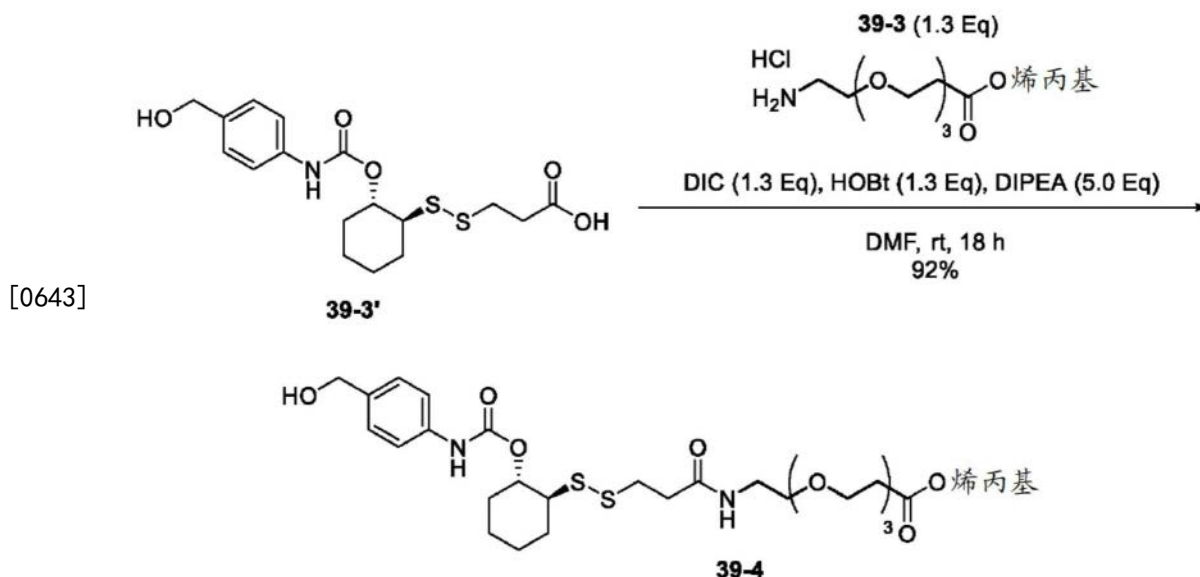
[0638] 向39-1 (2.00g, 1.0Eq, 6.23mmol) 于乙腈 (50mL) 中的溶液中添加碳酸铯 (4.06g, 2.0Eq, 12.5mmol) 和烯丙基溴 (803μL, 1.5Eq, 9.35mmol)。在室温下搅拌反应混合物18小时。过滤出剩余碳酸铯并且真空去除溶剂。通过快速色谱法 (EtOAc/环己烷, 0% (2CV), 0% 至 100% (10CV)) 纯化, 得到呈白色粉末状的标题化合物 (1.60g, 71%)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 5.91 (ddt, J=17.2, 10.4, 5.7Hz, 1H), 5.37-5.18 (m, 2H), 5.11-4.73 (br s, 1H), 4.59 (dt, J=5.7, 1.4Hz, 2H), 3.77 (t, J=6.5Hz, 2H), 3.68-3.58 (m, 8H), 3.53 (dd, J=5.5, 4.7Hz, 2H), 3.30 (t, J=5.1Hz, 2H), 2.63 (t, J=6.5Hz, 2H), 1.43 (s, 9H)。

[0639] 步骤2: 3-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸烯丙酯盐酸盐 (39-3) 的合成



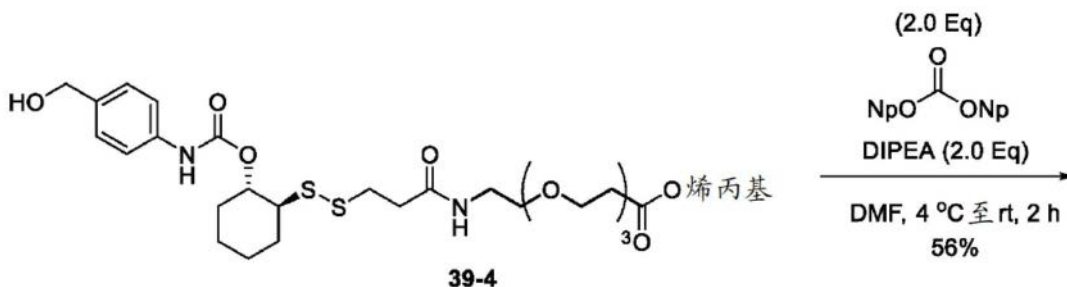
[0641] 向39-2 (1.60g, 1.00Eq, 4.23mmol) 于二噁烷 (20mL) 中的溶液中添加含4N HCl的二噁烷 (22.1mL, 20.0Eq, 88.5mmol) 并且在室温下搅拌反应物18小时。真空浓缩反应物并且用二乙醚湿磨残余物, 得到呈无色油状的标题化合物 (1.32g, 99%)。¹H NMR (400MHz, MeOD-d₄) 5.99-5.89 (m, 1H), 5.32 (dq, J=17.2, 1.6Hz, 1H), 5.22 (dq, J=10.5, 1.4Hz, 1H), 4.60 (dt, J=5.6, 1.5Hz, 2H), 3.78-3.74 (m, 2H), 3.72-3.69 (m, 2H), 3.67-3.65 (m, 6H), 3.64-3.62 (m, 4H), 3.14-3.11 (m, 2H), 2.63 (t, J=6.0Hz, 2H)。

[0642] 步骤3: 1-(((1S,2S)-2-(((4-(羟基甲基)苯基)氨基羰基)氧基)环己基)二硫烷基)-3-氧代-7,10,13-三氧杂-4-氮杂十六烷-16-酸烯丙酯 (39-4) 的合成

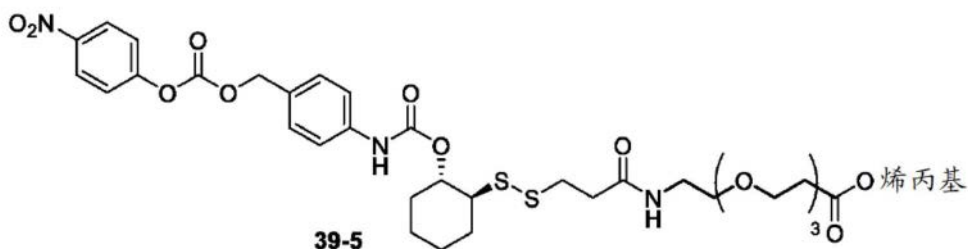


[0644] 向39-3' (500mg, 1.0Eq, 1.30mmol) 于无水DMF (10mL) 中的溶液中添加1H-苯并[d][1,2,3]三唑-1-醇 (228mg, 1.3Eq, 1.69mmol)、N,N'-二异丙基碳化二亚胺 (262μL, 1.3Eq, 1.69mmol) 和二异丙基乙胺 (838mg, 5.0Eq, 6.49mmol)。搅拌混合物10分钟。接着, 添加含3-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸烯丙酯盐酸盐 (502mg, 1.3Eq, 1.69mmol) 的DMF (10mL) 并且溶液继续在室温下搅拌18小时。混合物通过反相色谱法 (甲醇/水 (0.1% 甲酸), 5% (2CV), 5% 至 95% (12CV), 95% (2CV)) 纯化, 得到呈白色固体状的标题化合物 (747mg, 92%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 7.97 (t, J=5.7Hz, 1H), 7.41 (m, 2H), 7.21-7.19 (m, 2H), 5.90 (ddt, J=17.2, 10.6, 5.3Hz, 1H), 5.34-5.17 (m, 2H), 5.07-5.02 (m, 1H), 4.65-4.57 (m, 1H), 4.55 (dt, J=5.3, 1.6Hz, 2H), 4.43-4.48 (m, 2H), 3.63 (t, J=6.2Hz, 2H), 3.53-3.43 (m, 8H), 3.38 (t, J=5.9Hz, 2H), 3.22-3.13 (m, 3H), 2.92-2.83 (m, 3H), 2.57 (t, J=6.2Hz, 2H), 2.44 (t, J=7.2Hz, 2H), 2.17-1.99 (m, 2H), 1.77-1.28 (m, 6H)。[C₂₉H₄₅N₂O₉S₂]⁺[M+H]⁺的LC-MS (ESI+) 准确质量计算值: 629; 实验值: 629。

[0645] 步骤4: 1-(((1S,2S)-2-(((4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酰基)氧基)环己基)二硫烷基)-3-氧代-7,10,13-三氧杂-4-氮杂十六烷-16-酸烯丙酯 (5) 的合成

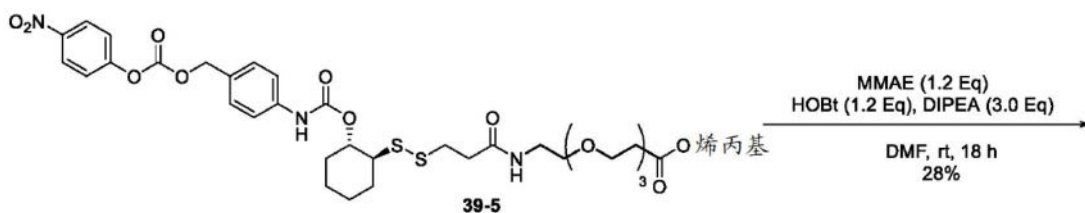


[0646]

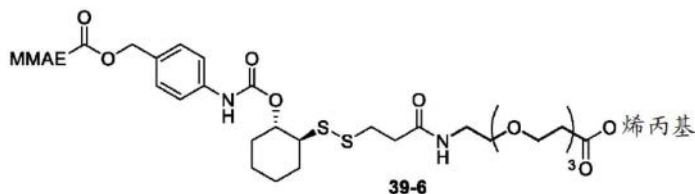


[0647] 在4℃下向39-4(740mg, 1.0Eq, 1.18mmol)于无水DMF(15mL)中的溶液中添加双(4-硝基苯基)碳酸酯(716mg, 2.0Eq, 2.35mmol)和二异丙基乙胺(607μL, 3.0Eq, 3.53mmol)。使混合物升温至室温并搅拌18小时。混合物通过反相色谱法(甲醇/水(0.1%甲酸), 5%(2CV), 5%至95%(12CV), 95%(2CV))纯化, 得到呈白色固体状的标题化合物(520mg, 56%)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ8.35-8.27(m, 2H), 7.97(t, J=5.6Hz, 1H), 7.60-7.54(m, 2H), 7.53-7.48(m, 2H), 7.40-7.36(m, 2H), 5.89(ddt, J=17.3, 10.6, 5.3Hz, 1H), 5.32-5.25(m, 1H), 5.24-5.21(m, 2H), 5.21-5.17(m, 1H), 4.69-4.59(m, 1H), 4.55(dt, J=5.3, 1.6Hz, 2H), 3.63(t, J=6.2Hz, 2H), 3.51-3.43(m, 8H), 3.37(t, J=5.9Hz, 2H), 3.22-3.12(m, 3H), 2.88(t, J=6.9Hz, 3H), 2.56(t, J=6.2Hz, 2H), 2.44(t, J=7.2Hz, 2H), 2.17-2.02(m, 2H), 1.75-1.31(m, 6H)。[C₃₆H₄₈N₃O₁₃S₂]⁺[M+H]⁺的LC-MS(ESI+)准确质量计算值: 794; 实验值: 794。

[0648] 步骤5: 39-6的合成



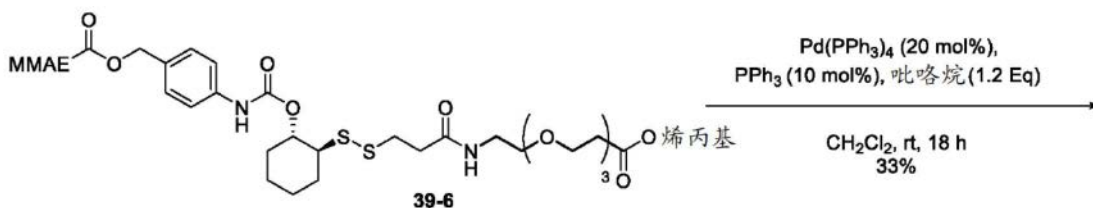
[0649]



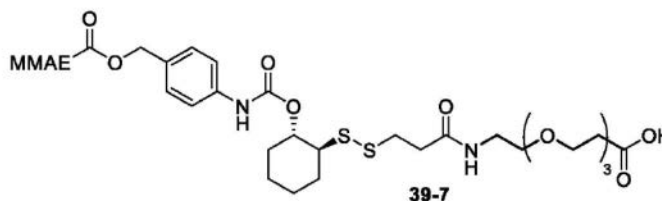
[0650] 向39-5(420mg, 1.0Eq, 529μmol)于DMF(4mL)中的溶液中添加HOBt(109mg, 1.2Eq, 635μmol)、二异丙基乙胺(273μL, 3.0Eq, 1.59mmol)、MMAE(456mg, 1.2Eq, 635μmol)和3Å分子筛。在室温下搅拌反应物18小时。混合物通过反相色谱法(甲醇/水(0.1%甲酸), 5%(2CV), 5%至95%(12CV), 95%(2CV))纯化, 得到呈疏松白色固体状的标题化合物(313mg,

28%)。[C₆₉H₁₁₀N₇O₁₇S₂]⁺[M+H]⁺的LC-MS (ESI+) 准确质量计算值:1372.7;实验值:1372.9。

[0651] 步骤6:39-7的合成

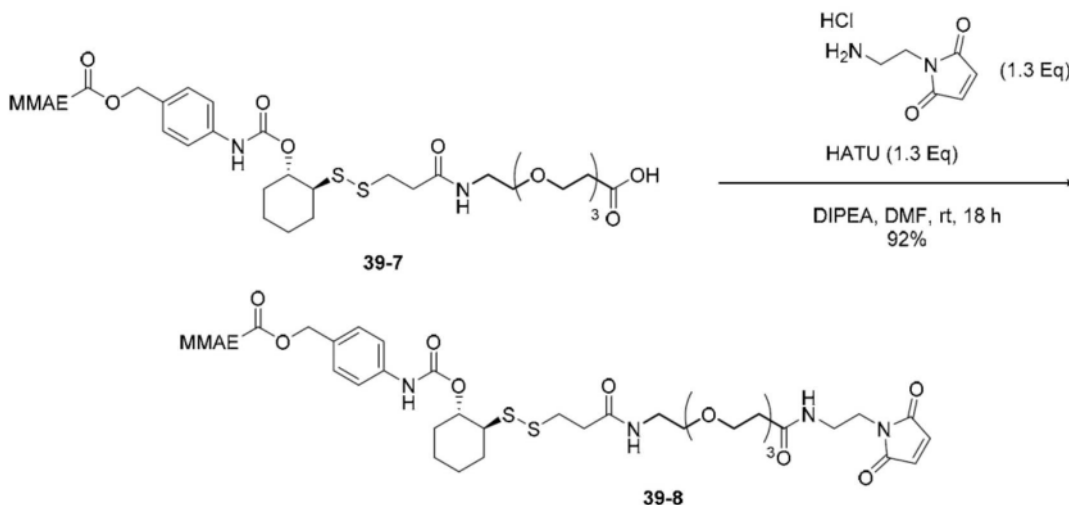


[0652]

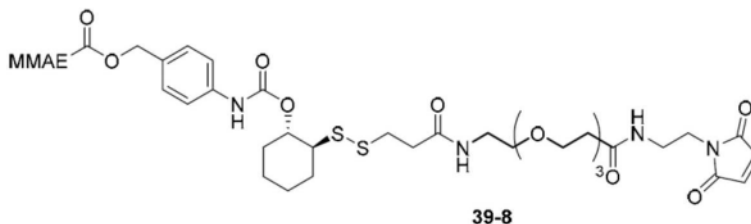


[0653] 向39-6 (200mg, 1.0Eq, 146μmol) 于无水CH₂Cl₂ (2mL) 中的溶液中添加三苯基膦 (3.8mg, 10mol-%, 15μmol)。用氮气吹扫溶液2分钟, 然后添加Pd (PPh₃)₄ (33.7mg, 20mol-%, 29.1μmol) 和吡咯烷 (14μL, 1.2Eq, 175μmol)。在室温下搅拌混合物18小时。真空浓缩反应物并且通过反相色谱法 (甲醇/水 (0.1% 甲酸), 5% (2CV), 5% 至 95% (12CV), 95% (2CV) 纯化残余物, 得到呈疏松黄色固体状的标题化合物 (64mg, 33%)。¹H NMR光谱过于复杂, 无法解释。[C₆₆H₁₀₆N₇O₁₇S₂]⁺[M+H]⁺的LC-MS (ESI+) 准确质量计算值:1332.7;实验值:1332.5。

[0654] 步骤7:39-8的合成

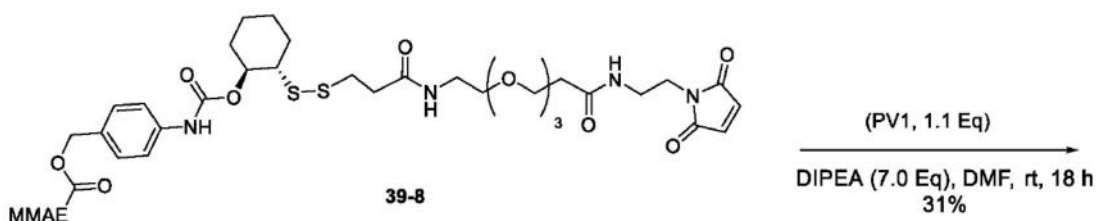


[0655]

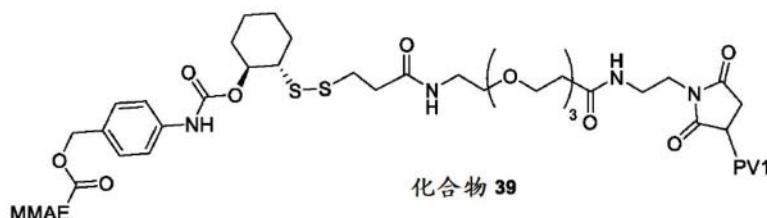


[0656] 向39-7 (60mg, 1.0Eq, 45μmol) 于DMF (4mL) 中的溶液中添加HATU (22mg, 1.3Eq, 59μmol) 和二异丙基乙胺 (31μL, 4.0Eq, 0.18mmol)。在室温下搅拌15分钟后, 添加1-(2-氨基乙基)-1H-吡咯-2,5-二酮盐酸盐 (10mg, 1.3Eq, 59μmol) 于DMF (4mL) 中的溶液并且在室温下搅拌混合物18小时。反应物通过反相色谱法 (乙腈/水 (0.1% 甲酸), 5% (2CV), 5% 至 95% (12CV), 95% (2CV)) 纯化, 得到呈白色固体状的标题化合物 (60mg, 92%)。[C₇₂H₁₁₂N₉O₁₈S₂]⁺[M+H]⁺的LC-MS (ESI+) 准确质量计算值:1454.7;实验值:1454.8。

[0657] 步骤8:化合物39的合成



[0658]



[0659] 向39-8 (60mg, 1.0Eq, 41 μ mol) 于DMF (3mL) 中的溶液中添加Pv1 (150mg, 1.1Eq, 45 μ mol) 和二异丙基乙胺 (50 μ L, 7.0Eq, 0.29mmol)。在室温下搅拌混合物18小时并通过反相色谱法 (乙腈/水 (0.1% 甲酸), 5% (2CV), 5%至95% (12CV), 95% (2CV)) 纯化, 得到呈白色固体状的标题化合物 (60mg, 31%)。HPLC: 99%, 220nm。[C₂₂₄H₃₃₃N₄₄O₆₂S₃]³⁻[M-H]⁻的LC-MS (ESI+) 准确质量计算值: 1576.5; 实验值: 1576.2。[C₂₂₄H₃₃₂N₄₄O₆₂S₃]⁴⁻[M-H]⁻的准确质量计算值: 1182.1, 实验值: 1182.8

[0660] 实施例A: 癌细胞中的体外生长延迟测定

[0661] 将细胞 (HCT116结直肠细胞、PC3前列腺细胞、NCI-H1975NSCLC细胞和NCI-H292NSCLC细胞) 以3000个细胞/孔接种于96孔黑色壁透明底板 (Griener) 中含有10% FBS的生长培养基中。使细胞在室温下粘附60分钟, 然后返回至37℃、5% CO₂温育箱。在24小时后, 去除培养基并用含有不同药物浓度的新鲜生长培养基置换。一式三份地添加每个药物浓度。未经药物处理的对照物仅含有生长培养基。使细胞返回至温育箱。在添加药物后九十六小时, 将细胞用4%多聚甲醛固定20分钟并用1 μ g/mL的Hoechst染色。板在Cytation 5自动成像仪 (BioTek) 上成像并且使用CellProfiler (<http://cellprofiler.org>) 计数细胞。计算细胞生长延迟百分比并且使用GraphPad Prism绘制数据。

[0662] 图1A显示体外HCT116结直肠细胞在与指定浓度的化合物2或未缀合的MMAE一起温育四天后的生长延迟图。

[0663] 图1B显示体外PC3前列腺细胞在与指定浓度的化合物2或未缀合的MMAE一起温育四天后的生长延迟图。

[0664] 图1C显示体外NCI-H1975 NSCLC细胞在与指定浓度的化合物2或未缀合的MMAE一起温育四天后的生长延迟图。

[0665] 图1D显示体外NCI-H292 NSCLC细胞在与指定浓度的化合物2或未缀合的MMAE一起温育四天后的生长延迟图。

[0666] 下表显示HCT116结直肠细胞在用指定实施例化合物处理后的4天生长抑制 (IC₅₀)。

[0667]

实施例编号	IC ₅₀ (nM)
1	2.0
2	1.9
3	2.8
4	3.0
5	10.4
6	7.8
7	12.1
8	ND

[0668]

9	ND
10	1.1
11	6.3
12	1.4
13	1.6
14	ND
15	ND
16	1.7
17	4.3
18	5.6
19	4.2
20	0.7
21	ND
22	ND
23	ND
24	ND
25	165
26	155
27	158
28	297
29	322
30	750
31	733
32	ND
33	291
34	285
35	2825
36	1107
37	291
38	ND
39	ND

[0669] ND=未测定。

[0670] 实施例B:癌细胞中的体外细胞周期停滞功能测定

[0671] 细胞与MMAE和化合物2一起温育并用碘化丙锭染色

[0672] 将HCT116细胞以500,000个细胞/孔接种于6孔组织培养板中的2mL DMEM中,并且在37℃、5% CO₂温育箱中温育过夜。将在DMEM+4% DMSO中以10X浓度制备的MMAE和化合物2的200μL稀释液添加至6孔板的适当孔中,并且将板温育24小时。在HCT116细胞暴露于MMAE或化合物2后,收集细胞用于碘化丙锭染色和流式细胞术。从每个孔收集培养基并转移至锥形15mL离心管中以收集非粘附细胞。添加PBS (1mL) 以洗涤孔并且然后将其转移至15mL管中。将Tryp-LE (1mL) 添加至每个孔中并且将板在37℃、5% CO₂温育箱中温育5分钟直至细胞从孔表面脱离。将DMEM+10% 胎牛血清 (1mL) 的溶液添加至每个孔中。将孔湿磨并且将细胞转移至管中。将DMEM+10% 胎牛血清的溶液 (1mL) 添加至孔中以确保收集细胞。将这些再次转移至15mL管中。通过锥虫蓝排除法在Bio-Rad TC20细胞计数器上评估每个样品的细胞计数和活力。细胞以1200rpm离心5分钟。倾析上清液并且将细胞以1X10⁶个细胞/毫升重悬于PBS中以用碘化丙锭染色。

[0673] 通过流式细胞术分析碘化丙锭染色的细胞

[0674] 细胞染色条件

[0675]	碘化丙锭	最终浓度-300μg/mL
	核糖核酸酶	最终浓度-50μg/mL

[0676] 将每个细胞悬浮液的等分试样 (1mL) 转移至深孔聚丙烯板中。板以1200rpm离心5分钟。倾析上清液,并且将细胞重悬于330μL冷PBS中。将体积为670μL的冷乙醇缓慢添加至每个孔侧面。将细胞在染色前用均一67%乙醇轻轻湿磨,在冰上固定细胞3小时。固定后,板以1200rpm离心5分钟并且倾析乙醇:PBS。将细胞重悬于200μL的300μg/mL核糖核酸酶和50μg/mL碘化丙锭的PBS溶液。将板密封并在黑暗中以37℃下温育30分钟或在室温下温育过夜,之后将细胞重悬并转移至小体积聚丙烯板中用于流式细胞术。使用BD Acuri流式细胞仪分析碘化丙锭染色细胞。对于每个样品,形成三个图:

[0677] 图2A显示体外HCT116结直肠细胞在与指定剂量的未缀合MMAE一起温育24小时后的细胞周期分析。

[0678] 图2B显示体外HCT116结直肠细胞在与指定剂量的化合物2一起温育24小时后的细胞周期分析。

[0679] 细胞显示在G2/M中的剂量反应性累积,其中MMAE的IC₅₀为2.6nM并且化合物2的IC₅₀为19.6nM。

[0680] 实施例C:大鼠模型中化合物2的血浆药物动力学

[0681] 动物给药

[0682] 雌性史泊格多利大鼠 (Sprague Dawley rat) 在装运之前在Envigo Labs进行颈静脉套管插入术和插入血管通路按钮 (VAB, Instech Labs 目录号VABR1B/22)。磁性铝盖 (Instech Labs 目录号VABRC) 用于保护颈静脉导管的进入口,使动物在研究之前的4-5天内,每笼2只圈养于玉米芯垫料上。大鼠被施用单一静脉内剂量的10mg/kg在含5%甘露糖醇的柠檬酸盐缓冲液的媒介物中制备的化合物2。在化合物施用后2分钟、30分钟、1小时、2小时、4小时、7小时和24小时,将血液 (250μL) 从喂养的大鼠收集至填充K2EDTA的微量容器中。

通过离心分离血浆并且将100 μ L等分试样转移至干冰上的96孔聚丙烯板。将样品储存在-80 $^{\circ}$ C,直至通过LC-MS/MS处理以进行定量。

[0683] 血浆缀合物浓度的LC-MS/MS测定

[0684] 将20 μ L体积的每个样品(双空白(D-BLK)、空白(BLK)、标准品(STD)、质量控制(QC)或基质样品)添加至干净的1mL 96孔蛋白沉淀板中,其中含有20 μ L 4%磷酸水溶液。将强化样品以700rpm涡旋2分钟,并且随后以1500rpm离心1分钟以使所有液体固结至板的底部。向每个基质样品中添加20 μ L体积的工作内标(WIS),接着添加180 μ L乙腈:甲醇:甲酸(500:500:1,v:v:v)。将样品以700rpm涡旋2分钟并且在4 $^{\circ}$ C下以3000rpm离心10分钟。将50 μ L体积的上清液转移至干净LoBind 0.700mL 96孔聚丙烯收集板中,接着添加100 μ L的水:乙腈:甲酸(900:100:1,v:v:v)。将最终样品以700rpm涡旋2分钟并且将5 μ L注入LC-MS/MS系统进行分析。

[0685] 血浆MMAE浓度的LC-MS/MS测定

[0686] 将25 μ L体积的每个基质样品添加至96孔聚丙烯板的孔中,接着添加150 μ L甲酸铵缓冲液(pH 6.9)和25 μ L工作内标(WIS)。对于双空白对照,WIS被25 μ L的水:乙腈:甲酸(500:500:1,v:v:v)取代。将强化样品以700rpm涡旋2分钟。在负压歧管上工作,将200 μ L体积的强化基质样品添加至负载型液体萃取板中,并且使样品在650-700托的负压下渗透通过板玻璃料至多1分钟。使样品完全吸收至板中5分钟。在洗脱之前,将2mL 96孔TrueTaper板放置于真空歧管内用作收集板。将1000 μ L体积MTBE添加至原始样品板并且使溶剂在重力下流动5分钟。施加约650托的负压10-30秒或直至样品从孔完全抽空。所收集的洗脱物在40 $^{\circ}$ C下在加热氮气流下蒸发。样品在100 μ L乙腈:水:200mM甲酸铵(90:5:5,v:v:v)中重构并且覆盖有硅酮盖垫。将最终样品以900rpm涡旋2分钟,并且随后在4 $^{\circ}$ C下以3000rpm离心5分钟。通过将10 μ L样品注入LC-MS/MS系统来完成分析。

[0687] 图3显示在大鼠中10mg/kg化合物2的单次IV剂量后化合物2和释放MMAE的血浆浓度图(数据表示为平均值 $\pm$ SD)。如图3中所示,在循环24小时后,释放0.02%的MMAE弹头。图3表明化合物2在血浆中稳定至少24小时。

[0688] 实施例D:小鼠模型中化合物2的组织药物动力学

[0689] 动物给药

[0690] 六周龄雌性无胸腺裸Foxn^{nu}小鼠获自Taconic Labs(目录号NCRNU-F)并且在一次性笼框系统(Innovive)中的Alpha-Dri垫料上每笼圈养5只。来源于结直肠癌的人类HCT116癌细胞在不含酚红的基质胶中1:1稀释并且以2.5 $\times 10^6$ 个细胞/100 μ L的密度皮下植入至每只小鼠的左侧腹中。当异种移植物达到300mm³的最小体积时,向小鼠施用单次腹膜内注射0.5mg/kg MMAE或3mg/kg化合物2,其在含5%甘露糖醇的柠檬酸盐的媒介物中制备。在化合物施用后4、24和48小时,从已喂养、经麻醉的小鼠收集肿瘤、四头肌和骨髓样品。经由LCMS测定组织中的MMAE浓度。

[0691] 血浆和组织MMAE浓度的LC-MS/MS测定

[0692] 血浆MMAE

[0693] 将含有内标(MMAE-D8)的75 μ L体积的乙腈:甲酸(1000:1,v:v)至搁置在0.700mL 96孔LoBind聚丙烯板顶部的96孔蛋白沉淀板的孔中。双空白和残留样品孔接收75 μ L乙腈:甲酸(1000:1,v:v),不含内标。将25 μ L体积的每个基质样品添加至含有内标的板孔中。经强

化样品以700rpm涡旋1分钟并在4℃下以3000rpm离心2分钟。丢弃蛋白沉淀板。将50μL体积的流动相A(乙腈:水:200mM甲酸铵(90:5:5, v:v:v))添加至覆盖有硅酮盖垫的96孔聚丙烯收集板中。将最终样品以700rpm涡旋2分钟并且通过将2μL样品注入LC-MS/MS系统完成分析。

[0694] 肿瘤和肌肉MMAE

[0695] 基于组织重量,将保存在湿冰上的解冻组织样品用PBS调节至100mg/mL。样品在Precellys Evolution机器上以7200rpm均质化2x30秒循环,其中各循环之间暂停10秒。将均质物在4℃下以14,000rpm离心5分钟并且将上清液转移至干净的2mL LoBind Eppendorf管中。将100μL体积的均质物添加至干净的2mL 96孔聚丙烯板中,接着添加75μL甲酸铵缓冲液,pH 6.9和25μL工作内标(WIS)。双空白对照接收75μL水:乙腈:甲酸(1:1:0.001, v:v:v),不含内标。强化样品覆盖有硅酮盖垫并且以700rpm涡旋2分钟。在负压歧管上工作,将200μL的强化基质样品添加至负载型液体萃取(SLE)板中,并且使样品在约650-700托的负压下渗透通过板玻璃料至多1分钟。使样品完全吸收至SLE板中5分钟。在样品洗脱之前,将2mL 96孔TrueTaper收集板放置于真空歧管内作为收集容器。样品在加热氮气流下在40℃下蒸发并且在150μL的乙腈:水:200mM甲酸铵(90:5:5, v:v:v)中重构。收集板用硅酮盖垫覆盖并且以900rpm涡旋2分钟。将最终样品在4℃下以3000rpm离心5分钟并且通过将2μL样品注入LC-MS/MS系统完成分析。

[0696] 骨髓MMAE

[0697] 用冰冷RIPA缓冲液将保存在湿冰上的解冻骨髓样品丸粒调节至 1.0×10^7 的最终浓度。样品在Precellys Evolution机器上以7200rpm均质化2x 30秒循环,其中各循环之间暂停10秒。将骨髓细胞均质物在4℃下以14,000rpm离心5分钟并且将上清液转移至干净的2mL LoBind Eppendorf管中。将200μL体积的每个骨髓细胞均质物添加至干净的2mL 96孔聚丙烯板的孔中,接着添加175μL甲酸铵缓冲液,pH 6.9和25μL工作内标(WIS)。双空白对照仅接收175μL水:乙腈(1:1, v:v:v),不含内标。强化样品覆盖有硅酮盖垫并且以700rpm涡旋2分钟。在负压歧管上工作,将400μL的强化基质样品添加至负载型液体萃取(SLE)板中,并且使样品在约650-700托的负压下渗透通过板玻璃料至多1分钟。使样品完全吸收至SLE板中5分钟。在样品洗脱之前,将2mL 96孔TrueTaper收集板放置于真空歧管内作为收集容器。洗脱通过向所述系统加入900μL MTBE:乙酸乙酯(1:1, v:v)并且使溶剂在重力下流动5分钟来完成。施加约650托的负压10-30秒或直至孔完全抽空。重复洗脱过程。样品在加热氮气流下在40℃下蒸发并且在25μL的水:乙腈:甲酸(900:100:1, v:v:v)中重构。收集板用硅酮盖垫覆盖并以900rpm涡旋2分钟。将最终样品在4℃以3000rpm离心5分钟并且通过将2μL注入LC-MS/MS系统完成分析。

[0698] 图4A显示在携带HCT116结直肠肿瘤的雌性裸鼠中单次腹膜内注射0.5mg/kg MMAE或3mg/kg化合物2后,通过LCMS测定的小鼠肿瘤中未缀合的MMAE的水平的图。

[0699] 图4B显示在携带HCT116结直肠肿瘤的雌性裸鼠中单次腹膜内注射0.5mg/kg MMAE或3mg/kg化合物2后,通过LCMS测定的小鼠肌肉中未缀合的MMAE的水平的图。

[0700] 图4C显示在携带HCT116结直肠肿瘤的雌性裸鼠中单次腹膜内注射0.5mg/kg MMAE或3mg/kg化合物2后,通过LCMS测定的小鼠骨髓中未缀合的MMAE的水平的图。

[0701] 对未缀合的MMAE弹头给药使得MMAE在所有组织中任意分布。相比之下,给药化合

物2引起MMAE弹头的肿瘤选择性递送,MMAE有效递送至肿瘤,但不递送至健康组织。

[0702] 实施例E:化合物1在HCT116结直肠异种移植模型中的功效

[0703] 六周龄雌性无胸腺裸Foxn^{nu}小鼠获自Taconic Labs (目录号NCRNU-F) 并且在一次性笼框系统中的Alpha-Dri垫料上每笼圈养5只。来源于结直肠癌的人类HCT116细胞在不含酚红的基质胶中1:1稀释并且以 2.5×10^6 个细胞/100 μ L的密度皮下植入至每只小鼠的左侧腹中。当异种移植达到100-200mm³的平均体积时,将小鼠随机分为多组并且如下表中所详述进行处理。向小鼠施用腹膜内(IP)剂量的媒介物,0.25mg/kg MMAE或40mg/kg化合物1(等效7mg/kg未缀合的MMAE)。剂量是通过在含5%甘露糖醇的柠檬酸盐缓冲液中稀释0.1mg/ μ L DMSO储备液来制备并且以12mL/kg的体积(300 μ L/25g小鼠)施用两次剂量。异种移植肿瘤是通过测径规测量并且体积是使用椭球体积等式计算:体积= $\pi/6 \times$ (长度) $\times$ (宽度)²。由于死亡、肿瘤大小超过2000mm³或体重减轻>20%,动物从研究去除。下表显示不同治疗组的给药时程。

[0704]	组	处理	剂量	给药时程	施用途径	小鼠数目
	1	媒介物(含	NA	QDx2	i.p.	8
[0705]		5%甘露糖醇的柠檬酸盐缓冲液)				
	2	MMAE	0.25 mg/kg	QDx2	i.p.	8
	3	化合物 1	40 mg/kg	QDx2	i.p.	8

[0706] 图5A显示在携带HCT116 HER2阴性结直肠侧腹肿瘤的裸鼠中给药0.25mg/kg MMAE或40mg/kg化合物1(7mg/kg MMAE等效)产生的平均肿瘤体积的图。动物每天一次腹膜内给药,总共两天。

[0707] 图5B显示在携带HCT116 HER2阴性结直肠侧腹肿瘤的裸鼠中给药0.25mg/kg MMAE或40mg/kg化合物1(7mg/kg MMAE等效)的体重百分比变化的图。

[0708] 给药未缀合的MMAE的动物体重快速下降并且第6天从研究去除。相比之下,给药化合物1的动物体重无变化。这些数据表明化合物1在临床前结直肠癌模型中显示有效抗肿瘤活性和安全性。

[0709] 实施例F:化合物2在PC3前列腺异种移植模型中的功效(与图6对应)

[0710] 六周龄雌性无胸腺裸Foxn^{nu}小鼠获自Taconic Labs (目录号NCRNU-F) 并且在一次性笼框系统中的Alpha-Dri垫料上每笼圈养5只。来源于前列腺癌的人类PC3细胞在不含酚红的基质胶中1:1稀释并以 2.5×10^6 个细胞/100 μ L的密度皮下植入至每只小鼠的左侧腹中。当异种移植达到100-200mm³的平均体积时,将小鼠随机分为多组并且如下表中所详述进行处理。小鼠被施用腹膜内(IP)剂量的媒介物或20mg/kg化合物2。剂量是通过在含5%甘露糖醇的柠檬酸盐缓冲液中稀释0.1mg/ μ L DMSO储备液来制备并且以12mL/kg的体积(300 μ L/25g小鼠)施用QDx2/周,持续3周。异种移植肿瘤是通过测径规测量并且体积是使用椭球体积等式计算:体积= $\pi/6 \times$ (长度) $\times$ (宽度)²。由于死亡、肿瘤大小超过2000mm³或体重减轻>20%,动物从研究去除。下表显示不同治疗组的给药时程。

组	处理	剂量	给药时程	施用途径	小鼠数目
[0711]	1 媒介物(含 5%甘露糖醇的柠檬酸盐缓冲液)	NA	QDx2/周 x3 周	i.p.	5
	2 化合物 2	20 mg/kg	QDx2/周 x3 周	i.p.	5

[0712] 图6A显示在携带PC3前列腺腺癌侧腹肿瘤的裸鼠中给药20mg/kg化合物2产生的平均肿瘤体积的图。动物每天一次每周两次腹膜内给药,持续三周。

[0713] 图6B显示此研究中动物的体重百分比变化。数据表示为平均值±SEM。

[0714] 这些数据表明化合物2在临床前前列腺癌模型中显示有效抗肿瘤活性和安全性。给药化合物2的动物体重无变化。

[0715] 实施例G:化合物2在NCI-H1975非小细胞肺异种移植模型中的功效

[0716] 六周龄雌性无胸腺裸Foxn^{nu}小鼠获自Taconic Labs (目录号NCRNU-F) 并且在一次性笼框系统中的Alpha-Dri垫料上每笼圈养5只。来源于非小细胞肺癌的人类NCI-H1975细胞在不含酚红的基质胶中1:1稀释并以5x10⁶个细胞/100μL的密度皮下植入至每只小鼠的左侧腹中。当异种移植瘤达到100-200mm³的平均体积时,将小鼠随机分为多组并且如下表中所详述进行处理。小鼠被施用腹膜内(IP)剂量的媒介物、10或20mg/kg化合物2。剂量是通过在含5%甘露糖醇的柠檬酸盐缓冲液中稀释0.1mg/μL DMSO储备液来制备并且以12mL/kg的体积(300μL/25g小鼠)施用QDx2/周,持续3周。异种移植肿瘤是通过测径规测量并且体积是使用椭圆体积等式计算:体积=π/6x(长度)x(宽度)²。由于死亡、肿瘤大小超过2000mm³或体重减轻>20%,动物从研究去除。下表显示不同治疗组的给药时程。

组	处理	剂量	给药时程	施用途径	小鼠数目
[0717]	1 媒介物(含 5%甘露糖醇的柠檬酸盐缓冲液)	NA	QDx2/周 x3 周	i.p.	5
	2 化合物 2	10 mg/kg	QDx2/周 x3 周	i.p.	5
	2 化合物 2	20 mg/kg	QDx2/周 x3 周	i.p.	5

[0718] 图7A显示在携带NCI-H1975非小细胞肺癌侧腹肿瘤的裸鼠中给药10或20mg/kg化合物2产生的平均肿瘤体积的图。动物每天一次每周两次腹膜内给药,持续三周。

[0719] 图7B显示此研究中动物的体重百分比变化。数据表示为平均值±SEM。

[0720] 这些数据表明化合物2在临床前非小细胞肺癌模型中显示有效抗肿瘤活性和安全性。给药化合物2的动物体重无变化。

[0721] 实施例H:化合物2在裸鼠中的安全性

[0722] 六周龄雌性无胸腺裸Foxn^{nu}小鼠获自Taconic Labs (目录号NCRNU-F) 并且在一次性笼框系统中的Alpha-Dri垫料上每笼圈养3只。小鼠被施用腹膜内(IP)剂量的媒介物、10

或20mg/kg化合物2。剂量是通过在含5%甘露糖醇的柠檬酸盐缓冲液中稀释0.1mg/ μ L DMSO储备液来制备并且以12mL/kg的体积(300 μ L/25g小鼠)每天施用,连续四天。下表显示不同治疗组的给药时程。

组	处理	剂量	给药时程	施用途径	小鼠数目
[0723]	1 媒介物(含 5%甘露糖醇的柠檬酸盐缓冲液)	NA	QDx4	i.p.	3
	2 化合物 1	10 mg/kg	QDx4	i.p.	3
	3 化合物 2	10 mg/kg	QDx4	i.p.	3

[0724] 图8显示连续四天用10mg/kg化合物1和化合物2每天一次给药的裸鼠的体重的图。

[0725] 给药化合物1和化合物2的动物显示体重无变化,表明这些缀合物在小鼠中的安全性。

[0726] 实施例I:小鼠模型中化合物13和化合物7的组织药物动力学

[0727] 动物给药

[0728] 六周龄雌性无胸腺裸Foxn^{nu}小鼠获自Taconic Labs (目录号NCRNU-F) 并且在一次性笼框系统(Innovive)中的Alpha-Dri垫料上每笼圈养5只。来源于结直肠癌的人类HCT116癌细胞在不含酚红的基质胶中1:1稀释并以2.5x10⁶个细胞/100 μ L的密度皮下植入至每只小鼠的左侧腹中。当异种移植物达到300mm³的最小体积时,向小鼠施用单次腹膜内注射10mg/kg化合物13或化合物7,其在含5%甘露糖醇的柠檬酸盐的媒介物中制备。在化合物施用后2、4、8和24小时,从已喂养、经麻醉的小鼠收集肿瘤。肿瘤中的MMAE浓度通过LCMS测定并且肽浓度通过ELISA测定。

[0729] 组织MMAE浓度的LC-MS/MS测定

[0730] 基于组织重量,将保存在湿冰上的解冻组织样品用PBS调节至100mg/mL。样品在Precellys Evolution机器上以7200rpm均质化2x30秒循环,其中各循环之间暂停10秒。将均质物在4℃下以14,000rpm离心5分钟并且将上清液转移至干净的2mL LoBind Eppendorf管中。将100 μ L体积的均质物添加至干净的2mL 96孔聚丙烯板中,接着添加75 μ L甲酸铵缓冲液,pH 6.9和25 μ L工作内标(WIS)。双空白对照接收75 μ L水:乙腈:甲酸(1:1:0.001,v:v:v),不含内标。强化样品覆盖有硅酮盖垫并以700rpm涡旋2分钟。在负压歧管上工作,将200 μ L的强化基质样品添加至负载型液体萃取(SLE)板中,并且使样品在约650-700托的负压下渗透通过板玻璃料至多1分钟。使样品完全吸收至SLE板中5分钟。在样品洗脱之前,将2mL 96孔TrueTaper收集板放置于真空歧管内作为收集容器。样品在加热氮气流下在40℃下蒸发并且在150 μ L的乙腈:水:200mM甲酸铵(90:5:5,v:v:v)中重构。收集板用硅酮盖垫覆盖并以900rpm涡旋2分钟。将最终样品在4℃下以3000rpm离心5分钟并且通过将2 μ L注入LC-MS/MS系统完成分析。

[0731] 总肽组织浓度的ELISA测量

[0732] 用100 μ L/孔的在0.2M碳酸盐-碳酸氢盐缓冲液,pH 9.4中制备的0.1 μ M BSA标记的肽包被96孔板并在4℃下温育过夜。将板用ELISA洗涤缓冲液(PBS+0.05% Tween 20)洗涤

4x,在室温下用封闭缓冲液(PBS+5%乳粉+0.05% Tween 20)(300 μ L/孔)温育2小时并用ELISA洗涤缓冲液再次洗涤4x。同时,将2x化合物7/化合物13标准品(在相应组织基质中)或用抗体稀释剂(PBS+2%乳粉+0.05% Tween 20)稀释的样品肿瘤均质物与1-10ng/mL的对Pv1肽具有特异性的初级抗体在室温下预温育30分钟。将预温育的样品以100 μ L/孔添加至预包被、预封闭的测定板并在室温下温育1小时。将板用ELISA洗涤缓冲液洗涤4x并且在室温下与100 μ L/孔的二级山羊抗小鼠IgG HRP抗体(在抗体稀释剂中为1:5,000)温育1小时。将板用ELISA洗涤缓冲液洗涤4x并且在室温下与100 μ L/孔的SuperSignal底物平缓振荡温育1分钟。在BioTek Cytation 5板读取器上从板读取发光。

[0733] 图9A显示在携带HCT116结直肠肿瘤的雌性裸鼠中单次IP给药10mg/kg化合物7或化合物13后肿瘤中的肽浓度的图(数据表示为平均值 $\pm$ SD)。

[0734] 图9B显示在携带HCT116结直肠肿瘤的雌性裸鼠中单次IP给药10mg/kg化合物7或化合物13后肿瘤中的MMAE浓度的图(数据表示为平均值 $\pm$ SD)。

[0735] 数据表明,虽然两种缀合物类似地插入肿瘤,但化合物13更不稳定,其相对于化合物7在肿瘤中释放的弹头多30-40X。

[0736] 实施例J:化合物13在HT-29结直肠异种移植模型中的功效

[0737] 六周龄雌性无胸腺裸Foxntm小鼠获自Taconic Labs(目录号NCRNU-F)并且在一次性笼框系统中的Alpha-Dri垫料上每笼圈养5只。来源于结直肠癌的人类HT-29细胞在不含酚红的基质胶中1:1稀释并且以2.5 $\times 10^6$ 个细胞/100 μ L的密度皮下植入至每只小鼠的左侧腹中。当异种移植瘤达到100-200mm³的平均体积时,将小鼠随机分为多组并且如下表中所详述进行处理。小鼠被施用腹膜内(IP)剂量的媒介物或5mg/kg化合物13。剂量是通过在含5%甘露糖醇的柠檬酸盐缓冲液中稀释0.1mg/ μ L DMSO储备液来制备并且以12mL/kg的体积(300 μ L/25g小鼠)在第0-3天、第5天和第16-19天施用。异种移植肿瘤是通过测径规测量并且体积是使用椭球体积等式计算:体积= $\pi/6 \times$ (长度) $\times$ (宽度)²。由于死亡、肿瘤大小超过2000mm³或体重减轻>20%,动物从研究去除。下表显示不同治疗组的给药时程。

组	处理	剂量	给药时程	施用	小鼠
				途径	数目
[0738]	1 媒介物(含5%甘露糖醇的柠檬酸盐缓冲液)	NA	第0-3天、第5天、第16-19天	i.p.	8
	2 化合物13	5 mg/kg	第0-3天、第5天、第16-19天	i.p.	8

[0739] 图10A显示在携带HT-29结直肠癌侧腹肿瘤的裸鼠中给药5mg/kg化合物13产生的平均肿瘤体积的图。动物在第0-3天、第5天和第16-19天每天一次腹膜内给药。

[0740] 图10B显示此研究中动物的体重百分比变化。数据表示为平均值 $\pm$ SEM。

[0741] 给药化合物13的动物体重无变化。这些数据表明化合物13在临床前结直肠癌模型中显示有效抗肿瘤活性和安全性。

[0742] 实施例K:化合物7在HT-29结直肠异种移植模型中的功效

[0743] 六周龄雌性无胸腺裸Foxntm小鼠获自Taconic Labs(目录号NCRNU-F)并且在一次

性笼框系统中的Alpha-Dri垫料上每笼圈养5只。来源于结直肠癌的人类HT-29细胞在不含酚红的基质胶中1:1稀释并且以 2.5×10^6 个细胞/100 μ L的密度皮下植入至每只小鼠的左侧腹中。当异种移植物达到100-200mm³的平均体积时,将小鼠随机分为多组并且如下表中所详述进行处理。小鼠被施用腹膜内(IP)剂量的媒介物、40或80mg/kg化合物7。剂量是通过在含5%甘露糖醇的柠檬酸盐缓冲液中稀释0.1mg/ μ L DMSO储备液来制备并且以12mL/kg的体积(300 μ L/25g小鼠)施用QDx4/周,持续2周。异种移植肿瘤是通过测径规测量并且体积是使用椭球体积等式计算:体积= $\pi/6 \times$ (长度) $\times$ (宽度)²。由于死亡、肿瘤大小超过2000mm³或体重减轻>20%,动物从研究去除。下表显示不同治疗组的给药时程。

组	处理	剂量	给药时程	施用途径	小鼠数目
[0744]	媒介物(含5%甘露糖醇的柠檬酸盐缓冲液)	NA	QDx4/周 x2周	i.p.	8
	化合物7	40 mg/kg	QDx4/周 x2周	i.p.	8
	化合物7	80 mg/kg	QDx4/周 x2周	i.p.	8

[0745] 图11A显示在携带HT-29结直肠癌侧腹肿瘤的裸鼠中给药40和80mg/kg化合物7产生的平均肿瘤体积的图。动物每天一次非经肠内给药,一周连续四天,持续两周。

[0746] 图11B显示此研究中动物的体重百分比变化。数据表示为平均值 $\pm$ SEM。

[0747] 这些数据表明,化合物7在HT-29模型中以相对于化合物13更高剂量表明功效和安全性,与两种缀合物的不同释放曲线一致。

[0748] 实施例L:小鼠模型中化合物13、化合物1和化合物2的组织药物动力学

[0749] 动物给药

[0750] 六周龄雌性无胸腺裸Foxn^{nu}小鼠获自Taconic Labs(目录号NCRNU-F)并且在一次性笼框系统(Innovive)中的Alpha-Dri垫料上每笼圈养5只。来源于结直肠癌的人类HCT116癌细胞在不含酚红的基质胶中1:1稀释并且以 2.5×10^6 个细胞/100 μ L的密度皮下植入至每只小鼠的左侧腹中。当异种移植物达到300mm³的最小体积时,向小鼠施用单次腹膜内注射10mg/kg化合物13、化合物1或化合物2,其在含5%甘露糖醇的柠檬酸盐的媒介物中制备。在化合物施用后4和24小时收集肿瘤。肿瘤中的MMAE浓度通过LCMS测定并且肽浓度通过ELISA测定。

[0751] 组织MMAE浓度的LC-MS/MS测定

[0752] 基于组织重量,将保存在湿冰上的解冻组织样品用PBS调节至100mg/mL。样品在Precellys Evolution机器上以7200rpm均质化2 $\times$ 30秒循环,其中各循环之间暂停10秒。将均质物在4 $^{\circ}$ C下以14,000rpm离心5分钟并且将上清液转移至干净的2mL LoBind Eppendorf管中。将100 μ L体积的均质物添加至干净的2mL 96孔聚丙烯板中,接着添加75 μ L甲酸铵缓冲液,pH 6.9和25 μ L工作内标(WIS)。双空白对照接收75 μ L水:乙腈:甲酸(1:1:0.001,v:v:v),不含内标。强化样品覆盖有硅酮盖垫并以700rpm涡旋2分钟。在负压歧管上工作,将200 μ L的

强化基质样品添加至负载型液体萃取 (SLE) 板中, 并且使样品在约650-700托的负压下渗透通过板玻璃料至多1分钟。使样品完全吸收至SLE板中5分钟。在样品洗脱之前, 将2mL 96孔 TrueTaper收集板放置于真空歧管内作为收集容器。样品在加热氮气流下在40℃下蒸发并且在150μL的乙腈: 水: 200mM甲酸铵 (90: 5: 5, v: v: v) 中重构。收集板用硅酮盖垫覆盖并以900rpm涡旋2分钟。将最终样品在4℃下以3000rpm离心5分钟并且通过将2μL注入LC-MS/MS系统完成分析。

[0753] 总肽组织浓度的ELISA测量

[0754] 用100μL/孔的在0.2M碳酸盐-碳酸氢盐缓冲液, pH 9.4中制备的0.1μM BSA标记的肽包被96孔板并在4℃下温育过夜。将板用ELISA洗涤缓冲液 (PBS+0.05% Tween 20) 洗涤4x, 在室温下用阻断缓冲液 (PBS+5% 乳粉+0.05% Tween 20) (300μL/孔) 温育2小时并用ELISA洗涤缓冲液再次洗涤4x。同时, 将2x奥瑞他汀-缀合物标准品 (在相应组织基质中) 或用抗体稀释剂 (PBS+2% 乳粉+0.05% Tween20) 稀释的样品肿瘤均质物与1-10ng/mL的对Pv1肽具有特异性的初级抗体在室温下预温育30分钟。将预温育的样品以100μL/孔添加至预包被、预封闭的测定板并在室温下温育1小时。将板用ELISA洗涤缓冲液洗涤4x并在室温下与100μL/孔的二级山羊抗小鼠IgG HRP抗体 (在抗体稀释剂中为1: 5, 000) 温育1小时。将板用ELISA洗涤缓冲液洗涤4x并且在室温下与100μL/孔的SuperSignal底物平振荡温育1分钟。在BioTek Cytation 5板读取器上从板读取发光。

[0755] 图12A显示在携带HCT116结直肠肿瘤的雌性裸鼠中单次腹膜内给药10mg/kg化合物13、化合物1或化合物2后肿瘤中的肽浓度的图 (数据表示为平均值±SD)。

[0756] 图12B显示在携带HCT116结直肠肿瘤的雌性裸鼠中单次腹膜内给药10mg/kg化合物13、化合物1或化合物2后肿瘤中的MMAE浓度的图 (数据表示为平均值±SD)。

[0757] 数据表明, 虽然缀合物类似地插入肿瘤, 但化合物1和化合物2相对于化合物13释放中间水平的MMAE。

[0758] 实施例M: 小鼠模型中化合物13、化合物7、化合物5和化合物6的组织药物动力学

[0759] 动物给药

[0760] 六周龄雌性无胸腺裸Foxn^{nu}小鼠获自Taconic Labs (目录号NCRNU-F) 并且在一次性笼框系统 (Innovive) 中的Alpha-Dri垫料上每笼圈养5只。来源于结直肠癌的人类HCT116癌细胞在不含酚红的基质胶中1: 1稀释并且以2.5x10⁶个细胞/100μL的密度皮下植入至每只小鼠的左侧腹中。当异种移植物达到300mm³的最小体积时, 向小鼠施用单次腹膜内注射10mg/kg化合物13、化合物7、化合物5或化合物6, 其在含5% 甘露糖醇的柠檬酸盐的媒介物中制备。在化合物施用后4和24小时收集肿瘤。肿瘤中的MMAE浓度通过LCMS测定并且肽浓度通过ELISA测定。

[0761] 组织MMAE浓度的LC-MS/MS测定

[0762] 基于组织重量, 将保存在湿冰上的解冻组织样品用PBS调节至100mg/mL。样品在Precellys Evolution机器上以7200rpm均质化2x30秒循环, 其中各循环之间暂停10秒。将均质物在4℃下以14, 000rpm离心5分钟并且将上清液转移至干净的2mL LoBind Eppendorf管中。将100μL体积的均质物添加至干净的2mL 96孔聚丙烯板中, 接着添加75μL甲酸铵缓冲液, pH 6.9和25μL工作内标 (WIS)。双空白对照接收75μL水: 乙腈: 甲酸 (1: 1: 0.001, v: v: v), 不含内标。强化样品覆盖有硅酮盖垫并以700rpm涡旋2分钟。在负压歧管上工作, 将200μL的

强化基质样品添加至负载型液体萃取 (SLE) 板中, 并且使样品在约650-700托的负压下渗透通过板玻璃料至多1分钟。使样品完全吸收至SLE板中5分钟。在样品洗脱之前, 将2mL 96孔 TrueTaper收集板放置于真空歧管内作为收集容器。样品在加热氮气流下在40℃下蒸发并且在150μL的乙腈: 水: 200mM甲酸铵 (90: 5: 5, v: v: v) 中重构。收集板用硅酮盖垫覆盖并以900rpm涡旋2分钟。将最终样品在4℃下以3000rpm离心5分钟并且通过将2μL样品注入LC-MS/MS系统完成分析。

[0763] 总肽组织浓度的ELISA测量

[0764] 用100μL/孔的在0.2M碳酸盐-碳酸氢盐缓冲液, pH 9.4中制备的0.1μM BSA标记的肽包被96孔板并在4℃下温育过夜。将板用ELISA洗涤缓冲液 (PBS+0.05% Tween 20) 洗涤4x, 在室温下用阻断缓冲液 (PBS+5% 乳粉+0.05% Tween 20) (300μL/孔) 温育2小时并且用ELISA洗涤缓冲液再次洗涤4x。同时, 将2x奥瑞他汀-缀合物标准品 (在相应组织基质中) 或用抗体稀释剂 (PBS+2% 乳粉+0.05% Tween 20) 稀释的样品肿瘤均质物与1-10ng/mL的对Pv1肽具有特异性的初级抗体在室温下预温育30分钟。将预温育的样品以100μL/孔添加至预包被、预封闭的测定板并在室温下温育1小时。将板用ELISA洗涤缓冲液洗涤4x并且在室温下与100μL/孔的二级山羊抗小鼠IgG HRP抗体 (在抗体稀释剂中为1: 5, 000) 温育1小时。将板用ELISA洗涤缓冲液洗涤4x并且在室温下与100μL/孔的SuperSignal底物平缓振荡温育1分钟。在BioTek Cytation 5板读取器上从板读取发光。

[0765] 图13A显示在携带HCT116结直肠肿瘤的雌性裸鼠中单次腹膜内注射10mg/kg化合物13、化合物7、化合物5或化合物6后, 通过ELISA和LCMS测定小鼠肿瘤中的肽水平的图 (数据表示为平均值±SD)。

[0766] 图13B显示在携带HCT116结直肠肿瘤的雌性裸鼠中单次腹膜内注射10mg/kg化合物13、化合物7、化合物5或化合物6后, 通过ELISA和LCMS测定小鼠肿瘤中未缀合的MMAE水平的图 (数据表示为平均值±SD)。

[0767] 数据表明, 虽然缀合物类似地插入肿瘤, 但其以广泛动力学将弹头释放至肿瘤中。

[0768] 实施例N: 化合物5在HCT116结直肠异种移植模型中的功效

[0769] 六周龄雌性无胸腺裸Foxn^{nu}小鼠获自Taconic Labs (目录号NCRNU-F) 并且在一次性笼框系统中的Alpha-Dri垫料上每笼圈养5只。来源于结直肠癌的人类HCT116细胞在不含酚红的基质胶中1: 1稀释并且以 2.5×10^6 个细胞/100μL的密度皮下植入至每只小鼠的左侧腹中。当异种移植物达到100-200mm³的平均体积时, 将小鼠随机分为多组并且如下表中所详述进行处理。小鼠被施用腹膜内 (IP) 剂量的媒介物、1、5或10mg/kg化合物5。剂量是通过在含5% 甘露糖醇的柠檬酸盐缓冲液中稀释0.1mg/μL DMSO储备液来制备并且以12mL/kg的体积 (300μL/25g小鼠) 施用QDx2/周, 持续3周。异种移植肿瘤是通过测径规测量并且体积是使用椭球体积等式计算: 体积 = $\pi/6 \times (\text{长度}) \times (\text{宽度})^2$ 。由于死亡、肿瘤大小超过2000mm³或体重减轻>20%, 动物从研究去除。下表显示不同治疗组的给药时程。

[0770]	组	处理	剂量	给药时程	施用途径	小鼠数目
	1	媒介物(含 5%甘露糖醇的柠檬酸盐缓冲液)	NA	QDx4	i.p.	8
	2	化合物 5	1 mg/kg	QDx4	i.p.	8
	3	化合物 5	5 mg/kg	QDx4	i.p.	8
	4	化合物 5	10 mg/kg	QDx4	i.p.	8

[0771] 图14A显示在携带HCT116结直肠癌侧腹肿瘤的裸鼠中给药1、5和10mg/kg化合物5产生的平均肿瘤体积的图。动物每天一次非经肠内给药,连续四天。

[0772] 图14B显示此研究中动物的体重百分比变化。数据表示为平均值±SEM。

[0773] 这些数据表明化合物5在HCT116模型中显示剂量反应性功效。

[0774] 除本文所描述的那些修改以外,根据前述描述,本发明的各种修改对本领域技术人员将是显而易见的。此类修改也旨在落在所附权利要求的范围内。本申请中所引用的每个参考文献(包括但不限于所有专利、专利申请和出版物)都通过引用整体并入本文。

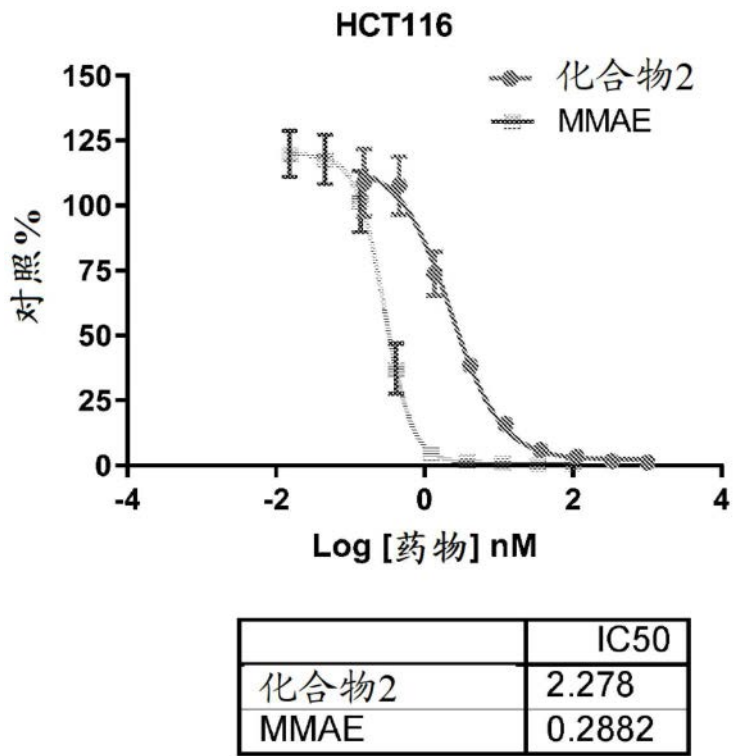


图1A

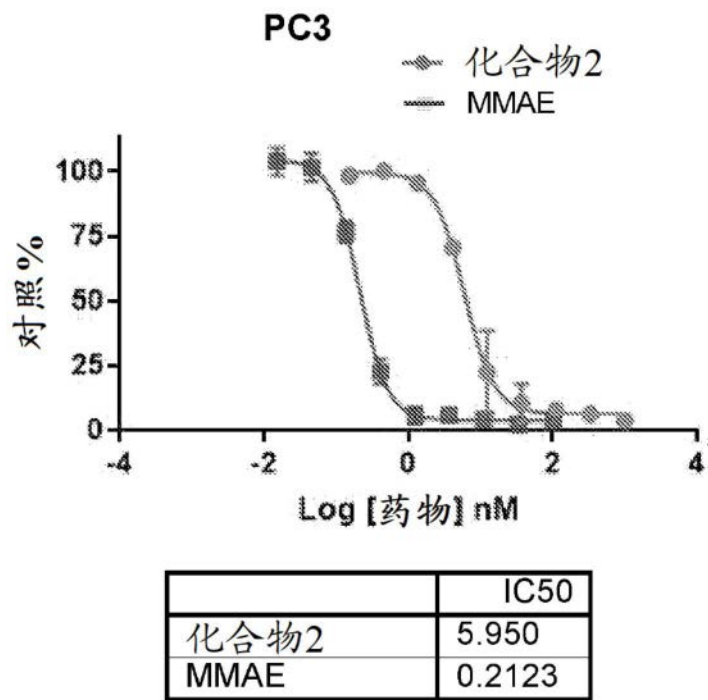
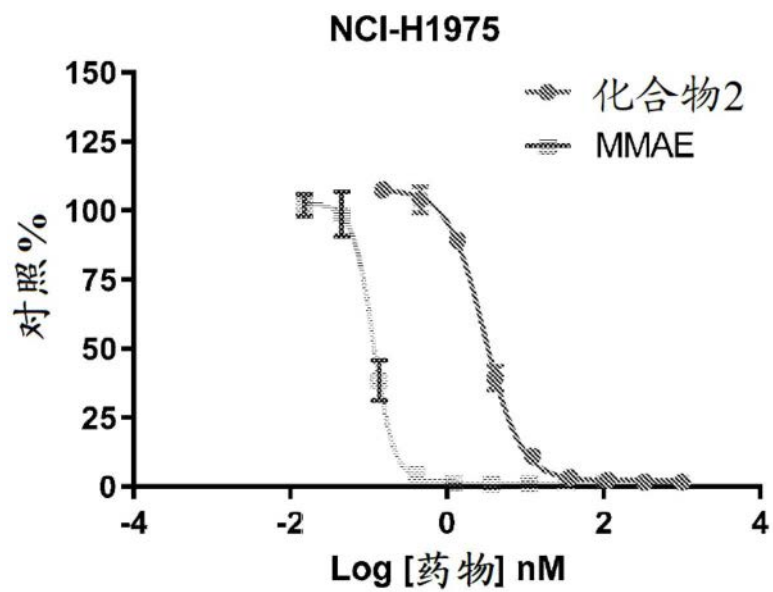
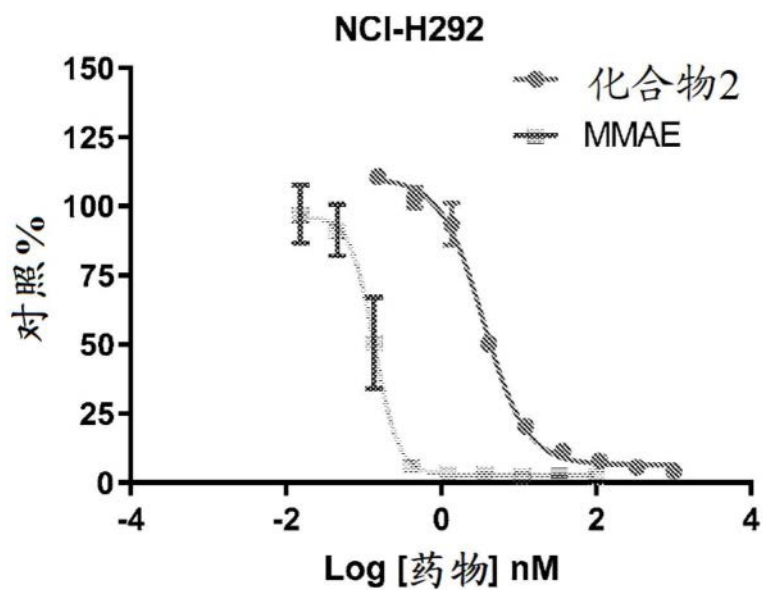


图1B



	IC50
化合物2	3.041
MMAE	0.1163

图1C



	IC50
化合物2	3.525
MMAE	0.1384

图1D

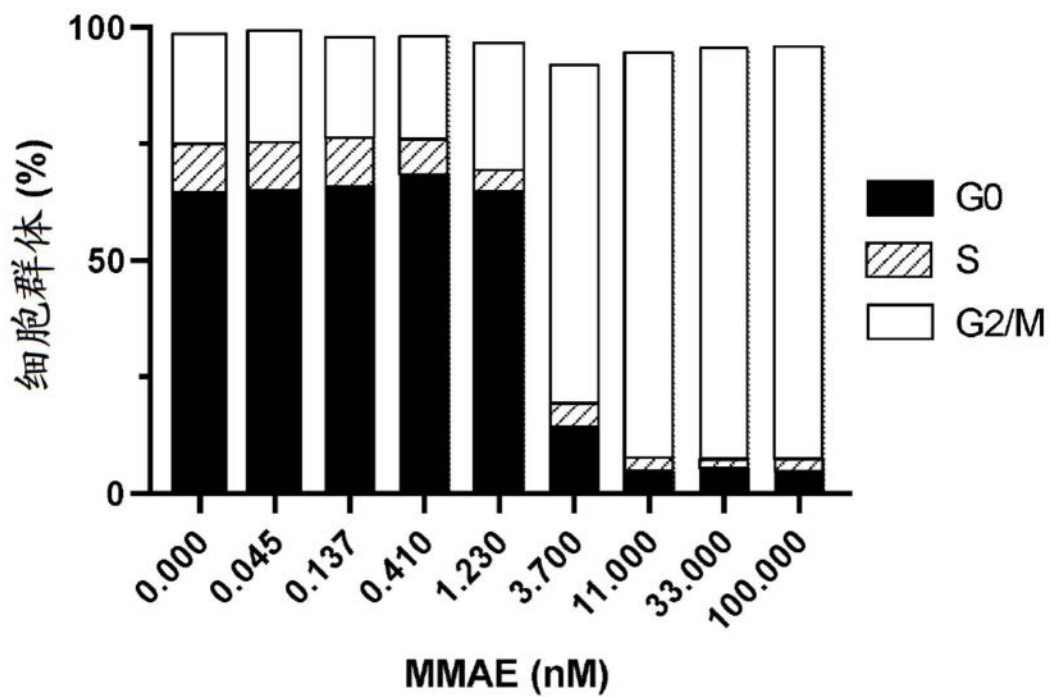


图2A

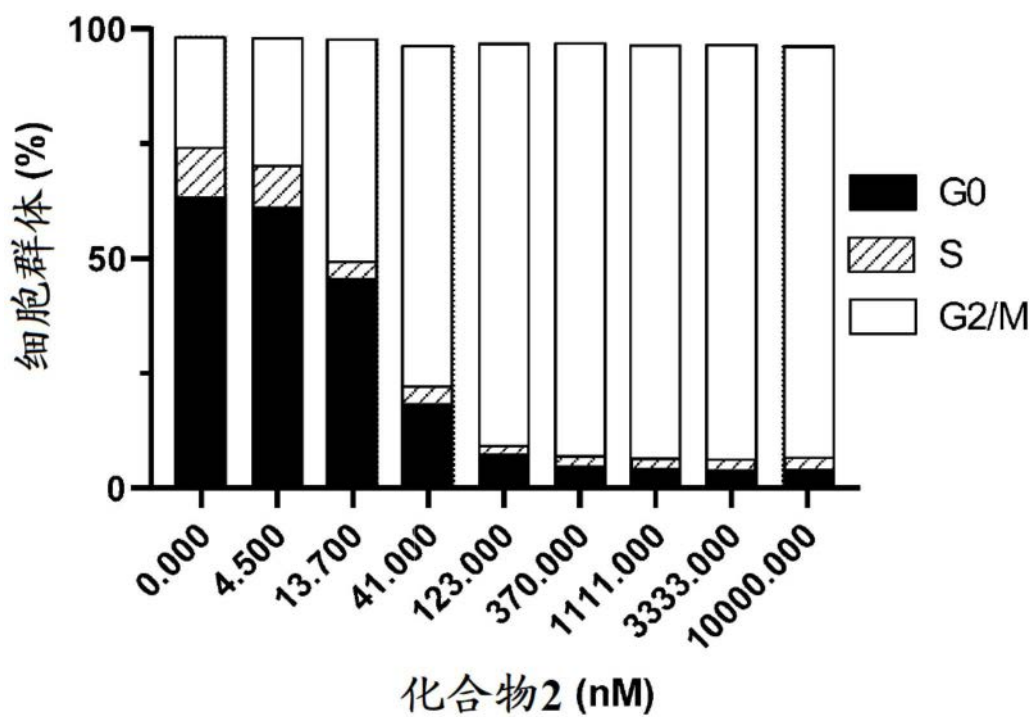


图2B

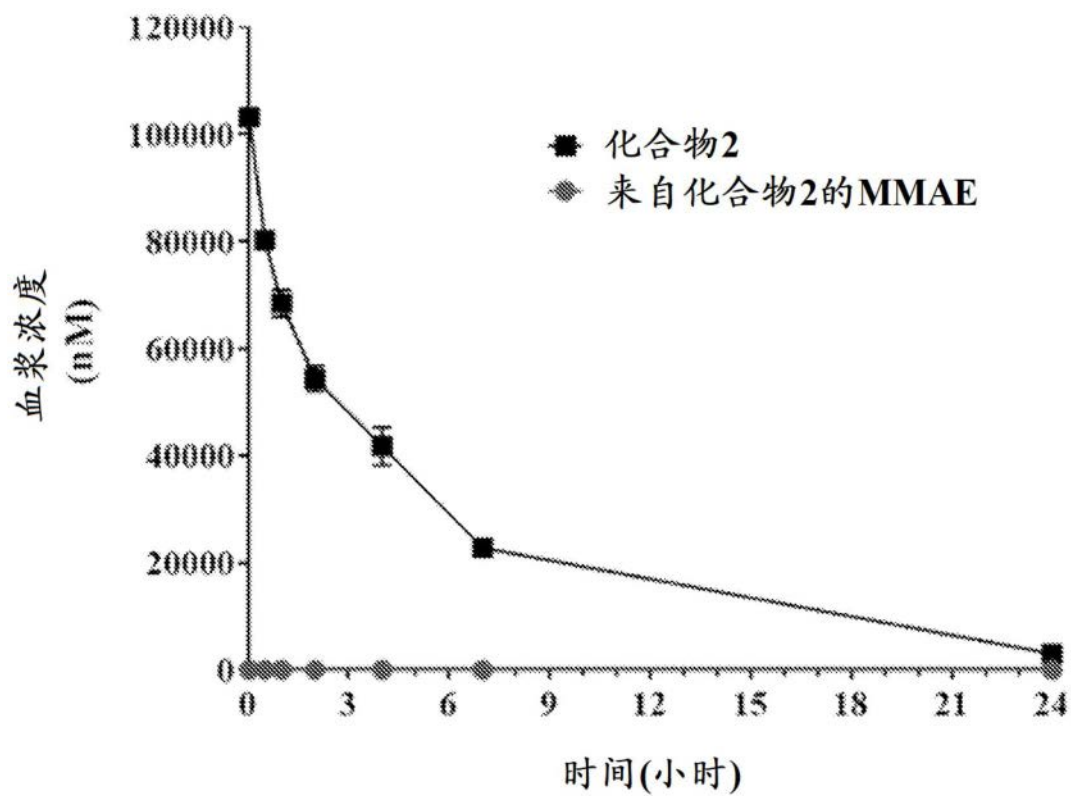


图3

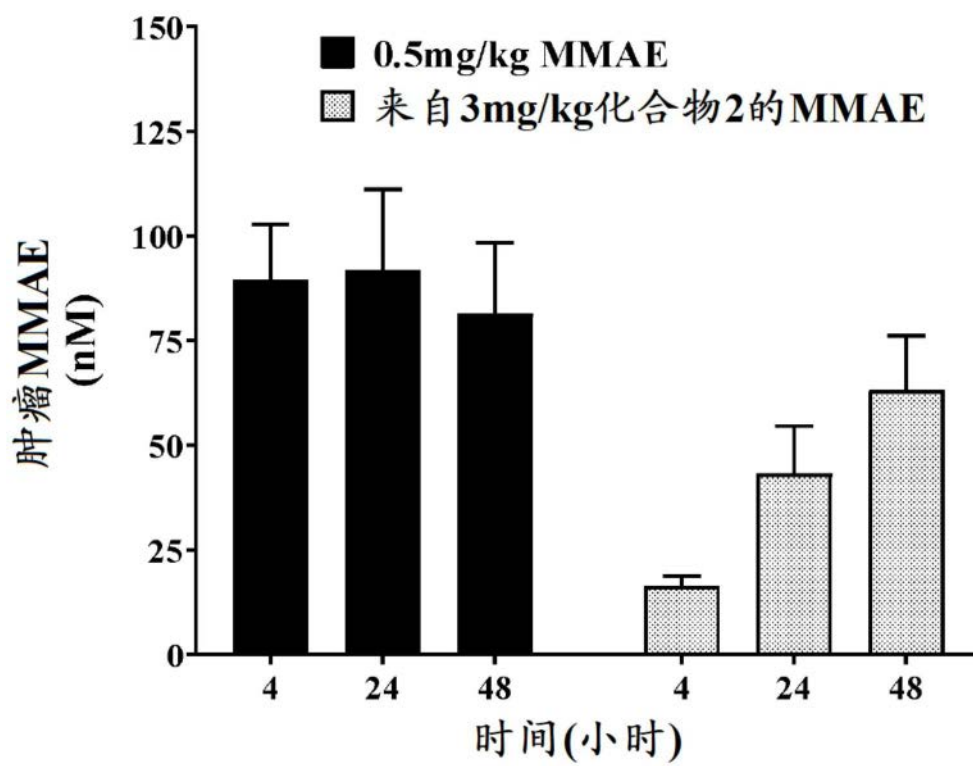


图4A

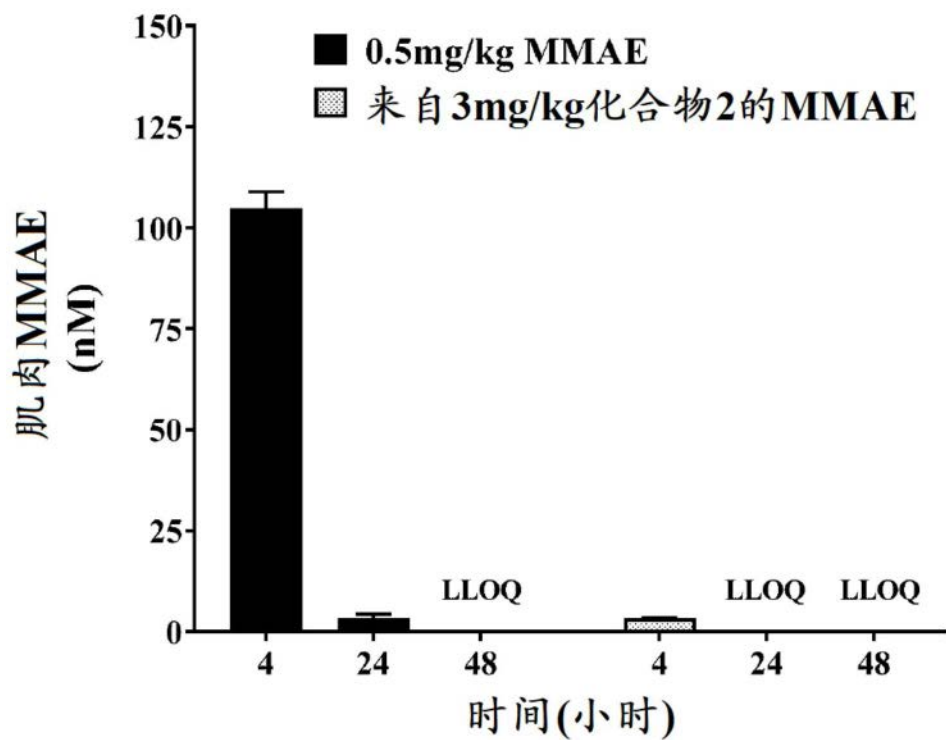


图4B

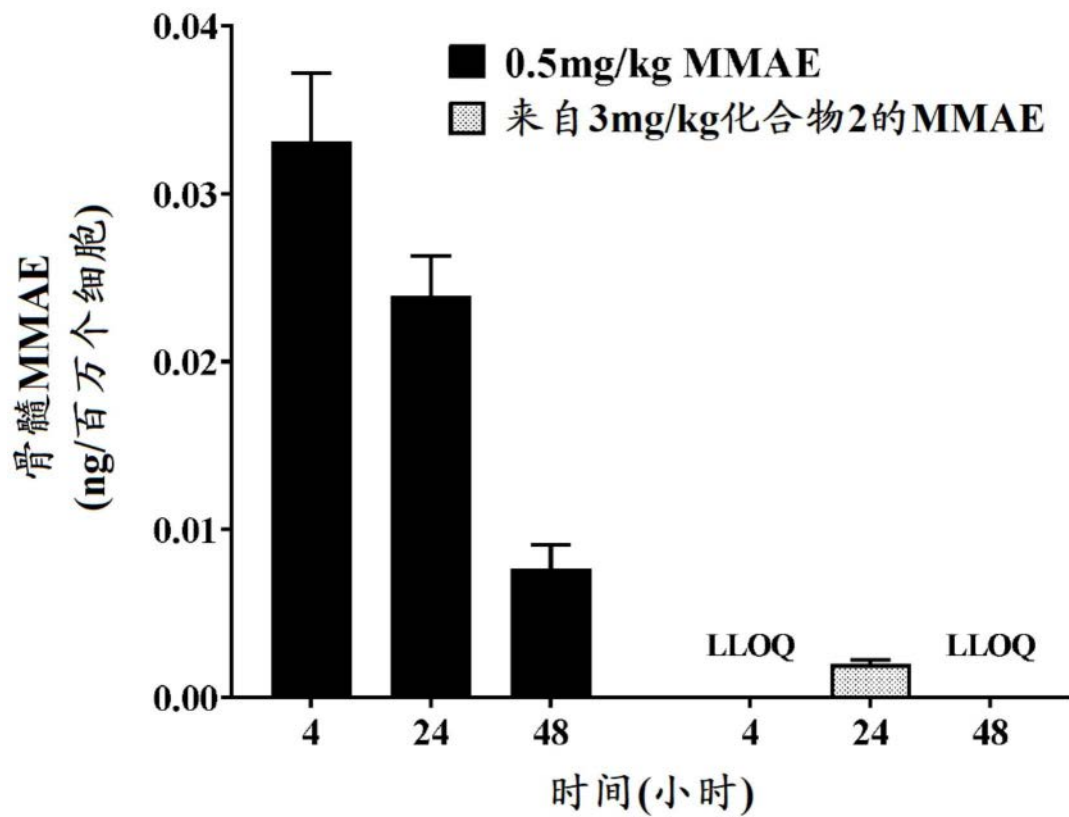


图4C

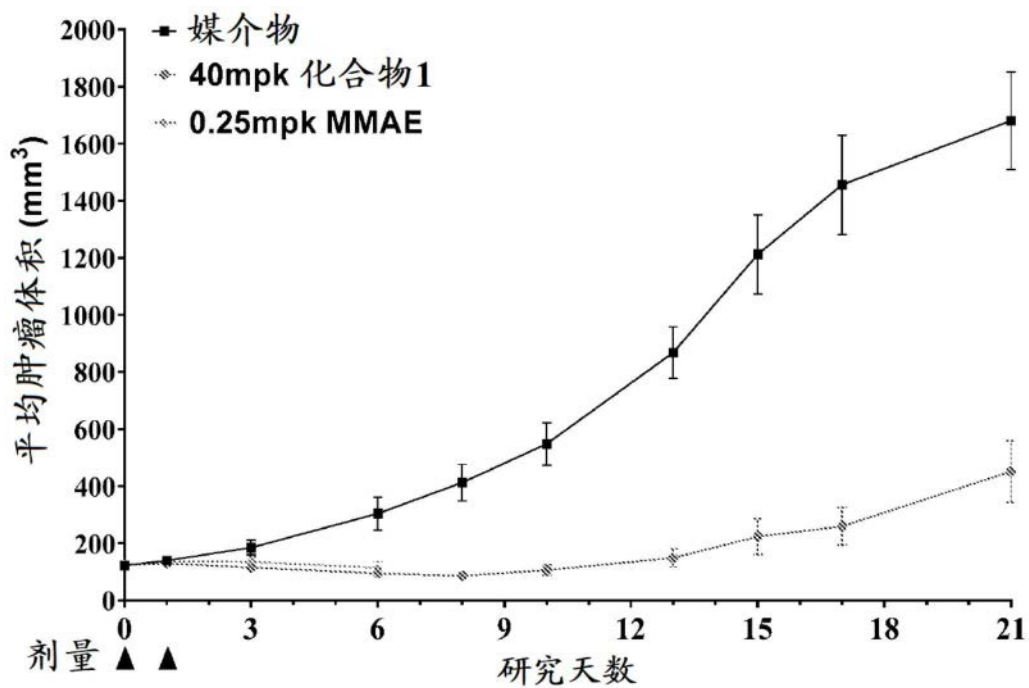


图5A

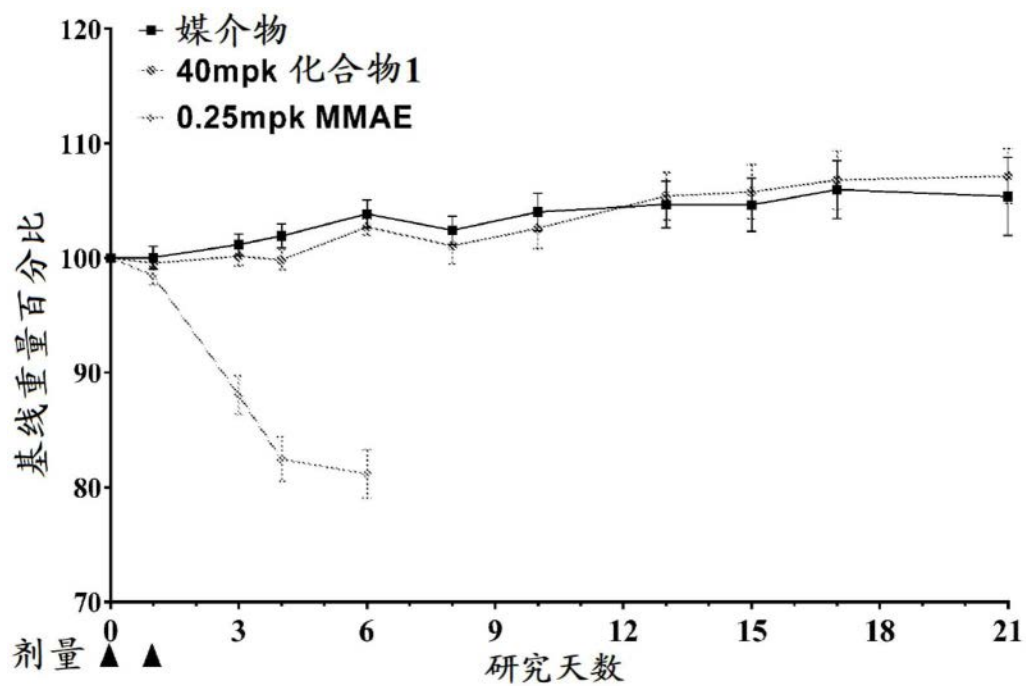


图5B

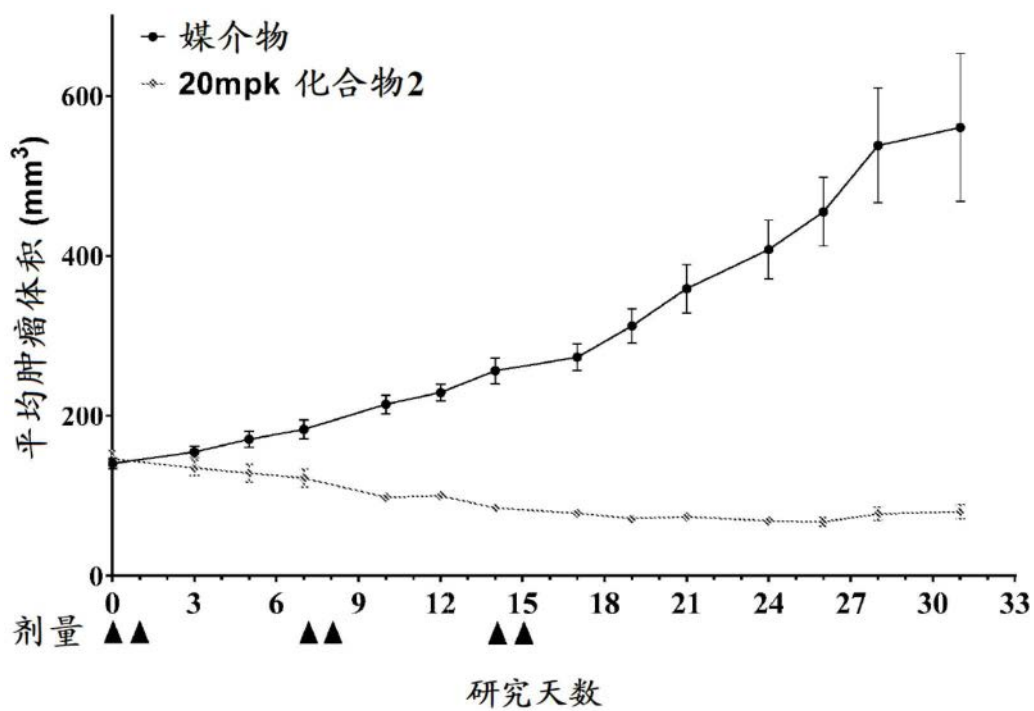


图6A

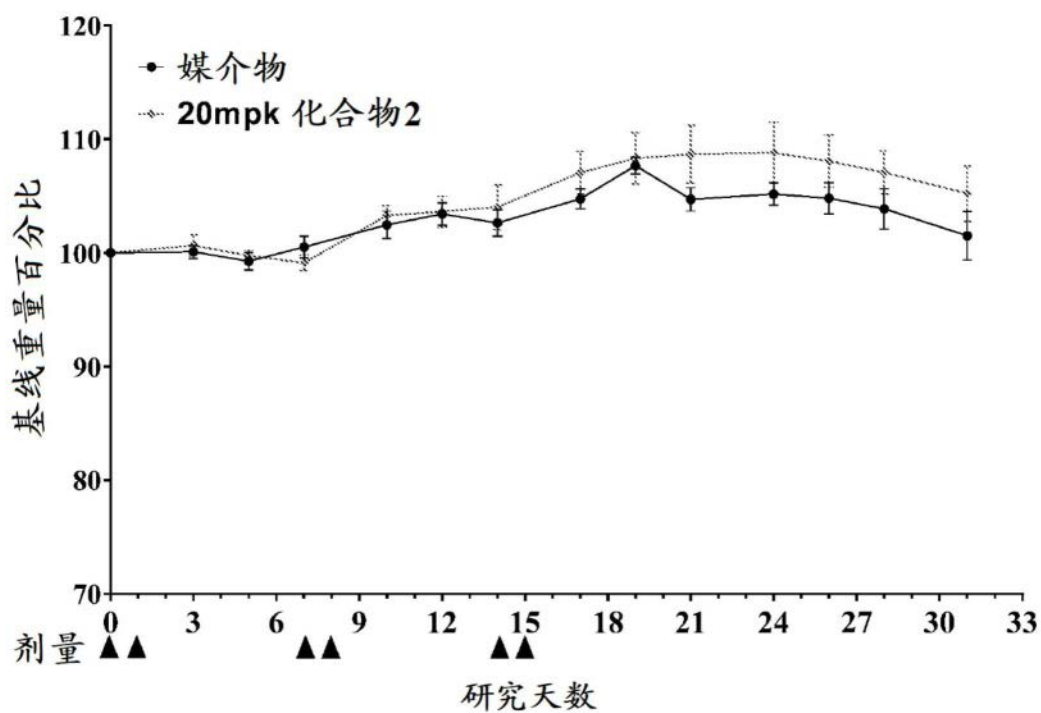


图6B

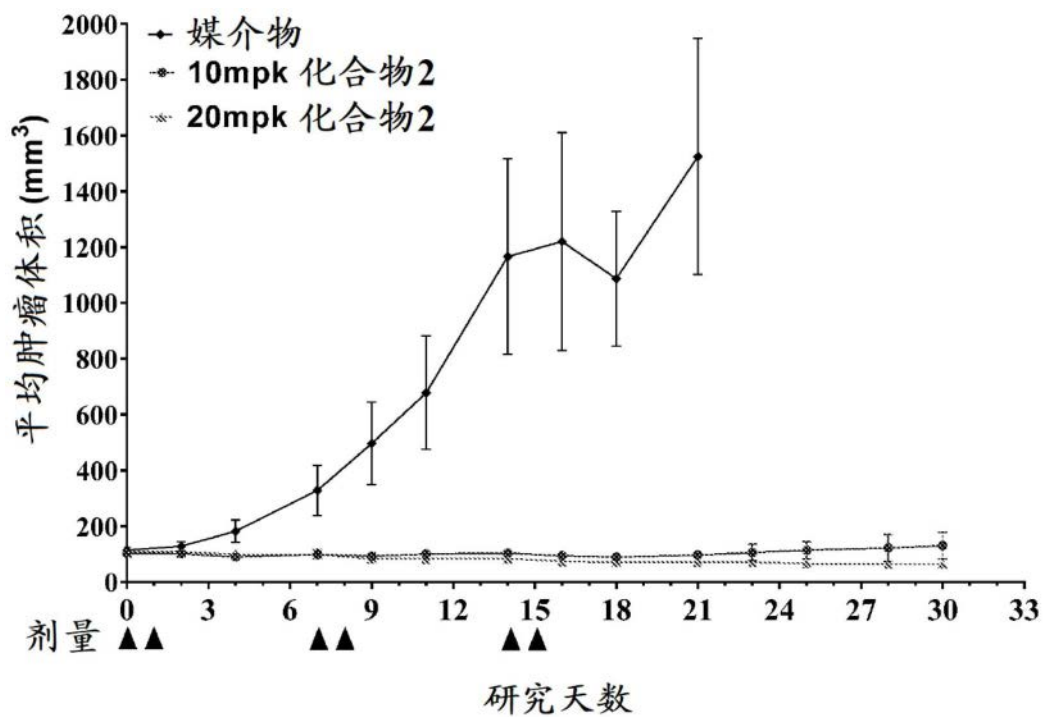


图7A

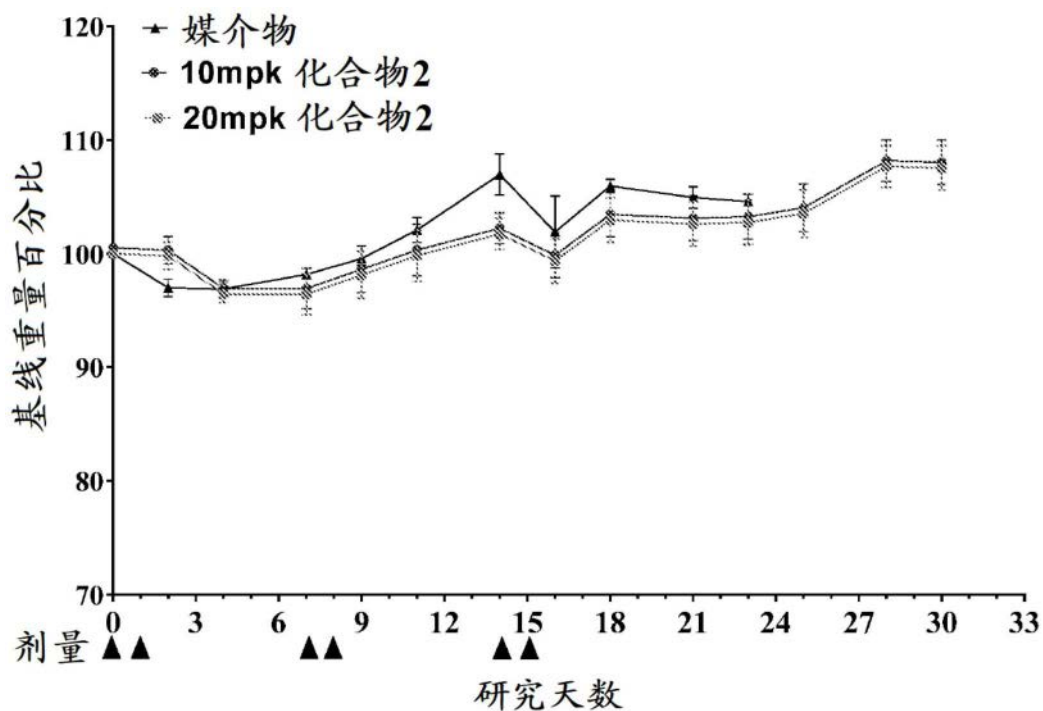


图7B

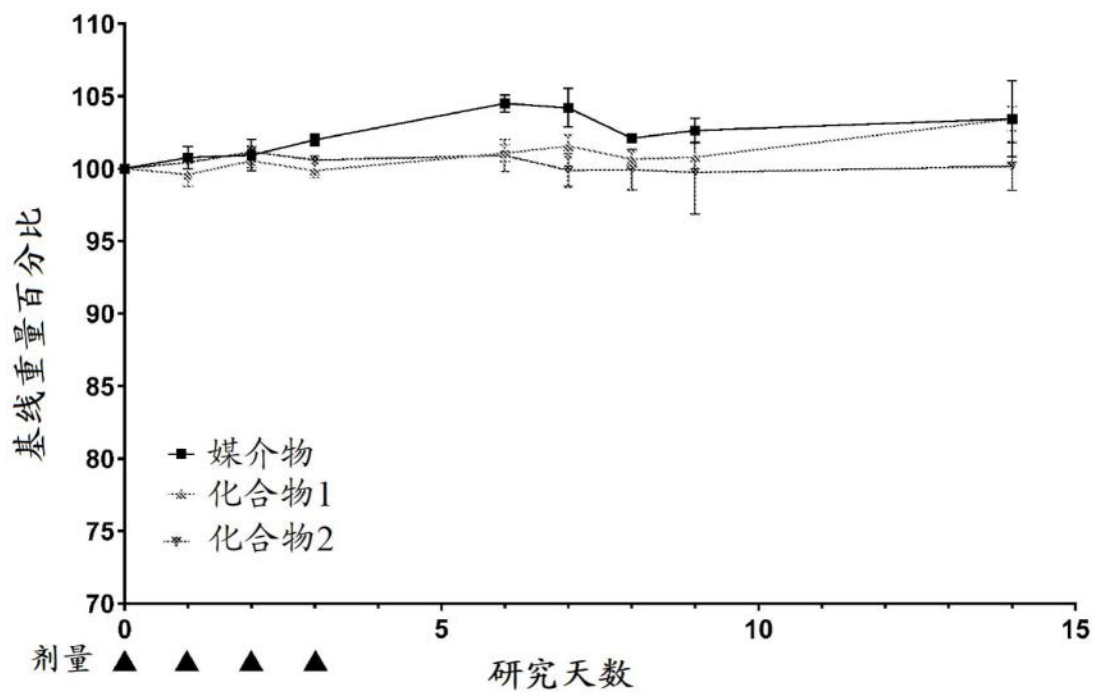


图8

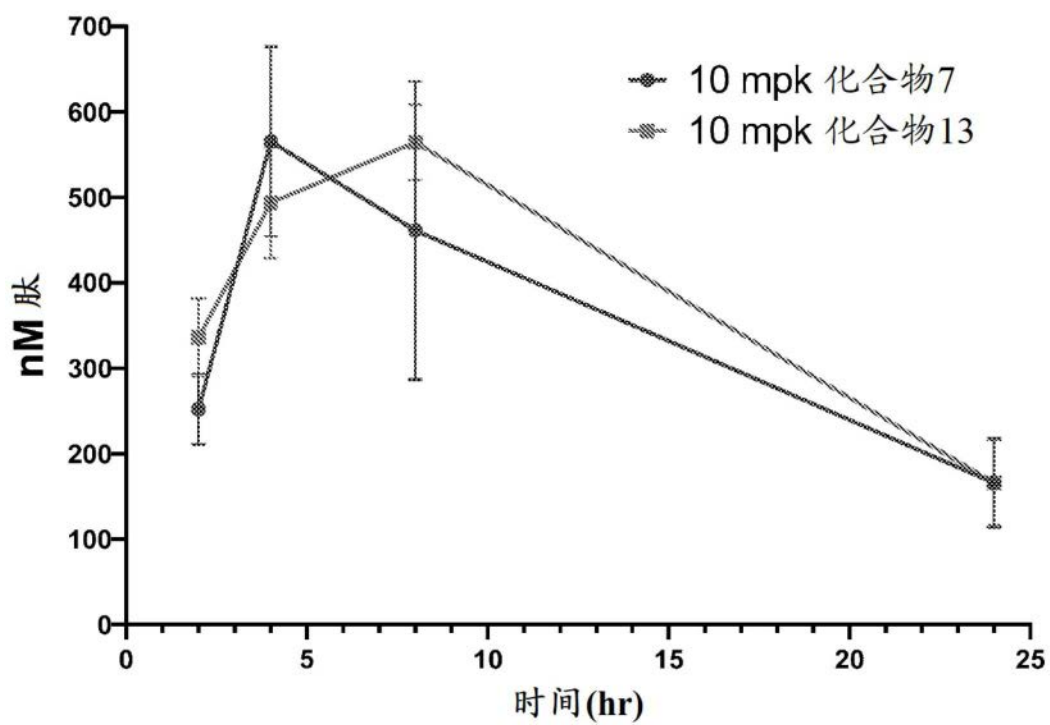


图9A

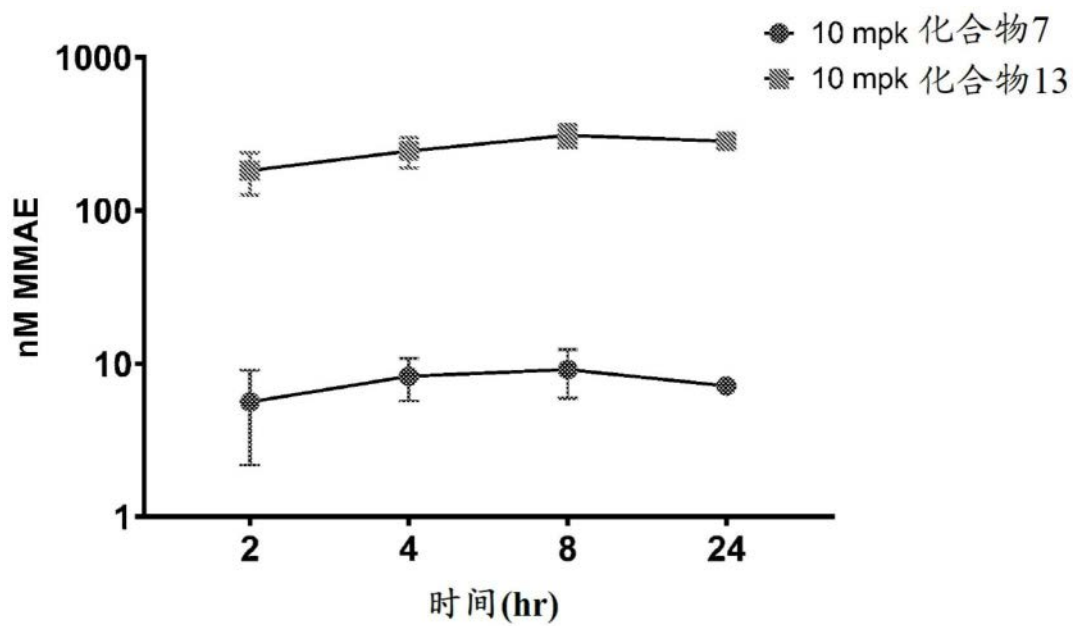


图9B

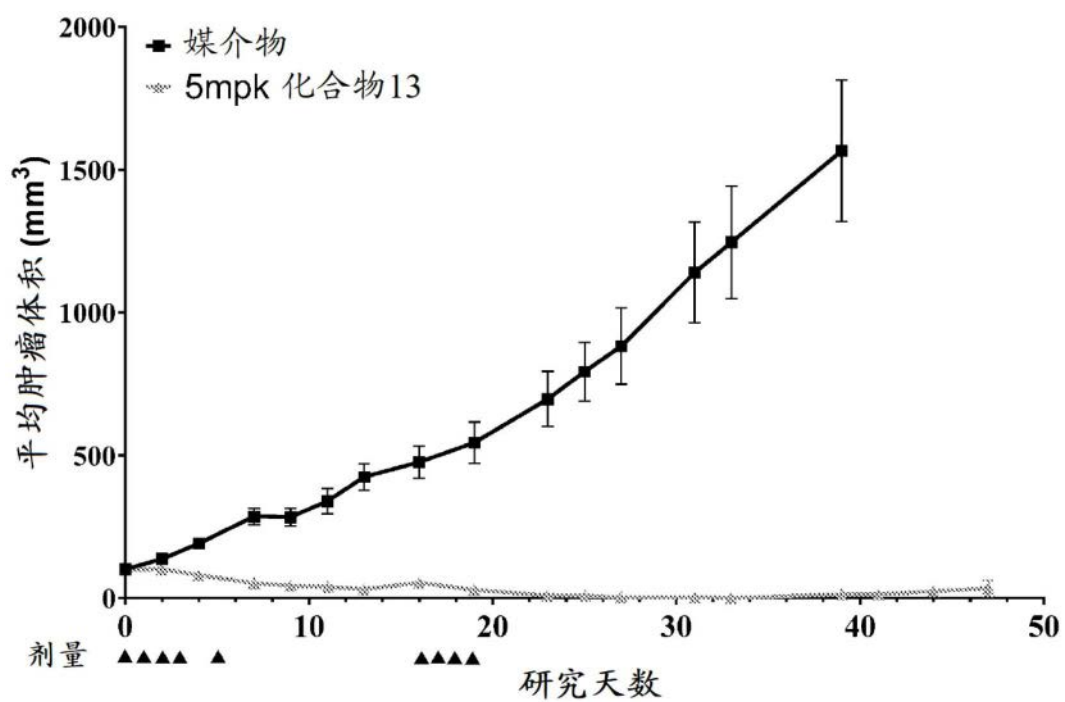


图10A

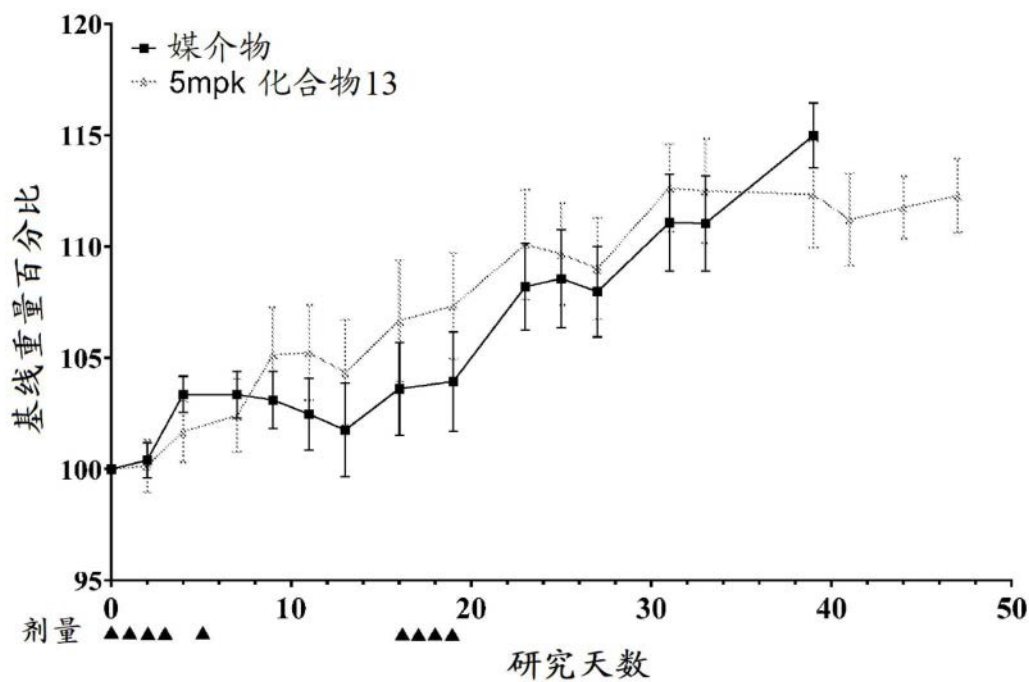


图10B

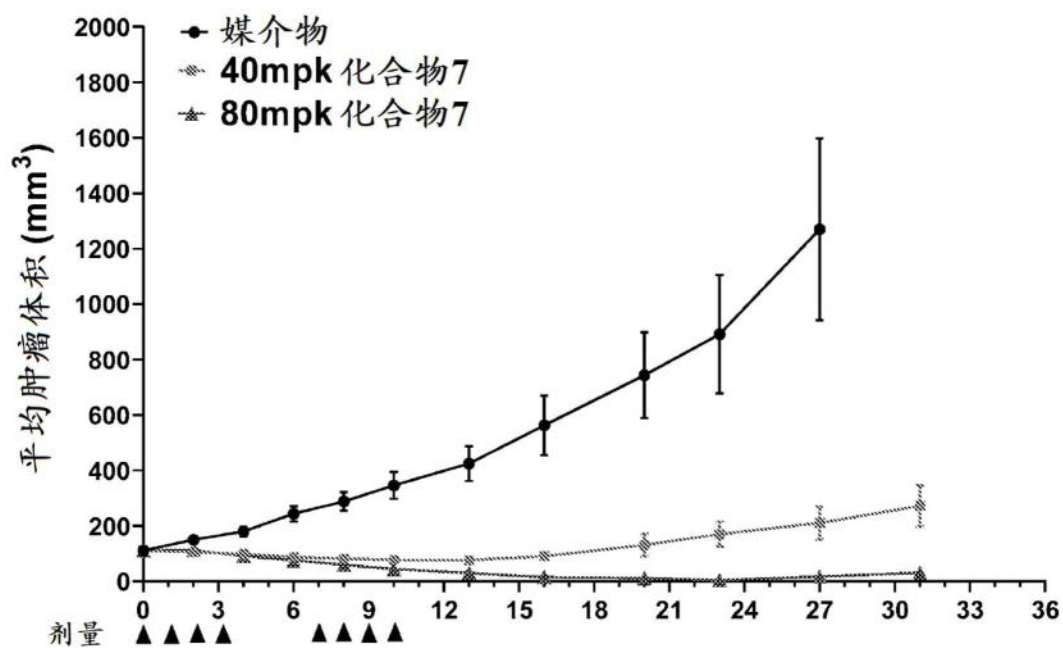


图11A

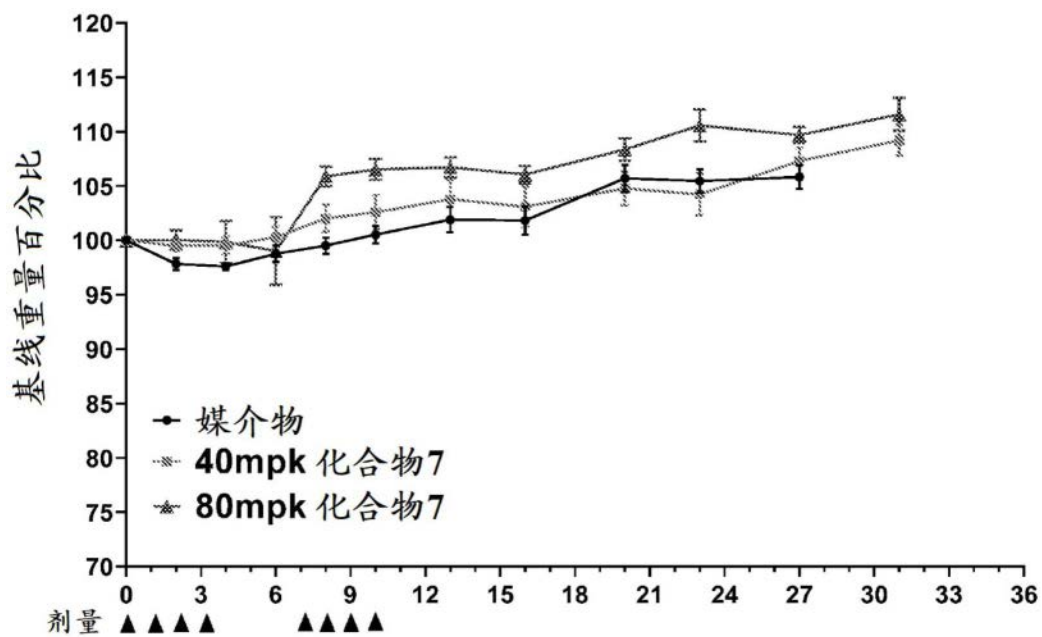


图11B

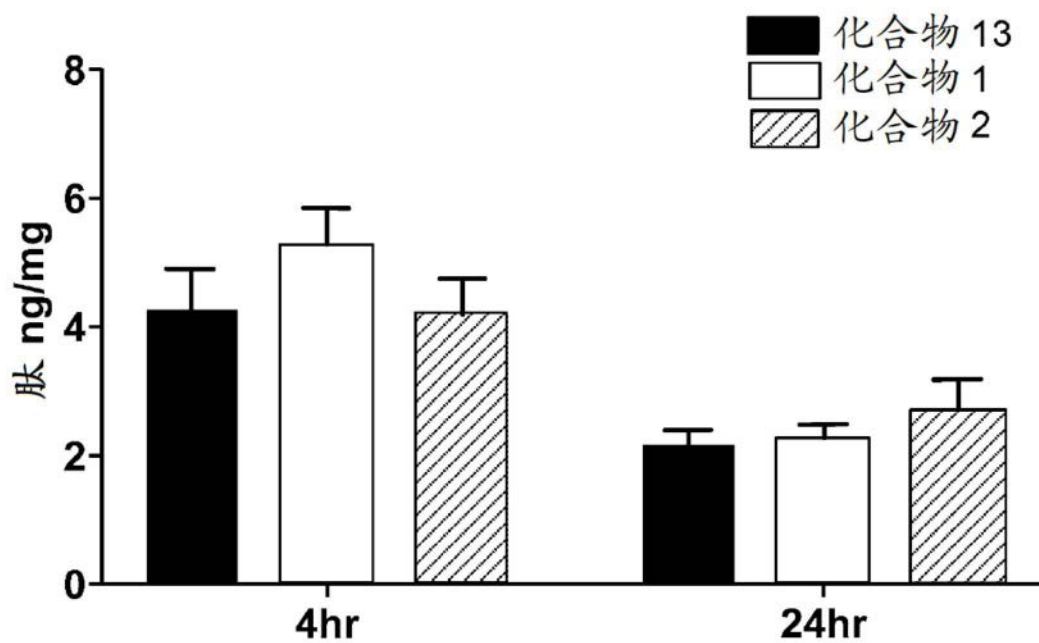


图12A

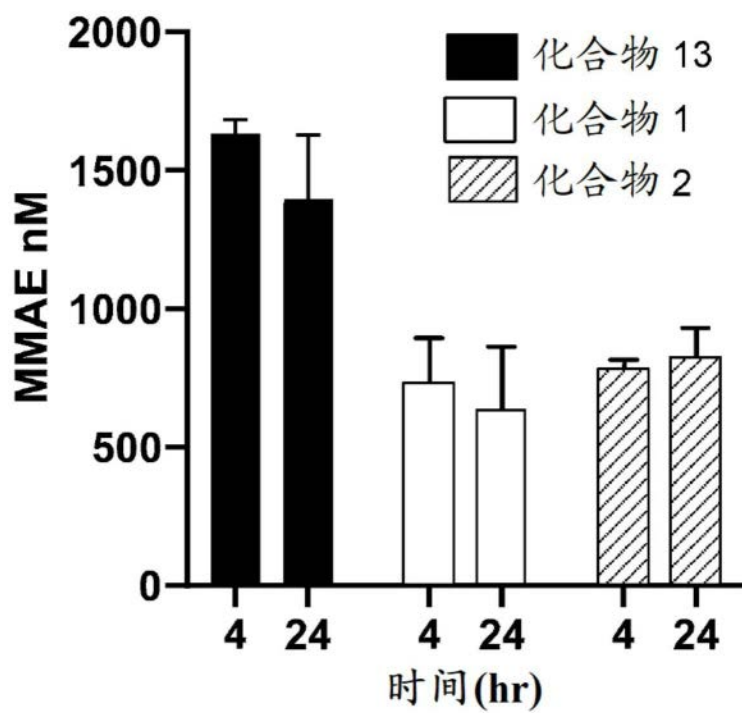


图12B

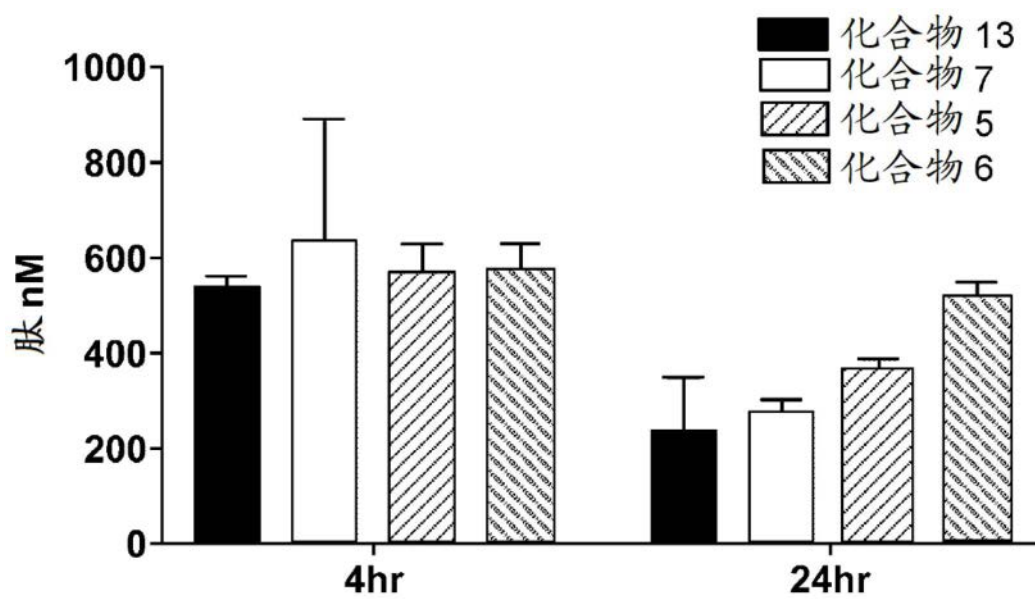


图13A

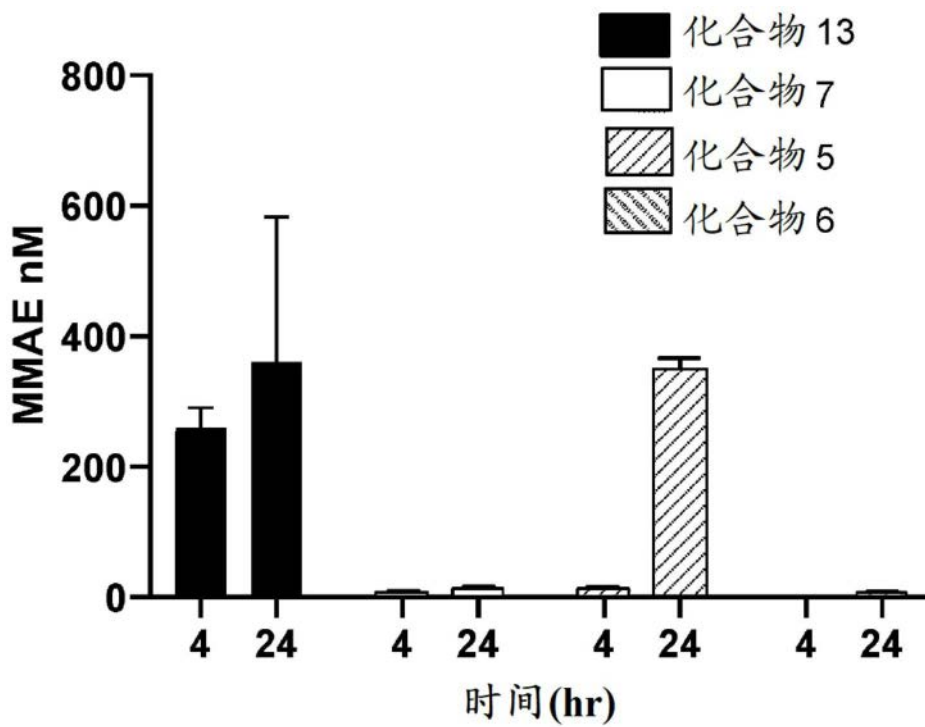


图13B

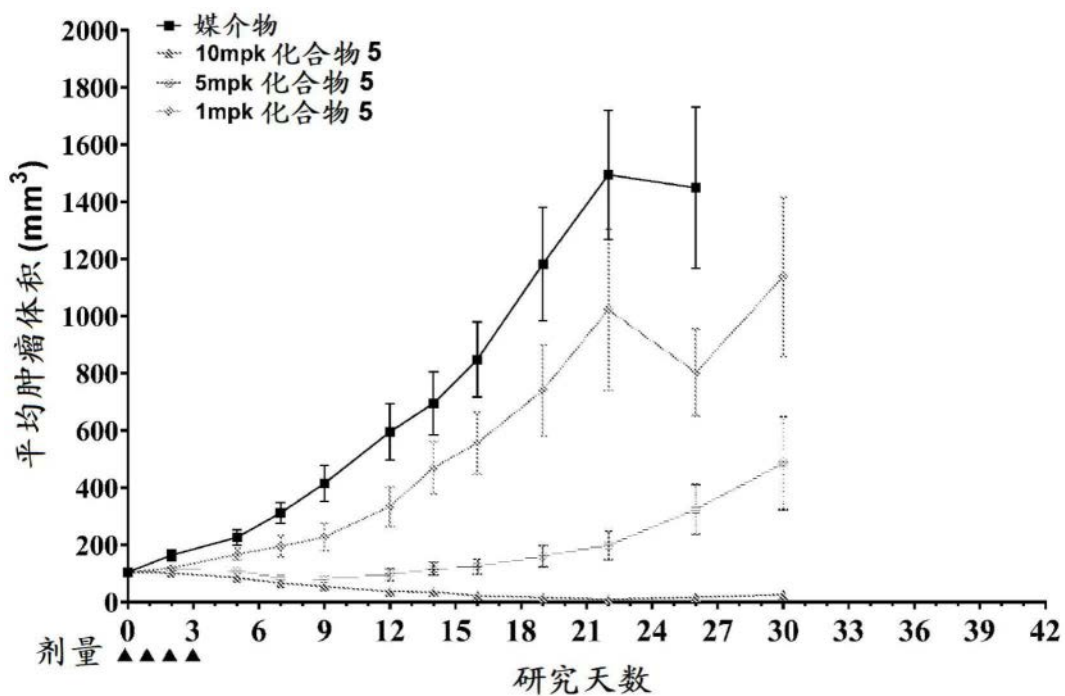


图14A

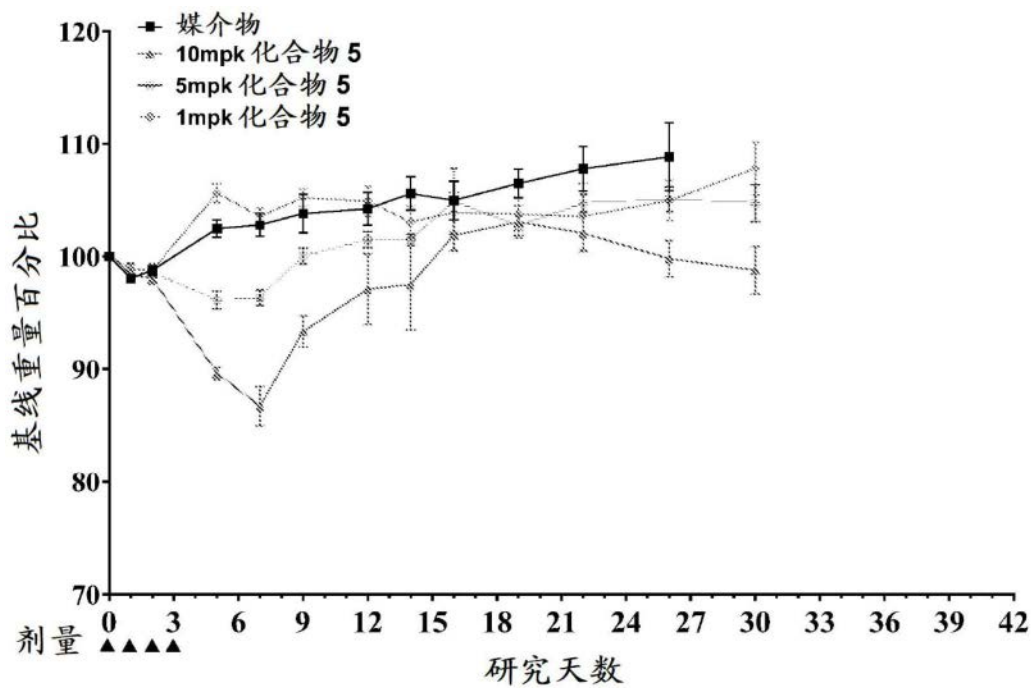


图14B