

艾日布林衍生物及其抗体药物偶联物和医药用途

5 技术领域

本申请涉及医药技术领域，具体涉及一种艾日布林衍生物及其抗体药物偶联物和医药用途。

背景技术

10 抗体药物偶联物（Antibody-Drug Conjugates, ADC）是一种由特异性靶向相关抗原的抗体（Antibody）与小分子毒素（Payload）通过连接子（Linker）偶联组成的治疗剂，兼具小分子化疗剂的强大杀伤效应及抗体药物的肿瘤靶向性。ADC分子进入体内后，可通过抗体的导向作用与靶细胞表面的抗原结合，通过化学或酶促作用释放出毒素分子以达到消灭靶细胞的目的。由于其靶向性和肿瘤细胞内  
15 的药物释放，ADCs 能精准地结合肿瘤并降低对正常细胞的影响，可以提高药物的局部浓度，减少对正常细胞的毒副作用，并扩大治疗窗口。ADCs 在肿瘤治疗中有着广泛的应用前景，并在临床研究中取得了一些令人鼓舞的成果。

ADC 的早期失败主要是毒性问题。一些 ADC 的某些副作用与化疗中使用的常规细胞毒素引起的副作用相似，这些副作用有时很严重。一是由于在血液循环  
20 过程中连接子不稳定，细胞毒素不受控制地释放引起的；二是一些 ADC 的免疫球蛋白 G1（IgG1）同位素可以与(Fc)- $\gamma$ 受体（Fc $\gamma$ R）相互作用，可以在 Fc $\gamma$ R 阳性细胞中触发不依赖靶标而依靠 Fc $\gamma$ R 的内化。这种抗体的非特性内吞（off-target 毒性）会对这些健康细胞产生毒性作用，而这些健康细胞不是 ADC 的目标。而其他副作用则与 ADC 本身特异性（on-target 毒性）相关。根据统计分析，ADC 的限制性剂量几乎与作为毒素的化疗药的限制性剂量一致（Cancer Cell 40, 14, 2022,  
25 1257）。这些因素使 ADC 的细胞毒素的开发成为一项复杂的工作。

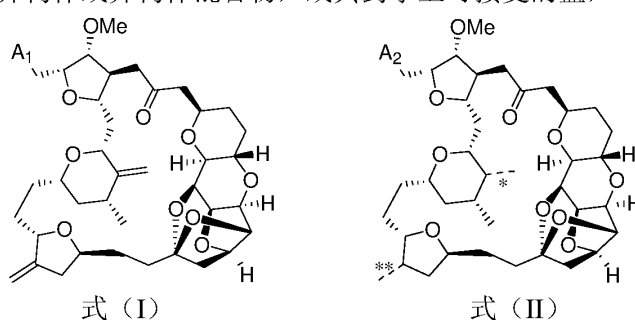
艾日布林属于一类微管蛋白聚合的抑制类药物，拥有独特新颖的作用。艾日布林为软海绵素 B 的合成类似物。1986 年，日本科学家 Hirata 和 Uemura 从海绵 Halichondria okadai 中分离出了一种只包含 C、H、O 原子的聚醚大环内脂类化合物。他们把这种结构极其复杂的天然产物命名为软海绵素 B（Halichondrin B）。  
30 艾日布林通过抑制微管伸长和有丝分裂纺锤体形成来介导抗肿瘤活性，从而导致细胞凋亡。同时，研究表明艾日布林对肿瘤和肿瘤微环境的亚纳摩尔有丝分裂和非有丝分裂都有影响。2010 年 11 月，艾日布林在美国首次获批用于治疗转移性乳腺癌患者。目前，包括欧洲、美洲和亚洲，超过 65 个国家和地区批准艾日布林用于治疗乳腺癌。此外，艾日布林于 2016 年 1 月在美国首次被批准用于治疗软组织  
35 肉瘤，随后在 55 个国家和地区获得批准。同时，艾日布林已在美国和日本被认定

为治疗软组织肉瘤的孤儿药。艾日布林五个最常见的副作用为：白细胞计数降低、中性粒细胞计数降低、天门冬氨酸氨基转移酶升高、丙氨酸氨基转移酶升高以及贫血。

本申请通过改造艾日布林合成一系列具有良好的肿瘤抑制效果的衍生物，毒性更低、治疗窗相对于艾日布林更大，再通过合适的连接子把艾日布林衍生物与抗体做成 ADC，利用抗体的靶向特异性提高艾日布林衍生物的治疗效率。

## 发明内容

为了实现本申请的发明目的，第一方面，本申请提供一种艾日布林衍生物，其为式 (I)、式 (II) 化合物，或其同位素标记化合物，或其光学异构体、几何异构体、互变异构体或异构体混合物，或其药学上可接受的盐，



其中：

式 (I) 中  $A_1$  选自  $X_3-X_2-X_1-N(R_1)-CH(OH)-CH_2-$ 、 $X_3-X_2-X_1-N(R_1)-CH_2-C(=O)-$ 、 $Y_1-N(R_1)-C(=O)-$ 、 $Y_1-N(R_1)-CH_2-$ 、 $\textcircled{A}-N(R_1)-C(=O)-$  或  $\textcircled{A}-N(R_1)-CH_2-$ ；

式 (II) 中  $A_2$  选自  $X_3-X_2-X_1-N(R_1)-CH(OH)-CH_2-$ 、 $X_3-X_2-X_1-N(R_1)-CH_2-C(=O)-$ 、 $Y_1-N(R_1)-C(=O)-$ 、 $Y_1-N(R_1)-CH_2-$ 、 $\textcircled{A}-N(R_1)-C(=O)-$ 、 $\textcircled{A}-N(R_1)-CH_2-$ 、 $HN(R_1)-CH(OH)-CH_2-$  或  $OR_1-CH(OH)-CH_2-$ ；\*、\*\*处的\_\_\_\_各自独立地为单键、双键或氧键=O，且至少一处不为双键；

$R_1$  选自 H、烷基、羟基取代的烷基、烷基氧基取代的烷基、氨基取代的烷基、卤代烷基或氰基取代的烷基；

$X_1$  选自  $-CO-$ 、 $-CH_2-$ 、 $-S(O)-$  或  $-S(O)_2-$ ；

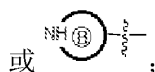
$X_2$  选自直接键、 $-O-$  或  $-NR_1-$ ；

$X_3$  选自  $-(CR_2R_3)_{m1}-NH_2$ 、 $-(CR_2R_3)_{m1}-OH$ 、 $-R_4-(CR_2R_3)_{m2}-NH_2$ 、 $-R_4-(CR_2R_3)_{m2}-OH$

或  $\textcircled{A}-N(R_1)-CH_2-$ ；

$Y_1$  选自  $-(CR_2R_3)_{m1}-NH_2$ 、 $-(CR_2R_3)_{m1}-OH$ 、 $-R_4-(CR_2R_3)_{m2}-NH_2$ 、 $-R_4-(CR_2R_3)_{m2}-OH$





$R_2$ 、 $R_3$  各自独立地选自 H、烷基、羟基、烷基氧基、氨基、卤素、氰基、羟基取代的烷基、烷基氧基取代的烷基、氨基取代的烷基、卤代烷基、氰基取代的烷基、被取代或未取代的碳环基取代的烷基、被取代或未取代的杂环基取代的烷基、取代或未取代的碳环基或取代或未取代的杂环基；所述取代或未取代的碳环基、取代或未取代的杂环基，是指任选被选自氧代、烷基、羟基、烷基氧基、氨基、卤素、氰基、羟基取代的烷基、烷基氧基取代的烷基、氨基取代的烷基、卤代烷基、氰基取代的烷基中的一个或多个取代基取代；

$R_4$  选自取代或未取代的碳环基或取代或未取代的杂环基；所述取代或未取代的碳环基、取代或未取代的杂环基是指任选被选自氧代、烷基、羟基、烷基氧基、氨基、卤素、氰基、羟基取代的烷基、烷基氧基取代的烷基、氨基取代的烷基、卤代烷基、氰基取代的烷基中的一个或多个取代基取代；

⑤环为取代或未取代的杂环基，所述杂环基的环上含有至少一个-NH-，所述取代是指被选自氧代、烷基、烷基氧基、卤素、氰基、烷基氧基取代的烷基、卤代烷基、氰基取代的烷基中的一个或多个取代基取代；

④环为杂环基，所述杂环基的环上含有至少一个-NH-和/或所述杂环基被氨基、羟基、氨基取代的烷基或羟基取代的烷基取代，所述杂环基任选被选自氧代、烷基、烷基氧基、卤素、氰基、烷基氧基取代的烷基、卤代烷基、氰基取代的烷基中的一个或多个取代基取代；

$m_1$  选自 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10；

$m_2$  选自 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10。

具体地，所述烷基为  $C_{1-12}$  直链或支链烷基（如碳原子数为 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12）。所述碳环基可为饱和、部分不饱和或完全不饱和的碳环基，如环烷基、芳基、环烯基、环炔基、环烯炔基，碳原子数可为 3-20 个（如 3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20 个）。所述杂环基可为饱和、部分不饱和或完全不饱和的杂环基，如杂环烷基、杂芳基；原子数可为 3-20 个（如 3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20 个），可含有 1、2、3、4 个选自 N、O、S 的杂原子。

在一组实施方式中， $R_1$  选自 H、烷基、羟基取代的烷基；优选选自 H、 $C_{1-6}$  烷基、羟基取代的  $C_{1-6}$  烷基；更优选为 H、 $C_{1-4}$  烷基、羟基取代的  $C_{1-4}$  烷基；具体可选自 H、甲基、乙基、正丙基、异丙基、羟基甲基、羟基乙基、羟基正丙基、羟基异丙基。

在一组实施方式中， $X_1$  选自 -CO-、-CH<sub>2</sub>-。

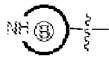
在一组实施方式中， $m_1$  选自 1、2、3、4、5、6； $m_2$  选自 0、1、2、3、4。

在一组实施方式中， $R_2$ 、 $R_3$  各自独立地选自 H、 $C_{1-6}$  烷基、羟基、 $C_{1-6}$  烷基氧

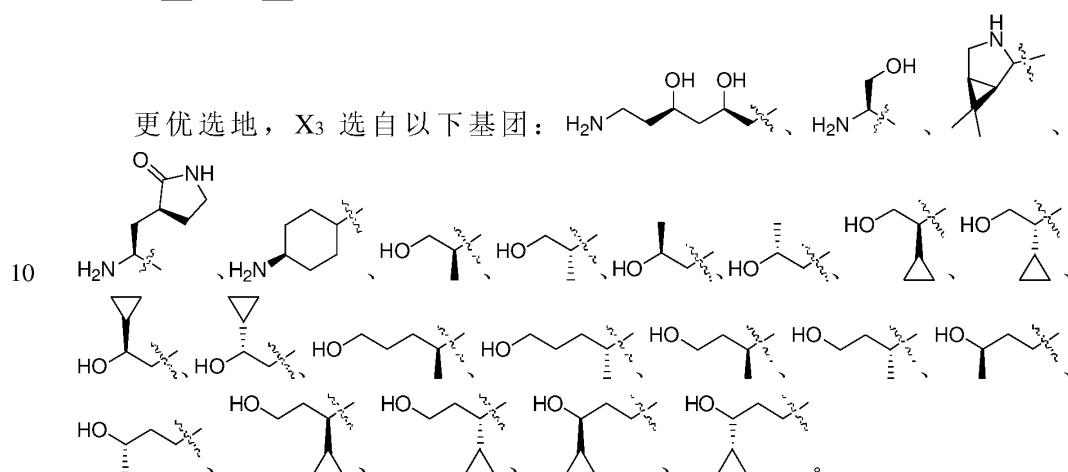
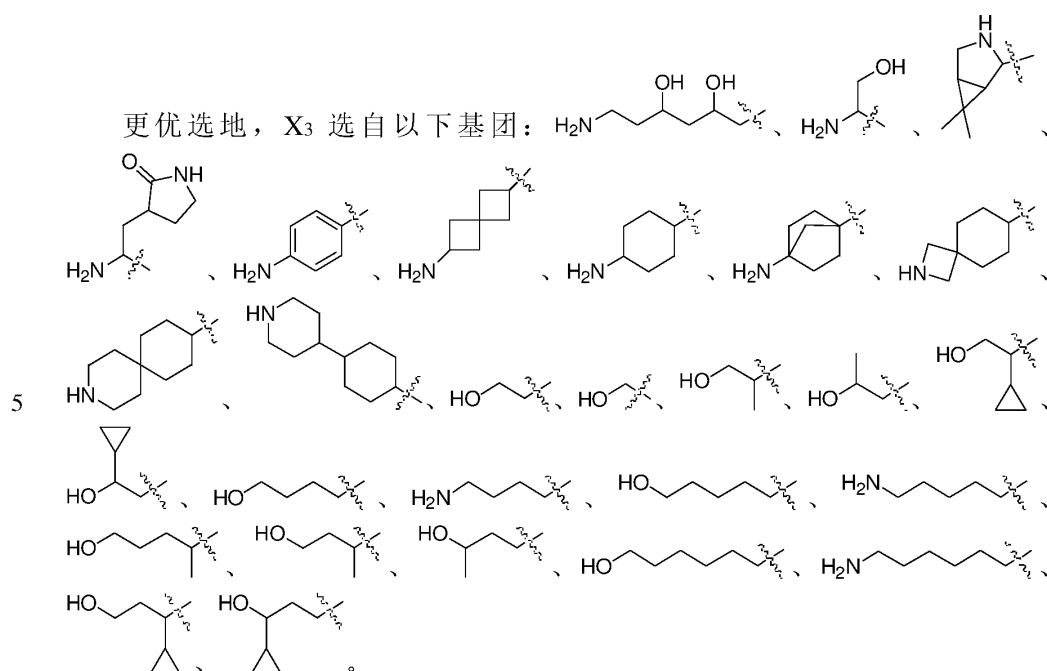
基、羟基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基、C<sub>1-6</sub> 烷基氧基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基、被取代或未取代的 C<sub>3-6</sub> 环烷基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基、被取代或未取代的含有 1 或 2 个杂原子 N 或 O 的 3-6 元杂环烷基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基、取代或未取代的 C<sub>3-6</sub> 环烷基、取代或未取代的含有 1 或 2 个杂原子 N 或 O 的 3-6 元杂环烷基；所述取代或未取代的 C<sub>3-6</sub> 环烷基、取代或未取代的含有 1 或 2 个杂原子 N 或 O 的 3-6 元杂环烷基是指任选被选自氧代、C<sub>1-6</sub> 烷基、羟基、C<sub>1-6</sub> 烷基氧基、羟基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基、C<sub>1-6</sub> 烷基氧基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基中的一个或多个取代基取代。优选地，R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub> 各自独立地选自 H、C<sub>1-6</sub> 烷基、羟基、羟基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基、被取代或未取代的 C<sub>3-6</sub> 环烷基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基、被取代或未取代的含有 1 或 2 个杂原子 N 或 O 的 3-6 元杂环烷基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基、取代或未取代的 C<sub>3-6</sub> 环烷基、取代或未取代的含有 1 或 2 个杂原子 N 或 O 的 3-6 元杂环烷基；所述取代或未取代的 C<sub>3-6</sub> 环烷基、取代或未取代的含有 1 或 2 个杂原子 N 或 O 的 3-6 元杂环烷基是指任选被选自氧代、C<sub>1-6</sub> 烷基、羟基、羟基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基中的一个或多个取代基取代。

在一组实施方式中，R<sub>4</sub> 选自取代或未取代的 C<sub>3-12</sub> 单环、并环、联环、螺环或桥环环烷基，取代或未取代的含有 1、2 或 3 个杂原子 N 或 O 的 3-12 元单环、并环、联环、螺环或桥环杂环烷基，取代或未取代的 C<sub>6-10</sub> 芳基，取代或未取代的含有 1、2 或 3 个杂原子 N 或 O 的 5-10 元杂芳基；所述取代是指被选自氧代、C<sub>1-6</sub> 烷基、羟基、C<sub>1-6</sub> 烷基氧基、羟基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基、C<sub>1-6</sub> 烷基氧基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基中的一个或多个取代基取代。优选地，R<sub>4</sub> 选自取代或未取代的 C<sub>4-12</sub> 单环、并环、联环、螺环或桥环环烷基，取代或未取代的含有 1、2 或 3 个杂原子 N 或 O 的 4-12 元单环、并环、联环、螺环或桥环杂环烷基，取代或未取代的苯基，取代或未取代的含有 1、2 或 3 个杂原子 N 或 O 的 5-10 元杂芳基，所述取代是指被选自氧代、C<sub>1-6</sub> 烷基中的一个或多个取代基取代。

在一组实施方式中，⑤环为取代或未取代的含 1、2 或 3 个杂原子 N 或 O 的 3-12 元单环、并环、联环、螺环或桥环杂环烷基，所述杂环烷基的环上含有至少一个-NH-，所述取代是指被选自氧代、C<sub>1-6</sub> 烷基、C<sub>1-6</sub> 烷基氧基、C<sub>1-6</sub> 烷基氧基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基中的一个或多个取代基取代。

在一组实施方式中，X<sub>3</sub> 选自 -(CR<sub>2</sub>R<sub>3</sub>)<sub>m1</sub>-NH<sub>2</sub>，-(CR<sub>2</sub>R<sub>3</sub>)<sub>m1</sub>-OH，-R<sub>4</sub>-(CR<sub>2</sub>R<sub>3</sub>)<sub>m2</sub>-NH<sub>2</sub>，-R<sub>4</sub>-(CR<sub>2</sub>R<sub>3</sub>)<sub>m2</sub>-OH 或 ，所述⑤环为取代或未取代的含 1、2 或 3 个杂原子 N 或 O 的 4-12 元单环、并环、联环、螺环或桥环杂环烷基，所述取代是指被选自氧代、C<sub>1-6</sub> 烷基中的一个或多个取代基取代；m<sub>1</sub> 选自 1、2、3、4、5、6；m<sub>2</sub> 选自 0、1、2、3、4、5 或 6；R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub> 各自独立地选自 H、C<sub>1-6</sub> 烷基、羟基、羟基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基、被取代或未取代的 C<sub>3-6</sub> 环烷基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基、取代或未取代的 C<sub>3-6</sub> 环烷基，所述取代或未取代的 C<sub>3-6</sub> 环烷基是指任选被选自氧代、C<sub>1-6</sub> 烷基的一个或多个取代基取代；R<sub>4</sub> 选自 C<sub>4-12</sub> 单环、并环、联环、螺环或

桥环环烷基，含有 1、2 或 3 个杂原子 N 或 O 的 4-12 元单环、并环、联环、螺环或桥环杂环烷基，苯基。



在一组实施方式中， $Y_1$  选自  $-(CR_2R_3)_{m1}-NH_2$ ， $-(CR_2R_3)_{m1}-OH$ ，

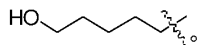
$-R_4-(CR_2R_3)_{m2}-NH_2$ ， $-R_4-(CR_2R_3)_{m2}-OH$ ，或 ，所述Ⓢ环为取代或未取代的含 1、2 或 3 个杂原子 N 或 O 的 4-12 元单环、并环、联环、螺环或桥环杂环烷基，所述取代是指被选自氧代、 $C_{1-6}$  烷基中的一个或多个取代基取代； $m_1$  选自 1、2、3、4、5、6； $m_2$  选自 0、1、2、3、4、5 或 6； $R_2$ 、 $R_3$  各自独立地选自 H、 $C_{1-6}$  烷基、羟基、羟基取代的  $C_{1-6}$  烷基、被取代或未取代的  $C_{3-6}$  环烷基取代的  $C_{1-6}$  烷基、取代或未取代的  $C_{3-6}$  环烷基，所述取代或未取代的  $C_{3-6}$  环烷基是指任选被选自氧代、 $C_{1-6}$  烷基的一个或多个取代基取代； $R_4$  选自  $C_{4-12}$  单环、并环、联环、螺环或

15

20

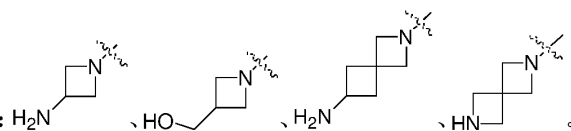
桥环环烷基，含有 1、2 或 3 个杂原子 N 或 O 的 4-12 元单环、并环、联环、螺环或桥环杂环烷基，苯基。

优选地，Y<sub>1</sub> 选自  $-(CR_2R_3)_{m1}-NH_2$ 、 $-(CR_2R_3)_{m1}-OH$ ；m<sub>1</sub> 选自 1、2、3、4、5、6；R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub> 各自独立地选自 H、C<sub>1-6</sub> 烷基、羟基、羟基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基。

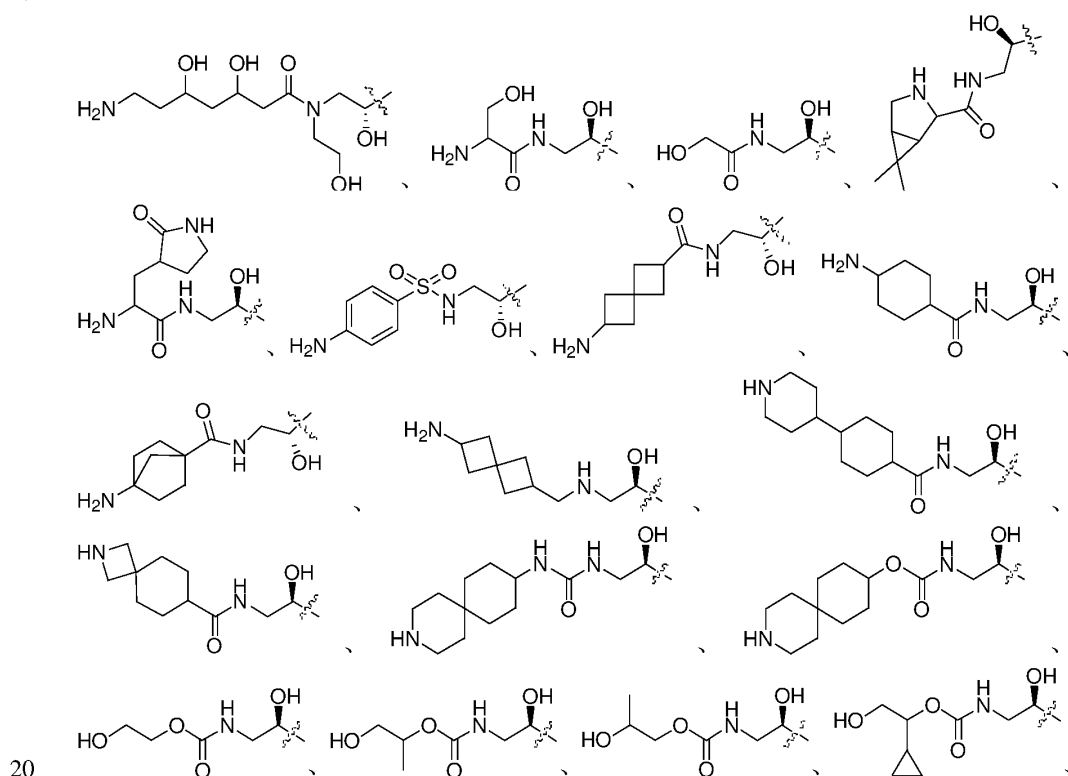
5 更优选地，Y<sub>1</sub> 选自以下基团：.

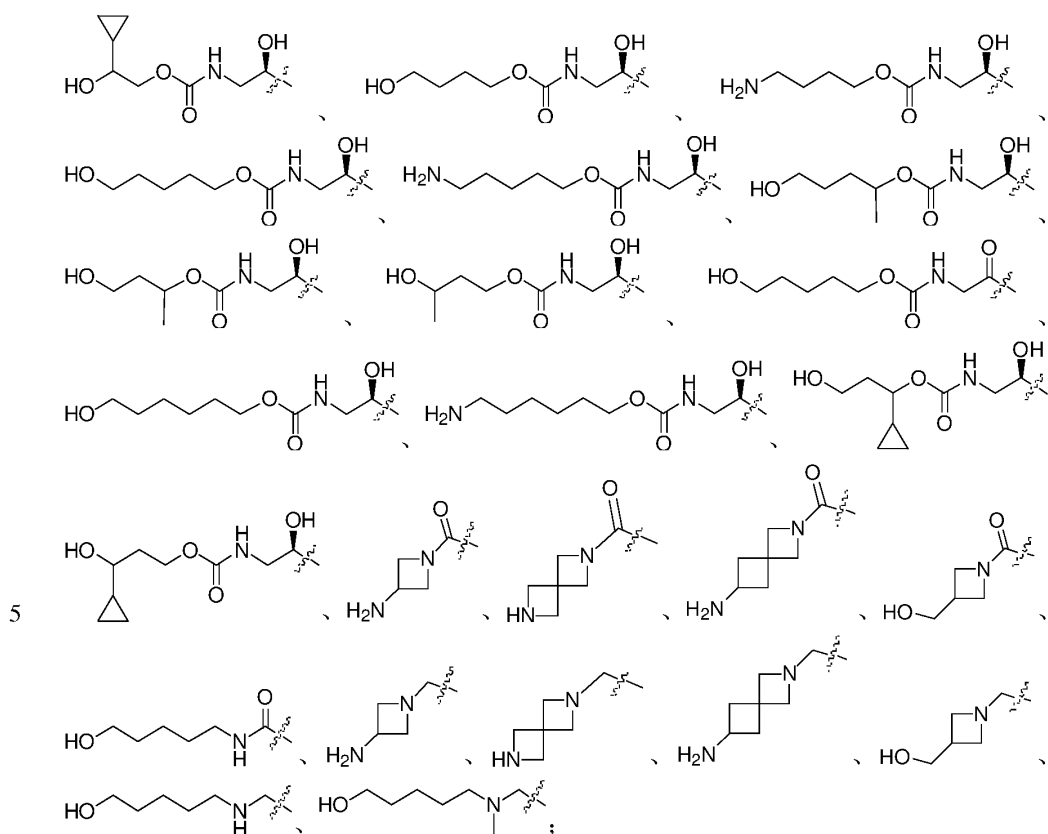
在一组实施方式中，④环为含 1、2 或 3 个杂原子 N 或 O 的 3-12 元单环、并环、联环、螺环或桥环杂环烷基，所述杂环烷基的环上含有至少一个 -NH- 和/或所述杂环烷基被氨基、羟基、氨基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基或羟基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基取代，所述杂环烷基任选被选自氧代、C<sub>1-6</sub> 烷基、C<sub>1-6</sub> 烷基氧基、C<sub>1-6</sub> 烷基氧基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基中的一个或多个取代基取代。

优选地，④环为含 1、2 或 3 个杂原子 N 或 O 的 4-12 元单环、并环、联环、螺环或桥环杂环烷基，所述杂环烷基的环上含有至少一个 -NH- 和/或所述杂环烷基被氨基、羟基、氨基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基或羟基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基取代。

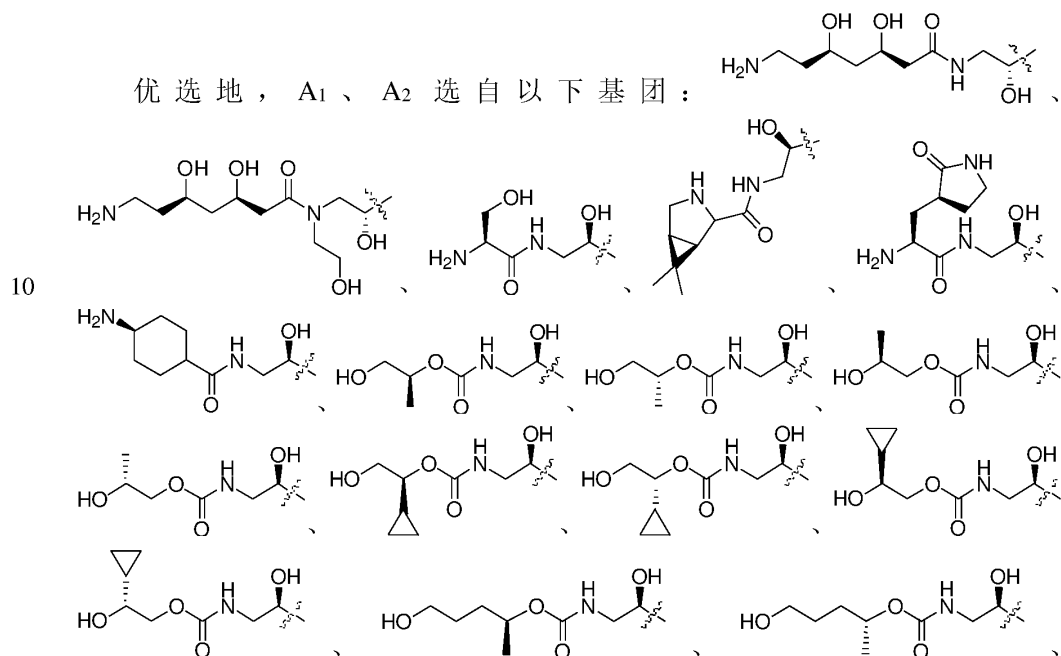
更优选地，④环选自以下基团：.

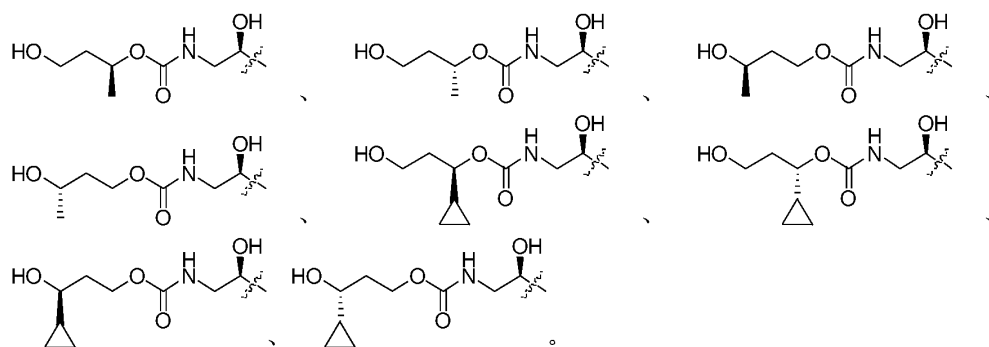
15 在一组实施方式中，A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub> 选自以下基团：



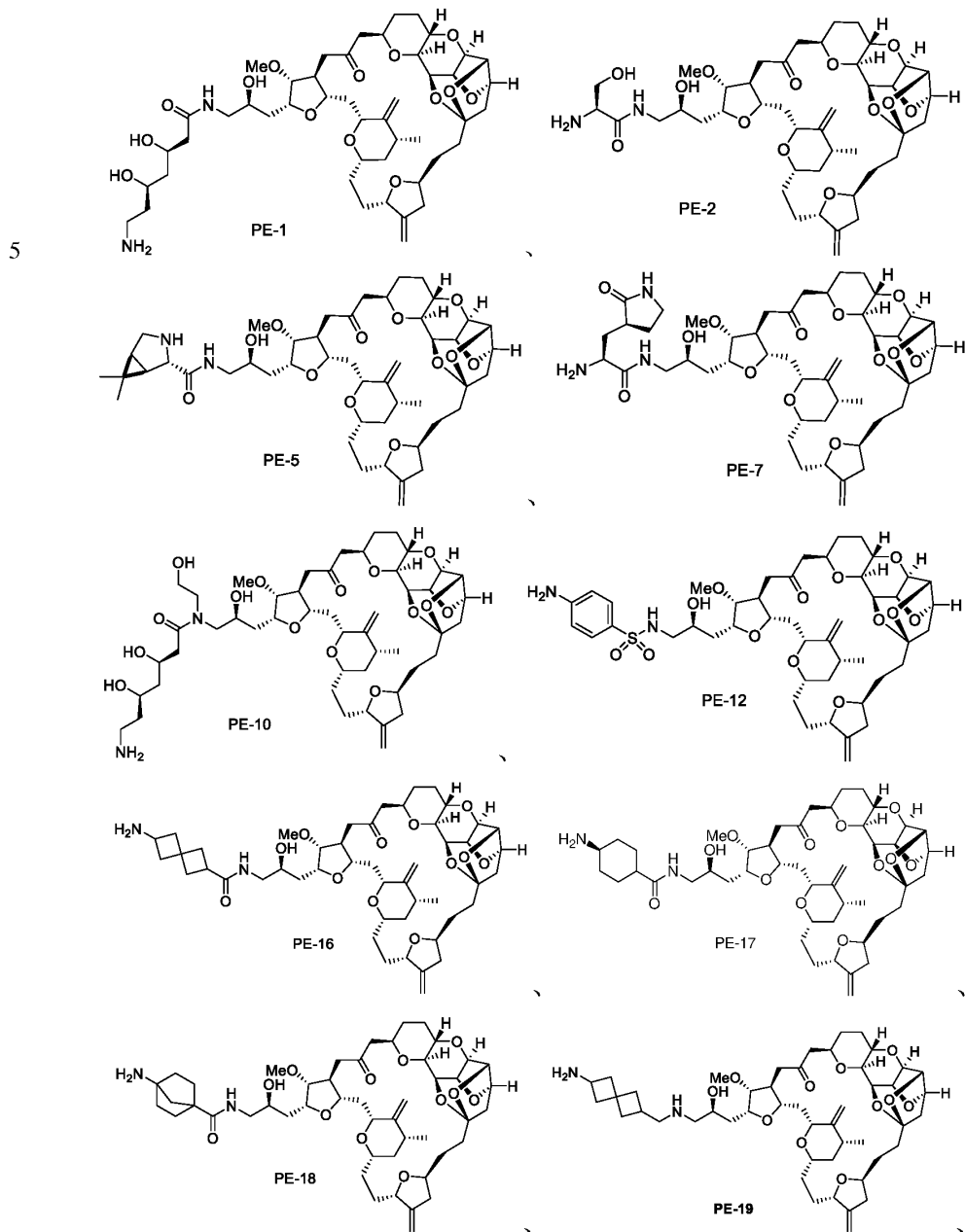


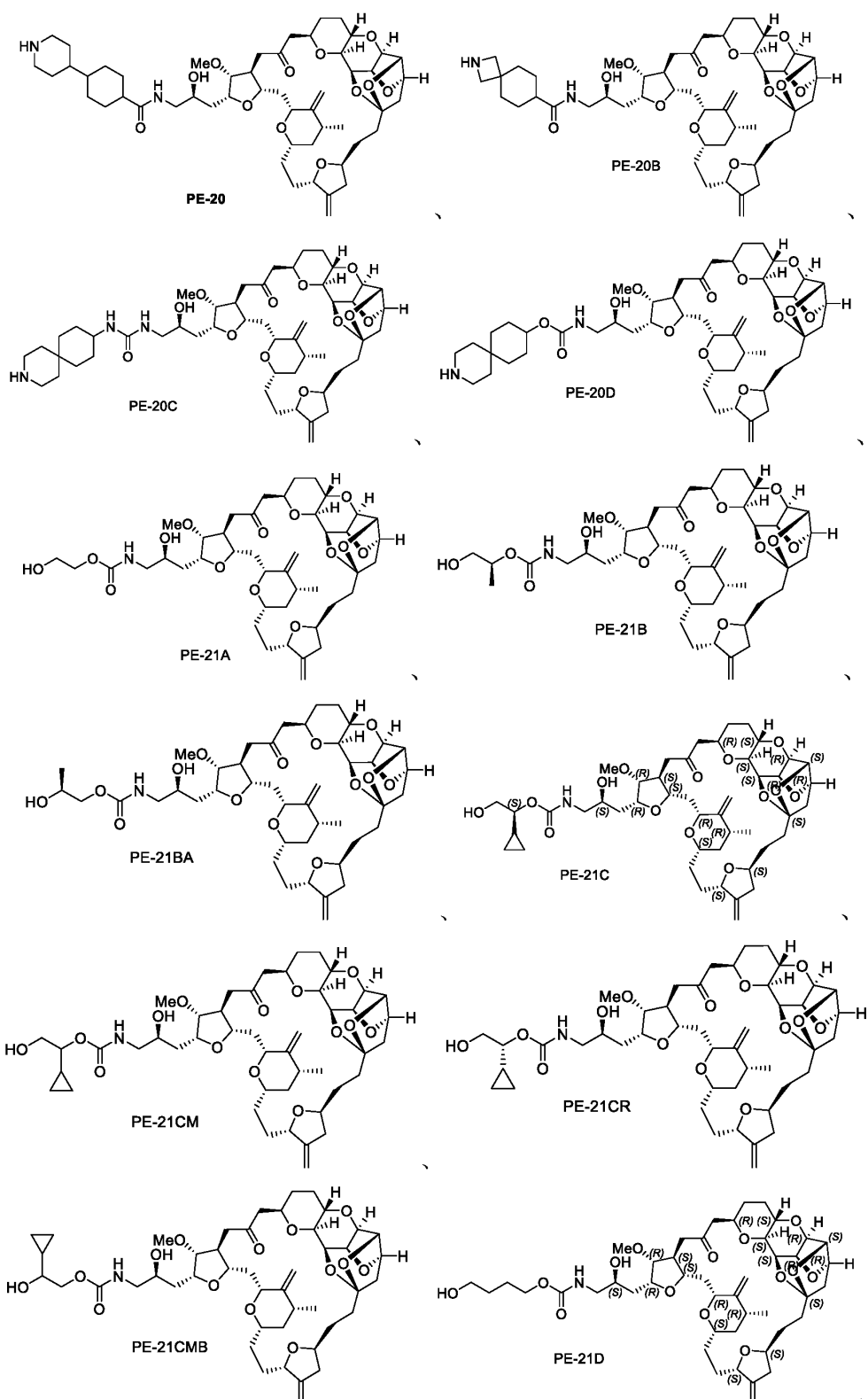
式(II)中的 A<sub>2</sub> 还选自

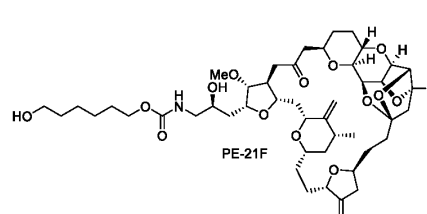
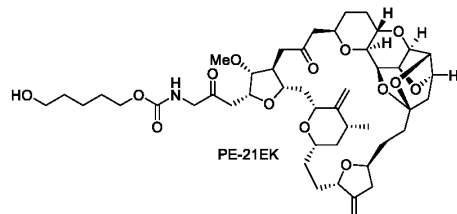
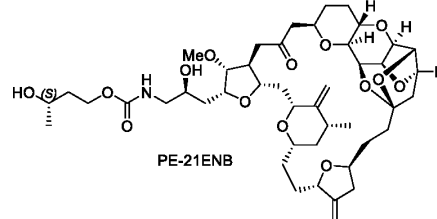
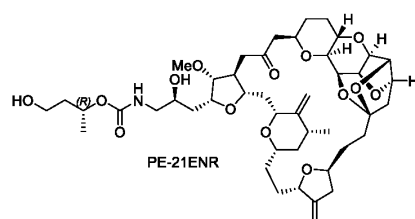
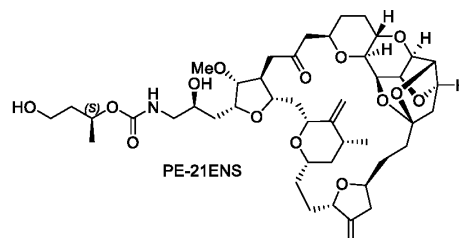
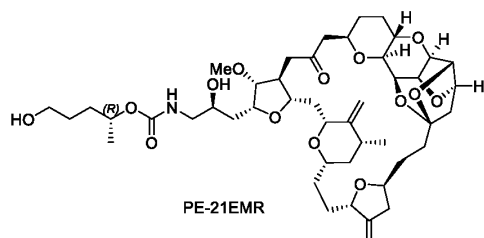
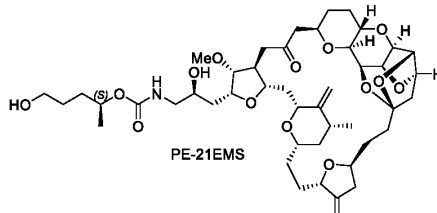
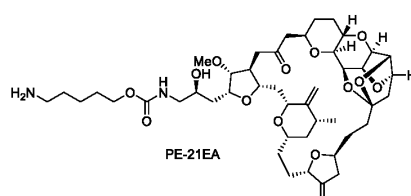
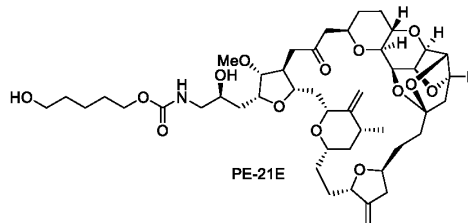
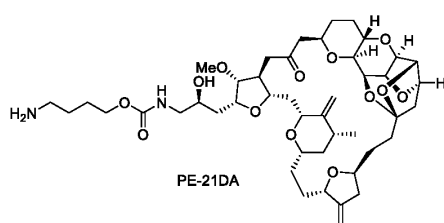




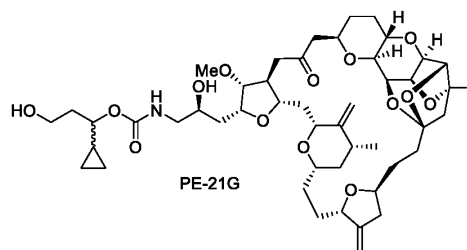
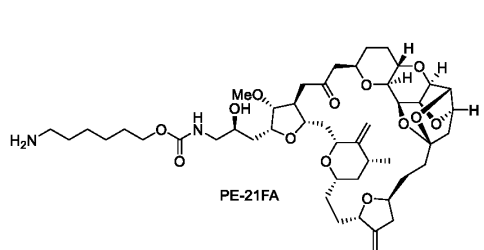
具体地，式 (I) 化合物为以下所示之一：



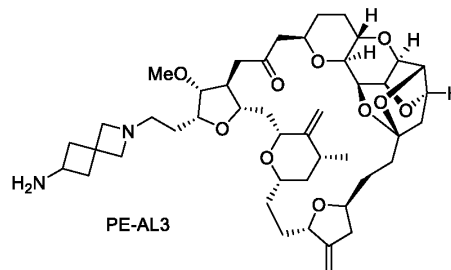
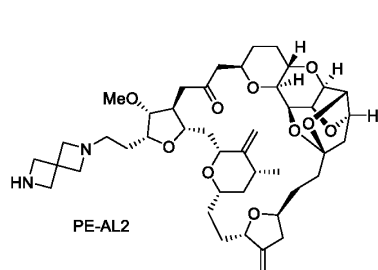
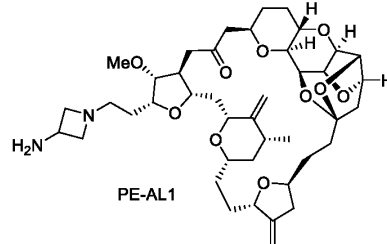
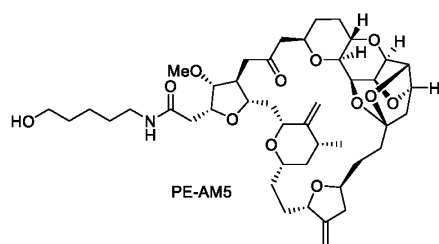
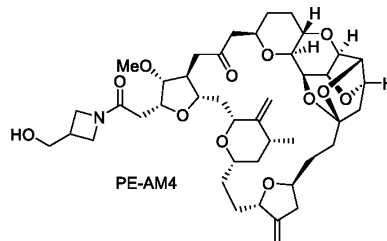
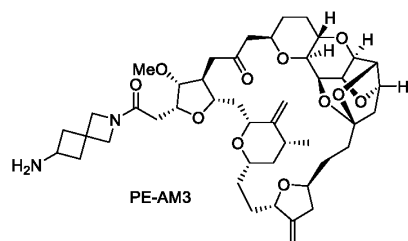
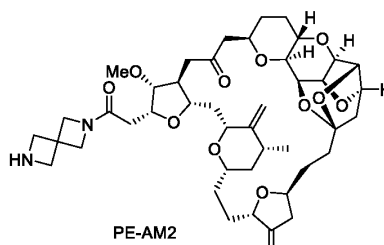
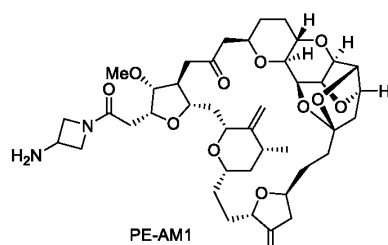
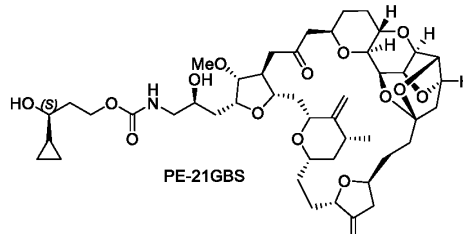
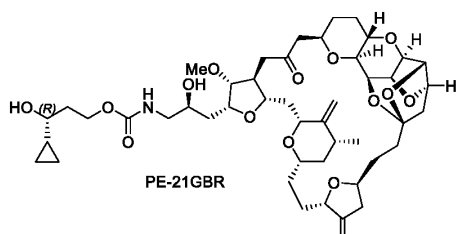
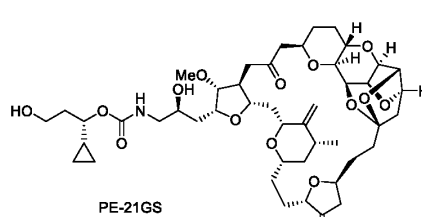
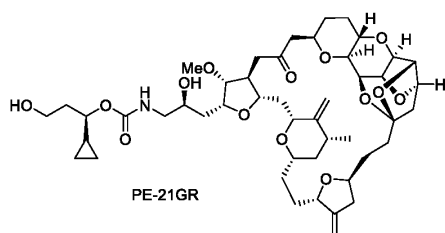


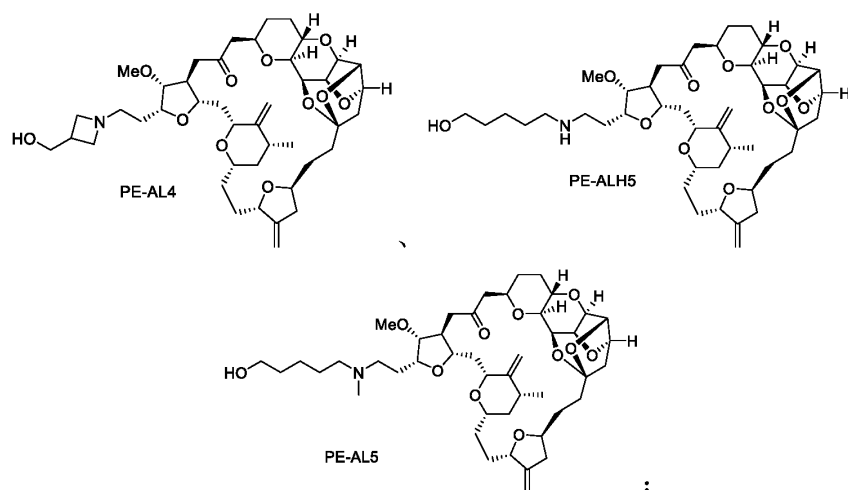


5

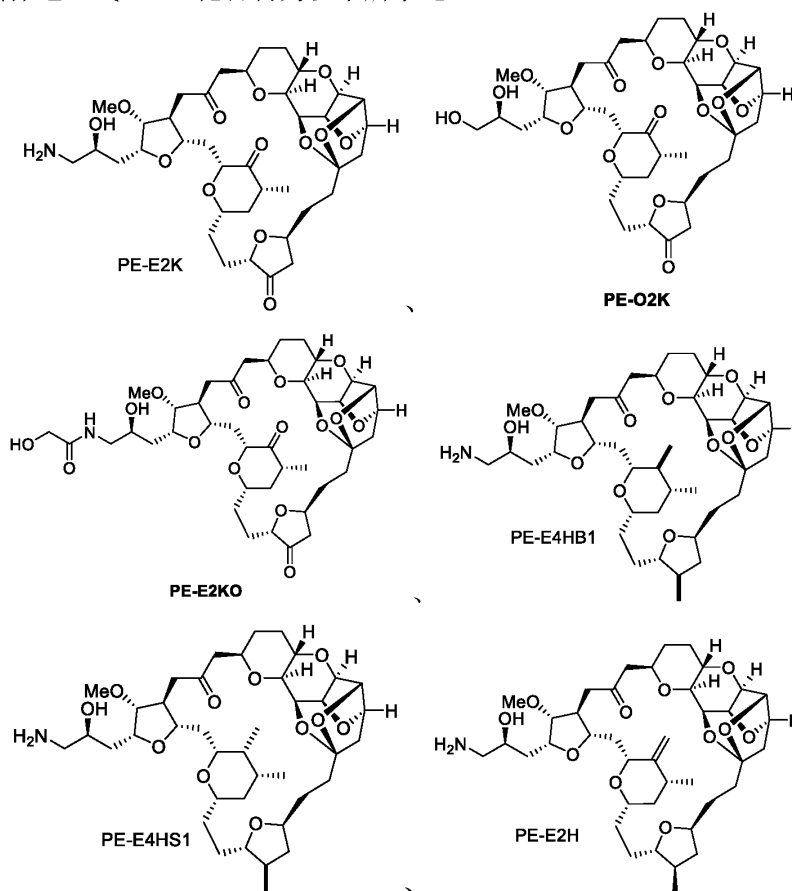




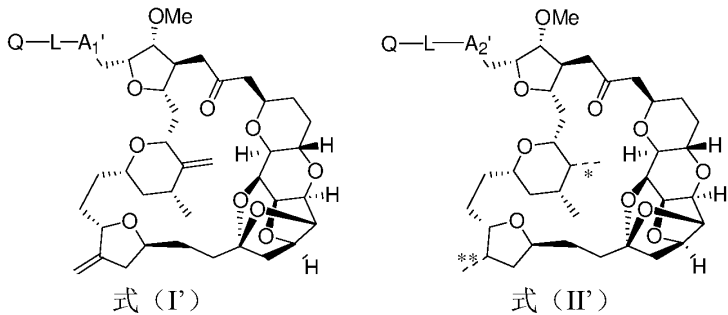




具体地，式（II）化合物为以下所示之一：



在第二方面，本申请提供一种艾日布林衍生物，其为式（I'）、式（II'）化合物，或其同位素标记化合物，或其光学异构体、几何异构体、互变异构体或异构体混合物，或其药学上可接受的盐，



其中:

Q 为可与抗体或抗原结合片段连接的接头基团;

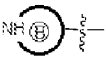
5 L 为连接 Q 与 A1'或连接 Q 与 A2'的连接基团;

A1'为 A1 通过脱除-NH<sub>2</sub>、-OH、链上的-NH-或环上的-NH-的 H 之后与 L 连接的基团;

A2'为 A2 通过脱除-NH<sub>2</sub>、-OH、链上的-NH-或环上的-NH-的 H 之后与 L 连接的基团;

10 A1、A2、\*、\*\*的定义如前述式 (I)、式 (II) 中的定义。

在一组实施方式中,当 X<sub>3</sub>、Y<sub>1</sub> 分别独立地选自-(CR<sub>2</sub>R<sub>3</sub>)<sub>m1</sub>-NH<sub>2</sub>、-(CR<sub>2</sub>R<sub>3</sub>)<sub>m1</sub>-OH, -R<sub>4</sub>-(CR<sub>2</sub>R<sub>3</sub>)<sub>m2</sub>-NH<sub>2</sub>, -R<sub>4</sub>-(CR<sub>2</sub>R<sub>3</sub>)<sub>m2</sub>-OH 时, A1'为 A1 通过脱除 X<sub>3</sub>、Y<sub>1</sub> 末端-NH<sub>2</sub> 或末端-OH 的 H 之后与 L 连接的基团, A2'为 A2 通过脱除 X<sub>3</sub>、Y<sub>1</sub> 末端-NH<sub>2</sub> 或末端-OH 的 H 之后与 L 连接的基团;

15 当 X<sub>3</sub>、Y<sub>1</sub> 分别独立地选自  时, A1'为 A1 通过脱除Ⓢ环上-NH-的 H 之后与 L 连接的基团, A2'为 A2 通过脱除Ⓢ环上-NH-的 H 之后与 L 连接的基团;

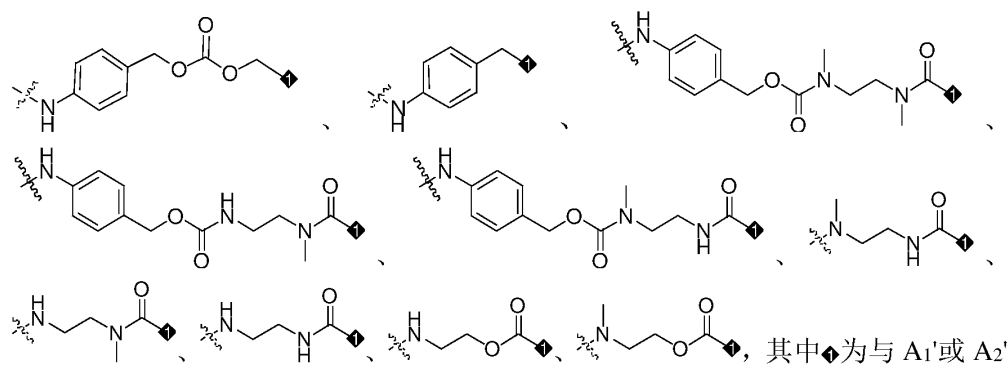
当 A1、A2 分别独立地选自  或  时, A1'为 A1 通过脱除Ⓢ环上-NH-的 H 或Ⓢ环取代基上-NH<sub>2</sub>、-OH 的 H 之后与 L 连接的基团, A2'为 A2 通过脱除Ⓢ环上-NH-的 H 或Ⓢ环取代基上-NH<sub>2</sub>、-OH 的 H 之后与 L 连接的基团;

20 R<sub>1</sub>、X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、Ⓢ环、Ⓢ环、m1、m2 如前述式 (I)、式 (II) 中的定义。

在一组实施方式中, R<sub>1</sub> 为 H 时, A1'为 A1 通过脱除-NR<sub>1</sub>-的 R<sub>1</sub> 之后与 L 连接的基团; A2'为 A2 通过脱除-NR<sub>1</sub>-的 R<sub>1</sub> 之后与 L 连接的基团。

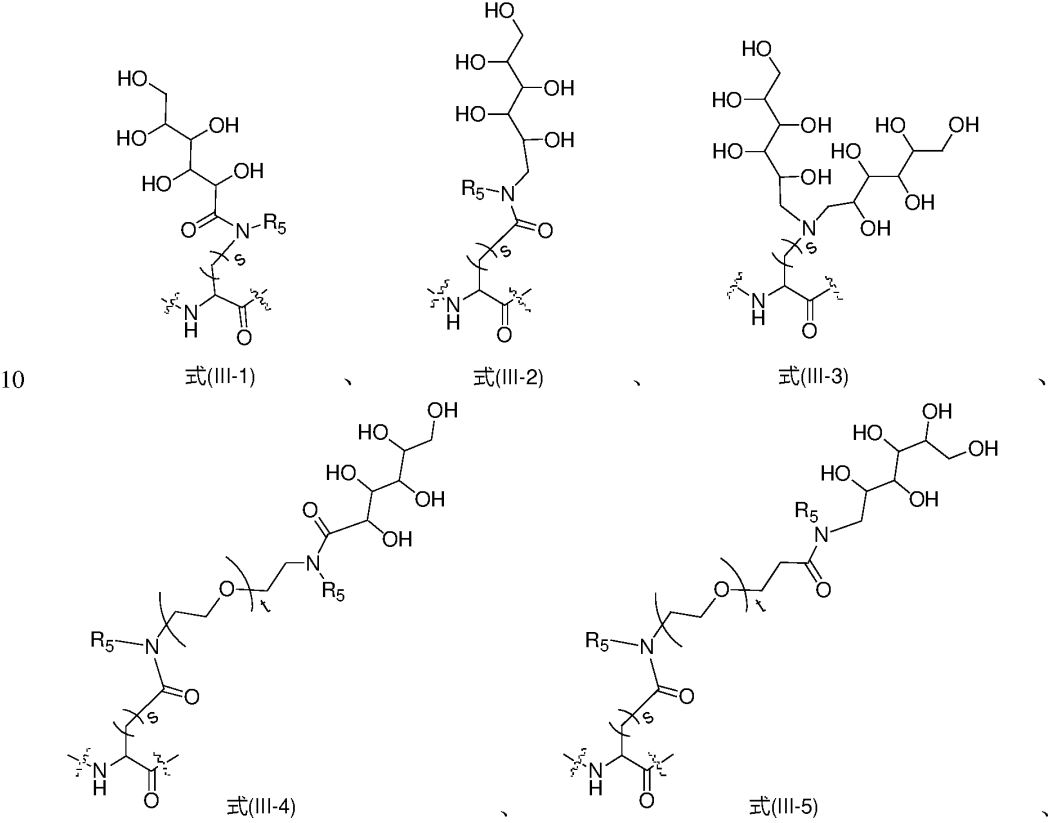
25 在一组实施方式中, L 为-L<sub>4</sub>-L<sub>3</sub>-L<sub>2</sub>-L<sub>1</sub>-, 其中 L<sub>1</sub> 与 A1'或 A2'连接, L<sub>4</sub> 与 Q 连接;

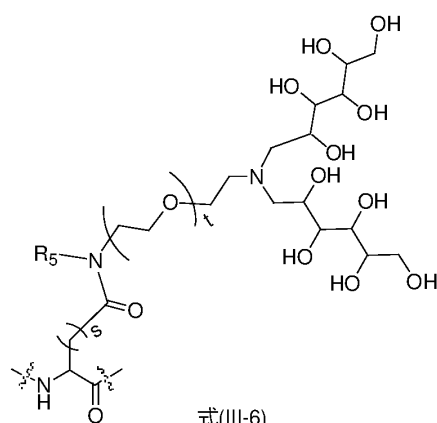




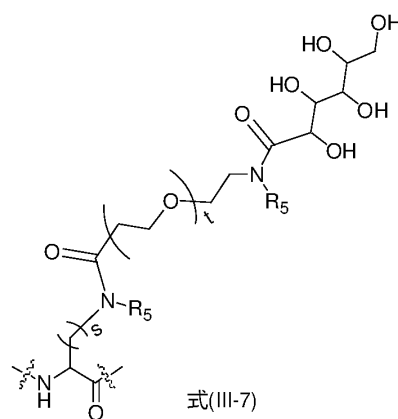
其中◆为与 A1'或 A2' 连接的连接位点，◆为与 L2 连接的连接位点；

- 5 L2 为直接键、一个氨基酸残基，或由两个或多个氨基酸残基形成的短肽链（如 2-10 个氨基酸残基，可以为 2、3、4、5、6、7、8、9、10 个氨基酸残基形成的短肽链），所述氨基酸残基选自天然氨基酸残基或非天然氨基酸残基，所述一个氨基酸残基，或短肽链的 N 末端与 L3 连接，C 末端与 L1 连接，而且 L2 任选包含选自式(III-1)至式(III-9)中的一个或多个结构：

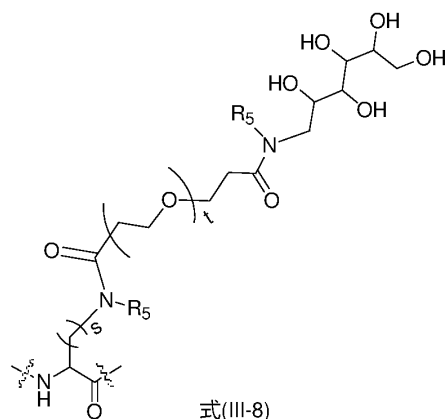




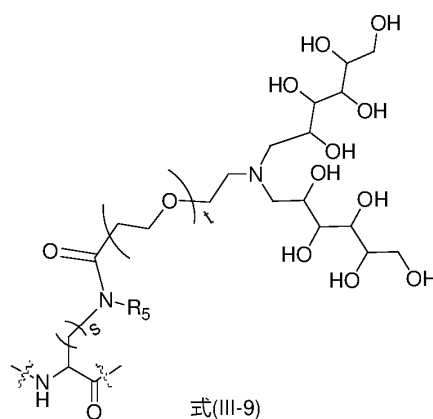
式(III-6)



式(III-7)



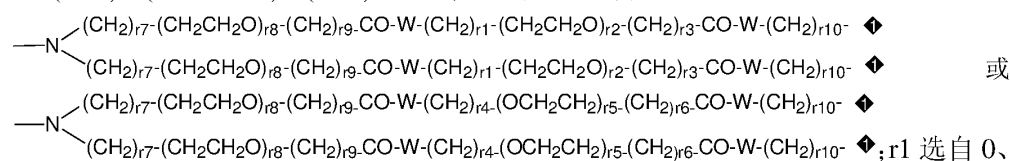
式(III-8)



式(III-9)

- s 选自 1、2、3、4、5、6、7、8，t 选自 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12，R<sub>5</sub> 选自 H 或 C<sub>1-8</sub> 烷基；优选地，s 选自 2、3、4、5、6，t 选自 4、5、6、7、8，R<sub>5</sub> 选自 H 或 C<sub>1-6</sub> 烷基；

L<sub>3</sub> 选自直接键、-NR<sub>6</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>r1</sub>-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>r2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>r3</sub>-CO-◆、-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>r1</sub>-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>r2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>r3</sub>-CO-◆、-NR<sub>6</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>r4</sub>-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>r5</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>r6</sub>-CO-◆、-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>r4</sub>-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>r5</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>r6</sub>-CO-◆，或者 L<sub>3</sub> 选自

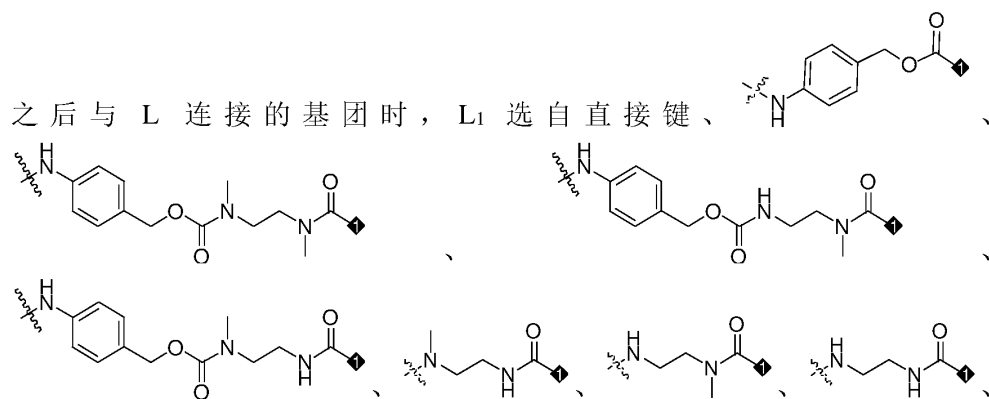


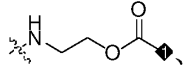
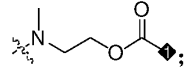
- 10 r<sub>1</sub> 选自 0、1、2、3、4、5、6，r<sub>2</sub> 选自 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12，r<sub>3</sub> 选自 1、2、3、4、5、6，r<sub>4</sub> 选自 1、2、3、4、5、6，r<sub>5</sub> 选自 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12，r<sub>6</sub> 选自 0、1、2、3、4、5、6，r<sub>7</sub> 选自 0、1、2、3、4、5、6，r<sub>8</sub> 选自 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12，r<sub>9</sub> 选自 1、2、3、4、5、6，r<sub>10</sub> 选自 1、2、3、4、5、6，W 选自 O 或 NR<sub>6</sub>，R<sub>6</sub> 选自 H 或 C<sub>1-8</sub> 烷基，其中◆代表与 L<sub>2</sub> 连接
- 15 的连接位点，同一 L<sub>3</sub> 基团中出现 2 处◆时代表在这两个位点均与 L<sub>2</sub> 连接；优选地，r<sub>1</sub> 选自 0、1、2、3、4，r<sub>2</sub> 选自 4、5、6、7、8，r<sub>3</sub> 选自 1、2、3、4，r<sub>4</sub> 选自 1、2、3、4，r<sub>5</sub> 选自 4、5、6、7、8，r<sub>6</sub> 选自 0、1、2、3、4，r<sub>7</sub> 选自 0、1、

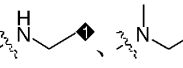
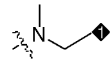
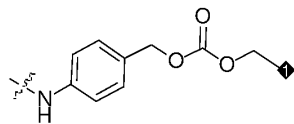
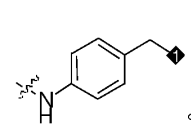
2、3、4, r8 选自 1、2、3、4、5、6, r9 选自 1、2、3、4, r10 选自 1、2、3、4, W 选自 O 或 NR<sub>6</sub>, R<sub>6</sub> 选自 H 或 C<sub>1-6</sub> 烷基;

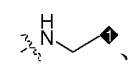
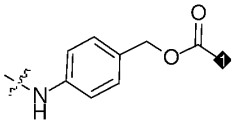
L<sub>4</sub> 选自直接键、-CO-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>p1</sub>-CO-、-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>p2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>p3</sub>-CO-、  
 5 -(CH<sub>2</sub>)<sub>p4</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p5</sub>-C(O)-、-NR<sub>7</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>p1</sub>-CO-、-NR<sub>7</sub>-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>p2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>p3</sub>-CO-、  
 -NR<sub>7</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>p4</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p5</sub>-C(O)-、-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p1</sub>-CO-、-O-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>p2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>p3</sub>-CO-、  
 -O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p4</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p5</sub>-C(O)-, p<sub>1</sub>、p<sub>2</sub>、p<sub>3</sub>、p<sub>4</sub>、p<sub>5</sub> 各自独立地选自 1、2、3、4、5、  
 6、7、8, R<sub>7</sub> 选自 H 或 C<sub>1-8</sub> 烷基, 其中-CO-与 L<sub>3</sub> 连接; 优选地, p<sub>1</sub> 选自 1、2、3、  
 4、5、6, p<sub>2</sub> 选自 1、2、3、4, p<sub>3</sub> 选自 1、2、3、4, p<sub>4</sub> 选自 1、2、3、4, p<sub>5</sub> 选  
 自 1、2、3、4, R<sub>7</sub> 选自 H 或 C<sub>1-6</sub> 烷基。

10 在一组实施方式中, A<sub>1</sub>' 为 A<sub>1</sub> 通过脱除-NH<sub>2</sub>、链上的-NH-或环上的-NH-的 H 之后与 L 连接的基团, 或 A<sub>2</sub>' 为 A<sub>2</sub> 通过脱除-NH<sub>2</sub>、链上的-NH-或环上的-NH-的 H



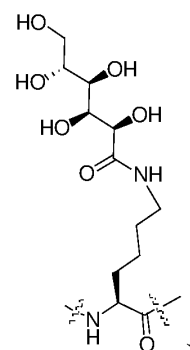
15 、; A<sub>1</sub>' 为 A<sub>1</sub> 通过脱除-OH 的 H 之后与 L 连接的基团,

或 A<sub>2</sub>' 为 A<sub>2</sub> 通过脱除-OH 的 H 之后与 L 连接的基团时, L<sub>1</sub> 选自 、、  
、。

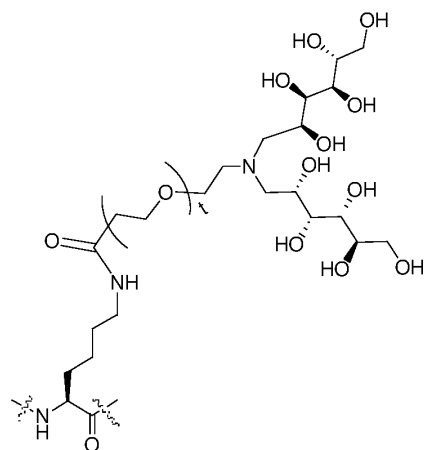
在一组实施方式中, L<sub>1</sub> 选自直接键、、。

20 在一组实施方式中, L<sub>2</sub> 为一个氨基酸残基, 或由 2-8 个氨基酸残基形成的短肽链, 优选地, 所述氨基酸残基为选自苯丙氨酸、丙氨酸、甘氨酸、缬氨酸、瓜氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、色氨酸、酪氨酸、组氨酸、赖氨酸、丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、天冬氨酸、天冬酰胺、甲硫氨酸、精氨酸中的氨基酸形成的氨基酸残基; 更优选地, 所述氨基酸残基为选自苯丙氨酸、丙氨酸、甘氨酸、缬氨酸、瓜氨酸中的氨基酸形成的氨基酸残基。

25 在一组实施方式中, L<sub>2</sub> 任选包含选自式 (III-1)、式 (III-9) 中的一个或多个

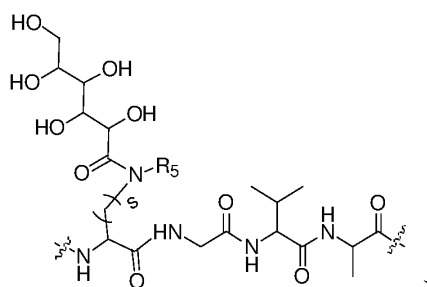


结构，优选地，任选包含选自以下所示的一个或多个结构：

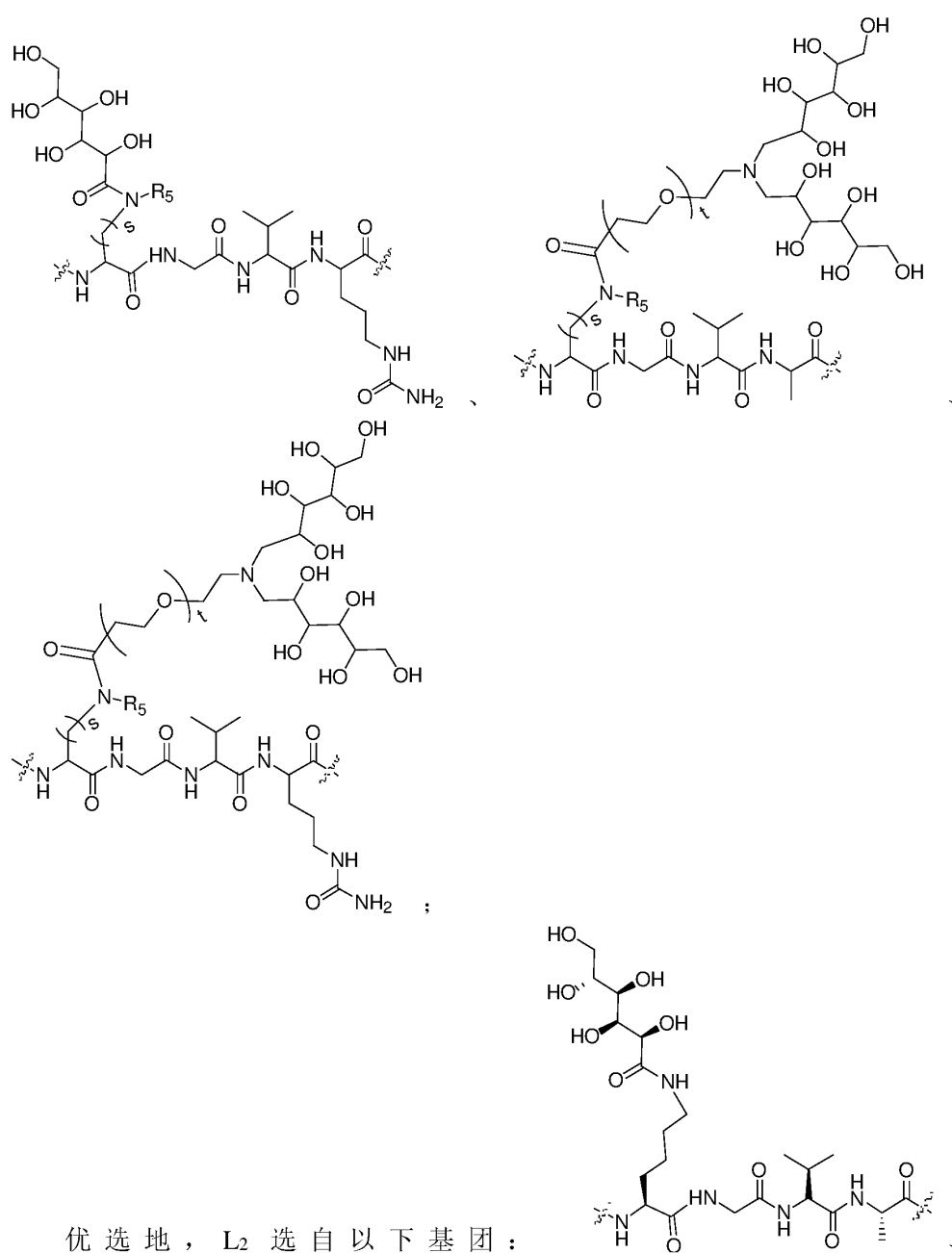


，  $t=8$ 。

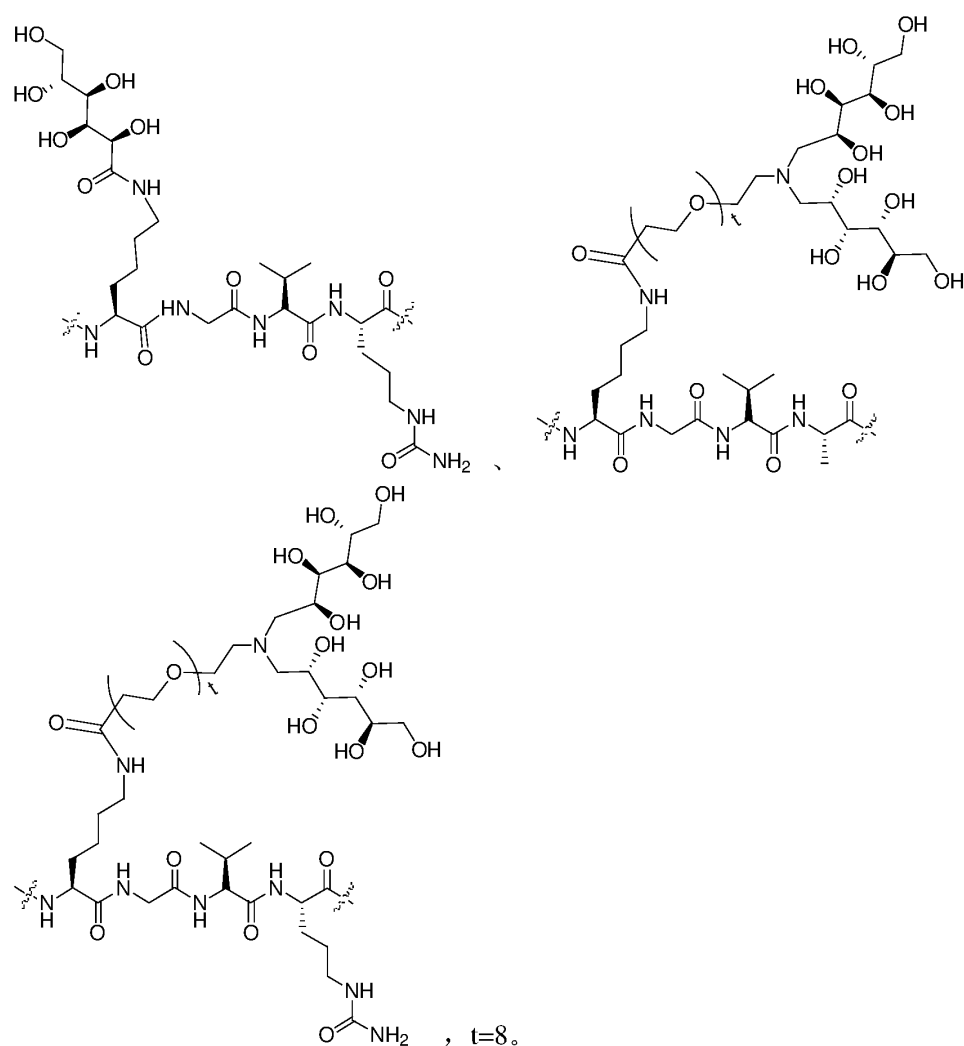
在一组实施方式中， $L_2$  选自  $-\text{NHGlyCO}-$ ，或者选自以下短肽链：  
 $-\text{NHGly-Gly-Phe-GlyCO}-$ 、 $-\text{NHVal-CitCO}-$ 、 $-\text{NHVal-AlaCO}-$ 、 $-\text{NHGly-Gly-Val-AlaCO}-$ 、  
 5  $-\text{NHGly-Gly-Val-CitCO}-$ 、 $-\text{NHLys-Gly-Val-AlaCO}-$ 、 $-\text{NHLys-Gly-Val-CitCO}-$ 、  
 $-\text{NHGly-Val-CitCO}-$ ，而且  $L_2$  任选包含选自式 (III-1) 至式 (III-9) 中的一个或多个  
 结构，优选地， $L_2$  任选包含选自式 (III-1)、式 (III-9) 中的一个或多个结构。



优选地， $L_2$  选自以下基团：





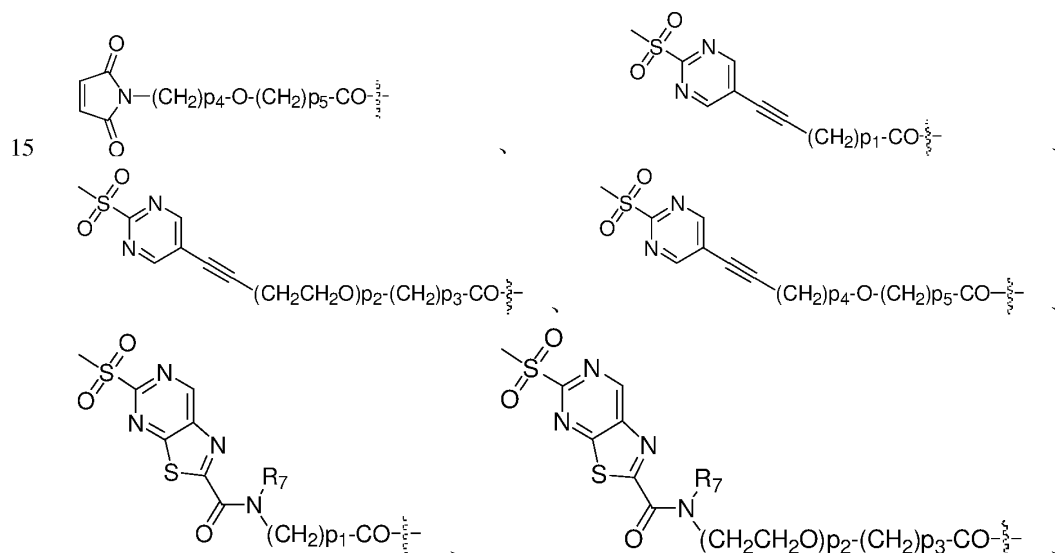
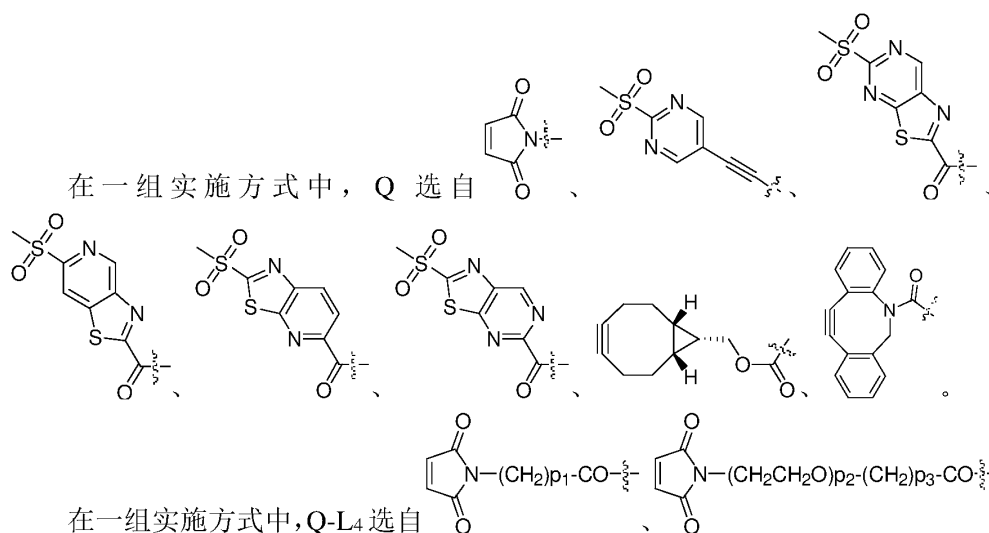


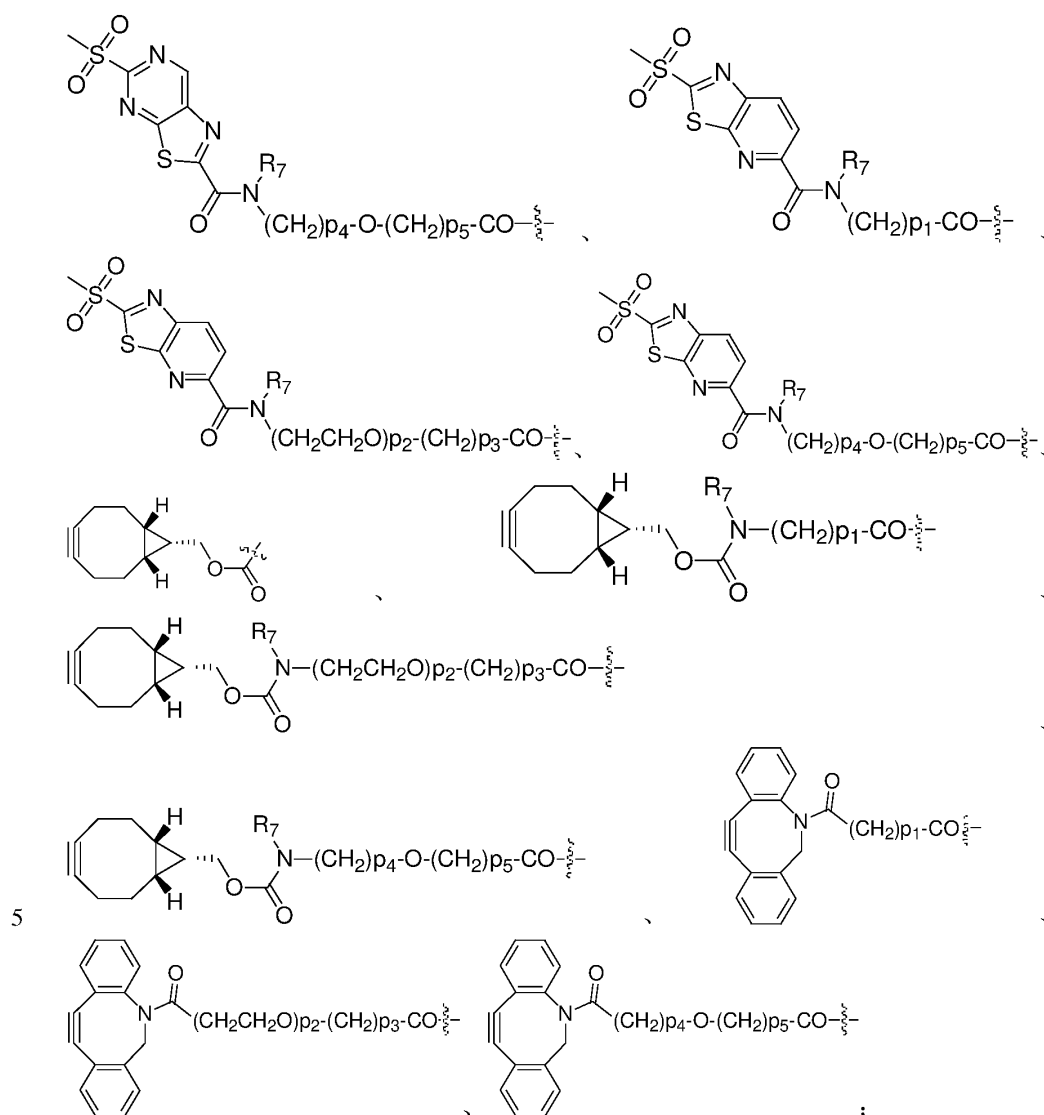
- 在一组实施方式中，L<sub>3</sub> 选自直接键、-NH-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>r2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>r3</sub>-CO- $\blacklozenge$ 、  
 -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>r4</sub>-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>r5</sub>-CO- $\blacklozenge$ 、-O-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>r2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>r3</sub>-CO- $\blacklozenge$  或  
 5 -O-(CH<sub>2</sub>)<sub>r4</sub>-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>r5</sub>-CO- $\blacklozenge$ ，或者 L<sub>3</sub> 选自
- $\text{---N---} \begin{cases} (\text{CH}_2)_{r7}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{r8}-(\text{CH}_2)_{r9}\text{-CO-W-(CH}_2)_{r1}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{r2}-(\text{CH}_2)_{r3}\text{-CO-W-(CH}_2)_{r10} \\ (\text{CH}_2)_{r7}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{r8}-(\text{CH}_2)_{r9}\text{-CO-W-(CH}_2)_{r1}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{r2}-(\text{CH}_2)_{r3}\text{-CO-W-(CH}_2)_{r10} \end{cases}$  或  
 $\text{---N---} \begin{cases} (\text{CH}_2)_{r7}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{r8}-(\text{CH}_2)_{r9}\text{-CO-W-(CH}_2)_{r4}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{r5}-(\text{CH}_2)_{r6}\text{-CO-W-(CH}_2)_{r10} \\ (\text{CH}_2)_{r7}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{r8}-(\text{CH}_2)_{r9}\text{-CO-W-(CH}_2)_{r4}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{r5}-(\text{CH}_2)_{r6}\text{-CO-W-(CH}_2)_{r10} \end{cases}$ ，r<sub>1</sub>、r<sub>6</sub>、  
 r<sub>7</sub> 选自 0，r<sub>2</sub> 选自 4、5、6、7、8，r<sub>3</sub> 选自 1、2、3、4，r<sub>4</sub> 选自 1、2、3、4，r<sub>5</sub>  
 选自 4、5、6、7、8，r<sub>8</sub> 选自 1、2、3、4，r<sub>9</sub> 选自 1、2、3、4，r<sub>10</sub> 选自 1、2、3、  
 10 4，W 选自 NH；优选地，L<sub>3</sub> 选自直接键、-O-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>r2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>r3</sub>-CO- $\blacklozenge$ 、  
 -NH-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>r2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>r3</sub>-CO- $\blacklozenge$ 、  
 $\text{---N---} \begin{cases} (\text{CH}_2)_{r7}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{r8}-(\text{CH}_2)_{r9}\text{-CO-W-(CH}_2)_{r1}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{r2}-(\text{CH}_2)_{r3}\text{-CO-W-(CH}_2)_{r10} \\ (\text{CH}_2)_{r7}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{r8}-(\text{CH}_2)_{r9}\text{-CO-W-(CH}_2)_{r1}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{r2}-(\text{CH}_2)_{r3}\text{-CO-W-(CH}_2)_{r10} \end{cases}$ ，r<sub>1</sub>、r<sub>7</sub>  
 选自 0，r<sub>2</sub> 选自 4、5、6、7、8，r<sub>3</sub> 选自 2，r<sub>8</sub> 选自 2、3、4，r<sub>9</sub> 选自 2，r<sub>10</sub> 选自

2。

在一组实施方式中，L<sub>4</sub>选自直接键、-(CH<sub>2</sub>)<sub>p1</sub>-CO-、-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>p2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>p3</sub>-CO-、  
 -(CH<sub>2</sub>)<sub>p4</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p5</sub>-C(O)-、-NR<sub>7</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>p1</sub>-CO-、-NR<sub>7</sub>-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>p2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>p3</sub>-CO-、  
 -NR<sub>7</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>p4</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p5</sub>-C(O)-，p<sub>1</sub>选自1、2、3、4、5、6，p<sub>2</sub>、p<sub>3</sub>、p<sub>4</sub>、p<sub>5</sub>各自  
 5 独立地选自1、2、3、4，R<sub>7</sub>选自H或C<sub>1-6</sub>烷基。优选地，L<sub>4</sub>选自以下基团：直接  
 键、-(CH<sub>2</sub>)<sub>p1</sub>-CO-、-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>p2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>p3</sub>-CO-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>p4</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p5</sub>-C(O)-、  
 -NR<sub>7</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>p1</sub>-CO-、-NR<sub>7</sub>-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>p2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>p3</sub>-CO-、-NR<sub>7</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>p4</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p5</sub>-C(O)-，  
 p<sub>1</sub>选自3、4、5、6，p<sub>2</sub>、p<sub>3</sub>、p<sub>4</sub>、p<sub>5</sub>各自独立地选自2、3，R<sub>7</sub>选自H。

10 在一组实施方式中，Q选自包含马来酰亚胺接头的基团、包含甲磺酰基嘧啶  
 接头的基团、包含甲磺酰基吡啶并噻唑接头的基团、包含甲磺酰基嘧啶并噻唑接  
 头的基团、包含环烯炔接头的基团或包含肟键接头的基团。



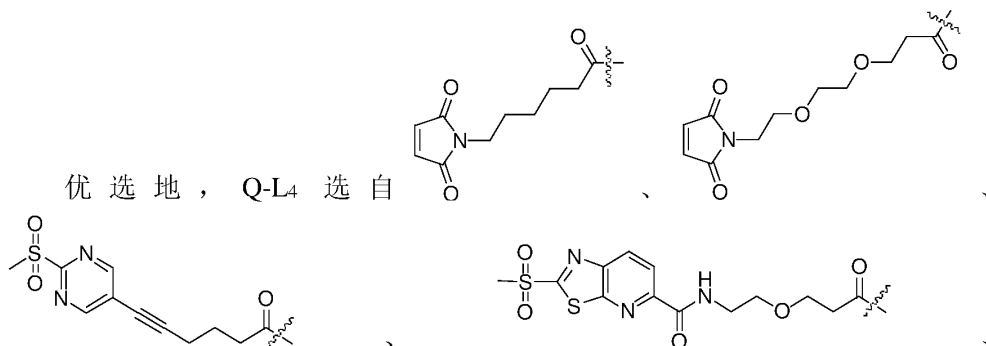


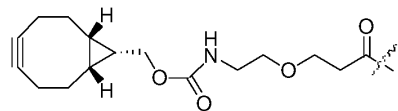
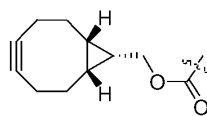
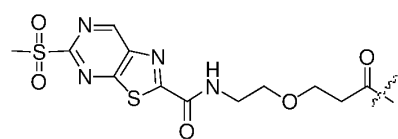
5

p1 选自 1、2、3、4、5、6, p2 选自 1、2、3、4, p3 选自 1、2、3、4, p4 选自 1、2、3、4, p5 选自 1、2、3、4, R<sub>7</sub> 选自 H 或 C<sub>1-6</sub> 烷基。优选地, p1 选自 3、4、5、6, p2 选自 2、3, p3 选自 2、3, p4 选自 2、3, p5 选自 2、3, R<sub>7</sub> 选自 H。

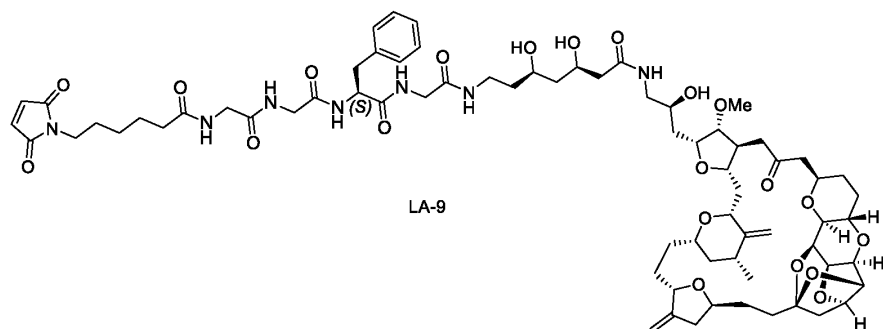
10

优选地, Q-L4 选自

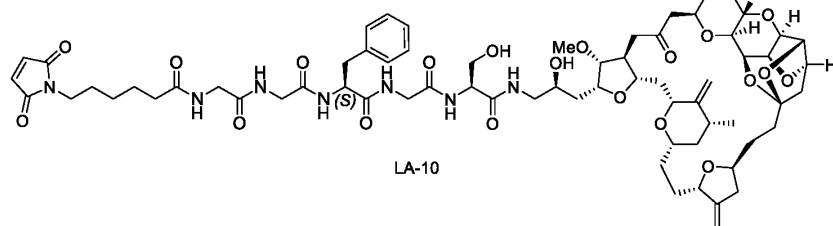




具体地，式 (I') 为如下所示之一：

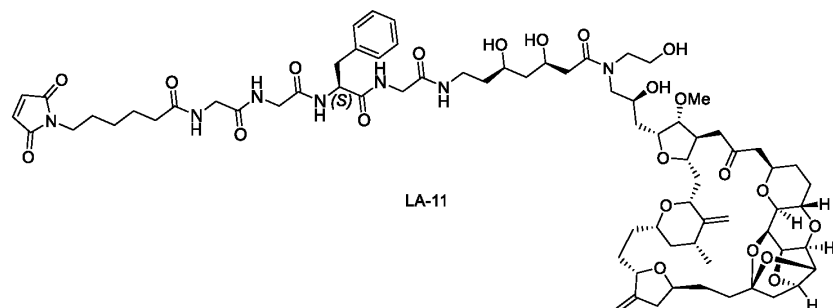


LA-9

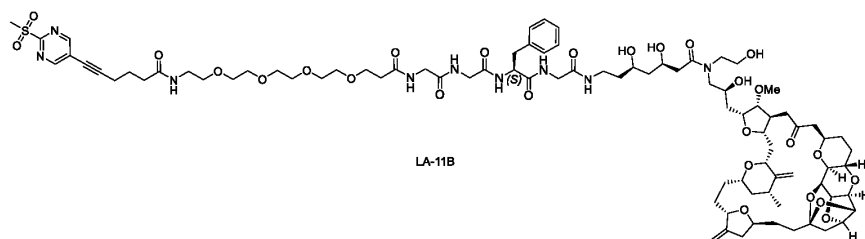


LA-10

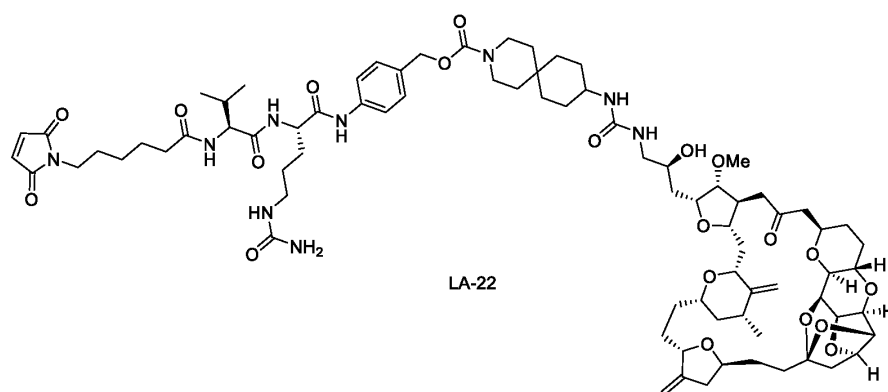
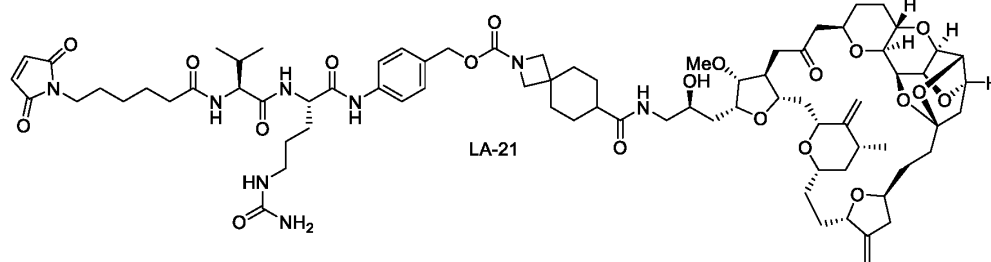
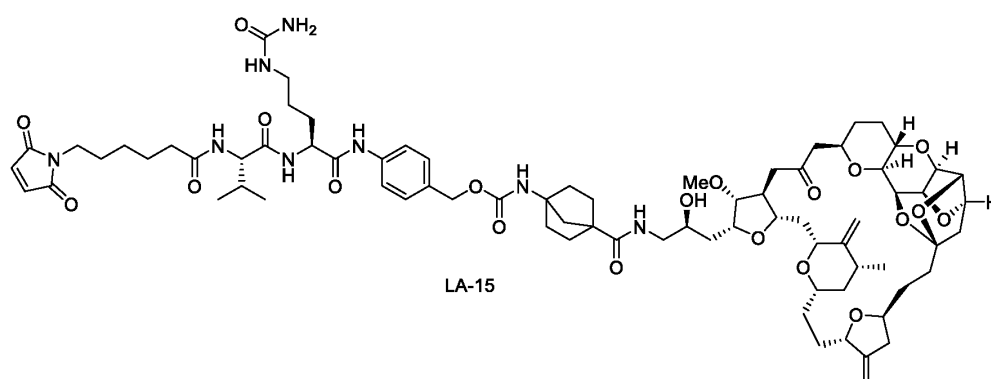
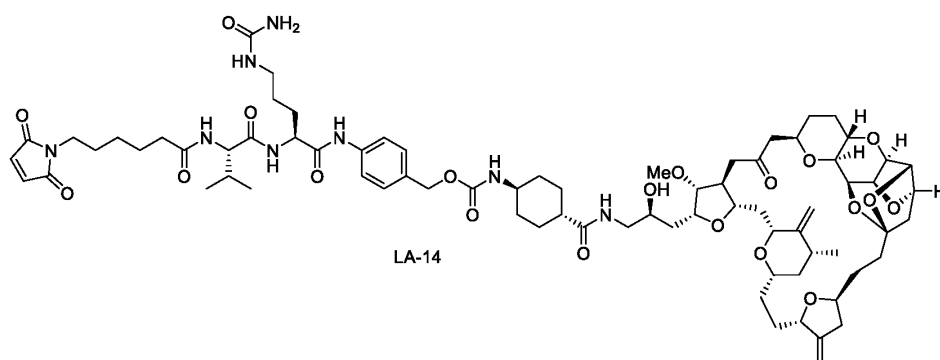
5

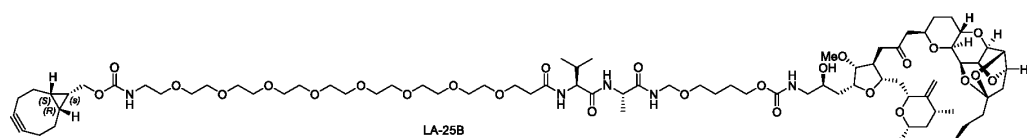
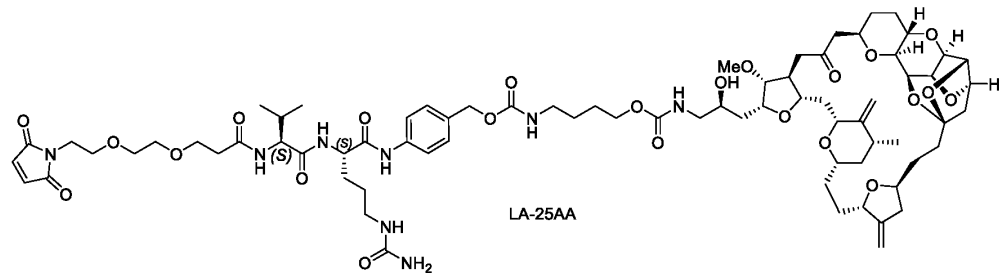
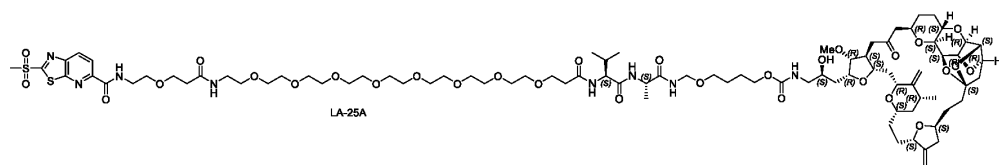
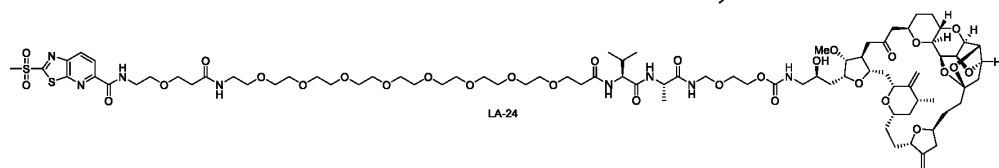
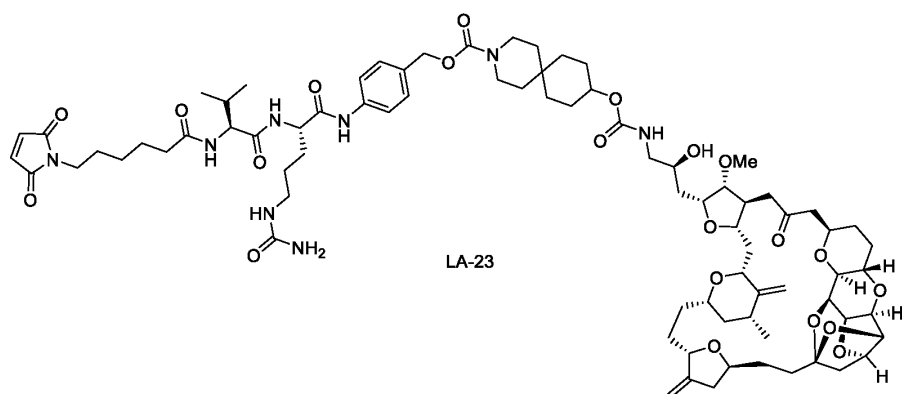


LA-11

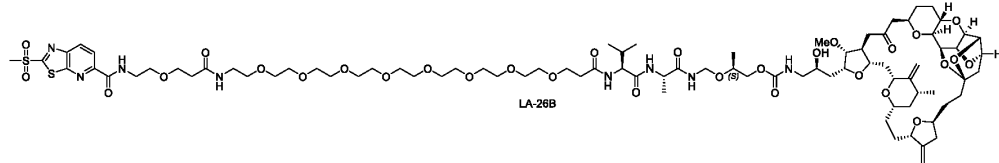
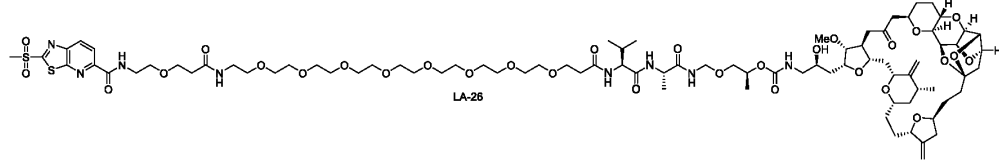


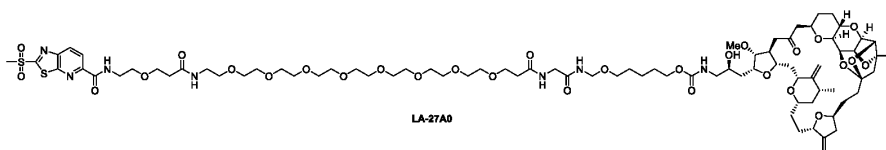
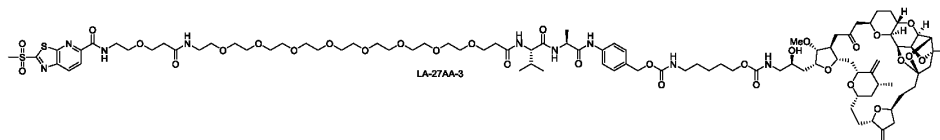
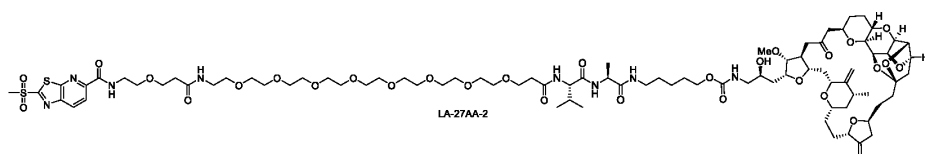
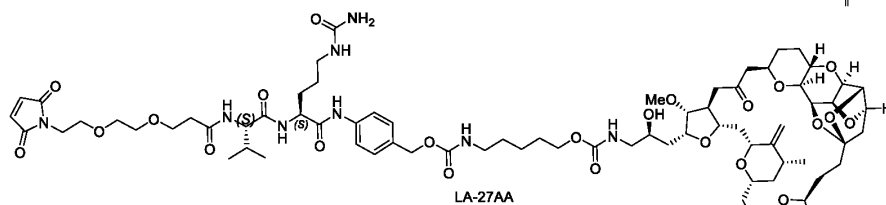
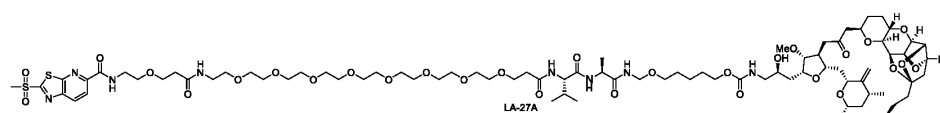
LA-11B



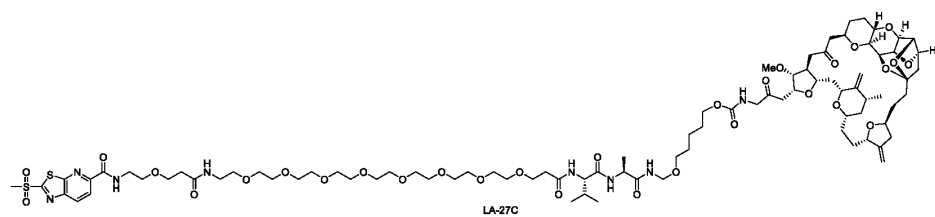
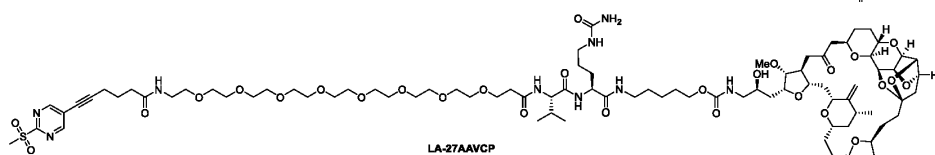
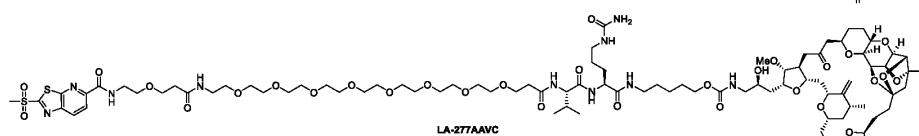
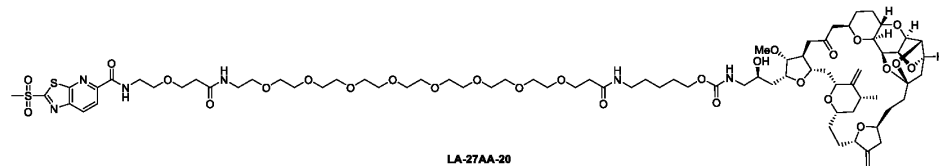


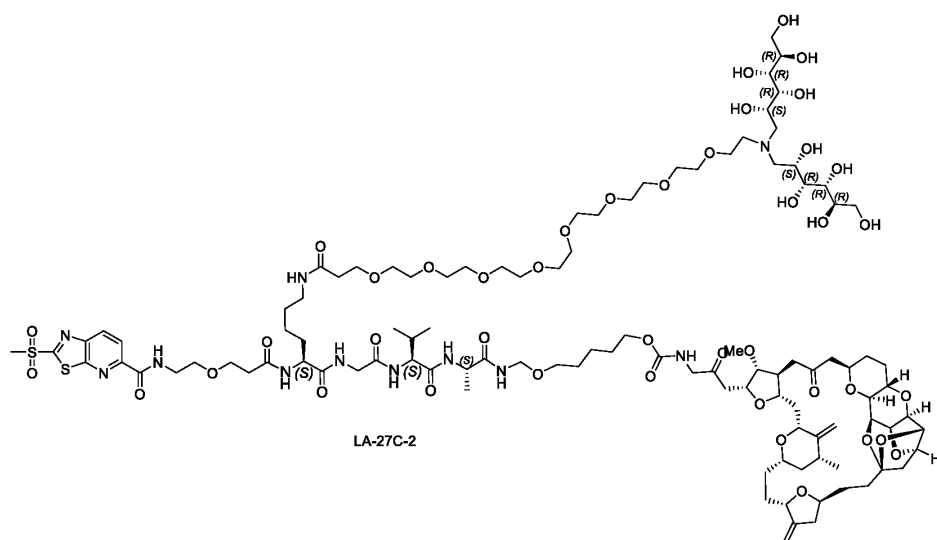
5



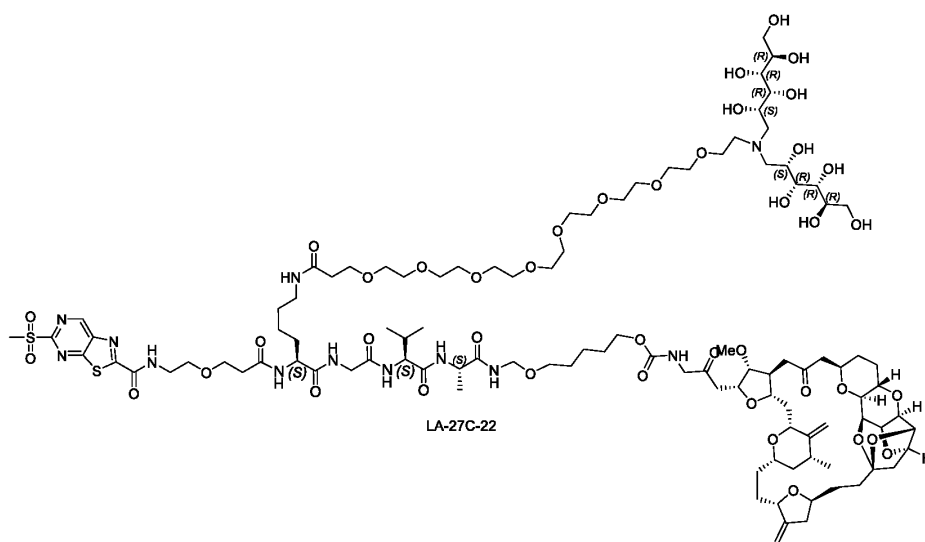


5

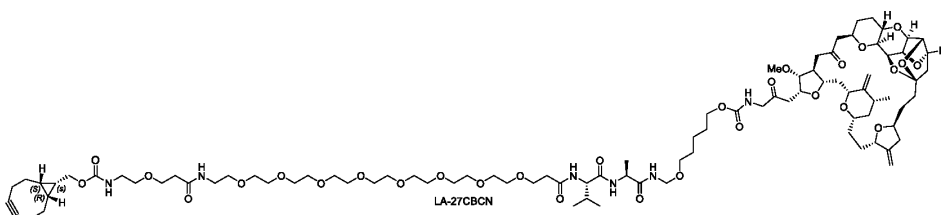




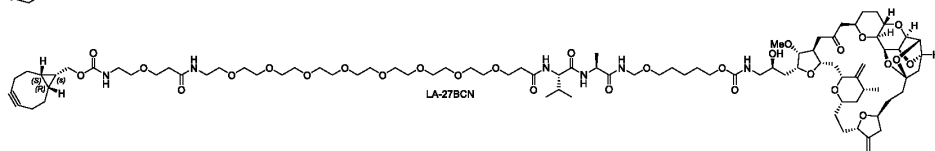
LA-27C-2



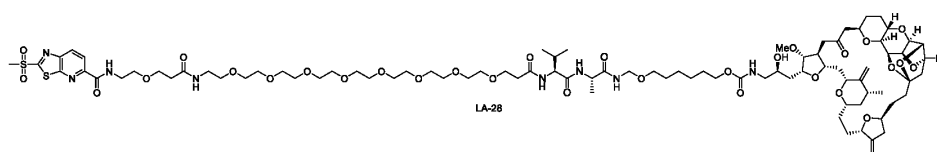
LA-27C-22



LA-27CBCN

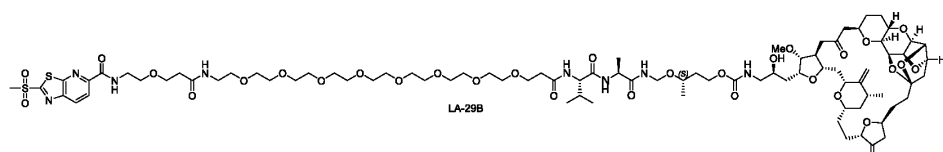
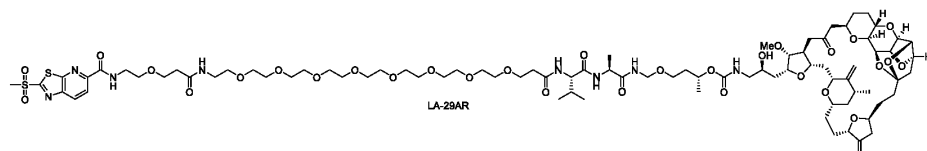
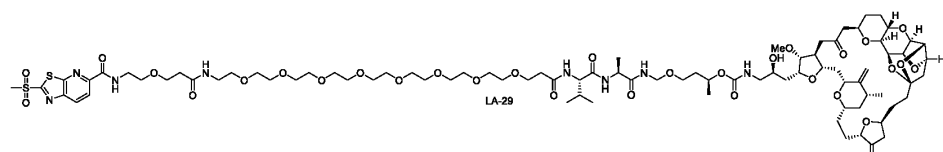
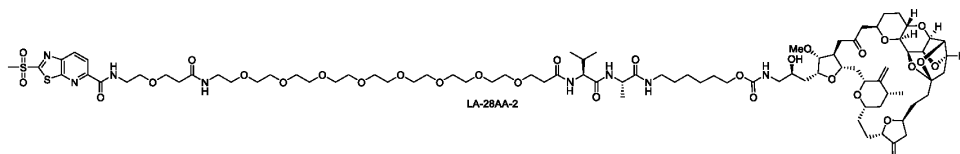
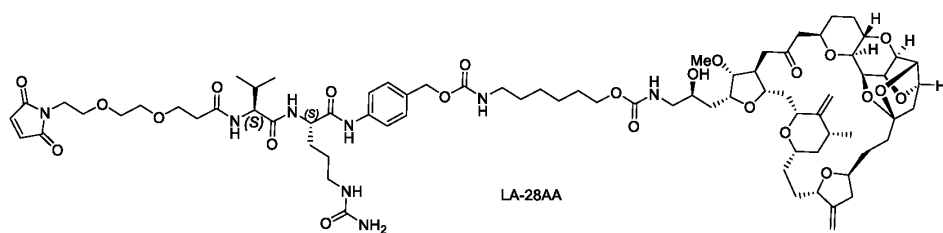


LA-27BCN

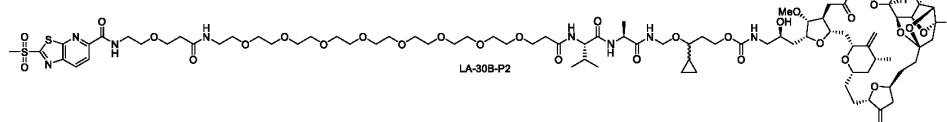
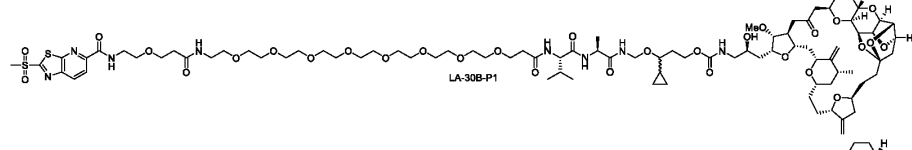
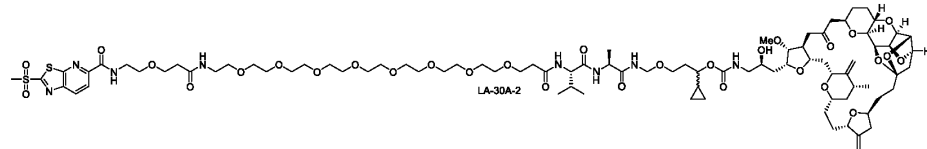
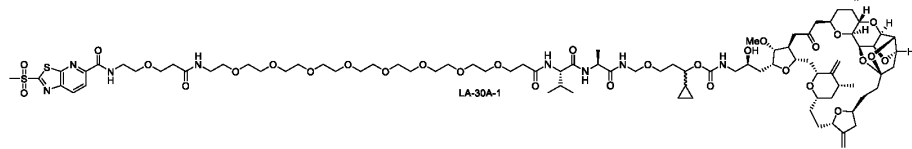


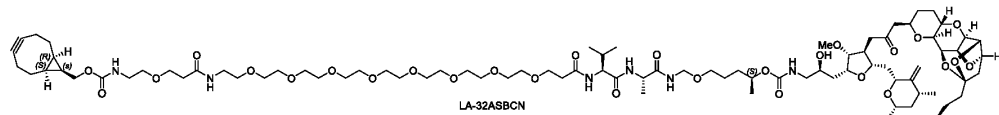
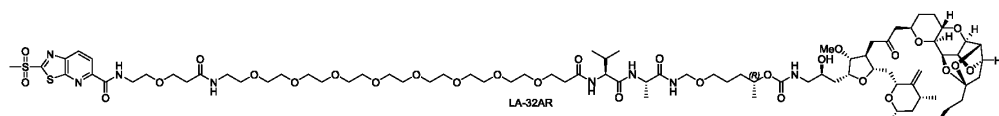
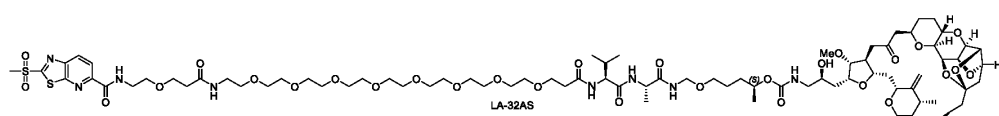
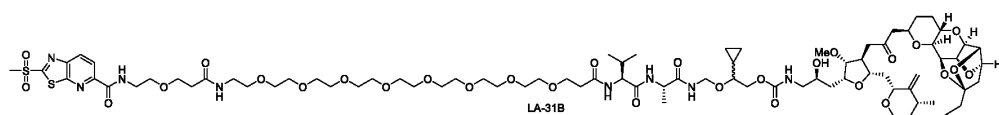
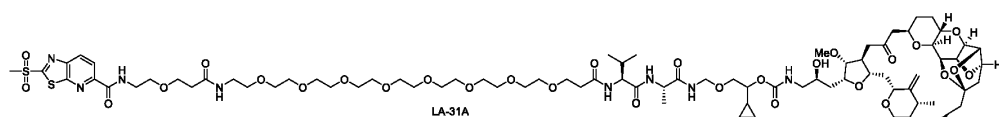
LA-28



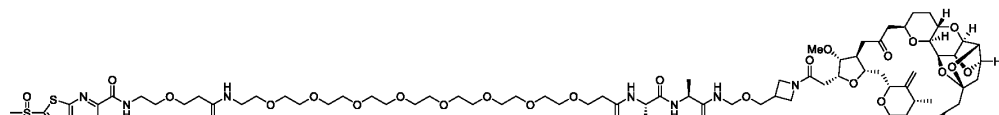
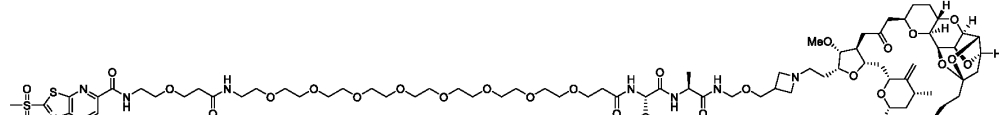
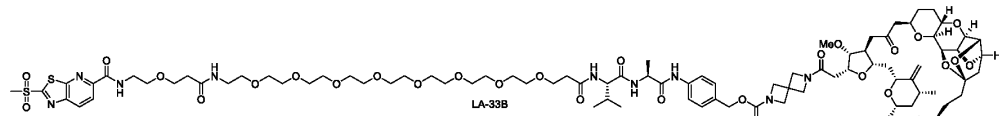
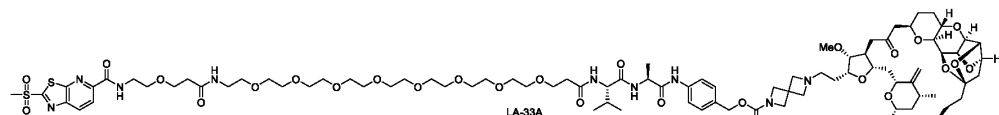


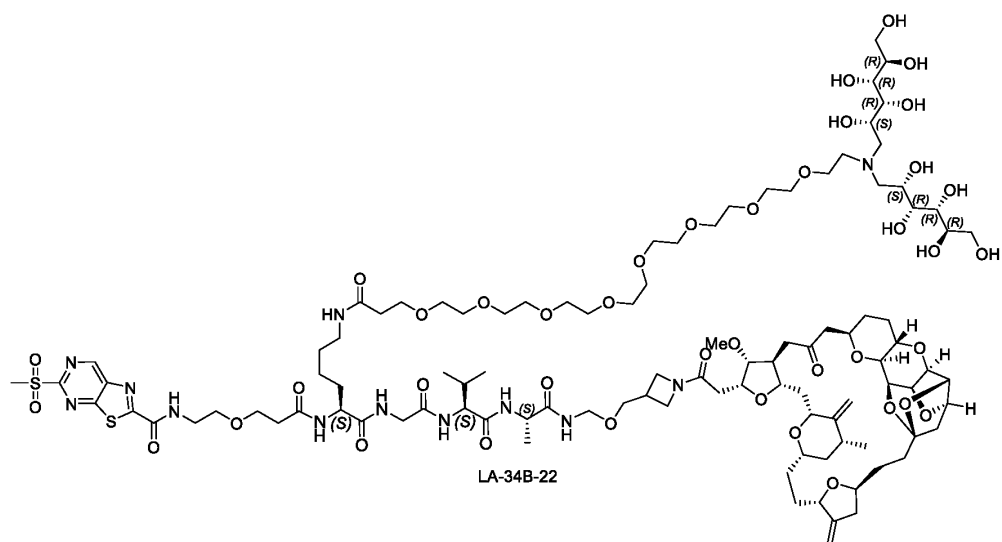
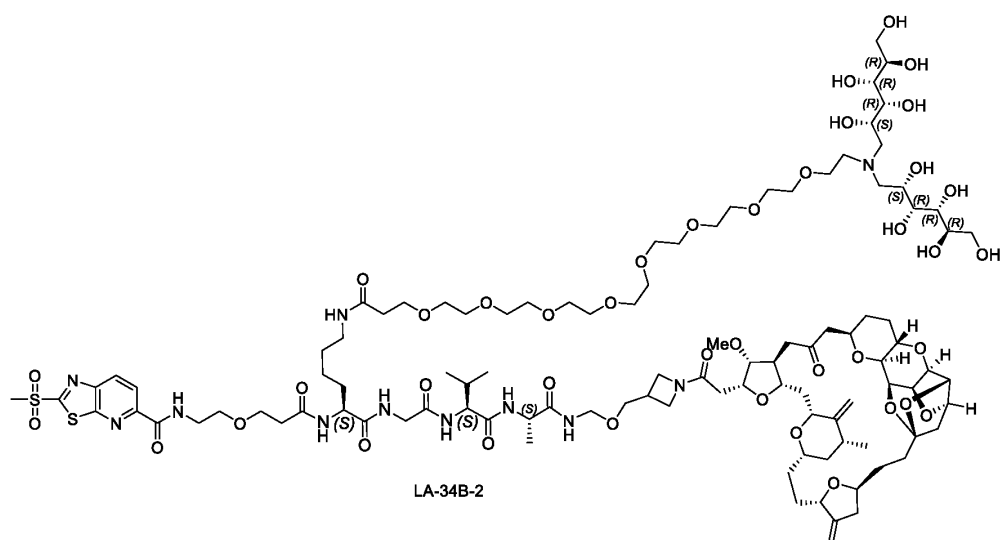
5

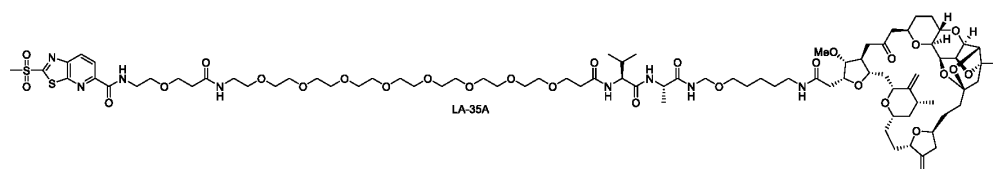
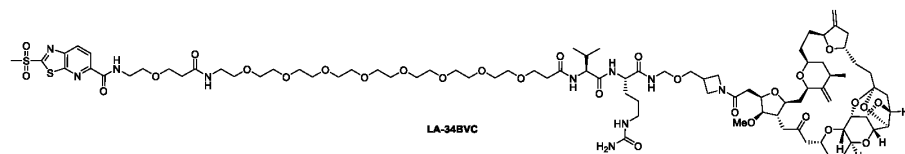
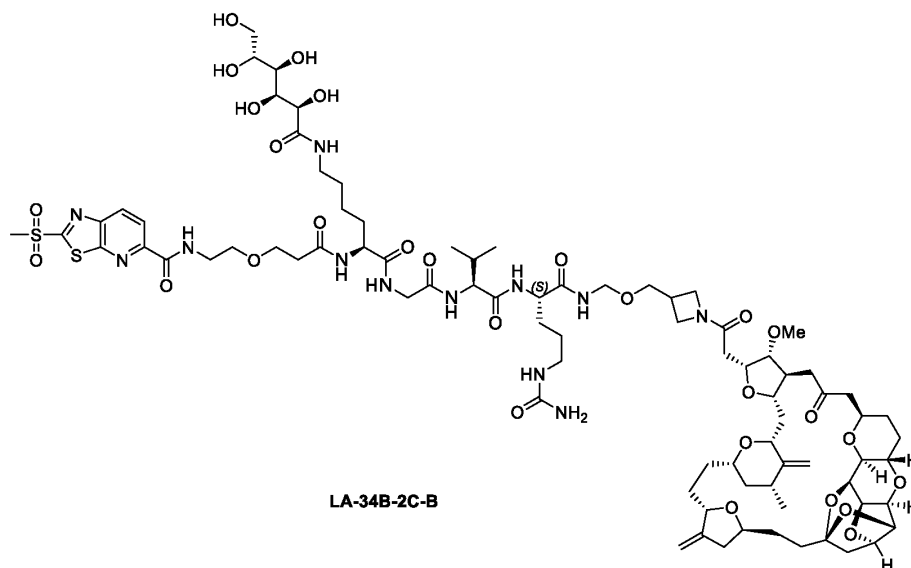
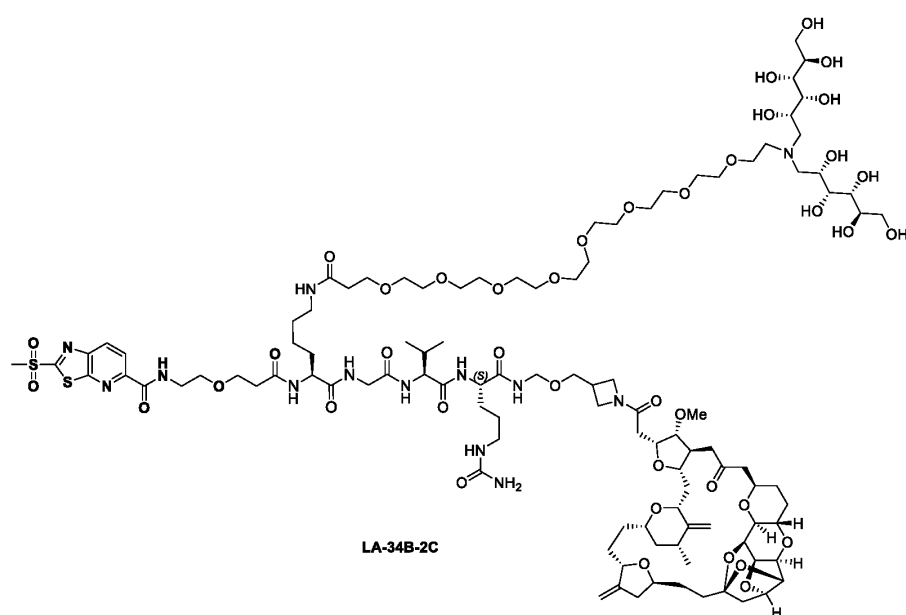


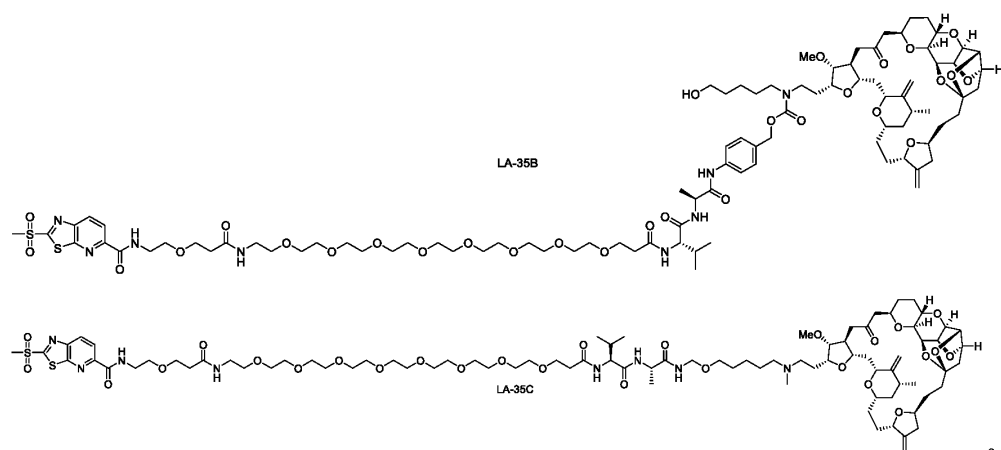


5

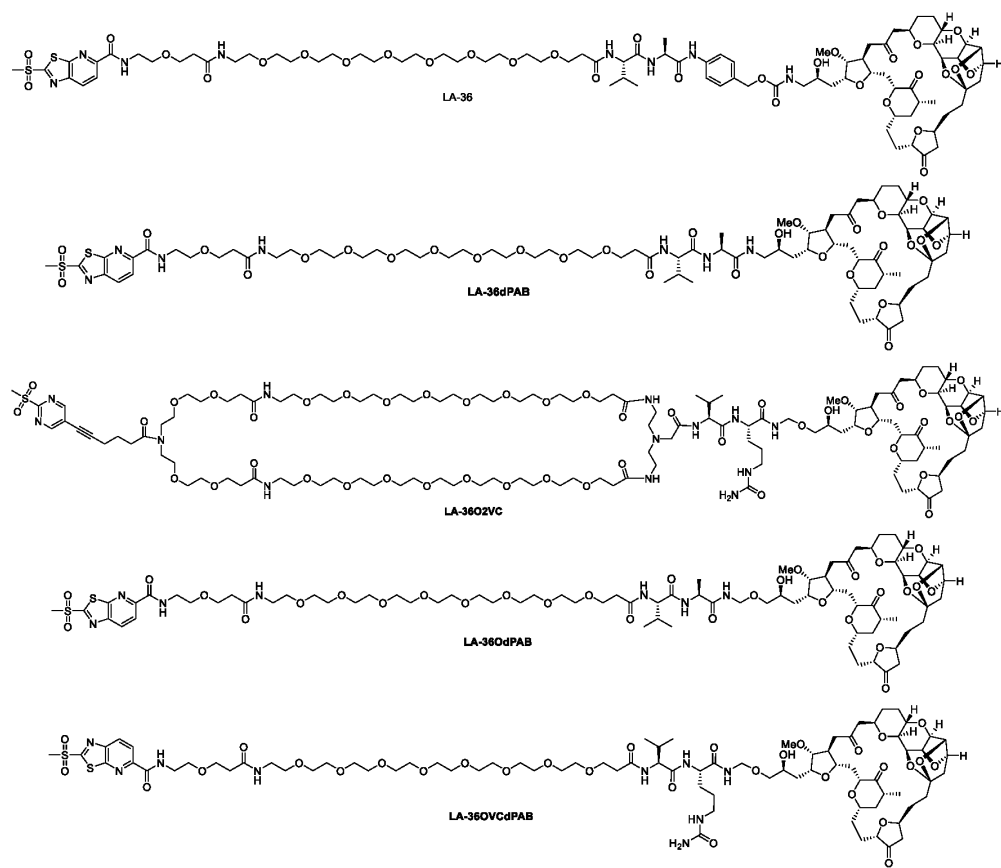


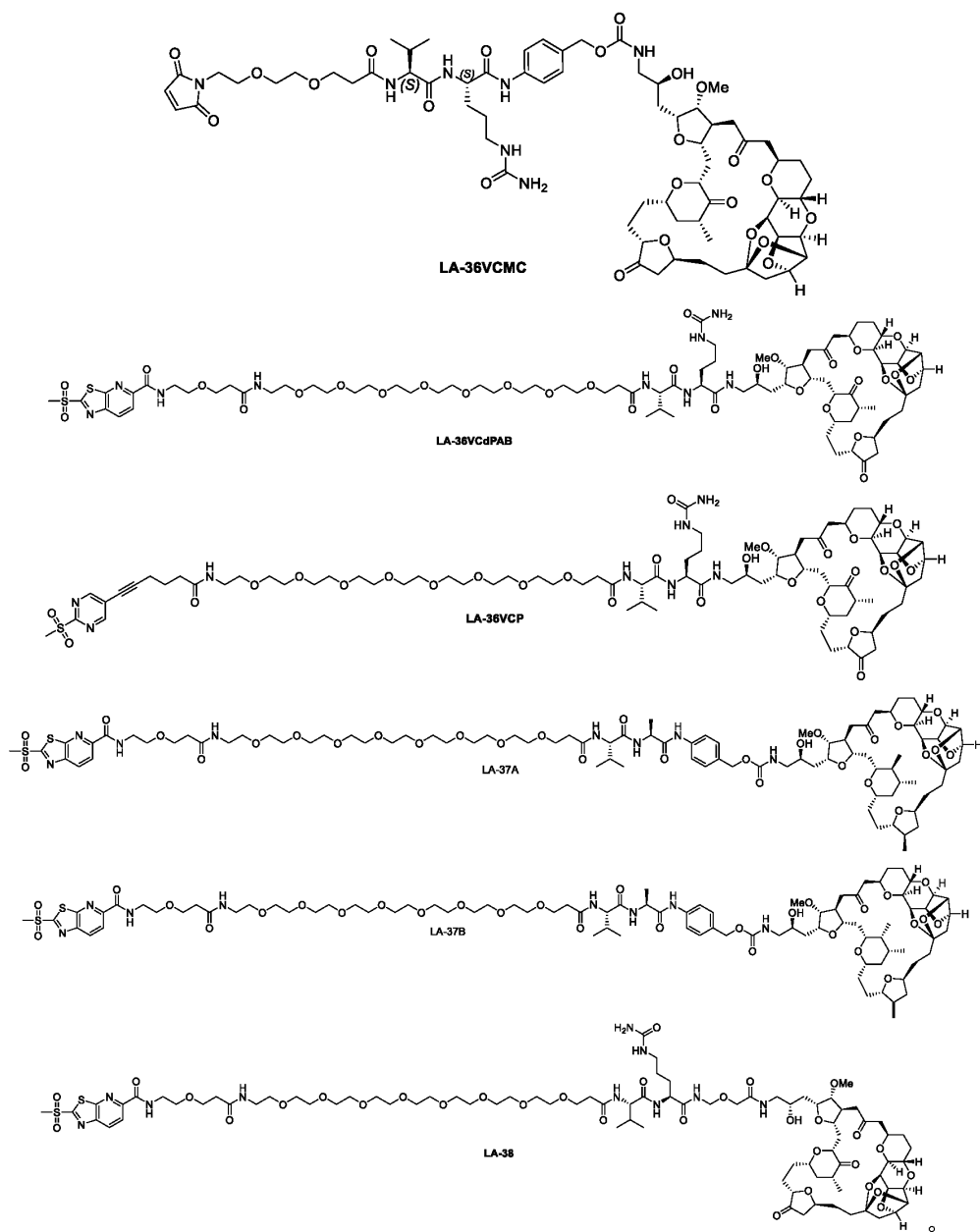






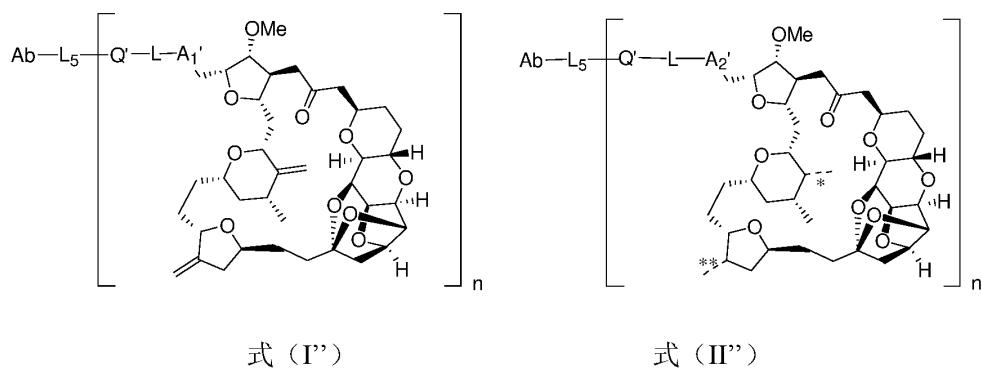
具体地，式 (II') 为如下所示之一：





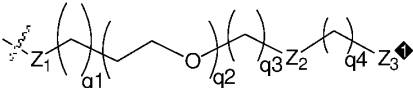
5

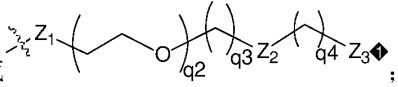
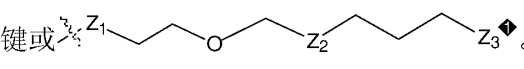
在第三方面，本申请提供一种抗体药物偶联物，其为式（I'）、式（II'）化合物，或其同位素标记化合物，或其光学异构体、几何异构体、互变异构体或异构体混合物，或其药学上可接受的盐，

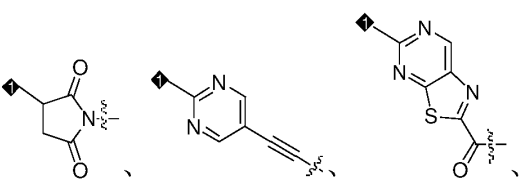


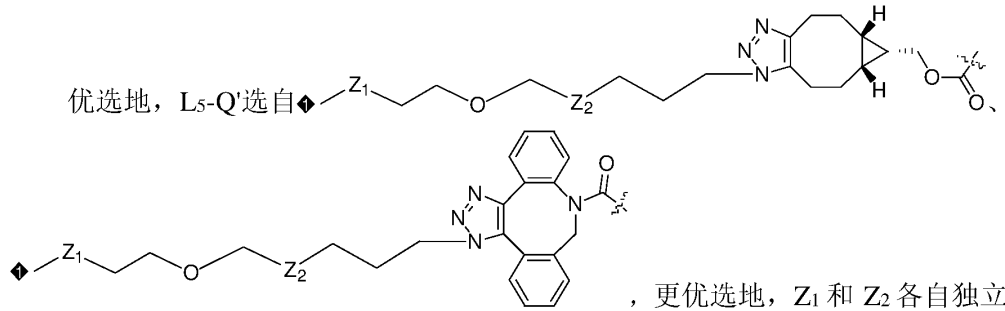
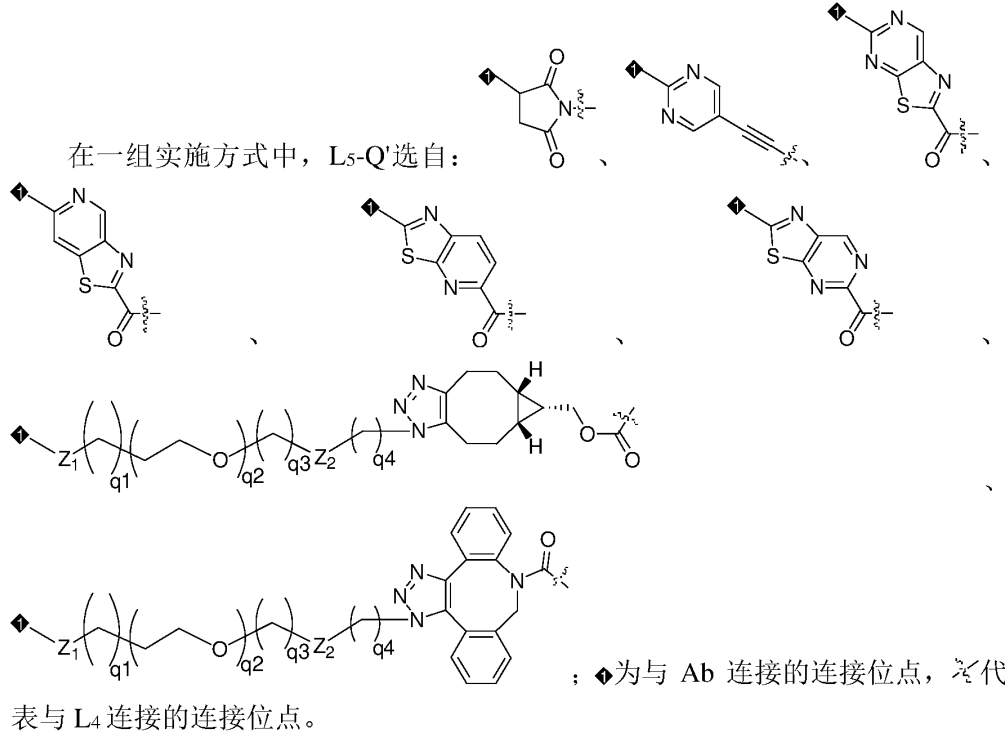
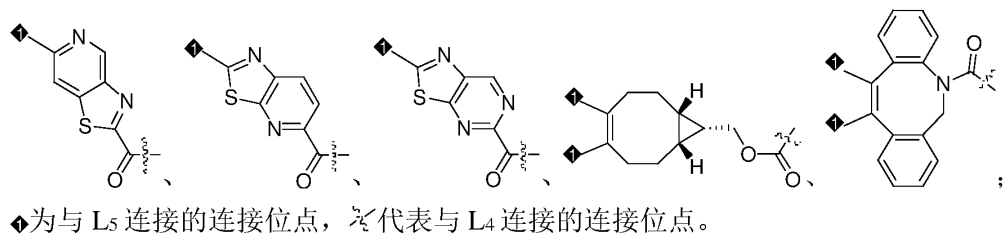
其中:

- 5
- Ab 为抗体或抗原结合片段;  
L<sub>5</sub> 为直接键或连接 Ab 与 Q' 的连接基团;  
Q' 为 Q 通过 L<sub>5</sub> 与 Ab 连接后的基团;  
n 为 0 至 20 之间的整数或小数; 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、  
12、13、14、15、16、17、18、19、20, 或 0 以及上述各整数之间的小数;  
10 Q、L、A<sub>1</sub>'、A<sub>2</sub>'、\*、\*\*如前述式 (I')、式 (II') 中的定义。  
在一组实施方式中, n 为 0 至 8 之间的整数或小数。

- 15
- 在一组实施方式中, L<sub>5</sub> 为直接键或 , 代表与 Ab 连接的连接位点, ◆代表 Z<sub>3</sub> 与 Q' 连接; Z<sub>3</sub> 为经反应例如无金属点击反应后能够与 Q' 连接的点击探针或巯基或其前体, 优选地 Z<sub>3</sub> 为叠氮基;  
Z<sub>1</sub> 和 Z<sub>2</sub> 各自独立地选自 -C(O)NH-、-C(O)O-、-C(O)-、-OC(O)-、-NHC(O)-、  
-NH-、-O-、-OC(O)NH- 或 -NHC(O)O-;  
q<sub>1</sub> 为 0、1、2、3、4、5、6、7、8;  
q<sub>2</sub> 为 1、2、3、4、5、6、7、8;  
q<sub>3</sub> 为 1、2、3、4、5、6、7、8;  
20 q<sub>4</sub> 为 1、2、3、4、5、6、7、8。

- 25
- 优选地, L<sub>5</sub> 为直接键或 ; 更优选地, L<sub>5</sub> 为直接键或 。  
优选地, Z<sub>1</sub> 和 Z<sub>2</sub> 各自独立地选自 -C(O)NH-。

- 30
- 在一组实施方式中, Q' 选自: 



10 地选自-C(O)NH-。

在一组实施方式中，Ab 选自鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体、全人源抗体，或其抗原结合片段；优选地，所述 Ab 选自抗 HER2(ErbB2)抗体、抗 EGFR 抗体、抗 B7-H3 抗体、抗 c-Met 抗体、抗 HER3(ErbB3)抗体、抗 HER4(ErbB4)抗体、抗 ROR1 抗体、抗 CLDN6 抗体、抗 CLDN9 抗体、抗 CLDN18.2 抗体、抗 NaPi-2b 抗体、抗 TNF- $\alpha$  抗体、抗 ENPP3 抗体、抗 DLL3 抗体、抗 CD20 抗体、抗 CD22 抗体、抗 CD28 抗体、抗 CD30 抗体、抗 CD33 抗体、抗 CD37 抗体、抗 CD38 抗体、抗 CD44 抗体、抗 CD45 抗体、抗 CD47 抗体、抗 CD48 抗体、抗 CD56 抗体、

15

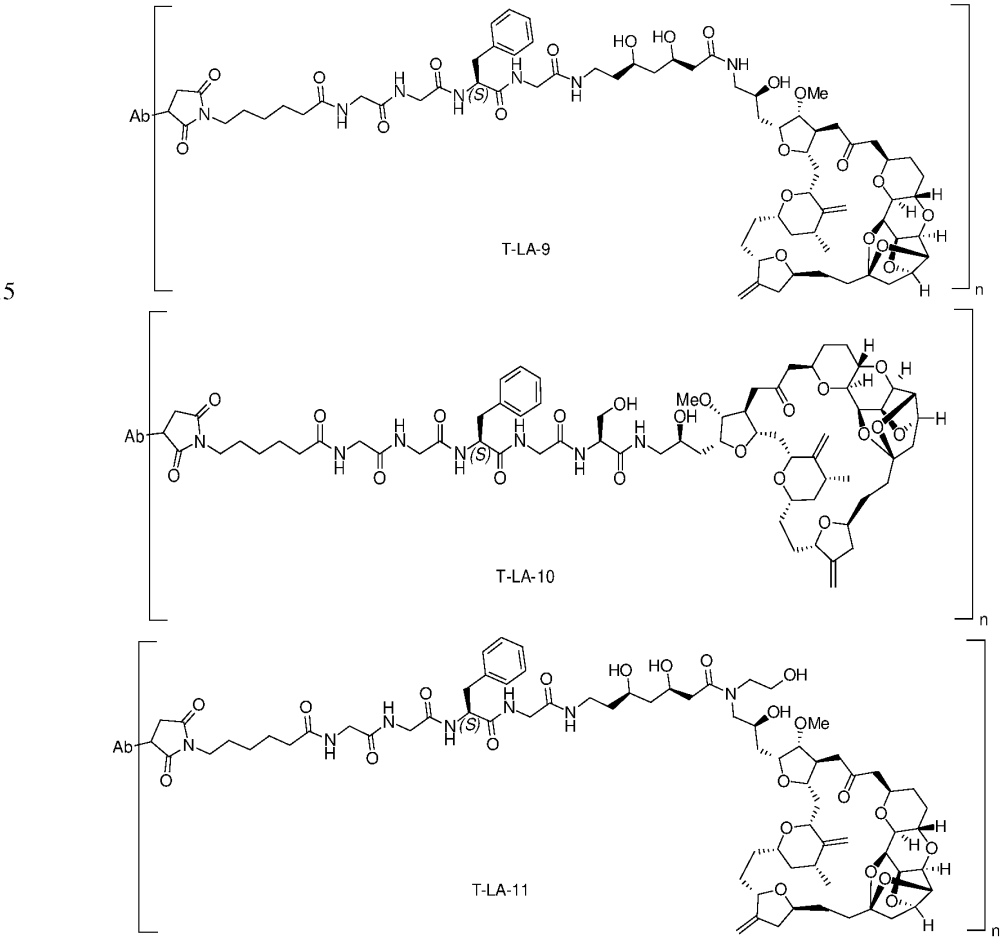


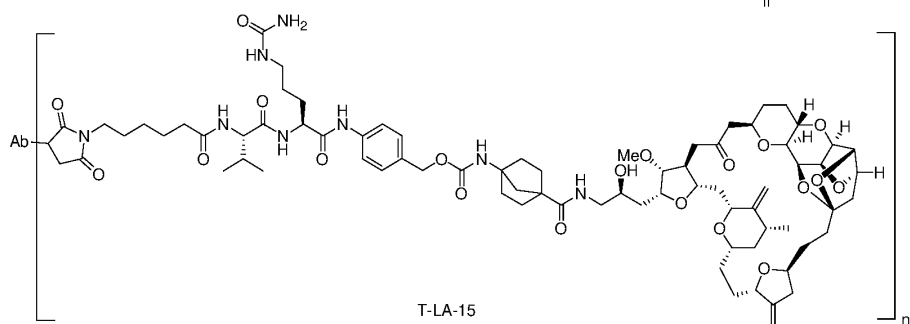
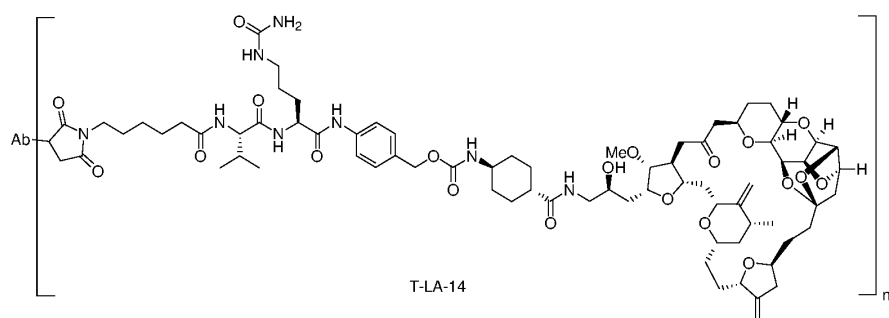
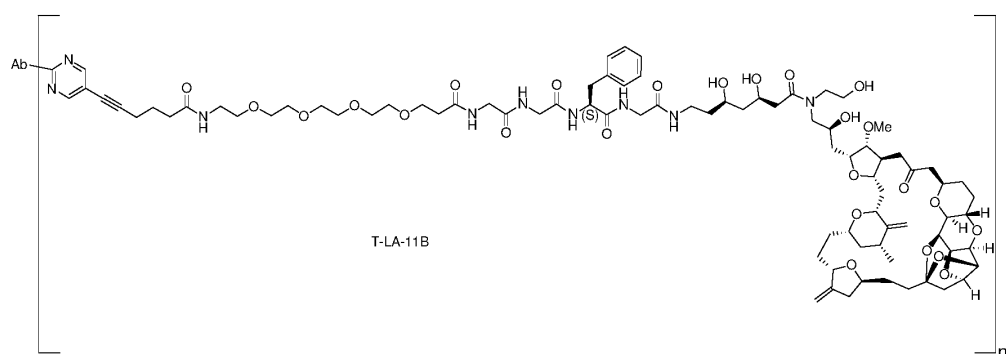
抗 CD70 抗体、抗 CD73 抗体、抗 CD98 抗体、抗 CD105 抗体、抗 CEA 抗体、抗 EphA2 抗体、抗 MUCI 抗体、抗 Lewis Y 抗体、抗 VEGFR 抗体、抗 GPNMB 抗体、抗 Integrin 抗体、抗 PSMA 抗体、抗 Tenascin-C 抗体、抗 SLC44A4 抗体、抗 CD79 抗体、抗 TROP-2 抗体、抗 CD79B 抗体、抗 Mesothelin 抗体、抗 Nectin-4 抗体、抗 TPBG 抗体，或其抗原结合片段。

优选地，其中 Ab 为抗 HER2(ErbB2)抗体或其抗原结合片段。

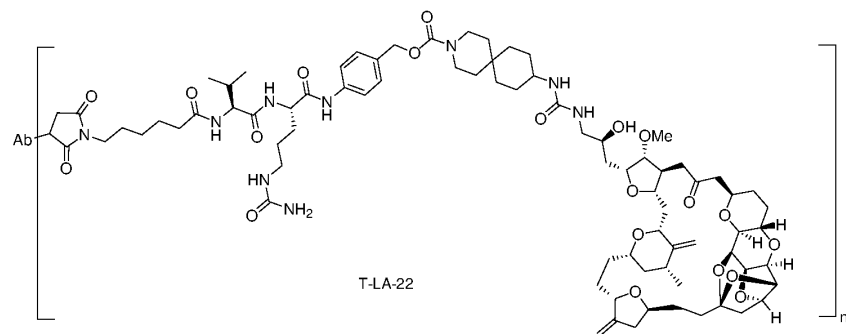
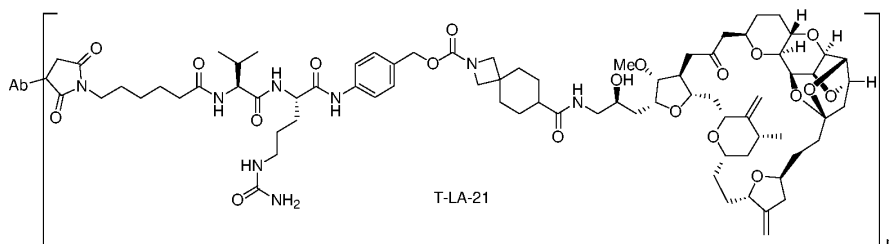
优选地，其中 Ab 选自单克隆抗体或其抗原结合片段，优选选自曲妥珠单抗 (Trastuzumab)、西妥昔单抗 (Cetuximab)、帕妥珠单抗 (Pertuzumab)、尼妥珠单抗 (Nimotuzumab)、恩波妥珠单抗 (Enoblituzumab)、依玛妥珠单抗 (Emibetuzumab)、奥英妥珠单抗 (Inotuzumab)、维汀-匹那妥珠单抗 (Pinatuzumab)、维布妥昔单抗 (Brentuximab)、吉妥单抗 (Gemtuzumab)、比伐珠单抗 (Bivatuzumab)、莫洛伐妥单抗 (Lorvotuzumab)，或其抗原结合片段；更优选地，其中 Ab 选自曲妥珠单抗 (Trastuzumab) 或其抗原结合片段。

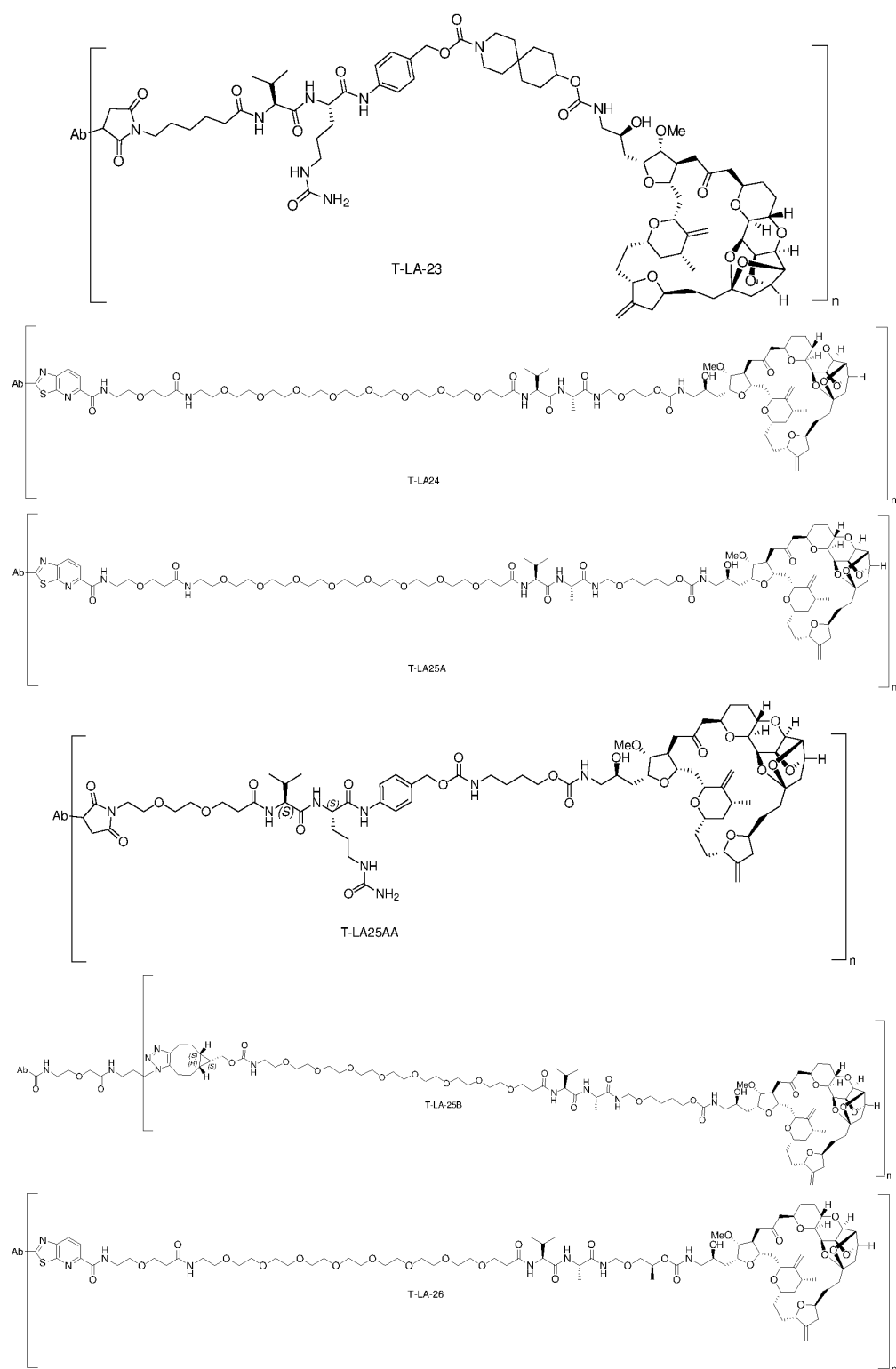
在一组实施方式中，式 (I'') 为如下所示之一：

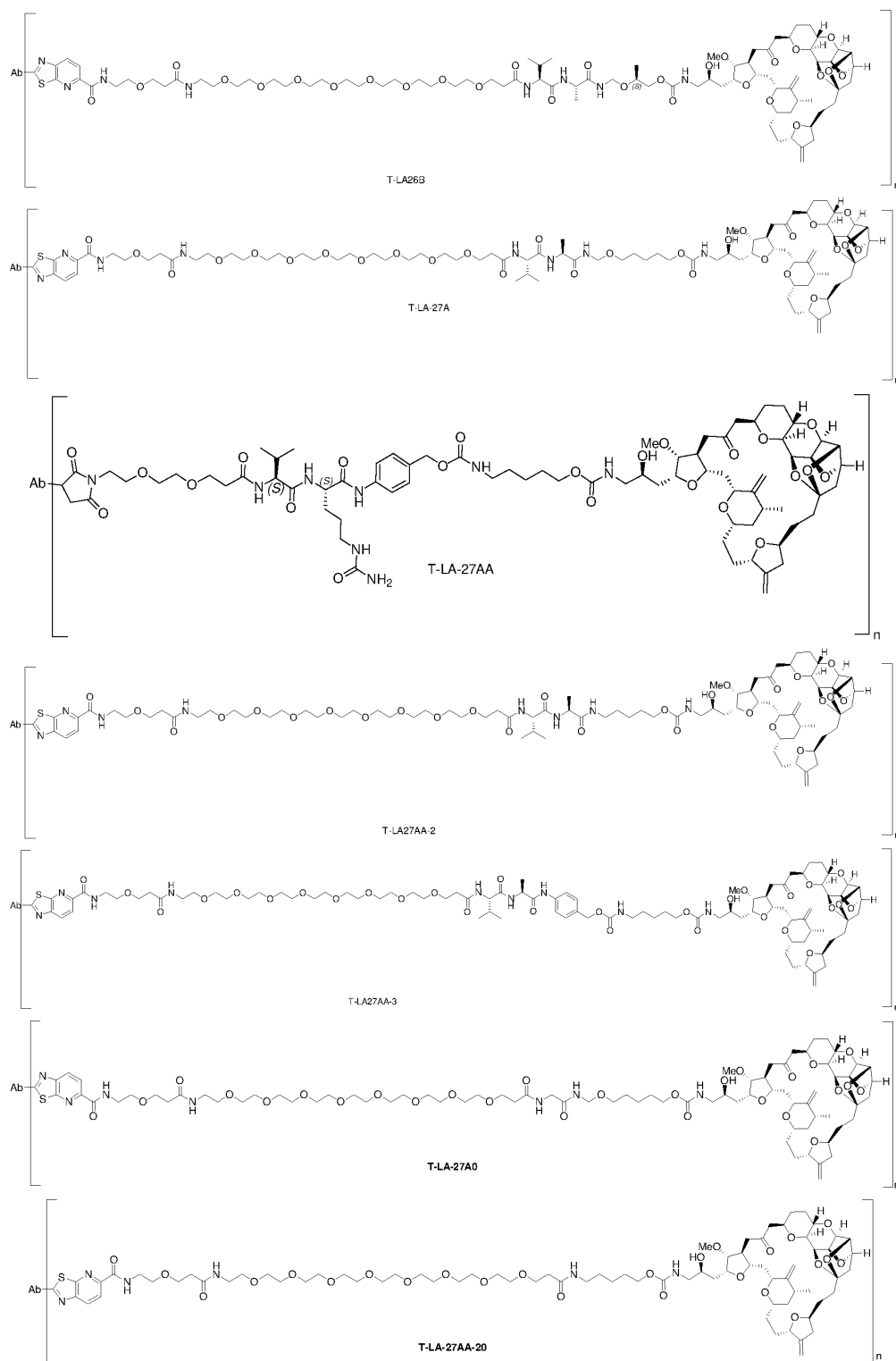


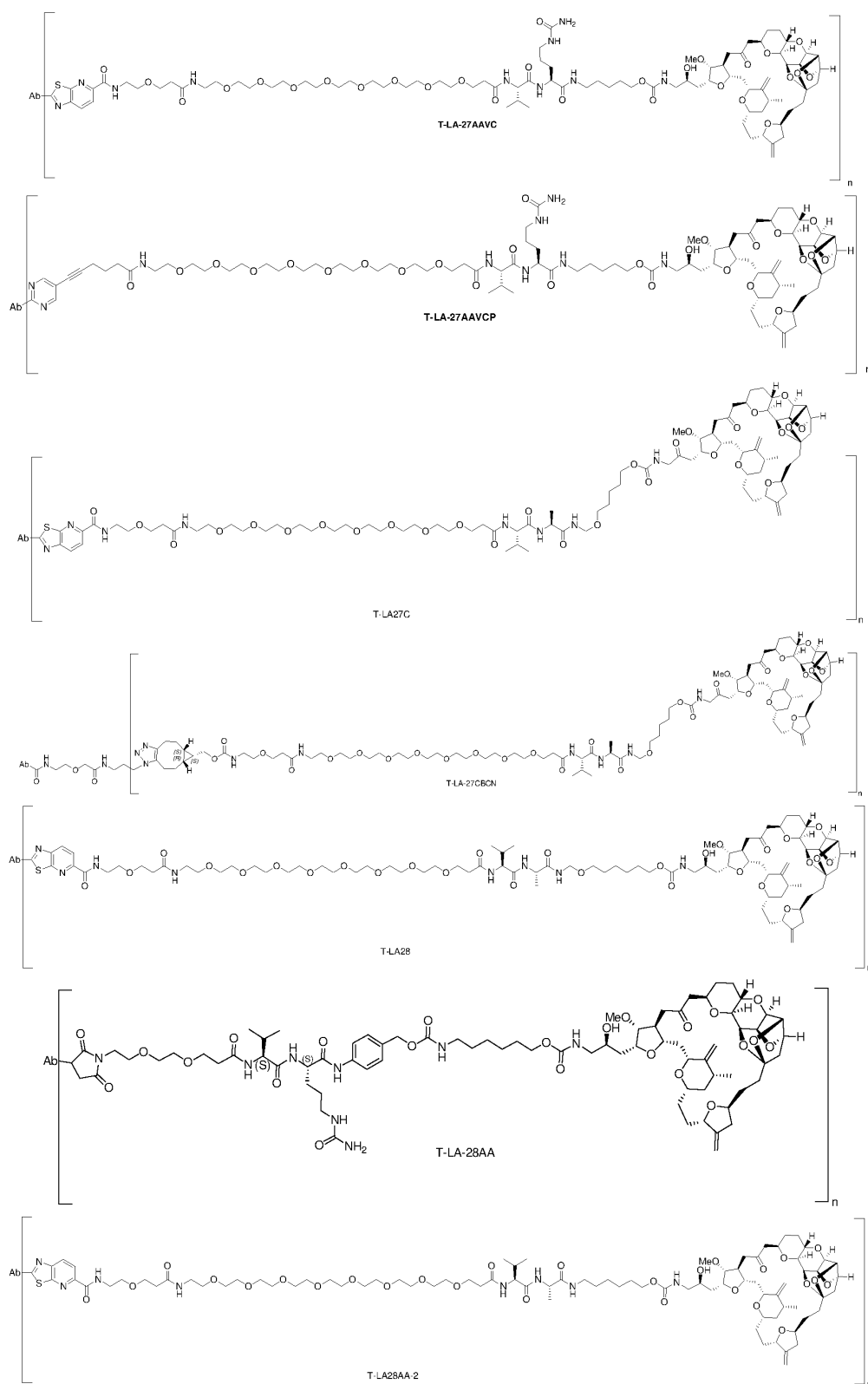


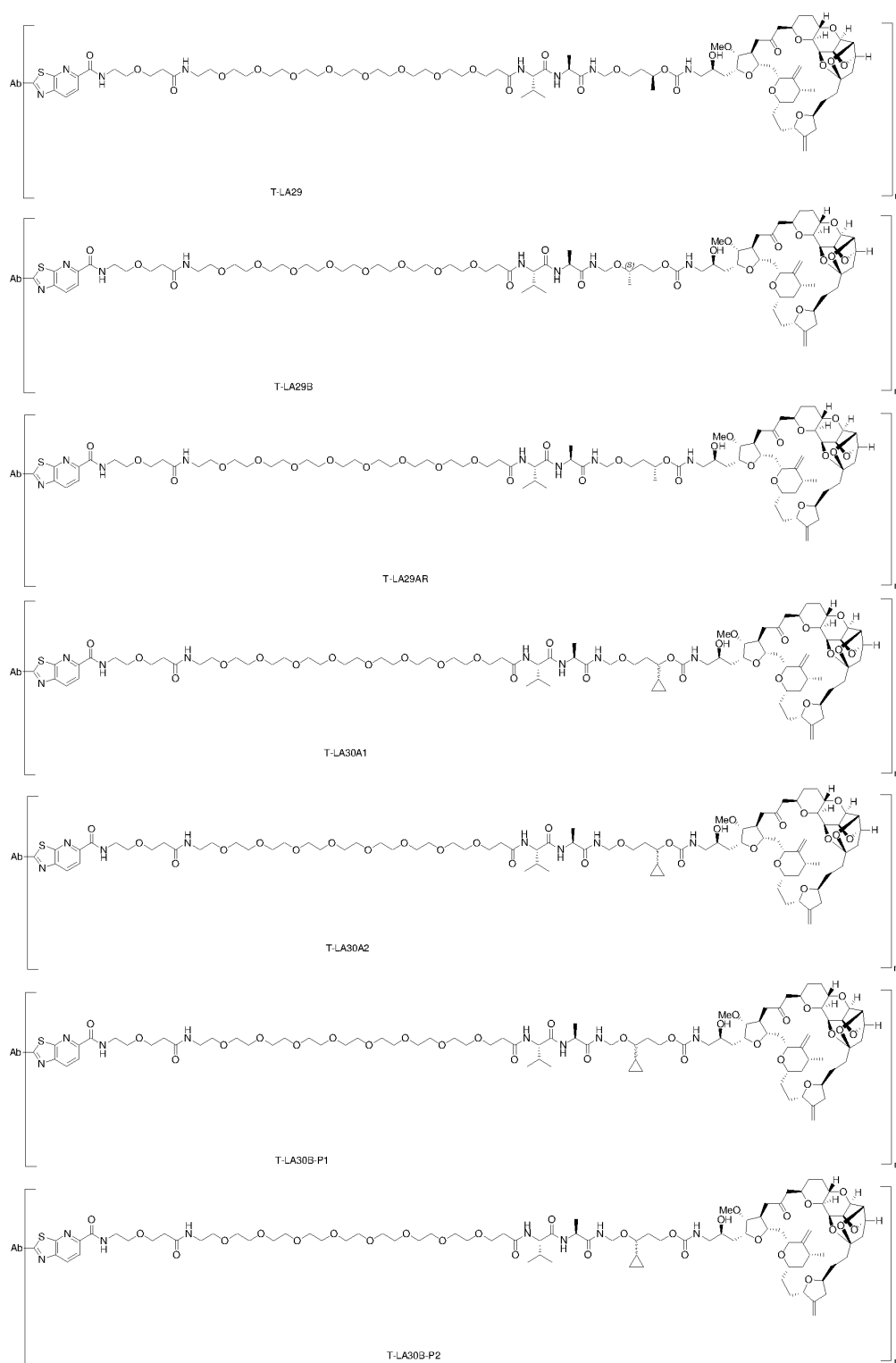
5

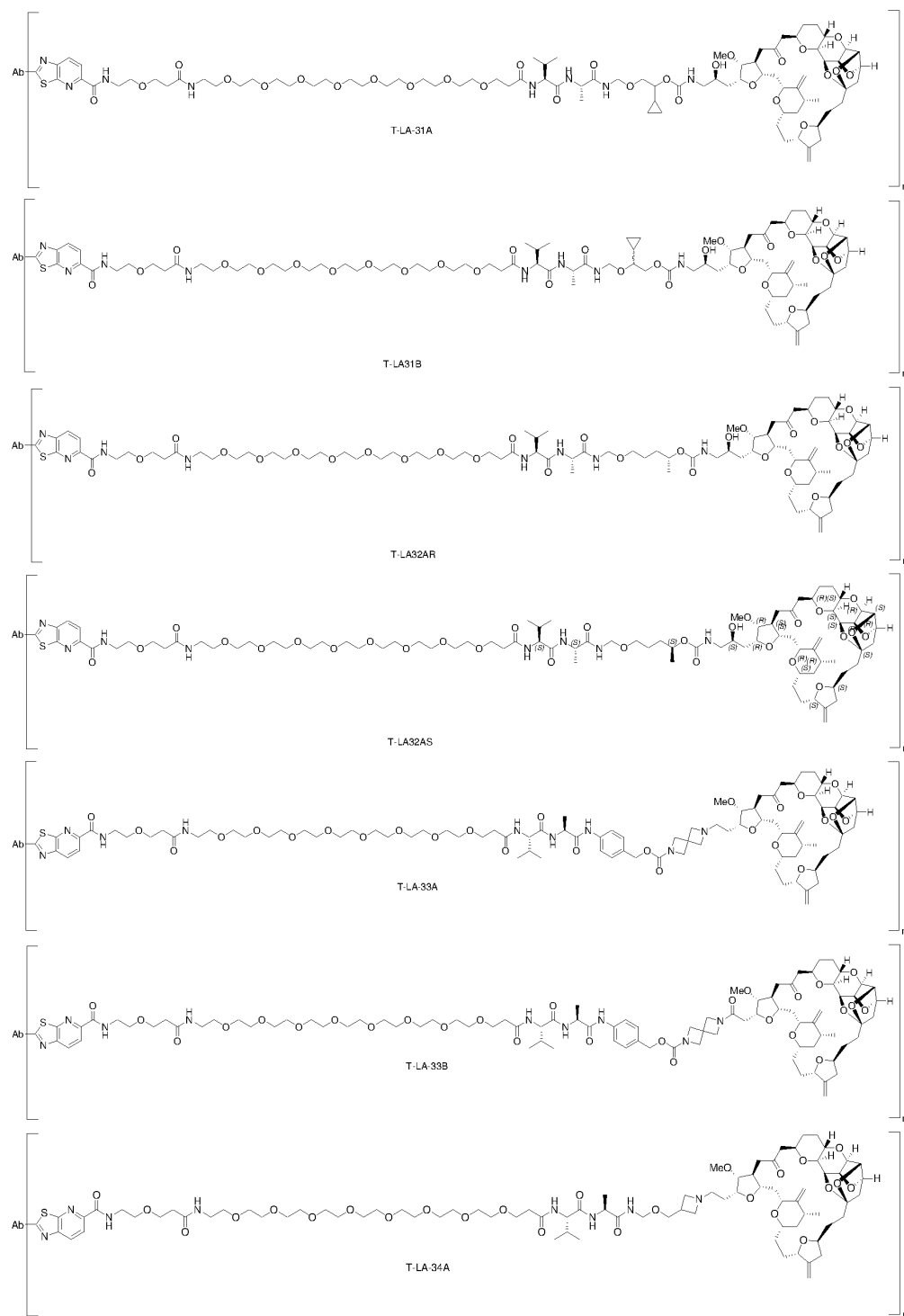


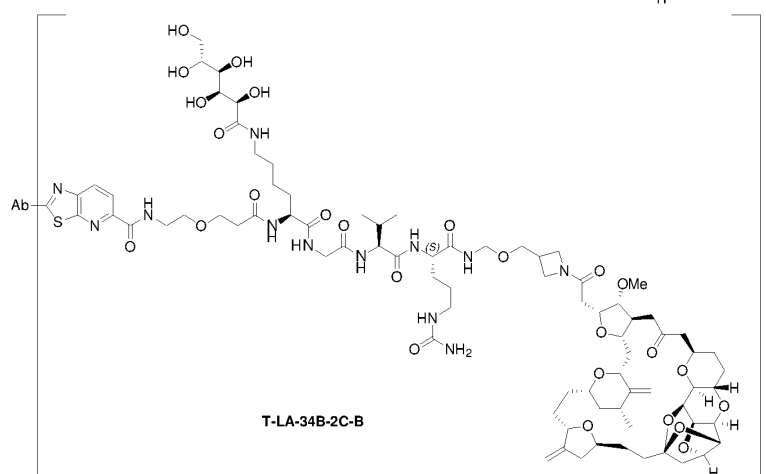
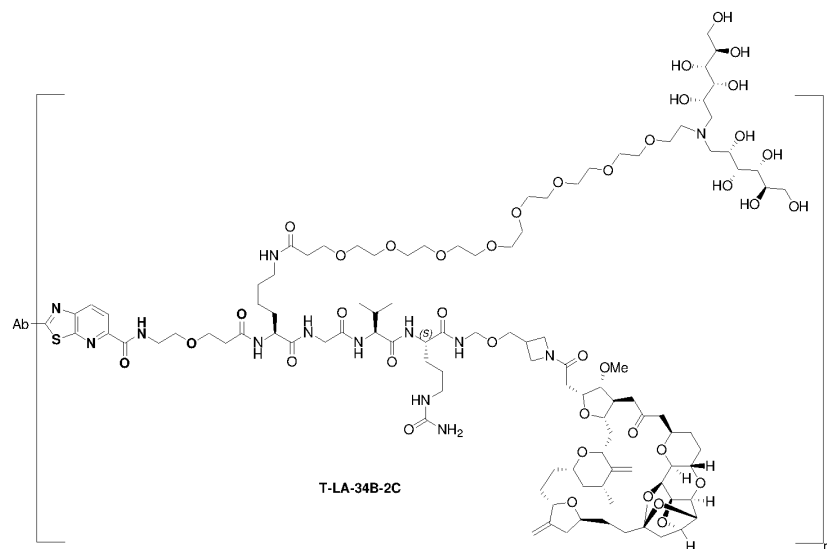
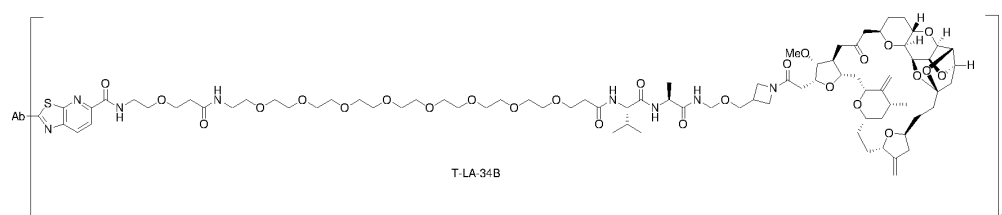




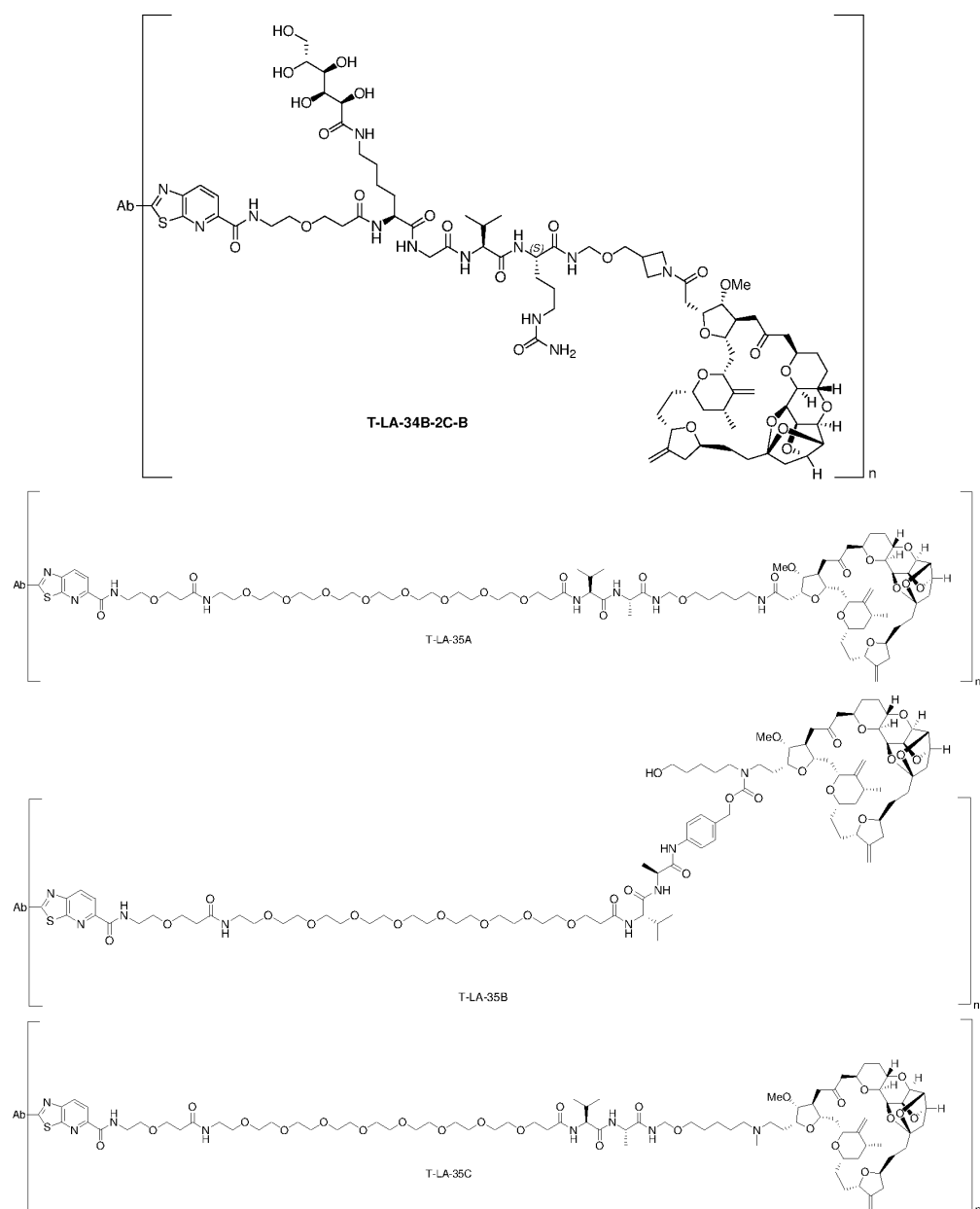






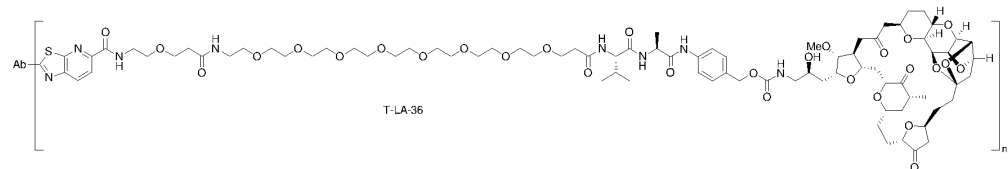


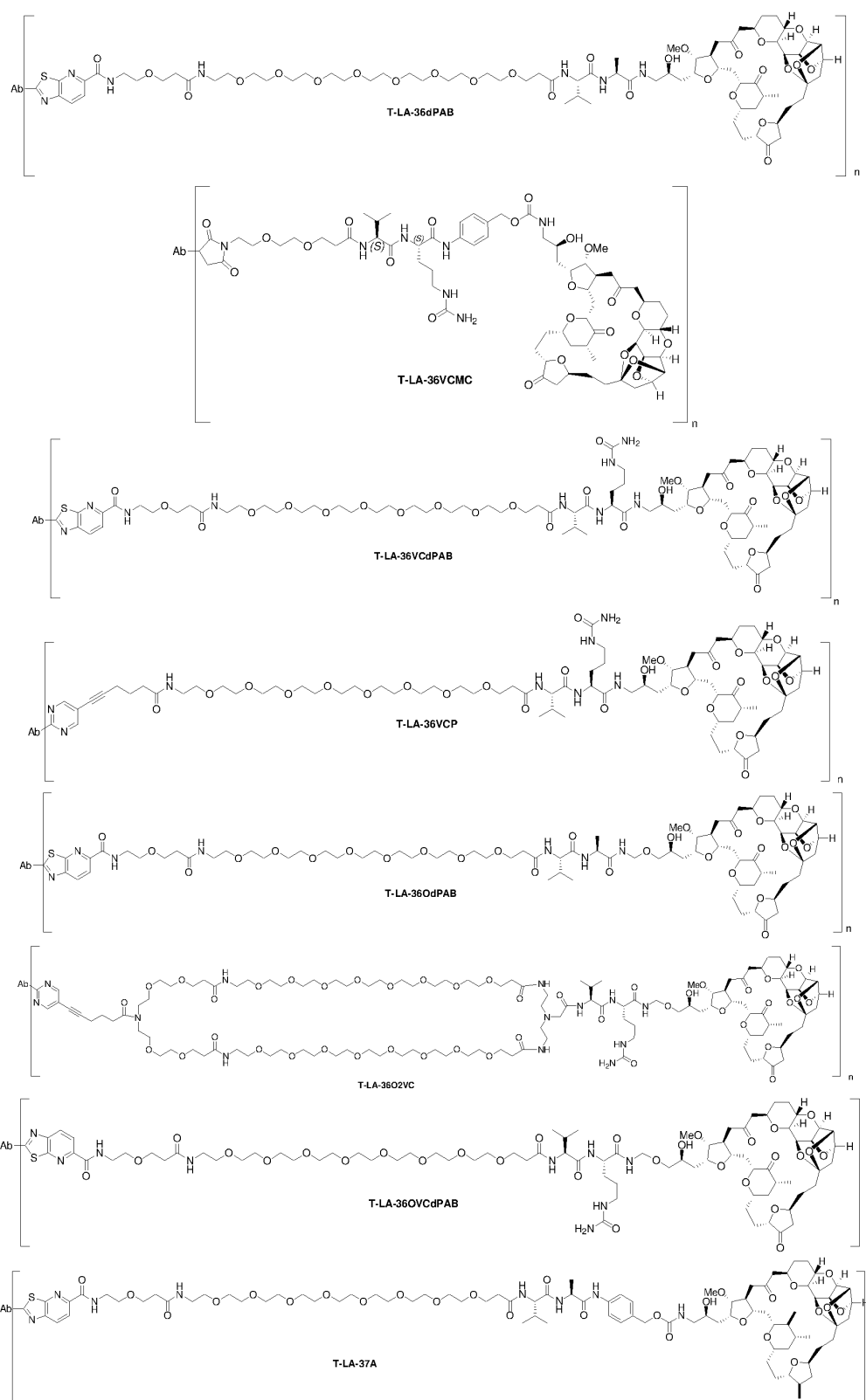


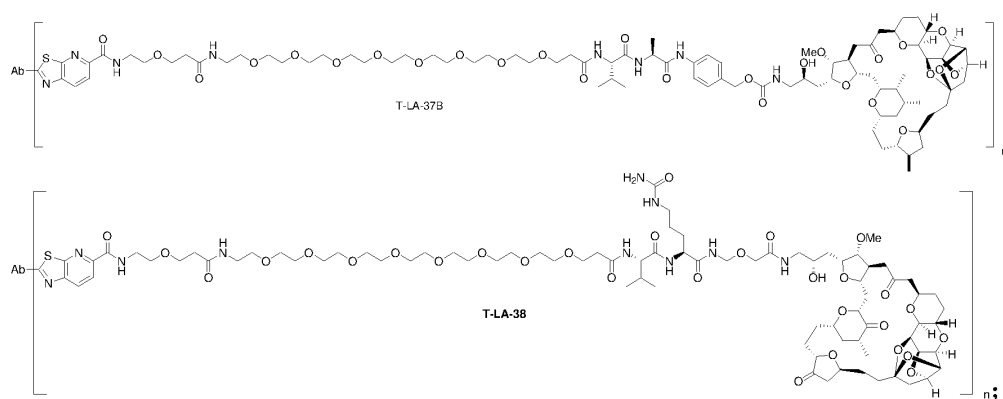


- 5 ; 优选地, Ab 为抗 HER2(ErbB2)抗体或其抗原结合片段, 更优选为曲妥珠单抗 (Trastuzumab)或其抗原结合片段。

在一组实施方式中, 式 (II'') 为如下所示之一:

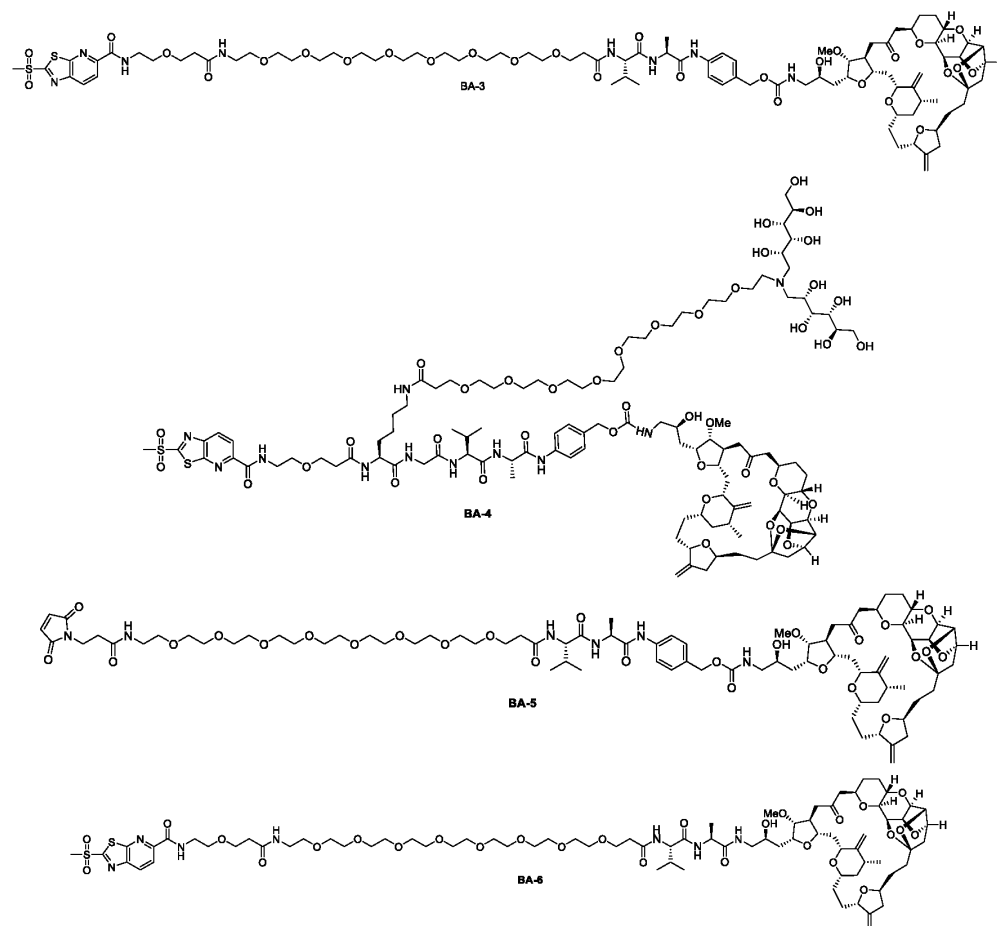




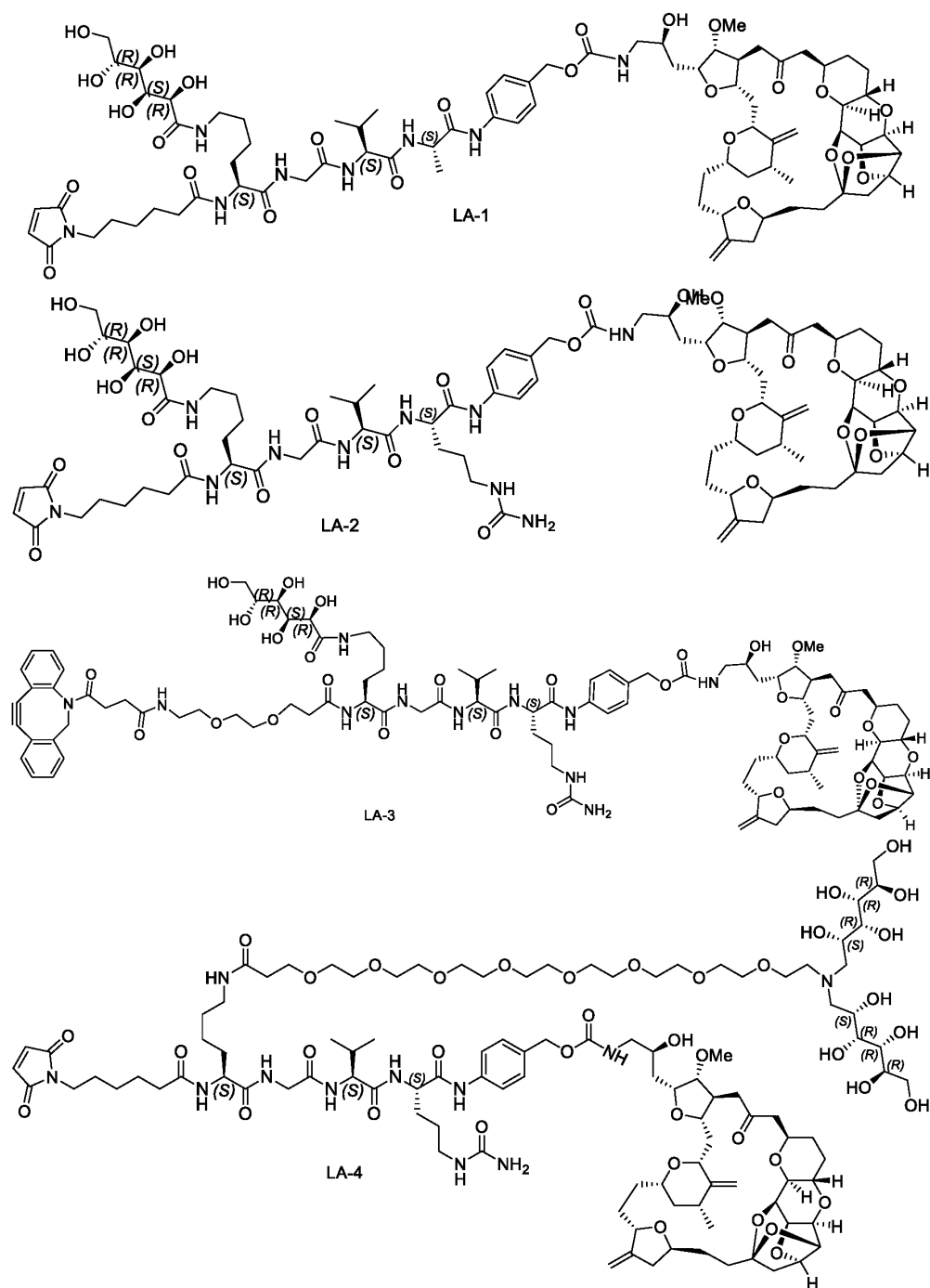


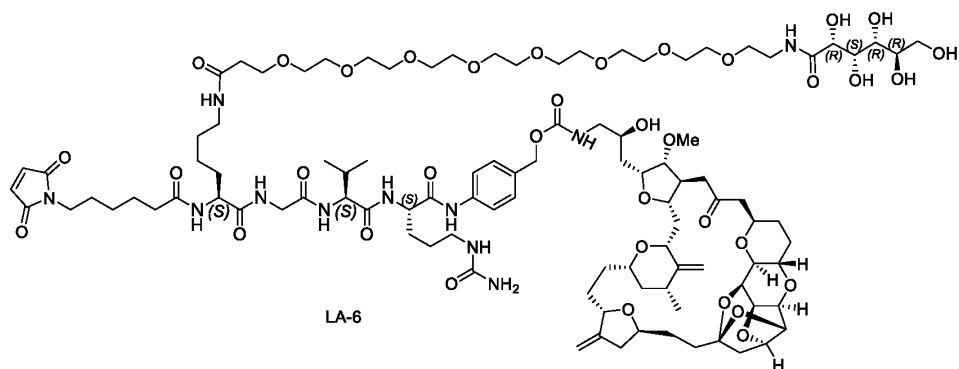
优选地，Ab 为抗 HER2(ErbB2)抗体或其抗原结合片段，更优选为曲妥珠单抗 (Trastuzumab)或其抗原结合片段。

- 5 在第四方面，本申请提供一种艾日布林衍生物，其为如下所示的化合物，或其同位素标记化合物，或其光学异构体、几何异构体、互变异构体或异构体混合物，或其药学上可接受的盐，



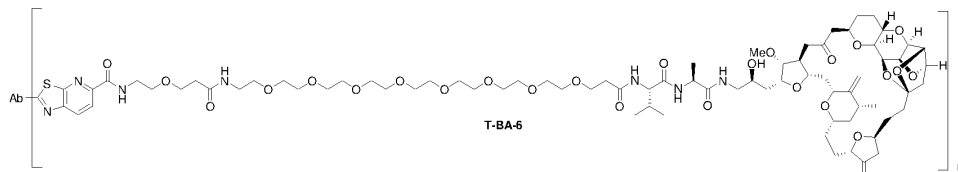
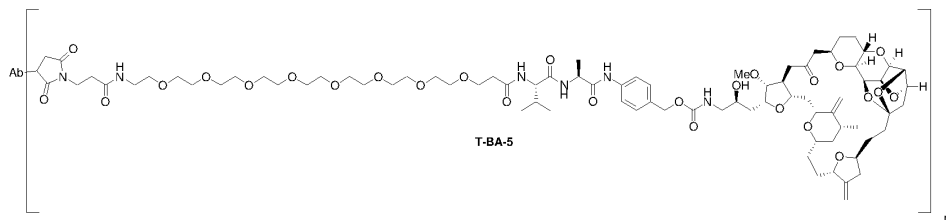
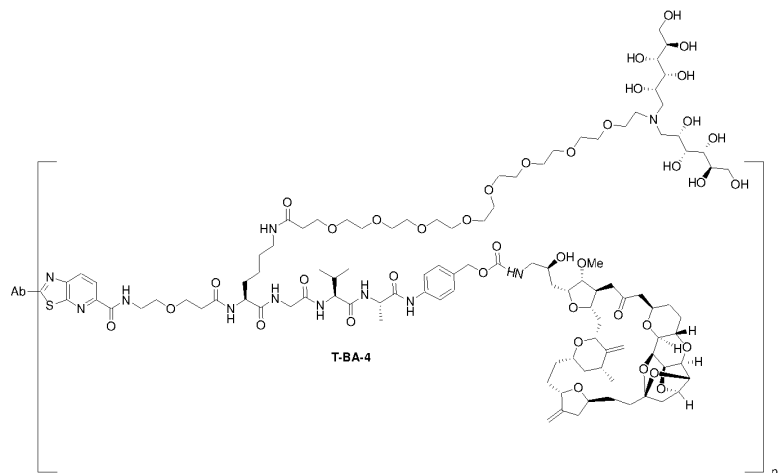
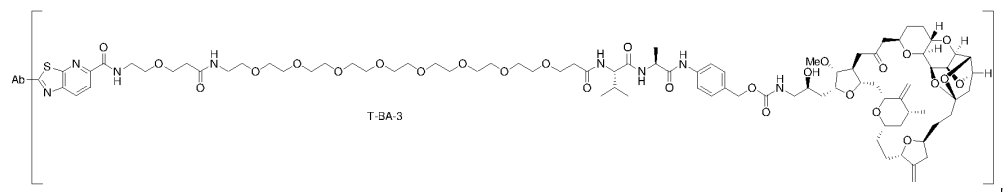
10

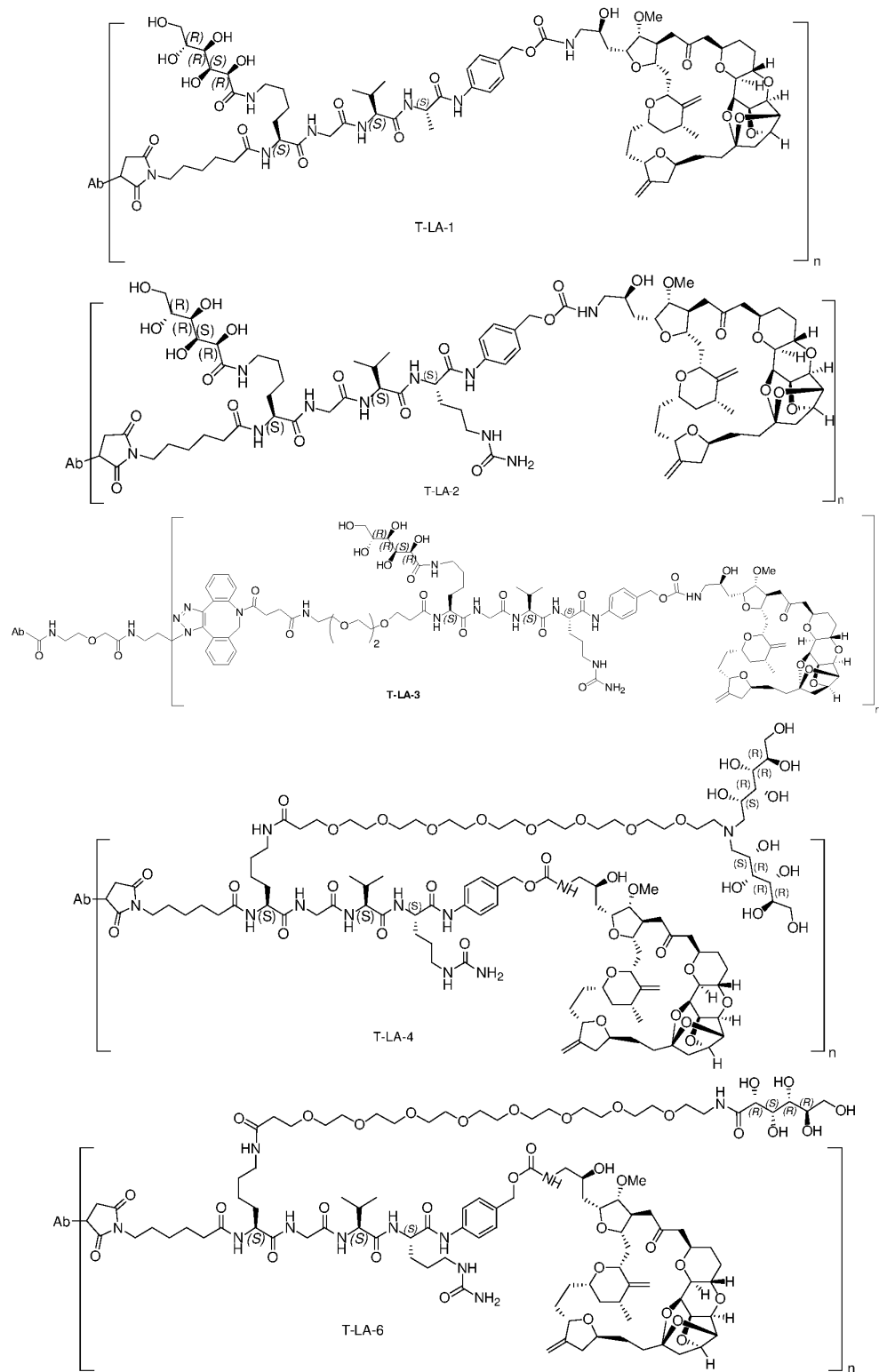




在第五方面，本申请提供一种抗体药物偶联物，其为如下所示化合物或其同位素标记化合物，或其光学异构体、几何异构体、互变异构体或异构体混合物，或其药学上可接受的盐，

5





5

；Ab、n 定义如前述式 (I')、式 (II') 中所定义。优选地，Ab 为抗 HER2(ErbB2) 抗体或其抗原结合片段，更优选为曲妥珠单抗(Trastuzumab)或其抗原结合片段。

在第六方面，本申请提供一种药物组合物，其包含根据本申请前述的艾日布林衍生物、抗体药物偶联物以及一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂。

在第七方面，本申请提供本申请前述的艾日布林衍生物在制备抗体药物偶联物中的用途。

5 在第八方面，本申请提供本申请前述的艾日布林衍生物、抗体药物偶联物、药物组合物在制备用于治疗肿瘤或癌症的药物中的用途。

在第九方面，本申请提供一种治疗肿瘤或癌症的方法，其包含向有需要的受试者施用有效量的根据本申请前述的艾日布林衍生物、抗体药物偶联物、药物组合物。

10 在一组实施方式中，所述肿瘤或癌症选自实体瘤或血液瘤；优选地，所述肿瘤或癌症选自转移性、复发性肿瘤或癌症；优选地，所述肿瘤或癌症选自乳腺癌、胃癌、结肠癌、胰腺癌、肾癌、卵巢癌、肺癌、软组织肉瘤、脂肪肉瘤、肺癌、非小细胞肺癌、黑色素瘤、头颈癌、宫颈癌、前列腺癌；具体可为 HER-2 阳性乳腺癌、三阴乳腺癌、HER-2 阳性三阴乳腺癌、肾透明腺细胞腺癌、小细胞肺癌、  
15 非小细胞肺癌、大细胞肺癌。

在一组实施方式中，所述肿瘤或癌症选自 HER2(ErbB2)抗体高表达的癌症或肿瘤。

20 本申请通过改造艾日布林合成一系列具有良好的肿瘤抑制效果的衍生物，毒性更低、治疗窗相对于艾日布林更大，再通过合适的连接子把艾日布林衍生物与抗体做成 ADC，利用抗体的靶向特异性可进一步提高艾日布林衍生物的治疗效率。

**附图说明**

25 图 1 为 JIMT-1 乳腺癌荷瘤小鼠模型的肿瘤体积变化曲线图-1。  
图 2 为大鼠给药后体重变化曲线图。  
图 3 为 JIMT-1 乳腺癌荷瘤小鼠模型的肿瘤体积变化曲线图-2。

**具体实施方式**

30 除非另有说明，用于披露本申请的所有术语（包括技术和科学术语）的意义与本申请所属领域普通技术人员所通常理解的相同，随后的定义用于更好地理解本申请的教导。本文中对本申请所使用术语的解释只是为了描述具体的实施例的目的，不是旨在于限制本申请。

35 本申请中作为一组实施方式的部分而说明或描述的特征可以用于另一组实施方式中，来产生更进一步的实施方式。

本申请所使用的术语“和/或”、“或/和”、“及/或”的选择范围包括两个或两个以上相关所列项目中任一个项目，也包括相关所列项目的任意的和所有的组

合，所述任意的和所有的组合包括任意的两个相关所列项目、任意的更多个相关所列项目、或者全部相关所列项目的组合。需要说明的是，当用至少两个选自“和/或”、“或/和”、“及/或”的连词组合连接至少三个项目时，应当理解，在本申请中，该技术方案毫无疑问地包括均用“逻辑与”连接的技术方案，还毫无疑问地包括均用“逻辑或”连接的技术方案。比如，“A 及/或 B”包括 A、B 和 A+B 三种并列方案。又比如，“A，及/或，B，及/或，C，及/或，D”的技术方案，包括 A、B、C、D 中任一项（也即均用“逻辑或”连接的技术方案），也包括 A、B、C、D 的任意的和所有的组合，也即包括 A、B、C、D 中任两项或任三项的组合，还包括 A、B、C、D 的四项组合（也即均用“逻辑与”连接的技术方案）。

10 本申请中所使用的术语“含有”、“包含”和“包括”是同义词，其是包容性或开放式的，不排除额外的、未被引述的成员、元素或方法步骤。

本申请中用端点表示的数值范围包括该范围内所包含的所有数值及分数，以及所引述的端点。

本申请中涉及浓度数值，其含义包括在一定范围内的波动。比如，可以在相应的精度范围内波动。比如 2%，可以允许±0.1%范围内波动。对于数值较大或无需过于精细控制的数值，还允许其含义包括更大波动。比如 100mM，可以允许±1%、±2%、±5%等范围内的波动。涉及分子量，允许其含义包括±10%的波动。

本申请中，涉及“多个”、“多种”等描述，如无特别限定，指在数量上指大于等于 2。

20 本申请中，以开放式描述的技术特征中，包括所列举特征组成的封闭式技术方案，也包括包含所列举特征的开放式技术方案。

本申请中，“优选”、“更好”、“更佳”、“具体”、“为宜”仅为描述效果更好的实施方式或实施例，应当理解，并不构成对本申请保护范围的限制。本申请中，“任选”、“可选地”、“可选的”、“可选”，指可有可无，也即指选自“有”或“无”两种并列方案中的任一种。如果一个技术方案中出现多处“可选”，如无特别说明，且无矛盾之处或相互制约关系，则每项“可选”各自独立。

本申请所述的艾日布林衍生物，包含式（I）化合物、式（II）化合物、式（I'）化合物、式（II'）化合物、权利要求 44 所述的化合物，式（I）化合物、式（II）化合物、式（I'）化合物、式（II'）化合物、权利要求 44 所述的化合物的同位素标记化合物，式（I）化合物、式（II）化合物、式（I'）化合物、式（II'）化合物、权利要求 44 所述的化合物或同位素标记化合物的光学异构体、几何异构体、互变异构体或异构体混合物，以及上述各种化合物的药学上可接受的盐。

35 本申请所述的抗体药物偶联物，包含式（I''）化合物、式（II''）化合物、权利要求 45-48 所述化合物，式（I''）化合物、式（II''）化合物、权利要求 45-48 所述化合物的同位素标记化合物，式（I''）化合物、式（II''）化合物、权利要



求 45-48 所述化合物或同位素标记化合物的光学异构体、几何异构体、互变异构体或异构体混合物，以及上述各种化合物的药学上可接受的盐。

术语“同位素标记化合物”是指化合物中任一个原子被其同位素原子代替而得到的同位素标记化合物。本申请所述化合物的所有药学上可接受的同位素标记化合物，其中，一个或者多个原子被具有与通常在自然界中所发现的原子相同原子序数但是不同原子质量或者质量数的原子所替换。适用于包含在本申请的化合物中的同位素的实例包括氢的同位素，诸如  $^2\text{H}$  (D) 和  $^3\text{H}$  (T)，碳的同位素，诸如  $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{C}$  和  $^{14}\text{C}$ ，氯的同位素，诸如  $^{37}\text{Cl}$ ，氟的同位素，诸如  $^{18}\text{F}$ ，碘的同位素，诸如  $^{123}\text{I}$  和  $^{125}\text{I}$ ，氮的同位素，诸如  $^{13}\text{N}$  和  $^{15}\text{N}$ ，氧的同位素，诸如  $^{15}\text{O}$ 、 $^{17}\text{O}$  和  $^{18}\text{O}$ ，以及硫的同位素，诸如  $^{35}\text{S}$ 。同位素标记化合物一般可以通过本领域技术人员已知的常规技术或者通过使用合适的同位素标记试剂代替先前使用的非标记试剂以类似于在本文所附的实例和制备中所描述的方法来进行制备。

术语“光学异构体”意指，当化合物具有一个或更多个手性中心时，每个手性中心可以存在 R 构型或 S 构型，由此构成的各种异构体为光学异构体。光学异构体包括所有的非对映异构体、对映异构体、内消旋体、外消旋体或其混合物形式。例如，通过手性色谱柱或通过手性合成可以分离光学异构体。

术语“几何异构体”意指，当化合物中存在双键时，该化合物可以存在顺式异构体、反式异构体或 E 型异构体、Z 型异构体。几何异构体包括顺式异构体、反式异构体、E 型异构体、Z 型异构体或其混合物形式。

术语“互变异构体”意指，因分子中某一原子在两个位置迅速移动而产生的异构体。本领域技术人员可以理解：互变异构体之间可以互相转变，在某一状态下可能会达到一种平衡状态而共存。

本申请化合物可以药学上可接受的盐的形式存在，比如，式 (I) 化合物的酸加成盐和/或碱加成盐。除非另有指明，否则本文所用的“药学上可接受的盐”包括可出现于本申请化合物内的酸加成盐或碱加成盐。适当的酸加成盐是由形成无毒性盐的酸所形成的。其实例包括但不限于：乙酸盐、己二酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、碳酸氢盐/碳酸盐、硫酸氢盐/硫酸盐、硼酸盐、樟脑磺酸盐、柠檬酸盐、环己胺磺酸盐、乙二磺酸盐、甲酸盐、反丁烯二酸盐、葡萄糖庚糖酸盐、葡萄糖酸盐、葡萄糖醛酸盐、六氟磷酸盐、2-(4-羟苄基)苯甲酸盐、氢氯化物/氯化物、氢溴化物/溴化物、氢碘化物/碘化物、2-羟乙磺酸盐、乳酸盐、苹果酸盐、顺丁烯二酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐、硫酸盐、甲基硫酸盐、萘酸盐、2-萘磺酸盐、烟碱酸盐、硝酸盐、乳清酸盐、草酸盐、十六酸盐、磷酸盐/磷酸氢盐/磷酸二氢盐、焦谷氨酸盐、葡萄糖二酸盐、硬脂酸盐、水杨酸盐、单宁酸盐、酒石酸盐、甲苯磺酸盐和三氟乙酸盐。适当的碱加成盐是由形成无毒性盐的碱所形成的。其实例包括但不限于：铝、精氨酸、钙、胆碱、二乙胺、二乙醇胺、甘氨酸、赖氨酸、镁、葡甲胺、乙醇胺、钾、钠、氨丁三醇和锌盐。还可形成酸和碱的半盐，例如

半硫酸盐和半钙盐。关于合适的盐的综述，参见 Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use by Stahl and Wermuth (Wiley-VCH, 2002)。用于制备本申请所述化合物的药学上可接受的盐的方法是本领域技术人员已知的。

5 本申请的某些化合物可以不同晶型或不定型形式存在，无论以何种形式存在，都包括在本申请的范围。

本申请中，术语“抗体”指免疫球蛋白，是由两条相同的重链和两条相同的轻链通过链间二硫键连接而成的四肽链结构。免疫球蛋白重链恒定区的氨基酸组成和排列顺序不同，故其抗原性也不同。据此，可将免疫球蛋白分为五类，或称为免疫球蛋白的同种型，即 IgM、IgD、IgG、IgA 和 IgE，其相应的重链分别为  $\mu$  链、 $\delta$  链、 $\gamma$  链、 $\alpha$  链、和  $\epsilon$  链。同一类 Ig 根据其铰链区氨基酸组成和重链二硫键的数目和位置的差别，又可分为不同的亚类，如 IgG 可分为 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4。轻链通过恒定区的不同分为  $\kappa$  链或  $\lambda$  链。五类 Ig 中每类 Ig 都可以有  $\kappa$  链或  $\lambda$  链。抗体重链和轻链靠近 N 端的约 110 个氨基酸的序列变化很大，为可变区 (Fv 区)；靠近 C 端的其余氨基酸序列相对稳定，为恒定区。可变区包括 3 个高变区 (HVR) 和 4 个序列相对保守的骨架区 (FR)。3 个高变区决定抗体的特异性，又称为互补性决定区 (CDR)。每条轻链可变区 (LCVR) 和重链可变区 (HCVR) 由 3 个 CDR 区 4 个 FR 区组成，从氨基端到羧基端依次排列的顺序为：FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4。轻链的 3 个 CDR 区指 LCDR1、LCDR2、和 LCDR3；重链的 3 个 CDR 区指 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3。本申请所述抗体或抗原结合片段的 LCVR 区和 HCVR 区的 CDR 氨基酸残基在数量和位置上符合已知的 Kabat 编号规则 (LCDR1-3, HCDR2-3)，或者符合 kabat 和 chothia 的编号规则 (HCDR1)。

术语“抗原结合片段”是指抗体的保持特异性结合抗原的能力的一个或多个片段。已显示可利用全长抗体的片段来进行抗体的抗原结合功能。“抗原结合片段”中包含的结合片段的实例包括：(i) Fab 片段，由 VL、VH、CL 和 CH 结构域组成的单价片段；(ii) F(ab')<sub>2</sub> 片段，包含通过铰链区上的二硫桥连接的两个 Fab 片段的二价片段；(iii) 由 VH 和 CH 结构域组成的 F 片段；(iv) 由抗体的单臂的 VH 和 VL 结构域组成的 Fv 片段；(v) 单结构域或 dAb 片段，其由 VH 结构域组成；和 (vi) 分离的互补决定区 (CDR) 或 (vii) 可任选地通过合成的接头连接的两个或更多个分离的 CDR 的组合。此外，虽然 Fv 片段的两个结构域 VL 和 VH 由分开的基因编码，但可使用重组方法，通过合成的接头连接它们，从而使得其能够产生为其中 VL 和 VH 区配对形成单价分子的单个蛋白质链 (称为单链 Fv(scFv))。此类单链抗体也包括在术语“抗原结合片段”中。使用本领域技术人员已知的常规技术获得此类抗体片段，并且以与对于完整抗体的方式相同的方式就功用性筛选片段。可通过重组 DNA 技术或通过酶促或化学断裂完整免疫球蛋白来产生抗原结合部分。抗体可以是不同种型的抗体，例如，IgG (例如，IgG1, IgG2, IgG3 或 IgG4 亚型)，IgA1, IgA2, IgD, IgE 或 IgM 抗体。

术语“接头基团”是指一端与抗体连接而另一端与毒素药物相连的化学结构片段或键，也可以连接其他连接基团后再与抗体或毒素药物相连。

术语“抗体药物偶联物”（antibody drug conjugate, ADC），指将抗体或者抗原结合片段通过稳定的连接单元与具有生物活性的毒性药物如艾日布林衍生物相连。

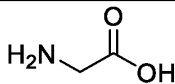
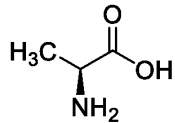
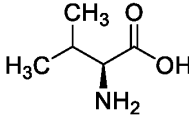
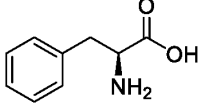
术语“短肽”，具有其在本领域中的普通含义，可指通过由一个氨基酸分子的羧基与另一个氨基酸分子的氨基缩合脱水而形成酰胺键（肽键）而共价连接在一起形成的化合物。用于定义肽的命名原则是本领域中常用的，其中 N-末端的氨基出现在左侧并且 C-末端的羧基出现在右侧。本申请中所述的短肽链是指由两个或多个氨基酸（如 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11 或 12 个）缩合脱水得到的肽链，左侧为 N-末端氨基形成的-NH-，右侧为 C 末端羧基形成的-CO-。如“-NH<sup>Gly</sup>-Gly-Phe-Gly<sup>CO-</sup>”代表由 Gly、Gly、Phe、Gly 依次缩合成的四肽链，左侧为 N-末端 Gly 氨基形成的-NH-，右侧为 C 末端 Gly 羧基形成的-CO-。

术语“氨基酸残基”具有其在本领域中的普通含义，指氨基酸（作为单个氨基酸或作为肽的一部分）在其与肽、另一个氨基酸或氨基酸残基反应之后的基团。通常，当氨基酸与另一个氨基酸或氨基酸残基组合时，除去水，并且保留下来的氨基酸被称为氨基酸残基。

术语“氨基酸”具有其在本领域中的普通含义并且可包括天然氨基酸和非天然氨基酸。本发明中氨基酸残基的缩写是本领域中所用的指代 20 个常用氨基酸之一的标准 3 字母和/或 1 字母代码。

氨基酸残基或氨基酸具有异构体形式，包含 L-型和 D-型。

本申请所用氨基酸三字母代码和单字母代码及其结构的示例如下表：

| 简称 | 缩写  | 名称                    | 结构                                                                                   |
|----|-----|-----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| G  | Gly | 甘氨酸<br>Glycine        |  |
| A  | Ala | 丙氨酸<br>Alanine        |  |
| V  | Val | 缬氨酸<br>Valine         |  |
| F  | Phe | 苯丙氨酸<br>Phenylalanine |  |

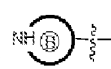
|   |     |                   |  |
|---|-----|-------------------|--|
| C | Cit | 瓜氨酸<br>Citrulline |  |
|---|-----|-------------------|--|

本申请中部分取代基中“”处表示连接位点，“”代表连接位点。如，为与 A<sub>1</sub>'或 A<sub>2</sub>'连接的连接位点，为与 L<sub>2</sub> 连接的连接位点，是指 -NH-CH<sub>2</sub>- 左侧通过-NH 与 L<sub>2</sub> 连接，右侧通过-CH<sub>2</sub>-与 A<sub>1</sub>'或 A<sub>2</sub>'连接。

除非另有说明，所述“任选取代”是指被取代基团上的氢未被取代或被取代基团的一个或多个可取代位点上独立地被取代基取代。取代基独立地选自一个或多个氘、氧代、卤素、氨基、羟基、硝基、氰基、巯基、任选取代的烷基、任选取代的烷基氧基、任选取代的烷基硫基、任选取代的烷基氨基、任选取代的碳环基、任选取代的杂环基中的一个或多个；烷基、碳环基、杂环基上的取代基选自氧代、氘、卤素、氨基、羟基、硝基、氰基、巯基、烷基、卤代烷基、烷基氧基、羟基取代的烷基、烷基氧基烷基等中的一个或多个。取代基选自“氧代”的情况是指同一取代位置碳上的两个氢原子被氧原子所取代、或杂原子与氧相连，如氮与氧相连的氮氧化物、硫与氧相连的亚磺酰基或磺酰基。“任选取代”是指被取代基团上的氢未被取代或同一取代位置碳上的两个氢原子被氧原子所取代、或杂原子与氧相连，如氮与氧相连的氮氧化物、硫与氧相连的亚磺酰基或磺酰基。

术语“独立地”是指当取代基的个数超过一个时，这些取代基可以相同也可以不同。

术语“氧键”(=O)是指，与其相连的碳原子上的两个氢原子被氧原子所取代，形成羰基。

本申请中的“”是指，N 与其上连接的另外的基团形成Ⓐ环；  
 “”是指，X<sub>3</sub>或 Y<sub>1</sub>为Ⓑ环，环上含有至少一个-NH-。

术语“烷基”指饱和脂肪族烃基团，其为包含 1 至 20 个碳原子的直链或支链基团，优选含有 1 至 12 个碳原子（碳原子数量在 1-12 之间，具体地为 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个、7 个、8 个、9 个、10 个、11 个或 12 个）的烷基，更优选含有 1 至 10 个碳原子的烷基，最优选包含 1-8 个碳原子（即 C1-8 烷基，碳原子数量在 1-8 之间，具体地为 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个、7 个或 8 个）、包含 1-6 个碳原子（即 C1-6 烷基，碳原子数量在 1-6 之间，具体地为 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个或 6 个）。实例包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、新戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、正庚基、

正辛基、3-己基、2-戊基等。

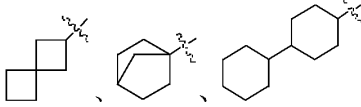
术语“烷基氧基”指-O-烷基，所述烷基的定义同上。代表的例子包括但不限于甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、丁氧基、1-甲基丙氧基、2-甲基丙氧基、叔丁氧基等。

5 术语“卤素”是指 F、Cl、Br、I。

术语“羟基取代的烷基”、“烷基氧基取代的烷基”、“氨基取代的烷基”、“卤代烷基”、“氰基取代的烷基”、“碳环基取代的烷基”、“杂环基取代的烷基”，是指烷基被一个或多个羟基取代，烷基被一个或多个烷基氧基取代、烷基被一个或多个氨基取代、烷基被一个或多个卤素取代、烷基被一个或多个氰基取代、烷基被一个或多个碳环基取代、烷基被一个或多个杂环基取代。

10 术语“碳环基”指饱和、部分不饱和或完全不饱和的碳环基，如环烷基、芳基、环烯基、环炔基、环烯炔基，可为单环或多环（包括双环、三环等），包括单环、并环、联环、螺环、桥环等。碳原子数可为 3-20 个（如 3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20）。

15 术语“环烷基”指饱和单环或多环（包括双环、三环等）环状烃取代基，包括单环、并环、联环、螺环、桥环等。环烷基可包含 3 至 20 个碳原子（如 3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20），优选包含 3 至 15 个碳原子，更优选包含 3 至 12 个碳原子。环烷基的非限制性实例包括环丙

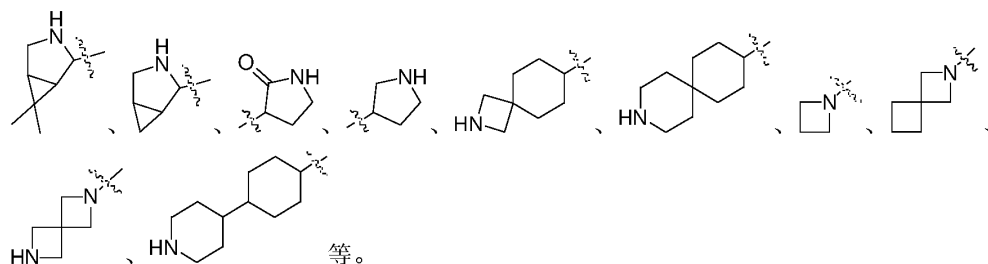
基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基、等。

20 术语“芳基”表示含有 6-10 个碳原子的单环、双环的芳香碳环体系，芳基基团的实例包括苯基、萘基，如 1-萘基、2-萘基、3-萘基、4-萘基。

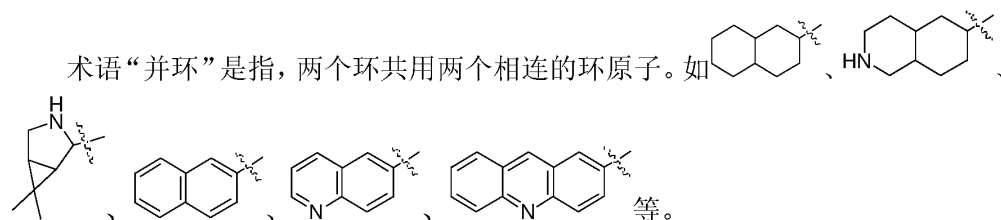
术语“杂环基”指饱和、部分不饱和或完全不饱和的杂环基，如杂环烷基、杂芳基，可为单环或多环（包括双环、三环等），包括单环、并环、联环、螺环、桥环等。原子数可为 3-20 个（如 3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20 个），可含有 1、2、3、4 个选自 N、O、S 的杂原子，如 1、2 或 3 个选自 N 或 O 的杂原子。

25 术语“杂环烷基”指饱和单环或多环（包括双环、三环等）状烃取代基，包括单环、并环、联环、螺环、桥环等，其包含 3 至 20 个环原子（如 3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20 个），其中一个或多个环原子（如 1 个、2 个、3 个、4 个）为选自 N、O 或 S 的杂原子。优选包含 3 至 12 个环原子（包含 3 个、4 个、5 个、6 个、7 个、8 个、9 个、10 个、11 个或 12 个环原子），其中 1~3 个是杂原子（1 个、2 个或 3 个杂原子），杂原子选自 N、O 或 S。杂环烷基可为选自 1 或 2 个 N 原子的 3-11 元单环、并环、联环、螺环、桥环杂环烷基，如 3-6 元单环杂环烷基、6-12 元并环杂环烷基、6-12 元联环杂环

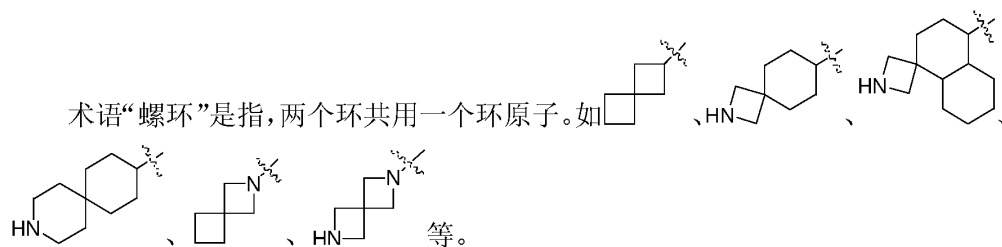
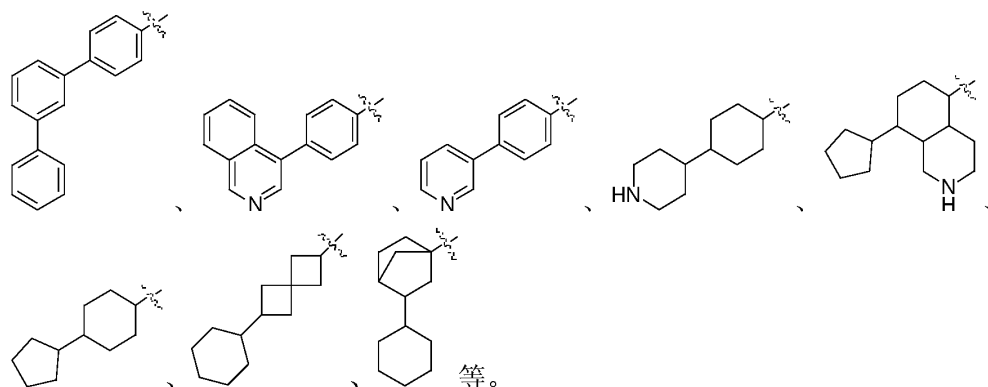
- 烷基、6-12元螺环杂环烷基、6-12元桥环杂环烷基，非限制性实例包括吡咯烷基、咪唑烷基、四氢呋喃基、哌啶基、哌嗪基、四氢吡喃基、氮杂环丙烷基、氧杂环丙烷基、硫杂环丙烷基、氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基、硫杂环丁烷基、氧杂环己烷、吗啉基、硫代吗啉基、二噁烷基、二硫杂环己基、噁唑烷基、噻唑烷基、吡唑烷基、咪唑啉啶、四氢呋喃-1-基、四氢呋喃-2-基、四氢呋喃-3-基、四氢吡喃-1-基、四氢吡喃-2-基、四氢吡喃-3-基、四氢吡喃-4-基、哌啶-1-基、哌啶-4-基、



- 术语“杂芳基”表示含有5-10元结构，或优选5-8元结构或6-10元结构，更优选5-6元结构的芳香单环或者多环环状系统，其中1个、2个、3个、4个或更多个环原子为杂原子且其余原子为碳，杂原子独立地选自O、N或S，杂原子数量优选为1个、2个、3个或4个。杂芳基可为含有1-2个选自N、S、O的5-6元结构的芳香单环，或含有1、2、3个或4个选自N、S、O的8-10元结构的芳香并环。杂芳基的实例包括但不限于呋喃基、噻吩基、噁唑基、噻唑基、异噁唑基、噁二唑基、噻二唑基、吡咯基、吡唑基、咪唑基、三唑基、四唑基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哒嗪基、硫代二唑基、三嗪基、酞嗪基、喹啉基、异喹啉基、喋啶基、嘌呤基、吲哚基、异吲哚基、吡唑基、苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并吡啶基、苯并嘧啶基、苯并吡嗪基、苯并咪唑基、苯并酞嗪基、吡咯并[2,3-b]吡啶基、咪唑并[1,2-a]吡啶基、吡唑并[1,5-a]吡啶基、吡唑并[1,5-a]嘧啶基、咪唑并[1,2-b]哒嗪基、[1,2,4]三唑并[4,3-b]哒嗪基、[1,2,4]三唑并[1,5-a]嘧啶基、[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶基、吡啶-1-基、吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、喹啉-2基、喹啉-3-基、喹啉-4-基、喹啉-5基、喹啉-6基、喹啉-7基、喹啉-8基等。



- 术语“联环”是指，两个环通过单键相连。如二联苯、三联苯、



5 术语“桥环”是指，两个环共用两不直接相连的环原子。如 等。

本申请中，与取代基个数、碳原子个数、环原子个数、杂原子个数、基团个数相关的数目范围表示该范围内所有整数的逐个列举，而范围仅是作为一种简化的表示法。例如：“1-4 个取代基”表示 1、2、3 或 4 个取代基；“3-8 个环原子”表示 3 个、4 个、5 个、6 个、7 个或 8 个环原子。因此，与取代基个数、碳原子  
 10 个数、环原子个数、杂原子个数、基团个数相关的数目范围也涵盖其任意一个子范围，且每一个子范围也视为被本申请公开。

术语“药物组合物”表示含有一种或多种本申请所述化合物以及一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂的混合物。所述药物组合物中可以不含其他活性成分，或进一步包含一种或多种其他活性成分。药物组合物的目的是促进对生物  
 15 体的给药，利于活性成分的吸收进而发挥生物活性。

术语“药学上可接受的载体”或“药学上可接受的赋形剂”包括但不限于任何被相关的政府管理部门许可为可接受供人类或家畜使用的助流剂、增甜剂、稀释剂、防腐剂、染料/着色剂、矫味剂、表面活性剂、润湿剂、分散剂、助悬剂、稳定剂、等渗剂、溶剂、乳化剂、崩解剂、粘合剂、填充剂、抗氧剂、芳香剂、  
 20 助溶剂、增溶剂、渗透压调节剂，半固体制剂软膏剂、霜剂中的基质部分等。

本申请所述的药物组合物可制备成液体剂型、固体剂型或半固体剂型。液体剂型可以是溶液剂（包括真溶液和胶体溶液）、乳剂（包括 o/w 型、w/o 型和复乳）、混悬剂、注射剂（包括水针剂、粉针剂和输液）、滴眼剂、滴鼻剂、洗剂和搽剂等；固体剂型可以是片剂（包括普通片、肠溶片、含片、分散片、咀嚼片、泡腾

片、口腔崩解片）、胶囊（包括硬胶囊、软胶囊、肠溶胶囊）、颗粒剂、散剂、丸剂、栓剂、膜剂、贴片、气雾剂、喷雾剂等；半固体剂型可以是软膏剂、凝胶剂、糊剂等。本申请的药物组合物可以制成普通制剂、也制成是缓释制剂、控释制剂、靶向制剂及各种微粒给药系统。

- 5           术语“受试者”是指可潜在地从本申请所述化合物进行的治疗中受益的任何人类或非人类生物体。示例性受试者包括任何年龄的人类或哺乳动物。优选地，所述受试者是人。

- 术语“治疗”包括在哺乳动物、尤其人类中治疗疾病或症状且包括：（a）抑制感染、疾病或症状，即遏制或延缓感染、疾病或症状的发展；（b）缓解感染、  
10   疾病或症状，即引起疾病或症状的消退，和/或（c）感染、疾病或症状的治愈。

          术语“预防”包括在哺乳动物、尤其人类中进行预防性疗法以旨在降低感染、疾病或症状发生的可能性。可以根据与一般群体相比感染或患有疾病或症状的风险增加为因素来选择接受预防性疗法的患者。“预防”可以包括对尚未呈现感染或临床病况的受试者进行处置，和预防相同或类似感染或临床病况的第二次出现。

- 15           “有效量”是指本申请化合物当单独或组合给药时有效治疗或预防癌症、抑制癌细胞增殖、和/或减少肿瘤体积的量。

- 下面将结合实施例对本申请的实施方案进行详细描述。应理解，这些实施例仅用于说明本申请而并不用于限制本申请的范围。本领域技术人员可以对本申请进行  
20   多种修改和变化而不背离本申请的范围或精神。下列实施例中未注明具体条件的实验方法，优先参考本申请中给出的指引，还可以按照本领域的实验手册或常规条件，还可以参考本领域已知的其它实验方法，或者按照制造厂商所建议的条件。

- 下述的具体实施例中，涉及原料组分的量度参数，如无特别说明，可能存在  
25   称量精度范围内的细微偏差。涉及温度和时间参数，允许仪器测试精度或操作精度导致的可接受的偏差。

- 另外，本申请中可能用到了一些保护基团来保护某些官能团避免不必要的反应。适宜于各种官能团的保护基以及它们的保护或脱保护条件已经为本领域技术人员广泛熟知。例如 T. W. Greene 和 G. M. Wuts 的《有机制备中的保护基团》（第  
30   3 版，Wiley, New York, 1999 和书中的引用文献）详细描述了大量的保护基团的保护或脱保护。

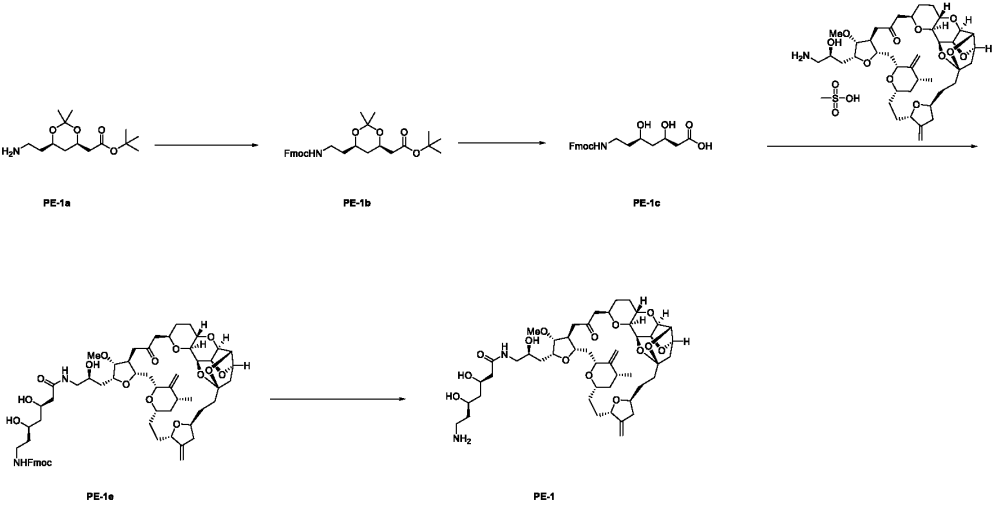
          化合物和中间体的分离和纯化依据具体的需求采取适当的方法和步骤，例如过滤、萃取、蒸馏、结晶、柱层析、制备薄层色谱、制备高效液相色谱或上述方法的混合使用。其具体使用方法可参阅本申请描述的实例。当然，其他类似的分



离和纯化手段也是可以采用的。可以使用常规方法（包括物理常数和波谱数据）对其进行表征。

制备例

5        制备例 1：PE-1 的制备



步骤 1：乙酸叔丁酯 2-（（4R, 6R）-6-（2-（（（9H-苈-9-基）甲氧基）羰基）氨基）乙基）-2,2-二甲基-1,3-二噁烷-4-基）的制备

0℃下向化合物 2-（（4R, 6R）-6-（2-氨基乙基）-2,2-二甲基-1,3-二噁烷-4-基）  
10 乙酸叔丁酯（500 mg，1.83 mol，1.0 eq），2,5-二氧代环戊基（9H-苈-9-基）碳酸  
甲酯（615.17 mg，1.83 mmol，1.0 eq）的四氢呋喃（6 毫升）的溶液中，加入碳  
酸氢钠（307 mg，3.66 mmol，2 eq）（溶解于 3 毫升水中）。加完后在 25℃反应  
16 小时，LCMS 显示反应完成，反应液用水稀释后，用乙酸乙酯萃取 3 次，合并  
15 的有机相用食盐水洗涤一次，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液旋干得到黄色固体化  
合物乙酸叔丁酯 2-（（4R, 6R）-6-（2-（（（9H-苈-9-基）甲氧基）羰基）氨基）  
乙基）-2,2-二甲基-1,3-二噁烷-4-基）（988 mg，粗品不计产率）。

步骤 2：（3R, 5R）-7-（（（（9H-苈-9-基）甲氧基）羰基）氨基）-3,5-二羟基  
基庚酸的制备

向化合物乙酸叔丁酯 2-（（4R, 6R）-6-（2-（（（9H-苈-9-基）甲氧基）羰  
20 基）氨基）乙基）-2,2-二甲基-1,3-二噁烷-4-基）（111 mg，90%，0.20 mmol，1 eq）  
的四氢呋喃（10 毫升）溶液中加入 10%盐酸（2 毫升）。加完后于 25℃下反应 2  
小时，LCMS 显示有约 10%的产物，反应液通过高效液相色谱制备（制备色谱厂  
家 ISCO，型号 ISCO-R2。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250×30mm×10μm。流动  
相水（0.225%FA，甲酸）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 39%到 69%洗脱）得到化合物  
25 （3R, 5R）-7-（（（（9H-苈-9-基）甲氧基）羰基）氨基）-3,5-二羟基庚酸（17 mg，

收率 21%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 422[M+Na]<sup>+</sup>。Rt=1.662 min。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*)  
δ 7.77 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 2H), 7.59 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 2H), 7.41 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 2H), 7.36-7.29  
(m, 2H), 5.09 (s, 2H), 4.48 (d,  $J$  = 6.6 Hz, 2H), 4.34-4.14 (m, 2H), 3.88 (t,  $J$  = 10.2 Hz,  
5 1H), 3.63-3.47 (m, 1H), 3.17-3.06 (m, 1H), 2.52-2.55 (m, 3H)。

步骤 3: (9H-茛-9-基) 甲基 ((3R, 5R) -3,5-二羟基-7-((S) -2-羟基-3-  
(2S, 5S, 8S, 11S, 13R, 15R, 16aS, 18R, 19R, 19aS, 23R, 24aS, 25S, 26aR, 27S, 28R,  
29aR, 29bS) -19-甲氧基-13-甲基-7,14-二亚甲基-21-氧代八氢-25H-2,27:5,8,15-三氧  
基-23,25-乙醇-2,28-甲氧基[3,2',3':5,6]吡喃[4]) 的制备

10 将化合物 (3R,5R) -7-(((9H-茛-9-基) 甲氧基) 羰基) 氨基) -3,5-二羟  
基庚酸 (2.9 mg, 7.26 μmol, 1.2 eq), 艾日布林甲磺酸盐 (5 mg, 6.05 μmol, 1 eq),  
*N,N,N',N'*-四甲基-O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)六氟磷酸脒(HATU, 2.76 mg, 7.26 μmol,  
1.2 eq), *N,N*-二异丙基乙胺 (2 μL, 12.11 μmol, 2 eq) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (1 mL)  
溶液置于冰浴下搅拌 5 分钟后, 恢复室温搅拌 2 小时, LCMS 显示原料反应完全,  
15 油泵浓缩得到 (9H-茛-9-基) 甲基 ((3R, 5R) -3,5-二羟基-7-((S) -2-羟基-3-  
(2S, 5S, 8S, 11S, 13R, 15R, 16aS, 18R, 19R, 19aS, 23R, 24aS, 25S, 26aR, 27S, 28R,  
29aR, 29bS) -19-甲氧基-13-甲基-7,14-二亚甲基-21-氧代八氢-25H-2,27:5,8,15-三氧  
基-23,25-乙醇-2,28-甲氧基[3,2',3':5,6]吡喃[4]) (10.4 mg, 粗品不计产率)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1133[M+Na]<sup>+</sup>。

20 步骤 4: (3R, 5R) -7-氨基-3,5-二羟基-N-((S) -2-羟基-3-((2S, 5S, 8S, 11S,  
13R, 15R, 16aS, 18R, 19R, 19aS, 23R, 24aS, 25S, 26aR, 27S, 28R, 29aR, 29bS) - 19-  
甲氧基-13-甲基-7,14-二亚甲基-21-氧代八碳二氢-25H-2,27:5,8,15-三氧基-23,25-乙  
氧基-2,28-甲氧基[3,2-*i*]呋喃[2', 3':5,6]吡喃[4,3-*b*][1,4]二氧环戊烯-18-基) 丙基) 庚  
酰胺 (PE-1)

25 向化合物 (9H-茛-9-基) 甲基 ((3R, 5R) -3,5-二羟基-7-((S) -2-羟基-3-  
(2S, 5S, 8S, 11S, 13R, 15R, 16aS, 18R, 19R, 19aS, 23R, 24aS, 25S, 26aR, 27S, 28R,  
29aR, 29bS) -19-甲氧基-13-甲基-7,14-二亚甲基-21-氧代八氢-25H-2,27:5,8,15-三氧  
基-23,25-乙醇-2,28-甲氧基[3,2',3':5,6]吡喃[4]) (10.4 mg, 粗品) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺  
(1 mL) 溶液中加入 1,8-二偶氮杂双螺环[5.4.0]十一-7-烯 (1.75 μL, 11.69 μmol,  
30 3 eq), 并置于冰浴下搅拌 5 分钟后, 恢复室温搅拌 2 小时, LCMS 显示原料反应  
完全, 使用高效液相色谱制备纯化 (制备色谱厂家 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。  
色谱柱为 GS-120-10-C18AP。流动相水 (0.225% HCOOH) -乙腈, 水的洗脱比例  
从 10% 到 45% 洗脱) 得 (3R, 5R) -7-氨基-3,5-二羟基-N-((S) -2-羟基-3-((2S,  
5S, 8S, 11S, 13R, 15R, 16aS, 18R, 19R, 19aS, 23R, 24aS, 25S, 26aR, 27S, 28R, 29aR,  
35 29bS) - 19-甲氧基-13-甲基-7,14-二亚甲基-21-氧代八碳二氢-25H-2,27:5,8,15-三氧  
基-23,25-乙氧基-2,28-甲氧基[3,2-*i*]呋喃[2',3':5,6]吡喃[4,3-*b*][1,4]二氧环戊烯-18-

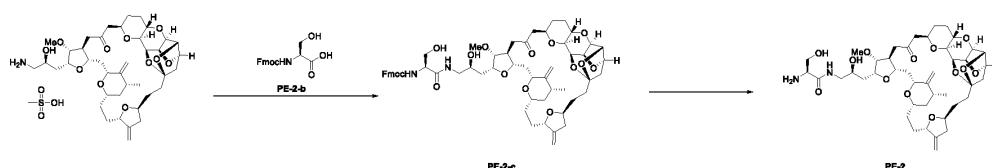
基) 丙基) 庚酰胺 (1.05 mg, 收率 24.2%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 889[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.40 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 5.08-4.97 (m, 2H), 4.79 (d,  $J$  = 30.8 Hz, 2H), 4.64 (dt,  $J$  = 4.6, 2.6 Hz, 1H), 4.55 (t,  $J$  = 4.2 Hz, 1H), 4.26 (d,  $J$  = 10.8 Hz, 1H), 4.17 (td,  $J$  = 10.2, 4.2 Hz, 1H), 4.10 (d,  $J$  = 4.4 Hz, 2H), 4.02 (s, 1H), 3.93 (d,  $J$  = 5.6 Hz, 1H), 3.84-3.67 (m, 4H), 3.52 (d,  $J$  = 10.0 Hz, 4H), 3.05 (q,  $J$  = 6.8 Hz, 4H), 2.86-2.75 (m, 4H), 2.28-2.20 (m, 6H), 2.13 (t,  $J$  = 11.6 Hz, 3H), 2.06-1.82 (m, 10H), 1.74-1.57 (m, 8H), 1.55-1.39 (m, 6H), 1.36-1.14 (m, 6H), 1.04 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 3H)。

10

## 制备例 2: 化合物 PE-2 的制备



### 步骤 1: 化合物 PE-2-c 的制备

将化合物艾日布林甲磺酸盐 (8 mg, 9.69  $\mu$ mol, 1 eq), ((9H-苈-9-基) 甲氧基) 羰基)-L-丝氨酸 (3.8 mg, 11.69  $\mu$ mol, 1.2 eq), *N,N,N',N'*-四甲基-O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)六氟磷酸脲 (4.42 mg, 11.62  $\mu$ mol, 1.2 eq), *N,N*-二异丙基乙胺 (3.2  $\mu$ L, 19.37  $\mu$ mol, 2 eq) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (1 mL) 溶液置于冰浴下搅拌 5 分钟后, 恢复室温搅拌 2 小时, LCMS 显示原料反应完全, 油泵浓缩得化合物 PE-2-c 的粗品 (19.4 mg, 粗品不计产率)。

20 LCMS(ESI):  $m/z$ , 1039[M+H]<sup>+</sup>。

### 步骤 2: 化合物 PE-2 的制备

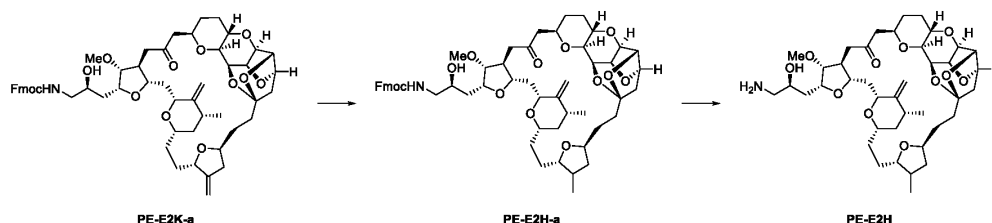
冰浴下向化合物 PE-2-c (粗品, 19.4 mg) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (1 mL) 溶液中加入 1,8-二偶氮杂双螺环[5.4.0]十一-7-烯 (8.37  $\mu$ L), 并置于冰浴下搅拌 5 分钟后, 恢复室温搅拌 2 小时, LCMS 显示原料反应完全, 送反相液相制备色谱纯化 (制备色谱厂家 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。色谱柱为 GS-120-10-C18AP。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 得到化合物 PE-2 (3.11 mg, 收率 39.4%, 白色固体)。

25 LCMS(ESI):  $m/z$ , 817[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.25 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 5.03 (dd,  $J$  = 21.6, 2.6 Hz, 2H), 4.84-4.74 (m, 2H), 4.63 (dt,  $J$  = 4.2, 2.4 Hz, 1H), 4.55 (t,  $J$  = 4.2 Hz, 1H), 4.26 (d,  $J$  = 10.8 Hz, 1H), 4.17 (td,  $J$  = 10.2, 4.2 Hz, 1H), 4.10 (q,  $J$  = 4.8, 4.0 Hz, 3H), 4.06-3.99 (m, 1H), 3.83-3.67 (m, 4H), 3.58-3.49 (m, 6H), 3.19-2.99 (m, 6H), 2.84 (dd,  $J$  = 9.4, 1.8 Hz, 1H), 2.80-2.70 (m, 2H), 2.33-2.17 (m, 6H), 2.17-2.07 (m, 2H), 2.05-1.95 (m, 2H), 1.92 (q,  $J$  = 6.4, 5.8 Hz, 4H), 1.75-1.58 (m, 6H), 1.48 (dtd,  $J$  = 19.8, 11.2, 9.8,

5.2 Hz, 3H), 1.31 (ddt,  $J = 15.8, 11.4, 5.0$  Hz, 3H), 1.26-1.10 (m, 2H), 1.06-0.98 (m, 3H)。

### 制备例 3: 化合物 PE-E2H 的制备



#### 步骤 1: 化合物 PE-E2H-a 的制备

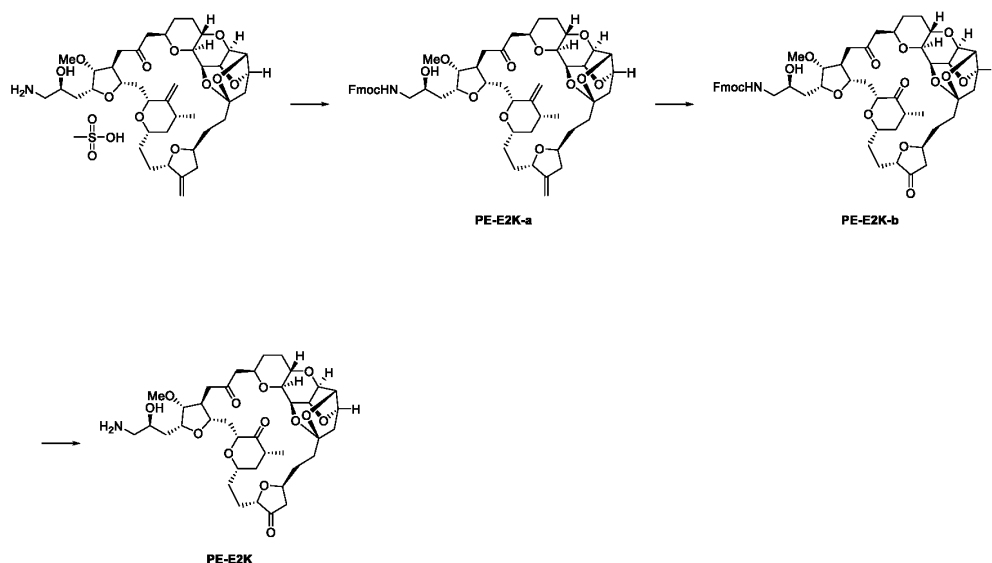
向化合物 PE-E2K-a (该化合物的合成请参考 PE-E2K 的制备例) (10 mg, 10.50  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 MeOH (2 mL) 溶液中加入湿 Pd/C (10 mg), 反应液在 25°C、氢气下搅拌 3 小时。LCMS 显示反应完成。混合物通过硅藻土过滤后旋干, 通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×30mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225%FA) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 50%到 80%洗脱) 得到白色固体产物 PE-E2H-a (7 mg, 收率 69.85%), LCMS (ESI):  $m/z$ , 954.4[M+H]<sup>+</sup>。

#### 步骤 2: 化合物 PE-E2H 的制备

向化合物 PE-E2H-a (7 mg, 7.34  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液加入 Et<sub>2</sub>NH (5.42 mg, 73.36  $\mu\text{mol}$ , 10 eq), 反应液在 25°C下搅拌 2 小时, LCMS 显示原料反应完全。混合物通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 150×30mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225%FA) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱) 得到白色固体 PE-E2H (3.70 mg, 收率 52.03%), LCMS (ESI):  $m/z$ , 732.4[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.43 (s, 2H), 5.58 (d,  $J = 8.0$  Hz, 3H), 4.81 (s, 1H), 4.74 (s, 1H), 4.62 (t,  $J = 4.4$  Hz, 1H), 4.56 (t,  $J = 4.4$  Hz, 1H), 4.26-4.15 (m, 2H), 4.14-4.07 (m, 3H), 3.89-3.79 (m, 3H), 3.75-3.68 (m, 2H), 3.56 (s, 4H), 3.27 (d,  $J = 3.2$  Hz, 6H), 2.89-2.81 (m, 2H), 2.70 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 2.26-2.14 (m, 4H), 2.05-1.84 (m, 7H), 1.73-1.61 (m, 6H), 1.51-1.44 (m, 2H), 1.30-1.20 (m, 4H), 1.11-1.01 (m, 5H), 0.96-0.86 (m, 3H)。

### 制备例 4: 化合物 PE-E2K 的制备



### 步骤 1: 化合物 PE-E2K-a 的制备

0°C下向化合物艾日布林甲磺酸盐 (30 mg, 36.32  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 THF (2 mL) 溶液中加入  $\text{NaHCO}_3$  (6.13 mg, 72.64  $\mu\text{mol}$ , 2 eq) 和 Fmoc-OSu (茆甲氧羰酰琥珀酰亚胺, 13.75 mg, 39.95  $\mu\text{mol}$ , 1.1 eq), 反应液在 25°C下搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完成。混合物残留物通过硅胶柱层析色谱法 (C18, ISCO, R-40g SepaFlash Silica Flash Column, Eluent of 10-75% water/ $\text{CH}_3\text{CN}$ , 100 mL/min) 纯化得到无色油状产物 PE-E2K-a (30 mg, 收率 86.75%)。LCMS (ESI):  $m/z$ , 952.6 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

### 步骤 2: 化合物 PE-E2K-b 的制备

0°C下向化合物 PE-E2K-a (15 mg, 15.75  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 THF (四氢呋喃, 3 mL) 和水 (1 mL) 溶液中加入钨酸钾二水合物 (490.97  $\mu\text{g}$ , 1.58  $\mu\text{mol}$ , 0.1 eq) 和  $\text{NaIO}_4$  (67.73 mg, 315.08  $\mu\text{mol}$ , 20 eq), 反应液在 25°C下搅拌 2 小时。向反应液中补加  $\text{NaIO}_4$  (67.73 mg, 315.08  $\mu\text{mol}$ , 20 eq), 反应液在室温下搅拌过夜, LCMS 显示反应完成。混合物 (和上一批次: 5 mg, 小试) 通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Synergi Max-RP 200 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.1%TFA)-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 40%到 70% 洗脱) 得到白色固体产物 PE-E2K-b (16.60 mg, 收率 82.68%)。LCMS (ESI):  $m/z$ , 956.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

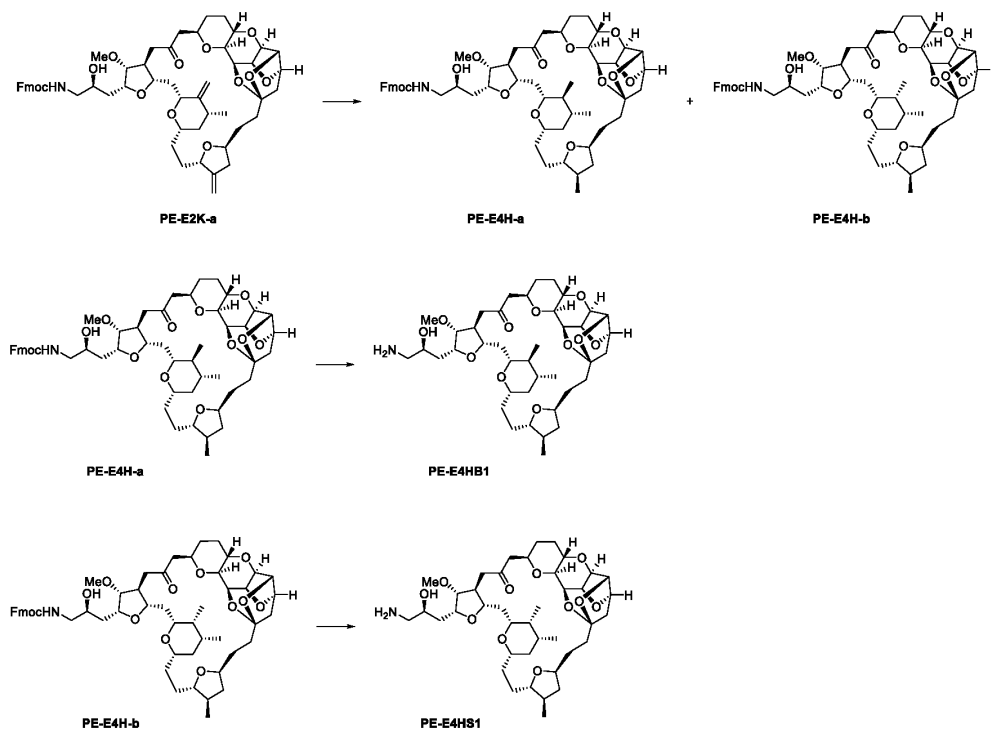
### 步骤 3: 化合物 PE-E2K 的制备

向化合物 PE-E2K-b (16.6 mg, 17.36  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液加入  $\text{Et}_2\text{NH}$  (6.41 mg, 86.81  $\mu\text{mol}$ , 5 eq), 反应液在 25°C下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全。混合物通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.1%TFA, 三氟乙酸)-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 10%到 40%洗脱) 得到白色固体 PE-E2K (7.50 mg, 收率 58.86%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 734.3 $[M+H]^+$ .  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.67 (s, 2H), 5.23 (s, 1H), 4.70-4.53 (m, 2H), 4.46-4.28 (m, 2H), 4.19-4.05 (m, 3H), 3.94-3.67 (m, 5H), 3.61-3.47 (m, 1H), 3.33-3.21 (m, 4H), 3.01-2.70 (m, 4H), 2.65-2.52 (m, 2H), 2.41-2.34 (m, 2H), 2.30-1.87 (m, 8H), 1.85-1.10 (m, 14H), 0.97-0.90 (m, 2H)。

5

### 制备例 5: 化合物 PE-E4HB1 和 PE-E4HS1 的制备



#### 步骤 1: 化合物 PE-E4H-a 和 PE-E4H-b 的制备

向化合物 PE-E2K-a (该化合物的合成请参考 PE-E2K 的制备例) (10 mg, 10.50  $\mu$ mol, 1 eq) 的 MeOH (2 mL) 溶液中加入湿 Pd/C (10 mg), 反应液在 25°C、氢气下搅拌过夜。LCMS 显示反应完成。混合物通过硅藻土过滤后旋干, 通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 150×30mm×10 $\mu$ m。流动相水 (0.225%FA) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 60%到 90%洗脱) 得到白色固体产物 PE-E4H-a (7 mg, 收率 69.7%), LCMS (ESI):  $m/z$ , 954.4 $[M+H]^+$ ; 和 PE-E4H-b (2.50 mg, 收率 24.89%), LCMS (ESI):  $m/z$ , 954.4 $[M+H]^+$ 。

#### 步骤 2: 化合物 PE-E4HB1 的制备

向化合物 PE-E4H-a (7 mg, 7.32  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液加入 Et<sub>2</sub>NH (5.41 mg, 73.21  $\mu$ mol, 10 eq), 反应液在 25°C下搅拌 2 小时, LCMS 显示原料反应完全。混合物通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 150×30mm×10 $\mu$ m。流动相水

(0.225%FA)-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 20%到 50%洗脱)得到白色固体 PE-E4HB1 (4.90 mg, 收率 40.52%, 二甲磺酸盐), LCMS (ESI):  $m/z$ , 734.4[M+H]<sup>+</sup>。

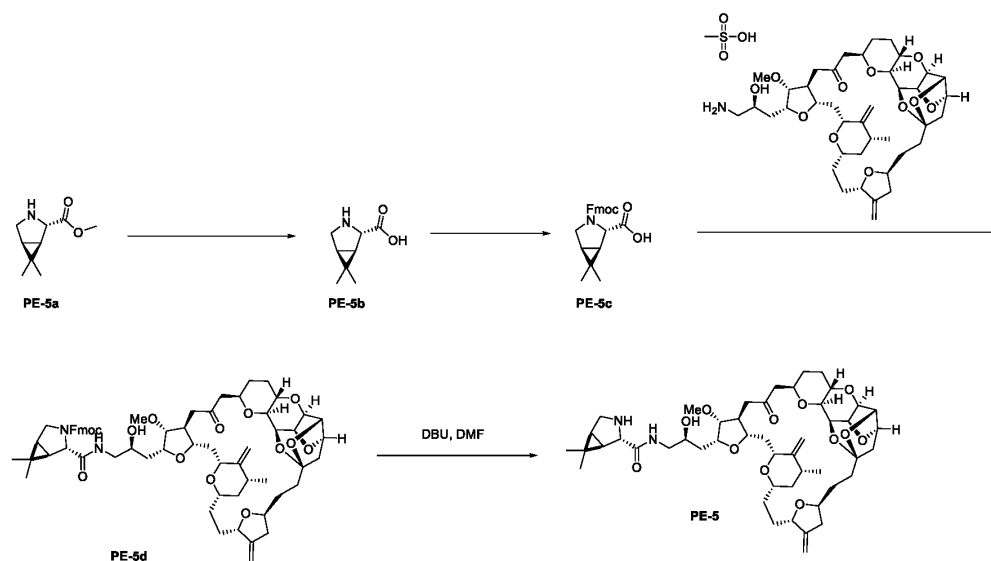
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.41 (s, 6H), 5.42 (s, 1H), 5.26 (s, 1H), 4.95 (t,  $J$  = 9.2 Hz, 1H), 4.62 (s, 1H), 4.11 (s, 2H), 3.65 (t,  $J$  = 9.0 Hz, 3H), 3.28 (d,  $J$  = 3.0 Hz, 3H), 2.79 (s, 14H), 2.56 (d,  $J$  = 15.9 Hz, 1H), 2.29 (s, 3H), 1.99-1.70 (m, 4H), 1.47 (s, 3H), 1.33-1.21 (m, 2H), 1.12 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 19H), 1.07 (d,  $J$  = 10.4 Hz, 1H), 0.96-0.72 (m, 4H)。

### 步骤 3: 化合物 PE-E4HS1 的制备

向化合物 PE-E4H-b (2.50 mg, 2.61  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液加入 Et<sub>2</sub>NH (1.93 mg, 26.15  $\mu$ mol, 10 eq), 反应液在 25°C 下搅拌 2 小时, LCMS 显示原料反应完全。混合物通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 150×30mm×10 $\mu$ m。流动相水 (0.225%FA)-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 20%到 50%洗脱)得到白色固体 PE-E4HS1 (1.90 mg, 收率 99.01%), LCMS (ESI):  $m/z$ , 734.4[M+H]<sup>+</sup>。

15

### 制备例 6: 化合物 PE-5 的制备



#### 步骤 1: (1R, 2S, 5S)-6,6-二甲基-3-氮杂双环[3.1.0]己烷-2-羧酸的制备

向(1R, 2S, 5S)-甲基 6,6-二甲基-3-氮杂双环[3.1.0]己烷-2-羧酸盐盐酸盐(200 mg, 972.37  $\mu$ mol, 1 eq) 的 THF (4 mL) 和 H<sub>2</sub>O (4 mL) 溶液中加入 LiOH·H<sub>2</sub>O (163.36 mg, 108.18  $\mu$ L, 3.89 mmol, 4 eq), 并将混合物在 25°C 下搅拌 16 小时。LCMS 监控反应, 原料反应完全且有主要产物生成, 用 HCl 调节 pH=3-4, 得到 6,6-二甲基-3-(1R, 2S, 5S)-氮杂双环[3.1.0]己烷-2-羧酸粗品, 直接用于下一步 (140 mg, 粗品不计产率)。LCMS (ESI):  $m/z$ , 156[M+H]<sup>+</sup>。

25 步骤 2: (1R, 2S, 5S)-3-( (9H-芴-9-基) 甲氧基) 羰基)-6,6-二甲基-3-氮

## 杂双环[3.1.0]己烷-2-羧酸的制备

向 6,6-二甲基-3- (1R, 2S, 5S) -氮杂双环[3.1.0]己烷-2-羧酸 (140 mg, 902.06  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的  $\text{NaHCO}_3$  (1 mL) 溶液 (调节  $\text{pH} \geq 7$ ) 中加入 Fmoc-OSu (304.29 mg, 217.35  $\mu\text{L}$ , 902.06  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 混合物在  $25^\circ\text{C}$  下搅拌 5 小时。LCMS 监控反应, 原料反应完全且有主要产物生成, 用 EA (乙酸乙酯, 5 mL $\times$ 3) 和  $\text{H}_2\text{O}$  (5 mL $\times$ 2) 萃取, 再合并有机相, 用 HCl 调节水相 pH 至 3~4, 然后用 EA (10 mL $\times$ 3) 提取水层, 然后合并有机层, 旋干, 使用高效液相色谱 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 Lab311-DJ-R7。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225%  $\text{HCOOH}$ ) -乙腈, 乙腈的洗脱比例从 39%到 69%洗脱) 制备纯化, 冻干得到白色固体产物 (1R, 2S, 5S) -3- ( (9H-芴-9-基) 甲氧基) 羰基) -6,6-二甲基-3-氮杂双环[3.1.0]己烷-2-羧酸 (80 mg, 收率 23.50%)。LCMS (ESI):  $m/z$ , 400 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

## 步骤 3: 化合物 PE-5d 的制备

向艾日布林甲磺酸盐 (9.67 mg, 13.25  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 (1R, 2S, 5S) -3- ( (9H-芴-9-基) 甲氧基) 羰基) -6,6-二甲基-3-氮杂双环[3.1.0]己烷-2-羧酸 (5 mg, 13.25  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (5 mL) 溶液中,  $0^\circ\text{C}$  下加入 HATU (6.55 mg, 17.22  $\mu\text{mol}$ , 1.3 eq) 和 DIPEA (N,N-二异丙基乙胺, 5.14 mg, 6.57  $\mu\text{L}$ , 39.75  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 并将混合物在  $25^\circ\text{C}$  下搅拌 16 小时。LCMS 监控反应, 原料反应完全且有主要产物生成, 使用高效液相色谱 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 Lab311-DJ-R5。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225%  $\text{HCOOH}$ ) -乙腈, 乙腈的洗脱比例从 57%到 87%洗脱) 制备纯化, 冻干得到白色固体化合物 PE-5d (12.50 mg, 收率 86.61%)。LCMS (ESI):  $m/z$ , 1011 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

## 步骤 4: 化合物 PE-5 的制备

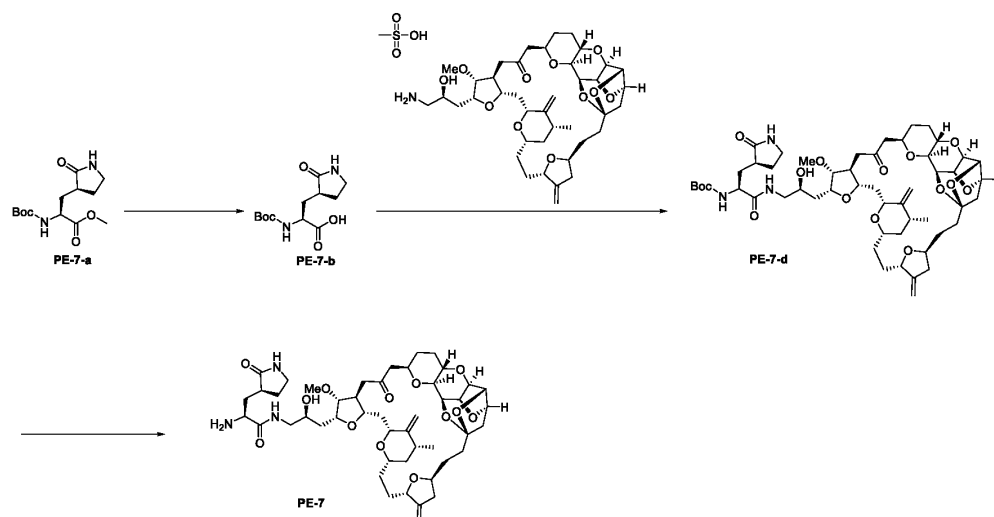
向化合物 PE-5d (10.50 mg, 9.64  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (2 mL) 中加入 DBU (1,8-二偶氮杂双螺环[5.4.0]十一-7-烯, 146.74  $\mu\text{g}$ ,  $1.44\text{e}^{-1}$   $\mu\text{L}$ , 963.90 nmol, 0.1 eq), 将混合物在  $25^\circ\text{C}$  下搅拌 1 小时。LCMS 监控反应, 原料反应完全且有主要产物生成, 使用高效液相色谱 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 Lab311-DJ-R5。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225%  $\text{HCOOH}$ ) -乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱) 制备纯化, 冻干得到白色固体化合物 PE-5 (1 mg, 收率 11.96%, 纯度: 100%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 867 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8.25 (s, 1H), 8.02 (t,  $J = 5.9$  Hz, 1H), 5.03 (d,  $J = 21.3$  Hz, 2H), 4.83 (s, 1H), 4.76 (s, 2H), 4.64 (t,  $J = 4.0$  Hz, 1H), 4.55 (t,  $J = 4.3$  Hz, 1H), 4.26 (d,  $J = 10.8$  Hz, 1H), 4.17 (td,  $J = 10.2, 4.1$  Hz, 1H), 4.13-4.06 (m, 3H), 4.01 (d,  $J = 9.4$  Hz, 1H), 3.77 (ddd,  $J = 13.5, 10.1, 6.7$  Hz, 2H), 3.69 (ddd,  $J = 9.3, 5.6, 2.9$  Hz, 1H), 3.52 (q,  $J = 11.1, 9.9$  Hz, 6H), 3.26 (s, 6H), 3.12 (dt,  $J = 11.4, 5.4$  Hz, 2H), 3.04 (dt,  $J = 10.4, 6.2$  Hz, 2H), 2.89 – 2.81 (m, 2H), 2.61-2.55 (m, 1H), 2.33 (d,  $J = 14.7$  Hz, 2H), 2.14 (d,  $J = 12.0$  Hz, 1H), 2.07-1.96 (m, 2H), 1.92 (q,  $J = 6.2, 5.7$  Hz, 4H), 1.66 (tq,  $J = 13.4, 9.2, 6.5$  Hz, 6H), 1.56-1.44 (m,



2H), 1.41 (d,  $J = 7.1$  Hz, 1H), 1.38-1.26 (m, 3H), 1.24-1.14 (m, 2H), 1.03 (d,  $J = 6.5$  Hz, 3H), 0.98 (s, 6H)。

### 制备例 7：化合物 PE-7 的制备



5

步骤 1：(S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-((S)-2-氧代吡咯烷-3-基)丙酸的制备

将化合物 (S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-((S)-3-氧代吡咯烷-3-基)丙酸甲酯 (300 mg, 1.0eq) 溶解于四氢呋喃 (3 mL) 和水 (3 mL) 的混合溶液中，加入一水氢氧化锂 (132 mg, 3.0eq) 后于 25°C 下搅拌反应 3 小时。LCMS 检测显示反应完全。后处理，向反应液中加入纯水 (10 mL) 稀释后，用 1M 稀盐酸中和至 pH=5，加入二氯甲烷和甲醇混合液 (体积比 10: 1) 萃取二次，合并有机相，有机相用饱和食盐水洗涤，有机相干燥后浓缩得到粗产品 (S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-((S)-2-氧代吡咯烷-3-基)丙酸 (350 mg) 直接用于下一步反应。

15

LCMS:  $m/z = 295.2$   $[M+Na]^+$ ;  $R_t = 0.761$  min。

步骤 2：化合物 PE-7-d 的制备

将化合物甲磺酸艾日布林 (10 mg, 1.0eq, 购买于皓元) 和 (S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-((S)-2-氧代吡咯烷-3-基)丙酸 (3.73 mg, 1.0eq) 溶解于 DMF (2 mL) 中，加入 DIPEA (6.79  $\mu$ L, 3.0 eq) 和 HATU (6.77 mg, 1.3eq) 后于 25°C 下搅拌反应 16 小时，LCMS 检测显示原料反应完全。后处理，将反应液过滤，滤液通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈，水的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 得到白色固体化合物 PE-7-d (10 mg, 收率 74%)。

25

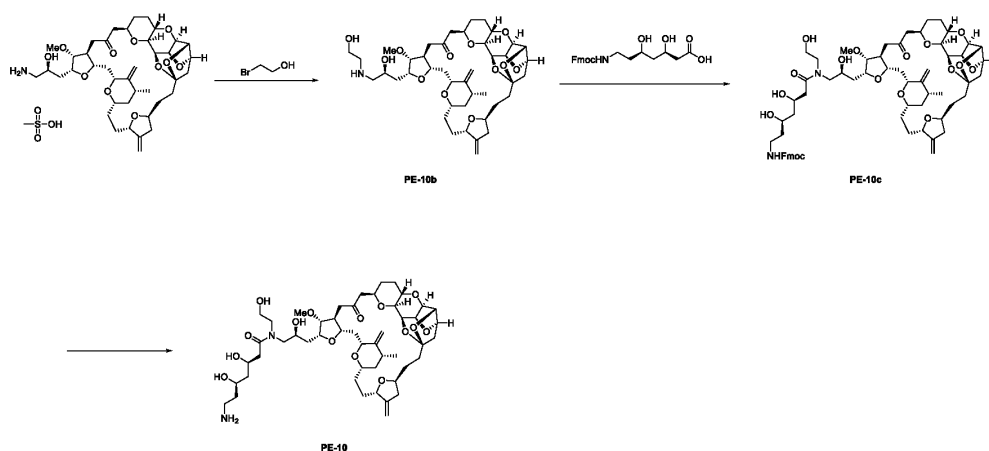
LCMS:  $m/z = 984.5$   $[M+H]^+$ ;  $R_t = 2.040$  min。

## 步骤3: 化合物 PE-7 的制备

将化合物 PE-7-d (10 mg, 1.0eq) 溶解于无水二氯甲烷 (2 mL) 中, 冰浴冷却下加入三氟乙酸 (280 $\mu$ L) 后自然升温至 25 $^{\circ}$ C 搅拌反应 16 小时。LCMS 检测显示原料反应完全, 后处理将反应液浓缩至干, 剩余物用 DMF 溶解后通过高效液相色谱制备(制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250 $\times$ 50mm $\times$ 10 $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH)-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 得到白色固体化合物 PE-7 (5.68 mg, 收率 79%)。LCMS:  $m/z$  = 884.5 [M+H] $^{+}$ ;  $R_t$  = 2.040 min。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.05 (t,  $J$  = 5.9 Hz, 1H), 7.66 (s, 2H), 6.20 (d,  $J$  = 3.0 Hz, 1H), 5.95 (d,  $J$  = 3.0 Hz, 1H), 4.97-4.83 (m, 3H), 4.81 (s, 2H), 4.75 (s, 3H), 4.67-4.63 (m, 2H), 4.32 (dd,  $J$  = 19.2, 7.8 Hz, 3H), 4.06 (q,  $J$  = 6.8, 6.3 Hz, 1H), 4.01 (d,  $J$  = 3.0 Hz, 1H), 3.88-3.75 (m, 3H), 3.70 (dd,  $J$  = 8.4, 3.9 Hz, 3H), 3.61 (d,  $J$  = 4.6 Hz, 1H), 3.21 (s, 4H), 3.17-3.07 (m, 4H), 2.98 (dd,  $J$  = 9.3, 2.1 Hz, 1H), 2.76 (dt,  $J$  = 14.5, 5.7 Hz, 3H), 2.35 (s, 1H), 2.31-2.16 (m, 3H), 2.13 (td,  $J$  = 15.9, 15.4, 6.8 Hz, 1H), 1.96 (dd,  $J$  = 5.8, 3.1 Hz, 1H), 1.96-1.89 (m, 1H), 1.89-1.81 (m, 2H), 1.76 (dt,  $J$  = 8.4, 4.2 Hz, 2H), 1.74-1.66 (m, 7H), 1.69-1.61 (m, 1H), 1.60 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 3H), 1.59-1.43 (m, 1H), 1.42 (dd,  $J$  = 11.1, 5.1 Hz, 2H), 1.31 (s, 2H), 1.04 (d,  $J$  = 6.3 Hz, 4H), 0.94 (q,  $J$  = 12.0 Hz, 1H)。

## 制备例 8: 化合物 PE-10 的制备



## 步骤1: 化合物 PE-10b 的制备

向艾日布林甲磺酸盐 (10 mg, 12.1  $\mu$ mol, 1 eq) 和溴乙醇 (2.27 mg, 18.2  $\mu$ mol, 1.5 eq) 的  $N,N$ -二甲基甲酰胺 (1.5 mL) 溶液中加入碳酸钾 (5.02 mg, 36.3  $\mu$ mol, 3 eq), 并置于 25 $^{\circ}$ C 油浴中保温 4 小时, LCMS 显示产物生成。过滤后使用高效液相色谱制备(制备色谱厂家 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH)-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 20% 到 50% 洗脱) 得到 PE-10b (7.8 mg, 收率 73.5%)。LCMS (ESI):  $m/z$ , 774[M+H] $^{+}$ 。

## 步骤 2: 化合物 PE-10c 的制备

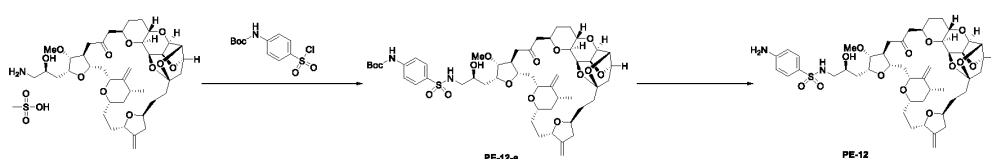
向化合物 PE-10b (7.8 mg, 10.08  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 (3R, 5R) -7- ( ( ( (9H-  
 芴-9-基) 甲氧基) 羰基) 氨基) -3,5-二羟基庚酸 (4.83 mg, 12.09  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq,  
 该中间体的合成步骤参考 PE-1 的制备例) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (2 mL) 溶液中加入  
 5 *N,N,N',N'*-四甲基-O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)六氟磷酸脲 (5.75 mg, 15.12  $\mu\text{mol}$ ,  
 1.5 eq) 和 *N,N*-二异丙基乙胺 (3.33  $\mu\text{L}$ , 20.16  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 并置于室温下搅拌 2  
 小时, LCMS 显示原料反应完全, 油泵拉干得粗品 (22.5 mg, 粗品不计产率)。  
 LCMS (ESI):  $m/z$ , 1155[M+H]<sup>+</sup>。

## 步骤 3: 化合物 PE-10 的制备

10 向化合物 PE-10c (22.5 mg, 纯度 51.7%, 10.08  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 *N,N*-二甲基甲  
 酰胺 (2 mL) 溶液中加入 1,8-二偶氮杂双螺环[5.4.0]十一-7-烯 (4.5  $\mu\text{L}$ , 30.24  $\mu\text{mol}$ ,  
 3 eq), 并置于室温下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全, 过滤后使用高效液  
 相色谱制备 (制备色谱厂家 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。色谱柱为  
 GS-120-10-C18AP。流动相水 (0.225% HCOOH) -乙腈, 乙腈的洗脱比例从 20%到  
 15 50%洗脱) 得白色固体化合物 PE-10 (7.8 mg, 收率 73.5%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 933[M+H]<sup>+</sup>。 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.42 (s, 1H),  
 7.81 (s, 1H), 5.06 (s, 1H), 5.00 (s, 1H), 4.84 (s, 1H), 4.76 (s, 1H), 4.64 (s, 1H), 4.56 (t,  
 $J$  = 4.2 Hz, 1H), 4.26 (d,  $J$  = 10.4 Hz, 1H), 4.19 (d,  $J$  = 13.2 Hz, 1H), 4.10 (d,  $J$  = 4.8 Hz,  
 3H), 4.06-3.93 (m, 2H), 3.85-3.64 (m, 5H), 3.51 (s, 6H), 3.27 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 8H), 3.06  
 20 (s, 2H), 2.87-2.70 (m, 5H), 2.58 (d,  $J$  = 16.2 Hz, 1H), 2.34 (s, 1H), 2.24 (dd,  $J$  = 16.8,  
 9.8 Hz, 5H), 2.14 (d,  $J$  = 12.0 Hz, 2H), 2.06-1.96 (m, 2H), 1.93 (s, 4H), 1.67 (t,  $J$  = 12.2  
 Hz, 6H), 1.50 (s, 6H), 1.35 (d,  $J$  = 18.2 Hz, 3H), 1.26-1.12 (m, 2H), 1.04 (d,  $J$  = 6.4 Hz,  
 3H)。

## 25 制备例 9: 化合物 PE-12 的制备



## 步骤 1: 化合物 PE-12-a 的制备

冰浴下向艾日布林甲磺酸盐 (5 mg, 6.05  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的二氯甲烷 (1 mL)  
 溶液中加入 *N,N*-二异丙基乙胺 (1.5  $\mu\text{L}$ , 9.08  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq) 和 *N*-BOC 对氨基苯  
 30 磺酰氯 (1.94 mg, 6.66  $\mu\text{mol}$ , 1.1 eq)。并置于室温下搅拌 2 小时, LCMS 显示  
 原料反应完全。油泵浓缩得粗品 PE-12-a (13 mg, 粗品不计产率, 理论质量为 9.6  
 mg)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1007[M+Na]<sup>+</sup>。

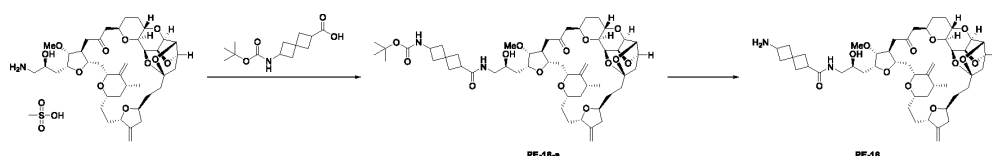
## 步骤 2: 化合物 PE-12 的制备

冰浴下向化合物 PE-12-a (7.68 mg, 4.84  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的二氯甲烷 (1 mL) 溶液中加入三氟乙酸 (0.1 mL), 并置于室温下搅拌 2 小时。LCMS 显示原料反应完全, 将反应液浓缩后, 用 *N,N*-二甲基甲酰胺溶解后过滤, 滤液通过高效液相色谱 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Synergi Max-RP 250 $\times$ 40mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% $\text{HCOOH}$ )-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱) 得白色固体化合物 PE-12 (0.52 mg, 收率 12.14%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 907 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

### 制备例 10: 化合物 PE-16 的制备

10



#### 步骤 1: 化合物 PE-16-a 的制备

冰浴下, 向化合物艾日布林甲磺酸盐 (5 mg, 6.05  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和化合物 6-((叔丁氧羰基)氨基)螺[3.3]庚烷-2-羧酸 (1.85 mg, 7.26  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (1 mL) 溶液中加入 *N,N*-二异丙基乙胺 (2  $\mu\text{L}$ , 12.11  $\mu\text{mol}$ , 2 eq) 和 *N,N,N',N'*-四甲基-O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)六氟磷酸脲 (2.76 mg, 7.26  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 置于室温下搅拌 2 小时, LCMS 显示原料反应完全。通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 150 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% $\text{HCOOH}$ )-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 40%到 70%洗脱) 得白色固体产物 PE-16-a (4.60 mg, 收率 78.5%)。

20 LCMS (ESI):  $m/z$ , 967 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

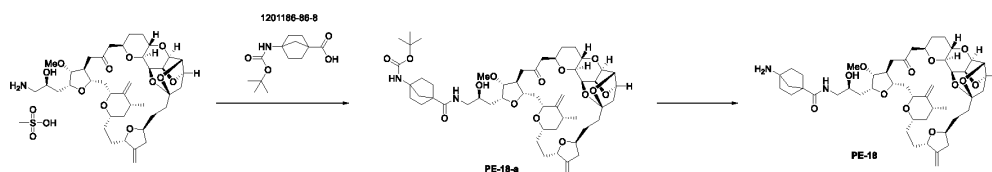
#### 步骤 2: 化合物 PE-16 的制备

冰浴下向化合物 PE-16-a (4.60 mg, 4.76  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的二氯甲烷 (1 mL) 溶液中加入三氟乙酸 (0.1 mL), 而后置于室温下搅拌 2 小时, LCMS 显示原料反应完全, 油泵浓缩后, 残余物通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% $\text{HCOOH}$ )-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱) 得到白色固体产物 PE-16 (1.66 mg, 收率 39.3%)。

25 LCMS (ESI):  $m/z$ , 867 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

### 制备例 11: 化合物 PE-18 的制备

30



## 步骤 1: 化合物的 PE-18-a 的制备

室温下向艾日布林甲磺酸盐 (10 mg, 12.11  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (1 mL) 溶液中依次加入 N,N-二异丙基乙胺 (4.69 mg, 6  $\mu\text{L}$ , 36.32  $\mu\text{mol}$ , 3 eq), 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (5.52 mg, 14.53  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 和 4-((叔丁氧羰基)氨基)双环[2.2.1]庚烷-1-羧酸 (2.55 mg, 10  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 20°C 下搅拌 3 小时。LCMS 显示原料反应完全, 反应液经过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860(R1, 4, 5, 6, 7)。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250 $\times$ 50mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 冻干后得到白色固体产物 PE-18-a (6 mg, 6.20  $\mu\text{mol}$ , 收率 51%)。

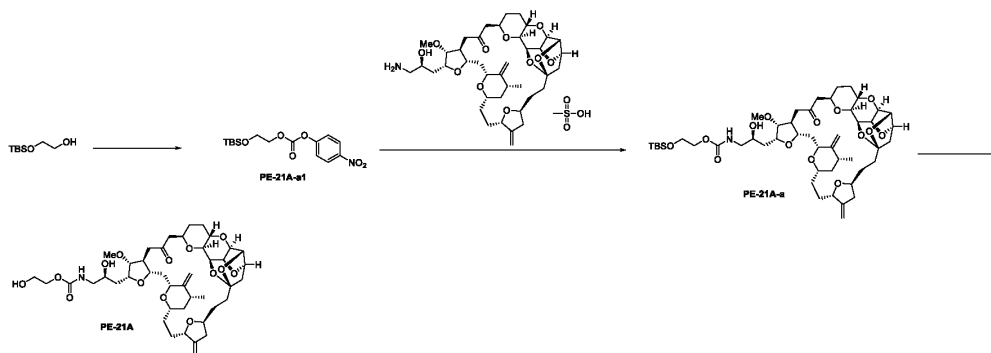
LCMS (ESI): m/z, 967.6[M+H]<sup>+</sup>。

## 步骤 2: 化合物 PE-18 的制备

室温下将 PE-18-a (6 mg, 6.20  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 加入到二氯甲烷 (1 mL) 和三氟乙酸 (0.1 mL) 中, 20°C 下搅拌 1 小时。LCMS 显示反应完全。反应液经过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860 色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250 $\times$ 50mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 冻干后得到白色固体产物 PE-18 (3.09 mg, 3.38  $\mu\text{mol}$ , 收率 55%)。

LCMS (ESI): m/z, 867.6[M+H]<sup>+</sup>。

## 制备例 12: 化合物 PE-21A 的制备



## 步骤 1: 化合物 2-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]乙基 4-硝基苯基碳酸酯的制备

向化合物叔丁基二甲基羟乙氧基硅烷 (3 g, 17.01 mmol, 1 eq) 和化合物二(对硝基苯)碳酸酯 (10.35 g, 6.90 mL, 34.03 mmol, 2 eq) 的 DMF (20 mL) 溶液中, 加入 DIPEA (6.60 g, 8.44 mL, 51.04 mmol, 3 eq), 将反应液置于 25°C 反应 15 小时, LCMS 显示原料反应完全, 用二氯甲烷 (10 mL $\times$ 3) 萃取, 合并有机相用水 (20 mL $\times$ 2)、饱和食盐水 (10 mL) 洗涤, 再用无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩。残余物通过硅胶柱层析谱法 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯 5:1) 纯化, 得到黄色油

状化合物 2-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]乙基 4-硝基苯基碳酸酯 (4.52g, 收率 77.73%)。LCMS (ESI):  $m/z$ , 342[M+H]<sup>+</sup>。

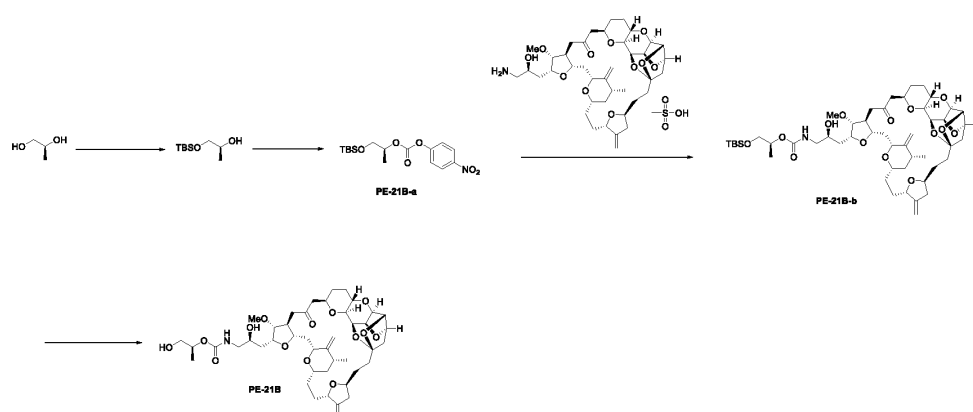
#### 步骤 2: 化合物 PE-21A-a 的制备

0°C下, 向 2-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]乙基 (4-硝基苯基) 碳酸酯 (2.25 mg, 6.58 μmol, 1.2 eq) 和甲磺酸艾日布林 (4 mg, 5.48 μmol, 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (N,N-二异丙基乙胺, 1.42 mg, 1.81 μL, 10.96 μmol, 2 eq), 25°C 反应 15 小时后, TLC 显示原料消失, 旋干直接用于下一步, 棕色油状化合物 PE-21A-a (5.11 mg, 粗品不计产率), LCMS (ESI):  $m/z$ , 945[M+H]<sup>+</sup>。

#### 步骤 3: 化合物 PE-21A 的制备

0°C下, 向 PE-21A-a (5.11 mg, 5.48 μmol, 1 eq) 的 DCM (二氯甲烷, 800 μL) 溶液中加入 TFA (625 μg, 80 μL, 5.48 μmol, 1 eq), 0°C~25°C 反应 2 小时, LCMS 显示原料消失, 使用高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×30mm×10μm。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物 PE-21A (600 μg, 收率 13.38%, 纯度 100%), LCMS (ESI):  $m/z$ , 840[M+Na]<sup>+</sup>。

### 制备例 13: 化合物 PE-21B 的制备



步骤 1: 化合物 (S) -1-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]丙-2-醇的制备  
0°C下向化合物 (S) -丙烷-1,2-二醇 (1 g, 13.14 mmol, 1 eq) 的 DCM (10 mL) 的溶液中加入 TBSCl (叔丁基二甲基氯硅烷, 2.18 g, 2.50 mL, 14.46 mmol, 1.1 eq) 和咪唑 (894.73 mg, 813.39 μL, 13.14 mmol, 1 eq), 加毕, 25°C 反应 16 小时, 反应液倒入冰的碳酸氢钠水溶液中 (60 mL), 然后搅拌 2 分钟, 用二氯甲烷萃取 (60 mL × 3), 有机相合并用食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得到无色油状化合物 (S) -1-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]丙-2-醇 (2.30 g, 收率 91.94%)。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 3.82-3.78 (m, 1H), 3.59-3.56 (m, 1H),

3.36-3.31 (m, 1H), 2.52 (brs, 1H), 1.11 (d,  $J = 8.0$  Hz, 3H), 0.90 (s, 9H), 0.06 (s, 6H)。

步骤 2: 化合物 PE-21B-a 的制备

0°C下向(S)-1-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙-2-醇(761.40 mg, 4 mmol, 1 eq)的DMF(10 mL)溶液中, 加二(对硝基苯)碳酸酯(2.43 g, 1.62 mL, 8 mmol, 2 eq)和DIPEA(1.55 g, 1.98 mL, 12 mmol, 3 eq)。反应液在25°C下反应16小时。LCMS显示新化合物生成。反应液旋干得到残留物, 残余物通过硅胶柱层析色谱法(洗脱剂: 乙酸乙酯/正己烷 1:30 到 1:15)纯化, 得到浅黄色油状物 PE-21B-a (900 mg, 收率 63.30%)。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.32 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.51 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 4.88-4.86 (m, 1H), 3.78-3.66 (m, 2H), 1.28 (d,  $J = 8.0$  Hz, 3H), 0.86 (s, 9H), 0.06 (s, 6H)。

步骤 3: 化合物 PE-21B-b 的制备

0°C下向化合物 PE-21B-a (2.43 mg, 6.85  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (1mL) 溶液中, 加入艾日布林甲磺酸盐 (5.66 mg, 6.85  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 DIPEA (2.66 mg, 3.40  $\mu\text{L}$ , 20.55  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和 HOBt (1-羟基苯并三唑, 925.61  $\mu\text{g}$ , 6.85  $\mu\text{mol}$ , 1 eq)。反应液在25°C下反应1小时。LCMS显示反应完全, 反应液浓缩, 即得黄色油状物粗产品 PE-21B-b (7 mg, 粗品)。

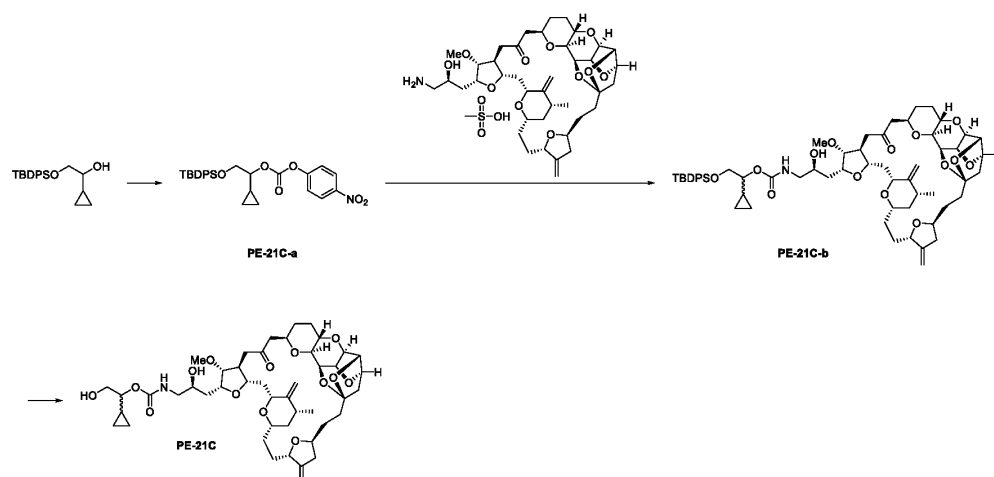
LCMS (ESI):  $m/z$ , 968.7  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,  $R_t = 2.46$  min。

步骤 4: 化合物 PE-21B 的制备

室温下向化合物 PE-21B-b (6.48 mg, 6.85  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DCM (1mL) 溶液中, 加入三氟乙酸 (0.1mL)。反应液在25°C下反应1小时。LCMS显示反应完全, 反应液浓缩, 残余物通过高效液相色谱制备(制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30-60% 洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体 PE-21B (360  $\mu\text{g}$ , 收率 6.32%, 纯度 96.6%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 854.5  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,  $R_t = 2.153$  min。HPLC:  $R_t = 5.683$  min。

制备例 14: 化合物 PE-21C 的制备



### 步骤 1: 化合物 PE-21C-a 的制备

向化合物 2-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)-1-环丙基乙烷-1-醇 (500 mg, 1.47 mmol, 1 eq, 该化合物的合成请参考 LA-31B 的实施例) 的 DMF (20 mL) 溶液中, 加入化合物 NPC (对硝基氯甲酸苯酯, 2.68 g, 8.81 mmol, 6 eq) 和 DIPEA (1.14 g, 8.81 mmol, 6 eq), 反应液在室温下搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完成。反应液减压旋干, 向混合物中加入 DCM (50mL) 和水 (100mL), 该混合物用 DCM 萃取 3 次, 每次 50mL, 合并有机相用饱和食盐水 (100mL) 洗, 使用无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 过滤后旋干。残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 乙酸乙酯/石油醚 0:1 到 1:5) 纯化得到无色油状产物 PE-21C-a (426 mg, 收率 57.38%)。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.29-8.25 (m, 2H), 7.72-7.68 (m, 4H), 7.46-7.37 (m, 6H), 7.36-7.31 (m, 2H), 4.34-4.27 (m, 1H), 3.91 (d, *J* = 5.6 Hz, 2H), 1.09-1.05 (m, 10H), 0.64-0.49 (m, 3H), 0.29-0.21 (m, 1H)。

### 步骤 2: 化合物 PE-21C-b 的制备

向化合物艾日布林甲磺酸盐 (10 mg, 12.11 μmol, 1 eq) 和 PE-21C-a (7.35 mg, 14.53 μmol, 1.2 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中, 加入化合物 DIPEA (4.69 mg, 36.32 μmol, 3 eq) 和 HOBt (1.64 mg, 12.11 μmol, 1 eq), 反应液在室温下搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完成。反应液减压旋干得到无色油状产物 PE-21C-b (13.27 mg, 粗品不计收率)。LCMS (ESI): *m/z*, 1118.8[M+Na]<sup>+</sup>, *R*<sub>t</sub>=3.950min。

### 步骤 3: 化合物 PE-21C 的制备

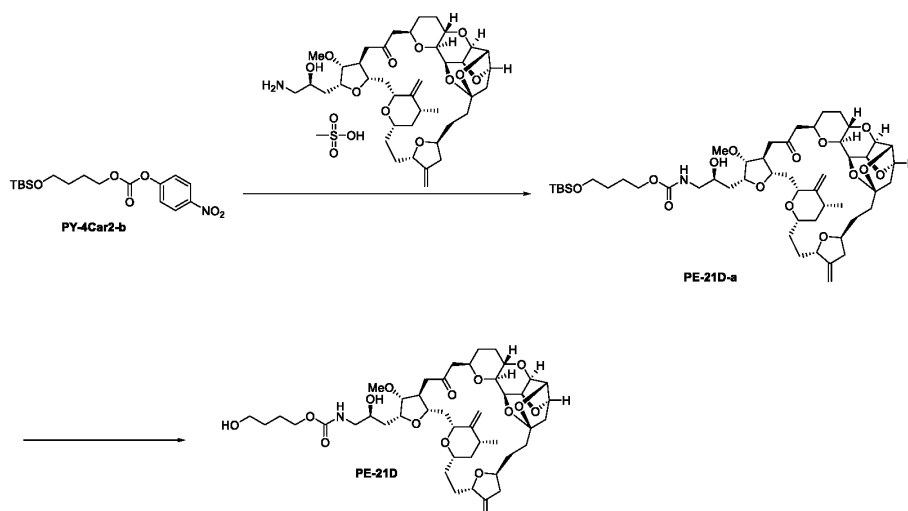
0°C 下向化合物 PE-21C-b (12.52 mg, 粗品) 的 DMF (2 mL) 溶液加入三乙胺三氢氟酸盐 (0.04 mL), 反应液在 65°C 搅拌 2.5 小时, LCMS 显示原料反应完全。混合物通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BR1X-2860-R6。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×30mm×10μm。流动相水 (0.225% HCOOH)-乙腈, 水的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 得到白色固体 PE-21C (4.2 mg, 收率 42.87%), LCMS (ESI): *m/z*, 880.7[M+Na]<sup>+</sup>, *R*<sub>t</sub>=1.985min。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 6.93-6.79 (m, 1H), 5.10-4.96 (m, 2H), 4.87-4.49



(m, 5H), 4.33-3.98 (m, 6H), 3.86-3.64 (m, 3H), 3.57-3.42 (m, 4H), 3.26 (s, 6H), 3.02-2.54 (m, 7H), 2.35-1.82 (m, 12H), 1.78-0.86 (m, 17H), 0.51-0.18 (m, 4H)。

### 制备例 15: 化合物 PE-21D 的制备



5

#### 步骤 1: 化合物 PE-21D-a 的制备

向化合物艾日布林甲磺酸盐 (10 mg, 12.11  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 PY-4Car2-b (5.82 mg, 15.74  $\mu\text{mol}$ , 1.3 eq) 的 THF (20 mL) 溶液中, 加入化合物 DIPEA (4.69 mg, 36.32  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和 HOBT (1.64 mg, 12.11  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 反应液在室温下搅拌 2.5 小时。LCMS 显示反应完成。反应液减压旋干得到无色油状产物 PE-21D-a (11.60 mg, 粗品不计收率)。LCMS (ESI):  $m/z$ , 960.9[M+H]<sup>+</sup>,  $R_t$ =1.128min。

10

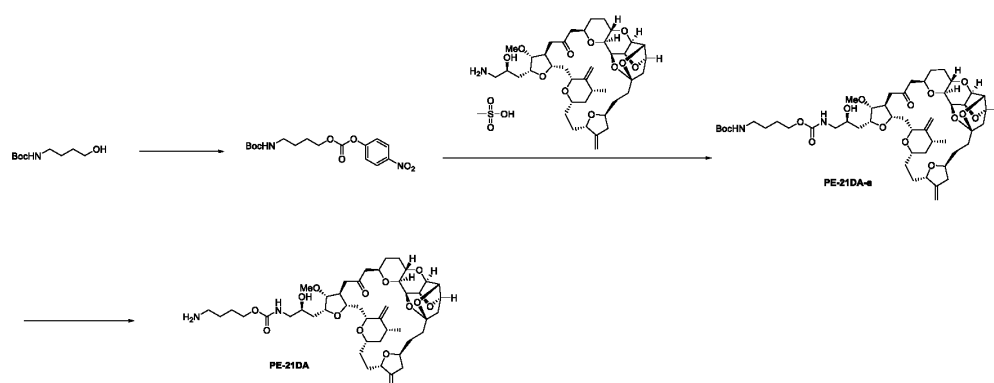
#### 步骤 2: 化合物 PE-21D 的制备

0°C 下向化合物 PE-21D-a (11.60 mg, 粗品) 的 DCM (2 mL) 溶液加入 TFA (0.4 mL), 反应液在室温下搅拌 2 小时, LCMS 显示原料反应完全。反应液减压旋干, 混合物通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 200×30mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH)-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 得到白色固体 PE-21D (1.40 mg, 收率 13.70%), LCMS (ESI):  $m/z$ , 808.4[M+H]<sup>+</sup>,  $R_t$ =2.128min。

15

### 制备例 16: 化合物 PE-21DA 的制备

20



步骤 1: 化合物 1-[[ (4-[[ (叔丁氧基) 羰基] 氨基] 丁氧基羰基] 氧基]-4-硝基苯的制备

向化合物 4-(Boc-氨基)-1-丁醇 (100 mg, 528.40  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DMF (5 mL) 溶液中加入双 (4-硝基苯基) 碳酸酯 (642.98 mg, 428.65  $\mu$ L, 2.11 mmol, 4 eq) 和 DIPEA (409.74 mg, 523.97  $\mu$ L, 3.17 mmol, 6 eq), 33°C 反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 残留物通过硅胶柱层析色谱法 (C18, ISCO, R-120g SepaFlash Silica Flash Column, Eluent of 10-60% water/CH<sub>3</sub>CN, 60 mL/min) 纯化, 得到白色固体化合物 1-[[ (4-[[ (叔丁氧基) 羰基] 氨基] 丁氧基羰基] 氧基]-4-硝基苯 (131 mg, 收率 69.96%)。

LCMS (ESI): m/z, 255[M-100+H]<sup>+</sup>。 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  8.29 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H), 7.39 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H), 4.58 (s, 1H), 4.31 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 3.19 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H), 1.79 (dt, *J* = 8.8, 6.6 Hz, 2H), 1.66 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 1.45 (s, 9H)。

步骤 2: 化合物 PE-21DA-a 的制备

0°C 下, 向 1-[[ (4-[[ (叔丁氧基) 羰基] 氨基] 丁氧基羰基] 氧基]-4-硝基苯 (9.71 mg, 27.40  $\mu$ mol, 2 eq) 和甲磺酸艾日布林 (10 mg, 13.70  $\mu$ mol, 1 eq) 的 THF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (5.31 mg, 6.79  $\mu$ L, 41.10  $\mu$ mol, 3 eq) 和 HOBt (1.85 mg, 1.23  $\mu$ L, 13.70  $\mu$ mol, 1 eq), 35°C 反应 1 小时后, LCMS 显示原料消失, 旋干直接用于下一步。LCMS (ESI): m/z, 945[M+H]<sup>+</sup>。

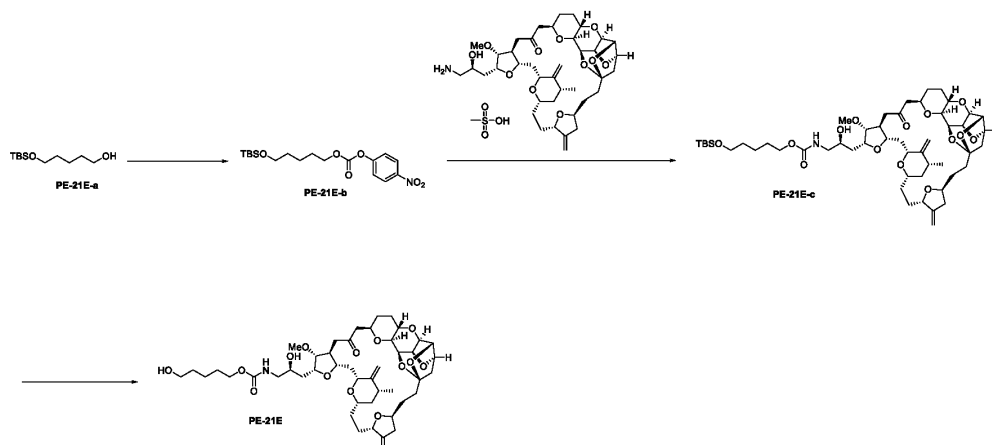
步骤 3: 化合物 PE-21DA 的制备

0°C 下, 向 PE-21DA-a (12.95 mg, 13.70  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DCM (1 mL) 溶液中加入 TFA (614 mg, 400  $\mu$ L, 5.39 mmol, 393.0275 eq), 0°C 反应 90 分钟, LCMS 显示原料消失, 反应液旋干得到粗品, 粗品通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 150×25mm×10 $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 20% 到 50% 洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 PE-21DA (4 mg, 收率 34.55%, 纯度 95%)。

LCMS (ESI): m/z, 845 [M+H]<sup>+</sup>。 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.42 (s, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.20 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H), 5.95 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H), 4.95 (s, 1H), 4.87 (s, 1H), 4.81 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.65 (s, 1H), 4.36-4.27 (m, 2H), 4.07-3.99 (m, 2H), 3.93

(t,  $J = 6.4$  Hz, 2H), 3.84-3.77 (m, 2H), 3.70 (s, 3H), 3.60 (d,  $J = 4.1$  Hz, 3H), 3.52 (s, 5H), 3.21 (s, 5H), 3.02-2.91 (m, 4H), 2.78 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 2.72 (q,  $J = 7.6, 6.7$  Hz, 3H), 2.67 (q,  $J = 1.9$  Hz, 1H), 2.33 (dt,  $J = 3.8, 1.9$  Hz, 2H), 2.11 (dd,  $J = 15.8, 7.4$  Hz, 1H), 1.90 (dd,  $J = 35.4, 11.5$  Hz, 3H), 1.77-1.67 (m, 4H), 1.66-1.45 (m, 8H), 1.31 (t,  $J = 9.1$  Hz, 2H), 1.04 (d,  $J = 6.4$  Hz, 3H).

### 制备例 17: 化合物 PE-21E 的制备



#### 步骤 1: 5-[ (叔丁基二甲基甲硅烷基) 氧基]-戊基-4-硝基苯基碳酸酯的制备

5-(叔丁基二甲基硅烷)-1-戊醇 (218.41 mg, 1 mmol, 1 eq) 溶于 DMF (3 mL), 然后加二 (对硝基苯) 碳酸酯 (912.63 mg, 608.42  $\mu$ L, 3 mmol, 3 eq) 和 DIPEA (387.72 mg, 495.81  $\mu$ L, 3 mmol, 3 eq)。反应液在 35°C 下反应 3 小时。LCMS 显示新化合物生成。反应液加水 (50 mL) 稀释, 二氯甲烷萃取 (50 mL  $\times$  3)。合并有机相, 水 (100 mL) 洗涤, 硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩。残余物通过硅胶柱层析色谱法 (PE/EA (石油醚/乙酸乙酯) = 93%/7%) 纯化, 得到浅黄色油状物 5-[ (叔丁基二甲基甲硅烷基) 氧基]-戊基-4-硝基苯基碳酸酯 (330 mg, 收率 86.05%)。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.39-8.25 (m, 2H), 7.60-7.45 (m, 2H), 4.24 (t,  $J = 6.4$  Hz, 2H), 3.58 (t,  $J = 6.4$  Hz, 2H), 1.77-1.59 (m, 2H), 1.60-1.45 (m, 2H), 1.46-1.33 (m, 2H), 0.85 (s, 9H), 0.02 (s, 6H)。

#### 步骤 2: 化合物 PE-21E-c 的制备

5-[ (叔丁基二甲基甲硅烷基) 氧基]-戊基-4-硝基苯基碳酸酯 (5.57 mg, 14.53  $\mu$ mol, 2 eq) 溶于 THF (500  $\mu$ L), 冷却至 0°C, 然后加艾日布林甲磺酸盐 (6 mg, 7.26  $\mu$ mol, 1 eq) 和 DIPEA (2.82 mg, 3.60  $\mu$ L, 21.79  $\mu$ mol, 3 eq)。反应液在 25°C 下反应 36 小时。LCMS 显示反应完全, 反应液浓缩, 即得黄色油状物粗产品 PE-21E-c (8 mg)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 974.6  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,  $R_t = 3.83$  min。

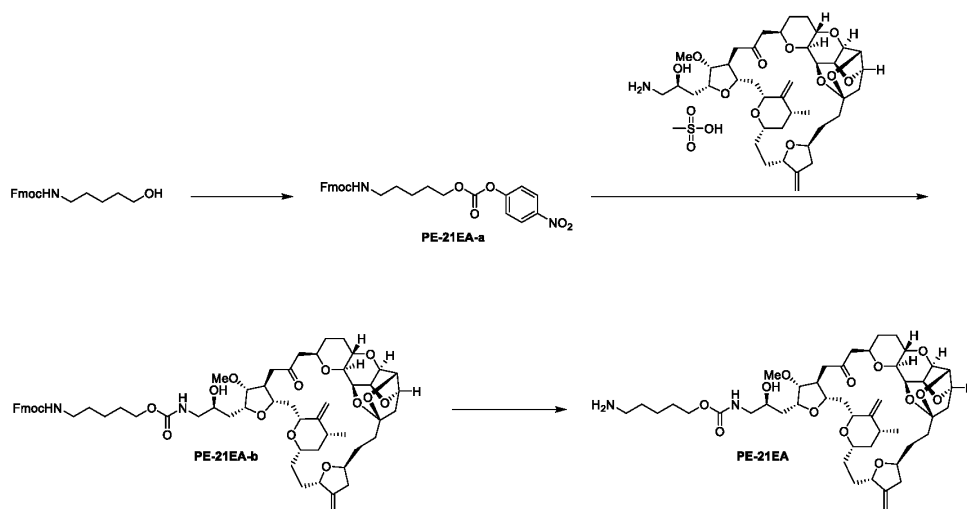
#### 步骤 3: 化合物 PE-21E 的制备

PE-21E-c (8 mg, 8.21  $\mu$ mol, 1 eq) 溶于 DCM (500  $\mu$ L), 冷却至 0°C, 然后

加 TFA (153.50 mg, 100  $\mu$ L)。反应液在 0 $^{\circ}$ C 下反应 30 分钟。LCMS 显示反应完全，反应液浓缩，残余物通过高效液相色谱制备（制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu$ m。流动相水（0.225% $\text{HCOOH}$ ）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 30-60%洗脱）得到白色固体 PE-21E

LCMS (ESI):  $m/z$ , 882.6  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,  $R_t = 2.208$  min。

### 制备例 18: 化合物 PE-21EA 的制备



#### 步骤 1: 化合物 PE-21EA-a 的制备

向化合物(9H-芴-9-基)甲基(5-羟基戊基)氨基甲酸酯(895 mg, 2.75 mmol, 1 eq)的 DMF (10 mL) 溶液中加入二(对硝基苯)碳酸酯 (2.59 g, 8.25 mmol, 3 eq) 和 DIPEA (2.15 g, 16.51 mmol, 6 eq)，反应液在 25 $^{\circ}$ C 下搅拌 1 小时。LCMS 显示有产物生成。反应液浓缩后通过硅胶柱层析色谱法（洗脱剂：石油醚：乙酸乙酯=0: 100~40:60）和硅胶柱层析色谱法（C18, ISCO, R-220g SepaFlash Silica Flash Column, 洗脱溶剂为水/ $\text{CH}_3\text{CN}$ , 乙腈的洗脱比例为 5-80%，流速 80 mL/min）纯化得到白色固体 PE-21EA-a (1.07 g, 收率 79.29%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 491.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

#### 步骤 2: 化合物 PE-21EA-b 的制备

0 $^{\circ}$ C 下向化合物甲磺酸艾日布林 (45 mg, 54.48  $\mu$ mol, 1 eq) 和 DIPEA (21.34 mg, 163.44  $\mu$ mol, 3 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入化合物 PE-21EA-a (32.07 mg, 65.37  $\mu$ mol, 1.2 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液，加毕反应液在 25 $^{\circ}$ C 下搅拌 1 小时。LCMS 显示反应完全。反应液过滤后通过高效液相色谱制备（制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 BRIX-2860，色谱柱为 Synergi Max-RP 200 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu$ m，流动相水（0.225%FA）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 50%到 80%洗脱）和硅胶柱层析色谱法（洗脱剂：二氯甲烷：四氢呋喃=0: 100~30: 70）得到白色固体 PE-21EA-b (56.10 mg,

收率 95.23%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1103.8[M+Na]<sup>+</sup>。

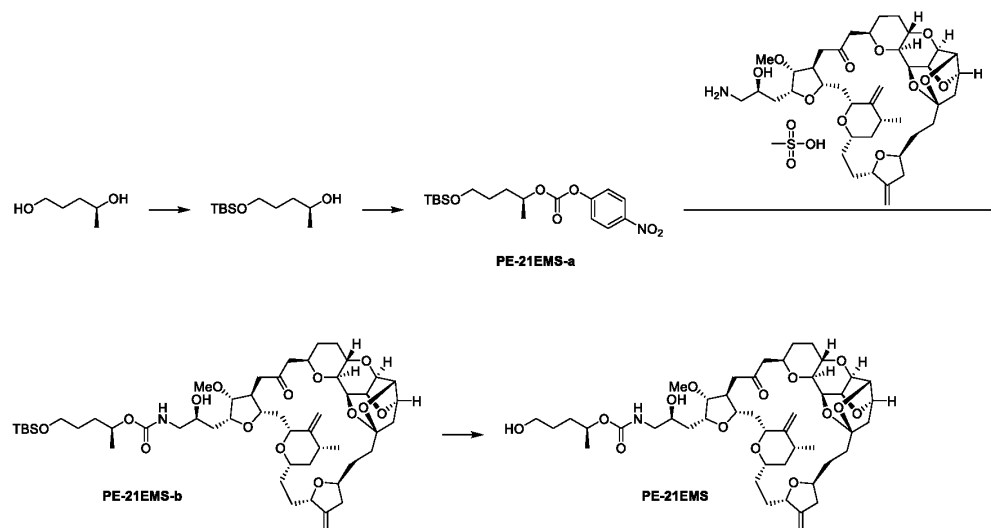
步骤 3: 化合物 PE-21EA 的制备

0°C下向化合物 PE-21EA-b (42 mg, 38.84  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (3 mL) 溶液  
5 中加入二乙胺 (29 mg, 388.42  $\mu\text{mol}$ , 10 eq), 反应液在 25°C下搅拌 1 小时。LCMS  
显示原料反应完全。反应液过滤后通过高效液相色谱(制备色谱厂家橙达 Oriendo,  
型号 BRIX-2860, 色谱柱为 Synergi Max-RP 200×30mm×10 $\mu\text{m}$ , 流动相水  
(0.225%FA) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 20%到 50%洗脱) 纯化得到白色固体  
PE-21EA (26.06 mg, 收率 78.1%, 纯度 95%)。

10 LCMS (ESI):  $m/z$ , 859.6[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.42 (s, 1H), 6.94 (t,  $J$  = 5.9 Hz, 1H), 5.05 (s,  
1H), 4.99 (s, 1H), 4.83 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.63 (d,  $J$  = 3.9 Hz, 1H), 4.55 (t,  $J$  = 4.2 Hz,  
1H), 4.26 (d,  $J$  = 10.9 Hz, 1H), 4.18 (dd,  $J$  = 10.3, 4.2 Hz, 1H), 4.09 (d,  $J$  = 5.0 Hz, 2H),  
4.02 (t,  $J$  = 9.6 Hz, 1H), 3.91 (t,  $J$  = 6.6 Hz, 2H), 3.80 (s, 1H), 3.77 – 3.73 (m, 1H), 3.70  
15 (s, 1H), 3.56 (s, 2H), 3.49 (d,  $J$  = 10.7 Hz, 5H), 3.25 (s, 4H), 2.94 (t,  $J$  = 6.0 Hz, 2H),  
2.84 (d,  $J$  = 9.6 Hz, 1H), 2.79 – 2.73 (m, 1H), 2.69 (q,  $J$  = 6.5, 5.6 Hz, 3H), 2.60 – 2.54  
(m, 1H), 2.34 – 2.30 (m, 1H), 2.24 (t,  $J$  = 14.7 Hz, 3H), 2.14 (d,  $J$  = 12.0 Hz, 1H), 2.04  
– 1.95 (m, 2H), 1.91 (d,  $J$  = 9.0 Hz, 4H), 1.71 (d,  $J$  = 11.4 Hz, 2H), 1.65 (d,  $J$  = 12.6 Hz,  
2H), 1.50 (dd,  $J$  = 14.7, 7.5 Hz, 5H), 1.35 – 1.30 (m, 3H), 1.26 (d,  $J$  = 12.9 Hz, 2H),  
20 1.19 – 1.12 (m, 1H), 1.03 (d,  $J$  = 6.6 Hz, 3H), 0.94 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 1H), 0.86 (d,  $J$  = 6.9  
Hz, 1H), 0.84 – 0.80 (m, 2H)。

### 制备例 19: 化合物 PE-21EMS 的制备



25 步骤 1: 化合物 (S) -叔丁基二甲硅氧基-2-甲基丁醇的制备

0°C下向化合物 (4S)-1,4-戊二醇 (100 mg, 960.15  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DCM (2 mL)  
溶液中, 加入化合物咪唑 (65.37 mg, 960.15  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和叔丁基二甲氯硅烷

(159.19 mg, 1.06 mmol, 1.1 eq), 反应液在室温下搅拌过夜。TLC 显示反应完成。向混合物中加入 DCM (10mL) 和水 (20mL), 该混合物用 DCM 萃取 3 次, 每次 DCM (20mL), 合并有机相用饱和食盐水 (10mL) 洗, 使用无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥, 过滤后旋干得到无色油状产物 (S)-叔丁基二甲硅氧基-2-甲基丁醇 (131 mg, 5 收率 62.47%)。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 3.93-3.58 (m, 3H), 1.59-1.42 (m, 4H), 1.30-1.09 (m, 3H), 0.95-0.86 (m, 10H), 0.11-0.05 (m, 6H)。

#### 步骤 2: 化合物 PE-21EMS-a 的制备

向化合物 (S)-叔丁基二甲硅氧基-2-甲基丁醇 (131 mg, 599.79  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 10 的 DMF (2 mL) 溶液中, 加入化合物 NPC (547.39 mg, 1.80 mmol, 3 eq) 和 DIPEA (465.10 mg, 594.76  $\mu\text{L}$ , 3.60 mmol, 6 eq), 反应液在 35°C 下搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完成。反应液减压旋干, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 乙酸乙酯/石油醚 0:1 到 1:20 纯化) 得到无色油状产物 PE-21EMS-a (112 mg, 收率 48.69%)。

15  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.29 (d,  $J = 9.2$  Hz, 2H), 7.42-7.36 (m, 2H), 5.03 – 4.89 (m, 1H), 3.74-3.60 (m, 2H), 1.85-1.58 (m, 4H), 1.45-1.33 (m, 3H), 0.95-0.86 (m, 9H), 0.10-0.02 (m, 6H)。

#### 步骤 3: 化合物 PE-21EMS-b 的制备

向化合物艾日布林甲磺酸盐 (10 mg, 12.11  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 PE-21EMS-a (5.57 20 mg, 14.53  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中, 加入化合物 DIPEA (4.69 mg, 36.32  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和 HOBt (1.64 mg, 12.11  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 反应液在室温下搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完成。反应液减压旋干得到无色油状产物 PE-21EMS-b (11.80 mg, 粗品不计收率)。LCMS (ESI):  $m/z$ , 1014.6 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,  $R_t=2.968\text{min}$ 。

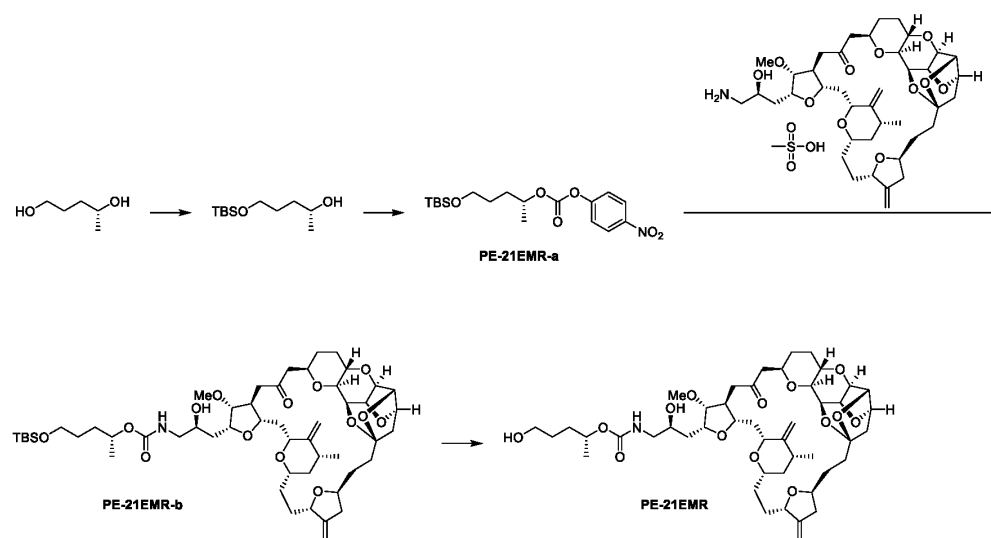
#### 步骤 4: 化合物 PE-21EMS 的制备

25 向化合物 PE-21EMS-b (11.4 mg, 粗品) 的 DMF (2 mL) 溶液加入三乙胺三氢氟酸盐 (0.1 mL), 反应液在 65°C 搅拌 2.5 小时, LCMS 显示原料反应完全。混合物通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860-R6。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225%  $\text{HCOOH}$ ) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 得到白色固体 PE-21EMS (5.10 mg, 收 30 率 50.68%), LCMS (ESI):  $m/z$ , 860.6 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,  $R_t=2.038\text{min}$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  6.96-6.80 (m, 1H), 5.02 (d,  $J = 22.8$  Hz, 2H), 4.79 (d,  $J = 31.2$  Hz, 2H), 4.67-4.50 (m, 3H), 4.44-4.36 (m, 1H), 4.29-3.64 (m, 10H), 3.61-3.39 (m, 5H), 3.25 (s, 6H), 2.99-2.53 (m, 7H), 2.36-1.88 (m, 11H), 1.78-1.10 (m, 17H), 1.06-0.92 (m, 4H)。

35

#### 制备例 20: 化合物 PE-21EMR 的制备



### 步骤 1: 化合物 (R)-叔丁基二甲硅氧基-2-甲基丁醇的制备

0°C下向化合物 (4R)-1,4-戊二醇 (50 mg, 480.08  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DCM (2 mL) 溶液中, 加入化合物咪唑 (32.68 mg, 480.08  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和叔丁基二甲氯硅烷 (79.59 mg, 528.08  $\mu\text{mol}$ , 1.1 eq), 反应液在室温下搅拌过夜。TLC 显示反应完成。向混合物中加入 DCM (10mL) 和水 (20mL), 该混合物用 DCM 萃取 3 次, 每次 20mL, 合并有机相用饱和食盐水 (10mL) 洗, 使用无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥, 过滤后旋干得到无色油状产物 (R)-叔丁基二甲硅氧基-2-甲基丁醇 (84.40 mg, 收率 80.49%)。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 3.93-3.56 (m, 3H), 1.70-1.60 (m, 2H), 1.53-1.42 (m, 2H), 1.27-1.11 (m, 3H), 0.94-0.82 (m, 10H), 0.11 (s, 3H), 0.08 (s, 3H)。

### 步骤 2: 化合物 PE-21EMR-a 的制备

向化合物 (R)-叔丁基二甲硅氧基-2-甲基丁醇 (84.40 mg, 386.43  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中, 加入化合物 NPC (352.67 mg, 1.16 mmol, 3 eq) 和 DIPEA (299.65 mg, 2.32 mmol, 6 eq), 反应液在 35°C 下搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完成。反应液减压旋干, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 乙酸乙酯/石油醚 0:1 到 1:20 纯化) 得到无色油状产物 PE-21EMR-a (40 mg, 收率 26.99%)。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.31-8.26 (m, 2H), 7.42-7.37 (m, 2H), 4.98-4.89 (m, 1H), 3.69-3.62 (m, 2H), 1.80-1.59 (m, 4H), 1.45-1.38 (m, 3H), 0.93-0.87 (m, 9H), 0.07 (s, 6H)。

### 步骤 3: 化合物 PE-21EMR-b 的制备

向化合物艾日布林甲磺酸盐 (10 mg, 12.11  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 PE-21EMR-a (6 mg, 15.64  $\mu\text{mol}$ , 1.29 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中, 加入化合物 DIPEA (4.69 mg, 36.32  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和 HOBt (1.64 mg, 12.11  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 反应液在室温下搅拌 1 小时。LCMS 显示反应完成。反应液减压旋干得到无色油状产物 PE-21EMR-b (11.80 mg, 粗品不计收率)。LCMS (ESI):  $m/z$ , 1014.6 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

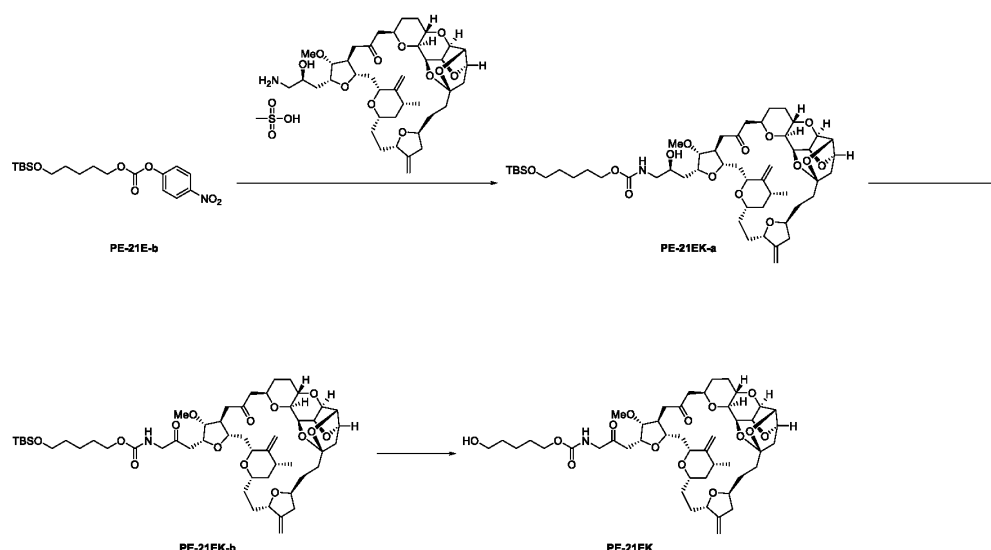
## 步骤 4: 化合物 PE-21EMR 的制备

向化合物 PE-21EMR-b (11.8 mg, 粗品) 的 DMF (2 mL) 溶液加入三乙胺三氢氟酸盐 (0.1 mL), 反应液在 60°C 搅拌 4 小时, LCMS 显示原料反应完全。混合物通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860-R6。

5 色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×30mm×10μm。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 得到白色固体 PE-21EMR (3.90 mg, 收率 37.44%), LCMS (ESI):  $m/z$ , 860.6[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 6.93-6.81 (m, 1H), 5.02 (d, *J* = 22.8 Hz, 2H), 4.79 (d, *J* = 31.6 Hz, 2H), 4.68-4.49 (m, 3H), 4.43-4.35 (m, 1H), 4.31-3.63 (m, 9H),  
10 3.62-3.37 (m, 6H), 3.30-3.23 (m, 6H), 2.96-2.55 (m, 7H), 2.35-1.89 (m, 11H), 1.77-1.08 (m, 17H), 1.07-0.92 (m, 4H)。

## 制备例 21: 化合物 PE-21EK 的制备



## 15 步骤 1: 化合物 PE-21EK-a 的制备

将化合物 5-[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]戊基 4-硝基苯基碳酸酯 (10 mg, 26.07 μmol, 1 eq, 该化合物的合成请参考 PE-21E 的制备例) 溶于 DMF (2 mL) 中, 加入艾日布林甲磺酸盐 (80 mg, 289.38 μmol, 1 eq) 和 DIPEA (10.11 mg, 99%, 12.93 μL, 78.22 μmol, 3 eq), HOBT (3.52 mg, 99.96%, 2.35 μL, 26.07  
20 μmol, 1 eq), 反应液在 25°C 下搅拌 2 小时。LCMS 显示有产物生成。反应液通过高效液相色谱制备, 得到白色固体产物 (15 mg, 收率 59.04%)。

高效液相色谱制备条件如下: 制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×30mm×10μm。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 65% 到 95% 洗脱。

25 LCMS (ESI):  $m/z$ , 974.7[M+H]<sup>+</sup>。



## 步骤 2: 化合物 PE-21EK-b 的制备

将化合物 PE-22EK-a (10 mg, 10.26  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DCM (3 mL) 溶液中, 0°C 下, 加入 DMP (26.12 mg, 98%, 19.18  $\mu\text{L}$ , 61.58  $\mu\text{mol}$ , 6 eq), 最后加入催化量的水 (50  $\mu\text{L}$ ), 25°C 下搅拌 12 小时。LCMS 显示反应完全。反应液旋干, 5 残留物溶于 DMF (1 mL), 通过高效液相色谱制备, 得到白色固体产物 (3 mg, 收率 30.06%)。

高效液相色谱制备条件如下:

制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×30mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH)-乙腈, 水的洗脱比例从 65% 到 95% 10 洗脱。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 972.54[M+H]<sup>+</sup>。

## 步骤 3: 化合物 PE-21EK 的制备

25°C 下, 向化合物 PE-21EK-b (3 mg, 3.09  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 THF (1 mL) 溶液中加入 Et<sub>3</sub>N·3HF (98.90 mg, 97%, 100  $\mu\text{L}$ , 595.08  $\mu\text{mol}$ , 192.8653 eq), 反应 15 液在 25°C 下搅拌 2 小时。LCMS 显示原料反应完全。反应液通过高效液相色谱纯化, 得白色固体产物 (1.32 mg, 收率 49.86%, 纯度 96%)。

高效液相色谱制备条件如下:

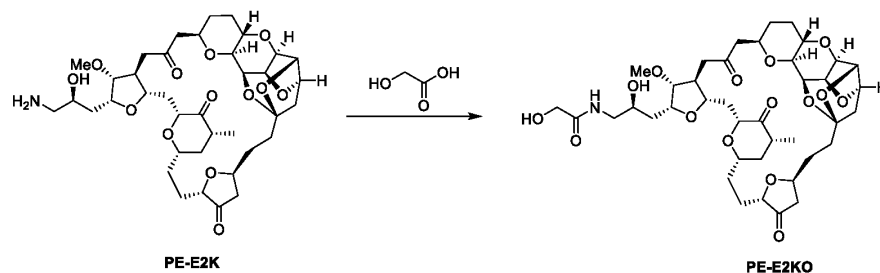
制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 150×30mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH)-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 20 60% 洗脱。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 880.4[M+Na]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  7.29 (t,  $J$  = 6.0 Hz, 1H), 5.04 (d,  $J$  = 11.1 Hz, 2H), 4.83 (s, 1H), 4.77-4.73 (m, 1H), 4.63 (d,  $J$  = 2.8 Hz, 1H), 4.55 (t,  $J$  = 4.2 Hz, 1H), 4.37 (t,  $J$  = 5.1 Hz, 1H), 4.26 (d,  $J$  = 10.8 Hz, 1H), 4.17 (td,  $J$  = 10.2, 4.2 Hz, 1H), 4.10 (t,  $J$  = 3.2 Hz, 2H), 4.06-3.98 (m, 2H), 3.93 (t,  $J$  = 6.7 Hz, 2H), 3.87-3.75 (m, 3H), 3.71 (s, 1H), 3.57-3.47 (m, 2H), 3.23 (s, 3H), 2.84 (d,  $J$  = 9.2 Hz, 1H), 2.82-2.72 (m, 2H), 2.71-2.65 (m, 2H), 2.60 (dd,  $J$  = 18.0, 8.0 Hz, 2H), 2.29 (q,  $J$  = 18.7, 17.8 Hz, 5H), 2.18-1.84 (m, 8H), 1.68 (q,  $J$  = 12.5 Hz, 4H), 1.58-1.38 (m, 6H), 1.38-1.15 (m, 6H), 1.00 (dd,  $J$  = 22.6, 9.1 Hz, 4H)。

30

## 制备例 22: 化合物 E2KO 的制备



## 步骤 1: 化合物 PE-E2KO 的制备

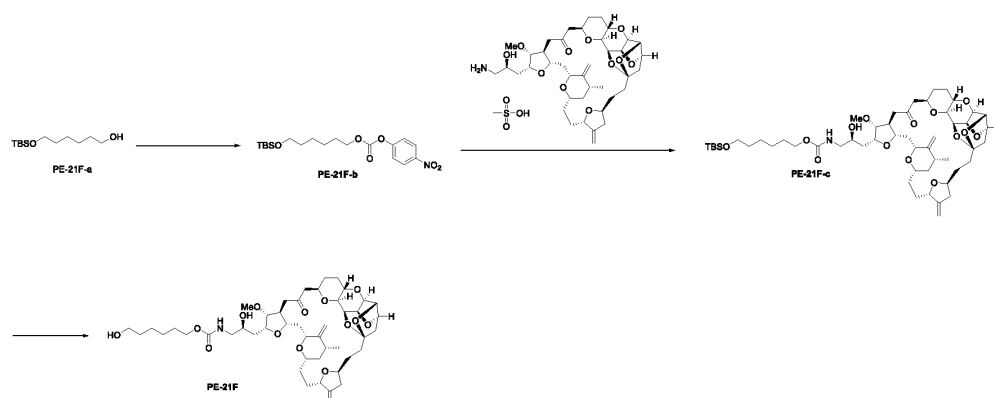
将化合物 PE-E2K (30 mg, 0.04 mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (2 mL), 室温下加入羟基乙酸 (7 mg, 0.08 mmol) 和 1-羟基苯并三唑 (16 mg, 0.12 mmol) 和 1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺 (23 mg, 0.12 mmol), 反应液在 30°C 下  
 5 搅拌 2 小时, 将反应溶液通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm。流动相水 (0.5%TFA)-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 12%到 42%洗脱), 洗脱液冻干后得到白色固体产物 PE-E2KO (8.1 mg, 24.7%)。

LCMS (ESI): m/z, 792.5 [M+H]<sup>+</sup>, Rt = 0.97 min。

10 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.51 (s, 1H), 4.64 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.56 (s, 1H), 4.39 (s, 1H), 4.11 (d, *J* = 1.6 Hz, 4H), 3.79 (s, 6H), 3.55 (d, *J* = 5.2 Hz, 3H), 3.27 (d, *J* = 3.2 Hz, 2H), 3.25 (s, 3H), 3.21 – 3.01 (m, 3H), 2.89 – 2.61 (m, 4H), 2.43 – 2.12 (m, 6H), 1.95 (d, *J* = 17.2 Hz, 5H), 1.71 – 1.43 (m, 9H), 1.23 (s, 4H), 0.94 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H)。

15

## 制备例 23: 化合物 PE-21F 的制备



## 步骤 1: 6-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)己基-4-硝基苯基碳酸酯的制备

6-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)己基-1-醇 (232.43 mg, 1 mmol, 1 eq)  
 20 溶于 DMF (3 mL), 然后加二(对硝基苯)碳酸酯 (912.63 mg, 608.42 μL, 3 mmol, 3 eq) 和 DIPEA (387.72 mg, 495.81 μL, 3 mmol, 3 eq)。反应液在 35°C 下反应 2 小时。LCMS 显示新化合物生成。反应液加水 (50 mL) 稀释, 二氯甲烷萃取 (50 mL × 3)。合并有机相, 盐水 (100 mL) 洗涤, 硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩。残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂比例: PE/EA = 95%/5%) 纯化, 得到黄色油状物  
 25 6-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)己基-4-硝基苯基碳酸酯 (370 mg, 收率 93.07%)。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.37-8.24 (m, 2H), 7.54 (dd, *J* = 9.2, 1.6 Hz, 2H), 4.23 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.56 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 1.67 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 1.46 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 1.34 (dt, *J* = 8.0, 4.8 Hz, 4H), 0.84 (d, *J* = 1.2 Hz, 9H), 0.01 (d, *J* = 1.2 Hz,

6H)。

步骤 2: 化合物 PE-21F-c 的制备

6-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)己基-4-硝基苯基碳酸酯 (9.63 mg, 24.21  $\mu\text{mol}$ , 2 eq) 溶于 THF (500  $\mu\text{L}$ ), 冷却至 0°C, 再加艾日布林甲磺酸盐 (10 mg, 12.11  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 DIPEA (4.69 mg, 6  $\mu\text{L}$ , 36.32  $\mu\text{mol}$ , 3 eq)。反应液在 25°C 下反应 16 小时。LCMS 显示反应完全。反应液浓缩, 得到粗品黄色油状物 PE-21F-c (12 mg)。

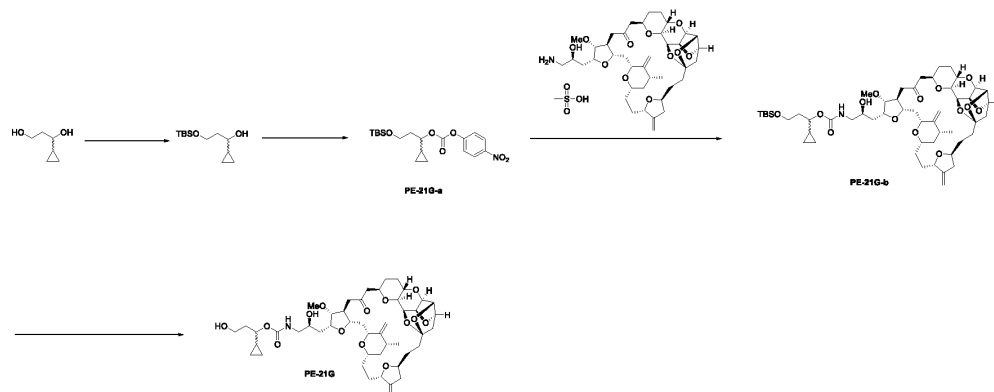
LCMS (ESI):  $m/z$ , 988.7  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,  $R_t = 3.93$  min。

步骤 3: 化合物 PE-21F 的制备

化合物 PE-21F-c (12 mg, 12.14  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DCM (500  $\mu\text{L}$ ), 冷却至 0°C, 然后加 TFA (153.50 mg, 100  $\mu\text{L}$ )。反应液在 0°C 下反应 30 分钟。LCMS 显示反应完全, 反应液浓缩, 残余物通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 40mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱), 得到白色固体 PE-21F (2.46 mg, 收率 23.18%, 纯度 100%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 874.6  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,  $R_t = 2.298$  min。

制备例 24: 化合物 PE-21G 的制备



步骤 1: 化合物 3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-1-环丙基丙-1-醇的制备

0°C 下向化合物 1-环丙基丙烷-1,3-二醇 (95 mg, 817.84  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DCM (8 毫升) 的溶液中加入 TBSCl (135.59 mg, 155.85  $\mu\text{L}$ , 899.62  $\mu\text{mol}$ , 1.1 eq) 和咪唑 (55.68 mg, 50.62  $\mu\text{L}$ , 817.84  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 加毕, 25°C 反应 16 小时, 核磁显示反应完成, 反应液倒入冰的碳酸氢钠水溶液中 (60 毫升), 然后搅拌 2 分钟, 用二氯甲烷萃取 (60 毫升  $\times$  3), 有机相合并用食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得到无水油状化合物 3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-1-环丙基丙-1-醇 (147 mg, 收率 78.01%)。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, Chloroform- $d$ )  $\delta$  3.96-3.87 (m, 1H), 3.80 (ddd,  $J = 10.1, 7.0,$

6.0 Hz, 1H), 3.11 (dt,  $J = 8.3, 5.8$  Hz, 1H), 1.85-1.78 (m, 2H), 0.89 (s, 9H), 0.89-0.86 (m, 1H), 0.57-0.41 (m, 2H), 0.41-0.33 (m, 1H), 0.21-0.13 (m, 1H), 0.07 (d,  $J = 2.9$  Hz, 6H).

步骤 2: 化合物 PE-21G-a 的制备

5        0°C下向 3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-1-环丙基丙-1-醇 (304 mg, 1.32 mmol, 1 eq) 的 DMF (10 mL) 溶液中, 加二(对硝基苯)碳酸酯 (1.61 g, 1.07 mL, 5.28 mmol, 4 eq) 和 DIPEA (1.02 g, 1.31 mL, 7.92 mmol, 6 eq)。反应液在 33°C 下反应 2 小时。LCMS 显示新化合物生成。反应液旋干得到残留物, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 乙酸乙酯/正己烷 1:30 到 1:20) 纯化, 得  
10        到浅黄色油状物 PE-21G-a (257 mg, 收率 49.25%)。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, Chloroform- $d$ )  $\delta$  8.29-8.26 (m, 2H), 7.41-7.36 (m, 2H), 4.38 (ddd,  $J = 9.3, 7.8, 5.1$  Hz, 1H), 3.81-3.69 (m, 2H), 2.11-1.92 (m, 2H), 1.18-1.06 (m, 1H), 0.88 (s, 9H), 0.67-0.55 (m, 3H), 0.40-0.31 (m, 1H), 0.05 (d,  $J = 1.1$  Hz, 6H)。二维谱进一步确定了该化合物的结构。

15        步骤 3: 化合物 PE-21G-b 的制备

0°C下向化合物 PE-21G-a (5.57 mg, 14.53  $\mu\text{mol}$ , 2 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中, 加入艾日布林甲磺酸盐 (10 mg, 12.11  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 DIPEA (4.69 mg, 6  $\mu\text{L}$ , 36.32  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和 HOBt (1.64 mg, 1.09  $\mu\text{L}$ , 12.11  $\mu\text{mol}$ , 1 eq)。反应液在 25°C 下反应 16 小时。LCMS 显示反应完全, 反应液浓缩, 即得黄色油状物粗产品  
20        PE-21G-b (12 mg, 粗品)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1008.6  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,  $R_t = 2.430$  min。

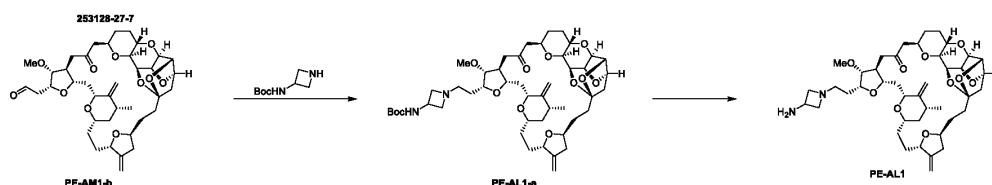
步骤 4: 化合物 PE-21G 的制备

室温下向化合物 PE-21G-b (12 mg, 12.17  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 THF (3 mL) 溶液中, 加入三乙胺三氢氟酸盐 (78.45 mg, 79.33  $\mu\text{L}$ , 486.65  $\mu\text{mol}$ , 40 eq)。反应液  
25        在 60°C 下反应 2 小时。LCMS 显示反应完全, 反应液浓缩, 残余物通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30-60%洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体 PE-21G (3.77 mg, 收率 35.53%, 纯度 95%)。

30        LCMS (ESI):  $m/z$ , 894.5  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,  $R_t = 2.168$  min。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  6.86 (t,  $J = 5.8$  Hz, 1H), 5.05 (s, 1H), 4.99 (s, 1H), 4.83 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.63 (dt,  $J = 4.3, 2.4$  Hz, 1H), 4.58-4.47 (m, 2H), 4.39 (td,  $J = 5.1, 3.3$  Hz, 1H), 4.26 (d,  $J = 10.9$  Hz, 1H), 4.22-4.05 (m, 5H), 4.02 (s, 1H), 3.84-3.65 (m, 3H), 3.59-3.42 (m, 5H), 3.26 (s, 4H), 3.01-2.89 (m, 2H), 2.84 (d,  $J = 9.8$   
35        Hz, 1H), 2.72 (td,  $J = 20.0, 18.2, 8.7$  Hz, 2H), 2.61-2.53 (m, 1H), 2.23 (tt,  $J = 29.1, 12.9$  Hz, 6H), 1.96 (d,  $J = 34.1$  Hz, 6H), 1.81-1.58 (m, 7H), 1.56-1.41 (m, 3H), 1.38-1.12 (m, 4H), 1.07-0.83 (m, 5H), 0.51-0.34 (m, 2H), 0.34-0.19 (m, 2H)。

## 制备例 25: 化合物 PE-AL1 的制备



## 步骤 1: 化合物 PE-AL1-a 的制备

- 5 向化合物 PE-AM1-b (该化合物的合成请参考 PE-AM1 的制备例) (16 mg, 22.89  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 3-N-叔丁氧羰基胺基环丁胺 (4.88 mg, 97%, 27.47  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 的 1,2-二氯乙烷 (1 mL) 溶液中加入醋酸 (2.76 mg, 99.5%, 2.64  $\mu\text{L}$ , 45.79  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 反应液在 25°C 下搅拌 20 分钟后加入三乙酰氧基硼氢化钠 (9.90 mg, 98%, 45.79  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 并置于 25°C 下搅拌 40 分钟, LCMS 显示反应完成, 反
- 10 应液加入水 (20 mL), 用乙酸乙酯 (10 mL $\times$ 3) 萃取, 合并有机相用饱和食盐水 (30 mL) 洗涤, 加入无水硫酸钠干燥, 减压下旋干得到白色固体化合物 PE-AL1-a (26 mg, 粗品)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 855.6 $[M+H]^+$ 。

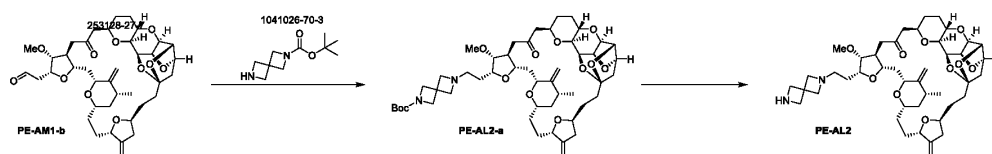
## 步骤 2: 化合物 PE-AL1 的制备

- 15 0°C 下向化合物 PE-AL1-a (19.58 mg, 22.90  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的二氯甲烷 (1 mL) 溶液中加入三氟乙酸 (0.2 mL), 并置于 0°C 下搅拌 1 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液浓缩后通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 150 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 PE-AL1
- 20 (0.93 mg, 收率 5.38%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 755.5 $[M+H]^+$ , 777.5 $[M+Na]^+$ 。

- $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  6.20 (d,  $J = 3.0$  Hz, 1H), 5.95 (d,  $J = 3.0$  Hz, 1H), 4.96-4.94 (m, 1H), 4.87 (s, 1H), 4.81 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.34 (d,  $J = 6.1$  Hz, 1H), 4.30 (d,  $J = 9.6$  Hz, 1H), 4.10-4.04 (m, 1H), 4.01 (d,  $J = 2.6$  Hz, 1H), 3.78 (dd,  $J = 9.7$ , 2.7 Hz, 1H), 3.68 (q,  $J = 4.7$ , 3.7 Hz, 3H), 3.59 (dd,  $J = 9.0$ , 4.6 Hz, 3H), 3.54-3.49 (m, 6H), 3.22 (s, 4H), 2.97 (d,  $J = 7.1$  Hz, 1H), 2.80-2.74 (m, 2H), 2.67-2.62 (m, 3H), 2.58-2.55 (m, 1H), 2.43 (d,  $J = 9.4$  Hz, 3H), 2.32 (d,  $J = 4.6$  Hz, 1H), 2.25 (t,  $J = 6.5$  Hz, 1H), 2.14-2.08 (m, 1H), 2.01-1.94 (m, 3H), 1.85 (dd,  $J = 11.9$ , 4.3 Hz, 1H), 1.70 (dd,  $J = 11.0$ , 6.4 Hz, 3H), 1.62 (dd,  $J = 10.4$ , 5.0 Hz, 2H), 1.53 (d,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 1.48-1.40
- 30 (m, 3H), 1.34-1.28 (m, 3H), 1.04 (d,  $J = 6.5$  Hz, 3H), 0.97-0.91 (m, 1H), 0.85 (t,  $J = 6.7$  Hz, 1H)。

## 制备例 26: 化合物 PE-AL2 的制备



#### 步骤 1: 化合物 PE-AL2-a 的制备

向化合物 PE-AM1-b (该化合物的合成请参考 PE-AM1 的制备例) (16 mg, 22.89  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 2,6-二氮杂螺[3.3]庚烷-2-甲酸叔丁酯 (4.78 mg, 95%, 22.89  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 1,2-二氯乙烷 (1 mL) 溶液中加入醋酸 (2.76 mg, 99.5%, 2.64  $\mu\text{L}$ , 45.79  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 反应液在 25°C 下搅拌 20 分钟后加入三乙酰氧基硼氢化钠 (9.90 mg, 98%, 45.79  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 并置于 25°C 下搅拌 40 分钟, LCMS 显示反应完成, 反应液加入水 (20 mL), 用乙酸乙酯 (10 mL $\times$ 3) 萃取, 合并有机相用饱和食盐水 (30 mL) 洗涤, 加入无水硫酸钠干燥, 减压下旋干得到白色固体化合物 PE-AL2-a (24 mg, 粗品)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 881.6 $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 903.6 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

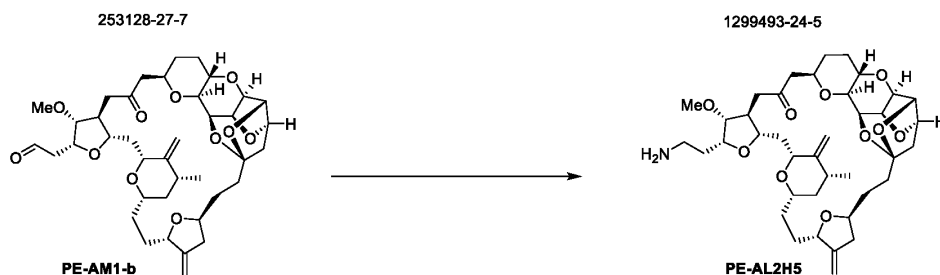
#### 步骤 2: 化合物 PE-AL2 制备

0°C 下向化合物 PE-AL2-a (20.17 mg, 22.89  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的二氯甲烷 (1 mL) 溶液中加入三氟乙酸 (0.2 mL), 并置于 25°C 下搅拌 1 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液浓缩后通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225%  $\text{HCOOH}$ ) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 PE-AL2 (2.32 mg, 收率 12.98%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 781.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 803.4 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  6.20 (d,  $J = 3.0$  Hz, 1H), 5.95 (d,  $J = 3.0$  Hz, 1H), 4.95 (d,  $J = 2.1$  Hz, 1H), 4.88-4.85 (m, 1H), 4.80 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.34 (d,  $J = 6.3$  Hz, 1H), 4.29 (d,  $J = 9.7$  Hz, 1H), 4.06 (t,  $J = 6.6$  Hz, 1H), 4.00 (t,  $J = 2.5$  Hz, 1H), 3.87 (d,  $J = 9.7$  Hz, 4H), 3.78 (dd,  $J = 9.7$ , 2.7 Hz, 1H), 3.68 (dd,  $J = 9.8$ , 5.9 Hz, 4H), 3.57 (dt,  $J = 9.3$ , 5.0 Hz, 6H), 3.21 (s, 5H), 3.00-2.95 (m, 2H), 2.80-2.73 (m, 2H), 2.66 (dt,  $J = 6.8$ , 1.9 Hz, 1H), 2.63-2.57 (m, 2H), 2.56-2.54 (m, 1H), 2.44 (d,  $J = 3.4$  Hz, 1H), 2.33 (ddd,  $J = 7.8$ , 5.6, 3.7 Hz, 3H), 2.24 (t,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 2.14-2.08 (m, 1H), 1.97-1.90 (m, 2H), 1.85 (dd,  $J = 12.0$ , 3.9 Hz, 1H), 1.71 (ddd,  $J = 14.0$ , 10.3, 6.5 Hz, 4H), 1.65-1.57 (m, 3H), 1.52-1.47 (m, 2H), 1.45-1.39 (m, 2H), 1.34-1.27 (m, 2H), 1.04 (d,  $J = 6.5$  Hz, 3H), 0.98-0.90 (m, 1H)。

#### 制备例 27: 化合物 PE-AL2H5 的制备

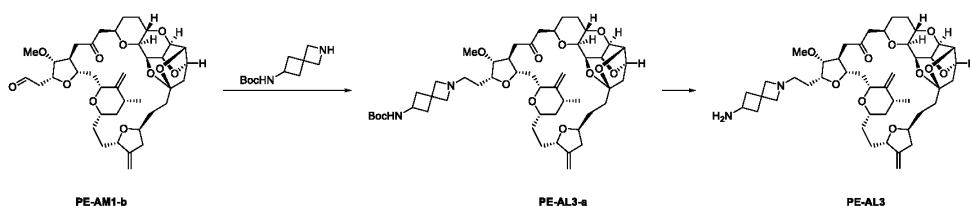


向化合物 PE-AM1-b (该化合物的合成请参考 PE-AM1 的制备例) (16 mg, 22.89  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和氨水 (3.85 mg, 25%, 27.47  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 的 1,2-二氯乙烷 (1 mL) 溶液中加入醋酸 (2.76 mg, 99.5%, 2.64  $\mu\text{L}$ , 45.79  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 反应液在 25°C 下搅拌 20 分钟后加入三乙酰氧基硼氢化钠 (9.90 mg, 98%, 45.79  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 并置于 25°C 下搅拌 40 分钟, LCMS 显示反应完成, 反应液浓缩后通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×30mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 PE-AL2H5 (0.42 mg, 收率 2.62%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 700.2[M+H]<sup>+</sup>, 722.2[M+Na]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  5.06 (s, 1H), 4.98 (s, 1H), 4.83 (s, 1H), 4.76 (s, 1H), 4.63 (dt,  $J$  = 4.6, 2.4 Hz, 1H), 4.55 (t,  $J$  = 4.2 Hz, 1H), 4.26 (d,  $J$  = 10.8 Hz, 1H), 4.18 (dd,  $J$  = 10.5, 4.0 Hz, 1H), 4.10 (d,  $J$  = 4.8 Hz, 3H), 4.02 (s, 1H), 3.80 (t,  $J$  = 10.1 Hz, 1H), 3.74-3.67 (m, 2H), 3.48 (s, 5H), 3.27 (s, 2H), 3.26 (s, 1H), 2.84 (dd,  $J$  = 9.5, 1.9 Hz, 1H), 2.74 (q,  $J$  = 7.8, 6.9 Hz, 2H), 2.67 (h,  $J$  = 2.3, 1.9 Hz, 1H), 2.60-2.54 (m, 1H), 2.36-2.06 (m, 6H), 2.04-1.97 (m, 1H), 1.96-1.87 (m, 3H), 1.86-1.76 (m, 1H), 1.76-1.61 (m, 4H), 1.56-1.43 (m, 2H), 1.33 (dd,  $J$  = 29.9, 18.2 Hz, 3H), 1.23 (s, 2H), 1.22-1.05 (m, 2H), 1.03 (d,  $J$  = 6.5 Hz, 2H), 1.00-0.93 (m, 1H), 0.89-0.80 (m, 2H)。

## 制备例 28: 化合物 PE-AL3 的制备



### 步骤 1: 化合物 PE-AL3-a 的制备

向化合物 PE-AM1-b (16mg, 粗品, 其合成参考 PE-AM1 的制备例) 和 *N*-2-氮杂螺[3.3]庚-6-基氨基甲酸叔丁酯 (5.01 mg, 22.89  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DCE (二氯乙烷, 1 mL) 溶液中加入醋酸 (2.76 mg, 45.79  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 反应液在室温下搅拌 20 分钟。向反应液中加入三乙酰氧基硼氢化钠 (9.90 mg, 45.79  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 反应液在室温下搅拌 40 分钟。LCMS 显示反应完成。向混合物中加入 DCM (10mL) 和水 (20mL), 该混合物用 DCM 萃取 3 次, 每次 20mL, 合并有机相用饱和食盐

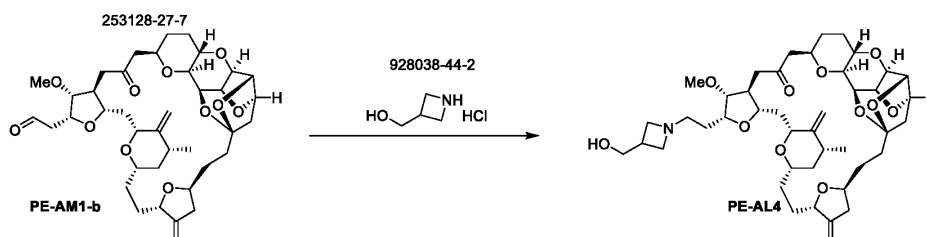
水 (10 mL) 洗, 使用无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥, 过滤后旋干得到无色油状产物 PE-AL3-a (20.59 mg, 粗品不计收率), LCMS (ESI):  $m/z$ , 895.6 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

#### 步骤 2: 化合物 PE-AL3 的制备

0°C 向化合物 PE-AL3-a (20.49 mg, 粗品) 的 DCM (2 mL) 溶液加入 TFA (0.4 mL), 反应液在室温下搅拌半小时, LCMS 显示原料反应完全。混合物减压旋干得到粗品, 粗品通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860-R6。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×30mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% $\text{HCOOH}$ )-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 20% 到 50% 洗脱) 得到白色固体 PE-AL3 (2.70 mg, 收率 12.37%), LCMS (ESI):  $m/z$ , 795.6 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8.33 (s, 2H), 6.20 (d,  $J = 3.2$  Hz, 1H), 5.95 (d,  $J = 3.2$  Hz, 1H), 4.95 (s, 1H), 4.89-4.72 (m, 4H), 4.34 (d,  $J = 6.4$  Hz, 1H), 4.29 (d,  $J = 9.6$  Hz, 1H), 4.11-3.94 (m, 4H), 3.80-3.75 (m, 3H), 3.70 (d,  $J = 4.0$  Hz, 3H), 3.33 (d,  $J = 3.6$  Hz, 3H), 3.21 (s, 2H), 3.18 (s, 1H), 3.16-3.11 (m, 3H), 3.04 (d,  $J = 9.2$  Hz, 2H), 2.99-2.92 (m, 2H), 2.80-2.72 (m, 2H), 2.69-2.58 (m, 3H), 2.39-2.27 (m, 6H), 2.15-2.06 (m, 2H), 1.97-1.81 (m, 4H), 1.75-1.54 (m, 7H), 1.52-1.39 (m, 4H), 1.35-1.27 (m, 2H), 1.04 (d,  $J = 6.4$  Hz, 2H), 1.01-0.88 (m, 2H)。

#### 制备例 29: 化合物 PE-AL4 的制备



向化合物 PE-AM1-b (该化合物的合成请参考 PE-AM1 的制备例) (16 mg, 22.89  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 3-甲羟基氮杂环丁烷盐酸盐 (3.50 mg, 97%, 27.47  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 的 1,2-二氯乙烷 (1 mL) 溶液中加入醋酸 (2.76 mg, 99.5%, 2.64  $\mu\text{L}$ , 45.79  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 反应液在 25°C 下搅拌 20 分钟后加入三乙酰氧基硼氢化钠 (9.90 mg, 98%, 45.79  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 并置于 25°C 下搅拌 40 分钟, LCMS 显示反应完成, 反应液加入水 (20 mL), 用乙酸乙酯 (10 mL×3) 萃取, 合并有机相用饱和食盐水 (30 mL) 洗涤, 加入无水硫酸钠干燥, 减压下旋干得到粗品, 粗品通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 Synergi Max-RP 200×30mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% $\text{HCOOH}$ )-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 20% 到 50% 洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 PE-AL4 (0.59 mg, 收率 3.35%)。

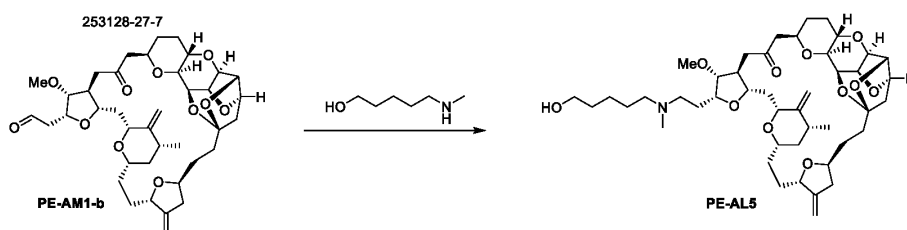
LCMS (ESI):  $m/z$ , 770.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  5.03 (dd,  $J = 18.1, 2.4$  Hz, 2H), 4.83 (s, 1H), 4.75 (d,  $J = 1.7$  Hz, 1H), 4.63 (dt,  $J = 4.4, 2.5$  Hz, 1H), 4.55 (t,  $J = 4.3$  Hz, 1H), 4.26 (d,  $J = 10.8$  Hz, 1H), 4.17 (td,  $J = 10.3, 4.2$  Hz, 1H), 4.10 (t,  $J = 3.1$  Hz, 2H), 4.03 (d,  $J =$



10.3 Hz, 1H), 3.80 (t,  $J = 10.4$  Hz, 1H), 3.67 (td,  $J = 6.6, 2.7$  Hz, 1H), 3.61 (td,  $J = 6.7, 3.3$  Hz, 1H), 3.55-3.49 (m, 2H), 3.45 (d,  $J = 6.7$  Hz, 2H), 3.26 (s, 3H), 3.22 (d,  $J = 3.5$  Hz, 1H), 3.15 (s, 2H), 2.85-2.76 (m, 3H), 2.75-2.65 (m, 2H), 2.60-2.52 (m, 1H), 2.42 (q,  $J = 6.8$  Hz, 2H), 2.35-2.31 (m, 3H), 2.27-2.22 (m, 2H), 2.19-2.09 (m, 2H), 2.04-1.97 (m, 2H), 1.92 (d,  $J = 2.9$  Hz, 3H), 1.70-1.62 (m, 3H), 1.54-1.44 (m, 4H), 1.35-1.27 (m, 3H), 1.24 (d,  $J = 3.3$  Hz, 3H), 1.20-1.13 (m, 1H), 1.03 (d,  $J = 6.5$  Hz, 3H), 1.00-0.93 (m, 1H), 0.85 (t,  $J = 6.7$  Hz, 1H)。

### 制备例 30: 化合物 PE-AL5 的制备



10

向化合物 PE-AM1-b (该化合物的合成请参考 PE-AM1 的制备例) (16 mg, 22.89  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 5-甲胺基戊醇 (3.39 mg, 95%, 27.47  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 的 1,2-二氯乙烷 (1 mL) 溶液中加入醋酸 (2.76 mg, 99.5%, 2.64  $\mu\text{L}$ , 45.79  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 反应液在 25°C 下搅拌 20 分钟后加入三乙酰氧基硼氢化钠 (9.90 mg, 98%, 45.79  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 并置于 25°C 下搅拌 40 分钟, LCMS 显示反应完成, 反应液浓缩后通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 Synergi Max-RP 200 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 20% 到 50% 洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 PE-AL5 (5.02 mg, 收率 26.86%)。

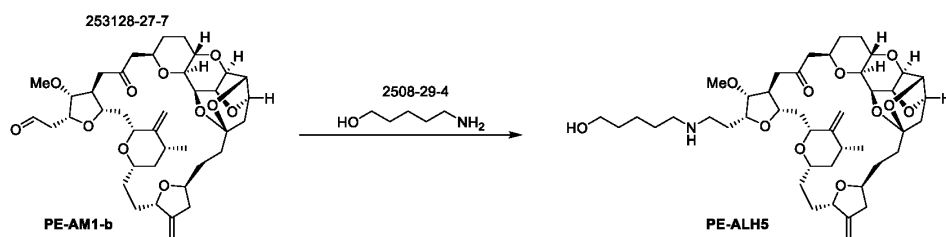
20

LCMS (ESI):  $m/z$ , 800.5 $[M+H]^+$ , 822.5 $[M+Na]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  5.02 (d,  $J = 23.5$  Hz, 2H), 4.83 (d,  $J = 6.3$  Hz, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.66-4.61 (m, 1H), 4.55 (t,  $J = 4.2$  Hz, 1H), 4.26 (d,  $J = 10.5$  Hz, 1H), 4.17 (td,  $J = 10.3, 4.1$  Hz, 1H), 4.10 (q,  $J = 4.2$  Hz, 3H), 4.03 (s, 1H), 3.80 (t,  $J = 10.8$  Hz, 1H), 3.67 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 3.64-3.59 (m, 1H), 3.55-3.47 (m, 3H), 3.27 (s, 4H), 3.24-3.22 (m, 2H), 3.19 (s, 1H), 2.84 (d,  $J = 9.6$  Hz, 1H), 2.78-2.67 (m, 2H), 2.60-2.54 (m, 1H), 2.38 (d,  $J = 6.4$  Hz, 1H), 2.34-2.22 (m, 7H), 2.17 (d,  $J = 11.9$  Hz, 1H), 2.11 (s, 3H), 2.05-1.95 (m, 2H), 1.92 (d,  $J = 3.0$  Hz, 3H), 1.84 (d,  $J = 14.3$  Hz, 1H), 1.67 (dt,  $J = 15.4, 6.3$  Hz, 5H), 1.57-1.45 (m, 2H), 1.39 (td,  $J = 13.2, 11.8, 6.6$  Hz, 5H), 1.33-1.12 (m, 6H), 1.03 (d,  $J = 6.4$  Hz, 3H), 1.01-0.84 (m, 1H)。

30

### 制备例 31: 化合物 PE-ALH5 的制备

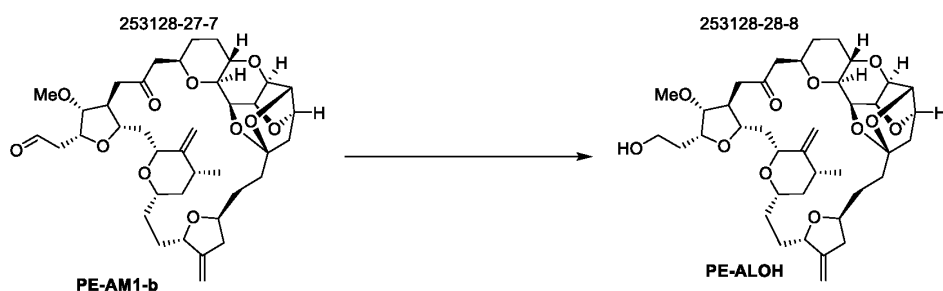


向化合物 PE-AM1-b (该化合物的合成请参考 PE-AM1 的制备例) (32 mg, 45.79  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 5-氨基-1-戊醇 (5.97 mg, 95%, 54.95  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 的 1,2-二氯乙烷 (2 mL) 溶液中加入醋酸 (5.53 mg, 99.5%, 5.27  $\mu\text{L}$ , 91.58  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 反应液在 25°C 下搅拌 20 分钟后加入三乙酰氧基硼氢化钠 (19.81 mg, 98%, 91.58  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 并置于 25°C 下搅拌 40 分钟, LCMS 显示反应完成, 反应液加入水 (20 mL), 用乙酸乙酯 (10 mL $\times$ 3) 萃取, 合并有机相用饱和食盐水 (30 mL) 洗涤, 加入无水硫酸钠干燥, 减压下旋干得到粗品, 粗品通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 20% 到 50% 洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 PE-ALH5 (2.37 mg, 收率 6.58%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 786.5 $[M+H]^+$ , 808.4 $[M+Na]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  5.02 (d,  $J = 24.8$  Hz, 2H), 4.83 (s, 1H), 4.76 (s, 1H), 4.63 (q,  $J = 3.2, 2.0$  Hz, 1H), 4.55 (t,  $J = 4.2$  Hz, 1H), 4.26 (d,  $J = 10.6$  Hz, 1H), 4.20-4.14 (m, 1H), 4.10 (d,  $J = 5.0$  Hz, 3H), 4.02 (s, 1H), 3.78 (d,  $J = 10.0$  Hz, 1H), 3.68 (s, 2H), 3.50 (t,  $J = 10.0$  Hz, 4H), 3.27 (s, 4H), 3.20 (s, 1H), 2.84 (d,  $J = 9.6$  Hz, 1H), 2.78-2.55 (m, 7H), 2.34-2.12 (m, 6H), 2.04-1.86 (m, 6H), 1.68 (dd,  $J = 27.8, 13.1$  Hz, 6H), 1.49-1.38 (m, 5H), 1.34-1.27 (m, 4H), 1.26-1.11 (m, 2H), 1.03 (d,  $J = 6.4$  Hz, 3H), 0.96 (t,  $J = 11.8$  Hz, 1H)。

### 制备例 32: 化合物 PE-ALOH 的制备



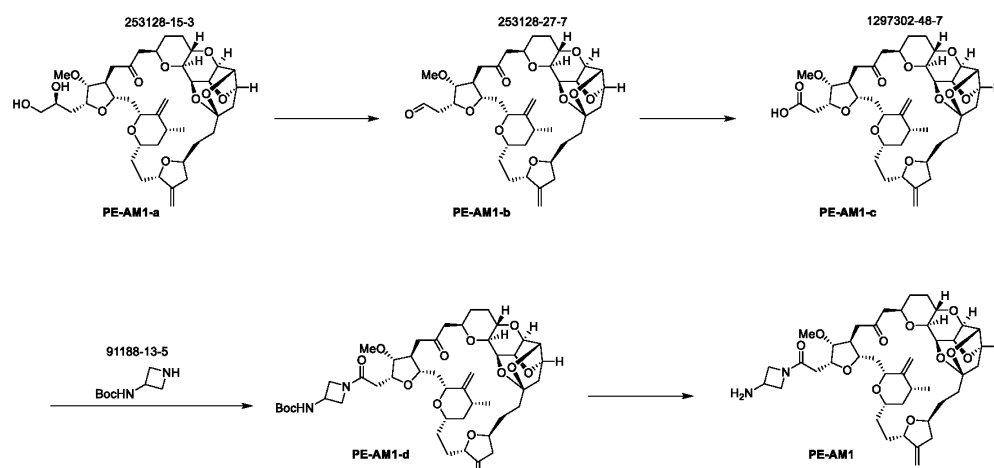
在 -78°C 下向化合物 PE-AM1-b (该化合物的合成请参考 PE-AM1 的制备例) (16 mg, 22.89  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的甲醇 (1 mL) 和二氯甲烷 (0.25 mL) 溶液中加入硼氢化钠 (883.78  $\mu\text{g}$ , 98%, 22.89  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 并置于 -78 到 25°C 下搅拌 1 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液浓缩后通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水

(0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 PE-ALOH (11.48 mg, 收率 71.54%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 723.4[M+Na]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  5.02 (d,  $J$  = 21.9 Hz, 2H), 4.84 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.63 (d,  $J$  = 3.2 Hz, 1H), 4.55 (t,  $J$  = 4.2 Hz, 1H), 4.41 (t,  $J$  = 5.3 Hz, 1H), 4.26 (d,  $J$  = 10.9 Hz, 1H), 4.17 (dt,  $J$  = 10.1, 5.0 Hz, 1H), 4.10 (t,  $J$  = 3.4 Hz, 3H), 4.02 (s, 1H), 3.80 (t,  $J$  = 10.5 Hz, 1H), 3.70 (t,  $J$  = 5.4 Hz, 2H), 3.55-3.49 (m, 1H), 3.48-3.36 (m, 3H), 3.26 (s, 2H), 3.23 (d,  $J$  = 3.4 Hz, 1H), 2.84 (d,  $J$  = 10.1 Hz, 1H), 2.73 (td,  $J$  = 19.1, 18.3, 7.5 Hz, 2H), 2.60-2.52 (m, 1H), 2.23 (ddd,  $J$  = 49.8, 24.5, 13.0 Hz, 6H), 1.96 (d,  $J$  = 33.1 Hz, 6H), 1.74-1.59 (m, 6H), 1.56-1.43 (m, 2H), 1.42-1.08 (m, 5H), 1.03 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 3H), 1.00-0.90 (m, 1H)。

### 制备例 33: 化合物 PE-AM1 的制备



#### 步骤 1: 化合物 PE-AM1-b 的制备

向化合物 PE-AM1-a (20 mg, 27.36  $\mu$ mol, 1 eq, 购买自皓元医药) 的四氢呋喃 (1 mL) 和水 (0.5 mL) 溶液中加入高碘酸钠 (11.76 mg, 99.5%, 3.04  $\mu$ L, 54.73  $\mu$ mol, 2 eq), 并置于 25°C 下搅拌 4 小时, LCMS 显示原料反应完全, 反应液加入水 (15 mL), 用乙酸乙酯 (10 mL $\times$ 3) 萃取, 合并有机相用饱和食盐水 (30 mL) 洗涤, 加入无水硫酸钠干燥, 减压下旋干得到白色固体化合物 PE-AM1-b (27 mg, 粗品)。LCMS (ESI):  $m/z$ , 721.5[M+Na]<sup>+</sup>。

#### 步骤 2: 化合物 PE-AM1-c 的制备

0°C 下向化合物 PE-AM1-b (19 mg, 27.19  $\mu$ mol, 1 eq) 和 2-甲基-2-丁烯 (21.29 mg, 90%, 32.10  $\mu$ L, 271.88  $\mu$ mol, 10 eq) 的叔丁醇 (1 mL) 溶液中加入亚氯酸钠 (18.44 mg, 80%, 7.38  $\mu$ L, 163.13  $\mu$ mol, 6 eq) 和磷酸二氢钠 (6.59 mg, 99%, 54.38  $\mu$ mol, 2 eq) 的水 (1 mL) 溶液, 加毕, 反应液在 25°C 下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全, 反应液加入水 (15 mL), 用乙酸乙酯 (10 mL $\times$ 3) 萃取, 合并有机相用饱和食盐水 (30 mL) 洗涤, 加入无水硫酸钠干燥, 减压下旋干得到白

色固体化合物 PE-AM1-c (24 mg, 粗品)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 715.4[M+H]<sup>+</sup>, 737.4[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 3: 化合物 PE-AM1-d 的制备

向化合物 PE-AM1-c (19.44 mg, 27.19  $\mu$ mol, 1 eq) 和 3-N-叔丁氧羰基胺基环  
 5 丁胺 (5.79 mg, 97%, 32.63  $\mu$ mol, 1.2 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA  
 (10.65 mg, 99%, 13.62  $\mu$ L, 81.58  $\mu$ mol, 3 eq) 和 HATU (15.99 mg, 97%, 40.79  
 $\mu$ mol, 1.5 eq), 并置于 25°C 下搅拌 1 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液加入水  
 (20 mL), 用乙酸乙酯 (10 mL $\times$ 3) 萃取, 合并有机相用饱和食盐水 (30 mL)  
 洗涤, 加入无水硫酸钠干燥, 减压下旋干得到黄色固体化合物 PE-AM1-d (36 mg,  
 10 粗品)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 869.6[M+H]<sup>+</sup>, 891.6[M+Na]<sup>+</sup>。

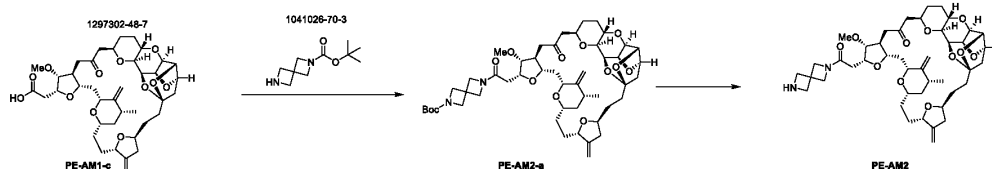
步骤 4: 化合物 PE-AM1 的制备

0°C 下向化合物 PE-AM1-d (23.60 mg, 27.16  $\mu$ mol, 1 eq) 的二氯甲烷 (1 mL)  
 溶液中加入三氟乙酸 (0.2 mL), 并置于 0°C 下搅拌 2 小时, LCMS 显示反应完成,  
 15 反应液浓缩后通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱  
 柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈,  
 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 PE-AM1  
 (2.41 mg, 收率 11.54%, 纯度 98.81%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 769.5[M+H]<sup>+</sup>, 791.5[M+Na]<sup>+</sup>。

20 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.33 (s, 1H), 6.19 (d,  $J$  = 3.0 Hz, 1H), 5.94 (d,  $J$   
 = 3.0 Hz, 1H), 4.94 (d,  $J$  = 2.2 Hz, 1H), 4.88-4.85 (m, 1H), 4.80 (s, 1H), 4.75 (s, 1H),  
 4.57 (s, 1H), 4.34 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 1H), 4.29 (d,  $J$  = 9.7 Hz, 1H), 4.22 (dd,  $J$  = 13.9, 6.6  
 Hz, 1H), 4.08-4.00 (m, 3H), 3.95 (dd,  $J$  = 9.7, 7.2 Hz, 1H), 3.77 (dd,  $J$  = 9.8, 2.7 Hz,  
 1H), 3.71-3.66 (m, 3H), 3.61 (ddd,  $J$  = 12.7, 7.8, 4.4 Hz, 3H), 3.54-3.50 (m, 1H), 3.43 (s,  
 25 2H), 3.21 (d,  $J$  = 6.5 Hz, 4H), 2.97 (dd,  $J$  = 9.3, 2.1 Hz, 1H), 2.81-2.73 (m, 2H), 2.66 (tt,  
 $J$  = 4.4, 1.8 Hz, 1H), 2.62-2.54 (m, 3H), 2.44-2.40 (m, 1H), 2.34-2.29 (m, 3H),  
 2.28-2.23 (m, 1H), 2.11 (ddd,  $J$  = 16.1, 6.1, 3.6 Hz, 1H), 2.02-1.89 (m, 3H), 1.87-1.82  
 (m, 1H), 1.74-1.67 (m, 3H), 1.60 (ddd,  $J$  = 17.3, 8.4, 3.6 Hz, 3H), 1.44 (tt,  $J$  = 7.7, 4.5  
 Hz, 2H), 1.34-1.28 (m, 2H), 1.23 (d,  $J$  = 3.6 Hz, 2H), 1.03 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 3H), 0.94 (d,  $J$   
 30 = 11.9 Hz, 1H)。

### 制备例 34: 化合物 PE-AM2 的制备



步骤 1: 化合物 PE-AM2-a 的制备

向化合物 PE-AM1-c (该化合物的合成请参考 PE-AM1 的制备例) (16 mg, 22.38  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 2,6-二氮杂螺[3.3]庚烷-2-甲酸叔丁酯 (5.61 mg, 95%, 26.86  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (8.77 mg, 99%, 11.21  $\mu\text{L}$ , 67.15  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和 HATU (13.16 mg, 97%, 33.57  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq), 并置于 25°C 下搅拌 1 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液加入水 (20 mL), 用乙酸乙酯 (10 mL $\times$ 3) 萃取, 合并有机相用饱和食盐水 (30 mL) 洗涤, 加入无水硫酸钠干燥, 减压下旋干得到粗品, 粗品通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 PE-AM2-a (6 mg, 收率 29.96%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 895.4[M+H]<sup>+</sup>, 917.4[M+Na]<sup>+</sup>。

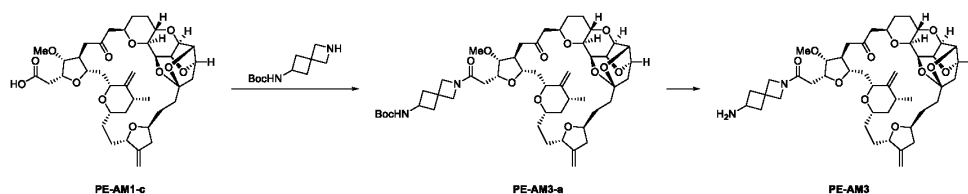
步骤 2: 化合物 PE-AM2 的制备

0°C 下向化合物 PE-AM2-a (6 mg, 6.70  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的二氯甲烷 (1 mL) 溶液中加入三氟乙酸 (0.2 mL), 并置于 0°C 下搅拌 2 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液浓缩后通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 Synergi Max-RP 200 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 PE-AM2 (1.46 mg, 收率 27.40%, 纯度 95%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 795.4[M+H]<sup>+</sup>, 817.4[M+Na]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  6.19 (d,  $J$  = 3.0 Hz, 1H), 5.94 (d,  $J$  = 3.0 Hz, 1H), 4.95 (s, 1H), 4.87 (s, 1H), 4.80 (s, 1H), 4.76 (s, 1H), 4.57 (s, 1H), 4.33 (s, 1H), 4.29 (d,  $J$  = 9.7 Hz, 1H), 4.19 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 2H), 4.02 (dd,  $J$  = 10.1, 6.0 Hz, 2H), 3.91 (s, 2H), 3.77 (d,  $J$  = 9.3 Hz, 1H), 3.70 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 4H), 3.61 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 2H), 3.51 (s, 2H), 3.43 (d,  $J$  = 3.8 Hz, 2H), 3.20 (s, 2H), 2.97 (dd,  $J$  = 9.4, 2.1 Hz, 1H), 2.78 (dd,  $J$  = 17.3, 6.5 Hz, 2H), 2.67 (p,  $J$  = 1.9 Hz, 1H), 2.60 (dd,  $J$  = 11.7, 6.5 Hz, 2H), 2.56 (s, 1H), 2.45-2.41 (m, 2H), 2.33-2.29 (m, 3H), 2.26 (s, 2H), 2.12 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 1H), 1.95 (s, 2H), 1.85 (d,  $J$  = 12.1 Hz, 1H), 1.70 (dd,  $J$  = 12.9, 6.3 Hz, 3H), 1.62 (dd,  $J$  = 10.0, 5.3 Hz, 3H), 1.43 (s, 2H), 1.31 (t,  $J$  = 9.3 Hz, 2H), 1.24 (d,  $J$  = 3.5 Hz, 2H), 1.04 (d,  $J$  = 6.5 Hz, 3H), 0.95 (d,  $J$  = 11.9 Hz, 1H)。

### 制备例 35: 化合物 PE-AM3 的制备



步骤 1: 化合物 PE-AM3-a 的制备

向化合物 PE-AM1-c (20mg, 粗品, 其合成参考 PE-AM1 的制备例) 和 *N*-2-

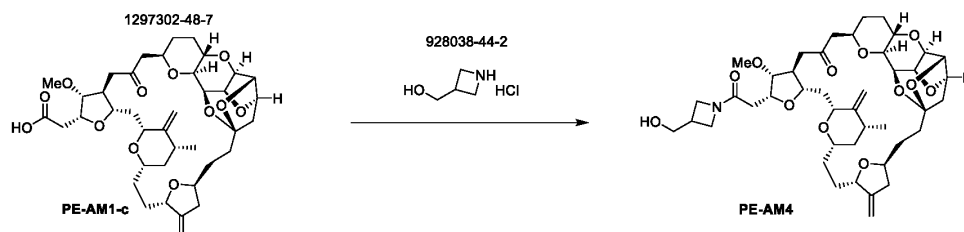
氮杂螺[3.3]庚-6-基氨基甲酸叔丁酯 (6.74 mg, 30.78  $\mu\text{mol}$ , 1.1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入 HATU (12.77 mg, 33.57  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 和 DIPEA (10.96 mg, 83.93  $\mu\text{mol}$ , 3 eq), 反应液在室温下搅拌过夜。LCMS 显示反应完成。混合物通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860-R6。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 40% 到 70% 洗脱) 得到无色油状产物 PE-AM3-a (11.8 mg, 收率 46.39%), LCMS (ESI):  $m/z$ , 909.5[M+H]<sup>+</sup>。

#### 步骤 2: 化合物 PE-AM3 的制备

0 $^{\circ}\text{C}$ 向化合物 PE-AM3-a (11.8 mg, 12.98  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DCM (2 mL) 溶液加入 TFA (0.4 mL), 反应液在室温下搅拌半小时, LCMS 显示原料反应完全。混合物减压旋干得到粗品, 粗品通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860-R6。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 得到白色固体化合物 PE-AM3 (3.98 mg, 收率 35.74%), LCMS (ESI):  $m/z$ , 809.5[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.34 (d,  $J$  = 2.0 Hz, 1H), 6.19 (d,  $J$  = 3.2 Hz, 1H), 5.94 (d,  $J$  = 3.2 Hz, 1H), 4.96-4.74 (m, 5H), 4.36-4.26 (m, 2H), 4.14-3.98 (m, 5H), 3.83-3.72 (m, 4H), 3.71-3.67 (m, 2H), 3.61-3.57 (m, 2H), 3.20 (d,  $J$  = 1.6 Hz, 4H), 3.00-2.94 (m, 1H), 2.81-2.72 (m, 2H), 2.69-2.53 (m, 4H), 2.46-2.20 (m, 9H), 2.16-2.07 (m, 1H), 2.02-1.81 (m, 6H), 1.75-1.55 (m, 6H), 1.43 (d,  $J$  = 5.6 Hz, 2H), 1.35-1.27 (m, 2H), 1.09-0.88 (m, 5H)。

#### 制备例 36: 化合物 PE-AM4 的制备



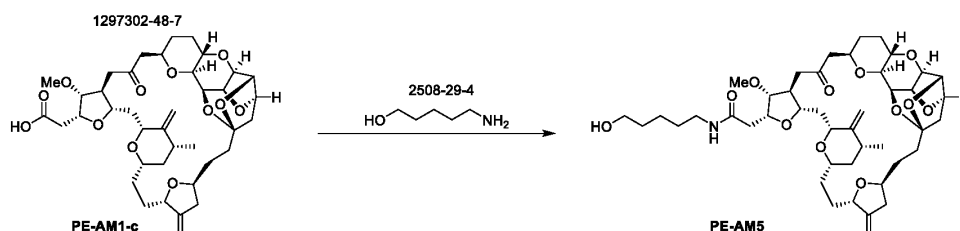
向化合物 PE-AM1-c (该化合物的合成请参考 PE-AM1 的制备例) (16 mg, 22.38  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 3-甲羟基氮杂环丁烷盐酸盐 (3.42 mg, 97%, 26.86  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (8.77 mg, 99%, 11.21  $\mu\text{L}$ , 67.15  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和 HATU (10.53 mg, 97%, 26.86  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 并置于 25 $^{\circ}\text{C}$  下搅拌 1 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 150 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 PE-AM4 (11.14 mg, 收率 63.49%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 784.4[M+H]<sup>+</sup>, 806.4[M+Na]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  5.11-4.96 (m, 2H), 4.90-4.70 (m, 3H), 4.63 (dt,  $J$

= 4.6, 2.6 Hz, 1H), 4.55 (t,  $J = 4.2$  Hz, 1H), 4.26 (d,  $J = 10.8$  Hz, 1H), 4.17 (dt,  $J = 10.2$ , 5.0 Hz, 1H), 4.14-4.06 (m, 4H), 4.05-3.96 (m, 2H), 3.84-3.75 (m, 3H), 3.70 (ddd,  $J = 9.5$ , 5.7, 2.8 Hz, 1H), 3.51 (td,  $J = 11.5$ , 10.4, 4.8 Hz, 5H), 3.31 (t,  $J = 3.9$  Hz, 1H), 3.26 (s, 3H), 2.86-2.71 (m, 3H), 2.64-2.53 (m, 2H), 2.36-2.18 (m, 7H), 2.12 (t,  $J = 11.9$  Hz, 1H), 2.04-1.86 (m, 6H), 1.74-1.59 (m, 4H), 1.54-1.41 (m, 2H), 1.35-1.13 (m, 4H), 1.03 (d,  $J = 6.4$  Hz, 3H), 1.00-0.91 (m, 1H)。

### 制备例 37: 化合物 PE-AM5 的制备



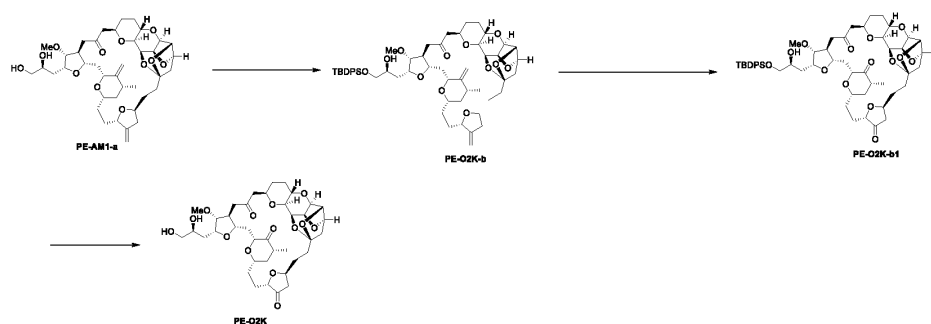
10 向化合物 PE-AM1-c (该化合物的合成请参考 PE-AM1 的制备例) (16 mg, 22.38  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 5-氨基-1-戊醇 (2.92 mg, 95%, 26.86  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (8.77 mg, 99%, 11.21  $\mu\text{L}$ , 67.15  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和 HATU (13.16 mg, 97%, 33.57  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq), 并置于 25°C 下搅拌 1 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP)。

15 色谱柱为 Welch Xtimate C18 150 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 20% 到 50% 洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 PE-AM5 (10.86 mg, 收率 60.65%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 800.5[M+H]<sup>+</sup>, 822.4[M+Na]<sup>+</sup>。

20 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  7.78 (t,  $J = 5.6$  Hz, 1H), 5.09-4.99 (m, 2H), 4.78 (d,  $J = 25.4$  Hz, 2H), 4.63 (dt,  $J = 4.6$ , 2.5 Hz, 1H), 4.55 (t,  $J = 4.2$  Hz, 1H), 4.34 (t,  $J = 5.1$  Hz, 1H), 4.26 (d,  $J = 10.9$  Hz, 1H), 4.17 (td,  $J = 11.0$ , 10.6, 4.5 Hz, 1H), 4.10 (t,  $J = 3.3$  Hz, 2H), 3.99 (dt,  $J = 8.2$ , 4.8 Hz, 2H), 3.79 (t,  $J = 10.4$  Hz, 1H), 3.68 (s, 1H), 3.56 - 3.47 (m, 2H), 3.38 (s, 2H), 3.29 (d,  $J = 3.5$  Hz, 1H), 3.25 (s, 2H), 3.00 (dp,  $J = 19.6$ , 6.3 Hz, 2H), 2.85-2.72 (m, 3H), 2.56 (dd,  $J = 16.6$ , 10.0 Hz, 1H), 2.43-2.37 (m, 1H), 2.35-2.19 (m, 6H), 2.12 (t,  $J = 11.9$  Hz, 1H), 2.01-1.84 (m, 6H), 1.67 (q,  $J = 11.6$  Hz, 4H), 1.56-1.46 (m, 2H), 1.40-1.34 (m, 4H), 1.29-1.22 (m, 4H), 1.20-1.12 (m, 1H), 1.03 (d,  $J = 6.4$  Hz, 3H), 0.94 (d,  $J = 6.6$  Hz, 1H), 0.87-0.81 (m, 3H)。

### 制备例 38: 化合物 PE-O2K 的制备



### 步骤 1: 化合物 PE-O2K-b 的制备

向化合物 PE-AM1-a (购于皓元医药) (150 mg, 0.205 mmol, 1 eq) 的 DMF (3 mL) 溶液中加入化合物 TBDPSCl (378 mg, 1.373 mmol, 6.7eq) 和咪唑 (97.8 mg, 1.437 mmol, 7 eq), 加毕, 25°C 下搅拌 1 小时。LCMS 显示反应完全。反应液过滤, 滤液加水 (30 mL), 然后用 EtOAc (50 mL × 3) 萃取, 有机相合并用食盐水 (30 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 经过滤后得到滤液, 滤液减压浓缩后得到粗品, 残留物通过反相柱纯化 (ACN: H<sub>2</sub>O=0: 100-100:0), 得到黄色液体产物 (98.0 mg, 收率 49%)。

LCMS (ESI): m/z, 991.3 [M+Na]<sup>+</sup>, Rt=2.075 min。

### 步骤 2: 化合物 PE-O2K-b1 的制备

0°C 下向化合物 PE-O2K-b (98 mg, 0.101 mmol, 1 eq) 的 THF (4 mL) 和水 (1 mL) 溶液中加入钨酸钾二水合物 (4 mg, 0.010 mmol, 0.1 eq) 和 NaIO<sub>4</sub> (433 mg, 2.022 mmol, 20 eq), 反应液在 25°C 下搅拌 2 小时。向反应中补加 NaIO<sub>4</sub> (433 mg, 2.022 mmol, 20 eq), 反应液在室温下搅拌过夜, LCMS 显示反应完成。反应液过滤, 滤液加水 (30 mL), 然后用 EtOAc (50 mL × 3) 萃取, 有机相合并用食盐水 (30 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 经过滤后得到滤液, 滤液减压浓缩后得到粗品黄色液体产物 PE-O2K-b1 (130 mg, 粗品)。

LCMS (ESI): m/z, 994.7[M+Na]<sup>+</sup>, Rt=1.822 min。

### 步骤 3: 化合物 PE-O2K 的制备

室温下向化合物 PE-O2K-b1 (90.0 mg, 0.092 mmol, 1 eq) 的 DMF (4 mL) 溶液中加入三乙胺三氢氟酸盐 (0.2 mL), 反应液 65°C 下搅拌 2.5 小时。LCMS 显示原料几乎反应完全。反应液浓缩, 残留物通过高效液相色谱制备, 得到白色固体产物 PE-O2K (9.28 mg, 收率 14%)。

高效液相色谱制备条件如下:

制备色谱厂家岛津, 型号 JB-C235-04。色谱柱为 Prime C18 30×150mm×5μm。流动相水 (0.1%TFA) -ACN, 乙腈的洗脱比例从 23% 到 43% 洗脱。

LCMS (ESI): m/z, 735.2[M+H]<sup>+</sup>, Rt=1.140 min。

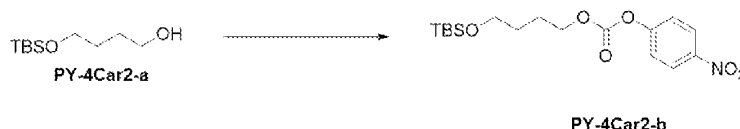
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 4.65 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.56 (d, J = 4.2 Hz, 1H), 4.39 (s, 1H), 4.12 (dd, J = 12.0, 10.6 Hz, 4H), 3.86 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 3.77 (ddd, J =



14.2, 9.4, 5.2 Hz, 4H), 3.56 – 3.48 (m, 2H), 3.26 (d,  $J = 7.8$  Hz, 8H), 2.85 (ddd,  $J = 13.8$ , 8.0, 5.1 Hz, 2H), 2.79 – 2.72 (m, 1H), 2.68 – 2.53 (m, 2H), 2.39 – 1.89 (m, 10H), 1.74 (ddd,  $J = 14.6$ , 12.2, 8.2 Hz, 4H), 1.67 – 1.38 (m, 8H), 1.31 – 1.20 (m, 2H), 0.94 (d,  $J = 6.6$  Hz, 2H)。

5

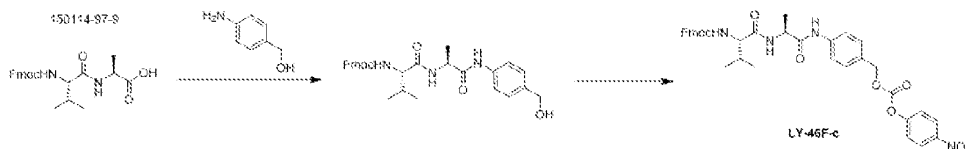
### 制备例 39: 化合物 PY-4car2-b 的制备



向 4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丁-1-醇 (1 g, 4.89 mmol, 1 eq) 和二(对硝基苯)碳酸酯 (2.98 g, 9.79 mmol, 2 eq) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (15 mL) 溶液中加入 N,N-二异丙基乙胺 (2.43 mL, 14.68 mmol, 3 eq), 并于室温搅拌过夜, 将反应液浓缩, 加入二氯甲烷 (10 mL) 稀释, 用水 (10 mL) 洗涤有机相 3 次, 用饱和食盐水 (10 mL) 洗涤 1 次, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 乙酸乙酯/石油醚=1:10, 二氯甲烷/石油醚=40%) 纯化, 得产物 4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丁基(4-硝基苯基)碳酸酯 (PY-4car2-b) (1.63 g, 收率=90.2%)。

15

### 制备例 40: 化合物 LY-46F-c 的制备



步骤 1: (9H-芴-9-基)甲基 ((S)-1-(((S)-1-(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)氨基甲酸酯的制备

20

将化合物((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-L-缬氨酸-L-丙氨酸 (1 g, 2.44 mmol, 1 eq) 溶于 DCM (20 mL)/MeOH (10 mL) 中, 加入 (4-氨基苯基) 甲醇 (360.04 mg, 2.92 mmol, 1.2 eq) 和 EEDQ (2-乙氧基-1-乙氧基羰基-1,2-二氢喹啉, 903.71 mg, 753.09  $\mu$ L, 3.65 mmol, 1.5 eq)。该反应液在 25°C 下搅拌 12 小时。反应液减压浓缩, 所得固体用石油醚/乙酸乙酯=3:1, 总量为 30 mL 打浆, 滤饼用石油醚/乙酸乙酯=3:1, 总量为 50 mL 洗涤, 得黄色固体产物(9H-芴-9-基)甲基 ((S)-1-(((S)-1-(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)氨基甲酸酯 (1.10 g, 收率 87.57%)。

25

LCMS(ESI):  $m/z$ , 538.2  $[M+Na]^+$ 。

30

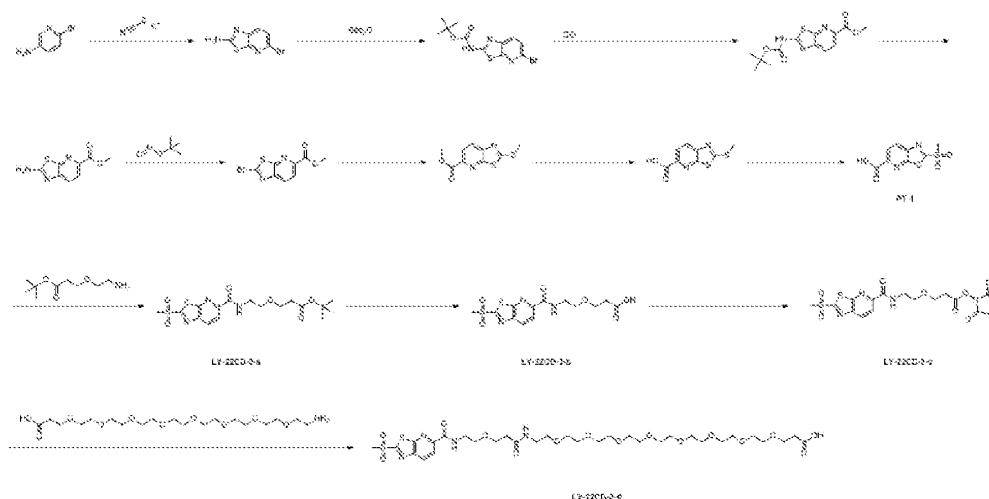
步骤 2: 化合物 LY-46F-c 的制备

将(9H-芴-9-基)甲基((S)-1-(((S)-1-(4-(羟甲基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基

基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯 (500 mg, 969.74  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DMF (6 mL) 中, 向该溶液中加入双(4-硝基苯基)碳酸酯 (590.01 mg, 393.34  $\mu\text{L}$ , 1.94 mmol, 2 eq) 和 DIPEA (375.99 mg, 480.80  $\mu\text{L}$ , 2.91 mmol, 3 eq)。在 25°C 下反应 16 小时。反应液减压浓缩, 残余物用硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 乙酸乙酯/石油醚 1:30 到 1:1) 纯化, 得黄色固体化合物 LY-46F-c (380 mg, 收率 57.57%)。

LCMS(ESI):  $m/z$ , 703.3  $[M+Na]^+$ .

**制备例 41：化合物 LY-22CD-3-d 的制备**



10 步骤 1: 5-溴噻唑并[5,4-b]吡啶-2-胺的制备

0°C下向 5-氨基-2-溴吡啶 (10 g, 57.80 mmol, 1 eq) 和硫氰酸钾 (22.47 g, 11.91 mL, 231.20 mmol, 4 eq) 的醋酸溶液 (100 mL) 中加入液溴的醋酸溶液 (20 mL), 20°C下搅拌 3 小时。反应液用水 (50 mL) 淬灭, 经过滤后得到滤液, 滤液减压浓缩后得到粗品。粗品用碳酸氢钠水溶液碱化至 pH=8, 并用乙酸乙酯 (50 mL × 4) 萃取, 合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 有机相减压浓缩后得到黄色固体的 5-溴噻唑并[5,4-b]吡啶-2-胺 (9.80 g)。

LCMS(ESI): m/z, 230.0[M+H]<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sup>6</sup>) δ 7.96 (s, 2H), 7.57 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.43 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H).

20 步骤2: (5-溴噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基)氨基甲酸叔丁酯的制备

室温下将 5-溴噻唑并[5,4-b]吡啶-2-胺 (7.80 g, 33.90 mmol, 1 eq)/三乙胺 (4.46 g, 6.13 mL, 44.07 mmol, 1.3 eq)/4-二甲氨基吡啶 (414.15 mg, 414.15  $\mu$ L, 3.39 mmol, 0.1 eq) 和碳酸酐二叔丁酯 (9.62 g, 9.43 mL, 44.07 mmol, 1.3 eq) 依次加入到四氢呋喃 (320 mL) 溶液中, 25 $^{\circ}$ C 下搅拌 16 小时。将反应液浓缩后, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 乙酸乙酯/石油醚=40%-50%) 纯化, 得产物 (5-溴噻唑并[5,4-b]吡啶-2-基)氨基甲酸叔丁酯 (7.0 g, 21.20 mmol, 二步收率 26%)。

LCMS(ESI):  $m/z$ , 330.0[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  12.12 (s, 1H), 7.99 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H), 7.64 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H), 1.52 (s, 9H)。

步骤 3: 2-((叔丁氧羰基)氨基)噻唑并[5,4-*b*]吡啶-5-羧酸甲酯的制备

5 室温下将(5-溴噻唑并[5,4-*b*]吡啶-2-基)氨基甲酸叔丁酯 (6 g, 18.17 mmol, 1 eq)、碳酸钾 (7.53 g, 3.10 mL, 54.51 mmol, 3 eq)、醋酸钼 (1.22 g, 5.45 mmol, 0.3 eq) 和 1,3-双二苯膦基丙烷 (1.80 g, 4.36 mmol, 0.24 eq) 依次加入到甲醇 (120 mL) 和 *N,N*-二甲基甲酰胺 (60 mL) 溶液中, 在一氧化碳气氛下, 60°C 搅拌 16 小时。将反应液浓缩后, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 乙酸乙酯/ 石油  
10 醚=40%-80%) 纯化, 得产物 2-((叔丁氧羰基)氨基)噻唑并[5,4-*b*]吡啶-5-羧酸甲酯 (2.20 g, 7.11 mmol, 收率 39%)。

LCMS(ESI):  $m/z$ , 310.1[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  12.26 (s, 1H), 8.25-8.04 (m, 2H), 3.90 (s, 3H), 1.53 (s, 9H)。

15 步骤 4: 2-氨基噻唑并[5,4-*b*]吡啶-5-羧酸甲酯的制备

0°C 下, 向 2-((叔丁氧羰基)氨基)噻唑并[5,4-*b*]吡啶-5-羧酸甲酯 (2.20 g, 7.11 mmol, 1 eq) 的二氯甲烷 (80 mL) 溶液中加入三氟乙酸 (40 mL), 20°C 下搅拌 2 小时。将反应液浓缩后, 向残余物中加入饱和碳酸氢钠水溶液, 然后过滤, 滤饼经减压浓缩后, 得到 2-氨基噻唑并[5,4-*b*]吡啶-5-羧酸甲酯 (1.38 g, 6.60 mmol, 收  
20 率 93%)。

LCMS(ESI):  $m/z$ , 210.1[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.27 (s, 2H), 7.95 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H), 7.68 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H), 3.85 (s, 3H)。

步骤 5: 2-溴噻唑并[5,4-*b*]吡啶-5-羧酸甲酯的制备

25 0°C 下向溴化铜 (1.84 g, 386.06  $\mu$ L, 8.24 mmol, 1.25 eq) 的乙腈 (60 mL) 溶液中加入亚硝酸叔丁酯 (1.22 g, 1.42 mL, 11.87 mmol, 1.8 eq)、2-氨基噻唑并[5,4-*b*]吡啶-5-羧酸甲酯 (1.38 g, 6.60 mmol, 1 eq), 25°C 下搅拌 16 小时。将反应液浓缩后, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 乙酸乙酯/ 石油醚=20%-40%) 纯化, 得产物 2-溴噻唑并[5,4-*b*]吡啶-5-羧酸甲酯 (1.45 g, 5.31 mmol, 收率 81%)。  
30

LCMS(ESI):  $m/z$ , 273.1[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  8.37-8.27 (m, 2H), 4.07 (s, 3H)。

步骤 6: 2-(甲硫基)噻唑并[5,4-*b*]吡啶-5-羧酸甲酯的制备

将 2-溴-[1, 3]噻唑并[5, 4-*b*]吡啶-5-羧酸甲酯 (375 mg, 1.37 mmol, 1 eq) 和  
35 甲硫醇钠 (240.61 mg, 3.43 mmol, 2.5 eq) 在乙二醇二甲醚 (10 mL) 中的溶液置于 -15°C 下搅拌 2 小时。向反应物中加入饱和氯化铵水溶液 (5 mL), 浓缩, 加入

四氢呋喃（30 mL），过滤，收集滤饼，通过高效液相制备色谱法（制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 BRIX-2860-R1。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×30mm×10μm。流动相：水（0.225% $\text{HCOOH}$ ）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 30% 到 60%洗脱）纯化，得到白色固体 2-(甲硫基)噻唑并[5,4-b]吡啶-5-羧酸甲酯（180 mg，收率 25.89%）和 2-(甲硫基)噻唑并[5,4-b]吡啶-5-羧酸（100 mg，收率 15.28%）。5

LCMS (ESI):  $m/z$ , 241.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 7: 2-(甲硫基)噻唑并[5,4-b]吡啶-5-羧酸的制备

室温下，将化合物 2-(甲硫基)噻唑并[5,4-b]吡啶-5-羧酸甲酯（180 mg，749.06 μmol，1 eq）和一水合氢氧化锂（62.92 mg，41.67 μL，1.50 mmol，2 eq）的四氢呋喃（2 mL）与水（2 mL）混合溶液置于 20°C 下搅拌 12 小时，将反应液浓缩，10 向其中加入水（50 mL）和盐酸水溶液（2M）至  $\text{pH}<5$ ，过滤，用水（3 mL×2）洗涤，并收集滤饼，得产物 2-(甲硫基)噻唑并[5,4-b]吡啶-5-羧酸（169 mg，粗品）。

LCMS(ESI):  $m/z$ , 227.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 8: 2-甲基磺酰基-噻唑并[5,4-b]吡啶-5-羧酸的制备

15 向 2-(甲硫基)噻唑并[5,4-b]吡啶-5-羧酸（269 mg，1.19 mmol，1 eq）在四氢呋喃（10 mL）和水（10 mL）中的溶液中加入过氧单磺酸钾（3.29 g，9.51 mmol，8 eq），混合物在 20°C 下搅拌 2 小时。向混合物中加入乙酸乙酯（30 mL）和  $\text{H}_2\text{O}$ （20 mL），用乙酸乙酯（20 mL×3）萃取水相。合并的有机层用饱和食盐水（10 mL）洗涤并用无水硫酸钠干燥，过滤并浓缩，残余物通过高效液相制备色谱法（制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 BRIX-2860。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 150×30mm×10μm。流动相：水（0.225% $\text{HCOOH}$ ）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 10% 到 40%洗脱）纯化，得产物 2-甲基磺酰基-噻唑并[5,4-b]吡啶-5-羧酸（220 mg，收率 71.65%）。20

LCMS(ESI):  $m/z$ , 259.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

25 步骤 9: 化合物 LY-22CD-3-a 的制备

将化合物 3-(2-氨基乙氧基)丙酸叔丁酯（70.34 mg，371.70 μmol，1.2 eq）和 2-甲基磺酰基-噻唑并[5,4-b]吡啶-5-羧酸（80 mg，309.75 μmol，1 eq）的  $N,N$ -二甲基甲酰胺（4 mL）溶液中加入  $N,N$ -二异丙基乙胺（80.07 mg，102.38 μL，619.51 μmol，2 eq）和  $N,N,N',N'$ -四甲基- $O$ -(7-氮杂苯并三唑-1-基)六氟磷酸脲（141.34 mg，371.70 μmol，1.2 eq），置于室温下搅拌 1 小时。反应液过滤后，通过高效液相制备色谱法（制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 BRIX-2860-R6。色谱柱为 Synergi Max-RP 250×40mm×10μm。流动相：水（0.225% $\text{HCOOH}$ ）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱）纯化，得化合物 LY-22CD-3-a（114.3 mg，收率 85.91%）。30

LCMS(ESI):  $m/z$ , 452 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

35 步骤 10: 化合物 LY-22CD-3-b 的制备

冰浴下向化合物 LY-22CD-3-a（114.30 mg，266.12 μmol，1 eq）的二氯甲烷

(5 mL) 溶液中加入三氟乙酸 (1 mL)，而后置于室温下搅拌 2 小时，减压浓缩后得粗品 (150 mg)。

LCMS(ESI):  $m/z$ , 396[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 11: 化合物 LY-22CD-3-c 的制备

- 5 冰浴下向化合物 LY-22CD-3-b (99.37 mg, 266.12  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (4 mL) 溶液中加入 *N*-羟基丁二酰亚胺 (183.77 mg, 1.60 mmol, 6 eq) 和 *N,N'*-二异丙基碳二亚胺 (201.51 mg, 248.77  $\mu\text{L}$ , 1.60 mmol, 6 eq)，于 50°C 搅拌 2 小时。反应液过滤后，通过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 150×30mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 10% 到 40% 洗脱) 纯化, 得化合物
- 10 LY-22CD-3-c (100 mg, 收率 79.87%)。

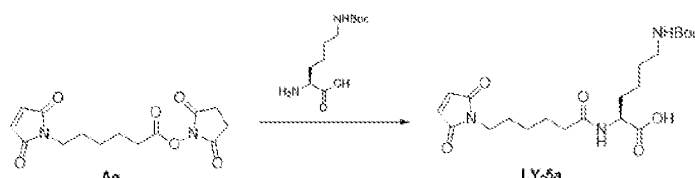
LCMS(ESI):  $m/z$ , 493[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 12: 化合物 LY-22CD-3-d 的制备

- 向化合物 LY-22CD-3-c (100 mg, 212.55  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 27-氨基
- 15 -4,7,10,13,16,19,22,25-八氧杂二十七烷酸 (112.61 mg, 102.37  $\mu\text{L}$ , 255.06  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (3 mL) 溶液中加入 *N,N*-二异丙基乙胺 (54.94 mg, 70.26  $\mu\text{L}$ , 425.11  $\mu\text{mol}$ , 2 eq)，置于室温下搅拌 1 小时。反应液过滤后，通过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×30mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 10% 到 40% 洗脱) 纯化, 得化合物 LY-22CD-3-d (48.4 mg, 收率 28.57%)。
- 20

LCMS(ESI):  $m/z$ , 797[M+H]<sup>+</sup>。

#### 制备例 42: 化合物 LY-5a 的制备

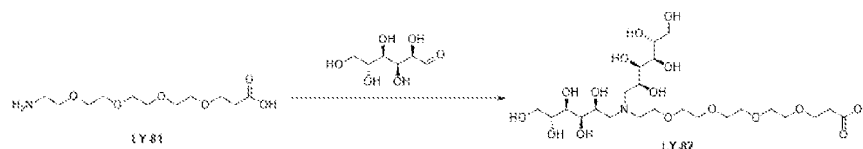


- 25 **N<sup>6</sup>-(叔丁氧羰基)-N<sup>2</sup>-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基)-L-赖氨酸 (LY-5a) 的制备**

- 氮气氛围下, 向反应瓶中加入 N<sup>6</sup>-(叔丁氧羰基)-L-赖氨酸 (300 mg, 1.0 eq)、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 (Ae) (375 mg, 1.0 eq)、DIPEA (315 mg, 2 eq)，然后加入 10 mL 无水 DMF, 置换氮气三次
- 30 后, 室温反应 16h。经过高效液相制备色谱法 (Oriendo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10 $\mu\text{m}$ ; 流动相: 水 (0.225% 三氟乙酸) - 乙腈, 从 45% 到 85% 洗脱) 分离, 得到 400 mg 无色胶状化合物 LY-5a。

LCMS(ESI):  $m/z$ , 340.2 [M-100+1]<sup>+</sup>, 462.3 [M+Na]<sup>+</sup>。

### 制备例 43: 化合物 LY-82 的制备

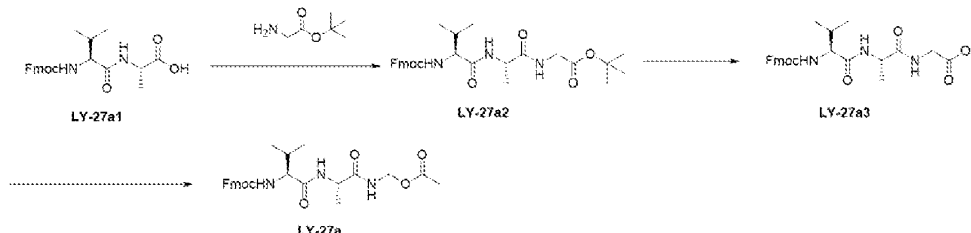


(18S,19R,20R,21R)-18,19,20,21,22-五羟基-16-(2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)-4,7,10,13-四氧杂-16-氮杂二十二酸 (LY-82) 的制备

向 1-氨基-3,6,9,12-四氧杂二十烷-15-乙酸 (LY-81) (200 mg, 0.75 mmol, 1.0 eq) 的无水 MeOH (15 mL) 和 HOAc (1.5 mL) 的溶液中加入 (2R,3S,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己醛 (D-葡萄糖) (1.36 g, 7.54 mmol, 10 eq) 和  $\text{NaBH}_3\text{CN}$  (237 mg, 3.77 mmol, 5 eq), 加毕, 在氮气氛下, 在 40-45°C 反应 24 h。将反应液减压浓缩, 残余物加入约 8 mL 水和 2 mL 甲醇, 通过制备高效液相色谱法 (Oriundo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10 $\mu\text{m}$ ; 流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的比例从 45% 到 85% 洗脱) 纯化, 冻干, 得到化合物 LY-82 (384 mg, 收率 72%, TFA 盐) (无色/类白色胶状物)。

LCMS(ESI):  $m/z$ , 594.5[M+1]<sup>+</sup>。

### 制备例 44: 化合物 LY-27a 的制备



步骤 1: 化合物 LY-27a2 的制备

冰浴下, 向(((9H-苄-9-基)甲氧基)羰基)-L-缬氨酸-L-丙氨酸 (皓元医药, LY-27a1, 8.5 g, 20.71 mmol, 1 eq) 和甘氨酸叔丁酯 (3.26 g, 24.85 mmol, 1.2 eq) 的甲醇/二氯甲烷 (50 mL/100 mL) 溶液中加入 2-乙氧基-1-乙氧羰基-1,2-二氢喹啉 (7.68 g, 31.06 mmol, 1.5 eq), 搅拌 10 分钟后, 置于 40°C 搅拌过夜。浓缩后加入石油醚/乙酸乙酯 (100 mL/50 mL) 打浆, 搅拌 20 分钟后过滤, 得到白色固体 (10.6 g, 收率 97.76%)。

LCMS(ESI):  $m/z$ , 546[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 2: 化合物 LY-27a3 的制备

冰浴下, 向化合物 LY-27a2 (10.6 g, 20.24 mmol, 1.0 eq) 的二氯甲烷 (60 mL) 溶液中加入三氟乙酸 (20 mL), 自然恢复室温, 搅拌过夜。浓缩并用二氯甲烷 (10 mL) 浓缩 3 次, 得淡黄色稠状的粗品 (15.24 g)。

LCMS(ESI):  $m/z$ , 468 $[M+H]^+$ 。

步骤 3: 化合物 LY-27a 的制备

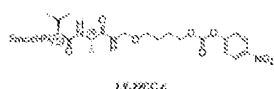
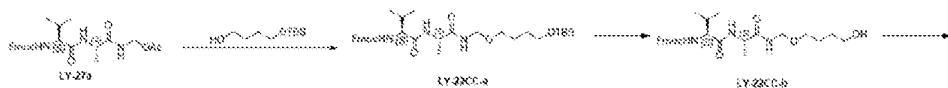
5 氮气氛围下, 向化合物 LY-27a3 (15.24 g, 20.2 mmol, 1.0 eq, 62.1%纯度) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (100 mL) 溶液中加入四乙酸铅 (23.3 g, 52.52 mmol, 2.6 eq)、醋酸 (4.6 mL, 80.8 mmol, 4 eq)、醋酸铜 (1.46 g, 8.08 mmol, 0.4 eq), 将反应液置于 60°C 搅拌 1 小时, 升至室温, 减压浓缩, 残余物加水产生大量不溶物, 用水 (100 mL) 和乙腈 (100 mL) 溶解, 用乙酸乙酯 (100 mL) 萃取, 盐水 (50 mL×2) 洗涤后, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩得化合物 LY-27a (8 g, 收率 82.2%, 纯度 80%)。

10 LCMS(ESI):  $m/z$ , 504 $[M+Na]^+$ 。

$^1H$  NMR (400 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$  7.81 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 2H), 7.69 (t,  $J$  = 7.0 Hz, 2H), 7.40 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 2H), 7.32 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 2H), 5.20 (d,  $J$  = 6.2 Hz, 2H), 4.48-4.30 (m, 3H), 4.24 (t,  $J$  = 6.8 Hz, 1H), 3.94 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 1H), 2.01 (s, 3H), 1.36 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 3H), 0.97 (dd,  $J$  = 9.6, 6.6 Hz, 6H)。

15

#### 制备例 45: 化合物 LY-22CC-c 的制备



步骤 1: 化合物 LY-22CC-a 的制备

20 将化合物 LY-27a (500 mg, 1.04 mmol, 1 eq) 溶于 THF (10 mL), 然后加入化合物 4-((叔丁基二甲基硅烷基)氧基)丁-1-醇 (424.42 mg, 2.08 mmol, 2 eq) 和 TsOH (对甲苯磺酸, 16.46 mg, 95.59  $\mu$ mol, 1 eq), 将反应液在 30°C 下搅拌 4 小时。反应液直接用于下一步。

LCMS(ESI):  $m/z$ , 648.4  $[M+Na]^+$ 。

步骤 2: 化合物 LY-22CC-b 的制备

25 将化合物 LY-22CC-a (500 mg, 798.88  $\mu$ mol, 1 eq) 溶于 THF (10 mL), 向该溶液中加入 4 M 的盐酸 1,4-二氧六环溶液 (29.13 mg, 199.72  $\mu$ L, 798.88  $\mu$ mol, 1 eq), 该溶液在 15°C 下搅拌 3 小时。反应液减压浓缩, 残余物用高压液相色谱法 (制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 XT-15×30-10。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 40% 到 70% 洗脱) 纯化, 得白色固体化合物 LY-22CC-b (70 mg, 收率 17.13%)。

30

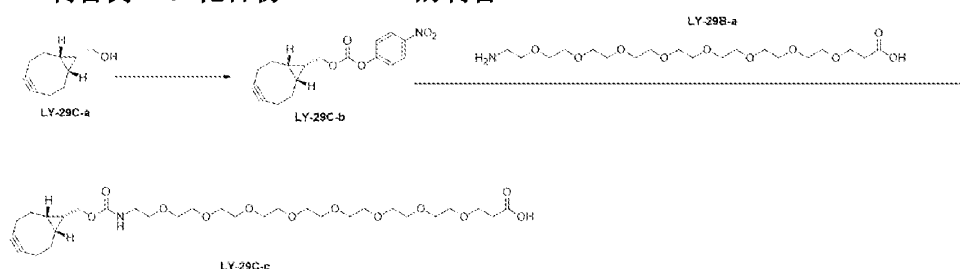
LCMS(ESI):  $m/z$ , 534.3  $[M+Na]^+$ 。

## 步骤 3: 化合物 LY-22CC-c 的制备

将化合物 LY-22CC-b (70 mg, 136.82  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DMF (5 mL) 中, 加入双 (4-硝基苯基) 碳酸酯 (83.24 mg, 55.50  $\mu\text{L}$ , 273.64  $\mu\text{mol}$ , 2 eq) 和 DIPEA (53.05 mg, 67.84  $\mu\text{L}$ , 410.46  $\mu\text{mol}$ , 3 eq)。反应液在 15°C 下搅拌 12 小时。反应液浓缩大部分 DMF, 加入 DCM (30 mL), 用水 (30 mL) 洗涤, 有机相干燥过滤, 减压浓缩, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: DCM:MeOH=0:1~5:1) 纯化, 得到黄色固体产物 LY-22CC-c (70 mg, 收率 75.60%)。

LCMS(ESI):  $m/z$ , 699.3  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

## 10 制备例 46: 化合物 LY-29C-c 的制备



## 步骤 1: ((1R,8S,9S)-双环[6.1.0]壬-4-炔-9-基)甲基 (4-硝基苯基) 碳酸酯 (LY-29C-b) 的制备

在氮气氛围下, 0°C 下向化合物 (1R,8S,9S)-双环[6.1.0]壬-4-炔-9-基甲醇 (LY-29C-a) (80 mg, 532.55  $\mu\text{mol}$ , 1 eq, 山东行致生物) 的无水 DCM (5 mL) 中加入吡啶 (105.31 mg, 107.68  $\mu\text{L}$ , 1.33 mmol, 2.5 eq) 和 4-硝基苯基氯甲酸酯 (134.18 mg, 665.69  $\mu\text{mol}$ , 1.25 eq), 加完室温反应半小时。0°C 将反应液用饱和氯化铵 (10 mL) 淬灭, 用 DCM (40 mL  $\times$  3) 萃取三次, 合并有机相, 用食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 乙酸乙酯/正己烷 1:20 到 1:9) 纯化, 得到无水油状化合物 LY-29C-b (75 mg, 收率 44.66%)。

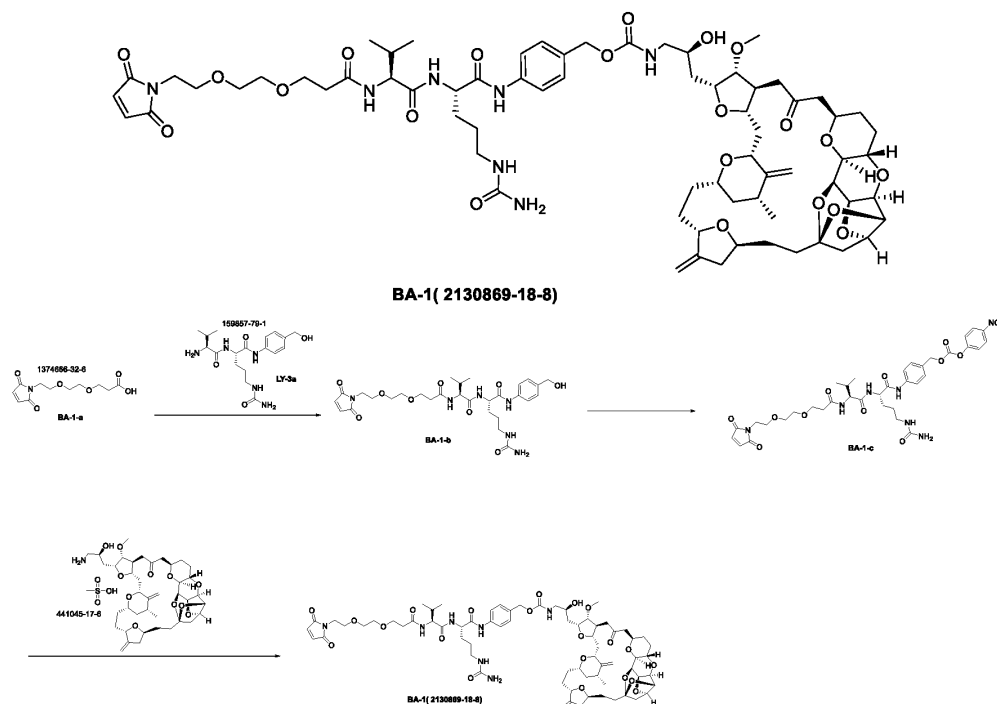
## 步骤 2: 化合物 LY-29C-c 的制备

在氮气氛围下, 0°C 下向化合物 LY-29B-a (156.82 mg, 355.18  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的无水 DMF (5 mL) 中加入 LY-29C-b (112 mg, 355.18  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 DIPEA (114.77 mg, 146.76  $\mu\text{L}$ , 887.96  $\mu\text{mol}$ , 2.5 eq), 加完室温反应 16 小时, 不超过 40°C 减压浓缩, 残余物通过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO-R1。色谱柱为 Synergi Max-RP 250 $\times$ 40mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 21% 到 51% 洗脱) 纯化, 得到无水油状化合物 LY-29C-c (148 mg, 收率 67.45%)。

## 30 实施例



# 实施例 1：化合物 BA-1 的制备



## 步骤 1：化合物 BA-1-b 的制备

5        0°C下向化合物 BA-1-a（购买于毕得）（40.68 mg，158.12  $\mu\text{mol}$ ，1.2 eq），化合物 LY-3a（购于毕得）（50 mg，131.77  $\mu\text{mol}$ ，1 eq）的 THF（1mL）和 MeOH（1 mL）的混合溶液中，加入 DMTMM（氯化 4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉，87.51 mg，316.25  $\mu\text{mol}$ ，2.4 eq），加毕，25°C反应 2 小时，LCMS 显示反应完成，反应液旋干得到粗品，粗品通过打浆（乙腈 3mL）纯化得到白色固体化合物 BA-1-b（75 mg，收率 92%）。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 619.4 $[M+H]^+$ .  $R_t=1.530$  min。

## 步骤 2：化合物 BA-1-c 的制备

15        0°C下向化合物 BA-1-b（75 mg，121.22  $\mu\text{mol}$ ，1 eq）的 DMF（5 mL）溶液中加入 DIPEA（47 mg，60.10  $\mu\text{L}$ ，363.67  $\mu\text{mol}$ ，3 eq）和 NPC（184.39 mg，122.93  $\mu\text{L}$ ，606.12  $\mu\text{mol}$ ，5 eq）。加毕反应液在 33°C下反应 2 小时。LCMS 显示反应完成，反应液浓缩得到粗品，粗品通过硅胶柱层析谱法（洗脱剂：甲醇/二氯甲烷 1:20 到 1:10）纯化得到白色固体化合物 BA-1-c（83 mg，收率 87.36%）。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 784.5 $[M+H]^+$ .  $R_t=1.778$  min。

## 步骤 3：化合物 BA-1 的制备

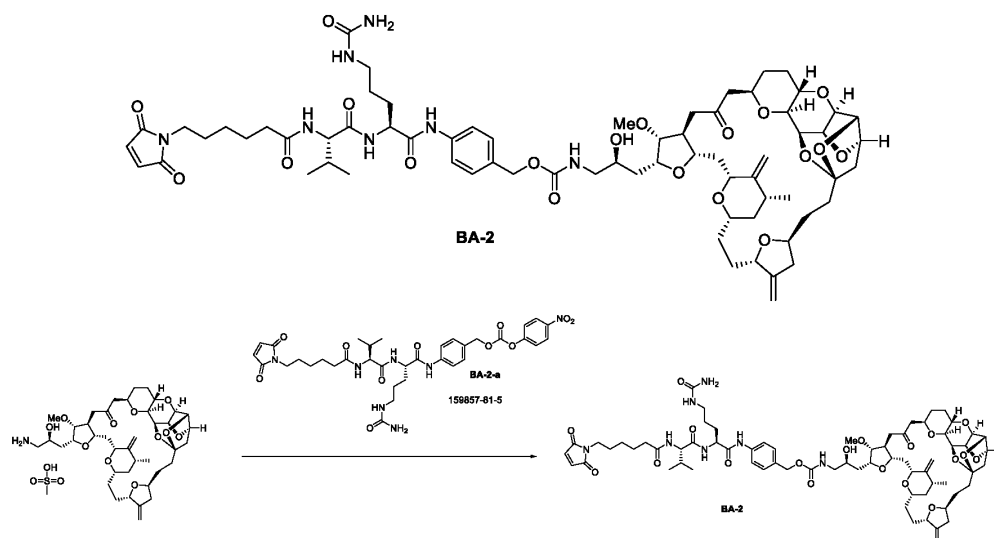
20        0°C下向化合物 BA-1-c（12.34 mg，15.74  $\mu\text{mol}$ ，1.3 eq）和化合物艾日布林甲磺酸盐（10 mg，12.11  $\mu\text{mol}$ ，1 eq）的 DMF（3 mL）溶液中加入 DIPEA（4.69 mg，6  $\mu\text{L}$ ，36.32  $\mu\text{mol}$ ，3 eq）。加毕 25°C反应 16 小时，LCMS 显示反应完成，反应液通过高效液相色谱制备（制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 BRIX-2860。色谱柱为

Synergi Max-RP 200×30mm×10μm。流动相水（0.225% $\text{HCOOH}$ ）-乙腈，水的洗脱比例从 30%到 60%洗脱），经冻干得到白色固体化合物 BA-1（2130869-18-8, 10.38 mg，收率 62.37%，纯度 98.24%）。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1374.9 $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 1397.9 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。Rt=2.213 min。

5

### 实施例 2：化合物 BA-2 的制备

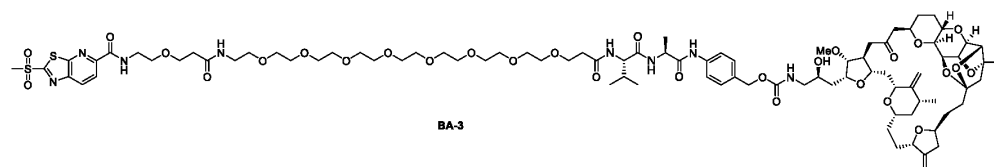


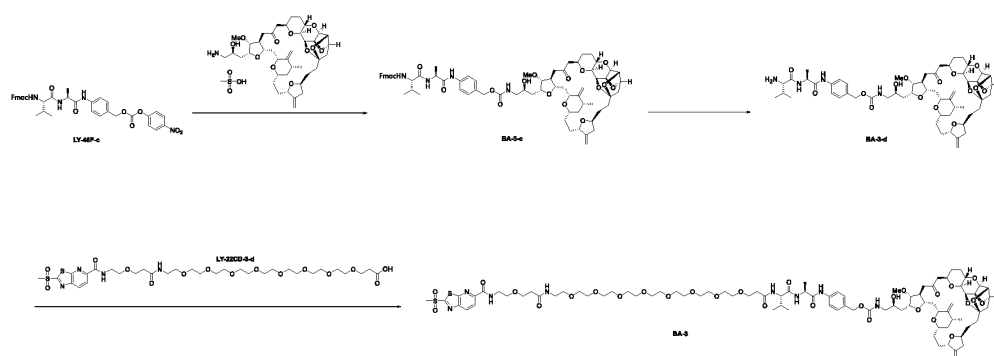
0℃下向化合物艾日布林甲磺酸盐（3 mg, 3.63 μmol, 1 eq）和 BA-2-a（4.02 mg, 5.45 μmol, 1.5 eq）的 DMF（1 mL）溶液中加入 DIPEA（1.41 mg, 1.80 μL, 10.90 μmol, 3 eq）。加毕 25℃反应 16 小时，LCMS 显示反应完成，反应液通过高效液相色谱制备（制备色谱厂家岛津，型号 LC-20AP。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×21.2mm×5μm。流动相水（0.225%FA）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 40%到 70%洗脱）纯化，经冻干得到白色固体化合物 LA-B2（2.39 mg，收率 49.53%，纯度 99%）。

15

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1351.6 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。Rt=2.222 min。

### 实施例 3：化合物 BA-3 的制备





#### 步骤 1: 化合物 BA-3-c 的制备

向化合物 LY-46F-c (10.42 mg, 87%, 13.32  $\mu\text{mol}$ , 1.1 eq) 和甲磺酸艾日布林 (10 mg, 12.11  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (4.69 mg, 6  $\mu\text{L}$ , 36.32  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和 HOBT (1.64 mg, 12.11  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 室温反应 2 小时后, LCMS 显示原料消失, 通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 60% 到 90% 洗脱) 纯化, 得到白色固体产物 BA-3-c (5.50 mg, 收率 35.73%), LCMS (ESI): m/z, 1293[M+Na]<sup>+</sup>。

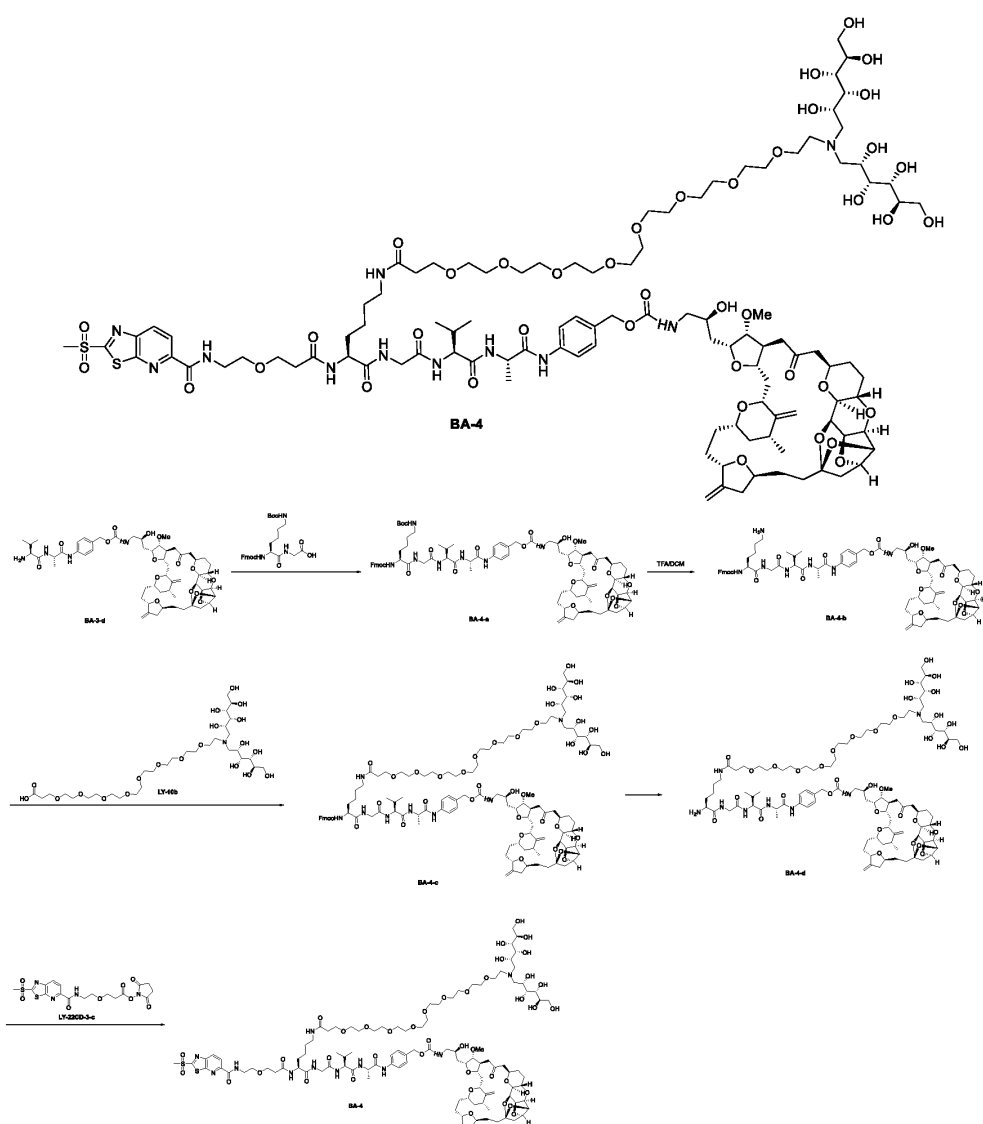
#### 步骤 2: 化合物 BA-3-d 的制备

向化合物 BA-3-c (5.50 mg, 4.33  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DBU (1.98 mg, 1.94  $\mu\text{L}$ , 12.98  $\mu\text{mol}$ , 3 eq), 室温反应 40 分钟后, LCMS 显示原料消失, 加入 TsOH (2.23 mg, 12.98  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 淬灭反应, 然后直接用于下一步。LCMS (ESI): m/z, 1071[M+Na]<sup>+</sup>。

#### 步骤 3: 化合物 BA-3 的制备

0 $^{\circ}\text{C}$  下向化合物 BA-3-d (3.45 mg, 4.33  $\mu\text{mol}$ , 1 eq)、LY-22CD-3-d (3.45 mg, 4.33  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (1.12 mg, 1.43  $\mu\text{L}$ , 8.65  $\mu\text{mol}$ , 2 eq) 和 HATU (1.97 mg, 5.19  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 室温反应 1 小时后, LCMS 显示原料消失, 使用高效液相色谱制备 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 得到白色固体产物 BA-3 (3.45 mg, 收率 43.62%, 纯度 97%), LCMS (ESI): m/z, 1849[M+Na]<sup>+</sup>。

#### 实施例 4: 化合物 BA-4 的制备



### 步骤 1: 化合物 BA-4-a 的制备

0°C下, 向化合物 BA-3-d (38 mg, 36.22  $\mu\text{mol}$ , 1 eq, 该化合物的合成参考  
 5 BA-3 的合成实施例) 和 2-[(2S)-6-[(叔丁氧基)羰基]氨基]-2-([ (9H-芴-9-基) 甲氧基]羰基]氨基) 己酰胺基]乙酸 (21.15 mg, 39.84  $\mu\text{mol}$ , 1.1 eq, 该化合物的合成参考专利申请 WO2024175069A1) 的 DMF (1.5 mL) 溶液中加入 DIPEA (12.09  $\mu\text{L}$ , 72.43  $\mu\text{mol}$ , 2 eq) 和 HATU (16.52 mg, 43.46  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 并置于 25°C下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全。残留物通过高效液相色谱制备  
 10 (制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 Synergi Max-RP 250×40mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH)-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 50%到 80%洗脱) 得白色固体的 BA-4-a (29.60 mg, 收率 52.50%)。

LCMS (ESI): m/z, 1578 [M+Na]<sup>+</sup>, Rt=3.068 min。

## 步骤 2: 化合物 BA-4-b 的制备

0°C下, 向化合物 BA-4-a (29.6 mg, 18.8  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DCM (3 mL) 溶液中加入 TFA (0.5 mL), 搅拌 30 分钟, LCMS 显示原料反应完全, 浓缩直接投下一步。BA-4-b 的理论质量为 27 mg。

5 LCMS (ESI):  $m/z$ , 1478  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,  $R_t=2.443$  min。

## 步骤 3: 化合物 BA-4-c 的制备

0°C下, 向化合物 BA-4-b (18 mg, 12.36  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 LY-10b (11.41 mg, 14.83  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq, 该化合物的合成参考 LA-27C-2 的制备实施例) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (12.25  $\mu\text{L}$ , 74.14  $\mu\text{mol}$ , 6 eq) 和 HATU (5.64 mg, 14.83  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 并置于 25°C 下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全。2 个批次同等规模

10 的反应液合并通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 150 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30-60 % 洗脱) 得白色固体 BA-4-c (35.60 mg, 收率 66%)。

15 LCMS (ESI):  $m/z$ , 1126 $[\text{1/2M}+\text{Na}]^+$ ,  $R_t=2.262$  min。

## 步骤 4: 化合物 BA-4-d 的制备

0°C向化合物 BA-4-c (35.60 mg, 16.12  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (1.5 mL) 溶液中加入  $\text{Et}_2\text{NH}$  (6 mg, 80.60  $\mu\text{mol}$ , 5 eq), 并置于 25°C 下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全, 油泵浓缩直接投下一步。BA-4-d 的理论质量为 32 mg。

20 LCMS (ESI):  $m/z$ , 993  $[\text{1/2M}+\text{H}]^+$ ,  $R_t=1.739$  min。

## 步骤 5: 化合物 BA-4 的制备

0°C下, 向化合物 BA-4-d (32 mg, 16.11  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 LY-22CD-3-c (该化合物的合成请参考制备例 41) (8.34 mg, 17.72  $\mu\text{mol}$ , 1.1 eq) 的 DMF (1.5 mL) 溶液中加入 DIPEA (5.38  $\mu\text{L}$ , 32.22  $\mu\text{mol}$ , 2 eq)。加毕, 反应液在 25°C 下反应 1

25 小时。LCMS 显示反应完成。反应液通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 150 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 BA-4 (5.74 mg, 收率 14.50%, 纯度 95.29%)。

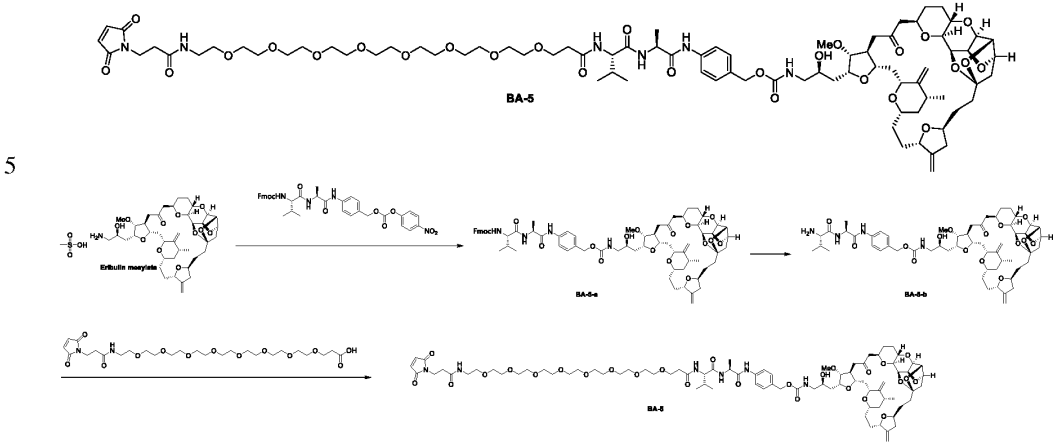
LCMS (ESI):  $m/z$ , 1193 $[\text{1/2M}+\text{Na}]^+$ ,  $R_t=1.871$  min。

30  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  9.90 (s, 1H), 9.09 (s, 1H), 8.86 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H), 8.38 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H), 8.22 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 8.19 – 8.11 (m, 2H), 8.03 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 7.81 – 7.72 (m, 2H), 7.57 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.28 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.09 (s, 1H), 6.20 (d,  $J = 3.0$  Hz, 1H), 5.94 (d,  $J = 3.0$  Hz, 1H), 5.42 (s, 2H), 4.94 (s, 2H), 4.87 (s, 1H), 4.81 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.54 (s, 5H), 4.42 – 4.26 (m, 5H), 4.19 (d,  $J = 7.6$  Hz, 3H), 4.05 (s, 1H), 4.00 (s, 3H), 3.86 – 3.45 (m, 63H), 3.19 (s, 3H), 2.96 (d,  $J = 17.0$  Hz, 5H), 2.75 (d,  $J = 12.8$  Hz, 2H), 2.46 – 2.36 (m, 4H), 2.28 (t,  $J = 6.6$  Hz, 2H), 2.13 (s, 2H), 1.95 (s, 4H), 1.84 (d,  $J = 11.8$  Hz, 2H), 1.70 (d,  $J = 16.4$  Hz, 5H), 1.62 (s,

35

4H), 1.45 (s, 5H), 1.30 (d,  $J = 7.2$  Hz, 6H), 1.24 (s, 3H), 1.04 (d,  $J = 6.4$  Hz, 3H), 0.86 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 0.81 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H)。

实施例 5：化合物 BA-5 的制备



步骤 1：化合物 BA-5-a 的制备

20°C下，向化合物艾日布林甲磺酸盐（10 mg，0.012 mmol，1 eq）的 DMF（1 mL）溶液中加入 Fmoc-Val-Ala-PAB-PNP（9.89 mg，0.015 mmol，1.2 eq），DIPEA（0.006 mL，0.036 mmol，3 eq）和 HOBt（1.64 mg，0.012 mmol，1 eq），并置于室温下搅拌 1 小时，LCMS 显示原料反应完全。反应液通过反向柱 C18（H<sub>2</sub>O（0.1% TFA）ACN=17%:83%）纯化，经冻干得白色固体产物 BA-5-a（11 mg，收率 71.47%）。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1293.2[(M+Na)]<sup>+</sup>。

步骤 2：化合物 BA-5-b 的制备

15 0°C下向化合物 BA-5-a（11 mg，0.009 mmol，1 eq）的 DMF（1 mL）溶液中加入二乙胺（0.004 mL，0.043 mmol，5 eq）并置于 20°C下搅拌 1 小时，LCMS 显示原料反应完全。反应液通过硅胶柱层析色谱法（C18，H<sub>2</sub>O（0.1%TFA）:ACN=40%:60%）纯化得到白色固体产物 BA-5-b（7 mg，收率 77.09%）。LCMS (ESI):  $m/z$ , 1048.7 [(M-1)]<sup>+</sup>。

20 步骤 3：化合物 BA-5 的制备

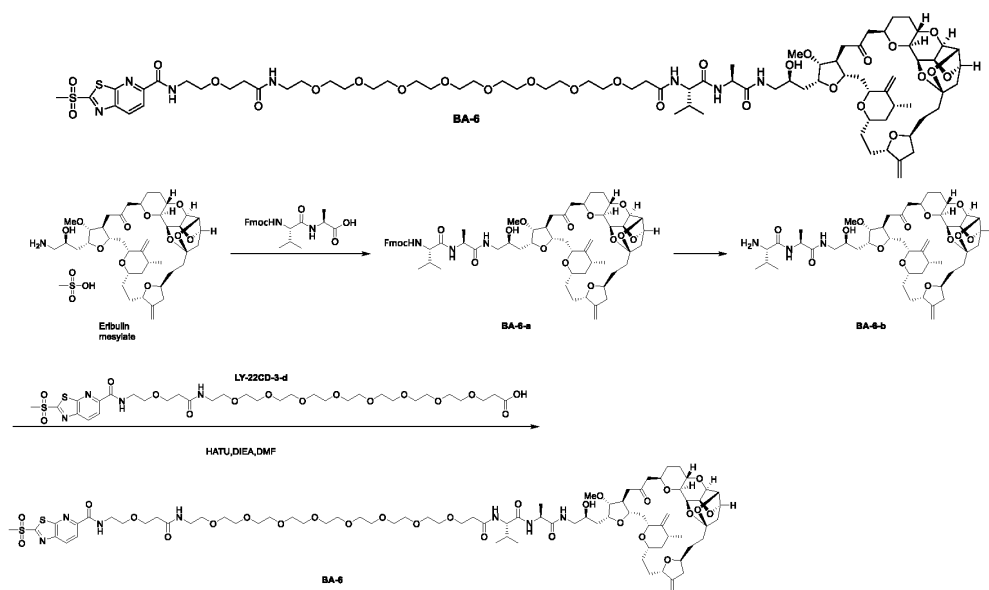
0°C下向化合物 BA-5-b（7 mg，0.007 mmol，1 eq）的 DMF（1 mL）溶液中加入 DIEA（0.002 mL，0.013 mmol，2 eq），1-马来酰亚胺基-3-氧代-7,10,13,16,19,22,25,28-八氧杂-4-氮（4.74 mg，0.008 mmol，1.2 eq）和 HATU（3.04 mg，0.008 mmol，1.2 eq），并置于 25°C下搅拌 1 小时，LCMS 显示原料反应完全。反应液通过硅胶柱层析色谱法（C18，H<sub>2</sub>O（0.1%TFA）:MeCN=34%: 66%）制备纯化得到白色固体产物 BA-5（5.2 mg，收率 48.01%）。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1645.4[(M+Na)]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  9.92 (s, 1H), 8.18 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 8.01 (s,

1H), 7.88 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 7.58 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.28 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.09 (s, 1H), 7.00 (s, 2H), 5.03 (d,  $J = 22.8$  Hz, 2H), 4.94 (s, 2H), 4.84 (s, 1H), 4.76 (s, 1H), 4.64 (s, 1H), 4.56 (t,  $J = 4.0$  Hz, 1H), 4.44 – 4.36 (m, 1H), 4.27 (d,  $J = 10.8$  Hz, 1H), 4.24 – 4.15 (m, 2H), 4.11 (s, 2H), 4.03 (s, 1H), 3.84 – 3.67 (m, 4H), 3.59 (dd,  $J = 12.0$ , 6.8 Hz, 5H), 3.49 (dd,  $J = 6.8$ , 4.4 Hz, 36H), 3.25 (s, 3H), 3.15 (dd,  $J = 11.6$ , 6.0 Hz, 3H), 2.97 (s, 2H), 2.84 (d,  $J = 10.4$  Hz, 1H), 2.81 – 2.64 (m, 3H), 2.36 – 2.17 (m, 8H), 2.05 – 1.84 (m, 7H), 1.69 (dd,  $J = 25.2$ , 12.0 Hz, 5H), 1.51 (s, 3H), 1.31 (d,  $J = 7.2$  Hz, 5H), 1.12 – 0.93 (m, 5H), 0.86 (dd,  $J = 16.0$ , 6.8 Hz, 7H)。

## 10 实施例 6：化合物 BA-6 的制备



### 步骤 1：化合物 BA-6-a 的制备

0°C下，向化合物艾日布林甲磺酸盐（15 mg，0.018 mmol，1 eq）的 DMF（2 mL）溶液中加入 Fmoc-L-缬氨酰-L-丙氨酸（8.94 mg，0.022 mmol，1.2 eq），DIPEA（0.009 mL，0.054 mmol，3 eq）和 HATU（8.29 mg，0.022 mmol，1.2 eq），并置于室温下搅拌 1 小时，LCMS 显示原料反应完全。反应液通过硅胶柱层析色谱法（C18）（0.1% TFA）H<sub>2</sub>O:ACN=13%:87%）制备，得白色固体产物 BA-6-a（16 mg，收率 78.51%）。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1121.7[(M-1)]<sup>+</sup>。

### 步骤 2：化合物 BA-6-b 的制备

0°C下向化合物 BA-6-a（16 mg，0.014 mmol，1 eq）的 DMF（1 mL）溶液中加入二乙胺（5 mg，0.07 mmol，5 eq）并置于 20°C下搅拌 1 小时，LCMS 显示原料反应完全。反应液通过减压浓缩得到粗品（12.83 mg，粗品），没有经过任何纯化直接用于下一步。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 900.2 [(M)]<sup>+</sup>。

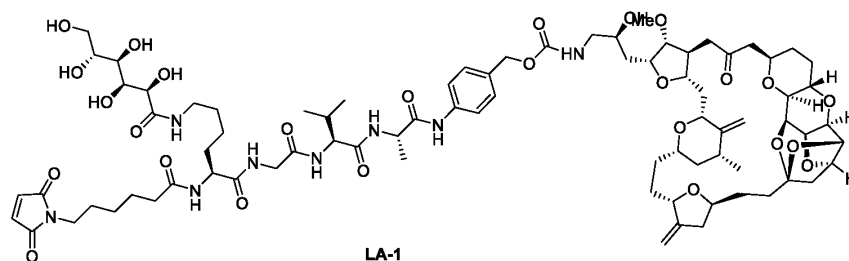
## 步骤 3: 化合物 BA-6 的制备

0°C下向化合物 BA-6-b (12.83 mg, 0.014 mmol, 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入 DIEA (0.007 mL, 0.043 mmol, 3 eq), LY-22CD-3-d (该化合物的合成请参阅制备例 41) (12.49 mg, 0.016 mmol, 1.1 eq) 和 HATU (7.05 mg, 0.019 mmol, 1.3 eq), 并置于 25°C下搅 1 小时, LCMS 显示原料反应完全。反应液通过反应液通过高效液相色谱制备 (型号 JB-C235-04, 色谱柱为 Bonnasil-BS C18, 20×250 mm ×8μm, 流动相水 (0.1%TFA) -乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱) 纯化得到白色固体产物 BA-6 (7.44 mg, 收率 31.09%)。

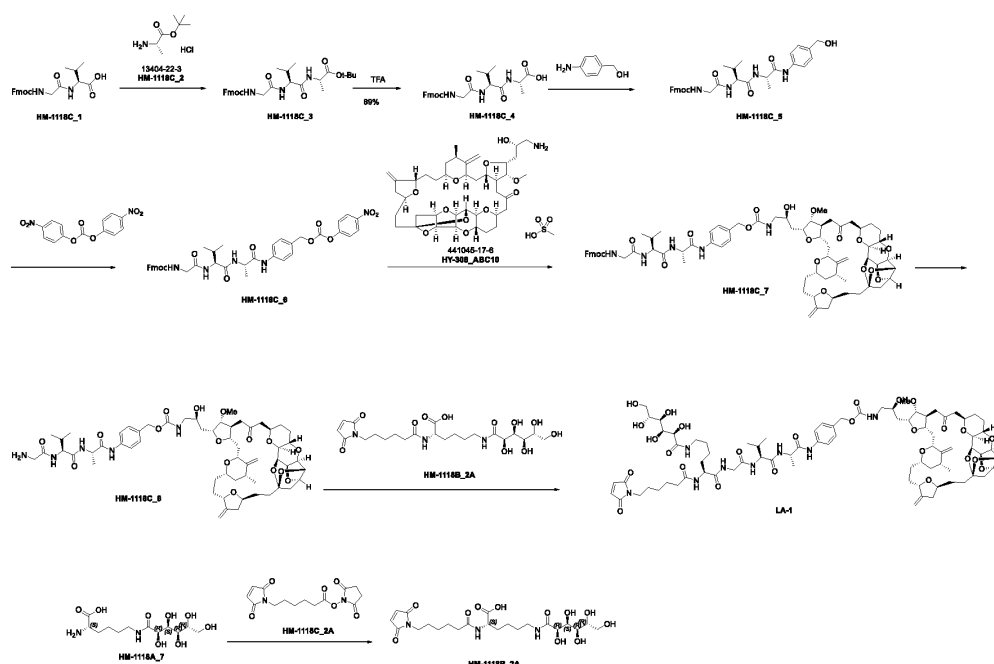
LCMS (ESI):  $m/z$ , 1678.4[(M+1)]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.06 (t,  $J = 5.6$  Hz, 1H), 8.87 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 8.39 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.96 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.92 – 7.83 (m, 2H), 7.71 (t,  $J = 5.5$  Hz, 1H), 5.03 (d,  $J = 21.5$  Hz, 2H), 4.84 (s, 1H), 4.76 (s, 1H), 4.64 (s, 1H), 4.56 (t,  $J = 4.1$  Hz, 1H), 4.30 – 4.24 (m, 2H), 4.20 – 4.14 (m, 2H), 4.11 (s, 3H), 4.02 (s, 1H), 3.84 – 3.71 (m, 3H), 3.65 (d,  $J = 3.5$  Hz, 4H), 3.63 (s, 1H), 3.62 – 3.58 (m, 3H), 3.56 (dd,  $J = 10.2, 4.2$  Hz, 5H), 3.51 – 3.48 (m, 26H), 3.25 (s, 4H), 3.19 (dd,  $J = 11.6, 5.8$  Hz, 3H), 3.15 – 3.07 (m, 2H), 3.00 (d,  $J = 13.4$  Hz, 2H), 2.88 – 2.66 (m, 5H), 2.37 – 2.18 (m, 10H), 2.02 – 1.89 (m, 7H), 1.76 – 1.45 (m, 9H), 1.24 (dd,  $J = 34.3, 17.4$  Hz, 8H), 1.01 (dd,  $J = 23.2, 9.3$  Hz, 4H), 0.83 (dd,  $J = 11.2, 6.8$  Hz, 7H)。

## 实施例 7: 化合物 LA-1 的制备







### 步骤 1: 化合物 HM-1118C<sub>3</sub> 的制备

将 HM-1118C<sub>1</sub> (8g, 20.2mmol), HM-1118C<sub>2</sub> (3.66g, 20.2mmol) 加入 250mL 三口瓶中, 加入 DMF (80mL), 氮气保护, 滴加 DIPEA (7.8g, 60.6mmol), 加完搅拌 5 分钟, 滴加 HATU (9.2g, 24.2mmol) 的 DMF (30mL) 溶液, 加完室温搅拌 1 小时, LCMS 显示反应完毕。将反应液缓慢倒入水 (800mL) 中, 搅拌 30 分钟, 过滤, 固体加 DCM (200mL) 溶解, 分液, 水洗一次, 有机相无水硫酸钠干燥, 旋干得 9.5g 黄色油状物, 收率 90%。

LCMS(ESI):m/z, 524.2[M+H]<sup>+</sup>, 546.2[M+Na]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.32 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 7.88 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.70 (d, *J* = 7.3 Hz, 3H), 7.51 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H), 7.41 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.32 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 4.19 (m, 5H), 3.66 (d, *J* = 5.1 Hz, 2H), 1.95 (m, 1H), 1.37 (s, 9H), 1.23 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H), 0.85 (dd, *J* = 18.7, 6.8 Hz, 6H)。

### 步骤 2: 化合物 HM-1118C<sub>4</sub> 的制备

将 HM-1118C<sub>3</sub> (6g, 11.47mmol) 溶于 DCM (30mL) 中, 氮气保护, 滴加 TFA (20mL), 加完室温反应 2 小时, LCMS 显示反应完毕。将反应液浓缩至小体积, 加入饱和碳酸氢钠至 pH=7-8, 加入 DCM (100mL) 萃取杂质, 用 1N HCl 调 pH 至 1-2, EA (200mL×2) 萃取产物, 水 (100mL×3) 洗有机相, 有机相无水硫酸钠干燥, 旋干得 4.8g 白色固体, 收率 89%。

LCMS(ESI):m/z, 468.2[M+H]<sup>+</sup>, 490.2[M+Na]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.88 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.70 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.41 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.32 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 4.21 (m, 5H), 3.65 (s, 2H), 1.92 (m, 1H), 1.26 (d, *J* = 7.3 Hz, 3H), 0.84 (dd, *J* = 20.8, 6.7 Hz, 6H)。

## 步骤 3: 化合物 HM-1118C\_5 的制备

将 HM-1118C\_4 (2.5g, 5.35mmol)、(4-氨基苯基) 甲醇 (645mg, 5.24mmol) 加入反应瓶, 加入 DMF (25mL) 溶解, 氮气保护, 加入 2,6-二甲基吡啶 (1.72g, 16mmol), 加完搅拌 5 分钟, 滴加 HATU (2.44g, 6.4mmol) 的 DMF (8mL) 溶液, 加完室温反应 1 小时。LCMS 显示反应完毕。将反应液加入水 (200mL) 中, EA (200mL×2) 萃取产品, 稀盐酸洗有机相, 碳酸氢钠洗有机相, 有机相无水硫酸钠干燥, 旋干得 2.4g 近白色固体, 收率 80%。

LCMS(ESI):m/z, 595.2[M+Na]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.90 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.70 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.55 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.43 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.33 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.24 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 4.48-4.35 (m, 3H), 4.25 (dd, *J* = 21.4, 6.6 Hz, 4H), 3.70 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H), 2.00-1.95 (m, 1H), 1.33 (d, *J* = 7.1 Hz, 3H), 0.87 (dd, *J* = 19.4, 6.8 Hz, 6H)。

## 步骤 4: 化合物 HM-1118C\_6 的制备

将 HM-1118C\_5 (1g, 1.74mmol)、HM-1118C\_1A (0.8g, 2.62mmol), 溶于 DMF (10mL) 中, 氮气保护, 滴加 DIPEA (563mg, 4.37mmol), 加完室温反应 2 小时, LCMS 显示反应完毕。将反应液加入水 (50mL) 中, EA (100mL×2) 萃取产物, EA 相用无水硫酸钠干燥浓缩, 硅胶拌样, 使用 PE:EA 体系进行柱层析, 纯 EA 洗脱出产物, 旋干得 1g 近白色固体, 收率 78%。

LCMS(ESI):m/z, 760.2[M+Na]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.96 (s, 1H), 8.35 – 8.23 (m, 3H), 7.87 (m, 3H), 7.62 (m, 7H), 7.41 (t, *J* = 6.8 Hz, 4H), 7.32 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 5.23 (s, 2H), 4.45-4.33 (m, 1H), 4.22 (m, 4H), 3.70 (s, 2H), 1.99 (m, 1H), 1.33 (m, 3H), 0.86 (dd, *J* = 19.9, 6.8 Hz, 6H)。

## 步骤 5: 化合物 HM-1118C\_7 的制备

将 HM-1118C\_6 (100mg, 0.135mmol)、HY-308\_ABC10 (110mg, 0.133mmol), 加入反应瓶, 氮气保护, 加入 DMF (2mL) 溶解, 加入 HOBt (18.3mg, 0.135mmol), 加入 DIPEA (70mg, 0.542mmol), 室温反应 1 小时, LC-MS 显示反应完毕。将反应液倒入冰水中, 加入 EA (100mL), 萃取产物, 水洗有机相 50mL×3, 有机相无水硫酸钠干燥, 旋干, 使用 PE:EA=10:1 打浆, 过滤得 150mg 类白色固体, 收率 83%。

LCMS(ESI):m/z, 1350.4[M+Na]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.87 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.67 (d, 2H), 7.56 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.40 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.32 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 7.25 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 5.04 (s, 1H), 4.98 (s, 1H), 4.92 (d, 2H), 4.81 (s, 1H), 4.74 (s, 1H), 4.63 (s, 1H), 4.54 (t, 1H), 4.36 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 4.24 (m, 3H), 4.20 (m, 3H), 4.09 (s, 3H), 4.01 (m, 1H), 3.77 (m, 2H), 3.68 (d, 2H), 3.23 (s, 4H), 2.95 (s, 2H), 2.83 (m, 4H), 2.30-2.09 (m, 6H), 2.01-1.88 (m, 7H), 1.72 (m, 6H), 1.52 (s, 3H), 1.33-1.21 (m, 9H), 1.01 (m, 4H), 0.84 (m,

7H)。

步骤 6: 化合物 HM-1118C\_8 的制备

将 HM-1118C\_7 (170mg, 0.128 mmol) 溶于 DCM (3mL), 滴加哌啶 (0.3mL), 加完室温反应 1 小时, LCMS 显示反应完毕。向反应液中加入 PE (150mL), 析出油状物附着于瓶壁, 沉淀 10 分钟后倒出上清液, 油泵抽干, 溶剂溶解残余物后反相液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 150\*30mm\*10 $\mu$ m。流动相水 (0.1%TFA)-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 10%到 40%洗脱) 纯化 (TFA 体系), 冻干得 90mg 白色固体, 收率 63%。

LCMS(ESI):m/z, 1106.5[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  10.00 (s, 1H), 8.40 (t,  $J$  = 7.3 Hz, 2H), 7.94 (t, 3H), 7.56 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H), 7.28 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H), 7.07 (t,  $J$  = 5.5 Hz, 1H), 5.05 (s, 1H), 5.00 (s, 1H), 4.98-4.90 (m, 2H), 4.83 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.64 (m, 1H), 4.55 (t,  $J$  = 4.1 Hz, 1H), 4.43-4.32 (m, 2H), 4.26 (d,  $J$  = 10.4 Hz, 1H), 4.22-3.97 (m, 6H), 3.85-3.73 (m, 3H), 3.67 (m, 1H), 3.62 (m, 2H), 3.27-3.19 (m, 4H), 2.98 (t,  $J$  = 5.6 Hz, 2H), 2.84 (d,  $J$  = 9.7 Hz, 1H), 2.73 (m, 2H), 2.60-2.53 (m, 1H), 2.33-2.11 (m, 6H), 2.03-1.88 (m, 7H), 1.68 (m, 5H), 1.51 (m, 3H), 1.26 (m, 7H), 1.01 (m, 4H), 0.91-0.83 (m, 6H)。

步骤 7: 化合物 HM-1118B\_2A 制备

将 HM-1118C\_2A (300mg, 0.97mmol)、HM-1118A\_7 (该化合物的合成请参阅 LA-3 的实施例) (789mg, 2.43mmol) 加入 THF (5mL) 中, 加入水 (5mL), 加入 NaHCO<sub>3</sub> (409mg, 48.7mmol), 室温反应 1 小时, LCMS 显示反应完毕。将反应液浓缩至小体积, 冻干后反相液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 150\*30mm\*10 $\mu$ m。流动相水 (0.1%TFA)-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 20%到 40%洗脱) (TFA 体系), 得到 65mg 白色固体, 收率 13%。

LCMS(ESI):m/z, 518.2[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  12.42 (s, 1H), 7.98 (d,  $J$  = 7.7 Hz, 1H), 7.63 (t,  $J$  = 5.9 Hz, 1H), 7.00 (s, 2H), 4.11 (m, 1H), 3.97 (d,  $J$  = 3.7 Hz, 1H), 3.90 (d,  $J$  = 1.9 Hz, 1H), 3.60-3.54 (m, 2H), 3.46 (m, 3H), 3.39-3.35 (m, 6H), 3.10-3.02 (m, 2H), 2.09 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 2H), 1.53 (m, 8H), 1.31-1.13 (m, 4H)。

步骤 8: 化合物 LA-1 的制备

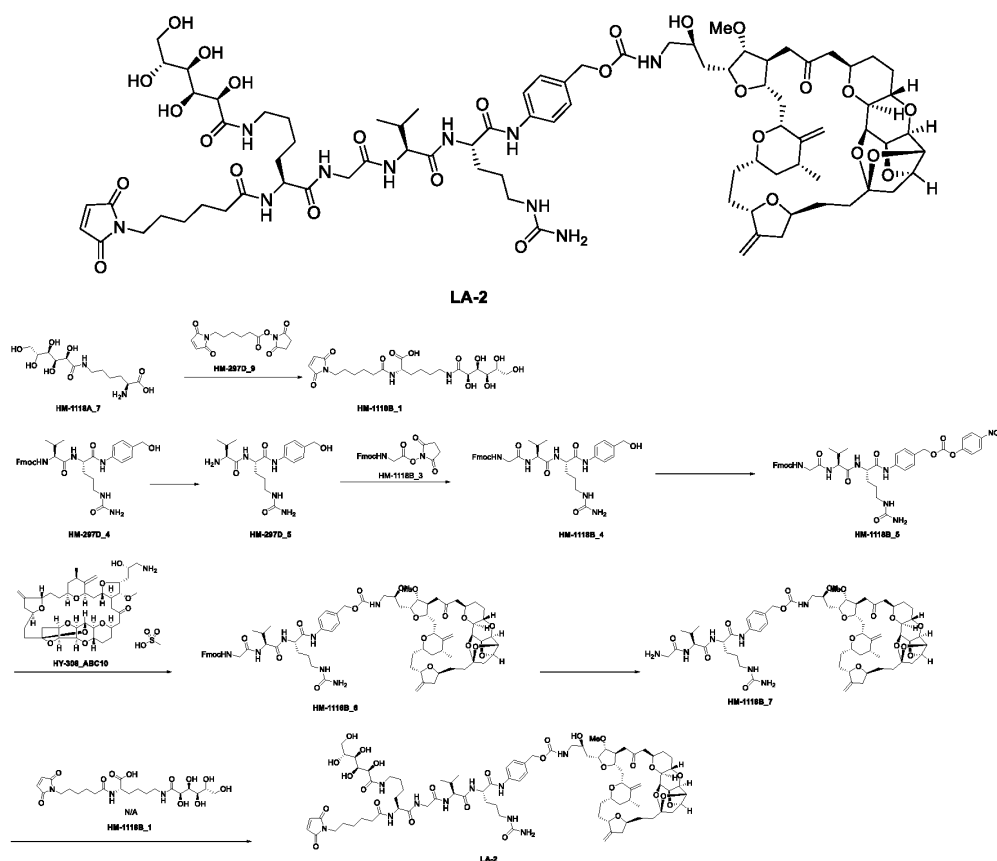
将 HM-1118C\_8 (72mg, 0.065mmol)、HM-1118B\_2A (40mg, 0.065mmol) 溶于 DMF (2mL) 中, 加入 DIPEA (25mg, 0.19mmol), 滴加 HATU (25mg, 0.065mmol) 的 DMF (0.1mL) 溶液, 加完室温搅拌 30 分钟, LCMS, 显示反应完毕。将反应液直接反相液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 150\*30mm\*10 $\mu$ m。流动相水 (0.1%TFA)-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱), TFA 体系制备纯化后, 将制备液用中性柱 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为

YMC-Triart Prep C18 150\*30mm\*10 $\mu$ m。流动相水 (10mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>)-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱) 再次制备除去 TFA, 冻干后得 46mg 白色固体, 收率 44%。

LCMS(ESI):m/z, 1605.7[M+H]<sup>+</sup>

5 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  9.89 (s, 1H), 8.24-8.11 (m, 2H), 7.92 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 1H), 7.72 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 1H), 7.63-7.54 (m, 3H), 7.27 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 2H), 7.08 (t, 1H), 7.00 (s, 2H), 5.35 (d,  $J$  = 5.0 Hz, 1H), 5.05 (s, 1H), 5.00 (s, 1H), 4.93 (s, 2H), 4.83 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.63 (s, 1H), 4.55 (m, 3H), 4.47 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 4.38 (m, 2H), 4.31 (t, 1H), 4.24 (d, 1H), 4.19 (m, 3H), 4.10 (s, 3H), 4.03-3.96 (m, 2H), 3.91 (m, 1H),  
10 3.77 (m, 5H), 3.49 (m, 6H), 3.39 (s, 2H), 3.24 (s, 1H), 3.05 (m, 2H), 2.97 (m, 2H), 2.84 (d,  $J$  = 10.2 Hz, 1H), 2.74 (m, 2H), 2.31-2.07 (m, 8H), 1.95 (m, 7H), 1.68 (m, 6H), 1.54-1.44 (m, 8H), 1.31 (m, 9H), 1.18 (m, 4H), 1.00 (m, 5H), 0.84 (dd,  $J$  = 21.0, 6.7 Hz, 7H)。

### 15 实施例 8: 化合物 LA-2 的制备



#### 步骤 1: 化合物 HM-118B\_1 的制备

原料 HM-297D\_9 (1 g, 3.24mmol, 1eq) 溶解于 DMF (10 mL, 10V) 中,  
20 加入 HM-118A\_7 (1.58g, 4.87mmol, 1.5eq), DIPEA (1.26g, 9.73mmol, 3eq),

加完后反应在 10-20°C 反应 16 小时。LCMS 显示有部分原料剩余，反应液经液相色谱制备(制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 150\*30mm\*10 $\mu$ m。流动相水(0.1%TFA)-乙腈，乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱)分离(TFA 体系)得到产品 320 mg，白色固体，收率 19%。

5  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  6.76 (s, 2H), 4.32-4.17 (m, 2H), 4.07-3.95 (m, 1H), 3.78-3.63 (m, 3H), 3.58 (dd,  $J$  = 11.6, 6.0 Hz, 1H), 3.43 (t,  $J$  = 6.9 Hz, 2H), 3.19 (t,  $J$  = 6.9 Hz, 2H), 2.22 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 2H), 1.87-1.75 (m, 1H), 1.68 (ddd,  $J$  = 14.2, 11.9, 7.3 Hz, 1H), 1.61-1.47 (m, 6H), 1.43-1.26 (m, 2H), 1.26-1.14 (m, 2H)。 LCMS 518.2[M+] $^+$

10 步骤 2: 化合物 HM-297D\_5 的制备

原料 HM-297D\_4 (5.0 g, 8.3 mmol) 悬浮于超干 DCM (50 mL) 中，加入 DEA (二乙胺, 25 mL)，原料逐渐溶清，室温(10-20°C)反应 2 小时。LCMS 显示原料转化完全，将反应液旋干(30-40°C)，粗品再用二氯甲烷(50 mL)溶解旋干两次后，用异丙醇重结晶(20V)得到 HM-297D\_5 (3.0 g, 95%收率)白色粉末状固体。

15  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  10.02 (s, 1H), 8.11 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 1H), 7.54 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 2H), 7.24 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 2H), 5.96 (t,  $J$  = 5.7 Hz, 1H), 5.40 (s, 2H), 5.09 (t,  $J$  = 5.7 Hz, 1H), 4.45 (dd,  $J$  = 16.0, 5.4 Hz, 3H), 3.16-2.80 (m, 3H), 2.07-1.85 (m, 1H), 1.79-1.50 (m, 4H), 1.50-1.25 (m, 2H), 0.89 (d,  $J$  = 6.9 Hz, 3H), 0.78 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 3H)。 LCMS 380.3[M+] $^+$ 。

步骤 3: 化合物 HM-1118B\_4 的制备

原料 HM-297D\_5 (1.5 g, 3.96 mmol, 1eq) 溶解于超干 DMF (30 mL) 中，加入 HM-1118B\_3 (1.59 g, 4.0 mmol, 1.02eq)，向反应液中滴加 DIPEA (765.3 mg, 5.9 mmol, 1.5eq)，反应液澄清，反应在冰浴(0-5°C)反应 1 小时。LCMS 显示原料转化完全，此时反应液有固体析出，向反应液中滴加 EA (150 mL)，加完后继续搅拌 30 分钟后，过滤，收集固体得到产品 HM-1118B\_4 (2.5 g, 96.1%收率)，白色粉末状固体。

25  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  9.88 (s, 1H), 8.20 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 1H), 7.88 (dd,  $J$  = 21.5, 8.0 Hz, 3H), 7.71 (d,  $J$  = 6.9 Hz, 2H), 7.66-7.51 (m, 3H), 7.43 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 2H), 7.34 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 2H), 7.24 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 2H), 6.01 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.14 (t,  $J$  = 5.6 Hz, 1H), 4.51-4.34 (m, 3H), 4.25 (dt,  $J$  = 20.7, 7.0 Hz, 4H), 3.72 (d,  $J$  = 6.0 Hz, 2H), 3.09-2.93 (m, 2H), 2.11-1.92 (m, 1H), 1.80-1.56 (m, 2H), 1.54-1.31 (m, 2H), 0.86 (dd,  $J$  = 17.5, 6.7 Hz, 6H)。 LCMS 659.4[M+] $^+$ 。

步骤 4: 化合物 HM-1118B\_5 的制备

35 原料 HM-1118B\_4 (450 mg, 0.68 mmol, 1eq) 悬浮于 DMAC (N,N-二甲基乙酰胺, 13.5 mL, 30V) 中，加入 NPC (517.2 mg, 1.7 mmol, 2.5eq)，向反应液中滴加 DIPEA (132mg, 1.0 mmol, 1.5eq)，反应液浑浊状，反应在(20-30°C)反应 48 小时。反应完成后，将反应液滴加到 MTBE (甲基叔丁基醚, 67.5mL) 中，

絮状物析出，过滤，收集产品。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.05 (s, 1H), 8.29 (dd, *J* = 30.8, 8.2 Hz, 3H), 7.88 (dd, *J* = 14.6, 8.1 Hz, 3H), 7.77-7.50 (m, 7H), 7.39 (ddd, *J* = 35.2, 10.3, 4.9 Hz, 6H), 6.02 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H), 5.46 (s, 2H), 5.26 (s, 2H), 4.42 (dd, *J* = 13.1, 7.7 Hz, 1H), 4.26 (dq, *J* = 13.7, 6.9 Hz, 4H), 3.73 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H), 3.14-2.97 (m, 2H), 2.07-1.99 (m, 1H), 1.84-1.57 (m, 2H), 1.44 (dd, *J* = 15.8, 8.7 Hz, 2H), 0.88 (dd, *J* = 18.0, 6.7 Hz, 6H)。 LCMS 824.3[M+]<sup>+</sup>。

#### 步骤 5: 化合物 HM-1118B\_6 的制备

原料艾日布林甲磺酸盐 (30 mg, 36.33 μmol, 1eq) 溶解于 DMAC (N,N-二甲基乙酰胺, 0.3 mL, 10V) 中, 加入 DIPEA (4.69 mg, 36.33 μmol, 1eq, 0.1mL DMAC 稀释), 反应搅拌 10 分钟后, 依次加入 HM-1118B\_5 (41.89mg, 51μmol, 1.4eq), HOBT (2.43 mg, 18μmol, 0.1mL DMAC 稀释) 和吡啶 (5.74mg, 72.7μmol, 2eq, 0.1mL DMAC 稀释), 加完后, 反应在 5-10°C 反应 16 小时。LCMS 显示反应完成后, 将反应液滴加到 MTBE (5mL) 中, 絮状物析出, 过滤, 收集产品。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.95 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.19 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.85 (dd, *J* = 26.8, 8.0 Hz, 3H), 7.73-7.66 (m, 2H), 7.64-7.49 (m, 3H), 7.41 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.28 (dt, *J* = 24.3, 11.6 Hz, 4H), 7.07 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 5.99 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H), 5.41 (s, 2H), 5.10-4.87 (m, 4H), 4.83 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.63 (s, 1H), 4.55 (t, *J* = 4.2 Hz, 2H), 4.38 (dd, *J* = 13.3, 7.8 Hz, 1H), 4.31-4.13 (m, 6H), 4.02 (s, 4H), 3.86-3.45 (m, 10H), 3.25 (d, *J* = 7.5 Hz, 3H), 3.13 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 3.02 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 2.84 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H), 2.73-2.65 (m, 1H), 2.62-2.55 (m, 1H), 2.28-2.09 (m, 4H), 2.00 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 1.92 (s, 3H), 1.80-1.61 (m, 6H), 1.59-1.41 (m, 4H), 1.27 (t, *J* = 12.5 Hz, 13H), 1.00 (dd, *J* = 21.3, 9.0 Hz, 4H), 0.84 (dd, *J* = 17.8, 6.7 Hz, 6H)。 LCMS 1414.6[M+]<sup>+</sup>。

#### 步骤 6: 化合物 HM-1118B\_7 的制备

原料 HM-1118B\_6 (45 mg, 31.8 μmol, 1eq) 溶解于 DMAC/DEA (N,N-二甲基乙酰胺/三乙胺, 5:1, 0.67 mL, 15V) 中, 反应在 5-10°C 反应 2 小时。LCMS 显示反应完成后, 将反应液滴加到制备色谱 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 150\*30mm\*10μm。流动相水 (0.1%TFA)-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱) 分离 (TFA 体系) 得到产品 14 mg。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.12 (s, 1H), 8.43 (dd, *J* = 31.1, 8.2 Hz, 2H), 8.05 (s, 3H), 7.63 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.34 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.13 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 6.11 (s, 1H), 5.52 (s, 2H), 5.05 (dd, *J* = 27.2, 17.9 Hz, 4H), 4.89 (s, 1H), 4.81 (s, 1H), 4.70 (s, 1H), 4.61 (d, *J* = 4.2 Hz, 1H), 4.51-4.38 (m, 2H), 4.32 (d, *J* = 10.4 Hz, 1H), 4.28 - 4.01 (m, 5H), 3.93-3.57 (m, 9H), 3.31 (d, *J* = 4.7 Hz, 3H), 3.12-2.96 (m, 4H), 2.93-2.63 (m, 4H), 2.48-2.14 (m, 6H), 2.13-1.90 (m, 7H), 1.86-1.31 (m, 15H), 1.30-1.18 (m, 2H), 1.07 (dd, *J* = 23.1, 9.0 Hz, 4H), 0.93 (dd, *J* = 18.2, 6.8 Hz, 6H)。 LCMS 1192.5[M+]<sup>+</sup>。

597[1/2M+]

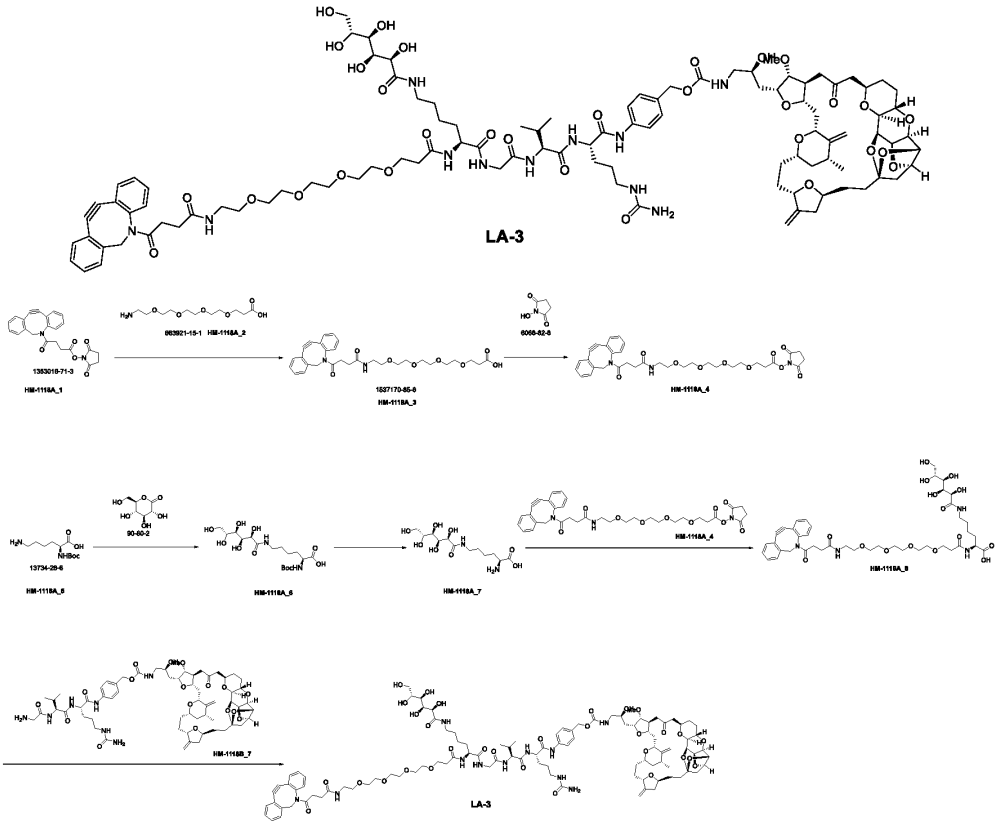
步骤 7：化合物 LA-2 的制备

原料 HM-1118B\_7 (40 mg, 33.56 μmol, 1eq) 溶解于 DMF (2 mL) 中，加入 HM-1118B\_1 (20.82 mg, 40.27 μmol, 1.2eq)，冰浴冷却到 0℃，加入 HATU (15.3 mg, 40.27 μmol, 1.2eq)，DIPEA (13mg, 100.68 μmol, 3eq)，0-5℃反应两小时后进行液相色谱制备（制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 BRIX-2860。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 150\*30mm\*10μm。流动相水 (0.1%TFA)-乙腈，乙腈的洗脱比例从 20%到 60%洗脱），分离得到产品 (24mg, 收率 42%) 白色固体。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.96 (s, 1H), 8.19 (s, 2H), 7.95 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 7.74 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.62 (dd, J = 18.0, 7.1 Hz, 3H), 7.29 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.11 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.01 (d, J = 9.6 Hz, 2H), 6.01 (s, 1H), 5.47-5.34 (m, 3H), 4.99 (d, J = 26.0 Hz, 4H), 4.81 (d, J = 31.9 Hz, 2H), 4.51 (dd, J = 50.5, 22.6 Hz, 7H), 4.28-4.12 (m, 7H), 4.02 (d, J = 17.5 Hz, 2H), 3.80 (dd, J = 32.0, 7.9 Hz, 5H), 3.59-3.50 (m, 5H), 3.27 (s, 4H), 3.15-2.61 (m, 12H), 2.34-1.93 (m, 14H), 1.82-1.62 (m, 8H), 1.61-1.19 (m, 25H), 1.03 (dd, J = 22.6, 8.9 Hz, 4H), 0.85 (dd, J = 18.0, 6.7 Hz, 6H)。

LCMS 1691.7[M+]<sup>+</sup>, 846.6[1/2M+]<sup>+</sup>。

实施例 9：化合物 LA-3 的制备



步骤 1：化合物 HM-1118A\_3 的制备

原料 TEA (三乙胺, 753 mg, 7.4 mmol), HM-1118A\_2 (659 mg, 2.4 mmol) 溶于超干 DMF (15mL) 中, 加入 HM-1118A\_1 (1.0 g, 2.4 mmol), 室温 (10-20°C) 反应 17 小时。LCMS 显示原料转化完全, 残留物通过硅胶柱层析色谱法(C18) (ISCO, R-330g SepaFlash Silica Flash Column, Eluent of 5-75% water/CH<sub>3</sub>CN @ 100 mL/min) 纯化纯化, 冻干得 1.2 g, 收率 87%。

LCMS(ESI):m/z, 553.2[M+H]<sup>+</sup>, 575.2[M+Na]<sup>+</sup>。 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.71-7.65 (m, 1H), 7.62 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 7.54-7.44 (m, 3H), 7.41-7.28 (m, 3H), 5.04 (d, J = 14.0 Hz, 1H), 3.65-3.56 (m, 3H), 3.50-3.40 (m, 9H), 3.30 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 3.13-3.03 (m, 2H), 2.62-2.54 (m, 4H), 2.40 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.29-2.18 (m, 1H), 2.05-1.95 (m, 1H), 1.87-1.71 (m, 1H)。

#### 步骤 2: 化合物 HM-1118A\_4 的制备

取 HM-1118A\_3 (2.3g, 4.16mmol), HOSU (N-羟基琥珀酰亚胺, 0.718 g, 6.24mmol) 溶于 DCM (40mL) 中, 搅拌状态下加入 EDCI (1-乙基-(3-二甲氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐, 1.19 g, 6.24mmol), 10-15°C下反应 16h。LCMS 显示反应结束, 向反应液中加入水 (20mL), 分液后水相用 DCM (40mL) 萃取, 合并两次有机相并用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥浓缩得淡黄色泡状物 2.1 g, 收率 77%。

LCMS(ESI):m/z, 650.2[M+H]<sup>+</sup>, 672.2[M+Na]<sup>+</sup>。 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.81 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 7.77-7.72 (m, 1H), 7.70-7.66 (m, 1H), 7.59-7.49 (m, 3H), 7.48-7.35 (m, 3H), 5.09 (d, J = 14.0 Hz, 1H), 3.77 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 3.68 (dd, J = 12.5, 5.4 Hz, 1H), 3.64-3.43 (m, 14H), 3.35 (d, J = 6.2 Hz, 2H), 3.19-3.10 (m, 2H), 2.97 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 2.69-2.60 (m, 1H), 2.35-2.25 (m, 1H), 2.11-2.02 (m, 1H), 1.89-1.75 (m, 1H)。

#### 步骤 3: 化合物 HM-1118A\_6 的制备

原料 HM-1118A\_5 (5 g, 0.02 mol), CAS:90-80-2 的化合物 (3.6 g, 0.02 mol) 溶解于 MeOH (80mL) 中, 加入 TEA (4.1 g, 0.04 mol), 在 70°C下反应 16 小时。LCMS 显示原料转化完全, 将反应液浓缩, 分三次每次加入 50 mL MTBE 再浓缩至干, 后用石油醚打浆得粗品 8 g, 呈白色泡沫状 (产品为酸性化合物, 与 TEA 成盐) 粗品, 收率不计。

LCMS(ESI):m/z, 425.2[M+H]<sup>+</sup>, 447.2[M+Na]<sup>+</sup>。 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.50 (brs, 1H), 5.61 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 4.27 (s, 1H), 4.13 (s, 1H), 4.10-3.85 (m, 1H), 3.85-3.66 (m, 4H), 3.28-3.15 (m, 2H), 1.80-1.55 (m, 2H), 1.55-1.48 (m, 2H), 1.50-1.21 (m, 11H)。

#### 步骤 4: 化合物 LA-1118A\_7 的制备

原料 HM-1118A\_6 (7 g) 溶于 DCM (35mL) 中, 加入 TFA (35 mL), 10-15°C 反应 16 小时。LCMS 显示原料无, 将反应液浓缩并加入 DCM (50mL×3) 浓缩三次后加水溶冷冻干, 得黄色粘状物粗品 8 g, 不计收率。



<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  9.26 (s, 1H), 8.26 (d,  $J$  = 25.1 Hz, 3H), 7.69 (dd,  $J$  = 37.2, 31.4 Hz, 1H), 3.99 (d,  $J$  = 3.7 Hz, 1H), 3.94-3.84 (m, 2H), 3.58 (dd,  $J$  = 13.3, 3.7 Hz, 1H), 3.51-3.45 (m, 2H), 3.40-3.34 (m, 1H), 3.09 (qt,  $J$  = 15.7, 7.9 Hz, 2H), 1.84-1.67 (m, 2H), 1.60-1.27 (m, 4H), 1.18 (t,  $J$  = 7.3 Hz, 5H)。

5 步骤 5: 化合物 HM-1118A\_8 的制备

取 HM-1118A\_7 (3 g, 9.6 mmol) 溶于 DMF (40 mL) 中, 加入 TEA (1.6 g, 16 mmol) 使反应体系呈碱性 (pH 大于 9), 再加入 HM-1118A\_4 (2.1 g, 3.2 mmol) 的 DMF (10 mL) 溶液, 25-30°C 下反应 16h。LCMS 显示反应结束, 残留物通过硅胶柱层析色谱法 (C18) (ISCO, R-330g SepaFlash Silica Flash Column, Eluent of 10 5-75% water/CH<sub>3</sub>CN @ 100 mL/min) 纯化, 冻干得 600 mg, 收率 22%。

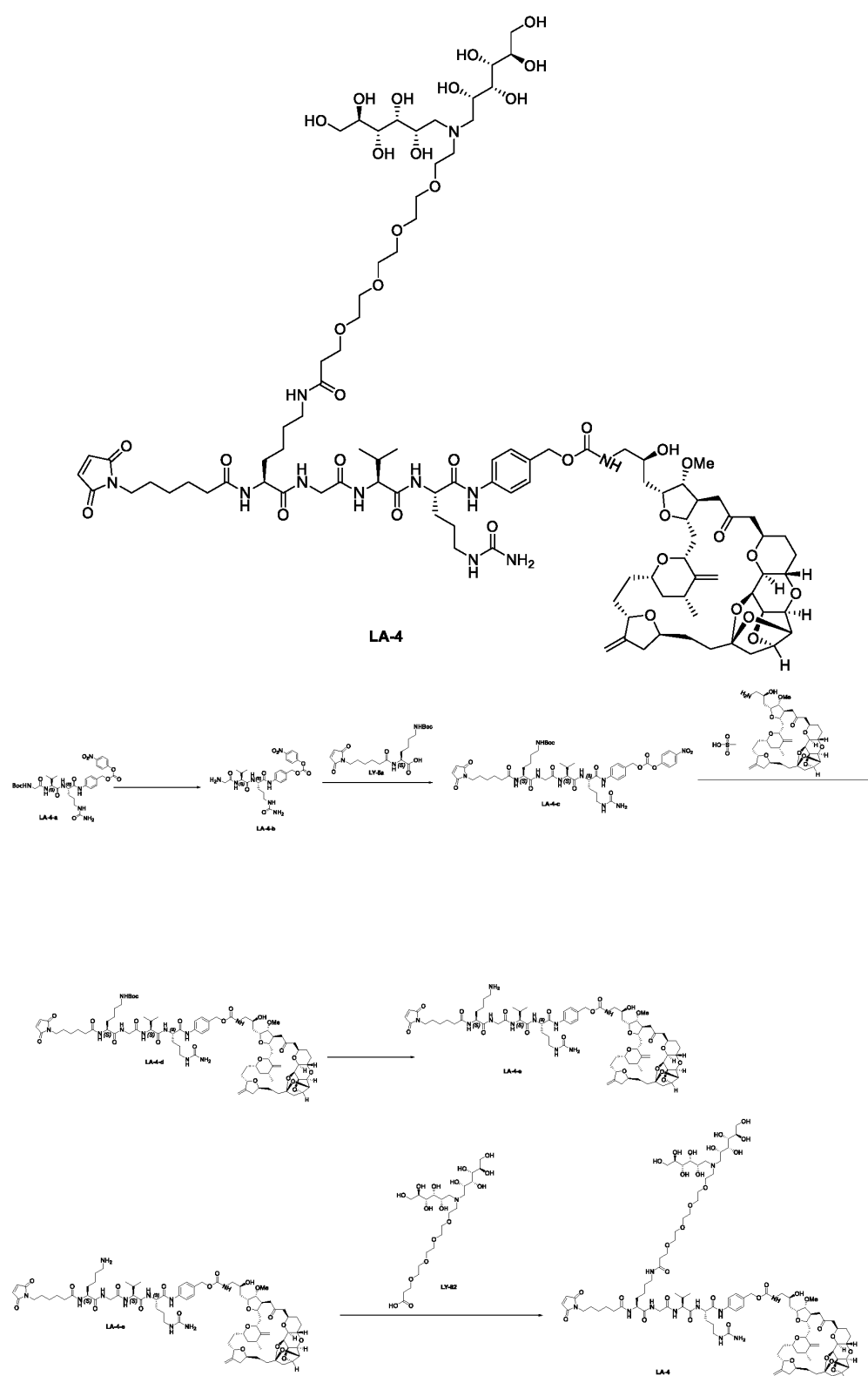
LCMS(ESI):m/z, 859.3[M+H]<sup>+</sup>, 882.3[M+Na]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  7.75 (s, 2H), 7.71-7.55 (m, 3H), 7.55-7.42 (m, 3H), 7.40-7.23 (m, 3H), 5.03 (d,  $J$  = 14.0 Hz, 1H), 4.12-3.89 (m, 3H), 3.66-3.57 (m, 4H), 3.52-3.42 (m, 12H), 3.29-3.25 (m, 5H), 3.15-3.00 (m, 4H), 2.75-2.65 (m, 5H), 2.34-2.22 (m, 4H), 2.05-1.95 (m, 1H), 1.81-1.73 15 (m, 1H), 1.67-1.47 (m, 2H), 1.42-1.32 (m, 2H), 1.30-1.20 (m, 2H)。

步骤 6: 化合物 LA-3 的制备

取 HM-1118A\_8 (34 mg, 0.04 mmol), HM-1118B\_7 (该化合物的合成请参考 LA-2 的实施例) (40 mg, 0.03 mmol) 溶于 DMF (2 mL) 中, 冰浴降温至 0-5°C, 依次加入 HATU (15 mg, 0.04 mmol), DIPEA (10.8 mg, 0.08 mmol), 保持 0-5°C 20 下 1 h。LCMS 显示反应结束, 将反应液进行液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 150\*30mm\*10 $\mu$ m。流动相水 (0.1%TFA) -乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱) 经制备冻干得 29 mg, 收率 42%。

LCMS(ESI):m/z, 1017.2[M/2+H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  9.94 (s, 1H), 25 8.77 (d,  $J$  = 3.8 Hz, 1H), 8.54 (d,  $J$  = 7.7 Hz, 1H), 8.16 (s, 2H), 8.03 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 1H), 7.78-7.66 (m, 3H), 7.60 (dd,  $J$  = 15.3, 7.8 Hz, 4H), 7.53-7.44 (m, 3H), 7.40-7.32 (m, 2H), 7.29 (t,  $J$  = 8.4 Hz, 3H), 7.08 (d,  $J$  = 4.9 Hz, 1H), 5.99 (s, 1H), 5.42 (s, 3H), 5.15-4.71 (m, 8H), 4.69-4.50 (m, 4H), 4.37 (d,  $J$  = 6.0 Hz, 2H), 4.29-3.98 (m, 11H), 3.96-3.64 (m, 9H), 3.61-3.54 (m, 6H), 3.48 (s, 11H), 3.16-2.80 (m, 13H), 2.40 (dd,  $J$  = 30 13.8, 7.1 Hz, 4H), 2.32-2.08 (m, 8H), 2.06-1.85 (m, 9H), 1.82-1.12 (m, 26H), 1.10-0.95 (m, 4H), 0.84 (dd,  $J$  = 17.4, 6.7 Hz, 6H)。

实施例 10: 化合物 LA-4 的制备



步骤 1: 化合物 LA-4-b 的制备

0°C下向化合物 LA-4-a (购买自皓元医药, 10.60 mg, 8.27  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DCM (5mL) 的溶液中加入三氟乙酸 (0.5mL), 加毕, 0-5°C反应 5 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液旋干得到黄色油状物 LA-4-b (47 mg, 收率 90.00%)。

LCMS (ESI): m/z, 602.2[M+H]<sup>+</sup>. Rt=0.74 min。

5 步骤 2: 化合物 LA-4-c 的制备

0°C下向化合物 LA-4-b (1 eq, 72 mg, 82.50  $\mu\text{mol}$ , 82%), LY-5a (1.6 eq, 73.07 mg, 132  $\mu\text{mol}$ ) 的 DMF (3 mL) 溶液中加入 DIPEA (7 eq, 74.64 mg, 577.50  $\mu\text{mol}$ ) 和 HATU (1.5 eq, 47.05 mg, 123.80  $\mu\text{mol}$ ), 加毕, 反应液在 25°C下反应 12 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250×50mm×7 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 LA-4-c (34.60 mg, 收率 36.88%)。

LCMS (ESI): m/z, 1045.6[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 3: 化合物 LA-4-d 的制备

15 0°C下向化合物 LA-4-c (30.60 mg, 26.91  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和艾日布林甲磺酸盐 (23.90 mg, 26.91  $\mu\text{mol}$ , 1 eq, 购买于山东行致) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入 DIPEA (17.39 mg, 134.55  $\mu\text{mol}$ , 5 eq) 和 HOBt (1.82 mg, 13.46  $\mu\text{mol}$ , 0.5 eq)。加毕 25°C反应 12 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250×50mm×7 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 48%到 78%洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 LA-4-d (1 mg, 收率 25.34%)。

LCMS (ESI): m/z, 1636.0[M+Na]<sup>+</sup>. Rt=2.82 min。

步骤 4: 化合物 LA-4-e 的制备

25 0°C下向化合物 LA-4-d (11 mg, 6.82  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DCM (5mL) 的溶液中加入三氟乙酸 (0.5mL), 加毕, 0-10°C反应 3 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液旋干得到黄色油状物 LA-4-e (11 mg, 粗品)。

LCMS (ESI): m/z, 1537.1[M+H]<sup>+</sup>. Rt=2.44 min。

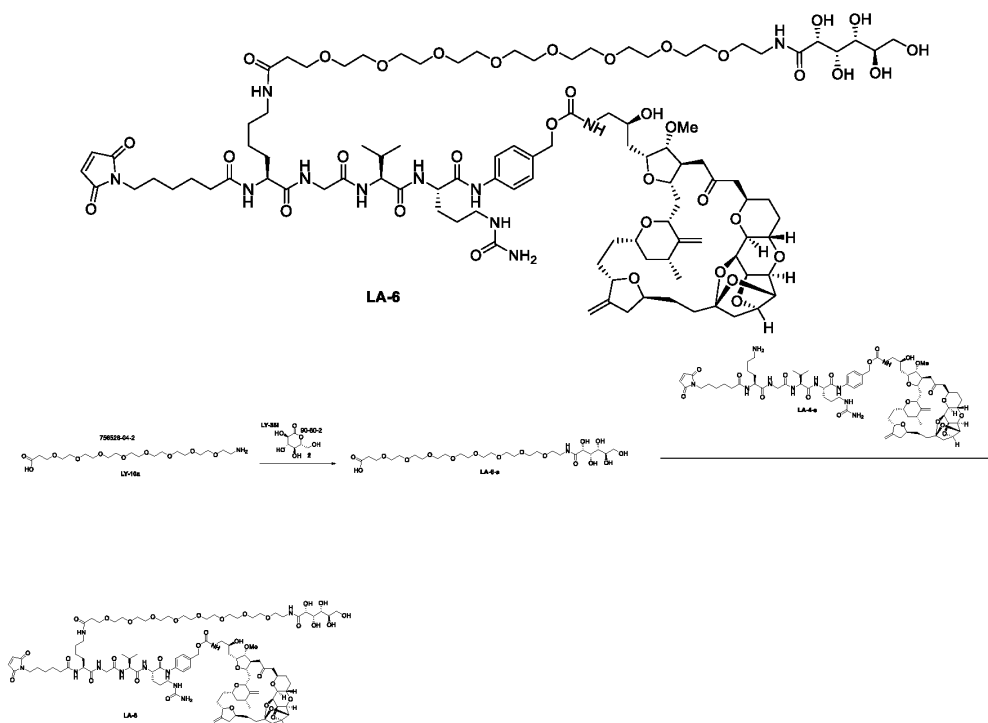
步骤 5: 化合物 LA-4 的制备

30 0°C下向化合物 LA-4-e (10 mg, 6.14  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), LY-82 (13.04 mg, 18.43  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 的 DMF (3 mL) 溶液中加入 DIPEA (5.56 mg, 43.00  $\mu\text{mol}$ , 7 eq) 和 HATU (7.01 mg, 18.43  $\mu\text{mol}$ , 3 eq), 加毕, 反应液在 25°C下反应 2 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×21.2mm×5 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 21%到 51%洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 LA-4 (4.80 mg, 收率 37.40%)。

LCMS (ESI): m/z, 1045.8[1/2M+Na]<sup>+</sup>。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  9.95 (s, 1H), 8.17 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.94 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.72 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H), 7.58 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.27 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.09 (s, 1H), 7.00 (s, 2H), 6.20 (d,  $J = 3.0$  Hz, 1H), 6.01-5.92 (m, 2H), 5.42 (s, 2H), 4.94 (s, 3H), 4.87 (d,  $J = 3.3$  Hz, 2H), 4.81 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.61 (t,  $J = 6.9$  Hz, 2H), 4.48 (d,  $J = 5.5$  Hz, 2H), 4.32 (dd,  $J = 11.8, 6.1$  Hz, 6H), 4.28-4.14 (m, 4H), 4.00 (s, 2H), 3.88-3.65 (m, 8H), 3.58 (q,  $J = 5.8, 4.7$  Hz, 7H), 3.48 (d,  $J = 8.1$  Hz, 14H), 3.41-3.35 (m, 15H), 3.19 (s, 5H), 2.97 (dd,  $J = 12.6, 6.7$  Hz, 8H), 2.81-2.72 (m, 3H), 2.68-2.57 (m, 5H), 2.29 (t,  $J = 6.6$  Hz, 3H), 2.16-2.04 (m, 4H), 2.01-1.88 (m, 4H), 1.76-1.56 (m, 10H), 1.47 (h,  $J = 7.3$  Hz, 9H), 1.33 (dt,  $J = 16.7, 8.3$  Hz, 7H), 1.22-1.04 (m, 5H), 1.03 (s, 3H), 0.83 (dd,  $J = 18.6, 6.7$  Hz, 6H)。

### 实施例 11: 化合物 LA-6 的制备



#### 步骤 1: 化合物 LA-6-a 的制备

室温下向化合物 LY-10a (购买自毕得, 300 mg, 679.47  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 MeOH (10mL) 的溶液中加入 LY-35i (1.94 g, 16 eq) 和三乙胺 (411 mg, 6 eq), 加毕, 70°C 反应 21 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液旋干得到粗品, 粗品通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150 $\times$ 21.2mm $\times$ 5 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 11% 到 41% 洗脱) 纯化, 经冻干得到无色油状物 LA-6-a (354 mg, 收率 84.08%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 620.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。Rt=2.187 min。

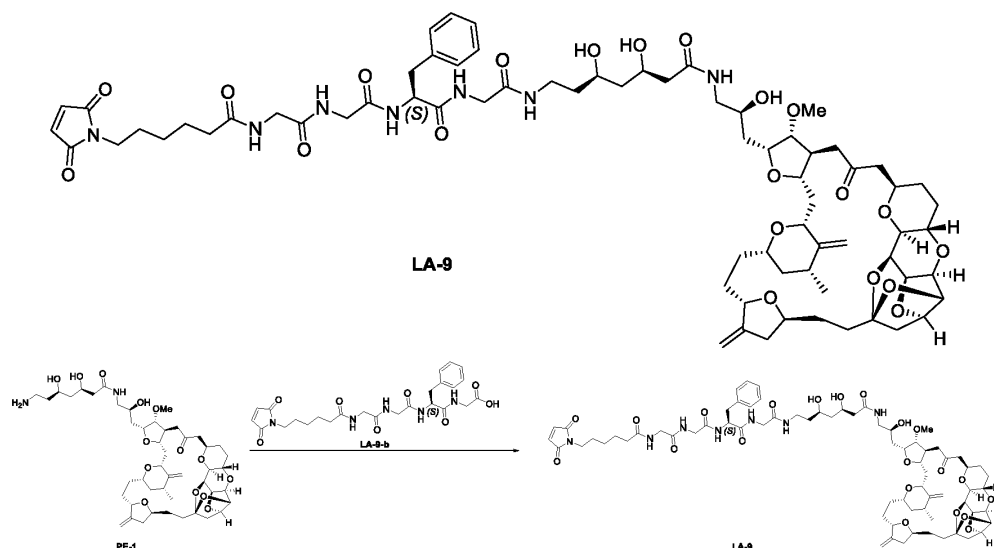
## 步骤 2: 化合物 LA-6 的制备

0°C下向化合物 LA-6-a (3 mg, 1.98  $\mu$ mol, 1 eq), LA-4-e (13.04 mg, 18.43  $\mu$ mol, 3 eq) (该化合物的合成请参考 LA-4 的实施例) 的 DMF (3 mL) 溶液中加入 DIPEA (7.38 mg, 6 eq) 和 HATU (6.77 mg, 9 eq), 加毕, 反应液在 25°C 下反应 2 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150 $\times$ 21.2mm $\times$ 5 $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH)-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 12%到 42%洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 LA-6 (0.360 mg, 收率: 8.59%)。

LCMS (ESI): m/z, 1058.3[1/2M+Na]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  9.95 (s, 1H), 8.45 (s, 1H), 8.18 (s, 2H), 7.94 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.72 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.58 (d, *J* = 8.2 Hz, 3H), 7.27 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.09 (s, 1H), 7.00 (s, 2H), 6.19 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H), 5.99 (s, 1H), 5.94 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H), 5.43 (d, *J* = 4.4 Hz, 3H), 4.94 (s, 3H), 4.87 (d, *J* = 3.4 Hz, 2H), 4.78 (d, *J* = 25.9 Hz, 3H), 4.61 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 4.55 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H), 4.48 (s, 1H), 4.41 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 4.33 (dd, *J* = 13.1, 7.6 Hz, 4H), 4.25-4.14 (m, 3H), 4.08-3.97 (m, 3H), 3.87 (d, *J* = 26.7 Hz, 4H), 3.73 (d, *J* = 5.5 Hz, 4H), 3.57 (t, *J* = 6.6 Hz, 5H), 3.53-3.45 (m, 28H), 3.19 (s, 5H), 3.06-2.89 (m, 10H), 2.82-2.71 (m, 4H), 2.28 (t, *J* = 6.6 Hz, 5H), 2.10 (dt, *J* = 12.3, 6.6 Hz, 4H), 1.97 (d, *J* = 15.5 Hz, 4H), 1.84 (d, *J* = 11.3 Hz, 2H), 1.70 (d, *J* = 13.3 Hz, 11H), 1.53-1.40 (m, 9H), 1.38-1.26 (m, 7H), 1.18 (q, *J* = 7.7 Hz, 3H), 1.08-0.99 (m, 4H), 0.83 (dd, *J* = 18.4, 6.7 Hz, 6H)。

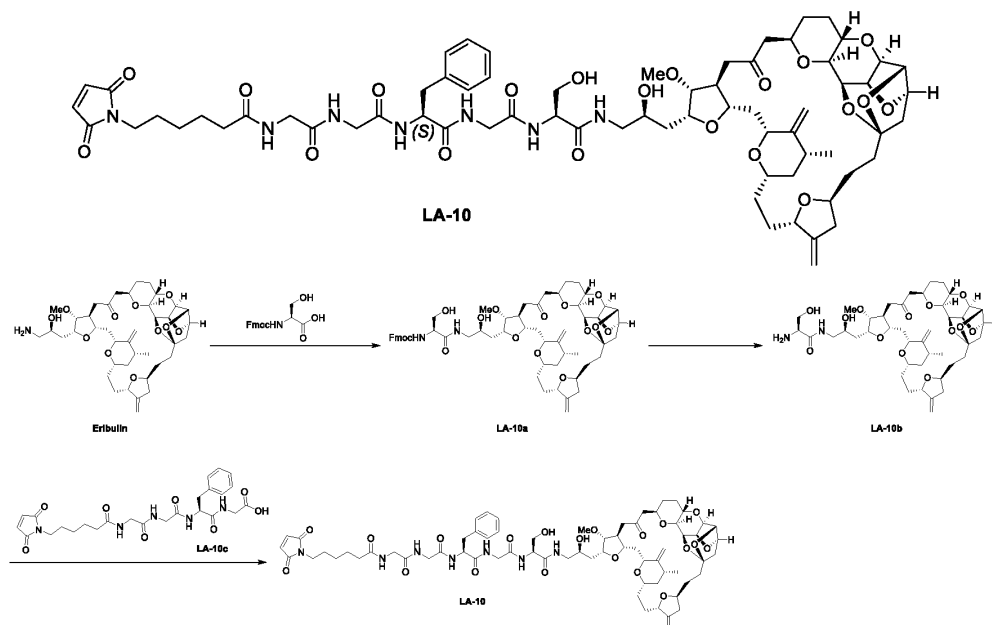
## 实施例 12: 化合物 LA-9 的制备



冰浴下向化合物 PE-1 (8 mg, 8.55 mmol, 1 eq), (6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰)甘氨酸-L-苯丙氨酸甘氨酸 (LA-9-b, 4.53 mg, 8.55 mmol, 1 eq, 购买自皓元) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (2 mL) 溶液中加入 N,N-二异丙基乙胺

(2.83  $\mu\text{L}$ , 17.1  $\mu\text{mol}$ , 2 eq) 和  $N,N,N',N'$ -四甲基-O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)六氟磷酸脲 (3.9 mg, 10.26  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 搅拌 5 分钟后恢复室温搅拌 2 小时。LCMS 显示原料反应完全。反应液使用高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。色谱柱为 GS-120-10-C18AP。流动相水 (0.225%  $\text{HCOOH}$ )-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 得到产物 LA-9 (0.89 mg, 收率 7.43%)。LCMS (ESI):  $m/z$ , 1400 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

### 实施例 13: 化合物 LA-10 的制备



#### 步骤 1: 化合物 LA-10a 的制备

将化合物艾日布林甲磺酸盐 (40 mg, 48.43  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), ((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基-L-丝氨酸 (19.02 mg, 58.11  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 溶于 DMF (3 mL), 在 0°C 下, 依次加入  $N,N$ -二异丙基乙胺 (12.52 mg, 16.01  $\mu\text{L}$ , 96.85  $\mu\text{mol}$ , 2 eq),  $N,N,N',N'$ -四甲基-O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)六氟磷酸脲 (22.10 mg, 58.11  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq)。溶液在 10°C 搅拌 2 小时。LCMS 显示原料反应完全, 油泵浓缩得化合物 LA-10a (50 mg, 粗品不计产率)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1039.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

#### 步骤 2: 化合物 LA-10b 的制备

将化合物 LA-10a (粗品, 50 mg, 48.11  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于  $N,N$ -二甲基甲酰胺 (2 mL) 中, 加入 1,8-二偶氮杂双螺环[5.4.0]十一-7-烯 (21.97 mg, 21.56  $\mu\text{L}$ , 144.34  $\mu\text{mol}$ , 3 eq), 10°C 下搅拌 2 小时。LCMS 显示原料反应完全。反应液不做处理, 直接用于下一步。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 817.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 3: 化合物 LA-10 的制备

将化合物 LA-10b 溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (2 mL) 中, 加入(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰)甘氨酸甘氨酸-L-苯丙氨酸甘氨酸 (27.22 mg, 51.41 μmol, 1.2 eq) 和 4-羟基苯并三唑 (8.68 mg, 5.79 μL, 64.26 μmol, 1.5 eq), 然后再加入 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (12.32 mg, 14.05 μL, 64.26 μmol, 1.5 eq), 反应在 10°C 下搅拌 1 小时。LCMS 显示反应完成。反应液通过高效液相色谱制备得化合物 LA-10 (40.14 mg, 收率 69.52%, 纯度 98.57%)。

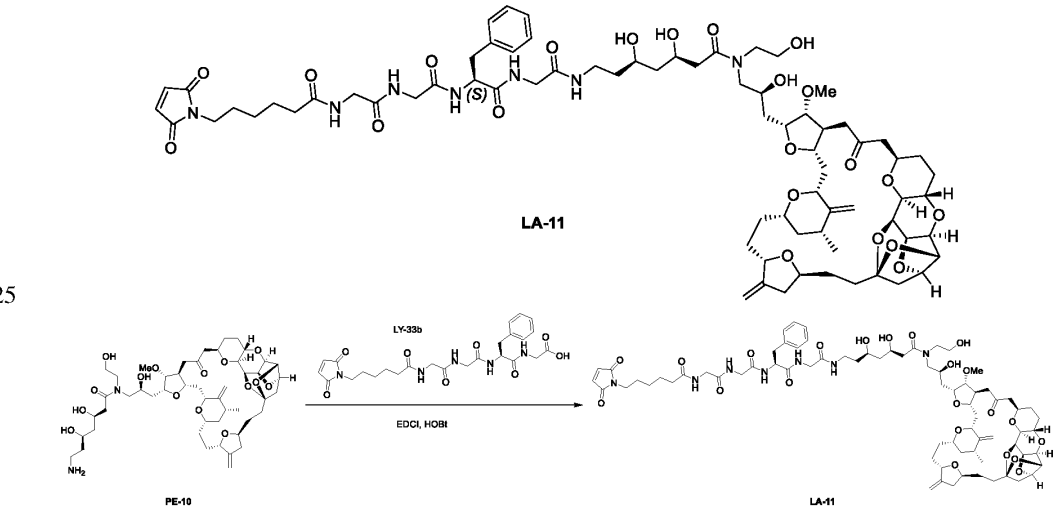
高效液相色谱制备条件如下:

制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱。

LCMS(ESI): *m/z*, 1328.5[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.28 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 8.15 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 8.06 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 7.99 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 7.87 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.79 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 7.25 (d, *J* = 5.3 Hz, 4H), 7.21-7.14 (m, 1H), 7.00 (s, 2H), 5.05 (s, 1H), 5.00 (s, 1H), 4.89 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 4.83 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.66-4.59 (m, 2H), 4.55 (t, *J* = 4.2 Hz, 1H), 4.48 (td, *J* = 9.4, 8.9, 4.3 Hz, 1H), 4.27 (t, *J* = 10.7 Hz, 2H), 4.17 (td, *J* = 10.3, 4.4 Hz, 1H), 4.10 (s, 3H), 4.02 (s, 1H), 3.84-3.64 (m, 8H), 3.62-3.46 (m, 6H), 3.26 (s, 4H), 3.11-3.00 (m, 3H), 2.87-2.63 (m, 5H), 2.60-2.54 (m, 1H), 2.36-2.17 (m, 6H), 2.16-2.07 (m, 3H), 1.97 (d, *J* = 33.5 Hz, 6H), 1.76-1.53 (m, 7H), 1.47 (h, *J* = 6.8 Hz, 6H), 1.29 (d, *J* = 13.1 Hz, 3H), 1.20 (d, *J* = 7.4 Hz, 3H), 1.00 (dd, *J* = 22.7, 9.1 Hz, 4H)。

实施例 14: 化合物 LA-11 的制备



将化合物 PE-10 (4 mg, 4.29 μmol, 1 eq) 溶于 DMF (1 mL) 中, 加入 (6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基)甘氨酸甘氨酸-L-苯丙氨酸甘氨酸

(LY-33b, 购买自皓元医药, 2.27 mg, 4.29  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 HOBT (1-羟基苯并三唑, 868.80  $\mu\text{g}$ , 5.79  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq), 然后加入 EDCI.HCl (1.23 mg, 1.41  $\mu\text{L}$ , 6.43  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq), 15°C下搅拌 1 小时。LCMS 显示有产物生成。反应液通过高效液相色谱制备, 得到白色固体产物 (8.20 mg, 收率 70.91%)。

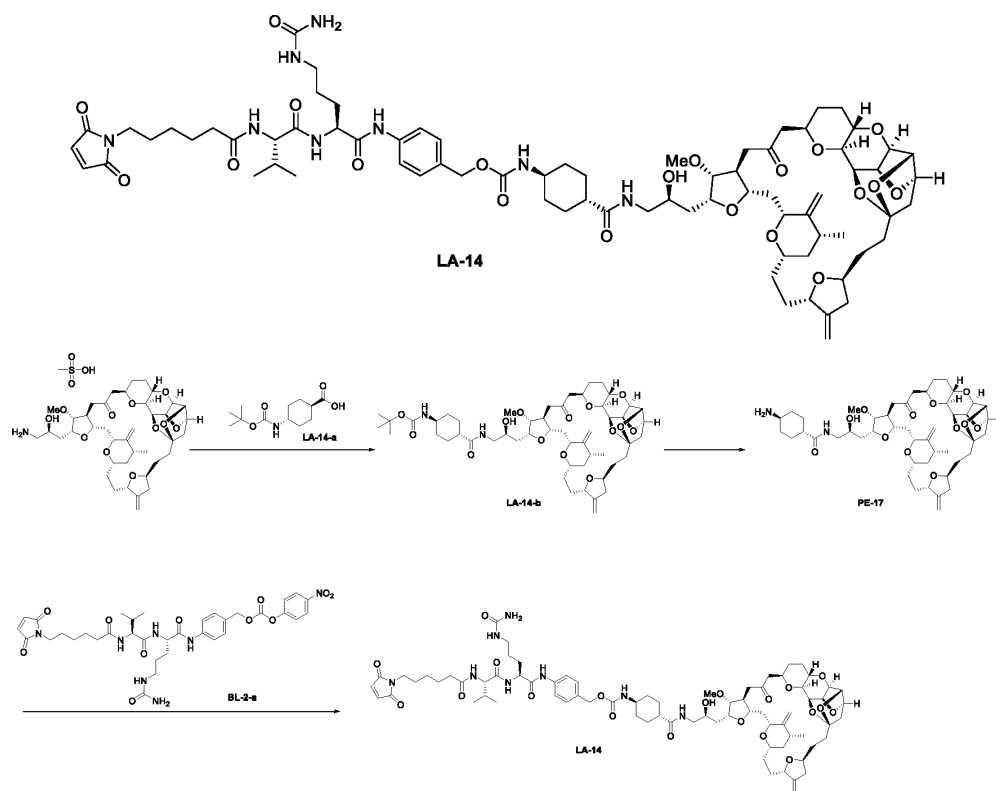
5 高效液相色谱制备条件如下:

制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250×30mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱。

LCMS (ESI): m/z, 1444.7[M+H]<sup>+</sup>。

10

### 实施例 15: 化合物 LA-14 的制备



#### 步骤 1: 化合物 LA-14-b 的制备

15 将化合物艾日布林甲磺酸盐 (10 mg, 12.11  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DMF (2 mL) 中, 加入 (1R, 4R) -4-((叔丁氧羰基)氨基)环己烷-1-甲酸 (购买自皓元医药, 3.53 mg, 14.53  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 和 DIPEA (3.13 mg, 4  $\mu\text{L}$ , 24.21  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 0°C下加入 HATU (5.52 mg, 14.53  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 25°C下搅拌 1 小时。LCMS 显示有产物生成。反应液通过高效液相色谱制备, 得到白色固体产物 (8.20 mg, 收率 70.91%)。

20

高效液相色谱制备条件如下:



制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×30mm×10 $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱。

LCMS (ESI): m/z, 977.6[M+Na]<sup>+</sup>。

#### 5 步骤 2: 化合物 PE-17 的制备

将化合物 LA-14-b (8.20 mg, 8.58  $\mu$ mol, 1 eq) 溶于 DCM (2 mL) 中, 冰浴下, 加入 TFA (307 mg, 200  $\mu$ L, 2.69 mmol, 313.6 eq), 0-25°C 下搅拌 12 小时。LCMS 显示反应完全。反应液直接旋干, 得到白色油状产物 (7 mg, 收率 95.36%), 直接用于下一步。

10 LCMS (ESI): m/z, 855.5[M+H]<sup>+</sup>。

#### 步骤 3: 化合物 LA-14 的制备

将化合物 PE-17 (5 mg, 5.85  $\mu$ mol, 1 eq) 溶于 DMF (1 mL), 0°C 下, 加入 DIPEA (2.27 mg, 2.90  $\mu$ L, 17.54  $\mu$ mol, 3 eq) 和化合物 BL-2-a (购买自皓元, 5.18 mg, 7.02  $\mu$ mol, 1.2 eq), 反应液在 25°C 下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全。

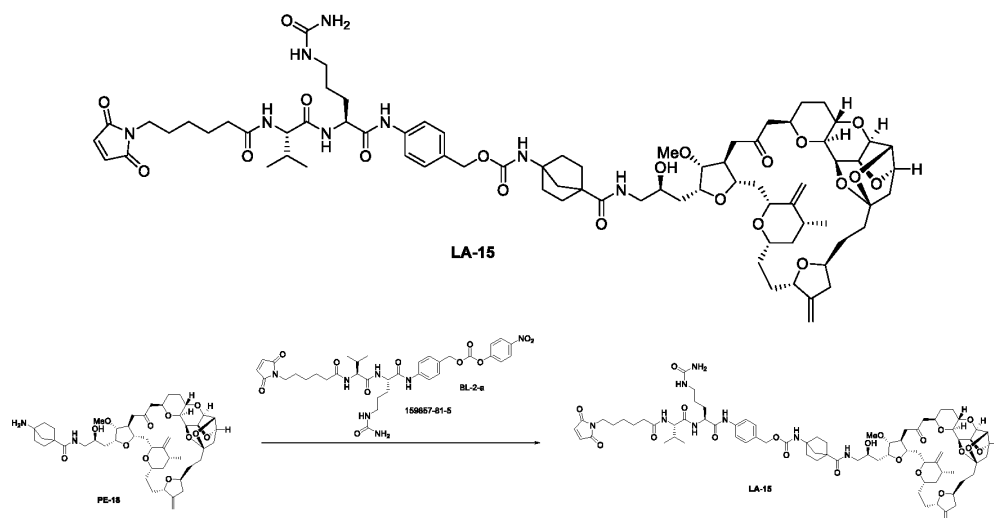
15 反应液通过高效液相色谱纯化, 得白色固体产物 LA-14 (8 mg, 收率 86.81%)。

高效液相色谱制备条件如下:

制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×30mm×10 $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱。

20 LCMS (ESI): m/z, 1476.8[(M+H)]<sup>+</sup>。

### 实施例 16: 化合物 LA-15 的制备

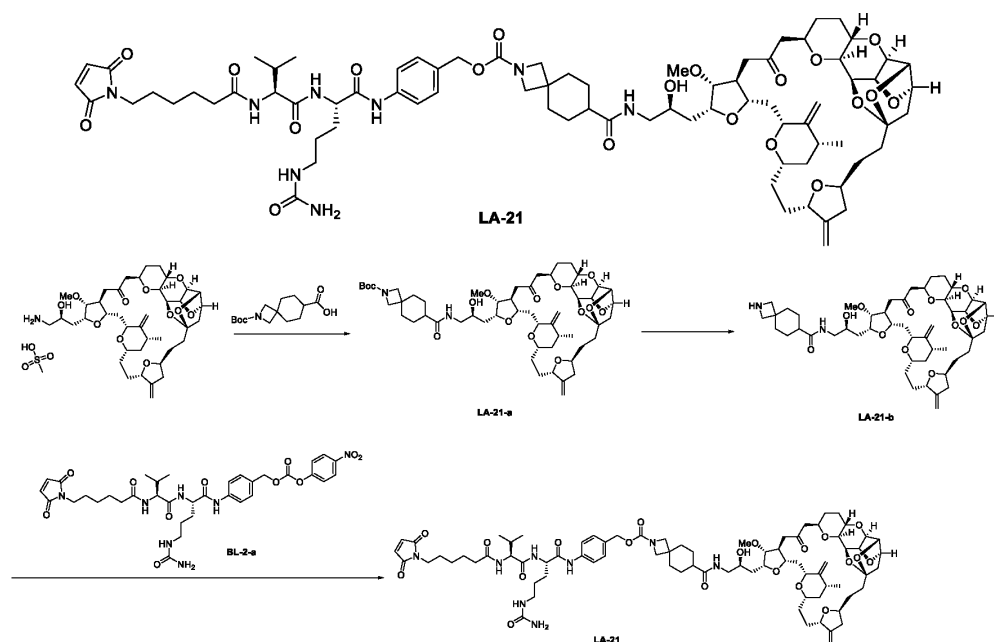


25 0°C 下向 PE-18 (2.05 mg, 100%, 2.36  $\mu$ mol, 1 eq) 和 N,N-二异丙基乙胺 (916.66  $\mu$ g, 1.17  $\mu$ L, 7.09  $\mu$ mol, 3 eq) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (0.5 mL) 溶液中加入 BL-2-a (购买自皓元医药, 2.09 mg, 2.84  $\mu$ mol, 1.2 eq), 20°C 下搅拌 1 小时, LCMS 显示

原料反应完全。反应液经过高效液相色谱制备（制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 BRIX-2860(R1, 4, 5, 6, 7)。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm。流动相水（0.1%TFA）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱），冻干后得到白色固体化合物 LA-15（700 μg，0.46 μmol，收率 19.42%，纯度 96.15%）。

5 LCMS (ESI):  $m/z$ , 733.6[1/2M+H]<sup>+</sup>。

### 实施例 17: 化合物 LA-21 的制备



10 步骤 1: 化合物 LA-21-a 的制备

将化合物艾日布林甲磺酸盐（10 mg，12.11 μmol，1 eq）溶于 DMF（1 mL）中，加入 2-（叔丁氧基羰基）-2-氮杂螺[3.5]壬烷-7-羧酸（3.69 mg，13.70 μmol，1 eq）和 DIPEA（3.54 mg，4.53 μL，27.40 μmol，2 eq），0℃下加入 HATU（6.25 mg，16.44 μmol，1.2 eq），0-25℃下搅拌 2 小时。LCMS 显示有产物生成。反应液通过

15 高效液相色谱制备，得到白色固体产物 LA-21-a（7 mg，收率 52.07%）。

高效液相色谱制备条件如下：

制备色谱厂家岛津，型号 LC-20AP。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×30mm×10μm。流动相水（0.225% $\text{HCOOH}$ ）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 50%到 80%洗脱。

20 LCMS (ESI):  $m/z$ , 981.6[M+H]<sup>+</sup>。

步骤 2: 化合物 LA-21-b 的制备

将 LA-21-a（7 mg，7.13 μmol，1 eq）溶于 DCM（2 mL），0℃下，加入 TFA（307 mg，200 μL，2.69 mmol，377.4261 eq），25℃下搅拌 0.5 小时。LCMS 显示反应完全。反应液直接旋干，得到黄色油状产物 LA-21-b（5 mg，收率 79.54%）。

LCMS (ESI): m/z, 881.6[M+H]<sup>+</sup>.

步骤 3: 化合物 LA-21 的制备

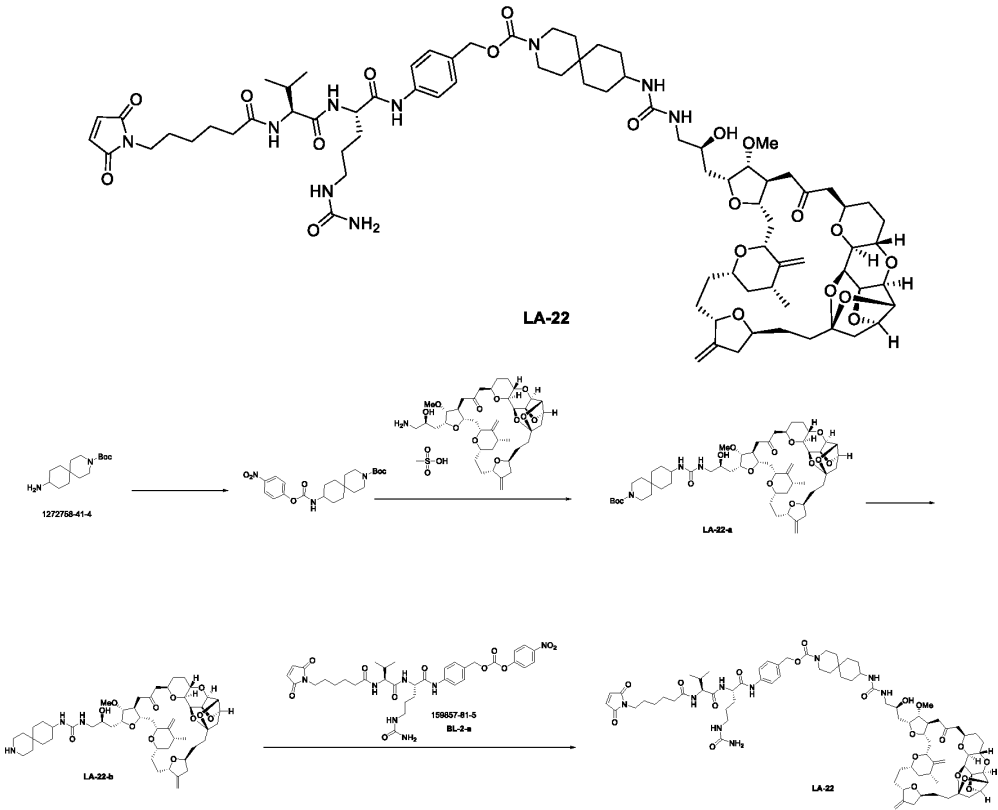
室温下将 LA-21-b (6 mg, 1 eq) 溶于 DMF (2 mL), 加入 DIPEA (1 mg, 1.28 μL, 7.74 μmol, 3 eq), 0°C 下, 再加入 BL-2-a (8 mg, 10.84 μmol, 1.2 eq, 5 购买于皓元), 反应液在 25°C 下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全。反应液通过高效液相色谱纯化, 得白色固体产物 LA-21 (880 μg, 纯度 80%)。

高效液相色谱制备条件如下:

制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×30mm×10μm。流动相水 (0.225% HCOOH)-乙腈, 水的洗脱比例从 30% 到 60% 10 洗脱。

LCMS (ESI): m/z, 1502.9[(M+H)]<sup>+</sup>.

实施例 18: 化合物 LA-22 的制备



15

步骤 1: 化合物 9-((4-硝基苯氧基)羰基)氨基)-3-氮杂螺[5.5]十一烷-3-羧酸叔丁酯的制备

0°C 下向化合物 9-氨基-3-氮杂螺[5.5]十一烷-3-羧酸叔丁酯 (购买于都创, 30 mg, 111.78 μmol, 1 eq) 的 DMF (1mL) 的溶液中加入双 (4-硝基苯基) 碳酸酯 (102.01 mg, 68.01 μL, 335.33 μmol, 3 eq) 和 DIPEA (28.89 mg, 36.95 μL, 223.56 20

μmol, 2 eq), 加毕, 25°C反应 2 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液通过高效液相色谱制备(制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 150×25mm×10μm。流动相水(0.225% HCOOH)-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 50%到 80%洗脱), 经冻干得到 9-((4-硝基苯氧基)羰基)氨基)-3-氮杂螺[5.5]十一烷-3-羧酸叔丁酯(19.50 mg, 收率 40.24%)。

LCMS (ESI): m/z, 334[M-100+H]<sup>+</sup>。Rt=1.082 min。

步骤 2: 化合物 LA-22-a 的制备

20°C下向化合物艾日布林甲磺酸盐(10 mg, 12.11 μmol, 1 eq), 9-((4-硝基苯氧基)羰基)氨基)-3-氮杂螺[5.5]十一烷-3-羧酸叔丁酯(7.35 mg, 16.95 μmol, 1.4 eq)的 DMF (1mL) 溶液中加入 HOBt (817.91 μg, 5.45e<sup>-1</sup> μL, 6.05 μmol, 0.5 eq) 和 DIPEA (4.69 mg, 6 μL, 36.32 μmol, 3 eq)。加毕, 25°C下反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液和另一批次小试合并通过高效液相色谱制备(制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×30mm×10μm。流动相水(0.225% HCOOH)-乙腈, 水的洗脱比例从 60%到 90%洗脱)经冻干得白色固体化合物 LA-22-a (14 mg, 收率 94.08%, 1.2 批次, 有五分之一规模的小试产物和本次产物合并纯化)。

LCMS (ESI): m/z, 1024.7[M+H]<sup>+</sup>。Rt=3.55 min。

步骤 3: 化合物 LA-22-b 的制备

0°C下向化合物 LA-22-a (14 mg, 13.67 μmol, 1 eq)的 DCM (2 mL) 溶液中加入 TFA (0.2 mL), 加毕, 反应液在 0-10°C下反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液直接旋干得到黄色固体化合物 LA-22-b (15 mg, 粗品)。

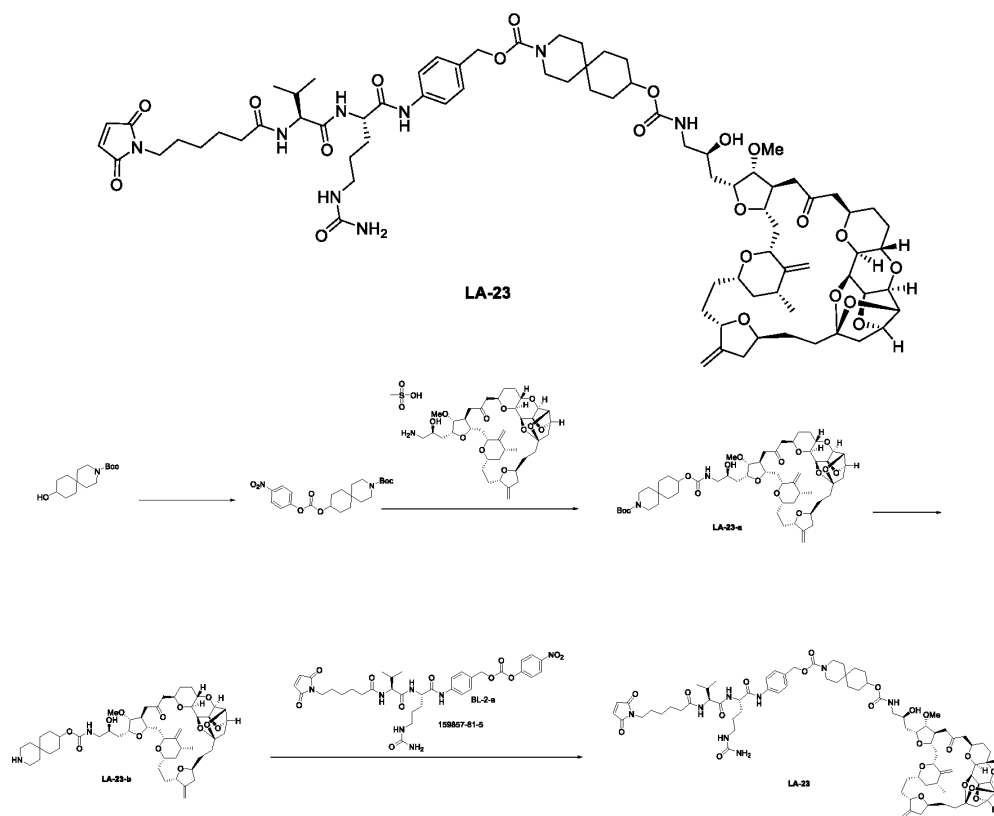
LCMS (ESI): m/z, 946.7[M+Na]<sup>+</sup>。Rt=2.49 min。

步骤 4: 化合物 LA-22 的制备

0°C下向化合物 LA-22-b (15 mg, 16.23 μmol, 1 eq)和 BL-2-a (11.97 mg, 16.23 μmol, 1 eq)的 DMF (2 mL) 溶液中加入 DIPEA (6.29 mg, 8.05 μL, 48.69 μmol, 3 eq), 加毕, 25°C反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液通过高效液相色谱制备(制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×30mm×10μm。流动相水(10mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>)-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 50%到 80%洗脱)经冻干得到白色固体化合物 LA-22 (2.96 mg, 收率 11.98%, 纯度 84%)。

LCMS (ESI): m/z, 1544.9[M+Na]<sup>+</sup>, 761.9[1/2M+1]<sup>+</sup>。Rt=2.44 min。

### 实施例 19: 化合物 LA-23 的制备



步骤 1: 化合物 9-((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)-3-氮杂螺[5.5]十一烷-3-羧酸叔丁酯的制备

- 5        0°C下向化合物 9-羟基-3-氮杂螺[5.5]十一烷-3-羧酸叔丁酯（购买于都创，50 mg, 185.61 μmol, 1 eq）的 DMF（3mL）的溶液中加入双（4-硝基苯基）碳酸酯（67.76 mg, 45.17 μL, 222.73 μmol, 1.2 eq）和 DIPEA（47.98 mg, 61.35 μL, 371.22 μmol, 2 eq）。加毕，30°C反应 1 小时，LCMS 显示反应完成，反应液通过高效液相制备（制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×30mm×10μm。流动相水（0.225% HCOOH）-乙腈，水的洗脱比例从 60% 到 90%洗脱），经冻干得到亮黄色固体化合物 9-((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)-3-氮杂螺[5.5]十一烷-3-羧酸叔丁酯（26.90 mg, 收率 33.36%）。

LCMS (ESI): m/z, 335[M-100+H]<sup>+</sup>. Rt=3.459 min。

步骤 2: 化合物 LA-23-a 的制备

- 15        20°C下向化合物艾日布林甲磺酸盐（10 mg, 13.70 μmol, 1 eq），9-((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)-3-氮杂螺[5.5]十一烷-3-羧酸叔丁酯（8.33 mg, 19.18 μmol, 1.4 eq）的 DMF（3mL）溶液中加入 HOBt（925.61 μg, 6.17e<sup>-1</sup> μL, 6.85 μmol, 0.5 eq）和 DIPEA（5.31 mg, 6.79 μL, 41.10 μmol, 3 eq）。加毕，25°C下反应 3 小时，LCMS 显示反应完成，反应液通过高效液相制备（制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×30mm×10μm。流动相水
- 20

(0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 60% 到 90% 洗脱), 经冻干得白色固体化合物 LA-23-a (12 mg, 收率 85.43%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1047.6 $[M+Na]^+$ .  $R_t=3.206$  min。

步骤 3: 化合物 LA-23-b 的制备

- 5      0°C 下向化合物 LA-23-a (12 mg, 11.70  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DCM (6 mL) 溶液中加入 TFA (0.6 mL), 加毕反应液在 0-10°C 下反应 30 分钟, LCMS 显示反应完成, 反应液直接旋干得到黄色固体化合物 LA-23-b (11 mg, 粗品)。

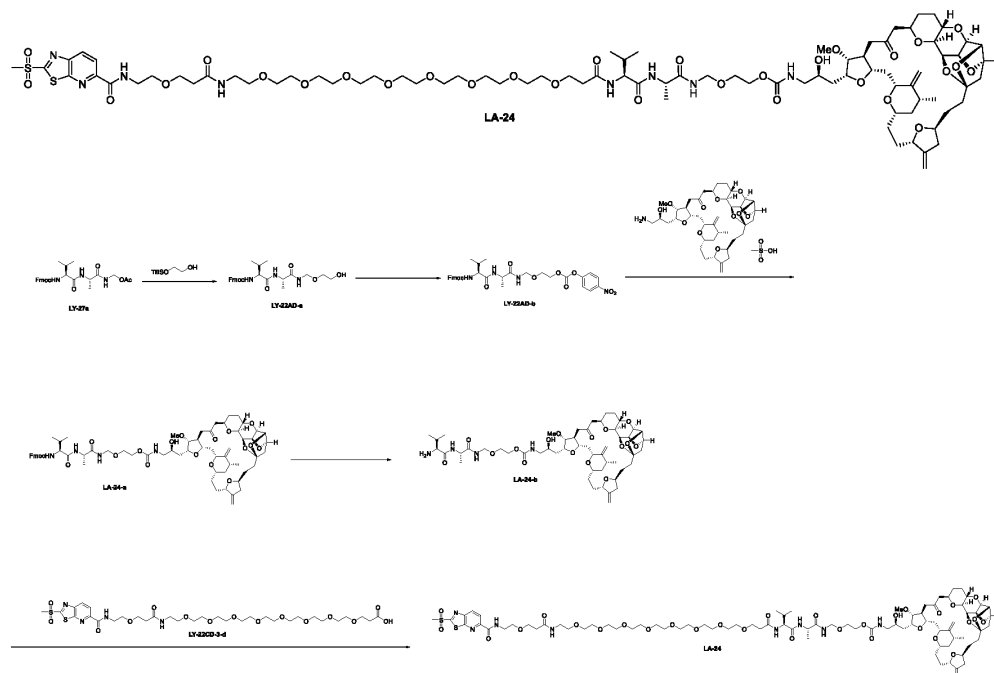
LCMS (ESI):  $m/z$ , 947.6 $[M+Na]^+$ .  $R_t=1.947$  min。

步骤 4: 化合物 LA-23 的制备

- 10      0°C 下向化合物 LA-23-b (11 mg, 11.89  $\mu$ mol, 1 eq) 和 BL-2-a (11.97 mg, 16.23  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入 DIPEA (4.61 mg, 5.89  $\mu$ L, 35.67  $\mu$ mol, 3 eq)。加毕 25°C 反应 2 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液通过高效液相色谱制备(制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu$ m。流动相水 (0.225% FA) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到
- 15      60% 洗脱) 经冻干得到白色固体化合物 LA-23 (8.84 mg, 收率 48.79%, 纯度 84%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1546.8 $[M+Na]^+$ , 785.2 $[1/2M+Na]^+$ .  $R_t=2.564$  min。

## 实施例 20: 化合物 LA-24 的制备



20

步骤 1: (9H-苄-9-基) 甲基 ((S)-1-((S)-1-(2-羟基乙氧基) 甲基) 氨基)-1-氧代丙-2-基) 氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基) 氨基甲酸酯的制备

室温下向化合物 LY-27a (250 mg, 519.16  $\mu$ mol, 1 eq) 的 THF (10mL) 的溶

液中加入 2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙烷-1-醇 (183.09 mg, 1.04 mmol, 2 eq) 和 TsOH (26.82 mg, 25.07  $\mu$ L, 155.75  $\mu$ mol, 0.3 eq), 加毕, 33°C 反应 3 小时, LCMS 显示反应完成, 反应浓缩得到粗品, 粗品通过常规反相硅胶柱 (ISCO, 220 g SepaFlash Silica Flash Column, Eluent of 0-47% water/CH<sub>3</sub>CN, 100 mL/min) 纯化, 经冻干得到黄色固体化合物 LY-22AD-a (98 mg, 收率 39.04%)。

LCMS (ESI): m/z, 506.3[M+H]<sup>+</sup>. Rt=1.813 min。

步骤 2: 化合物 LY-22AD-b 的制备

0°C 下向化合物 LY-22AD-a (98 mg, 202.66  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DMF (3 mL) 溶液中加入二(对硝基苯)碳酸酯 (123.30 mg, 82.20  $\mu$ L, 405.32  $\mu$ mol, 2 eq) 和 DIPEA (78.58 mg, 100.48  $\mu$ L, 607.98  $\mu$ mol, 3 eq) 加毕, 反应液在 33°C 下反应 2 小时。LCMS 显示反应完成, 反应液浓缩得到粗品, 粗品通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 甲醇/二氯甲烷 1:20 到 1:10) 纯化得到黄色固体化合物 LY-22AD-b (111 mg, 粗品, 收率 75.99%, 纯度 90%)。

步骤 3: 化合物 LA-24-a 的制备

0°C 下向化合物艾日布林甲磺酸盐 (10 mg, 12.11  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DMAC (3 mL) 溶液中加入 DIPEA (1.56 mg, 2  $\mu$ L, 12.11  $\mu$ mol, 1 eq), 然后 25°C 下搅拌 10 分钟, 然后向反应液中加入 LY-22AD-b (8.73 mg, 90%, 12.11  $\mu$ mol, 1 eq), HOBT (817.91  $\mu$ g, 6.05  $\mu$ mol, 0.5 eq) 和吡啶 (4.79 mg, 4.90  $\mu$ L, 60.53  $\mu$ mol, 5 eq)。加毕, 25°C 下反应 2 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250×30mm×10 $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 50% 到 80% 洗脱), 经冻干得黄色固体化合物 LA-24-a (9.10 mg, 收率 60.64%)。

LCMS (ESI): m/z, 1261.7[M+Na]<sup>+</sup>. Rt=2.909 min。

步骤 4: 化合物 LA-24-b 的制备

0°C 下向化合物 LA-24-a (9.10 mg, 7.34  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入 DBU (3.35 mg, 3.29  $\mu$ L, 22.03  $\mu$ mol, 3 eq), 加毕, 反应液在 25°C 下反应半小时, LCMS 显示反应完成, 向反应液中加入 TsOH (3.79 mg, 22.03  $\mu$ mol, 3 eq), 然后反应液直接用于下一步。

LCMS (ESI): m/z, 1017.7[M+H]<sup>+</sup>. Rt=1.629 min。

步骤 5: 化合物 LA-24 的制备

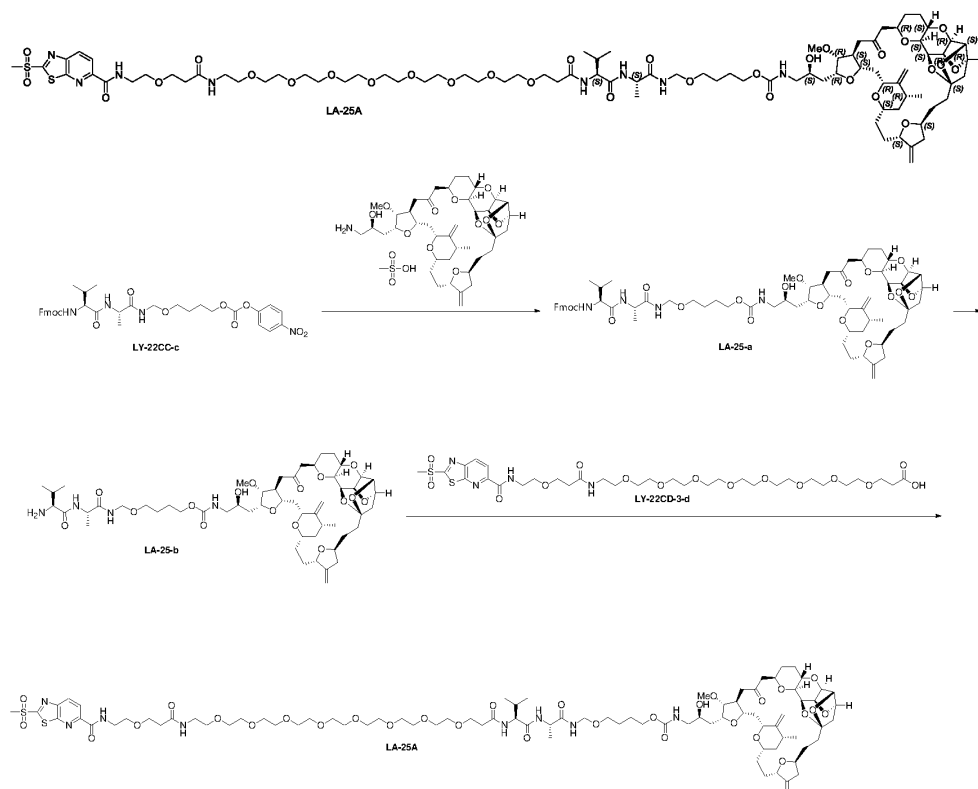
0°C 下向化合物 LA-24-b (7.50 mg, 7.37  $\mu$ mol, 1 eq) 和 LY-22CD-3-d (5.88 mg, 7.37  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入 DIPEA (3.81 mg, 4.87  $\mu$ L, 29.49  $\mu$ mol, 4 eq) 和 HATU (3.36 mg, 8.85  $\mu$ mol, 1.2 eq)。加毕 25°C 反应半小时, LCMS 显示反应完成, 反应液通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250×30mm×10 $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱), 经冻干得到白

色固体化合物 LA-24 (3.55 mg, 收率 26.81%, 纯度 100%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1819.0 $[M+Na]^+$ , 899.4 $[1/2M+1]^+$ 。Rt=2.069 min。

### 实施例 21: 化合物 LA-25A 的制备

5



#### 步骤 1: 化合物 LA-25-a 的制备

室温下向化合物艾日布林甲磺酸盐 (10 mg, 12.11  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 DIPEA (2  $\mu\text{L}$ , 12  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMAC (2mL) 溶液中, 加入化合物 LY-22CC-c (12 mg, 18  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq), HOBT (0.8 mg, 6  $\mu\text{mol}$ , 0.5 eq), 吡啶 (4.90  $\mu\text{L}$ , 60  $\mu\text{mol}$ , 5 eq), 反应液在 25°C 下搅拌 12 小时。LCMS 显示反应完成。混合物通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860-R1。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 50% 到 80% 洗脱), 得到白色固体 LA-25-a (15 mg, 收率 97.75%)。

#### 步骤 2: 化合物 LA-25-b 的制备

将化合物 LA-25-a (2.40 g, 4.65 mmol, 1 eq) 溶于 DMF (2 mL), 然后加入 DBU (15 mg, 12  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 反应在 25°C 条件下搅拌半小时。LCMS 显示反应完成。向反应液中加入 15 mg 的 TsOH 淬灭反应, 然后反应液直接用于下一步 (12.37 mg, 粗品在 2mL DMF 中)。

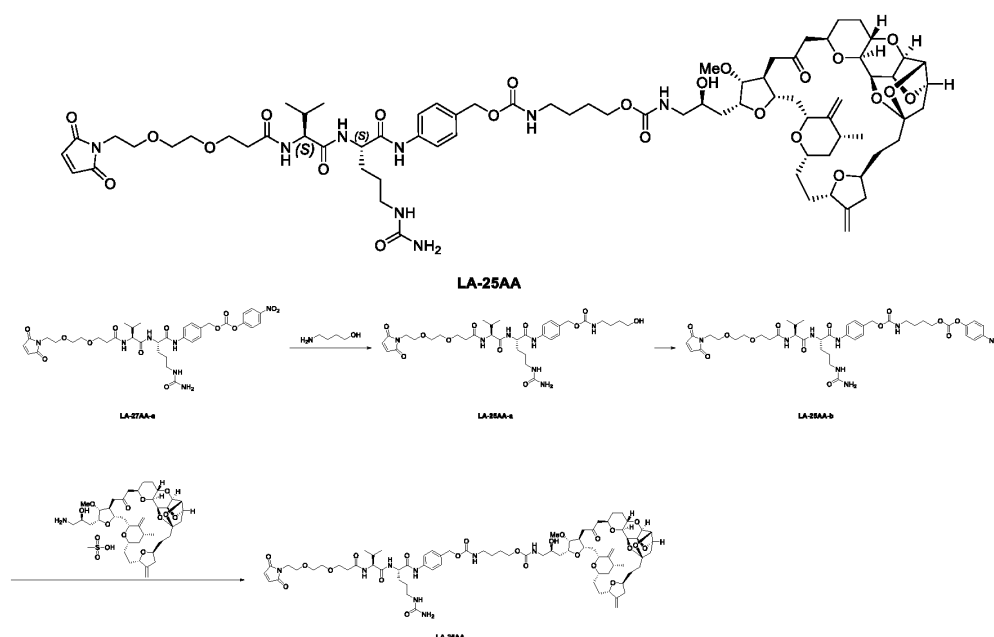
#### 步骤 3: 化合物 LA-25A 的制备



0°C下向化合物 LA-25-b(12.37 mg)在 DMF(2 mL)的溶液中加入 LY-22CD-3-d (9.43 mg, 11.83  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), N,N-二异丙基乙胺 (7.82  $\mu\text{L}$ , 47  $\mu\text{mol}$ , 4 eq) 和 HATU (5.40 mg, 14.20  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 将该混合物置于室温下搅拌半小时, LCMS 显示原料反应完全。混合物通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 5 型号 BRIX-2860-R1。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×30mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% $\text{HCOOH}$ ) -乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱), 得到白色固体 LA-25A (2.50 mg, 收率 11.58%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 865.4[M+H]<sup>+</sup>。

## 10 实施例 22: 化合物 LA-25AA 的制备



### 步骤 1: 化合物 LA-25AA-a 的制备

0°C下向化合物 LA-27AA-a (50 mg, 63.79  $\mu\text{mol}$ , 1 eq, 该化合物的合成请参考实施例 1 中 BA-1-c 的制备) 和 5-氨基-1-丁醇 (5.69 mg, 63.79  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (2mL) 溶液中, 加入化合物 DIPEA (16.49 mg, 127.59  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 反应液在室温下搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完成。混合物通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860-R1。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×30mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% $\text{HCOOH}$ ) -乙腈, 乙腈的洗脱比例从 10%到 40%洗脱), 得到白色固体 LA-25AA-a (33 mg, 收率 70.49%)。 20

### 步骤 2: 化合物 LA-25AA-b 的制备

向化合物 LA-25AA-a (33 mg, 44.97  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入 NPC (82.08 mg, 269.82  $\mu\text{mol}$ , 6 eq) 和 DIPEA (34.87 mg, 269.82  $\mu\text{mol}$ , 6 eq), 反应在 25°C条件下搅拌 1 小时。LCMS 显示反应完成。反应液减压旋干, 残余物

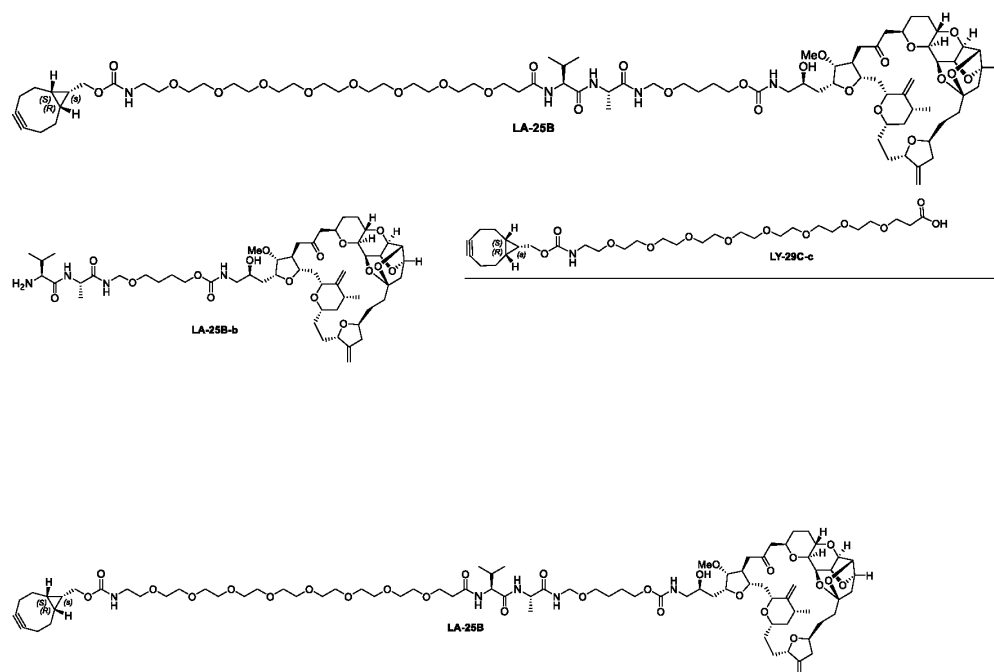
通过硅胶柱层析色谱法（洗脱剂：甲醇/二氯甲烷 0:1 到 1:10）纯化，得到白色固体产物 LA-25AA-b（31 mg，收率 76.69%）。

### 步骤 3：化合物 LA-25AA 的制备

0°C 下向化合物 LA-25AA-b（7.18 mg，7.99  $\mu\text{mol}$ ，1.1 eq）和艾日布林甲磺酸盐（6 mg，7.26  $\mu\text{mol}$ ，1 eq）在 DMF（2 mL）的溶液中加入 N,N-二异丙基乙胺（2.82 mg，21.79  $\mu\text{mol}$ ，3 eq），将该混合物置于室温下搅拌 2 小时，LCMS 显示原料反应完全。混合物通过高效液相色谱制备（制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×30mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水（0.225% HCOOH）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱），得到白色固体 LA-25AA（5.80 mg，收率 53.60%）。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1512.8 [M+Na]<sup>+</sup>。

### 实施例 23：化合物 LA-25B 的制备



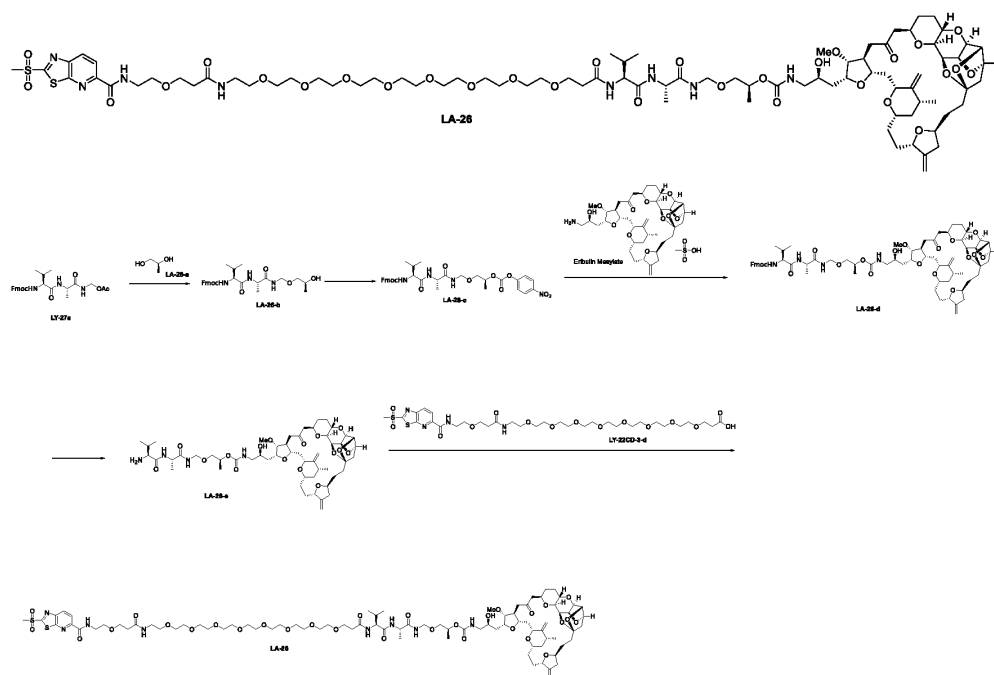
15

化合物 LY-29C-c（4.73 mg，7.65  $\mu\text{mol}$ ，1 eq）溶于 DMF（500  $\mu\text{L}$ ），冷却至 0°C，然后加化合物 LA-25B-b（8 mg，7.65  $\mu\text{mol}$ ，1 eq），HATU（2.91 mg，7.65  $\mu\text{mol}$ ，1 eq）和 DIPEA（2.97 mg，3.79  $\mu\text{L}$ ，22.96  $\mu\text{mol}$ ，3 eq）。反应液在 25°C 下反应 1 小时。LCMS 显示反应完全。反应液通过高效液相色谱制备（制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 BRIX-2860。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250×50mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水（0.225% HCOOH）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 50% 到 80% 洗脱），得到白色固体 LA-25B（1.98 mg，纯度 100%，收率 15.73%）。

20

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1667.2 [M+Na]<sup>+</sup>,  $R_t$  = 2.576 min。

## 实施例 24: 化合物 LA-26 的制备



### 5 步骤 1: 化合物 LA-26-b 的制备

化合物 LY-27a (250 mg, 519  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 THF (3 mL) 中, 冷却至 0°C, 然后加 S-1,2-丙二醇 (118.5 mg, 1.56 mmol, 3 eq) 和 TsOH (89.4 mg, 519  $\mu\text{mol}$ , 1 eq)。反应液在 35°C 下反应 3 小时。LCMS 显示反应完全。反应液浓缩得到白色固体 500 mg, 再通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250×50mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱), 得到白色固体 LA-26-b (120 mg, 收率 46.45%)。

LCMS (ESI): m/z, 520.4 [M+Na]<sup>+</sup>, Rt = 1.914 min。

### 15 步骤 2: 化合物 LA-26-c 的制备

化合物 LA-26-b (99.5 mg, 200  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DMF (2 mL) 中, 冷却至 0°C, 然后加 NPC (121.6 mg, 400  $\mu\text{mol}$ , 2 eq) 和 DIPEA (77.5 mg, 99.1  $\mu\text{L}$ , 600  $\mu\text{mol}$ , 3 eq)。反应液在 25°C 下反应 2 小时。LCMS 显示反应完全。反应液通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250×50mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 50% 到 80% 洗脱), 得到白色固体 LA-26-c (16 mg, 收率 12.1%)。

LCMS (ESI): m/z, 685.3 [M+Na]<sup>+</sup>, Rt = 3.889 min。

### 20 步骤 3: 化合物 LA-26-d 的制备

化合物 LA-26-c (3.98 mg, 6  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DMAC (500  $\mu\text{L}$ ) 中, 冷却至

0°C, 然后加 DIPEA (2.33 mg, 2.97  $\mu$ L, 18  $\mu$ mol, 3 eq) 和甲磺酸艾日布林 (4.96 mg, 6  $\mu$ mol, 1 eq)。反应液在 25°C 下反应 3 小时。LCMS 显示反应完全。反应液通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250 $\times$ 50mm $\times$ 10 $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 50% 到 80% 洗脱), 得到白色固体 LA-26-d (7 mg, 收率 93.1%)。

LCMS (ESI): m/z, 276.7[M+Na]<sup>+</sup>, Rt = 3.023 min。

步骤 4: 化合物 LA-26-e 的制备

化合物 LA-26-d (7 mg, 5.58  $\mu$ mol, 1 eq) 溶于 DMF (500  $\mu$ L) 中, 冷却至 0°C, 然后加 DBU (2.55 mg, 2.50  $\mu$ L, 16.75  $\mu$ mol, 3 eq)。反应液在 25°C 下反应 1 小时。LCMS 显示反应完全。反应液中加入 TsOH (2.88 mg, 16.75  $\mu$ mol, 3 eq), 反应 2 分钟。反应液不再后处理, 直接用于下一步。

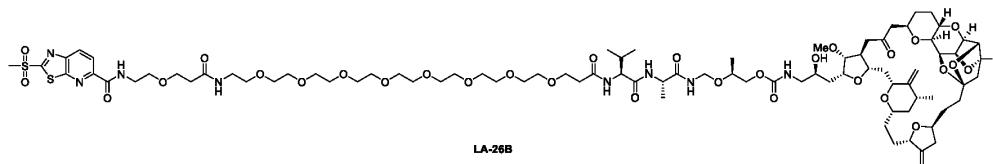
LCMS (ESI): m/z, 1031.7[M+H]<sup>+</sup>, Rt = 1.705 min。

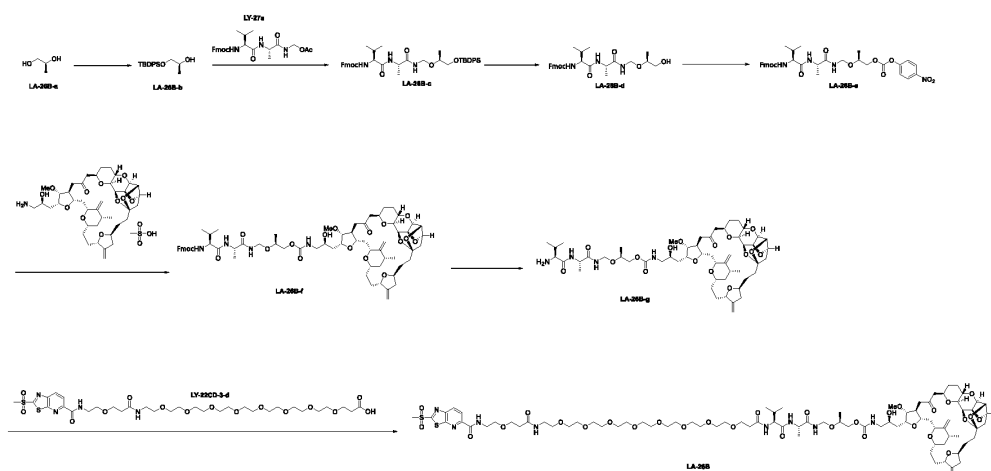
步骤 5: 化合物 LA-26 的制备

化合物 LA-26-e (5 mg, 4.85  $\mu$ mol, 1 eq) 溶于 DMF (500  $\mu$ L) 中, 冷却至 0°C, 然后加 LY-22CD-3-d (3.86 mg, 4.85  $\mu$ mol, 1 eq), DIPEA (1.88 mg, 2.40  $\mu$ L, 14.55  $\mu$ mol, 3 eq) 和 HATU (1.84 mg, 4.85  $\mu$ mol, 1 eq)。反应液在 25°C 下反应 1 小时。LCMS 显示反应完全。反应液通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250 $\times$ 50mm $\times$ 10 $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱), 得到白色固体 LA-26 (5.37 mg, 收率 61.2%, 纯度 98.57%)。

LCMS (ESI): m/z, 1832.1[M+Na]<sup>+</sup>, Rt = 2.142 min。

### 实施例 25: 化合物 LA-26B 的制备





### 步骤 1: 化合物 LA-26B-b 的制备

向化合物 S-1,2-丙二醇 (50 mg, 63.79  $\mu$ mol, 1 eq) 的 THF (66 mL) 溶液中加入 1H-咪唑 (1.07 g, 976.07  $\mu$ L, 15.77 mmol, 1.2 eq) 和 TBDPS-Cl (3.79 g, 3.58 mL, 13.80 mmol, 1.05 eq), 室温反应 20 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液用 EA (30 mL $\times$ 3) 萃取, 合并有机相用 H<sub>2</sub>O (20 mL $\times$ 2) 洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=1:1) 纯化, 得到无色油状化合物 (2S) -1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)丙-2-醇 (3.70 g, 收率 89.52%)。

10 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  7.69 (dt,  $J$  = 8.0, 2.1 Hz, 4H), 7.49-7.35 (m, 6H), 3.96-3.93 (m, 1H), 3.64 (dd,  $J$  = 10.1, 3.5 Hz, 1H), 3.47 (dd,  $J$  = 10.1, 7.8 Hz, 1H), 1.12 (d,  $J$  = 6.3 Hz, 3H), 1.09 (s, 9H)。

### 步骤 2: 化合物 LA-26B-c 的制备

向化合物(2S)-1-[(叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基]丙-2-醇(2.61 g, 8.31 mmol, 1.5 eq)和化合物[(2S)-2-[(2S)-2-[(9H-芴-9-基)甲氧基]羰基]氨基)-3-甲基丁酰胺基]丙酰胺基]乙酸甲酯(2 g, 4.15 mmol, 1 eq)的THF(30 mL)溶液中加入TsOH(715.19 mg, 4.15 mmol, 1 eq), 30°C反应2小时, LCMS 显示反应完成, 反应液通过高效液相色谱制备(制备色谱厂家 ISCO, 型号 LC-20AP。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×30mm×10μm。流动相水(0.225% HCOOH)-乙腈, 乙腈的洗脱比例从65%到95%洗脱)纯化, 得到白色固体化合物 LA-26B-c(233 mg, 收率 7.62%)。LCMS (ESI): m/z, 758[M+Na]<sup>+</sup>。

### 步骤 3: 化合物 LA-26B-d 的制备

向化合物 LA-26B-c (277.20 mg, 376.63  $\mu$ mol, 1 eq) 的 THF (20 mL) 溶液中加入 Et<sub>3</sub>N.3HF (2.43 g, 2.46 mL, 15.07 mmol, 40 eq), 25°C - 70°C 反应 2 小时, LCMS 显示反应完成, 残留物通过硅胶柱层析色谱法 (C18, ISCO, R-120g SepaFlash Silica Flash Column, Eluent of 10-40% water/CH<sub>3</sub>CN, 100 mL/min) 纯化, 得到白色固体化合物 LA-26B-d (130 mg, 收率 69.37%, 纯度 100%)。LCMS (ESI):

m/z, 520[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 4: 化合物 LA-26B-e 的制备

向化合物 LA-26B-d (133.40 mg, 100%, 268.09 μmol, 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入双 (4-硝基苯基) 碳酸酯 (326.23 mg, 217.48 μL, 1.07 mmol, 4 eq) 和 DIPEA (207.89 mg, 265.84 μL, 1.61 mmol, 6 eq), 33°C 反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 残留物通过硅胶柱层析色谱法 (PE/EA 为 10/1 至 4/1, DCM/MeOH = 10:1) 纯化, 得到白色固体化合物 LA-26B-e (197 mg, 粗品, 纯度 82%), LCMS (ESI): m/z, 685[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 5: 化合物 LA-26B-f 的制备

向 LA-26B-e (12.18 mg, 82%, 15.07 μmol, 1.1 eq) 和甲磺酸艾日布林 (10 mg, 13.70 μmol, 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (5.31 mg, 6.79 μL, 41.10 μmol, 3 eq) 和 HOBt (1.85 mg, 13.70 μmol, 1 eq), 室温反应 2 小时后, LCMS 显示原料消失, 使用高效液相色谱法制备 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 Lab311-DJ。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×30mm×10μm。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 50% 到 80% 洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物 LA-26B-f (14 mg, 收率 81.52%), LCMS (ESI): m/z, 1276[M+Na]<sup>+</sup>。

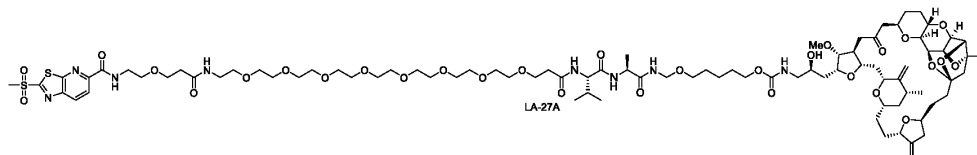
步骤 6: 化合物 LA-26B-g 的制备

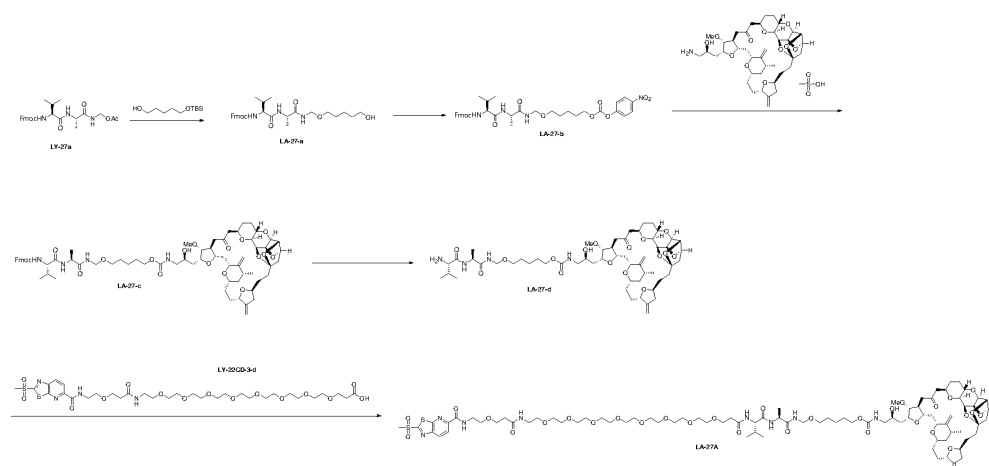
向化合物 LA-26B-f (14 mg, 11.17 μmol, 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DBU (5.10 mg, 5.01 μL, 33.51 μmol, 3 eq), 室温反应 40 分钟后, LCMS 显示原料消失, 加入 TsOH (5.77 mg, 33.51 μmol, 3 eq) 反应液直接用于下一步 (理论产量 11.52 mg, 粗品不计产率), LCMS (ESI): m/z, 1053[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 7: 化合物 LA-26B 的制备

0°C 下向化合物 LA-26B-g (11.52 mg, 11.17 μmol, 1 eq) 和化合物 LY-22CD-3-d (8.90 mg, 11.17 μmol, 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (2.89 mg, 3.69 μL, 22.34 μmol, 2 eq) 和 HATU (5.10 mg, 13.41 μmol, 1.2 eq)。加毕室温反应 1 小时后, LCMS 显示原料消失, 使用高效液相色谱制备 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Synergi Max-RP 200×30mm×10μm。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体产物 LA-26B (4 mg, 收率 18.79%, 纯度 95%), LCMS (ESI): m/z, 1832[M+Na]<sup>+</sup>。

实施例 26: 化合物 LA-27A 的制备





### 步骤 1: 化合物 LA-27-a 的制备

室温下向化合物 LY-27a (200 mg, 415.33  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 THF (8mL) 的溶液中加入 5-(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)戊-1-醇 (181.42 mg, 830.65  $\mu\text{mol}$ , 2 eq) 和 TsOH (21.46 mg, 20.05  $\mu\text{L}$ , 124.60  $\mu\text{mol}$ , 0.3 eq), 加毕, 33°C 反应 3 小时, LCMS 显示反应完成, 反应浓缩得到粗品, 粗品通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 150×25mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225%FA) -乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30%到 60% 洗脱) 纯化, 经冻干得到黄色固体化合物 LA-27-a (102 mg, 收率 46.72%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 548.4[M+Na]<sup>+</sup>. Rt=2.009 min。

### 步骤 2: 化合物 LA-27-b 的制备

0°C 下向化合物 LA-27-a (102 mg, 194.05  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (5mL) 溶液中加入二(对硝基苯)碳酸酯 (118.06 mg, 388.09  $\mu\text{mol}$ , 2 eq) 和 DIPEA (75.24 mg, 96.21  $\mu\text{L}$ , 582.14  $\mu\text{mol}$ , 3 eq), 加毕, 反应液在 33-35°C 下反应 3 小时。LCMS 显示反应完成, 反应液倒入 50mL 的冰水中, 用乙酸乙酯萃取 (40 mL × 3), 合并有机相, 依次用水 (60 mL × 2), 食盐水 (50 mL) 洗涤有机相, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得到粗品, 粗品通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 甲醇/二氯甲烷 1:20 到 1:10) 纯化得到黄色固体化合物 LA-27-b (95 mg, 粗品收率 56.70%, 纯度 80%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 713.4[M+Na]<sup>+</sup>. Rt=2.783 min。

### 步骤 3: 化合物 LA-27-c 的制备

0°C 下向化合物艾日布林甲磺酸盐 (10 mg, 12.11  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMAC (2mL) 溶液中加入 DIPEA (1.56 mg, 2  $\mu\text{L}$ , 12.11  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 然后 25°C 下搅拌 10 分钟, 然后向反应液中加入 LA-27-b (10.45 mg, 80%, 12.11  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), HOBT (817.91  $\mu\text{g}$ , 6.05  $\mu\text{mol}$ , 0.5 eq) 和吡啶 (4.79 mg, 4.90  $\mu\text{L}$ , 60.53  $\mu\text{mol}$ , 5 eq)。加毕, 25°C 下反应 16 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18

250×30mm×10μm。流动相水（0.225% $\text{HCOOH}$ ）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 50%到 80%洗脱）纯化，经冻干得黄色固体化合物 LA-27-c（11 mg，收率 70.90%）。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1303.8 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .  $R_t=3.103$  min。

步骤 4: 化合物 LA-27-d 的制备

- 5      0°C下向化合物 LA-27-c（11 mg，8.58 μmol，1 eq）的 DMF（2 mL）溶液中加入 DBU（3.92 mg，3.85 μL，25.75 μmol，3 eq），加毕，反应液在 25°C下反应半小时，LCMS 显示反应完成，向反应液中加入 TsOH（4.43 mg，25.75 μmol，3 eq），然后反应液直接用于下一步。

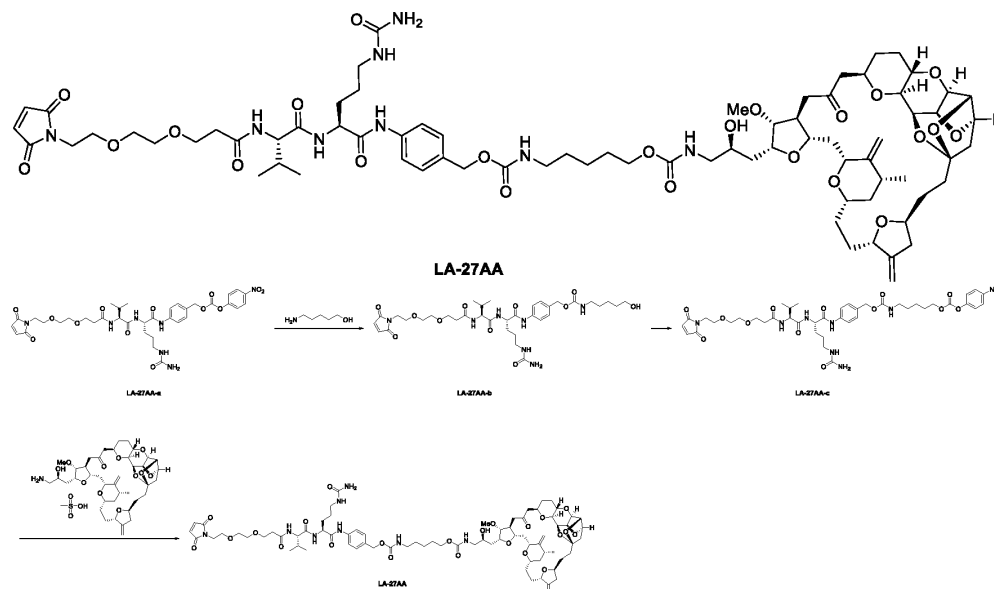
LCMS (ESI):  $m/z$ , 1059.8 $[\text{M}+\text{H}]^+$ .  $R_t=1.700$  min。

- 10      步骤 5: 化合物 LA-27A 的制备

0°C下向化合物 LA-27-d（9 mg，8.50 μmol，1 eq）和 LY-22CD-3-d（8.12 mg，10.20 μmol，1.2 eq）的 DMF（2 mL）溶液中加入 DIPEA（4.39 mg，5.62 μL，33.98 μmol，4 eq）和 HATU（3.88 mg，10.20 μmol，1.2 eq）。加毕，25°C反应 20 分钟，LCMS 显示反应完成，反应液通过高效液相色谱制备（制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×30mm×10μm。流动相水（0.225% $\text{HCOOH}$ ）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱），经冻干得到白色固体化合物 LA-27A（8.92 mg，收率 57.12%，纯度 98.54%）。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1861.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .  $R_t=2.237$  min。

## 20      实施例 27: 化合物的制备 LA-27AA 的制备



步骤 1: 化合物 LA-27AA-b 的制备

- 25      0°C下向化合物 LA-27AA-a（50 mg，63.79 μmol，1 eq，请参考实施例 1 中 BA-1-c 的制备）和 5-氨基-1-戊醇（6.58 mg，63.79 μmol，1 eq）的 DMF（2 mL）溶液中，



加入化合物 DIPEA (8.24 mg, 63.79  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 反应液在室温下搅拌 1 小时。LCMS 显示反应完成。混合物通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860-R1。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% $\text{HCOOH}$ ) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 20%到 50%洗脱), 得到白色固体

5 LA-27AA-b (28 mg, 收率 58.69%)。

步骤 2: 化合物 LA-27AA-c 的制备

向化合物 LA-27AA-b (28 mg, 37.44  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入 NPC (68.34 mg, 224.64  $\mu\text{mol}$ , 6 eq) 和 DIPEA (29.03 mg, 224.64  $\mu\text{mol}$ , 6 eq), 反应在 25 $^{\circ}\text{C}$ 条件下搅拌 1 小时。LCMS 显示反应完成。反应液减压旋干, 残余物

10 通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 甲醇/二氯甲烷 0:1 到 1:10) 纯化) 得到白色固体产物 LA-27AA-c (21 mg, 收率 61.44%)。

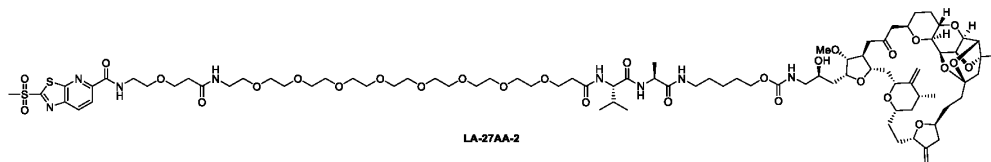
步骤 3: 化合物 LA-27AA 的制备

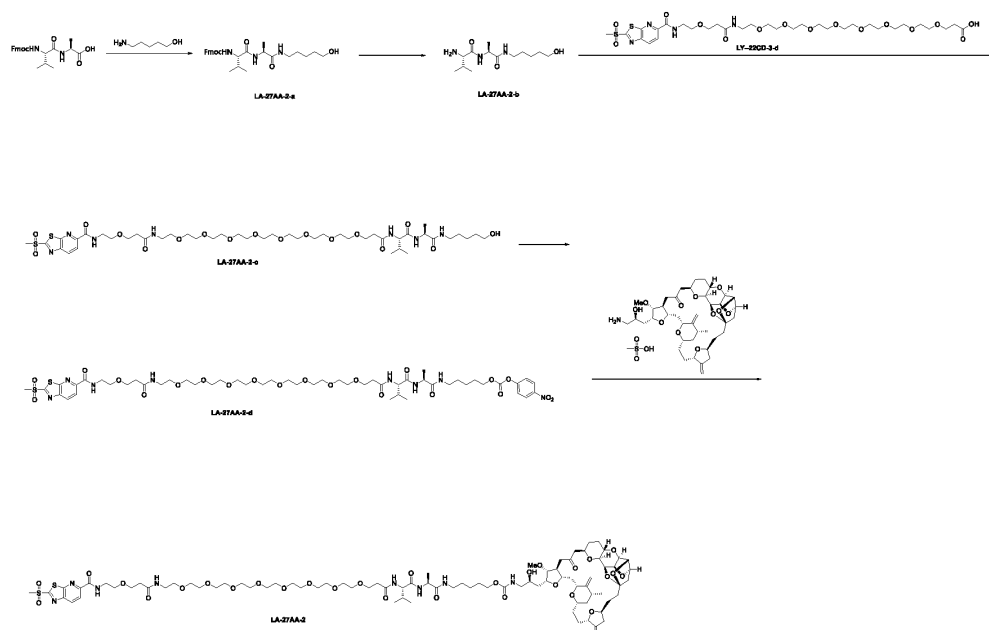
0 $^{\circ}\text{C}$ 下向化合物 LA-27AA-c (7.29 mg, 7.99  $\mu\text{mol}$ , 1.1 eq) 和艾日布林甲磺酸盐 (6 mg, 7.26  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 在 DMF (2 mL) 的溶液中加入 N,N-二异丙基乙胺 (2.82

15 mg, 21.79  $\mu\text{mol}$ , 3 eq), 将该混合物置于室温下搅拌 2 小时, LCMS 显示原料反应完全。混合物通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% $\text{HCOOH}$ ) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱), 得到白色固体 LA-27AA (3.20 mg, 收率 28.37%)

20 LCMS (ESI):  $m/z$ , 1526.9 $[\text{M}+\text{Na}]^{+}$ 。

实施例 28: 化合物 LA-27AA-2 的制备





#### 步骤 1: 化合物 LA-27AA-2-a 的制备

向化合物 5-氨基-1-戊醇 (55.29 mg, 535.98  $\mu\text{mol}$ , 1.1 eq) 和 N-[苄氧羰基]-L-缬氨酰-L-丙氨酸 (200 mg, 487.26  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (8 mL) 溶液中加入 DIPEA (157.43 mg, 1.22 mmol, 2.5 eq) 和 HATU (222.33 mg, 584.71  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 并置于室温下搅拌 2 小时, LCMS 显示原料反应完全。残留物通过硅胶柱层析色谱法 (C18, ISCO, R-330g SepaFlash Silica Flash Column, Eluent of 10-50% water/ $\text{CH}_3\text{CN}$ , 100 mL/min) 纯化得到白色固体 LA-27AA-2-a (227.4 mg, 收率 94.16%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 496 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,  $R_t=2.049$  min。

#### 步骤 2: 化合物 LA-27AA-2-b 的制备

冰浴下向 LA-27AA-2-a (100 mg, 201.77  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (5 mL) 溶液中加入 DBU (92.15 mg, 605.30  $\mu\text{mol}$ , 3 eq), 并置于室温下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全, 而后于冰浴下加入对甲基苯磺酸 (104.22 mg, 604  $\mu\text{mol}$ , 3 eq), 直接投下一步。LA-27AA-2-b 的理论质量为 55.16 mg。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 274 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,  $R_t=0.198$  min。

#### 步骤 3: 化合物 LA-27AA-2-c 的制备

冰浴下向 LA-27AA-2-b (45.05 mg, 56.53  $\mu\text{mol}$ , 1.1 eq) 和 LY-22CD-3-d (14.05 mg, 51.39  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (26.57 mg, 205.58  $\mu\text{mol}$ , 4 eq) 和 HATU (23.45 mg, 61.67  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 并置于室温下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全。通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% $\text{HCOOH}$ )-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 10-40%洗脱), 得到黄色油状的

LA-27AA-2-c (21.30 mg, 收率 39.39%)。

LCMS (ESI): m/z, 1074[M+Na]<sup>+</sup>, Rt=1.241 min.

#### 步骤4: 化合物 LA-27AA-2-d 的制备

向化合物 LA-27AA-2-c (21.30 mg, 20.24  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液  
5 中加入 DIPEA (20.93 mg, 161.94  $\mu$ mol, 8 eq) 和 NPC (36.95 mg, 121.45  $\mu$ mol,  
6 eq), 并置于 35 $^{\circ}$ C 下搅拌 1.5 小时, 油泵浓缩溶液, 残余物通过硅胶柱层析色谱  
法 (洗脱剂: 乙酸乙酯/石油醚=0-50%, 甲醇/二氯甲烷=0-8%) 纯化, 得到黄色油  
状的 LA-27AA-2-d (12.30 mg, 纯度 50%)。

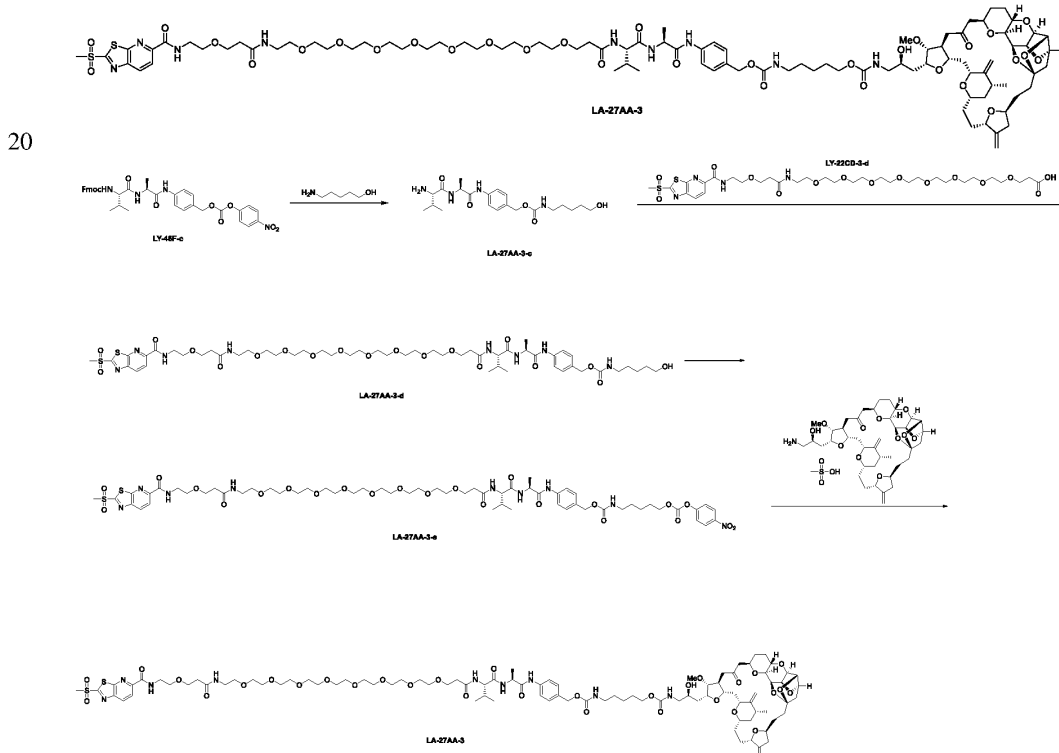
LCMS (ESI): m/z, 1217[M+H]<sup>+</sup>, Rt=1.937 min.

10 步骤 5: 化合物 LA-27AA-2 的制备

向化合物 LA-27AA-2-d (12.30 mg, 50% 纯度, 5.05  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和艾日布林甲磺酸盐 (4.17 mg, 5.05  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (2.61 mg, 20.21  $\mu\text{mol}$ , 4 eq), 室温下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全。反应液通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 15 Welch Xtimate C18 150 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30-60% 洗脱), 得到白色固体 LA-27AA-2 (700  $\mu\text{g}$ , 收率 7.66%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1831[M+Na]<sup>+</sup>. Rt=2.18 min.

### 实施例 29: 化合物 LA-27AA-3 的制备



## 步骤 1: 化合物 LA-27AA-3-c 的制备

向化合物 LY-46F-c (200 mg, 87%, 255.62  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (4 mL) 溶液中加入 5-氨基-1-戊醇 (31.64 mg, 32.06  $\mu\text{L}$ , 306.74  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 和 DIPEA (66.07 mg, 84.49  $\mu\text{L}$ , 511.24  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 置于室温下搅拌 2 小时, LCMS 显示原料反应完全。反应液通过高效液相色谱制备纯化, 得到白色固体 LA-27AA-3-c (60 mg, 5 收率 48.33%)。

制备条件如下: 制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250 $\times$ 50mm $\times$ 7 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH)-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 10% 到 40% 洗脱。

10 LCMS (ESI): m/z, 445.3 [M+Na]<sup>+</sup>。

## 步骤 2: 化合物 LA-27AA-3-d 的制备

向化合物 LA-27AA-3-c (40 mg, 94.67  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入 LY-22CD-3-d (75.44 mg, 94.67  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 DIPEA (24.47 mg, 31.29  $\mu\text{L}$ , 189.34  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 0 $^{\circ}\text{C}$  下, 加入 HATU (54 mg, 142  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq), 室温下 15 搅拌 3 小时, LCMS 显示原料反应完全。反应液通过高效液相色谱制备纯化, 得到黄色固体产物 LA-27AA-3-d (40 mg, 收率 35.17%)。

制备条件如下: 制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 150 $\times$ 25mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH)-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 20% 到 50% 洗脱。

20 LCMS (ESI): m/z, 1223.7 [M+Na]<sup>+</sup>。

## 步骤 3: 化合物 LA-27AA-3-e 的制备

向化合物 LA-27AA-3-d (20 mg, 16.65  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 NPC (25.32 mg, 83.24  $\mu\text{mol}$ , 5 eq) 和 DIPEA (10.76 mg, 13.76  $\mu\text{L}$ , 83.24  $\mu\text{mol}$ , 5 eq), 并置于室温下搅拌 6 小时, LCMS 显示原料反应完全。反应液旋干, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 乙酸乙酯/正己烷 1:20 到 1:5) 纯化, 通过高 25 效液相色谱制备 (PE:EA=1:1 和 DCM:MeOH=10:1,  $R_f$ =0.4), 得到黄色油状的 LA-27AA-3-e (10 mg, 收率 43.96%, 纯度 60%)。

LCMS (ESI): m/z, 1366.5 [M+H]<sup>+</sup>。

## 步骤 4: 化合物 LA-27AA-3 的制备

30 向化合物 LA-27AA-3-d (10 mg, 60%, 4.39  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入艾日布林甲磺酸盐 (3.63 mg, 4.39  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 DIPEA (1.13 mg, 1.45  $\mu\text{L}$ , 8.78  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 并置于 25 $^{\circ}\text{C}$  下搅拌 3 小时。LCMS 显示反应完成。反应液通过高效液相色谱制备, 得到白色固体产物 (1.81 mg, 收率 21.06%, 纯度 90%)。

高效液相色谱制备条件如下:

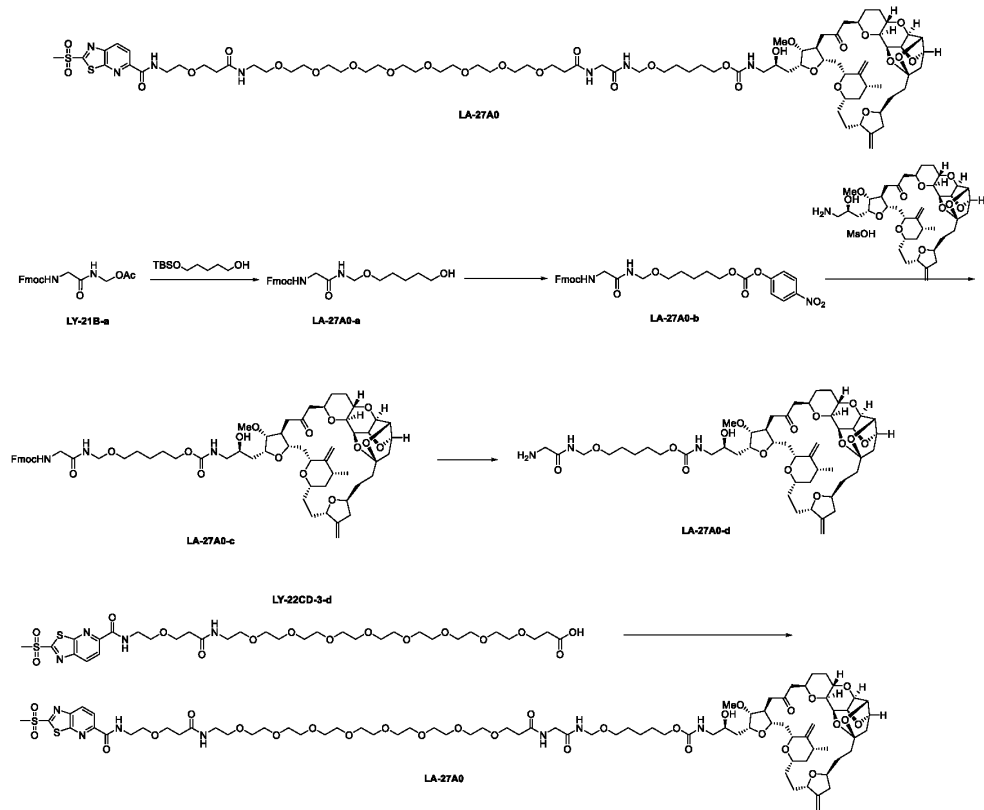
35 制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860(R1, 4, 5, 6)。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH)-乙腈, 乙腈的洗脱比

例从 20%到 50%洗脱。

LCMS (ESI): m/z, 978.9[(M+2H)/2]<sup>+</sup>。

实施例 30：化合物 LA-27A0 的制备

5



步骤 1：化合物（9H-茛-9-基）甲基（2-（（（5-羟基戊基）氧基）甲基）氨基）-2-氧乙基）氨基甲酸酯的制备

将（2-（（（9H-茛-9-基）甲氧基）羰基）氨基）乙酰胺基）乙酸甲酯（300 mg, 814.38 μmol, 1 eq）溶于 THF（6 mL）中，加入 5-（（叔丁基二甲基甲硅烷基）氧基）戊-1-醇（544.49 mg, 2.44 mmol, 3 eq） and TsOH（42.50 mg, 244.31 μmol, 0.3 eq），反应液在 25℃下搅拌 1 小时。LCMS 显示有产物生成。反应液通过高相液相色谱制备，得到白色固体产物 LA-27A0-a（200 mg，收率 59.54%）。

高效液相色谱制备条件如下：

15 制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 BRIX-2860。色谱柱为 Synergi Max-RP 200×30mm×10μm，流动相水（0.225% HCOOH）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 20%到 50%洗脱。

LCMS (ESI): m/z, 435.3[M+Na]<sup>+</sup>。

20 步骤 2：化合物（9H-茛-9-基）甲基（2-（（（5-（（（4-硝基苯氧基）羰基）氧基）戊基）氧基甲基）氨基）-2-氧乙基）氨基甲酸酯的制备

将(9H-芴-9-基)甲基(2-((((5-羟基戊基)氧基)甲基)氨基)-2-氧乙基)氨基甲酸酯(200 mg, 484.86  $\mu\text{mol}$ , 1 eq)溶于DMF(5 mL), 加入DIPEA(253.19 mg, 1.94 mmol, 4 eq)和NPC(304.13 mg, 969.73  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 反应液在25°C下搅拌3小时。TLC显示原料消失, 有极性小的新点生成。反应液浓缩, 5 残留物通过硅胶柱层析法纯化(DCM:MeOH=10:1), 得到黄色油状产物LA-27A0-b(260 mg, 收率92.84%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 578.2[M+H]<sup>+</sup>。

步骤3: 化合物LA-27A0-c的制备

将艾日布林甲磺酸盐溶于DMF(2 mL), 加入DIPEA(20.34 mg, 155.82  $\mu\text{mol}$ , 3 eq), 再加入化合物(9H-芴-9-基)甲基(2-((5-((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)戊基)氧基甲基)氨基)-2-氧乙基)氨基甲酸酯(30 mg, 51.94  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 10 反应液在25°C下搅拌1小时。LCMS显示有产物生成。反应液通过高效液相色谱制备, 得到白色固体产物(200 mg, 收率84.36%)。

高效液相色谱制备条件如下:

15 制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Synergi Max-RP 200×30mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水(0.225% $\text{HCOOH}$ )-乙腈, 乙腈的洗脱比例从50%到80%洗脱。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1190.7[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤4: 化合物LA-27A0-d的制备

20 将化合物LA-27A0-c(30 mg, 25.68  $\mu\text{mol}$ , 1 eq)的DMF溶液(3 mL)中, 加入 $\text{Et}_2\text{NH}$ (9.48 mg, 128.38  $\mu\text{mol}$ , 5 eq), 反应液在25°C下搅拌1小时。LCMS显示有产物生成。反应液浓缩, 得到黄色油状产物(24 mg, 收率98.79%), 按理论量计算, 直接用于下一步。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 946.6[M+H]<sup>+</sup>。

25 步骤5: 化合物LA-27A0的制备

将化合物LA-27A0-d(16 mg, 16.91  $\mu\text{mol}$ , 1 eq)溶于DMF(1 mL)中, 加入LY-22CD-3-d(该化合物的合成请参阅专利申请WO2024175069A1)(17.71 mg, 90%, 20  $\mu\text{mol}$ , 1 eq)和DIPEA(4.42 mg, 33.82  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 0°C下, 加入HATU(9.65 mg, 25.37  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq), 反应液在0-10°C下搅拌1小时。LCMS显示目标产物。30 反应液通过高效液相色谱制备, 得白色固体产物(22.42 mg, 收率76.86%)。

高效液相色谱制备条件如下:

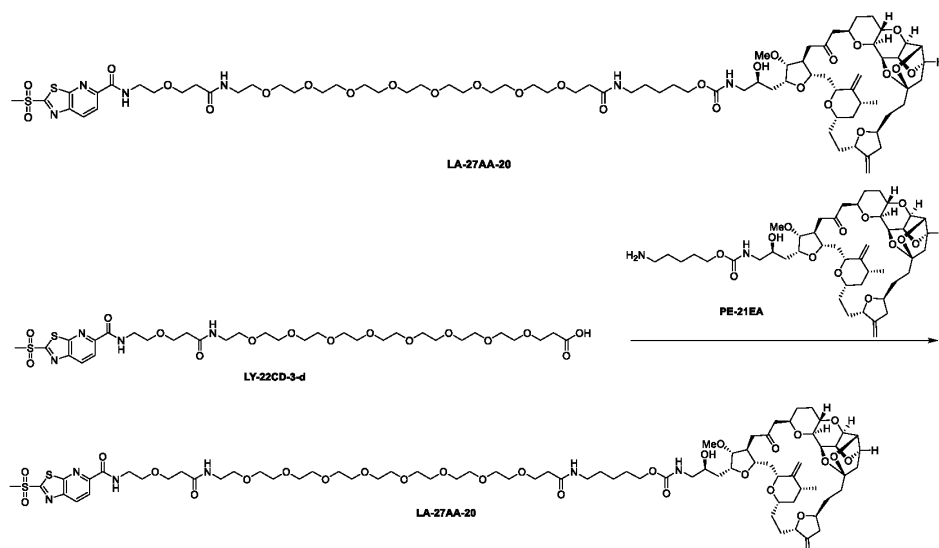
制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×30mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水(0.225% $\text{HCOOH}$ )-乙腈, 乙腈的洗脱比例从30%到60%洗脱。

35 LCMS (ESI):  $m/z$ , 1724.8[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  9.06 (t,  $J = 5.7$  Hz, 1H), 8.86 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H),

8.51 (t,  $J = 6.6$  Hz, 1H), 8.38 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H), 8.12 (t,  $J = 5.7$  Hz, 1H), 7.90 (t,  $J = 5.6$  Hz, 1H), 6.93 (d,  $J = 5.9$  Hz, 1H), 5.05 (s, 1H), 4.99 (s, 1H), 4.82 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.63 (s, 1H), 4.58 – 4.46 (m, 4H), 4.25 (d,  $J = 10.8$  Hz, 1H), 4.21 – 4.12 (m, 1H), 4.10 (s, 3H), 4.01 (t,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 3.89 (t,  $J = 6.6$  Hz, 2H), 3.84 – 3.72 (m, 2H), 3.69 (d,  $J = 5.8$  Hz, 2H), 3.65 (s, 3H), 3.63 – 3.59 (m, 3H), 3.53 (d,  $J = 5.2$  Hz, 3H), 3.48 (d,  $J = 4.9$  Hz, 31H), 3.37 (d,  $J = 5.9$  Hz, 3H), 3.25 (s, 4H), 3.18 (q,  $J = 5.7$  Hz, 2H), 2.93 (s, 2H), 2.83 (d,  $J = 9.5$  Hz, 1H), 2.80 – 2.63 (m, 3H), 2.60 – 2.51 (m, 2H), 2.38 (t,  $J = 6.5$  Hz, 2H), 2.36 – 2.29 (m, 4H), 2.25 (d,  $J = 11.9$  Hz, 3H), 2.12 (t,  $J = 11.8$  Hz, 1H), 2.05 – 1.83 (m, 7H), 1.75 – 1.59 (m, 5H), 1.48 (dq,  $J = 21.0, 6.8$  Hz, 8H), 1.30 (q,  $J = 8.7, 8.1$  Hz, 5H), 1.19 – 1.15 (m, 1H), 1.03 (d,  $J = 6.5$  Hz, 3H), 0.99 – 0.92 (m, 1H)。

### 实施例 31：化合物 LA-27AA-20 的制备



#### 步骤 1：化合物 LA-27AA-20 的制备

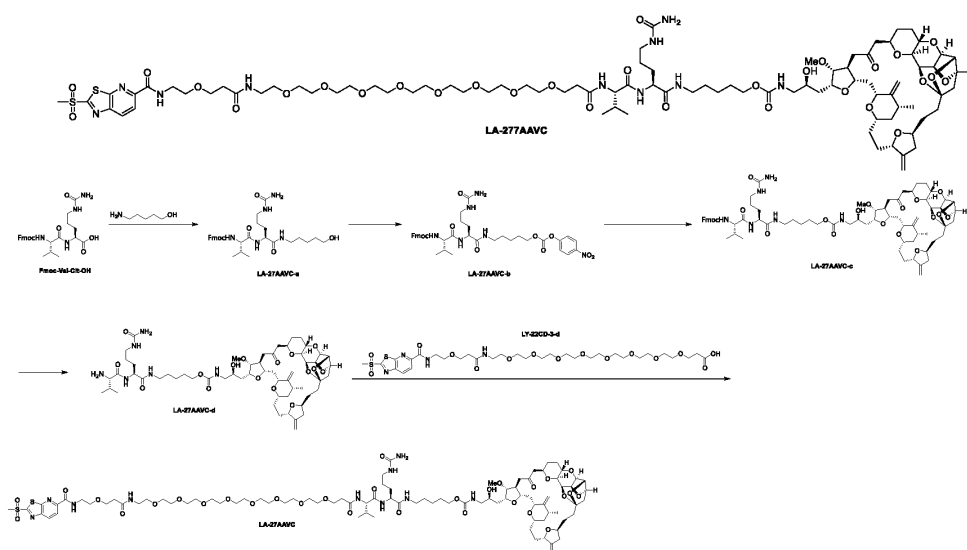
0 °C 下向化合物 PE-21EA (11.12 mg, 12.94  $\mu$ mol, 1 eq) (该化合物的合成请参考 PE-21EA 的合成制备例) 和化合物 LY-22CD-3-d (11.46 mg, 90%, 12.94  $\mu$ mol, 1 eq) (该化合物的合成请参考专利申请 WO2024175069A1) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (6.09 mg, 46.5  $\mu$ mol, 3.6 eq) 和 HATU (14.77 mg, 38.83  $\mu$ mol, 3 eq), 反应液在 25 °C 下搅拌 30 分钟。LCMS 显示有产物生成。反应液过滤后通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×30mm×10 $\mu$ m。流动相水 (0.225%FA) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 20% 到 50% 洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 LA-27AA-20 (3.25 mg, 收率 5.33%, 纯度 100%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1638.9[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.05 (t,  $J = 5.8$  Hz, 1H), 8.87 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H), 8.38 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 6.90 (s, 1H), 5.05 (s, 1H), 4.99 (s,

1H), 4.83 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.63 (s, 1H), 4.55 (t,  $J = 4.2$  Hz, 1H), 4.51 (d,  $J = 5.1$  Hz, 1H), 4.26 (d,  $J = 10.6$  Hz, 1H), 4.18 (d,  $J = 10.5$  Hz, 1H), 4.12 – 4.08 (m, 3H), 4.02 (s, 1H), 3.89 (t,  $J = 6.7$  Hz, 2H), 3.79 (dd,  $J = 20.8, 9.5$  Hz, 2H), 3.65 (s, 3H), 3.62 (d,  $J = 6.4$  Hz, 1H), 3.58 (d,  $J = 6.5$  Hz, 1H), 3.56 – 3.53 (m, 3H), 3.49 (d,  $J = 1.5$  Hz, 2H),  
 5 3.48 – 3.46 (m, 8H), 3.37 (t,  $J = 5.9$  Hz, 2H), 3.26 (d,  $J = 4.7$  Hz, 4H), 3.18 (d,  $J = 5.8$  Hz, 2H), 3.01 (d,  $J = 6.3$  Hz, 2H), 2.94 (s, 2H), 2.84 (d,  $J = 9.5$  Hz, 1H), 2.72 (d,  $J = 11.6$  Hz, 2H), 2.69 – 2.65 (m, 2H), 2.56 (d,  $J = 6.5$  Hz, 1H), 2.35 – 2.29 (m, 6H), 2.29 – 2.24 (m, 4H), 2.20 – 2.12 (m, 2H), 2.04 – 1.95 (m, 2H), 1.92 (s, 4H), 1.73 – 1.62 (m, 5H), 1.51 (q,  $J = 6.9$  Hz, 5H), 1.38 (q,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 1.28 (dd,  $J = 15.0, 8.0$  Hz, 4H),  
 10 1.17 (d,  $J = 12.3$  Hz, 1H), 1.03 (d,  $J = 6.4$  Hz, 3H), 0.99 – 0.93 (m, 1H)。

### 实施例 32：化合物 LA-27AAVC 的制备



#### 15 步骤 1：化合物 LA-27AAVC-a 的制备

室温下向化合物 Fmoc-Val-Cit-OH (3 g, 6.042 mmol, 1 eq) 的 DMF (10 mL) 中的溶液中加入 DIEA (2.996 mL, 18.125 mmol, 5 eq), 5-氨基-1-戊醇 (0.81 g, 7.854 mmol, 1.3 eq) 和 HATU (2.99 g, 7.854 mmol, 1.3 eq)。然后将混合物在 25°C 下搅拌 2h。LCMS 显示反应完成。反应液通过减压浓缩得到粗品, 粗品用乙酸乙酯 (30ml) 打浆得到 LA-27AAVC-a (1.1 g, 收率 31.30%), 为黄色固体。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 582.2[M+1]<sup>+</sup>,  $R_t$ =1.336 min。

#### 20 步骤 2：化合物 LA-27AAVC-b 的制备

25°C 下向化合物 LA-27AAVC-a (1.1 g, 1.891 mmol, 1 eq) 的 DMF (15 mL) 溶液加入 DIEA (0.781 mL, 4.727 mmol, 2.5 eq) 和 4-硝基苯酚甲酯 (1.73 g, 5.673 mmol, 3 eq), 反应液在 25°C 下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全。将反应液通过反向 C18 (TFA 0.025%)  $H_2O$ :ACN=95%:5%-46%:54%) 得到 LA-27AAVC-b (770 mg, 收率 54.52%) 为白色固体。



LCMS (ESI):  $m/z$ , 746.6  $[M]^+$ ,  $R_t=1.598$  min。

步骤 3: 化合物 LA-27AAVC-c 的制备

室温下向化合物艾日布林甲磺酸盐 (100 mg, 0.121 mmol, 1 eq) 的 DMF (3 mL) 中加入 DIEA (47 mg, 0.363 mmol, 3 eq), LEC-27AAVC-b (108.50 mg, 0.145 mmol, 1.2 eq) 和 HOBt (16.36 mg, 0.121 mmol, 1 eq)。然后将混合物在 25°C 下搅拌 2h。LCMS 显示反应完成。反应液通过高效液相色谱法 (C18, (0.025% TFA)  $H_2O:ACN=95\%:5\%-18\%:82\%$ ) 纯化得到 LA-27AAVC-c (67 mg, 收率 41.37%), 为白色固体。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1337.4  $[M]^+$ ,  $R_t=1.692$  min。

10 步骤 4: 化合物 LA-27AAVC-d 的制备

25°C 下向化合物 LA-27AAVC-c (29 mg, 0.022 mmol, 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液加入二乙胺 (0.022 mL, 0.217 mmol, 10 eq), 反应液在 25°C 下搅拌 1.5 小时, LCMS 显示原料反应完全。将反应液在真空中低温浓缩得到粗品 LA-27AAVC-d (24 mg, 粗品), 为淡黄色油状。

15 LCMS (ESI):  $m/z$ , 1114.1  $[M-1]^+$ ,  $R_t=1.310$  min。

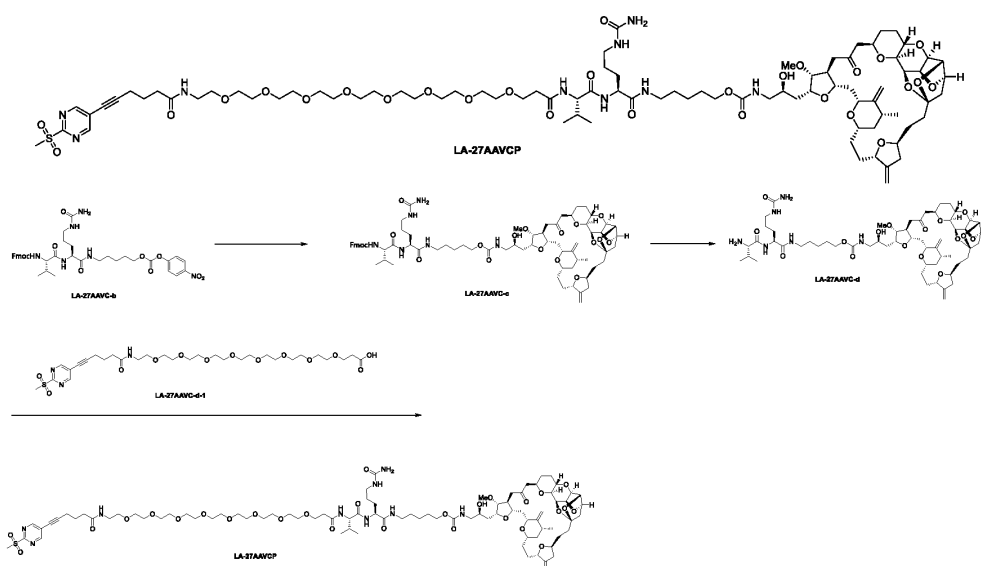
步骤 5: 化合物 LA-27AAVC 的制备

0°C 下向化合物 LA-27AAVC-d (24 mg, 0.022 mmol, 1 eq) 的 DMF (2 mL) 中加入 DIEA (0.011 mL, 0.065 mmol, 3 eq), LY-22CD-3-d (该化合物的合成请参阅专利申请 WO2024175069A1) (18.86 mg, 0.024 mmol, 1.1 eq) 和 HATU (10.64 mg, 0.028 mmol, 1.3 eq)。然后将混合物在 25°C 下搅拌 1h。LCMS 显示反应完成。反应液通过高效液相色谱法 (Bonnasil-BS C18, 20×250 mm ×8μm,  $H_2O$  (0.1%FA) :ACN=70%: 30%-40%: 60%) 纯化得到 LA-27AAVC (18.57 mg, 收率 45.56%), 为白色固体。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1894.3  $[M]^+$ ,  $R_t=1.402$  min。

25  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  9.05 (t,  $J = 5.5$  Hz, 1H), 8.89 – 8.85 (m, 1H), 8.38 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H), 7.87 (dd,  $J = 13.5, 6.5$  Hz, 2H), 7.78 (t,  $J = 5.2$  Hz, 1H), 6.92 (t,  $J = 5.6$  Hz, 1H), 5.96 (d,  $J = 14.9$  Hz, 1H), 5.05 (s, 1H), 5.00 (s, 1H), 4.83 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.63 (s, 1H), 4.55 (t,  $J = 4.0$  Hz, 1H), 4.26 (d,  $J = 10.8$  Hz, 1H), 4.21 – 3.97 (m, 7H), 3.89 (t,  $J = 6.4$  Hz, 2H), 3.79 (dd,  $J = 21.5, 9.5$  Hz, 3H), 3.70 – 3.61 (m, 8H), 3.55 – 3.49 (m, 38H), 3.37 (d,  $J = 5.8$  Hz, 5H), 3.25 (s, 3H), 3.23 – 3.15 (m, 3H), 3.02 (d,  $J = 6.0$  Hz, 2H), 2.94 (d,  $J = 5.4$  Hz, 4H), 2.84 (d,  $J = 9.5$  Hz, 1H), 2.79 – 2.66 (m, 2H), 2.66 – 2.53 (m, 2H), 2.46 (dd,  $J = 13.6, 6.5$  Hz, 1H), 2.35 (dt,  $J = 19.9, 6.4$  Hz, 4H), 2.28 – 2.18 (m, 3H), 2.17 – 2.07 (m, 1H), 2.06 – 1.85 (m, 7H), 1.66 (dt,  $J = 22.6, 11.2$  Hz, 5H), 1.48 (dd,  $J = 14.6, 8.1$  Hz, 5H), 1.41 – 1.16 (m, 12H), 1.02 (t,  $J = 10.0$  Hz, 3H),  
35 0.82 (t,  $J = 7.6$  Hz, 5H)。

### 实施例 33: 化合物 LA-27AAVCP 的制备



### 步骤 1: 化合物 LA-27AAVC-c 的制备

室温下，向化合物艾日布林甲磺酸盐（商购）（50.0 mg, 0.061 mmol, 1.0 eq）和 DIEA（23.47 mg, 0.182 mmol, 3.0 eq）DMF（1.0 mL）溶液中加入 LA-27AAVC-b（请参阅 LA-27AAVC 的实施例）（45.56 mg, 0.061 mmol, 1.0 eq）和 HOBt（8.18 mg, 0.061 mmol, 1.0 eq），并置于室温搅拌 1 小时，LCMS 显示反应完全。过滤反应液，滤液通过 C18 反相柱层析纯化，流动相水（0.25%TFA）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 0%到 60%洗脱，纯化得到白色固体产物 LA-27AAVC-c（61.0 mg，收率 75.35%）。

LCMS (ESI): m/z, 1337.1[(M+H)]<sup>+</sup>。

### 步骤 2 : 化合物 LA-27AAVC-d 的制备

室温下，向化合物 LA-27AAVC-c（60 mg, 0.045 mmol, 1.0 eq）的 DMF（2.0 mL）溶液中加入 DEA（32.81 mg, 0.449 mmol, 10.0 eq），并置于室温搅拌 0.5 小时，LCMS 显示反应完全。减压浓缩反应液，得到棕色油状粗品 LA-27AAVC-d（60 mg，粗品）。

LCMS (ESI): m/z, 1115.0 [(M+H)]<sup>+</sup>。

### 步骤 3: 化合物 LA-27AAVCP 的制备

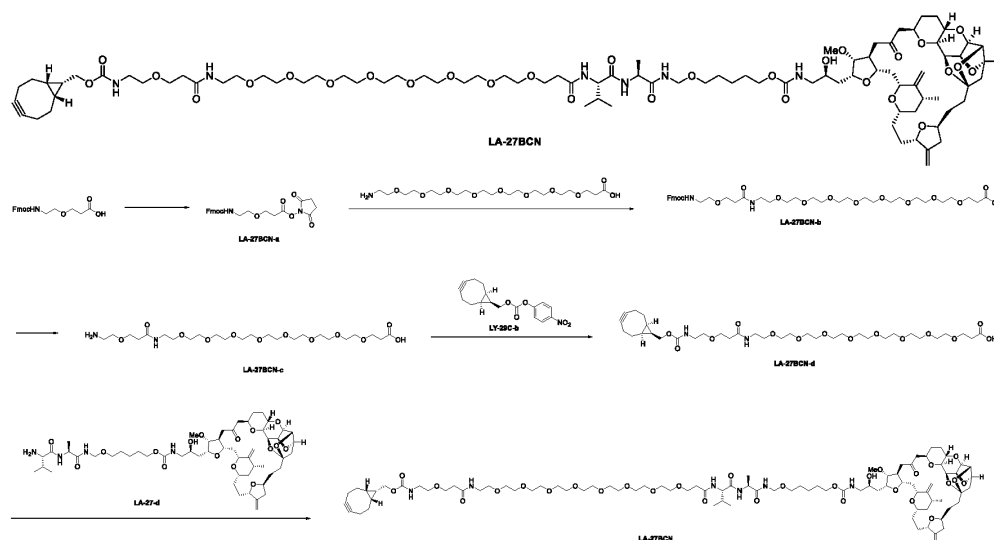
室温下，向化合物 LA-27AAVC-d（60 mg，粗品，1.0 eq）和 LA-27AAVC-d-1（该化合物的合成请参阅专利申请 WO2024175069A1）（37.21 mg, 0.054 mmol, 1.2 eq）的 DMF（2.0 mL）溶液中加入 HATU（25.67 mg, 0.067 mmol, 1.5 eq），并置于室温搅拌 1 小时，LCMS 显示反应完全，过滤反应液，滤液通过高效液相色谱制备（型号 JB-C235-04，色谱柱为 Bonnasil-BS C18，20×250 mm×8μm，流动相水（0.1%TFA）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 20%到 60%洗脱）纯化得到白色固体产物 LA-27AAVCP（55.9 mg，收率 69.70%）。

LCMS (ESI): m/z, 895.6 [(M/2+H)]<sup>+</sup>。

$^1\text{H}$ NMR(400 MHz, DMSO)  $\delta$  9.12 (s, 2H), 8.00 – 7.72 (m, 5H), 6.92 (s, 1H), 5.98 (s, 2H), 5.03 (d,  $J$  = 23.7 Hz, 2H), 4.80 (d,  $J$  = 30.9 Hz, 2H), 4.64 (s, 1H), 4.56 (t,  $J$  = 4.1 Hz, 1H), 4.27 (d,  $J$  = 10.2 Hz, 1H), 4.21 – 4.14 (m, 3H), 4.11 (s, 3H), 4.02 (s, 1H), 3.89 (t,  $J$  = 6.6 Hz, 2H), 3.79 (dd,  $J$  = 22.6, 10.1 Hz, 3H), 3.68 (s, 2H), 3.50 (d,  $J$  = 2.5 Hz, 28H), 3.26 (s, 3H), 3.21 (dd,  $J$  = 11.6, 5.8 Hz, 4H), 3.06 – 2.82 (m, 9H), 2.80 – 2.53 (m, 6H), 2.41 – 1.59 (m, 28H), 1.57 – 1.11 (m, 19H), 1.04 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 3H), 0.86 – 0.79 (m, 6H)。

### 实施例 34：化合物 LA-27BCN 的制备

10



#### 步骤 1：化合物 LA-27BCN-a 的制备

冰浴下，向 N-苄氧羰基-乙二醇-羧酸 (500 mg, 1.41 mmol, 1 eq) 的二氯甲烷 (8 mL) 溶液中加入 N-羟基丁二酰亚胺 (194.30 mg, 1.69 mmol, 1.2 eq) 和 N,N'-二环己基碳二亚胺 (580.56 mg, 716.74  $\mu\text{L}$ , 2.81 mmol, 2 eq)，并置于室温下搅拌 2 小时，LCMS 显示原料反应完全。滤去不溶物后，浓缩后得到粗品无色油状的 LA-27BCN-a (1.19 g, 粗品不计产率)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 475  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,  $R_t=0.944$  min。

#### 步骤 2：化合物 LA-27BCN-b 的制备

0°C下向 LA-27BCN-a (600 mg, 53%, 702.82  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (5 mL) 溶液中加入 amino-PEG(8)-acid (351.88 mg, 773.11  $\mu\text{mol}$ , 1.1 eq) 和 DIPEA (232.31  $\mu\text{L}$ , 1.41 mmol, 2 eq)，并置于室温下搅拌 1 小时，LCMS 显示原料反应完全，残留物通过硅胶柱层析谱法 (C18, ISCO, R-330g SepaFlash Silica Flash Column, Eluent of 5-25% water/ $\text{CH}_3\text{CN}$ , 100 mL/min) 纯化，得黄色油状的 LA-27BCN-b (456.80 mg, 收率 83.45%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 779  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,  $R_t=1.833$  min。

#### 步骤 3：化合物 LA-27BCN-c 的制备

向化合物 LA-27BCN-b (456.80 mg, 586.48  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (8 mL) 溶液中加入  $\text{Et}_2\text{NH}$  (305.13  $\mu\text{L}$ , 2.93 mmol, 5 eq), 并置于室温下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全, 油泵抽干直接投到下一步。LA-27BCN-c 的理论质量为 326.46 mg, 粗品不计产率。

5 LCMS (ESI):  $m/z$ , 557  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,  $R_t=0.600$ 。

步骤 4: 化合物 LA-27BCN-d 的制备

$0^\circ\text{C}$  下向化合物 LY-29C-b (101.57 mg, 322.11  $\mu\text{mol}$ , 1.1 eq, 该化合物的合成参考 LY-29C-c 的制备例) 的 DMF (3 mL) 溶液中加入化合物 LA-27BCN-c (163 mg, 292.82  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 DIPEA (232.31  $\mu\text{L}$ , 1.41 mmol, 2 eq), 并置于室温下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全 (2 批次, 同等规模)。残余物通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225%  $\text{HCOOH}$ ) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 20% 到 50% 洗脱), 得到黄色油状的 LA-27BCN-d (232.2 mg, 收率 30%, 纯度 70%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 733  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,  $R_t=1.511$ 。

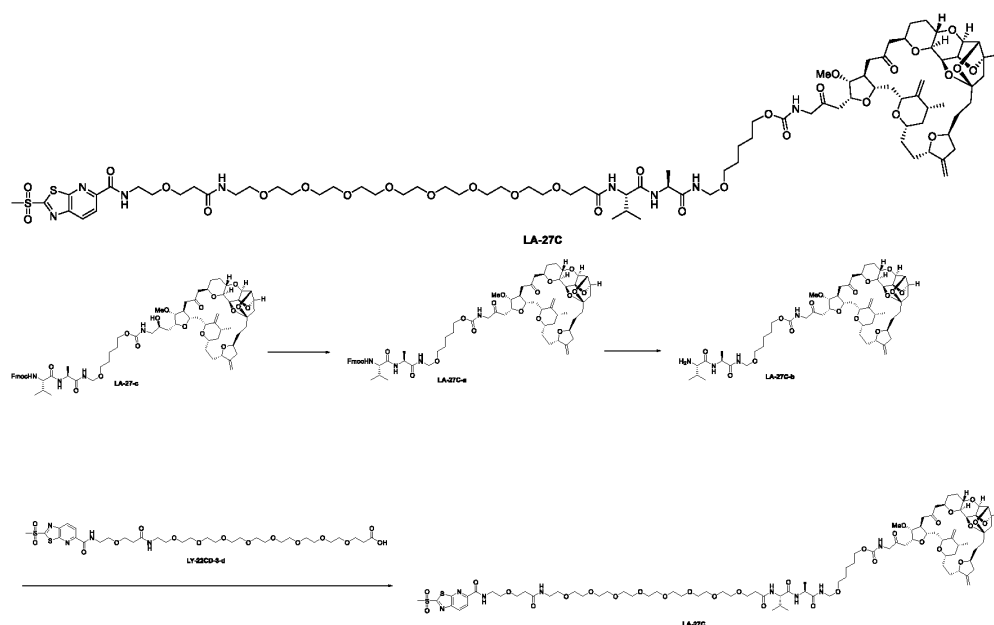
15 步骤 5: 化合物 LA-27BCN 的制备

$0^\circ\text{C}$  下向化合物 LA-27BCN-d (8.99 mg, 12.27  $\mu\text{mol}$ , 1.3 eq), 化合物 LA-27-d (8.99 mg, 12.27  $\mu\text{mol}$ , 1.3 eq, 该化合物的合成请参考 LA-27 的实施例) 的 DMF (3 mL) 溶液中加入 DIPEA (6.16 mg, 99%, 7.88  $\mu\text{L}$ , 47.20  $\mu\text{mol}$ , 5 eq) 和 HATU (4.31 mg, 11.33  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 加毕并置于室温下搅拌 40 分钟, LCMS 显示原料反应完全。反应液通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150 $\times$ 21.2mm $\times$ 5 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225%  $\text{HCOOH}$ ) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 得到白色固体化合物 LA-27BCN (14.75 mg, 收率 88.07%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1797.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,  $R_t=2.459$  min。

25  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8.53 (t,  $J = 6.6$  Hz, 1H), 8.04 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 7.92-7.81 (m, 2H), 7.04 (s, 1H), 6.92 (s, 1H), 5.02 (d,  $J = 22.6$  Hz, 2H), 4.79 (d,  $J = 31.5$  Hz, 2H), 4.63 (p,  $J = 2.3$  Hz, 1H), 4.58-4.43 (m, 4H), 4.30-4.13 (m, 4H), 4.12 - 3.96 (m, 5H), 3.89 (t,  $J = 6.6$  Hz, 2H), 3.84-3.72 (m, 2H), 3.68 (s, 1H), 3.57 (dt,  $J = 8.5$ , 6.7 Hz, 4H), 3.50 (d,  $J = 3.9$  Hz, 24H), 3.39 (t,  $J = 5.9$  Hz, 2H), 3.36 (d,  $J = 6.0$  Hz, 22H), 3.25 (s, 4H), 3.19 (q,  $J = 5.8$  Hz, 2H), 3.09 (q,  $J = 5.9$  Hz, 2H), 2.98-2.90 (m, 2H), 2.87-2.65 (m, 4H), 2.62-2.54 (m, 1H), 2.45-2.10 (m, 13H), 2.02-1.87 (m, 6H), 1.75-1.59 (m, 5H), 1.57-1.42 (m, 7H), 1.38-1.25 (m, 5H), 1.21 (d,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 1.03 (d,  $J = 6.4$  Hz, 3H), 0.83 (dd,  $J = 13.4$ , 6.8 Hz, 6H)。

35 实施例 35: 化合物 LA-27C 的制备



#### 步骤 1: 化合物 LA-27C-a 的制备

0°C下向化合物 LA-27-c (该化合物的合成请参考 LA-27 的实施例) (10.60 mg, 8.27  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DCM (3mL) 的溶液中加入戴斯马汀氧化剂 (21.48 mg, 98%, 15.77  $\mu\text{L}$ , 49.63  $\mu\text{mol}$ , 6 eq), 加毕, 25°C反应 16 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液和另一个小试批次的反应液合并倒入冰水/饱和碳酸氢钠/饱和亚硫酸钠 (1V/1V/1V, 总体积 60mL) 的混合溶液中, 搅拌 5 分钟, 用 DCM 萃取 3 次, 每次 40mL, 有机相合并, 再用饱和碳酸氢钠/饱和亚硫酸钠 (1V/1V, 总体积 30mL) 的混合溶液洗涤有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得到黄色固体化合物 LA-27C-a (14 mg, 粗品, 1.28 批次, 另一个 0.28 倍规模的小试产物和本次产物合并)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1279.9[M+H]<sup>+</sup>. Rt=3.257 min.

#### 步骤 2: 化合物 LA-27C-b 的制备

0°C下向化合物 LA-27C-a (14 mg, 10.94  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入二乙胺 (4 mg, 54.71  $\mu\text{mol}$ , 5 eq), 加毕, 反应液在 25°C下反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液直接旋干得到黄色固体化合物 LA-27C-b (12 mg, 粗品)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1057.9[M+H]<sup>+</sup>.

#### 步骤 3: 化合物 LA-27C 的制备

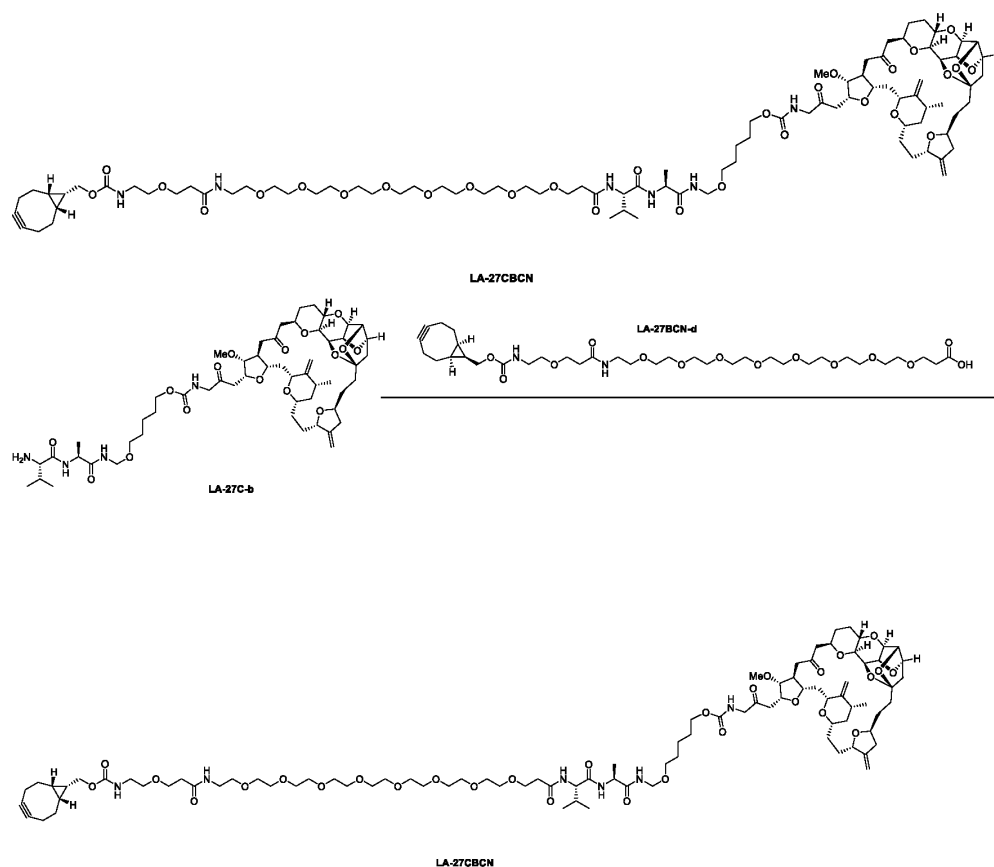
0°C下向化合物 LA-27C-b (12 mg, 11.35  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 LY-22CD-3-d (18.09 mg, 22.70  $\mu\text{mol}$ , 2 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入 DIPEA (11.73 mg, 90.80  $\mu\text{mol}$ , 8 eq) 和 HATU (8.63 mg, 22.70  $\mu\text{mol}$ , 2 eq)。加毕, 25°C反应 2 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号

BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×30mm×10 $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱, 经冻干得到白色固体化合物 LA-27C (5.12 mg, 收率 24.57%, 纯度 98%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1859.1 [M+Na]<sup>+</sup>。Rt=2.329 min。

5 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  9.06 (t,  $J$  = 5.7 Hz, 1H), 8.87 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 8.54 (t,  $J$  = 6.5 Hz, 1H), 8.38 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 8.04 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 1H), 7.92-7.83 (m, 2H), 7.28 (t,  $J$  = 5.9 Hz, 1H), 5.07-4.99 (m, 2H), 4.82 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.63 (dt,  $J$  = 4.5, 2.5 Hz, 1H), 4.59-4.37 (m, 4H), 4.30-4.15 (m, 4H), 4.12-3.99 (m, 5H), 3.92 (t,  $J$  = 6.6 Hz, 2H), 3.86-3.76 (m, 3H), 3.71 (s, 1H), 3.66-3.52 (m, 8H), 3.51-3.43 (m, 24H),  
10 3.39-3.34 (m, 24H), 3.23 (s, 3H), 3.18 (q,  $J$  = 5.8 Hz, 3H), 2.87-2.71 (m, 4H), 2.67 (td,  $J$  = 4.0, 2.0 Hz, 2H), 2.57 (dd,  $J$  = 16.5, 9.7 Hz, 2H), 2.45-2.36 (m, 2H), 2.33-2.11 (m, 8H), 2.03-1.86 (m, 7H), 1.66 (p,  $J$  = 13.6, 12.7 Hz, 5H), 1.48 (dq,  $J$  = 21.9, 7.5 Hz, 6H), 1.37-1.17 (m, 9H), 1.00 (dd,  $J$  = 22.7, 9.1 Hz, 4H), 0.82 (dd,  $J$  = 13.5, 6.8 Hz, 6H)。

### 15 实施例 36: 化合物 LA-27CBCN 的制备



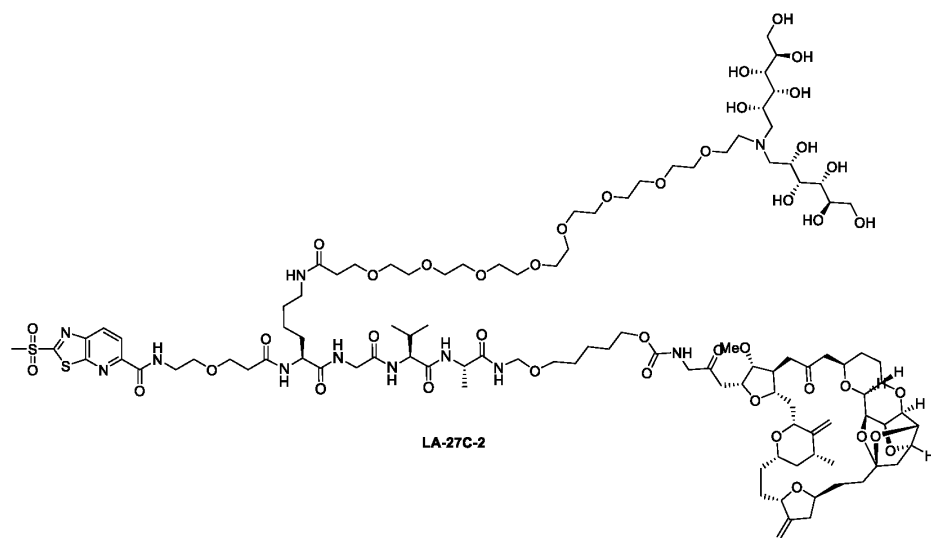
冰浴下, 向化合物 LA-27C-b (该化合物的合成请参考 LA-27C 的实施例, 10.50 mg, 9.93  $\mu$ mol, 1 eq), 化合物 LA-27BCN-d (该化合物的合成请参考 LA-27BCN 的实施例, 14.56 mg, 60%, 11.92  $\mu$ mol, 1.2 eq) 的 DMF (8 mL) 溶液中加入 DIPEA

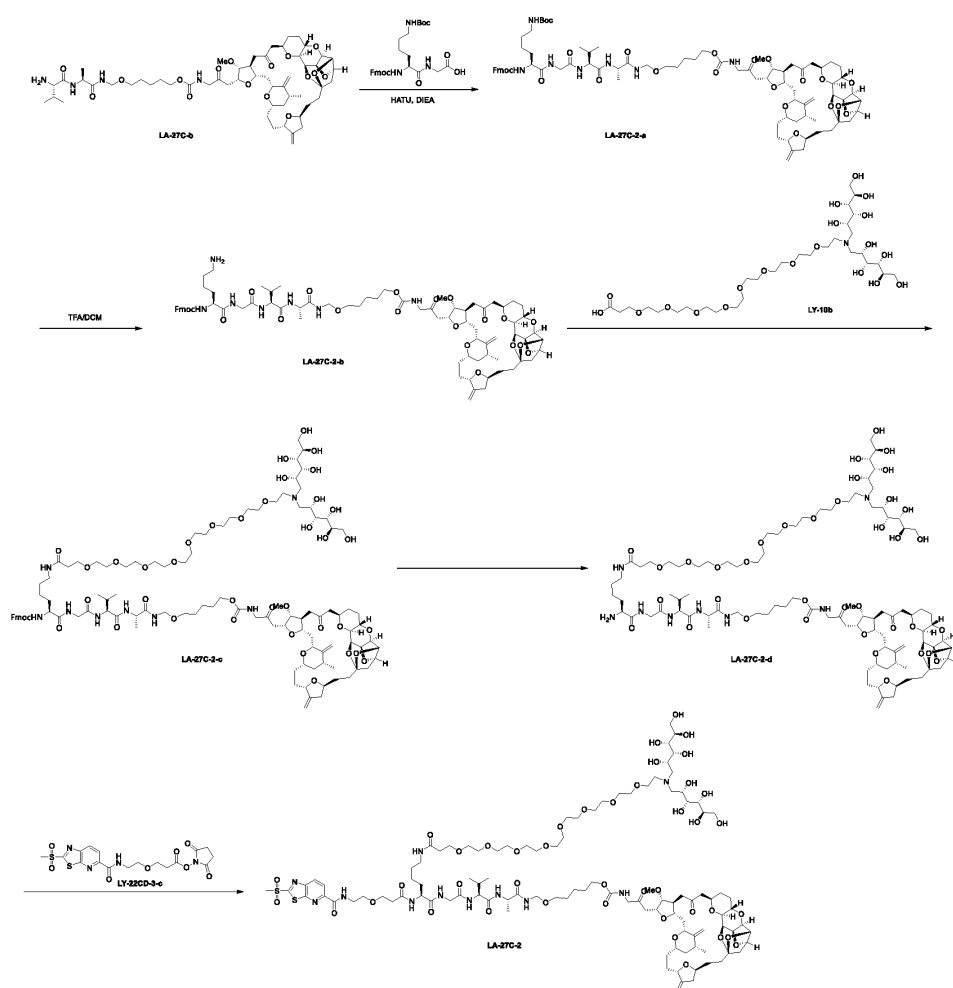
(5.19 mg, 39.72  $\mu\text{mol}$ , 4 eq) 和 HATU (4.53 mg, 11.92  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 加毕, 该反应在 25°C 下反应 1 小时, 反应液通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150 $\times$ 21.2mm $\times$ 5 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 得白色固体化合物 LA-27C-2 (7.57 mg, 收率 43.01%, 纯度 96%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1795.1  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,  $R_t=2.603$  min。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.53 (t,  $J = 7.0$  Hz, 1H), 8.04 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.92-7.82 (m, 2H), 7.28 (t,  $J = 5.9$  Hz, 1H), 7.03 (d,  $J = 5.6$  Hz, 1H), 5.04 (d,  $J = 11.0$  Hz, 2H), 4.82 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.63 (q,  $J = 2.9$  Hz, 1H), 4.58-4.44 (m, 3H), 4.29-4.07 (m, 7H), 4.03 (dd,  $J = 9.0, 4.7$  Hz, 4H), 3.92 (t,  $J = 6.6$  Hz, 2H), 3.87-3.64 (m, 5H), 3.63-3.54 (m, 4H), 3.54-3.43 (m, 24H), 3.39 (t,  $J = 5.9$  Hz, 2H), 3.34 (d,  $J = 6.4$  Hz, 6H), 3.25-3.13 (m, 5H), 3.09 (q,  $J = 6.0$  Hz, 2H), 2.87-2.53 (m, 7H), 2.48-2.25 (m, 11H), 2.17 (dd,  $J = 27.8, 11.8$  Hz, 8H), 1.94 (d,  $J = 13.0$  Hz, 7H), 1.68 (q,  $J = 12.3$  Hz, 4H), 1.50 (dt,  $J = 24.5, 7.1$  Hz, 8H), 1.29 (dq,  $J = 16.3, 8.6$  Hz, 6H), 1.21 (d,  $J = 7.1$  Hz, 5H), 1.00 (dd,  $J = 22.6, 9.2$  Hz, 4H), 0.83 (dd,  $J = 13.3, 6.8$  Hz, 7H)。

### 实施例 37: 化合物 LA-27C-2 的制备





### 步骤 1: 化合物 LA-27C-2-a 的制备

将化合物甘氨酸 (66.36 mg, 41.61  $\mu$ L, 883.99  $\mu$ mol, 1 eq) 和  $\text{NaHCO}_3$  (74.26 mg, 40.36  $\mu$ L, 883.99  $\mu$ mol, 1 eq) 溶于  $\text{H}_2\text{O}$  (5 mL) 中, 室温搅拌 15 分钟, 向上述混合溶液中加入化合物 2,5-二氧代吡咯烷-1-基 N2-(((9H-苈-9-基)甲氧基)羰基)-N6-(叔丁氧基羰基)-L-赖氨酸 (500 mg, 883.99  $\mu$ mol, 1 eq) 溶于 THF (5 mL) 的混合溶液, 室温反应 2 小时, LCMS 显示反应完成, 旋干, 用 2N HCl 调节 pH=2, 用 EA (20 mL $\times$ 3) 萃取, 合并有机相水洗 (20 mL $\times$ 3), 饱和食盐水 (20 mL $\times$ 1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压旋干, 得到黄色固体化合物 N2-(((9H-苈-9-基)甲氧基)羰基)-N6-(叔丁氧基羰基)-L-赖氨酸酰胺甘氨酸 (427 mg, Yield: 91.90%)。LCMS (ESI): m/z, 548[M+Na]<sup>+</sup>。

0 $^{\circ}$ C 下, 向化合物 LA-27C-b (33.05 mg, 31.26  $\mu$ mol, 1 eq) (该化合物的合成请参考 LA-27C 的合成实施例) 和化合物 N2-((9H-苈-9-基)甲氧基)羰基)-N6-(叔丁氧基羰基)-L-赖氨酸酰胺甘氨酸 (18.67 mg, 88%, 31.26  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (12.24 mg, 15.66  $\mu$ L, 93.78  $\mu$ mol, 3 eq) 和 HATU



(14.26 mg, 37.51  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 加完后在 20°C 反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液过滤后通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% FA) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 50%到 80%洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物 LA-27C-2-a  
5 (27.10 mg, Yield=55.40%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1587.8 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。Rt=3.278 min。

步骤 2: 化合物 LA-27C-2-b 的制备

0°C 下, 向化合物 LA-27C-2-a (27.10 mg, 17.32  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DCM (3 mL) 溶液中加入 TFA (0.5 mL, 6.66 mmol, 384.8 eq), 并置于 0°C 下反应 30 分钟,  
10 LCMS 显示反应完成, 旋干得到黄色油状的化合物 LA-27C-2-b (25.37 mg, 粗品不计产率), 直接用于下一步。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1465.8 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。Rt=2.421 min。

步骤 3: 化合物 LA-27C-2-c 的制备

向 1-氨基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂庚烷-27-油酸(123 mg, 0.28 mmol, 1.0 eq)  
15 的 甲醇 (10 mL) / 乙酸 (1 mL) 溶液中加入 D-葡萄糖 (502 mg, 2.79 mmol, 10 eq) 和  $\text{NaBH}_3\text{CN}$  (294 mg, 1.39 mmol, 5 eq), 40°C 反应 40 小时。将反应体系浓缩至约 5 mL, 加入 5 mL 甲醇和 3 mL 水, 通过高效液相色谱制备 (色谱柱: Phenomenex Luna C18 250 $\times$ 50mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ ; 流动相: 水 (0.225%  $\text{HCOOH}$ ) - 乙腈, 从 45%到 85%洗脱) 纯化, 冻干, 得到无色油状化合物 LY-10b (124 mg, 收率 50.4%, TFA 盐)。

20 LCMS (ESI):  $m/z$ , 770.7 $[\text{M}+1]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  4.26 (m, 2H), 3.99-3.94 (m, 2H), 3.90-3.78 (m, 12H), 3.78-3.71 (m, 26H), 3.70-3.65 (m, 4H), 3.60-3.56 (m, 5H), 2.70 (t,  $J = 8.0$  Hz, 2H)。

0°C 下向化合物 LA-27C-2-b (25.37 mg, 17.32  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 LY-10b (20 mg, 25.98  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (9.04 mg, 11.57  $\mu\text{L}$ , 69.28  
25  $\mu\text{mol}$ , 4 eq) 和 HATU (9.88 mg, 25.98  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq)。加毕, 反应液在 20°C 下反应 2 小时。LCMS 显示反应完成。反应液过滤后通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 150 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.1% TFA) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 LA-27C-2-c (20.40 mg, Yield= 53.14%)。

30 LCMS (ESI):  $m/z$ , 1130.8 $[\text{1/2M}+\text{Na}]^+$ 。Rt=2.263 min。

步骤 4: 化合物 LA-27C-2-d 的制备

0°C 下向化合物 LA-27C-2-c (20.40 mg, 9.20  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入  $\text{Et}_2\text{NH}$  (6.80 mg, 92.03  $\mu\text{mol}$ , 10 eq), 加毕, 反应液在 20°C 下反应  
35 1 小时, LCMS 显示反应完成, 旋干, 得到黄色油状化合物 LA-27C-2-d (18.35 mg, 粗品不计产率), 直接用于下一步。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 998.5 $[\text{1/2M}+\text{H}]^+$ , Rt=1.635min。

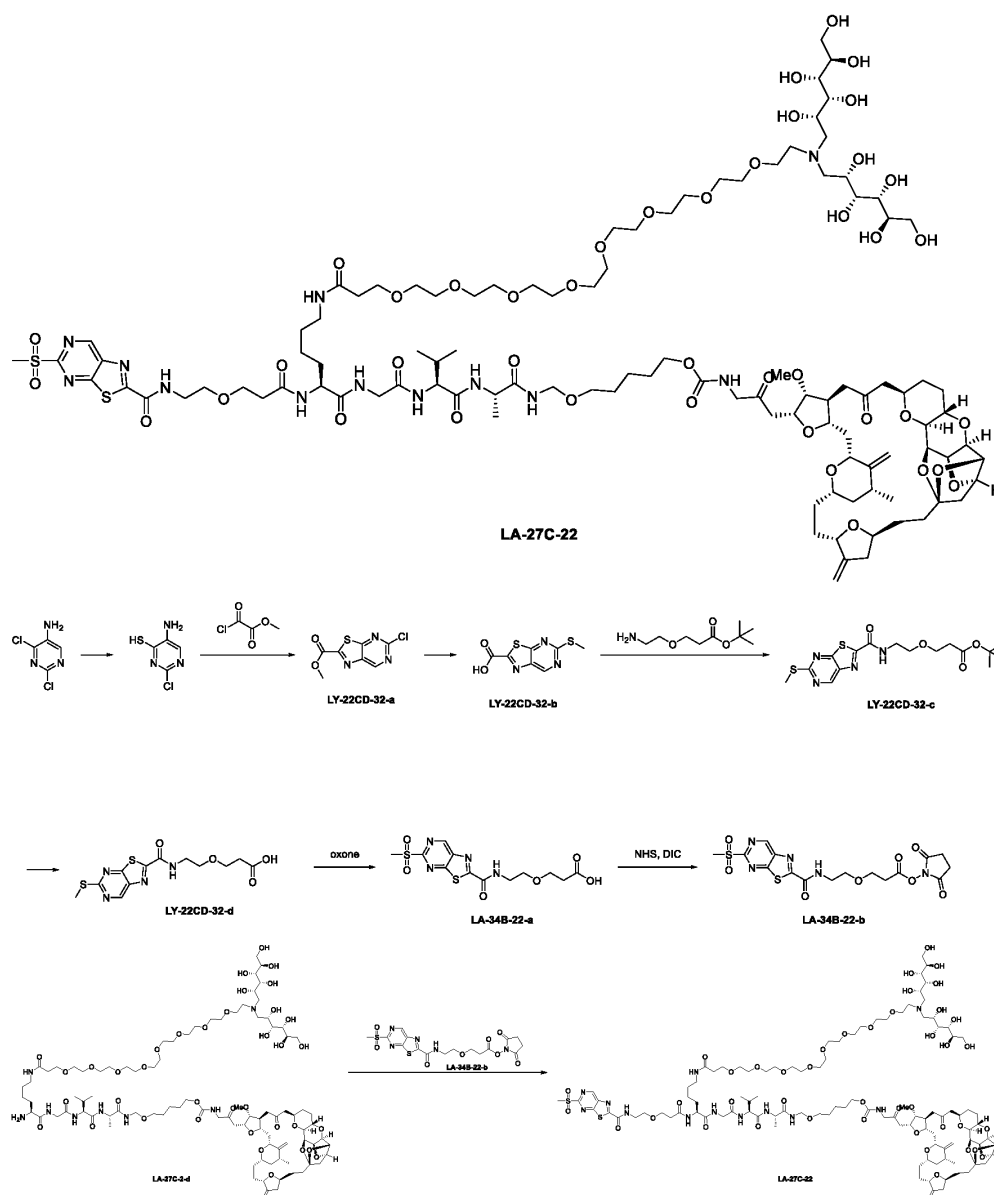
## 步骤 5: 化合物 LA-27C-2 的制备

0°C 下向化合物 LA-27C-2-d (18.35 mg, 9.20  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 DIPEA (3.60 mg, 27.60  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 的 DMF (0.5 mL) 溶液中加入 LY-22CD-3-c (该化合物的合成请参考 LY-22CD-3-d 的制备例) (6.49 mg, 13.80  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq) 的 DMF (0.5 mL) 溶液。加毕, 反应液在 20°C 下反应 1 小时。LCMS 显示反应完成。反应液过滤后通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 150 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.1%TFA) -乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 LA-27C-2 (8.28 mg, 收率 38.30%, 纯度 100%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1197.0[1/2M+Na]<sup>+</sup>。Rt=1.980 min。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  9.10 (t,  $J$  = 5.7 Hz, 1H), 8.87 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 8.52 (t,  $J$  = 6.6 Hz, 1H), 8.38 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 8.17-8.08 (m, 3H), 8.04 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 7.78 (d,  $J$  = 5.9 Hz, 1H), 7.72 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 1H), 7.29 (t,  $J$  = 6.0 Hz, 1H), 6.19 (d,  $J$  = 3.0 Hz, 1H), 5.94 (d,  $J$  = 3.0 Hz, 1H), 5.42 (s, 2H), 4.94 (s, 1H), 4.86 (s, 1H), 4.80 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.55 (dd,  $J$  = 10.2, 6.7 Hz, 4H), 4.45 (dd,  $J$  = 10.2, 6.3 Hz, 2H), 4.33 (s, 1H), 4.29 (d,  $J$  = 9.6 Hz, 1H), 4.25-4.15 (m, 3H), 4.08 (d,  $J$  = 4.0 Hz, 2H), 4.00 (s, 3H), 3.92 (t,  $J$  = 6.6 Hz, 2H), 3.84 (d,  $J$  = 5.9 Hz, 2H), 3.77 (t,  $J$  = 5.0 Hz, 3H), 3.71 (t,  $J$  = 9.5 Hz, 5H), 3.65 (s, 4H), 3.62 (dd,  $J$  = 7.3, 2.5 Hz, 4H), 3.57 (d,  $J$  = 6.5 Hz, 5H), 3.55 (d,  $J$  = 2.3 Hz, 3H), 3.53 (s, 1H), 3.52 (s, 4H), 3.51 – 3.49 (m, 13H), 3.49 (s, 5H), 3.47-3.46 (m, 4H), 3.44 (d,  $J$  = 4.8 Hz, 4H), 3.41 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 3H), 3.17 (s, 4H), 2.98 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 3H), 2.81-2.73 (m, 2H), 2.71 – 2.66 (m, 3H), 2.59 (t,  $J$  = 8.5 Hz, 2H), 2.42 (s, 2H), 2.41-2.36 (m, 3H), 2.35-2.32 (m, 3H), 2.28 (t,  $J$  = 6.5 Hz, 3H), 2.15-2.07 (m, 2H), 2.00-1.90 (m, 4H), 1.84 (d,  $J$  = 11.1 Hz, 2H), 1.70 (s, 4H), 1.62 (s, 4H), 1.49 (dt,  $J$  = 26.5, 7.7 Hz, 8H), 1.31 (t,  $J$  = 8.6 Hz, 7H), 1.23 (s, 2H), 1.21 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 4H), 1.03 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 3H), 0.94 (d,  $J$  = 11.9 Hz, 2H), 0.81 (dd,  $J$  = 18.2, 6.8 Hz, 7H)。

## 实施例 38: 化合物 LA-27C-22 的制备



#### 步骤 1: 化合物 2-氯-4 巯基-5 氨基嘧啶的制备

5      0°C向化合物 5-氨基-2,4-二氯嘧啶 (16 g, 95.62 mmol, 1 eq) 的 DMF (100 mL) 溶液中分批加入化合物水合硫氢化钠 (31.25 g, 68%, 286.85 mmol, 3 eq), 反应液在室温下搅拌过夜。LCMS 显示反应完成。反应液减压除去溶剂, 向残余物中加入四氢呋喃 (150mL), 过滤后用四氢呋喃洗 2 次, 每次 20mL, 减压旋干。残余物用二氯甲烷/四氢呋喃 (90 mL, 2:1) 打浆得到灰白色固体产物 2-氯-4 巯基-5 氨基嘧啶 (14.27 g, 粗品不计收率)。LCMS (ESI): m/z, 162.1[M+H]<sup>+</sup>。

10

#### 步骤 2: 化合物 LY-22CD-32-a 的制备

向化合物 2-氯-4 巯基-5 氨基嘧啶 (9.71 g, 60.08 mmol, 1 eq) 的 DMF (100mL) 溶液中加入 DIPEA (15.69 g, 120.17 mmol, 2 eq) 和草酰氯甲酯 (15.02 g, 120.17

mmol, 2 eq), 反应在 35°C 条件下搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完成。反应液 (上两批次一起处理, 分别为 500 mg、5 g, 与该反应投料过程一样) 减压旋干, 向残留物中加入 DCM/MeOH (300 mL, 10:1), 水 (200 mL), 加入稀盐酸 (2N) 调节 pH < 6, 混合溶液用 DCM 萃取 3 次, 每次 100 mL, 合并有机相, 用饱和食盐水 (100 mL) 洗, 通过无水 NaSO<sub>4</sub> 干燥有机相, 过滤后减压旋干。残余物用 PE/EA (250 mL, 4:1) 打浆纯化得到白色固体产物 LY-22CD-32-a (12.56 g, 收率 58.13%)。LCMS (ESI): m/z, 230.0[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9.68 (s, 1H), 4.03 (s, 3H)。

步骤 3: 化合物 LY-22CD-32-b 的制备

10 向化合物 LY-22CD-32-a (12.56 g, 54.69 mmol, 1 eq) 的 MeOH (300 mL) 溶液中加入甲硫醇钠水合物 (12.11 g, 164.08 mmol, 3 eq), 反应在 70°C 条件下搅拌 1 小时。LCMS 显示反应完成。反应液 (上一批次一起处理, 4.81 g, 投料与该反应一致) 减压旋干, 向残余物中加 H<sub>2</sub>O (200 mL), 加入 HCl (2N) 调节 pH 小于 4, 过滤并收集滤饼得到白色固体产物 LY-22CD-32-b (16.45 g, 收率 95.69%)。LCMS (ESI): m/z, 228.2[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9.47 (s, 1H), 2.63 (s, 3H)。

步骤 4: 化合物 LY-22CD-32-c 的制备

0°C 向化合物 LY-22CD-32-b (5.09 g, 22 mmol, 1 eq) 和氨基-聚乙二醇-丙酸叔丁酯 (4.29 g, 22 mmol, 1 eq) 的 DCM (100 mL) 溶液中加入吡啶 (8.75 g, 110.01 mmol, 5 eq) 和 POCl<sub>3</sub> (10.33 g, 66 mmol, 3 eq), 反应在室温下搅拌半小时。LCMS 显示反应完成。向反应液中加入 DCM (100 mL), 水 (100 mL), 混合溶液用 DCM 萃取 3 次, 每次 100 mL, 合并有机相, 用饱和食盐水 (100 mL) 洗, 通过无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥有机相, 过滤后减压旋干。混合物用 PE/EA (100 mL, 2:1) 打浆纯化得到白色固体产物 LY-22CD-32-c (5.61 g, Yield: 63.99%)。LCMS (ESI): m/z, 421.1[M+Na]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9.38 (s, 1H), 9.20 (t, J = 5.8 Hz, 1H), 3.61 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 3.56 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 3.46 (q, J = 6.0 Hz, 2H), 2.63 (s, 3H), 2.42 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 1.36 (s, 9H)。

步骤 5: 化合物 LY-22CD-32-d 的制备

30 0°C 向化合物 LY-22CD-32-c (5.61 g, 14.08 mmol, 1 eq) 的 DCM (20 mL) 溶液中加入 TFA (5 mL), 反应在 30°C 下搅拌过夜。LCMS 显示反应完成。反应液减压旋干得到黄色油状产物 LY-22CD-32-d (7.13 g, 粗品收率不计, 纯度记为 65%)。LCMS (ESI): m/z, 343.2[M+H]<sup>+</sup>。

步骤 6: 化合物 LA-34B-22-a 的制备

35 冰浴下, 向化合物 LY-22CD-32-d (540 mg, 1.58 mmol, 1 eq) 的 THF (5 mL) 和 H<sub>2</sub>O (5 mL) 溶液中加入 Oxone (10.83 g, 63.09 mmol, 40 eq), 室温下搅拌

过夜，LCMS 显示原料反应完全。过滤后浓缩加入水（5 mL）和二氯甲烷（5 mL），水相用二氯甲烷（5 mL）萃取三次，合并有机相用饱和食盐水（10 mL）洗 1 次，无水硫酸钠干燥，过滤浓缩后通过硅胶柱层析色谱法（洗脱剂：二氯甲烷/甲醇=0-15%）纯化得黄色油状的 LA-34B-22-a（276.10 mg，Yield=46.76%）。

5 LCMS (ESI):  $m/z$ , 375[M+H]<sup>+</sup>,  $R_t$ =0.432 min。

步骤 7: 化合物 LA-34B-22-b 的制备

向化合物 LA-34B-22-a（276.10 mg，737.47  $\mu$ mol，1 eq），N-羟基丁二酰亚胺（519.64 mg，4.42 mmol，6 eq）的 DMF（5 mL）溶液中加入 DIC（703.46  $\mu$ L，4.42 mmol，6 eq），50°C 下搅拌 1 小时。LCMS 显示原料反应完全，反应液通过  
10 高效液相色谱制备（制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×30mm×10 $\mu$ m。流动相水（0.225% HCOOH）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 10% 到 40% 洗脱）纯化，经冻干得到白色固体化合物 LA-34B-22-b（233.30 mg，收率 46.97%，纯度 70%）。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 472 [M+H]<sup>+</sup>。  $R_t$ =0.987 min。

15 步骤 8: 化合物 LA-27C-22 的制备

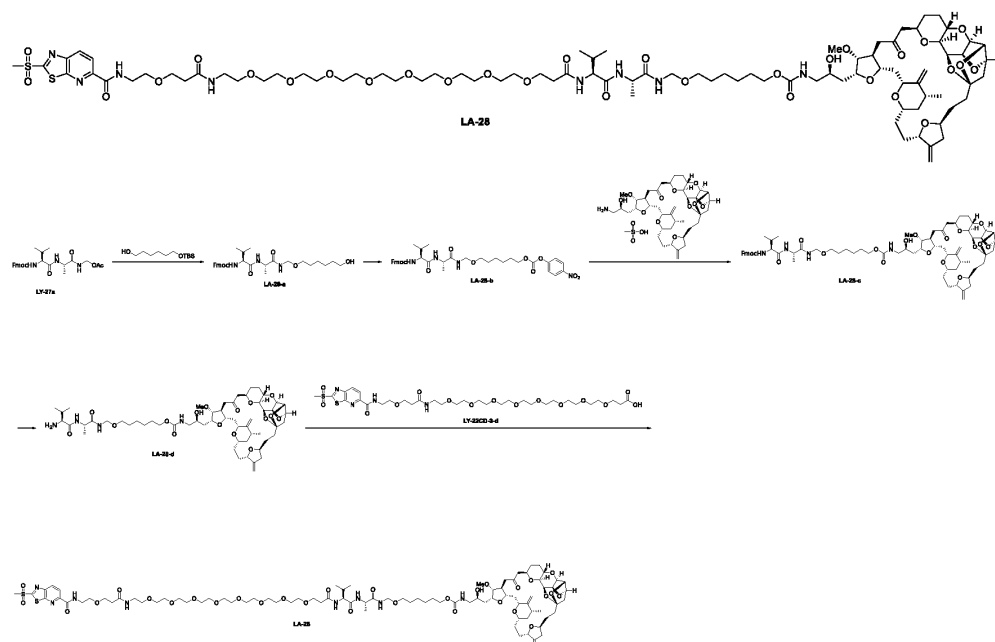
0°C 下向化合物 LA-27C-2-d（该化合物的合成请参考 LA-27C-2 的合成实施例）（17.59 mg，8.82  $\mu$ mol，1 eq）和 DIPEA（3.45 mg，4.42  $\mu$ L，26.46  $\mu$ mol，3 eq）的 DMF（0.5 mL）溶液中加入 LA-34B-22-b（8.91 mg，70%，13.23  $\mu$ mol，1.5 eq）的 DMF（0.5 mL）溶液。加毕，反应液在 20°C 下反应 40 分钟。LCMS 显示反应  
20 完成。反应液过滤后通过高效液相色谱制备（制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 BRIX-2860。色谱柱为 Synergi Max-RP 200×30mm×10 $\mu$ m。流动相水（0.1% TFA）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 20% 到 50% 洗脱）纯化，经冻干得到白色固体化合物 LA-27C-22（10.91 mg，收率 52.62%，纯度 100%）。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1198.0[1/2M+Na]<sup>+</sup>。  $R_t$ =1.946 min。

25 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  9.83 (s, 1H), 9.44 (s, 1H), 8.51 (s, 1H), 8.16-8.07 (m, 3H), 8.03 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.72 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 7.28 (s, 1H), 6.19 (d,  $J$  = 3.1 Hz, 1H), 5.96 (dd,  $J$  = 12.8, 3.0 Hz, 1H), 5.41 (d,  $J$  = 4.7 Hz, 2H), 4.97 (d,  $J$  = 21.7 Hz, 1H), 4.86 (s, 2H), 4.81-4.70 (m, 4H), 4.54 (dd,  $J$  = 18.1, 10.1 Hz, 6H), 4.45 (dd,  $J$  = 10.0, 6.4 Hz, 3H), 4.33 (s, 1H), 4.29 (d,  $J$  = 9.7 Hz, 1H), 4.20 (dt,  $J$  = 14.9, 7.6 Hz, 3H), 4.08 (d,  $J$  = 5.5 Hz, 2H), 4.00 (s, 3H), 3.92 (t,  $J$  = 6.6 Hz, 2H),  
30 3.84 (d,  $J$  = 5.7 Hz, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.73 (d,  $J$  = 5.8 Hz, 3H), 3.70-3.65 (m, 4H), 3.63 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 4H), 3.57 (t,  $J$  = 6.4 Hz, 11H), 3.52 (s, 7H), 3.50 (d,  $J$  = 2.2 Hz, 15H), 3.49 (s, 5H), 3.47 (d,  $J$  = 1.9 Hz, 4H), 3.43 (dd,  $J$  = 9.7, 3.8 Hz, 7H), 3.18 (d,  $J$  = 6.1 Hz, 3H), 3.03-2.90 (m, 4H), 2.82-2.73 (m, 2H), 2.71-2.66 (m, 3H), 2.60 (d,  $J$  = 7.7 Hz, 3H),  
35 2.41 (d,  $J$  = 10.3 Hz, 3H), 2.33 (p,  $J$  = 1.9 Hz, 3H), 2.28 (t,  $J$  = 6.6 Hz, 3H), 2.15-2.08 (m, 1H), 1.95 (t,  $J$  = 6.8 Hz, 3H), 1.84 (d,  $J$  = 10.4 Hz, 1H), 1.71 (d,  $J$  = 4.1 Hz, 3H), 1.63 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 4H), 1.55-1.42 (m, 8H), 1.32 (t,  $J$  = 8.7 Hz, 7H), 1.21 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 4H), 1.03 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 3H), 1.00-0.93 (m, 1H), 0.84 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 3H), 0.79 (d,  $J$  =

6.7 Hz, 3H)。

### 实施例 39: 化合物 LA-28 的制备



5

#### 步骤 1: 化合物 LA-28-a 的制备

向 6-((叔丁基二甲基硅烷基)氧基)己烷-1-醇 (193 mg, 830.65  $\mu\text{mol}$ , 2 eq) 和 LY-27a (200 mg, 415.33  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 THF (6 mL) 溶液中加入 TsOH (21 mg, 124.6  $\mu\text{mol}$ , 0.3 eq), 在 33°C 下搅拌 3 小时。LCMS 显示反应完成。向混合物中加入 HCl (4M, 0.5mL), 减压蒸馏旋干。残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 甲醇/二氯甲烷 0:1 到 1:10) 纯化得到白色固体 LA-28-a (277 mg, 粗品不计算收率)。

10

#### 步骤 2: 化合物 LA-28-b 的制备

向化合物 LA-28-a (277 mg) 和 NPCl<sub>2</sub> (312.29 mg, 1.03 mmol, 2 eq) 的 DMF (6 mL) 溶液中加入 DIPEA (254.49  $\mu\text{L}$ ), 在室温下搅拌过夜。LCMS 显示反应完成。混合物通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×30mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 50% 到 80% 洗脱), 得到白色固体 LA-28-b (16.90 mg, 收率 4.67%)。

20

#### 步骤 3: 化合物 LA-28-c 的制备

0°C 下向艾日布林甲磺酸盐 (10 mg, 12.11  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入 DIPEA (1.56 mg, 12.11  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 再向该混合物中加入 LA-28-b (11 mg, 15.74  $\mu\text{mol}$ , 1.3 eq)、HOBt (818  $\mu\text{g}$ , 6.05  $\mu\text{mol}$ , 0.5 eq) 和吡啶 (5 mg, 60.53  $\mu\text{mol}$ , 5 eq), 在室温下搅拌过夜。LCMS 显示反应完成。混合物通过高效

液相色谱制备（制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×30mm×10μm。流动相水（0.225% $\text{HCOOH}$ ）-乙腈，水的洗脱比例从 30%到 60%洗脱）得到白色固体 LA-28-c（14 mg，收率 89.26%）。

步骤 4：化合物 LA-28-d 的制备

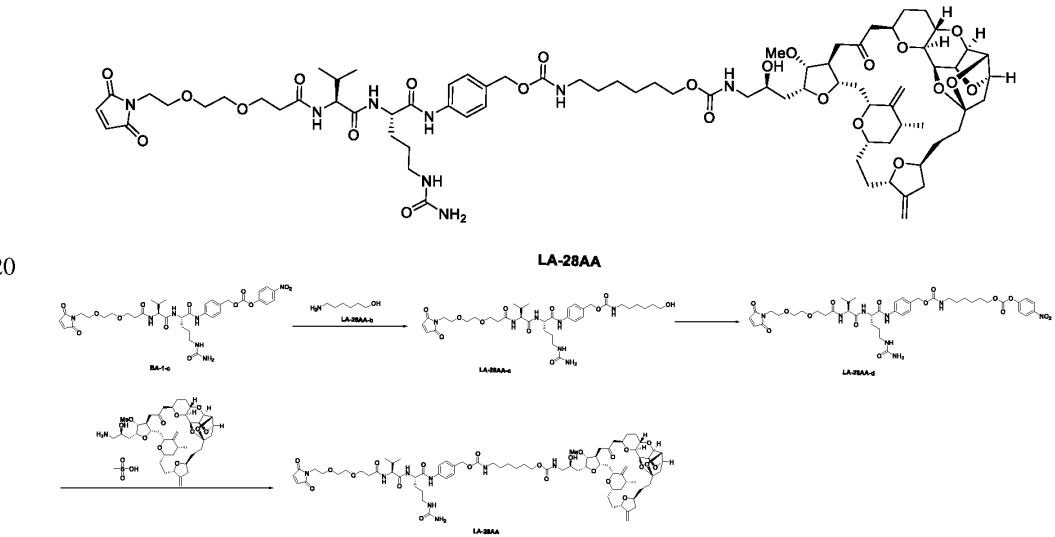
5 将化合物 LA-28-c（14 mg，10.81 μmol，1 eq）溶于 DMF（2 mL），然后加入 DBU（4.94 mg，32.42 μmol，3 eq），反应在室温条件下搅拌半小时。LCMS 显示反应完成。向反应液中加入对甲苯磺酸（5 mg，32.42 μmol，3 eq），不做其他处理直接投入下一步，产物 LA-28-d（11.60 mg，粗品在 2mL DMF 中）。

步骤 5：化合物 LA-28 的制备

10 0℃下向化合物 LA-28-d(11.60 mg)在 DMF(2 mL)的溶液中加入 LY-22CD-3-d（9.47 mg，11.89 μmol，1.1 eq），N,N-二异丙基乙胺（6.98 mg，54.04 μmol，5 eq）和 HATU（4.93 mg，12.97 μmol，1.2 eq），将该混合物置于室温下搅拌 1 小时，LCMS 显示原料反应完全。混合物通过高效液相色谱制备（制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×30mm×10μm。流动相水（0.225% $\text{HCOOH}$ ）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱）得到白色固体 LA-28（4 mg，收率 19.58%）。

LCMS (ESI):  $m/z$ ，1875.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

### 实施例 40：化合物 LA-28AA 的合成



步骤 1：化合物 LA-28AA-c 的制备

向化合物 BA-1-c(该化合物的合成请参考 BA-1 的实施例)(50 mg，63.79 μmol，1 eq)和化合物 6-氨基己醇（7.48 mg，63.79 μmol，1 eq）的 DMF（2 mL）溶液中加入 DIPEA（20.61 mg，159.48 μmol，2.5 eq）室温反应 2 小时，LCMS 显示反应完成，反应液过滤后滤液使用高效液相色谱制备（制备色谱厂家 ISCO，型号 ISCO）。

色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×30mm×10μm。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 20% 到 50% 洗脱) 纯化, 得到无水油状化合物 LA-28AA-c (35.60 mg, 收率 73.25%)。LCMS (ESI): m/z, 762[M+H]<sup>+</sup>。

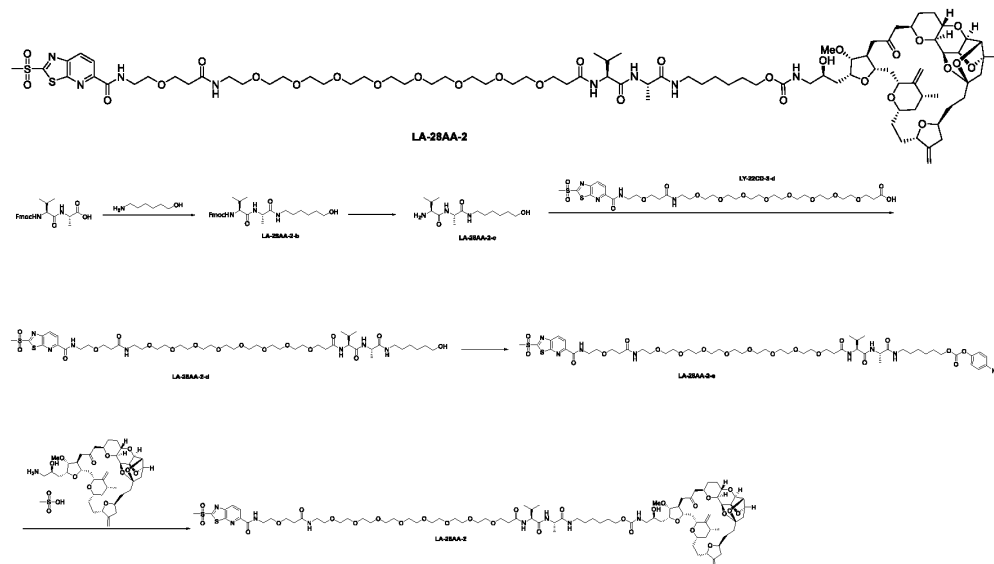
步骤 2: 化合物 LA-28AA-d 的制备

5 向化合物 LA-28AA-c (35.60 mg, 46.73 μmol, 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入双 (4-硝基苯基) 碳酸酯 (85.29 mg, 56.86 μL, 280.36 μmol, 6 eq) 和 DIPEA (54.35 mg, 69.50 μL, 420.54 μmol, 9 eq), 室温反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 残留物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 乙酸乙酯/正己烷 1:20 到 1:5 和二氯甲烷/甲醇 20:1 到 10:1) 纯化, 得到白色固体化合物 LA-28AA-d (34.80 mg, 收率 80.34%), LCMS (ESI): m/z, 949[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 3: 化合物 LA-28AA 的制备

向化合物 LA-28AA-d (12.34 mg, 13.32 μmol, 1.1 eq) 和甲磺酸艾日布林 (10 mg, 12.11 μmol, 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (4.69 mg, 6 μL, 36.32 μmol, 3 eq) 和 HOBT (1.64 mg, 12.11 μmol, 1 eq), 室温反应 2 小时后, LCMS 显示原料消失, 使用高效液相色谱制备 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO-R5。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 150×30mm×10μm。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 得到白色固体产物 LA-28AA (7.20 mg, 收率 39.18%, 纯度 95%), LCMS (ESI): m/z, 1540[M+Na]<sup>+</sup>。

## 20 实施例 41: 化合物 LA-28AA-2 的制备



步骤 1: 化合物 LA-28AA-2-b 的制备

N-[苄氧羰基]-L-缬氨酰-L-丙氨酸 (205.23 mg, 500 μmol, 1 eq) 溶于 DMF (3 mL) 中, 冷却至 0°C, 然后加 6-氨基-1-己醇 (58.59 mg, 500 μmol, 1 eq), DIPEA (193.86 mg, 247.90 μL, 1.50 mmol, 3 eq) 和 HATU (190.12 mg, 500 μmol,



1 eq)。反应液在 25°C 下反应 3 小时。LCMS 显示原料反应完全。通过高效液相色谱制备（制备色谱厂家岛津，型号 LC-20AP。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 150×30mm×10μm。流动相水（0.225% $\text{HCOOH}$ ）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱），得到白色固体 LA-28AA-2-b（150 mg，收率 58.86%）。

5 LCMS (ESI):  $m/z$ , 532.4  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,  $R_t = 2.061$  min。

步骤 2: 化合物 LA-28AA-2-c 的制备

化合物 LA-28AA-2-b（71.35 mg，140 μmol，1 eq）溶于 DMF（3 mL），冷却至 0°C，然后加 DBU（1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一碳-7-烯，63.94 mg，62.75 μL，420 μmol，3 eq）。反应液在 25°C 下反应 1 小时，LCMS 显示原料反应完全。反  
10 应液加 TsOH（72.32 mg，420 μmol，3 eq）中和，然后直接投入下一步反应。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 288.4  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,  $R_t = 0.206$  min。

步骤 3: 化合物 LA-28AA-2-d 的制备

化合物 LA-28AA-2-c（17.24 mg，60 μmol，1 eq）溶于 DMF（1 mL），冷却至 0°C，然后加 LY-22CD-3-d（47.81 mg，60 μmol，1 eq），DIPEA（23.26 mg，29.75 μL，180 μmol，3 eq）和 HATU（22.81 mg，60 μmol，1 eq）。反应液在 25°C  
15 下反应 30 分钟。LCMS 显示反应完全，反应液通过高效液相色谱制备（制备色谱厂家岛津，型号 LC-20AP。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250×30mm×10μm。流动相水（0.225% $\text{HCOOH}$ ）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 20%到 50%洗脱），得到黄色油状物 LA-28AA-2-d（60 mg，收率 93.78%）。

20 LCMS (ESI):  $m/z$ , 1066.6  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,  $R_t = 1.307$  min。

步骤 4: 化合物 LA-28AA-2-e 的制备

化合物 LA-28AA-2-d（31.99 mg，30 μmol，1 eq）溶于 DMF（2 mL），再加入 NPC（45.63 mg，30.42 μL，150 μmol，5 eq）和 DIPEA（23.26 mg，29.75 μL，180 μmol，6 eq）。反应液在 35°C 下反应 1 小时。LCMS 显示反应完全，反应液  
25 浓缩，残余物通过硅胶柱层析色谱法（DCM/MeOH = 10/1）纯化，得到黄色油状物 LA-28AA-2-e（20 mg，收率 27.07%，纯度 50%）。

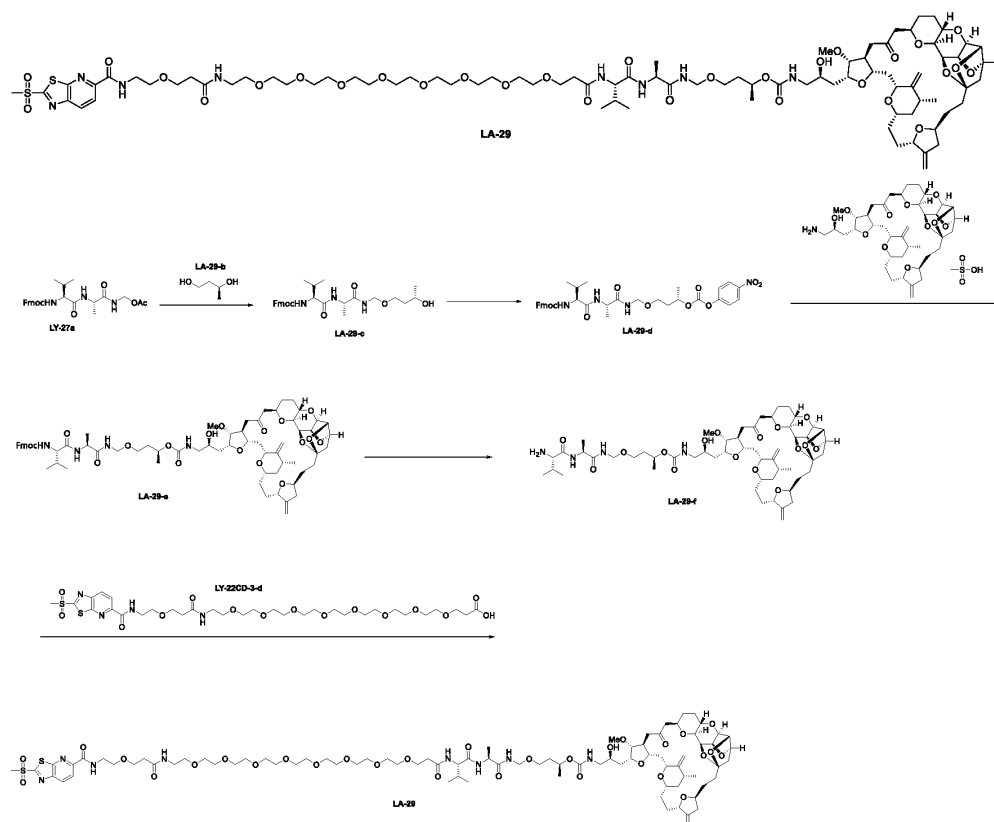
LCMS (ESI):  $m/z$ , 1253.7  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,  $R_t = 2.038$  min。

步骤 5: 化合物 LA-28AA-2 的制备

化合物 LA-28AA-2-e（17.89 mg，50%，7.26 μmol，1 eq）溶于 DMAC（500 μL），  
30 冷却至 0°C，然后加艾日布林甲磺酸盐（6 mg，7.26 μmol，1 eq）和 DIPEA（2.82 mg，3.60 μL，21.79 μmol，3 eq）。反应液在 25°C 下反应 1 小时。LCMS 显示反应完全。反应液通过高效液相色谱制备（制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 BRIX-2860（R7）。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 200×30mm×10μm。流动相水（0.225% $\text{HCOOH}$ ）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱），得到白色固体  
35 LA-28AA-2（2.61 mg，收率 19.72%，纯度 96.37%）。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1823.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,  $R_t = 2.236$  min。

# 实施例 42：化合物 LA-29 的制备



## 5 步骤 1：化合物 LA-29-c 的制备

化合物 LY-27a (250 mg, 519  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 THF (3 mL), 冷却至 0°C, 然后加入 TsOH (89.4 mg, 83.5  $\mu\text{L}$ , 519  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 (S)-丁烷-1,3-二醇 (140 mg, 1.56 mmol, 3 eq)。反应液在 25°C 下反应 3 小时。LCMS 显示反应完成。反应液浓缩至干, 然后使用高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250 $\times$ 50mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱), 得到白色固体化合物 LA-29-c (100 mg, 收率 37.65%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 534.3  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .  $R_t$ =1.971 min.

## 15 步骤 2：化合物 LA-29-d 的制备

向化合物 LA-29-c (100 mg, 195.46  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (5 mL) 溶液中加入双 (4-硝基苯基) 碳酸酯 (237.84 mg, 781.83  $\mu\text{mol}$ , 4 eq) 和 DIPEA (151.57 mg, 193.82  $\mu\text{L}$ , 1.17 mmol, 6 eq), 33°C 反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 使用高效液相色谱制备 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 60% 到 90% 洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物 LA-29-d (30 mg, 收率 22.68%), LCMS (ESI):

m/z, 699[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 3: 化合物 LA-29-e 的制备

向化合物 LA-29-d (9.01 mg, 13.32 μmol, 1.1 eq) 和甲磺酸艾日布林 (10 mg, 12.11 μmol, 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (4.69 mg, 6 μL, 36.32 μmol, 3 eq) 和 HOBT (1.64 mg, 12.11 μmol, 1 eq), 室温反应 2 小时后, LCMS 显示反应完全, 使用高效液相色谱制备 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×30mm×10μm。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 50% 到 80% 洗脱) 纯化, 得到白色固体产物 LA-29-e (5.80 mg, 收率 37.80%), LCMS (ESI): m/z, 1289[M+Na]<sup>+</sup>。

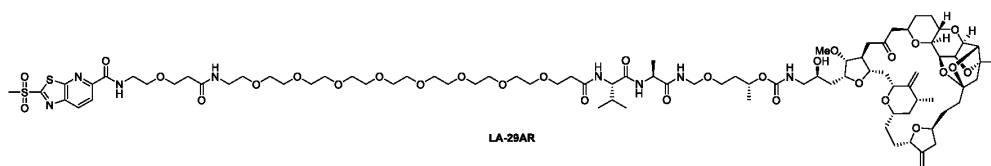
10 步骤 4: 化合物 LA-29-f 的制备

向化合物 LA-29-e (5.80 mg, 4.58 μmol, 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DBU (2.09 mg, 2.05 μL, 13.73 μmol, 3 eq), 室温反应 40 分钟后, LCMS 显示原料消失, 加入 TsOH (2.36 mg, 13.73 μmol, 3 eq), 得到黄色油状化合物 LA-29-f (4.78 mg, 粗品不计产率), LCMS (ESI): m/z, 1067[M+Na]<sup>+</sup>。

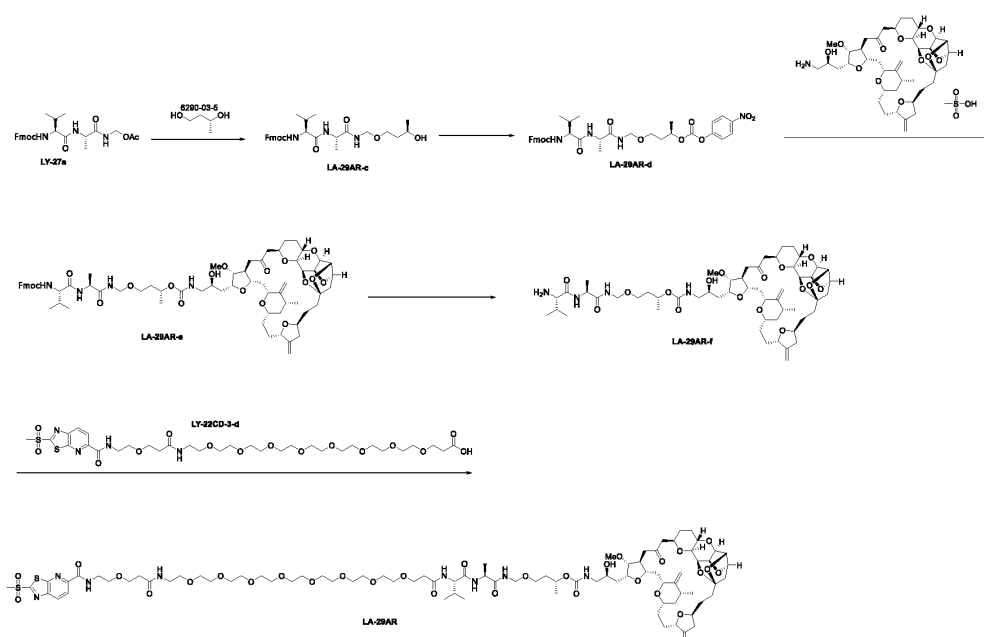
15 步骤 5: 化合物 LA-29 的制备

向化合物 LA-29-f (4.78 mg, 4.57 μmol, 1 eq)、LY-22CD-3 (3.64 mg, 4.57 μmol, 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (1.18 mg, 1.51 μL, 9.15 μmol, 2 eq) 和 HATU (2.09 mg, 5.49 μmol, 1.2 eq), 室温反应 1 小时后, LCMS 显示反应完成, 使用高效液相色谱制备 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×30mm×10μm。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 得到白色固体产物 LA-29 (4.38 mg, 收率 52.51%, 纯度 97%), LCMS (ESI): m/z, 1847[M+Na]<sup>+</sup>。

实施例 43: 化合物 LA-29AR 的制备



25



#### 步骤 1: 化合物 LA-29AR-c 的制备

化合物 LY-27a (500 mg, 1.04 mmol, 1.2 eq) 溶于 THF (5 mL), 冷却至 0°C, 然后加 TsOH (149 mg, 865.26  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 (R) - (-) -1,3-丁二醇 (233.93 mg, 2.60 mmol, 3 eq)。反应液在 35°C 下反应 2 小时。LCMS 显示反应完成。反应液浓缩至干, 然后高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 150 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱), 得到白色固体化合物 LA-29AR-c (204.30 mg, 收率 46.15%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 534.3  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。Rt=1.970 min。

#### 步骤 2: 化合物 LA-29AR-d 的制备

向化合物 LA-29AR-c (204.30 mg, 399.32  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (6 mL) 溶液中加入双 (4-硝基苯基) 碳酸酯 (485.91 mg, 323.94  $\mu\text{L}$ , 1.60 mmol, 4 eq) 和 DIPEA (309.65 mg, 395.97  $\mu\text{L}$ , 2.40 mmol, 6 eq), 33°C 反应 4 小时, LCMS 显示反应完成, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯, 10/1 到 4/1 和二氯甲烷/甲醇=10:1) 纯化, 得到白色固体化合物 LA-29AR-d (191.40 mg, 收率 70.83%), LCMS (ESI):  $m/z$ , 699 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。Rt=2.879 min。

#### 步骤 3: 化合物 LA-29-e 的制备

向化合物 LA-29AR-d (4.92 mg, 7.26  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 和甲磺酸艾日布林 (5 mg, 6.05  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (0.5 mL) 溶液中加入 DIPEA (2.35 mg, 3  $\mu\text{L}$ , 18.16  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和 HOBt (817.91  $\mu\text{g}$ , 6.05  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 40°C 反应 3 小时后, LCMS 显示反应完全, 使用高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙

腈, 乙腈的洗脱比例从 60%到 90%洗脱)纯化, 得到白色固体产物 LA-29AR-e (5.60 mg, 收率 72.99%), LCMS (ESI):  $m/z$ , 1289[M+Na]<sup>+</sup>. Rt=3.113 min.

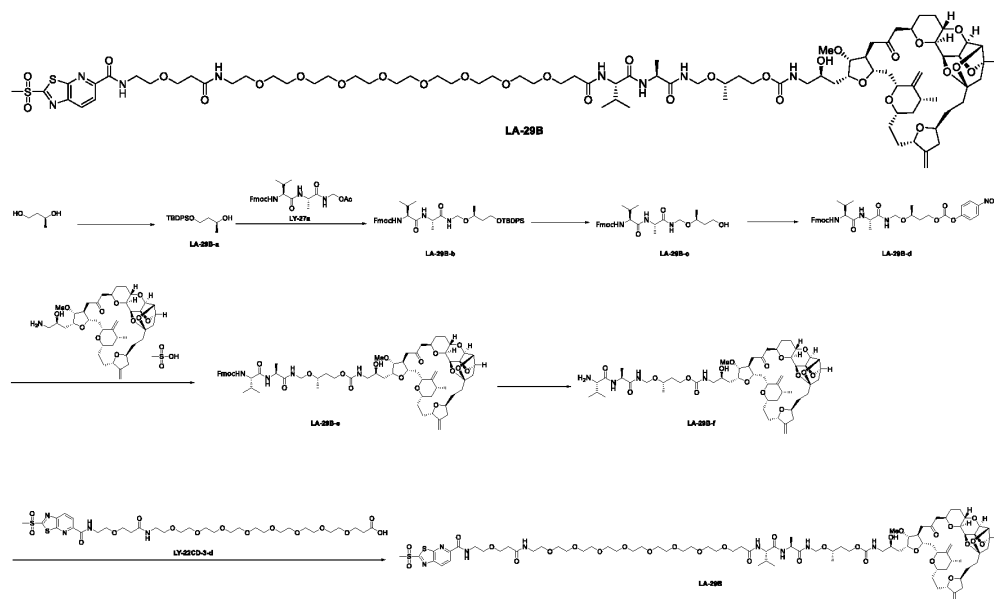
#### 步骤 4: 化合物 LA-29AR-f 的制备

向化合物 LA-29AR-e (7.60 mg, 6  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DMF (0.5 mL) 溶液中加入 Et<sub>2</sub>NH (2.19 mg, 3.09  $\mu$ L, 29.98  $\mu$ mol, 5 eq), 室温反应 2 小时后, LCMS 显示原料消失, 旋干得到白色固体化合物 LA-29AR-f (6.27 mg, 粗品不计产率), LCMS (ESI):  $m/z$ , 1067[M+Na]<sup>+</sup>. Rt=1.742 min.

#### 步骤 5: 化合物 LA-29AR 的制备

向化合物 LA-29AR-f (6.27 mg, 6  $\mu$ mol, 1 eq) 和化合物 LY-22CD-3-d (4.78 mg, 6  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (1.55 mg, 1.98  $\mu$ L, 12  $\mu$ mol, 2 eq) 和 HATU (2.74 mg, 7.20  $\mu$ mol, 1.2 eq), 室温反应 1 小时后, LCMS 显示反应完成, 使用高效液相色谱制备 (制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP. 色谱柱为 Synergi Max-RP 250 $\times$ 40mm $\times$ 10 $\mu$ m. 流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 60%到 90%洗脱) 纯化, 得到白色固体产物 LA-29AR (3.76 mg, 收率 33.33%, 纯度 97%), LCMS (ESI):  $m/z$ , 1847[M+Na]<sup>+</sup>. Rt=2.185 min.

### 实施例 44: 化合物 LA-29B 的制备



步骤 1: (2S)-4-[[叔丁基(二苯基)甲硅烷基]氧基]丁-2-醇 (LA-29B-a) 的制备

向 (S)-丁烷-1,3-二醇 (500 mg, 5.55 mmol, 1 eq) 的 THF (5 mL) 溶液中加入咪唑 (453.26 mg, 6.66 mmol, 1.2 eq) 和 TBSPSCl (1.52 g, 5.55 mmol, 1 eq), 室温下搅拌过夜, TLC 显示原料反应完全。加水 (10 mL) 和乙酸乙酯 (10 mL), 乙酸乙酯 (10 mL $\times$ 3) 萃取水相, 饱和食盐水 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥,

过滤浓缩，残余物通过硅胶柱层析色谱法（洗脱剂：乙酸乙酯/石油醚=6%-8%）纯化得到产物 LA-29B-a（1.33 g，收率 73.16%）。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  7.73-7.66 (m, 4H), 7.47-7.37 (m, 6H), 4.10 (dq,  $J = 9.0, 6.2, 2.8$  Hz, 1H), 3.92-3.79 (m, 2H), 1.74 (dtd,  $J = 13.6, 8.4, 5.0$  Hz, 1H),  
5 1.66-1.60 (m, 1H), 1.21 (d,  $J = 6.2$  Hz, 3H), 1.06 (d,  $J = 7.4$  Hz, 9H).

步骤 2：化合物 LA-29B-b 的制备

向化合物 LA-29B-a（500 mg，1.04 mmol，1 eq）和 LY-27a（682.24 mg，2.08 mmol，2 eq）的四氢呋喃（10 mL）溶液中加入对甲苯磺酸（178.80 mg，1.04 mmol，1 eq），并置于 30°C 下搅拌 2 小时，将反应液浓缩后，用 *N,N*-二甲基甲酰胺溶解  
10 后过滤，滤液通过高效液相色谱（制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 BRIX-2860。色谱柱为 Synergi Max-RP 200×30mm×10 $\mu$ m。流动相水（0.225% HCOOH）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 60% 到 90% 洗脱）得产物 LA-29B-b（167.7 mg，收率 22%）。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 772[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 3：化合物 LA-29B-c 的制备

向化合物 LA-29B-b（167.70 mg，223.59  $\mu$ mol，1 eq）的 THF（3 mL）溶液中加入 TEA·3HF（1.09 mL，6.71 mmol，30 eq），置于 65°C 搅拌 2 小时，LCMS 显示原料反应完全。将反应液浓缩后，残余物通过高效液相色谱制备（制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 BRIX-2860（R6）。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×30mm×10 $\mu$ m。流动相水（0.225% HCOOH）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 30-60%  
20 洗脱）经冻干得产物 LA-29B-c（92.70 mg，收率 81.04%）。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 534[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 4：化合物 LA-29B-d 的制备

向化合物 LA-29B-c（92.70 mg，181.19  $\mu$ mol，1 eq）的 DMF（10 mL）溶液中加入 DIPEA（239.56  $\mu$ L，1.45 mmol，8 eq）和 NPC（330.72 mg，1.09 mmol，6  
25 eq），并置于 35°C 下搅拌 3 小时，油泵浓缩反应液，残留物通过硅胶柱层析色谱法（洗脱剂：乙酸乙酯/石油醚=0-50%，甲醇/二氯甲烷=0-8%）纯化得到产物 LA-29B-d（132.50 mg，纯度 71%）。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 699[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 5：化合物 LA-29B-e 的制备

向化合物 LA-29B-d（13.85 mg，71%，14.53  $\mu$ mol，1.2 eq）和艾日布林甲磺酸盐（10 mg，12.11  $\mu$ mol，1 eq）的 DMF（1 mL）溶液中加入 DIPEA（6.26 mg，48.43  $\mu$ mol，4 eq）和 HOBt（1.64 mg，12.11  $\mu$ mol，1 eq），室温下搅拌 2 小时，LCMS 显示原料反应完全。反应液通过高效液相色谱制备（制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 BRIX-2860。色谱柱为 Synergi Max-RP 200×30mm×10 $\mu$ m。流动相  
35 水（0.225% HCOOH）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 50-80% 洗脱）得到产物 LA-29B-e（6.40 mg，收率 41.71%）。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1290 $[M+Na]^+$ 。

步骤 6: 化合物 LA-29B-f 的制备

冰浴下向 LA-29B-e (6.40 mg, 5.05  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DBU (2.31 mg, 15.15  $\mu\text{mol}$ , 3 eq), 并置于室温下搅拌 0.5 小时, LCMS 显示原料反应完全, 而后于冰浴下加入对甲基苯磺酸 (2.61 mg, 15.15  $\mu\text{mol}$ , 3 eq), 直接投入下一步。LA-29B-f 的理论质量为 5.28 mg。

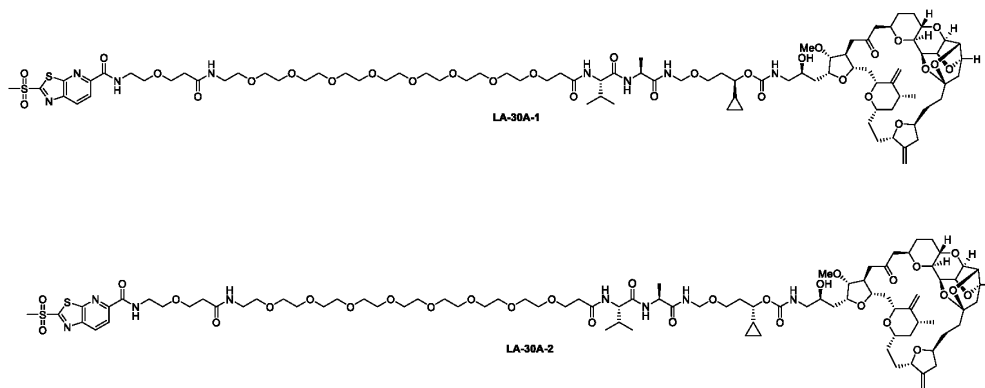
LCMS (ESI):  $m/z$ , 1045 $[M+H]^+$ 。

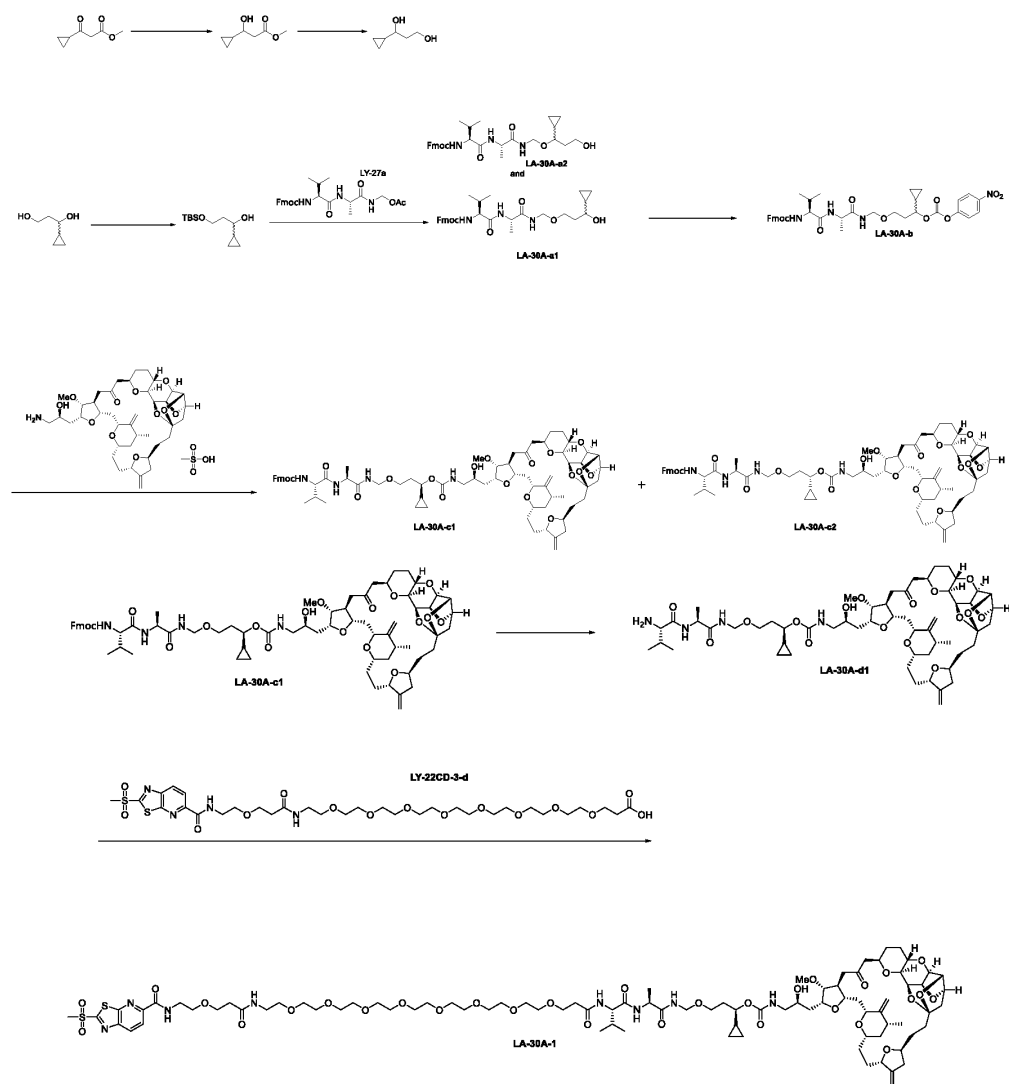
步骤 7: 化合物 LA-29B 的制备

向化合物 LA-29B-f (5.28 mg, 5.05  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 LY-22CD-3-d (4.43 mg, 5.56  $\mu\text{mol}$ , 1.1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (2.61 mg, 3.34  $\mu\text{L}$ , 20.21  $\mu\text{mol}$ , 4 eq) 和 HATU (2.30 mg, 6.06  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 并置于室温下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全。通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% $\text{HCOOH}$ )-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30-60 %洗脱) 得到产物 LA-29B (3.59 mg, 收率 38.96%)。

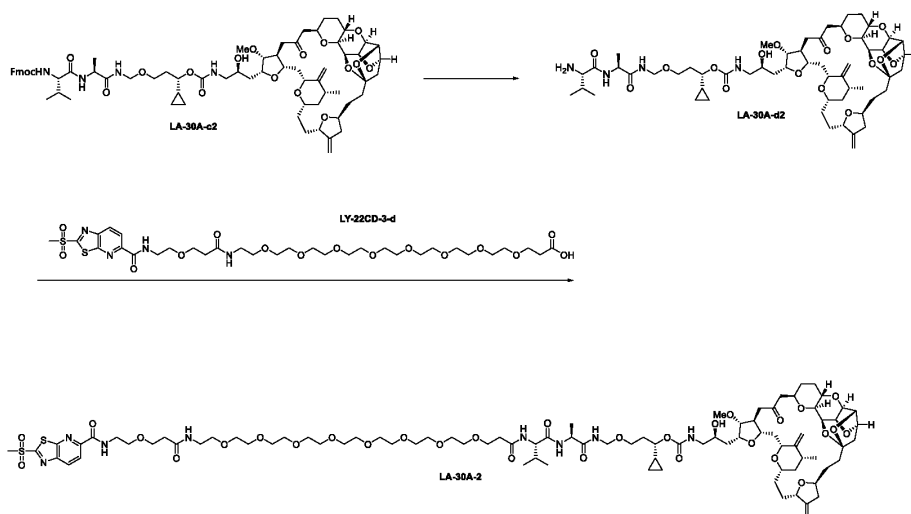
LCMS (ESI):  $m/z$ , 1846 $[M+Na]^+$ 。Rt=2.177 min。

#### 实施例 45: 化合物 LA-30A-1, LA-30A-2 的制备









### 步骤 1: 化合物 3-环丙基-3-羟基丙酸甲酯的制备

0°C下向化合物 3-环丙基-3-氧代丙酸甲酯 (5 g, 35.17 mmol, 1 eq) 的 MeOH (100 mL) 溶液中加入 NaBH<sub>4</sub> (3.99 g, 4.22 mL, 105.52 mmol, 3 eq), 加毕, 反应液在 15°C下反应 3 小时。然后把大部分甲醇旋蒸掉, 用 100mL 乙酸乙酯稀释, 有机相用水 (100 mL × 2) 洗涤 2 次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得到无水油状化合物 3-环丙基-3-羟基丙酸甲酯 (3.80 g, 收率 74.94%)。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 4.72 (s, 2H), 3.95-3.75 (m, 2H), 3.11 (td, *J* = 8.1, 4.5 Hz, 1H), 2.41 (d, *J* = 74.4 Hz, 2H), 1.95-1.75 (m, 2H), 1.05-0.86 (m, 1H), 0.53 (dq, *J* = 8.3, 2.2 Hz, 2H), 0.36-0.28 (m, 1H), 0.19-0.22 (m, 1H)。

### 步骤 2: 化合物 1-环丙基丙烷-1,3-二醇的制备

0°C下向化合物 3-环丙基-3-羟基丙酸甲酯 (500 mg, 3.47 mmol, 1 eq) 的 THF (10 mL) 溶液中加入 LiAlH<sub>4</sub> (197.42 mg, 203.53 μL, 5.20 mmol, 1.5 eq), 加毕, 反应液在 5°C下反应 3 小时。TLC 显示反应完成, 0°C下依次用 0.2mL 的水, 0.2mL 的 15%的 NaOH 水溶液和 0.6mL 的水淬灭反应, 再向反应液中加入 5 克无水硫酸钠, 然后用 30mL 乙酸乙酯稀释, 过滤, 滤液浓缩得到无色油状化合物 1-环丙基丙烷-1,3-二醇 (300 mg, 收率 74.47%)。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 3.71 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 3.00 (td, *J* = 8.3, 4.6 Hz, 1H), 1.88-1.71 (m, 2H), 0.86 (dt, *J* = 8.1, 4.9 Hz, 1H), 0.48 (dq, *J* = 8.6, 1.7 Hz, 2H), 0.36-0.27 (m, 1H), 0.24-0.16 (m, 1H)。

### 步骤 3: 化合物 3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-1-环丙基丙-1-醇的制备

0°C下向化合物 1-环丙基丙烷-1,3-二醇 (95 mg, 817.84 μmol, 1 eq) 的 DCM (8mL) 的溶液中加入 TBSCl (135.59 mg, 155.85 μL, 899.62 μmol, 1.1 eq) 和咪唑 (55.68 mg, 50.62 μL, 817.84 μmol, 1 eq), 加毕, 25°C反应 16 小时, 核磁显示反应完成, 反应液倒入冰的碳酸氢钠水溶液中 (60 mL), 然后搅拌 2 分钟, 用

二氯甲烷萃取 (60 mL × 3), 有机相合并, 用食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得到无水油状化合物 3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-1-环丙基丙-1-醇 (147 mg, 收率 78.01%)。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 3.96-3.87 (m, 1H), 3.80 (ddd, *J* = 10.1, 7.0, 6.0 Hz, 1H), 3.11 (dt, *J* = 8.3, 5.8 Hz, 1H), 1.85-1.78 (m, 2H), 0.89 (s, 9H), 0.89-0.86 (m, 1H), 0.57-0.41 (m, 2H), 0.41-0.33 (m, 1H), 0.21-0.13 (m, 1H), 0.07 (d, *J* = 2.9 Hz, 6H)。

#### 步骤 4: 化合物 LA-30A-a1 和 LA-30A-a2 的制备

室温下向化合物 3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-1-环丙基丙-1-醇 (143.55 mg, 622.99 μmol, 1.5 eq) 的 THF (3 mL) 溶液中加入 LY-27a (200 mg, 415.33 μmol, 1 eq) 和 TsOH (21.46 mg, 124.60 μmol, 0.3 eq), 加毕, 反应液在 33°C 下反应 2 小时。LCMS 显示反应完成, 反应液旋干得到粗品, 粗品通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×21.2mm×5μm。流动相水 (0.225%FA) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 40% 到 70% 洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 LA-30A-a1 (该结构通过二维核磁确认) (51 mg, 收率 22.84%) 和 LA-30A-a2 (10 mg, 收率 4.48%)。

LA-30A-a1: LCMS (ESI): *m/z*, 560.4[M+Na]<sup>+</sup>。Rt=2.132 min。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Acetonitrile-*d*<sup>3</sup>) δ 7.84 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.70 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.46-7.31 (m, 5H), 6.99 (s, 1H), 5.98 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 4.58-4.51 (m, 2H), 4.39 (dd, *J* = 10.3, 7.1 Hz, 1H), 4.34-4.21 (m, 3H), 3.90 (t, *J* = 6.7 Hz, 1H), 3.50 (q, *J* = 5.8 Hz, 2H), 2.90 (q, *J* = 7.5, 7.0 Hz, 1H), 2.11-2.02 (m, 2H), 1.78-1.57 (m, 3H), 1.29 (t, *J* = 7.7 Hz, 4H), 0.92 (dd, *J* = 15.3, 6.8 Hz, 6H), 0.77 (dd, *J* = 8.2, 5.0 Hz, 1H), 0.38 (dd, *J* = 8.2, 1.8 Hz, 2H), 0.25-0.19 (m, 1H), 0.12 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H)。

LA-30A-a2: LCMS (ESI): *m/z*. 560.4[M+Na]<sup>+</sup>。Rt=2.156 min。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Acetonitrile-*d*<sup>3</sup>) δ 7.88-7.79 (m, 2H), 7.70 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.42 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H), 7.34 (td, *J* = 7.4, 1.2 Hz, 2H), 7.04 (s, 1H), 6.02 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 4.73 (dd, *J* = 10.3, 7.0 Hz, 1H), 4.61 (dt, *J* = 10.3, 6.3 Hz, 1H), 4.39 (dd, *J* = 10.1, 6.9 Hz, 1H), 4.33-4.21 (m, 3H), 3.89 (q, *J* = 6.1 Hz, 1H), 3.51 (q, *J* = 6.9, 5.4 Hz, 2H), 2.93 (td, *J* = 8.9, 4.5 Hz, 2H), 2.12-2.04 (m, 1H), 1.74-1.55 (m, 2H), 1.29 (dd, *J* = 7.1, 1.3 Hz, 3H), 1.00-0.83 (m, 6H), 0.75 (dtd, *J* = 8.2, 5.2, 2.3 Hz, 1H), 0.52-0.43 (m, 2H), 0.42-0.33 (m, 1H), 0.01 (dq, *J* = 7.8, 4.7 Hz, 1H)。

#### 步骤 5: 化合物 LA-30A-b 的制备

0°C 下向化合物 LA-30A-a1 (51 mg, 94.86 μmol, 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入 DIPEA (98.07 mg, 125.41 μL, 758.84 μmol, 8 eq) 和 NPC (173.14 mg, 115.42 μL, 569.13 μmol, 6 eq), 加毕, 25°C 下反应 16 小时。LCMS 显示反应完成, 反应液旋干得到粗品, 粗品通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 乙酸乙酯/正己烷 1:20 到 1:4 和二氯甲烷/甲醇 1:20 到 1:10) 得到黄色固体化合物 LA-30A-b (17 mg, 粗品收率不计)。

LCMS (ESI): m/z, 725.5[M+Na]<sup>+</sup>. Rt=3.002 min.

步骤 6: 化合物 LA-30A-c1, c2 的制备

0°C下向化合物 LA-30A-b (5.10 mg, 7.26 μmol, 1.2 eq), 艾日布林甲磺酸盐 (5 mg, 6.05 μmol, 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入 DIPEA (3.13 mg, 4 μL, 24.21 μmol, 4 eq) 和 HOBt (817.91 μg, 5.45e<sup>-1</sup> μL, 6.05 μmol, 1 eq)。加毕, 反应液在 25°C下反应 16 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液和另一批同等规模的反应液通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×21.2mm×5μm。流动相水 (0.225%FA) -乙腈, 乙腈的洗脱比例从 60%到 90%洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 LA-30A-c1 (5 mg, 收率 31.93%) 和 LA-30A-c2 (5 mg, 收率 31.93%) (LA-30A-c1, LA-30A-c2 化合物是非对应异构体的关系, 假定 c1 是 R 构型 (三元环位置), c2 是 S 构型 (三元环位置))。

LA-30A-c1: LCMS (ESI): m/z, 1315.8[M+Na]<sup>+</sup>. Rt=3.205 min.

LA-30A-c2: LCMS (ESI): m/z, 1315.8[M+Na]<sup>+</sup>. Rt=3.248 min.

步骤 7: 化合物 LA-30A-d1 的制备

0°C下向化合物 LA-30A-c1 (5 mg, 3.87 μmol, 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DBU (1.77 mg, 1.73 μL, 11.60 μmol, 3 eq)。加毕, 25°C反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 0°C下向反应液中加入 TsOH (2 mg, 11.60 μmol, 3 eq) 淬灭反应, 然后直接用于下一步。

LCMS (ESI): m/z, 1071.7[M+H]<sup>+</sup>. Rt=1.855 min.

步骤 8: 化合物 LA-30A-1 的制备

0°C下向化合物 LA-30A-d1 (4.20 mg, 3.92 μmol, 1 eq) 和 LY-22CD-3-d (3.12 mg, 3.92 μmol, 1 eq) 的 DMF (2mL) 溶液中加入 DIPEA (2.03 mg, 2.59 μL, 15.68 μmol, 4 eq) 和 HATU (1.79 mg, 4.70 μmol, 1.2 eq)。加毕, 反应液在 25°C下反应 30 分钟。LCMS 显示反应完成。反应液通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×21.2mm×5μm。流动相水 (0.225%HCOOH) -乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 LA-30A-1 (2.20 mg, 收率 30.33%, 纯度 98%)。

LCMS (ESI): m/z, 1873.1[M+Na]<sup>+</sup>. Rt=2.304 min. HPLC: Rt=2.660 min, 98.91%。

步骤 9: 化合物 LA-30A-d2 的制备

0°C下向化合物 LA-30A-c2 (5 mg, 3.87 μmol, 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DBU (1.77 mg, 1.73 μL, 11.60 μmol, 3 eq)。加毕, 25°C反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 0°C下向反应液中加入 TsOH (2 mg, 11.60 μmol, 3 eq) 淬灭反应, 然后直接用于下一步。

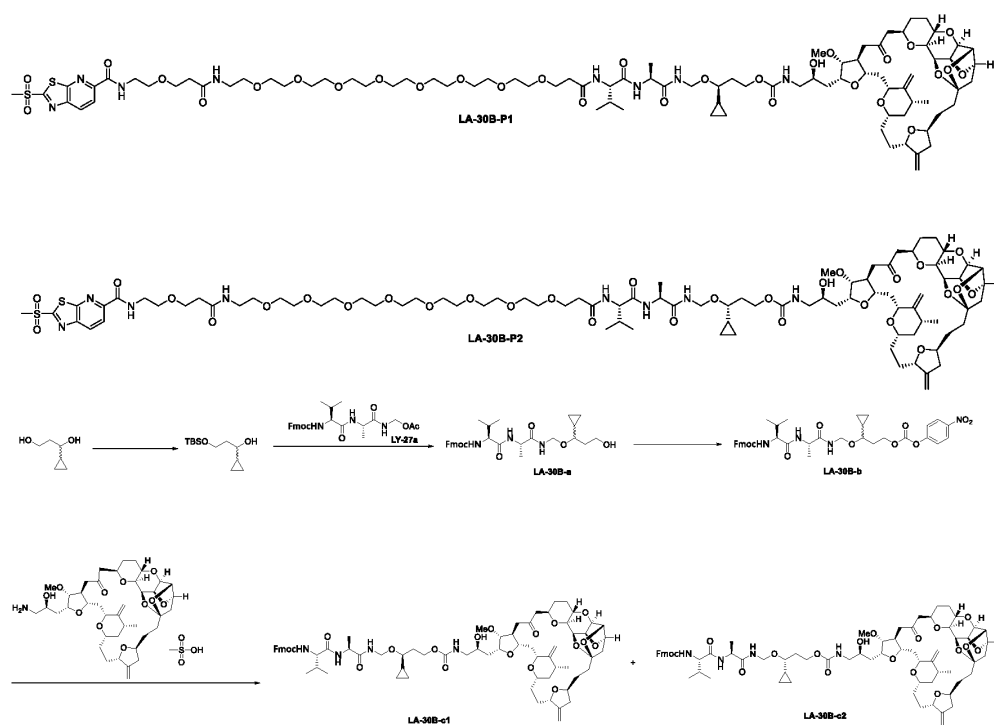
LCMS (ESI): m/z, 1071.8[M+H]<sup>+</sup>. Rt=1.876 min.

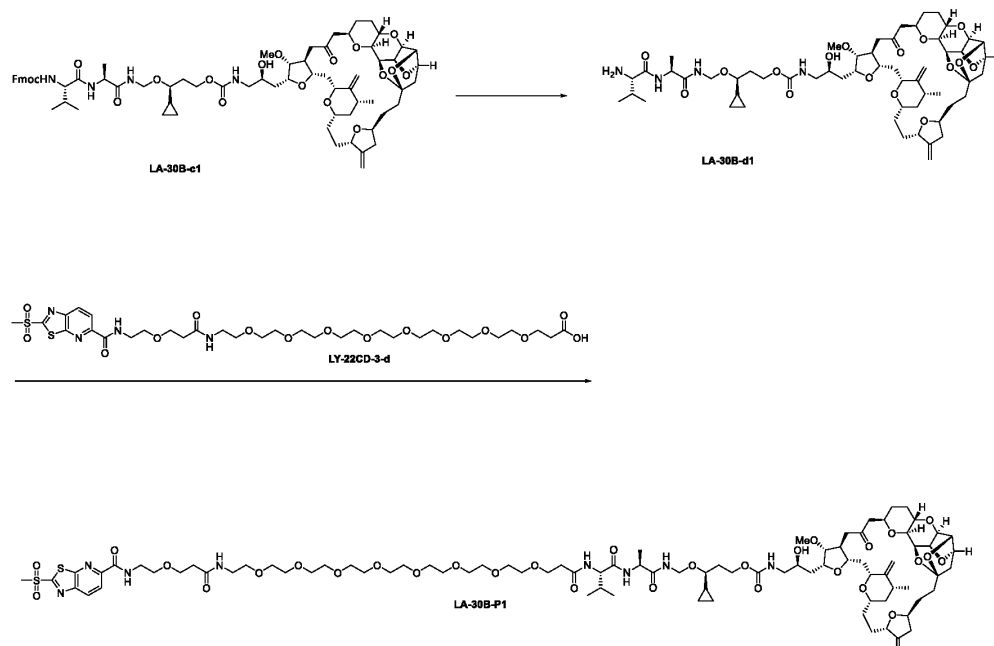
## 步骤 10: 化合物 LA-30A-2 的制备

0°C下向化合物 LA-30A-d2 (4.20 mg, 3.92  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 LY-22CD-3-d (3.44 mg, 4.31  $\mu\text{mol}$ , 1.1 eq) 的 DMF (2mL) 溶液中加入 DIPEA (2.03 mg, 2.59  $\mu\text{L}$ , 15.68  $\mu\text{mol}$ , 4 eq) 和 HATU (1.79 mg, 4.70  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq)。加毕, 反应液在 25°C 下反应 30 分钟。LCMS 显示反应完成。反应液通过高效液相色谱制备 (制备色谱 5 厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×21.2mm×5 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% $\text{HCOOH}$ )-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 LA-30A-2 (1.75 mg, 收率 24.13%, 纯度 98%)。

10 LCMS (ESI):  $m/z$ , 1873.2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。Rt=2.317 min。HPLC: Rt=2.680 min, 100.0%。

## 实施例 46: 化合物 LA-30B-P1, P2 的制备





步骤 1: 化合物 3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-1-环丙基丙-1-醇的制备

1-环丙基丙烷-1,3-二醇 (580 mg, 5 mmol, 1 eq) 溶于 DCM (8 mL), 冷却至 0°C, 然后加咪唑 (340 mg, 5 mmol, 1 eq) 和 TBSCl (829 mg, 953  $\mu$ L, 5.50 mmol, 1.1 eq), 反应液在 25°C 下反应 16 小时。0°C 下将反应液倒入 100 mL 水中, 再加 100 mL 饱和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液, 搅拌 5 分钟。水相用 DCM 萃取 (100 mL  $\times$  3), 合并有机相, 盐水洗涤, 无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 过滤, 浓缩, 得到黄色油状物 3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-1-环丙基丙-1-醇 (620 mg, 收率 53.8%)。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*):  $\delta$  3.91 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.11 (m, 1H), 1.81 (q, *J* = 6.4, 5.6 Hz, 2H), 0.89 (s, 9H), 0.86 (s, 1H), 0.57-0.48 (m, 1H), 0.48-0.43 (m, 1H), 0.40-0.33 (m, 1H), 0.16 (ddd, *J* = 8.8, 3.6, 1.2 Hz, 1H), 0.07 (s, 6H)。

步骤 2: 化合物 LA-30B-a 的制备

化合物 LY-27a (866 mg, 1.80 mmol, 1 eq) 溶于 THF (10 mL), 然后加入 3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-1-环丙基丙-1-醇 (620 mg, 2.70 mmol, 1.5 eq) 和 TsOH (93 mg, 86.9  $\mu$ L, 540  $\mu$ mol, 0.3 eq)。反应液在 33°C 下反应 1 小时。LCMS 显示反应完全。反应液浓缩至干, 通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250  $\times$  50 mm  $\times$  10  $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH)-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 10% 到 50% 洗脱), 得到白色固体 LA-30B-a (60 mg, 收率 6.2%)。

LCMS (ESI): *m/z*, 560.4 [M+Na]<sup>+</sup>, *Rt* = 2.165 min。

步骤 3: 化合物 LA-30B-b 的制备

化合物 LA-30B-a (60 mg, 111  $\mu$ mol, 1 eq) 溶于 DMF (2 mL), 然后加 NPC

(169 mg, 557  $\mu\text{mol}$ , 5 eq) 和 DIPEA (86.5 mg, 110  $\mu\text{L}$ , 669  $\mu\text{mol}$ , 6 eq)。反应液在 35°C 下反应 2 小时。LCMS 显示反应完全。反应液浓缩至干得到粗品, 粗品通过硅胶柱层析色谱法(洗脱剂: 乙酸乙酯/石油醚 1:20 到 1:4 和 甲醇/二氯甲烷 1:20 到 1:10) 纯化得到黄色油状物 LA-30B-b (45 mg, 收率 57.4%)。

5 LCMS(ESI):  $m/z$ , 725.4  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,  $R_t = 3.029 \text{ min}$ 。

步骤 4: 化合物 LA-30B-c1 和 LA-30B-c2 的制备

化合物 LA-30B-b (12.6 mg, 18  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq) 溶于 DMAC (1 mL), 冷却至 0°C, 然后加入甲磺酸艾日布林 (9.9 mg, 12  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 DIPEA (4.6 mg, 5.9  $\mu\text{L}$ , 36  $\mu\text{mol}$ , 3 eq)。反应液在 25°C 下反应 30 分钟。LCMS 显示反应完全。反  
10 应液通过高效液相色谱制备(制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250 $\times$ 50mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 60% 到 90% 洗脱), 得到白色固体 LA-30B-c1 (3 mg, 收率 19.3%) 和 LA-30B-c2 (3 mg, 收率 19.3%) (c1、c2 是非对映异构体的关系, 假定 c1 是 S 构型(三元环处) c2 是 R 构型(三元环处))。

15 LA-30B-c1: LCMS (ESI):  $m/z$ , 1315.7  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,  $R_t = 3.220 \text{ min}$ 。

LA-30B-c2: LCMS (ESI):  $m/z$ , 1315.7  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,  $R_t = 3.264 \text{ min}$ 。

步骤 5: 化合物 LA-30B-d1 的制备

化合物 LA-30B-c1 (3 mg, 2.32  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DMF (500  $\mu\text{L}$ ), 冷却至 0°C, 然后加入 DBU (1.06 mg, 6.96  $\mu\text{mol}$ , 3 eq)。反应液在 25°C 下反应 30 分钟, LCMS  
20 显示反应完全。反应液中加入 TsOH (1.20 mg, 6.96  $\mu\text{mol}$ , 3 eq), 反应 2 分钟。反应液不再后处理, 直接投入下一步。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1071.7  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,  $R_t = 1.850 \text{ min}$ 。

步骤 6: 化合物 LA-30B-P1 的制备

化合物 LY-22CD-3-d (3.72 mg, 4.67  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DMF (500  $\mu\text{L}$ ), 冷  
25 却至 0°C, 然后加入化合物 LA-30B-d1 (5 mg, 4.67  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), DIPEA (1.81 mg, 2.31  $\mu\text{L}$ , 14  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和 HATU (1.77 mg, 4.67  $\mu\text{mol}$ , 1 eq)。反应液在 25°C 下反应 30 分钟, LCMS 显示反应完全。反应液通过高效液相色谱制备(制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250 $\times$ 50mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到  
30 60% 洗脱), 得到白色固体 LA-30B-P1 (1.0 mg, 收率 10.6%, 纯度 91.27%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1873.0  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,  $R_t = 2.280 \text{ min}$ 。

步骤 7: 化合物 LA-30B-d2 的制备

化合物 LA-30B-c2 (3 mg, 2.32  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DMF (500  $\mu\text{L}$ ), 冷却至 0°C, 然后加 DBU (1.06 mg, 6.96  $\mu\text{mol}$ , 3 eq)。反应液在 25°C 下反应 30 分钟, LCMS  
35 显示反应完全。反应液中加入 TsOH (1.20 mg, 6.96  $\mu\text{mol}$ , 3 eq), 反应 2 分钟。反应液不再后处理, 直接投入下一步。

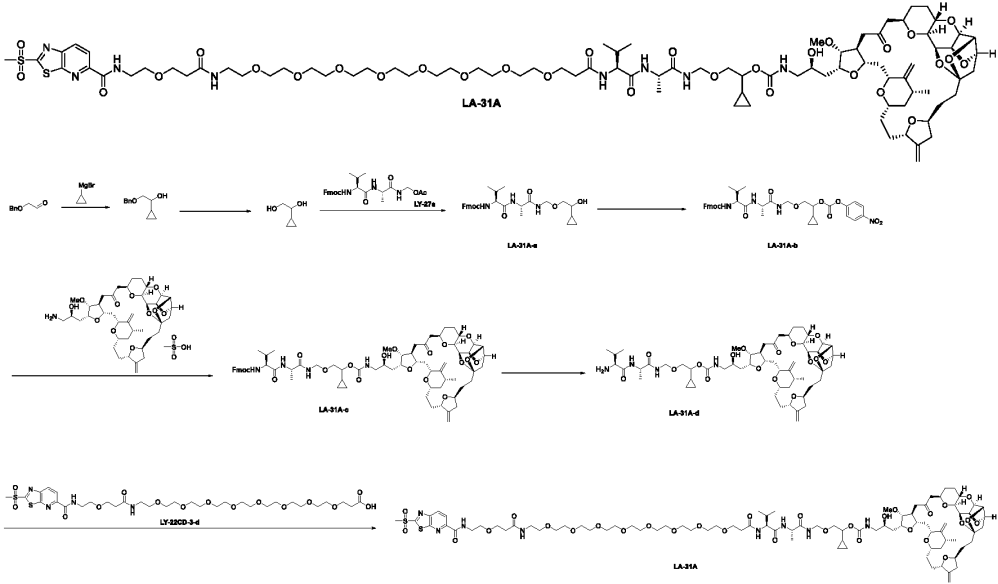
LCMS (ESI):  $m/z$ , 1071.7  $[M+H]^+$ ,  $R_t = 1.863$  min。

步骤 8: 化合物 LA-30B-P2 的制备

化合物 LY-22CD-3-d (2.98 mg, 3.73  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DMF (500  $\mu\text{L}$ )，冷却至 0°C，然后加化合物 LA-30B-d2 (4 mg, 3.73  $\mu\text{mol}$ , 1 eq)，DIPEA (1.45 mg, 1.85  $\mu\text{L}$ , 11.20  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和 HATU (1.42 mg, 3.73  $\mu\text{mol}$ , 1 eq)。反应液在 25°C 下反应 30 分钟，LCMS 显示反应完全。反应液通过高效液相色谱制备（制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 BRIX-2860。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250×50mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈，乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱），得到白色固体 LA-30B-P2 (1.24 mg, 收率 17.9%，纯度 90.37%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1872.2  $[M+Na]^+$ ,  $R_t = 2.288$  min。

实施例 47: 化合物 LA-31A 的制备



步骤 1: 化合物 2-(苄氧基)-1-环丙基-1-乙醇的制备

室温下向化合物苄氧基乙醛 (3 g, 19.98 mmol, 1 eq) 的 THF (25 mL) 溶液中加入环丙基溴化镁 (47.95 mL, 23.97 mmol, 1.2 eq, 0.5 M)，并置于 70°C 下搅拌 2 小时，LCMS 显示原料反应完全。冰浴下向反应液中缓缓加入饱和氯化铵溶液 (10 mL) 和水 (20 mL)，用乙酸乙酯 (20 mL) 萃取水相三次，合并有机相，用饱和食盐水 (20 mL) 洗一次，无水硫酸钠干燥，过滤浓缩，残余物使用硅胶柱层析色谱法（洗脱剂：乙酸乙酯/石油醚=1:5-1:3）纯化得到无色油状的 2-(苄氧基)-1-环丙基-1-乙醇 (1.2 g, 收率 31.22%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 216  $[M+Na]^+$ ,  $R_t=1.442$ 。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, Chloroform- $d$ )  $\delta$  7.39-7.28 (m, 5H), 4.58 (s, 2H), 3.64 (dd,  $J = 9.6, 3.0$  Hz, 1H), 3.48 (dd,  $J = 9.6, 8.2$  Hz, 1H), 3.12 (td,  $J = 8.2, 3.0$  Hz, 1H), 2.36 (s, 1H), 0.87 (qt,  $J = 8.2, 4.8$  Hz, 1H),

0.60-0.43 (m, 2H), 0.38 (dtd,  $J = 9.2, 5.2, 4.2$  Hz, 1H), 0.25-0.18 (m, 1H)。

步骤 2: 化合物 1-环丙基乙烷-1,2-二醇的制备

向 2-(苄氧基)-1-环丙基-1-乙醇 (600 mg, 3.12 mmol, 1 eq) 的 MeOH (6 mL) 和浓盐酸 HCl (56  $\mu$ L) 溶液中加入钨碳 (60 mg), 并置换氢气三次, 置于室温下  
5 搅拌 2 小时, TLC 显示原料反应完全。硅藻土滤去钨碳, 甲醇 (3 mL) 洗滤饼。浓缩溶液得到无色油状的 1-环丙基乙烷-1,2-二醇 (320 mg, 收率 99%)。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, Chloroform- $d$ )  $\delta$  3.77 (d,  $J = 10.8$  Hz, 1H), 3.61 (dd,  $J = 11.2, 7.2$  Hz, 1H), 3.02 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 1.01 – 0.84 (m, 1H), 0.55 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 0.36 (d,  $J = 9.6$  Hz, 1H), 0.26 (dd,  $J = 9.6, 4.6$  Hz, 1H)。

10 步骤 3: 化合物 LA-31A-a 的制备

向 1-环丙基乙烷-1,2-二醇 (320 mg, 3.13 mmol, 1.5 eq) 和 LY-27a (1.01 g, 2.09 mmol, 1 eq) 的 THF (20 mL) 溶液中加入对甲苯磺酸 (359.70 mg, 2.09 mmol, 1 eq), 并置于 30°C 下搅拌 2 小时, 浓缩后用 DMF 溶解过滤后, 通过高效液相色谱制备(制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18  
15 150 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH)-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30%-60% 洗脱), 得到白色固体 LA-31A-a (515.70 mg, 收率 47.15%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 546[M+Na] $^+$ ,  $R_t$ =2.058 min。

步骤 4: 化合物 LA-31A-b 的制备

向化合物 LA-31A-a (556.50 mg, 1.06 mmol, 1 eq) 的 DMF (8 mL) 溶液中  
20 加入 DIPEA (1.10 g, 1.41 mL, 8.50 mmol, 8 eq) 和 NPC (1.94 g, 6.38 mmol, 6 eq), 并置于 35°C 下搅拌 2 小时, 油泵浓缩溶液, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 乙酸乙酯/石油醚=0-50%, 甲醇/二氯甲烷=0-8%) 纯化, 得到黄色油状的 LA-31A-b (161.40 mg, 纯度 50%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 711[M+Na] $^+$ ,  $R_t$ =1.953 min。

25 步骤 5: 化合物 LA-31A-c 的制备

向化合物 LA-31A-b (20.01 mg, 纯度 50%, 14.53  $\mu$ mol, 1.2 eq) 和艾日布林甲磺酸盐 (10 mg, 12.11  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (6.26 mg, 48.43  $\mu$ mol, 4 eq) 和 HOBt (1.64 mg, 12.11  $\mu$ mol, 1 eq), 室温下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全。通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH)-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 50-80% 洗脱), 得到白色固体的 LA-31A-c (6.40 mg, 收率 41.32%)。  
30

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1301[M+Na] $^+$ ,  $R_t$ =3.168 min。

步骤 6: 化合物 LA-31A-d 的制备

35 冰浴下向化合物 LA-31A-c (6.40 mg, 5  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DBU (2.28 mg, 15.01  $\mu$ mol, 3 eq), 并置于室温下搅拌 1 小时, LCMS 显示



原料反应完全，而后于冰浴下加入对甲基苯磺酸（2.58 mg，15.01  $\mu\text{mol}$ ，3 eq），直接投入下一步。LA-31A-d 的理论质量为 5.29 mg。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1057 $[M+H]^+$ ,  $R_t=1.799$  min。

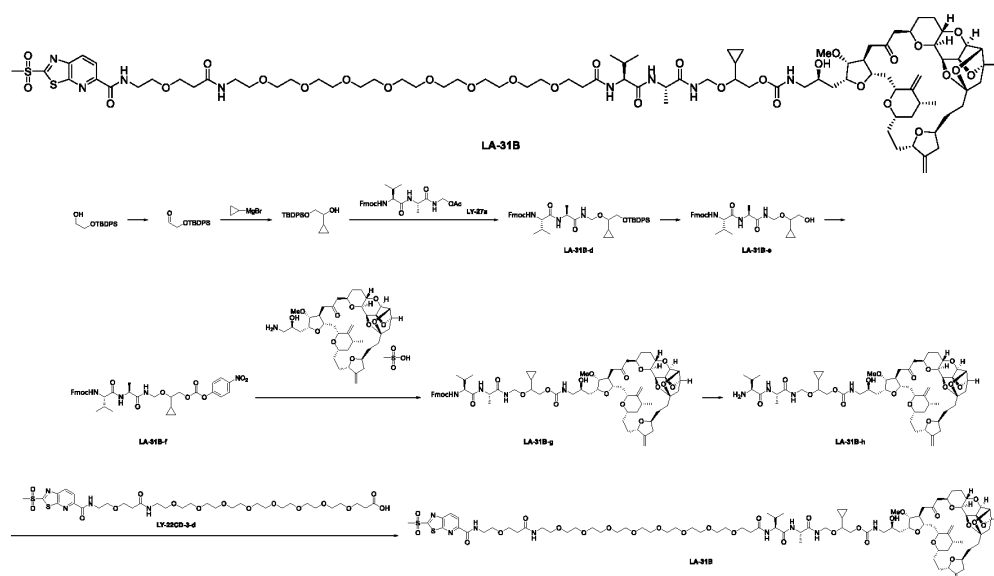
步骤 7: 化合物 LA-31A 的制备

- 5 冰浴下向化合物 LA-31A-d (5.29 mg, 5  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 LY-22CD-3-d (4.78 mg, 6  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (2.59 mg, 20.01  $\mu\text{mol}$ , 4 eq) 和 HATU (2.28 mg, 6  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq)，并置于室温下搅拌 1 小时，LCMS 显示原料反应完全。通过高效液相色谱制备(制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 150 $\times$ 25mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈，乙腈的洗脱比例从 30-60 %洗脱)，得到白色固体的 LA-31A (4.32 mg，收率 47.0%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1859 $[M+Na]^+$ ,  $R_t=2.230$  min。

### 实施例 48: 化合物 LA-31B 的制备

15



步骤 1: 化合物 2-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)乙醛的制备

- 78 $^{\circ}\text{C}$ 下向化合物草酰氯 (2.72 g, 21.45 mmol, 2.2 eq) 的 DCM (90 mL) 溶液中滴加 DMSO (1.68 g, 21.45 mmol, 2.2 eq) 的 DCM (30 mL) 溶液，5 分钟后滴加 2-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)乙烷-1-醇 (2.93 g, 9.75 mmol, 1 eq) 的 DCM (30 mL) 溶液，反应在 -65 $^{\circ}\text{C}$  条件下搅拌 20 分钟。在 -65 $^{\circ}\text{C}$  下滴加三乙胺 (5.92 g, 58.51 mmol, 6 eq)，反应在室温条件下搅拌半小时。TLC 显示反应完成。0 $^{\circ}\text{C}$  下向反应中滴加饱和  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (30mL) 溶液和水 (30mL)，用 DCM 萃取 3 次，每次 100mL，合并有机相，用饱和食盐水 (50mL) 洗涤，通过  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥有机相，过滤后减压旋干得到无色油状产物 2-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)
- 20
- 25

乙醛（3 g，粗品不计收率）。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.55 (s, 1H), 7.64-7.61 (m, 4H), 7.49-7.42 (m, 6H), 4.41 (s, 2H), 1.02 (s, 9H)。

5 步骤 2: 化合物 2-（（叔丁基二苯基甲硅烷基）氧基）-1-环丙基乙烷-1-醇的制备

0°C下向化合物 2-（（叔丁基二苯基甲硅烷基）氧基）乙醛（3 g，粗品）的 THF（60mL）溶液中滴加环丙基溴化镁（50.26 mL，1M），氮气氛围下反应液在室温下反应 2 小时。TLC 显示反应完成。0°C下向该混合物中缓慢滴加饱和  $\text{NH}_4\text{Cl}$ （20 mL）溶液淬灭反应，再加入水（100 mL），用乙酸乙酯萃取 3 次，每次 100mL，  
10 合并有机相，用饱和食盐水（50mL）洗涤，通过  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥有机相，过滤后减压旋干得到无色油状产物 2-（（叔丁基二苯基甲硅烷基）氧基）-1-环丙基乙烷-1-醇（3.56 g，粗品不计收率）。

步骤 3: 化合物 LA-31B-d 的制备

向化合物 LA-31B-c（1.80 g，粗品）和 LY-27a（1.41 g，2.94 mmol，1 eq）的  
15 THF（30mL）溶液中加入 TsOH（151.70 mg，880.95  $\mu\text{mol}$ ，0.3 eq），反应在 33°C 条件下搅拌 1 小时。LCMS 显示反应完成。该混合物过滤后减压旋干。残余物通过高效液相色谱制备（制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 BRIX-2860-R1。色谱柱为 R-220。流动相水（0.225% $\text{HCOOH}$ ）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 10%到 90%洗脱），得到白色固体产物 LA-31B-d（405 mg，收率 18.10%）。LCMS (ESI):  $m/z$ ,  
20 784.5 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,  $R_t=3.241$  min。

步骤 4: 化合物 LA-31B-e 的制备

向化合物 LA-31B-d（405 mg，531.47  $\mu\text{mol}$ ，1 eq）的 THF（10 mL）溶液中加入  $\text{Et}_3\text{N}\cdot 3\text{HF}$ （3.43 g，21.26 mmol，40 eq），反应在 65°C条件下搅拌 2 小时。  
LCMS 显示反应完成。残留物通过硅胶柱层析色谱法（C18，ISCO，R-120g SepaFlash  
25 Silica Flash Column, Eluent of 10-50% water/ $\text{CH}_3\text{CN}$ ，100 mL/min）纯化，经冻干得到白色固体产物 LA-31B-e（163 mg，收率 58.57%）。LCMS (ESI):  $m/z$ ,  
546.4 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,  $R_t=2.097$  min。

步骤 5: 化合物 LA-31B-f 的制备

向化合物 LA-31B-e（167 mg，318.93  $\mu\text{mol}$ ，1 eq）和 NPC（194.04 mg，637.85  
30  $\mu\text{mol}$ ，2 eq）的 DMF（3 mL）溶液中加入 DIPEA（123.65 mg，956.78  $\mu\text{mol}$ ，3 eq），反应在 35°C条件下搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完成。反应液减压旋干。残余物通过硅胶柱层析色谱法（洗脱剂：甲醇/二氯甲烷 0:1 到 1:10 纯化）得到白色固体产物 LA-31B-f（106 mg，收率 48.26%）。LCMS (ESI) :  $m/z$ , 711.4  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,  
 $R_t=2.941$  min。

35 步骤 6: 化合物 LA-31B-g 的制备

0°C下向化合物 LA-31B-f（10 mg，12.11  $\mu\text{mol}$ ，1 eq）和艾日布林甲磺酸盐（10.01

mg, 14.53  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入 DIPEA (4.69 mg, 36.32  $\mu\text{mol}$ , 3 eq), 反应在室温、氮气保护下搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完成。混合物通过高效液相色谱制备(制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 50% 到 80% 洗脱), 得到白色固体产物 LA-31B-g (7.80 mg, 收率 50.35%)。LCMS (ESI): m/z, 1301.8 [M+Na]<sup>+</sup>, Rt=3.169min。

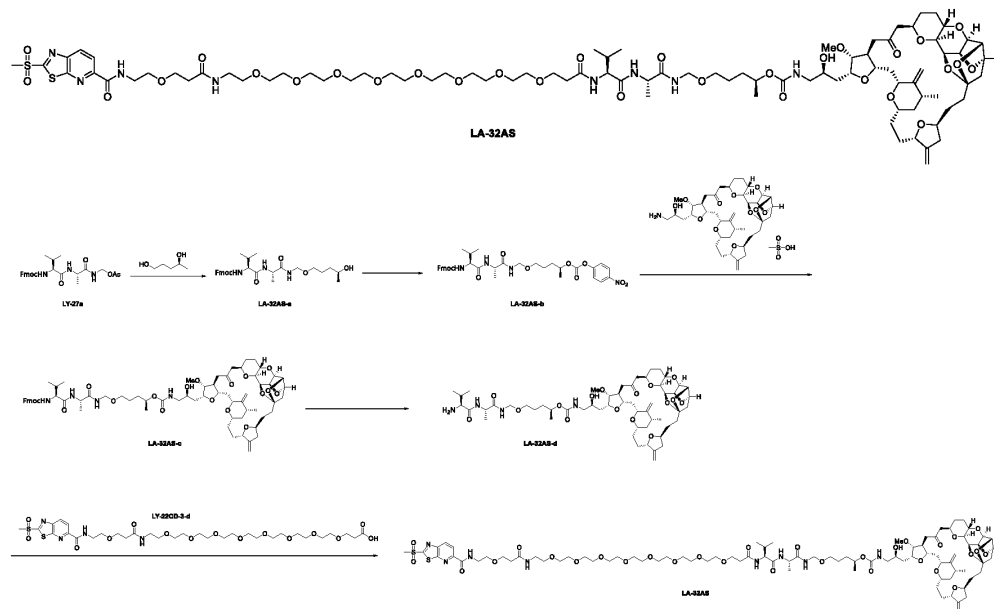
#### 步骤 7: 化合物 LA-31B-h 的制备

0 $^{\circ}\text{C}$  下向化合物 LA-31B-g (7.80 mg, 6.10  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入 DBU (2.78 mg, 18.29  $\mu\text{mol}$ , 3 eq), 反应在室温条件下搅拌 1 小时。LCMS 显示反应完成。向反应液中加入甲磺酸 (3.15 mg, 18.29  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 淬灭反应后得到 LA-31B-h (6.45 mg, 粗品在 DMF 溶液中), 直接投入下一步。

#### 步骤 8: 化合物 LA-31B 的制备

0 $^{\circ}\text{C}$  下向化合物 LA-31B-h (6.45 mg, 粗品) 和 LY-22CD-3-d (5.35 mg, 6.71  $\mu\text{mol}$ , 1.1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入 DIPEA (3.94 mg, 30.50  $\mu\text{mol}$ , 5 eq) 和 HATU (2.78 mg, 7.32  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 反应在室温下搅拌 2 小时, LCMS 显示原料反应完全。混合物通过高效液相色谱制备(制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 200 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱), 得到白色固体 LA-31B (4.10 mg, 收率 36.60%)。LCMS (ESI): m/z, 1859.0 [M+Na]<sup>+</sup>, Rt=2.228 min。

### 实施例 49: 化合物 LA-32AS 的制备



#### 步骤 1: 化合物 LA-32AS-a 的制备

向 (2S) -2-甲基丁烷-1,4-二醇 (194.65 mg, 1.87 mmol, 3 eq) 和 LY-27a (300

mg, 622.99  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 THF (5 mL) 溶液中加入对甲苯磺酸 (107.28 mg, 622.99  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 并置于 30°C 下搅拌 2 小时, 浓缩后用 DMF 溶解过滤后, 通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×30mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱), 得到白色固体 LA-32AS-a (300 mg, 收率 91.61%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 548[M+Na]<sup>+</sup>,  $R_t$ =2.023。

步骤 2: 化合物 LA-32AS-b 的制备

向化合物 LA-32AS-a (300 mg, 570.72  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (8 mL) 溶液中加入 DIPEA (442.56 mg, 565.93  $\mu\text{L}$ , 3.42 mmol, 6 eq) 和 NPC (694.48 mg, 2.28 mmol, 4 eq), 并置于 35°C 下搅拌 2 小时, 油泵浓缩溶液, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 乙酸乙酯/石油醚=0-50%, 甲醇/二氯甲烷=0-8%) 纯化, 得黄色油状的 LA-32AS-b (175.80 mg, 收率 44.59%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 713[M+Na]<sup>+</sup>,  $R_t$ =2.943。

步骤 3: 化合物 LA-32AS-c 的制备

向化合物 LA-32AS-b (10.03 mg, 14.53  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 和艾日布林甲磺酸盐 (10 mg, 12.11  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (4.69 mg, 6  $\mu\text{L}$ , 36.32  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和 HOBT (1.64 mg, 12.11  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 室温下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全。通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×30mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 60-90% 洗脱), 得到白色固体的 LA-32AS-c (11.20 mg, 收率 72.19%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1303[M+Na]<sup>+</sup>,  $R_t$ =3.113。

步骤 4: 化合物 LA-32AS-d 的制备

冰浴下向化合物 LA-32AS-c (11.20 mg, 8.74  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 Et<sub>2</sub>NH (3.20 mg, 4.50  $\mu\text{L}$ , 43.70  $\mu\text{mol}$ , 5 eq), 并置于室温下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全, 油泵抽干后直接投入下一步。LA-32AS-d 的理论质量为 9.26 mg。

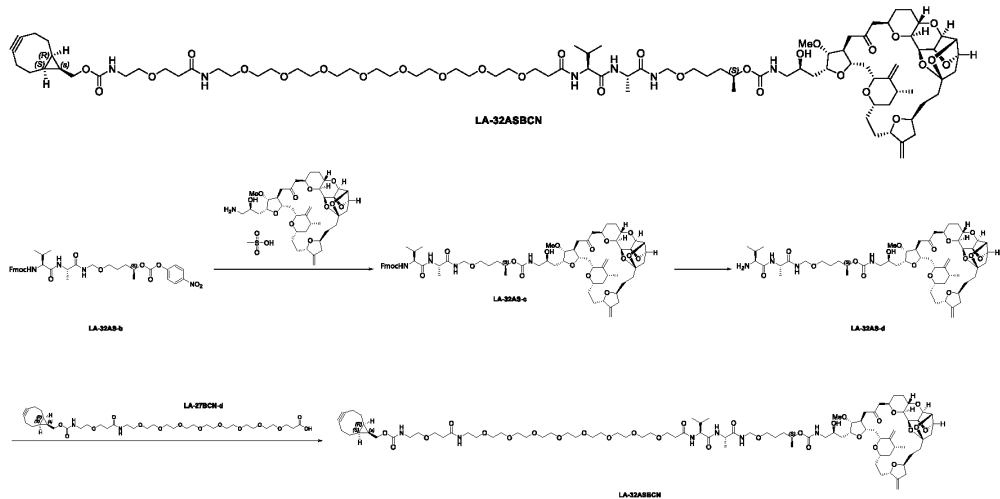
LCMS (ESI):  $m/z$ , 1059[M+H]<sup>+</sup>,  $R_t$ =1.782。

步骤 5: 化合物 LA-32AS 的制备

冰浴下向化合物 LA-32AS-d (9.26 mg, 8.74  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 LY-22CD-3-d (8.36 mg, 10.49  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (2.26 mg, 2.89  $\mu\text{L}$ , 17.48  $\mu\text{mol}$ , 2 eq) 和 HATU (3.99 mg, 10.49  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 并置于室温下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全。通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×30mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30-60% 洗脱), 得到白色固体的 LA-32AS (7.22 mg, 收率 44.93%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1860 $[M+Na]^+$ ,  $R_t=2.206$ 。  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.06 (t,  $J = 5.8$  Hz, 1H), 8.87 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H), 8.54 (t,  $J = 6.6$  Hz, 1H), 8.38 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H), 8.04 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 7.93-7.83 (m, 2H), 6.85 (s, 1H), 5.02 (d,  $J = 23.2$  Hz, 2H), 4.83 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.63 (s, 2H), 4.58-4.42 (m, 4H), 4.30-4.14 (m, 4H), 4.10 (s, 3H), 4.02 (s, 1H), 3.89 (s, 1H), 3.84-3.72 (m, 2H), 3.71-3.52 (m, 10H), 3.52-3.40 (m, 27H), 3.25 (s, 7H), 3.22-3.13 (m, 4H), 2.94 (d,  $J = 7.2$  Hz, 3H), 2.84 (d,  $J = 9.4$  Hz, 1H), 2.72 (d,  $J = 11.8$  Hz, 2H), 2.56 (dd,  $J = 14.4, 7.2$  Hz, 2H), 2.46-2.34 (m, 4H), 2.28-2.11 (m, 5H), 2.08-1.83 (m, 8H), 1.68 (dd,  $J = 25.2, 12.2$  Hz, 6H), 1.56-1.41 (m, 6H), 1.31 (s, 4H), 1.21 (d,  $J = 7.2$  Hz, 4H), 1.11 (d,  $J = 6.2$  Hz, 3H), 1.08-0.94 (m, 5H), 0.83 (dd,  $J = 13.8, 6.8$  Hz, 6H)。

实施例 50：化合物 LA-32ASBCN 的制备



步骤 1：化合物 LA-32AS-c 的制备

将化合物 (9H-芴-9-基) 甲基 ( (3S, 11S, 14S) -3,11,15-三甲基-1- (4-硝基苯氧基) -1,0,13-三氧基-2,7-二氧基-9,12-二氮杂十六烷-14-基) 氨基甲酸酯 (该化合物的合成请参考 LA-32AS 的实施例) (20 mg, 28.95  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DMF (1 mL) 中, 加入艾日布林甲磺酸盐 (23.92 mg, 28.95  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), HOBT (3.91 mg, 28.95  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 DIPEA (7.56 mg, 9.67  $\mu\text{L}$ , 57.91  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 反应液在 25°C 下搅拌 2 小时。LCMS 显示有产物生成。反应液通过高效液相色谱制备, 得到白色固体产物 (15 mg, 收率 40.42%)。

高效液相色谱制备条件如下:

制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% $\text{HCOOH}$ ) -乙腈, 乙腈的洗脱比例从 50%到 80%洗脱。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1281.7 $[M+H]^+$ 。

步骤 2：化合物 LA-32AS-d 的制备

将 LA-32AS-c (16 mg, 12.48  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DMF (2 mL) 中, 加入二乙胺 (4.61 mg, 62.42  $\mu\text{mol}$ , 5 eq), 反应液在 25°C 下搅拌 1 小时。LCMS 显示反应完全。反应液直接旋干, 得到黄色油状产物 (12 mg, 收率 90.73%), 直接用于下一步。

5 LCMS (ESI):  $m/z$ , 1059.6 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 3: 化合物 LA-32ASBCN 的制备

将 LA-32AS-d (10 mg, 9.44  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DMF (1 mL), 加入 LA-27BCN-d (该化合物的合成请参考 LA-27BCN 的实施例) (8.65 mg, 80%, 9.44  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 DIPEA (1.23 mg, 9.44  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 0°C 下, 加入 HATU (3.59 mg, 9.44  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 反应液在 25°C 下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全。反应液通过高效液相色谱纯化, 得白色固体产物 (7.89 mg, 收率 47.11%, 纯度 95%)。

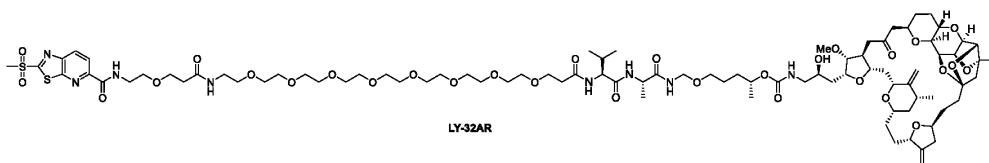
高效液相色谱制备条件如下:

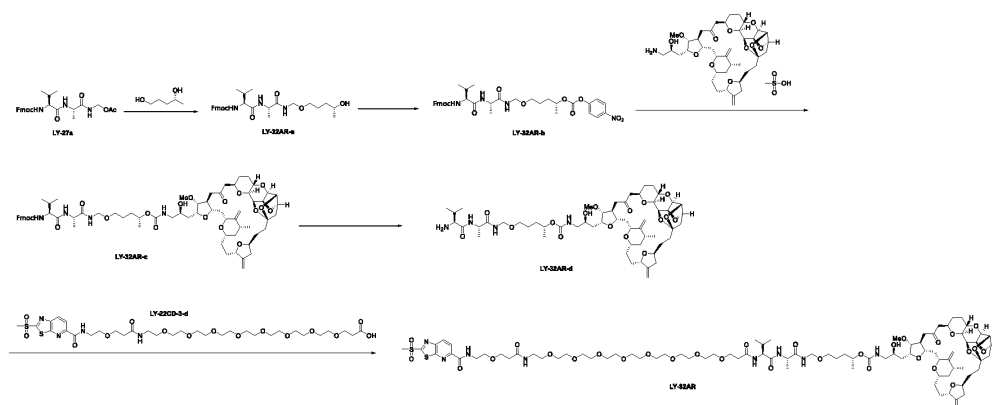
制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱。

15 LCMS (ESI):  $m/z$ , 1796.1 $[(\text{M}+\text{H})]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.54 (t,  $J = 6.6$  Hz, 1H), 8.04 (d,  $J = 6.9$  Hz, 1H), 7.95-7.78 (m, 2H), 7.05 (d,  $J = 5.6$  Hz, 1H), 6.85 (t,  $J = 5.8$  Hz, 1H), 5.11-4.96 (m, 2H), 4.79 (d,  $J = 31.0$  Hz, 2H), 4.68-4.58 (m, 2H), 4.58-4.44 (m, 3H), 4.29-4.07 (m, 6H), 4.03 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 3.92-3.72 (m, 3H), 3.68 (s, 1H), 3.63-3.55 (m, 4H), 3.50 (d,  $J = 3.9$  Hz, 24H), 3.39 (q,  $J = 7.1, 6.5$  Hz, 27H), 3.26 (d,  $J = 3.3$  Hz, 3H), 3.19 (q,  $J = 5.8$  Hz, 2H), 3.09 (q,  $J = 6.0$  Hz, 2H), 2.99-2.81 (m, 3H), 2.80-2.63 (m, 2H), 2.56 (dd,  $J = 16.8, 10.3$  Hz, 2H), 2.44 (t,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 2.38 (t,  $J = 6.6$  Hz, 1H), 2.34-2.09 (m, 10H), 2.07-1.82 (m, 6H), 1.78-1.59 (m, 4H), 1.57-1.41 (m, 6H), 1.40-1.08 (m, 9H), 1.07-0.94 (m, 4H), 0.83 (dd,  $J = 13.6, 6.8$  Hz, 6H)。

### 实施例 51: 化合物 LA-32AR 的制备





### 步骤 1: 化合物 LA-32AR-a 的制备

向 (2R)-2-甲基丁烷-1,4-二醇 (187.47 mg, 1.80 mmol, 3 eq) 和 LY-27a (187.47 mg, 1.80 mmol, 3 eq) 的 THF (5 mL) 溶液中加入对甲苯磺酸 (103.32 mg, 96.56  $\mu$ L, 600  $\mu$ mol, 1 eq), 并置于 30°C 下搅拌 2 小时, 浓缩后用 DMF 溶解过滤后, 通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Synergi Max-RP 200 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱), 得到白色固体 LA-32AR-a (100 mg, 收率 31.71%)。

LCMS (ESI): m/z, 548[M+Na]<sup>+</sup>, Rt=2.031。

### 步骤 2: 化合物 LA-32AR-b 的制备

向化合物 LA-32AR-a (99.87 mg, 190  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入 DIPEA (147.33 mg, 188.41  $\mu$ L, 1.14 mmol, 6 eq) 和 NPC (231.20 mg, 154.13  $\mu$ L, 760  $\mu$ mol, 4 eq), 并置于 35°C 下搅拌 3 小时, 油泵浓缩溶液, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 乙酸乙酯/石油醚=0-50%, 甲醇/二氯甲烷=0-8%) 纯化, 得到黄色油状的 LA-32AR-b (50 mg, 收率 29%, 纯度 67%)

LCMS (ESI): m/z, 713[M+Na]<sup>+</sup>, Rt=2.914。

### 步骤 3: 化合物 LA-32AR-c 的制备

向化合物 LA-32AR-b (14.98 mg, 67%, 14.53  $\mu$ mol, 1.2 eq) 和艾日布林甲磺酸盐 (10 mg, 12.11  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (4.69 mg, 6  $\mu$ L, 36.32  $\mu$ mol, 3 eq) 和 HOBT (1.64 mg, 1.09  $\mu$ L, 12.11  $\mu$ mol, 1 eq), 室温下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全。通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 Synergi Max-RP 250 $\times$ 40mm $\times$ 10 $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 60-90% 洗脱), 得到白色固体的 LA-32AR-c (9.20 mg, 收率 59.3%)。

LCMS (ESI): m/z, 1303[M+Na]<sup>+</sup>, Rt=2.966。

### 步骤 4: 化合物 LA-32AR-d 的制备

冰浴下向化合物 LA-32AR-c (9.20 mg, 7.18  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 Et<sub>2</sub>NH (2.63 mg, 3.70  $\mu$ L, 35.89  $\mu$ mol, 5 eq), 并置于室温下搅拌 1 小

时, LCMS 显示原料反应完全, 油泵抽干后直接投入下一步。LA-32AR-d 的理论质量为 7.60 mg。

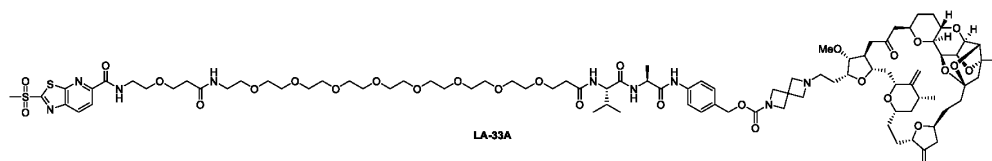
LCMS (ESI):  $m/z$ , 1059[M+H]<sup>+</sup>,  $R_t$ =1.802。

步骤 5: 化合物 LA-32AR 的制备

- 5 冰浴下向化合物 LA-32AR-d (7.60 mg, 7.17  $\mu$ mol, 1 eq) 和 LY-22CD-3-d (6.86 mg, 8.61  $\mu$ mol, 1.2 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (1.85 mg, 2.37  $\mu$ L, 14.35  $\mu$ mol, 2 eq) 和 HATU (3.27 mg, 8.61  $\mu$ mol, 1.2 eq), 并置于室温下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全。通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Synergi Max-RP 200 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30-60% 洗脱), 得到白色固体 LA-32AR (4.47 mg, 收率 31.80%, 纯度 93.81%)。
- 10

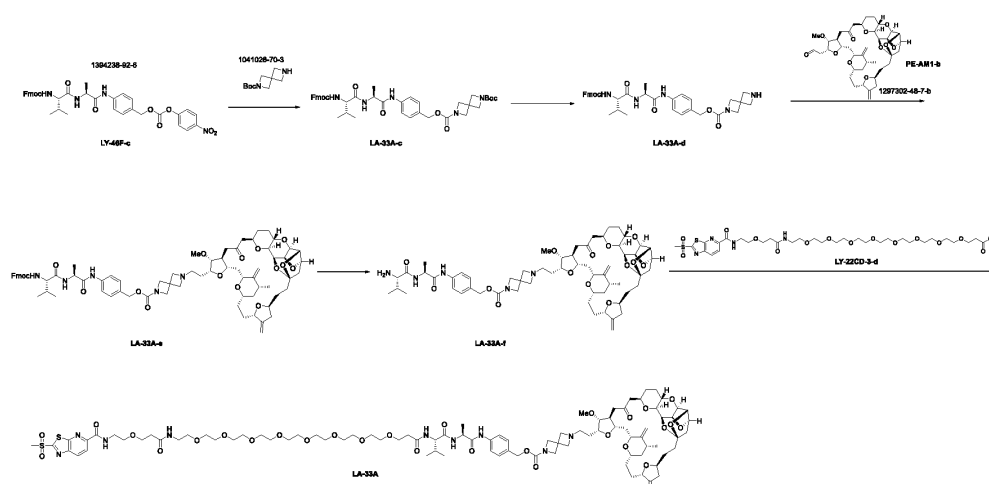
- LCMS (ESI):  $m/z$ , 1860[M+Na]<sup>+</sup>,  $R_t$ =2.188。 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  9.06 (s, 1H), 8.87 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 8.58-8.51 (m, 1H), 8.38 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 8.03 (t,  $J$  = 6.4 Hz, 1H), 7.92-7.82 (m, 2H), 6.87 (d,  $J$  = 26.6 Hz, 1H), 5.02 (d,  $J$  = 22.8 Hz, 2H), 4.79 (d,  $J$  = 31.4 Hz, 2H), 4.63 (s, 1H), 4.57-4.44 (m, 4H), 4.29-4.15 (m, 4H), 4.14-4.06 (m, 3H), 4.02 (s, 1H), 3.88 (d,  $J$  = 7.0 Hz, 1H), 3.79 (dd,  $J$  = 21.6, 9.8 Hz, 2H), 3.71-3.52 (m, 10H), 3.51-3.44 (m, 26H), 3.37 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 4H), 3.25 (s, 4H), 3.18 (q,  $J$  = 5.8 Hz, 3H), 2.94 (t,  $J$  = 6.0 Hz, 2H), 2.84 (d,  $J$  = 9.6 Hz, 1H), 2.80-2.66 (m, 3H), 2.61-2.55 (m, 1H), 2.41 (dt,  $J$  = 24.4, 6.8 Hz, 2H), 2.33 (t,  $J$  = 6.4 Hz, 4H), 2.23 (t,  $J$  = 15.0 Hz, 4H), 2.14 (d,  $J$  = 12.0 Hz, 1H), 2.06-1.80 (m, 8H), 1.69 (dt,  $J$  = 25.4, 12.0 Hz, 5H), 1.56-1.41 (m, 6H), 1.39-1.29 (m, 3H), 1.27-1.17 (m, 5H), 1.17-1.08 (m, 3H), 1.00 (dd,  $J$  = 23.4, 9.0 Hz, 6H), 0.83 (dd,  $J$  = 13.6, 6.8 Hz, 6H)。
- 15
- 20

## 实施例 52: 化合物 LA-33A 的制备



25





### 步骤 1: 化合物 LA-33A-c 的制备

向化合物 2,6-二氮杂螺[3.3]庚烷-2-甲酸叔丁酯 (92.42 mg, 95%, 442.86  $\mu\text{mol}$ , 1.1 eq) 的 DMF (5 mL) 溶液中加入 DIPEA (157.67 mg, 199.61  $\mu\text{L}$ , 1.21 mmol, 3 eq), 化合物 LY-46F-c (315 mg, 87%, 402.60  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 HOBT (55.51 mg, 402.60  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 室温反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 过滤使用高效液相色  
5 谱制备 (制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 Synergi Max-RP 250 $\times$ 40mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 50% 到 80% 洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物 LA-33A-c (92.20 mg, 收率 30.95%)。LCMS (ESI):  $m/z$ , 762[M+Na]<sup>+</sup>。

### 步骤 2: 化合物 LA-33A-d 的制备

向化合物 LA-33A-c (92.20 mg, 124.62  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DCM (2 mL) 溶液中加入 TFA (620.20 mg, 404.04  $\mu\text{L}$ , 5.39 mmol, 43.2127 eq), 0 $^{\circ}\text{C}$  反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 旋干得到无色油状化合物 LA-33A-d (79.72 mg, 粗品不计  
15 产率), 直接用于下一步, LCMS (ESI):  $m/z$ , 640[M+H]<sup>+</sup>。

### 步骤 3: 化合物 LA-33A-e 的制备

向化合物 LA-33A-d (15.26 mg, 23.85  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和化合物 PE-AM1-b (20 mg, 28.62  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq, 该化合物的合成请参考 PE-AM1 的制备例) 的 DCE (3 mL) 溶液中加入 AcOH (2.88 mg, 99.5%, 2.73  $\mu\text{L}$ , 47.70  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 室温反应 20 分  
20 钟后加入醋酸硼氢化钠 (10.32 mg, 98%, 47.70  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 继续室温反应 100 分钟, LCMS 显示反应完成, 旋干, 加乙腈溶解过滤, 使用高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物 LA-33A-e (8.20 mg, 收率 26%), LCMS (ESI):  
25  $m/z$ , 1344[M+Na]<sup>+</sup>。

### 步骤 4: 化合物 LA-33A-f 的制备

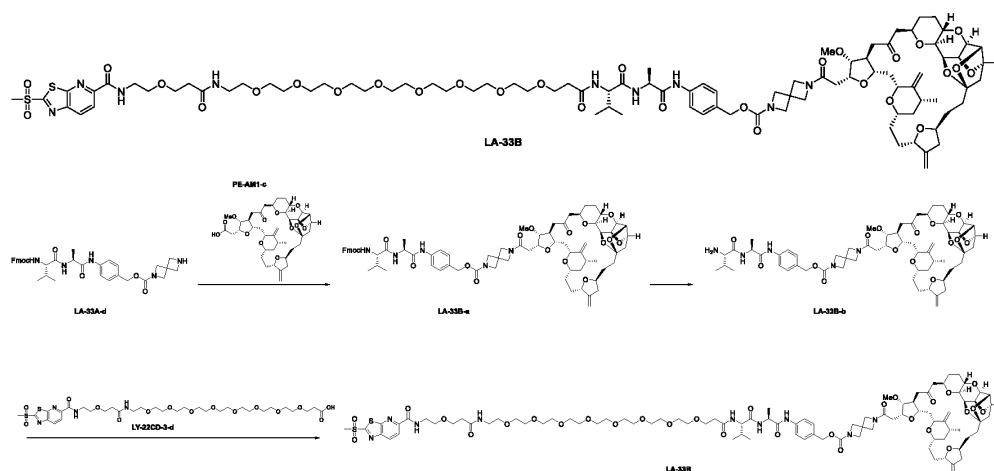
向化合物 LA-33A-e (8.20 mg, 6.20  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入  $\text{Et}_2\text{NH}$  (32.27 mg, 436.83  $\mu\text{mol}$ , 70.458 eq), 室温反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 旋干得到白色固体化合物 LA-33A-f (6.82 mg, 粗品不计产率), 直接用于下一步, LCMS (ESI):  $m/z$ , 1122 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

#### 5 步骤 5: 化合物 LA-33A 的制备

向化合物 LA-33A-f (6.82 mg, 6.20  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和化合物 LY-22CD-3-d (5.93 mg, 7.44  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (1.60 mg, 2.05  $\mu\text{L}$ , 12.40  $\mu\text{mol}$ , 2 eq) 和 HATU (2.83 mg, 7.44  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 室温反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 过滤使用高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 10 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% $\text{HCOOH}$ ) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物 LA-33A (6.87 mg, 收率 58.98%, 纯度 95%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 940 $[\text{1/2M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  9.94 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 8.87 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H), 8.38 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H), 8.19 (d,  $J = 7.1$  Hz, 1H), 7.89 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H), 7.58 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.27 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 5.05 (s, 1H), 4.95 (s, 3H), 4.81 (s, 1H), 4.76 (s, 1H), 4.63 (s, 1H), 4.56 (s, 1H), 4.37 (t,  $J = 6.9$  Hz, 1H), 4.27 (s, 2H), 4.19 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 4.10 (s, 7H), 4.03 (s, 2H), 3.79 (s, 2H), 3.66-3.57 (m, 8H), 3.53 (d,  $J = 5.0$  Hz, 3H), 3.51-3.44 (m, 34H), 3.27 (s, 4H), 3.22-3.15 (m, 5H), 2.84 (d,  $J = 9.4$  Hz, 1H), 2.73 (s, 2H), 2.67 (s, 2H), 2.30 (d,  $J = 21.8$  Hz, 9H), 1.96 (d,  $J = 28.0$  Hz, 6H), 1.75-1.62 (m, 5H), 1.30 (d,  $J = 7.2$  Hz, 6H), 1.24 (s, 2H), 1.03 (d,  $J = 6.4$  Hz, 3H), 0.85 (dd,  $J = 15.6, 6.7$  Hz, 6H)。

### 实施例 53: 化合物 LA-33B 的制备



25

#### 步骤 1: 化合物 LA-33B-a 的制备

向化合物 LA-33A-d (17.90 mg, 27.98  $\mu\text{mol}$ , 1 eq, 该化合物的合成请参考 LA-33A 的实施例) 和化合物 PE-AM1-c (该化合物的合成请参考 PE-AM1 的制备例, 20 mg, 27.98  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入 DIPEA (7.23 mg, 9.25

μL, 55.96 μmol, 2 eq) 和 HATU (12.77 mg, 33.57 μmol, 1.2 eq), 室温反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 过滤使用高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Synergi Max-RP 200×30mm×10μm。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 50%到 80%洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物 LA-33B-a (4.70 mg, 收率 12.57%), LCMS (ESI): m/z, 1359[M+Na]<sup>+</sup>。

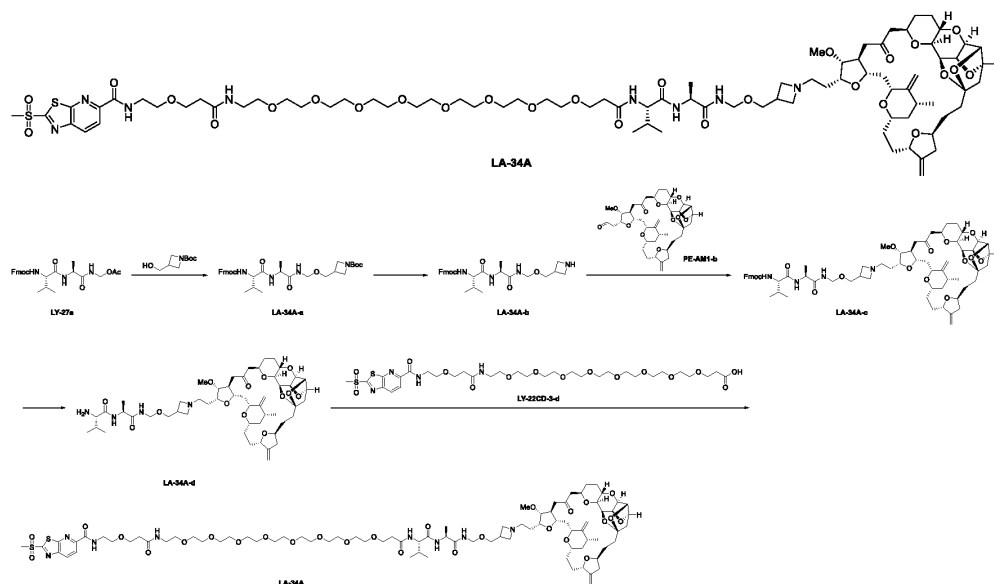
#### 步骤 2: 化合物 LA-33B-b 的制备

向化合物 LA-33B-a (4.70 mg, 3.52 μmol, 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 Et<sub>3</sub>NH (18.19 mg, 99%, 25.61 μL, 246.15 μmol, 70 eq), 室温反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 旋干, 得到白色固体化合物 LA-33B-b (3.92 mg, 粗品不计产率), 直接用于下一步, LCMS (ESI): m/z, 1136[M+Na]<sup>+</sup>。

#### 步骤 3: 化合物 LA-33B 的制备

向化合物 LA-33B-b (3.92 mg, 3.52 μmol, 1 eq) 和化合物 LY-22CD-3-d (3.36 mg, 4.22 μmol, 1.2 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (909.28 μg, 1.16 μL, 7.04 μmol, 2 eq) 和 HATU (1.61 mg, 4.22 μmol, 1.2 eq), 室温反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 过滤使用高效液相色谱法制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×30mm×10μm。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物 LA-33B (2.94 mg, 收率 42.82%, 纯度 97%)。LCMS (ESI): m/z, 1917[M+Na]<sup>+</sup>。

### 实施例 54: 化合物 LA-34A 的制备



#### 步骤 1: 化合物 LA-34A-a 的制备

向化合物 3-羟甲基氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯 (238.06 mg, 1.25 mmol, 2 eq)

和 LY-27a (300 mg, 622.99  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 THF (10 mL) 溶液中, 加入对甲基苯磺酸 (108.36 mg, 622.99  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 并置于 30°C 下反应 2 小时。LCMS 显示反应完成, 残留物通过硅胶柱层析色谱法 (C18, ISCO, R-330g SepaFlash Silica Flash Column, Eluent of 10-60% water/ $\text{CH}_3\text{CN}$ , 100 mL/min) 纯化, (中压) 纯化, 得到白色固体化合物 LA-34A-a (252 mg, 收率 66.4%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 631 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,  $R_t=2.589$  min。

步骤 2: 化合物 LA-34A-b 的制备

向化合物 LA-34A-a (252 mg, 413.97  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DCM (12 mL) 溶液中加入 TFA (3.0 mL, 41.40 mmol, 100 eq), 0°C 反应 30 分钟, LCMS 显示反应完成, 旋干后残留物通过硅胶柱层析色谱法 (C18, ISCO, R-330g SepaFlash Silica Flash Column, Eluent of 5-40% water/ $\text{CH}_3\text{CN}$ , 100 mL/min) 纯化, (中压) 纯化, 得到白色固体 LA-34A-b (95.40 mg, 收率 45.31%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 531 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,  $R_t=1.613$  min。

步骤 3: 化合物 LA-34A-c 的制备

向化合物 LA-34A-b (8.73 mg, 17.17  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 和化合物 PE-AM1-b (10 mg, 14.31  $\mu\text{mol}$ , 1 eq, 该化合物的合成参考 PE-AM1 的制备例) 的 DCE (2 mL) 溶液中加入 AcOH (1.65  $\mu\text{L}$ , 28.62  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 室温反应 20 分钟后加入醋酸硼氢化钠 (6.19 mg, 28.62  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 继续室温反应 40 分钟, LCMS 显示反应完成, 旋干后残余物通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% $\text{HCOOH}$ )-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物 LA-34A-c (11 mg, 收率 64.52%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1191 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,  $R_t=2.647$  min。

步骤 4: 化合物 LA-34A-d 的制备

向化合物 LA-34A-c (11 mg, 9.23  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入  $\text{Et}_2\text{NH}$  (4.80  $\mu\text{L}$ , 46.16  $\mu\text{mol}$ , 5 eq), 室温反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 旋干得到 LA-34A-d (8.95 mg, 粗品不计产率), 直接用于下一步。

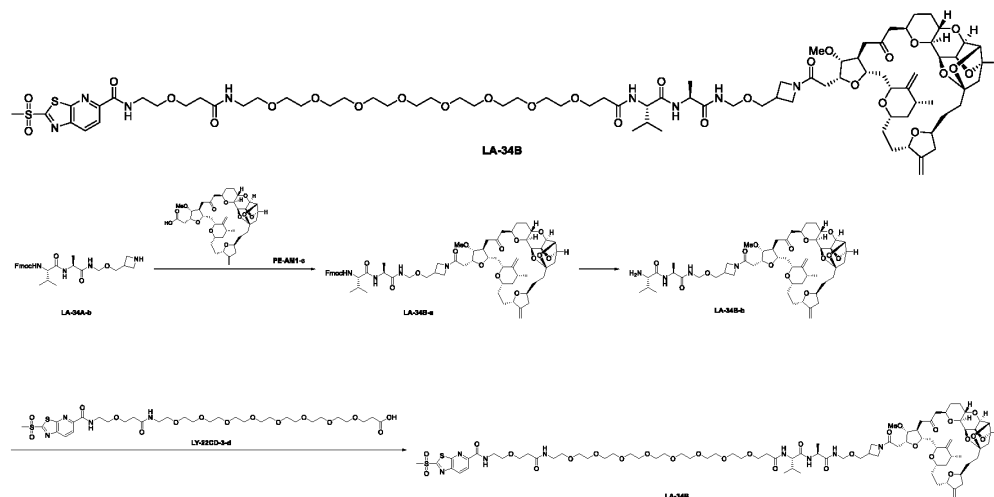
LCMS (ESI):  $m/z$ , 969 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,  $R_t=1.514$  min。

步骤 5: 化合物 LA-34A 的制备

向化合物 LA-34A-d (8.95 mg, 9.23  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和化合物 LY-22CD-3-d (8.83 mg, 11.08  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (3.08  $\mu\text{L}$ , 18.47  $\mu\text{mol}$ , 2 eq) 和 HATU (4.21 mg, 11.08  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 室温反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 过滤使用高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% $\text{HCOOH}$ )-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物 LA-34A (3.28 mg, 收率 19.53%, 纯度 96.14%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1748 $[M+H]^+$ ,  $R_t=2.022$  min。

### 实施例 55: 化合物 LA-34B 的制备



5

#### 步骤 1: 化合物 LA-34B-a 的制备

向化合物 LA-34A-b (8.54 mg, 16.79  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) (该化合物的合成请参考 LA-34A 的实施例) 和化合物 PE-AM1-c (该化合物的合成请参考 PE-AM1 的实施例) (10 mg, 13.99  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入 DIPEA (7.01  $\mu\text{L}$ , 41.97  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和 HATU (6.38 mg, 16.79  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 室温反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 过滤后使用高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 50% 到 80% 洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物 LA-34B-a (9 mg, 收率 53.37%)。

15 LCMS (ESI):  $m/z$ , 1205 $[M+H]^+$ ,  $R_t=2.983$  min.

#### 步骤 2: 化合物 LA-34B-b 的制备

向化合物 LA-34B-a (9 mg, 7.47  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入  $\text{Et}_2\text{NH}$  (3.88  $\mu\text{L}$ , 37.33  $\mu\text{mol}$ , 5 eq), 室温反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 旋干, 得到白色固体化合物 LA-34B-b (7.34 mg, 粗品不计产率), 直接用于下一步。LCMS (ESI):  $m/z$ , 983 $[M+H]^+$ ,  $R_t=1.677$  min。

20

#### 步骤 3: 化合物 LA-34B 的制备

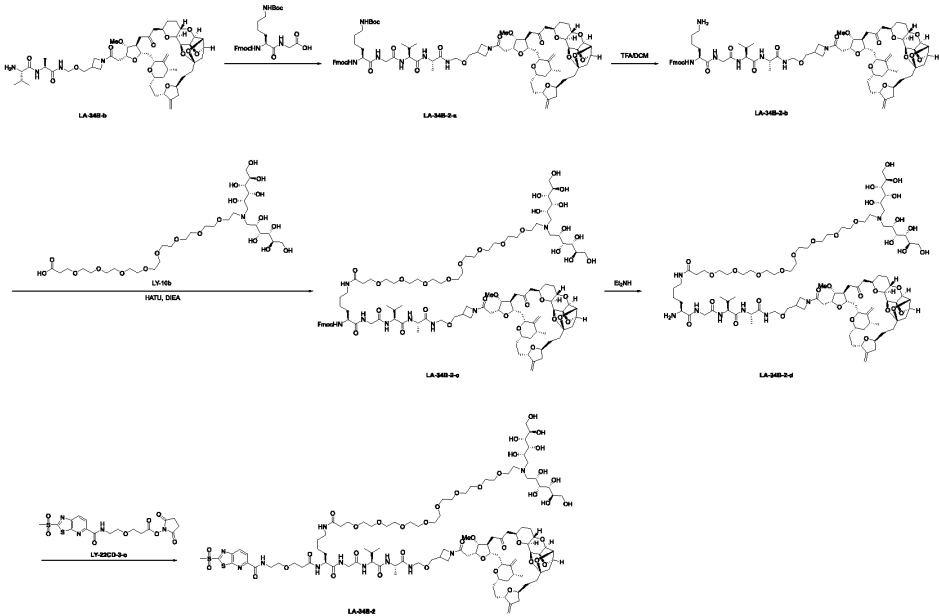
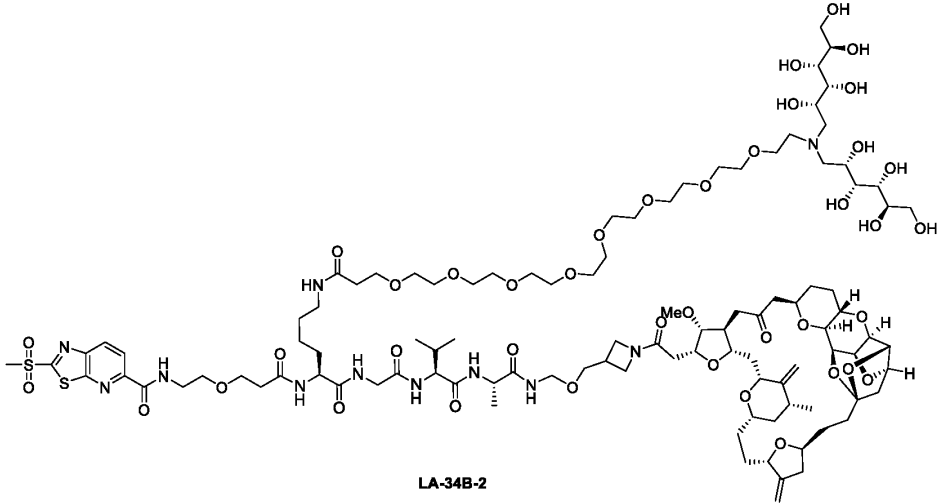
向化合物 LA-34B-b (7.34 mg, 7.47  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和化合物 LY-22CD-3-d (7.14 mg, 8.96  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (2.49  $\mu\text{L}$ , 14.93  $\mu\text{mol}$ , 2 eq) 和 HATU (3.41 mg, 8.96  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 室温反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 过滤后使用高效液相色谱法制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 得到白色

25

固体化合物 LA-34B (4.84 mg, 收率 35.48%, 纯度 96.42%)。

LCMS (ESI): m/z, 1761[M+H]<sup>+</sup>, Rt=2.119 min。

实施例 56: 化合物 LA-34B-2 的制备



步骤 1: 化合物 LA-34B-2-a 的制备

冰浴下, 向化合物 LA-34B-b (103.34 mg, 105.10  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) (该化合物的合成请参考 LA-34B 的合成实施例) 和化合物 N2-((9H-苈-9-基) 甲氧基) 羰基)-N6-(叔丁氧基羰基)-L-赖氨酰甘氨酸 (75.33 mg, 88%, 126.13  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) (该化合物的合成请参考 LA-27C-2 的实施例) 的 DMF (5 mL) 溶液中加入 DIPEA (52.11  $\mu\text{L}$ , 315.31  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和 HATU (47.96 mg, 126.13  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 室

温反应 0.5 小时，LCMS 显示反应完成，过滤送高效液相色谱法制备（制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×30mm×10μm。流动相水（0.225% $\text{HCOOH}$ ）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 50%到 80%洗脱）纯化，得到白色固体化合物 LA-34B-2-a（137.50 mg，收率 87.75%）。

5 LCMS (ESI):  $m/z$ , 1490 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。Rt=3.031 min。

步骤 2: 化合物 LA-34B-2-b 的制备

冰浴下，向化合物 LA-34B-2-a（137.50 mg，92.23 μmol，1 eq）的 DCM（5 mL）溶液中加入 TFA（1 mL，13.33 mmol，155.8 eq），并置于冰浴下反应 1 小时，LCMS 显示反应完成，旋干得到黄色油状的化合物 LA-34B-2-b（127 mg，粗品不计产率），  
10 直接用于下一步。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1390 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。Rt=2.340 min。

步骤 3: 化合物 LA-34B-2-c 的制备

冰浴下向化合物 LA-34B-2-b（118.94 mg，85.53 μmol，1 eq）和 LY-10b（该化合物的合成请参考 LA-27C-2 的实施例）（98.76 mg，128.29 μmol，1.5 eq）的  
15 DMF（5 mL）溶液中加入 DIPEA（70.67 μL，427.63 μmol，5 eq）和 HATU（39.82 mg，102.63 μmol，1.2 eq）。加毕，反应液在 25℃下反应 20 分钟。LCMS 显示反应完成。反应液通过高效液相色谱制备（制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×30mm×10μm。流动相水（0.225% $\text{HCOOH}$ ）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱）纯化，经冻干得  
20 到白色固体化合物 LA-34B-2-c（112.50 mg，收率 56.95%）。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1071 $[\text{1/2M}+\text{H}]^+$ 。Rt=2.188 min。

步骤 4: 化合物 LA-34B-2-d 的制备

向化合物 LA-34B-2-c（112.50 mg，52.51 μmol，1 eq）的 DMF（3 mL）溶液中加入  $\text{Et}_2\text{NH}$ （27.32 μL，262.54 μmol，5 eq），室温反应 1 小时，LCMS 显示反  
25 应完成，旋干，得到黄色油状化合物 LA-34B-2-d（100.83 mg，粗品不计产率），直接用于下一步。

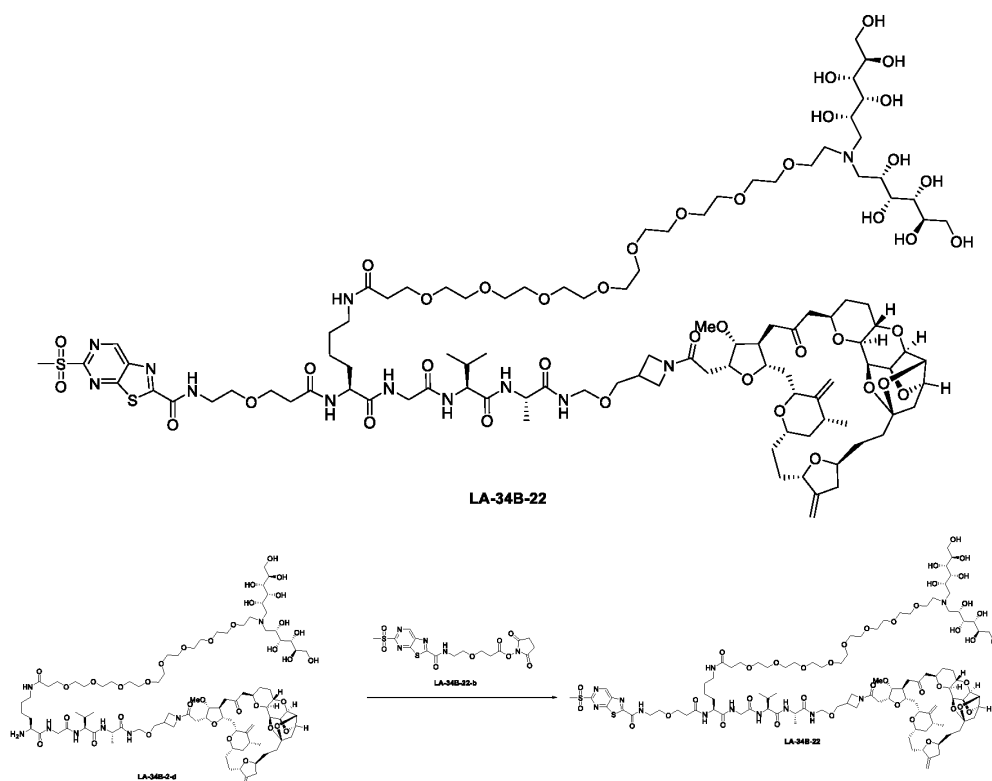
LCMS (ESI):  $m/z$ , 961 $[\text{1/2M}+\text{H}]^+$ ，Rt=1.523 min。

步骤 5: 化合物 LA-34B-2 的制备

冰浴下向化合物 LA-34B-2-d（50 mg，26.04 μmol，1 eq）和 LY-22CD-3-c（该化合物的合成请参考 LY-22CD-3-d 的制备例）（19.42 mg，82%，33.85 μmol，1.3  
30 eq）的 DMF（1.5 mL）溶液中加入 DIPEA（6.52 μL，39.06 μmol，1.5 eq）。加毕，反应液在 25℃下反应 1 小时。LCMS 显示反应完成。反应液通过高效液相色谱制备（制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 BRIX-2860。色谱柱为 Waters Xbridge C18 150×30mm×5μm。流动相水（0.225% $\text{HCOOH}$ ）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 30%到  
35 60%洗脱）纯化，经冻干得到白色固体化合物 LA-34B-2（19.83 mg，收率 33.03%，纯度 98.7%）。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1060[1/2M+Na]<sup>+</sup>.  $R_t$ =1.871 min. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  9.03 (t,  $J$  = 5.8 Hz, 1H), 8.80 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 8.51 (t,  $J$  = 6.6 Hz, 1H), 8.31 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 8.10-8.03 (m, 3H), 7.98 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 7.72 (t,  $J$  = 5.6 Hz, 1H), 7.66 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 6.13 (d,  $J$  = 3.0 Hz, 1H), 5.88 (d,  $J$  = 3.0 Hz, 1H), 5.36 (s, 2H), 4.88 (s, 1H), 4.80 (s, 1H), 4.73 (s, 1H), 4.68 (s, 1H), 4.51 (q,  $J$  = 5.6, 5.0 Hz, 2H), 4.45 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 2H), 4.27 (s, 2H), 4.22 (d,  $J$  = 9.6 Hz, 2H), 4.13 (dd,  $J$  = 12.4, 7.0 Hz, 4H), 4.08-3.89 (m, 10H), 3.79-3.39 (m, 86H), 3.14 (d,  $J$  = 2.6 Hz, 4H), 2.95 – 2.86 (m, 3H), 2.75 – 2.63 (m, 3H), 2.52 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 3H), 2.39 – 2.26 (m, 4H), 2.04 (dd,  $J$  = 15.8, 7.4 Hz, 1H), 1.88 (t,  $J$  = 6.8 Hz, 3H), 1.78 (d,  $J$  = 11.4 Hz, 1H), 1.70 – 1.50 (m, 7H), 1.38 (d,  $J$  = 12.2 Hz, 3H), 1.26 (q,  $J$  = 12.6, 9.6 Hz, 5H), 1.15 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 4H), 0.97 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 3H), 0.75 (dd,  $J$  = 18.2, 6.6 Hz, 6H)。

### 实施例 57: 化合物 LA-34B-22 的制备



15

冰浴下向化合物 LA-34B-2-d (50 mg, 26.04  $\mu$ mol, 1 eq) (该化合物的合成请参考 LA-34B-2 的合成实施例) 和 LA-34B-22-b (22.80 mg, 70%, 33.85  $\mu$ mol, 1.3 eq) 的 DMF (1.5 mL) 溶液中加入 DIPEA (6.52  $\mu$ L, 39.06  $\mu$ mol, 1.5 eq)。加毕, 反应液在 25°C 下反应 1 小时。LCMS 显示反应完成。反应液通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Waters Xbridge C18 150×30mm×5 $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30%

20

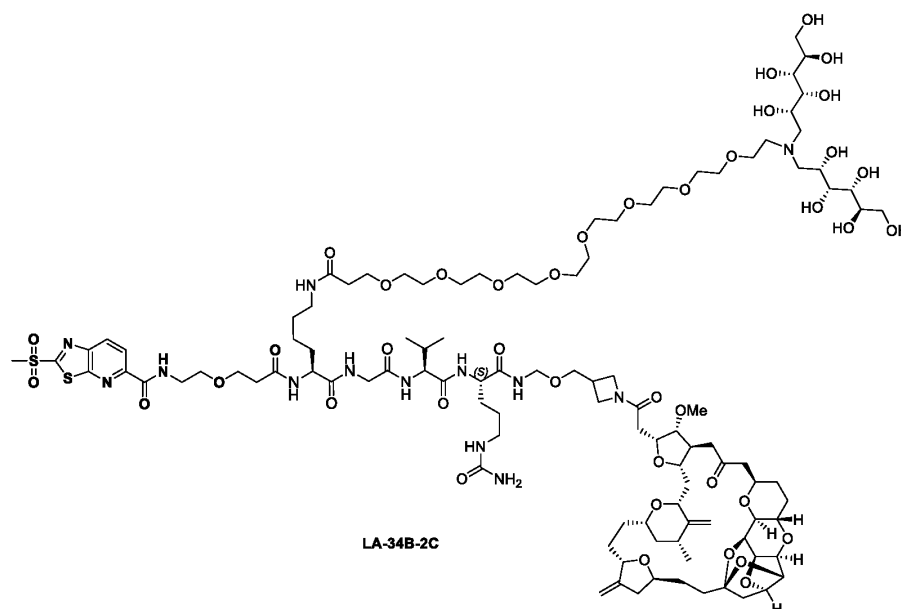


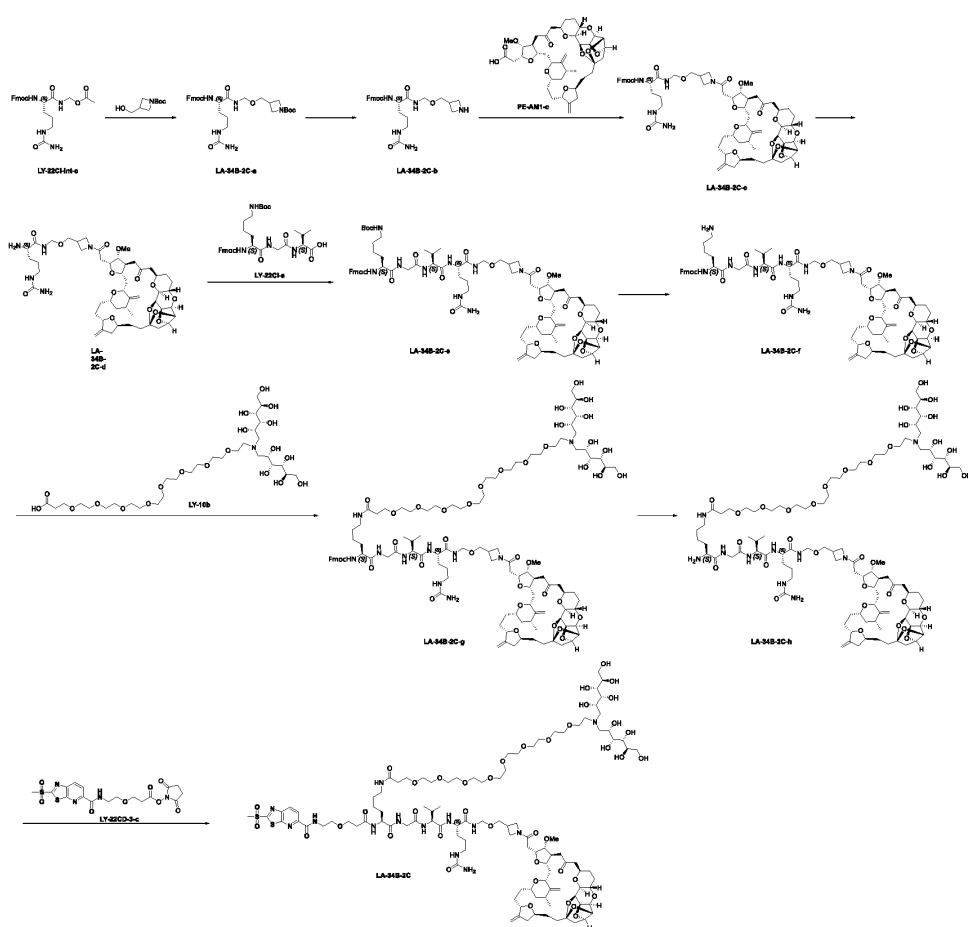
到 60%洗脱)纯化,经冻干得到白色固体化合物 LA-34B-22(6.85 mg, 收率 11.56%, 纯度 100%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1038[1/2M+H]<sup>+</sup>。Rt=1.822 min。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  9.83 (s, 1H), 9.45 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 8.58 (t, J = 6.8 Hz, 1H), 8.19 – 8.02 (m, 4H), 7.79 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 7.74 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.20 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 5.94 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 5.42 (s, 2H), 4.95 (s, 1H), 4.87 (s, 1H), 4.78 (d, J = 20.0 Hz, 3H), 4.56 (t, J = 15.2 Hz, 6H), 4.38 – 4.26 (m, 3H), 4.20 (q, J = 9.8, 8.6 Hz, 3H), 4.15 – 3.96 (m, 6H), 3.87 – 3.42 (m, 55H), 3.21 (d, J = 2.6 Hz, 3H), 2.98 (d, J = 8.4 Hz, 4H), 2.82 – 2.69 (m, 4H), 2.63 – 2.56 (m, 3H), 2.46 – 2.38 (m, 4H), 2.28 (t, J = 6.6 Hz, 5H), 2.11 (dd, J = 15.4, 7.2 Hz, 2H), 2.02 – 1.79 (m, 6H), 1.78 – 1.55 (m, 8H), 1.46 (d, J = 13.2 Hz, 4H), 1.33 (d, J = 10.0 Hz, 5H), 1.26 – 1.19 (m, 4H), 1.04 (d, J = 6.4 Hz, 3H), 0.82 (dd, J = 18.0, 6.8 Hz, 6H)。

### 实施例 58: 化合物 LA-34B-2C 的制备





### 步骤 1: 化合物 LA-34B-2C-a 的制备

向化合物 LY-22CI-int-c (472 mg, 1.01 mmol, 1 eq) (该化合物的合成请参阅  
 5 专利申请 WO2024175069A1) 和化合物 3-羟甲基氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯 (385mg,  
 2.01 mmol, 2 eq) 的 THF (3 mL) 和 DMF (1.5 mL) 溶液中加入 TsOH (177 mg,  
 1.01 mmol, 1 eq), 30°C 反应 2 小时, LCMS 显示反应完成, 浓缩掉大部分 THF,  
 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (C18, ISCO, R-120g SepaFlash Silica Flash Column,  
 使用水/CH<sub>3</sub>CN, 乙腈的洗脱比例为 5-50%, 60 mL/min) 纯化, 得到白色固体化合  
 物 LA-34B-2C-a (547 mg, 收率 91.15%)。

10 LCMS (ESI): m/z, 496[M-100+H]<sup>+</sup>。

### 步骤 2: 化合物 LA-34B-2C-b 的制备

0°C 下向化合物 LA-34B-2C-a (547 mg, 918.25 μmol, 1 eq) 的 DCM (4 mL)  
 溶液中加入 TFA (1.55 g, 1.01 mL), 0°C 反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 浓  
 缩掉 DCM, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (C18, ISCO, R-120g SepaFlash Silica  
 15 Flash Column, 使用水/CH<sub>3</sub>CN, 乙腈的洗脱比例为 5-35%, 60 mL/min) 纯化, 得  
 到白色固体化合物 LA-34B-2C-b (19.80 mg, 收率 4.35%, 纯度 85%)。

LCMS (ESI): m/z, 496[M+H]<sup>+</sup>。

步骤 3: 化合物 LA-34B-2C-c 的制备

0°C下,向化合物 LA-34B-2C-b(19.80 mg, 39.95 μmol, 1 eq)和化合物 PE-AM1-c  
(该化合物的合成请参考 PE-AM1 的合成实施例)(31.42 mg, 43.95 μmol, 1.1 eq)  
5 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (13.34 μL, 79.91 μmol, 2 eq) 和 HATU (18.23  
mg, 47.94 μmol, 1.2 eq), 25°C反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 过滤送高效  
液相色谱制备(制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch  
Xtimate C18 250×30mm×10μm。流动相水(0.225% HCOOH)-乙腈, 乙腈的洗脱比  
例从 40%到 70%洗脱)纯化, 得到白色固体化合物 LA-34B-2C-c (20.70 mg, 收率  
10 43.45%)。

LCMS (ESI): m/z, 1192[M+H]<sup>+</sup>, Rt=2.415 min。

步骤 4: 化合物 LA-34B-2C-d 的制备

0°C下向化合物 LA-34B-2C-c (20.70 mg, 17.36 μmol, 1 eq) 的 DMF (1 mL)  
溶液中加入 Et<sub>3</sub>NH (9.03 μL, 86.80 μmol, 5 eq), 25°C反应 1 小时, LCMS 显示  
15 反应完成, 浓缩, 得到黄色油状的 LA-34B-2C-d (16.8 mg, 粗品不计产率), 直  
接用于下一步。

LCMS (ESI): m/z, 970[M+H]<sup>+</sup>, Rt=1.557 min。

步骤 5: 化合物 LA-34B-2C-e 的制备

0°C下,向化合物 LA-34B-2C-d(16.80 mg, 17.32 μmol, 1 eq)和化合物 LY-22CI-a  
20 (该化合物的合成请参考专利申请 WO2024175069A1)(13.91 mg, 85.58%, 19.05  
μmol, 1.1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (5.78 μL, 34.63 μmol, 2 eq)  
和 HATU (7.90 mg, 20.78 μmol, 1.2 eq), 25°C反应 1 小时, LCMS 显示反应完  
成, 过滤送高效液相色谱制备(制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色  
谱柱为 YMC-Triart Prep C18, 150×30mm×10μm。流动相水(0.225% HCOOH)-乙  
25 腈, 乙腈的洗脱比例从 50%到 80%洗脱)纯化, 得到白色固体化合物 LA-34B-2C-e  
(29.40 mg, 收率 86.13%, 纯度 80%)。

LCMS (ESI): m/z, 1576[M+H]<sup>+</sup>, Rt=2.800 min。

步骤 6: 化合物 LA-34B-2C-f 的制备

0°C下,向化合物 LA-34B-2C-e (29.4 mg, 14.91 μmol, 1 eq) 的 DCM (3 mL)  
30 溶液中加入 TFA (0.6 mL), 搅拌 20 分钟, LCMS 显示原料反应完全, 浓缩直接  
投下一步。LA-34B-2C-f 的理论质量为 21.5 mg。

LCMS (ESI): m/z, 1476 [M+H]<sup>+</sup>, Rt=2.094 min。

步骤 7: 化合物 LA-34B-2C-g 的制备

0°C下,向化合物 LA-34B-2C-f (7 mg, 4.74 μmol, 1 eq) 和 LY-10b (4.38 mg,  
35 5.69 μmol, 1.2 eq, 该化合物的合成参考专利申请 WO2024175069A1) 的 DMF (1

mL) 溶液中加入 DIPEA (1.3 mg, 9.48  $\mu\text{mol}$ , 2 eq) 和 HATU (2.16 mg, 5.69  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 并置于 25°C 下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全。通过高效液相色谱制备(制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×30mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30-60% 洗脱) 得白色固体的 LA-34B-2C-g (15.70 mg, 与其他批次合并纯化)。

LCMS (ESI): m/z, 1114 [1/2M+H]<sup>+</sup>, Rt=2.118 min。

步骤 8: 化合物 LA-34B-2C-h 的制备

0°C 下向化合物 LA-34B-2C-g (15.70 mg, 7.04  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 Et<sub>2</sub>NH (3.67  $\mu\text{L}$ , 35.22  $\mu\text{mol}$ , 5 eq), 并置于 25°C 下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全, 油泵浓缩直接投下一步。化合物 LA-34B-2C-h 的理论质量为 14 mg。

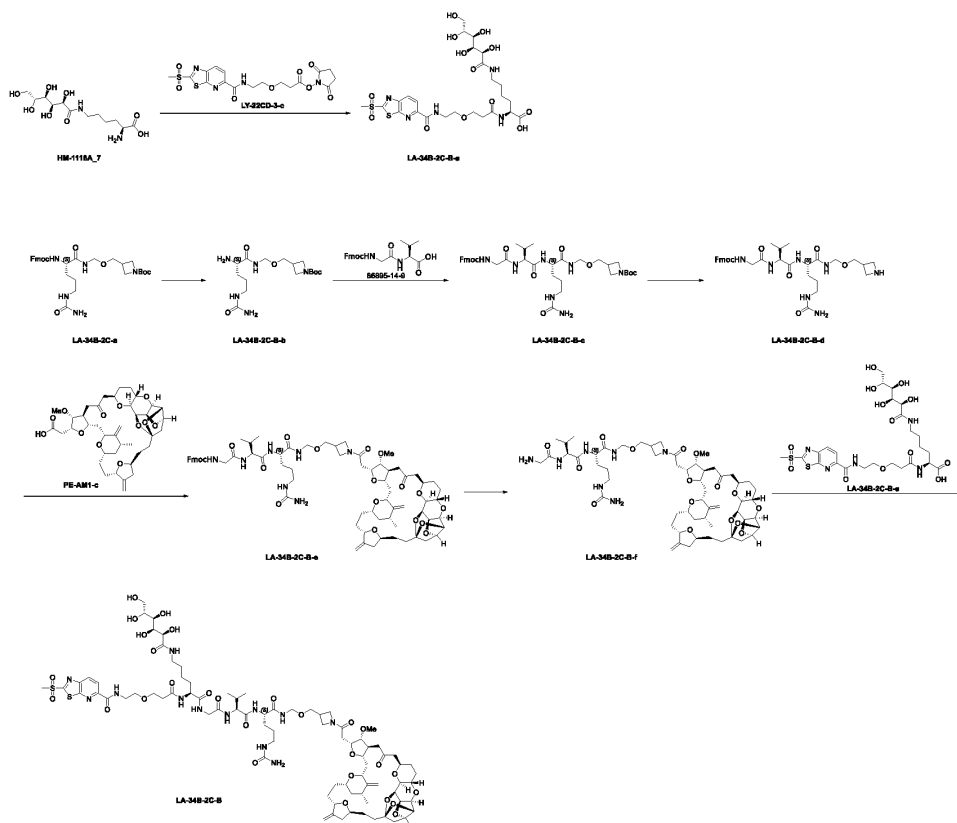
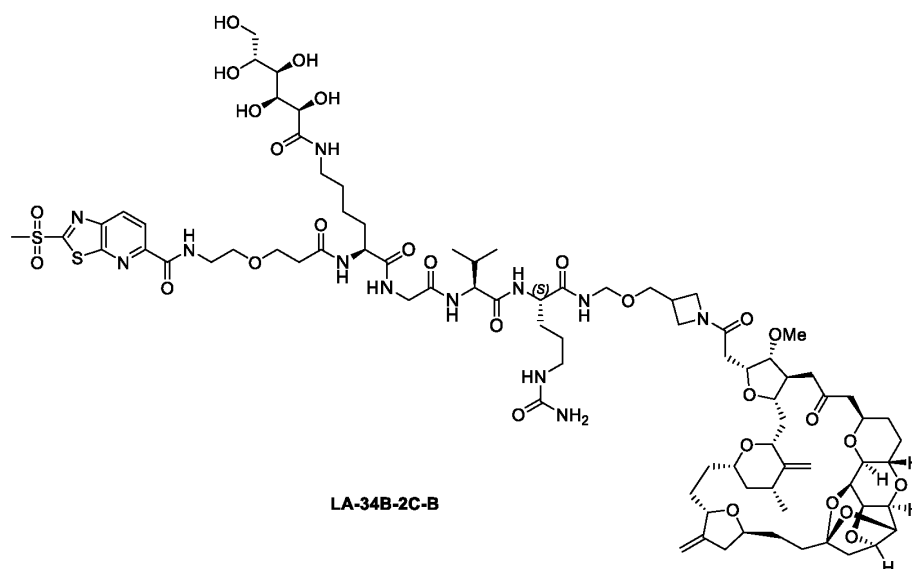
LCMS (ESI): m/z, 1003 [1/2M+H]<sup>+</sup>, Rt=1.620 min。

步骤 9: 化合物 LA-34B-2C 的制备

0°C 下, 向化合物 LA-34B-2C-h (14 mg, 6.98  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 LY-22CD-3-c (该化合物的合成请参考专利申请 WO2024175069A1) (3.61 mg, 7.68  $\mu\text{mol}$ , 1.1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (2.33  $\mu\text{L}$ , 13.96  $\mu\text{mol}$ , 2 eq)。加毕, 反应液在 25°C 下反应 1 小时。LCMS 显示反应完成。反应液通过高效液相色谱制备(制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 150×30mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 LA-34B-2C (3.03 mg, 收率 18.39%, 纯度 100%)。

LCMS (ESI): m/z, 1181 [1/2M+H]<sup>+</sup>, Rt=1.848 min。

**实施例 59: 化合物 LA-34B-2C-B 的制备**



### 步骤 1: 化合物 LA-34B-2C-B-a 的制备

0°C下, 向化合物 HM-1118A-7 (该化合物的合成请参考 LA-3 的合成实施例)  
 5 (114 mg, 351.49 μmol, 1 eq) 的 DMF (5 mL) 溶液中加入 DIPEA (272 mg, 2.11 mmol, 6 eq) 和 LY-22CD-3-c (该化合物的合成请参考专利申请 WO2024175069A1) (165.37 mg, 351.49 μmol, 1 eq)。加毕, 反应液在 25°C下反应 1 小时。LCMS

显示反应完成。残留物通过硅胶柱层析色谱法(C18, ISCO, R-330g SepaFlash Silica Flash Column, 使用水/CH<sub>3</sub>CN, 乙腈的洗脱比例为 5-25%, 100 mL/min) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 LA-34B-2C-B-a (99.10 mg, 收率 41.48%)。

LCMS (ESI): m/z, 680[M+H]<sup>+</sup>, Rt=0.492 min。

5 步骤 2: 化合物 LA-34B-2C-B-b 的制备

向化合物 LA-34B-2C-a (309.30 mg, 84%, 436.15 μmol, 1 eq) 的 DMF (3 mL) 溶液中加入 Et<sub>3</sub>NH (226.91 μL, 2.18 mmol, 5 eq), 25°C 反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 油泵浓缩后得到黄色油状的 LA-34B-2C-B-b (162 mg, 粗品不计产率), 直接用于下一步。

10 LCMS (ESI): m/z 374[M+H]<sup>+</sup>, Rt=0.696 min。

步骤 3: 化合物 LA-34B-2C-B-c 的制备

0°C 下, 向化合物 LA-34B-2C-B-b (162 mg, 433.79 μmol, 1 eq) 和化合物 Fmoc-Gly-Val-OH (193.01 mg, 477.17 μmol, 1.1 eq) 的 DMF (6 mL) 溶液中加入 DIPEA (112 mg, 867.59 μmol, 2 eq) 和 HATU (198 mg, 520.55 μmol, 1.2 eq),  
15 25°C 反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 残留物通过硅胶柱层析色谱法(C18, ISCO, R-330g SepaFlash Silica Flash Column, 使用水/CH<sub>3</sub>CN, 乙腈的洗脱比例为 5-25%, 100 mL/min) (中压) 纯化, 冻干得到白色固体化合物 LA-34B-2C-B-c (160 mg, 收率 49.06%)。

LCMS (ESI): m/z, 752[M+H]<sup>+</sup>, Rt=1.877 min。

20 步骤 4: 化合物 LA-34B-2C-B-d 的制备

0°C 下, 向化合物 LA-34B-2C-B-c (40 mg, 53.20 μmol, 1 eq) 的 DCM (3 mL) 溶液中加入 TFA (0.6 mL), 搅拌 30 分钟, LCMS 显示原料反应完全, 油泵浓缩直接投下一步。LA-34B-2C-B-d 的理论质量为 34 mg。

LCMS (ESI): m/z, 652 [M+H]<sup>+</sup>, Rt=1.363 min。

25 步骤 5 : 化合物 LA-34B-2C-B-e 的制备

0°C 下, 向化合物 LA-34B-2C-B-d (34 mg, 52.17 μmol, 1 eq) 和化合物 PE-AM1-c (该化合物的合成请参考 PE-AM1 的合成实施例) (37.29 mg, 52.17 μmol, 1 eq) 的 DMF (1.5 mL) 溶液中加入 DIPEA (40 mg, 312.99 μmol, 6 eq) 和 HATU (23.80 mg, 62.60 μmol, 1.2 eq), 25°C 反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 过滤送高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×30mm×10μm。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 40% 到 70% 洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物 LA-34B-2C-B-e (43.30 mg, 收率 61.55%)。

LCMS (ESI): m/z, 1348[M+H]<sup>+</sup>, Rt=2.526 min。

35 步骤 6 : 化合物 LA-34B-2C-B-f 的制备

0°C下向化合物 LA-34B-2C-B-e (43.30 mg, 32.11  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入  $\text{Et}_2\text{NH}$  (12 mg, 160.54  $\mu\text{mol}$ , 5 eq), 25°C反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 浓缩, 得到黄色油状的 LA-34B-2C-B-f (36 mg, 粗品不计产率), 直接用于下一步。

5 LCMS (ESI):  $m/z$ , 1126 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,  $R_t=1.583$  min。

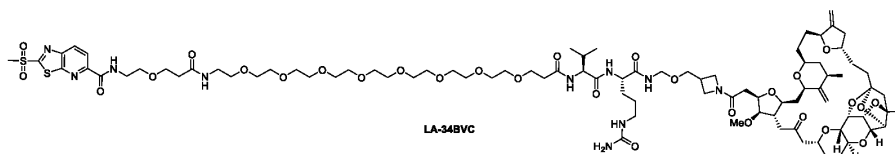
步骤 7: 化合物 LA-34B-2C-B 的制备

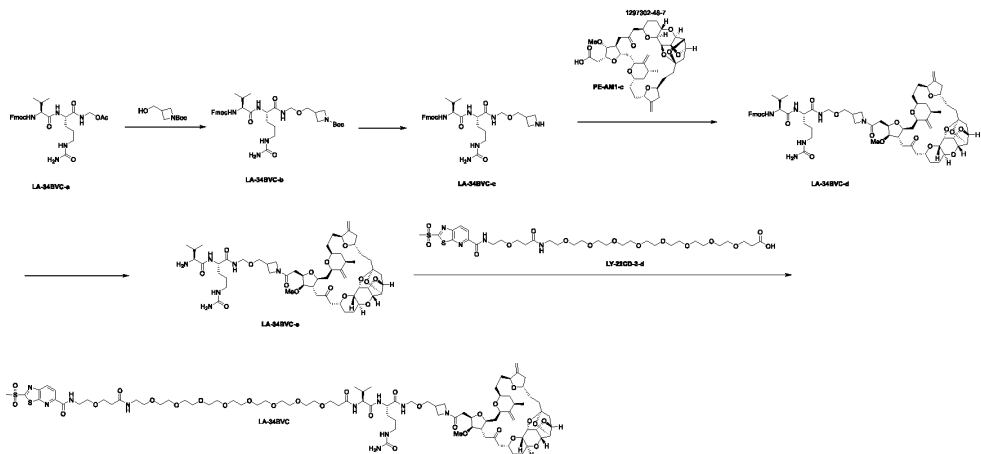
0°C下, 向化合物 LA-34B-2C-B-f (22 mg, 19.53  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 LA-34B-2C-B-a (12 mg, 17.58  $\mu\text{mol}$ , 0.9 eq) 的 DMF (1.5 mL) 溶液中, 加入 HOBt (6.60 mg, 48.83  $\mu\text{mol}$ , 2.5 eq) 和 EDCI (5.67 mg, 29.30  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq), 后于 25°C下搅拌  
10 反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 过滤送高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% $\text{HCOOH}$ ) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30%到 50%洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物 LA-34B-2C-B (3.1 mg, 和小试合并, 收率: 7%)。

LCMS :  $m/z$  = 1810 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ;  $R_t$  = 1.797 min。

15  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  9.11 (t,  $J$  = 5.6 Hz, 1H), 8.87 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 8.62 (t,  $J$  = 6.8 Hz, 1H), 8.38 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 8.16 (t,  $J$  = 5.8 Hz, 1H), 8.06 (t,  $J$  = 8.4 Hz, 2H), 7.72 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 7.62 (t,  $J$  = 5.8 Hz, 1H), 5.94 (s, 1H), 5.44 – 5.34 (m, 3H), 5.04 (d,  $J$  = 10.6 Hz, 2H), 4.82 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.63 (d,  $J$  = 3.6 Hz, 1H), 4.55 (q,  $J$  = 3.2, 1.6 Hz, 3H), 4.48 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 4.41 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 1H), 4.33 (t,  $J$  = 5.6 Hz, 1H), 4.26 (d,  $J$  = 10.6 Hz, 1H), 4.22 – 4.16 (m, 3H), 4.09 (d,  $J$  = 4.4 Hz, 3H),  
20 3.98 (q,  $J$  = 5.6, 4.6 Hz, 2H), 3.90 (d,  $J$  = 5.6 Hz, 1H), 3.83 – 3.71 (m, 5H), 3.65 (s, 4H), 3.54 (d,  $J$  = 5.4 Hz, 3H), 3.52 – 3.45 (m, 6H), 3.26 (d,  $J$  = 3.0 Hz, 3H), 3.04 (dt,  $J$  = 14.2, 7.0 Hz, 2H), 2.94 (d,  $J$  = 5.6 Hz, 2H), 2.86 – 2.81 (m, 1H), 2.80 – 2.69 (m, 3H), 2.54 (s, 2H), 2.46 – 2.34 (m, 5H), 2.31 – 2.11 (m, 9H), 2.04 – 1.86 (m, 8H), 1.71 – 1.57 (m, 6H),  
25 1.57 – 1.42 (m, 5H), 1.29 (dd,  $J$  = 27.4, 15.0 Hz, 10H), 1.03 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 3H), 0.81 (dd,  $J$  = 14.6, 6.8 Hz, 6H)。

### 实施例 60: 化合物 LA-34BVC 的制备





步骤 1：化合物 LA-34BVC-b 的制备

向化合物 (5S, 8S) -1- (9H-茚-9-基) -5-异丙基-3,6,9-三氧代-8- (3-脲基丙基) -2-氧代-4,7,10-三氮十一烷-11-基乙酸酯 (商购) (200 mg, 0.352 mmol, 1 eq) 和 3- (羟甲基) 氮杂环丁烷-1-甲酸 2-甲基丙-2-基酯 (263.89 mg, 1.409 mmol, 4eq) 的 DMF (5 mL) 和 THF (5 ml) 溶液中加入 TsOH (60.67 mg, 0.352 mmol, 1 eq), 并置于 20℃ 下反应 18 小时, LCMS 显示反应完成, 旋干, 经过 C18 纯化的得到产品 LA-34BVC-b (150 mg, 61.27 %)。

LCMS (ESI): m/z, 695.3[M+H]<sup>+</sup>, Rt=1.676 min。

步骤 2：化合物 LA-34BVC-c 的制备

0℃ 下, 向化合物 LA-34BVC-b (150 mg, 0.054 mmol, 1 eq) 的 DCM (2.5 mL) 溶液中加入 TFA (0.5 ml), 并置于 0 °C 下反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 旋干通过 C18 (含 40% ACN 的 H<sub>2</sub>O) 纯化得 LA-34BVC-b (102.71 mg, 79.99 %)。

LCMS (ESI): m/z, 594.7[M+H]<sup>+</sup>, Rt=1.229 min。

步骤 3: 化合物 LA-34BVC-d 的制备

0℃ 下, 向化合物 LA-34AVC-b (该化合物的合成请参考 LA-34A 合成实施例) (91.59 mg, 0.154 mmol, 1.1 eq) 和化合物 PE-AM1-c (该化合物的合成请参考 PE-AM1 的合成实施例) (100.00 mg, 0.140 mmol, 1 eq) 的 DMF (5 mL) 溶液中加入 DIPEA (54.24 mg, 0.420 mmol, 3 eq) 和 HATU (63.83 mg, 0.168 mmol, 1.2 eq), 加完后反应在 20 °C 反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液过滤后通过 C18 (水和乙腈, 乙腈的洗脱比例从 50%到 80%洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 LA-34BVC- d (144.54 mg, 收率 80.03%)。

LCMS (ESI): m/z, 1291.9[M+H]<sup>+</sup>, Rt=1.657 min。

步骤 4：化合物 LA-34BVC-e 的制备

0℃ 下, 向化合物 LA-34BVC-a (70 mg, 0.054 mmol, 1 eq) 的 DMF (3 mL) 溶液中加入 DEA (20 mg, 0.271 mmol, 1.5 eq), 并置于 20 °C 下反应 1 小时,



LCMS 显示反应完成，旋干得到粗产品 LA-34BVC-b 100 mg（粗品不计收率），直接用于下一步。

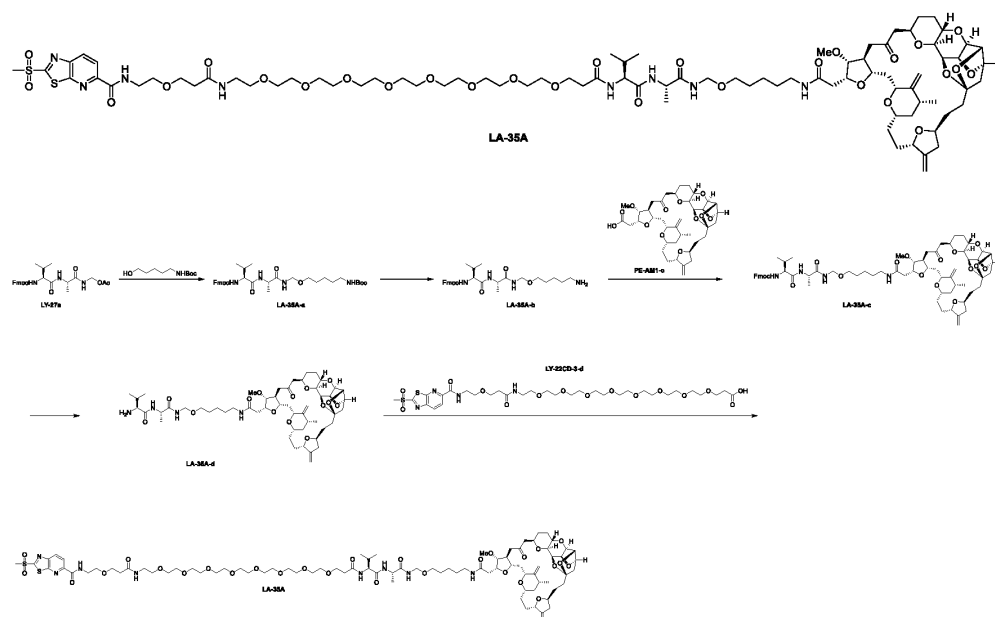
LCMS (ESI):  $m/z$ , 1069.1[M+H]<sup>+</sup>,  $R_t$ =1.266 min。

步骤 5: 化合物 LA-34BVC 的制备

- 5        0°C 下，向化合物 LA-34BVC-b（100 mg，0.094 mmol，1 eq）和化合物 LY-22CD-3-d（该化合物的合成请参考专利申请 WO2024175069A1）（89.43 mg，0.112 mmol，1.2 eq）的 DMF（3 mL）溶液中加入 DIPEA（0.031 mL，0.187 mmol，2 eq）和 HATU（42.67 mg，0.112 mmol，1.2 eq），加完后反应在 20°C 反应 1 小时，LCMS 显示反应完成，反应液过滤后通过高效液相色谱制备（制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×30mm×10μm。流动相水（0.225%FA）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 20%到 50%洗脱）纯化，经冻干得到白色固体化合物 LA-34BVC（16.46 mg，收率 9.26%，纯度 92.35%）。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1848.1[M+H]<sup>+</sup>,  $R_t$ =1.358 min。

## 15        实施例 61: 化合物 LA-35A 的制备



步骤 1: 化合物 LA-35A-a 的制备

- 20        向化合物 LY-27a（300 mg，622.99 μmol，1 eq）和 5-（N-叔丁氧羰基氨基）-1-戊醇（258.45 mg，1.25 mmol，2 eq）的四氢呋喃（10 mL）溶液中加入对甲苯磺酸（108.36 mg，622.99 μmol，1 eq），加毕，反应液在 30°C 下搅拌 1 小时，LCMS 显示原料反应完全，反应液浓缩后通过硅胶柱层析色谱法（C18，ISCO，R-120g SepaFlash Silica Flash Column，Eluent of 10-65% water（0.225%FA）/CH<sub>3</sub>CN，60 mL/min）纯化，经冻干得到白色固体化合物 LA-35A-a（222 mg，收率 57.04%，

纯度 97.76%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 647.3[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 2: 化合物 LA-35A-b 的制备

0°C下向化合物 LA-35A-a (222 mg, 355.33  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的二氯甲烷 (10 mL)  
5 溶液中加入三氟乙酸 (3.27 g, 99%, 2.13 mL, 28.43 mmol, 80 eq), 加毕, 反应液在 0°C下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全, 反应液浓缩后通过硅胶柱层析色谱法 (C18, ISCO, R-40g SepaFlash Silica Flash Column, Eluent of 5-40% water (0.225%FA) /CH<sub>3</sub>CN, 40mL/min) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 LA-35A-b (132 mg, 收率 70.81%, 纯度 93.11%)。

10 LCMS (ESI):  $m/z$ , 525.3[M+H]<sup>+</sup>, 547.3[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 3: 化合物 LA-35A-c 的制备

向化合物 LA-35A-b (18.35 mg, 34.97  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 PE-AM1-c (该化合物的合成请参考 PE-AM1 的制备例, 25 mg, 34.97  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (0.5 mL) 溶液中加入 DIPEA (13.70 mg, 99%, 17.51  $\mu\text{L}$ , 104.92  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和 HATU (16.45  
15 mg, 97%, 41.97  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 并置于 25°C下搅拌 1 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液过滤后通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Synergi Max-RP 200×30mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225%HCOOH) -乙腈, 乙腈的洗脱比例从 50%到 80%洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 LA-35A-c (27 mg, 收率 63.20%, 纯度 90.13%)。

20 LCMS (ESI):  $m/z$ , 1221.6[M+H]<sup>+</sup>, 1243.5[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 4: 化合物 LA-35A-d 的制备

向化合物 LA-35A-c (27 mg, 22.10  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (0.5 mL) 溶液中加入二乙胺 (8.17 mg, 110.52  $\mu\text{mol}$ , 5 eq), 并置于 25°C下搅拌 1 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液浓缩后得到白色油状化合物 LA-35A-d (22 mg, 收率 99.60%)。

25 LCMS (ESI):  $m/z$ , 999.7[M+H]<sup>+</sup>, 1021.8[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 5: 化合物 LA-35A 的制备

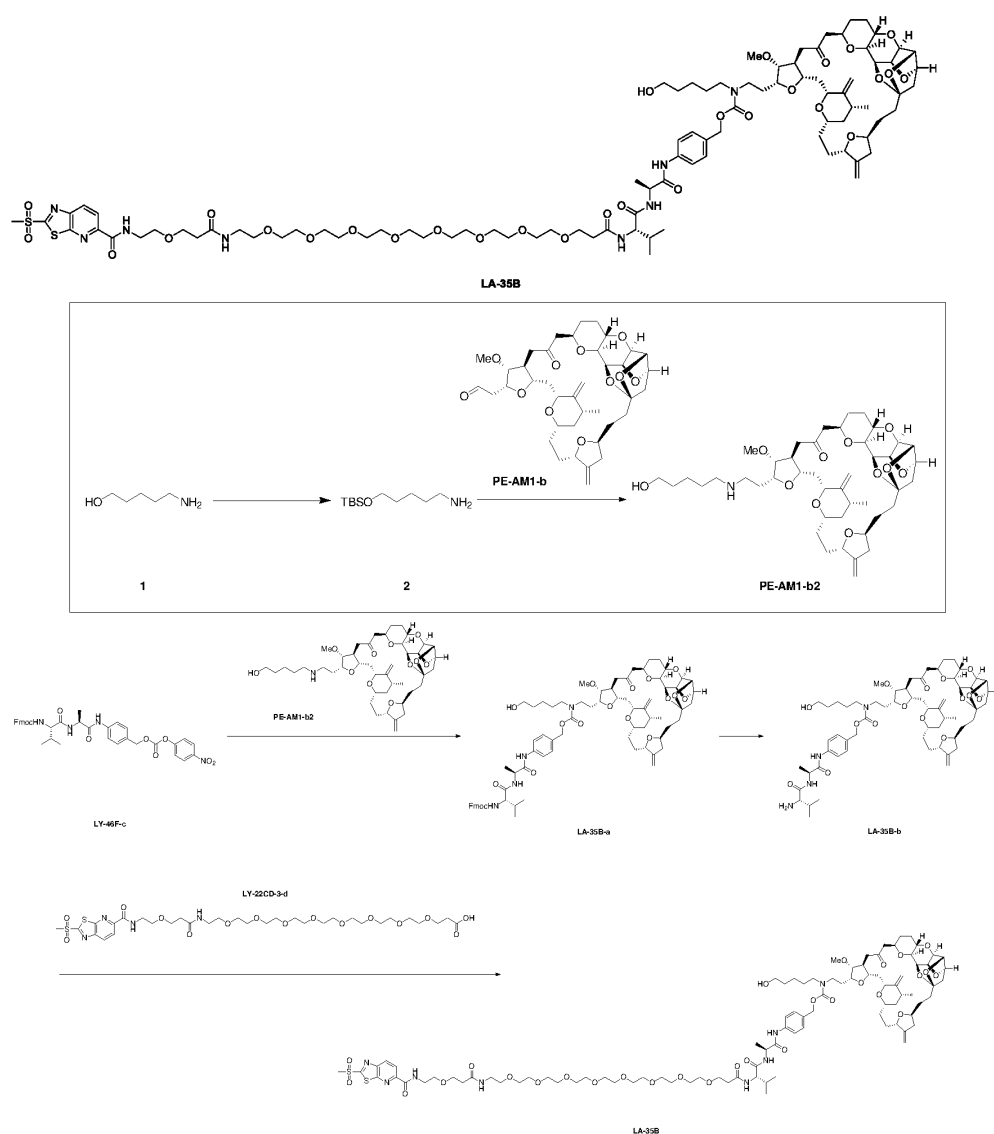
向化合物 LA-35A-d (22 mg, 22.02  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和化合物 LY-22CD-3-d (17.54 mg, 22.02  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 DIPEA (8.62 mg, 66.05  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和 HATU (10.36 mg, 26.42  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 并置于 25°C下搅拌 1 小时, LCMS  
30 显示反应完成, 反应液过滤后通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 150×25mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225%HCOOH) -乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 LA-35A (9.47 mg, 收率 24.19%, 纯度 96.65%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1778.8[M+H]<sup>+</sup>, 890.5[(M+2)/2]<sup>+</sup>。

35 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  9.06 (t,  $J$  = 5.7 Hz, 1H), 8.87 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 8.53 (t,  $J$  = 6.6 Hz, 1H), 8.38 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 8.04 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 1H), 7.93 – 7.82

(m, 2H), 7.78 (t,  $J = 5.6$  Hz, 1H), 5.03 (d,  $J = 14.9$  Hz, 2H), 4.78 (d,  $J = 25.2$  Hz, 2H), 4.63 (d,  $J = 4.9$  Hz, 1H), 4.57 – 4.44 (m, 3H), 4.29-4.14 (m, 4H), 4.09 (d,  $J = 4.7$  Hz, 3H), 4.00 (t,  $J = 5.1$  Hz, 2H), 3.79 (t,  $J = 10.6$  Hz, 1H), 3.69 (m, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.62 (t,  $J = 6.4$  Hz, 2H), 3.58 (t,  $J = 6.7$  Hz, 2H), 3.53 (d,  $J = 5.2$  Hz, 3H), 3.51-3.46 (m, 30H), 3.37 (t,  $J = 5.9$  Hz, 2H), 3.31-3.28 (m, 3H), 3.25 (s, 3H), 3.18 (q,  $J = 5.8$  Hz, 2H), 2.99 (dp,  $J = 19.8, 6.4$  Hz, 2H), 2.86-2.71 (m, 3H), 2.61-2.52 (m, 1H), 2.48-2.37 (m, 3H), 2.33 (t,  $J = 6.3$  Hz, 5H), 2.26 (d,  $J = 10.8$  Hz, 3H), 2.20 (s, 1H), 2.12 (t,  $J = 12.1$  Hz, 1H), 2.06-1.95 (m, 2H), 1.95-1.85 (m, 5H), 1.67 (q,  $J = 11.6, 11.1$  Hz, 4H), 1.52 (dd,  $J = 12.8, 5.5$  Hz, 1H), 1.48-1.40 (m, 3H), 1.34 (p,  $J = 6.7, 5.9$  Hz, 4H), 1.22 (dd,  $J = 13.6, 6.6$  Hz, 7H), 1.00 (dd,  $J = 22.3, 9.2$  Hz, 4H), 0.82 (dd,  $J = 13.3, 6.8$  Hz, 6H)。

### 实施例 62: 化合物 LA-35B 的制备



步骤 1: 化合物 5-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)戊烷-1-胺的制备

将化合物 5-氨基戊烷-1-醇 (500 mg, 95%, 506.59  $\mu\text{L}$ , 4.60 mmol, 1 eq) 溶于 DCM (20 mL), 加入咪唑 (791.60 mg, 99%, 712.44  $\mu\text{L}$ , 11.51 mmol, 2.5 eq), 0°C 下, 加入 TBSCl (779.92 mg, 97.88%, 877.46  $\mu\text{L}$ , 5.06 mmol, 1.1 eq), 在 25°C 下搅拌 3 小时。TLC 显示有新点生成。反应液经硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: DCM:MeOH=10:1, 磷钼酸显色) 纯化, 得黄色油状产物 1 g, 收率 94.89%。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, Chloroform- $d$ )  $\delta$  3.55 (t,  $J$  = 6.4 Hz, 2H), 2.78 (dd,  $J$  = 8.2, 6.7 Hz, 2H), 1.57 (p,  $J$  = 7.6 Hz, 2H), 1.52-1.42 (m, 2H), 1.39-1.25 (m, 2H), 0.84 (s, 9H), 0.40-0.00 (s, 6H)。

步骤 2: 化合物 PE-AM1-b2 的制备

将化合物 PE-AM1-b (该化合物的合成请参考 PE-AM1 的制备例, 50 mg, 71.55  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DCE (3 mL), 加入 5-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)戊烷-1-胺 (31.11 mg, 143.09  $\mu\text{mol}$ , 2 eq) 和 AcOH (4.32 mg, 99.5%, 4.10  $\mu\text{L}$ , 71.55  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 在 25°C 下搅拌 20 分钟, 然后加入醋酸硼氢化钠 (30.95 mg, 143.09  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 在 25°C 下搅拌 40 分钟。LCMS 显示目标产物。反应液通过高效液相色谱制备, 得白色固体产物 (20 mg, 收率 35.56%)。

高效液相色谱制备条件如下:

制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250 $\times$ 50mm $\times$ 7 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d^6$ )  $\delta$  8.33 (s, 1H), 5.03 (s, 1H), 4.96 (s, 1H), 4.81 (s, 1H), 4.73 (s, 1H), 4.61 (dt,  $J$  = 4.5, 2.7 Hz, 1H), 4.53 (t,  $J$  = 4.2 Hz, 1H), 4.24 (d,  $J$  = 10.8 Hz, 1H), 4.19-3.96 (m, 6H), 3.78 (t,  $J$  = 10.3 Hz, 2H), 3.67 (s, 4H), 3.57-3.46 (m, 9H), 3.25 (s, 3H), 2.82 (dd,  $J$  = 9.6, 1.9 Hz, 1H), 2.78-2.60 (m, 7H), 2.54 (dd,  $J$  = 16.3, 9.7 Hz, 1H), 2.34-2.06 (m, 7H), 2.02-1.83 (m, 6H), 1.81-1.55 (m, 6H), 1.54-1.36 (m, 6H), 1.34-1.09 (m, 7H), 0.98 (dd,  $J$  = 23.4, 9.1 Hz, 4H), 0.84 (s, 5H), 0.01 (s, 3H)。

步骤 3: 化合物 LA-35B-a 的制备

将化合物 LY-46F-c (14.93 mg, 87%, 19.08  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DMF (1 mL) 中, 加入 PE-AM1-b2 (15 mg, 19.08  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 DIPEA (4.98 mg, 99%, 6.31  $\mu\text{L}$ , 38.17  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 反应液在 25°C 下搅拌 2 小时。LCMS 显示有产物生成。反应液通过高效液相色谱制备, 得白色固体产物 (5 mg, 收率 19.74%)。

高效液相色谱制备条件如下:

制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250 $\times$ 50mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 50% 到 80% 洗脱。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1349.7  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

步骤 4: 化合物 LA-35B-b 的制备

向化合物 LA-35B-a (5 mg, 3.77  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DMF (1 mL), 加入  $\text{Et}_2\text{NH}$  (1.38 mg, 18.83  $\mu\text{mol}$ , 5 eq), 25°C 下搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完全。反应液直接旋干, 用于下一步。

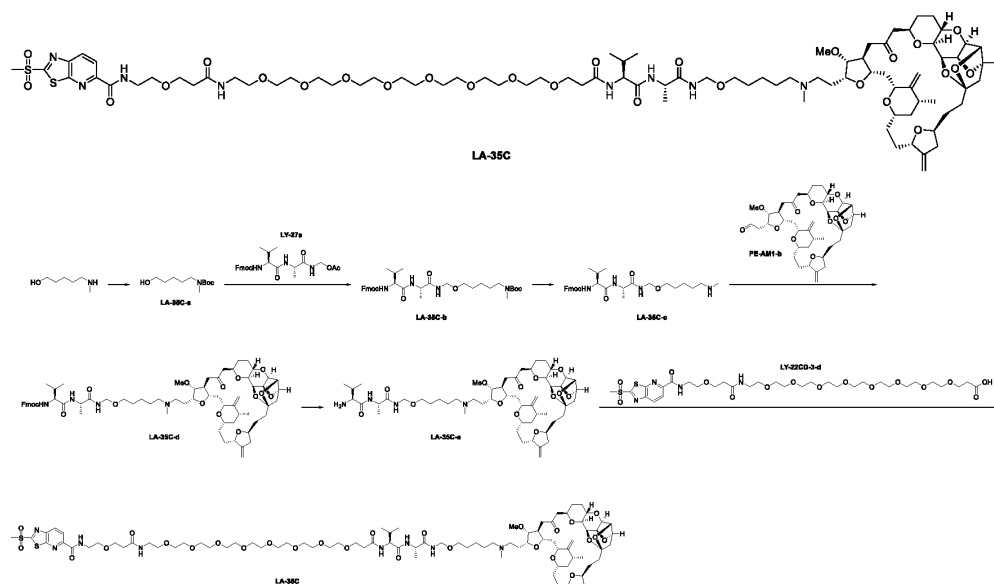
LCMS (ESI):  $m/z$ , 1105.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

#### 5 步骤 5: 化合物 LA-35B 的制备

将 LA-35B-b (4 mg, 3.62  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DMF (1 mL), 加入 LY-22CD-3-d (2.88 mg, 3.62  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 DIPEA (944.80  $\mu\text{g}$ , 7.24  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 然后加入 HATU (1.65 mg, 4.34  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 反应液在 25°C 下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全。反应液与另一个四分之一规模的小试合并, 通过高效液相色谱制备, 得白色固体产物 (4.22 mg, 收率 45.09%, 纯度 97%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1905.9 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

### 实施例 63: 化合物 LA-35C 的制备



15

#### 步骤 1: 化合物 LA-35C-a 的制备

向化合物 5-甲胺基戊醇 (245 mg, 1.99 mmol, 1 eq) 的 MeOH (5 mL) 溶液中加入化合物  $(\text{Boc})_2\text{O}$  (486.54 mg, 2.18 mmol, 1.1 eq), 反应液在室温下搅拌过夜。TLC 显示反应完成。反应液减压旋干, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 乙酸乙酯/石油醚 0:1 到 1:2 纯化) 纯化, 得到无色油状产物 LA-35C-a (352 mg, 收率 81.56%)。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  4.35 (t,  $J = 5.2$  Hz, 1H), 3.41-3.34 (m, 2H), 3.33 (s, 3H), 3.12 (t,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 1.47-1.39 (m, 4H), 1.39-1.37 (m, 9H), 1.27-1.17 (m, 2H)。

#### 25 步骤 2: 化合物 LA-35C-b 的制备

向化合物 LA-35C-a (352 mg, 1.62 mmol, 2 eq) 和 LY-27a (390.01 mg, 809.90  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 THF (5mL) 溶液中加入 TsOH (140.87 mg, 809.90  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 反应在 35°C 下搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完成。反应液通过硅胶柱层析色谱法 (C18, ISCO, R-120g SepaFlash Silica Flash Column, Eluent of 10-65% water (0.225%FA) /CH<sub>3</sub>CN, 100 mL/min) 纯化得到白色固体产物 LA-35C-b (517 mg, 粗品不计收率)。LCMS (ESI): m/z, 661.3[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 3: 化合物 LA-35C-c 的制备

0°C 下向化合物 LA-35C-b (517 mg, 粗品) 的 DCM (20 mL) 溶液中加入 TFA (4mL), 反应在室温条件下搅拌 1 小时。LCMS 显示反应完成。反应液减压旋干, 残余物通过硅胶柱层析 (C18, ISCO, R-120g SepaFlash Silica Flash Column, Eluent of 5-40% water (0.225%FA) /CH<sub>3</sub>CN, 100 mL/min) 纯化, 得到白色固体产物 LA-35C-c (158.80 mg, 收率 36.42%)。LCMS (ESI): m/z, 539.3[M+H]<sup>+</sup>。

步骤 4: 化合物 LA-35C-d 的制备

向化合物 LA-35C-c (15.42 mg, 28.62  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 PE-AM1-b (20 mg, 28.62  $\mu\text{mol}$ , 1 eq, 其合成参考 PE-AM1 的制备例) 的 DCE (5 mL) 溶液中加入醋酸 (73.45 mg, 57.24  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 反应在室温下搅拌 20 分钟, 向反应液中加入醋酸硼氢化钠 (12.38 mg, 57.24  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 反应在室温下搅拌 40 分钟。LCMS 显示反应完成。反应液减压旋干。混合物通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Synergi Max-RP 250×40mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225%HCOOH) -乙腈, 乙腈的洗脱比例从 50%到 80%洗脱), 得到白色固体产物 LA-35C-d (13.60 mg, 收率 38.90%)。LCMS (ESI): m/z, 1221.6[M+H]<sup>+</sup>。

步骤 5: 化合物 LA-35C-e 的制备

向化合物 LA-35C-d (13.60 mg, 11.13  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (2mL) 溶液中加入二乙胺 (4.11 mg, 55.67  $\mu\text{mol}$ , 5 eq), 反应在 20°C 下搅拌 1 小时。LCMS 显示反应完成。反应液减压旋干, 得到无色油状产物 LA-35C-e (11.13 mg, 粗品不计收率)。LCMS (ESI): m/z, 999.8[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 6: 化合物 LA-35C 的制备

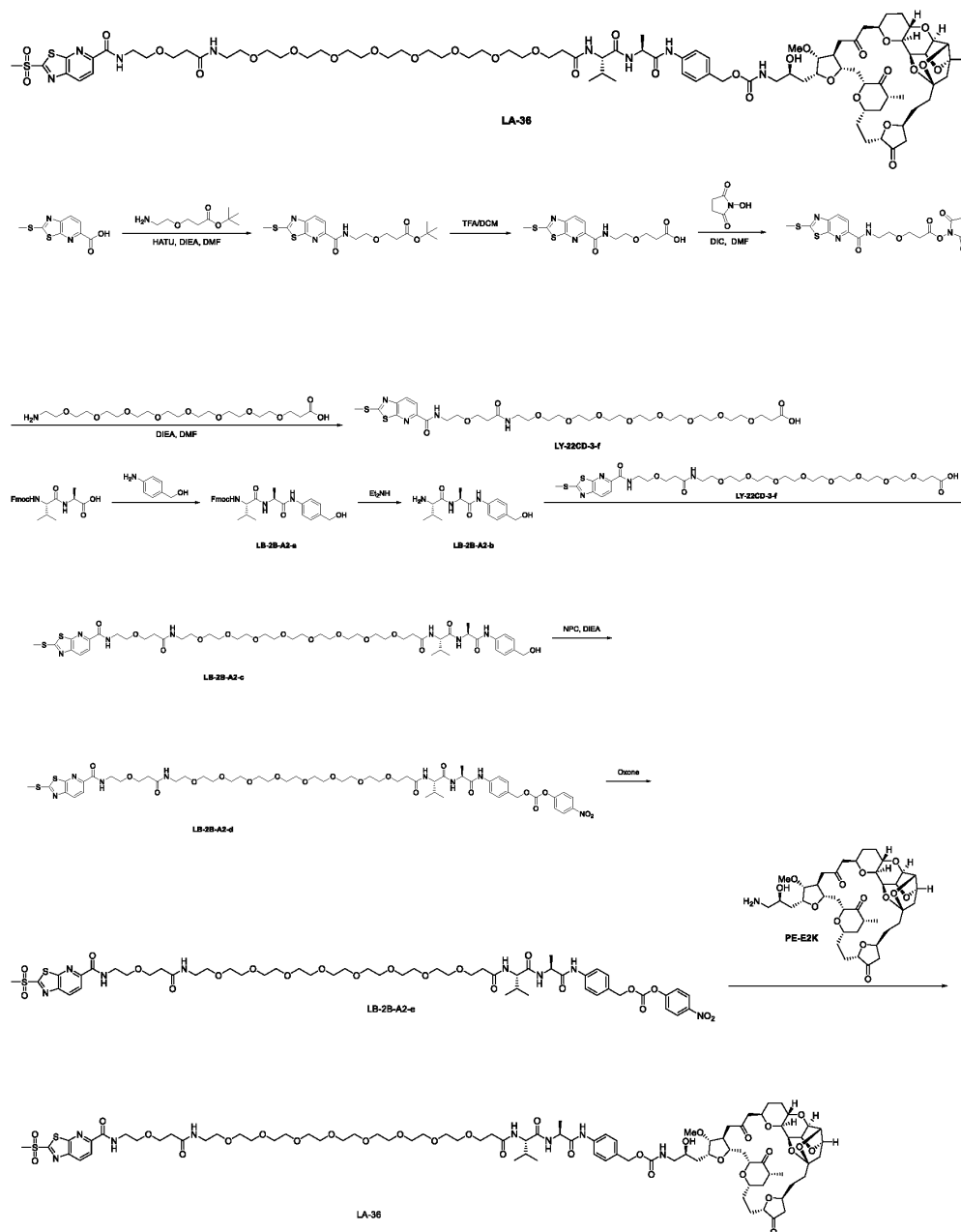
向化合物 LA-35C-e (11.13 mg, 粗品) 和 LY-22CD-3-d (8.88 mg, 11.14  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入 DIPEA (4.36 mg, 33.41  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和 HATU (4.24 mg, 11.14  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 反应在室温下搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完成。反应液通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860-R1。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×30mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.1%TFA-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱), 得到白色固体产物 LA-35C (8.30 mg, 收率 41.17%)。LCMS (ESI): m/z, 1778.8[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  9.09-8.96 (m, 2H), 8.87 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.58-8.50 (m, 1H), 8.38 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.03 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.94-7.82 (m, 2H),

5.01 (d,  $J = 33.2$  Hz, 3H), 4.78 (d,  $J = 18.0$  Hz, 2H), 4.67-4.61 (m, 1H), 4.59-4.43 (m, 3H), 4.30-3.98 (m, 8H), 3.84-3.43 (m, 37H), 3.40-3.36 (m, 3H), 3.31-2.94 (m, 13H), 2.90-2.68 (m, 6H), 2.61-2.54 (m, 1H), 2.47-2.06 (m, 12H), 2.04-1.78 (m, 9H), 1.75-1.40 (m, 10H), 1.38-1.14 (m, 9H), 1.06-0.92 (m, 4H), 0.87-0.79 (m, 5H)。

5

### 实施例 64: 化合物 LA-36 的制备



10

### 步骤 1: 化合物 LB-2B-A2-a 的制备

0℃下向化合物 Fmoc-Val-Ala-OH (1.03 g, 2.44 mmol, 1 eq) 和对氨基苯甲醇 (618.62 mg, 4.87 mmol, 2 eq) 的二氯甲烷 (30 mL) 和甲醇 (15 mL) 的混合溶

液中加入 EEDQ (1.27 g, 4.87 mmol, 2 eq), 并置于 40°C 下搅拌 2 小时, LCMS 显示原料反应完全。浓缩后残余物用 (石油醚: 乙酸乙酯=2: 1, 90 mL) 打浆, 过滤后滤饼为白色固体的 LB-2B-A2-a (1.01 g, 收率 80.40%)。

LCMS (ESI): m/z, 516[M+H]<sup>+</sup>, Rt=1.673 min。

5 步骤 2: LB-2B-A2-b 的制备

向化合物 LB-2B-A2-a (145 mg, 281.23 μmol, 1 eq) 的 DMF (3 mL) 溶液中加入 Et<sub>2</sub>NH (146.31 μL, 1.41 mmol, 5 eq), 25°C 反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 浓缩得到淡黄色固体的 LB-2B-A2-b (82.50 mg, 粗品不计产率), 直接用于下一步。

10 LCMS (ESI): m/z, 294[M+H]<sup>+</sup>, Rt=0.265 min。

步骤 3: 化合物 LB-2B-A2-c 的制备

化合物 LY-22CD-3-f 的制备

0°C 下向 2- (甲硫基) 噻唑并[5,4-b]吡啶-5-羧酸 (该化合物的合成请参考 LY-22CD-3-d 的制备例) (500 mg, 2.21 mmol, 1 eq) 和 3- (2-氨基乙氧基) 丙酸叔丁酯 (418.20 mg, 2.21 mmol, 1 eq) 的 DMF 溶液 (7 mL) 中加入 DIPEA (571.18 mg, 730.40 μL, 4.42 mmol, 2 eq), 然后加入 HATU (1.01 g, 2.65 mmol, 1.2 eq), 20°C 下搅拌 2 小时。LCMS 显示原料几乎反应完全。反应液倒入乙酸乙酯/水/冰 (1V/1V/1V, 100 mL) 的溶液中, 然后分液, 水相用 EA (50 mL × 2) 萃取 2 次, 有机相合并, 经过水 (50 mL × 2), 食盐水 (50 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 经过滤后得到滤液, 滤液减压浓缩后得到粗品。粗品通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 二氯甲烷/甲醇=20:1) 纯化, 得到化合物 3- (2- (2- (甲硫基) 噻唑并[5,4-b]吡啶-5-甲酰胺基) 乙氧基) 丙酸叔丁酯 (800 mg, 粗品, 收率 77.41%, 纯度 85%)。

LCMS (ESI): m/z, 420.2[M+Na]<sup>+</sup>。

1H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 8.27 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.13 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 3.74 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 3.70-3.64 (m, 4H), 2.82 (s, 3H), 2.52 (t, J = 6.3 Hz, 2H), 1.45 (s, 9H)。

0°C 下向化合物 3- (2- (2- (甲硫基) 噻唑并[5,4-b]吡啶-5-甲酰胺基) 乙氧基) 丙酸叔丁酯 (800 mg, 85%, 1.71 mmol, 1 eq) 的 DCM (10 mL) 溶液中加入 TFA (2.5 mL), 加毕, 25°C 下搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完全。将反应液浓缩得到黄色油状化合物 3- (2- (2- (甲硫基) 噻唑并[5,4-b]吡啶-5-甲酰胺) 乙氧基) 丙酸 (590 mg, 粗品)。

LCMS (ESI): m/z, 342[M+H]<sup>+</sup>。

室温下向化合物 3- (2- (2- (甲硫基) 噻唑并[5,4-b]吡啶-5-甲酰胺) 乙氧基) 丙酸 (590 mg, 1.73 mmol, 1 eq), NHS (1.19 g, 745.86 μL, 10.37 mmol, 6 eq), 的 DMF (8 mL) 溶液中加入 DIC (1.31 g, 1.62 mL, 10.37 mmol, 6 eq), 反应液在 50°C 下搅拌 2 小时, LCMS 显示原料反应完全。反应液倒入乙酸乙酯/水/冰



(1V/1V/1V, 100 mL) 的溶液中, 然后分液, 水相用 EA (50 mL × 2) 萃取 2 次, 有机相合并, 经过水 (50 mL × 2), 食盐水 (50 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 经过滤后得到滤液, 滤液减压浓缩后得到粗品。粗品通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 二氯甲烷/甲醇=20:1) 纯化, 得到化合物 2,5-二氧化吡咯烷-1-基-3-(2-(甲硫基)噻唑[5,4-b]吡啶-5-甲酰胺基)乙氧基)丙酸酯 (1.47 g, 粗品, 收率 97%, 纯度 50%, 含有 DIC 的代谢物, 不影响后续反应)

LCMS (ESI): m/z, 439.2[M+H]<sup>+</sup>。

0°C 下向化合物 2,5-二氧化吡咯烷-1-基-3-(2-(甲硫基)噻唑[5,4-b]吡啶-5-甲酰胺基)乙氧基)丙酸酯 (198.63 mg, 50%, 226.50 μmol, 1 eq) 和化合物 27-氨基-4,7,10,13,16,19,22,25-八氧杂二十七烷酸 (185 mg, 168.18 μL, 419.03 μmol, 1.85 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入 DIPEA (117.09 mg, 149.73 μL, 906 μmol, 4 eq), 加毕 20°C 下搅拌 2 小时, LCMS 显示原料反应完全。反应液通过硅胶柱层析色谱法 (C18) (洗脱剂: 水/CH<sub>3</sub>CN=60%/40%) 纯化, 经冻干, 得到黄色油状化合物 LY-22CD-3-f (135 mg, 收率 77.92%)。

LCMS (ESI): m/z, 765.5[M+H]<sup>+</sup>。

0°C 下向化合物 LB-2B-A2-b (82.50 mg, 281.22 μmol, 1.1 eq) 和化合物 LY-22CD-3-f (226.47 mg, 296.08 μmol, 0.9 eq) 的 DMF (5 mL) 溶液中加入 DIPEA (85.36 μL, 511.32 μmol, 2 eq.) 和 HATU (116.65 mg, 306.79 μmol, 1.2 eq.), 置于室温反应 1 小时, LCMS 显示反应完成, 残留物通过硅胶柱层析色谱法 (C18) (ISCO, R-330g SepaFlash Silica Flash Column, Eluent of 5-40% H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN, 100 mL/min) 纯化 (中压) 得到黄色油状的 LB-2B-A2-c (236.60 mg, 收率 71.17%, 纯度 80%)

LCMS (ESI): m/z, 1040[M+H]<sup>+</sup>, Rt=1.530 min。

步骤 4: 化合物 LB-2B-A2-d 的制备

向化合物 LB-2B-A2-c (236.60 mg, 181.95 μmol, 1 eq) 的 DMF (6 mL) 溶液中加入 DIPEA (182.25 μL, 1.09 mmol, 6 eq) 和 NPC (228.26 mg, 727.82 μmol, 4 eq), 并置于 35°C 下搅拌 2 小时, 油泵浓缩溶液, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 乙酸乙酯/石油醚=0-35%, 甲醇/二氯甲烷=0-10%) 纯化得淡黄色油状的 LB-2B-A2-d (212.60 mg, Yield: 96.94%)。

LCMS (ESI): m/z, 1205[M+H]<sup>+</sup>, Rt=2.252 min。

步骤 5: 化合物 LB-2B-A2-e 的制备

0°C 下, 向化合物 LB-2B-A2-d (212.60 mg, 176.38 μmol, 1 eq) 的 THF (5 mL) 和 H<sub>2</sub>O (5 mL) 溶液中加入 Oxone (1.21 g, 7.06 mmol, 40 eq), 25°C 下搅拌过夜, LCMS 显示原料反应完全。过滤后浓缩加入水 (5 mL) 和二氯甲烷 (5 mL), 水相用二氯甲烷 (5 mL) 萃取三次, 合并有机相用饱和食盐水 (10 mL) 洗 1 次, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩后通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 甲醇 /二氯甲烷

=0-10%) 纯化得黄色油状的 LB-2B-A2-e (175.50 mg, 收率 80.41%)。

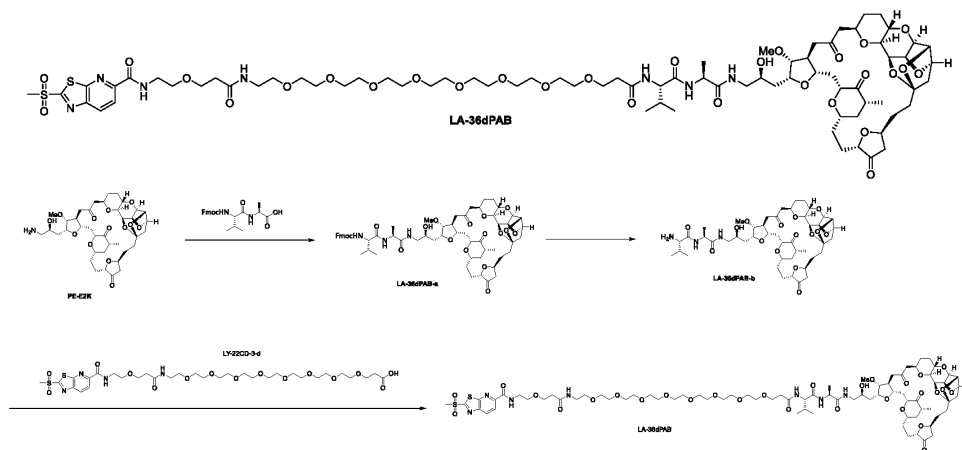
LCMS (ESI):  $m/z$ , 1237[M+H]<sup>+</sup>,  $R_t$ =2.004 min。

步骤 6: 化合物 LA-36 的制备

0°C下向化合物 PE-E2K (10.75 mg, 14.65  $\mu$ mol, 1 eq) 和 LB-2B-A2-e (12 mg, 9.70  $\mu$ mol, 0.66 eq) 的 DMF (2mL) 溶液中加入 DIPEA (7.65 mg, 58.60  $\mu$ mol, 4 eq) 和 HOBt (2 mg, 14.65  $\mu$ mol, 1 eq), 反应液在室温下搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完成。反应液减压旋干。混合物通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×30mm×10 $\mu$ m。流动相水 (0.225%FA) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 20%到 50%洗脱), 得到白色固体产物 LA-36 (11.50 mg, 收率 42.85%)。LCMS (ESI):  $m/z$ , 1832.6[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  9.91 (s, 1H), 9.05 (t,  $J$  = 5.6 Hz, 1H), 8.87 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 1H), 8.38 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 1H), 8.17 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 1H), 7.92-7.84 (m, 2H), 7.60-7.53 (m, 2H), 7.32-7.25 (m, 2H), 7.08 (t,  $J$  = 5.6 Hz, 1H), 4.93 (d,  $J$  = 2.4 Hz, 2H), 4.64 (t,  $J$  = 4.4 Hz, 1H), 4.56 (t,  $J$  = 3.6 Hz, 2H), 4.44-4.34 (m, 2H), 4.25-4.06 (m, 5H), 3.89-3.71 (m, 5H), 3.67-3.57 (m, 6H), 3.56-3.43 (m, 25H), 3.37 (t,  $J$  = 6.0 Hz, 3H), 3.29-3.13 (m, 8H), 2.96 (t,  $J$  = 6.0 Hz, 2H), 2.89-2.70 (m, 4H), 2.69-2.53 (m, 3H), 2.46-2.29 (m, 8H), 2.28-1.87 (m, 11H), 1.83-1.37 (m, 13H), 1.35-1.10 (m, 6H), 1.01-0.80 (m, 8H)。

## 20 实施例 65: 化合物 LA-36dPAB 的制备



步骤 1: 化合物 LA-36dPAB 的制备

室温下向化合物 LA-36dPAB-a (13 mg, 82% 纯度, 0.012 mmol, 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入二乙胺 (0.012 mL, 0.120 mmol, 10 eq) 并置于 25 °C下搅拌 15 分钟, LCMS 显示原料反应完全。反应液经减压浓缩, 得黄色油状粗品 LA-36dPAB-b。不经纯化直接用于下一步。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 903.9 [(M+H)]<sup>+</sup>。

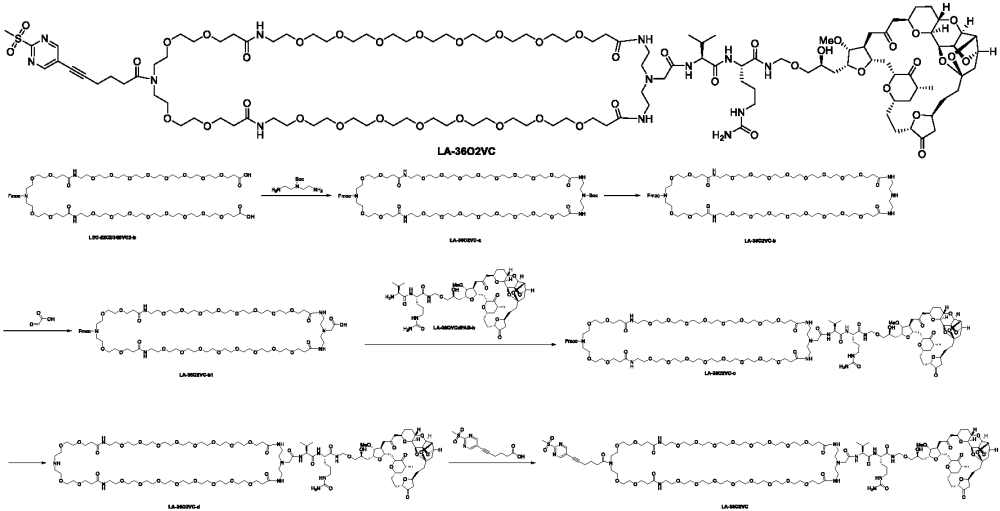
步骤 2: 化合物 LA-36dPAB 的制备

0℃下向化合物 LA-36dPAB-b (10.0 mg, 0.011 mmol, 1.0 eq) 和 LY-22CD-3-d (该化合物的合成请参阅专利申请 WO2024175069A1 的实施例) (9.70 mg, 0.012 mmol, 1.1 eq) 的 DMF (1.0 mL) 溶液中加入 DIEA (3 mg, 0.022 mmol, 2 eq) 和 HATU (4.2 mg, 0.011 mmol, 1.0 eq), 并置于 25 °C 下搅 30 分钟, LCMS 显示原料反应完全。反应液通过 Prep-HPLC 纯化, 流动相水 (0.1%TFA) -乙腈, 乙腈的洗脱比例从 25%到 55%, 洗脱纯化得到白色固体产物 LA-36dPAB (4.21 mg, 收率 22.39%)。

LCMS (ESI): m/z, 1682.6 [(M+H)]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.05 (s, 1H), 8.87 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 8.38 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.95 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.88 (dd, *J* = 16.4, 7.2 Hz, 2H), 7.72 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 4.60 (d, *J* = 32.8 Hz, 3H), 4.26 (s, 4H), 4.19 – 4.08 (m, 7H), 3.76 (dd, *J* = 18.4, 6.0 Hz, 9H), 3.66 – 3.50 (m, 29H), 3.26 – 3.15 (m, 9H), 3.09 – 2.62 (m, 9H), 2.32 (dd, *J* = 12.4, 5.6 Hz, 4H), 2.02 – 1.85 (m, 6H), 1.80 – 1.37 (m, 15H), 1.20 (t, *J* = 10.8 Hz, 6H), 0.94 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H), 0.84 – 0.80 (m, 6H)。

实施例 66: 化合物 LA-36O2VC 的制备



步骤 1: 化合物 LA-36O2VC-a 的制备

室温下, 向化合物 LEC-22CD34BVC2-b (484.0 mg, 0.344 mmol, 1.0 eq) 和 双(2-氨基乙基)氨基甲酸酯叔丁酯 (70.0 mg, 0.344 mmol, 1.0 eq) 的 DMF (70.0 mL) 溶液中加入 HATU (261.86 mg, 0.689 mmol, 2.0 eq) 和 DIEA (178 mg, 1.377 mmol, 4.0 eq), 并置于室温搅拌过夜, LCMS 显示反应完全。反应液经减压浓缩得到粗品, 粗品通过 C18 反相色谱纯化 (流动相水 (0.1% TFA) -乙腈, 乙腈的洗脱比例从 5%到 60%洗脱) 纯化得到黄色油状产物 LA-36O2VC-a (360.0 mg, 收率 66.43%)。

LCMS (ESI): m/z, [M]<sup>+</sup> = 1573.9。

## 步骤 2: 化合物 LA-36O2VC-b 的制备

室温下, 向化合物 LA-36O2VC-a (360 mg, 0.229 mmol, 1.0 eq) 的二氯甲烷 (6.0 mL) 溶液中加入 TFA (2 mL), 并置于室温搅拌过夜, LCMS 显示反应完全。反应液经减压浓缩得到粗品, 粗品通过 C18 反相色谱纯化 (流动相水 (0.05% NH<sub>3</sub>) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 5% 到 60% 洗脱) 纯化得到黄色油状产物 LA-36O2VC-b (240.0 mg, 收率 71.20%)。

LCMS (ESI): m/z, [M]<sup>+</sup> = 1573.3。

## 步骤 3 : 化合物 LA-36O2VC-b1 的制备

室温下, 向化合物 LA-36O2VC-b (210 mg, 0.142 mmol, 1.0 eq) 和乙醛酸 (50% 水溶液, 0.162 mL, 10.0 eq) 的乙醇 (14.0 mL) 溶液中加入乙酸 (43 mg, 0.712 mmol, 5.0 eq), 并置于室温搅拌 20 分钟, 随后加入 NaBH<sub>3</sub>CN (89.54 mg, 1.425 mmol, 10.0 eq), 并于室温搅拌过夜。LCMS 显示反应完全。反应液经 C18 反相色谱纯化 (流动相水 (0.1% TFA) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 5% 到 60% 洗脱) 纯化得到黄色油状产物 LA-36O2VC-b1 (130 mg, 收率 59.56%)。

LCMS (ESI): m/z, [M]<sup>+</sup> = 1531.2。

## 步骤 4 : 化合物 LA-36O2VC-c 的制备

室温下, 向化合物 LA-36O2VC-b1 (42.0 mg, 0.027 mmol, 1.0 eq) 和 LA-36OVCDPAB-b (28 mg, 0.027 mmol, 1.0 eq) 的 DMF (1.5 mL) 溶液中加入 HATU (11.48 mg, 0.030 mmol, 1.1 eq) 和 DIEA (11 mg, 0.082 mmol, 3.0 eq), 并置于室温搅拌过夜, LCMS 显示反应完全。反应液通过高效液相色谱制备 (型号 JB-C235-04, 色谱柱为 Bonnasil-BS C18, 20×250 mm ×8μm, 流动相水 (0.1% TFA) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 20% 到 60% 洗脱) 纯化得到白色固体产物 LA-36O2VC-c (17.0 mg, 收率 24.44%)。

LCMS (ESI): m/z, [M/2]<sup>+</sup> = 1266.7

## 步骤 5: 化合物 LA-36O2VC-d 的制备

室温下, 向化合物 LA-36O2VC-c (17.0 mg, 0.007 mmol, 1.0 eq) 的 DMF (1.0 mL) 溶液中加入二乙胺 (5 mg, 0.067 mmol, 10.0 eq), 并置于室温搅拌一小时。LCMS 显示反应完全。反应液经减压浓缩得到粗品 (该粗品不计收率), LA-36O2VC-d 粗品不经纯化直接用于下一步。

LCMS (ESI): m/z, [M/2]<sup>+</sup> = 1155.7

## 步骤 6: 化合物 LA-36O2VC 的制备

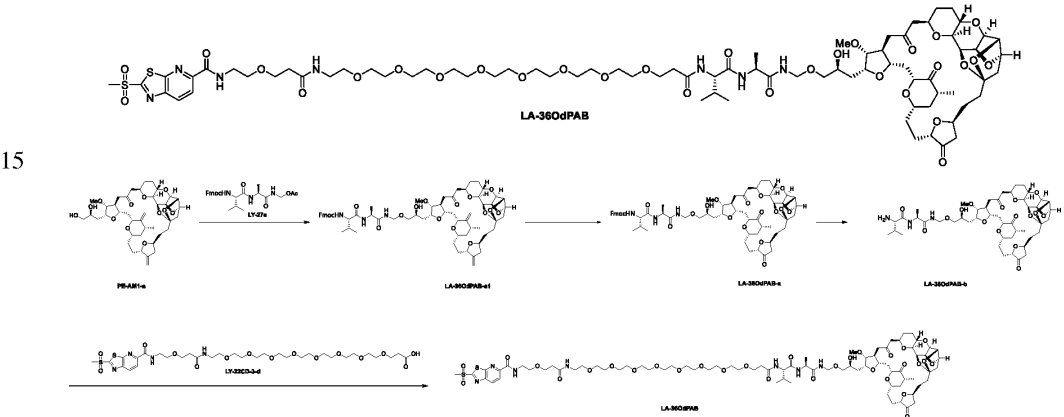
室温下, 向上述 LA-36O2VC-d 粗品和 6-(2-(甲基磺酰基)嘧啶-5-基)己-5-炔酸 (2.25 mg, 0.008 mmol, 1.2 eq) 的 DMF (1.0 mL) 溶液中加入 HATU (3.19 mg, 0.008 mmol, 1.2 eq) 和 DIEA (2.7 mg, 0.021 mmol, 3.0 eq), 并置于室温搅拌 1 小时。LCMS 显示反应完全。反应液通过高效液相色谱制备 (型号 JB-C235-04,

色谱柱为 Bonnasil-BS C18，20×250 mm×8μm，流动相水（0.1% FA）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 30%到 50%洗脱)纯化得到透明胶状颗粒固体产物 LA-36O2VC(7.82 mg，收率 46.61%)。

LCMS (ESI): m/z, [M/2]<sup>+</sup> = 1280.8。

5        <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.11 (s, 2H), 8.62 (t, *J* = 6.5 Hz, 1H), 8.20 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 7.89 – 7.80 (m, 4H), 7.73 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 5.92 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H), 5.38 (s, 2H), 4.65 – 4.52 (m, 4H), 4.49 – 4.37 (m, 2H), 4.29 – 4.20 (m, 2H), 4.17 – 4.09 (m, 4H), 3.88 – 3.74 (m, 5H), 3.59 – 3.39 (m, 99H), 3.25 (s, 3H), 3.21 – 3.16 (m, 6H), 3.14 – 3.05 (m, 5H), 2.97 – 2.92 (m, 2H), 2.88 – 2.83 (m, 2H), 2.78 – 2.72 (m, 1H), 2.57  
10 (d, *J* = 5.8 Hz, 4H), 2.35 – 2.28 (m, 10H), 2.18 – 2.11 (m, 2H), 2.09 – 1.89 (m, 9H), 1.85 – 1.77 (m, 4H), 1.75 – 1.69 (m, 2H), 1.66 – 1.58 (m, 4H), 1.56 – 1.41 (m, 7H), 1.25 (d, *J* = 15.8 Hz, 8H), 0.94 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H), 0.87 – 0.79 (m, 7H)。

**实施例 67：化合物 LA-36OdPAB**



**步骤 1：化合物 LA-36OdPAB-a1 的制备**

将化合物 PE-AM1-a (200 mg, 0.274 mmol, 1 eq) (商购) 溶于 DMF/THF (4 mL /4 mL)，加入 LY-27a (197.66 mg, 0.410 mmol, 1.5 eq)，室温下加入 TsOH  
20 (70.68 mg, 0.410 mmol, 1.5 eq)，反应液在 25℃下搅拌 1 小时。LCMS 显示目标产物。反应液用 C18 反相柱层析纯化，流动相水(0.25%TFA)-乙腈(0.25%TFA)，乙腈的洗脱比例从 0%到 70%洗脱，纯化得到黄色固体产物 LA-36OdPAB-a1 (125 mg，收率 39.64%)。

LCMS (ESI): m/z, 1151.7 [M]<sup>+</sup>。

25        **步骤 2：化合物 LA-36OdPAB-a 的制备**

0℃下向化合物 LA-36OdPAB-a1 (125.0 mg, 0.108 mmol, 1.0 eq) 中加入 K<sub>2</sub>OsO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O (3.24 mg, 0.010 mmol, 0.1 eq) 和 NaIO<sub>4</sub> (446.0 mg, 2.082 mmol, 20 eq)，并置于 25 °C下搅拌 18 小时，LCMS 显示原料反应完全。反应液用 C18 反相柱层析纯化，流动相水 (0.25%TFA) -乙腈 (0.25%TFA)，乙腈的洗脱比例

从 0% 到 70% 洗脱, 纯化得到黄色固体产物 LA-36OdPAB-a (32.5 mg, 收率 26.02%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1155.7  $[M]^+$ 。

步骤 3: 化合物 LA-36OdPAB-b 的制备

将化合物 LA-36OdPAB-a (32.5 mg, 0.028 mmol, 1 eq) 溶于 DMF (2.0 mL) 中, 加入二乙胺 (21 mg, 0.281 mmol, 10 eq), 反应液在 25°C 下搅拌 1 小时。LCMS 显示原料反应完全。反应液经减压浓缩得到 LA-36OdPAB-b 的粗品 (26.25 mg, 粗品不计收率)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 933.7  $[M]^+$ 。

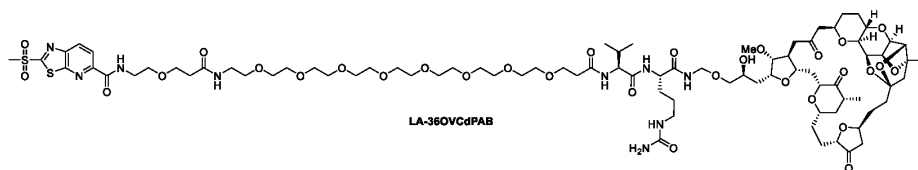
步骤 4: 化合物 LA-36OdPAB 的制备

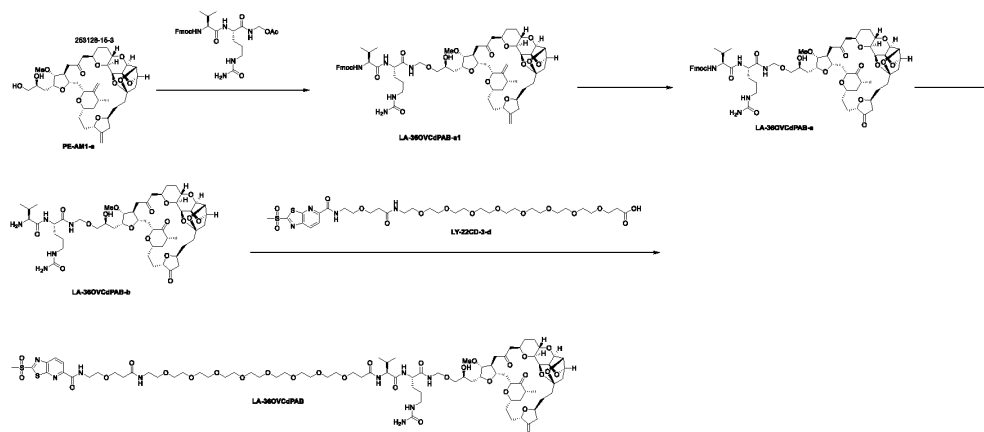
将化合物 LA-36OdPAB-b (26 mg, 0.028 mmol, 1 eq) 和化合物 LY-22CD-3-d (27 mg, 0.034 mmol, 1.2 eq) (该化合物的合成请参阅专利申请 WO 2024175069A1) 溶于 DMF (2.0 mL), 加入 HATU (14 mg, 0.037 mmol, 1.3 eq) 和 DIEA (11 mg, 0.084 mmol, 3.0 eq), 反应液在 25°C 下搅拌 1 小时。LCMS 显示原料反应完全, 反应液通过高效液相色谱制备 (型号 JB-C235-04, 色谱柱为 Bonnasil-BS C18, 20×250 mm×8μm, 流动相水 (0.1% TFA) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 20% 到 60% 洗脱) 纯化得到白色固体产物 LA-36OdPAB (12.17 mg, 收率 25.28%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1712.7  $[(M+H)]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  9.05 (t,  $J = 5.6$  Hz, 1H), 8.87 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H), 8.54 (t,  $J = 6.6$  Hz, 1H), 8.38 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H), 8.02 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 7.89 (t,  $J = 5.6$  Hz, 1H), 7.86 – 7.81 (m, 1H), 4.66 – 4.55 (m, 3H), 4.51 – 4.44 (m, 1H), 4.39 (t,  $J = 9.6$  Hz, 1H), 4.27 – 4.05 (m, 7H), 3.87 – 3.73 (m, 5H), 3.65 (s, 3H), 3.63 – 3.53 (m, 11H), 3.48 – 3.46 (m, 16H), 3.39 – 3.35 (m, 4H), 3.29 – 3.24 (m, 6H), 3.20 – 3.16 (m, 2H), 2.88 – 2.81 (m, 2H), 2.79 – 2.72 (m, 1H), 2.67 – 2.59 (m, 1H), 2.46 – 2.31 (m, 7H), 2.29 – 2.07 (m, 5H), 2.03 – 1.88 (m, 6H), 1.84 – 1.41 (m, 14H), 1.33 – 1.14 (m, 10H), 0.94 (d,  $J = 6.5$  Hz, 3H), 0.83 (dd,  $J = 13.7, 6.8$  Hz, 6H)。

### 实施例 68: 化合物 LA-36OVCDPAB





#### 步骤 1: 化合物 LA-36OVCdPAB-a1 的制备

在 0 °C 下, 向化合物 PE-AM1 (购于皓元医药) (300 mg, 0.41 mmol), (5S, 8S) -1- (9H-氟-9-基) -5-异丙基-3,6,9-三氧代-8- (3-脲基丙基) -2-氧代-4,7,10-三氮十一烷-11-基乙酸酯 (350 mg, 0.62 mmol) 的 DMF/THF (5 mL/5mL) 溶液中加入 TsOH (106 mg, 0.62 mmol)。然后将混合物在 30 °C 下搅拌 1 小时。反应液通过 C18 反相柱层析纯化, 流动相水 (0.1%TFA) -乙腈, 乙腈的洗脱比例从 0% 到 60% 洗脱, 纯化得到黄色固体化合物 LA-36OVCdPAB (350 mg, 粗品)。

LCMS (ESI) : m/z, 1238.3[M]<sup>+</sup>, Rt=2.62 min。

#### 步骤 2: 化合物 LA-36OVCdPAB-a 的制备

在 0 °C 下, 向化合物 LA-36OVCdPAB-a1 (350 mg, 0.28 mmol) 的 THF/H<sub>2</sub>O (5 mL/5mL) 溶液中加入钨酸钾二水合物 (11 mg, 0.028 mmol) 和高碘酸钠 (604 mg, 2.8 mmol)。然后将混合物在 30 °C 下搅拌 1 小时。反应液用 EtOAc (50 mL × 3) 萃取, 合并有机相并用食盐水 (50 mL) 洗涤, 有机相干燥, 过滤旋干得到粗品, 粗品通过 C18 反相柱层析纯化, 流动相水 (0.1%TFA) -乙腈, 乙腈的洗脱比例从 0% 到 65% 洗脱, 纯化得到黄色油状化合物 LA-36OVCdPAB (200 mg, 粗品)。

LCMS (ESI) : m/z, 1242.2[M+1]<sup>+</sup>, Rt=2.304 min。

#### 步骤 3: 化合物 LA-36OVCdPAB-b 的制备

在 0 °C 下, 向化合物 LA-36OVCdPAB-a (100 mg, 0.08 mmol) 的 DMF (5 mL) 溶液中加入二乙胺 (59 mg, 0.805 mmol)。然后将混合物在 25 °C 下搅拌 2 小时。将反应溶液在真空中浓缩以获得棕色固体状化合物 LA-36OVCdPAB-b (50 mg, 收率 60%)。

LCMS (ESI) : m/z, 1019.7[M+1]<sup>+</sup>, Rt=1.08 min。

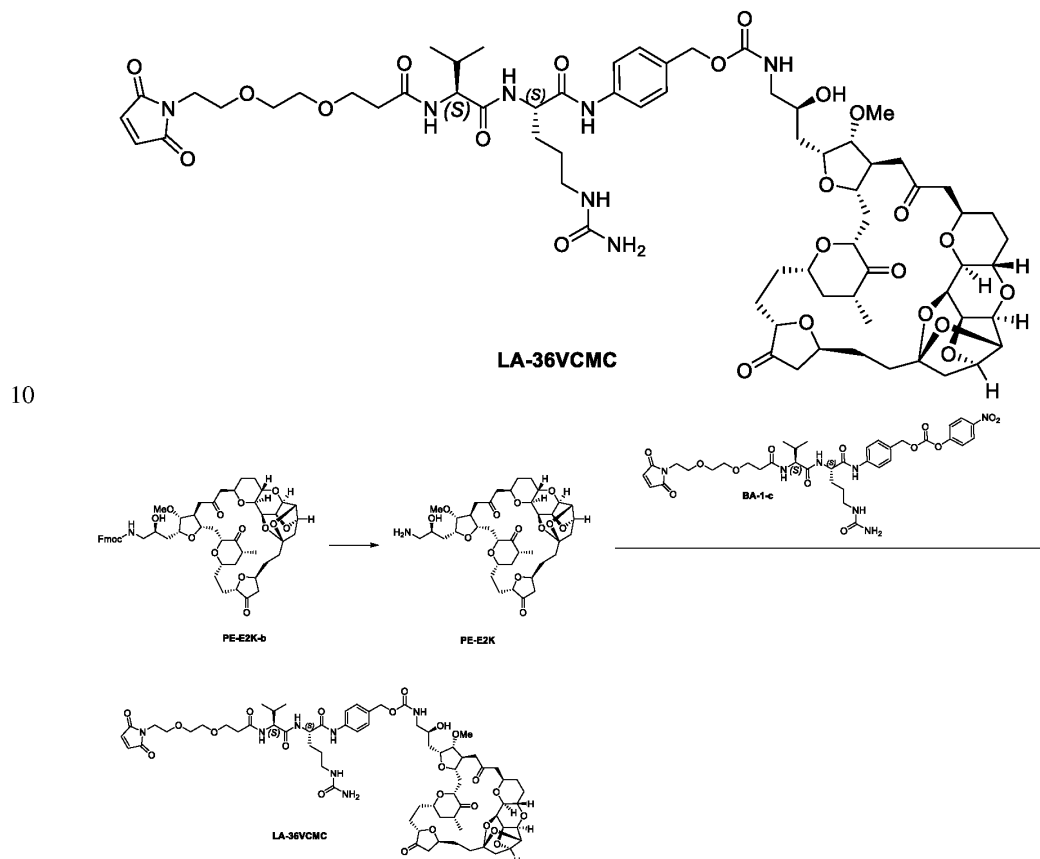
#### 步骤 4: 化合物 LA-36OVCdPAB 的制备

在 25 °C 下, 向化合物 LA-36OVCdPAB-b (30 mg, 0.029 mmol) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (5 mL) 溶液中加入化合物 LY-22CD-3-d (该化合物的合成请参阅专利申请 WO2024175069A1) (23.4 mg, 0.029 mmol), 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-

四甲基脲六氟磷酸盐 (13.4 mg, 0.035 mmol), DIEA (12 mg, 0.088 mmol), 然后将混合物在 30 °C 下搅拌 1 小时。真空中浓缩分离的有机相以获得粗产物。粗产物经过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm。流动相水 (0.225%CF<sub>3</sub>COOH)-乙腈, 乙腈的洗脱比例从 12% 到 42% 洗脱), 洗脱液冻干后得到白色固体产物 LA-36OVCDPAB (4.0 mg, 收率 7.6%)。

LCMS (ESI): m/z, 899.5 [M/2+H]<sup>+</sup>, Rt=1.15min。

### 实施例 69: 化合物 LA-36VCMC 的制备



#### 步骤 1: 化合物 PE-E2K 的制备

室温下向化合物 PE-E2K-b (该化合物的合成请参阅 PE-E2K 的制备例) (15.0 mg, 0.016 mmol, 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入二乙胺 (12 mg, 0.160 mmol, 10 eq) 并置于 25 °C 下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全。反应液经减压浓缩, 得黄色固体 PE-E2K 粗品, 不经纯化直接用于下一步。

LCMS (ESI): m/z, 734.3 [(M+H)]<sup>+</sup>。

#### 步骤 2: 化合物 LA-36VCMC 的制备

0°C 下向化合物 PE-E2K 粗品 (0.016 mmol, 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加

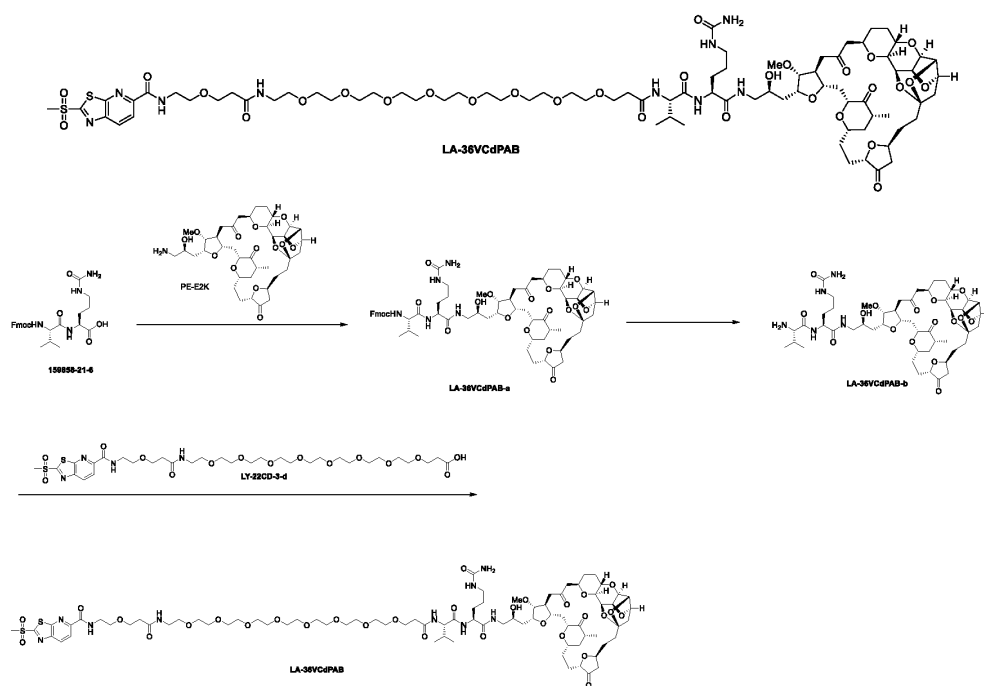


入 DIEA (4 mg, 0.032 mmol, 2.0 eq), BA-1-c (该化合物的合成请参阅 BA-1 的实施例) (15.05 mg, 0.019 mmol, 1.2 eq) 和 HOBt (2.59 mg, 0.019 mmol, 1.2 eq), 并置于 25°C 下搅 1 小时, LCMS 显示原料反应完全。反应液通过高效液相色谱制备 (型号 JB-C235-04, 色谱柱为 Bonnasil-BS C18, 20×250 mm×8μm, 流动相水 (0.1% TFA) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 20% 到 60% 洗脱, 纯化得到白色固体产物 LA-36VCMC (5.29 mg, 收率 24.49%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1378.8 [(M+H)]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.97 (s, 1H), 8.10 (d,  $J$  = 7.4 Hz, 1H), 7.85 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 1H), 7.58 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 2H), 7.27 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 2H), 7.12 – 7.04 (m, 1H), 7.02 (s, 2H), 5.96 (t,  $J$  = 5.5 Hz, 1H), 5.40 (s, 1H), 4.98 – 4.89 (m, 2H), 4.64 (t,  $J$  = 4.4 Hz, 1H), 4.58 – 4.55 (m, 1H), 4.42 – 4.34 (m, 2H), 4.22 (dd,  $J$  = 8.4, 6.8 Hz, 1H), 4.17 – 4.08 (m, 4H), 3.88 – 3.73 (m, 4H), 3.58 – 3.41 (m, 11H), 2.98 – 2.65 (m, 12H), 2.35 – 1.91 (m, 15H), 1.75 – 1.15 (m, 21H), 0.94 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 3H), 0.84 (dd,  $J$  = 13.6, 6.8 Hz, 6H)。

### 实施例 70: 化合物 LA-36VCdPAB 的制备



#### 步骤 1: 化合物 LA-36VCdPAB-a 的制备

0°C 下向化合物 PE-E2K (该化合物的合成请参阅 PE-E2K 的制备例) (75 mg, 0.102 mmol, 1 eq) 的 DMF (3 mL) 中的溶液中加入 DIEA (40 mg, 0.307 mmol, 3 eq), 化合物 CAS: 159858-21-6 (60.90 mg, 0.123 mmol, 1.2 eq) 和 HATU (46.63 mg, 0.123 mmol, 1.3 eq)。然后将混合物在 25°C 下搅拌 2h。LCMS 显示反应完成。反应物用硅胶柱层析谱法 (C18, H<sub>2</sub>O (0.25% TFA) : ACN = 34% : 64%) 纯化, 得

到 LA-36VCdPAB-a (60 mg, 收率 48.42%), 为白色固体。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1212.8[M]<sup>+</sup>,  $R_t$ =1.508 min。

步骤 2: 化合物 LA-36VCdPAB-b 的制备

向化合物 LA-36VCdPAB-a (17 mg, 0.014 mmol, 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液加入二乙胺 (5 mg, 0.070 mmol, 5 eq), 反应液在 25°C 下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全。将反应液在真空中低温浓缩得到粗品 LA-36VCdPAB-b (13.88 mg, 粗品), 为淡黄色油状。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 989.7[M-1]<sup>+</sup>,  $R_t$ =1.151min。

步骤 3: 化合物 LA-36VCdPAB 的制备

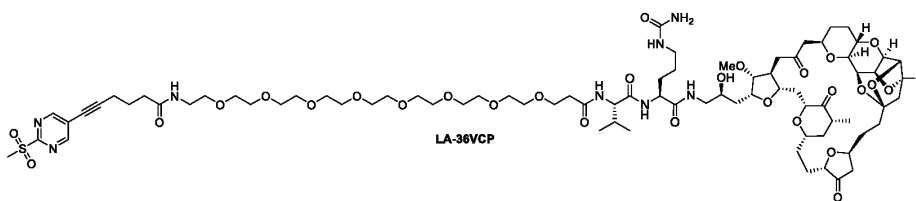
0°C 下向化合物 LA-36VCdPAB-b (13 mg, 0.013 mmol, 1 eq) 的 DMF (1.5 mL) 中加入 DIEA (0.006 mL, 0.039 mmol, 3 eq), LY-22CD-3-d (该化合物的合成请参阅专利申请 WO2024175069A1) (11.51 mg, 0.014 mmol, 1.1 eq) 和 HATU (6.43 mg, 0.017 mmol, 1.3 eq)。然后将混合物在 25°C 下搅拌 1h。LCMS 显示反应完成。

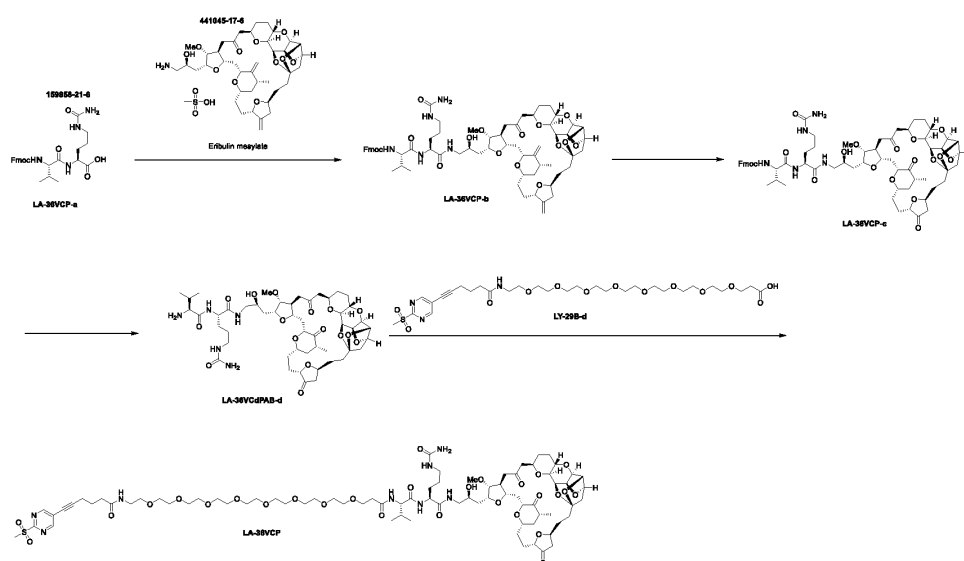
反应液通过高效液相色谱法 (Xtimate C18, 21.2×250 mm×5 μm H<sub>2</sub>O (0.1%FA): ACN=78%: 22%-48%: 52%) 纯化得到 LA-36VCdPAB (1.3 mg, 收率 5.60%), 为白色固体。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1768.1 [M-1]<sup>+</sup>,  $R_t$ =1.252min。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.06 (t,  $J$  = 5.6 Hz, 1H), 8.87 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 8.38 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 7.88 (dd,  $J$  = 18.0, 8.4 Hz, 2H), 7.75 (s, 1H), 7.20 (s, 1H), 6.65 (s, 1H), 5.89 (s, 1H), 5.32 (t,  $J$  = 4.7 Hz, 2H), 4.65 (t,  $J$  = 4.4 Hz, 1H), 4.56 (s, 1H), 4.39 (s, 1H), 4.27 – 4.09 (m, 5H), 3.90 – 3.72 (m, 4H), 3.66 – 3.62 (m, 4H), 3.62 – 3.57 (m, 2H), 3.55 (dd,  $J$  = 9.6, 4.0 Hz, 3H), 3.49 (d,  $J$  = 6.2 Hz, 28H), 3.24 (t,  $J$  = 3.4 Hz, 5H), 3.18 (dd,  $J$  = 11.6, 6.0 Hz, 3H), 3.04 (s, 2H), 2.92 (s, 2H), 2.88 – 2.81 (m, 2H), 2.79 – 2.72 (m, 1H), 2.65 – 2.59 (m, 1H), 2.46 – 2.35 (m, 3H), 2.25 (d,  $J$  = 17.6 Hz, 2H), 2.19 – 2.04 (m, 3H), 1.96 (ddd,  $J$  = 18.2, 13.8, 5.9 Hz, 7H), 1.77 (dd,  $J$  = 21.8, 11.1 Hz, 2H), 1.71 – 1.54 (m, 7H), 1.49 – 1.42 (m, 3H), 1.23 (s, 12H), 0.94 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 2H), 0.83 (dt,  $J$  = 8.8, 6.8 Hz, 7H)。

### 30 实施例 71: 化合物 LA-36VCP 的制备





#### 步骤 1: 化合物 LA-36VCP-b 的制备

室温下向化合物 LA-36VCP-a (361 mg, 0.726 mmol) 的 DMF (20mL) 溶液中加入 2,4,6-三甲基吡啶 (220 mg, 1.816mmol)、艾日布林甲磺酸盐 (500 mg, 0.605 mmol) 和 HATU (299 mg, 0.787 mmol)。然后将混合物在 25°C 下搅拌 1 小时。LCMS 显示反应已完成。通过硅胶柱层析色谱法 C18, H<sub>2</sub>O (0.025%TFA):ACN=37%: 63%) 纯化反应物, 得到化合物 LA-36VCP-b (660 mg, 收率 90%), 为白色固体。LCMS (ESI): m/z, 1208.1[m]<sup>+</sup>, Rt=1.566min。

#### 步骤 2: 化合物 LA-36VCP-c 的制备

0°C 下向化合物 LA-36VCP-b (50 mg, 0.041 mmol) 在 THF (8 mL) 和 H<sub>2</sub>O (2 mL) 中的溶液中, 加入钨酸钾 (8 mg, 0.023 mmol) 和 NaIO<sub>4</sub> (177 mg, 0.827 mmol)。将混合物在 25°C 下搅拌 2 小时。之后, 在 0°C 下向混合物中加入钨酸钾 (8.29 mg, 0.023 mmol) 和 NaIO<sub>4</sub> (177 mg, 0.827 mmol)。然后将混合物在 25°C 下搅拌 18 小时。LCMS 显示反应已完成。用水 (20ml) 稀释反应溶液, 加入二氯甲烷 (50 mL×2) 进行萃取, 真空浓缩分离出的有机相, 得到粗产物。粗产物通过硅胶柱层析色谱法 C18, H<sub>2</sub>O (0.1%TFA):ACN=52%: 48%) 纯化, 得到化合物 LA-36VCP-c (40 mg, 收率 80%), 为白色固体。LCMS (ESI): m/z, 1212.9[m-1]<sup>+</sup>, Rt=1.404min。

#### 步骤 3: 化合物 LA-36VCP-d 的制备

在 15°C 下向化合物 LA-36VCP-c (50 mg, 0.033 mmol) 的 DMF (2 mL) 中加入二乙胺 (24 mg, 0.330 mmol)。然后将混合物在 15°C 下搅拌 30 分钟。LCMS 显示反应已完成。将反应溶液真空浓缩, 得到化合物 LA-36VCdPAB-d (32 mg, 粗品), 为黄色油状物。

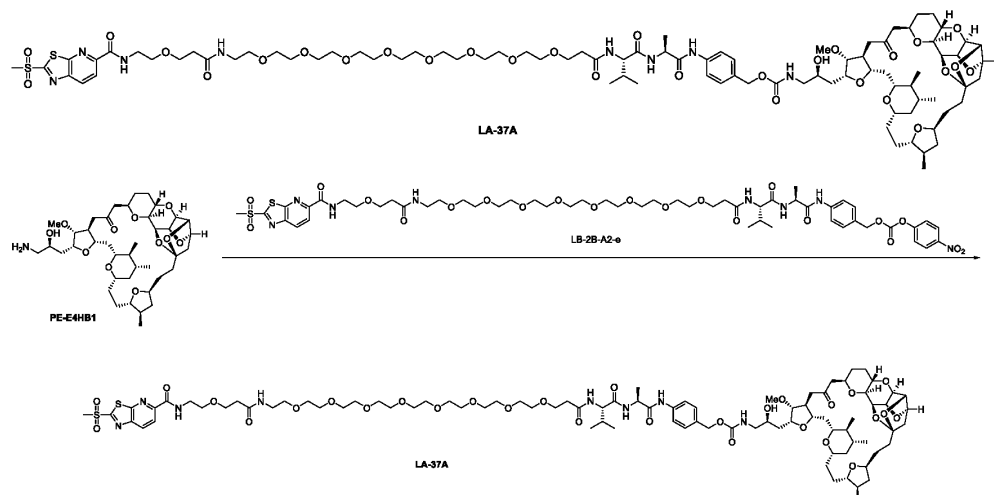
LCMS (ESI): m/z, 989.9[M-1]<sup>+</sup>, Rt=1.057min。

#### 步骤 4: 化合物 LA-36VCP 的制备

在 15°C 下，向化合物 LA-36VCdPAB-d (41 mg, 0.033 mmol) 的 DMF 溶液中加入 N,N-二异丙基乙胺 (11 mg, 0.082 mmol)、化合物 LY-29B-d (该化合物的合成请参阅专利申请 WO2024175069A1) (25 mg, 0.036 mmol) 和 HATU (16 mg, 0.043 mmol)。然后将混合物在 15°C 下搅拌 30 分钟。LCMS 显示反应已完成。反应液通过 JB-C235-04, Prime C18, 30×150 mm, 5μm, H<sub>2</sub>O (0.1% TFA):ACN=70%:30%-56%:44% 纯化得到 LA-36VCP (12.83 mg, 0.008 mmol, 23.37%), 为白色固体。LCMS (ESI): m/z, 833.0[m/2+1]<sup>+</sup>, Rt=1.21min。

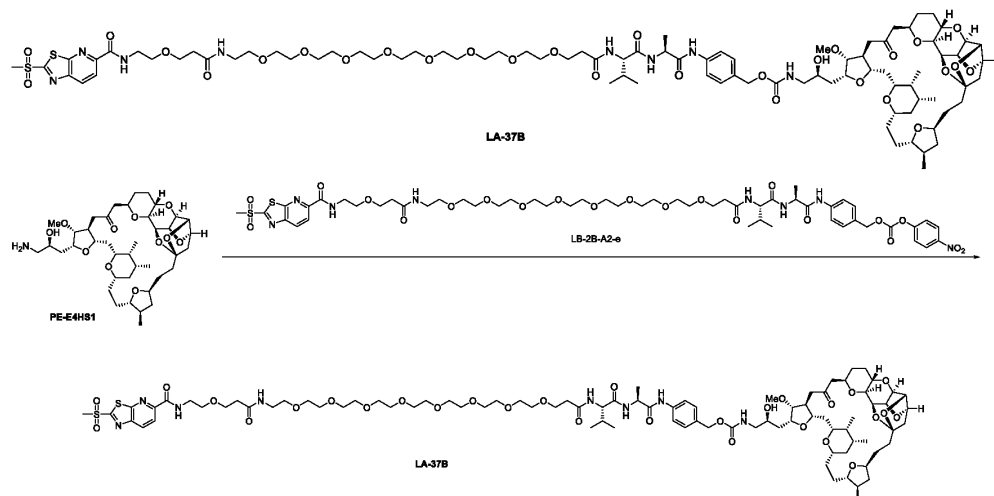
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.12 (d, *J* = 3.0 Hz, 2H), 7.97 – 7.84 (m, 3H), 7.75 (t, *J* = 5.3 Hz, 1H), 5.93 (s, 1H), 4.65 (t, *J* = 4.2 Hz, 1H), 4.57 (s, 1H), 4.40 (s, 1H), 4.29 – 4.08 (m, 8H), 3.80 (ddd, *J* = 19.8, 18.0, 7.0 Hz, 9H), 3.59 (dd, *J* = 11.2, 6.2 Hz, 7H), 3.41 (d, *J* = 6.1 Hz, 10H), 3.28 – 3.18 (m, 8H), 3.06 (d, *J* = 4.9 Hz, 3H), 2.94 (s, 2H), 2.86 (dd, *J* = 17.9, 7.6 Hz, 3H), 2.75 (dt, *J* = 23.7, 8.6 Hz, 2H), 2.64 (dd, *J* = 18.1, 11.0 Hz, 2H), 2.56 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H), 2.48 – 2.44 (m, 1H), 2.43 – 2.31 (m, 4H), 2.26 (dd, *J* = 15.4, 8.0 Hz, 5H), 2.20 – 1.90 (m, 9H), 1.81 (dt, *J* = 20.8, 10.3 Hz, 5H), 1.75 – 1.12 (m, 20H), 1.09 – 0.92 (m, 4H), 0.89 – 0.76 (m, 7H)。

## 实施例 72: 化合物 LA-37A 的制备



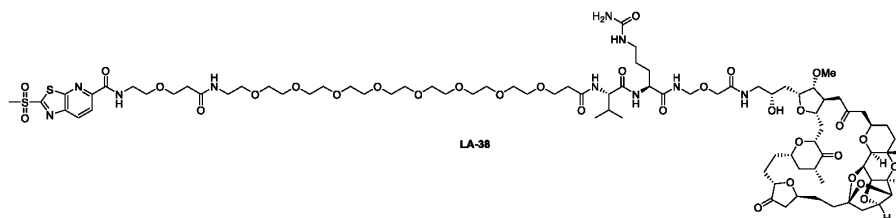
0°C 下，向化合物 PE-E4HB1 (23.79 mg, 32.41 μmol, 1 eq) 和 LB-2B-A2-c (32.74 mg, 25.93 μmol, 0.8 eq, 该化合物的合成请参阅实施例 50, LA-36 的实施例) 的 DMF (2mL) 溶液中加入 DIPEA (12.69 mg, 97.24 μmol, 3 eq) 和 HOBt (4.47 mg, 32.41 μmol, 1 eq)，反应在室温下搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完成。反应液减压旋干。混合物通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×30mm×10μm。流动相水 (0.225%FA) -乙腈, 乙腈的洗脱比例从 40%到 70%洗脱), 得到白色固体产物 LA-37A (3.50 mg, 收率 5.89%)。LCMS (ESI): m/z, 1834.0[M+H]<sup>+</sup>。

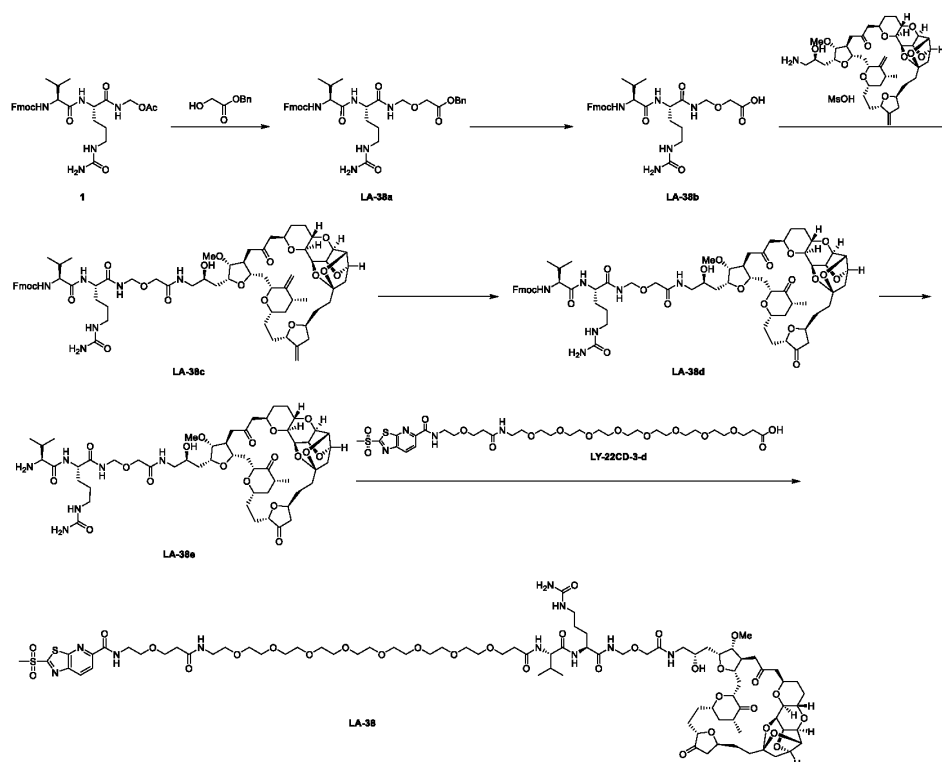
### 实施例 73: 化合物 LA-37B 的制备



0°C向化合物 PE-E4HS1 (18.42 mg, 25.10  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 LB-2B-A2-e (25.35 mg, 20.08  $\mu\text{mol}$ , 0.8 eq, 该化合物合成请参阅实施例 50, LA-36 实施例) 的 DMF (2mL) 溶液中加入 DIPEA (9.83 mg, 75.29  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和 HOBt (3.46 mg, 25.10  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 反应液在室温下搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完成。反应液减压旋干。混合物通过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×30mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225%FA) -乙腈, 乙腈的洗脱比例从 40%到 70%洗脱), 得到白色固体产物 LA-37B (1.80 mg, 收率 3.91%)。LCMS (ESI):  $m/z$ , 1872.8.0[M+MeCN]<sup>+</sup>。

### 实施例 74: 化合物 LA-38 的制备





#### 步骤 1: 化合物 LA-38a 的制备

在 0 °C 下, 向化合物 1 (Fmoc-Val-OAc) (200 mg, 0.35 mmol) 的四氢呋喃/*N,N*-二甲基甲酰胺 (5 mL) 溶液中加入对甲苯磺酸 (91 mg, 0.52 mmol), 乙醇酸苄甲酯 (88 mg, 0.52 mmol) 将混合物在 30 °C 下搅拌 4 小时。反应液通过反相柱 (40 g, ACN:H<sub>2</sub>O=10:90-80:20) 纯化粗产物, 得到无色油状的化合物 LA-38a (60 mg, 收率 25.7%)。

LCMS (ESI):  $m/z$  696.2 [M+Na]<sup>+</sup>,  $R_t$ =1.25 min。

#### 步骤 2: 化合物 LA-38b 的制备

在 25 °C 下, 向化合物 LA-38a (40 mg, 0.065 mmol) 的甲醇 (5 mL) 溶液中加入钨碳 (10%, 10 mg), 然后将混合物在 30 °C 下搅拌 16 小时。反应液浓缩获得粗产物白色固体产物 LA-38b (40 mg, 收率 76.5%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 606.4 [M+H]<sup>+</sup>,  $R_t$ =1.05 min。

#### 步骤 3: 化合物 LA-38c 的制备

在 25 °C 下, 向化合物 LA-38b (40 mg, 0.07 mmol) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (5 mL) 溶液中加入 2-(7-偶氮苯并三氮唑)-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸酯 (40 mg, 0.10 mmol), 甲磺酸艾日布林 (56 mg, 0.07 mmol), *N,N*-二异丙基乙胺 (26 mg, 0.21 mmol), 然后将混合物在 30 °C 下搅拌 1 小时。反应液通过反相柱 (40 g, ACN:H<sub>2</sub>O=10:90-80:20) 纯化粗产物, 得到白色固体产物 LA-38c (45 mg, 收率 50.5%)。

LCMS (ESI): m/z, 648.2 [M+H]<sup>+</sup>, Rt=1.18min。

步骤 4: 化合物 LA-38d 的制备

在 25 °C 下, 向化合物 LA-38c (40 mg, 0.04 mmol) 的四氢呋喃/水 (5 mL) 溶液中加入高碘酸钠 (82 mg, 0.38 mmol), 二水合钼酸钾 (2 mg, 0.004 mmol) 然后将混合物在 30 °C 下搅拌 16 小时。反应液通过反相柱 (40 g, ACN:H<sub>2</sub>O=10:90-80:20) 纯化粗产物, 得到白色固体产物 LA-38c (20 mg, 收率 40%)。

LCMS (ESI): m/z, 1299.6 [M+H]<sup>+</sup>, Rt=1.61min。

步骤 5: 化合物 LA-38e 的制备

在 25 °C 下, 向化合物 LA-38d (20 mg, 0.015 mmol) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (5 mL) 溶液中加入二乙胺 (11 mg, 0.15 mmol), 然后将混合物在 30 °C 下搅拌 1 小时。反应液浓缩获得粗产物固体产物 LA-38e (15 mg, 收率 90.5%)。

LCMS (ESI): m/z, 1077.4 [M+H]<sup>+</sup>, Rt=1.52min。

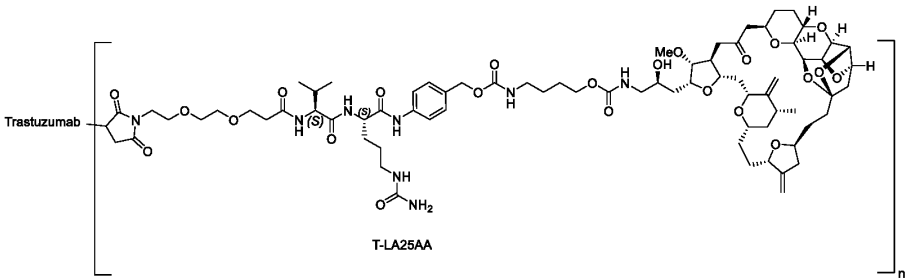
步骤 6: 化合物 LA-38 的制备

在 25 °C 下, 向化合物 LA-38e (15 mg, 0.014 mmol) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (5 mL) 溶液中加入 2-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (8 mg, 0.021 mmol), LY-22CD-3-d (12 mg, 0.014 mmol), N,N-二异丙基乙胺 (6 mg, 0.042 mmol), 然后将混合物在 30 °C 下搅拌 1 小时。粗产物经过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm。流动相水 (0.225% HCOOH) -乙腈, 乙腈的洗脱比例从 12% 到 42% 洗脱), 洗脱液冻干后得到白色固体产物 LA-38 (6.5 mg, 收率 25%)。

LCMS (ESI): m/z, 928.6 [M/2+H]<sup>+</sup>, Rt=0.98min。

ADC 制备例:

ADC 制备例 1: T-LA25AA 的合成 (Procedure 1A, DAR 8)



在 37 °C 条件下, 向曲妥珠单抗 (Trastuzumab) (Herceptin, Henlius, 10.0mg/mL, 2mL, 133nmol) 的 PBS 缓冲水溶液 (pH=7.4 的 0.04M 的 PBS 缓冲水溶液) 中加入三 (2-羧乙基) 膦 (TCEP) 的水溶液 (40mM, 23.3μL, 931nmol), 置于水浴锅中, 于 37 °C 反应 2 小时, 停止反应。将反应液用水浴降温至 25 °C。

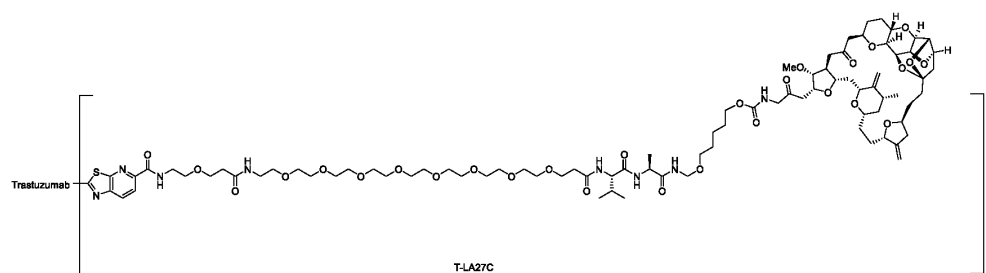
将化合物 LA-25AA (1.98mg, 1330nmol) 溶解于 83.3μL DMSO 中, 加入到上述反应液中, 置于水浴锅中, 于 25 °C 反应 30 分钟, 再加入 1% (质量比例) N-

乙基马来酰亚胺 (NEM) 终止反应。将反应液用透析卡 (Slide-A-Lyzer™ 透析试剂盒, 10K MWCO) 透析纯化, 得到 T-LA25AA 的 PBS 缓冲液 (5.198mg/mL, 0.28mL), 于 4°C 储存, 长期保存于 -80°C。

RP 计算的载药量平均值:  $n=7.61$ 。

5

### ADC 制备例 2: T-LA27C 的合成 (Procedure 1B, DAR 8)

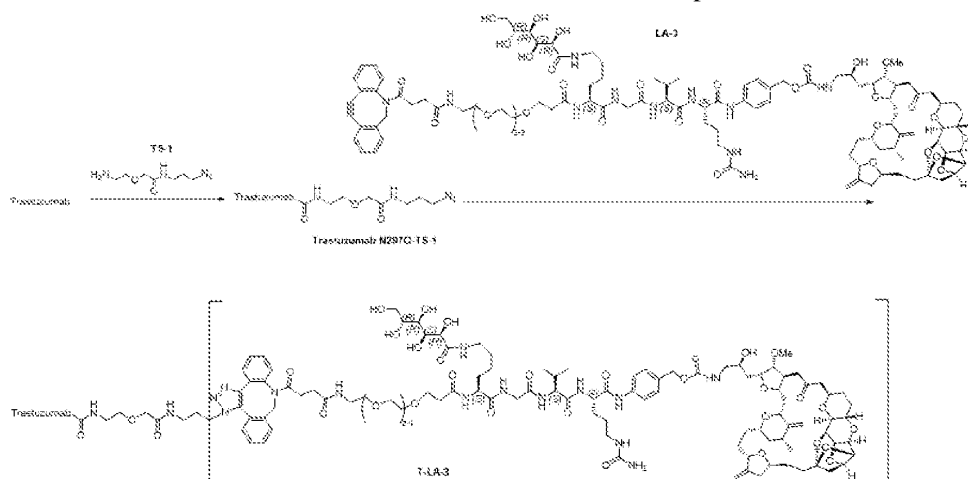


在 37°C 条件下, 向抗体 Trastuzumab (Herceptin, Henlius, 10.0mg/mL, 2mL, 133nmol) 的 PBS 缓冲水溶液 (pH=7.4 的 0.04M 的 PBS 缓冲水溶液) 中加入配置好的三(2-羧乙基)膦 (TCEP) 的水溶液 (40mM, 23.3μL, 931nmol), 置于水浴锅中, 于 37°C 下反应 2 小时, 停止反应。将反应液用水浴降温至 25°C。

将化合物 LA-27C (3.66mg, 1995nmol) 溶解于 125μL DMSO 中, 加入到上述反应液中, 置于水浴锅中, 于 25°C 下反应 30 分钟, 再加入 1% (摩尔比例) N-乙基马来酰亚胺 (NEM) 终止反应。将反应液用透析卡 (Slide-A-Lyzer™ 透析试剂盒, 10K MWCO) 透析纯化, 得到 T-LA27C 的 PBS 缓冲液, 分装后于 4°C 储存, 长期保存于 -80°C。

RP 计算的载药量平均值:  $n=7.14$

### ADC 制备例 3: T-LA-3 的制备 (Procedure 2, Site-specific, DAR4)



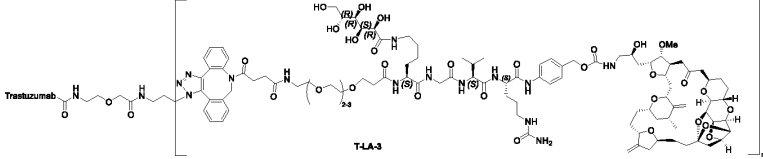
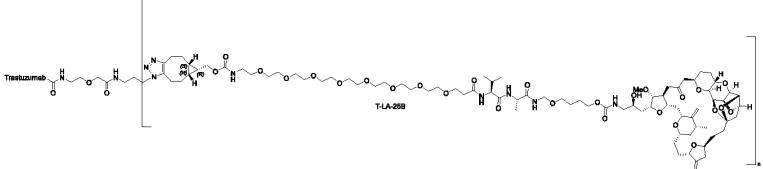
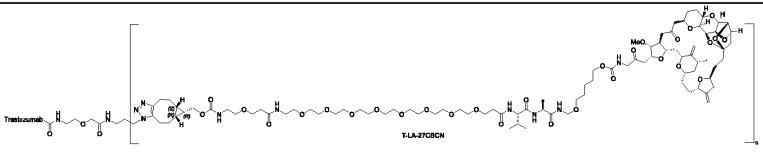
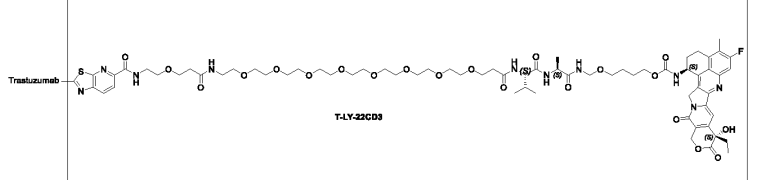
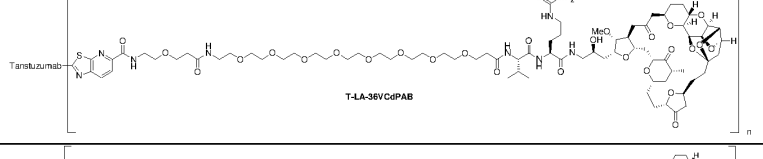
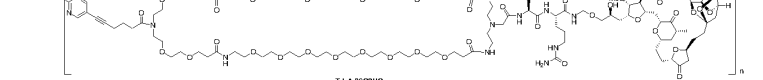
20

按照文献 (Angew. Chem. Int. Ed. **2010**, 49, 9995–9997) 描述的方法制备叠氮修饰的曲妥珠单抗突变体 (Trastuzumab N297Q-TS-1) (1.0mg/mL, 1mL, 6.9μM)。

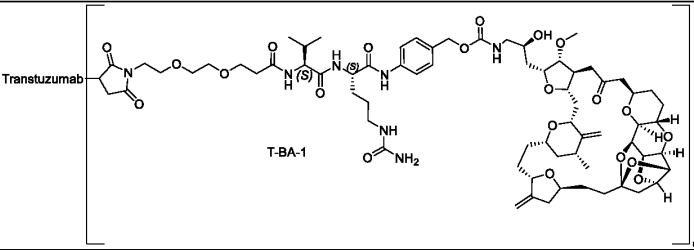
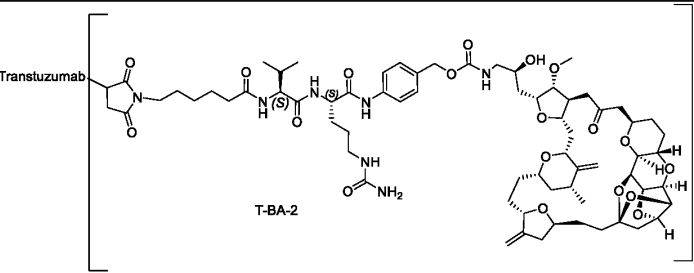
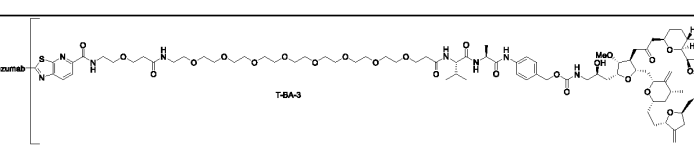
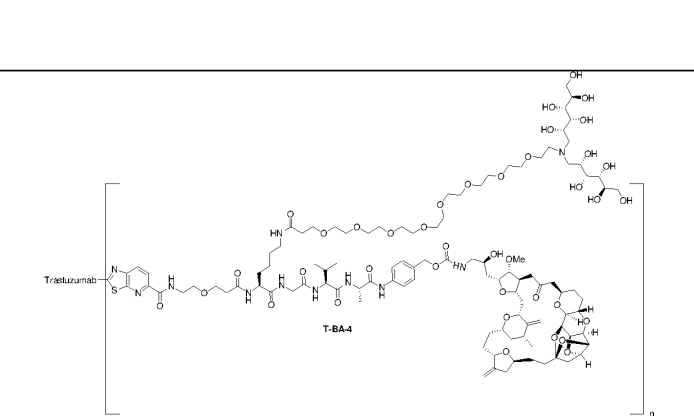
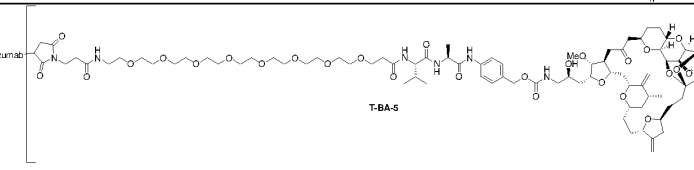
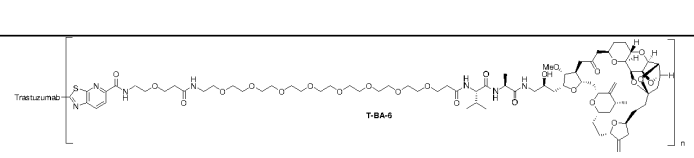


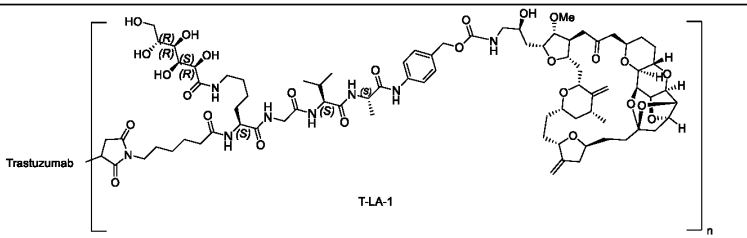
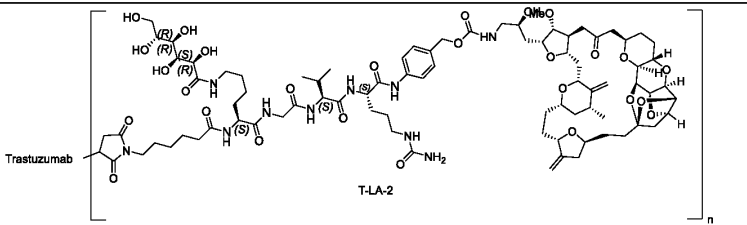
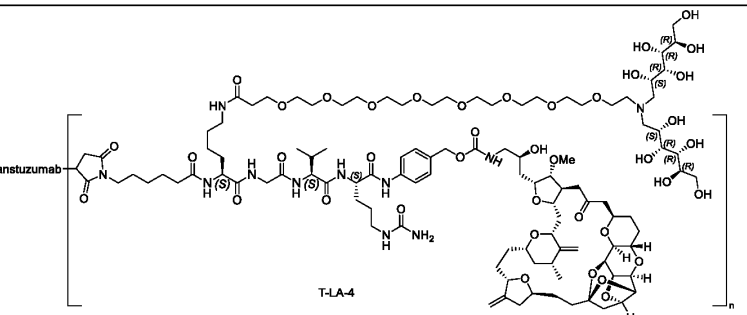
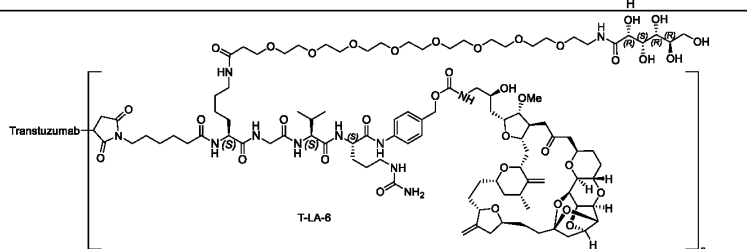
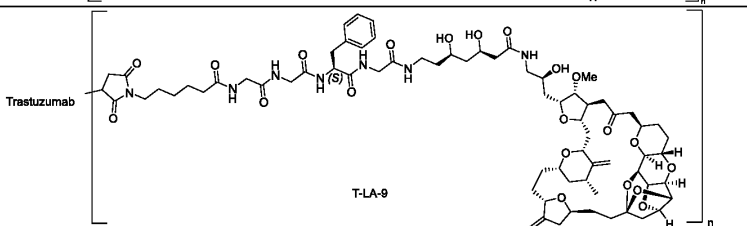
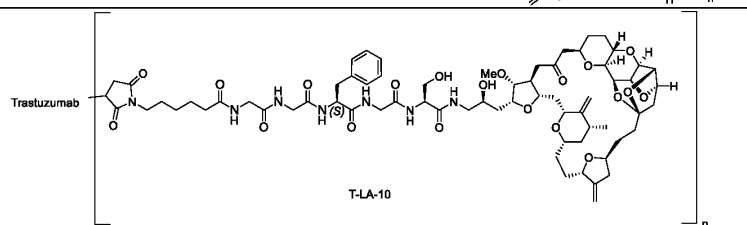
将化合物 LA-3 溶解于 DMSO（2mM），加入到曲妥珠单抗突变体的 PBS 水溶液中（69μM），置于水浴锅中，于 25℃反应 6 小时，将反应液用透析试剂盒（品牌 Thermo Fisher，型号 Slide-A-Lyzer™）透析纯化，得到 T-LA-3 的 PBS 缓冲液，于 4℃储存，长期保存于-80℃。

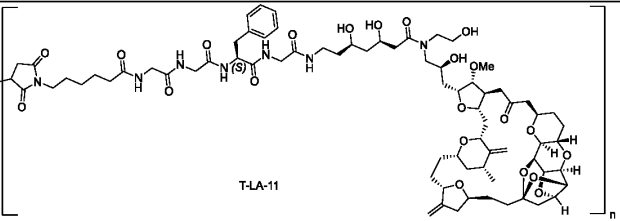
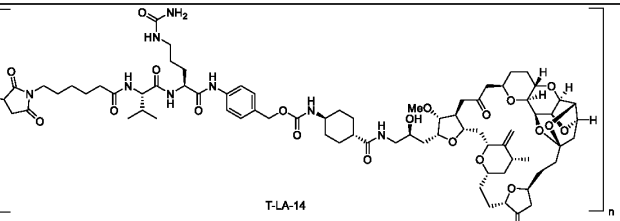
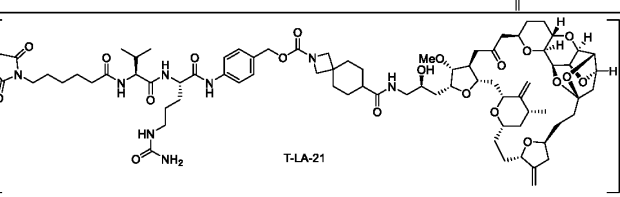
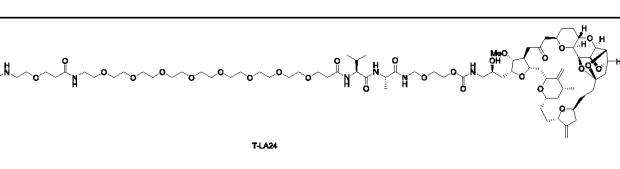
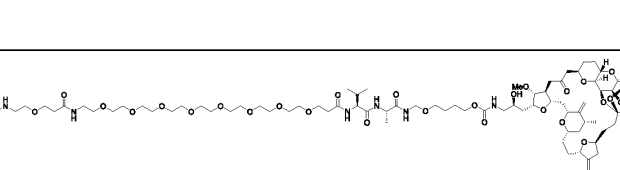
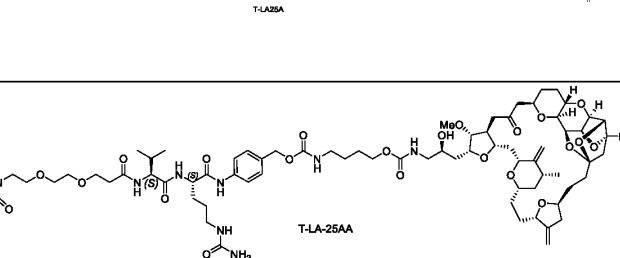
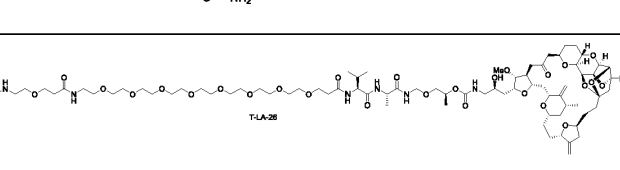
5            RP-HPLC 计算的载药量平均值：n=4.0。

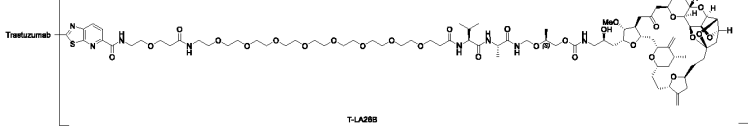
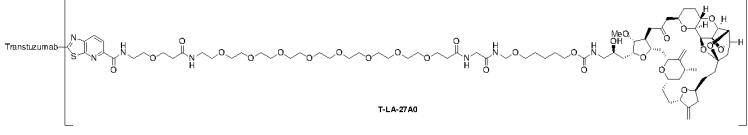
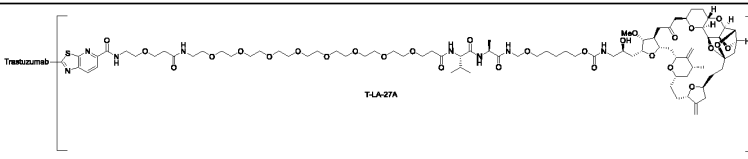
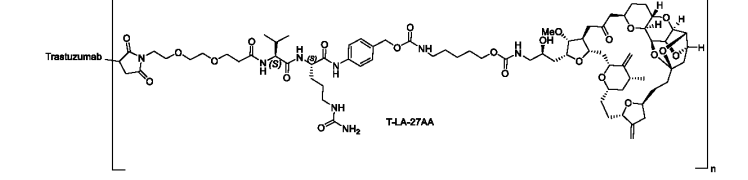
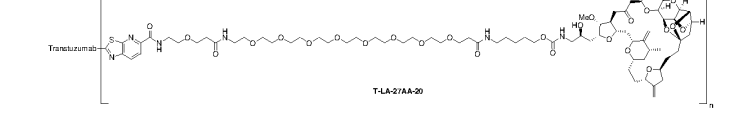
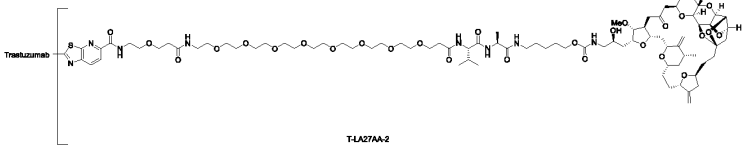
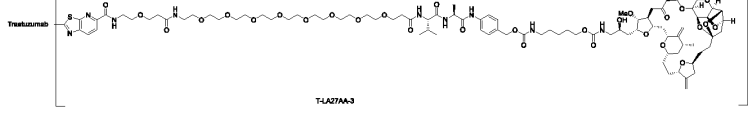
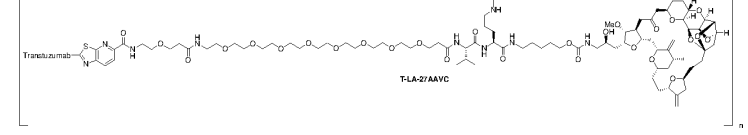
| Pocedure 2     | Structure                                                                            | DAR  |
|----------------|--------------------------------------------------------------------------------------|------|
| T-LA-3         |    | 4    |
| T-LA-25B       |    | 3.78 |
| T-LA-27C BCN   |   | 3.82 |
| T-LY-22C D3    |  | 3.92 |
| T-LA-36 VCdPAB |  | 3.79 |
| T-LA-36 O2VC   |  | 3.85 |

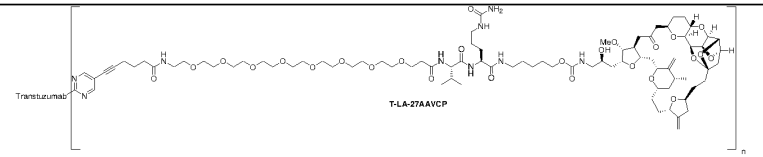
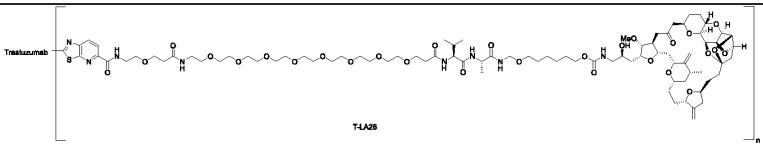
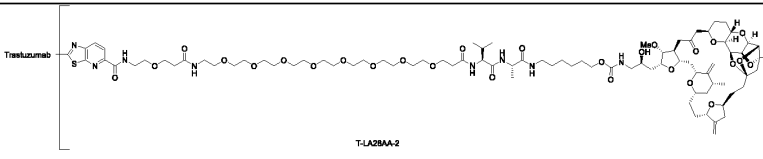
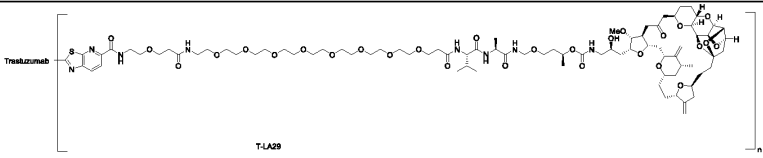
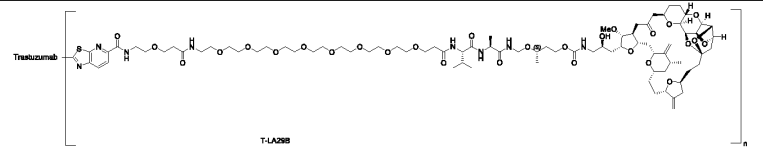
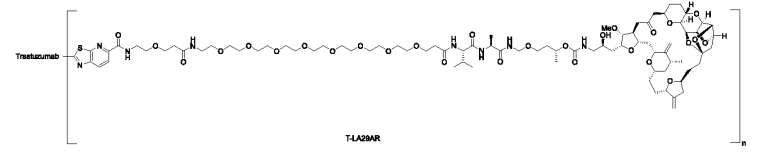
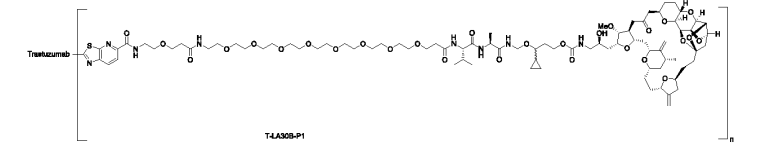
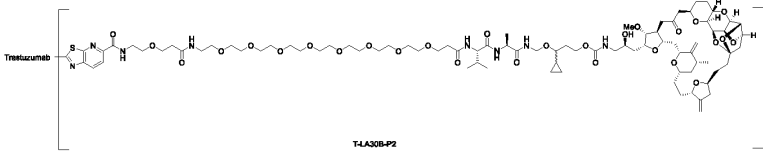
| Pocedure 1A | Structure | DAR |
|-------------|-----------|-----|
|-------------|-----------|-----|

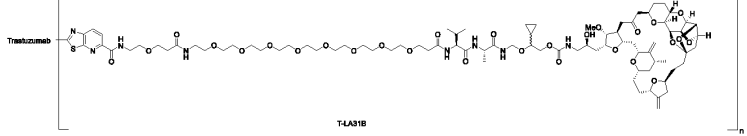
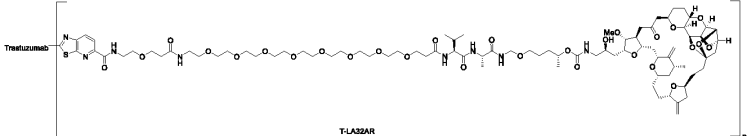
|        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|--------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| T-BA-1 | <div><div>Transtuzumab</div><div><div>T-BA-1</div><div>The structure shows a Transtuzumab antibody linked to a complex molecule. The linker consists of a succinyl group, a PEG chain, and a chiral amide. The complex molecule includes a benzamide, a chiral amide, and a complex polycyclic structure with multiple hydroxyl groups.</div></div></div> <div>7.6</div>    |
| T-BA-2 | <div><div>Transtuzumab</div><div><div>T-BA-2</div><div>The structure shows a Transtuzumab antibody linked to a complex molecule. The linker consists of a succinyl group, a PEG chain, and a chiral amide. The complex molecule includes a benzamide, a chiral amide, and a complex polycyclic structure with multiple hydroxyl groups.</div></div></div> <div>3.89</div>   |
| T-BA-3 | <div><div>Transtuzumab</div><div><div>T-BA-3</div><div>The structure shows a Transtuzumab antibody linked to a complex molecule. The linker consists of a succinyl group, a PEG chain, and a chiral amide. The complex molecule includes a benzamide, a chiral amide, and a complex polycyclic structure with multiple hydroxyl groups.</div></div></div> <div>7.79</div>   |
| T-BA-4 | <div><div>Transtuzumab</div><div><div>T-BA-4</div><div>The structure shows a Transtuzumab antibody linked to a complex molecule. The linker consists of a succinyl group, a PEG chain, and a chiral amide. The complex molecule includes a benzamide, a chiral amide, and a complex polycyclic structure with multiple hydroxyl groups.</div></div></div> <div>7.85</div>  |
| T-BA-5 | <div><div>Transtuzumab</div><div><div>T-BA-5</div><div>The structure shows a Transtuzumab antibody linked to a complex molecule. The linker consists of a succinyl group, a PEG chain, and a chiral amide. The complex molecule includes a benzamide, a chiral amide, and a complex polycyclic structure with multiple hydroxyl groups.</div></div></div> <div>7.84</div> |
| T-BA-6 | <div><div>Transtuzumab</div><div><div>T-BA-6</div><div>The structure shows a Transtuzumab antibody linked to a complex molecule. The linker consists of a succinyl group, a PEG chain, and a chiral amide. The complex molecule includes a benzamide, a chiral amide, and a complex polycyclic structure with multiple hydroxyl groups.</div></div></div> <div>7.92</div> |

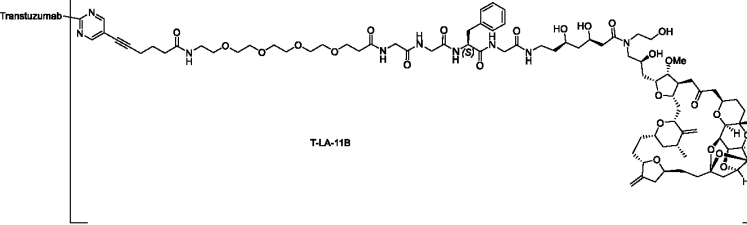
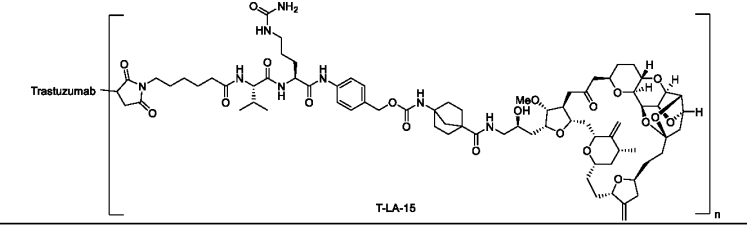
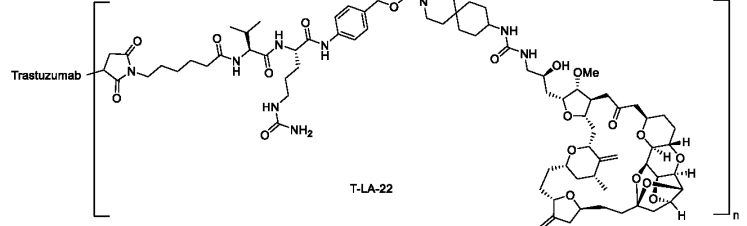
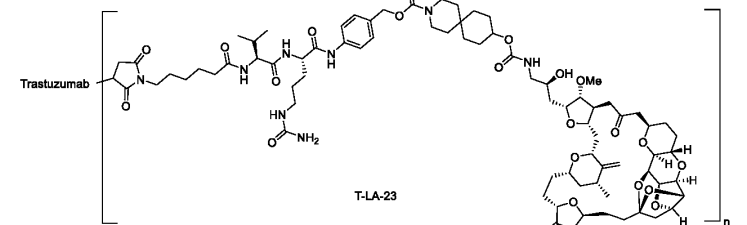
|         |                                                                                                                                                |      |
|---------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| T-LA-1  | <div><div>Trastuzumab</div><div><p>T-LA-1</p></div></div>    | 8    |
| T-LA-2  | <div><div>Trastuzumab</div><div><p>T-LA-2</p></div></div>    | 8    |
| T-LA-4  | <div><div>Trastuzumab</div><div><p>T-LA-4</p></div></div>   | 8    |
| T-LA-6  | <div><div>Trastuzumab</div><div><p>T-LA-6</p></div></div>  | 7.89 |
| T-LA-9  | <div><div>Trastuzumab</div><div><p>T-LA-9</p></div></div>  | 7.23 |
| T-LA-10 | <div><div>Trastuzumab</div><div><p>T-LA-10</p></div></div> | 7.35 |

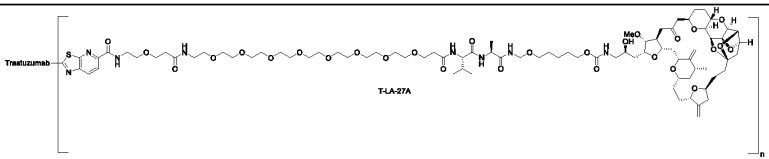
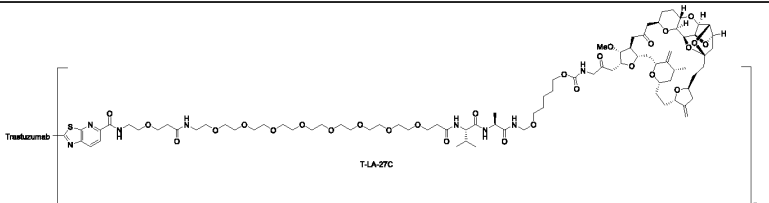
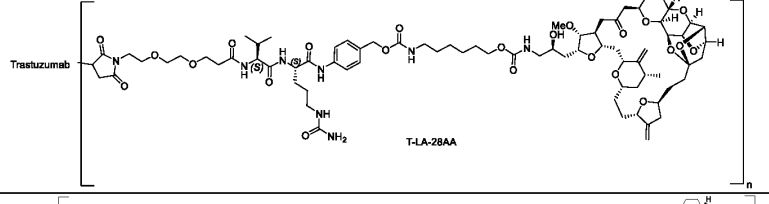
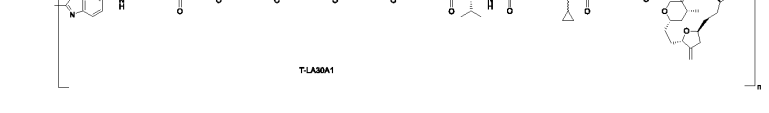
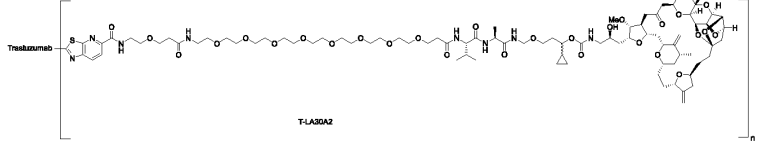
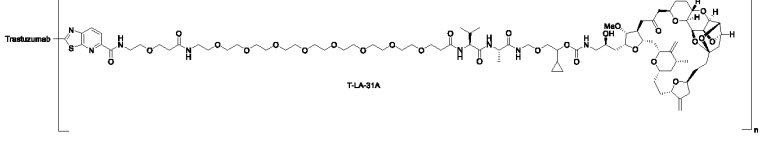
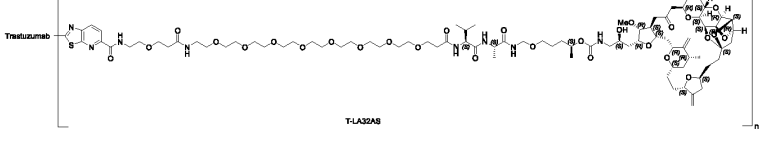
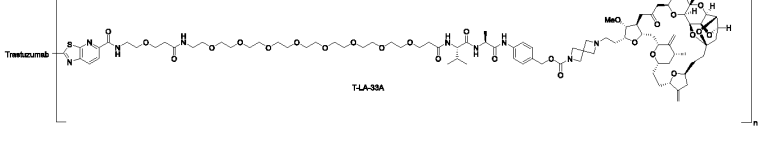
|               |                                                                                                                                                  |       |
|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| T-LA-11       | <div><div>Trastuzumab</div><div><p>T-LA-11</p></div></div>     | 7.95  |
| T-LA-14       | <div><div>Trastuzumab</div><div><p>T-LA-14</p></div></div>     | 3.97  |
| T-LA-21       | <div><div>Trastuzumab</div><div><p>T-LA-21</p></div></div>     | 4.02  |
| T-LA-24       | <div><div>Trastuzumab</div><div><p>T-LA24</p></div></div>     | 4.6   |
| T-LA-25<br>A  | <div><div>Trastuzumab</div><div><p>T-LA25A</p></div></div>   | 4.49  |
| T-LA-25<br>AA | <div><div>Trastuzumab</div><div><p>T-LA-25AA</p></div></div> | 7.600 |
| T-LA-26       | <div><div>Trastuzumab</div><div><p>T-LA-26</p></div></div>   | 6.08  |

|                  |                                                                                                                                                                                                        |      |
|------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| T-LA26B          | <div><div><div>Transfuzumab</div><div></div><div>T-LA26B</div></div></div> <div><div></div><div>n</div></div>        | 4.25 |
| T-LA-27<br>A0    | <div><div><div>Transfuzumab</div><div></div><div>T-LA-27A0</div></div></div> <div><div></div><div>n</div></div>      | 7.65 |
| T-LA-27<br>A     | <div><div><div>Transfuzumab</div><div></div><div>T-LA-27A</div></div></div> <div><div></div><div>n</div></div>       | 7.44 |
| T-LA-27<br>AA    | <div><div><div>Transfuzumab</div><div></div><div>T-LA-27AA</div></div></div> <div><div></div><div>n</div></div>     | 7.60 |
| T-LA-27<br>AA-20 | <div><div><div>Transfuzumab</div><div></div><div>T-LA-27AA-20</div></div></div> <div><div></div><div>n</div></div> | 7.72 |
| T-LA-27<br>AA-2  | <div><div><div>Transfuzumab</div><div></div><div>T-LA27AA-2</div></div></div> <div><div></div><div>n</div></div>   | 2.85 |
| T-LA-27<br>AA-3  | <div><div><div>Transfuzumab</div><div></div><div>T-LA27AA-3</div></div></div> <div><div></div><div>n</div></div>   | 0.6  |
| T-LA-27<br>AAVC  | <div><div><div>Transfuzumab</div><div></div><div>T-LA-27AAVC</div></div></div> <div><div></div><div>n</div></div>  | 7.74 |

|                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |      |
|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| T-LA-27<br>AAVCP   |  <p>Chemical structure of T-LA-27AAVCP, showing a Trastuzumab antibody linked to a long polyether chain, which is further linked to a complex polycyclic structure. The structure is labeled T-LA-27AAVCP.</p> | 7.28 |
| T-LA28             |  <p>Chemical structure of T-LA28, showing a Trastuzumab antibody linked to a long polyether chain, which is further linked to a complex polycyclic structure. The structure is labeled T-LA28.</p>             | 5.78 |
| T-<br>LA28AA-<br>2 |  <p>Chemical structure of T-LA28AA-2, showing a Trastuzumab antibody linked to a long polyether chain, which is further linked to a complex polycyclic structure. The structure is labeled T-LA28AA-2.</p>     | 5.49 |
| T- LA29            |  <p>Chemical structure of T-LA29, showing a Trastuzumab antibody linked to a long polyether chain, which is further linked to a complex polycyclic structure. The structure is labeled T-LA29.</p>            | 6.28 |
| T-<br>LA-29B       |  <p>Chemical structure of T-LA29B, showing a Trastuzumab antibody linked to a long polyether chain, which is further linked to a complex polycyclic structure. The structure is labeled T-LA29B.</p>         | 6.45 |
| T-LA-29<br>AR      |  <p>Chemical structure of T-LA29AR, showing a Trastuzumab antibody linked to a long polyether chain, which is further linked to a complex polycyclic structure. The structure is labeled T-LA29AR.</p>       | 7.35 |
| T-LA-30B<br>-P1    |  <p>Chemical structure of T-LA30B-P1, showing a Trastuzumab antibody linked to a long polyether chain, which is further linked to a complex polycyclic structure. The structure is labeled T-LA30B-P1.</p>   | 4.75 |
| T-<br>L30B-P2      |  <p>Chemical structure of T-LA30B-P2, showing a Trastuzumab antibody linked to a long polyether chain, which is further linked to a complex polycyclic structure. The structure is labeled T-LA30B-P2.</p>   | 6.55 |

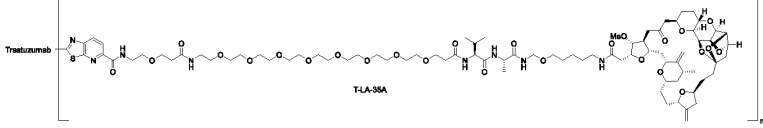
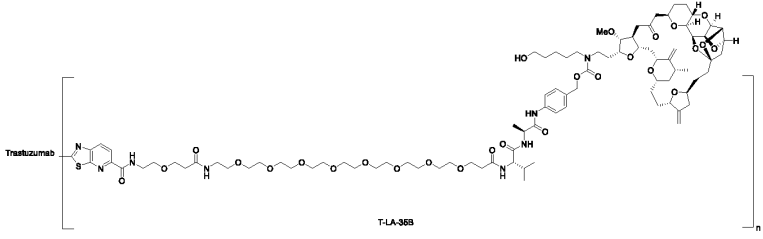
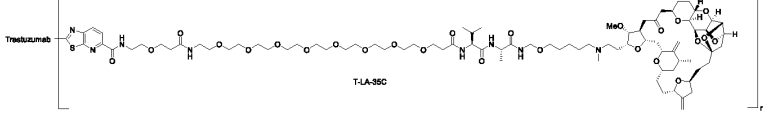
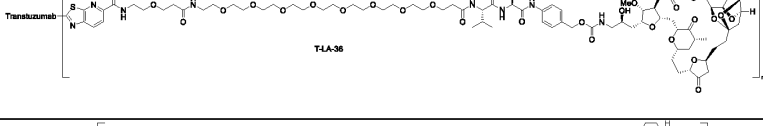
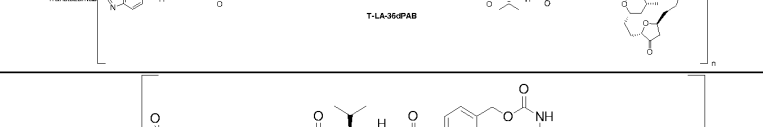
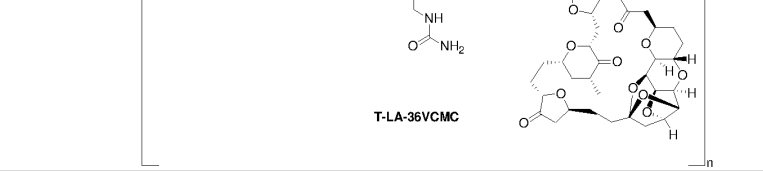
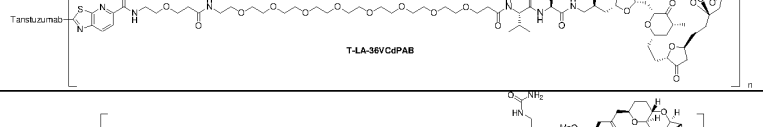
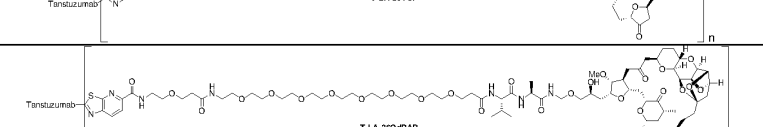
|         |                                                                                                   |      |
|---------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| T-L31B  |  <p>T-L31B</p>  | 5.02 |
| T-L32AR |  <p>T-L32AR</p> | 6.4  |

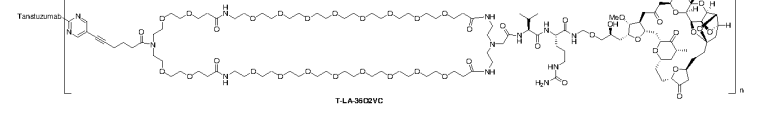
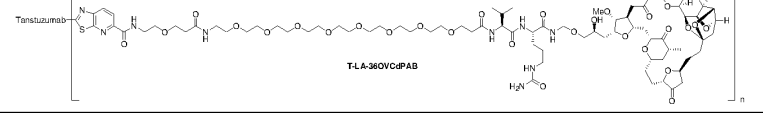
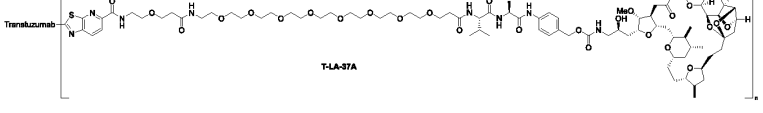
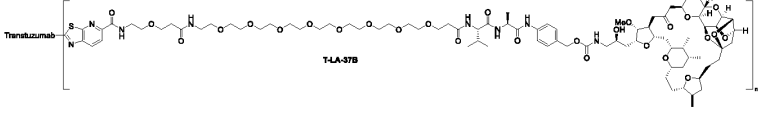
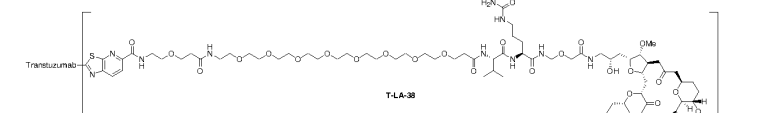
| Procedure 1B | Structure                                                                                           | DAR  |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| T-LA-11B     |  <p>T-LA-11B</p> | 7.82 |
| T-LA-15      |  <p>T-LA-15</p> | 7.65 |
| T-LA-22      |  <p>T-LA-22</p> | 3.85 |
| T-LA-23      |  <p>T-LA-23</p> | 0.6  |

|               |                                                                                                       |      |
|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| T-LA-27<br>A  |  <p>T-LA-27A</p>    | 7.48 |
| T-LA-27C      |  <p>T-LA-27C</p>    | 7.51 |
| T-LA-28<br>AA |  <p>T-LA-28AA</p>   | 7.77 |
| T-LA-30<br>A1 |  <p>T-LA-30A1</p>  | 7.44 |
| T-LA-30<br>A2 |  <p>T-LA-30A2</p> | 7.31 |
| T-LA-31A      |  <p>T-LA-31A</p>  | 7.4  |
| T-LA-32<br>AS |  <p>T-LA-32AS</p> | 7.31 |
| T-LA-33<br>A  |  <p>T-LA-33A</p>  | 7.38 |



|               |                                                                       |      |
|---------------|-----------------------------------------------------------------------|------|
| T-LA-33B      | <div><div>Transfuzumab</div><div><div>T-LA-33B</div></div></div>      | 7.24 |
| T-LA-34A      | <div><div>Transfuzumab</div><div><div>T-LA-34A</div></div></div>      | 7.28 |
| T-LA-34B      | <div><div>Transfuzumab</div><div><div>T-LA-34B</div></div></div>      | 6.61 |
| T-LA-34B-2C   | <div><div>Transfuzumab</div><div><div>T-LA-34B-2C</div></div></div>   | 7.45 |
| T-LA-34B-2C-B | <div><div>Transfuzumab</div><div><div>T-LA-34B-2C-B</div></div></div> | 7.37 |
| LA-34BVC      | <div><div>Transfuzumab</div><div><div>T-LA-34BVC</div></div></div>    | 7.56 |

|                |                                                                                      |      |
|----------------|--------------------------------------------------------------------------------------|------|
| T-LA-35A       |    | 7.26 |
| T-LA-35B       |    | 7.92 |
| T-LA-35C       |    | 6.65 |
| T-LA-36        |   | 7.65 |
| T-LA-36d PAB   |  | 7.78 |
| T-LA-36 VCMC   |  | 7.82 |
| T-LA-36 VCdPAB |  | 7.68 |
| T-LA-36 VCP    |  | 7.54 |
| T-LA-36 OdPAB  |  | 7.73 |

|                        |                                                                                    |      |
|------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|------|
| T-LA-36<br>O2VC        |  | 7.82 |
| T-LA-36<br>OVCdPA<br>B |  | 7.69 |
| T-LA-37<br>A           |  | 7.44 |
| T-LA-37B               |  | 7.82 |
| T-LA-38                |  | 7.84 |

生物学测试

测试例 1：本申请化合物对癌细胞的抑制活性

使用含 10%FBS (Gibco, 10099-141) 的 RPMI640 培养基 (Gibco, 22400-105)

5 培养 N87 胃癌细胞 (中国科学院上海细胞库, SCSP-534)。实验当天, 细胞使用 0.25%胰酶 (Gibco, 25200-072) 消化, 使用孔径为 40μm 筛网过滤后, 加入相应培养基稀释至细胞密度为 1×10<sup>4</sup> 个/ml, 传代至 96 孔白色细胞培养板 (碧云天, FCP968), 每孔加入 100μL, 置于 37℃, 5%CO<sub>2</sub> 培养箱 (Thermo 311), 继续培养 24 小时。第二天, 将待测样品用 DMSO (Sigma, D1650) 配制成终浓度 1M 储液, 然后用相应培养基稀释至终浓度 200nM, 再做 4 倍连续梯度稀释, 共 9 个浓度。取 100μL 稀释后的样品加入 96 孔板, 置于 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 培养箱, 继续培养

10 144 小时。取出细胞培养板, 每孔加入 100μL 细胞活力检测试剂 (CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay, Promega, G7571), 室温避光反应 5 分钟。酶标仪 (TECAN SPARK) 读取发光值, 用 Graphpad Prism 7 软件处理数据。

15 本发明化合物对 N87 胃癌细胞、MDA-MB-468 (中国科学院上海细胞库, TCHu136) 乳腺癌细胞和 JIMT-1 乳腺癌细胞 (南京科佰生物科技有限公司, CBP60378) 的抑制 IC<sub>50</sub> 值如下表 1 所示。将 PE-E (艾日布林甲磺酸盐) 的 IC<sub>50</sub> 值设为 1, 其他艾日布林衍生物的 IC<sub>50</sub> 值为 Eribulin 的倍数关系。其中, 也展示了不同毒素 PE-21EK 和 PE-AM4 在不同细胞系上的抑制 IC<sub>50</sub> 效果, 如表 2 所示。

20 其中, PE-E、PE-ALOH 结构如下:

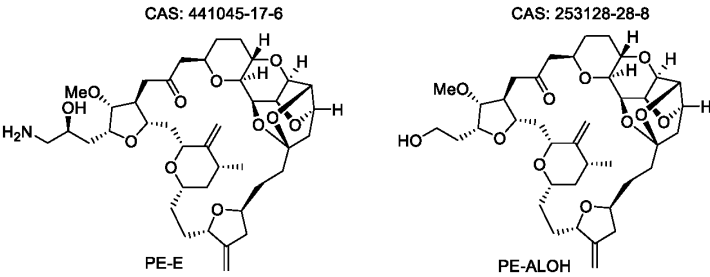


表 1 本发明化合物对胃癌细胞 N87 以及乳腺癌细胞 JIMT-1 和 MDA-MB-468 的抑制 IC<sub>50</sub> 值

|           |          |         |         |        |          |          |          |
|-----------|----------|---------|---------|--------|----------|----------|----------|
| 编号        | PE-E     | PE-1    | PE-2    | PE-5   | PE-10    | PE-21C   | PE-21EMS |
| N87 细胞    | 1        | 13.82   | 1.157   | 0.8925 | 7.746    | 0.3316   | 0.0549   |
| JIMT-1 细胞 | 1        |         |         |        |          | 0.1019   | 0.0959   |
| 468*细胞    | 1        | 47.35   | 5.234   | 1.398  | 43.19    | 0.2702   | 0.333    |
| 编号        | PE-21EMR | PE-21EK | PE-21G  | PE-AM4 | PE-AM5   | PE-AL2H5 | PE-AL4   |
| N87 细胞    | 0.0411   | 0.7828  | 0.2097  | 0.8242 | 0.48     | 0.0841   | 0.1788   |
| JIMT-1 细胞 | 0.0568   | 0.1155  | 0.0561  | 0.6014 | 0.2946   | 0.07713  | 0.1085   |
| 468*细胞    | 0.2534   | 1.4948  | 0.1705  | 2.2506 | 1.737    | 0.4832   | 0.5057   |
| 编号        | PE-ALH5  | PE-AL5  | PE-ALOH | PE-E2K | PE-E4HB1 | PE-E4HS1 | PE-E2H   |
| N87 细胞    | 0.1077   | 0.03422 | 1.52    | 14.1   | 15.5     | 4.5      | 0.0351   |
| JIMT-1 细胞 | 0.084    | 0.0413  |         |        |          |          |          |
| 468*细胞    | 0.4939   | 0.3169  | 0.3682  | 71.51  | 80.39    | 23.24    | 0.1471   |
| 编号        | PE-21EA  | PE-O2K  |         |        |          |          |          |
| N87 细胞    | 3.1266   | >100    |         |        |          |          |          |
| JIMT-1 细胞 | 2.2109   | >100    |         |        |          |          |          |
| 468*细胞    | 1.62413+ | 24.06   |         |        |          |          |          |

根据上述相似的方法，测试本发明化合物对不同细胞的抑制 IC<sub>50</sub> 值，如下表 2 所示。

表 2 本发明化合物 PE-21EK 和 PE-AM4 对其他癌细胞的抑制 IC<sub>50</sub> 值

| 细胞名称         | 细胞来源              | IC <sub>50</sub> 值 |         |        |
|--------------|-------------------|--------------------|---------|--------|
|              |                   | PE-E               | PE-21EK | PE-AM4 |
| SW620        | Colon Cancer      | 0.4188             | 0.02206 | 1.299  |
| MIA PaCa-2   | Pancreatic Cancer | 0.6683             | 0.1577  | 1.225  |
| Renal cancer | ccRCC             | 0.7546             | 0.1016  | 3.470  |
| IGROV-1      | Ovarian Cancer    | 0.4389             | 0.2892  | 0.6228 |
| H1975        | NSCLC             | 0.5048             | 0.0708  | 0.7275 |
| MDA-MB-453   | Breast Cancer     | 19.27              | 0.0846  | 0.1511 |
| NSCLC        | SCLC              | 0.6492             | 0.1841  | 3.131  |

|            |                 |        |         |        |
|------------|-----------------|--------|---------|--------|
| A549       | NSCLC           | 4.166  | 0.1938  | 4.9220 |
| NCI-H1650  | NSCLC           | 2.35   | 0.2623  | 1.56   |
| MDAMB231   | Breast Cancer   | 0.8051 | 0.2179  | 1.085  |
| HS578T     | Breast Cancer   | 0.1879 | 0.02066 | 0.2759 |
| HCC1937    | Breast Cancer   | 2.851  | 0.1044  | 0.6467 |
| Lncap Cell | Prostate Cancer | 1.296  | 0.1226  | 0.4573 |
| DU145      | Prostate Cancer | 1.677  | 0.501   | 0.6857 |
| 22Rv1      | Prostate Cancer | 0.618  | 0.1251  | 0.7409 |

结果表明本申请的艾日布林衍生物都有抗癌活性，其中 PE-21EK 和 PE-AM4 在小分子层面活性和艾日布林活性相当。

5       **测试例 2：本发明 ADC 对于癌细胞的抑制活性**

实验步骤

Day0：取生长状态好的细胞消化过筛网后计数，96 孔板每孔 2000 个细胞/100μL 培养基(N87 细胞)，96 孔板每孔 1000 个细胞/100μL 培养基(MDA-MB-468 细胞或者 JIMT-1)，外圈加入 200μL 无菌水或 PBS，孵育 24h。

10       Day1：培养基梯度稀释样品（9 个梯度+1 个阴性对照），N87 铺板加入相应的 ADC，每个样品两个平行对照，起始浓度为 100 nM，后续 8 个孔逐一进行 4 倍稀释后，向 Day0 铺板相应的孔板中每孔加入 100μL 相应样品，第 11 列加培养基作为对照组；每个样品两个平行对照，起始浓度为 1000 nM，后续 8 个孔逐一进行 4 倍稀释后，向 Day0 铺板相应的孔板中每孔加入 100μL 相应样品，第 11 列加培养基作为对照组。

15       Day7：细胞处理 144h 后，提前 30min 溶解显色剂 CellTiter-Glo®，每孔加入 100μL 避光显色 2-5min，读数 2 遍，取平均数计算。

表 3 本申请 ADC 对 N87 胃癌细胞和 MDA-MB-468 以及 JIMT-1 乳腺癌细胞的抑制 IC<sub>50</sub> 值

| ADC 编号  | 抑制 IC <sub>50</sub> 值 (nM) |         |       |
|---------|----------------------------|---------|-------|
|         | N87                        | JIMT-1  | 468   |
| T-BA-1  | 0.01917                    | 0.06162 | 6.378 |
| T-BA-2  | 0.0121                     | 0.05371 | 6.487 |
| T-BA-3  | 0.005374                   | 0.01867 | 3.814 |
| T-LA-1  | 0.01215                    | 0.04525 | 7.682 |
| T-LA-2  | 0.01378                    | 0.03784 | 8.546 |
| T-LA-3  | 0.007942                   |         | 2.143 |
| T-LA-9  | 0.008079                   |         | 5.172 |
| T-LA-11 | 0.01426                    |         | 4.289 |

|                |          |         |       |
|----------------|----------|---------|-------|
| T-LA-24        | 0.0251   | 0.0768  | 3.36  |
| T-LA-25A       | 0.02382  | 0.4321  | 21.72 |
| T-LA-25AA      | 0.01051  | 0.04771 | 7.602 |
| T-LA-26        | 0.02587  | 0.3608  | 32.82 |
| T-LA-26B       | 0.02333  | 0.4     | 15.33 |
| T-LA-27A       | 0.0252   | 0.9732  | 11.13 |
| T-LA-27AA-2    | 0.009148 | 0.02625 | 17.28 |
| T-LA-27C       | 0.08346  | 3       | 16.18 |
| T-LA-27A0      | 0.08938  |         |       |
| T-LA-27AA-20   | 0.07433  |         |       |
| T-LA-27AAVC    |          | 0.04353 |       |
| T-LA-28AA-2    | 0.022    | 0.1107  | 10.68 |
| T-LA-28        | 0.03039  | 0.7     | 7.915 |
| T-LA-29        | 0.0346   | 0.6329  | 28.61 |
| T-LA-29AR      | 0.04759  | 1.415   | 90    |
| T-LA-29B       | 0.03092  | 0.3906  | 26.92 |
| T-LA-30A-1     | 0.07169  | 0.8     | 12.07 |
| T-LA-30A-2     | 0.06187  | 1       | 10.69 |
| T-LA-30B-P1    | 0.0401   | 8       | 19.8  |
| T-LA-30B-P2    | 0.0506   | 5       | 22.28 |
| T-LA-31A       | 0.02991  | 0.5687  | 34.59 |
| T-LA-31B       | 0.02483  | 3       | 19.36 |
| T-LA-32AS      | 0.02296  | 0.4863  | 22.52 |
| T-LA-32AR      | 0.02041  | 1.087   | 8.389 |
| T-LA-33A       | 0.01606  | 0.1267  | 6.21  |
| T-LA-33B       | 0.003705 | 0.02633 | 3.336 |
| T-LA-34A       | 0.006712 | 0.03167 | 30.75 |
| T-LA-34B       | 0.04068  | 0.2818  | 27.27 |
| T-LA-34B-2C-B  | 55.79    |         |       |
| T-LA-35A       | 0.04409  | 1       | 88    |
| T-LA-35B       | 0.009978 | 0.2098  | 5.978 |
| T-LA-35C       | 0.02821  | 0.1076  | 10.4  |
| T-LA-36        | 0.04318  | 0.1757  | >100  |
| T-LA-36dPAB    | 0.0612   | 0.4208  | >100  |
| T-LA-36OdPAB   | 0.2969   | 0.1423  | >100  |
| T-LA-36OVCDPAB | 0.07662  | 0.1942  | 30.51 |
| T-LA-36VCDPAB  | 0.07433  | 0.3701  | >100  |
| T-LA-36VCP     | 0.07522  | 0.4327  | >100  |

注：在细胞抑制实验的时候 DAR 值都校正为 DAR8。  
结果表明，本申请艾日布林衍生物的 ADC 具有良好的抗癌活性。

**测试例 3A：本发明 ADC 在人乳腺癌 JIMT-1 移植瘤模型中的药效实验**  
人乳腺癌 JIMT-1 细胞株(南京科佰生物,CBP60378)在 DMEM 培养基(Gibco,

货号：11995-065）+10% FBS（Excell Bio，货号：FCS500）中，培养于含 5% CO<sub>2</sub> 的 37℃ 培养箱。细胞用 0.25%胰蛋白酶-EDTA 消化，PBS 洗两次，细胞计数仪计数，PBS 稀释使细胞浓度为 1×10<sup>8</sup>/mL。

CB17 SCID 小鼠，雌性，4-6 周龄，购自维通利华实验动物有限公司。CB17 SCID 小鼠实验室环境适应 2-5 天，于右肋部皮下接种 JIMT-1 细胞，接种细胞量为 5×10<sup>6</sup>/只，接种体积为 0.1 mL（含 50% Matrigel），待肿瘤生长至 150-200mm<sup>3</sup>时，按表 4 所示方案给药，DAR 值全部调整为 8。每周测量 2 次瘤体积及体重，计算肿瘤增值率和相对肿瘤抑制率。

表 4 ADC 对人乳腺癌 JIMT-1 移植瘤小鼠的给药方案

| No. | 组别          | 动物数量 | 给药剂量    | 给药途径和周期 |
|-----|-------------|------|---------|---------|
| 1   | PBS         | 6    | 10mL/kg | i.v. 两次 |
| 2   | T-BA-1      | 6    | 3mg/kg  | i.v. 两次 |
| 3   | T-BA-3      | 6    | 3mg/kg  | i.v. 两次 |
| 4   | T-LA-27A    | 6    | 3mg/kg  | i.v. 两次 |
| 5   | T-LA-27C    | 6    | 3mg/kg  | i.v. 两次 |
| 6   | T-LA-34B    | 6    | 3mg/kg  | i.v. 两次 |
| 7   | T-LA-35A    | 6    | 3mg/kg  | i.v. 两次 |
| 8   | T-LA-32AS   | 6    | 3mg/kg  | i.v. 两次 |
| 9   | A023-LA-34B | 6    | 3mg/kg  | i.v. 两次 |
| 10  | A023-LA-27C | 6    | 3mg/kg  | i.v. 两次 |

试验结束，处死小鼠，取肿瘤称重。每周测量 2 次瘤体积及体重，计算肿瘤增值率和相对肿瘤抑制率。计算公式为：

相对肿瘤增殖率  $T/C(\%) = T_{RTV} / C_{RTV} \times 100\%$

（ $T_{RTV}$  治疗组平均 RTV； $C_{RTV}$  对照组平均 RTV； $RTV = V_t / V_o$ ， $V_o$  为分组时该动物的瘤体积， $V_t$  为治疗后该动物的瘤体积）；

相对肿瘤抑制率  $TGI\% = (1 - T/C) \times 100\%$

（ $T$  和  $C$  分别为治疗组和对照组在某一特定时间点的相对肿瘤体积（RTV））；

肿瘤体积（V）计算公式为： $V = l/2 \times L_{长} \times L_{短}^2$ ，

其中  $L_{长}$ 、 $L_{短}$  分别表示肿瘤长径、短径。

试验结果见表 5 和图 1。

表 5 JIMT-1 乳腺癌荷瘤小鼠模型的肿瘤体积数据

| 样品       | 肿瘤体积（mm <sup>3</sup> ） |        |         |         |         |         | T/C(%)  | TGI(%)  |
|----------|------------------------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
|          | 给药 0 天                 | 给药 7 天 | 给药 10 天 | 给药 13 天 | 给药 16 天 | 给药 21 天 | 给药 21 天 | 给药 21 天 |
| PBS      | 192.86                 | 276.22 | 362.57  | 409.27  | 482.90  | 687.50  |         |         |
| T-BA-1   | 195.53                 | 147.25 | 114.01  | 60.39   | 49.49   | 20.85   | 3.57    | 96.43   |
| T-BA-3   | 191.86                 | 158.37 | 148.77  | 100.01  | 78.61   | 73.24   | 12.50   | 87.50   |
| T-LA-27A | 192.06                 | 197.24 | 194.82  | 203.04  | 224.27  | 273.55  | 39.50   | 60.50   |
| T-LA-27C | 192.39                 | 211.98 | 251.27  | 251.43  | 313..57 | 416.57  | 61.50   | 38.50   |
| T-LA-34B | 194.76                 | 199.25 | 146.22  | 126.89  | 161.98  | 185.57  | 29.04   | 70.96   |
| T-LA-35A | 193.06                 | 178.29 | 152.90  | 169.55  | 197.90  | 247.18  | 35.64   | 64.36   |

|             |        |        |        |        |        |        |       |       |
|-------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|-------|
| T-LA-32AS   | 193.71 | 181.51 | 147.21 | 143.06 | 150.11 | 191.00 | 29.81 | 70.19 |
| A023-LA-34B | 192.41 | 254.99 | 266.62 | 337.73 | 382.98 | 457.05 | 68.66 | 31.34 |
| A023-LA-27C | 194.88 | 271.29 | 281.71 | 350.25 | 415.60 | 513.76 | 72.53 | 27.47 |

结果：第 21 天，溶媒组（PBS）的肿瘤体积平均值达到 687mm<sup>3</sup>，两个对照组 T-BA1 和 T-BA3 都有较好的肿瘤抑制率，分别为 96.43%和 87.5%。而且，艾日布林衍生物 T-LA-34B 和 T-32-AS 都有较好的肿瘤抑制率，都达到了 70%以上。其次是 T-LA-27A 和 T-LA-35A。肿瘤抑制率比较差的是 T-LA-27C，只有 38.5%。最差的是两个无关对照抗体 ADC A023-LA-34B 和 A023-LA-27C。给药期间，各组动物无明显体重下降和明显的药物毒性。

结论：本发明艾日布林衍生物的 ADC 具有良好的肿瘤抑制活性。

10       **测试例 3B：本发明 ADC 在人乳腺癌 JIMT-1 移植瘤模型中的药效实验**

人乳腺癌 JIMT-1 细胞株(南京科佰生物, CBP60378)在 DMEM 培养基(Gibco, 货号: 11995-065) +10% FBS (Excell Bio, 货号: FCS500) 中，培养于含 5% CO<sub>2</sub> 的 37℃ 培养箱。细胞用 0.25%胰蛋白酶-EDTA 消化，PBS 洗两次，细胞计数仪计数，PBS 稀释使细胞浓度为 1×10<sup>8</sup>/mL。

15       CB17 SCID 小鼠, 雌性, 4-6 周龄, 购自维通利华实验动物有限公司。CB17 SCID 小鼠实验室环境适应 2-5 天, 于右肋部皮下接种 JIMT-1 细胞, 接种细胞量为 5×10<sup>6</sup>/只, 接种体积为 0.1 mL (含 50% Matrigel)，待肿瘤生长至 150-200mm<sup>3</sup> 时, 按表 4 所示方案给药, DAR 值全部调整为 4。每周测量 2 次瘤体积及体重, 计算肿瘤增值率和相对肿瘤抑制率。

20                               表 6 ADC 对人乳腺癌 JIMT-1 移植瘤小鼠的给药方案

| No. | 组别                   | 动物数量 | 给药剂量    | 给药途径和周期        |
|-----|----------------------|------|---------|----------------|
| 1   | PBS                  | 6    | 10mL/kg | <i>i.v.</i> 两次 |
| 2   | TJ106A028-LA36VCdPAB | 6    | 3mg/kg  | <i>i.v.</i> 两次 |
| 3   | TJ106A028-LA36VCdPAB | 6    | 6mg/kg  | <i>i.v.</i> 两次 |
| 4   | TJ106A028-LA36VCdPAB | 6    | 12mg/kg | <i>i.v.</i> 两次 |
| 5   | TJ106A028-LA36O2VC   | 6    | 6mg/kg  | <i>i.v.</i> 两次 |
| 6   | TJ106A028-LY22CD3    | 6    | 6mg/kg  | <i>i.v.</i> 两次 |

试验结束，处死小鼠，取肿瘤称重。每周测量 2 次瘤体积及体重，计算肿瘤增值率和相对肿瘤抑制率。计算公式为：

相对肿瘤增殖率  $T/C(\%) = T_{RTV} / C_{RTV} \times 100\%$

25       ( $T_{RTV}$  治疗组平均 RTV;  $C_{RTV}$  对照组平均 RTV;  $RTV = V_t / V_o$ ,  $V_o$  为分组时该动物的瘤体积,  $V_t$  为治疗后该动物的瘤体积)；

相对肿瘤抑制率  $TGI\% = (1 - T/C) \times 100\%$

( $T$  和  $C$  分别为治疗组和对照组在某一特定时间点的相对肿瘤体积 (RTV))；

肿瘤体积 (V) 计算公式为:  $V = 1/2 \times L_{长} \times L_{短}^2$ ,



其中  $L_{长}$ 、 $L_{短}$  分别表示肿瘤长径、短径。  
试验结果见表 7 和图 3。

表 7 JIMT-1 乳腺癌荷瘤小鼠模型的肿瘤体积数据

| 样品                       | 肿瘤体积 (mm <sup>3</sup> ) |        |        |        |        |        |        |        |        | T/C(%) | TGI(%) |
|--------------------------|-------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 给药后天数                    | 0 天                     | 3 天    | 6 天    | 10 天   | 13 天   | 17 天   | 20 天   | 24 天   | 27 天   | 27 天   | 27 天   |
| PBS                      | 188.98                  | 232.95 | 273.79 | 357.12 | 436.61 | 472.89 | 548.92 | 632.58 | 704.78 | N/A    | N/A    |
| T-LA-36VCdPAB<br>3mg/kg  | 188.75                  | 215.33 | 200.60 | 170.66 | 167.62 | 140.73 | 140.81 | 170.69 | 197.63 | 27.42  | 72.58  |
| T-LA-36VCdPAB<br>6mg/kg  | 189.04                  | 201.47 | 181.88 | 143.36 | 131.70 | 116.08 | 108.25 | 120.40 | 138.84 | 18.46  | 81.54  |
| T-LA-36VCdPAB<br>12mg/kg | 189.14                  | 181.80 | 156.85 | 116.18 | 100.13 | 80.80  | 82.51  | 89.42  | 101.97 | 14.64  | 85.36  |
| T-LA-36O2VC              | 189.11                  | 206.13 | 240.47 | 283.84 | 329.57 | 335.89 | 407.20 | 448.17 | 496.12 | 67.48  | 32.52  |
| T-LY-22CD3               | 188.91                  | 220.99 | 184.63 | 154.05 | 131.26 | 95.27  | 92.51  | 95.81  | 96.40  | 13.41  | 86.59  |

5            结果：第 27 天，溶媒组（PBS）的肿瘤体积平均值达到 704mm<sup>3</sup>，艾日布林衍生物 T-LA-36VCdPAB 不同的剂量都有较好的肿瘤抑制率，都达到了 70%以上。其中，高剂量组 12mg/kg 相比 6mg/kg 剂量组的肿瘤抑制率并没有显示出剂量效应，意味着在 6mg/kg 的时候 ADC 与肿瘤靶点结合趋近饱和。而且中高剂量组的肿瘤抑制效果和 T-LY-22CD3 接近。给药期间，各组动物无明显体重下降和明显的药物毒性。

10           结论：本发明艾日布林衍生物的 ADC T-LA-36VCdPAB 具有良好的肿瘤抑制活性。

测试例 4：本发明 ADC 在大鼠中的毒性试验

15           1、试验方法：SD 大鼠购自北京维通利华试验动物有限公司，置于 SPF 动物房饲养。选取 200-250g 体重的大鼠随机分为 10 组，每组 5 只，尾静脉注射相应剂量的 ADC 或者溶媒对照，注射当日作为第 1 天。每天称量大鼠体重和摄食量，观察动物活动状态，观察被毛及其它外观异常情况，观察是否有腹泻或者软便。给药后第 5 天和第 15 天采集血液检测血生化和血常规指标。给药后第 22 天试验结

20           束，大鼠安乐死，解剖并观察主要脏器（心、肝、脾、肺、肾等）是否有肉眼可见的异常变化。

             2、试验结果

             给药后第 1 天-第 10 天，T-BA-1 组大鼠在 18mg/kg 的剂量下，第 6 天全部死亡。在 6mg/kg 的剂量下尽管所有大鼠存活，但是其体重在 6 天后比其三倍剂量的

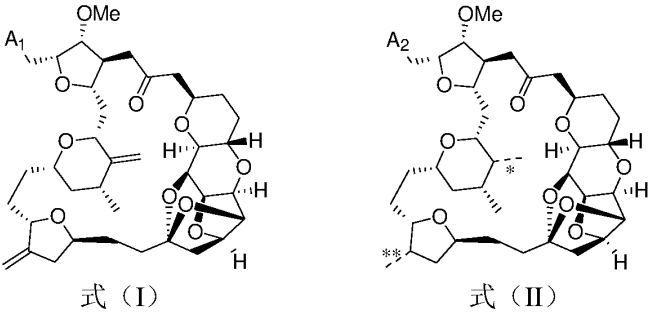
25           衍生物 T-LA-27A（18 mg/kg），T-LA-27C（18 mg/kg），T-LA-34B（18 mg/kg），T-LA-35A（18 mg/kg）体重都要轻。但是所有组大鼠体重低于溶媒对照，见图 2。给药后第 10 天，T-LA-31A（18 mg/kg）组大鼠死掉一只，T-LA-32AS（18 mg/kg）组大鼠在第 15 天死掉一只，而且这两组大鼠体重明显低于其他艾日布林衍生组。

             结论：在相同剂量（18mg/kg）下，本发明 ADC 耐受性顺序为 T-LA-27C>

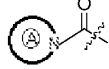
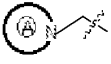
T-LA-34B> T-LA-35A~ T-LA-27A~ T-BA-1 (6 mg/kg) > T-LA-31A> T-LA-32AS。  
同时也说明本申请艾日布林衍生物的 ADC T-LA-27C、T-LA-34B、T-LA-35A 和  
T-LA-27A 是艾日布林本身的 ADC T-BA-1 在大鼠上耐受性的三倍，因此相比  
T-BA-1 有更大的治疗窗口。

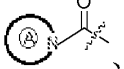
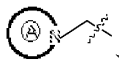
权 利 要 求 书

1. 一种艾日布林衍生物，其为式（I）、式（II）化合物，或其同位素标记化合物，或其光学异构体、几何异构体、互变异构体或异构体混合物，或其药学上可接受的盐，



其中：

式（I）中 A<sub>1</sub> 选自  $X_3-X_2-X_1-N(R_1)-CH(OH)-$ 、 $X_3-X_2-X_1-N(R_1)-C(=O)-$ 、 $Y_1-N(R_1)-C(=O)-$ 、 $Y_1-N(R_1)-$ 、、  
10 或 ；

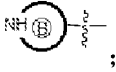
式（II）中 A<sub>2</sub> 选自  $X_3-X_2-X_1-N(R_1)-CH(OH)-$ 、 $X_3-X_2-X_1-N(R_1)-C(=O)-$ 、 $Y_1-N(R_1)-C(=O)-$ 、 $Y_1-N(R_1)-$ 、、  
、 $HN(R_1)-CH(OH)-$  或  $OR_1-CH(OH)-$ ；\*、\*\*处的----各自独立地为单键、双键或氧键=O，  
且至少一处不为双键；

R<sub>1</sub> 选自 H、烷基、羟基取代的烷基、烷基氧基取代的烷基、氨基取代的烷基、  
15 卤代烷基或氰基取代的烷基；

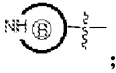
X<sub>1</sub> 选自 -CO-、-CH<sub>2</sub>-、-S(O)-或-S(O)<sub>2</sub>-；

X<sub>2</sub> 选自直接键、-O-或-NR<sub>1</sub>-；

X<sub>3</sub> 选自 -(CR<sub>2</sub>R<sub>3</sub>)<sub>m1</sub>-NH<sub>2</sub>、-(CR<sub>2</sub>R<sub>3</sub>)<sub>m1</sub>-OH、-R<sub>4</sub>-(CR<sub>2</sub>R<sub>3</sub>)<sub>m2</sub>-NH<sub>2</sub>、-R<sub>4</sub>-(CR<sub>2</sub>R<sub>3</sub>)<sub>m2</sub>-OH

或 ；

20 Y<sub>1</sub> 选自 -(CR<sub>2</sub>R<sub>3</sub>)<sub>m1</sub>-NH<sub>2</sub>、-(CR<sub>2</sub>R<sub>3</sub>)<sub>m1</sub>-OH、-R<sub>4</sub>-(CR<sub>2</sub>R<sub>3</sub>)<sub>m2</sub>-NH<sub>2</sub>、-R<sub>4</sub>-(CR<sub>2</sub>R<sub>3</sub>)<sub>m2</sub>-OH

或 ；

R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub> 各自独立地选自 H、烷基、羟基、烷基氧基、氨基、卤素、氰基、羟基取代的烷基、烷基氧基取代的烷基、氨基取代的烷基、卤代烷基、氰基取代的  
25 烷基、被取代或未取代的碳环基取代的烷基、被取代或未取代的杂环基取代的烷基、取代或未取代的碳环基或取代或未取代的杂环基；所述取代或未取代的碳环

基、取代或未取代的杂环基，是指任选被选自氧代、烷基、羟基、烷基氧基、氨基、卤素、氰基、羟基取代的烷基、烷基氧基取代的烷基、氨基取代的烷基、卤代烷基、氰基取代的烷基中的一个或多个取代基取代；

5  $R_4$  选自取代或未取代的碳环基或取代或未取代的杂环基；所述取代或未取代的碳环基、取代或未取代的杂环基是指任选被选自氧代、烷基、羟基、烷基氧基、氨基、卤素、氰基、羟基取代的烷基、烷基氧基取代的烷基、氨基取代的烷基、卤代烷基、氰基取代的烷基中的一个或多个取代基取代；

10 ⑤环为取代或未取代的杂环基，所述杂环基的环上含有至少一个-NH-，所述取代是指被选自氧代、烷基、烷基氧基、卤素、氰基、烷基氧基取代的烷基、卤代烷基、氰基取代的烷基中的一个或多个取代基取代；

④环为杂环基，所述杂环基的环上含有至少一个-NH-和/或所述杂环基被氨基、羟基、氨基取代的烷基或羟基取代的烷基取代，所述杂环基任选被选自氧代、烷基、烷基氧基、卤素、氰基、烷基氧基取代的烷基、卤代烷基、氰基取代的烷基中的一个或多个取代基取代；

15  $m_1$  选自 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10；

$m_2$  选自 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10。

2. 根据权利要求 1 所述的艾日布林衍生物，其特征在于，所述烷基为  $C_{1-12}$  直链或支链烷基；所述碳环基为饱和、部分不饱和或完全不饱和的碳环基，碳原子数为 3-20 个；所述杂环基为饱和、部分不饱和或完全不饱和的杂环基，原子数可为 3-20 个，含有 1、2、3、4 个选自 N、O、S 的杂原子。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的艾日布林衍生物，其特征在于， $R_1$  选自 H、 $C_{1-6}$  烷基、羟基取代的  $C_{1-6}$  烷基，优选选自 H、甲基、乙基、正丙基、异丙基、羟基甲基、羟基乙基、羟基正丙基、羟基异丙基。

25 4. 根据权利要求 1-3 任一项所述的艾日布林衍生物，其特征在于， $X_1$  选自 -CO-、-CH<sub>2</sub>-。

30 5. 根据权利要求 1-4 任一所述的艾日布林衍生物，其特征在于， $R_2$ 、 $R_3$  各自独立地选自 H、 $C_{1-6}$  烷基、羟基、 $C_{1-6}$  烷基氧基、羟基取代的  $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  烷基氧基取代的  $C_{1-6}$  烷基、被取代或未取代的  $C_{3-6}$  环烷基取代的  $C_{1-6}$  烷基、被取代或未取代的含有 1 或 2 个杂原子 N 或 O 的 3-6 元杂环烷基取代的  $C_{1-6}$  烷基、取代或未取代的  $C_{3-6}$  环烷基、取代或未取代的含有 1 或 2 个杂原子 N 或 O 的 3-6 元杂环烷基是指任选被选自氧代、 $C_{1-6}$  烷基、羟基、 $C_{1-6}$  烷基氧基、羟基取代的  $C_{1-6}$  烷基、 $C_{1-6}$  烷基氧基取代的  $C_{1-6}$  烷基中的一个或多个取代基取代；

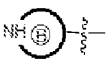
35 优选地， $R_2$ 、 $R_3$  各自独立地选自 H、 $C_{1-6}$  烷基、羟基、羟基取代的  $C_{1-6}$  烷基、被取代或未取代的  $C_{3-6}$  环烷基取代的  $C_{1-6}$  烷基、被取代或未取代的含有 1 或 2 个杂原子 N 或 O 的 3-6 元杂环烷基取代的  $C_{1-6}$  烷基、取代或未取代的  $C_{3-6}$  环烷基、

取代或未取代的含有 1 或 2 个杂原子 N 或 O 的 3-6 元杂环烷基；所述取代或未取代的 C<sub>3-6</sub> 环烷基、取代或未取代的含有 1 或 2 个杂原子 N 或 O 的 3-6 元杂环烷基是指任选选自氧代、C<sub>1-6</sub> 烷基、羟基、羟基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基中的一个或多个取代基取代。

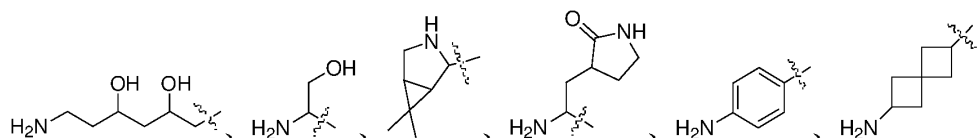
- 5 6. 根据权利要求 1-5 任一所述的艾日布林衍生物，其特征在于，R<sub>4</sub> 选自取代或未取代的 C<sub>3-12</sub> 单环、并环、联环、螺环或桥环环烷基，取代或未取代的含有 1、2 或 3 个杂原子 N 或 O 的 3-12 元单环、并环、联环、螺环或桥环杂环烷基，取代或未取代的 C<sub>6-10</sub> 芳基，取代或未取代的含有 1、2 或 3 个杂原子 N 或 O 的 5-10 元杂芳基；所述取代是指被选自氧代、C<sub>1-6</sub> 烷基、羟基、C<sub>1-6</sub> 烷基氧基、羟基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基、C<sub>1-6</sub> 烷基氧基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基中的一个或多个取代基取代；

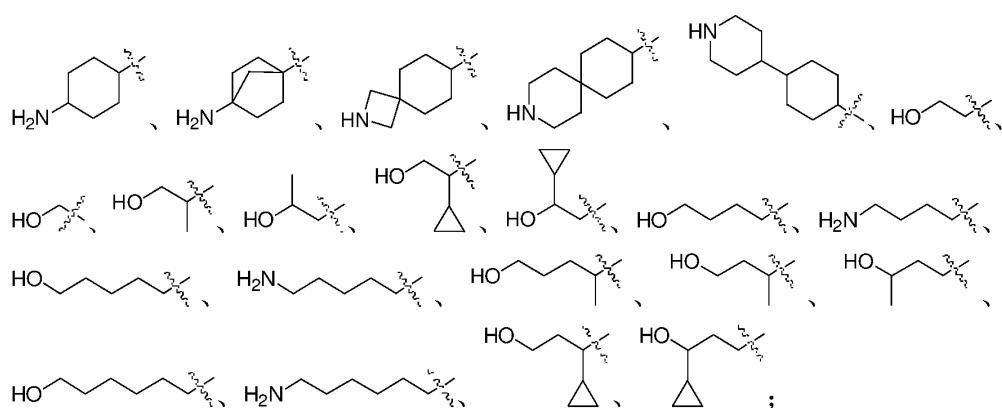
10 优选地，R<sub>4</sub> 选自取代或未取代的 C<sub>4-12</sub> 单环、并环、联环、螺环或桥环环烷基，取代或未取代的含有 1、2 或 3 个杂原子 N 或 O 的 4-12 元单环、并环、联环、螺环或桥环杂环烷基，取代或未取代的苯基，取代或未取代的含有 1、2 或 3 个杂原子 N 或 O 的 5-10 元杂芳基，所述取代是指被选自氧代、C<sub>1-6</sub> 烷基中的一个或多个取代基取代。

- 15 7. 根据权利要求 1-6 任一所述的艾日布林衍生物，其特征在于，⑤环为取代或未取代的含 1、2 或 3 个杂原子 N 或 O 的 3-12 元单环、并环、联环、螺环或桥环杂环烷基，所述杂环烷基的环上含有至少一个-NH-，所述取代是指被选自氧代、C<sub>1-6</sub> 烷基、C<sub>1-6</sub> 烷基氧基、C<sub>1-6</sub> 烷基氧基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基中的一个或多个取代基取代。

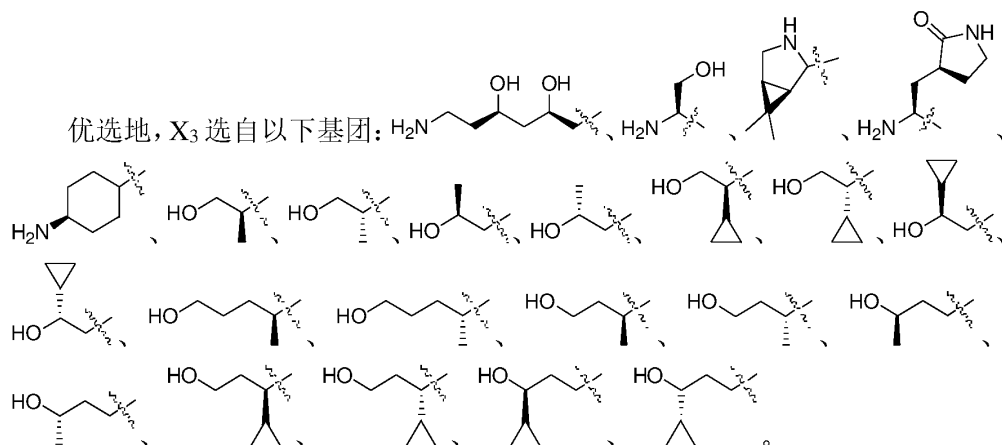
- 20 8. 根据权利要求 1-4 任一所述的艾日布林衍生物，其特征在于，X<sub>3</sub> 选自 -(CR<sub>2</sub>R<sub>3</sub>)<sub>m1</sub>-NH<sub>2</sub>， -(CR<sub>2</sub>R<sub>3</sub>)<sub>m1</sub>-OH， -R<sub>4</sub>-(CR<sub>2</sub>R<sub>3</sub>)<sub>m2</sub>-NH<sub>2</sub>， -R<sub>4</sub>-(CR<sub>2</sub>R<sub>3</sub>)<sub>m2</sub>-OH 或 , 所述⑤环为取代或未取代的含 1、2 或 3 个杂原子 N 或 O 的 4-12 元单环、并环、联环、螺环或桥环杂环烷基，所述取代是指被选自氧代、C<sub>1-6</sub> 烷基中的一个或多个取代基取代；m<sub>1</sub> 选自 1、2、3、4、5、6；m<sub>2</sub> 选自 0、1、2、3、4、5 或 6；R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub> 各自独立地选自 H、C<sub>1-6</sub> 烷基、羟基、羟基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基、被取代或未取代的 C<sub>3-6</sub> 环烷基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基、取代或未取代的 C<sub>3-6</sub> 环烷基，所述取代或未取代的 C<sub>3-6</sub> 环烷基是指任选选自氧代、C<sub>1-6</sub> 烷基的一个或多个取代基取代；R<sub>4</sub> 选自 C<sub>4-12</sub> 单环、并环、联环、螺环或桥环环烷基，含有 1、2 或 3 个杂原子 N 或 O 的 4-12 元单环、并环、联环、螺环或桥环杂环烷基，苯基。

- 30 9. 根据权利要求 8 所述的艾日布林衍生物，其特征在于，X<sub>3</sub> 选自以下基团：





5 优选地, X<sub>3</sub> 选自以下基团: , , , ,



10. 根据权利要求 1-4 任一所述的艾日布林衍生物, 其特征在于,  $Y_1$  选自  
10  $-(CR_2R_3)_{m1}-NH_2$ ,  $-(CR_2R_3)_{m1}-OH$ ,  $-R_4-(CR_2R_3)_{m2}-NH_2$ ,  $-R_4-(CR_2R_3)_{m2}-OH$ , 或



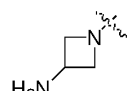
，所述⑤环为取代或未取代的含 1、2 或 3 个杂原子 N 或 O 的 4-12 元单环、并环、联环、螺环或桥环杂环烷基，所述取代是指被选自氧代、C<sub>1-6</sub> 烷基中的一个或多个取代基取代；m1 选自 1、2、3、4、5、6；m2 选自 0、1、2、3、4、5 或 6；R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub> 各自独立地选自 H、C<sub>1-6</sub> 烷基、羟基、羟基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基、被取代或未取代的 C<sub>3-6</sub> 环烷基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基、取代或未取代的 C<sub>3-6</sub> 环烷基，所述取代或未取代的 C<sub>3-6</sub> 环烷基是指任选被选自氧代、C<sub>1-6</sub> 烷基的一个或多个取代基取代；R<sub>4</sub> 选自 C<sub>4-12</sub> 单环、并环、联环、螺环或桥环环烷基，含有 1、2 或 3 个杂原子 N 或 O 的 4-12 元单环、并环、联环、螺环或桥环杂环烷基，苯基。

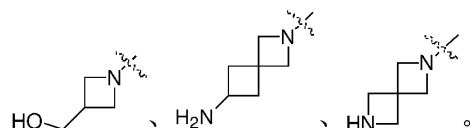
11. 根据权利要求 10 所述的艾日布林衍生物, 其特征在于,  $Y_1$  选自  
 20  $-(CR_2R_3)_{m1}-NH_2$ ,  $-(CR_2R_3)_{m1}-OH$ ;  $m1$  选自 1、2、3、4、5、6;  $R_2$ 、 $R_3$  各自独立地  
 选自 H、 $C_{1-6}$  烷基、羟基、羟基取代的  $C_{1-6}$  烷基; 优选地,  $Y_1$  选自  $HO-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-$

12. 根据权利要求 1 所述的艾日布林衍生物, 其特征在于, ④环为含 1、2 或 3 个杂原子 N 或 O 的 3-12 元单环、并环、联环、螺环或桥环杂环烷基, 所述杂环烷基的环上含有至少一个-NH-和/或所述杂环烷基被氨基、羟基、氨基取代的 C<sub>1-6</sub>

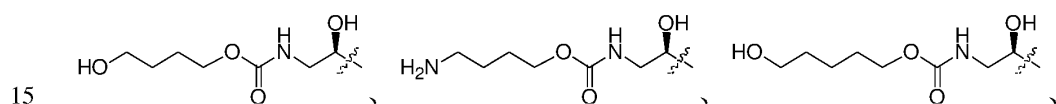
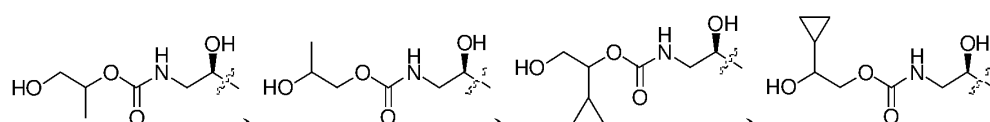
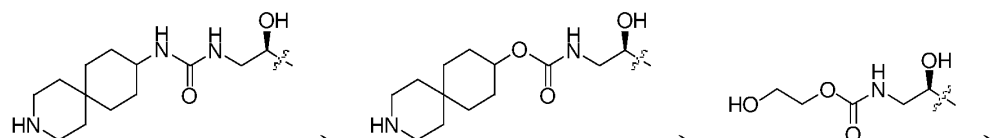
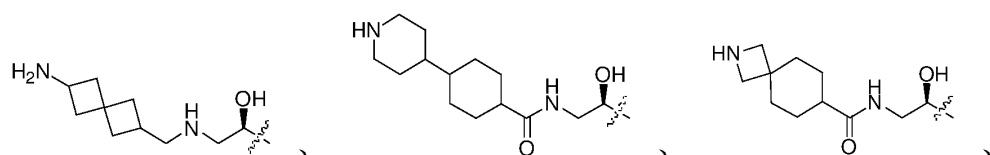
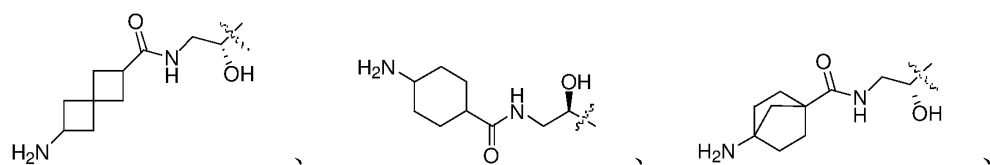
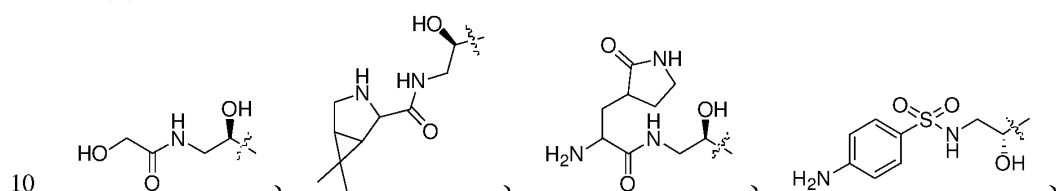
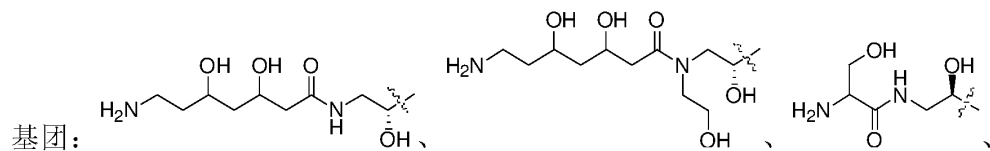
烷基或羟基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基取代, 所述杂环烷基任选被选自氧代、C<sub>1-6</sub> 烷基、C<sub>1-6</sub> 烷基氧基、C<sub>1-6</sub> 烷基氧基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基中的一个或多个取代基取代。

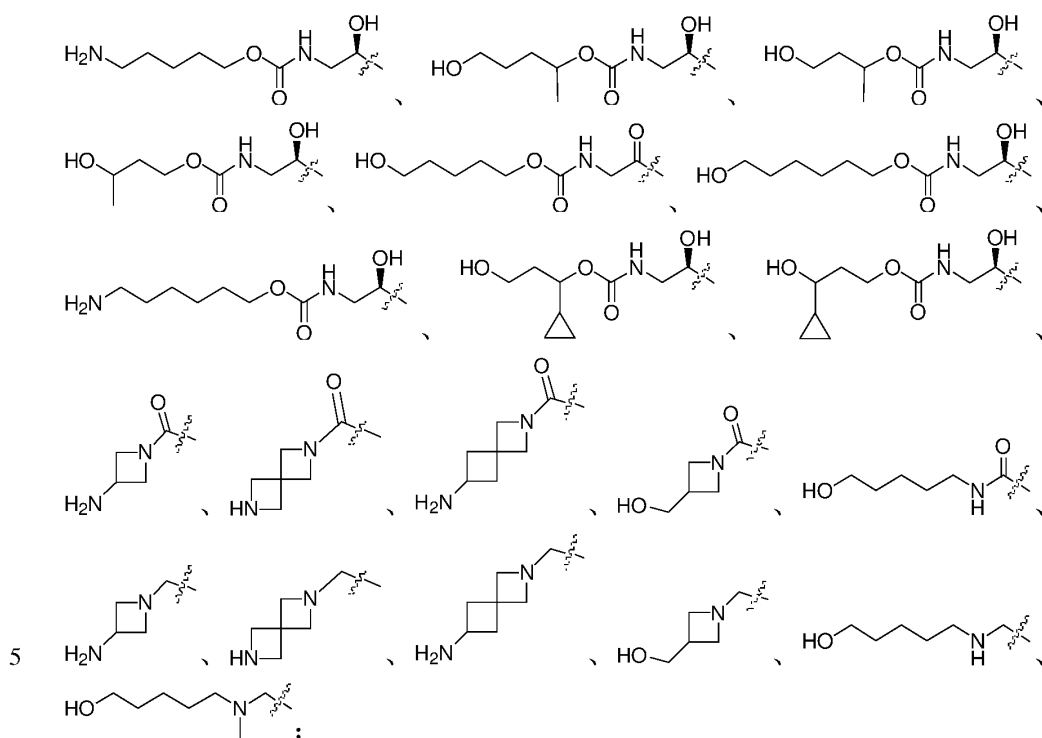
13. 根据权利要求 12 所述的艾日布林衍生物, 其特征在于, ④环为含 1、2 或 3 个杂原子 N 或 O 的 4-12 元单环、并环、联环、螺环或桥环杂环烷基, 所述杂  
5 环烷基的环上含有至少一个-NH-和/或所述杂环烷基被氨基、羟基、氨基取代的 C<sub>1-6</sub>

烷基或羟基取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基取代; 优选地, ④环选自以下基团: 、

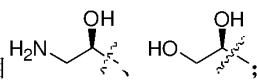


14. 根据权利要求 1 所述的艾日布林衍生物, 其特征在于, A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub> 选自以下

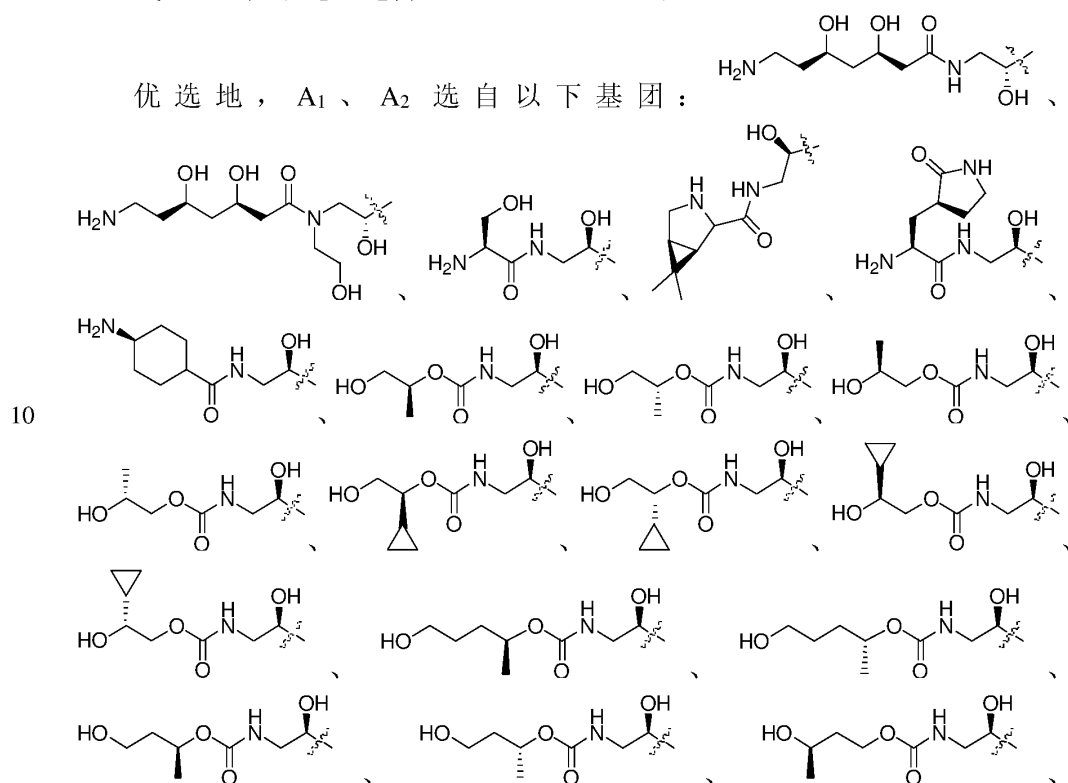




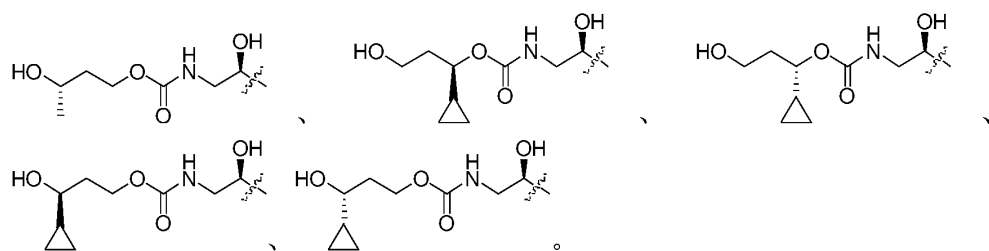
式(II)中的A<sub>2</sub>还选自



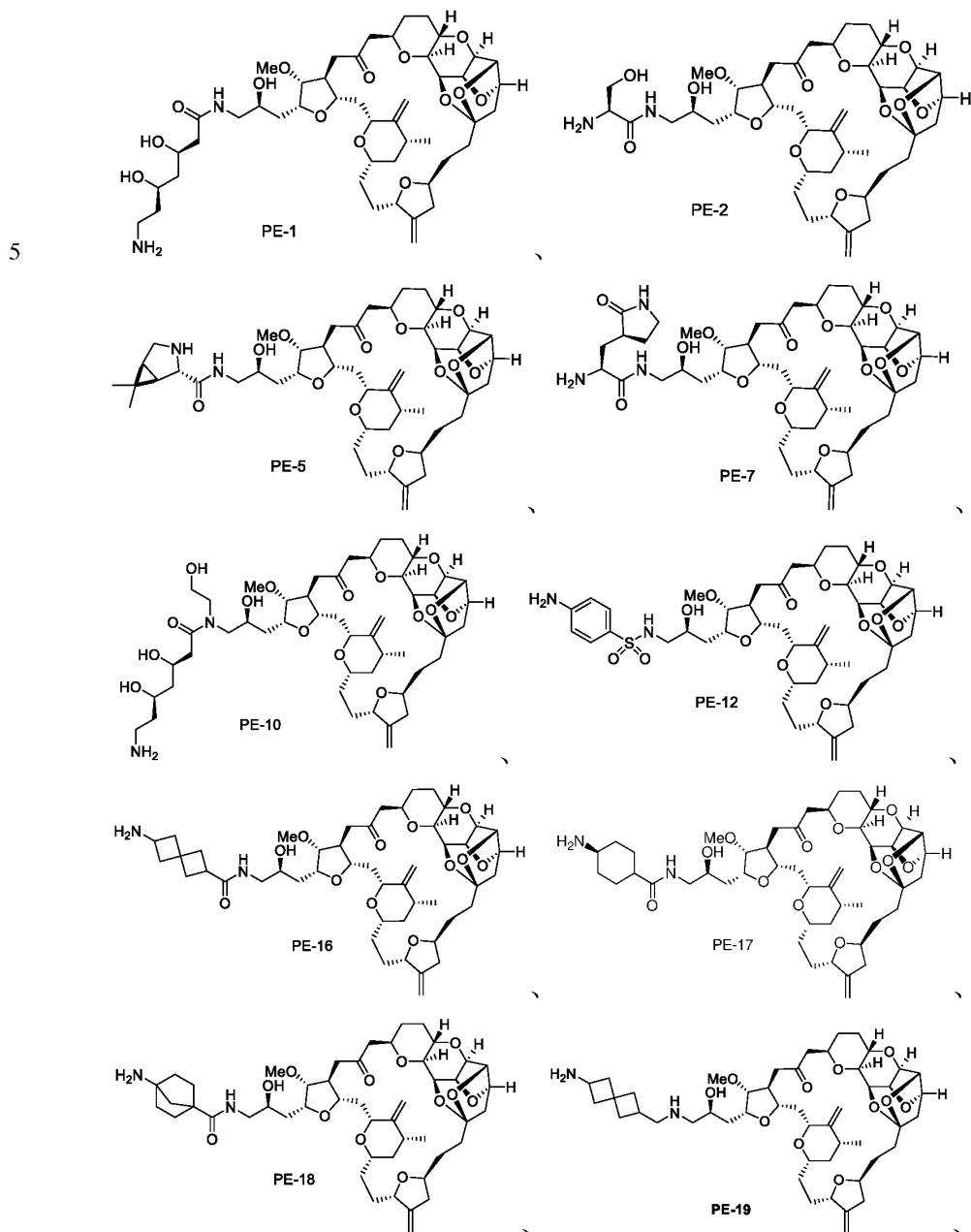
优选地, A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>选自以下基团:

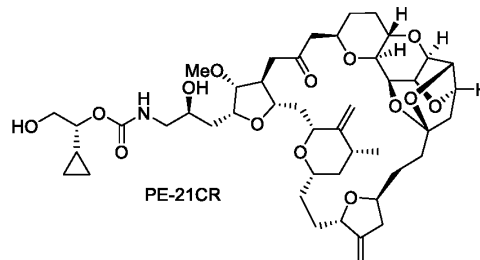
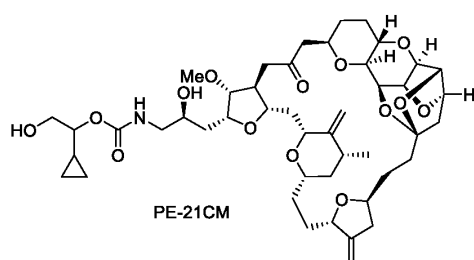
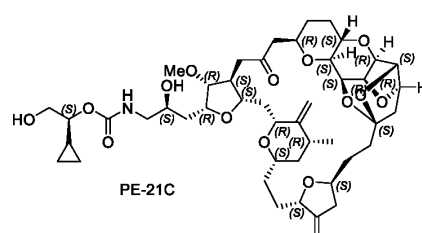
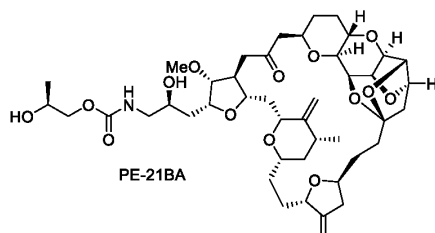
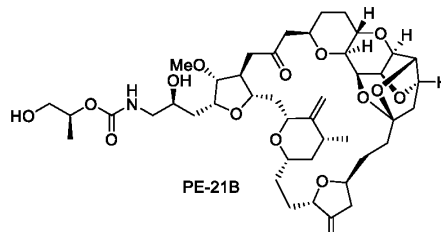
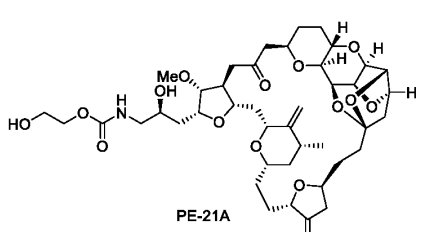
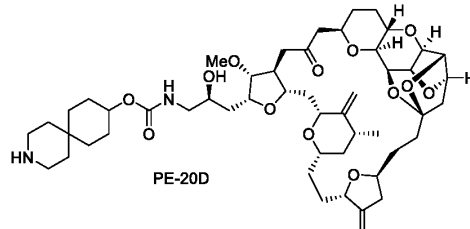
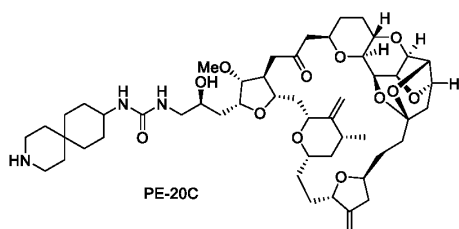
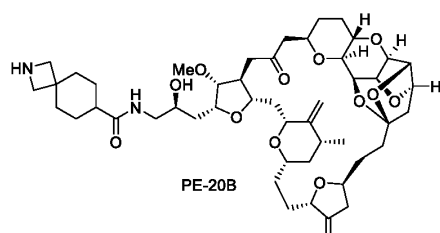
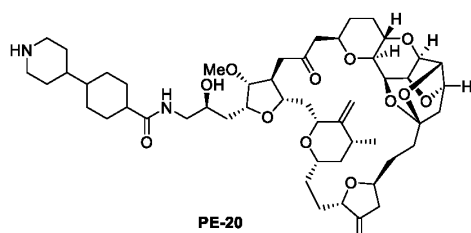




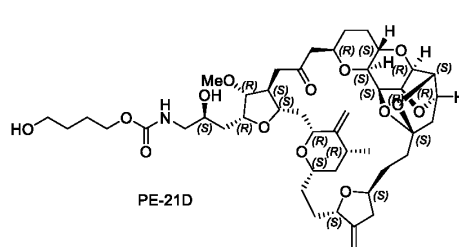
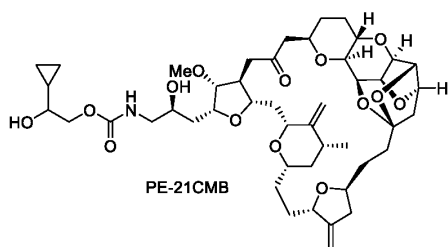


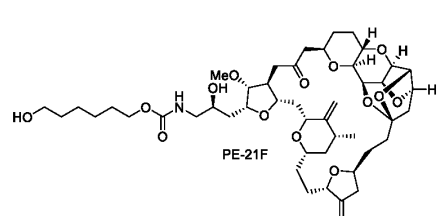
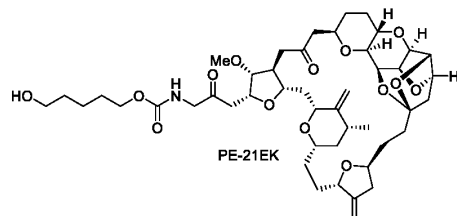
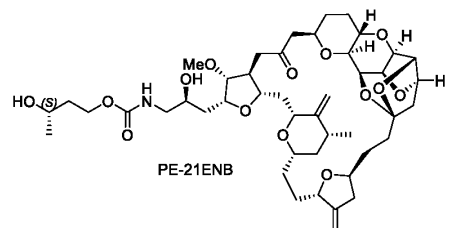
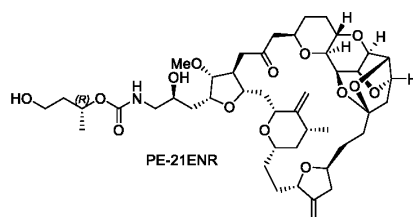
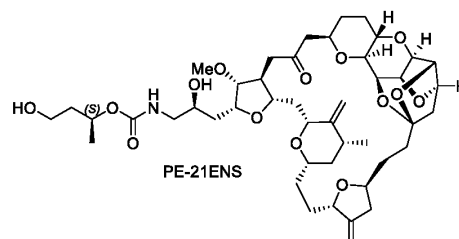
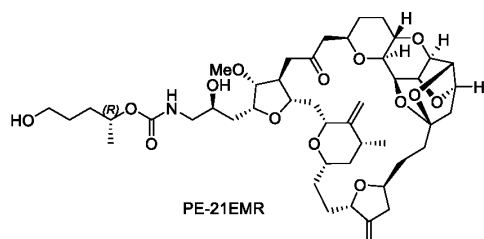
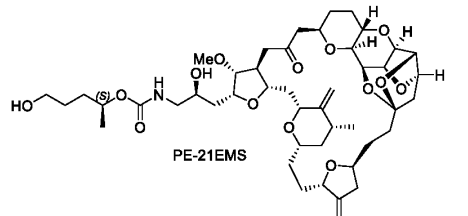
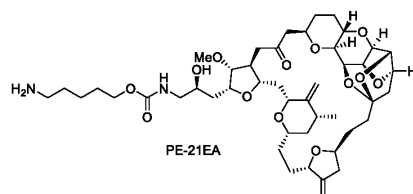
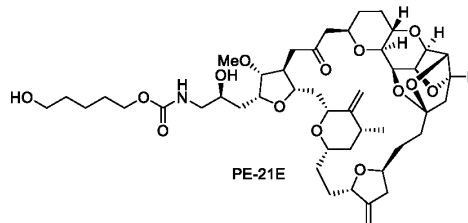
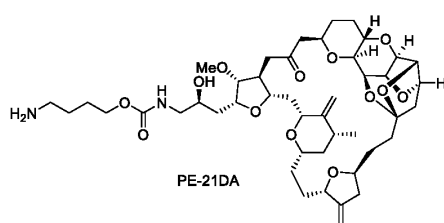
15. 根据权利要求 1 所述的艾日布林衍生物, 其特征在于, 式 (I) 化合物为以下所示之一:



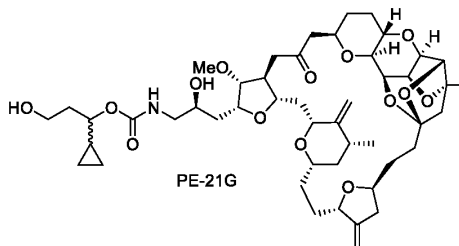
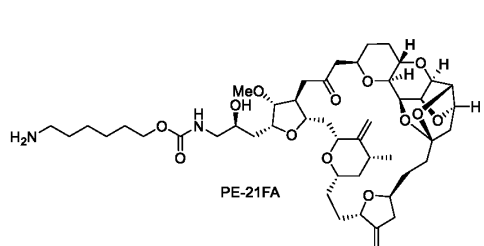


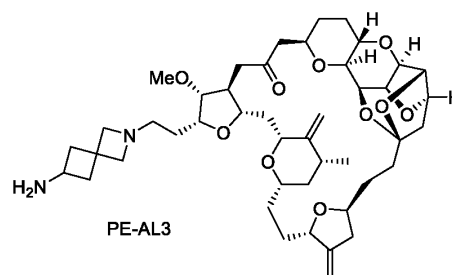
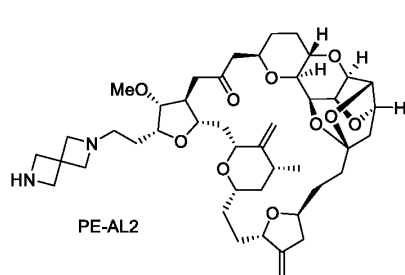
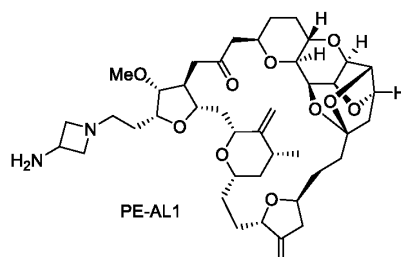
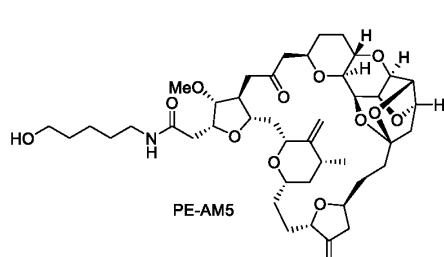
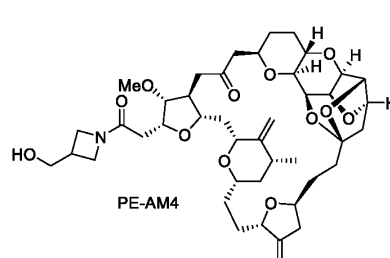
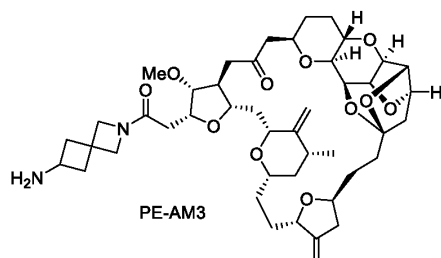
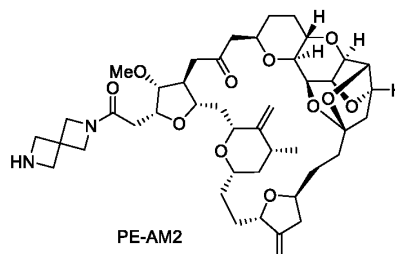
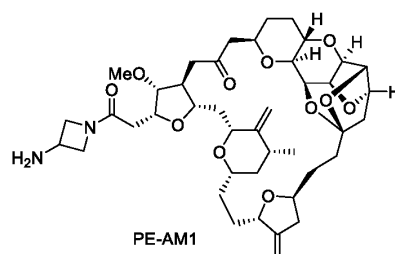
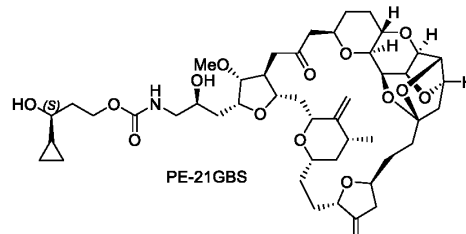
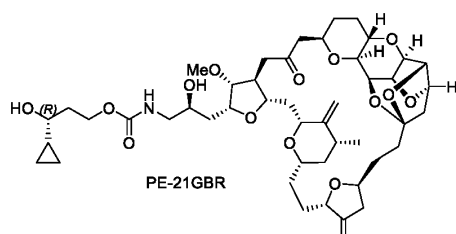
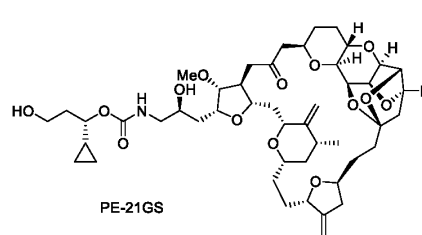
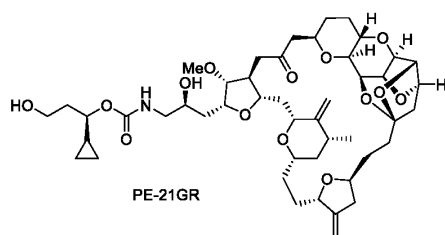
5

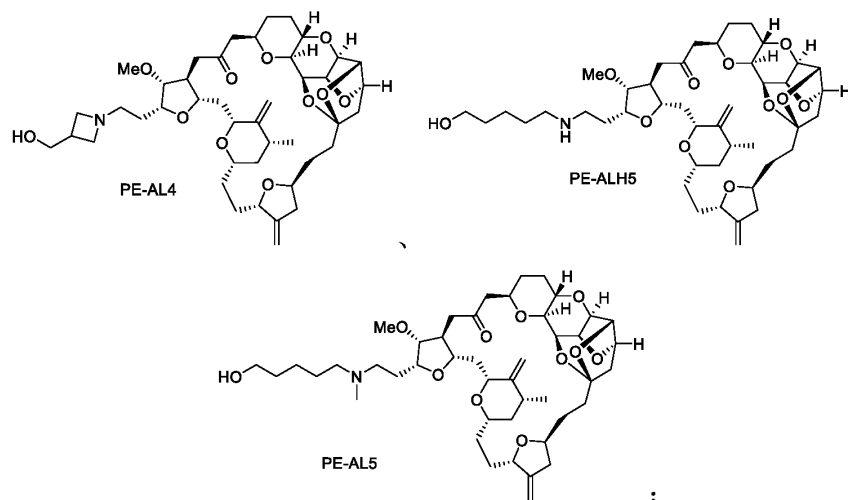




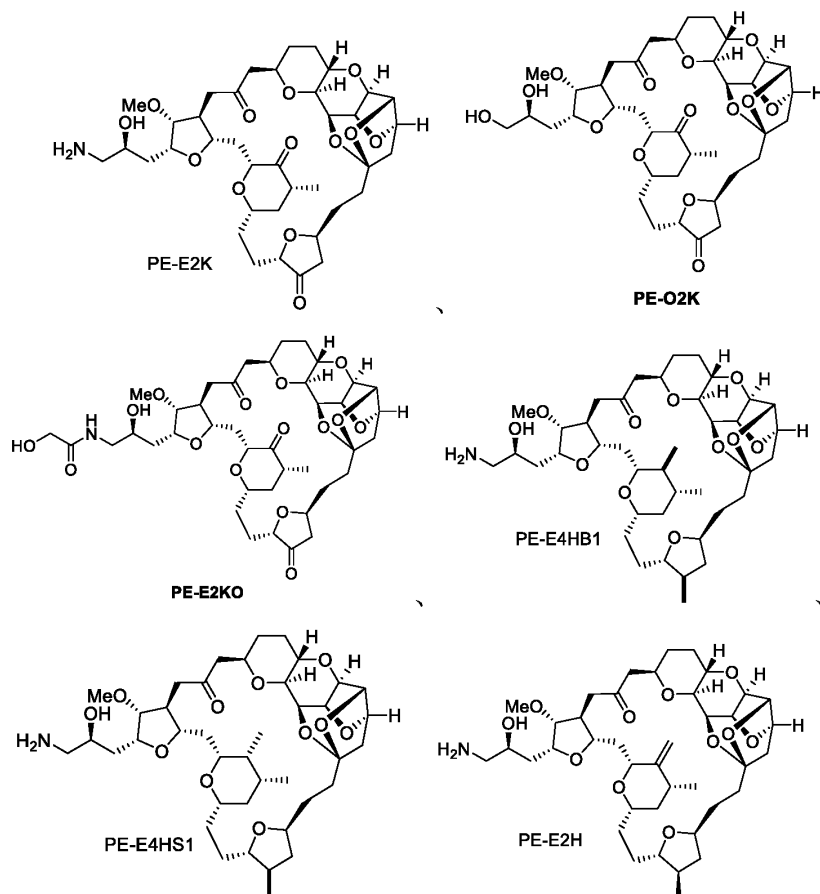
5





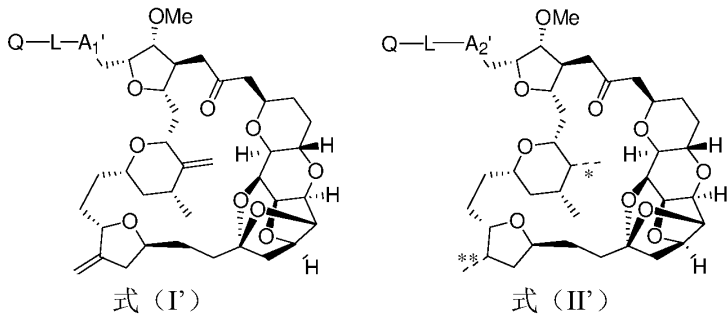


具体地，式（II）化合物为以下所示之一：



5

16. 一种艾日布林衍生物，其为式（I'）、式（II'）化合物，或其同位素标记化合物，或其光学异构体、几何异构体、互变异构体或异构体混合物，或其药学上可接受的盐，



其中:

Q 为可与抗体或抗原结合片段连接的接头基团;

5 L 为连接 Q 与 A1'或连接 Q 与 A2'的连接基团;

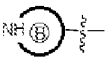
A1'为 A1 通过脱除-NH<sub>2</sub>、-OH、链上的-NH-或环上的-NH-的 H 之后与 L 连接的基团;

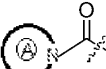
A2'为 A2 通过脱除-NH<sub>2</sub>、-OH、链上的-NH-或环上的-NH-的 H 之后与 L 连接的基团;

10 A1、A2、\*、\*\*的定义如权利要求 1-15 中任一项中式 (I)、式 (II) 中的定义。

17. 根据权利要求 16 所述的艾日布林衍生物, 其特征在于, 当 X<sub>3</sub>、Y<sub>1</sub> 分别独立地选自-(CR<sub>2</sub>R<sub>3</sub>)<sub>m1</sub>-NH<sub>2</sub>, -(CR<sub>2</sub>R<sub>3</sub>)<sub>m1</sub>-OH, -R<sub>4</sub>-(CR<sub>2</sub>R<sub>3</sub>)<sub>m2</sub>-NH<sub>2</sub>, -R<sub>4</sub>-(CR<sub>2</sub>R<sub>3</sub>)<sub>m2</sub>-OH 时, A1'为 A1 通过脱除 X<sub>3</sub>、Y<sub>1</sub> 末端-NH<sub>2</sub>或末端-OH 的 H 之后与 L 连接的基团,

15 A2'为 A2 通过脱除 X<sub>3</sub>、Y<sub>1</sub> 末端-NH<sub>2</sub>或末端-OH 的 H 之后与 L 连接的基团;

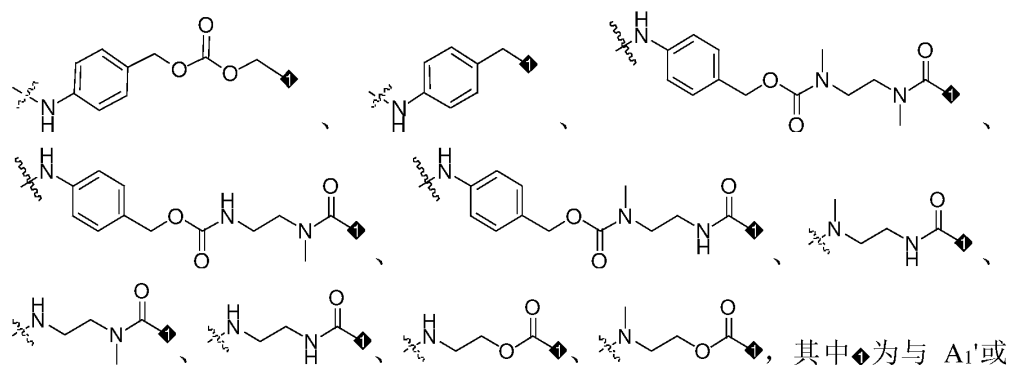
当 X<sub>3</sub>、Y<sub>1</sub> 分别独立地选自  时, A1'为 A1 通过脱除Ⓔ环上-NH-的 H 之后与 L 连接的基团, A2'为 A2 通过脱除Ⓔ环上-NH-的 H 之后与 L 连接的基团;

20 当 A1、A2 分别独立地选自  或  时, A1'为 A1 通过脱除Ⓔ环上-NH-的 H 或Ⓔ环取代基上-NH<sub>2</sub>、-OH 的 H 之后与 L 连接的基团, A2'为 A2 通过脱除Ⓔ环上-NH-的 H 或Ⓔ环取代基上-NH<sub>2</sub>、-OH 的 H 之后与 L 连接的基团。

18. 根据权利要求 16 所述的艾日布林衍生物, 其特征在于, R<sub>1</sub> 为 H, A1'为 A1 通过脱除-NR<sub>1</sub>-的 R<sub>1</sub> 之后与 L 连接的基团; A2'为 A2 通过脱除-NR<sub>1</sub>-的 R<sub>1</sub> 之后与 L 连接的基团。

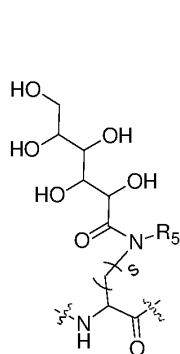
19. 根据权利要求 16-18 任一项所述的艾日布林衍生物, 其特征在于, L 为  
25 -L<sub>4</sub>-L<sub>3</sub>-L<sub>2</sub>-L<sub>1</sub>-, 其中 L<sub>1</sub> 与 A1'或 A2'连接, L<sub>4</sub> 与 Q 连接;



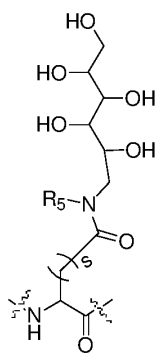


其中◆为与 A1'或 A2'连接的连接位点，◆为与 L2 连接的连接位点；

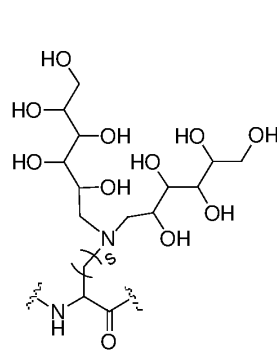
- 5 L2 为直接键、一个氨基酸残基，或由两个或多个氨基酸残基形成的短肽链，所述氨基酸残基选自天然氨基酸残基或非天然氨基酸残基，所述一个氨基酸残基，或短肽链的 N 末端与 L3 连接，C 末端与 L1 连接，而且 L2 任选包含选自式(III-1)至式(III-9)中的一个或多个结构：



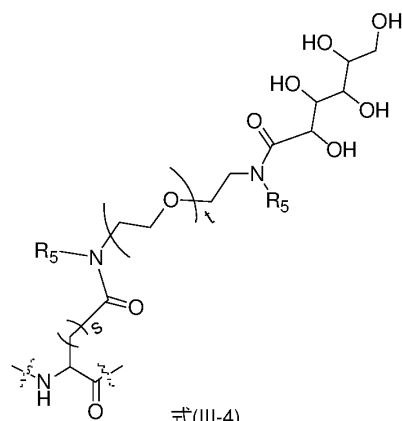
式(III-1)



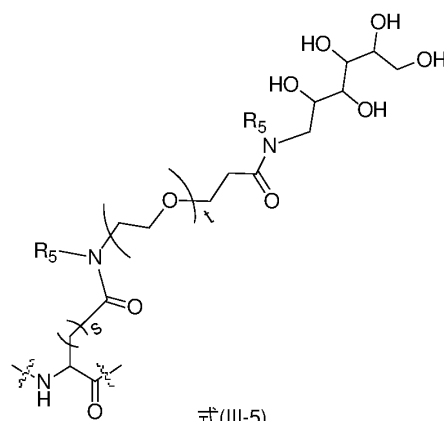
式(III-2)



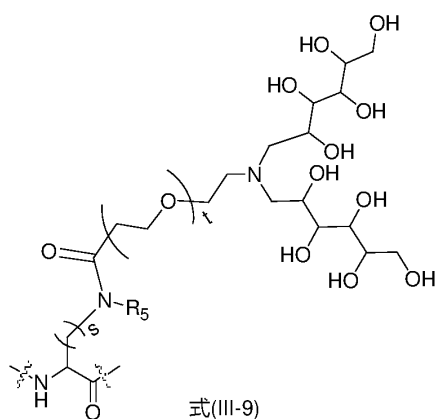
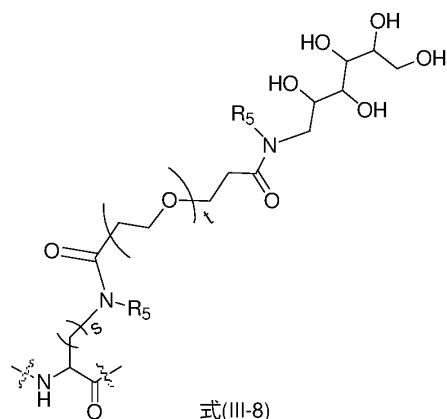
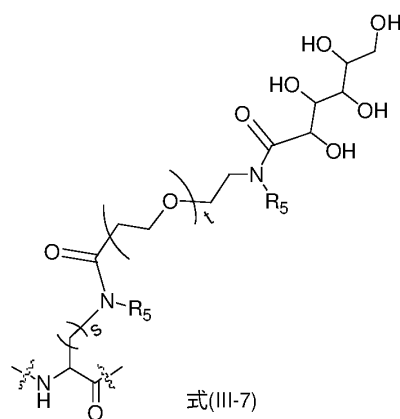
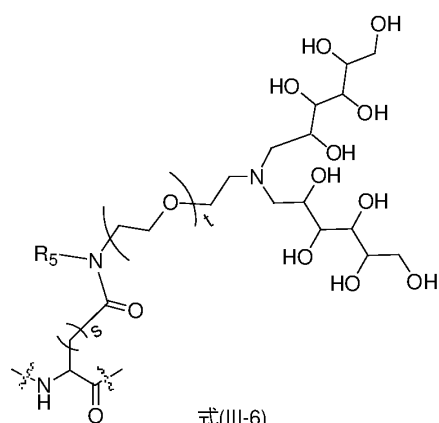
式(III-3)



式(III-4)



式(III-5)



s 选自 1、2、3、4、5、6、7、8，t 选自 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12，R<sub>5</sub> 选自 H 或 C<sub>1-8</sub> 烷基；

- 5 L<sub>3</sub> 选自直接键、-NR<sub>6</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>r1</sub>-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>r2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>r3</sub>-CO-◆、  
-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>r1</sub>-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>r2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>r3</sub>-CO-◆、-NR<sub>6</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>r4</sub>-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>r5</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>r6</sub>-CO-◆、  
-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>r4</sub>-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>r5</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>r6</sub>-CO-◆，或者 L<sub>3</sub> 选自
- N—  

$$\begin{array}{l} \text{(CH}_2\text{)}_{r7}\text{-(CH}_2\text{CH}_2\text{O)}_{r8}\text{-(CH}_2\text{)}_{r9}\text{-CO-W-(CH}_2\text{)}_{r1}\text{-(CH}_2\text{CH}_2\text{O)}_{r2}\text{-(CH}_2\text{)}_{r3}\text{-CO-W-(CH}_2\text{)}_{r10}\text{ } \blacklozenge \\ \text{(CH}_2\text{)}_{r7}\text{-(CH}_2\text{CH}_2\text{O)}_{r8}\text{-(CH}_2\text{)}_{r9}\text{-CO-W-(CH}_2\text{)}_{r1}\text{-(CH}_2\text{CH}_2\text{O)}_{r2}\text{-(CH}_2\text{)}_{r3}\text{-CO-W-(CH}_2\text{)}_{r10}\text{ } \blacklozenge \end{array}$$
 或
- N—  

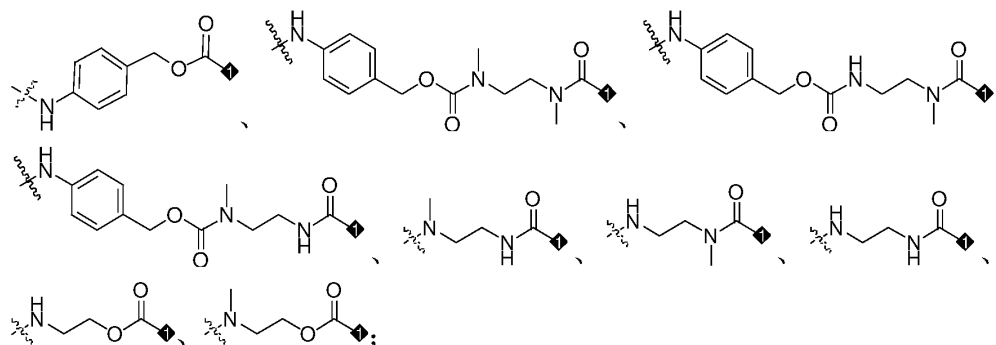
$$\begin{array}{l} \text{(CH}_2\text{)}_{r7}\text{-(CH}_2\text{CH}_2\text{O)}_{r8}\text{-(CH}_2\text{)}_{r9}\text{-CO-W-(CH}_2\text{)}_{r4}\text{-(OCH}_2\text{CH}_2\text{)}_{r5}\text{-(CH}_2\text{)}_{r6}\text{-CO-W-(CH}_2\text{)}_{r10}\text{ } \blacklozenge \\ \text{(CH}_2\text{)}_{r7}\text{-(CH}_2\text{CH}_2\text{O)}_{r8}\text{-(CH}_2\text{)}_{r9}\text{-CO-W-(CH}_2\text{)}_{r4}\text{-(OCH}_2\text{CH}_2\text{)}_{r5}\text{-(CH}_2\text{)}_{r6}\text{-CO-W-(CH}_2\text{)}_{r10}\text{ } \blacklozenge \end{array}$$
 ; r<sub>1</sub> 选自 0、
- 10 1、2、3、4、5、6，r<sub>2</sub> 选自 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12，r<sub>3</sub> 选自 1、  
2、3、4、5、6，r<sub>4</sub> 选自 1、2、3、4、5、6，r<sub>5</sub> 选自 1、2、3、4、5、6、7、8、9、  
10、11、12，r<sub>6</sub> 选自 0、1、2、3、4、5、6，r<sub>7</sub> 选自 0、1、2、3、4、5、6，r<sub>8</sub> 选  
自 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12，r<sub>9</sub> 选自 1、2、3、4、5、6，r<sub>10</sub> 选  
自 1、2、3、4、5、6，W 选自 O 或 NR<sub>6</sub>，R<sub>6</sub> 选自 H 或 C<sub>1-8</sub> 烷基，其中◆代表与
- 15 L<sub>2</sub> 连接的连接位点，同一 L<sub>3</sub> 基团中出现 2 处◆时代表在这两个位点均与 L<sub>2</sub> 连接；

L<sub>4</sub> 选自直接键、-CO-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>p1</sub>-CO-、-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>p2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>p3</sub>-CO-、  
-(CH<sub>2</sub>)<sub>p4</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p5</sub>-C(O)-、-NR<sub>7</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>p1</sub>-CO-、-NR<sub>7</sub>-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>p2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>p3</sub>-CO-、  
-NR<sub>7</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>p4</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p5</sub>-C(O)-、-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p1</sub>-CO-、-O-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>p2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>p3</sub>-CO-、



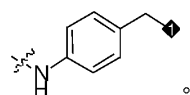
-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p4</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p5</sub>-C(O)-, p1、p2、p3、p4、p5 各自独立地选自 1、2、3、4、5、6、7、8, R<sub>7</sub> 选自 H 或 C<sub>1-8</sub> 烷基, 其中-CO-与 L<sub>3</sub> 连接。

20. 根据权利要求 19 所述的艾日布林衍生物, 其特征在于, A<sub>1</sub>'为 A<sub>1</sub> 通过脱除-NH<sub>2</sub>、链上的-NH-或环上的-NH-的 H 之后与 L 连接的基团, 或 A<sub>2</sub>'为 A<sub>2</sub> 通过脱除-NH<sub>2</sub>、链上的-NH-或环上的-NH-的 H 之后与 L 连接的基团时, L<sub>1</sub> 选自直接键、

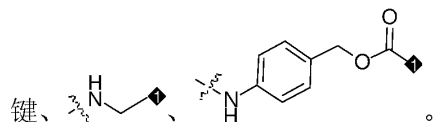


A<sub>1</sub>'为 A<sub>1</sub> 通过脱除-OH 的 H 之后与 L 连接的基团, 或 A<sub>2</sub>'为 A<sub>2</sub> 通过脱除-OH

10 的 H 之后与 L 连接的基团时, L<sub>1</sub> 选自

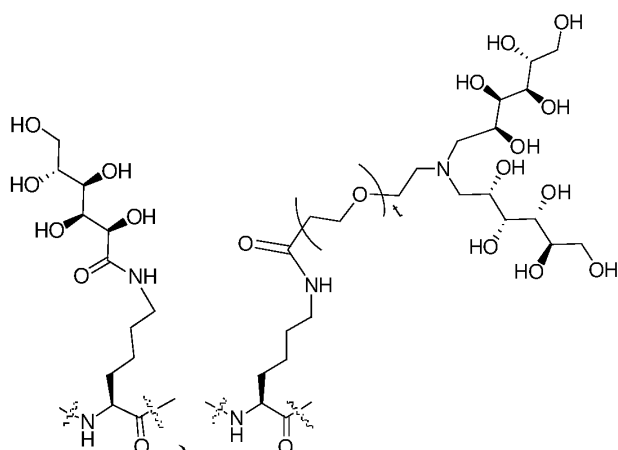


21. 根据权利要求 19 或 20 所述的艾日布林衍生物, 其特征在于,  $L_1$  选自直接



22. 根据权利要求 19-21 任一项所述的艾日布林衍生物，其特征在于，L<sub>2</sub> 为一个氨基酸残基，或由 2-8 个氨基酸残基形成的短肽链，优选地，所述氨基酸残基为选自苯丙氨酸、丙氨酸、甘氨酸、缬氨酸、瓜氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、色氨酸、酪氨酸、组氨酸、赖氨酸、丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、天冬氨酸、天冬酰胺、甲硫氨酸、精氨酸中的氨基酸形成的氨基酸残基；更优选地，所述氨基酸残基为选自苯丙氨酸、丙氨酸、甘氨酸、缬氨酸、瓜氨酸中的氨基酸形成的氨基酸残基。

23. 根据权利要求 22 所述的艾日布林衍生物, 其特征在于, L<sub>2</sub> 任选包含选自式 (III-1)、式 (III-9) 中的一个或多个结构; 优选地, 任选包含选自以下所示的

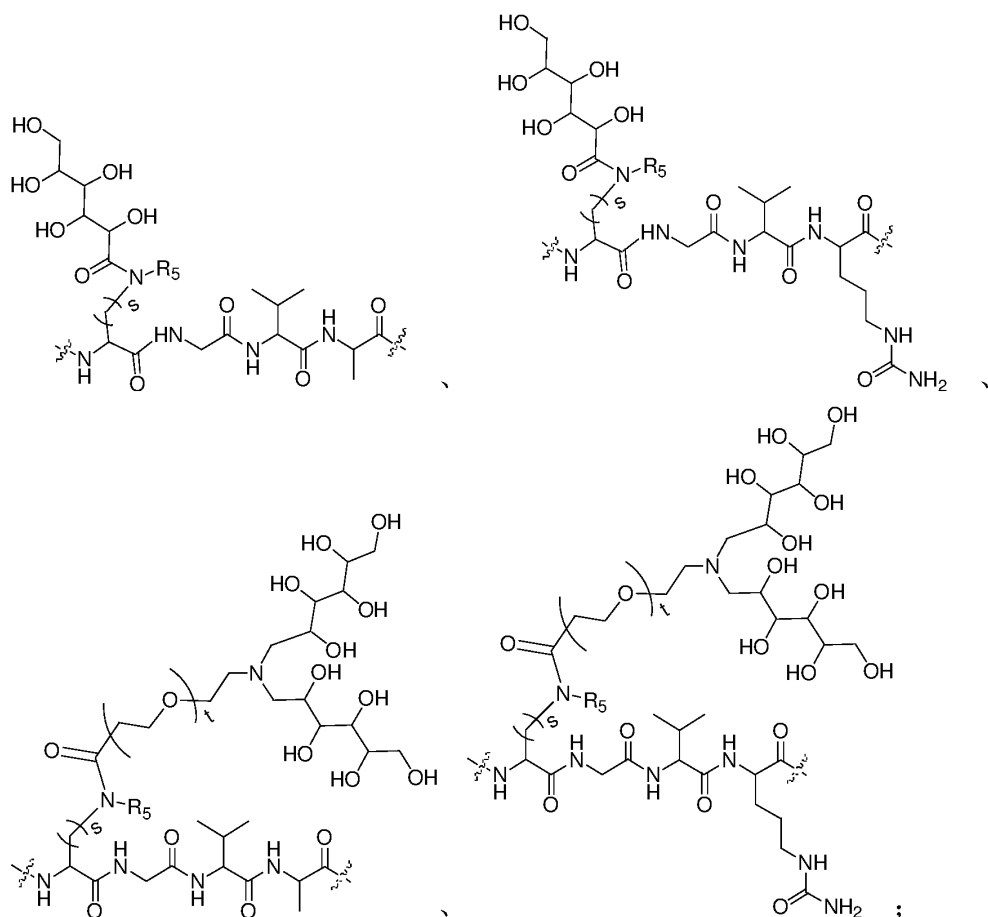


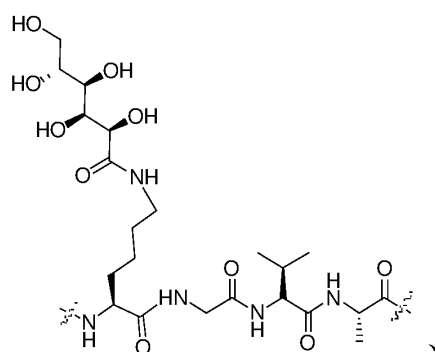
一个或多个结构:

, t=8。

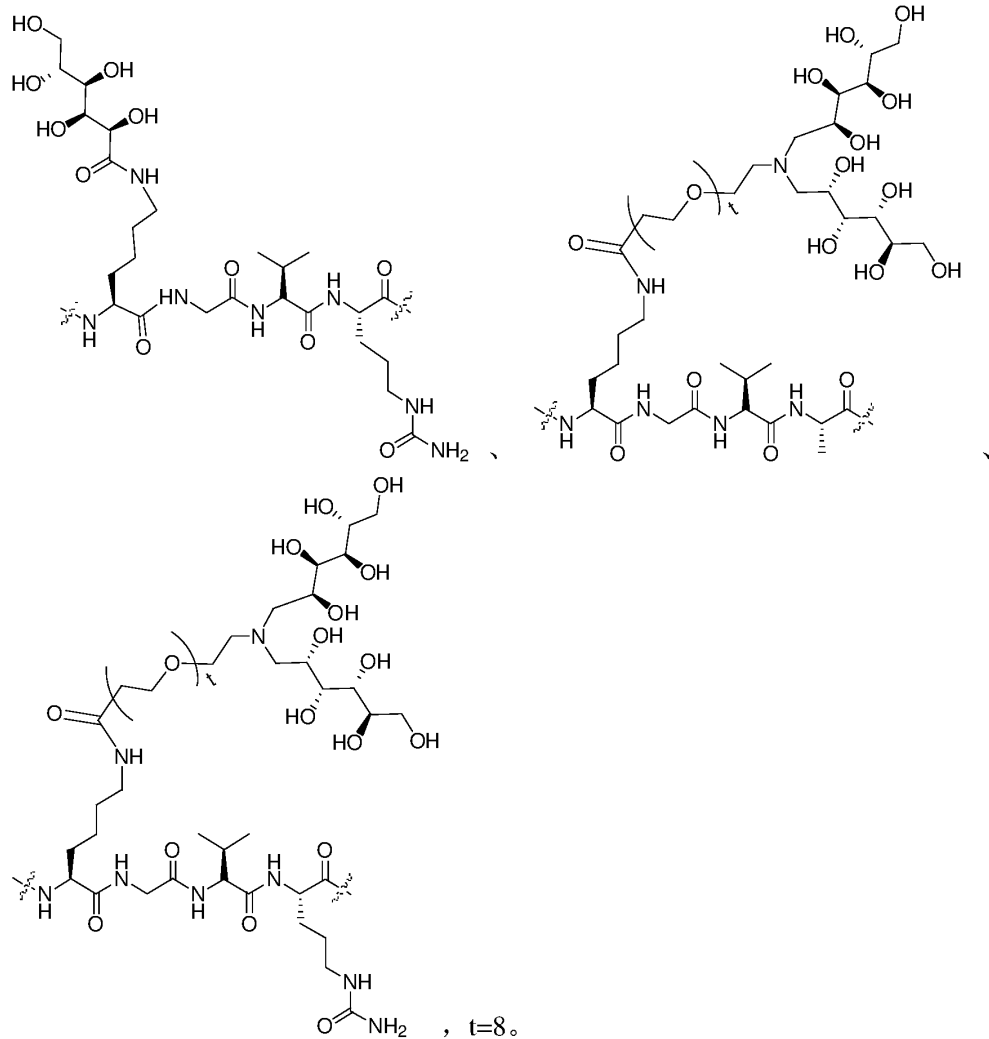
24. 根据权利要求 22 或 23 所述的艾日布林衍生物, 其特征在于, L<sub>2</sub> 选自 -NHGlyCO<sub>2</sub>-, 或者选自以下短肽链: -NHGly-Gly-Phe-GlyCO<sub>2</sub>-, -NHVal-CitCO<sub>2</sub>-, -NHVal-AlaCO<sub>2</sub>-, -NHGly-Gly-Val-AlaCO<sub>2</sub>-, -NHGly-Gly-Val-CitCO<sub>2</sub>-, -NH<sup>5</sup>Lys-Gly-Val-AlaCO<sub>2</sub>-, -NH<sup>5</sup>Lys-Gly-Val-CitCO<sub>2</sub>-, -NHGly-Val-CitCO<sub>2</sub>-。

25. 根据权利要求 24 所述的艾日布林衍生物, 其特征在于, L<sub>2</sub>选自以下基团:





优选地，L<sub>2</sub>选自以下基团：



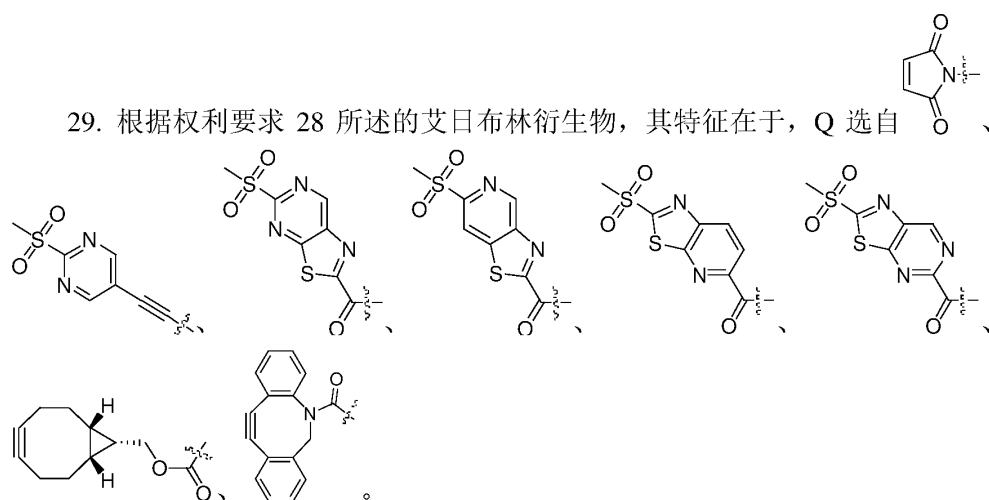
26. 根据权利要求 19-25 任一项所述的艾日布林衍生物，其特征在于，L<sub>3</sub>选自
- 5 直接键、 $-\text{NH}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{r2}-(\text{CH}_2)_{r3}-\text{CO}-$  ◆、 $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_{r4}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{r5}-\text{CO}-$  ◆、 $-\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{r2}-(\text{CH}_2)_{r3}-\text{CO}-$  ◆或 $-\text{O}-(\text{CH}_2)_{r4}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{r5}-\text{CO}-$  ◆，或者 L<sub>3</sub>选自
- $-\text{N}-(\text{CH}_2)_{r7}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{r8}-(\text{CH}_2)_{r9}-\text{CO}-\text{W}-(\text{CH}_2)_{r11}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{r2}-(\text{CH}_2)_{r3}-\text{CO}-\text{W}-(\text{CH}_2)_{r10}-$  ◆
- 或
- $-\text{N}-(\text{CH}_2)_{r7}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{r8}-(\text{CH}_2)_{r9}-\text{CO}-\text{W}-(\text{CH}_2)_{r11}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{r2}-(\text{CH}_2)_{r3}-\text{CO}-\text{W}-(\text{CH}_2)_{r10}-$  ◆

$$\begin{array}{l} \text{---N} \begin{cases} (\text{CH}_2)_{r7}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{r8}-(\text{CH}_2)_{r9}-\text{CO-W}-(\text{CH}_2)_{r4}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{r5}-(\text{CH}_2)_{r6}-\text{CO-W}-(\text{CH}_2)_{r10} \\ (\text{CH}_2)_{r7}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{r8}-(\text{CH}_2)_{r9}-\text{CO-W}-(\text{CH}_2)_{r4}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{r5}-(\text{CH}_2)_{r6}-\text{CO-W}-(\text{CH}_2)_{r10} \end{cases} \end{array}$$
 $\blacklozenge$ ,  $r1$ 、 $r6$ 、 $r7$  选自 0,  $r2$  选自 4、5、6、7、8,  $r3$  选自 1、2、3、4,  $r4$  选自 1、2、3、4,  $r5$  选自 4、5、6、7、8,  $r8$  选自 1、2、3、4,  $r9$  选自 1、2、3、4,  $r10$  选自 1、2、3、4,  $W$  选自  $\text{NH}$ ;

5 优选地,  $L_3$  选自直接键、 $-\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{r2}-(\text{CH}_2)_{r3}-\text{CO}-$   $\blacklozenge$ 、 $-\text{NH}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{r2}-(\text{CH}_2)_{r3}-\text{CO}-$   $\blacklozenge$ 、 $\text{---N} \begin{cases} (\text{CH}_2)_{r7}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{r8}-(\text{CH}_2)_{r9}-\text{CO-W}-(\text{CH}_2)_{r11}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{r2}-(\text{CH}_2)_{r3}-\text{CO-W}-(\text{CH}_2)_{r10} \\ (\text{CH}_2)_{r7}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{r8}-(\text{CH}_2)_{r9}-\text{CO-W}-(\text{CH}_2)_{r11}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{r2}-(\text{CH}_2)_{r3}-\text{CO-W}-(\text{CH}_2)_{r10} \end{cases} \blacklozenge$ ,  $r1$ 、 $r7$  选自 0,  $r2$  选自 4、5、6、7、8,  $r3$  选自 2,  $r8$  选自 2、3、4,  $r9$  选自 2,  $r10$  选自 2。

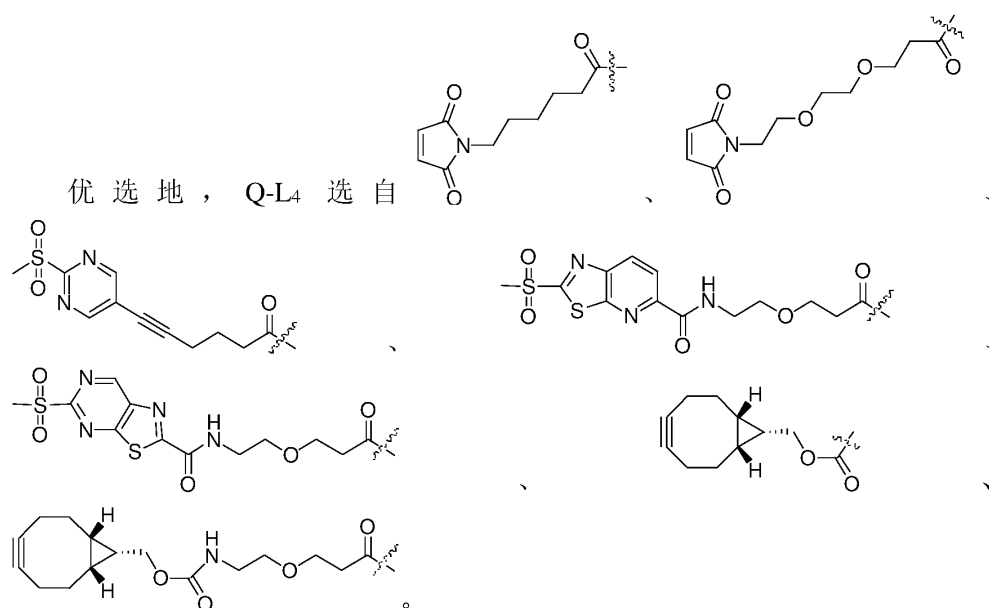
10 27. 根据权利要求 19-26 任一项所述的艾日布林衍生物, 其特征在于,  $L_4$  选自直接键、 $-(\text{CH}_2)_{p1}-\text{CO}-$ 、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{p2}-(\text{CH}_2)_{p3}-\text{CO}-$ 、 $-(\text{CH}_2)_{p4}-\text{O}-(\text{CH}_2)_{p5}-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{NR}_7-(\text{CH}_2)_{p1}-\text{CO}-$ 、 $-\text{NR}_7-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{p2}-(\text{CH}_2)_{p3}-\text{CO}-$ 、 $-\text{NR}_7-(\text{CH}_2)_{p4}-\text{O}-(\text{CH}_2)_{p5}-\text{C}(\text{O})-$ ,  $p1$  选自 1、2、3、4、5、6,  $p2$ 、 $p3$ 、 $p4$ 、 $p5$  各自独立地选自 1、2、3、4,  $R_7$  选自 H 或  $\text{C}_{1-6}$  烷基; 优选地,  $L_4$  选自以下基团: 直接键、 $-(\text{CH}_2)_{p1}-\text{CO}-$ 、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{p2}-(\text{CH}_2)_{p3}-\text{CO}-$ 、 $-(\text{CH}_2)_{p4}-\text{O}-(\text{CH}_2)_{p5}-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{NR}_7-(\text{CH}_2)_{p1}-\text{CO}-$ 、 $-\text{NR}_7-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{p2}-(\text{CH}_2)_{p3}-\text{CO}-$ 、 $-\text{NR}_7-(\text{CH}_2)_{p4}-\text{O}-(\text{CH}_2)_{p5}-\text{C}(\text{O})-$ ,  $p1$  选自 3、4、5、6,  $p2$ 、 $p3$ 、 $p4$ 、 $p5$  各自独立地选自 2、3,  $R_7$  选自 H。

20 28. 根据权利要求 16-27 任一项所述的艾日布林衍生物, 其特征在于,  $Q$  选自包含马来酰亚胺接头的基团、包含甲磺酰基嘧啶接头的基团、包含甲磺酰基吡啶并噻唑接头的基团、包含甲磺酰基嘧啶并噻唑接头的基团、包含环烯炔接头的基团或包含肟键接头的基团。

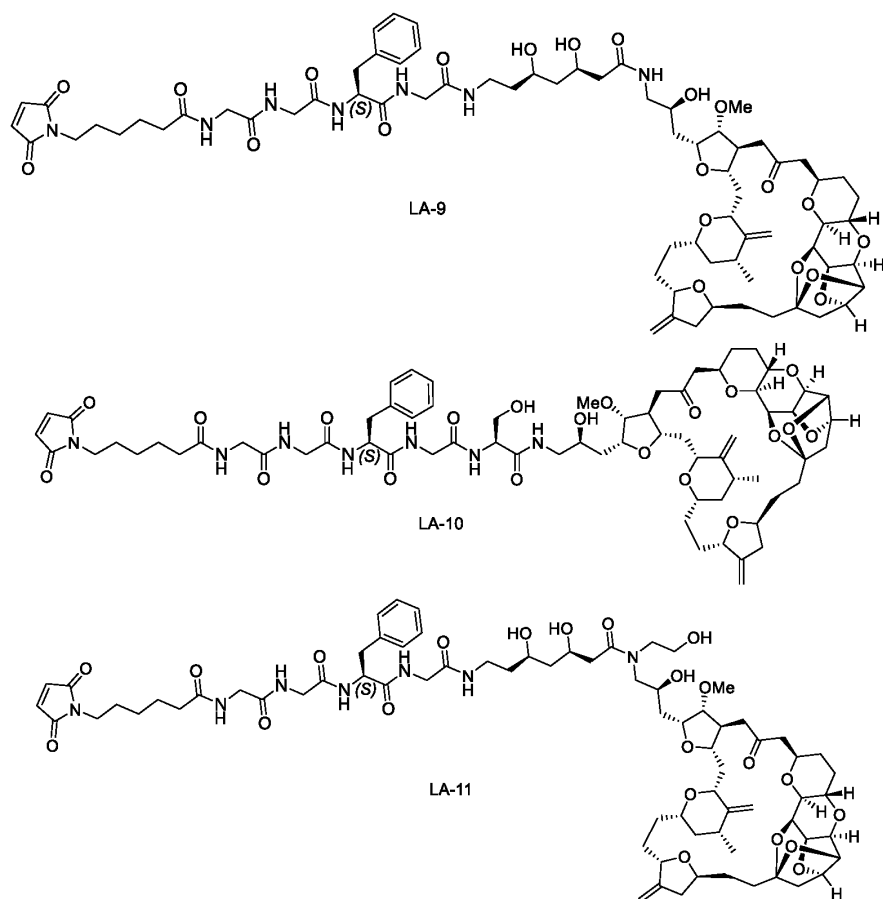


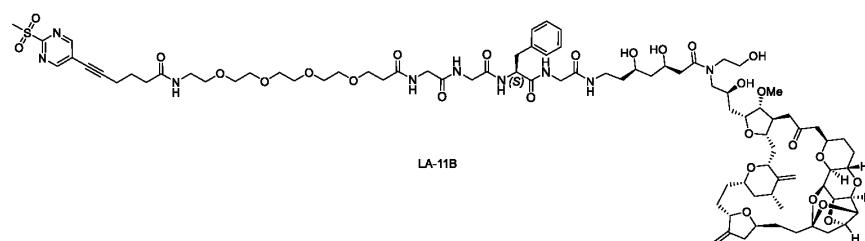
25 30. 根据权利要求 29 所述的艾日布林衍生物, 其特征在于,  $Q-L_4$  选自



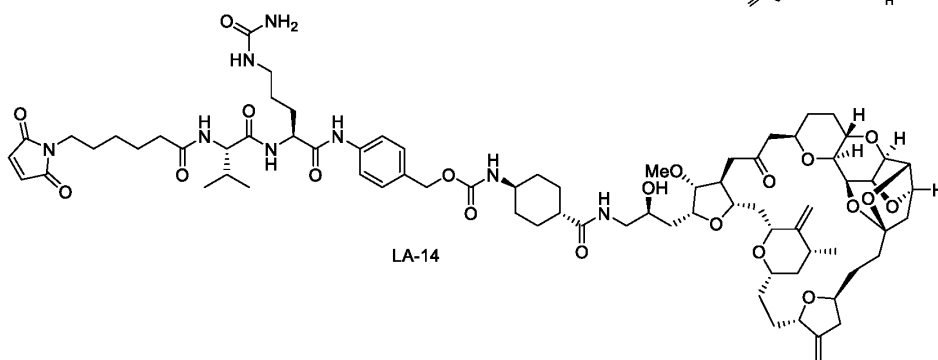


- 5 31. 根据权利要求16所述的艾日布林衍生物，其特征在于，式(P)为如下所示之一：

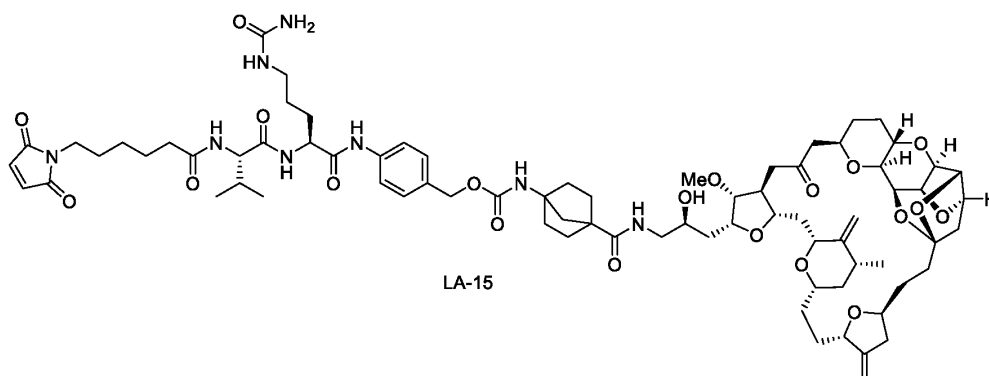




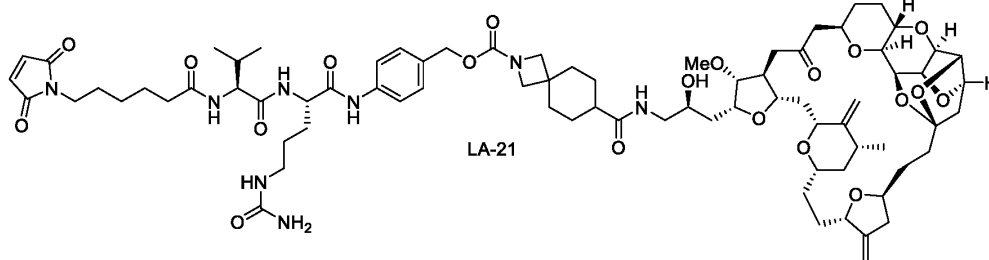
LA-11B



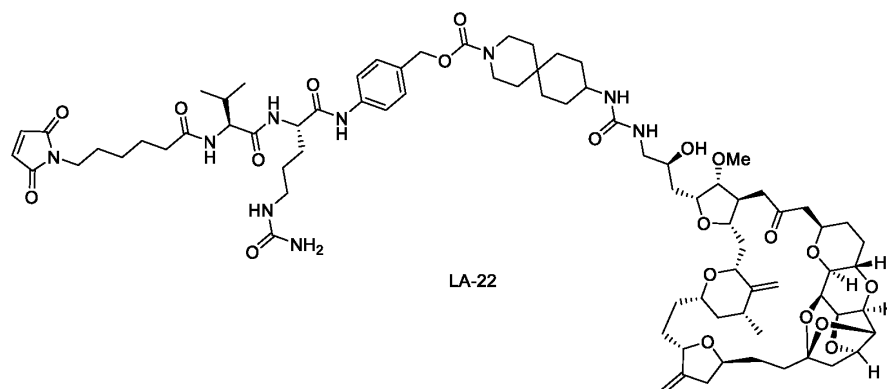
LA-14



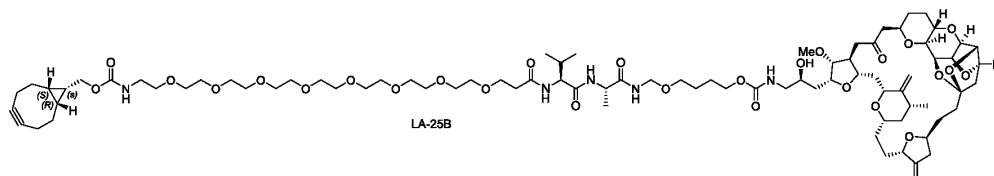
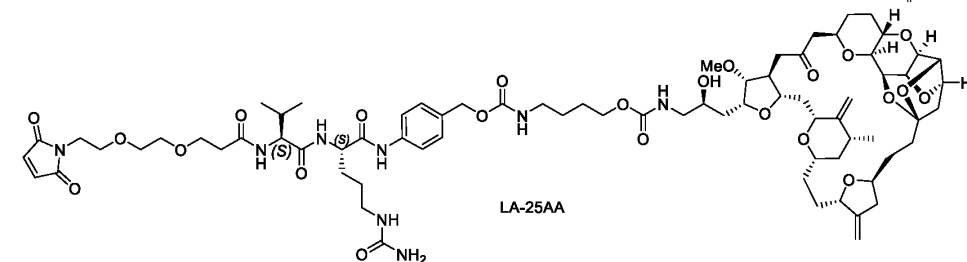
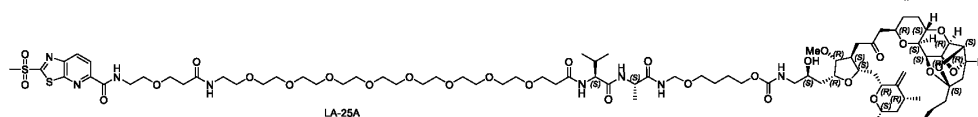
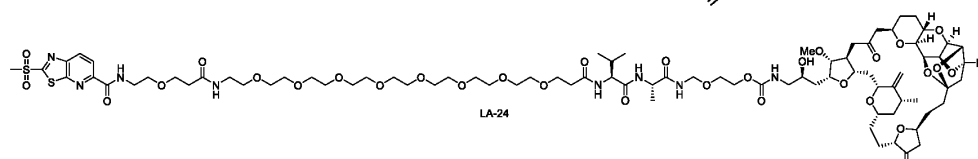
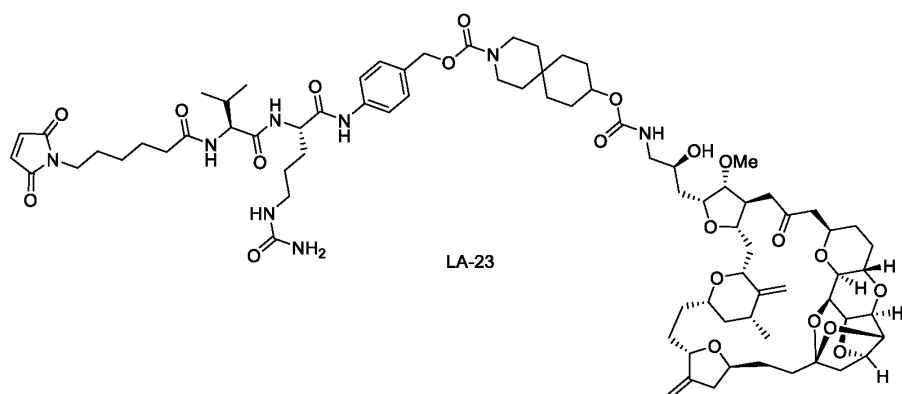
LA-15



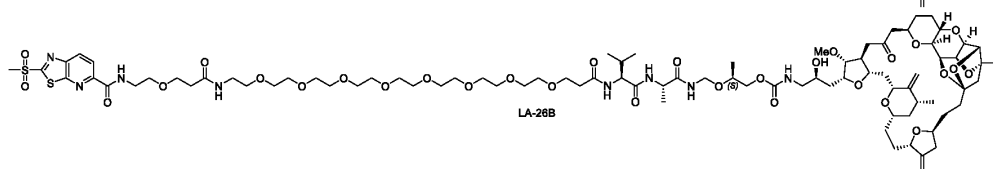
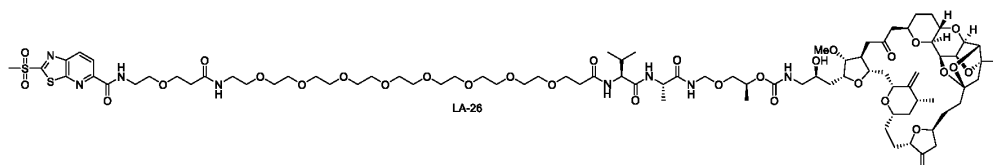
LA-21



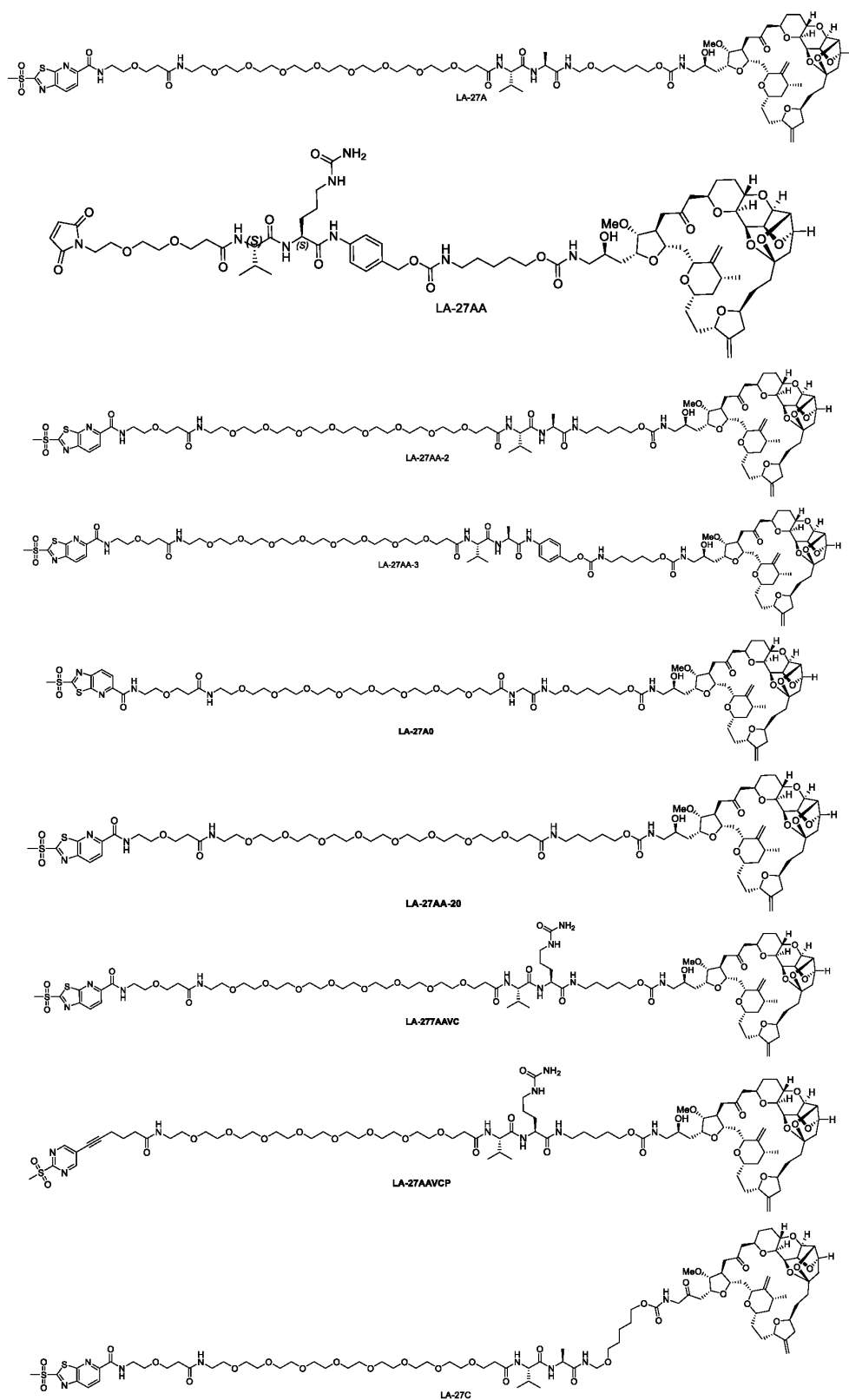
LA-22

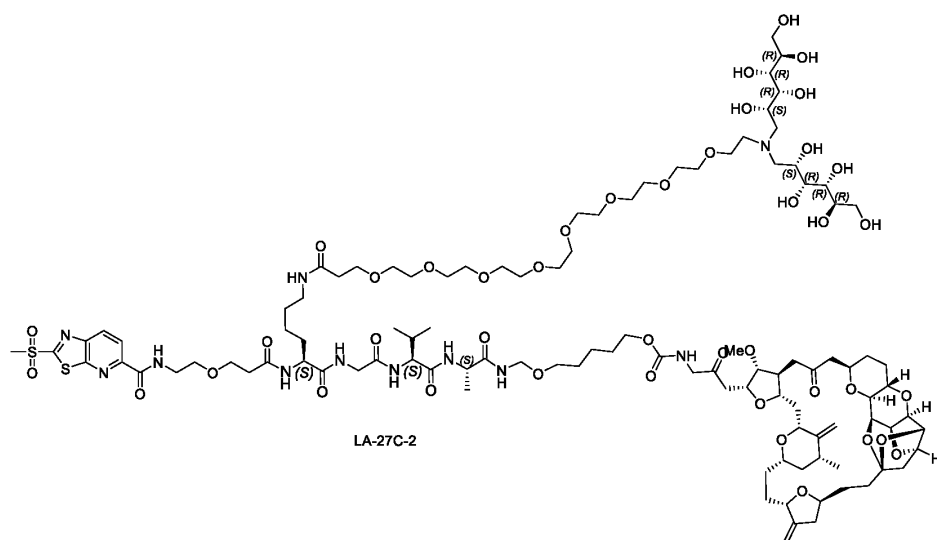


5

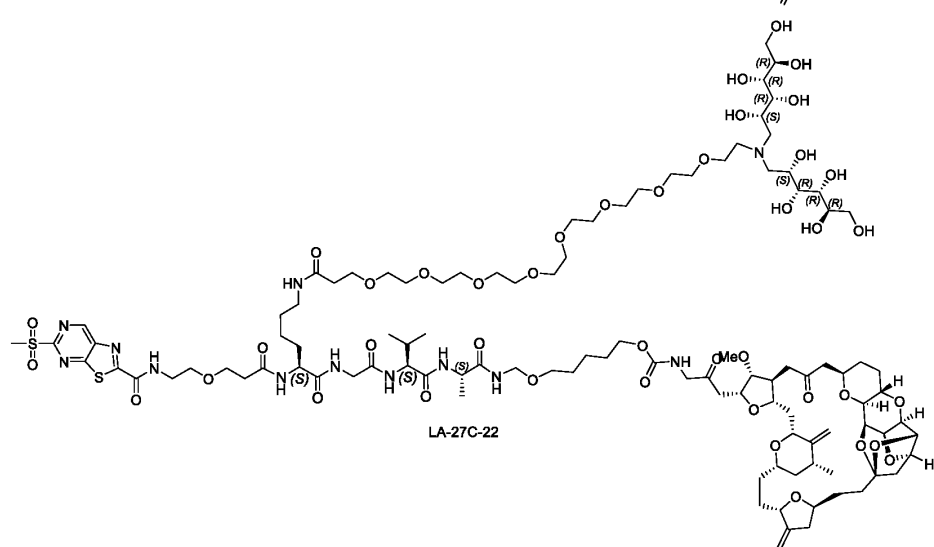




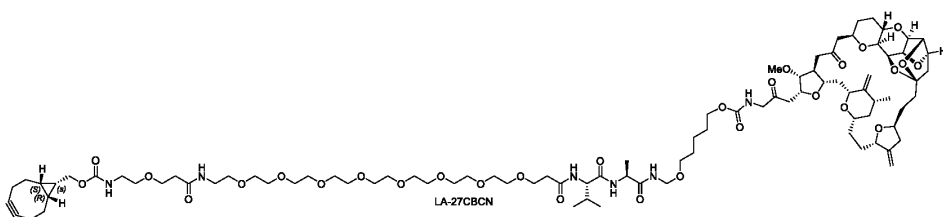




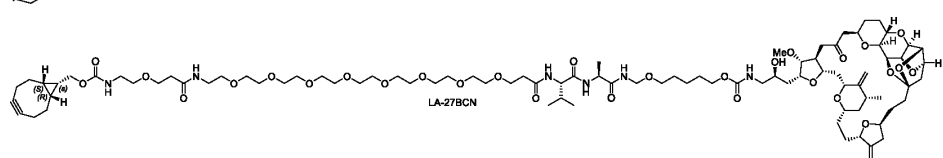
LA-27C-2



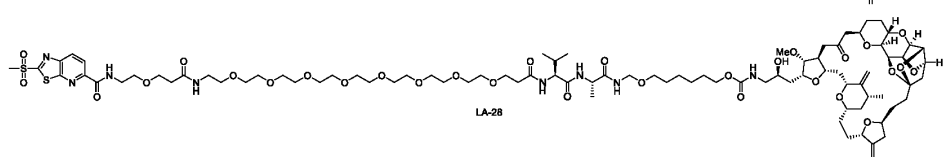
LA-27C-22



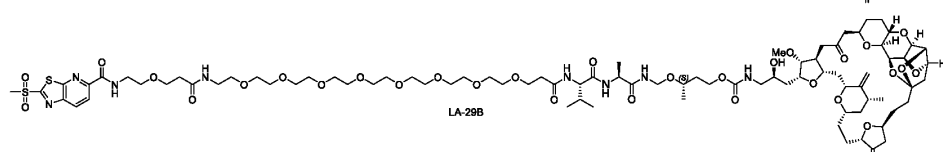
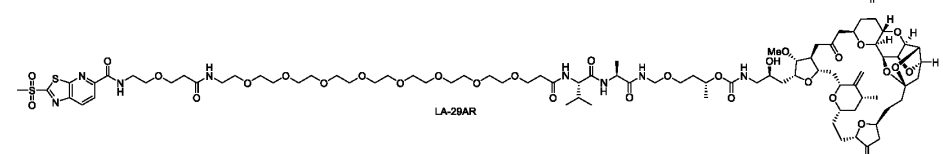
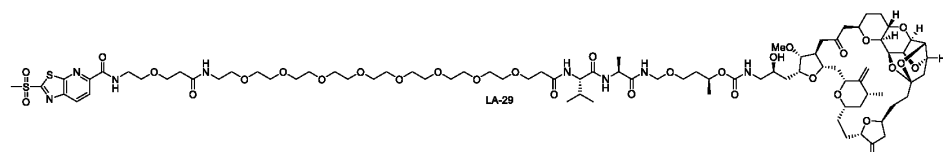
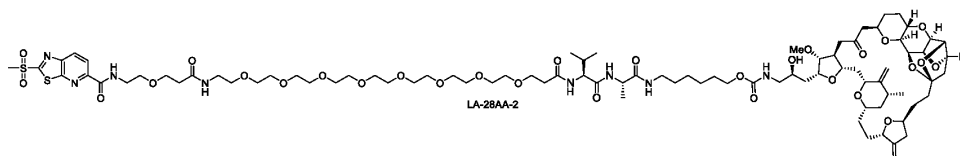
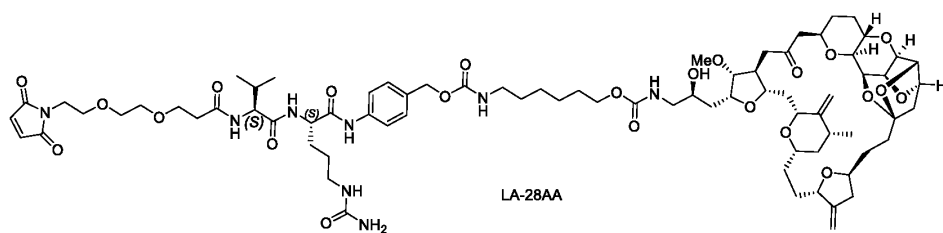
LA-27CBCN



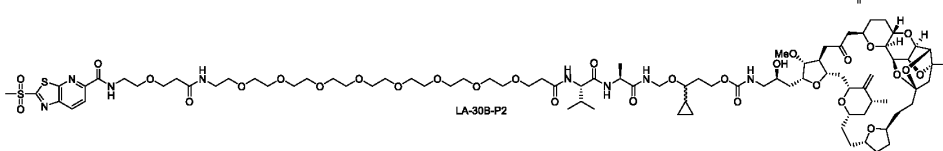
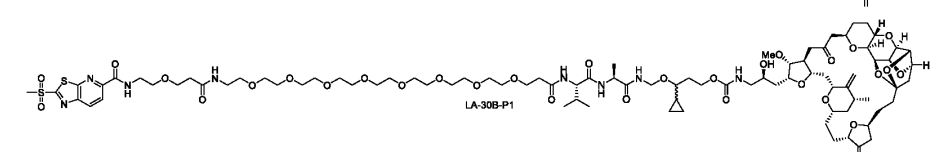
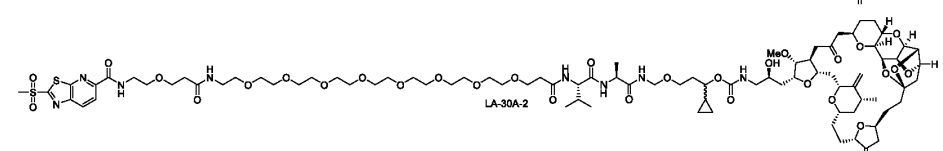
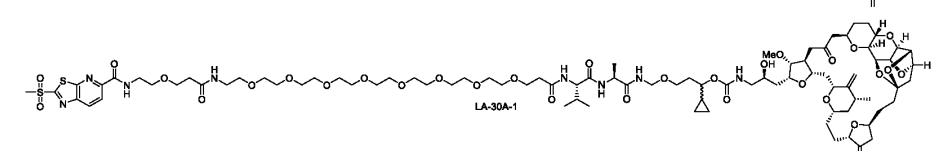
LA-27BCN

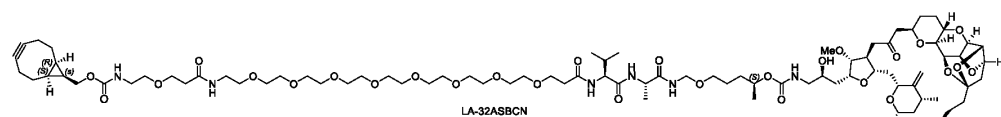
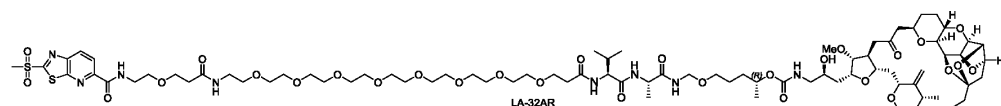
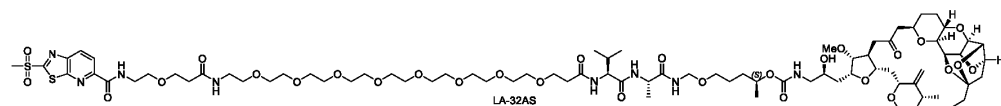
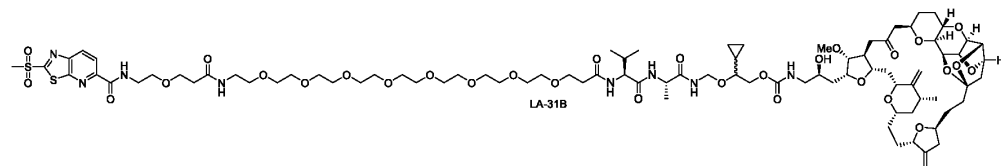
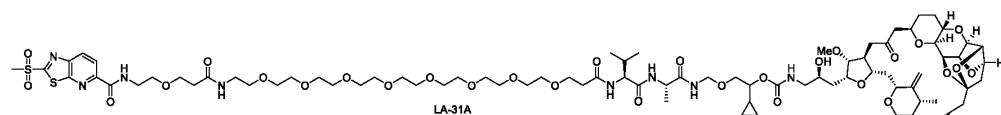


LA-28

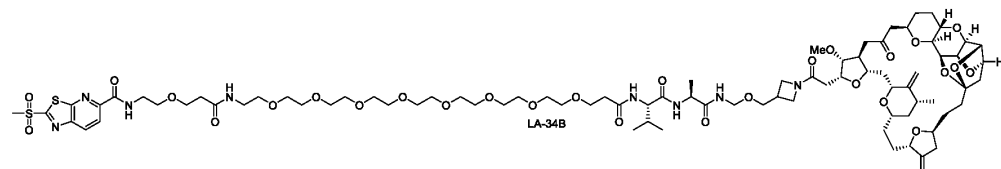
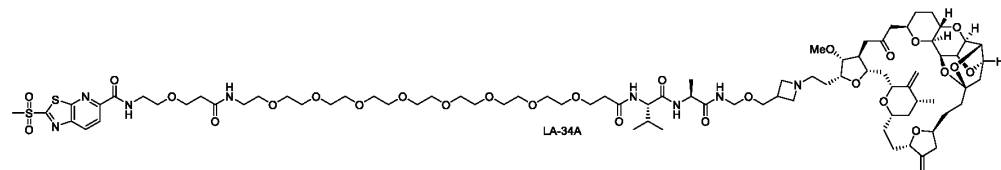
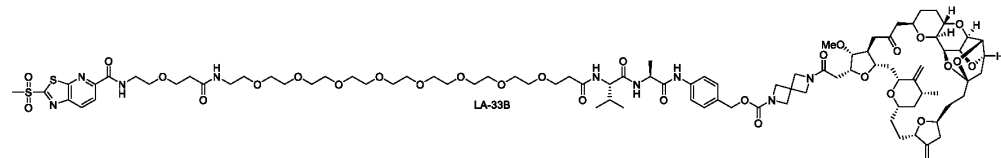
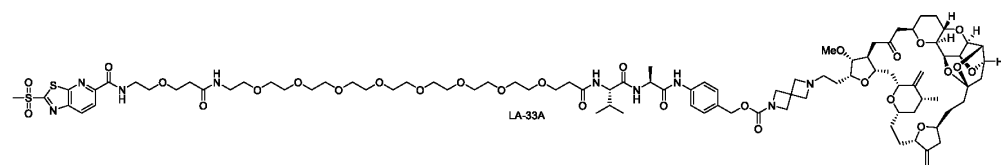


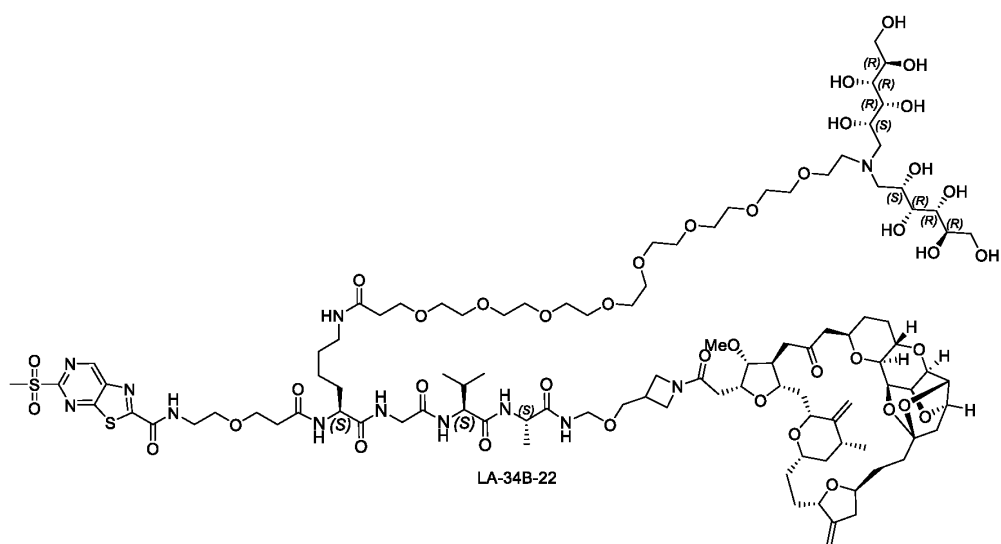
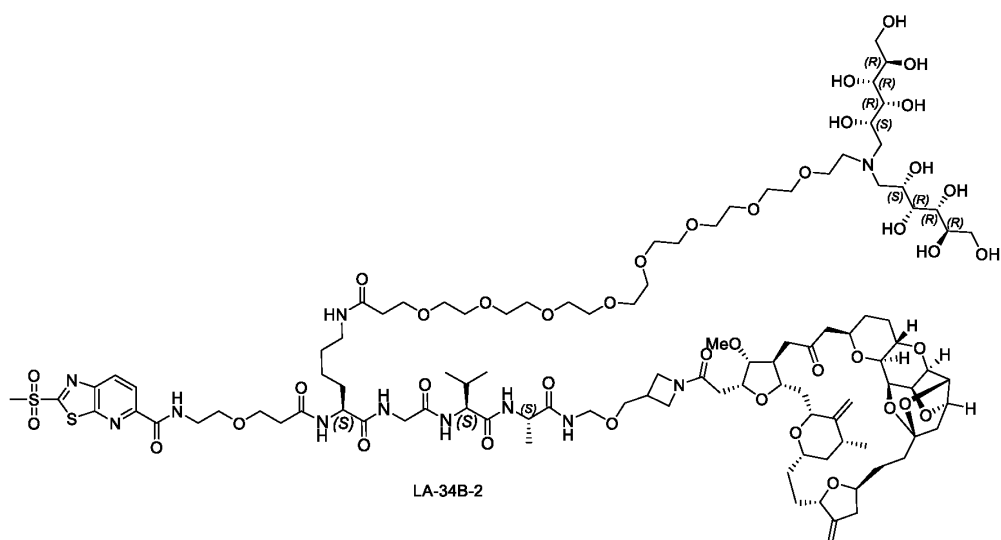
5

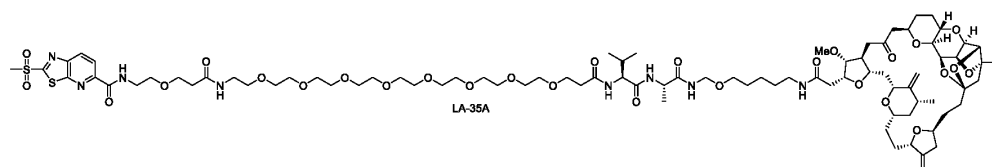
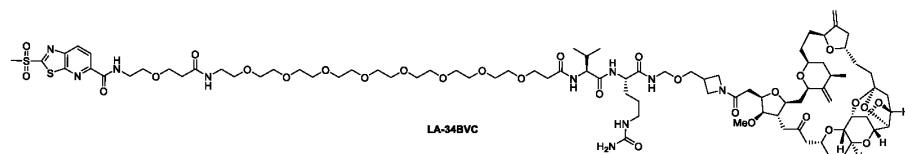
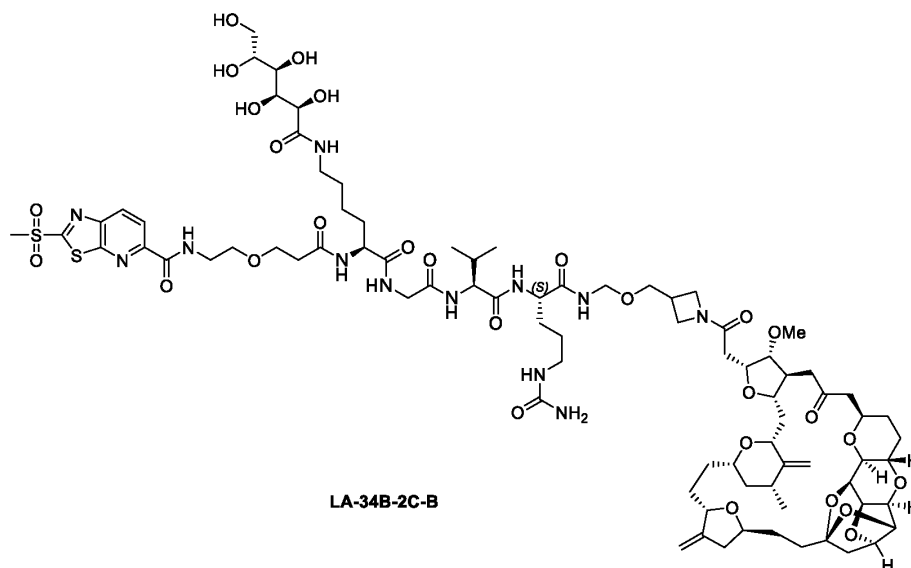
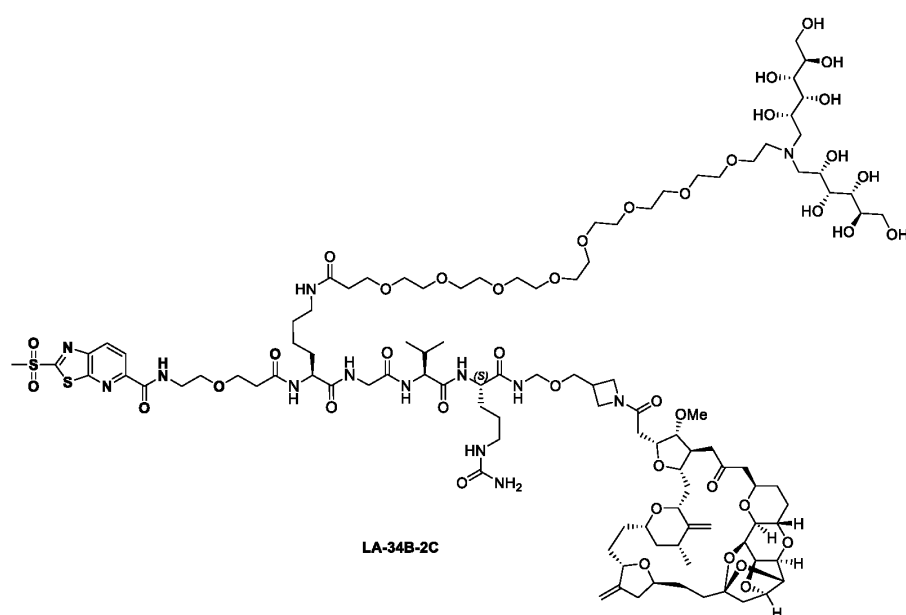


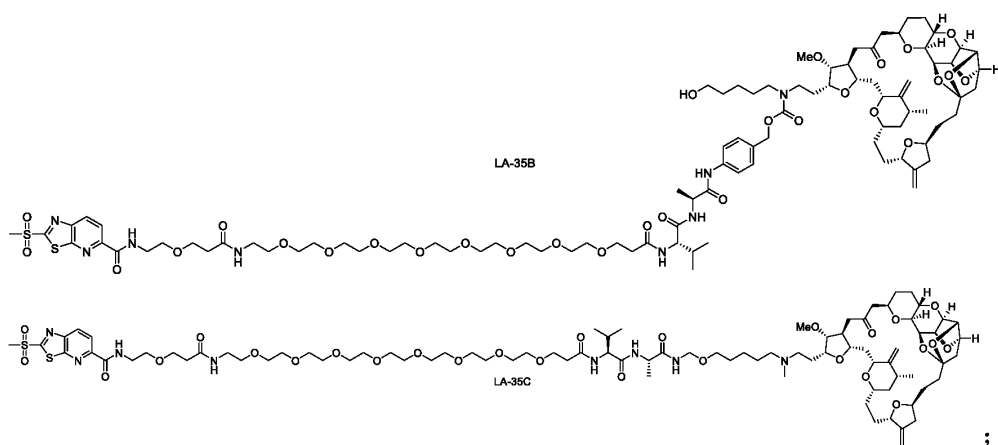


5

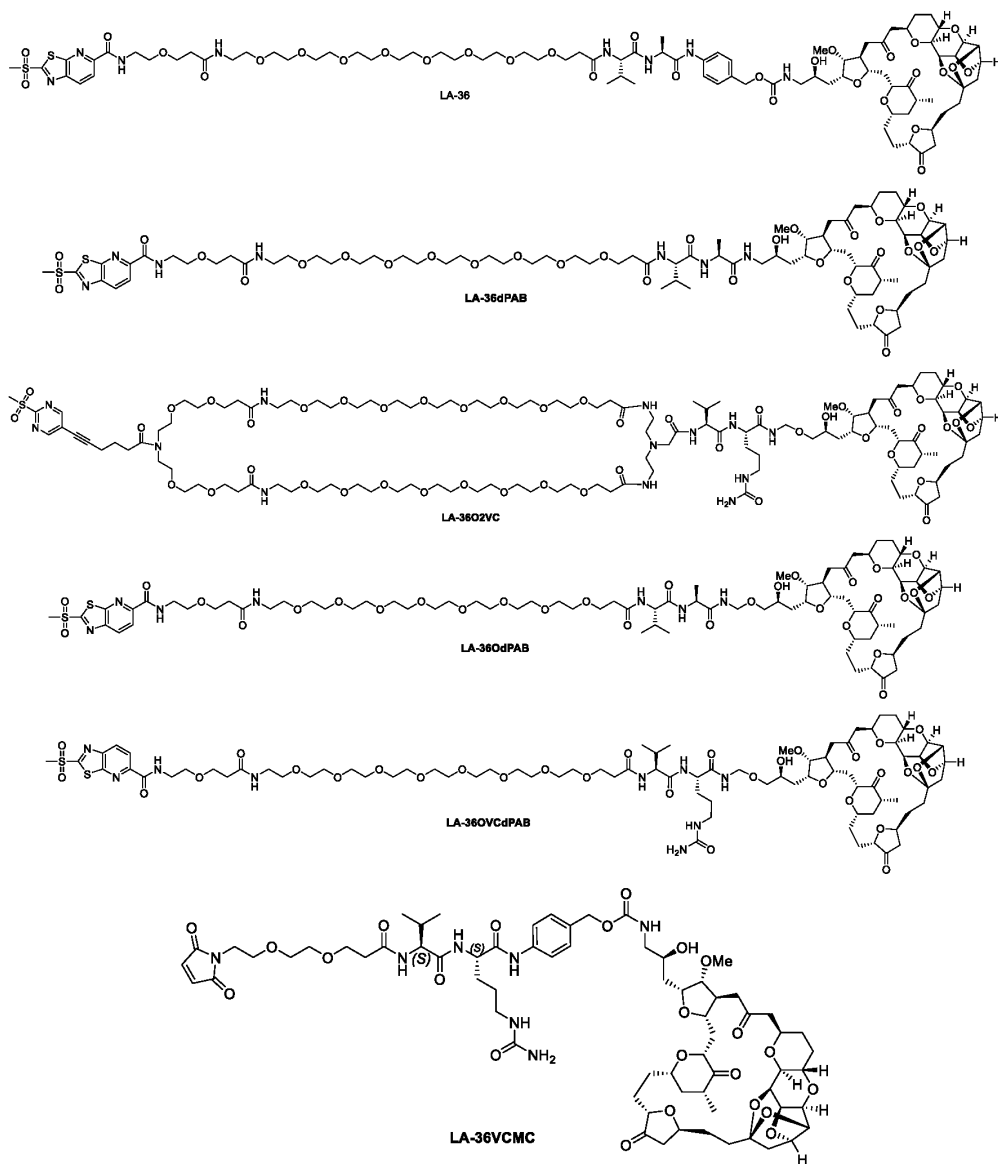


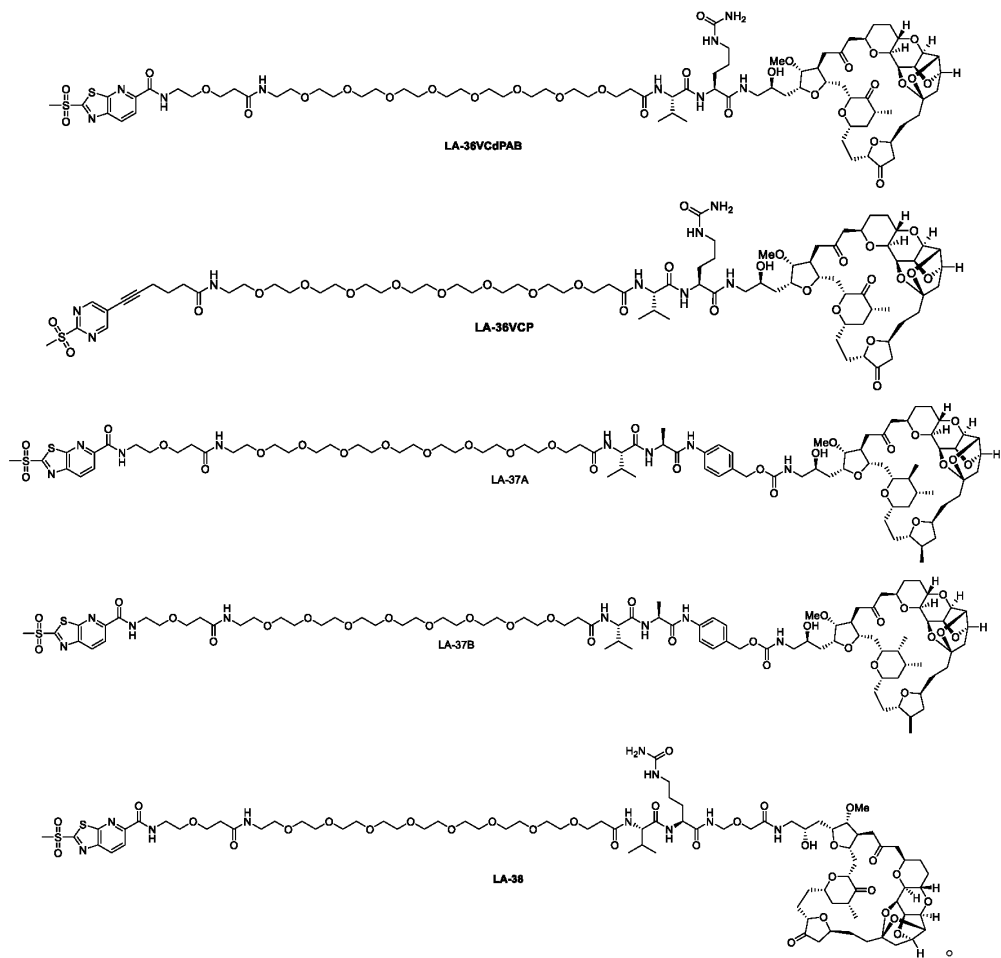






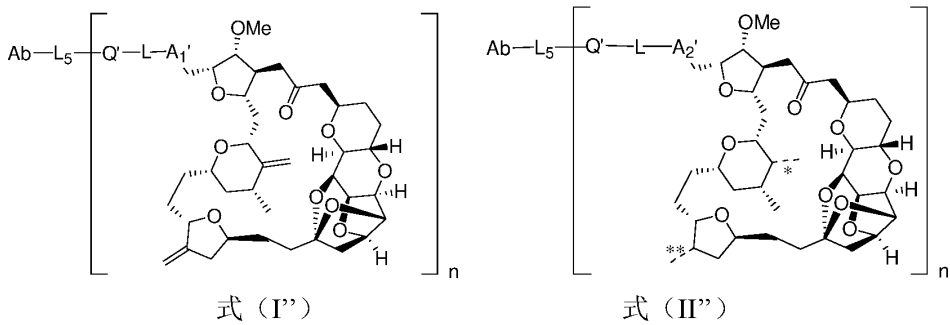
式(II')为如下所示之一:





5

32. 一种抗体药物偶联物，其为式(I'')、式(II'')化合物，或其同位素标记化合物，或其光学异构体、几何异构体、互变异构体或异构体混合物，或其药学上可接受的盐，



10

其中：

Ab 为抗体或抗原结合片段；

L<sub>5</sub> 为直接键或连接 Ab 与 Q' 的连接基团；

Q' 为 Q 通过 L<sub>5</sub> 与 Ab 连接后的基团；

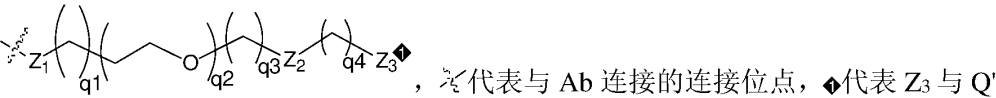
15

n 为 0 至 20 之间的整数或小数；优选 n 为 0 至 8 之间的整数或小数；



Q、L、A1'、A2'、\*、\*\*如权利要求 16-31 任一项中式 (I')、式 (II') 中的定义。

33. 根据权利要求 32 所述的抗体药物偶联物, 其特征在于, L5 为直接键或



5 连接; Z3 为经反应后能够与 Q' 连接的点击探针或巯基或其前体;

Z1 和 Z2 各自独立地选自 -C(O)NH-、-C(O)O-、-C(O)-、-OC(O)-、-NHC(O)-、-NH-、-O-、-OC(O)NH- 或 -NHC(O)O-;

q1 为 0、1、2、3、4、5、6、7、8;

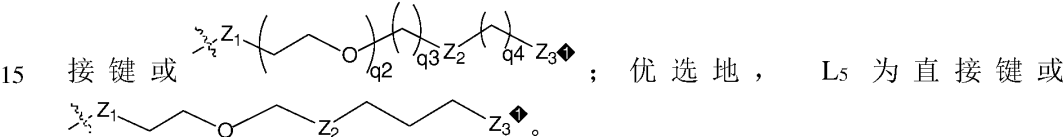
q2 为 1、2、3、4、5、6、7、8;

10 q3 为 1、2、3、4、5、6、7、8;

q4 为 1、2、3、4、5、6、7、8。

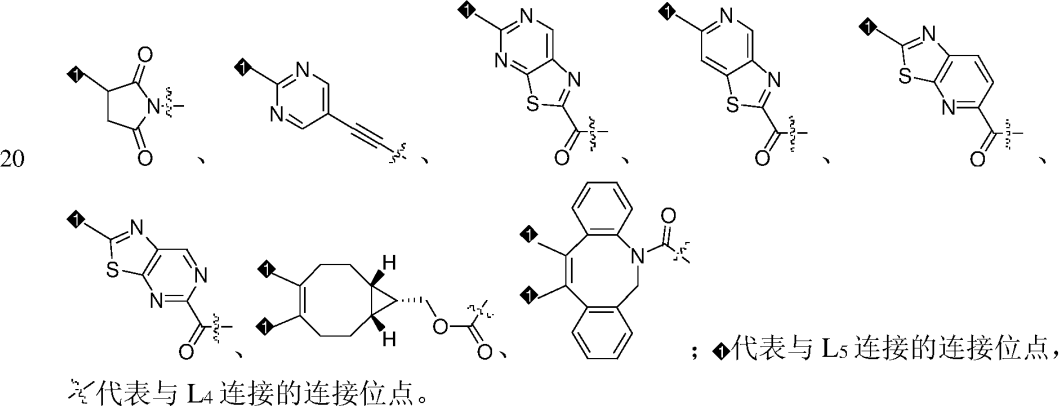
34. 根据权利要求 33 所述的抗体药物偶联物, 其特征在于, Z3 为经无金属点击反应后能够与 Q' 连接的点击探针或巯基或其前体, 优选地, Z3 为叠氮基。

35. 根据权利要求 32-34 任一项所述的抗体药物偶联物, 其特征在于, L5 为直

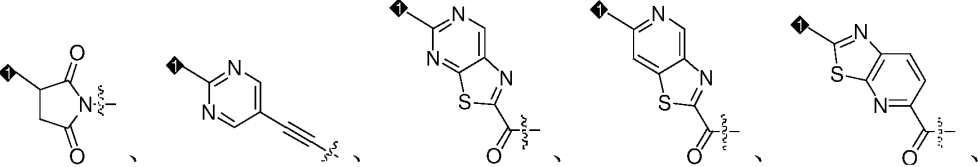


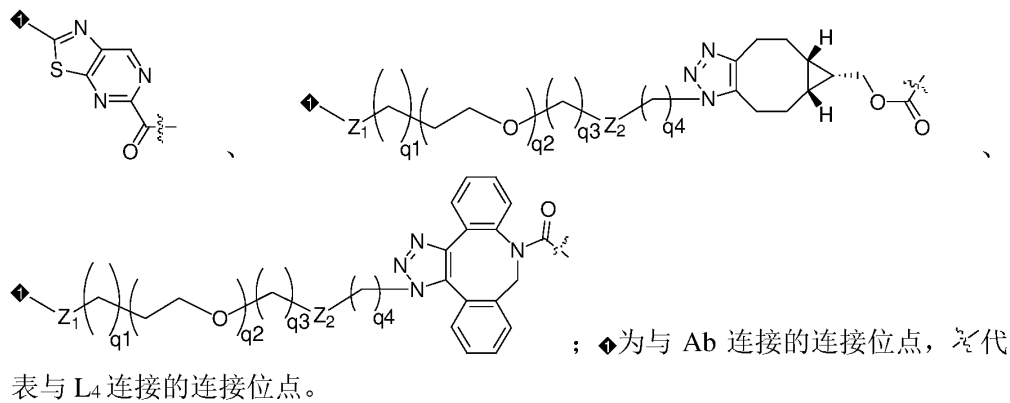
36. 根据权利要求 32-35 任一项所述的抗体药物偶联物, 其特征在于, Z1 和 Z2 各自独立地选自 -C(O)NH-。

37. 根据权利要求 32-36 任一项所述的抗体药物偶联物, 其特征在于, Q' 选自:

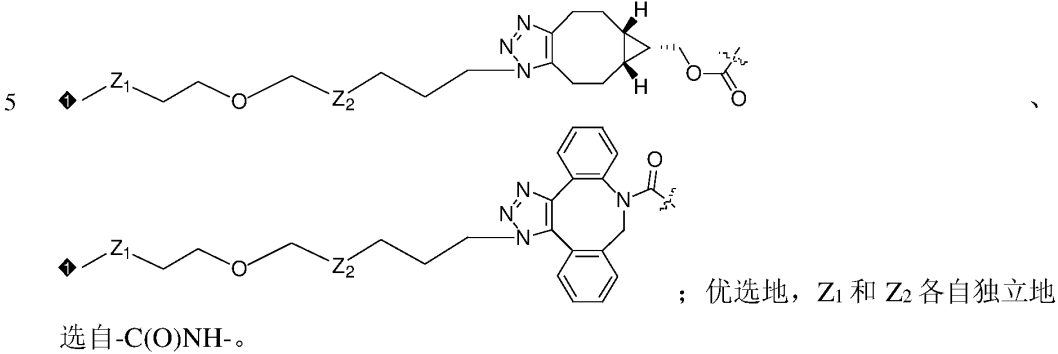


38. 根据权利要求 37 所述的抗体药物偶联物, 其特征在于, L5-Q' 选自:





39. 根据权利要求 38 所述的抗体药物偶联物，其特征在于，L<sub>5</sub>-Q'选自



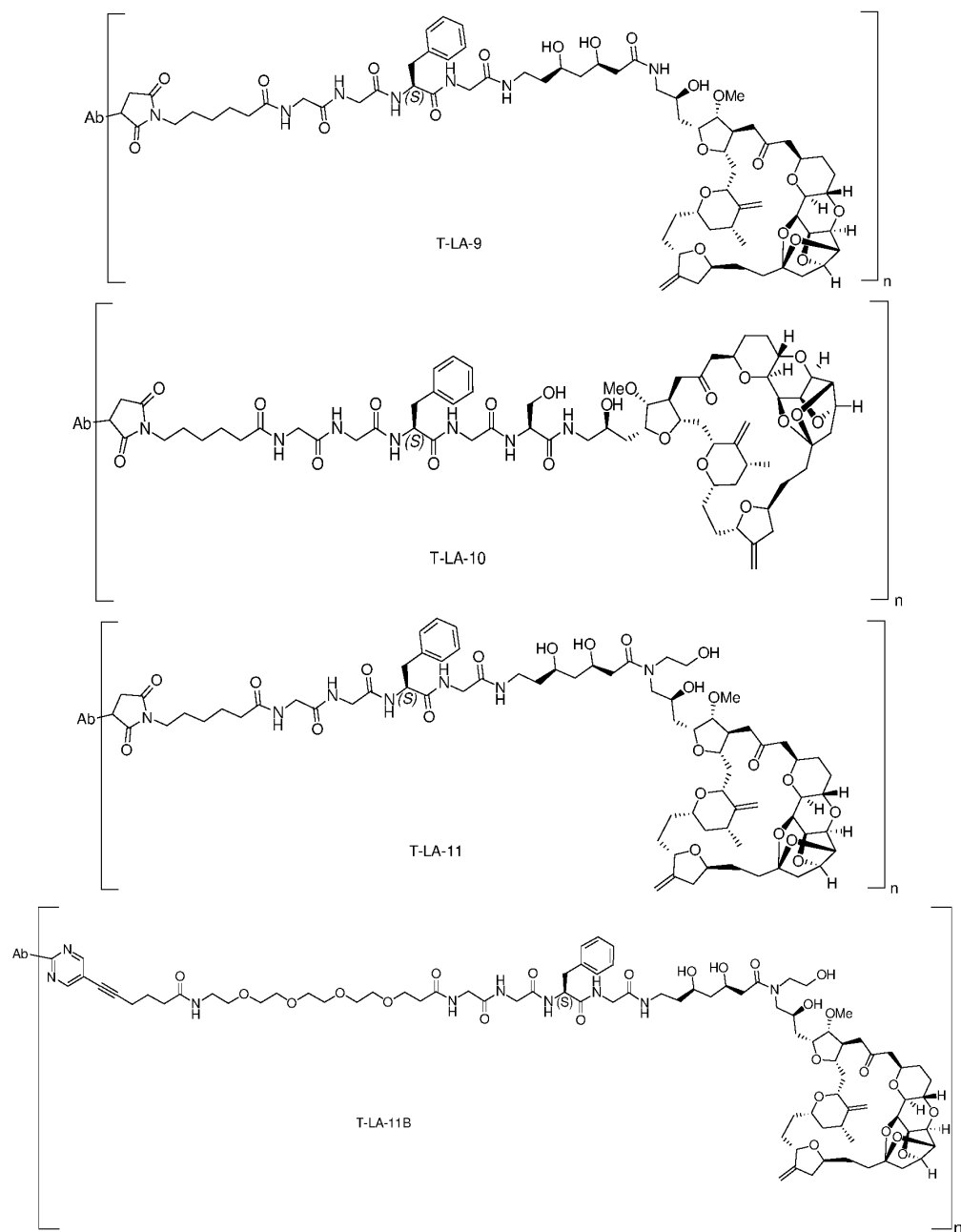
40. 根据权利要求 32-39 任一项所述的抗体药物偶联物，其特征在于，Ab 选自鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体、全人源抗体，或其抗原结合片段；优选地，  
10 所述 Ab 选自抗 HER2(ErbB2)抗体、抗 EGFR 抗体、抗 B7-H3 抗体、抗 c-Met 抗体、抗 HER3(ErbB3)抗体、抗 HER4(ErbB4)抗体、抗 ROR1 抗体、抗 CLDN6 抗体、抗 CLDN9 抗体、抗 CLDN18.2 抗体、抗 NaPi-2b 抗体、抗 TNF-α 抗体、抗 ENPP3 抗体、抗 DLL3 抗体、抗 CD20 抗体、抗 CD22 抗体、抗 CD28 抗体、抗 CD30 抗体、抗 CD33 抗体、抗 CD37 抗体、抗 CD38 抗体、抗 CD44 抗体、抗 CD45 抗体、  
15 抗 CD47 抗体、抗 CD48 抗体、抗 CD56 抗体、抗 CD70 抗体、抗 CD73 抗体、抗 CD98 抗体、抗 CD105 抗体、抗 CEA 抗体、抗 EphA2 抗体、抗 MUC1 抗体、抗 Lewis Y 抗体、抗 VEGFR 抗体、抗 GPNMB 抗体、抗 Integrin 抗体、抗 PSMA 抗体、抗 Tenascin-C 抗体、抗 SLC44A4 抗体、抗 CD79 抗体、抗 TROP-2 抗体、抗 CD79B 抗体、抗 Mesothelin 抗体、抗 Nectin-4 抗体、抗 TPBG 抗体，或其抗原结合片段。  
20

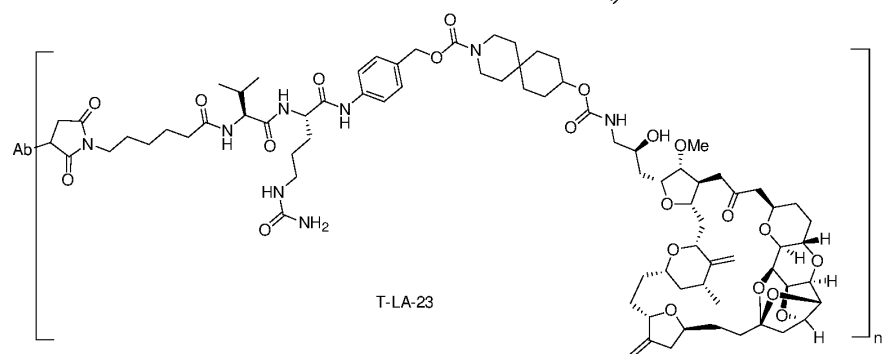
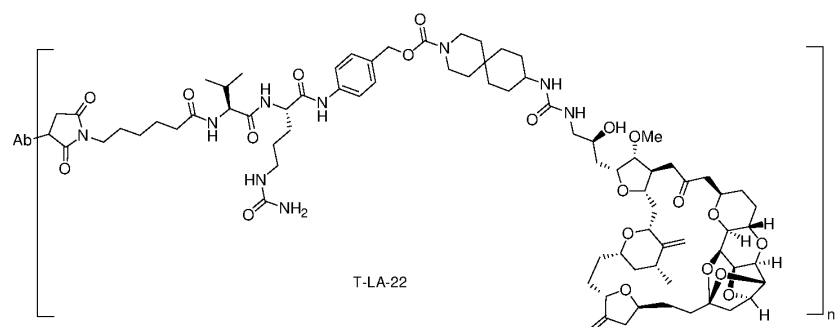
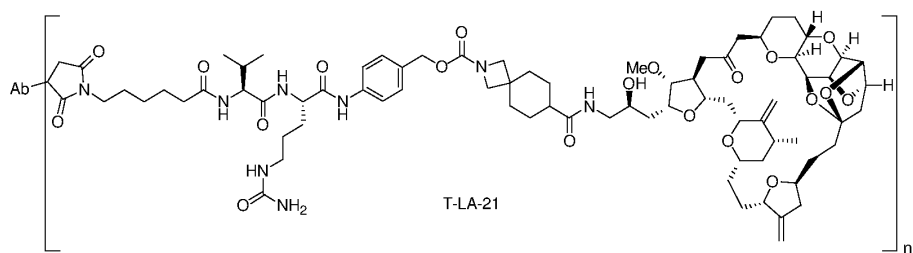
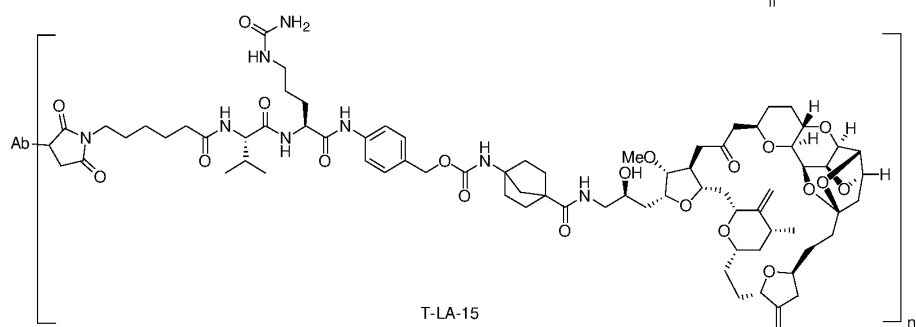
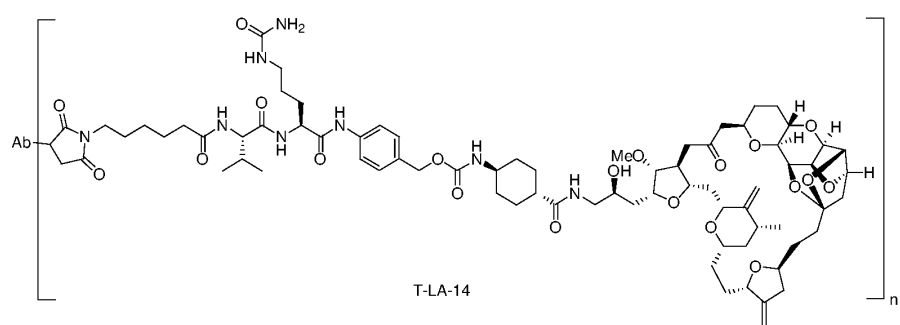
41. 根据权利要求 40 所述的抗体药物偶联物，其特征在于，所述 Ab 为抗 HER2(ErbB2)抗体或其抗原结合片段。

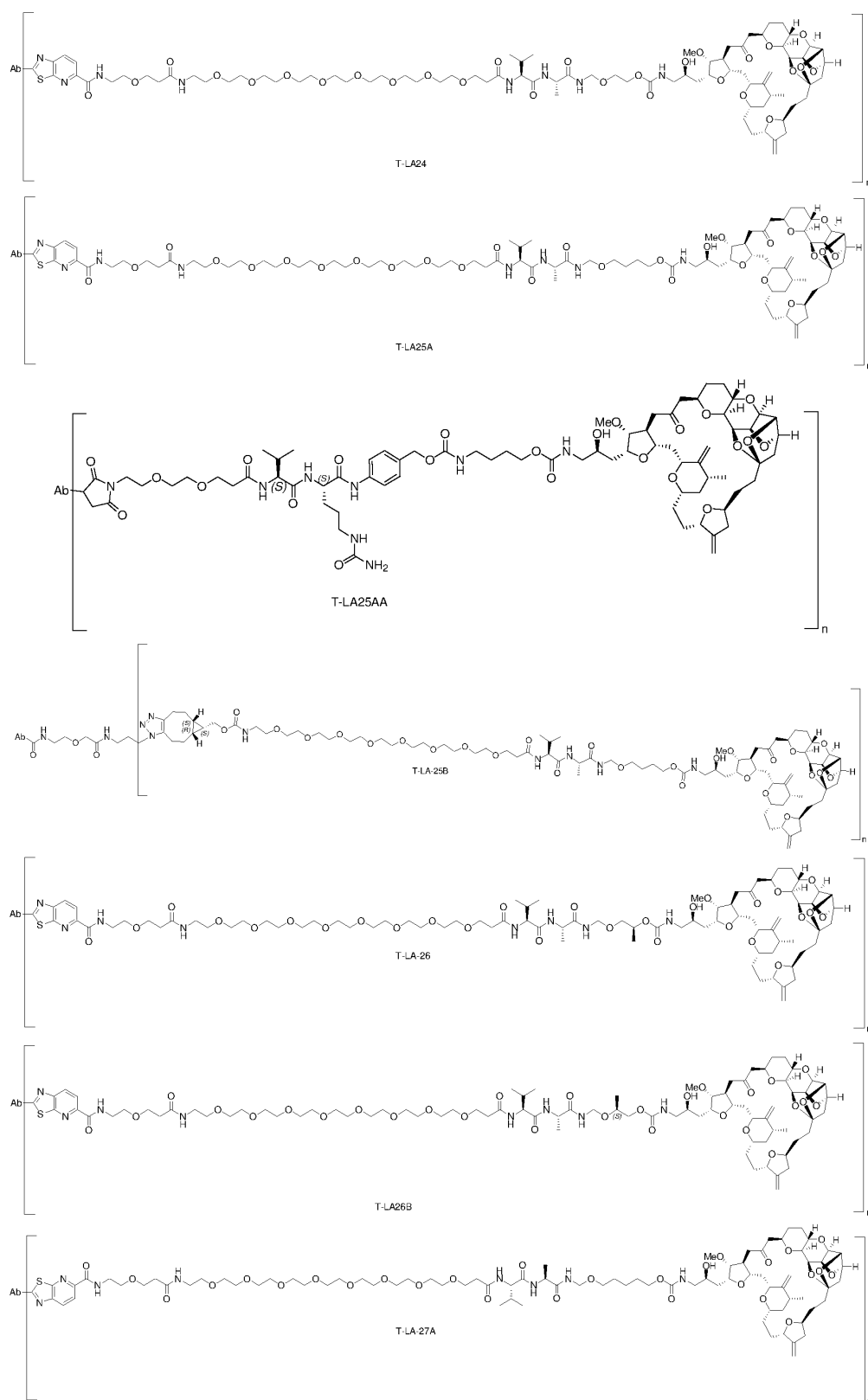
42. 根据权利要求 40 所述的抗体药物偶联物，其特征在于，Ab 选自单克隆抗体或其抗原结合片段，优选选自曲妥珠单抗(Trastuzumab)、西妥昔单抗(Cetuximab)、  
25 帕妥珠单抗 (Pertuzumab)、尼妥珠单抗 (Nimotuzumab)、恩波妥珠单抗

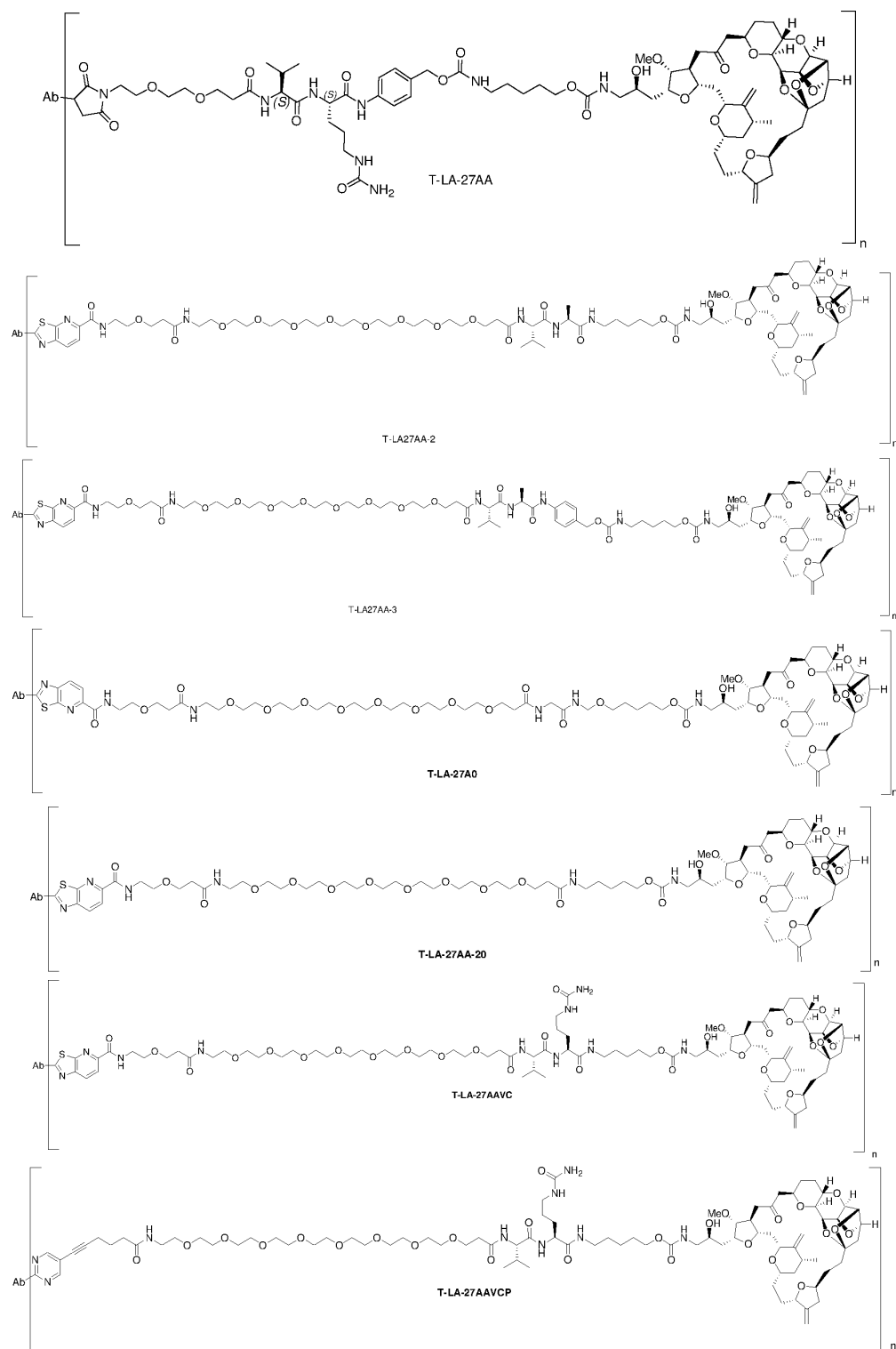
(Enoblituzumab)、依玛妥珠单抗(Emibetuzumab)、奥英妥珠单抗(Inotuzumab)、维汀-匹那妥珠单抗(Pinatuzumab)、维布妥昔单抗(Brentuximab)、吉妥单抗(Gemtuzumab)、比伐珠单抗(Bivatuzumab)、莫洛伐妥单抗(Lorvotuzumab), 或其抗原结合片段。

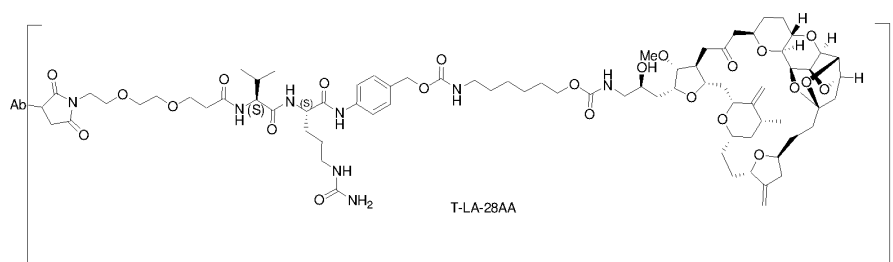
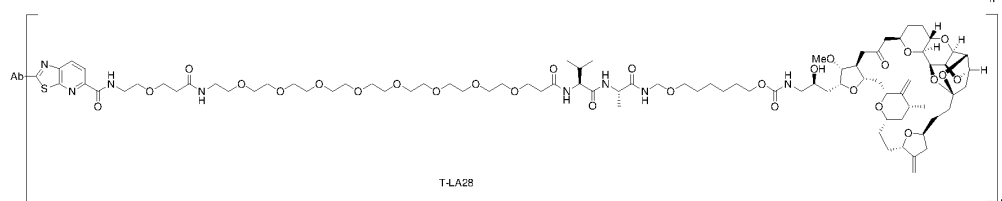
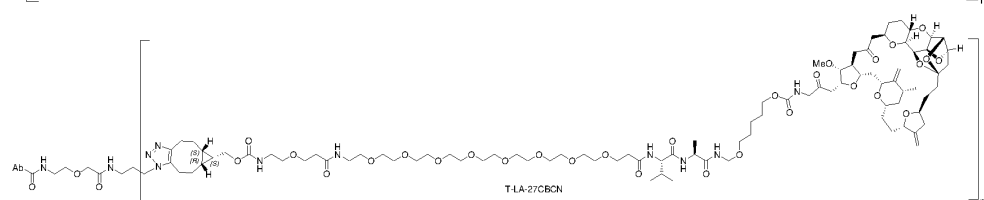
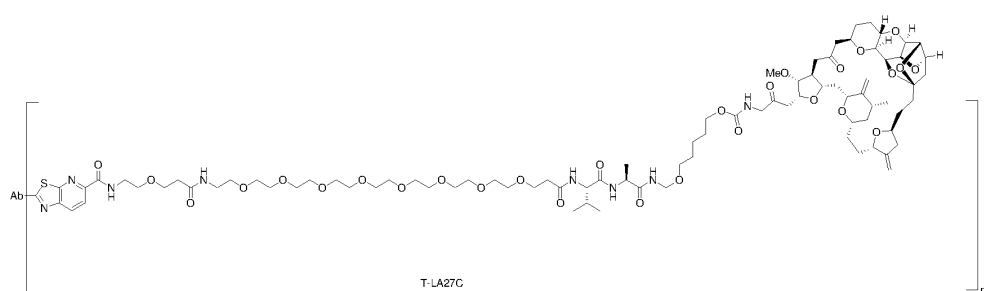
- 5 43. 根据权利要求 32-42 任一项所述的抗体药物偶联物, 其特征在于, 式 (I') 为如下所示之一:



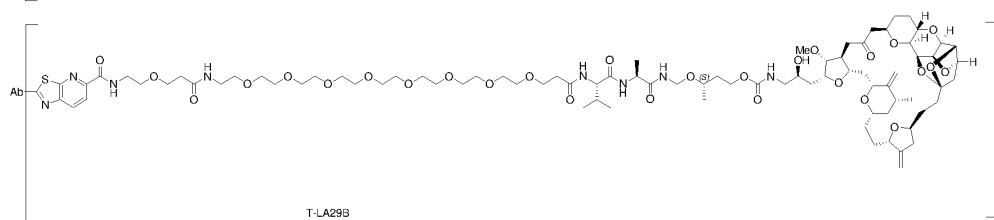
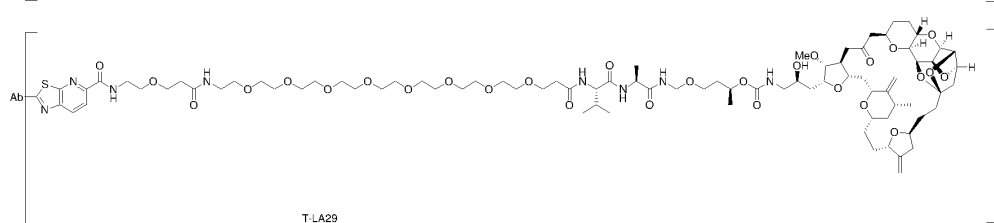
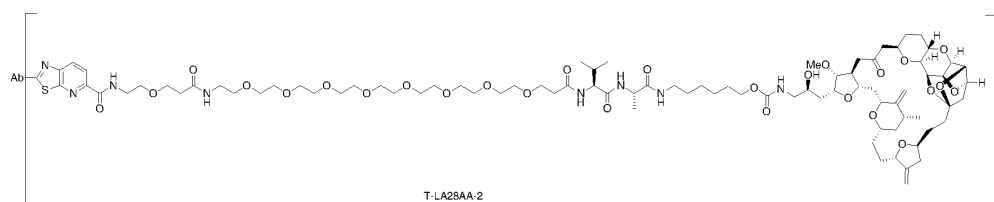


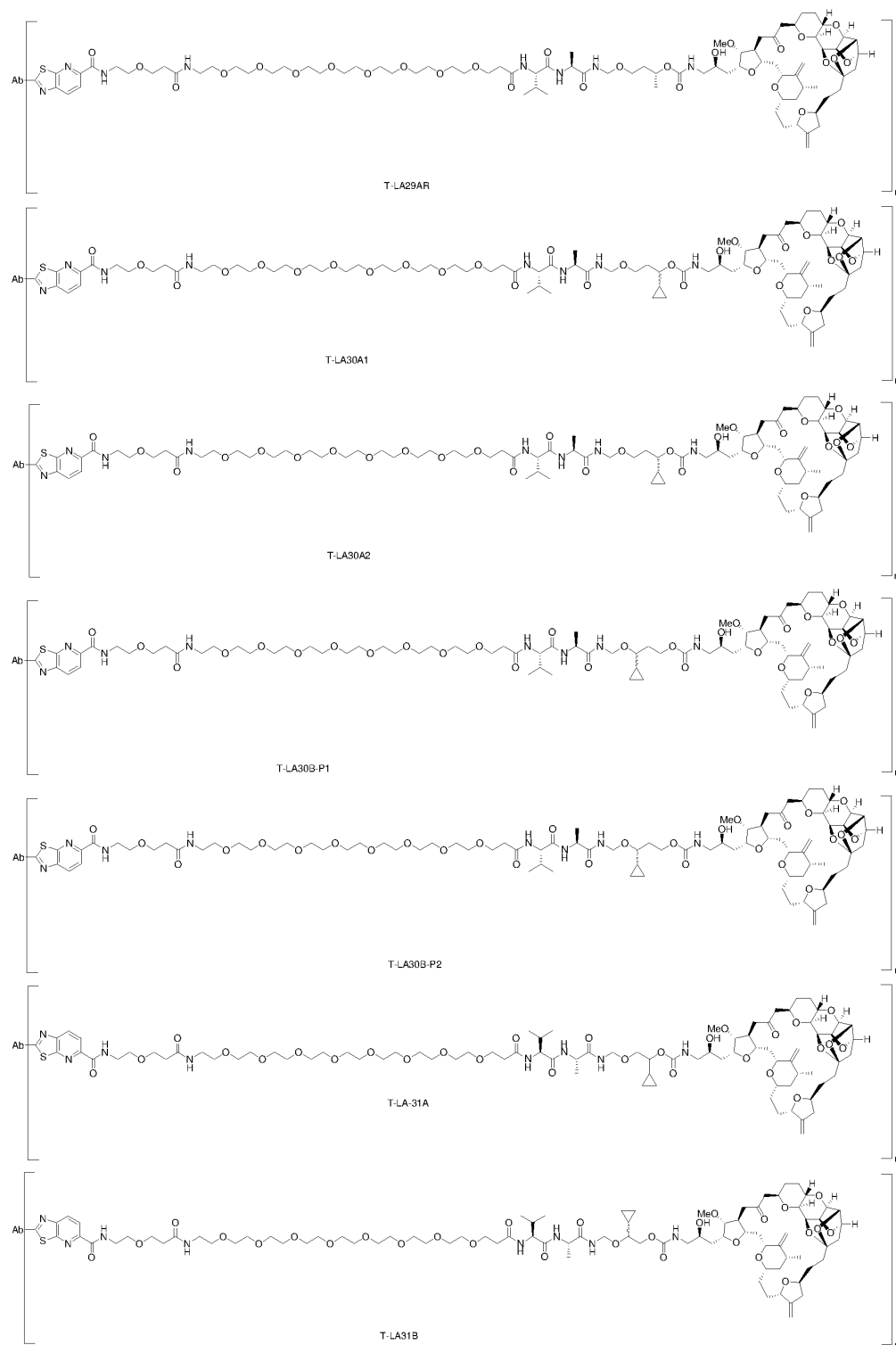




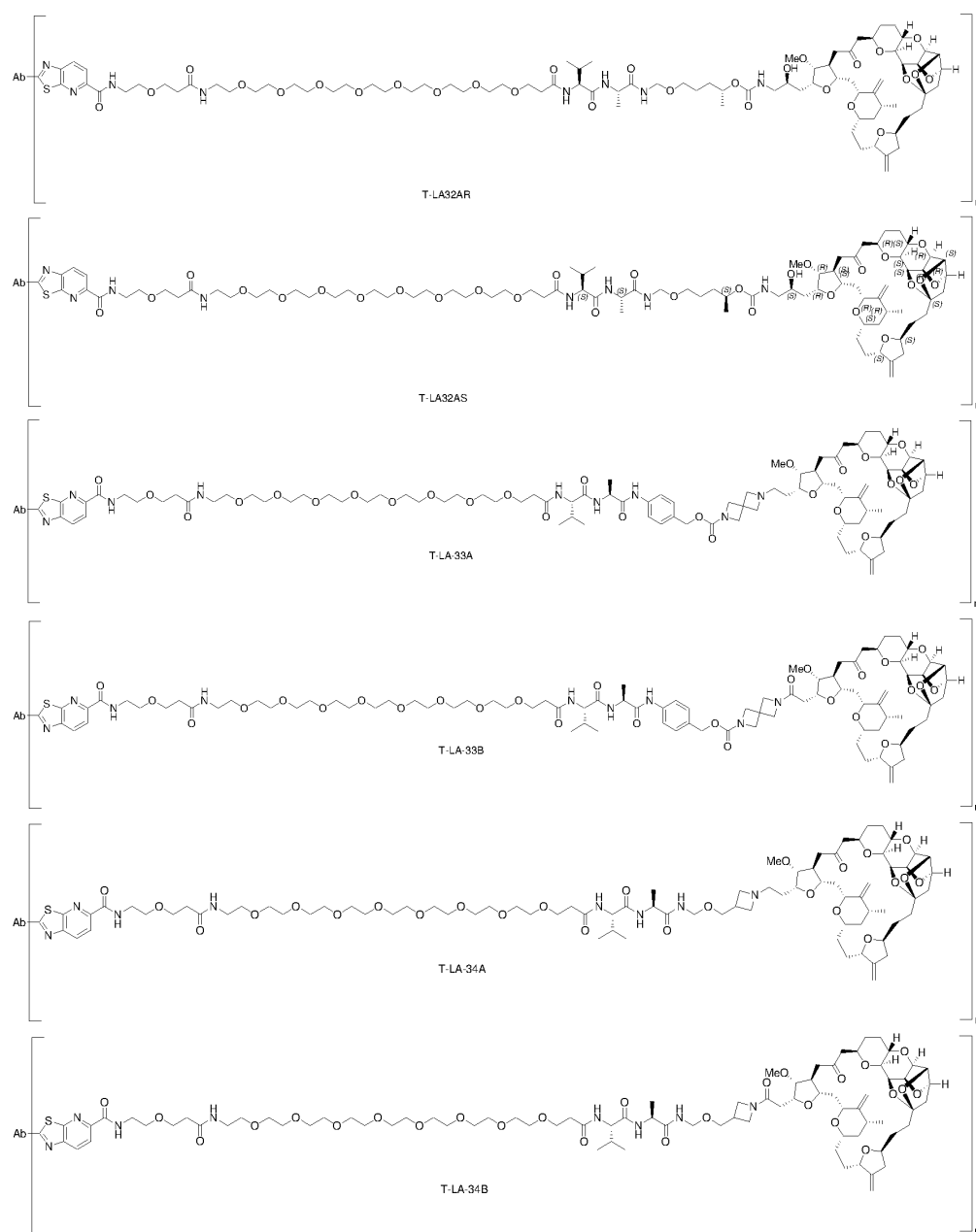


5

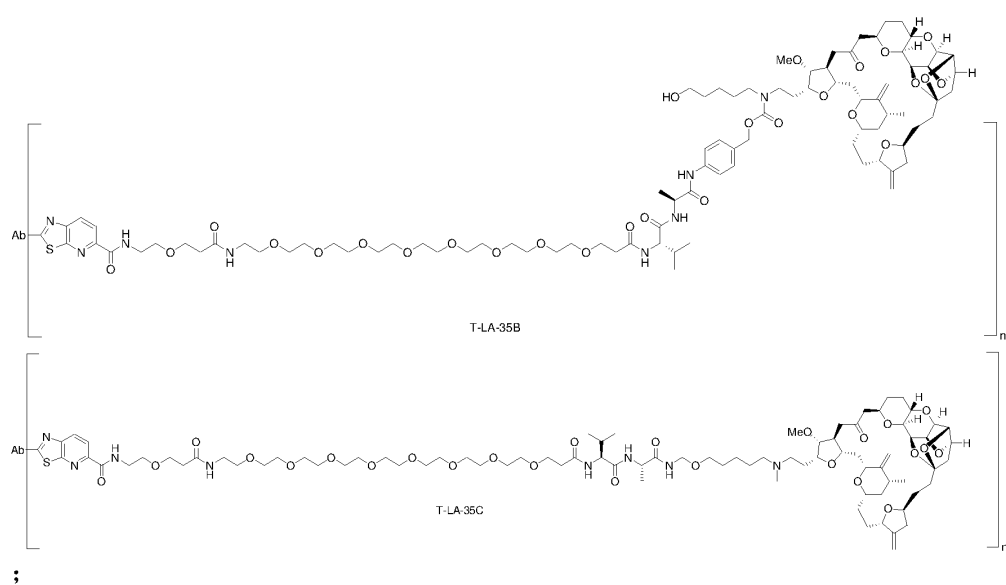




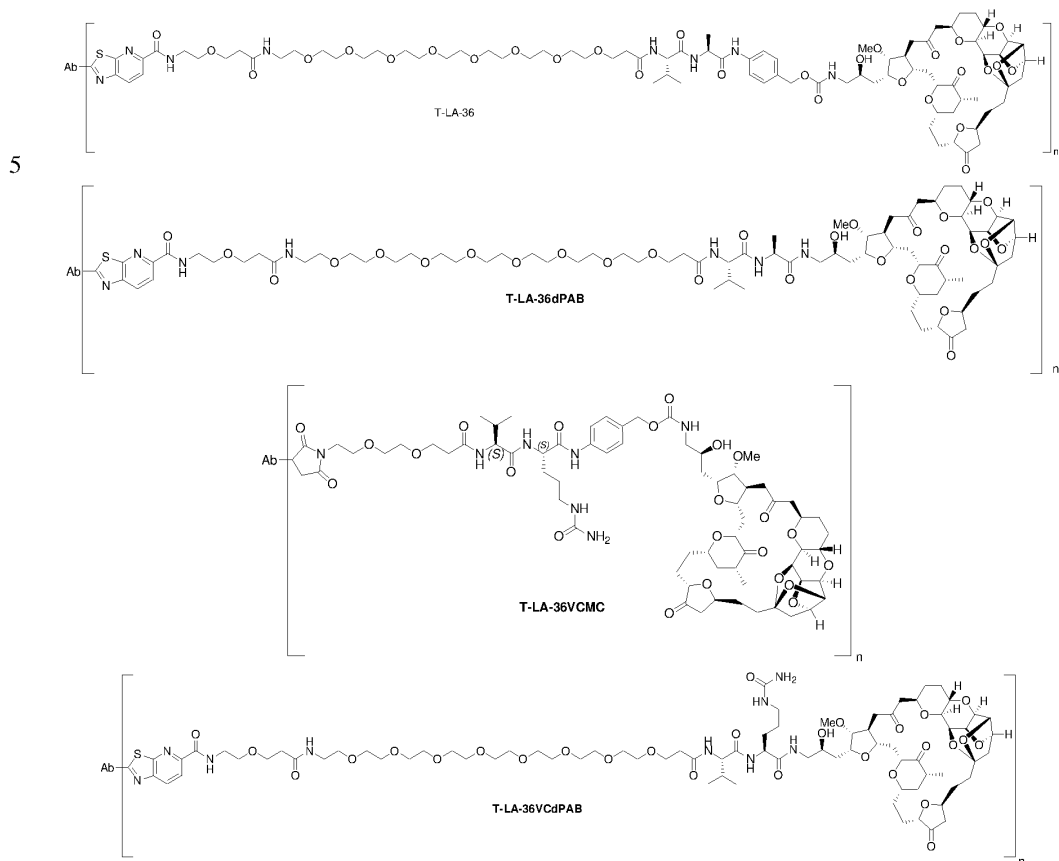


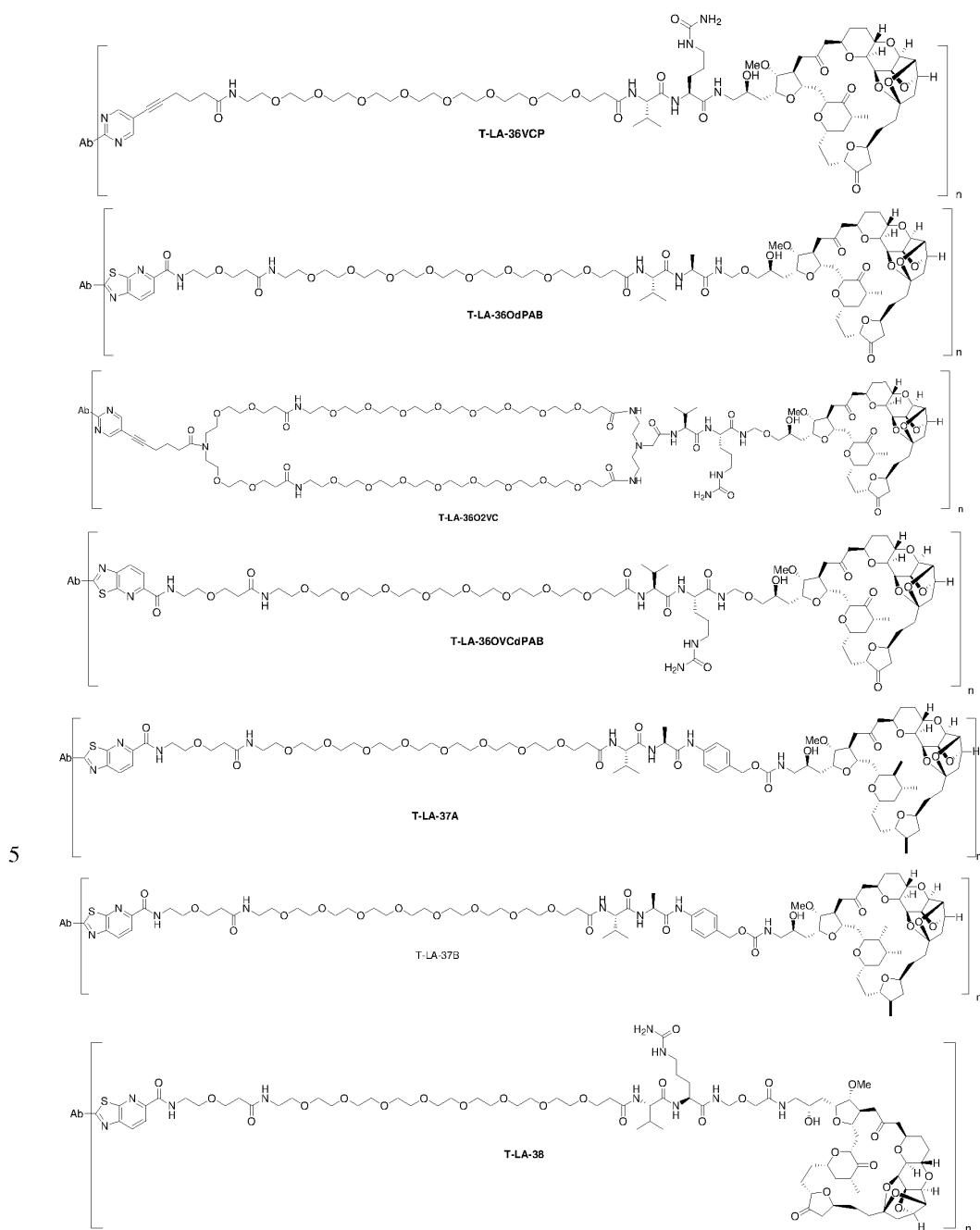






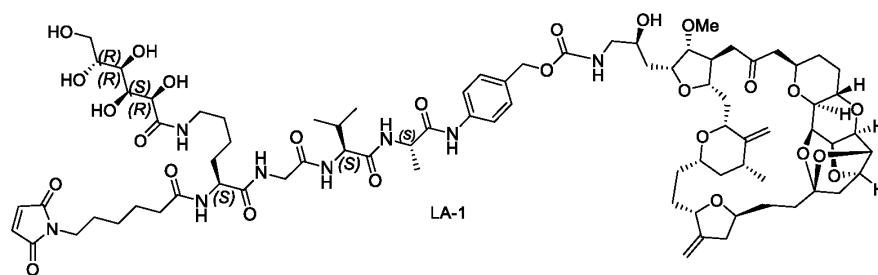
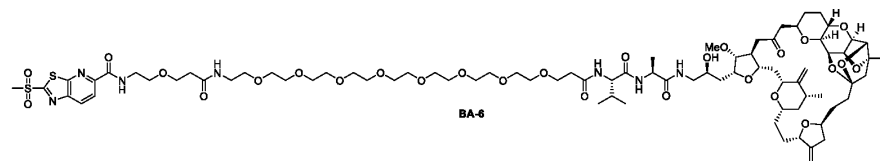
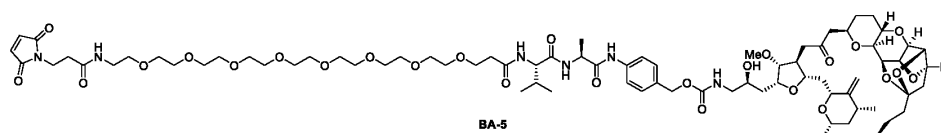
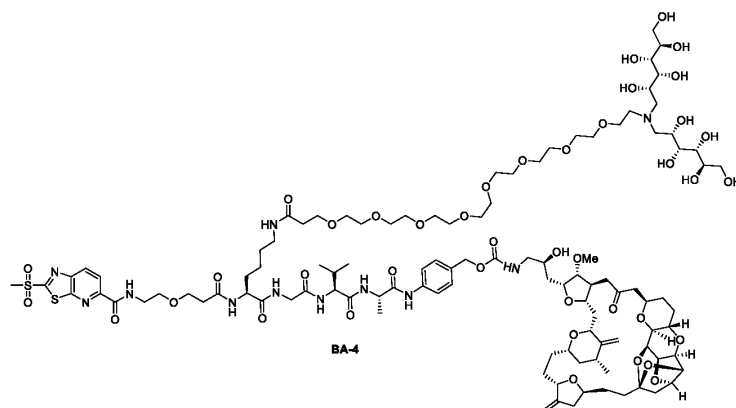
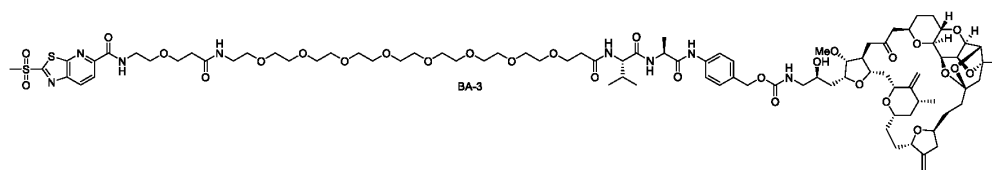
式(II'')为如下所示之一:



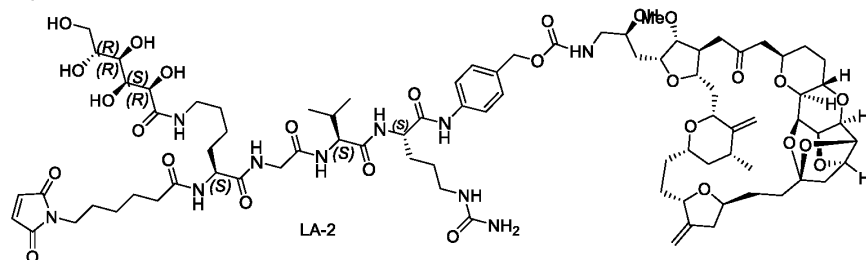


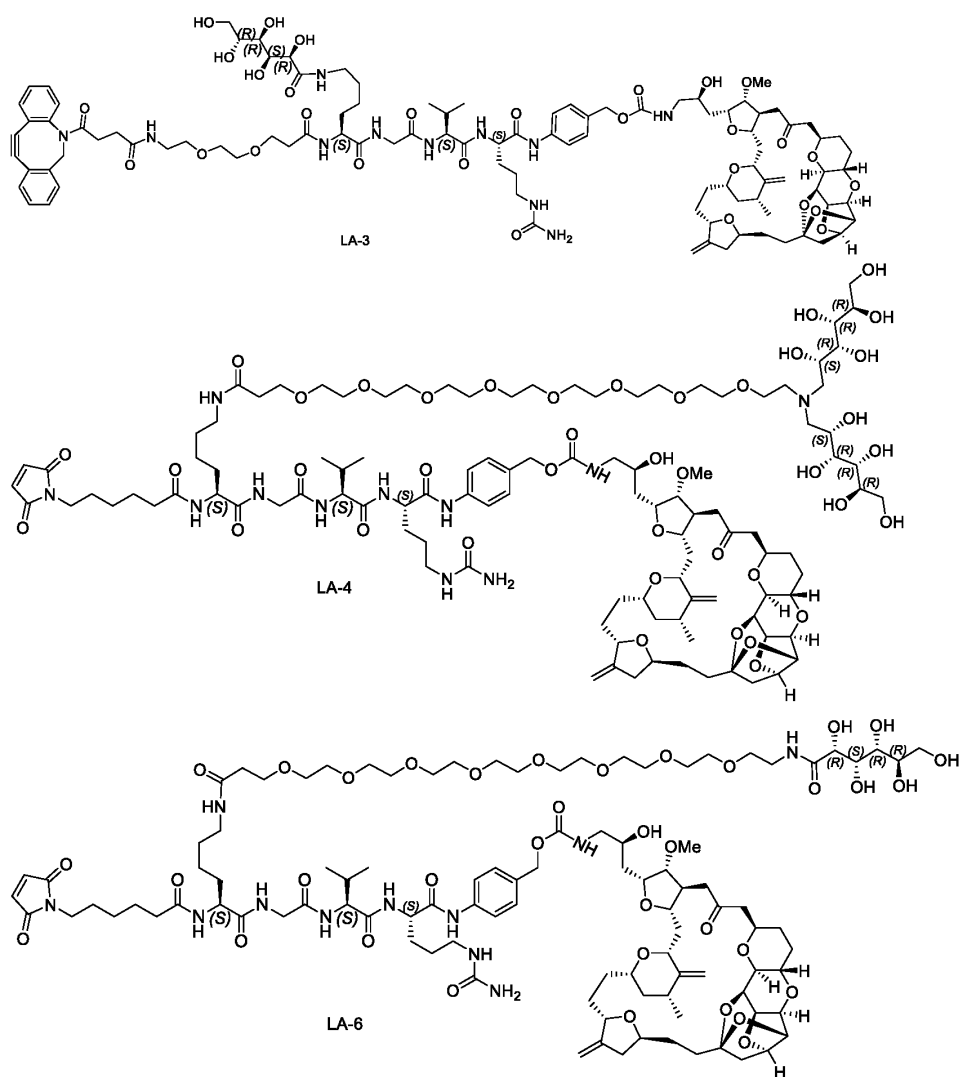
；优选地，Ab 为抗 HER2(ErbB2)抗体或其抗原结合片段；更优选为曲妥珠单抗 (Trastuzumab)或其抗原结合片段。

- 10 44. 一种艾日布林衍生物，其为如下所示的化合物，或其同位素标记化合物，或其光学异构体、几何异构体、互变异构体或异构体混合物，或其药学上可接受的盐，

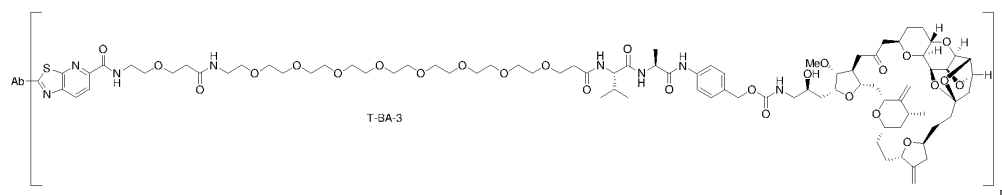


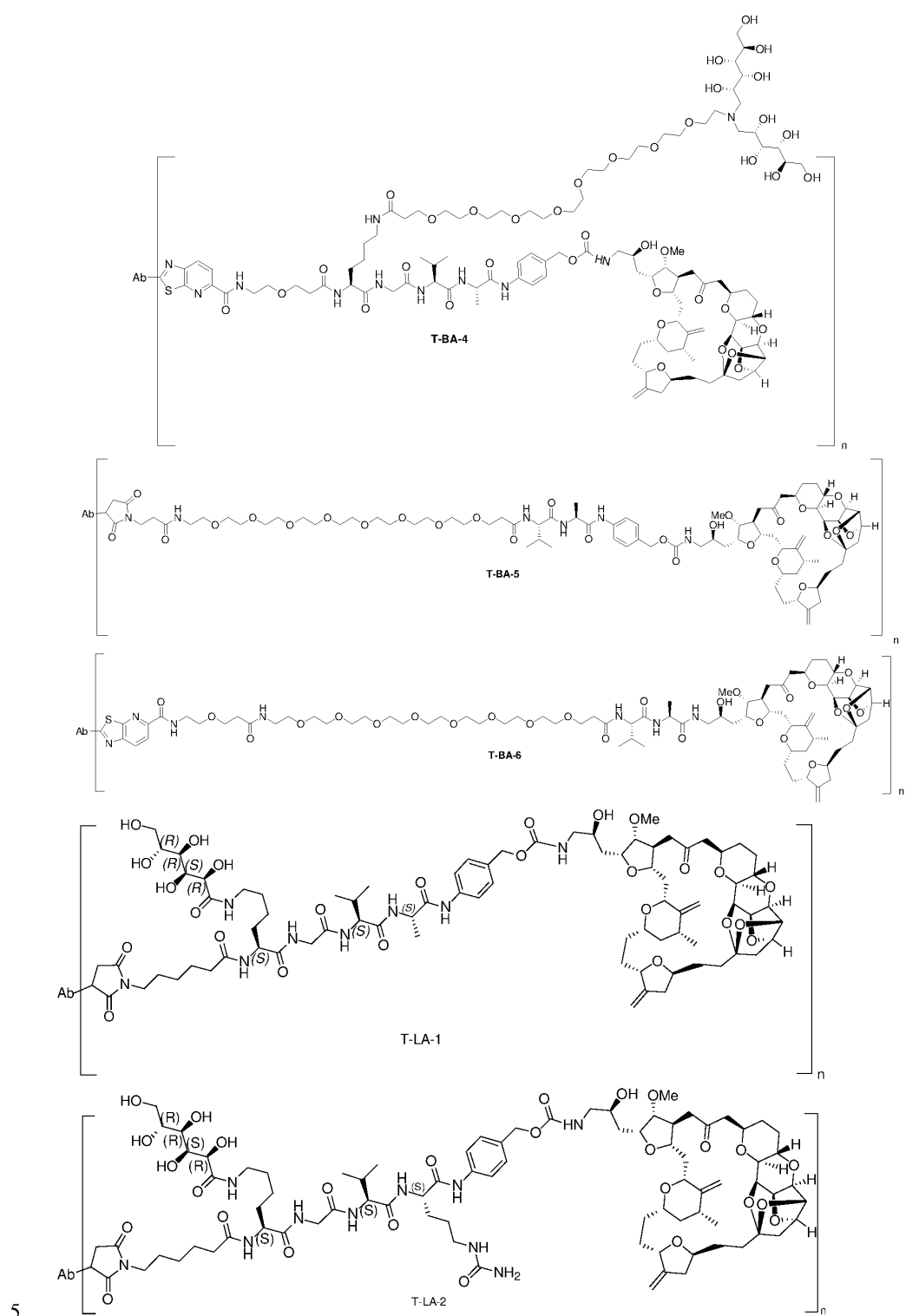
5

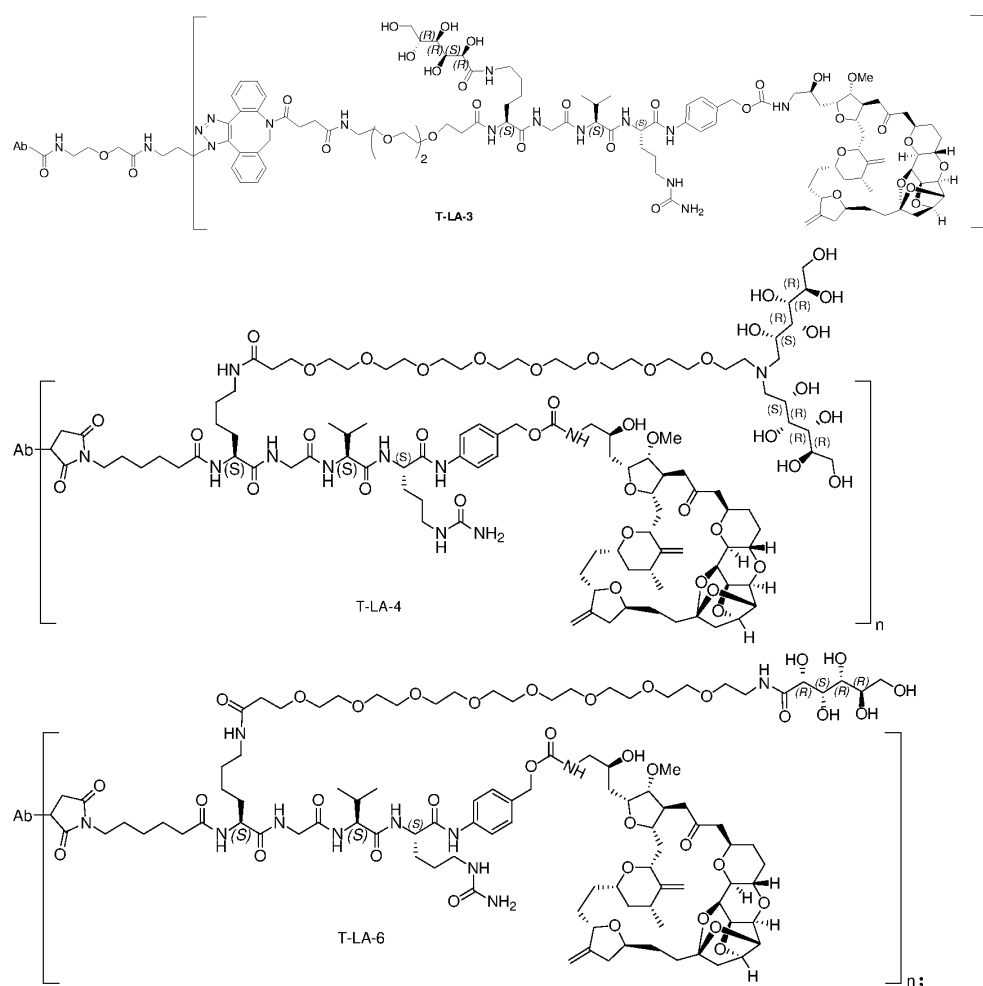




45. 一种抗体药物偶联物，其为如下所示化合物或其同位素标记化合物，或其  
5 光学异构体、几何异构体、互变异构体或异构体混合物，或其药学上可接受的盐，







其中, Ab 为抗体或抗原结合片段; n 为 0 至 20 之间的整数或小数; 优选为 n 5 为 0 至 8 之间的整数或小数。

46. 根据权利要求 45 所述的抗体药物偶联物, 其特征在于, Ab 选自鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体、全人源抗体, 或其抗原结合片段; 优选地, 所述 Ab 选自抗 HER2(ErbB2) 抗体、抗 EGFR 抗体、抗 B7-H3 抗体、抗 c-Met 抗体、抗 HER3(ErbB3) 抗体、抗 HER4(ErbB4) 抗体、抗 ROR1 抗体、抗 CLDN6 抗体、抗 CLDN9 抗体、  
10 抗 CLDN18.2 抗体、抗 NaPi-2b 抗体、抗 TNF- $\alpha$  抗体、抗 ENPP3 抗体、抗 DLL3 抗体、抗 CD20 抗体、抗 CD22 抗体、抗 CD28 抗体、抗 CD30 抗体、抗 CD33 抗体、抗 CD37 抗体、抗 CD38 抗体、抗 CD44 抗体、抗 CD45 抗体、抗 CD47 抗体、抗 CD48 抗体、抗 CD56 抗体、抗 CD70 抗体、抗 CD73 抗体、抗 CD98 抗体、抗 CD105 抗体、抗 CEA 抗体、抗 EphA2 抗体、抗 MUC1 抗体、抗 Lewis Y 抗体、  
15 抗 VEGFR 抗体、抗 GPNMB 抗体、抗 Integrin 抗体、抗 PSMA 抗体、抗 Tenascin-C 抗体、抗 SLC44A4 抗体、抗 CD79 抗体、抗 TROP-2 抗体、抗 CD79B 抗体、抗 Mesothelin 抗体、抗 Nectin-4 抗体、抗 TPBG 抗体, 或其抗原结合片段。



47. 根据权利要求 46 所述的抗体药物偶联物，其特征在于，所述 Ab 为抗 HER2(ErbB2)抗体或其抗原结合片段。

48. 根据权利要求 46 所述的抗体药物偶联物，其特征在于，Ab 选自单克隆抗体或其抗原结合片段，优选选自曲妥珠单抗(Trastuzumab)、西妥昔单抗(Cetuximab)、帕妥珠单抗(Pertuzumab)、尼妥珠单抗(Nimotuzumab)、恩波妥珠单抗(Enoblituzumab)、依玛妥珠单抗(Emibetuzumab)、奥英妥珠单抗(Inotuzumab)、维汀-匹那妥珠单抗(Pinatuzumab)、维布妥昔单抗(Brentuximab)、吉妥单抗(Gemtuzumab)、比伐珠单抗(Bivatuzumab)、莫洛伐妥单抗(Lorvotuzumab)，或其抗原结合片段；优选为曲妥珠单抗(Trastuzumab)或其抗原结合片段。

49. 一种药物组合物，其包含权利要求 1-31、44 任一项所述的艾日布林衍生物，或权利要求 32-43、45-48 任一项所述的抗体药物偶联物，以及一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂。

50. 根据权利要求 1-31、44 任一项所述的艾日布林衍生物在制备抗体药物偶联物中的用途。

51. 权利要求 1-31、44 任一项所述的艾日布林衍生物，或权利要求 32-43、45-48 任一项所述的抗体药物偶联物，或权利要求 49 所述的药物组合物在制备用于治疗肿瘤或癌症的药物中的用途。

52. 一种治疗肿瘤或癌症的方法，其包含向有需要的受试者施用有效量的根据权利要求 1-31、44 任一项所述的艾日布林衍生物，或权利要求 32-43、45-48 任一项所述的抗体药物偶联物，或权利要求 49 所述的药物组合物。

53. 根据权利要求 51 所述的用途，或根据权利要求 52 所述的方法，其特征在于，所述肿瘤或癌症选自实体瘤或血液瘤；优选选自乳腺癌、胃癌、结肠癌、胰腺癌、肾癌、卵巢癌、肺癌、软组织肉瘤、脂肪肉瘤、肺癌、非小细胞肺癌、黑色素瘤、头颈癌、宫颈癌、前列腺癌；更优选为 HER-2 阳性乳腺癌、三阴乳腺癌、HER-2 阳性三阴乳腺癌、肾透明腺细胞腺癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、大细胞肺癌。

54. 根据权利要求 53 所述的用途或方法，其特征在于，所述肿瘤或癌症选自 HER2(ErbB2)抗体高表达的癌症或肿瘤。