



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111620861 A

(43)申请公布日 2020.09.04

(21)申请号 202010429315.3

(22)申请日 2015.12.09

(30)优先权数据

62/089780 2014.12.09 US

(62)分案原申请数据

201580075759.9 2015.12.09

(71)申请人 艾伯维公司

地址 美国伊利诺伊州

(72)发明人 陶志福 G.多赫蒂 王锡禄

G.M.萨利文 宋晓宏 A.R.昆策尔

M.D.温德特 V.L.马林 R.R.弗里

S.C.卡伦 D.S.维尔希 沈小强

N.B.班尼特 A.R.海特

S.L.阿克勒 E.R.博海尔特

A.J.索尔斯 A.S.朱德

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

代理人 李唐

(51)Int.Cl.

C07D 417/14(2006.01)

C07H 15/04(2006.01)

C07H 15/203(2006.01)

C07F 9/6558(2006.01)

C07D 513/04(2006.01)

C07F 9/6561(2006.01)

权利要求书7页 说明书444页

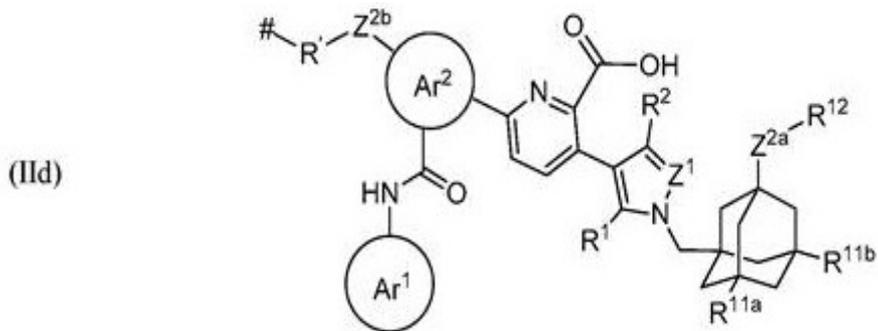
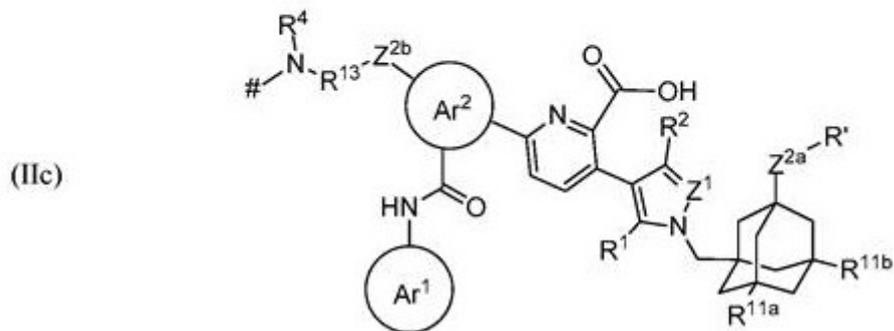
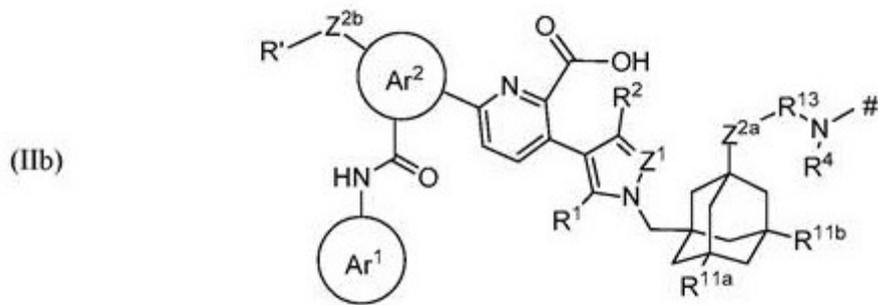
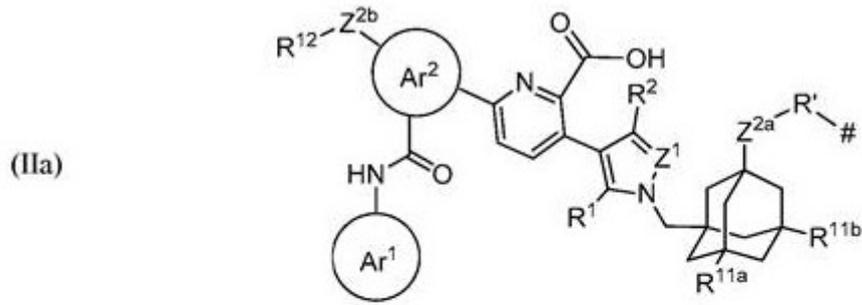
(54)发明名称

具有低细胞渗透性的BCL-XL抑制性化合物以及包括它的抗体药物缀合物

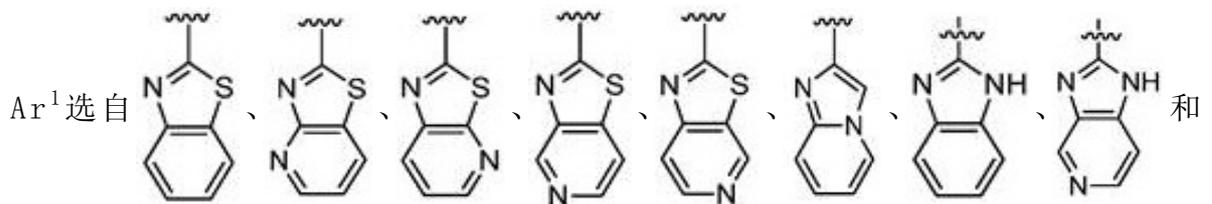
(57)摘要

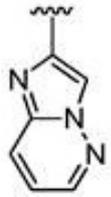
本发明涉及具有低细胞渗透性的BCL-XL抑制性化合物以及包括它的抗体药物缀合物。本发明公开涉及具有低细胞渗透性的Bcl-xL抑制剂、包含所述抑制剂的抗体药物缀合物(ADC)、用于合成所述ADC的合成子、含有所述抑制剂或ADC的组合物和使用所述抑制剂和ADC的各种方法。

1. 按照结构式 (IIa)、(IIb)、(IIc) 或 (IId) 的 Bcl-xL 抑制剂, 或其可药用盐,



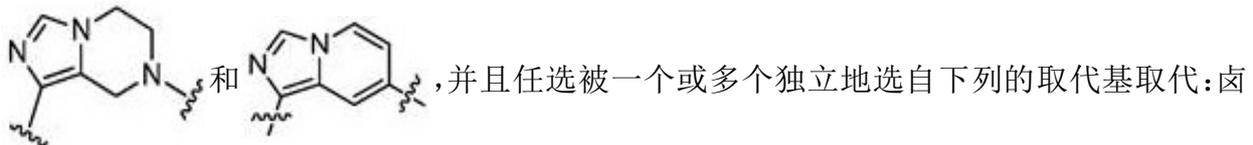
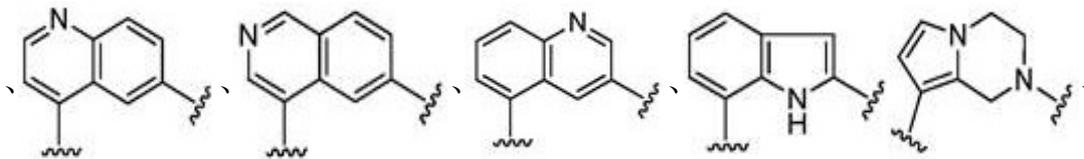
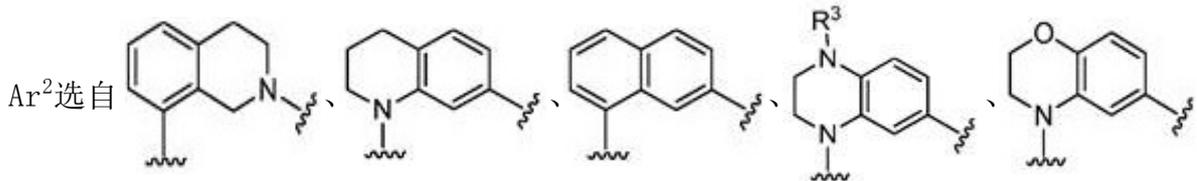
其中:





，并且任选被一个或多个独立地选自下列的取代基取代：卤素、羟基、硝基、低级烃

基、低级杂烃基、烷氧基、氨基、氰基和卤代甲基；



，并且任选被一个或多个独立地选自下列的取代基取代：卤素、羟基、硝基、低级烃基、低级杂烃基、烷氧基、氨基、氰基和卤代甲基，其中，R¹²-Z^{2b}-、R'-Z^{2b}-、#-N(R⁴)-R¹³-Z^{2b}-或#-R'-Z^{2b}-取代基在能够被取代的任何Ar²原子处与Ar²连接；

Z¹选自N、CH、C-卤素、C-CH₃和C-CN；

Z^{2a}和Z^{2b}各自彼此独立地选自键、NR⁶、CR^{6a}R^{6b}、O、S、S(O)、SO₂、-NR^{6c}(O)-、-NR^{6a}C(O)NR^{6b}-和-NR^{6c}(O)O-

R' 是 $\left(\text{---} \left(\text{---} \text{X}' \right)_n \left(\text{SP}^a \right)_m \right)^G$ 或 $\left(\text{---} \left(\text{---} \text{X}' \right)_n \left(\text{SP}^a \right)_m \right)^G$ ，其中，在#连接R'的情况下，在能够被取代

的任何R'原子处与R'相连接；

X'在每次出现时选自：-N(R¹⁰)-、-N(R¹⁰)C(O)-、-N(R¹⁰)S(O)₂-、-S(O)₂N(R¹⁰)-和-O-

n选自0-3；

R¹⁰在每次出现时独立地选自氢、烃基、杂环、氨基烃基、G-烃基、杂环和-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-NH₂；

G在每次出现时独立地选自多元醇、具有4至30个重复单元的聚乙二醇、盐和在生理pH下带电荷的部分；

SP^a在每次出现时独立地选自氧、-S(O)₂N(H)-、-N(H)S(O)₂-、-N(H)C(O)-、-C(O)N(H)-、-N(H)-、亚芳基、亚杂环基和任选取代的亚甲基；其中亚甲基任选被一个或多个-NH(CH₂)₂G、NH₂、烃基和羰基取代；

m选自0-12；

R¹选自氢、甲基、卤素、卤代甲基、乙基和氰基；

R²选自氢、甲基、卤素、卤代甲基和氰基；

R³选自氢、甲基、乙基、卤代甲基和卤代乙基；

R⁴选自氢、低级烷基和低级杂烷基,或与R¹³的原子一起形成具有3至7个之间的环原子的环烷基或杂环基环;

R⁶、R^{6a}和R^{6b}各自彼此独立地选自氢、任选取代的低级烷基、任选取代的低级杂烷基、任选取代的环烷基和任选取代的杂环基,或与源自R⁴的原子一起和在源自R¹³的原子处形成具有3至7个之间的环原子的环烷基或杂环基环;

R^{11a}和R^{11b}各自彼此独立地选自氢、卤素、甲基、乙基、卤代甲基、羟基、甲氧基、CN和SCH₃;

R¹²任选自R',或选自氢、卤素、氰基、任选取代的烷基、任选取代的杂烷基、任选取代的杂环基和任选取代的环烷基;

R¹³选自任选取代的亚烷基、任选取代的杂亚烷基、任选取代的亚杂环基和任选取代的环亚烷基;和

#代表氢原子或与连接子L的连接点。

2. 权利要求1的化合物,或其可药用盐,其中G在每次出现时是盐或在生理pH下带电荷的部分。

3. 权利要求2的化合物,或其可药用盐,其中G在每次出现时是甲酸盐、磺酸盐、膦酸盐或铵盐。

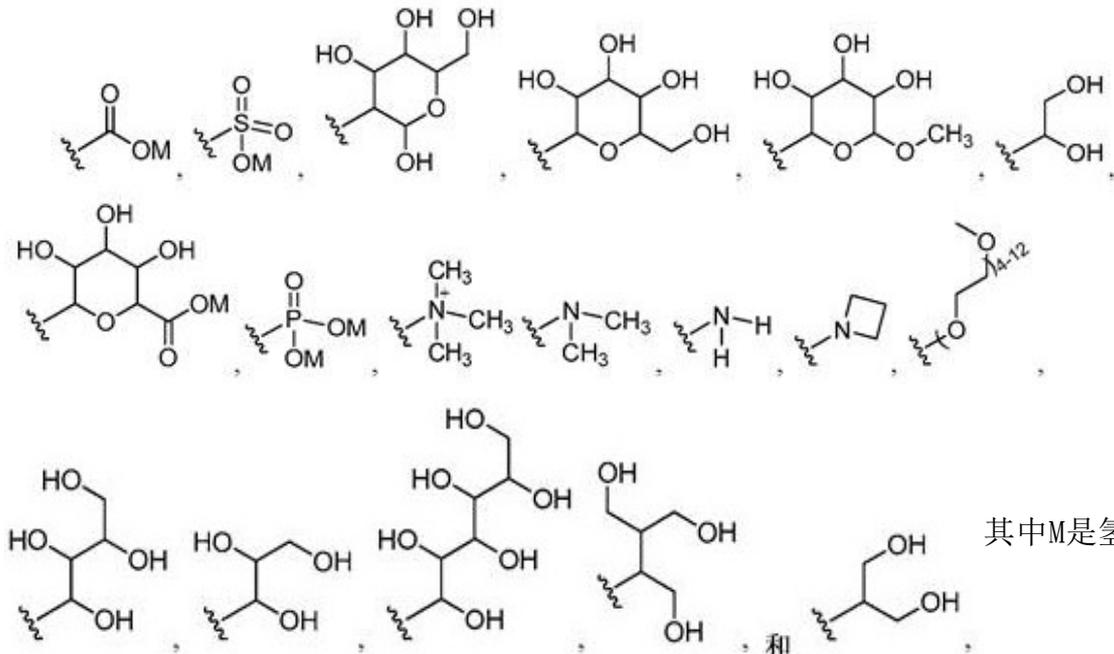
4. 权利要求2的化合物,或其可药用盐,其中G在每次出现时是在生理pH下带电荷的部分,选自甲酸根、磺酸根、膦酸根和胺。

5. 权利要求1的化合物,或其可药用盐,其中G在每次出现时是含有聚乙二醇或多元醇的部分。

6. 权利要求5的化合物,或其可药用盐,其中多元醇是糖。

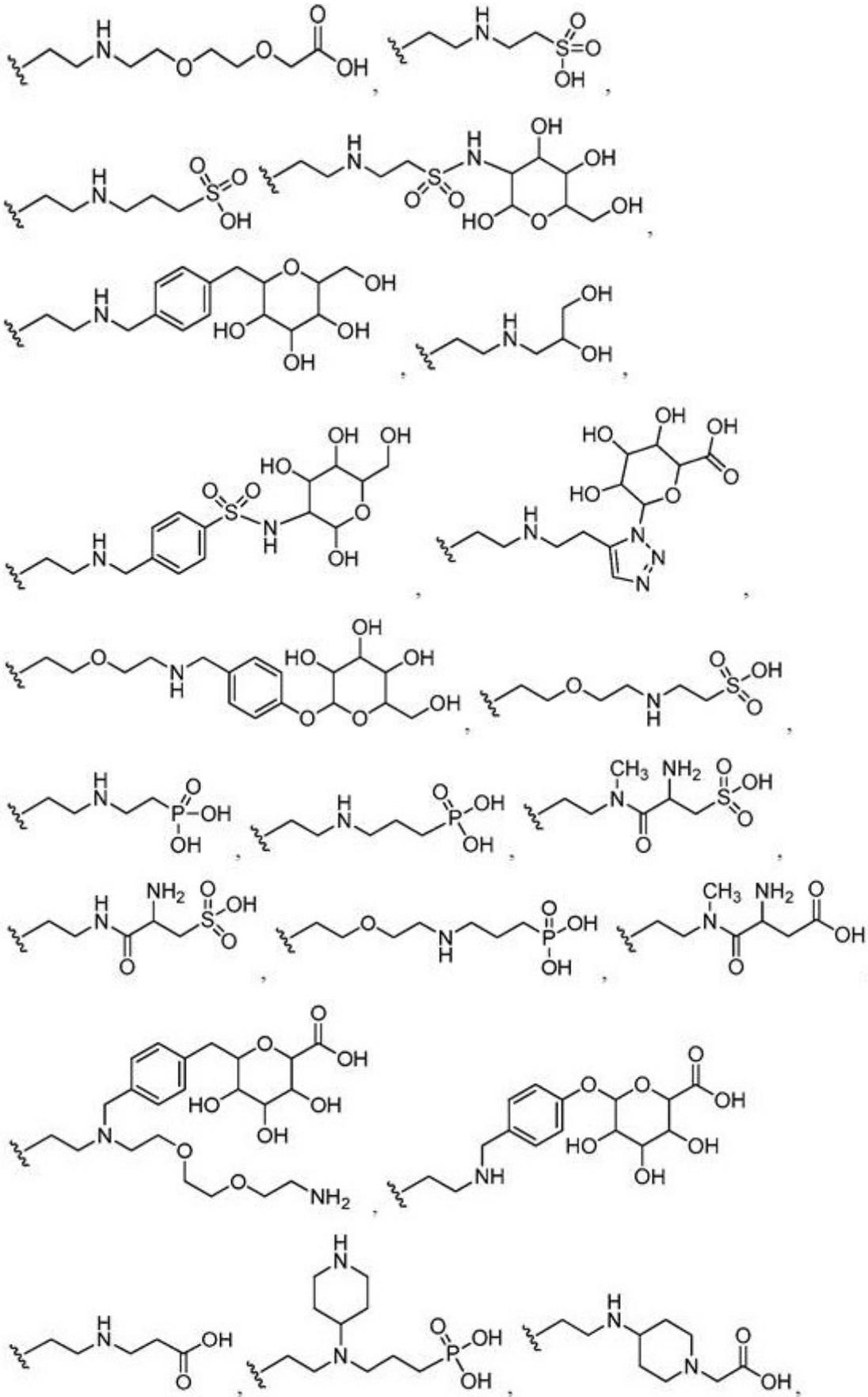
7. 权利要求1的化合物,或其可药用盐,其中R'包括至少一个适合于连接连接子的可取代的氮。

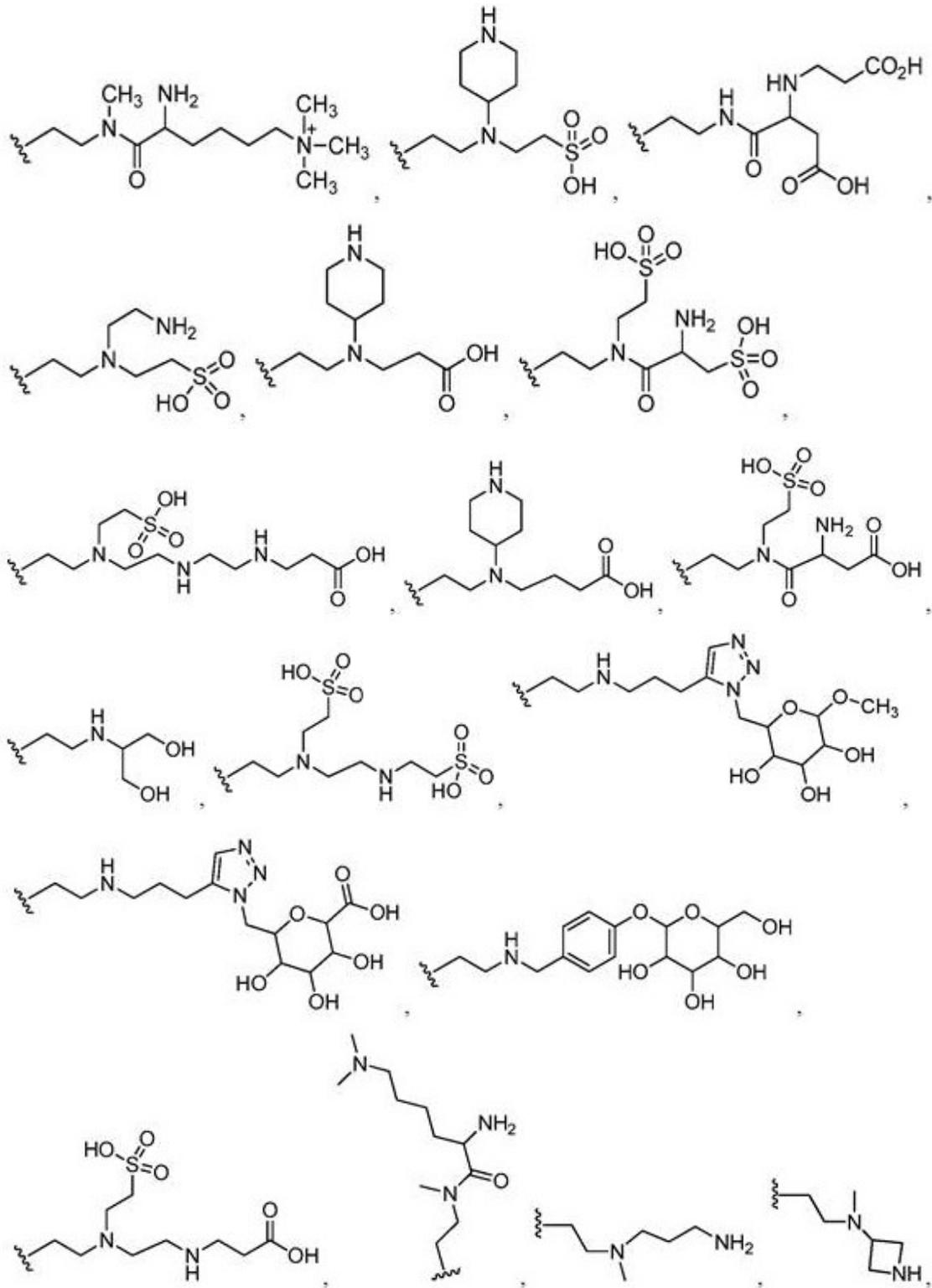
8. 权利要求7的化合物,或其可药用盐,其中G在每次出现时选自:

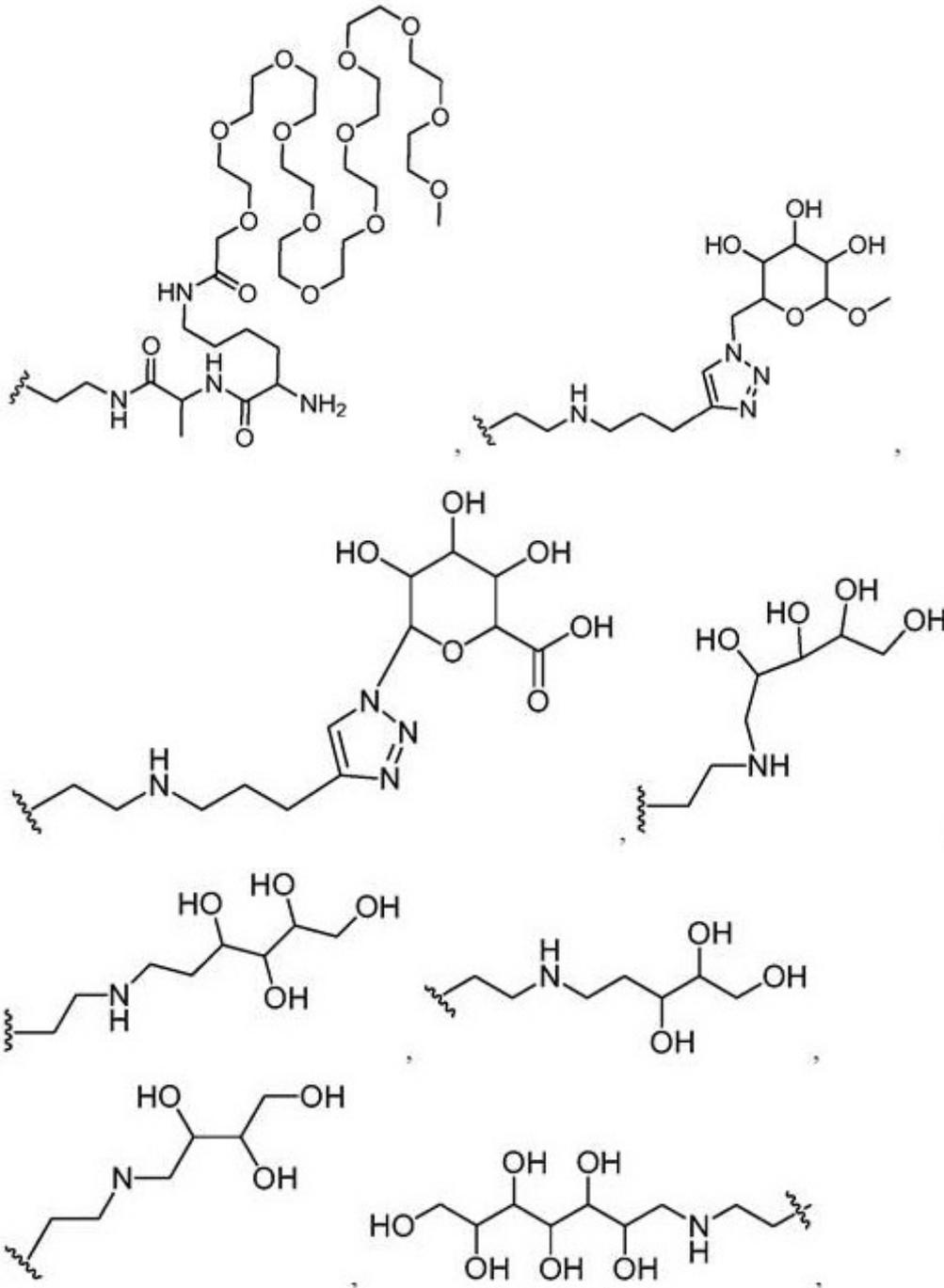


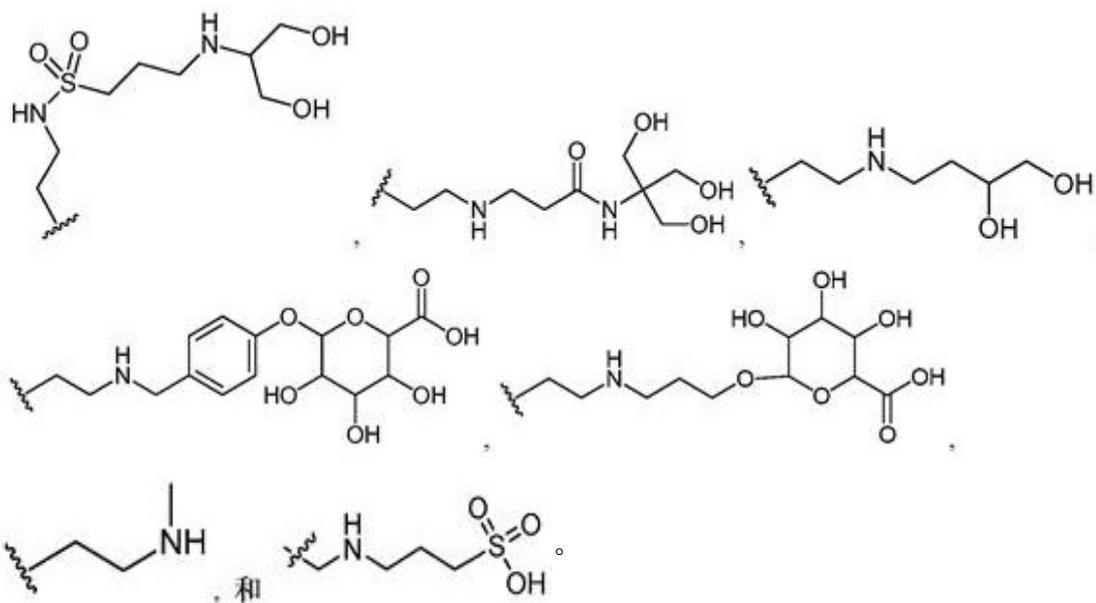
正电荷的反离子。

9. 权利要求1的化合物,或其可药用盐,其中R'选自:

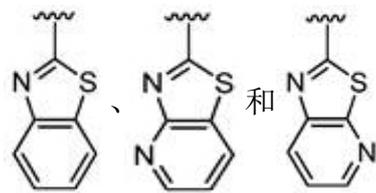








10. 权利要求1的化合物,或其可药用盐,其中Ar¹选自:



且任选被一个或多个独立地选自卤素、氰基、甲基和卤代甲基的取代基取代。

具有低细胞渗透性的BCL-XL抑制性化合物以及包括它的抗体 药物缀合物

[0001] 本申请是申请日为2015年12月9日的中国专利申请201580075759.9“具有低细胞渗透性的BCL-XL抑制性化合物以及包括它的抗体药物缀合物”的分案申请。

[0002] 1. 技术领域

本公开涉及抑制Bcl-xL抗凋亡蛋白的活性的化合物、含有这些抑制剂的抗体药物缀合物、用于合成这些抑制剂和抗体药物缀合物的方法、含有这些抑制剂和抗体药物缀合物的组合物以及治疗其中抗凋亡Bcl-xL蛋白被表达的疾病的方法。

[0003] 2. 背景技术

细胞程序死亡被认为是所有活物种的组织动态平衡的主要生化过程。尤其是在哺乳动物中,已经表明它可调节早期胚胎发育。在生命的后期,细胞死亡是除去潜在危险细胞(例如,携带癌性缺陷的细胞)的默认机构。已经发现了一些凋亡途径,一个最重要的途径与蛋白的Bcl-2家族有关,其是细胞程序死亡的线粒体(还称为“固有的”)途径的关键调节剂。参见Danial & Korsmeyer, 2004, *Cell* 116:205-219。

[0004] 凋亡途径失调涉及许多重要疾病的病变,例如,神经变性病症(细胞程序死亡上调),例如,阿尔茨海默氏病;和增殖疾病(细胞程序死亡下调),例如,癌症、自身免疫疾病和促血栓形成的病症。

[0005] 在一方面,下调的细胞程序死亡(且更尤其是蛋白的Bcl-2家族)与癌性恶性肿瘤的发病有关的密切关系已经表明了靶向这种疑难病的新方法。研究已经表明,例如,抗凋亡蛋白Bcl-2和Bcl-xL在许多癌细胞类型中过度表达。参见,Zhang, 2002, *Nature Reviews/Drug Discovery* 1:101;Kirkin等人,2004, *Biochimica Biophysica Acta* 1644:229-249;以及Amundson等人,2000, *Cancer Research* 60:6101-6110。这种失调的结果是被改变的细胞的存活,这在正常情况下将会另外进行细胞程序死亡。与未调节的增殖有关的这些缺陷的重复,被认为是癌性演变的起点。

[0006] 这些发现以及许多其它发现,使得在靶向癌症的药物研发中,可能出现新的策略。如果小分子能够进入细胞,并且克服抗凋亡蛋白的过度表达,则它可能重新设定凋亡过程。这种策略的好处是,它可以减轻耐药性的问题,这种问题通常是凋亡失调(异常存活)的结果。

[0007] 研究人员还已经证明,为了通过固有的凋亡途径来执行编程性细胞死亡,血小板也含有必要的凋亡机构(例如,Bax、Bak、Bcl-xL、Bcl-2、细胞色素C、半胱天冬酶-9、半胱天冬酶-3和APAF-1)。虽然循环血小板产生是正常生理过程,但过量的血小板或血小板的非所要求的活化导致或加重许多疾病。以上说明,能够在哺乳动物中抑制血小板中的抗凋亡蛋白和减少血小板数量的治疗剂,可以用于治疗促血栓形成病症和以过量的血小板或血小板的非所要求的活化为特征性疾病。

[0008] 已经研发了许多Bcl-xL抑制剂,用于治疗与凋亡途径失调有关的疾病(例如,癌症)。然而,Bcl-xL抑制剂可以作用于除了靶细胞(例如,癌细胞)以外的细胞。例如,临床前研究表明,Bcl-xL的药理学失活降低血小板半衰期,并且引起血小板减少(参见Mason等人,

2007, *Cell* 128:1173-1186)。

[0009] 由于Bcl-xL在调节细胞程序死亡中的重要性,所以,本领域还需要选择性地或非选择性地抑制Bcl-xL活性的药剂,作为治疗其中细胞程序死亡的失调通过抗凋亡Bcl-2家族蛋白(例如,Bcl-xL)表达或过度表达的疾病的途径。相应地,需要剂量限制性毒性降低的新的Bcl-xL抑制剂。

[0010] 另外,还需要递送限制毒性的Bcl-xL抑制剂的新方法。将药物递送到细胞中的一个可能的方法是通过使用抗体药物缀合物(ADC)来递送药物,这对于Bcl-xL抑制剂来说,还没有进行探索。通过连接子,将细胞毒类药物与单克隆抗体进行化学连接,形成ADC。ADC的单克隆抗体选择性地与细胞(例如,癌细胞)的靶点抗原结合,并将药物释放到细胞中。ADC具有治疗潜力,这是由于它们将抗体的特异性和药物的细胞毒素潜力结合在一起。尽管如此,到目前为止,由于各种因素,例如,不利的毒性特性、低的效果和差的药理学参数,因此研发ADC作为治疗剂的成果很有限。相应地,研发能够克服这些问题并且可以选择性地将Bcl-xL递送到靶向癌细胞中的新的ADC,将成为有重大意义的发现。

[0011] 3. 发明内容

现在已经发现,当给药形式是与细胞表面上表达的抗原结合的抗体药物缀合物(ADC;也称为免疫缀合物)形式时,Bcl-xL的小分子抑制剂是有效的,其中抑制Bcl-xL和后续的诱导细胞程序死亡是有益的。这个发现首次提供了对于感兴趣的具体细胞和/或组织的靶向Bcl-xL抑制治疗、潜在地降低了达到目标治疗益处所必需的血清水平和/或避免和/或改善了与全身性给予小分子Bcl-xL抑制剂本身有关的潜在副作用。

[0012] 相应地,在一方面,本公开提供了包含Bcl-xL抑制剂的ADC,尤其可用于抑制抗凋亡的Bcl-xL蛋白,作为治疗与细胞程序死亡途径失调有关的疾病(例如,癌症)的治疗途径。ADC通常包含Bcl-xL的小分子抑制剂(本文称为Bcl-xL抑制剂),它通过连接子与抗体连接,所述抗体特异性地结合感兴趣的靶细胞上表达的抗原。

[0013] 在一方面,本公开提供了细胞渗透性低的Bcl-xL抑制剂。所述Bcl-xL抑制剂可以用作ADC的治疗组分,或可以独立于ADC使用。本文描述的Bcl-xL抑制剂包括增溶亲水基,与没有增溶基的类似的抑制剂相比较,其水溶性提高,并且细胞渗透性降低。在某些实施方案中,增溶基包括能够氢键合、偶极-偶极相互作用的部分,和/或,其包含多元醇、聚乙二醇聚合物部分、盐或在生理pH条件下带电荷的部分。在某些实施方案中,本公开的Bcl-xL抑制剂的细胞渗透性极低。

[0014] 在Bcl-xL抑制剂是ADC的组分的实施方案中,使用细胞渗透性低的Bcl-xL抑制剂是有利的,原因在于,一旦在细胞内从抗体上释放,其渗透其它细胞并且产生不同于目标抗肿瘤效果的效果的能力受到限制。例如,通过ADC递送内化之后,与细胞渗透性的抑制剂相比,本公开的Bcl-xL抑制剂很少会从细胞当中扩散出来,可以降低或改善与化合物的系统水平相关的任何不合乎需要的副作用。同样,如果本公开的Bcl-xL抑制剂在ADC的抗体与它的靶点抗原结合之前释放到系统循环中,则释放的Bcl-xL抑制剂将会比没有增溶基的抑制剂更慢地扩散到健康细胞中,这还可以使毒性降低。

[0015] 除了降低的毒性之外,本公开的细胞渗透性低的Bcl-xL抑制剂还会为ADC带来其它有益性能。例如,Bcl-xL抑制剂上所包括的带电荷部分,能够提高ADC的水溶性,调节ADC的生理化学性能。此外,与得自于不包含增溶基的Bcl-xL抑制剂的ADC相比,本公开的ADC聚

集的倾向性小得多。因此,与没有增溶基的Bcl-xL抑制剂相比较,本公开的Bcl-xL抑制剂和连接ADC的抗体与抑制剂的大量连接子相容。

[0016] ADC的抗体可以是通常(但不一定是特异性)与感兴趣的靶细胞的表面上表达的抗原结合的任何抗体。感兴趣的靶细胞通常包括:需要通过抑制抗凋亡Bcl-xL蛋白来诱导细胞程序死亡的细胞,包括,例如(没有限制性),表达或过度表达Bcl-xL的肿瘤细胞。靶点抗原可以是感兴趣的靶细胞上表达的任何蛋白、糖蛋白,等等,但通常是在靶细胞上独特表达并且在正常或健康细胞上没有表达的蛋白或糖蛋白;或与正常或健康细胞相比较,在靶细胞上过度表达的蛋白或糖蛋白,以便ADC选择性地靶向感兴趣的细胞,例如,肿瘤细胞。正如本领域所公认的那样,与内化所结合的ADC的某些细胞表面抗原结合的ADC具有某些优越性。相应地,在一些实施方案中,抗体靶向的抗原是能够使其结合的ADC内化到细胞中的抗原。然而,ADC靶向的抗原无需是使结合的ADC内化的抗原。在靶细胞或组织外部释放的Bcl-xL抑制剂可以通过被动扩散或其它机制进入细胞,抑制Bcl-xL。

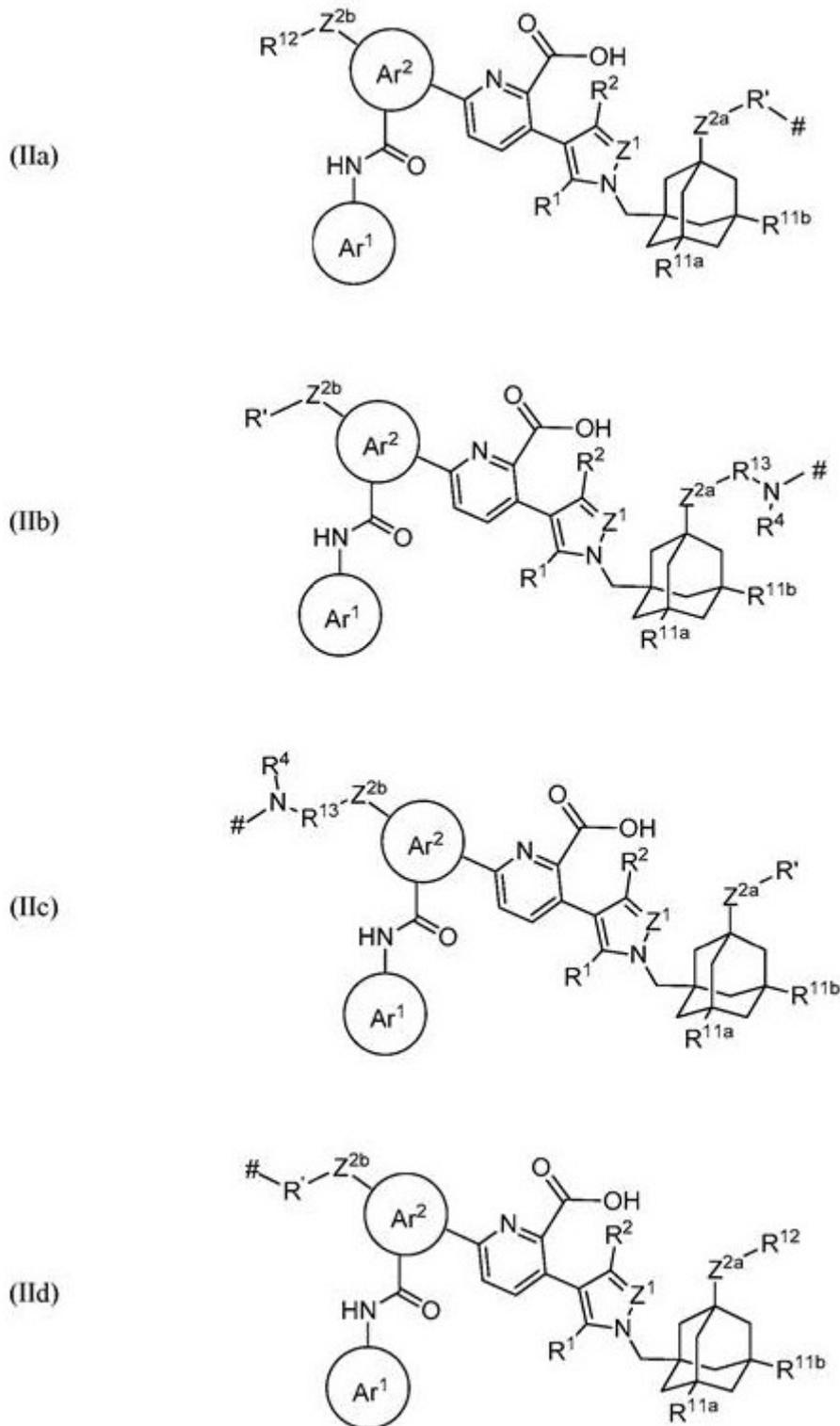
[0017] 本领域技术人员会理解,具体抗原以及由此选择的抗体取决于感兴趣的目标靶细胞的特征。在某些具体治疗实施方案中,ADC的抗体的靶点抗原是在已知的正常或健康细胞类型上没有表达的抗原,或被怀疑至少部分地依赖于Bcl-xL存活的抗原。在其它某些具体治疗实施方案中,ADC的抗体是适合于给予人类的抗体。

[0018] 用作治疗靶点的种类繁多的细胞特异性抗原,以及结合这些抗原的抗体是本领域已知的,获得适合于靶向已知的细胞特异性抗原的其它抗体的技术或后来发现的细胞特异性抗原也是本领域已知的。这些不同抗体中的任何抗体可以包括在本文描述的ADC中。

[0019] 在性质上,连接ADC的Bcl-xL抑制剂与抗体的连接子可以是长的、短的、柔性、刚性、疏水性或亲水性的连接子,或可以包含不同特征的片段,例如,柔性片段、刚性片段等等。连接子可以是对于胞外环境化学上稳定的连接子,例如,在血流中化学稳定,或可以包括在胞外环境中不稳定并且释放Bcl-xL抑制剂的连接基。在一些实施方案中,连接子包括被设计为ADC在细胞中内化之时释放Bcl-xL抑制剂的连接基。在一些具体实施方案中,连接子包括被设计为在细胞内部特异性或非特异性断裂和/或裂解或分解的连接基。在ADC背景下用于连接药物与抗体的多种连接子在本领域是已知的。这些连接子中的任何连接子以及其它连接子,可以用于连接本文描述的ADC中的Bcl-xL抑制剂与抗体。

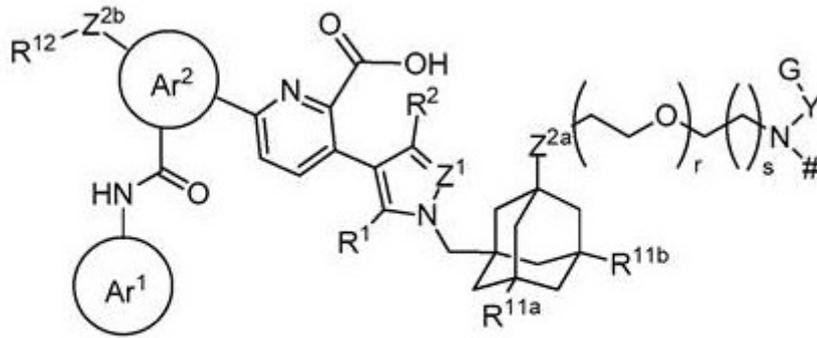
[0020] 与ADC的抗体连接的Bcl-xL抑制剂的数量可以变化(称为“药物对抗体比例”或“DAR”),并且仅仅受到抗体上的可供的连接位点的数量以及与单一连接子连接的抑制剂的数量限制。通常,连接子连接单一Bcl-xL抑制剂与ADC的抗体。在使用和/或储存条件下,只要ADC没有显示出不能接受的聚集水平,考虑包括DAR为20或DAR更高的ADC。在一些实施方案中,本文描述的ADC可以具有大约1-10、1-8、1-6或1-4范围内的DAR。在某些具体实施方案中,ADC可以具有2、3或4的DAR。在一些实施方案中,选择Bcl-xL抑制剂、连接子和DAR的组合,使得所得到的ADC在使用和/或储存条件下不会过度聚集。

[0021] 本文所描述的渗透性低的Bcl-xL抑制剂通常是按照下列结构式(IIa)、(IIb)、(IIc)或(IId)的化合物,和/或其可药用盐,其中各个取代基Ar¹、Ar²、Z¹、Z^{2a}、Z^{2b}、R'、R¹、R²、R⁴、R^{11a}、R^{11b}、R¹²和R¹³如详细说明部分所定义:



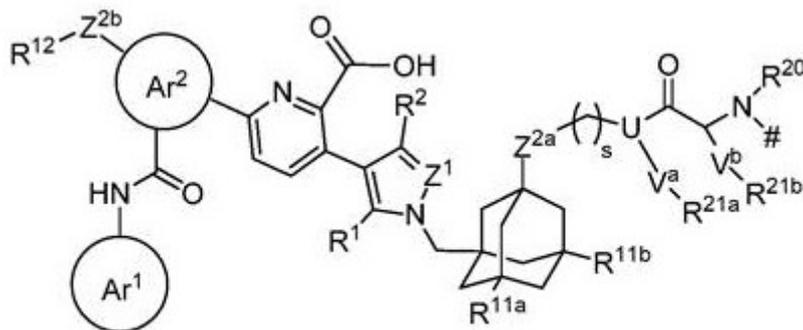
[0022] 在式(IIa)、(IIb)、(IIc)、(IIId)中,#代表与ADC的连接子的连接点,或者,对于不是ADC的一部分的抑制剂来说,#代表氢原子。

[0023] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa)化合物的某些实施方案中,所述化合物具有下面结构式(IIa.1),和/或其可药用盐,其中各个取代基Ar¹、Ar²、Z¹、Z^{2a}、Z^{2b}、R¹、R²、R^{11a}、R^{11b}、R¹²、G、Y、r和s如详细说明部分所定义:



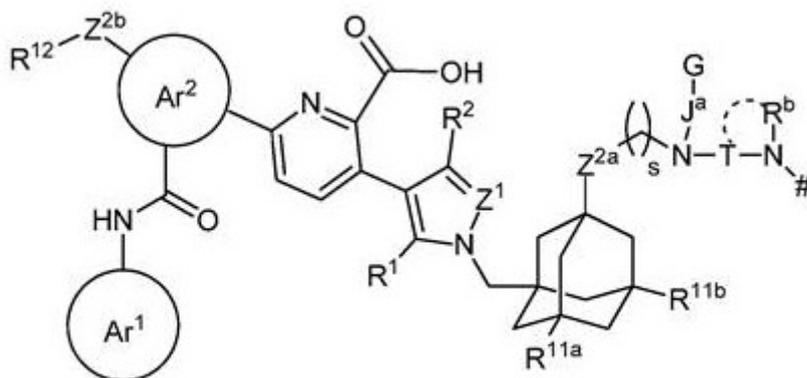
(IIa.1)

[0024] 在其中Bcl-xL抑制剂是式(IIa)的化合物的某些实施方案中,所述化合物具有下面结构式(IIa.2),和/或其可药用盐,其中各个取代基 Ar^1 、 Ar^2 、 Z^1 、 Z^{2a} 、 Z^{2b} 、 R^1 、 R^2 、 R^{11a} 、 R^{11b} 、 R^{12} 、 U 、 V^a 、 V^b 、 R^{20} 、 R^{21a} 、 R^{21b} 和 s 如详细说明部分所定义:



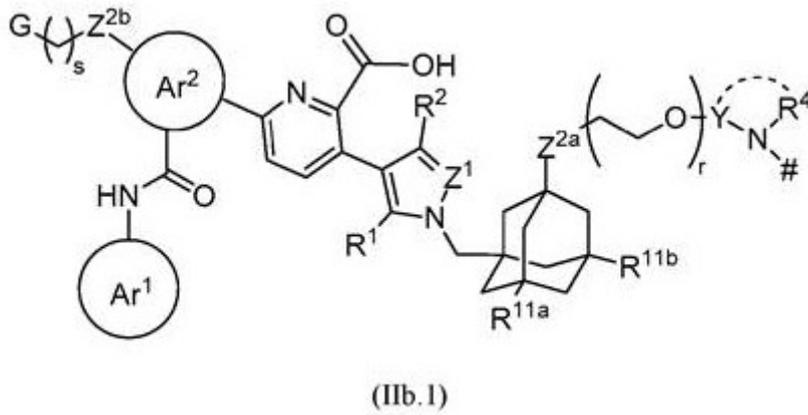
(IIa.2)

[0025] 在其中Bcl-xL抑制剂是式(IIa)的化合物的某些实施方案中,所述化合物具有下面结构式(IIa.3),和/或其可药用盐,其中各个取代基 Ar^1 、 Ar^2 、 Z^1 、 Z^{2a} 、 Z^{2b} 、 R^1 、 R^2 、 R^{11a} 、 R^{11b} 、 R^{12} 、 G 、 J^a 、 T 、 R^b 和 s 如详细说明部分所定义:

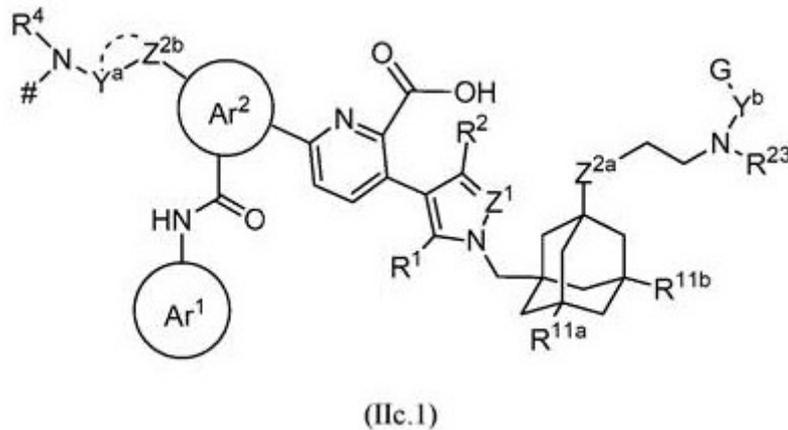


(IIa.3)

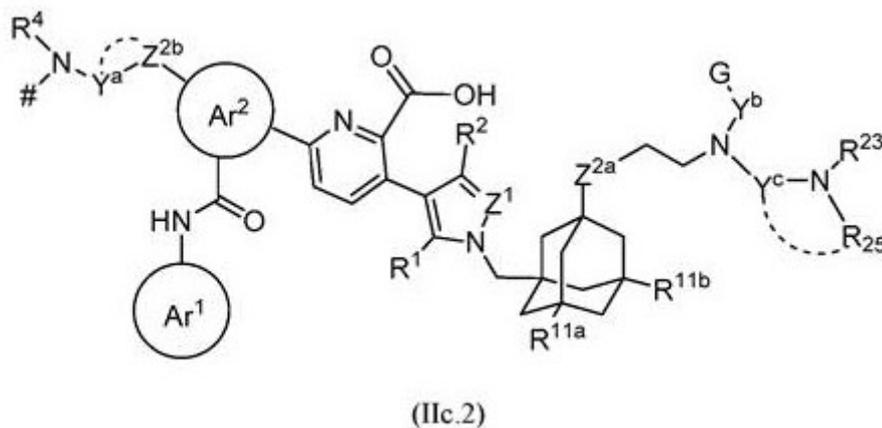
[0026] 在Bcl-xL抑制剂是式(IIb)的化合物的某些实施方案中,所述化合物具有下面结构式(IIb.1),和/或其可药用盐,其中各个取代基 Ar^1 、 Ar^2 、 Z^1 、 Z^{2a} 、 Z^{2b} 、 G 、 R^1 、 R^2 、 R^4 、 R^{11a} 、 R^{11b} 、 Y 、 r 和 s 如详细说明部分所定义:



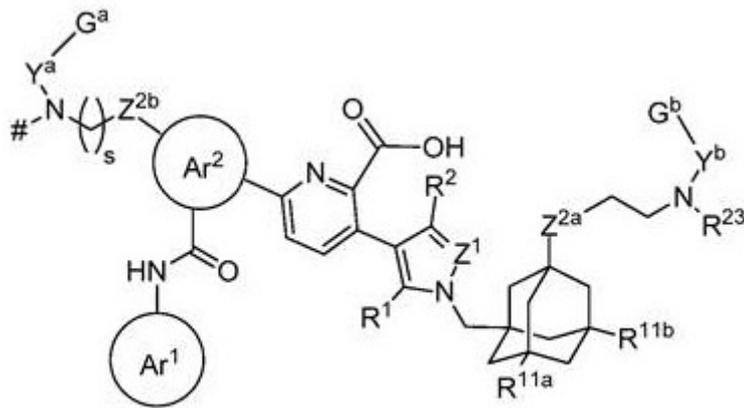
[0027] 在其中Bcl-xL抑制剂是式(IIc)的化合物的某些实施方案中,所述化合物具有下面结构式(IIc.1),和/或其可药用盐,其中各个取代基Ar¹、Ar²、Z¹、Z^{2a}、Z^{2b}、G、R¹、R²、R⁴、R^{11a}、R^{11b}、R²³、Y^a和Y^b如详细说明部分所定义:



[0028] 在其中Bcl-xL抑制剂是式(IIc)的化合物的某些实施方案中,所述化合物具有下面结构式(IIc.2),和/或其可药用盐,其中各个取代基Ar¹、Ar²、Z¹、Z^{2a}、Z^{2b}、G、R¹、R²、R⁴、R^{11a}、R^{11b}、R²³、R²⁵、Y^a、Y^b和Y^c如详细说明部分所定义:

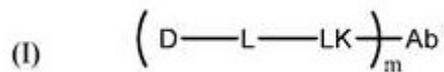


[0029] 在其中Bcl-xL抑制剂是式(IIId)的化合物的某些实施方案中,所述化合物具有下面结构式(IIId.1),和/或其可药用盐,其中各个取代基Ar¹、Ar²、Z¹、Z^{2a}、Z^{2b}、G、R¹、R²、R^{11a}、R^{11b}、R²³、Y^a、Y^b和s如详细说明部分所定义:



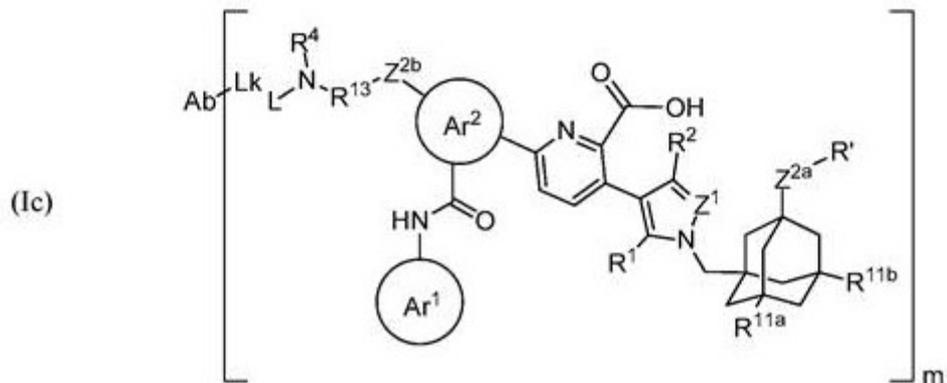
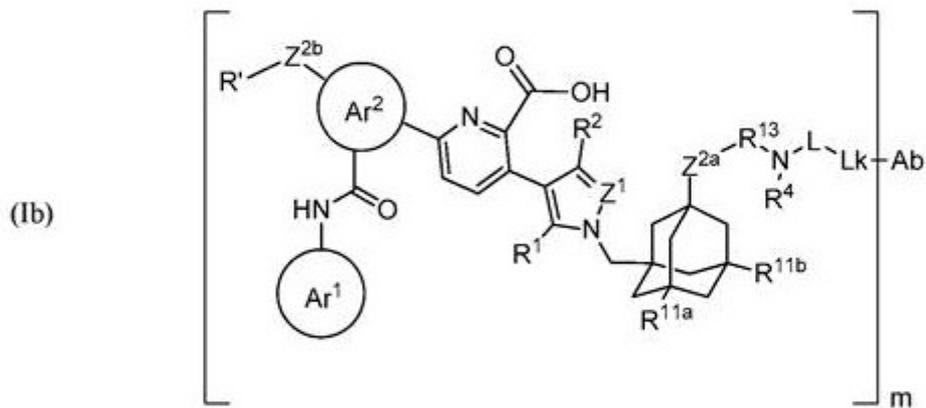
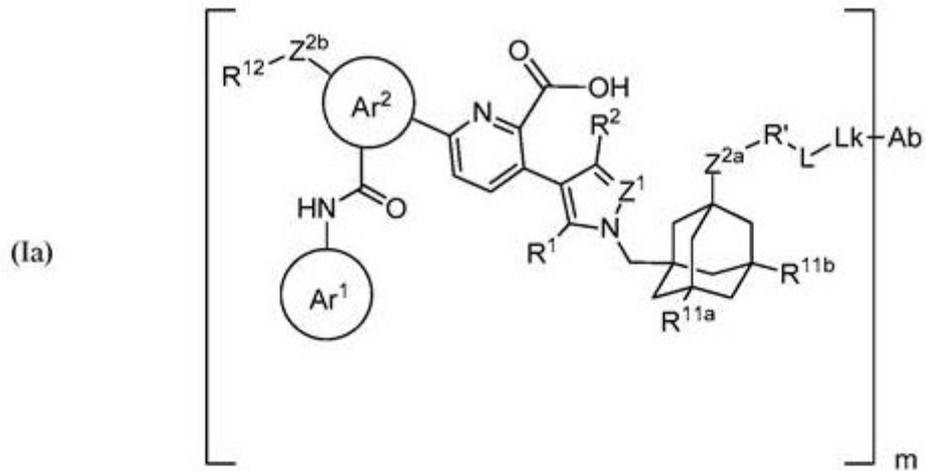
(IIId.1)

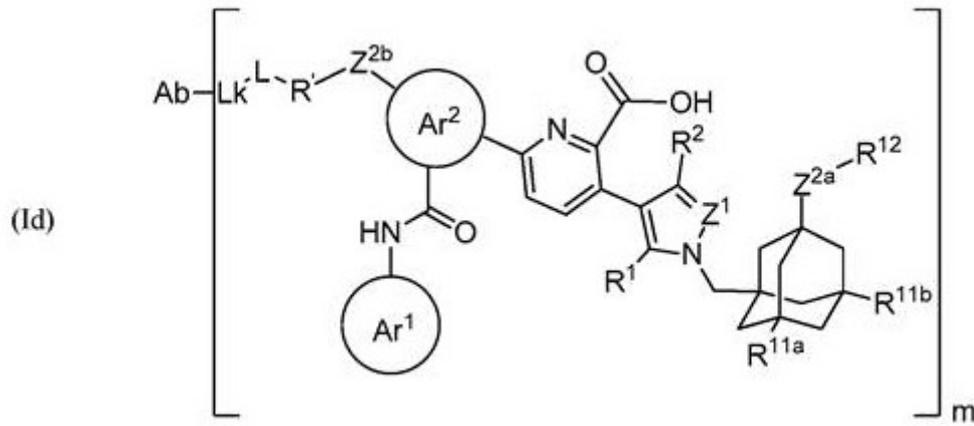
[0030] 在一些实施方案中,本文所描述的ADC通常是按照结构式(I)的化合物:



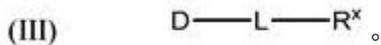
其中,Ab代表抗体,D代表药物(本文中,代表Bc1-xL抑制剂),L代表连接药物D与抗体Ab的连接子,LK代表在连接子L上的官能团和抗体Ab上的互补官能团之间形成的连接基,和m代表连接到抗体上的连接子-药物单元的数目。在某些实施方案中,Ab代表抗体,D代表药物,L代表连接药物D与抗体Ab的连接子,LK代表在连接子L上的官能团和抗体Ab上的互补官能团之间形成的连接基,和m是1至8。在某些实施方案中,m是1至20。在某些实施方案中,m是1至8。在某些实施方案中,m是2至8。在某些实施方案中,m是1至6。在某些实施方案中,m是2、3或4。

[0031] 在某些具体实施方案中,ADC是按照下面结构式(Ia)、(Ib)、(Ic)和(Id)的化合物,其中各个取代基Ar¹、Ar²、Z¹、Z^{2a}、Z^{2b}、R¹、R²、R^{11a}、R^{11b}、R¹²和R¹³分别如先前式(IIa)、(IIb)、(IIc)和(IIId)所定义,Ab和L如结构式(I)所定义,LK代表连接子L上的官能团和抗体Ab上的互补官能团之间形成的连接基,和m是1至20的整数,且在一些实施方案中,m是2至8的整数:

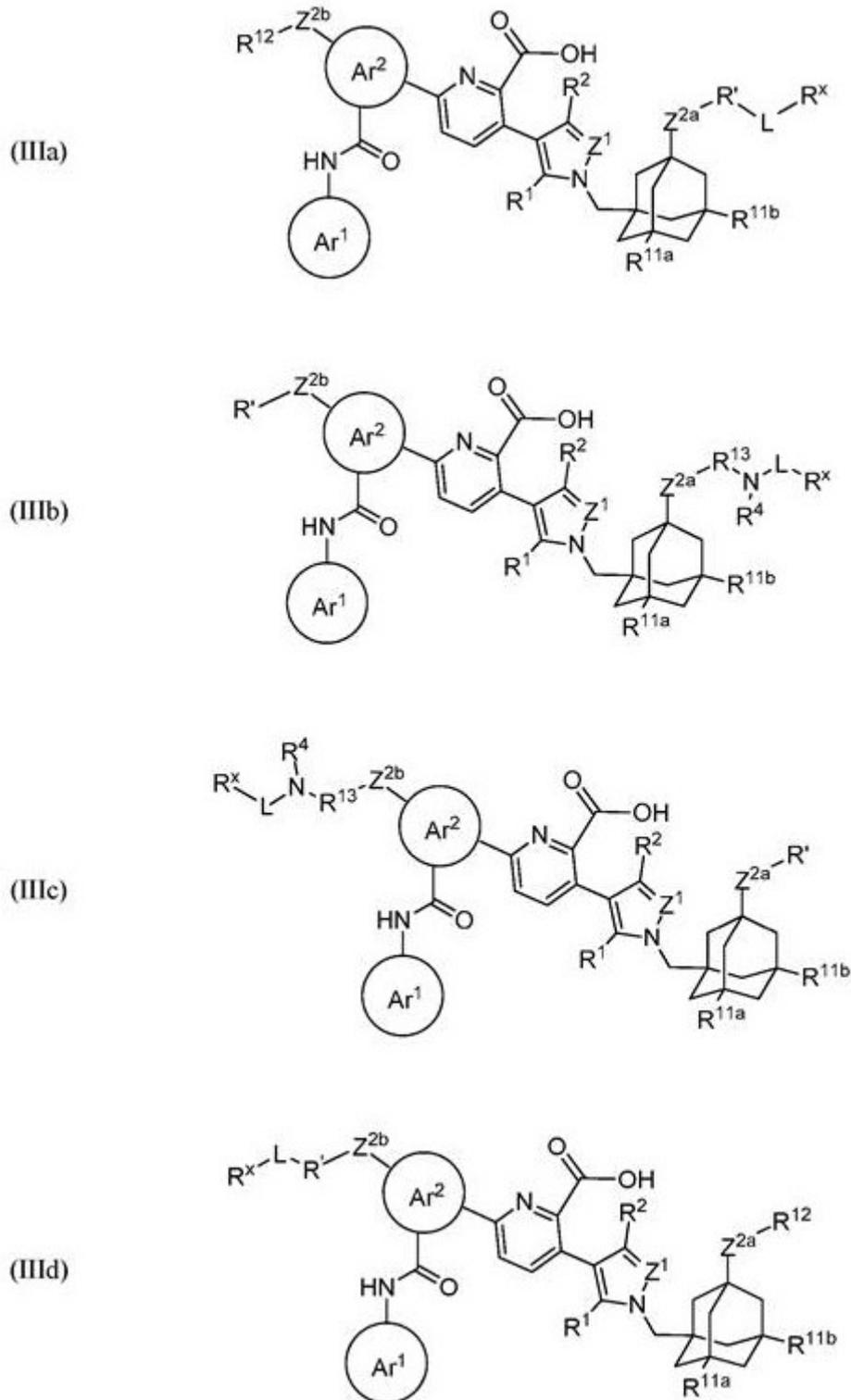




[0032] 在另一个方面,本公开提供了用于合成本文所描述的ADC的中间体合成子,以及合成ADC的方法。所述中间体合成子通常包含与连接子部分连接的Bcl-xL抑制剂,所述连接子部分包括能够连接合成子与抗体的官能团。合成子通常是按照下面结构式(III)的化合物,或其盐,其中D是本文先前所描述的Bcl-xL抑制剂,L是先前所描述的连接子, R^x 含有能够使合成子与抗体上的互补官能团缀合的官能团:



[0033] 在某些具体实施方案中,中间体合成子是按照下面结构式(IIIa)、(IIIb)、(IIIc)和(IIId)的化合物,或其盐,其中各个取代基 Ar^1 、 Ar^2 、 Z^1 、 Z^{2a} 、 Z^{2b} 、 R' 、 R^1 、 R^2 、 R^4 、 R^{11a} 、 R^{11b} 、 R^{12} 和 R^{13} 分别如先前结构式(IIa)、(IIb)、(IIc)和(IIId)所定义,L是先前所描述的连接子, R^x 是上述官能团:



[0034] 为了合成ADC,在官能团 R^x 与抗体上的互补官能团反应形成共价键的条件下,使按照结构式(III)或(IIIa)-(III d)的中间体合成子或其盐与感兴趣的抗体接触。基团 R^x 的特征取决于目标偶合化学,以及合成子连接的抗体上的互补基团。适合于将分子与抗体缀合的许多基团在本领域是已知的。这些基团中的任何基团可以适合于 R^x 。非限制性的示例性官能团(R^x)包括NHS-酯、马来酰亚胺、卤代乙酰基、异硫氰酸酯、乙烯基砜和乙烯基磺酰胺。在某些实施方案中, R^x 包括选自NHS-酯、马来酰亚胺、卤代乙酰基和异硫氰酸酯的官能团。

[0035] 在另一个方面,本公开提供了包括本文所描述的Bcl-xL抑制剂或ADC的组合物。所述组合物通常包含一或多种本文所描述的Bcl-xL抑制剂或ADC和/或其盐,以及一或多种赋形剂、载体或稀释剂。可以将所述组合物配制为用于药物用途,或其它用途。在一个具体实施方案中,将所述组合物配制为用于药物用途,并且含有按照结构式(IIa)、(IIb)、(IIc)或(IIId)的Bcl-xL抑制剂或其可药用盐,其中#是氢。在另一个实施方案中,将所述组合物配制为用于药物用途,并且含有按照结构式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(IIId)的ADC或其可药用盐,以及一或多种可药用赋形剂、载体或稀释剂。

[0036] 配制为用于药物用途的Bcl-xL抑制性组合物可以是适合于多次给药的散装形式,或可以是适合于单一给药的单位剂量包装形式,例如片剂或胶囊剂。类似地,配制为用于药物用途的ADC组合物也可以是适合于多次给药的散装形式,或可以是适合于单一给药的单位剂量包装形式。无论是散装或单位剂量形式,所述ADC组合物可以是干燥组合物,例如冷冻干燥物,或液体组合物。可以将单位剂量液体ADC组合物方便地包装为预先充满适合于单次给药数量的ADC的注射器形式。

[0037] 在另一个方面,本公开提供了抑制抗凋亡Bcl-xL蛋白的方法。所述方法通常包括:在抗体结合靶细胞上的抗原的条件下,使本文所描述的ADC,例如,按照结构式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)的ADC,或其盐,与表达或超表达Bcl-xL的靶细胞以及ADC的抗体的抗原接触。取决于抗原,ADC可以被内化于靶细胞中。可以在抑制Bcl-xL活性的细胞试验中体外进行所述方法,或作为治疗需要抑制Bcl-xL活性的疾病的治疗途径来体内进行。所述方法还可以包括:使表达或过度表达Bcl-xL的细胞与Bcl-xL抑制剂或其盐接触,例如,按照结构式(IIa)、(IIb)、(IIc)或(IIId)的抑制剂,其中#是氢。

[0038] 在另一个方面,本公开提供了在细胞中诱导细胞程序死亡的方法。所述方法通常包括:在抗体结合靶细胞上的抗原的条件下,使本文所描述的ADC,例如,按照结构式(Ia)、(Ib)、(Ic)或(Id)的ADC,或其盐,与表达或超表达Bcl-xL的靶细胞以及ADC的抗体的抗原接触。取决于抗原,ADC可以被内化于靶细胞中。可以在诱导细胞程序死亡的细胞试验中体外进行所述方法,或作为治疗疾病的治疗途径来体内进行,其中,在具体细胞中诱导细胞程序死亡有益于治疗所述疾病。所述方法还可以包括:使表达或过度表达Bcl-xL的细胞与Bcl-xL抑制剂或其盐接触,例如,按照结构式(IIa)、(IIb)、(IIc)或(IIId)的抑制剂,其中#是氢。

[0039] 在又一个方面,本公开提供了治疗疾病的方法,在所述疾病中,需要抑制Bcl-xL和/或诱导细胞程序死亡。正如在详细说明部分中更充分讨论的那样,多种疾病至少部分地由失调的细胞程序死亡所介导、至少部分地由抗凋亡Bcl-xL蛋白的表达或超表达所介导。可以用本文所描述的Bcl-xL抑制剂或ADC来治疗或改善这些疾病中的任何疾病。

[0040] 所述方法包括:给予患有至少部分地由Bcl-xL的表达或超表达所介导的疾病的患者能够有效提供治疗益处数量的本文所描述的Bcl-xL抑制剂或ADC。对于ADC,所给予的ADC的抗体的特征取决于所治疗的疾病。本文所描述的Bcl-xL抑制剂和ADC获得的治疗益处也取决于所治疗的疾病。在某些情况下,当以单一疗法给予时,Bcl-xL抑制剂或ADC可以治疗或改善具体疾病。在其它情况下,Bcl-xL抑制剂或ADC可以是整个治疗方案的一部分,所述治疗方案包括其它药剂,以及Bcl-xL抑制剂或ADC,用于治疗或改善疾病。

[0041] 例如,Bcl-xL的表达水平升高,与癌症中的化学疗法和放射治疗的耐受性有关(Datta等人,1995, *Cell Growth Differ* 6:363-370;Amundson等人,2000, *Cancer Res*

60:6101-6110;Haura等人,2004, *Clin Lung Cancer*6:113-122)。在治疗癌症的背景下,本文公开的数据证明,ADC可以有效作为单一疗法,或当辅助其它靶向或非靶向的化学治疗剂和/或放射治疗给予或与它们一起给予时,ADC也是有效的。尽管不受任何工作原理束缚,但人们相信,在对于靶向或非靶向化学和/或放射治疗具有耐受性的肿瘤中,用本文所描述的Bcl-xL抑制剂和ADC抑制Bcl-xL活性,可以使肿瘤“敏感”,这样就可以使肿瘤再次对化学治疗剂和/或放射疗法敏感。某些实施方案涉及使肿瘤对于标准细胞毒素药剂和/或放射疗法敏感的方法,所述方法包括:使肿瘤与有效数量的使肿瘤细胞对于标准细胞毒素药剂和/或放射疗法敏感、能够结合肿瘤的本文所描述的ADC接触。另一个实施方案涉及使肿瘤对于标准细胞毒素药剂和/或放射疗法敏感的方法,所述方法包括:使肿瘤与有效数量的使肿瘤细胞对于标准细胞毒素药剂和/或放射疗法敏感、能够结合肿瘤的ADC接触,其中,肿瘤对于标准细胞毒素药剂和/或放射疗法变得耐受。另一个实施方案涉及使肿瘤对于标准细胞毒素药剂和/或放射疗法敏感的方法,所述方法包括:使肿瘤与有效数量的使肿瘤细胞对于标准细胞毒素药剂和/或放射疗法敏感、能够结合肿瘤的ADC接触,其中,肿瘤以前没有接触过标准细胞毒素药剂和/或放射治疗。

[0042] 相应地,在治疗癌症的背景下,“治疗益处”包括给予还没有开始化学和/或放射治疗方案或对于化学和/或放射治疗方案显示出耐受性(或怀疑或变得耐受性)的患者本文所描述的Bcl-xL抑制剂和ADC作为靶向或非靶向化学治疗剂和/或放射治疗的辅助治疗,或与它们一起给予所述患者,作为使肿瘤对于化学和/或放射治疗敏感的方法。

[0043] ADC提供了递送难以用非缀合形式递送的Bcl-xL抑制剂的方法。由于它们的低细胞渗透性,一旦进入细胞内部,Bcl-xL抑制剂不大可能从细胞当中“渗漏”出来。

[0044] 4. 详细说明

本公开涉及细胞渗透性低的Bcl-xL抑制剂、包含所述抑制剂的ADC、用于合成所述ADC的合成子、含有所述抑制剂或ADC的组合物以及使用所述抑制剂和ADC的各种方法。

[0045] 正如技术人员所理解的那样,本文公开的ADC性质上是“模块化的”。在整个本发明公开中,描述了包含ADC的各个“模块”以及用于合成ADC的合成子的各个具体实施方案。作为具体非限制性实施例,描述了抗体、连接子以及可以包含ADC和合成子的Bcl-xL抑制剂的具体实施方案。所描述的所有具体实施方案可以彼此组合,就好像单独明确地描述每个具体组合一样。

[0046] 技术人员也可以理解,本文描述的各种Bcl-xL抑制剂、ADC和/或ADC合成子可以是盐形式,在某些实施方案中,尤其是可药用盐。具有充分酸性官能团、充分碱性官能团或两种官能团的本公开的化合物,可以与许多无机碱、无机酸和有机酸反应,形成盐。或者,固有带电荷的化合物,例如具有季氮的那些化合物,可以与合适的反离子(例如,卤素,例如,溴、氯或氟)形成盐。

[0047] 形成酸加成盐通常所使用的酸是无机酸,例如盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、磷酸,等等;以及有机酸,例如对甲苯磺酸、甲磺酸、草酸、对溴苯基-磺酸、碳酸、琥珀酸、柠檬酸,等等。碱加成盐包括衍生自无机碱的那些盐,例如铵和碱金属或碱土金属氢氧化物、碳酸盐、碳酸氢盐,等等。

[0048] 在下面的公开内容中,如果包括结构图和命名两者,并且如果命名与结构图不一致,则以结构图为准。

[0049] 4.1. 定义

除非本文另外定义,否则,与本公开结合使用的科学和技术术语具有本领域普通技术人员所通常理解的含义。

[0050] 下面定义了各种化学取代基。在有些情况下,取代基(例如,烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、杂芳基和芳基)中的碳原子数目是通过前缀“C_x-C_y”表示的,其中,x是取代基中的碳原子的最小数目,y是取代基中的碳原子的最大数目。由此,例如,“C₁-C₆烷基”是指含有1至6个碳原子的烷基。进一步举例说明,“C₃-C₈环烷基”是指含有3至8个碳环原子的饱和烷基环。

[0051] 如果取代基被描述为“取代的”,则碳或氮上的氢原子被非氢基团代替。例如,取代的烷基取代基是烷基上的至少一个氢原子被非氢基团代替。举例说明,单氟烷基是被氟基团取代的烷基,二氟烷基是被两个氟基团取代的烷基。应该认识到,如果在取代基上有一个以上的取代,则每个取代可以相同或不同(除非另有说明)。如果取代基被描述为“任选取代的”,则该取代基可以:(1)没有被取代,或(2)被取代。可能的取代基包括但不限于:C₁-C₆烷基、C₂-C₆烯基、C₂-C₆炔基、芳基、环烷基、杂环基、杂芳基、卤素、C₁-C₆卤代烷基、氧代、CN、NO₂、OR^{xa}、OC(O)R^z、OC(O)N(R^{xa})₂、SR^{xa}、S(O)₂R^{xa}、S(O)₂N(R^{xa})₂、C(O)R^{xa}、C(O)OR^{xa}、C(O)N(R^{xa})₂、C(O)N(R^{xa})S(O)₂R^z、N(R^{xa})₂、N(R^{xa})C(O)R^z、N(R^{xa})S(O)₂R^z、N(R^{xa})C(O)O(R^z)、N(R^{xa})C(O)N(R^{xa})₂、N(R^{xa})S(O)₂N(R^{xa})₂、(C₁C₆亚烷基)CN、(C₁C₆亚烷基)OR^{xa}、(C₁C₆亚烷基)OC(O)R^z、(C₁C₆亚烷基)OC(O)N(R^{xa})₂、(C₁C₆亚烷基)SR^{xa}、(C₁C₆亚烷基)S(O)₂R^{xa}、(C₁C₆亚烷基)S(O)₂N(R^{xa})₂、(C₁-C₆亚烷基)C(O)R^{xa}、(C₁C₆亚烷基)C(O)OR^{xa}、(C₁C₆亚烷基)C(O)N(R^{xa})₂、(C₁C₆亚烷基)C(O)N(R^{xa})S(O)₂R^z、(C₁C₆亚烷基)N(R^{xa})₂、(C₁C₆亚烷基)N(R^{xa})C(O)R^z、(C₁C₆亚烷基)N(R^{xa})S(O)₂R^z、(C₁C₆亚烷基)N(R^{xa})C(O)O(R^z)、(C₁C₆亚烷基)N(R^{xa})C(O)N(R^{xa})₂或(C₁C₆亚烷基)N(R^{xa})S(O)₂N(R^{xa})₂;其中,R^{xa}在每次出现时独立地是氢、芳基、环烷基、杂环基、杂芳基、C₁-C₆烷基或C₁-C₆卤代烷基;R^z在每次出现时独立地是芳基、环烷基、杂环基、杂芳基、C₁-C₆烷基或C₁-C₆卤代烷基。

[0052] 在本文一些实施方案中,参考包括取代基团的结构式,描述各种Bc1-xL抑制剂、ADC和合成子。可以理解,含有取代基的各个基团可以根据化合价和稳定性来进行组合。本公开所设想的取代基和变量的组合,只是能够形成稳定化合物的那些组合。本文使用的术语“稳定”是指具有足够制备稳定性,并且在足够的时间内保持化合物的完整性,可有效用于本文说明的目的的化合物。

[0053] 本文使用的下列术语具有下列含义:

术语“烷氧基”是指式-OR_a的基团,其中,R_a是烷基。代表性的烷氧基包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、叔丁氧基,等等。

[0054] 术语“烷氧基烷基”是指被烷氧基取代的烷基,并且可以由通式-R^bOR^a代表,其中,R^b是亚烷基,R^a是烷基。

[0055] 单独或作为另一个取代基的一部分的术语“烷基”,是指饱和或不饱和的支链、直链或环状一价烷基,它是从母体烷、烯或炔烃的单个碳原子上除去一个氢原子所产生的。典型的烷基包括但不限于:甲基;乙基(ethyls),例如,乙烷基(ethanyl)、乙烯基、乙炔基;丙基(propyls),例如,丙-1-基、丙-2-基、环丙-1-基、丙-1-烯-1-基、丙-1-烯-2-基、丙-2-烯-1-基、环丙-1-烯-1-基;环丙-2-烯-1-基、丙-1-炔-1-基、丙-2-炔-1-基、等等;丁基

(butanyls), 例如丁-1-基、丁-2-基(仲丁基)、2-甲基-丙-1-基(异丁基)、2-甲基-丙-2-基(叔丁基)、环丁烷-1-基、丁-1-烯-1-基、丁-1-烯-2-基、2-甲基-丙-1-烯-1-基、丁-2-烯-1-基、丁-2-烯-2-基、丁-1,3-二烯-1-基、丁-1,3-二烯-2-基、环丁-1-烯-1-基、环丁-1-烯-3-基、环丁-1,3-二烯-1-基、丁-1-炔-1-基、丁-1-炔-3-基、丁-3-炔-1-基,等;等等。如果指定具体的饱和水平,则使用下面定义的“烷基”、“烯基”和/或“炔基”。术语“低级烃基”是指具有1至6个碳的烃基。

[0056] 单独或作为另一个取代基的一部分的术语“烷基”,是指饱和的支链、直链或环状烃基,它是从母体烷烃的单个碳原子上除去一个氢原子所产生的。典型的烷基包括但不局限于:甲基;乙烷基(ethanyl);丙烷基(propanyls),例如,丙-1-基、丙-2-基(异丙基)、环丙-1-基,等等;丁基,例如,丁-1-基、丁-2-基(仲丁基)、2-甲基-丙-1-基(异丁基)、2-甲基-丙-2-基(叔丁基)、环丁-1-基,等;等等。

[0057] 单独或作为另一个取代基的一部分的术语“烯基”,是指具有至少一个碳-碳双键的不饱和的支链、直链或环状烃基,它是从母体烯烃的单个碳原子上除去一个氢原子所产生的。典型的烯基包括但不局限于:乙烯基;丙烯基,例如,丙-1-烯-1-基、丙-1-烯-2-基、丙-2-烯-1-基、丙-2-烯-2-基、环丙-1-烯-1-基;环丙-2-烯-1-基;丁烯基例如丁-1-烯-1-基、丁-1-烯-2-基、2-甲基-丙-1-烯-1-基、丁-2-烯-1-基、丁-2-烯-2-基、丁-1,3-二烯-1-基、丁-1,3-二烯-2-基、环丁-1-烯-1-基、环丁-1-烯-3-基、环丁-1,3-二烯-1-基,等;等等。

[0058] 单独或作为另一个取代基的一部分的术语“炔基”,是指具有至少一个碳-碳三键的不饱和的支链、直链或环状烃基,它是从母体炔烃的单个碳原子上除去一个氢原子所产生的。典型的炔基包括但不局限于:乙炔基;丙炔基,例如,丙-1-炔-1-基、丙-2-炔-1-基,等等;丁炔基,例如,丁-1-炔-1-基、丁-1-炔-3-基、丁-3-炔-1-基,等;等等。

[0059] 术语“烃基胺”是指式-NHR_a的基团,“二烃基胺”是指式-NR^aR^a的基团,其中,每个R^a彼此独立地是烃基。

[0060] 术语“亚烃基”是指具有两个端部单价基团核心的烷烃、烯烃或炔烃基团,其是从两个端部碳原子的每个碳原子上除去一个氢原子所产生的。典型的亚烃基包括但不局限于:亚甲基;以及饱和或不饱和的亚乙基;亚丙基;亚丁基;等等。术语“低级亚烃基”是指具有1至6个碳的亚烃基。

[0061] 术语“芳基”是指含有6至14个碳环原子的芳香碳环基。芳基可以是单环或多环的(即,可以含有一个以上的环)。在多环芳环的情况下,只要求多环系统中的一个环是芳香环,而其余的环可以是饱和、部分饱和或不饱和环。芳基的例子包括苯基、萘基、茚基、茚满基和四氢萘基。

[0062] 术语“亚芳基”是指具有两个单价基团核心的芳基,其是从两个环碳的每个碳上除去一个氢原子所产生的。示范性的亚芳基是亚苯基。

[0063] 烃基可以被“羰基”取代,是指除去单个亚烃基碳原子上的两个氢原子,并且用与氧原子连接的双键代替。

[0064] 前缀“卤代”表示:包括该前缀的取代基被一个或多个独立选择的卤素基团取代。例如,卤代烃基是指至少一个氢被卤素基团代替的烃基取代基。典型的卤素基团包括氯、氟、溴和碘。卤代烃基的例子包括氯甲基、1-溴乙基、氟甲基、二氟甲基、三氟甲基和1,1,1-三氟乙基。应该认识到,如果取代基被一个以上的卤素基团取代,则那些卤素基团可以相同

或不同(除非另有说明)。

[0065] 术语“卤代烷氧基”是指式 $-OR^c$ 的基团,其中, R^c 是卤代烷基。

[0066] 术语“杂烷基”(heteroalkyl)、“杂烷基”、“杂烯基”、“杂炔基”和“杂亚烷基”(heteroalkylene)分别指的是烷基、烯基、炔基和亚烷基基团,其中的一个或多个碳原子,例如,1、2或3个碳原子,各自独立地被相同或不同的杂原子或杂原子的基团代替。可以替代碳原子的典型的杂原子和/或杂原子基团包括但不限于: $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S-O-$ 、 $-NR^c-$ 、 $-PH-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)NR^c-$ 、 $-S(O)_2NR^c-$,等等,包括其组合,其中每个 R^c 独立地是氢或 C_1-C_6 烷基。术语“低级杂烷基”是指具有1至4个碳原子和1至3个杂原子的杂烷基。术语“低级杂亚烷基”是指具有1至4个碳原子和1至3个杂原子的亚烷基。

[0067] 术语“环烷基”和“杂环基”分别指的是“烷基”和“杂烷基”的环状形式。对于杂环基,杂原子可以占据与分子的其余部分连接的位置。环烷基或杂环基可以是单个环(单环)或具有两个或多个环(双环或多环)。

[0068] 单环环烷基和杂环基通常含有3至7个环原子,更通常含有3至6个环原子,且更通常含有5至6个环原子。环烷基的实例包括但不限于:环丙基;环丁基(cyclobutyls),例如环丁烷基和环丁烯基;环戊基(cyclopentyls),例如环戊烷基和环戊烯基;环己基(cyclohexyls),例如环己烷基和环己烯基;等等。单环杂环基的例子包括但不限于:氧杂环丁烷、呋喃基、二氢呋喃基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、噻吩基(硫呋喃基)、二氢噻吩基、四氢噻吩基、吡咯基、吡咯啉基、吡咯烷基、咪唑基、咪唑啉基、咪唑烷基、吡啶基、吡啶啉基、吡啶烷基、三唑基、四唑基、噁唑基、噁唑烷基、异噁唑啉基、异噁唑基、噻唑基、异噻唑基、噻唑啉基、异噻唑啉基、噻唑烷基、异噻唑烷基、噻二唑基、噁二唑基(包括1,2,3-噁二唑基、1,2,4-噁二唑基、1,2,5-噁二唑基(呋咱基)或1,3,4-噁二唑基)、噁三唑基(包括1,2,3,4-噁三唑基或1,2,3,5-噁三唑基)、二噁唑基(包括1,2,3-二噁唑基、1,2,4-二噁唑基、1,3,2-二噁唑基或1,3,4-二噁唑基)、1,4-二噁烷基、二氧化硫吗啉基、噁噻唑基、氧硫杂环戊烯基、氧硫杂环戊烷基、吡喃基、二氢吡喃基、硫吡喃基、四氢硫吡喃基、吡啶基(吡嗪基)、哌啶基、二吡嗪基(包括吡嗪基(1,2-二吡嗪基)、啉基(1,3-二吡嗪基)或吡嗪基(1,4-二吡嗪基))、哌嗪基、三嗪基(包括1,3,5-三嗪基、1,2,4-三嗪基和1,2,3-三嗪基)、噁嗪基(包括1,2-噁嗪基、1,3-噁嗪基或1,4-噁嗪基)、噁噻嗪基(包括1,2,3-噁噻嗪基、1,2,4-噁噻嗪基、1,2,5-噁噻嗪基或1,2,6-噁噻嗪基)、噁二嗪基(包括1,2,3-噁二嗪基、1,2,4-噁二嗪基、1,4,2-噁二嗪基或1,3,5-噁二嗪基)、吗啉基、氮杂卓基、氧杂环庚烯基、硫杂环庚烯基、二氮杂卓基、吡啶酮基(包括吡啶-2(1H)-酮基和吡啶-4(1H)-酮基)、呋喃-2(5H)-酮基、嘧啶酮基(包括嘧啶-2(1H)-酮基和嘧啶-4(3H)-酮基)、噁唑-2(3H)-酮基、1H-咪唑-2(3H)-酮基、哒嗪-3(2H)-酮基和吡嗪-2(1H)-酮基。

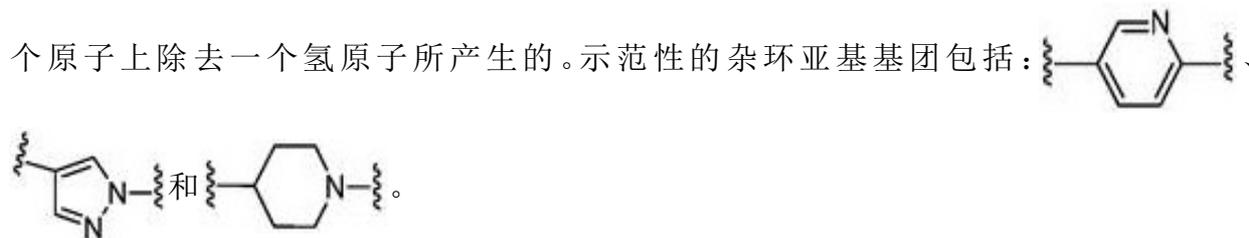
[0069] 多环环烷基和杂环基含有一个以上的环,双环环烷基和杂环基含有两个环。环可以是桥接的、稠合的或螺取向的。多环环烷基和杂环基可以包括桥环、稠合环和/或螺环的组合形式。在螺环环烷基或杂环基中,两个不同的环共用一个原子。螺环烷基的实例是螺[4.5]癸烷,螺杂环基的实例是螺二氢吡啶。

[0070] 在桥接的环烷基或杂环基中,环共享至少两个常规非相邻的原子。桥接的环烷基的实例包括但不限于:金刚烷基和降冰片基环。桥接的杂环基的实例包括但不限于:2-氧杂三环[3.3.1.1^{3,7}]癸基。

[0071] 在稠合的环烷基或杂环基中,两个或多个环稠合在一起,使得两个环共享一个普通键。稠合环环烷基的实例包括十氢化萘、亚萘基、四氢萘和蒽。含有两个或三个环的稠合环杂环基的例子包括:咪唑并吡嗪基(包括咪唑并[1,2-a]吡嗪基)、咪唑并吡啶基(包括咪唑并[1,2-a]吡啶基)、咪唑并哒嗪基(包括咪唑并[1,2-b]哒嗪基)、噻唑并吡啶基(包括噻唑并[5,4-c]吡啶基、噻唑并[5,4-b]吡啶基、噻唑并[4,5-b]吡啶基和噻唑并[4,5-c]吡啶基)、茛嗪基、吡喃并吡咯基、4H-喹嗪基、嘌呤基、萘啶基、吡啶并吡啶基(包括吡啶并[3,4-b]-吡啶基、吡啶并[3,2-b]-吡啶基或吡啶并[4,3-b]-吡啶基)和喹啶基。稠合环杂环基的其它实例包括:苯并稠合的杂环基,例如,二氢色烯基、四氢异喹啉基、吲哚基、异吲哚基(异苯并吲哚基、假异氮茛基)、假吲哚基(异氮杂茛基)、异吲哚基(苯基吡啶基)、苯并吲嗪基(包括喹啉基(1-苯并吲嗪基)或异喹啉基(2-苯并吲嗪基))、酞嗪基、喹啉基、喹唑啉基、苯并二吲嗪基(包括噌琳基(1,2-苯并二吲嗪基)或喹唑啉基(1,3-苯并二吲嗪基))、苯并吡喃基(包括苯并二氢吡喃基或异苯并二氢吡喃基)、苯并噁嗪基(包括1,3,2-苯并噁嗪基、1,4,2-苯并噁嗪基、2,3,1-苯并噁嗪基或3,1,4-苯并噁嗪基)、苯并[d]噻唑基和苯并异噻唑基(包括1,2-苯并异噻唑基或1,4-苯并异噻唑基)。

[0072] 术语“杂芳基”是指含有5至14个环原子的芳香杂环基。杂芳基可以是单环或2或3个稠环。杂芳基的实例包括6元环,例如,吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、哒嗪基和1,3,5-、1,2,4-或1,2,3-三嗪基;5元环取代基,例如,三唑基、吡咯基、咪唑基、呋喃基、噻吩基、吡唑基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、1,2,3-、1,2,4-、1,2,5-或1,3,4-噁二唑基和异噻唑基;6/5元稠环取代基,例如,咪唑并吡嗪基(包括咪唑并[1,2-a]吡嗪基)咪唑并吡啶基(包括咪唑并[1,2-a]吡啶基)、咪唑并哒嗪基(包括咪唑并[1,2-b]哒嗪基)、噻唑并吡啶基(包括噻唑并[5,4-c]吡啶基、噻唑并[5,4-b]吡啶基、噻唑并[4,5-b]吡啶基和噻唑并[4,5-c]吡啶基)、苯并[d]噻唑基、苯并硫呋喃基、苯并异噻唑基、苯并噻唑基、嘌呤基和苯邻甲内酰胺基;以及6/6元稠环,例如,苯并吡喃基、喹啉基、异喹啉基、噌琳基、喹唑啉基和苯并噁嗪基。杂芳基也可以是具有芳香($4N+2\pi$ 电子)共振部分的杂环,例如,吡啶酮基(包括吡啶-2(1H)-酮基和吡啶-4(1H)-酮基)、嘧啶酮基(包括嘧啶-2(1H)-酮基和嘧啶-4(3H)-酮基)、哒嗪-3(2H)-酮基和吡嗪-2(1H)-酮基。

[0073] 术语“杂环亚基”是指具有两个单价基团中心的杂环基团,其是从两个环原子的每个原子上除去一个氢原子所产生的。示范性的杂环亚基基团包括:



[0074] 本文使用的术语“磺酸盐或酯(sulfonate)”是指磺酸的盐或酯。

[0075] 本文使用的术语“磺酸甲酯”是指磺酸的甲基酯。

[0076] 本文使用的术语“羧酸盐或酯(carboxylate)”是指羧酸的盐或酯。

[0077] 本文使用的术语“多元醇”是指独立地包含两个以上羟基或作为单体单元的一部分的基团。多元醇包括但不限于:还原的 C_2 - C_6 碳水化合物、乙二醇和丙三醇。

[0078] 当在“G”、“G¹”、“G^a”、“G^b”和“R”的背景下使用时,术语“糖”包括单糖和二糖类的O-糖苷、N-糖苷、S-糖苷和C-糖苷(C-glycosyl)碳水化合物衍生物,并且可以来源于天然

存在的来源,或可以合成。例如,当在“G”、“G¹”、“G^a”、“G^b”和“R”的背景下使用时,“糖”包括衍生物,例如但不局限于:衍生自葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸、半乳糖和葡萄糖的衍生物,还有其它的衍生物。合适的糖取代基包括但不局限于:羟基、胺、羧酸、磺酸、磷酸、酯和醚。

[0079] 术语“NHS酯”是指羧酸的N-羟基琥珀酰亚胺酯衍生物。

[0080] 当在“G”、“G^a”、“G^b”和“R”的背景下使用时,术语“胺”包括伯、仲和叔脂肪胺,包括环状形式,其含有足够碱性的氮原子,使得它的共轭酸的pKa大于或等于大约7。当在“G”、“G^a”、“G^b”和“R”的背景下使用时,术语“胺”还包括胍(guanidine)部分, -NHC(NH₂)₂。

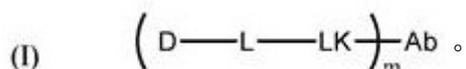
[0081] 当在“G”、“G^a”、“G^b”和“R”的背景下使用时,术语“盐”包括但不局限于:季铵阳离子和它们的相关的反离子,两性离子,其内部携带阳性和阴性电荷,但整体是中性的,以及偶极部分,例如,氧化胺,其携带形式电荷。

[0082] 当在“或其盐”的背景下使用时,术语“盐”包括通常用于形成碱金属盐的盐、形成游离酸或游离碱的加成盐的盐。通常,这些盐典型地可以利用常规方法制备,例如,通过合适的酸或碱与本发明化合物的反应来制备。

[0083] 如果预定给予患者盐(例如,与上下文的体外使用相对),优选,盐是可药用和/或生理学相容的盐。在本专利申请中,作形容词用的术语“可药用”是指其所修饰的名词适于用作药物产品或作为药物产品的一部分。术语“可药用盐”包括通常用于形成碱金属盐和形成游离酸或游离碱的加成盐的盐。通常,这些盐典型地可以利用常规方法制备,例如,通过合适的酸或碱与本发明化合物的反应来制备。

[0084] 4.2. 示范性的实施方案

正如概述所提到的那样,本公开的一个方面涉及细胞渗透性低的Bcl-xL抑制剂,以及包含Bcl-xL抑制剂的ADC,其中,所述抑制剂通过连接子与抗体连接。在具体实施方案中,ADC是按照下面结构式(I)的化合物,或其盐,其中,Ab代表抗体,D代表Bcl-xL抑制剂(药物),L代表连接子,LK代表在连接子L上的反应性官能团和抗体Ab上的互补官能团之间形成的连接基,m代表与抗体连接的D-L-LK单元的数目:



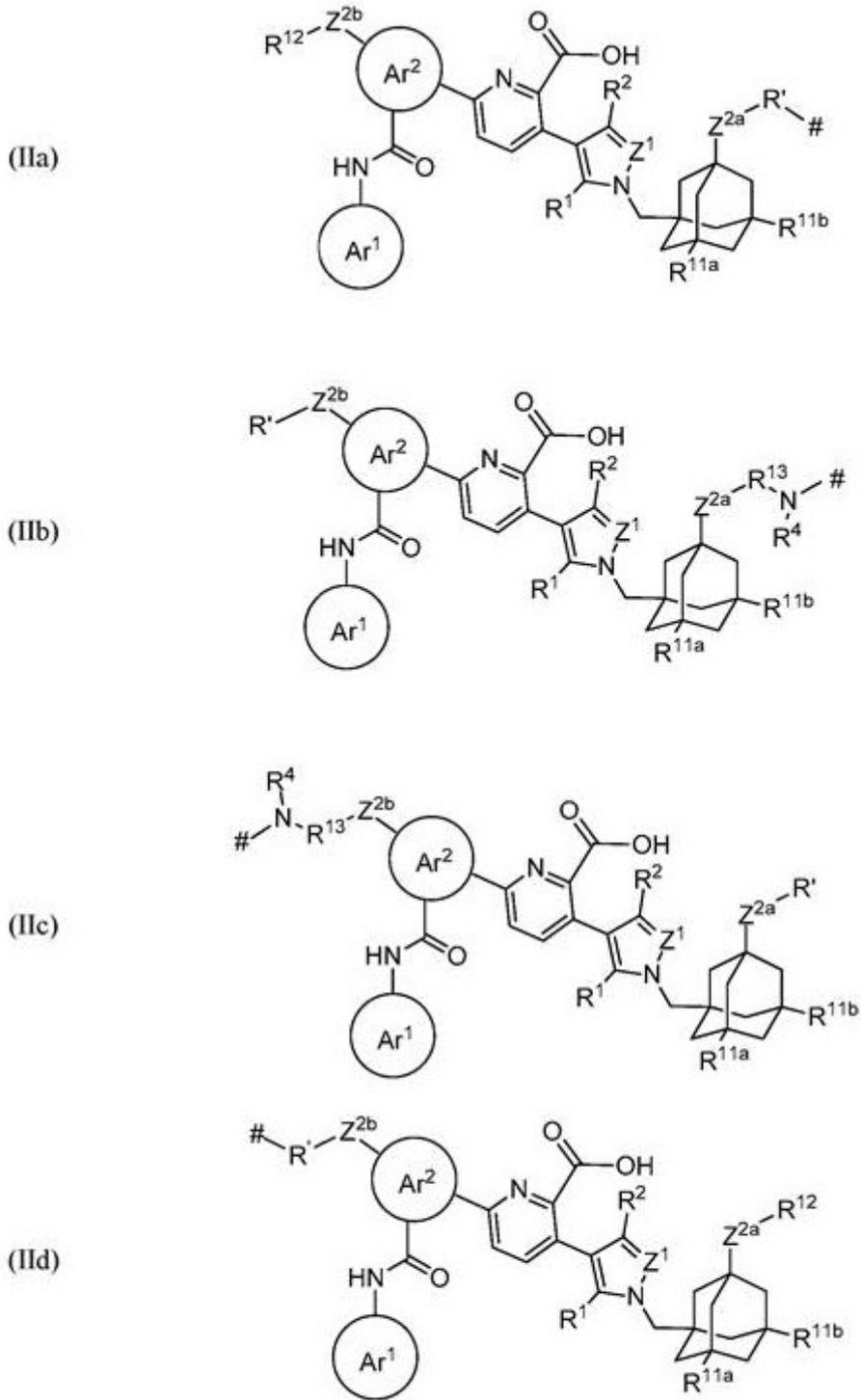
[0085] 下面更详细地描述各种Bcl-xL抑制剂自身以及可以包含于本文所描述的ADC的各种Bcl-xL抑制剂(D)、连接子(L)和抗体(Ab),以及与ADC连接的Bcl-xL抑制剂的数量的具体实施方案。

[0086] 4.3. BCL-XL抑制剂

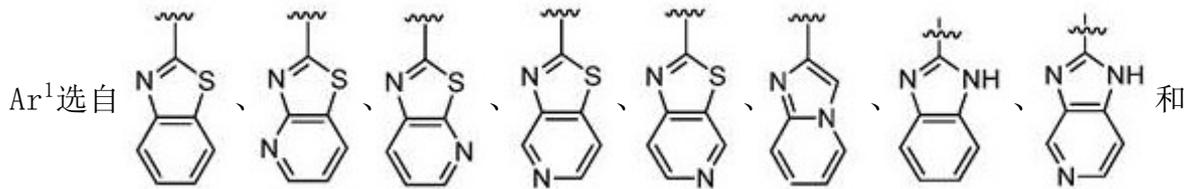
本公开的一个方面涉及细胞渗透性低的Bcl-xL抑制剂。所述化合物性质上通常是杂环化合物,并且包括一个或多个增溶基,所述增溶基能够使所述化合物具有高水溶性和低的细胞渗透性。增溶基通常是能够氢键合、形成偶极-偶极相互作用的基团,和/或,包括含有1至30个单元的聚乙二醇聚合物、一或多种多元醇、一或多种盐或一个或多个在生理pH值下带电荷的基团。

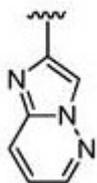
[0087] 在本文所描述的各个方法中,所述Bcl-xL抑制剂可以以化合物或盐本身形式使用,或可以作为ADC的组成部分。

[0088] 可以以非缀合形式使用的、或可以作为ADC的一部分的Bcl-xL抑制剂的具体实施方案包括按照结构式(IIa)、(IIb)、(IIc)或(IId)的化合物:



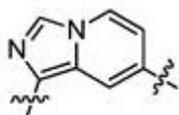
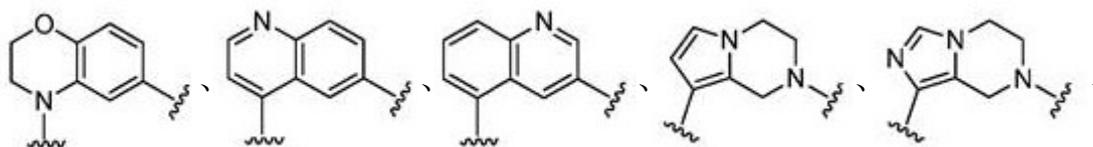
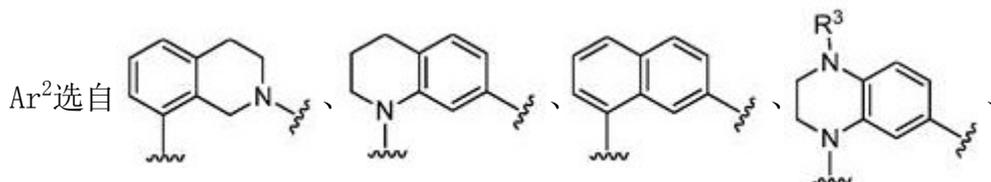
或其盐,其中:





,并且任选被一个或多个独立地选自卤素、羟基、硝基、低级烷基、低级杂烷基、烷氧

基、氨基、氰基和卤代甲基的取代基取代;



,并且任选被一个或多个独立地选自下列的取代基取代:卤素、羟基、硝基、低

级烷基、低级杂烷基、烷氧基、氨基、氰基和卤代甲基,其中,R¹²-Z^{2b}、R'-Z^{2b}、#-N(R⁴)-R¹³-Z^{2b}或#-R'-Z^{2b}取代基在能够被取代的任何Ar²原子处与Ar²连接;

Z¹选自N、CH、C-卤素、C-CH₃和C-CN;

Z^{2a}和Z^{2b}各自彼此独立地选自键、-NR⁶、-CR^{6a}R^{6b}、O、S、S(O)、SO₂、-NR^{6c}(O)-、-NR^{6a}c(O)NR^{6b}-和-NR^{6c}(O)O-;

R'是亚烷基、杂亚烷基、环亚烷基、亚杂环基、芳基或杂芳基,其在一个或多个碳或杂原子处独立地被增溶部分取代,所述增溶部分含有选自下列的基团:多元醇、包含4至30个乙二醇单元的聚乙二醇、盐和在生理pH值下带电荷的基团,以及其组合,其中,在#连接R'的情况下,可以在能够被取代的任何R'原子处与R'相连接;

R¹选自氢、甲基、卤素、卤代甲基、乙基和氰基;

R²选自氢、甲基、卤素、卤代甲基和氰基;

R³选自氢、甲基、乙基、卤代甲基和卤代乙基;

R⁴选自氢、低级烷基和低级杂烷基,或与R¹³的原子一起形成具有3至7个环原子的环烷基或杂环基环;

R⁶、R^{6a}和R^{6b}各自彼此独立地选自氢、任选取代的低级烷基、任选取代的低级杂烷基、任选取代的环烷基和任选取代的杂环基,或与源自R⁴的原子一起和在源自R¹³的原子处形成具有3至7个环原子的环烷基或杂环基环;

R^{11a}和R^{11b}各自彼此独立地选自氢、卤素、甲基、乙基、卤代甲基、羟基、甲氧基、CN和SCH₃;

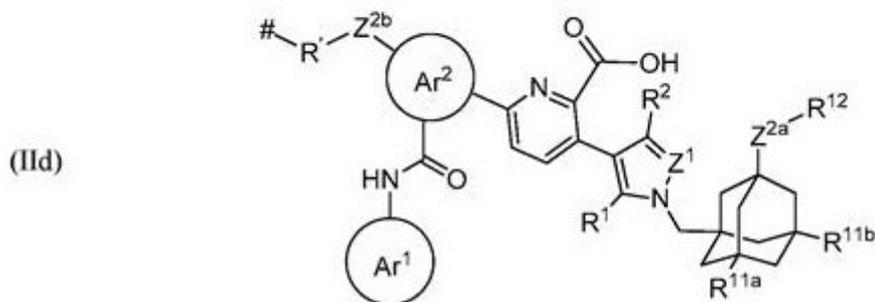
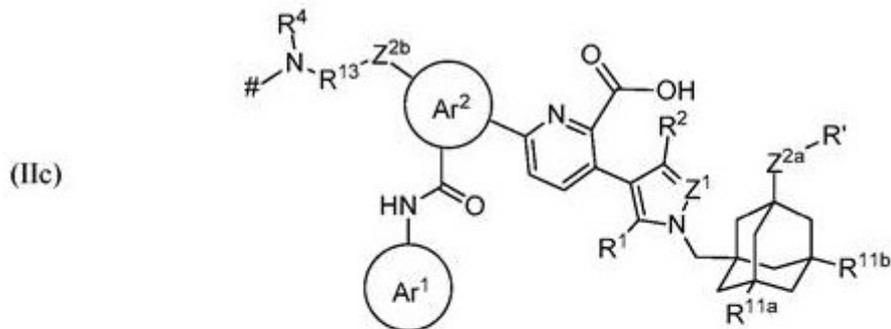
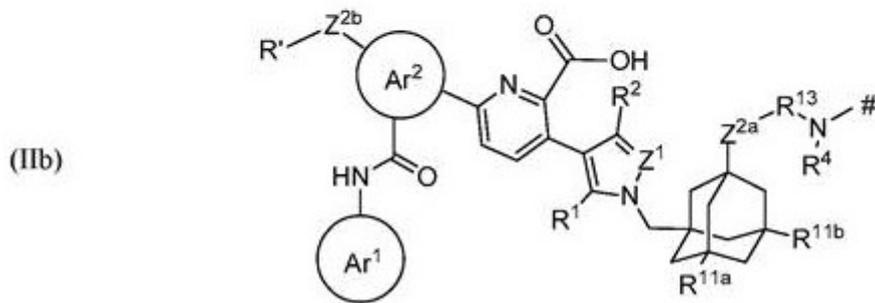
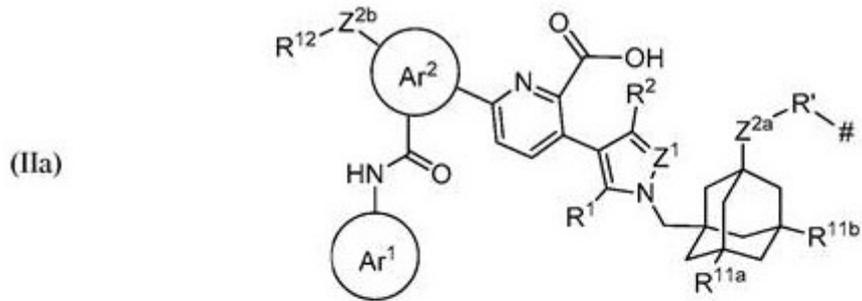
R¹²任选是R',或选自氢、卤素、氰基、任选取代的烷基、任选取代的杂烷基、任选取代的杂环基和任选取代的环烷基;

R¹³选自任选取代的亚烷基、任选取代的杂亚烷基、任选取代的亚杂环基和任选取代的

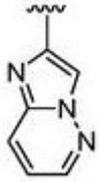
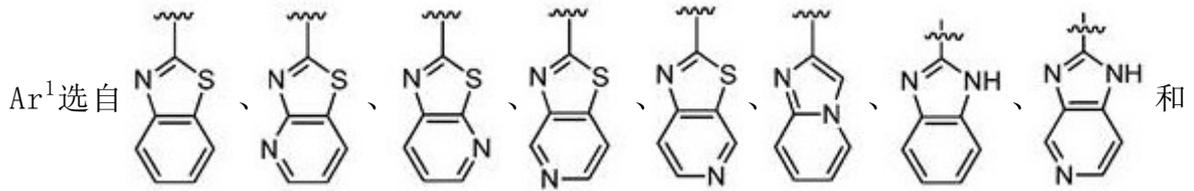
环亚烷基；

#代表与连接子L或氢原子的连接点。

[0089] 可以以非缀合形式使用的、或可以作为ADC的一部分的Bc1-xL抑制剂的一个实施方案包括按照结构式(IIa)、(IIb)、(IIc)或(IId)的化合物：

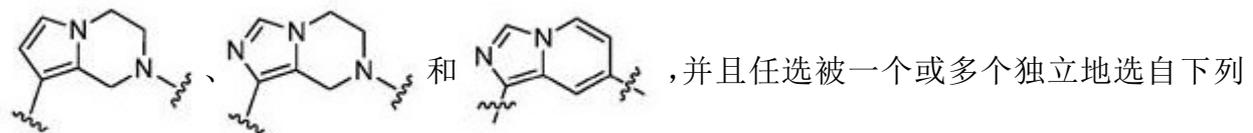
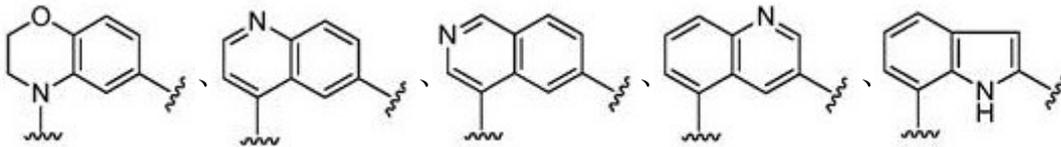
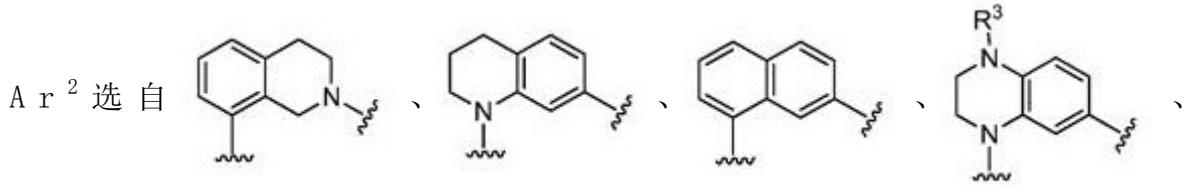


或其盐,其中:



, 并且任选被一个或多个独立地选自卤素、羟基、硝基、低级烷基、低级杂烷基、烷氧

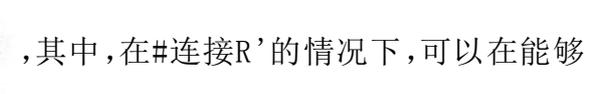
基、氨基、氰基和卤代甲基的取代基取代;



的取代基取代: 卤素、羟基、硝基、低级烷基、低级杂烷基、烷氧基、氨基、氰基和卤代甲基, 其中, R¹²-Z^{2b}-, R'-Z^{2b}-, #-N(R⁴)-R¹³-Z^{2b}或 #-R'-Z^{2b}-取代基在能够被取代的任何Ar²原子处与Ar²连接;

Z¹选自N、CH、C-卤素、C-CH₃和C-CN;

Z^{2a}和Z^{2b}各自彼此独立地选自键、NR⁶、CR^{6a}R^{6b}、O、S、S(O)、SO₂、-NR⁶C(O)-、-NR^{6a}C(O)NR^{6b}-和-NR⁶C(O)O-;

R' 是  或  , 其中, 在#连接R'的情况下, 可以在能够

被取代的任何R'原子处与R'相连接;

X'在每次出现时选自: -N(R¹⁰)-、-N(R¹⁰)C(O)-、-N(R¹⁰)S(O)₂-、-S(O)₂N(R¹⁰)-和-O-;

n选自0-3;

R¹⁰在每次出现时独立地选自氢、烷基、杂环、氨基烷基、G-烷基、杂环和-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-NH₂;

G在每次出现时独立地选自多元醇、4至30个重复单元的聚乙二醇、盐和在生理pH值下带电荷的部分;

SP^a在每次出现时独立地选自氧、-S(O)₂N(H)-、-N(H)S(O)₂-、-N(H)C(O)-、-C(O)N

(H)-、-N(H)-、亚芳基、亚杂环基和任选取代的亚甲基；其中，亚甲基任选被一个或多个-NH(CH₂)₂G、胺、烃基和羰基取代；

m选自0-12；

R¹选自氢、甲基、卤素、卤代甲基、乙基和氰基；

R²选自氢、甲基、卤素、卤代甲基和氰基；

R³选自氢、甲基、乙基、卤代甲基和卤代乙基；

R⁴选自氢、低级烃基和低级杂烃基，或与R¹³的原子一起形成具有3至7个环原子的环烃基或杂环基环；

R⁶、R^{6a}和R^{6b}各自彼此独立地选自氢、任选取代的低级烃基、任选取代的低级杂烃基、任选取代的环烃基和任选取代的杂环基，或与源自R⁴的原子一起和在源自R¹³的原子处形成具有3至7个环原子的环烃基或杂环基环；

R^{11a}和R^{11b}各自彼此独立地选自氢、卤素、甲基、乙基、卤代甲基、羟基、甲氧基、CN和SCH₃；

R¹²任选是R'，或选自氢、卤素、氰基、任选取代的烃基、任选取代的杂烃基、任选取代的杂环基和任选取代的环烃基；

R¹³选自任选取代的亚烃基、任选取代的杂亚烃基、任选取代的亚杂环基和任选取代的环亚烃基；

#代表氢原子或与连接子L的连接点。

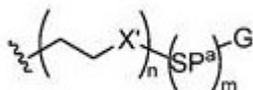
[0090] 当结构式(IIa)-(IId)的Bc1-xL抑制剂不是ADC的组分时，式(IIa)-(IId)中的#代表与氢原子的连接点。当Bc1-xL抑制剂是ADC的组分时，式(IIa)-(IId)中的#代表与连接子的连接点。当Bc1-xL抑制剂是ADC的组分时，所述ADC可以包含一或多种Bc1-xL抑制剂，Bc1-xL抑制剂可以相同或不同，但典型地是相同的抑制剂。

[0091] 在某些实施方案中，R'是C₂-C₈杂亚烃基，其被一个或多个包含盐和/或在生理pH值下带电荷的基团的部分取代。例如，盐可以选自羧酸盐、磺酸盐、膦酸盐和铵离子盐。例如，盐可以是羧酸、磺酸或膦酸的钠或钾盐，或铵离子的盐酸盐。在生理pH值下带电荷的基团可以是在生理pH值下带电荷的任何基团，包括，例如(没有限制性)，两性离子基团。在某些实施方案中，形成盐的基团是偶极部分，例如但不局限于：胺的N-氧化物，包括某些杂环基，例如但不局限于：吡啶和喹啉。在具体实施方案中，在生理pH值下带电荷的基团在每次出现时独立地选自羧酸盐、磺酸盐、膦酸盐和胺。

[0092] 在某些实施方案中，R'是C₂-C₈杂亚烃基，其被一个或多个包含聚乙二醇或多元醇的部分取代，例如，二醇或糖部分。

[0093] 在某些实施方案中，R'可以被增溶部分之外的基团取代。例如，R'可以被一个或多个相同或不同的烃基、杂烃基、环烃基、杂环基、芳基、杂芳基或卤素基团取代。

[0094] 在某些实施方案中，R'由下式代表：



或其盐，其中：

X'在每次出现时选自-N(R¹⁰)-和-O-；

n选自1-3;

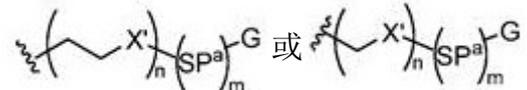
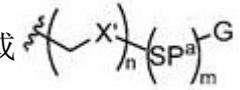
R^{10} 在每次出现时独立地选自氢、烃基、杂环、氨基烃基、G-烃基、杂环和 $-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-NH_2$;

G在每次出现时独立地选自多元醇、具有4和30个之间的重复单元的聚乙二醇(本文称为PEG4-30)、盐和在生理pH值下带电荷的部分;

SP^a 在每次出现时独立地选自氧、磺酰胺、亚芳基、亚杂环基和任选取代的亚甲基;其中,亚甲基任选被一个或多个 $-NH(CH_2)_2G$ 、胺和羰基取代;和

m选自0-6,

其中,在 R' 中存在至少一个可取代的氮, R' 在可取代的氮原子处,与连接子或氢原子连接。

[0095] 在某些实施方案中, R' 是  或  ;

X' 在每次出现时选自: $-N(R^{10})-$ 、 $-N(R^{10})C(O)-$ 、 $-N(R^{10})S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2N(R^{10})-$ 和 $-O-$;

n选自0-3;

R^{10} 在每次出现时独立地选自氢、烃基、杂环、氨基烃基、G-烃基、杂环和 $-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-NH_2$;

G在每次出现时独立地选自多元醇、具有4和30个之间的重复单元的聚乙二醇、盐和在生理pH值下带电荷的部分;

SP^a 在每次出现时独立地选自氧、 $-S(O)_2N(H)-$ 、 $-N(H)S(O)_2-$ 、 $-N(H)C(O)-$ 、 $-C(O)N(H)-$ 、 $-N(H)-$ 、亚芳基、亚杂环基和任选取代的亚甲基;其中,亚甲基任选被一个或多个 $-NH(CH_2)_2G$ 、胺、烃基和羰基取代;

m选自0-12, 和

在#连接 R' 的情况下,可以在能够被取代的任何 R' 原子处与 R' 相连接。

[0096] 在某些实施方案中,G在每次出现时是盐或在生理pH值下带电荷的部分。

[0097] 在某些实施方案中,G在每次出现时是羧酸、磺酸、磷酸的盐,或铵盐。

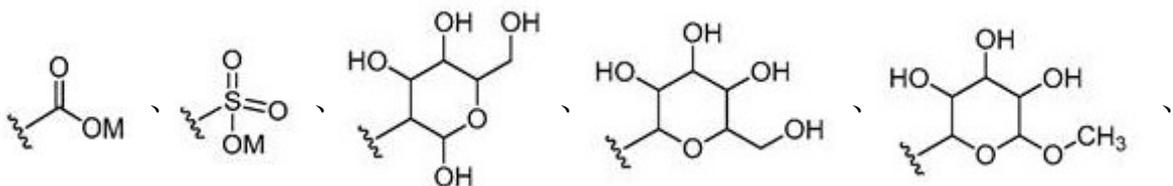
[0098] 在某些实施方案中,G在每次出现时是在生理pH值下带电荷的部分,选自羧酸根、磺酸根、磷酸根和胺。

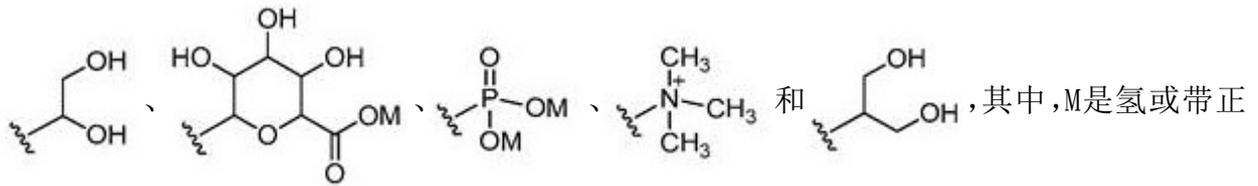
[0099] 在某些实施方案中,G在每次出现时是包含聚乙二醇或多元醇的部分。

[0100] 在某些实施方案中,多元醇是糖。

[0101] 在某些实施方案中, R' 包括至少一个适合于连接连接子的可取代的氮。

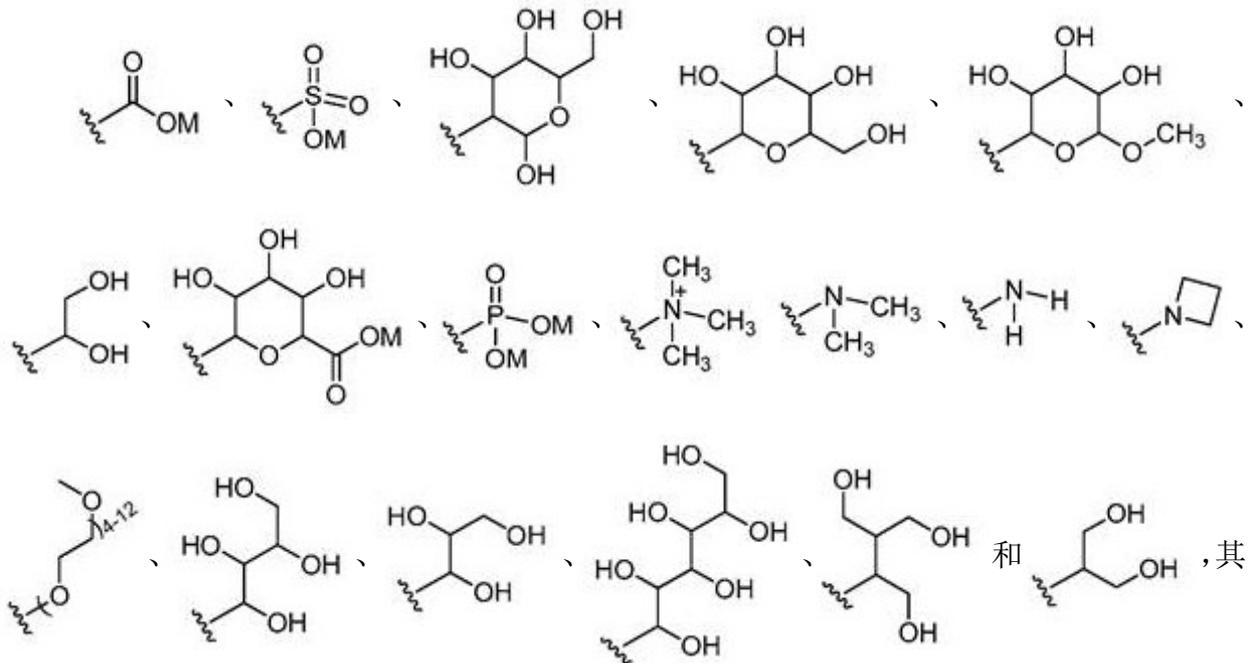
[0102] 在某些实施方案中,G在每次出现时独立地选自:





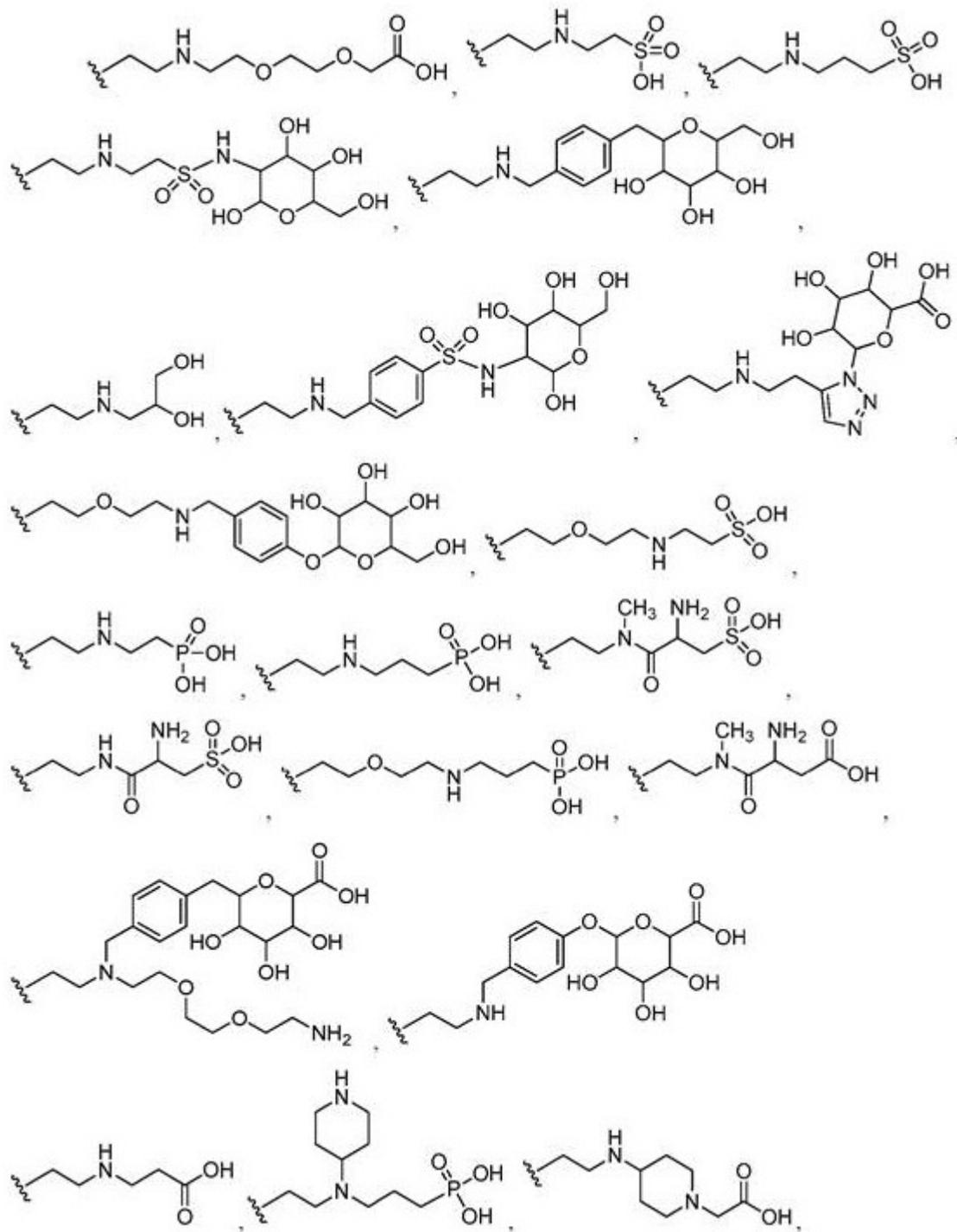
电荷的反离子。在某些实施方案中，M是Na⁺、K⁺或Li⁺。在某些实施方案中，M是氢。在具体实施方案中，G是SO₃H。

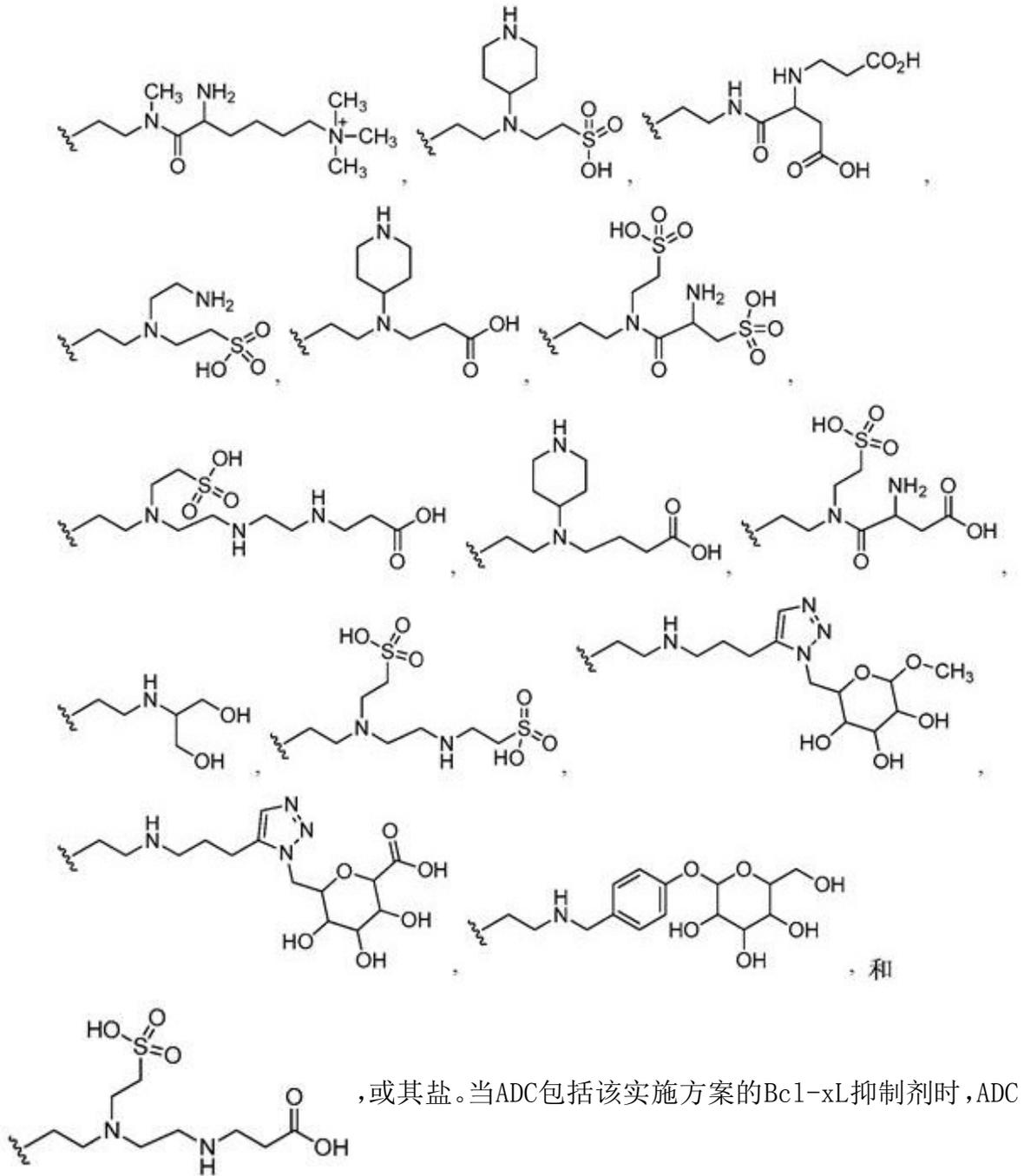
[0103] 在某些实施方案中，G在每次出现时独立地选自：



中，M是氢或带正电荷的反离子。在某些实施方案中，M是氢。在具体实施方案中，G是SO₃H。

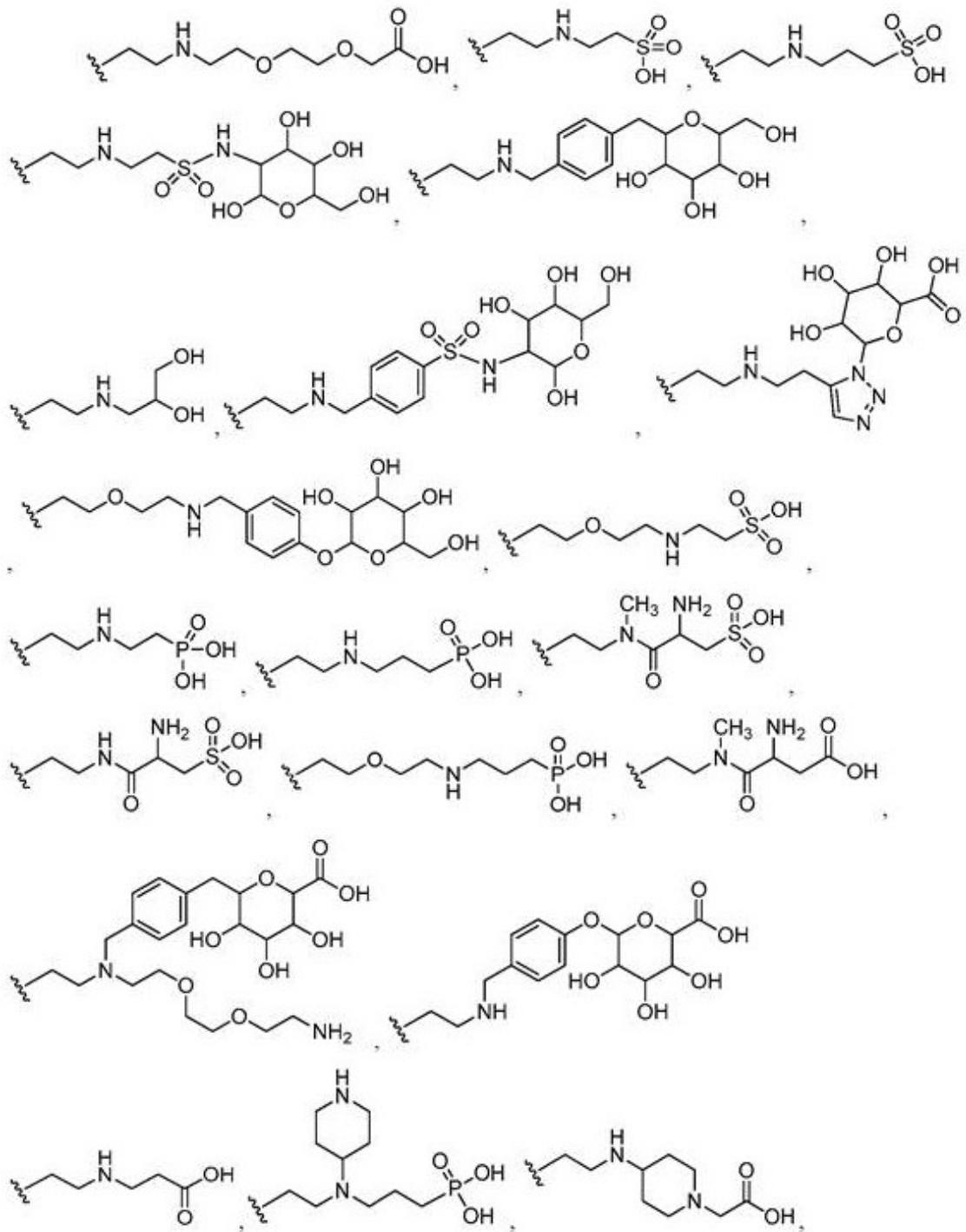
[0104] 在某些实施方案中，R'选自：

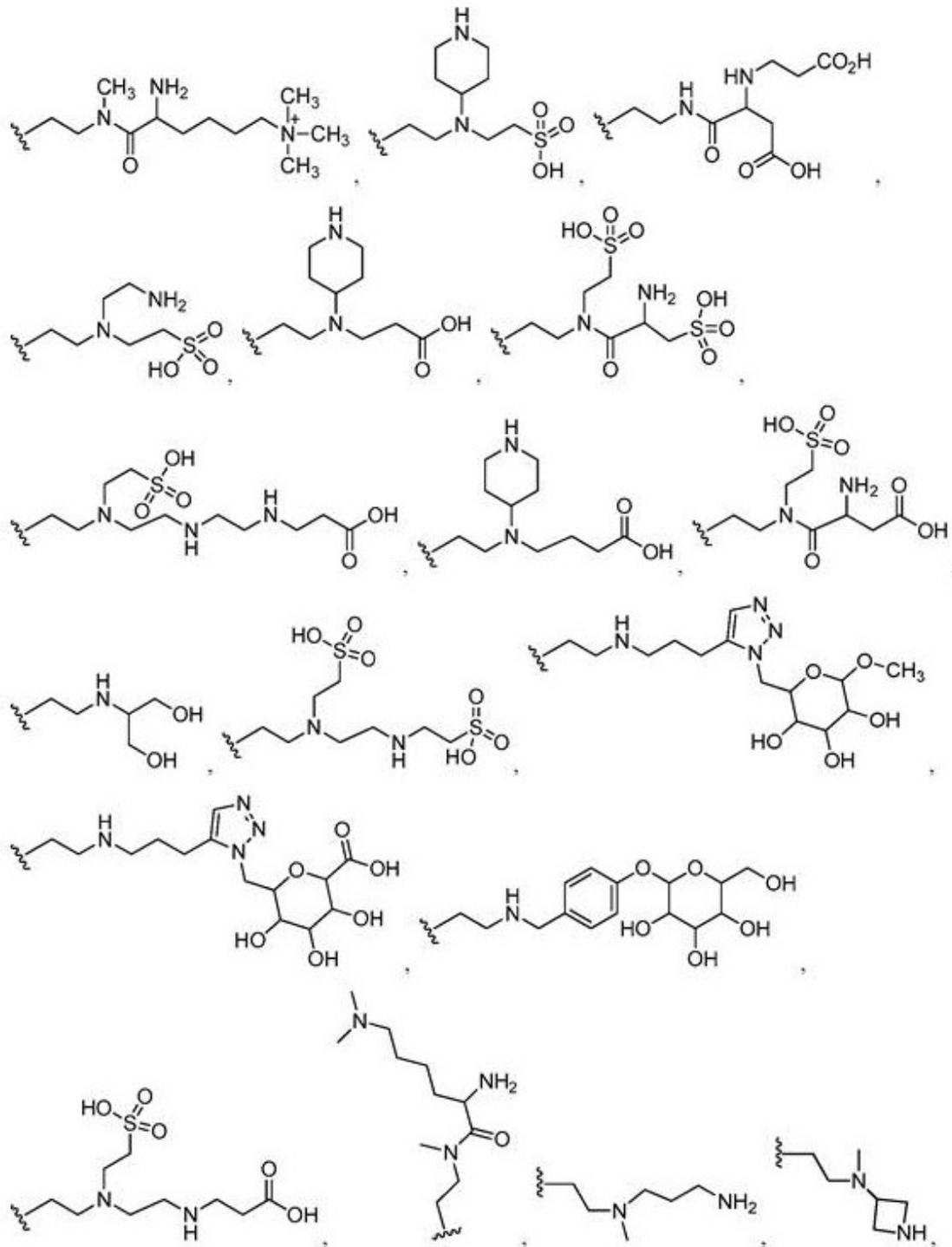


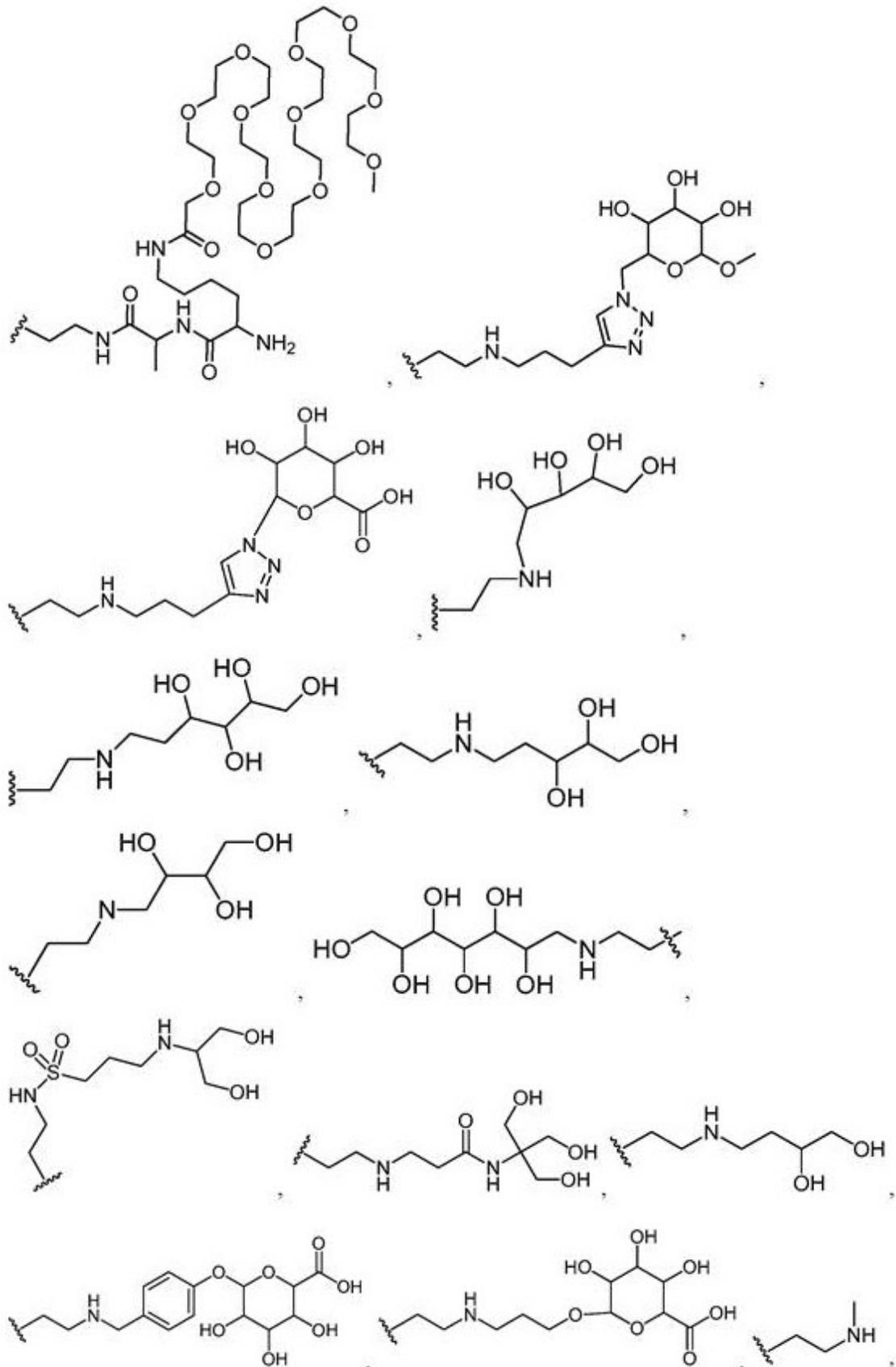


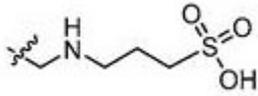
的连接子与合适的伯或仲胺基团的氮原子连接。

[0105] 在某些实施方案中,R'选自:



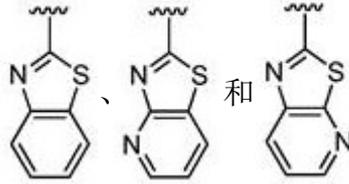




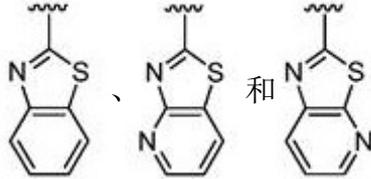


,或其盐。当ADC包括该实施方案的Bc1-xL抑制剂时,ADC的连接子与可供的伯或仲胺基团的氮原子连接。

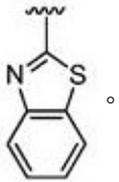
[0106] 在某些实施方案中,式(IIa)-(IIId)的Ar¹选自:



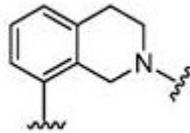
实施方案中,式(IIa)-(IIId)的Ar¹选自:



个独立地选自卤素、氰基、甲基和卤代甲基的取代基取代。在具体实施方案中,Ar¹是:

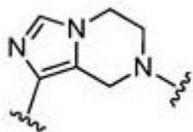
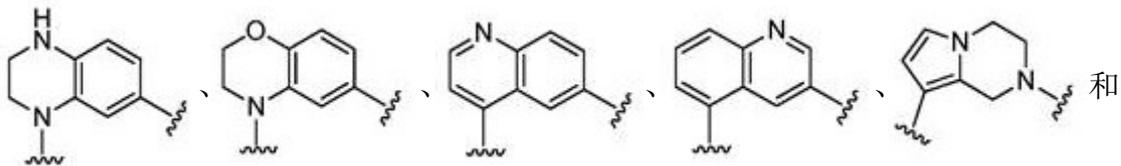
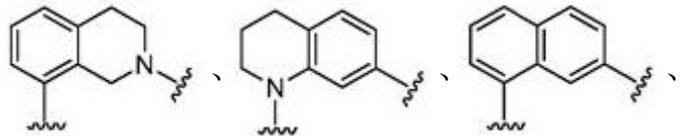


[0107] 在某些实施方案中,Ar²是



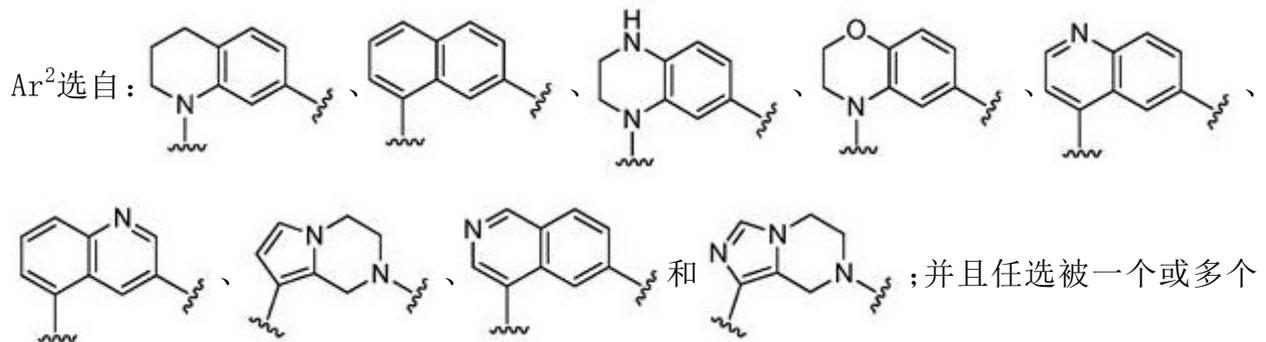
R¹²-Z^{2b}-、R'-Z^{2b}-、#-N(R⁴)-R¹³-Z^{2b}-或#-R'-Z^{2b}-取代基在能够被取代的任何Ar²原子处与Ar²

相连接。在某些实施方案中,Ar²选自:



,并且任选被一个或多个取代基取代,其中,R¹²-Z^{2b}-、R'-Z^{2b}-、#-N(R⁴)-R¹³-

Z^{2b}-或#-R'-Z^{2b}-取代基在能够被取代的任何Ar²原子处与Ar²相连接。在某些实施方案中,



取代基取代,其中,R¹²-Z^{2b}、R'-Z^{2b}、#-N(R⁴)-R¹³-Z^{2b}或#-R'-Z^{2b}取代基在能够被取代的任何Ar²原子处与Ar²相连接。在某些实施方案中,Ar²被至少一个增溶基取代。在某些实施方案中,增溶基选自包含多元醇、聚乙二醇、盐或在生理pH值下带电荷的基团的部分。

[0108] 在某些实施方案中,式(IIa)-(IId)的Z¹是N。

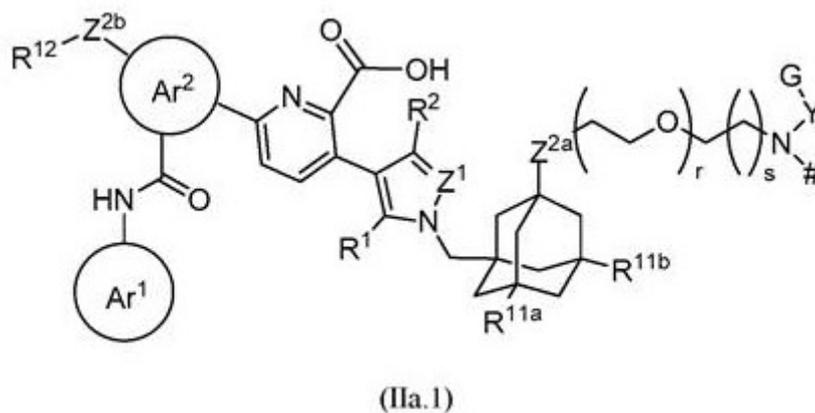
[0109] 在某些实施方案中,式(IIa)-(IId)的Z^{2a}是O。在某些实施方案中,式(IIa)-(IId)的Z^{2a}是CR^{6a}R^{6b}。在某些实施方案中,式(IIa)-(IId)的Z^{2a}是S。在某些实施方案中,式(IIa)-(IId)的Z^{2a}是-NR⁶C(O)-。在具体实施方案中,R⁶是氢。

[0110] 在某些实施方案中,式(IIa)-(IId)的Z^{2b}是O。在某些实施方案中,式(IIa)-(IId)的Z^{2b}是NH。

[0111] 在某些实施方案中,式(IIa)-(IId)的R¹选自甲基和氯。

[0112] 在某些实施方案中,式(IIa)-(IId)的R²选自氢和甲基。在具体实施方案中,R²是氢。

[0113] 在某些实施方案中,Bc1-xL抑制剂是式(IIa)的化合物。在Bc1-xL抑制剂是式(IIa)的化合物的某些实施方案中,所述化合物具有结构式(IIa.1),



或其盐,其中:

Ar¹、Ar²、Z¹、Z^{2a}、Z^{2b}、R¹、R²、R^{11a}、R^{11b}、R¹²、G和#如上面所定义;

Y是任选取代的亚烷基;

r是0或1;

s是1、2或3。

[0114] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.1)的化合物的某些实施方案中,r是0,和s是1。

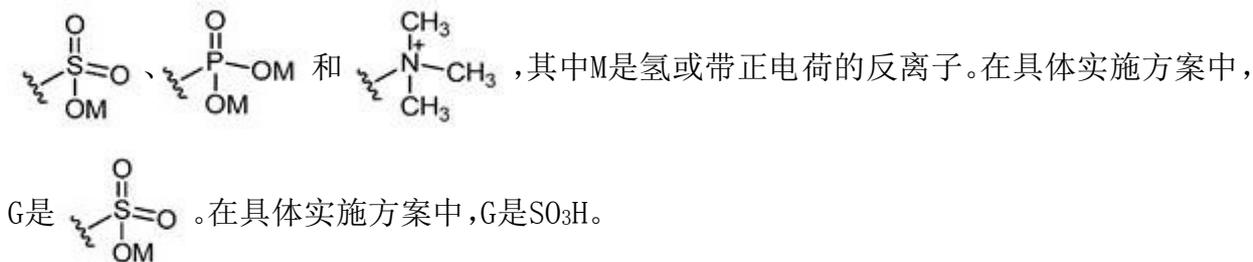
[0115] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.1)的化合物的某些实施方案中,r是0,和s是2。

[0116] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.1)的化合物的某些实施方案中,r是1,和s是2。

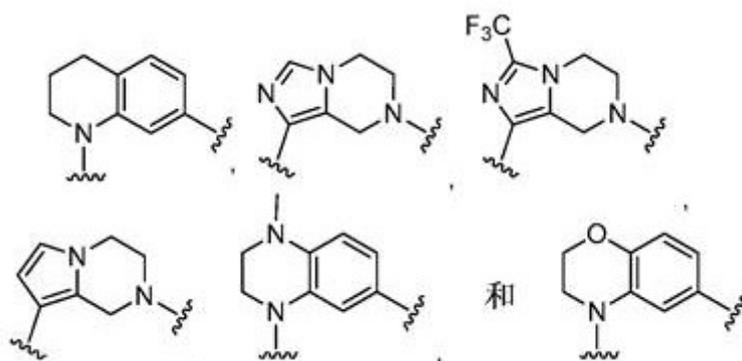
[0117] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.1)的化合物的某些实施方案中, Z^{2a} 选自O、NH、CH₂和S。在具体实施方案中, Z^{2a} 是O。在某些实施方案中,式(IIa.1)的 Z^{2a} 是-CR^{6a}R^{6b}-。在某些实施方案中,式(IIa.1)的 Z^{2a} 是CH₂。在某些实施方案中,式(IIa.1)的 Z^{2a} 是S。在某些实施方案中,式(IIa.1)的 Z^{2a} 是-NR^{6c}(O)-。

[0118] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.1)的化合物的某些实施方案中,Y选自亚乙基、亚丙基和亚丁基。在具体实施方案中,Y选自亚乙基和亚丙基。

[0119] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.1)的化合物的某些实施方案中,G选自:

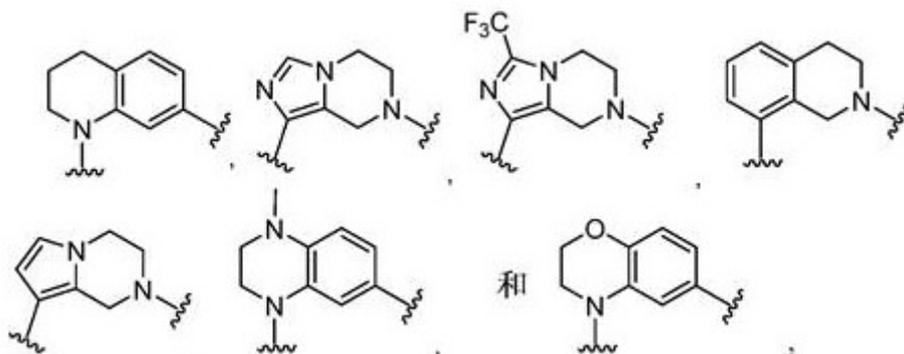


[0120] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.1)的化合物的某些实施方案中,Ar²选自:



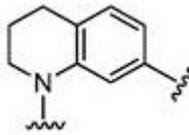
其中,R¹²-Z^{2b}-取代基在能够被取代的任何Ar²原子处与Ar²相连接。

[0121] 在其中B c1-xL抑制剂是式(IIa.1)的化合物的某些实施方案中,Ar²选自:

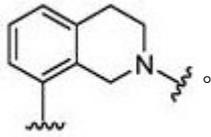


其中,R¹²-Z^{2b}-取代基在能够被取代的任何Ar²原子处与Ar²相连接。

[0122] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.1)的化合物的具体实施方案中,Ar²是:



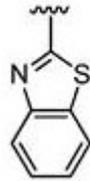
。在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.1)的化合物的具体实施方案中,Ar²是:



[0123] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.1)的化合物的某些实施方案中,Z^{2b}-R¹²选自:H、F、CN、OCH₃、OH、NH₂、OCH₂CH₂OCH₃、N(CH₃)C(=O)CH₃、CH₂N(CH₃)C(=O)CH₃SCH₃、C(=O)N(CH₃)₂和OCH₂CH₂N(CH₃)C(=O)CH₃。在具体实施方案中,Z^{2b}-R¹²选自H、F和CN。在具体实施方案中,Z^{2b}-R¹²是H。

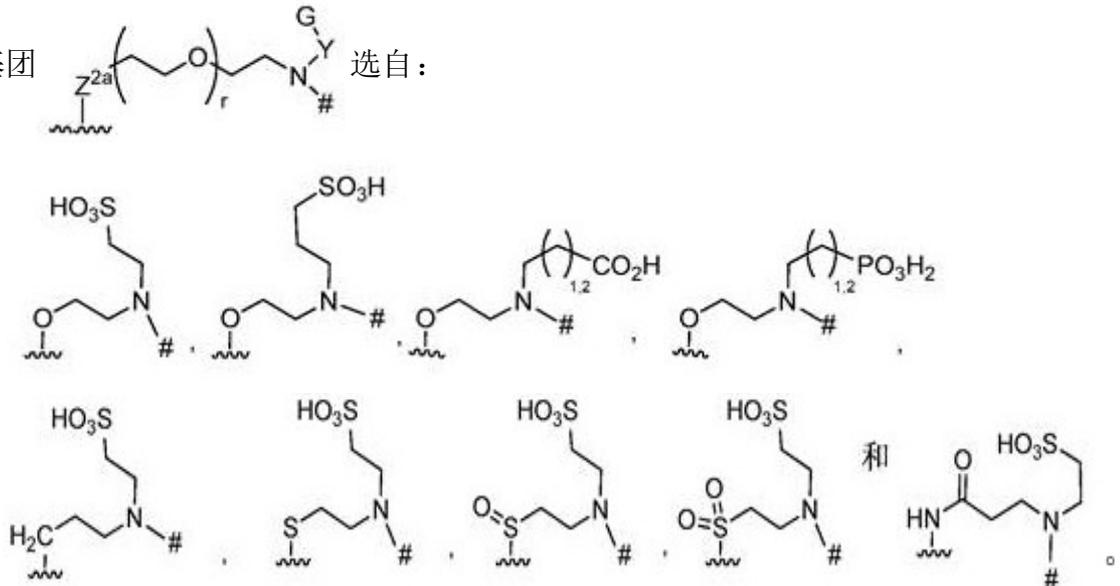
[0124] 在其中Z^{2b}-R¹²被羟基(OH)取代的实施方案中,氧可以充当与连接基的连接点(参见4.4.1.1部分)。

[0125] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.1)的化合物的某些实施方案中,Ar¹是:

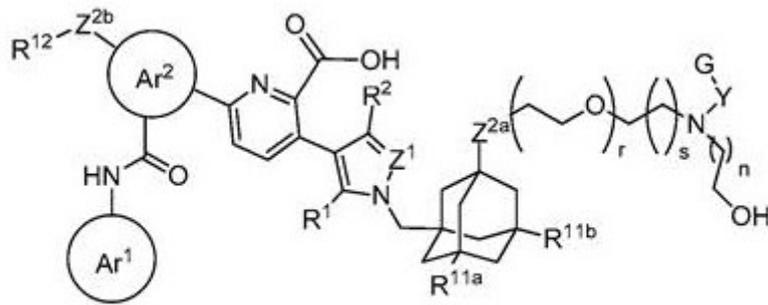


[0126] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.1)的化合物的某些实施方案中,与金刚烷酸酯环

键合的基团

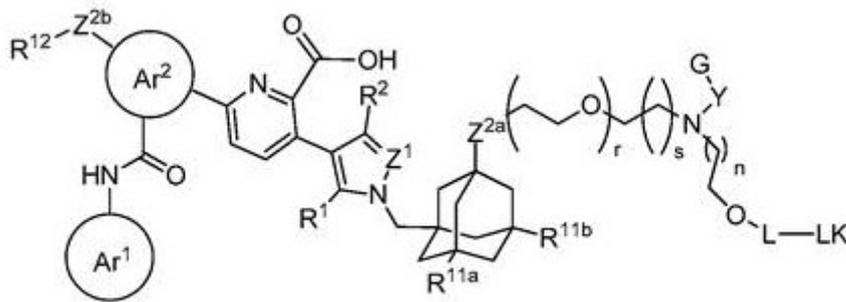


[0127] 在某些实施方案中,式(IIa.1)的化合物可以被转变为式IIa.1.1的化合物,其中,n选自1-3:



IIa.1.1

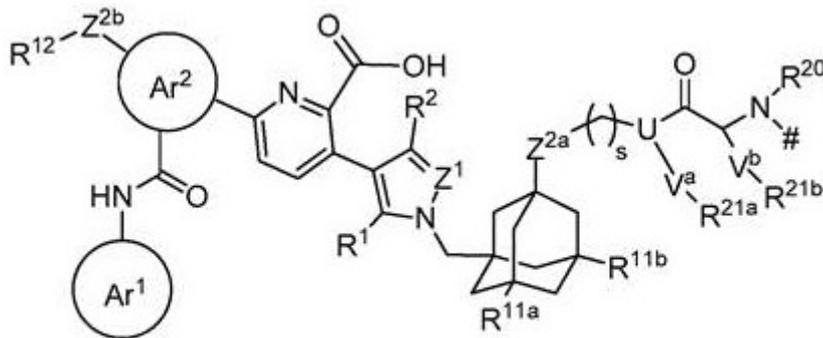
[0128] 在某些实施方案中,式IIa.1.1的化合物可以被转变为式IIa.1.2的化合物,其中,L代表连接子,LK代表在连接子L上的反应性官能团和抗体上的互补官能团之间形成的连接基。



IIa.1.2

[0129] 。

[0130] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa)的化合物的某些实施方案中,所述化合物具有结构式(IIa.2),



(IIa.2)

或其盐,其中:

Ar¹、Ar²、Z¹、Z^{2a}、Z^{2b}、R¹、R²、R^{11a}、R^{11b}、R¹²和#如上面所定义;

U选自N、O和CH,条件是,当U是O时,则V^a和R^{21a}不存在;

R²⁰选自氢和C₁-C₄烷基;

R^{21a}和R^{21b}各自彼此独立地不存在,或选自H、C₁-C₄烷基和G,其中G选自多元醇、PEG4-30、盐和在生理pH值下带电荷的部分;

V^a 和 V^b 各自彼此独立地不存在,或选自键和任选取代的亚烷基;

R^{20} 选自H和 C_1 - C_4 烷基; 和

s是1、2或3。

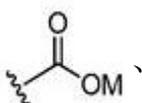
[0131] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.2)的化合物的某些实施方案中,s是2。

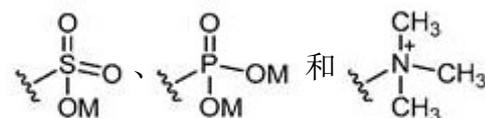
[0132] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.2)的化合物的某些实施方案中, Z^{2a} 选自O、NH、 CH_2 和S。在具体实施方案中, Z^{2a} 是O。在某些实施方案中,式(IIa.2)的 Z^{2a} 是 $CR^{6a}R^{6b}$ 。在某些实施方案中,式(IIa.2)的 Z^{2a} 是 CH_2 。在某些实施方案中,式(IIa.2)的 Z^{2a} 是S。在某些实施方案中,式(IIa.2)的 Z^{2a} 是 $-NR^6C(O)-$ 。

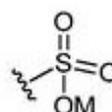
[0133] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.2)的化合物的某些实施方案中,U选自N和O。在具体实施方案中,U是O。

[0134] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.2)的化合物的某些实施方案中, V^a 是键, R^{21a} 是 C_1 - C_4 烷基, V^b 选自亚甲基和亚乙基,和 R^{21b} 是G。在具体实施方案中, V^a 是键, R^{21a} 是甲基, V^b 选自亚甲基和亚乙基,和 R^{21b} 是G。

[0135] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.2)的化合物的某些实施方案中, V^a 选自亚甲基和亚乙基, R^{21a} 是G, V^b 选自亚甲基和亚乙基,和 R^{21b} 是G。在具体实施方案中, V^a 是亚乙基, R^{21a} 是G, V^b 选自亚甲基和亚乙基,和 R^{21b} 是G。

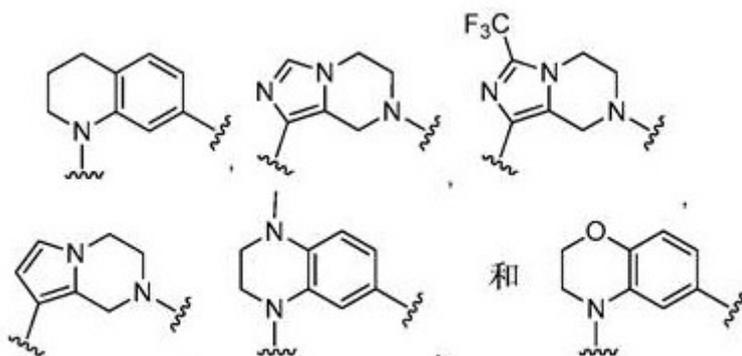
[0136] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.2)的化合物的某些实施方案中,G选自: 

 ,其中M是氢或带正电荷的反离子。在具体实施方案中,

G是 。在具体实施方案中,G是 SO_3H 。

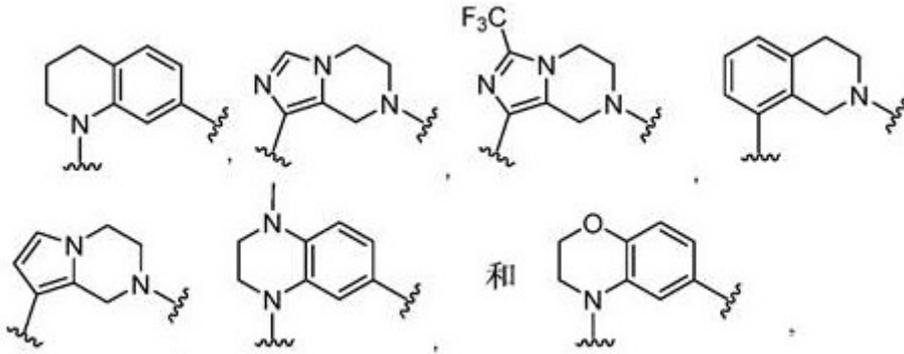
[0137] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.2)的化合物的某些实施方案中, R^{20} 选自氢和甲基。

[0138] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.2)的化合物的某些实施方案中, Ar^2 选自:



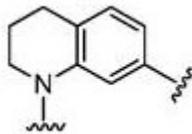
其中, R^{12} - Z^{2b} -取代基在能够被取代的任何 Ar^2 原子处与 Ar^2 相连接。

[0139] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.2)的化合物的某些实施方案中, Ar^2 选自:



其中, $R^{12}-Z^{2b}$ -取代基在能够被取代的任何 Ar^2 原子处与 Ar^2 相连接。

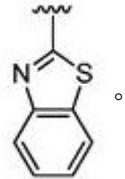
[0140] 在其中 $Bc1-xL$ 抑制剂是式 (IIa.2) 的化合物的具体实施方案中, Ar^2 是:



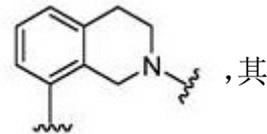
, 其中 $R^{12}-Z^{2b}$ -取代基在能够被取代的任何 Ar^2 原子处与 Ar^2 相连接。

[0141] 在其中 $Bc1-xL$ 抑制剂是式 (IIa.2) 的化合物的某些实施方案中, $Z^{2b}-R^{12}$ 选自: H、F、CN、 OCH_3 、OH、 NH_2 、 $OCH_2CH_2OCH_3$ 、 $N(CH_3)C(=O)CH_3$ 、 $CH_2N(CH_3)C(=O)CH_3SCH_3$ 、 $C(=O)N(CH_3)_2$ 和 $OCH_2CH_2N(CH_3)C(=O)CH_3$ 。在具体实施方案中, $Z^{2b}-R^{12}$ 选自 H、F 和 CN。在具体实施方案中,

$Z^{2b}-R^{12}$ 是 H。在其中 $Bc1-xL$ 抑制剂是式 (IIa.2) 的化合物的某些实施方案中, Ar^1 是

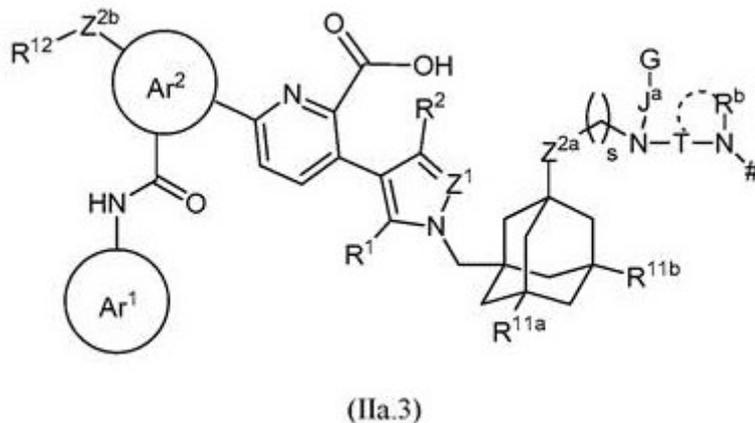


在其中 $Bc1-xL$ 抑制剂是式 (IIa.2) 的化合物的具体实施方案中, Ar^2 是:



中, $R^{12}-Z^{2b}$ -取代基在能够被取代的任何 Ar^2 原子处与 Ar^2 相连接。

[0142] 在其中 $Bc1-xL$ 抑制剂是式 (IIa) 的化合物的某些实施方案中, 所述化合物具有结构式 (IIa.3),



或其盐, 其中:

Ar^1 、 Ar^2 、 Z^1 、 Z^{2a} 、 Z^{2b} 、 R^1 、 R^2 、 R^{11a} 、 R^{11b} 、 R^{12} 和#如上面所定义；

R^b 选自H、 C_1 - C_4 烷基和 J^b -G,或是任选与T的原子一起形成3至7个原子的环；

J^a 和 J^b 各自彼此独立地选自任选取代的亚烷基和任选取代的亚苯基；

T选自任选取代的亚烷基、 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2$ 、 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2$ 和包含4至10个乙二醇单元的聚乙二醇；

G选自多元醇、PEG4-30、盐和在生理pH值下带电荷的部分；

s是1、2或3。

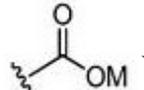
[0143] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.3)的化合物的某些实施方案中,s是1。在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.3)的化合物的某些实施方案中,s是2。

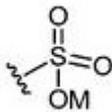
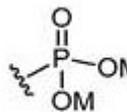
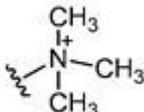
[0144] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.3)的化合物的某些实施方案中, Z^{2a} 选自O、 CH_2 和S。在具体实施方案中, Z^{2a} 是O。在某些实施方案中,式(IIa.3)的 Z^{2a} 是 $\text{CR}^{6a}\text{R}^{6b}$ 。在某些实施方案中,式(IIa.3)的 Z^{2a} 是 CH_2 。在某些实施方案中,式(IIa.3)的 Z^{2a} 是S。在某些实施方案中,式(IIa.3)的 Z^{2a} 是 $-\text{NR}^6\text{C}(O)-$ 。

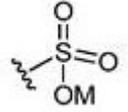
[0145] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.3)的化合物的某些实施方案中, J^a 选自亚甲基和亚乙基,和 R^b 是 J^b -G,其中 J^b 是亚甲基或亚乙基。在一些这种实施方案中,T是亚乙基。在其它这种实施方案中,T是 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2$ 。在其它这种实施方案中,T是包含4至10个乙二醇单元的聚乙二醇。

[0146] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.3)的化合物的某些实施方案中, J^a 选自亚甲基和亚乙基, R^b 与T的原子一起形成具有4-6个环原子的环。

[0147] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.3)的化合物的某些实施方案中, J^a 选自亚甲基和亚乙基,和 R^b 是H或烷基。在一些这种实施方案中,T是亚乙基。在其它这种实施方案中,T是 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2$ 。

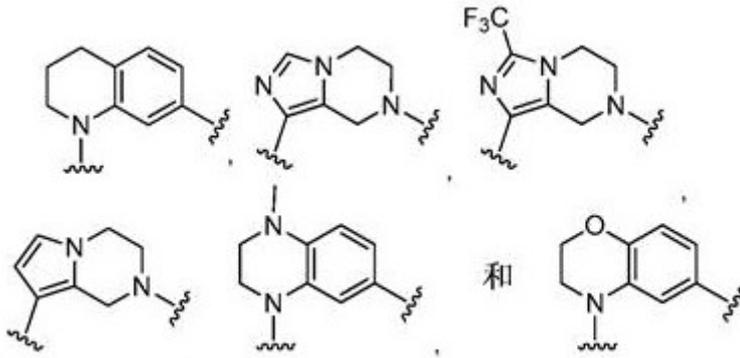
[0148] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.3)的化合物的某些实施方案中,G选自：

、和，其中M是氢或带正电荷的反离子。在具体实施方案中，

G是。在具体实施方案中,G是 SO_3H 。

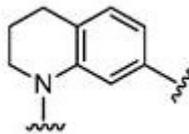
[0149] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.3)的化合物的某些实施方案中, R^{20} 选自氢和甲基。

[0150] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIa.3)的化合物的某些实施方案中, Ar^2 选自：



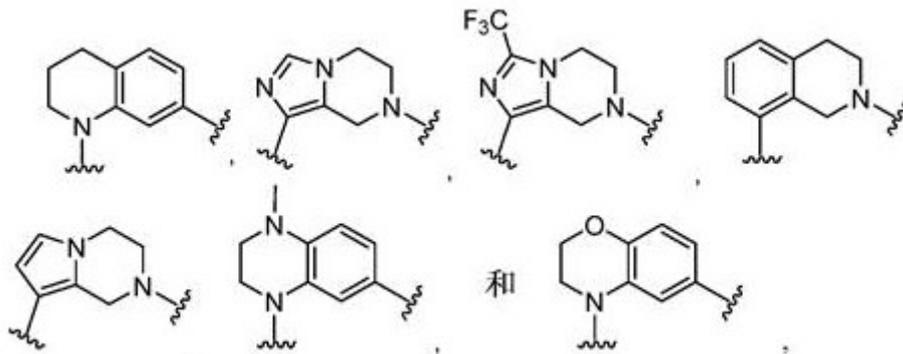
其中, $R^{12}-Z^{2b}$ -取代基在能够被取代的任何 Ar^2 原子处与 Ar^2 相连接。

[0151] 在其中 Bcl-xL 抑制剂是式 (IIa.3) 的化合物的具体实施方案中, Ar^2 是:

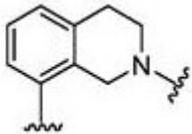


, 其中, $R^{12}-Z^{2b}$ -取代基在能够被取代的任何 Ar^2 原子处与 Ar^2 相连接。在其中

Bcl-xL 抑制剂是式 (IIa.3) 的化合物的某些实施方案中, Ar^2 选自:



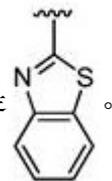
其中 $R^{12}-Z^{2b}$ -取代基在能够被取代的任何 Ar^2 原子处与 Ar^2 相连接。在其中 Bcl-xL 抑制剂

是式 (IIa.3) 的化合物的具体实施方案中, Ar^2 是: , 其中 $R^{12}-Z^{2b}$ -取代基在能

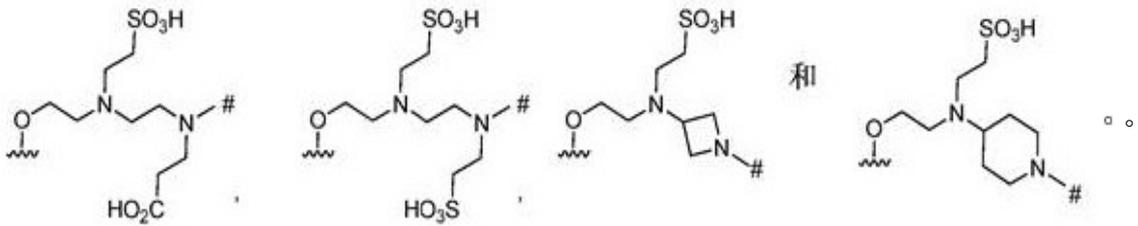
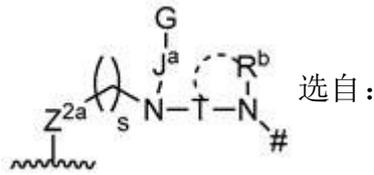
够被取代的任何 Ar^2 原子处与 Ar^2 相连接。

[0152] 在其中 Bcl-xL 抑制剂是式 (IIa.3) 的化合物的某些实施方案中, $Z^{2b}-R^{12}$ 选自: H、F、CN、 OCH_3 、OH、 NH_2 、 $OCH_2CH_2OCH_3$ 、 $N(CH_3)C(=O)CH_3$ 、 $CH_2N(CH_3)C(=O)CH_3SCH_3$ 、 $C(=O)N(CH_3)_2$ 和 $OCH_2CH_2N(CH_3)C(=O)CH_3$ 。在具体实施方案中, $Z^{2b}-R^{12}$ 选自 H、F 和 CN。在具体实施方案中, $Z^{2b}-R^{12}$ 是 H。

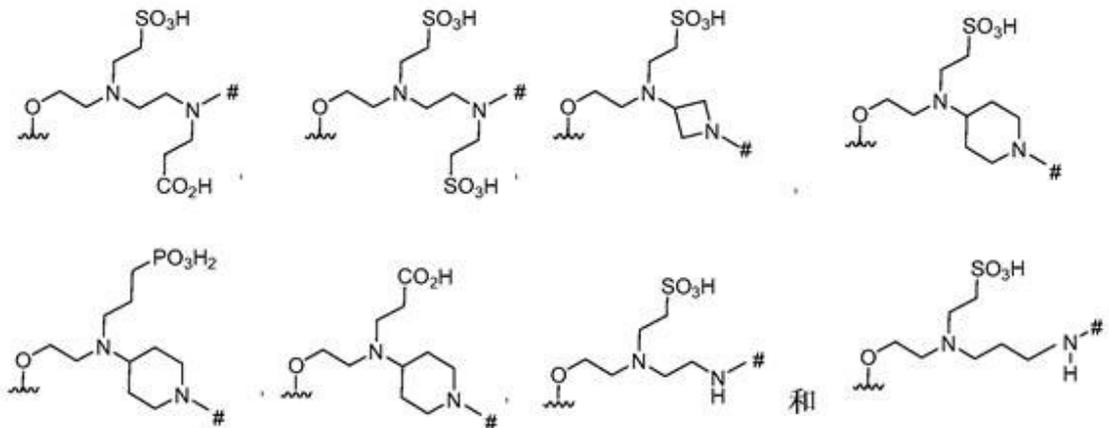
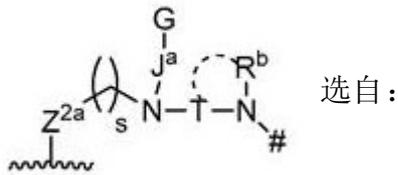
[0153] 在其中 Bcl-xL 抑制剂是式 (IIa.3) 的化合物的某些实施方案中, Ar^1 是



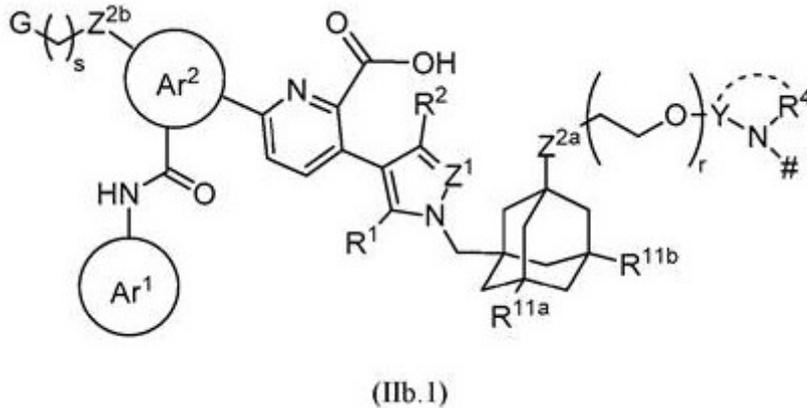
[0154] 在其中 Bcl-xL 抑制剂是式 (IIa.3) 的化合物的某些实施方案中, 基团



[0155] 在其中Bcl-xL抑制剂是式(IIa.3)的化合物的某些实施方案中, 基团



[0156] 在某些实施方案中, Bcl-xL抑制剂是式(IIb)的化合物。在其中Bcl-xL抑制剂是式(IIb)的化合物的某些实施方案中, 所述化合物具有结构式(IIb.1),



或其盐, 其中:

Ar¹、Ar²、Z¹、Z^{2a}、Z^{2b}、R¹、R²、R⁴、R^{11a}、R^{11b}和#如上面所定义;

Y是任选取代的亚烷基;

G选自多元醇、PEG4-30、盐和在生理pH值下带电荷的部分；

r是0或1；和

s是1、2或3。

[0157] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIb.1)的化合物的某些实施方案中,s是1。在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIb.1)的化合物的某些实施方案中,s是2。在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIb.1)的化合物的某些实施方案中,s是3。

[0158] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIb.1)的化合物的某些实施方案中, Z^{2a} 选自0、CH₂、NH和S。在具体实施方案中, Z^{2a} 是0。在某些实施方案中,式(IIb.1)的 Z^{2a} 是CR^{6a}R^{6b}。在某些实施方案中,式(IIb.1)的 Z^{2a} 是CH₂。在某些实施方案中,式(IIb.1)的 Z^{2a} 是S。在某些实施方案中,式(IIb.1)的 Z^{2a} 是-NR^{6c}(O)-。

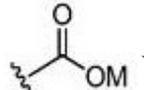
[0159] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIb.1)的化合物的某些实施方案中, Z^{2b} 选自0、CH₂、NH、NCH₃和S。在具体实施方案中, Z^{2b} 是0。在具体实施方案中, Z^{2b} 是NH。在具体实施方案中, Z^{2b} 是NCH₃。

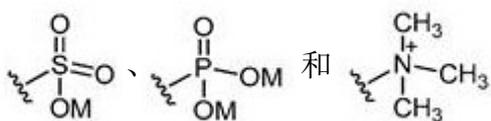
[0160] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIb.1)的化合物的某些实施方案中,Y是亚乙基,和r是0。

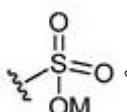
[0161] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIb.1)的化合物的某些实施方案中,Y是亚乙基,和r是1。

[0162] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIb.1)的化合物的某些实施方案中,R⁴是H或甲基。在具体实施方案中,R⁴是甲基。在其它实施方案中,R⁴是H。

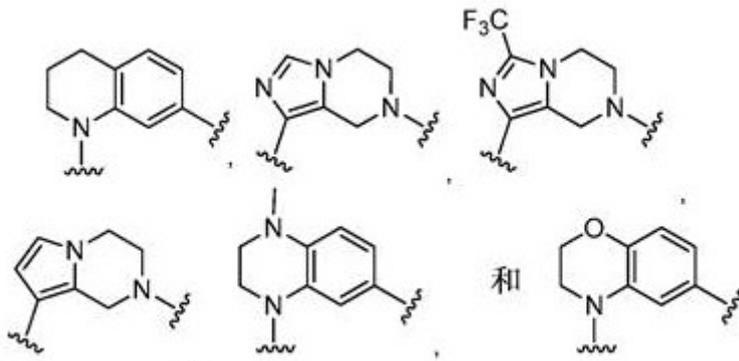
[0163] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIb.1)的化合物的某些实施方案中,R⁴与Y的原子一起形成具有4-6个环原子的环。在具体实施方案中,该环是环丁烷环。在其它实施方案中,该环是哌嗪环。在其它实施方案中,该环是吗啉环。

[0164] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIb.1)的化合物的某些实施方案中,G选自：



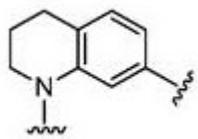
中,G是：。在其它实施方案中,G是SO₃H。在具体实施方案中,G是NH₂。在其它实施方案中,G是PO₃H₂。在具体实施方案中,G是NH₂。在具体实施方案中,G是C(O)OH。在具体实施方案中,G是多元醇。

[0165] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIb.1)的化合物的某些实施方案中,Ar²选自：



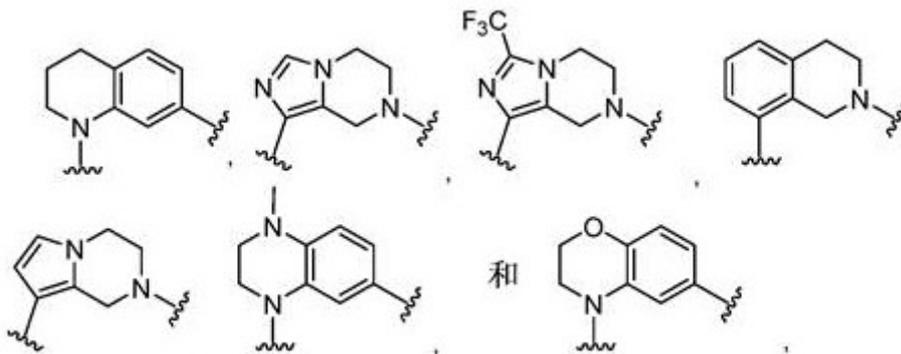
其中, $G-(CH_2)_s-Z^{2b}$ -取代基在能够被取代的任何 Ar^2 原子处与 Ar^2 相连接。

[0166] 在其中 Bc1-xL 抑制剂是式 (IIb.1) 的化合物的具体实施方案中, Ar^2 是:



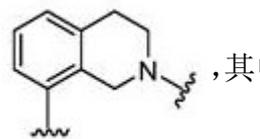
, 其中 $G-(CH_2)_s-Z^{2b}$ -取代基在能够被取代的任何 Ar^2 原子处与 Ar^2 相连接。在

其中 Bc1-xL 抑制剂是式 (IIb.1) 的化合物的某些实施方案中, Ar^2 选自:



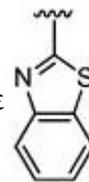
其中, $G-(CH_2)_s-Z^{2b}$ -取代基在能够被取代的任何 Ar^2 原子处与 Ar^2 相连接。在其中 Bc1-xL

抑制剂是式 (IIb.1) 的化合物的具体实施方案中, Ar^2 是:

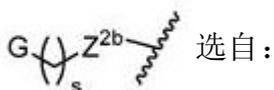


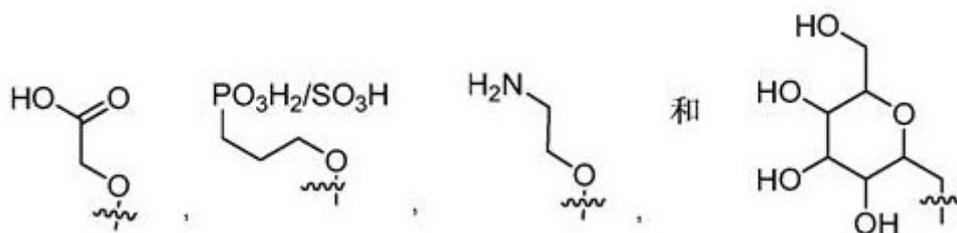
取代基在能够被取代的任何 Ar^2 原子处与 Ar^2 相连接。

[0167] 在其中 Bc1-xL 抑制剂是式 (IIb.1) 的化合物的某些实施方案中, Ar^1 是

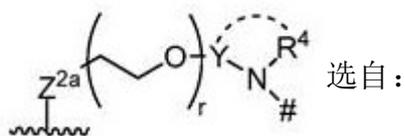


[0168] 在其中 Bc1-xL 抑制剂是式 (IIb.1) 的化合物的某些实施方案中, 基团

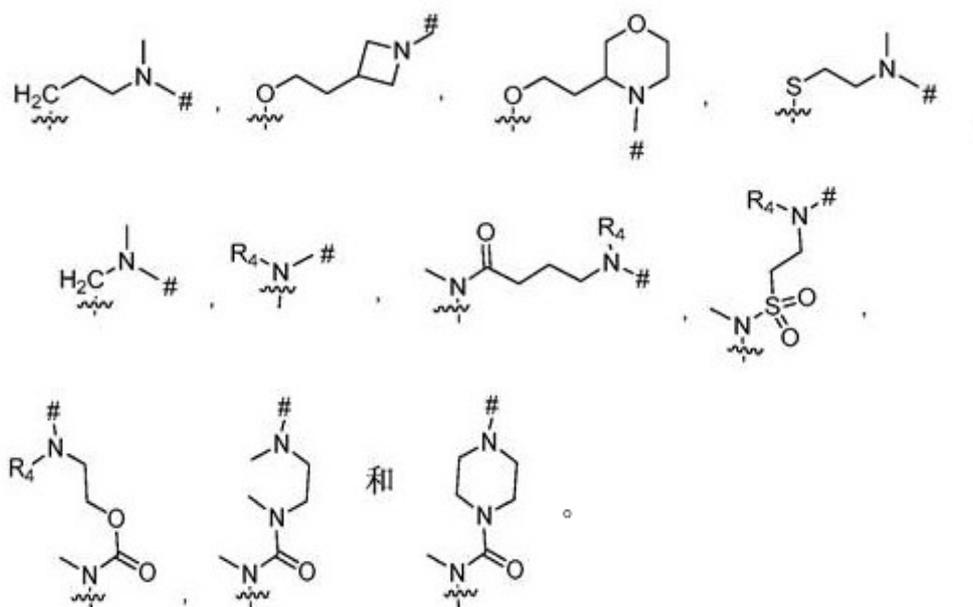
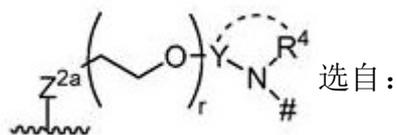




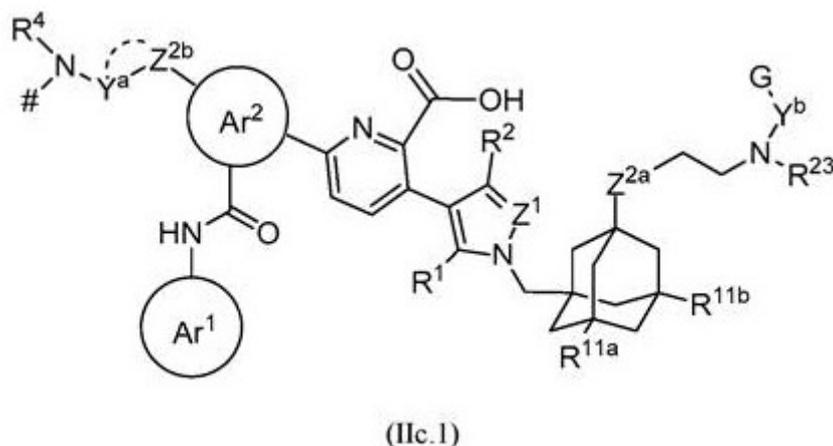
[0169] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIb.1)的化合物的某些实施方案中,基团



[0170] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIb.1)的化合物的某些实施方案中,基团



[0171] 在某些实施方案中,Bc1-xL抑制剂是式(IIc)的化合物。在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIc)的化合物的某些实施方案中,所述化合物具有结构式(IIc.1),



或其盐,其中:

Ar¹、Ar²、Z¹、Z^{2a}、Z^{2b}、R¹、R²、R⁴、R^{11a}、R^{11b}和#如上面所定义;

Y^a是任选取代的亚烃基;

Y^b是任选取代的亚烃基;

R²³选自氢和C₁-C₄烷基;和

G选自多元醇、PEG4-30、盐和在生理pH值下带电荷的部分;

在其中Bcl-xL抑制剂是式(IIc.1)的化合物的某些实施方案中,Z^{2a}选自O、CH₂、NH和S。在具体实施方案中,Z^{2a}是O。在某些实施方案中,式(IIc.1)的Z^{2a}是CR^{6a}R^{6b}。在某些实施方案中,式(IIc.1)的Z^{2a}是S。在某些实施方案中,式(IIc.1)的Z^{2a}是-NR⁶C(O)-。

[0172] 在其中Bcl-xL抑制剂是式(IIc.1)的化合物的某些实施方案中,Z^{2b}选自O、CH₂、NH、NCH₃和S。在具体实施方案中,Z^{2b}是O。在具体实施方案中,Z^{2b}是NH。在具体实施方案中,Z^{2b}是NCH₃。

[0173] 在其中Bcl-xL抑制剂是式(IIc.1)的化合物的某些实施方案中,Z^{2b}是键。在一些这种实施方案中,Y^a是亚甲基或亚乙基。

[0174] 在其中Bcl-xL抑制剂是式(IIc.1)的化合物的某些实施方案中,Z^{2b}是O。在一些这种实施方案中,Y^a是亚甲基、亚乙基或亚丙基。

[0175] 在其中Bcl-xL抑制剂是式(IIc.1)的化合物的某些实施方案中,Z^{2b}是NR⁶,其中R⁶如以上所定义。在一些这种实施方案中,R⁶与Y^a的原子一起形成具有3至7个环原子的环烷基或杂环基环。在一些这种实施方案中,环具有5个原子。

[0176] 在其中Bcl-xL抑制剂是式(IIc.1)的化合物的某些实施方案中,Y^a是亚乙基。

[0177] 在其中Bcl-xL抑制剂是式(IIc.1)的化合物的某些实施方案中,Y^a是亚甲基。

[0178] 在其中Bcl-xL抑制剂是式(IIc.1)的化合物的某些实施方案中,Y^a是亚丙基。

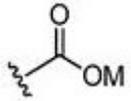
[0179] 在其中Bcl-xL抑制剂是式(IIc.1)的化合物的某些实施方案中,R⁴是H或甲基。在具体实施方案中,R⁴是H。

[0180] 在其中Bcl-xL抑制剂是式(IIc.1)的化合物的某些实施方案中,Y^b是亚乙基或亚丙基。在具体实施方案中,Y^b是亚乙基。

[0181] 在其中Bcl-xL抑制剂是式(IIc.1)的化合物的某些实施方案中,R²³是甲基。

[0182] 在其中Bcl-xL抑制剂是式(IIc.1)的化合物的某些实施方案中,R²³是H。

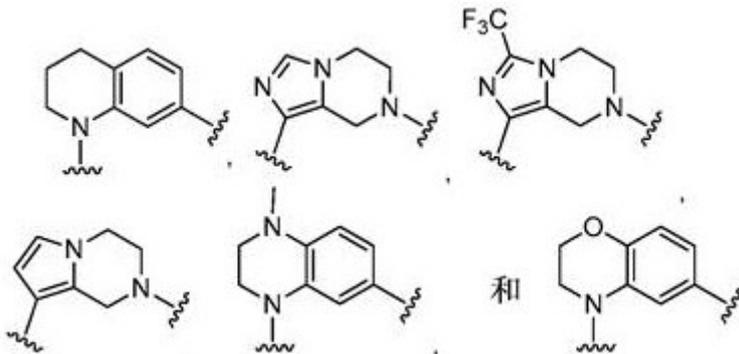
[0183] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIc.1)的化合物的某些实施方案中,G选自:



、、和，其中M是氢或带正电荷的反离子。在具体实施方案中，

G是。在具体实施方案中,G是SO₃H。

[0184] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIc.1)的化合物的某些实施方案中,Ar²选自:

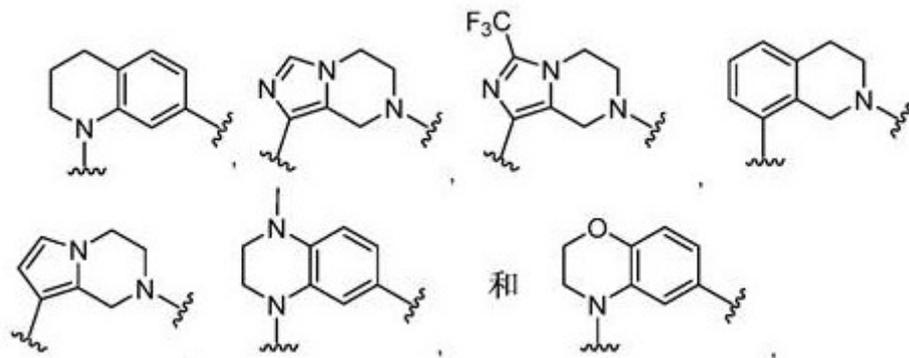


其中#-N(R⁴)-Y^a-Z^{2b}-取代基在能够被取代的任何Ar²原子处与Ar²相连接。

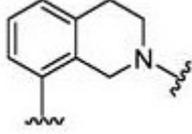
[0185] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIc.1)的化合物的具体实施方案中,Ar²是:

，其中#-N(R⁴)-Y^a-Z^{2b}-取代基在能够被取代的任何Ar²原子处与Ar²相连接。

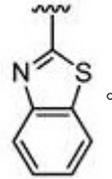
在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIc.1)的化合物的某些实施方案中,Ar²选自:



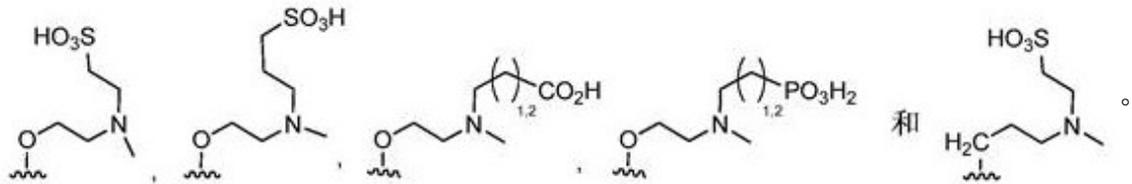
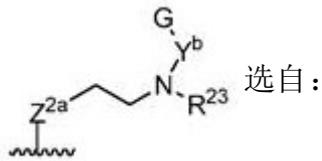
其中#-N(R⁴)-Y^a-Z^{2b}-取代基在能够被取代的任何Ar²原子处与Ar²相连接。在其中Bc1-

xL抑制剂是式(IIc.1)的化合物的具体实施方案中,Ar²是:  ,其中#-N(R⁴)-

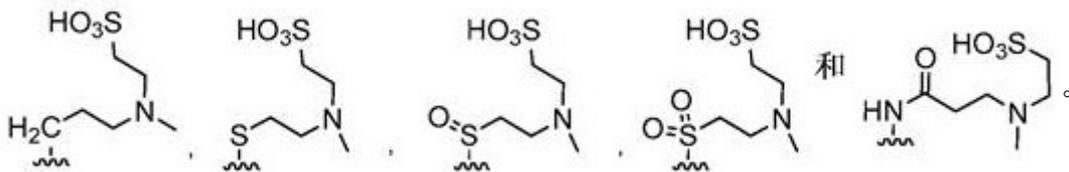
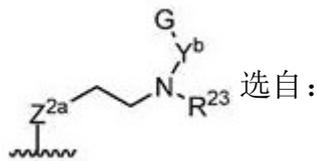
Y^a-Z^{2b}-取代基在能够被取代的任何Ar²原子处与Ar²相连接。

[0186] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIc.1)的化合物的某些实施方案中,Ar¹是:  。

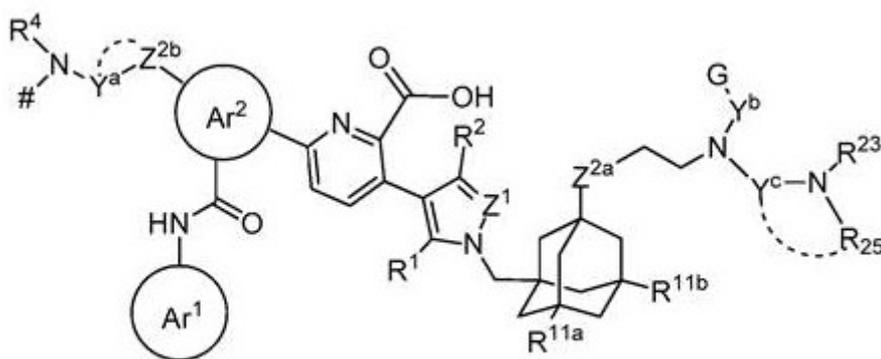
[0187] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIc.1)的化合物的某些实施方案中,基团



[0188] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIc.1)的化合物的其它实施方案中,基团



[0189] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIc)的化合物的某些实施方案中,所述化合物具有结构式(IIc.2),



(IIc.2)

或其盐,其中:

Ar^1 、 Ar^2 、 Z^1 、 Z^{2a} 、 Z^{2b} 、 R^1 、 R^2 、 R^4 、 R^{11a} 、 R^{11b} 和#如上面所定义;

Y^a 是任选取代的亚烃基;

Y^b 是任选取代的亚烃基;

Y^c 是任选取代的亚烃基;

R^{23} 选自H和 C_1 - C_4 烃基;

R^{25} 是 Y^b -G,或与 Y^c 的原子一起形成具有4-6个环原子的环;和

G选自多元醇、PEG4-30、盐和在生理pH值下带电荷的部分。

[0190] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIc.2)的化合物的某些实施方案中, Z^{2a} 选自O、 CH_2 、NH和S。在具体实施方案中, Z^{2a} 是O。在某些实施方案中,式(IIc.2)的 Z^{2a} 是 $CR^{6a}R^{6b}$ 。在某些实施方案中,式(IIc.2)的 Z^{2a} 是S。在某些实施方案中,式(IIc.2)的 Z^{2a} 是 $-NR^6C(O)-$ 。在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIc.2)的化合物的某些实施方案中, Z^{2b} 选自O、 CH_2 、NH、 NCH_3 和S。在具体实施方案中, Z^{2b} 是O。在具体实施方案中, Z^{2b} 是NH。在具体实施方案中, Z^{2b} 是 NCH_3 。

[0191] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIc.2)的化合物的某些实施方案中, Z^{2b} 是键。在一些这种实施方案中, Y^a 是亚甲基或亚乙基。

[0192] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIc.2)的化合物的某些实施方案中, Z^{2b} 是 NR^6 ,其中 R^6 如以上所定义。在一些这种实施方案中, R^6 与 Y^a 的原子一起形成具有3至7个环原子的环烃基或杂环基环。在一些这种实施方案中,该环具有5个原子。

[0193] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIc.2)的化合物的某些实施方案中, Y^a 是亚乙基。

[0194] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIc.2)的化合物的某些实施方案中, Y^a 是亚甲基。

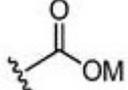
[0195] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIc.2)的化合物的某些实施方案中, R^4 是H或甲基。

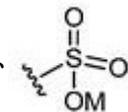
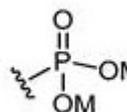
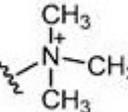
[0196] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIc.2)的化合物的某些实施方案中, Y^b 是亚乙基或亚丙基。在具体实施方案中, Y^b 是亚乙基。

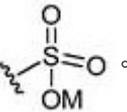
[0197] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIc.2)的化合物的某些实施方案中, Y^c 是亚乙基或亚丙基。在具体实施方案中, Y^b 是亚乙基。

[0198] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIc.2)的化合物的某些实施方案中, R^{25} 与 Y^c 的原子一起形成具有4或5个环原子的环。

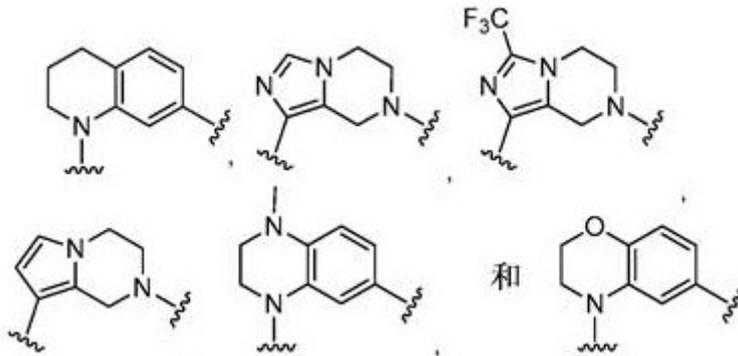
[0199] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIc.2)的化合物的某些实施方案中, R^{23} 是甲基。

[0200] 在其中Bc1-xL抑制剂是式 (IIc.2) 的化合物的某些实施方案中,G选自: 

、、 和  ,其中M是氢或带正电荷的反离子。在具体实施方案

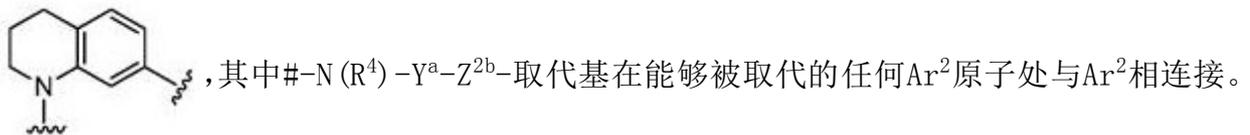
中,G是。在具体实施方案中,G是SO₃H。

[0201] 在其中Bc1-xL抑制剂是式 (IIc.2) 的化合物的某些实施方案中,Ar²选自:

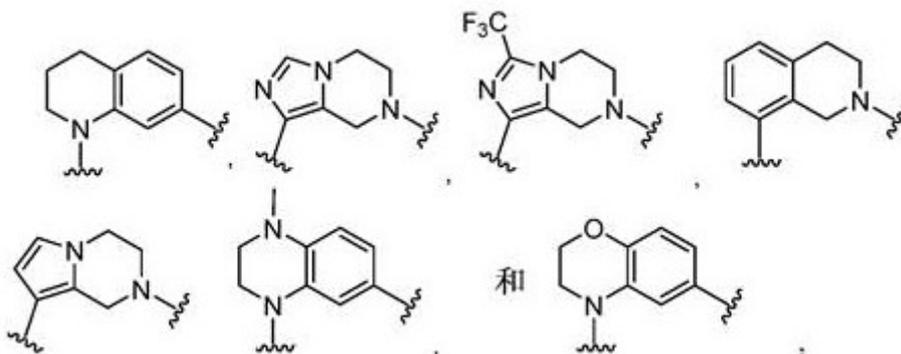


其中#-N(R⁴)-Y^a-Z^{2b}-取代基在能够被取代的任何Ar²原子处与Ar²相连接。

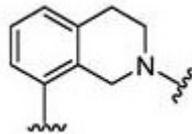
[0202] 在其中Bc1-xL抑制剂是式 (IIc.2) 的化合物的具体实施方案中,Ar²是:



在其中Bc1-xL抑制剂是式 (IIc.2) 的化合物的某些实施方案中,Ar²选自:

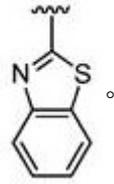


其中#-N(R⁴)-Y^a-Z^{2b}-取代基在能够被取代的任何Ar²原子处与Ar²相连接。在其中Bc1-

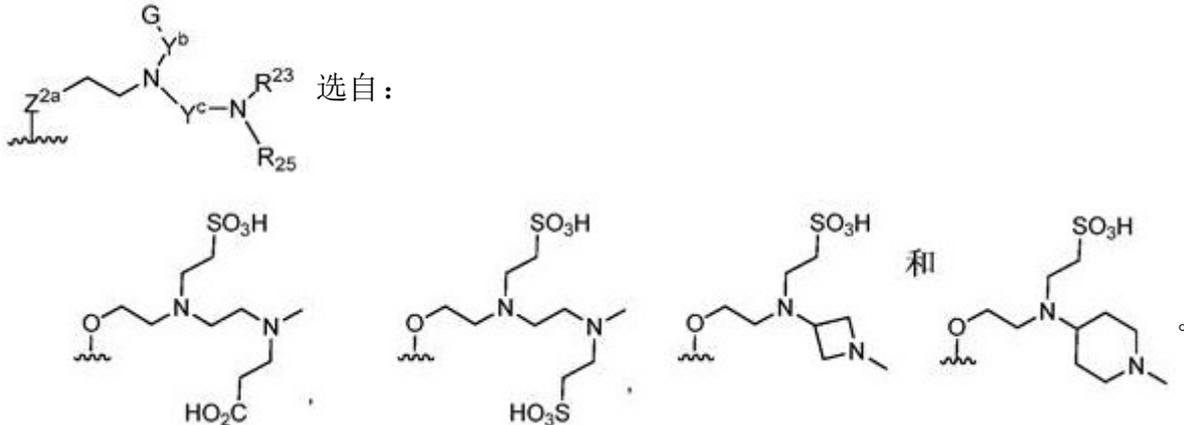
xL抑制剂是式 (IIc.2) 的化合物的具体实施方案中,Ar²是 ,其中#-N(R⁴)-

Y^a-Z^{2b} -取代基在能够被取代的任何 Ar^2 原子处与 Ar^2 相连接。

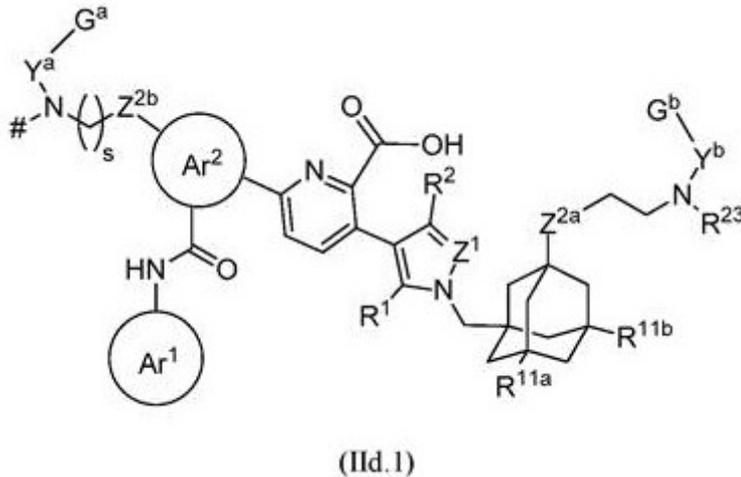
[0203] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIc.2)的化合物的某些实施方案中, Ar^1 是



[0204] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIc.2)的化合物的某些实施方案中,基团



[0205] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIId)的化合物的某些实施方案中,所述化合物具有结构式(IIId.1),



或其盐,其中:

Ar^1 、 Ar^2 、 Z^1 、 Z^{2a} 、 Z^{2b} 、 R^1 、 R^2 、 R^{11a} 、 R^{11b} 和#如上面所定义;

Y^a 是任选取代的亚烷基;

Y^b 是任选取代的亚烷基;

R^{23} 选自H和 C_1 - C_4 烷基;

G^a 选自多元醇、PEG4-30、盐和在生理pH值下带电荷的部分;

G^b 选自多元醇、PEG4-30、盐和在生理pH值下带电荷的部分;

在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIId.1)的化合物的某些实施方案中,s是1。

[0206] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIId.1)的化合物的某些实施方案中,s是2。

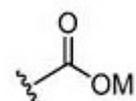
[0207] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIId.1)的化合物的某些实施方案中, Z^{2a} 选自O、NH、 CH_2

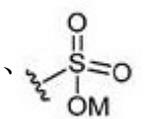
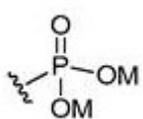
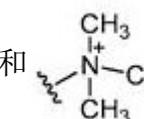
和S。在具体实施方案中， Z^{2a} 是O。在某些实施方案中，式(IIId.1)的 Z^{2a} 是 $CR^{6a}R^{6b}$ 。在某些实施方案中，式(IIId.1)的 Z^{2a} 是S。在某些实施方案中，式(IIId.1)的 Z^{2a} 是 $-NR^6C(O)-$ 。

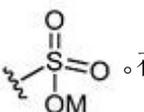
[0208] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIId.1)的化合物的某些实施方案中， Z^{2b} 选自O、NH、 CH_2 和S。在具体实施方案中， Z^{2b} 是O。

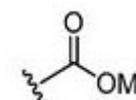
[0209] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIId.1)的化合物的某些实施方案中， Y^a 选自亚乙基、亚丙基和亚丁基。在具体实施方案中，Y是亚乙基。

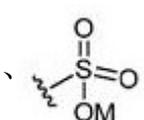
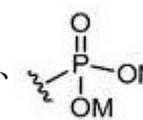
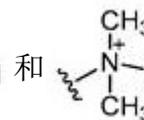
[0210] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIId.1)的化合物的某些实施方案中， Y^a 选自亚乙基、亚丙基和亚丁基。在具体实施方案中，Y是亚乙基。

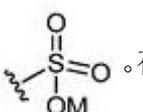
[0211] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIId.1)的化合物的某些实施方案中， G^a 选自：

、、和，其中M是氢或带正电荷的反离子。在具体实施方案中，

G^a 是。在具体实施方案中， G^a 是 SO_3H 。在具体实施方案中， G^a 是 CO_2H 。

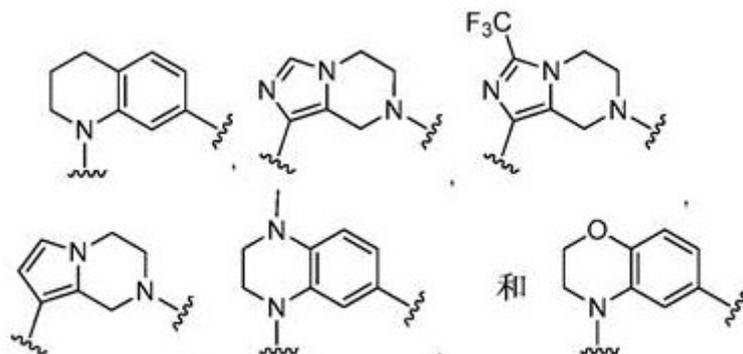
[0212] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIId.1)的化合物的某些实施方案中， G^b 选自：

、、和，其中M是氢或带正电荷的反离子。在具体实施方案

中， G^b 是。在具体实施方案中， G^b 是 SO_3H 。在具体实施方案中， G^b 是 CO_2H 。

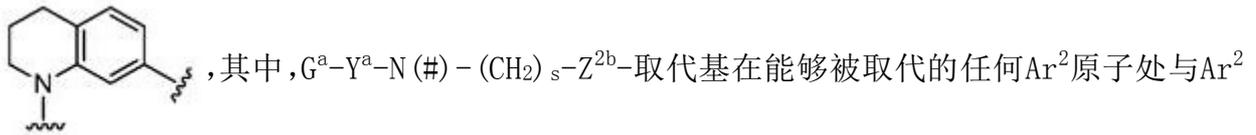
[0213] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIId.1)的化合物的某些实施方案中， R^{23} 是甲基。

[0214] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIId.1)的化合物的某些实施方案中， Ar^2 选自：

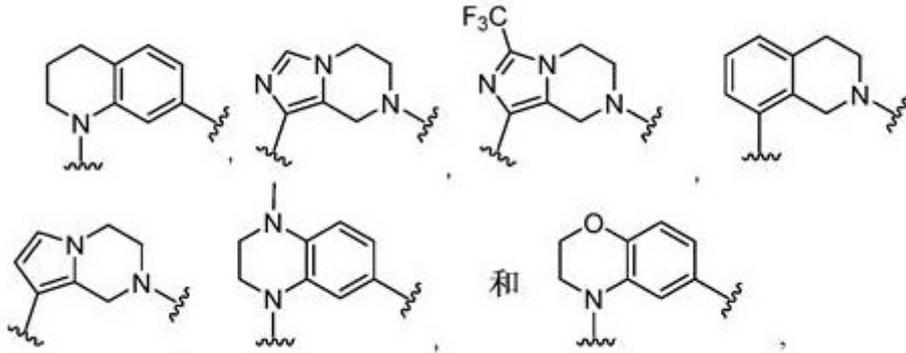


其中， $G^a-Y^a-N(\#)-(CH_2)_s-Z^{2b}$ -取代基在能够被取代的任何 Ar^2 原子处与 Ar^2 相连接。

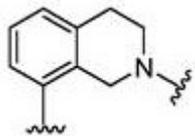
[0215] 在其中Bc1-xL抑制剂是式(IIId.1)的化合物的具体实施方案中， Ar^2 是：



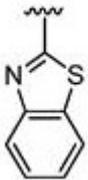
相连接。在其中 Bc1-xL 抑制剂是式 (II d.1) 的化合物的某些实施方案中, Ar^2 选自:



其中, $G^a-Y^a-N(\#)-(CH_2)_s-Z^{2b}$ -取代基在能够被取代的任何 Ar^2 原子处与 Ar^2 相连接。在

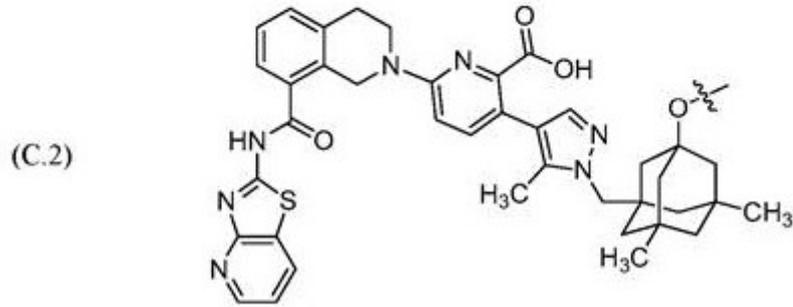
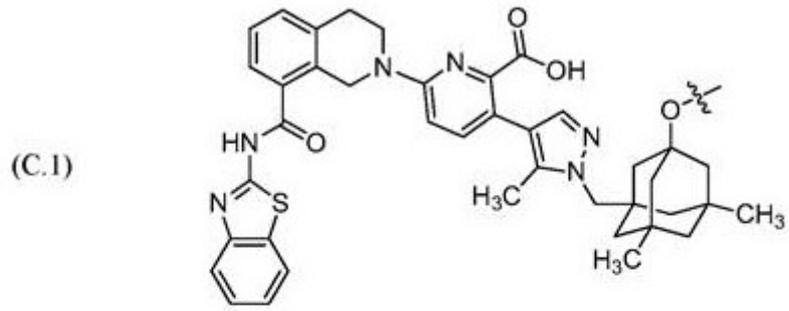
其中 Bc1-xL 抑制剂是式 (II d.1) 的化合物的具体实施方案中, Ar^2 是:  ,其中

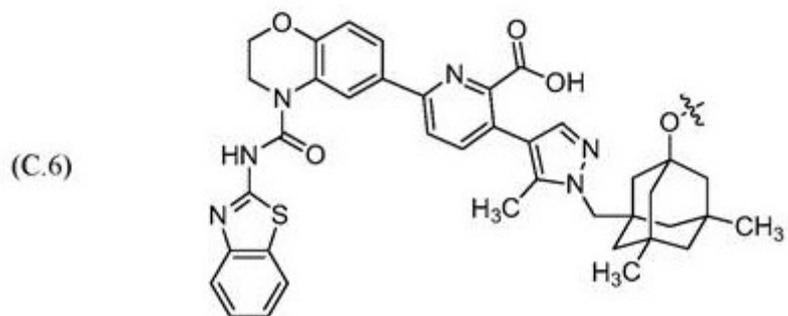
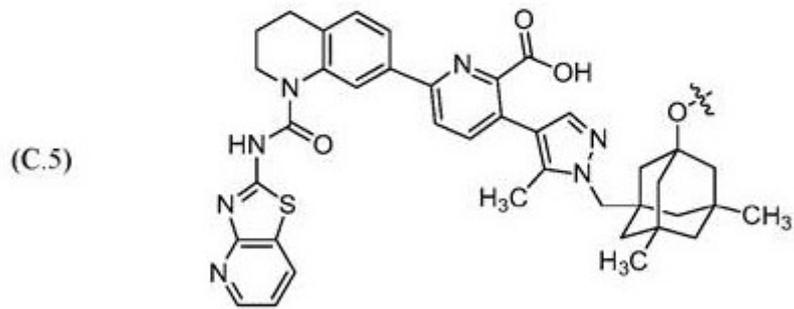
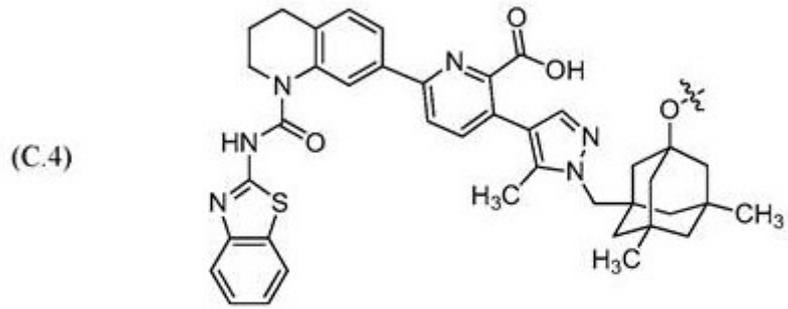
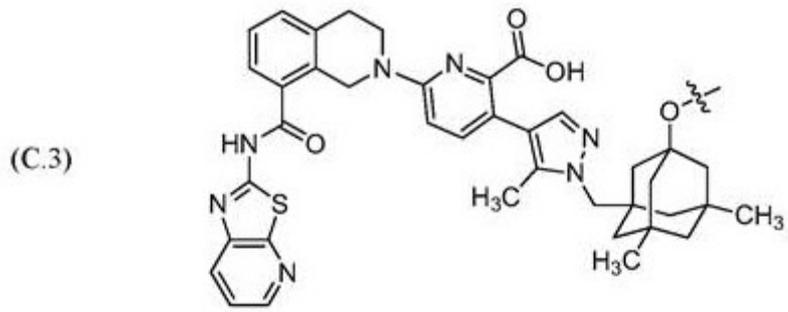
$G^a-Y^a-N(\#)-(CH_2)_s-Z^{2b}$ -取代基在能够被取代的任何 Ar^2 原子处与 Ar^2 相连接。

[0216] 在其中 Bc1-xL 抑制剂是式 (II d.1) 的化合物的某些实施方案中, Ar^1 是  。

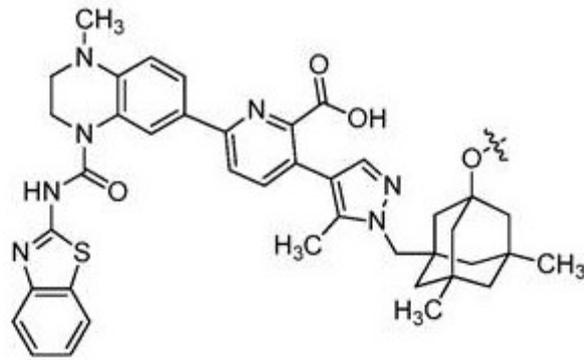
[0217] 在某些实施方案中, 式 (II a) - (II d) 的 R^{11a} 和 R^{11b} 相同。在具体实施方案中, R^{11a} 和 R^{11b} 各自是甲基。

[0218] 在某些实施方案中, 式 (II a) - (II d) 的化合物包括下列核 (C.1) - (C.21) 之一:

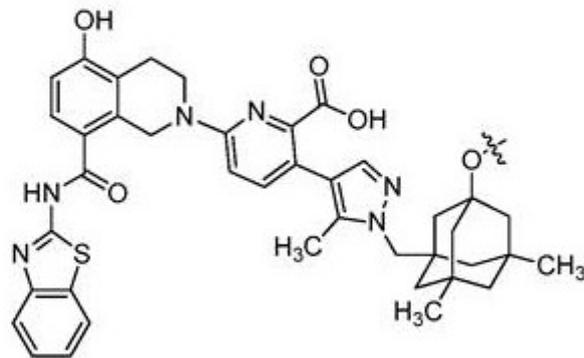




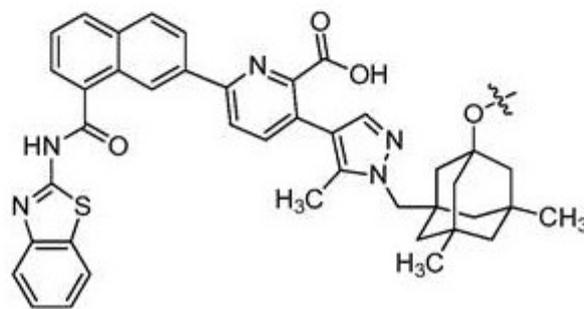
(C.7)

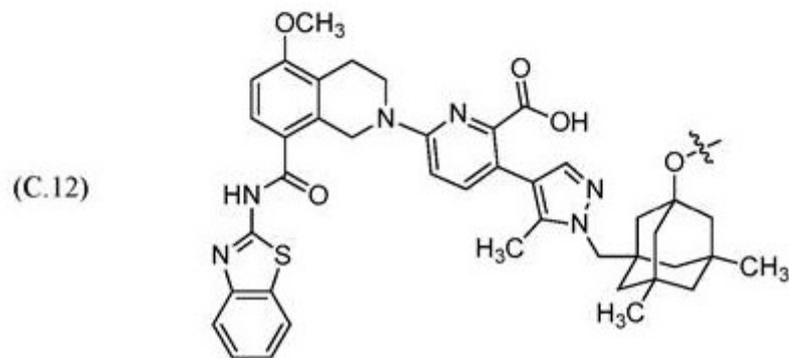
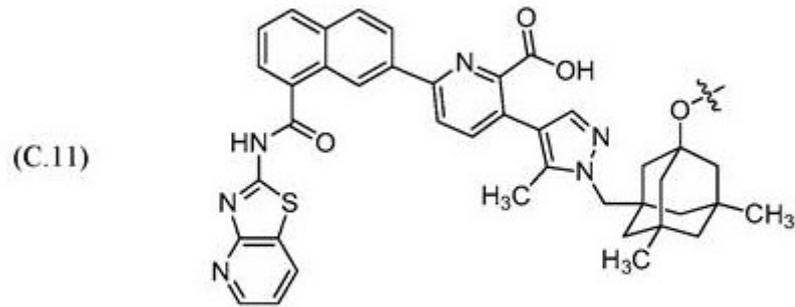
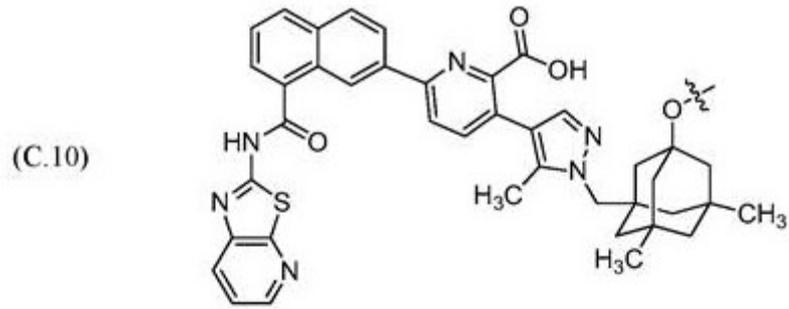


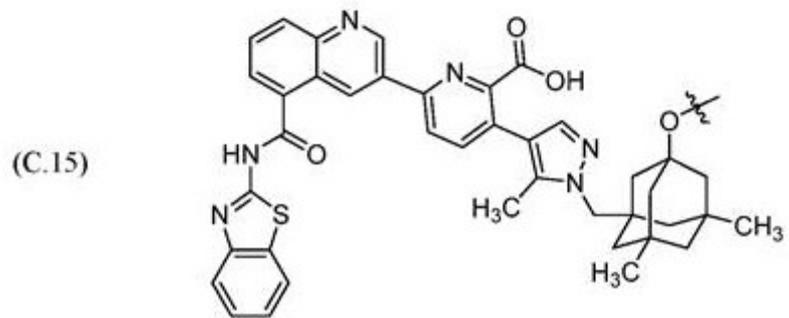
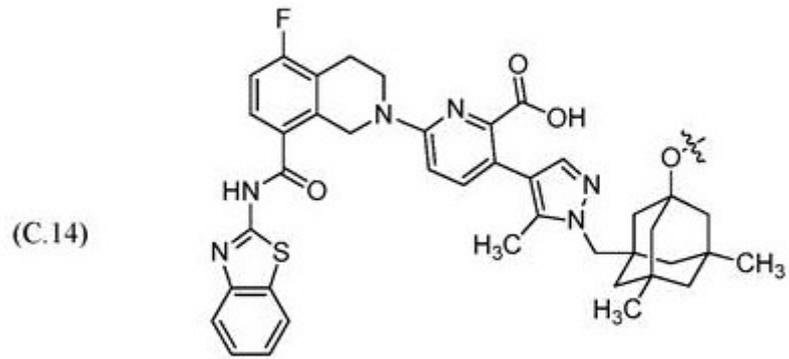
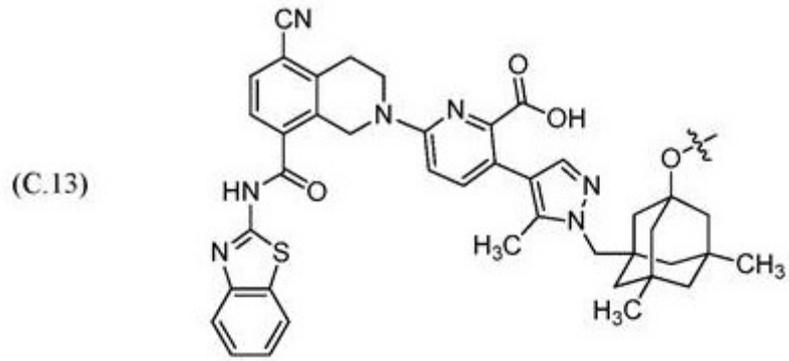
(C.8)

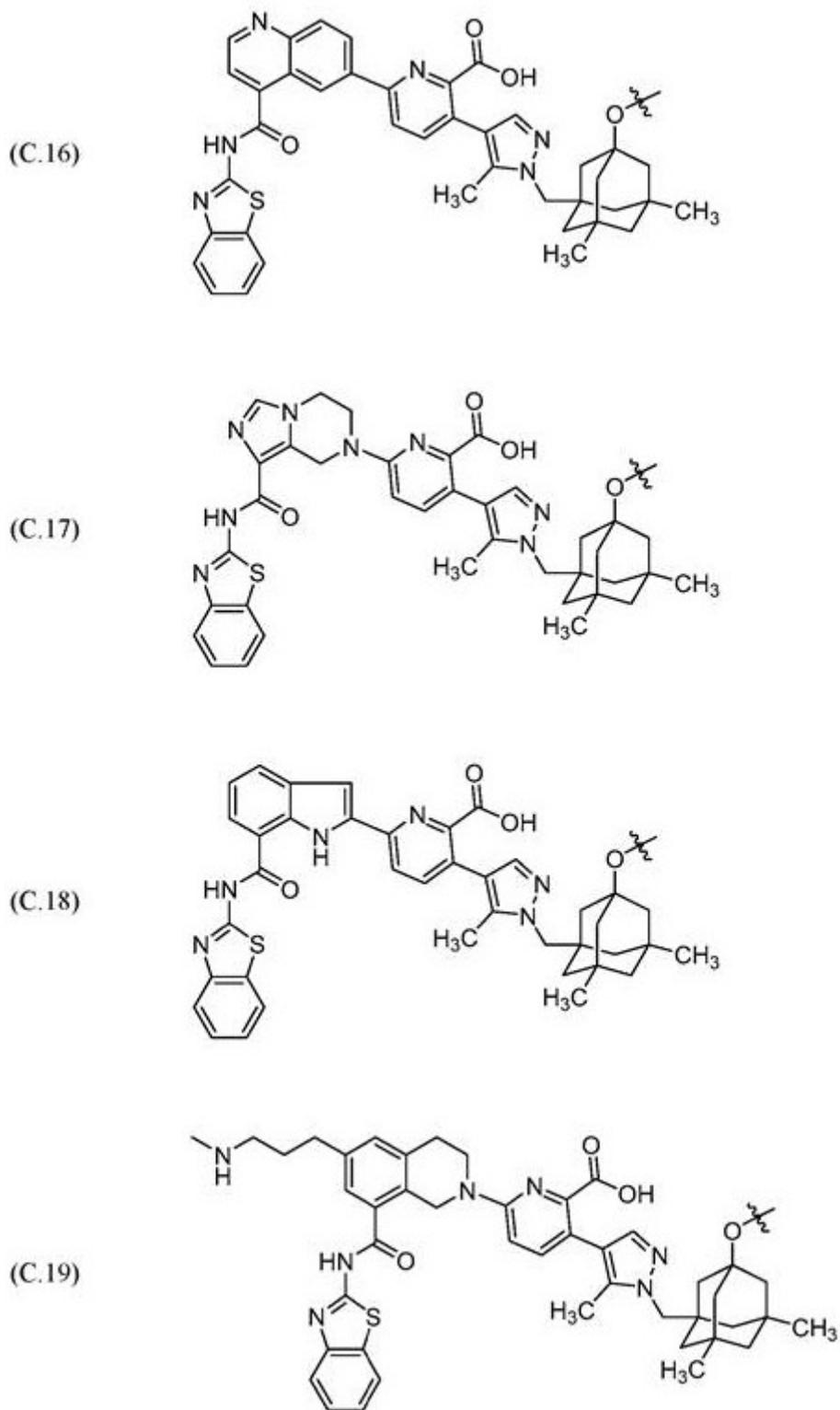


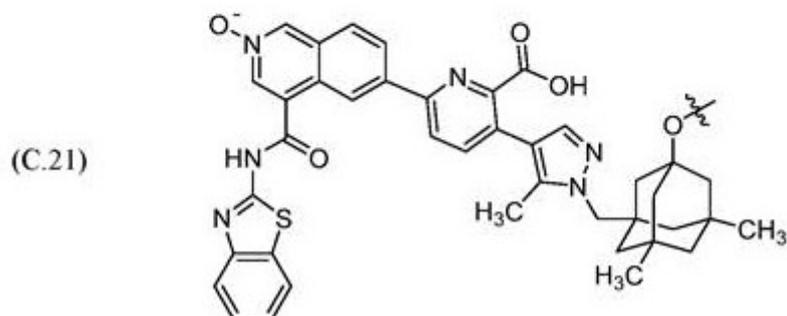
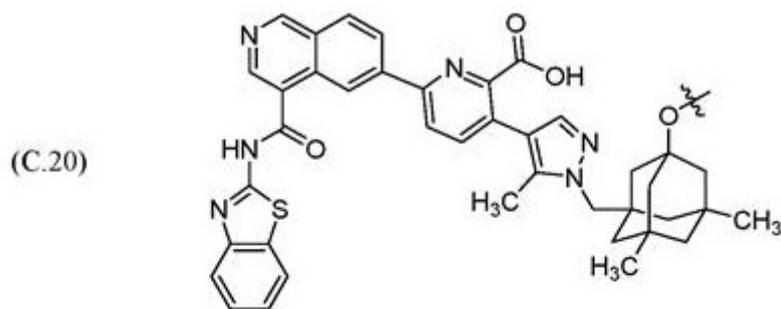
(C.9)











[0219] 可以以非缀合形式和/或包括在本文所描述的ADC中用于本文所描述方法的按照结构式(IIa)-(IId)的示范性的Bcl-xL抑制剂包括下列化合物和/或其盐:

App实施例编号	Bcl-xL抑制剂化合物编号
1.1	W2.01
1.2	W2.02
1.3	W2.03
1.5	W2.05
1.6	W2.06
1.7	W2.07
1.8	W2.08
1.9	W2.09
1.10	W2.10

App实施例编号	Bcl-xL抑制剂化合物编号
1.11	W2.11
1.12	W2.12
1.13	W2.13
1.14	W2.14
1.15	W2.15
1.16	W2.16
1.17	W2.17
1.18	W2.18
1.19	W2.19
1.20	W2.20
1.21	W2.21
1.22	W2.22
1.23	W2.23
1.24	W2.24
1.25	W2.25
1.26	W2.26
1.27	W2.27
1.28	W2.28
1.29	W2.29
1.30	W2.30
1.31	W2.31
1.32	W2.32
1.33	W2.33
1.34	W2.34
1.35	W2.35
1.36	W2.36

App实施例编号	Bcl-xL抑制剂化合物编号
1.37	W2.37
1.38	W2.38
1.39	W2.39
1.40	W2.40
1.41	W2.41
1.42	W2.42
1.43	W2.43
1.44	W2.44
1.45	W2.45
1.46	W2.46
1.47	W2.47
1.48	W2.48
1.49	W2.49
1.50	W2.50
1.51	W2.51
1.52	W2.52
1.53	W2.53
1.54	W2.54
1.55	W2.55
1.56	W2.56
1.57	W2.57
1.58	W2.58
1.59	W2.59
1.60	W2.60
1.61	W2.61
1.62	W2.62

App 实施例编号	Bcl-xL 抑制剂化合物编号
1.63	W2.63
1.64	W2.64
1.65	W2.65
1.66	W2.66
1.67	W2.67
1.68	W2.68
1.69	W2.69
1.70	W2.70
1.71	W2.71
1.72	W2.72
1.73	W2.73
1.74	W2.74
1.75	W2.75
1.76	W2.76
1.77	W2.77
1.78	W2.78
1.79	W2.79
1.80	W2.80
1.81	W2.81
1.82	W2.82
1.83	W2.83
1.84	W2.84
1.85	W2.85
1.86	W2.86
1.87	W2.87
1.88	W2.88

App实施例编号	Bcl-xL抑制剂化合物编号
1.89	W2.89
1.90	W2.90
1.91	W2.91

[0220] 在某些实施方案中,按照结构式(IIa)-(IId)的Bcl-xL抑制剂选自:W2.01、W2.02、W2.03、W2.04、W2.05、W2.06、W2.07、W2.08、W2.09、W2.10、W2.11、W2.12、W2.13、W2.14、W2.15、W2.16、W2.17、W2.18、W2.19、W2.20、W2.21、W2.22、W2.23、W2.24、W2.25、W2.26、W2.27、W2.28、W2.29、W2.30、W2.31、W2.32、W2.33、W2.34、W2.35、W2.36、W2.37、W2.38、W2.39、W2.40、W2.41、W2.42、W2.43、W2.44、W2.45、W2.46、W2.47、W2.48、W2.49、W2.50、W2.51、W2.52、W2.53、W2.54、W2.55、W2.56、W2.57、W2.58、W2.59、W2.60、W2.61、W2.62、W2.63、W2.64、W2.65、W2.66、W2.67、W2.68、W2.69、W2.70、W2.71、W2.72、W2.73、W2.74、W2.75、W2.76、W2.77、W2.78、W2.79、W2.80、W2.81、W2.82、W2.83、W2.84、W2.85、W2.86、W2.87、W2.88、W2.89、W2.90和W2.91,或其可药用盐。

[0221] 在某些实施方案中,ADC或其可药用盐包含药物,所述药物通过连接子与抗体连接,其中所述药物是选自下列的Bcl-xL抑制剂:W2.01、W2.02、W2.03、W2.04、W2.05、W2.06、W2.07、W2.08、W2.09、W2.10、W2.11、W2.12、W2.13、W2.14、W2.15、W2.16、W2.17、W2.18、W2.19、W2.20、W2.21、W2.22、W2.23、W2.24、W2.25、W2.26、W2.27、W2.28、W2.29、W2.30、W2.31、W2.32、W2.33、W2.34、W2.35、W2.36、W2.37、W2.38、W2.39、W2.40、W2.41、W2.42、W2.43、W2.44、W2.45、W2.46、W2.47、W2.48、W2.49、W2.50、W2.51、W2.52、W2.53、W2.54、W2.55、W2.56、W2.57、W2.58、W2.59、W2.60、W2.61、W2.62、W2.63、W2.64、W2.65、W2.66、W2.67、W2.68、W2.69、W2.70、W2.71、W2.72、W2.73、W2.74、W2.75、W2.76、W2.77、W2.78、W2.79、W2.80、W2.81、W2.82、W2.83、W2.84、W2.85、W2.86、W2.87、W2.88、W2.89、W2.90和W2.91。

[0222] Bcl-xL抑制剂与抗凋亡Bcl-xL蛋白结合,并且对其进行抑制,诱导细胞程序死亡。按照结构式(IIa)-(IId)的具体Bcl-xL抑制剂结合并且抑制Bcl-xL活性的能力,可以利用标准结合与活性试验来确认,包括,例如,下列文献所描述的TR-FRET Bcl-xL结合试验:Tao等人,2014, ACS Med. Chem. Lett., 5:1088-1093。可用于确认Bcl-xL结合的具体TR-FRET Bcl-xL结合试验提供于下面实施例4中。通常,在实施例5的结合试验中,本身用作抑制剂和在本文描述的ADC中的Bcl-xL抑制剂的 K_i 小于大约1 nM,但可以显示出显著低的 K_i ,例如, K_i 小于大约1、0.1 nM,或甚至小于0.01 nM。

[0223] Bcl-xL抑制活性还可以利用基于细胞的标准细胞毒性试验来确认,例如,下列文献所描述的FL5.12细胞和Molt-4细胞毒性试验:Tao等人,2014, ACS Med. Chem. Lett., 5:1088-1093。可以用于确认具体Bcl-xL抑制剂(能够渗透细胞膜)的Bcl-xL抑制活性的具体Molt-4细胞毒性试验提供于下面实施例5和6中。通常,在实施例5和6的Molt-4细胞毒性试验中,这种细胞渗透性的Bcl-xL抑制剂的 EC_{50} 值小于大约500 nM,但可以表现出显著更低的 EC_{50} 值,例如, EC_{50} 值小于大约250、100、50、20、10或甚至5 nM。

[0224] 由于存在增溶基,所以,预计许多本文描述的Bcl-xL抑制剂显示出低或非常低的

细胞渗透性,并因此在某些细胞试验中,包括实施例5和6的Molt-4细胞毒性试验,由于所述化合物不能穿过细胞膜而不会产生显著的活性。不能自由地穿过细胞膜的化合物的Bcl-xL抑制活性可以在使用透化细胞的细胞试验中得到证明。线粒体外膜透化(MOMP)的过程是由Bcl-2家族蛋白控制的。具体地说,促凋亡Bcl-2家族蛋白Bax和Bak促进MOMP,并且它们一旦活化,在线粒体膜外上进行低聚反应,形成孔隙,导致细胞色素C(cyt c)的释放。cyt c的释放引起凋亡体(apoptosome)的形成,这相应会导致半胱天冬酶活化以及使细胞进行编程性细胞死亡的其它事件(参见,Goldstein等人,2005, *Cell Death and Differentiation* 12:453-462)。抗凋亡Bcl-2家族成员,包括Bcl-2和Bcl-xL,拮抗Bax和Bak的寡聚作用。Bcl-xL抑制剂,在取决于Bcl-xL存活的细胞中,可以导致Bax和/或Bak的活化、MOMP、cyt c的释放和导致细胞程序死亡的下游事件。可以通过细胞的线粒体和细胞溶质部分的Western印迹,测定cyt c释放的过程,并且用作细胞中的细胞程序死亡的代表性量度标准。

[0225] 作为检测低细胞渗透性的Bcl-xL抑制剂的Bcl-xL抑制活性以及后续的cyt c释放的方法,可以用在血浆(但不是线粒体、膜)中形成选择性孔隙的药剂处理细胞。具体地说,与线粒体膜相比,在质膜中,胆固醇/磷脂比例更高。因此,用低浓度的胆固醇引导的净化剂毛地黄皂苷进行短期培养,可选择性地渗透质膜,不会显著地影响线粒体膜。所述药剂与胆固醇形成不溶解的复合物,导致胆固醇从它的正常磷脂结合位点分离出来。相应地,这种作用在脂质双层中形成大约40-50Å宽的孔。在凋亡细胞中,一旦质膜被透化,可以冲洗掉能够通过毛地黄皂苷形成的孔隙的细胞溶质组分,包括从线粒体释放到细胞溶质中的细胞色素C(Campos, 2006, *Cytometry A* 69(6):515-523)。

[0226] 通常,在实施例5和6的Molt-4细胞透化cyt c试验中,Bcl-xL抑制剂的EC₅₀值小于大约10 nM,尽管所述化合物还可以表现出显著更低的EC₅₀值,例如,小于大约5、1或甚至0.5 nM。如实施例6所述,根据cyt c的释放来测定,在使用非透化细胞的标准Molt-4细胞毒性试验中没有显示出活性的细胞渗透性低或极低的Bcl-xL抑制剂,在使用透化细胞的细胞毒性试验中,显示出有效的功能活性。除了细胞色素C释放之外,进行细胞程序死亡的线粒体通常失去它们的横跨膜线粒体膜电位(Bouchier-Hayes等人,2008, *Methods* 44(3):222-228)。JC-1是阳离子性的碳花青染料,当线粒体健康时,它在线粒体中累积,并发出红色荧光,并且当线粒体膜受到损害时,它受到损失(去极化百分比;Smiley等人,1991, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88:3671-3675;Reers等人,1991: *Biochemistry*, 30:4480-4486)。这种损失的信号可以使用荧光计(激发:545 nm,发射:590 nm)在透化细胞中检测到,并因此可以完全定量,重复性和通过量增加。通常,在实施例5和6的Molt-4细胞透化JC-1试验中,Bcl-xL抑制剂的EC₅₀值小于大约10 nM,不过,所述化合物的EC₅₀值还可以显著地更低,例如,小于大约5、1、0.5或甚至0.05 nM。如实施例6所述,根据JC-1试验的横跨膜线粒体膜电位的损失来测定,在使用非透化细胞的标准Molt-4细胞毒性试验中没有显示出活性的细胞渗透性低或极低的Bcl-xL抑制剂,在使用透化细胞的细胞毒性试验中,显示出有效的功能活性。当以ADC形式给予细胞时,低渗透性Bcl-xL抑制剂还显示出有效的活性(参见,例如,实施例8)。

[0227] 虽然许多结构式(IIa)-(IId)的Bcl-xL抑制剂相比于其它抗凋亡Bcl-2家族蛋白可选择性或特异性地抑制Bcl-xL,但不需要选择性和/或特异性地抑制Bcl-xL。除了抑制Bcl-xL之外,Bcl-xL抑制剂以及含有所述化合物的ADC还可以抑制一或多种其它抗凋亡

Bcl-2家族蛋白,例如,Bcl-2。在一些实施方案中,Bcl-xL抑制剂和/或ADC对于Bcl-xL具有选择性和/或特异性。特异性或选择性是指,在相同试验条件下,相比于结合或抑制Bcl-2,具体Bcl-xL抑制剂和/或ADC结合或抑制Bcl-xL的程度更大。在具体实施方案中,在结合试验中,相比于Bcl-2,Bcl-xL抑制剂和/或ADC对于Bcl-xL显示出大约10倍、100倍或甚至更大的特异性或选择性。

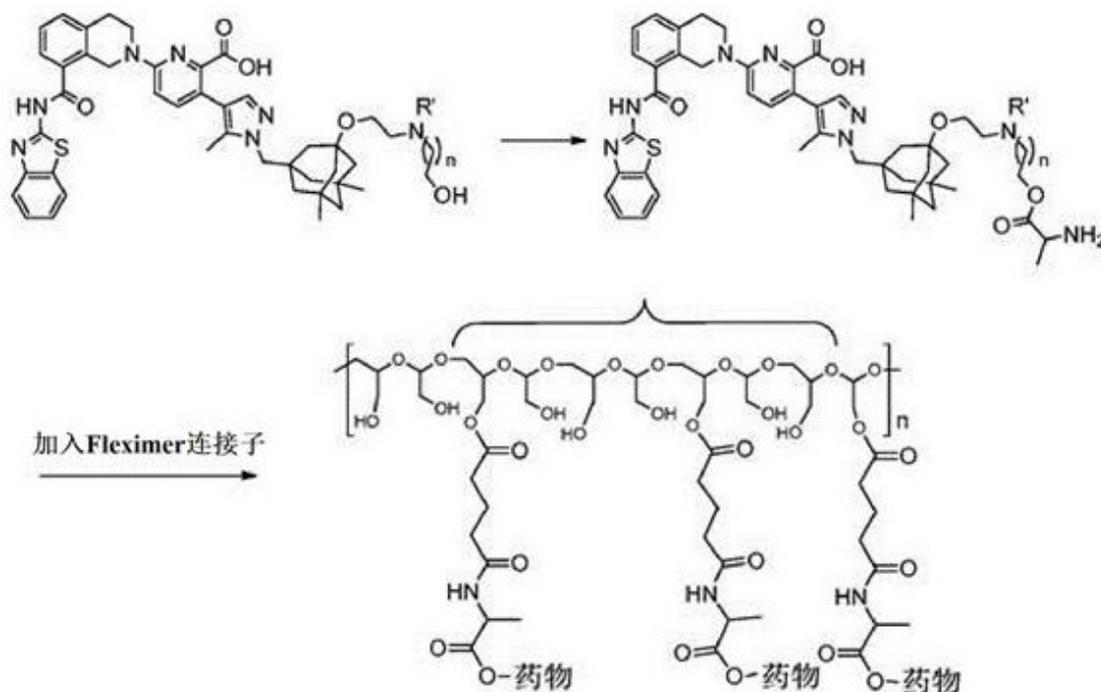
[0228] 4.4. 连接子

在本文所描述的ADC中,Bcl-xL抑制剂通过连接子与抗体连接。连接ADC的Bcl-xL抑制剂与抗体的连接子可以是短的、长的、疏水性的、亲水性的、挠性的或刚性的连接子,或可以由各自独立地具有一或多种上述性能的片段组成,使得连接子可以包括具有不同性能的片段。连接子可以是多价连接子,使得它们将一个以上的Bcl-xL抑制剂共价连接到抗体上单一位点,或可以是单价连接子,使得它们将单个Bcl-xL抑制剂共价连接到抗体上的单一位点。

[0229] 正如技术人员所理解的那样,连接子与Bcl-xL抑制剂在一个位置形成共价连接基,在另一个位置与抗体形成共价连接基,由此将Bcl-xL抑制剂连接到抗体上。在连接子上的官能团和抑制剂上的官能团与抗体之间反应,形成共价连接基。本文使用的词语“连接子”意图包括:(i)连接子的非缀合形式,其包括能够使连接子与Bcl-xL抑制剂共价连接的官能团,以及能够使连接子与抗体共价连接的官能团;(ii)连接子的部分缀合形式,其包括能够使连接子与抗体共价连接的官能团,并且共价连接Bcl-xL抑制剂,或反之亦然;和(iii)连接子的完全缀合形式,其共价连接Bcl-xL抑制剂和抗体。在本文所描述的中间体合成子和ADC的一些具体实施方案中,分别用Rx和LK具体说明含有连接子上的官能团以及在连接子和抗体之间形成的共价连接基的部分。

[0230] 优选,连接子对于细胞外部的条件是化学上稳定的(但不是必要的),并且可以设计成能在细胞内部断裂、裂解和/或另外特异性地降解。或者,可以使用没有设计成能够在细胞内部特异性裂解或降解的连接子。在ADC背景下用于连接药物与抗体的多种连接子在本领域是已知的。这些连接子中的任何连接子以及其它连接子,可以用于连接本文描述的ADC中的Bcl-xL抑制剂与抗体。

[0231] 例如,美国专利8,399,512、美国公开申请2010/0152725、美国专利8,524,214、美国专利8,349,308、美国公开申请2013/189218、美国公开申请2014/017265、WO 2014/093379、WO 2014/093394、WO 2014/093640描述了可以将许多Bcl-xL抑制剂连接到抗体上的示范性的多价连接子,本文以引证的方式引入它们的全部内容。例如,Mersana等人开发的Fleximer®连接子技术能够使高DAR的ADC具有良好的物理化学性能。如下所示, Fleximer®连接子技术是基于通过酯键的序列,将药物分子引入到溶解的聚缩醛骨架上。该方法提供高载荷的ADC(DAR达到20),同时保持良好的物理化学性能。对于Bcl-xL抑制剂,可以使用这种方法,如下面反应路线所示。



[0232] 为了使用上面反应路线描述的Fleximer® 连接子技术,可以存在脂族醇,或将其引入到Bcl-xL抑制剂中。然后,醇部分与丙氨酸部分缀合,然后以合成方式结合到Fleximer® 连接子上。ADC的体外脂质体处理释放含有母体醇的药物。

[0233] 枝状类型的连接子的其它实例可见于下列文献:US 2006/116422;US 2005/271615;de Groot等人,(2003)*Angew. Chem. Int. Ed.* 42:4490-4494;Amir等人(2003)*Angew. Chem. Int. Ed.* 42:4494-4499;Shamis等人(2004)*J. Am. Chem. Soc.* 126:1726-1731;Sun等人(2002)*Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 12:2213-2215;Sun等人(2003)*Bioorganic & Medicinal Chemistry* 11:1761-1768;King等人(2002)*Tetrahedron Letters* 43:1987-1990。

[0234] 下列文献描述了可以使用的示范性的单价连接子:例如,Nolting, 2013, *Antibody-Drug Conjugates, Methods in Molecular Biology* 1045:71-100;Kitson等人,2013, *CROs/CMOs-Chemica Oggi-Chemistry Today* 31(4): 30-36;Ducry等人,2010, *Bioconjugate Chem.* 21:5-13;Zhao等人,2011, *J. Med. Chem.* 54:3606-3623;美国专利US 7,223,837;美国专利US 8,568,728;美国专利US 8,535,678;和WO2004010957,本文以引证的方式结合它们各自的全部内容。

[0235] 例如(但没有限制性),可以包括在本文所描述的ADC中的一些可断裂的和不可断裂的连接子如下所述。

[0236] 4.4.1.1. 可断裂的连接子

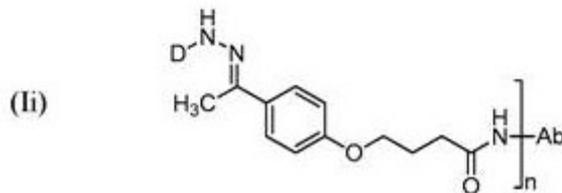
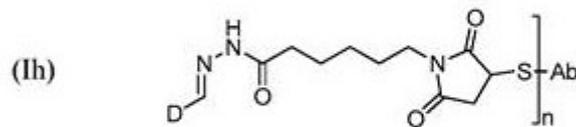
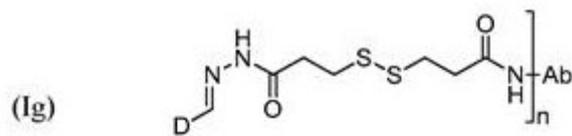
在某些实施方案中,所选择的连接子是体外和体内可断裂的连接子。可断裂的连接子可以包括化学或酶催不稳定或可降解的连接子。可断裂的连接子通常依赖于细胞内部释放药物的过程,例如,在细胞质中还原、在溶酶体中接触酸性条件或通过细胞内的特异性蛋白酶或其它酶来断裂。可断裂的连接子通常包括一个或多个化学或酶催可断裂的化学键,而连接子的其余部分是不可断裂的。

[0237] 在某些实施方案中,连接子包含化学上不稳定的基团,例如,脰和/或二硫基。包含

化学上不稳定的基团的连接子利用血浆和一些胞质腔室之间的性能差异。对于含有脎的连接子,促进药物释放的胞内条件是核内体和溶酶体的酸性环境,而含有二硫化物的连接子在含有高浓度的硫醇(例如,谷胱甘肽)的细胞溶质中还原。在某些实施方案中,可以在化学上不稳定的基团附近使用取代基,引入空间位阻,使得包含化学上不稳定基团的连接子的血浆稳定性提高。

[0238] 对酸不稳定的基团,例如,脎,在血液的中性pH环境(pH7.3-7.5)下的系统循环期间保持完整,并且一旦ADC内化到细胞的适度酸性的核内体(pH5.0-6.5)和溶酶体(pH4.5-5.0)的腔室中,将进行水解反应并释放药物。这种pH依赖性释放机制与药物的非特异性释放有关。为了提高连接子的脎基团的稳定性,可以通过化学改性来改变连接子,例如,取代,使得调整为在溶酶体中更有效地释放,同时使循环过程中的损失最小化。

[0239] 含有脎的连接子可以包含其它断裂位点,例如,其它对酸不稳定的断裂位点和/或酶催不稳定的断裂位点。包括含有示范性的脎的连接子的ADC包括下列结构:



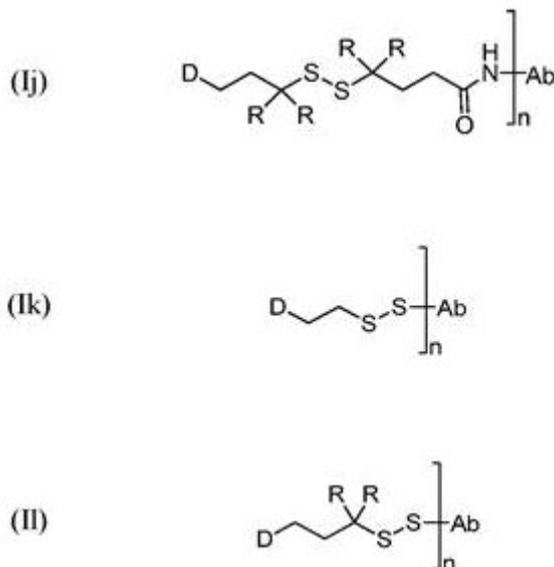
其中,D和Ab分别代表药物和Ab,n代表与抗体连接的药物-连接子的数量。在某些连接子中,例如,连接子(Ig),该连接子包含两个可断裂的基团:二硫化物和脎部分。对于这种连接子,未修饰的游离药物的有效释放需要酸性pH,或二硫化物还原和酸性pH。已经表明,具有单个脎断裂位点的连接子例如(Ih)和(Ii)是有效的连接子。

[0240] 可以包括在连接子中的其它对酸不稳定的基团包括含有顺式乌头基(aconityl)的连接子。顺式乌头基(Aconityl)化学使用与酰胺键并列的羧酸,在酸性条件下促进酰胺水解。

[0241] 可断裂的连接子还可以包括二硫基。二硫化物在生理pH下保持热力学稳定,并且可以被设计成在细胞内部内化时能够释放药物,与胞外环境相比,在细胞内部,细胞溶质提供显著更好的还原条件。二硫键的断裂通常需要存在胞质的硫醇辅助因子,例如(还原的)谷胱甘肽(GSH),使得含有二硫化物的连接子在循环中保持合理的稳定性,在细胞溶质中选择性地释放药物。胞内酶蛋白二硫键异构酶,或能够断裂二硫键的类似的酶,还可以有助于

在细胞内部优先断裂二硫键。与GSH或半胱氨酸(最丰富的低分子量硫醇)在循环中的显著更低的浓度(大约5 μ M)相比,据报道GSH在细胞中的浓度在0.5-10 mM范围。无规律的血流导致含氧量低的状态的肿瘤细胞,导致还原酶的活性提高,并因此导致甚至更高的谷胱甘肽浓度。在某些实施方案中,含有二硫化物的连接子的体内稳定性,可以通过连接子的化学改性得到提高,例如,使用与二硫键相邻的空间位阻。

[0242] 包括示范性的含有二硫化物的连接子的ADC包括下列结构:



其中,D和Ab分别代表药物和抗体,n代表与抗体连接的药物-连接子的数量,R在每次出现时独立地选自氢或烷基。在某些实施方案中,增大与二硫键相邻的空间位阻能够提高连接子的稳定性。结构(例如(Ij)和(Il))表明,当一个或多个R基团选自低级烷基(例如,甲基)时,体内稳定性提高。

[0243] 可以使用的另一个类型的连接子是通过酶特异性断裂的连接子。这种连接子通常是基于肽的连接子,或包括起到酶的底物作用的肽域。与化学上不稳定的连接子相比,基于肽的连接子在血浆和胞外环境中倾向于更稳定。肽键通常具有良好的血清稳定性。与溶酶体相比,溶酶体的蛋白水解酶在血液中的活性极低,这是由于内源性的抑制剂和不利的血液高pH值。由于溶酶体的蛋白酶的作用,例如,组织蛋白酶和纤溶酶,药物从抗体上特异性地释放。在某些肿瘤组织中,这些蛋白酶的存在水平可以升高。在某些实施方案中,连接子是溶酶体酶可断裂的连接子。在某些实施方案中,可通过溶酶体酶断裂连接子,溶酶体酶是组织蛋白酶B。在某些实施方案中,可通过溶酶体酶断裂连接子,溶酶体酶是 β -葡糖苷酸酶或 β -半乳糖苷酶。在某些实施方案中,可通过溶酶体酶断裂连接子,溶酶体酶是 β -葡糖苷酸酶。在某些实施方案中,可通过溶酶体酶断裂连接子,溶酶体酶是 β -半乳糖苷酶。

[0244] 本领域技术人员能够认识到对于血浆稳定、通过溶酶体酶容易断裂的可断裂的连接子的重要性。在某些实施方案中,本文公开的是可通过溶酶体酶 β -葡糖苷酸酶或 β -半乳糖苷酶断裂的连接子,其显示出提高的血浆稳定性,并且使小分子药物的非特异性释放减少。

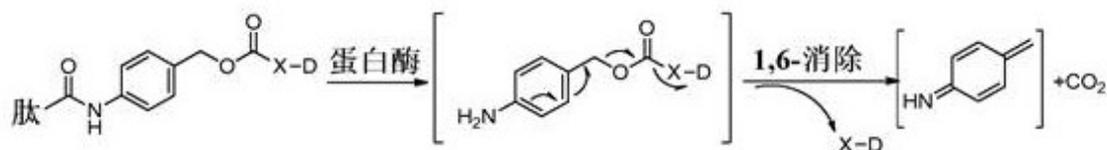
[0245] 在示范性的实施方案中,可断裂的肽选自四肽,例如,Gly-Phe-Leu-Gly、Ala-Leu-Ala-Leu,或二肽,例如,Val-Cit、Val-Ala和Phe-Lys。在某些实施方案中,由于更长的肽的

疏水性,所以,二肽优于更长的多肽。

[0246] 已经描述了用于连接药物(例如,多柔比星、丝裂霉素、喜树碱、太利苏霉素和阿里他汀(auristatin)/阿里他汀(auristatin)家族成员)与抗体的基于各种二肽的可断裂的连接子(参见,Dubowchik等人,1998, *J. Org. Chem.* 67:1866-1872;Dubowchik等人,1998, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 8:3341-3346;Walker等人,2002, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 12:217-219;Walker等人,2004, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 14:4323-4327;以及Francisco等人,2003, *Blood* 102:1458-1465,本文以引证的方式结合它们各自的内容)。所有这些二肽连接子,或这些二肽连接子的改进型,可以在本文描述的ADC使用。可以使用的其它二肽连接子包括在ADC中发现的那些二肽连接子,例如,Seattle Genetics的布妥昔单抗(Brentuximab)、Vendotin SGN-35(Adcetris™)、Seattle Genetics SGN-75(抗CD-70,MC—甲基阿里他汀(auristatin)F(MMAF)、Celldex Therapeutics glembatumumab(CDX-011)(抗-NMB,Val-Cit—甲基阿里他汀(auristatin)E(MMAE)和Cytogen PSMA-ADC(PSMA-ADC-1301)(抗PSMA,Val-Cit-MMAE)。

[0247] 酶催可断裂的连接子可以包括自降解的间隔基(self-immolative spacer),空间上将药物与酶断裂位点分开。药物与肽连接子的直接连接,可以导致药物的氨基酸加合物的蛋白质水解释放,由此减弱它的活性。使用自降解间隔基,可以允许在酰胺键水解时完全活性的、化学上未修饰的药物的消除。

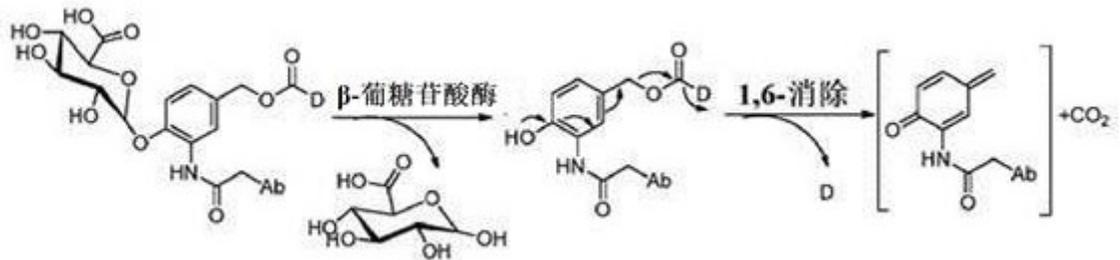
[0248] 一种自降解间隔基是双功能的对氨基苄醇基团,它通过氨基与肽连接,形成酰胺键,而含有胺的药物可以通过氨基甲酸酯官能团与连接子的苄基羟基连接(得到对酰胺苄基氨基甲酸酯,PABC)。一旦出现蛋白酶介导的断裂,所得到的前体药物被活化,引起1,6-消除反应,释放未修饰的药物、二氧化碳和残余的连接子基团。下列反应路线描述了对酰胺基氨基甲酸苄酯的断裂和药物的释放:



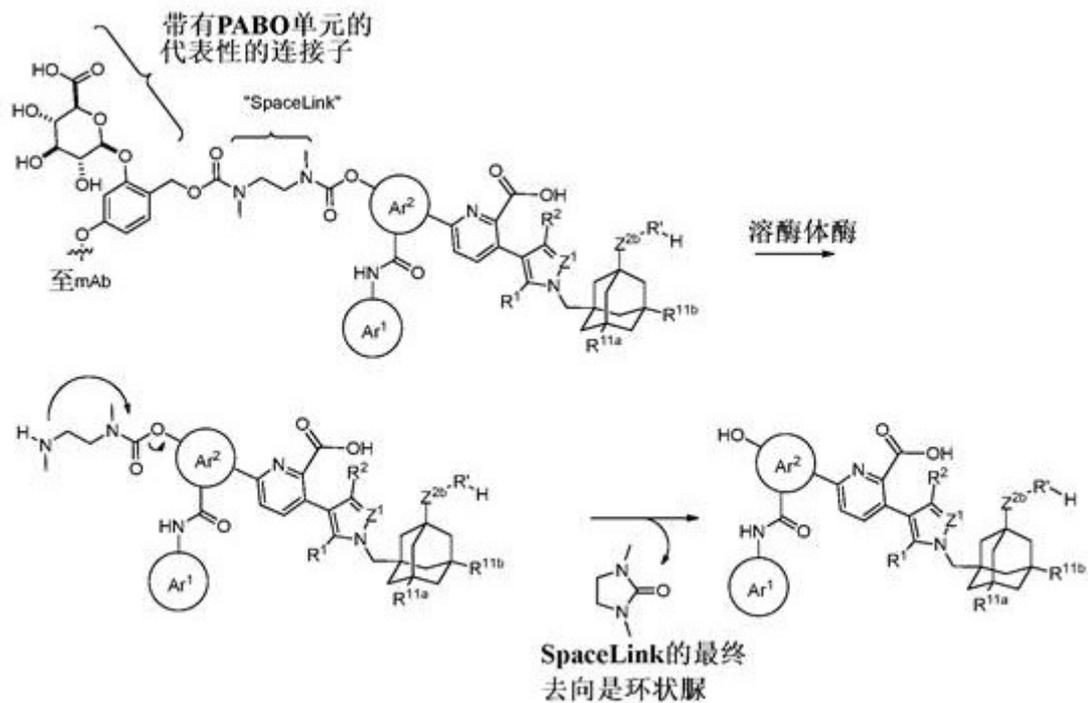
其中,X-D代表未修饰的药物。

[0249] 还描述了这种自降解基团的杂环变体。参见美国专利US 7,989,434。

[0250] 在某些实施方案中,酶催断裂的连接子是基于β-葡糖醛酸的连接子。溶酶体酶β-葡糖苷酸酶将β-葡糖苷酸糖苷键断裂,可以容易地释放药物。这种酶大量地存在于溶酶体内,并且在一些肿瘤类型中过度表达,同时,细胞外部的酶活性很低。由于β-葡糖苷酸的亲水性,所以,基于β-葡糖醛酸的连接子可以用于防止ADC聚集的倾向。在某些实施方案中,优选,基于β-葡糖醛酸的连接子作为与疏水性药物连接的ADC的连接子。下列反应路线描述了从含有基于β-葡糖醛酸的连接子的ADC中释放药物:



[0251] 已经描述了用于连接药物(例如,阿里他汀(auristatin)、喜树碱(camptothecin)和多柔比星类似物、CBI小沟结合剂(minor-groove binders)和psymberin)与抗体的各种可断裂的基于 β -葡糖醛酸的连接子(参见,Jeffrey等人,2006, *Bioconjug. Chem.* 17: 831-840;Jeffrey等人,*Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17:2278-2280;以及Jiang等人,2005, *J. Am. Chem. Soc.* 127:11254-11255,本文以引证的方式结合它们各自的内容)。所有基于这些 β -葡糖醛酸的连接基可以在本文所描述ADC中使用。在某些实施方案中,酶催可断裂的连接基是基于 β -半乳糖苷的连接基。 β -半乳糖苷大量地存在于溶酶体内,同时,细胞外部的酶活性很低。另外,含有酚基团的Bcl-xL抑制剂可以通过酚上的氧与连接子共价键合。美国公开的App. No. 2009/0318668所描述的一种这样的连接子,依赖于使用与基于常规“PABO”的自降解基团结合的二氨基-乙烷“SpaceLink”来递送酚的方法。下面使用本公开的Bcl-xL抑制剂,图解描述连接子的断裂。

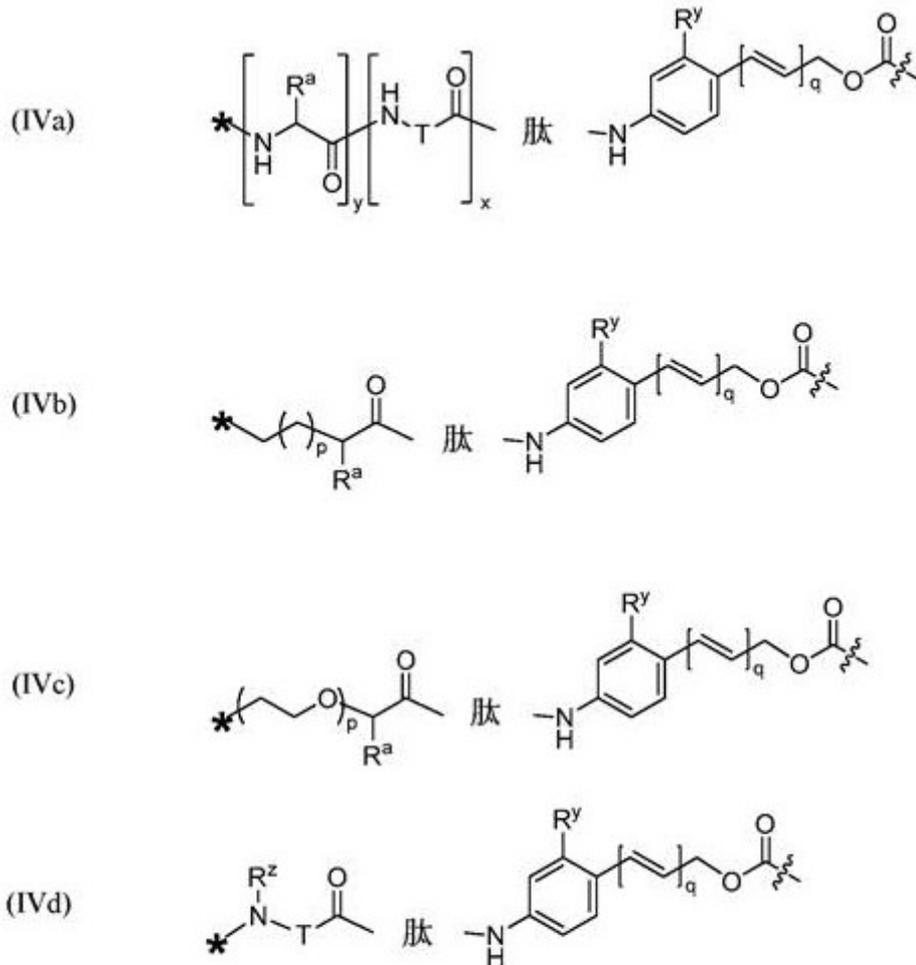


[0252] 可断裂的连接子可以包括不可断裂的部分或片段,和/或,在另外的不可断裂的连接子中可以包括可断裂的片段或部分,以使它可断裂。仅用于举例,聚乙二醇(PEG)和相关的聚合物,在聚合物骨架中可以包括可断裂的基团。例如,聚乙二醇或聚合物连接子可以包括一个或多个可断裂的基团,例如二硫化物、脘或二肽。

[0253] 可以包括在连接子中的其它可降解的连接基,包括由PEG羧酸或活化的PEG羧酸与生物活性剂上的醇基反应所形成的酯键,其中这种酯基通常在生理条件下水解,释放出

物活性剂。水解可降解的连接基包括但不限于：碳酸酯连接基；胺和醛反应所产生的亚胺连接基；醇与磷酸基反应所形成的磷酸酯连接基；作为醛和醇的反应产物的缩醛连接基；作为甲酸酯和醇的反应产物的原酸酯连接基；以及由亚磷酰胺基团（包括但不限于：在聚合物的端部）和寡核苷酸的5'羟基所形成的寡核苷酸连接基。

[0254] 在某些实施方案中，连接子包含酶催可断裂的肽部分，例如，包含结构式 (IVa)、(IVb)、(IVc) 或 (IVd) 的连接子：



或其盐，其中：

肽代表通过溶酶体酶可断裂的肽（举例说明的N→C，其中，肽包括氨基和羧基“端”）；

T代表含有一个或多个乙二醇单元或亚烷基链或其组合的聚合物；

R^a选自氢、烷基、磺酸酯和磺酸甲酯；

R^y是氢或C₁₋₄烷基-(O)_r-(C₁₋₄亚烷基)_s-G¹或C₁₋₄烷基-(N)-[(C₁₋₄亚烷基)-G¹]₂；

R^z是C₁₋₄烷基-(O)_r-(C₁₋₄亚烷基)_s-G²；

G¹是SO₃H、CO₂H、PEG 4-32或糖部分；

G²是SO₃H、CO₂H或PEG 4-32部分；

r是0或1；

s是0或1；

p是0至5的整数；

q是0或1；

x是0或1;

y是0或1;

 代表连接子与Bcl-xL抑制剂的连接点;

*代表与连接子的其余部分的连接点。

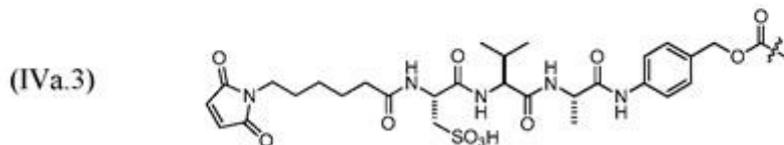
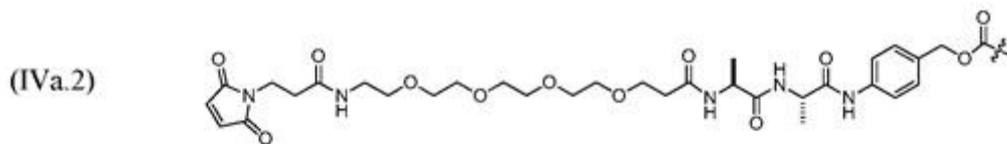
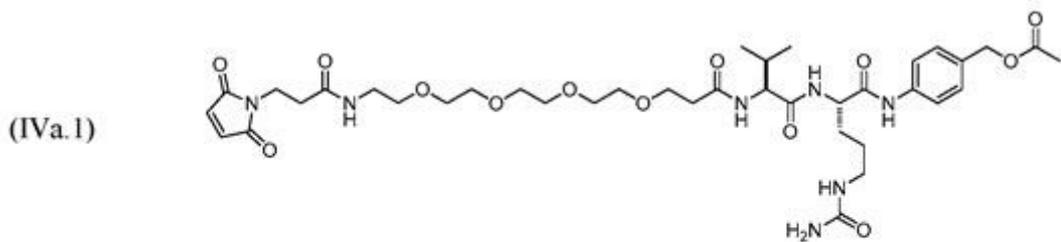
[0255] 在某些实施方案中,连接子包含酶催可断裂的肽部分,例如,包含结构式(IVa)、(IVb)、(IVc)或(IVd)或其盐的连接子。

[0256] 在某些实施方案中,肽选自三肽或二肽。在具体实施方案中,二肽选自:
Val-Cit; Cit-Val; Ala-Ala; Ala-Cit; Cit-Ala;

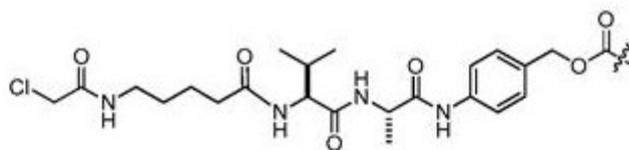
Asn-Cit; Cit-Asn; Cit-Cit; Val-Glu; Glu-Val; Ser-Cit; Cit-Ser; Lys-Cit; Cit-Lys; Asp-Cit; Cit-Asp;
Ala-Val; Val-Ala; Phe-Lys; Lys-Phe; Val-Lys; Lys-Val; Ala-Lys; Lys-Ala; Phe-Cit; Cit-Phe; Leu-

Cit; Cit-Leu; Ile-Cit; Cit-Ile; Phe-Arg; Arg-Phe; Cit-Trp; 和 Trp-Cit; 或其盐。

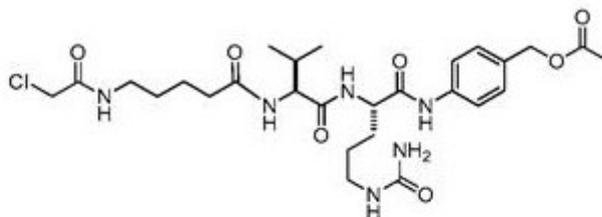
[0257] 可以包括在本文描述的ADC中的按照结构式(IVa)的连接子的示范性实施方案包括下面举例说明的连接子(正如示例所述,连接子包括适合于将连接子与抗体共价连接的基团):



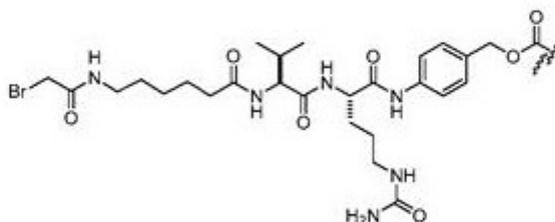
(IVa.4)



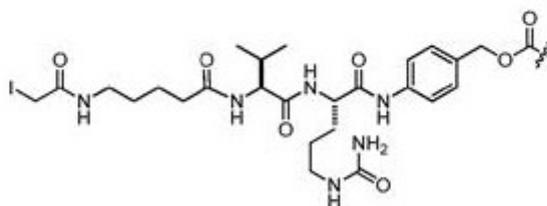
(IVa.5)



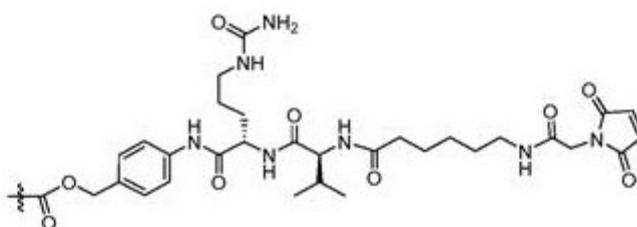
(IVa.6)



(IVa.7)

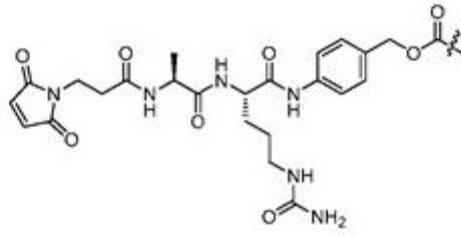


(IVa.8)

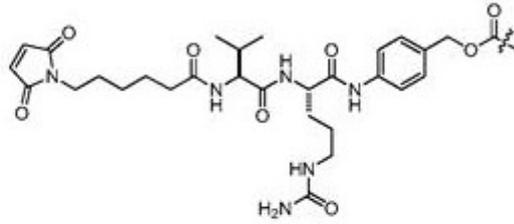


[0258] 可以包括在本文描述的ADC中的按照结构式 (IVb)、(IVc) 或 (IVd) 的连接子的示范性实施方案包括下面举例说明的连接子 (正如示例所述, 连接子包括适合于将连接子与抗体共价连接的基团):

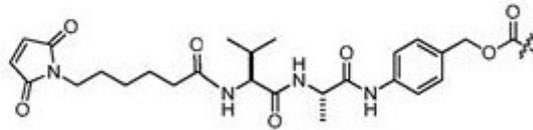
(IVb.1)



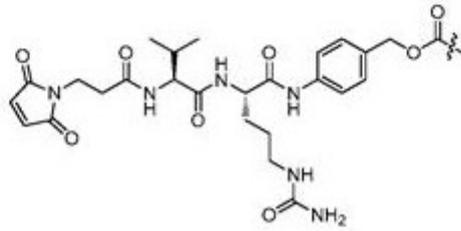
(IVb.2)

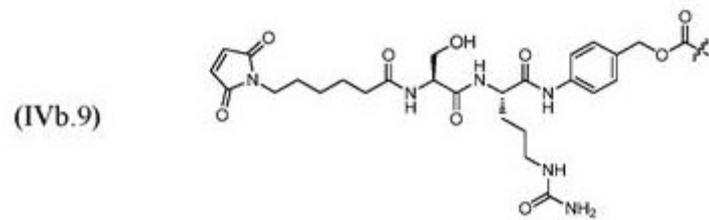
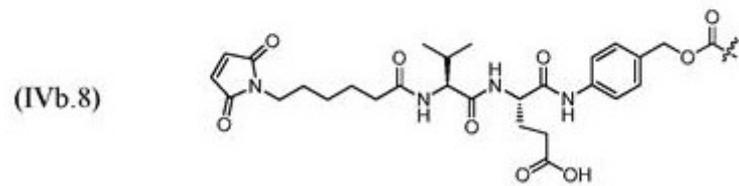
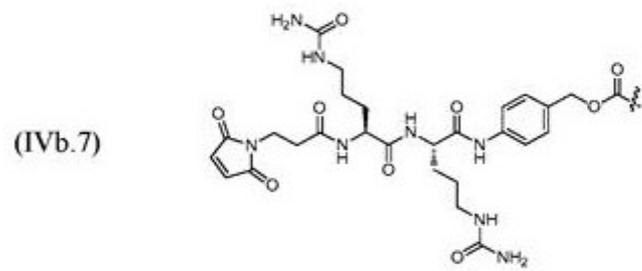
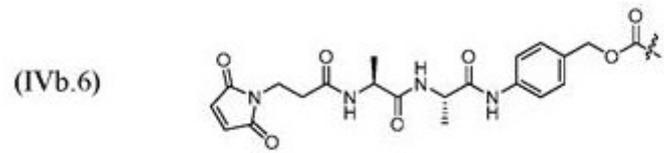
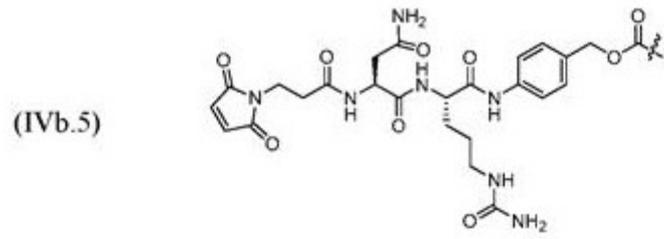


(IVb.3)

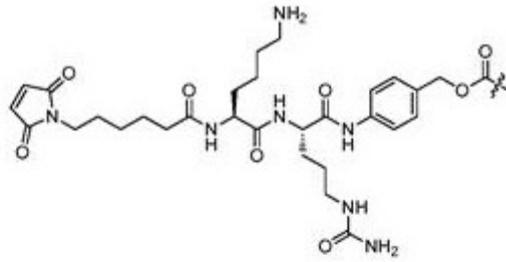


(IVb.4)

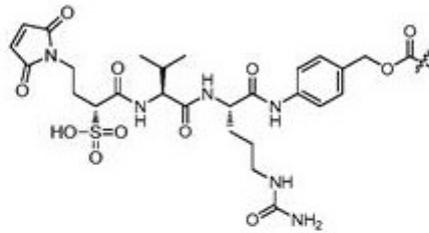




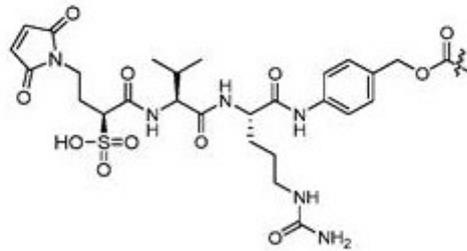
(IVb.10)



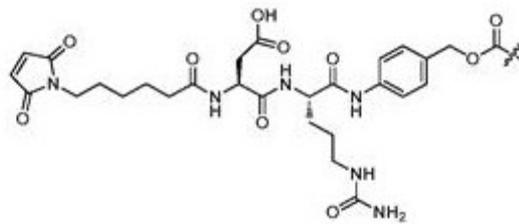
(IVb.11)



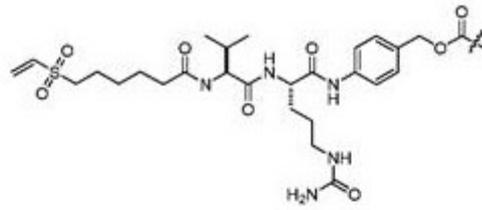
(IVb.12)



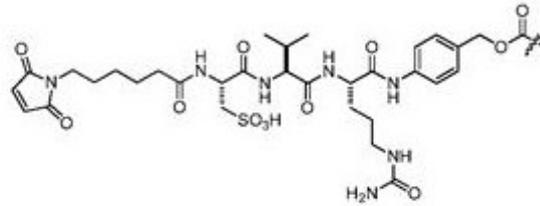
(IVb.13)



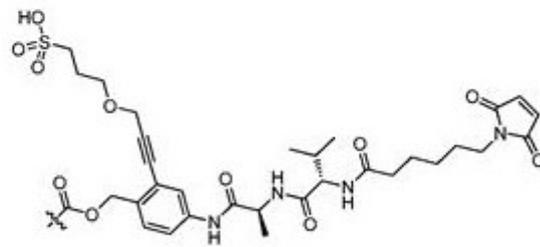
(IVb.14)



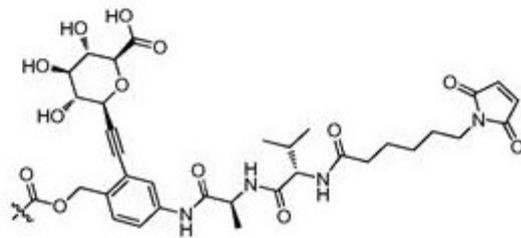
(IVb.15)



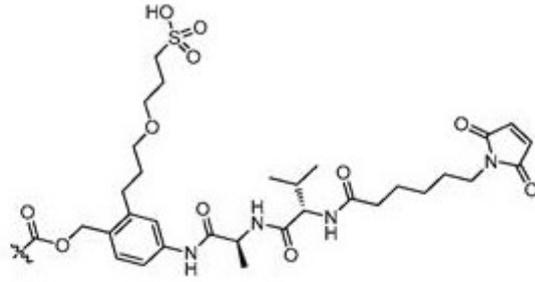
(IVb.16)



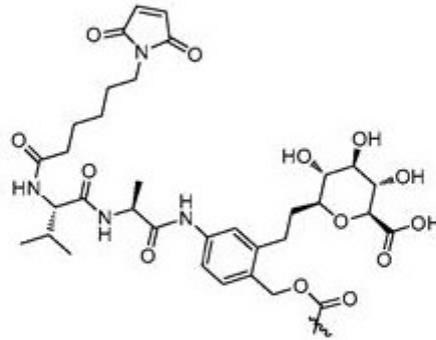
(IVb.17)



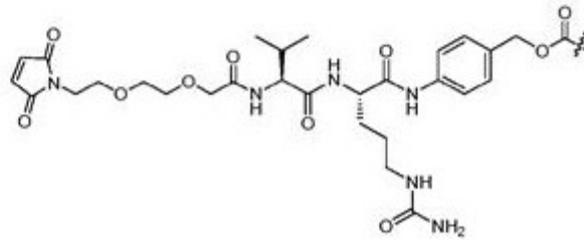
(IVb.18)



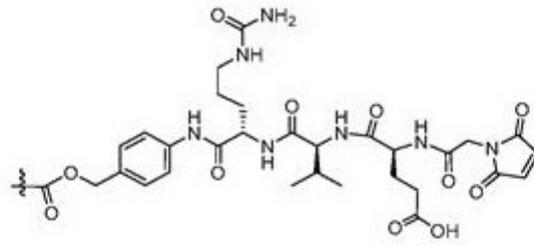
(IVb.19)



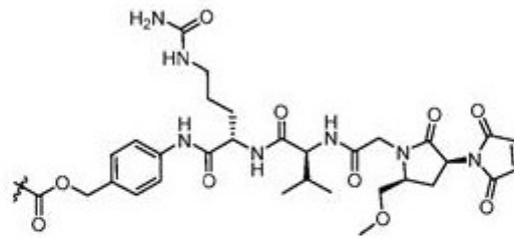
(IVc.1)



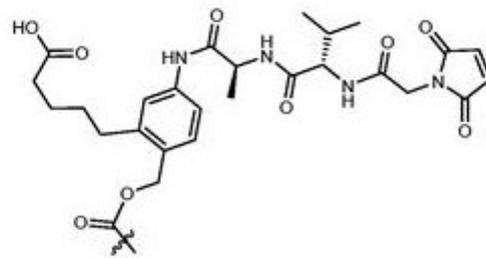
(IVc.2)



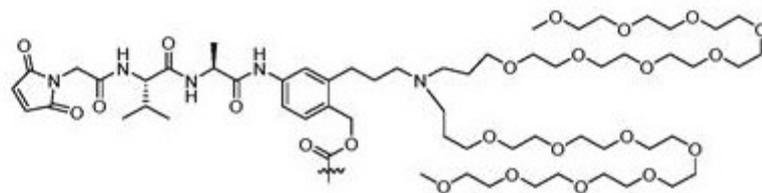
(IVc.3)

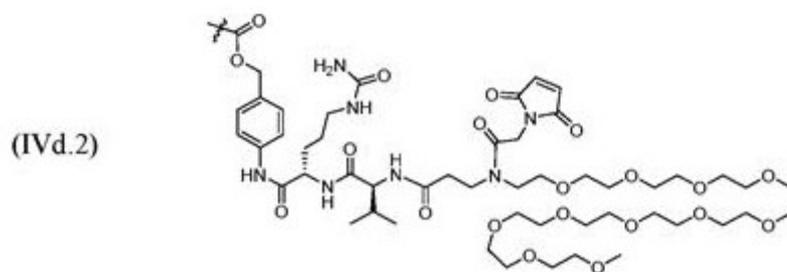
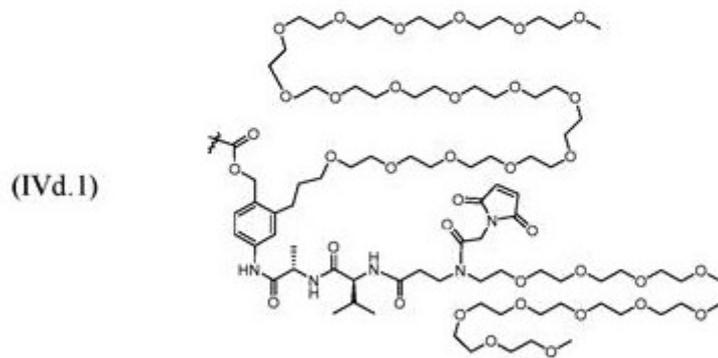
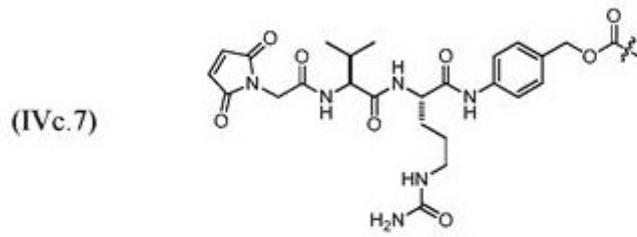
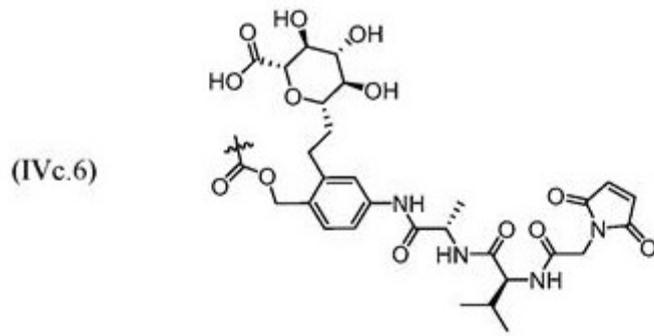


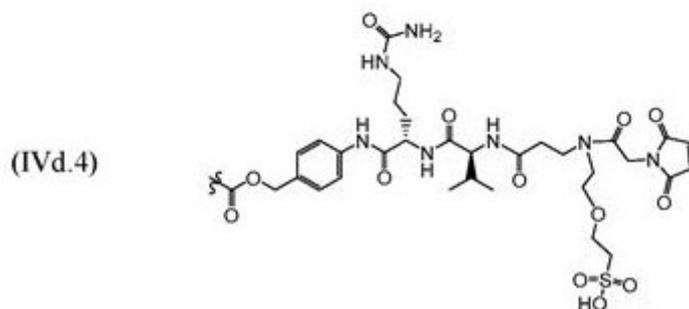
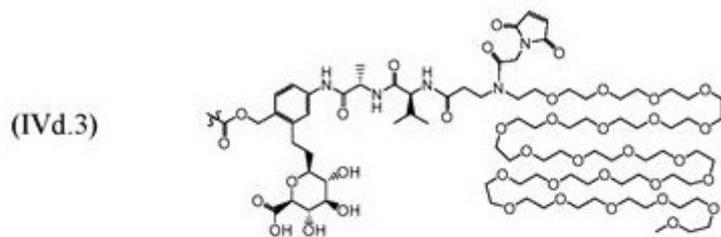
(IVc.4)



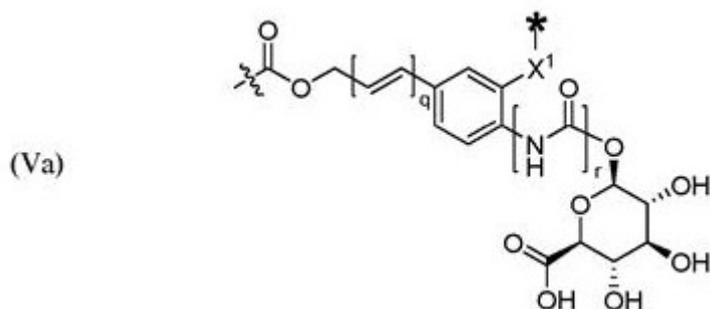
(IVc.5)



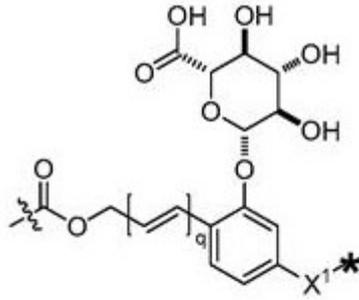




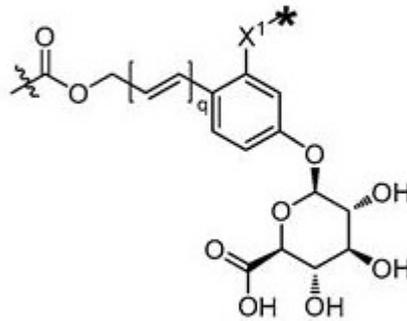
[0259] 在某些实施方案中,连接子包含可酶催断裂的糖部分,例如,包含结构式(Va)、(Vb)、(Vc)、(Vd)或(Ve)的连接子:



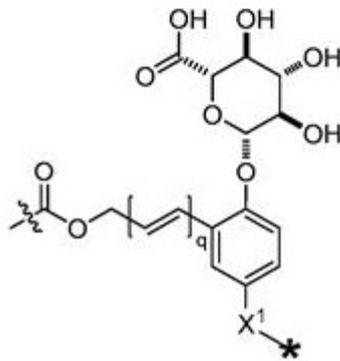
(Vb)



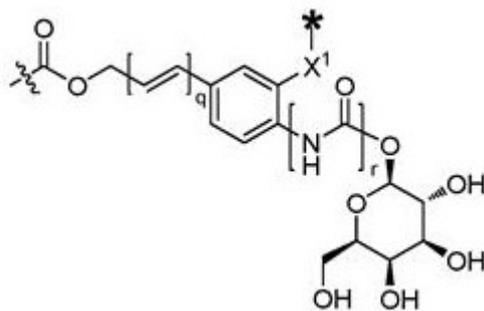
(Vc)



(Vd)



(Ve)



或其盐,其中:

q是0或1;

r是0或1;

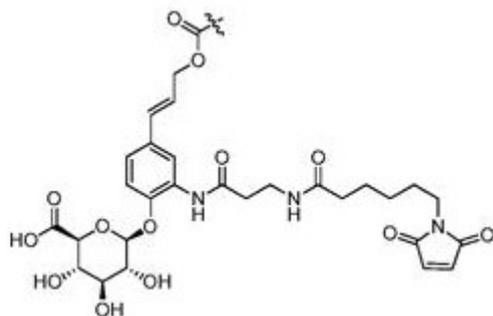
X¹是CH₂、O或NH;

 代表连接子与药物的连接点;和

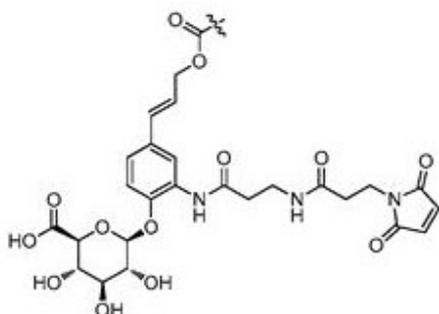
*代表与连接子的其余部分的连接点。

[0260] 可以包括在本文描述的ADC中的按照结构式 (Va) 的连接子的示范性实施方案包括下面举例说明的连接子(正示例所述,连接子包括适合于将连接子与抗体共价连接的基团):

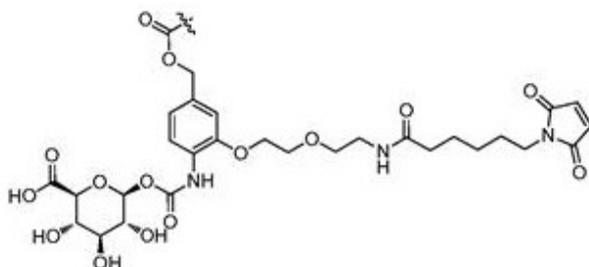
(Va.1)



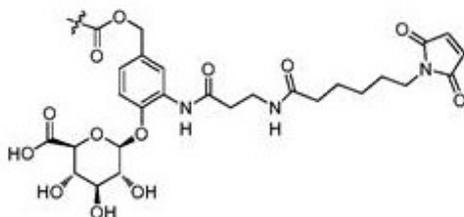
(Va.2)



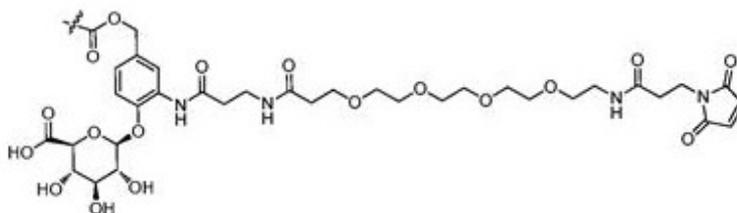
(Va.3)



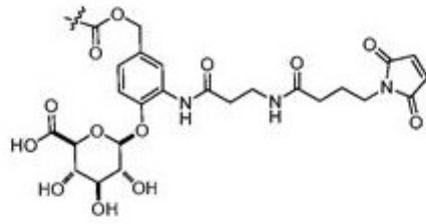
(Va.4)



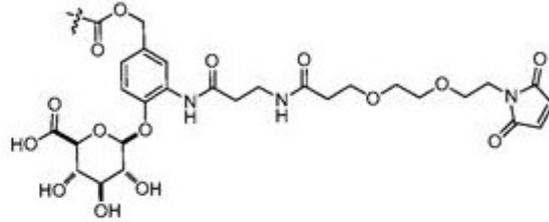
(Va.5)



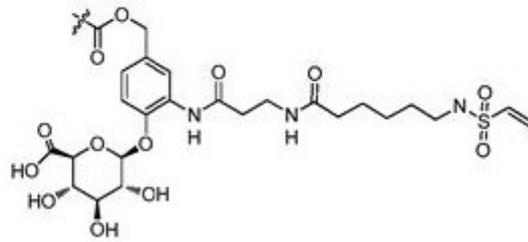
(Va.6)



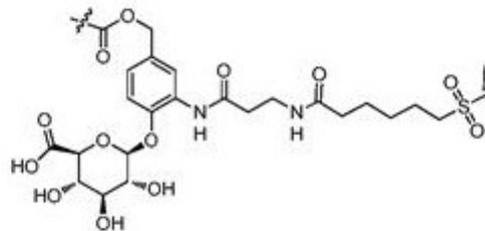
(Va.7)



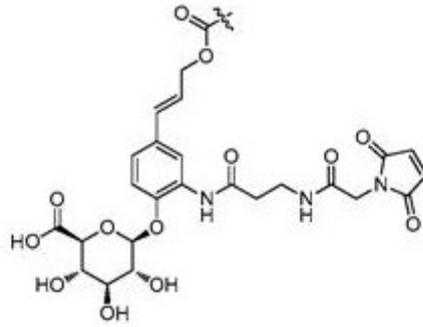
(Va.8)



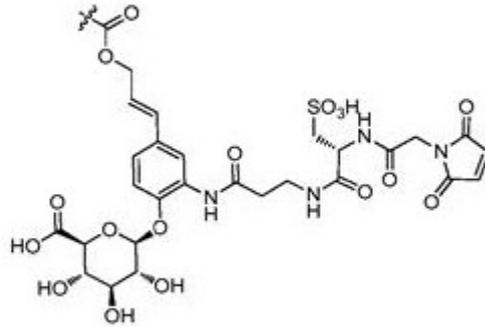
(Va.9)



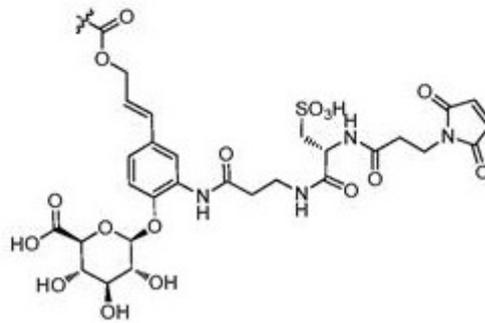
(Va.10)



(Va.11)

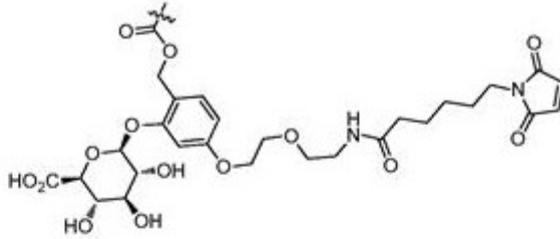


(Va.12)

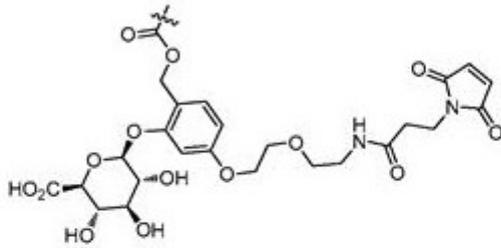


[0261] 可以包括在本文描述的ADC中的按照结构式 (Vb) 的连接子的示范性实施方案包括下面举例说明的连接子 (正如示例所述, 连接子包括适合于将连接子与抗体共价连接的基团) :

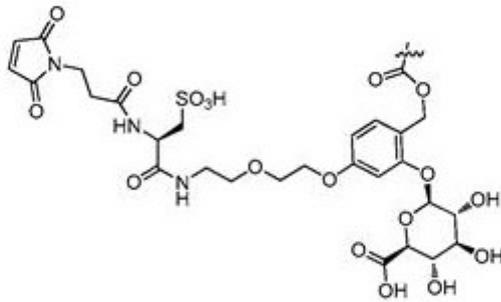
(Vb.1)



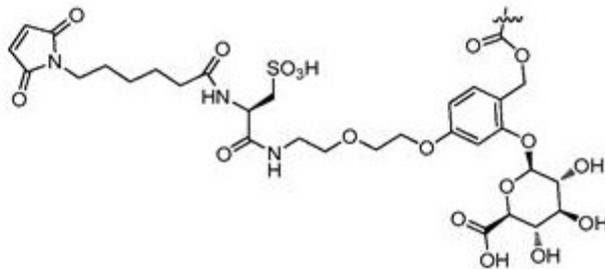
(Vb.2)



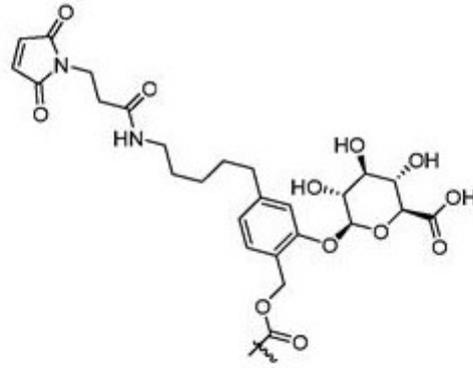
(Vb.3)



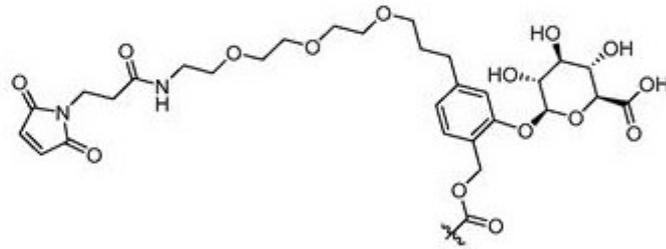
(Vb.4)



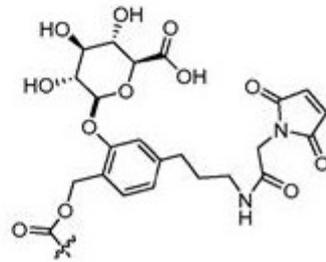
(Vb.5)



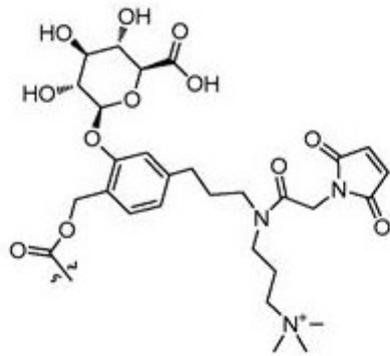
(Vb.6)



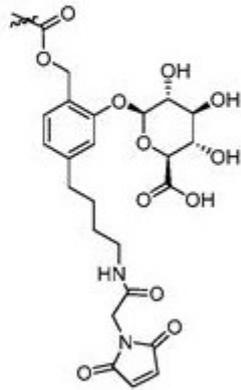
(Vb.7)



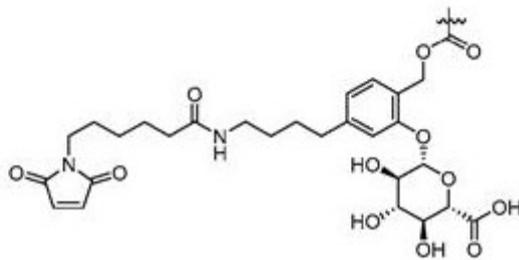
(Vb.8)



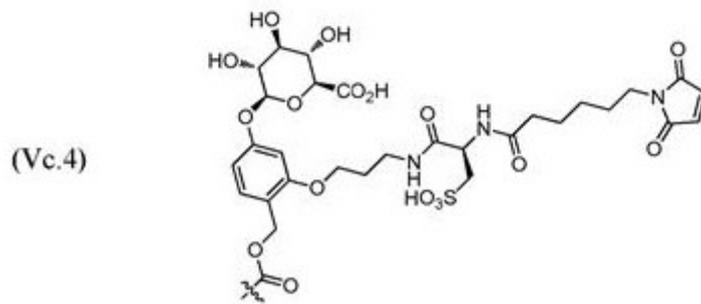
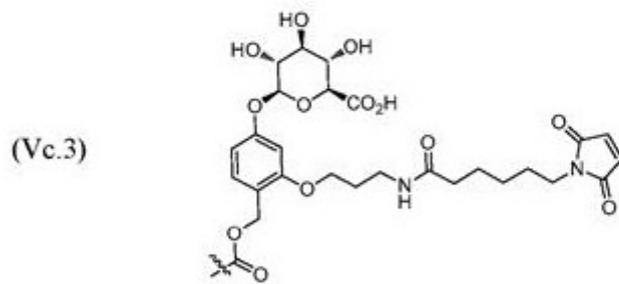
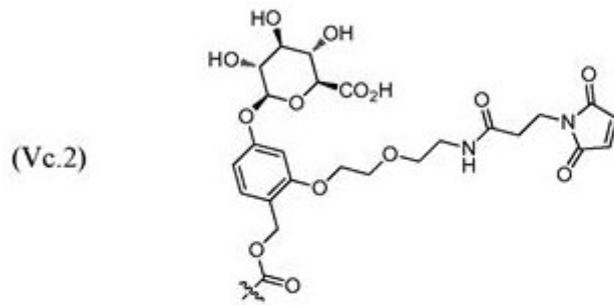
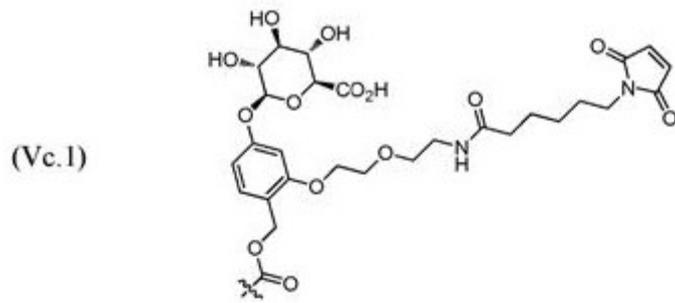
(Vb.9)

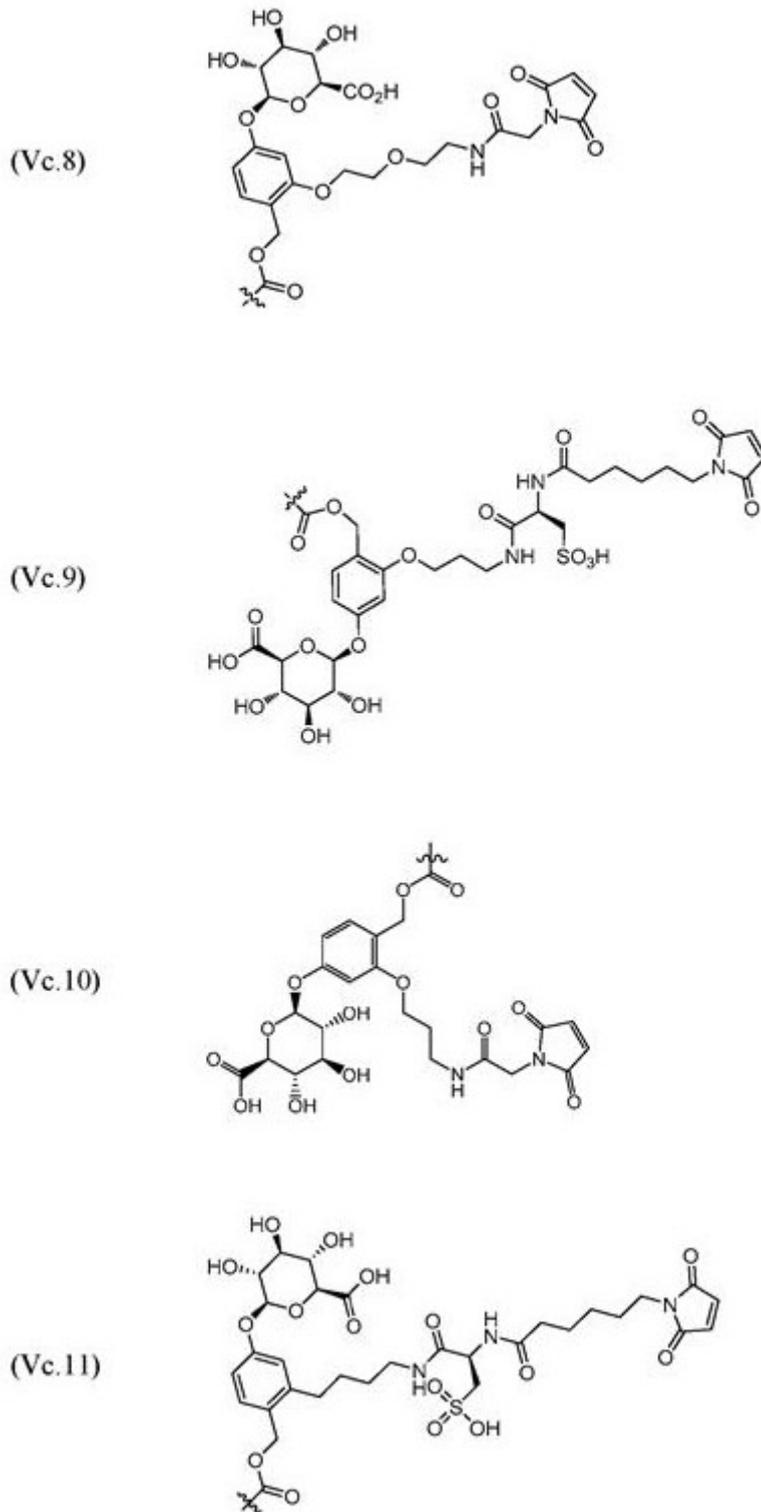


(Vb.10)



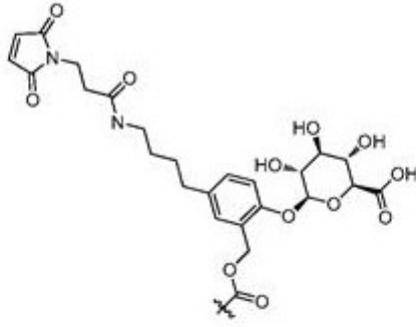
[0262] 可以包括在本文描述的ADC中的按照结构式(Vc)的连接子的示范性实施方案包括下面举例说明的连接子(正如示例所述,连接子包括适合于将连接子与抗体共价连接的基团):



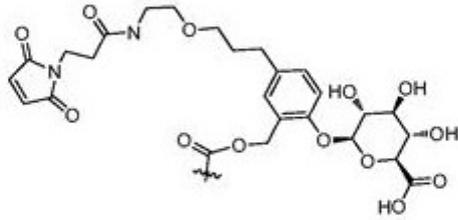


[0263] 可以包括在本文描述的ADC中的按照结构式(Vd)的连接子的示范性实施方案包括下面举例说明的连接子(正如示例所述,连接子包括适合于将连接子与抗体共价连接的基团):

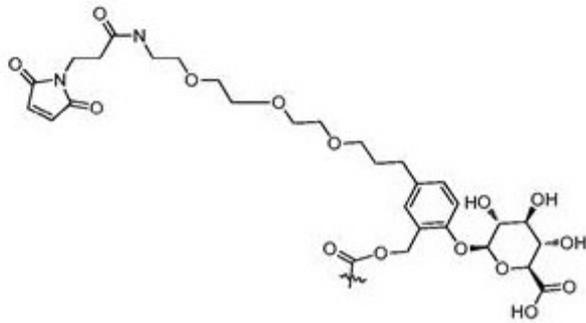
(Vd.1)



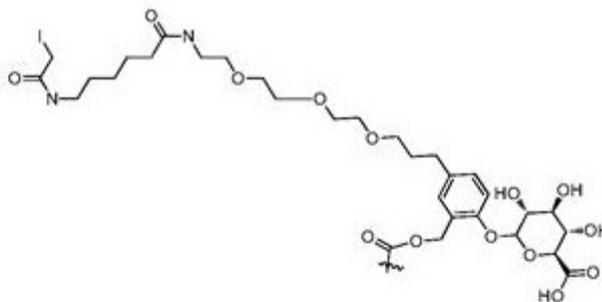
(Vd.2)



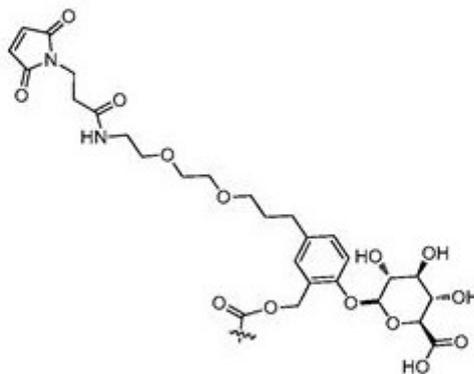
(Vd.3)



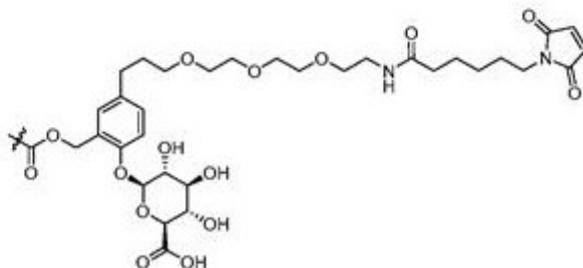
(Vd.4)



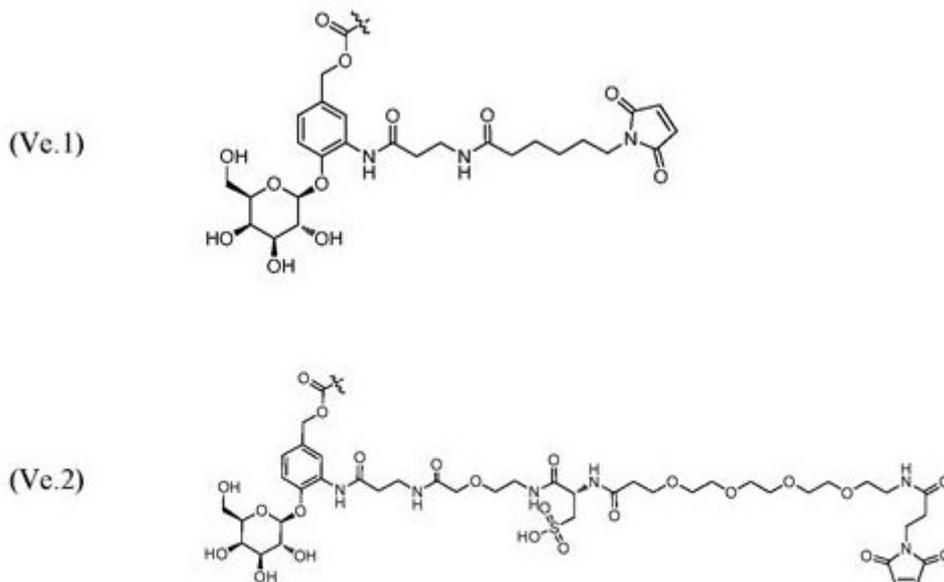
(Vd.5)



(Vd.6)



[0264] 可以包括在本文描述的ADC中的按照结构式 (Ve) 的连接子的示范性实施方案包括下面举例说明的连接子(正如示例所述,连接子包括适合于将连接子与抗体共价连接的基团):

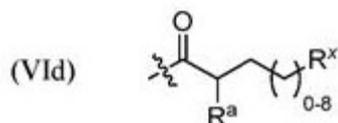
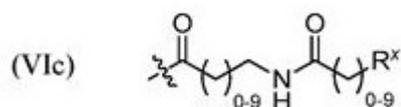
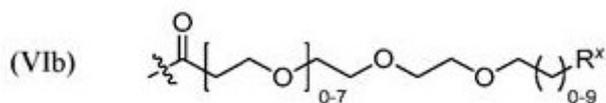
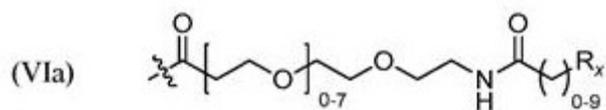


不可断裂的连接子

[0265] 虽然可断裂的连接子可以提供某些优势,但含有本文所描述的ADC的连接子没有必要是可断裂的连接子。对于不可断裂的连接子,药物释放不会依赖于血浆和一些胞质腔室之间的性能差异。ADC内化之后,通过抗原介导的胞吞作用,假定出现药物的释放,并且递送到溶酶体的腔室中,在溶酶体的腔室中,通过胞内蛋白质降解,抗体降解至氨基酸的水平。这个过程释放出由药物、连接子以及连接子共价连接的氨基酸残基所形成的药物衍生物。与带有可断裂的连接子的缀合物相比,源自于带有不可断裂的连接子的缀合物的氨基酸药物代谢物更具亲水性,并且通常膜渗透性更小,这导致旁观者效应更小,非特异性的毒性更小。通常,与带有可断裂的连接子的ADC相比,带有不可断裂的连接子的ADC在循环中的稳定性更大。不可断裂的连接子可以是亚烷基链,或性质上可以是聚合物,例如,基于聚烷撑二醇的聚合物、酰胺聚合物,或可以包括亚烷基链、聚烷撑二醇和/或酰胺聚合物的片段。在某些实施方案中,连接子包含具有1至6个乙二醇单元的聚乙二醇片段。

[0266] 已经描述了用于连接药物与抗体的各种不可断裂的连接子(参见,Jeffrey等人,2006, *Bioconjug. Chem.* 17:831-840;Jeffrey等人,2007, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17:2278-2280;以及Jiang等人,2005, *J. Am. Chem. Soc.* 127:11254-11255,本文以引证的方式结合它们的内容)。所有这些连接子可以包括在本文描述的ADC中。

[0267] 在某些实施方案中,连接子是体内不可断裂的连接子,例如,按照结构式(VIa)、(VIb)、(VIc)或(VId)的连接子(正如示例所述,所述连接子包括适合于将连接子与抗体共价连接的基团):



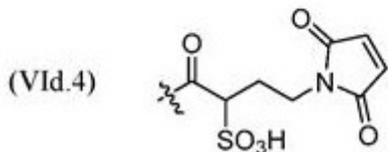
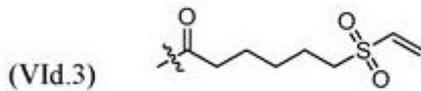
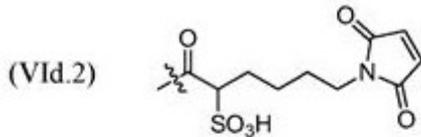
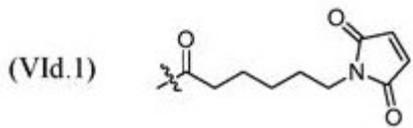
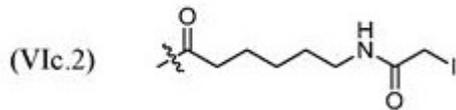
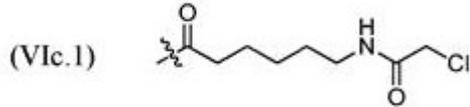
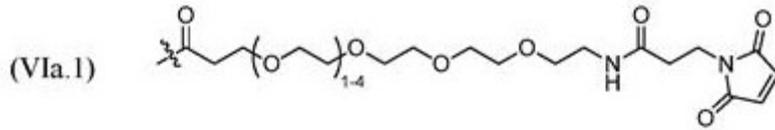
或其盐,其中:

R^a 选自氢、烃基、磺酸酯和磺酸甲酯;

R^x 是包括能够将连接子与抗体共价连接的官能团的部分;

代表连接子与Bcl-xL抑制剂的连接点。

[0268] 可以包括在本文描述的ADC中的按照结构式(VIa)-(VIId)的连接子的示范性实施方案包括下面举例说明的连接子(正如示例所述,连接子包括适合于将连接子与抗体共价连接的基团,和“”代表与Bcl-xL抑制剂的连接点):

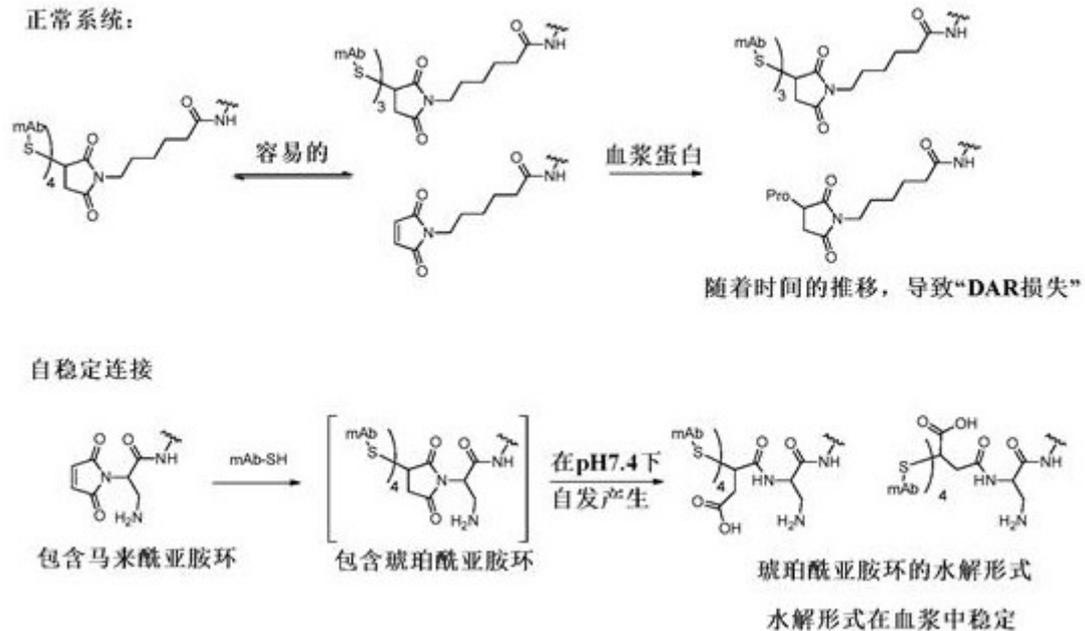


[0269] 4.4.1.2. 用于连接连接子与抗体的基团

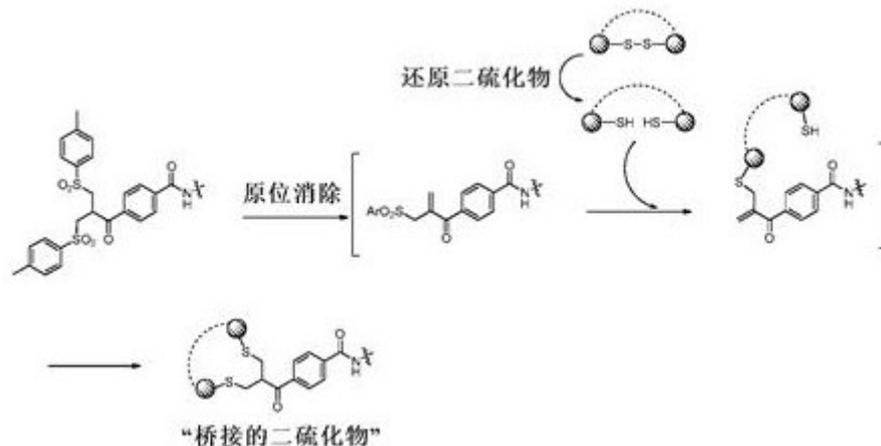
连接基团性质上可以是亲电子的基团,包括:马来酰亚胺基团、活化的二硫化物、活性酯,例如,NHS酯和HOBt酯、卤代甲酸酯,酰卤、烃基和苄基卤,例如,卤代乙酰胺。正如下面讨论的那样,还有与可以按照本公开使用的“自稳定的”马来酰亚胺和“桥接二硫化物”相关的技术。

[0270] 已经观察到药物-连接子从ADC中的缺失,其是用白蛋白、半胱氨酸或谷胱甘肽的马来酰亚胺调换过程的结果(Alley等人,2008,*Bioconjugate Chem.* 19: 759-769)。这种情况在缀合物的高度溶剂可及的位点尤其普遍,而部分可及的且具有荷正电环境的位点促

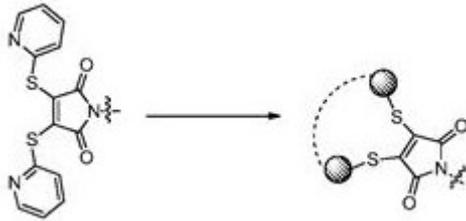
进了马来酰亚胺环的水解(Junutula等人,2008, *Nat. Biotechnol.*26: 925-932)。公认的解决方案是使缀合所形成的琥珀酰亚胺水解,这可以抵抗从抗体的脱缀合,由此使得ADC在血清中稳定。据以前报道,琥珀酰亚胺环在碱性条件下会进行水解(Kalia等人,2007, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*17: 6286-6289)。下面的示意图描述了在抗体缀合条件下自发水解得到稳定性提高的ADC的“自稳定的”马来酰亚胺基团的一个实例。参见美国公开申请2013/0309256和Lyon等人,2014, *Nat. Biotechnol.*32: 1059-1062。由此,使马来酰亚胺连接基团与抗体的巯基反应,得到中间体琥珀酰亚胺环。在血浆蛋白的存在下,连接基团的水解形式抵抗脱缀合。



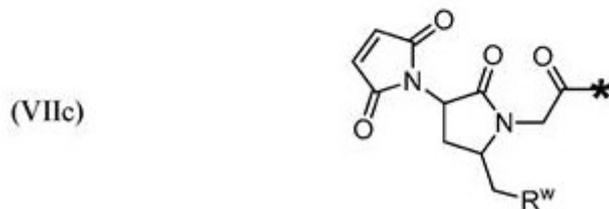
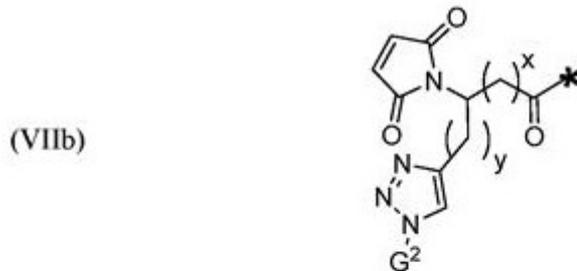
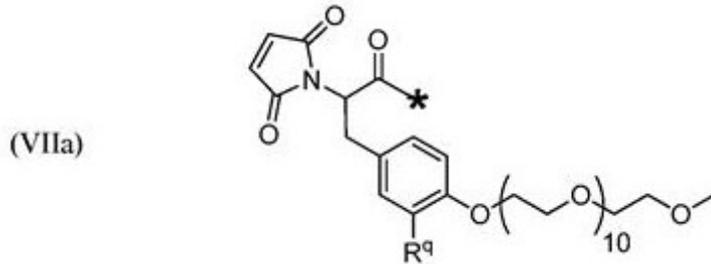
[0271] Polytherics已经公开了桥接一对由天然铰链二硫键的还原所衍生的巯基的方法。参见Badescu等人,2014, *Bioconjugate Chem.*25:1124-1136。下面的示意图描述了该反应。这种方法的优越性是,通过IgGs的完全还原(得到4对巯基),而后与4当量的烷基化剂反应,能够合成均匀的DAR4 ADC。包含“桥接二硫化物”的ADC也使稳定性提高。



[0272] 类似地,正如下面所描述的那样,已经研发了能够桥接一对巯基的马来酰亚胺衍生物。参见美国公开申请2013/0224228。



[0273] 在某些实施方案中,连接部分包含结构式 (VIIa)、(VIIb) 或 (VIIc) :



或其盐,其中:

R^q 是H或 $-O-(CH_2CH_2O)_{11}-CH_3$;

x 是0或1;

y 是0或1;

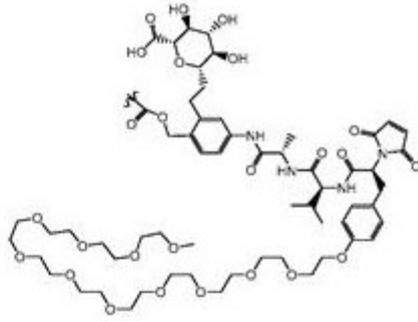
G^2 是 $-CH_2CH_2CH_2SO_3H$ 或 $-CH_2CH_2O-(CH_2CH_2O)_{11}-CH_3$;

R^w 是 $-O-CH_2CH_2SO_3H$ 或 $-NH(CO)-CH_2CH_2O-(CH_2CH_2O)_{12}-CH_3$;

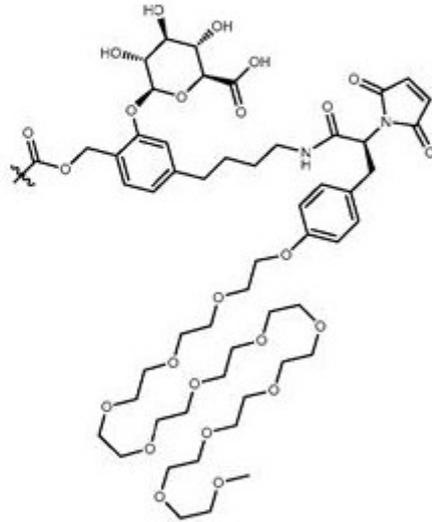
*代表与连接子的其余部分的连接点。

[0274] 可以包括在本文描述的ADC中的按照结构式 (VIIa) 和 (VIIb) 的连接子的示范性实施方案包括下面举例说明的连接子(正如示例所述,连接子包括适合于将连接子与抗体共价连接的基团):

(VIIa.1)



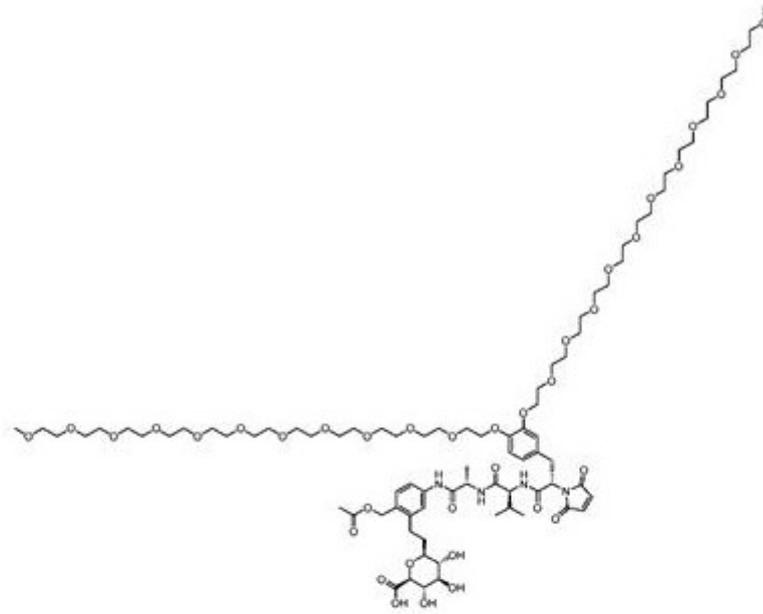
(VIIa.2)



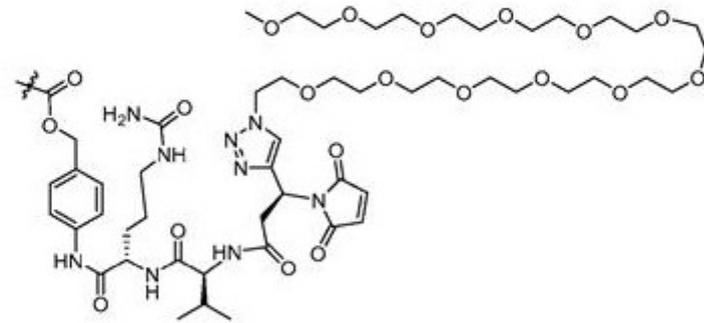
(VIIa.3)



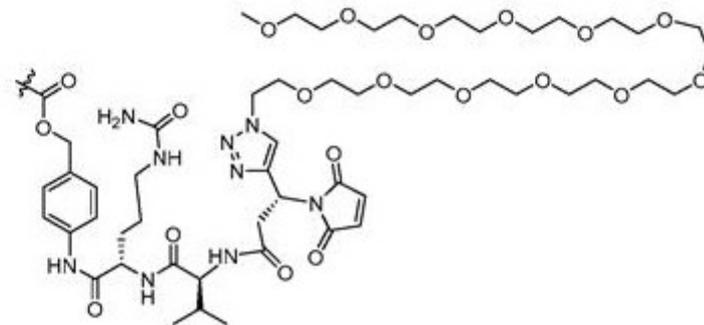
(VIIa.4)



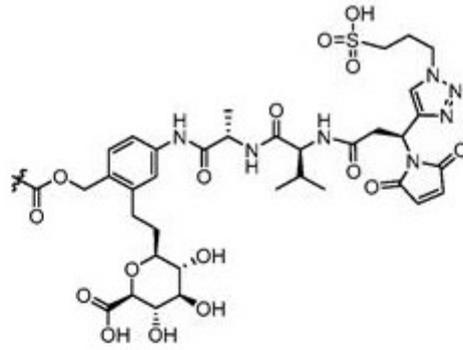
(VIIb.1)



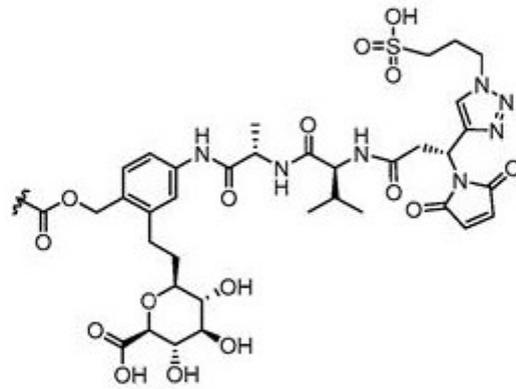
(VIIb.2)



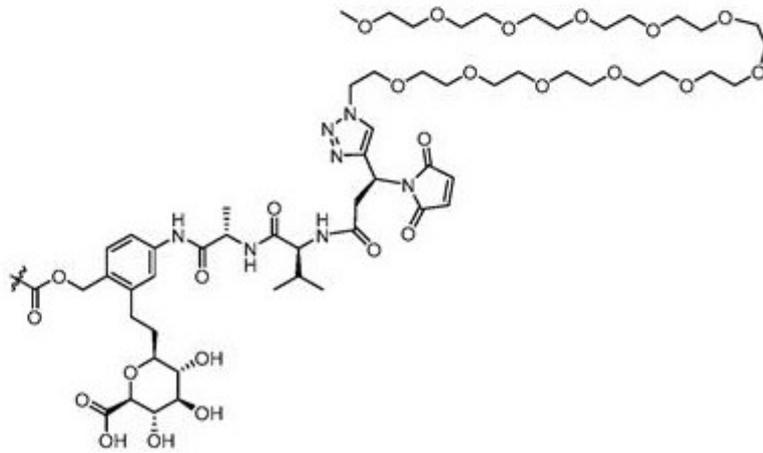
(VIIb.3)



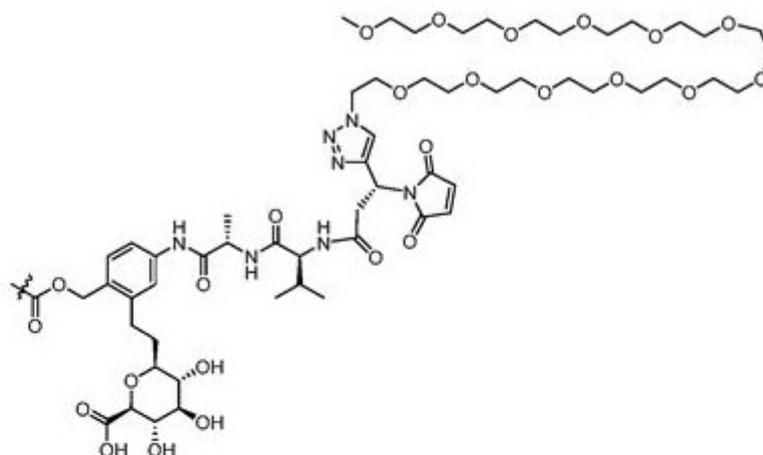
(VIIb.4)



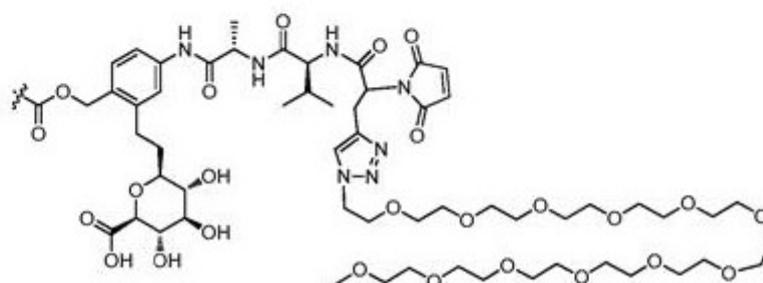
(VIIb.6)



(VIIb.7)

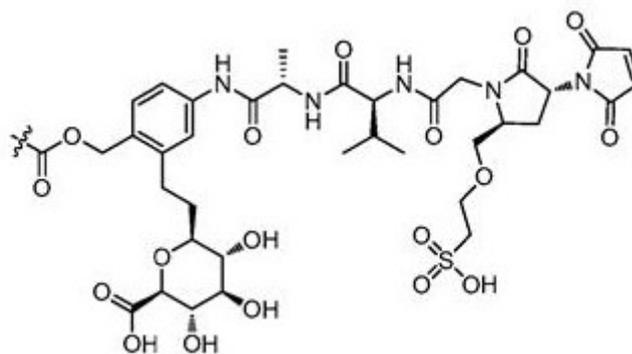


(VIIb.8)

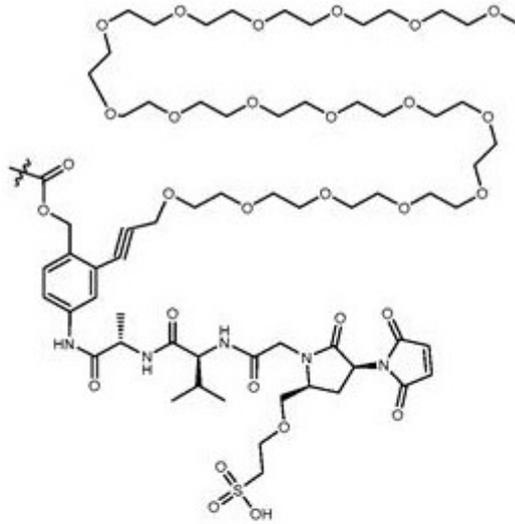


[0275] 可以包括在本文描述的ADC中的按照结构式 (VIIc) 的连接子的示范性实施方案包括下面举例说明的连接子(正如示例所述,连接子包括适合于将连接子与抗体共价连接的基团):

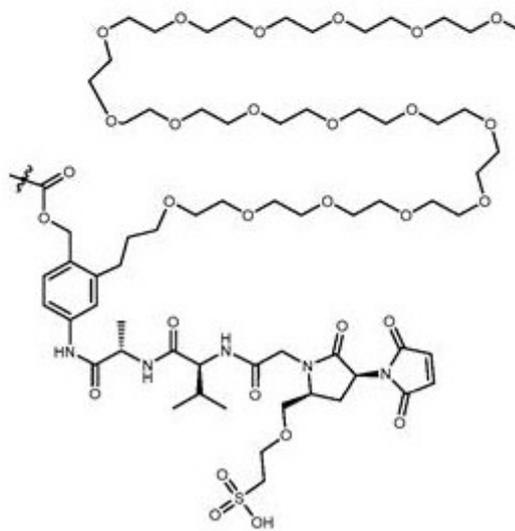
(VIIc.1)

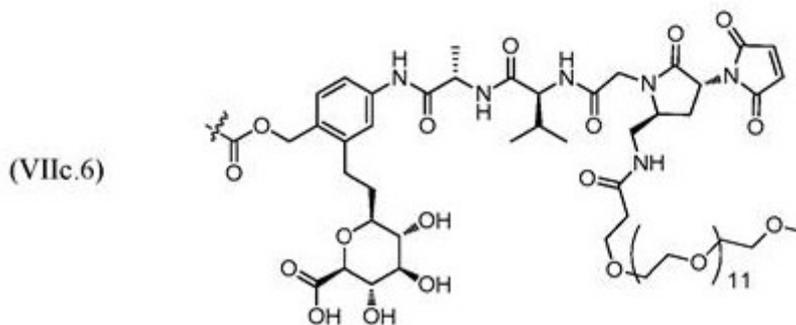
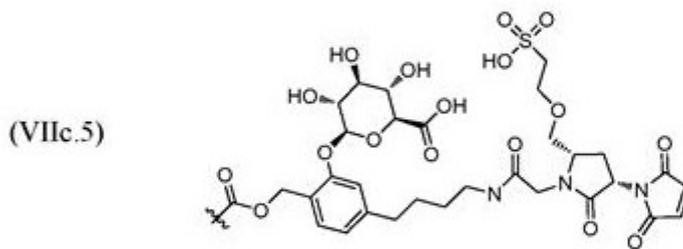
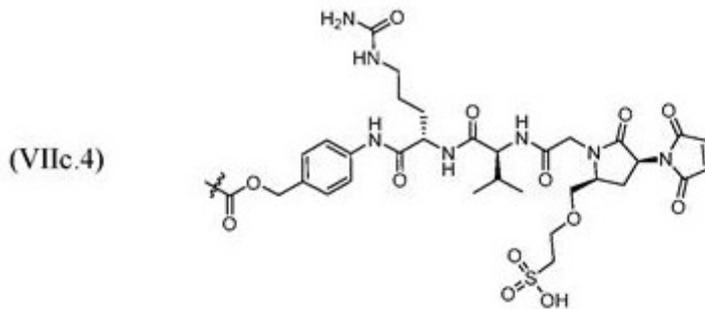


(VIIc.2)



(VIIc.3)





[0276] 4.4.1.3. 连接子选择因素

正如技术人员所了解的那样,为具体ADC所选择的连接子可以受到各种因素的影响,包括但不限于:与抗体连接的位点(例如,lys、cys或其它氨基酸残基)、药物药效团的结构限制以及药物的亲油性。对于特异性抗体/药物组合,为ADC所选择的具体连接子应该设法平衡这些不同因素。对于受到ADC中的连接子的选择影响的因素的综述,参见 Nolting, Chapter 5 “Linker Technology in Antibody-Drug Conjugates,” *In: Antibody-Drug Conjugates: Methods in Molecular Biology*, vol. 1045, pp. 71-100, Laurent Ducry (Ed.), Springer Science & Business Media, LLC, 2013.

[0277] 例如,已经观察到,ADC实施杀伤抗原阳性肿瘤细胞附近的旁观者抗原阴性细胞。ADC的旁观者细胞杀伤机理表明,在ADC的胞内处理期间形成的代谢产物可以起到作用。ADC在抗原阳性细胞中代谢产生的中性细胞毒素代谢物,似乎在旁观者细胞杀伤过程中起一定作用,而带电荷的代谢物则可能被阻止扩散穿过膜进入到培养基中,并由此不能影响旁观者杀伤。在某些实施方案中,为了减弱ADC的细胞代谢物所引起的旁观者杀伤效应,对连接子进行选择。在某些实施方案中,为了提高旁观者杀伤效应,对连接子进行选择。

[0278] 连接子的性能也可以影响ADC在使用和/或储存条件下的聚集。通常,据文献报道,每个抗体分子,ADC包含至多3-4个药物分子(参见,例如,Chari, 2008, *Acc Chem Res* 41: 98-107)。获得更高的药物对抗体比例(“DAR”)的企图经常失败,尤其是在药物和连接子都是疏水性的情况下,原因是ADC出现聚集(参见,King等人,2002, *J Med Chem* 45:4336-4343;Hollander等人,2008, *Bioconjugate Chem* 19:358-361;Burke等人,2009 *Bioconjugate Chem* 20:1242-1250)。在许多情况下,作为提高效能的方法,DAR高于3-4是有利的。在Bcl-xL抑制剂性质上是疏水性的情况下,作为降低ADC聚集的方法,合乎需要的是,选择相对亲水性的连接子,特别是在需要DAR大于3-4的情况下。由此,在某些实施方案中,连接子引入降低ADC在储存和/或使用期间聚集的化学部分。为了降低ADC的聚集,连接子可以引入极性或亲水基,例如带电荷的基团、或在生理pH值下变成带电荷的基团。例如,连接子可以引入带电荷的基团,例如盐或去质子化的基团,例如羧酸盐,或在生理pH值下质子化,例如胺。

[0279] 据报道,能够达到高达20的DAR的示范性的多价连接子,可用于将许多Bcl-xL抑制剂与抗体连接,如下列文献所述:美国专利US 8,399,512;美国公开申请 2010/0152725;美国专利US 8,524,214;美国专利US 8,349,308;美国公开申请 2013/189218;美国公开申请 2014/017265;WO 2014/093379;WO 2014/093394;WO 2014/093640,本文以引证的方式结合它们的全部内容。

[0280] 在具体实施方案中,利用分子排阻色谱(SEC)测定,ADC在储存或使用期间的聚集小于大约40%。在具体实施方案中,利用分子排阻色谱(SEC)测定,ADC在储存或使用期间的聚集小于35%,例如小于大约30%,例如小于大约25%,例如小于大约20%,例如小于大约15%,例如小于大约10%,例如小于大约5%,例如小于大约4%,或甚至更小。

[0281] 4.5. 抗体

ADC的抗体可以是,通常但不必然是特异性,与感兴趣的靶细胞的表面上表达的抗原结合的任何抗体。抗原不必将其中结合的ADC内化到细胞中,但在一些实施方案中,其能够将其中结合的ADC内化到细胞中。感兴趣的靶细胞通常包括:需要抑制抗凋亡Bcl-xL蛋白来诱导细胞程序死亡的细胞,包括,例如(没有限制性),表达或过度表达Bcl-xL的肿瘤细胞。靶点抗原可以是感兴趣的靶细胞上表达的任何蛋白、糖蛋白、多糖、脂蛋白,等等,但通常是在靶细胞上独特表达并且在正常或健康细胞上没有表达的蛋白、或与正常或健康细胞相比较,在靶细胞上过度表达的蛋白,以便ADC选择性地靶向感兴趣的细胞,例如,肿瘤细胞。正如技术人员所理解的那样,具体抗原以及由此选择的抗体取决于感兴趣的目标靶细胞的特征。在具体实施方案中,ADC的抗体是适合于给予人类的抗体。

[0282] 抗体(Abs)和免疫球蛋白(Igs)是具有相同结构特性的糖蛋白。尽管抗体对于具体靶点具有结合特异性,但免疫球蛋白包括抗体及没有靶向特异性的其它抗体类分子。天然的抗体和免疫球蛋白通常是大约150,000 道尔顿的异四聚体糖蛋白,由两个相同的轻(L)链和两个相同的重(H)链组成。每个重链在一端具有一个可变域(VH),后面有许多恒定域。每个轻链在一端具有一个可变域(VL),在它的另一端具有一个恒定域。

[0283] 关于“VH”指的是抗体的免疫球蛋白重链的可变域,包括Fv、scFv或Fab的重链。关于“VL”指的是免疫球蛋白轻链的可变域,包括Fv、scFv、dsFv或Fab的轻链。

[0284] 本文使用的术语“抗体”具有最广义的含义,是指与具体抗原特异性结合或与具体

抗原免疫反应的免疫球蛋白分子,并且包括多克隆抗体、单克隆抗体、基因工程抗体以及另外的抗体的修改型,包括但不限于:鼠抗体、嵌合抗体、人源化的抗体、杂缀合抗体(例如,双特异性抗体、双抗体、三抗体和四抗体)和抗体的抗原结合片段,包括,例如,Fab'、F(ab')₂、Fab、Fv、rIgG和scFv片段。术语“scFv”是指单链Fv抗体,其中,源自于常规抗体的重链和轻链的可变域结合形成一个链。

[0285] 抗体可以是鼠、人、人源化、嵌合抗体或衍生自其它物种的抗体。抗体是能够辨别具体抗原并与其结合的免疫系统所产生的蛋白(Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik(2001) *Immuno Biology*, 5th Ed., Garland Publishing, New York)。靶点抗原通常具有许多结合位点,也称为表位,由多个抗体上的CDR所识别。与不同表位特异性结合的每个抗体具有不同的结构。由此,一个抗原可以具有一个以上的对应抗体。抗体包括全长免疫球蛋白分子或全长免疫球蛋白分子的免疫活性部分,即,包含抗原结合位点的分子,所述抗原结合位点能够免疫特异性结合感兴趣的靶点或其一部分,这种靶点包括但不限于:癌细胞或产生与自身免疫疾病有关的自身免疫抗体的细胞。本文公开的免疫球蛋白可以是免疫球蛋白分子的任何类型(例如,IgG、IgE、IgM、IgD和IgA)、种类(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)或亚类。免疫球蛋白可以源自于任何物种。然而,在一方面,免疫球蛋白是人、鼠或兔子源的免疫球蛋白。

[0286] 术语“抗体片段”是指全长抗体的一部分,通常是靶点结合或可变域。抗体片段的实例包括Fab、Fab'、F(ab')₂和Fv片段。“Fv”片段是最小的抗体片段,它包含全部靶点识别和结合位点。这个域由一个重链可变域和一个轻链可变域的坚固的、非共价相关的二聚体(VH-VL二聚体)组成。在这个构型中,每个可变域的三个CDR相互作用,限定VH-VL二聚体表面上的靶点结合位点。通常,六个CDR赋予抗体靶点结合特异性。然而,在有些情况下,即使单个可变域(或只包含三个对于靶点特异性的CDR的Fv的一半)也可以具有识别和结合靶点的能力。“单链Fv”或“scFv”抗体片段在单个多肽链中包含抗体的VH和VL域。通常,Fv多肽在VH和VL域之间进一步包含多肽连接子,能够使scFv形成靶向结合的目标结构。“单域抗体”由单一VH或VL域组成,对于靶点表现出足够的亲合性。在一个具体实施方案中,单域抗体是camelized化的抗体(参见,例如,Riechmann, 1999, *Journal of Immunological Methods* 231:25-38)。

[0287] Fab片段包含轻链的恒定域以及重链的第一个恒定域(CH1)。Fab'片段由于在重链CH1域的羧基端添加几个残基(包括一个或多个抗体绞链区的半胱氨酸),它与Fab片段不同。F(ab')₂片段是由在F(ab')₂胃蛋白酶消化产物的绞链半胱氨酸处的二硫键断裂所产生的。本领域普通技术人员了解抗体片段的其它化学缀合。

[0288] 轻链和重链可变域具有互补性决定区(CDR),亦称高变区。可变域的更加高度保守的部分被称作骨架(FR)。正如本领域已知的那样,根据上下文和本领域已知的各种定义,描绘抗体的高变区的氨基酸位置/边界可以改变。可以把可变域内的一些位置看作混杂型高变位置,原因在于,根据一套标准,可以认为这些位置在高变区内,而根据一套不同的标准,可以认为这些位置在高变区的外面。还可以在延长的高变区中发现这些位置中的一个或多个。每个链中的CDR通过FR区近似紧密地结合在一起,与其它链的CDR一起,有助于形成抗体的靶点结合位点(参见,Kabat等人, *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institute of Health, Bethesda, Md. 1987)。本文使用的免疫球蛋白氨基酸

残基编号,是按照Kabat等人的免疫球蛋白氨基酸残基编号系统进行编号的,除非另外说明。

[0289] 在某些实施方案中,本公开的ADC的抗体是单克隆抗体。术语“单克隆抗体”(mAb)是指衍生自单一复制品或克隆体的抗体,包括,例如,任何真核、原核或噬菌体克隆体,并且不是指制备它的方法。优选,本公开的单克隆抗体以均匀或基本上均匀的形式存在。单克隆抗体包括能够与蛋白特异性结合的完整分子以及抗体片段(例如,Fab和F(ab')₂片段)。与完整抗体相比,Fab和F(ab')₂片段缺少完整抗体的Fc片段,能够更加快速地从动物的循环中清除,并且非特异性的组织结合更少(Wahl等人,1983, *J. Nucl. Med.* 24:316)。可以使用本领域已知的多种技术,制备本公开使用的单克隆抗体,包括使用杂交瘤、重组和噬菌体展示技术,或其组合。本公开的抗体包括嵌合、灵长类化(primatized)、人源化或人类抗体。

[0290] 尽管在大多数情况下,抗体只由遗传编码的氨基酸组成,但在一些实施方案中,为了控制与抗体连接的Bcl-xL抑制剂的数目以及它们的位置,可以在特定位置引入非编码的氨基酸。在下列文献中,讨论了可以引入到抗体中的、用于控制化学计量和连接位置的非编码的氨基酸的实例,以及制备这种修饰的抗体的方法:Tian等人,2014, *Proc Nat'l Acad Sci USA* 111(5):1766-1771,以及Axup等人,2012, *Proc Nat'l Acad Sci USA* 109(40):16101-16106,,本文以引证的方式结合它们的全部内容。在某些实施方案中,非编码的氨基酸将每个抗体的Bcl-xL抑制剂的数目限定至大约1-8个或大约2-4个。

[0291] 在某些实施方案中,本文所描述的ADC的抗体是嵌合抗体。本文使用的术语“嵌合”抗体是指具有可变序列的抗体,其衍生自非人免疫球蛋白,例如大鼠或小鼠抗体,以及人免疫球蛋白恒定域,通常选自人免疫球蛋白模板。制备嵌合抗体的方法在本领域是已知的。参见,例如,Morrison, 1985, *Science* 229(4719):1202-7; Oi等人,1986, *BioTechniques* 4:214-221; Gillies等人,1985, *J. Immunol. Methods* 125:191-202; 美国专利US 5,807,715; 4,816,567; 以及4,816,397,本文以引证的方式结合它们的全部内容。

[0292] 在某些实施方案中,本文所描述的ADC的抗体是人源化的抗体。非人(例如,鼠)抗体的“人源化”形式是嵌合的免疫球蛋白、免疫球蛋白链或其片段(例如,Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂或抗体的其它靶点结合子域),其包含衍生自非人免疫球蛋白的最小序列。通常,人源化的抗体包含基本上所有可变域、至少一个可变域,和典型地两个可变域,其中,所有的或基本上所有的CDR区与非人免疫球蛋白的CDR区对应,所有或基本上所有的FR区是人免疫球蛋白序列的FR区。人源化的抗体还可以包含免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分,典型地是人免疫球蛋白共有序列的恒定区的至少一部分。抗体人源化的方法在本领域是已知的方法。参见,例如,Riechmann等人,1988, *Nature* 332:323-7; 美国专利US 5,530,101; 5,585,089; 5,693,761; 5,693,762; 和6,180,370(Queen等人); EP239400; PCT公开出版物 WO 91/09967; 美国专利US 5,225,539; EP592106; EP519596; Padlan, 1991, *Mol. Immunol.*, 28:489-498; Studnicka等人,1994, *Prot. Eng.* 7:805-814; Roguska等人,1994, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 91:969-973; 以及美国专利US5,565,332,本文以引证的方式结合它们的全部内容。

[0293] 在某些实施方案中,本文所描述的ADC的抗体是人类抗体。对于人类患者的治疗处理来说,需要完全“人类”抗体。本文使用的“人类抗体”包括具有人免疫球蛋白的氨基酸序列的抗体,包括从人免疫球蛋白库、或从对于一或多种人免疫球蛋白是转基因的并且不表

达内源性免疫球蛋白的动物中分离出来的抗体。可以利用本领域已知的各种方法制备人类抗体,包括使用来源于人免疫球蛋白序列的抗体库的噬菌体展示方法。参见美国专利US4,444,887;4,716,111;6,114,598;6,207,418;6,235,883;7,227,002;8,809,151和美国公开申请2013/189218,本文以引证的方式结合它们的全部内容。还可以使用不能表达功能性的内源性免疫球蛋白但可以表达人免疫球蛋白基因的转基因小鼠制备人类抗体。参见,例如,美国专利US5,413,923;5,625,126;5,633,425;5,569,825;5,661,016;5,545,806;5,814,318;5,885,793;5,916,771;5,939,598;7,723,270;8,809,051,以及美国公开申请2013/117871,本文以引证的方式结合它们各自的全部内容。另外,使用与上述技术相似的技术,可以使公司(例如,Medarex (Princeton,NJ)、Astellas Pharma (Deerfield,IL)和Regeneron (Tarrytown,NY))提供直接针对所选择的抗原的人类抗体。识别所选择的表位的完全人类抗体,可以使用被称为“导向选择”的技术来产生。在这种方法中,所选择的非人类单克隆抗体,例如,小鼠抗体,用于引导完全人类抗体的选择,所述完全人类抗体识别相同的表位(Jespersen等人,1988, *Biotechnology* 12:899-903)。

[0294] 在某些实施方案中,本文所描述的ADC的抗体是灵长类化(primatized)的抗体。术语“灵长类化(primatized)的抗体”是指包含猴子可变区和人类恒定区的抗体。制备灵长类化(primatized)的抗体的方法在本领域是已知的方法。参见,例如,美国专利US5,658,570、5,681,722和5,693,780,本文以引证的方式结合它们的全部内容。

[0295] 在某些实施方案中,本文所描述的ADC的抗体是双特异性抗体或双可变域抗体(DVD)。双特异性和DVD抗体是单克隆抗体,通常是人类或人源化的抗体,对于至少两种不同的抗原具有结合特异性。例如,美国专利US 7,612,181描述了DVD,本文以引证的方式结合其公开内容。

[0296] 在某些实施方案中,本文所描述的ADC的抗体是衍生的抗体。例如(但没有限制性),衍生的抗体通常是利用糖基化、乙酰化、PEG化、磷酸化、酰胺化、通过已知的保护/封端基团衍生化、蛋白酶裂解、连接到细胞配体或其它蛋白上等等来进行修饰的。可以利用已知的技术,进行许多化学修饰的任何修饰,包括但不限于:特异性化学裂解、乙酰化、甲酰化、衣霉素的代谢合成,等等。另外,衍生物可以包含一个或多个非天然的氨基酸,例如,使用Ambrx技术(参见,例如,Wolfson, 2006, *Chem. Biol.* 13(10):1011-2)。

[0297] 在某些实施方案中,本文描述的ADC的抗体具有已被修饰的序列,相对于相应的野生型序列,这种修饰改变至少一个恒定区介导的生物效应子功能。例如,在一些实施方案中,可以修饰抗体,以相对于未修饰的抗体,减少至少一个恒定区介导的生物效应子功能,例如减少与Fc受体(FcR)的结合。使抗体的免疫球蛋白恒定区片段在FcR相互作用所必需的特定区域发生突变,可以减少FcR结合(参见,例如,Canfield and Morrison, 1991, *J. Exp. Med.* 173:1483-1491;以及Lund等人,1991, *J. Immunol.* 147:2657-2662)。

[0298] 在某些实施方案中,修饰本文描述的ADC的抗体,相对于未修饰的抗体,获得或增加至少一个恒定区介导的生物效应子功能,例如增强Fc γ R相互作用(参见,例如,US 2006/0134709)。例如,具有结合了Fc γ RIIA、Fc γ RIIB和/或Fc γ RIIIA的恒定区(比相应的野生型恒定区具有更大的亲合性)的抗体,可以按照本文描述的方法制备。

[0299] 在某些实施方案中,本文描述的ADC的抗体是结合了肿瘤细胞的抗体,例如针对细胞表面受体或肿瘤相关的抗原(TAA)的抗体。为了发现诊断和治疗癌症的有效的细胞靶点,

研究人员设法确定横跨膜,或在一或多种具体类型的癌细胞的表面上特异性表达(与一或多种正常的非癌性细胞相比较)的横跨膜或其它肿瘤相关的多肽。通常,与非癌性细胞的表面相比较,这种肿瘤相关的多肽更加充分地癌细胞的表面上表达。这种细胞表面受体和肿瘤相关的抗原在本领域是已知的,并且可以使用本领域众所周知的方法和信息制备它们,用于产生抗体。

[0300] 4.5.1 示范性的细胞表面受体和TAA

本文描述的ADC的抗体可以靶向的细胞表面受体和TAA的实例包括但不限于下列各种受体和TAA。为方便起见,下面列出了与本领域已知的这些抗原有关的信息,包括名称、别称(alternative names)、Genbank登录号和原始参考文献,按照National Center for Biotechnology Information (NCBI)的核酸和蛋白序列鉴定规则。列出的细胞表面受体和TAA所对应的核酸和蛋白序列可在公共数据库例如GenBank中得到。

[0301] 4-1BB

5AC

5T4

Alpha-胎蛋白

血管生成素(angiotensin) 2

ASLG659

TCL1

BMPRI1B

Brevican (BCAN, BEHAB)

C242抗原

C5

CA-125

CA-125 (仿制品)

CA-IX (碳酸酐酶9)

CCR4

CD140a

CD152

CD19

CD20

CD200

CD21 (C3DR) 1)

CD22 (B细胞受体CD22-B异构型)

CD221

CD23 (gE受体)

CD28

CD30 (TNFRSF8)

CD33

CD37

CD38 (环状ADP核糖水解酶)
CD4
CD40
CD44 v6
CD51
CD52
CD56
CD70
CD72 (Lyb-2, B细胞分化抗原CD72)
CD74
CD79a (CD79A, CD79 α , 免疫球蛋白相关的alpha) Genbank登录号 (accession No.):
NP__001774.10)
CD79b (CD79B, CD79 β , B29)
CD80
CEA
CEA-相关抗原
ch4D5
CLDN18.2
CRIPTO (CR, CR1, CRGF, TDGF1 畸胎瘤衍生的生长因子)
CTLA-4
CXCR5
DLL4
DR5
E16 (LAT1, SLC7A5) EGFL7
EGFR
EpCAM
EphB2R (DRT, ERK, Hek5, EPHT3, Tyro5)
Episialin
ERBB3
ETBR (内皮素B型受体)
FCRH1 (Fc受体类蛋白1)
FcRH2 (包含磷酸酶锚定蛋白的IFGP4、IRTA4、SPAP1、SPAP1B、SPAP1C、SH2域)
纤连蛋白额外域-B
叶酸受体1
突变型受体
GD2
GD3神经节苷脂
GEDA
GPNMB

HER1
HER2 (ErbB2)
HER2/neu
HER3
HGF
HLA-DOB
HLA-DR
人类扩散因子受体激酶
IGF-1受体
IgG4
IL-13
IL20R α (IL20Ra, ZCYTOR7)
IL-6
ILGF2
ILFR1R
整联蛋白 α
整联蛋白 $\alpha_5\beta_1$
整联蛋白 $\alpha_v\beta_3$
IRTA2 (免疫球蛋白超家族受体迁移相关的2, 基因染色体1q21)
Lewis-Y抗原
LY64 (RP105)
MCP-1
MDP (DPEP1)
MPF (MSLN、SMR、间皮素 (mesothelin)、巨核细胞强化因子)
MS4A1
MSG783 (RNF124、假定蛋白FLJ20315)
MUC1
粘蛋白 (Mucin) CanAg
Napi3 (NAPI-3B、NPTIIb、SLC34A2、II型钠依赖性磷酸转运蛋白3b)
NCA (CEACAM6)
P2X5 (嘌呤能受体P2X配体门控的离子通道5)
PD-1
PDCD1
PDGF-R α
前列腺特异性膜抗原
PSCA (前列腺干细胞抗原前体物)
PSCA hlg
RANKL
RON

SDC1
Sema 5b
SLAMF7 (CS-1)
STEAP1
STEAP2 (HGNC__8639、PCANAP1、STAMP1、STEAP2、STMP、前列腺癌相关的基因1)
TAG-72
TEM1
结合腕蛋白 (Tenascin) C
TENB2 (TMEFF2, tomoregulin, TPEF, HPP1, TR)
TGF- β
TRAIL-E2
TRAIL-R1
TRAIL-R2
TrpM4 (BR22450、FLJ20041、TRPM4、TRPM4B, 瞬时型受体电位阳离子通道子族M, 成员4)
TA CTAA16.88
TWEAK-R
TYRP1 (糖蛋白75)
VEGF
VEGF-A
EGFR-1
VEGFR-2
波形蛋白。

[0302] 4.5.2 示范性的抗体

本公开的ADC所使用的示范性的抗体包括但不限于: 3F8 (GD2)、阿巴伏单抗 (Abagovomab) (CA-125 (仿制品))、Adecatumumab (EpCAM)、阿夫土珠 (Afutuzumab) (CD20)、Alacizumab pegol (VEGFR2)、ALD518 (IL-6)、阿仑单抗 (Alemtuzumab) (CD52)、阿替木单抗五钠 (Altumomab pentetate) (CEA)、Amatuximab (间皮素 (Mesothelin))、Anatumomab mafenatox (TAG-72)、Apolizumab (HLA-DR)、Arcitumomab (CEA)、Bavituximab (磷脂酰丝氨酸)、Bectumomab (CD22)、贝利木单抗 (Belimumab) (BAFF)、Besilesomab (CEA-相关抗原)、贝伐单抗 (Bevacizumab) (VEGF-A)、Bivatuzumab mertansine (CD44 v6)、Blinatumomab (CD19)、Brentuximab vedotin ((CD30 (TNFRSF8))、Cantuzumab mertansine (Mucin CanAg)、Cantuzumab ravtansine (MUC1)、Capromab pendetide (前列腺癌细胞)、Carlumab (MCP-1)、卡曲单抗 (Catumaxomab) (EpCAM, CD3)、CC49 (Tag-72)、cBR96-DOX ADC (Lewis-Y 抗原)、西妥昔单抗 (Cetuximab) (EGFR)、Citatumumab bogatox (EpCAM)、Cixutumumab (IGF-1受体)、氯沙坦四氮四烯 (Clivatuzumab tetraxetan) (MUC1)、Conatumumab (TRAIL-E2)、Dacetuzumab (CD40)、Dalotuzumab (胰岛素样生长因子I受体)、Daratumumab ((CD38 (环状ADP核糖水解酶))、Demiczumab (DLL4)、狄诺塞麦 (Denosumab) (RANKL)、Detumomab (B-淋巴瘤细胞)、Drozitumab (DR5)、Dusigitumab (ILGF2)、Ecromeximab (GD3神经节糖苷)、依库珠单抗 (Eculizumab) (C5)、依决洛单抗 (Edrecolomab) (EpCAM)、Elotuzumab (SLAMF7)、

Elsilimomab (IL-6)、Enavatuzumab (TWEAK受体)、Enoticumab (DLL4)、Ensituximab (5AC)、依托米单抗 (Epitumomab cituxetan) (Episialin)、依帕珠单抗 (Epratuzumab) (CD22)、Ertumaxomab (HER2/neu, CD3)、Etaracizumab (整联蛋白 $\alpha_v\beta_3$)、Farletuzumab (叶酸受体1)、FBTA05 (CD20)、Ficlatuzumab (HGF)、Figitumumab (IGF-1受体)、Flanvotumab (TYRP1 (糖蛋白75))、Fresolimumab (TGF- β)、Galiximab (CD80)、Ganitumab (IGF-I)、吉妥珠单抗 ozogamicin (CD33)、Girentuximab (碳酸酐酶9 (CA-IX))、Glembatumumab vedotin (GPNMB)、Ibritumomab tiuxetan (CD20)、Icrucumab (VEGFR-1)、Igovomab (CA-125)、IMAB362 (CLDN18.2)、Imgatuzumab (EGFR)、Indatuximab ravtansine (SDC1)、Intetumumab (CD51)、依托珠单抗 ozogamicin (CD22)、易普利姆玛 (Ipilimumab) (CD152)、Iratumumab ((CD30 (TNFRSF8)))、Labetuzumab (CEA)、Lambrolizumab (PDCD1)、来沙木单抗 (Lexatumumab) (TRAIL-R2)、林妥珠单抗 (Lintuzumab) (CD33)、洛伐单抗米黄丹 (Lorvotuzumab mertansine) (CD56)、Lucatumumab (CD40)、Lumiliximab ((CD23 (IgE受体))、马帕木单抗 (Mapatumumab) (TRAIL-R1)、Margetuximab (ch4D5)、马妥珠单抗 (Matuzumab) (EGFR)、Milatuzumab (CD74)、Mitumomab (GD3 神经节苷脂)、莫加木珠单抗 (Mogamulizumab) (CCR4)、Moxetumomab pasudotox (CD22)、Nacolumab tafenatox (C242抗原)、Naptumomab estafenatox (5T4)、Narnatumab (RON)、那他珠单抗 (Natalizumab) (整联蛋白 α_4)、Necitumumab (EGFR)、Nesvacumab (血管生成素 (angiopoietin) 2)、尼妥珠单抗 (Nimotuzumab) (EGFR)、Nivolumab (IgG4)、Ocaratuzumab (CD20)、奥法木单抗 (Ofatumumab) (CD20)、Olaratumab (PDGF-R α)、Onartuzumab (人类扩散因子受体激酶)、Ontuxizumab (TEM1)、Oportuzumab monato (EpCAM)、Oregovomab (CA-125)、Otlertuzumab (CD37)、Panitumumab (EGFR)、Pankomab (MUC1的肿瘤特异性糖基化)、Parsatuzumab (EGFL7)、Patritumab (HER3)、Pemtumomab (MUC1)、培妥珠单抗 (Pertuzumab) (HER2/neu)、Pidilizumab (PD-1)、Pinatuzumab vedotin (CD22)、Pritumumab (波形蛋白)、Racotumomab (N-羟乙酰基神经氨酸)、Radretumab (纤连蛋白额外域-B)、Ramucirumab (VEGFR2)、利妥木单抗 (Rilotumumab) (HGF)、利妥昔单抗 (Rituximab) (CD20)、Robatumumab (IGF-1受体)、Samalizumab (CD200)、Satumomab pendetide (TAG-72)、Seribantumab (ERBB3)、Sibrotuzumab (FAP)、SGN-CD19A (CD19)、SGN-CD33A (CD33)、Siltuximab (IL-6)、Solitomab (EpCAM)、Sonepcizumab (鞘氨醇-1-磷酸)、Tabalumb (BAFF)、塔卡单抗四氮芥 (Tacatumumab tetraxetan) (Alpha-胎蛋白)、塔利珠单抗 paptox (Taplitumomab paptox) (CD19)、Tenatumomab (结合腕蛋白 (Tenascin) C)、Teprotumumab (CD221)、TGN1412 (CD28)、替尼米特单抗 (Ticilimumab) (CTLA-4)、Tigatuzumab (TRAIL-R2)、TNX-650 (IL-13)、Tovetumab (CD140a)、曲妥单抗 (Trastuzumab) (HER2/neu)、TRBS07 (GD2)、Tremelimumab (CTLA-4)、Tucotuzumab celmoleukin (EpCAM)、Ublituximab (MS4A1)、Urelumab (4-1BB)、凡德他尼 (Vandetanib) (VEGF)、Vantictumab (突变型受体)、Volociximab (整联蛋白 $\alpha_5\beta_1$)、Vorsetuzumab mafodotin (CD70)、Votumumab (肿瘤抗原CTAA16.88)、扎鲁木单抗 (Zalutumumab) (EGFR)、扎木单抗 (Zanolimumab) (CD4) 和Zatuximab (HER1)。

[0303] 在某些实施方案中,ADC的抗体结合EGFR、EpCAM、NCAM1或CD98。在某些实施方案中,ADC的抗体结合EGFR、EpCAM或NCAM1。在某些实施方案中,ADC的抗体结合EGFR或NCAM1。在某些实施方案中,抗体选自被称为ING-1的EpCAM抗体、被称为N901的NCAM-1抗体以及被

称为AB033的EGFR抗体。

[0304] 4.6. 制备抗体的方法

可以通过免疫球蛋白轻链和重链基因在宿主细胞中的重组表达,制备ADC的抗体。例如,为了重组地表达抗体,用一或多种携带编码抗体的免疫球蛋白轻链和重链的DNA片段的重组表达载体转染宿主细胞,使得轻链和重链在宿主细胞中表达,并且任选,分泌到培养宿主细胞的培养基中,可以从所述培养基中回收抗体。标准的重组DNA方法用于获得抗体重链和轻链基因,将这些基因结合到重组表达载体中,并且将载体引入到宿主细胞中,例如,下列文献所描述的那些:*Molecular Cloning; A Laboratory Manual*, Second Edition (Sambrook, Fritsch and Maniatis (eds), Cold Spring Harbor, N. Y., 1989), *Current Protocols in Molecular Biology* (Ausubel, F.M.等人, eds., Greene Publishing Associates, 1989) 以及美国专利US4,816,397。

[0305] 在一个实施方案中, Fc变体抗体与它们的野生型同等物相似,但在它们的Fc域方面有变化。为了产生编码这种Fc变体抗体的核苷酸,可以合成编码野生型抗体的Fc域或一部分Fc域(称为“野生型Fc域”)的DNA片段,并且用作使用常规诱变技术诱变产生本文所描述的抗体的模板;或者,可以直接合成编码所述抗体的DNA片段。

[0306] 一旦获得编码野生型Fc域的DNA片段,可以利用标准重组DNA技术,进一步操作这些DNA片段,例如,将恒定区基因转变为全长抗体链基因。在这些操作中,将CH-编码的DNA片段操作性地连接到编码另一个蛋白的另一个DNA片段上,例如,抗体可变区或挠性连接子。在这方面使用的术语“操作性地连接”是指连接两个DNA片段,使得这两个DNA片段编码的氨基酸序列保留在框内。

[0307] 为了表达Fc变体抗体,将上述获得的编码部分或全长轻和重链的DNA插入到表达载体中,使得基因操作性地连接到转录和转译控制序列上。在这种情况下,术语“操作性地连接”是指抗体基因连接到载体上,使得在载体内的转录和转译控制序列提供它们调节抗体基因的转录和转译的预期功能。选择表达载体和表达控制序列,使它们与所使用的表达宿主细胞相容。可以将变体抗体轻链基因和抗体重链基因插入到单独的载体中,或更典型地是,将两种基因插入到相同的表达载体中。

[0308] 利用标准方法(例如,连接抗体基因片段和载体上的互补限制位点,或如果不存在限制位点,则进行平端连接),将抗体基因插入表达载体中。在插入变体Fc域序列之前,表达载体可以已经携带抗体可变域序列。另外或者可选地,重组表达载体可以编码促进宿主细胞分泌抗体链的信号肽。可以将抗体链基因克隆到载体上,使得信号肽在框内与所述抗体链基因的氨基端连接。信号肽可以是免疫球蛋白信号肽或异源信号肽(即,源自于非免疫球蛋白的信号肽)。

[0309] 除了抗体链基因之外,重组表达载体还携带控制抗体链基因在宿主细胞中表达的调节序列。术语“调节序列”意指包括启动子、增强子及控制抗体链基因的转录或转译的其它表达控制要素(例如,聚腺苷酸化信号)。例如,这种调节序列描述在下列文献中: Goeddel, *Gene Expression Technology: Methods in Enzymology* 185 (Academic Press, San Diego, CA, 1990)。本领域技术人员能够理解,可以根据下列因素来设计表达载体,包括调节序列的选择:例如所转染的宿主细胞的选择、目标蛋白的表达水平,等等。哺乳动物宿主细胞表达的合适的调节序列包括:在哺乳动物细胞中引导蛋白高水平表达的病

毒要素,例如启动子和/或增强子,它们来源于巨细胞病毒(CMV)(例如,CMV启动子/增强子)、猿猴病毒40(SV40)(例如,SV40启动子/增强子)、腺病毒(例如,腺病毒主要晚期启动子(AdMLP))和多瘤病毒。为了进一步说明病毒调控要素和其序列,参见,例如,美国专利US 5,168,062(Stinski)、美国专利US4,510,245(Bell等人)和美国专利US4,968,615(Schaffner等人)。

[0310] 除了抗体链基因和调节序列之外,重组表达载体还可以携带其它序列,例如,调节载体在宿主细胞中复制(例如,复制起点)和选择性标记基因的序列。选择性标记基因便于选择已经引入了载体的宿主细胞(参见,例如,美国专利US 4,399,216、4,634,665和5,179,017(所述专利都属于Axel等人))。例如,通常,选择性标记基因在已经引入载体的宿主细胞上会带来抗药性,例如,对于G418、嘌呤霉素、杀稻瘟菌素、潮霉素或氨甲喋呤的抗药性。合适的选择性标记基因包括二氢叶酸还原酶(DHFR)基因(用于带有氨甲喋呤选择/扩增的DHFR宿主细胞)和新基因(用于G418选择)。为了表达轻和重链,利用标准技术,将编码重和轻链的表达载体转染到宿主细胞中。术语“转染”的各种形式意在包括多种通常用于将外源性DNA引入到原核或真核宿主细胞中的技术,例如电穿孔、脂转染、磷酸钙沉淀法、DEAE-葡聚糖转染等等。

[0311] 可能在原核或真核宿主细胞中表达抗体。在某些实施方案中,为了适当折叠的和免疫活性的抗体的最佳分泌,在真核细胞中表达抗体,例如,在哺乳动物宿主细胞中表达。表达重组抗体的示范性的哺乳动物宿主细胞包括中国仓鼠卵巢(CHO细胞)(包括DHFR-CHO细胞,描述在下列文献中: Urlaub and Chasin, 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216-4220,与DHFR选择性标记一起使用,例如,如Kaufman and Sharp, 1982, *Mol. Biol.* 159:601-621所述)、NS0骨髓瘤细胞、COS细胞、293细胞和SP2/O细胞。当编码抗体基因的重组表达载体被引入到哺乳动物宿主细胞中时,将宿主细胞在足以使抗体在宿主细胞中表达或使抗体分泌到宿主细胞所生长的培养基中的一段时间内培养,由此制备抗体。可以使用标准蛋白纯化方法,从培养基中回收抗体。宿主细胞还可以用于制备完整抗体的一部分,例如,Fab片段或scFv分子。

[0312] 在一些实施方案中,ADC的抗体可以是双功能抗体。其中一个重链和一个轻链对于一个抗原具有特异性、另一个重链和轻链对于第二个抗原具有特异性的这种抗体,可以利用标准化学交联方法,通过一个抗体与第二个抗体交联来制备。双功能抗体还可以通过表达设计为编码双功能抗体的核酸来制备。

[0313] 在某些实施方案中,双特异性抗体,即,使用相同结合位点,结合一个抗原与第二个无关的抗原的抗体,可以通过使轻链和/或重链CDR中的氨基酸残基突变来制备。示范性的第二个抗原包括促炎细胞因子(例如,淋巴细胞毒素、干扰素- γ 或白介素-1)。例如,通过使抗原结合位点周围的氨基酸残基突变,可以制备双特异性抗体(参见,例如,Bostrom等人,2009, *Science* 323:1610-1614)。双功能抗体可以通过表达设计为编码双特异性抗体的核酸来制备。

[0314] 还可以通过化学合成来制备抗体(例如,利用Solid Phase Peptide Synthesis,第二版,1984,The Pierce Chemical Co., Rockford, Ill.所描述的方法)。还可以使用无细胞的平台产生抗体(参见,例如,Chu等人,*Biochemia* No. 2, 2001(Roche Molecular Biologicals))。

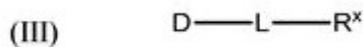
[0315] Flanagan等人(Methods in Molecular Biology, vol. 378: Monoclonal Antibodies: Methods and Protocols)描述了Fc融合蛋白的重组表达的方法。

[0316] 一旦已经通过重组表达制备了抗体,则可以利用本领域已知的纯化免疫球蛋白分子的任何方法,将抗体纯化,例如,利用色谱(例如,离子交换色谱、亲合色谱,尤其是通过A蛋白或G蛋白选择之后对于抗原的亲合性和sizing 柱色谱)、离心、差异溶解度或纯化蛋白的任何其它标准技术。

[0317] 分离之后,如果需要的话,可以进一步纯化抗体,例如,利用高效液相色谱(参见,例如,Fisher, Laboratory Techniques In Biochemistry And Molecular Biology (Work and Burdon, eds., Elsevier, 1980)),或凝胶过滤色谱(在Superdex™ 75柱(Pharmacia Biotech AB, Uppsala, Sweden)上)。

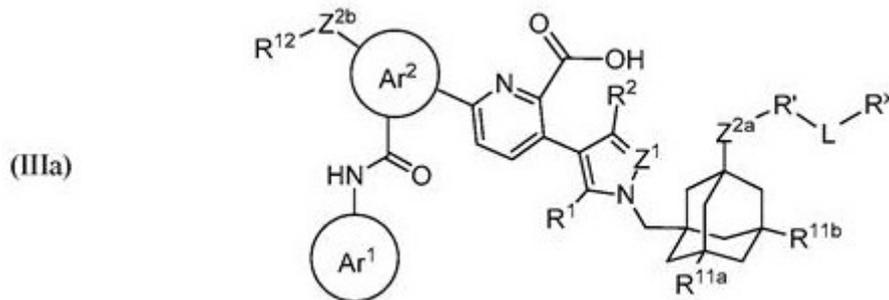
[0318] 4.7. 抗体-药物缀合物合成子

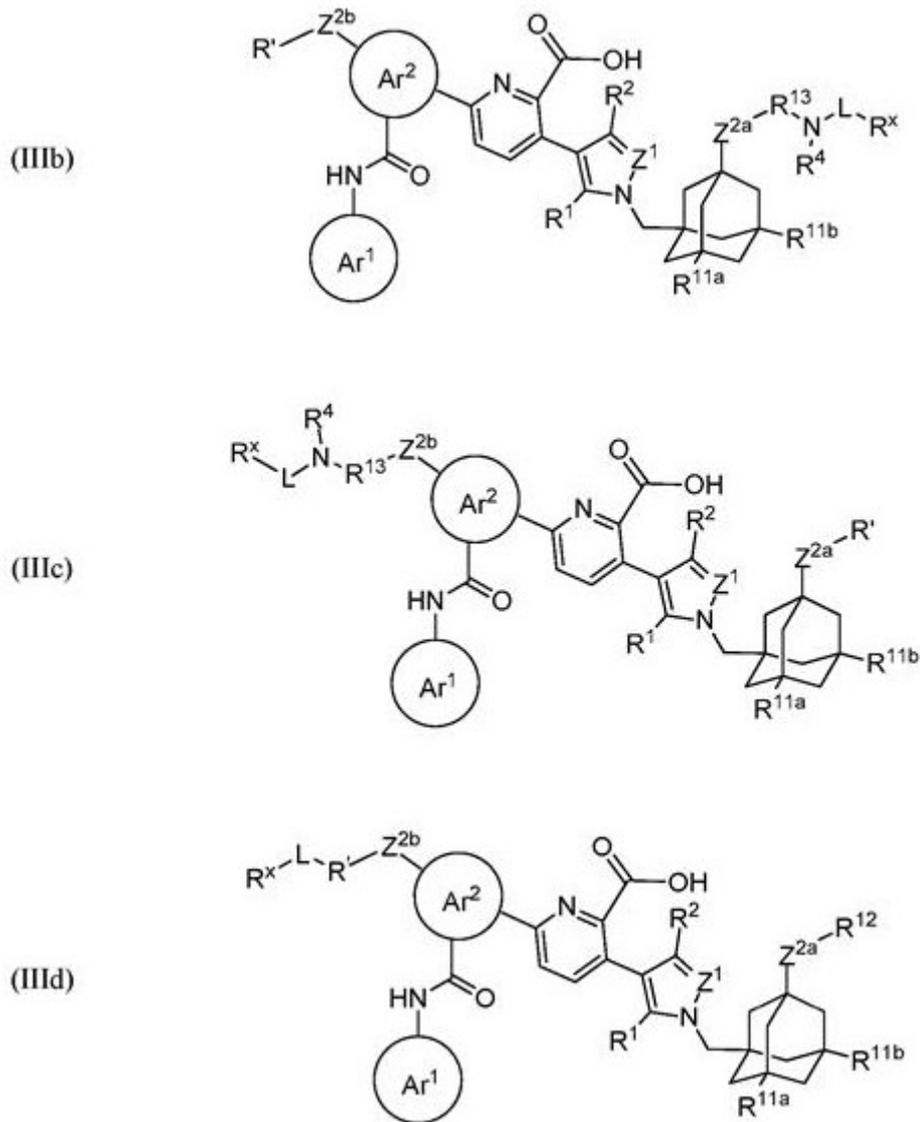
抗体-药物缀合物合成子用于形成ADC的合成中间体。所述合成子通常是按照结构式(III)的化合物,



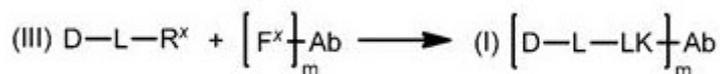
或其盐,其中,D是先前描述的Bcl-xL抑制剂,L是先前描述的连接子, R^x 是适合于连接合成子与抗体的反应性基团。

[0319] 在具体实施方案中,中间体合成子是按照下面结构式(IIIa)、(IIIb)、(IIIc)和(IIId)的化合物,或其盐,其中,各个取代基 Ar^1 、 Ar^2 、 Z^1 、 Z^{2a} 、 Z^{2b} 、 R^1 、 R^2 、 R^4 、 R^{11a} 、 R^{11b} 、 R^{12} 和 R^{13} 分别如先前结构式(IIa)、(IIb)、(IIc)和(IIId)所定义,L是先前所描述的连接子, R^x 是上述官能团:





为了合成ADC,在官能团 R^x 与抗体上的“互补”官能团 F^x 反应的条件下,使按照结构式(III)的中间体合成子或其盐与感兴趣的抗体接触,形成共价键。



[0320] 基团 R^x 和 F^x 的特征取决于连接合成子与抗体所使用的化学过程。通常,使用的化学过程不应该改变抗体的完整性,例如,它结合它的靶点的能力。优选,缀合抗体的结合性能与非缀合抗体的结合性能极其类似。分子与生物分子(例如,抗体)缀合的各种化学过程和技术在本领域是已知的,尤其是与抗体缀合的各种化学过程和技术是众所周知的。参见,例如,Amon等人,“Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy,” in: *Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy*, Reisfeld *et al.* Eds., Alan R. Liss, Inc., 1985; Hellstrom等人,“Antibodies For Drug Delivery,” in: *Controlled Drug Delivery*, Robinson等人, Eds., Marcel Dekker, Inc., 2nd Ed. 1987; Thorpe, “Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review,” in: *Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications*,

Pinchera等人,Eds., 1985; “Analysis, Results, and Future Prospective of the Therapeutic Use of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy,” in: *Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy*, Baldwin等人,Eds., Academic Press, 1985;Thorpe等人,1982, *Immunol. Rev.*62:119-58;PCT公开出版物W0 89/12624。任何这些化学过程可以用于连接合成子与抗体。

[0321] 通常,合成子连接抗体的氨基酸残基的侧链,包括,例如,可及的赖氨酸残基的伯氨基,或可及的半胱氨酸残基的巯基。通过还原链间二硫键,可以获得游离巯基。在某些实施方案中,LK是与抗体Ab上的氨基形成的连接基。在某些实施方案中,LK是酰胺、硫醚或硫脲。在某些实施方案中,LK是酰胺或硫脲。在某些实施方案中,LK是与抗体Ab上的巯基形成的连接基。在某些实施方案中,LK是硫醚。在某些实施方案中,LK选自酰胺、硫脲或硫醚;m是1至8的整数。

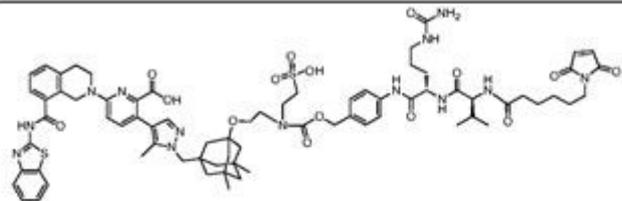
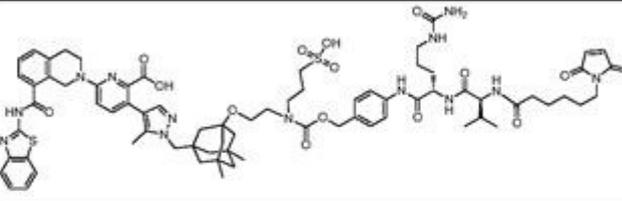
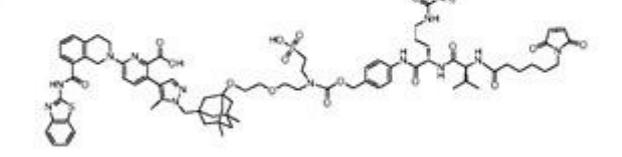
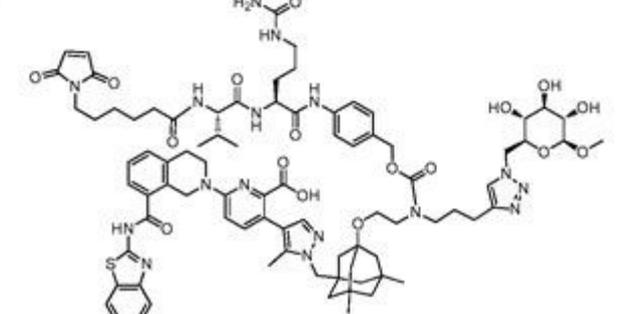
[0322] 很多官能团 R^x 和用于连接合成子与可及的赖氨酸残基的化学过程是已知的,并且包括,例如(没有限制性),NHS-酯和异硫氰酸酯。

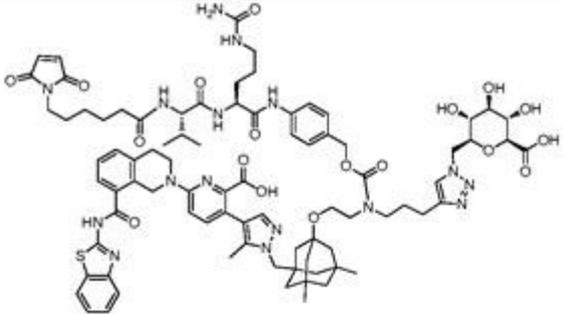
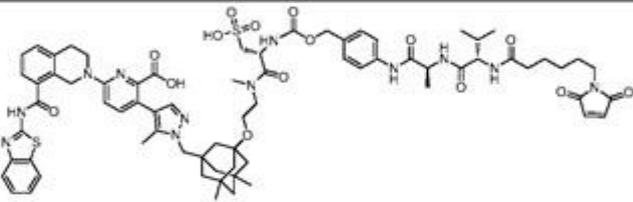
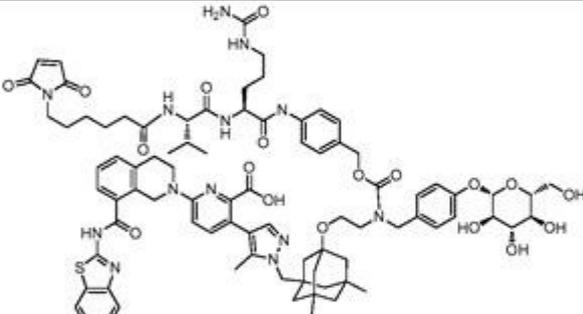
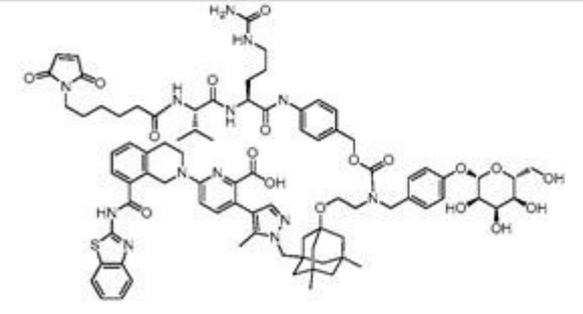
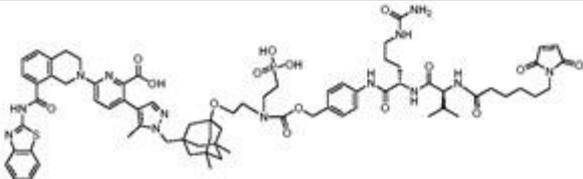
[0323] 很多官能团 R_x 和用于连接合成子与可及的半胱氨酸残基的游离巯基的化学过程是已知的,并且包括,例如(没有限制性),卤代乙酰基和马来酰亚胺。

[0324] 然而,缀合化学不局限于合适的侧链基团。合适的小分子与胺连接,侧链(例如,胺)可以转变为其它有用的基团,例如,羟基。通过多功能小分子与抗体可及的氨基酸残基的侧链的缀合,这个策略可用于增加抗体中的合适连接位点的数目。然后,适合于共价连接合成子与这些“转化的”官能团的官能团 R_x 包括在合成子中。

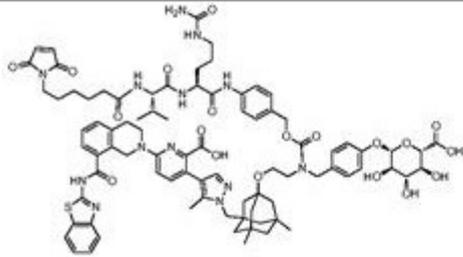
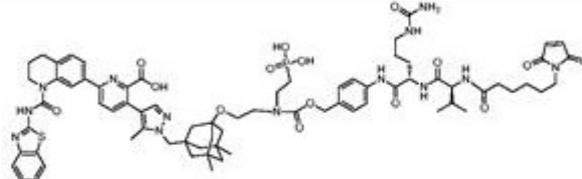
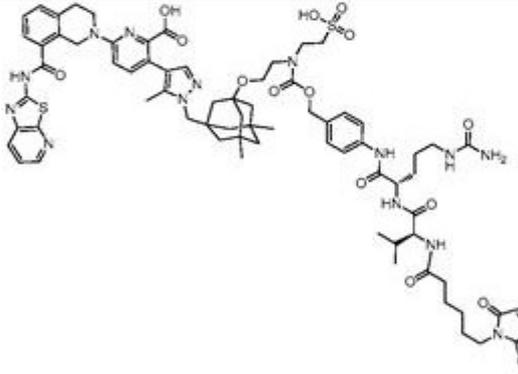
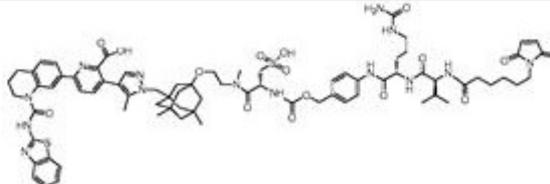
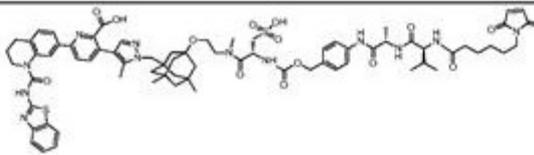
[0325] 也可以设计抗体,使其包括用于缀合的氨基酸残基。下列文献描述了设计抗体的方法,使抗体包括在ADC环境下用于缀合药物的非遗传编码的氨基酸残基:Axup等人,2003, *Proc Natl Acad Sci* 109:16101-16106,以及Tian等人,2014, *Proc Natl Acad Sci* 111:1776-1771,作为用于连接合成子与非编码的氨基酸的化学过程和官能团。

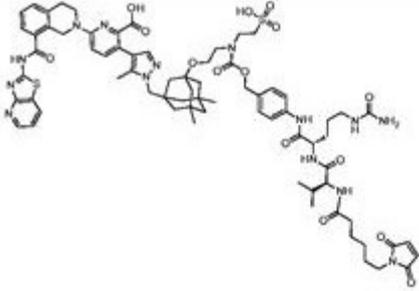
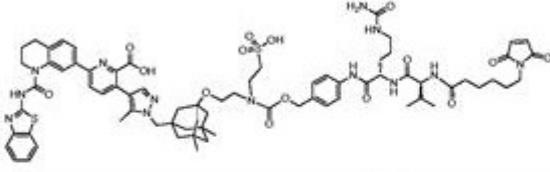
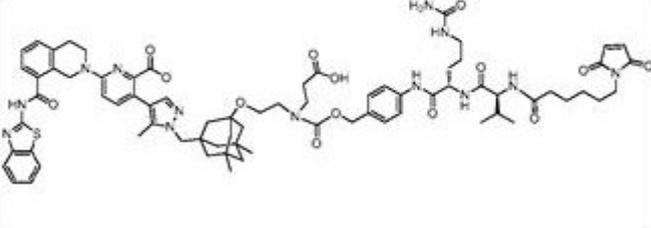
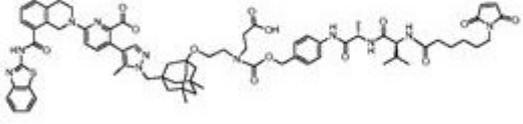
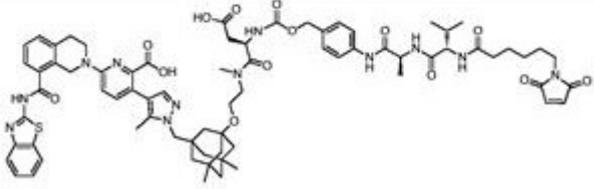
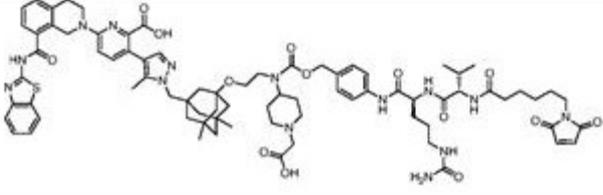
[0326] 可以用于制备ADC的示范性合成子包括但不限于下列合成子:

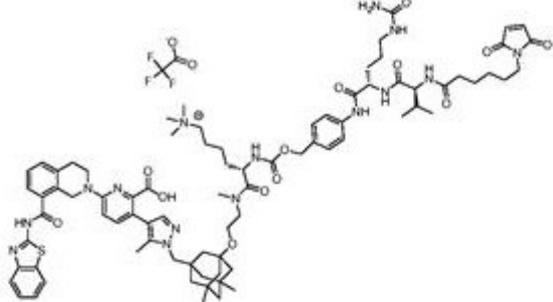
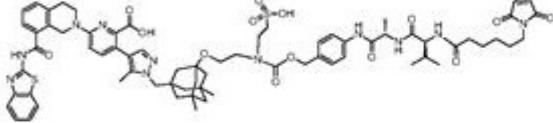
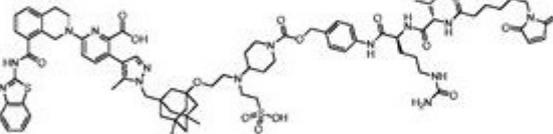
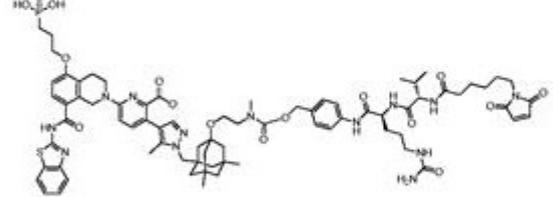
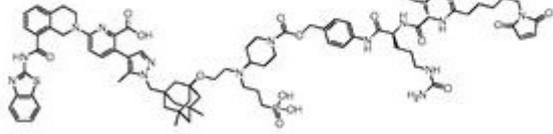
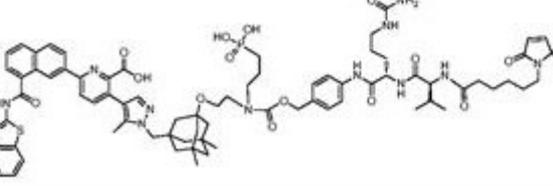
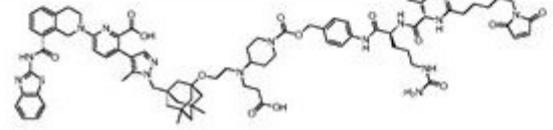
实施例编号	合成子代码	合成子结构
2.1	CZ	 <p>Chemical structure of synthesis unit CZ, featuring a complex molecule with a central bicyclic core, a quinoline ring system, a carboxylic acid group, and a long chain ending in a primary amide group.</p>
2.2	DH	 <p>Chemical structure of synthesis unit DH, similar to CZ but with a different chain length and a different terminal group.</p>
2.4	EP	 <p>Chemical structure of synthesis unit EP, similar to CZ but with a different chain length and a different terminal group.</p>
2.5	EF	 <p>Chemical structure of synthesis unit EF, featuring a complex molecule with a central bicyclic core, a quinoline ring system, a carboxylic acid group, a long chain ending in a primary amide group, and a sugar moiety.</p>

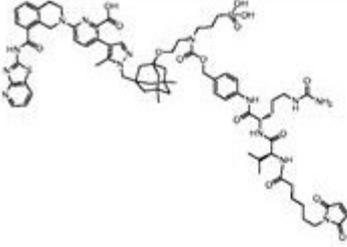
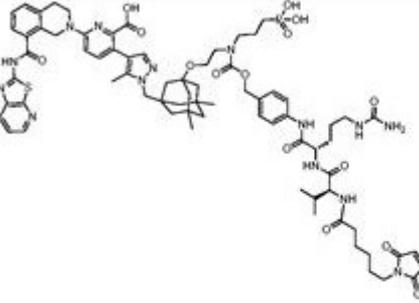
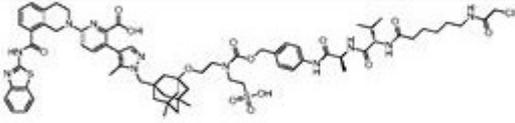
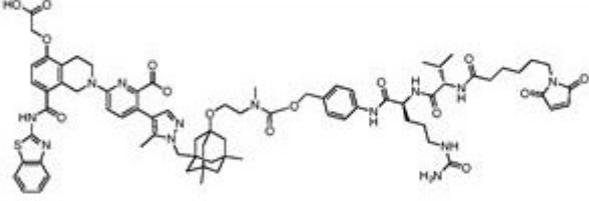
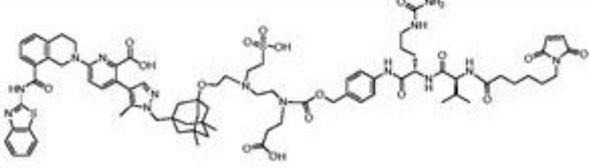
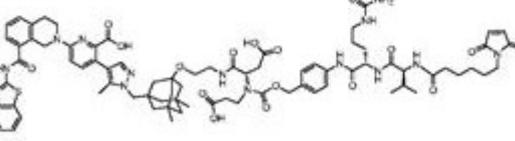
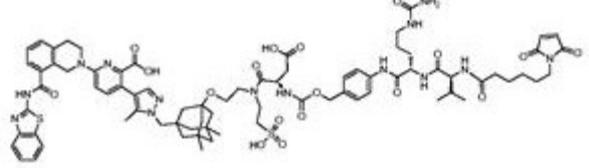
实施例 编号	合成子 代码	合成子结构
2.6	EG	 <p>The structure of synthesis unit EG is a complex molecule. It features a central pyridine ring substituted with a 1H-benzotriazol-4-yl group, a 1H-imidazol-2-yl group, and a 1H-pyrazol-4-yl group. This central core is further substituted with a 1,2,3,4-tetrahydroquinoline ring, a 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline ring, and a 1,2,3,4-tetrahydroquinoline ring. The molecule also contains a 1,2,3,4-tetrahydroquinoline ring, a 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline ring, and a 1,2,3,4-tetrahydroquinoline ring. The structure is highly branched and contains multiple amide and ester linkages.</p>
2.7	EH	 <p>The structure of synthesis unit EH is a complex molecule. It features a central pyridine ring substituted with a 1H-benzotriazol-4-yl group, a 1H-imidazol-2-yl group, and a 1H-pyrazol-4-yl group. This central core is further substituted with a 1,2,3,4-tetrahydroquinoline ring, a 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline ring, and a 1,2,3,4-tetrahydroquinoline ring. The molecule also contains a 1,2,3,4-tetrahydroquinoline ring, a 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline ring, and a 1,2,3,4-tetrahydroquinoline ring. The structure is highly branched and contains multiple amide and ester linkages.</p>
2.8	ER	 <p>The structure of synthesis unit ER is a complex molecule. It features a central pyridine ring substituted with a 1H-benzotriazol-4-yl group, a 1H-imidazol-2-yl group, and a 1H-pyrazol-4-yl group. This central core is further substituted with a 1,2,3,4-tetrahydroquinoline ring, a 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline ring, and a 1,2,3,4-tetrahydroquinoline ring. The molecule also contains a 1,2,3,4-tetrahydroquinoline ring, a 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline ring, and a 1,2,3,4-tetrahydroquinoline ring. The structure is highly branched and contains multiple amide and ester linkages.</p>
2.9	ES	 <p>The structure of synthesis unit ES is a complex molecule. It features a central pyridine ring substituted with a 1H-benzotriazol-4-yl group, a 1H-imidazol-2-yl group, and a 1H-pyrazol-4-yl group. This central core is further substituted with a 1,2,3,4-tetrahydroquinoline ring, a 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline ring, and a 1,2,3,4-tetrahydroquinoline ring. The molecule also contains a 1,2,3,4-tetrahydroquinoline ring, a 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline ring, and a 1,2,3,4-tetrahydroquinoline ring. The structure is highly branched and contains multiple amide and ester linkages.</p>
2.10	EQ	 <p>The structure of synthesis unit EQ is a complex molecule. It features a central pyridine ring substituted with a 1H-benzotriazol-4-yl group, a 1H-imidazol-2-yl group, and a 1H-pyrazol-4-yl group. This central core is further substituted with a 1,2,3,4-tetrahydroquinoline ring, a 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline ring, and a 1,2,3,4-tetrahydroquinoline ring. The molecule also contains a 1,2,3,4-tetrahydroquinoline ring, a 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline ring, and a 1,2,3,4-tetrahydroquinoline ring. The structure is highly branched and contains multiple amide and ester linkages.</p>

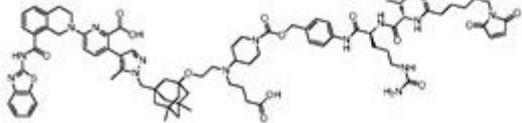
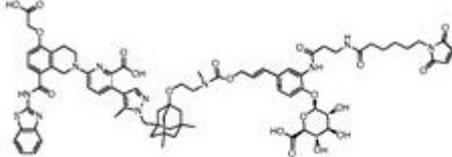
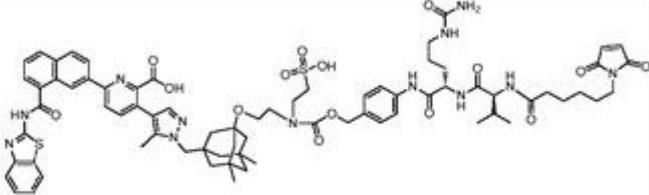
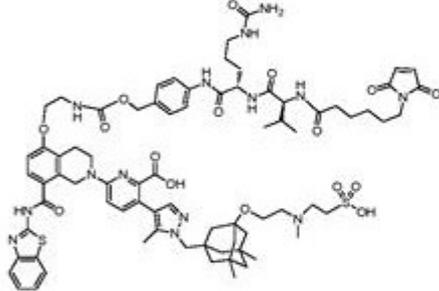
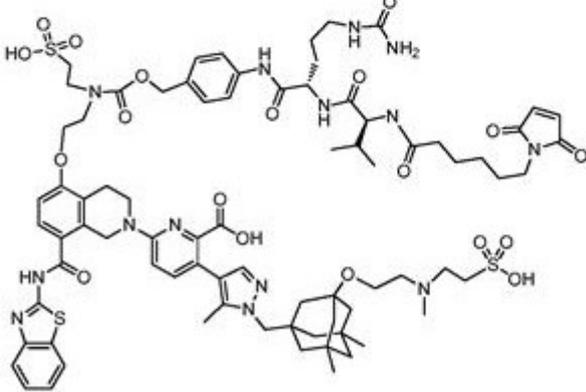
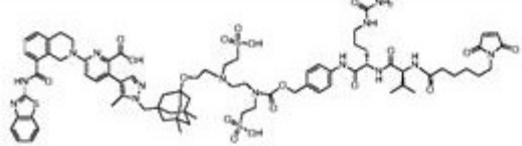
实施例 编号	合成子 代码	合成子结构
2.11	EU	
2.12	EV	
2.13	EW	
2.14	EX	
2.15	EY	
2.16	EZ	
2.17	FD	

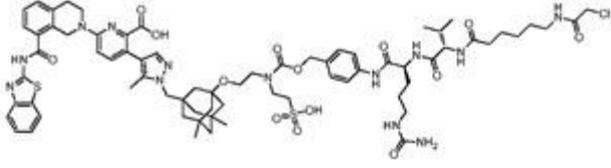
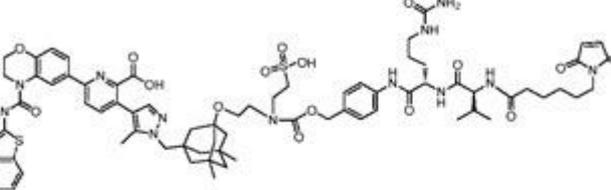
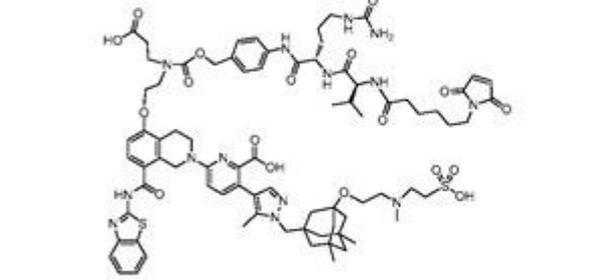
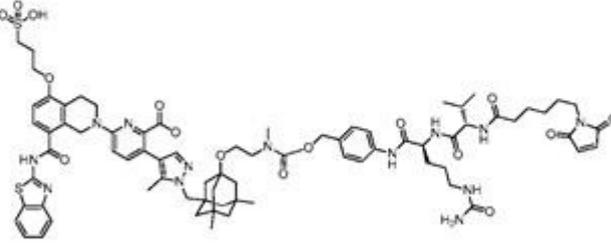
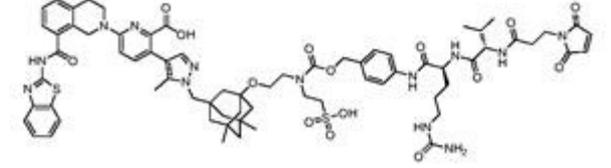
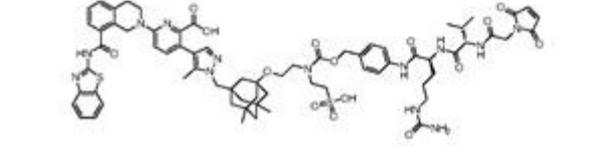
实施例 编号	合成子 代码	合成子结构
2.18	FS	 <p>The structure of synthesis unit FS is a complex molecule featuring a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) substituted with a piperazine ring and a pyrazole ring. It is further substituted with a long chain containing a hydroxyl group, a sulfonamide group, and a terminal amide group. A side chain includes a piperidine ring and a pyrazole ring.</p>
2.19	FI	 <p>The structure of synthesis unit FI is similar to FS, featuring the same bicyclic core and piperazine/pyrazole substituents. It includes a hydroxyl group and a sulfonamide group, but lacks the terminal amide group. The side chain is identical to FS.</p>
2.20	FV	 <p>The structure of synthesis unit FV is similar to FS, featuring the same bicyclic core and piperazine/pyrazole substituents. It includes a hydroxyl group and a sulfonamide group, but lacks the terminal amide group. The side chain is identical to FS.</p>
2.21	GC	 <p>The structure of synthesis unit GC is similar to FS, featuring the same bicyclic core and piperazine/pyrazole substituents. It includes a hydroxyl group and a sulfonamide group, but lacks the terminal amide group. The side chain is identical to FS.</p>
2.22	GB	 <p>The structure of synthesis unit GB is similar to FS, featuring the same bicyclic core and piperazine/pyrazole substituents. It includes a hydroxyl group and a sulfonamide group, but lacks the terminal amide group. The side chain is identical to FS.</p>

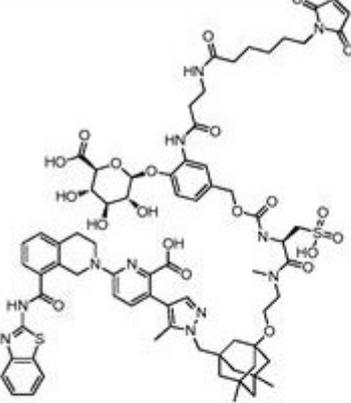
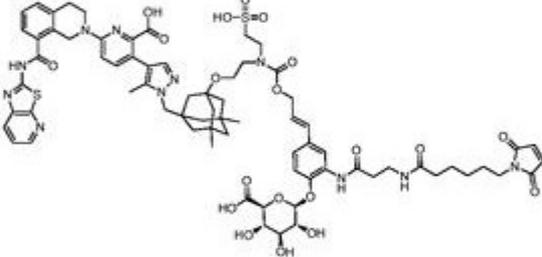
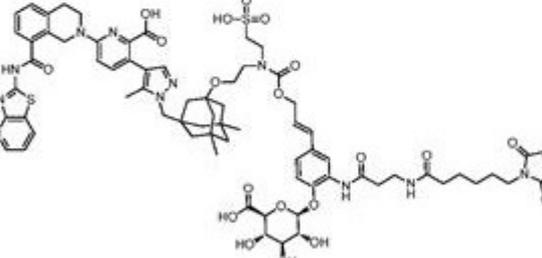
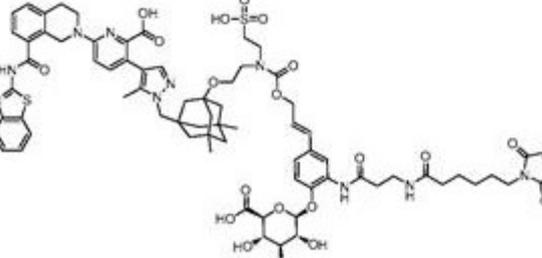
实施例 编号	合成子 代码	合成子结构
2.23	FW	
2.24	GD	
2.25	GK	
2.26	GJ	
2.27	GW	
2.28	HF	

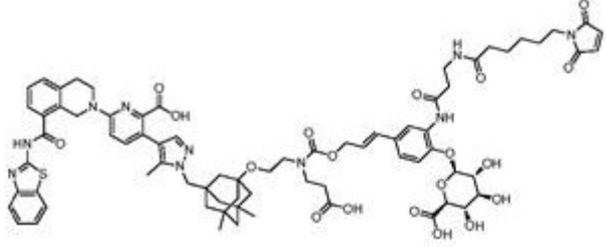
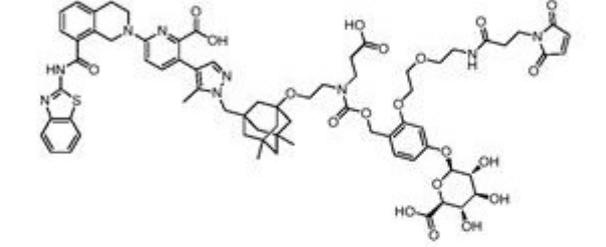
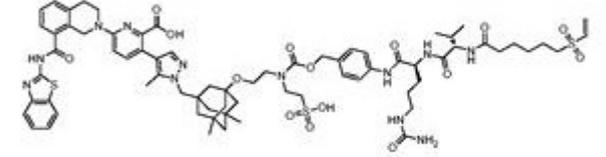
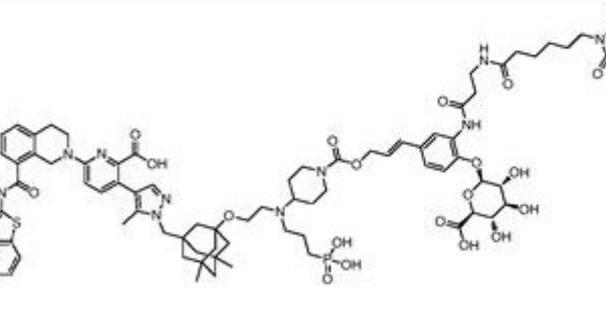
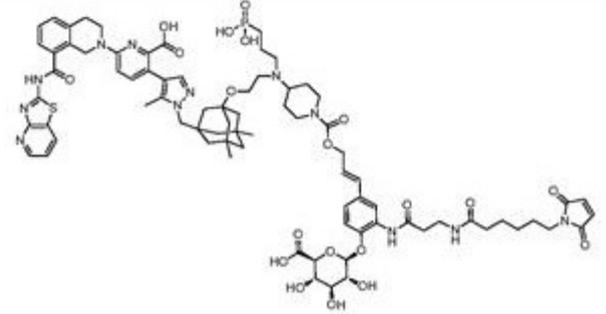
实施例 编号	合成子 代码	合成子结构
2.29	HG	 <p>The structure of synthesis unit HG is a complex molecule. It features a central bicyclic core (a decalin derivative) with a piperazine ring fused to it. This core is substituted with a 1H-imidazole ring, a 2-hydroxy-1H-imidazole ring, and a 2-aminobenzamide ring. The decalin core is also linked via an ether bridge to a piperazine ring, which is further substituted with a 2-hydroxy-1H-imidazole ring and a 2-aminobenzamide ring. The piperazine ring is also linked via an ether bridge to a 2-aminobenzamide ring, which is further substituted with a 2-hydroxy-1H-imidazole ring and a 2-aminobenzamide ring. The 2-aminobenzamide ring is also linked via an ether bridge to a 2-aminobenzamide ring, which is further substituted with a 2-hydroxy-1H-imidazole ring and a 2-aminobenzamide ring.</p>
2.30	HP	 <p>The structure of synthesis unit HP is similar to HG, but it lacks the 2-aminobenzamide ring at the end of the chain. Instead, it has a 2-hydroxy-1H-imidazole ring at the end of the chain.</p>
2.31	HR	 <p>The structure of synthesis unit HR is similar to HG, but it lacks the 2-aminobenzamide ring at the end of the chain. Instead, it has a 2-aminobenzamide ring at the end of the chain.</p>
2.32	HU	 <p>The structure of synthesis unit HU is similar to HG, but it has a 2-hydroxy-1H-imidazole ring at the end of the chain instead of a 2-aminobenzamide ring.</p>
2.33	HT	 <p>The structure of synthesis unit HT is similar to HG, but it has a 2-aminobenzamide ring at the end of the chain instead of a 2-aminobenzamide ring.</p>
2.34	HV	 <p>The structure of synthesis unit HV is similar to HG, but it has a 2-aminobenzamide ring at the end of the chain instead of a 2-aminobenzamide ring.</p>
2.35	HZ	 <p>The structure of synthesis unit HZ is similar to HG, but it has a 2-aminobenzamide ring at the end of the chain instead of a 2-aminobenzamide ring.</p>

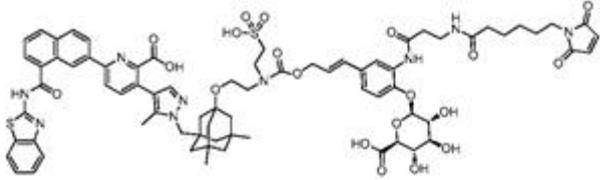
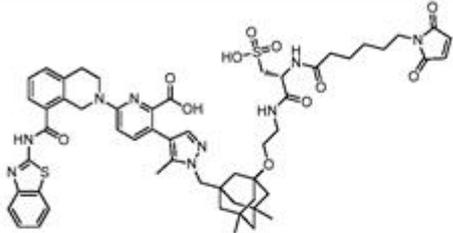
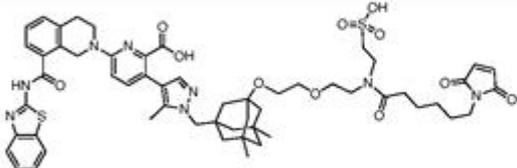
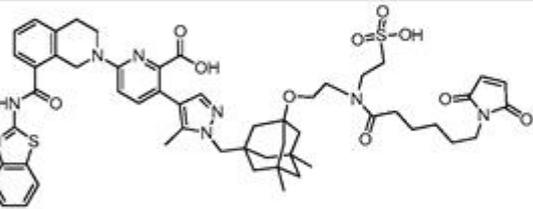
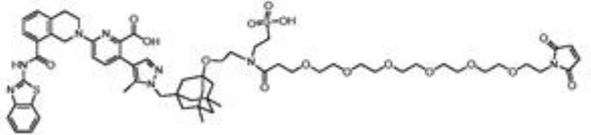
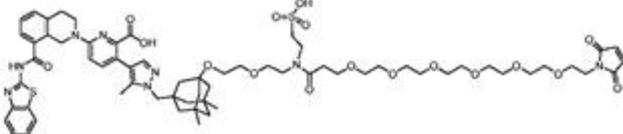
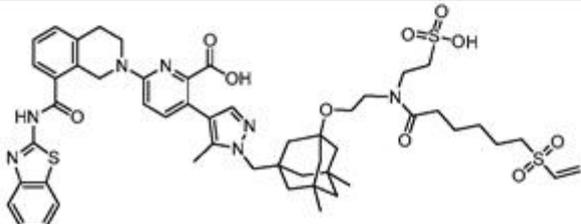
实施例 编号	合成子 代码	合成子结构
2.36	IA	
2.37	IF	
2.38	IG	
2.39	IH	
2.40	IJ	
2.41	IK	
2.42	IL	

实施例 编号	合成子 代码	合成子结构
2.43	IM	
2.44	IO	
2.45	IP	
2.46	IS	
2.47	IU	
2.48	IV	

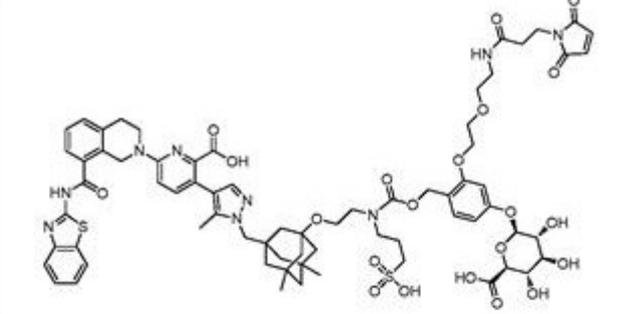
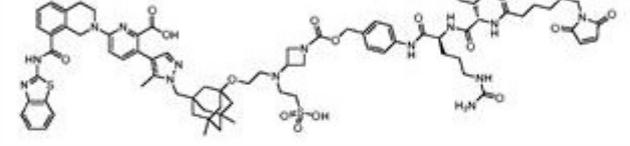
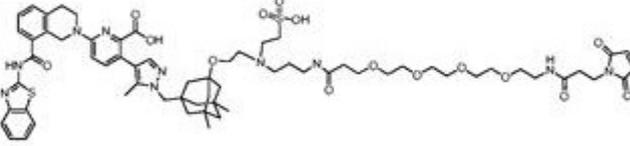
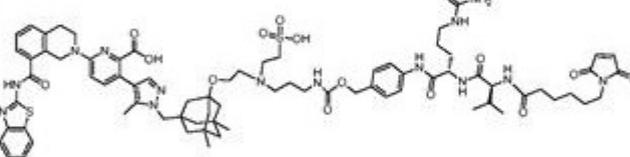
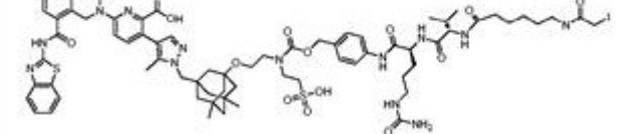
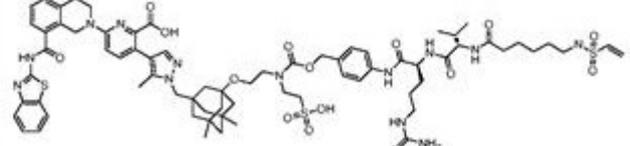
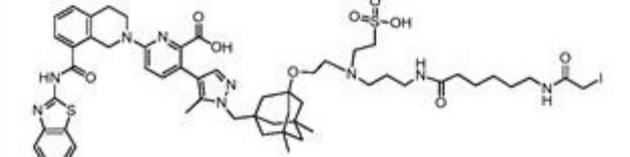
实施例 编号	合成子 代码	合成子结构
2.49	IZ	 <p>The structure of synthesis unit IZ is a complex molecule featuring a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) with a methyl group. It is substituted with a 1,2,4-triazole ring, a 1,2,4-thiazole ring, and a 1,2,4-oxadiazole ring. The triazole ring is linked to a 4-aminophenyl group, which is further connected to a chain containing a secondary amine, a primary amide, and a carboxylic acid group. The thiazole ring is linked to a 4-aminophenyl group, which is further connected to a chain containing a secondary amine, a primary amide, and a carboxylic acid group. The oxadiazole ring is linked to a 4-aminophenyl group, which is further connected to a chain containing a secondary amine, a primary amide, and a carboxylic acid group.</p>
2.50	JD	 <p>The structure of synthesis unit JD is a complex molecule featuring a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) with a methyl group. It is substituted with a 1,2,4-triazole ring, a 1,2,4-thiazole ring, and a 1,2,4-oxadiazole ring. The triazole ring is linked to a 4-aminophenyl group, which is further connected to a chain containing a secondary amine, a primary amide, and a carboxylic acid group. The thiazole ring is linked to a 4-aminophenyl group, which is further connected to a chain containing a secondary amine, a primary amide, and a carboxylic acid group. The oxadiazole ring is linked to a 4-aminophenyl group, which is further connected to a chain containing a secondary amine, a primary amide, and a carboxylic acid group.</p>
2.51	JF	 <p>The structure of synthesis unit JF is a complex molecule featuring a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) with a methyl group. It is substituted with a 1,2,4-triazole ring, a 1,2,4-thiazole ring, and a 1,2,4-oxadiazole ring. The triazole ring is linked to a 4-aminophenyl group, which is further connected to a chain containing a secondary amine, a primary amide, and a carboxylic acid group. The thiazole ring is linked to a 4-aminophenyl group, which is further connected to a chain containing a secondary amine, a primary amide, and a carboxylic acid group. The oxadiazole ring is linked to a 4-aminophenyl group, which is further connected to a chain containing a secondary amine, a primary amide, and a carboxylic acid group.</p>
2.52	JK	 <p>The structure of synthesis unit JK is a complex molecule featuring a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) with a methyl group. It is substituted with a 1,2,4-triazole ring, a 1,2,4-thiazole ring, and a 1,2,4-oxadiazole ring. The triazole ring is linked to a 4-aminophenyl group, which is further connected to a chain containing a secondary amine, a primary amide, and a carboxylic acid group. The thiazole ring is linked to a 4-aminophenyl group, which is further connected to a chain containing a secondary amine, a primary amide, and a carboxylic acid group. The oxadiazole ring is linked to a 4-aminophenyl group, which is further connected to a chain containing a secondary amine, a primary amide, and a carboxylic acid group.</p>
2.53	JJ	 <p>The structure of synthesis unit JJ is a complex molecule featuring a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) with a methyl group. It is substituted with a 1,2,4-triazole ring, a 1,2,4-thiazole ring, and a 1,2,4-oxadiazole ring. The triazole ring is linked to a 4-aminophenyl group, which is further connected to a chain containing a secondary amine, a primary amide, and a carboxylic acid group. The thiazole ring is linked to a 4-aminophenyl group, which is further connected to a chain containing a secondary amine, a primary amide, and a carboxylic acid group. The oxadiazole ring is linked to a 4-aminophenyl group, which is further connected to a chain containing a secondary amine, a primary amide, and a carboxylic acid group.</p>
2.54	JL	 <p>The structure of synthesis unit JL is a complex molecule featuring a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) with a methyl group. It is substituted with a 1,2,4-triazole ring, a 1,2,4-thiazole ring, and a 1,2,4-oxadiazole ring. The triazole ring is linked to a 4-aminophenyl group, which is further connected to a chain containing a secondary amine, a primary amide, and a carboxylic acid group. The thiazole ring is linked to a 4-aminophenyl group, which is further connected to a chain containing a secondary amine, a primary amide, and a carboxylic acid group. The oxadiazole ring is linked to a 4-aminophenyl group, which is further connected to a chain containing a secondary amine, a primary amide, and a carboxylic acid group.</p>

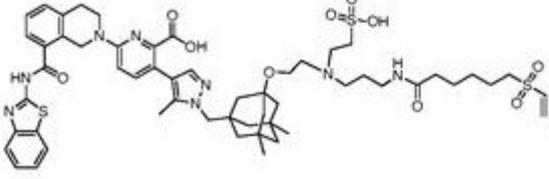
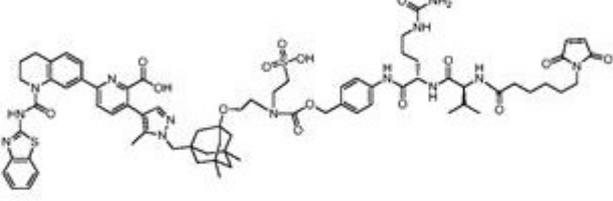
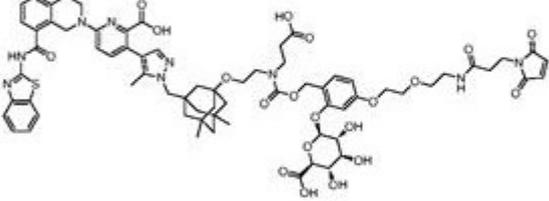
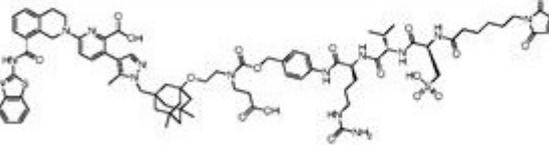
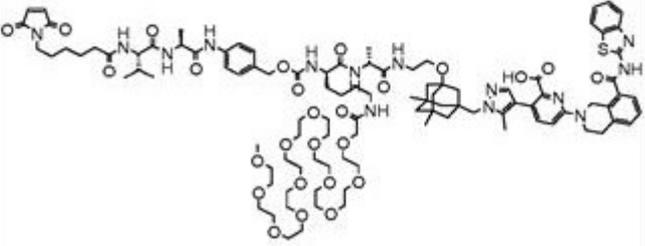
实施例 编号	合成子 代码	合成子结构
2.55	FE	 <p>The structure of synthesis unit FE is a complex molecule. It features a central pyridine ring substituted with a 1,2,3,4-tetrahydroquinoline ring, a 2-thiazole ring, and a 2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-yl group. This central core is linked via an ether bridge to a glucose molecule. The glucose is further substituted with a hydroxyl group and a sulfonamide group. The sulfonamide group is connected to a chain containing a 2-pyridone ring and a 2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-yl group.</p>
2.56	GG	 <p>The structure of synthesis unit GG is similar to FE but lacks the 2-thiazole ring. It features a central pyridine ring substituted with a 1,2,3,4-tetrahydroquinoline ring, a 2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-yl group, and a hydroxyl group. It is linked via an ether bridge to a glucose molecule, which is further substituted with a hydroxyl group and a sulfonamide group. The sulfonamide group is connected to a chain containing a 2-pyridone ring and a 2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-yl group.</p>
2.57	GM	 <p>The structure of synthesis unit GM is identical to GG, featuring a central pyridine ring substituted with a 1,2,3,4-tetrahydroquinoline ring, a 2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-yl group, and a hydroxyl group. It is linked via an ether bridge to a glucose molecule, which is further substituted with a hydroxyl group and a sulfonamide group. The sulfonamide group is connected to a chain containing a 2-pyridone ring and a 2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-yl group.</p>
2.58	HD	 <p>The structure of synthesis unit HD is identical to GG, featuring a central pyridine ring substituted with a 1,2,3,4-tetrahydroquinoline ring, a 2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-yl group, and a hydroxyl group. It is linked via an ether bridge to a glucose molecule, which is further substituted with a hydroxyl group and a sulfonamide group. The sulfonamide group is connected to a chain containing a 2-pyridone ring and a 2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-yl group.</p>

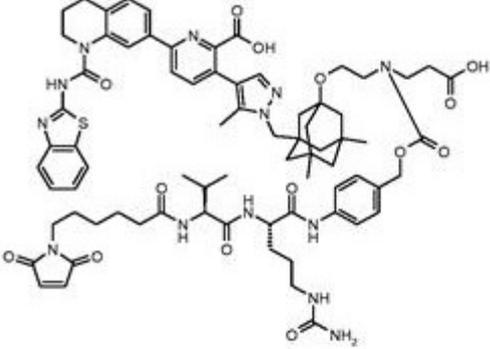
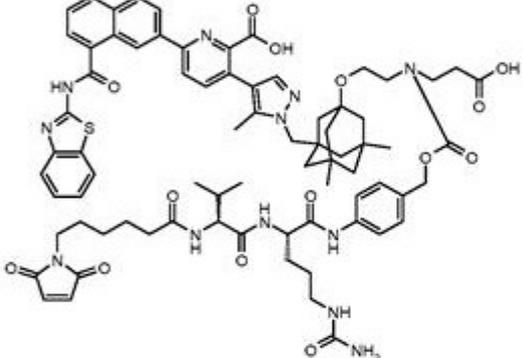
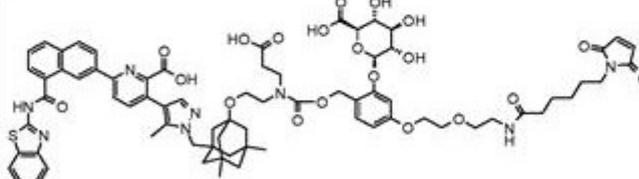
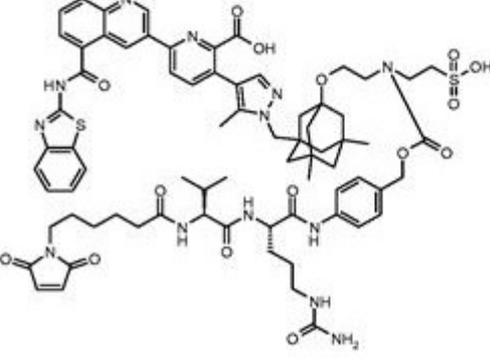
实施例 编号	合成子 代码	合成子结构
2.64	IE	 <p>Chemical structure of synthesis subunit IE, featuring a complex molecule with a central bicyclic core, a quinoline ring system, a pyridine ring, and a sugar moiety (glucose) linked to a long-chain amide.</p>
2.65	II	 <p>Chemical structure of synthesis subunit II, similar to IE but with a different linkage between the sugar and the long-chain amide.</p>
2.66	KY	 <p>Chemical structure of synthesis subunit KY, featuring a different sugar moiety and a long-chain amide with a terminal sulfonamide group.</p>
2.67	IW	 <p>Chemical structure of synthesis subunit IW, featuring a different sugar moiety and a long-chain amide with a terminal phosphonic acid group.</p>
2.68	IY	 <p>Chemical structure of synthesis subunit IY, featuring a different sugar moiety and a long-chain amide with a terminal phosphonic acid group.</p>

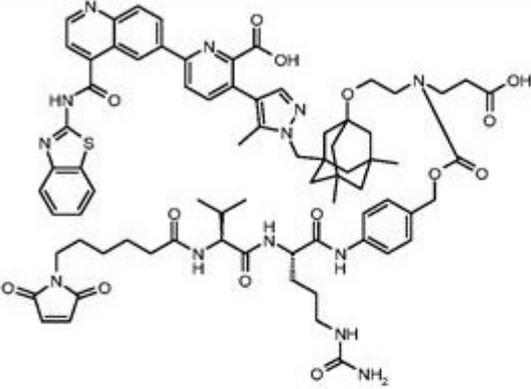
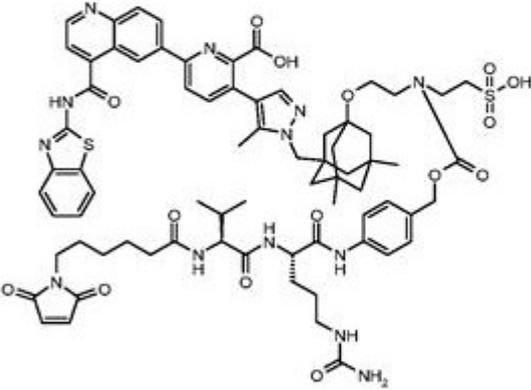
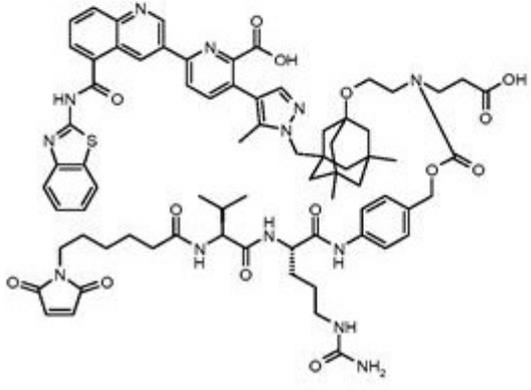
实施例编号	合成子代码	合成子结构
2.69	JA	
2.77	FA	
2.78	FJ	
2.79	FK	
2.80	FQ	
2.81	FR	
2.82	JE	

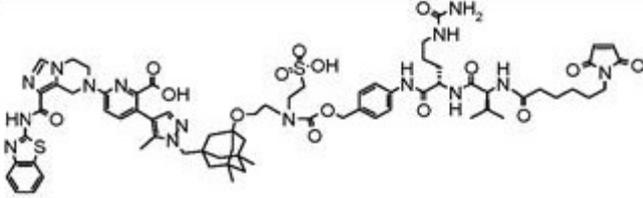
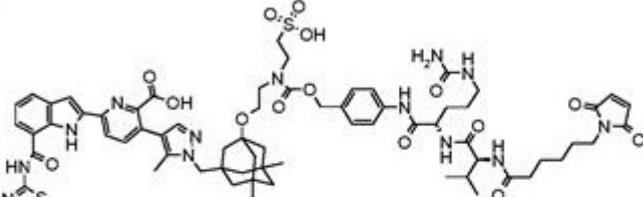
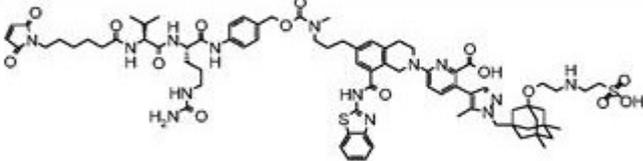
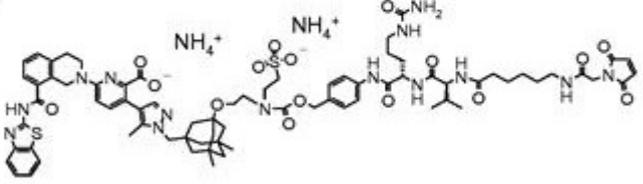
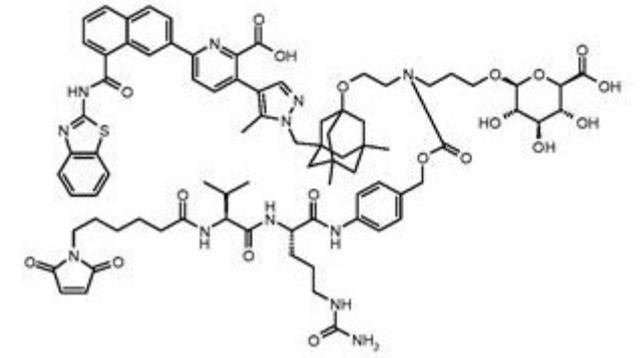
实施例 编号	合成子 代码	合成子结构
2.83	JM	
2.84	LE	
2.85	LH	
2.86	LJ	
2.87	MA	

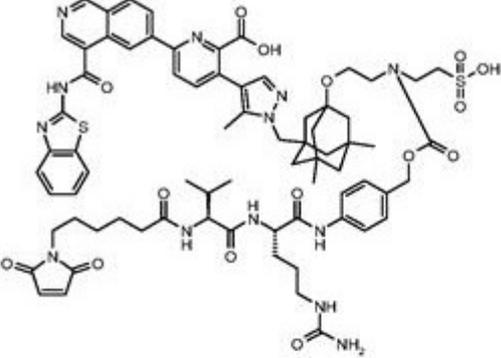
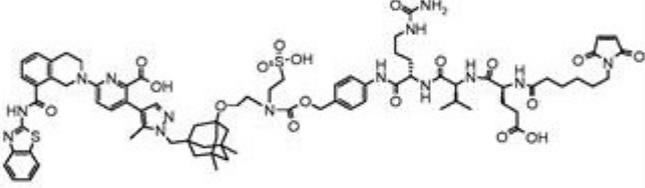
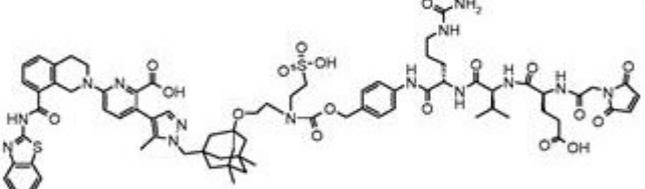
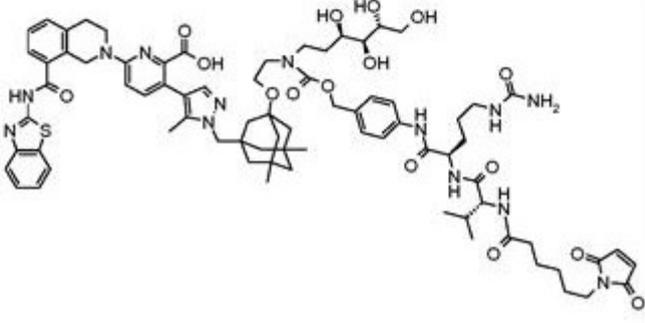
实施例编号	合成子代码	合成子结构
2.88	MD	
2.89	MG	
2.90	MS	
2.91	MR	
2.92	MQ	
2.93	MZ	
2.94	NA	

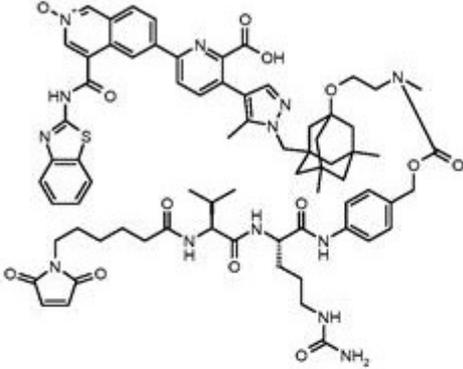
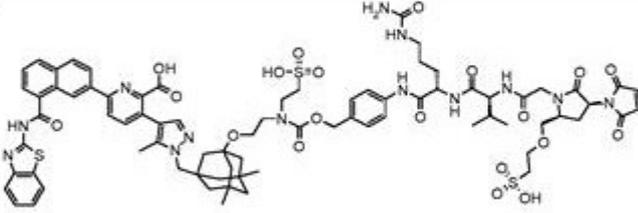
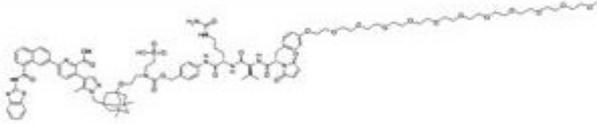
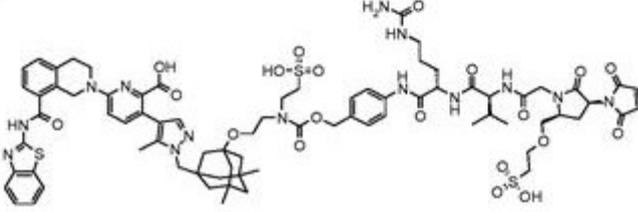
实施例 编号	合成子 代码	合成子结构
2.95	NB	 <p>The structure of synthesis unit NB is a complex molecule. It features a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) connected via an ether linkage to a chain of amide and ester groups. This chain is further substituted with a sulfonic acid group (-SO₃H) and a long alkyl chain ending in a terminal sulfonamide group (-SO₂NH₂). Other substituents include a benzimidazole ring system and a pyridine ring.</p>
2.96	NP	 <p>The structure of synthesis unit NP is similar to NB but includes an additional amide linkage (-NH-CO-) and a different terminal group, possibly a cyclic amide or a different sulfonamide derivative, connected to the main chain.</p>
2.97	NN	 <p>The structure of synthesis unit NN features a central bicyclic core with a hydroxyl group (-OH) and a carboxylic acid group (-COOH) attached to the main chain. It also includes a pyridine ring and a benzimidazole ring system.</p>
2.98	NO	 <p>The structure of synthesis unit NO is a complex molecule with multiple amide and ester linkages, a sulfonic acid group, and a long alkyl chain with a terminal sulfonamide group. It also includes a pyridine ring and a benzimidazole ring system.</p>
2.101	OK	 <p>The structure of synthesis unit OK is a highly complex molecule. It features a central bicyclic core with a hydroxyl group and a carboxylic acid group. It is heavily substituted with multiple amide and ester linkages, a sulfonic acid group, and a long alkyl chain with a terminal sulfonamide group. It also includes a pyridine ring and a benzimidazole ring system.</p>

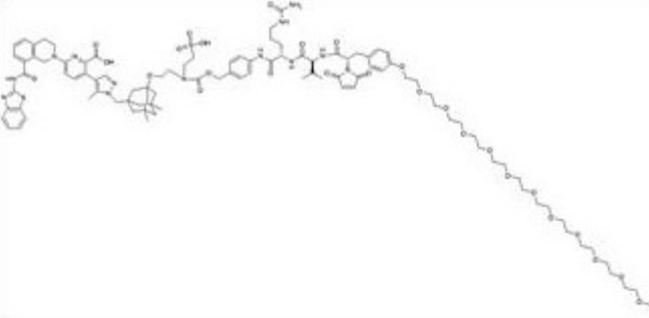
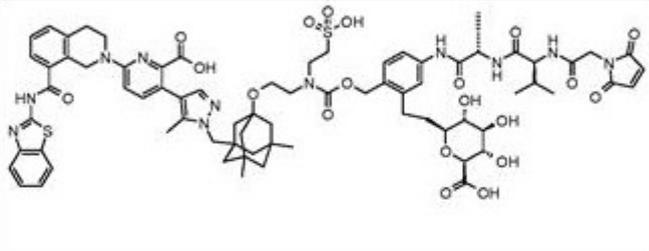
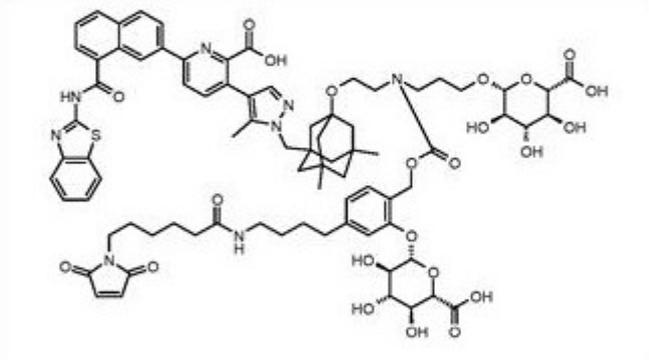
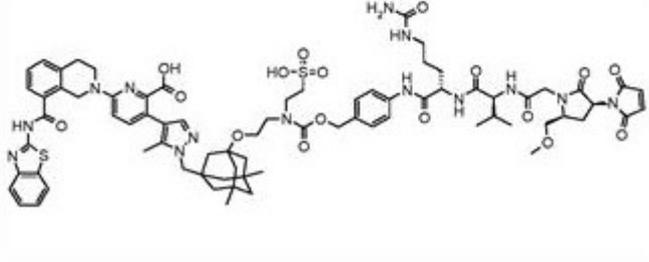
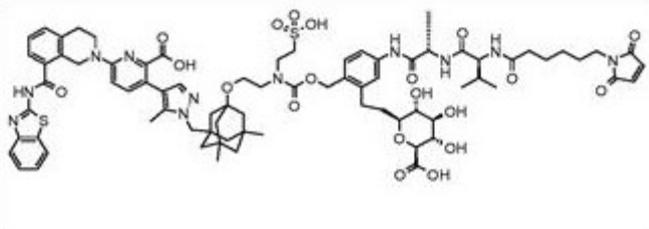
实施例 编号	合成子 代码	合成子结构
2.102	OW	 <p>The structure of synthesis unit OW is a complex molecule. It features a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) with a nitrogen atom. This core is linked via an ether oxygen to a chain containing a carboxylic acid group (-COOH) and a methyl group. Another branch from the core goes through a nitrogen atom to a chain with a carboxylic acid group (-COOH) and a methyl group. A third branch from the core goes through a nitrogen atom to a chain with a carboxylic acid group (-COOH) and a methyl group. The molecule also includes a benzothiazole ring system, a piperidine ring, and a pyrrolidone ring. A long chain with an amide group (-NH-) and a terminal primary amide group (-NH₂) is also present.</p>
2.103	PC	 <p>The structure of synthesis unit PC is very similar to OW, but the terminal primary amide group (-NH₂) is replaced by a secondary amide group (-NH-CH₂-COOH).</p>
2.104	PI	 <p>The structure of synthesis unit PI is a complex molecule. It features a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) with a nitrogen atom. This core is linked via an ether oxygen to a chain containing a carboxylic acid group (-COOH) and a methyl group. Another branch from the core goes through a nitrogen atom to a chain with a carboxylic acid group (-COOH) and a methyl group. A third branch from the core goes through a nitrogen atom to a chain with a carboxylic acid group (-COOH) and a methyl group. The molecule also includes a benzothiazole ring system, a piperidine ring, and a pyrrolidone ring. A long chain with an amide group (-NH-) and a terminal primary amide group (-NH₂) is also present.</p>
2.105	PJ	 <p>The structure of synthesis unit PJ is very similar to OW, but the terminal primary amide group (-NH₂) is replaced by a secondary amide group (-NH-CH₂-SO₃H).</p>

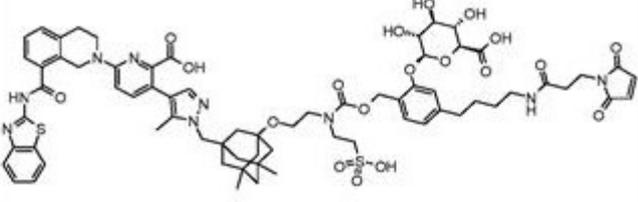
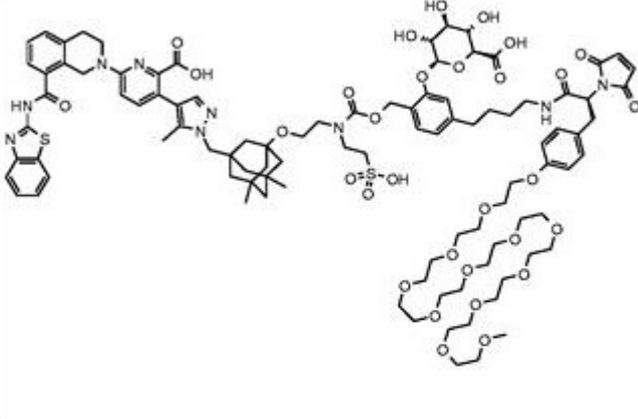
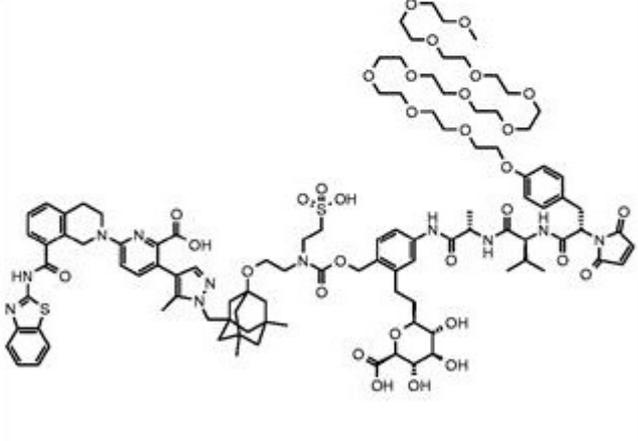
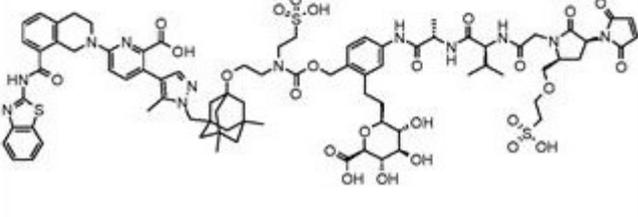
实施例 编号	合成子 代码	合成子结构
2.106	PU	 <p>The chemical structure of synthesis unit PU is a complex molecule. It features a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) with a nitrogen atom. This core is linked via an ether oxygen to a side chain containing a carboxylic acid group (-COOH). The core is also connected to a nitrogen atom that is part of a larger chain containing a benzimidazole ring system, a pyridine ring, and another carboxylic acid group. Additionally, the core is linked to a nitrogen atom that is part of a chain containing a pyrrolidone ring and a primary amide group (-NH₂).</p>
2.107	PV	 <p>The chemical structure of synthesis unit PV is similar to PU, but the carboxylic acid group (-COOH) on the side chain is replaced by a sulfonic acid group (-SO₃H).</p>
2.108	PW	 <p>The chemical structure of synthesis unit PW is identical to PU, featuring the same complex arrangement of rings and functional groups.</p>

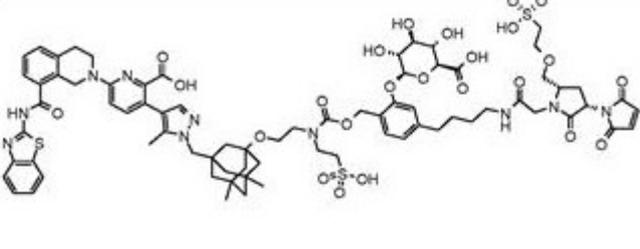
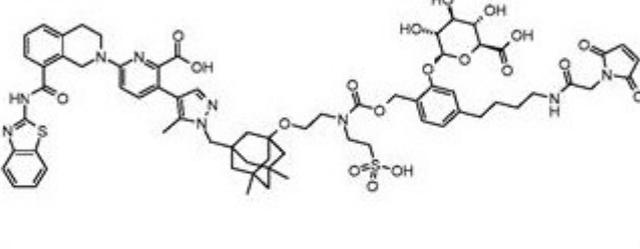
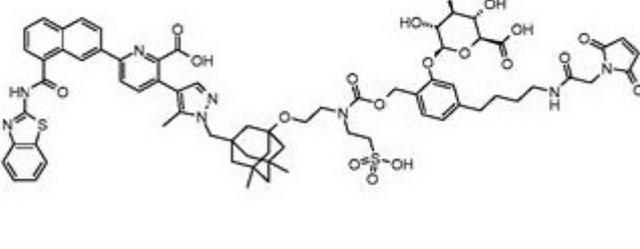
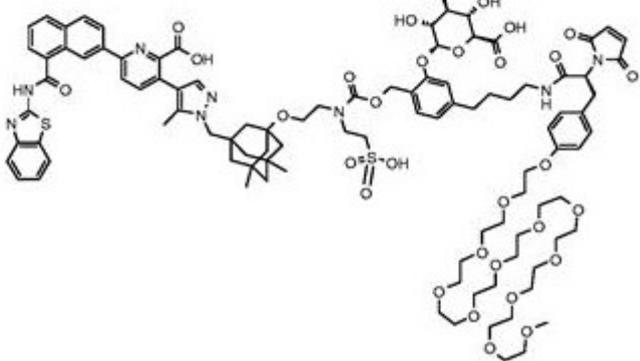
实施例 编号	合成子 代码	合成子结构
2.109	QW	 <p>The structure of synthesis unit QW is a complex molecule featuring a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) substituted with a thiazole ring, a carboxylic acid group, and a sulfonamide group. It is further linked to a long chain containing a benzimidazole ring, a secondary amine, and a terminal primary amide group.</p>
2.110	RM	 <p>The structure of synthesis unit RM is similar to QW but includes a benzimidazole ring system and a sulfonamide group. It features a long chain with a secondary amine and a terminal primary amide group, connected to a bicyclic core.</p>
2.111	RR	 <p>The structure of synthesis unit RR is a complex molecule with a bicyclic core, a thiazole ring, and a sulfonamide group. It is linked to a long chain containing a secondary amine and a terminal primary amide group.</p>
2.112	SJ	 <p>The structure of synthesis unit SJ is similar to RR but includes a benzimidazole ring system and a sulfonamide group. It features a long chain with a secondary amine and a terminal primary amide group, connected to a bicyclic core.</p>
2.113	SM	 <p>The structure of synthesis unit SM is a highly complex molecule featuring a bicyclic core, a thiazole ring, a carboxylic acid group, and a sulfonamide group. It is linked to a long chain containing a benzimidazole ring, a secondary amine, and a terminal primary amide group. Additionally, it includes a sugar moiety (glucose) and a terminal primary amide group.</p>

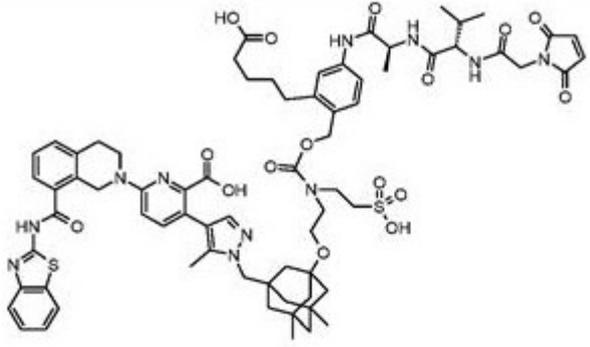
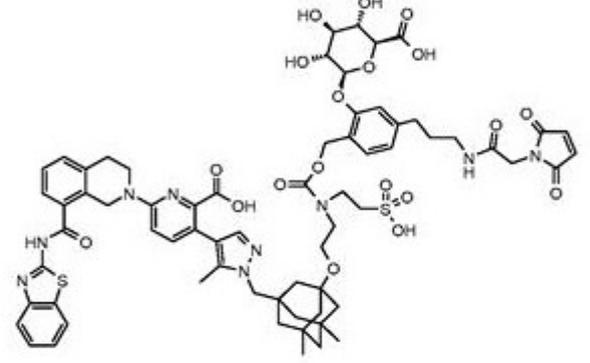
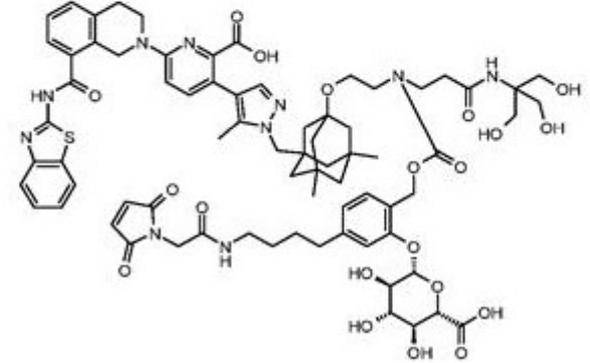
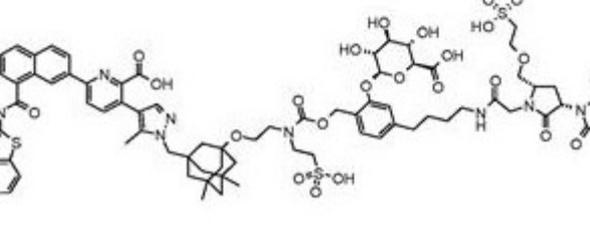
实施例 编号	合成子 代码	合成子结构
2.114	SN	 <p>The structure of synthesis unit SN is a complex molecule. It features a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) connected to a pyridine ring. This pyridine ring is further linked to a quinoline ring system. A carboxylic acid group is attached to the quinoline ring. Another branch from the bicyclic core leads to a chain containing a secondary amine, a tertiary amine, and a primary amide group. A long alkyl chain is also present, terminating in a primary amide group.</p>
2.115	SS	 <p>The structure of synthesis unit SS is a complex molecule. It features a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) connected to a pyridine ring. This pyridine ring is further linked to a quinoline ring system. A carboxylic acid group is attached to the quinoline ring. Another branch from the bicyclic core leads to a chain containing a secondary amine, a tertiary amine, and a primary amide group. A long alkyl chain is also present, terminating in a primary amide group.</p>
2.116	TA	 <p>The structure of synthesis unit TA is a complex molecule. It features a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) connected to a pyridine ring. This pyridine ring is further linked to a quinoline ring system. A carboxylic acid group is attached to the quinoline ring. Another branch from the bicyclic core leads to a chain containing a secondary amine, a tertiary amine, and a primary amide group. A long alkyl chain is also present, terminating in a primary amide group.</p>
2.117	TW	 <p>The structure of synthesis unit TW is a complex molecule. It features a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) connected to a pyridine ring. This pyridine ring is further linked to a quinoline ring system. A carboxylic acid group is attached to the quinoline ring. Another branch from the bicyclic core leads to a chain containing a secondary amine, a tertiary amine, and a primary amide group. A long alkyl chain is also present, terminating in a primary amide group.</p>

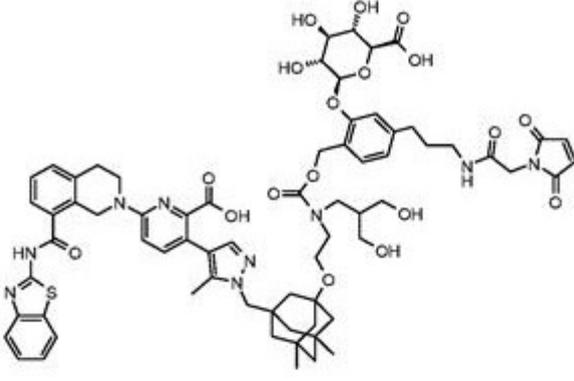
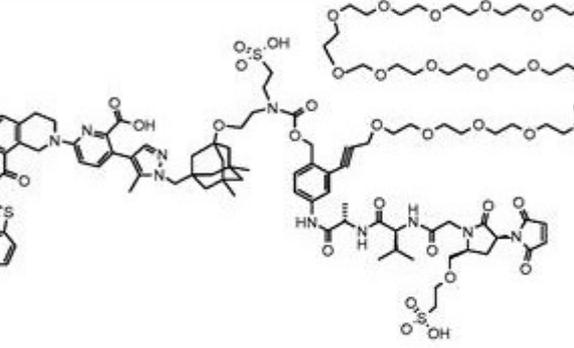
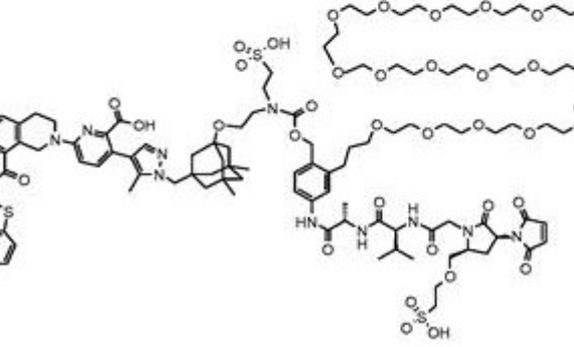
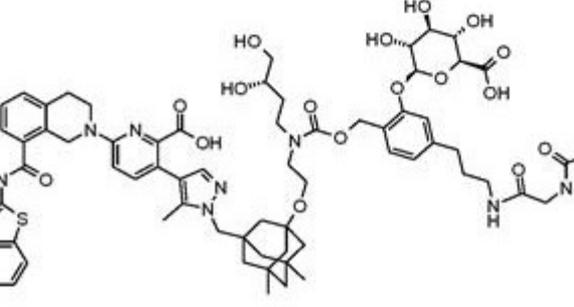
实施例 编号	合成子 代码	合成子结构
2.118	ST	 <p>The structure of synthesis unit ST is a complex molecule featuring a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) with a nitrogen atom. It is substituted with a 4-nitrophenyl group, a 2-thiazolylphenyl group, a carboxylic acid group, and a long chain containing a secondary amine, a tertiary amine, and a primary amide group.</p>
2.119	ZL	 <p>The structure of synthesis unit ZL is a complex molecule featuring a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) with a nitrogen atom. It is substituted with a 2-thiazolylphenyl group, a carboxylic acid group, a sulfonamide group, and a long chain containing a secondary amine, a tertiary amine, and a primary amide group.</p>
2.120	SX	 <p>The structure of synthesis unit SX is a complex molecule featuring a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) with a nitrogen atom. It is substituted with a 2-thiazolylphenyl group, a carboxylic acid group, and a long chain containing a secondary amine, a tertiary amine, and a primary amide group.</p>
2.121	SW	 <p>The structure of synthesis unit SW is a complex molecule featuring a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) with a nitrogen atom. It is substituted with a 2-thiazolylphenyl group, a carboxylic acid group, a sulfonamide group, and a long chain containing a secondary amine, a tertiary amine, and a primary amide group.</p>

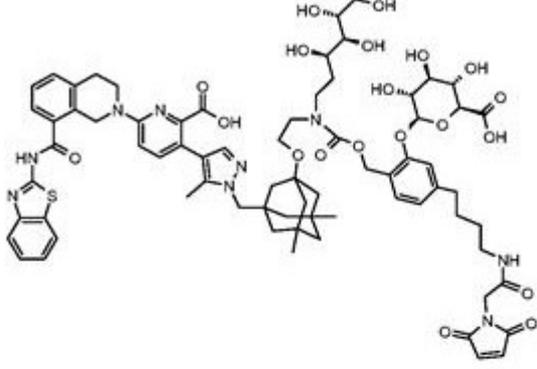
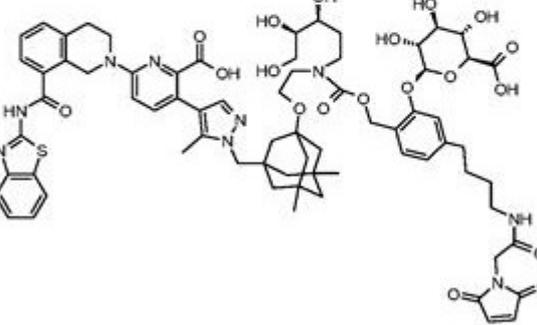
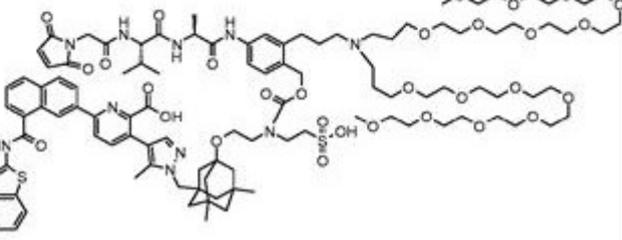
实施例 编号	合成子 代码	合成子结构
2.122	TV	
2.123	SZ	
2.124	ZM	
2.125	SV	
2.126	SY	

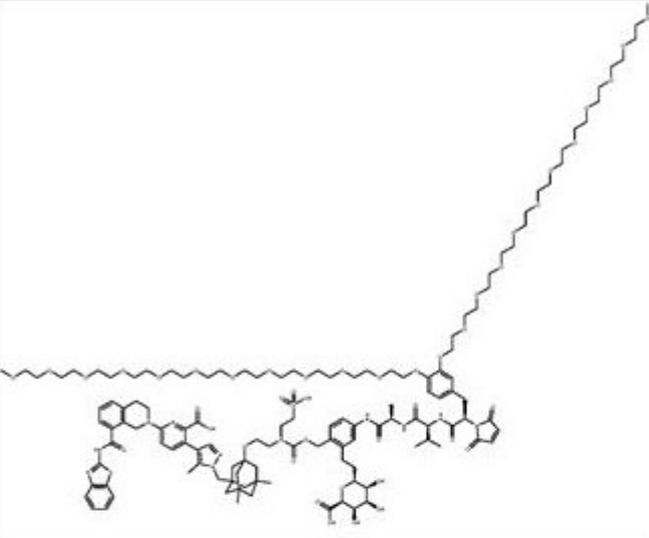
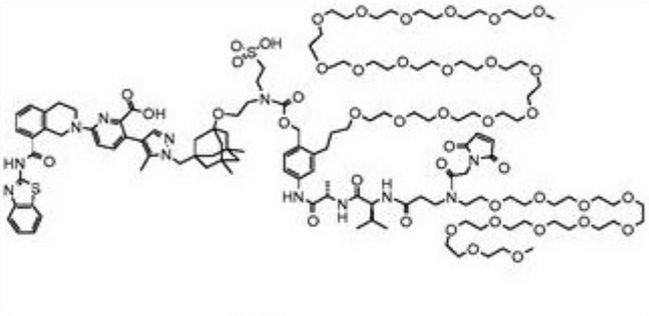
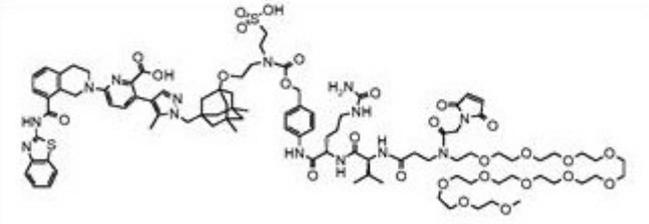
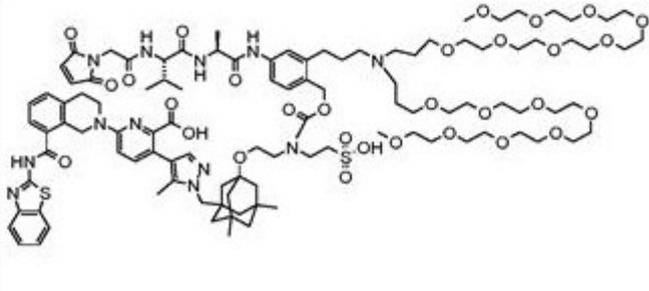
实施例 编号	合成子 代码	合成子结构
2.127	TK	 <p>Chemical structure of synthesis unit TK, featuring a complex molecule with a benzothiazole ring system, a piperazine ring, a pyridine ring, a cyclohexane ring, a sulfonamide group, a phosphate group, and a sugar moiety.</p>
2.128	TR	 <p>Chemical structure of synthesis unit TR, similar to TK but with a different sugar moiety and a polyether chain.</p>
2.129	TY	 <p>Chemical structure of synthesis unit TY, featuring a complex molecule with a benzothiazole ring system, a piperazine ring, a pyridine ring, a cyclohexane ring, a sulfonamide group, a phosphate group, a sugar moiety, and a polyether chain.</p>
2.130	TX	 <p>Chemical structure of synthesis unit TX, similar to TY but with a different sugar moiety and a polyether chain.</p>

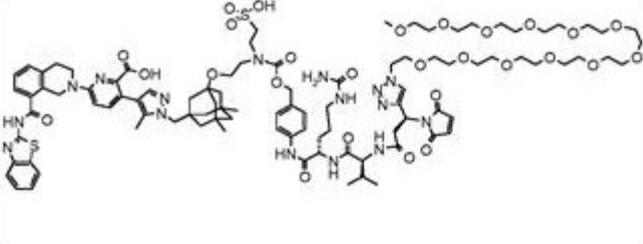
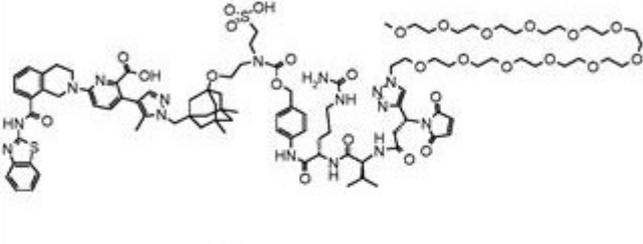
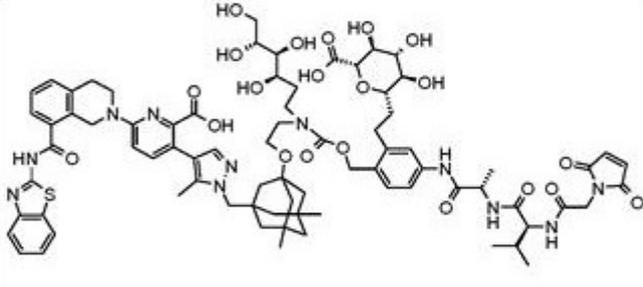
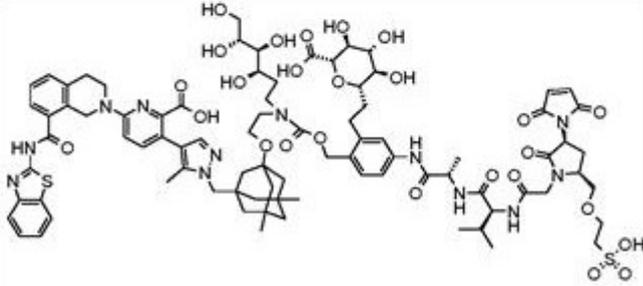
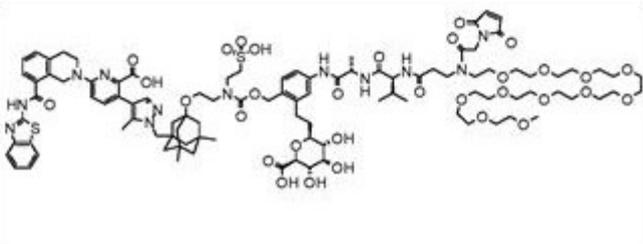
实施例 编号	合成子 代码	合成子结构
2.131	TZ	 <p>The structure of synthesis unit TZ is a complex molecule. It features a central pyridine ring substituted with a 1H-benzotriazol-4-yl group, a 2-hydroxyethyl group, and a 2-(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl)ethyl group. This central core is linked via an ether bridge to a 2-(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl)ethyl group, which is further connected to a 2-(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl)ethyl group. The molecule also contains a 2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl group, a 2-hydroxyethyl group, and a 2-(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl)ethyl group. Additionally, it has a 2-(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl)ethyl group, a 2-hydroxyethyl group, and a 2-(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl)ethyl group.</p>
2.132	UA	 <p>The structure of synthesis unit UA is similar to TZ, but it lacks the 2-(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl)ethyl group that is present in TZ. It features a central pyridine ring substituted with a 1H-benzotriazol-4-yl group, a 2-hydroxyethyl group, and a 2-(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl)ethyl group. This central core is linked via an ether bridge to a 2-(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl)ethyl group, which is further connected to a 2-(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl)ethyl group. The molecule also contains a 2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl group, a 2-hydroxyethyl group, and a 2-(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl)ethyl group.</p>
2.133	UJ	 <p>The structure of synthesis unit UJ is identical to UA. It features a central pyridine ring substituted with a 1H-benzotriazol-4-yl group, a 2-hydroxyethyl group, and a 2-(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl)ethyl group. This central core is linked via an ether bridge to a 2-(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl)ethyl group, which is further connected to a 2-(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl)ethyl group. The molecule also contains a 2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl group, a 2-hydroxyethyl group, and a 2-(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl)ethyl group.</p>
2.134	UK	 <p>The structure of synthesis unit UK is similar to UA, but it includes a 2-(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl)ethyl group. It features a central pyridine ring substituted with a 1H-benzotriazol-4-yl group, a 2-hydroxyethyl group, and a 2-(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl)ethyl group. This central core is linked via an ether bridge to a 2-(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl)ethyl group, which is further connected to a 2-(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl)ethyl group. The molecule also contains a 2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl group, a 2-hydroxyethyl group, and a 2-(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl)ethyl group. Additionally, it has a 2-(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl)ethyl group, a 2-hydroxyethyl group, and a 2-(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl)ethyl group.</p>

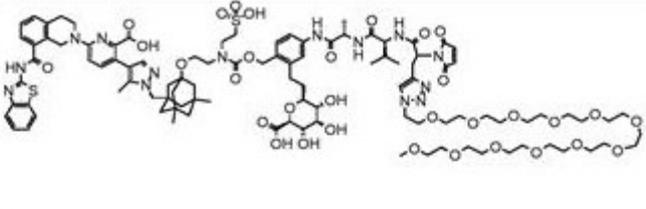
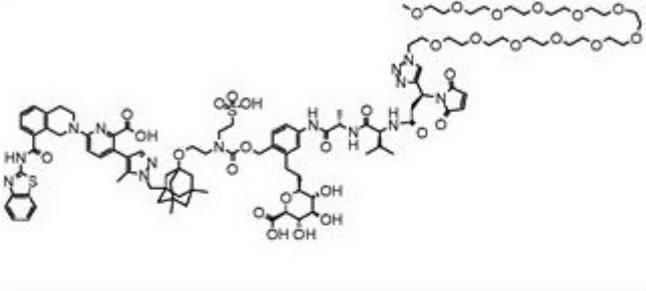
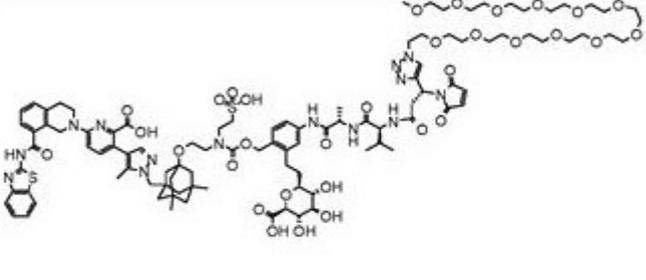
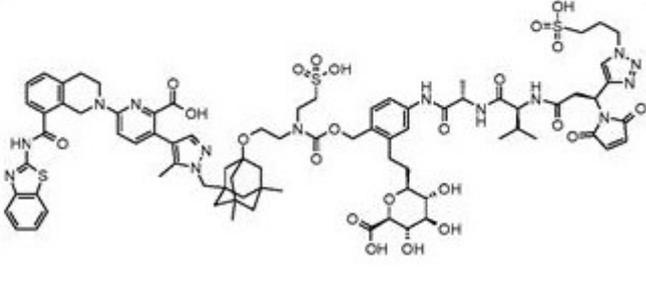
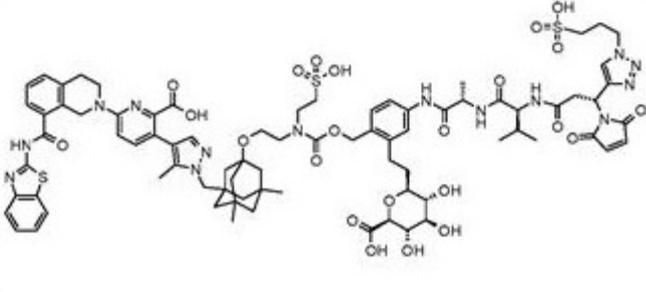
实施例 编号	合成子 代码	合成子结构
2.135	UU	
2.136	UV	
2.137	UZ	
2.138	VB	

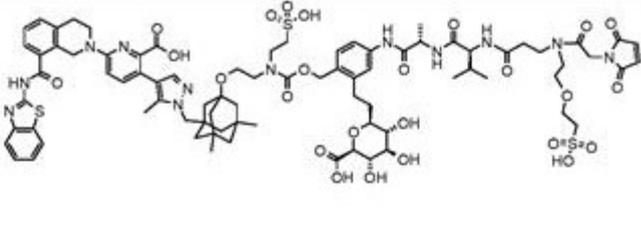
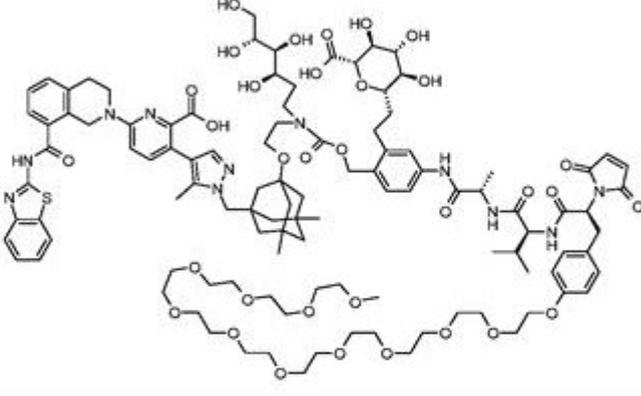
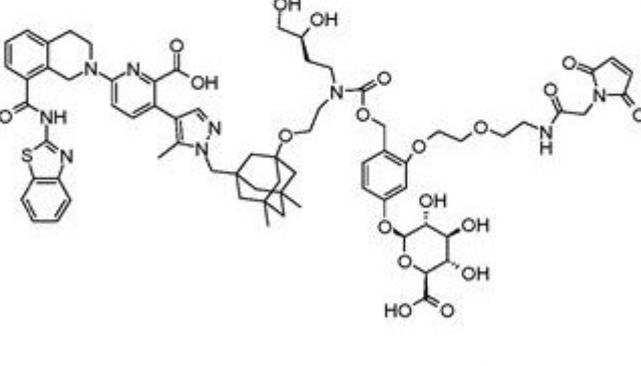
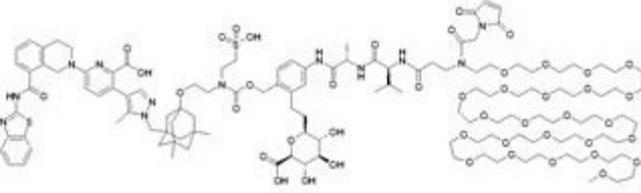
实施例编号	合成子代码	合成子结构
2.139	VC	 <p>The structure of synthesis unit VC is a complex molecule. It features a central pyridine ring substituted with a thiazole group, a piperazine ring, and a carboxylic acid group. This central core is linked via an amide bond to a side chain containing a cyclohexane ring, a hydroxyl group, and a long aliphatic chain. The aliphatic chain terminates in a pyridone ring and is also connected to a sugar moiety (a pyranose ring with multiple hydroxyl groups).</p>
2.140	VS	 <p>The structure of synthesis unit VS is similar to VC but includes a long, flexible polyether chain (a chain of repeating oxygen atoms) attached to the side chain. Additionally, it features a sulfonic acid group (-SO₃H) on the side chain.</p>
2.141	VT	 <p>The structure of synthesis unit VT is very similar to VS, featuring the same core and side chain, but with a different configuration of the polyether chain and the sulfonic acid group.</p>
2.142	VY	 <p>The structure of synthesis unit VY is similar to VC, but the side chain is modified to include a different sugar moiety and a different arrangement of hydroxyl groups.</p>

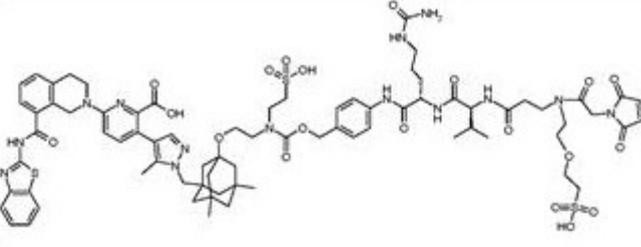
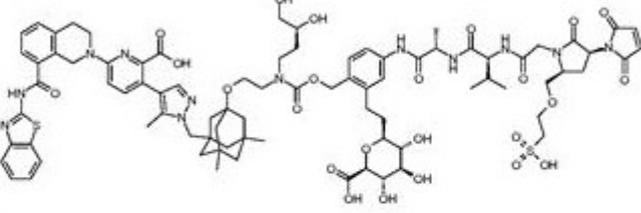
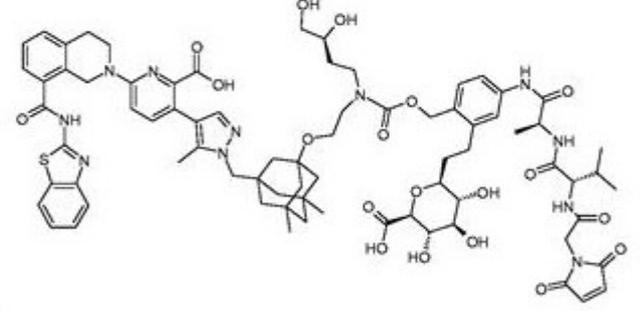
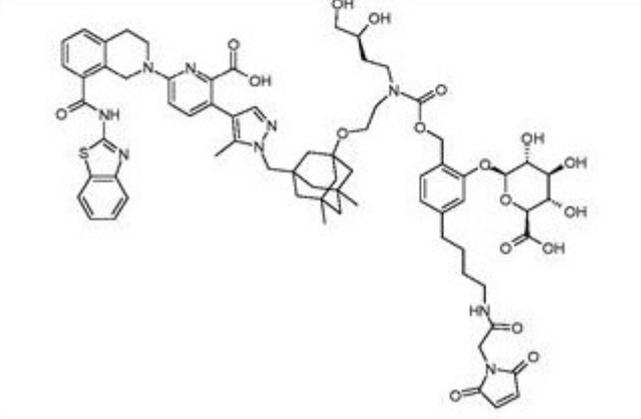
实施例 编号	合成子 代码	合成子结构
2.143	WI	 <p>The chemical structure of synthesis unit WI is a complex molecule. It features a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) connected to a pyridine ring. The pyridine ring is further substituted with a thiazole ring, a carboxylic acid group, and a long chain containing a hydroxyl group, a phosphate group, and a terminal amide group. The amide group is linked to a pyrazole ring.</p>
2.144	WK	 <p>The chemical structure of synthesis unit WK is very similar to WI, but it lacks the phosphate group and the terminal amide group on the long chain, instead having a hydroxyl group at the end of the chain.</p>
2.145	WP	 <p>The chemical structure of synthesis unit WP is a highly complex molecule. It features a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) connected to a pyridine ring. The pyridine ring is further substituted with a thiazole ring, a carboxylic acid group, and a long chain containing a hydroxyl group, a phosphate group, and a terminal amide group. The amide group is linked to a pyrazole ring. Additionally, the long chain is substituted with a long polyether chain (polyethylene glycol) and a terminal amide group.</p>

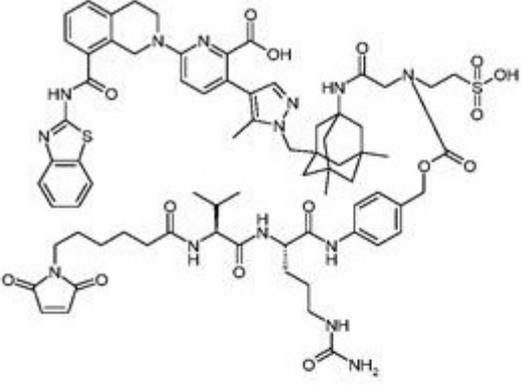
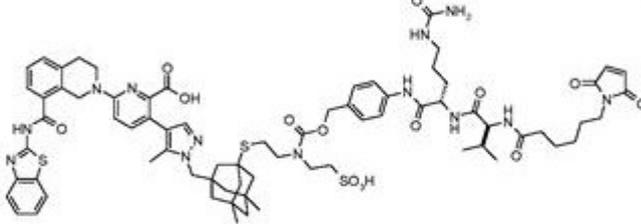
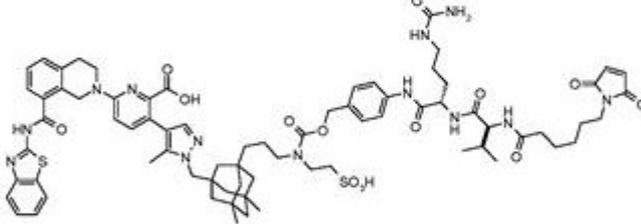
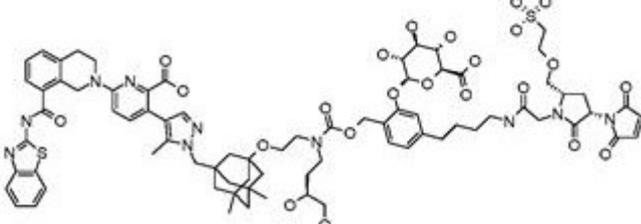
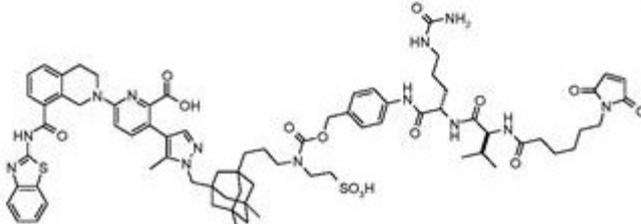
实施例 编号	合成子 代码	合成子结构
2.146	XD	
2.147	XK	
2.148	XL	
2.149	YJ	

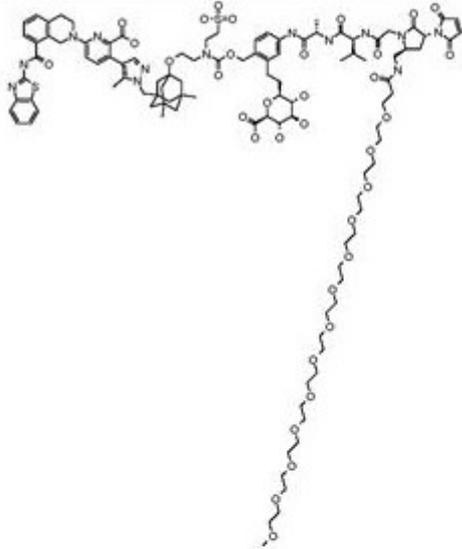
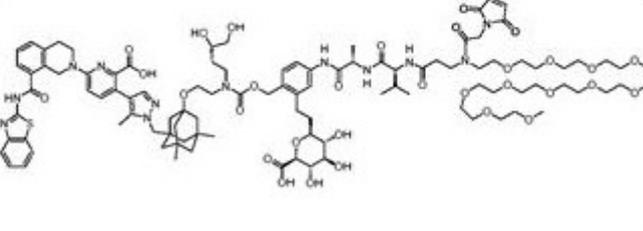
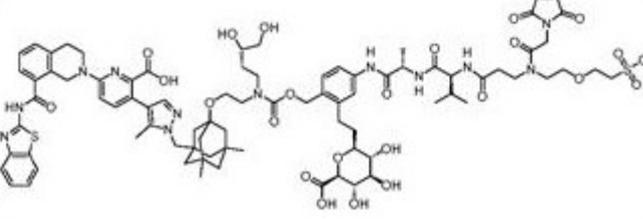
实施例编号	合成子代码	合成子结构
2.150	YQ	 <p>The structure of synthesis unit YQ is a complex molecule. It features a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) substituted with a sulfonamide group (-SO₂NH-), a hydroxyl group (-OH), and a long polyoxyethylene chain (-O(CH₂)₁₀-O-). The sulfonamide group is further substituted with a benzothiazole ring system.</p>
2.151	YR	 <p>The structure of synthesis unit YR is very similar to YQ, but it lacks the long polyoxyethylene chain and instead has a different substituent on the sulfonamide group.</p>
2.152	YS	 <p>The structure of synthesis unit YS is a complex molecule. It features a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) substituted with a sulfonamide group (-SO₂NH-), a hydroxyl group (-OH), and a long polyoxyethylene chain (-O(CH₂)₁₀-O-). The sulfonamide group is further substituted with a benzothiazole ring system.</p>
2.153	YY	 <p>The structure of synthesis unit YY is a complex molecule. It features a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) substituted with a sulfonamide group (-SO₂NH-), a hydroxyl group (-OH), and a long polyoxyethylene chain (-O(CH₂)₁₀-O-). The sulfonamide group is further substituted with a benzothiazole ring system.</p>
2.154	YT	 <p>The structure of synthesis unit YT is a complex molecule. It features a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) substituted with a sulfonamide group (-SO₂NH-), a hydroxyl group (-OH), and a long polyoxyethylene chain (-O(CH₂)₁₀-O-). The sulfonamide group is further substituted with a benzothiazole ring system.</p>

实施例 编号	合成子 代码	合成子结构
2.155	YU	 <p>The structure of synthesis unit YU is a complex molecule. It features a central core with a bicyclic system (bicyclo[2.2.1]heptane) and a sulfonamide group (-NH-CO-NH-). This core is linked via an amide bond to a chain containing a hydroxyl group (-OH) and a sulfonamide group (-NH-CO-NH-). The chain is further connected to a chain with a hydroxyl group (-OH) and a sulfonamide group (-NH-CO-NH-). The chain is terminated by a long, flexible polyether chain consisting of multiple oxygen atoms linked by carbon atoms.</p>
2.156	YV	 <p>The structure of synthesis unit YV is similar to YU, but it lacks the long polyether chain at the end of the molecule. Instead, it has a shorter chain with a hydroxyl group (-OH) and a sulfonamide group (-NH-CO-NH-).</p>
2.157	YW	 <p>The structure of synthesis unit YW is similar to YV, but it has a different chain configuration, including a hydroxyl group (-OH) and a sulfonamide group (-NH-CO-NH-).</p>
2.158	ZB	 <p>The structure of synthesis unit ZB is a complex molecule. It features a central core with a bicyclic system (bicyclo[2.2.1]heptane) and a sulfonamide group (-NH-CO-NH-). This core is linked via an amide bond to a chain containing a hydroxyl group (-OH) and a sulfonamide group (-NH-CO-NH-). The chain is further connected to a chain with a hydroxyl group (-OH) and a sulfonamide group (-NH-CO-NH-). The chain is terminated by a long, flexible polyether chain consisting of multiple oxygen atoms linked by carbon atoms.</p>
2.159	ZC	 <p>The structure of synthesis unit ZC is similar to ZB, but it has a different chain configuration, including a hydroxyl group (-OH) and a sulfonamide group (-NH-CO-NH-).</p>

实施例 编号	合成子 代码	合成子结构
2.160	ZJ	 <p>The structure of synthesis unit ZJ is a complex molecule. It features a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) connected to a pyridine ring. This pyridine ring is further linked to a benzimidazole ring system. A carboxylic acid group is attached to the pyridine ring. Another branch from the central core leads to a chain containing a hydroxyl group, a sulfonamide group (SO₂NH₂), and a hydroxyl group. A third branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. A fourth branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. A fifth branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. A sixth branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. A seventh branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. An eighth branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. A ninth branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. A tenth branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group.</p>
2.161	ZE	 <p>The structure of synthesis unit ZE is a complex molecule. It features a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) connected to a pyridine ring. This pyridine ring is further linked to a benzimidazole ring system. A carboxylic acid group is attached to the pyridine ring. Another branch from the central core leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. A third branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. A fourth branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. A fifth branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. A sixth branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. A seventh branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. An eighth branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. A ninth branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. A tenth branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group.</p>
2.162	ZS	 <p>The structure of synthesis unit ZS is a complex molecule. It features a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) connected to a pyridine ring. This pyridine ring is further linked to a benzimidazole ring system. A carboxylic acid group is attached to the pyridine ring. Another branch from the central core leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. A third branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. A fourth branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. A fifth branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. A sixth branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. A seventh branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. An eighth branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. A ninth branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. A tenth branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group.</p>
2.163	ZW	 <p>The structure of synthesis unit ZW is a complex molecule. It features a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) connected to a pyridine ring. This pyridine ring is further linked to a benzimidazole ring system. A carboxylic acid group is attached to the pyridine ring. Another branch from the central core leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. A third branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. A fourth branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. A fifth branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. A sixth branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. A seventh branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. An eighth branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. A ninth branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group. A tenth branch leads to a chain containing a hydroxyl group, a hydroxyl group, and a hydroxyl group.</p>

实施例 编号	合成子 代码	合成子结构
2.164	ZX	 <p>The structure of synthesis unit ZX is a complex molecule. It features a central core consisting of a piperazine ring substituted with a benzimidazole group and a carboxylic acid group. This core is linked via an ether bridge to a bicyclic system (bicyclo[2.2.1]heptane). The bicyclic system is further connected to a chain containing a hydroxyl group, a phosphate group, and a primary amide group. The chain continues with a series of amide linkages, including a secondary amide with a methyl group, and ends with a cyclic amide (pyrrolidinone) ring.</p>
2.166	AAA	 <p>The structure of synthesis unit AAA is similar to ZX but with several modifications. It lacks the primary amide group at the end of the chain. Instead, it features a dihydroxyethyl group (two hydroxyl groups on adjacent carbons) and a phosphate group. The chain continues with amide linkages, including a secondary amide with a methyl group, and ends with a cyclic amide (pyrrolidinone) ring.</p>
2.167	AAD	 <p>The structure of synthesis unit AAD is similar to AAA but with a different terminal group. It features a dihydroxyethyl group and a phosphate group. The chain continues with amide linkages, including a secondary amide with a methyl group, and ends with a cyclic amide (pyrrolidinone) ring.</p>
2.168	AAE	 <p>The structure of synthesis unit AAE is similar to AAA but with a different terminal group. It features a dihydroxyethyl group and a phosphate group. The chain continues with amide linkages, including a secondary amide with a methyl group, and ends with a cyclic amide (pyrrolidinone) ring.</p>

实施例 编号	合成子 代码	合成子结构
2.169	ABG	 <p>The structure of synthesis unit ABG is a complex molecule. It features a central bicyclic core (bicyclo[2.2.1]heptane) substituted with a sulfonic acid group (-SO₃H) and a nitrogen atom. This nitrogen is part of a larger system including a pyridine ring, a benzimidazole ring, and a benzothiazole ring. The molecule also contains a long aliphatic chain with an amide group (-NH-) and a terminal primary amide group (-NH₂). Other substituents include a phenyl ring and a sulfonamide group (-NH-SO₂-OH).</p>
2.170	ABL	 <p>The structure of synthesis unit ABL is similar to ABG but lacks the long aliphatic chain with the terminal primary amide group. It features the same bicyclic core, sulfonic acid group, and heterocyclic systems (pyridine, benzimidazole, benzothiazole). It includes a phenyl ring and a sulfonamide group.</p>
2.171	ABN	 <p>The structure of synthesis unit ABN is very similar to ABL, featuring the same bicyclic core, sulfonic acid group, and heterocyclic systems. It includes a phenyl ring and a sulfonamide group.</p>
2.172	AAF	 <p>The structure of synthesis unit AAF is a complex molecule featuring the bicyclic core, sulfonic acid group, and heterocyclic systems. It includes a phenyl ring, a sulfonamide group, and a complex polycyclic system with multiple oxygen atoms, possibly a cyclic acetal or a similar structure.</p>
2.173	ABO	 <p>The structure of synthesis unit ABO is very similar to ABL, featuring the same bicyclic core, sulfonic acid group, and heterocyclic systems. It includes a phenyl ring and a sulfonamide group.</p>

实施例 编号	合成子 代码	合成子结构
2.174	ABM	
2.175	ABU	
2.176	ABV	

[0327] 在某些实施方案中,在合成子共价连接抗体的条件下,结合了肿瘤细胞上表达的细胞表面受体或肿瘤相关抗原的抗体与合成子接触,形成ADC或其可药用盐,其中,所述合成子选自合成子实施例: 2.1, 2.2, 2.4, 2.5, 2.6,

2.7, 2.8, 2.9, 2.10, 2.11, 2.12, 2.13, 2.14, 2.15, 2.16, 2.17, 2.18, 2.19, 2.20, 2.21, 2.22, 2.23, 2.24,
2.25, 2.26, 2.27, 2.28, 2.29, 2.30, 2.31, 2.32, 2.33, 2.34, 2.35, 2.36, 2.37, 2.38, 2.39, 2.40, 2.41, 2.42,
2.43, 2.44, 2.45, 2.46, 2.47, 2.48, 2.49, 2.50, 2.51, 2.52, 2.53, 2.54, 2.55, 2.56, 2.57, 2.58, 2.59, 2.60,

2.61, 2.62, 2.63, 2.64, 2.65, 2.66, 2.67, 2.68, 2.69, 2.77, 2.78, 2.79, 2.80, 2.81, 2.82, 2.83, 2.84, 2.85, 2.86, 2.87, 2.88, 2.89, 2.90, 2.91, 2.92, 2.93, 2.94, 2.95, 2.96, 2.97, 2.98, 2.101, 2.102, 2.103, 2.104, 2.105, 2.106, 2.107, 2.108, 2.109, 2.110, 2.111, 2.112, 2.113, 2.114, 2.115, 2.116, 2.117, 2.118, 2.119, 2.120, 2.121, 2.122, 2.123, 2.124, 2.125, 2.126, 2.127, 2.128, 2.129, 2.130, 2.131, 2.132, 2.133, 2.134, 2.135, 2.136, 2.137, 2.138, 2.139, 2.140, 2.141, 2.142, 2.143, 2.144, 2.145, 2.146, 2.147, 2.148, 2.149, 2.150, 2.151, 2.152, 2.153, 2.154, 2.155, 2.156, 2.157, 2.158, 2.159, 2.160, 2.161, 2.162, 2.163, 2.164, 2.166, 2.167, 2.168, 2.169, 2.170, 2.171, 2.172, 2.173, 2.174, 2.175,

和2.176,或其可药用盐。

[0328] 4.8. 抗体药物缀合物

在合适的靶细胞的细胞试验和/或体内试验中,可以证明本文所描述的ADC的Bcl-xL抑制活性。可以用于证明靶向EGFR、EpCAM或NCAM1的ADC的活性的具体试验分别提供于实施例8和9中。通常,在这种细胞试验中,ADC的EC₅₀值小于大约5000 nM,不过,ADC可以显示出显著更低的EC₅₀值,例如,小于大约500、300或甚至小于100 nM。使用表达特定靶点抗原的细胞所进行的类似的细胞试验,可以用于证明靶向其它抗原的ADC的Bcl-xL抑制活性。

[0329] 4.9. 合成方法

本文所描述的Bcl-xL抑制剂以及合成子,可以使用已知的有机化学的标准技术来合成。下面提供了合成Bcl-xL抑制剂以及合成子的常规反应路线,它们可以原样使用,或进行修改,用于合成全部范围的本文所描述的Bcl-xL抑制剂以及合成子。合成示范性的Bcl-xL抑制剂与合成子的可以用于指导的具体方法提供于实施例部分中。也可以利用标准方法制备ADC,例如,与下列文献所描述的方法类似的方法: Hamblett等人,2004, “Effects of Drug Loading on the Antitumor Activity of a Monoclonal Antibody Drug Conjugate”, *Clin. Cancer Res.* 10:7063-7070;Doronina等人,2003, “Development of potent and highly efficacious monoclonal antibody auristatin conjugates for cancer therapy,” *Nat. Biotechnol.* 21 (7):778-784;和Francisco等人,2003, *Blood* 102:1458-1465。例如,每个抗体带有四个药物的ADC,可以如下制备:在37°C下,使用过量的还原剂,例如,DTT或TCEP,部分还原抗体30分钟,然后,使用1 mM DTPA/DPBS,通过SEPHADEX® G-25树脂洗脱,进行缓冲液交换。用DPBS进一步稀释洗脱液,可以使用5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸) [Ellman's试剂],测定抗体的硫醇浓度。在4°C下,加入过量(例如,5倍)的连接子-药物合成子(经过1小时),并通过加入实质上过量(例如,20倍)的半胱氨酸,淬灭该缀合反应。可以在SEPHADEX G-25(在PBS中平衡)上纯化所得到的ADC混合物,除去未反应的合成子,如果需要的话,进行脱盐,并且通过分子排阻色谱纯化。然后,可以通过0.2μm过滤器,将得到的ADC无菌过滤,如果需要的话,冷冻干燥,储存。在某些实施方案中,所有链间的半胱氨酸二硫键被连接子-药物缀合物替代。一个实施方案涉及ADC的制备方法,所述方法包括:在合成子共价抗体的条件下,使本文所描述的合成子与抗体接触。

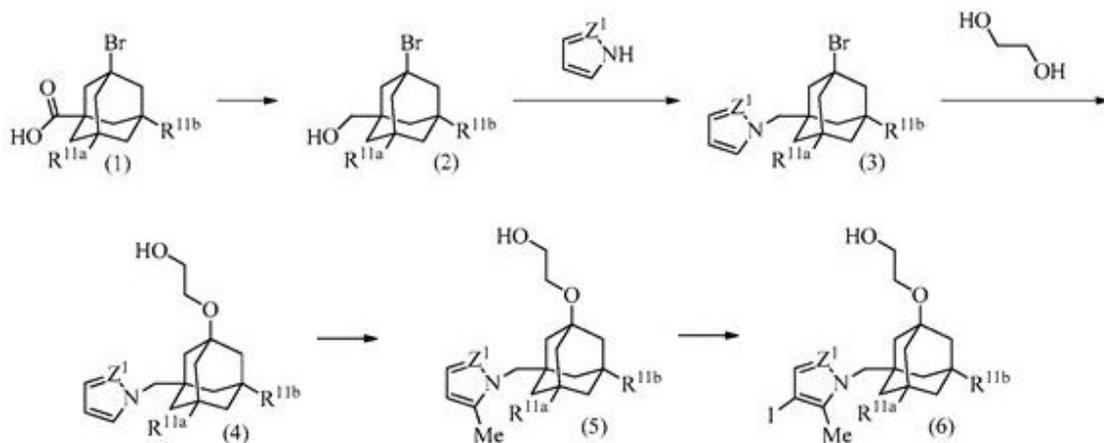
[0330] 合成示范性的ADC的具体方法提供于实施例部分中,可以用于合成全部范围的本文所描述的ADC。

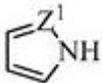
[0331] 4.9.1. 合成BCL-XL抑制剂的一般方法

在下面反应路线中,各个取代基Ar¹、Ar²、Z¹、R⁴、R^{11a}和R^{11b}如详细说明部分所定义。

[0332] 4.9.1.1. 合成化合物(6)

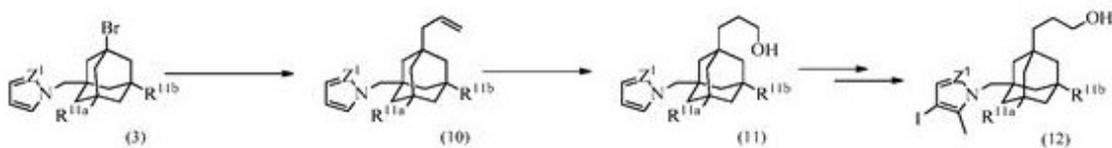
反应路线1



反应路线1描述了中间体(6)的合成方法。可以用 $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ 处理化合物(1),提供化合物(2)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:四氢呋喃)中进行。在氰基亚甲基三丁基正磷的存在下,用  处理化合物(2),可以制备化合物(3)。该反应通常在高温下、在溶剂(例如但不限于:甲苯)中进行。在碱(例如但不限于三乙胺)的存在下,可以用乙烷-1,2-二醇处理化合物(3),提供化合物(4)。该反应通常在高温下进行,并且该反应可以在微波条件下进行。用强碱(例如但不限于正丁基锂)处理化合物(4),而后加入碘甲烷,提供化合物(5)。加入和反应通常在溶剂(例如但不限于:四氢呋喃)中、在低温下进行,而后升温至环境温度,进行后处理。用N-碘代琥珀酰亚胺处理化合物(5),提供化合物(6)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:N,N-二甲基甲酰胺)中进行。

[0333] 4.9.1.2. 合成化合物(12)

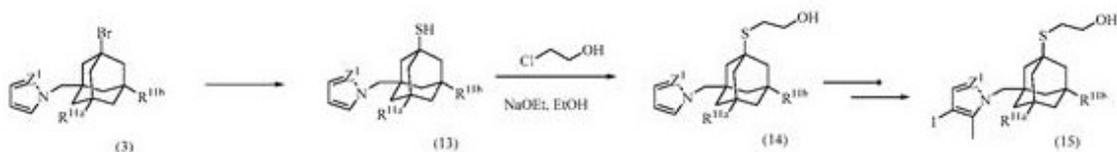
反应路线2



反应路线2描述了中间体(12)的合成方法。在 $\text{ZnCl}_2 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ 或N,N'-偶氮二异丁腈(AIBN)的存在下,用三正丁基-烯丙基锡烷处理化合物(3),提供化合物(10)(Yamamoto等人,1998, *Heterocycles*47:765-780)。该反应通常在 -78°C 下、在溶剂(例如但不限于:二氯甲烷)中进行。可以在硼氢化/氧化领域已知的标准条件下,处理化合物(10),提供化合物(11)。例如,在溶剂(例如但不限于:四氢呋喃)中,用试剂(例如, $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$)处理化合物(10),而后在碱(例如但不限于:氢氧化钠)的存在下,用氧化剂(例如但不限于:过氧化氢)处理中间体烷基硼烷加合物,提供化合物(11)(Brown等人,1968, *J. Am. Chem. Soc.*86:397)。通常,加入 $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ 是在低温下进行的,而后升温至环境温度,再加入过氧化氢和氢氧化钠,产生醇产物。如先前对化合物(6)所描述,可以按照反应路线1制备化合物(12)。

[0334] 4.9.1.3. 合成化合物(115)

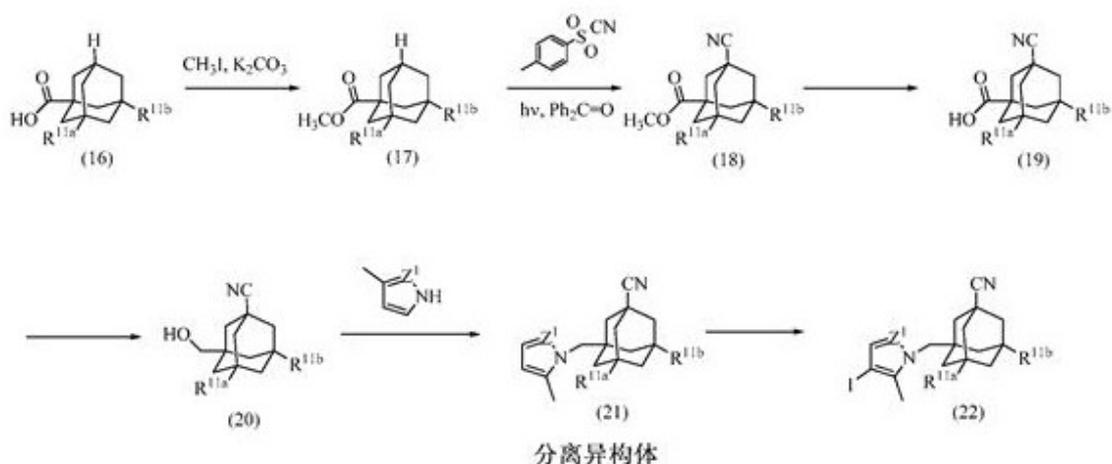
反应路线3

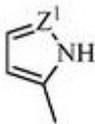


反应路线3描述了中间体(15)的合成方法。在乙酸和48% HBr水溶液的溶剂混合物中,在100℃,可以使化合物(3)与硫脲反应,得到中间体,随后,可以在溶剂混合物(例如但不局限于:20% v/v的乙醇/水)中,用氢氧化钠处理所述中间体,提供化合物(13)。在碱(例如但不局限于:乙醇钠)的存在下,可以使化合物(13)与2-氯乙醇反应,提供化合物(14)。该反应通常在环境温度或高温下、在溶剂(例如但不局限于:乙醇)中进行。如先前化合物(6)所述,可以按照反应路线1制备化合物(15)。

[0335] 4.9.1.4. 合成化合物(22)

反应路线4

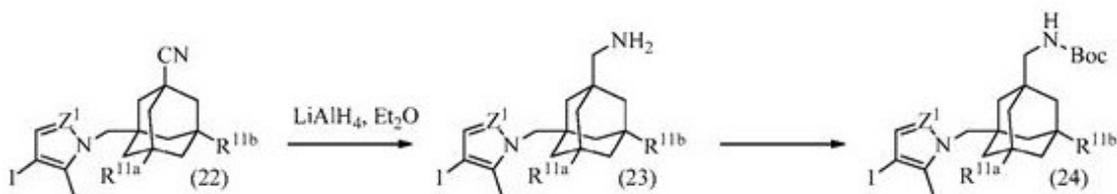


反应路线4描述了化合物(22)的合成方法。在碱(例如但不局限于:碳酸钾)的存在下,可以使化合物(16)与碘甲烷反应,提供化合物(17)。该反应通常在环境温度或高温下、在溶剂(例如但不局限于:丙酮或N,N-二甲基甲酰胺)中进行。在光化学条件下,在二苯酮的存在下,可以使化合物(17)与对甲苯磺酰氰反应,提供化合物(18)(参见Kamijo等人,2011, *Org. Lett.*, 13:5928-5931)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不局限于:乙腈或苯)中进行,使用Riko 100W中压汞灯作为光源。在溶剂系统(例如但不局限于:水和四氢呋喃或水和甲醇的混合物)中,可以使化合物(18)与氢氧化锂反应,提供化合物(19)。可以用BH₃·THF处理化合物(19),提供化合物(20)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不局限于:四氢呋喃)中进行。在氰基亚甲基三丁基正磷的存在下,用  处理化合物

(20),可以制备化合物(21)。该反应通常在高温下、在溶剂(例如但不局限于:甲苯)中进行。可以用N-碘代琥珀酰亚胺处理化合物(21),提供化合物(22)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不局限于:N,N-二甲基甲酰胺)中进行。

[0336] 4.9.1.5. 合成化合物(24)

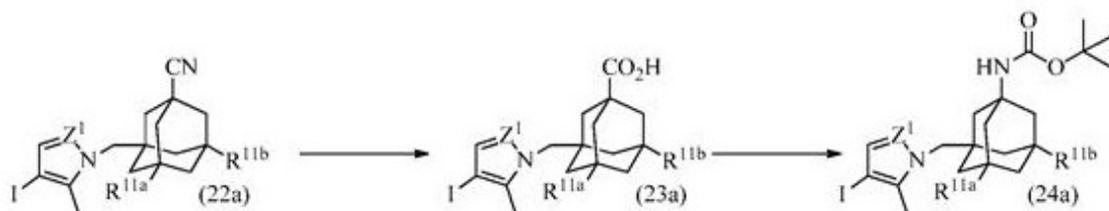
反应路线5



反应路线5描述了吡唑化合物(24)的合成方法。在溶剂(例如但不限于:乙醚或四氢呋喃)中,用还原剂(例如但不限于:氢化锂铝)处理化合物(22),可以提供化合物(23)。通常,在0°C下进行该反应,而后升温至环境温度或高温。在本文或文献中描述的标准条件下,可以使化合物(23)与二碳酸二叔丁基酯反应,提供化合物(24)。

[0337] 4.9.1.6. 合成化合物(24a)

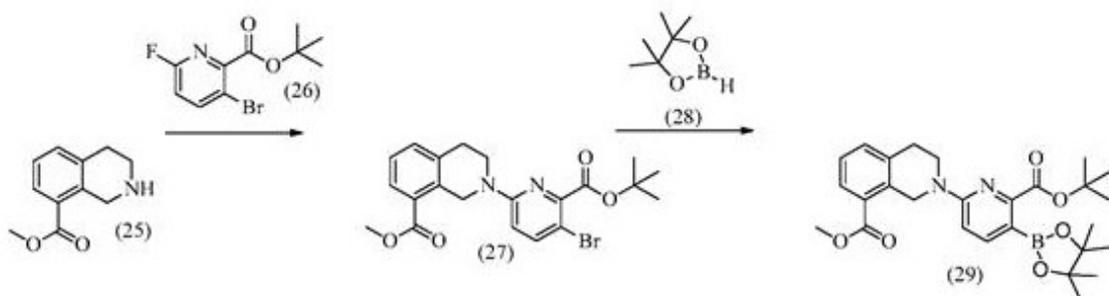
反应路线6



反应路线6描述了中间体(24a)的合成方法。可以使用文献描述的条件,使化合物(22a)水解,提供化合物(23a)。通常,在氢氧化钾的存在下、在溶剂(例如但不限于:乙二醇)中、在高温下进行该反应(参见,Roberts等人,1994, *J. Org. Chem.* 59:6464-6469;Yang等人,2013, *Org. Lett.*, 15:690-693)。可以使用文献所描述的条件,通过Curtius重排,由化合物(23a)制备化合物(24a)。例如,在四丁基溴化铵、三氟甲磺酸锌(II)和二碳酸二叔丁基酯的存在下,可以使化合物(23a)与叠氮化钠反应,提供化合物(24a)(参见,Lebel等人, *Org. Lett.*, 2005, 7:4107-4110)。通常,在高温(优选40-50°C)下、在溶剂(例如但不限于:四氢呋喃)中进行该反应。

[0338] 4.9.1.7. 合成化合物(29)

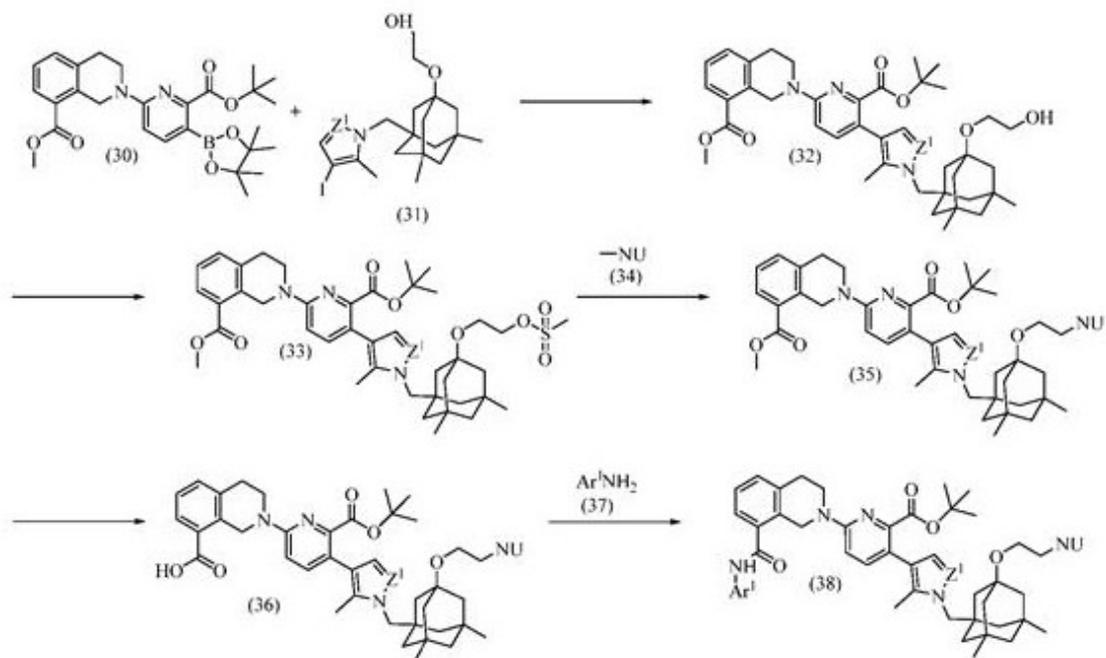
反应路线7



如反应路线7所示,在碱(例如但不限于:N,N-二异丙基乙胺或三乙胺)的存在下,式(25)的化合物与3-溴-6-氟吡啶甲酸叔丁基酯反应,可以制备式(27)的化合物。该反应通常在惰性气氛中、在高温下、在溶剂(例如但不限于:二甲亚砜)中进行。在本文或文献所描述的硼化条件下,可以使式(27)的化合物与4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷(28)反应,提供式(29)的化合物。

[0339] 4.9.1.8. 合成化合物(38)

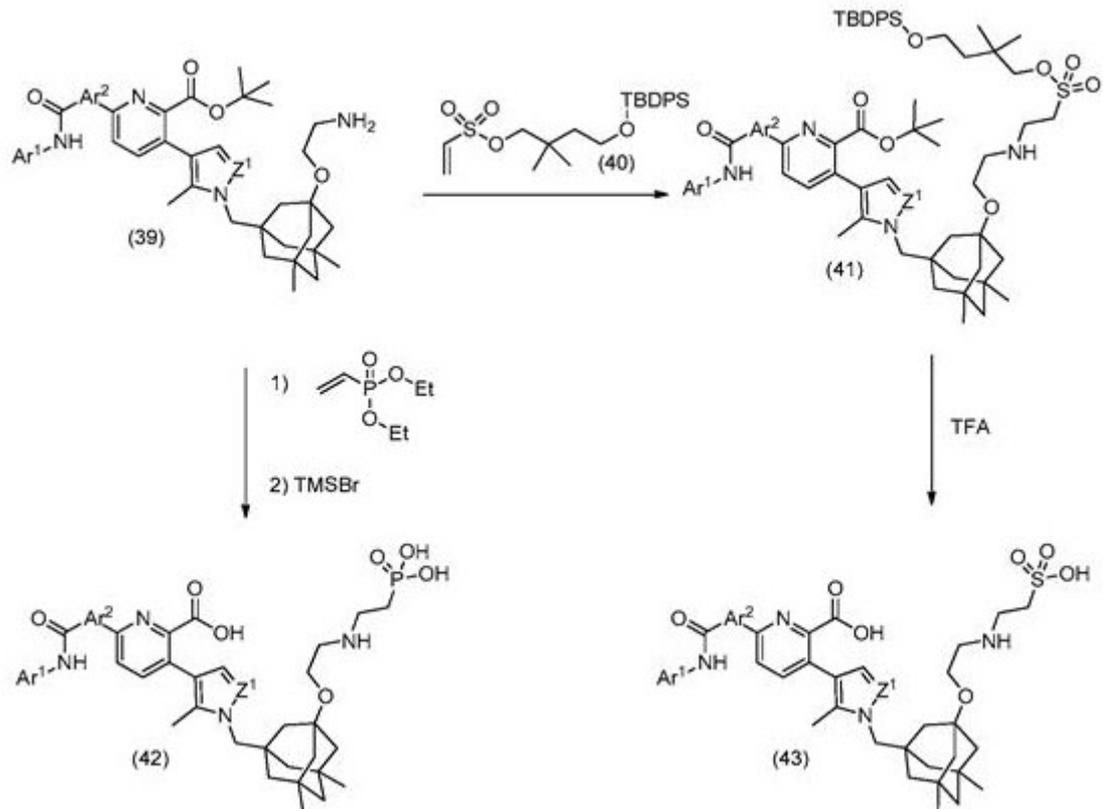
反应路线8



反应路线8描述了制备中间体的方法,所述中间体包含与金刚烷连接的-Nu(亲核试剂)和以叔丁基酯形式保护的吡啶甲酸酯。在本文或文献所描述的Suzuki偶合条件下,可以使化合物(30)与化合物(31)反应,提供甲基化合物(32)。可以用碱(例如但不限于:三乙胺)处理化合物(32),而后用甲磺酰氯处理,提供化合物(33)。加入通常在低温下进行,而后在溶剂(例如但不限于:二氯甲烷)中升温至环境温度。可以使化合物(33)与式(34)的亲核试剂(Nu)反应,提供化合物(35)。亲核试剂的实例包括但不限于:叠氮化钠、甲胺、氨和亚氨基二碳酸二叔丁基酯。可以使化合物(17)与氢氧化锂反应,提供化合物(36)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:四氢呋喃、甲醇、水或其混合物)中进行。在本文所描述或容易在文献中获得的酰胺化条件下,可以使化合物(36)与化合物(37)反应,提供式(38)的化合物。

[0340] 4.9.1.9. 合成化合物(42)和(43)

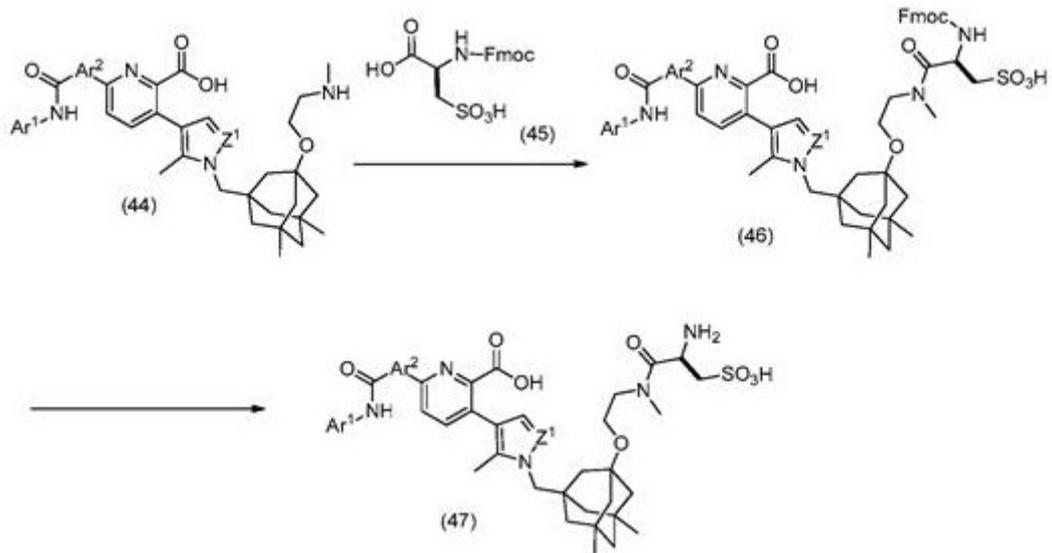
反应路线9



反应路线9描述了用于制备增溶性(solubilized)Bcl-xL抑制剂的代表性的方法。使用增溶基修饰伯胺的一般方法,而后使所得到的仲胺与随后反应路线所述的连接子连接,可以合成Bcl-xL抑制剂。例如,化合物(39)与化合物(40)反应,可以制备化合物(41)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:N,N-二甲基甲酰胺)中进行。可以使化合物(41)与三氟乙酸反应,提供化合物(43)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:二氯甲烷)中进行。示于反应路线9的另一个实施例是化合物(39)与乙烯基膦酸二乙基酯的反应,而后与溴三甲硅烷和烯丙基三甲硅烷反应,提供化合物(42)。在本文所描述的Bcl-xL抑制剂上引入增溶基的其它实施例包括但不限于:还原胺化反应、烷基化反应和酰胺化反应。

[0341] 4.9.1.10. 合成化合物(47)

反应路线10

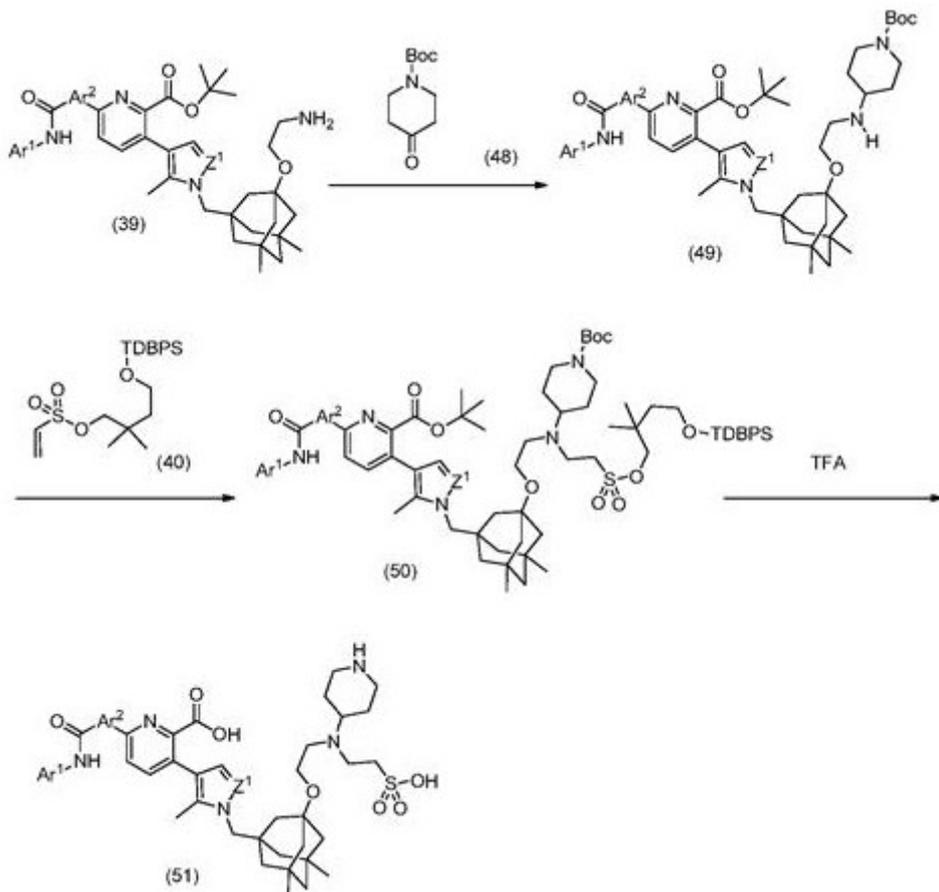


反应路线10描述了通过酰胺化反应来引入增溶基。使用增溶基修饰伯胺或仲胺的一般方法，而后使所得到的胺与随后反应路线所述的连接子连接，可以合成Bc1-xL抑制剂。

[0342] 例如，依次用HATU和化合物(44)处理化合物(45)，提供化合物(46)。在溶剂例如但不局限于： (N,N) -二甲基甲酰胺中，用二乙胺处理化合物(46)，可以得到化合物(47)。

[0343] 4.9.1.11. 合成化合物(51)

反应路线11

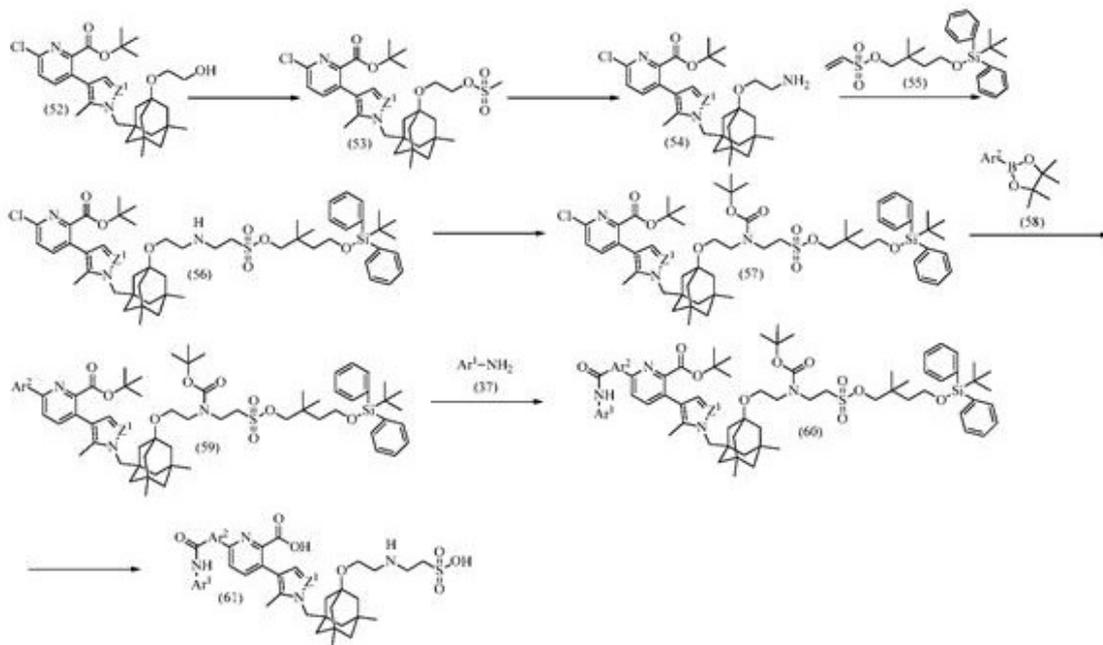


反应路线11描述了用于制备增溶性Bc1-xL抑制剂的代表性的方法。使用间隔基修饰伯

胺来得到各种保护的二胺的一般方法,可以合成Bcl-xL抑制剂。可以用增溶基来修饰未保护的仲胺。将保护的胺的脱保护,露出连接子连接的位点,如随后反应路线所述。例如,在本领域已知的条件下,使用试剂,例如但不限于:4-氧代哌啶-1-甲酸叔丁基酯(48),可以将化合物(39)还原烷基化,提供仲胺(49)。化合物(49)与4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基乙烯磺酸酯(40)反应,可以制备化合物(50)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:N,N-二甲基甲酰胺)中进行。可以使化合物(40)与三氟乙酸反应,提供化合物(51)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:二氯甲烷)中进行。

[0344] 4.9.1.12. 合成化合物(61)

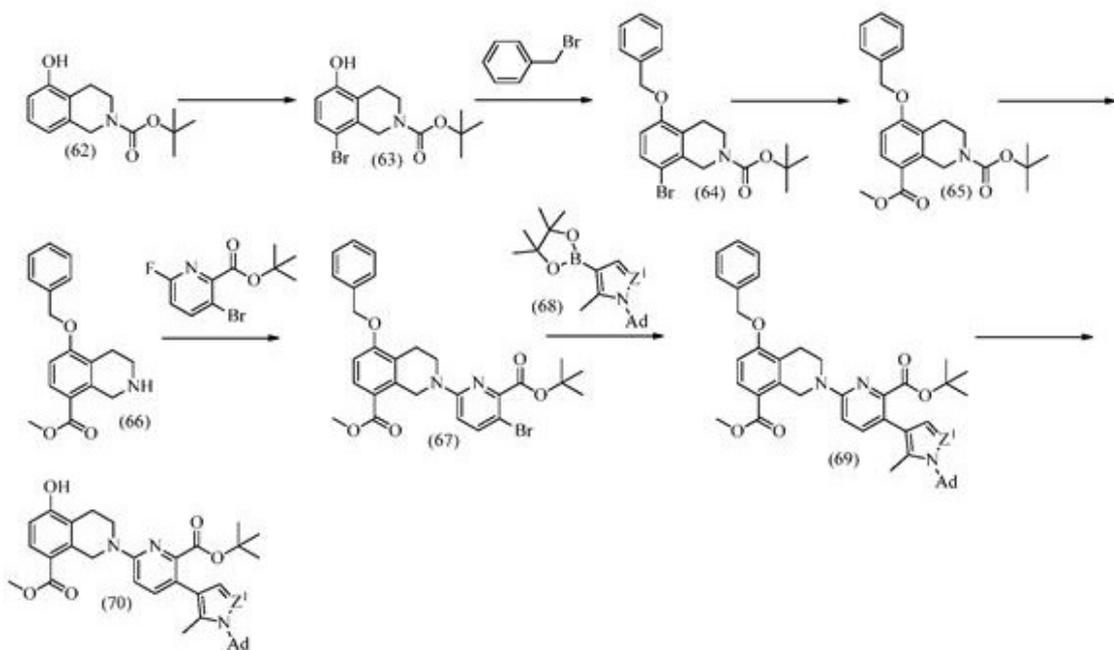
反应路线12



反应路线12描述了合成增溶性Bcl-xL抑制剂的方法。在碱的存在下,例如但不限于三乙胺,可以使化合物(52)与甲磺酰氯反应,提供化合物(53)。该反应通常在低温下、在溶剂(例如但不限于:二氯甲烷)中进行。可以用甲醇中的氨处理化合物(53),提供化合物(54)。该反应通常在高温下进行,并且该反应可以在微波条件下进行。在碱(例如但不限于:N,N-二异丙基乙胺)的存在下,通过与化合物(55)反应,可以制备化合物(56)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:N,N-二甲基甲酰胺)中进行。可以用二碳酸二叔丁基酯和4-(二甲基氨基)吡啶处理化合物(56),提供化合物(57)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:四氢呋喃)中进行。在本文或文献所描述的Suzuki偶合条件下,化合物(57)与式(58)的硼酸酯(或等效的硼酸)反应,可以制备化合物(59)。可以使双(2,5-二氧化吡咯烷-1-基)碳酸酯与化合物(37)反应,而后与化合物(59)反应,提供化合物(60)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:乙腈)中进行。用三氟乙酸处理化合物(60),可以制备化合物(61)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:二氯甲烷)中进行。

[0345] 4.9.1.13. 合成化合物(70)

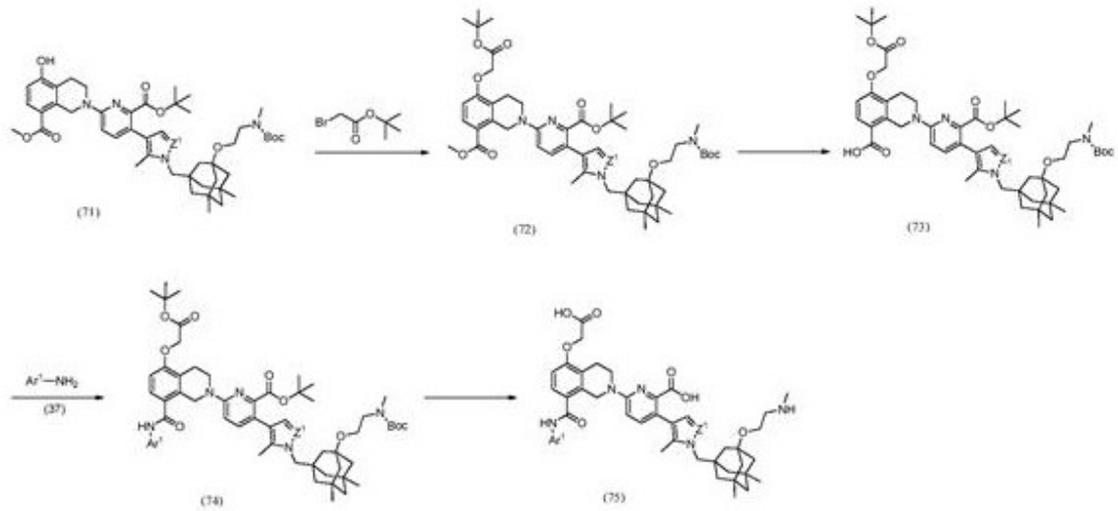
反应路线13



反应路线13描述了5-羟基四氢异喹啉中间体的合成。用N-溴代琥珀酰亚胺处理化合物(62),可以制备化合物(63)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:N,N-二甲基甲酰胺)中进行。在碱(例如但不限于:碳酸钾)的存在下,可以使化合物(63)与苄基溴反应,提供化合物(64)。该反应通常在高温下、在溶剂(例如但不限于:丙酮)中进行。在碱(例如但不限于:三乙胺)和催化剂(例如但不限于)的存在下,用一氧化碳和甲醇处理化合物(64),可以提供化合物(65)。该反应通常在高温下、在惰性气氛中进行。用酸(例如但不限于:二噁烷中的盐酸)处理化合物(65),可以提供化合物(66)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:四氢呋喃)中进行。在碱(例如但不限于:三乙胺)的存在下,化合物(66)与3-溴-6-氟吡啶甲酸叔丁基酯反应,可以制备化合物(67)。该反应通常在惰性气氛中、在高温下、在溶剂(例如但不限于:二甲亚砜)中进行。在本文或文献所描述的Suzuki偶合条件下,可以使化合物(67)与式(68)的硼酸反应,其中,Ad是本公开的化合物(例如,式(IIa)-(IId)的化合物)的甲基金刚烷部分,提供化合物(69)。在Pd(OH)₂的存在下,化合物(69)与氢气反应,可以制备化合物(70)。该反应通常在高温下、在溶剂(例如但不限于:四氢呋喃)中进行。

[0346] 4.9.1.14. 合成化合物(75)

反应路线14



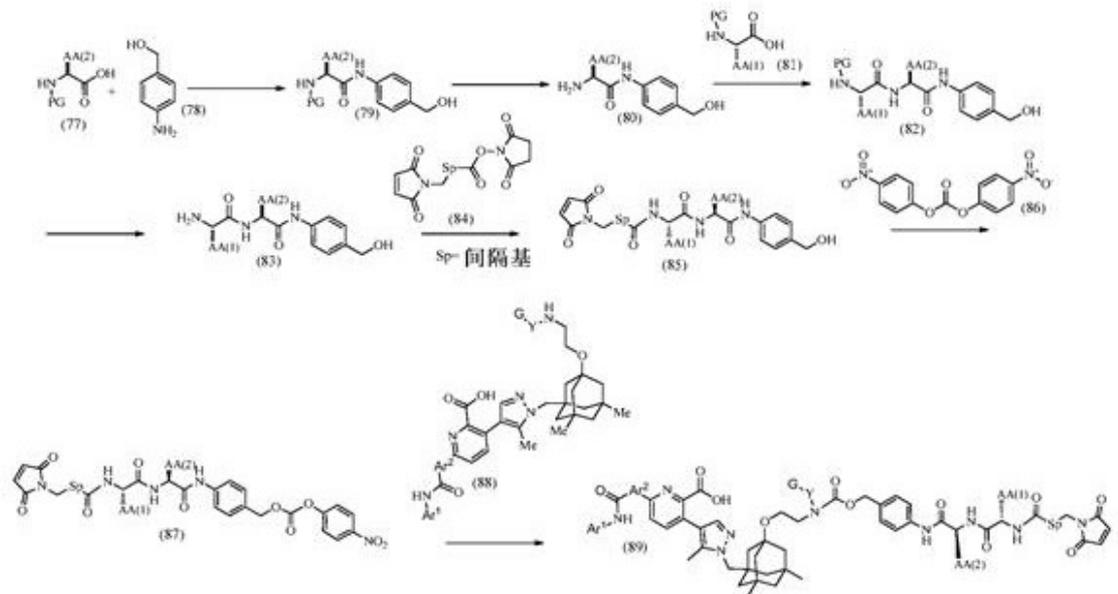
反应路线14表明了用于制备增溶性Bcl-xL抑制剂的代表性的方法。使用增溶基修饰 Ar^2 取代基的一般方法,而后使胺与随后反应路线所述的连接子连接,可以合成Bcl-xL抑制剂。例如,在碱(例如但不限于:碳酸钾)的存在下,在溶剂(例如但不限于:N,N-二甲基甲酰胺)中,可以使化合物(71)与2-溴乙酸叔丁基酯反应。可以在溶剂(例如但不限于:甲醇、四氢呋喃或其混合物)中,用氢氧化锂水溶液处理化合物(72),提供化合物(73)。在先前所描述的条件,将化合物(73)用化合物(37)酰胺化,可以获得化合物(74)。可以用酸(例如但不限于:三氟乙酸或HCl)处理化合物(74),提供式(75)的Bcl-xL抑制剂。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:二氯甲烷或1,4-二噁烷)中进行。

[0347] 4.9.2. 合成合成子的一般方法

在下面反应路线中,各个取代基 Ar^1 、 Ar^2 、 Z^1 、Y、G、 R^{11a} 和 R^{11b} 如详细说明部分所定义。

[0348] 4.9.2.1. 合成化合物(89)

反应路线15

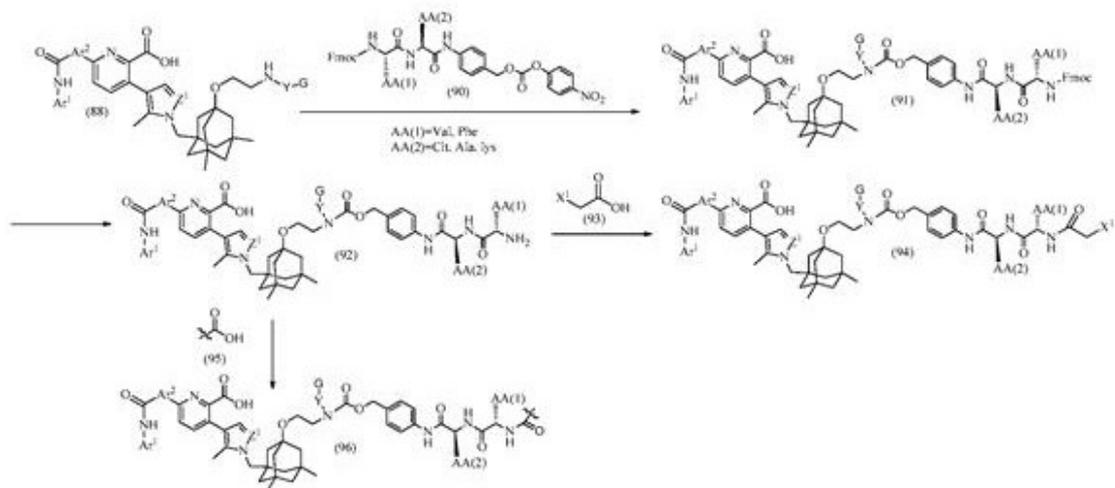


如反应路线15所示,在本文所描述或容易在文献中得到的酰胺化条件下,式(77)的化合物,其中,PG是合适的对碱不稳定的保护基,和AA(2)是Cit、Ala或Lys,可以与4-(氨基苯

基) 甲醇 (78) 反应, 提供化合物 (79)。化合物 (79) 与碱 (例如但不限于: 二乙胺) 反应, 可以制备化合物 (80)。该反应通常在环境温度下、在溶剂 (例如但不限于: N,N-二甲基甲酰胺) 中进行。在本文所描述或在文献中容易得到的酰胺化条件下, 化合物 (81), 其中, PG 是合适的对碱或酸敏感的保护基, 和 AA (1) 是 Val 或 Phe, 可以与化合物 (80) 反应, 提供化合物 (82)。视情况而定, 用二乙胺或三氟乙酸处理化合物 (82), 可以制备化合物 (83)。该反应通常在环境温度下、在溶剂 (例如但不限于: 二氯甲烷) 中进行。化合物 (84), 其中 Sp 是间隔基, 可以与化合物 (83) 反应, 提供化合物 (85)。该反应通常在环境温度下、在溶剂 (例如但不限于: N,N-二甲基甲酰胺) 中进行。在碱 (例如但不限于: N,N-二异丙基乙胺) 的存在下, 可以使化合物 (85) 与双 (4-硝基苯基) 碳酸酯 (86) 反应, 提供化合物 (87)。该反应通常在环境温度下、在溶剂 (例如但不限于: N,N-二甲基甲酰胺) 中进行。在碱 (例如但不限于: N,N-二异丙基乙胺) 的存在下, 可以使化合物 (87) 与化合物 (88) 反应, 提供化合物 (89)。该反应通常在环境温度下、在溶剂 (例如但不限于: N,N-二甲基甲酰胺) 中进行。

[0349] 4.9.2.2. 合成化合物 (94) 和 (96)

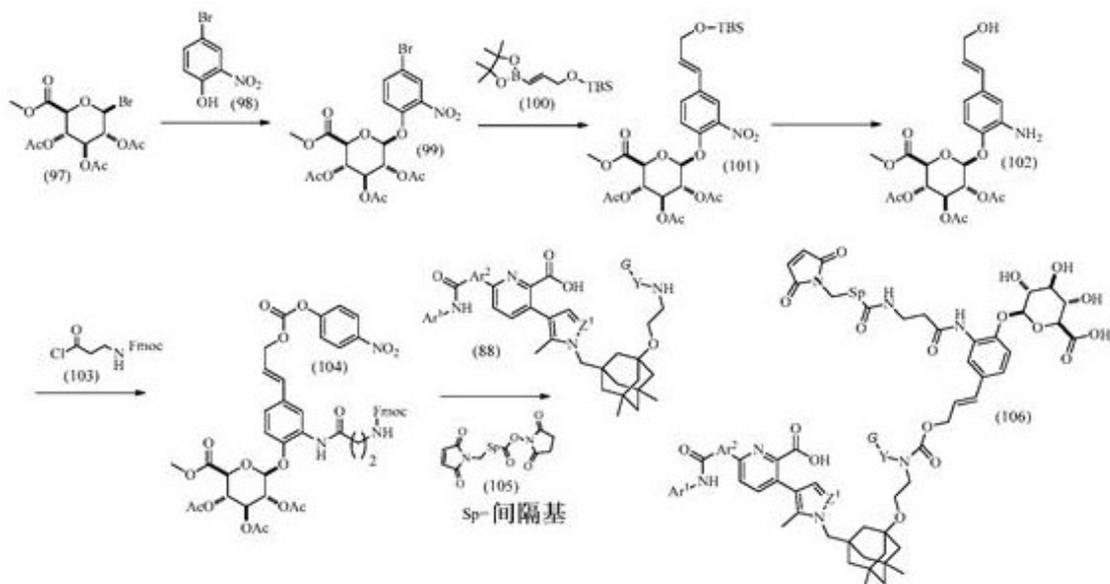
反应路线16



反应路线16描述了另一个mAb-连接子与二肽合成子连接的方法。在碱 (例如但不限于: N,N-二异丙胺) 的存在下, 可以使化合物 (88) 与化合物 (90) 反应, 提供化合物 (91)。该反应通常在环境温度下、在溶剂 (例如但不限于: N,N-二甲基甲酰胺) 中进行。化合物 (91) 与二乙胺反应, 可以制备化合物 (92)。该反应通常在环境温度下、在溶剂 (例如但不限于: N,N-二甲基甲酰胺) 中进行。在本文所描述或容易在文献中得到的酰胺化条件下, 化合物 (93), 其中, X¹ 是 Cl、Br 或 I, 可以与化合物 (92) 反应, 提供化合物 (94)。在本文所描述或容易在文献中获得的酰胺化条件下, 可以使化合物 (92) 与式 (95) 的化合物反应, 提供化合物 (96)。

[0350] 4.9.2.3. 合成化合物 (106)

反应路线17

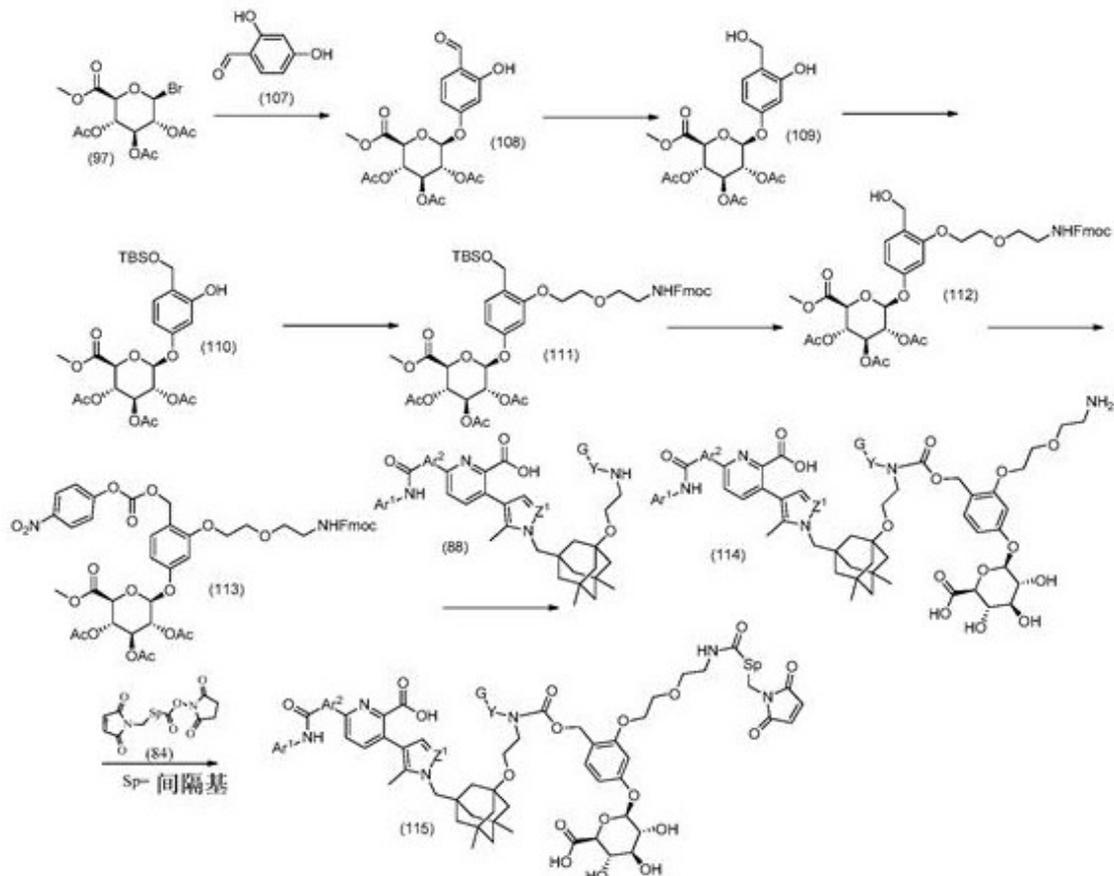


反应路线17描述了乙烯基葡糖苷酸连接子中间体与合成子的合成。可以用氧化银处理(2R,3R,4S,5S,6S)-2-溴-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(97),而后使用4-溴-2-硝基苯酚(98),提供(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-溴-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(99)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:乙腈)中进行。在碱(例如但不限于:碳酸钠)和催化剂(例如但不限于:三(二亚苄基丙酮)二钯($\text{Pd}_2(\text{dba})_3$))的存在下,可以使(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-溴-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(99)与(E)-叔丁基二甲基((3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)烯丙基)氧基)硅烷(100)反应,提供(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-(E)-3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙-1-烯-1-基)-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(101)。该反应通常在高温下、在溶剂(例如但不限于:四氢呋喃)中进行。在酸(例如但不限于:盐酸)的存在下,(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-(E)-3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙-1-烯-1-基)-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(101)与锌反应,可以制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-氨基-4-(E)-3-羟基丙-1-烯-1-基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(102)。加入通常在低温下进行,而后在溶剂(例如但不限于:四氢呋喃、水或其混合物)中升温至环境温度。在碱(例如但不限于:N,N-二异丙基乙胺)的存在下,可以使(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-氨基-4-(E)-3-羟基丙-1-烯-1-基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(102)与(9H-芴-9-基)甲基(3-氯-3-氧代丙基)氨基甲酸酯(103)反应,提供(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-(3-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-4-(E)-3-羟基丙-1-烯-1-基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(104)。加入通常在低温下进行,而后在溶剂(例如但不限于:二氯甲烷)中升温至环境温度。在碱(例如但不限于:N-乙基-N-异丙基丙-2-胺)的存在下,可以使化合物(88)与(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-(3-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-4-(E)-3-羟基丙-1-烯-1-基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(104)反应,而后进行后处理,并在碱(例如但不限于:N,N-二异丙基乙胺)的存在下,与化合物(105)反应,提供化合物(106)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:N,N-二

甲基甲酰胺) 中进行。

[0351] 4.9.2.4. 合成化合物 (115)

反应路线18

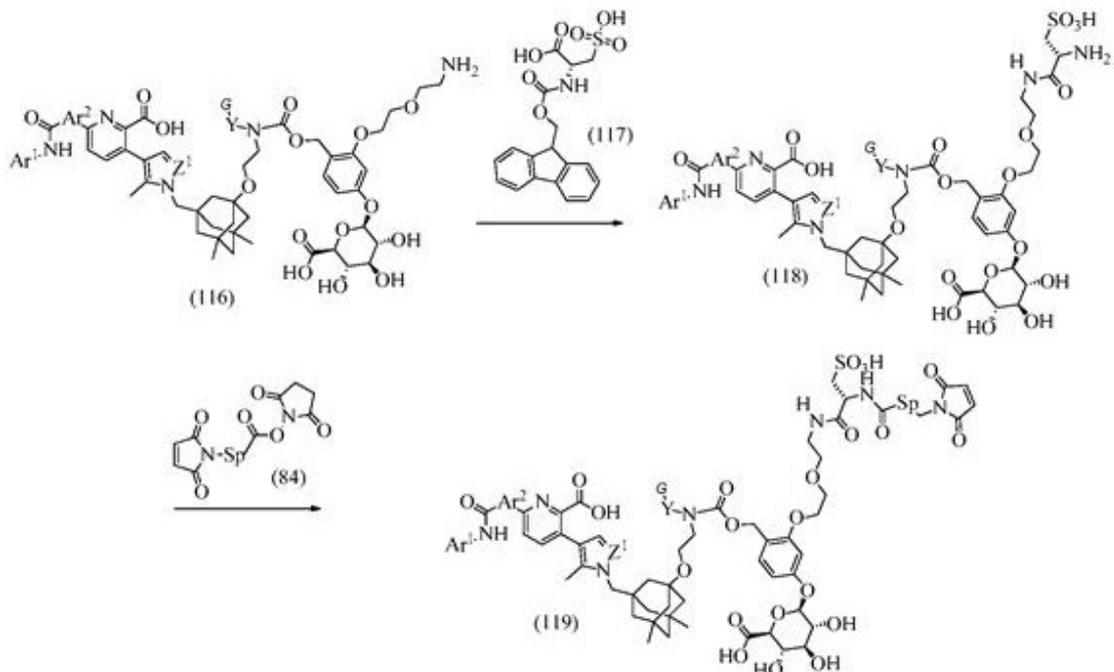


反应路线18描述了代表性的2-醚葡萄糖苷酸连接子中间体与合成子的合成。在碳酸银的存在下,可以使(2S,3R,4S,5S,6S)-2-溴-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(97)与2,4-二羟基苯甲醛(107)反应,提供(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-甲酰基-3-羟基苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(108)。该反应通常在高温下、在溶剂(例如但不限于:乙腈)中进行。可以用硼氢化钠处理(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-甲酰基-3-羟基苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(108),提供(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(3-羟基-4-(羟甲基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(109)。加入通常在低温下进行,而后在溶剂(例如但不限于:四氢呋喃、甲醇或其混合物)中升温至环境温度。在咪唑的存在下,(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(3-羟基-4-(羟甲基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(109)与叔丁基二甲基甲硅烷基氯反应,可以制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-羟基苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(110)。该反应通常在低温下、在溶剂(例如但不限于:二氯甲烷)中进行。在三苯基膦和偶氮二甲酸酯(例如但不限于:二氮烯-1,2-二甲酸二叔丁基酯)的存在下,(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-羟基苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(110)与(9H-芴-9-基)甲基(2-(2-羟乙氧基)乙基)氨基甲酸酯反应,可以制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(3-(2-(2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-4-(((叔丁基

二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(111)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:甲苯)中进行。可以用乙酸处理(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(3-(2-(2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(111),提供(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(3-(2-(2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-4-(羟甲基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(112)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:水、四氢呋喃或其混合物)中进行。在碱(例如但不限于:N-乙基-N-异丙基丙-2-胺)的存在下,(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(3-(2-(2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-4-(羟甲基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(112)与双(4-硝基苯基)碳酸酯反应,可以制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(3-(2-(2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(113)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:N,N-二甲基甲酰胺)中进行。在碱(例如但不限于:N-乙基-N-异丙基丙-2-胺)的存在下,可以用化合物(88)处理(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(3-(2-(2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(113),而后用氢氧化锂处理,提供化合物(114)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:N,N-二甲基甲酰胺、四氢呋喃、甲醇或其混合物)中进行。在碱(例如但不限于:N-乙基-N-异丙基丙-2-胺)的存在下,化合物(114)与化合物(84)反应,可以制备化合物(115)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:N,N-二甲基甲酰胺)中进行。

[0352] 4.9.2.5. 合成化合物(119)

反应路线19

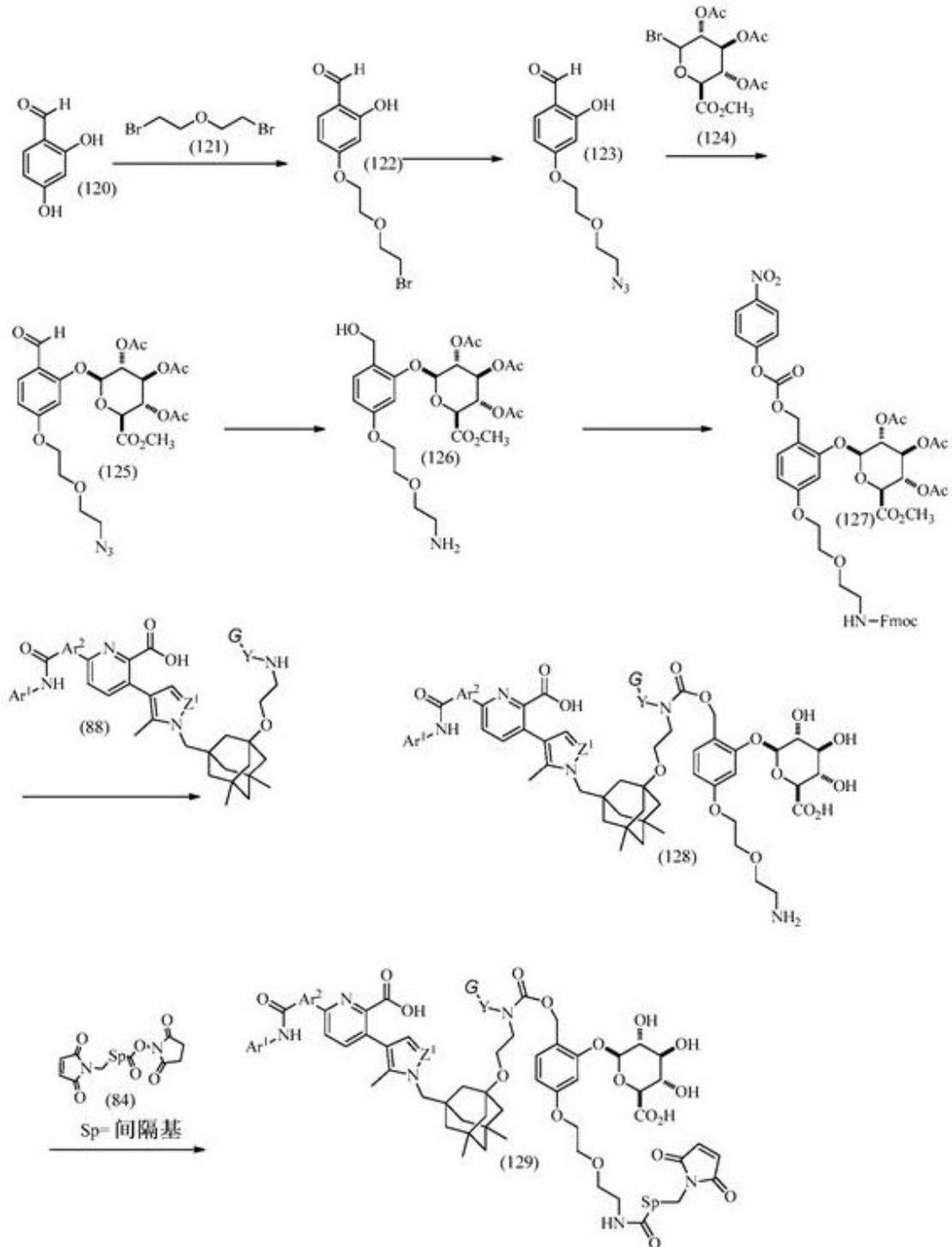


反应路线19描述了将第二个增溶基引入到糖连接子上。在本文描述的或容易在文献中

得到的酰胺化条件下,可以使化合物(116)与(R)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-磺丙酸(117)反应,而后用碱(例如但不限于:二乙胺)处理,提供化合物(118)。在本文所描述或容易在文献中获得的酰胺化条件下,可以使化合物(118)与化合物(84)反应,其中,Sp是间隔基,提供化合物(119)。

[0353] 4.9.2.6. 合成化合物(129)

反应路线20

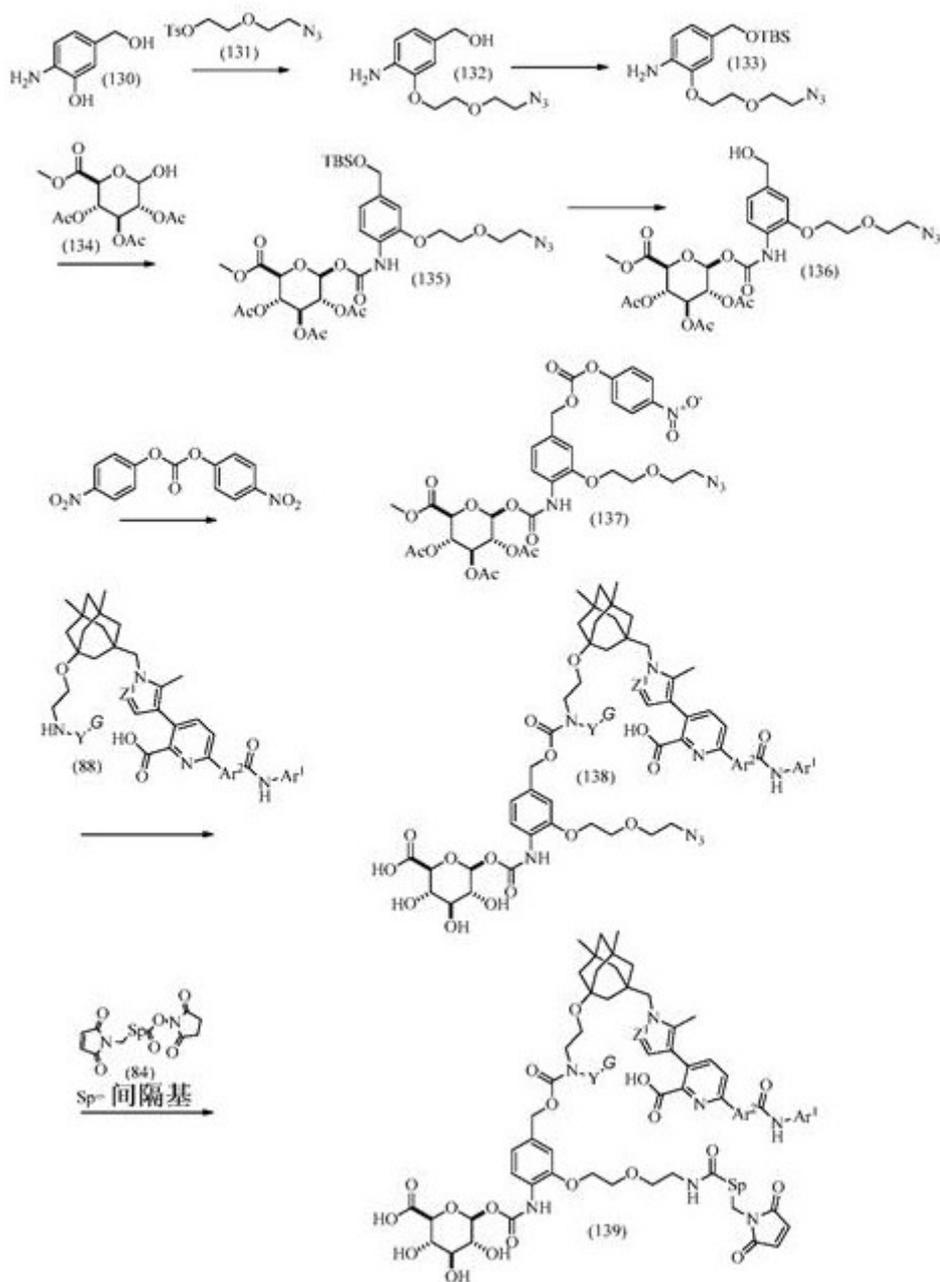


反应路线20描述了4-醚葡萄糖苷酸连接子中间体与合成子的合成。在碱(例如但不限于)

于:碳酸钾)的存在下,2,4-二羟基苯甲醛(120)与1-溴-2-(2-溴乙氧基)乙烷(121)反应,可以制备4-(2-(2-溴乙氧基)乙氧基)-2-羟基苯甲醛(122)。该反应通常在高温下、在溶剂(例如但不限于:乙腈)中进行。可以用叠氮化钠处理4-(2-(2-溴乙氧基)乙氧基)-2-羟基苯甲醛(122),提供4-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-2-羟基苯甲醛(123)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:N,N-二甲基甲酰胺)中进行。在氧化银的存在下,4-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-2-羟基苯甲醛(123)与(3R,4S,5S,6S)-2-溴-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(124)反应,可以制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-2-甲酰基苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(125)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:乙腈)中进行。在Pd/C的存在下,(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-2-甲酰基苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(125)的氢化,提供(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)-2-(羟甲基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(126)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:四氢呋喃)中进行。在碱(例如但不限于:N-乙基-N-异丙基丙-2-胺)的存在下,用(9H-苈-9-基)甲基氯甲酸酯处理(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)-2-(羟甲基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(126),可以制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-(2-(2-(((9H-苈-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-2-(羟甲基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(127)。该反应通常在低温下、在溶剂(例如但不限于:二氯甲烷)中进行。在碱(例如但不限于:N-乙基-N-异丙基丙-2-胺)的存在下,可以使化合物(88)与(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-(2-(2-(((9H-苈-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-2-(羟甲基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(127)反应,而后用氢氧化锂处理,提供化合物(128)。该反应通常在低温下、在溶剂(例如但不限于:N,N-二甲基甲酰胺)中进行。在碱(例如但不限于:N-乙基-N-异丙基丙-2-胺)的存在下,化合物(128)与化合物(84)反应,可以制备化合物(129)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:N,N-二甲基甲酰胺)中进行。

[0354] 4.9.2.7. 合成化合物(139)

反应路线21

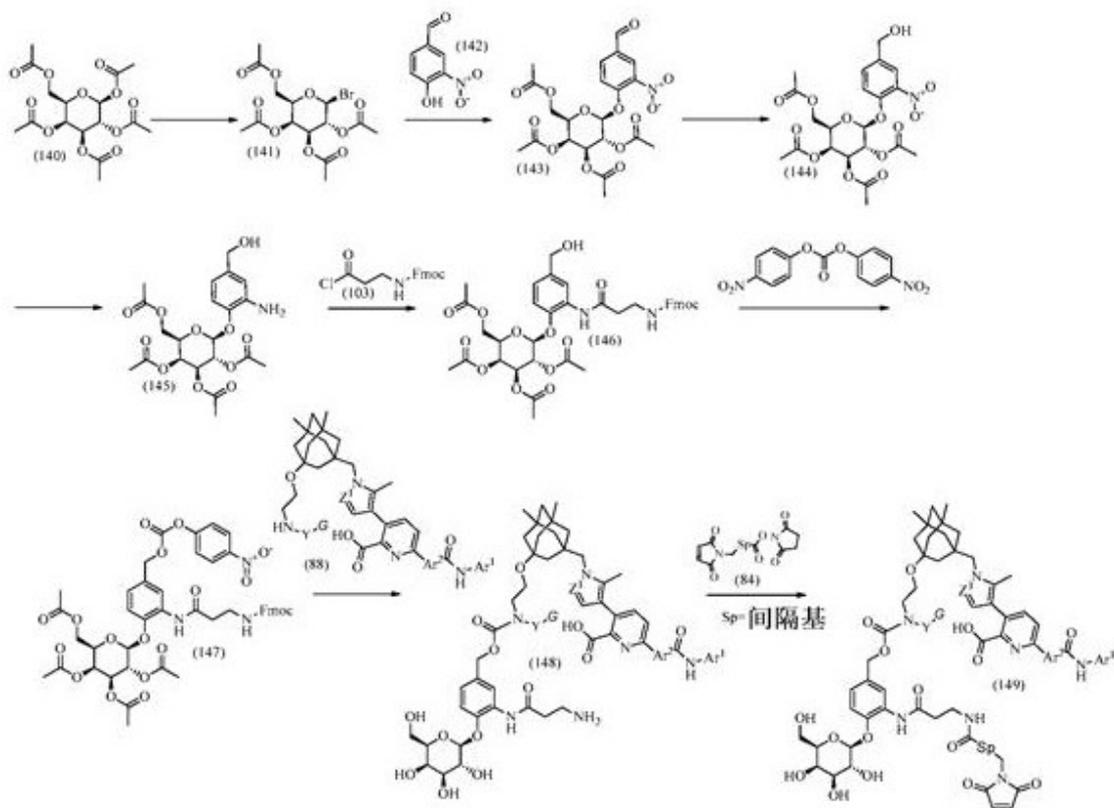


反应路线21描述了氨基甲酸酯葡萄糖苷酸中间体与合成子的合成方法。可以用氢化钠处理2-氨基-5-(羟甲基)苯酚(130),而后与2-(2-叠氮基乙氧基)乙基4-甲基苯磺酸酯(131)反应,提供(4-氨基-3-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)苯基)甲醇(132)。该反应通常在高温下、在溶剂(例如但不限于: N,N -二甲基甲酰胺)中进行。在咪唑的存在下,(4-氨基-3-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)苯基)甲醇(132)与叔丁基二甲基氯硅烷反应,可以制备2-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯胺(133)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:四氢呋喃)中进行。在碱(例如但不限于:三乙胺)的存在下,可以用光气处理2-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯胺(133),而后在碱(例如但不限于:三乙胺)的存在下,与(3R,4S,5S,6S)-2-羟基-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(134)反应,提供(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(((2-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)氨基)羰基)-6-((甲氧羰基)氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(135)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:四氢呋喃)中进行。在碱(例如但不限于:三乙胺)的存在下,可以用硝基化合物处理(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(((2-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)氨基)羰基)-6-((甲氧羰基)氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(135),提供(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(((2-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)氨基)羰基)-6-((甲氧羰基)氧基)-4-硝基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(136)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:四氢呋喃)中进行。在碱(例如但不限于:三乙胺)的存在下,可以用二硝基化合物处理(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(((2-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)氨基)羰基)-6-((甲氧羰基)氧基)-4-硝基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(136),提供(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(((2-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)氨基)羰基)-6-((甲氧羰基)氧基)-4,4'-二硝基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(137)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:四氢呋喃)中进行。在碱(例如但不限于:三乙胺)的存在下,可以用复杂杂环化合物(88)处理(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(((2-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)氨基)羰基)-6-((甲氧羰基)氧基)-4,4'-二硝基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(137),提供(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(((2-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)氨基)羰基)-6-((甲氧羰基)氧基)-4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4'-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4'-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(138)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:四氢呋喃)中进行。在碱(例如但不限于:三乙胺)的存在下,可以用复杂杂环化合物(84)处理(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(((2-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)氨基)羰基)-6-((甲氧羰基)氧基)-4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4'-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4'-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(138),提供(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(((2-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)氨基)羰基)-6-((甲氧羰基)氧基)-4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4'-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4'-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(139)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:四氢呋喃)中进行。

基) 甲基) 苯基) 氨基甲酰基) 氧基) -6-(甲氧羰基) 四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯 (135)。该反应通常在溶剂(例如但不限于:甲苯)中进行,加入通常在低温下进行,加入光气之后升温至环境温度之前,且加入(3R,4S,5S,6S)-2-羟基-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(134)之后在高温下加热。(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(((2-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酰基)氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(135)与对甲苯磺酸一水合物反应,可以制备(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(((2-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-4-(羟甲基)苯基)氨基甲酰基)氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(136)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:甲醇)中进行。在碱(例如但不限于:N,N-二异丙基乙胺)的存在下,可以使(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(((2-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-4-(羟甲基)苯基)氨基甲酰基)氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(136)与双(4-硝基苯基)碳酸酯反应,提供(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(((2-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酰基)氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(137)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:N,N-二甲基甲酰胺)中进行。在碱(例如但不限于:N,N-二异丙基乙胺)的存在下,可以使(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(((2-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)-4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基甲酰基)氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(137)与化合物反应,然后用氢氧化锂水溶液处理,提供化合物(138)。第一步通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:N,N-二甲基甲酰胺)中进行,第二步通常在低温下、在溶剂(例如但不限于:甲醇)中进行。可以用三(2-羧乙基)膦酸盐处理化合物(138),然后在碱(例如但不限于:N,N-二异丙基乙胺)的存在下,与化合物(84)反应,提供化合物(139)。与三(2-羧乙基)膦酸盐的反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:四氢呋喃、水或其混合物)中进行,与N-琥珀酰亚胺基6-马来酰亚胺基(maleimido)己酸盐的反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:N,N-二甲基甲酰胺)中进行。

[0355] 4.9.2.8. 合成化合物(149)

反应路线22



反应路线22描述了半乳糖苷连接子中间体与合成子的合成方法。可以用乙酸中的HBr处理(2S,3R,4S,5S,6R)-6-(乙酰氧基甲基)四氢-2H-吡喃-2,3,4,5-四基三乙酸酯(140),提供(2R,3S,4S,5R,6S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-溴四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(141)。该反应通常在环境温度下、在氮气氛围中进行。在4-羟基-3-硝基苯甲醛(142)的存在下,用氧化银(I)处理(2R,3S,4S,5R,6S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-溴四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(141),可以制备(2R,3S,4S,5R,6S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-(4-甲酰基-2-硝基苯氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(143)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:乙腈)中进行。可以用硼氢化钠处理(2R,3S,4S,5R,6S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-(4-甲酰基-2-硝基苯氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(143),提供(2R,3S,4S,5R,6S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-(4-(羟甲基)-2-硝基苯氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(144)。该反应通常在低温下、在溶剂(例如但不限于:四氢呋喃、甲醇或其混合物)中进行。在盐酸的存在下,用锌处理(2R,3S,4S,5R,6S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-(4-(羟甲基)-2-硝基苯氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(144),可以制备(2R,3S,4S,5R,6S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-(2-氨基-4-(羟甲基)苯氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(145)。该反应通常在低温下、在氮气氛围中、在溶剂(例如但不限于:四氢呋喃)中进行。在碱(例如但不限于:N,N-二异丙基乙胺)的存在下,(2R,3S,4S,5R,6S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-(2-氨基-4-(羟甲基)苯氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(145)与(9H-芴-9-基)甲基(3-氯-3-氧代丙基)氨基甲酸酯(103)反应,可以制备(2S,3R,4S,5S,6R)-2-(2-(3-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-4-(羟甲基)苯氧基)-6-(乙酰氧基甲基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(146)。该反应通常在低温下、在溶剂(例如但不限于:二氯甲烷)中进行。在碱(例如但不限于:N,N-二异丙基乙胺)的存在下,可以使

(2S,3R,4S,5S,6R)-2-(2-(3-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-4-(羟甲基)苯氧基)-6-(乙酰氧基甲基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(146)与双(4-硝基苯基)碳酸酯反应,提供(2S,3R,4S,5S,6R)-2-(2-(3-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(乙酰氧基甲基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(147)。该反应通常在低温下、在溶剂(例如但不限于:N,N-二甲基甲酰胺)中进行。在碱(例如但不限于:N,N-二异丙基乙胺)的存在下,可以使(2S,3R,4S,5S,6R)-2-(2-(3-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(乙酰氧基甲基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(147)与化合物(88)反应,而后用氢氧化锂处理,提供化合物(148)。第一步通常在低温下、在溶剂(例如但不限于:N,N-二甲基甲酰胺)中进行,第二步通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:甲醇)中进行。在碱(例如但不限于:N,N-二异丙基乙胺)的存在下,可以用化合物(84)处理化合物(148),其中,Sp是间隔基,提供化合物(149)。该反应通常在环境温度下、在溶剂(例如但不限于:N,N-二甲基甲酰胺)中进行。

[0356] 4.10. 组合物

本文描述的Bcl-xL抑制剂和/或ADC可以是包含所述抑制剂或ADC以及一或多种载体、赋形剂和/或稀释剂的组合物形式。可以将所述组合物配制用于具体使用,例如兽用或在人类中的药物用途。组合物的形式(例如,干粉、液体制剂,等等)和所使用的赋形剂、稀释剂和/或载体取决于所述抑制剂和/或ADC的目标用途,对于治疗用途,取决于给药模式。

[0357] 对于治疗用途,Bcl-xL抑制剂和/或ADC组合物可以作为包括药用载体的无菌药物组合物的一部分来提供。这种组合物可以是任何合适的形式(取决于给予患者的目标方法)。可以通过各种途径给予患者所述药物组合物,例如口服、透皮、皮下、鼻内、静脉内、肌肉内、鞘内、局部地(topically)或局部给药(locally)。在任何给定的情况中,最合适的给药途径取决于具体Bcl-xL抑制剂或ADC、患者、疾病的性质和严重程度以及患者的实际条件。通常,口服或胃肠外给予Bcl-xL抑制剂,静脉内或皮下给予ADC药物组合物。

[0358] 药物组合物可以方便地存在于单位剂型中,每个剂量包含预定数量的本文所描述的Bcl-xL抑制剂或ADC。单位剂量所包括的抑制剂或ADC的数量取决于所治疗的疾病,以及本领域众所周知的其它因素。对于Bcl-xL抑制剂,这种单位剂量可以是片剂、胶囊剂、锭剂等等形式,其含有适合于单一给药数量的Bcl-xL抑制剂。对于ADC,这种单位剂量可以是含有适合于单一给药数量的ADC的冷冻干燥的干粉形式,或液体形式。干粉单位剂型可以包装在具有注射器、合适数量的稀释剂和/或用于给药的其它组分的试剂盒中。液体形式的单位剂量,可以方便地以预先填充了适合于单一给药数量的ADC的注射器形式提供。

[0359] 也可以提供散装形式的、含有适合于多次给药数量的ADC的药物组合物。

[0360] 通过将具有目标纯度的ADC与任选的本领域通常使用的可药用载体、赋形剂或稳定剂(所有这些在本文中被称为“载体”)混合,即,缓冲剂、稳定剂、防腐剂、等渗剂(isotonifiers)、非离子型清洗剂、抗氧化剂及其它各种添加剂,可以将ADC的药物组合物制备为用于储存的冷冻干燥制剂或水溶液形式。参见Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition(Osol, ed. 1980)。这种添加剂在使用剂量和浓度下对于接受者应该是无毒的。

[0361] 缓冲剂有助于保持pH值在接近生理条件的范围内。它们的浓度范围可以为大约2

mM至大约50 mM。本公开使用的合适的缓冲剂包括有机和无机酸以及其盐,例如,柠檬酸盐缓冲剂(例如,柠檬酸一钠-柠檬酸二钠混合物、柠檬酸-柠檬酸三钠混合物、柠檬酸-柠檬酸一钠混合物,等等)、琥珀酸盐缓冲剂(例如,琥珀酸-琥珀酸一钠混合物、琥珀酸-氢氧化钠混合物、琥珀酸-琥珀酸二钠混合物,等等)、酒石酸盐缓冲剂(例如,酒石酸-酒石酸钠混合物、酒石酸-酒石酸钾混合物、酒石酸-氢氧化钠混合物,等等)、富马酸盐缓冲剂(例如,富马酸-富马酸一钠混合物、富马酸-富马酸二钠混合物、富马酸一钠-富马酸二钠混合物,等等)、葡糖酸盐缓冲剂(例如,葡糖酸-葡糖酸钠混合物、葡糖酸-氢氧化钠混合物、葡糖酸-葡糖酸钾混合物,等等)、草酸盐缓冲剂(例如,草酸-草酸钠混合物、草酸-氢氧化钠混合物、草酸-草酸钾混合物,等等)、乳酸盐缓冲剂(例如,乳酸-乳酸钠混合物、乳酸-氢氧化钠混合物、乳酸-乳酸钾混合物,等等)和乙酸盐缓冲剂(例如,乙酸-乙酸钠混合物、乙酸-氢氧化钠混合物,等等)。另外,可以使用磷酸盐缓冲剂、组氨酸缓冲剂和三甲胺盐,例如Tris。

[0362] 为了抑制微生物生长,可以加入防腐剂,加入数量可以为大约0.2%-1%(w/v)。本公开使用的合适的防腐剂包括:苯酚、苯甲醇、间甲酚、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、十八烷基二甲基苄基氯化铵、苯扎卤铵(benzalconium halides)(例如,苯扎氯铵、苯扎溴铵和苯扎碘铵)、氯化六烃季铵和对羟基苯甲酸烷基酯,例如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯、儿茶酚、间苯二酚、环己醇和3-戊醇。为了保证本公开的液体组合物的等渗性,可以加入等渗剂(Isotonicifiers)(有时称为“稳定剂”),包括多羟基糖醇,例如,三元醇或高级糖醇,例如,丙三醇、赤藓醇、阿糖醇、木糖醇、山梨糖醇和甘露糖醇。稳定剂指的是广泛类型的赋形剂,其功能范围可以从填充剂至添加剂,其增溶治疗剂,或有助于防止变性,或防止与容器壁粘附。典型的稳定剂可以是多羟基的糖醇(上面列举的);氨基酸,例如精氨酸、赖氨酸、甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、丙氨酸、鸟氨酸、L-亮氨酸、2-苯丙氨酸、谷氨酸、苏氨酸,等等,有机糖或糖醇,例如乳糖、海藻糖、水苏糖、甘露糖醇、山梨糖醇、木糖醇、核糖醇、肌醇(myoinisitol)、卫矛醇、丙三醇等等,包括环醇,例如肌醇;聚乙二醇;氨基酸聚合物;含硫还原剂,例如脲、谷胱甘肽、硫辛酸、硫代乙酸钠、硫代甘油、 α -单硫代甘油和硫代硫酸钠;低分子量多肽(例如,10个残基或残基更少的肽);蛋白,例如,人血清白蛋白、牛血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性的聚合物,例如聚乙烯吡咯烷酮,单糖,例如木糖、甘露糖、果糖、葡萄糖;二糖,例如乳糖、麦芽糖、蔗糖,以及三糖(trisaccacharides),例如棉子糖;和多糖,例如葡聚糖。

[0363] 可以加入非离子型表面活性剂或清洗剂(亦称“润湿剂”),帮助溶解糖蛋白,以及保护糖蛋白避免搅拌引起的聚集,也可以使制剂受到剪切表面应力的影响,不会引起蛋白的变性。合适的非离子型表面活性剂包括聚山梨醇酯(20、80,等等)、泊洛沙姆(polyoxamers)(184、188,等等)、复合多元醇、聚氧乙烯脱水山梨糖醇单醚(TWEEN®-20、TWEEN®-80,等等)。可以存在大约0.05 mg/ml至大约1.0 mg/ml的非离子型表面活性剂,例如大约0.07 mg/ml至大约0.2 mg/ml。

[0364] 其它各种赋形剂包括:填充剂(例如,淀粉)、螯合剂(例如,EDTA)、抗氧化剂(例如,抗坏血酸、甲硫氨酸、维生素E)和共溶剂。

[0365] 4.11. 使用方法

ADC所包括的Bcl-xL抑制剂,以及ADC所提供的合成子,抑制Bcl-xL活性,并且在表达Bcl-xL的细胞中诱导细胞程序死亡。相应地,可以在抑制Bcl-xL活性和/或在细胞中诱导细

胞程序死亡的方法中,使用Bcl-xL抑制剂和/或ADC。

[0366] 对于Bcl-xL抑制剂,所述方法通常包括:使存活至少部分地取决于Bcl-xL表达的细胞,与足以抑制Bcl-xL活性和/或诱导细胞程序死亡数量的Bcl-xL抑制剂接触。对于ADC,所述方法通常包括:在ADC能结合抗原的条件下,使存活至少部分地取决于Bcl-xL表达且表达ADC的抗体的细胞表面抗原的细胞与ADC接触。

[0367] 在某些实施方案中,尤其是包含ADC的Bcl-xL抑制剂具有低或极低细胞渗透性的那些实施方案,ADC的抗体结合能够将ADC内化到细胞中的靶点,在细胞中,它可以递送它的Bcl-xL抑制合成子。可以在抑制Bcl-xL活性和/或抑制细胞程序死亡的细胞试验中体外进行所述方法,或作为需要抑制细胞程序死亡和/或诱导细胞程序死亡的疾病的治疗途径来体内进行。

[0368] 细胞程序死亡失调涉及各种疾病,包括,例如,自身免疫病症(例如,系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、移植物抗宿主病、重症肌无力或舍格伦氏综合征)、慢性炎性病症(例如,牛皮癣、哮喘或克罗恩氏病)、高增殖病症(例如,乳腺癌、肺癌)、病毒感染(例如,疱疹、乳头状瘤或HIV),及其它病症,例如,骨关节炎和动脉粥样硬化。本文所描述的Bcl-xL抑制剂或ADC可以用于治疗或改善这些疾病中的任何疾病。这种治疗通常包括:给予患有所述疾病的患者足以提供治疗益处数量的本文所描述的Bcl-xL抑制剂或ADC。对于ADC,所给予的ADC的抗体的特征取决于所治疗的疾病,由此,抗体应该结合在受益于抑制Bcl-xL活性的细胞类型中表达的细胞表面抗原。获得的治疗益处也取决于所治疗的具体疾病。在某些情况下,当以单一疗法给予时,Bcl-xL抑制剂或ADC可以治疗或改善疾病本身,或疾病的症状。在其它情况下,Bcl-xL抑制剂或ADC可以是整个治疗方案的一部分,所述治疗方案包括其它药剂,所述其它药剂和抑制剂或ADC一起,用于治疗或改善所治疗的疾病,或所述疾病的症状。可以辅助本文所描述的Bcl-xL抑制剂和/或ADC给予或与本文所描述的Bcl-xL抑制剂和/或ADC一起给予的、用于治疗或改善具体疾病的药剂,对于本领域技术人员来说是显而易见的。

[0369] 虽然绝对治愈始终是所有治疗方案的目标,但提供治疗益处不要求达到治愈效果。治疗益处可以包括:终止或减缓疾病的进展、使没有治愈的疾病衰退,和/或,改善或减缓疾病症状的发展。延长存活时间(与统计平均数相比较)和/或改善生活品质也可以认为是治疗益处。

[0370] 涉及细胞程序死亡失调并且在世界范围内是显著的健康负担的一个具体类别的疾病是癌症。在一个具体实施方案中,本文所描述的Bcl-xL抑制剂和/或ADC可以用于治疗癌症。癌症可以是,例如,实体肿瘤或血液肿瘤。可以用本文所描述的ADC治疗的癌症包括但不限于:膀胱癌、脑癌、乳腺癌、骨髓癌、子宫颈癌、慢性淋巴细胞性白血病、结肠直肠癌、食道癌、肝细胞癌、淋巴细胞性白血病、滤泡性淋巴瘤、T细胞或B细胞的淋巴恶性肿瘤、黑色素瘤、粒细胞性白血病、骨髓瘤、口腔癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、慢性淋巴细胞性白血病、骨髓瘤、前列腺癌、小细胞肺癌或脾癌。ADC尤其有益于治疗癌症,这是由于,抗体可用于靶向对于肿瘤细胞特异性的Bcl-xL抑制合成子,由此潜在地避免或改善不合乎需要的、与全身性给予非缀合抑制剂相关的副作用和/或毒性。在某些实施方案中,肿瘤细胞是SCLC肿瘤细胞或NSCLC肿瘤细胞。

[0371] 在致瘤性癌症的环境中,治疗益处,除了包括上述效果之外,还可以具体包括:终

止或减缓肿瘤生长的进展、使肿瘤生长衰退、根除一或多种肿瘤和/或增加患者存活时间(与所治疗癌症的类型和阶段的统计平均数相比较)。

[0372] 为了提供治疗益处,可以以单一疗法给予Bcl-xL抑制剂和/或ADC,或辅助其它化学治疗剂和/或放射治疗给予,或与它们一起给予。本文所描述的抑制剂和/或ADC可以作为辅助治疗的化学治疗剂可以是靶向化学治疗剂(例如,其它Bcl-xL抑制剂或ADC、蛋白激酶抑制剂,等等)或非靶向化学治疗剂(例如,非特异性的细胞毒素药剂,例如,放射性核苷(radionucleotides)、烷基化剂和嵌合剂)。可以辅助给予的本文所描述的抑制剂和/或ADC的非靶向化学治疗剂包括但不限于:氨甲喋呤、紫杉酚、左旋天冬酰胺酶、巯基嘌呤、硫鸟嘌呤、羟基脲、阿糖胞苷、环磷酰胺、异环磷酰胺、亚硝基脲、顺铂、卡铂、丝裂霉素、达卡巴嗪、甲基苄肼(procarbazine)、托泊替康、氮芥、环磷酰胺、依托泊苷、5-氟尿嘧啶、BCNU、依立替康、喜树碱、博来霉素、多柔比星、伊达比星、柔红霉素、放线菌素、普卡霉素、米托蒽醌、门冬酰胺酶、长春碱、长春花新碱、长春瑞滨、太平洋紫杉醇、刺孢霉素和多西他赛。

[0373] 已经表明,升高的Bcl-xL表达与耐受化学治疗和放射治疗有关。本文的数据证明,不能有效作为治疗癌症的单一疗法的Bcl-xL抑制剂和/或ADC,可以辅助其它化学治疗剂或放射治疗给予,或与它们一起给予,从而提供治疗益处。尽管不受任何手术疗法束缚,但人们相信,给予对于标准化学治疗剂和/或放射治疗变得耐受性的肿瘤本文所描述的Bcl-xL抑制剂和/或ADC,可以使肿瘤敏感,这样就可以使它们再次对化学治疗剂和/或放射治疗作出响应。相应地,在治疗癌症的背景下,“治疗益处”包括给予还没有开始化学和/或放射治疗的患者、或对于已经开始化学和/或放射治疗但还没有显示出耐受性迹象的患者、或对于化学和/或放射治疗已经开始显示出耐受性迹象的患者本文所描述的抑制剂和/或ADC,所述抑制剂和/或ADC可以作为化学治疗剂和/或放射治疗的辅助治疗,或与它们一起给予所述患者,作为使肿瘤对于化学和/或放射治疗敏感的方法。

[0374] 4.12. 剂量和给药方案

所给予的Bcl-xL抑制剂和/或ADC的数量将取决于各种因素,包括但不限于:所治疗的具体疾病、给药模式、目标治疗益处、疾病的阶段或严重程度、患者的年龄、体重及其它特征,等等。有效剂量的确定在本领域技术人员的能力范围之内。

[0375] 有效剂量可以最初用细胞试验来评估。例如,可以配制人类使用的初剂量,达到Bcl-xL抑制剂或ADC的循环血液或血清浓度,希望这个浓度能够使Bcl-xL抑制剂的细胞浓度处于或高于特定抑制分子的IC₅₀值或ED₅₀值(在细胞试验中测定)。

[0376] 还可以用体内动物模型来评估人类使用的初始剂量。各种疾病的合适的动物模型在本领域是已知的。

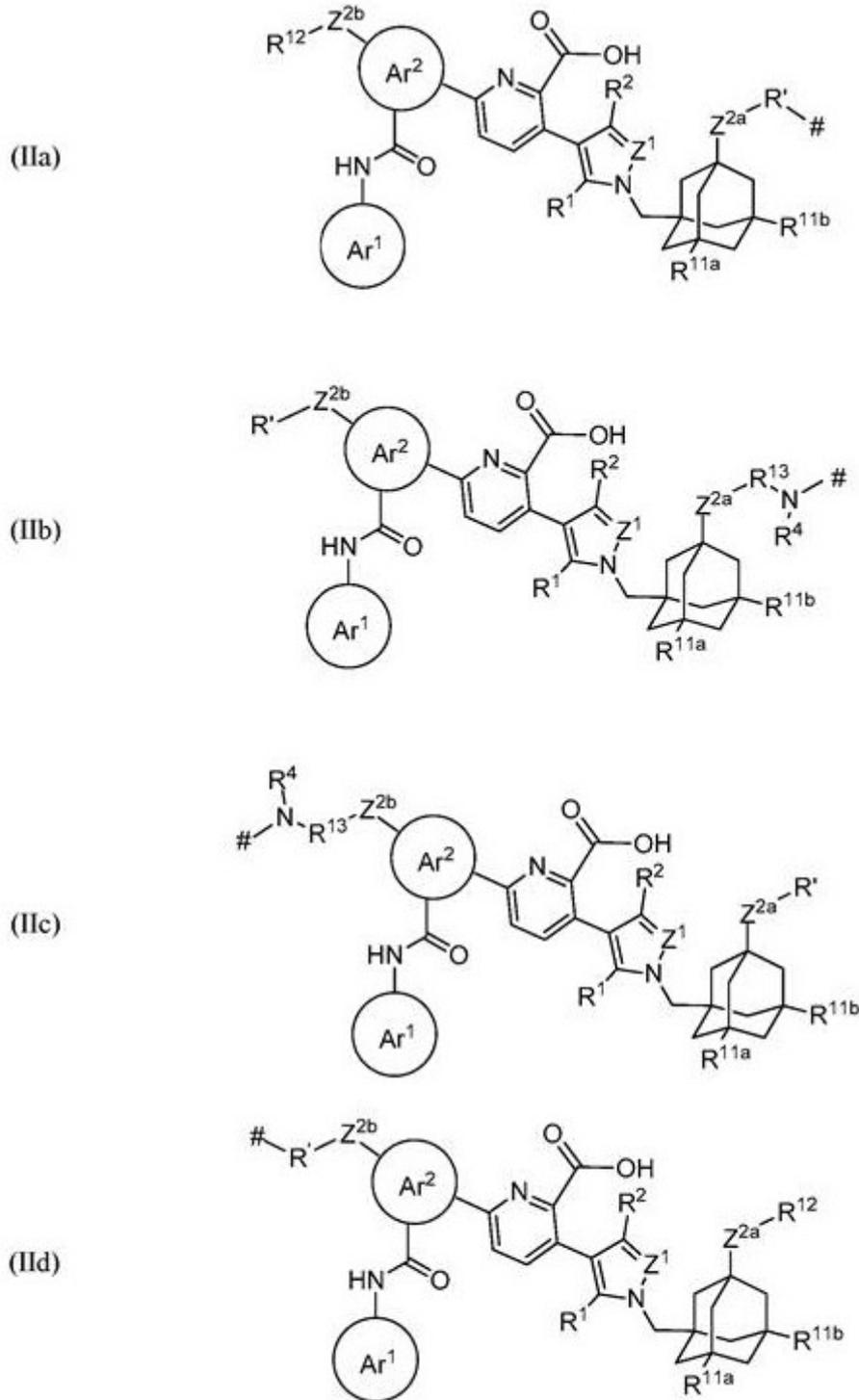
[0377] 当辅助其它药剂(例如,其它化学治疗剂)给予或与它们一起给予时,可以与其它药剂相同的时间表或不同的时间表,给予Bcl-xL抑制剂或ADC。当以相同时间表给予时,可以在给予其它药剂之前、之后给予抑制剂或ADC,或其它药剂同时给予。在一些实施方案中,如果抑制剂或ADC作为标准化学和/或放射疗法的辅助治疗给予,或与它们一起给予,可以在标准治疗之前开始给予抑制剂或ADC,例如,在标准化学和/或放射治疗开始之前一天、几天、一周、几周、一个月或甚至几个月之前开始给予抑制剂或ADC。

[0378] 当辅助其它药剂给予与其它药剂(例如,标准化学治疗剂)一起给予时,其它药剂通常是按照它的标准给药时间表(途径、剂量和频率)给予的。然而,在有些情况下,当作

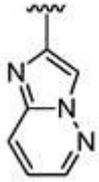
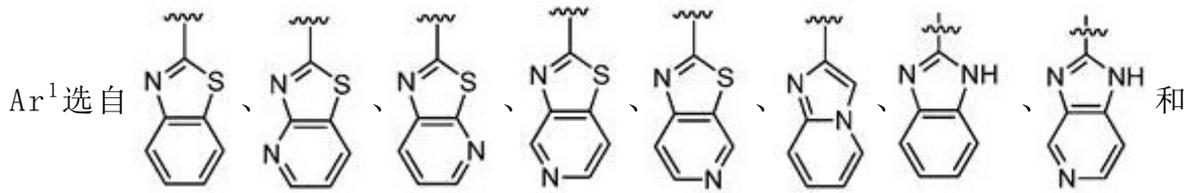
为Bcl-xL抑制剂或ADC治疗的辅助治疗来给予时,达到效力所需要的数量可能需要少于标准数量。

[0379] 本发明还涉及以下实施方案:

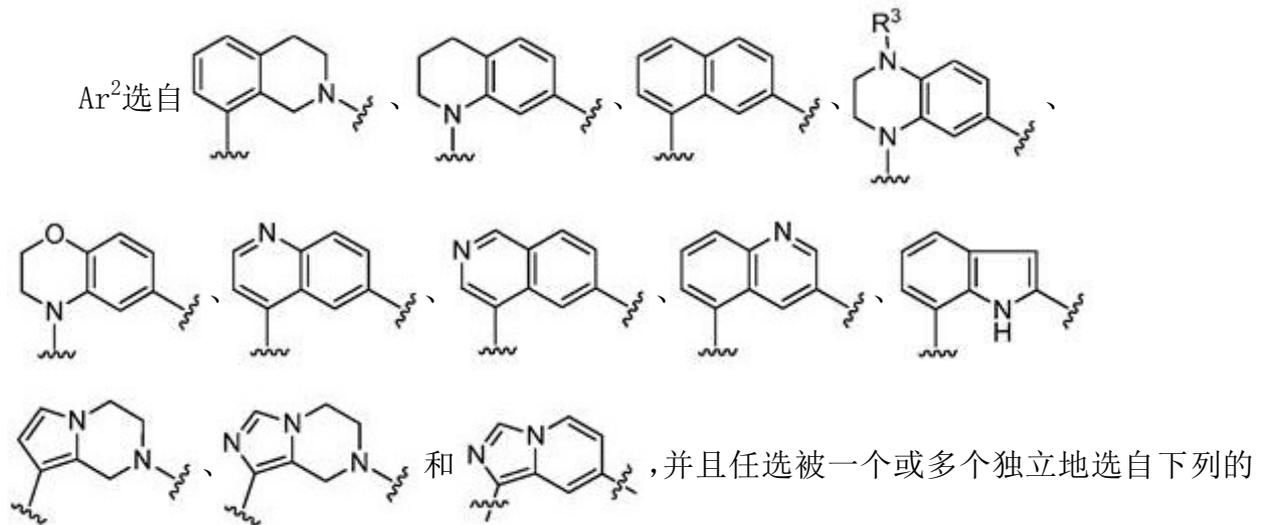
1. 按照结构式 (IIa)、(IIb)、(IIc) 或 (IId) 的Bcl-xL抑制剂,或其可药用盐,



其中:



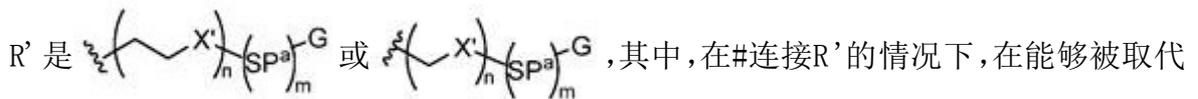
, 并且任选被一个或多个独立地选自下列的取代基取代: 卤素、羟基、硝基、低级烷基、低级杂烷基、烷氧基、氨基、氰基和卤代甲基;



取代基取代: 卤素、羟基、硝基、低级烷基、低级杂烷基、烷氧基、氨基、氰基和卤代甲基, 其中, R¹²-Z^{2b}-, R'-Z^{2b}-, #-N(R⁴)-R¹³-Z^{2b}-或#-R'-Z^{2b}-取代基在能够被取代的任何Ar²原子处与Ar²连接;

Z¹选自N、CH、C-卤素、C-CH₃和C-CN;

Z^{2a}和Z^{2b}各自彼此独立地选自键、-NR⁶、CR^{6a}R^{6b}、O、S、S(O)、SO₂、-NR⁶C(O)-、-NR^{6a}C(O)NR^{6b}-和-NR⁶C(O)O-;



的任何R'原子处与R'相连接;

X'在每次出现时选自: -N(R¹⁰)-、-N(R¹⁰)C(O)-、-N(R¹⁰)S(O)₂-、-S(O)₂N(R¹⁰)-和-O-;

n选自0-3;

R¹⁰在每次出现时独立地选自氢、烷基、杂环、氨基烷基、G-烷基、杂环和-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-NH₂;

G在每次出现时独立地选自多元醇、具有4至30个重复单元的聚乙二醇、盐和在生理pH下带电荷的部分;

SP^a在每次出现时独立地选自氧、-S(O)₂N(H)-、-N(H)S(O)₂-、-N(H)C(O)-、-C(O)N

(H)-、-N(H)-、亚芳基、亚杂环基和任选取代的亚甲基；其中亚甲基任选被一个或多个-NH(CH₂)₂G、NH₂、烃基和羰基取代；

m选自0-12；

R¹选自氢、甲基、卤素、卤代甲基、乙基和氰基；

R²选自氢、甲基、卤素、卤代甲基和氰基；

R³选自氢、甲基、乙基、卤代甲基和卤代乙基；

R⁴选自氢、低级烃基和低级杂烃基，或与R¹³的原子一起形成具有3至7个之间的环原子的环烃基或杂环基环；

R⁶、R^{6a}和R^{6b}各自彼此独立地选自氢、任选取代的低级烃基、任选取代的低级杂烃基、任选取代的环烃基和任选取代的杂环基，或与源自R⁴的原子一起和在源自R¹³的原子处形成具有3至7个之间的环原子的环烃基或杂环基环；

R^{11a}和R^{11b}各自彼此独立地选自氢、卤素、甲基、乙基、卤代甲基、羟基、甲氧基、CN和SCH₃；

R¹²任选是R'，或选自氢、卤素、氰基、任选取代的烃基、任选取代的杂烃基、任选取代的杂环基和任选取代的环烃基；

R¹³选自任选取代的亚烃基、任选取代的杂亚烃基、任选取代的亚杂环基和任选取代的环亚烃基；和

#代表氢原子或与连接子L的连接点。

[0380] 2. 实施方案1的化合物，或其可药用盐，其中G在每次出现时是盐或在生理pH下带电荷的部分。

[0381] 3. 实施方案2的化合物，或其可药用盐，其中G在每次出现时是甲酸盐、磺酸盐、膦酸盐或铵盐。

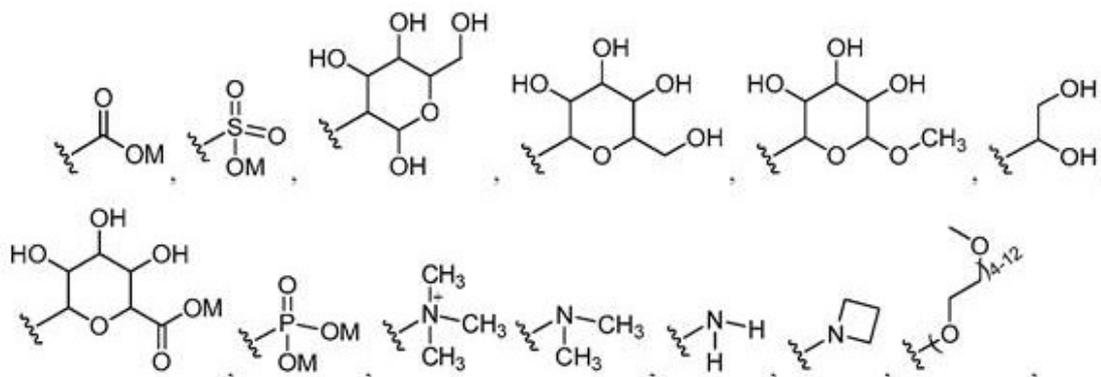
[0382] 4. 实施方案2的化合物，或其可药用盐，其中G在每次出现时是在生理pH下带电荷的部分，选自甲酸根、磺酸根、膦酸根和胺。

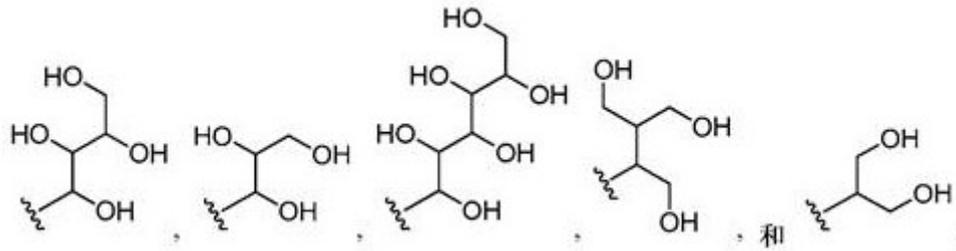
[0383] 5. 实施方案1的化合物，或其可药用盐，其中G在每次出现时是含有聚乙二醇或多元醇的部分。

[0384] 6. 实施方案5的化合物，或其可药用盐，其中多元醇是糖。

[0385] 7. 实施方案1的化合物，或其可药用盐，其中R'包括至少一个适合于连接连接子的可取代的氮。

[0386] 8. 实施方案7的化合物，或其可药用盐，其中G在每次出现时选自：

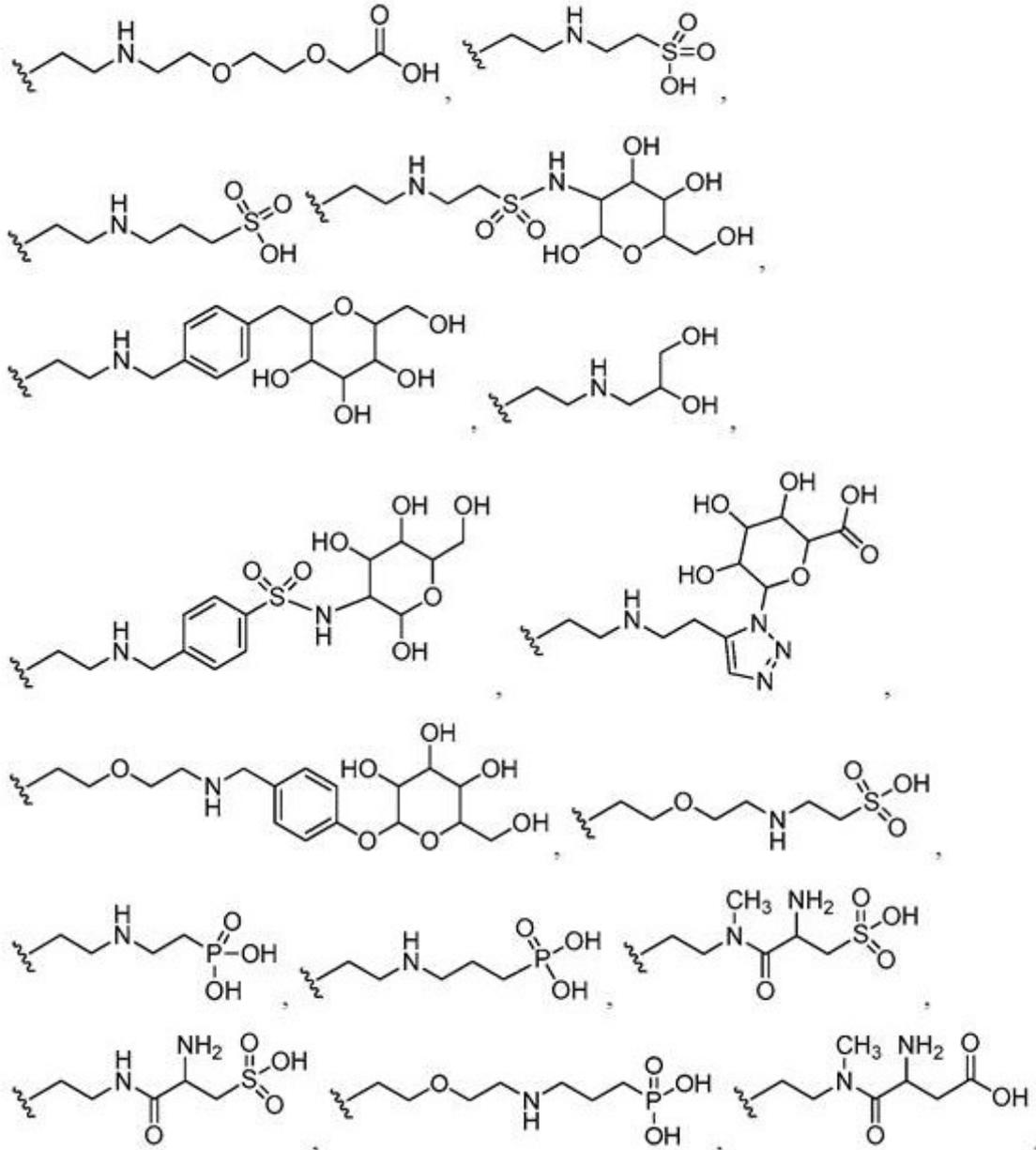


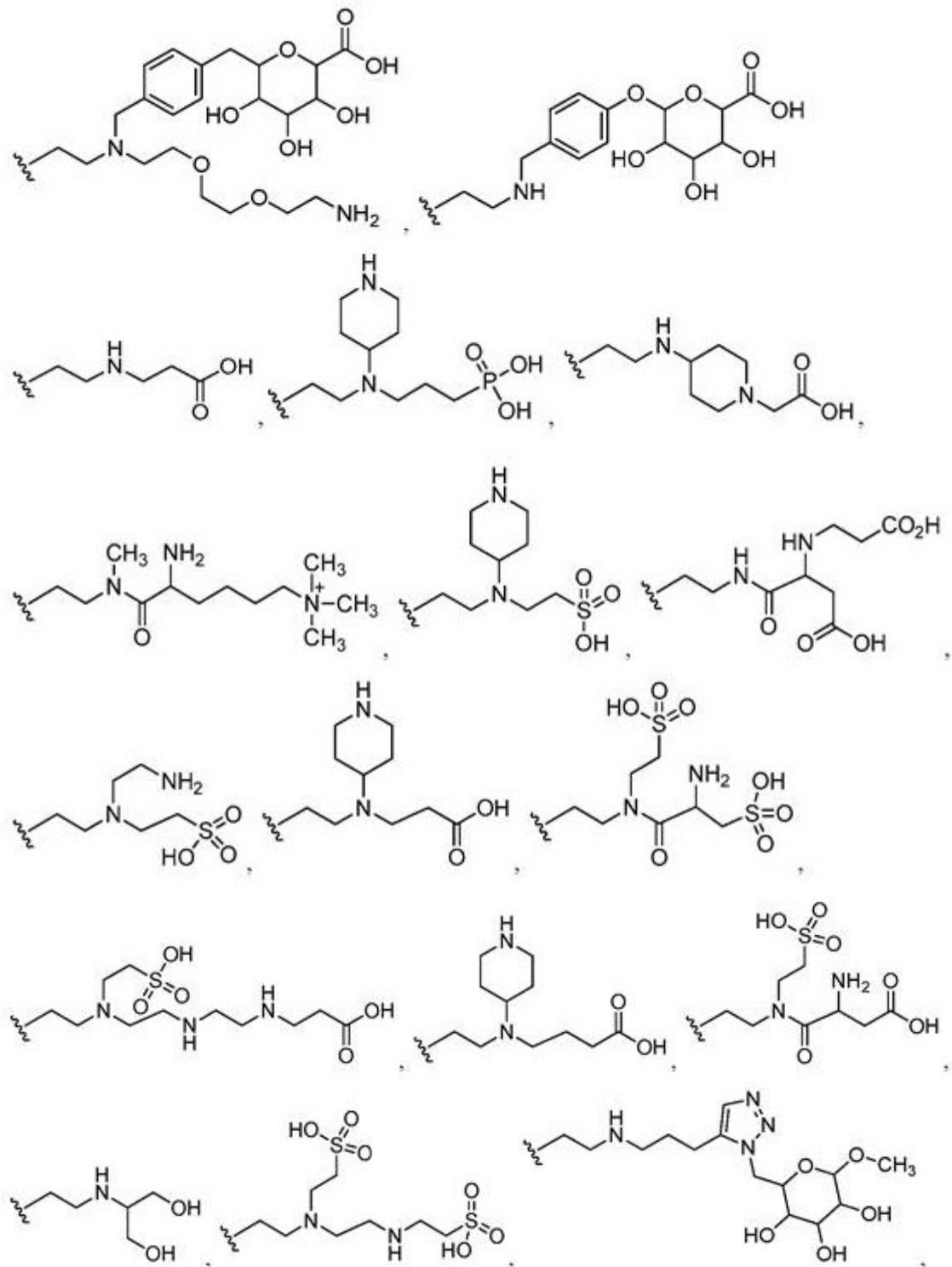


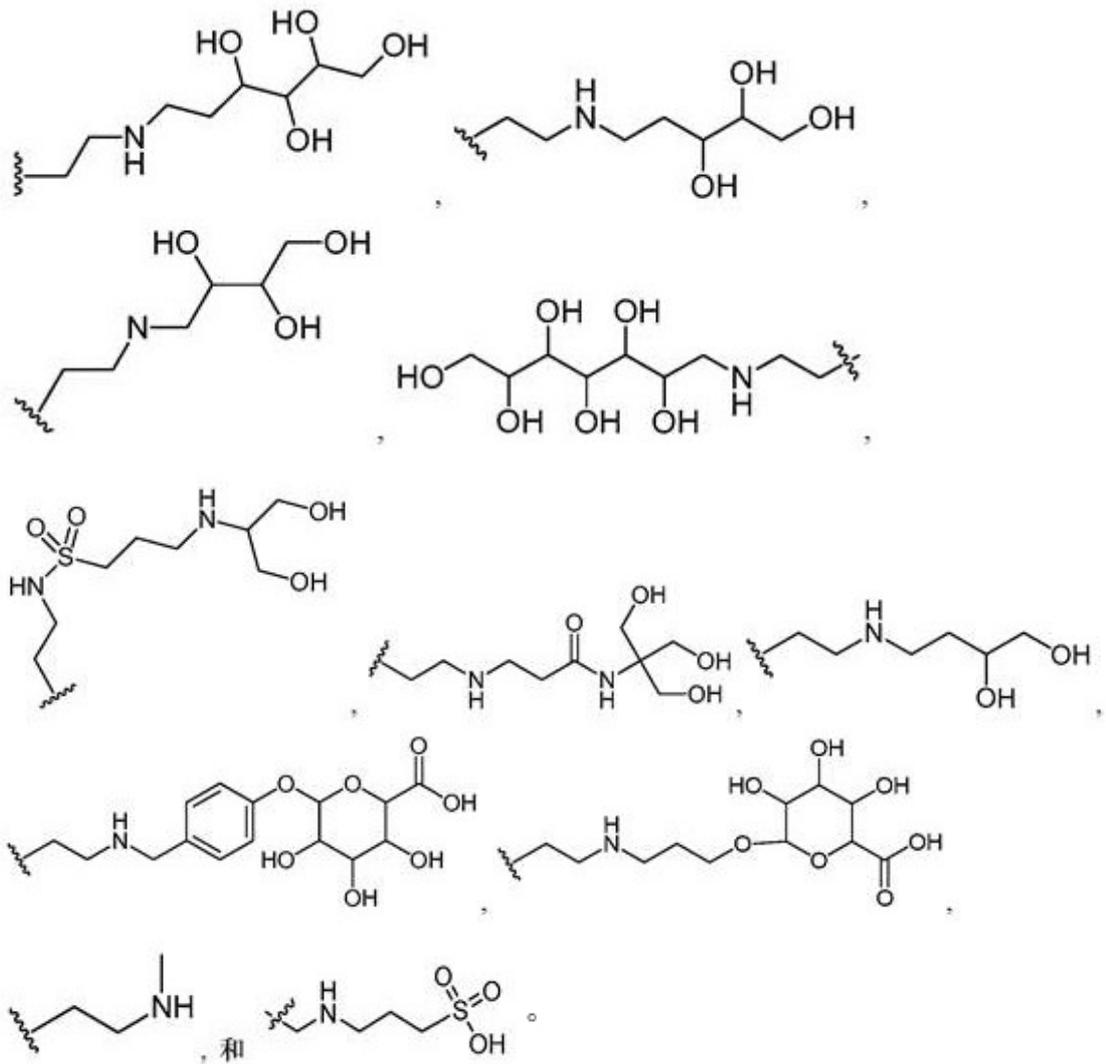
其中M是氢或

带正电荷的反离子。

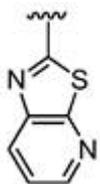
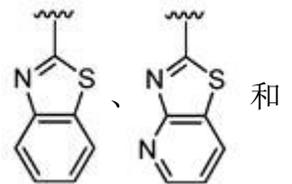
[0387] 9. 实施方案1的化合物,或其可药用盐,其中R'选自:





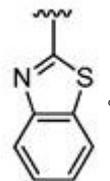


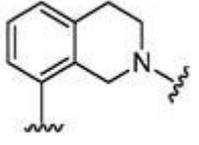
[0388] 10. 实施方案1的化合物,或其可药用盐,其中Ar¹选自:



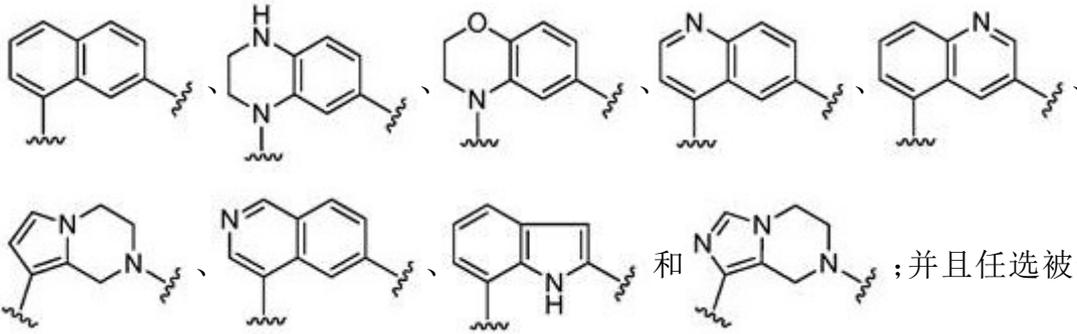
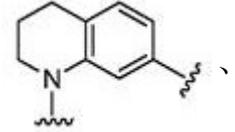
,并且任选被一个或多个独立地选自卤素、氰基、甲基和卤代甲基的取代基取代。

[0389] 11. 实施方案1的化合物,或其可药用盐,其中Ar¹是:



[0390] 12. 实施方案1的化合物,或其可药用盐,其中,Ar²是 , 任选被一个或多个取代基取代。

[0391] 13. 实施方案1的化合物,或其可药用盐,其中Ar²选自:



取代基取代。

[0392] 14. 实施方案13的化合物,或其可药用盐,其中Ar²被一个或多个增溶基取代。

[0393] 15. 实施方案14的化合物,或其可药用盐,其中每个增溶基彼此独立地选自含有多元醇、聚乙二醇的部分、盐或在生理pH下带电荷的部分。

[0394] 16. 实施方案1的化合物,或其可药用盐,其中Z¹是N。

[0395] 17. 实施方案1的化合物,或其可药用盐,其中Z^{2a}是O。

[0396] 18. 实施方案1的化合物,或其可药用盐,其中R¹是甲基或氯。

[0397] 19. 实施方案1的化合物,或其可药用盐,其中R²是氢或甲基。

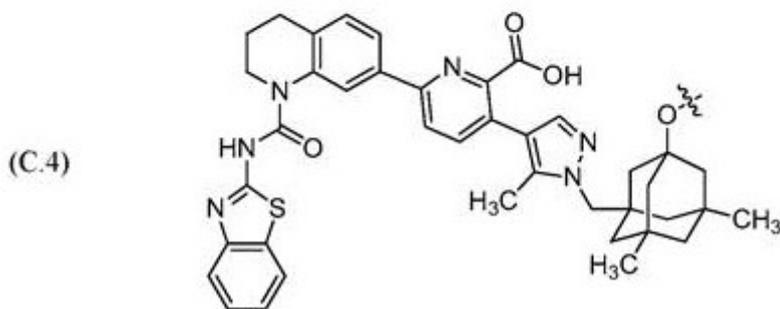
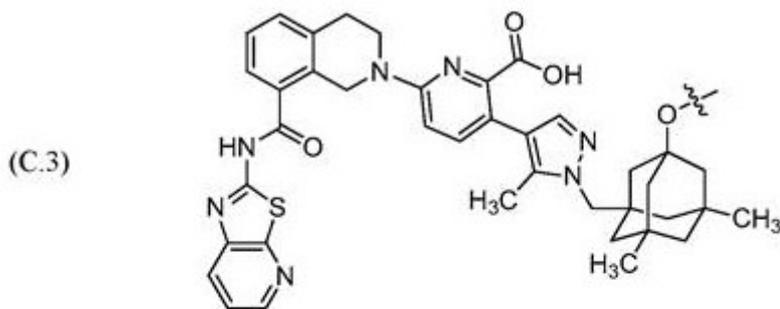
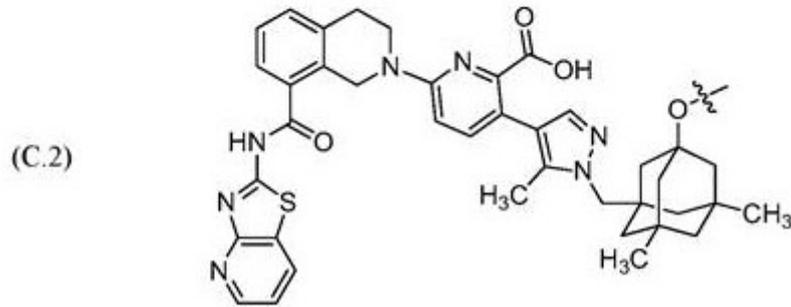
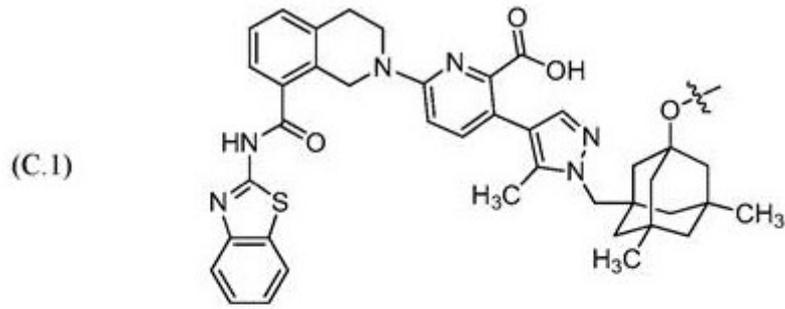
[0398] 20. 实施方案1的化合物,或其可药用盐,其中R²是氢。

[0399] 21. 实施方案1的化合物,或其可药用盐,其中Z^{2b}是O。

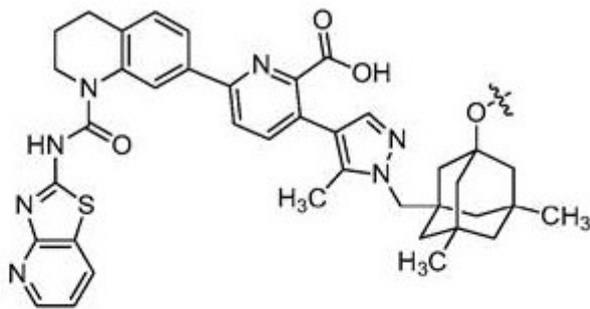
[0400] 22. 实施方案1的化合物,或其可药用盐,其中Z^{2b}是NH。

[0401] 23. 实施方案1的化合物,或其可药用盐,其是按照结构式(IIa)的化合物,或其盐。

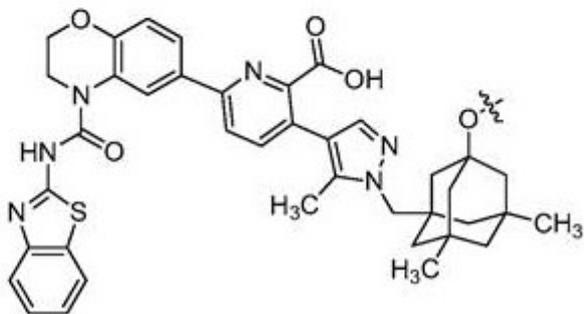
[0402] 24. 实施方案23的化合物,或其可药用盐,其包括选自结构(C.1)-(C.21)的核:



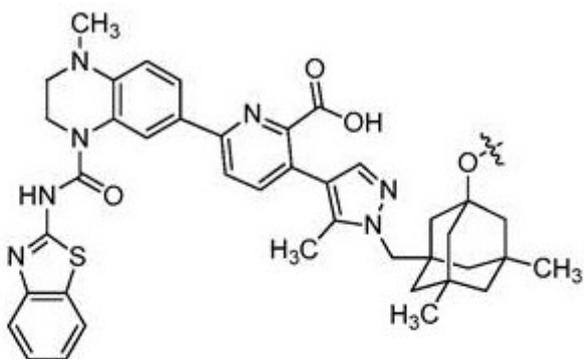
(C.5)



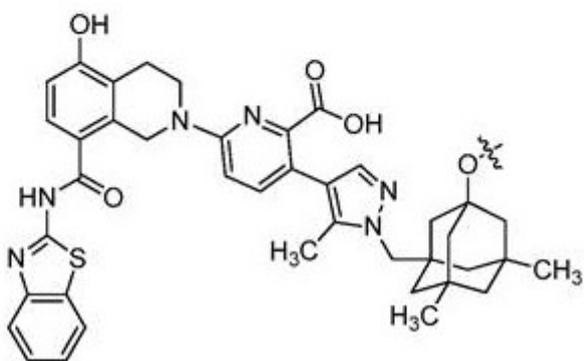
(C.6)

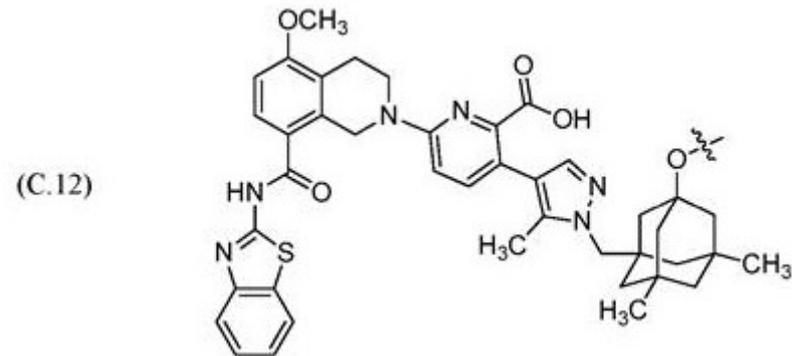
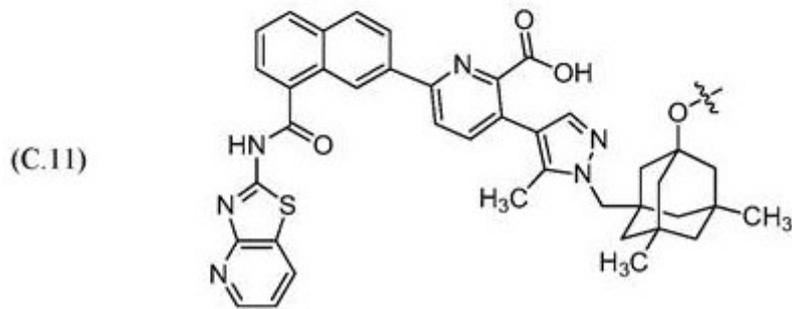
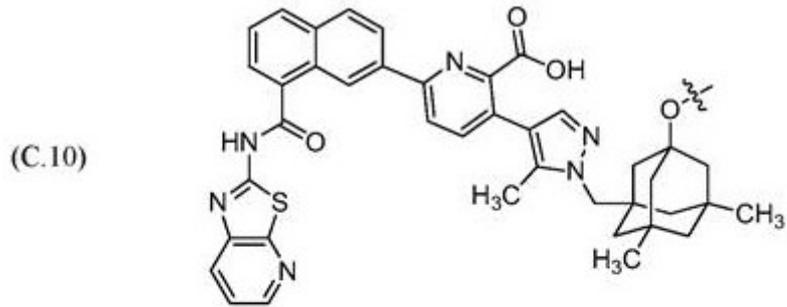
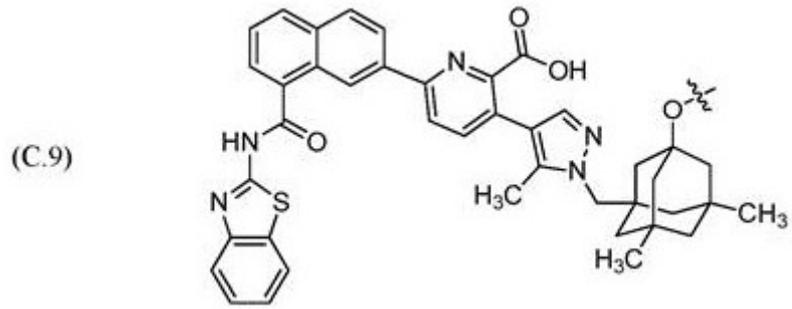


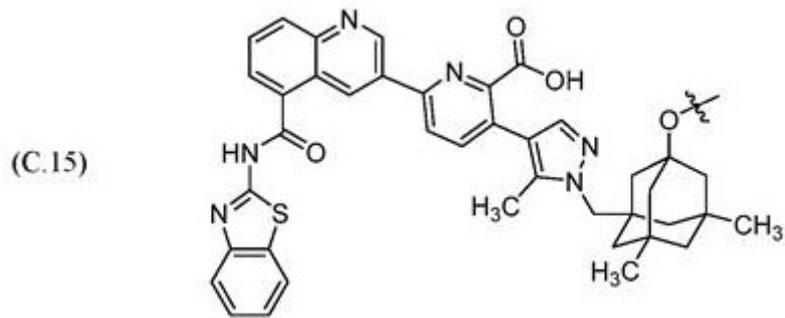
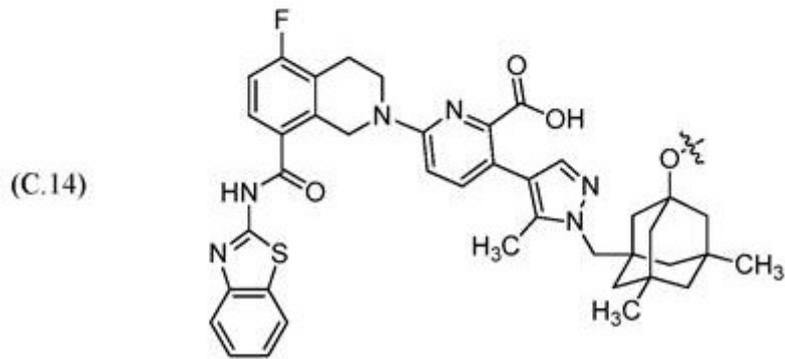
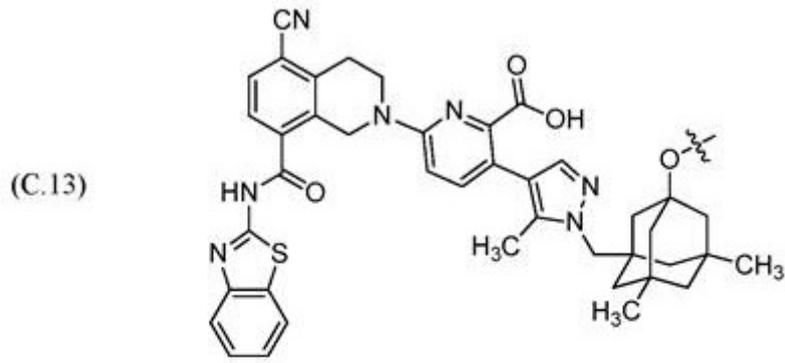
(C.7)



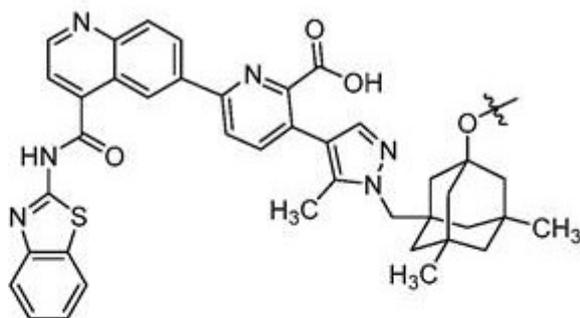
(C.8)



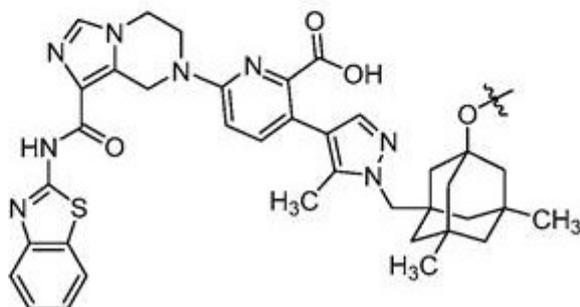




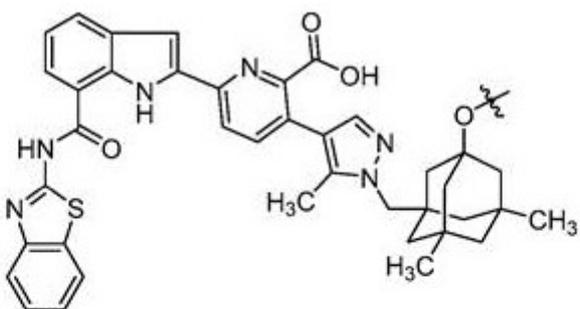
(C.16)



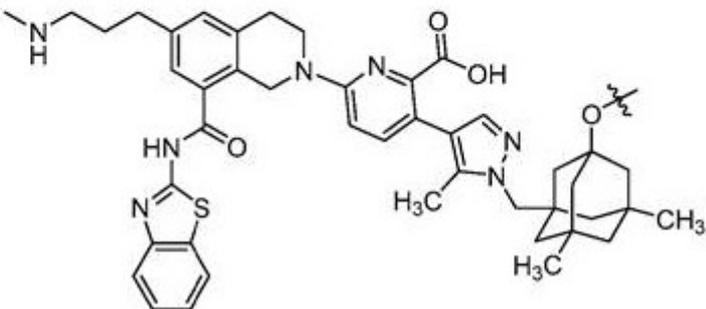
(C.17)



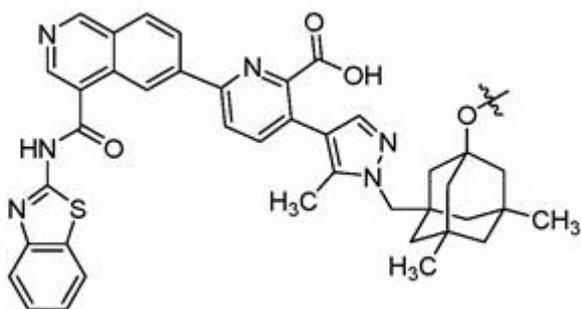
(C.18)

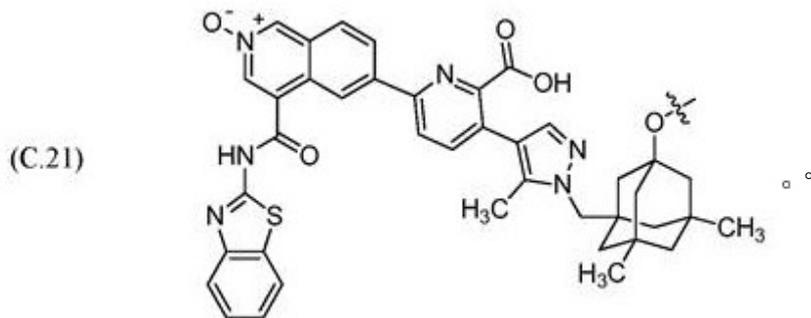


(C.19)

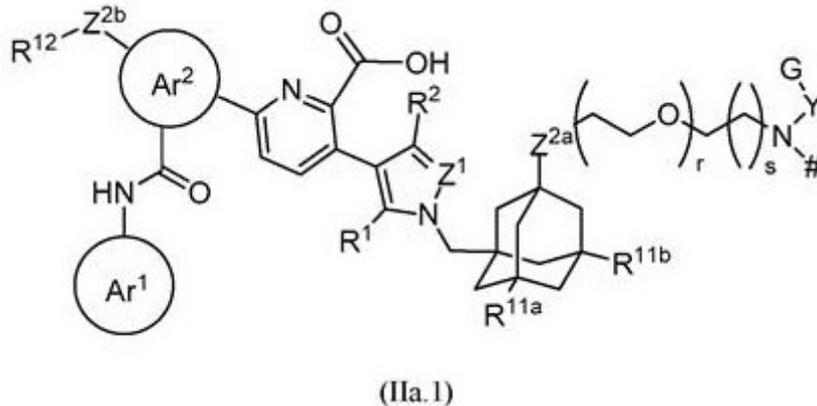


(C.20)





[0403] 25. 实施方案23的化合物,或其可药用盐,其是按照结构式(IIa.1)的化合物:



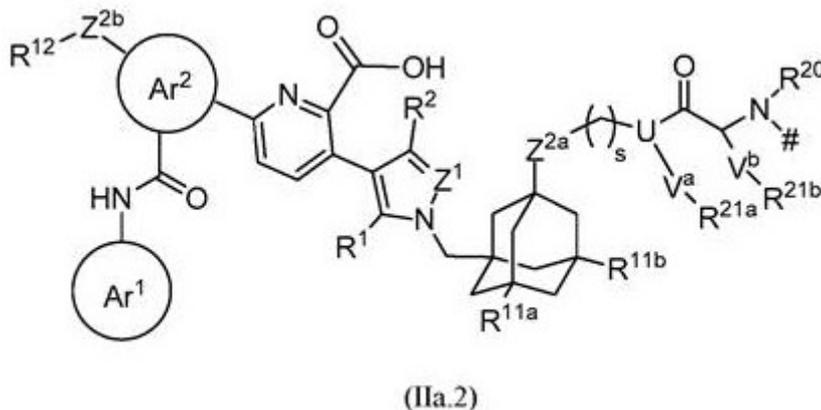
其中:

Y是任选取代的亚烷基;

r是0或1;和

s是1、2或3。

[0404] 26. 实施方案23的化合物,或其可药用盐,其是按照结构式(IIa.2)的化合物:



其中:

Ar¹、Ar²、Z¹、Z^{2a}、Z^{2b}、R¹、R²、R^{11a}、R^{11b}、R¹²和#如上面所定义;

U选自N、O和CH,条件是当U是O时,则V^a和R^{21a}不存在;

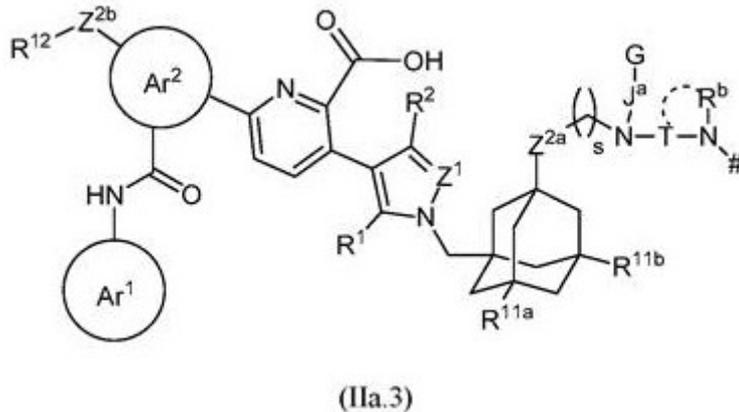
R²⁰选自H和C₁-C₄烷基;

R^{21a}和R^{21b}各自彼此独立地不存在,或选自H、C₁-C₄烷基和G,其中G选自多元醇、PEG4-30、盐和在生理pH下带电荷的部分;

V^a和V^b各自彼此独立地不存在,或选自键和任选取代的亚烷基;

R^{20} 选自H和 C_1 - C_4 烷基;和
s是1、2或3。

[0405] 27. 实施方案23的化合物,或其可药用盐,其是按照结构式(IIa.3)的化合物:



其中:

Ar^1 、 Ar^2 、 Z^1 、 Z^{2a} 、 Z^{2b} 、 R^1 、 R^2 、 R^{11a} 、 R^{11b} 、 R^{12} 和#如上面所定义;

R^b 选自H、 C_1 - C_4 烷基和 J^b -G,或是任选与T的原子一起形成具有3至7个之间的原子的环;

J^a 和 J^b 各自彼此独立地选自任选取代的亚烷基和任选取代的亚苯基;

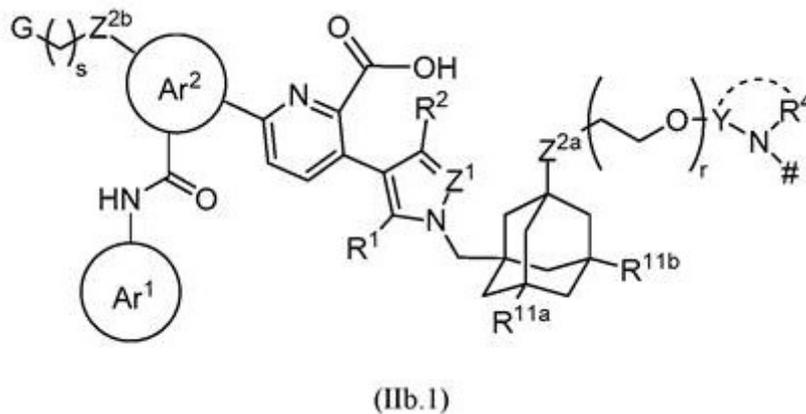
T选自任选取代的亚烷基、 $CH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2$ 、 $CH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2$ 和包含4至10个乙二醇单元的聚乙二醇;

G选自多元醇、PEG4-30、盐和在生理pH下带电荷的部分;和

s是1、2或3。

[0406] 28. 实施方案1的化合物,或其可药用盐,其是按照结构式(IIb)的化合物,或其盐。

[0407] 29. 实施方案28的化合物,或其可药用盐,其是按照结构式(IIb.1)的化合物:



其中:

Y是任选取代的亚烷基;

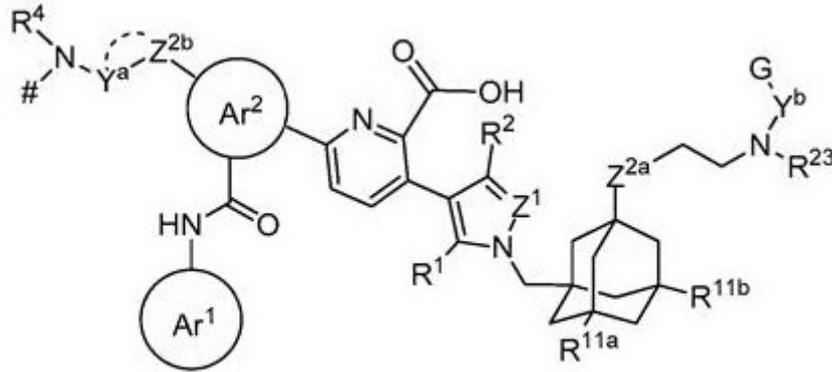
G选自多元醇、PEG4-30、盐和在生理pH下带电荷的部分;

r是0或1;和

s是1、2或3。

[0408] 30. 实施方案1的化合物,其是按照结构式(IIc)的化合物,或其可药用盐。

[0409] 31. 实施方案30的化合物,或其可药用盐,其是按照结构式(IIc.1)的化合物:



(IIc.1)

其中:

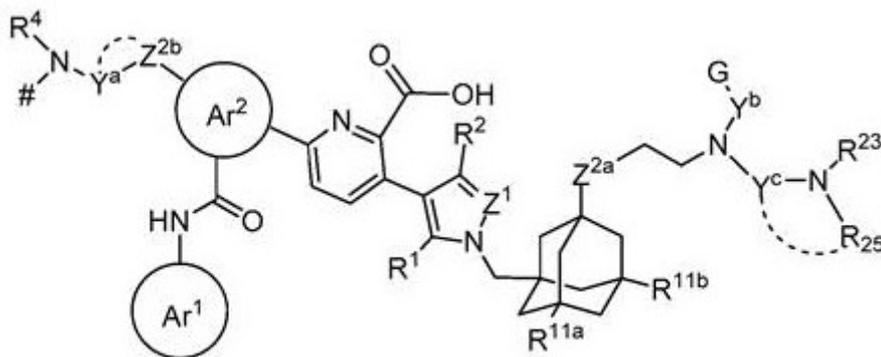
Y^a 是任选取代的亚烃基;

Y^b 是任选取代的亚烃基;

R^{23} 选自H和C₁-C₄烃基;和

G选自多元醇、PEG4-30、盐和在生理pH下带电荷的部分。

[0410] 32. 实施方案30的化合物,或其可药用盐,其是按照结构式(IIc.2)的化合物:



(IIc.2)

其中:

Y^a 是任选取代的亚烃基;

Y^b 是任选取代的亚烃基;

Y^c 是任选取代的亚烃基;

R^{23} 选自H和C₁-C₄烃基;

R^{25} 是 Y^b -G,或与 Y^c 的原子一起形成具有4-6个环原子的环;和

G选自多元醇、PEG4-30、盐和在生理pH下带电荷的部分。

[0411] 33. 实施方案1的化合物,选自 W2.01,

W2.02, W2.03, W2.04, W2.05, W2.06, W2.07, W2.08, W2.09, W2.10, W2.11, W2.12, W2.13, W2.14, W2.15, W2.16, W2.17, W2.18, W2.19, W2.20, W2.21, W2.22, W2.23, W2.24, W2.25, W2.26, W2.27, W2.28, W2.29, W2.30, W2.31, W2.32, W2.33, W2.34, W2.35, W2.36, W2.37, W2.38, W2.39, W2.40, W2.41, W2.42, W2.43, W2.44, W2.45, W2.46, W2.47, W2.48, W2.49, W2.50, W2.51, W2.52, W2.53, W2.54, W2.55, W2.56, W2.57, W2.58, W2.59, W2.60, W2.61, W2.62, W2.63, W2.64, W2.65, W2.66, W2.67, W2.68, W2.69, W2.70, W2.71, W2.72, W2.73, W2.74, W2.75, W2.76, W2.77, W2.78, W2.79, W2.80, W2.81, W2.82, W2.83, W2.84, W2.85,

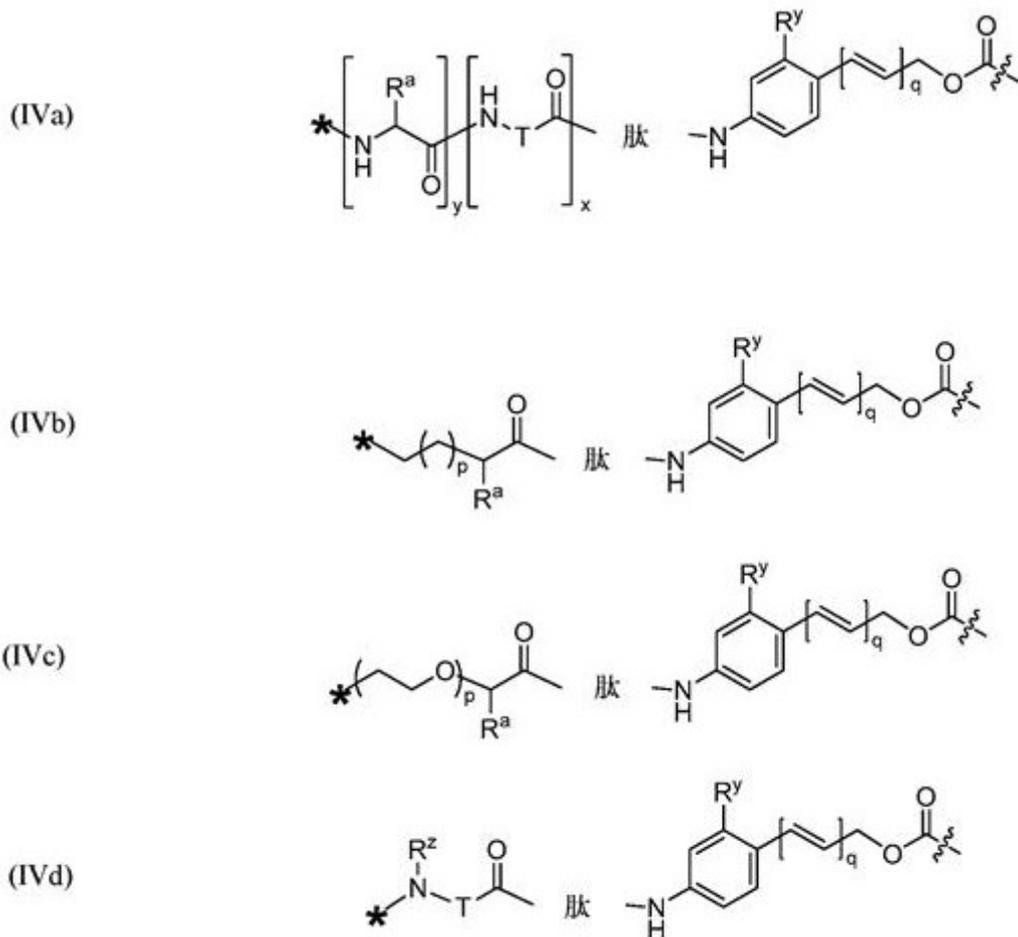
W2.86, W2.87, W2.88, W2.89, W2.90, W2.91, 和其可药用盐。

[0412] 34. 抗体药物缀合物(ADC),或其可药用盐,其包含通过连接子与抗体连接的药物,其中药物是按照实施方案1-33的任一项的Bcl-xL抑制剂,其中#代表与连接子的连接点。

[0413] 35. 实施方案34的ADC,或其可药用盐,其中连接子是通过溶酶体酶可断裂的。

[0414] 36. 实施方案35的ADC,或其可药用盐,其中溶酶体酶是组织蛋白酶B。

[0415] 37. 实施方案36的ADC,或其可药用盐,其中连接子包含按照结构式(IVa)、(IVb)、(IVc)或(IVd)的片段:



或其盐,其中:

肽代表通过溶酶体酶可断裂的肽(举例说明的N→C,其中肽包括氨基和羧基“端”);
T代表含有一个或多个乙二醇单元或亚烷基链或其组合的聚合物;

R^a 选自氢、烷基、磺酸酯和磺酸甲酯；

R^y 是氢或 C_{1-4} 烷基-(O) $_r$ -(C_{1-4} 亚烷基) $_s$ - G^1 或 C_{1-4} 烷基-(N)-[(C_{1-4} 亚烷基)- G^1] $_2$ ；

R^z 是 C_{1-4} 烷基-(O) $_r$ -(C_{1-4} 亚烷基) $_s$ - G^2 ；

G^1 是 SO_3H 、 CO_2H 、PEG 4-32或糖部分；

G^2 是 SO_3H 、 CO_2H 或PEG 4-32部分；

r 是0或1；

s 是0或1；

p 是0至5的整数；

q 是0或1；

x 是0或1；

y 是0或1；

 代表连接子与Bcl-xL抑制剂的连接点；和

*代表与连接子的其余部分的连接点。

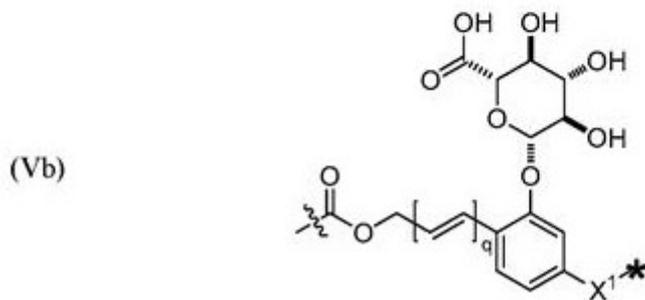
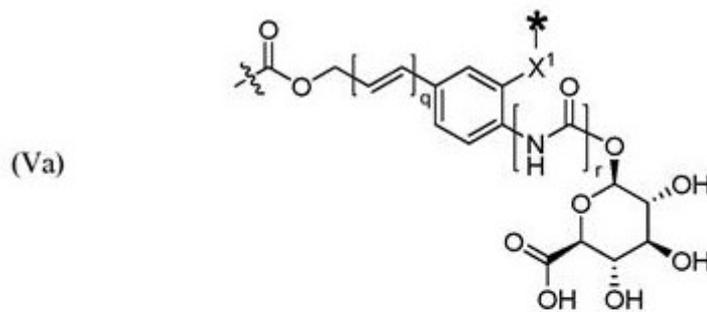
[0416] 38. 实施方案37的ADC,其中肽选自:

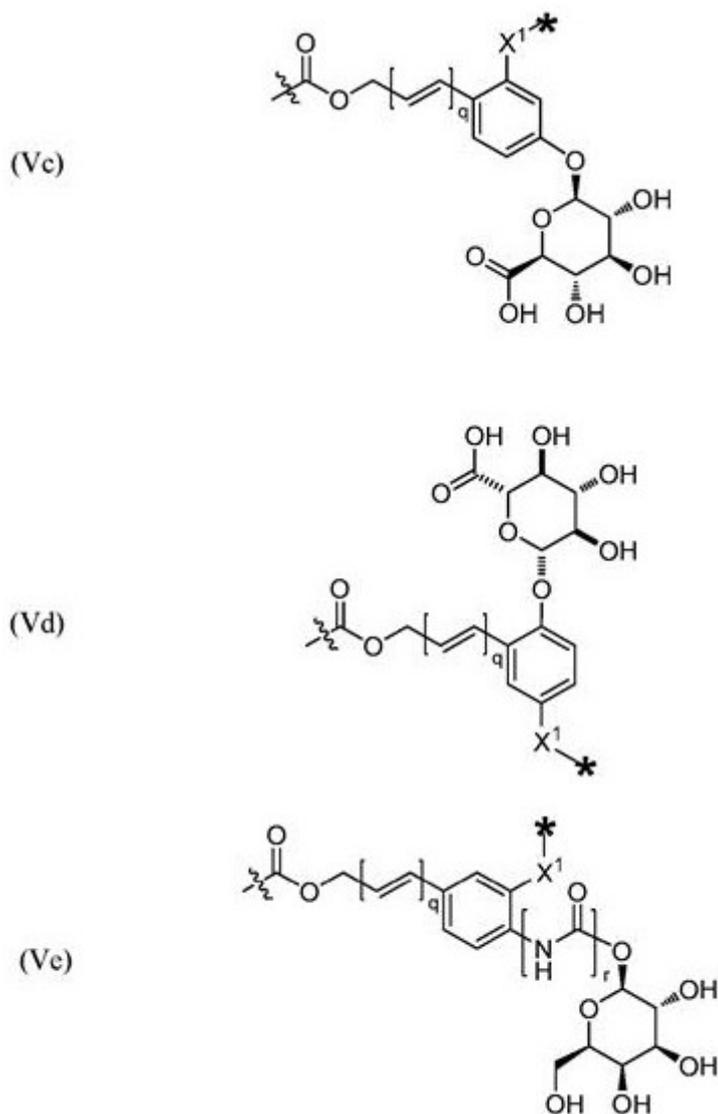
Val-Cit; Cit-Val; Ala-Ala; Ala-Cit; Cit-Ala; Asn-Cit; Cit-Asn; Cit-Cit; Val-Glu; Glu-Val; Ser-Cit; Cit-Ser; Lys-Cit; Cit-Lys; Asp-Cit; Cit-Asp; Ala-Val; Val-Ala; Phe-Lys; Lys-Phe; Val-Lys; Lys-Val; Ala-Lys; Lys-Ala; Phe-Cit; Cit-Phe; Leu-Cit; Cit-Leu; Ile-Cit; Cit-Ile; Phe-Arg; Arg-Phe; Cit-Trp;

和Trp-Cit,以及其盐。

[0417] 39. 实施方案35的ADC,或其可药用盐,其中溶酶体酶是 β -葡糖苷酸酶或 β -半乳糖苷酶。

[0418] 40. 实施方案36的ADC,或其可药用盐,其中连接子包含按照结构式(Va)、(Vb)、(Vc)、(Vd)或(Ve)的片段:





或其盐,其中:

q是0或1;

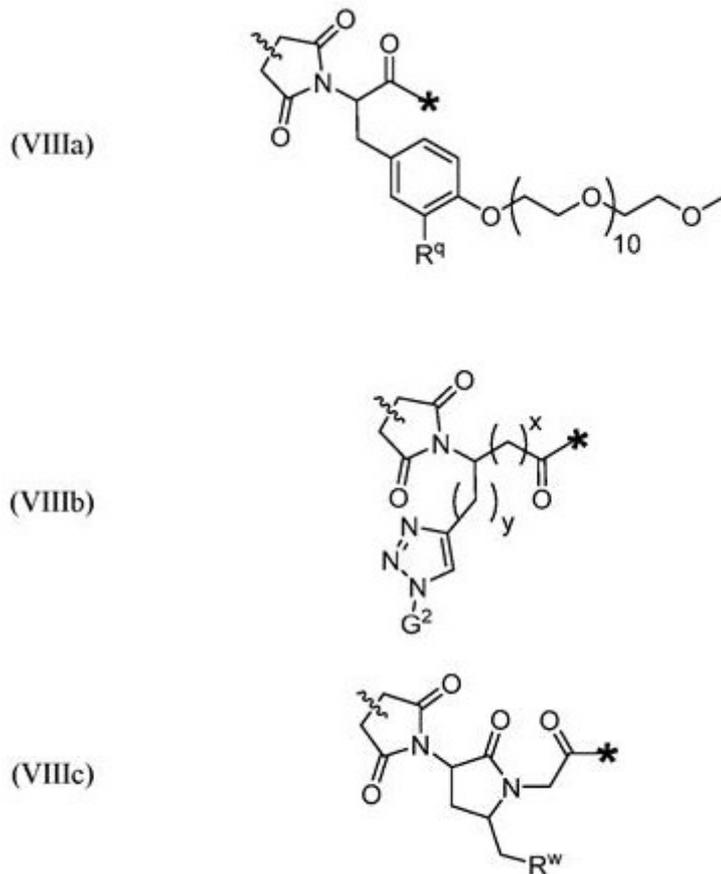
r是0或1;

X¹是CH₂、O或NH;

代表连接子与药物的连接点;和

*代表与连接子的其余部分的连接点。

[0419] 41. 实施方案35的ADC,或其可药用盐,其中连接子包含按照结构式(VIIIa)、(VIIIb)或(VIIIc)的片段或其水解的衍生物:



或其盐,其中:

R^q 是H或 $-O-(CH_2CH_2O)_{11}-CH_3$;

x是0或1;

y是0或1;

G^2 是 $-CH_2CH_2CH_2SO_3H$ 或 $-CH_2CH_2O-(CH_2CH_2O)_{11}-CH_3$;

R^w 是 $-O-CH_2CH_2SO_3H$ 或 $-NH(CO)-CH_2CH_2O-(CH_2CH_2O)_{12}-CH_3$;

*代表与连接子的其余部分的连接点; 和

 代表连接子与抗体的连接点。

[0420] 42. 实施方案34的ADC,或其可药用盐,其中连接子包含具有1至6个乙二醇单元的聚乙二醇片段。

[0421] 43. 实施方案34的ADC,或其可药用盐,其中抗体结合肿瘤细胞上表达的细胞表面受体或肿瘤相关抗原。

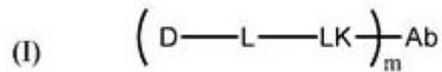
43. 实施方案43的ADC,或其可药用盐,其中抗体结合选自EGFR、EpCAM、NCAM1和CD98的细胞表面受体或肿瘤相关抗原中的一种。

45. 实施方案43的ADC,或其可药用盐,其中肿瘤细胞是SCLC肿瘤细胞或NSCLC肿瘤细胞。

46. 实施方案43的ADC,或其可药用盐,其中抗体结合EGFR或NCAM1。

47. 实施方案43的ADC,或其可药用盐,其中抗体选自AB033、N901和ING-1。

48. 实施方案34的ADC,其是按照结构式(I)的化合物:



或其可药用盐,其中

D是药物;

L是连接子;

Ab是抗体;

LK代表连接连接子L与抗体Ab的共价连接基; 和

m是1至8的整数.

49. 实施方案48的ADC,或其可药用盐,其中m是2、3或4.

50. 实施方案48的ADC,或其可药用盐,其中连接子L选自 (IVa)、(IVb)、(IVc) 或 (IVd) 和其盐.

51. 实施方案48的ADC,或其可药用盐,其中LK是与抗体Ab上的氨基形成的连接基.

52. 实施方案51的ADC,或其可药用盐,其中LK是酰胺或硫脲.

53. 实施方案48的ADC,或其可药用盐,其中LK是与抗体Ab上的巯基形成的连接基.

54. 实施方案53的ADC,或其可药用盐,其中LK是硫醚.

55. 实施方案48的ADC,或其可药用盐,其中抗体Ab结合EGFR、EpCAM或NCAM1.

56. 实施方案48的ADC,或其可药用盐,其中抗体Ab选自抗体AB033、N901和ING-1.

57. 实施方案48的ADC,或其可药用盐,其中:

LK选自酰胺、硫脲和硫醚; 和

m是1至8的整数.

58. 实施方案57的ADC,或其可药用盐,其中Ab结合EGFR、EpCAM或NCAM1.

59. 组合物,其包含按照实施方案34-57的任一项的ADC和载体、稀释剂和/或赋形剂.

60. 实施方案59的组合物,其被配制为在人类中用于药物用途.

61. 实施方案60的组合物,其是单位剂型.

62. 按照结构式D-L-R^x的合成子,或其可药用盐,其中:

D是按照实施方案1-32的任一项的Bc1-xL抑制剂,其中,#代表与L的连接点;

L是连接子; 和

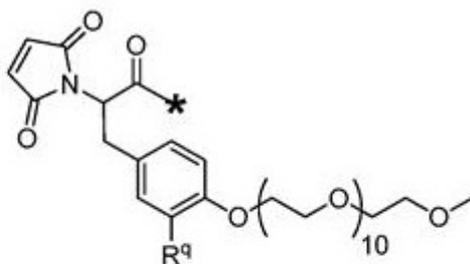
R^x是包含能够共价连接合成子与抗体的官能团的部分.

63. 实施方案62的合成子,或其可药用盐,其中连接子是通过溶酶体酶可断裂的.

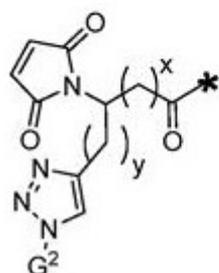
64. 实施方案63的合成子,或其可药用盐,其中溶酶体酶是组织蛋白酶B.

65. 实施方案62的合成子,其中,连接子包含按照结构式 (VIIa)、(VIIb) 或 (VIIc) 的片段:

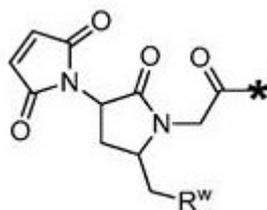
(VIIa)



(VIIb)



(VIIc)



或其盐,其中:

R^q 是H或 $-O-(CH_2CH_2O)_{11}-CH_3$;

X是0或1;

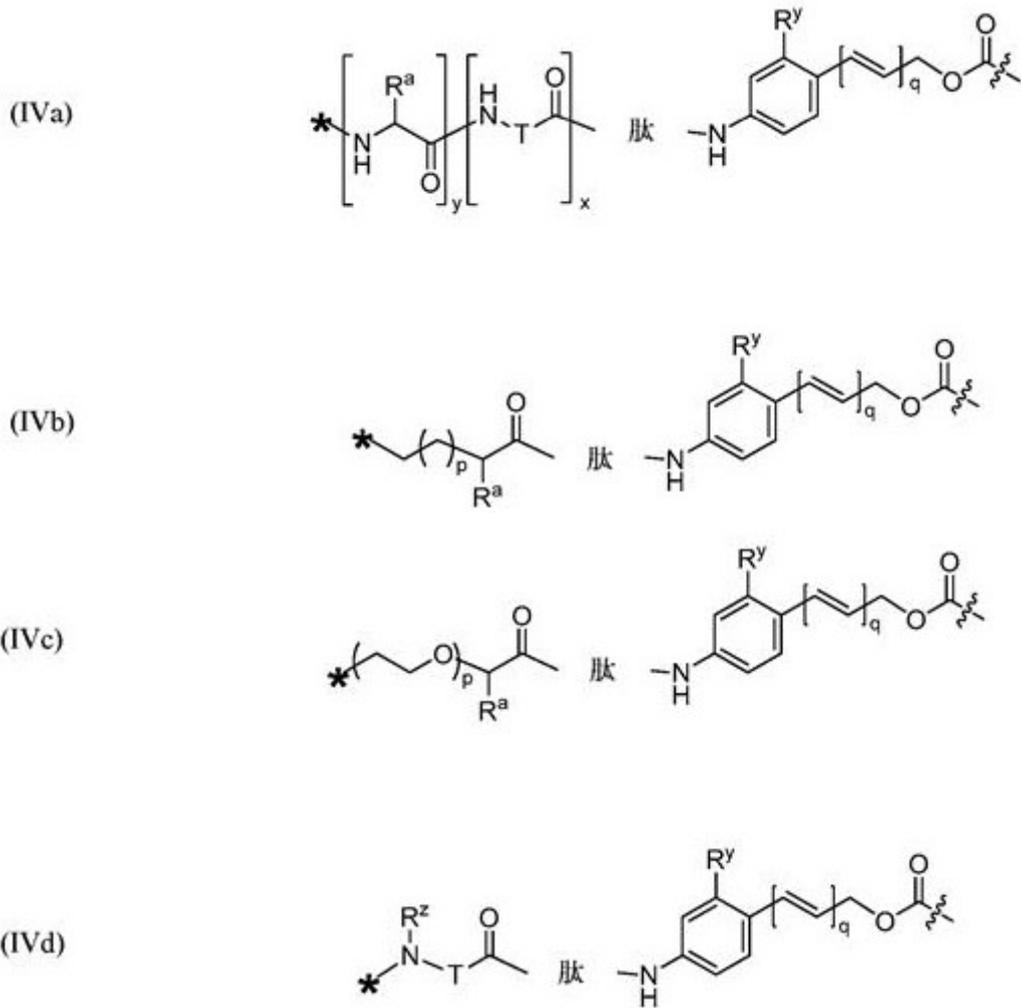
Y是0或1;

G^2 是 $-CH_2CH_2CH_2SO_3H$ 或 $-CH_2CH_2O-(CH_2CH_2O)_{11}-CH_3$;

R^w 是 $-O-CH_2CH_2SO_3H$ 或 $-NH(CO)-CH_2CH_2O-(CH_2CH_2O)_{12}-CH_3$;

*代表与连接子的其余部分的连接点.

66. 实施方案63的合成子,其中连接子包含按照结构式(IVa)、(IVb)、(IVc)或(Vd)的片段:



或其可药用盐,其中:

肽代表通过溶酶体酶可断裂的肽(举例说明的N→C,其中肽包括氨基和羧基“端”);

T代表含有一个或多个乙二醇单元或亚烷基链或其组合的聚合物;

R^a选自氢、烷基、磺酸酯和磺酸甲酯;

R^y是氢或C₁₋₄烷基-(O)_r-(C₁₋₄亚烷基)_s-G¹或C₁₋₄烷基-(N)-[(C₁₋₄亚烷基)-G¹]₂;

R^z是C₁₋₄烷基-(O)_r-(C₁₋₄亚烷基)_s-G²;

G¹是SO₃H、CO₂H、PEG 4-32或糖部分;

G²是SO₃H、CO₂H或PEG 4-32部分;

r是0或1;

s是0或1;

p是0至5的整数;

q是0或1;

x是0或1;

y是0或1;

代表连接子与Bcl-xL抑制剂的连接点;和

*代表与连接子的其余部分的连接点。

67. 实施方案66的合成子,或其可药用盐,其中,肽选自:

Val-Cit; Cit-Val; Ala-Ala; Ala-Cit; Cit-Ala; Asn-Cit;

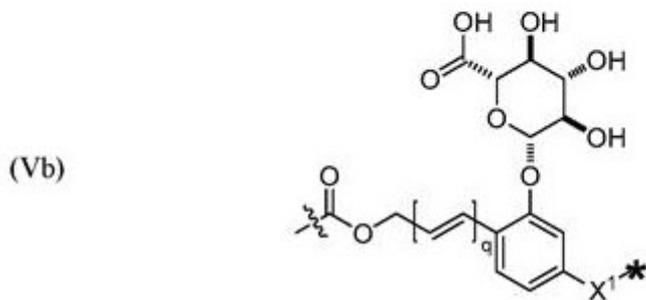
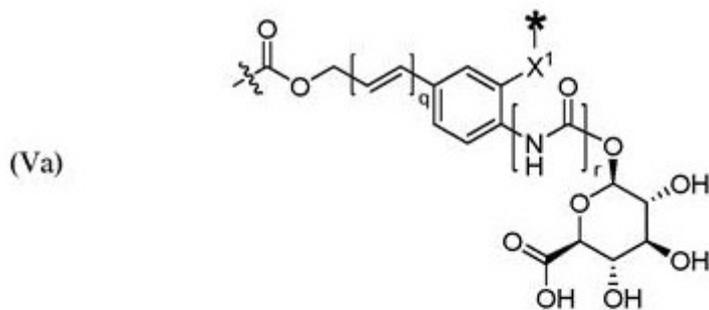
Cit-Asn; Cit-Cit; Val-Glu; Glu-Val; Ser-Cit; Cit-Ser; Lys-Cit; Cit-Lys; Asp-Cit; Cit-Asp; Ala-Val;

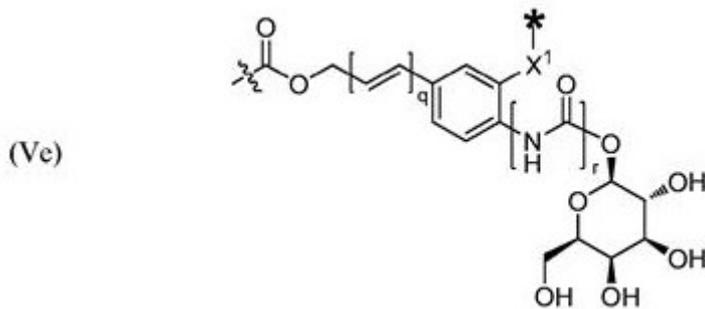
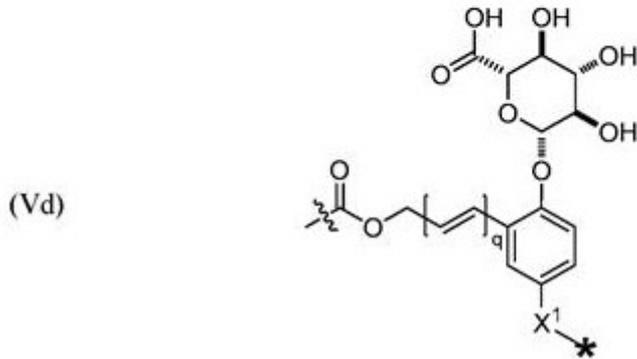
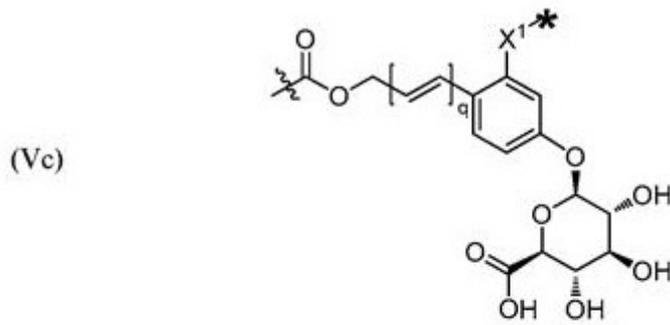
Val-Ala; Phe-Lys; Lys-Phe; Val-Lys; Lys-Val; Ala-Lys; Lys-Ala; Phe-Cit; Cit-Phe; Leu-Cit; Cit-Leu;

Ile-Cit; Cit-Ile; Phe-Arg; Arg-Phe; Cit-Trp; 和 Trp-Cit, 以及其盐.

68. 实施方案63的合成子,或其可药用盐,其中溶酶体酶是 β -葡糖苷酸酶或 β -半乳糖苷酶.

69. 实施方案68的合成子,其中连接子包含按照结构式 (Va)、(Vb)、(Vc)、(Vd) 或 (Ve) 的片段:





或其可药用盐,其中:

q是0或1;

r是0或1;

X¹是CH₂、O或NH;

 代表连接子与药物的连接点;和

*代表与连接子的其余部分的连接点.

70. 实施方案62的合成子,或其可药用盐,其中连接子包含具有1至6个乙二醇单元的聚乙二醇片段.

71. 实施方案62的合成子,或其可药用盐,其中连接子L选自(IVa)、(IVb)、(IVc)、(IVd)或其盐.

72. 实施方案62的合成子,或其可药用盐,其中R^x包含能够连接合成子与抗体上的氨基的官能团.

73. 实施方案62的合成子,或其可药用盐,其中R^x包含NHS-酯或异硫氰酸酯.

74. 实施方案62的合成子,或其可药用盐,其中R^x包含能够连接合成子与抗体上的硫

基的官能团.

75. 实施方案62的合成子,或其可药用盐,其中R^x包含卤代乙酰基或马来酰亚胺.

76. 实施方案62的合成子,或其可药用盐,其中R^x包含选自NHS-酯、异硫氰酸酯、卤代乙酰基和马来酰亚胺的官能团.

77. 如下形成的ADC:在合成子共价连接抗体的条件下,使结合肿瘤细胞上表达的细胞表面受体或肿瘤相关抗原的抗体与按照实施方案62-76的任一项的合成子或其可药用盐接触.

78. 实施方案77的ADC,或其可药用盐,其中在使ADC具有2、3或4的DAR的条件下进行接触步骤.

79. 组合物,其包含按照实施方案77或78的ADC或其可药用盐,以及载体、稀释剂和/或赋形剂.

80. 实施方案79的组合物,其被配制为在人类中用于药物用途.

81. 实施方案80的组合物,其是单位剂型.

82. 制备ADC的方法,所述方法包括:在合成子共价连接抗体的条件下,使按照实施方案62-76的任一项的合成子或其可药用盐与抗体接触.

83. 在表达Bcl-xL的细胞中抑制Bcl-xL活性的方法,所述方法包括:在ADC结合细胞的条件下,使细胞与能够结合细胞的按照实施方案34-58和77-78的任一项的ADC或其可药用盐接触.

84. 在表达Bcl-xL的细胞中诱导细胞程序死亡的方法,所述方法包括:在ADC结合细胞的条件下,使细胞与能够结合细胞的按照实施方案34-58和77-78的任一项的ADC或其可药用盐接触.

85. 治疗涉及内在的细胞程序死亡失调的疾病的方法,所述方法包括:给予患有涉及细胞程序死亡失调的疾病的患者有效提供治疗益处数量的按照实施方案34-58和77-78的任一项的ADC或其可药用盐,其中ADC的抗体结合内在的细胞程序死亡失调的细胞上的细胞表面受体.

86. 治疗癌症的方法,所述方法包括:给予患有癌症的患者有效提供治疗益处数量的按照实施方案34-58和77-78的任一项的ADC或其可药用盐,所述ADC能够结合在癌细胞的表面上表达的细胞表面受体或肿瘤相关抗原.

87. 实施方案86的方法,其中以单一疗法给予ADC.

88. 实施方案86的方法,其中辅助另一种化学治疗剂放射治疗给予ADC.

89. 实施方案86的方法,其中所治疗的癌症是致瘤性癌症.

90. 实施方案89的方法,其中所治疗的癌症是血癌.

91. 实施方案89的方法,其中以单一疗法给予ADC.

92. 实施方案89的方法,其中辅助标准化学疗法和/或放射治疗来给予ADC.

93. 实施方案92的方法,其中与开始标准化学疗法和/或放射治疗同时给予ADC.

94. 实施方案92的方法,其中在开始标准化学疗法和/或放射治疗之前给予ADC.

95. 实施方案91-94的任一项的方法,其中给予使肿瘤细胞对于标准化学疗法和/或放射治疗敏感的有效量的ADC.

96. 使肿瘤对于标准细胞毒素药剂和/或放射疗法敏感的方法,所述方法包括:使肿瘤

与使肿瘤细胞对于标准细胞毒素药剂和/或放射疗法敏感的有效量的、能够结合肿瘤的按照实施方案34-58和77-78的任一项的ADC或其可药用盐接触。

97. 实施方案96的方法,其中所述肿瘤对于标准细胞毒素药剂和/或放射疗法已变得耐受。

98. 实施方案96的方法,其中所述肿瘤预先没有接触过标准细胞毒素药剂和/或放射治疗。

99. 实施方案62的合成子,选自合成子实施例

2.1, 2.2, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 2.10, 2.11, 2.12, 2.13, 2.14, 2.15, 2.16, 2.17, 2.18, 2.19, 2.20, 2.21, 2.22, 2.23, 2.24, 2.25, 2.26, 2.27, 2.28, 2.29, 2.30, 2.31, 2.32, 2.33, 2.34, 2.35, 2.36, 2.37, 2.38, 2.39, 2.40, 2.41, 2.42, 2.43, 2.44, 2.45, 2.46, 2.47, 2.48, 2.49, 2.50, 2.51, 2.52, 2.53, 2.54, 2.55, 2.56, 2.57, 2.58, 2.59, 2.60, 2.61, 2.62, 2.63, 2.64, 2.65, 2.66, 2.67, 2.68, 2.69, 2.77, 2.78, 2.79, 2.80, 2.81, 2.82, 2.83, 2.84, 2.85, 2.86, 2.87, 2.88, 2.89, 2.90, 2.91, 2.92, 2.93, 2.94, 2.95, 2.96, 2.97, 2.98, 2.101, 2.102, 2.103, 2.104, 2.105, 2.106, 2.107, 2.108, 2.109, 2.110, 2.111, 2.112, 2.113, 2.114, 2.115, 2.116, 2.117, 2.118, 2.119, 2.120, 2.121, 2.122, 2.123, 2.124, 2.125, 2.126, 2.127, 2.128, 2.129, 2.130, 2.131, 2.132, 2.133, 2.134, 2.135, 2.136, 2.137, 2.138, 2.139, 2.140, 2.141, 2.142, 2.143, 2.144, 2.145, 2.146, 2.147, 2.148, 2.149, 2.150, 2.151, 2.152, 2.153, 2.154, 2.155, 2.156, 2.157, 2.158, 2.159, 2.160, 2.161, 2.162, 2.163, 2.164, 2.166, 2.167, 2.168, 2.169, 2.170, 2.171, 2.172,

2.173, 2.174, 2.175, 2.176, 和其可药用盐。

100. 实施方案34的ADC,或其可药用盐,其中药物选自:

W2.01, W2.02, W2.03, W2.04, W2.05, W2.06, W2.07,

W2.08, W2.09, W2.10, W2.11, W2.12, W2.13, W2.14, W2.15, W2.16, W2.17, W2.18, W2.19, W2.20, W2.21, W2.22, W2.23, W2.24, W2.25, W2.26, W2.27, W2.28, W2.29, W2.30, W2.31, W2.32, W2.33, W2.34, W2.35, W2.36, W2.37, W2.38, W2.39, W2.40, W2.41, W2.42, W2.43, W2.44, W2.45, W2.46, W2.47, W2.48, W2.49, W2.50, W2.51, W2.52, W2.53, W2.54, W2.55, W2.56, W2.57, W2.58, W2.59, W2.60, W2.61, W2.62, W2.63, W2.64, W2.65, W2.66, W2.67, W2.68, W2.69, W2.70, W2.71, W2.72, W2.73, W2.74, W2.75, W2.76, W2.77, W2.78, W2.79,

W2.80, W2.81, W2.82, W2.83, W2.84, W2.85, W2.86, W2.87, W2.88, W2.89, W2.90, 和 W2.91.

101. 实施方案77的ADC,或其可药用盐,其中合成子选自合成子实施例

2.1, 2.2, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9,

2.10, 2.11, 2.12, 2.13, 2.14, 2.15, 2.16, 2.17, 2.18, 2.19, 2.20, 2.21, 2.22, 2.23, 2.24, 2.25, 2.26, 2.27, 2.28, 2.29, 2.30, 2.31, 2.32, 2.33, 2.34, 2.35, 2.36, 2.37, 2.38, 2.39, 2.40, 2.41, 2.42, 2.43, 2.44, 2.45, 2.46, 2.47, 2.48, 2.49, 2.50, 2.51, 2.52, 2.53, 2.54, 2.55, 2.56, 2.57, 2.58, 2.59, 2.60, 2.61, 2.62, 2.63, 2.64, 2.65, 2.66, 2.67, 2.68, 2.69, 2.77, 2.78, 2.79, 2.80, 2.81, 2.82, 2.83, 2.84, 2.85, 2.86, 2.87, 2.88, 2.89, 2.90, 2.91, 2.92, 2.93, 2.94, 2.95, 2.96, 2.97, 2.98, 2.101, 2.102, 2.103, 2.104, 2.105, 2.106, 2.107, 2.108, 2.109, 2.110, 2.111, 2.112, 2.113, 2.114, 2.115, 2.116, 2.117, 2.118, 2.119, 2.120, 2.121, 2.122, 2.123, 2.124, 2.125, 2.126, 2.127, 2.128, 2.129, 2.130, 2.131, 2.132, 2.133, 2.134, 2.135, 2.136, 2.137, 2.138, 2.139, 2.140, 2.141, 2.142, 2.143, 2.144, 2.145, 2.146, 2.147, 2.148, 2.149, 2.150, 2.151, 2.152, 2.153, 2.154, 2.155, 2.156, 2.157, 2.158, 2.159, 2.160, 2.161, 2.162, 2.163, 2.164, 2.166, 2.167, 2.168, 2.169, 2.170, 2.171, 2.172, 2.173, 2.174, 2.175, 和 2.176。

具体实施方式

[0422] 5. 实施例

实施例1. 合成示范性的Bcl-xL抑制剂

所述实施例提供了示范性的Bcl-xL抑制性化合物W2.01-W2.62.的合成方法。使用ACD/Name (2012年发行) (Build 56084, 2012年4月5日, Advanced Chemistry Development Inc., Toronto, Ontario) 或ACD/Name (2014年发行) (Build 66687, 2013年10月25日, Advanced Chemistry Development Inc., Toronto, Ontario), 将Bcl-xL抑制剂 (W2.01-W2.91) 和合成子 (实施例2.1-2.176) 命名。使用ACD/Name (2012年发行) (Build 56084, 2012年4月5日, Advanced Chemistry Development Inc., Toronto, Ontario)、ACD/Name (2014年发行) (Build 66687, 2013年10月25日, Advanced Chemistry Development Inc., Toronto, Ontario)、ChemDraw® Ver. 9.0.7 (CambridgeSoft, Cambridge, MA)、ChemDraw® Ultra Ver. 12.0 (CambridgeSoft, Cambridge, MA) 或ChemDraw® Professional Ver. 15.0.0.106, 将Bcl-xL抑制剂和合成子中间体命名。

[0423] 1.1. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3-[2-({2-[2-(羧基甲氧基)乙氧基]乙基}氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.01)

1.1.1. 3-溴-5,7-二甲基金刚烷甲酸

在0°C, 向50 mL圆底烧瓶中加入溴(16 mL)。加入铁粉(7 g), 并将该反应在0°C下搅拌30分钟。加入3,5-二甲基金刚烷-1-甲酸(12 g)。将该混合物升温至室温, 并搅拌3天。将冰和浓HCl的混合物倒入该反应混合物中。将得到的悬浮液用Na₂SO₃ (50 g, 在200 mL水中) 处理两次, 并用二氯甲烷提取三次。将合并的有机物用1N HCl水溶液洗涤, 用硫酸钠干燥, 过滤, 并浓缩, 得到标题化合物。

[0424] 1.1.2. 3-溴-5,7-二甲基金刚烷甲醇

向实施例1.1.1(15.4 g)的四氢呋喃(200 mL)溶液中加入BH₃(1M, 在四氢呋喃中, 150 mL), 并将该混合物在室温下搅拌过夜。然后逐滴加入甲醇, 小心地淬灭该反应混合物。然后, 真空浓缩该混合物, 并将残余物在乙酸乙酯(500 mL)和2N HCl水溶液(100 mL)之间平衡。用乙酸乙酯进一步提取水层两次, 并将合并的有机提取物用水和盐水洗涤, 用硫酸钠干燥, 并过滤。蒸发溶剂, 得到标题化合物。

[0425] 1.1.3. 1-((3-溴-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基)-1H-吡唑

向实施例1.1.2(8.0 g)的甲苯(60 mL)溶液中加入1H-吡唑(1.55 g)和氰基亚甲基三丁基正膦(2.0 g),并将该混合物在90°C下搅拌过夜。浓缩该反应混合物,并将残余物用硅胶柱色谱纯化(10:1的庚烷:乙酸乙酯),得到标题化合物。MS (ESI) m/e 324.2 (M+H)⁺。

[0426] 1.1.4. 2-([3,5-二甲基-7-(1H-吡唑-1-基甲基)三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]氧基)乙醇

向实施例1.1.3(4.0 g)的乙烷-1,2-二醇(12 mL)溶液中加入三乙胺(3 mL)。将该混合物在150°C下、在微波条件(Biotage Initiator)下搅拌45分钟。将该混合物倒入水(100 mL)中,并用乙酸乙酯提取三次。用水和盐水洗涤合并的有机提取物,用硫酸钠干燥,并过滤。蒸发溶剂,得到残余物,用硅胶色谱纯化残余物,用20%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,而后用5%的甲醇/二氯甲烷洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 305.2 (M+H)⁺。

[0427] 1.1.5. 2-([3,5-二甲基-7-[(5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]氧基)乙醇

向冷却(-78°C)的实施例1.1.4(6.05 g)的四氢呋喃(100 mL)溶液中加入n-BuLi(40 mL, 2.5M, 在己烷中),并将该混合物在-78°C下搅拌1.5小时。通过注射器加入碘甲烷(10 mL),并将该混合物在-78°C下搅拌3小时。然后,用NH₄Cl水溶液淬灭该反应混合物,用乙酸乙酯提取两次,并将合并的有机提取物用水和盐水洗涤。用硫酸钠干燥之后,过滤该溶液,浓缩,并将残余物用硅胶柱色谱纯化,用5%的甲醇/二氯甲烷洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 319.5 (M+H)⁺。

[0428] 1.1.6. 1-([3,5-二甲基-7-[2-(羟基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基)-4-碘代-5-甲基-1H-吡唑

向实施例1.1.5(3.5 g)的N,N-二甲基甲酰胺(30 mL)溶液中加入N-碘代琥珀酰亚胺(3.2 g),并将该混合物在室温下搅拌1.5小时。用乙酸乙酯(600 mL)稀释该反应混合物,并用NaHSO₃水溶液、水和盐水洗涤。将有机层用硫酸钠干燥,过滤,并减压浓缩。将残余物用硅胶色谱纯化,用20%的乙酸乙酯/二氯甲烷洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 445.3 (M+H)⁺。

[0429] 1.1.7. 1-((3-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-4-碘代-5-甲基-1H-吡唑

在-40°C,将二甲基甲硅烷基三氟甲磺酸叔丁基酯(5.34 mL)加入到实施例1.1.6(8.6 g)和2,6-二甲基吡啶(3.16 mL)的二氯甲烷(125 mL)溶液中,并将该反应升温至室温过夜。浓缩该混合物,用硅胶色谱纯化残余物,用5-20%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 523.4 (M+H)⁺。

[0430] 1.1.8. 1-((3-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡唑

在-78°C,将正丁基锂(8.42 mL, 2.5M, 在己烷中)加入到120 mL四氢呋喃中的实施例1.1.7(9.8 g)中,并将该反应搅拌1分钟。加入硼酸三甲酯(3.92 mL),并将该反应搅拌5分钟。加入频哪醇(6.22 g),将该反应升温至室温,并搅拌2小时。用pH7缓冲剂淬灭该反应,并将该混合物倒入醚中。分离各层,并减压浓缩有机层。用硅胶色谱纯化残余物,用1-25%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,得到标题化合物。

[0431] 1.1.9. 6-氟-3-溴吡啶甲酸

在5°C,用1小时将6-氨基-3-溴吡啶甲酸(25 g)的400 mL二氯甲烷/氯仿(1:1)浆液加入到二氯甲烷(100 mL)中的四氟硼酸亚硝(18.2 g)中。将得到的混合物再搅拌30分钟,然后升温至35°C,并搅拌过夜。将该反应冷却至室温,而后用NaH₂PO₄水溶液调节至pH4。将得到的溶液用二氯甲烷提取三次,用盐水洗涤合并的提取物,用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩,提供标题化合物。

[0432] 1.1.10. 3-溴-6-氟吡啶甲酸叔丁基酯

在0°C,将对甲苯磺酰氯(27.6 g)加入到实施例1.1.9(14.5 g)和吡啶(26.7 mL)的二氯甲烷(100 mL)和叔丁醇(80 mL)溶液中。将该反应搅拌15分钟,而后升温至室温,并搅拌过夜。浓缩该溶液,并在乙酸乙酯和Na₂CO₃水溶液之间分配。分离各层,并用乙酸乙酯提取水层。将有机层合并,用Na₂CO₃水溶液和盐水冲洗,用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩,提供标题化合物。

[0433] 1.1.11. 2-(5-溴-6-(叔丁氧羰基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

向1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯盐酸盐(12.37 g)和实施例1.1.10(15 g)的二甲亚砷(100 mL)溶液中加入N,N-二异丙基乙胺(12 mL),并将该混合物在50°C下搅拌24小时。然后,用乙酸乙酯(500 mL)稀释该混合物,并用水和盐水洗涤。将有机层用硫酸钠干燥,过滤,并减压浓缩。将残余物用硅胶色谱纯化,用20%的乙酸乙酯/己烷洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 448.4 (M+H)⁺。

[0434] 1.1.12. 2-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

将实施例1.1.11(3.08 g)、实施例1.1.8(5 g)、三(二亚苄基丙酮)二钨(0)(126 mg)、1,3,5,7-四甲基-8-十四烷基-2,4,6-三氧杂-8-磷杂金刚烷(170 mg)和K₃PO₄(3.65 g)的混合物在1,4-二噁烷(25 mL)和水(25 mL)中加热至90°C,保持2小时。将该混合物冷却,并倒入1:1的乙醚:乙酸乙酯中。分离各层,并用饱和NaH₂PO₄水溶液、水(2x)和盐水洗涤有机层。将有机层用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。用硅胶色谱纯化残余物,用1-25%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 799.6 (M+H)⁺。

[0435] 1.1.13. 2-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸

将实施例1.1.12(5 g)和氢氧化锂一水合物(0.276 g)在四氢呋喃(50 mL)、甲醇(5 mL)和水(15 mL)的溶剂混合物中、在70°C下一起搅拌2天。将该反应冷却,用1M HCl水溶液酸化,并用乙酸乙酯提取两次。将合并的有机层用盐水洗涤,用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。将残余物溶于二氯甲烷(100 mL)中,在-40°C下冷却,并加入2,6-二甲基吡啶(1.8 mL)和二甲基甲硅烷基三氟甲磺酸叔丁基酯(3.28 g)。将该反应升温至室温,并搅拌2小时。将该混合物用乙醚稀释,并分离各层。浓缩有机层。将残余物溶于四氢呋喃中,并用饱和K₂CO₃水溶液处理1小时。用浓HCl酸化该混合物,并用乙酸乙酯提取两次。将合并的有机层用硫酸钠干燥,过滤,并减压浓缩。用硅胶色谱纯化残余物,用梯度10-100%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,然后

用5%的甲醇/乙酸乙酯洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 785.6 (M+H)⁺。

[0436] 1.1.14. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-羟乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

将实施例1.1.13 (970 mg)、N,N-二异丙基乙胺 (208 mg) 和2-(3H-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1,1,3,3-四甲基异脲六氟磷酸盐 (HATU) (970 mg) 在7 mL N,N-二甲基甲酰胺中、在0℃下搅拌10分钟。加入苯并[d]噻唑-2-胺 (278 mg), 并将该混合物在50℃下搅拌24小时。将该混合物冷却, 并用乙酸乙酯稀释。用水和盐水洗涤有机层, 用硫酸钠干燥, 过滤, 并浓缩。将残余物溶于四氢呋喃 (50 mL) 中, 并加入四丁基氟化胺 (10 mL, 1M, 在四氢呋喃中)。将该反应搅拌1小时, 倒入乙酸乙酯中, 并用pH7缓冲剂和盐水洗涤。将有机层用硫酸钠干燥, 过滤, 并减压浓缩。将残余物用硅胶色谱纯化, 用10-100%的乙酸乙酯/庚烷洗脱, 得到标题化合物。MS (ESI) m/e 803.7 (M+H)⁺。

[0437] 1.1.15. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-氧代乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向环境温度的实施例1.1.14 (100 mg) 的二氯甲烷 (1.3 mL) 溶液中一次性加入Dess-Martin氧化剂 (58.1 mg)。将该反应搅拌0.5小时, 并再加入Dess-Martin氧化剂 (8 mg)。将该反应搅拌1小时, 并加入~10% NaOH水溶液和二氯甲烷来淬灭该反应。分离各层, 并将有机层用~10% NaOH水溶液洗涤。将有机层用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 得到固体, 其不用进一步纯化, 在随后的反应中直接使用。MS (ESI) m/e 801.3 (M+H)⁺。

[0438] 1.1.16. 2-(2-(2-((2-((3-((4-(6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-2-(叔丁氧羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)氨基)乙氧基)乙氧基)乙酸

向环境温度的2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙酸 (22 mg) 和实施例1.1.15 (100 mg) 的甲醇 (1.3 mL) 溶液中加入MP-CNBH₃ (65 mg, 2.49 mmol/g负载)。平缓地摇动该反应过夜, 并通过0.4微米过滤器过滤。用反相HPLC纯化粗品, 使用Gilson系统, 用20-80%的乙腈/水 (含有0.1% v/v三氟乙酸) 洗脱。将目标级分合并, 冷冻干燥, 提供标题化合物。MS (ESI) m/e 948.3 (M+H)⁺。

[0439] 1.1.17. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((2-(2-(羧基甲氧基)乙氧基)乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

向环境温度的实施例1.1.16 (15 mg) 的二氯甲烷 (1 mL) 溶液中加入三氟乙酸 (1 mL)。将该反应搅拌16小时, 而后减压浓缩。用反相HPLC纯化残余物, 使用Gilson系统, 用20-80%的乙腈/水 (含有0.1% v/v三氟乙酸) 洗脱。将目标级分合并, 冷冻干燥, 提供标题化合物。

¹H NMR (400MHz,

二甲亚砜-d₆) δ ppm 12.70 (bs, 2H), 8.29 (s, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.53-7.42 (m, 3H), 7.40-7.32 (m, 2H), 7.29 (s, 1H), 6.96 (d, 1H), 4.96 (bs, 2H), 4.03 (s, 2H), 3.90 (t, 2H), 3.84 (s, 2H), 3.68 (t, 2H), 3.63-3.54 (m, 6H), 3.17-3.04 (m, 4H), 3.00 (t, 2H), 2.10 (s, 3H), 1.45-1.40 (m, 2H), 1.36-1.20 (m, 4H), 1.21-0.96 (m, 7H), 0.91-0.81 (m, 6H). MS (ESI) m/e 892.3 (M+H)⁺。

[0440] 1.2. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.02)

1.2.1. 2-(6-(叔丁氧羰基)-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

向实施例1.1.11(2.25 g)和[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钡(II)(205 mg)的乙腈(30 mL)溶液中加入三乙胺(3 mL)和频哪醇硼烷(2 mL),并将该混合物在回流下搅拌3小时。将该混合物用乙酸乙酯(200 mL)稀释,并用水和盐水洗涤。将有机层用硫酸钠干燥,过滤,并减压浓缩。将残余物用硅胶色谱纯化,用20%的乙酸乙酯/己烷洗脱,提供标题化合物。

[0441] 1.2.2. 2-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-羟乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

向实施例1.2.1(2.25 g)的四氢呋喃(30 mL)和水(10 mL)溶液中加入实施例1.1.6(2.0 g)、1,3,5,7-四甲基-6-苯基-2,4,8-三氧杂-6-磷杂金刚烷(329 mg)、三(二亚苄基丙酮)二钨(0)(206 mg)和磷酸三钾(4.78 g)。将该混合物回流过夜,冷却,并用乙酸乙酯(500 mL)稀释。将得到的混合物用水和盐水洗涤,用硫酸钠干燥有机层,过滤,并浓缩。将残余物用快速色谱纯化,用20%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,而后用5%的甲醇/二氯甲烷洗脱,提供标题化合物。

[0442] 1.2.3. 2-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3,5-二甲基-7-(2-((甲磺酰基)氧基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

在冰浴中,向冷的实施例1.2.2(3.32 g)的二氯甲烷(100 mL)溶液中顺序加入三乙胺(3 mL)和甲磺酰氯(1.1 g)。在室温下,搅拌该反应混合物1.5小时,用乙酸乙酯稀释,并用水和盐水洗涤。用硫酸钠干燥有机层,过滤,并浓缩,提供标题化合物。

[0443] 1.2.4. 2-(5-(1-((3-(2-叠氮基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(叔丁氧羰基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

向实施例1.2.3(16.5 g)的N,N-二甲基甲酰胺(120 mL)溶液中加入叠氮化钠(4.22 g)。将该混合物在80°C下加热3小时,冷却,用乙酸乙酯稀释,并用水和盐水洗涤。将有机层用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。用快速色谱纯化残余物,用20%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,提供标题化合物。

[0444] 1.2.5. 2-(5-(1-((3-(2-叠氮基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(叔丁氧羰基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸

向在四氢呋喃(60 mL)、甲醇(30 mL)和水(30 mL)的混合物中的实施例1.2.4(10 g)的溶液中加入氢氧化锂一水合物(1.2 g)。将该混合物在室温下搅拌过夜,并用2% HCl水溶液中和。将得到的混合物浓缩,将残余物溶于乙酸乙酯(800 mL)中,并用盐水洗涤。用硫酸钠干燥有机层,过滤,并浓缩,提供标题化合物。

[0445] 1.2.6. 3-(1-((3-(2-叠氮基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸叔丁基酯

将实施例1.2.5(10 g)、苯并[d]噻唑-2-胺(3.24 g)、氟-N,N,N',N'-四甲基甲脒

(tetramethylformamidinium) 六氟磷酸盐 (5.69 g) 和N,N-二异丙基乙胺 (5.57 g) 在N,N-二甲基甲酰胺 (20 mL) 中的混合物在60°C下加热3小时, 冷却, 并用乙酸乙酯稀释。将得到的混合物用水和盐水洗涤。将有机层用硫酸钠干燥, 过滤, 并浓缩。用快速色谱纯化残余物, 用20%的乙酸乙酯/二氯甲烷洗脱, 得到标题化合物。

[0446] 1.2.7. 3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向实施例1.2.6 (2.0 g) 的四氢呋喃 (30 mL) 溶液中加入Pd/C (10%, 200 mg)。将该混合物在氢气氛围中搅拌过夜。滤出不溶性物质, 并将滤液浓缩, 提供标题化合物。

[0447] 1.2.8. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-((3,5-二甲基-7-[(2,2,7,7-四甲基-10,10-二氧代-3,3-二苯基-4,9-二氧杂-10 λ^6 -硫杂-13-氮杂-3-硅杂十五烷-15-基)氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸叔丁基酯

向实施例1.2.7 (500 mg) 的N,N-二甲基甲酰胺 (8 mL) 溶液中加入4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基乙烯磺酸酯 (334 mg)。将该反应在室温下搅拌过夜, 并加入甲胺 (0.3 mL), 淬灭该反应。将得到的混合物搅拌20分钟, 并用反向色谱纯化, 使用Analogix系统 (C18柱), 用50-100%的乙腈/水 (包含0.1% v/v三氟乙酸) 洗脱, 提供标题化合物。

[0448] 1.2.9. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

将实施例1.2.8 (200 mg) 在二氯甲烷 (5 mL) 中用三氟乙酸 (2.5 mL) 处理过夜。浓缩该反应混合物, 用反相色谱纯化 (C18柱), 用20-60%的乙腈/水 (包含0.1% v/v三氟乙酸) 洗脱, 提供标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm

12.86 (s, 1H), 8.32 (s, 2H), 8.02 (d, 1H), 7.78 (d, 1H), 7.60 (d, 1H), 7.51 (d, 1H), 7.40-7.49 (m, 2H), 7.31-7.39 (m, 2H), 7.27 (s, 1H), 6.95 (d, 1H), 4.94 (s, 2H), 3.87 (t, 2H), 3.81 (s, 2H), 3.15-3.25 (m, 2H), 3.03-3.13 (m, 2H), 3.00 (t, 2H), 2.79 (t, 2H), 2.09 (s, 3H), 1.39 (s, 2H), 1.22-1.34 (m, 4H), 0.94-1.18 (m, 6H), 0.85 (s, 6H). MS (ESI) m/e 854.1 (M+H)⁺.

[0449] 1.3. 合成2-[[2-[[2-((3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基]氨基]乙基)磺酰基]氨基]-2-脱氧-D-吡喃葡萄糖 (化合物W2.03)

1.3.1. 3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

将实施例1.2.7 (200 mg) 在二氯甲烷 (5 mL) 中用三氟乙酸 (2.5 mL) 处理过夜。浓缩该反应混合物, 用反相色谱纯化残余物 (C18柱), 用20-60%的乙腈/水 (包含0.1% v/v三氟乙酸) 洗脱, 提供标题化合物。MS (ESI) m/e 746.2 (M+H)⁺。

[0450] 1.3.2. (3R,4R,5S,6R)-6-(乙酰氧基甲基)-3-(乙烯基磺酰胺基)四氢-2H-吡喃-

2,4,5-三基三乙酸酯

在0°C,向(3R,4R,5S,6R)-6-(乙酰氧基甲基)-3-氨基四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基三乙酸酯(7.7 g)的二氯甲烷(100 mL)悬浮液中加入2-氯乙磺酰氯(4.34 g)。将该混合物在0°C下搅拌15分钟,并加入三乙胺(12.1 mL)。将该混合物在0°C下搅拌1小时,升温至室温,并搅拌2天。将该混合物用二氯甲烷稀释,并用水和盐水洗涤。用硫酸钠干燥有机层,过滤,并浓缩,提供标题化合物。

[0451] N-((3R,4R,5S,6R)-2,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-3-基)乙烯磺酰胺

向实施例1.3.2(6.74 g)的甲醇(150 mL)溶液中加入三乙胺(10 mL)。将该混合物搅拌4天,并浓缩。将残余物溶于甲醇中,并用Dowex HCR-5处理,直到溶液变成中性为止。过滤该混合物,并将滤液浓缩。色谱纯化残余物,使用Sephadex LH-20柱(100 g),用甲醇洗脱,提供标题化合物。

[0452] 1.3.3. 2-[[2-[[2-((3-[[4-{{6-[[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基]乙基]磺酰基]氨基]-2-脱氧-D-吡喃葡萄糖

将实施例1.3.1(23.5 mg)、实施例1.3.3(42.4 mg)和N,N-二异丙基乙胺(55 μ l)在N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)和水(0.3 mL)中的混合物搅拌5天。用反相色谱纯化该混合物(C18柱),用20-60%的乙腈/水(包含0.1% v/v三氟乙酸)洗脱,提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.85 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.55-7.66 (m, 1H), 7.46-7.54 (m, 2H), 7.42-7.47 (m, 1H), 7.33-7.40 (m, 2H), 7.29 (s, 1H), 6.96 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 3.89 (t, 2H), 3.83 (s, 2H), 2.97-3.14 (m, 6H), 2.10 (s, 3H), 1.44 (s, 2H), 1.22-1.39 (m, 4H), 0.97-1.20 (m, 6H), 0.87 (s, 6H). MS (ESI) m/e 1015.3 (M+H)⁺.

[0453] 该段落特意留白。

[0454] 1.4. 合成(1xi)-1,5-脱水-1-[4-((2-((3-[[4-{{6-[[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基)甲基)苄基]-D-葡萄糖醇(化合物W2.05)

1.4.1. [4-((3S,4R,5R,6R)-3,4,5-三-甲氧基甲氧基-6-甲氧基甲氧基甲基-四氢-吡喃-2-基甲基)-苄基]-甲醇

按照J. R. Walker等人的Bioorg. Med. Chem. 2006,14,3038-3048,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 478 (M+NH₄)⁺。

[0455] 1.4.2. 4-((3S,4R,5R,6R)-3,4,5-三-甲氧基甲氧基-6-甲氧基甲氧基甲基-四氢-吡喃-2-基甲基)-苯甲醛

将实施例1.5.1(1.000 g)溶于二氯甲烷(25 mL)中,并加入Dess-Martin氧化剂(1.013 g)。将该溶液在室温下搅拌16小时。将该溶液用乙醚(25 mL)稀释,并加入2M碳酸钠水溶液(25 mL)。用乙醚提取该混合物三次。将有机提取物合并,用盐水洗涤,并用无水硫酸钠干燥。过滤后,减压浓缩该溶液,用硅胶色谱纯化,用50-70%的乙酸乙酯/庚烷洗脱。减压蒸发溶剂,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 476 (M+NH₄)⁺。

[0456] 1.4.3. 乙酸(2R,3R,4R,5S)-3,4,5-三乙酰氧基-6-(4-甲酰基-苄基)-四氢-吡喃-2-基甲基酯

将实施例1.5.2 (660 mg) 溶于甲醇 (145 mL) 中。加入6M盐酸 (8 mL), 并将该溶液在室温下搅拌两天。减压除去溶剂, 并与乙酸乙酯共沸三次。将该物质真空干燥四天。将该物质溶于N,N-二甲基甲酰胺 (50 mL) 中。依次加入乙酸酐 (12 mL)、吡啶 (6 mL) 和N,N-二甲基吡啶-4-胺 (10 mg), 并将该溶液在室温下搅拌16小时。将该溶液用水 (150 mL) 稀释, 并用乙酸乙酯 (50 mL) 提取三次。将有机物合并, 用水洗涤, 用盐水洗涤, 并用无水硫酸钠干燥。过滤后, 减压浓缩该溶液, 用硅胶色谱纯化, 用40-50%的乙酸乙酯/庚烷洗脱。减压蒸发溶剂, 提供标题化合物。

[0457] 1.4.4. (2R,3R,4R,5S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-(4-(((2-((3-((4-(6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-2-(叔丁氧羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)氨基)甲基)苄基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

将实施例1.2.7 (40 mg) 和实施例1.5.3 (22.5 mg) 在二氯甲烷 (1 mL) 中、在室温下搅拌10分钟。加入三乙酰氧基硼氢化钠 (14 mg), 并将溶液在室温下搅拌16小时。将物质用硅胶色谱纯化, 用10%的甲醇/二氯甲烷洗脱。减压蒸发溶剂, 提供标题化合物。MS (ESI) m/e 1236 (M+H)⁺。

[0458] 1.4.5. (1xi)-1,5-脱水-1-[4-({2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基)氨基)甲基)苄基]-D-葡萄糖醇

将实施例1.5.4 (68 mg) 溶于甲醇 (0.5 mL) 中。加入氢氧化锂水溶液 (2M, 1 mL), 并将该溶液在室温下搅拌4.5小时。加入乙酸 (0.1 mL), 并真空除去溶剂。然后, 将该物质溶于三氟乙酸 (2 mL) 中, 并在室温下搅拌16小时。真空浓缩该溶液。用反相HPLC纯化残余物, 使用具有150 x 30 mm C18柱的Gilson PLC 2020, 用20-70%的乙腈/水 (含有0.1% v/v三氟乙酸) 洗脱。将目标级分合并, 冷冻干燥, 提供标题化合物。

¹H NMR (400MHz, 二甲亚砜-d₆) δ ppm 12.86 (bs, 1H), 8.68 (bs, 2H), 8.04 (d, 1H), 7.80 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.51-7.43 (m, 3H), 7.39-7.24 (m, 6H), 6.96 (d, 1H), 5.23 (t, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.56 (d, 1H), 4.42 (dd, 1H), 4.11 (m, 2H), 3.89 (t, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.61-3.56 (m, 3H), 3.39 (dd, 1H), 3.22 (t, 1H), 3.15 (t, 1H), 3.09 (d, 1H), 3.01 (m, 6H), 2.89 (t, 1H), 2.60 (m, 1H), 2.10 (s, 3H), 1.43 (s, 2H), 1.30 (q, 4H), 1.14 (m, 4H), 1.03 (q, 2H), 0.86 (s, 6H). MS (ESI) m/e 1012 (M+H)⁺.

[0459] 1.5. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[3,5-二甲基-7-{2-[3-磺丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基}吡啶-2-甲酸 (化合物W2.06)

1.5.1. 3-((2-((3-((4-(6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-2-(叔丁氧羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)氨基)丙烷-1-磺酸

将实施例1.2.7 (100 mg)、1,2-氧硫杂环戊烷2,2-二氧化物 (13 mg) 和N,N-二异丙基乙胺 (19.07 μl) 的混合物在N,N-二甲基甲酰胺 (2 mL) 中加热至50°C过夜。冷却该反应, 用反相HPLC纯化 (C18柱), 用20-60%的乙腈/水 (包含0.1% v/v三氟乙酸) 洗脱, 提供标题化合物。MS (ESI) m/e 924.1 (M+H)⁺。

[0460] 1.5.2. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-磺丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

将实施例1.6.1 (40 mg) 在二氯甲烷 (2.5 mL) 中用三氟乙酸 (2.5 mL) 处理过夜。浓缩该反应混合物,用反相色谱纯化残余物 (C18柱),用20-60%的乙腈/水 (包含0.1% v/v三氟乙酸) 洗脱,提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm

12.86 (s, 1H), 8.52 (s, 2H), 8.04 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.41-7.55 (m, 3H), 7.32-7.39 (m, 2H), 7.29 (s, 1H), 6.96 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 3.89 (t, 2H), 3.49-3.58 (m, 2H), 2.94-3.12 (m, 6H), 2.56-2.64 (m, 2H), 1.88-1.99 (m, 2H), 1.41 (s, 2H), 1.22-1.36 (m, 4H), 0.96-1.20 (m, 6H), 0.86 (s, 6H).

MS (ESI) m/e 868.3 (M+H)⁺.

[0461] 1.6. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(2,3-二羟基丙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸 (化合物W2.07)

向实施例1.2.7 (30 mg) 的二氯甲烷 (3 mL) 溶液中加入2,3-二羟基丙醛 (3.6 mg) 和 NaCNBH₃/树脂 (200 mg)。将该混合物搅拌过夜,过滤,并蒸发溶剂。将残余物溶于二甲亚砜/甲醇 (1:1, 3 mL) 中,用反相HPLC纯化,使用Gilson系统,用10-85%乙腈/水 (包含0.1%三氟乙酸) 洗脱,得到标题化合物。

¹H NMR (400 MHz,

二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.85 (s, 1H), 8.27 (s, 2H), 8.03 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.61 (t, 1H), 7.33-7.54 (m, 6H), 7.29 (s, 1H), 6.96 (d, 1H), 4.96 (s, 3H), 3.72-3.89 (m, 8H), 3.25-3.64 (m, 6H), 2.99-3.10 (m, 4H), 2.11 (s, 3H), 1.00-1.52 (m, 8H), 0.86 (s, 6H). MS (ESI) m/e 820.3 (M+H)⁺.

[0462] 1.7. 合成2-({[4-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基]乙基)氨基]甲基)苯基)磺酰基)氨基)-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖 (化合物W2.08)

1.7.1. (2R,3S,4S,5R,6S)-6-(乙酰氧基甲基)-3-(4-甲酰基苯基磺酰胺基)四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基三乙酸酯

将4-甲酰基苯-1-磺酰氯 (100 mg) 和 (2S,3R,4R,5S,6R)-6-(乙酰氧基甲基)-3-氨基四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基三乙酸酯盐酸盐 (563 mg) 加入到1,2-二氯乙烷 (4 mL) 中。加入N,N-二异丙基乙胺 (0.51 mL),并将该溶液在55°C下加热三天。减压浓缩该溶液,用硅胶快速柱色谱纯化,用70%的乙酸乙酯/庚烷洗脱。减压蒸发溶剂,并将该物质溶于丙酮 (4 mL) 中。加入盐酸 (1M, 4 mL),并将该溶液在室温下搅拌16小时。然后,将该溶液用70%的乙酸乙酯/庚烷 (20 mL) 提取。将有机层用盐水洗涤,并用无水硫酸钠干燥。过滤后,减压蒸发溶剂,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 514 (M+H)⁺。

[0463] 1.7.2. (2R,3S,4S,5R,6S)-6-(乙酰氧基甲基)-3-(4-(((2-((3-((4-(6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-2-(叔丁氧羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)氨基)甲基)苯基磺酰

胺基)四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基三乙酸酯

在实施例1.5.4中,用实施例1.8.1替代实施例1.5.3,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 1301 (M+H)⁺。

[0464] 1.7.3. 2-([4-([2-([3-[4-[6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基}氨基}甲基)苯基}磺酰基}氨基)-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖

在实施例1.5.5中,用实施例1.8.2替代实施例1.5.4,制备标题化合物。

¹H NMR (400MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.86 (bs, 1H), 8.87 (bs, 2H), 8.04 (d, 1H), 7.91 (d, 2H), 7.79 (d, 1H), 7.70-7.55 (m, 3H), 7.52-7.42 (m, 3H), 7.39-7.33 (m, 2H), 7.29 (m, 1H), 6.96 (d, 1H), 4.96 (bs, 2H), 4.85 (dd, 1H), 4.62-4.52 (m, 2H), 4.32 (m, 2H), 3.89 (t, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.70-3.35 (m, 10H), 3.02 (m, 4H), 2.91 (m, 1H), 2.10 (s, 3H), 1.44 (bs, 2H), 1.37-1.22 (m, 4H), 1.18-0.98 (m, 6H), 0.93-0.82 (m, 6H). MS (ESI) m/e 1075 (M+H)⁺。

[0465] 1.8. 合成8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-2-{6-羧基-5-[1-([3-[2-([2-[1-(β-D-吡喃葡萄糖基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]乙基}氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉(化合物W2.09)

1.8.1. (2R,3R,4S,5S,6S)-2-(4-(2-羟乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

向(2R,3R,4S,5S,6S)-2-叠氮基-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(720 mg)的叔丁醇(8 mL)和水(4 mL)溶液中加入丁-3-炔-1-醇(140 mg)、硫酸铜(II)五水合物(5.0 mg)和抗坏血酸钠(40 mg)。将该混合物在100℃下、在微波条件(Biotage Initiator)下搅拌20分钟。将该反应混合物用乙酸乙酯(300 mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤,蒸发溶剂,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 430.2 (M+H)⁺。

[0466] 1.8.2. (2S,3S,4S,5R,6R)-2-(甲氧羰基)-6-(4-(2-氧代乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

在-78℃,向二甲亚砜(0.5 mL)的二氯甲烷(10 mL)溶液中加入草酰氯(0.2 mL)。在-78℃,将该混合物搅拌20分钟,并通过注射器加入(2R,3R,4S,5S,6S)-2-(4-(2-羟乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(233 mg)的二氯甲烷(10 mL)溶液。20分钟之后,将三乙胺(1 mL)加入到该混合物中,并将该混合物搅拌30分钟,同时使温度升高至室温。将该反应混合物用乙酸乙酯(300 mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到粗品,其不用进一步纯化,在下一个反应中直接使用。MS (ESI) m/e 429.2 (M+H)⁺。

[0467] 1.8.3. 8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-2-{6-羧基-5-[1-([3-[2-([2-[1-(β-D-吡喃葡萄糖基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]乙基}氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉

向实施例1.3.1(150 mg)的二氯甲烷(10 mL)溶液中加入实施例1.9.2(86 mg)和NaBH₃CN/树脂(2.49 mmol/g,200 mg),并将该混合物搅拌过夜。然后,过滤该反应混合物,并浓缩。将残余物溶于四氢呋喃/甲醇/水(2:1:1,12 mL)中,并加入氢氧化锂一水合物(50

mg)。将该混合物搅拌过夜。浓缩该混合物,用反相HPLC纯化残余物,使用Gilson系统,用10-85%的乙腈/含0.1%三氟乙酸的水洗脱,提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.84 (s, 1H), 8.48 (s, 2H), 8.20 (s, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.32-7.53 (m, 5H), 7.29 (s, 1H), 6.96 (d, 1H), 5.66 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.00 (d, 1H), 3.76-3.92 (m, 6H), 3.22-3.26 (m, 2H), 2.96-3.15 (m, 8H), 2.10 (s, 3H), 0.99-1.52 (m, 14H), 0.87 (s, 6H). MS (ESI) m/e 1028.3 (M+H)⁺.

[0468] 1.9. 合成3-[1-({3-[2-(2-{{4-(β-D-阿洛吡喃糖基氧基)苄基}氨基}乙氧基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.10)

1.9.1. 2-(2-((3-((1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙氧基)乙醇

如实施例1.1.4所述,用2,2'-氧基二乙醇替代乙烷-1,2-二醇,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 349.2 (M+H)⁺。

[0469] 1.9.2. 2-(2-((3,5-二甲基-7-((5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)金刚烷-1-基)氧基)乙氧基)乙醇

如实施例1.1.5所述,制备标题化合物,用实施例1.10.1替代实施例1.1.4。MS (ESI) m/e 363.3 (M+H)⁺。

[0470] 1.9.3. 2-(2-((3-((4-碘代-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙氧基)乙醇

如实施例1.1.6所述,制备标题化合物,用实施例1.10.2替代实施例1.1.5。MS (ESI) m/e 489.2 (M+H)⁺。

[0471] 1.9.4. 2-(2-((3-((4-碘代-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙氧基)乙基甲磺酸酯

向冷却的实施例1.10.3(6.16 g)的二氯甲烷(100 mL)溶液中加入三乙胺(4.21 g),而后加入甲磺酰氯(1.6 g),并将该混合物在室温下搅拌1.5小时。然后,用乙酸乙酯(600 mL)稀释该反应混合物,并用水和盐水洗涤。用硫酸钠干燥之后,过滤该溶液,并浓缩,不用进一步纯化残余物,直接在下一个反应中使用。MS (ESI) m/e 567.2 (M+H)⁺。

[0472] 1.9.5. 2-(2-((3-((4-碘代-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙氧基)乙胺

在微波条件(Biotage Initiator)下,将实施例1.10.4(2.5 g)的7N氨/甲醇(15 mL)溶液在100℃下搅拌20分钟。将该反应混合物真空浓缩,用乙酸乙酯(400 mL)稀释残余物,并用NaHCO₃水溶液、水和盐水洗涤。用硫酸钠干燥之后,过滤该溶液,并浓缩,不用进一步纯化残余物,直接在下一个反应中使用。MS (ESI) m/e 488.2 (M+H)⁺。

[0473] 1.9.6. (2-(2-((3-((4-碘代-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙氧基)乙基)氨基甲酸叔丁基酯

向实施例1.10.5(2.2 g)的四氢呋喃(30 mL)溶液中加入二碳酸二叔丁基酯(1.26 g)和4-二甲基氨基吡啶(100 mg)。将该混合物在室温下搅拌1.5小时,并用乙酸乙酯(300 mL)稀释。用饱和NaHCO₃水溶液、水(60 mL)和盐水(60 mL)洗涤该溶液。将有机层用硫酸钠干

干燥,过滤,并浓缩。将残余物用硅胶色谱纯化,用20%的乙酸乙酯/二氯甲烷洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 588.2 (M+H)⁺。

[0474] 1.9.7. 2-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-(2-((叔丁氧羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

如实施例1.2.2所述,制备标题化合物,用实施例1.10.6替代实施例1.1.6。MS (ESI) m/e 828.5 (M+H)⁺。

[0475] 1.9.8. 2-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-(2-((叔丁氧羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸

如实施例1.2.5所述,制备标题化合物,用实施例1.10.7替代实施例1.2.4。MS (ESI) m/e 814.5 (M+H)⁺。

[0476] 1.9.9. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-(2-((叔丁氧羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

如实施例1.2.6所述,制备标题化合物,用实施例1.10.8替代实施例1.2.5。MS (ESI) m/e 946.2 (M+H)⁺。

[0477] 1.9.10. 3-(1-((3-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

如实施例1.1.17所述,制备标题化合物,用实施例1.10.9替代实施例1.1.16。

[0478] 1.9.11. 3-[1-({3-[2-(2-{{4-(β-D-阿洛吡喃糖基氧基)苄基}氨基}乙氧基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基]-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸

向实施例1.10.10 (88 mg) 和三乙胺 (0.04 mL) 的二氯甲烷 (1.5 mL) 溶液中加入4-(((2S,3R,4R,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯甲醛 (27.7 mg)、甲醇 (1 mL)、MP-CNBH₃ (2.49 mmol/g, 117 mg) 和乙酸 (18 μl)。将该反应混合物搅拌过夜。过滤该反应,并浓缩滤液。用反相色谱纯化残余物 (C18柱),用20-60%的乙腈/水 (包含0.1% v/v三氟乙酸) 洗脱,提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-

*d*₆) δ ppm 7.99 (d, 1H), 7.77 (d, 1H), 7.60 (d, 1H), 7.40-7.50 (m, 2H), 7.29-7.39 (m, 6H), 6.96 (d, 2H), 6.76 (d, 1H), 5.11 (d, 2H), 4.92 (s, 2H), 3.83-3.96 (m, 4H), 3.77 (s, 2H), 3.60-3.72 (m, 4H), 3.01 (d, 2H), 2.80 (t, 2H), 2.09 (s, 3H), 0.98-1.32 (m, 14H), 0.82 (s, 6H). MS (ESI) m/e 1058.3 (M+H)⁺。

[0479] 1.10. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{{3,5-二甲基-7-(2-{{2-[(2-磺乙基)氨基}乙氧基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基}吡啶-2-甲酸 (化合物W2.11)

1.10.1. 3-(1-((3-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸叔丁基酯

将实施例1.10.9 (6.8 g) 溶于50%三氟乙酸/二氯甲烷 (10 mL) 中, 搅拌20分钟, 并真空除去溶剂。用反相色谱纯化残余物, 用20-80%的乙腈/水 (包含0.1%三氟乙酸) 洗脱, 提供标题化合物。MS (ESI) m/e 790.2 (M+H)⁺。

[0480] 1.10.2. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-(2-((2-(苯氧基磺酰基)乙基)氨基)乙氧基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

在0°C, 向实施例1.11.1 (200 mg) 和N,N-二异丙基乙胺 (146 μ l) 的四氢呋喃 (3 mL) 溶液中加入乙烯磺酸苯基酯 (46 mg)。将该反应混合物在0°C下搅拌30分钟, 逐渐地升温至室温, 搅拌过夜, 并浓缩, 提供标题化合物。

[0481] 1.10.3. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-(2-((2-(苯氧基磺酰基)乙基)氨基)乙氧基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

将实施例1.11.2 (100 mg) 的二氯甲烷 (5 mL) 溶液用三氟乙酸 (2.5 mL) 处理过夜, 并浓缩, 提供标题化合物。MS (APCI) m/e 974.9 (M+H)⁺。

[0482] 1.10.4. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{{[3,5-二甲基-7-(2-{{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸

向实施例1.11.3 (195 mg) 的四氢呋喃 (3 mL) 和甲醇 (2 mL) 溶液中慢慢地加入1M氢氧化钠水溶液 (2 mL)。将该混合物搅拌过夜, 并加入NaOH颗粒 (0.5 g)。将得到的混合物在40°C下加热3小时, 冷却, 并浓缩。用反相色谱 (C18柱) 纯化浓缩物, 用10-70%的乙腈/10 mM NH₄OAc水溶液洗脱, 提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 8.04 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.41-7.51 (m, 3H), 7.32-7.39 (m, 2H), 7.29 (s, 1H), 6.88 (d, 1H), 4.93 (s, 2H), 3.89 (t, 2H), 3.81 (s, 2H), 3.60-3.66 (m, 4H), 3.13-3.19 (m, 2H), 3.05-3.10 (m, 2H), 3.01 (t, 2H), 2.79 (t, 2H), 2.11 (s, 3H), 1.34 (s, 2H), 1.26 (s, 4H), 0.96-1.22 (m, 6H), 0.85 (s, 6H). MS (ESI) m/e 898.2 (M+H)⁺。

[0483] 1.11. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-膦酰乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸 (化合物W2.12)

1.11.1. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-(2-(二乙氧基磷酰基)乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向实施例1.2.7 (307 mg) 的四氢呋喃 (5 mL) 溶液中加入水 (2 mL) 中的乙烯基膦酸二乙基酯 (176 mg)。将该反应混合物在70°C下搅拌3天, 并加入几滴乙酸。用反相色谱纯化该混合物 (C18柱), 用10-70%的乙腈/水 (包含0.1% v/v三氟乙酸) 洗脱, 提供标题化合物。MS (APCI) m/e 966.8 (M+H)⁺。

[0484] 1.11.2. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-膦酰乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

向实施例1.12.1 (170 mg) 的二氯甲烷 (2.5 mL) 溶液中加入溴三甲硅烷 (82 μ l) 和烯丙

基三甲硅烷 (50.4 μ l)。将该反应混合物搅拌过夜,并加入水 (0.02 mL)。将得到的混合物搅拌过夜,并浓缩。用反相色谱纯化残余物 (C18柱),用20-60%的乙腈/水 (包含0.1%三氟乙酸) 洗脱,提供标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 8.35 (s, 2H), 8.03 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.41-7.53 (m, 3H), 7.33-7.40 (m, 2H), 7.29 (s, 1H), 6.96 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 3.89 (t, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.09 (s, 4H), 3.01 (t, 2H), 2.10 (s, 3H), 1.85-2.00 (m, 2H), 1.43 (s, 2H), 1.19-1.37 (m, 4H), 1.14 (s, 6H), 0.87 (s, 6H). MS (APCI) m/e 854.4 (M+H) $^+$.

[0485] 1.12. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(3-磺基-L-丙氨酰)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.13)

1.12.1. 2-({3-[(4-碘代-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基甲磺酸酯

向冷却的实施例1.1.6 (6.16 g)的二氯甲烷 (100 mL) 溶液中加入三乙胺 (4.21 g),而后加入甲磺酰氯 (1.6 g),并将该混合物在室温下搅拌1.5小时。用乙酸乙酯 (600 mL) 稀释该反应混合物,并用水和盐水洗涤。用硫酸钠干燥之后,过滤该溶液,并浓缩,不用进一步纯化残余物,直接在下一个反应中使用。MS (ESI) m/e 523.4 (M+H) $^+$ 。

[0486] 1.12.2. 1-({3,5-二甲基-7-[2-(甲基氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-4-碘代-5-甲基-1H-吡唑

在微波条件 (Biotage Initiator) 下,将实施例1.13.1 (2.5 g) 的2M甲胺/甲醇 (15 mL) 溶液在100 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌20分钟。将该反应混合物真空浓缩,用乙酸乙酯 (400 mL) 稀释残余物,并用NaHCO₃水溶液、水和盐水洗涤。用硫酸钠干燥之后,过滤该溶液,并浓缩,不用进一步纯化残余物,直接在下一个反应中使用。MS (ESI) m/e 458.4 (M+H) $^+$ 。

[0487] 1.12.3. [2-({3-[(4-碘代-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]甲基氨基甲酸叔丁基酯

向实施例1.13.2 (2.2 g) 的四氢呋喃 (30 mL) 溶液中加入二碳酸二叔丁基酯 (1.26 g) 和催化数量的4-二甲基氨基吡啶。将该混合物在室温下搅拌1.5小时,并用乙酸乙酯 (300 mL) 稀释。用饱和NaHCO₃水溶液、水 (60 mL) 和盐水 (60 mL) 洗涤该溶液。将有机层用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。将残余物用硅胶色谱纯化,用20%的乙酸乙酯/二氯甲烷洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 558.5 (M+H) $^+$ 。

[0488] 1.12.4. 2-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

向实施例1.2.1 (4.94 g) 的四氢呋喃 (60 mL) 和水 (20 mL) 溶液中加入实施例1.13.3 (5.57 g)、1,3,5,7-四甲基-8-十四烷基-2,4,6-三氧杂-8-磷杂金刚烷 (412 mg)、三(二亚苄基丙酮)二钨 (0) (457 mg) 和K₃PO₄ (11 g),并将该混合物在回流下搅拌24小时。将该反应混合物冷却,用乙酸乙酯 (500 mL) 稀释,并用水和盐水洗涤。将有机层用硫酸钠干燥,过滤,并减压浓缩。将残余物用硅胶色谱纯化,用20%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 799.1 (M+H) $^+$ 。

[0489] 1.12.5. 2-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸

向实施例1.13.4(10 g)的四氢呋喃(60 mL)、甲醇(30 mL)和水(30 mL)溶液中加入氢氧化钾一水合物(1.2 g),并将该混合物在室温下搅拌24小时。用2% HCl水溶液中和该反应混合物,并真空浓缩。将残余物用乙酸乙酯(800mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤,蒸发溶剂,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 785.1 (M+H)⁺。

[0490] 1.12.6. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-[(3-{2-[(叔丁氧羰基)(甲基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基}吡啶-2-甲酸叔丁基酯

向实施例1.13.5(10 g)的N,N-二甲基甲酰胺(20 mL)溶液中加入苯并[d]噻唑-2-胺(3.24 g)、氟-N,N,N',N'-四甲基甲脒(tetramethylformamidinium)六氟磷酸盐(5.69 g)和N,N-二异丙基乙胺(5.57 g),并将该混合物在60°C下搅拌3小时。将该反应混合物用乙酸乙酯(800mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,硅胶纯化残余物,用20%的乙酸乙酯/二氯甲烷洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 915.5 (M+H)⁺。

[0491] 1.12.7. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-((3,5-二甲基-7-[2-(甲基氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基]吡啶-2-甲酸

向实施例1.13.6(5 mg)的二氯甲烷(20 mL)溶液中加入三氟乙酸(10 mL),并将该混合物搅拌过夜。真空蒸发溶剂,并将残余物溶于二甲亚砜/甲醇(1:1,10 mL)中。用反相色谱纯化混合物,使用Analogix系统和C18柱(300 g),并用10-85%的乙腈和0.1%三氟乙酸/水洗脱,得到标题化合物。

[0492] 1.12.8. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(3-磺基-L-丙氨酰)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基]吡啶-2-甲酸

在室温下,将(R)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-磺基丙酸(0.020 g)、N,N-二异丙基乙胺(0.045 mL)和O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸盐(HATU,0.020 g)的溶液在N,N-二甲基甲酰胺(0.75 mL)中一起搅拌。搅拌30分钟之后,加入实施例1.13.7(0.039 g),并将该反应再搅拌1小时。将二乙胺(0.027 mL)加入到该反应中,并继续搅拌3小时。用水(0.75 mL)和N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)稀释该反应,用三氟乙酸(0.039 mL)中和,用反相HPLC纯化,使用Gilson系统,用20-80%的乙腈/水(包含0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜 -d₆) δ ppm 12.89 (s, 1H), 8.11-8.02 (m, 4H), 7.84 (d, 1H), 7.66 (d, 1H), 7.60-7.45 (m, 3H), 7.45-7.36 (m, 2H), 7.34 (d, 1H), 7.00 (dd, 1H), 5.00 (s, 2H), 4.57-4.40 (m, 1H), 3.93 (t, 2H), 3.90-3.84 (m, 2H), 3.58-3.43 (m, 2H), 3.41-3.21 (m, 2H), 3.18-3.02 (m, 3H), 2.95-2.85 (m, 2H), 2.76 (td, 2H), 2.14 (d, 3H), 1.51-0.85 (m, 18H). MS (ESI) m/e 911.2 (M+H)⁺。

[0493] 1.13. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.14)

1.13.1. (3-羟丙基)磷酸二叔丁基酯

将NaH(60%,在矿物油中,400 mg)加入到N,N-二甲基甲酰胺(30 mL)中的磷酸二叔丁基酯(1.93 g)中,并将该反应在室温下搅拌30分钟。加入(3-溴丙氧基)(叔丁基)二甲基硅烷(2.1 g),并将该反应搅拌过夜。将该混合物用乙醚(300 mL)稀释,并将该溶液用水和盐水洗涤三次,然后用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。将残余物溶于20 mL四氢呋喃中,并加入四丁基氟化胺(TBAF,1M,在四氢呋喃中,9 mL)。将该溶液搅拌20分钟,而后加入pH7缓冲剂(50 mL)。将该混合物吸收在乙醚中,分离,并将有机层用盐水洗涤,而后浓缩。硅胶色谱分离粗品,使用10-100%的乙酸乙酯/庚烷,而后使用5%甲醇/乙酸乙酯,提供标题化合物。

[0494] 1.13.2. (3-氧代丙基)磷酸二叔丁基酯

将实施例1.14.1(200 mg)和Dess-Martin氧化剂(370 mg)在二氯甲烷(5 mL)中搅拌2小时。将该混合物吸收在乙酸乙酯中,并用1M NaOH水溶液和盐水洗涤两次,而后浓缩。硅胶色谱分离粗品,使用50-100%的乙酸乙酯/庚烷,而后使用10%甲醇/乙酸乙酯,提供标题化合物。

[0495] 1.13.3. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((3-(二乙氧基磷酰基)丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

如实施例1.10.11所述,用实施例1.2.7和实施例1.14.2分别替代实施例1.10.10和4-(((2S,3R,4R,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯甲醛,制备标题化合物。MS(APCI)m/e 980.9(M+H)⁺。

[0496] 1.13.4. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[3,5-二甲基-7-{2-[(3-磷酰丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

如实施例1.12.2所述,用实施例1.14.3替代实施例1.12.1,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 8.37 (s, 2H), 8.03 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.42-7.53 (m, 3H), 7.33-7.40 (m, 2H), 7.29 (s, 1H), 6.96 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 3.86-3.93 (m, 2H), 3.52-3.59 (m, 2H), 2.93-3.06 (m, 6H), 2.10 (s, 3H), 1.71-1.89 (m, 2H), 1.53-1.65 (m, 2H), 1.43 (s, 2H), 1.23-1.37 (m, 4H), 0.96-1.19 (m, 6H), 0.87 (s, 6H). MS (APCI) m/e 868.3 (M+H)⁺.

[0497] 1.14. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[3,5-二甲基-7-{2-[(3-磺基-L-丙氨酰)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.15)

将(R)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-磺基丙酸(0.050 g)和O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐(0.049 g)溶于N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)中,并加入N,N-二异丙基乙胺(0.102 mL)。搅拌15分钟之后,加入实施例1.3.1(0.100 g),并将该反应再搅拌3小时。将二乙胺(0.061 mL)加入到该反应中,并继续搅拌过夜。将该反应用2,2,2-三氟乙酸(0.090 mL)中和,并用N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)和水(1 mL)稀释。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用20-80%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 12.86 (s, 1H), 8.63 (t, 1H), 8.15-8.01 (m, 4H), 7.79 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.56-7.41 (m, 3H), 7.40-7.33 (m, 2H), 7.30 (s, 1H), 6.96 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.08-3.97 (m, 1H), 3.89 (t, 2H), 3.82 (s, 2H), 3.42-3.31 (m, 2H), 3.28-3.17 (m, 1H), 3.16-3.06 (m, 1H), 3.01 (t, 2H), 2.97 (dd, 1H), 2.76 (dd, 1H), 2.10 (s, 3H), 1.39 (s, 2H), 1.32-1.20 (m, 4H), 1.19-1.07 (m, 4H), 1.07-0.95 (m, 2H), 0.85 (s, 6H). MS (ESI) m/e 897.2 (M+H) $^+$.

[0498] 1.15. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-([3,5-二甲基-7-(2-{2-[(3-膦酰丙基)氨基]乙氧基}乙氧基)三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸(化合物W2.16)

1.15.1. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-(2-((3-(二叔丁氧基磷酰基)丙基)氨基)乙氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

将实施例1.10.10 (338 mg) 和实施例1.14.2 (120 mg) 溶于乙醇 (20 mL) 中, 并将该溶液浓缩。将残余物再次吸收在乙醇 (20 mL) 中, 并浓缩。然后, 将残余物溶于二氯甲烷 (10 mL) 中, 向其中加入三乙酰氧基硼氢化钠 (119 mg), 并将该反应搅拌过夜。将该粗品混合物硅胶色谱分离, 使用在95:5的乙酸乙酯/甲醇中的1%的三乙胺, 提供标题化合物。MS (ESI) 1080.3 (M+H) $^+$ 。

[0499] 1.15.2. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-([3,5-二甲基-7-(2-{2-[(3-膦酰丙基)氨基]乙氧基}乙氧基)三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸

将实施例1.16.1 (22 mg) 在二氯甲烷 (3 mL) 和三氟乙酸 (3 mL) 中搅拌2天。浓缩该混合物, 在Biotage Isolera One系统上, 通过反相色谱分离, 使用40 g C18柱, 用在0.1%三氟乙酸/水中的10-90%的乙腈洗脱, 提供标题化合物的三氟乙酸盐。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 8.62 (bs, 1H), 8.10 (d, 1H), 7.86 (d, 1H), 7.68 (d, 1H), 7.57 (d, 1H), 7.54 (dd, 1H), 7.50 (d, 1H), 7.42 (m, 2H), 7.35 (s, 1H), 7.02 (d, 1H), 5.02 (s, 2H), 3.94 (m, 2H), 3.97 (m, 2H), 3.68 (m, 2H), 3.55 (m, 2H), 3.15 (m, 1H), 3.09 (m, 4H), 2.55 (m, 4H), 2.15 (s, 3H), 1.86 (m, 1H), 1.66 (m, 2H), 1.45 (m, 2H), 1.31 (m, 4H), 1.19 (m, 4H), 1.08 (m, 2H), 0.90 (s, 6H). MS (ESI) 912.2 (M+H) $^+$.

[0500] 1.16. 合成3-{1-[(3-{2-[L- α -天冬氨酰基(甲基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.17)

1.16.1. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(2S)-4-叔丁氧基-2-[(叔丁氧羰基)氨基]-4-氧代丁酰基} (甲基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸

将实施例1.13.7 (0.060 g)、(S)-4-叔丁基1-(2,5-二氧代吡咯烷-1-基)2-((叔丁氧羰基)氨基)琥珀酸酯 (0.034 g) 和N,N-二异丙基乙胺在二氯甲烷 (1 mL) 中一起搅拌。搅拌过夜之后, 将反应物加载到硅胶上, 使用梯度0.5-5%的甲醇/二氯甲烷洗脱, 得到标题化合物。

[0501] 1.16.2. 3-{1-[(3-{2-[L- α -天冬氨酰基(甲基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环

[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基]-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸

将实施例1.17.1(0.049 g)的二氯甲烷(1 mL)溶液用三氟乙酸(0.5 mL)处理,并将该反应搅拌过夜。浓缩该反应,溶于N,N-二甲基甲酰胺(2 mL)和水(0.5 mL)中,然后用反相HPLC纯化,使用Gilson系统,用20-80%的乙腈/水(含有0.1%v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.85 (s, 1H), 8.15 (d, 3H), 8.03 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.55-7.41 (m, 3H), 7.36 (td, 2H), 7.29 (d, 1H), 6.95 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.55 (s, 1H), 3.92-3.86 (m, 2H), 3.60-3.47 (m, 2H), 3.47-3.37 (m, 2H), 3.32-3.21 (m, 1H), 3.09-2.97 (m, 4H), 2.92-2.72 (m, 3H), 2.67-2.53 (m, 1H), 2.10 (s, 3H), 1.46-0.94 (m, 12H), 0.85 (s, 6H).
MS (ESI) m/e 875.2 (M+H)⁺.

[0502] 1.17. 合成6-{4-[(2-[2-(2-氨基乙氧基)乙氧基]乙基)[2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]氧基)乙基]氨基)甲基]苄基}-2,6-脱水-L-古洛糖酸(化合物W2.18)

1.17.1. (2S,3S,4R,5S)-3,4,5-三乙酰氧基-6-(4-溴甲基-苄基)-四氢-吡喃-2-甲酸甲基酯

如J. R. Walker等人的Bioorg. Med. Chem. 2006,14,3038-3048所述,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 518, 520 (M+NH₄)⁺。

[0503] 1.17.2. (2S,3S,4R,5S)-3,4,5-三乙酰氧基-6-(4-甲酰基-苄基)-四氢-吡喃-2-甲酸甲基酯

将实施例1.18.1(75 mg)和吡啶N-氧化物(14 mg)加入到乙腈(0.75 mL)中。将氧化银(I)(24 mg)加入到该溶液中,并将该溶液在室温下搅拌16小时。加入无水硫酸钠(5 mg),并将该溶液搅拌五分钟。过滤该溶液,并浓缩。用硅胶快速柱色谱纯化粗品,用50-70%的乙酸乙酯/庚烷洗脱。减压蒸发溶剂,提供标题化合物。

[0504] 1.17.3. (3R,4S,5R,6R)-2-(4-(((2-((3-((4-(6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-2-(叔丁氧羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)氨基)甲基)苄基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

在实施例1.5.4中,用实施例1.18.2替代实施例1.5.3,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 1222 (M+H)⁺。

[0505] 1.17.4. {2-[2-(2-氧代-乙氧基)-乙氧基]-乙基}-氨基甲酸叔丁基酯

在实施例1.5.2中,用{2-[2-(2-羟基-乙氧基)-乙氧基]-乙基}-氨基甲酸叔丁基酯替代实施例1.5.1,制备标题化合物。

[0506] 1.17.5. (3R,4S,5R,6R)-2-(4-(2-(2-((3-((4-(6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-2-(叔丁氧羰基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)-14,14-二甲基-12-氧代-5,8,13-三氧杂-2,11-二氮杂十五烷基)苄基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

在实施例1.5.4中,用实施例1.18.3替代实施例1.2.7,用实施例1.18.4替代实施例

1.5.3, 制备标题化合物。MS (ESI) m/e 1453 (M+H)⁺。

[0507] 1.17.6. 6-{4-[(2-[(2-氨基乙氧基)乙氧基]乙基)[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基)甲基]苄基}-2,6-脱水-L-古洛糖酸

在实施例1.5.5中, 用实施例1.18.5替代实施例1.5.4, 制备标题化合物。

¹H NMR (400MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 9.38 (bs, 1H), 8.05 (dd, 1H), 7.90-7.68 (m, 6H), 7.62 (m, 2H), 7.53-7.27 (m, 8H), 6.94 (d, 1H), 4.96 (bs, 1H), 4.38 (bs, 4H), 3.91-3.57 (m, 11H), 3.37-3.11 (m, 14H), 2.98 (m, 6H), 2.61 (m, 1H), 2.10 (s, 3H), 1.44 (bs, 2H), 1.26 (m, 4H), 1.18-0.90 (m, 6H), 0.87 (bs, 6H). MS (ESI) m/e 1157 (M+H)⁺。

[0508] 1.18. 合成4-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-甲酸吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基)甲基]苯基吡喃己糖醛酸(化合物W2.19)

1.18.1. (2R,3S,4R,5R,6R)-2-(4-甲酰基苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

向(2R,3R,4S,5S,6S)-2-溴-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(2.42 g)的乙腈(30 mL)溶液中加入氧化银(I)(1.4 g)和4-羟基苯甲醛(620 mg)。将该反应混合物搅拌4小时, 并过滤。浓缩滤液, 用硅胶色谱纯化残余物, 用5-50%的乙酸乙酯/庚烷洗脱, 提供标题化合物。MS (ESI) m/e 439.2 (M+H)⁺。

[0509] 1.18.2. 4-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基)甲基]苯基吡喃己糖醛酸

向实施例1.2.7(36 mg)的四氢吡喃(2 mL)和乙酸(0.2 mL)溶液中加入实施例1.19.1(21 mg), 而后加入MgSO₄(60 mg)。将该混合物搅拌1小时, 而后加入NaBH₃CN/树脂(153 mg)。然后, 将该混合物搅拌3小时。过滤该混合物, 并将氢氧化锂一水合物(20 mg)加入到滤液中。将该混合物搅拌2小时, 用三氟乙酸酸化, 并用反相HPLC(Gilson系统)纯化, 用10-85%的乙腈/水中的0.1%三氟乙酸洗脱, 得到标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.86 (s, 1H), 8.57-8.72 (m, 2H), 8.03 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.34-7.53 (m, 6H), 7.08 (t, 2H), 6.95 (d, 1H), 5.10 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.06-4.15 (m, 4H), 3.83-3.97 (m, 6H), 3.26-3.42 (m, 8H), 2.93-3.10 (m, 6H), 2.10 (s, 3H), 1.43 (s, 2H), 1.24-1.38 (m, 6H), 0.97-1.16 (m, 4H), 0.86 (s, 6H). MS (ESI) m/e 1028.3 (M+H)⁺。

[0510] 1.19. 合成6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-膦酰乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.20)

1.19.1. 2-((3,5-二甲基-7-((5-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡啶-1-基)甲基)金刚烷-1-基)氧基)乙醇

向实施例1.1.6(9 g)和[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钡(II)二氯化甲烷(827 mg)的乙腈(60 mL)溶液中加入三乙胺(10 mL)和频哪醇硼烷(6 mL)。将该混合物在回流下搅拌

过夜,冷却,在下一步中直接使用。MS (ESI) m/e 445.4 (M+H)⁺。

[0511] 1.19.2. 6-氯-3-(1-((3-(2-羟乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向3-溴-6-氯吡啶甲酸叔丁基酯(5.92 g)的四氢呋喃(60 mL)和水(30 mL)溶液中加入粗品实施例1.20.1(4.44 g)、1,3,5,7-四甲基-6-苯基-2,4,8-三氧杂-6-磷杂金刚烷(1.5 g)、三(二亚苄基丙酮)二钨(0)(927 mg)和K₃PO₄(22 g)。将该混合物在回流下搅拌过夜,冷却,用乙酸乙酯(800 mL)稀释,并用水和盐水洗涤。将有机层用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。将残余物用快速色谱纯化,用20%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,而后用5%的甲醇/二氯甲烷洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 531.1 (M+H)⁺。

[0512] 1.19.3. 3-(1-((3-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-氯吡啶甲酸叔丁基酯

向实施例1.20.2(3.2 g)的N,N-二甲基甲酰胺(20 mL)溶液中加入咪唑(0.62 g)和氯叔丁基二甲基硅烷(1.37 g)。将该混合物搅拌过夜,用乙酸乙酯(300 mL)稀释,并用水和盐水洗涤。将有机层用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。用快速色谱纯化残余物,用20%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 645.4 (M+H)⁺。

[0513] 1.19.4. 3-(1-((3-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向7-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1,2,3,4-四氢喹啉(507 mg)的1,4-二噁烷(10 mL)和水(5 mL)溶液中加入实施例1.20.3(1.25 g)、双(三苯基膦)二氯化钨(II)(136 mg)和氟化铯(884 mg)。将该混合物在120°C下、在微波合成器(Biotage, Initiator)中加热20分钟。用乙酸乙酯(500 mL)稀释该混合物,并用水和盐水洗涤。用硫酸钠干燥有机层,过滤,浓缩,用快速色谱纯化,用20%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,而后用5%的甲醇/二氯甲烷洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 741.5 (M+H)⁺。

[0514] 1.19.5. 6-(1-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)-3-(1-(3-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向双(2,5-二氧代吡咯烷-1-基)碳酸酯(295 mg)的乙腈(10 mL)悬浮液中加入苯并[d]噻唑-2-胺(173 mg),并将该混合物搅拌1小时。加入实施例1.20.4(710 mg)的乙腈(10 mL)溶液,并将该悬浮液搅拌过夜。将该混合物用乙酸乙酯(300 mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤后,浓缩有机层,用硅胶色谱纯化,用20%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 917.2 (M+H)⁺。

[0515] 1.19.6. 6-(1-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)-3-(1-((3-(2-羟乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向实施例1.20.5(1.4g)的四氢呋喃(10 mL)溶液中加入四丁基氟化铵(1.0M,在四氢呋喃中,6 mL)。将该混合物搅拌3小时,用乙酸乙酯(300 mL)稀释,并用水和盐水洗涤。用硫酸钠干燥有机层,过滤,并浓缩,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 803.4 (M+H)⁺。

[0516] 1.19.7. 6-(1-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)-3-

(1-((3,5-二甲基-7-(2-((甲磺酰基)氧基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向冷却(0℃)的实施例1.20.6(1.2 g)的二氯甲烷(20 mL)和三乙胺(2 mL)溶液中加入甲磺酰氯(300 mg)。将该混合物搅拌4小时,用乙酸乙酯(200 mL)稀释,并用水和盐水洗涤。用硫酸钠干燥有机层,过滤,并浓缩,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 881.3 (M+H)⁺。

[0517] 1.19.8. 3-(1-((3-(2-叠氮基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(1-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向实施例1.20.7(1.5 g)的N,N-二甲基甲酰胺(20 mL)溶液中加入叠氮化钠(331 mg)。将该混合物搅拌48小时,用乙酸乙酯(20.0 mL)稀释,并用水和盐水洗涤。用硫酸钠干燥有机层,过滤,浓缩,用硅胶色谱纯化,用20%的乙酸乙酯/二氯甲烷洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 828.4 (M+H)⁺。

[0518] 1.19.9. 3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(1-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向实施例1.20.8(1.5 g)的四氢呋喃(30 mL)溶液中加入Pd/C(10%,200 mg)。将该混合物在氢气氛围中搅拌过夜。过滤该反应,并将滤液浓缩,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 802.4 (M+H)⁺。

[0519] 1.19.10. 6-(1-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)-3-(1-((3-(2-((2-(二乙氧基磷酰基)乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

如实施例1.12.1所述,用实施例1.20.9替代实施例1.2.7,制备标题化合物。

[0520] 1.19.11. 6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-膦酰乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基}吡啶-2-甲酸

如实施例1.12.2所述,用实施例1.20.10替代实施例1.12.1,制备标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 8.40 (s, 2H), 8.02

(d, 1H), 7.74-7.89 (m, 3H), 7.47 (s, 2H), 7.38 (t, 1H), 7.30 (d, 1H), 7.23 (t, 1H), 3.96 (s, 2H), 3.90 (s, 2H), 3.53-3.64 (m, 2H), 3.03-3.18 (m, 2H), 2.84 (t, 2H), 2.23 (s, 3H), 1.87-2.02 (m, 4H), 1.46 (s, 2H), 1.26-1.38 (m, 4H), 1.12-1.23 (m, 4H), 0.99-1.11 (m, 2H), 0.89 (s, 6H). MS (ESI) m/e 854.1 (M+H)⁺。

[0521] 1.20. 合成6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(3-磺基-L-丙氨酰)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.21)

1.20.1. (2-((3,5-二甲基-7-((5-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡啶-1-基)甲基)金刚烷-1-基)氧基)乙基)(甲基)氨基甲酸叔丁基酯

向实施例1.13.3(1.2 g)的1,4-二噁烷溶液中加入双(苄腈)氯化钡(II)(0.04 g)、4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷(0.937 mL)和三乙胺(0.9 mL)。将该混合物在回流下加热过夜,用乙酸乙酯稀释,并用水(60 mL)和盐水(60 mL)洗涤。用硫酸钠干燥有机层,过滤,并浓缩,提供标题化合物。

[0522] 1.20.2. 3-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-氯吡啶甲酸叔丁基酯

如实施例1.1.12所述,分别用3-溴-6-氯吡啶甲酸叔丁基酯和实施例1.21.1替代实施例1.1.11和实施例1.1.8,制备标题化合物。MS (APCI) m/e 643.9 (M+H)⁺。

[0523] 1.20.3. 3-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)吡啶甲酸叔丁基酯

将实施例1.21.2 (480 mg)、7-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1,2,3,4-四氢喹啉 (387 mg)、二氯双(三苯基膦)-钯(II) (78 mg) 和氟化铯 (340 mg) 的混合物在1,4-二噁烷 (12 mL) 和水 (5 mL) 中、在100°C下加热5小时。冷却该反应,并用乙酸乙酯稀释。将得到的混合物用水和盐水洗涤,用硫酸钠干燥有机层,过滤,并浓缩。用快速色谱纯化残余物,用50%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,提供标题化合物。MS (APCI) m/e 740.4 (M+H)⁺。

[0524] 1.20.4. 6-(1-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)-3-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向苯并[d]噻唑-2-胺 (114 mg) 的乙腈 (5 mL) 溶液中加入双(2,5-二氧代吡咯烷-1-基)碳酸酯 (194 mg)。将该混合物搅拌1小时,并加入乙腈 (5 mL) 中的实施例1.21.3 (432 mg)。将该混合物搅拌过夜,用乙酸乙酯稀释,并用水和盐水洗涤。将有机层用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。用硅胶色谱纯化残余物,用50%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,提供标题化合物。

[0525] 1.20.5. 6-(1-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-(甲基氨基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

将实施例1.2.4 (200 mg) 在二氯甲烷 (5 mL) 中用三氟乙酸 (2.5 mL) 处理过夜。浓缩该混合物,提供标题化合物。

¹H NMR (400

MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 8.40 (s, 1H), 8.30 (s, 2H), 8.02 (d, 1H), 7.85 (d, 1H), 7.74-7.83 (m, 2H), 7.42-7.53 (m, 2H), 7.38 (t, 1H), 7.30 (d, 1H), 7.23 (t, 1H), 3.93-4.05 (m, 2H), 3.52-3.62 (m, 2H), 2.97-3.10 (m, 2H), 2.84 (t, 2H), 2.56 (t, 2H), 2.23 (s, 3H), 1.88-2.00 (m, 2H), 1.45 (s, 2H), 1.25-1.39 (m, 4H), 1.12-1.22 (m, 4H), 1.00-1.09 (m, 2H), 0.89 (s, 6H). MS (ESI) m/e 760.1 (M+H)⁺。

[0526] 1.20.6. 6-(1-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)-3-(1-((3-(2-((R)-2-((叔丁氧羰基)氨基)-N-甲基-3-磺基丙酰胺基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

将(R)-2-((叔丁氧羰基)氨基)-3-磺基丙酸 (70.9 mg) 和0-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐 (HATU, 65 mg) 在N,N-二甲基甲酰胺 (1.5 mL) 中、在冰浴中冷却,并加入N,N-二异丙基乙胺 (68.9 μl)。将该混合物在0°C下搅拌15分钟,在室温下搅拌8小时。加入N,N-二甲基甲酰胺 (1 mL) 中的实施例1.21.5 (100 mg) 和N,N-二异丙基乙胺 (60 μl)。将得到的混合物搅拌过夜,浓缩,用反相色谱纯化 (C18柱),用20-60%的乙腈/水(包含0.1%三氟乙酸)洗脱,提供标题化合物。

[0527] 1.20.7. 6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-3-{1-[3,5-二甲基-7-{2-[甲基(3-磺基-L-丙氨酰)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-

基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

将实施例1.21.6 (80 mg) 在二氯甲烷 (3 mL) 中用三氟乙酸 (1.5 mL) 处理20分钟。浓缩该反应混合物,用反相色谱纯化 (C18柱),用0-50%的乙腈/4 mM乙酸铵水溶液洗脱,提供标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 8.57 (s, 1H), 7.59-7.67 (m, 3H), 7.54 (d, 1H), 7.46-7.51 (m, 1H), 7.30 (d, 1H), 7.08-7.17 (m, 2H), 6.90 (t, 1H), 3.91-4.10 (m, 3H), 3.84 (s, 2H), 3.04 (s, 2H), 2.75-2.83 (m, 4H), 2.59-2.70 (m, 2H), 2.27-2.39 (m, 2H), 2.26 (s, 3H), 1.81-1.93 (m, 2H), 1.74 (s, 9H), 1.42 (s, 2H), 0.96-1.33 (m, 10H), 0.86 (s, 3H).
MS (ESI) m/e 909.2 (M-H)⁺.

[0528] 1.21. 合成3-[1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基]-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.22)

1.21.1. 3-(1-((3-(2-叠氮基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸叔丁基酯

将实施例1.2.5 (560 mg) 和噻唑并[5,4-b]吡啶-2-胺 (135 mg) 溶于二氯甲烷 (12 mL) 中。加入N,N-二甲基吡啶-4-胺 (165 mg) 和N-乙基-N'-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐 (260 mg),并将该反应在室温下搅拌过夜。浓缩该反应混合物,用硅胶色谱纯化粗品残余物,用65/35的二氯甲烷/乙酸乙酯洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 829.1 (M+H)⁺。

[0529] 1.21.2. 3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸叔丁基酯

在实施例1.2.7中,用实施例1.22.1替代实施例1.2.6,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 803.2 (M+H)⁺。

[0530] 1.21.3. 3-[1-((3,5-二甲基-7-[(2,2,7,7-四甲基-10,10-二氧代-3,3-二苯基-4,9-二氧杂-10 λ^6 -硫杂-13-氮杂-3-硅杂十五烷-15-基)氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸叔丁基酯

向实施例1.22.2 (70 mg) 和4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基乙烯磺酸酯 (48 mg) 的二氯甲烷 (1 mL) 溶液中加入N,N-二异丙基乙胺 (0.06 mL),并将该反应在室温下搅拌过夜。浓缩该反应,用硅胶色谱纯化粗品残余物,用梯度1-4%的甲醇/二氯甲烷洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 1249.2 (M+H)⁺。

[0531] 1.21.4. 2-((2-((3-((4-(2-(叔丁氧羰基)-6-(8-(噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)氨基)乙磺酸

向实施例1.22.3 (70 mg) 的四氢呋喃 (0.25 mL) 溶液中加入四丁基氟化铵 (60 μ L, 1.0M 溶液,在四氢呋喃中),并将该反应在室温下搅拌两天。浓缩该反应,用反相色谱纯化残余物 (C18柱),用10-90%的乙腈/水 (包含0.1%三氟乙酸) 洗脱,提供标题化合物的三氟乙酸盐。MS (ESI) m/e 911.1 (M+H)⁺。

[0532] 1.21.5. 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸

在实施例1.2.9中,用实施例1.22.4替代实施例1.2.8,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 13.00 (s, 1H), 8.52 (dd, 2H), 8.33 (br s, 2H), 8.16 (dd, 1H), 7.62 (m, 1H), 7.53 (m, 2H), 7.45 (d, 1H), 7.38 (m, 1H), 7.29 (s, 1H), 6.98 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 3.88 (m, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.54 (m, 2H), 3.22 (m, 2H), 3.10 (m, 2H), 3.02 (t, 2H), 2.80 (t, 2H), 2.11 (s, 3H), 1.41 (s, 2H), 1.28 (m, 4H), 1.14 (m, 4H), 1.02 (m, 2H), 0.86 (s, 6H).
MS (ESI) m/e 855.2 (M+H)⁺.

[0533] 1.22. 合成3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.23)

1.22.1. 3-(1-((3-(2-叠氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸叔丁基酯

在实施例1.22.1中,用噻唑并[4,5-b]吡啶-2-胺替代噻唑并[5,4-b]吡啶-2-胺,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 855.2 (M+H)⁺。

[0534] 1.22.2. 3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸叔丁基酯

在实施例1.2.7中,用实施例1.23.1替代实施例1.2.6,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 803.2 (M+H)⁺。

[0535] 1.22.3. 3-[1-({3,5-二甲基-7-[(2,2,7,7-四甲基-10,10-二氧代-3,3-二苯基-4,9-二氧杂-10λ⁶-硫杂-13-氮杂-3-硅杂十五烷-15-基)氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸叔丁基酯

在实施例1.22.3中,用实施例1.23.2替代实施例1.22.2,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 1249.2 (M+H)⁺。

[0536] 1.22.4. 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸

在实施例1.2.9中,用实施例1.23.3替代实施例1.2.8,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 13.20 (br s, 1H), 8.61 (dd, 1H), 8.56 (dd, 1H), 8.33 (br s, 2H), 7.56 (d, 1H), 7.52 (d, 1H), 7.46 (d, 1H), 7.39 (m, 2H), 7.29 (s, 1H), 6.98 (d, 1H), 4.98 (s, 2H), 3.88 (m, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.54 (m, 2H), 3.22 (m, 2H), 3.10 (m, 2H), 3.02 (t, 2H), 2.80 (t, 2H), 2.10 (s, 3H), 1.41 (s, 2H), 1.30 (m, 4H), 1.12 (m, 4H), 1.02 (m, 2H), 0.86 (s, 6H).
MS (ESI) m/e 855.1 (M+H)⁺.

[0537] 1.23. 合成6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-

甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.24)

1.23.1. 如实施例1.2.8所述,用实施例1.20.9替代实施例1.2.7,制备标题化合物。

[0538] 1.23.2. 6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

如实施例1.2.9所述,用实施例1.24.1替代实施例1.2.8,制备标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 8.26-8.46 (m, 3H), 8.02 (d, 1H), 7.89 (d, 1H), 7.82 (d, 1H), 7.75-7.79 (m, 1H), 7.47 (s, 2H), 7.37 (t, 1H), 7.30 (d, 1H), 7.22 (t, 1H), 3.96 (s, 2H), 3.90 (s, 2H), 3.54-3.61 (m, 2H), 3.18-3.29 (m, 2H), 3.07-3.15 (m, 2H), 2.78-2.92 (m, 4H), 2.23 (s, 3H), 1.87-2.02 (m, 2H), 1.44 (s, 2H), 1.32 (q, 4H), 1.12-1.25 (m, 4H), 1.00-1.11 (m, 2H), 0.88 (s, 6H). MS (ESI) m/e 854.0 (M+H)⁺.

[0539] 1.24. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

1.24.1. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((3-(叔丁氧基)-3-氧代丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

如实施例1.12.1所述,用丙烯酸叔丁基酯替代乙烯基膦酸二乙基酯,制备标题化合物。MS (APCI) m/e 930.6 (M+H)⁺。

[0540] 1.24.2. 66-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

如实施例1.6.2所述,用实施例1.25.1替代实施例1.6.1,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 8.03 (d, 1H), 7.78 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.39-7.50 (m, 2H), 7.32-7.38 (m, 3H), 7.23 (s, 1H), 6.73 (d, 1H), 4.88 (s, 2H), 3.88 (t, 2H), 3.79 (s, 2H), 2.99 (t, 2H), 2.86-2.93 (m, 2H), 2.50-2.58 (m, 2H), 2.08 (s, 3H), 1.35 (d, 2H), 1.01-1.30 (m, 10H), 0.86 (s, 6H). MS (APCI) m/e 819.0 (M+H)⁺.

[0541] 1.25. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰丙基)(哌啶-4-基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.26)

1.25.1. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-(((1r,3r)-3-(2-((1-(叔丁氧羰基)哌啶-4-基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

将实施例1.2.7 (0.020 g)、4-氧代哌啶-1-甲酸叔丁基酯 (4.79 mg) 和三乙酰氧基硼氢化钠 (7 mg) 的二氯甲烷 (0.5 mL) 溶液在室温下搅拌。搅拌该反应过夜,不用处理,用硅胶色谱纯化,用0至10%的甲醇/二氯甲烷洗脱,得到标题化合物。MS (ELSD) m/e 985.4 (M+H)⁺。

[0542] 1.25.2. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰丙基)(哌啶-4-基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

1-基]甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

将实施例1.26.1 (0.108 g)、实施例1.14.2 (0.030 g) 和三乙酰氧基硼氢化钠 (0.035 g) 的二氯甲烷 (1 mL) 溶液在室温下搅拌1小时。将三氟乙酸 (1 mL) 加入到该反应中,并继续搅拌过夜。浓缩该反应,溶于N,N-二甲基甲酰胺 (2 mL) 和水 (0.5 mL) 中,并用反相HPLC纯化,使用Gilson系统,用10-75%的乙腈/水 (含有0.1% v/v三氟乙酸) 洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 8.83 (s, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.04 (d, 2H), 7.80 (d, 2H), 7.63 (d, 2H), 7.56-7.42 (m, 5H), 7.37 (tt, 3H), 7.30 (s, 1H), 6.96 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 3.89 (t, 2H), 3.44 (d, 6H), 3.31-3.16 (m, 6H), 3.09-2.98 (m, 2H), 2.98-2.85 (m, 1H), 2.18 (d, 2H), 2.10 (s, 3H), 2.00-1.74 (m, 4H), 1.71-1.57 (m, 2H), 1.51-0.97 (m, 12H), 0.87 (s, 6H).
MS (ESI) m/e 951.2 (M+H) $^+$.

[0543] 1.26. 合成3-{1-[(3-{2-[D- α -天冬氨酰基(甲基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1 3,7]癸-1-基]甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基]-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.27)

1.26.1. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-(甲基氨基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

如实施例1.11.1所述,制备标题化合物,用实施例1.13.6替代实施例1.10.9。

[0544] 1.26.2. 3-{1-[(3-{2-[D- α -天冬氨酰基(甲基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1 3,7]癸-1-基]甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基]-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸

将实施例1.27.1 (0.074 g)、2-(3H-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1,1,3,3-四甲基异脲六氟磷酸盐(V) (0.038 g)、N,N-二异丙基乙胺 (0.048 mL) 和(R)-4-(叔丁氧基)-2-((叔丁氧羰基)氨基)-4-氧代丁酸 (0.029 g) 的二氯甲烷 (1 mL) 溶液搅拌2小时。加入三氟乙酸 (0.5 mL),并继续搅拌过夜。浓缩该反应,溶于N,N-二甲基甲酰胺 (1.5 mL) 和水 (0.5 mL) 中,并用反相HPLC纯化,使用Gilson系统,用10-75%的乙腈/水 (包含0.1% v/v三氟乙酸) 洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 12.88 (s, 1H), 8.16 (s, 3H), 8.04 (d, 1H), 7.80 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.55-7.42 (m, 3H), 7.41-7.33 (m, 2H), 7.33-7.27 (m, 1H), 6.96 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.63-4.49 (m, 1H), 3.89 (t, 2H), 3.82 (s, 2H), 3.61-3.37 (m, 4H), 3.10-2.97 (m, 4H), 2.89-2.73 (m, 2H), 2.67-2.52 (m, 1H), 2.10 (s, 3H), 1.45-0.95 (m, 12H), 0.85 (s, 6H). MS (ESI) m/e 875.3 (M+H) $^+$.

[0545] 1.27. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-[[3-(2-[[1-(羧甲基)哌啶-4-基]氨基]乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1 3,7]癸-1-基]甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.28)

将实施例1.2.7 (0.055 g)、2-(4-氧代哌啶-1-基)乙酸叔丁基酯 (0.014 g) 和三乙酰氧基硼氢化钠 (0.019 g) 的二氯甲烷 (0.5 mL) 溶液在室温下搅拌。搅拌2小时之后,将三氟乙酸 (0.5 mL) 加入到该反应中,并继续搅拌过夜。浓缩该反应,溶于N,N-二甲基甲酰胺 (1.5

mL) 和水 (0.5 mL) 中,并用反相HPLC纯化,使用Gilson系统,用10-80%的乙腈/水(包含0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

¹H NMR (501 MHz,

二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.85 (s, 1H), 8.80 (s, 2H), 8.03 (d, 1H), 7.80 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.55-7.41 (m, 3H), 7.36 (q, 2H), 7.29 (s, 1H), 6.96 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.07 (s, 2H), 3.89 (t, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.66-3.55 (m, 4H), 3.30 (s, 1H), 3.08 (s, 4H), 3.02 (t, 2H), 2.22 (d, 2H), 2.10 (s, 3H), 1.97-1.78 (m, 2H), 1.44 (s, 2H), 1.31 (q, 4H), 1.20-0.96 (m, 6H), 0.87 (s, 6H). MS (ESI) m/e 887.3 (M+H)⁺.

[0546] 1.28. 合成N-[(5S)-5-氨基-6-{{2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基}(甲基)氨基}-6-氧代己基]-N,N-二甲基甲铵(化合物W2.29)

将Fmoc-N-ε-(三甲基)-L-赖氨酸盐酸盐(0.032 g)、2-(3H-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1,1,3,3-四甲基异脲六氟磷酸盐(V)(0.028 g)和N,N-二异丙基乙胺(0.034 mL)的N,N-二甲基甲酰胺(0.5 mL)溶液搅拌5分钟。将反应物加入到实施例1.13.7(0.050 g)中,并在室温下继续搅拌过夜。将二乙胺(0.069 mL)加入到该反应中,并继续搅拌2小时。用N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)、水(0.5 mL)和三氟乙酸(0.101 mL)稀释该反应。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-90%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.87 (s, 1H), 8.13 (s, 3H), 8.04 (d, 1H), 7.80 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.54-7.42 (m, 3H), 7.42-7.34 (m, 2H), 7.29 (s, 1H), 6.96 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.42-4.24 (m, 1H), 3.89 (t, 2H), 3.82 (s, 2H), 3.29-3.16 (m, 2H), 3.08-3.00 (m, 15H), 2.87 (s, 2H), 2.10 (s, 3H), 1.84-1.60 (m, 4H), 1.42-0.97 (m, 15H), 0.85 (s, 6H). MS (ESI) m/e 930.3 (M+H)⁺.

[0547] 1.29. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[哌啶-4-基(2-磺乙基)氨基]乙氧基)三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.30)

1.29.1. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-({13-[1-(叔丁氧羰基)哌啶-4-基]-2,2,7,7-四甲基-10,10-二氧化-3,3-二苯基-4,9-二氧杂-10λ⁶-硫杂-13-氮杂-3-硅杂十五烷-15-基)氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸叔丁基酯

将实施例1.2.8(0.111 g)、4-氧代哌啶-1-甲酸叔丁基酯(0.021 g)和三乙酰氧基硼氢化钠(0.028 g)的二氯甲烷(1 mL)溶液在室温下搅拌1小时。加入乙酸(7.63μL),并继续搅拌过夜。将4-氧代哌啶-1-甲酸叔丁基酯(0.021 g)、三乙酰氧基硼氢化钠(0.028 g)和乙酸(8μl)再加入到该反应中,并继续搅拌4小时。将反应物直接加载到硅胶上,用梯度0.5-4%的甲醇/二氯甲烷洗脱,得到标题化合物。

[0548] 1.29.2. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[哌啶-4-基(2-磺乙基)氨基]乙氧基)三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

向实施例1.30.1 (0.078 g)的二氯甲烷(1 mL)溶液中加入三氟乙酸(0.5 mL),并将该反应在室温下搅拌过夜。浓缩该反应,并溶于N,N-二甲基甲酰胺(1.5 mL)和水(0.5 mL)中。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-75%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜 -d₆) δ ppm

12.89 (s, 1H), 9.31 (s, 1H), 8.75 (d, 1H), 8.36-8.19 (m, 1H), 8.08 (d, 1H), 7.84 (d, 1H), 7.66 (d, 1H), 7.58 (d, 1H), 7.55-7.45 (m, 2H), 7.40 (td, 2H), 7.34 (s, 1H), 6.99 (d, 1H), 5.00 (s, 2H), 3.93 (t, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.49 (d, 6H), 3.39-3.31 (m, 2H), 3.01 (m, 6H), 2.15 (s, 6H), 1.94 (s, 2H), 1.58-0.99 (m, 12H), 0.91 (s, 6H). MS (ESI) m/e 937.3 (M+H)⁺.

[0549] 1.30. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(3-膦酰基丙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[2-(甲基氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.31)

1.30.1. 8-溴-5-羟基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-甲酸叔丁基酯

向5-羟基-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-甲酸叔丁基酯(9 g)的N,N-二甲基甲酰胺(150 mL)溶液中加入N-溴代琥珀酰亚胺(6.43 g)。将该混合物搅拌过夜,并用水(200mL)淬灭。将该混合物用乙酸乙酯(500 mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。蒸发溶剂,得到标题化合物,其不用进一步纯化,在下一个反应中直接使用。MS (ESI) m/e 329.2 (M+H)⁺。

[0550] 1.30.2. 5-(苄氧基)-8-溴-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-甲酸叔丁基酯

向实施例1.31.1(11.8 g)的丙酮(200 mL)溶液中加入苄基溴(7.42 g)和K₂CO₃(5 g),并将该混合物在回流下搅拌过夜。浓缩该混合物,并将残余物在乙酸乙酯(600 mL)和水(200 mL)之间分配。用水和盐水洗涤有机层,用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。用硅胶色谱纯化残余物,用10%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 418.1 (M+H)⁺。

[0551] 1.30.3. 2-叔丁基8-甲基5-(苄氧基)-3,4-二氢异喹啉-2,8(1H)-二甲酸酯

在500 mL不锈钢压力反应器中,将甲醇(100 mL)和三乙胺(9.15 mL)加入到实施例1.31.2(10.8 g)和[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钨(II)(0.48 g)中。将容器用氩气吹扫若干次。将反应器用一氧化碳加压,并在100°C下、在60 psi一氧化碳条件下搅拌2小时。冷却后,真空浓缩该粗品反应混合物。将残余物加入到乙酸乙酯(500 mL)和水(200 mL)中。用水和盐水进一步洗涤有机层,用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。用硅胶色谱纯化残余物,用10-20%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 398.1 (M+H)⁺。

[0552] 1.30.4. 5-(苄氧基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯盐酸盐

向实施例1.31.3(3.78 g)的四氢呋喃(20 mL)溶液中加入4N HCl/1,4-二噁烷(20 mL),并将该混合物搅拌过夜。真空浓缩该混合物,得到标题化合物,其不用进一步纯化,在下一个反应中直接使用。MS (ESI) m/e 298.1 (M+H)⁺。

[0553] 1.30.5. 5-(苄氧基)-2-(5-溴-6-(叔丁氧羰基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

向实施例1.31.4(3.03 g)的二甲亚砜(50 mL)溶液中加入实施例1.1.10(2.52 g)和三乙胺(3.8 mL),并将该混合物在60°C下、在氮气氛围中搅拌过夜。用乙酸乙酯(500 mL)稀释该反应混合物,用水和盐水洗涤,用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。将残余物用硅胶色谱纯化,用20%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 553.1 (M+H)⁺。

[0554] 1.30.6. 2-((3,5-二甲基-7-((5-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡啶-1-基)甲基)金刚烷-1-基)氧基)乙基)(甲基)氨基甲酸叔丁基酯

向实施例1.13.3(2.6 g)和[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钡(II)二氯甲烷(190 mg)的乙腈(30 mL)溶液中加入三乙胺(2.0 mL)和频哪醇硼烷(1.4 mL),并将该混合物在回流下搅拌过夜。该混合物不用后处理,在下一个反应中直接使用。MS (ESI) m/e 558.4 (M+H)⁺。

[0555] 1.30.7. 5-(苄氧基)-2-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

向实施例1.31.5(2.58 g)的四氢呋喃(40 mL)和水(20 mL)溶液中加入实施例1.31.6(2.66 g)、1,3,5,7-四甲基-6-苯基-2,4,8-三氧杂-6-磷杂金刚烷(341 mg)、三(二亚苄基丙酮)二钨(0)(214 mg)和K₃PO₄(4.95 g),并将该混合物在回流下搅拌4小时。用乙酸乙酯(500 mL)稀释该混合物,用水和盐水洗涤,用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。将残余物用硅胶色谱纯化,用20%的乙酸乙酯/二氯甲烷洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 904.5 (M+H)⁺。

[0556] 1.30.8. 2-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶-2-基)-5-羟基-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

在250 mL不锈钢耐压瓶中,将实施例1.31.7(3.0 g)/四氢呋喃(60 mL)加入到Pd(OH)₂(0.6 g, Degussa #E101NE/W, 20%, 在碳上, 49%水含量)中。在30 psi氢气氛围中,在50°C,将该混合物摇动16小时。通过尼龙膜过滤该混合物,并真空蒸发溶剂,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 815.1 (M+H)⁺。

[0557] 1.30.9. 2-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶-2-基)-5-(3-(二叔丁氧基磷酰基)丙氧基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

向实施例1.31.8(163 mg)的四氢呋喃(10 mL)溶液中加入实施例1.14.1(50.5 mg)、三苯基膦(52.5 mg)和偶氮二甲酸二叔丁基酯(46.2 mg),并将该混合物搅拌3小时。用乙酸乙酯(200 mL)稀释该混合物,用水和盐水洗涤,用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。将残余物用硅胶色谱纯化,用20%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,而后用5%的甲醇/二氯甲烷洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 1049.2 (M+H)⁺。

[0558] 1.30.10. 2-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶-2-基)-5-(3-(二叔丁氧基磷酰基)丙氧基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸

向实施例1.31.9(3 g)的四氢呋喃(20 mL)、甲醇(10 mL)和水(10 mL)溶液中加入氢氧化锂一水合物(30 mg),并将该混合物在室温下搅拌24小时。用2% HCl水溶液中和该反应混合物,并真空浓缩。用乙酸乙酯(800 mL)稀释残余物,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤,蒸发溶剂,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 1034.5 (M+H)⁺。

[0559] 1.30.11. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(3-膦酰基丙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[2-(甲基氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基]吡啶-2-甲酸

向实施例1.31.10 (207 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(4 mL)溶液中加入苯并[d]噻唑-2-胺(45.1mg, 0.3 mmol)、氟-N,N,N',N'-四甲基甲脒(tetramethylformamidinium)六氟磷酸盐(79 mg)和N,N-二异丙基乙胺(150 mg),并将该混合物在60°C下搅拌3小时。用乙酸乙酯(200 mL)稀释该反应混合物,用水和盐水洗涤,用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。将残余物用硅胶色谱纯化,用20%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,而后用5%的甲醇/二氯甲烷洗脱。浓缩之后,将该物质溶于二氯甲烷和三氟乙酸(1:1, 6 mL)的混合物中,并在室温下静置过夜。蒸发溶剂,并将残余物溶于二甲亚砜/甲醇(1:1, 9 mL)中。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-85%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (501 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 8.27 (s, 2H), 8.02 (d, 1H), 7.76 (dd, 2H), 7.43-7.56 (m, 2H), 7.32-7.37 (m, 1H), 7.29 (s, 1H), 7.00 (dd, 2H), 5.02 (s, 2H), 4.15 (t, 2H), 3.88-3.93 (m, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.50-3.59 (m, 4H), 2.95-3.08 (m, 2H), 2.78-2.87 (m, 2H), 2.51-2.55 (m, 3H), 2.11 (s, 3H), 1.90-2.01 (m, 2H), 1.65-1.75 (m, 2H), 1.41 (s, 2H), 1.22-1.36 (m, 6H), 0.98-1.18 (m, 6H), 0.87 (s, 6H).
MS (ESI) m/e 898.2 (M+H) $^+$.

[0560] 1.31. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[N-(2-羧乙基)-L- α -天冬氨酸基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1 3,7]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸(化合物W2.32)

1.31.1. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((S)-4-(叔丁氧基)-2-((叔丁氧羰基)氨基)-4-氧代丁酰胺基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向冷却(0°C)的(S)-4-(叔丁氧基)-2-((叔丁氧羰基)氨基)-4-氧代丁酸(136 mg)和0-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸盐(HATU, 179 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(3 mL)溶液中加入N,N-二异丙基乙胺(165 μ l)。将该反应混合物搅拌10分钟,并加入N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)中的实施例1.2.7(252 mg)。将该混合物在室温下搅拌1.5小时,并用反向色谱纯化(C18柱),用50-100%的乙腈/水(包含0.1% v/v三氟乙酸)洗脱,提供标题化合物。

[0561] 1.31.2. 3-(1-((3-(2-((S)-2-氨基-3-羧基丙酰胺基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

将实施例1.32.1(100 mg)在二氯甲烷(3 mL)中用三氟乙酸(2.5 mL)处理过夜。浓缩该反应混合物,提供标题化合物。

[0562] 1.31.3. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((S)-2-((3-(叔丁氧基)-3-氧代丙基)氨基)-3-羧基丙酰胺基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

向实施例1.32.2(102 mg)和N,N-二异丙基乙胺(0.21 mL)的N,N-二甲基甲酰胺(1.5 mL)混合物中加入丙烯酸叔丁基酯(80 mg)和水(1.5 mL)。将该混合物在50°C下加热24小时,用反向色谱纯化(C18柱),用20-60%的乙腈/水(包含0.1% v/v三氟乙酸)洗脱,提供标题化合物。MS (APCI) m/e 989.1 (M+H) $^+$ 。

[0563] 1.31.4. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[N-(2-羧乙基)-L- α -天冬氨酸基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环

[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

如实施例1.6.2所述,用实施例1.32.3替代实施例1.6.1,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.86 (s, 3H), 8.62-9.21 (m, 2H), 8.52 (t, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.42-7.53 (m, 3H), 7.33-7.41 (m, 2H), 7.29 (s, 1H), 6.95 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.04-4.19 (m, 1H), 3.89 (t, 2H), 3.81 (s, 2H), 3.32-3.41 (m, 2H), 3.16-3.27 (m, 2H), 3.10 (t, 2H), 3.01 (t, 2H), 2.83 (d, 2H), 2.66 (t, 2H), 2.10 (s, 3H), 1.39 (s, 2H), 1.20-1.32 (m, 4H), 0.94-1.16 (m, 6H), 0.85 (s, 6H). MS (ESI) m/e 933.2 (M+H)⁺.

[0564] 1.32. 合成3-{1-[(3-{2-[(2-氨基乙基) (2-磺乙基) 氨基] 乙氧基} -5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基] 甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.33)

1.32.1. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((2-((叔丁氧羰基)氨基)乙基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

向实施例1.2.9(188 mg)、(2-氧代乙基)氨基甲酸叔丁基酯(70.1 mg)和N,N-二异丙基乙胺(384 μl)溶液中加入三乙酰氧基硼氢化钠(140 mg),并将该混合物搅拌过夜。加入NaCNBH₃(13.83 mg)。将得到的混合物搅拌1小时,并加入甲醇(1 mL)。将该混合物搅拌10分钟,用乙酸乙酯稀释,并用盐水洗涤。将有机层用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。用反相色谱纯化残余物(C18柱),用20-80%的乙腈/水(包含0.1% v/v三氟乙酸)洗脱,提供标题化合物。

[0565] 1.32.2. 3-{1-[(3-{2-[(2-氨基乙基) (2-磺乙基) 氨基] 乙氧基} -5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基] 甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸

如实施例1.6.2所述,用实施例1.33.1替代实施例1.6.1,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.85 (s, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.87 (s, 2H), 7.79 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.41-7.56 (m, 3H), 7.33-7.40 (m, 2H), 7.29 (s, 1H), 6.96 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 3.89 (t, 2H), 3.50 (s, 2H), 3.29-3.40 (m, 4H), 3.19 (s, 2H), 3.01 (t, 2H), 2.94 (t, 2H), 2.11 (s, 3H), 1.43 (s, 2H), 1.25-1.37 (m, 4H), 0.98-1.19 (m, 6H), 0.87 (s, 6H). MS (ESI) m/e 897.2 (M+H)⁺.

[0566] 1.33. 合成6-[5-(2-氨基乙氧基)-8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-((3,5-二甲基-7-[2-(甲基氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.34)

1.33.1. 5-(2-(((苄氧基)羰基)氨基)乙氧基)-2-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

向实施例1.31.8(500 mg)、(2-羟乙基)氨基甲酸苄基酯(180 mg)和三苯基膦(242 mg)的四氢呋喃(9 mL)混合物中加入(E)-二氮烯-1,2-二甲酸二叔丁基酯(212 mg)。将该混合物搅拌2小时,用乙酸乙酯稀释,并用水和盐水洗涤。将有机层用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。将残余物用硅胶色谱纯化,用50-100%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,提供标题化合物。MS (APCI) m/e 991.1 (M+H)⁺。

[0567] 1.33.2. 5-(2-(((苄氧基)羰基)氨基)乙氧基)-2-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-

(2-((叔丁氧羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸

向实施例1.34.1 (480 mg)的四氢呋喃(10 mL)和甲醇(5 mL)溶液中加入1M氢氧化锂(1.94 mL)。将该混合物在50°C下加热过夜,冷却,用10% HCl水溶液酸化至pH3,并浓缩。用反相色谱纯化残余物(C18柱),用40-99%的乙腈/水(包含0.1% v/v三氟乙酸)洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 977.4 (M+H)⁺。

[0568] 1.33.3. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(2-((苄氧基)羰基)氨基)乙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向实施例1.34.2 (245 mg)、苯并[d]噻唑-2-胺(151 mg)和氟-N,N,N',N'-四甲基甲脒(tetramethylformamidinium)六氟磷酸盐(TFFH)(132 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(3 mL)混合物中加入N,N-二异丙基乙胺(876 μl)。将该反应混合物在65°C下加热24小时,冷却,用乙酸乙酯稀释,并用水和盐水洗涤。将有机层用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。用硅胶色谱纯化残余物,用0-80%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,提供标题化合物。MS (APCI) m/e 1109.5 (M+H)⁺。

[0569] 1.33.4. 6-[5-(2-氨基乙氧基)-8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[2-(甲基氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基]吡啶-2-甲酸

将实施例1.34.3 (100 mg)在二氯甲烷(0.5 mL)中用三氟乙酸(10 mL)处理过夜。浓缩该反应混合物,用反相色谱纯化(C18柱),用20-60%的乙腈/水(包含0.1% v/v三氟乙酸)洗脱,提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm

12.75 (s, 2H), 8.27 (s, 2H), 7.89-8.09 (m, 4H), 7.77 (s, 2H), 7.44-7.53 (m, 2H), 7.35 (t, 1H), 7.29 (s, 1H), 7.02 (dd, 2H), 5.02 (s, 2H), 4.27 (t, 2H), 3.87-3.97 (m, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.50-3.58 (m, 2H), 3.00 (s, 2H), 2.88-2.96 (m, 2H), 2.52-2.60 (m, 2H), 2.10 (s, 3H), 1.42 (s, 2H), 1.23-1.36 (m, 4H), 0.98-1.19 (m, 6H), 0.87 (s, 6H). MS (ESI) m/e 819.3 (M+H)⁺。

[0570] 1.34. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-磺丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.35)

1.34.1. 6-氯-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-氧代乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

在-78°C,用20分钟向草酰氯(8 mL,2.0M,在二氯甲烷中)的二氯甲烷(20 mL)溶液中逐滴加入二氯甲烷(10 mL)中的二甲亚砜(1 mL)。在氩气氛围中,将该溶液搅拌30分钟,并用10分钟加入实施例1.20.2(3.8 g)的二氯甲烷(30 mL)溶液。将该反应混合物在-78°C下再搅拌60分钟。在-78°C,加入三乙胺(2 mL),并将该反应混合物搅拌60分钟。除去冷却浴,并将该反应升温至室温过夜。加入水(60 mL)。用1% HCl水溶液酸化水层,并用二氯甲烷提取。将合并的有机层用1% HCl水溶液、NaHCO₃水溶液和盐水洗涤。用硫酸钠干燥有机层,并浓缩,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 527.9 (M+H)⁺。

[0571] 1.34.2. 2,2,2-三氟-1-(对甲苯基)乙基3-碘丙烷-1-磺酸酯

按照J.Org.Chem.,2013,78,711-716报道的方法,制备标题化合物。

[0572] 1.34.3. 2,2,2-三氟-1-(对甲苯基)乙基3-氨基丙烷-1-磺酸酯

在微波条件(Biotage Initiator)下,将实施例1.35.2(2.0 g)的7N氨/甲醇(20 mL)溶液加热至80℃,保持45分钟。浓缩该混合物,并将残余物溶于乙酸乙酯(300 mL)中。用水和盐水洗涤有机层,用硫酸钠干燥,过滤,浓缩,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 312.23 (M+H)⁺。

[0573] 1.34.4. 6-氯-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-((3-((2,2,2-三氟-1-(对甲苯基)乙氧基)磺酰基)丙基)氨基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向实施例1.35.3(1.96 g)的二氯乙烷(30 mL)溶液中加入实施例1.35.1(3.33 g)。将该反应混合物在室温下搅拌1小时,并加入NaBH₄(1.2 g)的甲醇(8 mL)悬浮液。将该混合物在室温下搅拌3小时,并用乙酸乙酯(300 mL)稀释。用2N NaOH水溶液、水和盐水洗涤有机层,用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。将残余物溶于四氢呋喃(30 mL)中,加入二碳酸二叔丁基酯(2 g),而后加入催化数量的4-二甲基氨基吡啶。将该混合物在室温下搅拌过夜。将该混合物用乙酸乙酯(300 mL)稀释,并用水和盐水洗涤。用硫酸钠干燥有机层,过滤,并浓缩,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 924,42 (M+H)⁺。

[0574] 1.34.5. 7-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基)3-((2,2,2-三氟-1-(对甲苯基)乙氧基)磺酰基)丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶-2-基)-1-萘酸

向在1,4-二噁烷(10 mL)和水(5 mL)的混合物中的7-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1-萘酸甲酯(203 mg)溶液中加入实施例1.35.4(600 mg)、双(三苯基膦)二氯化钯(II)(45.6 mg)和氟化铯(296 mg)。将该混合物在120℃下、在微波条件(Biotage Initiator)下加热30分钟,用乙酸乙酯(200 mL)稀释,并用水和盐水洗涤。将有机层用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。用硅胶色谱纯化残余物,用20%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,提供酯中间体。将残余物溶于四氢呋喃(8 mL)、甲醇(4 mL)和水(4 mL)的混合物中,并用氢氧化锂一水合物(200 mg)处理3小时。将该反应用1N HCl水溶液酸化至pH4,并用乙酸乙酯(400 mL)稀释。将得到的混合物用水和盐水洗涤。用硫酸钠干燥有机层,过滤,并浓缩,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 1060.24 (M+H)⁺。

[0575] 1.34.6. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-磺丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基}吡啶-2-甲酸

向实施例1.35.5(405 mg)的二氯甲烷(10 mL)溶液中加入苯并[d]噻唑-2-胺(57.4 mg)、1-乙基-3-[3-(二甲基氨基)丙基]-碳二亚胺盐酸盐(146 mg)和4-(二甲基氨基)吡啶(93 mg)。将该混合物在室温下搅拌过夜,用乙酸乙酯(200 mL)稀释,并用水和盐水洗涤。将有机层用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。将残余物溶于二氯甲烷(3 mL)中,并用三氟乙酸(3 mL)处理过夜。浓缩该反应混合物,用反相HPLC纯化残余物(Gilson系统),用梯度10-85%的乙腈/水(包含0.1% v/v三氟乙酸)洗脱,提供标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 13.08 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.53 (s, 2H), 8.36 (dd, 1H), 8.26-8.13 (m, 3H), 8.06 (dd, 1H), 8.04-7.97 (m, 1H), 7.94 (d, 1H), 7.80 (d, 1H), 7.69 (dd, 1H), 7.51-7.43 (m, 2H), 7.40-7.31 (m, 1H), 7.19 (d, 0H), 3.88 (s, 2H), 3.54 (t, 2H), 3.16-2.91 (m, 4H), 2.68-2.55 (m, 2H), 2.29 (s, 0H), 2.22 (s, 3H), 1.93 (p, 2H), 1.43 (s, 2H), 1.38-1.23 (m, 4H), 1.10 (dq, 6H), 0.87 (s, 6H). MS (ESI) m/e 863.2 (M+H) $^+$.

[0576] 1.35. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[3-{2-[(2-羧乙基)(哌啶-4-基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.36)

1.35.1. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-(((1r,3r)-3-(2-((3-(叔丁氧基)-3-氧代丙基)(1-(叔丁氧羰基)哌啶-4-基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

将实施例1.25.1 (0.086 g)、4-氧代哌啶-1-甲酸叔丁基酯 (0.037 g)、三乙酰氧基硼氢化钠 (0.039 g) 和乙酸 (11 μ l) 的二氯甲烷 (1 mL) 溶液在室温下搅拌。搅拌过夜之后,将反应物加载到硅胶上,使用梯度0.5-5%的甲醇/二氯甲烷洗脱,得到标题化合物。MS (ELSD) m/e 1113.5 (M+H) $^+$ 。

[0577] 1.35.2. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[3-{2-[(2-羧乙基)(哌啶-4-基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

将实施例1.36.1 (0.050) 的二氯甲烷 (0.5 mL) 溶液用三氟乙酸 (0.5 mL) 处理,并将该反应搅拌过夜。浓缩该反应,并溶于二甲亚砜和甲醇 (1:1) 中。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-75%的乙腈/水 (含有0.1% v/v三氟乙酸) 洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 12.84 (s, 1H), 9.38 (s, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.80 (d, 1H), 7.63 (d, 1H), 7.55-7.42 (m, 3H), 7.41-7.33 (m, 2H), 7.30 (s, 1H), 6.96 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 3.89 (t, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.73-3.54 (m, 3H), 3.53-3.34 (m, 4H), 3.34-3.25 (m, 2H), 3.02 (t, 2H), 2.99-2.85 (m, 2H), 2.78 (t, 2H), 2.23-2.04 (m, 5H), 1.92-1.76 (m, 2H), 1.43 (s, 2H), 1.39-1.23 (m, 4H), 1.23-0.96 (m, 6H), 0.87 (s, 6H). MS (ESI) m/e 901.3 (M+H) $^+$.

[0578] 1.36. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[3,5-二甲基-7-{2-[(3-磺基-L-丙氨酰)(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.37)

将(R)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-磺基丙酸 (0.011 g) 和2-(3H-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1,1,3,3-四甲基异脲六氟磷酸盐(V) (10.80 mg) 的N,N-二甲基甲酰胺 (0.5 mL) 溶液搅拌5分钟。将此溶液加入到实施例1.2.9 (0.025 g) 和N,N-二异丙基乙胺 (0.014 mL) 中。搅拌2小时之后,将二乙胺 (0.013 mL) 加入到该反应中,并继续搅拌另外的1小时。将该反应用N,N-二甲基甲酰胺和水稀释,并用三氟乙酸淬灭。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-75%的乙腈/水 (含有0.1% v/v三氟乙酸) 洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

¹H NMR (400

MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.84 (s, 1H), 8.03 (dd, 4H), 7.79 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.54 (dd, 1H), 7.51-7.41 (m, 2H), 7.36 (td, 2H), 7.33 (s, 1H), 6.98 (dd, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.42 (dd, 2H), 3.89 (t, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.73 (ddd, 2H), 3.57-3.38 (m, 2H), 3.31 (dt, 1H), 3.08 (dd, 1H), 3.02 (t, 2H), 2.87 (tt, 1H), 2.81-2.54 (m, 2H), 2.10 (d, 3H), 1.51-0.91 (m, 12H), 0.85 (s, 6H). MS (ESI) m/e 1005.2 (M+H)⁺.

[0579] 1.37. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[3-{2-[2-(2-羧乙基)氨基]乙基}(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸(化合物W2.38)

1.37.1. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((2-((3-(叔丁氧基)-3-氧代丙基)氨基)乙基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

如实施例1.32.3所述,用实施例1.33.2替代实施例1.32.2,制备标题化合物。

[0580] 1.37.2. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[3-{2-[2-(2-羧乙基)氨基]乙基}(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸

如实施例1.6.2所述,用实施例1.38.1替代实施例1.6.1,制备标题化合物。

¹H NMR (501 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.87 (s, 1H), 8.68 (s, 2H), 8.04 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.53 (d, 1H), 7.42-7.50 (m, 2H), 7.33-7.40 (m, 2H), 7.29 (s, 1H), 6.96 (d, 1H), 4.96 (s, 3H), 3.89 (t, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.66 (t, 2H), 3.31-3.53 (m, 8H), 3.18 (t, 2H), 3.02 (t, 2H), 2.95 (t, 2H), 2.67 (t, 2H), 2.11 (s, 3H), 1.43 (s, 2H), 1.22-1.37 (m, 6H), 0.98-1.19 (m, 6H), 0.87 (s, 6H). MS (APCI) m/e 971.0 (M+H)⁺.

[0581] 1.38. 合成3-{1-[3,5-二甲基-7-{2-[3-膦酰丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.39)

1.38.1. 3-(1-((3-(2-((3-(二叔丁氧基磷酰基)丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸叔丁基酯

将实施例1.23.2(520 mg)和实施例1.14.2(175 mg)溶于二氯甲烷(6 mL)中,并在室温下搅拌两个小时。加入硼氢化钠(32 mg)的甲醇(1mL)悬浮液,并将该混合物搅拌30分钟。将反应物加入到饱和NaHCO₃水溶液中,并用乙酸乙酯提取。用盐水洗涤有机层,并用硫酸钠干燥。过滤并浓缩后,用硅胶色谱纯化,使用梯度0.5-5.0%的甲醇/二氯甲烷洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 1037.3 (M+H)⁺。

[0582] 1.38.2. 3-{1-[3,5-二甲基-7-{2-[3-膦酰丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸

在实施例1.2.9中,用实施例1.39.1替代实施例1.2.8,制备标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 8.60 (dd, 1H), 8.52 (dd, 1H), 8.41 (br s, 2H), 7.65 (d, 1H), 7.48 (d, 1H), 7.46 (d, 1H), 7.38 (m, 2H), 7.29 (s, 1H), 6.97 (d, 1H), 4.97 (s, 2H), 3.89 (m, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.56 (m, 2H), 3.02 (m, 6H), 2.11 (s, 3H), 1.81 (m, 2H), 1.61 (m, 2H), 2.11 (s, 3H), 1.43 (s, 2H), 1.30 (m, 4H), 1.14 (m, 4H), 1.04 (m, 2H), 0.87 (s, 6H). MS (ESI) m/e 869.2 (M+H) $^+$.

[0583] 1.39. 合成3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰丙基) 氨基] 乙氧基} 三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基) 甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.40)

1.39.1. 3-(1-((3-(2-((3-(二叔丁氧基磷酰基) 丙基) 氨基) 乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基) 甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸叔丁基酯

在实施例1.39.1中,用实施例1.22.2替代实施例1.23.2,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 1037.3 (M+H) $^+$ 。

[0584] 1.39.2. 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰丙基) 氨基] 乙氧基} 三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基) 甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸

在实施例1.2.9中,用实施例1.40.1替代实施例1.2.8,制备标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 8.52 (dd, 2H), 8.41 (br s, 2H), 8.17 (dd, 1H), 7.63 (m, 1H), 7.53 (m, 2H), 7.46 (d, 1H), 7.38 (t, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.98 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 3.88 (m, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.56 (t, 2H), 3.00 (m, 6H), 2.11 (s, 3H), 1.81 (m, 2H), 1.60 (m, 2H), 1.43 (s, 2H), 1.31 (m, 4H), 1.14 (m, 4H), 1.04 (m, 2H), 0.87 (s, 6H). MS (ESI) m/e 869.2 (M+H) $^+$.

[0585] 1.40. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(羧基甲氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-((3,5-二甲基-7-[2-(甲基氨基) 乙氧基] 三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基) 甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.41)

1.40.1. 5-(2-(叔丁氧基)-2-氧代乙氧基)-2-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基) (甲基) 氨基) 乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基) 甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基) 吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

向实施例1.31.8(163 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(10 mL)溶液中加入2-溴乙酸叔丁基酯(58.6 mg)和K₂CO₃(83 mg),并将该反应搅拌过夜。将该混合物用乙酸乙酯(200 mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤,蒸发溶剂,得到残余物,用硅胶色谱纯化残余物,用20%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 929.2 (M+H) $^+$ 。

[0586] 1.40.2. 5-(2-(叔丁氧基)-2-氧代乙氧基)-2-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基) (甲基) 氨基) 乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基) 甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基) 吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸

向实施例1.41.1(3 g)的四氢呋喃(20 mL)、甲醇(10 mL)和水(10 mL)溶液中加入氢氧化锂一水合物(300 mg)。将该混合物在室温下搅拌24小时。用2% HCl水溶液中和该反应混合物,并真空浓缩。用乙酸乙酯(800 mL)稀释残余物,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过

滤,蒸发溶剂,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 914.5 (M+H)⁺。

[0587] 1.40.3. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(羧基甲氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[2-(甲基氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

向实施例1.41.2 (183 mg) 的N,N-二甲基甲酰胺 (4 mL) 溶液中加入苯并[d]噻唑-2-胺 (45.1 mg)、氟-N,N,N',N'-四甲基甲脒 (tetramethylformamidinium) 六氟磷酸盐 (79 mg) 和N,N-二异丙基乙胺 (0.203 mL)。将该混合物在60°C下搅拌过夜。将该混合物用乙酸乙酯 (300 mL) 稀释,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到残余物,将残余物溶于二氯甲烷/三氟乙酸 (1:1, 10 mL) 中,并搅拌过夜。浓缩该混合物,用反相HPLC纯化残余物,使用Gilson系统,用10-85%的乙腈/水 (包含0.1% v/v三氟乙酸) 洗脱,提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.73 (s, 1H), 8.30 (s, 2H), 7.99-8.07 (m, 1H), 7.75-7.79 (m, 1H), 7.70 (d, 1H), 7.44-7.56 (m, 2H), 7.30-7.39 (m, 2H), 7.30 (s, 1H), 7.03 (t, 1H), 6.87-6.93 (m, 1H), 4.98-5.18 (m, 4H), 4.84 (s, 3H), 3.78-4.01 (m, 4H), 3.55 (t, 2H), 2.77-3.07 (m, 4H), 2.53-2.61 (m, 3H), 2.04-2.16 (m, 3H), 1.41 (s, 2H), 1.02-1.34 (m, 6H), 0.83-0.91 (m, 6H). MS (ESI) m/e 834.2 (M+H)⁺。

[0588] 1.41. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[3-{2-[3-羧丙基] (哌啶-4-基) 氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸 (化合物W2.42)

1.41.1. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-(((1r,3r)-3-(2-((1-(叔丁氧羰基)哌啶-4-基)(4-甲氧基-4-氧代丁基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

在室温下,将实施例1.26.1 (0.169 g)、4-氧代丁酸甲酯 (0.024 g) 和三乙酰氧基硼氢化钠 (0.055 g) 的二氯甲烷 (2 mL) 溶液搅拌。2小时之后,将该反应用二氯甲烷 (50 mL) 稀释,并用饱和碳酸氢钠水溶液 (10 mL) 洗涤。分离有机层,用硫酸镁干燥,过滤,并浓缩。硅胶色谱,用梯度0.5-5%甲醇/二氯甲烷 (包含氨) 洗脱,提供标题化合物。MS (ELSD) m/e 1085.5 (M+H)⁺。

[0589] 1.41.2. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[3-{2-[3-羧丙基] (哌啶-4-基) 氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

将实施例1.42.1 (0.161 g) 的二氯甲烷 (0.5 mL) 溶液用三氟乙酸 (0.5 mL) 处理,并将该反应搅拌过夜。浓缩该反应,溶于甲醇 (0.6 mL) 中,并用氢氧化锂一水合物 (0.124 g) 的水溶液 (0.5 mL) 处理。搅拌1.5小时之后,用三氟乙酸 (0.229 mL) 淬灭该反应,并用N,N-二甲基甲酰胺 (0.5 mL) 稀释。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-60%的乙腈/水 (含有0.1% v/v三氟乙酸) 洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 12.84 (s, 1H), 9.40 (s, 1H), 8.89-8.79 (m, 1H), 8.57-8.41 (m, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.80 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.55-7.41 (m, 3H), 7.41-7.32 (m, 2H), 7.30 (s, 1H), 6.96 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 3.89 (t, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.44 (d, 2H), 3.26 (s, 2H), 3.22-3.11 (m, 2H), 3.09-2.85 (m, 6H), 2.34 (t, 2H), 2.19 (d, 2H), 2.10 (s, 3H), 1.95-1.71 (m, 5H), 1.44 (s, 2H), 1.39-1.27 (m, 4H), 1.22-0.96 (m, 6H), 0.87 (s, 6H). MS (ESI) m/e 915.3 (M+H) $^+$.

[0590] 1.42. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.43)

1.42.1. 3-(1-((3-(2-羟乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(甲氧羰基)萘-2-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向7-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1-萘酸甲酯(2.47 g)的1,4-二噁烷(40 mL)和水(20 mL)溶液中加入实施例1.20.2(4.2 g)、双(三苯基膦)二氯化钨(II)(556 mg)和氟化铯(3.61 g),并将该反应在回流下搅拌过夜。将该混合物用乙酸乙酯(400mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤,蒸发溶剂,得到残余物,用硅胶色谱纯化残余物,用20%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,而后用5%的甲醇/二氯甲烷洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 680.7 (M+H) $^+$ 。

[0591] 1.42.2. 3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-((甲磺酰基)氧基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(甲氧羰基)萘-2-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向冷却(0°C)的实施例1.43.1(725 mg)的二氯甲烷(10 mL)和三乙胺(0.5 mL)溶液中加入甲磺酰氯(0.249 mL),并将该混合物搅拌4小时。将该反应混合物用乙酸乙酯(200mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到标题产物,其不用进一步纯化,在下一个反应中直接使用。MS (ESI) m/e 759.9 (M+H) $^+$ 。

[0592] 1.42.3. 3-(1-((3-(2-叠氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(甲氧羰基)萘-2-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向实施例1.43.2(4.2 g)的N,N-二甲基甲酰胺(30 mL)溶液中加入叠氮化钠(1.22 g),并将该混合物搅拌96小时。将该反应混合物用乙酸乙酯(600 mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤,蒸发溶剂,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 705.8 (M+H) $^+$ 。

[0593] 1.42.4. 7-(5-(1-((3-(2-叠氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(叔丁氧羰基)吡啶-2-基)-1-萘酸

向实施例1.43.3(3.5 g)的四氢呋喃/甲醇/水(2:1:1,30 mL)溶液中加入氢氧化锂一水合物(1.2 g),并将该混合物搅拌过夜。将该反应混合物用1N HCl水溶液酸化,用乙酸乙酯(600 mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤,蒸发溶剂,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 691.8 (M+H) $^+$ 。

[0594] 1.42.5. 3-(1-((3-(2-叠氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向实施例1.43.5(870 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(10 mL)溶液中加入苯并[d]噻唑-2-胺(284 mg)、氟-N,N,N',N'-四甲基甲脒(tetramethylformamidinium)六氟磷酸盐(499 mg)和N,N-二异丙基乙胺(488 mg)。将该混合物在60°C下搅拌3小时。将该反应混合物用乙酸乙

酯(200mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤,蒸发溶剂,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 824.1 (M+H)⁺。

[0595] 1.42.6. 3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向实施例1.43.5 (890 mg)的四氢呋喃(30 mL)溶液中加入Pd/C(90 mg)。将该混合物在1大气压的氢气氛围中搅拌过夜。过滤该反应混合物,并将催化剂用乙酸乙酯洗涤。蒸发溶剂,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 798.1 (M+H)⁺。

[0596] 1.42.7. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

向实施例1.43.6 (189 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(6 mL)溶液中加入4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基乙烯磺酸酯(106 mg)。将该混合物搅拌4天。将该混合物用乙酸乙酯(300mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂后,将残余物溶于三氟乙酸(10 mL)中,并静置过夜。真空蒸发三氟乙酸,并将残余物溶于二甲亚砜/甲醇(1:1,6 mL)中。用反相HPLC(Gilson系统)纯化该混合物,用10-85%的乙腈/水(包含0.1% v/v三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。

¹H NMR (400 MHz,

二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 13.09 (s, 1H), 9.02 (s, 1H), 8.31-8.43 (m, 3H), 8.16-8.26 (m, 3H), 7.93-

8.08 (m, 3H), 7.82 (d, 1H), 7.66-7.75 (m, 1H), 7.46-7.55 (m, 2H), 7.37 (t, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.17-3.28

(m, 2H), 3.07-3.16 (m, 2H), 2.82 (t, 2H), 2.24 (s, 3H), 1.44 (s, 2H), 0.99-1.37 (m, 12H), 0.87 (s, 6H).

MS (ESI) m/e 849.1 (M+H)⁺。

[0597] 1.43. 合成3-{1-[(3-{2-[L-α-天冬氨酰基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.44)

1.43.1. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((S)-4-(叔丁氧基)-2-((叔丁氧羰基)氨基)-4-氧代-N-(2-磺乙基)丁酰胺基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

向冷却(0°C)的(S)-4-(叔丁氧基)-2-((叔丁氧羰基)氨基)-4-氧代丁酸(40.7 mg)和O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐(HATU,40.1 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(3 mL)溶液中加入N,N-二异丙基乙胺(98μl)。将该反应混合物在室温下搅拌1小时,并加入实施例1.2.9(60 mg)/N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)。将该混合物搅拌1.5小时,并用反向色谱纯化(C18柱),用20-90%的乙腈/水(包含0.1% v/v三氟乙酸)洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 1123.4 (M-H)⁻。

[0598] 1.43.2. 3-{1-[(3-{2-[L-α-天冬氨酰基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸

将实施例1.44.1(100 mg)在二氯甲烷(5 mL)中用三氟乙酸(1.5 mL)处理过夜。浓缩该反应混合物,用反向色谱纯化(C18柱),用20-60%的乙腈/水(包含0.1% v/v三氟乙酸)洗脱,提供标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm

12.85 (s, 2H), 8.11-8.22 (m, 3H), 8.04 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.41-7.54 (m, 3H), 7.32-7.39 (m, 2H), 7.29 (s, 1H), 6.95 (d, 1H), 4.95 (s, 2H), 4.80 (s, 1H), 3.89 (t, 2H), 3.81 (s, 2H), 3.55-3.71 (m, 2H), 3.01 (t, 4H), 2.74-2.86 (m, 1H), 2.57-2.73 (m, 2H), 2.09 (s, 3H), 0.91-1.46 (m, 13H), 0.84 (s, 6H). MS (ESI) m/e 969.2 (M+H)⁺.

[0599] 1.44. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[3-{2-[(1,3-二羟基丙-2-基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.45)

1.44.1. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-(氧杂环丁烷-3-基氨基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

在室温下,将实施例1.2.7(0.095 g)、氧杂环丁烷-3-酮(10 mg)和三乙酰氧基硼氢化钠(0.038 g)的二氯甲烷(1 mL)溶液搅拌。搅拌过夜之后,将该反应混合物直接加载到硅胶上,用梯度0.5-5%的甲醇/二氯甲烷(含有氨)洗脱,得到标题化合物。MS (ELSD) m/e 858.4 (M+H)⁺。

[0600] 1.44.2. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[3-{2-[(1,3-二羟基丙-2-基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

将实施例1.45.1溶于二氯甲烷(0.5 mL)中,用三氟乙酸(0.5 mL)处理,并搅拌过夜。用反相HPLC纯化该反应,使用Gilson系统,用10-60%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.84 (s, 1H), 8.19 (s, 2H), 8.02 (d, 1H), 7.78 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.53-7.40 (m, 3H), 7.40-7.31 (m, 2H), 7.28 (s, 1H), 6.94 (d, 1H), 4.95 (s, 2H), 3.87 (t, 2H), 3.82 (s, 2H), 3.67-3.62 (m, 4H), 3.22-3.14 (m, 1H), 3.14-3.06 (m, 2H), 3.00 (t, 4H), 2.09 (s, 3H), 1.41 (s, 2H), 1.37-1.20 (m, 4H), 1.20-0.95 (m, 6H), 0.85 (s, 6H). MS (ESI) m/e 820.2 (M+H)⁺.

[0601] 1.45. 合成6-[5-(2-氨基乙氧基)-8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[3,5-二甲基-7-{2-[甲基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.46)

1.45.1. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(2-[(苄氧基)羰基]氨基)乙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-((3,5-二甲基-7-[(2,2,7,7,13-五甲基-10,10-二氧代-3,3-二苯基-4,9-二氧杂-10λ⁶-硫杂-13-氮杂-3-硅杂十五烷-15-基)氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

如实施例1.2.8所述,用实施例1.35替代实施例1.2.7,制备标题化合物。

[0602] 1.45.2. 6-[5-(2-氨基乙氧基)-8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[3,5-二甲基-7-{2-[甲基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

如实施例1.34.4所述,用实施例1.46.1替代实施例1.34.3,制备标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 12.74 (s, 2H), 8.96 (s, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.94 (s, 3H), 7.72-7.81 (m, 2H), 7.53 (d, 1H), 7.47 (t, 1H), 7.35 (t, 1H), 7.28 (s, 1H), 7.02 (t, 2H), 5.03 (s, 2H), 4.26 (t, 2H), 3.92 (t, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.23-3.38 (m, 4H), 3.13-3.25 (m, 1H), 2.82-3.00 (m, 4H), 2.78 (d, 3H), 2.11 (s, 3H), 1.23-1.50 (m, 6H), 0.95-1.21 (m, 6H), 0.86 (s, 6H). MS (ESI) m/e 927.2 (M+H) $^+$.

[0603] 1.46. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.47)

1.46.1. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-{2,2,7,7-四甲基-10,10-二氧代-3,3-二苯基-4,9-二氧杂-10 λ^6 -硫杂-13-氮杂-3-硅杂十五烷-15-基}氧基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

如实施例1.2.8所述,用实施例1.46.2替代实施例1.2.7,制备标题化合物。

[0604] 1.46.2. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

将实施例1.47.1(100 mg)在二氯甲烷(5 mL)中用三氟乙酸(5 mL)处理过夜。浓缩该反应混合物,用反相色谱纯化(C18柱),用20-60%的乙腈/水(包含0.1% v/v三氟乙酸)洗脱,提供标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 12.74 (s, 1H), 8.96 (d, 1H), 8.64 (s, 2H), 8.02 (d, 1H), 7.76 (dd, 2H), 7.41-7.57 (m, 2H), 7.24-7.40 (m, 2H), 7.02 (t, 2H), 5.03 (s, 2H), 4.23-4.42 (m, 2H), 3.90 (t, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.25-3.40 (m, 6H), 3.12-3.24 (m, 2H), 2.81-3.01 (m, 6H), 2.78 (d, 3H), 2.10 (s, 3H), 1.22-1.47 (m, 6H), 0.97-1.21 (m, 6H), 0.86 (s, 6H). MS (ESI) m/e 1035.3 (M+H) $^+$.

[0605] 1.47. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基){2-[(2-磺乙基)氨基]乙基}氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.48)

1.47.1. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{[2,2,7,7-四甲基-10,10-二氧化-3,3-二苯基-16-(2-磺乙基)-4,9-二氧杂-10 λ^6 -硫杂-13,16-二氮杂-3-硅杂十八烷-18-基]氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

如实施例1.2.8所述,用实施例1.33.2替代实施例1.2.7,制备标题化合物。

[0606] 1.47.2. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基){2-[(2-磺乙基)氨基]乙基}氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

如实施例1.47.2所述,用实施例1.48.1替代实施例1.47.1,制备标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 12.87 (s, 3H), 8.55 (s, 4H), 8.04 (d, 2H), 7.79 (d, 2H), 7.62 (d, 1H), 7.40-7.56 (m, 3H), 7.32-7.40 (m, 2H), 7.29 (s, 1H), 6.96 (d, 2H), 4.96 (s, 3H), 3.89 (t, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.47 (d, 2H), 3.36 (s, 2H), 3.18-3.30 (m, 2H), 3.01 (t, 2H), 2.94 (t, 2H), 2.82 (t, 2H), 2.11 (s, 3H), 1.26-1.49 (m, 6H), 0.96-1.20 (m, 6H), 0.87 (s, 6H). MS (ESI) m/e 1005.2 (M+H) $^+$.

[0607] 1.48. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-{2-[(2-羧乙基) 氨基] 乙氧基}-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(2-磺乙基) 氨基] 乙氧基} 三环[3.3.1.1 3,7] 癸-1-基) 甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基} 吡啶-2-甲酸(化合物W2.49)

1.48.1. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(2-((3-(叔丁氧基)-3-氧代丙基) 氨基) 乙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-(甲基(2-磺乙基) 氨基) 乙氧基) 金刚烷-1-基) 甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基) 吡啶甲酸

如实施例1.32.3所述,用实施例1.46.2替代实施例1.32.2,制备标题化合物。

[0608] 1.48.2. -[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-{2-[(2-羧乙基) 氨基] 乙氧基}-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(2-磺乙基) 氨基] 乙氧基} 三环[3.3.1.1 3,7] 癸-1-基) 甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基} 吡啶-2-甲酸

如实施例1.6.2所述,用实施例1.49.1替代实施例1.6.1,制备标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 12.75 (s, 1H), 8.96 (s, 1H), 8.59 (s, 2H), 8.03 (d, 1H), 7.72-7.82 (m, 2H), 7.54 (d, 1H), 7.43-7.51 (m, 2H), 7.35 (t, 1H), 7.28 (s, 1H), 7.02 (dd, 2H), 5.02 (s, 2H), 4.34 (s, 2H), 3.93 (s, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.62 (s, 2H), 2.84-3.01 (m, 4H), 2.78 (d, 3H), 2.65-2.75 (m, 2H), 2.11 (s, 3H), 1.20-1.45 (m, 7H), 0.95-1.21 (m, 6H), 0.86 (s, 6H). MS (ESI) m/e 999.2 (M+H) $^+$.

[0609] 1.49. 合成3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰丙基) (哌啶-4-基) 氨基] 乙氧基} 三环[3.3.1.1 3,7] 癸-1-基) 甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基] 吡啶-2-甲酸(化合物W2.50)

1.49.1. 3-(1-((3-(2-((1-(叔丁氧羰基) 哌啶-4-基) 氨基) 乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基) 甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基) 吡啶甲酸叔丁基酯

将实施例1.23.2(205 mg)溶于二氯甲烷(2.4 mL)中,并加入4-氧代哌啶-1-甲酸叔丁基酯(51 mg)和三乙酰氧基硼氢化钠(75 mg)。将该反应在室温下搅拌两个小时。加入更多的二氯甲烷,并将该反应倒入饱和 NaHCO_3 水溶液中。用盐水洗涤有机层,并用硫酸钠干燥。过滤并浓缩后,在Grace Reveleris氨基柱上,用硅胶色谱纯化残余物,用梯度0.5至5.0%的甲醇/二氯甲烷洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 986.3 (M+H) $^+$ 。

[0610] 1.49.2. 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰丙基) (哌啶-4-基) 氨基] 乙氧基} 三环[3.3.1.1 3,7] 癸-1-基) 甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基] 吡啶-2-甲酸

将实施例1.50.1(94 mg)溶于二氯甲烷(1 mL)中,然后加入实施例1.14.2(25 mg)和三乙酰氧基硼氢化钠(30 mg)。将该反应在室温下搅拌四小时。加入三氟乙酸(1.5 mL),并将

该反应在室温下搅拌过夜。浓缩该反应混合物,并用反相色谱纯化(C18柱),用10-90%的乙腈/水(包含0.1% v/v三氟乙酸)洗脱,提供标题化合物的三氟乙酸盐。

¹H NMR (400 MHz,

二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 8.82 (br s, 1H), 8.60 (dd, 1H), 8.52 (dd, 1H), 8.50 (br s, 1H), 7.66 (d, 1H), 7.50 (d, 1H), 7.46 (d, 1H), 7.38 (m, 2H), 7.30 (s, 1H), 6.97 (d, 1H), 4.98 (s, 2H), 3.89 (t, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.69 (m, 2H), 3.61 (m, 1H), 3.44 (m, 2H), 3.23 (m, 4H), 3.02 (t, 2H), 2.93 (m, 2H), 2.18 (m, 2H), 2.10 (s, 3H), 1.92 (m, 2H), 1.83 (m, 2H), 1.64 (m, 2H), 1.44 (s, 2H), 1.31 (m, 4H), 1.14 (m, 4H), 1.04 (m, 2H), 0.87 (s, 6H). MS (ESI) m/e 952.3 (M+H)⁺.

[0611] 1.50. 合成6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢-2H-1,4-苯并噁嗪-6-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.51)

1.50.1. 3-(1-((3-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-氯吡啶甲酸叔丁基酯

向实施例1.20.2(3.2 g)的N,N-二甲基甲酰胺(20 mL)溶液中加入咪唑(0.616 g)和氯叔丁基二甲基硅烷(1.37 g)。将该混合物搅拌过夜。将该反应混合物用乙酸乙酯(300 mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到粗品,将粗品用硅胶色谱纯化,用20%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 645.4 (M+H)⁺。

[0612] 1.50.2. 3-(1-((3-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(3,4-二氢-2H-苯并[b][1,4]噁嗪-6-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-3,4-二氢-2H-苯并[b][1,4]噁嗪(507 mg)的1,4-二噁烷(10 mL)和水(5 mL)溶液中加入实施例1.51.1(1.25 g)、双(三苯基膦)二氯化钨(II)(136 mg)和氟化铯(884 mg)。将该混合物在120°C下、在微波条件(Biotage Initiator)下搅拌20分钟。将该混合物用乙酸乙酯(500 mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤,蒸发溶剂,得到残余物,用硅胶色谱纯化残余物,用20%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,而后用5%的甲醇/二氯甲烷洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 744.1 (M+H)⁺。

[0613] 1.50.3. 6-(4-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢-2H-苯并[b][1,4]噁嗪-6-基)-3-(1-((3-(2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向环境温度下的双(2,5-二氧代吡咯烷-1-基)碳酸酯(295 mg)的乙腈(10 mL)悬浮液中加入苯并[d]噻唑-2-胺(173 mg),并将该混合物搅拌1小时。加入实施例1.51.2(710 mg)的乙腈(10 mL)溶液,并将该悬浮液剧烈搅拌过夜。将该混合物用乙酸乙酯(300 mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤,蒸发溶剂,得到残余物,用硅胶色谱纯化残余物,用20%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 920.2 (M+H)⁺。

[0614] 1.50.4. 6-(4-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢-2H-苯并[b][1,4]噁嗪-6-基)-3-(1-((3-(2-羟乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向实施例1.51.3(1.4g)的四氢呋喃(10 mL)溶液中加入四丁基氟化铵(1.0M,在四氢呋

喃中,6 mL)。将该混合物搅拌3小时。将该混合物用乙酸乙酯(300 mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到标题产物,其不用进一步纯化,在下一个反应中直接使用。MS (ESI) m/e 806.0 (M+H)⁺。

[0615] 1.50.5. 6-(4-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢-2H-苯并[b][1,4]噁嗪-6-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-((甲磺酰基)氧基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向冷却(0°C)的实施例1.51.4(1.2 g)的二氯甲烷(20 mL)和三乙胺(2 mL)溶液中加入甲磺酰氯(300 mg)。将该混合物搅拌4小时。将该反应混合物用乙酸乙酯(200 mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到标题产物,其不用进一步纯化,在下一个反应中直接使用。MS (ESI) m/e 884.1 (M+H)⁺。

[0616] 1.50.6. 3-(1-((3-(2-叠氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(4-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢-2H-苯并[b][1,4]噁嗪-6-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向实施例1.51.5(1.5 g)的N,N-二甲基甲酰胺(20 mL)溶液中加入叠氮化钠(331 mg)。将该混合物搅拌48小时。将该反应混合物用乙酸乙酯(200 mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤,蒸发溶剂,得到残余物,用硅胶色谱纯化残余物,用20%的乙酸乙酯/二氯甲烷洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 831.1 (M+H)⁺。

[0617] 1.50.7. 3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(4-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢-2H-苯并[b][1,4]噁嗪-6-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向实施例1.51.6(1.5 g)的四氢呋喃(30 mL)溶液中加入Pd/C(10%,200 mg)。将该混合物在1大气压的氢气氛围中搅拌过夜。过滤该反应混合物,并真空浓缩滤液,得到粗品。MS (ESI) m/e 805.1 (M+H)⁺。

[0618] 1.50.8. 66-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢-2H-1,4-苯并噁嗪-6-基]-3-{1-[3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

向实施例1.51.7(164 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(10 mL)和N,N-二异丙基乙胺(0.5 mL)溶液中加入4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基乙烯磺酸酯(91 mg)。将该混合物搅拌过夜。将该反应混合物用乙酸乙酯(200 mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到残余物,将残余物溶于四氢呋喃(2 mL)中。加入四丁基氟化铵(1 mL,1M,在四氢呋喃中),并将该混合物搅拌过夜。真空浓缩该混合物,并将残余物溶于二氯甲烷/三氟乙酸(1:1,6 mL)中,并静置过夜。蒸发溶剂之后,用反相HPLC纯化残余物(Gilson系统),用10-85%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱,提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 8.74 (s, 1H), 8.35 (s, 2H), 7.94-8.00 (m, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.71-7.82 (m, 2H), 7.46 (s, 1H), 7.34-7.44 (m, 2H), 7.24 (t, 1H), 7.02 (d, 1H), 4.28-4.39 (m, 2H), 4.10-4.19 (m, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.55-3.61 (m, 4H), 3.21-3.30 (m, 3H), 3.07-3.16 (m, 3H), 2.23 (s, 3H), 1.44 (s, 2H), 0.98-1.37 (m, 9H), 0.89 (s, 6H). MS (ESI) m/e 856.1 (M+H)⁺。

[0619] 1.51. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(3-磺基丙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-((3,5-二甲基-7-[2-(甲基氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-

1-基]甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.52)

1.51.1. 2-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-5-(3-((2,2,2-三氟-1-(对甲苯基)乙氧基)磺酰基)丙氧基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

向实施例1.31.8(460 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(10 mL)溶液中加入2,2,2-三氟-1-(对甲苯基)乙基3-碘丙烷-1-磺酸酯(239 mg,按照J. Org. Chem., 2013, 78, 711-716制备)和K₂CO₃(234 mg),并将该混合物搅拌过夜。将该混合物用乙酸乙酯(200 mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤,蒸发溶剂,得到残余物,用硅胶色谱纯化残余物,用20%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 1018.5 (M+H)⁺。

[0620] 1.51.2. 2-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)-5-(3-((2,2,2-三氟-1-(对甲苯基)乙氧基)磺酰基)丙氧基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸

向实施例1.52.1(176 mg)的四氢呋喃(4 mL)、甲醇(3 mL)和水(3 mL)溶液中加入氢氧化锂一水合物(60 mg),并将该混合物搅拌过夜。然后,将该混合物用乙酸乙酯(200 mL)稀释,用1N HCl水溶液、水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到标题产物,其不用进一步纯化,在下一个反应中直接使用。MS (ESI) m/e 1095.2 (M+H)⁺。

[0621] 1.51.3. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(3-((2,2,2-三氟-1-(对甲苯基)乙氧基)磺酰基)丙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((-2-((叔丁氧羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向实施例1.52.2(117 mg)的二氯甲烷(6 mL)溶液中加入苯并[d]噻唑-2-胺(19.27 mg)、1-乙基-3-[3-(二甲基氨基)丙基]-碳二亚胺盐酸盐(37 mg)和4-(二甲基氨基)吡啶(23.5 mg),并将该混合物搅拌过夜。将该反应混合物用乙酸乙酯(200 mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤,蒸发溶剂,得到标题产物。MS (ESI) m/e 1226.1 (M+H)⁺。

[0622] 1.51.4. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(3-磺基丙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[2-(甲基氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

将实施例1.52.3(130 mg)溶于二氯甲烷/三氟乙酸(1:1,6 mL)中,并搅拌过夜。蒸发溶剂之后,将残余物溶于N,N-二甲基甲酰胺/水(1:1,12 mL)中,用反相HPLC纯化(Gilson),用10至85%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ ppm 12.68 (s, 1H), 8.13-8.32 (m, 2H), 8.01 (d, 1H), 7.75 (dd, 2H), 7.42-7.56 (m, 2H), 7.29 (s, 1H), 7.28-7.34 (m, 1H), 7.00 (dd, 2H), 5.03 (s, 2H), 4.19 (t, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.50-3.57 (m, 4H), 2.95-3.05 (m, 2H), 2.81 (t, 2H), 2.52-2.65 (m, 4H), 1.39 (s, 2H), 0.96-1.32 (m, 12H), 0.87 (s, 6H). MS (ESI) m/e 898.3 (M+H)⁺。

[0623] 1.52. 合成3-{1-[3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[1-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-7-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.53)

1.52.1. 6-氯-3-(1-((3-(2-羟乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

如实施例1.51.4所述,用实施例1.51.1替代实施例1.51.3,制备标题化合物。

[0624] 1.52.2. 6-氯-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-((甲磺酰基)氧基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向冷却(0°C)的实施例1.53.1(1.89 g)的二氯甲烷(30 mL)和三乙胺(3 mL)溶液中加入甲磺酰氯(1.03 g),并将该混合物搅拌4小时。将该反应混合物用乙酸乙酯(200 mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到标题产物,其不用进一步纯化,在下一个反应中直接使用。

[0625] 1.52.3. 3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-氯吡啶甲酸叔丁基酯

将实施例1.53.2(2.2 g)溶于7N氨/甲醇(40 mL)中,并在微波条件(Biotage Initiator)下,将该混合物在80°C下搅拌2小时。真空浓缩该混合物,将残余物溶于乙酸乙酯中,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤,蒸发溶剂,提供标题化合物。

[0626] 1.52.4. 6-氯-3-[1-({3,5-二甲基-7-[(2,2,7,7-四甲基-10,10-二氧化-3,3-二苯基-4,9-二氧杂-10 λ^6 -硫杂-13-氮杂-3-硅杂十五烷-15-基)氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸叔丁基酯

向实施例1.53.3(1.59 g)的N,N-二甲基甲酰胺(30 mL)溶液中加入4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基乙烯磺酸酯(1.6 g)和N,N-二异丙基乙胺(1 mL),并将该混合物搅拌4天。将该反应混合物溶于乙酸乙酯(400 mL)中,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到标题产物,其不用进一步纯化,在下一个反应中直接使用。MS (ESI) m/e 976.8 (M+H)⁺。

[0627] 1.52.5. 3-{1-[3-({13-(叔丁氧羰基)-2,2,7,7-四甲基-10,10-二氧化-3,3-二苯基-4,9-二氧杂-10 λ^6 -硫杂-13-氮杂-3-硅杂十五烷-15-基)氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-氯吡啶-2-甲酸叔丁基酯

向实施例1.53.4(2.93 g)的四氢呋喃(50 mL)溶液中加入二碳酸二叔丁基酯(0.786 g)和4-(二甲基氨基)吡啶(100 mg),并将该混合物搅拌过夜。真空浓缩该混合物,将残余物溶于乙酸乙酯(300 mL)中,用1N HCl水溶液、水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤,蒸发溶剂,得到残余物,用硅胶色谱纯化残余物,用20%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 1076.9 (M+H)⁺。

[0628] 1.52.6. 3-{1-[3-({13-(叔丁氧羰基)-2,2,7,7-四甲基-10,10-二氧化-3,3-二苯基-4,9-二氧杂-10 λ^6 -硫杂-13-氮杂-3-硅杂十五烷-15-基)氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-(1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)吡啶-2-甲酸叔丁基酯

向7-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1,2,3,4-四氢喹啉(65 mg)的1,4-二噁烷(10 mL)和水(5 mL)溶液中加入实施例1.53.5(220 mg)、双(三苯基膦)二氯化钼(II)(7 mg)和氟化铯(45.6 mg)。将该混合物在120°C下、在微波条件(Biotage Initiator)下搅拌30分钟。将该混合物用乙酸乙酯(200 mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤,蒸发溶剂,得到残余物,用硅胶色谱纯化残余物,用20%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 1173.9 (M+H)⁺。

[0629] 1.52.7. 3-{1-[3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]

癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[1-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]吡啶-2-甲酸

向环境温度的双(2,5-二氧化吡咯烷-1-基)碳酸酯(48.2 mg)的乙腈(10 mL)悬浮液中加入噻唑并[4,5-b]吡啶-2-胺(34 mg),并将该混合物搅拌1小时。加入实施例1.53.6(220 mg)的乙腈(5 mL)溶液,并将该悬浮液剧烈搅拌过夜。将该混合物用乙酸乙酯(200 mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到残余物,将残余物溶于三氟乙酸(10 mL)中,并搅拌过夜。蒸发溶剂之后,用反相HPLC纯化残余物(Gilson系统),用10-85%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱,提供标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 8.42-8.48 (m, 1H), 8.31-8.40 (m, 4H), 8.03 (d, 1H), 7.89 (d, 1H), 7.80 (d, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.26-7.37 (m, 2H), 3.93-4.02 (m, 3H), 3.90 (s, 3H), 3.52-3.60 (m, 3H), 3.17-3.26 (m, 2H), 3.05-3.14 (m, 2H), 2.76-2.89 (m, 5H), 2.23 (s, 3H), 1.90-2.01 (m, 2H), 1.44 (s, 2H), 1.27-1.37 (m, 4H), 0.99-1.22 (m, 5H), 0.88 (s, 6H). MS (ESI) m/e 855.1 (M+H)⁺.

[0630] 1.53. 合成3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]-癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.54)

1.53.1. 3-{1-[(3-{[13-(叔丁氧羰基)-2,2,7,7-四甲基-10,10-二氧化-3,3-二苯基-4,9-二氧杂-10λ⁶-硫杂-13-氮杂-3-硅杂十五烷-15-基]氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]-癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(甲氧羰基)萘-2-基]吡啶-2-甲酸叔丁基酯

在实施例1.53.6中,用7-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1-萘酸甲酯替代7-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1,2,3,4-四氢喹啉,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 1226.6 (M+H)⁺。

[0631] 1.53.2. 7-[6-(叔丁氧羰基)-5-{1-[(3-{[13-(叔丁氧羰基)-2,2,7,7-四甲基-10,10-二氧化-3,3-二苯基-4,9-二氧杂-10λ⁶-硫杂-13-氮杂-3-硅杂十五烷-15-基]氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]-癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-基]萘-1-甲酸

向实施例1.54.1(79 mg)的四氢呋喃(4 mL)、甲醇(3 mL)和水(3 mL)溶液中加入氢氧化锂一水合物(60 mg),并将该混合物搅拌过夜。将该反应用乙酸乙酯(200 mL)稀释,用1N HCl水溶液、水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤,蒸发溶剂,得到标题产物,其不用进一步纯化,在下一步中直接使用。MS (ESI) m/e 1211.6 (M+H)⁺。

[0632] 1.53.3. 3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]-癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]吡啶-2-甲酸

向实施例1.54.2(60 mg)的二氯甲烷(4 mL)溶液中加入噻唑并[4,5-b]吡啶-2-胺(7.56 mg)、1-乙基-3-[3-(二甲基氨基)丙基]-碳二亚胺盐酸盐(19 mg)和4-(二甲基氨基)吡啶(12.2 mg),并将该混合物搅拌过夜。将该反应混合物用乙酸乙酯(200 mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到标题产物,将标题产物溶于二氯甲烷/三氟乙酸(1:1,6 mL)中,并搅拌过夜。蒸发溶剂之后,将残余物溶于N,N-二甲基甲酰胺/水

(1:1, 12 mL) 中, 用反相HPLC纯化 (Gilson系统), 用10-85%的乙腈/水 (含有0.1%三氟乙酸) 洗脱, 得到标题化合物。

¹H NMR (400 MHz,

二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 13.42 (s, 1H), 9.05 (s, 1H), 8.51-8.69 (m, 2H), 8.31-8.41 (m, 2H), 8.18-8.26 (m, 4H), 8.06 (d, 1H), 7.97 (d, 1H), 7.68-7.79 (m, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.40 (dd, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.18-3.29 (m, 3H), 3.07-3.15 (m, 2H), 2.82 (t, 3H), 2.24 (s, 3H), 1.44 (s, 2H), 0.97-1.37 (m, 10H), 0.88 (s, 6H).
MS (ESI) m/e 850.1 (M+H)⁺.

[0633] 1.54. 合成(1 ξ)-1-({2-[5-(1-{[3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1³.⁷]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-羧基吡啶-2-基]-8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-5-基}甲基)-1,5-脱水-D-葡萄糖醇(化合物W2.55)

1.54.1. (2R,3R,4S,5R)-3,4,5-三(甲氧基甲氧基)-2-((甲氧基甲氧基)甲基)-6-亚甲基四氢-2H-吡喃

按照J. R. Walker等人的Bioorg. Med. Chem. 2006,14,3038-3048,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 370 (M+NH₄)⁺。

[0634] 1.54.2. 4-溴-3-氰基甲基-苯甲酸甲基酯

用30分钟向三甲硅烷甲腈(3.59 mL)的四氢呋喃(6 mL)溶液中逐滴加入1M四丁基氟化铵(26.8 mL, 1M, 在四氢呋喃中)。将该溶液在室温下搅拌30分钟。将4-溴-3-(溴甲基)苯甲酸甲酯(7.50 g)溶于乙腈(30 mL)中,并用30分钟逐滴加入到第一个溶液中。将该溶液加热至80°C,保持30分钟,并冷却。减压浓缩该溶液,并将残余物用硅胶色谱纯化,用20-30%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,提供标题化合物。

[0635] 1.54.3. 3-(2-氨基乙基)-4-溴苯甲酸甲基酯

将实施例1.55.2(5.69 g)溶于四氢呋喃(135 mL)中,并加入1M硼烷(在四氢呋喃中, 24.6 mL)。将该溶液在室温下搅拌16小时,并慢慢地用甲醇和1M盐酸水溶液淬灭。加入4M盐酸水溶液(150 mL),并将该溶液在室温下搅拌16小时。减压浓缩该混合物,并使用固体碳酸钾,将pH值调节至11和12之间。然后,用二氯甲烷(3x100 mL)提取该溶液。将有机提取物合并,并用无水硫酸钠干燥。过滤该溶液,减压浓缩,并将残余物用硅胶色谱纯化,用10-20%的甲醇/二氯甲烷洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 258, 260 (M+H)⁺。

[0636] 1.54.4. 4-溴-3-[2-(2,2,2-三氟乙酰氨基)-乙基]-苯甲酸甲基酯

将实施例1.55.2(3.21 g)溶于二氯甲烷(60 mL)中。将该溶液冷却至0°C,并加入三乙胺(2.1 mL)。逐滴加入三氟乙酸酐(2.6 mL)。将该溶液在0°C下搅拌十分钟,并除去冷却浴。1小时之后,加入水(50 mL),并将该溶液用乙酸乙酯(100 mL)稀释。加入1M盐酸水溶液(50 mL),分离有机层,用1M盐酸水溶液洗涤,而后用盐水洗涤。用无水硫酸钠干燥该溶液,过滤,并减压浓缩,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 371, 373 (M+H)⁺。

[0637] 1.54.5. 5-溴-2-(2,2,2-三氟乙酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲基酯

将实施例1.55.4(4.40 g)和多聚甲醛(1.865 g)放在烧瓶中,并加入浓硫酸(32 mL)。将该溶液在室温下搅拌一个小时。加入冷水(120 mL),并将该溶液用乙酸乙酯(3 x 100 mL)提取。将提取物合并,用饱和碳酸氢钠水溶液(100 mL)和水(100 mL)洗涤,并用无水硫酸钠干燥。过滤该混合物,并减压浓缩。用硅胶色谱纯化残余物,用20-30%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 366, 368 (M+H)⁺。

[0638] 1.54.6. 2-(2,2,2-三氟乙酰基)-5-(((3S,4R,5R,6R)-3,4,5-三(甲氧基甲氧基)-6-((甲氧基甲氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)甲基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

将实施例1.55.1 (242 mg) 溶于四氢呋喃 (7 mL) 中,并逐滴加入9-硼二环[3.3.1]壬烷 (3.0 mL)。将该溶液回流4.5小时,并冷却至室温。加入磷酸钾 (3M,0.6 mL),并将该溶液搅拌10分钟。然后,将该溶液脱气,并用氮气吹扫三次。单独地,将实施例1.55.5 (239 mg) 和二氯[1,1'-双(二苯基膦)二茂铁]钯(II)二氯甲烷加合物 (39 mg) 溶于N,N-二甲基甲酰胺 (7 mL) 中,将该溶液脱气,并用氮气吹扫三次。将N,N-二甲基甲酰胺溶液逐滴加入到四氢呋喃溶液中,并将该混合物搅拌18小时。加入HCl溶液 (0.1M水溶液,25 mL),并将该溶液用乙酸乙酯 (30 mL) 提取三次。将有机提取物合并,用盐水洗涤,并用无水硫酸钠干燥,过滤,浓缩。用硅胶色谱纯化残余物,用30-50%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 710 (M+NH₄)⁺。

[0639] 1.54.7. 5-(((3S,4R,5R,6R)-3,4,5-三(甲氧基甲氧基)-6-((甲氧基甲氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)甲基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

将实施例1.55.6 (247 mg) 溶于甲醇 (1 mL)、四氢呋喃 (1 mL) 和水 (0.5 mL) 中。加入碳酸钾 (59 mg),并将该溶液在室温下搅拌16小时。将该溶液用乙酸乙酯 (10 mL) 稀释,并用饱和碳酸氢钠水溶液 (1 mL) 洗涤。将有机层用无水硫酸钠干燥,过滤,并减压浓缩,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 600 (M+H)⁺。

[0640] 1.54.8. 2-(5-溴-6-(叔丁氧羰基)吡啶-2-基)-5-(((3S,4R,5R,6R)-3,4,5-三(甲氧基甲氧基)-6-((甲氧基甲氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)甲基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

在实施例1.1.11中,用实施例1.55.7替代1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 799, 801 (M-叔丁基)⁺。

[0641] 1.54.9. 2-(6-(叔丁氧羰基)-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)吡啶-2-基)-5-(((3S,4R,5R,6R)-3,4,5-三(甲氧基甲氧基)-6-((甲氧基甲氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)甲基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

在实施例1.2.1中,用实施例1.55.8替代实施例1.1.11,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 903 (M+H)⁺, 933 (M+MeOH-H)⁻。

[0642] 1.54.10. 2-((3-((4-碘代-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙胺

在实施例1.10.5中,用实施例1.13.1替代实施例1.10.4,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 444 (M+H)⁺。

[0643] 1.54.11. (2-((3-((4-碘代-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)氨基甲酸叔丁基酯

在实施例1.10.6中,用实施例1.55.10替代实施例1.10.5,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 544 (M+H)⁺, 488 (M-叔丁基)⁺, 542 (M-H)⁻。

[0644] 1.54.12. 2-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶-2-基)-5-(((3R,4S,5S,6S)-3,4,5-三(甲氧基甲氧基)-6-((甲氧基甲氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)甲基)-1,2,3,4-四氢

异喹啉-8-甲酸甲酯

在实施例1.13.4中,用实施例1.55.9替代实施例1.2.1,用实施例1.55.11替代实施例1.13.3,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 1192 (M+H)⁺。

[0645] 1.54.13. 2-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶-2-基)-5-(((3R,4S,5S,6S)-3,4,5-三(甲氧基甲氧基)-6-((甲氧基甲氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)甲基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸

在实施例1.2.5中,用实施例1.55.12替代实施例1.2.4,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 1178 (M+H)⁺, 1176 (M-H)⁻。

[0646] 1.54.14. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(((3R,4S,5S,6S)-3,4,5-三(甲氧基甲氧基)-6-((甲氧基甲氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)甲基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

在实施例1.52.3中,用实施例1.55.13替代实施例1.52.2,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 1310 (M+H)⁺, 1308 (M-H)⁻。

[0647] 1.54.15. (1 ξ)-1-({2-[5-(1-{{3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基]-6-羧基吡啶-2-基]-8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-5-基}甲基)-1,5-脱水-D-葡萄糖醇

在实施例1.52.4中,用实施例1.55.14替代实施例1.52.3,用4M盐酸水溶液替代三氟乙酸,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz,

二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 7.96 (d, 1H), 7.73 (d, 1H), 7.58 (bs, 3H), 7.46 (d, 1H), 7.43-7.39 (m, 2H), 7.30 (d, 1H), 7.27-7.25 (m, 2H), 6.88 (d, 1H), 4.90 (q, 2H), 3.76 (m, 4H), 3.51 (m, 1H), 3.21 (d, 2H), 3.18 (d, 1H), 3.12 (m, 2H), 3.02 (m, 4H), 2.93 (m, 4H), 2.83 (m, 2H), 2.59 (m, 2H), 2.03 (s, 3H), 1.44 (s, 1H), 1.34 (s, 2H), 1.23 (q, 4H), 1.07 (m, 4H), 0.97 (q, 2H), 0.80 (s, 6H). MS (ESI) m/e 922 (M+H)⁺, 920 (M-H)⁻.

[0648] 1.55. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[3-{2-[3-羧丙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.56)

1.55.1. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((4-(叔丁氧基)-4-氧代丁基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

在50°C,在琥珀色密封管瓶中,向实施例1.2.7(0.103 g)和4-溴丁酸叔丁基酯(0.032 g)的二氯甲烷(0.5 mL)溶液中加入N,N-二异丙基乙胺(0.034 mL),过夜。浓缩该反应,溶于二甲亚砜/甲醇(1:1,2 mL)中,用反相HPLC纯化,使用Gilson系统,用5-75%的乙腈/水(包含0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 944.6 (M+1)。

[0649] 1.55.2. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[3-{2-[3-羧丙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-

甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

将实施例1.56.1 (0.049 g) 溶于二氯甲烷 (1 mL) 中,用三氟乙酸 (0.5 mL) 处理,并将该混合物搅拌过夜。浓缩该反应,溶于 (1:1) N,N-二甲基甲酰胺/水混合物 (2 mL) 中,用反相 HPLC 纯化,使用 Gilson 系统,用 5-75% 的乙腈/水 (包含 0.1% v/v 三氟乙酸) 洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 13.09- 12.32 (m, 2H), 8.31 (s, 2H), 8.03 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.54- 7.40 (m, 3H), 7.40- 7.32 (m, 2H), 7.29 (s, 1H), 6.96 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 3.89 (t, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.55 (d, 2H), 3.02 (q, 4H), 2.92 (q, 2H), 2.33 (t, 2H), 2.10 (s, 3H), 1.80 (p, 2H), 1.43 (s, 2H), 1.30 (q, 4H), 1.21- 0.95 (m, 6H), 0.87 (s, 6H). MS (ESI) m/e 832.3 (M+H) $^+$.

[0650] 1.56. 合成 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸 (化合物 W2.57)

1.56.1. 3-(1-((3-(2-羟乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(甲氧羰基)萘-2-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向 7-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1-萘酸甲酯 (2.47 g) 的 1,4-二噁烷 (40 mL) 和水 (20 mL) 溶液中加入实施例 1.20.2 (4.2 g)、双(三苯基膦)氯化钯 (II) (556 mg) 和氟化铯 (3.61 g)。将该混合物回流过夜,用乙酸乙酯 (400 mL) 稀释,并用水和盐水洗涤。将有机层用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。将残余物用硅胶色谱纯化,用 20% 的乙酸乙酯/二氯甲烷洗脱,而后用 5% 的甲醇/二氯甲烷洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 680.84 (M+H) $^+$ 。

[0651] 1.56.2. 3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-((甲磺酰基)氧基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(甲氧羰基)萘-2-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向冷却 (0°C) 的实施例 1.57.1 (725 mg) 的二氯甲烷 (10 mL) 和三乙胺 (0.5 mL) 溶液中加入甲磺酰氯 (0.249 mL)。将该混合物在室温下搅拌 4 小时,用乙酸乙酯稀释,并用水和盐水洗涤。用硫酸钠干燥有机层,过滤,并浓缩,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 758.93 (M+H) $^+$ 。

[0652] 1.56.3. 3-(1-((3-(2-叠氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(甲氧羰基)萘-2-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向实施例 1.57.2 (4.2 g) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (30 mL) 溶液中加入叠氮化钠 (1.22 g)。将该混合物在室温下搅拌 96 小时,用乙酸乙酯 (600 mL) 稀释,并用水和盐水洗涤。用硫酸钠干燥有机层,过滤,并浓缩,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 704.86 (M+H) $^+$ 。

[0653] 1.56.4. 7-(5-(1-((3-(2-叠氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(叔丁氧羰基)吡啶-2-基)-1-萘酸

向实施例 1.57.3 (3.5 g) 的四氢呋喃/甲醇/水 (2:1:1, 30 mL) 溶液中加入氢氧化锂一水合物 (1.2 g),并将该混合物在室温下搅拌过夜。用 1N HCl 水溶液酸化该反应混合物,用乙酸乙酯 (600 mL) 稀释,并用水和盐水洗涤。用硫酸钠干燥有机层,过滤,并浓缩,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 691.82 (M+H) $^+$ 。

[0654] 1.56.5. 3-(1-((3-(2-叠氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向实施例1.57.4 (870 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(10 mL)溶液中加入苯并[d]噻唑-2-胺(284 mg)、氟-N,N,N',N'-四甲基甲脒(tetramethylformamidinium)六氟磷酸盐(499 mg)和N,N-二异丙基乙胺(488 mg)。将该混合物在60°C下搅拌3小时,用乙酸乙酯(200 mL)稀释,并用水和盐水洗涤。用硫酸钠干燥有机层,过滤,并浓缩,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 824.02 (M+H)⁺。

[0655] 1.56.6. 3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向实施例1.57.5 (890 mg)的四氢呋喃(30 mL)溶液中加入Pd/C(90 mg, 5%)。将该混合物在氢气氛围中、在室温下搅拌过夜,并过滤。浓缩滤液,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 798.2 (M+H)⁺。

[0656] 1.56.7. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[3,5-二甲基-7-{2-[(3-膦酰丙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

向实施例1.57.6 (137 mg)的二氯甲烷(6 mL)溶液中加入实施例1.14.2 (43 mg)。将该混合物在室温下搅拌1.5小时,并加入NaBH₄(26 mg)的甲醇(2 mL)溶液。将该混合物在室温下搅拌2小时,用乙酸乙酯(200 mL)稀释,并用2N NaOH水溶液、水和盐水洗涤。将有机层用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。将残余物溶于二氯甲烷(5 mL)中,并用三氟乙酸(5 mL)处理过夜。将该反应混合物浓缩。用反相HPLC纯化残余物(Gilson系统),用梯度10-85%的乙腈/水溶液(包含0.1% v/v三氟乙酸)洗脱,提供标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ 9.03 (s, 1H), 8.48-8.35 (m, 3H), 8.29-8.16 (m, 3H), 8.08 (dd, 1H), 8.03 (dd, 1H), 7.94 (d, 1H), 7.82 (d, 1H), 7.71 (dd, 1H), 7.53-7.47 (m, 2H), 7.38 (td, 1H), 4.81-0.53 (m, 89H). MS (ESI) m/e 863.2 (M+H)⁺。

[0657] 1.57. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[4-(β-D-吡喃葡萄糖基氧基)苄基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸(化合物W2.58)

向实施例1.3.1 (44.5 mg)的四氢呋喃(2 mL)和乙酸(0.2 mL)溶液中加入4-(((2S,3R,4R,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯甲醛(17 mg)和MgSO₄(300 mg)。将该混合物在室温下搅拌1小时,而后加入氰基硼氢化钠/树脂(300 mg)。将该混合物在室温下搅拌过夜,并过滤。浓缩滤液,用反相HPLC纯化残余物(Gilson系统),用梯度10-85%的乙腈/水溶液(包含0.1% v/v三氟乙酸)洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 1015.20 (M+H)⁺。

[0658] 1.58. 合成3-(1-{[3-(2-{[4-(β-D-阿洛吡喃糖基氧基)苄基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.59)

向实施例1.3.1 (44.5 mg)的四氢呋喃(2 mL)和乙酸(0.2 mL)溶液中加入4-(((2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯甲醛(17 mg)和MgSO₄(300 mg),并将该混合物在室温下搅拌1小时,而后加入氰基硼氢化钠/树脂(300 mg)。将该混合物在室温下搅拌过夜,并过滤。浓缩滤液,用反相HPLC纯化残余物(Gilson系统),用梯

度10-85%的乙腈/水溶液(包含0.1% v/v三氟乙酸)洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 1015.20 (M+H)⁺。

[0659] 1.59. 合成3-{1-[(3-{2-[氮杂环丁烷-3-基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.60)

1.59.1. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((1-(叔丁氧羰基)氮杂环丁烷-3-基)(2-((4-(叔丁基二苯基硅烷基)羟基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

将实施例1.2.8(0.075 g)、3-氧代氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁基酯(0.021 g)和三乙酰氧基硼氢化钠(0.025 g)的二氯甲烷(0.5 mL)溶液在室温下搅拌过夜。将反应物加载到硅胶上,用0-10%的甲醇/二氯甲烷洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 1403.9 (M+1)。

[0660] 1.59.2. 3-{1-[(3-{2-[氮杂环丁烷-3-基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸

将实施例1.60.1(0.029 g)的二氯甲烷(1 mL)溶液用三氟乙酸(1 mL)处理,并搅拌过夜。浓缩该反应,溶于(1:1)二甲亚砜/甲醇(2 mL)中,用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-80%的乙腈/水(包含0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

¹H NMR (400

MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.86 (s, 1H), 8.81 (s, 2H), 8.04 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.52 (d, 1H), 7.50-7.46 (m, 1H), 7.44 (d, 1H), 7.40-7.33 (m, 2H), 7.30 (s, 1H), 6.96 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.37 (q, 1H), 4.27 (s, 2H), 4.11 (s, 2H), 3.89 (t, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.58-3.54 (m, 2H), 3.32 (t, 2H), 3.24 (s, 2H), 3.01 (t, 2H), 2.85 (t, 2H), 2.10 (s, 3H), 1.48-0.97 (m, 12H), 0.87 (s, 6H).
MS (ESI) m/e 909.2 (M+H)⁺。

[0661] 1.60. 合成3-{1-[(3-{2-[(3-氨基丙基)(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸(化合物W2.61)

1.60.1. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((3-((叔丁氧羰基)氨基)丙基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

使用实施例1.33.1的方法,用(3-氧代丙基)氨基甲酸叔丁基酯替代(2-氧代乙基)氨基甲酸叔丁基酯,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 1011.5 (M+H)。

[0662] 1.60.2. 3-{1-[(3-{2-[(3-氨基丙基)(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-2-甲酸

如实施例1.6.2所述,用实施例1.61.1替代实施例1.6.1,制备标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 12.87 (s, 1H), 9.10 (s, 1H), 8.04 (d, 1H), 7.88-7.67 (m, 4H), 7.62 (d, 1H), 7.57-7.40 (m, 3H), 7.36 (td, 2H), 6.96 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.05-3.78 (m, 4H), 3.41-3.08 (m, 3H), 2.94 (tt, 6H), 2.11 (s, 3H), 1.92 (t, 2H), 1.53-0.95 (m, 11H), 0.87 (s, 6H). MS (ESI) m/e 911.3 (M+H).

[0663] 1.61. 合成6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-3-{1-[3-(2-[(2-羧乙基)氨基]乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(化合物W2.62)

1.61.1. 3-(1-((3-(2-((3-(叔丁氧基)-3-氧代丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-氯吡啶甲酸叔丁基酯

向环境温度的实施例1.53.3 (521 mg) 的乙醇 (10 mL) 溶液中加入三乙胺 (3 mL), 而后加入丙烯酸叔丁基酯 (2 mL)。将该混合物在室温下搅拌3小时, 而后浓缩至干。将残余物溶于乙酸乙酯 (200 mL) 中, 并将该溶液用水和盐水洗涤。将有机层用硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 得到标题化合物, 其不用进一步纯化, 在下一个反应中直接使用。MS (ESI) m/e 657.21 (M+H)⁺。

[0664] 1.61.2. 3-(1-((3-(2-((3-(叔丁氧基)-3-氧代丙基)叔丁氧羰基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-氯吡啶甲酸叔丁基酯

向实施例1.62.1 (780 mg) 的四氢呋喃 (10 mL) 溶液中加入二碳酸二叔丁基酯 (259 mg), 而后加入催化数量的4-二甲基氨基吡啶。将该反应在室温下搅拌3小时, 而后浓缩至干。将残余物溶于乙酸乙酯 (200 mL) 中, 并将该溶液用饱和NaHCO₃水溶液、水和盐水洗涤。将有机层用硫酸钠干燥, 过滤, 并减压浓缩。将残余物用硅胶色谱纯化, 用20%的乙酸乙酯/庚烷洗脱, 得到标题化合物。MS (ESI) m/e 757.13 (M+H)⁺。

[0665] 1.61.3. 3-(1-((3-(2-((3-(叔丁氧基)-3-氧代丙基)叔丁氧羰基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向7-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1,2,3,4-四氢喹啉 (234 mg) 的1,4-二噁烷 (10 mL) 和水 (5 mL) 溶液中加入实施例1.62.2 (685 mg)、双(三苯基膦)二氯化钯(II) (63.2 mg) 和氟化铯 (410 mg)。将该混合物用微波照射 (Biotage Initiator) 加热至120°C, 保持30分钟。加入乙酸乙酯和水, 淬灭该反应。分离各层, 用盐水洗涤有机层, 用硫酸钠干燥, 过滤, 并减压浓缩。将残余物用硅胶色谱纯化, 用20%的乙酸乙酯/庚烷洗脱, 得到标题化合物。MS (ESI) m/e 854.82 (M+H)⁺。

[0666] 1.61.4. 6-(1-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)-3-(1-((3-(2-((3-(叔丁氧基)-3-氧代丙基)叔丁氧羰基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向环境温度下的双(2,5-二氧代吡咯烷-1-基)碳酸酯 (150 mg) 的乙腈 (10 mL) 悬浮液中加入苯并[d]噻唑-2-胺 (88 mg), 并将该混合物搅拌1小时。加入实施例1.62.3 (500 mg) 的乙腈 (2 mL) 溶液, 并将该悬浮液剧烈搅拌过夜。加入乙酸乙酯和水, 淬灭该反应。分离各层, 用盐水洗涤有机层, 用硫酸钠干燥, 过滤, 并减压浓缩。将残余物用硅胶色谱纯化, 用20%的乙酸乙酯/二氯甲烷洗脱, 得到标题化合物。MS (ESI) m/e 1030.5 (M+H)⁺。

[0667] 1.61.5. 6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-3-

{1-[(3-{2-[(2-羧乙基) 氨基] 乙氧基} -5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}] 癸-1-基) 甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基] 吡啶-2-甲酸

向环境温度下的实施例1.62.4 (110 mg) 的二氯甲烷 (0.53 mL) 溶液中加入三氟乙酸 (0.53 mL)。搅拌该反应过夜, 并浓缩, 得到粘性油。将残余物溶于二甲亚砜/甲醇 (1:1, 2 mL) 中, 用反相HPLC纯化 (Gilson系统), 用0.1%三氟乙酸水溶液中的10-55%乙腈-洗脱, 得到标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 13.10 (s, 3H), 8.37 (s, 1H), 8.26 (s, 2H), 7.98 (d, 1H), 7.86-7.71 (m, 3H), 7.44 (s, 1H), 7.39-7.31 (m, 1H), 7.26 (d, 1H), 7.19 (t, 1H), 3.92 (d, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.55 (t, 2H), 3.17-3.00 (m, 4H), 2.80 (t, 2H), 2.62 (t, 2H), 2.19 (s, 3H), 1.95-1.88 (m, 2H), 1.43 (s, 2H), 1.33-1.25 (m, 4H), 1.18-1.11 (m, 4H), 1.09-0.97 (m, 2H), 0.85 (s, 6H). MS (ESI) m/e 818.0 (M+H)⁺.

[0668] 1.63 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(N⁶, N⁶-二甲基-L-赖氨酸) (甲基) 氨基] 乙氧基} -5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}] 癸-1-基) 甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基] 吡啶-2-甲酸

将(S)-2-(((9H-芴-9-基) 甲氧基) 羰基) 氨基)-6-(二甲基氨基) 己酸 (0.029 g) 和1-[双(二甲基氨基) 亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓 3-氧化物六氟磷酸盐 (0.028 g) 在N,N-二甲基甲酰胺 (0.5 mL) 中与N,N-二异丙胺 (0.035 mL) 一起搅拌。搅拌5分钟之后, 将该溶液加入到实施例1.13.7 (0.051 g) 中, 并在室温下继续搅拌过夜。向该反应中加入二乙胺 (0.070 mL), 并将该反应搅拌2小时。将该反应用N,N-二甲基甲酰胺 (1 mL)、水 (0.5 mL) 和2,2,2-三氟乙酸 (0.103 mL) 稀释, 然后通过反相HPLC纯化, 使用梯度10%至90%的乙腈/水。收集含有产物的级分, 并冷冻干燥, 得到标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ 9.59 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 8.12 (t, 3H), 8.01 (d, 1H), 7.85 (dd, 1H), 7.81 (d, 1H), 7.77 (dd, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.38 (t, 1H), 7.30 (d, 1H), 7.22 (t, 1H), 3.97 (t, 2H), 3.89 (s, 2H), 3.49 (dt, 4H), 3.06 (s, 2H), 2.99 (q, 2H), 2.88 (s, 2H), 2.84 (t, 2H), 2.75 (d, 6H), 2.22 (s, 3H), 2.00-1.90 (m, 2H), 1.84-1.52 (m, 4H), 1.48-0.95 (m, 14H), 0.87 (d, 6H). MS (ESI) m/e 916.2 (M+H)⁺.

[0669] 1.64 合成3-{1-[(3-{2-[(3-氨基丙基) (甲基) 氨基] 乙氧基} -5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}] 癸-1-基) 甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基}-6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基] 吡啶-2-甲酸

1.64.1. 6-(1-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)-3-(1-((3-(2-((3-((叔丁氧羰基) 氨基) 丙基) (甲基) 氨基) 乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基) 甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基) 吡啶甲酸

将实施例1.21.5 (100 mg)、N,N-二异丙基乙胺 (68.9 μl) 和(3-氧代丙基) 氨基甲酸叔丁基酯 (68.4 mg) 的二氯甲烷 (3 mL) 溶液在环境温度下搅拌2小时, 并加入NaCNBH₄ (8.27 mg)。将该反应在环境温度下搅拌过夜。加入甲醇 (1 mL) 和水 (0.2 mL)。将得到的混合物搅拌10分钟, 并浓缩。将残余物溶于二甲亚砜中, 用反相HPLC纯化, 使用Gilson系统 (C18柱), 用30-80%的乙腈/0.1%三氟乙酸水溶液洗脱, 提供标题化合物的三氟乙酸盐。MS (ESI) m/e 459.4 (M+2H)²⁺。

[0670] 1.64.2. 3-{1-[(3-{2-[(3-氨基丙基) (甲基) 氨基] 乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基) 甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基}-6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]吡啶-2-甲酸

在0°C,将实施例1.64.1(100 mg)在二氯甲烷(4 mL)中用三氟乙酸(1 mL)处理1小时,并将该混合物浓缩。用反相HPLC纯化残余物(C18柱),用梯度10-60%的乙腈/0.1%三氟乙酸水溶液洗脱,提供标题化合物的三氟乙酸盐。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ 9.38 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 7.98 (d, 1H), 7.90 – 7.69 (m, 6H), 7.44 (s, 2H), 7.35 (td, 1H), 7.27 (d, 1H), 7.22 – 7.16 (m, 1H), 3.94 (d, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.64 (t, 2H), 3.28 – 2.98 (m, 4H), 2.87 – 2.70 (m, 8H), 2.19 (s, 3H), 1.90 (dp, 4H), 1.43 (s, 2H), 1.36 – 1.22 (m, 4H), 1.15 (s, 4H), 1.08 – 0.95 (m, 2H), 0.86 (s, 6H). MS (ESI) m/e 817.6 (M+H)⁺.

[0671] 1.65 合成3-{1-[(3-{2-[氮杂环丁烷-3-基(甲基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基) 甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基}-6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]吡啶-2-甲酸

1.65.1. 6-(1-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基)-3-(1-((3-(2-((1-(叔丁氧羰基)氮杂环丁烷-3-基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸

使用实施例1.64.1所描述的方法,用3-氧代氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁基酯替代(3-氧代丙基)氨基甲酸叔丁基酯,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 915.3 (M+H)⁺。

[0672] 1.65.2. 3-{1-[(3-{2-[氮杂环丁烷-3-基(甲基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基) 甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基}-6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]吡啶-2-甲酸

使用实施例1.64.2的方法,用实施例1.65.1替代实施例1.64.1,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ 9.01 (s, 2H), 8.37 (s, 1H), 7.98 (d, 1H), 7.86 – 7.70 (m, 3H), 7.44 (s, 2H), 7.34 (td, 1H), 7.27 (d, 1H), 7.23 – 7.15 (m, 1H), 4.22 (s, 4H), 4.07 (s, 2H), 3.93 (t, 2H), 3.58 (t, 2H), 3.11 (s, 2H), 2.80 (t, 2H), 2.68 (s, 3H), 2.19 (s, 3H), 1.92 (p, 2H), 1.42 (s, 2H), 1.30 (s, 4H), 1.15 (s, 4H), 1.09 – 0.96 (m, 2H), 0.85 (s, 6H). MS (ESI) m/e 815.5 (M+H)⁺.

[0673] 1.66 合成N⁶-(37-氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-基)-L-赖氨酸-N-[2-((3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基) 甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基) 氧基) 乙基]-L-丙氨酸

1.66.1. (S)-6-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-2-((叔丁氧羰基)氨基)己酸

向在冰浴中冷却的(S)-6-氨基-2-((叔丁氧羰基)氨基)己酸(8.5 g)溶液(在5% NaHCO₃水溶液(300 mL)和二噁烷(40 mL)的混合物中)中逐滴加入(9H-芴-9-基)甲基吡咯烷-1-基碳酸酯(11.7 g)的二噁烷(40 mL)溶液。将该反应混合物升温至室温,并搅拌24小时。额外准备三个上述管瓶。反应完成之后,将所有的四个反应混合物合并,并真空除去有机溶剂。用盐酸水溶液(1N)将残余物水溶液酸化至pH3,并用乙酸乙酯(3×500 mL)提取。将合并的有机层用盐水洗涤,用硫酸镁干燥,过滤,并真空浓缩,得到粗品化合物,用甲基叔丁

基醚重结晶,得到标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400MHz, 氯仿-*d*) δ 11.05 (br. s., 1H), 7.76 (d, 2H), 7.59 (d, 2H), 7.45 - 7.27 (m, 4H), 6.52 - 6.17 (m, 1H), 5.16 - 4.87 (m, 1H), 4.54 - 4.17 (m, 4H), 3.26 - 2.98 (m, 2H), 1.76 - 1.64 (m, 1H), 1.62 - 1.31 (m, 14H).

[0674] 1.66.2. 17-羟基-3,6,9,12,15-五氧杂十七烷-1-酸叔丁基酯

向3,6,9,12-四氧杂十四烷-1,14-二醇(40 g)的甲苯(800 mL)溶液中逐份加入叔丁醇钾(20.7 g)。将该混合物在室温下搅拌30分钟。将2-溴乙酸叔丁基酯(36 g)逐滴加入到该混合物中。将该反应在室温下搅拌16小时。额外准备两个上述管瓶。反应完成之后,将所有的三个反应混合物合并。将水(500 mL)加入到合并的混合物中,并将该混合物浓缩至1升。用二氯甲烷提取该混合物,并用1N叔丁醇钾水溶液(1 L)洗涤。用 Na_2SO_4 干燥有机层,过滤,并浓缩,获得粗品,用硅胶柱色谱纯化,用二氯甲烷:甲醇(50:1)洗脱,获得标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400MHz, 氯仿-*d*) δ 4.01 (s, 2H), 3.75 - 3.58 (m, 21H), 1.46 (s, 9H).

[0675] 1.66.3. 17-(甲苯磺酰基氧基)-3,6,9,12,15-五氧杂十七烷-1-酸叔丁基酯

在0°C,在氮气氛围中,向实施例1.66.2(30 g)的二氯甲烷(500 mL)溶液中逐滴加入4-甲苯-1-磺酰氯(19.5 g)和三乙胺(10.3 g)的二氯甲烷(500 mL)溶液。将该混合物在室温下搅拌18小时,并倒入水(100 mL)中。用二氯甲烷(3×150 mL)提取该溶液,并将有机层用盐酸(6N, 15 mL)洗涤,然后用 NaHCO_3 (5%水溶液, 15 mL)洗涤,而后用水(20 mL)洗涤。用 Na_2SO_4 干燥有机层,过滤,并浓缩,获得残余物,用硅胶柱色谱纯化残余物,用石油醚:乙酸乙酯(10:1)至二氯甲烷:甲醇(5:1)洗脱,获得标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400MHz, 氯仿-*d*) δ 7.79 (d, 2H), 7.34 (d, 2H), 4.18 - 4.13 (m, 2H), 4.01 (s, 2H), 3.72 - 3.56 (m, 18H), 2.44 (s, 3H), 1.47 (s, 9H).

[0676] 1.66.4. 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-酸

在0°C下,向2,5,8,11,14,17-六氧杂十九烷-19-醇(32.8 g)的四氢呋喃(300 mL)溶液中加入氢化钠(1.6 g)。将该混合物在室温下搅拌4小时。在室温下,将实施例1.66.3(16 g)的四氢呋喃(300 mL)溶液逐滴加入到该反应混合物中。将得到的反应混合物在室温下搅拌16小时,而后加入水(20 mL)。将该混合物在室温下再搅拌3小时,完成叔丁基酯的水解。将最终反应混合物真空浓缩,除去有机溶剂。将水性残余物用二氯甲烷(2×150 mL)提取。将水层酸化至pH3,而后用乙酸乙酯(2×150 mL)提取。浓缩水层,获得粗品,用硅胶柱色谱纯化,用石油醚:乙酸乙酯(1:1)至二氯甲烷:甲醇(5:1)的梯度进行洗脱,获得标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400MHz, 氯仿-*d*) δ 4.19 (s, 2H), 3.80 - 3.75 (m, 2H), 3.73 - 3.62 (m, 40H), 3.57 (dd, 2H), 3.40 (s, 3H).

[0677] 1.66.5. (43S,46S)-43-((叔丁氧羰基)氨基)-46-甲基-37,44-二氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂-38,45-二氮杂四十七烷-47-酸

使用标准Fmoc固相肽合成方法和2-氯三苯甲基树脂,合成实施例1.66.5。将2-氯三苯甲基树脂(12 g, 100 mmol), (S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酸(10 g, 32.1 mmol)和N,N-二异丙基乙胺(44.9 mL, 257 mmol)在无水分子筛干燥的二氯甲烷(100 mL)中、在14°C下摇动24小时。过滤该混合物,并将滤饼用二氯甲烷(3×500 mL)、二甲基甲酰胺

(2×250 mL)和甲醇(2×250 mL)洗涤(每个步骤5分钟)。向上述树脂中加入20%哌啶/二甲基甲酰胺(100 mL),除去Fmoc基团。向该混合物中鼓入氮气15分钟,而后过滤。再用20%哌啶/二甲基甲酰胺(100 mL)洗涤树脂五次(每个步骤5分钟),并用二甲基甲酰胺(5×100 mL)洗涤,得到脱保护的L-Ala加载的树脂。

[0678] 向实施例1.66.1(9.0 g)的N,N-二甲基甲酰胺(50 mL)溶液中加入羟基苯并三唑(3.5 g)、2-(6-氯-1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基铵六氟磷酸盐(9.3 g)和N,N-二异丙基乙胺(8.4 mL)。将该混合物在20℃下搅拌30分钟。将上述混合物加入到D-Ala加载的树脂中,并在室温下鼓入氮气90分钟,进行混合。过滤该混合物,并用二甲基甲酰胺洗涤树脂(每个步骤5分钟)。向上述树脂中加入大约20%哌啶/N,N-二甲基甲酰胺(100 mL),除去Fmoc基团。向该混合物中鼓入氮气15分钟,并过滤。再用20%哌啶/二甲基甲酰胺(100 mL)洗涤树脂五次(每个步骤5分钟),并最后用二甲基甲酰胺(5×100 mL)洗涤。

[0679] 向实施例1.66.4(11.0 g)的N,N-二甲基甲酰胺(50 mL)溶液中加入羟基苯并三唑(3.5 g)、2-(6-氯-1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基铵六氟磷酸盐(9.3 g)和N,N-二异丙基乙胺(8.4 mL),并将该混合物加入到树脂中,在室温下鼓入氮气3小时,进行混合。过滤该混合物,用二甲基甲酰胺(5×100 mL)、二氯甲烷(8×100 mL)洗涤残余物(每个步骤5分钟)。

[0680] 向最终的树脂中加入1%三氟乙酸/二氯甲烷(100 mL),并鼓入氮气5分钟。过滤该混合物,并收集滤液。将这种裂解操作重复四次。使用NaHCO₃,将合并的滤液调到pH7,并用水洗涤。用Na₂SO₄干燥有机层,过滤,浓缩,获得标题化合物。

¹H NMR (400MHz, 甲醇 -d₄) δ 4.44 - 4.33 (m, 1H), 4.08 - 4.00 (m, 1H), 3.98 (s, 2H), 3.77 - 3.57 (m, 42H), 3.57 - 3.51 (m, 2H), 3.36 (s, 3H), 3.25 (t, 2H), 1.77 (br. s., 1H), 1.70 - 1.51 (m, 4H), 1.44 (s, 9H), 1.42 - 1.39 (m, 3H).

[0681] 1.66.6. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(((43S,46S)-43-((叔丁氧羰基)氨基)-46-甲基-37,44,47-三氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂-38,45,48-三氮杂五十烷-50-基)氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

将实施例1.66.5(123 mg,0.141 mmol)与1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓 3-氧化物六氟磷酸盐(58.9 mg)和N,N-二异丙基乙胺(0.049 mL)在N-甲基-2-吡咯烷酮(1 mL)中混合10分钟,而后加入到实施例1.2.7(142 mg)和N,N-二异丙基乙胺(0.049 mL)的N-甲基-2-吡咯烷酮(1.5 mL)溶液中。将该反应混合物在室温下搅拌两个小时。用反相HPLC纯化该粗品反应混合物,使用Gilson系统和C18 25 x 100 mm柱,用5-85%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将产物级分冷冻干燥,得到标题化合物。MS (LC/MS) m/e 1695.5 (M+H)⁺。

[0682] 1.66.7. 3-(1-((3-(((43S,46S)-43-氨基-46-甲基-37,44,47-三氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂-38,45,48-三氮杂五十烷-50-基)氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

在室温下,将实施例1.66.6(82 mg)用1 mL三氟乙酸处理30分钟。在温和的氮气流中蒸发溶剂,并将残余物用反相HPLC纯化,使用Gilson系统和C18 25 x 100 mm柱,用5-85%的乙

腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将产物级分冷冻干燥,得到标题化合物的三氟乙酸盐。

¹H NMR (400 MHz,

二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.86 (s, 1H), 8.04 (dd, 4H), 7.64 (dt, 2H), 7.55 – 7.41 (m, 3H), 7.36 (q, 2H), 6.95 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.40 – 4.27 (m, 1H), 3.93 – 3.72 (m, 7H), 3.59 – 3.47 (m, 42H), 3.33 – 3.27 (m, 3H), 3.23 (s, 5H), 3.05 (dt, 5H), 2.10 (s, 3H), 1.72 – 1.64 (m, 2H), 1.48 – 1.36 (m, 4H), 1.35 – 1.16 (m, 10H), 1.16 – 0.94 (m, 6H), 0.84 (d, 6H). MS (ESI) m/e 751.8 (2M+H)²⁺.

[0683] 1.67 合成甲基6-[4-(3-{[2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基)丙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基]-6-脱氧-β-L-吡喃葡萄糖苷

1.67.1. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-(戊-4-炔-1-基氨基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

向3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸叔丁基酯(85 mg)的四氢呋喃(2 mL)溶液中加入戊-4-炔醛(8.7 mg)、乙酸(20 mg, 0.318)和无水硫酸钠(300 mg)。将该混合物在室温下搅拌1小时。将三乙酰氧基硼氢化钠(45 mg)加入到该反应混合物中。将该混合物在室温下搅拌过夜。将该反应混合物用乙酸乙酯(200 mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用无水硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到粗品,将粗品溶于二氯甲烷(5 mL)和三氟乙酸(3 mL)中。将该混合物在室温下搅拌过夜。蒸发溶剂之后,将残余物溶于二甲亚砜/甲醇(1:1, 3 mL)中,在Gilson系统(C18柱)上,用反相HPLC纯化,用20-80%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。MS (APCI) m/e 812.2 (M+H)⁺。

[0684] 1.67.2. 甲基6-[4-(3-{[2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]氨基)丙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基]-6-脱氧-β-L-吡喃葡萄糖苷

向(2R,3R,4S,5S,6S)-2-叠氨基-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(8.63 mg)的t-BuOH(2 mL)和水(1 mL)溶液中加入实施例1.67.1(20 mg)、硫酸铜(II)五水合物(2.0 mg)和抗坏血酸钠(5 mg)。将该混合物在100℃下、在微波条件(Biotage Initiator)下加热20分钟。将LiOH·H₂O(50 mg)加入到该混合物中,并在室温下搅拌过夜。将该混合物用三氟乙酸中和,并在Gilson系统(C18柱)上,用反相HPLC纯化,用20-80%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。MS (APCI) m/e 1032.2 (M+H)⁺。

[0685] 1.68 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[3-{2-[2-羧乙基]氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

1.68.1. 2-((3,5-二甲基-7-((5-甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡唑-1-基)甲基)金刚烷-1-基)氧基)乙醇

向2-((3-((4-碘代-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙

醇(8.9 g)和PdCl₂(dppf)-CH₂Cl₂加合物([1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(II)(1:1),818 mg)的乙腈(120 mL)溶液中加入三甲胺(10 mL)和4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷(12.8 mL)。将该混合物在回流下搅拌过夜。将该混合物冷却至室温,不用进一步后处理,在下一个反应中直接使用。MS (ESI) m/e 467.3 (M+Na)⁺。

[0686] 1.68.2. 6-氯-3-(1-((3-(2-羟乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向3-溴-6-氯吡啶甲酸叔丁基酯(6.52 g)的四氢呋喃(100 mL)和水(20 mL)溶液中加入实施例1.68.1(9.90 g)、(1S,3R,5R,7S)-1,3,5,7-四甲基-8-十四烷基-2,4,6-三氧杂-8-磷杂金刚烷(0.732 g)、三(二亚苄基丙酮)二钯(0)(Pd₂(dba)₃,1.02 g)和K₃PO₄(23.64 g)。将该混合物在回流下搅拌过夜。减压浓缩该混合物,将残余物溶于乙酸乙酯(500 mL)中,用水和盐水洗涤,并用无水硫酸钠干燥。过滤,蒸发溶剂,得到粗品,用硅胶色谱纯化粗品,用20至40%的乙酸乙酯/二氯甲烷洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 530.3 (M+H)⁺。

[0687] 1.68.3. 6-氯-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-((甲磺酰基)氧基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向冷却(0℃)的实施例1.68.2(3.88 g)的二氯甲烷(30 mL)和三乙胺(6 mL)溶液中加入甲磺酰氯(2.52 g)。将该混合物在室温下搅拌4小时。将该反应混合物用乙酸乙酯(400 mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用无水硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到粗品(4.6 g),其不用进一步纯化,在下一个反应中直接使用。MS (ESI) m/e 608.1 (M+H)⁺。

[0688] 1.68.4. 3-{1-[3-{2-[双(叔丁氧羰基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基}-6-氯吡啶-2-甲酸叔丁基酯

向实施例1.68.3(151 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(3 mL)溶液中加入亚胺二甲酸二叔丁基酯(54 mg)。将该混合物在室温下搅拌过夜。将该反应混合物用乙酸乙酯(200 mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用无水硫酸钠干燥。过滤,蒸发溶剂,得到标题化合物,其不用进一步纯化,在下一步中直接使用。MS (ESI) m/e 729.4 (M+H)⁺。

[0689] 1.68.5. 7-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶-2-基)-1-萘酸

向7-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1-萘酸甲酯(257 mg)的1,4-二噁烷(10 mL)和水(5 mL)溶液中加入实施例1.68.4(600 mg)、双(三苯基膦)二氯化钯(II)(57.8 mg)和CsF(375 mg)。将该混合物在120℃下、在微波条件(Biotage Initiator)下搅拌30分钟。将该混合物用乙酸乙酯(200 mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用无水硫酸钠干燥。过滤,蒸发溶剂,得到粗品,用硅胶色谱纯化粗品,用20%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,得到二酯中间体。将残余物溶于四氢呋喃(10 mL)、甲醇(5 mL)和水(5 mL)中,加入LiOH·H₂O(500 mg),并将该混合物在室温下搅拌过夜。将该混合物用2N HCl水溶液酸化,溶于400 mL乙酸乙酯中,用水和盐水洗涤,并用无水硫酸钠干燥。过滤,蒸发溶剂,得到标题化合物。MS (APCI) m/e 765.3 (M+H)⁺。

[0690] 1.68.6. 3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基)吡啶甲酸

向实施例1.68.5(500 mg)的二氯甲烷(10 mL)溶液中加入苯并[d]噻唑-2-胺(98 mg)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(251 mg)和4-二甲基氨基吡啶(160 mg)。将该混

合物在室温下搅拌过夜。将该反应混合物用乙酸乙酯(400 mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用无水硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到残余物,将残余物溶于二氯甲烷和三氟乙酸(10 mL,1:1)中。搅拌过夜之后,减压浓缩该溶液。将残余物溶于N,N-二甲基甲酰胺(12 mL)中,用反相HPLC纯化(使用Gilson系统和C18柱,用20-80%的乙腈/水(包含0.1%三氟乙酸)洗脱),得到标题化合物。MS (ESI) m/e 741.2 (M+H)⁺。

[0691] 1.68.7. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

向实施例1.68.6(35 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(4 mL)溶液中加入丙烯酸叔丁基酯(120 mg)和水(138 mg)。将该混合物在室温下搅拌过夜。将该反应混合物用乙酸乙酯(400 mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用无水硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到残余物,将残余物溶于二氯甲烷和三氟乙酸(10 mL,1:1)中。16小时之后,减压浓缩该混合物。将残余物溶于N,N-二甲基甲酰胺(2 mL)中,在Gilson系统(C18柱)上,用反相HPLC纯化,用20-80%的乙腈/水(包含0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜 -d₆) δ ppm 13.08 (s, 1H), 8.99 (d, 1H), 8.43 - 8.24 (m, 4H), 8.24 - 8.11 (m, 3H), 8.04 (d, 1H), 7.99 (d, 1H), 7.90 (d, 1H), 7.78 (d, 1H), 7.74 - 7.62 (m, 1H), 7.53 - 7.43 (m, 2H), 7.35 (q, 1H), 3.87 (s, 2H), 3.08 (dp, 4H), 2.62 (t, 2H), 2.20 (s, 3H), 1.43 (s, 2H), 1.29 (q, 4H), 1.14 (s, 4H), 1.03 (q, 2H), 0.85 (s, 6H)。

[0692] 1.69 合成6-[5-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-3-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

1.69.1. 3-溴喹啉-5-甲酸甲酯

向3-溴喹啉-5-甲酸(2 g)的甲醇(30 mL)溶液中加入浓H₂SO₄(5 mL)。将该溶液在回流下搅拌过夜。减压浓缩该混合物。将残余物溶于乙酸乙酯(300 mL)中,并用Na₂CO₃水溶液、水和盐水洗涤。用无水硫酸钠干燥之后,过滤,并蒸发溶剂,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 266 (M+H)⁺。

[0693] 1.69.2. 3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)喹啉-5-甲酸甲酯

向实施例1.69.1(356 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(5 mL)溶液中加入PdCl₂(dppf)-CH₂Cl₂加合物([1,1'-双(二苯基膦)二茂铁]二氯化钯(II)(1:1),55 mg)、乙酸钾(197 mg)和双联频哪醇基二硼(510 mg)。将该混合物在60°C下搅拌过夜。将该混合物冷却至室温,不用进一步后处理,在下一个反应中直接使用。MS (ESI) m/e 339.2 (M+Na)⁺。

[0694] 1.69.3. 3-[5-{1-[(3-{2-[双(叔丁氧羰基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-(叔丁氧羰基)吡啶-2-基]喹啉-5-甲酸甲酯

向实施例1.69.2(626 mg)的1,4-二噁烷(10 mL)和水(5 mL)溶液中加入实施例1.68.4(1.46 g)、双(三苯基膦)二氯化钯(II)(140 mg)和CsF(911 mg)。将该混合物在120°C下、在微波条件(Biotage Initiator)下搅拌30分钟。用乙酸乙酯(200 mL)稀释该混合物,用水和盐水洗涤,用无水硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。将残余物用硅胶色谱纯化,用20%的乙酸乙酯/庚烷(1 L)洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 880.3 (M+H)⁺。

[0695] 1.69.4. 3-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)喹啉-5-甲酸

向实施例1.69.3 (1.34 g) 的四氢呋喃 (10 mL)、甲醇 (5 mL) 和水 (5 mL) 溶液中加入 LiOH·H₂O (120 mg), 并将该混合物在室温下搅拌过夜。将该混合物用 2N HCl 水溶液酸化, 用乙酸乙酯 (400 mL) 稀释, 用水和盐水洗涤, 并用无水硫酸钠干燥。过滤, 蒸发溶剂, 得到标题化合物。MS (APCI) m/e 766.3 (M+H)⁺。

[0696] 1.69.5. 3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(5-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-3-基)吡啶甲酸

向实施例1.69.4 (200 mg) 的二氯甲烷 (10 mL) 溶液中加入苯并[d]噻唑-2-胺 (39.2 mg)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺 (50 mg) 和 4-二甲基氨基吡啶 (32 mg)。将该混合物在室温下搅拌过夜。用乙酸乙酯 (200 mL) 稀释该反应混合物, 用水和盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 并浓缩。将残余物溶于二氯甲烷和三氟乙酸 (10 mL, 1:1) 中, 并将该反应混合物搅拌过夜。浓缩该混合物, 将残余物溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (12 mL) 中, 用反相 HPLC 纯化, 使用 Gilson 系统 (C18 柱), 用 20-80% 的乙腈/水 (含有 0.1% 三氟乙酸) 洗脱, 得到标题化合物。MS (ESI) m/e 742.1 (M+H)⁺。

[0697] 1.69.6. 6-[5-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-3-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

向实施例1.69.5 (36 mg) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (2 mL) 溶液中加入 4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基乙烯磺酸酯 (22 mg) 和水 (0.3 mL)。将该混合物在室温下搅拌 3 小时。将该反应混合物用二氯甲烷和三氟乙酸 (10 mL, 1:1) 稀释, 并搅拌过夜。浓缩该混合物, 将残余物溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (4 mL) 中, 用反相 HPLC 纯化, 使用 Gilson 系统 (C18 柱), 用 20-80% 的乙腈/水 (含有 0.1% 三氟乙酸) 洗脱, 得到标题化合物。

¹H NMR (400 MHz,

二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 13.19 (s, 2H), 9.70 (d, 1H), 9.40 (s, 1H), 8.31 (d, 2H), 8.16 (d, 1H), 8.06 (d, 1H), 8.01 (d, 1H), 7.98 - 7.88 (m, 1H), 7.80 (d, 1H), 7.52 - 7.43 (m, 2H), 7.37 (q, 1H), 3.89 (s, 2H), 3.22 (p, 2H), 3.10 (q, 2H), 2.80 (t, 2H), 2.23 (s, 3H), 1.43 (s, 2H), 1.30 (q, 4H), 1.23 - 1.10 (m, 4H), 1.04 (q, 2H), 0.87 (s, 6H). MS (ESI) m/e 850.2 (M+H)⁺。

[0698] 1.70 合成 6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-6-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

1.70.1. 6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)喹啉-4-甲酸乙酯

向 6-溴喹啉-4-甲酸乙酯 (140 mg) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (2 mL) 溶液中加入 PdCl₂(dppf)-CH₂Cl₂ 加合物 (([1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯钯(II) (1:1), 20.42 mg)、乙酸钾 (147 mg) 和双联频哪醇基二硼 (190 mg)。将该混合物在 60°C 下搅拌过夜。将该混合物冷却至室温, 不用进一步后处理, 在下一个反应中直接使用。MS (ESI) m/e 328.1 (M+H)⁺。

[0699] 1.70.2. 6-[5-{1-[(3-{2-[双(叔丁氧羰基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-(叔丁氧羰基)吡啶-2-基}喹啉-4-甲酸乙酯

向实施例1.70.1 (164 mg) 的1,4-二噁烷(10 mL) 和水(5 mL) 溶液中加入实施例1.68.4 (365 mg)、双(三苯基膦) 氯化钨(II) (35 mg) 和CsF (228 mg)。将该混合物在120℃下、在微波条件(Biotage Initiator) 下搅拌30分钟。用乙酸乙酯(200 mL) 稀释该混合物,用水和盐水洗涤,用无水硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。将残余物用硅胶色谱纯化,用20%的乙酸乙酯/庚烷(1 L) 洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 894.3 (M+H)⁺。

[0700] 1.70.3. 6-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-(叔丁氧羰基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)喹啉-4-甲酸

向实施例1.70.2 (3.1 g) 的四氢呋喃(20 mL)、甲醇(10 mL) 和水(10 mL) 溶液中加入LiOH.H₂O (240 mg)。将该混合物在室温下搅拌过夜。用2N HCl水溶液酸化该混合物,并用乙酸乙酯(400 mL) 稀释。将有机层用水和盐水洗涤,并用无水硫酸钠干燥。过滤,蒸发溶剂,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 766.3 (M+H)⁺。

[0701] 1.70.4. 3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(4-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-6-基)吡啶甲酸

向实施例1.70.3 (4.2 g) 的二氯甲烷(30 mL) 溶液中加入苯并[d]噻唑-2-胺(728 mg)、1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺(1.40 g) 和4-二甲氨基吡啶(890 mg),并将该混合物在室温下搅拌过夜。将该反应混合物用乙酸乙酯(500 mL) 稀释,用水和盐水洗涤,并用无水硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到残余物,将残余物溶于二氯甲烷和三氟乙酸(10 mL, 1:1) 中,并搅拌过夜。浓缩该混合物,将残余物溶于N,N-二甲基甲酰胺(4 mL) 中,用反相HPLC纯化,使用Gilson系统(C18柱),用20-80%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 742.2 (M+H)⁺。

[0702] 1.70.5. 6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-6-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

向实施例1.70.4 (111 mg) 的N,N-二甲基甲酰胺(4 mL) 溶液中加入4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基乙烯磺酸酯(67 mg)、N,N-二异丙基乙胺(0.2 mL) 和水(0.3 mL)。将该混合物在室温下搅拌3小时。将该反应混合物用二氯甲烷和三氟乙酸(10 mL, 1:1) 稀释,并搅拌过夜。浓缩该混合物,将残余物溶于N,N-二甲基甲酰胺(4 mL) 中,用反相HPLC纯化,使用Gilson系统(C18柱),用20-80%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ ppm 13.31 (s, 1H), 9.10 (d, 1H), 8.91 (s, 1H), 8.58 (dd, 1H), 8.47 – 8.16 (m, 4H), 8.06 (dd, 1H), 7.99 – 7.89 (m, 2H), 7.79 (d, 1H), 7.53 – 7.43 (m, 2H), 7.42 – 7.31 (m, 1H), 3.87 (s, 2H), 3.53 (d, 1H), 3.20 (p, 2H), 3.07 (p, 2H), 2.78 (t, 2H), 2.20 (s, 3H), 1.40 (s, 2H), 1.28 (q, 4H), 1.21 – 1.07 (m, 4H), 1.02 (q, 2H), 0.84 (s, 6H). MS (ESI) m/e 850.1 (M+H)⁺。

[0703] 1.71 合成6-[5-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-3-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

向实施例1.69.5 (140 mg) 的N,N-二甲基甲酰胺(10 mL) 溶液中加入丙烯酸叔丁基酯(242 mg) 和水(0.3 mL),并将该混合物在室温下搅拌度过周末。将该反应混合物用二氯甲

烷和三氟乙酸(10 mL, 1:1) 稀释, 并搅拌过夜。浓缩该混合物, 将残余物溶于N,N-二甲基甲酰胺(4 mL) 中, 用反相HPLC纯化, 使用Gilson系统(C18柱), 用20-80%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸) 洗脱, 得到标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 13.17 (s, 2H), 9.69 (d, 1H), 9.37 (d, 1H), 8.30 (dd, 3H), 8.15 (dd, 1H), 8.04 (dd, 1H), 7.99 – 7.88 (m, 2H), 7.79 (d, 1H), 7.53 – 7.40 (m, 2H), 7.34 (td, 1H), 3.88 (s, 2H), 3.55 (t, 2H), 3.08 (dt, 4H), 2.62 (t, 2H), 2.21 (s, 3H), 1.43 (s, 2H), 1.29 (q, 4H), 1.14 (s, 4H), 1.03 (q, 2H), 0.85 (s, 6H). MS (ESI) m/e 814.2 (M+H) $^+$.

[0704] 1.72 合成6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,5-a]吡嗪-7(8H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基) 氨基] 乙氧基} 三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基) 甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基} 吡啶-2-甲酸

1.72.1. 7-(5-溴-6-(叔丁氧羰基) 吡啶-2-基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,5-a]吡嗪-1-甲酸乙酯

在实施例1.1.11中, 用5,6,7,8-四氢咪唑并[1,5-a]吡嗪-1-甲酸乙酯盐酸盐替代1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸酯盐酸盐, 制备标题化合物。MS (ESI) m/e 451, 453 (M+H) $^+$, 395, 397 (M-叔丁基) $^+$ 。

[0705] 1.72.2. 7-(6-(叔丁氧羰基)-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基) 吡啶-2-基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,5-a]吡嗪-1-甲酸乙酯

在实施例1.2.1中, 用实施例1.72.1替代实施例1.1.11, 制备标题化合物。MS (ESI) m/e 499 (M+H) $^+$, 443 (M-叔丁基) $^+$, 529 (M+CH₃OH-H) $^-$ 。

[0706] 1.72.3. 7-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基) 氨基) 乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基) 甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基) 吡啶-2-基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,5-a]吡嗪-1-甲酸乙酯

在实施例1.13.4中, 用实施例1.72.2替代实施例1.2.1, 用实施例1.55.11替代实施例1.13.3, 制备标题化合物。MS (ESI) m/e 760 (M+H) $^+$, 758 (M-H) $^-$ 。

[0707] 1.72.4. 7-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基) 氨基) 乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基) 甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基) 吡啶-2-基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[1,5-a]吡嗪-1-甲酸

在实施例1.1.13中, 用实施例1.72.3替代实施例1.1.12, 制备标题化合物。MS (ESI) m/e 760 (M+H) $^+$, 758 (M-H) $^-$ 。

[0708] 1.72.5. 6-(1-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,5-a]吡嗪-7(8H)-基)-3-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基) 氨基) 乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基) 甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基) 吡啶甲酸叔丁基酯

在实施例1.52.3中, 用实施例1.72.4替代实施例1.52.2, 制备标题化合物。MS (ESI) m/e 892 (M+H) $^+$, 890 (M-H) $^-$ 。

[0709] 1.72.6. 3-(1-{[3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基] 甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,5-a]吡嗪-7(8H)-基] 吡啶-2-甲酸

在实施例1.1.17中, 用实施例1.72.5替代实施例1.1.16, 制备标题化合物。MS (ESI) m/e 736 (M+H) $^+$, 734 (M-H) $^-$ 。

[0710] 1.72.7. 6-(1-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,5-a]吡嗪-7(8H)-基)-3-(1-((3-(2-((2-(((4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2-甲基丁-2-基)氧基)磺酰基)乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸

在实施例1.2.8中,用实施例1.72.6替代实施例1.2.7,制备标题化合物。

[0711] 1.72.8. 6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,5-a]吡嗪-7(8H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基}吡啶-2-甲酸

在实施例1.2.9中,用实施例1.72.7替代实施例1.2.8,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 8.36 (bs, 2H), 8.03 (bs, 1H), 7.99 (d, 1H), 7.76 (d, 1H), 7.64 (d, 1H), 7.46 (t, 1H), 7.34 (s, 1H), 7.33 (t, 1H), 7.17 (d, 1H), 5.12 (s, 2H), 4.28 (t, 2H), 4.11 (t, 2H), 3.86 (s, 2H), 3.56 (t, 2H), 3.24 (m, 2H), 3.11 (m, 2H), 2.82 (t, 2H), 2.15 (s, 3H), 1.42 (s, 2H), 1.32 (q, 4H), 1.17 (q, 4, H), 1.03 (m, 2H), 0.88 (s, 6H). MS (ESI) m/e 844 (M+H)⁺, 842 (M-H)⁻.

[0712] 1.73 合成8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-2-{6-羧基-5-[1-((3-[2-((3-[1-(β-D-吡喃葡萄糖基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙基)氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基]吡啶-2-基}-1,2,3,4-四氢异喹啉

向(2R,3R,4S,5S,6S)-2-叠氨基-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(8.63 mg)的t-CH₃OH(2 mL)和水(1 mL)溶液中加入实施例1.67.1(20 mg)、硫酸铜(II)五水合物(2.0 mg)和抗坏血酸钠(5 mg)。将该混合物在100℃下、在微波条件(Biotage Initiator)下搅拌20分钟。将LiOH·H₂O(50 mg)加入到该混合物中,并继续搅拌过夜。将该混合物用三氟乙酸中和,并在Gilson系统(C18柱)上,用反相HPLC纯化,用20-80%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。MS (APCI) m/e 987.3 (M+H)⁺。

[0713] 1.74 合成6-[7-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1H-吡啶-2-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基}吡啶-2-甲酸

1.74.1. 2-[5-{1-[(3-{2-[双(叔丁氧羰基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基}-6-(叔丁氧羰基)吡啶-2-基]-1H-吡啶-7-甲酸甲酯

在实施例1.1.12中,用2-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡啶-7-甲酸甲酯替代实施例1.2.1,用实施例1.68.4替代实施例1.1.6,制备实施例1.74.1。MS (ESI) m/e 866.3 (M-H)⁻。

[0714] 1.74.2. 2-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶-2-基)-1H-吡啶-7-甲酸

在实施例1.1.13中,用实施例1.74.1替代实施例1.1.12,制备实施例1.74.2。MS (ESI) m/e 754.4 (M+H)⁺。

[0715] 1.74.3. 6-(7-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-1H-吡啶-2-基)-3-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

在实施例1.1.14中,用实施例1.74.2替代实施例1.1.13,制备实施例1.74.3。MS (ESI) m/e 886.5 (M+H)⁺。

[0716] 1.74.4. 3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(7-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-1H-吡啶-2-基)吡啶甲酸

在实施例1.1.17中,用实施例1.74.3替代实施例1.1.16,制备实施例1.74.4。MS (ESI) m/e 730.2 (M+H)⁺。

[0717] 1.74.5. 6-[7-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1H-吡啶-2-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[(2,2,7,7-四甲基-10,10-二氧化-3,3-二苯基-4,9-二氧杂-10 λ^6 -硫杂-13-氮杂-3-硅杂十五烷-15-基)氧基]三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

在实施例1.2.8中,用实施例1.74.4替代实施例1.2.7,制备实施例1.74.5。MS (ESI) m/e 1176.7 (M+H)⁺。

[0718] 1.74.6. 6-[7-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1H-吡啶-2-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

在实施例1.2.9中,用实施例1.74.5替代实施例1.2.8,制备实施例1.74.6。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ ppm 11.32 (d, 1H), 8.23 (dd, 1H), 8.18 (d, 1H), 7.93 – 7.82 (m, 3H), 7.71 (d, 1H), 7.62 (s, 3H), 7.57 – 7.51 (m, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.40 (d, 1H), 7.35 (t, 1H), 7.22 (t, 1H), 4.86 (t, 2H), 3.85 (s, 2H), 3.47 (t, 2H), 3.08 (t, 2H), 2.88 (p, 2H), 2.21 (s, 3H), 1.37 (s, 2H), 1.32 – 1.20 (m, 4H), 1.14 (q, 4H), 1.07 – 0.94 (m, 2H), 0.84 (s, 6H). MS (ESI) m/e 838.2 (M+H)⁺。

[0719] 1.75 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-6-[3-(甲基氨基)丙基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

1.75.1. 3-溴-5-(溴甲基)苯甲酸甲酯

将偶氮二异丁腈(1.79 g)加入到3-溴-5-甲基苯磺酸甲酯(50 g)和350 mL乙腈中的N-溴代琥珀酰亚胺(44.7 g)中,并将该混合物回流过夜。再加入11 g的N-溴代琥珀酰亚胺和0.5 g偶氮二异丁腈,并继续回流3小时。浓缩该混合物,吸收在500 mL乙醚中,并搅拌30分钟。过滤该混合物,并将得到的溶液浓缩。硅胶色谱分离粗品,使用10%的乙酸乙酯/庚烷,得到标题化合物。

[0720] 1.75.2. 3-溴-5-(氰基甲基)苯甲酸甲酯

将四丁氰化铵(50 g)加入到300 mL乙腈中的实施例1.75.1(67.1 g)中,并将该混合物加热至70°C过夜。冷却该混合物,倒入乙醚中,并用水和盐水冲洗。然后,浓缩该混合物,硅胶色谱分离,使用2-20%的乙酸乙酯/庚烷,得到标题化合物。

[0721] 1.75.3. 3-(2-氨基乙基)-5-溴苯甲酸甲酯

将硼烷-THF复合物(126 mL, 1M溶液)加入到实施例1.75.2(16 g)的200 mL THF溶液中,并将该混合物搅拌过夜。用甲醇(50 mL)小心地淬灭该反应,而后浓缩至50 mL体积。将该混合物吸收在120 mL甲醇/120 mL 4M HCl/120 mL二噁烷中,并搅拌过夜。减压除去有机物,并将残余物用乙醚提取两次。除去提取物。用固体K₂CO₃碱化有机层,而后用乙酸乙酯和二氯

甲烷(2x)提取。合并提取物,用Na₂SO₄干燥,过滤,并浓缩,得到标题化合物。

[0722] 1.75.4. 3-溴-5-(2-(2,2,2-三氟乙酰胺基)乙基)苯甲酸甲酯

在0°C,将三氟乙酸酐(9.52 mL)逐滴加入到实施例1.75.3(14.5 g)和三甲胺(11.74 mL)的200 mL二氯甲烷混合物中。加入之后,将该混合物升温至室温,并搅拌三天。将该混合物倒入乙醚中,并用NaHCO₃溶液和盐水洗涤。浓缩该混合物,硅胶色谱分离,使用5-30%的乙酸乙酯/庚烷,得到标题化合物。

[0723] 1.75.5. 6-溴-2-(2,2,2-三氟乙酰胺基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

将硫酸加入到实施例1.75.4(10 g)中,直到它溶解为止(40 mL),此时,加入多聚甲醛(4.24 g),并将该混合物搅拌2小时。然后,将该溶液倒在400 mL冰上,并搅拌10分钟。将该混合物用乙酸乙酯(3x)提取,并将合并的提取物用NaHCO₃溶液和盐水洗涤,而后浓缩。硅胶色谱分离粗品,使用2-15%的乙酸乙酯/庚烷,得到标题化合物。

[0724] 1.75.6. 6-(3-((叔丁氧羰基)(甲基)氨基)丙基)-2-(2,2,2-三氟乙酰胺基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

将实施例1.75.5(5.1 g)、(丙-2-炔-1-基)氨基甲酸(叔丁基甲基)酯(2.71 g)、双(三苯基膦)二氯化钯(II)(PdCl₂(PPh₃)₂,0.49 g)、CuI(0.106 g)和三乙胺(5.82 mL)的50 mL二噁烷溶液在50°C下搅拌过夜。浓缩该混合物,硅胶色谱分离,使用10-50%的乙酸乙酯/庚烷,得到标题化合物。

[0725] 1.75.7. 6-(3-((叔丁氧羰基)(甲基)氨基)丙基)-2-(2,2,2-三氟乙酰胺基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

在250 mL耐压瓶中,将实施例1.75.6(4.2 g)、四氢呋喃(20 mL)和甲醇(20.00 mL)加入到湿润的20% Pd(OH)₂/C(3 g)中,并在50 psi的压力和50°C下摇动12小时。过滤该溶液,并浓缩,得到标题化合物。

[0726] 1.75.8. 2-(5-溴-6-(叔丁氧羰基)吡啶-2-基)-6-(3-((叔丁氧羰基)(甲基)氨基)丙基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

将实施例1.75.7(4.22 g)和碳酸钾(1.53 g)在60 mL四氢呋喃、25 mL甲醇和10 mL水中搅拌过夜。浓缩该混合物,并加入60 mL N,N-二甲基甲酰胺。然后,向其中加入实施例1.1.9(3.05 g)和三乙胺(5 mL),并将该反应在60°C下搅拌过夜。将该混合物冷却至室温,倒入乙酸乙酯(600 mL)中,用水(3x)和盐水洗涤,用Na₂SO₄干燥,过滤,并浓缩。硅胶色谱分离残余物,使用5-50%的乙酸乙酯/庚烷,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 618.2 (M+H)⁺。

[0727] 1.75.9. 6-(3-((叔丁氧羰基)(甲基)氨基)丙基)-2-(6-(叔丁氧羰基)-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

向实施例1.75.8(3.7 g)、三乙胺(2.50 mL)和PdCl₂(dppf)(([1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(II)(1:1),0.29 g)的25 mL乙腈溶液中加入4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷(1.74 mL),并将该反应混合物加热至75°C,保持5小时,然后在60°C下搅拌过夜。浓缩该混合物,硅胶色谱分离,使用5-50%的乙酸乙酯/庚烷,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 666.4 (M+H)⁺。

[0728] 1.75.10 4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基2-((2-((3-((4-碘代-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)氨基)乙磺酸酯

将实施例1.55.10 (2.39 g)、4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基乙烯磺酸酯 (2.41 g) 和三乙胺 (1.51 mL) 在30 mL N,N-二甲基甲酰胺中、在45°C下搅拌3小时。将该混合物冷却,倒入乙醚(400 mL)中,将该乙醚溶液用水(3x)和盐水洗涤,并浓缩。硅胶色谱分离粗品,使用2-50%的乙酸乙酯/庚烷(加入1%三乙胺),得到标题化合物。MS (ESI) m/e 890.6 (M+H)⁺。

[0729] 1.75.11 6-(6-(3-((叔丁氧羰基)(甲基)氨基)丙基)-8-(甲氧羰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((2-((4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸

将实施例1.75.9 (1.777 g)、实施例1.75.10 (1.98 g)、三(二亚苄基丙酮)二钨(0) (0.102 g)、1,3,5,7-四甲基-8-十四烷基-2,4,6-三氧杂-8-磷杂金刚烷(0.918 g)和磷酸钾(1.889 g)加入到25 mL二噁烷/10 mL水中,并将该溶液排气/充满氮气若干次。使反应澄清,并在70°C下搅拌过夜。将该混合物冷却,倒入乙酸乙酯(200 mL)中,并用水和盐水洗涤。浓缩该混合物,硅胶色谱分离,使用5-50%的乙酸乙酯/庚烷,而后使用10%的甲醇/乙酸乙酯(含有1%三乙胺),得到标题化合物。MS (ESI) m/e 1301.4 (M+H)⁺。

[0730] 1.75.12 6-(3-((叔丁氧羰基)(甲基)氨基)丙基)-2-(5-(1-((3-(2-((2-((4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-羧基吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸

将实施例1.75.11 (1.5 g)和LiOH·H₂O (0.096 g)在15 mL四氢呋喃和3 mL水中、在45°C下搅拌10天。将该混合物倒入200 mL乙酸乙酯/20 mL NaH₂PO₄溶液中,加入浓HCl溶液,直到pH值达到3为止。分离各层,并用乙酸乙酯提取水层两次。将合并的有机层用盐水洗涤,并浓缩。硅胶色谱分离残余物,使用0-5%的甲醇/乙酸乙酯,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 1287.3 (M+H)⁺。

[0731] 1.75.13 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-6-(3-((叔丁氧羰基)(甲基)氨基)丙基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((2-((4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸

如实施例1.2.6所述,制备标题化合物,用实施例1.75.12替代实施例1.2.5。MS (ESI) m/e 1419.5 (M+H)⁺。

[0732] 1.75.14 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-6-[3-(甲基氨基)丙基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[3,5-二甲基-7-{2-[2-磺乙基]氨基}乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基}吡啶-2-甲酸

如实施例1.2.9所述,用实施例1.75.13替代实施例1.2.8,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.90 (bs, 1H), 8.33 (m, 2H), 8.02 (d, 1H), 7.78 (d, 1H), 7.66 (m, 1H), 7.47 (m, 3H), 7.35 (m, 3H), 7.25 (s, 2H), 6.95 (d, 1H), 4.95 (s, 2H), 4.28 (t, 2H), 4.11 (t, 2H), 3.95 (m, 2H), 3.20 (m, 2H), 3.08 (m, 2H), 2.96 (m, 2H), 2.89 (m, 2H), 2.78 (m, 2H), 2.65 (m, 2H), 2.55 (t, 2H), 2.12 (s, 3H), 1.95 (m, 2H), 1.39 (s, 2H), 1.25 (m, 6H), 1.12 (m, 6H), 0.93 (s, 3H), 0.85 (s, 6H). MS (ESI) m/e 926.8 (M+H)⁺。

[0733] 1.76 合成5-[[2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基]氨基]-5-脱氧-D-阿糖醇

1.76.1. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-(((4R,4'R,5R)-2,2,2',2'-四甲基-[4,4'-二(1,3-二氧戊环)]-5-基)甲基)氨基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

将实施例1.2.7(75 mg)和(4R,4'R,5S)-2,2,2',2'-四甲基-[4,4'-二(1,3-二氧戊环)]-5-甲醛(22 mg)溶于二氯甲烷(1 mL)中。加入三乙酰氧基硼氢化钠(40 mg),并将该溶液在室温下搅拌16小时。减压浓缩该溶液,并将物质用硅胶快速柱色谱纯化,用5-10%的甲醇/二氯甲烷洗脱。减压蒸发溶剂,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 1016 (M+H)⁺, 1014 (M-H)⁻。

[0734] 1.76.2. 5-[[2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基]氨基]-5-脱氧-D-阿糖醇

将实施例1.76.1(45 mg)溶于三氟乙酸(1 mL)和水(0.2 mL)中。将该溶液在室温下混合五天。减压除去溶剂,并将该物质吸收在甲醇(2 mL)中。在配备有Luna柱(C18(2), 100 Å, 250 x 30 mm)上,用反相HPLC纯化该物质,使用25-75%的乙腈/水(w/0.1% TFA),经过30分钟。收集产物级分,冷冻,并冷冻干燥,得到标题化合物的双三氟乙酸盐。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.85 (bs, 2H), 8.31 (m, 1H), 8.16 (m, 1H), 8.04 (d, 1H), 7.80 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.51-7.43 (m, 3H), 7.37 (q, 2H), 7.29 (s, 1H), 6.69 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.04 (t, 2H), 3.89 (m, 2H), 3.59 (m, 3H), 3.49 (m, 4H), 3.42 (dd, 2H), 3.22 (dd, 2H), 3.06 (m, 2H), 3.02 (m, 4H), 2.10 (s, 3H), 1.43 (s, 2H), 1.30 (q, 4H), 1.14 (t, 4H), 1.04 (q, 2H), 0.87 (s, 6H).
MS (ESI) m/e 880 (M+H)⁺, 878 (M-H)⁻.

[0735] 1.77 合成1-[[2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基]氨基]-1,2-二脱氧-D-阿拉伯-己糖醇

1.77.1. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-(((3R,4S,5R)-3,4,5,6-四羟基己基)氨基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

将(4R,5S,6R)-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2,4,5-三醇(15 mg)溶于二甲亚砜(0.5 mL)中。加入实施例1.2.7(88 mg),而后加入氰基硼氢化钠(27 mg)。逐滴加入乙酸(82 mg),并将该溶液在60°C下加热16小时。冷却该反应,用1 mL甲醇稀释,在配备有Luna柱(C18(2), 100 Å, 150 x 30 mm)的Grace Reveleris上,用反相HPLC纯化,使用20-75%的乙腈/水(w/0.1% TFA),经过60分钟。收集产物级分,冷冻,并冷冻干燥,得到标题化合物的双三氟乙酸盐。MS (ESI) m/e 950 (M+H)⁺, 948 (M-H)⁻。

[0736] 1.77.2. 1-[[2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基]氨基]-1,2-二脱氧-D-阿拉伯-己糖醇

将实施例1.77.1(39 mg)溶于二氯甲烷(0.5 mL)中。加入三氟乙酸(740 mg),并将该溶液在室温下搅拌16小时。减压除去溶剂。将残余物溶于N,N-二甲基甲酰胺(0.5 mL)中,并加

入1M氢氧化钠水溶液(0.5 mL)。将该溶液在室温下搅拌一个小时。加入三氟乙酸(0.25 mL),在配备有Luna柱(C18(2),100 A,150 x 30 mm)的Grace Reveleris上,用反相HPLC纯化该物质,使用20-75%的乙腈/水(w/0.1% TFA),经过60分钟。收集产物级分,冷冻,并冷冻干燥,得到标题化合物的双三氟乙酸盐。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 12.86 (s, 1H), 12.74 (bs, 1H), 8.28 (bs, 1H), 8.20 (bs, 1H), 8.04 (d, 1H), 7.80 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.51-7.43 (m, 3H), 7.37 (q, 2H), 7.29 (s, 1H), 6.96 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.53 (bs, 3H), 3.89 (t, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.77 (d, 1H), 3.60 (dd, 2H), 3.56 (t, 2H), 3.48 (m, 2H), 3.15 (d, 1H), 3.02 (m, 6H), 2.10 (s, 3H), 1.84 (m, 1H), 1.69 (m, 1H), 1.43 (s, 2H), 1.31 (q, 4H), 1.14 (t, 4H), 1.05 (q, 2H), 0.87 (s, 6H). MS (ESI) m/e 894 (M+H) $^+$, 892 (M-H) $^-$.

[0737] 1.78 合成6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)异喹啉-6-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1 3,7]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

1.78.1. 6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)异喹啉-4-甲酸甲酯

向6-溴异喹啉-4-甲酸甲酯(1.33 g)的N,N-二甲基甲酰胺(30 mL)溶液中加入PdCl₂(dppf)-CH₂Cl₂加合物([1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(II)(1:1),204 mg)、乙酸钾(1.48 g)和双联频哪醇基二硼(1.92 g)。将该混合物在60°C下搅拌过夜。将该混合物冷却至室温,不用进一步后处理,在下一个反应中直接使用。MS (APCI) m/e 313.3 (M+H) $^+$ 。

[0738] 1.78.2. 6-[5-{1-[(3-{2-[双(叔丁氧羰基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1 3,7]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}-6-(叔丁氧羰基)吡啶-2-基]异喹啉-4-甲酸甲酯

向实施例1.68.4(1.2 g)的1,4-二噁烷(20 mL)和水(10 mL)溶液中加入实施例1.78.1(517 mg)、双(三苯基膦)二氯化钯(II)(58 mg)和CsF(752 mg)。将该混合物在回流下搅拌过夜。LC/MS显示了期望的产物的主尖峰。用乙酸乙酯(200 mL)稀释该混合物,用水和盐水洗涤,用无水硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。将残余物用硅胶色谱纯化,用20%的乙酸乙酯/二氯甲烷洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 880.8 (M+H) $^+$ 。

[0739] 1.78.3. 6-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)异喹啉-4-甲酸

向实施例1.78.2(3.1 g)的四氢呋喃(20 mL)、甲醇(10 mL)和水(10 mL)溶液中加入LiOH.H₂O(240 mg)。将该混合物在室温下搅拌过夜。用2N HCl水溶液酸化该混合物,并用乙酸乙酯(400 mL)稀释。将有机层用水和盐水洗涤,并用无水硫酸钠干燥。过滤,蒸发溶剂,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 766.4 (M+H) $^+$ 。

[0740] 1.78.4. 3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(4-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)异喹啉-6-基)吡啶甲酸

向实施例1.78.3(1.2 g)的二氯甲烷(20 mL)溶液中加入苯并[d]噻唑-2-胺(0.236 g)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(451 mg)和4-二甲基氨基吡啶(288 mg),并将该混合物在室温下搅拌过夜。将该反应混合物用乙酸乙酯(500 mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用无水硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到残余物,将残余物溶于二氯甲烷和三氟乙酸(10 mL,1:1)中,并搅拌过夜。浓缩该混合物,将残余物溶于N,N-二甲基甲酰胺(4 mL)中,用反相HPLC纯化,使用Gilson系统(C18柱),用20-80%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得

到标题化合物。MS (ESI) m/e 742.1 (M+H)⁺。

[0741] 1.78.5. 6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)异喹啉-6-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基}吡啶-2-甲酸

向实施例1.78.4 (55 mg) 的N,N-二甲基甲酰胺 (6 mL) 溶液中加入4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基乙烯磺酸酯 (34 mg)、N,N-二异丙基乙胺 (0.6 mL) 和水 (0.6 mL)。将该混合物在室温下搅拌过夜。将该反应混合物用二氯甲烷和三氟乙酸 (10 mL, 1:1) 稀释, 并搅拌过夜。浓缩该混合物, 将残余物溶于N,N-二甲基甲酰胺 (4 mL) 中, 用反相HPLC纯化, 使用Gilson系统 (C18柱), 用20-80%的乙腈/水 (含有0.1%三氟乙酸) 洗脱, 得到标题化合物。

¹H NMR (400 MHz,

二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 13.25 (s, 2H), 9.58 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.52 (dd, 1H),

8.42 (d, 1H), 8.35 (d, 2H), 8.26 (d, 1H), 8.11 - 8.03 (m, 1H), 8.01 (d, 1H), 7.80 (d, 1H), 7.52 - 7.44 (m, 2H), 7.41 - 7.28 (m, 1H), 3.89 (s, 2H), 3.55 (t, 2H), 3.22 (t, 2H), 3.09 (s, 2H), 2.80 (t, 2H), 2.23 (s, 3H), 1.43 (s, 2H), 1.30 (q, 4H), 1.23 - 1.11 (m, 4H), 1.04 (q, 2H), 0.86 (s, 6H). MS (ESI+) m/e 850.1 (M+H)⁺。

[0742] 1.79 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[3-羟基-2-(羟甲基)丙基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶-2-甲酸

1.79.1. 2,2-二甲基-1,3-二噁烷-5-甲醛

向氯铬酸吡啶 (1.1 g) 和硅藻土 (10 g) 的二氯甲烷 (10 mL) 搅拌悬浮液中逐滴加入 (2,2-二甲基-1,3-二噁烷-5-基) 甲醇 (0.5 g) 的二氯甲烷 (3 mL) 溶液。将该混合物在室温下搅拌2小时。通过硅藻土过滤该悬浮液, 并用乙酸乙酯洗涤。通过硅胶过滤粗品, 并浓缩, 得到标题化合物。

¹H NMR (501 MHz, 氯仿-*d*) δ 9.89 (s, 1H), 4.28 - 4.17 (m, 4H), 2.42 - 2.32 (m, 1H), 1.49 (s, 3H), 1.39 (s, 3H). MS (ESI) m/e 305.9 (2M+NH₄)⁺。

[0743] 1.79.2. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((2,2-二甲基-1,3-二噁烷-5-基)甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向实施例1.2.7 (100 mg) 和实施例1.79.1 (20 mg) 的二氯甲烷 (1 mL) 溶液中加入三乙酰氧基硼氢化钠 (40 mg), 并将该混合物在室温下搅拌2小时。用二氯甲烷稀释该反应, 并用饱和碳酸氢钠溶液洗涤。用二氯甲烷反萃取水层。将合并的有机层用硫酸钠干燥, 过滤, 并浓缩。用硅胶色谱纯化残余物, 用20%-100%的庚烷中的乙酸乙酯/乙醇 (3:1) 洗脱, 提供标题化合物。MS (ESI) m/e 930.3 (M+H)⁺。

[0744] 1.79.3. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[3-羟基-2-(羟甲基)丙基]氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶-2-甲酸

在实施例1.2.9中, 用实施例1.79.2替代实施例1.2.8, 制备实施例1.79.3。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 12.82 (s, 1H), 8.13 (s, 2H), 8.00 (dd, 1H), 7.76 (d, 1H), 7.59 (d, 1H), 7.49–7.38 (m, 3H), 7.37–7.29 (m, 2H), 7.25 (s, 1H), 6.92 (d, 1H), 4.92 (s, 4H), 3.85 (t, 2H), 3.79 (s, 2H), 3.53 (t, 2H), 3.47 (dd, 2H), 3.00 (dt, 7H), 2.07 (s, 3H), 1.93 (p, 1H), 1.38 (s, 2H), 1.32–1.19 (m, 4H), 1.16–0.91 (m, 6H), 0.83 (s, 7H). MS (ESI) m/e 834.3 (M+H) $^+$.

[0745] 1.80 合成1-{{2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]氧基)乙基]氨基}-1,2-二脱氧-D-赤戊糖醇

在实施例1.77.1中,用(4S,5R)-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三醇替代(4R,5S,6R)-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2,4,5-三醇,用实施例1.3.1替代实施例1.2.7,制备标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 12.85 (bs, 1H), 12.72 (bs, 1H), 8.21 (bs, 2H), 8.04 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.52-7.42 (m, 3H), 7.37 (q, 2H), 7.29 (s, 1H), 6.95 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 3.89 (t, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.65 (m, 2H), 3.56 (m, 2H), 3.38 (m, 2H), 3.32 (m, 2H), 3.24 (m, 2H), 3.03 (m, 5H), 2.10 (s, 3H), 1.89 (m, 1H), 1.67 (m, 1H), 1.44 (s, 2H), 1.31 (q, 4H), 1.14 (t, 4H), 1.05 (q, 2H), 0.86 (s, 6H). MS (ESI) m/e 864 (M+H) $^+$, 862 (M-H) $^-$.

[0746] 1.81 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{{3,5-二甲基-7-(2-{{(2S,3S)-2,3,4-三羟基丁基]氨基)乙氧基)三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸

1.81.1. 碳酸叔丁基酯(4S,5S)-5-羟甲基-2,2-二甲基-[1,3]二氧戊环-4-基甲基酯

将((4S,5S)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4,5-二基)二甲醇(1000 mg)溶于N,N-二甲基甲酰胺(50 mL)中。加入氢化钠(60%,在矿物油中,259 mg)。将该溶液在室温下混合15分钟。慢慢地加入二碳酸二叔丁基酯(1413 mg)。将该溶液混合30分钟,并将该反应用饱和氯化铵水溶液淬灭。将该溶液用水(150 mL)稀释,并使用70%的乙酸乙酯/庚烷提取两次。将有机部分合并,用水(100 mL)提取,用盐水(50 mL)提取,并用无水硫酸钠干燥。减压浓缩该溶液,并将该物质用硅胶快速柱色谱纯化,用30%的乙酸乙酯/庚烷洗脱。减压蒸发溶剂,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 284 (M+Na) $^+$ 。

[0747] 1.81.2. 碳酸叔丁基酯(4S,5R)-5-甲酰基-2,2-二甲基-[1,3]二氧戊环-4-基甲基酯

将实施例1.81.1(528 mg)溶于二氯甲烷(20 mL)中。加入Dess-Martin高碘烷(896 mg),并将该溶液在室温下搅拌四小时。减压浓缩该溶液,并将该物质用硅胶快速柱色谱纯化,用20%-50%的乙酸乙酯/庚烷洗脱。减压蒸发溶剂,提供标题化合物。

[0748] 1.81.3. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-(((1S,3s,5R,7S)-3-(2-(((4S,5S)-5-((叔丁氧羰基)氧基)甲基)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

在实施例1.76.1中,用实施例1.81.2替代(4R,4'R,5S)-2,2,2',2'-四甲基-[4,4'-(1,3-二氧戊环)]-5-甲醛,制备标题化合物。

[0749] 1.81.4. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-

3-(1-([3,5-二甲基-7-(2-[(2S,3S)-2,3,4-三羟基丁基]氨基)乙氧基)三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶-2-甲酸

在实施例1.76.2中,用实施例1.81.3替代实施例1.76.1,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.86 (bs, 2H), 8.28 (bs, 1H), 8.18 (bs, 1H), 8.04 (d, 1H), 7.80 (d, 1H), 7.63 (d, 1H), 7.51-7.43 (m, 3H), 7.36 (q, 2H), 7.29 (s, 1H), 6.96 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 3.89 (t, 2H), 3.83 (m, 3H), 3.46 (m, 4H), 3.40 (m, 4H), 3.08-2.96 (m, 6H), 2.10 (s, 3H), 1.43 (s, 2H), 1.30 (q, 4H), 1.14 (t, 4H), 1.04 (q, 2H), 0.87 (s, 6H). MS (ESI) m/e 850 (M+H)⁺, 848 (M-H)⁻.

[0750] 1.82 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-([3-(2-[(2S,3S,4R,5R,6R)-2,3,4,5,6,7-六羟基庚基]氨基)乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶-2-甲酸

在实施例1.77.1中,用(2R,3R,4S,5R,6R)-2,3,4,5,6,7-六羟基庚醛替代(4R,5S,6R)-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2,4,5-三醇,用实施例1.3.1替代实施例1.2.7,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.86 (bs, 1H), 8.34-8.08 (m, 2H), 8.05 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.54-7.43 (m, 3H), 7.37 (m, 2H), 7.30 (s, 1H), 6.95 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 3.93 (m, 2H), 3.90 (m, 4H), 3.83 (s, 2H), 3.47 (m, 4H), 3.41 (m, 4H), 3.18-3.08 (m, 7H), 3.03 (t, 2H), 2.12 (s, 3H), 1.46 (s, 2H), 1.28 (q, 4H), 1.15 (t, 4H), 1.05 (q, 2H), 0.89 (s, 6H). MS (ESI) m/e 940 (M+H)⁺.

[0751] 1.83 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(3-[(1,3-二羟基丙-2-基)氨基]丙基)磺酰基]氨基]乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶-2-甲酸

1.83.1. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-(3-((1,3-二羟基丙-2-基)氨基)丙基磺酰胺基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向冷却(冰浴)的实施例1.2.7(31 mg)和N,N-二异丙基乙胺(60 μl)的二氯甲烷(1 mL)溶液中加入3-氯丙烷-1-磺酰氯(5 μl)。将该混合物在室温下搅拌2小时。浓缩该反应,溶于N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)中,转入2 mL微波管中,并加入2-氨基丙-1,3-二醇(70 mg)。将该混合物在微波条件(Biotage Initiator)下、在130°C下加热90分钟。浓缩该反应混合物,并用反相HPLC纯化残余物,使用Gilson系统,用20-100%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 997.2 (M+H)⁺。

[0752] 1.83.2. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(3-[(1,3-二羟基丙-2-基)氨基]丙基)磺酰基]氨基]乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶-2-甲酸

在实施例1.2.9中,用实施例1.83.1替代实施例1.2.8,制备实施例1.83.2。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 12.84 (s, 1H), 8.40 (s, 2H), 8.05 – 7.98 (m, 1H), 7.77 (d, 1H), 7.60 (d, 1H), 7.51 – 7.39 (m, 3H), 7.38 – 7.30 (m, 2H), 7.27 (s, 1H), 7.13 (t, 1H), 6.93 (d, 1H), 4.94 (s, 2H), 3.61 (qd, 4H), 3.36 (t, 2H), 3.16 – 2.93 (m, 10H), 2.08 (s, 3H), 2.00 (p, 2H), 1.38 (s, 2H), 1.25 (q, 4H), 1.15 – 0.92 (m, 6H), 0.84 (s, 6H). MS (ESI) m/e 941.2 (M+H) $^+$.

[0753] 1.84 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(3-{[1,3-二羟基-2-(羟甲基)丙-2-基]氨基}-3-氧代丙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1 3,7]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸

向3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸叔丁基酯(55 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(6 mL)溶液中加入N-(1,3-二羟基-2-(羟甲基)丙-2-基)丙烯酰胺(73.4 mg)、N,N-二异丙基乙胺(0.2 mL)和水(0.2 mL)。将该混合物在室温下搅拌4天。LC/MS显示了期望的产物的主尖峰。将该反应混合物用乙酸乙酯(500 mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用无水硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到残余物,将残余物溶于二氯甲烷和三氟乙酸(10 mL, 1:1)中,并搅拌过夜。浓缩该混合物,将残余物溶于N,N-二甲基甲酰胺(8 mL)中,用反相HPLC纯化,使用Gilson系统(C18柱),用20-80%的乙腈/水(包含0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 12.84 (s, 1H), 8.45 (s, 2H), 8.01 (d, 4H), 7.78 (d, 1H), 7.60 (d, 1H), 7.53 – 7.39 (m, 3H), 7.39 – 7.30 (m, 2H), 7.27 (s, 1H), 6.94 (d, 1H), 4.94 (s, 2H), 4.14 (s, 2H), 3.87 (t, 2H), 3.81 (s, 2H), 3.52 (d, 4H), 3.19 (s, 3H), 3.13 – 2.97 (m, 5H), 2.75 (t, 2H), 2.08 (s, 3H), 1.42 (s, 2H), 1.29 (q, 4H), 1.12 (s, 4H), 1.09 – 0.99 (m, 2H), 0.85 (s, 7H). MS (ESI) m/e 921.2 (M+H) $^+$.

[0754] 1.85 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-[[3-(2-[[3(S)-3,4-二羟基丁基]氨基]乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1 3,7]癸-1-基]甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸

向实施例1.2.7(213 mg)的二氯甲烷(2 mL)溶液中加入(S)-2-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)乙醛(42 mg)。在室温下搅拌30分钟之后,加入三乙酰氧基硼氢化钠(144 mg)。将该反应混合物在室温下搅拌过夜。加入三氟乙酸(2 mL),并继续搅拌过夜。浓缩该反应混合物,并用反相HPLC纯化残余物,使用Gilson系统,用5-85%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 12.86 (s, 1H), 8.22 (d, 2H), 8.05 – 8.01 (m, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.53 – 7.41 (m, 3H), 7.36 (td, 2H), 7.28 (s, 1H), 6.95 (d, 1H), 4.95 (s, 2H), 3.88 (t, 2H), 3.82 (s, 2H), 3.26 – 2.94 (m, 7H), 2.10 (s, 3H), 1.84 – 1.75 (m, 1H), 1.52-1.63 (m, 1H), 1.45 – 1.23 (m, 6H), 1.19 – 0.96 (m, 7H), 0.86 (s, 6H). MS (ESI) m/e 834.3 (M+H) $^+$.

[0755] 1.86 合成4-([2-((3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1 3,7]癸-1-基}氧基)乙基]氨基}甲基)苯基 β -D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid)

向3-(1-((3-(2-氨基乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸(36 mg)的四氢呋喃(2 mL)和乙酸(0.2 mL)溶液中加入(2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-甲酰基苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(21 mg),而后加入MgSO₄(60 mg)。将该混合物在室温下搅拌1小时,而后加入的MP-氰基硼氢化物(Biotage,153 mg,2.49 mmol/g)。然后,将该混合物在室温下搅拌3小时。过滤该混合物,并将LiOH·H₂O(20 mg)加入到滤液中。将该混合物在室温下搅拌2小时,而后用三氟乙酸酸化。用反相HPLC纯化该溶液,使用Gilson系统(C18柱),用20-80%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 1028.3 (M+H)⁺。

[0756] 1.87 合成3-{{2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基}氨基}丙基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(gluco-pyranosiduronic acid)

1.87.1. (2R,3R,5S,6S)-2-(3-羟基丙氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

向(2R,3R,5S,6S)-2-溴-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(3.98 g)的甲苯(60 mL)搅拌溶液中加入丙烷-1,3-二醇(15.22 g)。将该混合物在75℃下搅拌,在3小时期间内,分为三部分加入Ag₂CO₃(5.52 g)。将该混合物在室温下搅拌过夜,而后过滤该悬浮液。浓缩滤液,用硅胶色谱纯化残余物,用50%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 409.9 (M+NH₄)⁺。

[0757] 1.87.2. (2S,3S,5R,6R)-2-(甲氧羰基)-6-(3-氧代丙氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

在-78℃,向二甲亚砜(0.5 mL)的二氯甲烷(10 mL)溶液中加入草酰氯(0.2 mL)。将该混合物在-78℃下搅拌20分钟,并通过注射器加入实施例1.87.1(393 mg)的二氯甲烷(10 mL)溶液。20分钟之后,加入三乙胺(1 mL)。将该混合物搅拌30分钟,并将温度升温至室温。将该反应混合物用乙酸乙酯(300 mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用无水硫酸钠干燥。过滤,蒸发溶剂,得到标题化合物,其不用进一步纯化,直接使用。MS (DCI) m/e 408.1 (M+NH₄)⁺。

[0758] 1.87.3. 3-{{2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基}氨基}丙基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(gluco-pyranosiduronic acid)

向实施例1.68.6(171 mg)的二氯甲烷(10 mL)溶液中加入实施例1.87.2(90 mg)和NaBH(OAc)₃(147 mg)。将该混合物在室温下搅拌过夜。用乙酸乙酯(200 mL)稀释该反应混合物,用2% HCl水溶液、水和盐水洗涤,用无水硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。将残余物溶于四氢呋喃(6 mL)、甲醇(3 mL)和水(3 mL)中,并加入LiOH·H₂O(100 mg)。将该混合物在室温下搅拌2小时,用三氟乙酸酸化,并减压浓缩。将残余物溶于二甲亚砜/甲醇(1:1,12 mL)中,用反相HPLC纯化,使用Gilson系统(C18柱),用20-80%的乙腈/水(包含0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 13.07 (s, 2H), 8.99 (s, 1H), 8.34 (dd, 1H), 8.29 – 8.11 (m, 5H), 8.06 – 8.02 (m, 1H), 7.99 (d, 1H), 7.90 (d, 1H), 7.78 (d, 1H), 7.68 (dd, 1H), 7.55 – 7.40 (m, 2H), 7.34 (td, 1H), 4.23 (d, 1H), 3.87 (s, 2H), 3.76 (dt, 1H), 3.60 (d, 1H), 3.53 (dt, 3H), 3.29 (t, 1H), 3.15 (t, 1H), 3.06 – 2.91 (m, 6H), 2.20 (s, 3H), 1.83 (p, 2H), 1.44 (s, 2H), 1.30 (q, 4H), 1.14 (s, 4H), 1.03 (q, 2H), 0.85 (s, 7H). MS (ESI) m/e 975.2(M+H) $^+$.

[0759] 1.88 合成6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-2-氧化异喹啉-6-基]-3-[1-({3,5-二甲基-7-[2-(甲基氨基)乙氧基]三环[3.3.1.1 3,7]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸

1.88.1. 6-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)异喹啉-4-甲酸甲酯

向实施例1.78.1 (0.73 g)的1,4-二噁烷 (20 mL) 和水 (10 mL) 溶液中加入3-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-氯吡啶甲酸叔丁基酯 (1.5 g)、双(三苯基膦)二氯化钯(II) (82 mg) 和CsF (1.06 g), 并将该反应在回流下搅拌过夜。用乙酸乙酯 (200 mL) 稀释该混合物, 用水和盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 并浓缩。将残余物用硅胶色谱纯化, 用20%的乙酸乙酯/庚烷 (1 L) 洗脱, 得到标题化合物。MS (ESI) m/e 794.8 (M+H) $^+$ 。

[0760] 1.88.2. 6-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)异喹啉-4-甲酸

向实施例1.88.1 (300 mg)的四氢呋喃 (6 mL)、甲醇 (3 mL) 和水 (3 mL) 溶液中加入LiOH·H₂O (100 mg)。将该混合物在室温下搅拌2小时。将该混合物用2N HCl水溶液酸化, 用乙酸乙酯 (300 mL) 稀释, 用水和盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 并浓缩, 得到标题化合物, 其不用进一步纯化, 直接使用。MS (ESI) m/e 781.2 (M+H) $^+$ 。

[0761] 1.88.3. 6-(4-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)异喹啉-6-基)-3-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向实施例1.88.2 (350 mg)的二氯甲烷 (10 mL) 溶液中加入苯并[d]噻唑-2-胺 (67.5 mg)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺 (129 mg) 和4-二甲基氨基吡啶 (82 mg)。将该混合物在室温下搅拌过夜。将该混合物用乙酸乙酯 (300 mL) 稀释, 用水和盐水洗涤, 并用无水硫酸钠干燥。过滤, 蒸发溶剂, 得到残余物, 用柱色谱纯化残余物, 用5%的甲醇/二氯甲烷洗脱, 得到标题化合物。MS (APCI) m/e 912.3 (M+H) $^+$ 。

[0762] 1.88.4. 4-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-6-(6-羧基-5-(1-((3,5-二甲基-7-(2-(甲基氨基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-基)异喹啉2-氧化物

向实施例1.88.3 (100 mg)的二氯甲烷 (6 mL) 溶液中加入间氯过苯甲酸 (19 mg)。将该混合物在室温下搅拌4小时。用乙酸乙酯 (200 mL) 稀释该混合物, 用饱和NaHCO₃水溶液、水和盐水洗涤, 并用无水硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂, 得到残余物, 将残余物溶于二氯甲烷/三氟乙酸 (10 mL, 1:1) 中, 并在室温下搅拌过夜。蒸发溶剂, 并在Gilson系统 (C18柱) 上, 用反相HPLC纯化残余物, 用20-80%的乙腈/水 (含有0.1%三氟乙酸) 洗脱, 得到标题化合物。

¹H NMR (501 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ

ppm 13.32 (s, 2H), 9.21 (d, 1H), 8.71 (d, 1H), 8.49 (dd, 1H), 8.36 – 8.19 (m, 4H), 8.12 (dd, 1H), 8.07 (d, 1H), 7.96 (dd, 1H), 7.82 (d, 1H), 7.56 – 7.46 (m, 3H), 7.42 – 7.35 (m, 1H), 3.90 (d, 3H), 3.56 (td, 3H), 3.02 (p, 3H), 2.55 (t, 4H), 2.29 – 2.19 (m, 4H), 1.45 (d, 3H), 1.37 – 1.26 (m, 5H), 1.16 (d, 6H), 1.10 – 1.01 (m, 3H), 0.88 (d, 8H). MS (ESI) m/e 772.1 (M+H)⁺.

[0763] 1.89 合成6-[8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-碘乙基)氨基]乙酰胺基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸

1.89.1. 1-((3-溴-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑

向冷却(-30℃)的实施例1.1.3(500 mg)的四氢呋喃(30 mL)溶液中加入正丁基锂(9.67 mL),并将该混合物在-30℃下搅拌2小时。在-30℃,逐滴加入甲基碘(1.934 mL)。加入完毕后,将该混合物在-30℃下再搅拌2小时。慢慢地加入1N HCl水溶液/冰水,使温度低于0℃,直到pH值达到6为止。将该混合物在室温下搅拌10分钟,并用冰-水(10 mL)和乙酸乙酯(20 mL)稀释。分离各层,并用乙酸乙酯提取水层两次。用盐水洗涤合并的有机相,用MgSO₄干燥,过滤,并浓缩。将残余物用快速硅胶色谱纯化,用15/1至10/1的石油醚/乙酸乙酯洗脱,得到标题化合物。MS (LC-MS) m/e 337, 339 (M+H)⁺。

[0764] 1.89.2. 1-(3,5-二甲基-7-((5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)金刚烷-1-基)脲

将实施例1.89.1(2.7 g)与脲(4.81 g)混合,并在140℃下搅拌16小时。将该混合物冷却至室温,并悬浮在甲醇(200 mL x 2)中。过滤除去不溶性物质。浓缩滤液,得到标题化合物。MS (LC-MS) m/e 317.3 (M+H)⁺。

[0765] 1.89.3. 3,5-二甲基-7-((5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)金刚烷-1-胺

向实施例1.40.2(2.53 g)的20%乙醇/水溶液(20 mL)中加入氢氧化钠(12.79 g)。将该混合物在120℃下搅拌16小时,在140℃下再搅拌16小时。加入6N HCl水溶液,直到pH6为止。浓缩该混合物,并将残余物悬浮在甲醇(200 mL)中。滤出不溶性物质。浓缩滤液,得到标题化合物的HCl盐。MS (LC-MS) m/e 273.9 (M+H)⁺。

[0766] 1.89.4. (2-((3,5-二甲基-7-((5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)金刚烷-1-基)氨基)-2-氧代乙基)氨基甲酸叔丁基酯

向实施例1.89.3(2.16g)的N,N-二甲基甲酰胺(100 mL)溶液中加入三乙胺(3.30 mL)、2-((叔丁氧羰基)氨基)乙酸(1.799 g)和1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓 3-氧化物六氟磷酸盐(3.90 g)。将该混合物在室温下搅拌2小时。加入水(40 mL),并将混合物用乙酸乙酯(70 mL x 2)提取。用盐水洗涤合并的有机相,用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。将残余物用硅胶色谱纯化,用3/1至2/1的石油醚/乙酸乙酯洗脱,得到标题化合物。MS (LC-MS) m/e 430.8 (M+H)⁺。

[0767] 1.89.5. (2-((3-((4-碘代-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氨基)-2-氧代乙基)氨基甲酸叔丁基酯

向环境温度的实施例1.89.4(1.7 g)的N,N-二甲基甲酰胺(20 mL)溶液中分为几部分加入N-碘代琥珀酰亚胺(1.066 g),并将该混合物在室温下搅拌16小时。加入冰-水(10 mL)和饱和Na₂S₂O₃水溶液(10 mL)。将该混合物用乙酸乙酯(30 mL x 2)提取。用盐水洗涤合并的有机相,用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。将残余物用硅胶色谱纯化,用3/1至2/1的石油醚/

乙酸乙酯洗脱,得到标题化合物。MS (LC-MS) m/e 556.6 (M+H)⁺。

[0768] 1.89.6. 2-(5-溴-6-(叔丁氧羰基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

向1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯盐酸盐(12.37 g)和实施例1.1.10(15 g)的二甲亚砷(100 mL)溶液中加入N,N-二异丙基乙胺(12 mL),并将该混合物在50℃下搅拌24小时。然后,用乙酸乙酯(500 mL)稀释该混合物,并用水和盐水洗涤。将有机层用硫酸钠干燥,过滤,并减压浓缩。将残余物用硅胶色谱纯化,用20%的乙酸乙酯/己烷洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 448.4 (M+H)⁺。

[0769] 1.89.7. 2-(6-(叔丁氧羰基)-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

向实施例1.89.6(2.25 g)和[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钡(II)(205 mg)的乙腈(30 mL)溶液中加入三乙胺(3 mL)和频哪醇硼烷(2 mL),并将该混合物在回流下搅拌3小时。将该混合物用乙酸乙酯(200 mL)稀释,并用水和盐水洗涤。将有机层用硫酸钠干燥,过滤,并减压浓缩。将残余物用快速色谱纯化,用20%的乙酸乙酯/己烷洗脱,提供标题化合物。

[0770] 1.89.8. 2-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基)氨基)乙酰胺基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

使用实施例1.2.2的方法,用实施例1.89.5替代实施例1.1.6,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 797.4 (M+H)⁺。

[0771] 1.89.9. 2-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基)氨基)乙酰胺基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸

使用实施例1.2.5的方法,用实施例1.89.8替代实施例1.2.4,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 783.4 (M+H)⁺。

[0772] 1.89.10 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((叔丁氧羰基)氨基)乙酰胺基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

使用实施例1.2.6的方法,用实施例1.89.9替代实施例1.2.5,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 915.3 (M+H)⁺。

[0773] 1.89.11 3-(1-[[3-(2-氨基乙酰胺基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基]-6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}吡啶-2-甲酸

使用实施例1.2.9的方法,用实施例1.89.10替代实施例1.2.8,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砷-d₆) δ 12.82 (s, 1H),

8.00 (dd, 1H), 7.90 – 7.79 (m, 4H), 7.76 (d, 1H), 7.59 (dd, 1H), 7.49 – 7.38 (m, 3H), 7.37 – 7.29 (m, 2H), 7.25 (s, 1H), 6.92 (d, 1H), 4.92 (s, 2H), 3.85 (t, 2H), 3.77 (s, 2H), 3.40 (q, 2H), 2.98 (t, 2H), 2.07 (s, 3H), 1.63 (s, 2H), 1.57 – 1.38 (m, 4H), 1.15 – 0.93 (m, 6H), 0.80 (s, 6H). MS (ESI) m/c 759.2 (M+H)⁺。

[0774] 1.89.12 6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-

基]-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基) 氨基] 乙酰胺基} 三环[3.3.1.1^{3,7}] 癸-1-基) 甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基} 吡啶-2-甲酸

向实施例1.89.11 (102 mg) 的N,N-二甲基甲酰胺 (6 mL) 溶液中加入4-((叔丁基二苯基甲硅烷基) 氧基)-2,2-二甲基丁基乙烯磺酸酯 (60 mg), 并将该混合物在室温下搅拌度过周末。将该混合物用乙酸乙酯 (300 mL) 稀释, 用水和盐水洗涤, 并用无水硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂, 得到残余物, 将残余物溶于二氯甲烷/三氟乙酸 (10 mL, 1:1) 中, 并在室温下搅拌过夜。蒸发溶剂, 并在Gilson系统 (C18柱) 上, 用反相HPLC纯化残余物, 用20-80%的乙腈/水 (含有0.1%三氟乙酸) 洗脱, 得到标题化合物。

¹H NMR (501 MHz,

二甲亚砜-*d*₆) δ 12.83 (s, 1H), 8.57 (s, 2H), 8.02 (d, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.77 (d, 1H), 7.60 (d, 1H), 7.52 - 7.37 (m, 3H), 7.39 - 7.29 (m, 2H), 7.26 (s, 1H), 6.94 (d, 1H), 4.94 (s, 2H), 3.87 (t, 2H), 3.79 (s, 2H), 3.16 (q, 2H), 2.99 (t, 2H), 2.77 (t, 2H), 2.08 (s, 3H), 1.64 (s, 2H), 1.55 (d, 2H), 1.45 (d, 2H), 1.21 - 0.95 (m, 6H), 0.82 (s, 6H). MS (ESI) m/e 867.2 (M+H)⁺.

[0775] 1.90 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3,5-二甲基-7-({2-[(2-磺乙基) 氨基] 乙基) 硫烷基} 三环[3.3.1.1^{3,7}] 癸-1-基] 甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基} 吡啶-2-甲酸

1.90.1. 3-((1H-吡唑-1-基) 甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-硫醇

将实施例1.1.3 (2.8g) 和硫脲 (15.82 g) 的混合物在33% (w/w) HBr/乙酸 (50 mL) 中、在110°C下搅拌16小时, 并减压浓缩, 得到残余物。将残余物溶于20%乙醇/水 (v/v, 200 mL) 中, 并加入氢氧化钠 (19.06 g)。将得到的溶液在室温下搅拌16小时, 并浓缩。将残余物溶于水 (60 mL) 中, 并用6N HCl水溶液酸化至pH5-pH6。将该混合物用乙酸乙酯 (200 mL x 2) 提取。用盐水洗涤合并的有机层, 用MgSO₄干燥, 过滤, 浓缩, 得到标题化合物。MS (ESI) m/e 319.1 (M+H)⁺。

[0776] 1.90.2. 2-((-3-((1H-吡唑-1-基) 甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基) 硫基) 乙醇

向实施例1.90.1 (3.3g) 的乙醇 (120 mL) 溶液中加入乙醇钠 (2.437 g)。搅拌该混合物10分钟, 并逐滴加入2-氯乙醇 (1.80 mL)。将该混合物在室温下搅拌6小时, 并用1N HCl水溶液中和至pH7。浓缩该混合物, 并用乙酸乙酯 (200 mL x 2) 提取残余物。将合并的有机层用盐水洗涤, 用MgSO₄干燥, 过滤, 浓缩。用硅胶柱色谱纯化残余物, 用石油醚/乙酸乙酯 (6/1至2/1) 洗脱, 得到标题化合物。MS (ESI) m/e 321.2 (M+H)⁺。

[0777] 1.90.3. 2-((-3,5-二甲基-7-((5-甲基-1H-吡唑-1-基) 甲基) 金刚烷-1-基) 硫基) 乙醇

在-20°C, 在氮气氛围中, 向实施例1.90.2 (2.3 g) 的四氢呋喃 (60 mL) 溶液中逐滴加入正丁基锂 (14.35 mL, 2M, 在己烷中)。将该混合物在此温度下搅拌2小时。在-20°C, 将甲基磺 (4.49 mL) 加入到所得到的混合物中, 并将该混合物在-20°C下搅拌2小时。在-20°C, 逐滴加入饱和NH₄Cl水溶液, 淬灭该反应。将得到的混合物搅拌10分钟, 并用1N HCl水溶液酸化至pH5。将该混合物用乙酸乙酯提取两次。用盐水洗涤合并的有机层, 用MgSO₄干燥, 过滤, 浓缩, 得到标题化合物。MS (ESI) m/e 335.3 (M+H)⁺。

[0778] 1.90.4. 2-((-3-((4-碘代-5-甲基-1H-吡唑-1-基) 甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基) 硫基) 乙醇

向实施例1.90.3 (3.65 g) 的N,N-二甲基甲酰胺 (90 mL) 溶液中加入N-碘代琥珀酰亚胺 (3.68 g)。将该混合物在室温下搅拌16小时。加入冰-水 (8 mL) 和饱和Na₂S₂O₃水溶液 (8 mL)，淬灭该反应。将该混合物再搅拌10分钟，并用乙酸乙酯 (30 mL x 2) 提取。将合并的有机层用盐水洗涤，用MgSO₄干燥，过滤，并减压浓缩。用硅胶色谱纯化残余物，用石油醚/乙酸乙酯 (6/1至3/1) 洗脱，得到标题化合物。MS (ESI) m/e 461.2 (M+H)⁺。

[0779] 1.90.5. [2-({3-[(4-碘代-5-甲基-1H-吡唑-1-基) 甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基] 硫烷基) 乙基)-2-亚氨基二碳酸二叔丁基酯

向冷的 (0°C 浴) 实施例1.90.4 (3 g) 的二氯甲烷 (100 mL) 溶液中加入三乙胺 (1.181 mL) 和甲磺酰氯 (0.559 mL)。将该混合物在室温下搅拌4小时，并加入冰-水 (30 mL)，淬灭该反应。将该混合物再搅拌10分钟，并用二氯甲烷 (50 mL x 2) 提取。将合并的有机层用盐水洗涤，用MgSO₄干燥，过滤，并减压浓缩。将残余物溶于乙腈 (100 mL) 中，并加入NH(Boc)₂ (1.695 g) 和Cs₂CO₃ (4.24 g)。将该混合物在85°C下搅拌16小时，并加入水 (20 mL)，淬灭该反应。将该混合物搅拌10分钟，并用乙酸乙酯 (40 mL x 2) 提取。将合并的有机层用盐水洗涤，用MgSO₄干燥，过滤，浓缩。用硅胶色谱纯化残余物，用石油醚/乙酸乙酯 (10/1至6/1) 洗脱，得到标题化合物。MS (ESI) m/e 660.1 (M+H)⁺。

[0780] 1.90.6. 2-[5-(1-{[3-({2-[双(叔丁氧羰基) 氨基] 乙基} 硫烷基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基] 甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(叔丁氧羰基) 吡啶-2-基]-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

使用实施例1.2.2的方法，用实施例1.90.5替代实施例1.1.6，制备标题化合物。MS (ESI) m/e 900.2 (M+H)⁺。

[0781] 190.7A 2-(6-(叔丁氧羰基)-5-(1-((3-((2-((叔丁氧羰基) 氨基) 乙基) 硫基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基) 甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基) 吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸

如实施例1.2.5所述，制备标题化合物，用实施例1.90.6替代实施例1.2.4。MS (ESI) m/e 786.2 (M+H)⁺。

[0782] 190.7B 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-((2-((叔丁氧羰基) 氨基) 乙基) 硫基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基) 甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基) 吡啶甲酸叔丁基酯

如实施例1.2.6所述，制备标题化合物，用实施例1.90.7A替代实施例1.2.5。MS (ESI) m/e 918.8 (M+H)⁺。

[0783] 1.90.8. 3-(1-((3-((2-氨基乙基) 硫基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基) 甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基) 吡啶甲酸叔丁基酯

向实施例1.90.7B (510 mg) 的二氯甲烷 (5 mL) 溶液中加入三氟乙酸 (5 mL)，并将该反应在室温下搅拌30分钟。加入饱和碳酸氢钠水溶液，淬灭该反应，并用二氯甲烷提取三次。将合并的有机物用无水硫酸钠干燥，过滤，并减压浓缩。用反相HPLC纯化残余物，使用Gilson系统 (C18柱)，用20-80%的乙腈/水 (含有0.1%三氟乙酸) 洗脱，得到标题产物。MS (ESI) m/e 818.1 (M+H)⁺。

[0784] 1.90.9. 3-(1-((3-((2-氨基乙基) 硫基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基) 甲基)-5-甲基-

1H-吡啶-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

在制备实施例1.90.8期间,分离出实施例1.90.9。MS (ESI) 762.2 (M+H)⁺。

[0785] 1.90.10 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-(2-(4-(叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙基)氨基)乙基)硫基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

将实施例1.90.8 (235 mg) 和4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基乙烯磺酸酯 (150 mg) 溶于二氯甲烷 (1 mL) 中,加入N,N-二异丙基乙胺 (140 μl),并将该混合物在室温下搅拌六天。直接用硅胶色谱纯化反应物,用梯度0.5-3.0%的甲醇/二氯甲烷洗脱,得到标题化合物。

[0786] 1.90.11 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-(2-磺乙基)氨基)乙基)硫基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸

在实施例1.2.9中,用实施例1.90.10替代实施例1.2.8,制备标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 8.39 (br s, 2H), 8.03 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.51 (d, 1H), 7.47 (ddd, 1H), 7.43 (d, 1H), 7.37 (d, 1H), 7.35 (ddd, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.96 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 3.89 (t, 2H), 3.81 (s, 2H), 3.22 (m, 2H), 3.06 (br m, 2H), 3.01 (t, 2H), 2.79 (t, 2H), 2.74 (m, 2H), 2.10 (s, 3H), 1.51 (s, 2H), 1.37 (m, 4H), 1.15 (m, 4H), 1.05 (m, 2H), 0.83 (s, 6H). MS (ESI) m/e 870.1 (M+H)⁺。

[0787] 1.91 合成6-[8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{3-[(2-磺乙基)氨基]丙基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基}吡啶-2-甲酸

1.91.1. 1-((3-烯丙基-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-1H-吡啶

向实施例1.1.3 (0.825 g, 2.55 mmol) 的甲苯 (5 mL) 溶液中加入N,N'-偶氮二异丁腈 (AIBN, 0.419 g, 2.55 mmol) 和烯丙基三丁基锡烷 (2.039 mL, 6.38 mmol)。用N₂流吹扫该混合物15分钟,在80℃下加热8小时,并浓缩。用快速色谱纯化残余物,用5%的乙酸乙酯/石油醚洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 285.2 (M+H)⁺。

[0788] 1.91.2. 1-((3-烯丙基-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶

在-78℃,在氮气氛围中,向实施例1.91.1 (200 mg, 0.703 mmol) 的四氢呋喃 (5 mL) 溶液中加入正丁基锂 (2.81 mL, 7.03 mmol)。将该混合物搅拌2小时,同时升温至-20℃,而后在-20℃下搅拌1小时。加入碘甲烷 (0.659 mL, 10.55 mmol),并将得到的混合物在-20℃下搅拌0.5小时。用饱和NH₄Cl淬灭该反应,并用乙酸乙酯提取两次。将合并的有机层用盐水洗涤,并浓缩,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 299.2 (M+H)⁺。

[0789] 1.91.3. 3-(3,5-二甲基-7-((5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基)金刚烷-1-基)丙-1-醇

在氮气氛围中,将实施例1.91.2 (2.175 g, 7.29 mmol) 的无水四氢呋喃 (42.5 mL) 溶液冷却至0℃。逐滴加入BH₃·THF (15.30 mL, 15.30 mmol)。将该反应混合物在室温下搅拌2小时,并冷却至0℃。向该反应混合物中逐滴加入10N NaOH水溶液 (5.03 mL, 50.3 mmol),而后

加入30% H₂O₂水溶液(16.52 mL, 146 mmol)。将得到的混合物升温至室温,并搅拌90分钟。用10%的盐酸(35 mL)淬灭该反应。分离有机层,并将水层用乙酸乙酯(2 x 60 mL)提取。将合并的有机层用盐水(3 x 60 mL)洗涤,并在冰浴中冷却。小心地加入饱和亚硫酸钠水溶液(15 mL),并将该混合物搅拌几分钟。用硫酸钠干燥有机层,过滤,并真空浓缩。用快速色谱纯化残余物,用石油醚/乙酸乙酯(3:1至1:1)洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 317.3 (M+H)⁺。

[0790] 1.91.4. 3-(3-((4-碘代-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)丙-1-醇

将实施例1.91.3(1.19 g, 3.76 mmol)和1-碘代吡咯烷-2,5-二酮(1.015 g, 4.51 mmol)的混合物在N,N-二甲基甲酰胺(7.5 mL)中、在室温下搅拌16小时。将该反应用饱和Na₂SO₃淬灭。用乙酸乙酯稀释该混合物,并用饱和Na₂SO₃、饱和Na₂CO₃、水和盐水洗涤。将有机层用无水Na₂SO₄干燥,过滤,并浓缩。用快速色谱纯化残余物,用石油醚/乙酸乙酯(3:1至1:1)洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 443.1 (M+H)⁺。

[0791] 1.91.5. 3-(3-((4-碘代-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)丙基甲磺酸酯

在0°C,向实施例1.91.4(1.55 g, 3.50 mmol)的CH₂Cl₂(20 mL)溶液中慢慢地加入(CH₃CH₂)₃N(0.693 mL, 4.98 mmol)和甲磺酰氯(0.374 mL, 4.80 mmol)。将该混合物在20°C下搅拌3.5小时,用CH₂Cl₂稀释,并用饱和NH₄Cl、NaHCO₃和盐水洗涤。用Na₂SO₄干燥有机层,过滤,浓缩,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 521.1 (M+H)⁺。

[0792] 1.91.6. (3-{3-[(4-碘代-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}丙基)-2-亚氨基二碳酸二叔丁基酯

在20°C,向实施例1.91.5(1.92 g, 3.69 mmol)的CH₃CN(40 mL)溶液中加入亚氨基二碳酸二叔丁基酯(0.962 g, 4.43 mmol)和Cs₂CO₃(2.404 g, 7.38 mmol)。将该混合物在80°C下搅拌16小时,用乙酸乙酯稀释,并用水和盐水洗涤。用Na₂SO₄干燥有机层,过滤,并浓缩。用快速色谱纯化残余物,用石油醚/乙酸乙酯(10:1)洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 642.3 (M+H)⁺。

[0793] 1.91.7. 2-[5-{1-[(3-{3-[双(叔丁氧羰基)氨基]丙基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]-6-(叔丁氧羰基)吡啶-2-基]-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸甲酯

使用实施例1.2.2的方法,用实施例1.91.6替代实施例1.1.6,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 882.2 (M+H)⁺。

[0794] 1.91.8. 2-[6-(叔丁氧羰基)-5-{1-[(3-{3-[(叔丁氧羰基)氨基]丙基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-基]-1,2,3,4-四氢异喹啉-8-甲酸

使用实施例1.2.5的方法,用实施例1.91.7替代实施例1.2.4,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 768.4 (M+H)⁺。

[0795] 1.91.9. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(3-((叔丁氧羰基)氨基)丙基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

使用实施例1.2.6的方法,用实施例1.91.8替代实施例1.2.5,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 901.1 (M+H)⁺。

[0796] 1.91.10 3-(1-((3-(3-氨基丙基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸叔丁基酯

向实施例1.91.9(500 mg)的二氯甲烷(5 mL)溶液中加入三氟乙酸(5 mL),并将该反应在室温下搅拌30分钟。加入饱和碳酸氢钠水溶液,淬灭该反应,并用二氯甲烷提取三次。将合并的有机物用无水硫酸钠干燥,过滤,并减压浓缩。用反相HPLC纯化残余物,使用Gilson系统(C18柱),用20-80%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题产物。

[0797] 1.91.11 3-(1-((3-(3-氨基丙基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

向实施例1.91.9(350 mg)的二氯甲烷(5 mL)溶液中加入三氟乙酸(5 mL)。将该混合物搅拌过夜。浓缩该混合物,用反相HPLC纯化残余物,使用Gilson系统,用20-80%的乙腈/水(包含0.1% v/v三氟乙酸)洗脱,提供标题化合物。

¹H NMR

(500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 12.86 (s, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.62 (d, 4H), 7.47 (dt, 3H), 7.36 (q, 2H), 7.27 (s, 1H), 6.95 (d, 1H), 4.95 (s, 2H), 3.77 (s, 2H), 3.01 (t, 2H), 2.72 (q, 2H), 2.09 (s, 3H), 1.45 (t, 2H), 1.18 - 1.05 (m, 9H), 1.00 (d, 6H), 0.80 (s, 6H). MS (ESI) m/e 744.2 (M+H)⁺。

[0798] 1.91.12 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(3-((2-((4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙基)氨基)丙基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸叔丁基酯

使用实施例1.2.8的方法,用实施例1.91.10替代实施例1.2.7,制备标题化合物。

[0799] 1.91.13 6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-3-{1-[(3,5-二甲基-7-{3-[(2-磺乙基)氨基]丙基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基}吡啶-2-甲酸

使用实施例1.2.9的方法,用实施例1.91.12替代实施例1.2.8,制备标题化合物。

¹H NMR (501 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.85 (s, 1H), 8.02 (dd,

1H), 7.77 (d, 1H), 7.60 (d, 1H), 7.54 - 7.39 (m, 3H), 7.38 - 7.31 (m, 2H), 7.26 (s, 1H), 6.94 (d, 1H), 4.94 (s, 2H), 3.87 (t, 2H), 3.15 (p, 2H), 3.00 (t, 2H), 2.86 (dq, 2H), 2.76 (t, 2H), 2.08 (s, 3H), 1.47 (td, 2H), 1.08 (d, 9H), 0.99 (d, 7H), 0.79 (s, 7H). MS (ESI) m/e 852.2 (M+H)⁺。

[0800] 实施例2. 合成示范性的合成子

该实施例提供了用于制备ADC的示范性的合成子的合成方法。

[0801] 2.1. 合成N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[(2-((3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子CZ)

将实施例1.2.9(100 mg)和4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-

基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯(购买于 Synchem, 114 mg) 在N,N-二甲基甲酰胺(7 mL)中、在冰水浴中冷却,并加入N,N-二异丙基乙胺(0.15 mL)。将该混合物在0℃下搅拌30分钟,而后在室温下搅拌过夜。用反相HPLC纯化该反应,使用Gilson系统,用20-60%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱,提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.85 (s, 1H), 9.99 (s, 1H), 8.04 (t, 2H), 7.75-7.82 (m, 2H), 7.40-7.63 (m, 6H), 7.32-7.39 (m, 2H), 7.24-7.29 (m, 3H), 6.99 (s, 2H), 6.95 (d, 1H), 6.01 (s, 1H), 4.83-5.08 (m, 4H), 4.29-4.48 (m, 1H), 4.19 (t, 1H), 3.84-3.94 (m, 2H), 3.80 (d, 2H), 3.14-3.29 (m, 2H), 2.87-3.06 (m, 4H), 2.57-2.69 (m, 2H), 2.03-2.24 (m, 5H), 1.89-2.02 (m, 1H), 1.53-1.78 (m, 2H), 1.26-1.53 (m, 8H), 0.89-1.27 (m, 12H), 0.75-0.88 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1452.2 (M+H)⁺.

[0802] 2.2. 合成N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-([2-([2-([3-([4-([6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基}(3-磺丙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子DH)

如实施例2.1所述,用实施例1.6.2替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.83 (s, 1H), 9.98 (s, 1H), 8.04 (t, 2H), 7.75-7.81 (m, 2H), 7.54-7.64 (m, 3H), 7.40-7.54 (m, 3H), 7.32-7.39 (m, 2H), 7.24-7.31 (m, 3H), 6.93-7.01 (m, 3H), 4.86-5.03 (m, 4H), 4.32-4.48 (m, 2H), 4.13-4.26 (m, 2H), 3.31-3.45 (m, 4H), 3.24 (d, 4H), 2.88-3.07 (m, 4H), 2.30-2.39 (m, 2H), 2.04-2.24 (m, 5H), 1.86-2.03 (m, 1H), 0.89-1.82 (m, 27H), 0.74-0.88 (m, 13H). MS (ESI) m/e 1466.3 (M+H)⁺.

[0803] 2.3. 该段落特意留白。

[0804] 2.4. 合成N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-[4-([2-([2-([3-([4-([6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙氧基)乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基]-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子EP)

如实施例2.1所述,用实施例1.11.4替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.85 (s, 1H), 10.00 (s, 1H), 8.01-8.10 (m, 2H), 7.79 (dd, 2H), 7.55-7.65 (m, 3H), 7.41-7.53 (m, 3H), 7.32-7.38 (m, 2H), 7.25-7.30 (m, 3H), 6.97-7.02 (m, 2H), 6.96 (d, 1H), 6.03 (s, 1H), 4.90-5.03 (m, 4H), 4.31-4.46 (m, 1H), 4.20 (s, 1H), 3.88 (t, 2H), 3.82 (s, 2H), 2.97-3.06 (m, 2H), 2.88-2.98 (m, 1H), 2.58-2.68 (m, 2H), 2.05-2.22 (m, 5H), 1.92-2.02 (m, 1H), 0.89-1.75 (m, 23H), 0.77-0.87 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1496.3 (M+H)⁺.

[0805] 2.5. 合成甲基6-[4-(3-([2-([3-([4-([6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基}([4-([N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酰}氨基)苄基]氧基)羰基)氨基)丙基)-

1H-1,2,3-三唑-1-基]-6-脱氧-β-L-吡喃葡萄糖苷(合成子EF)

2.5.1. 戊-4-炔醛

在-78℃,用20分钟向溶于二氯甲烷(200 mL)中的草酰氯溶液(9.12 mL)中加入溶于二氯甲烷(40 mL)中的二甲亚砜(14.8 mL)。将该溶液再搅拌30分钟之后,用10分钟加入4-戊炔醇(8.0 g)(溶于二氯甲烷(80 mL)中)。将该反应混合物在-78℃下再搅拌60分钟。在-78℃,加入三乙胺(66.2 mL),并将该反应混合物搅拌60分钟,而后再用一个小时升温至10℃。加入水(200 mL),并将两个层分离。用1% HCl水溶液酸化水层,而后再用二氯甲烷(3 x 100 mL)反萃取。将合并的有机层用1% HCl水溶液和NaHCO₃水溶液洗涤。用二氯甲烷(2 x 100 mL)反萃取水提取物,将合并的有机提取物用盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤后,通过旋转蒸发,除去溶剂(30℃水浴),提供标题化合物。

[0806] 2.5.2. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-(戊-4-炔-1-基氨基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

向实施例1.2.7(85 mg)的四氢呋喃(2 mL)溶液中加入戊-4-炔醛(yan1)(8.7 mg)、乙酸(20 mg)和硫酸钠(300 mg)。将该混合物搅拌1小时,并将三乙酰氧基硼氢化钠(45 mg)加入到该反应混合物中。将该混合物搅拌过夜,然后用乙酸乙酯(200mL)稀释,用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤并蒸发溶剂,得到残余物,将残余物溶于二甲亚砜/甲醇(1:1,3 mL)中。在Gilson系统上,用反相HPLC纯化该混合物,用10-85%的乙腈/0.1%三氟乙酸水溶液洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 812.1 (M+H)⁺。

[0807] 2.5.3. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-((3-(1-((2S,3R,4R,5S,6S)-3,4,5-三羟基-6-甲氧基四氢-2H-吡喃-2-基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)丙基)氨基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

向(2S,3S,4R,5S,6S)-2-(叠氮基甲基)-6-甲氧基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(8.63 mg)的叔丁醇(2 mL)和水(1 mL)溶液中加入实施例2.5.2(20 mg)、硫酸铜(II)五水合物(2.0 mg)和抗坏血酸钠(5 mg)。将该混合物在100℃下、在微波条件(Biotage Initiator)下搅拌20分钟。将氢氧化锂一水合物(50 mg)加入到该混合物中,并搅拌过夜。将该混合物用三氟乙酸中和,并用反相HPLC(Gilson系统)纯化,用10-85%的乙腈/0.1%三氟乙酸水溶液洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 1032.2 (M+H)⁺。

[0808] 2.5.4. 甲基6-[4-(3-{[2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基}({[4-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酰}氨基)苄基]氧基}羰基)氨基}丙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基]-6-脱氧-β-L-吡喃葡萄糖苷

向4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基4-硝基苯基碳酸酯(7.16 mg)和实施例2.5.3(10 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(2 mL)溶液中加入N,N-二异丙基乙胺(0.1 mL)。将该混合物搅拌过夜,然后用三氟乙酸酸化,并用反相HPLC纯化(Gilson系统),用10-85%的乙腈/0.1%三氟乙酸水溶液洗脱,提供标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 9.65 (s, 1H), 7.97 (d, 1H), 7.76 (d, 1H), 7.64-7.72 (m, 2H), 7.53-7.63 (m, 3H), 7.38-7.51 (m, 4H), 7.30-7.37 (m, 2H), 7.22-7.27 (m, 3H), 6.84-6.98 (m, 3H), 4.97 (d, 4H), 4.65 (dd, 1H), 4.50 (d, 1H), 4.36-4.46 (m, 1H), 4.25-4.32 (m, 1H), 4.10-4.20 (m, 1H), 3.85-3.95 (m, 2H), 3.79 (s, 2H), 3.66-3.73 (m, 2H), 2.99-3.03 (m, 7H), 2.57 (t, 3H), 2.12-2.22 (m, 3H), 2.08 (s, 3H), 1.99-2.05 (m, 2H), 1.70-1.88 (m, 4H), 1.39-1.67 (m, 8H), 1.35 (s, 3H), 0.92-1.28 (m, 14H), 0.80-0.88 (m, 16H). MS (ESI) m/e 1629.5 (M+H) $^+$.

[0809] 2.6. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-(4-[[([2-({3-[4-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]氧基)乙基]{3-[1-(β -D-吡喃葡萄糖基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙基}氨基甲酰基)氧基]甲基}苯基)-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸胺(合成子EG)

2.6.1. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((3-(1-((2R,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸

向(2R,3R,4S,5S,6S)-2-叠氨基-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(8.63 mg)的叔丁醇(2 mL)和水(1 mL)溶液中加入实施例2.5.2(20 mg)、硫酸铜(II)五水合物(2.0 mg)和抗坏血酸钠(5 mg)。将该混合物在100℃下、在微波条件(Biotage Initiator)下搅拌20分钟。将氢氧化锂一水合物(50 mg)加入到该混合物中,并搅拌过夜。将该混合物用三氟乙酸中和,并用反相HPLC(Gilson系统)纯化,用10-85%的乙腈/0.1%三氟乙酸水溶液洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 1032.1 (M+H) $^+$ 。

[0810] 2.6.2. N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-(4-[[([2-({3-[4-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]氧基)乙基]{3-[1-(β -D-吡喃葡萄糖基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙基}氨基甲酰基)氧基]甲基}苯基)-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸胺

在实施例2.5.4中,用实施例2.6.1替代实施例2.5.3,制备标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 9.64 (s, 1H), 7.98 (d, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.76 (d, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.52-7.62 (m, 3H), 7.20-7.50 (m, 9H), 6.84-6.98 (m, 3H), 5.56 (d, 1H), 4.98 (d, 4H), 4.36-4.49 (m, 2H), 4.11-4.23 (m, 2H), 3.96 (d, 2H), 3.74-3.91 (m, 7H), 3.51-3.58 (m, 5H), 3.35-3.49 (m, 10H), 2.97-3.02 (m, 6H), 2.57-2.66 (m, 3H), 2.12-2.24 (m, 2H), 2.08 (s, 3H), 1.69-2.01 (m, 3H), 1.35-1.65 (m, 9H), 0.93-1.28 (m, 10H), 0.81-0.89 (m, 10H). MS (ESI) m/e 1629.4 (M+H) $^+$.

[0811] 2.7. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[[([2R]-1-[[2-({3-[4-6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]氧基)乙基](甲基)氨基)-1-氧代-3-磺基丙-2-基]氨基甲酰基)氧基]甲基}苯基]-L-丙氨酸胺(合成子EH)

向实施例1.13.8 (0.018 g) 和4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基)-3-甲基丁酰基)丙酰基)苄基(4-硝基苄基)碳酸酯(0.015 g, 0.023 mmol)的N,N-二甲基甲酰胺(0.75 mL)溶液中加入N,N-二异丙基乙胺(0.015 mL)。搅拌过夜之后,用N,N-二甲基甲酰胺(0.75 mL)和水(0.5 mL)稀释该反应。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-70%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.86 (s, 1H), 9.93 (s, 1H), 8.14 (d, 1H), 8.04 (d, 1H), 7.84-7.76 (m, 2H), 7.61 (d, 1H), 7.57 (d, 2H), 7.53 (dd, 1H), 7.47 (t, 1H), 7.43 (d, 1H), 7.39-7.30 (m, 4H), 7.26 (d, 2H), 6.99 (s, 2H), 6.97 (dd, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.90 (t, 2H), 4.75-4.65 (m, 1H), 4.46-4.33 (m, 2H), 4.17 (dd, 2H), 3.66-3.47 (m, 4H), 3.36 (t, 4H), 3.12 (s, 2H), 3.01 (t, 2H), 2.85-2.60 (m, 4H), 2.25-2.05 (m, 5H), 2.05-1.90 (m, 1H), 1.58-0.76 (m, 32H). MS (ESI) m/e 1423.2 (M+H)⁺.

[0812] 2.8. 合成N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[[([2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基][4-(β-D-吡喃葡萄糖基氧基)苄基]氨基甲酰基}氧基)甲基]苄基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸(合成子ER)

2.8.1. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-((4-((2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氨基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸

向实施例1.2.7 (44.5 mg)的四氢呋喃(2 mL)和乙酸(0.2 mL)溶液中加入4-((2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯甲醛(17 mg)和MgSO₄(300 mg)。将该混合物搅拌1小时,而后加入氰基硼氢化钠/树脂(300 mg)。将该混合物搅拌过夜。过滤该混合物,并蒸发溶剂。将残余物溶于二甲亚砜/甲醇(1:1,4 mL)中,用反相HPLC纯化(Gilson系统),用10-85%的乙腈/0.1%三氟乙酸水溶液洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 1015.2 (M+H)⁺。

[0813] 2.8.2. N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[[([2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基][4-(β-D-吡喃葡萄糖基氧基)苄基]氨基甲酰基}氧基)甲基]苄基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸

在实施例2.5.4中,用实施例2.8.1替代实施例2.5.3,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.87 (s, 1H), 10.00 (s, 1H), 7.96-8.14 (m, 2H), 7.79 (d, 2H), 7.55-7.68 (m, 3H), 7.09-7.52 (m, 11H), 6.91-7.01 (m, 5H), 5.09 (d, 1H), 4.95 (dd, 4H), 4.35-4.47 (m, 4H), 4.14-4.23 (m, 3H), 3.86-3.94 (m, 6H), 3.31-3.46 (m, 8H), 3.16-3.25 (m, 3H), 2.90-3.04 (m, 4H), 2.59 (s, 1H), 1.88-2.24 (m, 6H), 0.88-1.75 (m, 24H), 0.76-0.90 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1613.7 (M+H)⁺.

[0814] 2.9. 合成N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[[([4-(β-D-阿洛吡喃糖基氧基)苄基][2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲

酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基]氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸酰胺(合成子ES)

2.9.1. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3,5-二甲基-7-(2-((4-(((2S,3R,4R,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氨基)乙氧基)金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸

向实施例1.2.7(44.5 mg)的四氢呋喃(2 mL)和乙酸(0.2 mL)溶液中加入4-(((2S,3R,4R,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯甲醛(17 mg)和MgSO₄(300 mg)。将该混合物搅拌1小时,而后加入氰基硼氢化钠/树脂(300 mg)。将该混合物搅拌过夜。过滤该混合物,并蒸发溶剂。将残余物溶于二甲亚砜/甲醇(1:1,4 mL)中,用反相HPLC纯化(Gilson系统),用10-85%的乙腈/0.1%三氟乙酸水溶液洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 1015.2 (M+H)⁺。

[0815] 2.9.2. N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酸-N-{4-[[([4-(β-D-阿洛吡喃糖基氧基)苄基][2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基]氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸酰胺

在实施例2.5.4中,用实施例2.9.1替代实施例2.5.3,制备标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.86 (s, 1H), 10.00 (s, 1H), 7.96-8.11 (m, 2H), 7.79 (d, 2H), 7.53-7.65 (m, 3H), 7.08-7.52 (m, 10H), 6.91-7.00 (m, 5H), 5.09 (d, 1H), 4.99 (d, 4H), 4.35-4.48 (m, 3H), 4.13-4.23 (m, 2H), 3.82-3.96 (m, 8H), 3.32-3.50 (m, 10H), 3.12-3.25 (m, 3H), 2.90-3.06 (m, 5H), 1.89-2.19 (m, 6H), 0.88-1.75 (m, 22H), 0.76-0.88 (m, 11H). MS (ESI) m/e 1612.5 (M+H)⁺。

[0816] 2.10. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酸-N-{4-[[([2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基](2-膦酰乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸酰胺(合成子EQ)

如实施例2.1所述,用实施例1.12.2替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 9.99 (s, 1H), 8.01-8.09 (m, 2H), 7.76-7.81 (m, 2H), 7.56-7.64 (m, 3H), 7.41-7.53 (m, 3H), 7.36 (q, 2H), 7.25-7.30 (m, 3H), 6.99 (s, 2H), 6.94 (d, 1H), 5.98 (s, 1H), 4.89-5.07 (m, 4H), 4.38 (s, 1H), 4.19 (t, 1H), 3.88 (t, 2H), 3.80 (d, 2H), 2.89-3.08 (m, 5H), 2.04-2.24 (m, 5H), 1.89-2.02 (m, 1H), 1.76-1.87 (m, 2H), 0.89-1.72 (m, 23H), 0.78-0.88 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1452.2 (M+H)⁺。

[0817] 2.11. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酸-N-{4-[[([2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基](2-膦酰乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-丙氨酸酰胺(合成子EU)

如实施例2.1所述,制备标题化合物,分别用实施例1.12.2和4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯,替代实施例1.2.9和4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 9.93 (s, 1H), 8.12 (d, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.72-7.83 (m, 2H), 7.54-7.65 (m, 3H), 7.41-7.54 (m, 3H), 7.31-7.40 (m, 2H), 7.24-7.30 (m, 3H), 6.99 (s, 2H), 6.94 (d, 1H), 4.87-5.11 (m, 3H), 4.11-4.45 (m, 1H), 3.88 (t, 2H), 3.79 (d, 2H), 2.97-3.05 (m, 2H), 2.63-2.70 (m, 1H), 2.29-2.37 (m, 1H), 2.03-2.20 (m, 5H), 1.73-2.00 (m, 5H), 1.39-1.55 (m, 4H), 0.88-1.38 (m, 19H), 0.72-0.89 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1364.5 (M-H) $^+$.

[0818] 2.12. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基](3-膦酰丙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸(合成子EV)

如实施例2.1所述,用实施例1.14.4替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 9.98 (s, 1H), 8.04 (t, 2H), 7.78 (t, 2H), 7.61 (t, 3H), 7.39-7.54 (m, 3H), 7.32-7.39 (m, 2H), 7.25-7.30 (m, 3H), 6.99 (s, 2H), 6.95 (d, 1H), 6.01 (s, 1H), 4.97 (d, 4H), 4.29-4.47 (m, 2H), 4.14-4.23 (m, 2H), 3.85-3.93 (m, 2H), 3.32-3.42 (m, 2H), 3.24 (s, 2H), 2.88-3.09 (m, 3H), 1.87-2.23 (m, 6H), 0.91-1.74 (m, 27H), 0.72-0.89 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1466.3 (M+H) $^+$.

[0819] 2.13. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[(2R)-1-({2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基}氨基)-1-氧代-3-磺基丙-2-基]氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-丙氨酸(合成子EW)

向实施例1.15 (0.020 g)和4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯 (0.017 g)的N,N-二甲基甲酰胺 (0.5 mL)溶液中加入N,N-二异丙基乙胺 (0.017 mL)。将该反应搅拌过夜,并用N,N-二甲基甲酰胺 (1 mL)、水 (0.5 mL)稀释。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-70%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 12.85 (s, 1H), 9.93 (s, 1H), 8.12 (d, 1H), 8.04 (d, 1H), 7.86-7.76 (m, 3H), 7.63-7.41 (m, 7H), 7.39-7.32 (m, 2H), 7.30 (s, 1H), 7.30-7.21 (m, 2H), 6.99 (s, 2H), 6.97 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.93 (s, 2H), 4.49-4.33 (m, 2H), 4.18 (dd, 2H), 4.15-4.08 (m, 2H), 3.90-3.86 (m, 2H), 3.36 (t, 2H), 3.34-3.27 (m, 1H), 3.18-3.04 (m, 2H), 3.04-2.96 (m, 2H), 2.89-2.61 (m, 2H), 2.27-2.05 (m, 5H), 2.03-1.87 (m, 1H), 1.59-1.42 (m, 4H), 1.42-0.91 (m, 18H), 0.91-0.76 (m, 11H). MS (-ESI) m/e 1407.5 (M-H) $^-$.

[0820] 2.14. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-

[4-({[2-[2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙氧基)乙基}(3-膦酰丙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸酰胺(合成子EX)

将实施例1.16.2(59 mg)、4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯(48 mg)和N,N-二异丙基乙胺(0.056 mL)的混合物在2 mL N,N-二甲基甲酰胺中搅拌24小时。在Biotage Isolera One系统上,使用40 g C18柱,通过反相色谱纯化该混合物,用0.1%三氟乙酸/水中的10-90%的乙腈/洗脱。将目标级分浓缩,并将产物从水和1,4-二噁烷冷冻干燥,得到标题化合物的三氟乙酸盐。

¹H NMR (400MHz,

二甲亚砜-d₆) δ ppm 9.97 (bs, 1H), 8.04 (m, 2H), 7.79 (d, 2H), 7.59 (m, 3H), 7.46 (m, 3H), 7.36 (m, 2H), 7.27 (m, 2H), 6.99 (s, 2H), 6.94 (d, 1H), 4.97 (m, 4H), 4.40 (m, 2H), 4.17 (dd, 2H), 3.50-4.10 (m, 6H), 3.45 (m, 2H), 3.40 (m, 2H), 3.26 (m, 2H), 3.01 (m, 2H), 2.95 (s, 2H), 2.79 (s, 2H), 2.15 (m, 2H), 2.09 (s, 2H), 1.68 (m, 2H), 1.60 (m, 1-2H), 1.35-1.50 (m, 6H), 1.25 (m, 4H), 1.17 (m, 2H), 1.10 (m, 2H), 0.97 (m, 1-2H), 0.84 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1510.4 (M+H)⁺.

[0821] 2.15. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酸-N-[4-({[2-[2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙氧基)乙基}(3-膦酰丙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-L-丙氨酸酰胺(合成子EY)

将实施例1.16.2(59 mg)、4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯(42 mg)和N,N-二异丙基乙胺(0.042 mg)的混合物在2 mL N,N-二甲基甲酰胺中搅拌24小时。在Biotage Isolera One系统上,使用40 g C18柱,通过反相色谱纯化该混合物,用0.1%三氟乙酸/水中的10-90%的乙腈洗脱。将级分浓缩,并将产物从水和1,4-二噁烷冷冻干燥,得到标题化合物的三氟乙酸盐。MS (ESI) m/e 1422.6 (M-H)⁺.

[0822] 2.16. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酸-N-[4-({[2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基}(3-膦酰丙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-L-丙氨酸酰胺(合成子EZ)

将实施例1.14.4(50 mg)、4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯(38 mg)和N,N-二异丙基乙胺(0.050 mL)的混合物在2 mL N,N-二甲基甲酰胺中搅拌24小时。在Biotage Isolera One系统上,使用40 g C18柱,通过反相色谱纯化该混合物,用0.1%三氟乙酸/水中的10-90%的乙腈洗脱。将目标级分浓缩,并将产物从水和1,4-二噁烷冷冻干燥,得到标题化合物的三氟乙酸盐。

¹H NMR (400MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ

ppm 9.94 (bs, 1H), 8.12 (d, 1H), 8.04 (d, 1H), 7.80 (d, 2H), 7.61 (m, 3H), 7.47 (m, 3H), 7.36 (m, 2H), 7.29 (m, 2H), 6.99 (s, 2H), 6.95 (d, 1H), 4.97 (m, 4H), 4.40 (m, 2H), 4.16 (dd, 2H), 3.50-4.10 (m, 6H), 3.68 (m, 2H), 3.55 (m, 2H), 3.25 (m, 4H), 3.02 (m, 2H), 2.94 (s, 2H), 2.79 (s, 2H), 2.15 (m, 1H), 2.08 (s, 2H), 1.65 (m, 2H), 1.40-1.50 (m, 6H), 1.20-1.30 (m, 6H), 1.08-1.19 (m, 4H), 0.97 (m, 1-2H), 0.76-0.89 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1380.3 (M+H)⁺.

[0823] 2.17. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-[[3-(2-[[2S]-3-羧基-2-((4-[[2S]-2-[[2S]-2-[[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基)-3-甲基丁酰基]氨基)丙酰基]氨基)苄基)氧基]羧基]氨基)丙酰基](甲基)氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸(合成子FD)

向实施例1.17 (0.040 g) 和4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯(0.034 g)的N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)溶液中加入N,N-二异丙基乙胺(0.035 mL)。将该反应搅拌过夜,并用N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)和水(0.5 mL)稀释。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-70%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm

12.84 (s, 1H), 9.92 (s, 1H), 8.13 (d, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.79 (d, 2H), 7.62 (d, 1H), 7.57 (d, 2H), 7.54-7.41 (m, 3H), 7.40-7.32 (m, 2H), 7.31-7.23 (m, 4H), 6.99 (s, 2H), 6.95 (dd, 1H), 5.01-4.89 (m, 4H), 4.78 (dq, 1H), 4.45-4.30 (m, 1H), 4.23-4.11 (m, 1H), 3.88 (t, 2H), 3.80 (s, 2H), 3.42-3.26 (m, 6H), 3.06 (s, 1H), 3.01 (t, 2H), 2.80 (s, 2H), 2.76-2.62 (m, 1H), 2.46-2.36 (m, 1H), 2.25-2.05 (m, 5H), 2.05-1.92 (m, 1H), 1.58-1.42 (m, 4H), 1.42-0.91 (m, 20H), 0.91-0.78 (m, 9H). MS (ESI) m/e 1387.4 (M+H)⁺.

[0824] 2.18. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[[2-((3-[[4-[[6-[[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]氧基)乙基][4-(β-D-吡喃葡萄糖基氧基(glucopyranuronosyloxy))苄基]氨基甲酰基]氧基]甲基]苄基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸(合成子FS)

在实施例2.5.4中,用实施例1.19.2替代实施例2.5.3,制备标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm

12.86 (s, 1H), 10.00 (s, 1H), 7.97-8.14 (m, 2H), 7.79 (d, 2H), 7.07-7.65 (m, 13H), 6.87-7.01 (m, 4H), 5.92-6.08 (m, 1H), 4.87-5.07 (m, 4H), 4.33-4.48 (m, 3H), 4.13-4.26 (m, 1H), 3.74-3.94 (m, 6H), 3.14-3.34 (m, 8H), 2.84-3.05 (m, 6H), 1.87-2.25 (m, 6H), 0.89-1.73 (m, 21H), 0.76-0.87 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1626.4 (M+H)⁺.

[0825] 2.19. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[[2-((3-[[4-[[6-[[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]氧基)乙基](2-膦酰乙基)氨基甲酰基]氧基]甲基]苄基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸(合成

子FI)

如实施例2.1所述,用实施例1.20.11替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 10.00 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 8.07 (d, 1H), 8.00 (d, 1H), 7.84-7.90 (m, 1H), 7.79 (dd, 3H), 7.55-7.66 (m, 2H), 7.46 (s, 2H), 7.37 (t, 1H), 7.29 (t, 3H), 7.18-7.25 (m, 1H), 6.99 (s, 2H), 5.99 (s, 1H), 5.00 (d, 1H), 4.38 (s, 1H), 4.13-4.24 (m, 1H), 3.96 (s, 2H), 3.87 (d, 2H), 2.88-3.08 (m, 4H), 2.84 (q, 2H), 2.04-2.26 (m, 5H), 1.89-2.01 (m, 3H), 1.75-1.88 (m, 2H), 1.63-1.74 (m, 1H), 0.91-1.63 (m, 21H), 0.76-0.89 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1450.5 (M-H).

[0826] 2.20. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N⁵-氨基甲酰基-N-{4-[(2-({3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基]苯基}-L-鸟氨酸酰胺(合成子FV)

在实施例2.1中,用实施例1.22.5替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 13.00 (v br s, 1H), 10.00 (s, 1H), 8.52 (dd, 1H), 8.16 (dd, 1H), 8.06 (d, 1H), 7.78 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.59 (br m, 2H), 7.53 (m, 2H), 7.45 (d, 1H), 7.37 (t, 1H), 7.30 (s, 1H), 7.27 (d, 2H), 6.99 (s, 2H), 6.97 (d, 1H), 4.98 (m, 4H), 4.39 (m, 1H), 4.19 (br m, 1H), 3.88 (t, 2H), 3.80 (br d, 2H), 3.44, 3.36 (br m, m, total 6H), 3.24 (m, 2H), 2.94-3.01 (m, 4H), 2.63 (br m, 2H), 2.14 (m, 2H), 2.10 (s, 3H), 1.97 (br m, 1H), 1.68 (br m, 1H), 1.58 (br m, 1H), 1.34-1.47 (m, 8H), 1.08-1.23 (m, 10H), 0.95 (br m, 2H), 0.85-0.80 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1451.4 (M-H).

[0827] 2.21. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[(2R)-1-{{2-({3-[(4-{6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基)-1-氧代-3-磺基丙-2-基]氨基甲酰基)氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸酰胺(合成子GC)

如实施例2.1所述,用实施例1.21.7替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 9.98 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 8.07 (d, 1H), 8.01 (dd, 1H), 7.89 (t, 1H), 7.74-7.84 (m, 3H), 7.58 (d, 2H), 7.47 (s, 2H), 7.37 (t, 1H), 7.19-7.33 (m, 5H), 7.00 (s, 2H), 4.91 (q, 2H), 4.64-4.76 (m, 2H), 4.33-4.43 (m, 2H), 4.15-4.24 (m, 2H), 3.92-4.03 (m, 2H), 3.88 (s, 2H), 3.32-3.50 (m, 6H), 3.10-3.22 (m, 2H), 2.89-3.07 (m, 2H), 2.70-2.89 (m, 4H), 2.60-2.70 (m, 1H), 2.05-2.28 (m, 5H), 1.90-2.03 (m, 3H), 1.64-1.77 (m, 1H), 1.53-1.65 (m, 1H), 0.92-1.53 (m, 21H), 0.77-0.92 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1507.3 (M-H).

[0828] 2.22. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[(2R)-1-{{2-({3-[(4-{6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基)-1-氧代-3-磺基丙-2-基]氨基甲酰基)氧基)甲基]苯基}-L-丙氨酸酰胺(合成子GB)

如实施例2.1所述,制备标题化合物,分别用实施例1.21.7和4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯,替代实施例1.2.9和4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 9.93 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.13 (d, 1H), 8.01 (dd, 1H), 7.88 (t, 1H), 7.74-7.84 (m, 3H), 7.57 (d, 2H), 7.46 (s, 2H), 7.37 (t, 1H), 7.17-7.33 (m, 5H), 6.99 (s, 2H), 4.91 (d, 2H), 4.65-4.76 (m, 1H), 4.30-4.51 (m, 1H), 4.13-4.21 (m, 1H), 3.92-4.00 (m, 2H), 3.88 (s, 2H), 3.29-3.46 (m, 4H), 2.93-3.21 (m, 3H), 2.68-2.88 (m, 4H), 2.58-2.68 (m, 1H), 2.04-2.26 (m, 5H), 1.89-2.02 (m, 3H), 1.37-1.54 (m, 6H), 0.92-1.34 (m, 15H), 0.75-0.91 (m, 12H). MS (ESI) m/e (M+H)⁺.

[0829] 2.23. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N⁵-氨基甲酰基-N-{4-[(2-((3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-鸟氨酸酰胺(合成子FW)

在实施例2.1中,用实施例1.23.4替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 13.38 (v br s, 1H), 10.00 (s, 1H), 8.66 (m, 2H), 8.06 (d, 1H), 7.78 (d, 1H), 7.65 (d, 1H), 7.59 (br m, 2H), 7.53 (m, 1H), 7.47 (m, 2H), 7.37 (t, 1H), 7.30 (s, 1H), 7.27 (d, 2H), 6.99 (s, 2H), 6.97 (d, 1H), 4.98 (m, 4H), 4.39 (m, 1H), 4.19 (br m, 1H), 3.88 (t, 2H), 3.80 (br d, 2H), 3.40 (br m, 6H), 3.24 (m, 2H), 2.98 (m, 4H), 2.63 (m, 2H), 2.16 (m, 2H), 2.10 (s, 3H), 1.97 (br m, 1H), 1.68 (br m, 1H), 1.58 (br m, 1H), 1.34-1.47 (m, 8H), 1.08-1.23 (m, 10H), 0.95 (br m, 2H), 0.85-0.80 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1451.5 (M-H)⁻.

[0830] 2.24. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[(2-((3-[(4-{6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸酰胺(合成子GD)

如实施例2.1所述,用实施例1.24.2替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 10.00 (s, 1H), 8.38 (s, 1H), 8.07 (d, 1H), 8.00 (d, 1H), 7.85-7.92 (m, 1H), 7.73-7.85 (m, 3H), 7.55-7.65 (m, 2H), 7.46 (s, 2H), 7.37 (t, 1H), 7.28 (t, 3H), 7.22 (t, 1H), 6.99 (s, 2H), 6.00 (s, 1H), 4.99 (d, 1H), 4.28-4.50 (m, 1H), 4.19 (s, 1H), 3.77-4.03 (m, 4H), 3.31-3.41 (m, 2H), 3.20-3.29 (m, 2H), 2.87-3.08 (m, 3H), 2.83 (t, 2H), 2.63 (d, 2H), 2.05-2.25 (m, 5H), 1.88-2.01 (m, 3H), 1.69 (t, 1H), 1.53-1.63 (m, 1H), 1.31-1.53 (m, 8H), 1.04-1.29 (m, 11H), 0.89-1.02 (m, 2H), 0.77-0.88 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1450.4 (M-H)⁻.

[0831] 2.25. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[(2-((3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-羧乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸酰胺(合

成子GK)

如实施例2.1所述,用实施例1.25.2替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.85 (s, 1H), 9.98 (s, 1H), 8.04 (t, 2H), 7.75-7.82 (m, 2H), 7.60 (t, 3H), 7.41-7.53 (m, 3H), 7.32-7.39 (m, 2H), 7.24-7.29 (m, 3H), 6.99 (s, 2H), 6.94 (d, 3H), 5.97 (s, 1H), 4.88-5.04 (m, 4H), 4.38 (d, 1H), 4.12-4.24 (m, 1H), 3.88 (t, 2H), 3.75-3.84 (m, 2H), 3.32-3.40 (m, 2H), 3.28 (d, 2H), 2.90-3.05 (m, 4H), 2.42-2.49 (m, 2H), 2.05-2.22 (m, 5H), 1.87-2.01 (m, 1H), 0.90-1.76 (m, 22H), 0.74-0.88 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1414.5 (M-H).

[0832] 2.26. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[[{2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-羧乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苄基]-L-丙氨酸酰胺(合成子GJ)

如实施例2.1所述,制备标题化合物,分别用实施例1.25.2和4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)苄基(4-硝基苄基)碳酸酯,替代实施例1.2.9和4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苄基)碳酸酯。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.78 (s, 1H), 9.93 (s, 1H), 8.12 (d, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.75-7.83 (m, 2H), 7.54-7.65 (m, 3H), 7.41-7.52 (m, 3H), 7.32-7.40 (m, 2H), 7.24-7.29 (m, 3H), 6.98 (s, 2H), 6.94 (d, 1H), 4.90-5.04 (m, 4H), 4.32-4.45 (m, 2H), 4.12-4.21 (m, 2H), 3.88 (t, 2H), 3.79 (d, 2H), 3.31-3.46 (m, 4H), 3.23-3.31 (m, 2H), 3.01 (t, 2H), 2.46 (t, 2H), 2.04-2.22 (m, 5H), 1.87-2.02 (m, 1H), 1.40-1.60 (m, 4H), 0.91-1.37 (m, 17H), 0.76-0.88 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1328.4 (M-H).

[0833] 2.27. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-[[3-(2-[[2R]-3-羧基-2-({[4-[[2S]-2-[[2S]-2-[[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基]-3-甲基丁酰基]氨基)丙酰基]氨基)苄基]氧基]羧基]氨基)丙酰基](甲基)氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶-2-甲酸(合成子GW)

向实施例1.27 (0.043 g)的N,N-二甲基甲酰胺(0.5 mL)溶液中加入4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)苄基(4-硝基苄基)碳酸酯(0.042 g),而后加入N,N-二异丙基乙胺(0.038 mL),并将该反应在室温下搅拌。搅拌16小时之后,用水(0.5 mL)和N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)稀释该反应。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-70%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 13.05 (s, 1H), 10.15 (s, 1H), 8.36 (d, 1H), 8.26 (d, 1H), 8.02 (d, 2H), 7.95-7.77 (m, 4H), 7.77-7.63 (m, 3H), 7.63-7.54 (m, 2H), 7.54-7.46 (m, 3H), 7.22 (s, 2H), 7.18 (dd, 1H), 5.17 (d, 4H), 5.01 (dq, 1H), 4.61 (p, 1H), 4.39 (t, 1H), 4.11 (t, 2H), 4.03 (s, 2H), 3.64-3.49 (m, 2H), 3.29 (s, 1H), 3.24 (t, 2H), 3.03 (s, 2H), 2.92 (dt, 1H), 2.73-2.61 (m, 4H), 2.35 (d, 4H), 2.18 (dt, 1H), 1.71 (h, 4H), 1.65-1.13 (m, 18H), 1.13-1.01 (m, 13H). MS (ESI) m/e 1387.3 (M+H) $^+$.

[0834] 2.28. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[(2-({3-[4-(6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基][1-(羧甲基)哌啶-4-基]氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸(合成子HF)

在室温下,将实施例1.28(0.0449 g)、4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯(0.049 g)和N,N-二异丙基乙胺(0.044 mL)的溶液在N,N-二甲基甲酰胺(0.5 mL)中一起搅拌。将该反应混合物搅拌过夜,并用N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)和水(0.5 mL)稀释。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-90%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 12.85 (s, 1H), 9.99 (s, 1H), 8.04 (t, 2H), 7.78 (t, 2H), 7.65-7.58 (m, 3H), 7.54-7.41 (m, 3H), 7.38 (d, 1H), 7.34 (d, 1H), 7.32-7.24 (m, 3H), 6.99 (s, 2H), 6.95 (d, 1H), 5.97 (s, 1H), 5.01 (s, 2H), 4.96 (s, 2H), 4.38 (q, 1H), 4.23-4.14 (m, 1H), 4.05 (s, 2H), 3.88 (t, 2H), 3.80 (s, 2H), 3.36 (t, 2H), 3.26-2.86 (m, 8H), 2.27-2.02 (m, 6H), 2.02-1.86 (m, 2H), 1.86-1.75 (m, 2H), 1.75-1.54 (m, 2H), 1.54-0.90 (m, 24H), 0.89-0.72 (m, 14H). MS (ESI) m/e 1485.2 (M+H) $^+$.

[0835] 2.29. 合成(S)-6-((2-((3-((4-(6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)氧基)乙基)(甲基)氨基)-5-(((4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)氨基)-N,N,N-三甲基-6-氧代己-1-铵鎓盐(合成子HG)

将实施例1.29(8 mg)、4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯(8.24 mg)和N,N-二异丙基乙胺(7.50 μl , 0.043 mmol)的N,N-二甲基甲酰胺(0.250 mL)溶液在室温下搅拌。3小时之后,将该反应用N,N-二甲基甲酰胺(1.25 mL)和水(0.5 mL)稀释。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-90%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.85 (s, 1H), 9.96 (s, 1H), 8.04 (t, 2H), 7.83-7.76 (m, 2H), 7.66-7.56 (m, 3H), 7.53-7.42 (m, 4H), 7.41-7.32 (m, 2H), 7.31-7.23 (m, 3H), 6.99 (s, 2H), 6.95 (d, 1H), 5.99 (s, 1H), 5.04-4.87 (m, 4H), 4.44-4.33 (m, 2H), 4.24-4.12 (m, 2H), 3.88 (t, 2H), 3.81 (s, 2H), 3.50-3.13 (m, 9H), 3.11-2.92 (m, 14H), 2.80 (s, 1H), 2.25-2.04 (m, 5H), 2.03-1.89 (m, 1H), 1.75-0.91 (m, 28H), 0.91-0.77 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1528.5 (M+H)⁺.

[0836] 2.30. 合成N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-[4-([2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基]-L-丙氨酰胺(合成子HP)

如实施例2.1所述,制备标题化合物,用4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯替代4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.83 (s, 1H), 9.94 (s, 1H), 8.12 (d, 1H), 8.04 (d, 1H), 7.79 (d, 2H), 7.40-7.63 (m, 6H), 7.32-7.39 (m, 2H), 7.24-7.30 (m, 3H), 6.99 (s, 2H), 6.95 (d, 1H), 4.90-5.03 (m, 4H), 4.31-4.47 (m, 1H), 4.09-4.24 (m, 1H), 3.84-3.93 (m, 2H), 3.81 (s, 2H), 3.30-3.39 (m, 2H), 3.20-3.28 (m, 2H), 3.01 (t, 2H), 2.57-2.65 (m, 2H), 2.05-2.22 (m, 5H), 1.87-2.02 (m, 2H), 1.41-1.58 (m, 4H), 1.22 (d, 18H), 0.74-0.89 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1364.5 (M-H)⁻.

[0837] 2.31. 合成N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-[4-([4-([2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基)哌啶-1-基)羰基]氧基)甲基]苯基]-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸酰胺(合成子HR)

将实施例1.30.2(0.038 g)、4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯(0.035 g)和N,N-二异丙基乙胺(0.032 mL)的N,N-二甲基甲酰胺(0.5 mL)溶液在室温下搅拌。搅拌3小时之后,用N,N-二甲基甲酰胺(1.25 mL)和水(0.5 mL)稀释该反应。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-90%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 9.98 (s, 1H), 9.02 (s, 1H), 8.10-8.00 (m, 2H), 7.79 (d, 2H), 7.64-7.56 (m, 3H), 7.53 (d, 1H), 7.47 (t, 1H), 7.43 (d, 1H), 7.39-7.32 (m, 2H), 7.29 (d, 3H), 6.99 (s, 2H), 6.95 (d, 1H), 6.00 (s, 1H), 4.99 (s, 2H), 4.96 (s, 2H), 4.48-4.32 (m, 2H), 4.27-4.15 (m, 2H), 4.11 (d, 2H), 3.88 (t, 2H), 3.82 (s, 2H), 3.40-3.33 (m, 4H), 3.24-3.11 (m, 2H), 3.11-2.72 (m, 8H), 2.26-2.04 (m, 4H), 2.04-1.80 (m, 3H), 1.80-0.92 (m, 26H), 0.92-0.77 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1535.4 (M+H)⁺.

[0838] 2.32. 合成N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-[4-([2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(3-膦酰基丙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三

环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基]-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸胺(合成子HU)

在实施例2.5.4中,用实施例1.31.11替代实施例2.5.3,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜 -d₆) δ ppm 9.98 (s, 1H), 8.03 (dd, 2H), 7.70-7.84 (m, 3H), 7.59 (d, 2H), 7.48 (dd, 2H), 7.23-7.37 (m, 4H), 6.93-7.02 (m, 4H), 4.99 (d, 4H), 4.12-4.21 (m, 8H), 3.88-3.96 (m, 4H), 3.75-3.84 (m, 4H), 3.23-3.49 (m, 7H), 2.73-3.07 (m, 8H), 1.89-2.21 (m, 9H), 0.91-1.77 (m, 25H), 0.77-0.91 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1496.3 (M+H)⁺.

[0839] 2.33. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酸-N-[4-({[4-({[2-({3-[4-({6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰丙基)氨基)哌啶-1-基)羧基]氧基)甲基]苯基]-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸胺(合成子HT)

将实施例1.26.2 (0.040 g)、4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯(0.030 g)和N,N-二异丙基乙胺(0.020 mL)的N,N-二甲基甲酰胺(0.5 mL)溶液在室温下搅拌。搅拌3小时之后,用N,N-二甲基甲酰胺(1.25 mL)和水(0.5 mL)稀释该反应。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-90%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜 -d₆) δ ppm 9.98 (s, 1H), 9.26 (s, 1H), 8.06 (d, 1H), 8.05-8.01 (m, 1H), 7.79 (d, 2H), 7.62 (d, 1H), 7.61-7.57 (m, 2H), 7.52-7.42 (m, 3H), 7.38 (d, 1H), 7.35 (d, 1H), 7.32-7.26 (m, 3H), 6.99 (s, 2H), 6.95 (d, 1H), 6.01 (s, 1H), 4.99 (s, 2H), 4.96 (s, 3H), 4.44-4.33 (m, 2H), 4.18 (dd, 2H), 3.88 (t, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.71-3.61 (m, 2H), 3.53 (t, 2H), 3.36 (t, 2H), 3.07-2.66 (m, 8H), 2.28-2.06 (m, 6H), 2.05-1.92 (m, 2H), 1.92-1.80 (m, 2H), 1.78-0.95 (m, 32H), 0.92-0.77 (m, 14H). MS (ESI) m/e 1549.5 (M+H)⁺.

[0840] 2.34. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酸-N-{4-([2-({3-[4-({6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰丙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基]-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸胺(合成子HV)

在实施例2.5.4中,用实施例1.14.4替代实施例2.5.3,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜 -d₆) δ ppm 9.98 (s, 1H), 9.02 (s, 1H), 8.32-8.45 (m, 1H), 8.12-8.27 (m, 3H), 7.98-8.09 (m, 3H), 7.93 (d, 1H), 7.66-7.83 (m, 4H), 7.54-7.64 (m, 2H), 7.46-7.50 (m, 2H), 7.24-7.40 (m, 3H), 6.99 (s, 2H), 5.93-6.09 (m, 1H), 4.99 (s, 3H), 4.33-4.49 (m, 3H), 4.15-4.20 (m, 3H), 3.19-3.50 (m, 10H), 2.86-3.07 (m, 3H), 1.87-2.27 (m, 7H), 0.91-1.77 (m, 26H), 0.76-0.89 (m, 10H). MS (ESI) m/e 1461.1 (M+H)⁺.

[0841] 2.35. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酸-N-[4-({[4-({[2-({3-[4-({6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-羧乙基)氨基)哌啶-1-基)羧基]氧基)甲基]苯基]-N⁵-氨基甲酰

基-L-鸟氨酸胺(合成子HZ)

将实施例1.36.2(0.031 g)、4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基)-3-甲基丁酰基)-5-脲基戊酰基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯(0.025 g)和N,N-二异丙基乙胺(0.016 mL)的N,N-二甲基甲酰胺(0.5 mL)溶液在室温下搅拌。搅拌3小时之后,用N,N-二甲基甲酰胺(1.25 mL)和水(0.5 mL)稀释该反应。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-90%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 12.84 (s, 1H), 9.98 (s, 1H), 8.82 (s, 1H), 8.05 (dd, 2H), 7.79 (d, 2H), 7.70-7.53 (m, 2H), 7.53-7.24 (m, 6H), 6.99 (s, 2H), 6.95 (d, 1H), 6.00 (s, 1H), 4.99 (s, 2H), 4.96 (s, 2H), 4.37 (q, 2H), 4.25-4.15 (m, 2H), 3.88 (t, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.69-3.61 (m, 2H), 3.44-3.30 (m, 4H), 3.08-2.90 (m, 4H), 2.90-2.72 (m, 4H), 2.27-2.04 (m, 5H), 2.04-1.89 (m, 2H), 1.77-0.94 (m, 28H), 0.91-0.78 (m, 14H). MS (ESI) m/e 1499.5 (M+H) $^+$.

[0842] 2.36. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酸-N⁵-氨基甲酰基-N-{4-[(2-((3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基](3-膦酰丙基)氨基甲酰基)氧基)甲基)苯基}-L-鸟氨酸胺(合成子IA)

在实施例2.1中,用实施例1.39.2替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 9.98 (s, 1H), 8.60 (dd, 1H), 8.52 (dd, 1H), 8.06 (d, 1H), 7.78 (d, 1H), 7.65 (d, 1H), 7.59 (br m, 2H), 7.50 (m, 1H), 7.45 (d, 1H), 7.38 (m, 2H), 7.28 (s, 1H), 7.27 (d, 2H), 6.99 (s, 2H), 6.97 (d, 1H), 5.98 (br s, 1H), 4.98 (s, 4H), 4.39 (m, 1H), 4.19 (br m, 1H), 3.88 (t, 2H), 3.80 (br d, 2H), 3.36 (br m, 3H), 3.24 (br m, 4H), 2.98 (m, 4H), 2.16 (m, 2H), 2.12 (s, 3H), 1.95 (br m, 1H), 1.67 (br m, 3H), 1.34-1.47 (m, 9H), 1.08-1.23 (m, 11H), 0.95 (br m, 2H), 0.85-0.80 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1465.5 (M-H) $^-$.

[0843] 2.37. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酸-N⁵-氨基甲酰基-N-{4-[(2-((3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基](3-膦酰丙基)氨基甲酰基)氧基)甲基)苯基}-L-鸟氨酸胺(合成子IF)

在实施例2.1中,用实施例1.40.2替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 9.98 (s, 1H), 8.52 (dd, 1H), 8.16 (dd, 1H), 8.05 (br d, 1H), 7.78 (br d, 1H), 7.62 (m, 1H), 7.58 (br m, 2H), 7.52 (m, 2H), 7.44 (d, 1H), 7.38 (t, 1H), 7.29 (s, 1H), 7.27 (d, 2H), 6.99 (s, 2H), 6.97 (d, 1H), 4.98 (s, 2H), 4.96 (s, 2H), 4.39 (m, 1H), 4.19 (br m, 1H), 3.88 (t, 2H), 3.80 (br d, 2H), 3.36 (br m, 3H), 3.24 (br m, 4H), 2.98 (m, 4H), 2.16 (m, 2H), 2.12 (s, 3H), 1.95 (br m, 1H), 1.67 (br m, 3H), 1.47-1.34 (m, 9H), 1.08-1.23 (m, 11H), 0.95 (br m, 2H), 0.85-0.80 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1451.5 (M-H) $^-$.

[0844] 2.38. 合成N-{6-[(氯乙酰基)氨基]己酰基}-L-缬氨酸-N-{4-[(2-((3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-

甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-丙氨酸酰胺(合成子IG)

2.38.1 3-(1-((3-(2-(((4-(S)-2-(S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

将实施例1.2.9(0.050 g)、(9H-芴-9-基)甲基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-(4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(0.039 g)和N,N-二异丙基乙胺(0.027 mL)的N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)溶液在室温下搅拌。搅拌过夜之后,将二乙胺(0.027 mL)加入到该反应中,并继续搅拌2小时。用三氟乙酸淬灭该反应,并将该混合物用反相HPLC纯化,使用Gilson系统,用5-75%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 1499.5 (M+H)⁺。

[0845] 2.38.2 N-{6-[(氯乙酰基)氨基]己酰基}-L-缬氨酸-N-{4-[[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-L-丙氨酸酰胺

向6-(2-氯乙酰胺基)己酸(6 mg)和2-(3H-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1,1,3,3-四甲基异脲六氟磷酸盐(V)(0.011 g)的N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)溶液中加入N,N-二异丙基乙胺(0.015 mL),并将该反应搅拌5分钟。将此溶液加入到实施例2.38.1(0.022 g)中,并搅拌1小时。将该反应用N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)和水(0.5 mL)稀释。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-90%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ ppm 12.83 (s, 1H), 9.93 (s, 1H), 8.20-8.10 (m, 2H), 8.04 (d, 1H), 7.83-7.76 (m, 2H), 7.64-7.55 (m, 3H), 7.55-7.50 (m, 1H), 7.50-7.41 (m, 2H), 7.40-7.32 (m, 2H), 7.32-7.24 (m, 3H), 6.96 (d, 1H), 5.07-4.92 (m, 3H), 4.39 (p, 1H), 4.18 (dd, 2H), 4.01 (s, 2H), 3.92-3.76 (m, 6H), 3.54-3.32 (m, 4H), 3.25 (t, 2H), 3.13-2.93 (m, 4H), 2.72-2.58 (m, 2H), 2.29-2.12 (m, 2H), 2.09 (s, 3H), 2.05-1.92 (m, 1H), 1.58-0.89 (m, 18H), 0.89-0.77 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1362.2 (M+H)⁺.

[0846] 2.39. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酸-N-{4-[[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(羧基甲氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸酰胺(合成子IJ)

在实施例2.5.4中,用实施例1.41.3替代实施例2.5.3,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ ppm 10.03 (s, 1H), 9.96 (s, 1H), 8.26-8.34 (m, 1H), 7.95-8.11 (m, 2H), 7.73-7.82 (m, 2H), 7.22-7.70 (m, 11H), 6.95-7.05 (m, 3H), 6.89 (d, 1H), 5.23 (s, 1H), 4.98 (d, 3H), 4.83 (s, 1H), 4.33-4.43 (m, 1H), 4.11-4.23 (m, 1H), 3.74-3.95 (m, 3H), 3.22-3.39 (m, 10H), 2.78-3.06 (m, 12H), 1.91-2.22 (m, 8H), 0.93-1.68 (m, 20H), 0.77-0.88 (m, 10H). MS (ESI) m/e 1432.2 (M+H)⁺.

[0847] 2.40. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-[4-({[(2-({[2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基}乙基)(2-羧乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸胺(合成子IJ)

如实施例2.1所述,用实施例1.38.2替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.86 (s, 1H), 9.99 (s, 1H), 9.10 (s, 1H), 8.04 (t, 2H), 7.73-7.85 (m, 2H), 7.61 (t, 3H), 7.41-7.55 (m, 3H), 7.26-7.39 (m, 5H), 6.99 (s, 2H), 6.95 (d, 1H), 6.00 (s, 1H), 4.99 (d, 4H), 4.34-4.45 (m, 2H), 4.19 (dd, 2H), 3.88 (t, 2H), 3.82 (s, 2H), 3.36 (t, 4H), 2.85-3.09 (m, 5H), 2.06-2.22 (m, 4H), 1.89-2.02 (m, 1H), 0.94-1.77 (m, 20H), 0.77-0.90 (m, 11H). MS (ESI) m/e 1567.4 (M+H)⁺.

[0848] 2.41. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3-[2-({(2S)-2-({[(4-({(2S)-5-(氨基甲酰胺基)-2-({(2S)-2-({6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}-3-甲基丁酰基]氨基}戊酰基]氨基}苄基)氧基]羰基}(2-羧乙基)氨基)-3-羧基丙酰基}氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基]吡啶-2-甲酸(合成子IK)

如实施例2.1所述,用实施例1.32.4替代实施例1.2.9,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 1592.4 (M-H)⁻。

[0849] 2.42. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-({3-[2-({(2S)-2-({[(4-({(2S)-5-(氨基甲酰胺基)-2-({(2S)-2-({6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}-3-甲基丁酰基]氨基}戊酰基]氨基}苄基)氧基]羰基}氨基)-3-羧基丙酰基](2-磺乙基)氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶-2-甲酸(合成子IL)

如实施例2.1所述,用实施例1.44.2替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.82 (s, 1H), 9.96 (s, 1H), 8.03 (t, 2H), 7.77 (d, 2H), 7.39-7.62 (m, 7H), 7.30-7.39 (m, 2H), 7.22-7.29 (m, 3H), 6.98 (s, 2H), 6.92-6.96 (m, 1H), 5.97 (s, 1H), 4.83-5.05 (m, 3H), 3.83-3.92 (m, 1H), 3.79 (s, 1H), 3.00 (s, 2H), 2.03-2.22 (m, 8H), 1.94 (s, 2H), 1.34 (d, 30H), 0.69-0.90 (m, 13H). MS (ESI) m/e 1565.5 (M-H)⁻.

[0850] 2.43. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-[4-({[(4-({[2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-羧丙基)氨基}哌啶-1-基)羰基]氧基}甲基)苯基]-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸胺(合成子IM)

将实施例1.42.2(0.045 g)、4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯(0.035 g)和N,N-二异丙基乙胺(0.038 mL)的N,N-二甲基甲酰胺(0.5 mL)溶液在室温下搅拌。搅拌3小时之后,用N,N-二甲基甲酰胺(1.25 mL)和水(0.5 mL)稀释该反应。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-90%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合

并,冷冻干燥,提供标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 12.76 (s, 1H), 9.91 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 7.98 (dd, 2H), 7.72 (d, 2H), 7.68-7.47 (m, 3H), 7.47-7.00 (m, 7H), 6.96-6.83 (m, 3H), 5.93 (s, 1H), 4.91 (d, 3H), 4.30 (q, 1H), 4.17-3.97 (m, 4H), 3.96-3.53 (m, 4H), 3.34-2.65 (m, 12H), 2.25 (t, 2H), 2.16-1.67 (m, 12H), 1.67-0.88 (m, 26H), 0.84-0.70 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1513.6 (M+H) $^+$.

[0851] 2.44. 合成4-[(1E)-3-({[2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(羧基甲氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧化代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]- β -丙氨酰}氨基)苯基 β -D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid)(合成子I0)

2.44.1. (E)-叔丁基二甲基((3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷-2-基)烯丙基)氧基)硅烷

在氮气氛围中,向装有叔丁基二甲基(丙-2-炔-1-基氧基)硅烷(5 g)和二氯甲烷(14.7 mL)的烧瓶中逐滴加入4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂环戊烷(3.94 g)。将该混合物在室温下搅拌一分钟,然后通过小管转移到氮气吹扫的、含有 $\text{Cp}_2\text{ZrCl}_2\text{H}$ (氯化双(η^5 -环戊二烯基)氢化锆,Schwartz's试剂)(379 mg)的烧瓶中。将得到的反应混合物在室温下搅拌16小时。将该混合物小心地用水(15 mL)淬灭,而后用乙醚(3 x 30 mL)提取。用水(15 mL)洗涤合并的有机相,用 MgSO_4 干燥,过滤,用硅胶色谱纯化,用梯度0-8%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/z 316.0 (M+ NH_4) $^+$ 。

[0852] 2.44.2. (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-溴-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

将(2R,3R,4S,5S,6S)-2-溴-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(5 g)溶于乙腈(100 mL)中。将 Ag_2O (2.92 g)加入到该溶液中,并将该反应在室温下搅拌5分钟。加入4-溴-2-硝基苯酚(2.74 g),并将该反应混合物在室温下搅拌4小时。通过硅藻土过滤银盐残余物,并将滤液减压浓缩。用硅胶色谱纯化残余物,用梯度10-70%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,得到标题化合物。MS (ESI+) m/z 550.9 (M+ NH_4) $^+$ 。

[0853] 2.44.3. (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-((E)-3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙-1-烯-1-基)-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

将实施例2.44.2(1 g)、碳酸钠(0.595 g)、三(二亚苄基丙酮)二钯($\text{Pd}_2(\text{dba})_3$)(0.086 g)和1,3,5,7-四甲基-6-苯基-2,4,8-三氧杂-6-磷杂金刚烷(0.055 g)在配备有回流冷凝器的50 mL三颈圆底烧瓶中混合,并将该系统用氮气脱气。将实施例2.44.1(0.726 g)的四氢吡喃(15 mL)溶液用氮气单独脱气30分钟。将后面的溶液通过小管转移到包含固体试剂的烧瓶中,而后通过注射器加入脱气的水(3 mL)。将该反应加热至60 $^\circ\text{C}$,保持两小时。将该反应混合物在乙酸乙酯(3 x 30mL)和水(30 mL)之间分配。将合并的有机相干燥(Na_2SO_4),过滤,并浓缩。用硅胶色谱纯化残余物,用梯度0-35%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,提供标题化合物。MS (ESI+) m/z 643.1 (M+ NH_4) $^+$ 。

[0854] 2.44.4. (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-氨基-4-((E)-3-羟基丙-1-烯-1-基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

向配备有压力平衡加入漏斗的氮气吹扫的500 mL三颈烧瓶中加入锌粉(8.77 g)。通过

小管,加入脱气的实施例2.44.3 (8.39 g)的四氢呋喃(67 mL)溶液。将得到的悬浮液在冰浴中冷却,并通过加入漏斗逐滴加入6N HCl (22.3 mL),加入速率应该使反应的内部温度不超过35°C。加入完成之后,将该反应在室温下搅拌两个小时,通过硅藻土的垫过滤,用水和乙酸乙酯冲洗。用饱和NaHCO₃水溶液处理滤液,直到水层不再是酸性为止,并过滤该混合物,除去所得到的固体。将滤液转入分液漏斗中,并分离各层。用乙酸乙酯(3 x 75 mL)提取水层,并将合并的有机层用水(100 mL)洗涤,用Na₂SO₄干燥,过滤,并浓缩。将残余物与乙醚一起研磨,并过滤收集固体,提供标题化合物。MS (ESI+) m/z 482.0 (M+H)⁺。

[0855] 2.44.5. (9H-苈-9-基)甲基(3-氯-3-氧代丙基)氨基甲酸酯

向3-(((9H-苈-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酸(5.0 g)的二氯甲烷(53.5 mL)溶液中加入亚硫酸氯(0.703 mL)。将该混合物在60°C下搅拌一个小时。冷却该混合物,并浓缩,得到标题化合物,其不用进一步纯化,在下一步中直接使用。

[0856] 2.44.6. (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-(3-(((9H-苈-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-4-(E)-3-羟基丙-1-烯-1-基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

将实施例2.44.4(6.78 g)溶于二氯甲烷(50 mL)中,并将该溶液在冰浴中冷却至0°C。加入N,N-二异丙基乙胺(3.64 g),而后逐滴加入实施例2.44.5(4.88 g)的二氯甲烷(50 mL)溶液。将该反应搅拌16小时,并使冰浴达到室温。加入饱和NaHCO₃水溶液(100 mL),并分离各层。将水层进一步用二氯甲烷(2 x 50 mL)提取。用Na₂SO₄干燥提取物,过滤,浓缩,用硅胶色谱纯化,用梯度5-95%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,得到起始苯胺和目标产物的不可分离的混合物。将该混合物在1N HCl水溶液(40 mL)和乙醚与乙酸乙酯的1:1混合物(40 mL)之间分配,而后用乙酸乙酯(2 x 25 mL)进一步提取水相。将有机相合并,用水(2 x 25 mL)洗涤,用Na₂SO₄干燥,过滤,并浓缩,得到标题化合物。MS (ESI+) m/z 774.9 (M+H)⁺。

[0857] 2.44.7. (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-(3-(((9H-苈-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-4-(E)-3-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)丙-1-烯-1-基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

将实施例2.44.6(3.57 g)溶于二氯甲烷(45 mL)中,并加入双(4-硝基苯基)碳酸酯(2.80 g),而后逐滴加入N,N-二异丙基乙胺(0.896 g)。将该反应混合物在室温下搅拌两个小时。将硅胶(20 g)加入到该反应溶液中,并将该混合物减压浓缩至干,保持浴温等于或低于25°C。将硅胶残余物加载到柱顶上,并用硅胶色谱纯化产物,用梯度0-100%的乙酸乙酯-庚烷洗脱,提供部分纯化的产物,它被硝基苯酚污染。将该物质与甲基叔丁基醚(250 mL)一起研磨,并将得到的浆液静置1小时。过滤收集产物。以类似的方式,收集连续三批产物,得到标题化合物。MS (ESI+) m/z 939.8 (M+H)⁺。

[0858] 2.44.8. 3-(1-((3-(2-(((E)-3-(3-(3-氨基丙酰胺基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羰基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)烯丙基)氧基)羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(羰基甲氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

向冷却(0°C)的实施例2.44.7(19.7 mg)和实施例1.41.3(18.5 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(2 mL)溶液中加入N,N-二异丙基乙胺(0.054 mL)。将该反应慢慢地加热至室温,并搅拌过夜。向该反应混合物中加入水(2 mL)和氢氧化锂一水合物(50 mg),并将该混合物搅拌过

夜。将该混合物用三氟乙酸酸化,并过滤。用反相HPLC(Gilson系统)纯化该混合物,用10-85%的乙腈/0.1%三氟乙酸水溶液洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 1273.2 (M+H)⁺。

[0859] 2.44.9. 4-[(1E)-3-({[2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(羧基甲氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基]甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid)

向实施例2.44.8(10 mg)和2,5-二氧化吡咯烷-1-基6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯(2.3 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(2 mL)溶液中加入N,N-二异丙基乙胺(0.054 mL)。将该反应搅拌过夜。将该反应混合物用甲醇(2 mL)稀释,并用三氟乙酸酸化。用反相HPLC(Gilson系统)纯化该混合物,用10-85%的乙腈/0.1%三氟乙酸水溶液洗脱,得到标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ ppm 12.70 (s, 1H), 9.03 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.01 (d, 1H), 7.87 (t, 1H), 7.77 (d, 1H), 7.69 (d, 1H), 7.41-7.55 (m, 2H), 7.23-7.38 (m, 2H), 6.79-7.16 (m, 7H), 6.56 (d, 1H), 6.09-6.25 (m, 1H), 4.96-5.07 (m, 3H), 4.84 (s, 3H), 4.64 (d, 3H), 3.87-3.97 (m, 5H), 3.24-3.47 (m, 12H), 2.77-2.95 (m, 6H), 1.94-2.08 (m, 6H), 0.92-1.56 (m, 20H), 0.74-0.86 (m, 6H). MS (ESI) m/e 1487.3 (M+Na)⁺。

[0860] 2.45. 合成N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-([2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基]甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸(合成子IP)

在实施例2.5.4中,用实施例1.43.7替代实施例2.5.3,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ ppm 13.09 (s, 1H), 9.99 (s, 1H), 9.02 (s, 1H), 8.30-8.40 (m, 3H), 7.93-8.25 (m, 6H), 7.23-7.86 (m, 10H), 6.92-7.05 (m, 2H), 4.99 (d, 2H), 4.36-4.44 (m, 2H), 4.14-4.23 (m, 2H), 2.87-3.35 (m, 12H), 2.81 (t, 2H), 2.59-2.70 (m, 2H), 1.84-2.28 (m, 8H), 0.97-1.77 (m, 20H), 0.77-0.88 (m, 10H). MS (ESI) m/e 1448.3 (M+Na)⁺。

[0861] 2.46. 合成N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-[4-([2-({8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-2-(6-羧基-5-{1-[3,5-二甲基-7-{2-[甲基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基}吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-5-基}氧基)乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基]-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸(合成子IS)

如实施例2.1所述,用实施例1.46.2替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ ppm 12.69 (s, 1H), 9.97 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.04 (dd, 2H), 7.78 (d, 2H), 7.71 (d, 1H), 7.59 (d, 2H), 7.44-7.54 (m, 3H), 7.26-7.37 (m, 4H), 6.96-7.03 (m, 4H), 5.97 (s, 1H), 4.99 (d, 4H), 4.31-4.45 (m, 1H), 4.18 (dd, 1H), 4.09 (s, 2H), 3.85-3.93 (m, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.39-3.47 (m, 2H), 3.24-3.39 (m, 4H), 3.12-3.24 (m, 2H), 2.75-3.07 (m, 9H), 2.06-2.23 (m, 5H), 1.90-2.01 (m, 1H), 1.54-1.75 (m, 2H), 1.24-1.52 (m, 12H), 0.91-1.24 (m, 8H), 0.77-0.88 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1525.4 (M+H)⁺。

[0862] 2.47. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-[4-({[2-([8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-2-(6-羧基-5-[1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-5-基]氧基}乙基)(2-磺乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸(合成子IU)

如实施例2.1所述,用实施例1.47.2替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.70 (s, 1H), 9.99 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.04 (dd, 2H), 7.78 (d, 2H), 7.71 (d, 1H), 7.59 (d, 2H), 7.43-7.55 (m, 2H), 7.28-7.37 (m, 4H), 6.94-7.07 (m, 4H), 6.05 (s, 1H), 4.93-5.11 (m, 4H), 4.31-4.46 (m, 2H), 4.12-4.26 (m, 4H), 3.80-3.95 (m, 4H), 3.40-3.50 (m, 2H), 3.24-3.40 (m, 6H), 3.13-3.24 (m, 2H), 2.74-3.08 (m, 9H), 2.63-2.73 (m, 2H), 2.05-2.23 (m, 5H), 1.96 (s, 1H), 1.52-1.77 (m, 2H), 1.23-1.53 (m, 12H), 0.97-1.22 (m, 8H), 0.77-0.89 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1631.5 (M-H)⁻.

[0863] 2.48. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-[4-({[2-([2-([3-([4-([6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]氧基}乙基)(2-磺乙基)氨基}乙基)(2-磺乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸(合成子IV)

如实施例2.1所述,用实施例1.48.2替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.82 (s, 1H), 10.00 (s, 1H), 9.29-9.57 (m, 1H), 8.05 (t, 2H), 7.79 (d, 2H), 7.51-7.63 (m, 4H), 7.40-7.50 (m, 2H), 7.27-7.39 (m, 5H), 6.93-7.02 (m, 3H), 4.99 (d, 3H), 4.30-4.47 (m, 1H), 4.19 (t, 1H), 3.79-3.92 (m, 3H), 3.60-3.74 (m, 2H), 3.01 (s, 9H), 2.70 (d, 4H), 2.05-2.23 (m, 6H), 1.96 (d, 2H), 1.53-1.78 (m, 3H), 1.22-1.54 (m, 13H), 0.89-1.22 (m, 9H), 0.75-0.89 (m, 13H). MS (ESI) m/e 1603.3 (M+H)⁺.

[0864] 2.49. 合成N-{6-[(氯乙酰基)氨基]己酰基}-L-缬氨酰-N-{4-([2-([3-([4-([6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]氧基}乙基)(2-磺乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸(合成子IZ)

2.49.1 3-(1-(((1r,3r)-3-(2-(((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

将实施例1.2.9 (0.045 g)、(9H-芴-9-基)甲基((S)-3-甲基-1-((S)-1-((4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(0.043 g)和N,N-二异丙基乙胺(0.041 mL)的溶液在N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)中、在室温下一起搅拌。搅拌过夜之后,将二乙胺(0.024 mL)加入到该反应中,并继续搅拌2小时。用三氟乙酸淬灭该反应,然后用反相HPLC纯化,使用Gilson系统,用10-75%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

[0865] 2.49.2 N-{6-[(氯乙酰基)氨基]己酰基}-L-缬氨酰-N-{4-([2-([3-([4-([6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-

甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸胺

向6-(2-氯乙酰胺基)己酸(6.43 mg)和2-(3H-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1,1,3,3-四甲基异脲六氟磷酸盐(V)(0.012 g)的N,N-二甲基甲酰胺(0.5 mL)溶液中加入N,N-二异丙基乙胺(0.019 mL),并将该反应搅拌5分钟。将此溶液加入到实施例2.49.1(0.026 g)中,并搅拌1小时。将该反应用N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)和水(0.5 mL)稀释。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-60%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.85 (s, 1H), 9.99 (s, 1H), 8.18 (q, 1H), 8.08 (d, 1H), 8.04 (d, 1H), 7.84-7.76 (m, 2H), 7.64-7.56 (m, 3H), 7.56-7.50 (m, 1H), 7.47 (t, 1H), 7.43 (d, 1H), 7.37 (d, 1H), 7.35 (d, 1H), 7.29 (s, 1H), 7.27 (d, 2H), 6.95 (d, 1H), [0866] 6.05 (s, 1H), 5.05-4.91 (m, 4H), 4.48-4.33 (m, 1H), 4.26-4.14 (m, 1H), 4.02 (s, 2H), 3.88 (t, 2H), 3.81 (d, 2H), 3.25 (t, 2H), 3.14-2.98 (m, 6H), 2.98-2.87 (m, 2H), 2.74-2.59 (m, 2H), 2.27-2.05 (m, 6H), 2.04-1.92 (m, 1H), 1.78-1.65 (m, 1H), 1.65-1.53 (m, 1H), 1.53-0.90 (m, 22H), 0.90-0.73 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1448.2 (M+H)⁺.

2.50. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酸-N-{4-([2-({3-[(4-{6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢-2H-1,4-苯并噁嗪-6-基]-2-羧基吡啶-3-基})-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸胺(合成子JD)

在实施例2.5.4中,用实施例1.51.8替代实施例2.5.3,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 9.56 (s, 1H), 8.51-8.59 (m, 1H), 7.89 (d, 1H), 7.82 (d, 1H), 7.69-7.77 (m, 2H), 7.34-7.62 (m, 7H), 7.16-7.34 (m, 4H), 6.95 (dd, 1H), 5.95-6.05 (m, 1H), 4.95 (s, 2H), 4.06-4.44 (m, 6H), 3.85 (s, 3H), 3.39-3.59 (m, 7H), 2.61-2.74 (m, 3H), 2.19 (s, 3H), 1.88-2.16 (m, 3H), 0.96-1.75 (m, 22H), 0.71-0.89 (m, 13H). MS (ESI) m/e 1454.2 (M+Na)⁺.

[0867] 2.51. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酸-N-[4-([2-([8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-2-(6-羧基-5-{1-[(3,5-二甲基-7-{2-[甲基(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基]吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-5-基]氧基)乙基)(2-羧乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸胺(合成子JF)

如实施例2.1所述,用实施例1.49.2替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.71 (s, 1H), 10.00 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.08 (d, 1H), 8.02 (d, 1H), 7.78 (d, 2H), 7.72 (d, 1H), 7.60 (d, 2H), 7.52 (d, 1H), 7.44-7.50 (m, 1H), 7.27-7.39 (m, 4H), 6.96-7.06 (m, 3H), 5.98 (s, 1H), 5.01 (d, 4H), 4.31-4.46 (m, 1H), 4.18 (s, 3H), 3.79-3.95 (m, 4H), 3.67-3.76 (m, 2H), 3.12-3.39 (m, 6H), 2.73-3.07 (m, 8H), 2.04-2.24 (m, 4H), 1.87-2.02 (m, 1H), 1.22-1.75 (m, 12H), 0.96-1.20 (m, 7H), 0.76-0.90 (m, 10H). MS (ESI) m/e 1597.4 (M+H)⁺.

[0868] 2.52. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[[[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(3-磺基丙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸酰胺(合成子JK)

在实施例2.5.4中,用实施例1.52.4替代实施例2.5.3,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 9.97 (s, 1H), 7.96-8.11 (m, 2H), 7.67-7.82 (m, 3H), 7.59 (d, 2H), 7.42-7.52 (m, 2H), 7.23-7.36 (m, 4H), 6.91-7.08 (m, 4H), 4.99 (d, 4H), 4.33-4.47 (m, 1H), 4.14-4.23 (m, 4H), 3.86-3.95 (m, 6H), 3.21-3.45 (m, 15H), 2.75-3.07 (m, 9H), 2.56-2.69 (m, 2H), 1.93-2.20 (m, 8H), 0.88-1.72 (m, 20H), 0.74-0.89 (m, 11H). MS (ESI) m/e 1496.3 (M+Na)⁺.

[0869] 2.53. 合成N-[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[[[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸酰胺(合成子JJ)

在室温下,将实施例2.49.1 (0.030 g)、2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸酯 (6.34 mg) 和N,N-二异丙基乙胺 (0.012 mL) 的N,N-二甲基甲酰胺 (0.5 mL) 溶液搅拌。1小时之后,将该反应用N,N-二甲基甲酰胺:水的3:1混合物 (1.5 mL) 淬灭。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-85%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.85 (s, 1H), 9.99 (s, 1H), 8.18 (q, 1H), 8.12-8.00 (m, 2H), 7.86-7.75 (m, 2H), 7.65-7.55 (m, 3H), 7.53 (dd, 1H), 7.47 (t, 1H), 7.43 (d, 1H), 7.36 (q, 2H), 7.33-7.23 (m, 3H), 6.95 (d, 1H), 6.05 (s, 1H), 5.03-4.92 (m, 4H), 4.39 (q, 1H), 4.24-4.14 (m, 1H), 4.02 (s, 2H), 3.88 (t, 2H), 3.81 (d, 2H), 3.39-3.16 (m, 2H), 3.14-2.86 (m, 10H), 2.68-2.60 (m, 2H), 2.25-2.04 (m, 6H), 2.03-1.90 (m, 1H), 1.78-1.65 (m, 1H), 1.64-1.54 (m, 1H), 1.54-0.90 (m, 20H), 0.89-0.75 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1410.1 (M+H)⁺.

[0870] 2.54. 合成N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[[[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸酰胺(合成子JL)

将实施例2.49.1 (0.039 g)、2,5-二氧代吡咯烷-1-基2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酸酯 (7.81 mg) 和N,N-二异丙基乙胺 (0.016 mL) 的N,N-二甲基甲酰胺 (0.5 mL) 溶液在室温下搅拌。1小时之后,用N,N-二甲基甲酰胺:水的3:1混合物 (1.5 mL) 淬灭该反应。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-85%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.85 (s, 1H), 10.00 (d, 1H), 8.24 (d, 2H), 8.04 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.59 (q, 3H), 7.53 (dd, 1H), 7.47 (t, 1H), 7.43 (d, 1H), 7.36 (td, 2H), 7.30 (s, 1H), 7.27 (d, 2H), 7.07 (s, 2H), 6.96 (d, 1H), 5.04-4.85 (m, 4H), 4.39 (q, 2H), 4.26 (dd, 2H), 4.13 (s, 2H), 3.86-3.17 (m, 8H), 3.07-2.81 (m, 4H), 2.63 (t, 2H), 2.09 (s, 3H), 2.03-1.79 (m, 1H), 1.75-1.51 (m, 2H), 1.51-1.03 (m, 12H), 1.01-0.76 (m, 16H). MS (ESI) m/e 1394.4 (M-H)⁻.

[0871] 2.55. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{[3-(2-{[(2S)-2-({[(4-{[(2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]氧基})-3-[3-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}丙酰基)氨基]苄基)氧基]羧基)氨基)-3-磺基丙酰基](甲基)氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸(合成子FE)

2.55.1. (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-甲酰基-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

向(2R,3R,4S,5S,6S)-2-溴-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(4 g)的乙腈(100 mL)溶液中加入氧化银(I)(10.04 g)和4-羟基-3-硝基苯甲醛(1.683 g)。将该反应混合物在室温下搅拌4小时,并过滤。浓缩滤液,用硅胶色谱纯化残余物,用5-50%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e (M+18)⁺。

[0872] 2.55.2. (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-(羟甲基)-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

向在氯仿(75 mL)和异丙醇(18.75 mL)的混合物中的实施例2.55.1(6 g)溶液中加入0.87 g硅胶。将得到的混合物冷却到0°C,加入NaBH₄(0.470 g),并将得到的悬浮液在0°C下搅拌45分钟。将该反应混合物用二氯甲烷(100 mL)稀释,并通过硅藻土过滤。用水和盐水洗涤滤液,浓缩,得到粗品,其不用进一步纯化,直接使用。MS (ESI) m/e (M+NH₄)⁺。

[0873] 2.55.3. (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-氨基-4-(羟甲基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

使用10% Pd/C(1.535 g)作为催化剂,将实施例2.55.2(7 g)的乙酸乙酯(81 mL)搅拌溶液在20°C、在1大气压H₂中氢化12小时。通过硅藻土过滤该反应混合物,并将溶剂减压蒸发。用硅胶色谱纯化残余物,用95/5的二氯甲烷/甲醇洗脱,得到标题化合物。

[0874] 2.55.4. 3-(((9H-苻-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酸

在500 mL烧瓶中,将3-氨基丙酸(4.99 g)溶于10% Na₂CO₃水溶液(120 mL)中,并用冰浴冷却。向所得到的溶液中逐渐地加入1,4-二噁烷(100 mL)中的(9H-苻-9-基)甲基氯甲酸酯(14.5 g)。将该反应混合物在室温下搅拌4小时,然后加入水(800 mL)。将水相层与反应混合物分离,并用乙醚(3 x 750 mL)洗涤。将水层用2N HCl水溶液酸化到pH2,并用乙酸乙酯(3 x 750 mL)提取。将有机层合并,并浓缩,获得粗品。将粗品在乙酸乙酯:己烷(1:2, 300 mL)的混合溶剂中重结晶,得到标题化合物。

[0875] 2.55.5. (9H-苻-9-基)甲基(3-氯-3-氧代丙基)氨基甲酸酯

向实施例2.55.4的二氯甲烷(160 mL)溶液中加入亚硫酸氯(50 mL)。将该混合物在60°C下搅拌1小时。冷却该混合物,并浓缩,得到标题化合物。

[0876] 2.55.6. (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-(3-(((9H-苻-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-4-(羟甲基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

向实施例2.55.3 (6 g)的二氯甲烷(480 mL)溶液中加入N,N-二异丙基乙胺(4.60 mL)。加入实施例2.55.5 (5.34 g),并将该混合物在室温下搅拌30分钟。将该混合物倒入饱和碳酸氢钠水溶液中,并用乙酸乙酯提取。将合并的提取物用水和盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。过滤,浓缩,得到残余物,通过径向色谱纯化残余物,使用0-100%的乙酸乙酯/石油醚作为流动相,得到标题化合物。

[0877] 2.55.7. (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-(3-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

向实施例2.55.6 (5.1 g)和N,N-二甲基甲酰胺(200 mL)的混合物中加入双(4-硝基苯基)碳酸酯(4.14 g)和N,N-二异丙基乙胺(1.784 mL)。将该混合物在室温下搅拌16小时,并减压浓缩。将粗品溶于二氯甲烷中,并直接吸到1 mm径向色谱板上,用50-100%的乙酸乙酯/己烷洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e (M+H)⁺。

[0878] 2.55.8. 3-(1-((3-(2-((R)-2-(((3-(3-氨基丙酰胺基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)氨基)-N-甲基-3-磺基丙酰胺基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

将实施例1.13.7 (0.055 g)和实施例2.55.7 (0.055 g)的溶液在N,N-二甲基甲酰胺(1.5 mL)中一起搅拌,并加入N,N-二异丙基乙胺(0.053 mL)。搅拌3小时之后,用乙酸乙酯(75 mL)稀释该反应,用水(20 mL)和盐水(25 mL)洗涤,用硫酸镁干燥,过滤,并浓缩。将残余物溶于甲醇(1 mL)中,并用氢氧化锂水合物(0.025 g)/水(0.6 mL)处理。搅拌2小时之后,用三氟乙酸(0.047 mL)淬灭该反应,并用N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)稀释。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-80%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物的三氟乙酸盐。

[0879] 2.55.9. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-([3-(2-([2S]-2-([4-([2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]氧基)-3-[3-([6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基)丙酰基)氨基]苄基)氧基]羰基)氨基)-3-磺基丙酰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸

将实施例2.55.8 (0.013 g)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯(3.07 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)溶液搅拌,并加入N,N-二异丙基乙胺(7.90 μl)。将该反应搅拌1小时,并用N,N-二甲基甲酰胺和水稀释。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-75%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz,

二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.84 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 8.04 (d, 1H), 7.89 (t, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.56-7.50 (m, 1H), 7.47 (t, 1H), 7.43 (d, 1H), 7.39-7.32 (m, 2H), 7.31 (s, 1H), 7.28 (d, 1H), 7.06 (d, 1H), 7.04-6.92 (m, 4H), 5.00-4.79 (m, 5H), 4.73-4.64 (m, 1H), 3.94-3.78 (m, 4H), 3.57-2.84 (m, 12H), 2.84-2.56 (m, 6H), 2.14-1.73 (m, 5H), 1.57-0.89 (m, 22H), 0.84 (s, 6H).
MS (ESI) m/e 1516.2 (M-H)⁻.

[0880] 2.56. 合成4-[(1E)-3-({[2-({3-[4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid) (合成子GG)

2.56.1. 3-(1-((3-(2-(((E)-3-(3-(3-氨基丙酰胺基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)烯丙基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

将实施例1.22.5 (48 mg) 溶于二甲基甲酰胺(0.5 mL)中,并加入实施例2.44.7 (55 mg)和N,N-二异丙基乙胺(90 μl)。将该反应混合物在室温下搅拌过夜。浓缩该反应,将残余物溶于甲醇(1 mL)中,并加入1.94N LiOH水溶液(0.27 mL)。将该混合物在室温下搅拌一个小时。用反相色谱纯化(C18柱)该混合物,用10-90%的乙腈/水(包含0.1% v/v三氟乙酸)洗脱,提供标题化合物的三氟乙酸盐。MS (ESI⁻)m/e 1291.4 (M-H)⁻。

[0881] 2.56.2. 4-[(1E)-3-({[2-({3-[4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid)

在实施例2.1中,用实施例1.56.1替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 13.00 (v br s, 1H), 9.03 (s, 1H), 8.53 (dd, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.16 (dd, 1H), 7.90 (br s, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.54 (d, 1H), 7.52 (d, 1H), 7.44 (d, 1H), 7.37 (t, 1H), 7.30 (s, 1H), 7.11 (br d, 1H), 7.03 (d, 1H), 6.98 (s, 2H), 6.97 (d, 1H), 6.58 (m, 1H), 6.15 (m, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.88 (br m, 1H), 4.64 (br m, 2H), 3.88 (m, 3H), 3.79 (br m, 2H), 3.27-3.48 (m, 14H), 3.01 (m, 2H), 2.67 (br m, 2H), 2.54 (m, 2H), 2.09 (s, 3H), 2.03 (t, 2H), 1.45 (m, 6H), 1.37 (br m, 2H), 1.28-0.90 (m, 10H), 0.77-0.82 (m, 6H). MS (ESI) m/e 1484.4 (M-H)⁻。

[0882] 2.57. 合成4-[(1E)-3-({[2-({3-[4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid) (合成子GM)

2.57.1. 3-(1-((3-(2-(((E)-3-(3-(3-氨基丙氨基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)烯丙基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

在实施例2.56.1中,用实施例1.23.4替代实施例1.22.5,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 1291.4 (M-H)⁻。

[0883] 2.57.2 4-[(1E)-3-({[2-({3-[4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,

7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid)

在实施例2.1中,用实施例1.57.1替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 9.03 (s, 1H), 8.72 (d, 1H), 8.66 (d, 1H), 8.25 (s, 1H), 7.89 (br m, 1H), 7.65 (d, 1H), 7.52 (br m, 2H), 7.46 (d, 1H), 7.39 (t, 1H), 7.30 (s, 1H), 7.11 (br d, 1H), 7.03 (d, 1H), 6.98 (s, 2H), 6.97 (d, 1H), 6.58 (m, 1H), 6.15 (m, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.88 (br m, 1H), 4.64 (br m, 2H), 3.88 (m, 3H), 3.79 (br m, 2H), 3.27-3.48 (m, 14H), 3.01 (m, 2H), 2.67 (br m, 2H), 2.54 (m, 2H), 2.09 (s, 3H), 2.03 (t, 2H), 1.45 (m, 6H), 1.37 (br m, 2H), 1.28-0.90 (m, 10H), 0.77-0.82 (m, 6H). MS (ESI) m/e 1484.4 (M-H)⁻.

[0884] 2.58. 合成4-[(1E)-3-({[2-({3-[4-(6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid) (合成子HD)

2.58.1 3-(1-((3-(2-(((E)-3-(3-(3-氨基丙酰胺基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)烯丙基)氧基)羧基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

在实施例2.56.1中,用实施例1.2.9替代实施例1.22.5,制备标题化合物。MS (ESI-) m/e 1290.2 (M-H)⁻。

[0885] 2.58.2. 4-[(1E)-3-({[2-({3-[4-(6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid)

在实施例2.56.2中,用实施例1.58.1替代实施例1.56.1,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 9.03 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.89 (br m, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.53 (br m, 1H), 7.46 (m, 2H), 7.37 (m, 2H), 7.32 (s, 1H), 7.11 (br d, 1H), 7.03 (d, 1H), 6.98 (s, 2H), 6.97 (d, 1H), 6.58 (m, 1H), 6.15 (m, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.88 (br m, 1H), 4.64 (br m, 2H), 3.88 (m, 3H), 3.79 (br m, 2H), 3.27-3.48 (m, 14H), 3.01 (m, 2H), 2.67 (br m, 2H), 2.54 (m, 2H), 2.09 (s, 3H), 2.03 (t, 2H), 1.45 (m, 6H), 1.37 (br m, 2H), 1.28-0.90 (m, 10H), 0.77-0.82 (m, 6H). MS (ESI-) m/e 1483.3 (M-H)⁻.

[0886] 2.59. 合成4-[(1E)-3-({[2-({3-[4-(2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰丙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid) (合成子HS)

2.59.1. 3-(1-((3-(2-(((E)-3-(3-(3-氨基丙酰胺基)-4-((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)烯丙基)氧基)羰基)(3-膦酰丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

在实施例2.56.1中,用实施例1.40.2替代实施例1.22.5,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 1305.4 (M-H)⁻。

[0887] 2.59.2. 4-[(1E)-3-({[2-({3-[4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基)(3-膦酰丙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(gluco-pyranosiduronic acid)

在实施例2.56.2中,用实施例1.59.1替代实施例1.56.1,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 9.03 (s, 1H), 8.53 (dd, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.16 (dd, 1H), 7.90 (br s, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.54 (d, 1H), 7.52 (d, 1H), 7.44 (d, 1H), 7.37 (t, 1H), 7.28 (s, 1H), 7.11 (br d, 1H), 7.03 (d, 1H), 6.98 (s, 2H), 6.97 (d, 1H), 6.56 (m, 1H), 6.16 (m, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.86 (br m, 1H), 4.64 (br d, 2H), 3.88 (m, 3H), 3.79 (br m, 2H), 3.27-3.44 (m, 14H), 3.01 (m, 2H), 2.54 (m, 2H), 2.08 (s, 3H), 2.03 (t, 2H), 1.46 (m, 6H), 1.37 (br m, 2H), 1.28-0.90 (m, 10H), 0.77-0.82 (m, 6H). MS (ESI) m/e 1498.4 (M-H)⁻。

[0888] 2.60. 合成4-[(1E)-3-({[2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(3-膦酰基丙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基)(甲基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(gluco-pyranosiduronic acid) (合成子HW)

2.60.1. 3-(1-((3-(2-(((E)-3-(3-(3-氨基丙酰胺基)-4-((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)烯丙基)氧基)羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(3-膦酰基丙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

在实施例2.56.1中,用实施例1.31.11替代实施例1.22.5,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 1336.2 (M+Na)⁺。

[0889] 2.60.2. 4-[(1E)-3-({[2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5-(3-膦酰基丙氧基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基)(甲基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(gluco-pyranosiduronic acid)

在实施例2.56.2中,用实施例1.60.1替代实施例1.56.1,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 9.03 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.01 (d, 1H), 7.83-7.91 (m, 1H), 7.75 (dd, 2H), 7.42-7.58 (m, 2H), 7.34 (t, 1H), 7.28 (s, 1H), 6.93-7.15 (m, 6H), 6.56 (d, 1H), 6.09-6.24 (m, 1H), 5.01 (s, 3H), 4.80-4.92 (m, 2H), 4.57-4.69 (m, 3H), 4.12-4.21 (m, 6H), 3.86-3.94 (m, 7H), 3.28-3.47 (m, 12H), 2.77-2.96 (m, 6H), 2.52-2.58 (m, 2H), 2.09 (s, 3H), 1.90-2.05 (m, 4H), 1.65-1.78 (m, 2H), 0.90-1.53 (m, 16H), 0.80 (m, 6H). MS (ESI) m/e 1529.5 (M+H)⁺.

[0890] 2.61. 合成4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基) 甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基} 氧基) 乙基] (3-膦酰丙基) 氨基甲酰基} 氧基) 丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基) 己酰基]-β-丙氨酰} 氨基) 苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid) (合成子HX)

2.61.1. 3-(1-((3-(2-(((E)-3-(3-(3-氨基丙酰胺基)-4-((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基) 氧基) 苯基) 烯丙基) 氧基) 羧基) (3-膦酰丙基) 氨基) 乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基) 甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基) 吡啶甲酸

在实施例2.56.1中,用实施例1.14.4替代实施例1.22.5,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 1304.3 (M-H)⁻。

[0891] 2.61.2. 4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基) 甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基} 氧基) 乙基] (3-膦酰丙基) 氨基甲酰基} 氧基) 丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基) 己酰基]-β-丙氨酰} 氨基) 苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid)

在实施例2.56.2中,用实施例1.61.1替代实施例1.56.1,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 9.03 (s, 1H), 8.25 (br s, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.89 (br m, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.53 (br m, 1H), 7.46 (m, 2H), 7.37 (m, 2H), 7.28 (s, 1H), 7.11 (br d, 1H), 7.03 (d, 1H), 6.98 (s, 2H), 6.97 (d, 1H), 6.56 (m, 1H), 6.17 (m, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.86 (br m, 1H), 4.64 (br d, 2H), 3.88 (m, 3H), 3.79 (br m, 2H), 3.27-3.44 (m, 14H), 3.01 (m, 2H), 2.54 (m, 2H), 2.08 (s, 3H), 2.03 (t, 2H), 1.46 (m, 6H), 1.37 (br m, 2H), 1.28-0.90 (m, 10H), 0.77-0.82 (m, 6H). MS (ESI-) m/e 1497.4 (M-H)⁻.

[0892] 2.62. 合成4-[({{[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基) 甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基} 氧基) 乙基] (2-磺乙基) 氨基甲酰基} 氧基) 甲基]-3-[2-(2-{{[3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基) 丙酰基] 氨基} 乙氧基) 乙氧基] 苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid) (合成子HY)

2.62.1. (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-甲酰基-3-羟基苯氧基)-6-(甲氧羰基) 四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

将2,4-二羟基苯甲醛(15 g)和(2S,3R,4S,5S,6S)-2-溴-6-(甲氧羰基) 四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(10 g)溶于乙腈中,而后加入碳酸银(10 g),并将该反应加热至49℃。搅拌4小时之后,冷却该反应,过滤,并浓缩。将粗品标题化合物悬浮在二氯甲烷中,通过硅

藻土过滤,并浓缩。用硅胶色谱纯化残余物,用1-100%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,提供标题化合物。

[0893] 2.62.2. (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(3-羟基-4-(羟甲基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

将实施例2.62.1 (16.12 g)的四氢呋喃(200 mL)和甲醇(200 mL)溶液冷却至0°C,并分批加入硼氢化钠(1.476 g)。将该反应搅拌20分钟,并用水:饱和碳酸氢钠水溶液的1:1混合物(400 mL)淬灭。滤出所得到的固体,并用乙酸乙酯冲洗。分离各相,并用乙酸乙酯提取水层四次。将合并的有机层用硫酸镁干燥,过滤,并浓缩。通过硅胶色谱纯化粗品标题化合物,用1-100%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 473.9 (M+NH₄)⁺。

[0894] 2.62.3. (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-羟基苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

在-5°C,向二氯甲烷(168 mL)中的实施例2.62.2(7.66 g)和叔丁基二甲基甲硅烷基氯(2.78 g)中加入咪唑(2.63 g),并将该反应混合物搅拌过夜,使得反应的内部温度升至12°C。将该反应混合物倒入饱和氯化铵水溶液中,并用二氯甲烷提取四次。将合并的有机物用盐水洗涤,用硫酸镁干燥,过滤,并浓缩。通过硅胶色谱纯化粗品标题化合物,用1-50%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 593.0 (M+Na)⁺。

[0895] 2.62.4. (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(3-(2-(2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

向甲苯(88 mL)中的实施例2.62.3(5.03 g)和三苯基膦(4.62 g)中加入偶氮二甲酸二叔丁基酯(4.06 g),并将该反应搅拌30分钟。加入(9H-芴-9-基)甲基(2-(2-羟乙氧基)乙基)氨基甲酸酯,并将该反应再搅拌1.5小时。将反应物直接加载到硅胶上,用1-50%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,提供标题化合物。

[0896] 2.62.5. (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(3-(2-(2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-4-(羟甲基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

将实施例2.62.4(4.29 g)在3:1:1的乙酸:水:四氢呋喃溶液(100 mL)中搅拌过夜。将反应物倒入饱和碳酸氢钠水溶液中,并用乙酸乙酯提取。将有机层用硫酸镁干燥,过滤,并浓缩。通过硅胶色谱纯化粗品标题化合物,用1-50%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,提供标题化合物。

[0897] 2.62.6. (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(3-(2-(2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

向实施例2.62.5(0.595 g)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(0.492 g)的N,N-二甲基甲酰胺(4 mL)溶液中加入N-乙基-N-异丙基丙-2-胺(0.212 mL)。1.5小时之后,在高真空下浓缩该反应。将反应物直接加载到硅胶上,使用1-50%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 922.9 (M+Na)⁺。

[0898] 2.62.7. 3-(1-((3-(2-(((2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)-4-((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-

基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

向实施例1.2.9(0.073 g)和实施例2.62.6(0.077 g)的N,N-二甲基甲酰胺(0.5 mL)溶液中加入N,N-二异丙基乙胺(0.066 mL),并将该反应搅拌过夜。浓缩该反应,将残余物溶于四氢呋喃(0.5 mL)和甲醇(0.5 mL)中,并用氢氧化锂一水合物(0.047 g)水溶液(0.5 mL)处理。1小时之后,用N,N-二甲基甲酰胺和水稀释该反应,并加入三氟乙酸(0.116 mL),淬灭该反应。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-75%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

[0899] 2.62.8. 4-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基)(2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-[2-(2-{3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基}氨基)乙氧基)乙氧基]苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid)

将实施例2.62.7(0.053 g)、2,5-二氧化吡咯烷-1-基3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸酯(0.012 g)和N,N-二异丙基乙胺(0.033 mL)的N,N-二甲基甲酰胺(0.75 mL)溶液在室温下搅拌。搅拌1小时之后,用N,N-二甲基甲酰胺和水稀释该反应。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-75%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.85 (s, 1H), 8.04 (d, 2H), 7.79 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.54 (d, 1H), 7.51-7.40 (m, 2H), 7.40-7.31 (m, 3H), 7.20 (d, 1H), 7.00-6.94 (m, 3H), 6.73-6.57 (m, 2H), 5.06 (t, 1H), 5.01-4.91 (m, 4H), 3.96-3.85 (m, 2H), 3.85-3.78 (m, 2H), 3.78-3.69 (m, 2H), 3.59 (t, 2H), 3.53-3.34 (m, 6H), 3.34-3.21 (m, 4H), 3.17 (q, 2H), 3.02 (t, 2H), 2.66 (t, 2H), 2.33 (t, 2H), 2.10 (s, 3H), 1.44-0.90 (m, 16H), 0.83 (d, 6H). MS (-ESI) m/e 1432.4 (M-H).

[0900] 2.63. 合成4-[(1E)-3-({2-({3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基)(3-膦酰丙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid) (合成子IB)

2.63.1. 3-(1-((3-(2-(((E)-3-(3-(3-氨基丙酰胺基)-4-((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)烯丙基)氧基)羰基)(3-膦酰丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

在实施例2.56.1中,用实施例1.39.2替代实施例1.22.5,制备标题化合物。

[0901] 2.63. 2. 4-[(1E)-3-({2-({3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基)(3-膦酰丙基)氨基甲酰基}氧基)丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid)

在实施例2.56.2中,用实施例2.63.1替代实施例1.56.1,制备标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 9.03 (s, 1H), 8.61 (d, 1H), 8.55 (d, 1H), 8.25 (br s, 1H), 7.89 (br m, 1H), 7.65 (d, 1H), 7.50 (br d, 1H), 7.46 (d, 1H), 7.39 (m, 2H), 7.28 (s, 1H), 7.11 (br d, 1H), 7.03 (d, 1H), 6.98 (s, 2H), 6.97 (d, 1H), 6.56 (m, 1H), 6.17 (m, 1H), 4.97 (s, 2H), 4.86 (br m, 1H), 4.64 (br d, 2H), 3.88 (m, 3H), 3.79 (br m, 2H), 3.27-3.44 (m, 14H), 3.01 (m, 2H), 2.54 (m, 2H), 2.08 (s, 3H), 2.03 (t, 2H), 1.46 (m, 6H), 1.37 (br m, 2H), 1.28-0.90 (m, 10H), 0.77-0.82 (m, 6H). MS (ESI) m/e 1498.3 (M-H) $^+$.

[0902] 2.64. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[3-{2-[2-羧乙基]}(2E)-3-(4-[(2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]氧基)-3-[3-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}丙酰基)氨基]苯基}丙-2-烯-1-基]氧基}羰基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸(合成子IE)

2.64.1. 3-(1-((3-(2-(((E)-3-(3-(3-氨基丙酰胺基)-4-((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)烯丙基)氧基)羰基)(2-羧乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸,三氟乙酸盐

向实施例1.25.2(0.050 g)和实施例2.44.7(0.061 g)的N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)溶液中加入N,N-二异丙基乙胺(0.047 mL),并将该反应在室温下搅拌过夜。浓缩该反应,将残余物溶于四氢呋喃(0.5 mL)和甲醇(0.5 mL)中,并用氢氧化锂一水合物(0.034 g)水(0.5 mL)溶液处理。将该反应在室温下搅拌1小时。用三氟乙酸(0.083 mL)淬灭该反应,并用N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)稀释。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-75%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

[0903] 2.64.2. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[3-{2-[2-羧乙基]}(2E)-3-(4-[(2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]氧基)-3-[3-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}丙酰基)氨基]苯基}丙-2-烯-1-基]氧基}羰基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸

向实施例2.64.1(0.042 g)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯(10 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(0.5 mL)溶液中加入N,N-二异丙基乙胺(0.027 mL),并将该反应在室温下搅拌2小时。将该反应用N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)和水(0.5 mL)稀释。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-75%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 12.85 (s, 1H), 9.04 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.87 (t, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.54-7.40 (m, 3H), 7.40-7.31 (m, 2H), 7.28 (s, 1H), 7.10 (d, 1H), 7.04 (d, 1H), 6.98 (s, 2H), 6.95 (d, 1H), 6.57 (d, 1H), 6.24-6.11 (m, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.86 (t, 1H), 4.65 (d, 2H), 3.95-3.84 (m, 2H), 3.84-3.75 (m, 4H), 3.44-3.24 (m, 10H), 3.01 (t, 2H), 2.62-2.52 (m, 4H), 2.09 (s, 3H), 2.03 (t, 2H), 1.46 (h, 4H), 1.40-1.31 (m, 2H), 1.30-0.88 (m, 14H), 0.87-0.75 (m, 6H). MS (ESI) m/e 1447.5 (M-H) $^+$.

[0904] 2.65. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-

基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基) {[(4-{ [(2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]氧基}-2-[2-(2-{[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]氨基}乙氧基)乙氧基]苄基)氧基]羰基]氨基]乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基}吡啶-2-甲酸(合成子II)

2.65.1. 3-(1-((3-(2-(((2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)(2-羧乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

将实施例1.25.2 (0.055 g)、实施例2.62.6 (0.060 g)和N,N-二异丙基乙胺(0.052 mL)的N,N-二甲基甲酰胺(0.4 mL)溶液搅拌过夜。浓缩该反应,将残余物溶于四氢呋喃(0.5 mL)和甲醇(0.5 mL)中,然后用氢氧化锂水合物(0.037 g)的水(0.5 mL)溶液处理。搅拌1小时之后,用三氟乙酸(0.091 mL)淬灭该反应,并用N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)稀释。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-75%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物的三氟乙酸盐。

[0905] 2.65.2. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基) {[(4-{ [(2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]氧基}-2-[2-(2-{[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]氨基}乙氧基)乙氧基]苄基)氧基]羰基]氨基]乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基}吡啶-2-甲酸

将实施例2.65.1的三氟乙酸盐(0.043)、2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸酯(10 mg)和N,N-二异丙基乙胺(0.028 mL)的N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)溶液在室温下搅拌。搅拌1小时之后,用N,N-二甲基甲酰胺(0.5 mL)和水(0.5 mL)稀释该反应。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用5-75%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm

12.84 (s, 1H), 8.03 (d, 1H), 8.00 (t, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.54-7.41 (m, 3H), 7.36 (td, 2H), 7.29 (s, 1H), 7.19 (d, 1H), 6.97 (s, 2H), 6.95 (d, 1H), 6.67 (d, 1H), 6.60 (dd, 1H), 5.14-5.03 (m, 1H), 4.96 (d, 4H), 4.08 (tt, 4H), 3.89 (q, 4H), 3.84-3.77 (m, 2H), 3.71 (t, 2H), 3.59 (t, 2H), 3.52-3.35 (m, 6H), 3.28 (dq, 4H), 3.17 (q, 2H), 3.01 (t, 2H), 2.46 (d, 1H), 2.33 (t, 2H), 2.09 (s, 3H), 1.45-0.90 (m, 12H), 0.82 (d, 6H). MS (ESI) m/e 1396.4 (M-H)⁺.

[0906] 2.66. 合成N-[6-(乙烯基磺酰基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[(2-((3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸(合成子KY)

2.66.1 3-(1-((3-(2-(((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

向实施例1.2.9 (57 mg)和(9H-芴-9-基)甲基((S)-3-甲基-1-((S)-1-((4-(((4-硝

基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(54 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(2 mL)混合物中加入N,N-二异丙基乙胺(103 μ l)。将该混合物搅拌过夜,并加入二乙胺(61.5 μ l)。将得到的混合物搅拌4小时,用反相HPLC纯化,使用Gilson系统和C18柱,用10-70%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 1257.4 (M-H)。

[0907] 2.66.2. N-[6-(乙烯基磺酰基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基)苯基)-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸胺

使用实施例2.83的方法,制备标题化合物,分别用实施例2.66.1和实施例2.82.5,替代实施例1.2.9和2,5-二氧化吡咯烷-1-基6-(2-氯乙酰胺基)己酸酯。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜 -d₆) δ ppm 12.88 (s, 0H), 9.99 (s, 1H), 8.05 (t, 2H), 7.80 (t, 2H), 7.60 (q, 3H), 7.36 (td, 2H), 7.28 (d, 3H), 7.01-6.89 (m, 2H), 6.29-6.15 (m, 2H), 6.02 (s, 1H), 4.97 (d, 4H), 4.40 (td, 1H), 4.20 (t, 1H), 4.00-3.77 (m, 4H), 3.55-3.33 (m, 4H), 3.25 (d, 2H), 3.14-2.88 (m, 6H), 2.62 (t, 2H), 2.09 (s, 4H), 1.82-0.90 (m, 10H), 0.84 (dd, 13H). MS (ESI) m/e 1447.2 (M+H).

[0908] 2.67. 合成4-[(1E)-3-[(4-{2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰丙基)氨基)哌啶-1-基)羰基]氧基]丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]- β -丙氨酸}氨基)苯基 β -D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid)(合成子IW)

2.67. 1. 3-(1-((3-(2-(((E)-3-(3-(3-氨基丙酰胺基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)烯丙基)氧基)羰基)哌啶-4-基)(3-膦酰丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

向实施例1.26.2(0.045 g)和实施例2.44.7(0.053 g)的N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)溶液中加入N,N-二异丙基乙胺(0.041 mL),并将该反应在室温下搅拌过夜。浓缩该反应,将残余物溶于甲醇(0.5 mL)和四氢呋喃(0.5 mL)中,并在室温下,用氢氧化锂一水合物(0.030 g)的水(0.5 mL)溶液处理。搅拌1小时之后,用三氟乙酸(0.073 mL)淬灭该反应,并用N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)稀释。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-60%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

[0909] 2.67. 2. 4-[(1E)-3-[(4-{2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰丙基)氨基)哌啶-1-基)羰基]氧基]丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]- β -丙氨酸}氨基)苯基 β -D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid)

向实施例2.67.1(0.040 g)和2,5-二氧化吡咯烷-1-基6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯(9.84 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)溶液中加入N,N-二异丙基乙胺(0.023 mL),并将该反应在室温下搅拌2小时。将该反应用N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)和水(1

mL) 稀释。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-60%的乙腈/水(含有0.1% v/v 三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 9.28 (s, 1H), 9.04 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.87 (t, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.62 (dd, 1H), 7.55-7.40 (m, 3H), 7.36 (td, 2H), 7.29 (s, 1H), 7.11 (dd, 1H), 7.05 (d, 1H), 6.98 (s, 2H), 6.95 (d, 1H), 6.59 (d, 1H), 6.20 (t, 1H), 6.16 (t, 0H), 4.96 (s, 2H), 4.88 (d, 1H), 4.66 (d, 2H), 4.14 (d, 2H), 3.96-3.86 (m, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.54 (t, 7H), 3.48-3.28 (m, 12H), 3.01 (t, 2H), 2.84 (s, 2H), 2.55 (t, 2H), 2.10 (s, 3H), 2.07-1.95 (m, 4H), 1.88 (s, 2H), 1.73-1.54 (m, 4H), 1.54-1.38 (m, 6H), 1.39-1.26 (m, 4H), 1.26-0.93 (m, 8H), 0.86 (s, 6H). MS (ESI) m/e 1582.4 (M+H) $^+$.

[0910] 2.68. 合成4-[(1E)-3-[[4-[[2-((3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰丙基)氨基}哌啶-1-基)羰基]氧基]丙-1-烯-1-基]-2-((N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]- β -丙氨酰}氨基)苯基 β -D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid)(合成子IY)

2.68. 1. 3-(1-((3-(2-((1-(((E)-3-(3-(3-氨基丙酰胺基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)烯丙基)氧基)羰基)哌啶-4-基)(3-膦酰丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

在实施例2.56.1中,用实施例1.50.2替代实施例1.44.7,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 1388.5 (M-H) $^-$ 。

[0911] 2.68. 2. 4-[(1E)-3-[[4-[[2-((3-[(4-{2-羧基-6-[8-([1,3]噻唑并[4,5-b]吡啶-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-膦酰丙基)氨基}哌啶-1-基)羰基]氧基]丙-1-烯-1-基]-2-((N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]- β -丙氨酰}氨基)苯基 β -D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid)

在实施例2.56.2中,用实施例1.68.1替代实施例1.56.1,制备标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 9.03 (s, 1H), 8.61 (d, 1H), 8.50 (d, 1H), 8.25 (br s, 1H), 7.89 (t, 1H), 7.65 (d, 1H), 7.49 (d, 1H), 7.46 (d, 1H), 7.36 (m, 2H), 7.29 (s, 1H), 7.11 (br d, 1H), 7.03 (d, 1H), 6.98 (s, 2H), 6.97 (d, 1H), 6.58 (m, 1H), 6.17 (m, 1H), 4.97 (s, 2H), 4.88 (d, 1H), 4.65 (br d, 2H), 3.88 (m, 3H), 3.79 (br m, 2H), 3.66 (br m, 2H), 3.27-3.44, (m, 14H), 3.01 (m, 2H), 2.85 (br m, 2H), 2.54 (m, 2H), 2.10 (s, 3H), 2.03 (t, 2H), 1.98 (br m, 2H), 1.89 (m, 1H), 1.62 (m, 4H), 1.46 (m, 6H), 1.31 (m, 4H), 1.15 (m, 6H), 1.04 (m, 2H), 0.86 (s, 6H). MS (ESI) m/e 1581.4 (M-H) $^-$.

[0912] 2.69. 合成4-[(1E)-3-((2-((3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基)(2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基]丙-1-烯-1-基]-2-((N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]- β -丙氨酰}氨基)苯基 β -D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid)(合成子JA)

2.69.1. 3-(1-((3-(2-(((E)-3-(3-(3-氨基丙酰胺基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-

羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基) 氧基) 苯基) 烯丙基) 氧基) 羰基) (2-磺乙基) 氨基) 乙氧基) -5,7-二甲基金刚烷-1-基) 甲基) -5-甲基-1H-吡啶-4-基) -6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基) 萘-2-基) 吡啶甲酸

在实施例2.56.1中,用实施例1.43.7替代实施例2.44.7,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 1309.1 (M+Na)⁺。

[0913] 2.69.2. 4-[(1E)-3-({[2-({3-[(4-[6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基) 萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基] 甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基) 氧基) 乙基] (2-磺乙基) 氨基甲酰基) 氧基) 丙-1-烯-1-基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基) 己酰基]-β-丙氨酰} 氨基) 苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸 (glucopyranosiduronic acid)

在实施例2.56.2中,用实施例2.69.1替代实施例2.56.1,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 13.09 (s, 1H), 9.02 (s, 2H), 8.35 (d, 1H), 8.13-8.29 (m, 4H), 7.86-8.09 (m, 5H), 7.81 (d, 1H), 7.66-7.75 (m, 1H), 7.44-7.55 (m, 1H), 7.37 (t, 1H), 7.09-7.18 (m, 1H), 7.03 (d, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.48-6.62 (m, 1H), 6.07-6.22 (m, 1H), 4.81-4.92 (m, 1H), 4.58-4.74 (m, 2H), 3.80-3.93 (m, 3H), 3.27-3.37 (m, 5H), 2.53-2.68 (m, 4H), 2.15-2.23 (m, 3H), 2.03 (t, 2H), 1.36-1.53 (m, 6H), 0.97-1.33 (m, 24H), 0.81 (d, 6H). MS (ESI) m/e 1478.3(M-H)⁻.

[0914] 2.70. 该段落特意留白。

[0915] 2.71. 该段落特意留白。

[0916] 2.72. 该段落特意留白。

[0917] 2.73. 该段落特意留白。

[0918] 2.74. 该段落特意留白。

[0919] 2.75. 该段落特意留白。

[0920] 2.76. 该段落特意留白。

[0921] 2.77. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3-[2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基) 己酰基]-3-磺基-L-丙氨酰} 氨基) 乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基) 甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基] 吡啶-2-甲酸(合成子FA)

向实施例1.15 (0.023 g) 和2,5-二氧代吡咯烷-1-基6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基) 己酸酯 (9.12 mg) 的N,N-二甲基甲酰胺 (0.5 mL) 溶液中加入N,N-二异丙基乙胺 (0.012 mL), 并将该反应搅拌过夜。将该反应用N,N-二甲基甲酰胺 (1 mL) 和水 (0.5 mL) 稀释。用反相HPLC纯化该混合物, 使用Gilson系统, 用10-85%的乙腈/水 (含有0.1% v/v三氟乙酸) 洗脱。将目标级分合并, 冷冻干燥, 提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.84 (s, 1H), 8.04 (d, 1H), 7.90 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.65-7.57 (m, 2H), 7.54 (d, 1H), 7.51-7.41 (m, 2H), 7.40-7.31 (m, 3H), 7.01-6.96 (m, 3H), 4.96 (s, 2H), 4.34-4.28 (m, 3H), 3.89 (t, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.37 (t, 2H), 3.29 (t, 2H), 3.16-2.95 (m, 4H), 2.80 (dd, 1H), 2.70 (dd, 1H), 2.11 (s, 3H), 2.06 (t, 2H), 1.47 (tt, 4H), 1.40-0.92 (m, 12H), 0.84 (s, 6H). MS (ESI) m/e 1090.3 (M+H)⁺.

[0922] 2.78. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3-[2-(2-{[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基](2-磺乙基)氨基}乙氧基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基]吡啶-2-甲酸(合成子FJ)

如实施例2.1所述,制备标题化合物,分别用实施例1.11.4和全氟代苯基6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯,替代实施例1.2.9和4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.84 (s, 1H), 8.04 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.52 (dd, 1H), 7.42-7.49 (m, 2H), 7.33-7.39 (m, 2H), 7.30 (s, 1H), 6.98 (s, 2H), 6.96 (d, 1H), 4.95 (s, 2H), 3.89 (t, 2H), 3.82 (s, 2H), 3.46-3.56 (m, 4H), 3.31-3.46 (m, 10H), 3.01 (t, 2H), 2.61-2.68 (m, 1H), 2.55-2.60 (m, 1H), 2.21-2.32 (m, 2H), 2.10 (s, 3H), 1.40-1.51 (m, 4H), 1.37 (d, 2H), 0.91-1.30 (m, 12H), 0.83 (s, 6H). MS (ESI) m/e 1091.2 (M+H)⁺.

[0923] 2.79. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{{3-[2-{{6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基}(2-磺乙基)氨基}乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(合成子FK)

如实施例2.1所述,制备标题化合物,用全氟代苯基6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯替代4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.85 (s, 1H), 8.04 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.52 (dd, 1H), 7.41-7.49 (m, 2H), 7.32-7.39 (m, 2H), 7.28 (s, 1H), 6.93-6.98 (m, 3H), 4.95 (s, 2H), 3.89 (t, 2H), 3.81 (s, 2H), 3.32-3.38 (m, 2H), 3.21-3.27 (m, 2H), 3.01 (t, 2H), 2.61-2.67 (m, 2H), 2.53-2.58 (m, 2H), 2.33-2.39 (m, 1H), 2.20-2.29 (m, 2H), 2.09 (s, 3H), 1.40-1.51 (m, 4H), 1.34 (s, 2H), 0.93-1.27 (m, 13H), 0.83 (s, 6H). MS (ESI) m/e 1047.2 (M+H)⁺.

[0924] 2.80. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[3-{{1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-21-氧代-22-(2-磺乙基)-3,6,9,12,15,18-六氧杂-22-氮杂二十四烷-24-基}氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(合成子FQ)

如实施例2.1所述,制备标题化合物,用全氟代苯基1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3,9,12,15,18-五氧杂二十一烷-21-酸酯替代4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.84 (s, 1H), 8.04 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.42-7.54 (m, 3H), 7.33-7.38 (m, 2H), 7.28 (s, 1H), 6.95 (dd, 1H), 4.95 (s, 2H), 3.89 (t, 2H), 3.81 (s, 2H), 3.07-3.53 (m, 24H), 3.01 (t, 2H), 2.61-2.69 (m, 1H), 2.54-2.60 (m, 1H), 2.09 (s, 3H), 1.96 (d, 2H), 0.92-1.39 (m, 13H), 0.84 (s, 6H). MS (ESI) *m/e* 1269.4 (M+H)⁺.

[0925] 2.81. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[3-{{1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-21-氧代-22-(2-磺乙基)-3,6,9,12,15,18,25-七氧杂-22-氮杂二十七烷-27-基}氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(合成子FR)

如实施例2.1所述,制备标题化合物,分别用实施例1.11.4和全氟代苯基1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3,6,9,12,15,18-六氧杂二十一烷-21-酸酯,替代实施例1.2.9和4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.84 (s, 1H), 8.04 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.52 (d, 1H), 7.41-7.50 (m, 2H), 7.33-7.39 (m, 2H), 7.31 (s, 1H), 7.01 (d, 2H), 6.97 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 3.89 (t, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.31-3.60 (m, 30H), 3.01 (t, 2H), 2.64-2.71 (m, 1H), 2.53-2.61 (m, 3H), 2.10 (s, 3H), 1.38 (s, 2H), 1.20-1.31 (m, 4H), 1.12-1.18 (m, 2H), 0.91-1.12 (m, 4H), 0.84 (s, 6H).

[0926] 2.82. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{{3-(2-{{6-(乙烯基磺酰基)己酰基}(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(合成子JE)

2.82.1. 6-((2-羟乙基)硫代)己酸乙酯

将6-溴己酸乙酯(3 g)、2-巯基乙醇(0.947 mL)和K₂CO₃(12 g)的混合物在乙醇(100 mL)中搅拌过夜,并过滤。浓缩滤液。将残余物溶于二氯甲烷(100 mL)中,并用水和盐水洗涤。用硫酸钠干燥有机层,过滤,并浓缩,提供标题化合物。

[0927] 2.82.2. 6-((2-羟乙基)硫代)己酸

将实施例2.82.1(12 g)和3M NaOH水溶液(30 mL)的混合物在乙醇(30 mL)中搅拌过夜。减压除去有机物。将剩余的水相用乙酸乙酯洗涤,用HCl酸化至pH5,并用二氯甲烷提取。合并提取物,用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩,提供标题化合物。

[0928] 2.82.3. 6-((2-羟乙基)磺酰基)己酸

向在水(40 mL)和1,4-二噁烷(160 mL)的混合物中的实施例2.82.2(4 g)的搅拌溶液中加入Oxone®(38.4 g),并将该混合物搅拌过夜。过滤该混合物,并将滤液浓缩。用二氯甲烷提取剩余的水层。将提取物合并,用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩,提供标题化合物。

[0929] 2.82.4. 6-(乙烯基磺酰基)己酸

向冷却(0°C)的实施例2.82.3(1 g)的二氯甲烷(10 mL)溶液中加入三乙胺(2.8 mL),然后在氩气氛围中,加入甲磺酰氯(1.1 mL)。将该混合物搅拌过夜,并用水和盐水洗涤。用硫酸钠干燥有机层,过滤,并浓缩,提供标题化合物。

[0930] 2.82.5. 2,5-二氧代吡咯烷-1-基6-(乙烯基磺酰基)己酸酯

向实施例2.82.4(0.88 g)的二氯甲烷(10 mL)搅拌溶液中加入1-羟基吡咯烷-2,5-二

酮(0.54 g)和N,N'-二环己基碳二亚胺(methanediylidenedicyclohexanamine)(0.92 g)。将该混合物搅拌过夜,并过滤。浓缩滤液,并用快速色谱纯化,用10-25%的乙酸乙酯/石油醚洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 304.1 (M+1)。

[0931] 2.82.6. 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-[[3-(2-[[6-(乙烯基磺酰基)己酰基](2-磺乙基)氨基]乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸

如实施例2.83所述,制备标题化合物,用实施例2.82.5替代2,5-二氧代吡咯烷-1-基6-(2-氯乙酰胺基)己酸酯。

¹H NMR

(400 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ ppm 12.86 (s, 1H), 8.04 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.53 (dd, 1H), 7.42-7.49 (m, 2H), 7.33-7.40 (m, 2H), 7.28 (s, 1H), 6.88-7.00 (m, 2H), 6.17-6.25 (m, 2H), 4.95 (s, 2H), 3.89 (t, 2H), 3.81 (s, 2H), 3.38 (dd, 2H), 3.25 (t, 2H), 3.04-3.12 (m, 2H), 3.01 (t, 2H), 2.62-2.69 (m, 1H), 2.56 (dd, 1H), 2.27 (q, 2H), 2.09 (s, 3H), 1.53-1.62 (m, 2H), 1.43-1.51 (m, 2H), 1.28-1.38 (m, 4H), 1.20-1.27 (m, 4H), 0.92-1.19 (m, 6H), 0.84 (s, 6H). MS (ESI) m/e 1042.2 (M+H)⁺.

[0932] 2.83. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[[3-(2-[[6-(氯乙酰胺基)氨基]己酰基](2-磺乙基)氨基]乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(合成子JM)

向实施例1.2.9(12.5 mg)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基6-(2-氯乙酰胺基)己酸酯(6.7 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(1.5 mL)混合物中加入N,N-二异丙基乙胺(26 μl)。将该混合物搅拌10天,用反相HPLC纯化,使用Gilson系统和C18柱,用20-60%的乙腈/水(包含0.1% v/v三氟乙酸)洗脱,提供标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-

d₆) δ ppm 12.83 (s, 1H), 8.15-8.21 (m, 1H), 8.04 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.52 (dd, 1H), 7.41-7.49 (m, 2H), 7.32-7.39 (m, 2H), 7.28 (s, 1H), 6.96 (dd, 1H), 4.95 (s, 2H), 4.01 (d, 2H), 3.89 (t, 2H), 3.81 (s, 2H), 3.39 (d, 2H), 3.25 (t, 2H), 2.98-3.10 (m, 5H), 2.62-2.70 (m, 1H), 2.56-2.61 (m, 1H), 2.23-2.30 (m, 2H), 2.09 (s, 3H), 1.33-1.52 (m, 5H), 1.19-1.30 (m, 6H), 0.91-1.18 (m, 6H), 0.84 (s, 6H). MS (ESI) m/e 1043.2 (M+H)⁺.

[0933] 2.84. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[[{2-({3-[[4-[[6-[[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]氧基)乙基](3-羧丙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸(合成子LE)

将实施例1.56(0.020 g)、4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苄基)碳酸酯(0.022 g)和N,N-二异丙基乙胺(0.018 mL)的混合物在N,N-二甲基甲酰胺(0.4 mL)中、在室温下一起搅拌。搅拌5小时之后,将该反应用N,N-二甲基甲酰胺和水的1:1混合物(2 mL)稀释。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-85%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ ppm 12.82 (s, 1H), 9.97 (s, 1H), 8.10-7.98 (m, 2H), 7.84-7.72 (m, 2H), 7.67-7.54 (m, 3H), 7.54-7.41 (m, 3H), 7.40-7.32 (m, 2H), 7.30-7.23 (m, 3H), 6.99 (s, 2H), 6.94 (d, 1H), 5.99 (s, 1H), 4.98 (s, 2H), 4.95 (s, 2H), 4.45-4.35 (m, 2H), 4.19 (dd, 2H), 3.88 (t, 2H), 3.82-3.76 (m, 2H), 3.47-3.31 (m, 4H), 3.28-3.19 (m, 4H), 3.07-2.89 (m, 4H), 2.21-2.11 (m, 4H), 2.09 (s, 2H), 2.02-1.89 (m, 1H), 1.77-1.63 (m, 2H), 1.62-1.27 (m, 10H), 1.27-0.90 (m, 13H), 0.88-0.78 (m, 12H); MS (ESI) m/e 1430.3 (M+1)⁺.

[0934] 2.85. 合成N-{6-[(溴乙酰基)氨基]己酰基}-L-缬氨酸-N-{4-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸(合成子LH)

2.85.1. 1H-苯并[d][1,2,3]三唑-1-基6-(2-溴乙酰胺基)己酸酯

向6-(2-溴乙酰胺基)己酸(105 mg)和苯并三唑-1-基氧基三吡咯烷基磷六氟磷酸盐(PyBOP, 325 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(3 mL)溶液中加入三乙胺(87 μl)。将该混合物搅拌1小时,用Gilson系统(C18柱),用20-60%的乙腈/0.1% TFA水溶液洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 368.7 (M+H)。

[0935] 2.85.2. N-{6-[(溴乙酰基)氨基]己酰基}-L-缬氨酸-N-{4-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸

向实施例2.66.1(6.6 mg)和实施例2.85.2(3.6 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(0.3 mL)混合物中加入N,N-二异丙基乙胺(2.52 μl)。搅拌该混合物5分钟,用二甲亚砜稀释,用反相HPLC纯化,使用Gilson系统和C18柱,用20-60%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱,提供标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ 9.99 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.08 (d, 1H), 8.04 (d, 1H), 7.80 (dd, 2H), 7.60 (q, 3H), 7.56-7.50 (m, 1H), 7.50-7.41 (m, 2H), 7.36 (q, 2H), 7.32-7.25 (m, 3H), 6.96 (d, 1H), 4.98 (d, 4H), 4.39 (q, 1H), 4.20 (dd, 1H), 3.92-3.68 (m, 6H), 3.42 (dd, 1H), 3.25 (t, 2H), 3.09-2.87 (m, 6H), 2.64 (s, 2H), 2.25-1.87 (m, 5H), 1.79-0.89 (m, 17H), 0.88-0.67 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1492.5 (M-H).

[0936] 2.86. 合成4-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](3-羧丙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-[2-(2-({3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基}氨基)乙氧基)乙氧基)苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid)(合成子LJ)

2.86.1. 3-(1-((3-(2-(((2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羧基)(3-羧丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

向实施例1.56(0.024 g)和实施例2.62.6(0.030 g)的N,N-二甲基甲酰胺(0.4 mL)溶

液中加入N,N-二异丙基乙胺(0.025 mL),并将该反应搅拌过夜。浓缩该反应,将残余物溶于四氢呋喃(0.5 mL)和甲醇(0.5 mL)中,并用氢氧化锂水合物(0.018 g)的水(0.5 mL)溶液处理。搅拌1小时之后,用N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)稀释该反应,并用反相HPLC纯化,使用Gilson系统,用10-75%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 1262.7 (M+H)⁺。

[0937] 2.86.2. 4-([2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基)(3-羧丙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-[2-(2-{[3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]氨基}乙氧基)乙氧基]苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid)

向实施例2.86.1(0.0173 g)和2,5-二氧化吡咯烷-1-基3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸酯(4.38 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(0.8 mL)溶液中加入2,5-二氧化吡咯烷-1-基3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸酯(4.38 mg),并将该反应搅拌2小时。将该反应用N,N-二甲基甲酰胺:水的1:1混合物(1 mL)稀释,并用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-80%的乙腈/水(包含0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

¹H NMR (400

MHz, 二甲亚砜-d₆) δ ppm 12.77 (s, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.99 (t, 1H), 7.77 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.55-7.41 (m, 3H), 7.40-7.32 (m, 2H), 8.28 (s, 1H), 7.23-7.17 (m, 1H), 6.97 (s, 2H), 6.94 (d, 1H), 6.66 (s, 1H), 6.60 (dd, 1H), 5.07 (m, 1H), 5.00-4.91 (m, 4H), 4.17-4.02 (m, 2H), 3.96-3.85 (m, 2H), 3.85-3.76 (m, 2H), 3.71 (t, 2H), 3.64-3.56 (m, 4H), 3.34-3.12 (m, 10H), 3.01 (t, 2H), 2.33 (t, 2H), 2.24-2.12 (m, 2H), 2.09 (s, 3H), 1.70 (p, 2H), 1.45-0.88 (m, 12H), 0.88-0.77 (m, 6H); MS (ESI) m/e 1434.2 (M+Na)⁺。

[0938] 2.87. 合成4-([4-{2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基)(3-羧丙基)氨基}吡啶-1-基)羧基}氧基)甲基]-3-[2-(2-{[3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]氨基}乙氧基)乙氧基]苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid)(合成子MA)

2.87.1. 3-(1-((3-(2-((1-(((2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)-4-((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羧基)吡啶-4-基)(3-羧丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

将实施例1.42(0.050 g)和实施例2.62.6(0.050 g)的N,N-二甲基甲酰胺(0.5 mL)溶液用N,N-二异丙基乙胺(0.042 mL)处理,并将该反应在室温下搅拌2小时。浓缩该反应,将残余物溶于甲醇(0.5 mL)和四氢呋喃(0.5 mL)中,并用氢氧化锂水合物(0.031 g)的水(0.5 mL)溶液处理。将该反应搅拌1.5小时,并用N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)稀释。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-80%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 1345.7 (M+H)⁺。

[0939] 2.87.2. 4-([4-{2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-

二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基}(3-羧丙基)氨基}哌啶-1-基)羰基}氧基)甲基)-3-[2-(2-{[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]氨基}乙氧基)乙氧基]苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid)

将实施例2.87.1(0.047 g)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸酯(0.011 g)的N,N-二甲基甲酰胺(0.5 mL)溶液用N,N-二异丙基乙胺(0.031 mL)处理,并将该反应在室温下搅拌2小时。将该反应用N,N-二甲基甲酰胺:水的1:1混合物(2 mL)稀释。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-85%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ ppm 12.87 (s, 1H), 8.96 (s, 1H), 8.15-8.07 (m, 2H), 7.88 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.71 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.62-7.50 (m, 3H), 7.50-7.45 (m, 1H), 7.45-7.42 (m, 1H), 7.37 (s, 1H), 7.33-7.27 (m, 1H), 7.07 (s, 2H), 7.07-7.02 (m, 1H), 6.80-6.74 (m, 1H), 6.72-6.66 (m, 1H), 5.23-5.14 (m, 1H), 5.13-5.00 (m, 4H), 4.27-4.12 (m, 4H), 4.06-3.95 (m, 4H), 3.92 (s, 2H), 3.83-3.78 (m, 2H), 3.57-3.32 (m, 10H), 3.32-3.14 (m, 4H), 3.14-3.06 (m, 2H), 2.90 (s, 2H), 2.49-2.37 (m, 4H), 2.19 (s, 3H), 2.12-2.01 (m, 2H), 2.02-1.88 (m, 2H), 1.74-1.57 (m, 2H), 1.52 (s, 2H), 1.45-1.30 (m, 4H), 1.30-1.05 (m, 6H), 0.95 (s, 6H); MS (ESI) *m/e* 1495.4 (M+H)⁺.

[0940] 2.88. 合成4-[({[2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基}(3-磺丙基)氨基甲酰基}氧基)甲基)-3-[2-(2-{[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]氨基}乙氧基)乙氧基]苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid)(合成子MD)

2.88.1. 3-(1-((3-(2-(((2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)(3-磺丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

将实施例1.6(0.039 g)和实施例2.62.6(0.041 g)的N,N-二甲基甲酰胺(0.5 mL)溶液用N,N-二异丙基乙胺(0.035 mL)处理,并将该反应在室温下搅拌2小时。浓缩该反应,将残余物溶于甲醇(0.5 mL)和四氢呋喃(0.5 mL)中,并用氢氧化锂水合物(0.025 g)的水(0.5 mL)溶液处理。将该反应搅拌1.5小时,并用N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)稀释。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-80%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。MS (ESI) *m/e* 1297.8 (M+H)⁺。

[0941] 2.88.2. 4-[({[2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基}(3-磺丙基)氨基甲酰基}氧基)甲基)-3-[2-(2-{[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]氨基}乙氧基)乙氧基]苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid)

向实施例2.88.1(0.024 g)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸酯(6.40 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(0.5 mL)溶液中加入N,N-二异丙基乙胺

(0.016 mL), 并将该反应在室温下搅拌1小时。将该反应用N,N-二甲基甲酰胺:水的1:1混合物(2 mL)稀释。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-80%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ ppm 12.87 (s, 1H), 8.09-8.02 (m, 2H), 7.79 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.52 (dd, 1H), 7.50-7.42 (m, 2H), 7.40-7.33 (m, 2H), 7.31 (s, 1H), 7.20 (t, 1H), 6.98 (s, 3H), 6.66 (s, 1H), 6.60 (dd, 1H), 5.06 (t, 1H), 4.96 (s, 4H), 4.10 (dq, 4H), 3.81 (d, 4H), 3.71 (t, 2H), 3.59 (t, 2H), 3.51-3.35 (m, 4H), 3.26 (td, 6H), 3.17 (q, 2H), 3.01 (t, 2H), 2.35 (dt, 4H), 2.10 (d, 3H), 1.75 (d, 2H), 1.44-0.88 (m, 12H), 0.82 (d, 6H); MS (ESI) m/e 1446.4 (M-H)⁻.

[0942] 2.89. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-[4-({[(3-{{[2-({3-[(4-{{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基}氮杂环丁烷-1-基)羰基]氧基}甲基)苯基]-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸酰胺(合成子MG)

将实施例1.60(0.026 g)、4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯(0.024 g)和N,N-二异丙基乙胺(0.022 mL)的溶液在N,N-二甲基甲酰胺(0.8 mL)中、在室温下一起搅拌3小时。将该反应用N,N-二甲基甲酰胺:水的1:1混合物(2 mL)稀释。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-80%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ ppm 12.85 (s, 1H), 9.99 (s, 1H), 8.06 (d, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.79 (dd, 2H), 7.60 (dd, 3H), 7.55-7.41 (m, 3H), 7.36 (td, 2H), 7.29 (t, 3H), 6.99 (s, 2H), 6.95 (d, 1H), 5.99 (s, 1H), 5.04-4.92 (m, 4H), 4.37 (q, 1H), 4.34-4.24 (m, 1H), 4.24-4.10 (m, 4H), 3.88 (t, 2H), 3.82 (s, 2H), 3.40-3.29 (m, 4H), 3.01 (t, 2H), 2.99-2.91 (m, 1H), 2.87 (t, 2H), 2.25-2.06 (m, 5H), 1.95 (dt, 1H), 1.68 (s, 1H), 1.60 (s, 1H), 1.54-1.24 (m, 12H), 1.24-0.94 (m, 9H), 0.90-0.78 (m, 12H); MS (ESI) m/e 1507.4 (M+H)⁺.

[0943] 2.90. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{{1-[(3-{{[26-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-8,24-二氧代-3-(2-磺乙基)-11,14,17,20-四氧杂-3,7,23-三氮杂二十六烷(triazahexacos)-1-基}氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(合成子MS)

在0°C,向实施例1.61.2(15 mg)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-氧代-7,10,13,16-四氧杂-4-氮杂十九烷-19-酸酯(16.91 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(0.8 mL)混合物中加入N,N-二异丙基乙胺(28.8μl)。将该混合物搅拌3小时,用反相HPLC纯化,使用Gilson系统和C18柱,用20-60%的乙腈/水(包含0.1%三氟乙酸)洗脱,提供标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 12.87 (s, 1H), 8.98 (s, 1H), 8.08-7.92 (m, 3H), 7.79 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.57-7.41 (m, 3H), 7.36 (td, 2H), 7.29 (s, 1H), 7.04-6.92 (m, 3H), 4.96 (s, 2H), 3.89 (t, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.48 (d, 4H), 3.44-3.17 (m, 3H), 3.18-2.83 (m, 10H), 2.38-2.24 (m, 4H), 2.11 (s, 3H), 1.78 (m, 2H), 1.50-0.94 (m, 12H), 0.86 (s, 6H). MS (ESI) m/e 1309.3 (M-H).

[0944] 2.91. 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-[4-({[3-({[2-({3-[4-({6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基}丙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子MR)

在0℃,向实施例1.61.2(12.8 mg)和4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苯基)碳酸酯(10.4 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(0.5 mL)混合物中加入N,N-二异丙基乙胺(24.54 μ l)。将该混合物搅拌3小时,并用反向HPLC纯化,使用Gilson系统和C18柱,用20-60%的乙腈/水(包含0.1%三氟乙酸)洗脱,提供标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 12.85 (s, 1H), 9.97 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.04 (t, 2H), 7.79 (dd, 2H), 7.65-7.40 (m, 7H), 7.36 (td, 3H), 7.28 (d, 3H), 6.99 (s, 2H), 6.95 (d, 1H), 5.98 (s, 1H), 4.95 (d, 4H), 4.49-4.30 (m, 1H), 4.24-4.11 (m, 1H), 3.88 (t, 2H), 3.82 (s, 2H), 3.36 (t, 3H), 3.18-2.84 (m, 9H), 2.25-1.88 (m, 5H), 1.85-0.90 (m, 14H), 0.91-0.75 (m, 13H). MS (ESI) m/e (M+H).

[0945] 2.92. 合成N-{6-[(碘代乙酰基)氨基]己酰基}-L-缬氨酰-N-{4-[(2-({3-[4-({6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基}甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子MQ)

在冰浴中,向实施例1.2.9(8.2 mg)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基6-(2-碘代乙酰胺基)己酸酯(4.7 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(0.3 mL)混合物中加入N,N-二异丙基乙胺(3 μ l)。将该混合物在0℃下搅拌1.5小时。用二甲亚砜稀释该反应,用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统和C18柱,用20-60%的乙腈/水(包含0.1%三氟乙酸)洗脱,提供标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 12.87 (s, 1H), 10.00 (s, 1H), 8.21 (d, 1H), 8.06 (dd, 2H), 7.81 (dd, 2H), 7.60 (t, 3H), 7.48 (ddd, 3H), 7.36 (td, 2H), 7.28 (d, 3H), 6.95 (d, 1H), 4.97 (d, 4H), 4.39 (q, 1H), 4.19 (t, 1H), 3.88 (t, 2H), 3.80 (d, 2H), 3.25 (d, 2H), 2.97 (dq, 6H), 2.63 (s, 2H), 2.25-1.88 (m, 5H), 1.78-0.70 (m, 29H). MS (ESI) m/e 1538.4 (M-H).

[0946] 2.93. 合成N-{6-[(乙烯基磺酰基)氨基]己酰基}-L-缬氨酰-N-{4-[(2-({3-[4-({6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基}甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺(合成子MZ)

2.93.1. 6-(乙烯基磺酰胺基)己酸甲酯

在0℃,向6-甲氧基-6-氧代己-1-铵氯化物(0.3 g)和三乙胺(1.15 mL)的二氯甲烷溶液中逐滴加入乙烯磺酰氯(0.209 g)。将该反应混合物升温至室温,并搅拌1小时。将该混合物用二氯甲烷稀释,并用盐水洗涤。

[0947] 用硫酸钠干燥有机层,过滤,并浓缩,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 471.0 (2M+H)⁺。

[0948] 2.93.2. 6-(乙烯基磺酰胺基)己酸

将在四氢呋喃(1 mL)和水(1 mL)的混合物中的实施例2.93.1(80 mg)和氢氧化锂一水合物(81 mg)溶液搅拌2小时,然后用水(20 mL)稀释,并用乙醚(10 mL)洗涤。用1N HCl水溶液将水层酸化至pH4,并用二氯甲烷(3 x 10 mL)提取。用盐水(5 mL)洗涤有机层,用硫酸钠干燥,过滤,浓缩,提供标题化合物。

[0949] 2.93.3. 2,5-二氧代吡咯烷-1-基6-(乙烯基磺酰胺基)己酸酯

将实施例2.93.2(25 mg)、1-乙基-3-[3-(二甲基氨基)丙基]-碳二亚胺盐酸盐(43.3 mg)和1-羟基吡咯烷-2,5-二酮(15.6 mg)的混合物在二氯甲烷(8 mL)中搅拌过夜,用饱和氯化铵水溶液和盐水洗涤,并浓缩,提供标题化合物。

[0950] 2.93.4. N-{6-[(乙烯基磺酰胺基)氨基]己酰基}-L-缬氨酰-N-{4-[(2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸酰胺

如实施例2.83所述,制备标题化合物,分别用实施例2.66.1和实施例2.93.3,替代实施例1.2.9和2,5-二氧代吡咯烷-1-基6-(2-氯乙酰胺基)己酸酯。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ ppm 12.85 (s, 1H), 9.98 (s, 1H), 8.05 (dd, 2H), 7.79 (d, 2H), 7.60 (t, 3H), 7.55-7.40 (m, 3H), 7.36 (td, 2H), 7.27 (d, 3H), 7.19 (t, 1H), 6.95 (d, 1H), 6.66 (dd, 1H), 6.09-5.90 (m, 2H), 4.97 (d, 4H), 4.39 (q, 1H), 4.20 (t, 1H), 3.88 (t, 2H), 3.80 (d, 2H), 3.25 (d, 2H), 2.97 (dt, 4H), 2.78 (q, 2H), 2.64 (q, 2H), 2.22-1.86 (m, 6H), 1.77-0.89 (m, 16H), 0.89-0.72 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1460.6 (M-H).

[0951] 2.94. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-(1-{{3-(2-{{3-((6-[(碘代乙酰基)氨基]己酰基)氨基)丙基](2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基}-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶-2-甲酸(合成子NA)

使用实施例2.83的方法,分别用实施例2.61.2和2,5-二氧代吡咯烷-1-基6-(2-碘代乙酰胺基)己酸酯替代实施例1.2.9和2,5-二氧代吡咯烷-1-基6-(2-氯乙酰胺基)己酸酯,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ ppm 12.87 (s, 1H), 8.98 (s, 1H), 8.20 (t, 1H), 8.04 (d, 1H), 7.91 (t, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.53 (d, 1H), 7.50-7.41 (m, 2H), 7.36 (td, 2H), 7.29 (s, 1H), 6.96 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 3.89 (t, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.06 (dt, 8H), 2.89 (t, 2H), 2.17-1.99 (m, 5H), 1.76 (s, 2H), 1.56-0.93 (m, 14H), 0.86 (s, 6H). MS (ESI) m/e 1190.3 (M-H).

[0952] 2.95. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-

基]-3-[1-[3-[2-[3-[6-(乙基磺酰基)己酰基]氨基]丙基](2-磺乙基)氨基]乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基]吡啶-2-甲酸(合成子NB)

使用实施例2.83的方法,制备标题化合物,分别用实施例1.61.2和实施例2.82.5,替代实施例1.2.9和2,5-二氧化吡咯烷-1-基6-(2-氯乙酰胺基)己酸酯。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.87 (s, 1H), 8.98 (s, 1H), 8.04 (d, 1H), 7.92 (t, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.53 (d, 1H), 7.51-7.41 (m, 2H), 7.36 (td, 2H), 7.29 (s, 1H), 7.01-6.90 (m, 2H), 6.29-6.16 (m, 2H), 4.96 (s, 2H), 3.89 (t, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.45-3.19 (m, 2H), 3.19-2.95 (m, 8H), 2.89 (t, 2H), 2.16-1.98 (m, 5H), 1.84-1.66 (m, 2H), 1.64-1.21 (m, 13H), 1.08 (dq, 6H), 0.86 (s, 6H). MS (ESI) m/e 1199.3 (M+H).

[0953] 2.96. 合成N-[3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[(2-({3-[4-(6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基]甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基]甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸(合成子NP)

2.96.1. (S)-(9H-芴-9-基)甲基(1-((4-(羟甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基甲酸酯

将(S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-5-脲基戊酸(40 g)溶于二氯甲烷(1.3L)中。将(4-氨基苯基)甲醇(13.01 g)、2-(3H-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1,1,3,3-四甲基异脲六氟磷酸盐(V)(42.1 g)和N,N-二异丙基乙胺(0.035 L)加入到该溶液中,并将得到的混合物在室温下搅拌16小时。过滤收集产物,并用二氯甲烷冲洗。将合并的固体真空干燥,得到标题化合物,其不用进一步纯化,在下一步中直接使用。MS (ESI) m/e 503.3 (M+H)⁺。

[0954] 2.96.2. (S)-2-氨基-N-(4-(羟甲基)苯基)-5-脲基戊酰胺

将实施例2.96.1(44 g)溶于N,N-二甲基甲酰胺(300 mL)中。将该溶液用二乙胺(37.2 mL)处理,并在室温下搅拌一个小时。过滤该反应混合物,并将溶剂减压浓缩。用碱性氧化铝色谱纯化粗品,用0-30%的甲醇/乙酸乙酯的梯度进行洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 281.2 (M+H)⁺。

[0955] 2.96.3. ((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸叔丁基酯

将(S)-2-(叔丁氧羰基氨基)-3-甲基丁酸(9.69 g)溶于N,N-二甲基甲酰胺(200 mL)中。向该溶液中加入2-(3H-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1,1,3,3-四甲基异脲六氟磷酸盐(V)(18.65 g),并将该反应在室温下搅拌一个小时。加入实施例2.96.2(12.5 g)和N,N-二异丙基乙胺(15.58 mL),并将该反应混合物在室温下搅拌16小时。减压浓缩溶剂,用硅胶色谱纯化残余物,用10%的甲醇/二氯甲烷洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 480.2 (M+H)⁺。

[0956] 2.96.4. (S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-N-(4-(羟甲基)苯基)-5-脲基戊酰胺

将实施例2.96.3(31.8 g)溶于二氯甲烷(650 mL)中,并将三氟乙酸(4.85 mL)加入到

该溶液中。将该反应混合物在室温下搅拌三小时。减压浓缩溶剂,得到粗品标题化合物和4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基2,2,2-三氟乙酸酯的混合物。将粗品溶于1:1的二噁烷/水溶液(300 mL)中,并向该溶液中加入氢氧化钠(5.55 g)。将该混合物在室温下搅拌三小时。真空浓缩溶剂,用反相HPLC纯化粗品,使用CombiFlash系统,用5-60%的乙腈/水(含有0.05% v/v氢氧化铵)的梯度进行洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 380.2 (M+H)⁺。

[0957] 2.96.5. (S)-2-((S)-2-(3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-N-(4-(羟甲基)苄基)-5-脲基戊酰胺

向实施例2.96.4(38 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)溶液中加入2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸酯(26.7 mg)。将该反应混合物在室温下搅拌过夜,用反相HPLC纯化,使用Gilson系统,用梯度10-85%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 531.06 (M+H)⁺。

[0958] 2.96.6. 4-((S)-2-((S)-2-(3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苄基)碳酸酯

向实施例2.96.5(53.1 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(3 mL)溶液中加入双(4-硝基苄基)碳酸酯(60.8 mg)。将该反应混合物在室温下搅拌过夜,用反相HPLC纯化,使用Gilson系统,用梯度10-85%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 696.2 (M+H)⁺。

[0959] 2.96.7. N-[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[[{2-({3-[(4-{6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基]甲基]苄基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸

如实施例2.1所述,制备标题化合物,分别用实施例1.24.2和实施例2.96.6,替代实施例1.2.9和4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基(4-硝基苄基)碳酸酯。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ ppm 9.91 (s, 1H), 9.80 (s, 2H), 8.33 (s, 2H), 7.96 (s, 2H), 7.81 (d, 4H), 7.61 (s, 2H), 7.43 (d, 10H), 7.34-7.02 (m, 14H), 5.92 (s, 8H), 4.94-4.70 (m, 6H), 4.18 (d, 11H), 3.85 (s, 8H), 3.05-2.66 (m, 8H), 2.30-2.13 (m, 14H), 2.03-1.49 (m, 2H), 0.92-0.63 (m, 40H). MS (ESI) m/e 1408.3 (M-H)⁺。

[0960] 2.97. 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[3-{2-[(2-羧乙基){[(2-[[2S,3R,4S,5S,6S]-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基}氧基]-4-[2-(2-[[3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]氨基}乙氧基)乙氧基]苄基}氧基]羰基}氨基]乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基]-5-甲基-1H-吡唑-4-基}吡啶-2-甲酸(合成子NN)

2.97.1. 4-(2-(2-溴乙氧基)乙氧基)-2-羟基苯甲醛

将2,4-二羟基苯甲醛(1.0 g)、1-溴-2-(2-溴乙氧基)乙烷(3.4 g)和碳酸钾(1.0 g)的乙腈(30 mL)溶液加热至75°C,保持2天。冷却该反应,用乙酸乙酯(100 mL)稀释,用水(50 mL)和盐水(50 mL)洗涤,用硫酸镁干燥,过滤,并浓缩。用硅胶色谱纯化残余物,用梯度5-30%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,提供标题化合物。MS (ELSD) m/e 290.4 (M+H)⁺。

[0961] 2.97.2. 4-(2-(2-叠氨基乙氧基)乙氧基)-2-羟基苯甲醛

向实施例2.97.1 (1.26 g) 的N,N-二甲基甲酰胺 (10 mL) 溶液中加入叠氮化钠 (0.43 g), 并将该反应在室温下搅拌过夜。用乙醚 (100 mL) 稀释该反应, 用水 (50 mL) 和盐水 (50 mL) 洗涤, 用硫酸镁干燥, 过滤, 并浓缩。用硅胶色谱纯化残余物, 用梯度5-30%的乙酸乙酯/庚烷洗脱, 得到标题化合物。MS (ELSD) m/e 251.4 (M+H)⁺。

[0962] 2.97.3. (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-(2-(2-叠氨基乙氧基)乙氧基)-2-甲酰基苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

将实施例2.97.2 (0.84 g)、(3R,4S,5S,6S)-2-溴-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯 (1.99 g) 和氧化银 (I) (1.16 g) 的溶液在乙腈 (15 mL) 中一起搅拌。搅拌过夜之后, 用二氯甲烷 (20 mL) 稀释该反应。加入硅藻土, 过滤该反应, 并浓缩。用硅胶色谱纯化残余物, 用梯度5-75%的乙酸乙酯/庚烷洗脱, 得到标题化合物。

[0963] 2.97.4. (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-(2-(2-叠氨基乙氧基)乙氧基)-2-(羟甲基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

将实施例2.97.3 (0.695 g) 的甲醇 (5 mL) 和四氢呋喃 (2 mL) 溶液冷却至0°C。加入硼氢化钠 (0.023 g), 并将该反应升温至室温。总共搅拌1小时之后, 将反应物倒入乙酸乙酯 (75 mL) 和水 (25 mL) 的混合物中, 并加入饱和碳酸氢钠水溶液 (10 mL)。分离有机层, 用盐水 (50 mL) 洗涤, 用硫酸镁干燥, 过滤, 并浓缩。用硅胶色谱纯化残余物, 用梯度5-85%的乙酸乙酯/庚烷洗脱, 得到标题化合物。MS (ELSD) m/e 551.8 (M-H₂O)⁻。

[0964] 2.97.5. (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)-2-(羟甲基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

在50 mL耐压瓶中, 向实施例2.97.4 (0.465 g)/四氢呋喃 (20 mL) 中加入5% Pd/C (0.1 g), 并将该混合物在30 psi氢气氛围中摇动16小时。过滤该反应, 并浓缩, 得到标题化合物, 其不用进一步纯化, 直接使用。MS (ELSD) m/e 544.1 (M+H)⁺。

[0965] 2.97.6. (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-(2-(2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-2-(羟甲基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

将实施例2.97.5 (0.443 g) 的二氯甲烷 (8 mL) 溶液冷却至0°C, 然后加入N,N-二异丙基乙胺 (0.214 mL) 和(9H-芴-9-基)甲基氯甲酸酯 (0.190 g)。1小时之后, 将该反应浓缩。用硅胶色谱纯化残余物, 用梯度5-95%的乙酸乙酯/庚烷洗脱, 得到标题化合物。MS (ELSD) m/e 748.15 (M-OH)⁻。

[0966] 2.97.7. (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-(2-(2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙氧基)乙氧基)-2-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

向实施例2.97.6 (0.444 g) 的N,N-二甲基甲酰胺 (5 mL) 溶液中加入N,N-二异丙基乙胺 (0.152 mL) 和双(4-硝基苯基)碳酸酯 (0.353 g), 并在室温下搅拌该反应。5小时之后, 将该反应浓缩。用硅胶色谱纯化残余物, 用梯度5-90%的乙酸乙酯/庚烷洗脱, 得到标题化合物。

[0967] 2.97.8. 3-(1-((3-(2-(((4-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)-2-((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)(2-羧乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸, 三氟乙酸盐

向实施例1.25 (0.070 g) 和实施例2.97.7 (0.070 g) 的N,N-二甲基甲酰胺 (0.4 mL) 溶液中加入N,N-二异丙基乙胺 (0.066 mL)。搅拌过夜之后,浓缩该反应。将残余物溶于四氢呋喃 (0.75 mL) 和甲醇 (0.75 mL) 中,并加入氢氧化锂一水合物 (0.047 g) 的水 (0.75 mL) 溶液。3小时之后,用N,N-二甲基甲酰胺 (1 mL) 稀释该反应,并用三氟乙酸 (0.116 mL) 淬灭。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-75%的乙腈/水 (含有0.1% v/v三氟乙酸) 洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

[0968] 2.97.9. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-(((2-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)-4-(2-(2-(3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰胺基)乙氧基)乙氧基)苄基)氧基)羰基)(2-羧乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

将实施例2.97.8 (0.027 g)、2,5-二氧化吡咯烷-1-基3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸酯 (7.92 mg) 和N,N-二异丙基乙胺 (0.017 mL) 的溶液在N,N-二甲基甲酰胺 (0.4 mL) 中一起搅拌1小时。用水和N,N-二甲基甲酰胺的1:1混合物 (2 mL) 淬灭该反应。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-75%的乙腈/水 (含有0.1% v/v三氟乙酸) 洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ ppm 12.81 (s, 1H), 8.03 (d, 2H), 7.79 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.54-7.40 (m, 3H), 7.36 (td, 2H), 7.28 (s, 1H), 7.18 (d, 1H), 6.98 (s, 2H), 6.95 (d, 1H), 6.69 (d, 1H), 6.60 (d, 1H), 5.03 (d, 3H), 4.96 (s, 2H), 4.05 (s, 2H), 3.93 (d, 2H), 3.88 (t, 2H), 3.80 (d, 2H), 3.75-3.67 (m, 2H), 3.59 (t, 6H), 3.29 (q, 6H), 3.17 (q, 2H), 3.01 (t, 2H), 2.47 (d, 2H), 2.33 (t, 2H), 2.09 (s, 3H), 1.44-0.88 (m, 12H), 0.82 (d, 6H); MS (ESI) m/e 1396.5 (M-H)⁻.

[0969] 2.98. 合成N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-3-磺基-L-丙氨酸-L-缬氨酸-N-{4-[[2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-羧乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸酰胺(合成子N0)

2.98.1. 3-(1-((3-(2-(((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(2-羧乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

将实施例1.25.2 (0.059 g)、(9H-芴-9-基)甲基((S)-3-甲基-1-((S)-1-((4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯 (0.053 g) 和N,N-二异丙基乙胺 (0.055 mL) 的N,N-二甲基甲酰胺 (0.5 mL) 溶液在室温下搅拌过夜。将二乙胺 (0.066 mL) 加入到该反应中,并继续搅拌30分钟。用N,N-二甲基甲酰胺和水的1:1混合物 (2 mL) 稀释该反应,并加入三氟乙酸 (0.073 mL),淬灭该反应。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-75%的乙腈/水 (含有0.1% v/v三氟乙酸) 洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 1223.8 (M+H)⁺。

[0970] 2.98.2. 3-(1-((3-(2-(((4-((S)-2-((S)-2-((R)-2-氨基-3-磺基丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(2-羧乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲

基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸,三氟乙酸盐

将(R)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-磺基丙酸(0.021 g)、0-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐(0.020 g)和N,N-二异丙基乙胺(0.031 mL)的N,N-二甲基甲酰胺(0.4 mL)溶液搅拌3分钟。将该溶液加入到实施例2.98.1(0.043 g)的N,N-二甲基甲酰胺(0.4 mL)溶液中。搅拌30分钟之后,加入氢氧化锂一水合物(0.022 g)的水(0.5 mL)溶液,并将该反应搅拌1小时。用N,N-二甲基甲酰胺和水的1:1混合物(2 mL)稀释该反应,并加入三氟乙酸(0.054 mL),淬灭该反应。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-75%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 1376.5 (M+1)。

[0971] 2.98. 3. 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-((2-羧乙基)((4-((S)-2-((S)-2-((R)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基)-3-磺基丙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸

将实施例2.98.2(0.025 g)、2,5-二氧代吡咯烷-1-基6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯(7.77 mg)和N,N-二异丙基乙胺(0.015 mL)的N,N-二甲基甲酰胺(0.4 mL)溶液搅拌1小时。用水和N,N-二甲基甲酰胺的1:1混合物(2 mL)稀释该反应。用反相HPLC纯化该混合物,使用Gilson系统,用10-75%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。

¹H NMR

(400 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ ppm 12.85 (s, 1H), 9.46 (s, 1H), 8.20 (d, 1H), 8.07 (d, 1H), 8.03 (d, 1H), 8.00 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.69 (d, 2H), 7.61 (d, 1H), 7.51 (d, 1H), 7.49-7.45 (m, 1H), 7.43 (d, 1H), 7.36 (td, 2H), 7.29 (s, 1H), 7.25 (d, 2H), 6.97 (s, 2H), 6.95 (d, 1H), 4.98 (s, 2H), 4.96 (s, 2H), 4.73 (s, 2H), 4.16 (s, 2H), 4.03 (dd, 2H), 3.88 (t, 2H), 3.81 (s, 2H), 3.51-3.32 (m, 6H), 3.28 (t, 2H), 3.09 (dd, 1H), 3.06-2.94 (m, 4H), 2.89 (dd, 1H), 2.46 (d, 2H), 2.16 (dd, 1H), 2.09 (d, 4H), 1.74 (s, 2H), 1.62-1.29 (m, 8H), 1.29-0.92 (m, 12H), 0.92-0.78 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1566.6 (M-H)⁻.

[0972] 2.99. 合成对照合成子4-[[[2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基](甲基)氨基甲酰基)氧基)甲基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid)(合成子H)

2.99.1. (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-甲酰基-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

向(2R,3R,4S,5S,6S)-2-溴-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(4 g)的乙腈(100 mL)溶液中加入氧化银(I)(10.04 g)和4-羟基-3-硝基苯甲醛(1.683 g)。将该反应混合物在室温下搅拌4小时,并过滤。浓缩滤液,用硅胶色谱纯化残余物,用5-50%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e (M+18)⁺。

[0973] 2.99.2. (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(4-(羟甲基)-2-硝基苯氧基)-6-(甲氧羰基)四

氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

向在氯仿 (75 mL) 和异丙醇 (18.75 mL) 的混合物中的实施例 2.99.1 (6 g) 溶液中加入 0.87 g 硅胶。将得到的混合物冷却到 0°C, 加入 NaBH₄ (0.470 g), 并将得到的悬浮液在 0°C 下搅拌 45 分钟。将该反应混合物用二氯甲烷 (100 mL) 稀释, 并通过硅藻土过滤。用水和盐水洗涤滤液, 浓缩, 得到粗品, 其不用进一步纯化, 直接使用。MS (ESI) m/e (M+NH₄)⁺。

[0974] 2.99.3. (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-氨基-4-(羟甲基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

使用 10% Pd/C (1.535 g) 作为催化剂, 将实施例 2.99.2 (7 g) 的乙酸乙酯 (81 mL) 搅拌溶液在 20°C、在 1 大气压 H₂ 中氢化 12 小时。通过硅藻土过滤该反应混合物, 并将溶剂减压蒸发。用硅胶色谱纯化残余物, 用 95/5 的二氯甲烷/甲醇洗脱, 得到标题化合物。

[0975] 2.99.4. 3-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酸

在 500 mL 烧瓶中, 将 3-氨基丙酸 (4.99 g) 溶于 10% Na₂CO₃ 水溶液 (120 mL) 中, 并用冰浴冷却。向所得到的溶液中逐渐地加入 1,4-二噁烷 (100 mL) 中的 (9H-芴-9-基) 甲基氯甲酸酯 (14.5 g)。将该反应混合物在室温下搅拌 4 小时, 然后加入水 (800 mL)。将水相层与反应混合物分离, 并用乙醚 (3 x 750 mL) 洗涤。将水层用 2N HCl 水溶液酸化到 pH2, 并用乙酸乙酯 (3 x 750 mL) 提取。将有机层合并, 并浓缩, 获得粗品。将粗品在乙酸乙酯:己烷 (1:2, 300 mL) 的混合溶剂中重结晶, 得到标题化合物。

[0976] 2.99.5. (9H-芴-9-基) 甲基 (3-氯-3-氧代丙基) 氨基甲酸酯

向实施例 2.99.4 的二氯甲烷 (160 mL) 溶液中加入亚硫酸酐 (50 mL)。将该混合物在 60°C 下搅拌 1 小时。将该混合物冷却, 并浓缩, 得到标题化合物。

[0977] 2.99.6. (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-(3-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-4-(羟甲基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

向实施例 2.99.3 (6 g) 的二氯甲烷 (480 mL) 溶液中加入 N,N-二异丙基乙胺 (4.60 mL)。加入实施例 2.99.5 (5.34 g), 并将该混合物在室温下搅拌 30 分钟。将该混合物倒入饱和碳酸氢钠水溶液中, 并用乙酸乙酯提取。将合并的提取物用水和盐水洗涤, 并用硫酸钠干燥。过滤, 浓缩, 得到残余物, 通过径向色谱纯化残余物, 使用 0-100% 的乙酸乙酯/石油醚作为流动相, 得到标题化合物。

[0978] 2.99.7. (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(2-(3-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙酰胺基)-4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

向实施例 2.99.6 (5.1 g) 和 N,N-二甲基甲酰胺 (200 mL) 的混合物中加入双 (4-硝基苯基) 碳酸酯 (4.14 g) 和 N,N-二异丙基乙胺 (1.784 mL)。将该混合物在室温下搅拌 16 小时, 并减压浓缩。将粗品溶于二氯甲烷中, 并直接吸到 1 mm 径向色谱板上, 用 50-100% 的乙酸乙酯/己烷洗脱, 得到标题化合物。MS (ESI) m/e (M+H)⁺。

[0979] 2.99.8. 3-(1-((3-(2-(((3-(3-氨基丙酰胺基)-4-((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)(甲基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

在 0°C, 向实施例 1.13.7 (325 mg) 和实施例 2.99.7 (382 mg) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (9

mL) 溶液中加入N,N-二异丙胺(49.1 mg)。将该反应混合物在0℃下搅拌5小时,并加入乙酸(22.8 mg)。将所得到的混合物用乙酸乙酯稀释,并用水和盐水洗涤。用Na₂SO₄干燥有机层,过滤,并浓缩。

[0980] 将残余物溶于四氢呋喃(10 mL)和甲醇(5 mL)的混合物中。在0℃,向此溶液中加入1M氢氧化锂水溶液(3.8 mL)。将得到的混合物在0℃下搅拌1小时,用乙酸酸化,并浓缩。将浓缩物冷冻干燥,提供粉末。将该粉末溶于N,N-二甲基甲酰胺(10 mL)中,在冰浴中冷却,并在0℃下加入哌啶(1 mL)。将该混合物在0℃下搅拌15分钟,并加入1.5 mL乙酸。通过反相HPLC纯化该溶液,使用Gilson系统,用30-80%的乙腈/水(包含0.1% v/v三氟乙酸)洗脱,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 1172.2 (M+H)⁺。

[0981] 2.99.9. 4-[({[2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基)(甲基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-2-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid)

在0℃,向在N,N-二甲基甲酰胺(5 mL)中的实施例2.99.8(200 mg)中加入2,5-二氧代吡咯烷-1-基6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯(105 mg)和N,N-二异丙基乙胺(0.12 mL)。将该混合物在0℃下搅拌15分钟,升温至室温,并在Gilson系统上用反相HPLC纯化,使用100g C18柱,用30-80%的乙腈/水(包含0.1% v/v三氟乙酸)洗脱,提供标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ ppm 12.85 (s, 2H) 9.07 (s, 1H) 8.18 (s, 1H) 8.03 (d, 1H) 7.87 (t, 1H) 7.79 (d, 1H) 7.61 (d, 1H) 7.41-7.53 (m, 3H) 7.36 (q, 2H) 7.28 (s, 1H) 7.03-7.09 (m, 1H) 6.96-7.03 (m, 3H) 6.94 (d, 1H) 4.95 (s, 4H) 4.82 (t, 1H) 3.88 (t, 3H) 3.80 (d, 2H) 3.01 (t, 2H) 2.86 (d, 3H) 2.54 (t, 2H) 2.08 (s, 3H) 2.03 (t, 2H) 1.40-1.53 (m, 4H) 1.34 (d, 2H) 0.90-1.28 (m, 12H) 0.82 (d, 6H). MS (ESI) m/e 1365.3 (M+H)⁺。

[0982] 2.100. 合成对照合成子4-[({[2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基)(甲基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-2-({N-[19-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-17-氧代-4,7,10,13-四氧杂-16-氮杂十九烷-1-酰基]-β-丙氨酰}氨基)苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid)(合成子I)

使用实施例2.99.9的方法,制备标题化合物,用2,5-二氧代吡咯烷-1-基1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-氧代-7,10,13,16-四氧杂-4-氮杂十九烷-19-酸酯替代2,5-二氧代吡咯烷-1-基6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ ppm 8.95 (s, 1H) 8.16 (s, 1H) 7.99 (d, 1H) 7.57-7.81 (m, 4H) 7.38-7.50 (m, 3H) 7.34 (q, 2H) 7.27 (s, 1H) 7.10 (d, 1H) 7.00 (d, 1H) 6.88-6.95 (m, 2H) 4.97 (d, 4H) 4.76 (d, 2H) 3.89 (t, 2H) 3.84 (d, 2H) 3.80 (s, 2H) 3.57-3.63 (m, 4H) 3.44-3.50 (m, 4H) 3.32-3.43 (m, 6H) 3.29 (t, 2H) 3.16 (q, 2H) 3.02 (t, 2H) 2.87 (s, 3H) 2.52-2.60 (m, 2H) 2.29-2.39 (m, 3H) 2.09 (s, 3H) 1.37 (s, 2H) 1.20-1.29 (m, 4H) 1.06-1.18 (m, 4H) 0.92-1.05 (m, 2H) 0.83 (s, 6H). MS (ESI) m/e 1568.6 (M-H)⁻。

[0983] 2.101 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-

基]-3-{1-[3-[(43s,46s)-43-({[4-[(2S)-2-[[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基]-3-甲基丁酰基]氨基]丙酰基]氨基]苄基)氧基]羰基]氨基)-46-甲基-37,44,47-三氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂-38,45,48-三氮杂五十烷-50-基]氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基]吡啶-2-甲酸

如实施例2.7所述,用实施例1.66.7替代实施例1.13.8,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.85 (s, 1H), 8.21 – 7.97 (m, 4H), 7.79 (d, 4H), 7.71 – 7.32 (m, 15H), 7.28 (t, 4H), 7.02 – 6.91 (m, 3H), 4.95 (d, 5H), 4.33 – 4.12 (m, 3H), 3.98 – 3.76 (m, 11H), 3.41 – 3.21 (m, 22H), 3.21 – 2.90 (m, 12H), 2.24 – 2.05 (m, 7H), 1.81 – 0.90 (m, 46H), 0.90 – 0.78 (m, 17H). MS (ESI) m/e 2014.0 (M+H)⁺, 1007.5 (M+2H)²⁺, 672.0 (M+3H)³⁺.

[0984] 2.102 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[(2-({3-[(4-{6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1,2,3,4-四氢喹啉-7-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基]甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]氧基)乙基](2-羧乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸胺

如实施例2.1所述,用实施例1.62.5替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 9.95 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.02 (d, 1H), 7.96 (d, 1H), 7.88 – 7.68 (m, 4H), 7.57 (d, 2H), 7.42 (s, 2H), 7.34 (t, 1H), 7.25 (dd, 3H), 7.19 (t, 1H), 6.95 (s, 2H), 5.96 (s, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.35 (q, 1H), 4.15 (dd, 1H), 3.93 (t, 2H), 3.83 (d, 2H), 3.32 (t, 2H), 3.27 (d, 1H), 2.93 (dtd, 1H), 2.80 (t, 2H), 2.47 (p, 19H), 2.24 – 2.02 (m, 5H), 1.91 (p, 3H), 1.74 – 1.25 (m, 8H), 1.27 – 0.89 (m, 10H), 0.79 (dd, 13H). MS (ESI) m/e 1414.4 (M+H)⁺.

[0985] 2.103 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基]甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]氧基)乙基](2-羧乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸胺

如实施例2.1所述,用实施例1.68.7替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 13.07 (s, 1H), 9.95 (s, 1H), 8.99 (s, 1H), 8.33 (dd, 1H), 8.25 – 8.09 (m, 3H), 8.12 – 7.95 (m, 3H), 7.90 (d, 1H), 7.76 (dd, 2H), 7.73 – 7.63 (m, 1H), 7.56 (s, 3H), 7.41 – 7.29 (m, 1H), 6.95 (s, 2H), 5.97 (s, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.35 (d, 2H), 4.15 (dd, 1H), 3.50 – 3.22 (m, 10H), 2.92 (dtd, 3H), 2.29 – 2.00 (m, 6H), 1.92 (q, 1H), 1.75 – 0.88 (m, 24H), 0.79 (dd, 15H). MS (ESI) m/e 1409.5 (M+H)⁺.

[0986] 2.104 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[3-{2-[(2-羧乙基)][(2-[(2R,3S,4R,5R,6R)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]氧基)-4-[2-(2-[[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基]乙氧基)乙氧基]苄基)氧基]羰基]氨基]乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基]吡啶-2-甲酸

2.104.1 3-(1-((3-(2-(((4-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)-2-((2R,3S,4R,5R,6R)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)(2-羧乙基)氨基)乙氧

基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基)吡啶甲酸

向冷却(0°C)的实施例2.97.7(26.9 mg)和实施例1.68.7(23.5 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(2 mL)混合物中加入N-乙基-N-异丙基丙-2-胺(0.043 mL)。将该反应慢慢地加热至室温,并搅拌过夜。LC/MS显示了期望的产物的主尖峰。向该反应混合物中加入水(1 mL)和LiOH·H₂O(20 mg)。将该混合物在室温下搅拌3小时。将该混合物用N,N-二甲基甲酰胺(2 mL)稀释,过滤,用反相HPLC纯化,使用Gilson系统(C18柱),用20-80%的乙腈/水(包含0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 1242.2 (M-H)⁻。

[0987] 2.104.2 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-3-{1-[(3-{2-[(2-羧乙基){[(2-[(2R,3S,4R,5R,6R)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]氧基}-4-[2-(2-{[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}乙氧基)乙氧基]苄基)氧基]羰基}氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基}吡啶-2-甲酸

如实施例2.97.9所述,制备标题化合物,用实施例2.104.1替代实施例2.97.8,用2,5-二氧化吡咯烷-1-基6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯替代2,5-二氧化吡咯烷-1-基3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸酯。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ ppm 13.06 (s, 2H), 8.99 (s, 1H), 8.34 (dd, 1H), 8.25 – 8.10 (m, 3H), 8.04 (d, 1H), 7.98 (d, 1H), 7.90 (d, 1H), 7.78 (d, 2H), 7.72 – 7.63 (m, 1H), 7.50 – 7.42 (m, 2H), 7.34 (t, 1H), 7.16 (d, 1H), 6.94 (s, 2H), 6.65 (d, 1H), 6.56 (dd, 1H), 4.02 (t, 2H), 3.90 (d, 1H), 3.83 (s, 2H), 3.66 (t, 3H), 3.28 (q, 4H), 3.15 (q, 2H), 2.19 (s, 3H), 1.99 (t, 2H), 1.51 – 1.30 (m, 6H), 1.28 – 0.88 (m, 11H), 0.81 (d, 6H). MS (ESI) m/e 1433.4 (M+H)⁺。

[0988] 2.105 合成N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[(2-[(3-[(4-[(6-[5-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-3-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苄基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸

如实施例2.1所述,用实施例1.69.6替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ ppm 13.23 (s, 1H), 9.99 (s, 1H), 9.73 (d, 1H), 9.45 (s, 1H), 8.33 (t, 2H), 8.18 (d, 1H), 8.07 (dd, 2H), 8.02 (dd, 1H), 7.97 (dd, 1H), 7.80 (t, 2H), 7.65 – 7.55 (m, 2H), 7.53 – 7.44 (m, 2H), 7.37 (t, 1H), 7.27 (d, 2H), 6.98 (s, 2H), 4.98 (d, 2H), 4.38 (d, 1H), 4.18 (d, 1H), 3.56 – 3.31 (m, 3H), 3.26 (d, 2H), 3.08 – 2.89 (m, 2H), 2.64 (t, 2H), 2.23 (d, 3H), 2.12 (dp, 2H), 1.95 (s, 1H), 1.68 (s, 1H), 1.62 – 1.29 (m, 7H), 1.29 – 0.90 (m, 9H), 0.90 – 0.74 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1446.3 (M-H)⁻。

[0989] 2.106 合成N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[(2-[(3-[(4-[(6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-6-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-羧乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苄基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸

如实施例2.1所述,用实施例1.70替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 9.97 (s, 1H), 9.12 (d, 1H), 8.93 (s, 1H), 8.60 (dd, 1H), 8.24 (dd, 2H), 8.05 (dd, 2H), 7.99 – 7.87 (m, 2H), 7.78 (dd, 2H), 7.67 – 7.51 (m, 3H), 7.43 – 7.31 (m, 1H), 7.26 (d, 2H), 6.97 (s, 2H), 5.98 (s, 1H), 4.97 (s, 2H), 4.37 (d, 2H), 4.17 (dd, 1H), 3.49 – 3.22 (m, 11H), 2.95 (ddd, 3H), 2.20 (s, 4H), 2.19 – 1.86 (m, 3H), 1.74 – 0.89 (m, 22H), 0.81 (dd, 15H). MS (ESI) m/e 1410.4 (M-H) $^+$.

[0990] 2.107 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[(2-({3-[(4-{6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-6-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基]甲基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸胺

如实施例2.1所述,用实施例1.70.5替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 9.96 (s, 1H), 9.11 (d, 1H), 8.92 (s, 1H), 8.60 (dd, 1H), 8.23 (dd, 2H), 8.12 – 7.97 (m, 2H), 7.98 – 7.92 (m, 2H), 7.77 (dd, 2H), 7.56 (t, 2H), 7.51 – 7.42 (m, 2H), 7.42 – 7.31 (m, 1H), 7.24 (d, 2H), 6.95 (s, 2H), 4.95 (d, 2H), 4.36 (q, 1H), 3.90 – 3.80 (m, 3H), 3.52 – 3.27 (m, 3H), 3.23 (t, 2H), 3.06 – 2.83 (m, 2H), 2.67 – 2.58 (m, 2H), 2.19 (s, 3H), 2.09 (dp, 2H), 1.93 (d, 1H), 1.72 – 1.25 (m, 7H), 1.27 – 0.88 (m, 10H), 0.88 – 0.70 (m, 13H). MS (ESI) m/e 1446.3 (M-H) $^+$.

[0991] 2.108 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[(2-({3-[(4-{6-[5-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)喹啉-3-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基]甲基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-羧乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸胺

如实施例2.1所述,用实施例1.71替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 9.97 (s, 1H), 9.70 (d, 1H), 9.40 (d, 1H), 8.31 (dd, 2H), 8.16 (d, 1H), 8.05 (t, 2H), 8.01 – 7.91 (m, 2H), 7.78 (dd, 2H), 7.59 (d, 3H), 7.52 – 7.44 (m, 2H), 7.36 (t, 1H), 7.26 (d, 2H), 6.96 (s, 2H), 5.99 (s, 1H), 4.97 (s, 2H), 4.37 (d, 2H), 4.16 (dd, 1H), 3.53 – 3.20 (m, 9H), 2.94 (dtd, 2H), 2.21 (s, 3H), 2.17 – 1.85 (m, 3H), 1.71 – 0.89 (m, 22H), 0.81 (dd, 14H). MS (ESI) m/e 1410.4 (M-H) $^+$.

[0992] 2.109 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[(2-({3-[(4-{6-[1-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-5,6-二氢咪唑并[1,5-a]吡嗪-7(8H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基]甲基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸胺

在实施例2.1中,用实施例1.72.8替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜 d_6) δ ppm 11.07 (bs, 1H), 10.00 (bs, 1H), 8.27 (bs, 1H), 8.12 (m, 2H), 8.07 (d, 1H), 7.99 (d, 1H), 7.84-7.74 (m, 2H), 7.65 (d, 1H), 7.59 (m, 2H), 7.54-7.44 (m, 1H), 7.42-7.31 (m, 2H), 7.28 (m, 2H), 7.21 (q, 1H), 7.00 (m, 1H) 6.94-6.92 (m, 2H), 6.04 (bs, 1H), 5.14 (s, 2H), 4.99 (m, 3H), 4.39 (m, 2H), 4.30 (bs, 2H), 4.20 (m, 2H), 4.12 (bs, 2H), 3.70-3.64 (m, 2H), 3.50 (m, 2H), 3.44-3.35 (m, 2H), 3.27 (m, 2H), 3.02 (m, 2H), 2.95 (m, 2H), 2.68 (t, 2H), 2.14 (m, 4H), 1.96 (m, 1H), 1.69 (m, 1H), 1.58 (m, 1H), 1.47 (m, 4H), 1.36 (m, 2H), 1.30-1.02 (m, 8H), 0.98 (m, 2H), 0.85-0.80 (m, 16 H).

[0993] 2.110 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-([2-({3-[4-{6-[7-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-1H-吡啶-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸胺

在实施例2.1中,用实施例1.74.6替代实施例1.2.9,制备实施例2.110。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 11.30 (s, 1H), 9.93 (s, 1H), 8.26 (d, 1H), 8.17 (d, 1H), 8.02 (d, 1H), 7.92-7.84 (m, 3H), 7.76 (d, 1H), 7.69 (d, 1H), 7.54 (d, 3H), 7.47 (s, 1H), 7.35 (dd, 2H), 7.22 (t, 3H), 7.08 (t, 1H), 6.93 (s, 2H), 4.90 (s, 2H), 4.84 (t, 2H), 4.33 (q, 1H), 4.16-4.09 (m, 1H), 3.32 (t, 4H), 2.99 (m, 6H), 2.21 (s, 3H), 2.09 (m, 2H), 1.91 (m, 1H), 1.71-0.71 (m, 25H). MS (ESI) m/e 1434.4 (M-H)⁻.

[0994] 2.111 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-[4-([3-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-2-(6-羧基-5-{1-[3,5-二甲基-7-{2-[(2-磺乙基)氨基]乙氧基}三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶-2-基)-1,2,3,4-四氢异喹啉-6-基]丙基)(甲基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基]-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸胺

如实施例2.1所述,用实施例1.75.14替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 12.60 (bs, 1H), 9.98 (s, 1H), 8.33 (m, 2H), 8.02 (d, 2H), 7.75 (d, 2H), 7.55 (d, 2H), 7.49 (m, 3H), 7.29 (m, 1H), 7.25 (s, 4H), 6.99 (d, 2H), 6.95 (d, 1H), 5.90 (m, 1H), 5.42 (m, 2H), 4.95 (s, 2H), 4.90 (m, 2H), 4.35 (t, 1H), 4.18 (t, 1H), 3.85 (m, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.55 (s, 3H), 3.52 (m, 2H), 3.35 (m, 4H), 3.22 (m, 4H), 3.08 (m, 2H), 2.99 (m, 2H), 2.92 (m, 2H), 2.85 (m, 2H), 2.79 (t, 2H), 2.52 (m, 1H), 2.15 (m, 1H), 2.09 (s, 3H), 1.94 (m, 1H), 1.88 (m, 1H), 1.68 (m, 1H), 1.54 (m, 1H), 1.42 (m, 4H), 1.38 (m, 4H), 1.27 (m, 4H), 1.13 (m, 4H), 1.02 (m, 2H), 0.85 (s, 6H), 0.78 (m, 6H). MS (ESI) m/e 1523.3 (M+H)⁺, 1521.6 (M-H)⁻.

[0995] 2.112 合成N-(6-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}己酰基)-L-缬氨酰-N-{4-([2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸胺

2.112.1 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-(((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-

吡啶-4-基)吡啶甲酸

在冰浴中,将实施例1.2.9的三氟乙酸盐(390 mg)、((S)-3-甲基-1-(((S)-1-(4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸叔丁基酯(286 mg)和1-羟基苯并三唑水合物(185 mg)在N,N-二甲基甲酰胺(5 mL)中冷却,并加入N,N-二异丙基乙胺(0.35 mL)。将该混合物在0℃下搅拌30分钟,然后在室温下搅拌过夜。将该反应混合物用二甲亚砜稀释至10 mL,在Gilson系统(C18柱)上,用反相HPLC纯化,用20-80%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 680.1 (M+2H)²⁺。

[0996] 2.112.2 3-(1-((3-(2-(((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

在0℃,将实施例2.112.1(300 mg)在10 mL二氯甲烷中用三氟乙酸(4 mL)处理30分钟,并将该混合物浓缩。将残余物溶于乙腈和水的混合物中,冷冻干燥,提供目标产物的TFA盐。MS (ESI) m/e 1257.4 (M-H)⁻。

[0997] 2.112.3 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-(((4-((13S,16S)-13-异丙基-2,2-二甲基-4,11,14-三氧代-16-(3-脲基丙基)-3-氧杂-5,12,15-三氮杂十七烷酰胺基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸

在冰-水浴中,将实施例2.112.2(三氟乙酸盐,385 mg,)和1-羟基苯并三唑水合物(140 mg)在N,N-二甲基甲酰胺(3 mL)中冷却。逐滴加入N,N-二异丙基乙胺(226 μl),而后加入2,5-二氧化吡咯烷-1-基6-((叔丁氧羰基)氨基)己酸酯(127 mg),并将该混合物搅拌过夜。在Gilson系统(C18柱)上,用反相HPLC纯化该混合物,用20-75%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 1470.2 (M-H)⁻。

[0998] 2.112.4 3-(1-((3-(2-(((4-((S)-2-((S)-2-(6-氨基己酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

使用实施例2.112.2的方法,用实施例2.112.3替代实施例2.112.1,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 1370.5 (M-H)⁻。

[0999] 2.112.5 N-(6-[[2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基]乙酰基]氨基)己酰基)-L-缬氨酸-N-{4-[[2-((3-[[4-[[6-[[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸酰胺

在0℃,将实施例2.112.4(25 mg)和2,5-二氧化吡咯烷-1-基2-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酸酯(9.19 mg)在N,N-二甲基甲酰胺(0.3 mL)中用N,N-二异丙基乙胺(25.4 μl)处理30分钟。在Gilson系统(C18柱)上,用反相HPLC纯化该反应混合物,用35-65%的乙腈/4 mM乙酸铵水混合物洗脱,提供标题化合物的铵盐。

¹H NMR

(400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ 12.81 (s, 1H), 9.94 (s, 1H), 8.01 (dd, 2H), 7.75 (d, 2H), 7.56 (s, 3H), 7.51 – 7.45 (m, 1H), 7.45 – 7.37 (m, 2H), 7.36 – 7.28 (m, 2H), 7.24 (t, 3H), 7.17 (s, 2H), 7.05 (s, 3H), 7.04 (s, 2H), 6.92 (s, 3H), 5.93 (s, 1H), 5.36 (s, 2H), 5.05 – 4.85 (m, 4H), 4.36 (q, 1H), 4.16 (dd, 1H), 3.95 (s, 2H), 3.85 (t, 2H), 3.76 (d, 2H), 3.22 (d, 1H), 3.05 – 2.81 (m, 6H), 2.68 – 2.53 (m, 2H), 2.09 (d, 4H), 1.76 – 0.86 (m, 14H), 0.86 – 0.71 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1507.5 (M-H)⁺.

[1000] 2.113 合成N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基]甲基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基][3-(β-L-吡喃葡萄糖基氧基(glucopyranuronosyloxy))丙基]氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸酰胺

如实施例2.1所述,用实施例1.87.3替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

¹H NMR (501 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 13.08 (s, 1H), 9.96 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.35 (dd, 1H), 8.24 – 8.13 (m, 3H), 8.09 – 8.02 (m, 2H), 8.00 (d, 1H), 7.91 (d, 1H), 7.77 (dd, 2H), 7.71 – 7.64 (m, 1H), 7.58 (t, 2H), 7.49 – 7.44 (m, 2H), 7.39 – 7.32 (m, 1H), 7.26 (d, 2H), 6.96 (s, 2H), 5.97 (s, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.37 (d, 1H), 4.22 – 4.12 (m, 2H), 3.84 (s, 1H), 3.37 – 3.20 (m, 6H), 3.15 (t, 1H), 3.04 – 2.81 (m, 2H), 2.20 (s, 3H), 2.11 (dp, 2H), 1.99 – 1.88 (m, 1H), 1.71 (q, 2H), 1.62 – 1.26 (m, 8H), 1.29 – 0.88 (m, 11H), 0.80 (dd, 14H). MS (ESI) m/e 1571.4 (M-H)⁺.

[1001] 2.114 合成N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[(2-({3-[(4-{6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)异喹啉-6-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基]甲基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸酰胺

如实施例2.1所述,用实施例1.78.5替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 9.95 (s, 1H), 9.61 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.54 (dd, 1H), 8.43 (d, 1H), 8.24 (d, 1H), 8.08 – 7.95 (m, 3H), 7.77 (dd, 2H), 7.63 – 7.51 (m, 2H), 7.50 – 7.42 (m, 2H), 7.40 – 7.31 (m, 1H), 7.24 (d, 2H), 6.95 (s, 2H), 6.00 (s, 1H), 4.95 (d, 2H), 4.36 (q, 1H), 4.15 (t, 1H), 3.27 (dt, 4H), 3.10 – 2.79 (m, 2H), 2.68 – 2.56 (m, 2H), 2.20 (s, 3H), 1.98 – 1.84 (m, 1H), 1.72 – 0.87 (m, 19H), 0.79 (dd, 13H). MS (ESI) m/e 1446.4 (M-H)⁺.

[1002] 2.115 合成N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-α-谷氨酰基-L-缬氨酰-N-{4-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基]甲基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸酰胺

2.115.1 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-(((4-((6S,9S,12S)-6-(3-(叔丁氧基)-3-氧代丙基)-9-异丙基-2,2-二甲基-4,7,10-三氧代-12-(3-脲基丙基)-3-氧杂-5,8,11-三氮杂十三烷酰胺基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲

酸

在0℃,向实施例2.112.2(85 mg)、1-羟基苯并三唑水合物(41.3 mg)和(S)-5-叔丁基1-(2,5-二氧化吡咯烷-1-基)2-((叔丁氧羰基)氨基)戊二酸酯(54.0 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(3 mL)混合物中逐滴加入N,N-二异丙基乙胺(118μl),并将该混合物在0℃下搅拌1小时。在Gilson系统(C18柱)上,用反相HPLC纯化该混合物,用35-100%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 773.4 (M+2H)²⁺。

[1003] 2.115.2 3-(1-((3-(2-(((4-((S)-2-((S)-2-((S)-2-氨基-4-羧基丁酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

在0℃,将实施例2.115.1(100 mg)在二氯甲烷(11 mL)中用三氟乙酸(4 mL)处理。将该混合物在0℃下搅拌3.5小时,并浓缩。用反相HPLC纯化残余物,用5-60%的乙腈/0.1%三氟乙酸与水的混合物洗脱,提供标题化合物。

[1004] 2.115.3 N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-α-谷氨酰基L-缬氨酰-N-{4-[[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1³·7]癸-1-基)氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸酰胺

在0℃,向1-羟基苯并三唑水合物(2.87 mg)、2,5-二氧化吡咯烷-1-基6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯(5.77 mg)和实施例2.115.2(13 mg)的混合物中加入N,N-二异丙基乙胺(13.08 μl),并将该混合物在0℃下搅拌1小时。在Gilson系统(C18柱)上,用反相HPLC纯化该反应,用20-75%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。

¹H NMR (501 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ 12.83 (s, 1H), 9.99 (s, 1H), 8.13 (d, 1H), 8.02 (dd, 1H), 7.97 (d, 1H), 7.80 - 7.74 (m, 1H), 7.64 (t, 1H), 7.61 - 7.48 (m, 4H), 7.47 - 7.38 (m, 2H), 7.38 - 7.30 (m, 2H), 7.29 - 7.23 (m, 3H), 6.96 (s, 2H), 6.93 (d, 1H), 5.99 (s, 1H), 5.06 - 4.88 (m, 5H), 4.37 (q, 1H), 4.28 (q, 1H), 4.18 (dd, 1H), 3.86 (t, 2H), 3.78 (d, 2H), 3.34 (t, 3H), 3.23 (d, 2H), 2.99 (t, 3H), 2.97 - 2.85 (m, 1H), 2.62 (dt, 1H), 2.26 - 2.15 (m, 2H), 2.16 - 2.00 (m, 5H), 2.01 - 1.79 (m, 1H), 1.75 - 1.50 (m, 3H), 1.50 - 0.87 (m, 17H), 0.81 (dd, 14H). MS (ESI) m/e 1579.6 (M-H)⁺.

[1005] 2.116 合成N-[(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-L-α-谷氨酰基L-缬氨酰-N-{4-[[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1³·7]癸-1-基)氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸酰胺

使用实施例2.115.3的方法,制备标题化合物,用2,5-二氧化吡咯烷-1-基2-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酸酯替代2,5-二氧化吡咯烷-1-基6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ

10.02 (s, 1H), 8.38 (d, 1H), 8.14 (d, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.82 (dd, 2H), 7.60 (t, 3H), 7.55 – 7.40 (m, 3H), 7.35 (td, 2H), 7.31 – 7.24 (m, 3H), 7.07 (s, 2H), 6.95 (d, 1H), 4.97 (d, 4H), 4.37 (ddd, 2H), 4.23 – 4.05 (m, 3H), 3.88 (t, 6H), 3.80 (d, 2H), 3.25 (d, 2H), 3.09 – 2.88 (m, 4H), 2.64 (s, 2H), 2.22 (dd, 2H), 2.09 (s, 3H), 2.02 – 1.49 (m, 5H), 1.47 – 0.89 (m, 12H), 0.83 (dd, 12H). MS (ESI) m/e 1523.5 (M-H)⁻.

[1006] 2.117 合成1-{{2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基}({[4-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-D-缬氨酸-N⁵-氨基甲酰基-D-鸟氨酸}氨基)苄基]氧基)羧基)氨基}-1,2-二脱氧-D-阿拉伯-己糖醇

在实施例2.1中,用实施例1.77.2替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm

12.85 (bs, 1H), 9.98 (s, 1H), 8.06 (d, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.78 (t, 2H), 7.60 (m, 3H), 7.52-7.42 (m, 4H), 7.36 (q, 2H), 7.28 (s, 1H), 7.27 (d, 2H), 6.99 (s, 1H), 6.95 (d, 1H), 5.97 (bs, 1H), 5.00 (m, 2H), 4.95 (s, 2H), 4.39 (m, 1H), 4.19 (m, 2H), 3.88 (t, 2H), 3.79 (m, 4H), 3.58 (m, 4H), 3.46-3.33 (m, 10H), 3.26 (m, 4H), 3.01 (m, 2H), 2.94 (m, 1H), 2.14 (m, 2H), 2.09 (s, 3H), 1.96 (m, 1H), 1.69 (m, 2H), 1.59 (m, 1H), 1.47 (m, 4H), 1.35 (m, 4H), 1.28-1.03 (m, 10H), 0.95 (m, 2H), 0.82 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1493 (M+H)⁺, 1491 (M-H)⁻.

[1007] 2.118 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酸-N-{4-({[2-({3-[4-{6-[4-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-2-氧化异喹啉-6-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基}(甲基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苄基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸胺

如实施例2.1所述,用实施例1.88.4替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm

13.29 (s, 2H), 9.95 (s, 1H), 9.18 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.57 – 8.36 (m, 1H), 8.29 – 7.87 (m, 4H), 7.77 (dd, 2H), 7.56 (d, 2H), 7.53 – 7.41 (m, 2H), 7.24 (d, 2H), 6.95 (s, 2H), 5.95 (s, 1H), 4.94 (s, 2H), 4.35 (q, 1H), 4.15 (dd, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.28 (dt, 4H), 3.06 – 2.77 (m, 3H), 2.19 (d, 3H), 2.17 – 1.80 (m, 3H), 1.74 – 0.88 (m, 22H), 0.79 (dd, 13H). MS (ESI) m/e 1368.4 (M-H)⁻.

[1008] 2.119 合成N-({(3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-[(2-磺基乙氧基)甲基]吡咯烷-1-基)乙酰基)-L-缬氨酸-N-{4-({[2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苄基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸胺

2.119.1 (3R,7aS)-3-苯基四氢吡咯并[1,2-c]噻唑-5(3H)-酮

使用Dean-Stark分水器,在干燥管下,将(S)-5-(羟甲基)吡咯烷-2-酮(25g)、苯甲醛(25.5g)和对甲苯磺酸一水合物(0.50 g)的混合物在甲苯(300 mL)中加热至回流,保持16小时。将该反应冷却至室温,并从不能溶解的物质中倾析出溶剂。用饱和碳酸氢钠水溶液(2x)和盐水(1x)的混合物洗涤有机层。将有机层用硫酸钠干燥,过滤,并减压浓缩。用硅胶

快速色谱纯化残余物,用35/65的庚烷/乙酸乙酯洗脱,得到标题化合物。MS (DCI) m/e 204.0 (M+H)⁺。

[1009] 2.119.2 (3R,6R,7aS)-6-溴-3-苯基四氢吡咯并[1,2-c]噁唑-5(3H)-酮

用40分钟向冷却(-77°C)的实施例2.119.1(44.6 g)的四氢呋喃(670 mL)混合物中逐滴加入双(三甲基甲硅烷基)酰胺锂(1.0M,在己烷中,250 mL),保持T_{rxn}<-73°C。将该反应在-77°C下搅拌2小时,用20分钟逐滴加入溴(12.5 mL),保持T_{rxn}<-64°C。将该反应在-77°C下搅拌75分钟,向该-77°C反应中加入150 mL冷的10%硫代硫酸钠水溶液,淬灭该反应。将该反应升温至室温,并在半饱和的氯化铵水溶液和乙酸乙酯之间分配。分离各层,用水和盐水洗涤有机层,用硫酸钠干燥,过滤,并减压浓缩。用硅胶色谱纯化残余物,用梯度80/20、75/25和70/30的庚烷/乙酸乙酯洗脱,得到标题化合物。MS (DCI) m/e 299.0和301.0 (M+NH₃+H)⁺。

[1010] 2.119.3 (3R,6S,7aS)-6-溴-3-苯基四氢吡咯并[1,2-c]噁唑-5(3H)-酮

以实施例2.119.2的副产物形式分离出标题化合物。MS (DCI) m/e 299.0和301.0 (M+NH₃+H)⁺。

[1011] 2.119.4 (3R,6S,7aS)-6-叠氮基-3-苯基四氢吡咯并[1,2-c]噁唑-5(3H)-酮

向实施例2.119.2(19.3 g)的N,N-二甲基甲酰胺(100 mL)混合物中加入叠氮化钠(13.5 g)。将该反应加热至60°C,保持2.5小时。将该反应冷却至室温,加入水(500 mL)和乙酸乙酯(200 mL),淬灭该反应。分离各层,并用盐水洗涤有机层。将合并的水层用乙酸乙酯(50 mL)反萃取。将合并的有机层用硫酸钠干燥,过滤,并减压浓缩。用硅胶色谱纯化残余物,用78/22的庚烷/乙酸乙酯洗脱,得到标题化合物。MS (DCI) m/e 262.0 (M+NH₃+H)⁺。

[1012] 2.119.5 (3R,6S,7aS)-6-氨基-3-苯基四氢吡咯并[1,2-c]噁唑-5(3H)-酮

向实施例2.119.4(13.5 g)的四氢呋喃(500 mL)和水(50 mL)的混合物中加入聚合物承载的三苯基膦(55 g)。将该反应在室温下机械搅拌过夜。通过硅藻土过滤反应物,用乙酸乙酯和甲苯洗脱。减压浓缩该混合物,溶于二氯甲烷(100 mL)中,用硫酸钠干燥,然后过滤,并浓缩,得到标题化合物,其不用进一步纯化,在随后的步骤中直接使用。MS (DCI) m/e 219.0 (M+H)⁺。

[1013] 2.119.6 (3R,6S,7aS)-6-(二苄基氨基)-3-苯基四氢吡咯并[1,2-c]噁唑-5(3H)-酮

向实施例2.119.5(11.3 g)的N,N-二甲基甲酰胺(100 mL)混合物中加入碳酸钾(7.0 g)、碘化钾(4.2 g)和苄基溴(14.5 mL)。将该反应在室温下搅拌过夜,并通过加入水和乙酸乙酯来淬灭。分离各层,并用盐水洗涤有机层。将合并的水层用乙酸乙酯反萃取。将合并的有机层用硫酸钠干燥,过滤,并减压浓缩。用硅胶色谱纯化残余物,用梯度10%至15%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,得到固体,将固体与庚烷一起研磨,得到标题化合物。MS (DCI) m/e 399.1 (M+H)⁺。

[1014] 2.119.7 (3S,5S)-3-(二苄基氨基)-5-(羟甲基)吡咯烷-2-酮

向实施例2.119.6(13 g)的四氢呋喃(130 mL)混合物中加入对甲苯磺酸一水合物(12.4 g)和水(50 mL),并将该反应加热至65°C,保持6天。将该反应冷却至室温,并加入饱和碳酸氢钠水溶液和乙酸乙酯,淬灭该反应。分离各层,用盐水洗涤有机层。将合并的水层用乙酸乙酯反萃取。将合并的有机层用硫酸钠干燥,过滤,并减压浓缩。将蜡状的固体与庚烷(150 mL)一起研磨,得到标题化合物。MS (DCI) m/e 311.1 (M+H)⁺。

[1015] 2.119.8 (3S,5S)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-(二苄基氨基)吡咯烷-2-酮

向实施例2.119.7 (9.3 g) 和1H-咪唑 (2.2 g) 的N,N-二甲基甲酰胺混合物中加入叔丁基氯代二甲基硅烷 (11.2 mL, 50%重量, 在甲苯中), 并将该反应混合物搅拌过夜。加入水和乙醚, 淬灭该反应混合物。分离各层, 用盐水洗涤有机层。将合并的水层用乙醚反萃取。将合并的有机层用硫酸钠干燥, 过滤, 并减压浓缩。用硅胶色谱纯化残余物, 用35%的乙酸乙酯/庚烷洗脱, 得到标题化合物。MS (DCI) m/e 425.1 (M+H)⁺。

[1016] 2.119.9 2-((3S,5S)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-(二苄基氨基)-2-氧代吡咯烷-1-基)乙酸叔丁基酯

向冷却 (0°C) 的实施例2.119.8 (4.5 g) 的四氢呋喃 (45 mL) 混合物中分为两部分加入95%氢氧化钠 (320 mg)。将该冷却的混合物搅拌40分钟, 并加入2-溴乙酸叔丁基酯 (3.2 mL)。将该反应升温至室温, 并搅拌过夜。加入水和乙酸乙酯, 淬灭该反应。分离各层, 用盐水洗涤有机层。将合并的水层用乙酸乙酯反萃取。将合并的有机层用硫酸钠干燥, 过滤, 并减压浓缩。用硅胶色谱纯化残余物, 用梯度5-12%的乙酸乙酯/庚烷洗脱, 得到标题化合物。MS (DCI) m/e 539.2 (M+H)⁺。

[1017] 2.119.10. 2-((3S,5S)-3-(二苄基氨基)-5-(羟甲基)-2-氧代吡咯烷-1-基)乙酸叔丁基酯

向实施例2.119.9 (5.3 g) 的四氢呋喃 (25 mL) 混合物中加入四丁基氟化铵 (11 mL, 1.0M, 在95/5的四氢呋喃/水中)。将该反应在室温下搅拌一个小时, 而后加入饱和氯化铵水溶液、水和乙酸乙酯, 淬灭该反应。分离各层, 用盐水洗涤有机层。将合并的水层用乙酸乙酯反萃取。将合并的有机层用硫酸钠干燥, 过滤, 并减压浓缩。用硅胶色谱纯化残余物, 用35%的乙酸乙酯/庚烷洗脱, 得到标题化合物。MS (DCI) m/e 425.1 (M+H)⁺。

[1018] 2.119.11. 2-((3S,5S)-5-((2-((4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙氧基)甲基)-3-(二苄基氨基)-2-氧代吡咯烷-1-基)乙酸叔丁基酯

向实施例2.119.10 (4.7 g) 的二甲亚砷 (14 mL) 混合物中加入4-((叔丁基二苄基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基乙烯磺酸酯 (14.5 g) 的二甲亚砷 (14 mL) 混合物。加入碳酸钾 (2.6 g) 和水 (28 μ l), 并将该反应在60°C下、在氮气氛围中加热一天。将该反应冷却至室温, 而后加入盐水、水而后乙醚, 淬灭该反应。分离各层, 用盐水洗涤有机层。将合并的水层用乙醚反萃取。将合并的有机层用硫酸钠干燥, 过滤, 并减压浓缩。用硅胶色谱纯化残余物, 用梯度15-25%的乙酸乙酯/庚烷洗脱, 得到标题化合物。MS (ESI+) m/e 871.2 (M+H)⁺。

[1019] 2.119.12. 2-((3S,5S)-3-氨基-5-((2-((4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙氧基)甲基)-2-氧代吡咯烷-1-基)乙酸叔丁基酯

将实施例2.119.11 (873 mg) 溶于乙酸乙酯 (5 mL) 和甲醇 (15 mL) 中, 并加入20% wt的氢氧化钡/碳 (180 mg)。将该反应混合物在氢气氛围 (30 psi) 中、在室温下搅拌30小时, 然后在50°C下搅拌一个小时。将该反应冷却至室温, 过滤, 并浓缩, 得到目标产物。MS (ESI+) m/e 691.0 (M+H)⁺。

[1020] 2.119.13. 4-(((3S,5S)-1-(2-(叔丁氧基)-2-氧代乙基)-5-((2-((4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙氧基)甲基)-2-氧代吡咯烷-3-基)氨基)-4-氧代丁-2-烯酸

将马来酸酐(100 mg)溶于二氯甲烷(0.90 mL)中,并逐滴加入实施例2.119.12(650 mg)的二氯甲烷(0.90 mL)混合物,然后在40℃下加热2小时。将该反应混合物直接用硅胶色谱纯化,用梯度1.0-2.5%的甲醇/二氯甲烷(含有0.2%乙酸)洗脱。将携带产物的级分浓缩之后,加入甲苯(10 mL),并将该混合物再次浓缩,得到标题化合物。MS (ESI-) m/e 787.3 (M-H)⁻。

[1021] 2.119.14. 2-((3S,5S)-5-((2-((4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙氧基)甲基)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代吡咯烷-1-基)乙酸叔丁基酯

使实施例2.119.13(560 mg)在甲苯(7 mL)中形成浆液,并加入三乙胺(220 μ l)和硫酸钠(525 mg)。将该反应在氮气氛围中、在回流下加热6小时,并将该反应混合物在室温下搅拌过夜。过滤该反应,并将固体用乙酸乙酯冲洗。减压浓缩洗脱液,并将残余物用硅胶色谱纯化,用45/55的庚烷/乙酸乙酯洗脱,得到标题化合物。

[1022] 2.119.15. 2-((3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-((2-磺基乙氧基)甲基)吡咯烷-1-基)乙酸

将实施例2.119.14(1.2 g)溶于三氟乙酸(15 mL)中,并在氮气氛围中加热到65-70℃过夜。减压除去三氟乙酸。将残余物溶于乙腈(2.5 mL)中,用反相制备液相色谱纯化(在Luna C18(2)AXIA柱(250 x 50 mm,10 μ m粒径)上),使用5-75%乙腈(含有0.1%三氟乙酸)/水的梯度30分钟,得到标题化合物。MS (ESI-) m/e 375.2 (M-H)⁻。

[1023] 2.119.16. 3-(1-((3-(2-(((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-5-脲基戊酰胺基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基)吡啶甲酸

在实施例2.49.1中,用实施例1.43.7替代实施例1.2.9,制备标题化合物。MS (ESI-) m/e 1252.4 (M-H)⁻。

[1024] 2.119.17. N-({(3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-[(2-磺基乙氧基)甲基]吡咯烷-1-基}乙酰基)-L-缬氨酸-N-{4-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基}苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸酰胺

将实施例2.119.15(7 mg)溶于N,N-二甲基甲酰胺(0.15 mL)中,并加入0-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐(9 mg)和N,N-二异丙基乙胺(7 μ L)。将该混合物在室温下搅拌3分钟,并加入到实施例2.119.16(28 mg)和N,N-二异丙基乙胺(15 μ L)的N,N-二甲基甲酰胺(0.15 mL)混合物中。1小时之后,将该反应用N,N-二甲基甲酰胺/水(1/1, 1.0 mL)稀释,用反向色谱纯化(C18柱),用5-75%的乙腈/0.1% TFA水洗脱,提供标题化合物。

¹H NMR

(500 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 9.95 (s, 1H), 9.02 (s, 1H), 8.37 (d, 1H), 8.22 (m, 2H), 8.18 (m, 2H), 8.08 (m, 2H), 8.03 (m, 1H), 7.96 (br d, 1H), 7.81 (d, 1H), 7.70 (t, 1H), 7.61 (br m, 3H), 7.48 (m, 2H), 7.37 (t, 1H), 7.27 (br m, 2H), 7.08 (s, 2H), 4.99 (br d, 3H), 4.68 (t, 1H), 4.39 (m, 1H), 4.20 (m, 2H), 4.04 (m, 1H), 3.87 (br d, 2H), 3.74 (br m, 1H), 3.65 (br t, 2H), 3.48 (br m, 4H), 3.43 (br m, 2H), 3.26 (br m, 2H), 3.00 (br m, 2H), 2.80 (m, 1H), 2.76 (m, 1H), 2.66 (br m, 2H), 2.36 (br m, 1H), 2.22 (s, 3H), 2.00 (m, 1H), 1.87 (m, 1H), 1.69 (br m, 1H), 1.62 (br m, 1H), 1.40 (br m, 4H), 1.31-1.02 (m, 10H), 0.96 (m, 2H), 0.85 (m, 12H). MS (ESI-) m/e 1610.3 (M-H)⁻.

[1025] 2.120 合成N-((2S)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[4-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基]丙酰基)-L-缬氨酰-N-((4-(((2-((3-((4-((6-((8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基))-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基)(2-磺乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基]苯基)-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸酰胺

2.120.1 (S)-3-(4-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基)-2-((叔丁氧羰基)氨基)丙酸甲酯

向2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基4-甲基苯磺酸酯(82.48 g)和碳酸钾(84.97 g)的乙腈(1.5 L)混合物中加入(S)-甲基2-((叔丁氧羰基)氨基)-3-(4-羟基苯基)丙酸酯(72.63 g),并将该反应混合物在30℃下搅拌12小时。LC/MS显示起始原料耗尽之后,主要产物是目标产物,过滤该反应,浓缩滤液,得到粗品,用制备HPLC纯化粗品,提供标题化合物。MS (ESI): m/e 811 (M+H₂O)⁺。

[1026] 2.120.2 3-(4-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基)-2-((叔丁氧羰基)氨基)丙酸

向实施例2.120.1(90.00 g)的四氢呋喃(1.5 L)和水(500 mL)的混合物中加入氢氧化锂一水合物(14.27 g)。将该反应混合物在30℃下搅拌12小时,LC/MS显示起始原料耗尽,主要产物是目标产物。使用HCl水溶液,将该反应混合物调节至pH6,并浓缩该混合物,提供粗品标题化合物。MS (ESI): m/e 778.3 (M-H)⁻。

[1027] 2.120.3 3-(4-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基)-2-氨基丙酸

在25℃,在氮气氛围中,向实施例2.120.2(88.41 g)的二氯甲烷(1.5 L)混合物中加入三氟乙酸(100 mL),并将该反应混合物在40℃下搅拌12小时。LC/MS显示起始原料耗尽,主要产物是目标产物。浓缩该混合物,得到粗品,用制备HPLC纯化粗品,提供标题化合物的三氟乙酸盐。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm

7.20 (d, J=8.6 Hz, 2H), 6.93 (d, J=8.2 Hz, 2H), 4.22 (dd, J=5.5, 7.4 Hz, 1H), 4.14-4.06 (m, 2H), 3.84-3.79 (m, 2H), 3.68-3.50 (m, 40H), 3.33 (s, 3H), 3.21 (d, J=5.5 Hz, 1H), 3.12-3.05 (m, 1H). MS (ESI) m/e 680.1 (M+H)⁺.

[1028] 2.120.4 4-((2-(4-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基)-1-羧乙基)氨基)-4-氧代丁-2-烯酸

向实施例2.120.3(80.00 g)的二噁烷(1 L)混合物中加入呋喃-2,5-二酮(35 g),并将

该反应混合物在120℃下搅拌4小时。LC/MS显示起始原料耗尽,主要产物是目标产物。将该混合物浓缩,得到粗品标题化合物,其不用纯化,在下一步中直接使用。MS (ESI) m/e 795.4 (M+H)⁺。

[1029] 2.120.5 (S)-3-(4-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基)-2-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸

向实施例2.120.4 (96 g,粗品)的甲苯(1.5 L)混合物中加入三乙胺(35.13 g),并将该反应混合物在120℃下搅拌4小时。LC/MS显示起始原料耗尽,主要产物是目标产物。过滤该反应,分离有机相,浓缩有机物,得到粗品,用制备HPLC纯化粗品(仪器:Shimadzu LC-20AP制备HPLC,柱:Phenomenex Luna (2) C18 250*50mm i.d. 10u,流动相:A:水(0.09%三氟乙酸),B:CH₃CN,梯度:B,15%至43%,20分钟,流速:80 ml/分钟,波长:220 & 254 nm,注射量:每次注射1克),而后进行SFC-HPLC,提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 6.98 (d, 2H), 6.74 (d, 2H), 6.56 (s, 2H), 4.85 (dd, 1H), 4.03 (t, 2H), 3.84 - 3.76 (m, 2H), 3.71 - 3.66 (m, 2H), 3.65 - 3.58 (m, 39H), 3.55 - 3.50 (m, 2H), 3.41 - 3.30 (m, 4H). MS (ESI) m/e 760.3 (M+H)⁺.

[1030] 2.120.6 N-((2S)-2-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[4-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基]丙酰基)-L-缬氨酰-N-{4-[[([2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基]甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸胺

在实施例2.119.17中,用实施例2.120.5替代实施例2.119.15,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 10.03 (s, 1H), 9.02 (s, 1H), 8.37 (d, 1H), 8.22 (m, 3H), 8.16 (d, 1H), 8.12 (br m, 1H), 8.07 (d, 1H), 8.01 (d, 1H), 7.96 (br d, 1H), 7.81 (d, 1H), 7.70 (t, 1H), 7.59 (br m, 2H), 7.48 (m, 2H), 7.37 (t, 1H), 7.28 (d, 2H), 7.02 (d, 2H), 6.89 (s, 2H), 6.77 (d, 2H), 4.98 (br d, 2H), 4.79 (dd, 1H), 4.39 (br m, 1H), 4.23 (br m, 2H), 3.99 (br m, 2H), 3.88 (br m, 2H), 3.69 (br m, 4H), 3.55 (m, 4H), 3.50 (s, 32H), 3.42 (m, 4H), 3.27 (m, 4H), 3.23 (s, 3H), 3.20 (m, 1H), 3.03 (br m, 1H), 2.98 (m, 1H), 2.65 (br t, 2H), 2.22 (s, 3H), 1.97 (br m, 1H), 1.69 (br m, 1H), 1.61 (br m, 1H), 1.39 (m, 4H), 1.31-0.91 (m, 12H), 0.85 (m, 9H), 0.77 (d, 3H). MS (ESI) m/e 1993.7 (M-H)⁺.

[1031] 2.121 合成N-((3S,5S)-3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-[(2-磺基乙氧基)甲基]吡咯烷-1-基)乙酰基)-L-缬氨酰-N-{4-[[([2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基]甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸胺

在实施例2.119.17中,用实施例2.49.1替代实施例2.119.16,制备标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 9.96 (s, 1H), 8.17 (br d, 1H), 8.03 (d, 2H), 7.79 (d, 1H), 7.61 (m, 3H), 7.55 (d, 1H), 7.45 (m, 2H), 7.37 (m, 3H), 7.27 (d, 2H), 7.08 (s, 2H), 6.98 (d, 1H), 4.97 (m, 4H), 4.68 (t, 1H), 4.37 (br m, 1H), 4.22 (br s, 1H), 4.17 (d, 1H), 4.03 (d, 1H), 3.89 (br t, 2H), 3.83 (br d, 2H), 3.74 (br m, 1H), 3.65 (t, 2H), 3.49 (m, 3H), 3.40 (br m, 4H), 3.25 (br m, 2H), 3.02 (br m, 4H), 2.80 (m, 2H), 2.67 (br m, 2H), 2.37 (br m, 1H), 2.10 (s, 3H), 1.99 (m, 1H), 1.86 (m, 1H), 1.69 (br m, 1H), 1.61 (br m, 1H), 1.52-0.91 (m, 16H), 0.85 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1615.4 (M-H) $^-$.

[1032] 2.122 合成N-((2S)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[4-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基]丙酰基)-L-缬氨酰-N-((4-((2-((3-((4-((6-((8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基)(2-磺乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基)苯基)-N⁵-氨基甲酰基)-L-鸟氨酸酰胺

向实施例2.120.5 (19.61 mg) 和O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐 (9.81 mg) 的N,N-二甲基甲酰胺 (0.8 mL) 混合物中加入N,N-二异丙基乙胺 (27.7 μ l)。将该混合物搅拌5分钟,并在0 $^\circ\text{C}$,加入到冷却的实施例2.112.2和N,N-二甲基甲酰胺 (0.5 mL) 的混合物中。将该反应混合物在0 $^\circ\text{C}$ 下搅拌40分钟,并在Gilson系统(C18柱)上,用反相HPLC纯化,用20-80%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ 9.99 (s, 1H), 8.19 (d, 1H), 8.14 - 8.04 (m, 1H), 8.00 (dd, 1H), 7.75 (d, 1H), 7.62 - 7.52 (m, 3H), 7.49 (d, 1H), 7.46 - 7.37 (m, 2H), 7.36 - 7.29 (m, 2H), 7.28 - 7.21 (m, 3H), 6.99 (d, 2H), 6.92 (d, 1H), 6.85 (s, 2H), 6.79 - 6.71 (m, 2H), 4.94 (d, 3H), 4.76 (dd, 1H), 4.35 (d, 1H), 4.20 (t, 1H), 3.96 (dd, 2H), 3.85 (t, 2H), 3.77 (d, 2H), 3.66 (dd, 2H), 3.52 (dd, 2H), 3.50 - 3.47 (m, 2H), 3.39 (dd, 2H), 3.20 (s, 4H), 2.97 (t, 3H), 2.60 (t, 2H), 2.13 - 2.01 (m, 3H), 1.93 (s, 1H), 1.61 (d, 2H), 1.49 - 0.88 (m, 10H), 0.87 - 0.59 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1998.7 (M-H) $^-$.

[1033] 2.123 合成(6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-(((2-((3-((4-((6-((8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基)(2-磺乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基)-5-((N-((2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基)-L-缬氨酰-L-丙氨酸)氨基)苯基)乙基)-L-古洛糖酸

2.123.1 (3R,4S,5R,6R)-3,4,5-三(苄氧基)-6-(苄氧基甲基)-四氢吡喃-2-酮

在0 $^\circ\text{C}$,向(3R,4S,5R,6R)-3,4,5-三(苄氧基)-6-((苄氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-2-醇 (75 g) 的二甲亚砜 (400 mL) 混合物中加入乙酸酐 (225 mL)。将该混合物在室温下搅拌16小时,而后冷却至0 $^\circ\text{C}$ 。加入大量的水,停止搅拌,并使该反应混合物沉降3小时(粗品内酯迁移到烧瓶的底部)。除去上清液,并将粗品混合物用乙酸乙酯稀释,用水洗涤3次,用饱和NaHCO₃水溶液中和,并用水再洗涤两次。然后,用硫酸镁干燥有机层,过滤,并浓缩,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 561 (M+Na) $^+$ 。

[1034] 2.123.2 (3R,4S,5R,6R)-3,4,5-三(苄氧基)-6-(苄氧基甲基)-2-乙炔基-四氢-2H-吡喃-2-醇

在氮气氛围中,并在干冰/丙酮浴中冷却(内部温度为 -65°C),向乙炔基三甲硅烷(18.23 g)的四氢吡喃(400 mL)混合物中逐滴加入2.5M BuLi/己烷(55.7 mL),保持温度低于 -60°C 。将该混合物在冷浴中搅拌40分钟,然后在冰-水浴(内部温度升至 0.4°C)中搅拌40分钟,最后再次冷却至 -75°C 。逐滴加入实施例2.123.1(50 g)的四氢吡喃(50 mL)混合物,保持内部温度低于 -70°C 。将该混合物在干冰/丙酮浴中再搅拌3小时。用饱和 NaHCO_3 水溶液(250 mL)淬灭该反应。将该混合物升温至室温,用乙酸乙酯(3x300 mL)提取,用 MgSO_4 干燥,过滤,并真空浓缩,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 659 (M+Na)⁺。

[1035] 2.123.3 三甲基((3S,4R,5R,6R)-3,4,5-三(苄氧基)-6-(苄氧基甲基)-四氢-2H-吡喃-2-基)乙炔基)硅烷

在 -15°C ,在冰-盐浴中,向实施例2.123.2(60 g)的乙腈(450 mL)和二氯甲烷(150 mL)混合物中逐滴加入三乙硅烷(81 mL),而后加入三氟化硼乙醚复合物(40.6 mL),加入速率应该使内部温度不超过 -10°C 。然后,将该混合物在 -15°C 至 -10°C 下搅拌2小时。用饱和 NaHCO_3 水溶液(275 mL)淬灭该反应,并在室温下搅拌1小时。然后,用乙酸乙酯(3 x 550 mL)提取该混合物。将提取物用 MgSO_4 干燥,过滤,并浓缩。用快速色谱纯化残余物,用梯度0%至7%的乙酸乙酯/石油醚洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 643 (M+Na)⁺。

[1036] 2.123.4 (2R,3R,4R,5S)-3,4,5-三(苄氧基)-2-(苄氧基甲基)-6-乙炔基-四氢-2H-吡喃

向实施例2.123.3(80 g)的二氯甲烷(200 mL)和甲醇(1000 mL)混合物中加入1N NaOH水溶液(258 mL)。将该混合物在室温下搅拌2小时。除去溶剂。然后,将残余物在水和二氯甲烷之间分配。将提取物用盐水洗涤,用 Na_2SO_4 干燥,过滤,并浓缩,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 571 (M+Na)⁺。

[1037] 2.123.5 (2R,3R,4R,5S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-乙炔基-四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

在冰/水浴冷却下,向实施例2.123.4(66 g)的乙酸酐(500 mL)混合物中逐滴加入三氟化硼乙醚复合物(152 mL)。将该混合物在室温下搅拌16小时,用冰/水浴冷却,并用饱和 NaHCO_3 水溶液中和。将该混合物用乙酸乙酯(3x500 mL)提取,用 Na_2SO_4 干燥,过滤,并真空浓缩。用快速色谱纯化残余物,用梯度0%至30%的乙酸乙酯/石油醚洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 357 (M+H)⁺。

[1038] 2.123.6 (3R,4R,5S,6R)-2-乙炔基-6-(羟甲基)-四氢-2H-吡喃-3,4,5-三醇

向实施例2.123.5(25 g)的甲醇(440 mL)混合物中加入甲醇化钠(2.1 g)。将该混合物在室温下搅拌2小时,然后用4M HCl/二噁烷中和。除去溶剂,将残余物吸附到硅胶上,并加载到硅胶柱上。用梯度0至100%的乙酸乙酯/石油醚洗脱柱,然后用0%至12%的甲醇/乙酸乙酯洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 211 (M+Na)⁺。

[1039] 2.123.7 (2S,3S,4R,5R)-6-乙炔基-3,4,5-三羟基-四氢-2H-吡喃-2-甲酸

向三颈圆底烧瓶中加入实施例2.123.6(6.00 g)、KBr(0.30 g)、四丁基溴化铵(0.41 g)和60 mL饱和 NaHCO_3 水溶液。加入60 mL二氯甲烷中的TEMPO((2,2,6,6-四甲基哌啶-1-基)氧化物(oxy1),0.15 g)。将该混合物剧烈搅拌,并将内部温度在冰-盐浴中冷却至 -2°C 。逐滴加入盐水(12 mL)、 NaHCO_3 水溶液(24 mL)和 NaOCl (154 mL)的混合物,使内部温度保持低于 2°C 。加入固体 Na_2CO_3 ,使该反应混合物的pH值保持在8.2-8.4。总共6小时之后,将该反

应混合物的内部温度冷却至3℃,并逐滴加入乙醇(~20 mL)。将该混合物搅拌~30分钟。将该混合物转入分液漏斗中,并除去二氯甲烷层。使用1M HCl水溶液,将水层的pH值调节至2-3。然后,将水层浓缩至干,得到固体。将甲醇(100 mL)加入到干燥固体中,并将该浆液搅拌~30分钟。用硅藻土的垫过滤该混合物,并将漏斗中的残余物用~100 mL甲醇洗涤。减压浓缩滤液,获得标题化合物。

[1040] 2.123.8 (2S,3S,4R,5R)-6-乙炔基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-甲酸甲酯

向500 mL三颈圆底烧瓶中加入实施例2.123.7(6.45 g)的甲醇(96 mL)悬浮液,并在冰-盐浴中冷却,使内部温度达到-1℃。小心地加入纯的亚硫酸氯(2.79 mL)。在加入过程中,内部温度保持上升,但不超过10℃。用2.5小时将该反应慢慢地升温至15-20℃。2.5小时之后,浓缩该反应,得到标题化合物。

[1041] 2.123.9 (3S,4R,5S,6S)-2-乙炔基-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

向实施例2.123.8(6.9 g)的N,N-二甲基甲酰胺(75 mL)混合物中加入4-(二甲基氨基)吡啶(0.17 g)和乙酸酐(36.1 mL)。将该悬浮液在冰浴中冷却,并用15分钟,通过注射器加入吡啶(18.04 mL)。将该反应升温至室温过夜。再加入乙酸酐(12 mL)和吡啶(6 mL),并继续搅拌6小时。将该反应在冰浴中冷却,加入250 mL饱和NaHCO₃水溶液,并搅拌1小时。加入水(100 mL),并将该混合物用乙酸乙酯提取。用饱和CuSO₄混合物洗涤有机提取物两次,干燥,过滤,并浓缩。用快速色谱纯化残余物,用50%的乙酸乙酯/石油醚洗脱,得到标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 甲醇-d₄) δ ppm 5.29 (t, 1H), 5.08 (td, 2H), 4.48 (dd, 1H), 4.23 (d, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.04 (d, 1H), 2.03 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.98 (s, 4H).

[1042] 2.123.10. 2-碘代-4-硝基苯甲酸

在氮气氛围中,向配备有机械搅拌器、温度探头和加入漏斗的3L完全夹套的烧瓶中加入2-氨基-4-硝基苯甲酸(69.1 g, Combi-Blocks)和1.5M硫酸水溶液(696 mL)。将得到的悬浮液的内部温度冷却至0℃,用43分钟逐滴加入亚硝酸钠(28.8 g)和水(250 mL)的混合物,同时使温度低于1℃。将该反应在大约0℃下搅拌1小时。用44分钟逐滴加入碘化钾(107 g)和水(250 mL)的混合物,同时使内部温度低于1℃(开始加入时放热,并有气体逸出)。将该反应在0℃下搅拌1小时。使温度升至20℃,而后在环境温度下搅拌过夜。反应混合物变成悬浮液。过滤该反应混合物,并用水洗涤所收集的固体。将湿润固体(~108 g)在10%亚硫酸钠(350 mL, ~200 mL水用于洗涤固体)中搅拌30分钟。用浓盐酸(35 mL)酸化该悬浮液,过滤收集固体,并用水洗涤。使固体在水(1L)中形成浆液,再过滤,并将固体在漏斗中干燥过夜。然后,在60℃,将固体在真空烘箱中干燥2小时。将得到的固体与二氯甲烷(500 mL)一起研磨,过滤该悬浮液,并用额外的二氯甲烷洗涤。将固体空气干燥,得到标题化合物。

[1043] 2.123.11. (2-碘代-4-硝基苯基)甲醇

向直火干燥的3 L三颈烧瓶中加入实施例2.123.10(51.9 g)和四氢呋喃(700 mL)。将该混合物在冰浴中冷却至0.5℃,用50分钟逐滴加入硼烷-四氢呋喃复合物(443 mL, 1M, 在THF中)(气体逸出),达到最终内部温度1.3℃。将该反应混合物搅拌15分钟,并除去冰浴。用30分钟使该反应达到环境温度。装配加热套,并将该反应加热至65.5℃的内部温度,保持3小时,而后冷却至室温,同时搅拌过夜。将该反应混合物在冰浴中冷却至0℃,逐滴加入甲醇

(400 mL), 进行淬灭。短暂培养之后, 使温度快速升至2.5℃, 同时逸出气体。用~30分钟加入第一个100 mL之后, 加入时不再放热, 并且停止气体逸出。除去冰浴, 并将该混合物在环境温度下、在氮气氛围中搅拌过夜。浓缩该混合物, 得到固体, 溶于二氯甲烷/甲醇中, 并吸附到硅胶(~150 g)上。将残余物加载到硅胶塞(3000 mL)上, 用二氯甲烷洗脱, 得到标题化合物。

[1044] 2.123.12. (4-氨基-2-碘代苯基) 甲醇

向配备有机械搅拌器、JKEM温度探头控制的加热套和冷凝器的5 L烧瓶中加入实施例2.123.11(98.83 g)和乙醇(2 L)。快速搅拌该反应, 加入铁(99 g), 而后加入氯化铵(20.84 g)和水(500 mL)的混合物。将该反应加热20分钟, 使内部温度达到80.3℃, 此时开始剧烈回流。除去覆盖物, 直到回流平静为止。而后, 将该混合物加热至80℃, 保持1.5小时。通过膜滤器热过滤该反应, 并将铁残余物用热的50%乙酸乙酯/甲醇(800 mL)洗涤。使洗脱液通过硅藻土垫, 并将滤液浓缩。将残余物在50%盐水(1500 mL)和乙酸乙酯(1500 mL)之间分配。分离各层, 并将水层用乙酸乙酯(400 mL x 3)提取。用硫酸钠干燥合并的有机层, 过滤, 并浓缩, 得到标题化合物, 其不用进一步纯化, 直接使用。

[1045] 2.123.13. 4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-碘代苯胺

向带有机械搅拌器的5 L烧瓶中加入实施例2.123.12(88 g)和二氯甲烷(2 L)。将该悬浮液在冰浴中冷却至2.5℃的内部温度, 并用8分钟分批加入叔丁基氯代二甲基硅烷(53.3 g)。10分钟之后, 将1H-咪唑(33.7 g)分批加入到冷却的反应中。将该反应搅拌90分钟, 同时, 使内部温度升到15℃。将该反应混合物用水(3 L)和二氯甲烷(1 L)稀释。分离各层, 用硫酸钠干燥有机层, 过滤, 并浓缩, 得到油。用硅胶色谱纯化残余物(1600 g硅胶), 用梯度0-25%的乙酸乙酯/庚烷洗脱, 得到标题化合物的油。

[1046] 2.123.14. (S)-2-((S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺(基)丙酸

向(S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酸(6.5 g)的二甲氧基乙烷(40 mL)混合物中加入(S)-2-氨基丙酸(1.393 g)和水(40 mL)中的碳酸氢钠(1.314 g)。为了帮助溶解, 加入四氢呋喃(20 mL)。将得到的混合物在室温下搅拌16小时。加入柠檬酸水溶液(15%, 75 mL), 并将该混合物用10%的2-丙醇/乙酸乙酯(2 x 100 mL)提取。有机层中形成沉淀。将合并的有机层用水(2 x 150 mL)洗涤。减压浓缩有机层, 而后与乙醚(80 mL)一起研磨。短暂超声处理之后, 过滤收集标题化合物。MS (ESI) m/e 411 (M+H)⁺。

[1047] 2.123.15. (9H-芴-9-基)甲基((S)-1-(((S)-1-(4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-碘代苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯

向实施例2.123.13(5.44 g)和实施例2.123.14(6.15 g)的二氯甲烷(70 mL)和甲醇(35.0 mL)混合物中加入2-乙氧基喹啉-1(2H)-甲酸乙酯(4.08 g), 并将该反应搅拌过夜。浓缩该反应混合物, 并加载到硅胶上, 用梯度10%至95%的庚烷/乙酸乙酯洗脱, 而后用5%的甲醇/二氯甲烷洗脱。将含有产物的级分浓缩, 溶于0.2%的甲醇/二氯甲烷(50 mL)中, 加载到硅胶上, 用梯度0.2%至2%的甲醇/二氯甲烷洗脱。收集含有产物的级分, 得到标题化合物。MS (ESI) m/e 756.0 (M+H)⁺。

[1048] 2.123.16. (2S, 3S, 4R, 5S, 6S)-2-((5-((S)-2-((S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)

羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)乙炔基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

将实施例2.123.9 (4.500 g)、实施例2.123.15 (6.62 g)、碘化亚铜(I) (0.083 g)和双(三苯基膦)氯化钯(II) (0.308 g)的混合物在管瓶中混合,并脱气。加入N,N-二甲基甲酰胺(45 mL)和N-乙基-N-异丙基丙-2-胺(4.55 mL),将反应器用氮气吹扫,并在室温下搅拌过夜。将该反应在水(100 mL)和乙酸乙酯(250 mL)之间分配。分离各层,用硫酸镁干燥有机层,过滤,并浓缩。将残余物用硅胶色谱纯化,用梯度5%至95%的乙酸乙酯/庚烷洗脱。收集含有产物的级分,浓缩,用硅胶色谱纯化,用梯度0.25%至2.5%的甲醇/二氯甲烷洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 970.4 (M+H)⁺。

[1049] 2.123.17 (2S,3S,4R,5S,6S)-2-(5-((S)-2-((S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)苯基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

在50 mL耐压瓶中,将实施例2.123.16 (4.7 g)和四氢呋喃(95 mL)加入到5% Pt/C (2.42 g,湿润)中,并在室温下、在50 psi氢气氛围中,将该反应摇动90分钟。过滤该反应,并浓缩,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 974.6 (M+H)⁺。

[1050] 2.123.18. (2S,3S,4R,5S,6S)-2-(5-((S)-2-((S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-2-(羟甲基)苯基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

将实施例2.123.17 (5.4 g)的四氢呋喃(7 mL)、水(7 mL)和冰醋酸(21 mL)的混合物在室温下搅拌过夜。用乙酸乙酯(200 mL)稀释该反应,用水(100 mL)、饱和NaHCO₃水溶液(100 mL)和盐水(100 mL)洗涤,用硫酸镁干燥,过滤,并浓缩。用硅胶色谱纯化残余物,用梯度0.5%至5%的甲醇/二氯甲烷洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 860.4 (M+H)⁺。

[1051] 2.123.19. (2S,3S,4R,5S,6S)-2-(5-((S)-2-((S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-2-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

在室温下,向实施例2.123.18 (4.00 g)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(2.83 g)的乙腈(80 mL)混合物中加入N-乙基-N-异丙基丙-2-胺(1.22 mL)。搅拌过夜之后,浓缩该反应,溶于二氯甲烷(250 mL)中,并用饱和NaHCO₃水溶液(4 x 150 mL)洗涤。将有机层用硫酸镁干燥,过滤,并浓缩。将得到的泡沫体用硅胶色谱纯化,用梯度0.5%至75%的乙酸乙酯/己烷洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 1025.5 (M+H)⁺。

[1052] 2.123.20. 3-(1-((3-2-(((4-((R)-2-((R)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-2-(2-((2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

向冷却(0°C)的实施例2.123.19 (70 mg)和实施例1.2.9 (58.1 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(4 mL)混合物中加入N-乙基-N-异丙基丙-2-胺(0.026 mL)。将该反应慢慢地加热至室温,并搅拌过夜。向该反应混合物中加入水(1 mL)和LiOH·H₂O (20 mg)。将该混合物在室温下搅拌3小时。将该混合物用三氟乙酸酸化,过滤,并在Gilson系统(C18柱)上,用反相HPLC纯化,用20-80%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 1564.4

(M-H)⁻。

[1053] 2.123.21. (6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-([2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基)(2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-({N-[(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-L-缬氨酰-L-丙氨酰}氨基)苯基}乙基)-L-古洛糖酸

如实施例2.54所述,用实施例2.123.20替代实施例2.49.1,制备标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.86 (s, 1H), 9.92 (d, 1H), 8.35 – 8.19 (m, 2H), 8.04 (d, 1H), 7.80 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.57 – 7.32 (m, 8H), 7.28 (s, 1H), 7.22 (d, 1H), 7.08 (s, 2H), 6.95 (d, 1H), 5.12 – 4.91 (m, 5H), 4.39 (t, 1H), 4.32 – 4.19 (m, 1H), 4.12 (s, 2H), 3.89 (t, 2H), 3.80 (d, 2H), 3.14 (t, 1H), 3.06 – 2.87 (m, 4H), 2.69 – 2.58 (m, 4H), 2.37 (p, 1H), 2.09 (d, 4H), 2.04 – 1.91 (m, 4H), 1.54 (d, 1H), 1.40 – 0.99 (m, 20H), 0.99 – 0.74 (m, 16H). MS (ESI) m/e 1513.5 (M-H)⁻.

[1054] 2.124 合成3-{[2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基}({[4-(4-{6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基}氨基)丁基]-2-(β-D-吡喃葡萄糖基氧基 (glucopyranuronosyloxy)) 苄基]氧基}羧基)氨基}丙基β-D-吡喃葡萄糖苷酸 (glucopyranosiduronic acid)

2.124.1A (9H-苄-9-基)甲基丁-3-炔-1-基氨基甲酸酯

将丁-3-炔-1-胺盐酸盐 (9 g) 和N,N-二异丙基乙胺 (44.7 mL) 的混合物在二氯甲烷 (70 mL) 中搅拌,并冷却至0℃。加入(9H-苄-9-基)甲基氯甲酸酯 (22.06 g) 的二氯甲烷 (35 mL) 混合物,并将该反应搅拌2小时。浓缩该反应,并将残余物用硅胶色谱纯化,用石油醚/乙酸乙酯 (10%-25%) 洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 314 (M+Na)⁺。

[1055] 2.124.1B (3R,4S,5S,6S)-2-(2-甲酰基-5-碘代苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

向2-羟基-4-碘代苯甲醛 (0.95 g) 的乙腈 (10 mL) 搅拌溶液中加入 (3R,4S,5S,6S)-2-溴-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯 (2.5 g) 和氧化银 (2 g)。用铝箔覆盖混合物,并在室温下搅拌过夜。通过硅藻土过滤后,用乙酸乙酯洗涤滤液,并将该溶液浓缩。使用ISCO CombiFlash系统,SF40-80g柱,用快速色谱纯化该反应混合物,用15-30%的乙酸乙酯/庚烷洗脱 (流速:60ml/min),提供标题化合物。MS (ESI) m/e 586.9 (M+Na)⁺。

[1056] 2.124.2 (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(5-(4-((9H-苄-9-基)甲氧基)羰基氨基)丁-1-炔基)-2-甲酰基苯氧基)-3,4,5-三乙酰氧基-四氢-2H-吡喃-2-甲酸甲酯

将实施例2.124.1B (2.7 g)、实施例2.124.1A (2.091 g)、双(三苯基膦)氯化钡(II) (0.336 g) 和碘化亚铜(I) (0.091 g) 称重到管瓶中,并用氮气流吹扫。加入三乙胺 (2.001 mL) 和四氢呋喃 (45 mL),并在室温下搅拌该反应。搅拌16小时之后,将该反应用乙酸乙酯 (200 mL) 稀释,并用水 (100 mL) 和盐水 (100 mL) 洗涤。将有机层用硫酸镁干燥,过滤,并浓缩。用硅胶色谱纯化残余物,用石油醚/乙酸乙酯 (10%-50%) 洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 750 (M+Na)⁺。

[1057] 2.124.3 (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(5-(4-((9H-苄-9-基)甲氧基)羰基氨基)丁基)-

2-甲酰基苯氧基)-3,4,5-三乙酰氧基-四氢-2H-吡喃-2-甲酸甲酯

在100 mL耐压瓶中,将实施例2.124.2(1.5 g)和四氢呋喃(45 mL)加入到10% Pd-C(0.483 g)中,并将该混合物在1 atm H₂氛围中、在室温下搅拌16小时。过滤该反应,并浓缩,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 754 (M+Na)⁺。

[1058] 2.124.4 (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(5-(4-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)丁基)-2-(羟甲基)苯氧基)-3,4,5-三乙酰氧基-四氢-2H-吡喃-2-甲酸甲酯

将实施例2.124.3(2.0 g)的四氢呋喃(7.00 mL)和甲醇(7 mL)混合物冷却至0°C,并一次性加入NaBH₄(0.052 g)。30分钟之后,将该反应用乙酸乙酯(150 mL)和水(100 mL)稀释。分离有机层,用盐水(100 mL)洗涤,用硫酸镁干燥,过滤,并浓缩。用硅胶色谱纯化残余物,用石油醚/乙酸乙酯(10%-40%)洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 756 (M+Na)⁺。

[1059] 2.124.5 (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(5-(4-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基氨基)丁基)-2-((4-硝基苯氧基)羰基氧基)甲基)苯氧基)-3,4,5-三乙酰氧基-四氢-2H-吡喃-2-甲酸甲酯

在0°C,向实施例2.124.4(3.0 g)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(2.488 g)的无水乙腈(70 mL)混合物中加入N,N-二异丙基乙胺(1.07 mL)。在室温下搅拌16小时之后,浓缩该反应,得到残余物,用硅胶色谱纯化残余物,用石油醚/乙酸乙酯(10%-50%)洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 921 (M+Na)⁺。

[1060] 2.124.6 3-(1-((3-(2-(((4-(4-氨基丁基)-2-((2R,3S,4R,5R,6R)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)(3-((2S,3S,4R,5R,6R)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基)吡啶甲酸

向冷却(0°C)的实施例2.124.5(44 mg)和实施例1.87.3(47.4 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(4 mL)混合物中加入N-乙基-N-异丙基丙-2-胺(0.026 mL)。将该反应慢慢地加热至室温,并搅拌过夜。向该反应混合物中加入水(1 mL)和LiOH·H₂O(20 mg)。将该混合物在室温下搅拌3小时。将该混合物用三氟乙酸酸化,过滤,并在Gilson系统(C18柱)上,用反相HPLC纯化,用20-80%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 1564.4 (M-H)⁻。

[1061] 2.124.7 3-([2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基)({[4-(4-{[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]氨基}丁基)-2-(β-D-吡喃葡萄糖基氧基(glucopyranuronosyloxy))苄基]氧基)羰基)氨基}丙基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid)

如实施例2.5.4所述,用实施例2.124.6替代实施例2.5.3,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ ppm 13.06 (s, 2H), 8.99 (s, 1H), 8.34 (dd, 1H), 8.25 – 8.09 (m, 3H), 8.08 – 8.02 (m, 1H), 7.98 (d, 1H), 7.89 (d, 1H), 7.78 (d, 1H), 7.66 (q, 2H), 7.50 – 7.41 (m, 2H), 7.37 – 7.31 (m, 1H), 7.14 (t, 1H), 6.94 (s, 2H), 6.90 (s, 1H), 6.82 (d, 1H), 5.14 – 5.02 (m, 2H), 4.97 (d, 1H), 4.19 (d, 1H), 3.85 (dd, 3H), 3.37 – 3.23 (m, 9H), 3.14 (t, 1H), 3.04 – 2.92 (m, 4H), 2.19 (s, 3H), 1.96 (t, 2H), 1.73 (s, 2H), 1.55 – 0.87 (m, 21H), 0.81 (d, 6H). MS (ESI) m/e 1564.4 (M-H)⁻。

[1062] 2.125 合成N- {[(3S,5S)-3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-5-(甲氧基甲基)-2-氧代吡咯烷-1-基]乙酰基}-L-缬氨酰-N-{4-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基]甲基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸胺

2.125.1 2-((3S,5S)-3-(二苄基氨基)-5-(甲氧基甲基)-2-氧代吡咯烷-1-基)乙酸叔丁基酯

向实施例2.119.10 (1.4 g)的N,N-二甲基甲酰胺 (5 mL)混合物中加入碘甲烷 (0.8 mL)。将该反应冷却至0℃,并加入95%氢氧化钠 (80 mg)。五分钟之后,除去冷却浴,并将该反应在室温下搅拌2.5小时。加入水 (20 mL)和乙酸乙酯 (40 mL),淬灭该反应。分离各层,用盐水洗涤有机层。将合并的水层用乙酸乙酯 (10 mL)反萃取。将合并的有机层用硫酸钠干燥,过滤,并减压浓缩。用硅胶色谱纯化残余物,用80/20的庚烷/乙酸乙酯洗脱,得到标题化合物。MS (DCI) m/e 439.2 (M+H)⁺。

[1063] 2.125.2 2-((3S,5S)-3-氨基-5-(甲氧基甲基)-2-氧代吡咯烷-1-基)乙酸叔丁基酯

向实施例2.125.1 (726 mg)的2,2,2-三氟乙醇 (10 mL)混合物中加入氢氧化钡/碳 (20% wt, 150 mg)。将该反应在氢气氛围 (50 psi)中、在室温下搅拌两个小时。过滤该反应,并浓缩,得到标题化合物。MS (DCI) m/e 259.0 (M+H)⁺。

[1064] 2.125.3 4-(((3S,5S)-1-(2-(叔丁氧基)-2-氧代乙基)-5-(甲氧基甲基)-2-氧代吡咯烷-3-基)氨基)-4-氧代丁-2-烯酸

在实施例2.119.13中,用实施例2.125.2替代实施例2.119.12,制备标题化合物。MS (DCI) m/e 374.0 (M+NH₃+H)⁺。

[1065] 2.125.4 2-((3S,5S)-3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-5-(甲氧基甲基)-2-氧代吡咯烷-1-基)乙酸叔丁基酯

在实施例2.119.14中,用实施例2.125.3替代实施例2.119.13,制备标题化合物。MS (DCI) m/e 356.0 (M+NH₃+H)⁺。

[1066] 2.125.5 2-((3S,5S)-3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-5-(甲氧基甲基)-2-氧代吡咯烷-1-基)乙酸

向实施例2.125.4 (120 mg)的二氯甲烷 (8 mL)混合物中加入三氟乙酸 (4 mL)。将该反应在室温下搅拌90分钟,而后减压浓缩。将残余物溶于乙腈 (4 mL)中,用反相制备HPLC纯化 (Luna C18 (2) AXIA柱, 250 x 50 mm, 10 μ粒径),使用5-75%的乙腈/水 (含有0.1%三氟乙酸)的梯度30分钟,得到标题化合物。MS (DCI) m/e 300.0 (M+NH₃+H)⁺。

[1067] 2.125.6 N- {[(3S,5S)-3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-5-(甲氧基甲基)-2-氧代吡咯烷-1-基]乙酰基}-L-缬氨酰-N-{4-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基]甲基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸胺

在实施例2.119.17中,用实施例2.125.5替代实施例2.119.15,用实施例2.49.1替代实施例2.119.16,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz,

二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 9.98 (s, 1H), 8.19 (br d, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.96 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.61 (m, 3H), 7.55 (d, 1H), 7.45 (m, 2H), 7.37 (m, 2H), 7.32 (s, 1H), 7.27 (d, 2H), 7.08 (s, 2H), 6.96 (d, 1H), 5.00 (m, 2H), 4.96 (s, 2H), 4.69 (t, 1H), 4.39 (br m, 1H), 4.28 (m, 1H), 4.20 (d, 1H), 3.88 (t, 3H), 3.81 (br m, 3H), 3.46 (m, 3H), 3.40 (m, 2H), 3.26 (br m, 2H), 3.25 (s, 3H), 3.01 (m, 3H), 2.96 (m, 1H), 2.65 (t, 2H), 2.36 (br m, 1H), 2.10 (s, 3H), 2.00 (m, 1H), 1.94 (m, 1H), 1.69 (br m, 1H), 1.59 (br m, 1H), 1.49-0.92 (m, 16H), 0.88 (d, 3H), 0.83 (m, 9H). MS (ESI) m/e 1521.5 (M-H)⁺.

[1068] 2.126 合成(6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[(2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-({N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-L-丙氨酰}氨基)苯基}乙基)-L-古洛糖酸

如实施例2.123.21所述,制备标题化合物,用2,5-二氧代吡咯烷-1-基6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯替代2,5-二氧代吡咯烷-1-基2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酸酯。

¹H NMR (501 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ

ppm 12.83 (s, 1H), 9.87 (s, 1H), 8.09 (d, 1H), 8.05 - 7.95 (m, 1H), 7.77 (d, 2H), 7.59 (d, 1H), 7.55 - 7.31 (m, 7H), 7.28 (s, 1H), 7.20 (d, 1H), 6.97 (s, 2H), 6.94 (d, 1H), 5.08 - 4.84 (m, 5H), 4.36 (p, 1H), 3.78 (d, 2H), 3.54 (t, 1H), 3.48 - 3.28 (m, 9H), 3.21 (s, 2H), 3.12 (t, 2H), 3.02 - 2.84 (m, 4H), 2.81 - 2.54 (m, 6H), 2.19 - 1.84 (m, 9H), 1.63 - 1.39 (m, 6H), 1.35 (s, 1H), 1.29 - 0.86 (m, 18H), 0.80 (td, 15H). MS (ESI) m/e 1568.4 (M-H)⁺.

[1069] 2.127 合成2-[(2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-(4-{3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基}氨基}丁基)苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸 (glucopyranosiduronic acid)

2.127.1 3-(1-((3-(2-(((4-(4-氨基丁基)-2-((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羧基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

向实施例1.2.9(0.030 g)、实施例2.124.5(0.031 g)和1H-苯并[d][1,2,3]三唑-1-醇水合物(5 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(0.5 mL)混合物中加入N-乙基-N-异丙基丙-2-胺(0.017 mL),并将该反应混合物搅拌3小时。浓缩该反应混合物,溶于四氢呋喃(0.4 mL)和甲醇(0.4 mL)中,并用氢氧化锂水合物(0.020 g)和水(0.5 mL)的混合物处理。1小时之后,用2,2,2-三氟乙酸(0.072 mL)淬灭该反应,用N,N-二甲基甲酰胺:水(1:1)(1 mL)稀释,用反相制备HPLC纯化,使用Gilson PLC 2020系统,用梯度5%至75%的乙腈/水洗脱。将含有产物的级分合并,冷冻干燥,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 1251.7 (M+H)⁺。

[1070] 2.127.2 2-[(2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环

[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-[4-{{3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基}氨基}丁基)苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸 (glucopyranosiduronic acid)

向实施例2.127.1 (0.027 g)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸酯 (6.32 mg)的N,N-二甲基甲酰胺 (0.4 mL)混合物中加入N-乙基-N-异丙基丙-2-胺 (0.017 mL),并将该反应在室温下搅拌1小时。将该反应用2,2,2-三氟乙酸 (0.038 mL)、水 (1.5 mL)和N,N-二甲基甲酰胺 (0.5 mL)的混合物淬灭,并在Gilson 2020系统上,用反相制备HPLC纯化,使用5%至75%的乙腈/水的梯度。将含有产物的级分冷冻干燥,得到标题化合物。

¹H NMR (501 MHz,

二甲亚砜-*d*₆) δ 12.84 (s, 1H), 8.03 (dd, 1H), 7.91 – 7.85 (m, 1H), 7.78 (d, 1H), 7.61 (dd, 1H), 7.52 (dd, 1H), 7.50 – 7.40 (m, 2H), 7.39 – 7.31 (m, 2H), 7.31 (s, 1H), 7.17 (dd, 1H), 6.99 – 6.90 (m, 4H), 6.83 (d, 1H), 5.15 – 5.04 (m, 2H), 5.05 – 4.96 (m, 1H), 4.95 (s, 2H), 3.91 – 3.83 (m, 4H), 3.81 (d, 3H), 3.58 (t, 2H), 3.42 (td, 3H), 3.33 – 3.24 (m, 5H), 3.00 (q, 4H), 2.68 (dt, 2H), 2.29 (t, 2H), 2.09 (d, 3H), 1.49 (d, 3H), 1.34 (td, 5H), 1.21 (dd, 5H), 1.15 – 1.07 (m, 2H), 1.07 (s, 4H), 0.95 (q, 1H), 0.82 (d, 6H). MS (ESI) *m/e* 1402.1 (M+H)⁺.

[1071] 2.128 合成2-[({2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-[4-((2S)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[4-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基]丙酰基}氨基)丁基]苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸 (glucopyranosiduronic acid)

将实施例2.120.5 (0.035 g)、0-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐 (0.015 g)和N-乙基-N-异丙基丙-2-胺 (0.015 mL)的混合物在N,N-二甲基甲酰胺 (0.4 mL)中搅拌5分钟。将该混合物加入到实施例2.127.1 (0.030 g)和N-乙基-N-异丙基丙-2-胺 (0.015 mL)的N,N-二甲基甲酰胺 (0.4 mL)混合物中,并在室温下搅拌3小时。将该反应用水 (1.5 mL)、N,N-二甲基甲酰胺 (0.5 mL)和2,2,2-三氟乙酸 (0.034 mL)的混合物稀释,并在Gilson 2020系统上,用反相制备HPLC纯化,使用5%至85%的乙腈/水的梯度。将含有产物的级分冷冻干燥,得到标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ 12.83 (s, 1H), 8.04 – 7.93 (m, 2H),

7.76 (d, 1H), 7.58 (dd, 1H), 7.53 – 7.36 (m, 3H), 7.37 – 7.25 (m, 3H), 7.15 (d, 1H), 6.97 – 6.88 (m, 4H), 6.87 (d, 2H), 6.85 – 6.77 (m, 1H), 6.76 – 6.69 (m, 2H), 5.13 – 4.96 (m, 3H), 4.92 (s, 2H), 3.95 (dd, 2H), 3.84 (d, 2H), 3.78 (s, 8H), 3.69 – 3.60 (m, 2H), 3.47 (d, 38H), 3.48 – 3.35 (m, 6H), 3.20 (s, 8H), 3.10 (dd, 2H), 2.98 (t, 2H), 2.69 – 2.60 (m, 2H), 2.50 (d, 1H), 2.06 (s, 3H), 1.49 (t, 2H), 1.35 (s, 4H), 1.21 (d, 4H), 1.05 (s, 6H), 0.79 (d, 6H). MS (ESI) *m/e* 1991.6 (M-H)⁻.

[1072] 2.129 合成(6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-[N-((2S)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[4-(2,5,8,11,14,17,20,

23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基]丙酰基}-L-缬氨酰-L-丙氨酰)氨基]苯基}乙基)-L-古洛糖酸

将实施例2.120.5 (0.033 g)、0-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐(0.014 g)和N-乙基-N-异丙基丙-2-胺(0.015 mL)的混合物在N,N-二甲基甲酰胺(0.4 mL)中搅拌5分钟。将该混合物加入到实施例2.123.20 (0.032 g)和N-乙基-N-异丙基丙-2-胺(0.015 mL)的N,N-二甲基甲酰胺(0.4 mL)混合物中,并在室温下搅拌3小时。将该反应用水(1.5 mL)、N,N-二甲基甲酰胺(0.5 mL)和2,2,2-三氟乙酸(0.033 mL)的混合物稀释,并在Gilson 2020系统上,用反相制备HPLC纯化,使用5%至85%的乙腈/水的梯度。将含有产物的级分冷冻干燥,得到标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (501 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ 9.90 (d, 1H), 8.25 (d, 1H), 8.12 (m, 1), 8.01 (m, 1H), 1.78 (m, 1H), 7.59 (d, 1H), 7.53 – 7.40 (m, 4H), 7.43 – 7.30 (m, 4H), 7.27 (s, 1H), 7.18 (d, 2H), 7.06 (s, 1H), 7.00 (d, 2H), 6.97 – 6.91 (m, 2H), 6.87 (s, 2H), 6.76 (d, 2H), 5.02 – 4.92 (m, 4H), 4.77 (dd, 1H), 4.20 (t, 1H), 3.98 (dd, 2H), 3.86 (t, 2H), 3.78 (d, 2H), 3.70 – 3.65 (m, 2H), 3.54 (s, 2H), 3.55 – 3.45 (m, 38H), 3.45 – 3.37 (m, 2H), 3.35 – 3.25 (m, 2H), 3.21 (s, 4H), 3.17 – 3.06 (m, 2H), 2.99 (t, 2H), 2.73 (s, 2H), 2.61 (s, 4H), 2.07 (d, 4H), 2.01 (s, 2H), 1.94 (s, 2H), 1.54 (s, 2H), 1.27 (d, 4H), 1.22 (s, 2H), 1.11 (s, 6H), 1.08 – 0.99 (m, 2H), 0.90 – 0.79 (m, 6H), 0.76 (d, 6H). MS (ESI) m/e 705.6 (M-3H) $^{3-}$.

[1073] 2.130 合成6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-(3-(2-(((2-(2-((2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)乙基)-4-(S)-2-(S)-2-(2-((3S,5S)-3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-(2-磺基乙氧基)甲基)吡咯烷-1-基)乙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)苄基)氧基)羧基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

在实施例2.119.17中,用实施例2.123.20替代实施例2.119.16,制备标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 9.85 (s, 1H), 8.17 (br d, 1H), 8.01 (d, 2H), 7.77 (d, 1H), 7.59 (d, 1H), 7.53 (d, 1H), 7.43 (m, 4H), 7.34 (m, 3H), 7.19 (d, 1H), 7.06 (s, 2H), 6.96 (d, 1H), 4.99 (m, 2H), 4.95 (s, 2H), 4.63 (t, 1H), 4.36 (t, 1H), 4.19 (br m, 1H), 4.16 (d, 1H), 3.98 (d, 1H), 3.87 (br t, 2H), 3.81 (br d, 2H), 3.73 (br m, 1H), 3.63 (t, 2H), 3.53 (m, 2H), 3.44 (m, 4H), 3.31 (t, 2H), 3.21 (br m, 2H), 3.17 (m, 2H), 3.00 (m, 2H), 2.92 (br m, 1H), 2.75 (m, 3H), 2.65 (br m, 3H), 2.35 (br m, 1H), 2.07 (s, 3H), 1.98 (br m, 2H), 1.85 (m, 1H), 1.55 (br m, 1H), 1.34 (br m, 1H), 1.26 (br m, 6H), 1.09 (br m, 7H), 0.93 (br m, 1H), 0.87, 0.83, 0.79 (all d, total 12H). MS (ESI) m/e 1733.4 (M-H).

[1074] 2.131 合成6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-(3-(2-(((2-(2-((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)-4-(4-(2-((3S,5S)-3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-(2-磺基乙氧基)甲基)吡咯烷-1-基)乙酰胺基)丁基)苄基)氧基)羧基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

在实施例2.119.17中,用实施例2.127.1替代实施例2.119.16,制备标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 8.02 (d, 1H), 7.82 (br t, 1H), 7.77 (d, 1H), 7.60 (d, 1H), 7.53 (br d, 1H), 7.45 (ddd, 1H), 7.42 (d, 1H), 7.36 (d, 1H), 7.35 (s, 1H), 7.33 (m, 1H), 7.15 (d, 1H), 7.05 (s, 2H), 6.97 (d, 1H), 6.94 (s, 1H), 6.83 (d, 1H), 5.07 (br m, 2H), 5.00 (d, 1H), 4.95 (s, 2H), 4.69 (t, 1H), 4.04 (d, 2H), 3.87 (m, 3H), 3.82 (m, 3H), 3.73 (br m, 1H), 3.61 (m, 2H), 3.47 (br m, 3H), 3.40 (m, 4H), 3.29 (m, 4H), 3.06 (br m, 2H), 3.00 (t, 2H), 2.73 (br m, 2H), 2.69 (br m, 2H), 2.52 (br t, 2H), 2.35 (br m, 1H), 2.08 (s, 3H), 1.81 (m, 1H), 1.53 (br m, 2H), 1.40 (m, 2H), 1.35 (br m, 2H), 1.29-0.88 (br m, 10H), 0.82, 0.80 (both s, total 6H). MS (ESI-) m/e 1607.5 (M-H) $^-$.

[1075] 2.132 合成2-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基]-5-(4-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基)丁基)苯基 β -D-吡喃葡萄糖苷酸 (glucopyranosiduronic acid)

向实施例2.127.1 (0.032 g)的N,N-二甲基甲酰胺(0.4 mL)混合物中加入N-乙基-N-异丙基丙-2-胺(0.025 mL),并将该混合物冷却至0°C。一次性加入2,5-二氧代吡咯烷-1-基-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酸酯(8.86 mg),并在0°C下搅拌45分钟。将该反应用水(1.5 mL)、N,N-二甲基甲酰胺(0.5 mL)和2,2,2-三氟乙酸(0.036 mL)的混合物稀释,并在Gilson 2020系统上,用反相制备HPLC纯化,使用5%至75%的乙腈/水的梯度。将含有产物的级分冷冻干燥,得到标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (501 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ 12.86 (s, 1H), 8.06 (s, 1H), 8.02 (dd, 1H), 7.77 (d, 1H), 7.60 (dd, 1H), 7.51 (dd, 1H), 7.49 – 7.39 (m, 2H), 7.38 – 7.28 (m, 3H), 7.17 (dd, 1H), 7.06 (d, 2H), 6.98 – 6.89 (m, 2H), 6.83 (d, 1H), 5.13 – 5.03 (m, 2H), 5.04 – 4.96 (m, 1H), 4.94 (s, 2H), 3.97 (s, 2H), 3.90 – 3.77 (m, 6H), 3.50 (s, 1H), 3.50 – 3.41 (m, 2H), 3.41 (dt, 3H), 3.28 (dt, 4H), 3.06 – 2.96 (m, 4H), 2.66 (dt, 2H), 2.51 (s, 2H), 2.08 (d, 3H), 1.52 (s, 2H), 1.42 – 1.32 (m, 4H), 1.23 (d, 4H), 1.11 (q, 2H), 1.06 (s, 4H), 0.81 (d, 6H). MS (ESI) m/e 1388.0 (M+H) $^+$.

[1076] 2.133 合成2-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基]-5-(4-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基)丁基)苯基 β -D-吡喃葡萄糖苷酸 (glucopyranosiduronic acid)

2.133.1 3-(1-((3-(2-(((4-(4-氨基丁基)-2-((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基)吡啶甲酸

向实施例2.124.5 (0.060 g)、实施例1.43.7 (0.056 g)和1H-苯并[d][1,2,3]三唑-1-醇(8 mg)的二甲亚砜(0.5 mL)混合物中加入N-乙基-N-异丙基丙-2-胺(0.056 mL),并将该反应在室温下搅拌3小时。将该反应用氢氧化锂水合物(0.026 g)和水(1 mL)的混合物处理,并搅拌30分钟。将甲醇(0.5 mL)加入到该反应中,并继续搅拌30分钟。将二乙胺(0.033 mL)加入到该反应中,并继续搅拌过夜。将该反应用2,2,2-三氟乙酸(0.120 mL)淬灭,并在Gilson 2020系统上,用反相制备HPLC纯化,使用5%至75%的乙腈/水的梯度。将含有产物的

级分冷冻干燥,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 1247.7 (M+H)⁺。

[1077] 2.133.2 2-[({[2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基) 萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基) 甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基] 氧基) 乙基] (2-磺乙基) 氨基甲酰基] 氧基) 甲基]-5-(4-[(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基) 乙酰基] 氨基) 丁基) 苯基 β -D-吡喃葡萄糖苷酸 (glucopyranosiduronic acid)

向实施例2.133.1 (0.030 g) 的N,N-二甲基甲酰胺 (0.400 mL) 混合物中加入N-乙基-N-异丙基丙-2-胺 (0.023 mL), 并将该混合物冷却至0°C。一次性加入2,5-二氧化吡咯烷-1-基-2-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基) 乙酸酯 (8.34 mg), 并将该混合物在0°C下搅拌30分钟。将该反应用水 (1.5 mL)、N,N-二甲基甲酰胺 (0.5 mL) 和2,2,2-三氟乙酸 (0.034 mL) 的混合物稀释, 并在Gilson 2020系统上, 用反相制备HPLC纯化, 使用5%至75%的乙腈/水的梯度。将含有产物的级分冷冻干燥, 得到标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ 13.08 (s, 1H), 9.01 (s, 1H), 8.39 – 8.31 (m, 1H), 8.25 – 8.11 (m, 3H), 8.06 (d, 2H), 7.99 (d, 1H), 7.94 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.68 (t, 1H), 7.51 – 7.42 (m, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.35 (t, 1H), 7.22 – 7.13 (m, 1H), 7.06 (d, 2H), 6.93 (d, 1H), 6.83 (d, 1H), 5.15 – 5.00 (m, 2H), 4.99 (d, 1H), 3.97 (s, 2H), 3.86 (d, 3H), 3.42 (d, 4H), 3.29 (d, 5H), 3.03 (p, 2H), 2.72 – 2.62 (m, 2H), 2.51 (d, 3H), 2.21 (s, 3H), 1.51 (q, 2H), 1.37 (q, 4H), 1.24 (d, 4H), 1.10 (s, 5H), 0.83 (d, 6H), 0.61 (s, 2H). MS (ESI) m/e 1383.0 (M+H)⁺。

[1078] 2.134 合成2-[({[2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基) 萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基) 甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基] 氧基) 乙基] (2-磺乙基) 氨基甲酰基] 氧基) 甲基]-5-[4-((2S)-2-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[4-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基) 苯基] 丙酰基] 氨基) 丁基) 苯基 β -D-吡喃葡萄糖苷酸 (glucopyranosiduronic acid)

将实施例2.120.5 (0.028 g)、0-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐 (0.013 g) 和N-乙基-N-异丙基丙-2-胺 (0.015 mL) 的混合物在N,N-二甲基甲酰胺 (0.4 mL) 中搅拌5分钟。将该混合物加入到实施例2.133.1 (0.030 g) 和N-乙基-N-异丙基丙-2-胺 (0.015 mL) 的N,N-二甲基甲酰胺 (0.4 mL) 混合物中, 并在室温下搅拌1小时。将该反应用水 (1.5 mL)、N,N-二甲基甲酰胺 (0.5 mL) 和2,2,2-三氟乙酸 (0.042 mL) 的混合物稀释, 并在Gilson 2020系统上, 用反相制备HPLC纯化, 使用5%至75%的乙腈/水的梯度。将含有产物的级分冷冻干燥, 得到标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ 9.01 (s, 1H), 8.35 (dd, 1H), 8.27 – 8.13 (m, 3H), 8.06 (d, 1H), 8.00 (d, 1H), 7.94 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.73 – 7.64 (m, 1H), 7.53 – 7.43 (m, 2H), 7.42 – 7.32 (m, 1H), 7.17 (d, 1H), 7.06 (s, 1H), 7.04 – 6.91 (m, 3H), 6.89 (d, 2H), 6.83 (d, 1H), 6.74 (d, 1H), 5.16 – 4.93 (m, 4H), 4.63 (dd, 2H), 3.96 (t, 2H), 3.86 (d, 4H), 3.66 (s, 4H), 3.55 – 3.46 (m, 36H), 3.45 – 3.35 (m, 8H), 3.35 – 3.24 (m, 6H), 3.21 (s, 2H), 3.11 (s, 2H), 2.99 (d, 2H), 2.83 – 2.59 (m, 3H), 2.52 (d, 2H), 2.21 (s, 3H), 1.57 – 0.86 (m, 14H), 0.83 (d, 4H). MS (ESI) m/e 1986.6 (M-H)⁻。

[1079] 2.135 合成N-[(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基) 乙酰基]-L-缬氨酰-N-4-[({[2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基) 甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基] 氧

基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-(4-羧丁基)苯基]-L-丙氨酰胺

2.135.1 4-((叔丁氧羰基)氨基)-2-碘代苯甲酸甲酯

将3-碘代-4-(甲氧羰基)苯甲酸(9 g)溶于叔丁醇(100 mL)中,并加入叠氮磷酸二苯基酯(7.6 mL)和三乙胺(4.9 mL)。将该混合物加热至83°C(内部温度)过夜。将该混合物浓缩至干,并用快速色谱纯化,用梯度0%至20%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 377.9 (M+H)⁺。

[1080] 2.135.2 4-氨基-2-碘代苯甲酸甲酯

将实施例2.135.1(3 g)在二氯甲烷(30 mL)和三氟乙酸(10 mL)中、在室温下搅拌1.5小时。将该反应浓缩至干,并在水(用盐酸调节至pH1)和乙醚之间分配。分离各层,用碳酸氢钠水溶液洗涤水层,用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩至干。将得到的固体与甲苯一起研磨,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 278.0 (M+H)⁺。

[1081] 2.135.3 4-((S)-2-((S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-2-碘代苯甲酸甲酯

向烧瓶中加入实施例2.135.2(337 mg)和实施例2.123.14(500 mg)。加入乙酸乙酯(18 mL),而后加入吡啶(0.296 mL)。将得到的悬浮液在冰浴中冷却,并逐滴加入2,4,6-三丙基-1,3,5,2,4,6-三氧杂三磷烷(phosphinane)2,4,6-三氧化物(50%混合物,在乙酸乙酯中,1.4 mL)。在0°C下继续搅拌45分钟,并将该反应放置在-20°C冰箱中过夜。将该反应升温至室温,并用水淬灭。分离各层,并用乙酸乙酯提取水层两次以上。将合并的提取物用无水硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。将残余物溶于二氯甲烷中,并用乙醚稀释,沉淀出标题化合物,进行过滤收集。MS (ESI) m/e 669.7 (M+H)⁺。

[1082] 2.135.4 (9H-芴-9-基)甲基((S)-1-((S)-1-(4-(羟甲基)-3-碘代苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯

将实施例2.54.3(1 g)溶于四氢呋喃(15 mL)中,并将该混合物在冰-丙酮浴中冷却至-15°C。然后逐滴加入氢化锂铝(1N,在四氢呋喃中,3 mL),保持温度低于-10°C。将该反应搅拌1小时,并小心地用10%柠檬酸(25 mL)淬灭。分离各层,并用乙酸乙酯提取水层三次。用水和盐水洗涤合并的有机层,用无水硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。将残余物吸附到硅胶上,用快速色谱纯化,用梯度5%至6%的甲醇/二氯甲烷洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 664.1 (M+H)⁺。

[1083] 2.135.5 5-(5-((S)-2-((S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-2-(羟甲基)苯基)戊-4-炔酸甲酯

向戊-4-炔酸甲酯(50 mg)、实施例2.135.4(180 mg)和N,N-二异丙基乙胺(0.15 mL)的N,N-二甲基甲酰胺(2 mL)搅拌混合物中加入双(三苯基膦)氯化钯(II)(20 mg)和碘化亚铜(5 mg)。将该混合物用氮气吹扫三次,并在室温下搅拌过夜。用乙酸乙酯稀释该反应,并用水和盐水洗涤。将水层用乙酸乙酯反萃取。将合并的有机层用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。在Gilson系统上,用反相HPLC纯化该残余物,用20-90%的乙腈/水(含有0.1% v/v三氟乙酸)洗脱。将目标级分合并,冷冻干燥,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 608.0 (M-H₂O)⁺。

[1084] 2.135.6 5-(5-((S)-2-((S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-2-(羟甲基)苯基)戊酸甲酯

在20°C,在50 psi H₂氛围中,将实施例2.135.5(0.084 g)和10% Pd/C(0.02 g)的混合

物在四氢呋喃(5 mL)中搅拌1小时。通过硅藻土过滤该反应混合物,减压蒸发溶剂,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 612.0 (M-H₂O)⁺。

[1085] 2.135.7 5-(5-((S)-2-((S)-2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-2-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)戊酸甲酯

在实施例2.55.7中,用实施例2.135.7替代实施例2.55.6,制备实施例2.135.7。MS (ESI) m/e 795.4 (M+H)⁺。

[1086] 2.135.8 3-(1-((3-2-(((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-2-(4-羧丁基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

在实施例2.49.1中,用实施例2.135.7替代(9H-芴-9-基)甲基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯,制备实施例2.135.8。MS (ESI) m/e 1271.4 (M-H)⁻。

[1087] 2.135.9 N-[2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[[([2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基]-3-(4-羧丁基)苯基}-L-丙氨酰胺

在实施例2.54中,用实施例2.135.8替代实施例2.49.1,制备实施例2.135.9。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ ppm 9.88 (d, 1H), 8.3 - 8.2 (m, 2H), 8.01 (dd, 1H), 7.77 (d, 1H), 7.59 (dd, 1H), 7.52 (dd, 1H), 7.47 - 7.29 (m, 8H), 7.23 - 7.18 (m, 1H), 7.05 (s, 2H), 6.95 (d, 1H), 5.00 (d, 2H), 4.94 (s, 2H), 4.37 (p, 1H), 3.51 - 3.28 (m, 5H), 3.26 - 3.14 (m, 2H), 2.99 (t, 2H), 2.65 (t, 2H), 2.57 (s, 2H), 2.26 - 2.17 (m, 3H), 2.07 (d, 3H), 1.94 (dd, 1H), 1.61 - 0.69 (m, 35H). MS (ESI) m/e 1408.5 (M-H)⁻。

[1088] 2.136 合成2-[[([2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基]-5-(3-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基)丙基)苯基 β -D-吡喃葡萄糖苷酸 (glucopyranosiduronic acid)

2.136.1 (3R,4S,5S,6S)-2-(5-(3-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙-1-炔-1-基)-2-甲酰基苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

在实施例2.124.2中,用(9H-芴-9-基)甲基丙-2-炔-1-基氨基甲酸酯替代2.124.1A,制备实施例2.136.1。MS (ESI) m/e 714.1 (M+H)⁺。

[1089] 2.136.2 (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-(3-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙基)-2-甲酰基苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

在实施例2.124.3中,用2.136.1替代2.124.2,制备实施例2.136.2。MS (ESI) m/e 718.5 (M+H)⁺。

[1090] 2.136.3 (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-(3-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙基)-2-(羟甲基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

在实施例2.124.4中,用2.136.2替代2.124.3,制备实施例2.136.3。MS (ESI) m/e 742.2

(M+Na)⁺。

[1091] 2.136.4 (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(5-(3-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)丙基)-2-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯氧基)-6-(甲氧羰基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯

在实施例2.124.5中,用2.136.3替代2.124.4,制备实施例2.136.4。MS (ESI) m/e 885.2 (M+Na)⁺。

[1092] 2.136.5 3-(1-((3-(2-(((4-(3-氨基丙基)-2-((3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

在实施例2.49.1中,用实施例2.136.4替代(9H-芴-9-基)甲基((S)-3-甲基-1-((S)-1-((4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苄基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯,制备实施例2.136.5。MS (ESI) m/e 1237.7 (M+H)⁺。

[1093] 2.136.6 2-[[[2-((3-[[4-(6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基]-5-(3-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基)丙基)苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸 (glucopyranosiduronic acid)

在实施例2.54中,用实施例2.136.5替代实施例2.49.1,制备实施例2.136.6。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 8.14 (d, 1H), 8.01 (d, 1H), 7.59 (d, 1H), 7.53-7.39 (m, 4H), 7.38-7.28 (m, 3H), 7.22-7.15 (m, 2H), 7.13-6.91 (m, 5H), 6.84 (d, 1H), 5.17-4.91 (m, 5H), 3.35-3.2 (m, 4H), 3.10-2.90 (m, 4H), 2.75-2.65 (m, 2H), 2.08 (s, 3H), 1.65 (s, 2H), 1.39-0.71 (m, 21H). MS (ESI) m/e 1372.3 (M-H)⁻.

[1094] 2.137 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[3-{2-[[[2-[(2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]氧基]-4-(4-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基)丁基)苄基]氧基)羰基}(3-[[1,3-二羟基-2-(羟甲基)丙-2-基]氨基]-3-氧代丙基)氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶-2-甲酸

2.137.1 3-(1-((3-(2-(((4-(4-氨基丁基)-2-((2R,3S,4R,5R,6R)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)(3-((1,3-二羟基-2-(羟甲基)丙-2-基)氨基)-3-氧代丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

如实施例2.124.6所述,制备标题化合物,用实施例1.84替代实施例1.87.3。MS (ESI) m/e 1319.4 (M-H)⁻。

[1095] 2.137.2 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-{1-[3-{2-[[[2-[(2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]氧基]-4-(4-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基)丁基)苄基]氧基)羰基}(3-[[1,3-二羟基-2-(羟甲基)丙-2-基]氨基]-3-氧代丙基)氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶-2-甲酸

如实施例2.54所述,制备标题化合物,用实施例2.137.1替代实施例2.49.1。

$^1\text{H NMR}$ (501 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 12.83 (s, 2H), 8.12 (s, 0H), 8.06 (s, 1H), 8.03 – 7.99 (m, 1H), 7.77 (d, 1H), 7.72 (s, 0H), 7.60 (d, 1H), 7.52 – 7.39 (m, 3H), 7.34 (td, 2H), 7.26 (s, 1H), 7.21 – 7.11 (m, 2H), 7.05 (s, 2H), 6.93 (d, 2H), 6.83 (d, 1H), 5.09 (d, 2H), 5.00 (d, 1H), 4.94 (s, 2H), 4.12 (t, 1H), 3.97 (s, 2H), 3.87 (q, 4H), 3.79 (d, 2H), 3.29 (q, 2H), 3.12 – 2.93 (m, 5H), 2.47 – 2.23 (m, 1H), 2.07 (d, 3H), 1.50 (d, 3H), 1.36 (d, 5H), 1.31 – 0.85 (m, 9H), 0.81 (d, 7H). MS (ESI) m/e 1568.4 (M-H).

[1096] 2.138 合成6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基)-3-(1-((3-(2-(((2-((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)-4-(4-(2-((3S,5S)-3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-((2-磺基乙氧基)甲基)吡咯烷-1-基)乙酰胺基)丁基)苄基)氧基)羧基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

在实施例2.119.17中,用实施例2.133.1替代实施例2.119.16,制备标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 8.99 (s, 1H), 8.34 (dd, 1H), 8.19 (d, 1H), 8.17 (d, 1H), 8.13 (d, 1H), 8.04 (d, 1H), 7.97 (d, 1H), 7.93 (d, 1H), 7.80 (br t, 1H), 7.77 (d, 1H), 7.67 (dd, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.45 (dd, 1H), 7.34 (dd, 1H), 7.14 (d, 1H), 7.03 (s, 2H), 6.93 (s, 1H), 6.82 (br d, 1H), 5.06 (br m, 2H), 4.98 (d, 1H), 4.67 (t, 1H), 4.02 (d, 2H), 3.85 (m, 3H), 3.71 (br m, 1H), 3.59 (t, 2H), 3.45 (br m, 3H), 3.41 (m, 4H), 3.27 (m, 4H), 3.03 (m, 2H), 2.70 (m, 2H), 2.65 (br m, 2H), 2.50 (br t, 2H), 2.31 (br m, 1H), 2.19 (s, 3H), 1.80 (m, 1H), 1.52 (br m, 2H), 1.38 (m, 2H), 1.35 (br m, 2H), 1.29-0.88 (br m, 10H), 0.82 (s, 3H), 0.80 (s, 3H). MS (ESI) m/e 1602.4 (M-H).

[1097] 2.139 合成2-[[[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基][3-羟基-2-(羟甲基)丙基]氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-(3-[[2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基)丙基)苯基 β -D-吡喃葡萄糖苷酸 (glucopyranosiduronic acid)

2.139.1 3-(1-((3-(2-(((4-(3-氨基丙基)-2-((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羧基)(3-羟基-2-(羟甲基)丙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

在实施例2.49.1中,用实施例2.136.4替代(9H-芴-9-基)甲基((S)-3-甲基-1-((S)-1-((4-(((4-硝基苯氧基)羧基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯,用实施例1.79.3替代实施例1.2.9,制备实施例2.139.1。MS (ESI) m/e 1217.7 (M+H)⁺。

[1098] 2.139.2 2-[[[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基][3-羟基-2-(羟甲基)丙基]氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-(3-[[2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基)丙基)苯基 β -D-吡喃葡萄糖苷酸 (glucopyranosiduronic acid)

在实施例2.54中,用实施例2.139.1替代实施例2.49.1,制备实施例2.139.1。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 12.84 (s, 2H), 8.11 (t, 1H), 8.00 (dd, 1H), 7.76 (d, 1H), 7.62 – 7.56 (m, 1H), 7.50 – 7.37 (m, 3H), 7.37 – 7.29 (m, 2H), 7.25 (s, 1H), 7.16 (d, 1H), 7.04 (s, 2H), 6.96 – 6.88 (m, 2H), 6.82 (d, 1H), 5.06 (s, 2H), 4.98 (d, 1H), 4.92 (s, 2H), 3.97 (s, 2H), 3.44 – 3.18 (m, 11H), 3.07 – 2.90 (m, 4H), 2.05 (s, 3H), 1.80 (s, 1H), 1.64 (p, 2H), 1.38 – 0.67 (m, 19H). (m, 21H). MS (ESI) m/e 1352.5 (M-H) $^-$.

[1099] 2.140 合成N-({(3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-[(2-磺基乙氧基)甲基]吡咯烷-1-基}乙酰基)-L-缬氨酰-N-{4-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基]甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基}-3-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十三烷-52-炔-53-基)苯基}-L-丙氨酰胺

2.140.1 2-碘代-4-硝基苯甲酸

在0℃,将2-氨基-4-硝基苯甲酸(50 g)加入到浓H₂SO₄(75 mL)和水(750 mL)的混合物中,并将该混合物搅拌1小时。在0℃,向该混合物中逐滴加入亚硝酸钠(24.62 g)和水(300 mL)的混合物。将得到的混合物在0℃下搅拌3小时。将碘化钠(65.8 g)和水(300 mL)的混合物慢慢地加入到上面的混合物中。加入完毕后,将得到的混合物在0℃下搅拌2小时,然后在室温下搅拌16小时,在60℃下搅拌2小时。将得到的混合物冷却至室温,并用冰-水(300 mL)稀释。过滤收集固体,用水(100 mL x 5)洗涤,空气干燥16小时,得到标题化合物。MS (LC-MS) m/e 291.9 (M-H) $^-$ 。

[1100] 2.140.2 2-碘代-4-硝基苯甲酸甲酯

将在甲醇(1000 mL)和硫酸(23.65 mL)的混合物中的实施例2.140.1(130 g)的混合物在85℃下搅拌16小时,并浓缩至干。将残余物与甲醇(100 mL)一起研磨,并将该悬浮液搅拌10分钟。过滤收集固体,用水(200 mL x 3)和甲醇(20 mL)洗涤,空气干燥16小时,得到标题化合物。MS (LC-MS) m/e 308.0 (M+H) $^+$ 。

[1101] 2.140.3 4-氨基-2-碘代苯甲酸甲酯

在室温下,向氯化铵(122 g)和铁(38.2 g)的乙醇(1000 mL)和水(100 mL)混合物中加入实施例2.140.2(70 g)。将该混合物在80℃下搅拌4小时,过滤,除去不溶性物质。减压浓缩滤液。将残余物溶于乙酸乙酯(1000 mL)中,并用水(500 mL)洗涤。用乙酸乙酯(1000 mL x 2)提取水相。用盐水洗涤合并的有机相,用MgSO₄干燥,过滤,浓缩,得到标题化合物。MS (LC-MS) m/e 278.0 (M+H) $^+$ 。

[1102] 2.140.4 (4-氨基-2-碘代苯基)甲醇

在-50℃,向实施例2.140.3(40 g)的四氢呋喃(800 mL)混合物中逐滴加入1M二异丁基氢化铝(505 mL)。将该混合物在-50℃下搅拌3小时,并冷却至-20℃。向该混合物中逐滴加入冰-水(180 mL)(保持温度低于0℃)。加入冰-水之后,搅拌该混合物10分钟,并过滤。将滤液浓缩,并将残余物溶于乙酸乙酯(800 mL)和水(200 mL)中。用乙酸乙酯提取(300 mL x 2)提取水相。用盐水洗涤合并的有机相,用MgSO₄干燥,过滤,并浓缩,得到标题化合物。MS (LC-MS) m/e 250.0 (M+H) $^+$ 。

[1103] 2.140.5 4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-碘代苯胺

向实施例2.140.4 (40 g) 和咪唑 (21.87 g) 的二氯甲烷 (600 mL) 和四氢呋喃 (150 mL) 混合物中加入叔丁基二甲基氯硅烷 (29.0 g)。将该混合物在室温下搅拌16小时,并过滤,取出固体。向滤液中加入冰-水 (50 mL)。将该混合物搅拌10分钟,并加入水 (100 mL)。将该混合物用二氯甲烷 (500 mL x 2) 提取。用盐水洗涤合并的有机相,用MgSO₄干燥,过滤,并浓缩。用硅胶色谱纯化残余物,用15/1至10/1的石油醚/乙酸乙酯洗脱,得到标题化合物。MS (LC-MS) m/e 364.0 (M+H)⁺。

[1104] 2.140.6 (S)-1-((4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-碘代苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基甲酸叔丁基酯

在0℃,向(S)-2-((叔丁氧羰基)氨基)丙酸 (15.62 g) 和实施例2.140.5 (30 g) 的二氯甲烷 (600 mL) 混合物中逐滴加入POCl₃ (15.39 mL)。将该混合物在0℃下搅拌2小时。将冰-水 (60 mL) 小心地逐滴加入到该混合物中(保持温度低于5℃)。将该混合物搅拌30分钟,浓缩,除去二氯甲烷。将残余物悬浮在乙酸乙酯 (500 mL) 和水 (100 mL) 中。过滤该悬浮液。用水 (200 mL x 2) 和盐水洗涤有机相,用MgSO₄干燥,过滤,并浓缩,得到标题化合物。MS (LC-MS) m/e 533.0 (M-H)⁺。

[1105] 2.140.7 (S)-1-((4-(羟甲基)-3-碘代苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基甲酸叔丁基酯

在0℃,向实施例2.140.6 (60 g) 的四氢呋喃 (600 mL) 混合物中加入四氢呋喃 (120 mL) 中的四丁基氟化胺 (28.2 g)。将该混合物在室温下搅拌16小时,并过滤。向滤液中加入水 (100 mL)。将该混合物搅拌10分钟,而后浓缩。将残余物用乙酸乙酯 (800 mL) 和水 (300 mL) 稀释。用乙酸乙酯提取 (200 mL x 3) 提取水相。用盐水洗涤合并的有机相,用MgSO₄干燥,过滤,并浓缩。用硅胶色谱纯化残余物,用3/1至1/1的石油醚/乙酸乙酯洗脱,得到标题化合物。MS (LC-MS) m/e 443.0 (M+Na)⁺。

[1106] 2.140.8 (S)-2-氨基-N-(4-(羟甲基)-3-碘代苯基)丙酰胺

将实施例2.140.7 (20 g)、二氯甲烷 (80 mL) 和三氟乙酸 (40 mL) 的混合物在室温下搅拌2小时,并浓缩。将残余物溶于二氯甲烷 (80 mL) 中,并加入三乙胺 (16.95 mL),调节至pH8。在二氯甲烷中,获得标题化合物的游离碱,其不用进一步纯化,在下一步中直接使用。MS (LC-MS) m/e 321.1 (M+H)⁺。

[1107] 2.140.9 ((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)-3-碘代苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸叔丁基酯

将(S)-2-((叔丁氧羰基)氨基)-3-甲基丁酸 (6.79 g)、三乙胺 (9.58 mL) 和1-羟基苯并三唑水合物 (5.26 g) 的混合物在二氯甲烷 (250 mL) 中搅拌20分钟。在0℃,将得到的混合物逐滴加入到实施例2.140.8 (10 g) 和1-乙基-3-[3-(二甲基氨基)丙基]-碳二亚胺盐酸盐 (6.59 g) 的二氯甲烷 (100 mL) 混合物中。加入完毕后,将该混合物在0℃下搅拌2小时。加入冰-水 (200 mL),并将得到的混合物搅拌20分钟。用饱和碳酸氢钠水溶液 (100 mL x 2)、水 (100 mL x 2) 和盐水 (100 mL) 洗涤有机相,用MgSO₄干燥,过滤,并浓缩。用硅胶色谱纯化残余物,用3/1至1/1的石油醚/乙酸乙酯洗脱,得到标题化合物。LC-MS m/e 542.1 (M+Na)⁺。

[1108] 2.140.10 ((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)-3-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十三烷-52-炔-53-基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸叔丁基酯

向实施例2.140.9 (50 mg)、2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十三烷-52-炔 (149 mg)、双(三苯基膦) 氯化钨(II) (27.0 mg) 和N,N-二异丙基乙胺 (0.05 mL) 的N,N-二甲基甲酰胺 (1 mL) 混合物中加入碘化亚铜(I) (3.67 mg)。将该反应用氮气流吹扫10分钟,并搅拌过夜。将该反应用二甲亚砷稀释,在Gilson系统(C18柱)上,用反相HPLC纯化,用20-70%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。MS (LC-MS) m/e 1164.2 (M-H)⁻。

[1109] 2.140.11 ((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)-3-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十三烷-52-炔-53-基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸叔丁基酯

向实施例2.140.10 (80 mg) 和双(4-硝基苯基) 碳酸酯 (31.3 mg) 的N,N-二甲基甲酰胺 (0.2 mL) 混合物中加入N,N-二异丙基乙胺 (0.06 mL)。将该混合物搅拌3小时,并在Gilson系统(C18柱)上,用反相HPLC纯化,用35-75%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。

[1110] 2.140.12 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-(((4-(S)-2-((S)-2-((叔丁氧羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十三烷-52-炔-53-基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)吡啶甲酸

向实施例1.2.9 (95 mg)、实施例2.140.11 (148 mg) 和1-羟基苯并三唑水合物 (68.1 mg) 的N,N-二甲基甲酰胺 (2.5 mL) 混合物中加入N,N-二异丙基乙胺 (97 μl)。将该混合物搅拌3.5小时,并在Gilson系统(C18柱)上,用反相HPLC纯化,用35-80%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。

[1111] 2.140.13 3-(1-((3-(2-(((4-(S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十三烷-52-炔-53-基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

将冷却(0°C)的实施例2.140.12 (135 mg) 的二氯甲烷 (4 mL) 混合物用三氟乙酸 (1 mL) 处理5小时。将该混合物浓缩,并在Gilson系统(C18柱)上,用反相HPLC纯化,用20-60%的乙腈/水(含有0.1%浓缩)洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 973.4 (M+2H)²⁺。

[1112] 2.140.14 N-({(3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-[(2-磺基乙氧基)甲基]吡咯烷-1-基}乙酰基)-L-缬氨酰-N-{4-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基}-3-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十三烷-52-炔-53-基)苯基}-L-丙氨酰胺

将实施例2.119.15 (20.88 mg) 和O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐 (21.1 mg) 的混合物在N,N-二甲基甲酰胺 (0.4 mL) 中用N,N-二异丙基乙胺 (16.2 μl) 处理7分钟,并慢慢地加入实施例2.140.13 (60 mg) 和N,N-二异丙基乙胺 (32.3 μl) 的N,

N-二甲基甲酰胺 (0.6 mL) 混合物。将该反应混合物搅拌10分钟,并在Gilson系统 (C18柱) 上,用反相HPLC纯化,用20-70%的乙腈/水 (含有0.1%三氟乙酸) 洗脱,得到标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ 10.01 (d, 1H), 8.22 (d, 1H), 8.02 (t, 2H), 7.90 – 7.75 (m, 2H), 7.66 – 7.50 (m, 3H), 7.50 – 7.39 (m, 3H), 7.35 (q, 3H), 7.05 (s, 2H), 7.00 (d, 1H), 5.08 (d, 2H), 4.97 (s, 2H), 4.65 (t, 1H), 4.47 – 4.31 (m, 4H), 4.23 – 4.14 (m, 2H), 3.90 – 3.69 (m, 5H), 3.68 – 3.58 (m, 4H), 3.57 – 3.53 (m, 2H), 3.52 – 3.43 (m, 57H), 3.42 – 3.33 (m, 4H), 3.22 (s, 5H), 3.01 (t, 2H), 2.49 (p, 3H), 2.09 (d, 3H), 2.04 – 1.77 (m, 1H), 1.40 – 1.17 (m, 6H), 1.06 (dd, 6H), 0.97 – 0.63 (m, 11H). MS (ESI) m/e 1153.3 (M+2H)²⁺.

[1113] 2.141 合成N-({(3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-[(2-磺乙氧基)甲基]吡咯烷-1-基}乙酰基)-L-缬氨酰-N-{4-[[2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基]-3-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十三烷-53-基)苯基}-L-丙氨酰胺

2.141.1 ((S)-1-(((S)-1-((3-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七碳氧杂五十二烷-52-基)-4-(羟甲基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸叔丁基酯

在耐压瓶中,将实施例2.140.10 (304 mg) 和10% Pd/C (90 mg, 干燥) 的混合物在四氢呋喃 (20 mL) 中、在50 psi的氢气氛围中摇动2小时。滤出不溶性物质,并将滤液浓缩,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 1168.3 (M-H)。

[1114] 2.141.2 ((S)-1-(((S)-1-((3-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七碳氧杂五十二烷-52-基)-4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸叔丁基酯

使用实施例2.140.11的方法,用实施例2.141.1替代实施例2.140.10,制备标题化合物。

[1115] 2.141.3 6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-(((4-((S)-2-((S)-2-((叔丁氧羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十三烷-53-基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)吡啶甲酸

使用实施例2.140.12的方法,用实施例2.141.2替代实施例2.140.11,制备标题化合物。

[1116] 2.141.4 3-(1-((3-(2-(((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-2-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十三烷-53-基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

使用实施例2.140.13的方法,用实施例2.141.3替代实施例2.140.12,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 1948.8 (M-H)⁻。

[1117] 2.141.5 N-((3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-[(2-磺基乙氧基)甲基]吡咯烷-1-基)乙酰基)-L-缬氨酸-N-{4-[[2-((3-[[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基]-3-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十三烷-53-基)苯基}-L-丙氨酸酰胺

使用实施例2.140.14的方法,用实施例2.141.4替代实施例2.140.13,制备标题化合物。

¹H NMR (501 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ 12.87 (s, 1H), 9.84 (s, 1H), 8.18 (d, 1H), 8.03 (dd, 2H), 7.78 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.52 (d, 1H), 7.45 (ddd, 4H), 7.40 – 7.32 (m, 2H), 7.30 (s, 1H), 7.22 (d, 1H), 7.07 (s, 2H), 6.96 (d, 1H), 5.01 (d, 2H), 4.95 (s, 2H), 4.64 (t, 1H), 4.38 (t, 1H), 4.24 – 4.12 (m, 2H), 4.00 (d, 1H), 3.88 (t, 2H), 3.78 (t, 3H), 3.64 (ddt, 2H), 3.49 (dd, 62H), 3.43 – 3.37 (m, 6H), 3.23 (s, 3H), 3.01 (t, 2H), 2.84 – 2.68 (m, 1.5H), 2.63 (dd, 4H), 2.36 (d, 0.5H), 2.08 (d, 3H), 1.74 (t, 2H), 1.25 (dt, 6H), 1.17 – 1.00 (m, 6H), 0.99 – 0.72 (m, 11H). MS (ESI) m/e 1153.0 (M-2H)²⁺.

[1118] 2.141 合成2-[[2-((3-[[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基][(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基甲酰基)氧基)甲基]-5-(3-[[2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基]乙酰基]氨基)丙基)苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸 (glucopyranosiduronic acid)

2.142.1 3-(1-((3-(2-(((4-(3-氨基丙基)-2-((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)((S)-3,4-二羟基丁基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

在实施例2.49.1中,用实施例2.136.4替代(9H-芴-9-基)甲基((S)-3-甲基-1-((S)-1-(4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯,用实施例1.85替代实施例1.2.9,制备实施例2.142.1。MS (ESI) m/e 1217.3 (M+H)⁺。

[1119] 2.142.2 2-[[2-((3-[[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基][(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基甲酰基)氧基)甲基]-5-(3-[[2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基]乙酰基]氨基)丙基)苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸 (glucopyranosiduronic acid)

在实施例2.54中,用实施例2.142.1替代实施例2.49.1,制备实施例2.142.2。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 8.14 (d, 1H), 8.03 (dt, 1H), 7.81 – 7.76 (m, 1H), 7.61 (dd, 1H), 7.53 – 7.41 (m, 3H), 7.38 – 7.32 (m, 2H), 7.28 (s, 1H), 7.18 (d, 1H), 7.06 (d, 2H), 6.97 – 6.92 (m, 2H), 6.85 (dd, 1H), 5.10 (q, 2H), 5.01 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 3.48 – 3.18 (m, 12H), 3.06 (q, 2H), 3.00 (t, 2H), 2.08 (s, 3H), 1.77 – 0.66 (m, 16H). MS (ESI) m/e 1352.5 (M-H)⁻.

[1120] 2.143 合成1-[[2-((3-[[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢

异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]({[4-(4-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}丁基)-2-(β-D-吡喃葡萄糖基氧基(glucopyranuronosyloxy))苄基]氧基}羰基)氨基}-1,2-二脱氧-D-阿拉伯-己糖醇

2.143.1 3-(1-((3-(2-(((4-(4-氨基丁基)-2-((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)((3R,4S,5R)-3,4,5,6-四羟基己基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

在实施例2.97.8中,用实施例1.77.2替代实施例1.25,用实施例2.124.5替代实施例2.97.7,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 1291 (M+H)⁺, 1289 (M-H)⁻。

[1121] 2.143.2 1-{[2-((3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]({[4-(4-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}丁基)-2-(β-D-吡喃葡萄糖基氧基(glucopyranuronosyloxy))苄基]氧基}羰基)氨基)-1,2-二脱氧-D-阿拉伯-己糖醇

在实施例2.54中,用实施例2.143.1替代实施例2.49.1,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 8.04 (d, 1H), 7.81 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.54-7.43 (m, 3H), 7.41-7.35 (m, 2H), 7.29 (s, 1H), 7.18 (m, 1H), 7.03 (s, 2H), 6.97 (d, 1H), 6.93 (s, 1H), 6.86 (d, 1H), 5.18-5.05 (m, 3H), 5.03 (d, 1H), 4.97 (s, 2H), 4.01 (s, 2H), 3.91 (d, 1H), 3.87 (t, 2H), 3.83 (m, 2H), 3.72 (s, 2H), 3.67 (m, 2H), 3.59 (dd, 2H), 3.50-3.27 (m, 16H), 3.14 (d, 2H), 3.04 (m, 4H), 2.09 (s, 3H), 1.68 (m, 2H), 1.52 (m, 2H), 1.44-1.31 (m, 4H), 1.26-1.14 (m, 4H), 1.10 (m, 4H), 0.98 (q, 2H), 0.85 (m, 6H). MS (ESI) m/e 1428 (M+H)⁺, 1426 (M-H)⁻。

[1122] 2.144 合成1-{[2-((3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]({[4-(4-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}丁基)-2-(β-D-吡喃葡萄糖基氧基(glucopyranuronosyloxy))苄基]氧基}羰基)氨基)-1,2-二脱氧-D-赤戊糖醇

2.144.1 3-(1-((3-(2-(((4-(4-氨基丁基)-2-((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羰基)((3S,4R)-3,4,5-三羟基戊基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

在实施例2.97.8中,用实施例1.80替代实施例1.25,用实施例2.124.5替代实施例2.97.7,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 1261 (M+H)⁺, 1259 (M-H)⁻。

[1123] 2.144.2 1-{[2-((3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基]({[4-(4-{[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基}丁基)-2-(β-D-吡喃葡萄糖基氧基(glucopyranuronosyloxy))苄基]氧基}羰基)氨基)-1,2-二脱氧-D-赤戊糖醇

在实施例2.54中,用实施例2.144.1替代实施例2.49.1,制备标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 8.08 (t, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.53-7.42 (m, 3H), 7.38-7.33 (m, 2H), 7.20 (s, 1H), 7.17 (m, 1H), 7.07 (s, 2H), 6.97-6.93 (m, 2H), 6.85 (d, 1H), 5.17-5.05 (m, 3H), 5.02 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 3.98 (s, 2H), 3.88 (m, 4H), 3.80 (m, 4H), 3.67 (m, 2H), 3.42 (m, 4H), 3.36-3.23 (m, 13H), 3.08-2.99 (m, 5H), 2.09 (s, 3H), 1.86 (m, 1H), 1.53 (m, 2H), 1.38 (m, 4H), 1.25 (m, 4H), 1.11 (m, 4H), 0.96 (m, 2H), 0.83 (m, 6H).
MS (ESI) m/e 1398 (M+H) $^+$, 1396 (M-H) $^-$.

[1124] 2.145 合成N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基) 乙酰基]-L-缬氨酰-N- {4- [([2- ({3- [(4- {6- [8- (1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基) 萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基) 甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基) 氧基) 乙基] (2-磺乙基) 氨基甲酰基) 氧基) 甲基]-3-[27-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十六烷-26-基)-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂-27-氮杂三十烷-30-基] 苯基]-L-丙氨酰胺

2.145.1 ((S)-1-(((S)-1-((3-(3-((苄氧基)羰基)氨基)丙-1-炔-1-基)-4-(羟甲基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸叔丁基酯

向((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)-3-碘代苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸叔丁基酯(0.5 g)的N,N-二甲基甲酰胺(6 mL)混合物中加入丙-2-炔-1-基氨基甲酸苄基酯(0.182 g)、CuI(9.2 mg)、双(三苯基膦)氯化钯(II)(35 mg)和N,N-二异丙基乙胺(1.0 mL)。将该混合物在室温下搅拌过夜。真空浓缩该混合物。将残余物溶于乙酸乙酯(300 mL)中,用水和盐水洗涤,用无水硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。蒸发溶剂,并将残余物用硅胶色谱纯化,用30%的乙酸乙酯/二氯甲烷洗脱,得到标题化合物。MS (APCI) m/e 581.2 (M-H) $^-$ 。

[1125] 2.145.2 ((S)-1-(((S)-1-((3-(3-氨基丙基)-4-(羟甲基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸叔丁基酯

向实施例2.145.1(1.7g)的乙醇(30 mL)混合物中加入5% Pd/C(0.3 g)和环己烯(大大过量)。将该反应在100°C下搅拌45分钟。过滤该反应,并减压浓缩。将残余物溶于N,N-二甲基甲酰胺中,并在Gilson系统(C18柱)上,用反相HPLC纯化,用20-80%的乙腈/水(包含0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 451.1 (M-H) $^-$ 。

[1126] 2.145.3 ((S)-1-(((S)-1-((3-(27-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十六烷-26-基)-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂-27-氮杂三十烷-30-基)-4-(羟甲基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸叔丁基酯

向实施例2.145.2(45 mg)的二氯甲烷(4 mL)混合物中加入2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十六烷-26-醛(79 mg),而后加入NaH(OAc)₃(63.5 mg)。将该混合物在室温下搅拌3小时,而后减压浓缩。将残余物溶于N,N-二甲基甲酰胺中,并在Gilson系统(C18柱)上,用反相HPLC纯化,用20-80%的乙腈/水(包含0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 1212.1 (M-H) $^-$ 。

[1127] 2.145.4 ((S)-1-(((S)-1-((3-(27-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十六烷-26-基)-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂-27-氮杂三十烷-30-基)-4-(((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸叔丁基酯

向实施例2.145.3(80 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(2 mL)混合物中加入双(4-硝基苯基)

碳酸酯(26 mg),而后加入N,N-二异丙胺(0.012 mL)。将该混合物在室温下搅拌过夜,并在Gilson系统(C18柱)上,直接用反相HPLC纯化,用20-80%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 1376.97 (M-H)⁻。

[1128] 2.145.5 3-(1-((3-(2-(((2-(27-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十六烷-26-基)-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂-27-氮杂三十烷-30-基)-4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基)吡啶甲酸

向实施例2.145.4(30 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(4 mL)混合物中加入实施例1.43(18.68 mg),而后加入1-羟基苯并三唑水合物(3.4 mg)和N,N-二异丙胺(3.84 μl)。将该混合物在室温下搅拌过夜。将三氟乙酸(0.55 mL)加入到该混合物中,并在室温下搅拌3小时。在Gilson系统(C18柱)上,用反相HPLC纯化该混合物,用20-80%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 1986.6 (M-H)⁻。

[1129] 2.145.6 N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[[([2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)萘-2-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基]-3-[27-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十六烷-26-基)-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂-27-氮杂三十烷-30-基]苄基]-L-丙氨酰胺

如实施例2.123.21所述,制备标题化合物,用实施例2.145.5替代实施例2.123.20。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 13.10 (s, 1H), 9.92 (s, 1H), 9.43 (s, 1H), 9.02 (s, 1H), 8.37 (dd, 1H), 8.30 – 8.14 (m, 5H), 8.07 (d, 1H), 8.02 (d, 1H), 7.96 (d, 1H), 7.81 (d, 1H), 7.74 – 7.68 (m, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.52 – 7.45 (m, 2H), 7.42 – 7.34 (m, 2H), 7.28 (d, 1H), 7.08 (s, 2H), 5.05 (d, 2H), 4.39 (t, 1H), 4.21 (dd, 1H), 4.12 (s, 2H), 3.88 (s, 2H), 3.49 (d, 55H), 3.34 (s, 200H), 3.23 (s, 5H), 3.13 (d, 4H), 2.79 – 2.65 (m, 5H), 2.23 (s, 3H), 1.94 (d, 8H), 1.47 – 0.94 (m, 15H), 0.92 – 0.76 (m, 12H)。

[1130] 2.146 合成(6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[[([2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基]-5-({N-[(2S)-3-[3,4-双(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苄基]-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基]-L-缬氨酰-L-丙氨酰}氨基)苄基}乙基)-L-古洛糖酸

2.146.1 (S)-2-(((苄氧基)羰基)氨基)-3-(3,4-二羟苯基)丙酸

向(S)-2-氨基-3-(3,4-二羟苯基)丙酸(1.00 kg)和NaHCO₃(1.28 kg)的二噁烷(5.00 L)和水(5.00 L)的混合物中逐滴加入氯甲酸苄基酯(1.04 kg)。将该反应混合物在25°C下搅拌12小时。加入6N HCl水溶液,将该反应混合物调节至pH=3.0~4.0,并用乙酸乙酯(25 L)提取。用Na₂SO₄干燥有机层,过滤,并真空浓缩,得到标题化合物。

¹H NMR (400MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 8.73 (s, 1H), 7.54-7.26 (m, 8H), 6.64-6.45 (m, 3H), 4.98 (s, 2H), 4.49 (s, 1H), 2.87 (d, J = 9.60 Hz, 1H), 2.68-2.62 (m, 1H)。

[1131] 2.146.2 (S)-2-(((苄氧基)羰基)氨基)-3-(3,4-二羟苯基)丙酸苄基酯

在20℃,向实施例2.146.1(800.00 g)和Cs₂CO₃(1.18 kg)的混合物中加入溴甲苯(259.67 g)。将该反应混合物搅拌1小时,TLC显示反应完成。将残余物用水(5 L)稀释,并用乙酸乙酯(三次,5 L)提取。将合并的有机层用盐水(5 L)洗涤,用Na₂SO₄(150 g)干燥,过滤,并减压浓缩。用柱色谱(SiO₂,石油醚/乙酸乙酯=100:1至1:1)纯化残余物两次,提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 2.77 - 3.02 (m, 2 H), 4.47 (br. s., 1 H), 4.61 (d, *J*=7.94 Hz, 1 H), 5.01 - 5.17 (m, 4 H), 5.35 - 5.47 (m, 1 H), 6.32 (br. s., 1 H), 6.38 (d, *J*=7.94 Hz, 1 H), 6.51 (s, 1 H), 6.65 (d, *J*=7.94 Hz, 1 H), 7.17 - 7.42 (m, 9 H).

[1132] 2.146.3 (S)-2-(((苄氧基)羰基)氨基)-3-(3,4-双(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基)丙酸苄基酯

向K₂CO₃(27.04 g)和KI(5.95 g)的N,N-二甲基甲酰胺(150 mL)混合物中加入二甲基甲酰胺(150 mL)中的实施例2.146.2(8.12 g)和2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基4-甲基苯磺酸酯(27.00 g)。将该混合物在75℃下、在氮气氛围中搅拌12小时。额外准备两个上述管瓶。将所有的三个反应混合物合并,纯化。将该混合物倒入NH₄Cl水溶液(9 L)中,并用乙酸乙酯提取(五次,900 mL)。将合并的有机层用盐水(1500 mL)洗涤,用Na₂SO₄(150 g)干燥,过滤,并减压浓缩,得到粗品残余物。用柱色谱(SiO₂,二氯甲烷/甲醇=100:1至20:1)纯化残余物,提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 2.95 - 3.08 (m, 2 H), 3.38 (s, 6 H), 3.57 - 3.68 (m, 80 H), 3.78 (t, *J*=4.85 Hz, 2 H), 3.83 (t, *J*=5.29 Hz, 2 H), 4.01 (t, *J*=5.07 Hz, 2 H), 4.10 (t, *J*=5.07 Hz, 2 H), 4.58 - 4.70 (m, 1 H), 5.09 (s, 2 H), 5.14 (d, *J*=3.53 Hz, 2 H), 6.55 (d, *J*=8.38 Hz, 1 H), 6.62 (d, *J*=1.76 Hz, 1 H), 6.74 (d, *J*=7.94 Hz, 1 H), 7.27 - 7.49 (m, 10 H).

[1133] 2.146.4 (S)-2-氨基-3-(3,4-双(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基)丙酸

向实施例2.146.3(16.50 g)的甲醇(200 mL)混合物中加入Pd/C(9.00 g),并将该混合物在50℃下、在H₂(50 psi)氛围中搅拌16小时。如上所述,再进行一个反应。LC/MS显示反应完成,并将两个反应混合物合并,纯化。过滤该混合物,并浓缩。粗品标题化合物不用进一步纯化,在下一步中直接使用。

[1134] 2.146.5 (S)-3-(3,4-双(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸

向实施例2.146.4(5.94 g)和水(60.00 mL)的混合物中加入Na₂CO₃(790.67 mg)和2,5-二氧代吡咯-1-甲酸甲酯(1.19 g)。将该混合物在25℃下搅拌3小时。如上所述,再进行四个反应。将所有五个反应混合物合并,纯化。加入4M HCl水溶液,调节至pH2。用反相制备HPLC(三氟乙酸条件)纯化合并的混合物,提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 3.35 - 3.40 (m, 6 H), 3.51 - 3.58 (m, 4 H), 3.58 - 3.75 (m, 78 H), 3.81 (q, *J*=4.70 Hz, 4 H), 4.11 (dt, *J*=10.14, 5.07 Hz, 4 H), 4.91 (dd, *J*=11.47, 5.29 Hz, 1 H), 6.53 - 6.69 (m, 3 H), 6.71 - 6.89 (m, 2 H). MS (ESI) *m/e* 6 38.0 (M+H)⁺.

[1135] 2.146.6 (6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-([2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-({N-[2S]-3-[3,4-双(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基氧基)苯基]-2-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰基}-L-缬氨酰-L-丙氨酰}氨基)苯基}乙基)-L-古洛糖酸

将实施例2.146.5(0.020 mL)、0-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐(0.014 g)和N-乙基-N-异丙基丙-2-胺(0.020 mL)的混合物在N,N-二甲基甲酰胺(0.4 mL)中搅拌5分钟。将该混合物加入到实施例2.123.20(0.042 g)和N-乙基-N-异丙基丙-2-胺(0.020 mL)的N,N-二甲基甲酰胺(0.4 mL)混合物中,并在室温下搅拌3小时。将该反应用水(1.5 mL)、N,N-二甲基甲酰胺(0.5 mL)和2,2,2-三氟乙酸(0.054 mL)的混合物稀释,并在Gilson 2020系统上,用反相制备HPLC纯化,使用5%至85%的乙腈/水的梯度。将含有产物的级分冷冻干燥,得到标题化合物。

¹H NMR (501 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ 12.86 (s, 4H), 9.92 (s, 2H), 8.26 (d, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.02 (dd, 1H), 7.77 (d, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.54 – 7.49 (m, 1H), 7.49 – 7.39 (m, 2H), 7.39 – 7.31 (m, 2H), 7.28 (s, 1H), 7.20 (d, 1H), 6.94 (d, 1H), 6.87 (s, 2H), 6.77 (d, 1H), 6.60 – 6.53 (m, 1H), 5.05 – 4.91 (m, 5H), 4.80 (dd, 2H), 4.37 (t, 2H), 4.21 (t, 2H), 3.97 (dt, 3H), 3.86 (t, 3H), 3.78 (d, 3H), 3.68 (dt, 4H), 3.65 – 3.28 (m, 102H), 3.20 – 3.08 (m, 2H), 2.99 (t, 2H), 2.92 (d, 2H), 2.68 (dd, 2H), 2.07 (d, 4H), 1.54 (s, 2H), 1.37 – 0.71 (m, 16H). MS (ESI) m/e 2631.2 (M-H)⁻.

[1136] 2.147 合成N-[2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基]乙酰基)-N-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基)-β-丙氨酰-L-缬氨酰-N-{4-([2-({3-[4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十三烷-53-基)苯基}-L-丙氨酰胺

2.147.1 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂-35-氮杂三十八烷-38-酸苄基酯

向2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-胺(1 g)的N,N-二甲基甲酰胺(4 mL)和水(3 mL)的混合物中逐滴加入丙烯酸苄酯(0.377 g)。将该反应混合物搅拌过夜,并在Gilson系统(C18柱)上,用反相HPLC纯化,用20-70%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 678.4 (M+H)⁺。

[1137] 2.147.2 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂-35-氮杂三十八烷-38-酸

在耐压瓶中,将实施例2.147.1(220 mg)和10% Pd/C(44 mg,干燥)在四氢呋喃(10 mL)中、在50 psi的氢气氛围中摇动1小时。过滤该反应,并浓缩滤液。将残余物在高真空下干燥,提供标题化合物。MS (ESI) m/e 588.3 (M+H)⁺。

[1138] 2.147.3 2,5-二氧化吡咯烷-1-基35-(2-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基)-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂-35-氮杂三十八烷-38-酸酯

将冷却(0°C)的2,5-二氧化吡咯烷-1-基2-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酸酯(566 mg)、1-羟基苯并三唑水合物(229 mg)、1-羟基吡咯烷-2,5-二酮(86 mg)和实施

例2.147.2 (440 mg) 的混合物在N,N-二甲基甲酰胺 (3ml) 中用N,N-二异丙基乙胺 (785 μ l) 处理25分钟。将该反应用二甲亚砜稀释,并在Gilson系统 (C18柱) 上,用反相HPLC纯化,用5-55%的乙腈/水 (含有0.1%三氟乙酸) 洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 822.3 (M+H)⁺。

[1139] 2.147.4 N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-N-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基)- β -丙氨酸-L-缬氨酸-N-{4-[(2-[(3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50-十七氧杂五十三烷-53-基)苯基}-L-丙氨酸酰胺

向冷却 (0°C) 的实施例2.141.4 (28 mg)、实施例2.147.3 (27.1 mg) 和1-羟基苯并三唑水合物 (6.6 mg) 的N,N-二甲基甲酰胺 (0.8 mL) 混合物中加入N,N-二异丙基乙胺-2 (20.1 μ l)。将该混合物搅拌10分钟,并在Gilson系统 (C18柱) 上,用反相HPLC纯化,用30-70%的乙腈/水 (含有0.1%三氟乙酸) 洗脱,得到标题化合物。

¹H NMR (400 MHz,

二甲亚砜-*d*₆) δ 12.81 (s, 1H), 9.84 (s, 1H), 8.21 – 7.86 (m, 2H), 7.75 (d, 1H), 7.57 (d, 1H), 7.52 – 7.28 (m, 7H), 7.27 – 7.15 (m, 2H), 7.04 (d, 2H), 6.91 (d, 1H), 4.94 (d, 4H), 4.36 (dt, 3H), 4.19 (dt, 1H), 3.84 (t, 2H), 3.75 (d, 2H), 3.63 (d, 1H), 3.46 (dd, 104H), 3.36 (s, 2H), 3.19 (s, 5H), 2.97 (t, 2H), 2.57 (t, 5H), 2.42 – 2.26 (m, 1H), 2.03 (s, 7H), 2.00 – 1.83 (m, 1H), 1.70 (t, 2H), 1.38 – 0.96 (m, 13H), 0.96 – 0.69 (m, 13H). MS (ESI) m/e 1327.7 (M-2H)²⁻.

[1140] 2.148 合成N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-N-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基)- β -丙氨酸-L-缬氨酸-N-{4-[(2-[(3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸酰胺

使用实施例2.147.4的方法,用实施例2.112.2替代实施例2.141.4,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ

12.83 (s, 1H), 9.96 (d, 1H), 8.18 – 7.85 (m, 3H), 7.75 (d, 1H), 7.64 – 7.37 (m, 7H), 7.32 (td, 2H), 7.28 – 7.20 (m, 3H), 7.04 (s, 2H), 6.92 (d, 1H), 5.17 – 4.79 (m, 4H), 4.59 – 4.31 (m, 3H), 4.21 (dt, 1H), 3.84 (t, 2H), 3.77 (d, 2H), 3.52 (s, 4H), 3.39 (d, 2H), 3.19 (s, 5H), 2.94 (dt, 4H), 2.60 (t, 3H), 2.43 – 2.27 (m, 1H), 2.05 (s, 4H), 1.60 (d, 2H), 1.44 – 0.57 (m, 22H). MS (ESI) m/e 1964.8 (M-H)⁻.

[1141] 2.149 合成N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-L-缬氨酸-N-{4-[(2-[(3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡啶-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-[27-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十六烷-26-基)-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂-27-氮杂三十烷-30-基]苯基}-L-丙氨酸酰胺

2.149.1 3-(1-((3-(2-(((2-(27-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十六烷-26-基)-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂-27-氮杂三十烷-30-基)-4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-

1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

如实施例2.145.5所述,制备标题化合物,用实施例1.2.9替代实施例1.43。MS (ESI) m/e 1991.4 (M-H)⁻。

[1142] 2.149.2 N-[(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-3-[27-(2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十六烷-26-基)-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂-27-氮杂三十烷-30-基]苯基}-L-丙氨酸酰胺

如实施例2.145所述,制备标题化合物,用实施例2.149.1替代实施例2.145.5。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 12.83 (s, 1H), 9.90 (s, 1H), 9.41 (s, 1H), 8.24 (d, 2H), 8.01 (d, 1H), 7.77 (d, 1H), 7.67 – 7.29 (m, 8H), 7.26 (s, 2H), 7.06 (s, 2H), 6.93 (d, 1H), 5.03 (d, 2H), 4.93 (s, 2H), 4.37 (t, 1H), 4.19 (dd, 1H), 4.11 (s, 2H), 3.86 (t, 2H), 3.79 (s, 2H), 3.70 – 3.26 (m, 226H), 3.21 (s, 6H), 3.11 (s, 5H), 2.99 (t, 2H), 2.66 (d, 4H), 2.08 (s, 3H), 1.89 (s, 8H), 1.44 – 0.90 (m, 14H), 0.89 – 0.68 (m, 11H).

[1143] 2.150 合成N-{(3S)-3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙酰基}-L-缬氨酰-N-{4-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸酰胺

2.150.1 3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)戊-4-炔酸

向3-氨基戊-4-炔酸三氟乙酸盐(1.9 g)的四氢呋喃(30 mL)混合物中加入2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-甲酸甲酯(1.946 g),而后快速加入N,N-二异丙基乙胺(8.04 mL)。将得到的混合物在60°C下搅拌16小时。将该混合物浓缩至干。在Gilson系统(C18柱)上,用反相HPLC纯化残余物,用20-80%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。

MS (LC-MS) m/e 194 (M+H). ¹H-NMR (二甲亚砜-*d*₆, 400 MHz) δ 2.92-3.07 (m, 2H), 3.38 (d, 1H), 5.07-5.12 (m, 1H), 7.08 (s, 2H), 12.27 (bs, 0.6H).

[1144] 2.150.2 3-(1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)-3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸

向实施例2.150.1(700 mg)的叔丁醇/水(2:1,15 mL)的混合物中加入37-叠氨基-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷(2123 mg)。将(R)-2-((S)-1,2-二羟基乙基)-4-羟基-5-氧代-2,5-二氢呋喃-3-醇化钠(71.8 mg)和硫酸铜(II)(28.9 mg)依次加入到该混合物中。将得到的混合物在室温下搅拌16小时,并浓缩。在Gilson系统(C18柱)上,用反相HPLC纯化残余物,用20-80%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。

物。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ 3.24 (s, 3H), 3.15-3.28 (m, 2H), 3.41-3.52 (m, 44H), 3.79 (t, 2H), 4.48 (t, 2H), 5.56-5.60 (m, 1H), 7.05 (s, 2H), 8.03 (s, 1H). MS (LC-MS) m/e 779 (M+H) $^+$.

[1145] 2.150.3 N-{(3S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙酰基}-L-缬氨酸-N-{4-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1 3,7]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N 5 -氨基甲酰基-L-鸟氨酸酰胺

在0℃,向0-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐(8.45 mg)和实施例2.150.2(20 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(0.3 mL)混合物中慢慢地加入N,N-二异丙基乙胺(22.19 μl),并将该反应混合物搅拌1分钟。加入冷却(0℃)的实施例2.112.2(20 mg)和N,N-二异丙基乙胺(22 μl)的N,N-二甲基甲酰胺(0.4 mL)混合物。将得到的混合物搅拌10分钟,并在Gilson系统(C18柱)上,用反相HPLC纯化,用20-80%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物(3位的绝对构型是任意指定的)。

$^1\text{H NMR}$ (501 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ 9.95 (s, 1H), 8.07 (d, 3H), 8.04 - 7.96 (m, 2H), 7.77 (d, 1H), 7.64 - 7.53 (m, 3H), 7.50 (s, 1H), 7.48 - 7.39 (m, 2H), 7.34 (q, 2H), 7.30 - 7.23 (m, 3H), 6.98 (s, 2H), 6.93 (d, 1H), 5.61 (t, 1H), 4.96 (d, 4H), 4.54 - 4.27 (m, 3H), 4.14 (t, 1H), 3.86 (t, 2H), 3.77 (q, 4H), 3.43 (d, 7H), 3.21 (s, 6H), 3.00 (d, 5H), 2.61 (s, 2H), 2.07 (d, 3H), 1.92 (s, 1H), 1.60 (d, 2H), 1.47 - 0.86 (m, 10H), 0.85 - 0.67 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1010.6 (M-2H) $^{2-}$.

[1146] 2.151 合成N-{(3R)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙酰基}-L-缬氨酸-N-{4-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基}-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1 3,7]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]苯基}-N 5 -氨基甲酰基-L-鸟氨酸酰胺

在制备2.150.3期间,分离出实施例2.151(3位的绝对构型是任意指定的)。

$^1\text{H NMR}$ (501 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ 9.91 (s, 1H), 8.11 (dd, 2H), 8.04 - 7.99 (m, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.77 (d, 1H), 7.58 (t, 3H), 7.54 - 7.39 (m, 2H), 7.39 - 7.31 (m, 2H), 7.31 - 7.24 (m, 3H), 7.00 (s, 2H), 6.94 (d, 1H), 5.61 (dd, 1H), 5.08 - 4.79 (m, 4H), 4.40 (dt, 3H), 4.16 (s, 1H), 3.86 (t, 2H), 3.82 - 3.73 (m, 4H), 3.51 - 3.30 (m, 46H), 3.21 (s, 7H), 3.05 - 2.87 (m, 3H), 2.62 (t, 2H), 2.07 (d, 3H), 1.95 (s, 2H), 1.69 (s, 1H), 1.51 - 0.86 (m, 10H), 0.88 - 0.70 (m, 13H). MS (ESI) m/e 1010.6 (M-2H) $^{2-}$.

[1147] 2.152 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-({3-[2-({2-2-[(2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基]乙基}-4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]氨基]-3-甲基丁酰基]氨基}丙酰基]氨基}苄基)氧基]羧基][(3R,4S,5R)-3,4,5,6-四羟基己

基]氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基]吡啶-2-甲酸

2.152.1 3-(1-((3-(2-(((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-2-(2-((2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)乙基)苄基)氧基)羰基)((3R,4S,5R)-3,4,5,6-四羟基己基)氨基)乙氧基]-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

在实施例2.97.8中,用实施例1.77.2替代实施例1.25,用实施例2.123.19替代实施例2.97.7,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 1417 (M+H)⁺, 1415 (M-H)⁺。

[1148] 2.152.2 6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-((3-[2-((2-((2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)乙基)-4-((2S)-2-((2S)-2-((2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基)氨基)-3-甲基丁酰基)氨基)丙酰基)氨基)苄基)氧基]羰基][(3R,4S,5R)-3,4,5,6-四羟基己基]氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基]吡啶-2-甲酸

在实施例2.54中,用实施例2.152.1替代实施例2.49.1,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 9.85 (m, 1H), 8.18 (t, 2H), 7.96 (d, 1H), 7.73 (d, 1H), 7.55 (d, 1H), 7.46-7.25 (m, 8H), 7.21 (s, 1H), 7.15 (d, 1H), 7.00 (s, 1H), 6.99 (d, 1H), 6.88 (d, 1H), 4.95 (bs, 2H), 4.88 (s, 2H), 4.32 (m, 1H), 4.15 (t, 1H), 4.05 (s, 2H), 3.82 (t, 2H), 3.72 (m, 4H), 3.58-3.29 (m, 6H), 3.19 (m, 4H), 3.11-3.00 (m, 6H), 2.97 (t, 2H), 2.91 (t, 2H), 2.72 (m, 2H), 2.55 (m, 2H), 2.04 (s, 3H), 2.02-1.85 (m, 3H), 1.54 (m, 4H), 1.44 (s, 1H), 1.33 (bs, 1H), 1.22 (m, 6H), 1.04 (m, 6H), 0.86 (m, 2H), 0.77 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1554 (M+H)⁺, 1552 (M-H)⁻。

[1149] 2.153 合成6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-3-[1-((3-[2-((2-((2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)乙基)-4-((2S)-2-((2S)-2-((3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-((2-磺基乙氧基)甲基)吡咯烷-1-基)乙酰基)氨基)-3-甲基丁酰基)氨基)丙酰基)氨基)苄基)氧基]羰基][(3R,4S,5R)-3,4,5,6-四羟基己基]氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基]吡啶-2-甲酸

将实施例2.119.15 (11 mg)溶于N,N-二甲基甲酰胺(0.1 mL)中。加入2-(3H-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1,1,3,3-四甲基异脲六氟磷酸盐(V) (11 mg)和N,N-二异丙基乙胺(7.4 mg)。将该混合物在室温下搅拌五分钟。然后,将该混合物加入到另一个实施例2.152.1 (34 mg)和N,N-二异丙基乙胺(16.3 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(0.2 mL)混合物中。将该反应在室温下搅拌60分钟,并用三氟乙酸(36 mg)淬灭。将该混合物用水(0.75 mL)和二甲亚砜(0.75 mL)稀释,并在配备有Luna柱(C18(2), 100Å, 150 x 30 mm)的Grace Reveleris上,用反相HPLC纯化,使用10-75%的乙腈/水(w/0.1% TFA),经过30分钟。收集产物级分,冷冻,并冷冻干燥,得到标题化合物的三氟乙酸盐。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 9.85 (m, 1H), 8.18 (d, 1H), 8.05 (d, 1H), 8.04 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.53-7.39 (m, 8H), 7.36 (q, 2H), 7.29 (s, 1H), 7.22 (d, 1H), 7.07 (s, 1H), 6.96 (d, 1H), 5.18 (bs, 2H), 4.96 (s, 2H), 4.65 (t, 1H), 4.37 (t, 1H), 4.19 (t, 1H), 4.16 (s, 1H), 4.01 (d, 2H), 3.89 (t, 2H), 3.78 (m, 4H), 3.73 (m, 2H), 3.49-3.44 (m, 4H), 3.40-3.20 (m, 8H), 3.24 (m, 4H), 3.17-3.07 (m, 4H), 3.02 (t, 2H), 2.95 (t, 2H), 2.76 (m, 4H), 2.62 (m, 1H), 2.37 (m, 1H), 2.09 (s, 3H), 1.99 (m, 2H), 1.86 (q, 1H), 1.62 (m, 4H), 1.38 (bs, 2H), 1.28 (m, 6H), 1.18-1.02 (m, 6H), 0.96 (m, 2H), 0.91-0.79 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1773 (M-H)⁻.

[1150] 2.154 合成 (6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[(2-{3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基)-5-(N-[(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-N-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基)-β-丙氨酰-L-缬氨酰-L-丙氨酰}氨基)苯基}乙基)-L-古洛糖酸

2.154.1 3-(1-((3-(2-(((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-2-(2-((2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)乙基)苄基)氧基)羰基)(2-磺乙基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

将实施例1.2.9(200 mg)、实施例2.123.19(288 mg)和1-羟基苯并三唑水合物(50.2 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(2 mL)混合物在冰浴中冷却,并加入N,N-二异丙基乙胺(143μl)。将该反应混合物在室温下搅拌2.5小时,并浓缩。将四氢呋喃(0.5 mL)和甲醇(0.5 mL)加入到残余物中。将得到的混合物在冰浴中冷却,并慢慢地加入水(2.5 mL)中的氢氧化锂水合物(147 mg)。将该混合物在室温下搅拌1.5小时,并在冰浴中冷却。逐滴加入三氟乙酸(361 μl),直到pH值达到6为止。在Gilson系统(C18柱)上,用反相HPLC纯化该混合物,用35-45%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 1375.5 (M-H)⁻。

[1151] 2.154.2 (6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[(2-{3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基)-5-(N-[(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-N-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基)-β-丙氨酰-L-缬氨酰-L-丙氨酰}氨基)苯基}乙基)-L-古洛糖酸

在0℃,向1-羟基苯并三唑水合物(5.22 mg)、实施例2.154.1(23.5 mg)和实施例2.147.3(24 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)混合物中慢慢地加入N,N-二异丙基乙胺(23.84μl)。将该反应混合物在室温下搅拌15分钟,并在Gilson系统(C18柱)上,用反相HPLC纯化,用35-50%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。

¹H NMR

(501 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ 12.83 (s, 1H), 9.88 (s, 1H), 8.23 – 8.04 (m, 2H), 8.02 (dd, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.77 (d, 1H), 7.59 (d, 1H), 7.55 – 7.30 (m, 7H), 7.27 (s, 1H), 7.20 (d, 1H), 7.07 (d, 2H), 6.93 (d, 1H), 5.07 – 4.88 (m, 4H), 4.47 – 4.32 (m, 3H), 4.22 (dt, 1H), 3.97 – 3.73 (m, 4H), 3.62 – 3.45 (m, 35H), 3.31 (t, 3H), 3.21 (s, 3H), 3.06 (d, 2H), 2.83 – 2.54 (m, 5H), 2.47 – 2.29 (m, 1H), 2.13 – 1.84 (m, 5H), 1.52 (d, 1H), 1.43 – 0.69 (m, 26H). MS (ESI) m/e 1043.0 (M-2H)²⁺.

[1152] 2.155 合成 (6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基)-5-[N-{2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙酰基}-L-缬氨酰-L-丙氨酰)氨基]苯基}乙基)-L-古洛糖酸

2.155.1 3-(1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸

使用实施例2.150.2的方法,用2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)戊-4-炔酸替代实施例2.150.1,制备标题化合物。

[1153] 2.155.2 (6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基)-5-[N-{2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙酰基}-L-缬氨酰-L-丙氨酰)氨基]苯基}乙基)-L-古洛糖酸

使用实施例2.150.3的方法,制备标题化合物,分别用实施例2.155.1和实施例2.154.1,替代实施例2.150.2和实施例2.112.2。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ 12.83 (s, 1H), 9.87 (d, 1H), 8.25 – 8.06 (m, 2H), 8.00 (d, 1H), 7.75 (d, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.57 (d, 1H), 7.54 – 7.28 (m, 6H), 7.25 (s, 1H), 7.18 (d, 1H), 6.98 – 6.85 (m, 3H), 5.09 – 4.89 (m, 4H), 4.76 (ddd, 1H), 4.36 (ddd, 3H), 4.17 (q, 1H), 3.84 (t, 2H), 3.76 (d, 2H), 3.72 – 3.66 (m, 2H), 3.49 – 3.44 (m, 37H), 3.20 (s, 5H), 3.01 – 2.82 (m, 3H), 2.13 – 1.81 (m, 5H), 1.52 (s, 1H), 1.39 – 0.50 (m, 23H). MS (ESI) m/e 1069.7 (M+2H)²⁺.

[1154] 2.156 合成 (6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基)-5-[N-{(3S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙酰基}-L-缬氨酰-L-丙氨酰)氨基]苯基}乙基)-L-古洛糖酸

在制备实施例2.155.2期间,分离出实施例2.156的纯非对映异构体(3位的绝对构型是任意指定的)。

¹H NMR

(400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ 12.82 (s, 1H), 9.85 (s, 1H), 8.08 (d, 2H), 8.03 – 7.95 (m, 2H), 7.75 (d, 1H), 7.57 (d, 1H), 7.51 – 7.29 (m, 6H), 7.24 (s, 1H), 7.18 (d, 1H), 6.95 (s, 2H), 6.91 (d, 1H), 5.59 (dd, 1H), 5.06 – 4.86 (m, 4H), 4.43 (dt, 2H), 4.32 (t, 1H), 4.11 (t, 1H), 3.84 (t, 2H), 3.75 (t, 3H), 3.55 – 3.41 (m, 43H), 3.41 – 3.36 (m, 2H), 3.19 (s, 5H), 3.10 (t, 1H), 3.03 – 2.86 (m, 3H), 2.59 (s, 3H), 2.13 – 1.82 (m, 6H), 1.52 (s, 1H), 1.37 – 0.65 (m, 26H). MS (ESI) *m/e* 1067.8 (M-2H)²⁺.

[1155] 2.157 合成 (6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-[(N-{(3R)-3-(2,5-二氧化代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[1-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-十二氧杂三十七烷-37-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙酰基}-L-缬氨酰-L-丙氨酰)氨基]苯基}乙基)-L-古洛糖酸

在制备实施例2.155.2期间,分离出实施例2.157的纯非对映异构体(3位的绝对构型是任意指定的)。

¹H NMR

(400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ 12.81 (s, 1H), 9.81 (s, 1H), 8.10 (d, 2H), 8.00 (d, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.75 (d, 1H), 7.57 (d, 1H), 7.51 – 7.28 (m, 6H), 7.24 (s, 1H), 7.18 (d, 1H), 6.98 (s, 2H), 6.91 (d, 1H), 5.59 (t, 1H), 5.06 – 4.87 (m, 4H), 4.46 – 4.26 (m, 2H), 4.12 (d, 1H), 3.84 (t, 2H), 3.75 (d, 3H), 3.46 (d, 27H), 3.40 – 3.36 (m, 2H), 3.19 (s, 5H), 3.01 – 2.85 (m, 3H), 2.60 (s, 3H), 1.99 (d, 4H), 1.52 (s, 1H), 1.35 – 0.65 (m, 23H). MS (ESI) *m/e* 1067.8 (M-2H)²⁺.

[1156] 2.158 合成 (6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-[(N-{(3S)-3-(2,5-二氧化代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[1-(3-磺丙基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙酰基}-L-缬氨酰-L-丙氨酰)氨基]苯基}乙基)-L-古洛糖酸

2.158.1 3-叠氮丙烷-1-磺酸钠

向叠氮化钠(3.25 g)和水(25 mL)的混合物中加入丙酮(25ml)中的1,2-氧硫杂环戊烷2,2-二氧化物(6.1 g)。将得到的混合物在室温下搅拌24小时,并浓缩至干。将固体悬浮在乙醚(100 mL)中,并在回流下搅拌1小时。将该悬浮液冷却至室温,过滤收集固体,用丙酮和乙醚洗涤,并真空干燥,得到标题化合物。MS (LC-MS) *m/e* 164 (M-H)⁻。

[1157] 2.158.2 3-叠氮丙烷-1-磺酸异丙基酯

将实施例2.158.1(6.8 g)和浓HCl(90 mL)的混合物在室温下搅拌1小时。将该混合物浓缩至干。将残余物溶于二氯甲烷(350 mL)中,并将一份三异丙氧基甲烷(42.0 mL)加入到该混合物中。将得到的混合物在50°C下搅拌2小时,并浓缩至干。用硅胶色谱纯化粗品残余物,用10/1的石油醚/乙酸乙酯洗脱,得到标题化合物。

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 1.42 (s, 3H), 1.44 (s, 3H), 2.08-

2.15 (m, 2H), 3.17 (t, 2H), 3.51 (t, 2H), 4.95-5.01 (m, 1H).

[1158] 2.158.3 3-(2,5-二氧化代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-(1-(3-磺丙基)-1H-1,2,

3-三唑-4-基)丙酸

向实施例2.150.1 (450 mg)的叔丁醇/水(2:1, 9 mL)的混合物中加入实施例2.158.2 (483 mg),而后加入硫酸铜(II) (18.59 mg)和(R)-2-((S)-1,2-二羟基乙基)-4-羟基-5-氧代-2,5-二氢咪唑-3-醇化钠(46.2 mg)。将得到的混合物在室温下搅拌16小时,并将该混合物浓缩至干。在Gilson系统(C18柱)上,用反相HPLC纯化残余物,用20-80%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。

¹H-NMR

(二甲亚砜-*d*₆, 400 MHz): 2.06-2.10 (m, 2H), 2.45-2.48 (m, 2H), 3.21-3.23 (m, 2H), 4.40-4.44 (m, 2H), 5.55-5.59 (m, 1H), 7.05 (s, 2H), 8.10 (s, 1H). MS (LCMS) m/e 359 (M+H)⁺.

[1159] 2.158.4 (6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-[N-((3S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[1-(3-磺丙基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙酰基)-L-缬氨酰-L-丙氨酰)氨基]苯基}乙基)-L-古洛糖酸

使用实施例2.150.3的方法,制备标题化合物,分别用实施例2.158.3和实施例2.154.1,替代实施例2.150.2和实施例2.112.2。分离出该化合物的纯非对映异构体(3位的绝对构型是任意指定的)。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ

10.14 - 9.66 (m, 1H), 8.07 (d, 2H), 8.04 - 7.96 (m, 2H), 7.75 (d, 1H), 7.57 (d, 1H), 7.52 - 7.29 (m, 7H), 7.26 (s, 1H), 7.18 (d, 1H), 6.92 (d, 3H), 5.58 (t, 1H), 5.09 - 4.84 (m, 4H), 4.35 (dt, 3H), 4.15 - 4.02 (m, 1H), 3.89 - 3.65 (m, 4H), 3.28 (d, 1H), 3.21 (dd, 2H), 3.14 - 3.02 (m, 2H), 3.01 - 2.86 (m, 4H), 2.62 (d, 3H), 2.37 (t, 2H), 2.29 (s, 0H), 2.02 (dt, 5H), 1.52 (s, 1H), 1.40 - 0.59 (m, 24H). MS (ESI) m/e 1715.3 (M-H)⁻.

[1160] 2.159 合成(6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲基]-5-[N-((3R)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-[1-(3-磺丙基)-1H-1,2,3-三唑-4-基]丙酰基)-L-缬氨酰-L-丙氨酰)氨基]苯基}乙基)-L-古洛糖酸

在制备实施例2.158期间,分离出实施例2.159的纯非对映异构体(3位的绝对构型是任意指定的)。

¹H NMR

(400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ 9.97 (d, 1H), 8.21 (d, 1H), 8.13 (d, 1H), 8.04 - 7.96 (m, 2H), 7.75 (d, 1H), 7.57 (d, 1H), 7.55 - 7.37 (m, 4H), 7.36 - 7.25 (m, 3H), 7.17 (d, 1H), 6.98 (s, 2H), 6.93 (d, 1H), 5.58 (t, 1H), 4.94 (d, 4H), 4.50 - 4.26 (m, 3H), 4.10 (s, 1H), 3.98 - 3.73 (m, 3H), 3.51 (d, 1H), 3.42 (s, 3H), 3.34 - 3.01 (m, 6H), 3.01 - 2.83 (m, 4H), 2.63 (d, 4H), 2.42 (d, 1H), 2.18 - 1.80 (m, 8H), 1.53 (s, 1H), 1.39 - 0.68 (m, 27H). MS (ESI) m/e 1715.4 (M-H)⁻.

[1161] 2.160 合成(6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基](2-磺乙基)氨基甲酰基}氧基)甲

基]-5-({N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-N-[2-(2-磺基乙氧基)乙基]-β-丙氨酰-L-缬氨酰-L-丙氨酰}氨基)苯基)乙基)-L-古洛糖酸

2.160.1 4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基2-(2-((叔丁氧羰基)氨基)乙氧基)乙磺酸酯

在20℃,向(2-羟乙基)氨基甲酸叔丁基酯(433 mg)的二甲亚砷(0.9 mL)混合物中加入4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基乙烯磺酸酯(500 mg)和K₂CO₃(210 mg)。在封盖的瓶中,将该混合物升温至60℃,并搅拌16小时。将该混合物用乙酸乙酯稀释,并用水和盐水洗涤。将有机层用无水硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。用硅胶快速色谱纯化残余物,用石油醚/乙酸乙酯(10:1~2:1)洗脱,得到标题化合物。MS(LC-MS)m/e 630.3(M+Na)⁺。

[1162] 2.160.2 4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁基2-(2-氨基乙氧基)乙磺酸酯

在20℃,向实施例2.160.1(1.5 g)的无水二氯甲烷(100 mL)混合物中加入溴化锌(II)(0.445 g)。将该混合物在室温下搅拌16小时。将溴化锌(II)(278 mg)再加入到上面的混合物中,并将该反应再搅拌16小时。用1M Na₂CO₃水溶液(5 mL)淬灭该反应,并将水层用乙酸乙酯提取三次。将合并的有机层用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。用硅胶柱色谱纯化残余物,用二氯甲烷/甲醇(10:1)洗脱,得到标题化合物。MS(LC-MS)m/e 508.2(M+H)⁺。

[1163] 2.160.3 3-((2-(2-((4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙氧基)乙基)氨基)丙酸叔丁基酯

向实施例2.160.2(0.365 g)的N,N-二甲基甲酰胺(5.5 mL)和水(0.55 mL)的混合物中加入丙烯酸叔丁基酯(0.105 mL)和三乙胺(10.02 μl)。将该混合物在60℃下搅拌30小时。浓缩该混合物。将残余物与1M Na₂CO₃水溶液(5 mL)混合。用乙酸乙酯提取水层三次。将合并的有机层用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。用硅胶柱色谱纯化残余物,用二氯甲烷/乙酸乙酯(3:1)和二氯甲烷/甲醇(10:1)洗脱,得到标题化合物。MS(LC-MS)m/e 636.3(M+H)⁺。

[1164] 2.160.4 3-(N-(2-(2-((4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙氧基)乙基)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰胺基)丙酸叔丁基酯

在0℃,向实施例2.160.3(557.5 mg)、2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酸(272 mg)和0-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐(667 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(1.75 mL)混合物中加入N,N-二异丙基乙胺(0.459 mL)。将得到的混合物在0℃下搅拌1小时。将该反应混合物与饱和NH₄Cl水溶液混合,用乙酸乙酯提取,并用盐水洗涤。将有机层用硫酸钠干燥,过滤,并浓缩。用硅胶柱色谱纯化残余物,用石油醚/乙酸乙酯(2/1)洗脱,提供标题化合物。MS(LC-MS)m/e 795.3(M+Na)⁺。

[1165] 2.160.5 3-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-N-(2-(2-磺基乙氧基)乙基)乙酰胺基)丙酸

向实施例2.160.4(230 mg)的二氯甲烷(4 mL)混合物中加入三氟乙酸(3 mL)。将该混合物在20℃下搅拌16小时,并浓缩。在Gilson系统(C18柱)上,用反相HPLC纯化残余物,用20-80%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。MS(LC-MS)m/e 379.0(M+Na)⁺。

[1166] 2.160.6 2-(2-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-N-(3-((2,5-二氧代吡咯烷-1-基)氧基)-3-氧代丙基)乙酰胺基)乙氧基)乙烷-1-磺酸

将1-羟基吡咯烷-2,5-二酮(16.43 mg)、实施例2.160.5(30 mg)、1-乙基-3-[3-(二甲基氨基)丙基]-碳二亚胺盐酸盐(45.6 mg)的混合物在N,N-二甲基甲酰胺中搅拌过夜。在Gilson系统(C18柱)上,将该反应混合物用反相HPLC纯化,用2-30%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。MS (ESI) m/e 475.9 (M+H)⁺。

[1167] 2.160.7 (6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[(2-{3-[4-(6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基]甲基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]氧基]乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基)-5-({N-[(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-N-[2-(2-磺基乙氧基)乙基]-β-丙氨酰-L-缬氨酰-L-丙氨酰}氨基)苯基)乙基)-L-古洛糖酸

在0℃,向1-羟基苯并三唑水合物(4.45 mg)、实施例2.160.6(8.97 mg)和实施例2.154.1(20 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(0.8 mL)混合物中逐滴加入N,N-二异丙基乙胺(20 μl)。将该反应混合物在室温下搅拌1小时,并在Gilson系统(C18柱)上,用反相HPLC纯化,用30-55%的乙腈/水(含有0.1%三氟乙酸)洗脱,得到标题化合物。

¹H NMR

(500 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ 12.87 (s, 1H), 9.88 (d, 1H), 8.28 – 8.10 (m, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.95 (d, 1H), 7.78 (d, 1H), 7.60 (d, 1H), 7.56 – 7.31 (m, 7H), 7.28 (s, 1H), 7.21 (d, 1H), 7.06 (d, 2H), 6.95 (d, 1H), 5.06 – 4.90 (m, 4H), 4.38 (q, 3H), 4.28 – 4.11 (m, 1H), 3.87 (t, 2H), 3.79 (d, 2H), 3.71 – 3.49 (m, 5H), 3.21 (d, 2H), 3.12 (q, 2H), 2.97 (dt, 3H), 2.84 – 2.57 (m, 6H), 2.38 (dd, 1H), 2.13 – 1.86 (m, 5H), 1.55 (s, 1H), 1.39 – 0.64 (m, 25H). MS (ESI) m/e 867.6 (M-2H)²⁻。

[1168] 2.161 合成6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-3-[1-({3-[2-({[2-2-[(2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基噁烷(trihydroxyoxan)-2-基]乙基]-4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3-{4-[(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基)氧基]苯基}丙酰基]氨基}-3-甲基丁酰基]氨基}丙酰基]氨基}苯基)甲氧基]羧基)[(3R,4S,5R)-3,4,5,6-四羟基己基]氨基)乙氧基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基]吡啶-2-甲酸

在实施例2.153中,用实施例2.120.5替代实施例2.119.15,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ ppm

12.84 (bs, 2H), 9.92 (m, 1H), 8.26 (d, 1H), 8.13 (d, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.52-7.41 (m, 4H), 7.36 (m, 3H), 7.27 (s, 1H), 7.21 (d, 1H), 7.02 (d, 2H), 6.95 (d, 1H), 6.89 (s, 2H), 6.78 (d, 2H), 5.02 (bs, 4H), 4.96 (s, 2H), 4.59 (dd, 1H), 4.38 (m, 2H), 4.21 (t, 1H), 3.99 (t, 2H), 3.88 (t, 2H), 3.79 (m, 2H), 3.69 (t, 2H), 3.64 (m, 1H), 3.57 (m, 4H), 3.53 (m, 4H), 3.50 (s, 40H), 3.42 (m, 2H), 3.38 (m, 1H), 3.30 (m, 2H), 3.23 (s, 6H), 3.20-3.08 (m, 6H), 3.01 (t, 2H), 2.94 (t, 1H), 2.76 (m, 1H), 2.61 (m, 1H), 2.08 (s, 3H), 2.06-1.92 (m, 2H), 1.67-1.52 (m, 3H), 1.38 (m, 1H), 1.32-1.22 (m, 6H), 1.18-1.01 (m, 6H), 0.92 (m, 2H), 0.84 (m, 6H), 0.78 (m, 6H). MS (ESI) m/e 1078 (M-2H)⁻。

[1169] 2.162 合成4-[(2-[3-({4-(6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基]甲基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]氧基]乙基)[(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基甲酰基)氧基]甲基)-3-

(2-[2-[2-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰胺基]乙氧基]乙氧基)苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid)

2.162.1 3-(1-((3-(2-(((2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)-4-(((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羧基)((S)-3,4-二羟基丁基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

在实施例2.49.1中,用实施例2.62.6替代(9H-芴-9-基)甲基((S)-3-甲基-1-(((S)-1-((4-(((4-硝基苯氧基)羧基)氧基)甲基)苄基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯,用实施例1.85替代实施例1.2.9,制备实施例2.162.1。MS (ESI) m/e 1261.4 (M-H)⁻。

[1170] 2.162.2 4-[[({2-[3-{{4-(6-{{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基]乙基][(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基甲酰基]氧基]甲基)-3-(2-[2-[2-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰胺基]乙氧基]乙氧基)苯基β-D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid)

在实施例2.54中,用实施例2.162.1替代实施例2.49.1,制备实施例2.162.2。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ 8.18 (t, 1H), 8.00 (dd, 1H), 7.76 (d, 1H), 7.58 (dd, 1H), 7.50 – 7.29 (m, 6H), 7.26 (s, 1H), 7.17 (d, 1H), 7.03 (s, 2H), 6.92 (d, 1H), 6.64 (d, 1H), 6.57 (dd, 1H), 4.94 (d, 4H), 4.08 (hept, 2H), 4.00 (s, 2H), 3.92 – 3.68 (m, 8H), 3.51 – 3.13 (m, 12H), 2.98 (t, 2H), 2.06 (s, 3H), 1.65 (s, 1H), 1.43 – 0.66 (m, 18H)。MS (ESI) m/e 1398.5 (M-H)⁻。

[1171] 2.163 合成2,6-脱水-8-[2-({[2-[3-{{4-(6-{{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基]乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基]氧基]甲基)-5-{{(79S,82S)-74-[(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰胺基]-82-甲基-77,80,83-三氧代-79-(丙-2-基)-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-二十四氧杂-74,78,81-三氮杂八十三烷-83-基]氨基}苯基]-7,8-二脱氧-L-甘油基-L-古洛辛糖酸(gulo-octonic acid)

2.163.1 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-二十四氧杂-74-氮杂七十七烷-77-酸苄基酯

使用实施例2.147.1的方法,制备标题化合物,用2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-二十四氧杂七十三烷-73-胺替代2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-胺。MS (ESI) m/e 625.9 (M+2H)²⁺。

[1172] 2.163.2 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-二十四氧杂-74-氮杂七十七烷-77-酸

使用实施例2.147.2的方法,用实施例2.163.1替代实施例2.147.1,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 1160.7 (M+H)⁺。

[1173] 2.163.3 2,5-二氧化吡咯烷-1-基74-(2-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰胺基)-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-二十四氧杂-74-氮杂七十七烷-77-酸酯

使用实施例2.147.3的方法,用实施例2.163.2替代实施例2.147.2,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 698.1 (M+2H)²⁺。

[1174] 2.163.4 2,6-脱水-8-[2-({[2-[3-{{4-(6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基]甲基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基]乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基]氧基]甲基)-5-{{[(79S,82S)-74-[(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-82-甲基-77,80,83-三氧代-79-(丙-2-基)-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-二十四氧杂-74,78,81-三氮杂八十三烷-83-基]氨基}苯基]-7,8-二脱氧-L-甘油基-L-古洛辛糖酸(gulo-octonic acid)

使用实施例2.147.4的方法,制备标题化合物,分别用实施例2.163.3和实施例2.154.1替代实施例2.147.3和实施例2.141.4。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ 9.86 (s, 1H), 8.23 – 7.87 (m, 3H), 7.76 (d, 1H), 7.58 (dd, 1H), 7.53 – 7.25 (m, 7H), 7.19 (d, 1H), 7.05 (d, 2H), 6.92 (d, 1H), 5.07 – 4.85 (m, 4H), 4.49 – 4.30 (m, 3H), 4.20 (dt, 1H), 3.52 (d, 8H), 3.46 – 3.26 (m, 7H), 3.20 (s, 4H), 3.15 – 2.82 (m, 4H), 2.61 (s, 3H), 2.38 (dq, 1H), 2.11 – 1.82 (m, 5H), 1.53 (s, 1H), 1.39 – 0.66 (m, 24H). MS (ESI) m/e 1326.9 (M-2H)²⁻。

[1175] 2.164 合成6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-3-{1-[3-{2-[[4-[(2S,5S)-2-[3-(氨基甲酰氨基)丙基]-10-[(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-4,7-二氧化-5-(丙-2-基)-15-磺基-13-氧杂-3,6,10-三氮杂十五烷-1-酰基]氨基}苯基]甲氧基]羰基}(2-磺乙基)氨基]乙氧基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基]-5-甲基-1H-吡啶-4-基]吡啶-2-甲酸

将1-羟基吡咯烷-2,5-二酮(2.74 mg)、1-乙基-3-[3-(二甲基氨基)丙基]-碳二亚胺盐酸盐(4.26 mg)和实施例2.160.5(9.01 mg)的N,N-二甲基甲酰胺(0.3 mL)混合物在室温下搅拌过夜。在冰浴中冷却该混合物。加入1-羟基苯并三唑水合物(3.65 mg)和实施例2.112.2(20 mg)与N,N-二异丙基乙胺(22.19 μl)的混合物。将得到的混合物在0℃下搅拌10分钟,用反相HPLC纯化,用30%-55%的乙腈/0.1%三氟乙酸水洗脱,提供标题化合物。

¹H NMR (400 MHz, 二甲亚砜-d₆) δ 9.95 (d, 1H), 8.18 – 7.89 (m, 3H), 7.76 (d, 1H), 7.57 (d, 3H), 7.52 – 7.21 (m, 8H), 7.04 (d, 2H), 6.92 (d, 1H), 4.94 (d, 4H), 4.37 (d, 2H), 4.19 (d, 1H), 3.85 (t, 2H), 3.77 (d, 2H), 3.22 (d, 2H), 2.96 (dt, 4H), 2.73 (dt, 2H), 2.66 – 2.55 (m, 2H), 2.36 (s, 1H), 2.06 (s, 3H), 1.91 (s, 1H), 1.61 (d, 3H), 1.47 – 0.86 (m, 11H), 0.80 (ddd, 12H). MS (ESI) m/e 1617.5 (M-H)⁺。

[1176] 2.165 该段落特意留白。

[1177] 2.166 合成6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-3-(1-((3-(2-(((2-(2-((2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)乙基)-4-((S)-2-((S)-2-(2-((3S,5S)-3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-((2-磺基乙氧基)甲基)吡咯烷-1-基)乙酰胺基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)苄基)氧基)羰基)((S)-3,4-二羟基丁基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基]吡啶甲酸

在实施例2.119.17中,用实施例2.167.1替代实施例2.119.16,制备标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 9.86 (br d, 1H), 8.17 (br d, 1H), 8.04 (m, 2H), 7.78 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.51 (br d, 1H), 7.49-7.39 (m, 4H), 7.36 (m, 2H), 7.29 (s, 1H), 7.21 (d, 1H), 7.07 (s, 2H), 6.95 (d, 1H), 5.00 (s, 2H), 4.96 (s, 2H), 4.64 (t, 1H), 4.36 (m, 1H), 4.19 (m, 1H), 4.16 (d, 1H), 4.01 (d, 1H), 3.88 (br t, 2H), 3.82 (br m, 3H), 3.75 (br m, 1H), 3.64 (t, 2H), 3.54 (d, 2H), 3.47 (m, 4H), 3.43 (br m, 4H), 3.23 (br m, 5H), 3.13 (t, 1H), 3.10 (br m, 1H), 3.01 (br m, 2H), 2.93 (t, 1H), 2.83-2.68 (m, 3H), 2.37 (m, 1H), 2.08 (s, 3H), 1.99 (br m, 2H), 1.85 (m, 1H), 1.55 (br m, 1H), 1.37 (br m, 1H), 1.28 (br m, 6H), 1.10 (br m, 7H), 0.93 (br m, 1H), 0.88, 0.85, 0.83 0.79 (d, d, s, s, 总计12H). MS (ESI) m/e 1713.6 (M-H) $^-$.

[1178] 2.167 合成2,6-脱水-8-(2-[(2-[(3-[(4-(6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基]乙基][(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基甲酰基)氧基]甲基]-5-[(2S)-2-[(2S)-2-[2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰胺基]-3-甲基丁酰基]氨基]丙酰基]氨基]苯基)-7,8-二脱氧-L-甘油基-L-古洛辛糖酸(gulo-octonic acid)

2.167.1 3-(1-((3-(2-(((4-((S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)-2-(2-((2S,3R,4R,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)乙基)苄基)氧基)羧基)((S)-3,4-二羟基丁基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

在实施例2.49.1中,用实施例2.123.19替代(9H-芴-9-基)甲基((S)-3-甲基-1-((S)-1-((4-(((4-硝基苯氧基)羧基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯,用实施例1.85替代实施例1.2.9,制备实施例2.167.1。MS (ESI) m/e 1355.5 (M-H) $^-$ 。

[1179] 2.167.2 2,6-脱水-8-(2-[(2-[(3-[(4-(6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基]乙基][(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基甲酰基)氧基]甲基]-5-[(2S)-2-[(2S)-2-[2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰胺基]-3-甲基丁酰基]氨基]丙酰基]氨基]苯基)-7,8-二脱氧-L-甘油基-L-古洛辛糖酸(gulo-octonic acid)

在实施例2.54中,用实施例2.167.1替代实施例2.49.1,制备实施例2.167.2。

$^1\text{H NMR}$ (501 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 9.90 (d, 1H), 8.25 (m, 2H), 8.01 (d, 1H), 7.77 (d, 1H), 7.59 (d, 1H), 7.51-7.40 (m, 4H), 7.40-7.31 (m, 3H), 7.26 (s, 1H), 7.20 (d, 1H), 7.05 (s, 2H), 6.93 (d, 1H), 4.96 (d, 4H), 4.36 (t, 1H), 4.22-4.06 (m, 3H), 3.85 (t, 2H), 3.26-3.17 (m, 4H), 3.14-2.88 (m, 5H), 2.78-2.55 (m, 2H), 2.10-1.88 (m, 5H), 1.69-1.49 (m, 2H), 1.39-0.73 (m, 28H). MS (ESI) m/e 1492.5 (M-H) $^-$.

[1180] 2.168 合成2-[(2-[(3-[(4-(6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-2-羧基吡啶-3-基]-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基]乙基][(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基甲酰基)氧基]甲基]-5-[4-[2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰胺基]丁基]苯基 β -D-吡喃葡萄糖苷酸

(glucopyranosiduronic acid)

2.168.1 3-(1-((3-(2-(((4-(4-氨基丁基)-2-((2S,3R,4S,5S,6S)-6-羧基-3,4,5-三羟基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苄基)氧基)羧基)((S)-3,4-二羟基丁基)氨基)乙氧基)-5,7-二甲基金刚烷-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-(8-(苯并[d]噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)吡啶甲酸

在实施例2.49.1中,用实施例2.124.5替代(9H-芴-9-基)甲基((S)-3-甲基-1-((S)-1-((4-(((4-硝基苯氧基)羧基)氧基)甲基)苄基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊-2-基)氨基)-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯,用实施例1.85替代实施例1.2.9,制备实施例2.168.1。MS (ESI) m/e 1229.5 (M-H)⁻。

[1181] 2.168.2 2-[[({2-[3-{{4-(6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基}甲基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基]乙基][3S]-3,4-二羟基丁基]氨基甲酰基)氧基]甲基)-5-{4-[2-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰胺基]丁基}苄基β-D-吡喃葡萄糖苷酸 (glucopyranosiduronic acid)

在实施例2.54中,用实施例2.168.1替代实施例2.49.1,制备实施例2.168.2。

¹H NMR (501 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ 8.07 (s, 1H), 8.01 (dt, 1H), 7.77 (dt, 1H), 7.63 – 7.57 (m, 1H), 7.51 – 7.39 (m, 3H), 7.38 – 7.31 (m, 2H), 7.26 (s, 1H), 7.16 (d, 1H), 7.05 (s, 2H), 6.93 (d, 2H), 6.84 – 6.80 (m, 1H), 5.14 – 4.98 (m, 3H), 4.94 (s, 2H), 3.79 (d, 2H), 3.48 – 3.19 (m, 10H), 3.08 – 2.96 (m, 4H), 2.52 (s, 4H), 2.07 (s, 2H), 1.77 – 0.72 (m, 14H)。MS (ESI) m/e 1366.5 (M-H)⁻。

[1182] 2.169 合成6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-3-{1-[3-{2-[[{4-[(2S)-5-(氨基甲酰氨基)-2-{{(2S)-2-{{6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基}氨基}-3-甲基丁酰基}氨基}戊酰基]氨基}苄基)甲氧基]羧基}(2-磺乙基)氨基]乙酰胺基}-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)甲基)-5-甲基-1H-吡啶-4-基}吡啶-2-甲酸

如实施例2.54所述,制备标题化合物,用实施例1.89.12替代实施例2.49.1。

¹H NMR (501 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 9.95 (d, 1H), 8.10 – 7.96 (m, 1H), 7.75 (t, 2H), 7.57 (dd, 3H), 7.51 – 7.18 (m, 8H), 6.95 (d, 3H), 6.92 (s, 0H), 5.03 – 4.86 (m, 4H), 4.36 (d, 1H), 3.85 (t, 2H), 3.78 – 3.67 (m, 4H), 3.42 (s, 2H), 3.33 (t, 2H), 3.04 – 2.86 (m, 4H), 2.63 (d, 2H), 2.13 (dd, 1H), 2.07 (s, 3H), 1.98 – 1.87 (m, 0H), 1.71 – 1.23 (m, 10H), 1.24 – 0.85 (m, 6H), 0.78 (t, 11H)。MS (ESI) m/e 1463.5 (M-H)⁻。

[1183] 2.170 合成N-[6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-{4-[[{2-((3-[(4-{{6-[[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡啶-1-基}甲基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)硫烷基]乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基)氧基]甲基]苄基}-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酰胺

在实施例2.1中,用实施例1.90.11替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 10.0 (s, 1H), 8.08 (br s, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.81 (br s, 1H) 7.78 (d, 1H), 7.60 (m, 3H) 7.52 (t, 1H), 7.47 (t, 1H), 7.43 (d, 1H), 7.37 (d, 1H), 7.34 (d, 1H) 7.32 (s, 1H), 7.28 (d, 2H), 6.99 (s, 1H), 6.96 (d, 2H), 5.00 (s, 2H), 4.96 (s, 2H), 4.39 (m, 1H), 4.18 (m, 2H), 3.88 (m, 2H), 3.82 (s, 1H), 3.77 (s, 1H), 3.46 (br m, 2H), 3.58 (t, 2H), 3.29 (v br m, 2H), 3.01 (br m, 3H), 2.95 (br m, 1H), 2.47 (m, 2H), 2.61 (br m, 2H) 2.16 (m, 1H), 2.10 (m, 4H), 1.96 (br m, 1H), 1.69 (v br m, 1H), 1.59 (v br m, 1H), 1.53-1.40 (m, 7H), 1.39-1.22 (m, 5H), 1.17 (m, 3H), 1.13-0.88 (m, 6H), 0.87-0.77 (m, 9H), 0.75 (s, 3H). MS (ESI) m/e 1466.5 (M-H) $^-$.

[1184] 2.171 合成N-[6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基]-L-缬氨酰-N-[4-({[(3-{3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}丙基)(2-磺乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)苯基]-N⁵-氨基甲酰基-L-鸟氨酸胺

如实施例2.1所述,用实施例1.91.13替代实施例1.2.9,制备标题化合物。

$^1\text{H NMR}$ (501 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 12.83 (s, 1H), 9.96 (s, 1H), 8.03 (t, 2H), 7.77 (d, 2H), 7.64 - 7.52 (m, 3H), 7.45 (ddd, 3H), 7.34 (td, 2H), 7.29 - 7.21 (m, 3H), 7.03 - 6.91 (m, 3H), 4.95 (d, 4H), 4.37 (q, 1H), 4.17 (s, 1H), 3.86 (t, 2H), 3.45 - 3.29 (m, 4H), 3.10 (t, 2H), 2.95 (dt, 4H), 2.61 (q, 2H), 2.15 (td, 2H), 2.07 (s, 3H), 2.00 - 1.89 (m, 1H), 1.74 - 1.24 (m, 10H), 1.25 - 0.87 (m, 13H), 0.88 - 0.70 (m, 12H). MS (ESI) m/e 1450.2 (M+H) $^+$.

[1185] 2.172 合成2-{{(2-[3-{{4-(6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基}乙基}[(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基甲酰基]氧基}甲基]-5-[4-(2-{{(3S,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-[(2-磺基乙氧基)甲基]吡咯烷-1-基}乙酰胺基)丁基}苯基b-D-吡喃葡萄糖苷酸(glucopyranosiduronic acid)

如实施例2.119.17所述,制备标题化合物,用实施例2.168.1替代实施例2.119.16。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 二甲亚砜- d_6) δ ppm 8.03 (d, 1H), 7.84 (br t, 1H), 7.78 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.50 (br d, 1H), 7.45 (dd, 1H), 7.43 (d, 1H), 7.36 (m, 2H), 7.29 (s, 1H), 7.17 (br m, 1H), 7.06 (s, 2H), 6.95 (m, 2H), 6.85 (d, 1H), 5.08 (s, 2H), 5.02 (d, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.70 (t, 1H), 4.06 (d, 2H), 3.88 (m, 4H), 3.81 (m, 2H), 3.73 (br m, 1H), 3.62 (m, 2H), 3.47 (br m, 4H), 3.40 (m, 4H), 3.35 (m, 2H), 3.29 (m, 4H), 3.07 (m, 2H), 3.00 (t, 2H), 2.73 (m, 2H), 2.54 (m, 2H), 2.36 (br m, 1H), 2.09 (s, 3H), 1.83 (m, 1H), 1.71 (br m, 1H), 1.55 (br m, 2H), 1.40 (br m, 5H), 1.24 (br m, 4H), 1.10 (br m, 5H), 0.94 (br m, 1H), 0.83, 0.81 (两个s, 总计6H). MS (ESI) m/e 1587.5 (M-H) $^-$.

[1186] 2.173 合成2,6-脱水-8-[2-({[2-[3-{{4-(6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基}-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基)-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基}乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基]氧基}甲基)-5-{{[N-({(3R,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-[(2-磺基乙氧基)甲基]吡咯烷-1-基}乙酰胺基)-L-缬氨酰-L-丙氨酸]氨基}苯基]-7,8-二脱氧-L-甘油基-L-古洛辛糖酸(gulo-octonic acid)

2.173.1 (3R,6R,7aS)-6-叠氨基-3-苯基四氢吡咯并[1,2-c]噁唑-5(3H)-酮

在实施例2.119.4中,用实施例2.119.3替代实施例2.119.2,制备标题化合物。MS (DCI) m/e 262.0 (M+NH₄)⁺。

[1187] 2.173.2 (3R,6R,7aS)-6-氨基-3-苯基四氢吡咯并[1,2-c]噁唑-5(3H)-酮

在实施例2.119.5中,用实施例2.173.1替代实施例2.119.4,制备标题化合物。MS (DCI) m/e 219.0 (M+H)⁺。

[1188] 2.173.3 (3R,6R,7aS)-6-(二苄基氨基)-3-苯基四氢吡咯并[1,2-c]噁唑-5(3H)-酮

在实施例2.119.6中,用实施例2.173.2替代实施例2.119.5,制备标题化合物。MS (DCI) m/e 399.1 (M+H)⁺。

[1189] 2.173.4 (3R,5S)-3-(二苄基氨基)-5-(羟甲基)吡咯烷-2-酮

在实施例2.119.7中,用实施例2.173.3替代实施例2.119.6,制备标题化合物,不同的是,将反应加热至65℃,保持一天,而不是6天。MS (DCI) m/e 311.1 (M+H)⁺。

[1190] 2.173.5 (3R,5S)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-(二苄基氨基)吡咯烷-2-酮

在实施例2.119.8中,用实施例2.173.4替代实施例2.119.7,制备标题化合物。不用纯化标题化合物,直接用于下一步。MS (DCI) m/e 425.2 (M+H)⁺。

[1191] 2.173.6 2-((3R,5S)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-(二苄基氨基)-2-氧代吡咯烷-1-基)乙酸叔丁基酯

在实施例2.119.9中,用实施例2.173.5替代实施例2.119.8,制备标题化合物。不用纯化标题化合物,直接用于下一步。MS (DCI) m/e 539.3 (M+H)⁺。

[1192] 2.173.7 2-((3R,5S)-3-(二苄基氨基)-5-(羟甲基)-2-氧代吡咯烷-1-基)乙酸叔丁基酯

在实施例2.119.10中,用实施例2.173.6替代实施例2.119.9,制备标题化合物。MS (DCI) m/e 425.2 (M+H)⁺。

[1193] 2.173.8 2-((3R,5S)-5-((2-((4-((叔丁基二苄基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙氧基)甲基)-3-(二苄基氨基)-2-氧代吡咯烷-1-基)乙酸叔丁基酯

在实施例2.119.11中,用实施例2.173.7替代实施例2.119.10,制备标题化合物。

[1194] 2.173.9 (S)-2-(2-((2-((4-((叔丁基二苄基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙氧基)甲基)-5-氧代吡咯烷-1-基)乙酸叔丁基酯

在实施例2.119.12中,用实施例2.173.8替代实施例2.119.11,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 691.1 (M+H)⁺。

[1195] 2.173.10 4-(((3R,5S)-1-(2-(叔丁氧基)-2-氧代乙基)-5-((2-((4-((叔丁基二苄基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙氧基)甲基)-2-氧代吡咯烷-3-基)氨基)-4-氧代丁-2-烯酸

在实施例2.119.13中,用实施例2.173.9替代实施例2.119.12,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 789.0 (M+H)⁺。

[1196] 2.173.11. 2-((3R,5S)-5-((2-((4-((叔丁基二苄基甲硅烷基)氧基)-2,2-二甲基丁氧基)磺酰基)乙氧基)甲基)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代吡咯

烷-1-基)乙酸叔丁基酯

在实施例2.119.14中,用实施例2173.10替代实施例2.119.13,制备标题化合物。

[1197] 2.173.12 2-((3R,5S)-3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-((2-磺基乙氧基)甲基)吡咯烷-1-基)乙酸

在实施例2.119.15中,用实施例2.173.11替代实施例2.119.14,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 377.0 (M+H)⁺。

[1198] 2.173.13. 2,6-脱水-8-[2-({[2-[(3-[[4-(6-[8-[1,3-苯并噻唑-2-基]氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]氧基]乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基]氧基]甲基)-5-{[N-((3R,5S)-3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-[(2-磺基乙氧基)甲基]吡咯烷-1-基)乙酰基)-L-缬氨酰-L-丙氨酰]氨基]苯基]-7,8-二脱氧-L-甘油基-L-古洛辛糖酸(gulo-octonic acid)

在实施例2.119.17中,用实施例2.123.20替代实施例2.119.16,用实施例2.173.12替代实施例2.119.15,制备标题化合物。

¹H NMR (400 MHz,

二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 9.94 (d, 1H), 8.28 (br d, 1H), 8.01 (d, 2H), 7.77 (d, 1H), 7.59 (d, 1H), 7.53 (d, 1H), 7.43 (m, 4H), 7.34 (m, 3H), 7.19 (d, 1H), 7.06 (s, 2H), 6.96 (d, 1H), 4.99 (m, 2H), 4.95 (s, 2H), 4.78 (t, 1H), 4.36 (t, 1H), 4.19 (br m, 1H), 4.16 (d, 1H), 3.98 (d, 1H), 3.87 (br t, 2H), 3.81 (br d, 2H), 3.73 (br m, 1H), 3.63 (t, 2H), 3.53 (m, 2H), 3.44 (m, 4H), 3.31 (t, 2H), 3.21 (br m, 2H), 3.17 (m, 2H), 3.00 (m, 2H), 2.92 (br m, 1H), 2.75 (m, 3H), 2.65 (br m, 3H), 2.35 (br m, 1H), 2.16 (m, 1H), 2.07 (s, 3H), 1.98 (br m, 2H), 1.55 (br m, 1H), 1.34 (br m, 1H), 1.26 (br m, 6H), 1.09 (br m, 7H), 0.93 (br m, 1H), 0.87, 0.83, 0.79 (都是d, 总计12H). MS (ESI) m/e 1733.3 (M-H)⁺.

[1199] 2.174 合成2,6-脱水-8-{2-({[2-[(3-[[4-(6-[8-[1,3-苯并噻唑-2-基]氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基]氧基]乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基]氧基]甲基)-5-[N-([3R,5S)-3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-(41-氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十三烷氧杂-42-氮杂四十三烷-43-基)吡咯烷-1-基]乙酰基)-L-缬氨酰-L-丙氨酰]氨基]苯基]-7,8-二脱氧-L-甘油基-L-古洛辛糖酸(gulo-octonic acid)

2.174.1[(3R,5S)-5-{{[双(叔丁氧羰基)氨基]甲基}-3-(二苄基氨基)-2-氧代吡咯烷-1-基]乙酸叔丁基酯

向冷却(0°C)的实施例2.173.7(1.6 g)的二氯甲烷(15 mL)溶液中逐滴加入三乙胺(0.70 mL)和甲磺酰氯(0.39 mL)。除去冰浴,并将该反应在室温下搅拌两个小时。加入饱和碳酸氢钠水溶液,淬灭该反应。分离各层,用盐水洗涤有机层。将合并的水层用二氯甲烷反萃取。将合并的有机层用无水硫酸钠干燥,过滤,并减压浓缩,得到中间体甲磺酸酯(1.9 g)。将残余物溶于乙腈(15 mL)中,并加入亚胺二甲酸二叔丁基酯(1.0 g)和碳酸铯(2.4 g)。在氮气氛围中,将该反应加热至回流,保持一天。冷却该反应,并加入水和乙醚,淬灭该反应。分离各层,用盐水洗涤有机层。将合并的水层用乙醚反萃取。将合并的有机层用无水硫酸钠干燥,过滤,并减压浓缩。将残余物用硅胶色谱纯化,用20%的乙酸乙酯/庚烷洗脱,得

到标题化合物。MS (DCI) m/e 624.3 (M+H)⁺。

[1200] 2.174.2 [(3R,5S)-3-氨基-5-[[双(叔丁氧羰基)氨基]甲基]-2-氧代吡咯烷-1-基]乙酸叔丁基酯

向实施例2.174.1 (1.0 g) 的乙酸乙酯 (6 mL) 和甲醇 (18 mL) 溶液中加入氢氧化钡/碳 (100 mg, 20%重量)。将该反应在室温下、在氢气球条件下搅拌一天。通过硅藻土过滤该反应, 用乙酸乙酯洗脱。减压浓缩滤液, 溶于二氯甲烷 (10 mL) 中, 并通过注射器-管尖 (syringe-tip) Teflon 40微孔过滤器过滤。减压浓缩滤液, 得到标题化合物。MS (DCI) m/e 444.1 (M+H)⁺。

[1201] 2.174.3 4-[[(3R,5S)-5-[[双(叔丁氧羰基)氨基]甲基]-1-(2-叔丁氧基-2-氧代乙基)-2-氧代吡咯烷-3-基]氨基]-4-氧代丁-2-烯酸

在实施例2.119.13中, 用实施例2.174.2替代实施例2.119.12, 制备标题化合物。MS (ESI) m/e 540.2 (M-H)⁻。

[1202] 2.174.4 [(3R,5S)-5-[[双(叔丁氧羰基)氨基]甲基]-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代吡咯烷-1-基]乙酸叔丁基酯

在实施例2.119.14中, 用实施例2.174.3替代实施例2.119.13, 制备标题化合物。MS (DCI) m/e 541.1 (M+NH₄)⁺。

[1203] 2.174.5 2-((3R,5S)-5-(氨基)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代吡咯烷-1-基) 乙酸

向实施例2.174.4 (284 mg) 的二氯甲烷 (10 mL) 溶液中加入三氟乙酸 (5 mL)。在室温下搅拌该反应两个小时, 并减压浓缩。将残余物溶于水/乙腈 (7/3, 5 mL) 中, 冷冻, 并冷冻干燥, 提供标题化合物, 其不用进一步纯化, 在随后的步骤中直接使用。MS (ESI) m/e 266.1 (M-H)⁻。

[1204] 2.174.6 2-((3R,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-(41-氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十三烷氧杂-42-氮杂四十三烷-43-基) 吡咯烷-1-基) 乙酸

向2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十三氧杂四十一烷-41-酸 (160 mg) 的N,N-二甲基甲酰胺 (1.0 mL) 溶液中加入0-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐 (85 mg) 和N,N-二异丙基乙胺 (130 μL)。将该反应混合物在室温下搅拌三分钟, 并加入实施例2.174.5 (70 mg) 和N,N-二异丙基乙胺 (130 μL) 的N,N-二甲基甲酰胺 (1.0 mL) 溶液。将该反应在室温下搅拌一个小时, 并用N,N-二甲基甲酰胺/水 (1/1, 3.5 mL) 稀释。在Gilson系统 (C18柱) 上, 用反相HPLC纯化该溶液, 用20-70%的乙腈/水 (含有0.1% TFA) 洗脱, 提供标题化合物。MS (ESI) m/e 880.4 (M-H)⁻。

[1205] 2.174.7 2,6-脱水-8-{2-([2-[[3-[[4-(6-{8-[(1,3-苯并噻唑-2-基)氨基甲酰基]-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基]甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基)氧基]乙基}(2-磺乙基)氨基甲酰基]氧基]甲基)-5-[(N-[[(3R,5S)-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-2-氧代-5-(41-氧代-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-十三氧杂-42-氮杂四十三烷-43-基) 吡咯烷-1-基]乙酰基]-L-缬氨酰-L-丙氨酰)氨基]苯基}-7,8-二脱氧-L-甘油基-L-古洛辛糖酸 (gulooctonic acid)

在实施例2.119.17中,用实施例2.174.6替代实施例2.119.15,用实施例2.123.20替代实施例2.119.16,制备标题化合物。

¹H NMR (500 MHz, 二甲亚砜-*d*₆) δ ppm 9.93 (br d, 1H), 8.28 (d, 1H), 8.03 (d, 1H), 8.02 (br s, 1H), 7.91 (br d, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.51 (br d, 1H), 7.49-7.42 (m, 3H), 7.40 (br d, 1H), 7.36 (m, 2H), 7.28 (s, 1H), 7.22 (d, 1H), 7.06 (s, 2H), 6.95 (d, 1H), 5.00 (br d, 2H), 4.95 (s, 2H), 4.70 (t, 1H), 4.39 (m, 1H), 4.28 (m, 1H), 4.00 (dd, 2H), 3.88 (br m, 2H), 3.85 (br m, 1H), 3.80 (br m, 2H), 3.62 (t, 2H), 3.50 (s, 44H), 3.48 (d, 4H), 3.43 (br m, 2H), 3.34 (br m, 2H), 3.23 (s, 3H), 3.21 (v br m, 2H), 3.14 (t, 2H), 3.10 (v br m, 1H), 3.00 (t, 2H), 2.94 (br m, 1H), 2.76 (v br m, 1H), 2.64 (v br m, 3H), 2.34 (br t, 2H), 2.32 (m, 1H), 2.17 (m, 1H), 2.09 (br d, 3H), 2.00 (br m, 1H), 1.56 (br m, 1H), 1.39-1.19 (br m, 8H), 1.19-0.92 (br m, 8H), 0.88 (br d, 3H), 0.87 (br m, 1H), 0.82 (br d, 6H), 0.79 (br s, 3H). MS (ESI) m/e 1119.2 [(M-2H)/2]⁺.

[1206] 2.175 合成(6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基][(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基甲酰基}氧基)甲基)-5-({N-[(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-N-(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-十一氧杂三十四烷-34-基)-b-丙氨酰-L-缬氨酰-L-丙氨酰}氨基)苯基}乙基)-L-古洛糖酸

使用实施例2.147.4的方法,用2.167.1替代实施例2.141.4,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 1033.4 (M+2H)²⁺。

[1207] 2.176 合成(6S)-2,6-脱水-6-(2-{2-[(2-({3-[(4-{6-[8-(1,3-苯并噻唑-2-基氨基甲酰基)-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基]-2-羧基吡啶-3-基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)甲基]-5,7-二甲基三环[3.3.1.1^{3,7}]癸-1-基}氧基)乙基][(3S)-3,4-二羟基丁基]氨基甲酰基}氧基)甲基)-5-({N-[(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰基]-N-[2-(2-磺基乙氧基)乙基]-b-丙氨酰-L-缬氨酰-L-丙氨酰}氨基)苯基}乙基)-L-古洛糖酸

使用实施例2.160.7的方法,用2.167.1替代实施例2.154.1,制备标题化合物。MS (ESI) m/e 859.4 (M+2H)²⁺。

[1208] 实施例3. 合成示范性的Bcl-xL抑制性的ADC

使用如下所述的四个示范性方法中的一个方法,合成示范性的ADC。表1涉及合成每个示范性的ADC所使用的方法。

[1209] 方法A. 将TCEP溶液(10 mM,0.017 mL)加入到预热至37°C的抗体溶液(10 mg/ml, 1 mL)中。将该反应混合物在37°C下保持1小时。将还原的抗体溶液加入到连接子-弹头有效载荷(linker-warhead payload)溶液(3.3 mM,0.160 mL,在DMSO中)中,并平缓地混合30分钟。将该反应溶液加载到脱盐柱(PD10,在使用之前,用DPBS洗涤三次)上,而后使用DPBS(1.6 mL),并用额外的DPBS(3 mL)洗脱。将纯化的ADC溶液通过0.2微米的结合了低蛋白的13 mm针筒式过滤器过滤,并在4°C下保存。

[1210] 方法B. 将TCEP溶液(10 mM,0.017 mL)加入到预热至37°C的抗体溶液(10 mg/ml, 1 mL)中。将该反应混合物在37°C下保持1小时。加入硼酸缓冲剂(0.05 mL,0.5M,pH8),将还原的抗体的溶液调节至pH=8,加入到连接子-弹头有效载荷溶液(3.3 mM,0.160 mL,在DMSO

中)中,并平缓地混合4小时。将该反应溶液加载到脱盐柱(PD10,在使用之前,用DPBS洗涤三次)上,而后使用DPBS(1.6 mL),并用额外的DPBS(3 mL)洗脱。将纯化的ADC溶液通过0.2微米的结合了低蛋白的13 mm针筒式过滤器过滤,并在4℃下保存。

[1211] 方法C. 使用PerkinElmer Janus(AJL8M01部分)机器人液体处理系统进行缀合,所述处理系统配备有I235/96尖端模块化分配技术(MDT)、包含夹臂(7400358部分)的一次性头部(70243540部分)和8个尖端Varispan移液臂(7002357部分)(在延伸板上)。使用WinPREP版本的4.8.3.315软件,控制PerkinElmer Janus系统。

[1212] 使用MDT,用100μL 1xDPBS预先湿润Pa11滤板5052。给滤板抽真空10秒钟,而后放空5秒钟,以便从滤板上除去DPBS。将50%的A蛋白树脂(GE MabSelect Sure)的DPBS浆液倒入配备有磁性球的8孔储液器中,并通过传递储液器板下面的移动磁铁,使树脂混合。使用配备有1 mL传导端的8尖端Varispan臂,吸出树脂(250μL),并转入96孔滤板中。进行2个循环的抽真空,除去大部分缓冲剂。使用MDT,吸出150μL 1xPBS,并分配到容纳树脂的96孔滤板中。进行抽真空,从树脂中除去缓冲剂。将冲洗/抽真空循环重复3次。将2 mL的96孔采集板安装在Janus面板上,MDT将450μL的5x DPBS转移至采集板上,用于随后的使用。如上面条件A所述,制备还原的抗体(2 mg)的DPBS溶液(200μL),并预加载到96孔板中。将还原的抗体的溶液转入到含有树脂的滤板孔中,并通过100μL体积在孔内的重复抽吸/分配(每个循环45秒钟),用MDT将该混合物混合。在5分钟时间内,将抽吸/分配循环总共重复5次。对滤板进行2个循环的抽真空,由此除去过量的抗体。用水冲洗MDT端部,冲洗5个循环(200μL,总体积1mL)。使MDT吸出150μL DPBS,并分配到含有树脂结合的抗体的滤板孔中,并进行两个循环的抽真空。将洗涤和抽真空程序再重复两次。最后一次抽真空循环之后,将100μL的1xDPBS分配到含有树脂结合的抗体的孔中。然后,MDT收集各30μL3.3 mM的合成子的二甲亚砜溶液(涂覆在96孔板上),并分配到含有树脂结合的抗体(在DPBS中)的滤板上。通过在孔内的100 μL体积的重复抽吸/分配,将含有缀合混合物的孔用MDT混合,每个循环45秒钟。在5分钟时间内,将抽吸/分配程序总共重复5次。进行2个循环的抽真空,除去过量的合成子至废料。用水冲洗MDT端部,冲洗5个循环(200μL,总体积1mL)。MDT吸出DPBS(150μL),并分配到缀合混合物中,进行两个循环的抽真空。将洗涤和抽真空程序再重复两次。然后,MDT夹钳移动滤板,并夹持到支持工作站(holding station)。MDT放置2 mL采集板,板中含有450μL的10xDPBS(在真空歧管内部)。通过放置滤板,并夹持,MDT重新装配真空歧管。用水冲洗MDT端部,冲洗5个循环(200μL,总体积1mL)。MDT吸出100μL的IgG洗脱缓冲剂3.75(Pierce),并分配到缀合混合物中。一分钟之后,进行2个循环的抽真空,并将洗脱液收集在含有450μL 5xDPBS的接收板中。将抽吸/分配程序再重复3次,输送ADC样品,浓度在1.5-2.5 mg/mL范围内(pH7.4,在DPBS中)。

[1213] 方法D. 使用PerkinElmer Janus(AJL8M01部分)机器人液体处理系统进行缀合,所述处理系统配备有I235/96尖端模块化分配技术(MDT)、包含夹臂(7400358部分)的一次性头部(70243540部分)和8个尖端Varispan移液臂(7002357部分)(在延伸板上)。使用WinPREP版本的4.8.3.315软件,控制PerkinElmer Janus系统。

[1214] 使用MDT,用100μL 1xDPBS预先湿润Pa11滤板5052。给滤板抽真空10秒钟,而后放空5秒钟,以便从滤板上除去DPBS。将50%的A蛋白树脂(GE MabSelect Sure)的DPBS浆液倒入配备有磁性球的8孔储液器中,并通过传递储液器板下面的移动磁铁,使树脂混合。使用

配备有1 mL传导端的8尖端Varispan臂,吸出树脂(250 μ L),并转入96孔滤板中。对滤板进行2个循环的抽真空,除去大部分缓冲剂。MDT吸出150 μ L的DPBS,并分配到含有树脂的滤板的孔中。将洗涤和抽真空程序再重复两次。将2 mL的96孔采集板安装在Janus面板上,MDT将450 μ L的5x DPBS转移至采集板上,随后使用。如上面条件A所述,制备还原的抗体(2 mg)的DPBS溶液(200 μ L),并分配到96孔板中。然后,MDT收集各30 μ L 3.3 mM的合成子的二甲亚砜溶液(涂覆在96孔板上),并将其分配到加载了还原的抗体(在DPBS中)的滤板上。通过在孔内的100 μ L体积的两次重复抽吸/分配,将该混合物用MDT混合。五分钟之后,将缀合反应混合物(230 μ L)转移到含有树脂的96孔滤板中。通过在孔内的100 μ L体积的重复抽吸/分配,将含有缀合混合物和树脂的孔用MDT混合,每个循环45秒钟。在5分钟时间内,将抽吸/分配程序总共重复5次。进行2个循环的抽真空,除去过量的合成子和蛋白至废料。用水冲洗MDT端部,冲洗5个循环(200 μ L,总体积1mL)。MDT吸出DPBS(150 μ L),并分配到缀合混合物中,进行两个循环的抽真空。将洗涤和抽真空程序再重复两次。然后,MDT夹钳移动滤板,并夹持到支持工作站(holding station)。MDT放置2 mL采集板,板中含有450 μ L的10xDPBS(在真空歧管内部)。通过放置滤板,并夹持,MDT重新装配真空歧管。用水冲洗MDT端部,冲洗5个循环(200 μ L,总体积1mL)。MDT吸出100 μ L的IgG洗脱缓冲剂3.75(P),并分配到缀合混合物中。一分钟之后,进行2个循环的抽真空,并将洗脱液收集在含有450 μ L 5xDPBS的接收板中。将抽吸/分配程序再重复3次,输送ADC样品,浓度在1.5-2.5 mg/mL范围内(pH7.4,在DPBS中)。

[1215] 方法E. 在室温下,将TCEP溶液(10 mM,0.017 mL)加入到抗体溶液(10 mg/ml,1 mL)中。将该反应混合物加热到37 $^{\circ}$ C,保持75分钟。将还原的抗体的溶液冷却到室温,并加入到合成子溶液(10 mM,0.040 mL,在DMSO中)中,而后加入硼酸缓冲剂(0.1 mL,1M,pH8)。在室温下,将该反应溶液静置3天,加载到脱盐柱(PD10,在使用之前,用3x5mL DPBS洗涤)上,而后使用DPBS(1.6 mL),并用额外的DPBS(3 mL)洗脱。将纯化的ADC溶液通过0.2微米的结合了低蛋白的13 mm针筒式过滤器过滤,并在4 $^{\circ}$ C下保存。

[1216] 方法F. 使用Tecan Freedom Evo机器人液体处理系统,进行缀合。

[1217] 将抗体溶液(10 mg/mL)预热至37 $^{\circ}$ C,等分到加热的96深孔板中,每个孔中3 mg(0.3 mL),并保持在37 $^{\circ}$ C。将TCEP溶液(1 mM,0.051 mL/孔)加入到抗体中,并将该反应混合物在37 $^{\circ}$ C下保持75分钟。将还原的抗体的溶液转入未加热的96深孔板中。将相应的合成子溶液(5 mM,0.024 mL,在DMSO中)与还原的抗体一起加入到孔中,并处理15分钟。将该反应溶液加载到脱盐柱(NAP5,在使用之前,用4 x DPBS洗涤)的平台(8 x 12)上,而后使用DPBS(0.3 mL),并用额外的DPBS(0.8 mL)洗脱。将纯的ADC溶液进一步等分,用于分析,并在4 $^{\circ}$ C下保存。

[1218] 方法G. 使用Tecan Freedom Evo机器人液体处理系统,进行缀合。

[1219] 将抗体溶液(10 mg/mL)预热至37 $^{\circ}$ C,等分到加热的96深孔板上,每个孔中3 mg(0.3 mL),并保持在37 $^{\circ}$ C。将TCEP溶液(1 mM,0.051 mL/孔)加入到抗体中,并将该反应混合物在37 $^{\circ}$ C下保持75分钟。将还原的抗体的溶液转入未加热的96深孔板中。将相应的合成子溶液(5 mM,0.024 mL/孔,在DMSO中)与还原的抗体一起加入到孔中,而后加入硼酸缓冲剂(pH=8,0.03 mL/孔),并处理3天。将该反应溶液加载到脱盐柱(NAP5,在使用之前,用4 x DPBS洗涤)的平台(8 x 12)上,而后使用DPBS(0.3 mL),并用额外的DPBS(0.8 mL)洗脱。将纯的ADC溶液进一步等分,用于分析,并在4 $^{\circ}$ C下保存。

[1220] 方法H. 在室温下,将TCEP溶液(10 mM,0.17 mL)加入到抗体溶液(10 mg/ml,10 mL)中。将该反应混合物加热到37°C,保持75分钟。将合成子溶液(10 mM,0.40 mL,在DMSO中)加入到冷却至室温的还原的抗体的溶液中。将该反应溶液在室温下静置30分钟。用饱和硫酸铵溶液(~2-2.5 mL)处理ADC的溶液,直到形成略微浑浊的溶液为止。将此溶液加载到用30% 相B/相A(相A:1.5M硫酸铵、25 mM磷酸盐;相B:25 mM磷酸盐、25%异丙醇v/v)平衡的丁基琼脂糖柱(5 mL丁基琼脂糖)上。使用梯度A/B至75% 相B,洗脱出含有DAR2(还称为“E2”)和DAR4(还称为“E4”)的各个级分。使用离心浓缩机或TFF(用于更大的规模),将各个ADC溶液浓缩,并进行缓冲剂转换。将纯化的ADC溶液通过0.2微米的结合了低蛋白的13 mm针筒式过滤器过滤,并在4°C下保存。

[1221] 方法I. 在室温下,将TCEP溶液(10 mM,0.17 mL)加入到抗体溶液(10 mg/ml,10 mL)中。将该反应混合物加热到37°C,保持75分钟。将合成子溶液(10 mM,0.40 mL,在DMSO中)加入到冷却至室温的还原的抗体的溶液中。将该反应溶液在室温下静置30分钟。用饱和硫酸铵溶液(~2-2.5 mL)处理ADC的溶液,直到形成略微浑浊的溶液为止。将此溶液加载到用30% 相B/相A(相A:1.5M硫酸铵、25 mM磷酸盐;相B:25 mM磷酸盐、25%异丙醇v/v)平衡的丁基琼脂糖柱(5 mL丁基琼脂糖)上。使用梯度A/B至75%相 B,洗脱出含有DAR2(还称为“E2”)和DAR4(还称为“E4”)的各个级分。使用离心浓缩机或TFF(用于更大的规模),将各个ADC溶液浓缩,并进行缓冲剂转换。用硼酸缓冲剂(0.1 mL,1M,pH8)处理ADC溶液。在室温下,将该反应溶液静置3天,然后加载到脱盐柱(PD10,在使用之前,用3x5mL DPBS洗涤)上,而后使用DPBS(1.6 mL),并用额外的DPBS(3 mL)洗脱。将纯化的ADC溶液通过0.2微米的结合了低蛋白的13 mm针筒式过滤器过滤,并在4°C下保存。

[1222] 下面的表1表明说明了通过哪种示范性的方法来合成哪种示范性的ADC。下列文献描述了被称为EpCAM(ING-1)的EpCAM的单克隆抗体:Studnicka等人,1994, *Protein Engineering*, 7:805-814,以及Ammons等人,2003, *Neoplasia* 5:146-154。下列文献描述了被称为N901的NCAM-1抗体:Roguska等人,1994, *Proc Natl Acad Sci USA* 91:969-973。WO 2009/134776(参见120页)描述了被称为AB033的EGFR抗体。

Appln 实施例编号	ADC	方法
3.1	AB033-CZ	A
3.2	AB033-DH	A
3.4	AB033-EP	A

Appln 实施例编号	ADC	方法
3.6	AB033-EG	A
3.7	AB033-EH	A
3.8	AB033-ER	A
3.9	AB033-ES	A
3.10	AB033-EQ	A
3.11	AB033-EU	A
3.12	AB033-EV	A
3.13	AB033-EW	A
3.14	AB033-EX	A
3.15	AB033-EY	A
3.16	AB033-EZ	A
3.17	AB033-FD	A
3.18	AB033-FS	A
3.19	AB033-FI	A
3.20	AB033-FV	A
3.21	AB033-GC	A
3.22	AB033-GB	A
3.23	AB033-FW	A
3.24	AB033-GD	A
3.25	AB033-GK	A
3.26	AB033-GJ	A
3.27	AB033-GW	A
3.28	AB033-HF	A

Appln 实施例编号	ADC	方法
3.29	AB033-HG	A
3.30	AB033-HP	A
3.31	AB033-HR	A
3.32	AB033-HU	A
3.33	AB033-HT	A
3.34	AB033-HV	A,C
3.35	AB033-HZ	A,C
3.36	AB033-IA	A,C
3.37	AB033-IF	A,C
3.38	AB033-IG	B
3.39	AB033-IH	A,C
3.40	AB033-IJ	A
3.41	AB033-IK	--
3.42	AB033-IL	A,C
3.43	AB033-IM	A,C
3.44	AB033-IO	A,C
3.45	AB033-IP	A,C
3.46	AB033-IS	A,C
3.47	AB033-IU	A,C
3.48	AB033-IV	A,C
3.49	AB033-IZ	B
3.50	AB033-JK	A
3.51	AB033-JF	A,C

Appln 实施例编号	ADC	方法
3.52	AB033-FE	A
3.53	AB033-GG	A
3.54	AB033-GM	A
3.55	AB033-HD	A
3.56	AB033-HS	A
3.57	AB033-HW	A,C
3.58	AB033-HX	A,C
3.59	AB033-HY	A,C
3.60	AB033-IB	A,C
3.61	AB033-IE	A,C
3.62	AB033-II	A,C
3.63	AB033-JJ	A,D
3.64	AB033-IW	A,C
3.65	AB033-IY	A,C
3.66	AB033-JA	A,C
3.74	AB033-FA	A
3.75	AB033-FJ	A
3.76	AB033-FK	A
3.77	AB033-FR	A
3.78	AB033-JE	A
3.79	AB033-JL	A
3.80	AB033-LE	D
3.81	AB033-LH	B

Appln 实施例编号	ADC	方法
3.82	AB033-LJ	D
3.83	AB033-MA	D
3.84	AB033-MD	D
3.85	AB033-MG	D
3.86	AB033-MS	D
3.87	AB033-MR	D
3.88	AB033-MQ	A
3.89	AB033-MZ	B
3.90	AB033-NA	A
3.91	AB033-NB	B
3.92	AB033-NN	D
3.93	AB033-NO	D
3.94	EpCAM (ING-1)-CZ	A
3.96	EpCAM (ING-1)-FE	A
3.97	EpCAM (ING-1)-GG	A
3.98	EpCAM (ING-1)-GM	A
3.99	EpCAM (ING-1)-HD	A
3.100	EpCAM (ING-1)-HS	A
3.101	EpCAM (ING-1)-HW	A
3.102	EpCAM (ING-1)-HX	A
3.103	EpCAM (ING-1)-HY	A
3.104	EpCAM (ING-1)-IB	A
3.105	EpCAM (ING-1)-IE	A

Appln 实施例编号	ADC	方法
3.106	EpCAM (ING-1)-IJ	A
3.107	EpCAM (ING-1)-IK	A
3.108	EpCAM (ING-1)-IL	A
3.123	N901-CZ	A
3.124	AB033-OK	A
3.125	AB033-OW	D
3.126	AB033-PC	D
3.127	AB033-PI	D
3.128	AB033-PJ	D
3.129	AB033-PU	D
3.130	AB033-PV	D
3.131	AB033-PW	D
3.132	AB033-QW	D
3.133	AB033-RM	D
3.134	AB033-RR	A
3.135	AB033-SJ	E
3.136	AB033-SM	A
3.137	AB033-SN	A
3.138	AB033-SS	A
3.139	AB033-TA	E
3.140	AB033-TW	G
3.141	AB033-ST	A
3.142	AB033-ZL	E

Appln 实施例编号	ADC	方法
3.143	AB033-SX	E
3.144	AB033-SW	E
3.145	AB033-TV	E
3.146	AB033-SZ	E
3.147	AB033-ZM	G
3.148	AB033-SV	E
3.149	AB033-SY	A
3.150	AB033-TK	G
3.151	AB033-TR	E
3.152	AB033-TY	E
3.153	AB033-TX	E
3.154	AB033-TZ	E
3.155	AB033-UA	E
3.156	AB033-UJ	E
3.157	AB033-UK	E
3.158	AB033-UU	G
3.159	AB033-UV	G
3.160	AB033-UZ	E
3.161	AB033-VB	E
3.162	AB033-VC	E
3.163	AB033-VS	E
3.164	AB033-VT	E
3.165	AB033-VY	E

Appln 实施例编号	ADC	方法
3.166	AB033-WI	E
3.167	AB033-WK	E
3.168	AB033-WP	E
3.169	AB033-XD	G
3.170	AB033-XK	G
3.171	AB033-XL	G
3.172	AB033-YJ	G
3.173	AB033-YQ	G
3.174	AB033-YR	G
3.175	AB033-YS	G
3.176	AB033-YY	G
3.177	AB033-YT	G
3.178	AB033-YU	G
3.179	AB033-YV	G
3.180	AB033-YW	G
3.181	AB033-ZB	G
3.182	AB033-ZC	G
3.183	AB033-ZJ	G
3.184	AB033-ZE	G
3.185	AB033-ZW	G
3.186	AB033-ZX	G
3.187	AB033-AAA	G
3.188	AB033-AAD	G

Appln 实施例编号	ADC	方法
3.189	AB033-AAE	G
3.190	AB033-AAF	G
3.191	AB033-JL (E2)	I
3.192	AB033-JL (E4)	I
3.193	AB033-TX (E2)	I
3.194	AB033-TX (E4)	I

[1223] 实施例4. 示范性的Bcl-xL抑制剂结合Bcl-xL

使用时间分辨的荧光共振能量转移 (TR-FRET) 试验, 证明实施例1.1至1.91 (分别为化合物W2.01-W2.91) 的示范性的Bcl-xL抑制剂结合Bcl-xL的能力。Tb-抗GST抗体购买于Invitrogen (目录编号: PV4216)。

[1224] 4.1探针合成

4.1.1试剂

所有的试剂使用供应商提供的形式, 除非另作说明。包括二异丙基乙胺 (DIEA)、二氯甲烷 (DCM)、N-甲基吡咯烷酮 (NMP)、2-(1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲六氟磷酸盐 (HBTU)、N-羟基苯并三唑 (HOBT) 和哌啶的肽合成试剂, 是从Applied Biosystems, Inc. (ABI), Foster City, CA或American Bioanalytical, Natick, MA获得的。

[1225] 从ABI或Anaspec, San Jose, CA获得预加载的9-芴甲氧羰基 (Fmoc) 氨基酸柱 (Fmoc-Ala-OH、Fmoc-Cys (Trt)-OH、Fmoc-Asp (tBu)-OH、Fmoc-Glu (tBu)-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-His (Trt)-OH、Fmoc-Ile-OH、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Lys (Boc)-OH、Fmoc-Met-OH、Fmoc-Asn (Trt)-OH、Fmoc-Pro-OH、Fmoc-Gln (Trt)-OH、Fmoc-Arg (Pbf)-OH、Fmoc-Ser (tBu)-OH、Fmoc-Thr (tBu)-OH、Fmoc-Val-OH、Fmoc-Trp (Boc)-OH、Fmoc-Tyr (tBu)-OH)。

[1226] 从Novabiochem, San Diego, CA获得肽合成树脂 (Fmoc-Rink酰胺MBHA树脂) 和 Fmoc-Lys (Mtt)-OH。

[1227] 从Anaspec获得单一异构体6-羧基荧光素琥珀酰亚胺基酯 (6-FAM-NHS)。

[1228] 从Oakwood Products, West Columbia, SC获得三氟乙酸 (TFA)。

[1229] 从Aldrich Chemical Co., Milwaukee, WI获得苯甲硫醚、苯酚、三异丙基硅烷 (TIS)、3,6-二氧杂-1,8-辛烷二硫醇 (DODT) 和异丙醇。

[1230] 在Applied Biosystems Voyager DE-PRO MS) 上记录基质辅助的激光解吸电离质谱 (MALDI-MS)。

[1231] 在Finnigan SSQ7000 (Finnigan Corp., San Jose, CA) 上, 以阳离子和阴离子两种模式记录电喷雾质谱 (ESI-MS)。

[1232] 4.1.2. 固相肽合成 (SPPS) 的一般方法

在ABI 433A肽合成仪上,使用250 μ mol规模的Fastmoc™ 缀合循环,每个容器使用至多250 μ mol的预加载的Wang树脂,合成肽。使用含有1 mmol标准Fmoc-氨基酸的预加载的柱,荧光团的连接位置除外,其中,将1 mmol Fmoc-Lys(Mtt)-OH放置在所述柱中,并用传导性反馈监测。在标准偶合条件下,在柱中使用1 mmol乙酸,实现N端乙酰化。

[1233] 4.1.3. 从赖氨酸上除去4-甲基三苯甲基(Mtt)

使用二氯甲烷,将源自于合成器的树脂洗涤三次,并保持湿润。用30分钟,使150 mL 95:4:1的二氯甲烷:三异丙基硅烷:三氟乙酸流过树脂床。该混合物变成深黄色,然后褪色至浅黄色。用15分钟使100 mL DMF流过该床。然后,用DMF洗涤树脂三次,并过滤。茚三酮试验显示了对于伯胺的强信号。

[1234] 4.1.4. 用6-羧基荧光素-NHS(6-FAM-NHS)标记树脂

在1% DIEA/DMF中,用2当量的6-FAM-NHS处理树脂,并在环境温度下搅拌或摇动过夜。当完成时,沥干树脂,用DMF洗涤三次,用(1 \times 二氯甲烷和1 \times 甲醇)洗涤三次,干燥,提供橙色树脂,茚三酮试验显示该树脂呈阴性。

[1235] 4.1.5. 树脂结合的肽的断裂和脱保护的一般方法

在环境温度下,在由80% TFA、5%水、5%苯甲硫醚、5%苯酚、2.5% TIS和2.5% EDT组成的断裂混合物(1 mL/0.1 g树脂)中,摇动3小时,使肽从树脂上断裂下来。过滤取出树脂,并用TFA冲洗两次。从滤液中蒸发出TFA,用醚(10 mL/0.1 g树脂)沉淀出产物,离心回收产物,用醚(10 mL/0.1 g树脂)洗涤两次,并干燥,得到粗品肽。

[1236] 4.1.6. 纯化肽的一般方法

在运行Unipoint® 分析软件(Gilson, Inc., Middleton, WI)的Gilson制备HPLC系统的径向压缩柱上纯化粗品肽,所述柱包括两个25 \times 100 mm部分,柱中填充了Delta-Pak™ C18 15 μ m颗粒,孔径100 Å,并用下文列出的梯度法之一进行洗脱。每次注射纯化一至两毫升粗品肽溶液(10 mg/mL,在90% DMSO/水中)。收集每次操作的含有产物的峰,并冷冻干燥。在20 mL/min的条件下进行所有的制备操作,洗脱液为缓冲剂A:0.1% TFA-水和缓冲剂B:乙腈。

[1237] 4.1.7. 分析HPLC的一般方法

利用具有二极管阵列检测器和Hewlett-Packard 1046A荧光检测器的Hewlett-Packard 1200串联系统进行分析HPLC,运行HPLC 3D ChemStation软件版本A.03.04(Hewlett-Packard, Palo Alto, CA),使用4.6 \times 250 mm YMC柱,柱中填充有ODS-AQ 5 μ m颗粒,孔径120 Å,在起始条件下预先平衡7分钟之后,用下文列出的梯度法之一洗脱。洗脱液是缓冲剂A:0.1% TFA-水和缓冲剂B:乙腈。所有梯度的流速是1 mL/min。

[1238] 4.1.8. 合成探针F-Bak

如下所述,合成结合Bcl-xL的肽探针F-bak。在N端,将探针F-Bak乙酰化,在C端酰胺化,并且具有氨基酸序列GQVGRQLAIIGDKINR。使用6-FAM,将它在赖氨酸残基(K)处荧光素化。探针F-Bak可以缩写如下:乙酰基-GQVGRQLAIIGDK(6-FAM) INR-NH₂。

[1239] 为了制备探针F-Bak,使用常规肽合成方法,使Fmoc-Rink酰胺MBHA树脂延长,提供保护的树脂结合的肽(1.020 g)。除去Mtt基团,用6-FAM-NHS标记,并按照上文描述的方法,进行断裂和脱保护,提供粗品的橙色固体(0.37 g)。利用RP-HPLC,将产物纯化。利用分析RP-HPLC,检验整个主峰的级分,分离出纯的级分,并冷冻干燥,主峰提供标题化合物(0.0802 g)的黄色固体;MALDI-MS $m/z=2137.1[(M+H)^+]$ 。

[1240] 4.1.9. 肽探针F-Bak的另一种合成方法

在另一种方法中,在运行Fastmoc™缀合循环的Applied Biosystems 433A自动肽合成仪上,在0.25 mmol Fmoc-Rink酰胺MBHA树脂(Novabiochem)上组装保护的肽,使用预加载的1 mmol氨基酸柱,荧光素(6-FAM)标记的赖氨酸除外,其中将1 mmol Fmoc-Lys(4-甲基三苯甲基)称到柱中。在柱中放入1 mmol乙酸,并如上文所述进行缀合,引入N端乙酰基。使95:4:1的DCM:TIS:TFA(v/v/v)溶液流过树脂15分钟,而后用二甲基甲酰胺流淬灭,选择性除去4-甲基三苯甲基。在1% DIEA/DMF中,使单一异构体6-羧基荧光素-NHS与赖氨酸侧链反应,并通过茚三酮试验证明反应完成。通过用80:5:5:5:2.5:2.5的TFA/水/苯酚/苯甲硫醚/三异丙基硅烷:3,6-二氧杂-1,8-辛烷二硫醇(v/v/v/v/v/v)处理,使肽从树脂上断裂并进行侧链脱保护,并通过用乙醚沉淀,回收粗品肽。通过反相高效液相色谱纯化粗品肽,并利用分析反相高效液相色谱和基质辅助的激光解吸质谱,证明它的纯度和特征($m/z=2137.1$ ($M+H$)⁺)。

[1241] 4.2. 时间分辨的荧光共振能量转移(TR-FRET)试验

使用时间分辨的荧光共振能量转移(TR-FRET)结合试验,说明示范性的Bcl-xL抑制剂W2.01-W2.62与探针F-Bak竞争结合Bcl-xL的能力。对于该试验,将试验化合物在DMSO中连续稀释,起始浓度为50μM(2x起始浓度;10% DMSO),并将10μL转移到384孔板中。然后,将10μL的蛋白/探针/抗体混合物加入到每个孔中,最终浓度如下:

蛋白:GST-Bcl-xL	1 nM
抗体:Tb-anti-GST	1 nM
探针:F-Bak	100 nM

[1242] 然后,将样品在振荡器上混合1分钟,并在室温下再培养2小时。对于每个试验板,分别包括探针/抗体和蛋白/抗体/探针混合物作为阴性和阳性对照。使用340/35 nm激发滤片以及520/525(F-Bak)和495/510 nm(Tb标记的抗his抗体)发射滤片,在Envision(Perkin Elmer)上测定荧光。使用Wang's方程式,测定解离常数(K_i) (Wang, 1995, *FEBS Lett.* 360: 111-114)。在不同浓度的人血清(HS)或胎牛血清(FBS)的存在下,可以进行TR-FRET试验。在没有HS和存在1% HS的两种条件下,检验化合物。

[1243] 4.2.1. 结果

结合试验的结果(K_i ,纳摩尔)提供于下面表2中(在表2中,“NT”是指没有检验):

Appln 实施例编号	Bcl-xL 结合 K _i (nM)	Bcl-xL 结合 K _i (nM, 1% HS)
1.1	< 0.001	0.09
1.2	< 0.001	0.16
1.3	0.0011	0.18
1.5	0.019	0.26
1.6	< 0.001	0.052
1.7	0.0007	0.24
1.8	0.0019	0.19
1.9	< 0.001	0.047
1.10	< 0.001	0.027
1.11	< 0.001	0.17
1.12	< 0.001	0.08
1.13	< 0.001	0.2
1.14	< 0.001	0.18
1.15	0.003	0.39
1.16	< 0.001	0.17
1.17	0.022	0.3
1.18	< 0.001	1.38
1.19	NT	NT
1.20	< 0.001	0.47
1.21	0.004	0.22
1.22	0.006	7.11
1.23	0.006	0.1

Appln 实施例编号	Bcl-xL结合 K _i (nM)	Bcl-xL结合 K _i (nM, 1% HS)
1.24	< 0.001	0.074
1.25	< 0.001	0.083
1.26	< 0.001	0.11
1.27	< 0.001	0.18
1.28	< 0.001	0.046
1.29	0.009	0.033
1.30	< 0.001	0.12
1.31	< 0.001	0.055
1.32	< 0.001	0.28
1.33	< 0.001	0.12
1.34	0.00043	0.031
1.35	< 0.001	0.439
1.36	< 0.001	0.0635
1.37	< 0.001	0.294
1.38	< 0.001	0.203
1.39	0.018	0.174
1.40	< 0.001	6.28
1.41	0.008	0.81
1.42	< 0.001	0.133
1.43	< 0.001	0.86

Appln 实施例编号	Bcl-xL 结合 K _i (nM)	Bcl-xL 结合 K _i (nM, 1% HS)
1.44	< 0.001	0.282
1.45	< 0.001	0.134
1.46	< 0.001	0.00615
1.47	0.006	0.0294
1.48	< 0.001	0.497
1.49	NT	NT
1.50	0.0073	0.051
1.51	< 0.001	0.17
1.52	< 0.001	0.0329
1.53	< 0.001	0.088
1.54	< 0.001	0.11
1.55	0.039	0.039
1.56	< 0.001	0.123
1.57	NT	NT
1.58	NT	NT
1.59	NT	NT
1.60	< 0.001	0.049
1.61	< 0.001	0.097
1.62	< 0.001	0.2
1.63	<0.01	<0.01

Appln 实施例编号	Bcl-xL 结合 K _i (nM)	Bcl-xL 结合 K _i (nM, 1% HS)
1.64	<0.01	<0.01
1.65	<0.01	0.099
1.66	NT	NT
1.67	<0.01	0.51
1.68	<0.01	0.32
1.69	<0.01	4.9
1.70	<0.01	0.275
1.71	<0.01	0.061
1.72	NT	NT
1.73	0.88	34
1.74	<0.01	0.016
1.75	0.016	0.85
1.76	<0.01	1.05
1.77	<0.01	0.166
1.78	<0.01	<0.01
1.79	<0.01	3.1
1.80	0.053	0.78
1.81	0.011	0.37
1.82	0.023	0.46
1.83	0.031	0.66

Appln 实施例编号	Bcl-xL结合 K _i (nM)	Bcl-xL结合 K _i (nM, 1% HS)
1.84	0.069	1.2
1.85	0.016	0.4
1.86	NT	NT
1.87	<0.01	0.55
1.88	0.127	3
1.89	<0.01	0.97
1.90	0.13	4.2
1.91	0.064	2.8

NT = 没有检验

[1244] 实施例5. 能够穿过细胞膜的示范性的Bcl-xL抑制剂在Molt-4细胞活力试验中抑制Bcl-xL

在基于细胞的杀伤试验中,使用各种细胞系和小鼠肿瘤模型,可以测定能够穿过细胞膜的Bcl-xL抑制剂的抑制Bcl-xL的能力。例如,可以利用培养的致瘤和非致瘤细胞系,以及原代小鼠或人类细胞群体,评估它们对于细胞活力的活性。

[1245] 在一组示范性的条件下,将Molt-4 (ATCC,Manassas,VA) 人类急性淋巴母细胞性白血病细胞涂覆在384孔组织培养板 (Corning,Corning,NY) 中,每个孔12,500个细胞,组织培养基的总体积为25 μ L,补充有10%人类血清 (Sigma-Aldrich,St. Louis,MO),并用感兴趣的化合物的3倍连续稀释物处理 (从10 μ M至0.0005 μ M)。每个浓度 (一式两份) 至少单独的检验3次。使用CellTiter-Glo[®] 发光法细胞活力检测,按照生产商的建议 (Promega Corp., Madison,WI),测定化合物处理48小时之后的活细胞数目。在10% HS的存在下,检验化合物。

[1246] 5.1. 结果

对于实施例1.1-1.91的示范性的Bcl-xL抑制剂 (分别为化合物W2.01-W2.91),在10% HS的存在下进行的Molt-4细胞活力试验的结果 (EC₅₀,纳摩尔) 提供于下面表3中。

实施例编号	Bcl-xL 结合 K _i (nM)	Bcl-xL 结合 K _i (nM, 1% HS)	Molt-4 活力 EC ₅₀ (nM, 10% HS)
1.1	< 0.001	0.09	26
1.2	< 0.001	0.16	259
1.3	0.0011	0.18	23
1.5	0.019	0.26	189
1.6	< 0.001	0.052	89
1.7	0.0007	0.24	12
1.8	0.0019	0.19	108
1.9	< 0.001	0.047	NT
1.10	< 0.001	0.027	74
1.11	< 0.001	0.17	63
1.12	< 0.001	0.08	389
1.13	< 0.001	0.2	257
1.14	< 0.001	0.18	415
1.15	0.003	0.39	663
1.16	< 0.001	0.17	218
1.17	0.022	0.3	576
1.18	< 0.001	1.38	3328

实施例编号	Bcl-xL 结合 K _i (nM)	Bcl-xL 结合 K _i (nM, 1% HS)	Molt-4 活力 EC ₅₀ (nM, 10% HS)
1.19	NT	NT	NT
1.20	< 0.001	0.47	774
1.21	0.004	0.22	420
1.22	0.006	7.11	> 10,000
1.23	0.006	0.1	2,720
1.24	< 0.001	0.074	390
1.25	< 0.001	0.083	430
1.26	< 0.001	0.11	2,330
1.27	< 0.001	0.18	935
1.28	< 0.001	0.046	568
1.29	0.009	0.033	935
1.30	< 0.001	0.12	184
1.31	< 0.001	0.055	446
1.32	< 0.001	0.28	708
1.33	< 0.001	0.12	319
1.34	0.00043	0.031	87.7
1.35	< 0.001	0.439	238
1.36	< 0.001	0.0635	405
1.37	< 0.001	0.294	805
1.38	< 0.001	0.203	245

实施例编号	Bcl-xL 结合 K _i (nM)	Bcl-xL 结合 K _i (nM, 1% HS)	Molt-4 活力 EC ₅₀ (nM, 10% HS)
1.39	0.018	0.174	1,590
1.40	< 0.001	6.28	6,480
1.41	0.008	0.81	473
1.42	< 0.001	0.133	482
1.43	< 0.001	0.86	185
1.44	< 0.001	0.282	1260
1.45	< 0.001	0.134	19
1.46	< 0.001	0.00615	68
1.47	0.006	0.0294	197
1.48	< 0.001	0.497	692
1.49	NT	NT	92
1.50	0.0073	0.051	2770
1.51	< 0.001	0.17	555
1.52	< 0.001	0.0329	973
1.53	< 0.001	0.088	462
1.54	< 0.001	0.11	>10,000
1.55	0.039	0.039	73
1.56	< 0.001	0.123	196
1.57	NT	NT	NT
1.58	NT	NT	NT

实施例编号	Bcl-xL 结合 K _i (nM)	Bcl-xL 结合 K _i (nM, 1% HS)	Molt-4 活力 EC ₅₀ (nM, 10% HS)
1.59	NT	NT	NT
1.60	< 0.001	0.049	425
1.61	< 0.001	0.097	255
1.62	< 0.001	0.2	153
1.63	<0.01	<0.01	2.22
1.64	<0.01	<0.01	5.25
1.65	<0.01	0.099	NT
1.66	NT	NT	NT
1.67	<0.01	0.51	NT
1.68	<0.01	0.32	346
1.69	<0.01	4.9	NT
1.70	<0.01	0.275	193
1.71	<0.01	0.061	677
1.72	NT	NT	NT
1.73	0.88	34	3500
1.74	<0.01	0.016	5.7
1.75	0.016	0.85	409
1.76	<0.01	1.05	495
1.77	<0.01	0.166	837
1.78	<0.01	<0.01	2.22

实施例编号	Bcl-xL 结合 K _i (nM)	Bcl-xL 结合 K _i (nM, 1% HS)	Molt-4 活力 EC ₅₀ (nM, 10% HS)
1.79	<0.01	3.1	104
1.80	0.053	0.78	355
1.81	0.011	0.37	252
1.82	0.023	0.46	373
1.83	0.031	0.66	178
1.84	0.069	1.2	259
1.85	0.016	0.4	78
1.86	NT	NT	NT
1.87	<0.01	0.55	378
1.88	0.127	3	96
1.89	<0.01	0.97	NT
1.90	0.13	4.2	NT
1.91	0.064	2.8	NT

NT = 没有检验

[1247] 实施例6. 细胞渗透性低的示范性的Bcl-xL抑制剂在使用透化细胞的Molt-4细胞活力试验中抑制Bcl-xL

在使用透化细胞的Molt-4细胞活力试验中,证明细胞渗透性低的Bcl-xL抑制剂抑制Bcl-xL的能力

在细胞程序死亡过程中,线粒体外膜的透化,将蛋白从膜间腔释放到细胞溶质中是关键事件。具体地说,细胞色素C的释放引起凋亡体(apoptosome)的形成,这转而导致半胱天冬酶活化以及细胞进行编程性细胞死亡的其它过程(Goldstein等人,2005, *Cell Death and Differentiation* 12:453)。线粒体外膜透化(MOMP)的过程是由Bcl-2家族成员控制的。多域促凋亡蛋白Bax和Bak促进这种透化,一旦这两种蛋白活化,在线粒体膜外进行低聚反应,且形成孔隙,并最终释放细胞色素C。这种作用受到抗凋亡成员的拮抗,包括Bcl-2和Bcl-xL。能够抑制Bcl-2或Bcl-xL的化合物,例如,在存活取决于这些蛋白的细胞中,可以导致Bax和/或Bak的活化、MOMP、释放细胞色素C以及凋亡过程的下游步骤。可以通过线粒体和细胞溶质部分的Western印迹,测定细胞色素C释放的过程,并且在细胞中用作细胞程序死亡的代表性测量。

[1248] 在存活依赖于Bcl-xL的细胞中,能够渗透细胞的Bcl-xL抑制剂可以进入细胞,并且如果它们充分地抑制Bcl-xL,则释放细胞色素C。没有细胞渗透性的或细胞渗透性低的化合物不被期望导致细胞色素C的释放,或被预计需要更高浓度,才能导致细胞色素C的释放。

[1249] 作为检测低细胞渗透性的Bcl-xL抑制剂导致细胞色素C释放的能力的方法,可以用导致在质膜(而不是线粒体膜)中形成选择性孔隙的药剂处理细胞。具体地说,与线粒体膜相比,在质膜中,胆固醇/磷脂比例更高。因此,用低浓度的胆固醇引导的清洁剂毛地黄皂苷进行短期培养,选择性地渗透质膜,没有显著地影响线粒体膜。所述药剂与胆固醇形成不可溶解的复合物,导致胆固醇从它的正常磷脂结合位点分离出来。这种作用转而在脂质双层中形成大约40-50Å宽的孔。在凋亡细胞中,一旦质膜被透化,可以冲洗掉能够通过毛地黄皂苷形成的孔隙的细胞溶质组分,包括从线粒体释放到细胞溶质中的细胞色素C((Campos, 2006, *Cytometry A* 69(6):515-523))。

[1250] 为了测定Bcl-xL抑制剂是否通过细胞程序死亡来诱导细胞死亡,在处理之后,在Bcl-xL依赖性Molt-4细胞中测定细胞色素C的释放。具体地说,用半对数稀释的试验化合物(起始于3.0μM,终止于0.01μM)将 1×10^6 个细胞处理4小时(37°C, 5% CO₂)。然后,如Chen等人(2011, *Mol. Cancer Ther.* 10:2340-2350 (the Bcl-2/Bcl-X(L)/Bcl-w inhibitor, navitoclax, enhances the activity of chemotherapeutic agents in vitro and in vivo)所述,处理细胞。

[1251] 除了释放细胞色素C之外,进行细胞程序死亡的线粒体经常丧失它们的横跨膜线粒体膜电位(Bouchier-Hayes等人,2008, *Methods* 44(3): 222-228)。JC-1是在线粒体中累积的阳离子型的羰花青染料,当线粒体是健康状态时,发红色荧光,当线粒体膜受到损害时,荧光消失(去极化百分比;Smiley等人,1991, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88: 3671-3675;Reers等人,1991: *Biochemistry*, 30: 4480-4486)。使用荧光计(激发:545 nm,发射:590 nm),可以在透化细胞中检测到信号的这种损失,并因此是充分定量的,增加再现性和通量。具体地说,在32°C,用Bcl-xL抑制剂(1000nM-0.001nM)处理毛地黄皂苷透化的molt-4细胞(75,000个/孔)至多180分钟,每10分钟测定荧光。在信号最大时,可以按照下式,测定Bcl-xL抑制剂的每个时间浓度(time concentration)的去极化百分比:

$$\% \text{去极化} = 1 - [(\text{样品-FCCP}) / (\text{DMSO-FCCP})]$$

DMSO和FCCP(10μM)分别用作阴性和阳性对照(Ryan & Letai, 2013, *Methods* 61(2): 156-164)。随后,由所得到的浓度-响应曲线来测定EC₅₀值。在透化的Molt-4细胞中,当Bcl-xL抑制剂诱导细胞色素C释放的能力与JC-1荧光的损失相比时,观察到良好的排列(alignment)。

[1252] 6.1. 结果

对于示范性的化合物,使用透化的细胞的Molt-4细胞活力试验的结果提供于下面表4中。为了对比,还设计了Bcl-xL结合数据,以及在非透化细胞中进行的Molt-4细胞活力试验的结果。在表4中,下列惯用法用于报道EC₅₀:“+++”相当于EC₅₀值<~500 pM,“++”相当于EC₅₀值在~500 pM和~1 nM之间,“+”相当于EC₅₀值在~1 nM和~5 nM之间。

表4			
在选择性的透化细胞中，细胞渗透性低的Bcl-xL抑制剂功能上抑制Bcl-xL， 释放细胞色素C，并且诱导细胞程序死亡			
Appln 实施例编号	Bcl-xL 结合 K _i (nM)	Molt-4 活力 EC ₅₀ (nM)	Molt-4 透化 Cyt C 释放
1.2	< 0.001	259	+++
1.5	0.019	189	++
1.6	< 0.001	89	+++
1.10	< 0.001	74	+++
1.11	< 0.001	63	+++
1.12	< 0.001	389	+++
1.13	< 0.001	257	+++
1.14	< 0.001	415	+++
1.15	0.003	663	+
1.18	< 0.001	3,328	+
1.20	< 0.001	774	+++
1.22	0.006	> 10,000	+++
1.23	0.006	2,720	+++
1.24	< 0.001	390	+++
1.25	< 0.001	430	+++
1.26	< 0.001	2,330	+++
1.29	0.009	935	+++
1.32	< 0.001	708	+++
1.38	< 0.001	245	+++
1.39	0.018	1,590	+++
1.41	0.008	473	+++
1.44	< 0.001	1,260	+++
1.46	< 0.001	68	+++
1.47	0.006	197	+++

表4 在选择性的透化细胞中，细胞渗透性低的Bcl-xL抑制剂功能上抑制Bcl-xL， 释放细胞色素C，并且诱导细胞程序死亡			
Appln 实施例编号	Bcl-xL 结合 K _i (nM)	Molt-4 活力 EC ₅₀ (nM)	Molt-4 透化 Cyt C 释放
1.18	< 0.001	692	+++
1.49	NT	92	+++

[1253] 正如在表4中所示，具有低细胞渗透性并且在使用非透化细胞的试验中没有显示出显著抑制活性的示范性的Bcl-xL抑制剂，在选择性的透化细胞中以低于纳摩尔浓度、导致细胞色素C的释放，其是一种在进入细胞程序死亡的过程中出现的靶向功能性的响应。另外，在透化Molt-4细胞中，代表性的实施例1.23、1.41、1.45、1.69、1.76、1.77、1.79、1.85、1.87和1.88在JC-1试验中的百分比去极化试验结果(EC₅₀，纳摩尔)分别是0.24 nM、0.56 nM、0.13 nM、0.14 nM、0.26 nM、0.099 nM、0.14 nM、0.07 nM、0.06 nM和0.21 nM。由此，当利用方法(例如但不限于：抗体介导的胞吞)进入到细胞中时，该抑制剂被预计是功能上有效的。

[1254] 实施例7. 示范性的ADC的DAR和聚集

分别利用LC-MS和分子排阻色谱(SEC)，测定按照上面实施例3合成的示范性的ADC的DAR和聚集百分比。

[1255] 7.1. LC-MS常规方法

使用与Agilent LC/MSD TOF 6220 ESI质谱仪连接的Agilent 1100 HPLC系统，进行LC-MS分析。使用5 mM(最后浓度) Bond-Breaker® TCEP溶液(Thermo Scientific, Rockford, IL)，将ADC还原，加载到Protein Microtrap(Michrom Bioresources, Auburn, CA)脱盐柱上，并在环境温度下，用10% B至75% B的梯度洗脱0.2分钟。流动相A是水(含有0.1%甲酸(FA))，流动相B是乙腈(含有0.1% FA)，流速是0.2 ml/min。使用Agilent MassHunter(TM) acquisition软件，获得共同洗脱轻和重链的电喷雾电离飞行时间质谱。使用the Maximum Entropy feature of MassHunter软件将提取强度vs. m/z光谱进行解卷积(deconvoluted)，测定每个还原抗体片段的质量。通过轻链和重链的裸峰和修饰峰的强度加和，通过强度乘以所连接的药物数目来进行归一化，由解卷积(deconvoluted)的光谱计算DAR。将加和的、归一化强度除以强度的和，两个轻链和两个重链的加和结果产生全部ADC的最终平均DAR值。

[1256] 7.2. 尺寸排阻色谱常规方法

在含有0.25 mM氯化钾和15% IPA的0.2M磷酸钾(pH6.2)中，流速0.75 ml/min，使用Shodex KW802.5柱，进行尺寸排阻色谱。通过将曲线下的面积积分，测定在280 nm下每个高分子量和单体洗脱液的峰面积吸光度。通过用高分子量洗脱液的峰面积吸光度(280nm)除以280nm下高分子量和单体洗脱液的峰面积吸光度的和，再乘以100%，测定缀合样品的%聚

集部分。

[1257] 7.3. 结果

表5报道了上述LC-MS方法测定的平均DAR值,以及示范性的ADC的%聚集部分。

Appln 实施例编号	ADC代码	%聚集 (利用SEC)	DAR (利用MS)
3.1	AB033-CZ	3	4.2
3.2	AB033-DH	3.2	4.5
3.4	AB033-EP	4.8	4
3.5	AB033-EF	24	2.9

Appln 实施例编号	ADC代码	%聚集 (利用SEC)	DAR (利用MS)
3.6	AB033-EG	8.1	4
3.7	AB033-EH	4.8	3.5
3.8	AB033-ER	30.2	3.6
3.9	AB033-ES	36.2	3.2
3.10	AB033-EQ	2.7	3.9
3.11	AB033-EU	3.3	3.4
3.12	AB033-EV	3.2	3.6
3.13	AB033-EW	5.8	1.7
3.14	AB033-EX	7.2	2.9
3.15	AB033-EY	5.6	3
3.16	AB033-EZ	5.5	3.2
3.17	AB033-FD	3.4	3.2
3.18	AB033-FS	15.6	2.9
3.19	AB033-FI	1.9	3.1
3.20	AB033-FV	1.8	3.09
3.21	AB033-GC	3.5	3.82
3.22	AB033-GB	3.0	3.85
3.23	AB033-FW	1.1	3.20
3.24	AB033-GD	3.5	3.26
3.25	AB033-GK	4.2	3.31
3.26	AB033-GJ	7.0	3.66
3.27	AB033-GW	5.1	3.62
3.28	AB033-HF	25	3.69
3.29	AB033-HG	28	1.93
3.30	AB033-HP	9.3	3.42
3.31	AB033-HR	29	3.70
3.32	AB033-HU	15	2.66

Appln 实施例编号	ADC代码	%聚集 (利用SEC)	DAR (利用MS)
3.33	AB033-HT	27	3.47
3.34	AB033-HV	7.5	3.8
3.35	AB033-HZ	27.3	2.3
3.36	AB033-IA	1.4	3.7
3.37	AB033-IF	4.6	2.7
3.38	AB033-IG	17.6	2.3
3.39	AB033-IH	24.3	1.6
3.40	AB033-IJ	1.6	4.59
3.41	AB033-IK	NT	NT
3.42	AB033-IL	1.6	3.61
3.43	AB033-IM	25.6	2.5
3.44	AB033-IO	3.0	2.5
3.45	AB033-IP	18.0	2.1
3.46	AB033-IS	46.8	3.2
3.47	AB033-IU	5.6	3.7
3.48	AB033-IV	4.9	3.1
3.49	AB033-IZ	13.4	2.66
3.50	AB033-JK	23	4.1
3.51	AB033-JF	4.0	3.8
3.52	AB033-FE	1.4	3.4
3.53	AB033-GG	0.9	3.10
3.54	AB033-GM	0.8	2.90
3.55	AB033-HD	0.9	3.09
3.56	AB033-HS	0.8	2.94
3.57	AB033-HW	1.8	2.9
3.58	AB033-HX	1.1	1.7
3.59	AB033-HY	1.9	0.8

Appln 实施例编号	ADC代码	%聚集 (利用SEC)	DAR (利用MS)
3.60	AB033-IB	1.1	1.9
3.61	AB033-IE	0.9	2.3
3.62	AB033-II	1.4	2.4
3.63	AB033-JJ	3.7	3.8
3.64	AB033-IW	2.3	3.1
3.65	AB033-IY	1.1	3.3
3.66	AB033-JA	1.0	3.4
3.74	AB033-FA	2.1	3.6
3.76	AB033-FK	3.4	3.4
3.77	AB033-FR	3.1	2.5
3.78	AB033-JE	14.6	5.9
3.79	AB033-JL	3.1	4.42
3.80	AB033-LE	11.3	3.9
3.81	AB033-LH	5.5	2.9
3.82	AB033-LJ	3.6	3.9
3.83	AB033-MA	5.3	4.3
3.84	AB033-MD	1.6	3.4
3.85	AB033-MG	10.4	3.8
3.86	AB033-MS	5.5	3.9
3.87	AB033-MR	9.6	4
3.88	AB033-MQ	5	2.6
3.89	AB033-MZ	5.6	1.7
3.90	ABO33-NA	13.4	2.9
3.91	AB033-NB	18.5	3.8
3.92	AB033-NN	1.9	3.1
3.93	AB033-NO	2.3	3.5
3.94	EpCAM(ING-1)-CZ	1.67	3.2

Appln 实施例编号	ADC代码	%聚集 (利用SEC)	DAR (利用MS)
3.96	EpCAM(ING-1)-FE	1.30	2.44
3.97	EpCAM(ING-1)-GG	0.60	2.27
3.98	EpCAM(ING-1)-GM	0.70	2.25
3.99	EpCAM (ING-1)-HD	0.90	3.02
3.100	EpCAM (ING-1)-HS	0.50	2.92
3.101	EpCAM(ING-1)-HW	0.80	2.73
3.102	EpCAM (ING-1)-HX	0.50	3.09
3.103	EpCAM (ING-1)-HY	0.70	2.46
3.104	EpCAM (ING-1)-IB	0.50	3.11
3.105	EpCAM (ING-1)-IE	0.90	2.88
3.106	EpCAM (ING-1)-IJ	0.70	3.52
3.107	EpCAM (ING-1)-IK	1.50	2.53
3.108	EpCAM (ING-1)-IL	0.70	3.35
3.123	N901-CZ	1.73	3.1
3.124	AB033-OK	9.1	2.69
3.125	AB033-OW	4.6	3.01
3.126	AB033-PC	10.34	1.59
3.127	AB033-PI	1.7	1.74
3.128	AB033-PJ	5.41	3.26
3.129	AB033-PU	9.34	2.55
3.130	AB033-PV	3.0	1.72
3.131	AB033-PW	8.88	2.25
3.132	AB033-QW	4.5	0.83
3.133	AB033-RM	4.4	1.2
3.134	AB033-RR	53.3	1.9
3.135	AB033-SJ	3.6	2.8
3.136	AB033-SM	9.9	3.1

表5
ADC分析特征

Appln 实施例编号	ADC代码	%聚集 (利用SEC)	DAR (利用MS)
3.137	AB033-SN	1.8	3.3
3.138	AB033-SS	1.0	3.0
3.139	AB033-TA	1.2	3.1
3.140	AB033-TW	56	3.3
3.141	AB033-ST	26.3	1.7
3.142	AB033-ZL	1.7	2.5
3.143	AB033-SX	0.5	3.7
3.144	AB033-SW	1.3	3.4
3.145	AB033-TV	0.5	3.4
3.146	AB033-SZ	0.7	3.6
3.147	AB033-ZM	1.1	4.7
3.148	AB033-SV	2.9	2.8
3.149	AB033-SY	0.8	3.5
3.150	AB033-TK	1.1	5.2
3.151	AB033-TR	0.3	3.0
3.152	AB033-TY	0.3	3.5
3.153	AB033-TX	<0.1	3.4
3.154	AB033-TZ	5.9	8.0
3.155	AB033-UA	0.6	3.8
3.156	AB033-UJ	0.6	3.5
3.157	AB033-UK	<0.1	3.2
3.158	AB033-UU	1.8	4.6
3.159	AB033-UV	1.4	4.5
3.160	AB033-UZ	3.5	3.8
3.161	AB033-VB	0.5	3.7
3.162	AB033-VC	4.5	4.2
3.163	AB033-VS	0.9	3.6

Appln 实施例编号	ADC代码	%聚集 (利用SEC)	DAR (利用MS)
3.164	AB033-VT	1.3	3.5
3.165	AB033-VY	2.6	3.9
3.166	AB033-WI	2.3	3.6
3.167	AB033-WK	2.4	3.8
3.168	AB033-WP	1.1	3.4
3.169	AB033-XD	1.1	2.7
3.170	AB033-XK	0.6	2.5
3.171	AB033-XL	1.5	2.9
3.172	AB033-YJ	4.4	1.5
3.173	AB033-YQ	0.6	4.8
3.174	AB033-YR	0.6	4.9
3.175	AB033-YS	2	4.5
3.176	AB033-YY	1.1	3.9
3.177	AB033-YT	0.9	4.2
3.178	AB033-YU	1.5	4.6
3.179	AB033-YV	1.6	4.3
3.180	AB033-YW	1.2	4.8
3.181	AB033-ZB	1.4	4.6
3.182	AB033-ZC	0.8	4.5
3.183	AB033-ZJ	0.7	4.4
3.184	AB033-ZE	0.7	3.8
3.185	AB033-ZW	1.3	1.3
3.186	AB033-ZX	1.5	4.3
3.187	AB033-AAA	1.5	5.9
3.188	AB033-AAD	2.3	5.8
3.189	AB033-AAE	3	6.3
3.190	AB033-AAF	1.1	6

Appln 实施例编号	ADC代码	%聚集 (利用SEC)	DAR (利用MS)
3.191	AB033-JL (E2)	0.54	2
3.192	AB033-JL (E4)	2.2	4
3.193	AB033-TX (E2)	1.4	2
3.194	AB033-TX (E4)	6.1	4

NT = 没有检验

[1258] 实施例8. 靶向EGFR的ADC体外抑制癌细胞的生长

评价某些包含抗体AB033的示范性的ADC。抗体AB033靶向人类EGFR。WO 2009/134776 (参见120页) 描述了抗体AB033的可变的重和轻链序列。使用mcl-1^{-/-}小鼠胚胎纤维母 (MEF) 细胞, 表明抗体AB033抑制癌细胞生长的能力。Mcl-1^{-/-}MEF的存活依赖于Bcl-xL (Lessene等人, 2013, *Nature Chemical Biology* 9:390-397)。为了评价示范性的靶向AB033的Bcl-xL-ADC的效果, 使人类EGFR在mcl-1^{-/-}MEF中过度表达。

[1259] 8.1. 方法

使用FuGENE 6转染试剂 (Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Germany), 用含有huEGFR序列的逆转录病毒结构pLVC-IRES-Hygro (Clontech) 或空载体转染GP2-293包装细胞系 (Clontech), 制备逆转录病毒上清液。培养48小时之后, 采集含有病毒的上清液, 并在75 cm²培养瓶中, 在聚凝胺 (8μg/ml; Sigma) 的存在下, 施加于mcl-1^{-/-}MEF (每个烧瓶0.5x10⁶个) 中, 并进一步培养48小时。3天之后, 使用250μg/ml潮霉素B (Invitrogen) (在完全补充的培养基中), 洗涤Mcl-1^{-/-}MEF, 并选择。利用流式细胞术, 确定huEGFR的表达, 并与母体细胞系或空载体转染的细胞系相比较。

[1260] 在含有10% FBS的DMEM中, 用靶向EGFR的Bcl-xL-ADC、单独的AB033或靶向MSL109的Bcl-xL-ADC处理表达huEGFR的Mcl-1^{-/-}MEF或pLVX空载体 (Vct对照) 96小时。对于该试验, 将细胞涂覆在384孔组织培养板 (Corning, Corning, NY) 的总体积25μL的试验培养基 (DMEM和10% HI FBS) 中, 每个孔250个细胞。利用Echo 550声波液体处理器 (Labcyte), 将涂覆的细胞用感兴趣的抗体药物缀合物的4倍连续稀释物 (从1μM至1 pM) 处理。在Mcl-1^{-/-}MEFhuEGFR细胞系的12个平行测定和Mcl-1^{-/-}MEF载体细胞系的6个平行测定中, 检验每个浓度。使用CellTiter-Glo[®] 发光法细胞活力检测, 按照生产商的建议 (Promega Corp., Madison, WI), 在37°C和5% CO₂中, 在抗体药物缀合物处理96小时之后, 测定活细胞部分。使用荧光方案, 积分时间0.5 sec, 将板在Perkin Elmer Envision中读数。将每个稀释点的平行测定值平均, 使用GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, Inc.), 使用线性回归Y = ((底部-顶部) / (1 + ((x/K)ⁿ))) + 顶部, 将数据与S形曲线模型拟合, 得到抗体药物缀合物的EC₅₀值, 其中, Y是测定的响应值, x是化合物浓度, n是Hill斜率, K是EC₅₀值, 底部和顶部分别是较低和较高的渐近线。肉眼观察曲线, 用于证实曲线拟合结果。由Walter and Eliza Hall Institute of Medical的David C. S. Huang, 获得Mcl-1^{-/-}MEF。

[1261] 8.2. 结果

代表性的实施例的细胞活力试验结果 (EC₅₀值, 纳摩尔) 提供于下面表6中。

Appln 实施例编号	ADC 代码	huEGFR⁺ <i>mcl-1</i>^{-/-} MEF⁻ EC₅₀ (nM)
3.1	AB033-CZ	0.21
3.2	AB033-DH	NT
3.4	AB033-EP	0.88
3.5	AB033-EF	3.7
3.6	AB033-EG	2.6
3.7	AB033-EH	0.86
3.8	AB033-ER	> 67

Appln 实施例编号	ADC 代码	huEGFR ⁺ <i>mcl-1</i> ^{-/-} MEF ⁺ EC ₅₀ (nM)
3.9	AB033-ES	> 67
3.10	AB033-EQ	0.85
3.11	AB033-EU	0.93
3.12	AB033-EV	0.91
3.13	AB033-EW	0.87
3.14	AB033-EX	3.76
3.15	AB033-EY	4.49
3.16	AB033-EZ	2.18
3.17	AB033-FD	0.38
3.18	AB033-FS	28.2
3.19	AB033-FI	0.89
3.20	AB033-FV	4.41
3.21	AB033-GC	0.51
3.22	AB033-GB	0.46
3.23	AB033-FW	147.6
3.24	AB033-GD	0.94
3.25	AB033-GK	4.04
3.26	AB033-GJ	2.96
3.27	AB033-GW	0.25
3.28	AB033-HF	3.92
3.29	AB033-HG	3.94
3.30	AB033-HP	2.24
3.31	AB033-HR	20.75
3.32	AB033-HU	61.1
3.33	AB033-HT	55.28
3.34	AB033-HV	5.1
3.35	AB033-HZ	9.3
3.36	AB033-IA	132

Appln 实施例编号	ADC 代码	huEGFR ⁺ mcl-I ^{-/-} MEF ⁻ EC ₅₀ (nM)
3.37	AB033-IF	3.2
3.38	AB033-IG	1.92
3.39	AB033-IH	1.4
3.40	AB033-IJ	3.2
3.41	AB033-IK	NT
3.42	AB033-IL	47.9
3.43	AB033-IM	22.7
3.45	AB033-IP	6.5
3.46	AB033-IS	102
3.47	AB033-IU	809
3.48	AB033-IV	38.7
3.49	AB033-IZ	1.7
3.50	AB033-JK	161.3
3.51	AB033-JF	159.3
3.52	AB033-FE	0.94
3.53	AB033-GG	19.21
3.54	AB033-GM	459
3.55	AB033-HD	>67
3.56	AB033-HS	3.56
3.57	AB033-HW	>1000
3.58	AB033-HX	97.7
3.59	AB033-HY	265
3.60	AB033-IB	>1000
3.61	AB033-IE	164
3.62	AB033-II	5
3.63	AB033-JJ	0.58
3.64	AB033-IW	226
3.65	AB033-IY	>1000

Appln 实施例编号	ADC 代码	huEGFR ⁺ mcl-1 ^{-/-} MEF ⁻ EC ₅₀ (nM)
3.66	AB033-JA	6.38
3.75	AB033-FJ	> 67
3.76	AB033-FK	> 67
3.77	AB033-FR	28.1
3.78	AB033-JE	20
3.79	AB033-JL	5.0
3.80	AB033-LE	10.26
3.81	AB033-LH	0.706
3.82	AB033-LJ	0.42
3.83	AB033-MA	29.25
3.84	AB033-MD	35.78
3.85	AB033-MG	56.92
3.86	AB033-MS	389.6
3.87	AB033-MR	220.5
3.88	AB033-MQ	18.65
3.89	AB033-MZ	1.384
3.90	AB033-NA	316.0
3.91	AB033-NB	205.7
3.92	AB033-NN	3.21
3.93	AB033-NO	46.92
3.124	AB033-OK	53
3.125	AB033-OW	<1
3.126	AB033-PC	36
3.127	AB033-PI	3
3.128	AB033-PJ	47
3.129	AB033-PU	173
3.130	AB033-PV	616
3.131	AB033-PW	37

Appln 实施例编号	ADC 代码	huEGFR ⁺ <i>mcl-1</i> ^{-/-} MEF ⁻ EC ₅₀ (nM)
3.132	AB033-QW	>1000
3.133	AB033-RM	>1000
3.134	AB033-RR	29
3.135	AB033-SJ	27
3.136	AB033-SM	210
3.137	AB033-SN	2
3.138	AB033-SS	9
3.139	AB033-TA	6
3.140	AB033-TW	517
3.141	AB033-ST	224
3.142	AB033-ZL	NT
3.143	AB033-SX	1.2
3.144	AB033-SW	2.2
3.145	AB033-TV	2.2
3.146	AB033-SZ	2.8
3.147	AB033-ZM	13
3.148	AB033-SV	2
3.149	AB033-SY	2.6
3.150	AB033-TK	40
3.151	AB033-TR	15
3.152	AB033-TY	3.7
3.153	AB033-TX	1.9
3.154	AB033-TZ	8.7
3.155	AB033-UA	7.2
3.156	AB033-UJ	2.6
3.157	AB033-UK	2.8
3.158	AB033-UU	<1
3.159	AB033-UV	62

Appln 实施例编号	ADC 代码	huEGFR ⁺ <i>mcl-1</i> ^{-/-} MEF ⁻ EC ₅₀ (nM)
3.160	AB033-UZ	>1000
3.161	AB033-VB	2.6
3.162	AB033-VC	881
3.163	AB033-VS	2.4
3.164	AB033-VT	2.9
3.165	AB033-VY	>1000
3.166	AB033-WI	>1000
3.167	AB033-WK	>1000
3.168	AB033-WP	2.1
3.169	AB033-XD	5.8
3.170	AB033-XK	2.7
3.171	AB033-XL	2.7
3.172	AB033-YJ	7.7
3.173	AB033-YQ	<1
3.174	AB033-YR	<1
3.175	AB033-YS	578
3.176	AB033-YY	555
3.177	AB033-YT	1.1
3.178	AB033-YU	4.5
3.179	AB033-YV	4.3
3.180	AB033-YW	2.2
3.181	AB033-ZB	3.3
3.182	AB033-ZC	2
3.183	AB033-ZJ	<1
3.184	AB033-ZE	>1
3.185	AB033-ZW	12
3.186	AB033-ZX	<1
3.187	AB033-AAA	9.8

Appln 实施例编号	ADC 代码	huEGFR ⁺ <i>mcl-1</i> ^{-/-} MEF ⁻ EC ₅₀ (nM)
3.188	AB033-AAD	4.7
3.189	AB033-AAE	131
3.190	AB033-AAF	171
3.191	AB033-JL (E2)	17
3.192	AB033-JL (E4)	2
3.193	AB033-TX (E2)	32
3.194	AB033-TX (E4)	4.7

NT = 没有检验

[1262] 代表性的实施例3.1、3.79、3.143、3.145、3.153、3.175、3.183、3.186和3.190针对Mcl-1^{-/-}MEF载体细胞系的细胞活力试验结果 (EC₅₀值, 纳摩尔) 分别是99 nM、103 nM、96 nM、239 nM、>1,000 nM、>250 nM、148 nM和662 nM。

[1263] 靶向EpCAM和NCAM1的ADC体外抑制癌细胞的生长

使用表达内源性EpCAM蛋白的NCC38细胞, 人类乳腺癌细胞系, 表明含有靶向人类细胞粘附分子 (EpCAM) 的抗体的某些示范性的ADC抑制Bcl-xL和诱导细胞程序死亡的能力。在试验中, 评价靶向EpCAM的包含单克隆抗体ING-1的ADC (参见, Studnicka等人, 1994, *Protein Engineering*, 7:805-814, Ammons等人, 2003, *Neoplasia* 5:146-154)。

[1264] 在表达内源性NCAM-1的NCI-H146细胞 (人类小细胞肺癌系) 中, 表明靶向人类神经细胞粘着分子NCAM1的某些示范性的ADC的细胞毒性。所评价的ADC包含单克隆NCAM-1抗体 (称为N901)。参见, Roguska等人, 1994, *Proc Natl Acad Sci USA* 91:969-973)。

[1265] 8.3. 方法

对于该试验, 在含有10% FBS的RPMI 1640培养基 (Invitrogen, #11995) 中, 培养HCC38和NCI-H146两个细胞系。在试验之前, 将细胞再悬浮在培养基中, 4x10⁴个细胞/mL, 而后加入到96孔组织培养板, 75μL细胞/孔, 最后浓度为3,000个细胞/孔。然后, 将试验板在37°C和5% CO₂条件下培养过夜。在第二天, 将N901、EpCAM (ING-1) 或阴性对照 (MSL109, 靶向CMV的抗体) ADC在培养基中连续稀释, 并加入到试验板中, 25μL/孔。然后, 将试验板在37°C和5% CO₂条件下培养72小时。利用CellTiter Glo® 发光法细胞活力检测试剂盒 (Promega, #G7573), 测定细胞活力。

[1266] 8.4. 结果

使用Graphpad Prism软件, 分析数据。IC₅₀值 (达到细胞的最大生长抑制的50%时的ADC的浓度) 分别报道于表7和8中。

[1267] 如表7所示, 靶向EpCAM的ADC有效地杀伤HCC38乳腺癌细胞 (IC₅₀ ≤ 0.4 nM), 而阴性对照ADC MSL109-CZ表现出弱的活性。如表8所示, 靶向NCAM1的ADC对于NCI-H146小细胞肺癌细胞也显示了特异性活性 (IC₅₀值: ~20 nM), 而阴性对照靶向MSL109的ADC表现出弱的活性。

表7 EpCAM ADC抑制HCC38乳腺癌细胞的生长		
Appln 实施例编号	ADC 代码	HCC38 细胞 IC ₅₀ (nM)
3.94	Epcam(ING-1)-CZ	0.10
	MSL109-CZ	41.29

[1268] 如表8所示,靶向NCAM1的ADC对于NCI-H146小细胞肺癌细胞也显示了特异性活性(IC₅₀值:~20 nM),而阴性对照靶向MSL109的ADC表现出弱的活性。

表8 NCAM1 ADC抑制NCI-H146小细胞肺癌细胞的生长		
Appln 实施例编号	ADC 代码	NCI-H146 细胞 IC ₅₀ (nM)
3.123	N901-CZ	19.57
	MSL109-CZ	329.85

[1269] 实施例9. 给予单剂量之后,示范性的靶向EGFR的Bcl-xL抑制性ADC (Bcl-xLi ADC) 体内抑制肿瘤生长

在由NCI H1650细胞、人类非小细胞肺癌 (NSCLC) 细胞系获得的肿瘤异种移植模型中,表明某些示范性的靶向EGFR的ADC在小鼠中体内抑制肿瘤细胞生长的能力。

[1270] 9.1. 方法

NSCLC细胞系NCI-H1650购买于美国模式培养物保藏所(American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA))。在补充有胎牛血清(FBS, Hyclone, Logan, UT)的RPMI 1640培养基(Invitrogen, Carlsbad, CA)中,将细胞培养成为单层细胞。将五百万个活细胞NCI-H1650细胞皮下接种到免疫缺乏的雌性SCID/bg小鼠(Charles River Laboratories, Wilmington, MA)的右肋部。注射体积是0.2 ml,并且由S-MEM和基质胶(BD, Franklin Lakes, NJ)的1:1混合物组成。使肿瘤大小匹配为大约200 mm³。在磷酸盐缓冲盐水(PBS)中,配制抗体和缀合物,并腹膜内注射。注射体积不超过400μl。在肿瘤大小匹配之后24小时之内,开始治疗。在治疗开始时,小鼠重量大约25 g。每周评估两至三次肿瘤体积。通过电子卡钳,测定肿瘤的长度(L)和宽度(W),并按照下列方程式计算体积:V=L x W²/2。当肿瘤体积达到3,000 mm³或出现皮肤溃疡时,使小鼠安乐死。每个笼中放置八至十只小鼠。食品和水不限量。在开始实验之前,使小鼠适应动物设备至少一周时间。在12小时照明:12小时黑暗计划(在06:00开始照明)的照明阶段,检验动物。按照AbbVie's Institutional Animal Care and Use Committee以及National Institutes of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals的原则,在Association for the Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care认可的设备中,进行所有实验。

[1271] 按照实施例3的方法(示范性的ADC的合成),制备靶向EGFR的ADC 3.1、3.2、3.12、3.20、3.23、3.21、3.53、3.25、3.54、3.55、3.31、3.32、3.57、3.59、3.36、3.79、3.30、3.78、

3.24、3.48、3.40、3.62、3.47、3.79、3.143、3.144、3.145、3.146、3.149、3.151、3.152、3.153、3.154、3.155、3.156、3.157、3.160、3.161、3.162、3.163、3.164、3.165、3.166、3.167、3.193、3.194、3.195和3.196,表1。合成子H(参见实施例2.99)与靶向CMV的抗体MSL109的缀合物(MSL109-H)用作消极靶点对照物。这种缀合物下文还称为‘非靶向’ADC,这是由于载体抗体不识别肿瘤相关抗原。MSL109描述于下列文献中:Drobyski等人,1991, *Transplantation* 51:1190-1196,以及美国专利US5,750,106。靶向破伤风类毒素的抗体(抗体AB095)用作给予IgG的效果的对照物。参见,Larrick等人,1992, *Immunological Reviews* 69-85。下面表9、10、11和12说明了靶向EGFR的ADC抑制H1650异种移植物生长的效果。表13描述了靶向EGFR的对照抗体和‘非靶向’ADC对于肿瘤生长的抑制。在接种肿瘤细胞后的最早11天(表9)或最迟15天(表12),开始治疗。在治疗开始时,肿瘤的尺寸在210 mm³和230 mm³之间。腹膜内给予所有缀合物和抗体。表中列举了治疗的剂量和方案。

[1272] 9.2. 结果

9.2.1. 效果和统计分析的参数

下面表9、表10、表11和表12说明了靶向EGFR的ADC抑制H1650异种移植物生长的效果。在所述表中,关于效果,使用治疗响应的幅度(TGI_{max})和持久性(TGD)的参数。

[1273] TGI_{max}是在实验期间的最大肿瘤生长抑制。利用 $100 * (1 - T_v / C_v)$,计算肿瘤生长抑制,其中T_v和C_v分别是治疗和对照组的平均肿瘤体积。

[1274] TGD或肿瘤生长延迟是所治疗的肿瘤达到1 cm³体积需要的延长时间(相对于对照组)。通过 $100 * (T_t / C_t - 1)$ 来计算TGD,其中,T_t和C_t分别是治疗和对照组的达到1 cm³的中值时间周期。

[1275] 响应幅度在特定组中的分布是通过完全响应者(CR)、部分响应者(PR)和全部响应者的频率得到的。CR是在肿瘤负荷为25 mm³(至少三次测定)的组内的小鼠的百分比。PR是在肿瘤负荷大于25 mm³但小于治疗开始时的一半体积(至少三次测定)的组内的小鼠的百分比。OR是CR和PR的和。

[1276] 双尾Student's检验和Kaplan-Meier对数秩检验分别用于测定TGI_{max}和TGD的显著的显著性。

[1277] 9.2.2. 靶向EGFR的Bcl-xLi ADC的体内效果

靶向巨细胞病毒(CMV)的ADC MSL109-H,在10 mg/kg的剂量下,抑制肿瘤生长20%(表9)。这种抑制与消极靶点有关(Boghaert等人,2006, *Int. J. Oncol.*, 28(3):675-684)。被动式靶点达到的效果不如使用EGFR靶向抗体AB033的ADC的效果。在10 mg/kg的剂量下,靶向EGFR的ADC AB033-CZ的TGI_{max}在93和99%之间(分别为表9和表10),TGD在153(表11)和>507%(表9)之间。由AB033和靶向Bcl-xL的合成子组成的其它缀合物的TGI_{max}在41%和99%之间,TGD在11%和>507%之间(分别为表11和表9)。对于表9所提供的实验,靶向EGFR的ADC的TGI_{max}比非靶向ADC MSL109-H的TGI_{max}高3.5-4.9倍。与MSL109-H相比,对于靶向EGFR的ADC的响应也更持久,TGD显示提高6至>72倍。

[1278] 在表9-12中,在用AB033-UJ处理之后,观察到最低活性。这种缀合物抑制肿瘤生长44%,并且使肿瘤生长延迟11%。靶向EGFR的BclxLi缀合物的效果不太可能是由于载体抗体的活性或消极靶点的活性。过去的对照物(表13)表明,与AB033-UJ的效果相匹配所必需的AB033的最小总量为大约18 mg/kg,以6个3 mg/kg的剂量形式给予,间隔时间4天。非靶向

ADC,MSL109-H和MSL 109-CZ,当给予60 mg/kg的总数量的时候,接近AB033-UJ的效果。用AB033、MSL 109-CZ或MSL109-H的治疗既不会诱导全部也不会诱导部分响应。

表9
用单一剂量的靶向EGFR的Bel-xLi ADC治疗之后的H1650异种移植肿瘤生长的抑制

Appln 编号	治疗	剂量 ^[a] 途径/方案	生长抑制		响应频率		
			TGI _{max} (%)	TGD (%)	CR (%)	PR (%)	OR (%)
	AB095**†	10/IP/QDx1	0	0	0	0	0
	MSL109-H†	10/IP/QDx1	20	7*	0	0	0
3.1	AB033-CZ	10/IP/QDx1	98*	>507*	100	0	100
3.2	AB033-DH	10/IP/QDx1	97*	>507*	88	13	100
3.12	AB033-EV	10/IP/QDx1	97*	207*	38	63	100
3.20	AB033-FV	10/IP/QDx1	98*	>507*	75	25	100
3.23	AB033-FW	10/IP/QDx1	92*	170*	0	88	88
3.21	AB033-GC	10/IP/QDx1	98*	290*	50	50	100
3.53	AB033-GG	10/IP/QDx1	98*	300*	38	63	100
3.25	AB033-GK	10/IP/QDx1	96*	460*	75	25	100
3.54	AB033-GM	10/IP/QDx1	78*	73*	0	25	25
3.55	AB033-HD	10/IP/QDx1	96*	>507*	13	88	100
3.31	AB033-HR	10/IP/QDx1	82*	133*	0	38	38
3.32	AB033-HU	10/IP/QDx1	69*	50*	0	0	0
3.57	AB033-HW	10/IP/QDx1	75*	50*	0	0	0
3.59	AB033-HY	10/IP/QDx1	85*	193*	13	63	75
3.36	AB033-IA	10/IP/QDx1	69*	40*	0	13	13

** IgG1 mAb
† 非靶向抗体
[a] 以mg/kg/天形式给予剂量
* = p < 0.05, 与对照物治疗(AB095)相比较

表10

用单一剂量的靶向EGFR的Bcl-xLi ADC治疗之后的H1650异种移植肿瘤生长的抑制

实施例 编号	治疗	剂量 ^[a] /途径/方案	生长抑制		响应频率		
			TGI _{max} (%)	TGD (%)	CR (%)	PR (%)	OR (%)
IgG1 mAb	AB095**†	10/IP/QDx1	0	0	0	0	0
3.1	AB033-CZ	10/IP/QDx1	99*	>500*	100	0	100
3.79	AB033-JL	10/IP/QDx1	97*	>500*	38	63	100
3.30	AB033-HP	10/IP/QDx1	99*	>500*	100	0	100
3.78	AB033-JE	10/IP/QDx1	83*	60*	0	0	0
3.24	AB033-GD	10/IP/QDx1	98*	>500*	88	13	100
3.48	AB033-IV	10/IP/QDx1	97*	>500*	88	13	100
3.40	AB033-IJ	10/IP/QDx1	99*	>500*	75	25	100
3.62	AB033-II	10/IP/QDx1	98*	>500*	100	0	100
3.47	AB033-IU	10/IP/QDx1	53*	23*	0	0	0

** IgG1 mAb
† 非靶向抗体
^[a] 以mg/kg/天形式给予剂量
* = p < 0.05, 与对照物治疗(AB095)相比较

表11

用单一剂量的靶向EGFR的Bcl-xLi ADC治疗之后的H1650异种移植肿瘤生长的抑制

实施例 编号	治疗	剂量 ^[a] /途径/方案	生长抑制		响应频率		
			TGI _{max} (%)	TGD (%)	CR (%)	PR (%)	OR (%)
	AB095**†	10/IP/QD×1	0	0	0	0	0
3.1	AB033-CZ	10/IP/QD×1	93*	153*	13	88	100
3.79	AB033-JL	10/IP/QD×1	90*	137*	0	88	88
3.193	AB033-JL (E2)	10/IP/QD×1	95*	221*	13	88	100
3.194	AB033-JL (E4)	10/IP/QD×1	93*	218*	13	88	100
3.144	AB033-SW	10/IP/QD×1	92*	184*	0	88	88
3.143	AB033-SX	10/IP/QD×1	92*	153*	0	100	100
3.145	AB033-TV	10/IP/QD×1	84*	108*	0	63	63
3.146	AB033-SZ	10/IP/QD×1	85*	168*	0	63	63
3.149	AB033-SY	10/IP/QD×1	92*	168*	0	88	88
3.153	AB033-TX	10/IP/QD×1	93*	161*	0	100	100
3.195	AB033-TX (E2)	10/IP/QD×1	87*	195*	0	75	75
3.196	AB033-TX (E4)	10/IP/QD×1	84*	147*	0	75	75
3.157	AB033-UK	10/IP/QD×1	41*	34*	0	0	0
3.154	AB033-TZ	10/IP/QD×1	84*	89*	0	50	50
3.152	AB033-TY	10/IP/QD×1	73*	47*	0	13	13
3.151	AB033-TR	10/IP/QD×1	57*	21	0	13	13
3.156	AB033-UJ	10/IP/QD×1	44	11	0	0	0
3.155	AB033-UA	10/IP/QD×1	57*	29*	0	0	0
3.161	AB033-VB	10/IP/QD×1	68*	37*	0	0	0

** IgG1 mAb

† 非靶向抗体

^[a] 以mg/kg/天形式给予剂量

* = p < 0.05, 与对照物治疗(AB095)相比较

表12

用单一剂量的靶向EGFR的Bcl-xLi ADC治疗之后的H1650异种移植肿瘤生长的抑制

实施例 编号	治疗	剂量 ^[a] /途径/ 方案	生长抑制		响应频率		
			TGI _{max} (%)	TGD (%)	CR (%)	PR (%)	OR (%)
	AB095** [†]	10/IP/QDx1	0	0	0	0	0
3.1	AB033-CZ	10/IP/QDx1	94*	174*	0	100	100
3.165	AB033-VY	10/IP/QDx1	93*	163*	13	75	88
3.166	AB033-WI	10/IP/QDx1	86*	208*	0	38	38
3.167	AB033-WK	10/IP/QDx1	81*	97*	0	13	13
3.162	AB033-VC	10/IP/QDx1	81*	113*	0	13	13
3.160	AB033-UZ	10/IP/QDx1	73*	68*	0	0	0
3.163	AB033-VS	10/IP/QDx1	65*	74*	0	0	0
3.164	AB033-VT	10/IP/QDx1	65*	61*	0	0	0

** IgG1 mAb

[†] 非靶向抗体^[a] 以mg/kg/天形式给予剂量

* = p < 0.05, 与对照物治疗(AB095)相比较

治疗	剂量 ^[a] /途径/方案	生长抑制		响应频率		
		TGI _{max} (%)	TGD (%)	CR (%)	PR (%)	OR (%)
AB033	3/IP/Q4Dx6	17*	0	0	0	0
AB033	3/IP/Q4Dx6	54*	44*	0	0	0
AB033	10/IP/Q4Dx6	62*	56*	0	0	0
MSL109 [†] -H	3/IP/Q4Dx6	18*	0	0	0	0
MSL109 [†] -H	10/IP/Q4Dx6	43*	20*	0	0	0
MSL109 [†] -H	10/IP/Q4Dx6	8	0	0	0	0
MSL109 [†] -CZ	3/IP/Q4Dx6	29*	0	0	0	0
MSL109 [†] -CZ	3/IP/Q7Dx6	18*	0	0	0	0
MSL109 [†] -CZ	10/IP/Q4Dx6	32*	16	0	0	0
MSL109 [†] -CZ	3/IP/Q4Dx6	32*	12	0	0	0

† 非靶向抗体
^[a] 以mg/kg/天形式给予剂量
 * = p < 0.05, 与对照物治疗(AB095)相比较

[1279] 实施例10. 靶向EpCAM的ADC体内抑制肿瘤的生长

10.1. 方法

细胞培养、肿瘤细胞的接种、肿瘤测定和动物管理的方法如实施例9。在接种肿瘤细胞后的第10天,开始治疗(表14)。在治疗开始时,肿瘤的尺寸为大约222 mm³。腹膜内给予所有缀合物和抗体。表14中列举了治疗的剂量和方案。每个治疗组由8只小鼠组成。

[1280] 10.2. 结果

如实施例10所讨论的,下面表14说明了靶向EpCAM的ADC抑制H1650异种移植物生长的效果。在所述表中,关于效果,使用与实施例9相同的参数(响应的幅度和持久性)。

[1281] 与非靶向抗体MSL109的缀合物相比,针对EpCAM的EpCAM(ING-1)抗体的Bc1-XLi缀合物更有效地抑制肿瘤生长。证明了CZ缀合物比消极靶点对照物具有改善的效果。TGI_{max}提高1.3倍,而TGD提高3倍(表14)。

表14 用靶向 α -EpCAM的、以单一药剂形式给予的Bcl-xLi ADC治疗之后的 H1650异种移植肿瘤生长的抑制			
指定治疗	剂量 ^[a] /途径/方案	生长抑制	
		TGI _{max} (%)	TGD (%)
AB095 **	10/IP/Q4Dx6	0	0
MSL109-CZ †	10/IP/Q4Dx6	44*	27*
α -EpCAM(ING-1)-CZ	10/IP/Q4Dx6	58*	81*

** IgG1 mAb
† 非靶向抗体
[a] 以mg/kg/天形式给予剂量
* = p < 0.05 , 与对照物治疗(AB095)相比较

[1282] 实施例11. Bcl-xLi抗体-药物缀合物减轻全身性毒性

11.1. 防止血小板减少

给予Bcl-xLi ADC作为抗体药物缀合物,可以通过选择性地靶向肿瘤,规避小分子的全身性毒性。用这样的方式,通过两种可能的机制,ADC可以避免全身性毒性,并且允许肿瘤特异性效果。第一,对于具有细胞膜渗透性Bcl-xL抑制剂的ADC,与载体抗体的结合,可以限制与小分子的全身性接触。第二,ADC可以推动非渗透性Bcl-xL抑制剂的內化,并由此选择性地影响携带靶点抗原的肿瘤细胞。

[1283] 11.1.1. 方法和结果

在小鼠中,单一腹膜内注射之后,检验两种Bcl-xLi 抑制性ADC对于循环血小板的数目的影响(抑制性ADC含有抗EGFR抗体AB033,对照合成子H和I(实施例2.99和2.100),被称为AB033-H和AB033-I)。抗破伤风类毒素抗体AB095用作阴性对照。Navitoclax (ABT-263,双重Bcl-2和Bcl-xL抑制剂)、A-1331852(选择性的细胞渗透性的Bcl-xL抑制剂,Leverson等人,2015,Sci. Transl. Med. 7:279ra40.)和非缀合的Bcl-xL抑制剂(实施例1.13.7)导致血小板减少,在注射化合物之后6小时,血小板减少达到最大值。0.61 mg/kg的剂量(等同于在30 mg/kg的Bcl-xLi ADC中存在的Bcl-xL抑制剂的数量),使血小板数量降低100倍,从大约 6×10^5 个/mm³的正常数降低至 6×10^3 个/mm³。

[1284] 与此相反,给药之后6小时(表15),或在14天的观察期的任何时间点,没有一个Bcl-xL抑制性ADC会引起血小板实质性地减少。随后的观察结果显示:由ADC缓慢释放抑制剂所引起的血小板减少的诱导作用是不太可能的。

表15 含有细胞渗透性Bcl-xL抑制剂的Bcl-xLi ADC对于循环血小板数量的影响			
化合物	剂量 (mg/kg)	最低的血小板数量	达到最低数量的时间 (小时)
没有		594	0
AB095	30	539	6
ABT-263	100	10	6
实施例 1.13.7	0.61	6	6
A-1331852	25	9	6
AB033-I	30	335	72
AB033-I	10	567	72
AB033-H	30	521	72
血小板数量以每mm ³ 血小板#的1/10 ³ 给出			

[1285] 尽管已经说明和描述了各个具体实施方案,但应理解,在不背离本公开的精神和范围的条件下,可以进行各种改变。