

喜树碱衍生物及其偶联物以及其制备方法和医药用途

5 技术领域

本发明涉及新型的喜树碱衍生物及其偶联物，以及其制备方法，含有其的药物组合物，以及其用于制备抗肿瘤药物的用途。

背景技术

10 抗体-药物偶联物（ADC）是一类相对较新的抗癌药物，旨在将单克隆抗体的选择性与细胞毒性剂的细胞杀伤特性相结合。ADC 作为一种新的治疗疗法引起了极大的兴趣，并且继续在不断发展。ADC 的设计通过连接子将单克隆抗体或者抗体片段与具有生物活性的细胞毒性剂相连，充分利用了抗体对肿瘤细胞表面抗原结合的特异性和细胞毒性物质的高效性，同时又避免了抗体本身疗效偏低和细胞
15 毒性剂的毒副作用过大等缺陷。这也就意味着，与以往传统的化疗药物相比，抗体-药物偶联物能更精准地杀伤肿瘤细胞并降低对正常细胞的毒副作用。因此，ADC 药物中的连接子不仅是抗体与小分子药物之间形成共价连接的分子部分，也是靶向药物治疗中具有设计性质的关键元件。这涉及到多方面的考虑：连接子的加入不应诱导聚集；确保可接受的 PK 特性；提高血液循环的稳定性；活性分子在
20 靶向位点有效释放。

喜树碱（CPT）是一种五环喹啉生物碱，最初是从中国本土树种-喜树的木材和树皮中分离出来的。喜树碱通过抑制拓扑异构酶 I 表现出显著的抗肿瘤活性。拓扑异构酶 I 是一种在多种肿瘤细胞系中过表达且对 DNA 合成至关重要的酶。喜树碱能结合 Topo I-DNA 复合物，稳定此复合物，从而使断裂的 DNA 链不能重新接
25 合，阻止 DNA 复制及 RNA 合成。由于其广谱抗肿瘤活性和独特的作用机制，人们一直在努力开发喜树碱的临床类似物。目前只有三个喜树碱同系药物上市，即伊立替康（Irinotecan，美国辉瑞制药公司 1994 年获得 FDA 批准）、拓扑替康（Topotecan，诺华制药 2007 年获得 FDA 批准）、倍罗替康（Belotecan，韩国公司 ChongKunDang Pharmaceuticals 于 2003 年被批准在韩国上市）。

30 然而，喜树碱及其大部分衍生物在生理条件下溶解性差活性低，限制了喜树碱类似物的临床开发。因此，将喜树碱制成 ADC 可以克服这些限制。伊立替康（Irinotecan）是一个前药，其活性代谢产物 SN-38 水溶性差，半衰期短。Immunomedics 公司利用 SN-38 作为毒性剂连接到赛妥珠单抗，其靶向识别表达 Trop-2 的癌细胞，用于治疗转移性三阴性乳腺癌（TNBC）的成年患者。人源化的赛妥珠单抗冻干粉注射剂（Sacituzumab Govitecan-Hziy）于 2022 年 4 月已经被 FDA
35 批准用于治疗（US7999083 B2）。

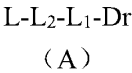
依沙替康（DX-8951f）的氨基有助于其水溶性，而环己烷环赋予的刚性被认为有利于活性内酯形式与非活性水解羟基酸的平衡从而提高其活性，但是临床试验并没有达到预期终点。第一三共利用氨基羟基乙酰化生成 DXd，其活性比依沙替康低 2-4 倍（US 20210169852 A）。使用酶可切割的 Gly-Gly-Phe-Gly 四肽连接子连接 DXd，与抗 HER2 抗体偶联产生的 ADC（Enhertu）在临床环境中显示出对抗 HER2 表达癌症的巨大潜力。因此，Enhertu 于 2019 年 12 月 20 日获得 FDA 加速批准，用于在转移性疾病中已接受过 2 种或 2 种以上抗 HER2 药物治疗的 HER2 阳性、不可切除性或转移性乳腺癌成人患者。DXd 的环己胺环虽然被认为稳定了生物活性内酯形式，但它携带了一个手性中心，使合成工作和 SAR 研究复杂化。

10 为了克服这一困难，ImmunoGen 公司的研究人员设计了一组新的喜树碱类似物，这个环被打开，额外的手性中心被消除，在 7 位上引出一个可以与抗体连接的基团。与抗人表皮生长因子受体（HuEGFR）的抗体偶联时，产生的 ADC 对 EGFR 阳性的 HSC-2 肿瘤异种移植模型有效（US20210077482A1）。MediBoston 公司的研究人员利用类似方法在 9 位衍生出连接抗体的官能团，引入了亲水性的多肽连接子，产生的 ADC 取得了较好的临床前效果（WO 2021173773）。

虽然喜树碱类似物具有良好的抗肿瘤活性，特别是与人源化抗体偶联后具有很好的靶向性和肿瘤杀伤活性以及较低的起效剂量，从而降低了毒性增大了治疗窗。但是不同类型的喜树碱衍生物不仅半衰期和透膜性和体外活性显著不同，而且对不同癌细胞毒性也存在巨大差异。因此，我们期望通过设计新的结构，提高喜树碱衍生物对肿瘤细胞的活性和透膜性（即增加喜树碱衍生物的旁观者效应），从而提高对抗原低表达或者不表达的肿瘤细胞的杀伤，以期达到一定的临床效果。

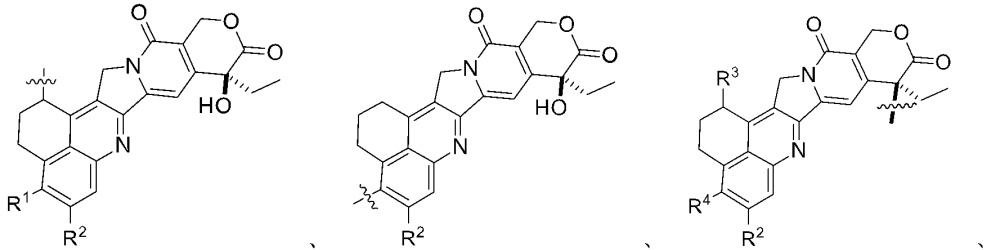
发明内容

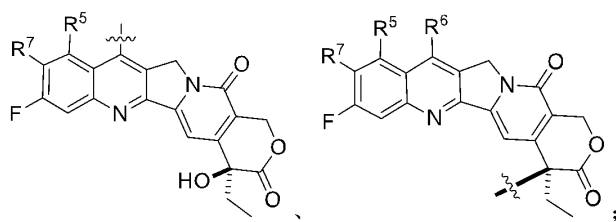
25 本发明一方面提供一种通式（A）所示的化合物或其药学上可接受的盐，



其中：

Dr 选自以下结构：





R^1 选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基、环烷基、
 $-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、
 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)-NR^dR^e$ 、
 5 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、
 $-NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-O-(CH_2)_m-OH$ 、 $-O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-OH$ 、
 $-NR^bC(=O)O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-OH$ 、
 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、
 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、
 10 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-G-(CH_2)_n-OH$ ，所述烷基、烷氧基、
 烯基、炔基、环烷基任选进一步被选自卤素、氘、氨基、烷基、羟基的一个
 或多个基团取代；

R^2 选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基，所述烷
 基、烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自卤素的一个或多个基团取代；

R^3 选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基、 $CH_2=$ 、
 $-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、
 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)-NR^dR^e$ 、
 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、
 $-NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-NR^f-C(=O)R^d$ 、 $-NR^f-C(=O)-(CH_2)_m-R^d$ 、 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-R^d$ 、
 15 $-O-(CH_2)_m-OH$ 、 $-O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-OH$ 、
 $-NR^fC(=O)NR^d-(CH_2)_m-OH$ 、 $-NR^fC(=O)NR^d-(CH_2)_m-O-(CH_2)_n-OH$ 、
 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-O-(CH_2)_n-OH$ 、 $-NR^fC(=O)NR^d-(CH_2)_m-O-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、
 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-O-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-NR^fC(=O)NR^d-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、
 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-OH$ 、
 20 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、
 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、
 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-OH$ ，所述烷基、烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自
 卤素、氘、氨基、烷基、羟基的一个或多个基团取代；

R^4 选自氢、卤素、羟基、羧基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基、
 30 环烷基、 $-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、
 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)-NR^dR^e$ 、
 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、

-NR^f-(CH₂)_m-NR^dR^e、-O-(CH₂)_m-OH、-O-(CH₂)_m-NR^dR^e、-NR^fC(=O)O-(CH₂)_m-OH、
 -NR^bC(=O)O-(CH₂)_m-NR^dR^e、-(CH₂)_m-NR^fC(=O)O-(CH₂)_n-OH-、
 -(CH₂)_m-NR^fC(=O)O-(CH₂)_n-NR^dR^e、-(CH₂)_m-OC(=O)NR^f-(CH₂)_n-NR^dR^e、
 -(CH₂)_m-OC(=O)NR^f-(CH₂)_n-OH、-(CH₂)_m-NR^fC(=O)-(CH₂)_n-NR^dR^e、
 5 -(CH₂)_m-NR^fC(=O)-(CH₂)_n-OH、-(CH₂)_m-NR^fC(=O)-G-(CH₂)_n-OH，所述烷基、烷氧基、烯基、炔基、环烷基任选进一步被选自卤素、氘、氨基、烷基、羟基的一个或多个基团取代；上述-(CH₂)_m-任选被一个或多个氘或卤素取代；G选自亚环烷基、亚杂环基、亚杂芳基、亚芳基；

R⁵选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基，所述烷基、
 10 烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自卤素的一个或多个基团取代；

R⁶选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基，所述烷基、
 烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自卤素的一个或多个基团取代；

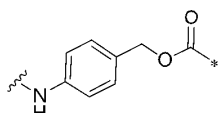
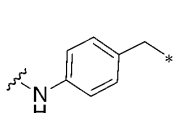
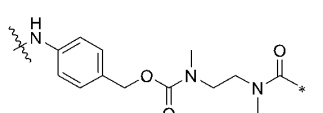
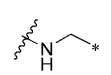
R⁷选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基，所述烷基、
 烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自卤素的一个或多个基团取代；

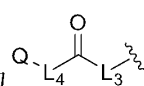
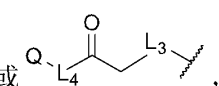
15 R^d和R^e各自独立地选自氢和烷基；

R^f选自氢、烷基、-C(O)R^c、-S(O)R^c、-S(O)₂R^c，所述烷基任选进一步被环烷基所取代；其中R^c选自氢、羟基、烷基；

L₁选自键、-(CH₂)_m-*、-O-*、-NR^a-*、-(CH₂)_m-O-*、-(CH₂)_m-NR^a-*、
 -OC(=O)NR^b-(CH₂)_m-O-*、-OC(=O)NR^b-(CH₂)_m-NR^a-*、-(CH₂)_m-C(=O)O-*、
 20 -(CH₂)_m-C(=O)NR^a-*、-(CH₂)_m-C(=O)NR^b-(CH₂)_n-O-*、
 -(CH₂)_m-C(=O)NR^b-(CH₂)_n-NR^a-*、-NR^b-(CH₂)_m-O-*、-NR^b-(CH₂)_m-NR^a-*、
 -O-(CH₂)_m-O-*、-O-(CH₂)_m-NR^a-*、-NR^bC(=O)O-(CH₂)_m-O-*、
 -NR^bC(=O)O-(CH₂)_m-NR^a-*、-(CH₂)_m-NR^bC(=O)O-(CH₂)_n-O-*、
 -(CH₂)_m-NR^bC(=O)O-(CH₂)_n-NR^a-*、-(CH₂)_m-OC(=O)NR^b-(CH₂)_n-NR^a-*、
 25 -(CH₂)_m-OC(=O)NR^b-(CH₂)_n-O-*、-(CH₂)_m-NR^bC(=O)-(CH₂)_n-NR^a-*、
 -(CH₂)_m-NR^bC(=O)-(CH₂)_n-O-*，其中*为与L₂的连接位点；

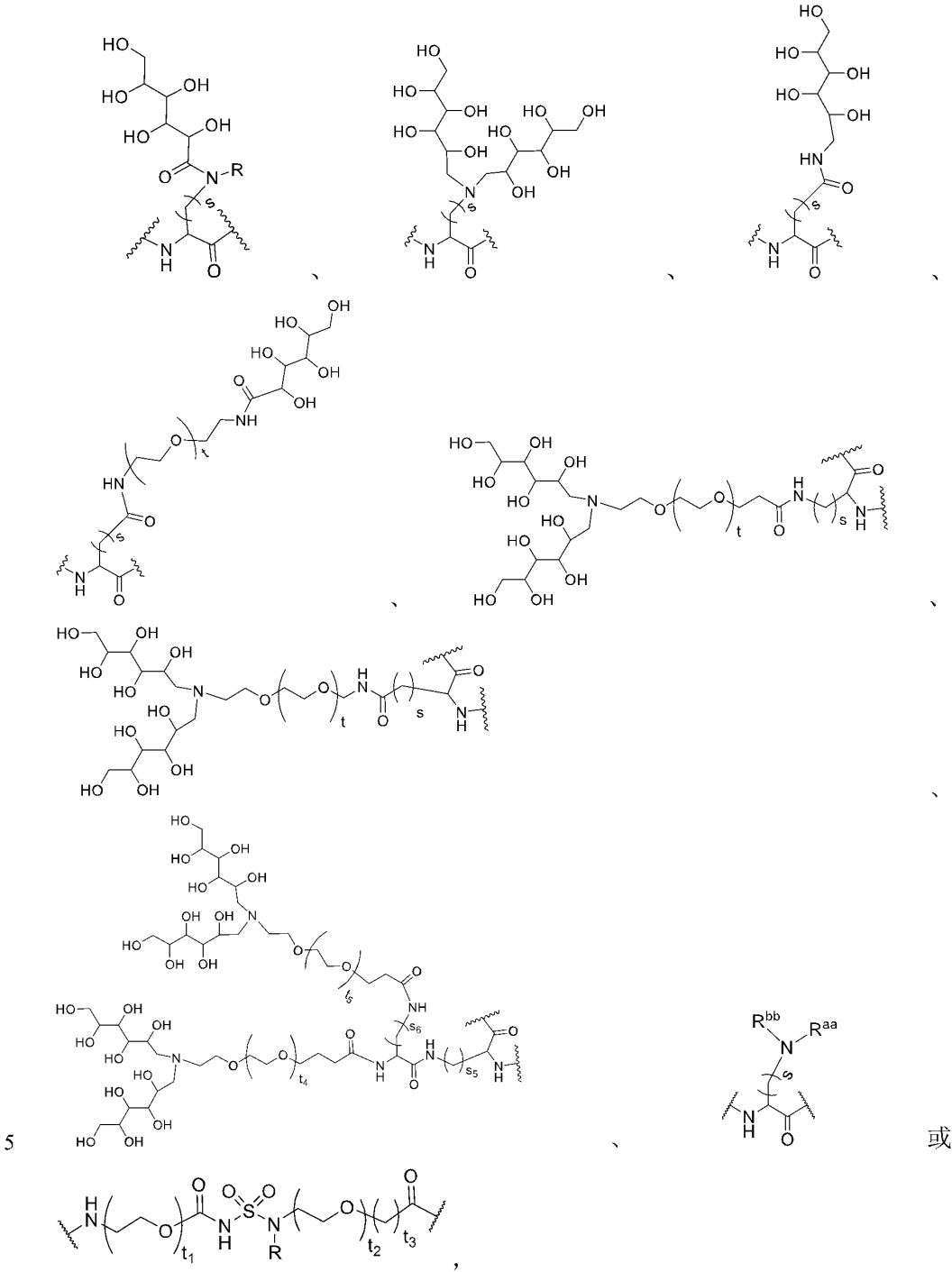
R^a和R^b各自独立地选自氢、烷基、-C(O)R^c、-S(O)R^c、-S(O)₂R^c，所述烷基任
 选进一步被环烷基所取代；其中R^c选自氢、羟基、烷基；

L₂选自键、、、、
 30 ，其中*为与L₁的连接位点；

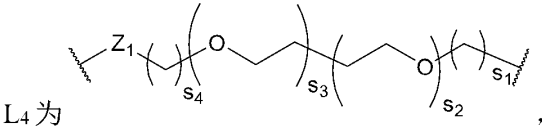
L为或，

L₃为由两个或多个氨基酸形成的氨基酸残基，且L₃任选包含选自以下的一个

或多个结构，L₆选自以下的一个或多个结构：



其中 R、R^{aa}、R^{bb} 各自独立地选自氢和烷基；



Z₁ 选自键、-(CH₂)_p-、-(C₂H₄O)_q-、-(CH₂)_p-C(O)NH-、-(CH₂)_p-O-(CH₂)_p-C(O)NH-、
-(CH₂)_p-C(O)-L₆-NH-、-(CH₂)_p-O-(CH₂)_p-C(O)-L₆-NH-、-C(O)NH-、-C(O)O-、-C(O)-、
-OC(O)-、-NH-、-O-和-OC(O)NH-;

m 为 1 至 6 的整数;

5 n 为 1 至 6 的整数;

s 为 1 至 6 的整数;

t 为 0 至 10 的整数;

s₁、s₂、s₃、s₄ 各自独立地为 0 至 10 的整数; 优选 0 至 8 的整数、0 至 6 的整
数; 还优选 0 至 4 的整数, 进一步优选 0 至 2 的整数、1 至 2 的整数;

10 s₅、s₆ 各自独立地为 1 至 6 的整数;

t₁ 为 1 至 6 的整数;

t₂ 为 0 至 6 的整数;

t₃ 为 1 至 6 的整数;

t₄ 为 0 至 10 的整数;

15 t₅ 为 0 至 10 的整数;

p 为 1 至 10 的整数;

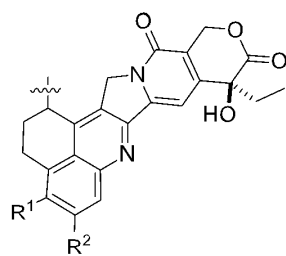
q 为 1 至 10 的整数;

Q 为接头单元。

其中, Z₁ 与 Q 连接。

20 在一个具体的实施方案中, 根据本发明所述的通式 (A) 所示的化合物或其药
学上可接受的盐, 其中,

Dr 选自以下结构:



L₁ 选自 -O-*、-NR^a-*、-(CH₂)_m-O-*、-(CH₂)_m-NR^a-*、-OC(=O)NR^b-(CH₂)_m-O-*、
25 -OC(=O)NR^b-(CH₂)_m-NR^a-*、-(CH₂)_m-C(=O)O-*、-(CH₂)_m-C(=O)NR^a-*、
-NR^b-(CH₂)_m-O-*、-NR^b-(CH₂)_m-NR^a-*、-O-(CH₂)_m-O-*、-O-(CH₂)_m-NR^a-*、
-NR^bC(=O)O-(CH₂)_m-O-*、-NR^bC(=O)O-(CH₂)_m-NR^a-*、
-(CH₂)_m-NR^bC(=O)-(CH₂)_n-NR^a-*、-(CH₂)_m-NR^bC(=O)-(CH₂)_n-O-*; 其中*为与 L₂ 的
连接位点;

30 R^a 选自氢、C₁-C₆ 烷基;

R^b 选自氢、烷基、-C(O)R^c、-S(O)R^c、-S(O)₂R^c, 其中 R^c 选自氢、羟基、C₁-C₆

烷基；

m 为 1 至 6 的整数；优选 1 至 4 的整数；进一步优选 1 至 2 的整数；

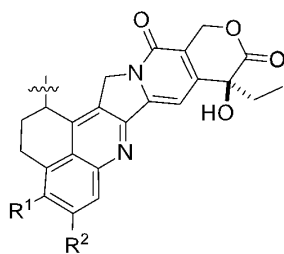
n 为 1 至 6 的整数；优选 1 至 4 的整数；进一步优选 1 至 2 的整数；

R^1 选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烷氧基、C₂-C₆ 烯基、
5 C₂-C₆ 炔基，所述 C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烷氧基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基任选进一步被
选自卤素的一个或多个基团取代；优选 C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烷氧基；

R^2 选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烷氧基、C₂-C₆ 烯基、
C₂-C₆ 炔基，所述 C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烷氧基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基任选进一步被
选自卤素的一个或多个基团取代；优选卤素。

10 在另一个具体的实施方案中，根据本发明所述的通式 (A) 所示的化合物或其
药学上可接受的盐，其中，

Dr 选自以下结构：



L_1 选自 -O-*、-NR^a-*、-(CH₂)_m-O-*、-(CH₂)_m-NR^a-*、-OC(=O)NR^b-(CH₂)_m-O-*、
15 -OC(=O)NR^b-(CH₂)_m-NR^a-*、-(CH₂)_m-C(=O)O-*、-(CH₂)_m-C(=O)NR^a-*、
-NR^b-(CH₂)_m-O-*、-NR^b-(CH₂)_m-NR^a-*、-O-(CH₂)_m-O-*、-O-(CH₂)_m-NR^a-*、
-NR^bC(=O)O-(CH₂)_m-O-*、-NR^bC(=O)O-(CH₂)_m-NR^a-*、
-(CH₂)_m-NR^bC(=O)-(CH₂)_n-NR^a-*、-(CH₂)_m-NR^bC(=O)-(CH₂)_n-O-*，其中*为与 L_2 的
连接位点；

20 R^a 选自氢、C₁-C₆ 烷基；

R^b 选自氢、烷基、-C(O)R^c、-S(O)R^c、-S(O)₂R^c，所述烷基任选进一步被环烷
基所取代；其中 R^c 选自氢、羟基、C₁-C₆ 烷基；

m 为 1 至 6 的整数；优选 1 至 4 的整数；进一步优选 1 至 2 的整数；

n 为 1 至 6 的整数；优选 1 至 4 的整数；进一步优选 1 至 2 的整数；

25 R^1 选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烷氧基、C₂-C₆ 烯基、
C₂-C₆ 炔基、C₃-C₆ 环烷基、-NR^dR^e、-(CH₂)_m-OH、-(CH₂)_m-NR^dR^e、
-OC(=O)NR^f-(CH₂)_m-OH、-OC(=O)NR^f-(CH₂)_m-NR^dR^e、-(CH₂)_m-C(=O)OH、
-(CH₂)_m-C(=O)-NR^dR^e、-(CH₂)_m-C(=O)NR^f-(CH₂)_n-OH、
-(CH₂)_m-C(=O)NR^f-(CH₂)_n-NR^dR^e、-NR^f-(CH₂)_m-OH、-NR^f-(CH₂)_m-NR^dR^e、
30 -O-(CH₂)_m-OH、-O-(CH₂)_m-NR^dR^e、-NR^fC(=O)O-(CH₂)_m-OH、
-NR^bC(=O)O-(CH₂)_m-NR^dR^e、-(CH₂)_m-NR^fC(=O)O-(CH₂)_n-OH、

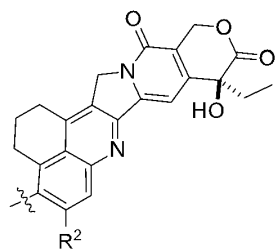
$-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、
 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、
 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-G-(CH_2)_n-OH$ ，所述 C_1-C_6 烷基、
 C_1-C_6 烷氧基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 C_3-C_6 环烷基任选进一步被选自卤素、氘、
 5 氨基、 C_1-C_6 烷基、羟基的一个或多个基团取代；优选 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基；
 上述 $-(CH_2)_m$ -任选被一个或多个氘或卤素取代；G 选自亚环烷基、亚杂环基、亚杂
 芳基、亚芳基；

R^2 选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_2-C_6 烯基、
 C_2-C_6 炔基，所述 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基任选进一步被
 10 选自卤素的一个或多个基团取代；优选卤素；

R^d 、 R^e 、 R^f 、 m 、 n 如通式 (A) 所定义。

在另一个具体的实施方案中，根据本发明所述的通式 (A) 所示的化合物或其
 药上可接受的盐，其中，

Dr 选自以下结构：



L_1 选自键、 $-(CH_2)_m-*$ 、 $-O-*$ 、 $-(CH_2)_m-O-*$ 、 $-NR^a-*$ 、 $-(CH_2)_m-NR^a-*$ 、
 $-NR^b-(CH_2)_m-O-*$ 、 $-NR^b-(CH_2)_m-NR^a-*$ 、 $-O-(CH_2)_m-O-*$ 、 $-O-(CH_2)_m-NR^a-*$ 、
 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^b-(CH_2)_n-NR^a-*$ 、 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^b-(CH_2)_n-O-*$ 、
 $-(CH_2)_m-NR^bC(=O)-(CH_2)_n-NR^a-*$ 、 $-(CH_2)_m-NR^bC(=O)-(CH_2)_n-O-*$ ，其中*为与 L_2 的
 20 连接位点；

R^a 选自氢、 C_1-C_6 烷基；

R^b 选自氢、烷基、 $-C(O)R^c$ 、 $-S(O)R^c$ 、 $-S(O)_2R^c$ ，所述烷基任选进一步被环烷
 基所取代；其中 R^c 选自氢、羟基、 C_1-C_6 烷基；

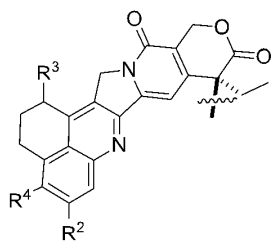
m 为 1 至 6 的整数；优选 1 至 4 的整数；

25 n 为 1 至 6 的整数；优选 1 至 4 的整数；

R^2 选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_2-C_6 烯基、
 C_2-C_6 炔基，所述 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基任选进一步被
 选自卤素的一个或多个基团取代；优选卤素。

在另一个具体的实施方案中，根据本发明所述的通式 (A) 所示的化合物或其
 30 药上可接受的盐，其中，

Dr 选自以下结构：



L₁ 选自 -O-*, 其中*为与 L₂ 的连接位点;

R² 选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烷氧基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基, 所述 C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烷氧基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基任选进一步被
5 选自卤素的一个或多个基团取代; 优选卤素;

R³ 选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烷氧基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基、CH₂=、-NR^dR^e、-(CH₂)_m-OH、-(CH₂)_m-NR^dR^e、-OC(=O)NR^f-(CH₂)_m-OH、
-OC(=O)NR^f-(CH₂)_m-NR^dR^e、-(CH₂)_m-C(=O)OH、-(CH₂)_m-C(=O)-NR^dR^e、
-(CH₂)_m-C(=O)NR^f-(CH₂)_n-OH、-(CH₂)_m-C(=O)NR^f-(CH₂)_n-NR^dR^e、-NR^f-(CH₂)_m-OH、
10 -NR^f-(CH₂)_m-NR^dR^e、-NR^f-C(=O)R^d、-NR^f-C(=O)-(CH₂)_m-R^d、-NR^fC(=O)O-(CH₂)_m-R^d、
-O-(CH₂)_m-OH、-O-(CH₂)_m-NR^dR^e、-NR^fC(=O)O-(CH₂)_m-OH、
-NR^fC(=O)NR^d-(CH₂)_m-OH、-NR^fC(=O)NR^d-(CH₂)_m-O-(CH₂)_n-OH、
-NR^fC(=O)O-(CH₂)_m-O-(CH₂)_n-OH、-NR^fC(=O)NR^d-(CH₂)_m-O-(CH₂)_n-NR^dR^e、
-NR^fC(=O)O-(CH₂)_m-O-(CH₂)_n-NR^dR^e、-NR^fC(=O)NR^d-(CH₂)_m-NR^dR^e、
15 -NR^fC(=O)O-(CH₂)_m-NR^dR^e、-(CH₂)_m-NR^fC(=O)O-(CH₂)_n-OH、
-(CH₂)_m-NR^fC(=O)O-(CH₂)_n-NR^dR^e、-(CH₂)_m-OC(=O)NR^f-(CH₂)_n-NR^dR^e、
-(CH₂)_m-OC(=O)NR^f-(CH₂)_n-OH、-(CH₂)_m-NR^fC(=O)-(CH₂)_n-NR^dR^e、
-(CH₂)_m-NR^fC(=O)-(CH₂)_n-OH, 所述 C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烷氧基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆
炔基任选进一步被选自卤素、氖、氨基、C₁-C₆ 烷基、羟基的一个或多个基团取代;
20 优选氢或羟基;

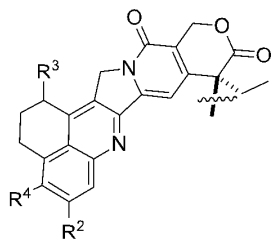
R⁴ 选自氢、卤素、羟基、羧基、氨基、氰基、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烷氧基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基、C₃-C₆ 环烷基、-NR^dR^e、-(CH₂)_m-OH、-(CH₂)_m-NR^dR^e、
-OC(=O)NR^f-(CH₂)_m-OH、-OC(=O)NR^f-(CH₂)_m-NR^dR^e、-(CH₂)_m-C(=O)OH、
-(CH₂)_m-C(=O)-NR^dR^e、-(CH₂)_m-C(=O)NR^f-(CH₂)_n-OH、
25 -(CH₂)_m-C(=O)NR^f-(CH₂)_n-NR^dR^e、-NR^f-(CH₂)_m-OH、-NR^f-(CH₂)_m-NR^dR^e、
-O-(CH₂)_m-OH、-O-(CH₂)_m-NR^dR^e、-NR^fC(=O)O-(CH₂)_m-OH、
-NR^bC(=O)O-(CH₂)_m-NR^dR^e、-(CH₂)_m-NR^fC(=O)O-(CH₂)_n-OH、
-(CH₂)_m-NR^fC(=O)O-(CH₂)_n-NR^dR^e、-(CH₂)_m-OC(=O)NR^f-(CH₂)_n-NR^dR^e、
-(CH₂)_m-OC(=O)NR^f-(CH₂)_n-OH、-(CH₂)_m-NR^fC(=O)-(CH₂)_n-NR^dR^e、
30 -(CH₂)_m-NR^fC(=O)-(CH₂)_n-OH、-(CH₂)_m-NR^fC(=O)-G-(CH₂)_n-OH, 所述 C₁-C₆ 烷基、
C₁-C₆ 烷氧基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基、C₃-C₆ 环烷基任选进一步被选自卤素、氖、
氨基、C₁-C₆ 烷基、羟基的一个或多个基团取代; 优选羟基、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烷

氧基；上述 $-(CH_2)_m-$ 任选被一个或多个氘或卤素取代；G选自亚环烷基、亚杂环基、亚杂芳基、亚芳基；

R^d 、 R^e 、 R^f 、 m 、 n 如通式 (A) 所定义。

在另一个具体的实施方案中，根据本发明所述的通式（A）所示的化合物或其
5 药学上可接受的盐，其中，

Dr 选自以下结构:



L₁选自-O-*, 其中*为与L₂的连接位点;

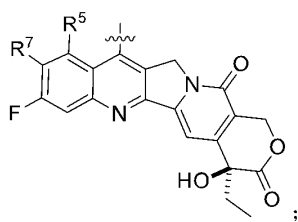
R²选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₂-C₆烯基、
10 C₂-C₆炔基，所述 C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₂-C₆烯基、C₂-C₆炔基任选进一步被
选自卤素的一个或多个基团取代；优选卤素。

R³选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₂-C₆烯基、C₂-C₆炔基、CH₂=, 所述 C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₂-C₆烯基、C₂-C₆炔基任选进一步被选自卤素的一个或多个基团取代; 优选氢或羟基;

15 R⁴选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₂-C₆烯基、C₂-C₆炔基，所述C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₂-C₆烯基、C₂-C₆炔基任选进一步被选自卤素的一个或多个基团取代；优选羟基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基。

在另一个具体的实施方案中,根据本发明所述的通式(A)所示的化合物或其药学上可接受的盐,其中,

20 Dr 选自以下结构:



L₁ 选自 $-(CH_2)_m-O^*$ 、 $-(CH_2)_m-NR^a^*$, 其中*为与 L₂ 的连接位点;

m 为 1 至 6 的整数; 优选 1 至 4 的整数;

R^a 选自氢、C₁-C₆ 烷基:

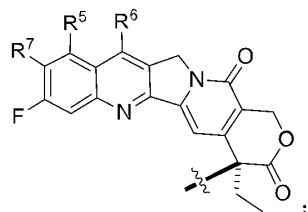
25 R⁵选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₂-C₆烯基、C₂-C₆炔基，所述C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₂-C₆烯基、C₂-C₆炔基任选进一步被选自卤素的一个或多个基团取代；优选卤素；

R⁷选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基、C₂-C₆烯基、

C₂-C₆ 炔基, 所述 C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烷氧基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基任选进一步被选自卤素的一个或多个基团取代; 优选羟基、氨基。

在另一个具体的实施方案中, 根据本发明所述的通式 (A) 所示的化合物或其药学上可接受的盐, 其中,

5 Dr 选自以下结构:



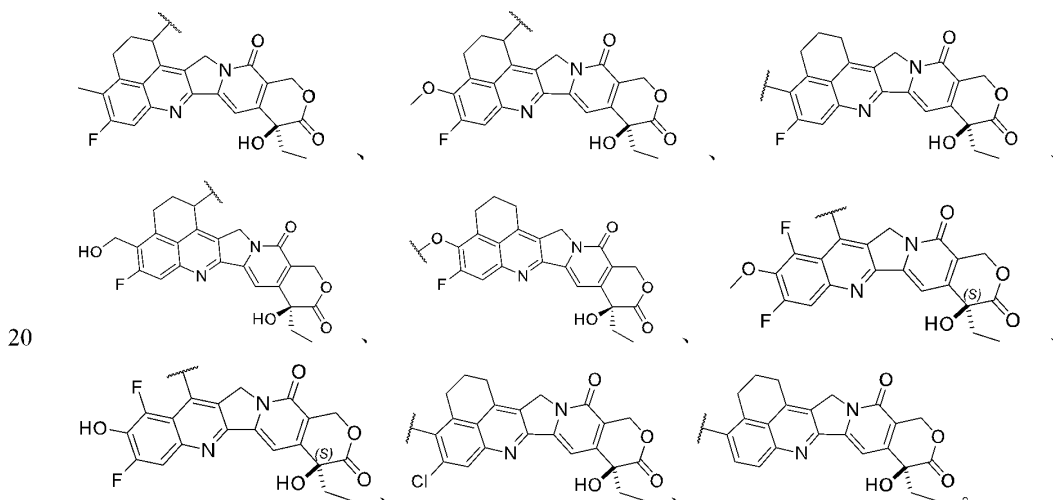
L₁ 选自 -O-*, 其中*为与 L₂ 的连接位点;

R⁵ 选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烷氧基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基, 所述 C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烷氧基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基任选进一步被
10 选自卤素的一个或多个基团取代; 优选卤素;

R⁶ 选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烷氧基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基, 所述 C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烷氧基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基任选进一步被选自卤素的一个或多个基团取代; 优选羟基、氨基;

R⁷ 选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烷氧基、C₂-C₆ 烯基、
15 C₂-C₆ 炔基, 所述 C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烷氧基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基任选进一步被选自卤素的一个或多个基团取代; 优选羟基、氨基。

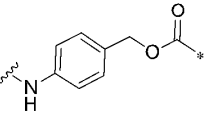
在一个优选的实施方案中, 根据本发明所述的通式 (A) 所示的化合物或其药学上可接受的盐, 其中, Dr 选自:



在另一个优选的实施方案中, 根据本发明所述的通式 (A) 所示的化合物或其药学上可接受的盐, 其中,

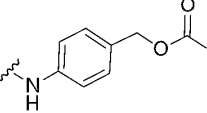
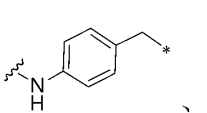
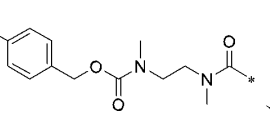
当 L₁ 选自 -NR^a-*、-(CH₂)_m-NR^a-*、-OC(=O)NR^b-(CH₂)_m-NR^a-*、

$-(CH_2)_m-C(=O)NR^a-*$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^b-(CH_2)_n-NR^a-*$ 、 $-NR^b-(CH_2)_m-NR^a-*$ 、
 $-O-(CH_2)_m-NR^a-*$ 、 $-NR^bC(=O)O-(CH_2)_m-NR^a-*$ 、 $-(CH_2)_m-NR^bC(=O)O-(CH_2)_n-NR^a-*$ 、
 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^b-(CH_2)_n-NR^a-*$ 或 $-(CH_2)_m-NR^bC(=O)-(CH_2)_n-NR^a-*$ ，其中*为与
 L_2 的连接位点时；

- 5 L_2 选自键或 ，其中*为与 L_1 的连接位点；
 R^a 、 R^b 、 m 、 n 如通式 (A) 所定义。

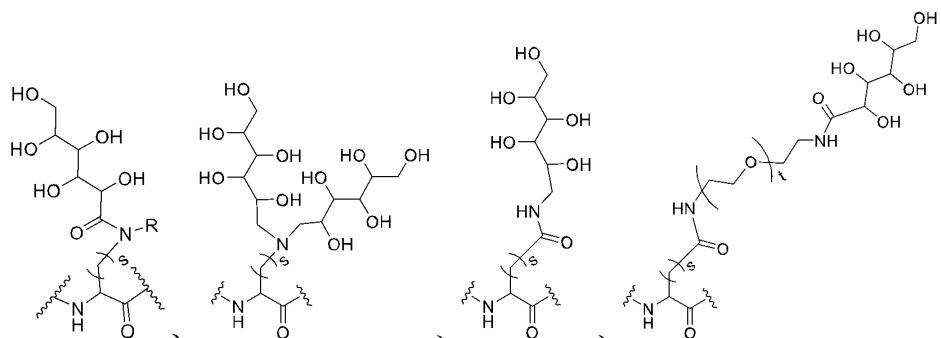
在另一个优选的实施方案中，根据本发明所述的通式 (A) 所示的化合物或其药理学上可接受的盐，其中，

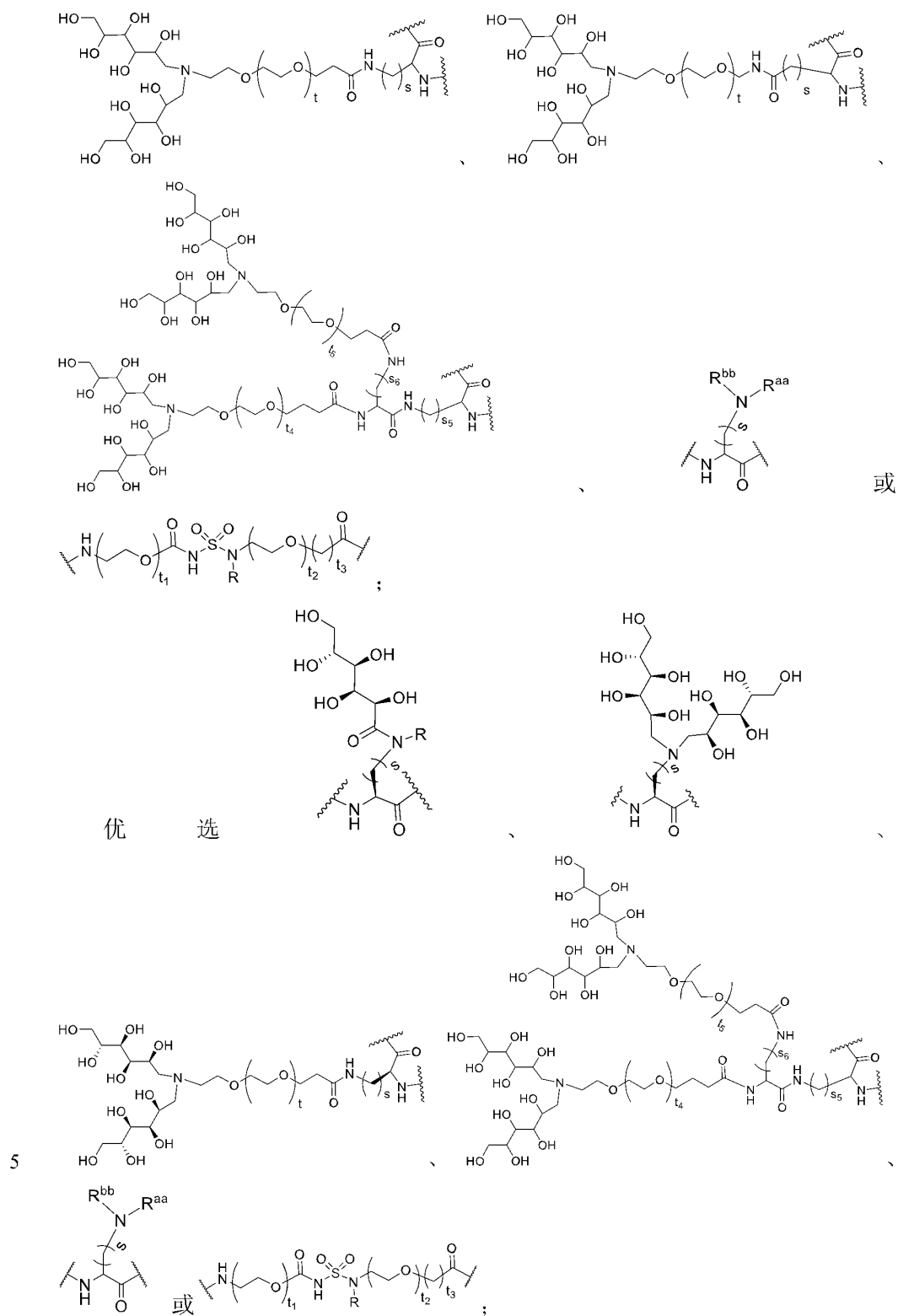
- L_1 选自键、 $-O-*$ 、 $-(CH_2)_m-O-*$ 、 $-NR^a-*$ 、 $-OC(=O)NR^b-(CH_2)_m-O-*$ 、
 10 $-(CH_2)_m-C(=O)O-*$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^b-(CH_2)_n-O-*$ 、 $-NR^b-(CH_2)_m-O-*$ 、
 $-O-(CH_2)_m-O-*$ 、 $-NR^bC(=O)O-(CH_2)_m-O-*$ 、 $-(CH_2)_m-NR^bC(=O)O-(CH_2)_n-O-*$ 、
 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^b-(CH_2)_n-O-*$ 或 $-(CH_2)_m-NR^bC(=O)-(CH_2)_n-O-*$ ，其中*为与 L_2 的
 连接位点时；

- L_2 选自键、、、、
 15 ，其中*为与 L_1 的连接位点；
 R^a 、 R^b 、 m 、 n 如通式 (A) 所定义。

在另一个优选的实施方案中，根据本发明所述的通式 (A) 所示的化合物或其药理学上可接受的盐，其中，

- L_3 为由两个或多个选自苯丙氨酸、丙氨酸、甘氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、色氨酸、酪氨酸、组氨酸、赖氨酸、瓜氨酸、丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、
 20 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，且 L_3 任选包含选自以下的一个或多个结构：





其中 R、R^{aa}、R^{bb} 各自独立地选自氢和 C₁-C₆ 烷基；

s 为 1 至 6 的整数；优选 2 至 6 的整数；更优选 2 至 4 的整数；

s_5 、 s_6 各自独立地为 1 至 6 的整数；优选 2 至 6 的整数；更优选 2 至 4 的整数；

t 为 0 至 10 的整数; 优选 2 至 8 的整数; 更优选 3 至 7 的整数;

t_1 为 1 至 6 的整数; 优选 1 至 4 的整数, 还优选 2 至 4 的整数, 还优选 1 或 2;

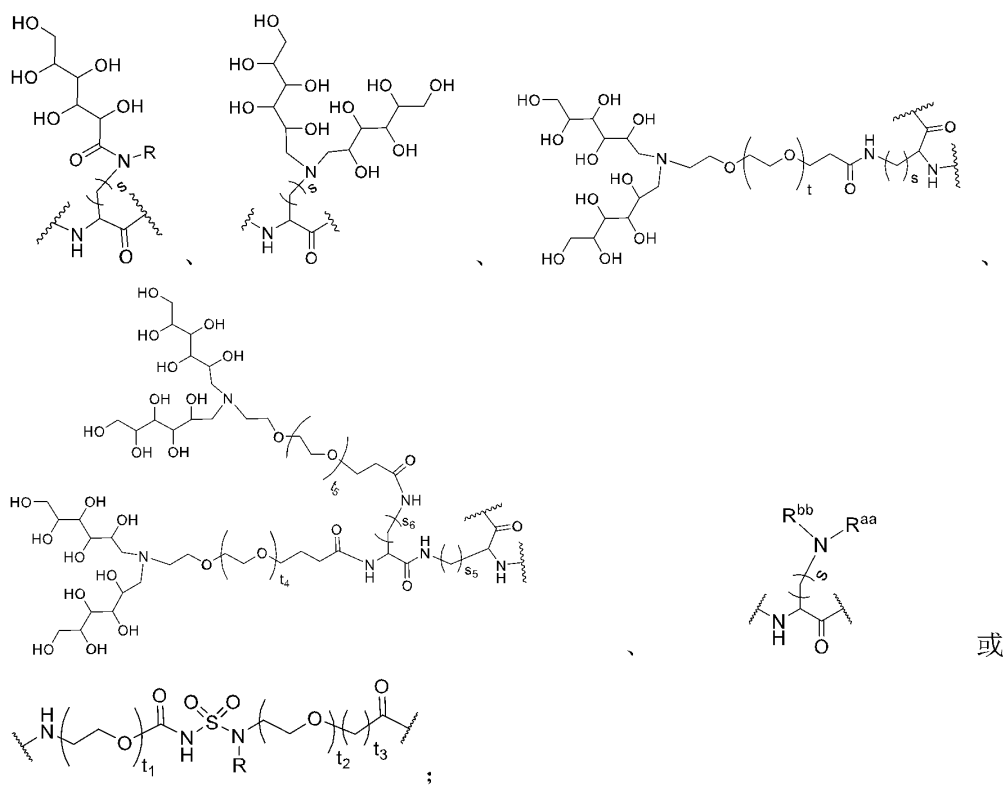
t_2 为 0 至 6 的整数; 优选 1 至 4 的整数, 还优选 1 或 2;

5 t_3 为 1 至 6 的整数; 优选 1 至 4 的整数, 更优选 1 或 2;

t_4 为 0 至 10 的整数;

t_5 为 0 至 10 的整数。

在另一个实施方案中, L₃ 为由两个或多个选自苯丙氨酸、丙氨酸、甘氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、色氨酸、酪氨酸、组氨酸、赖氨酸、瓜氨酸、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, 且 L₃ 任选包含选自以下的一个或多个结构:



15 R、R^{aa}、R^{bb}、s、t、t₁-t₅、s₅-s₆如前所述。

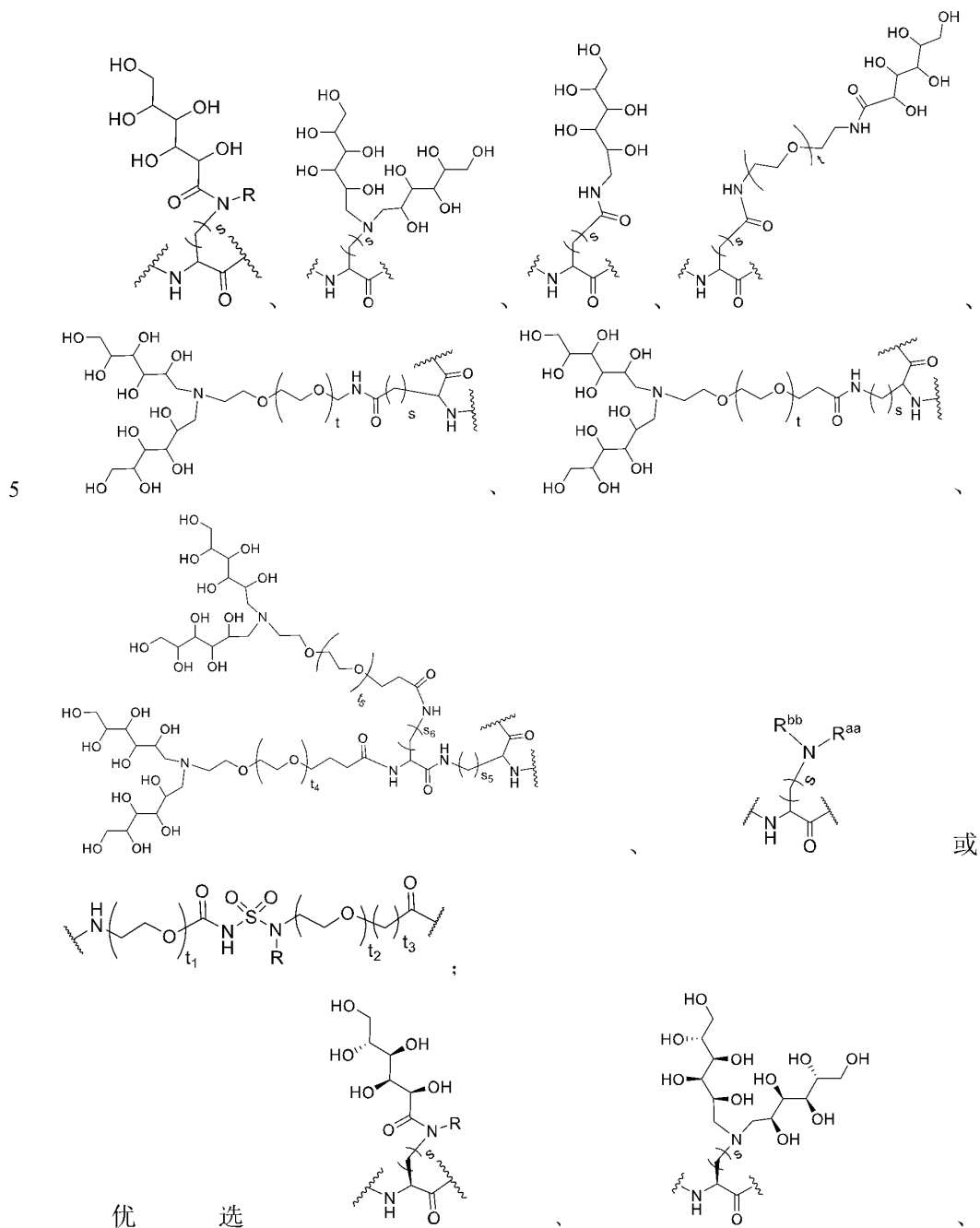
在另一个优选的实施方案中,根据本发明所述的通式(A)所示的化合物或其

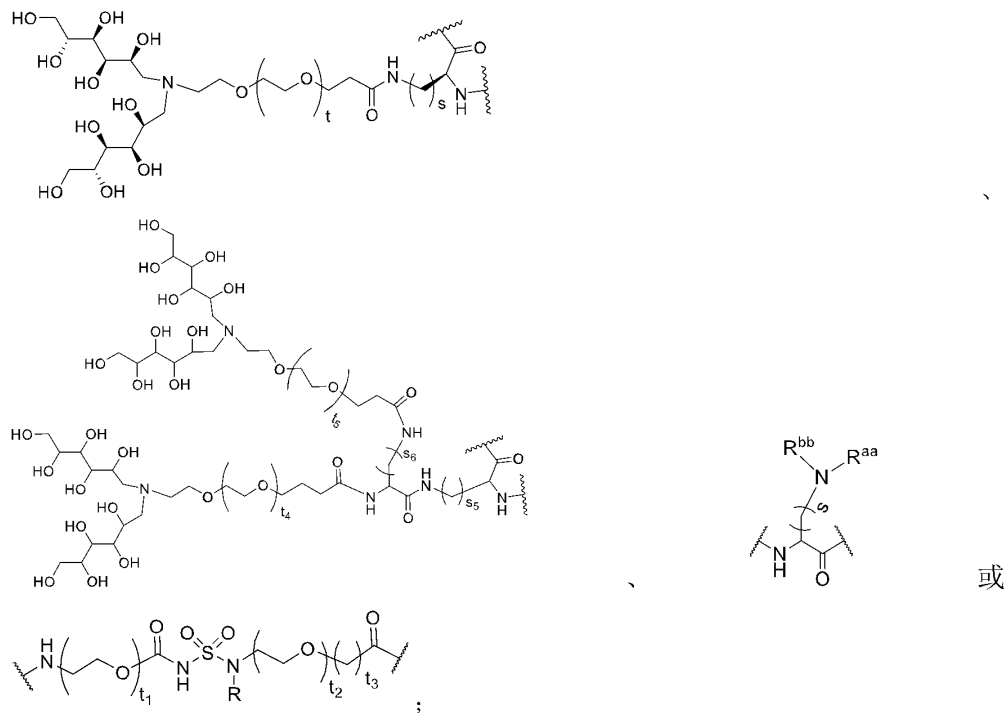
药学上可接受的盐，其中， L_3 为  或  或 ，* 为与 L_2 连接的位置，· 为与羰基或亚甲基连接的位置；

其中, L_{1b} 和 L'_{1b} 各自独立地为由一个或多个选自苯丙氨酸、丙氨酸、甘氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、色氨酸、酪氨酸、组氨酸、赖氨酸、瓜氨酸、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；

L_{1a}为键或者选自以下的一个或多个结构:



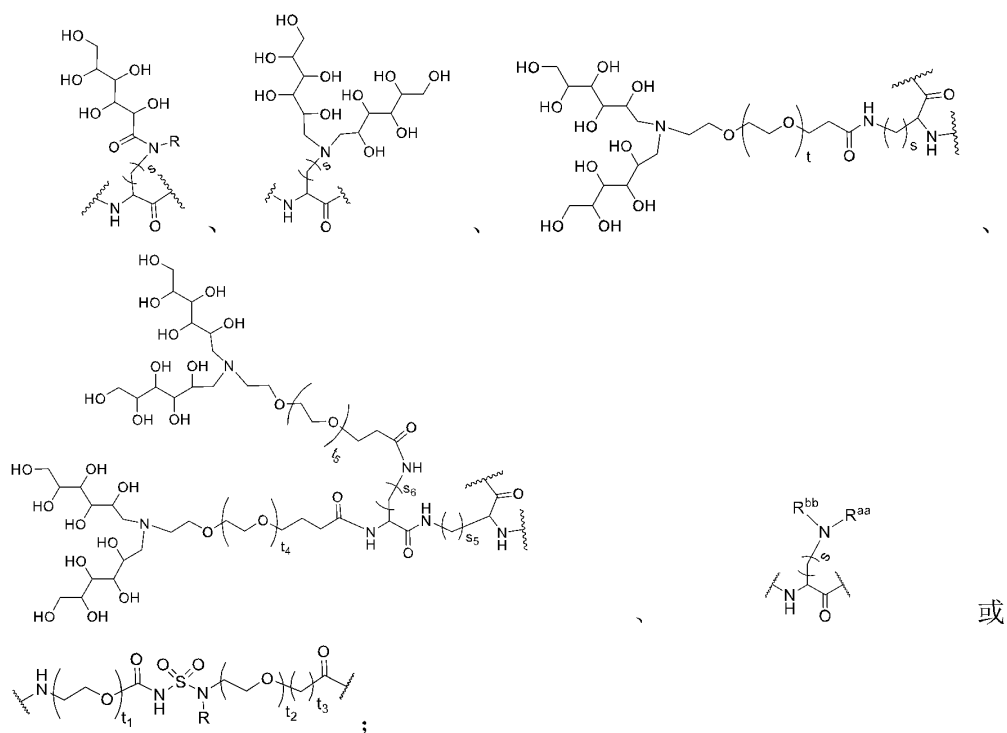


其中 R 选自氢和 C₁-C₆ 烷基，优选氢；

- 5 R^{aa}、R^{bb} 各自独立地选自 C₁-C₆ 烷基；
 s 为 1 至 6 的整数；优选 2 至 6 的整数；更优选 2 至 4 的整数；
 s₅、s₆ 各自独立地为 1 至 6 的整数；优选 2 至 6 的整数；更优选 2 至 4 的整数；
 t 为 0 至 10 的整数；优选 2 至 8 的整数；更优选 3 至 7 的整数；
 t₁ 为 1 至 6 的整数；优选 1 至 4 的整数，还优选 2 至 4 的整数，还优选 1 或 2；
10 t₂ 为 0 至 6 的整数；优选 1 至 4 的整数，还优选 1 或 2；
 t₃ 为 1 至 6 的整数；优选 1 至 4 的整数，更优选 1 或 2；
 t₄ 为 0 至 10 的整数；
 t₅ 为 0 至 10 的整数。

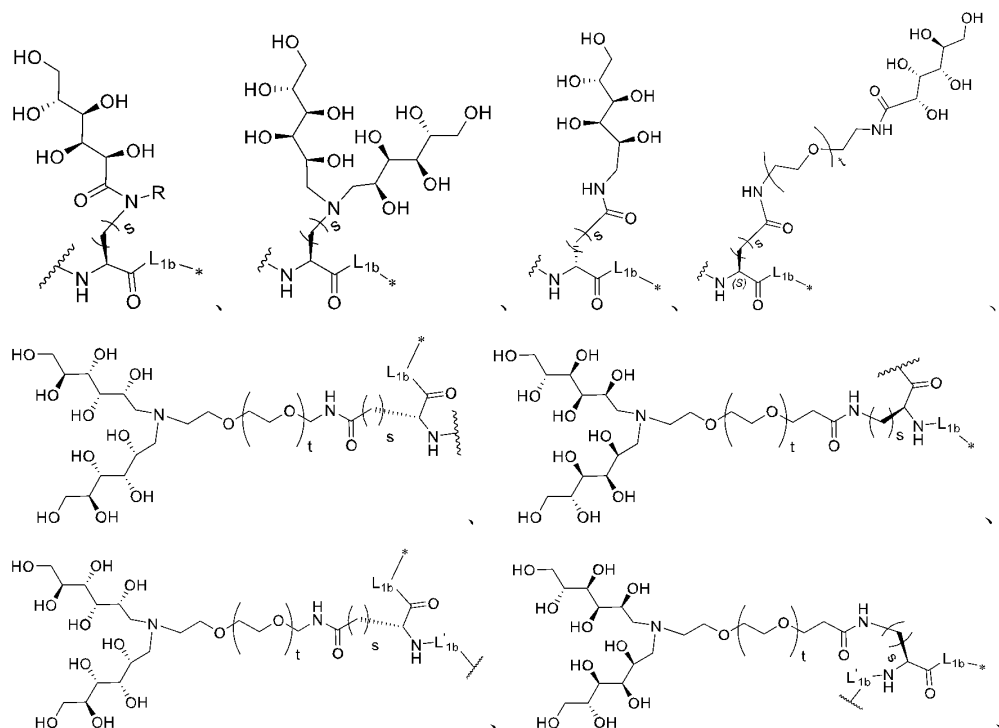
- 在另一个实施方案中，L₃ 为 或 或
15 ，* 为与 L₂ 连接的位置，• 为与羰基或亚甲基连接的位置；

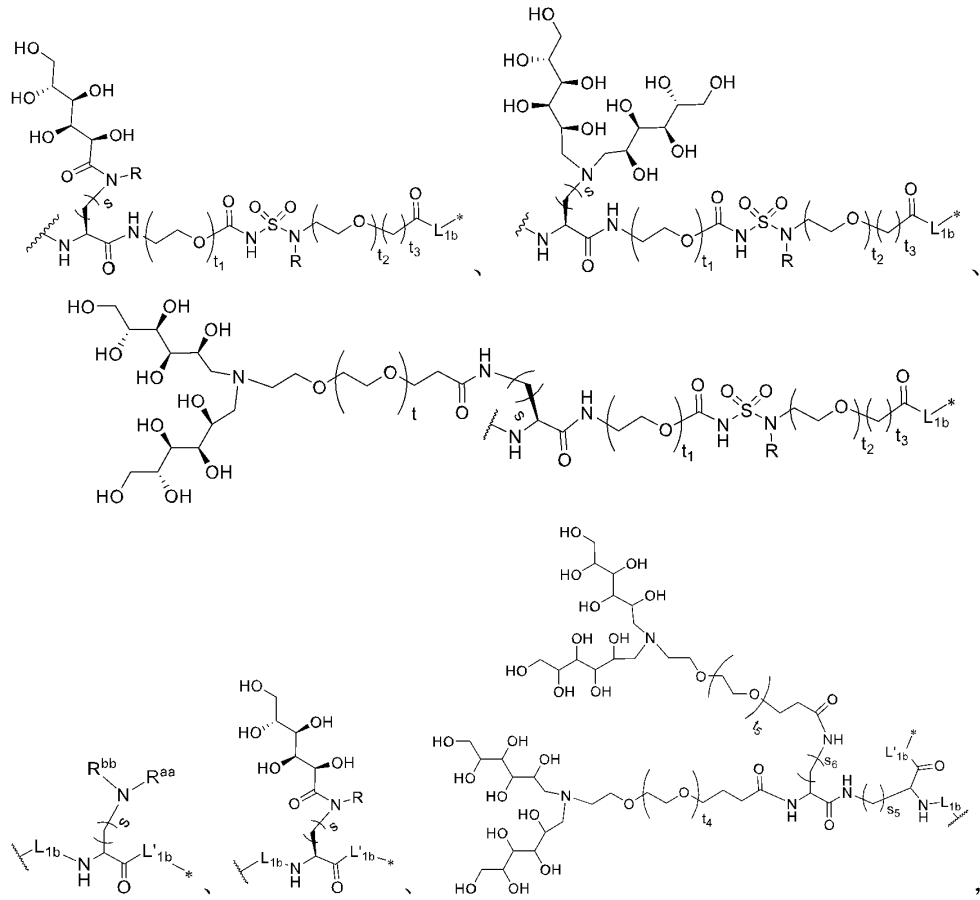
- 其中，L_{1b} 和 L'_{1b} 各自独立地为由一个或多个选自苯丙氨酸、丙氨酸、甘氨酸、
缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、色氨酸、酪氨酸、组氨酸、赖氨酸、瓜氨酸、丝氨
酸、苏氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、天冬氨酸、天冬酰胺、甲硫氨酸、
精氨酸中的氨基酸形成的氨基酸残基；
20 L_{1a} 为键或者选自以下的一个或多个结构：



R、R^{aa}、R^{bb}、s、t、t₁-t₅、s₅-s₆ 如前所述。

- 5 在另一个优选的实施方案中，根据本发明所述的通式（A）所示的化合物或其药学上可接受的盐，其中，L₃ 选自：



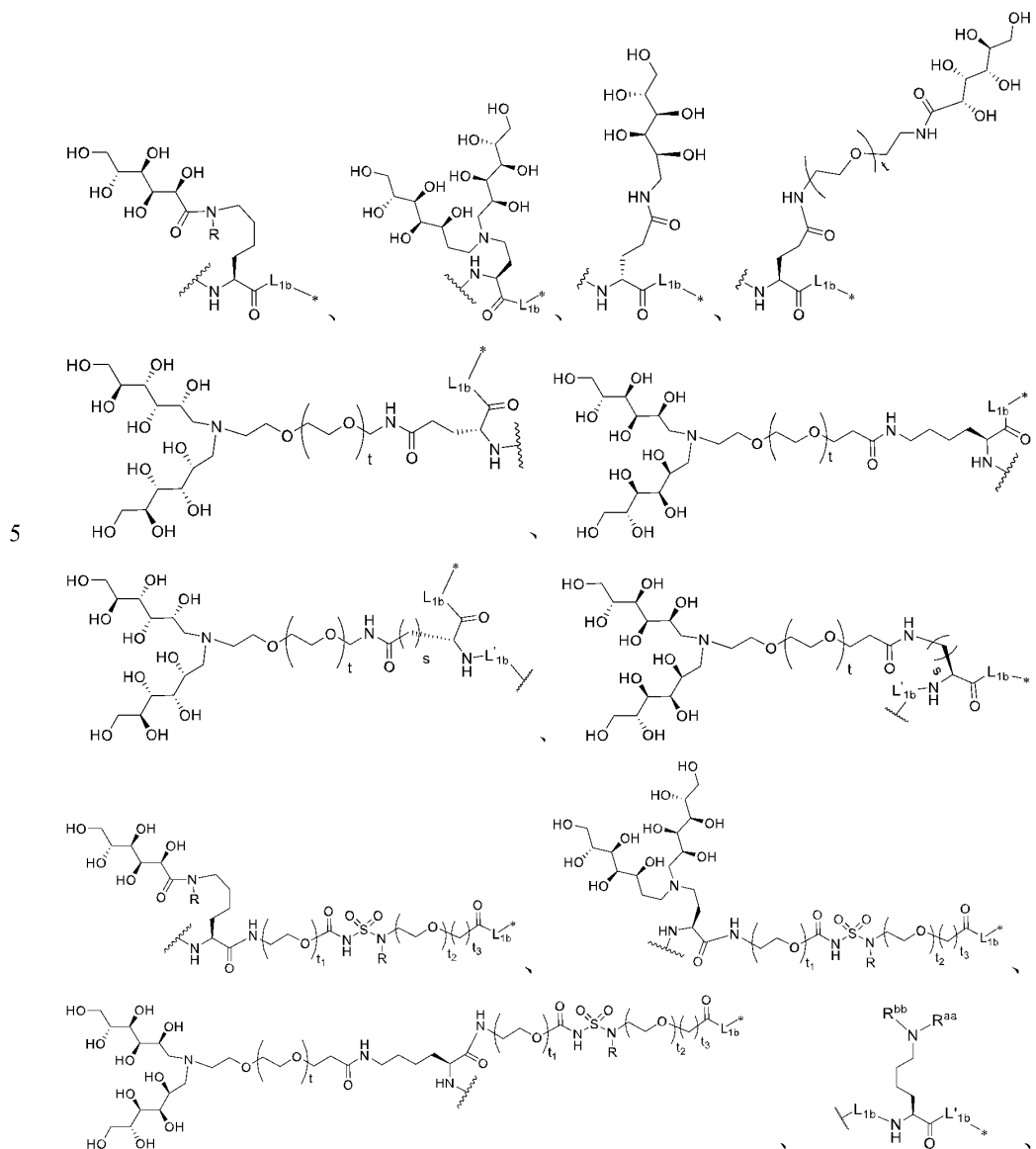


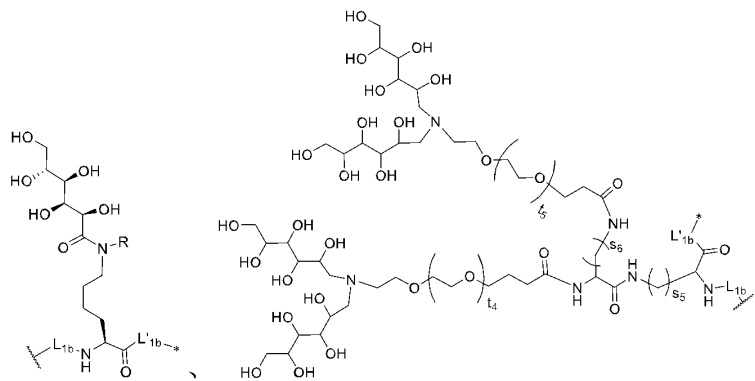
其中：

- 5 L_{1b} 和 L'_{1b} 各自独立地为由一个或多个选自苯丙氨酸、丙氨酸、甘氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、色氨酸、酪氨酸、组氨酸、赖氨酸、瓜氨酸、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；
- R 选自氢和 C₁-C₆ 烷基，优选氢；
- 10 R^{aa}、R^{bb} 各自独立地选自 C₁-C₆ 烷基；
- s 为 1 至 6 的整数；优选 2 至 6 的整数；更优选 2 至 4 的整数；
- s₅、s₆ 各自独立地为 1 至 6 的整数；优选 2 至 6 的整数；更优选 2 至 4 的整数；
- t 为 0 至 10 的整数；优选 2 至 8 的整数；更优选 3 至 7 的整数；
- t₁ 为 1 至 6 的整数；优选 1 至 4 的整数，还优选 2 至 4 的整数，还优选 1 或 2；
- 15 t₂ 为 0 至 6 的整数；优选 1 至 4 的整数，还优选 1 或 2；
- t₃ 为 1 至 6 的整数；优选 1 至 4 的整数，更优选 1 或 2；
- t₄ 为 0 至 10 的整数；
- t₅ 为 0 至 10 的整数；
- *为与 L₂ 连接的位置，


~~~~~ 为与羰基或亚甲基连接的位置。

在另一个优选的实施方案中,根据本发明所述的通式(A)所示的化合物或其药学上可接受的盐,其中,L<sub>3</sub>选自:





其中：

$L_{1b}$  和  $L'_{1b}$  各自独立地为由一个或多个选自苯丙氨酸、丙氨酸、甘氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、色氨酸、酪氨酸、组氨酸、赖氨酸、瓜氨酸、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；

$R$  选自氢和  $C_1$ - $C_6$  烷基，优选氢；

$R^{aa}$ 、 $R^{bb}$  各自独立地选自  $C_1$ - $C_6$  烷基；

$s_5$ 、 $s_6$  各自独立地为 1 至 6 的整数；优选 2 至 6 的整数；更优选 2 至 4 的整数；

$t$  为 0 至 10 的整数；优选 2 至 8 的整数；更优选 3 至 7 的整数；

$t_1$  为 1 至 6 的整数；优选 1 至 4 的整数，还优选 2 至 4 的整数，还优选 1 或 2；

$t_2$  为 0 至 6 的整数；优选 1 至 4 的整数，还优选 1 或 2；

$t_3$  为 1 至 6 的整数；优选 1 至 4 的整数，更优选 1 或 2；

$t_4$  为 0 至 10 的整数；

$t_5$  为 0 至 10 的整数；

\*为与  $L_2$  连接的位置，

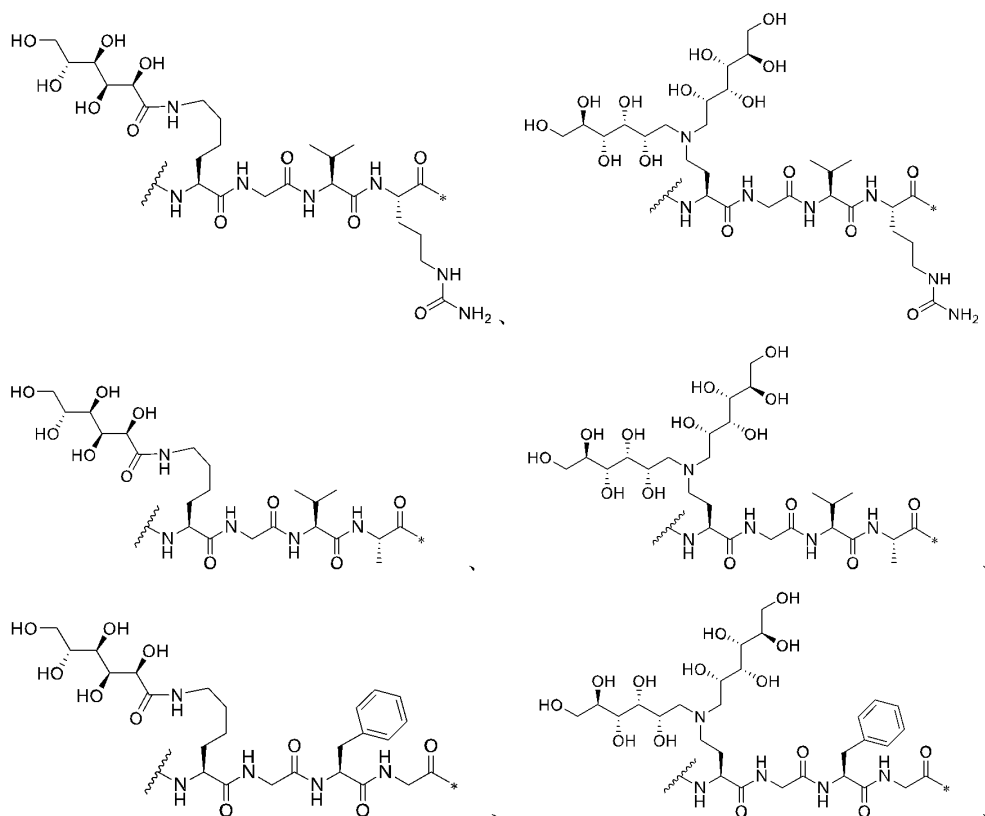
$\sim$  为与羰基或亚甲基连接的位置。

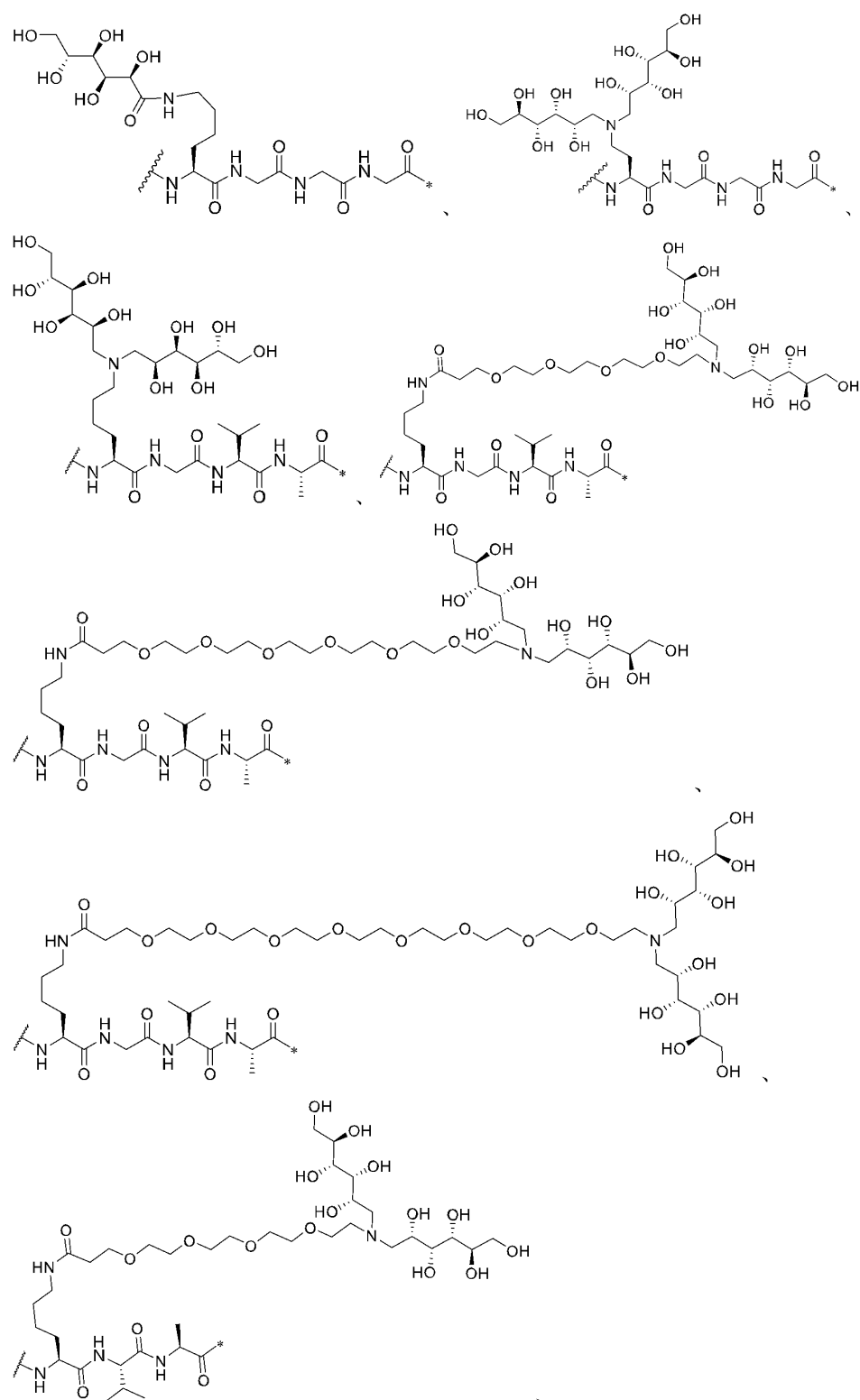
在另一个优选的实施方案中，根据本发明所述的通式（A）所示的化合物或其药学上可接受的盐，其中， $L_{1b}$  和  $L'_{1b}$  各自独立地为由一个或多个选自甘氨酸、苯丙氨酸、瓜氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、丙氨酸、缬氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、精氨酸、谷氨酸、赖氨酸中的氨基酸形成的氨基酸残基，优选为由两个或多个选自甘氨酸、苯丙氨酸、瓜氨酸、缬氨酸、赖氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、亮氨酸、丙氨酸的氨基酸形成的氨基酸残基。

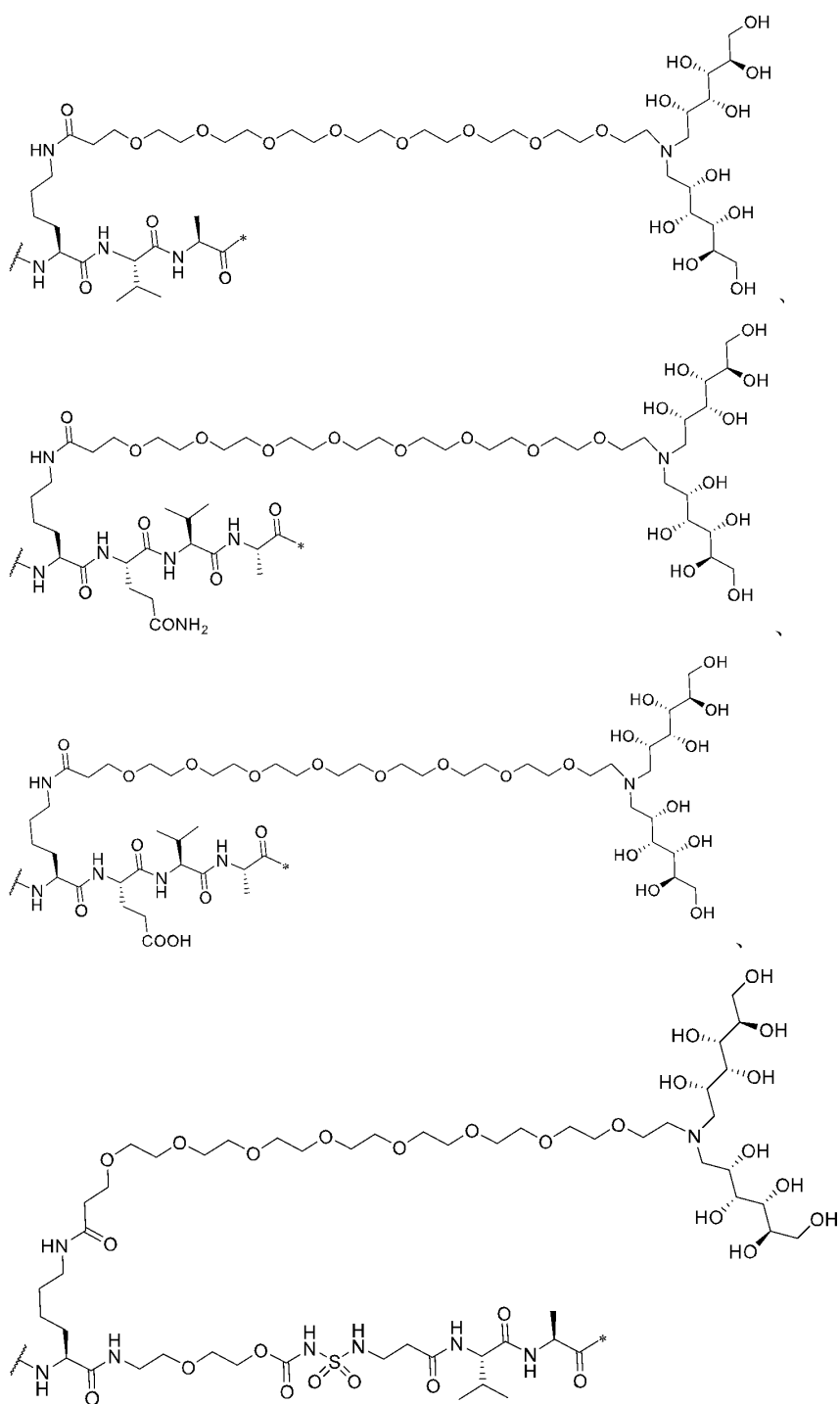
在另一个优选的实施方案中，根据本发明所述的通式（A）所示的化合物或其药学上可接受的盐，其中， $L_{1b}$  和  $L'_{1b}$  各自独立地选自： $-Gly-*$ 、 $-Val-*$ 、 $-Gly-Phe-Gly-*$ 、 $-Phe-Gly-*$ 、 $-Gly-Val-Cit-*$ 、 $-Val-Cit-*$ 、 $-Gly-Val-Arg-*$ 、 $-Val-Arg-*$ 、 $-Gly-Val-Ala-*$ 、 $-Val-Ala-*$ 、 $-Gly-Phe-*$ 、 $-Phe-Gly-*$ 、 $-Gly-Gly-Gly-*$ 、 $Gly-Gly-*$ 、 $-Gly-Val-Gly-*$ 、 $-Gly-Ala-Gly-*$ 、 $-Gly-Phe-Cit-*$ 、 $-Gly-Phe-Val-*$ 、 $-Gly-Phe-Ala-*$ 、 $-Gly-Phe-Lys-*$ 、 $-Phe-Lys-*$ 、 $-Gly-Val-*$ 、 $-Gly-Cit-*$ 、 $-Gly-Ala-*$ 、 $-Gly-Gly-Lys-*$ 、

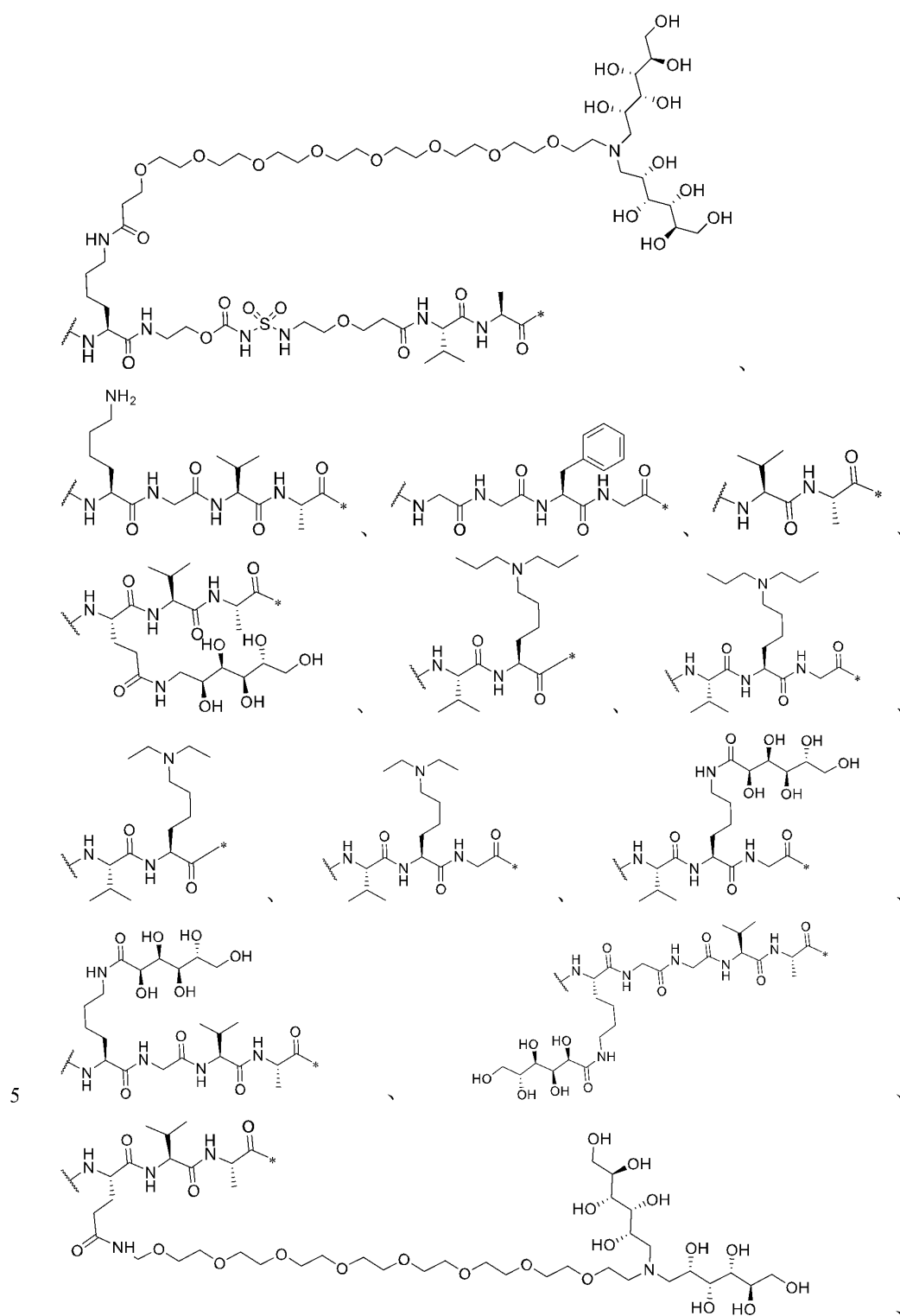
Gly-Lys'-\*、-Ala-Ala-Ala-\*、-Gln-Val-Ala-\*、-Gln-Val-Cit-\*、-Asp-Val-Ala-\*、  
 -Asp-Val-Cit-\*、-Lys-Gly-Val-Ala-\*、-Lys-Gly-Val-Cit-\*、-Lys-Gly-Gly-Val-Ala-\*、  
 -Lys-Gly-Gly-Val-Cit-\*、Gly-Gly-Phe-Gly-\*、-Lys-Gln-Val-Cit-\*、-Lys-Gln-Val-Ala-\*、  
 -Lys-Glu-Val-Cit-\*、-Lys-Glu-Val-Ala-\*、-Lys-Asp-Val-Cit-\*、-Lys-Asp-Val-Ala-\*、  
 5 Glu-Val-Cit-\*、Glu-Val-Ala-\*、-Lys-Val-Ala-\*、-Lys-Val-Cit-\*、-Val-Lys-Gly-\*、  
 -Val-Lys\*，优选 -Gly-Phe-Gly-\*、-Gly-Val-Cit-\*、-Val-Cit-\*、-Gly-Val-Ala-\*、  
 -Val-Ala-\*、-Gly-Phe-Gly-\*、-Phe-Gly-\*、-Gly-Phe-Lys-、-Phe-Lys-\*、-Gln-Val-Ala-\*、  
 -Gln-Val-Cit-\*、-Asp-Val-Ala-\*、-Lys-Gly-Val-Ala-\*、-Lys-Gly-Val-Cit-\*、  
 -Lys-Gly-Gly-Val-Ala-\*、-Lys-Gly-Gly-Val-Cit-\*、Gly-Gly-Phe-Gly-\*、  
 10 -Lys-Gln-Val-Cit-\*、-Lys-Gln-Val-Ala-\*、-Lys-Glu-Val-Cit-\*、-Lys-Glu-Val-Ala-\*、  
 -Lys-Asp-Val-Cit-\*、-Lys-Asp-Val-Ala-\*、Glu-Val-Cit-\*、Glu-Val-Ala-\*、  
 -Lys-Val-Ala-\*、-Lys-Val-Cit-\*、-Val-Lys-Gly-\*、-Val-Lys-\*、-Asp-Val-Cit-\*；其中\*  
 为与 L<sub>2</sub> 连接的位置。

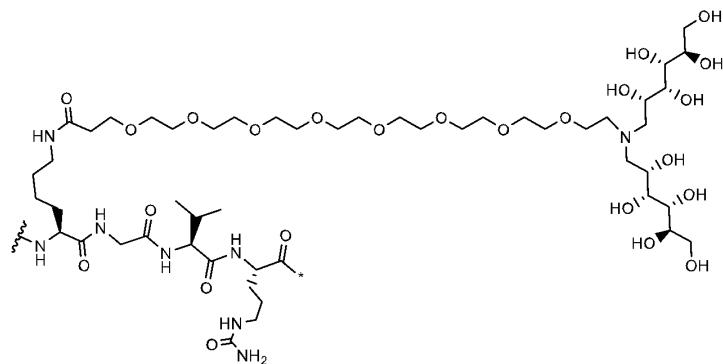
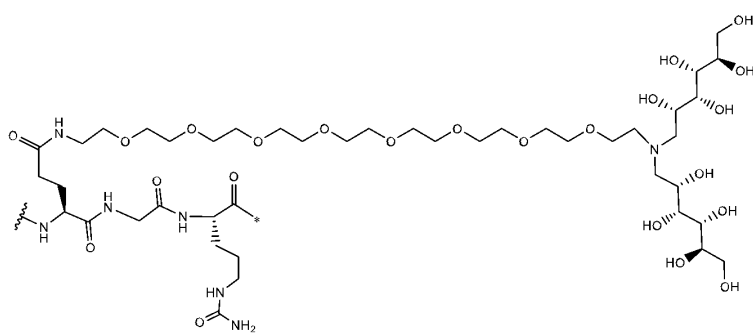
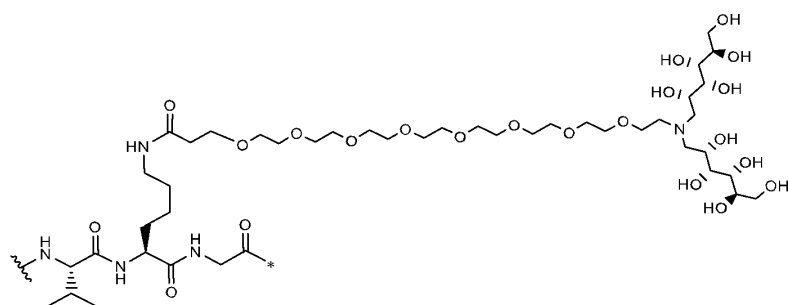
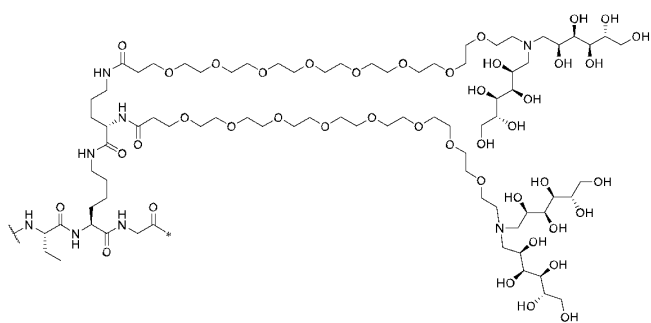
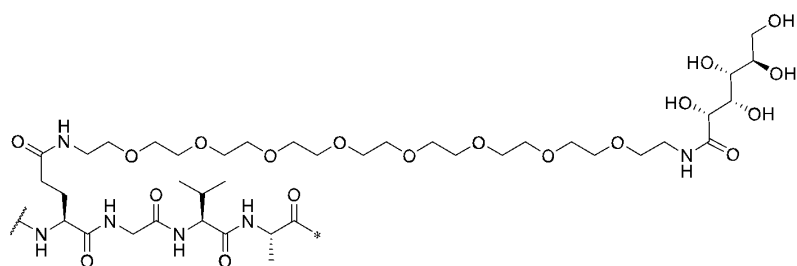
在另一个优选的实施方案中，根据本发明所述的通式 (A) 所示的化合物或其  
 15 药学上可接受的盐，其中，L<sub>3</sub> 选自：







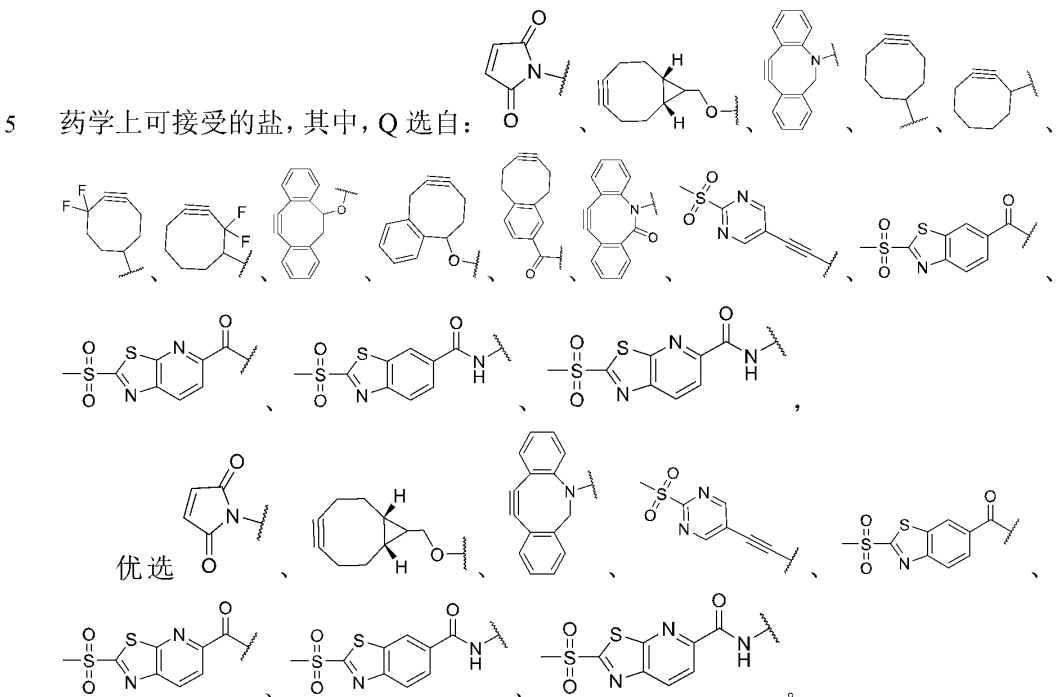




\*为与 L<sub>2</sub> 连接的位置，

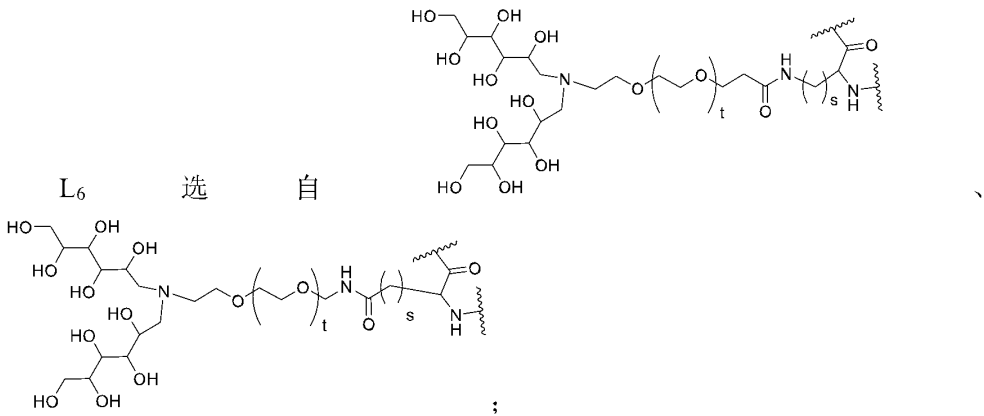
为与羰基或亚甲基连接的位置。

在另一个优选的实施方案中，根据本发明所述的通式 (A) 所示的化合物或其



10 在另一个优选的实施方案中，根据本发明所述的通式 (A) 所示的化合物或其药学上可接受的盐，其中，Z<sub>1</sub> 选自键、-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-C(O)NH-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-C(O)NH-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-C(O)-L<sub>6</sub>-NH-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-C(O)-L<sub>6</sub>-NH-、-C(O)NH-、-C(O)O-、-C(O)-、-OC(O)-和-OC(O)NH-；p 为 1 至 10 的整数，优选 1 至 6 的整数；更优选 2-4 的整数；最优选 2-3 的整数；

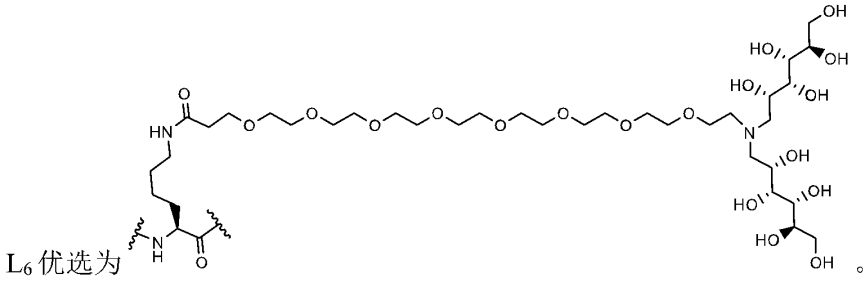
15 s<sub>1</sub>、s<sub>2</sub>、s<sub>3</sub>、s<sub>4</sub> 各自独立地为 0 至 10 的整数；优选 0 至 8 的整数、0 至 6 的整数；还优选 0 至 4 的整数，进一步优选 0 至 2 的整数、1 至 2 的整数；



s 为 1 至 6 的整数；优选 2 至 6 的整数；更优选 2 至 4 的整数；



t 为 0 至 10 的整数；优选 2 至 8 的整数；更优选 3 至 7 的整数；



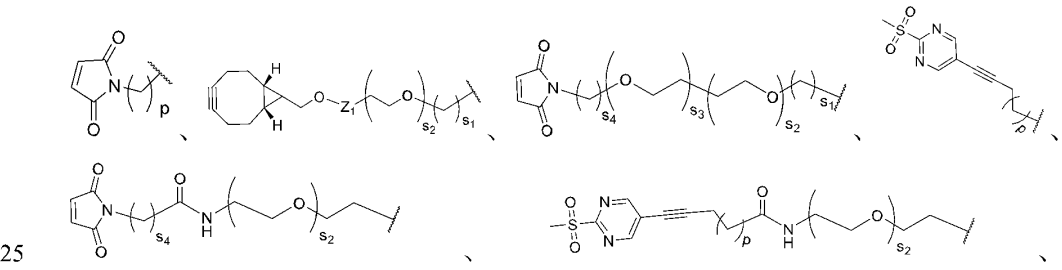
在另一个优选的实施方案中，根据本发明所述的通式（A）所示的化合物或其药学上可接受的盐，其中，

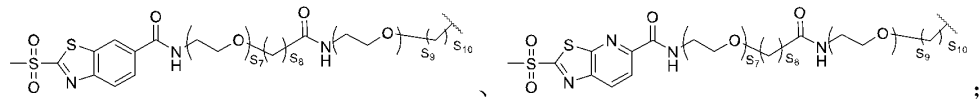
- 5        Z<sub>1</sub> 选自键、-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-C(O)NH-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-C(O)NH-、-C(O)NH-、-C(O)O-、-C(O)-、-OC(O)-和-OC(O)NH-；  
      s<sub>1</sub> 为 0 至 6 的整数，优选 0 至 2 的整数；  
      s<sub>2</sub> 为 0 至 6 的整数，优选 0 至 2 的整数；  
      s<sub>3</sub> 为 0；  
10       s<sub>4</sub> 为 0；  
      p 为 1 至 10 的整数，优选 1 至 6 的整数；更优选 2-4 的整数；最优选 2-3 的整数。

在另一个优选的实施方案中，根据本发明所述的通式（A）所示的化合物或其药学上可接受的盐，其中，

- 15       Z<sub>1</sub> 选自 -(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-C(O)NH-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-C(O)NH-、-C(O)NH-；  
      s<sub>1</sub> 为 1 至 6 的整数，优选 2 至 6 的整数；  
      s<sub>2</sub> 为 1 至 10 的整数，优选 2 至 10 的整数；  
      s<sub>3</sub> 为 0；  
      s<sub>4</sub> 为 0；  
20       p 为 1 至 10 的整数，优选 1 至 6 的整数；更优选 2-4 的整数；最优选 2-3 的整数。

在另一个优选的实施方案中，根据本发明所述的通式（A）所示的化合物或其药学上可接受的盐，其中，Q-L<sub>4</sub>-选自：





其中:

Z<sub>1</sub> 选自 -C(O)NH-、-C(O)O-、-C(O)-、-OC(O)-和-OC(O)NH-, 优选-C(O)NH-;  
p 为 1 至 10 的整数, 优选 1 至 6 的整数; 更优选 2-4 的整数; 最优选 2-3 的整

5 数;

s<sub>1</sub> 为 0 至 6 的整数, 优选 0 至 2 的整数;

s<sub>2</sub> 为 1 至 10 的整数, 优选 1 至 8 的整数;

s<sub>3</sub> 为 0 至 6 的整数, 优选 0 至 2 的整数;

s<sub>4</sub> 为 1 至 6 的整数, 优选 1 至 2 的整数;

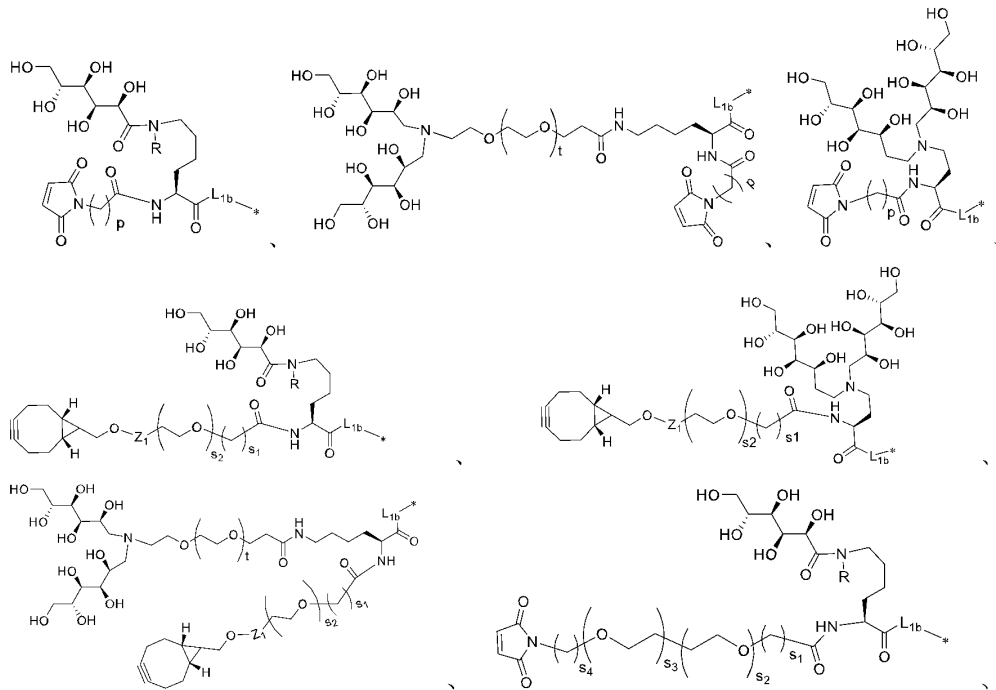
10 s<sub>7</sub> 为 0 至 6 的整数, 优选 1 至 2 的整数;

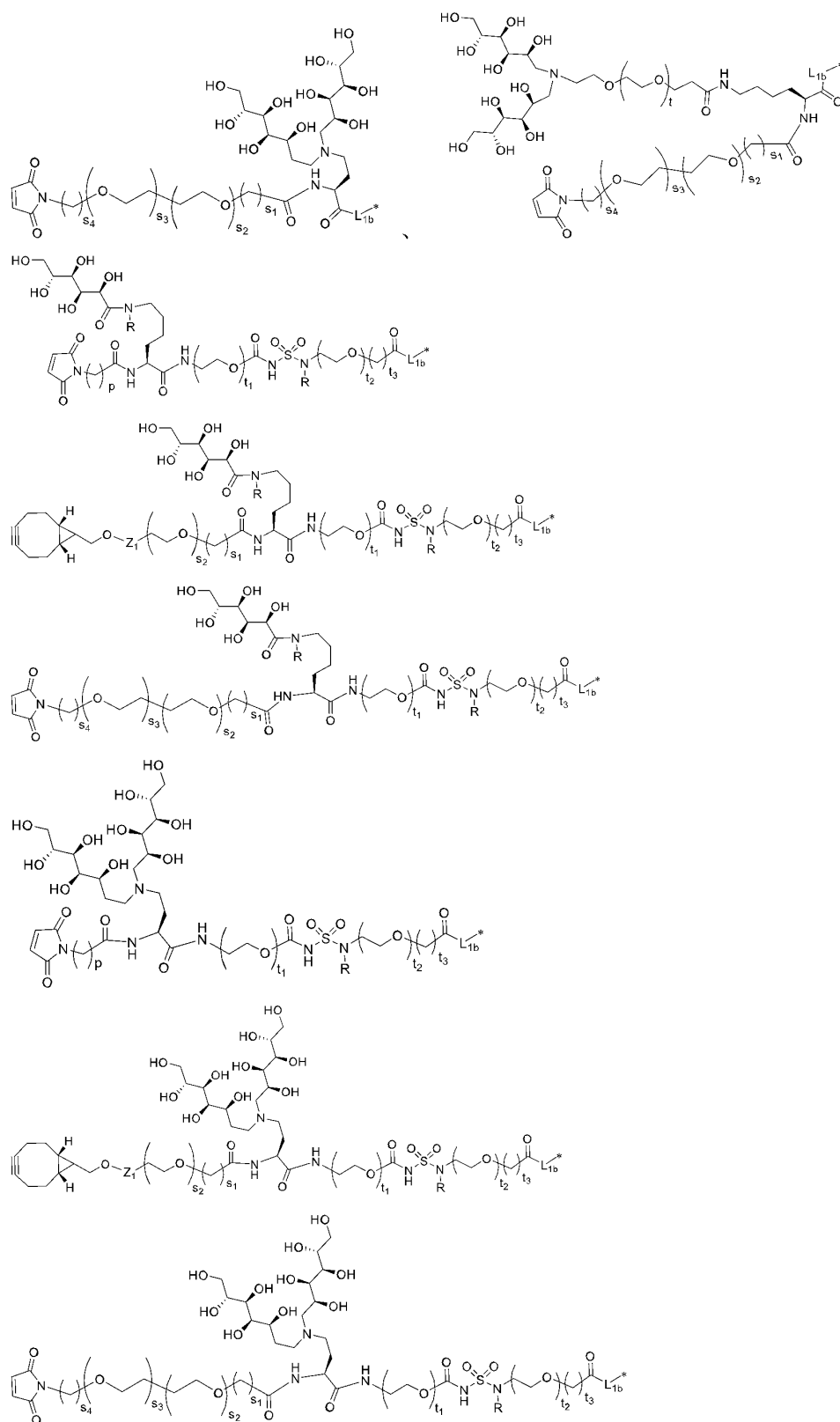
s<sub>8</sub> 为 1 至 4 的整数, 优选 1 至 2 的整数;

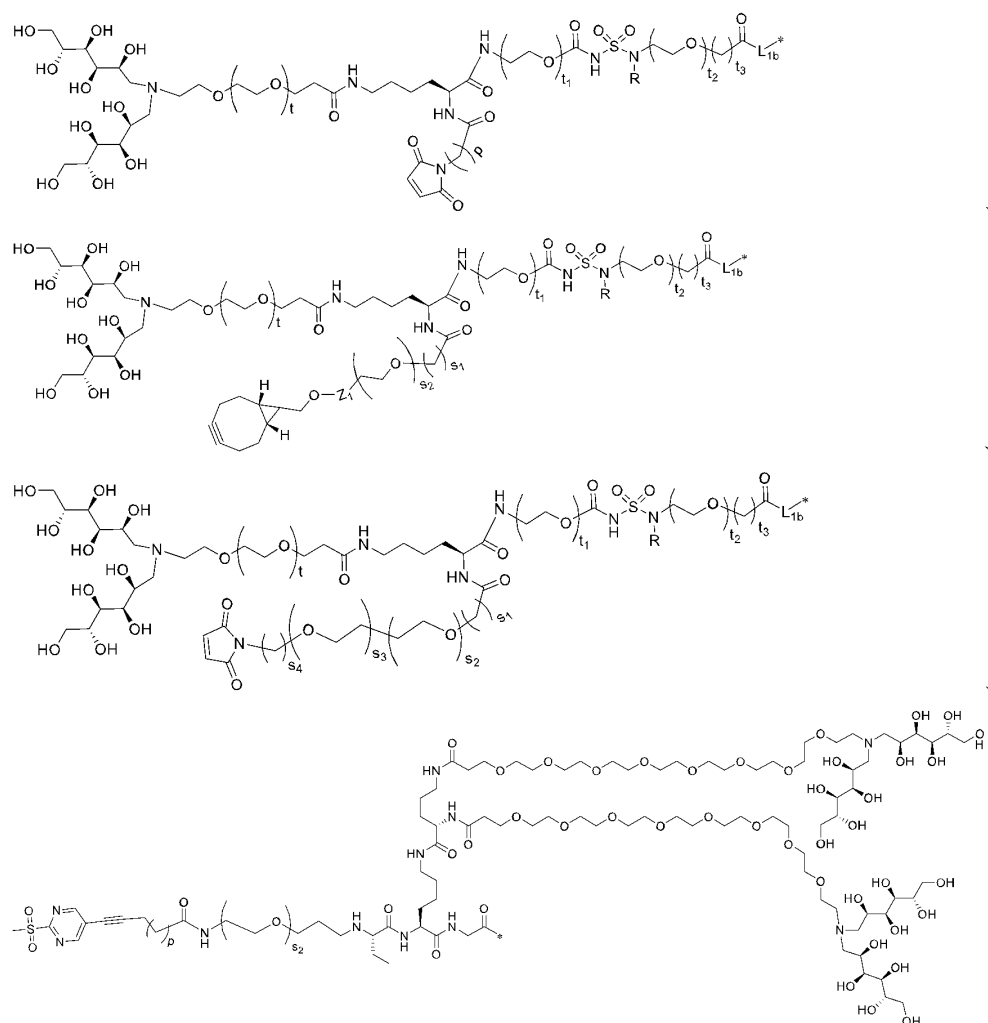
s<sub>9</sub> 为 1 至 10 的整数, 优选 1 至 8 的整数;

s<sub>10</sub> 为 1 至 4 的整数, 优选 1 至 2 的整数。

在另一个优选的实施方案中, 根据本发明所述的通式 (A) 所示的化合物或其  
15 药学上可接受的盐, 其中, L 选自:







5 其中，

L<sub>1b</sub> 为由两个或多个选自甘氨酸、苯丙氨酸、瓜氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、丙氨酸、缬氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、精氨酸、谷氨酸、赖氨酸中的氨基酸形成的氨基酸残基；优选为由两个或多个选自甘氨酸、苯丙氨酸、瓜氨酸、亮氨酸、丙氨酸、缬氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、赖氨酸的氨基酸形成的氨基酸残基；更优选，

10 -Gly-\*、-Val-\*、-Gly-Phe-Gly-\*、-Phe-Gly-\*、-Gly-Val-Cit-\*、-Val-Cit-\*、-Gly-Val-Arg-\*、-Val-Arg-\*、-Gly-Val-Ala-\*、-Val-Ala-\*、-Gly-Phe-\*、-Phe-Gly-\*、-Gly-Gly-Gly-\*、Gly-Gly-\*、-Gly-Val-Gly-\*、-Gly-Ala-Gly-\*、-Gly-Phe-Cit-\*、-Gly-Phe-Val-\*、-Gly-Phe-Ala-\*、-Gly-Phe-Lys-\*、-Phe-Lys-\*、-Gly-Val-\*、-Gly-Cit-\*、-Gly-Ala-\*、-Gly-Gly-Lys-\*、Gly-Lys'-\*、-Ala-Ala-Ala-\*、-Gln-Val-Ala-\*、

15 -Gln-Val-Cit-\*、-Asp-Val-Ala-\*、-Asp-Val-Cit-\*、-Lys-Gly-Val-Ala-\*、-Lys-Gly-Val-Cit-\*、-Lys-Gly-Gly-Val-Ala-\*、-Lys-Gly-Gly-Val-Cit-\*、Gly-Gly-Phe-Gly-\*、-Lys-Gln-Val-Cit-\*、-Lys-Gln-Val-Ala-\*、-Lys-Glu-Val-Cit-\*、

-Lys-Glu-Val-ALa-\*、-Lys-Asp-Val-Cit-\*、-Lys-Asp-Val-Ala-\*、Glu-Val-Cit-\*、  
Glu-Val-Ala-\*、-Lys-Val-Ala-\*、-Lys-Val-Cit-\*、-Val-Lys-Gly-\*、-Val-Lys-\*、优选  
-Gly-Phe-Gly-\*、-Gly-Val-Cit-\*、-Val-Cit-\*、-Gly-Val-Ala-\*、-Val-Ala-\*、  
-Gly-Phe-Gly-\*、-Phe-Gly-\*、-Gly-Phe-Lys-\*、-Phe-Lys-\*、-Gln-Val-Ala-\*、  
5 -Gln-Val-Cit-\*、-Asp-Val-Ala-\*、-Lys-Gly-Val-Ala-\*、-Lys-Gly-Val-Cit-\*、  
-Lys-Gly-Gly-Val-Ala-\*、-Lys-Gly-Gly-Val-Cit-\*、Gly-Gly-Phe-Gly-\*、  
-Lys-Gln-Val-Cit-\*、-Lys-Gln-Val-Ala-\*、-Lys-Glu-Val-Cit-\*、-Lys-Glu-Val-ALa-\*、  
-Lys-Asp-Val-Cit-\*、-Lys-Asp-Val-Ala-\*、Glu-Val-Cit-\*、Glu-Val-Ala-\*、  
-Lys-Val-Ala-\*、-Lys-Val-Cit-\*、-Val-Lys-Gly-\*、-Val-Lys-\*、-Asp-Val-Cit-\*;

10 \*为与 L<sub>2</sub> 连接的位置;

Z<sub>1</sub> 选自 -C(O)NH-、-C(O)O-、-C(O)-、-OC(O)-和 -OC(O)NH-，优选 -C(O)NH-;

p 为 1 至 10 的整数，优选 1 至 6 的整数;

s<sub>1</sub> 为 0 至 6 的整数，优选 0 至 2 的整数;

s<sub>2</sub> 为 1 至 6 的整数，优选 1 至 2 的整数;

15 s<sub>3</sub> 为 0 至 6 的整数，优选 0 至 2 的整数;

s<sub>4</sub> 为 1 至 6 的整数，优选 1 至 2 的整数;

t 为 0 至 10 的整数;

t<sub>1</sub> 为 1 至 6 的整数; 优选 1 至 4 的整数，还优选 2 至 4 的整数，还优选 1 或 2;

t<sub>2</sub> 为 0 至 6 的整数; 优选 1 至 4 的整数，还优选 1 或 2;

20 t<sub>3</sub> 为 1 至 6 的整数; 优选 1 至 4 的整数，更优选 1 或 2。

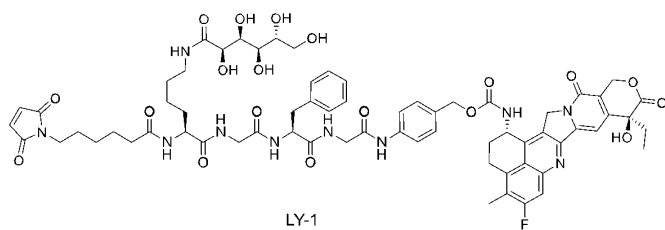
在一个优选的实施方案中，根据本发明所述的通式 (A) 所示的化合物或其药  
学上可接受的盐，其中，L<sub>1b</sub> 为由一个或多个选自甘氨酸、苯丙氨酸、瓜氨酸、亮  
氨酸、异亮氨酸、丙氨酸、缬氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、精氨酸、谷氨酸、赖  
氨酸中的氨基酸形成的氨基酸残基; 优选为由两个或多个选自甘氨酸、苯丙氨酸、  
25 瓜氨酸、亮氨酸、丙氨酸、缬氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、赖氨酸的氨基酸形成的  
氨基酸残基; 更优选，-Gly-\*、-Val-\*、-Gly-Phe-Gly-\*、-Phe-Gly-\*、-Gly-Val-Cit-\*、  
-Val-Cit-\*、-Gly-Val-Arg-\*、-Val-Arg-\*、-Gly-Val-Ala-\*、-Val-Ala-\*、-Gly-Phe-\*、  
-Phe-Gly-\*、-Gly-Gly-Gly-\*、Gly-Gly-\*、-Gly-Val-Gly-\*、-Gly-Ala-Gly-\*、  
-Gly-Phe-Cit-\*、-Gly-Phe-Val-\*、-Gly-Phe-Ala-\*、-Gly-Phe-Lys-\*、-Phe-Lys-\*、  
30 -Gly-Val-\*、-Gly-Cit-\*、-Gly-Ala-\*、-Gly-Gly-Lys-\*、Gly-Lys' -\*、-Ala-Ala-Ala-\*、  
-Gln-Val-Ala-\*、-Gln-Val-Cit-\*、-Asp-Val-Ala-\*、-Asp-Val-Cit-\*、-Lys-Gly-Val-Ala-\*、  
-Lys-Gly-Val-Cit-\*、-Lys-Gly-Gly-Val-Ala-\*、-Lys-Gly-Gly-Val-Cit-\*、  
Gly-Gly-Phe-Gly-\*、-Lys-Gln-Val-Cit-\*、-Lys-Gln-Val-Ala-\*、-Lys-Glu-Val-Cit-\*、  
-Lys-Glu-Val-ALa-\*、-Lys-Asp-Val-Cit-\*、-Lys-Asp-Val-Ala-\*、Glu-Val-Cit-\*、  
35 Glu-Val-Ala-\*、-Lys-Val-Ala-\*、-Lys-Val-Cit-\*、-Val-Lys-Gly-\*、-Val-Lys-\*; 优选  
-Gly-Phe-Gly-\*、-Gly-Val-Cit-\*、-Val-Cit-\*、-Gly-Val-Ala-\*、-Val-Ala-\*、

-Gly-Phe-Gly-\*、-Phe-Gly-\*、-Gly-Phe-Lys-\*、-Phe-Lys-\*、-Gln-Val-Ala-\*、  
-Gln-Val-Cit-\*、-Asp-Val-Ala-\*、-Lys-Gly-Val-Ala-\*、-Lys-Gly-Val-Cit-\*、  
-Lys-Gly-Gly-Val-Ala-\*、-Lys-Gly-Gly-Val-Cit-\*、Gly-Gly-Phe-Gly-\*、  
-Lys-Gln-Val-Cit-\*、-Lys-Gln-Val-Ala-\*、-Lys-Glu-Val-Cit-\*、-Lys-Glu-Val-Ala-\*、  
5 -Lys-Asp-Val-Cit-\*、-Lys-Asp-Val-Ala-\*、Glu-Val-Cit-\*、Glu-Val-Ala-\*、  
-Lys-Val-Ala-\*、-Lys-Val-Cit-\*、-Val-Lys-Gly-\*、-Val-Lys-\*、-Asp-Val-Cit-\*。

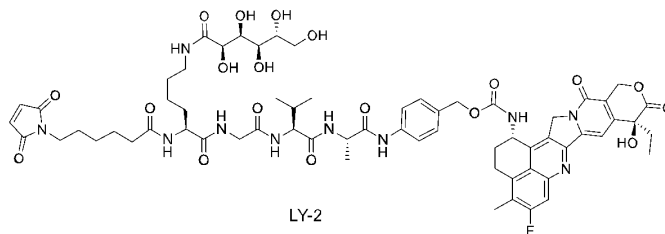
在另一个优选的实施方案中，根据本发明所述的通式(A)所示的化合物或其  
药理学上可接受的盐，其中，L<sub>1b</sub>为由一个或多个选自甘氨酸、苯丙氨酸、瓜氨酸、  
亮氨酸、异亮氨酸、丙氨酸、缬氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、精氨酸、谷氨酸、  
10 赖氨酸中的氨基酸形成的氨基酸残基；优选为由两个或多个选自甘氨酸、苯丙氨酸、  
瓜氨酸、亮氨酸、天冬氨酸、丙氨酸、缬氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、赖氨酸  
的氨基酸形成的氨基酸残基；更优选，-Gly-\*、-Val-\*、-Gly-Phe-Gly-\*、-Phe-Gly-\*、  
-Gly-Val-Cit-\*、-Val-Cit-\*、-Gly-Val-Arg-\*、-Val-Arg-\*、-Gly-Val-Ala-\*、-Val-Ala-\*、  
-Gly-Phe-\*、-Phe-Gly-\*、-Gly-Gly-Gly-\*、Gly-Gly-\*、-Gly-Val-Gly-\*、-Gly-Ala-Gly-\*、  
15 -Gly-Phe-Cit-\*、-Gly-Phe-Val-\*、-Gly-Phe-Ala-\*、-Gly-Phe-Lys-\*、-Phe-Lys-\*、  
-Gly-Val-\*、-Gly-Cit-\*、-Gly-Ala-\*、-Gly-Gly-Lys-\*、Gly-Lys-\*、-Ala-Ala-Ala-\*、  
-Gln-Val-Ala-\*、-Gln-Val-Cit-\*、-Asp-Val-Ala-\*、-Asp-Val-Cit-\*、-Lys-Gly-Val-Ala-\*、  
-Lys-Gly-Val-Cit-\*、-Lys-Gly-Gly-Val-Ala-\*、-Lys-Gly-Gly-Val-Cit-\*、  
Gly-Gly-Phe-Gly-\*、-Lys-Gln-Val-Cit-\*、-Lys-Gln-Val-Ala-\*、-Lys-Glu-Val-Cit-\*、  
20 -Lys-Glu-Val-Ala-\*、-Lys-Asp-Val-Cit-\*、-Lys-Asp-Val-Ala-\*、Glu-Val-Cit-\*、  
Glu-Val-Ala-\*、-Lys-Val-Ala-\*、-Lys-Val-Cit-\*、-Val-Lys-Gly-\*、-Val-Lys-\*，优选  
-Gly-Phe-Gly-\*、-Gly-Val-Cit-\*、-Val-Cit-\*、-Gly-Val-Ala-\*、-Val-Ala-\*、  
-Gly-Phe-Gly-\*、-Phe-Gly-\*、-Gly-Phe-Lys-\*、-Phe-Lys-\*、-Gln-Val-Ala-\*、  
-Gln-Val-Cit-\*、-Asp-Val-Ala-\*、-Lys-Gly-Val-Ala-\*、-Lys-Gly-Val-Cit-\*、  
25 -Lys-Gly-Gly-Val-Ala-\*、-Lys-Gly-Gly-Val-Cit-\*、Gly-Gly-Phe-Gly-\*、  
-Lys-Gln-Val-Cit-\*、-Lys-Gln-Val-Ala-\*、-Lys-Glu-Val-Cit-\*、-Lys-Glu-Val-Ala-\*、  
-Lys-Asp-Val-Cit-\*、-Lys-Asp-Val-Ala-\*、Glu-Val-Cit-\*、Glu-Val-Ala-\*、  
-Lys-Val-Ala-\*、-Lys-Val-Cit-\*、-Val-Lys-Gly-\*、-Val-Lys-\*、-Asp-Val-Cit-\*。

在另一个优选的实施方案中，根据本发明所述的通式(A)所示的化合物或其  
30 药理学上可接受的盐，其中，L<sub>1b</sub>和L<sub>1b</sub>'为-Gly-\*或-Val-\*。

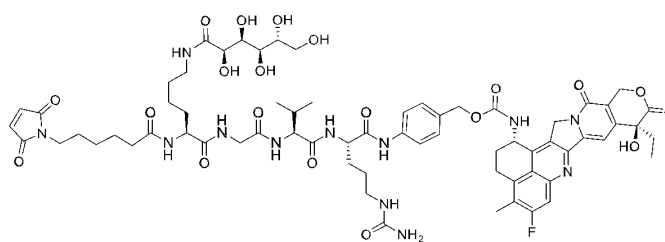
在另一个优选的实施方案中，根据本发明所述的通式(A)所示的化合物或其  
药理学上可接受的盐，其中所述化合物选自：



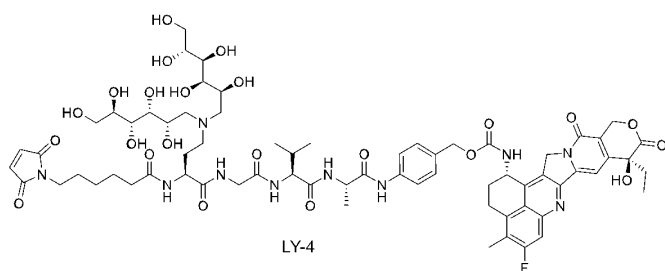
LY-1



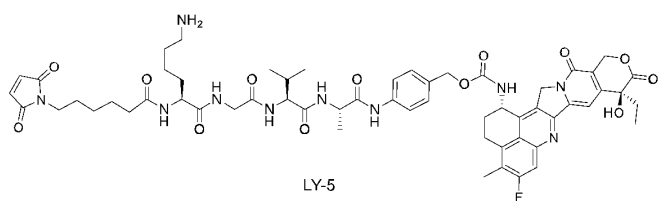
LY-2



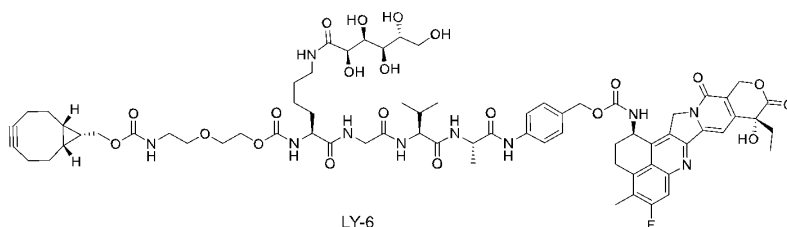
LY-3



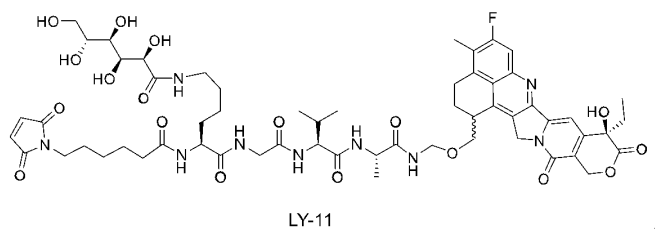
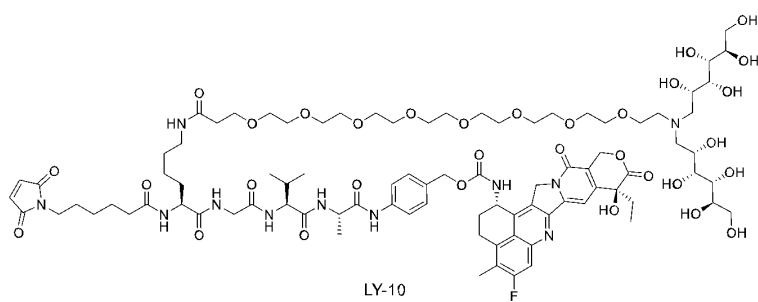
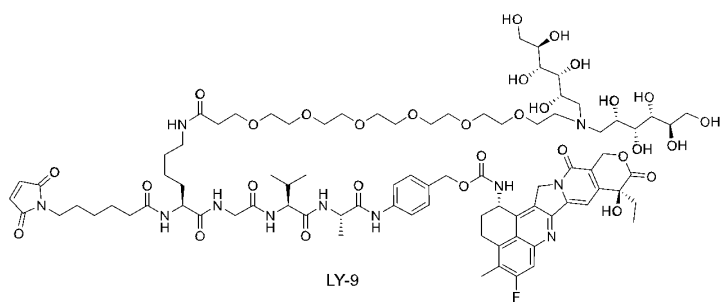
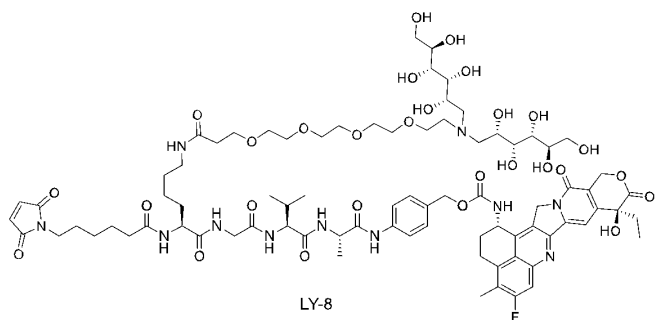
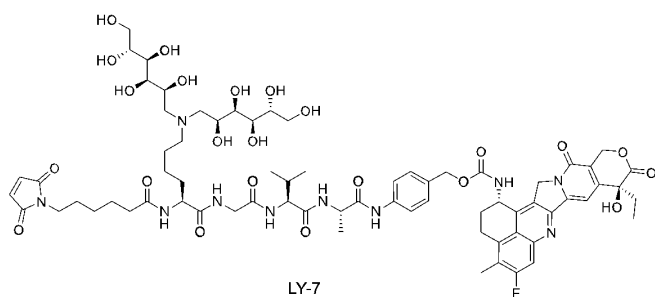
LY-4



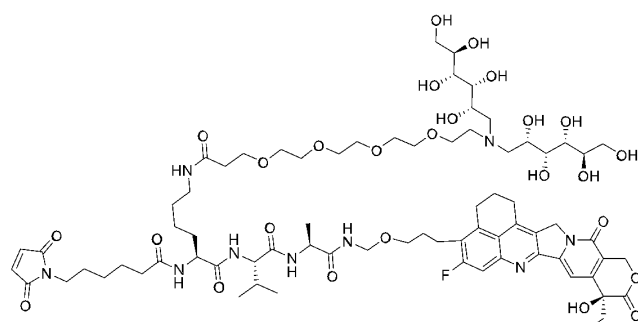
LY-5



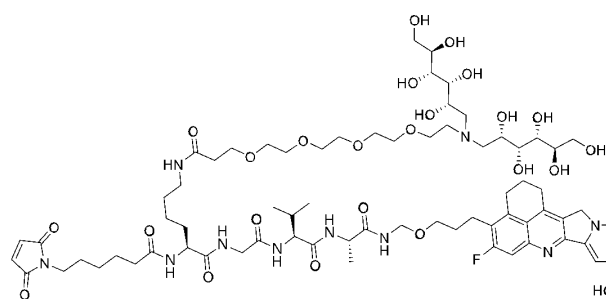
LY-6



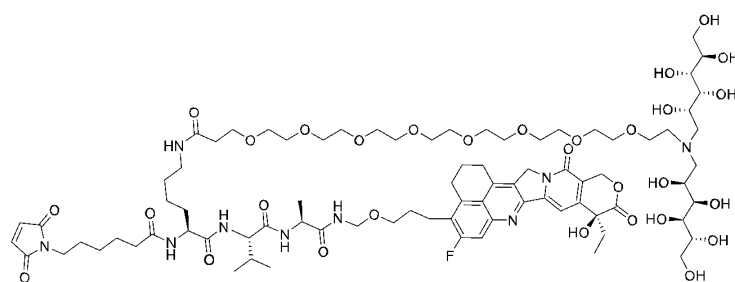




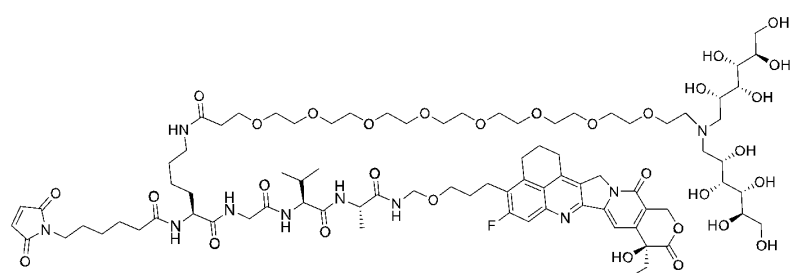
LY-12A



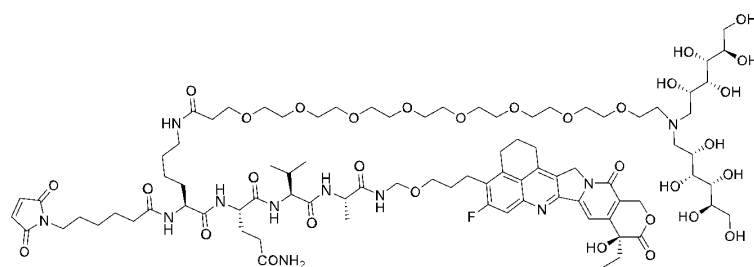
LY-12B



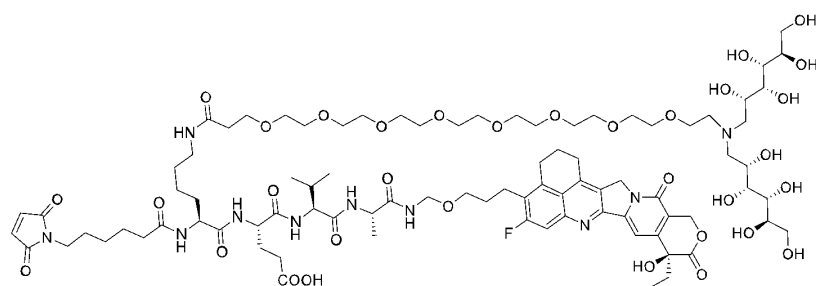
LY-18A



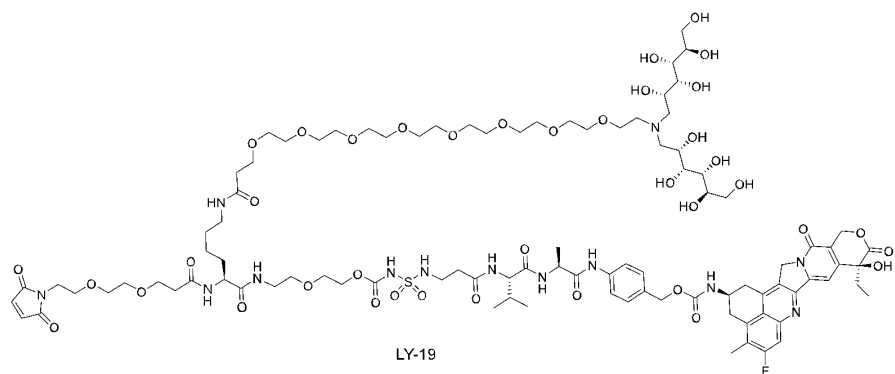
LY-18B



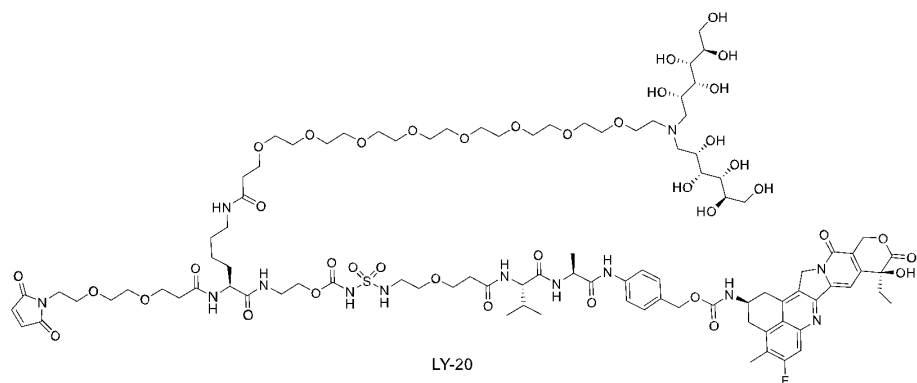
LY-18C



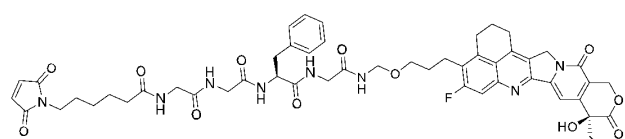
LY-18D



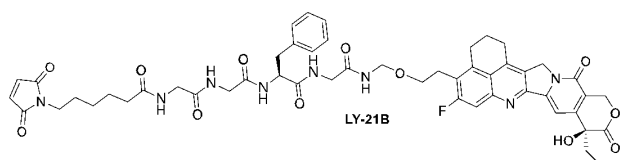
LY-19



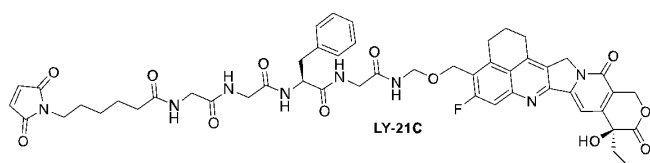
LY-20



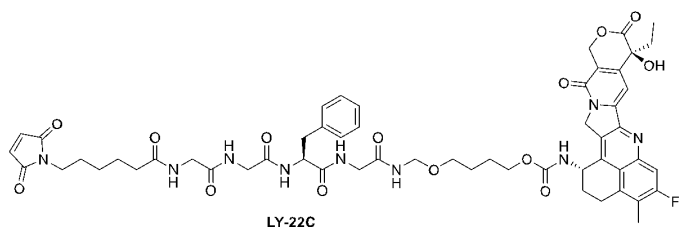
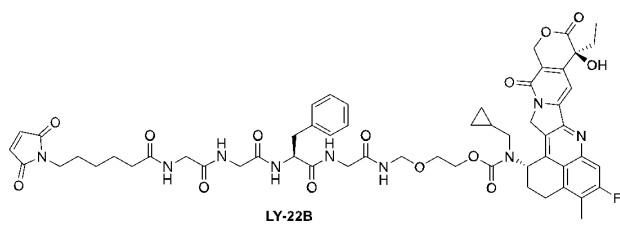
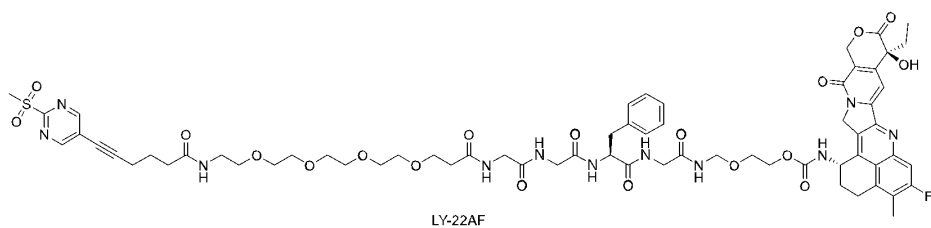
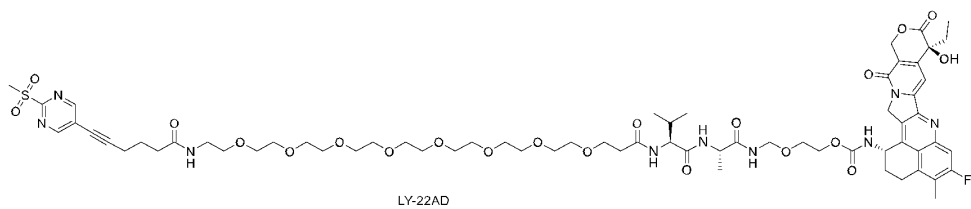
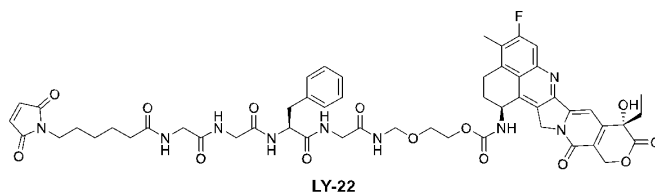
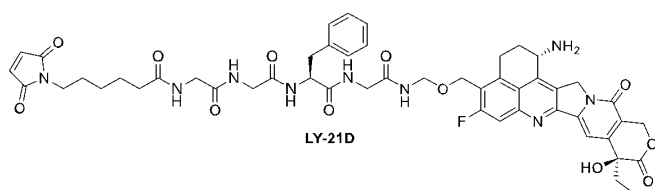
LY-21

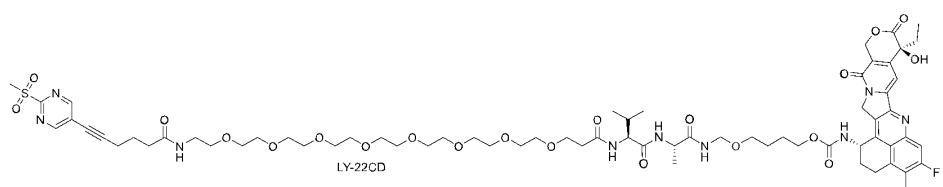
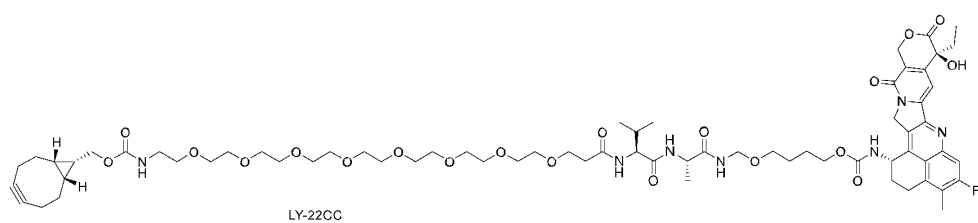
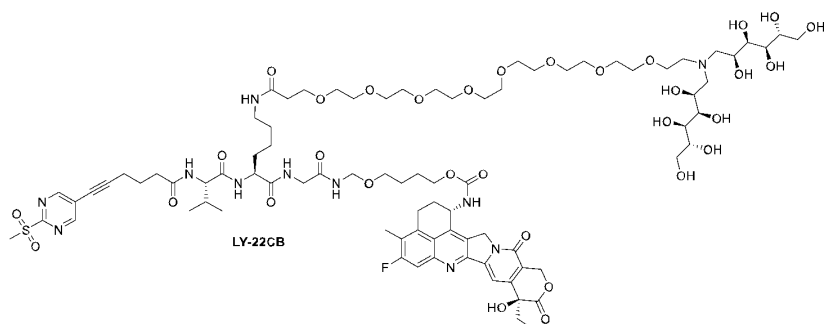
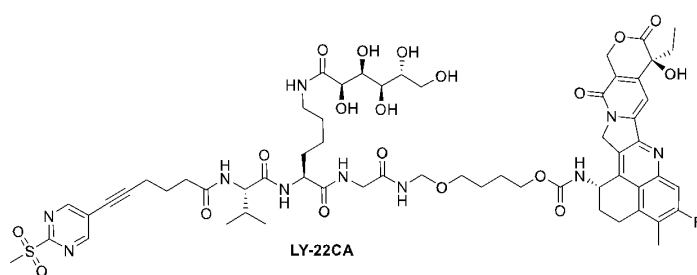


LY-21B

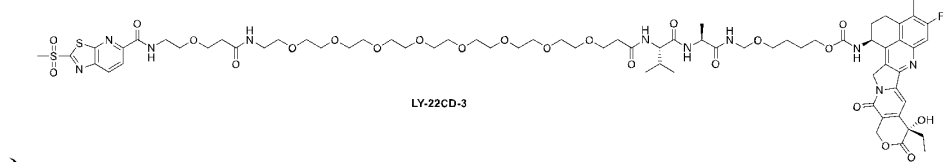
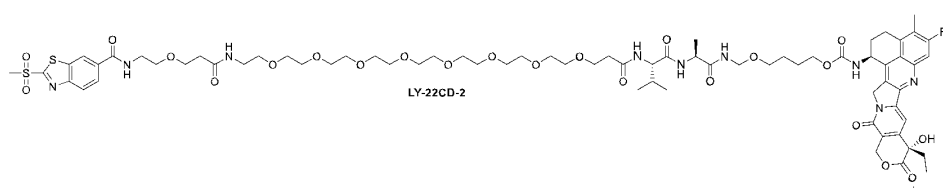


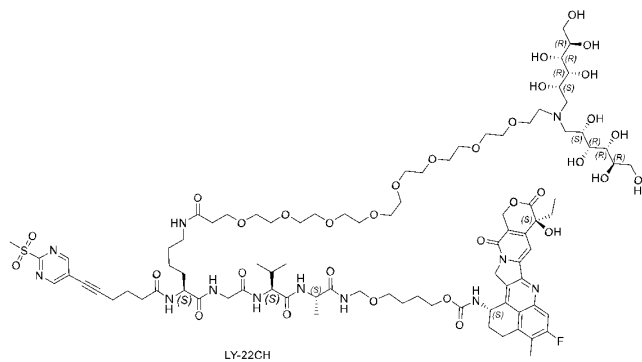
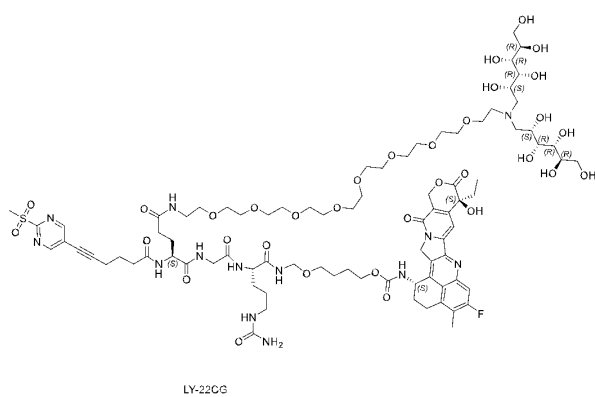
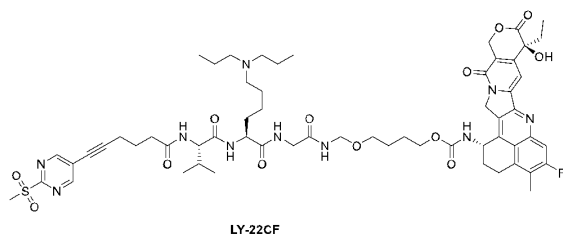
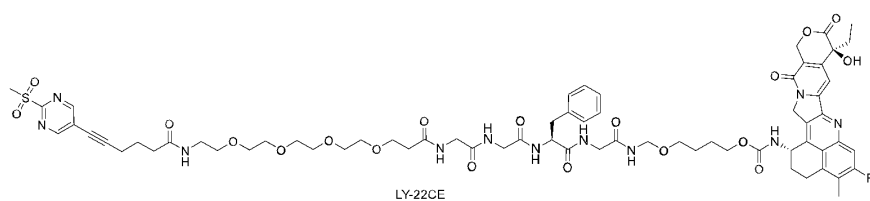
LY-21C

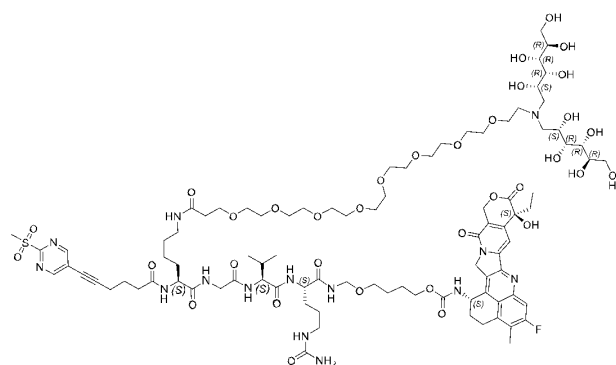




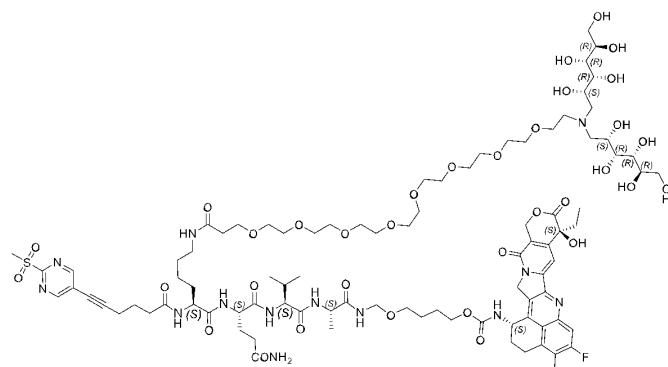
5



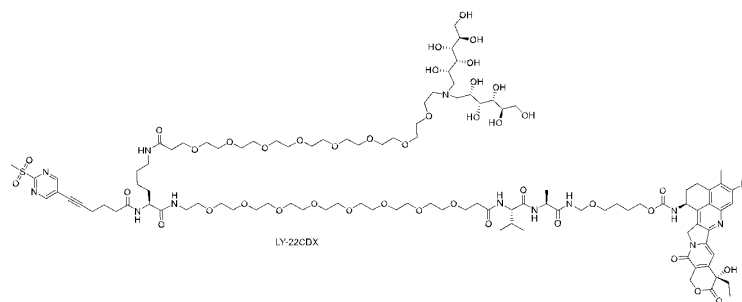




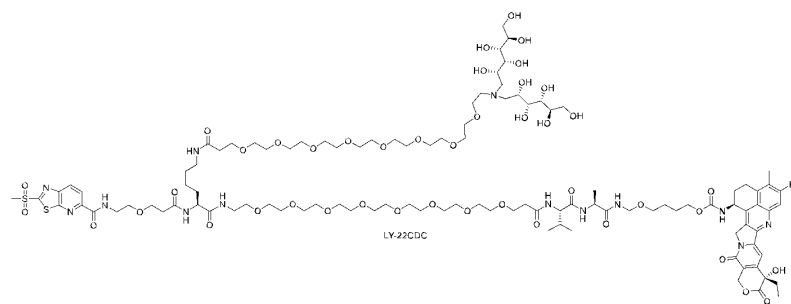
LY-22CI



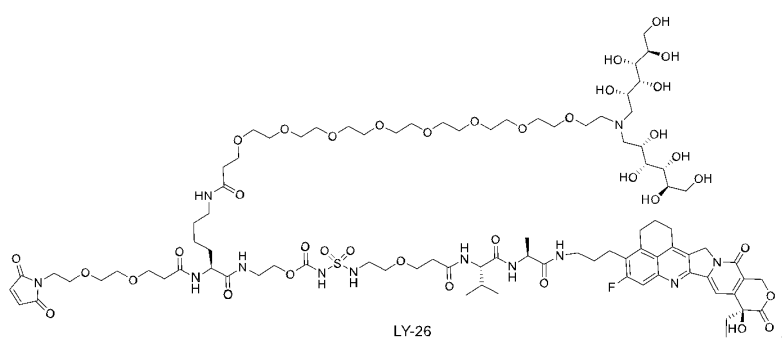
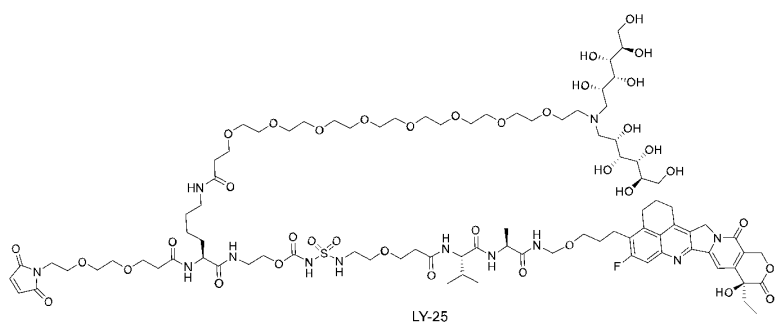
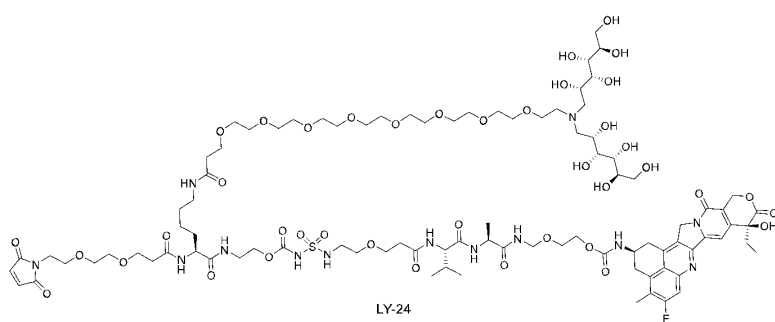
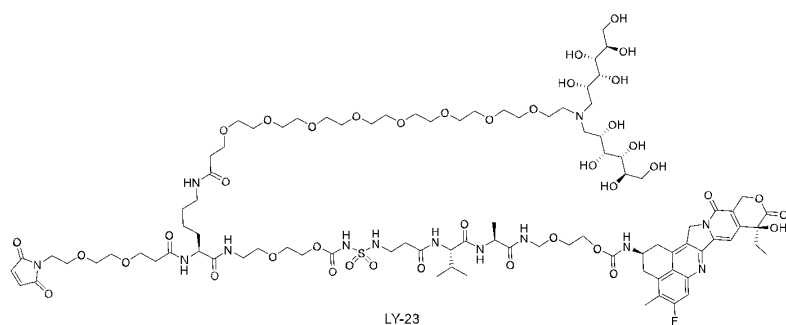
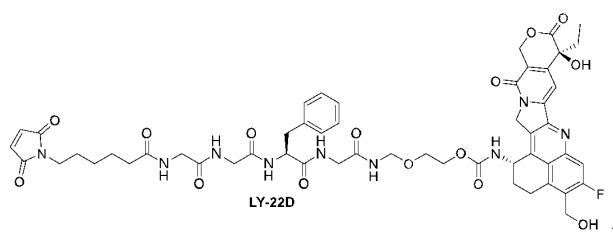
LY-22CJ

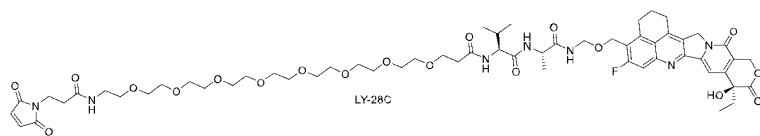
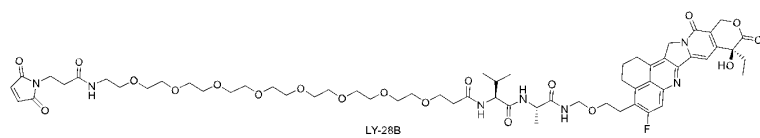
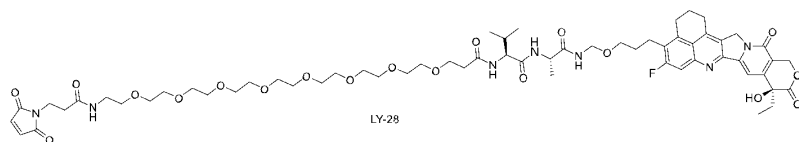
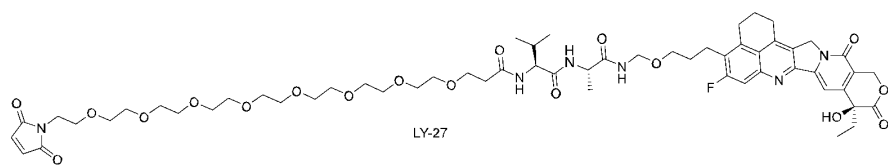


LY-22CDX

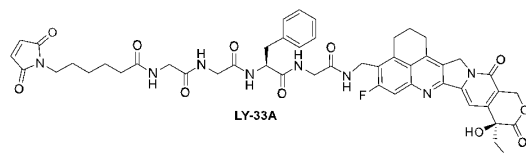
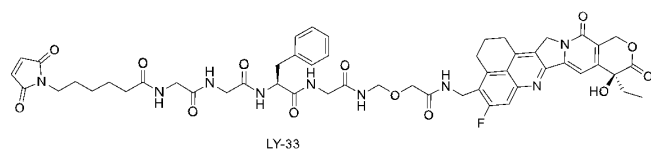
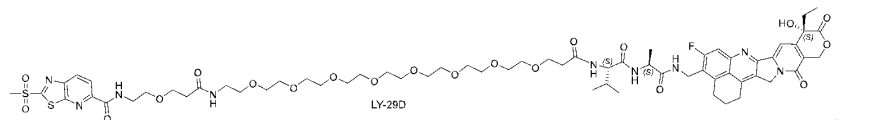
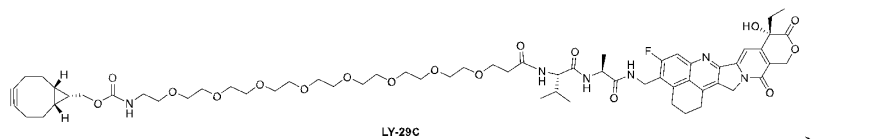
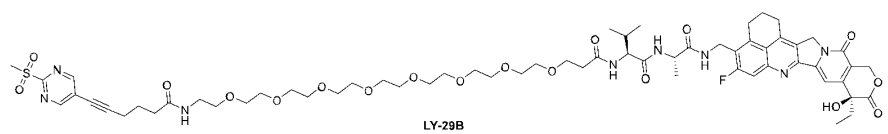
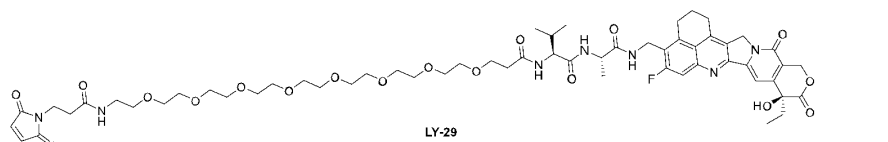


LY-22CDC



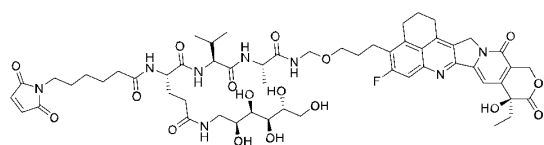


5

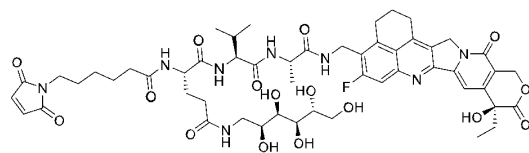


10

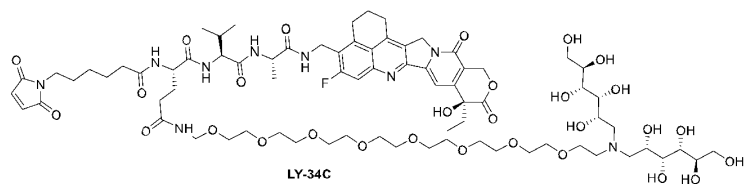




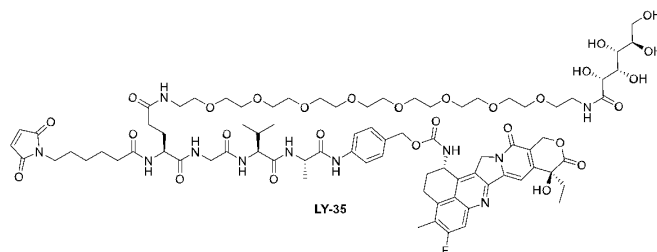
LY-34



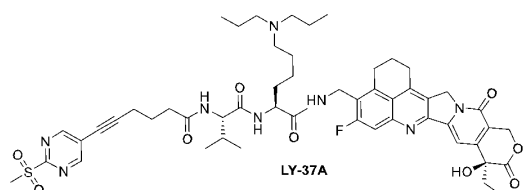
LY-34B



LY-34C

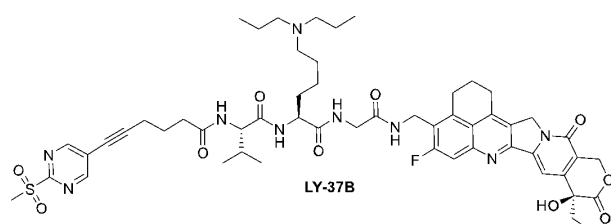


LY-35

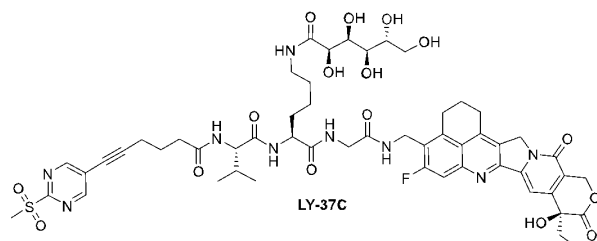


LY-37A

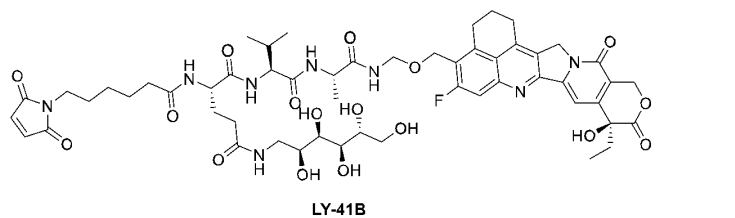
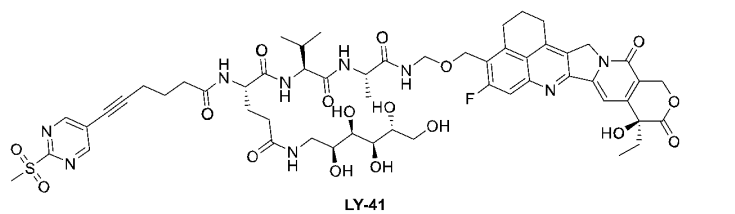
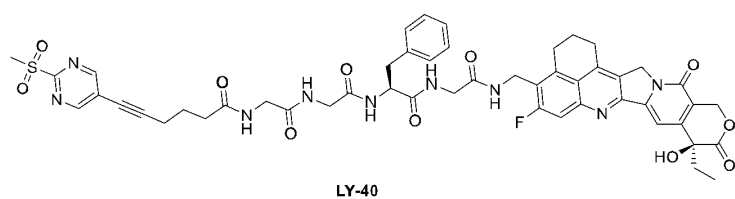
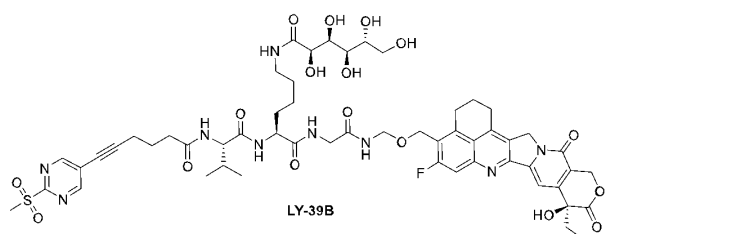
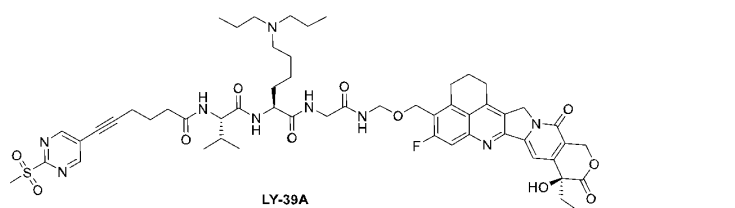
5



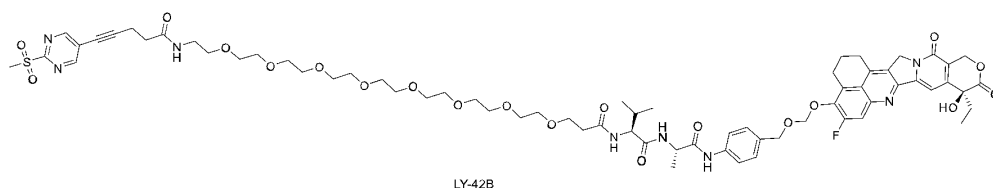
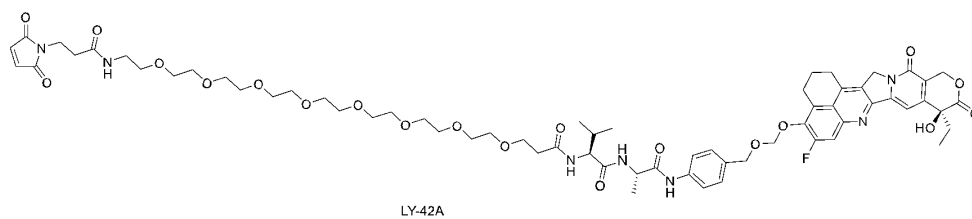
LY-37B

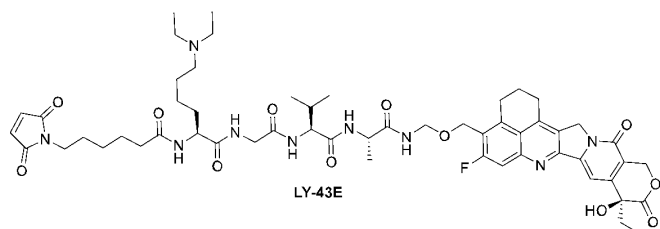
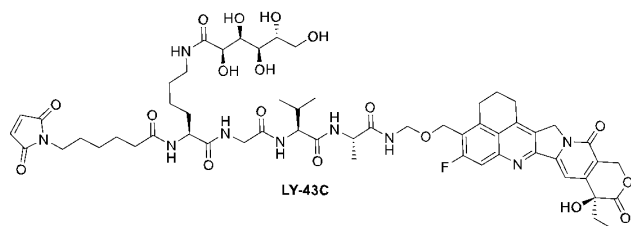
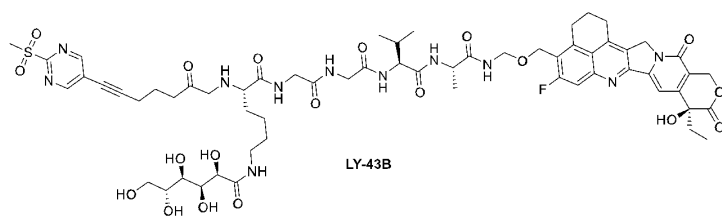
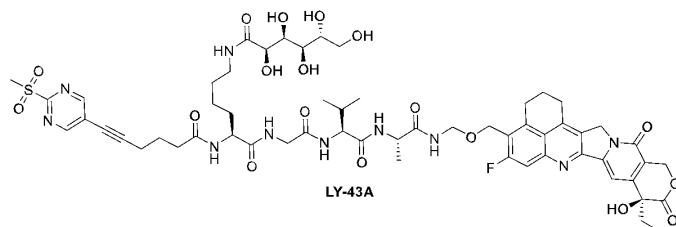
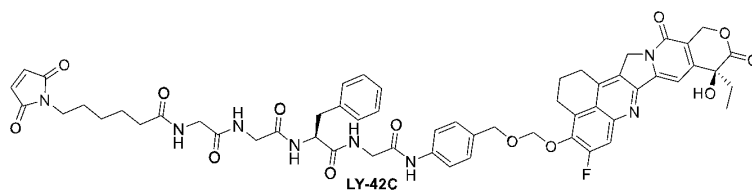


LY-37C

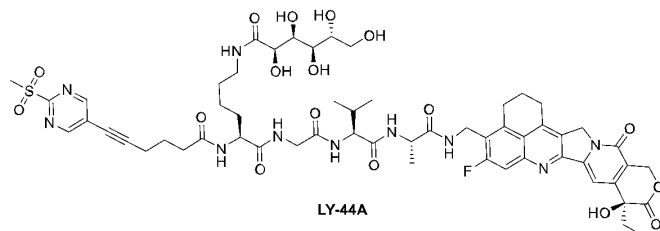
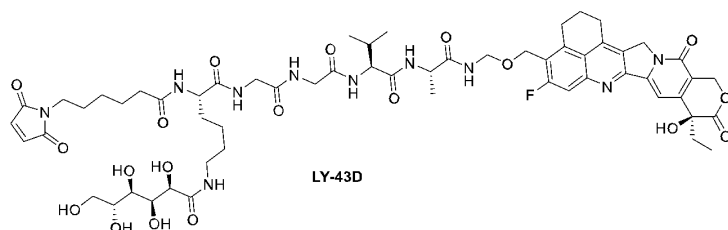


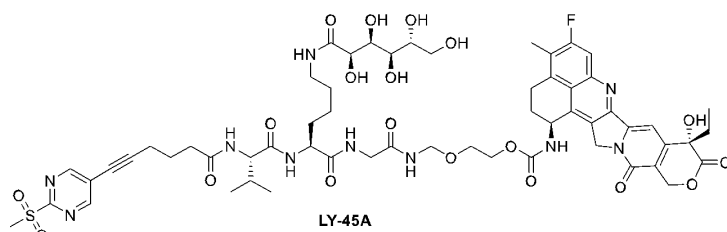
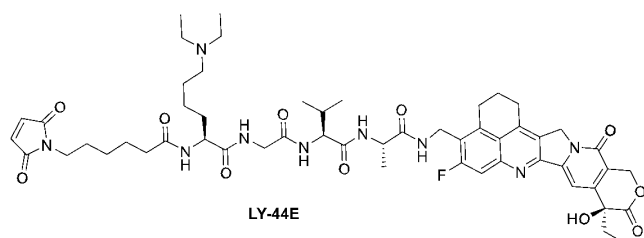
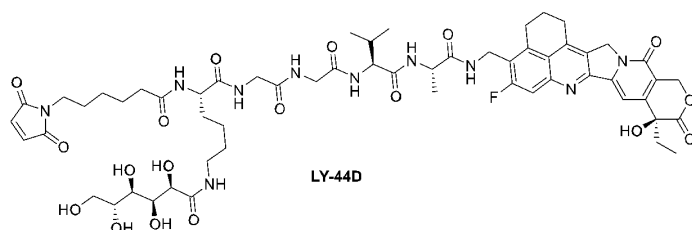
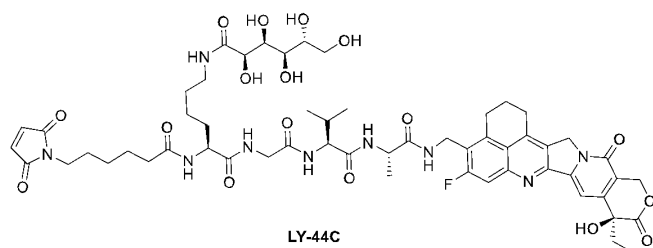
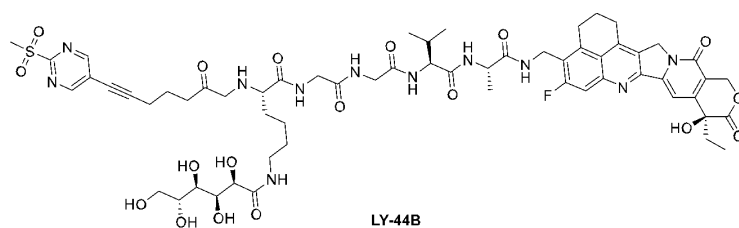
5



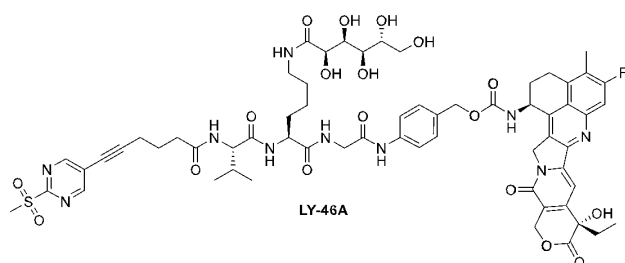


5

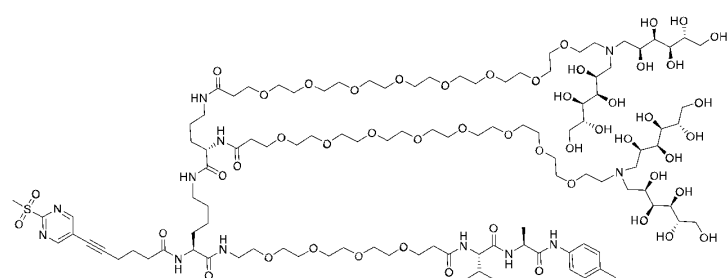




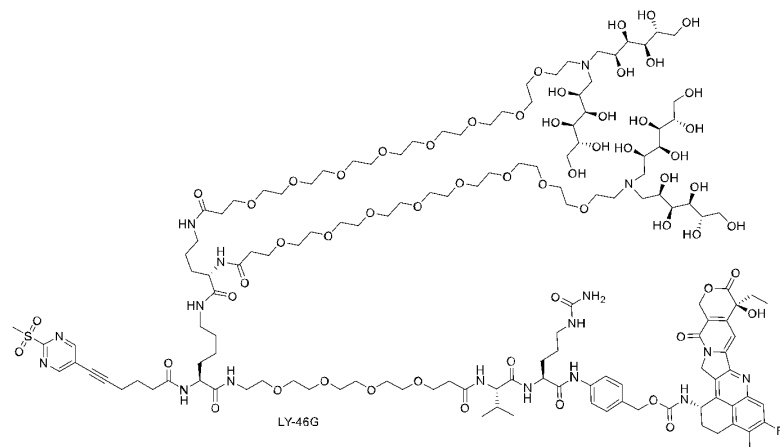
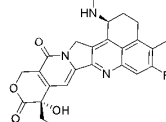
5



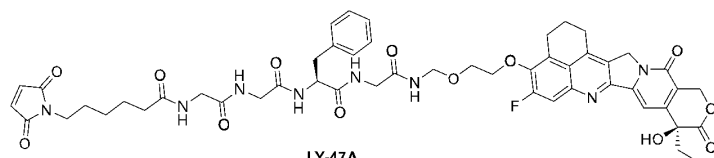




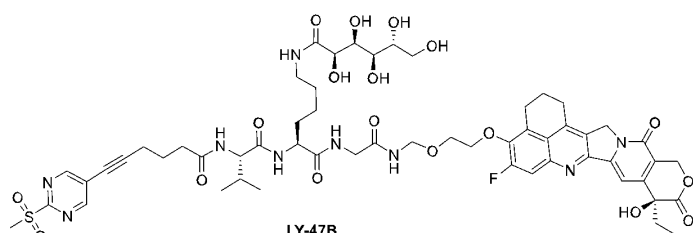
LY-46F



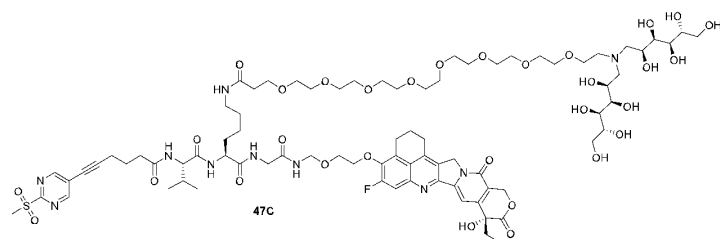
LY-46G



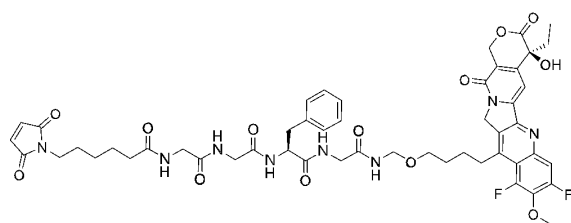
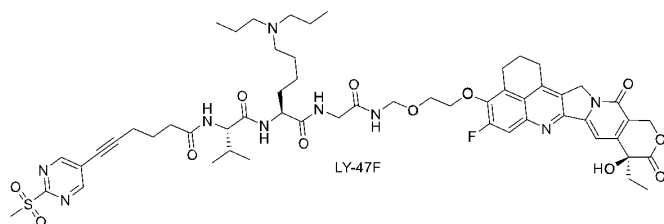
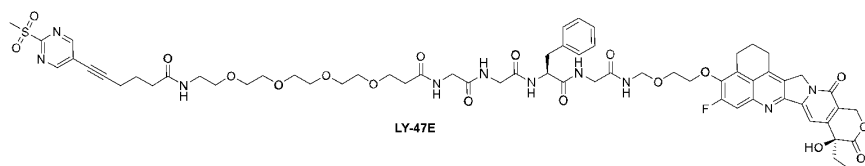
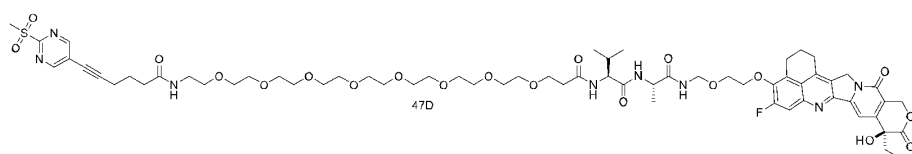
LY-47A



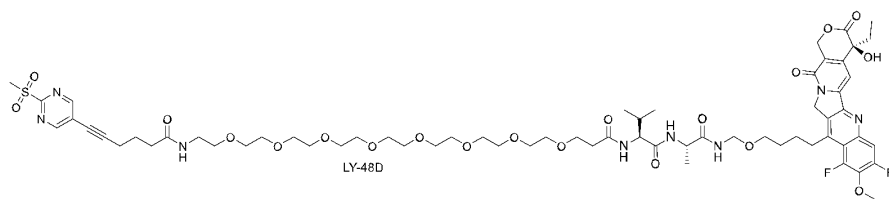
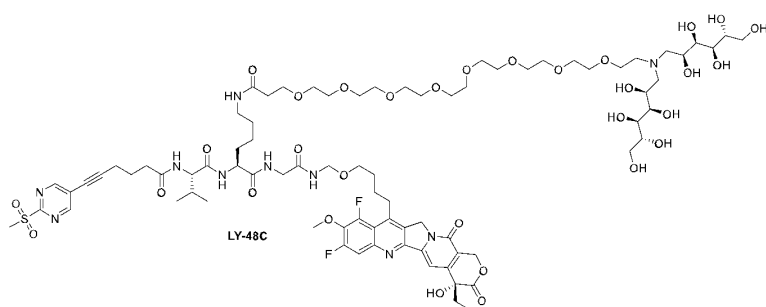
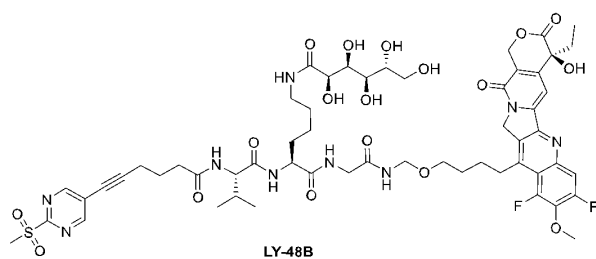
LY-47B

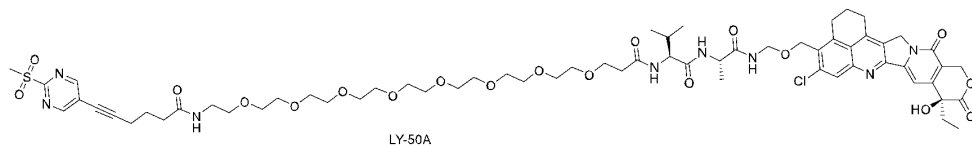
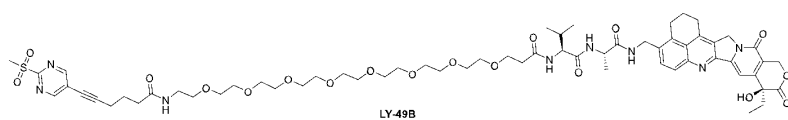
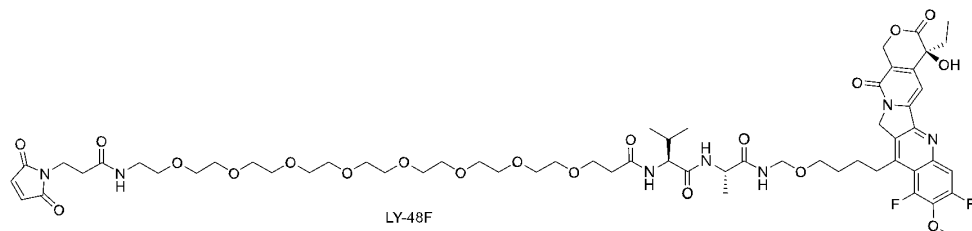
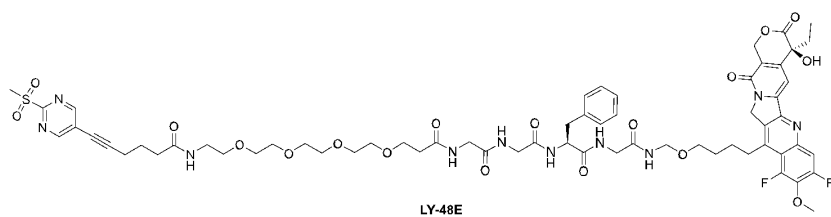


47C

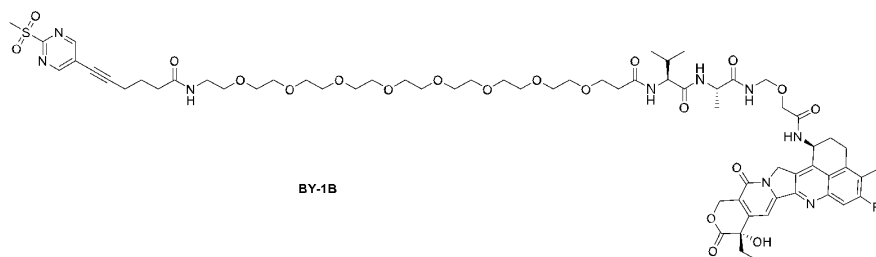
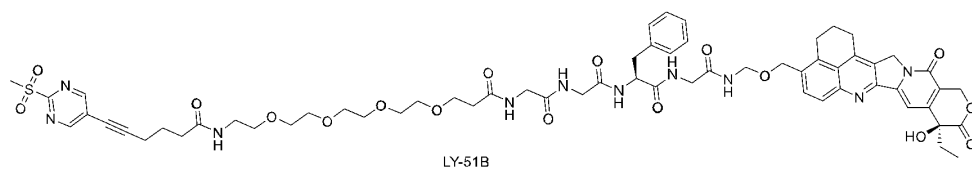
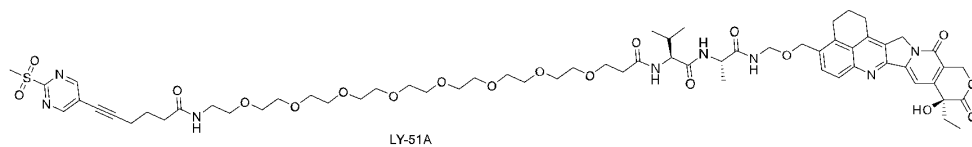
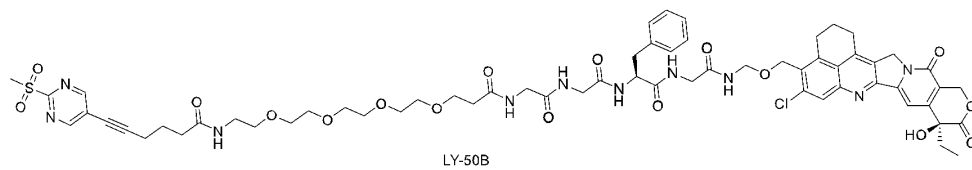


5

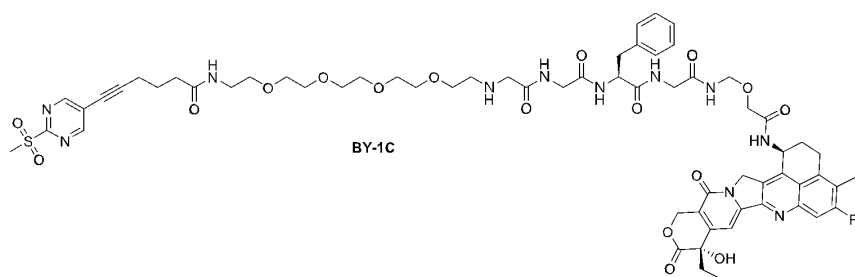




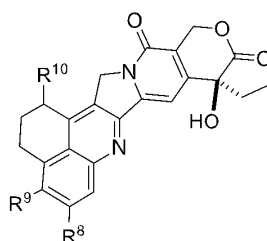
5







本发明另一方面提供一种通式 (I) 所示的化合物或其立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐，



(I)

其中，

$R^8$  选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基，所述烷基、烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自卤素的一个或多个基团取代；

$R^9$  选自氢、卤素、羟基、羧基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基、环烷基、  
 $-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、  
 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)-NR^dR^e$ 、  
 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、  
 $-NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-O-(CH_2)_m-OH$ 、 $-O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-OH$ 、  
 $-NR^bC(=O)O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-OH$ 、  
 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、  
 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、  
 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-G-(CH_2)_n-OH$ ，所述烷基、烷氧基、  
 烯基、炔基、环烷基任选进一步被选自氘、卤素、氨基、烷基、羟基的一个  
 或多个基团取代；上述 $-(CH_2)_m$ -任选被一个或多个氘或卤素取代；

$G$  选自亚环烷基、亚杂环基、亚杂芳基、亚芳基；

$R^{10}$  选自氢、卤素、羟基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基、 $CH_2=$ 、 $-NR^dR^e$ 、  
 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、  
 $-(CH_2)_m-C(=O)OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、  
 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、 $-NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、  
 $-NR^fC(=O)R^d$ 、 $-NR^fC(=O)-(CH_2)_m-R^d$ 、 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-R^d$ 、 $-O-(CH_2)_m-OH$ 、

$-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^d\text{R}^e$ 、 $-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{OH}$ 、 $-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{NR}^d-(\text{CH}_2)_m-\text{OH}$ 、  
 $-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{NR}^d-(\text{CH}_2)_m-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ 、 $-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ 、  
 $-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{NR}^d-(\text{CH}_2)_m-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^d\text{R}^e$ 、 $-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^d\text{R}^e$ 、  
 $-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{NR}^d-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^d\text{R}^e$ 、 $-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^d\text{R}^e$ 、  
5  $-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^d\text{R}^e$ 、  
 $-(\text{CH}_2)_m-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^f-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^d\text{R}^e$ 、 $-(\text{CH}_2)_m-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^f-(\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ 、  
 $-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^d\text{R}^e$ 、 $-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ ，所述烷基、烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自卤素的一个或多个基团取代；

$\text{R}^d$  和  $\text{R}^e$  各自独立地选自氢、 $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基；

10  $\text{R}^f$  选自氢、 $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^e$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{R}^e$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^e$ ，所述  $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基任选进一步被  $\text{C}_3\text{-C}_6$  环烷基所取代；其中  $\text{R}^e$  选自氢、羟基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基；

$m$  为 1 至 6 的整数；

$n$  为 1 至 6 的整数。

在一个优选的实施方案中，根据本发明所述的通式 (I) 所示的化合物或其立  
 15 体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐，其中， $\text{R}^8$  为卤素，优选氟或氯。

在另一个优选的实施方案中，根据本发明所述的通式 (I) 所示的化合物或其  
 立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、  
 或其混合物形式、或其可药用盐，其中， $\text{R}^9$  选自羟基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷氧基、  
 20  $\text{C}_3\text{-C}_6$  环烷基、 $-\text{NR}^d\text{R}^e$ 、 $-(\text{CH}_2)_m-\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^d\text{R}^e$ 、  
 $-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^b\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^f-(\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ 、  
 $-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ 、 $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^d\text{R}^e$ 、 $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{OH}$ 、  
 $-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})-\text{G}-(\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ ；上述  $-(\text{CH}_2)_m$ - 任选被一个或多个氘或卤素取代；

$\text{G}$  选自亚环烷基、亚杂环基、亚杂芳基、亚芳基；

25  $\text{R}^d$  和  $\text{R}^e$  各自独立地选自氢、 $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基，优选氢；

$\text{R}^f$  选自氢、 $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基，优选氢；

$m$  为 1 至 6 的整数，优选 1 至 4 的整数；

$n$  为 1 至 6 的整数，优选 1 或 2。

在另一个优选的实施方案中，根据本发明所述的通式 (I) 所示的化合物或其  
 30 立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐，其中， $\text{R}^{10}$  选自氢、羟基、氨基、 $-(\text{CH}_2)_m-\text{OH}$ 、  
 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^f-(\text{CH}_2)_m-\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^f-(\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ 、  
 $-\text{NR}^f-(\text{CH}_2)_m-\text{OH}$ 、 $-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{OH}$ 、 $-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{NR}^d-(\text{CH}_2)_m-\text{OH}$ 、  
 $-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{NR}^d-(\text{CH}_2)_m-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ 、 $-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ 、  
 35  $-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{NR}^d-(\text{CH}_2)_m-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^d\text{R}^e$ 、 $-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^d\text{R}^e$ 、  
 $-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{NR}^d-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^d\text{R}^e$ 、 $-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^d\text{R}^e$ ；

$R^d$  和  $R^e$  各自独立地选自氢、 $C_1$ - $C_6$  烷基, 优选氢;

$R^f$  选自氢、 $C_1$ - $C_6$  烷基、 $-C(O)R^e$ 、 $-S(O)R^e$ 、 $-S(O)_2R^e$ , 其中  $R^e$  选自氢、羟基、 $C_1$ - $C_6$  烷基;

$m$  为 1 至 6 的整数, 优选 1 至 4 的整数, 还优选 1 或 2;

5  $n$  为 1 至 6 的整数, 优选 1 或 2。

在另一个优选的实施方案中, 根据本发明所述的通式 (I) 所示的化合物或其立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐, 其中,  $R^9$  选自氢、 $C_1$ - $C_6$  烷基、 $C_1$ - $C_6$  烷氧基、羟基、羧基、 $-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-OH$ 、  
10  $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-OH$ 、 $-O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-O-(CH_2)_m-OH$ ;

$R^d$  和  $R^e$  各自独立地选自氢、 $C_1$ - $C_6$  烷基;

$R^f$  选自氢、 $C_1$ - $C_6$  烷基;

$m$  为 1 至 6 的整数;

15  $n$  为 1 至 4 的整数, 优选 1 或 2。

在另一个优选的实施方案中, 根据本发明所述的通式 (I) 所示的化合物或其立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐, 其中,  $R^{10}$  选自氢、羟基、氨基、 $CH_2=$ 、 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、  
20  $-NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、 $-NR^f-C(=O)R^d$ 、 $-NR^f-C(=O)-(CH_2)_m-R^d$ 、 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-R^d$ 、 $-NR^fC(=O)-(CH_2)_m-OH$ 、 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-OH$ ;

$R^d$  和  $R^e$  各自独立地选自氢、 $C_1$ - $C_6$  烷基;

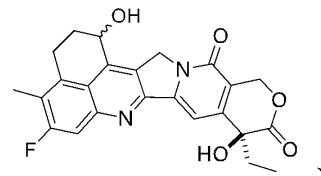
$R^f$  选自氢、 $C_1$ - $C_6$  烷基、 $-C(O)R^e$ 、 $-S(O)R^e$ 、 $-S(O)_2R^e$ , 所述  $C_1$ - $C_6$  烷基任选进一步被  $C_3$ - $C_6$  环烷基所取代; 其中  $R^e$  选自氢、羟基、 $C_1$ - $C_6$  烷基;

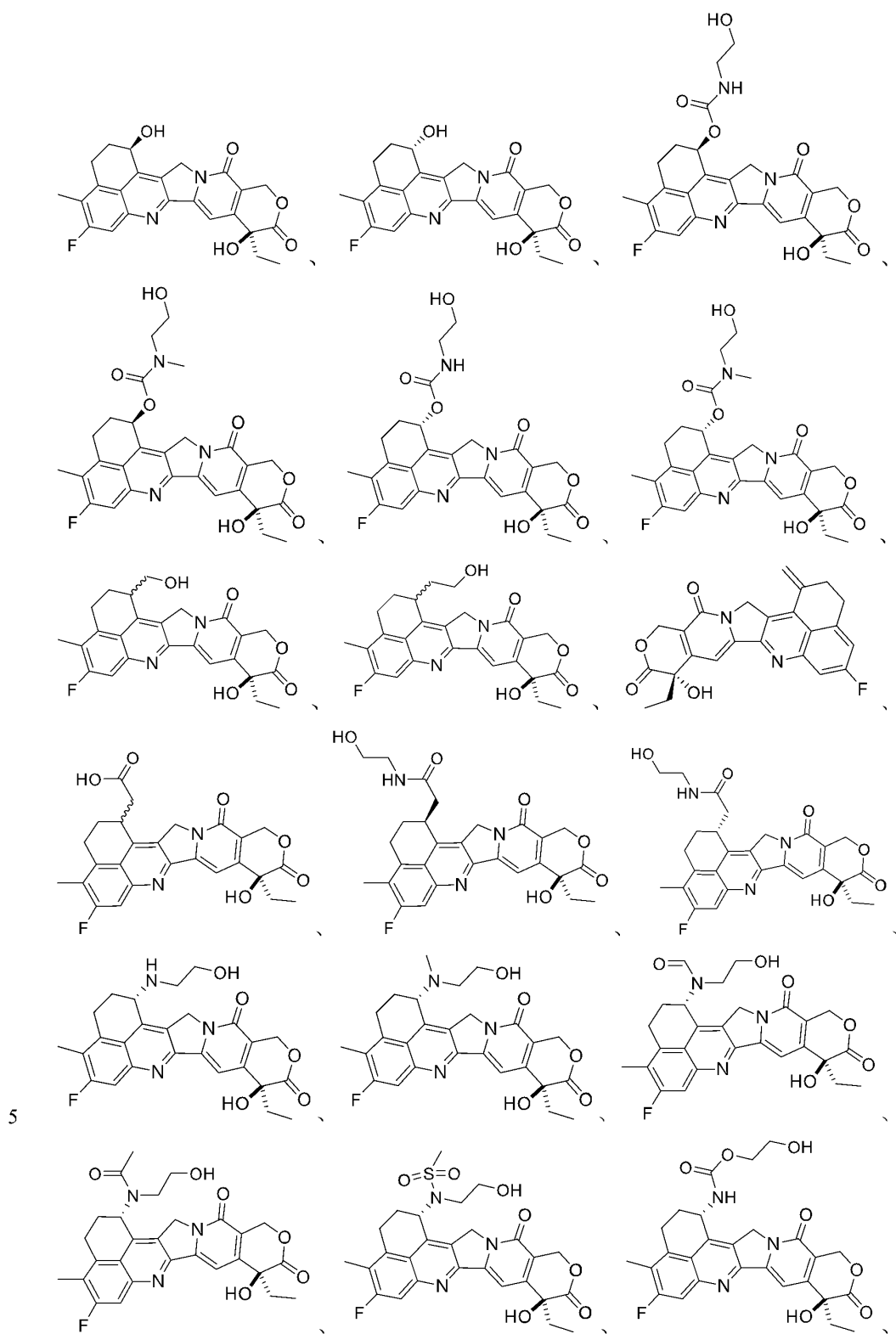
25  $m$  为 1 至 6 的整数; 优选 1 至 4 或 4 至 6 的整数;

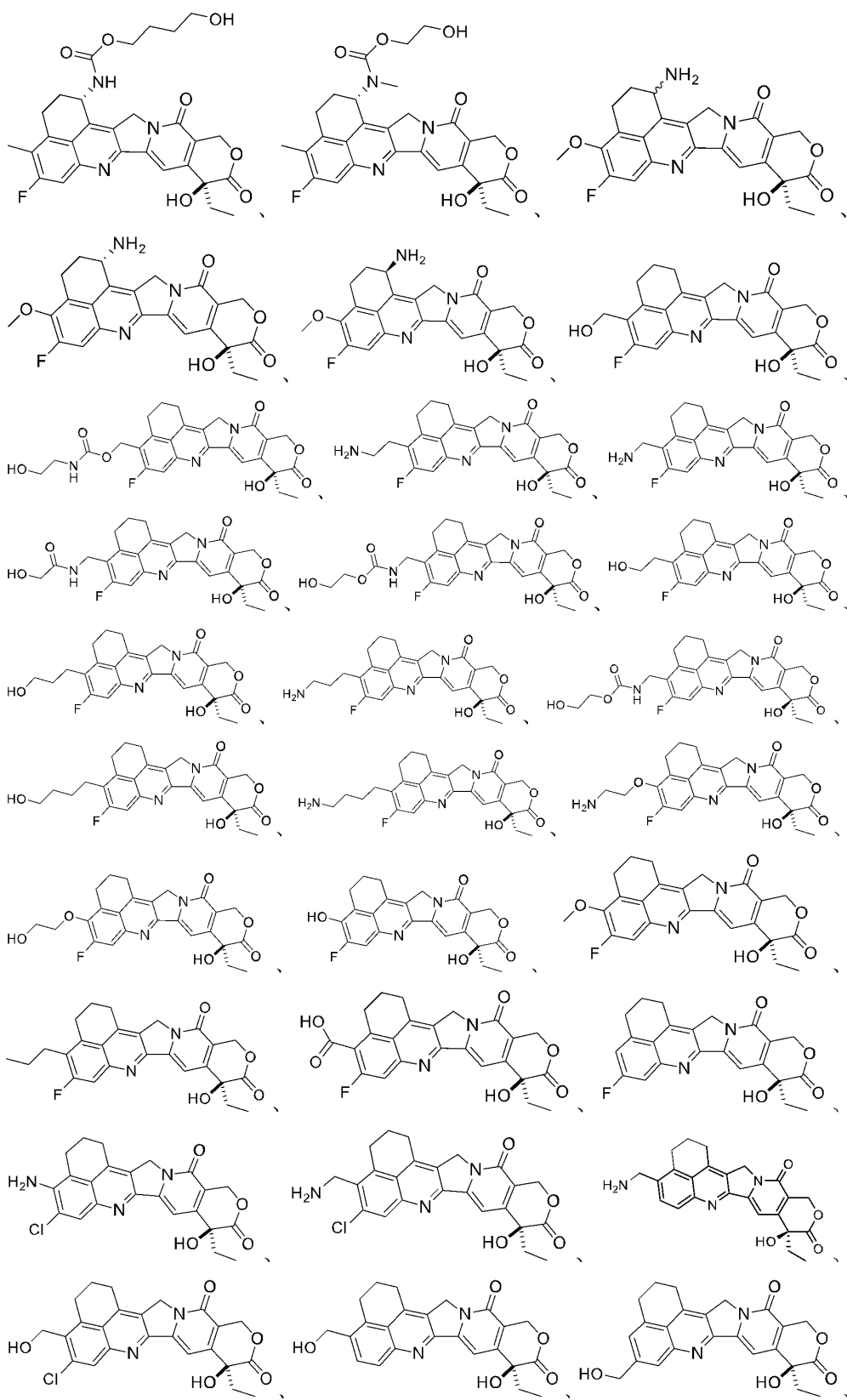
$n$  为 1 至 4 的整数, 优选 1 或 2。

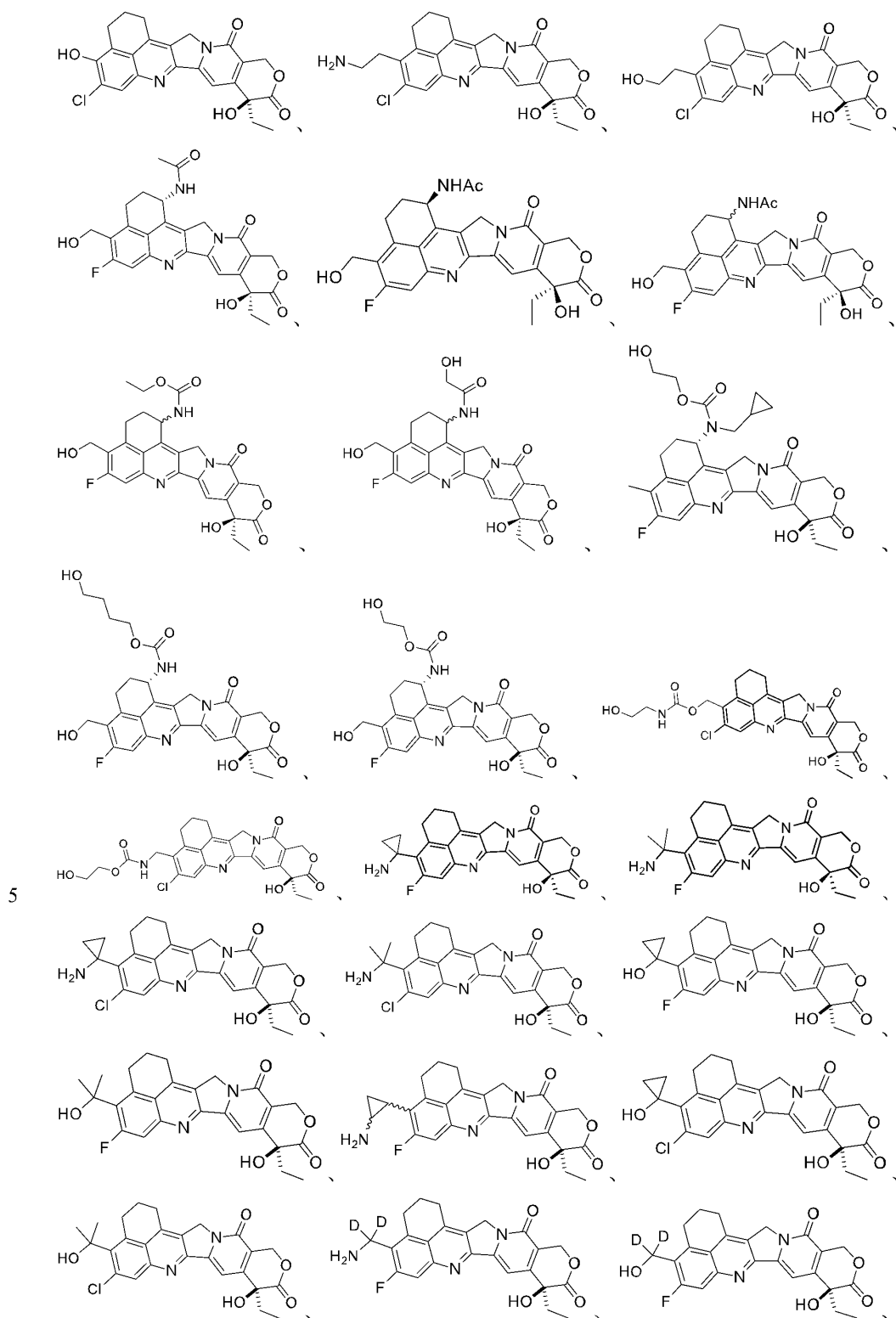
在另一个优选的实施方案中, 根据本发明所述的通式 (I) 所示的化合物或其立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其

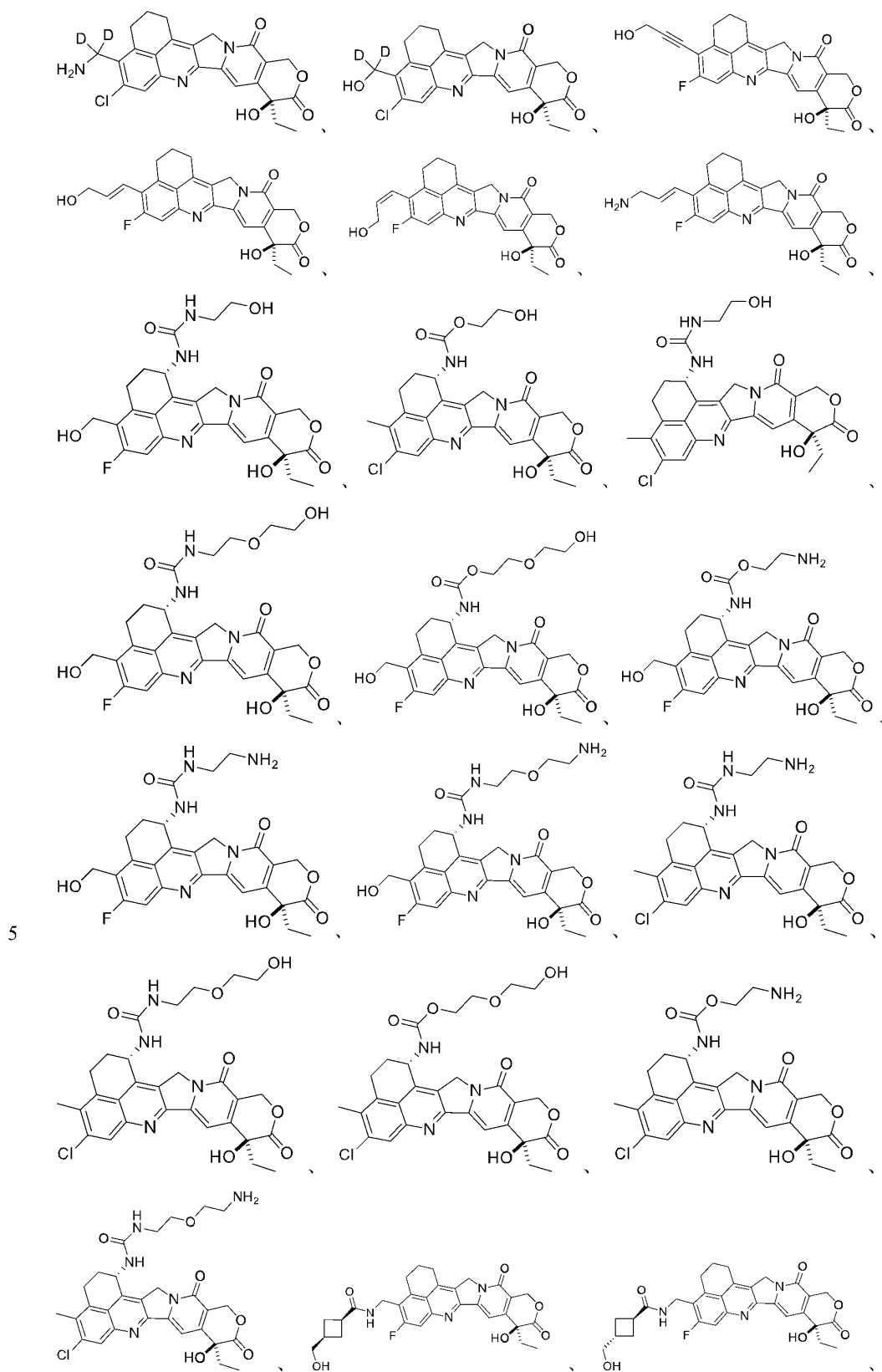
混合物形式、或其可药用盐, 其选自:

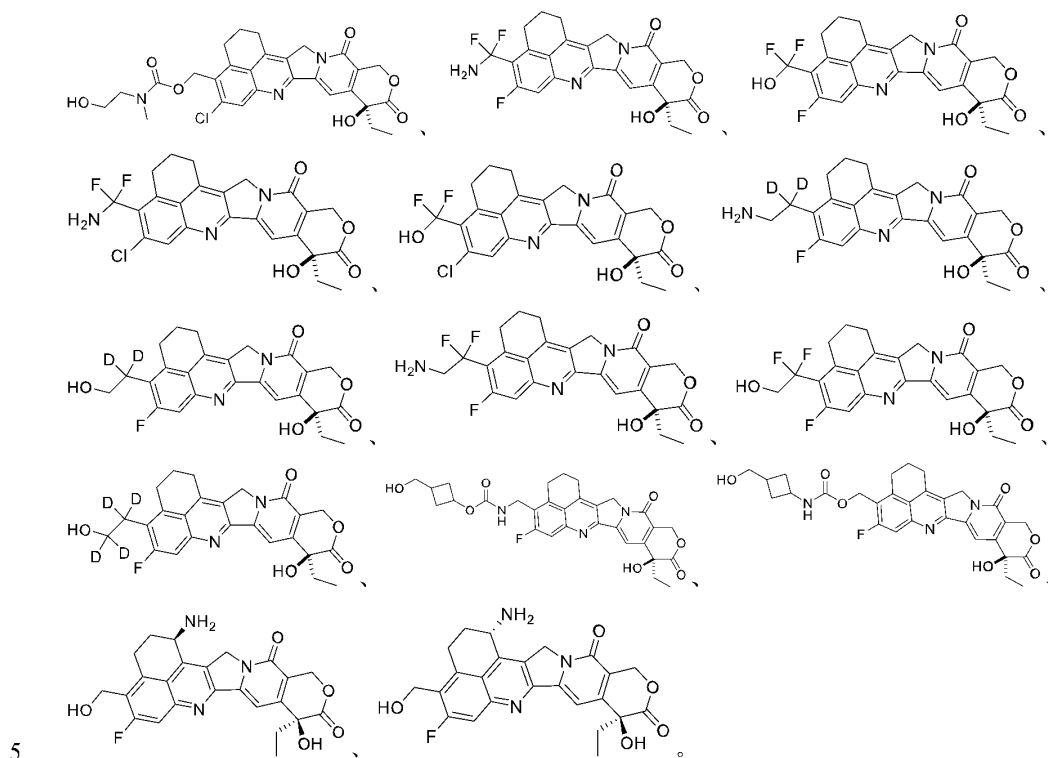




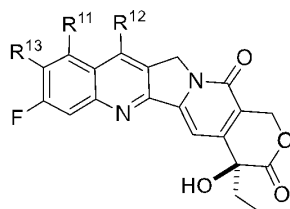








本发明另一方面提供一种通式 (II) 所示的化合物或其立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐，



(II)

其中，

$R^{11}$  选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基，所述烷基、烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自卤素的一个或多个基团取代；

$R^{12}$  选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基、 $-NR^dR^e$ 、  
 15  $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、  
 $-(CH_2)_m-C(=O)OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、  
 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、 $-NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、  
 $-O-(CH_2)_m-OH$ 、 $-O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-OH$ 、  
 $-NR^bC(=O)O-(CH_2)_m-NR^a*$ 、 $-(CH_2)_m-NR^bC(=O)O-(CH_2)_n-O*$ 、  
 20  $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、



$-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$  、  $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-NR^dR^e$  、  
 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-OH$ ，所述烷基、烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自  
 卤素的一个或多个基团取代；

$R^{13}$  选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基、 $-NR^dR^e$ 、  
 5  $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、  
 $-(CH_2)_m-C(=O)OH$  、  $-(CH_2)_m-C(=O)-NR^dR^e$  、  $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$  、  
 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$  、  $-NR^f-(CH_2)_m-OH$  、  $-NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$  、  
 $-O-(CH_2)_m-OH$  、  $-O-(CH_2)_m-NR^dR^e$  、  $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-OH$  、  
 $-NR^bC(=O)O-(CH_2)_m-NR^a-$  \* 、  $-(CH_2)_m-NR^bC(=O)O-(CH_2)_n-O-$  \* 、  
 10  $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-NR^dR^e$  、  $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$  、  
 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$  、  $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-NR^dR^e$  、  
 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-OH$ ，所述烷基、烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自  
 卤素的一个或多个基团取代；

$R^d$  和  $R^e$  各自独立地选自氢、 $C_1-C_6$  烷基；

15  $R^f$  选自氢、 $C_1-C_6$  烷基、 $-C(O)R^e$ 、 $-S(O)R^e$ 、 $-S(O)_2R^e$ ，其中  $R^e$  选自氢、羟基、  
 $C_1-C_6$  烷基；

$m$  为 1 至 6 的整数；

$n$  为 1 至 6 的整数。

在一个优选的实施方案中，根据本发明所述的通式 (II) 所示的化合物或其立  
 20 体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或  
 其混合物形式、或其可药用盐，其中， $R^{11}$  选自卤素优选氟或氰基。

在另一个优选的实施方案中，根据本发明所述的通式 (II) 所示的化合物或其  
 立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、  
 或其混合物形式、或其可药用盐，其中， $R^{12}$  选自羟基、氨基、 $C_1-C_6$  烷基、 $-(CH_2)_m-OH$ 、  
 25  $-(CH_2)_m-NR^dR^e$ ；

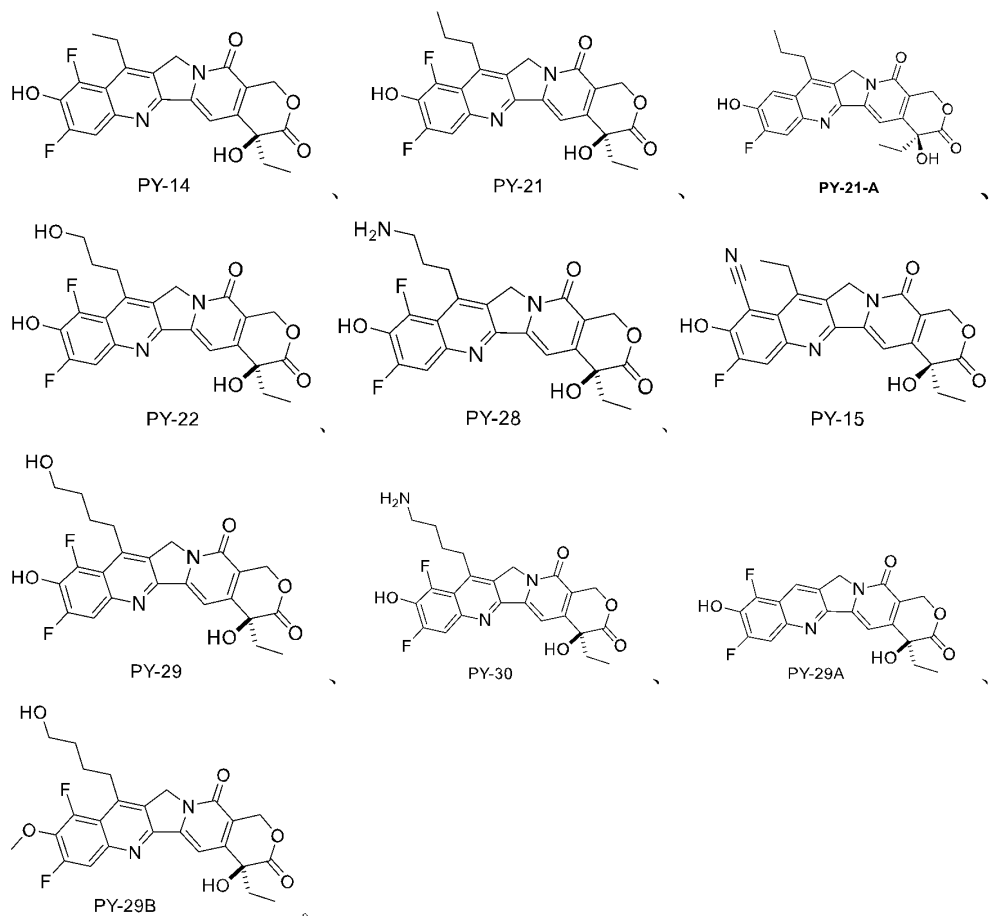
$R^d$  和  $R^e$  各自独立地选自氢、 $C_1-C_6$  烷基；

$m$  为 1 至 6 的整数，优选 1 至 4 的整数。

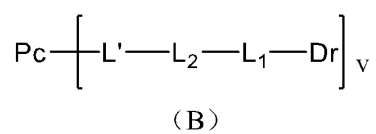
在另一个优选的实施方案中，根据本发明所述的通式 (II) 所示的化合物或其  
 立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、  
 30 或其混合物形式、或其可药用盐，其中， $R^{13}$  选自羟基、氨基。

在另一个优选的实施方案中，根据本发明所述的通式 (II) 所示的化合物或其  
 立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、  
 或其混合物形式、或其可药用盐，其中， $R^{13}$  选自羟基、 $C_1-C_6$  烷氧基。

在另一个优选的实施方案中，根据本发明所述的通式 (II) 所示的化合物或其  
 35 立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、  
 或其混合物形式、或其可药用盐，其选自：

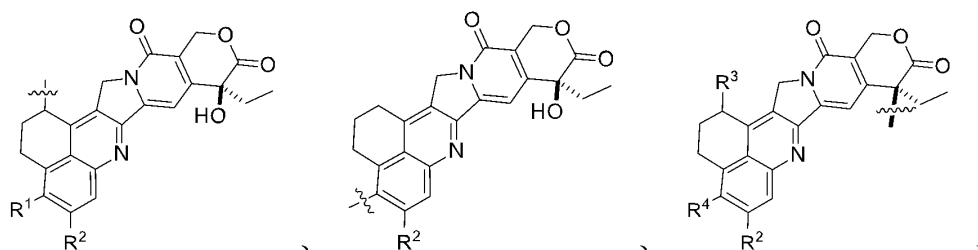


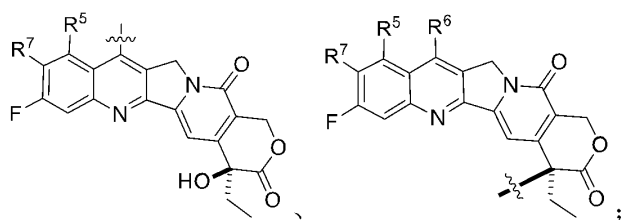
5 本发明另一方面提供一种通式 (B) 所示的配体药物偶联物或其药学上可接受的盐,



其中:

10 Dr 选自以下结构:





$R^1$  选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基、环烷基、  
 $-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、  
 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)-NR^dR^e$ 、  
 5  $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、  
 $-NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-O-(CH_2)_m-OH$ 、 $-O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-OH$ 、  
 $-NR^bC(=O)O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-OH$ 、  
 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、  
 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、  
 10  $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-G-(CH_2)_n-OH$ ，所述烷基、烷氧基、  
 烯基、炔基、环烷基任选进一步被选自卤素、氘、氨基、烷基、羟基的一个  
 或多个基团取代；上述 $-(CH_2)_m$ -任选被一个或多个氘或卤素取代；G 选自亚环烷基、  
 亚杂环基、亚杂芳基、亚芳基；

$R^2$  选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基，所述烷  
 15 基、烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自卤素的一个或多个基团取代；

$R^3$  选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基、 $CH_2=$ 、  
 $-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、  
 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)-NR^dR^e$ 、  
 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、  
 20  $-NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-NR^f-C(=O)R^d$ 、 $-NR^f-C(=O)-(CH_2)_m-R^d$ 、 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-R^d$ 、  
 $-O-(CH_2)_m-OH$ 、 $-O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-OH$ 、  
 $-NR^fC(=O)NR^d-(CH_2)_m-OH$ 、 $-NR^fC(=O)NR^d-(CH_2)_m-O-(CH_2)_n-OH$ 、  
 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-O-(CH_2)_n-OH$ 、 $-NR^fC(=O)NR^d-(CH_2)_m-O-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、  
 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-O-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-NR^fC(=O)NR^d-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、  
 25  $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-OH$ 、  
 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、  
 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、  
 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-OH$ ，所述烷基、烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自  
 30 卤素、氘、氨基、烷基、羟基的一个或多个基团取代；

$R^4$  选自氢、卤素、羟基、羧基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基、  
 环烷基、 $-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、  
 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)-NR^dR^e$ 、

$-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、  
 $-NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-O-(CH_2)_m-OH$ 、 $-O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-OH$ 、  
 $-NR^bC(=O)O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-OH$ 、  
 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、  
 5  $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、  
 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-G-(CH_2)_n-OH$ ，所述烷基、烷氧基、烯基、炔基、环烷基任选进一步被选自卤素、氘、氨基、烷基、羟基的一个或多个基团取代；上述 $-(CH_2)_m$ -任选被一个或多个氘或卤素取代；G选自亚环烷基、亚杂环基、亚杂芳基、亚芳基；

10  $R^5$  选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基，所述烷基、烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自卤素的一个或多个基团取代；

$R^6$  选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基，所述烷基、烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自卤素的一个或多个基团取代；

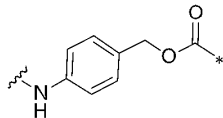
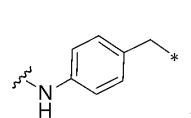
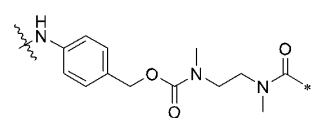
15  $R^7$  选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基，所述烷基、烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自卤素的一个或多个基团取代；

$R^d$  和  $R^e$  各自独立地选自氢和烷基；

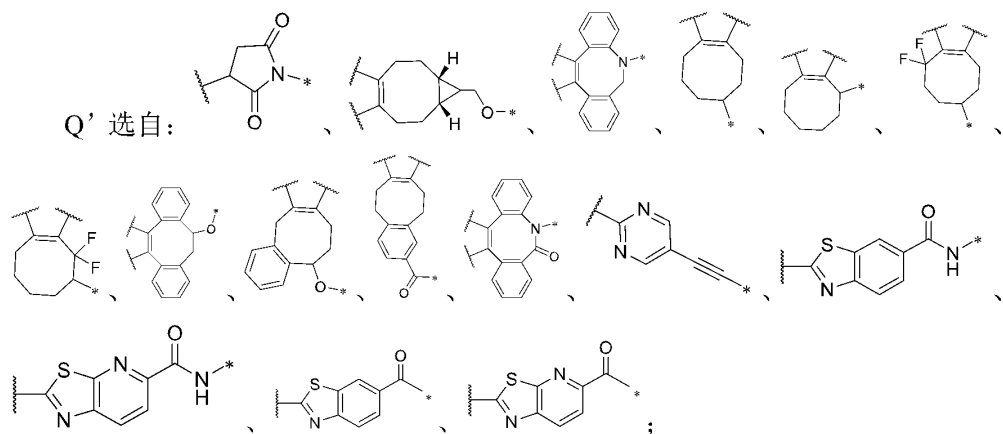
$R^f$  选自氢、烷基、 $-C(O)R^c$ 、 $-S(O)R^c$ 、 $-S(O)_2R^c$ ，所述  $C_1$ - $C_6$  烷基任选进一步被  $C_3$ - $C_6$  环烷基所取代；其中  $R^c$  选自氢、羟基、烷基；

$L_1$  选自键、 $-(CH_2)_m-^*$ 、 $-O-^*$ 、 $-NR^a-^*$ 、 $-(CH_2)_m-O-^*$ 、 $-(CH_2)_m-NR^a-^*$ 、  
 20  $-OC(=O)NR^b-(CH_2)_m-O-^*$ 、 $-OC(=O)NR^b-(CH_2)_m-NR^a-^*$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)O-^*$ 、  
 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^a-^*$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^b-(CH_2)_n-O-^*$ 、  
 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^b-(CH_2)_n-NR^a-^*$ 、 $-NR^b-(CH_2)_m-O-^*$ 、 $-NR^b-(CH_2)_m-NR^a-^*$ 、  
 $-O-(CH_2)_m-O-^*$ 、 $-O-(CH_2)_m-NR^a-^*$ 、 $-NR^bC(=O)O-(CH_2)_m-O-^*$ 、  
 $-NR^bC(=O)O-(CH_2)_m-NR^a-^*$ 、 $-(CH_2)_m-NR^bC(=O)O-(CH_2)_n-O-^*$ 、  
 25  $-(CH_2)_m-NR^bC(=O)O-(CH_2)_n-NR^a-^*$ 、 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^b-(CH_2)_n-NR^a-^*$ 、  
 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^b-(CH_2)_n-O-^*$ 、 $-(CH_2)_m-NR^bC(=O)-(CH_2)_n-NR^a-^*$ 、  
 $-(CH_2)_m-NR^bC(=O)-(CH_2)_n-O-^*$ ，其中\*为与  $L_2$  的连接位点；

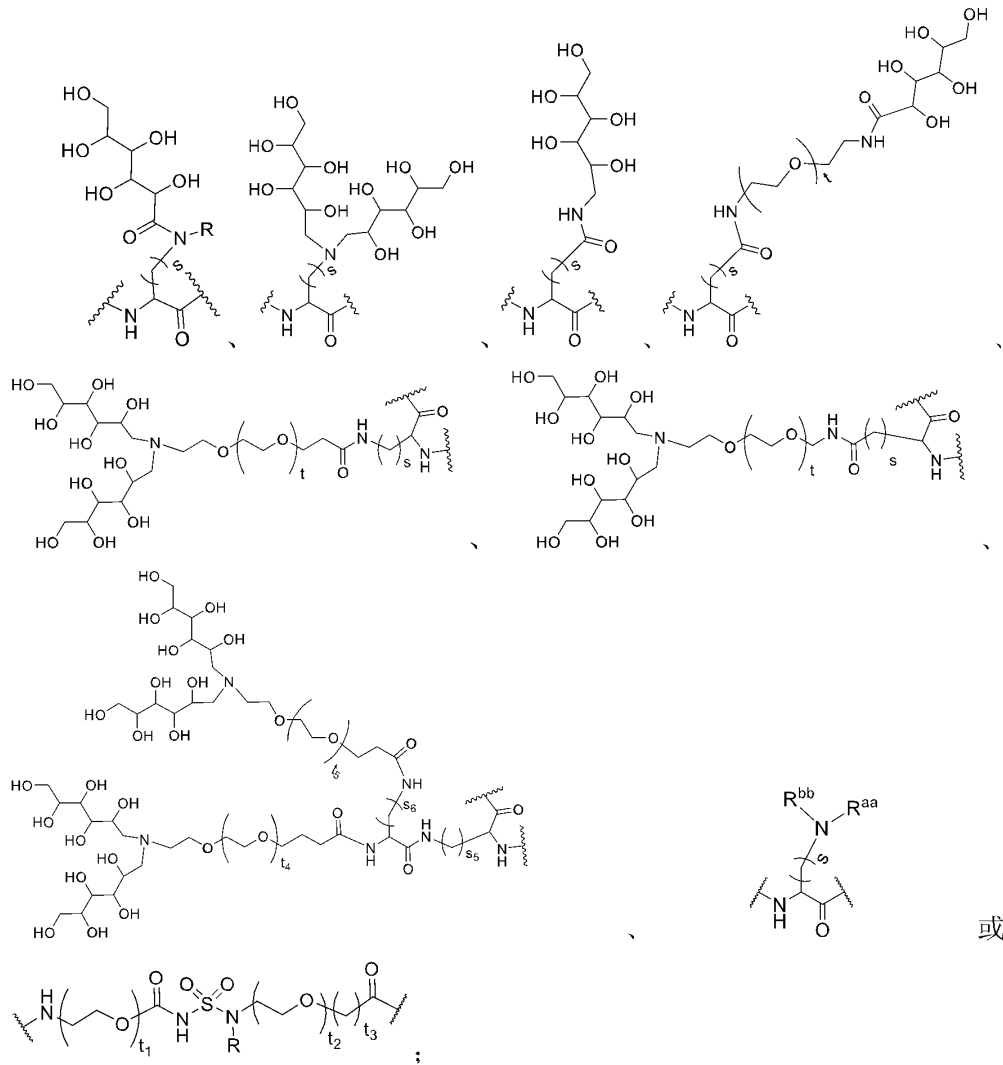
$R^a$  和  $R^b$  各自独立地选自氢、烷基、 $-C(O)R^c$ 、 $-S(O)R^c$ 、 $-S(O)_2R^c$ ，所述烷基任选进一步被环烷基所取代；其中  $R^c$  选自氢、羟基、烷基；

30  $L_2$  选自键、、、、  
，其中\*为与  $L_1$  的连接位点；

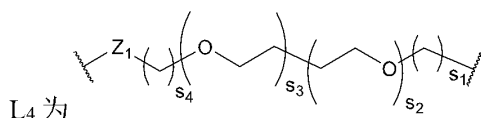
$L'$  为  $Q'-L_4-C(=O)-L_3$  或  $Q'-L_4-C(=O)-CH_2-L_3$ ；



5 L3 为由两个或多个氨基酸形成的氨基酸残基, 且 L3 任选包含选自以下的一个或多个结构, L6 选自以下的一个或多个结构:



其中 R、R<sup>aa</sup>、R<sup>bb</sup> 各自独立地选自氢和烷基；



Z<sub>1</sub> 选自键、-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-、-(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)<sub>q</sub>-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-C(O)NH-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-C(O)NH-、  
 -(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-C(O)-L<sub>6</sub>-NH-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-C(O)-L<sub>6</sub>-NH-、-C(O)NH-、-C(O)O-、-C(O)-、  
 5 -OC(O)-、-NH-、-O-和-OC(O)NH-；

m 为 1 至 6 的整数；

n 为 1 至 6 的整数；

s 为 1 至 6 的整数；

t 为 0 至 10 的整数；

10 s<sub>1</sub>、s<sub>2</sub>、s<sub>3</sub>、s<sub>4</sub> 各自独立地为 0 至 10 的整数；优选 0 至 8 的整数、0 至 6 的整数；还优选 0 至 4 的整数，进一步优选 0 至 2 的整数、1 至 2 的整数；

s<sub>5</sub>、s<sub>6</sub> 各自独立地为 1 至 6 的整数；

t<sub>1</sub> 为 1 至 6 的整数；

t<sub>2</sub> 为 0 至 6 的整数；

15 t<sub>3</sub> 为 1 至 6 的整数；

t<sub>4</sub> 为 0 至 10 的整数；

t<sub>5</sub> 为 0 至 10 的整数；

p 为 1 至 10 的整数；

q 为 1 至 10 的整数；

20 v 为 1 至 10，v 为小数或整数；

Pc 为抗体或其抗原结合片段，或者为修饰抗体；

所述修饰抗体具有 Pc'-((L<sub>5</sub>)<sub>w</sub>-F)<sub>x</sub> 结构，其中：

Pc' 为抗体；

L<sub>5</sub> 为连接子；

25 w 为 0 或 1；

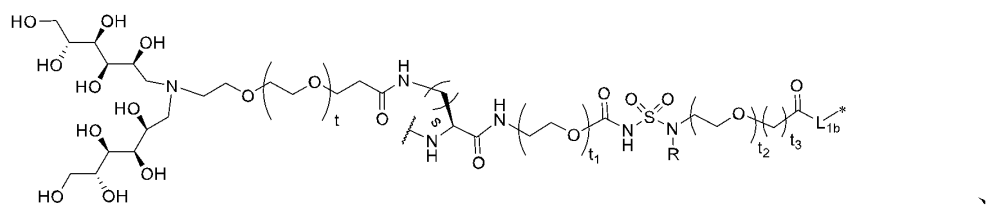
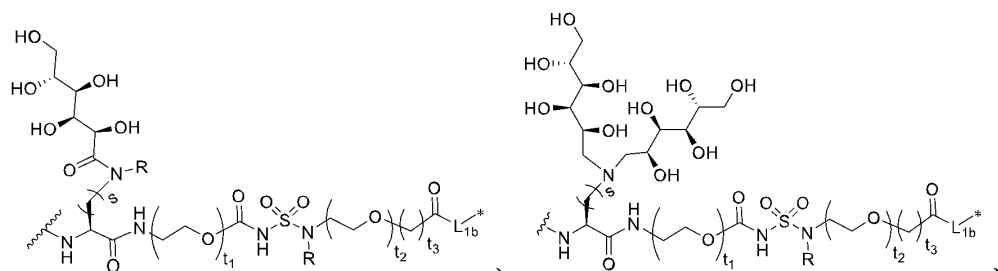
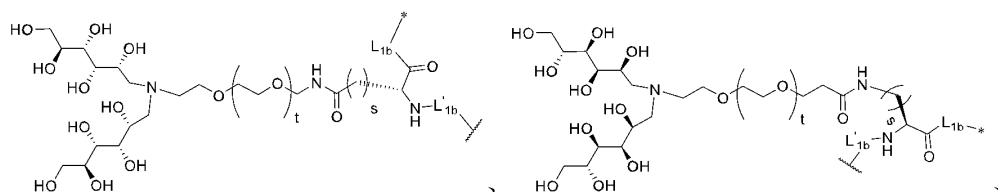
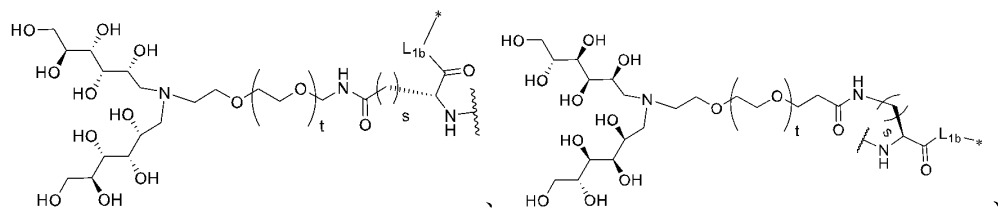
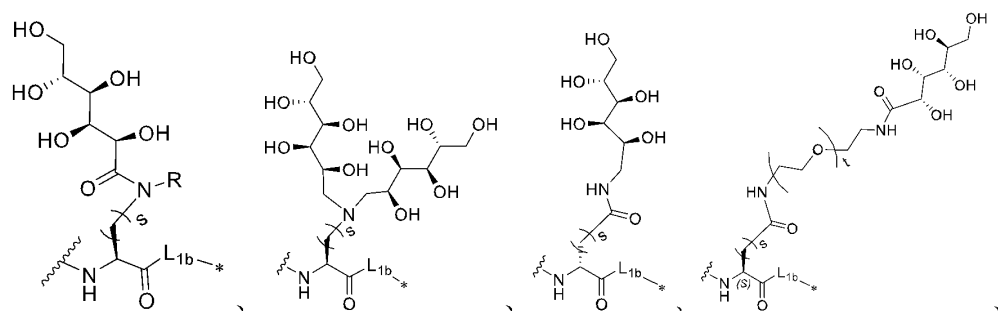
F 为经反应例如无金属点击反应后能够与 Q' 连接的点击探针或巯基或其前体，  
 优选地 F 为叠氮基；

x 为 1 至 8 的整数。

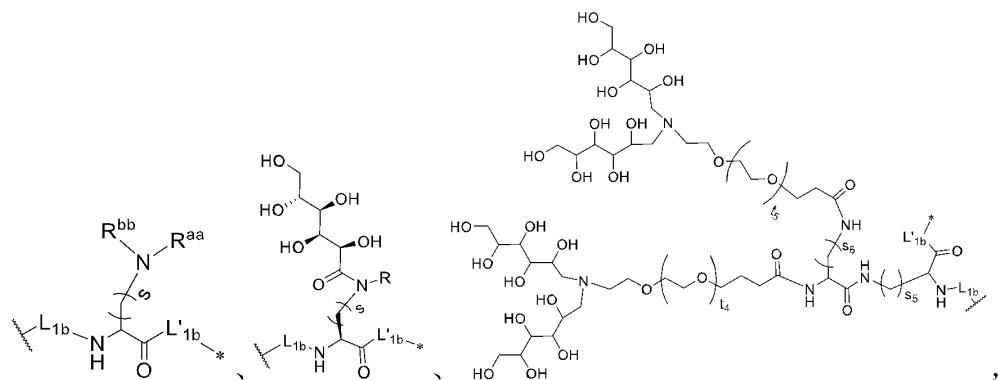
其中，Z<sub>1</sub> 与 Q' 连接。

30 在一个优选的实施方案中，根据本发明所述的通式 (B) 所示的配体药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中：

L<sub>3</sub> 选自：



5



R 选自氢和 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基, 优选氢;

R<sup>aa</sup>、R<sup>bb</sup> 各自独立地选自 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基;

s 为 1 至 6 的整数; 优选 2 至 6 的整数; 更优选 2 至 4 的整数;

s<sub>5</sub>、s<sub>6</sub> 各自独立地为 1 至 6 的整数; 优选 2 至 6 的整数; 更优选 2 至 4 的整数;

5 t 为 0 至 10 的整数; 优选 2 至 8 的整数; 更优选 3 至 7 的整数;

t<sub>1</sub> 为 1 至 6 的整数; 优选 1 至 4 的整数, 还优选 2 至 4 的整数, 还优选 1 或 2;

t<sub>2</sub> 为 0 至 6 的整数; 优选 1 至 4 的整数, 还优选 1 或 2;

t<sub>3</sub> 为 1 至 6 的整数; 优选 1 至 4 的整数, 更优选 1 或 2;

t<sub>4</sub> 为 0 至 10 的整数;

10 t<sub>5</sub> 为 0 至 10 的整数;

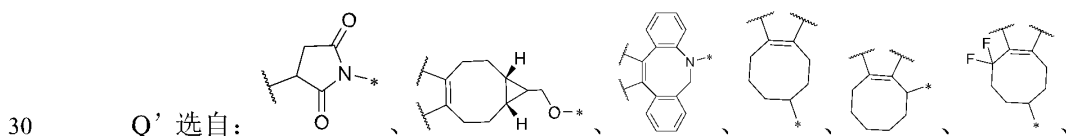
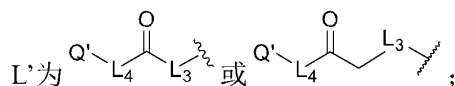
\* 为与 L<sub>2</sub> 连接的位置;

~ 为与羰基或亚甲基连接的位置;

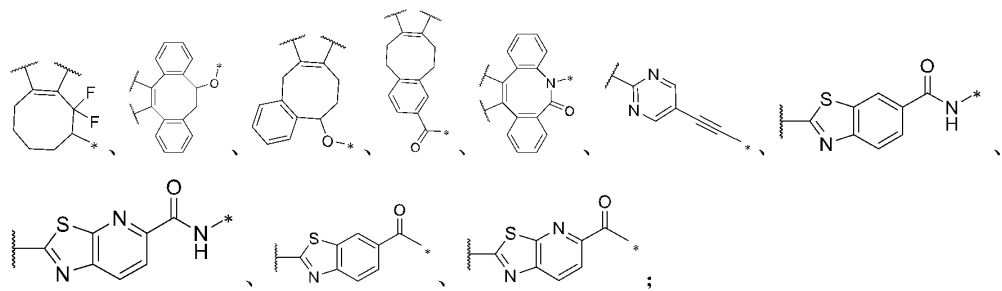
L<sub>1b</sub> 和 L'<sub>1b</sub> 各自独立地为由一个或多个选自甘氨酸、苯丙氨酸、瓜氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、丙氨酸、缬氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、精氨酸、谷氨酸、赖氨酸中的氨基酸形成的氨基酸残基, 优选为由两个或多个选自甘氨酸、苯丙氨酸、瓜氨酸、缬氨酸、赖氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、亮氨酸、丙氨酸的氨基酸形成的氨基酸残基;

优选地, L<sub>1b</sub> 和 L'<sub>1b</sub> 各自独立地选自: -Gly-\*, -Val-\*, -Gly-Phe-Gly-\*, -Phe-Gly-\*, -Gly-Val-Cit-\*, -Val-Cit-\*, -Gly-Val-Arg-\*, -Val-Arg-\*, -Gly-Val-Ala-\*, -Val-Ala-\*, -Gly-Phe-\*, -Phe-Gly-\*, -Gly-Gly-Gly-\*, Gly-Gly-\*, -Gly-Val-Gly-\*, -Gly-Ala-Gly-\*, -Gly-Phe-Cit-\*, -Gly-Phe-Val-\*, -Gly-Phe-Ala-\*, -Gly-Phe-Lys-\*, -Phe-Lys-\*, -Gly-Val-\*, -Gly-Cit-\*, -Gly-Ala-\*, -Gly-Gly-Lys-\*, Gly-Lys'-\*, -Ala-Ala-Ala-\*, -Gln-Val-Ala-\*, -Gln-Val-Cit-\*, -Asp-Val-Ala-\*, -Asp-Val-Cit-\*, 优选 -Gly-Phe-Gly-\*, -Gly-Val-Cit-\*, -Val-Cit-\*, -Gly-Val-Ala-\*, -Val-Ala-\*, -Gly-Phe-Gly-\*, -Phe-Gly-\*, -Gly-Phe-Lys-\*, -Phe-Lys-\*, -Gln-Val-Ala-\*, -Gln-Val-Cit-\*, -Asp-Val-Ala-\*, -Asp-Val-Cit-; 其中\*为与 L<sub>2</sub> 连接的位置。

在一个优选的实施方案中, 根据本发明所述的通式 (B) 所示的配体药物偶联物或其药学上可接受的盐, 其中:

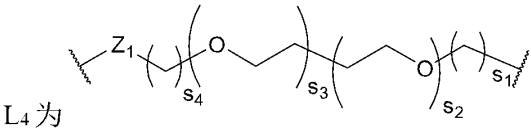






其中，\*为与 L<sub>4</sub> 连接的位置，~ 为与 Pc 连接的位置；

L<sub>3</sub> 为由两个或多个选自甘氨酸、苯丙氨酸、瓜氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、丙氨酸、缬氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、精氨酸、谷氨酸、赖氨酸中的氨基酸形成的氨基酸残基，优选为由两个或多个选自甘氨酸、苯丙氨酸、瓜氨酸、缬氨酸、赖氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、亮氨酸、丙氨酸的氨基酸形成的氨基酸残基；



Z<sub>1</sub> 选自键、-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-C(O)NH-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-C(O)NH-、  
-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-C(O)-L<sub>6</sub>-NH-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-C(O)-L<sub>6</sub>-NH-、-C(O)NH-、-C(O)O-、-C(O)-、  
-OC(O)-、-NH-、-O-和-OC(O)NH-；

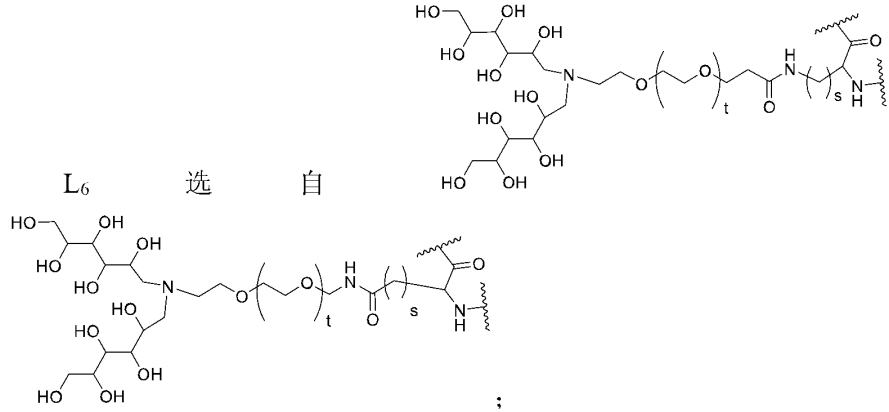
s<sub>1</sub> 为 1 至 6 的整数，优选 2 至 6 的整数；

s<sub>2</sub> 为 1 至 10 的整数，优选 2 至 10 的整数；

s<sub>3</sub> 为 0；

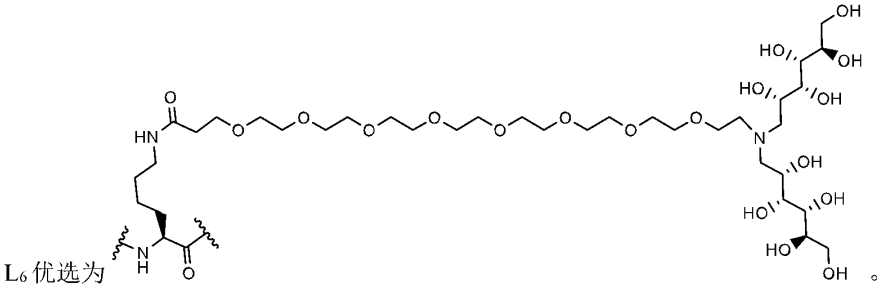
s<sub>4</sub> 为 0；

p 为 1 至 10 的整数，优选 1 至 6 的整数；更优选 2-4 的整数；最优选 2-3 的整数；

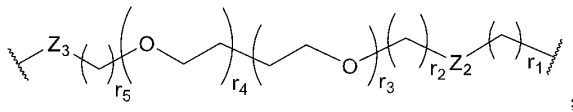


s 为 1 至 6 的整数；优选 2 至 6 的整数；更优选 2 至 4 的整数；

t 为 0 至 10 的整数；优选 2 至 8 的整数；更优选 3 至 7 的整数；



在一个具体的实施方案中, 根据本发明所述的通式 (B) 所示的配体药物偶联物或其药学上可接受的盐, 其中, L<sub>5</sub> 为



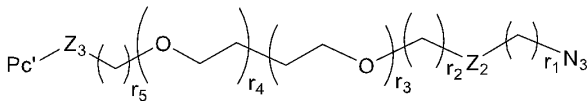
5        Z<sub>2</sub> 和 Z<sub>3</sub> 各自独立地选自 -C(O)NH-、-C(O)O-、-C(O)-、-OC(O)-、-NH-、-O- 和 -OC(O)NH-; 优选 -C(O)NH-;

- r<sub>1</sub> 为 1 至 8 的整数, 优选 1 至 6 的整数, 更优选 1 至 3 的整数;  
      r<sub>2</sub> 为 1 至 6 的整数, 优选 1 至 4 的整数, 更优选 1 至 2 的整数;  
      r<sub>3</sub> 为 0 至 6 的整数, 优选 0 至 4 的整数, 更优选 0 至 2 的整数;  
10      r<sub>4</sub> 为 0 至 6 的整数, 优选 0 至 4 的整数, 更优选 0 至 2 的整数;  
      r<sub>5</sub> 为 1 至 6 的整数, 优选 1 至 4 的整数, 更优选 1 至 2 的整数。

在另一个具体的实施方案中, 根据本发明所述的通式 (B) 所示的配体药物偶联物或其药学上可接受的盐, 其中当 w 为 0 时, F 为巯基; 当 w 为 1 时, F 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, 优选地 F 为叠氮基。

15        在另一个具体的实施方案中, 根据本发明所述的通式 (B) 所示的配体药物偶联物或其药学上可接受的盐, 其中:

      Pc 为修饰抗体, 所述修饰抗体具有结构,



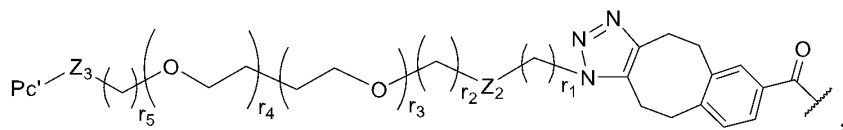
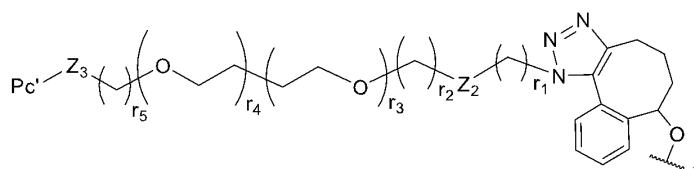
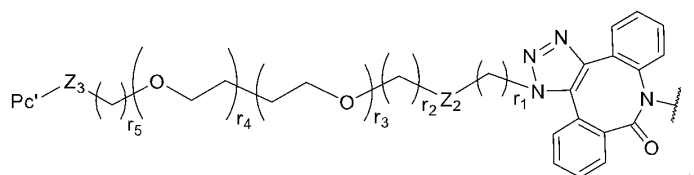
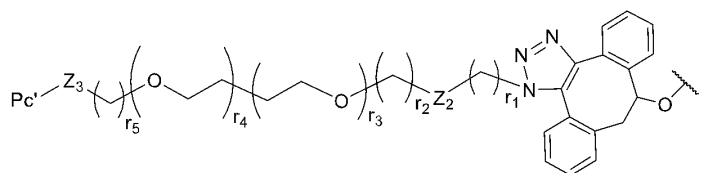
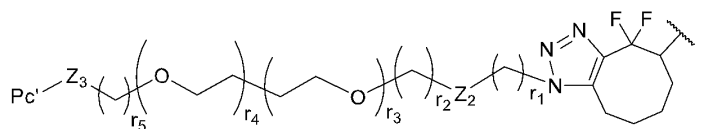
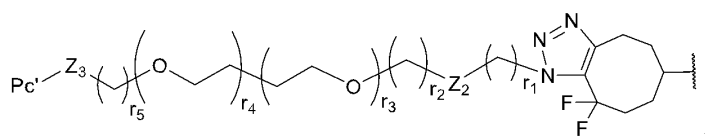
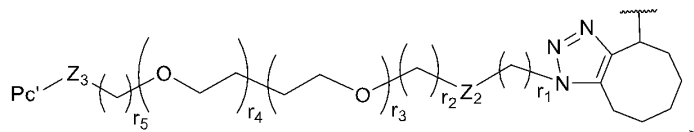
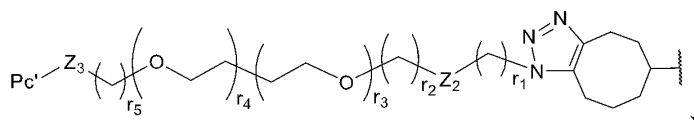
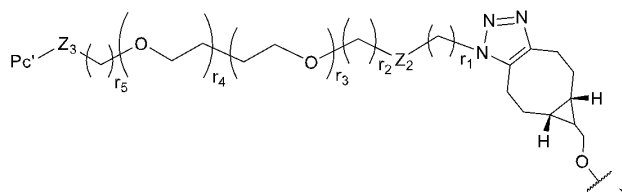
      其中:

20        Pc' 为抗体;

      Z<sub>2</sub> 和 Z<sub>3</sub> 各自独立地选自 -C(O)NH-、-C(O)O-、-C(O)-、-OC(O)-、-NH-、-O- 和 -OC(O)NH-; 优选 -C(O)NH-;

- r<sub>1</sub> 为 1 至 8 的整数, 优选 1 至 6 的整数, 更优选 1 至 3 的整数;  
      r<sub>2</sub> 为 1 至 6 的整数, 优选 1 至 4 的整数, 更优选 1 至 2 的整数;  
25      r<sub>3</sub> 为 0 至 6 的整数, 优选 0 至 4 的整数, 更优选 0 至 2 的整数;  
      r<sub>4</sub> 为 0 至 6 的整数, 优选 0 至 4 的整数, 更优选 0 至 2 的整数;  
      r<sub>5</sub> 为 1 至 6 的整数, 优选 1 至 4 的整数, 更优选 1 至 2 的整数。

在一个优选的实施方案中, 根据本发明所述的通式 (B) 所示的配体药物偶联物或其药学上可接受的盐, 其中:  $Pc$  为修饰抗体,  $Pc-Q'$  选自结构:



$Pc'$  为抗体;

$Z_2$  和  $Z_3$  各自独立地选自  $-C(O)NH-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-NH-$ 、 $-O-$

和-OC(O)NH-；优选-C(O)NH-；

$r_1$  为 1 至 8 的整数，优选 1 至 6 的整数，更优选 1 至 3 的整数；

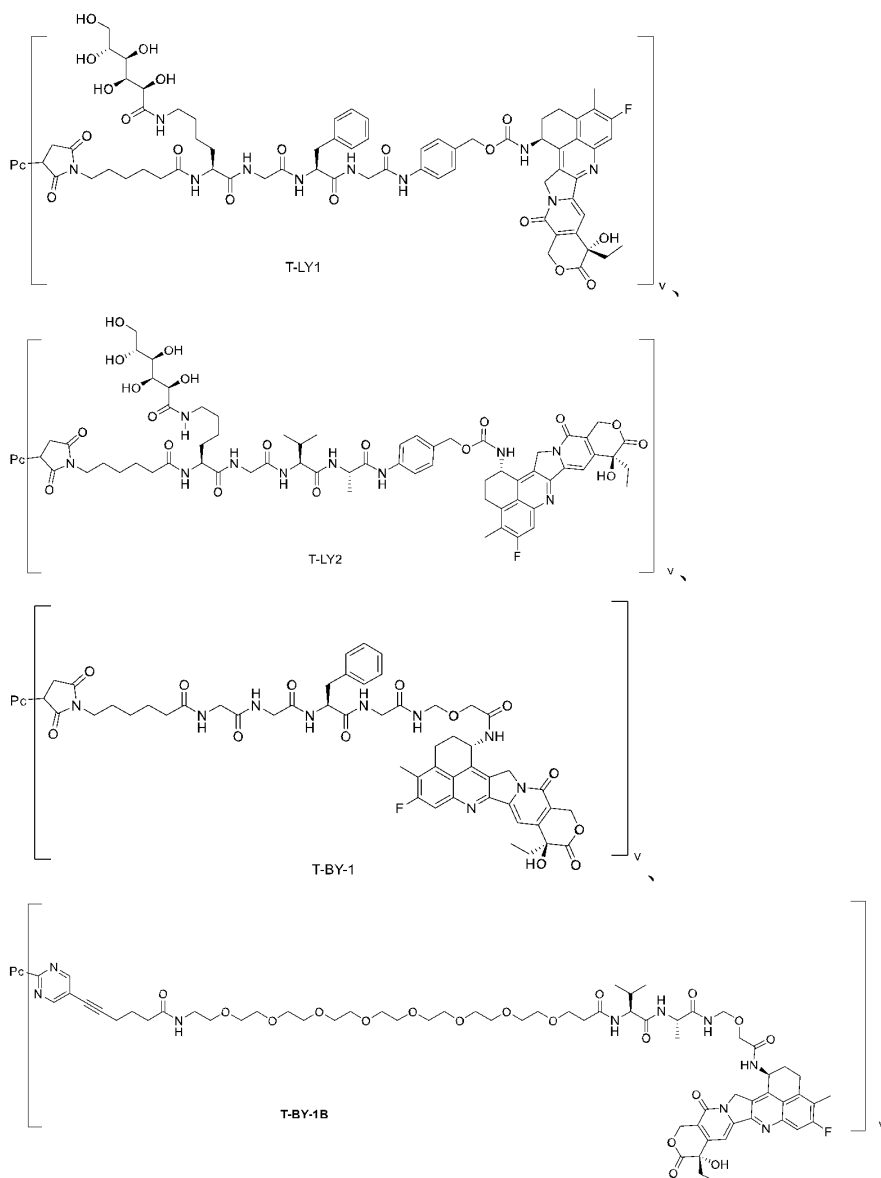
$r_2$  为 1 至 6 的整数，优选 1 至 4 的整数，更优选 1 至 2 的整数；

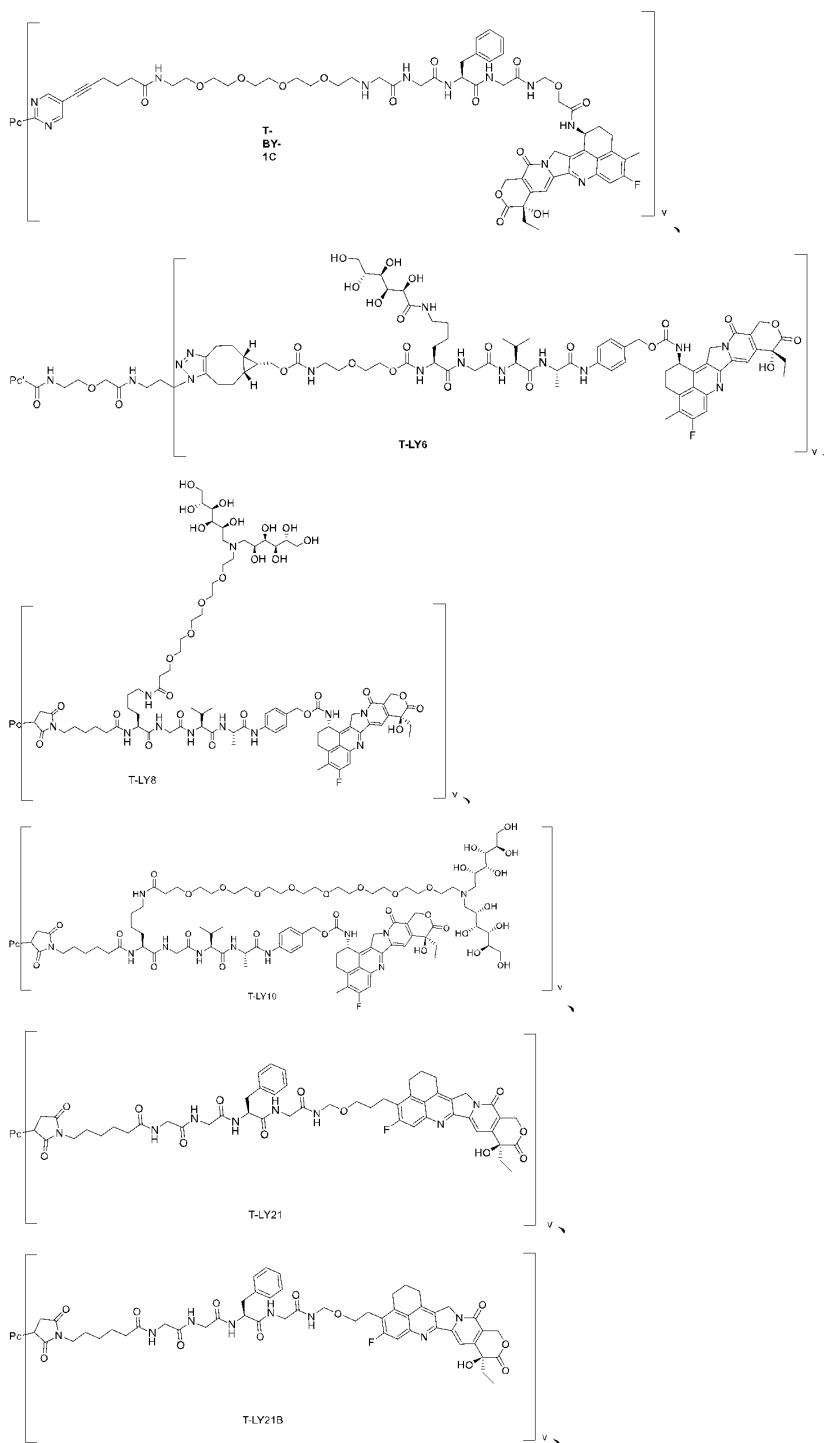
$r_3$  为 0 至 6 的整数，优选 0 至 4 的整数，更优选 0 至 2 的整数；

5  $r_4$  为 0 至 6 的整数，优选 0 至 4 的整数，更优选 0 至 2 的整数；

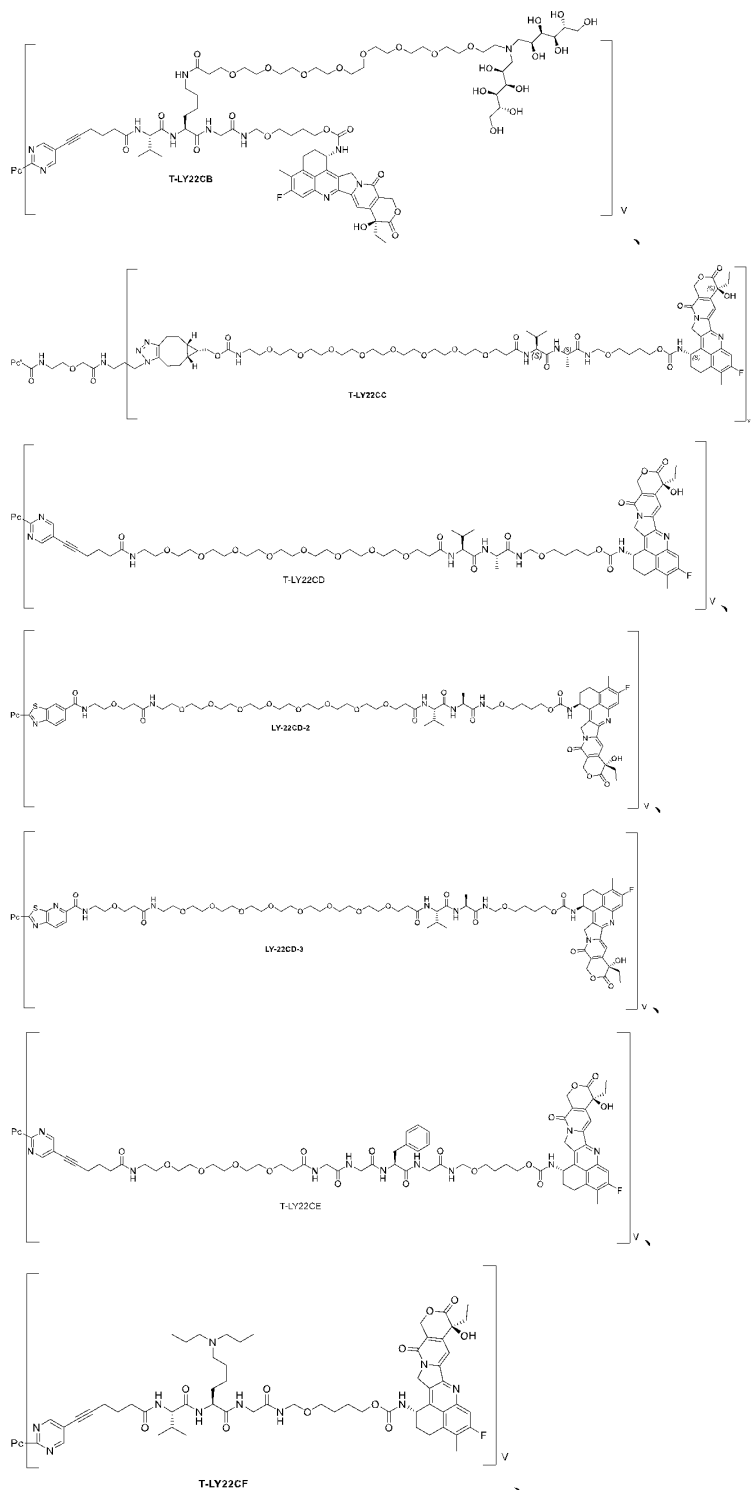
$r_5$  为 1 至 6 的整数，优选 1 至 4 的整数，更优选 1 至 2 的整数。

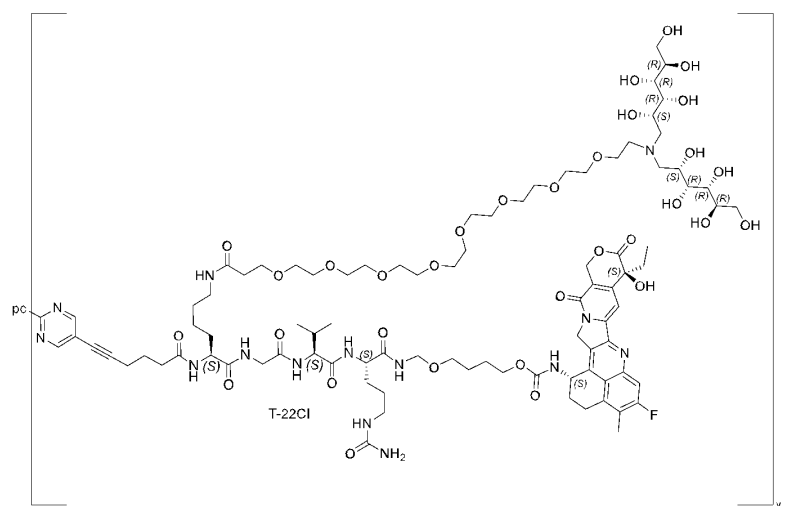
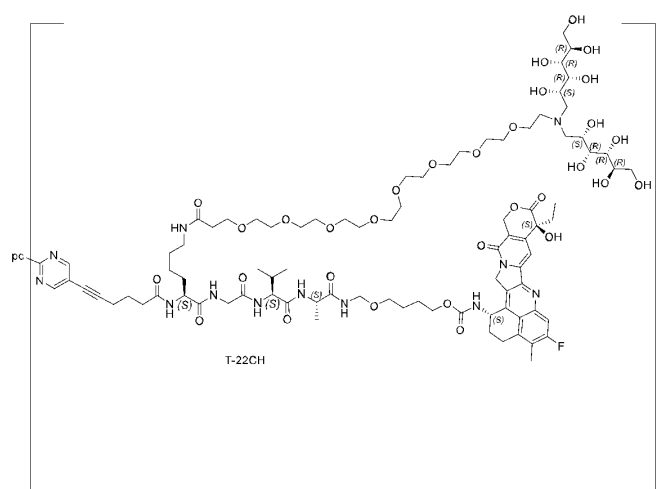
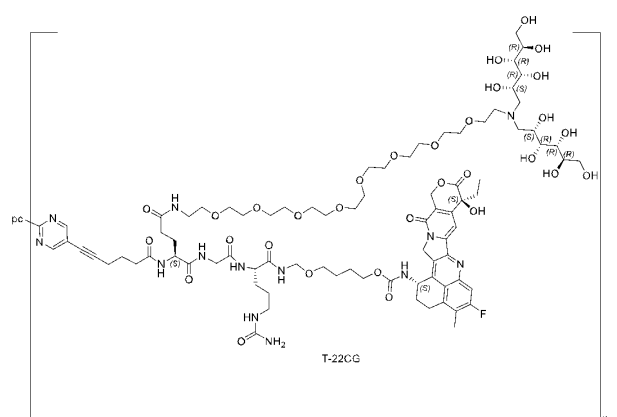
在一个优选的实施方案中，根据本发明所述的通式 (B) 所示的配体药物偶联物或其药学上可接受的盐，其选自：



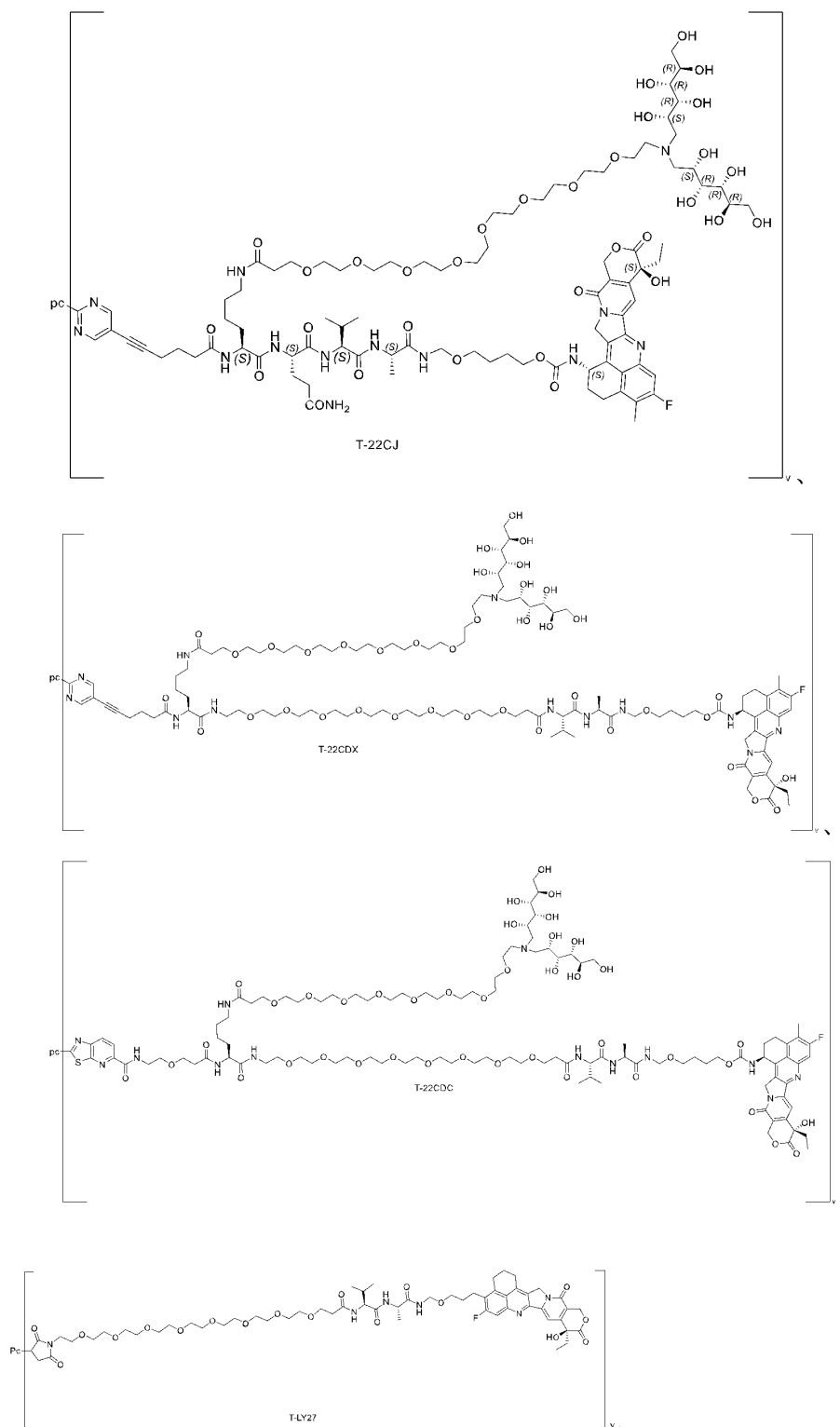


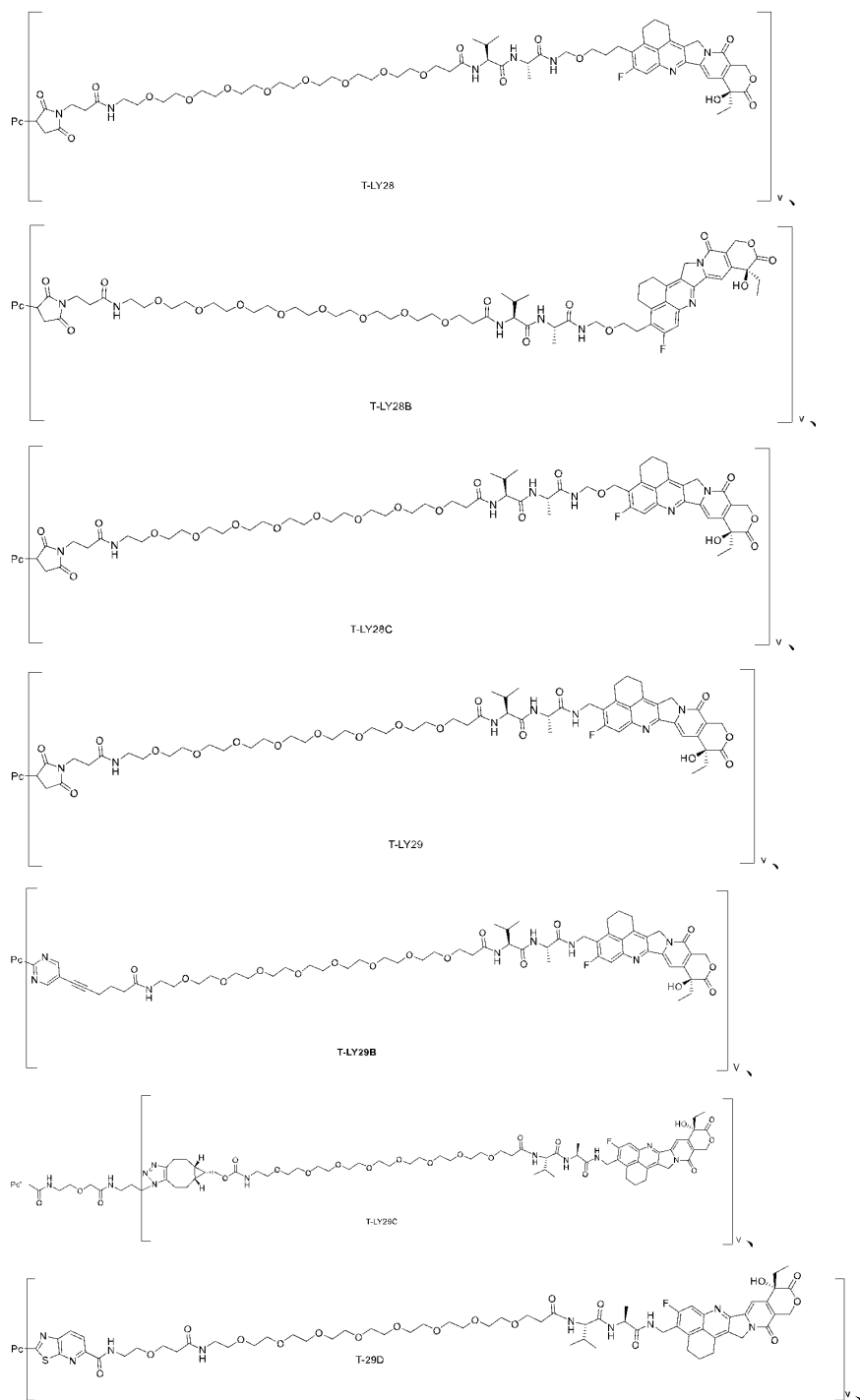


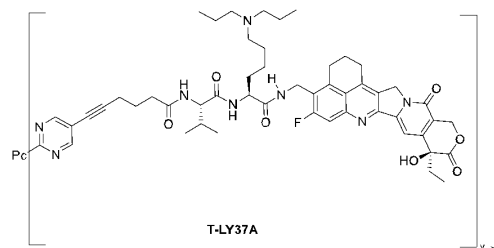
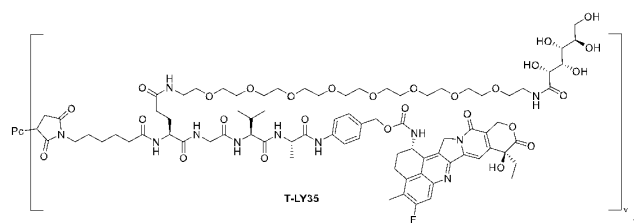
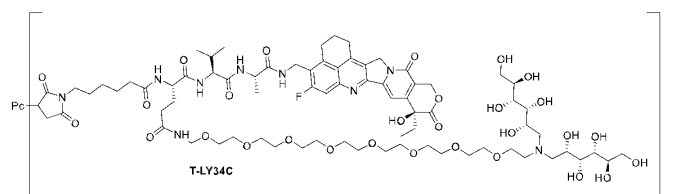
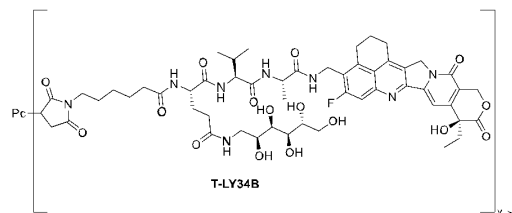
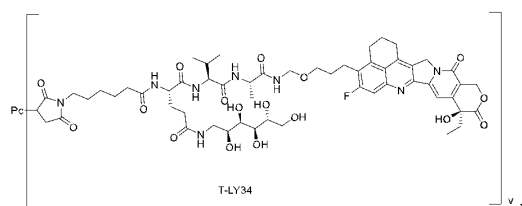
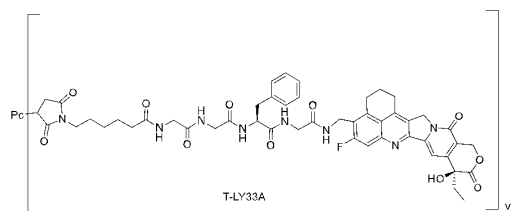
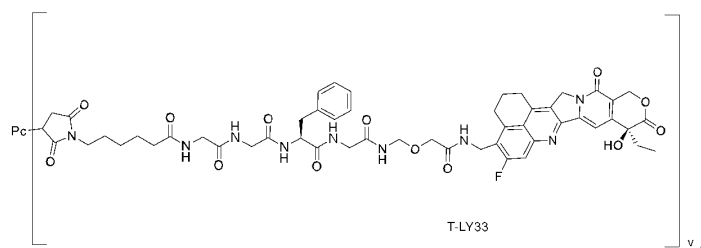


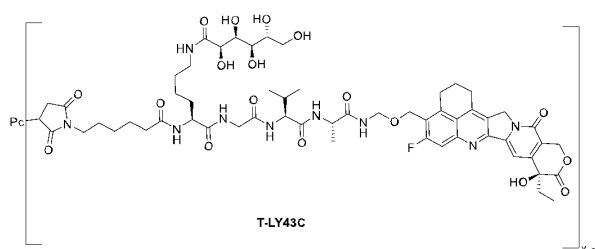
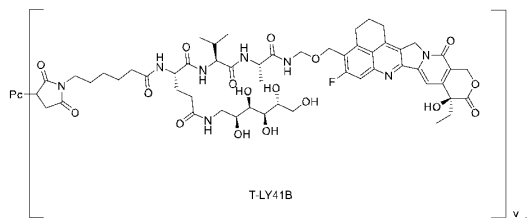
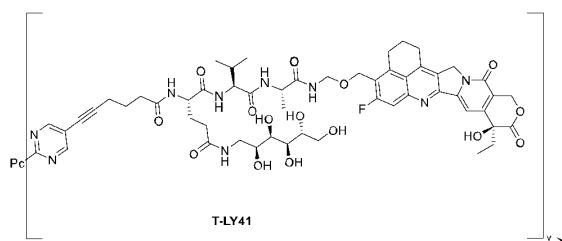
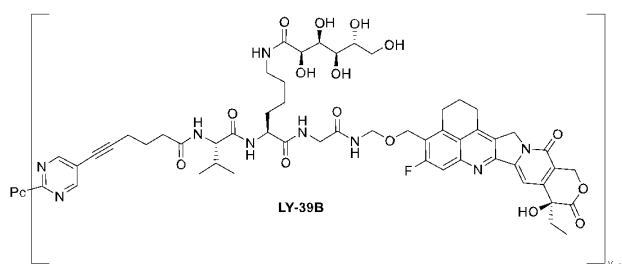
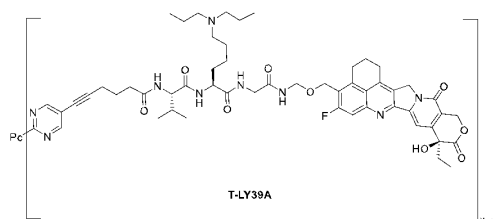
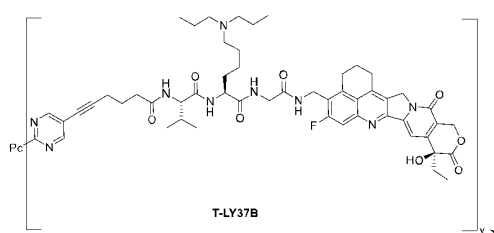


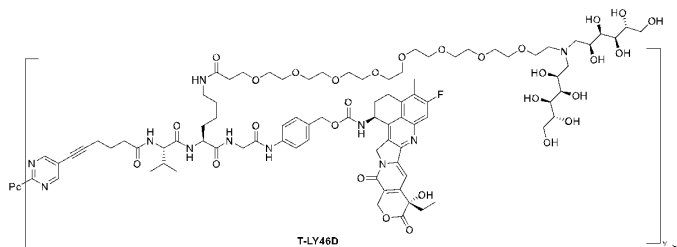
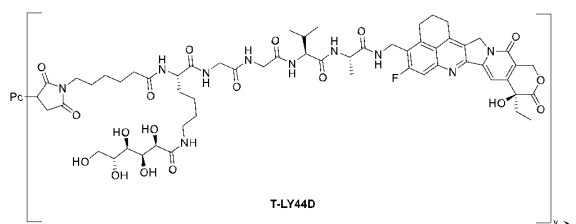
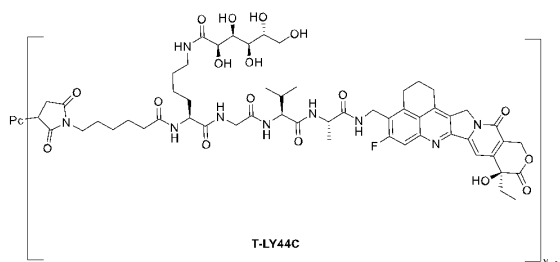
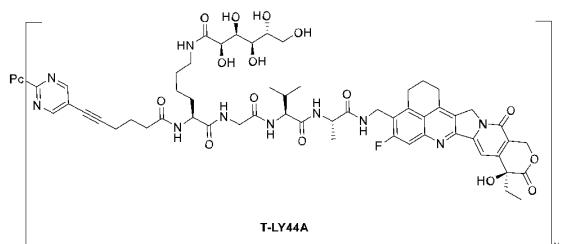
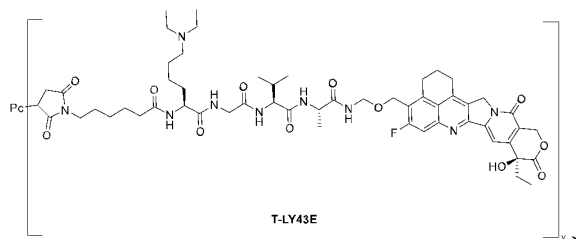
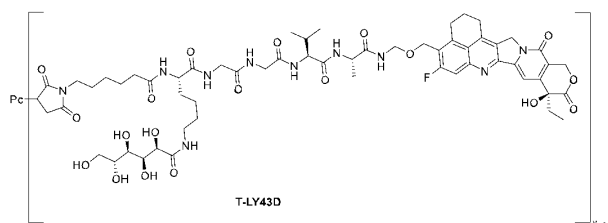


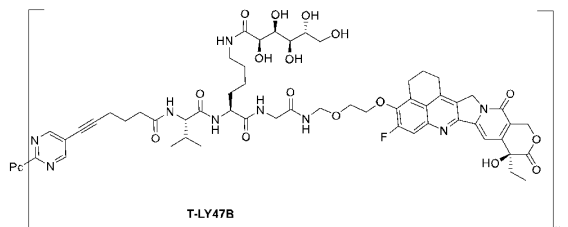
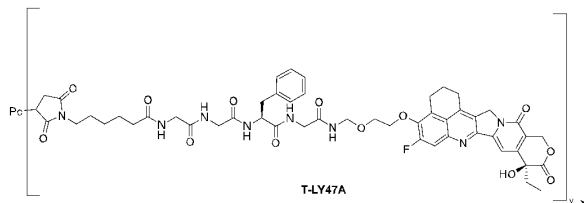
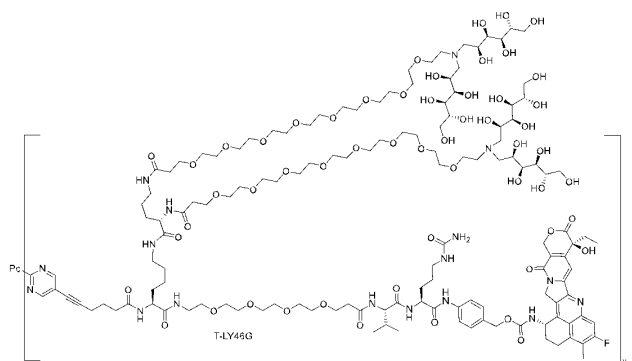
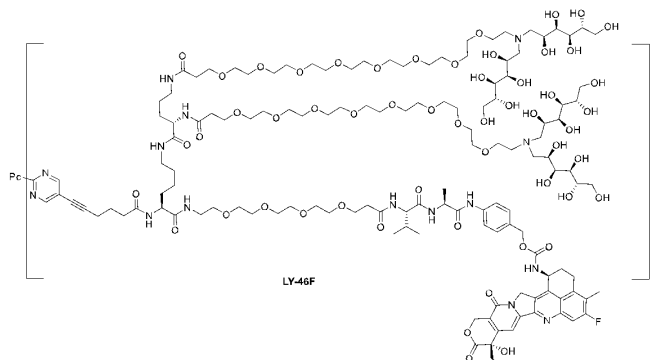
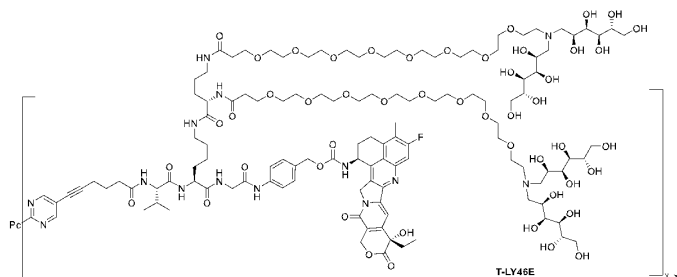


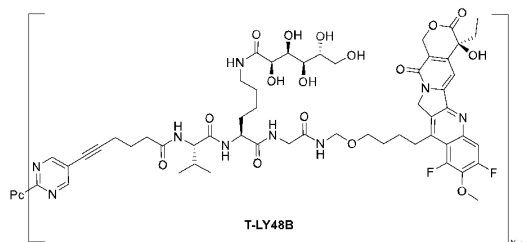
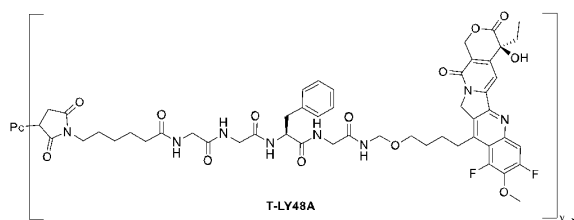
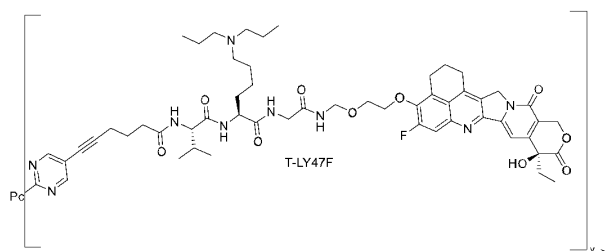
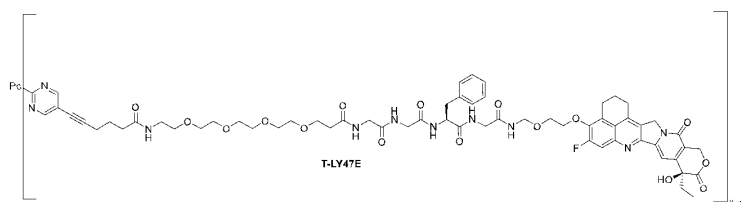
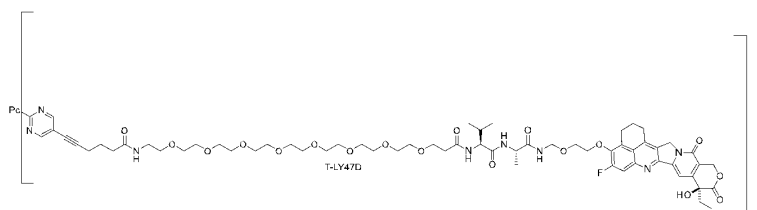
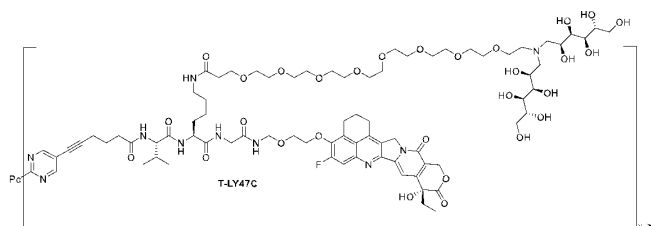


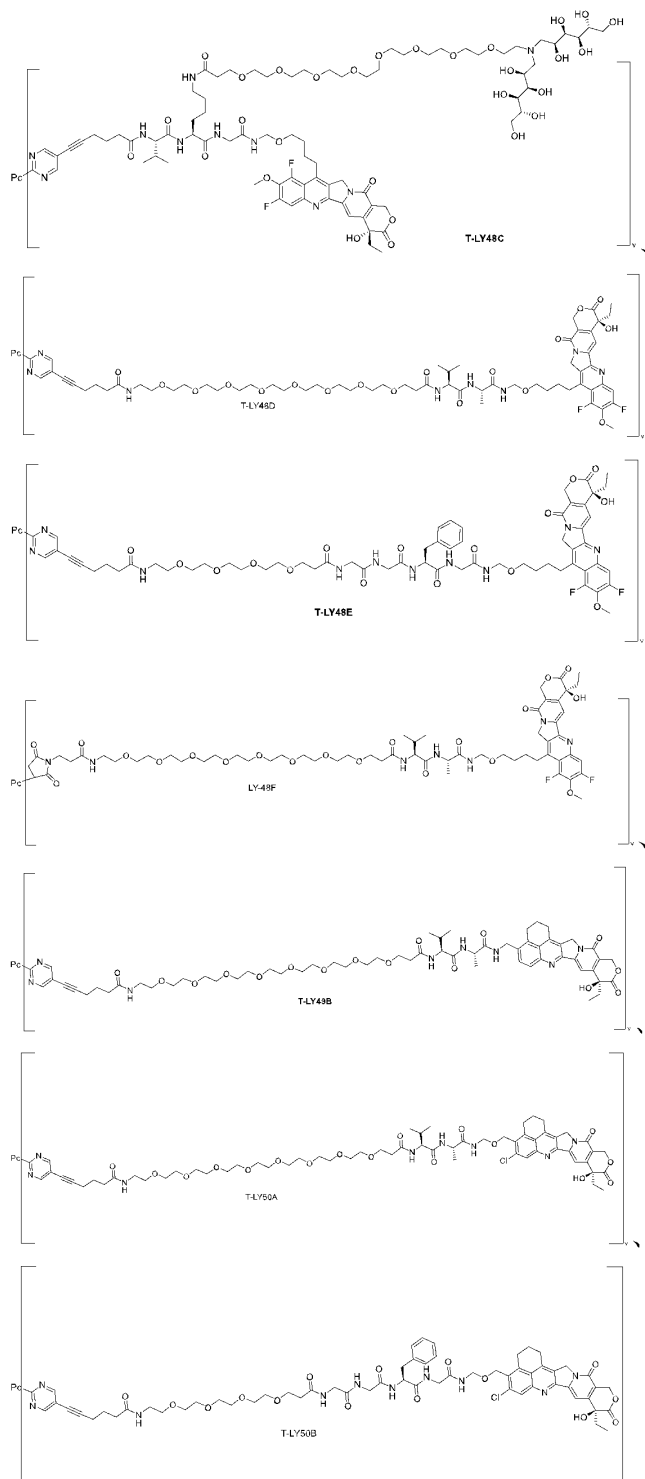




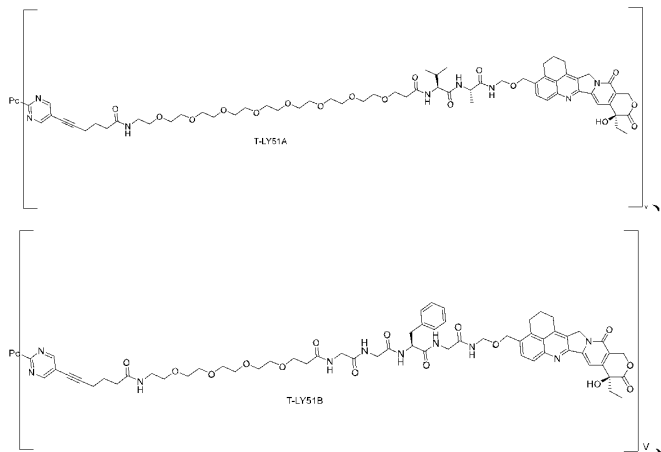












其中：

v 为 1 至 10，v 为小数或整数；

Pc 为抗体或其抗原结合片段；

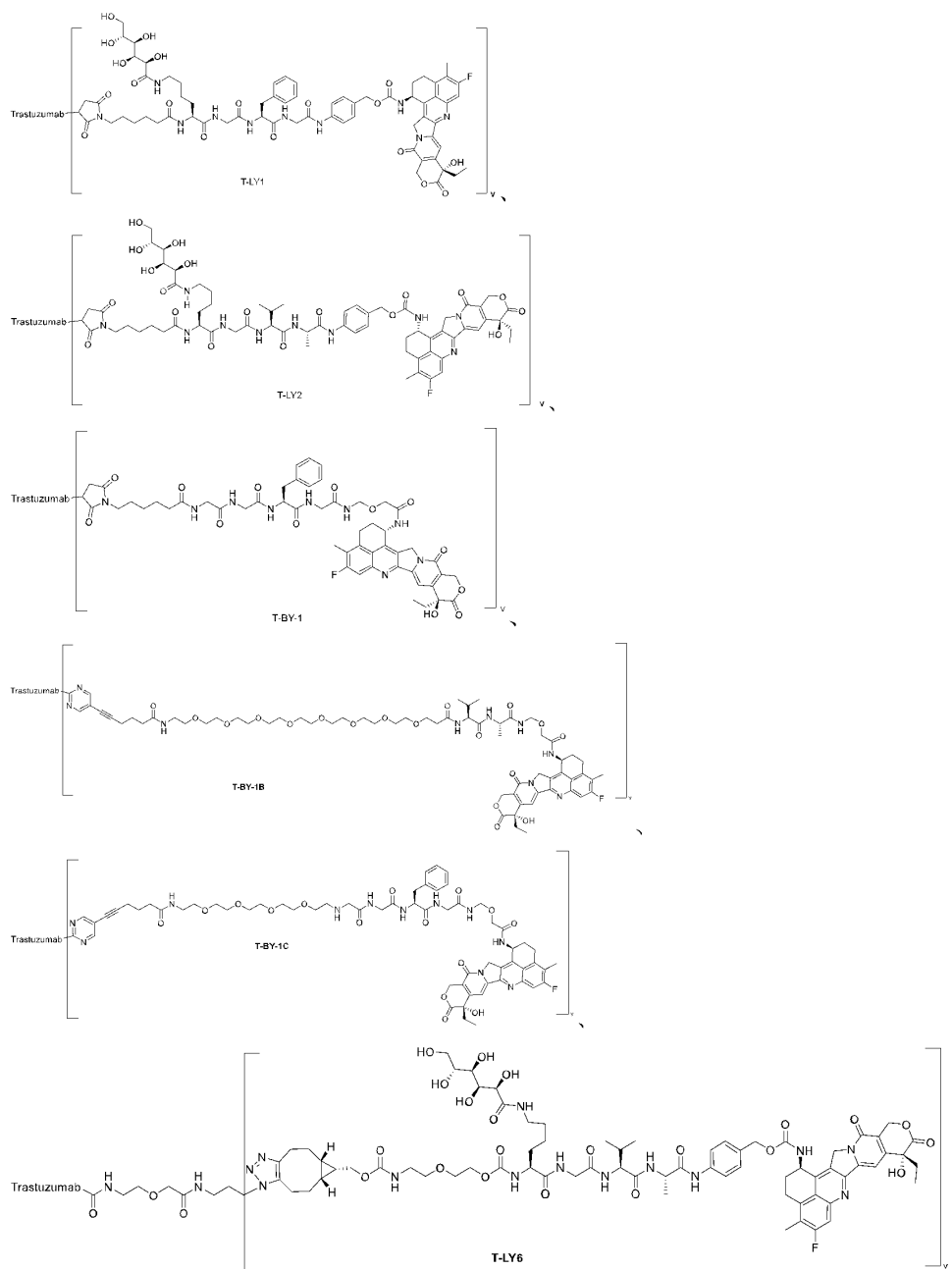
Pc'为抗体。

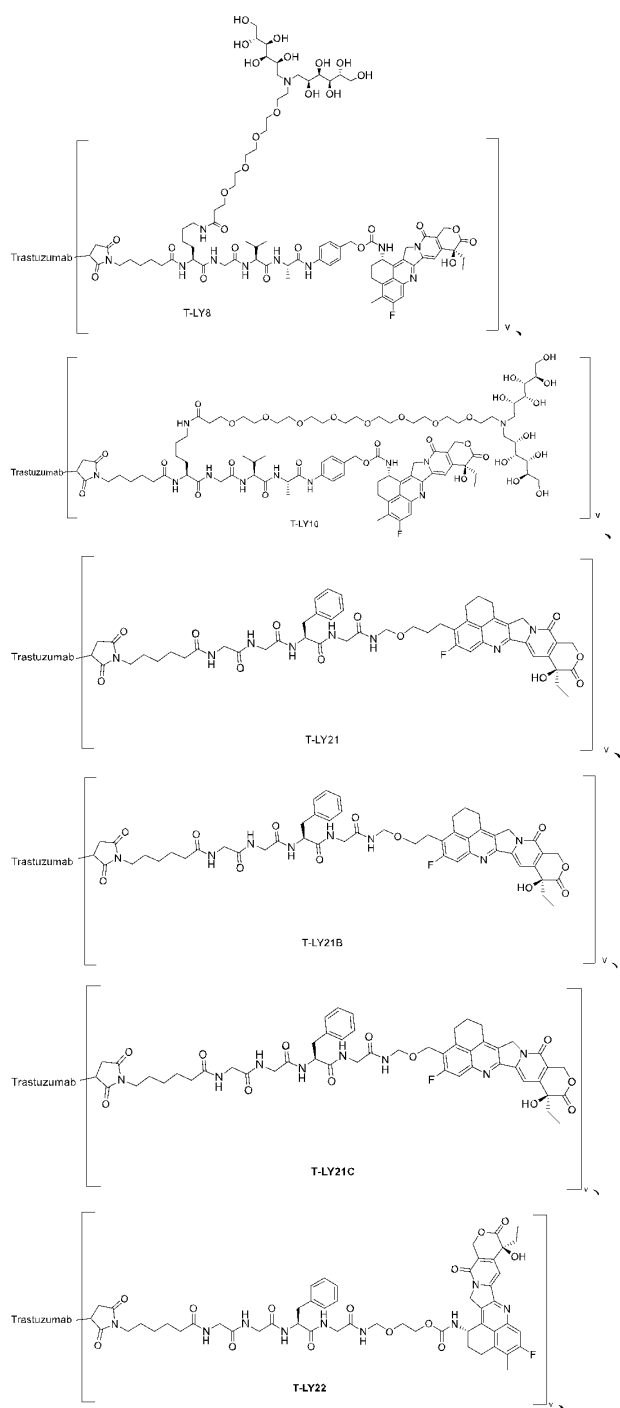
5 在一些实施方案中，根据本发明所述的通式（B）所示的配体药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中所述抗体选自鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体和全人源抗体。

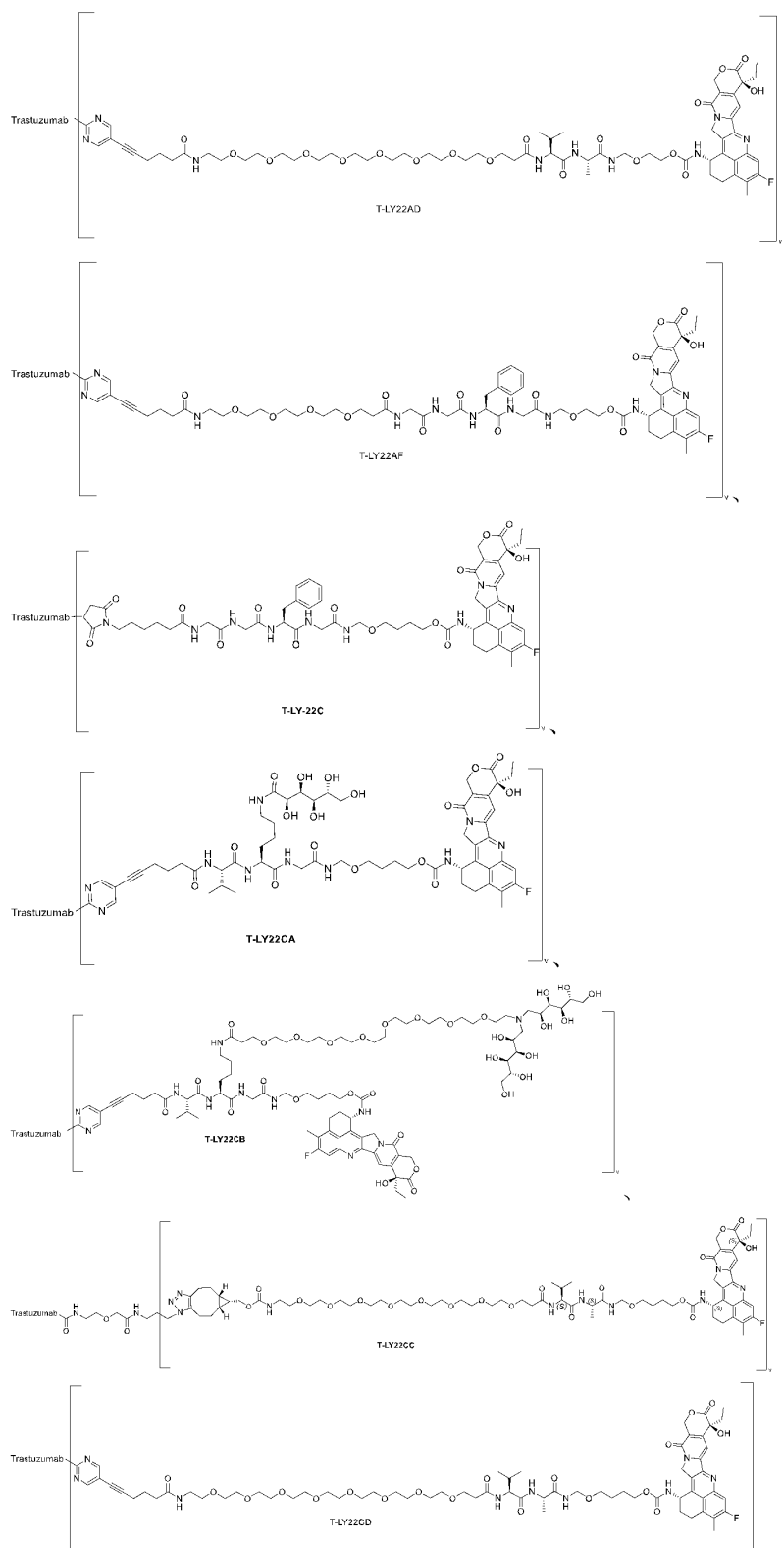
在另一些实施方案中，根据本发明所述的通式（B）所示的配体药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中，所述抗体或其抗原结合片段选自抗 HER2(ErbB2)抗  
 10 体、抗 EGFR 抗体、抗 B7-H3 抗体、抗 c-Met 抗体、抗 HER3(ErbB3)抗体、抗 HER4(ErbB4)抗体、抗 ROR1 抗体、抗 CLDN6 抗体、抗 CLDN9 抗体、抗 CLDN18.2 抗体、抗 NaPi-2b 抗体、抗 TNF- $\alpha$  抗体、抗 ENPP3 抗体、抗 DLL3 抗体、抗 CD20 抗体、抗 CD22 抗体、抗 CD28 抗体、抗 CD30 抗体、抗 CD33 抗体、抗 CD37 抗体、抗 CD38 抗体、抗 CD44 抗体、抗 CD45 抗体、抗 CD47 抗体、抗 CD48 抗体、  
 15 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 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。

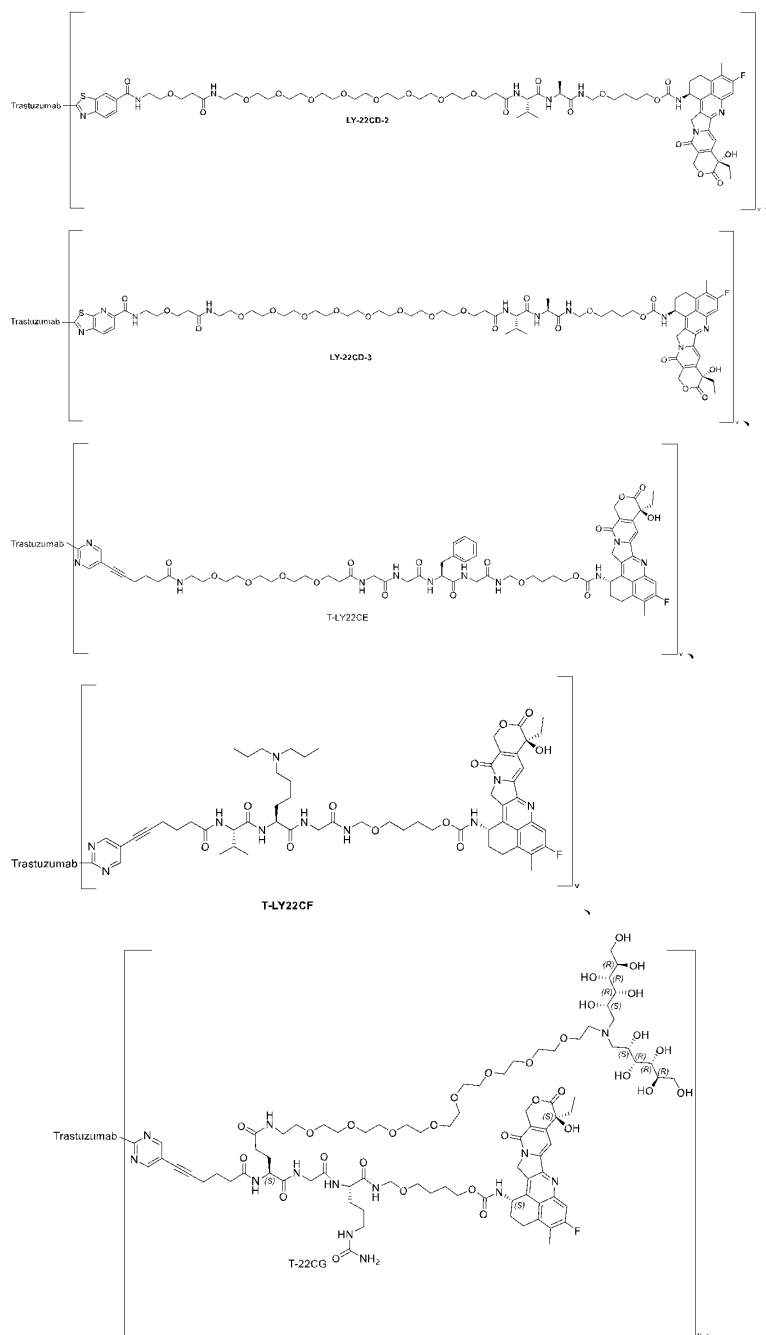
20 在另一些实施方案中，根据本发明所述的通式（B）所示的配体药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中所述抗体或其抗原结合片段选自曲妥珠单抗 (Trastuzumab)、西妥昔单抗 (Cetuximab)、帕妥珠单抗 (Pertuzumab)、尼妥珠单抗 (Nimotuzumab)、恩波妥珠单抗 (Enoblituzumab)、依玛妥珠单抗 (Emibetuzumab)、奥英妥珠单抗 (Inotuzumab)、维汀-匹那妥珠单抗 (Pinatuzumab) 维布妥昔单抗  
 25 (Brentuximab)、吉妥单抗 (Gemtuzumab)、比伐珠单抗 (Bivatuzumab)、莫洛伐妥单抗 (Lorvotuzumab)，或其抗原结合片段。

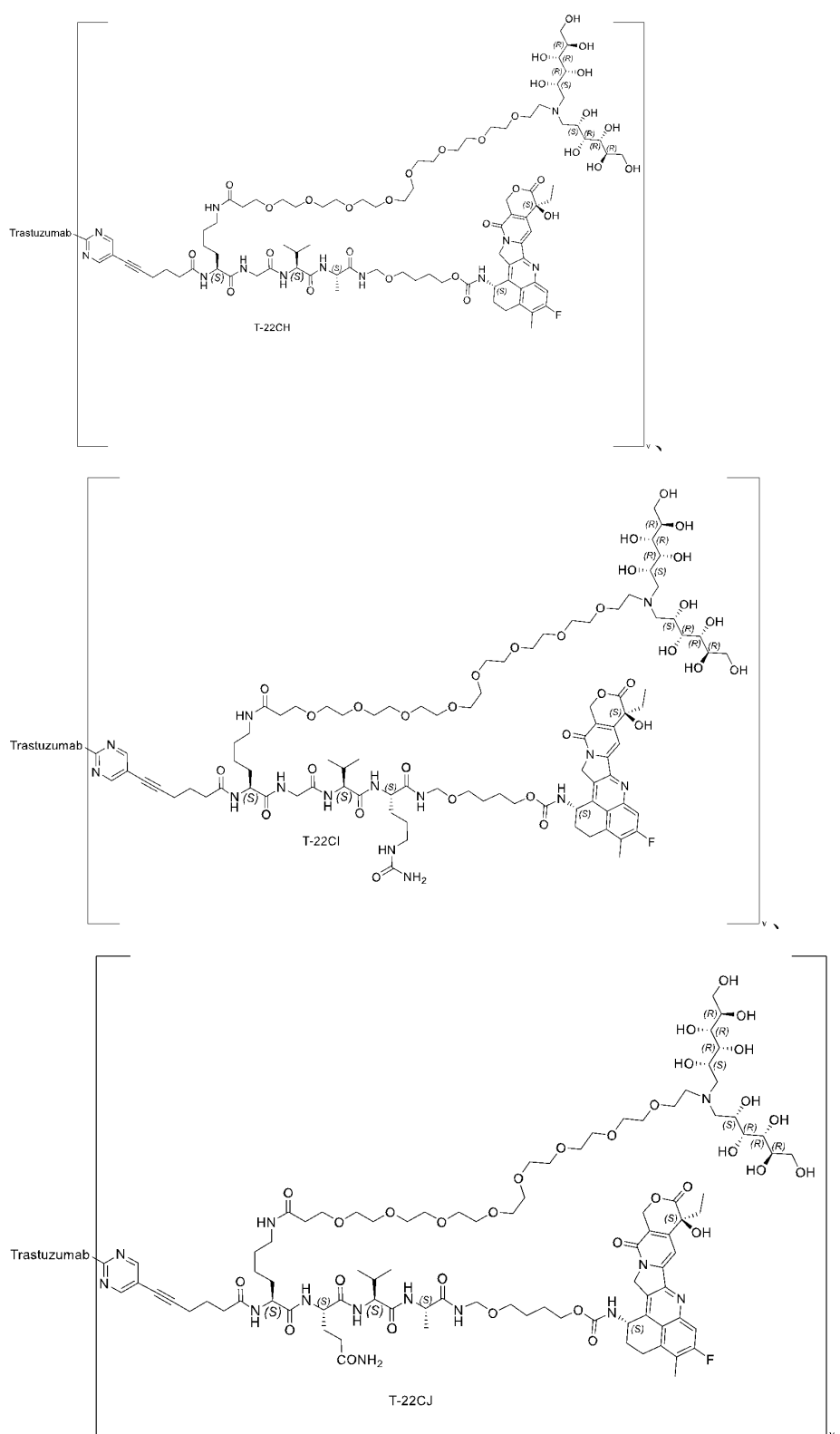
在另一些实施方案中，根据本发明所述的通式（B）所示的配体药物偶联物或其药学上可接受的盐，其选自：

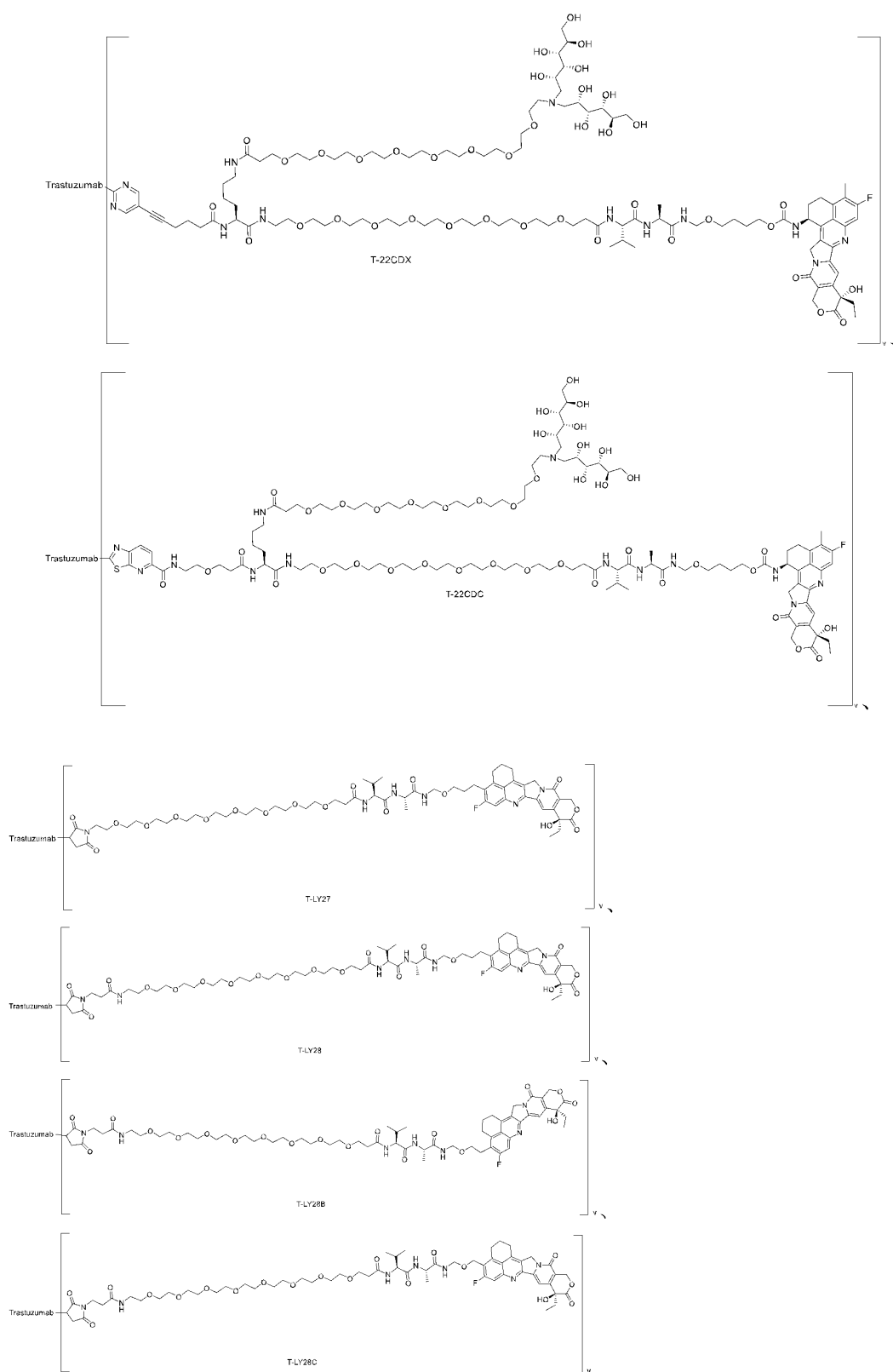


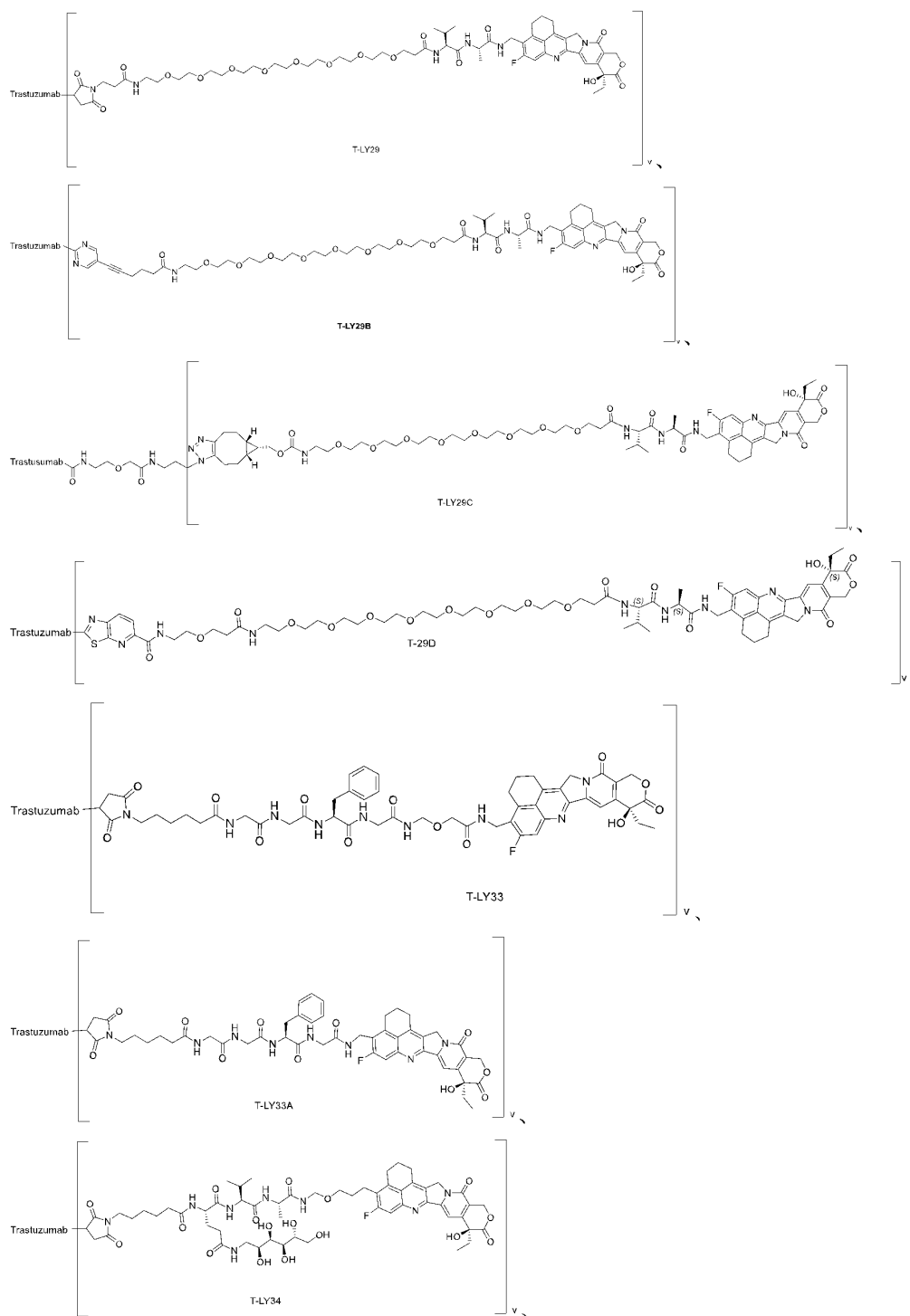




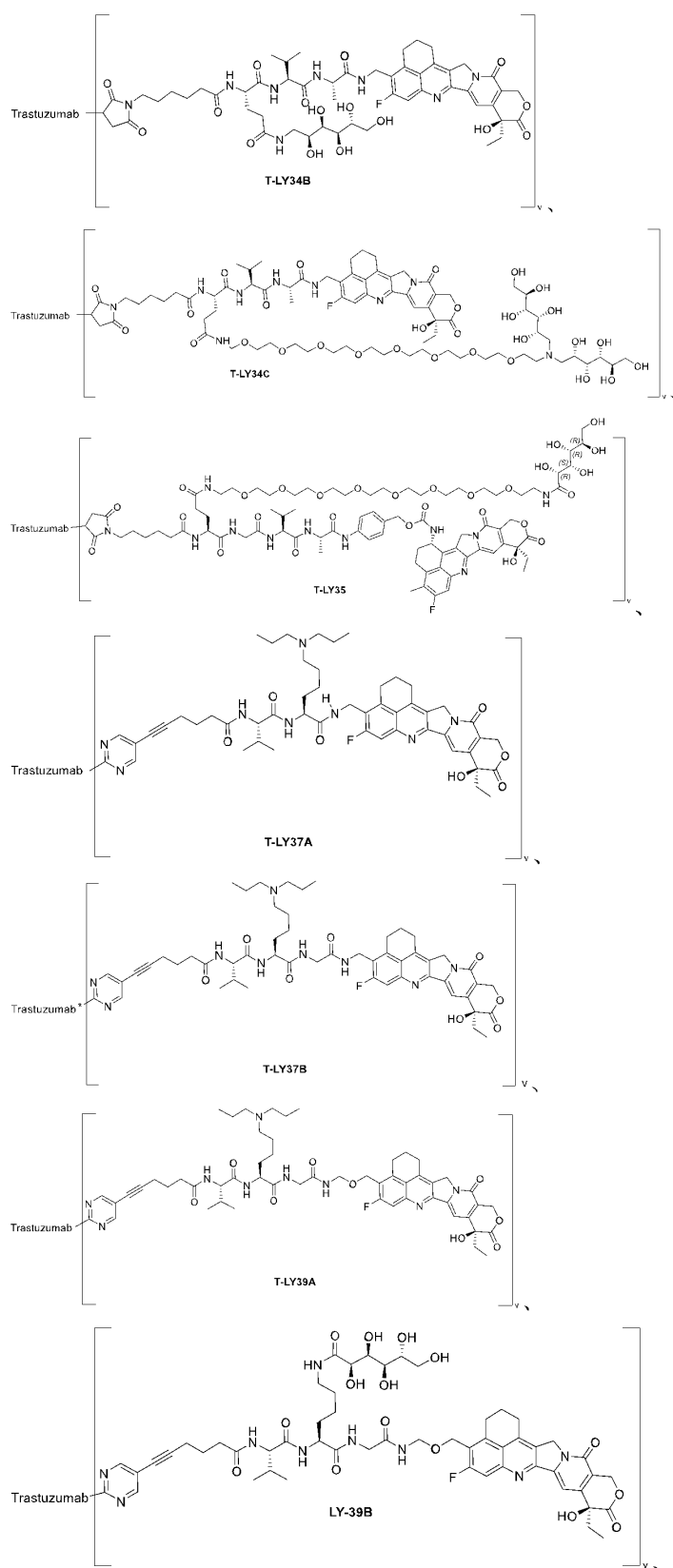


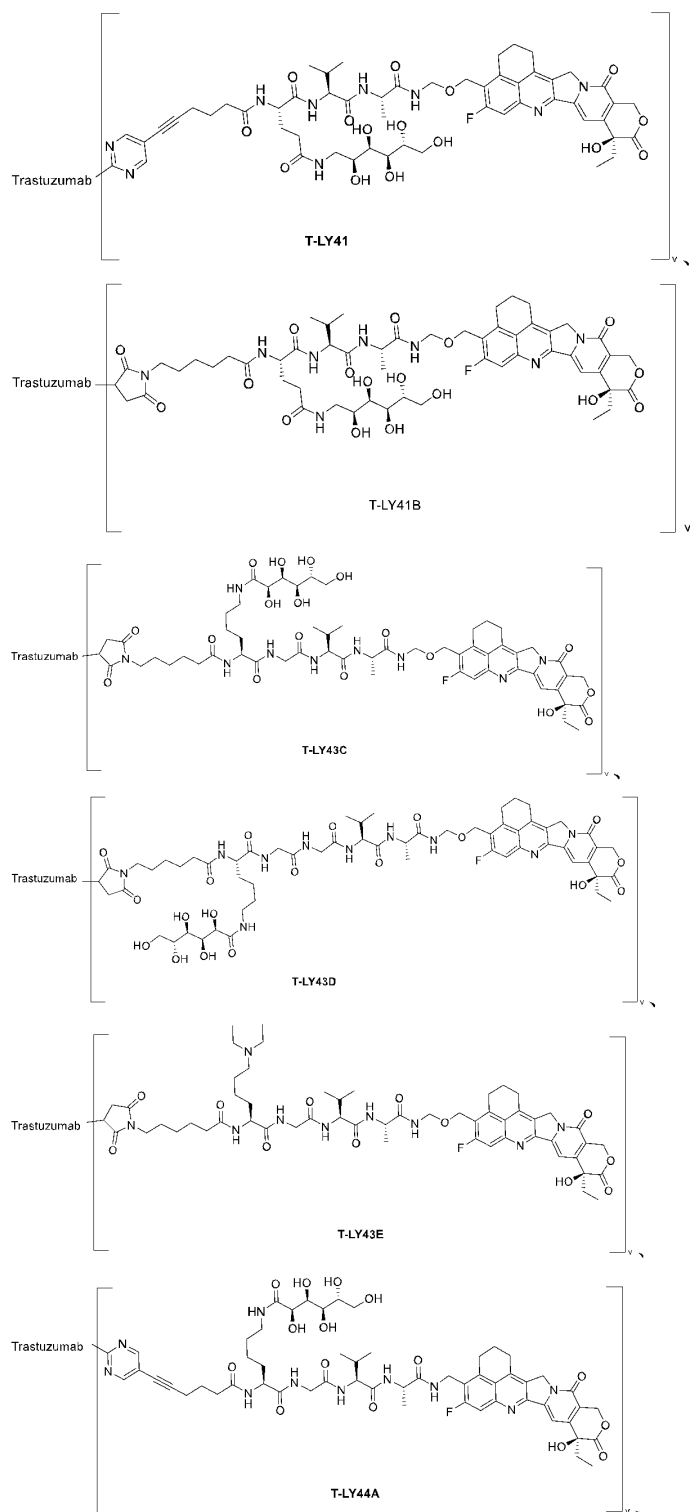


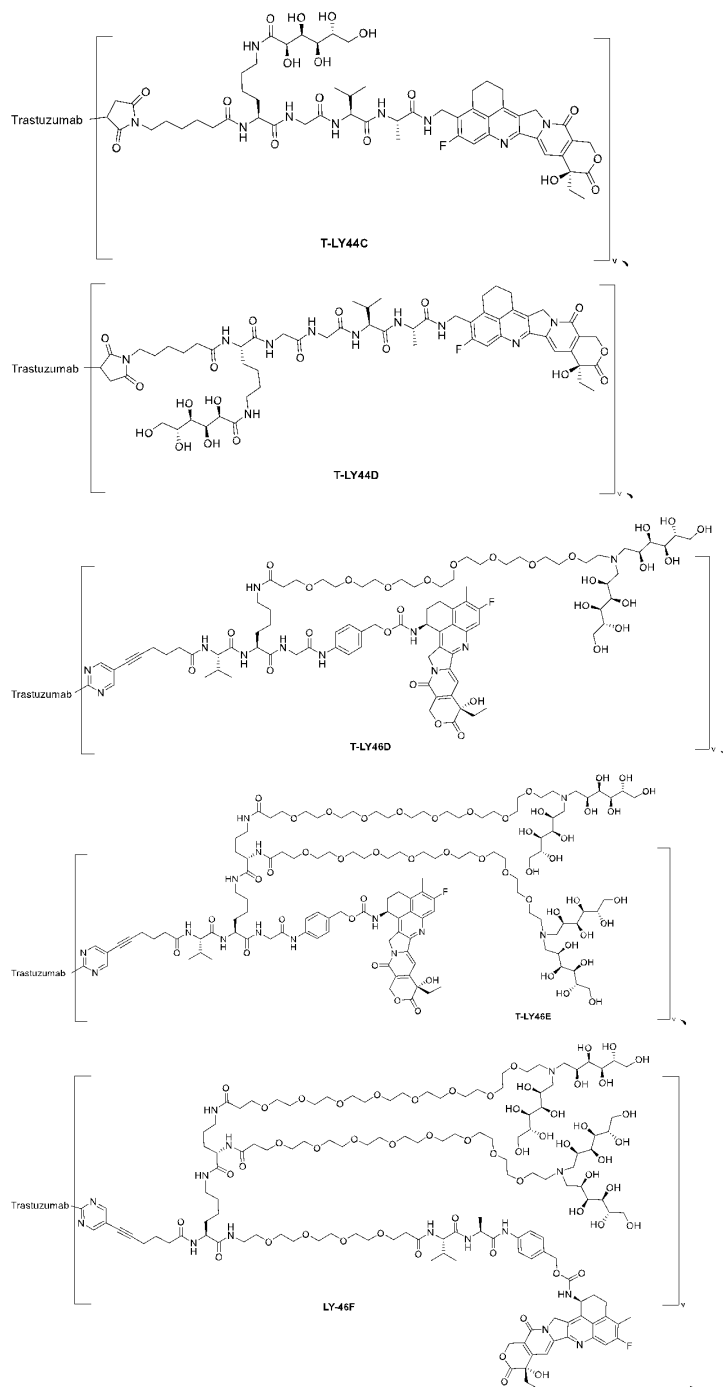


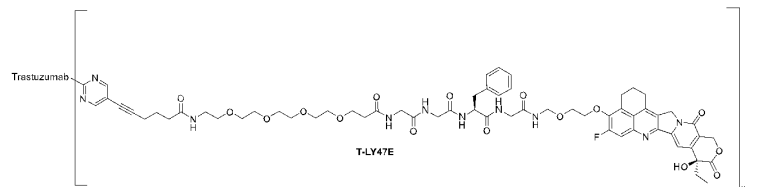
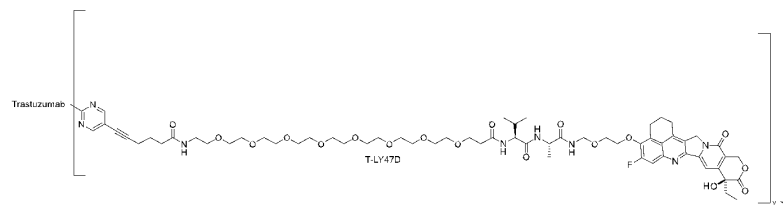
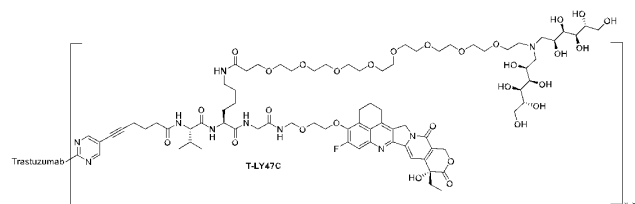
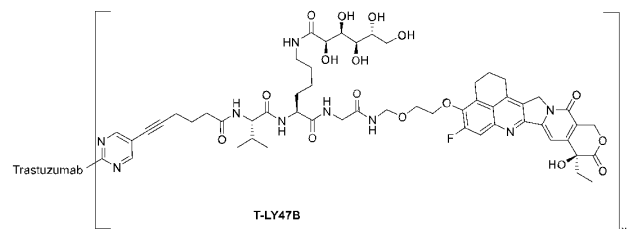
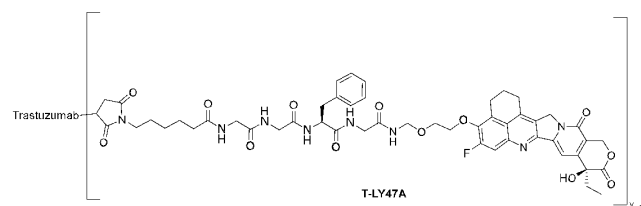
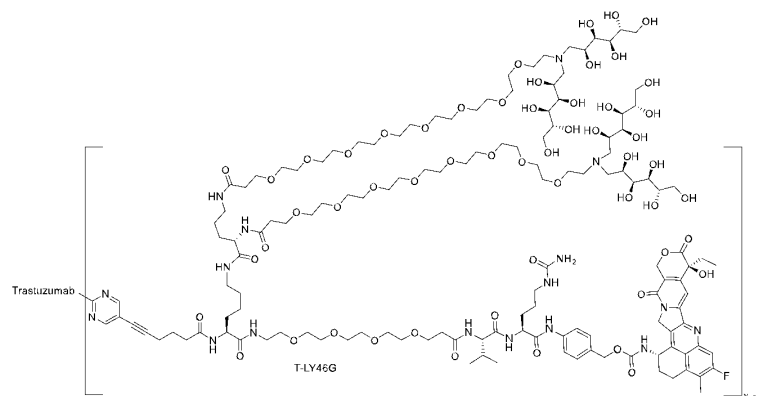


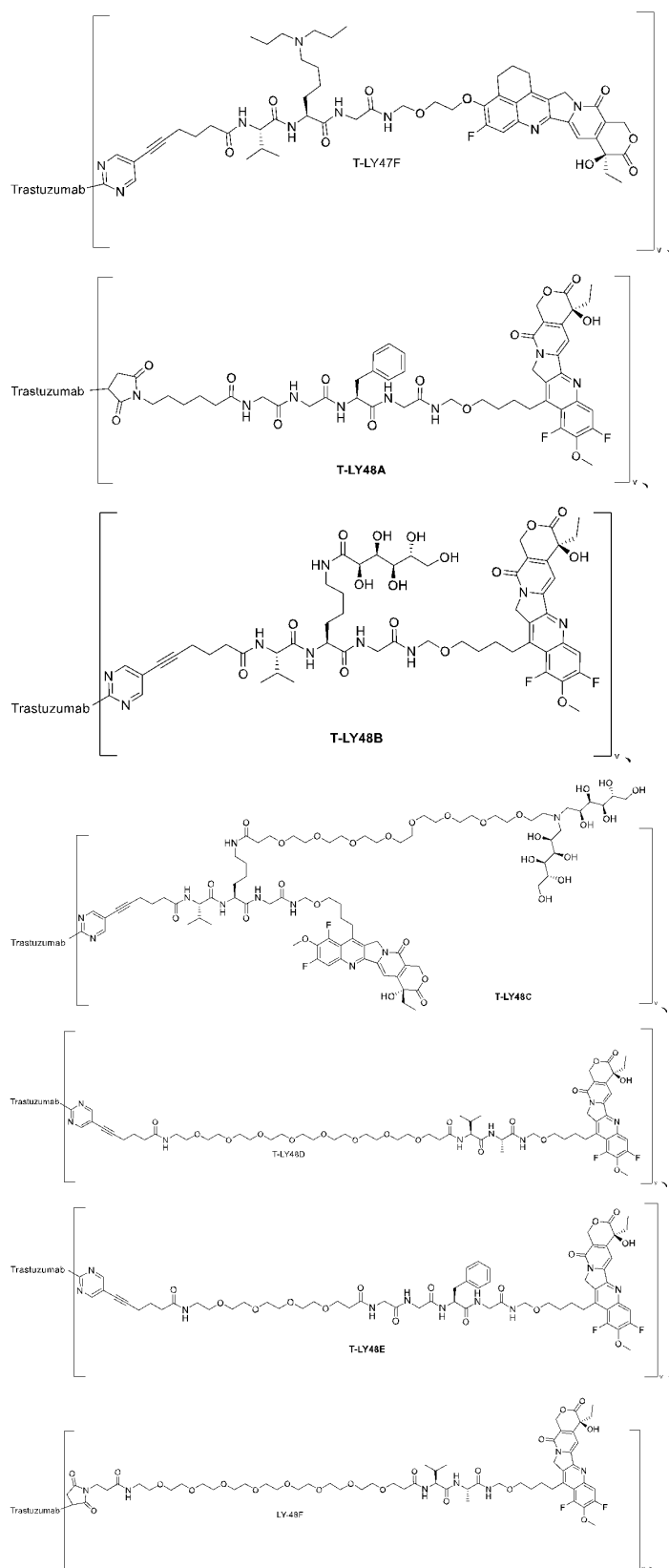


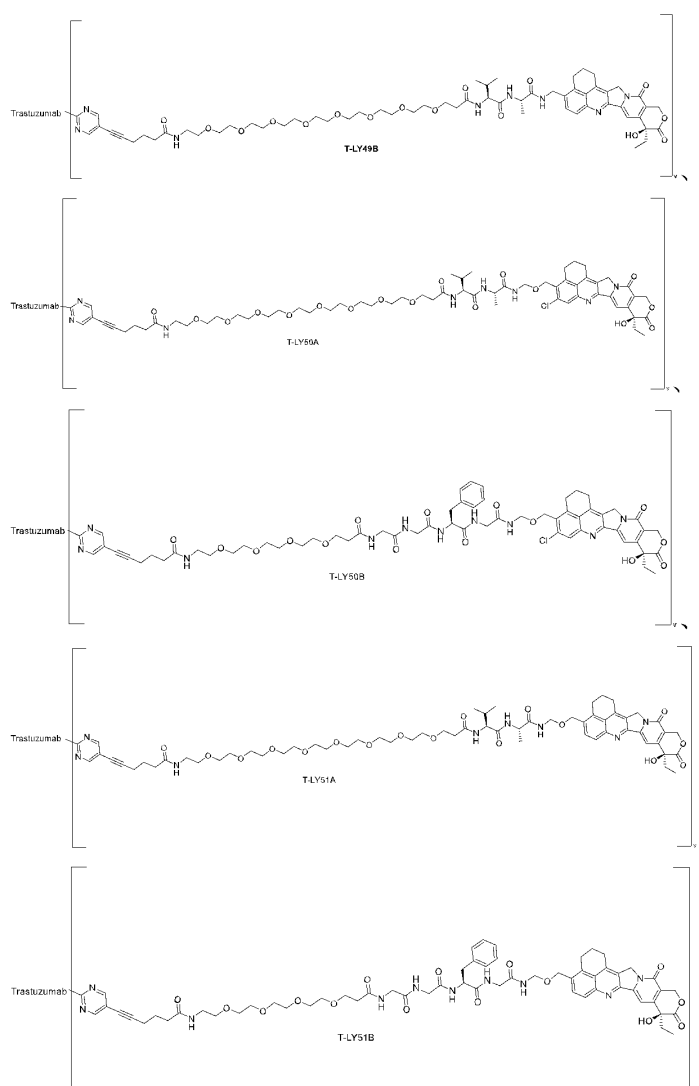












其中  $v$  为 1 至 10 的整数或小数，优选 2 至 8 的整数。

本发明进一步涉及一种药物组合物，其包含根据本发明所述的通式 (B) 所示的配体药物偶联物或其药学上可接受的盐以及一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂。

- 5 本发明还涉及根据本发明所述的通式 (A) 所示的化合物或其药学上可接受的盐在制备配体-药物偶联物中的用途。

- 本发明还涉及根据本发明所述的通式 (I) 所示的化合物或其立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐或者根据本发明所述的通式 (II) 所示的化合物或其立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐在制备配体-药物偶联物中的用途。
- 10

本发明进一步涉及根据本发明所述的配体药物偶联物或其药学上可接受的盐

或者含有其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，所述癌症优选乳腺癌、卵巢癌、软组织肉瘤、脂肪肉瘤、肺癌、非小细胞肺癌、胃癌、黑色素瘤、头颈癌、宫颈癌、前列腺癌。

5 本发明还涉及根据本发明所述的配体药物偶联物或其药学上可接受的盐或者含有其的药物组合物，其用于治疗肿瘤或癌症的药物中的用途，所述癌症优选乳腺癌、卵巢癌、软组织肉瘤、脂肪肉瘤、肺癌、非小细胞肺癌、胃癌、黑色素瘤、头颈癌、宫颈癌、前列腺癌。

10 本发明还涉及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发明所述的配体药物偶联物或其药学上可接受的盐或者含有其的药物组合物，所述癌症优选乳腺癌、卵巢癌、软组织肉瘤、脂肪肉瘤、肺癌、非小细胞肺癌、胃癌、黑色素瘤、头颈癌、宫颈癌、前列腺癌。

15 本发明进一步涉及根据本发明所述的通式(I)所示的化合物或其立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐或者通式(II)所示的化合物或其立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐或者含有其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，所述癌症优选乳腺癌、卵巢癌、软组织肉瘤、脂肪肉瘤、肺癌、非小细胞肺癌、胃癌、黑色素瘤、头颈癌、宫颈癌、前列腺癌。

20 本发明还涉及根据本发明所述的通式(I)所示的化合物或其立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐或者通式(II)所示的化合物或其立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐或者含有其的药物组合物，其用于治疗肿瘤或癌症的药物中的用途，所述癌症优选乳腺癌、卵巢癌、软组织肉瘤、脂肪肉瘤、肺癌、非小细胞肺癌、胃癌、黑色素瘤、头颈癌、宫颈癌、前列腺癌。

25 本发明还涉及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发明所述的通式(I)所示的化合物或其立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐或者通式(II)所示的化合物或其立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐或者含有其的药物组合物，所述癌症优选乳腺癌、卵巢癌、软组织肉瘤、脂肪肉瘤、肺癌、非小细胞肺癌、胃癌、黑色素瘤、头颈癌、宫颈癌、前列腺癌。

### 发明详述

35 除非另有限定，本文所用的所有技术和科学术语均与本公开所属领域普通技术人员的通常理解一致。虽然也可采用与本文所述相似或等同的任何方法和材料实施或测试本公开，但本文描述了优选的方法和材料。

除非有相反陈述，在说明书和权利要求书中使用的术语具有下述含义。

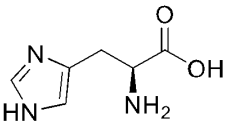
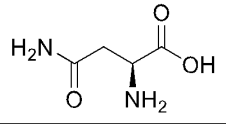
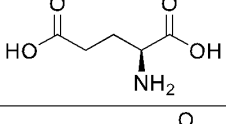
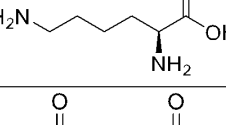
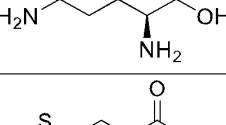
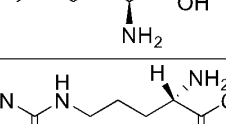
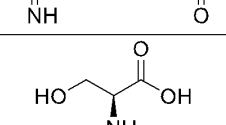
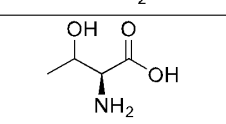
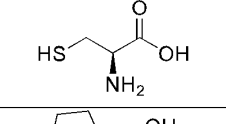
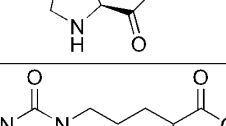
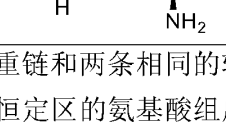
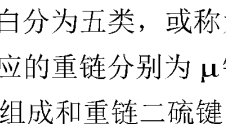
术语“接头单元(或连接片段)”是指一端与配体连接而另一端与药物相连的化学结构片段或键，也可以连接其他接头后再与药物相连。

术语“配体药物偶联物”指配体通过稳定的连接单元与具有生物活性的药物相连。在本公开中“配体药物偶联物”优选为抗体药物偶联物（antibody drug conjugate, ADC），指将单克隆抗体或者抗体片段通过稳定的连接单元与具有生物活性的毒性药物即喜树碱衍生物相连。

本公开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         |    |
| L  | Leu | 亮氨酸<br>Leucine        |    |
| I  | Ile | 异亮氨酸<br>Isoleucine    |    |
| F  | Phe | 苯丙氨酸<br>Phenylalanine |    |
| W  | Trp | 色氨酸<br>Tryptophan     |    |
| Y  | Tyr | 酪氨酸<br>Tyrosine       |    |
| D  | Asp | 天冬氨酸<br>Aspartic acid |    |



|   |     |                      |                                                                                      |
|---|-----|----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| H | His | 组氨酸<br>Histidine     |    |
| N | Asn | 天冬酰胺<br>Asparagine   |    |
| E | Glu | 谷氨酸<br>Glutamic acid |    |
| K | Lys | 赖氨酸<br>Lysine        |    |
| Q | Gln | 谷氨酰胺<br>Glutamine    |    |
| M | Met | 甲硫氨酸<br>Methionine   |   |
| R | Arg | 精氨酸<br>Arginine      |  |
| S | Ser | 丝氨酸<br>Serine        |  |
| T | Thr | 苏氨酸<br>Threonine     |  |
| C | Cys | 半胱氨酸<br>Cysteine     |  |
| P | Pro | 脯氨酸<br>Proline       |  |
| C | Cit | 瓜氨酸<br>Citrulline    |  |

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。本公开所述的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CH1结构域组成的单价片段;(ii) $F(ab')_2$ 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CH1结构域组成的Fd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))。此类单链抗体也意欲包括在术语抗体的“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“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个碳原子的烷基,更优选含有1至10个碳原子的烷基,最优选含有1至6个碳原子(包含1个、2个、3个、4个、5个或6个碳原子)的烷基。非限制性实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1,1,2-三甲基丙基、1,1-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2,3-二甲基丁基、正庚基、2-甲基己基、3-甲基己基、4-甲基己基、5-甲基己基、2,3-二甲基戊基、2,4-二甲基戊基、2,2-二甲基戊基、3,3-二甲基戊基、2-乙基戊基、3-乙基戊基、正辛基、2,3-二甲基己基、

2,4-二甲基己基、2,5-二甲基己基、2,2-二甲基己基、3,3-二甲基己基、4,4-二甲基己基、2-乙基己基、3-乙基己基、4-乙基己基、2-甲基-2-乙基戊基、2-甲基-3-乙基戊基、正壬基、2-甲基-2-乙基己基、2-甲基-3-乙基己基、2,2-二乙基戊基、正癸基、3,3-二乙基己基、2,2-二乙基己基, 及其各种支链异构体等。更优选的是含有 1 至 6 个碳原子的低级烷基, 非限制性实施例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1,1,2-三甲基丙基、1,1-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2,3-二甲基丁基等。烷基可以是取代的或非取代的, 当被取代时, 取代基可以在任何可使用的连接点上被取代, 所述取代基优选为一个或多个以下基团, 其独立地选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基、氧代基。

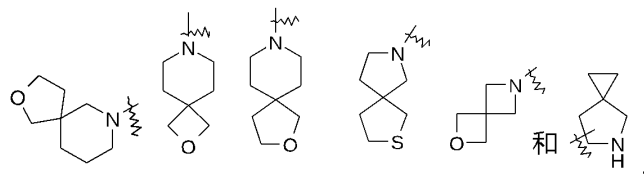
术语“烷氧基”指-O-(烷基)和-O-(非取代的环烷基), 其中烷基或环烷基的定义如上所述。烷氧基的非限制性实例包括: 甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、环丙氧基、环丁氧基、环戊氧基、环己氧基。烷氧基可以是任选取代的或非取代的, 当被取代时, 取代基优选为一个或多个以下基团, 其独立地选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基。

术语“环烷基”指饱和或部分不饱和单环或多环环状烃取代基, 环烷基环包含 3 至 20 个碳原子, 优选包含 3 至 12 个碳原子, 更优选包含 3 至 10 个碳原子, 最优选包含 3 至 8 个碳原子(包含 3 个、4 个、5 个、6 个、7 个或 8 个碳原子)。单环环烷基的非限制性实例包括环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、环己二烯基、环庚基、环庚三烯基、环辛基等; 多环环烷基包括螺环、稠环和桥环的环烷基。

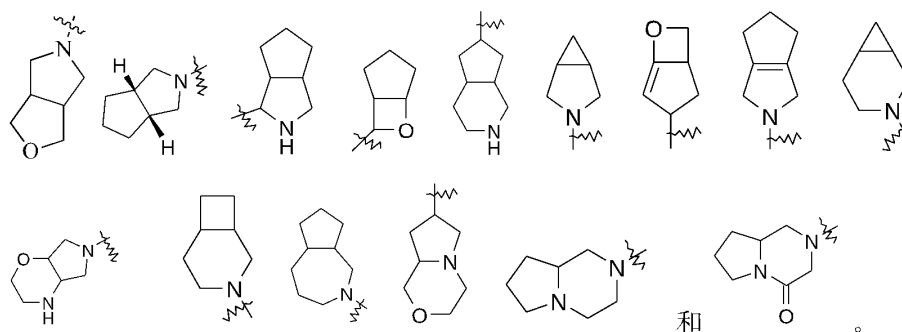
术语“杂环基”指饱和或部分不饱和单环或多环环状烃取代基, 其包含 3 至 20 个环原子, 其中一个或多个环原子为选自氮、氧或  $S(O)_m$  (其中  $m$  是整数 0、1 或 2) 的杂原子, 但不包括-O-O-、-O-S-或-S-S-的环部分, 其余环原子为碳。优选包含 3 至 12 个环原子, 其中 1~4 个是杂原子(1 个、2 个、3 个或 4 个杂原子); 更优选环烷基环包含 3 至 10 个环原子(包含 3 个、4 个、5 个、6 个、7 个、8 个、9 个或 10 个环原子)。单环杂环基的非限制性实例包括吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、硫代吗啉基、高哌嗪基等。多环杂环基包括螺环、稠环和桥环的杂环基。

术语“螺杂环基”指 5 至 20 元的单环之间共用一个原子(称螺原子)的多环杂环基团, 其中一个或多个环原子为选自氮、氧或  $S(O)_m$  (其中  $m$  是整数 0 至 2) 的杂

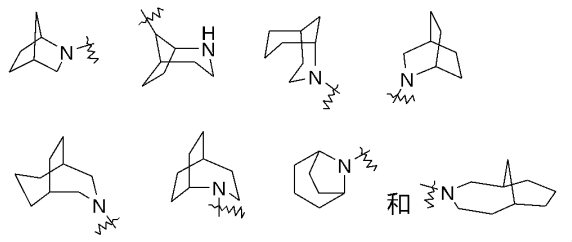
原子，其余环原子为碳。其可以含有一个或多个双键，但没有一个环具有完全共轭的  $\pi$  电子系统。优选为 6 至 14 元，更优选为 7 至 10 元。根据环与环之间共用螺原子的数目将螺杂环基分为单螺杂环基、双螺杂环基或多螺杂环基，优选为单螺杂环基和双螺杂环基。更优选为 4 元/4 元、4 元/5 元、4 元/6 元、5 元/5 元或 5 元/6 元单螺杂环基。螺杂环基的非限制性实例包括：



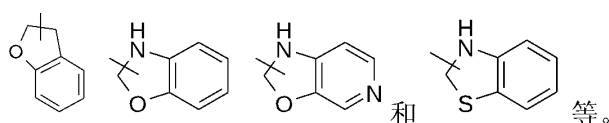
术语“稠杂环基”指 5 至 20 元，系统中的每个环与体系中的其他环共享毗邻的一对原子的多环杂环基团，一个或多个环可以含有一个或多个双键，但没有一个环具有完全共轭的  $\pi$  电子系统，其中一个或多个环原子为选自氮、氧或  $S(O)_m$  (其中  $m$  是整数 0、1 或 2) 的杂原子，其余环原子为碳。优选为 6 至 14 元，更优选为 7 至 10 元 (7 元、8 元、9 元或 10 元环)。根据组成环的数目可以分为双环、三环、四环或多环稠杂环基，优选为双环或三环，更优选为 5 元/5 元或 5 元/6 元双环稠杂环基。稠杂环基的非限制性实例包括：



术语“桥杂环基”指 5 至 14 元，任意两个环共用两个不直接连接的原子的多环杂环基团，其可以含有一个或多个双键，但没有一个环具有完全共轭的  $\pi$  电子系统，其中一个或多个环原子为选自氮、氧或  $S(O)_m$  (其中  $m$  是整数 0、1 或 2) 的杂原子，其余环原子为碳。优选为 6 至 14 元，更优选为 7 至 10 元 (7 元、8 元、9 元或 10 元环)。根据组成环的数目可以分为双环、三环、四环或多环桥杂环基，优选为双环、三环或四环，更优选为双环或三环。桥杂环基的非限制性实例包括：

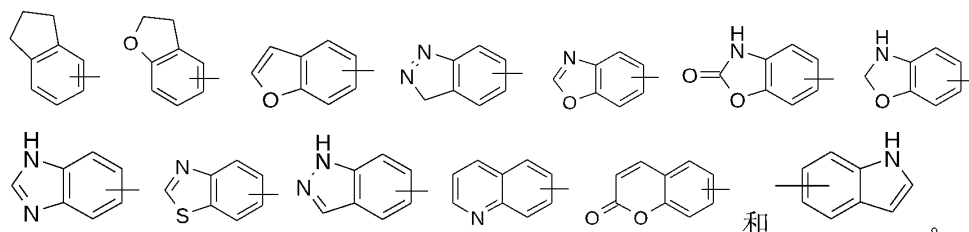


所述杂环基环可以稠合于芳基、杂芳基或环烷基环上，其中与母体结构连接在一起的环为杂环基，其非限制性实例包括：



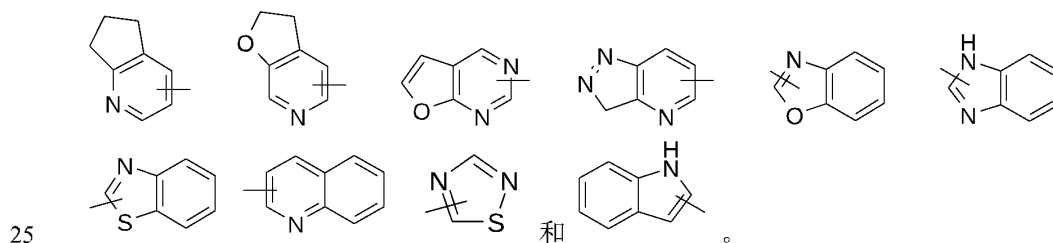
杂环基可以是任选取代的或非取代的，当被取代时，取代基优选为一个或多个以下基团，其独立地选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基、氧代基。

术语“芳基”指具有共轭的 $\pi$ 电子体系的6至14元全碳单环或稠合多环（也就是共享毗邻碳原子对的环）基团，优选为6至10元（6元、7元、8元、9元或10元），例如苯基和萘基，优选苯基。所述芳基环可以稠合于杂芳基、杂环基或环烷基环上，其中与母体结构连接在一起的环为芳基环，其非限制性实例包括：



芳基可以是取代的或非取代的，当被取代时，取代基优选为一个或多个以下基团，其独立地选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基。

术语“杂芳基”指包含1至4个杂原子（1个、2个、3个或4个杂原子）、5至14个环原子的杂芳族体系，其中杂原子选自氧、硫和氮。杂芳基优选为5至10元（5元、6元、7元、8元、9元或10元杂芳基），更优选为5元或6元，例如呋喃基、噻吩基、吡啶基、吡咯基、N-烷基吡咯基、嘧啶基、吡嗪基、咪唑基、四唑基等。所述杂芳基环可以稠合于芳基、杂环基或环烷基环上，其中与母体结构连接在一起的环为杂芳基环，其非限制性实例包括：



杂芳基可以是任选取代的或非取代的，当被取代时，取代基优选为一个或多个以下基团，其独立地选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤

素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基。

术语“氨基保护基”是为了使分子其它部位进行反应时氨基保持不变，用易于脱去的基团对氨基进行保护。非限制性实施例包含 9-芴甲氧羰基、叔丁氧羰基、乙酰基、苄基、烯丙基和对甲氧苄基等。这些基团可任选地被选自卤素、烷氧基或硝基中的 1-3 个取代基（1 个、2 个或 3 个取代基）所取代。所述氨基保护基优选为 9-芴甲氧羰基。

术语“卤代烷基”指烷基被一个或多个卤素取代，其中烷基如上所定义。

术语“氘代烷基”指烷基被一个或多个氘原子取代，其中烷基如上所定义。

10 术语“羟烷基”指烷基被一个或多个羟基取代，其中烷基如上所定义。

术语“羟基”指-OH 基团。

术语“卤素”指氟、氯、溴或碘。

术语“氨基”指-NH<sub>2</sub>。

术语“硝基”指-NO<sub>2</sub>。

15 术语“氰基”指-CN。

术语“酰氨基”指-C(O)N(烷基)或(环烷基)，其中烷基、环烷基如上所定义。

术语“羧酸酯基”指-C(O)O(烷基)或(环烷基)，其中烷基、环烷基如上所定义。

本公开还包括各种氘化形式的式(I)化合物。与碳原子连接的各个可用的氢原子可独立地被氘原子替换。本领域技术人员能够参考相关文献合成氘化形式的式(I)化合物。在制备氘代形式的式(I)化合物时可使用市售的氘代起始物质，或它们可使用常规技术采用氘代试剂合成，氘代试剂包括但不限于氘代硼烷、三氘代硼烷四氢呋喃溶液、氘代氢化锂铝、氘代碘乙烷和氘代碘甲烷等。

“任选”或“任选地”意味着随后所描述的事件或环境可以但不必须发生，该说明包括该事件或环境发生或不发生地场合。例如，“任选被烷基取代的杂环基团”意味着烷基可以但不必须存在，该说明包括杂环基团被烷基取代的情形和杂环基团不被烷基取代的情形。

“取代的”指基团中的一个或多个氢原子，优选为最多 5 个，更优选为 1 个、2 个或 3 个氢原子彼此独立地被相应数目的取代基取代。不言而喻，取代基仅处在它们的可能的化学位置，本领域技术人员能够在不付出过多努力的情况下确定（通过实验或理论）可能或不可能的取代。例如，具有游离氢的氨基或羟基与具有不饱和（如烯属）键的碳原子结合时可能是不稳定的。

术语“药物组合物”表示含有一种或多种本文所述化合物或其生理学上/可药用的盐或前体药物与其他化学组分的混合物，以及其他组分例如生理学/可药用的载体和赋形剂。药物组合物的目的是促进对生物体的给药，利于活性成分的吸收进而发挥生物活性。

术语“药学上可接受的盐”或“可药用盐”是指本公开配体-药物偶联物的盐，

或本公开中所述的化合物的盐，这类盐用于哺乳动物体内时具有安全性和有效性，且具有应有的生物活性，本公开配体药物偶联物至少含有一个氨基，因此可以与酸形成盐，可药用盐的非限制性实例包括：盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、柠檬酸盐、乙酸盐、琥珀酸盐、抗坏血酸盐、草酸盐、硝酸盐、  
5 梨酸盐、磷酸氢盐、磷酸二氢盐、水杨酸盐、柠檬酸氢盐、酒石酸盐、马来酸盐、富马酸盐、甲酸盐、苯甲酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐。

术语“载体”用于本公开的药物，是指能改变药物进入人体的方式和在体内的分布、控制药物的释放速度并将药物输送到靶向器官的体系。药物载体释放和靶向系统能够减少药物降解及损失，降低副作用，提高生物利用度。如可作为载  
10 体的高分子表面活性剂由于其独特的两亲性结构，可以进行自组装，形成各种形式的聚集体，优选的实例如胶束、微乳液、凝胶、液晶、囊泡等。这些聚集体具有包载药物分子的能力，同时又对膜有良好的渗透性，可以作为优良的药物载体。

术语“赋形剂”是在药物制剂中除主药以外的附加物，也可称为辅料。如片剂中的粘合剂、填充剂、崩解剂、润滑剂；半固体制剂软膏剂、霜剂中的基质部  
15 分；液体制剂中的防腐剂、抗氧化剂、矫味剂、芳香剂、助溶剂、乳化剂、增溶剂、渗透压调节剂、着色剂等均可称为赋形剂。

含活性成分的药物组合物可以是适用于口服的形式，例如片剂、糖锭剂、锭剂、水或油混悬液、可分散粉末或颗粒、乳液、硬或软胶囊，或糖浆剂或酞剂。可按照本领域任何已知制备药用组合物的方法制备口服组合物，此类组合物可含  
20 有一种或多种选自以下的成分：甜味剂、矫味剂、着色剂和防腐剂，以提供悦目和可口的药用制剂。片剂含有活性成分和用于混合的适宜制备片剂的无毒的可药用的赋形剂。这些赋形剂可以是惰性赋形剂，如碳酸钙、碳酸钠、乳糖、磷酸钙或磷酸钠；造粒剂和崩解剂，例如微晶纤维素、交联羧甲基纤维素钠、玉米淀粉或藻酸；粘合剂，例如淀粉、明胶、聚乙烯吡咯烷酮或阿拉伯胶；和润滑剂，例  
25 如硬脂酸镁、硬脂酸或滑石粉。这些片剂可以不包衣或可通过掩盖药物的味道或在胃肠道中延迟崩解和吸收，因而在较长时间内提供缓释作用的已知技术将其包衣。例如，可使用水溶性味道掩蔽物质，例如羟丙基甲基纤维素或羟丙基纤维素，或延长物质例如乙基纤维素、醋酸丁酸纤维素。

也可用其中活性成分与惰性固体稀释剂例如碳酸钙、磷酸钙或高岭土混合的硬明胶胶囊，或其中活性成分与水溶性载体例如聚乙二醇或油溶媒例如花生油、  
30 液体石蜡或橄榄油混合的软明胶胶囊提供口服制剂。

水混悬液含有活性物质和用于混合的适宜制备水混悬液的赋形剂。此类赋形剂是悬浮剂，例如羧基甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、藻酸钠、聚乙烯吡咯烷酮和阿拉伯胶；分散剂或湿润剂，可以是天然产生的磷脂例如卵磷  
35 脂，或烯化氧与脂肪酸的缩合产物，例如聚氧乙烯硬脂酸酯，或环氧乙烷与长链脂肪醇的缩合产物，例如十七碳亚乙基氧基鲸蜡醇(heptadecaethyleneoxy cetanol)，

或环氧乙烷与由脂肪酸和己糖醇衍生的部分酯的缩合产物，例如聚环氧乙烷山梨醇单油酸酯，或环氧乙烷与由脂肪酸和己糖醇酐衍生的偏酯的缩合产物，例如聚环氧乙烷脱水山梨醇单油酸酯。水混悬液也可以含有一种或多种防腐剂例如尼泊金乙酯或尼泊金正丙酯、一种或多种着色剂、一种或多种矫味剂和一种或多种甜味剂，例如蔗糖、糖精或阿司帕坦。

油混悬液可通过使活性成分悬浮于植物油如花生油、橄榄油、芝麻油或椰子油，或矿物油例如液体石蜡中配制而成。油混悬液可含有增稠剂，例如蜂蜡、硬石蜡或鲸蜡醇。可加入上述的甜味剂和矫味剂，以提供可口的制剂。可通过加入抗氧化剂例如丁羟茴醚或  $\alpha$ -生育酚保存这些组合物。

通过加入水，适用于制备水混悬液的可分散粉末和颗粒可以提供活性成分和用于混合的分散剂或湿润剂、悬浮剂或一种或多种防腐剂。适宜的分散剂或湿润剂和悬浮剂如上所述。也可加入其他赋形剂例如甜味剂、矫味剂和着色剂。通过加入抗氧化剂例如抗坏血酸保存这些组合物。

本发明的药物组合物也可以是水包油乳剂的形式。油相可以是植物油例如橄榄油或花生油，或矿物油例如液体石蜡或其混合物。适宜的乳化剂可以是天然产生的磷脂，例如大豆卵磷脂，和由脂肪酸和己糖醇酐衍生的酯或偏酯，例如山梨坦单油酸酯，和所述偏酯和环氧乙烷的缩合产物，例如聚环氧乙烷山梨醇单油酸酯。乳剂也可以含有甜味剂、矫味剂、防腐剂和抗氧化剂。可用甜味剂例如甘油、丙二醇、山梨醇或蔗糖配制的糖浆和酞剂。此类制剂也可含有缓和剂、防腐剂、着色剂和抗氧化剂。

本发明的药物组合物可以是无菌注射水溶液形式。可以使用的可接受的溶媒和溶剂有水、林格氏液和等渗氯化钠溶液。无菌注射制剂可以是其中活性成分溶于油相的无菌注射水包油微乳。例如将活性成分溶于大豆油和卵磷脂的混合物中。然后将油溶液加入水和甘油的混合物中处理形成微乳。可通过局部大量注射，将注射液或微乳注入患者的血流中。或者，最好按可保持本发明化合物恒定循环浓度的方式给予溶液和微乳。为保持这种恒定浓度，可使用连续静脉内递药装置。

本发明的药物组合物可以是用于肌肉和皮下给药的无菌注射水或油混悬液的形式。可按已知技术，用上述那些适宜的分散剂或湿润剂和悬浮剂配制该混悬液。无菌注射制剂也可以是在无毒肠胃外可接受的稀释剂或溶剂中制备的无菌注射溶液或混悬液，例如在 1,3-丁二醇中制备的溶液。此外，可方便地用无菌固定油作为溶剂或悬浮介质。为此目的，可使用包括合成甘油单或二酯在内的任何调和固定油。此外，脂肪酸例如油酸也可以制备注射剂。

本领域技术人员熟知，药物的给药剂量依赖于多种因素，包括但并非限于以下因素：所用特定化合物的活性、病人的年龄、病人的体重、病人的健康状况、病人的行被、病人的饮食、给药时间、给药方式、排泄的速率、药物的组合等。另外，最佳的治疗方式如治疗的模式、通式化合物的日用量或可药用的盐的种类



可以根据传统的治疗方案来验证。

#### 附图说明

- 图 1 为测试例 3 中 NCI-N87 胃癌荷瘤小鼠模型的肿瘤生长曲线。
- 5 图 2 为测试例 4 中人乳腺癌 JIMT-1 瘤小鼠模型的肿瘤生长曲线。
- 图 3A 为测试例 6 中 Her2 阴性 468-luc 细胞增长抑制曲线。
- 图 3B 为测试例 6 中 Her2 阳性 N87 细胞增长抑制曲线。
- 图 3C 为测试例 6 中 N87 细胞和 468-luc 细胞共孵育的增长抑制曲线。
- 图 4-图 5 为测试例 7 中大鼠单次给药剂量为 200mg/kg 后体重变化曲线。
- 10 图 6A-6B 为测试例 5 中 NCI-N87 胃癌荷瘤小鼠模型的肿瘤生长曲线。

#### 具体实施方式

进一步通过实施例来理解本发明的化合物及其制备，这些实施例说明了一些制备或使用所述化合物的方法。然而，要理解的是，这些实施例并不限制本发明的范围。现在已知的或进一步开发的本发明的变化被认为落入本文中描述的和要求保护的本发明范围之内。

15

本发明化合物是利用便利的起始原料和通用的制备步骤来完成制备的。本发明给出了典型的或倾向性的反应条件，诸如反应温度、时间、溶剂、压力、反应物的摩尔比。但是除非特殊说明，其他反应条件也能采纳。优化条件可能随着具体的反应物或溶剂的使用而改变，但在通常情况下，反应优化步骤和条件都能得到确定。

20

另外，本发明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 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。

25

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发明描述的实例。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。

30

化合物的结构是通过核磁共振(NMR)或/和质谱(MS)来确定的。NMR 位移以  $10^{-6}$  (ppm) 的单位给出。NMR 的测定是用 Brukerdp5 400 型核磁仪，测定溶剂为氘代二甲基亚砜(DMSO- $d_6$ )、氘代氯仿( $CDCl_3$ )、氘代甲醇( $CD_3OD$ )，氘代水( $D_2O$ )，内标为四甲基硅烷(TMS)。

35

小分子 MS 的测定用 LC(Waters 2695)/MS(Quattro Premier xE)质谱仪(生产商：

沃特世)(Photodiode Array Detector)。

ADC 的 MS 测定用 UPLC-MS, Thermo Fisher Scientific, DionexUltiMate 3000 UPLC-Q Exactive MS; High resolution mass spectrometer, Thermo Q EXACTIVE HF-X。

- 5 ADC 分析 HIC 使用 Agilent 1200 高效液相色谱仪进行 HIC 测试, 色谱柱为 Thermo MAbPac HIC-Bulyt (5 $\mu$ m, 4.6 $\times$ 100mm), 以 1.5M 硫酸铵和 25 mM 磷酸盐混合溶液 (pH 7.0)-异丙醇 (95: 5) 为流动相 A, 25 mM 磷酸盐溶液 (pH 7.0)-异丙醇 (80: 20) 为流动相 B 进行梯度洗脱, 流速为 1.0 ml/min。

- ADC 分析 SEC 使用 Agilent 1200 高效液相色谱仪进行 SEC 测试, 色谱柱为  
10 Waters BioResolve SEC mAb (2.5 $\mu$ m, 7.8 $\times$ 300mm), 以 PBS 为流动相进行等度洗脱, 流速为 0.5 ml/min。

ADC 分析 RP 使用 Agilent 1200 高效液相色谱仪进行 HIC 测试, 色谱柱为 Thermo MAbPac RP (4 $\mu$ m, 3 $\times$ 100mm), 以 0.1% 三氟乙酸溶液为流动相 A, 乙腈-异丙醇-三氟乙酸 (80: 20: 0.1) 为流动相 B 进行梯度洗脱, 流速为 1.0 ml/min。

- 15 制备高效液相色谱法使用 lc6000 高效液相色谱仪 (生产商: 创新通恒)。色谱柱为 Daisogel C18 10  $\mu$ m 100A (30 mm $\times$ 250 mm), 流动相: 乙腈/水; 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%三氟乙酸)-乙腈。

- 薄层层析硅胶板使用青岛海洋化工 GF254 硅胶板, 薄层色谱法(TLC)使用的硅胶板采用的规格是 0.20 mm $\sim$ 0.25 mm, 制备薄层层析分离纯化产品采用的规格是 0.5 mm。

柱层析一般使用青岛海洋化工硅胶 100 $\sim$ 200 目、200 $\sim$ 300 目和 300 $\sim$ 400 目硅胶为载体。

- 本发明的已知的起始原料可以采用或按照本领域已知的方法来合成, 或可购买自网化商城、北京偶合、Sigma、百灵威、易世明、上海书亚、上海伊诺凯、安耐吉化学、上海毕得、皓元医药、已铼生物、都创医药等公司。

实施例 1 中无特殊说明, 反应能够均在氮气氛围下进行。

氩气氛或氮气氛是指反应瓶连接一个约 1L 容积的氩气或氮气气球。

- 反应溶剂、有机溶剂或惰性溶剂各自表述为使用的该溶剂在所描述的反应条件下不参与反应, 包括如苯、甲苯、乙腈、四氢呋喃(THF)、二甲基甲酰胺(DMF)、氯仿、二氯甲烷、乙醚、甲醇、氮-甲基吡咯啉酮(NMP)、吡啶等。实施例 1 中无特殊说明, 溶液是指水溶液。

- 本发明中所描述的化学反应一般在常压下进行。反应温度在-78 $^{\circ}$ C 至 200 $^{\circ}$ C 之间。反应时间和条件为, 例如, 一个大气压下, -78 $^{\circ}$ C 至 200 $^{\circ}$ C 之间, 大约 1 至 24  
35 小时内完成。如果反应过夜, 则反应时间一般为 16 小时。实施例 1 中无特殊说明, 反应的温度为室温, 为 20 $^{\circ}$ C $\sim$ 30 $^{\circ}$ C。

实施例中的反应进程的监测采用薄层色谱法(TLC)，反应所使用的展开剂的体系有：A：二氯甲烷和甲醇体系，B：石油醚和乙酸乙酯体系，C：丙酮，溶剂的体积比根据化合物的极性不同而进行调节。

纯化化合物采用的柱层析的洗脱剂的体系和薄层色谱法的展开剂体系包括：

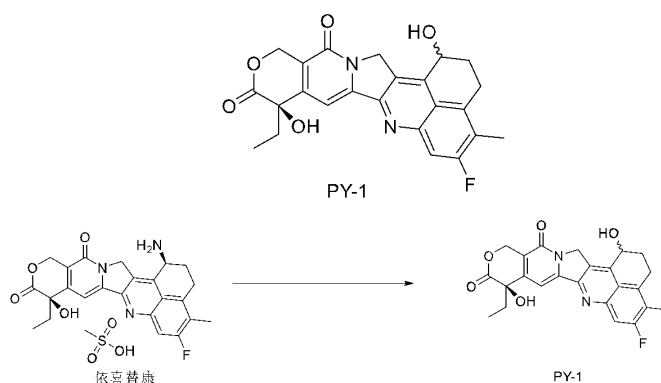
- 5 A：二氯甲烷和甲醇体系，B：石油醚和乙酸乙酯体系，溶剂的体积比根据化合物的极性不同而进行调节，也可以加入少量的三乙胺和三氟乙酸等碱性或酸性试剂进行调节。

除非另行定义，文中所使用的所有专业与科学用语与本领域熟练人员所熟悉的意义相同。此外，任何与所记载内容相似或均等的方法及材料皆可应用于本发  
10 明方法中。

根据本文提供的示例性程序及其本领域技术人员已知的改变来制备本发明的化合物。

#### 制备例

- 15 制备例 1：(9R)-9-乙基-5-氟-1,9-二羟基-4-甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮（PY-1）的制备

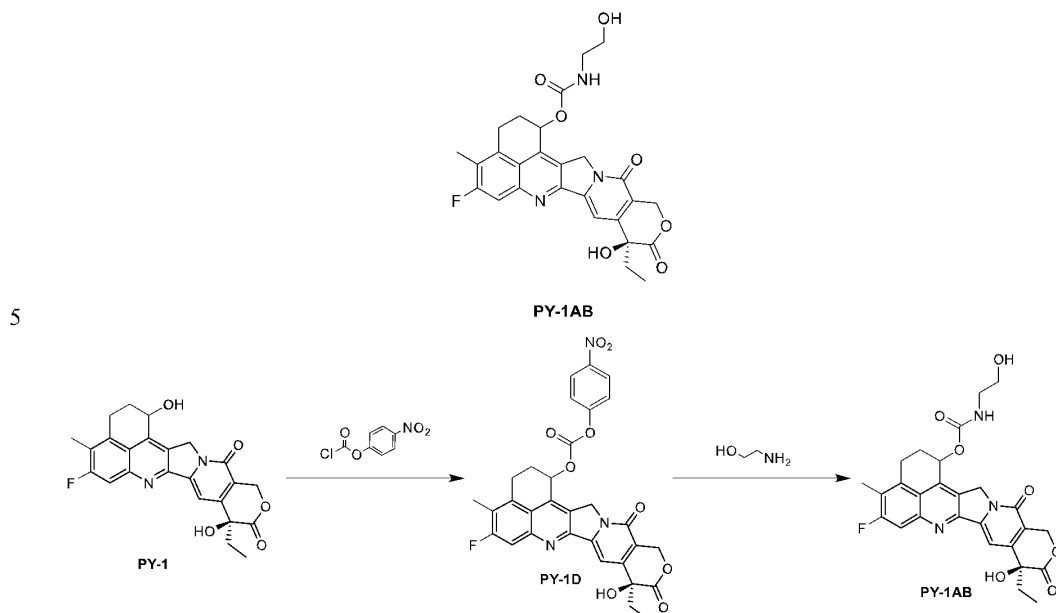


- 将  $\text{NaNO}_2$  (270 mg, 3.91 mmol) 置于 25 mL 三口瓶中，加入 6 mL 水溶解，  
20 再加入 1 mL 冰醋酸，随后将伊喜替康甲磺酸盐（皓元医药，100 mg, 0.188 mmol）的醋酸水溶液（3 mL 冰醋酸，3 mL 水）缓慢加入到上述  $\text{NaNO}_2$  溶液中，室温反应 1.5h。将反应液过滤收集固体，将固体干燥得到红棕色固体，高效液相色谱法（Oriundo, BRIX-2860；色谱柱：Phenomenex Luna C18 250×50mm×10 $\mu$ m；流动相：水（0.5%甲酸）-乙腈，从 40%到 80%洗脱）分离纯化，冻干，得到 12 mg  
25 微红色粉末，收率：14%。

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 437.1 $[M+1]^+$ 。

- $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.75 (d,  $J$  = 11.0 Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.50 (s, 1H), 6.04- 5.83 (m, 1H), 5.48-5.29 (m, 4H), 5.16 (d,  $J$  = 5.6 Hz, 1H), 3.23 (dd,  $J$  = 13.4, 8.6 Hz, 2H), 3.09-2.98 (m, 1H), 2.37 (s, 3H), 2.02 (dd,  $J$  = 16.4, 6.8 Hz, 1H), 1.86 (dq,  $J$  = 14.0, 7.2 Hz, 2H), 0.88 (t,  $J$  = 7.3 Hz, 3H)。  
30

制备例 2: (9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H, 12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基(2-羟乙基)氨基甲酸酯 (PY-1AB) 的制备



步骤 1: (9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H, 12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基(4-硝基苯基)碳酸酯 (PY-1D) 的制备

10 将化合物 PY-1 (40.0 mg, 0.09 mmol, 1.0 eq) 和三乙胺 (27.3 mg, 0.27 mmol, 3.0 eq) 溶于二氯甲烷中 (5 mL), 0℃ 加入对氯甲酸硝基苯酯 (36.2 mg, 0.18 mmol, 2.0 eq), 然后升温至 35℃, 并搅拌 3 小时。将反应液冷却至室温, 然后浓缩得到粗品黄色固体 (60 mg 粗品, 49.3% 纯度, 0.05 mmol, 收率 55.6%)。

15 LCMS: RT = 0.909 min, MS (ESI) m/z = 602.1 [M+H]<sup>+</sup>。

步骤 2: (9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H, 12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基(2-羟乙基)氨基甲酸酯 (PY-1AB) 的制备

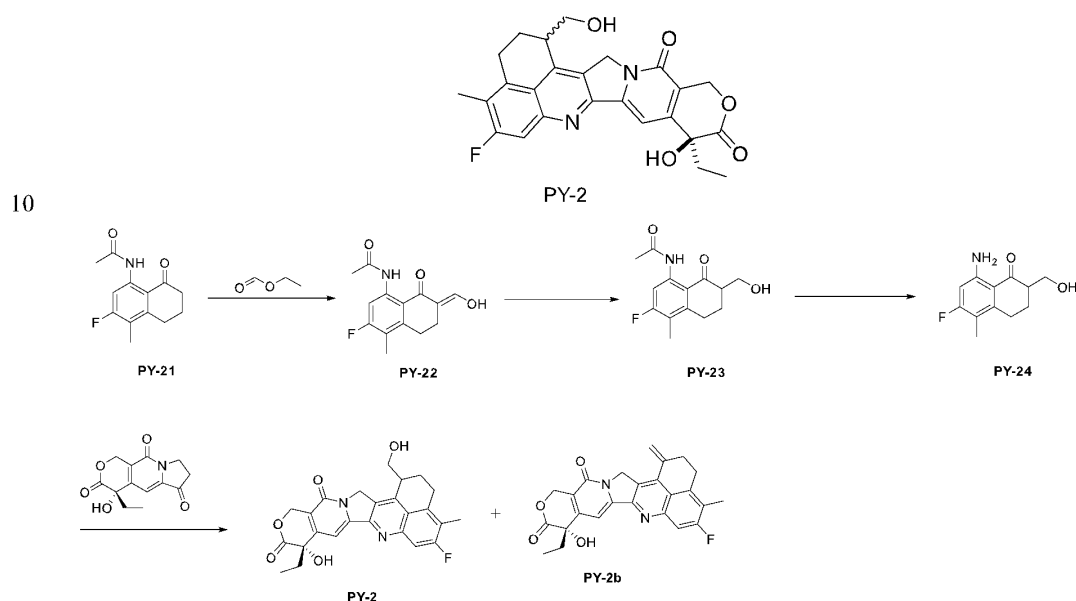
20 将化合物 PY-1D (0.05 mmol, 1.0 eq) 和三乙胺 (10.1 mg, 0.1 mmol, 2.0 eq) 溶于二氯甲烷中 (5 mL), 0℃ 加入乙醇胺 (31.4 mg, 0.04 mmol, 1.1 eq), 并在 25℃ 搅拌 3 小时。将反应液冷浓缩得到粗品, 粗品用反相色谱法纯化 (柱: Welch Xtimate C18 150×30mm×5μm; 流动相: [water(FA)-ACN]; 梯度: 6%-46% B over 25 min), 得到标题化合物 PY-1AB (2.23 mg, 0.004 mmol, 收率 8.00%), 白色固体。

25 LCMS: RT = 1.197 min, MS (ESI) m/z = 524.2 [M+H]<sup>+</sup>。

$^1\text{H}$ NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm 7.81 (d,  $J = 10.8$  Hz, 1 H), 7.45 (t,  $J = 5.6$  Hz, 1 H), 7.33 (s, 1 H), 6.52 (s, 1 H), 6.27 (s, 1 H), 5.44 - 5.24 (m, 4 H), 4.70 (t,  $J = 5.6$  Hz, 1 H), 3.48-3.44 (m, 2 H), 3.22-3.12 (m, 4 H), 2.40 (s, 3 H), 2.20-2.17 (m, 1 H), 1.91-1.86 (m, 2 H), 1.27-1.22 (m, 1 H), 0.88 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3 H)。

5

制备例 3: (9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1-(羟甲基)-4-甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮(**PY-2**)和 (S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-1-亚甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (**PY-2b**) 的制备



步骤 1: (E)-N-(3-氟-7-(羟基亚甲基)-4-甲基-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (**PY-22**) 的制备

15 在 100 ml 三口烧瓶中, 将 N-(3-氟-4-甲基-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (**PY-21**) (1.0 g, 4.25 mmol, 1.0 eq) 溶于 THF (20 mL), 在冰水中降温至 0℃, 缓慢加入 t-BuOK (12.75 mmol, 1 M, 12.75 mL, 3 eq), 维持体系温度在 0℃, 搅拌 30 分钟后, 将甲酸乙酯 (787 mg, 10.63 mmol, 2.5 eq) 加入反应体系中, 搅拌 2 小时。加入氯化铵 (20 ml) 淬灭, 用乙酸乙酯萃取, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 得到黄色固体化合物(E)-N-(3-氟-7-(羟基亚甲基)-4-甲基-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (1.22 g, 收率 95%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 264.1[M+1]<sup>+</sup>。

步骤 2: N-(3-氟-7-(羟甲基)-4-甲基-8-氧-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (**PY-23**) 的制备

25 在氮气氛围下, 向化合物(E)-N-(3-氟-7-(羟基亚甲基)-4-甲基-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 **PY-22** (400 mg, 1.52 mmol, 1.0 eq) 的甲醇 (50 ml) 溶液中加入

PtO<sub>2</sub> (69.00 mg, 303.90 μmol, 0.2 eq), 置换 3 次氢气, 氢气氛下反应 24 小时 (40℃), 检测有原料剩余, 再补加 PtO<sub>2</sub> (69.00 mg, 303.90 μmol, 0.2 eq), 在氢气氛下, 继续反应 24 小时。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 1:5) 纯化, 得到黄色固体状的化合物 N-(3-氟-7-(羟甲基)-4-甲基-8-氧-5,6,7,8-四氢萘-1-基) 乙酰胺 (324 mg, 收率 63%)。

LCMS (ESI): m/z, 266.1[M+1]<sup>+</sup>。

步骤 3: 8-氨基-6-氟-2-(羟甲基)-5-甲基-3,4-二氢萘-1(2H)-酮 (PY-24) 的制备

冰浴下, 向化合物 N-(3-氟-7-(羟甲基)-4-甲基-8-氧-5,6,7,8-四氢萘-1-基) 乙酰胺 PY-23 (180 mg, 0.68 μmol, 1.0 eq) 的无水 MeOH (15 mL) 溶液中加入 SOCl<sub>2</sub> (2.71 mmol, 1 M/L, 2.71 mL, 4.0 eq), 加完后, 置换 3 次氮气, 50℃搅拌 60 min。减压浓缩, 残余物通过制备高效液相色谱法 (Oriendo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水 (0.225%三氟乙酸)-乙腈, 从 40%到 80%洗脱) 纯化, 得到淡黄色固体化合物 8-氨基-6-氟-2-(羟甲基)-5-甲基-3,4-二氢萘-1(2H)-酮 (28.5 mg, 25%收率)。

LCMS (ESI): m/z, 264.1[M+1]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sup>6</sup>) δ 7.43 (brs, 2H), 6.35 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 3.74 (dd, *J* = 10.8, 4.4 Hz, 1H), 3.60 (dd, *J* = 10.8, 7.2 Hz, 1H), 2.90 (dt, *J* = 17.2, 4.8 Hz, 1H), 2.75-2.54 (m, 2H), 2.18-2.08 (m, 1H), 1.98 (s, 3H), 1.84-1.79 (m, 1H)。

步骤 4: (9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1-(羟甲基)-4-甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-2) 和 (S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-1-亚甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-2b) 的制备

向化合物 8-氨基-6-氟-2-(羟甲基)-5-甲基-3,4-二氢萘-1(2H)-酮 (22 mg, 98.5 μmol, 1.0 eq) 的二甲苯 (5 mL) 溶液中加入(S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃并[3,4-f]吡啶并[3,6,10(4H)]-三酮 (26 mg, 98.50 μmol, 1.0 eq)、PPTS (5 mg, 19.70 μmol, 0.2 eq)。加完后, 置换 3 次氮气, 140℃搅拌 3h。减压浓缩, 残余物通过制备高效液相色谱法 (Oriendo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水 (0.225%三氟乙酸)-乙腈, 从 48%到 80%) 纯化, 得到黄色固体 PY-2 (3.42 mg, 收率 7%) 和深棕色有些粘的固体 PY-2b (5.31 mg, 收率 10%)。

**PY-2:**

LCMS (ESI): m/z, 451.2[M+1]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sup>6</sup>) δ 11.80 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.17 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 6.73 (s, 1H), 6.46 (s, 1H), 6.11 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 5.61 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 5.36 (s, 1H), 4.73 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 2.95 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.79 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.25 - 2.03 (m, 5H), 2.00 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 1.86-1.76 (m, 2H), 0.85 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H)。

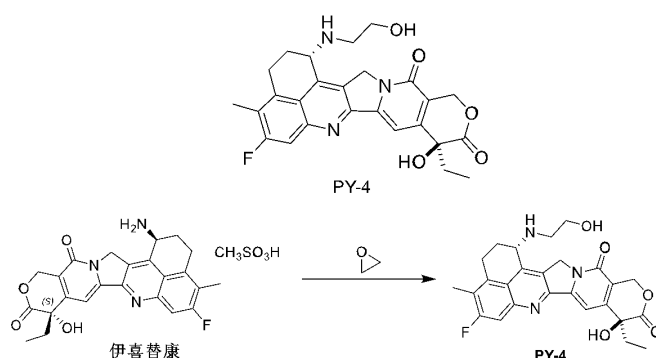
**PY-2b:**

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 433.2[M+1]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.67 (d,  $J$  = 10.8 Hz, 1H), 7.62 (s, 1H), 5.77-5.70 (m, 3H), 5.38-5.30 (m, 3H), 3.77 (s, 1H), 3.22-3.19 (m, 2H), 2.85-2.82 (m, 2H), 2.41 (s, 3H), 1.96 - 1.82 (m, 2H), 1.04 (t,  $J$  = 8.0 Hz, 3H)。

制备例 4: (1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1-((2-羟甲基)氨基)-4-甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚啉并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (**PY-4**) 的制备

10



15

将伊喜替康甲磺酸盐(皓元医药) (50 mg, 114.82  $\mu$ mol) 溶于 DMF (2 mL), 向该溶液加入环氧乙烷 (1 M, 1.15 mL) 和冰醋酸 (3.45 mg, 57.41  $\mu$ mol), 该反应体系在 90℃ 搅拌 16 小时。将反应液冷却至室温, 向体系加入 20 mL 水, 乙酸乙酯萃取 (20mL $\times$ 3)。合并有机相后用饱和食盐水洗涤, 无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 过滤, 滤液减压浓缩。残余物通过制备高效液相色谱法 (Oriundo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250 $\times$ 50mm $\times$ 10 $\mu$ m; 流动相: 水 (0.225%三氟乙酸) - 乙腈, 从 40%到 80%洗脱) 纯化, 向得到的溶液中加入 1 滴盐酸冻干, 得到黄色固体化合物 PY-4 (5.82 mg, 收率 21%)。

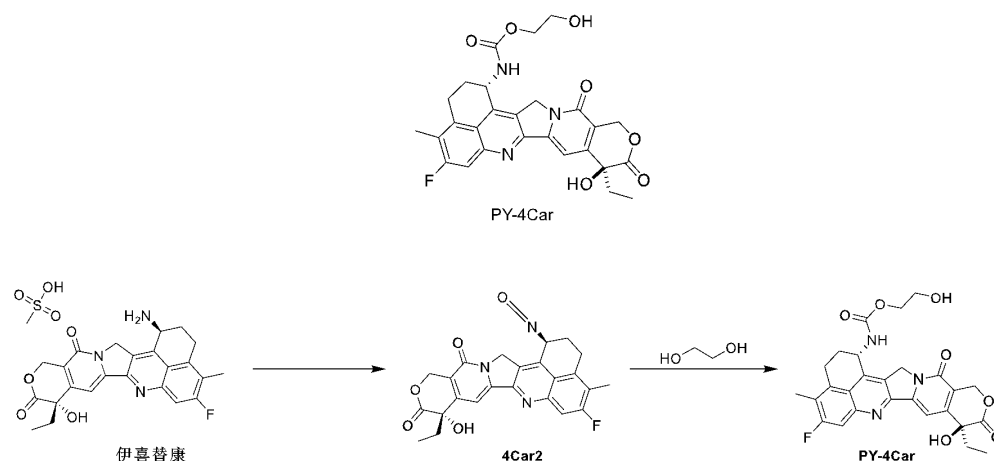
20

LCMS: [M+H]<sup>+</sup> = 480.9。

<sup>1</sup>H NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz):  $\delta$  (ppm) 0.72 - 0.83 (t,  $J$ =14.7 Hz, 3H), 1.72 - 1.85 (m, 2H), 2.13-2.22 (s, 3H), 2.43-2.56 (m, 1H), 2.80- 3.06 (m, 2H), 3.18 - 3.31 (s, 2H), 3.31-3.40 (m, 1H), 3.74-3.82 (m, 2H), 5.08-5.13 (s, 1H), 5.18 - 5.41 (m, 4H), 7.10 -7.14 (s, 1H), 7.15-7.21 (s, 1H)。

25

制备例 5: 2-羟乙基((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃[3',4:6,7]吲哚啉并[1,2-b]喹啉-1-基)氨基甲酸酯 (**PY-4Car**) 的制备



步骤 1: (1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1-异氰酸酯-4-甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (4Car2) 的制备

于 0°C, 向伊喜替康甲磺酸盐 (20 mg, 0.046 mmol) 的二氯甲烷 (2 mL) 溶液中加入三当量的三乙胺 (14 mg, 0.14 mmol) 和 1 当量的三光气 (14 mg, 0.046 mmol), 0°C 搅拌三小时。减压浓缩, 得到 20mg 粗品, 直接进行下一步反应。

步骤 2: 2-羟乙基((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃[3',4:6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)氨基甲酸酯 (PY-4Car) 的制备

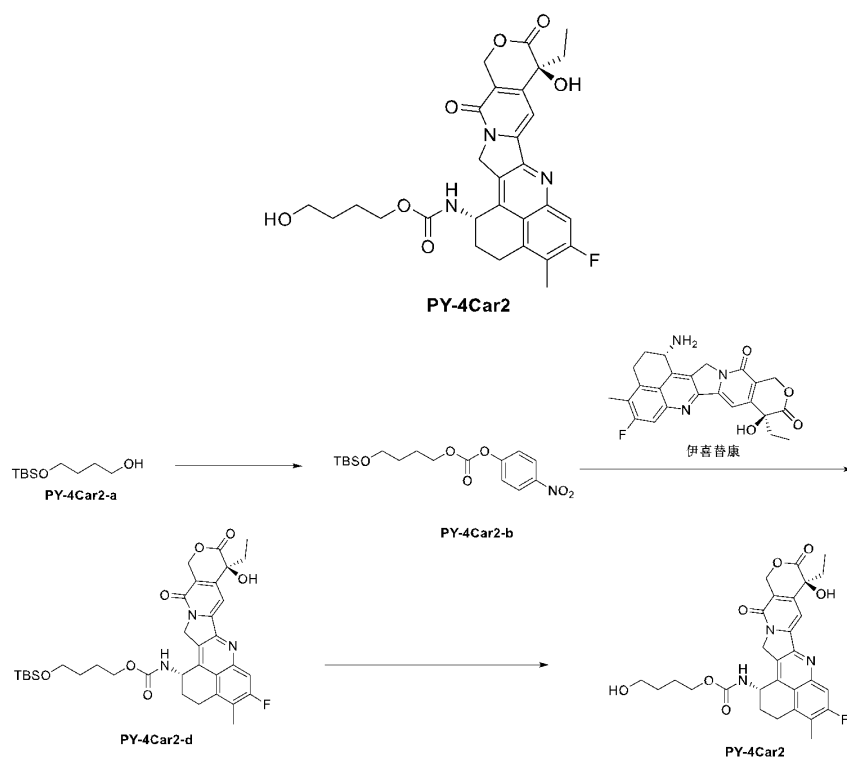
将化合物 (1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1-异氰酸酯-4-甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (4Car2) (20 mg, 0.043 mmol) 加入 1 mL 二氯甲烷溶解, 滴加 10 个当量的乙二醇 (27 mg, 0.43 mmol), 室温搅拌 3 小时。减压浓缩, 残余物通过反相制备色谱法 (Oriundo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水 (0.225% 三氟乙酸)-乙腈, 从 40% 到 80% 洗脱) 纯化, 得到 6.5mg 黄色固体的化合物 PY-4Car。

LCMS:  $m/z = 524.2 [M+1]^+$ 。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8.43 (s, 1 H), 8.00 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1 H), 7.78 (d,  $J = 10.8$  Hz, 1 H), 7.31 (s, 1 H), 6.55 (s, 1 H), 5.43 (s, 2 H), 5.24 (d,  $J = 7.20$  Hz, 2 H), 4.81 (t,  $J = 5.2$  Hz, 1 H), 3.97-4.17 (m, 2 H), 3.61 (d,  $J = 3.6$  Hz, 2 H), 3.02-3.18 (m, 2 H), 2.30-2.41 (m, 3 H), 2.05 - 2.28 (m, 2 H), 1.75-1.94 (m, 2 H), 0.87 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3 H)。

制备例 6: 4-羟丁基 ((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)氨基甲酸酯 (PY-4Car2) 的制备





步骤 1: 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) 的制备

5 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

10 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%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 370[M+H]<sup>+</sup>。

步骤 2: 4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丁基((1*S*,9*S*)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1*H*, 12*H*-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚啉并[1,2-*b*]喹啉-1-基)氨基甲酸酯 (PY-4car2-d) 的制备

向伊喜替康 (20 mg, 37.62  $\mu$ mol, 1 eq, 甲磺酸盐, 皓元医药) 和 *N,N*-二异丙基乙胺 (6.22  $\mu$ L, 37.62  $\mu$ mol, 1 eq) 的二氯甲烷 (6 mL) 溶液中加入三乙胺 (20.92  $\mu$ L, 150.48  $\mu$ mol, 4 eq)、化合物 PY-4car2-b (18.1 mg, 48.92  $\mu$ mol, 1.3 eq) 和 1-羟基苯并三唑 (2.4 mg, 18.81  $\mu$ mol, 0.5 eq), 并于室温搅拌 48 小时, 浓缩, 残余物经高效液相色谱法 (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 60%洗脱）纯化，得标题化合物 **PY-4car2-d**（15 mg，收率=59.8%）。

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 666 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

5 步骤 3：4-羟丁基 ((1*S*,9*S*)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1*H*,12*H*-苯并[*de*]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-*b*]喹啉-1-基)氨基甲酸酯 (**PY-4Car2**) 的制备

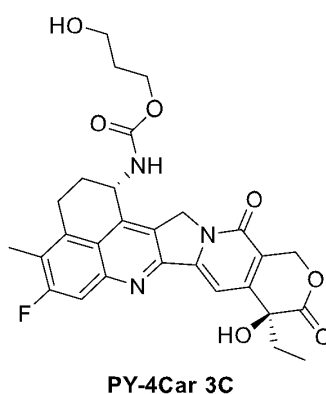
冰浴下，向化合物 **PY-4car2-d**（15 mg，22.53 μmol，1 eq）的四氢呋喃（3 mL）溶液中加入三乙胺三氢氟酸盐（14.69 μL，90.12 μmol，4 eq），搅拌 5 分钟后，于 10 25°C 搅拌过夜，残余物经反相制备色谱法（制备色谱厂家 SHIMADZU，型号 LC-20AP。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250×30mm×10μm。流动相水（0.225% $\text{HCOOH}$ ）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 20%到 55%洗脱）纯化，得标题化合物 **PY-4Car2**（3.77 mg，收率=30.34%）。

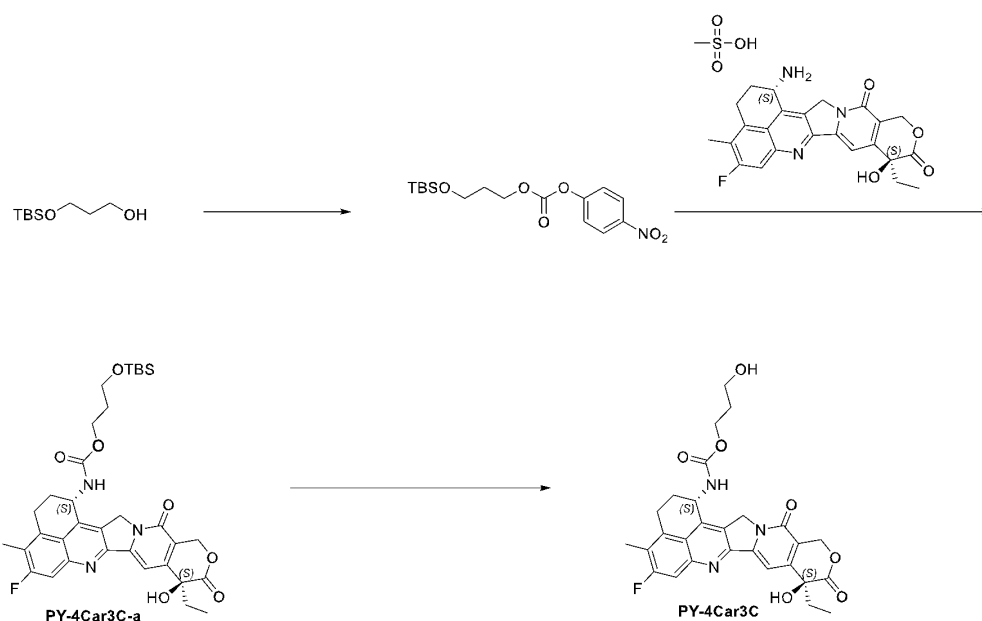
LCMS (ESI) :  $m/z$ , 552 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

15  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  7.91 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 1H), 7.78 (d,  $J$  = 10.8 Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.51 (s, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.24 (d,  $J$  = 4.2 Hz, 2H), 4.41 (t,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 4.15-4.03 (m, 2H), 3.43 (q,  $J$  = 6.2 Hz, 2H), 3.29 – 3.06 (m, 3H), 2.38 (d,  $J$  = 1.8 Hz, 3H), 2.25-2.08 (m, 2H), 1.93-1.81 (m, 2H), 1.65 (p,  $J$  = 6.8 Hz, 2H), 1.50 (p,  $J$  = 6.6 Hz, 2H), 0.87 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 3H)。  $^{19}\text{F}$  NMR (377 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  -111.37。

20

制备例7：3-羟丙基 ((1*S*, 9*S*)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1*H*, 12*H*-苯并[*d*]吡喃并[3', 4': 6,7]中氮茛并[1, 2-*b*]喹啉-1-基)氨基甲酸酯 (**PY-4Car3C**) 的制备





步骤 1: 化合物 3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙基(4-硝基苯基)碳酸酯的制备

- 5        0°C下向化合物 3-((叔丁基二甲基硅氧)丙醇(400 mg, 2.10 mmol, 1 eq)的 DMF (5 mL) 溶液中加入二(对硝基苯)碳酸酯(1.28 g, 852.31 μL, 4.20 mmol, 2 eq) 和 DIPEA (543.14 mg, 694.55 μL, 4.20 mmol, 2 eq), 室温(25°C)搅拌 16 小时, 反应液倒入 60mL 水中, 用乙酸乙酯萃取 3 次, 每次 20mL, 合并有机相, 有机相用食盐水(60mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液旋干得到粗品, 粗品通过硅胶柱层析色谱法(洗脱剂: 乙酸乙酯/石油醚 1: 30 到 1: 20)纯化得到浅黄色油状化合物 3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙基(4-硝基苯基)碳酸酯(740 mg, Yield: 99.07%)。

- 15        <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 8.30-8.26 (m, 2H), 7.40-7.35 (m, 2H), 4.41 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.76 (t, *J* = 5.9 Hz, 2H), 1.99-1.93 (m, 2H), 0.90 (s, 9H), 0.07 (s, 6H)。

步骤 2: 化合物 PY-4Car 3C-a 的制备

- 20        向化合物 3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙基(4-硝基苯基)碳酸酯(32.10 mg, 90.29 μmol, 1.2 eq), 依喜替康甲磺酸盐(40 mg, 75.24 μmol, 1 eq)的 DMF (2 mL) 溶液中加入 HOBt (10.17 mg, 99.96%, 6.78 μL, 75.24 μmol, 1 eq) 和 DIPEA (29.17 mg, 99%, 37.31 μL, 225.73 μmol, 3 eq), 加毕, 室温(25°C)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, 水的洗脱比例从 50%到 80%洗脱)纯化, 经

冻干得到浅黄色固体化合物 PY-4Car 3C-a (45 mg, Yield: 91.75%)。

LCMS:  $m/z = 652.3$   $[M+1]^+$ ;  $R_t=3.098$  min。

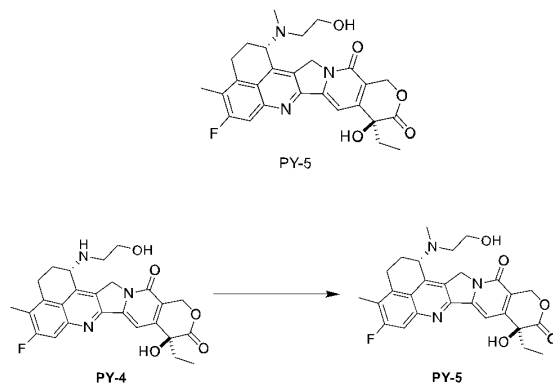
步骤 3: 化合物 PY-4Car 3C 的制备

室温下向化合物 PY-4Car3C-a (45 mg, 60.75  $\mu$ mol, 1 eq) 的 THF (2mL) 溶  
 5 液中加入三乙胺三氢氟酸盐 (499.70 mg, 98%, 505.26  $\mu$ L, 3.04 mmol, 50 eq),  
 加毕, 反应液在 40℃下搅拌 10 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  
 250×30mm×10 $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH)-乙腈, 水的洗脱比例从 30%到 60%  
 洗脱) 纯化, 经冻干得到黄色固体化合物 PY-4Car3C (27.40 mg, Yield: 83.90%,  
 10 Purity: 98.19%)。

LCMS:  $m/z = 538.2$   $[M+1]^+$ ;  $R_t=1.508$  min。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.92 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 7.77 (d,  $J = 10.9$  Hz,  
 1H), 7.30 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.23 (d,  $J = 6.4$  Hz, 3H), 4.51 (s, 1H),  
 4.20-4.15 (m, 1H), 4.13-4.05 (m, 1H), 3.50 (t,  $J = 6.4$  Hz, 2H), 3.23 (s, 1H), 3.14-3.07  
 15 (m, 1H), 2.37 (d,  $J = 1.8$  Hz, 3H), 2.24-2.09 (m, 2H), 1.92-1.82 (m, 2H), 1.76 (p,  $J = 6.5$   
 Hz, 2H), 0.87 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H)。

制备例 8: (1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1-((2-羟乙基)(甲基)氨基)-4-甲基  
 -1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二  
 20 酮 (PY-5) 的制备



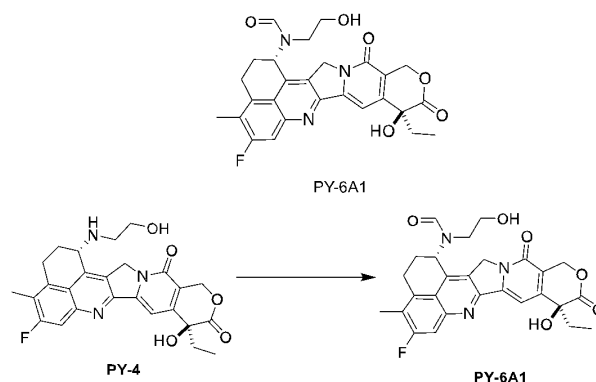
将化合物(1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1-((2-羟甲基)氨基)-4-甲基-1,2,3,9,12,15-  
 25 六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-4)  
 (25 mg, 52.14  $\mu$ mol) 溶于甲醇 (2 mL), 向该溶液加入多聚甲醛 (7.83 mg, 260.69  
 $\mu$ mol) 和冰醋酸 (626.19  $\mu$ g, 10.43  $\mu$ mol), 将反应体系在 60℃搅拌两小时。将氰  
 基硼氢化钠 (16.38 mg, 260.69  $\mu$ mol) 加入, 该反应体系在 30℃搅拌 16 小时。将  
 反应液冷却至室温, 向体系中加入 20 mL 饱和氯化铵溶液, 乙酸乙酯萃取 (20mL  
 30 ×3)。合并有机相后用饱和食盐水洗涤, 无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥, 过滤, 滤液减压浓缩。  
 将残余物通过制备高效液相色谱法 (Oriendo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex

Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水(0.225%三氟乙酸)-乙腈, 从40%到80%洗脱) 纯化, 得到干净的产品溶液, 向该溶液中加入1滴盐酸冻干, 得到黄色固体 PY-5 (7.63 mg, 收率 29.65%)。

LCMS:  $[M+H]^+ = 494.8$ 。

5  $^1\text{H}$  NMR(氘代二甲基亚砜, 400 MHz):  $\delta$  (ppm) 0.65-0.81 (t,  $J=7.4$  Hz, 3H), 1.73-1.84 (m, 2H), 2.05-2.22 (s, 3H), 2.48-2.57 (m, 1H), 2.57-2.69 (s, 3H), 2.93-3.15 (m, 2H), 3.19-3.31 (m, 1H), 3.34-3.42 (m, 1H), 3.78-3.92 (m, 2H), 5.08-5.44 (m, 4H), 7.12-7.14 (s, 1H), 7.14-7.18 (d,  $J=10.4$  Hz, 1H)。

10 制备例 9: N-(1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吡啶啉并[1,2-b]喹啉-1-基)-N-(2-羟乙基)甲酰胺 (PY-6A1) 的制备



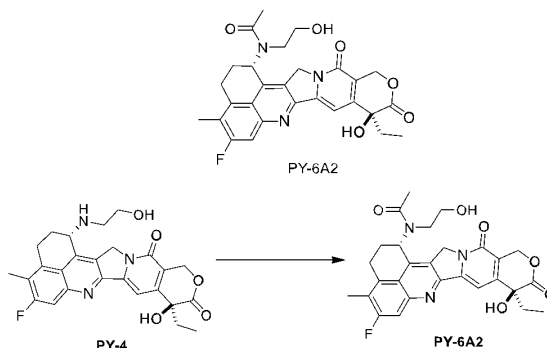
15 向醋酸 (31.31 mg, 521.38 μmol) 的无水四氢呋喃 (1 mL) 溶液中滴加入醋酸酐 (63.87 mg, 625.65 μmol), 该反应体系在50℃反应1小时。将化合物(1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1-((2-羟甲基)氨基)-4-甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吡啶啉并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-4) (100 mg, 208.55 μmol) 的无水四氢呋喃 (5 mL) 溶液加入上述反应体系, 并在20℃反应4小时。向反应体系加入20 mL水, 乙酸乙酯萃取 (20mL×3)。合并有机相后用饱和食盐水洗涤, 无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 残余物通过制备高效液相色谱法纯化 (Oriendo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水(0.225%三氟乙酸)-乙腈, 从40%到80%洗脱), 然后冻干得到白色固体化合物PY-6A1 (4.02 mg, 7.92 μmol, 收率3.80%)。

25 LCMS:  $[M+H]^+ = 508.2$ 。

$^1\text{H}$  NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz):  $\delta$  (ppm) 0.77-0.95 (t,  $J=0.9$  Hz, 3H), 1.75-1.91 (m, 2H), 2.15-2.33 (m, 1H), 2.322.39 (s, 3H), 2.94-3.14 (m, 2H), 3.40-3.66 (m, 2H), 4.67-5.30 (m, 3H), 5.31-5.57 (m, 3H), 6.46-6.51 (s, 1H), 7.26-7.30 (s, 1H), 7.71-7.82 (m, 1H), 8.11-8.29 (d,  $J=44.6$  Hz, 1H)。

30

制备例10: N-(1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)-N-(2-羟乙基)乙酰胺 (PY-6A2) 的制备



5

于 0°C, 向化合物(1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1-((2-羟甲基)氨基)-4-甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-4) (20 mg, 0.04 mmol) 的二氯甲烷 (1 mL) 溶液中加入三当量的三乙胺 (12 mg, 0.12 mmol) 和一当量的乙酰氯 (3.27 mg, 41.70 μmol), 0°C搅拌两小时。反应液减压浓缩, 残余物通过高效液相色谱制备 (Oriundo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水 (0.225%三氟乙酸) -乙腈, 从 40%到 80%洗脱) 纯化, 得到 (3.25 mg, 15%) 白色固体化合物 PY-6A2。

10

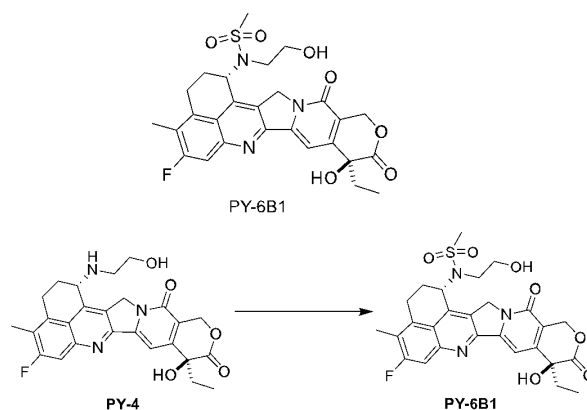
LCMS (ESI): m/z, 522.2 [M+1]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sup>6</sup>) δ 8.13 (s, 1 H) 7.75 (br d, *J* = 9.6 Hz, 1 H) 7.25-7.38 (m, 1 H) 6.52 (s, 1 H) 5.30-5.53 (m, 4 H) 4.04 - 4.33 (m, 2 H) 2.85-3.19 (m, 5 H) 2.29-2.41 (m, 4 H) 2.03-2.23 (m, 5 H) 1.83-1.95 (m, 2 H) 0.87 (t, *J* = 7.2 Hz, 3 H)。

15

制备例 11: N-(1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H 苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)-N-(2-羟乙基)甲磺酰胺 (PY-6B1) 的制备

20



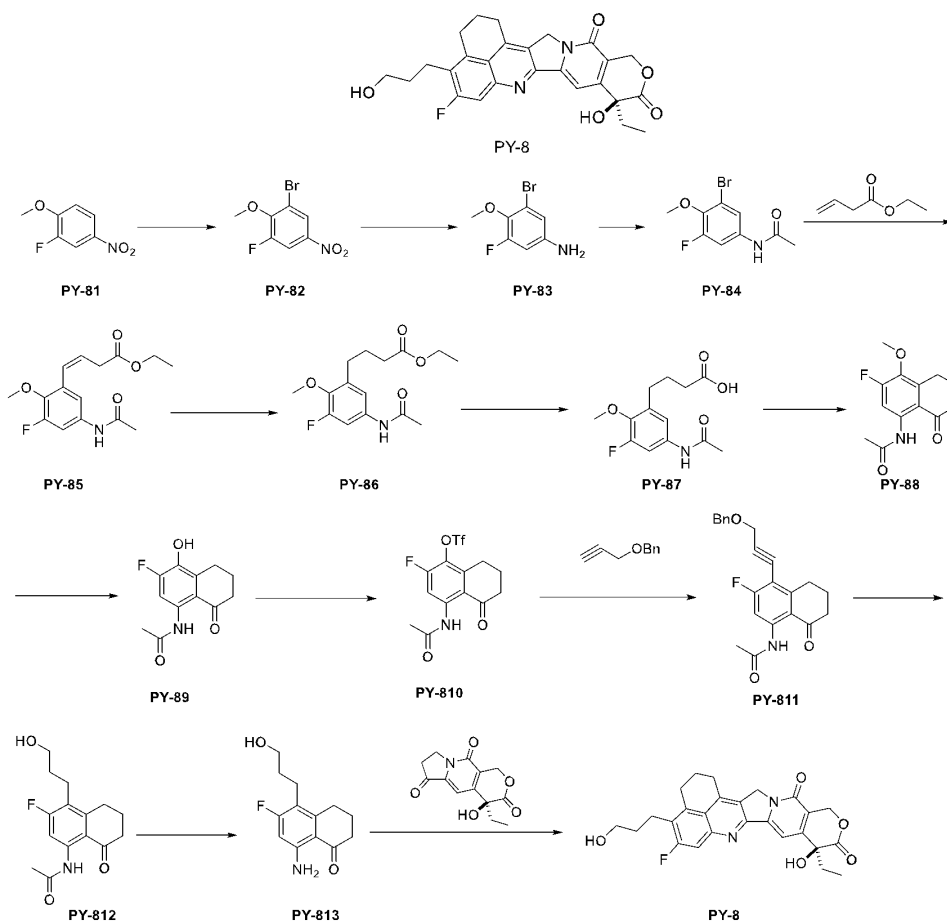
于 0°C, 向化合物(1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1-((2-羟甲基)氨基)-4-甲基

-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]呋啉并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-4) (20 mg, 0.04 mmol) 的二氯甲烷 (1 ml) 溶液中加入三当量的三乙胺 (12 mg, 0.12 mmol) 和一当量的甲烷磺酰氯 (5 mg, 0.04 mmol), 0°C 搅拌两小时。反应液减压浓缩, 残余物通过高效液相色谱制备 (Oriundo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水 (0.225% 三氟乙酸) - 乙腈, 从 48% 到 80% 洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物 PY-6B1 (1.3 mg, 收率: 6%)。

LCMS (ESI) : m/z, 558.2 [M+1]<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sup>6</sup>) δ 8.22 (d, *J* = 13.6 Hz, 1 H), 7.70-7.81 (m, 1H),  
10 7.28-7.35 (m, 1 H), 6.55 (d, *J* = 1.6 Hz, 1 H), 5.43 (s, 3 H), 4.15-4.37 (m, 1 H),  
2.80-3.11 (m, 4 H), 2.63-2.70 (m, 1 H), 2.27-2.40 (m, 6 H), 2.01-2.24 (m, 2 H),  
1.53-1.95 (m, 4 H), 0.80-0.94 (m, 3 H)。

制备例 12: (S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-(3-羟丙基)-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-  
15 苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-8) 的制备



步骤 1: 1-溴-3-氟-2-甲氧基-5-硝基苯 (**PY-82**) 的制备

向 2-氟-1-甲氧基-4-硝基苯 (PY-81) (50 g, 292 mmol) 和 NBS (57.2 g, 321 mmol) 的醋酸 (500 mL) 溶液中加入浓硫酸 (30 mL), 并于 120°C 搅拌过夜。将反应液浓缩, 静置析出乳白色固体物, 过滤, 将滤饼用水和乙醇洗涤, 干燥得到化合物 PY-82 (58 g, 79% 产率)。

5 LCMS (ESI):  $m/z$ , 249.9  $[M+H]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d^6$ )  $\delta$  8.34-8.23 (m, 2H), 4.07 (d,  $J = 3.2$  Hz, 3H)。

步骤 2: 3-溴-5-氟-4-甲氧基苯胺 (PY-83) 的制备

向化合物 1-溴-3-氟-2-甲氧基-5-硝基苯 (PY-82) (50 g, 200 mmol) 和铁粉 (55.85 g, 1 mol) 的乙醇 (500 mL) 溶液中依次加入浓盐酸 (3.34 mL, 0.55 equiv.) 和 83mL 水), 并于 80°C 搅拌过夜。反应液经硅藻土过滤, 减压浓缩, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (PE:EA=3:1) 分离纯化, 得到化合物 PY-83 (40g, 产率 90%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 219.9  $[M+H]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d^6$ )  $\delta$  6.59 (t,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 6.41 (dd,  $J = 13.2, 2.6$  Hz, 1H), 5.40 (s, 2H), 3.67 (s, 3H)。

15 步骤 3: N-(3-溴-5-氟-4-甲氧基苯基)乙酰胺 (PY-84) 的制备

向化合物 3-溴-5-氟-4-甲氧基苯胺 (PY-83) (10.0 g, 45.4 mmol) 和三乙胺 (13.9 mL, 2.2 equiv.) 的二氯甲烷 (500 mL) 溶液中加入乙酰氯 (4 mL, 1.2 equiv.), 并于 25°C 搅拌过夜。使用 150ml 饱和氯化铵淬灭反应, 然后加入 3×80ml 二氯甲烷萃取, 有机相用 80ml 饱和氯化钠溶液洗涤, 减压浓缩, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (PE:EA=3:1) 分离纯化, 得到化合物 PY-84 (10 克, 产率 84%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 264.0  $[M+H]^+$ 。

步骤 4: (Z)-4-(5-乙酰胺基-3-氟-2-甲氧基苯基)丁-3-烯酸乙酯 (PY-85) 的制备

向化合物 N-(3-溴-5-氟-4-甲氧基苯基)乙酰胺 (PY-84) (15 g, 57.23 mmol) 和  $\text{Pd}(\text{t-Bu}_3\text{P})_2$  (1.46 g, 0.05 equiv) 的甲苯 (200.0 mL) 溶液中依次加入 DIPEA (60 mL, 6.0 equiv.) 和丁烯酸乙酯 (1.5 equiv., 10.89 mL), 于 13°C 搅拌过夜。将反应混合液直接减压浓缩, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (PE:EA=1:2) 分离纯化, 得到化合物 PY-85 (7.9g, 产率 46%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 296.1  $[M+H]^+$ 。

步骤 5: 4-(5-乙酰胺基-3-氟-2-甲氧基苯基)丁酸乙酯 (PY-86) 的制备

30 向化合物 (Z)-4-(5-乙酰胺基-3-氟-2-甲氧基苯基)丁-3-烯酸乙酯 (PY-85) (8.0 g, 27.08 mmol) 的甲醇 (100.0 mL) 溶液中加入钯碳 (0.1 equiv., 2.88 g), 于 50°C 反应过夜。将反应混合液经硅藻土过滤, 滤液减压浓缩, 干燥, 得到粗产物化合物 PY-86, 直接用于下一步反应。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 298.1  $[M+H]^+$ 。

35 步骤 6: 4-(5-乙酰胺基-3-氟-2-甲氧基苯基)丁酸 (PY-87) 的制备



向化合物 4-(5-乙酰氨基-3-氟-2-甲氧基苯基)丁酸乙酯 (PY-86) (8 g, 26.91 mmol) 的甲醇/四氢呋喃/水 (120ml) 的混合溶剂中 (按 1:1:1 的比例混合) 加入氢氧化锂 (3 equiv., 1.93 g), 并于室温反应过夜。将反应混合液减压浓缩, 再使用乙酸乙酯 (2×80ml) 萃取杂质, 去除有机相。水相随后加入浓盐酸调 pH 值到 1, 再使用乙酸乙酯 (3×80 ml) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到化合物 PY-87 (3.8 g, 产率: 70%)。

LCMS (ESI): m/z, 270.1 [M+H]<sup>+</sup>; 292.1 [M+Na]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sup>6</sup>) δ 12.07 (s, 1H), 9.99 (s, 1H), 7.50 (dd, *J* = 13.6, 2.4 Hz, 1H), 7.09-7.03 (m, 1H), 3.77 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H), 2.63-2.53 (m, 2H), 2.25 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.02 (s, 3H), 1.75 (dq, *J* = 9.2, 7.2 Hz, 2H)。

步骤 7: N-(3-氟-4-甲氧基-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (PY-88) 的制备于 95°C, 将化合物 4-(5-乙酰氨基-3-氟-2-甲氧基苯基)丁酸 (PY-87) (1 g, 3.71 mmol) 在 PPA (多聚磷酸) 的溶液搅拌 3 小时。将反应混合液倒入冰水中, 用水洗涤, 然后用乙酸乙酯 (3×30 mL) 萃取, 无水硫酸钠干燥, 然后过滤减压浓缩, 残余物经高效液相色谱制备 (Oriundo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水 (0.225%三氟乙酸)-乙腈, 从 45%到 85%洗脱) 纯化, 冻干后得到化合物 PY-88 (110mg, 产率 11%)。

LCMS (ESI): m/z, 252.1 [M+H]<sup>+</sup>; 274.0 [M+Na]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sup>6</sup>) δ 12.05 (s, 1H), 8.37 (d, *J* = 14.8 Hz, 1H), 3.81 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H), 2.95 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 2.66 (dd, *J* = 7.2, 5.6 Hz, 2H), 2.16 (s, 3H), 1.99 (q, *J* = 6.4 Hz, 2H)。

步骤 8: N-(3-氟-4-羟基-8-氧-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (PY-89) 的制备将化合物 N-(3-氟-4-甲氧基-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (PY-88) (1.3 g) 溶于 DCE (20 ml) 中, 加入 5 当量 AlCl<sub>3</sub>, 60°C搅拌 5 小时。加入 100ml 水稀释, 用乙酸乙酯萃取, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 得到 910mg 黄色固体状化合物 PY-89。

LCMS (ESI): m/z, 238.0 [M+1]<sup>+</sup>。

步骤 9: 4-乙酰氨基-2-氟-5-氧-5,6,7,8-四氢萘-1-基三氟甲烷磺酸盐 (PY-810) 的制备

将化合物 N-(3-氟-4-羟基-8-氧-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (PY-89) (0.9 g) 溶于 DCM (20mL) 中, 加入 3 当量的三乙胺和 3 当量的三氟甲磺酸酐, 室温搅拌 3 小时, 减压浓缩, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (乙酸乙酯/正己烷 1:5) 分离纯化, 得到 0.9 g 黄色固体化合物 PY-810。

LCMS (ESI): m/z, 370.1 [M+1]<sup>+</sup>。

步骤 10: N-(4-(3-(苄氧基)丙-1-炔-1-基)-3-氟-8-氧-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (PY-811) 的制备

将化合物 4-乙酰氨基-2-氟-5-氧-5,6,7,8-四氢萘-1-基三氟甲烷磺酸盐 (PY-810) (420 mg) 溶于 DMF (10 mL) 中, 加入 2 当量三乙胺, 3 当量的丙炔基苄基醚, 0.2 当量的 Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 和 0.1 当量的 CuI。氮气氛围下, 80°C 搅拌 12 小时。加 100 mL 水稀释, 乙酸乙酯萃取, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 残余物制备高效液相色谱法 (Oriundo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水 (0.225% 三氟乙酸)-乙腈, 从 45% 到 85% 洗脱) 纯化, 得到 250 mg 黄色固体化合物 PY-811。

LCMS (ESI): m/z, 366.1 [M+1]<sup>+</sup>。

步骤 11: N-(3-氟-4-(3-羟丙基)-8-氧-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (PY-812) 的制备

将化合物 N-(4-(3-(苄氧基)丙-1-炔-1-基)-3-氟-8-氧-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (PY-811) (250 mg) 溶于 MeOH (10 mL) 中, 加入 0.1 当量的钯炭, 氢气氛围下, 室温搅拌 12 小时。过滤, 滤液减压浓缩, 得到 150 mg 黄色固体化合物 PY-812。

LCMS (ESI): m/z, 280.2 [M+1]<sup>+</sup>。

步骤 12: 8-氨基-6-氟-5-(3-羟丙基)-3,4-二氢萘-1(2H)-酮 (PY-813) 的制备

将化合物 N-(3-氟-4-(3-羟丙基)-8-氧-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (PY-812) (150 mg) 溶于 6N HCl (2 mL) 和 EtOH (2 mL) 中, 60°C 搅拌 3 小时, 过滤, 减压浓缩, 得到 125 mg 黄色固体化合物 PY-813。

LCMS (ESI): m/z, 238.1 [M+1]<sup>+</sup>。

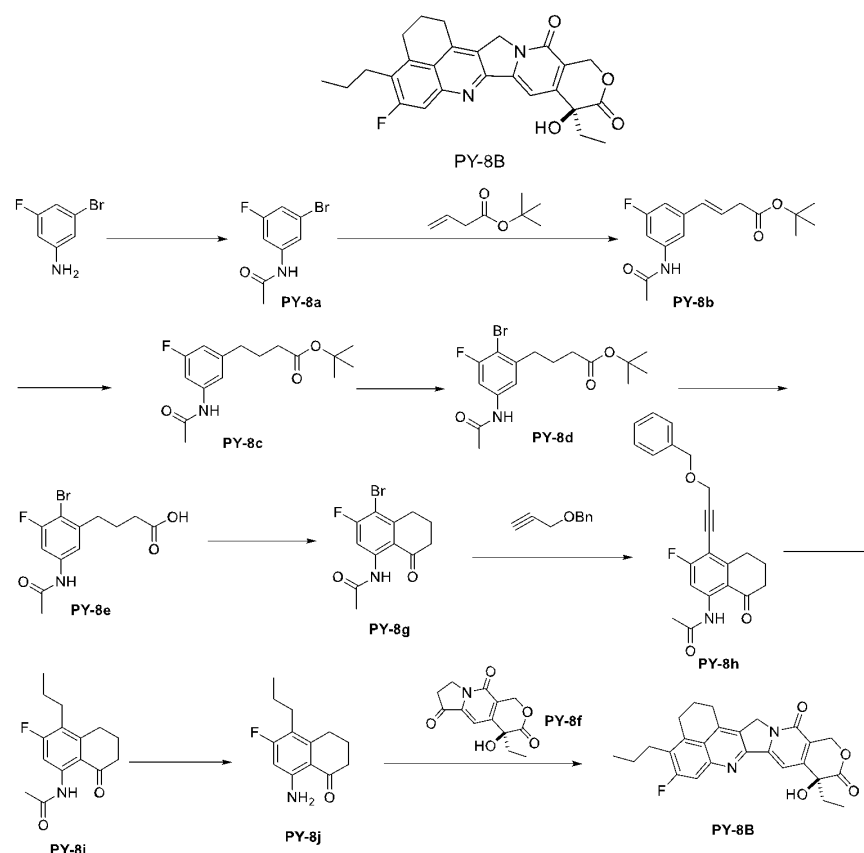
步骤 13: (S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-(3-羟丙基)-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-8) 的制备

将化合物 8-氨基-6-氟-5-(3-羟丙基)-3,4-二氢萘-1(2H)-酮 (PY-813) (125 mg, 0.53 mmol) 和 1.1 当量的 (S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃[3,4-f]吡啶并[3,6,10(4H)-三酮 (皓元医药, 152 mg, 0.58 mmol) 溶于 10 mL 二甲苯中, 加入 0.3 当量 PPTS (吡啶对甲苯磺酸盐) (40 mg, 0.16 mmol)。氮气氛围下, 120°C 搅拌 12 小时。减压浓缩, 残余物通过高效液相色谱制备 (Oriundo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水 (0.225% 三氟乙酸)-乙腈, 从 45% 到 85% 洗脱) 分离纯化, 冻干得到黄色固体化合物 PY-8 (42 mg, 收率 17%)。

LCMS (ESI): m/z, 456.2 [M+1]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.72 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.51 (s, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.24 (s, 2H), 4.60 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.49 (q, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.16 (t, *J* = 6.0 Hz, 4H), 2.87 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 2.08 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 1.88-1.87 (m, 2H), 1.69 (p, *J* = 6.4 Hz, 2H), 0.88 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H)。

制备例13: (S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-丙基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-8B) 的制备



#### 5 步骤 1: N-(3-溴-5-氟苯基)乙酰胺 (PY-8a) 的制备

将 3-溴-5-氟苯胺 (50 g, 0.263 mol) 溶于二氯甲烷 (700 mL), 室温加入三乙胺 (53.2 g, 0.526 mol), 冰水浴下, 缓慢滴加乙酸酐 (40.3 g, 0.395 mol), 加毕, 室温反应 2 小时。加入水 (400 mL), 水相再用二氯甲烷萃取 (200 mL), 合并有机相, 依次用饱和氯化钠溶液洗涤 (300 mL×2), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 残余物再用正庚烷打浆, 过滤得 N-(3-溴-5-氟苯基)乙酰胺 (54 g, 产率: 88.4%)。

#### 步骤 2: (E)-4-(3-乙酰氨基-5-氟苯基)丁-3-烯酸叔丁酯 (PY-8b) 的制备

将 N-(3-溴-5-氟苯基)乙酰胺 (PY-8a) (54 g, 0.2327 mol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (700 mL), 依次加入二(三叔丁基膦)钯 (5.97 g, 11.64 mmol)、三(邻甲基苯基)膦 (7.07 g, 23.27 mmol)、N-甲基二环己基胺 (100 g, 0.5119 mol) 和 1-丁烯-4-酸叔丁酯 (66.1 g, 0.4654 mol), 氮气置换三次后, 100℃ 反应 16 小时。加乙酸乙酯 (600 mL) 和水 (1 L) 萃取, 水相再用乙酸乙酯萃取 (300 mL), 合并有机相, 依次用饱和氯化钠溶液洗涤 (500 mL×2), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 残余物用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系乙酸乙酯/正庚烷 (0-30%) 纯

化, 得到(E)-4-(3-乙酰氨基-5-氟苯基)丁-3-烯酸叔丁酯 (65 g, 产率: 95.3%)。

步骤 3: 4-(3-乙酰氨基-5-氟苯基)丁酸叔丁酯 (PY-8c) 的制备

将(E)-4-(3-乙酰氨基-5-氟苯基)丁-3-烯酸叔丁酯 (PY-8b) (65 g, 0.2218 mol) 溶于甲醇 (1.3 L), 氮气置换一次后, 加入 Pd/C (33 g, 0.3101 mol), 加毕, 氮气再置换一次后, 用氢气置换两次, 室温反应 16 小时。过滤, 滤液减压浓缩, 残余物用反相色谱法以洗脱剂体系乙腈/纯化水 (0-90%) 纯化, 得到 4-(3-乙酰氨基-5-氟苯基)丁酸叔丁酯 (PY-8c) (55 g, 产率: 84%)。

步骤 4: 4-(5-乙酰氨基-2-溴-3-氟苯基)丁酸叔丁酯 (PY-8d) 的制备

将 4-(3-乙酰氨基-5-氟苯基)丁酸叔丁酯 (PY-8c) (55 g, 0.1864 mol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (600 mL), 冰水浴下, 分批加入 NBS (36.5 g, 0.2051 mol), 加毕, 室温搅拌 1h 后, 加入乙酸乙酯 (300 mL) 和水 (400 mL) 萃取, 水相再用乙酸乙酯 (100 mL) 萃取一次, 合并有机相, 依次用饱和氯化钠溶液洗涤 (300 mL×2), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 残余物用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系乙酸乙酯/正庚烷 (0-30%) 纯化, 得 4-(5-乙酰氨基-2-溴-3-氟苯基)丁酸叔丁酯 (59 g, 产率: 84.6%)。

步骤 5: 4-(5-乙酰氨基-2-溴-3-氟苯基)丁酸 (PY-8e) 的制备

将 4-(5-乙酰氨基-2-溴-3-氟苯基)丁酸叔丁酯 (PY-8d) (59 g, 0.1577 mol) 溶于二氯甲烷 (300 mL), 冰水浴下, 滴加 HCl/二氧六环 (400 mL, 1.6 mol), 加毕, 室温反应 16 小时, 过滤, 滤液减压浓缩, 得 4-(5-乙酰氨基-2-溴-3-氟苯基)丁酸 (42 g, 产率: 83.7%)。

步骤 6: N-(4-溴-3-氟-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (PY-8g) 的制备

1 L 三口瓶中, 加入 4-(5-乙酰氨基-2-溴-3-氟苯基)丁酸 (PY-8e) (42 g, 0.1321 mol) 和伊顿试剂 (210 g), 氮气置换 3 次后, 85℃ 反应 1 小时。冰水浴下, 缓慢将反应液滴加到水中 (2 L), 过滤, 滤饼用水淋洗干净, 滤液再减压浓缩干后, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系乙酸乙酯/二氯甲烷 (0-30%) 纯化, 得粗品 (30 g), 再将粗品用乙酸乙酯 (10 mL) /石油醚 (100 mL) 体系打浆, 过滤后, 得 N-(4-溴-3-氟-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (20 g, 收率 50.4%)。

LCMS (ESI): m/z, 300.0 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 12.35 (s, 1H), 8.61 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 3.07 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 2.69 (dd, J = 7.2 Hz, 2H), 2.24 (s, 3H), 2.11 (p, J = 6.4 Hz, 2H)。

步骤 7: N-(4-(3-(苄氧基)丙-1-炔-1-基)-3-氟-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (PY-8h) 的制备

氮气氛围下, 将 N-(4-溴-3-氟-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (PY-8g) (1.8 g, 6.0 mmol) 溶解于无水 DMF (50 mL) 中, 依次加入(丙-2-烯-1-氧基)甲基苯 (4.34 mL, 29.99 mmol)、碘化亚铜 (228.4 mg, 1.2 mmol)、双三苯基膦二氯化钯 (841.9 mg, 1.2 mmol) 以及三乙胺 (3.33 mL, 23.99 mmol), 所得混合物用氮气置换三

次后，加热至 100°C 搅拌反应 16 小时。将反应液浓缩至干，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，得到化合物 PY-8h（1.0 g，收率 45.6%），黄色固体。

LCMS:  $m/z = 366.1 [M+1]^+$ ;  $R_t = 1.108$ 。

- 5 步骤 8: N-(3-氟-8-氧代-4-丙基-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (PY-8i) 的制备  
将化合物 PY-8h (2.5 g, 6.84 mmol) 溶解于甲醇 (20 mL) 和四氢呋喃 (20 mL) 中，加入钯炭 (4.0 g)，氢气置换三次，并加热至 45°C 搅拌 4 小时。将反应液过滤后，直接浓缩，粗品直接用于下一步反应。

LCMS:  $m/z = 264.1 [M+1]^+$ ;  $R_t = 1.056$ 。

- 10 步骤 9: 8-氨基-6-氟-5-丙基-3,4-二氢萘-1(2H)-酮 (PY-8j) 的制备  
将化合物 PY-8i (1.91 g, 6.84 mmol) 溶解于 6M 盐酸 (20 mL) 和乙醇 (20 mL) 中，加热至 60°C 搅拌反应 1 小时。将反应液浓缩至干，粗品直接用于下一步反应。

步骤 10: (S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-丙基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-8B) 的制备

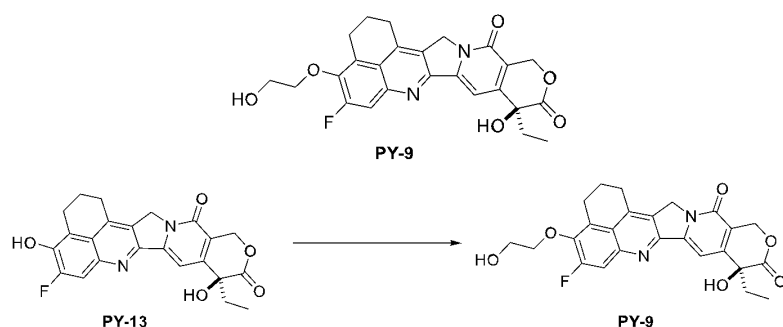
- 15 氮气氛围下，将化合物 PY-8j (960 mg, 1.0eq) 和 (S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃并[3,4-f]吡啶-3,6,10(4H)-三酮 (PY-8f) (皓元医药) (1.17 g, 1.1eq) 分散于甲苯 (25 mL) 中，加入对甲苯磺酸吡啶 (508 mg, 0.5eq)，加热至 120°C 搅拌反应 16 小时。将反应液浓缩，残余物通过硅胶柱层析色谱法（洗脱剂：二氯甲烷/甲醇=10:1）纯化，得到化合物 PY-8B (340 mg，收率 18%)，棕色固体。

- 20 LCMS:  $m/z = 449.2 [M+H]^+$ ;  $R_t = 3.313$  min。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.72 (d,  $J = 11.4$  Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.23 (s, 2H), 3.15 (q,  $J = 5.6$  Hz, 4H), 2.81 (t,  $J = 7.7$  Hz, 2H), 2.08 (t,  $J = 5.9$  Hz, 2H), 1.94-1.78 (m,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 1.58 (h,  $J = 7.4$  Hz, 2H), 0.97 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 0.88 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H)。

25

制备例 14: (S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-(2-羟基乙氧基)-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-9) 的制备



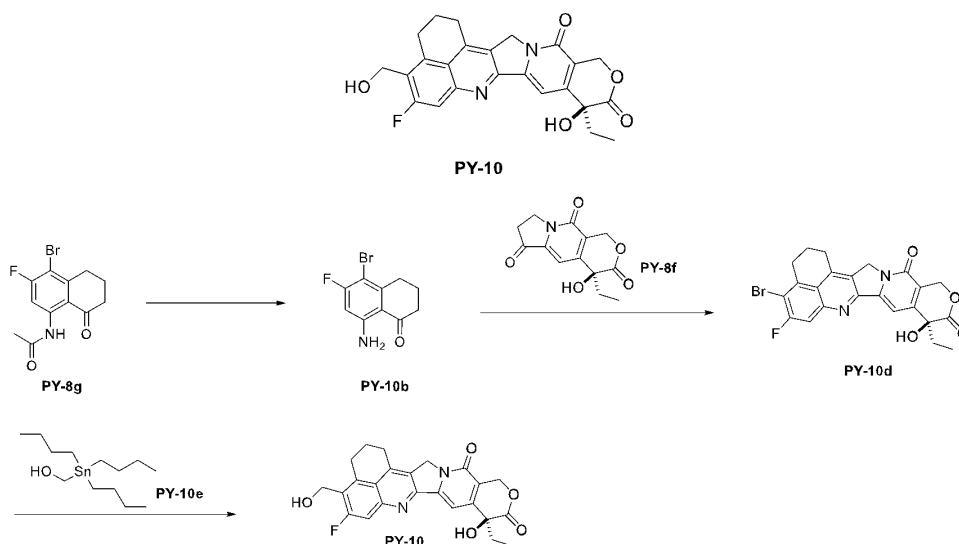
30

在化合物 **PY-13** (20 mg) 的 2ml 水溶液中, 分别加入 1 倍当量的四丁基溴化铵 (TBAB) (15.3mg)、0.2 倍当量的氯化钯催化剂 (1.7mg)、250ml 的环氧乙烷以及 2.5 倍当量的碳酸钾 (16.4mg)。将反应置于 25°C 反应 16 小时, 将反应液经高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。色谱柱为  
 5 Welch Xtimate C18 250×30mm×10μm。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 12% 到 42% 洗脱), 冻干, 得到粗品白色固体化合物 **PY-9**, 该白色固体化合物, 进一步通过薄层色谱法分离纯化, 得到 3.03mg 化合物 **PY-9**。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 467.2  $[M+H]^+$ 。

$^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.83 (d,  $J$  = 12.5 Hz, 1H), 7.29 (s, 1H), 6.51 (s, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.25 (s, 2H), 4.93 (t,  $J$  = 5.4 Hz, 1H), 4.14 (t,  $J$  = 4.9 Hz, 2H), 3.73 (q,  $J$  = 5.1 Hz, 2H), 3.16 (dt,  $J$  = 11.1, 6.1 Hz, 4H), 2.02 (dt,  $J$  = 12.6, 6.6 Hz, 2H), 1.86 (h,  $J$  = 7.0 Hz, 2H), 0.88 (t,  $J$  = 7.3 Hz, 3H);  $^{19}F$  NMR (377 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  -123.40。

制备例 15: (S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-(羟基甲基)-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-  
 15 苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (**PY-10**) 的制备



步骤 1: 8-氨基-5-溴-6-氟-3,4-二氢萘-1 (2H) -酮 (**PY-10b**) 的制备

向化合物 **PY-8g** (2 g, 6.66 mmol, 1 eq) 的乙醇 (6 mL) 溶液中, 加入 6N HCl  
 20 (6 mL), 将反应置于 80°C 搅拌 3 小时, 将反应液冷却至室温, 减压浓缩, 加入 20mL 水稀释, 用碳酸氢钠溶液调节 pH 至中性, 随后用二氯甲烷 (30 mL×3) 萃取, 合并有机相, 使用饱和食盐水 (30 mL) 洗涤, 加入无水硫酸钠干燥, 减压浓缩, 得到黄色固体粗品化合物 8-氨基-5-溴-6-氟-3,4-二氢萘-1 (2H) -酮 (**PY-10b**) (1.52 g, 产率: 88%; 纯度: 91%)。

25 LCMS (ESI):  $m/z$ , 258  $[M+1]^+$ , 260  $[M+1]^+$ 。

步骤 2: (S)-4-溴-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃

并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (**PY-10d**) 的制备

向化合物 **PY-10b** (1.52 g, 5.89 mmol, 1 eq) 的甲苯 (20 mL) 溶液中, 加入化合物 **PY-8f** (1.55 g, 5.89 mmol, 1 eq) 和 PPTS (1.48 g, 5.89 mmol, 1 eq), 在氮气氛围下, 将该反应置于 120°C 搅拌 16 小时, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (二氯甲烷: 甲醇=10:1) 纯化, 得到黄色固体化合物 **PY-10d** (1.3 g, 产率: 45%; 纯度: 88%)。

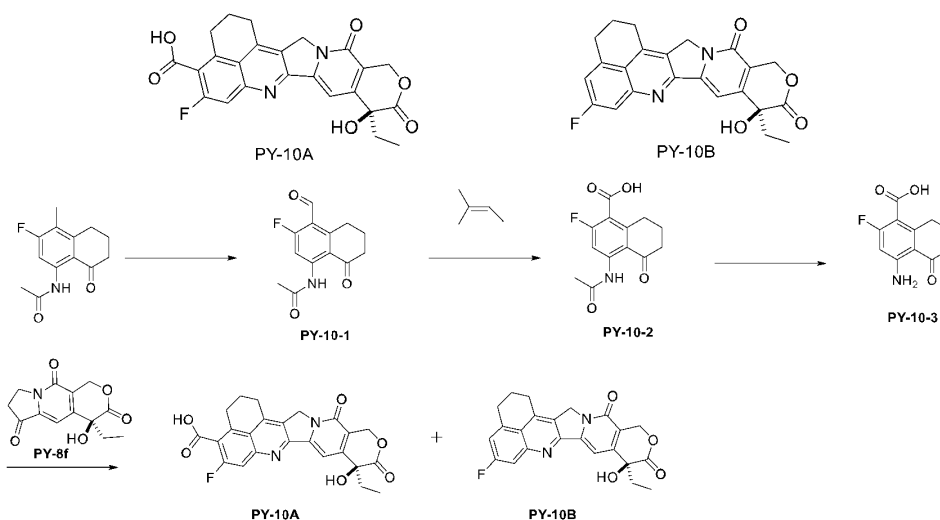
LCMS (ESI):  $m/z$ , 485  $[M+H]^+$ , 487  $[M+H]^+$ 。

步骤 3: (S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-(羟基甲基)-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (**PY-10**) 的制备

向化合物 **PY-10d** (1.30 g, 2.68 mmol, 1 eq) 的二氧六环 (5 mL) 溶液中, 分别加入(三丁基锡基)甲醇 (2.84 g, 8.84 mmol, 3.3 eq)、Xphos Pd G2 (210.77 mg, 267.87  $\mu$ mol, 0.1 eq), 在氮气氛围下, 将该反应置于 90°C 搅拌 16 小时, 减压浓缩, 加水和二氯甲烷 (50 mL/50 mL) 稀释, 有固体析出, 过滤, 滤饼单独收集, 滤液用二氯甲烷 (50 mL $\times$ 3) 萃取, 合并有机相, 再使用饱和食盐水 (50 mL) 洗涤, 加入无水硫酸钠干燥, 减压浓缩, 残余物和滤饼通过硅胶柱层析色谱法 (二氯甲烷: 甲醇=10:1) 纯化, 得到黄色固体化合物 **PY-10** (649 mg, 产率: 55.5%, 纯度: 100%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 437  $[M+H]^+$ 。

制备例 16: (S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-4-羧酸 (**PY-10A**) 和 (S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (**PY-10B**) 的制备



25

步骤 1: N-(3-氟-4-甲酰基-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (**PY-10-1**) 的制备

在 0°C, 向 N-(3-氟-4-甲基-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (2 g, 8.5 mmol, 1.0 eq) 与 MnO<sub>2</sub> (11.09 g, 127.52 mmol, 15 eq) 的氯仿 (100mL) 溶液中加入 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (4.34 g, 44.21 mmol, 5.2 eq), 反应逐渐恢复室温并继续反应 16 小时。过滤后用碳酸氢钠饱和溶液调节 pH 至中性, 二氯甲烷 (30mL×3) 萃取, 浓缩得棕黄色固体粗品 (2.1 g), 不经纯化直接用于下一步。

LCMS (ESI): m/z, 250.1 [M+1]<sup>+</sup>。

步骤 2: 4-乙酰氨基-2-氟-5-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-羧酸 (PY-10-2) 的制备

在 25°C, 向化合物 N-(3-氟-4-乙酰基-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (1.1 g, 2.21 mmol, 1 eq) 和亚氯酸钠 (1.20 g, 13.24 mmol, 6 eq)、磷酸二氢钠 (534 mg, 4.41 mmol, 2 eq) 的甲醇/水=1/1 (30 ml) 的溶液中加入二甲基二丁烯 (1.55 g, 22.07 mmol, 10 eq)。反应在 50°C 搅拌 2 小时。饱和碳酸氢钠水溶液调节 pH 至 8, 二氯甲烷 (30mL×3) 萃取回收原料, 后水相用 2N HCl 调节 pH 至 2, 水相用乙酸乙酯 (30mL×3) 萃取, 浓缩得化合物 PY-10-2 (324 mg, 收率: 55.36%)。

LCMS (ESI): m/z, 266.0 [M+1]<sup>+</sup>。

步骤 3: 4-氨基-2-氟-5-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-羧酸 (PY-10-3) 的制备

将化合物 4-乙酰氨基-2-氟-5-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-羧酸 (415 mg, 1.67 mmol, 1 eq) 加入到 NaOH (5 M, 15 mL) 溶液中, 反应在 80°C 搅拌 2 小时, 用 2N 稀盐酸调节 pH 至 2 后, 用乙酸乙酯 (30mL×3) 萃取, 有机相浓缩得化合物 PY-10-3 (320 mg, 收率: 85.6%)。

LCMS (ESI): m/z: 224.0 [M+1]<sup>+</sup>。

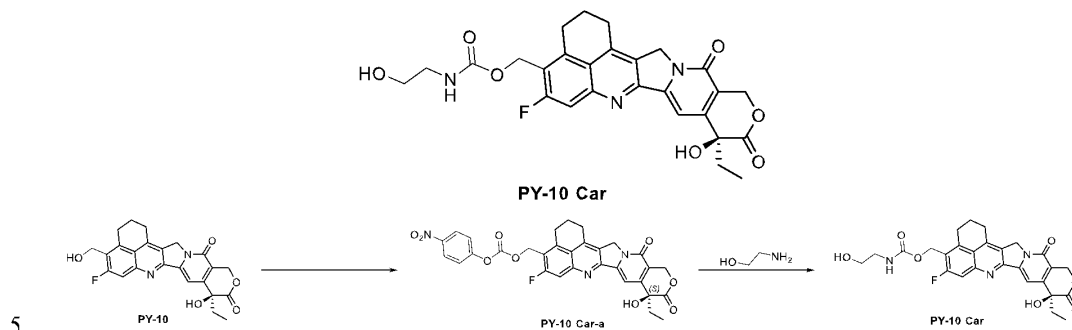
步骤 4: (S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-4-羧酸 (PY-10A) 和 (S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-10B) 的制备

将化合物 4-氨基-2-氟-5-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-羧酸 (364.64 mg, 1.43 mmol, 1eq) 与化合物 (S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃[3,4-f]中氮茛-3,6,10 (4H)-三酮 (377.42 mg, 1.43 mmol, 1 eq) 和 PPTS (360.29 mg, 1.43 mmol, 1 eq) 溶于甲苯 (15 mL) 溶液中并在 120°C 搅拌 16 小时, 减压除去溶剂后, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 二氯甲烷/甲醇 10:1 到 5:1) 纯化, 得棕色油状化合物粗品, 然后经过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 Lab311-DJ-R2。色谱柱为 YMC-Triart Prep 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) 分离, 冻干, 得化合物 PY-10A (18.19 g, 收率: 2.82%), LCMS (ESI): m/z: 451.1 [M+1]<sup>+</sup>; 和化合物 PY-10B (46 mg, 收率: 7.9%), LCMS (ESI): m/z: 407.1 [M+1]<sup>+</sup>。

35



制备例 17: (S)-(9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[d]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-4-基)甲基(2-羟乙基)氨基甲酸酯 (PY-10Car) 的制备



步骤 1: (S)-(9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-4-基)甲基 (4-硝基苯基)碳酸酯 (PY-10 Cara) 的制备

10 在室温下将化合物 PY-10 (8.0 mg, 0.018 mmol, 1.0 eq)、双(4-硝基苯)碳酸酯 (44.6 mg, 0.147 mmol, 8.0 eq) 和 N,N-二异丙基乙胺 (28.4 mg, 0.220 mmol, 12.0 eq) 加入到 N,N-二甲基甲酰胺 (2 mL) 溶液中 50°C 搅拌 16 h。LCMS 显示反应完全。反应液减压浓缩, 用薄层色谱板展开剂体系二氯甲烷/甲醇 (15/1) 纯化, 得到黄色油状化合物 **PY-10 Car-a** (18 mg, 超重不计算收率)。

15 LCMS (ESI):  $m/z$ , 602.3  $[M+H]^+$ 。

步骤 2: (S)-(9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[d]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-4-基)甲基(2-羟乙基)氨基甲酸酯 (PY-10Car) 的制备

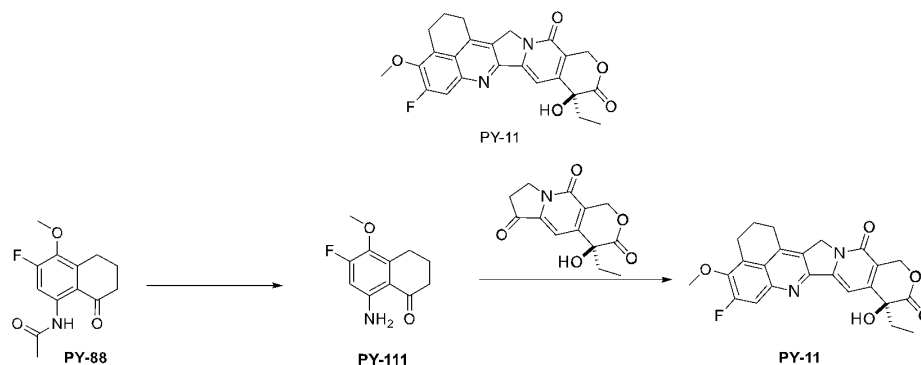
20 在室温下将化合物 PY-10 Car-a (18.0 mg, 不纯)、氨基乙醇 (1.83 mg, 0.030 mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (11.6 mg, 0.090 mmol) 加入到 N,N-二甲基甲酰胺 (1 mL) 溶液中, 25°C 搅拌 0.5 h。LCMS 显示反应完全。反应液经过高效液相色谱制备(制备色谱厂家 luna, 型号 Lab311-ISCO-R4。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250×50mm×10 $\mu$ m。流动相: 水 (0.225% 甲酸)-乙腈, 水的洗脱比例从 12% 到 42% 洗脱), 洗脱液冻干后得到白色固体产物 **PY-10 Car** (4.14 mg, 7.56  $\mu$ mol, 二步收率: 42%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 524.2  $[M+H]^+$ 。

30  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.79 (d,  $J$  = 11.2 Hz, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.19 (t,  $J$  = 5.6 Hz, 1H), 6.54 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.27 (d,  $J$  = 4.4 Hz, 3H), 4.63 (t,  $J$  = 5.6 Hz, 1H), 3.30 – 3.23 (m, 5H), 3.18 (s, 2H), 3.04 (q,  $J$  = 6.0 Hz, 2H), 2.08 (s, 2H), 1.86 (dt,  $J$  = 15.2, 7.2 Hz, 2H), 0.87 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 3H)。

制备例 18: (S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲氧基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并

[de]吡喃并[3',4:6,7]吲哚啉并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-11) 的制备



步骤 1: 8-氨基-6-氟-5-甲氧基-3,4-二氢萘-1(2H)-酮 (PY-111) 的制备

5 于 100°C, 将化合物 N-(3-氟-4-甲氧基-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (PY-88) (100 mg) 的 HCl (7N, 10 毫升) 溶剂搅拌 2 小时。缓慢加入饱和 NaHCO<sub>3</sub> 溶液 (10mL) 淬灭反应并调节 pH 值至中性 (pH 7), 用乙酸乙酯 (3×30mL) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到黄色固体化合物 PY-111 (66 mg, 79%)。

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

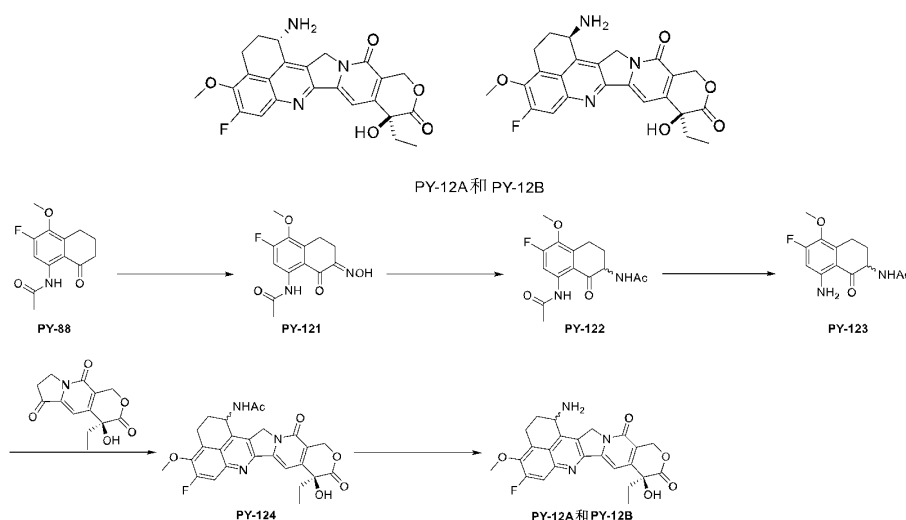
步骤 2: (S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲氧基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吲哚啉并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-11) 的制备

向化合物 8-氨基-6-氟-5-甲氧基-3,4-二氢萘-1 (2H)-酮 (PY-111) (20 mg) 的甲苯 (10mL) 溶剂中加入 PPTS (0.67 eq, 16 mg) 和 (S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃并[3,4-f]吲哚啉-3,6,10(4H)-三酮 (1 eq, 25 mg), 于 140°C 反应 16 小时。减压浓缩去除甲苯, 加入 5 毫升 DMF, 通过高效液相色谱制备 (Oriendo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水 (0.225%三氟乙酸)-乙腈, 从 45%到 85%洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物 PY-11 (8.4mg, 产率 20%)。

LCMS (ESI): m/z, 437.2 [M+H]<sup>+</sup>。

20 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.85 (d, J = 12.5 Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.25 (s, 2H), 3.94 (s, 3H), 3.14 (dt, J = 11.2, 6.0 Hz, 4H), 2.05 (q, J = 6.4, 5.8 Hz, 2H), 1.88 (dq, J = 14.4, 7.2 Hz, 2H), 0.88 (t, J = 7.2 Hz, 3H)。

制备例 19: (1S,9S)-1-氨基-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲氧基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吲哚啉并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮和(1R,9S)-1-氨基-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲氧基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吲哚啉并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-12A 和 PY-12B) 的制备



步骤 1: (E)-N-(3-氟-7-(羟基亚氨基)-4-甲氧基-8-氧基-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (PY-121) 的制备

- 5        于 0°C, 向化合物 N-(3-氟-4-甲氧基-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (PY-88) (200 mg) 的 10mL 四氢呋喃溶液中分别加入 3 当量的叔丁醇钾四氢呋喃溶液和亚硝酸叔丁酯, 于 0°C 搅拌 1 小时, 加 30mL 水稀释, 每次用 10mL 乙酸乙酯萃取 3 次。合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 残余物通过高效液相色谱制备 (Oriundo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18
- 10    250×50mm×10μm; 流动相: 水 (0.225%三氟乙酸)-乙腈, 从 45%到 85%洗脱) 纯化, 得到 180mg 黄色固体化合物 PY-121。

LCMS (ESI): m/z, 281.1 [M+1]<sup>+</sup>。

步骤 2: N,N'-(3-氟-4-甲氧基-8-氧基-5,6,7,8-四氢萘-1,7-二酰基)二乙酰胺 (PY-122) 的制备

- 15        室温, 向化合物(E)-N-(3-氟-7-(羟基亚氨基)-4-甲氧基-8-氧基-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (PY-121) (180mg) 加入 1mL 乙酸酐和 2mL 乙酸, 加入锌粉 (35mg), 室温搅拌 4 小时。将反应液减压浓缩, 加入 100mL 水稀释, 乙酸乙酯萃取, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 残余物通过制备高效液相色谱 (Oriundo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水 (0.225%
- 20    三氟乙酸)-乙腈, 从 45%到 85%洗脱) 纯化, 得到 150 mg 白色固体化合物 PY-122。

LCMS (ESI): m/z, 309.1 [M+1]<sup>+</sup>。

步骤 3: N-(8-氨基-6-氟-5-甲氧基-1-氧基-1,2,3,4-四氢萘-2-基)乙酰胺 (PY-123) 的制备

- 25        将化合物 N,N'-(3-氟-4-甲氧基-8-氧基-5,6,7,8-四氢萘-1,7-二酰基)二乙酰胺 (PY-122) (150 mg) 溶于 6N 的 HCl (2 mL) 和 EtOH (2 mL) 中, 60°C 搅拌 3 小时。将反应液减压浓缩, 得到 115mg 粗品, 直接用于下一步反应。

LCMS (ESI): m/z, 267.1 [M+1]<sup>+</sup>。

步骤 4: N-(9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲氧基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H 苯并[de]吡喃并[3', 4:6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基) 乙酰胺 (PY-124) 的制备

向 N-(8-氨基-6-氟-5-甲氧基-1-氧基-1,2,3,4-四氢萘-2-基)乙酰胺 (PY-123) (80 mg) 的甲苯溶液中加入 1 当量的(S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃并[3,4-f]吡啶并[3,6,10(4H)-三酮 (皓元医药) (92 mg) 和 0.5 当量的 PPTS (24 mg), 120°C 搅拌 12 小时。将反应液减压浓缩, 残余物通过高效液相色谱制备 (Oriundo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水 (0.225% 三氟乙酸)-乙腈, 从 45%到 85%洗脱) 纯化, 得到 55 mg 的黄色固体混合物 PY-124。

LCMS (ESI): m/z, 494.2 [M+1]<sup>+</sup>。

步骤 5: (1S,9S)-1-氨基-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲氧基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮和(1R,9S)-1-氨基-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲氧基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-12A 和 PY-12B) 的制备

将 N-(9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲氧基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H, 12H 苯并[de]吡喃并[3', 4:6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基) 乙酰胺 (PY-124) (55 mg) 溶于 3 毫升 6N 的盐酸中, 85°C 搅拌 5 小时。将反应液减压浓缩, 残余物通过高效液相色谱制备 (Oriundo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水 (0.225% HCOOH) -乙腈, 从 45%到 85%洗脱) 纯化, 冻干分别得到化合物 PY-12A (4.55 mg) 和化合物 PY-12B (6.24 mg)。

**PY-12A** (LCMS 保留时间 0.651min):

LCMS (ESI): m/z, 452.2 [M+1]<sup>+</sup>, Rt=0.651。

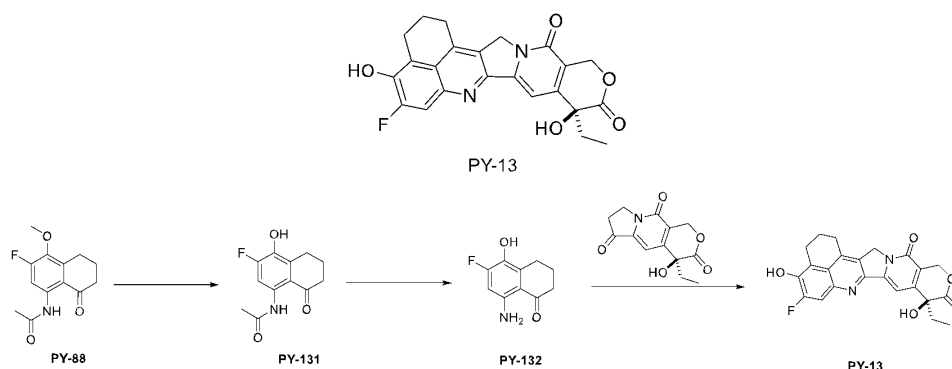
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sup>6</sup>) δ 7.87 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.53 (s, 1H), 5.62 (d, *J* = 19.2 Hz, 1H), 5.46 – 5.29 (m, 3H), 4.38 (s, 1H), 3.95 (s, 3H), 3.28 – 3.03 (m, 4H), 2.08 (s, 2H), 1.87 (dd, *J* = 9.2, 7.2 Hz, 2H), 0.87 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H)。

**PY-12B** (LCMS 保留时间 0.677min):

LCMS (ESI): m/z, 452.2 [M+1]<sup>+</sup>, Rt=0.677。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sup>6</sup>) δ 8.66 (s, 2H), 8.01 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 7.34 (s, 1H), 6.57 (s, 1H), 5.90 (d, *J* = 19.2 Hz, 1H), 5.60-5.30 (m, 3H), 5.08 (s, 1H), 4.00 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H), 3.15 (t, *J* = 12.8 Hz, 3H), 2.12 (t, *J* = 13.6 Hz, 1H), 1.97-1.76 (m, *J* = 7.2 Hz, 2H), 0.87 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H)。

制备例 20: (S)-9-乙基-5-氟-4,9-二羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-13) 的制备



步骤 1: N-(3-氟-4-羟基-8-氧-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (**PY-131**) 的制备  
 向化合物 N-(3-氟-4-甲氧基-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (**PY-88**) (200  
 5 mg) 的 DCM 溶液中加入 3 当量的 AlCl<sub>3</sub>, 于 60°C 反应 2 小时。缓慢加入饱和 NaHCO<sub>3</sub>  
 溶液 (10mL) 淬灭反应并继续调节 pH 值至 3~4, 用乙酸乙酯 (3×30 mL) 萃取,  
 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到黄色固体化合物 **PY-131**  
 (130 mg, 68%)。

LCMS (ESI): m/z, 238.0 [M+H]<sup>+</sup>, 260.1 [M+Na]。

步骤 2: 8-氨基-6-氟-5-羟基-3,4-二氢萘-1(2H)-酮 (**PY-132**) 的制备  
 于 100°C, 将化合物 N-(3-氟-4-羟基-8-氧-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (**PY-131**)  
 (70 mg) 的 HCl (12N, 3.5mL) 溶液搅拌 16 小时。缓慢加入饱和 NaHCO<sub>3</sub> 溶液  
 (10mL) 淬灭反应, 调节 pH 值至 3~4, 用乙酸乙酯 (30×3mL) 萃取, 合并有机  
 15 相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 加入 5mL MeCN, 通过高效液相色  
 谱制备 (Oriundo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm;  
 流动相: 水 (0.225%三氟乙酸)-乙腈, 从 45%到 85%洗脱) 分离, 得到黄色固体化  
 合物 **PY-132** (12mg, 20%)。

LCMS (ESI): m/z, 196.1 [M+H]<sup>+</sup>。

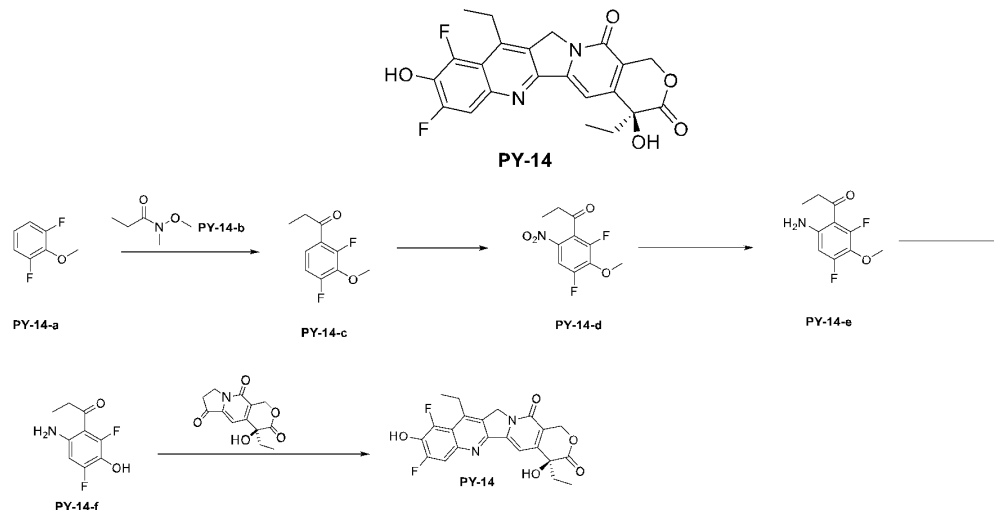
步骤 3: (S)-9-乙基-5-氟-4,9-二羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃  
 20 并[3',4:6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (**PY-13**) 的制备

向 8-氨基-6-氟-5-羟基-3,4-二氢萘-1(2H)-酮 (**PY-132**) (15 mg) 的甲苯 (10mL)  
 溶液中, 加入 PPTS (0.67 eq, 12.9 mg) 和 (S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃并  
 [3,4-f]吡啶-3,6,10(4H)-三酮 (1 eq, 20.2 mg), 于 140°C 反应 16 小时。减压除去  
 甲苯, 加入 5mL 的 DMF, 通过高效液相色谱制备 (Oriundo, BRIX-2860; 色谱  
 25 柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水 (0.225% HCOOH) -乙  
 腈, 从 45%到 85%洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物 **PY-13** (3.2 mg)。

LCMS (ESI): m/z, 423.1 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.77 (d, J = 11.9 Hz, 1H), 7.26 (s, 1H), 6.50 (s,  
 1H), 5.42 (s, 2H), 5.22 (s, 2H), 3.11 (t, J = 6.1 Hz, 2H), 3.03 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 2.01 (q,  
 30 J = 6.2 Hz, 2H), 1.87 (dq, J = 14.5, 7.1 Hz, 2H), 0.87 (t, J = 7.3 Hz, 3H)。

制备例 21：(S)-4,11-二乙基-8,10-二氟-4,9-二羟基-1,12-二氢-14H-吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-3,14(4H)-二酮 (PY-14) 的制备



5

步骤 1：1-(2,4-二氟-3-甲氧基苯基)丙-1-酮 (PY-14-c) 的制备

在-70℃，向化合物 1,3-二氟-2-甲氧基苯 (PY-14-a) (2 g, 13.88 mmol, 1 eq) 的 20mL 无水 THF 溶剂中，缓慢滴加 *n*-BuLi (1.07 g, 10.41 mL, 16.65 mmol, 1.2 eq, 1.60 M)，在该同一温度条件下搅拌半小时，随后，加入化合物 N-甲氧基-N-甲基丙酰胺 (PY-14-b) (4.55 g, 34.69 mmol, 2.5 eq)，在-70℃继续搅拌半小时，  
10 去掉低温浴升温至 25℃搅拌 16 小时。LCMS 表明有产物生成，在室温条件下，使用 5mL 饱和氯化铵溶液猝灭反应，再使用 3×10mL 乙酸乙酯提取有机相，饱和食盐水洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，减压浓缩，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）纯化，得淡黄色油状标题化合物 (1.6 g，产率：  
15 54%)。

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 214.9 [M+H]<sup>+</sup>。

步骤 2：1-(2,4-二氟-3-甲氧基-6-硝基苯基)丙-1-酮 (PY-14-d) 的制备

在-40℃，向 1-(2,4-二氟-3-甲氧基苯基)丙-1-酮 (2.20 g, 10.99 mmol, 1 eq) 的 22mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 溶剂中，缓慢滴加发烟硝酸 (699.74 mg, 95%, 474.82 μL, 10.55 mmol, 0.96 eq)，在该温度下搅拌 1 小时。反应液倒入冰水中，使用 10mL 无水乙醇洗涤反应瓶，加入 100mL DCM 提取该有机相，饱和食盐水洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，减压浓缩，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）纯化，干燥得淡黄色油状化合物 1-(2,4-二氟-3-甲氧基-6-硝基苯基)丙-1-酮 (1.2 g，产率：34%)。  
20

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 246.1 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.24 – 8.13 (m, 1H), 4.16 (t, *J* = 2.1 Hz, 3H), 2.89 – 2.81 (m, 2H), 1.14 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H)。

25

步骤 3: 1-(6-氨基-2,4-二氟-3-甲氧基苯基)丙-1-酮 (PY-14-e) 的制备

向 1-(2,4-二氟-3-甲氧基-6-硝基苯基)丙-1-酮 (PY-14-d) (200 mg, 815.73  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 10mL 无水乙醇溶剂中, 分别加入铁粉 (250.57 mg, 31.88  $\mu\text{L}$ , 4.49 mmol, 5.5 eq)、水 (339.85 mg, 339.85  $\mu\text{L}$ , 18.86 mmol, 23.12 eq) 以及浓盐酸 (16.36 mg, 37.39  $\mu\text{L}$ , 448.65  $\mu\text{mol}$ , 0.55 eq, 12 M), 在氮气氛围下, 将该反应置于 80°C 搅拌 16 小时。反应液经减压浓缩后, 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) 纯化, 得白色固体化合物 1-(6-氨基-2,4-二氟-3-甲氧基苯基)丙-1-酮 (141 mg, 产率: 80%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 216.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

10 步骤 4: 1-(6-氨基-2,4-二氟-3-羟基苯基)丙-1-酮 (PY-14-f) 的制备

向 1-(6-氨基-2,4-二氟-3-甲氧基苯基)丙-1-酮 (PY-14-e) (300 mg, 1.39 mmol, 1 eq) 的 10mL DCM 溶剂中, 加入 3 倍当量的  $\text{AlCl}_3$  (557.61 mg, 4.18 mmol, 3 eq), 在氮气氛围下, 将该反应置于 70°C 搅拌 4 小时。使用 100mL 饱和氯化铵溶液淬灭反应, 再使用 2 $\times$ 100mL DCM 提取有机相, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 15 过滤, 减压浓缩, 得黄色固体粗品化合物 1-(6-氨基-2,4-二氟-3-羟基苯基)丙-1-酮 (165mg, 粗品不计产率)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 202.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  9.06 (s, 1H), 6.42 (dd,  $J = 13.0, 2.1$  Hz, 1H), 3.45 (s, 2H), 2.87-2.82 (m, 2H), 1.05 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H)。

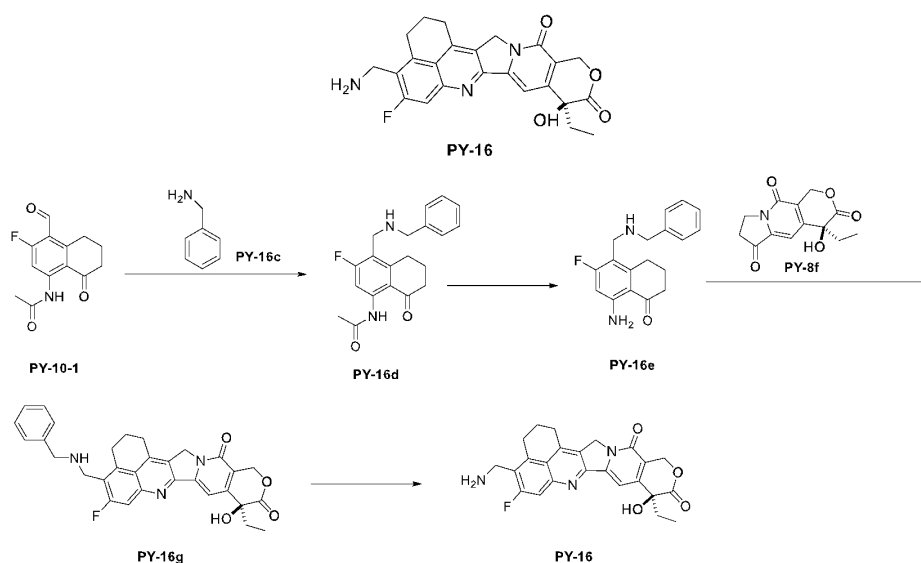
20 步骤 5: (S)-4,11-二乙基-8,10-二氟-4,9-二羟基-1,12-二氢-14H-吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-3,14 (4H) -二酮 (PY-14) 的制备

向 1-(6-氨基-2,4-二氟-3-羟基苯基)丙-1-酮 (PY-14-f) (30 mg, 149.13  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 10mL 甲苯溶剂中, 分别加入 PPTS (25.11 mg, 99.92  $\mu\text{mol}$ , 0.67 eq) 和 (S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃并[3,4-f]吡啶并[3,6,10(4H)]-三酮 (皓元医药) (30 mg, 149.13  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 在氮气氛围下, 将该反应置于 130°C 搅拌 16 小时。反应物经高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相: 水 (0.225% $\text{HCOOH}$ ) - 乙腈, 水的洗脱比例从 12% 到 42% 洗脱) 纯化, 冻干得黄色固体 (35.55 mg, 55.65%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 429.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

30  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  7.84 (d,  $J = 11.4$  Hz, 1H), 7.26 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.31 (s, 2H), 3.22 – 3.15 (m, 2H), 1.86 (hept,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 1.32 (t,  $J = 7.4$  Hz, 3H), 0.87 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H)。

制备例 22: (S)-4-(氨基甲基)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-16) 的制备



步骤 1: N-(4-((苄氨基)甲基)-3-氟-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (PY-16d) 的制备

- 5 向化合物 N-(3-氟-4-甲酰基-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (1.22 g, 8.5 mmol, 1 eq) 和苄甲胺 (642.29  $\mu$ L) 的 DCM (110 mL) 溶液中, 加入 NaBH(OAc)<sub>3</sub> (2.06 g, 9.79 mmol, 2 eq)。将反应置于室温搅拌 12 小时。加水 (100 mL) 淬灭, 用 DCM (50 mL) 萃取三次, 合并有机相用饱和食盐水 (100 mL) 洗涤, 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: 乙酸乙酯/石油醚: 1/5 - 1/2) 纯化, 得到棕色油状物 N-(4-((苄氨基)甲基)-3-氟-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (PY-16d) (499.5 mg, 收率: 30%)。
- 10

LCMS (ESI): m/z, 341[M+H]<sup>+</sup>。

步骤 2: 8-氨基-5-((苄氨基)甲基)-6-氟-3,4-二氢萘-1(2H)-酮 (PY-16e) 的制备

- 向化合物 N-(4-((苄氨基)甲基)-3-氟-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (499.5 mg, 1.47 mmol, 1 eq) 中加入 6N HCl (3 mL) 和 EtOH (3 mL), 将反应置于 60°C 搅拌 3 小时, 减压浓缩得到棕色油状物粗品 8-氨基-5-((苄氨基)甲基)-6-氟-3,4-二氢萘-1(2H)-酮 (PY-16e) (517.9 mg)。
- 15

LCMS (ESI): m/z, 341[M+H]<sup>+</sup>。

- 步骤 3: (S)-4-((苄氨基)甲基)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-16g) 的制备
- 20

- 向化合物 8-氨基-5-((苄氨基)甲基)-6-氟-3,4-二氢萘-1(2H)-酮 (517.9 mg, 1.22 mmol, 1 eq) 和化合物 (S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃[3,4-f]中氮茚-3,6,10(4H)-三酮 (皓元医药) (319.87 mg, 1.22 mmol, 1 eq) 的甲苯 (15 mL) 溶液中, 加入 PPTS (305.35 mg, 1.22 mmol, 1 eq), 将反应置于 120°C 搅拌 12 小时。加水 (100 mL) 淬灭, 后用 DCM (50 mL) 萃取三次, 合并有机相用饱和食盐水 (100 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩。残余物通过硅胶柱层析谱法
- 25



(洗脱剂：二氯甲烷/甲醇：12/1 – 11/1) 纯化，得到棕色油状物(S)-4-((苄氨基)甲基)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-16g) (466 mg, 收率：73%)。

LCMS (ESI) : m/z, 526[M+H]<sup>+</sup>。

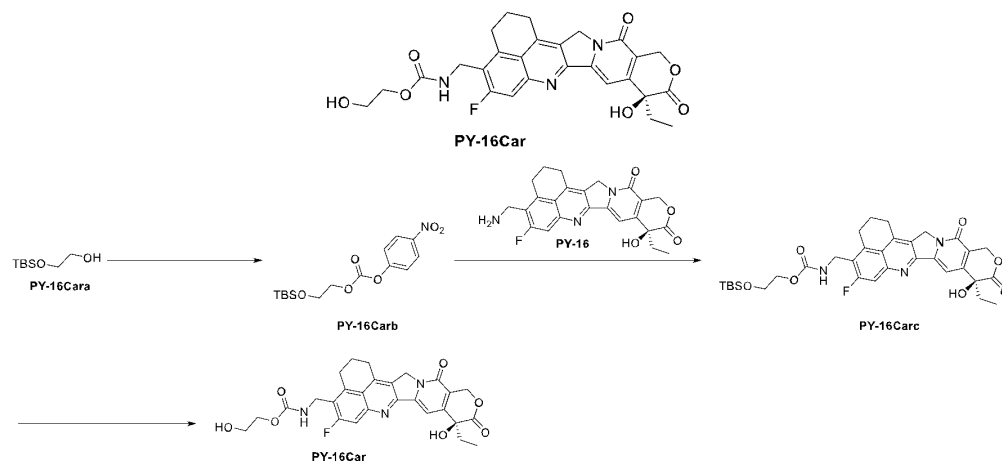
5 步骤 4: (S)-4-((氨基甲基)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-16) 的制备

氢气氛围下，向化合物(S)-4-((苄氨基)甲基)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (218 mg, 414.78 μmol, 1 eq) 的 MeOH (10 mL) 溶液中，加入 Pd/C (100 mg, 939.67 μmol, 2.27 eq) 和 Pd(OH)<sub>2</sub> (100 mg, 712.1 μmol, 1.72 eq)，将反应置于室温搅拌 5 小时，用硅藻土过滤钯碳后浓缩，得到棕色固体产物(S)-4-((氨基甲基)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-16) (296.6 mg, 收率：82%)。

LCMS (ESI) : m/z, 436[M+H]<sup>+</sup>。

15 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.27 (s, 1H), 7.75 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.24 (s, 2H), 4.00 (s, 2H), 3.25 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 3.16 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 2.09 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 1.87 (hept, *J* = 7.0 Hz, 2H), 0.88 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); <sup>19</sup>F NMR (377 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ -113.60。

20 制备例 23: 2-羟基乙基 (S)-((9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-4-基)甲基)氨基甲酸酯 (PY-16Car) 的制备



25

步骤 1: 2-((叔丁基二甲基硅烷基)氧基)乙基(4-硝基苯基)羧酸酯 (PY-16Carb) 的制备

在 0°C，将叔丁基二甲基羟乙氧基硅烷 (2.0 g, 11.34 mmol, 1.0 eq) 加入双(4-硝基苯)碳酸酯 (NPC) (5.18 g, 17.01 mmol, 1.5 eq) 和 N,N-二异丙基乙胺 (DIPEA,

4.40 g, 34.03 mmol, 3.0 eq) 的四氢呋喃 (120 mL) 溶液中, 25°C 搅拌 16 h。反应液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系乙酸乙酯/石油醚 (0-10%) 纯化, 得到黄色油状化合物 PY-16Carb (2.70 g, 7.91 mmol, 收率: 70%)。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CHCl<sub>3</sub>-d) δ 8.28 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H), 7.38 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H),  
5 4.36 (dd, *J* = 5.6, 4.1 Hz, 2H), 3.91 (dd, *J* = 5.6, 4.1 Hz, 2H), 0.91 (s, 9H), 0.10 (s, 6H)。

步骤 2: 2-((叔丁基二甲基硅烷基)氧基)乙基 (S)-((9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉并[1,2-b]喹啉-4-基)甲基)氨基甲酸酯 (PY-16Carc) 的制备

在室温, 将化合物 2-((叔丁基二甲基硅烷基)氧基)乙基 (4-硝基苯基) 羧酸酯  
10 (35.75 mg, 0.105 mmol, 1.2 eq) 和化合物 (S)-4-(氨基甲基)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H, 13H-苯并[de]吡喃并[3', 4': 6,7]中氮茛并[1, 2-b]喹啉-10,13-二酮 (38.0 mg, 0.087 mmol, 1.0 eq) 和 N,N-二异丙基乙胺 (33.84 mg, 0.262 mmol, 3.0 eq) 加入到 N,N-二甲基甲酰胺 (2 mL) 溶液中, 25°C 搅拌 1 小时。反应液直接用于下一步。

15 LCMS (ESI) : *m/z*, 638.3 [M+H]<sup>+</sup>。

步骤 3: 2-羟基乙基 (S)-((9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉并[1,2-b]喹啉-4-基)甲基)氨基甲酸酯 (PY-16Car) 的制备

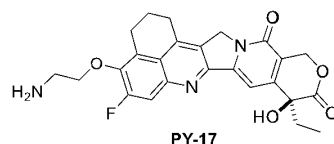
将 MeOH (2 mL) 和 4 N 盐酸加入到上一步的反应液中, 25°C 搅拌 1 小时。  
20 反应液经过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家 luna, 型号 Lab311-ISCO-R4。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm。流动相水 (0.225% 甲酸)-乙腈, 水的洗脱比例从 12% 到 42% 洗脱), 洗脱液冻干后得到白色固体产物 PY-16Car (20.4 mg, 0.039 mmol, 二步收率: 45%)。

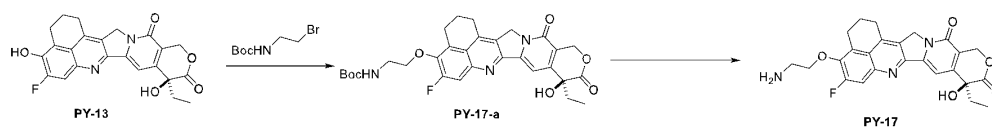
LCMS (ESI) : *m/z*, 524.2 [M+H]<sup>+</sup>。

25 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.73 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H), 7.65 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.24 (s, 2H), 4.71 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.43 (d, *J* = 5.2 Hz, 2H), 3.96 (t, *J* = 5.2 Hz, 2H), 3.52 (q, *J* = 5.2 Hz, 2H), 3.24 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.15 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 2.12 – 2.02 (m, 2H), 1.87 (hept, *J* = 7.2 Hz, 2H), 0.88 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H)。

30

制备例 24: (S)-4-(2-氨基乙氧基)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[d]吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-17) 的制备





步骤 1: (S)-2-((9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧-2,3,9,10,13,15-六氢-1H, 12H-苯并[d]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-4-基)氧基)乙基)氨基甲酸叔丁酯 (PY-17-a) 的制备

向化合物 PY-13 (41 mg, 38.63  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq) 的 DMF 溶剂中, 加入碳酸钾 (10.7 mg, 77.26  $\mu\text{mol}$ , 2.0 eq), 于 25°C 搅拌半小时, 随后, 在同一温度下, 加入 (2-溴乙基)氨基甲酸叔丁酯 (21.6 mg, 91.6  $\mu\text{mol}$ , 2.5 eq), 于 25°C 搅拌 16 小时。反应物经高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 12% 到 42% 洗脱) 纯化, 冻干得灰色固体化合物 PY-17-a (5 mg, 产率: 23%)。

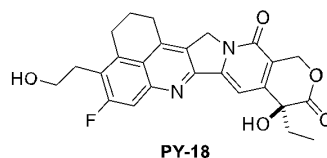
LCMS (ESI) : m/z, 566.2 [M+H]<sup>+</sup>。

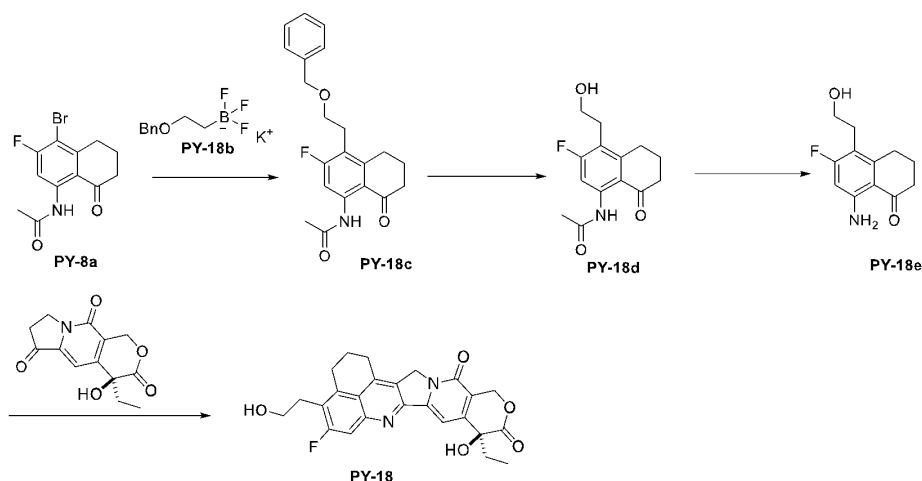
步骤 2: (S)-4-(2-氨基乙氧基)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[d]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-17) 的制备在冰水浴条件下, 向化合物 PY-17-a (7 mg, 12.38  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq) 的 5mL DCM 溶剂中, 缓慢滴加 0.5mL TFA, 在该冰浴条件下, 自然升温至 25°C 搅拌 16 小时。反应物经高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 12% 到 42% 洗脱) 纯化, 冻干得白色固体化合物 PY-17 (1.97 mg, 产率: 34%)。

LCMS (ESI) : m/z, 466.2 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sup>6</sup>)  $\delta$  8.06 (s, 3H), 7.90 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.27 (s, 2H), 4.27 (t, *J* = 5.1 Hz, 2H), 3.17 (t, *J* = 6.1 Hz, 5H), 2.06 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 1.87 (p, *J* = 6.8 Hz, 2H), 0.88 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H)。

制备例 25: (S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-(2-羟基乙基)-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-18) 的制备





步骤 1: N-(4-(2-(苄氧基)乙基)-3-氟-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (PY-18c) 的制备

氮气氛下, 向化合物 N-(4-溴-3-氟-8-氧-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (200 mg) 的 12.5mL 的甲苯与水 (体积比为 4 比 1) 的混合溶剂中, 依次分别加入 3.3 倍当量化合物 (2-(苄氧基)乙基)三氟硼酸钾 (532 mg), 3 倍当量碳酸钾, 30 mg 醋酸钡以及 88mg 的 S-Phos 配体, 在氮气氛下, 将该反应置于 100°C 搅拌 16 小时, 减压浓缩后, 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 1:8) 纯化, 得到 140 mg 白色固体化合物 N-(4-(2-(苄氧基)乙基)-3-氟-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (PY-18c) (产率: 59%)。

LCMS (ESI): m/z, 356 [M+1]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 12.26 (s, 1H), 8.29 (d, *J* = 13.3 Hz, 1H), 5.10 (t, *J* = 5.3 Hz, 1H), 4.50 (dd, *J* = 5.4, *J* = 2.2 Hz, 2H), 3.10 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 2.67 (dd, *J* = 7.3, *J* = 5.8 Hz, 2H), 2.16 (s, 3H), 1.99 (p, *J* = 6.3 Hz, 2H)。

步骤 2: N-(3-氟-4-(2-羟基乙基)-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (PY-18d) 的制备

向化合物 N-(4-(2-(苄氧基)乙基)-3-氟-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (140 mg) 的 10 mL 的甲醇溶剂中, 分别加入 0.25 倍当量的钯碳催化剂和 0.25 倍当量的 Pd(OH)<sub>2</sub> 催化剂, 在氢气气氛下, 25°C 反应 16 小时。该反应滤出催化剂后, 经减压浓缩干燥, 得到苍白色固体粗产物化合物 N-(3-氟-4-(2-羟基乙基)-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (PY-18d) (100 mg, 粗品收率不计)。

LCMS (ESI): m/z, 266 [M+H]<sup>+</sup>, 288 [M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 3: 8-氨基-6-氟-5-(2-羟基乙基)-3,4-二氢萘-1(2H)-酮 (PY-18e) 的制备

向化合物 N-(3-氟-4-(2-羟基乙基)-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (80 mg) 加入 4 mL 的 6N HCl 中, 在 40°C 反应 3 小时, 该反应液冷却至室温, 加水稀释, 用 2N 的稀盐酸调节 pH 值至 3~5, 再使用乙酸乙酯提取有机相, 该有机相再使用饱和食盐水洗涤, 随后加入无水硫酸钠干燥, 减压浓缩, 得到 30mg 黄色固体化合物

8-氨基-6-氟-5-(2-羟基乙基)-3,4-二氢萘-1(2H)-酮 (PY-18e) (产率: 37%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 224  $[M+H]^+$ 。

步骤 4: (S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-(2-羟基乙基)-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-18) 的制备

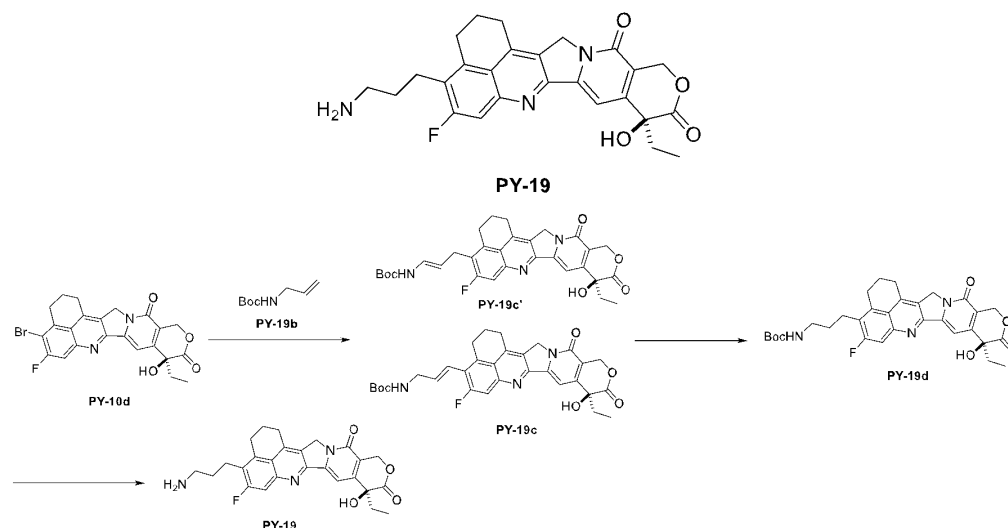
5 氮气氛围下, 向化合物 8-氨基-6-氟-5-(2-羟基乙基)-3,4-二氢萘-1(2H)-酮 (30 mg) 的 5ml 的甲苯溶剂中, 分别加入 0.67 倍当量 PPTS (18.8 mg) 和 1 倍当量化合物 (S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃[3,4-f]中氮茛-3,6,10(4H)-三酮 (29.4 mg) (皓元医药), 将该反应置于 130°C 搅拌 16 小时, 经过高效液相色谱制备 (制备色谱  
10 厂家 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。色谱柱为 Synergi Max-RP 280×30mm×10 $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 12% 到 42% 洗脱) 分离, 冻干后, 得到 6.0mg 黄色固体化合物 (S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-(2-羟基乙基)-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-18) (产率: 12%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 451  $[M+H]^+$ 。

15  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.71 (dd,  $J = 11.3, 6.3$  Hz, 1H), 7.33 – 7.28 (m, 1H), 6.54 (s, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.23 (d,  $J = 11.2$  Hz, 2H), 4.88 (t,  $J = 5.3$  Hz, 1H), 3.61 (d,  $J = 6.5$  Hz, 2H), 3.20 – 3.12 (m, 4H), 3.01 (d,  $J = 6.6$  Hz, 2H), 2.07 (s, 2H), 1.87 (hept,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 0.88 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H).  $^{19}\text{F}$  NMR (377 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  -112.5。

20

制备例 26: (S)-4-(3-氨基丙基)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-19) 的制备



25

步骤 1: (S,E)-(3-(9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-4-基)烯丙基)氨基甲酸叔丁酯

(PY-19c) 和 (S,E)-(3-(9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧化-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-4-基)丙-1-en-1-基)氨基甲酸叔丁酯 (PY-19c') 混合中间体的制备

向化合物(S)-4-溴-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H, 13H-苯并[de]吡喃并[3', 4': 6,7]中氮茛并[1, 2-b]喹啉-10,13-二酮 (20 mg) 的 5mL 甲苯溶剂中, 分别加入 0.1 倍当量的双(叔丁基膦)钯 (2.1 mg)、0.2 倍当量的三(邻甲苯基)膦 (2.5 mg)、6 倍当量的 DIPEA (41  $\mu$ L)、2.5 倍当量化合物烯丙基氨基甲酸叔丁酯 (17.8 mg), 将该反应置于 120°C 搅拌 16 小时, 反应液浓缩后通过硅胶柱层析色谱法(洗脱剂: 二氯甲烷/甲醇 20:1 到 10:1) 纯化, 减压浓缩, 得 10 mg 化合物(S,E)-(3-(9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧化-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-4-基)烯丙基)氨基甲酸叔丁酯 (PY-19c) 和 (S,E)-(3-(9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧化-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-4-基)丙-1-en-1-基)氨基甲酸叔丁酯 (PY-19c') 的混合物(产率: 43%; 纯度: 77%)。

步骤 2: (S)-(3-(9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧化-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-4-基)丙基)氨基甲酸叔丁酯 (PY-19d) 的制备

向混合物 (S,E)-(3-(9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧化-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-4-基)烯丙基)氨基甲酸叔丁酯 (PY-19c) 和 (S,E)-(3-(9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧化-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-4-基)丙-1-烯-1-基)氨基甲酸叔丁酯 (PY-19c') (30 mg) 的 5mL 甲醇溶剂中, 分别加入 0.25 倍当量的 Pd/C (14.2 mg) 和 0.25 倍当量的 Pd(OH)<sub>2</sub> (9.4 mg), 在氢气氛围下, 将该反应置于 25°C 搅拌 16 小时, 反应液过滤后, 减压浓缩, 得 19.6mg 粗品化合物(S)-(3-(9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧化-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-4-基)丙基)氨基甲酸叔丁酯 (PY-19d) (产率: 65%), 直接用于下一步反应。

LCMS (ESI): m/z, 564.3 [M+1]<sup>+</sup>。

步骤 3: (S)-4-(3-氨基丙基)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-19) 的制备

在冰水浴条件下, 向化合物 (S)-(3-(9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧化-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-4-基)丙基)氨基甲酸叔丁酯 (16.3 mg, 纯度: 82%) 的 2.4mL 二氯甲烷溶剂中, 缓慢加入 0.8 mL 的 TFA, 该反应自然升温至 25°C 搅拌 16 小时。在减压条件下浓缩反应液, 残余物通过硅胶柱层析色谱法(洗脱剂: 二氯甲烷/甲醇 20:1 到 8:1) 纯化得粗品, 然后经高效液相制备色谱法(制备色谱厂家 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。色谱柱

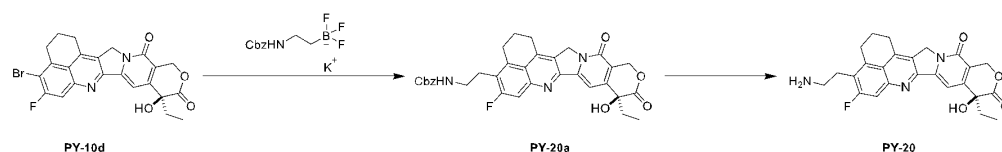
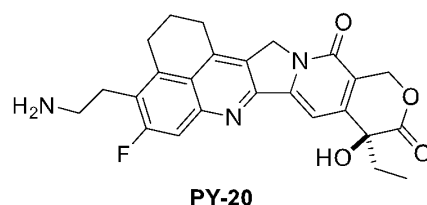
为 Welch Xtimate C18 250×50mm×10 $\mu$ m。流动相水 Water (0.225%FA) -ACN, 水的洗脱比例从 12%到 42%洗脱)纯化, 冻干, 得 2.53mg 化合物(S)-4-(3-氨基丙基)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-19) (产率: 21%)。

5 LCMS (ESI) : m/z, 473.2 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.39 (s, 1H), 7.75 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.53 (s, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.25 (s, 2H), 3.16 (d, *J* = 6.5 Hz, 6H), 2.88 (s, 2H), 2.82 (s, 2H), 2.08 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 1.87 (p, *J* = 7.0 Hz, 2H), 1.76 (s, 2H), 0.88 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H); <sup>19</sup>F NMR (377 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  -113.12。

10

制备例 27: (S)-4-(2-氨基乙基)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-20) 的制备



15

步骤 1: (S)-4-(2-(9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-4-基)乙基)氨基甲酸苄酯 (PY-20a) 的制备

20 将化合物 PY-10d (90.91 mg, 66%, 123.63  $\mu$ mol, 1 eq) 溶于二氧六环 (4 mL) /水 (1 mL), 然后加入苄氧羰基氨基乙基三氟硼酸钾 (148.91 mg, 494.53  $\mu$ mol, 4 eq)、三邻甲苯磷 (18.81 mg, 61.82  $\mu$ mol, 0.5 eq) 和磷酸钾 (78.73 mg, 30.71  $\mu$ L, 370.90  $\mu$ mol, 3 eq), 氮气氛围下, 该反应液在 90 $^{\circ}$ C 下搅拌 12 小时。反应液减压浓缩, 过滤, 残留液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, 4, 5, 6)。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250×50mm×10 $\mu$ m。流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 30%到 60%洗脱) 纯化, 得白色固体产物 PY-20a (10 mg, 收率: 13.86%)。

25

LCMS (ESI) : m/z, 584.2 [M+H]<sup>+</sup>。

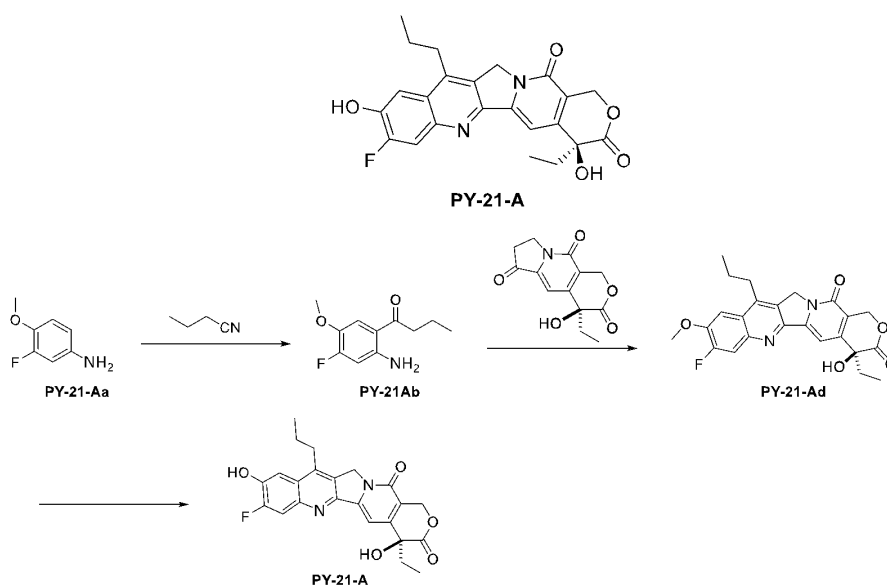
步骤 2: (S)-4-(2-氨基乙基)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-20) 的制备

30

将化合物 **PY-20a** (10 mg, 17.13  $\mu$ mol, 1 eq) 溶于 MeCN (0.5 mL), 向该溶液中加入 TMSI (56 mg, 40  $\mu$ L, 279.87  $\mu$ mol, 16.334 eq), 该溶液在 25°C 下搅拌 12 小时。反应液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 YMC-Triart Prep C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu$ m。流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 3% 到 33% 洗脱) 纯化, 得白色固体产物 (5.16 mg, 收率: 67%, 纯度: 97.64%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 450.2 [M+H]<sup>+</sup>。

制备例 28: (S)-4-乙基-8-氟-4,9-二羟基-11-丙基-1,12-二氢-14H-吡喃并[3',4':6,7] 10 吲哚啉并[1,2-b]喹啉-3,14 (4H) -二酮 (**PY-21-A**) 的制备



步骤 1: 1-(2-氨基-4-氟-5-甲氧基苯基)丁-1-酮 (**PY-21-Ab**) 的制备

在冰水浴条件下, 向 10mL 无水苯溶剂中加入 BCl<sub>3</sub> (1 eq, 830.04 mg, 7.08 mmol), 然后加入 3-氟-4-甲氧基苯胺 (1 eq, 1 g, 7.08 mmol) 溶于 20mL 无水苯溶剂中的溶液, 在氮气氛围下, 依次加入丁腈 (2 eq, 979.24 mg, 14.17 mmol, 1.23 mL) 和 AlCl<sub>3</sub> (1.1053 eq, 1.04 g, 1.04 mol), 在 100°C 反应 16 个小时。于冰水浴冷却之后, 缓慢加入 2M 的 50mL 盐酸, 该混合液在 80°C 条件下再搅拌 1 小时。在冰水浴下, 使用 100mL 水猝灭反应, 再使用 2 $\times$ 100mL 乙酸乙酯提取有机相, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 石油醚:乙酸乙酯=5:1) 纯化, 得到淡黄色固体化合物 **PY-21-Ab** (440 mg, 产率: 29%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 212.1 [M+H]<sup>+</sup>。

步骤 2: (S)-4-乙基-8-氟-4-羟基-9-甲氧基-11-丙基-1,12-二氢-14H-吡喃并[3',4':6,7]吲哚啉并[1,2-b]喹啉-3,14 (4H) -二酮 (**PY-21-Ad**) 的制备



向 1-(2-氨基-4-氟-5-甲氧基苯基)丁-1-酮 (PY-21-Ab) (1 eq, 62.31 mg, 236.70  $\mu\text{mol}$ ) 的 10mL 的甲苯溶液中, 分别加入(S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃[3,4-f]中氮茛-3,6,10(4H)-三酮 (1 eq, 62.31 mg, 236.70  $\mu\text{mol}$ ) 和 PPTS (1 eq, 59.48 mg, 236.70  $\mu\text{mol}$ , 10 mL), 在氮气氛围下, 将该反应置于 130°C 搅拌 16 小时。反应液减压浓缩, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 石油醚: 乙酸乙酯=5:1) 纯化, 得到黄色固体化合物 PY-21-Ad (80 mg, 产率: 77%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 439.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

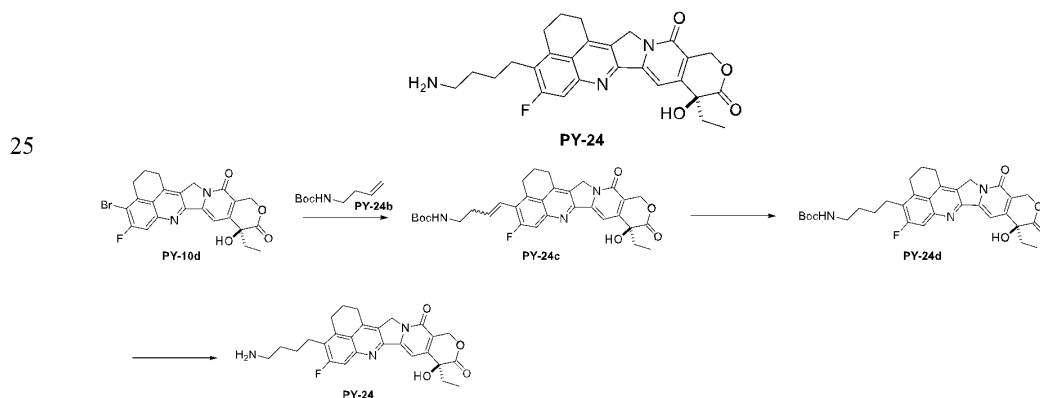
步骤 3: (S)-4-乙基-8-氟-4,9-二羟基-11-丙基-1,12-二氢-14H-吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-3,14(4H)-二酮 (PY-21-A) 的制备

向化合物 PY-21-Ad (10 mg, 22.81  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 4mL 的 DCM 溶液中, 加入  $\text{AlCl}_3$  (18.25 mg, 136.84  $\mu\text{mol}$ , 6 eq)。在 70°C 反应条件下, 搅拌 16 小时。使用 100mL 饱和氯化铵溶液淬灭反应, 再使用 2×100mL 乙酸乙酯提取有机相, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 残余物经高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250×30mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相: 水 (0.225% $\text{HCOOH}$ ) - 乙腈, 水的洗脱比例从 12% 到 42% 洗脱) 纯化, 冻干得到白色固体化合物 PY-21-A (4.3 mg, 产率: 44%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 425.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  10.90 (s, 1H), 7.91 (dd,  $J = 11.9, 2.8$  Hz, 1H), 7.64 – 7.57 (m, 1H), 7.26 (s, 1H), 6.49 (s, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.27 (d,  $J = 3.1$  Hz, 2H), 3.06 (t,  $J = 7.9$  Hz, 2H), 1.86 (dq,  $J = 14.1, 7.0$  Hz, 2H), 1.73 (p,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 1.05 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 0.88 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H)。

制备例 29: (S)-4-(4-氨基丁基)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-24) 的制备



步骤 1: (S)-4-(9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-4-基)丁-3-烯-1-基)氨基甲酸叔丁酯 (PY-24c) 的制备

30 向化合物(S)-4-溴-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H, 13H-苯并[de]

吡喃并[3', 4': 6, 7]中氮茛并[1, 2-b]喹啉-10,13-二酮 (200 mg) 的 15mL 甲苯溶剂中, 分别加入 0.1 倍当量的二(三叔丁基膦)钯 (21 mg)、0.2 倍当量的三(邻甲基苯基)膦 (25 mg)、6 倍当量的 DIPEA (410  $\mu$ L)、2.5 倍当量的丁-3-烯-1-基氨基甲酸叔丁酯 (176 mg), 将该反应置于 120°C 搅拌 16 小时。反应液浓缩后, 通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 二氯甲烷/甲醇 20:1 到 10:1) 纯化, 减压浓缩, 得 129mg 粗品 (产率: 54%), 直接用于下一步反应。

LCMS (ESI): m/z, 576.3 [M+1]<sup>+</sup>。

步骤 2: (S)-(4-(9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-4-基)丁基)氨基甲酸叔丁酯 (PY-24d) 的制备

向 6.8mg 的粗品(S)-(4-(9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-4-基)丁基)氨基甲酸叔丁酯的 3mL 甲醇溶剂中, 分别加入 0.25 倍当量的 Pd/C (1.3 mg) 和 0.25 倍当量的 Pd(OH)<sub>2</sub> (1.7 mg), 在氢气氛下, 将该反应置于 25°C 搅拌 16 小时, 反应液过滤后, 减压浓缩的 6.8mg 粗品化合物(S)-(4-(9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-4-基)丁基)氨基甲酸叔丁酯 (PY-24d) (产率: 55%, 纯度: 63%), 直接用于下一步反应。

LCMS (ESI): m/z, 578.2 [M+1]<sup>+</sup>。

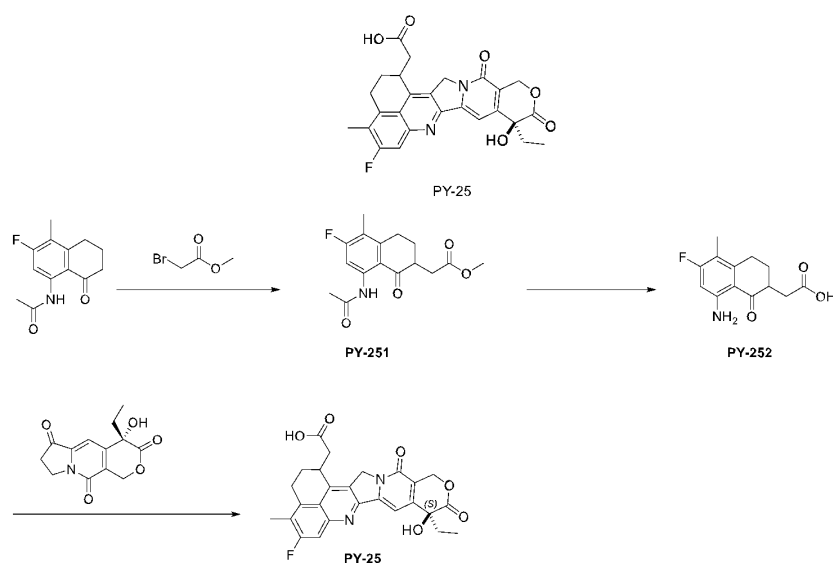
步骤 3: (S)-4-(4-氨基丁基)-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-24) 的制备

在冰水浴条件下, 向化合物(S)-(4-(9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-4-基)丁基)氨基甲酸叔丁酯 (6.8 mg, 纯度: 63%) 的 2.1mL 二氯甲烷溶剂中, 缓慢加入 0.7mL 的 TFA, 该反应自然升温至 25°C 搅拌 16 小时, 经高效液相色谱制备 (制备色谱厂家 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×50mm×10 $\mu$ m。流动相水 Water (0.225%FA) -ACN, 水的洗脱比例从 12%到 42%洗脱) 纯化, 冻干得 0.35 mg 化合物 PY-24 (产率: 5.4%)。

LCMS (ESI): m/z, 473.2 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  8.37 (s, 1H), 7.78-7.71 (m, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.51 (s, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.25 (s, 2H), 3.16 (d, J = 6.0 Hz, 6H), 2.86 (s, 2H), 2.76 (s, 2H), 2.08 (s, 2H), 1.88 (q, J = 7.0 Hz, 2H), 1.59 (s, 2H), 0.88 (t, J = 7.3 Hz, 3H); <sup>19</sup>F NMR (377 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  -112.93。

制备例 30: 2-((9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)乙酸 (PY-25) 的制备



步骤 1: 2-(8-乙酰胺基-6-氟-5-甲基-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)乙酸甲酯 (PY-251) 的制备

- 5 将 N-(3-氟-4-甲基-8-氧-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (2g, 8.5mmol) 置于 100mL 三口瓶中, 氮气氛下, 加入 30mL THF 溶解。降温至 -78°C, 将 LDA (10.6mL, 2M 在 THF 中) 缓慢加入到上述反应液中, 加毕 -78°C 反应 1h。再将溴乙酸甲酯 (1.3g, 8.5mmol) 加入到反应液中, 升至室温反应 16h。将反应液加入 150mL 水中, 乙酸乙酯 (100mL×3) 萃取, 有机相用饱和食盐水洗涤, 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 (80%PE/20%EA) 纯化, 得到 800mg 微黄色固体化合物 2-(8-乙酰胺基-6-氟-5-甲基-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)乙酸甲酯 (PY-251), 收率: 30.6%。

步骤 2: 2-(8-氨基-6-氟-5-甲基-1-氧-1,2,3,4-四氢萘-2-基)乙酸 (PY-252) 的制备

- 15 将 2mL NaOH (2mol/mL) 水溶液加入到化合物 2-(8-乙酰胺基-6-氟-5-甲基-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)乙酸甲酯 (PY-251) (400mg, 1.3mmol) 的 EtOH (8mL) 溶液中, 75°C 反应 16h。将反应液用 2N 盐酸调节 pH 至 pH=7-8, 减压浓缩, 乙酸乙酯 (30mL×3) 萃取, 有机相用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到 200mg 粗产品, 直接用于下一步。

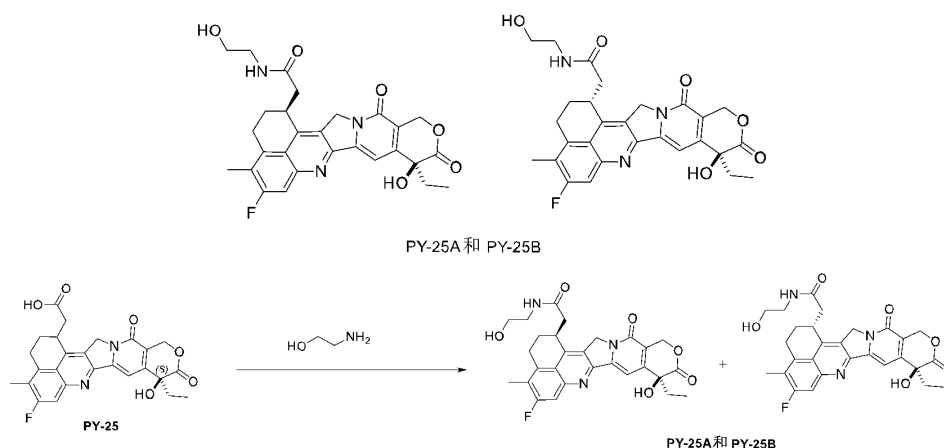
- 20 步骤 3: 2-((9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)乙酸 (PY-25) 的制备

- 将 2-(8-氨基-6-氟-5-甲基-1-氧-1,2,3,4-四氢萘-2-基)乙酸 (PY-252) (200mg, 0.796mmol) 和 (S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃并[3,4-f]吡啶并[1,2-b]喹啉-3,6,10(4H)-三酮 (251mg, 0.954mmol) 置于 50mL 三口瓶中, 加入甲苯 (10mL, 50v), 再加入对甲苯磺酸 (27.3mg, 0.159mmol) 和邻甲苯酚 (0.6mL, 3v), 120-125°C 反应 16h。将反应液减压浓缩, 残余物通过制备高效液相色谱法 (Oriundo, BRIX-2860;

色谱柱：Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm；流动相：水（0.225% HCOOH）-乙腈，从 45%到 85%洗脱）纯化，得到 70mg 黄色粉末化合物 **PY-25**，收率 18.38%。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.50 (s, 1H), 7.76 (d, *J* = 11.1 Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.51 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.36 (s, 2H), 3.83 – 3.74 (m, 1H), 3.19-3.05 (m, 2H),  
5 2.70-2.64 (m, 1H), 2.58-2.53 (m, 1H), 2.38 (s, 3H), 2.23 (d, *J* = 13.6 Hz, 1H), 2.06-1.95 (m, 1H), 1.87 (tt, *J* = 14.1, 7.0 Hz, 2H), 0.87 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H)。

制备例 31：2-((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)-N-(2-羟乙基)乙酰胺和 2-((1R,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)-N-(2-羟乙基)乙酰胺  
10 (PY-25A 和 PY-25B) 的制备



冰浴下，向化合物 2-((9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧基-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)乙酸 (**PY-25**) (18 mg, 37.62 μmol, 1.0 eq) 的 DMF (3 mL) 的溶液中加入 HATU (17 mg, 45.14 μmol, 1.2 eq)、DIEPA (20 mg, 150.5 μmol, 4 eq)、乙醇胺 (2.3 mg, 37.62 μmol, 1.0 eq)，加毕升至室温，搅拌 2 小时。将反应液减压浓缩，残余物经过制备高效液相色谱法 (Oriendo, BRIX-2860；色谱柱：Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm；流动相：水（0.225% HCOOH）-乙腈，从 45%到 85%洗脱) 分离纯化，得到白色固体化合物 PY-25A (4.01 mg, 收率 18%) 和 PY-25B (6.62 mg, 收率 30%)。

20

**PY-25A** (LCMS 保留时间 1.73 min)：

LCMS (ESI)：m/z, 522.3[M+1]<sup>+</sup>。

25

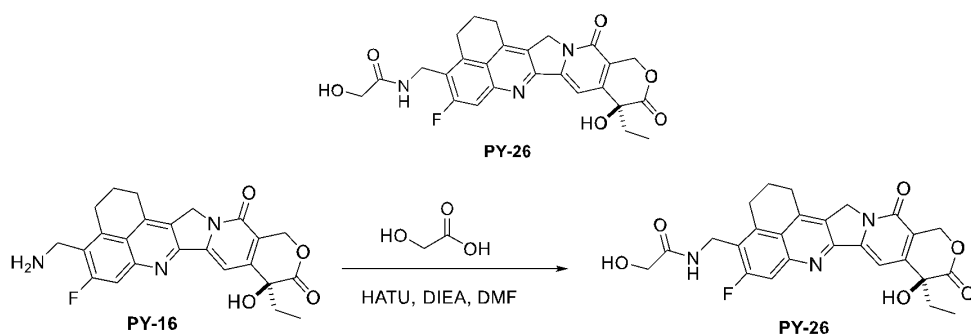
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sup>6</sup>) δ 8.07 (t, *J* = 4.0 Hz, 1H), 7.76 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.51 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.34 (s, 2H), 4.67 (t, *J* = 4.0 Hz, 1H), 3.78-3.77 (m, 1H), 3.44-3.36 (m, 3H), 3.18-3.14 (m, 4H), 2.45-2.44 (m, 1H), 2.39 (s, 3H), 2.13-2.11 (m, 1H), 1.97-1.80 (m, 3H), 0.87 (t, *J* = 8.0 Hz, 3H)。

**PY-25B** (LCMS 保留时间 1.83 min) :

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 522.2[M+1]<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.46 (brs, 0.36H, HCOOH), 8.08-8.06 (m, 1H), 7.75 (d,  $J$  = 12.0 Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.51 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.34 (s, 2H), 4.66 (s, 1H), 3.78-3.76 (m, 1H), 3.38-3.36 (m, 2H), 3.15-3.12 (m, , 4H), 2.48 – 2.30 (m, 5H), 2.14 (s, 1H), 1.88-1.85 (m, 3H), 0.87 (t,  $J$  = 8.0 Hz, 3H)。

制备例 32: (S)-N-((9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉并[1,2-b]喹啉-4-基)甲基)-2-羟基乙酰胺 (PY-26) 的制备



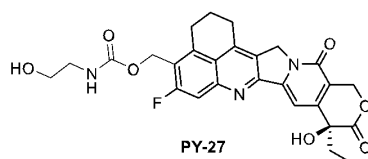
0°C, 向化合物 **PY-16** (30 mg, 68.89  $\mu$ mol, 1 eq) 和 2-羟基乙酸 (6.29 mg, 82.67  $\mu$ mol, 1.2 eq) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (3 mL) 溶液中加入 N,N-二异丙基乙胺 (26.71 mg, 206.68  $\mu$ mol, 3 eq) 和 HATU (31.43 mg, 82.67  $\mu$ mol, 1.2 eq)。加毕, 25°C 反应 2 小时。反应液通过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO-R1。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250×50mm×7 $\mu$ m。流动相水 (0.225%FA) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 28%到 37%洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物 **PY-26** (4.37 mg, 收率=12.8%)。

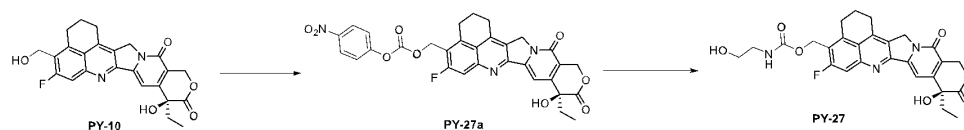
LCMS (ESI) :  $m/z$ , 494.2[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.06-8.05 (m, 1H), 7.74 (d,  $J$  = 12 Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 5.43-5.42 (m, 3H), 5.25 (s, 2H), 4.56 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 2H), 3.82 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 2H), 3.26-3.23 (m, 2H), 3.15-3.15 (m, 2H), 2.08-2.05 (m, 2H), 1.90-1.83 (m, 2H), 0.87 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 3H)。<sup>19</sup>F NMR (377 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  -112.11。

25

制备例33: (S)-(9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉并[1,2-b]喹啉-4-基)甲基(2-羟乙基)氨基甲酸酯 (PY-27) 的制备





步骤 1: (S)-(9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚啉并[1,2-b]喹啉-4-基)甲基 (4-硝基苯基) 碳酸酯 (PY-27a) 的制备

在室温, 将化合物 PY-10 (8.0 mg, 0.018 mmol, 1.0 eq)、双(4-硝基苯)碳酸酯 (44.6 mg, 0.147 mmol, 8.0 eq) 和 N,N-二异丙基乙胺 (28.4 mg, 0.220 mmol, 12.0 eq) 加入到 N,N-二甲基甲酰胺 (2 mL) 中, 50°C 搅拌 16 h。反应液减压浓缩, 残余物用薄层色谱法以展开剂体系二氯甲烷/甲醇 (15/1) 纯化, 得到黄色油状化合物 PY-27a (18 mg)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 602.3  $[M+H]^+$ 。

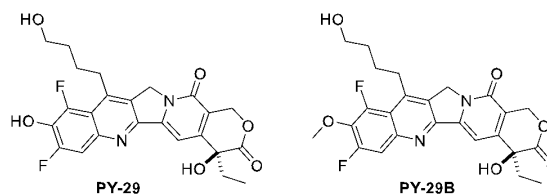
步骤 2: (S)-(9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚啉并[1,2-b]喹啉-4-基)甲基(2-羟乙基)氨基甲酸酯 (PY-27) 的制备

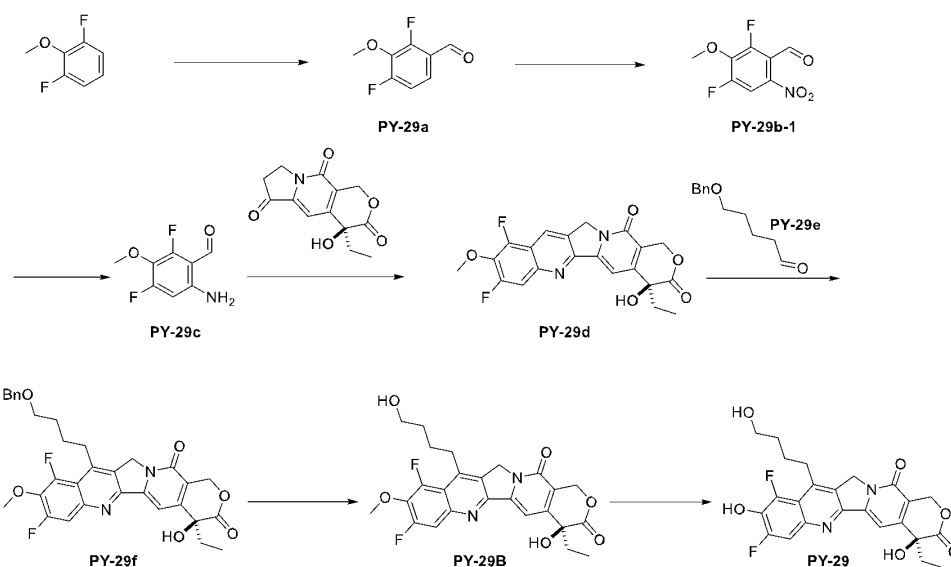
在室温, 将化合物 PY-27a (18.0 mg, 不纯)、氨基乙醇 (1.83 mg, 0.030 mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (11.6 mg, 0.090 mmol) 加入到 N,N-二甲基甲酰胺 (1 mL) 中, 25°C 搅拌 0.5 h。反应液经过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 luna, 型号 Lab311-ISCO-R4。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250×50mm×10 $\mu$ m。流动相水 (0.225% 甲酸)-乙腈, 水的洗脱比例从 12% 到 42% 洗脱) 纯化, 冻干, 得到白色固体产物 PY-27 (4.14 mg, 7.56  $\mu$ mol, 二步收率: 42%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 524.2  $[M+H]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.79 (d,  $J$  = 11.2 Hz, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.19 (t,  $J$  = 5.6 Hz, 1H), 6.54 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.27 (d,  $J$  = 4.4 Hz, 3H), 4.63 (t,  $J$  = 5.6 Hz, 1H), 3.30-3.23 (m, 5H), 3.18 (s, 2H), 3.04 (q,  $J$  = 6.0 Hz, 2H), 2.08 (s, 2H), 1.86 (dt,  $J$  = 15.2, 7.2 Hz, 2H), 0.87 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 3H)。

制备例 34: (S)-4-乙基-8,10-二氟-4,9-二羟基-11-(4-羟基丁基)-1,12-二氢-14H-吡喃并[3',4':6,7]吲哚啉并[1,2-b]喹啉-3,14(4H)-二酮 (PY-29) 的制备和(S)-4-乙基-8,10-二氟-4-羟基-11-(4-羟基丁基)-9-甲氧基-1,12-二氢-14H-吡喃并[3',4':6,7]吲哚啉并[1,2-b]喹啉-3,14(4H)-二酮 (PY-29B) 的制备





#### 步骤 1: 2,4-二氟-3-甲氧基苯甲醛 (PY-29a) 的制备

在-78°C, 向 1,3-二氟-2-甲氧基苯 (2.8 g) 的 20mLTHF 溶剂中, 加入 1.2 倍当量 *n*-BuLi (9.3 mL, 2.5 M), 在该温度下搅拌半小时, 然后, 加入 6 倍当量的 DMF (9.15 mL) 继续搅拌半小时, 撤掉低温反应浴, 将反应置于 15°C 反应 1 小时。用 4M HCl (6mL) 猝灭反应, 乙酸乙酯 (3×50 mL) 萃取, 有机层减压浓缩, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯 20:1 到 10:1) 纯化, 得 1.8g 黄色油状物化合物 PY-29a (产率: 53%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 173  $[M+1]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.96-9.56 (m, 1H), 7.83-7.43 (m, 1H), 7.30 (b, 1H), 4.22-3.90 (m, 3H)。

#### 步骤 2: 2,4-二氟-3-甲氧基-6-硝基苯甲醛 (PY-29b-1) 的制备

向化合物 2,4-二氟-3-甲氧基苯甲醛 (1.78 g) 的 20.3mL 硫酸溶剂中, 加入 0.96 倍当量发烟硝酸 (446 $\mu$ L), 将反应置于 25°C 反应 1 小时。将反应液倒入冰水中, 加压抽滤, 用水洗涤反应液, 干燥得 925mg 黄色固体状物化合物 2,4-二氟-3-甲氧基-6-硝基苯甲醛 (PY-29b-1) (产率: 40%)。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.14 (s, 1H), 8.21 (dd,  $J$  = 11.1, 2.0 Hz, 1H), 4.13 (t,  $J$  = 1.9 Hz, 3H)。

#### 步骤 3: 6-氨基-2,4-二氟-3-甲氧基苯甲醛 (PY-29c) 的制备

向化合物 2,4-二氟-3-甲氧基-6-硝基苯甲醛 (925 mg) 的 30mL 乙醇溶剂中, 分别加入铁粉 (5.5 eq, 1.31 g), 水 (23.12 eq, 1.77 mL) 和盐酸 (0.55 eq, 71  $\mu$ L), 将反应置于 80°C 搅拌 16 小时, LCMS 表明有产物生成, 该反应液冷却到室温, 随后, 加压过滤, 浓缩得到粗产物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯 10:1 到 5:1) 纯化, 干燥得 488 毫克绿色固体 6-氨基-2,4-二氟-3-甲氧基苯甲醛 (PY-29d) (61%产率)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 187.9  $[M+H]^+$ 。

$^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.04 (s, 1H), 7.48 (s, 2H), 6.44 (dd,  $J$  = 13.4, 2.0 Hz, 1H), 3.77 (s, 3H)。

步骤 4: (S)-4-乙基-8,10-二氟-4-羟基-9-甲氧基-1,12-二氢-14H-吡喃并[3',4':6,7] 5 吡啶啉并[1,2-b]喹啉-3,14(4H)-二酮 (PY-29d) 的制备

向化合物 6-氨基-2,4-二氟-3-甲氧基苯甲醛 (PY-29c) (150 mg) 的 10mL 的 10 甲苯溶剂中, 分别加入 0.67 倍当量 PPTS (134.9 mg) 和 1.2 倍当量化合物 PY-8f (253.2 mg), 在氮气氛下, 将该反应置于 130°C 搅拌 16 小时, 反应液减压浓缩, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯 5:1 到 0:1) 纯化, 得到 233mg 黄色固体化合物 PY-29d (产率: 67%; 纯度: 78%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 415  $[M+H]^+$ 。

步骤 5: (S)-11-(4-(苄氧基)丁基)-4-乙基-8,10-二氟-4-羟基-9-甲氧基-1,12-二氢 15 -14H-吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉并[1,2-b]喹啉-3,14(4H)-二酮 (PY-29f) 的制备

将化合物 PY-29d (193 mg, 78% 纯度) 溶于 14.6mL 冰醋酸溶剂中, 在冰浴条 15 件下, 缓慢加入 3.6mL 的浓硫酸。在另一个反应瓶中加入 1.2 倍当量的硫酸亚铁 (66.2mg) 和 2.6mL 去离子水, 在同一温度下, 将该硫酸亚铁溶液加入至上述化合物 PY-29d 的溶液中, 随后, 再依次加入 5 倍当量的 5-(苄氧基)戊醛 (PY-29e) (349mg) 和 54.4 $\mu$ L 的过氧化氢, 该反应在冰浴条件下, 搅拌 45 分钟。将反应液 20 倒入冰水中, 用乙酸乙酯 (50mL $\times$ 3) 提取有机相, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 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 到 4:1) 纯化, 得到 230mg 化合物 PY-29f (64% 纯度)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 577.3  $[M+H]^+$ 。

步骤 6: (S)-4-乙基-8,10-二氟-4-羟基-11-(4-羟基丁基)-9-甲氧基-1,12-二氢-14H- 吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉并[1,2-b]喹啉-3,14(4H)-二酮 (PY-29B) 的制备

25 向化合物 PY-29f (497 mg) 的 10ml 甲醇溶液中, 分别加入 0.25 倍当量钨碳 (78mg) 和 0.25 倍当量的 Pd(OH)<sub>2</sub> (51.4mg), 该反应在 30°C 搅拌 16 小时。过滤后进行减压浓缩, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 二氯甲烷/甲醇 20: 1 到 10:1) 纯化, 得到 55mg 化合物 PY-29B (产率: 38%; 纯度: 78%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 487.1  $[M+H]^+$ 。

30 步骤 7: (S)-4-乙基-8,10-二氟-4,9-di 羟基-11-(4-羟基丁基)-1,12-二氢-14H-吡喃 并[3',4':6,7]吡啶啉并[1,2-b]喹啉-3,14(4H)-二酮 (PY-29) 的制备

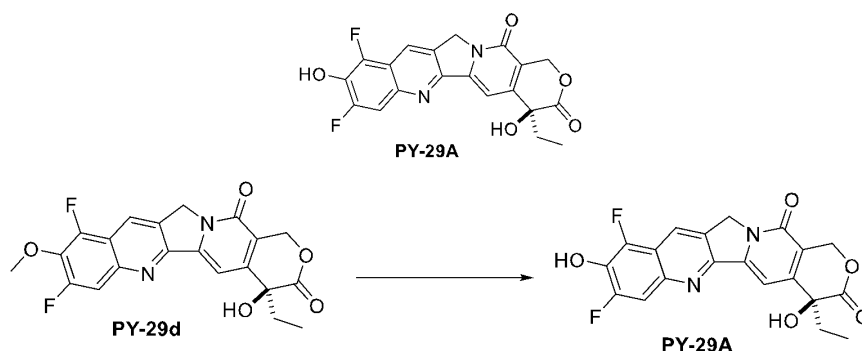
在 90°C, 向化合物 PY-29B (48 mg, 78% 的纯度) 的 4mL 的 DCM 溶剂中, 间隔 2 小时分批加入 6 倍当量 AlCl<sub>3</sub> 化合物 (79 mg), 反应液经高效液相色谱制 备 (制备色谱厂家 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 35 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH)-乙腈, 水的洗脱比例从 12% 到 42% 洗脱) 纯化, 冻干, 得到 6.77mg 白色固体化合物 PY-29 (产率: 14.5%)。



LCMS (ESI) :  $m/z$ , 473.2  $[M+H]^+$ 。

$^1H$  NMR (400 MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$  8.35 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 7.89 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.76 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H), 7.71 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.55 (t,  $J = 6.2$  Hz, 1H), 7.42 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.33 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 4.33 – 4.20 (m, 4H), 4.11 (p,  $J = 7.0$  Hz, 1H), 3.67 (d,  $J = 6.2$  Hz, 2H), 1.95 (dt,  $J = 12.6, 6.3$  Hz, 1H), 1.38 (d,  $J = 1.9$  Hz, 9H), 1.24 (d,  $J = 7.2$  Hz, 3H), 0.86 (dd,  $J = 19.2, 6.7$  Hz, 6H);  $^{19}F$  NMR (377 MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$  -125.50 (d,  $J = 13.5$  Hz)。

制备例 35: (S)-4-乙基-8,10-二氟-4,9-二羟基-1,12-二氢-14H-吡喃[3',4':6,7]吲哚  
10 啉并[1,2-b]喹啉-3,14 (4H) -二酮 (PY-29A) 的制备



步骤 1: (S)-4-乙基-8,10-二氟-4,9-二羟基-1,12-二氢-14H-吡喃[3',4':6,7]吲哚  
啉并[1,2-b]喹啉-3,14 (4H) -二酮 (PY-29A) 的制备

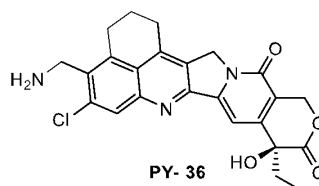
15 向化合物 PY-29d (29.5 mg, 55.51  $\mu$ mol, 1.0 eq, 78%的纯度) 的 3mL 的 DCM  
溶液中, 加入  $AlCl_3$  (22.2 mg, 166.52  $\mu$ mol, 3.0 eq), 在 70°C 反应 2 个小时。反  
应物经高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。色谱柱  
为 YMC-Triart Prep C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu$ m。流动相: 水(0.225% $HCOOH$ )-乙腈, 水  
的洗脱比例从 12%到 42%洗脱) 纯化, 冻干得白色固体化合物 PY-29A (1.46 mg,  
20 产率: 4.9%)。

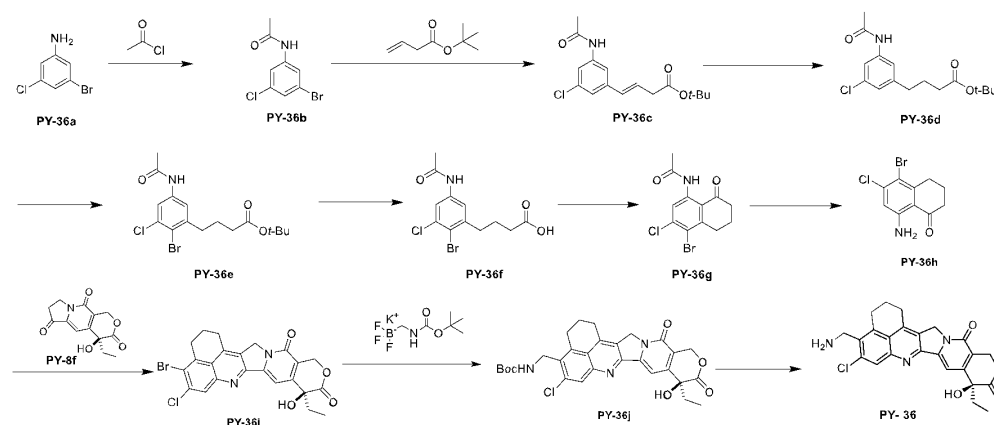
LCMS (ESI) :  $m/z$ , 401.1  $[M+H]^+$ 。

$^1H$  NMR (400 MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$  8.54 (s, 1H), 7.77 (d,  $J = 11.9$  Hz, 1H), 7.25 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.23 (s, 2H), 1.86 (p,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 0.87 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H)。

25

制备例 36: (S)-4-(氨基甲基)-5-氯-9-乙基-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10h, 13h -  
苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚啉并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-36) 的制备





### 步骤 1: N-(3-溴-5-氯苯基)乙酰胺 (PY-36b) 的制备

将 3-溴-5-氯-苯胺 (PY-36a) (5.00 g, 24.2 mmol, 1.0 eq)、三乙胺 (4.90 g, 48.4 mmol, 6.74 mL, 2.0 eq) 加入二氯甲烷 (50.0 mL) 中, 置换三次氮气, 在 0℃ 滴加乙酰氯 (2.85 g, 36.3 mmol, 2.58 mL, 1.5 eq), 然后在氮气氛下 25℃ 搅拌 2 小时。在 0℃, 向反应液中滴加 30.0 mL 水, 析出沉淀, 过滤, 将滤液减压浓缩, 得到化合物 N-(3-溴-5-氯苯)乙酰胺 (5.90 g, 收率 97%) 为白色固体。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  10.26 (s, 1H), 7.77 (d,  $J = 1.2$  Hz, 1H), 7.68 (d,  $J = 1.2$  Hz, 1H), 7.36 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 2.05 (s, 3H)。

### 步骤 2: (E)-4-(3-乙酰氨基-5-氯苯基)丁-3-烯酸叔丁酯 (PY-36c) 的制备

将 N-(3-溴-5-氯苯基)乙酰胺 (5.00 g, 20.1 mmol, 1.0 eq) 溶于 N,N 二甲基甲酰胺 (30 mL) 中, 加入 1-丁烯-4-酸叔丁酯 (4.29 g, 30.2 mmol, 4.89 mL, 1.5 eq)、三(邻甲基苯基)磷 (306.2 mg, 1.01 mmol, 0.05 eq)、三乙胺 (4.07 g, 40.2 mmol, 5.60 mL, 2.0 eq)、双(三特丁基磷)钼 (103 mg, 201.2  $\mu\text{mol}$ , 0.01 eq) 和 N-甲基二乙己基胺 (7.86 g, 40.2 mmol, 8.54 mL, 2.0 eq)。氮气氛下, 在 100℃ 反应 4 小时。将反应液冷却至室温, 加入水 (50.0 mL), 然后用乙酸乙酯 (25.0 mL) 萃取两次。有机相用饱和食盐水 (30 mL) 洗涤三次, 然后用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得到粗品。粗品用硅胶柱层析色谱法纯化, 石油醚/乙酸乙酯= 15/1 - 3/2 洗脱, 得到 (E)-4-(3-乙酰氨基-5-氯苯基)丁-3-烯酸叔丁酯 (5.10 g, 16.5 mmol, 收率 82.09%), 白色固体。

LCMS: RT = 0.634 min, MS (ESI)  $m/z$  = 254.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

### 步骤 3: 4-(3-乙酰氨基-5-氯苯基)丁酸叔丁酯 (PY-36d) 的制备

将 (E)-4-(3-乙酰氨基-5-氯苯基)丁-3-烯酸叔丁酯 (5.00 g, 16.1 mmol, 1.0 eq) 加入甲醇 (50.0 mL) 中, 在氩气氛下加入三(三苯基磷)氯化铑(I) (1.49 g, 1.61 mmol, 0.1 eq), 然后在 25℃, 氢气 (30 Psi) 条件下反应两个小时。反应液过滤, 滤液浓缩, 得到粗品 4-(3-乙酰氨基-5-氯苯基)丁酸叔丁酯 (3.60 g, 11.5 mmol, 收率 71.42%), 白色固体。

$^1\text{HNMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 7.41 (s, 1 H), 7.13-7.08 (m, 2 H), 6.85 (s, 1 H),

2.52 (t, J = 7.2 Hz, 2 H), 2.15 (t, J = 7.6 Hz, 1 H), 2.10 (s, 1 H), 1.83-1.81 (m, 2 H), 1.38 (s, 9 H)。

步骤 4: 4-(5-乙酰氨基-2-溴-3-氯苯基)丁酸叔丁酯 (PY-36e) 的制备

将 4-(3-乙酰氨基-5-氯苯基)丁酸叔丁酯 (100 mg, 320.7  $\mu$ mol, 1.0 eq) 溶于  
5 N,N-二甲基甲酰胺 (5.00 mL), 缓慢加入 NBS (68.5 mg, 385  $\mu$ mol, 1.2 eq),  
在 25℃ 反应 1 个小时。向反应液中滴加水 (10.0 mL), 然后用乙酸乙酯 (10.0 mL)  
萃取两次, 有机相用饱和食盐水 (10.0 mL) 洗涤三次, 然后用无水硫酸钠干燥,  
过滤, 滤液浓缩, 得到粗品 4-(5-乙酰氨基-2-溴-3-氯苯基)丁酸叔丁酯 (120 mg,  
96.0 %), 白色固体。

10 LCMS: RT = 2.885 min, MS (ESI) m/z = 336.1 [M+H]<sup>+</sup>。

步骤 5: 4-(5-乙酰氨基-2-溴-3-氯苯基)丁酸 (PY-36f) 的制备

将 4-(5-乙酰氨基-2-溴-3-氯苯基)丁酸叔丁酯 (100 mg, 256  $\mu$ mol, 1.0 eq) 溶  
于二氯甲烷 (2.00 mL), 0℃ 缓慢滴加三氟乙酸 (2.00 mL), 反应液在 25℃ 反  
应 2 个小时。反应液直接减压浓缩, 得到固体, 然后加入二氯甲烷 (8.00 mL) 搅  
15 拌过滤, 得到粗品 4-(5-乙酰氨基-2-溴-3-氯苯基)丁酸 (60.0 mg, 70.0 %), 白色  
固体。

<sup>1</sup>HNMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm 12.09 (br, 1H), 10.19 (s, 1 H), 7.87 (d, J = 2.4  
Hz, 1 H), 7.37 (d, J = 2.4 Hz, 1 H), 2.72 (t, J = 7.6 Hz, 2 H), 2.28 (t, J = 7.2 Hz, 2 H),  
2.04 (s, 3 H), 1.78 (t, J = 7.6 Hz, 2 H)。

20 步骤 6: N-(4-溴-3-氯-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (PY-36g) 的制备

将 4-(5-乙酰氨基-2-溴-3-氯苯基)丁酸 (1.80 g, 5.38 mmol, 1.0 eq) 溶于伊顿  
试剂 (113.6 g, 477.3 mmol, 75.00 mL, 88.73 eq), 氮气氛围下, 在 100℃ 反应 1  
个小时。将反应液冷却至室温, 并缓慢加入冷水中充分淬灭, 过滤得固体。将固  
体溶解在二氯甲烷 (10.0 mL) 中, 然后浓缩, 用混合溶剂 (石油醚/乙酸乙酯=10/1)  
25 打浆, 过滤, 得到 N-(4-溴-3-氯-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (1.20 g, 3.79  
mmol, 收率 70.45 %), 黄色固体。

LCMS: RT = 0.961 min, MS (ESI) m/z = 317.9 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>HNMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm 12.11 (s, 1H), 8.86 (s, 1 H), 3.03 (t, J = 6.0 Hz,  
2 H), 2.61 (t, J = 6.4 Hz, 2 H), 2.16 (s, 3 H), 2.04 (t, J = 6.4 Hz, 2 H)。

30 步骤 7: 8-氨基-5-溴-6-氯-3,4-二氢萘-1(2H)-1-酮 (PY-36h) 的制备

将 N-(4-溴-3-氯-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (900 mg, 2.84 mmol, 1.0 eq)  
溶于乙醇 (15 mL) 中, 室温加入盐酸溶液 (5 mL, 6mol/mL), 80℃ 搅拌 3 小时。  
将反应液冷却至室温, 浓缩, 浓缩物用饱和碳酸氢钠溶液调 pH 至 8-9, 然后用乙  
酸乙酯萃取 (10 mL) 两次, 有机相用饱和食盐水洗一次, 无水硫酸钠干燥, 过滤,  
35 浓缩, 得到粗产物 8-氨基-5-溴-6-氯-3,4-二氢萘-1(2H)-1-酮 (700 mg, 2.55 mmol,  
收率 89.8%), 黄色固体。

LCMS: RT = 0.942 min, MS (ESI) m/z = 275.8 [M+H]<sup>+</sup>。

步骤 8: (S)-4-溴-5-氯-9-乙基-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10h,13h-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-36i) 的制备

将 8-氨基-5-溴-6-氯-3,4-二氢萘-1(2H)-1-酮 (574 mg, 2.09 mmol, 1.1 eq) 和化合物 PY-8f (500 mg, 1.90 mmol, 1.0 eq) 溶于甲苯 (10 mL) 中, 加入对甲基苯磺酸 (36.1 mg, 0.19 mmol, 0.1 eq), 氮气氛下, 110℃ 反应 16 小时。反应液冷却至室温, 有固体析出, 过滤, 然后干燥, 得到粗品 PY-36i, 黄色固体 (850 mg, 1.69 mmol, 收率 89.4%)。

LCMS: RT = 2.233 min, MS (ESI) m/z = 503.3 [M+H]<sup>+</sup>。

步骤 9: (S)-(5-氯-9-乙基-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1h, 12h-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-4-基)甲基)氨基甲酸叔丁基酯 (PY-36j) 的制备

将化合物 PY-36i (400 mg, 0.80 mmol, 1.0 eq)、N-Boc-胺甲基三氟硼酸钾盐 (948 mg, 4.00 mmol, 5.0 eq)、正丁基-二(1-金刚烷基)膦 (375 mg, 0.40 mmol, 0.5 eq)、碳酸钾 (221 mg, 1.60 mmol, 2.0 eq) 和醋酸钨 (53.88 mg, 0.24 mmol, 0.3 eq) 溶于 1,4-二氧六环 (10 mL) 和水 (2 mL) 中, 氮气氛下, 80℃ 搅拌 2 小时。将反应液冷却至室温, 浓缩, 向浓缩物中加入水 (10 mL), 然后用乙酸乙酯萃取 (10 mL) 两次, 有机相用饱和食盐水洗一次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩得到粗产物, 粗品用反相色谱法纯化 (柱: Xtimate C18 150×40mm×10μm; 流动相: [水 (FA) -ACN]; 梯度: 26%-66% B, 36 min), 得到化合物 PY-36j (54.2 mg, 0.095 mmol, 收率 11.87%), 白色固体。

LCMS: RT = 2.127 min, MS (ESI) m/z = 552.5 [M+H]<sup>+</sup>。

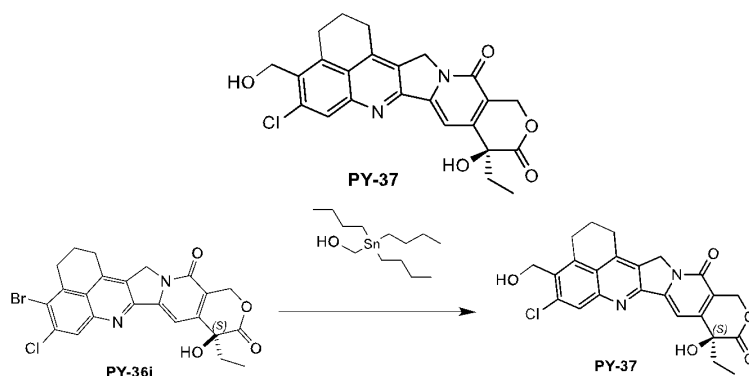
步骤 10: (S)-4-(氨基甲基)-5-氯-9-乙基-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10h, 13h-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-36) 的制备

将化合物 PY-36j (52.4 mg, 0.095 mmol, 1.0 eq) 溶于二氯甲烷中 (5 mL), 在 0℃ 加入三氟乙酸 (2 mL), 25℃ 反应 2 小时。将反应液减压浓缩, 粗品用反相色谱法纯化 (柱: Xtimate C18 150×40mm×10μm; 流动相: [水 (TFA) -ACN]; 梯度: 0%-38% B, 30 min), 得到化合物 PY-36 (4.55 mg, 0.01 mmol, 收率 10.53%), 白色固体。

LCMS: RT = 1.566 min, MS (ESI) m/z = 452.2 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>HNMR (400MHz, DMSO-*d*<sup>6</sup>) δ ppm 8.23 (s, 1 H), 8.19 (s, 2 H), 7.34 (s, 1 H), 6.55 (s, 1 H), 5.45 (s, 2 H), 5.30 (s, 2 H), 4.41 (s, 2 H), 3.20-3.18 (m, 4 H), 2.12 (t, *J* = 4.8 Hz, 2 H), 1.90-1.86 (m, 2 H), 0.88 (t, *J* = 7.2 Hz, 3 H)。

制备例 37: (S)-5-氯-9-乙基-9-羟基-4-(羟甲基)-1,2,3,9,12,15-六氢-10h, 13h-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-37) 的制备

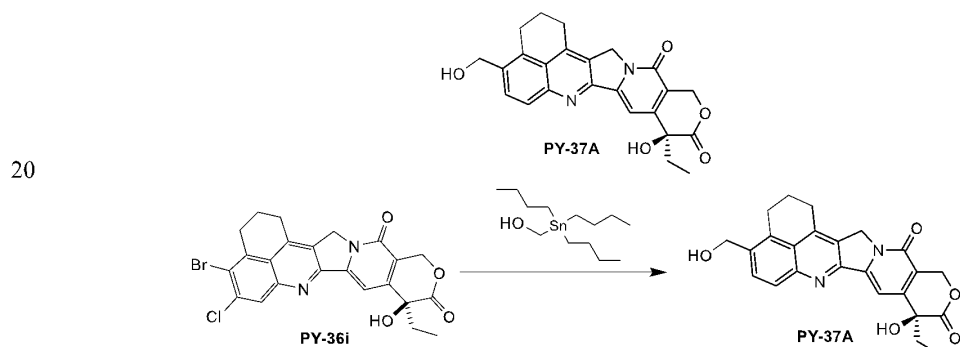


将化合物 **PY-36i** (200 mg, 0.40 mmol, 1.0 eq) 和(三丁基锡烷基)甲醇 (192 mg, 0.60 mmol, 1.5 eq) 溶于 1,4-二氧六环中 (5 mL), 加入催化剂氯(2-二环己基膦基-2,4,6-三异丙基-1,1-联苯基)[2-(2-氨基-1,1-联苯)]钯(II) (XPhos Pd G2) (31.4 mg, 0.04 mmol, 0.1 eq), 氮气氛下, 90℃ 反应 4 小时。将反应液冷却至室温, 过滤, 滤液减压浓缩, 加水稀释, 然后用乙酸乙酯萃取 (10 mL) 两次, 有机相用饱和食盐水洗涤 (10 mL), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩得到粗品。粗品用反相色谱法纯化 (柱: Welch Xtimate C18 150×30mm×5μm; 流动相[水 (FA) -ACN]; 梯度: 6%-46% B, 25 min), 得到化合物 **PY-37** (2.08 mg, 0.005 mmol, 收率 1.25%), 白色固体。

LCMS: RT = 1.475 min, MS (ESI)  $m/z$  = 453.3  $[M+H]^+$ 。

$^1\text{H}$ NMR (400MHz, DMSO- $d^6$ )  $\delta$  ppm 8.10 (s, 1 H), 7.32 (s, 1 H), 6.53 (s, 1 H), 5.44 (s, 2 H), 5.28 (s, 2 H), 5.19 (t,  $J$  = 5.2 Hz, 1 H), 4.83 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 2 H), 3.17 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 2 H), 2.09 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 2 H), 1.89-1.84 (m, 2 H), 1.15-1.14 (m, 2 H), 0.88 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 3 H)。

制备例 38: (S)-9-乙基-9-羟基-4-(羟甲基)-1,2,3,9,12,15-六氢-10h, 13h-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (**PY-37A**) 的制备



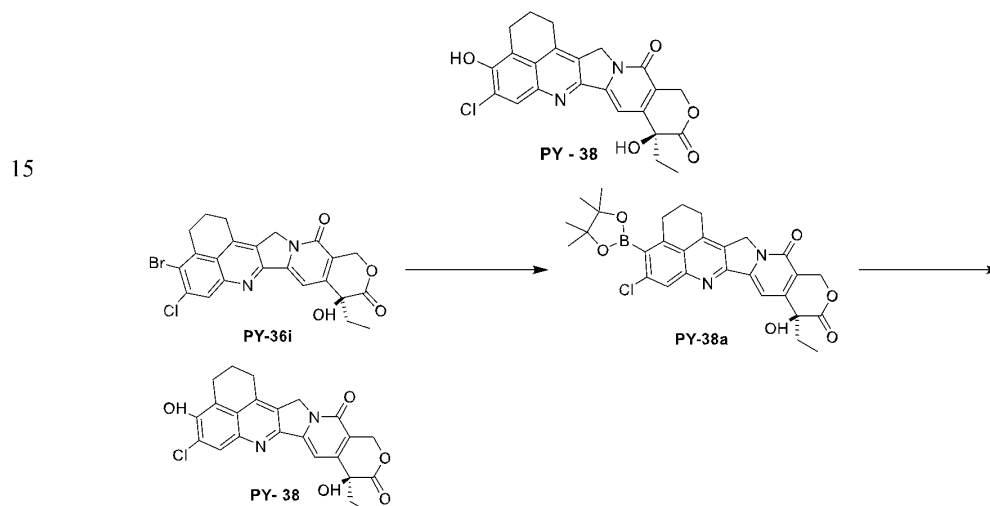
将化合物 **PY-36i** (200 mg, 0.40 mmol, 1.0 eq) 和(三丁基锡烷基)甲醇 (192 mg, 0.60 mmol, 1.5 eq) 溶于 1,4-二氧六环中 (5 mL), 加入催化剂氯(2-二环己基膦基-2,4,6-三异丙基-1,1-联苯基)[2-(2-氨基-1,1-联苯)]钯(II) (XPhos Pd G2) (31.4 mg,

0.04 mmol, 0.1 eq), 氮气氛围下, 90℃反应 4 小时。将反应液冷却至室温, 过滤, 滤液减压浓缩, 加水稀释, 然后用乙酸乙酯萃取 (10 mL) 两次, 有机相用饱和食盐水洗涤 (10 mL), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩得到粗品。粗品用反相色谱法纯化 (柱: Welch Xtimate C18 150×30mm×5μm; 流动相: [水 (FA) -ACN]; 梯度: 6%-46% B, 25 min), 得到化合物 **PY-37A** (2.23 mg, 0.005 mmol, 收率 1.25%), 白色固体。

LCMS: RT = 1.233 min, MS (ESI) m/z = 419.4 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>HNMR (400MHz, DMSO-*d*<sup>6</sup>) δ ppm 7.99 (d, *J* = 8.8 Hz 1 H), 7.90 (d, *J* = 8.8 Hz 1 H), 7.32 (s, 1 H), 6.51 (s, 1 H), 5.44 (s, 2 H), 5.33 (t, *J* = 4.4 Hz, 1 H), 5.27 (s, 2 H), 4.73 (d, *J* = 5.2 Hz, 2 H), 3.19-3.16 (m, 1 H), 3.10-3.07 (m, 1 H), 2.08 (t, *J* = 3.2 Hz, 2 H), 1.90-1.86 (m, 2 H), 1.15-1.13 (m, 2 H), 0.89 (t, *J* = 7.2 Hz, 3 H)。

制备例 39: (S)-5-氯-9-乙基-4,9-二羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10h, 13h-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (**PY-38**) 的制备



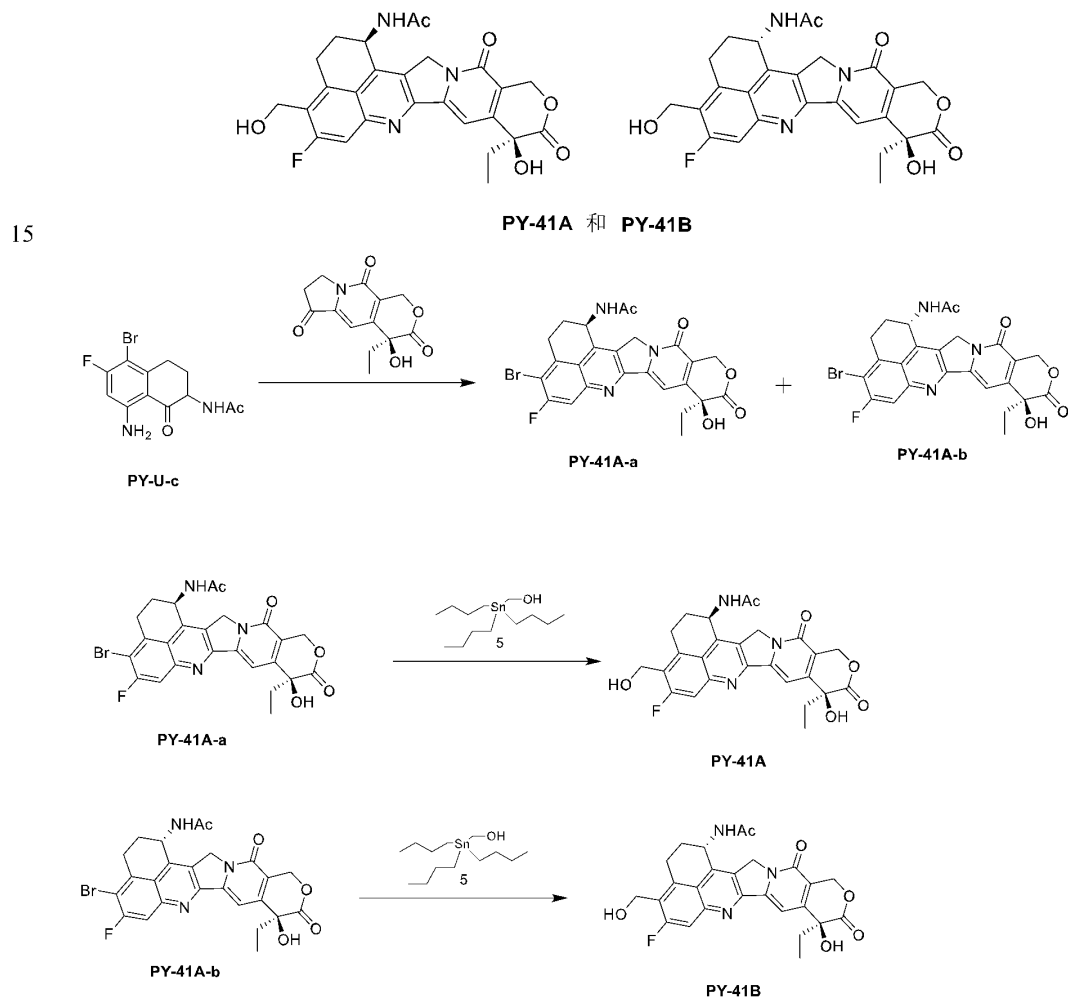
步骤 2: (S)-5-氯-9-乙基-4,9-二羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10h, 13h -苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-38) 的制备

将化合物 PY-38a (70.2 mg, 0.13 mmol, 1.0 eq) 溶于四氢呋喃 (0.2 mL) 和水 (0.2 mL) 中, 在 0℃ 加入过硼酸钠四水合物 (44.15 mg, 0.39 mmol, 3.0 eq), 25℃ 反应 1 小时。将反应液用饱和氯化铵溶液 (0.2 mL) 淬灭, 然后用反相色谱法纯化 (柱: Xtimate C18 150×40mm×10μm; 流动相: [水 (FA) -ACN]; 梯度: 10%-50% B, 36 min), 得到化合物 PY-38 (0.82 mg, 0.002 mmol, 收率 1.53%), 白色固体。

LCMS: RT = 1.491 min, MS (ESI) m/z = 439.3 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>HNMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 8.36 (s, 0.16 H), 8.03 (s, 1 H), 7.23 (s, 1 H), 6.49 (s, 1 H), 5.42 (s, 2 H), 5.21 (s, 2 H), 3.10 -3.07 (m, 2 H), 3.02 (t, *J* = 5.6 Hz, 2 H), 2.01 (t, *J* = 6.4 Hz, 2 H), 1.88-1.85 (m, 2 H), 1.24 (s, 1 H), 0.88 (t, *J* = 7.6 Hz, 3 H)。

制备例 40: PY-41A 和 PY-41B 的制备



## 步骤 1: 化合物 PY-41A-a 和 PY-41A-b 的制备

将化合物 N-(8-氨基-5-溴-6-氟-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)乙酰胺 (PY-U-c) (制备方法见制备例 44) (140 mg, 444.25  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于甲苯 (10 mL), 加入 (S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃并[3,4-f]吡啶-3,6,10(4H)-三酮 (PY-8f) (116.95 mg, 444.25  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 PPTS (111.64 mg, 444.25  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 反应液在 125°C 下搅拌 12 小时。反应液减压浓缩, 残余物通过高效液相色谱法 (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, 水的洗脱比例从 21% 到 51% 洗脱) 纯化, 得到两个棕色异构体固体, 分别为 PY-41-a (54 mg, 收率: 22.41%) 和 PY-41-b (54 mg, Yield: 22.41%)。

LCMS (ESI): m/z, 542.2 [M+H]<sup>+</sup>。

## 步骤 2: 化合物 PY-41A 的制备

将化合物 PY-41A-a (15 mg, 27.66  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于二氧六环 (2 mL), 加入羟甲基三丁基锡烷 (26.64 mg, 82.97  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和 XPhos Pd G2 (4.35 mg, 5.53  $\mu\text{mol}$ , 0.2 eq), 反应液置换氮气三次, 氮气氛围下, 在 90°C 搅拌 12 小时。反应液过滤, 减压浓缩, 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(R1, 4, 5, 6)。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 14% 到 24% 洗脱) 纯化, 得到白色固体 PY-41A (1.10 mg, 收率: 8.06%)。

LCMS (ESI): m/z, 494.2 [M+H]<sup>+</sup>。

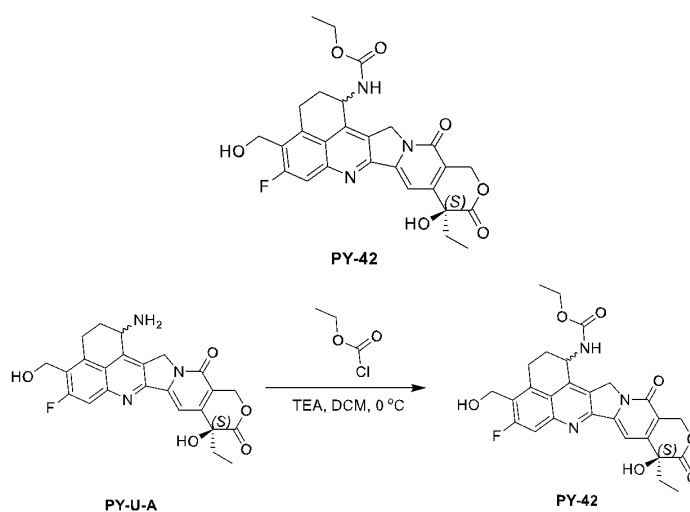
## 步骤 3: 化合物 PY-41B 的制备

将化合物 PY-41A-b (15 mg, 27.66  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于二氧六环 (2 mL), 加入羟甲基三丁基锡烷 (26.64 mg, 82.97  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和 XPhos Pd G2 (4.35 mg, 5.53  $\mu\text{mol}$ , 0.2 eq), 反应液置换氮气三次, 氮气氛围下, 在 90°C 搅拌 12 小时。反应液过滤, 减压浓缩, 残余物通过高效液相色谱法 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860(R1, 4, 5, 6)。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 12% 到 42% 洗脱) 纯化, 得到白色固体产物 PY-41B (1.02 mg, 收率: 7.47%)。

LCMS (ESI): m/z, 494.1 [M+H]<sup>+</sup>。

制备例 41: ((9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-(羟甲基)-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[d]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1, 2-b]喹啉-1-基)氨基甲酸乙酯 (PY-42) 的制备

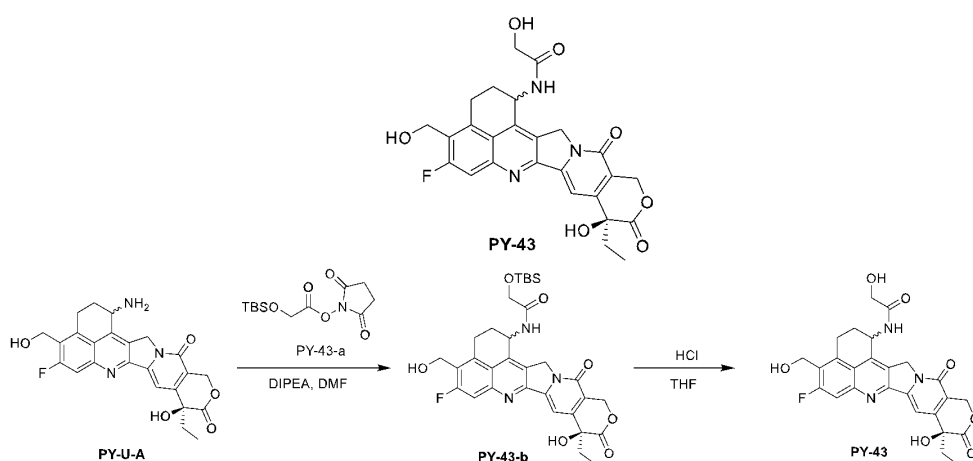




将化合物 PY-U-A（制备方法见制备例 44）（10.53 mg，95%，22.15  $\mu\text{mol}$ ，1 eq）溶于 DCM（5 mL）中，加入 TEA（4.48 mg，6.16  $\mu\text{L}$ ，44.30  $\mu\text{mol}$ ，2 eq），0 $^{\circ}\text{C}$  下加入氯甲酸乙酯（4.81 mg，4.24  $\mu\text{L}$ ，44.30  $\mu\text{mol}$ ，2 eq）。反应液 0 $^{\circ}\text{C}$  搅拌 8 小时。反应液用 DCM（10 mL）稀释，用水（10 mL）洗涤，有机相干燥后过滤，用高效液相色谱法（制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 BRIX-2860（R1,4,5,6）。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，水的洗脱比例从 20%到 50%洗脱）纯化，得白色固体产物 **PY-42**（1.12 mg，收率：9.66%，Purity: 90%）。

LCMS（ESI）： $m/z$ ，524.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

制备例 42: N-((9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-(羟甲基)-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[d]吡喃并[3',4': 6,7]吲哚啉并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺（**PY-43**）的制备



步骤 1: 2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-N-((9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-(羟甲基)-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[d]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)乙酰胺 (PY-43-b) 的制备

将化合物 PY-U-A (5 mg, 100%, 11.08  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DMF (1 mL) 中, 加入 DIPEA (2.86 mg, 3.66  $\mu\text{L}$ , 22.15  $\mu\text{mol}$ , 2 eq) 和 2,5-二氧代吡咯烷-1-基-2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙酸酯 (PY-43-a) (3.82 mg, 13.29  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq)。反应液 20°C 搅拌 12 小时。反应液用高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860 (R1, 4, 5, 6)。色谱柱为 GS-120-10-C18AP。流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 得白色固体产物 (2 mg, 收率: 28.95%)。

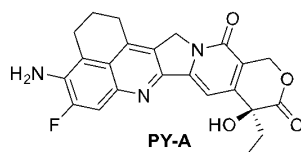
LCMS (ESI):  $m/z$ , 624.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

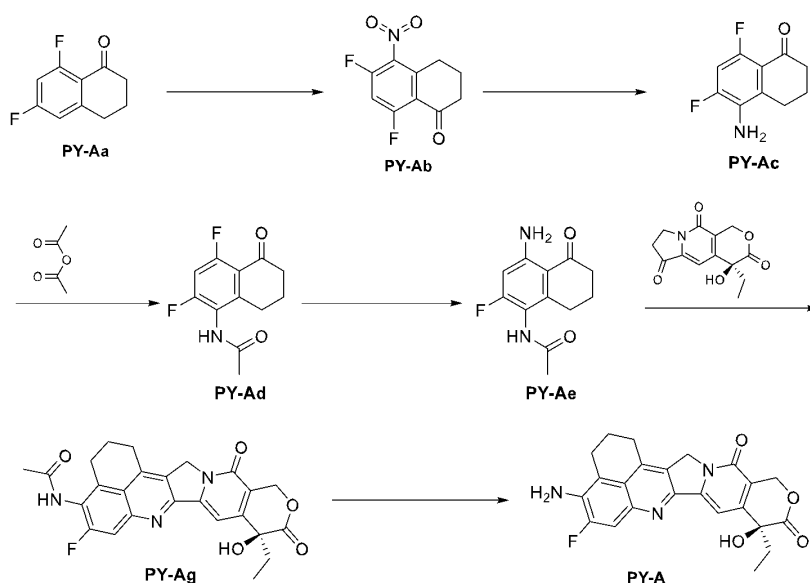
步骤 2: N-((9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-(羟甲基)-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[d]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)-2-羟基乙酰胺 (PY-43) 的制备

将化合物 PY-43-b (2 mg, 3.21  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 THF (1 mL) 中, 加入 HCl (116.91  $\mu\text{g}$ , 500  $\mu\text{L}$ , 3.21  $\mu\text{mol}$ , 1 eq)。反应液 15°C 搅拌 2 小时。反应液用高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860 (R1, 4, 5, 6)。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 12% 到 42% 洗脱) 纯化, 得黄色固体产物 PY-43 (1.10 mg, 收率: 67.33%, 纯度: 100%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 510.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

制备例 43: (S)-4-氨基-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-A) 的制备





步骤 1：6,8-二氟-5-硝基-1,2,3,4-四氢萘-1-酮（**PY-Ab**）的制备

向 6,8-二氟-3,4-二氢萘-1(2H)-酮（**PY-Aa**）（1.0 g）的 6mL 硫酸溶液中，加入 0.96 倍当量的硝酸钾（546mg），反应于冰浴下搅拌 2 小时。将反应液倒入冰水中，加入 50mL 水猝灭，使用乙酸乙酯（60mL×3）萃取，有机相用饱和食盐水洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，减压浓缩，得到 800mg 粗产物化合物 **PY-Ab**（41%的纯度）。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  7.20 – 7.07 (m, 1H), 2.96 (q,  $J = 6.0$  Hz, 2H), 2.61 (ddd,  $J = 27.9, 7.3, 5.8$  Hz, 2H), 2.12 – 2.00 (m, 2H)。

步骤 2：6,8-二氟-5-氨基-1,2,3,4-四氢萘-1-酮（**PY-Ac**）的制备

向 6,8-二氟-5-硝基-1,2,3,4-四氢萘-1-酮（800mg）的 9mL 乙醇与水混合溶剂（体积比为：8 比 1）中，分别加入 8 倍当量的铁粉（894mg）和 3 倍当量氯化铵（321mg），反应在 80°C 搅拌 2 小时。反应液滤去铁粉后，直接浓缩，残余物通过硅胶柱层析色谱法（洗脱剂：乙酸乙酯/石油醚为 1:1）纯化，得到 176mg 6,8-二氟-5-氨基-1,2,3,4-四氢萘-1-酮（**PY-Ac**）（产率：45%）。

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 198.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  7.03 (t,  $J = 11.4$  Hz, 1H), 5.02 (s, 2H), 2.70 (t,  $J = 6.2$  Hz, 2H), 2.08 (s, 1H), 2.00 (p,  $J = 6.4$  Hz, 2H)。

步骤 3：N-(2,4-二氟-5-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺（**PY-Ad**）的制备

向 6,8-二氟-5-氨基-1,2,3,4-四氢萘-1-酮（600mg）的 25mL 二氯甲烷溶液中，分别加入 1.2 倍当量的乙酸酐（343 $\mu\text{L}$ ）和 1.2 倍当量三乙胺（508 $\mu\text{L}$ ），反应在 60°C 搅拌 36 小时。浓缩反应液，残余物通过硅胶柱层析色谱法（洗脱剂：二氯甲烷/甲醇为 20:1）纯化，得到 483mg N-(2,4-二氟-5-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺（**PY-Ad**）（产率：66%，纯度：95%）。

LCMS (ESI) :m/z, 240.1 [M+H]<sup>+</sup>。

步骤 4: N-(4-氨基-2-氟-5-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (PY-Ae) 的制备  
在封管中, 向 N-(2,4-二氟-5-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (PY-Ad) (1.43g) 的 30mL DMSO 溶液中, 加入 35mL 氨水, 于 100°C 搅拌 16 小时。加入 50mL 水猝灭反应, 乙酸乙酯萃取, 有机相用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 二氯甲烷/甲醇为 20:1) 纯化, 得到 1.01g N-(4-氨基-2-氟-5-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (PY-Ae) (产率: 72%, 纯度: 94%)。

LCMS (ESI) : m/z, 237.2 [M+H]<sup>+</sup>。

步骤 5: (S)-N-(9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-4-基)乙酰胺 (PY-Ag) 的制备  
N-(4-氨基-2-氟-5-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (1.01g) 的 50mL 甲苯溶液中, 分别加入 1.2 倍当量的化合物 PY-8f (1.3g) 和 0.67 倍当量的 PPTS (691mg), 反应在 130°C 搅拌 16 小时。浓缩该反应液, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 二氯甲烷/甲醇为 10:1) 纯化, 得到 584mg 化合物 PY-Ag (产率: 30%, 纯度: >99%)。

LCMS (ESI) : m/z, 464.0 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.82 (s, 1H), 7.80 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.25 (s, 2H), 3.16 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.98 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 2.14 (s, 3H), 2.06 – 1.99 (m, 2H), 1.87 (p, *J* = 7.1 Hz, 2H), 0.88 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H)。

步骤 6: (S)-4-氨基-9-乙基-5-氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮 (PY-A) 的制备

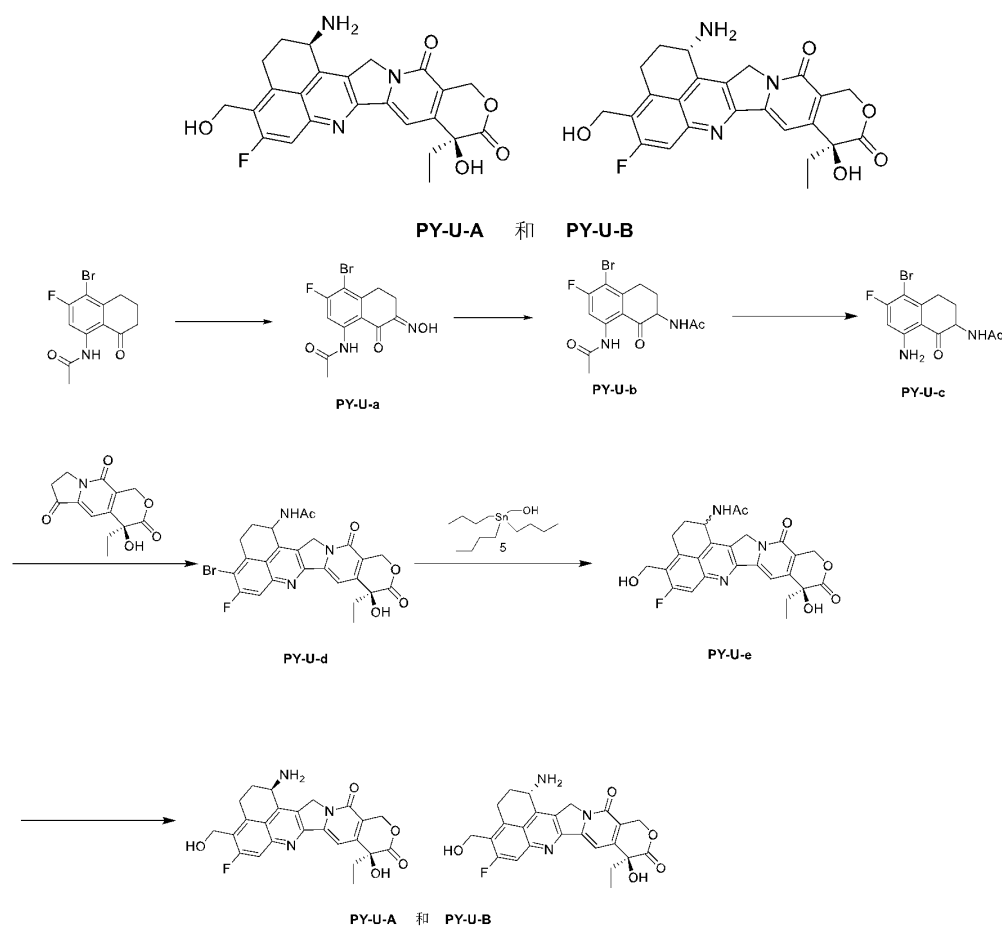
向化合物 PY-Ag (78mg) 的 6mL 乙醇溶液中, 加入 12N 的盐酸 (6mL), 反应在 60°C 搅拌 16 小时。经过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250×30mm×10μm。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 21% 到 51% 洗脱) 纯化, 冻干, 得到 43.9mg 化合物 PY-A (产率: 61%, 纯度: 98%)。

LCMS (ESI) : m/z, 422.1 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.63 (d, *J* = 12.5 Hz, 1H), 7.20 (s, 1H), 6.47 (s, 1H), 5.76 (s, 2H), 5.41 (s, 2H), 5.18 (s, 2H), 3.06 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.84 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.02 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 1.86 (dq, *J* = 14.4, 7.0 Hz, 2H), 0.87 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H);

<sup>19</sup>F NMR (377 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ -125.24。

制备例 44: PY-U-A 和 PY-U-B 的制备



步骤 1: (E)-N-(4-溴-3-氟-7-(羟基亚氨基)-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (PY-U-a) 的制备

- 5 于 0°C, 氮气氛围下, 向 N-(4-溴-3-氟-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基)乙酰胺 (PY-8g) (3 g, 10 mmol, 1 eq) 的无水 THF (150 mL) 溶液中, 滴加叔丁醇钾 (3.36 g, 29.99 mL, 29.99 mmol, 3 eq, 1 M 在 THF 中) 和亚硝酸叔丁酯 (3.09 g, 3.60 mL, 29.99 mmol, 3 eq), 加毕, 0-10°C 反应 1.5 小时。0°C 下向反应液中加入 200 mL 水, 随后用乙酸乙酯 (200 mL × 3) 萃取, 合并有机相再使用饱和食盐水 (100 mL)
- 10 洗涤, 加入无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 得到黄色固体粗品化合物 PY-U-a (3.20 g, 粗品, 收率: 48.63%, 纯度: 50%)。

LCMS (ESI): m/z, 329.0 [M+1]<sup>+</sup>。

步骤 2: 化合物 N,N'-(4-溴-3-氟-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1,7-二基)二乙酰基酰胺 (PY-U-b) 的制备

- 15 向化合物 PY-U-a (3.20 g, 50%, 4.86 mmol, 1 eq) 的醋酸 (40 mL) 和醋酸酐 (20 mL) 溶液中, 加入锌粉 (4.77 g, 668.47 μL, 72.92 mmol, 15 eq), 加毕, 15-20°C 反应 16 小时。反应液浓缩除去醋酸, 残余物倒入乙酸乙酯 (50 mL) 和水 (50 mL) 的混合溶液中, 混合溶液搅拌 10 分钟, 用硅藻土过滤, 滤液倒入分液漏

斗中分液，水相用乙酸乙酯萃取2次（50 mL × 2），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（二氯甲烷：甲醇=10:1）纯化，得到黄色固体化合物 **PY-U-b**（1.15 g，收率：55.63%，纯度：84%）。

5 LCMS (ESI) : m/z, 357 [M+H]<sup>+</sup>, 359 [M+H]<sup>+</sup>。

步骤3: N-(8-氨基-5-溴-6-氟-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)乙酰胺 (**PY-U-c**) 的制备

将化合物 **PY-U-b**（1.15 g，84%，2.70 mmol，1 eq）溶于乙醇（15 mL），然后加入 HCl（3.28 g，15 mL，90 mmol，33.2776 eq，6 M），该反应液在 60°C 搅拌 2 小时。反应液浓缩掉大部分溶剂，用碳酸氢钠（30 mL）中和，然后用 DCM（20 mL × 2）萃取，有机相干燥，过滤，减压浓缩后直接用于下一步。所得产物为棕色固体（700 mg，收率：68.99%）。  
10

LCMS (ESI) : m/z, 315.0 [M+H]<sup>+</sup>。

步骤4: N-((9S)-4-溴-9-乙基-5-氟-9-羟基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[d]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)乙酰胺 (**PY-U-d**) 的制备  
15

将化合物 **PY-U-c**（700 mg，2.22 mmol，1 eq）溶于甲苯（50 mL），向该溶液中加入(S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃并[3,4-f]吡啶并[1,2-b]喹啉-3,6,10(4H)-三酮(**PY-8f**)（877.11 mg，3.33 mmol，1.5 eq）和 PPTS（558.20 mg，2.22 mmol，1 eq），该溶液在 125°C 下搅拌 12 小时。反应液减压浓缩，残余物用高相液相制备色谱法纯化，得棕色固体产物（1 g，收率：83.01%，纯度：75%）。  
20

LCMS (ESI) : m/z, 542.1 [M+H]<sup>+</sup>。

步骤5: N-((9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-(羟甲基)-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[d]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)乙酰胺 (**PY-U-e**) 的制备  
25

将化合物 **PY-U-d**（300 mg，75%，414.85 μmol，1 eq）溶于二氧六环（10 mL）的溶液中，加入(三丁基锡基)甲醇（399.62 mg，1.24 mmol，3 eq）和 XPhos Pd G2（65.28 mg，82.97 μmol，0.2 eq）。反应液用氮气置换后，在氮气氛围下，90°C 搅拌 12 小时。反应液减压浓缩，残余物通过高效液相色谱法纯化，得到白色固体产物（120 mg，收率：收率：58.6%）。  
30

LCMS (ESI) : m/z, 494.1 [M+H]<sup>+</sup>。

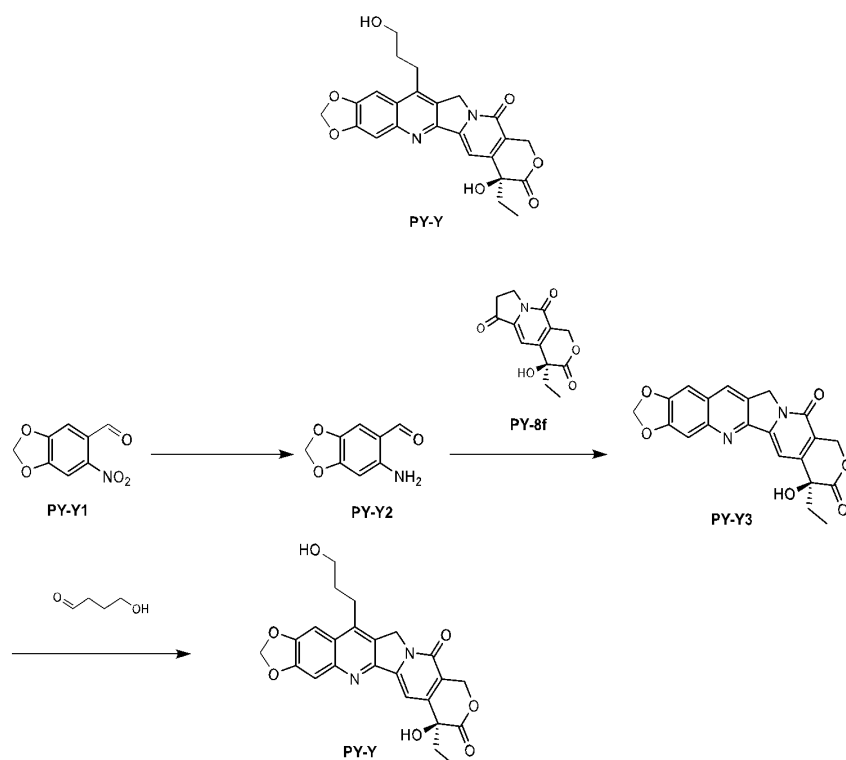
步骤6: 化合物 **PY-U-A** 和 **PY-U-B** 的制备

将化合物 **PY-U-e**（50 mg，101.32 μmol，1 eq）溶于 HCl（6 N，6 mL），加入 DIPEA，反应液在 85°C 下搅拌 6 小时。反应液通过高效液相制备色谱法（制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 R-120g。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm。流动相：水（0.225% HCOOH）-乙腈，水的洗脱比例从 10% 到  
35

20%洗脱)纯化,得到两个白色异构体固体,分别是 PY-U-A (62 mg, 收率: 粗品收率不计)和 PY-U-B (16 mg, 收率: 34.98%, )。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 452.2  $[M+H]^+$ 。

- 5 制备例 45: (*S*)-7-乙基-7-羟基-14-(3-羟丙基)-10,13-二氢-11H-[1,3]二氧杂环戊并[4,5-*g*]吡喃并[3',4':6,7]吲哚啉并[1,2-*b*]喹啉-8,11(7H)-二酮 (PY-Y) 的制备



- 10 步骤 1: 6-氨基苯并[d][1,3]二氧杂环戊-5-甲醛 (PY-Y2) 的制备

将铁粉 (3.94 g, 70.47 mmol, 5.5 eq) 和氯化铵 (3.77 g, 70.47 mmol, 5.5 eq) 加入乙醇 (30.0 mL) 和水 (3.00 mL) 中, 然后加入 6-硝基苯[d][1,3]氧杂环戊-5-甲醛 (2.50 g, 12.81 mmol, 1 eq), 反应液在 80℃ 反应 4 小时。过滤, 滤液减压浓缩, 残余物溶于水和二氯甲烷 (100 mL) 中, 有机相用饱和碳酸氢钠 (30 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩, 残余物通过硅胶柱色谱法纯化 (SiO<sub>2</sub>, DCM: MeOH = 1:0,  $R_f(p)$  = 0.39), 得到 6-氨基苯并[d][1,3]二氧杂环戊-5-甲醛 (1.27 g, 产率: 59.83%)。

LCMS: RT = 0.996 min, MS (ESI)  $m/z$  = 166.1  $[M+H]^+$ 。

- 20 步骤 2: (*S*)-7-乙基-7-羟基-10,13-二氢-11H-[1,3]二氧杂环戊并[4,5-*g*]吡喃并[3',4':6,7]吲哚啉并[1,2-*b*]喹啉-8,11(7H)-二酮 (PY-Y3) 的制备

将化合物 PY-8f (2.00 g, 7.60 mmol, 1 eq) 和 6-氨基苯并[d][1,3]二氧杂环戊-5-甲醛 (1.25 g, 7.60 mmol, 1 eq) 溶于甲苯 (160 mL), 然后加入对甲苯磺酸一水

合物 (144.52 mg, 759.75  $\mu\text{mol}$ , 0.1 eq), 反应液在 125℃ 搅拌 16 小时后, 冷却至 25℃ 过滤, 滤饼用 10 mL 四氢呋喃洗涤, 减压干燥, 得到化合物 PY-Y3 (1.51 g, 产率: 50.65%)。

LCMS: RT = 1.271 min, MS (ESI)  $m/z = 393.2 [M+H]^+$ 。

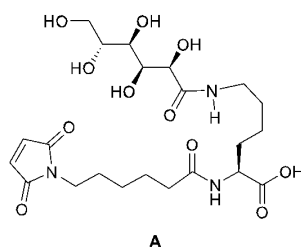
5 步骤 3: (S)-7-乙基-7-羟基-14-(3-羟丙基)-10,13-二氢-11H-[1,3]二氧杂环戊并[4,5-g]吡喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-8,11(7H)-二酮 (PY-Y) 的制备

将化合物 PY-Y3 (400 mg, 795.19  $\mu\text{mol}$ , 1 eq)、七水硫酸亚铁 (353.72 mg, 1.27 mmol, 1.6 eq) 溶于 10 mL 水中, 搅拌下加入 98% 硫酸 (4.59 g, 46.83 mmol, 2.50 mL, 58.89 eq), 充分搅拌 10 分钟后, 0℃ 滴加 4-羟基丁醛 (343.3 mg, 3.90 mmol, 5 eq), 再滴加双氧水 (1.26 g, 11.10 mmol, 1.07 mL, 30% 纯度, 13.96 eq) 在 20mL 水中的溶液, 反应液在 0-5℃ 搅拌 1 小时。反应液倒入冰水中, 用饱和碳酸氢钠溶液调节 pH = 8.0, 用乙酸乙酯萃取 (50mL  $\times$  5), 减压浓缩, 残余物通过高效液相制备色谱法纯化 (Xtimate C18 150 $\times$ 40mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ ; 流动相: [水 (0.1%FA) - 乙腈]; 梯度: 10%-44% 乙腈, 36 min), 得到化合物 PY-Y (99.5 mg, 99.6% 纯度)。

LCMS: RT = 1.890 min, MS (ESI)  $m/z = 451.3 [M+H]^+$ 。

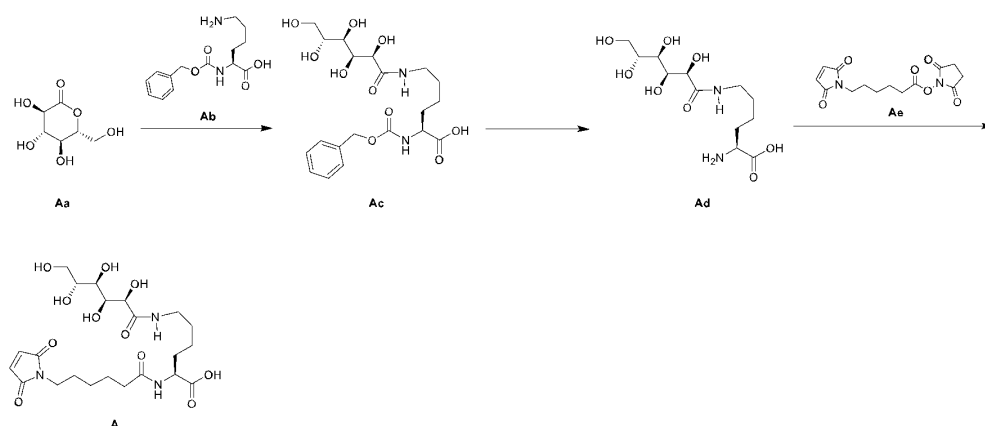
$^1\text{H}$ NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 7.63 (s, 1 H), 7.50 (s, 1 H), 7.24 (s, 1 H), 6.50 (s, 1 H), 6.29 (s, 2 H), 5.42 (s, 2 H), 5.25 (s, 2 H), 4.68 (t,  $J = 5.2$  Hz, 1 H), 3.49 (t,  $J = 5.6$  Hz, 2 H), 3.15 (t,  $J = 6.8$  Hz, 2 H), 2.53 (t,  $J = 1.6$  Hz, 1 H), 2.33 (t,  $J = 1.6$  Hz, 1 H), 1.81 - 1.88 (m, 2 H), 0.88 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3 H)。

制备例 46: N<sup>2</sup>-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基)-N<sup>6</sup>-(2R,3S,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己酰基)-L-赖氨酸 (A) 的制备



25 路线一:





步骤1:  $N^2$ -(苄氧基)羰基)- $N^6$ -(2R,3S,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己酰基)-L-赖氨酸 (Ac) 的制备

于室温, 将(3R,4S,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-酮 (Aa) (1.27g, 7.13 mmol) 和((苄氧基)羰基)-L-赖氨酸 (Ab) (2 g, 7.13 mmol) 溶解于甲醇 (30 mL), 再加入三乙胺 (1.44 g, 14.27mmol)。反应液于70 °C搅拌16 小时。将反应液减压浓缩, 所得的残余物通过高效液相色谱制备 (Oriundo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10 $\mu$ m; 流动相: 水 (0.225% 三氟乙酸)-乙腈, 从45%到85%洗脱) 分离, 得到白色固体化合物Ac (2.5 g, 收率76.43%)。

LCMS:  $[M+H]^+=459.1$ 。

步骤2:  $N^6$ -(2R,3S,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己酰基)-L-赖氨酸 (Ad) 的制备

室温, 将化合物  $N^2$ -(苄氧基)羰基)- $N^6$ -(2R,3S,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己酰基)-L-赖氨酸 (Ac) (2.5 g, 5.45 mmol) 溶解于甲醇 (40 mL), 再将 10% 湿钯碳 (250 mg) 加入反应液中。氢气氛下, 反应液于室温搅拌 6 小时。将反应液用硅藻土过滤, 滤饼用水洗涤, 滤液冻干, 得到白色固体化合物 Ad (1.6 g, 收率: 88.96%)。

LCMS:  $[M+H]^+=325.1$ 。

$^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  4.16-4.19 (d,  $J = 9.4$  Hz, 1H), 3.93-3.97 (t,  $J = 9.4$  Hz, 1H), 3.72 – 3.50 (m, 5H), 3.10-3.20 (m, 2H), 1.68-1.79 (m, 2H), 1.40-1.55 (m, 2H), 1.20-1.35 (m, 2H)。

步骤 3:  $N^2$ -(6-(2,5- 二氧代 -2,5- 二氢 -1H- 吡咯 -1- 基) 己酰基)- $N^6$ -(2R,3S,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己酰基)-L-赖氨酸 (A) 的制备

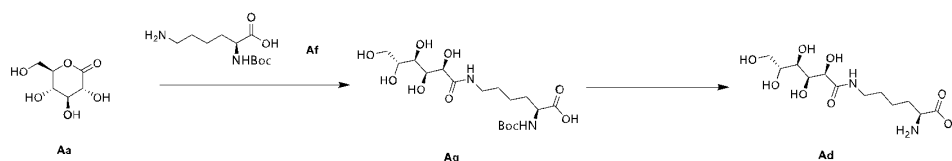
室温, 将化合物  $N^6$ -(2R,3S,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己酰基)-L-赖氨酸 (Ad) (1.6g, 4.93 mmol) 溶解于 N,N-二甲基甲酰胺 (30mL) 中, 再分别向其中加入 2,5-二氧代吡咯烷-1-基-6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯 (Ae) (1.52g, 4.93mmol)、DIEA (1.27 g, 9.87 mmol)。氮气氛下, 反应液于 70°C搅拌 16 小时。反应液过滤, 通过高效液相色谱制备 (Oriundo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex

Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水 (0.225% 三氟乙酸) - 乙腈, 从 45%到 85%洗脱) 分离, 得到白色固体连接子 **A** (400 mg, 收率:15.67%)。

LCMS:  $[M+H]^+=517.9$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.93 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 7.60 (t,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 6.97 (s, 2H), 5.32 (m, 1H), 4.59 – 4.30 (m, 2H), 4.17 – 3.99 (m, 1H), 3.96-3.91 (m, 1H), 3.89-3.81 (m, 1H), 3.57-3.5 (m, 1H), 3.48-3.39 (m, 2H), 3.34 (s, 4H), 3.12 – 2.89 (m, 2H), 2.05 (t,  $J = 6.4$  Hz, 2H), 1.82 – 0.95 (m, 13H)。

路线二:



步骤1:  $\text{N}^2$ -(叔丁氧羰基)- $\text{N}^6$ -(2R,3S,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己酰基)-L-赖氨酸 (**Ag**) 的制备

(叔丁氧羰基)-L-赖氨酸 (**Af**) (5 g, 0.02 mol)、(3R,4S,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-酮 (**Aa**) (3.6 g, 0.02 mol) 溶解于 MeOH (80mL) 中, 加入 TEA (4.1 g, 0.04 mol), 在 70°C 反应 16 小时。将反应液浓缩, 加入 MTBE (50 ml×3) 减压浓缩, 然后用石油醚打浆, 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 $[M+H]^+$ , 447.2 $[M+Na]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  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)。

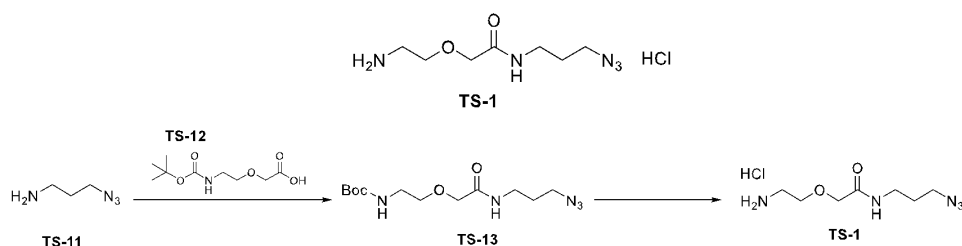
步骤2:  $\text{N}^6$ -(2R,3S,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己酰基)-L-赖氨酸 (**Ad**) 的制备

$\text{N}^2$ -(叔丁氧羰基)- $\text{N}^6$ -(2R,3S,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己酰基)-L-赖氨酸 (**Ag**) (7 g) 溶于 DCM (35mL) 中, 加入 TFA (35 mL), 10-15°C 反应 16 小时。将反应液浓缩, 加入 DCM (50mL×3) 减压浓缩, 然后加水溶清冻干, 得黄色粘状物粗品 8 g, 100%。

$^1\text{H}$  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)。

其余步骤与路线一相同, 得到连接子 **A**。

制备例 47: 抗体标签 (antibody-tag) 2-(2-氨基乙氧基)-N-(3-叠氮丙基)乙酰胺盐酸盐 (**TS-1**) 的制备



步骤 1: (2-(2-(3-叠氮丙基)氨基)-2-氧代乙氧基)氨基甲酸叔丁基酯 (TS-13) 的制备

- 5 向 2-(2-(叔丁氧羰基)氨基)乙氧基)乙酸 (TS-12) (皓元医药, 450.0 mg, 2.0 mmol, 1.0 eq) 的二氯甲烷 (4.5 mL) 溶液中依次加入 3-叠氮基丙胺 (205.4 mg, 2.0 mmol, 1.0 eq)、DIEA (662.6 mg, 5.1 mmol, 2.5 eq) 和 T<sub>3</sub>P (2.3 g, 3.7 mmol, 1.8 eq)。反应室温搅拌 16 小时后, 加 30 mL 二氯甲烷稀释, 并用 20 mL 水洗涤有机相。水相用 30 mL 二氯甲烷萃取一次, 合并有机相, 并用 20 mL 饱和食盐水洗涤。有机相干燥, 过滤, 浓缩。残余物通过硅胶柱层析快速色谱法 (洗脱剂: 乙酸乙酯/正己烷 1:20 到 1:1) 纯化, 得到无色油状的化合物 TS-13, 492 mg (收率 79%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 302  $[M+H]^+$ 。

- 15 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  6.84 (s, 1H), 4.88 (s, 1H), 3.95 (s, 2H), 3.56 (t,  $J=5.2$  Hz, 2H), 3.41 – 3.31 (m, 6H), 1.81 (q,  $J=6.7$  Hz, 2H), 1.44 (s, 9H)。

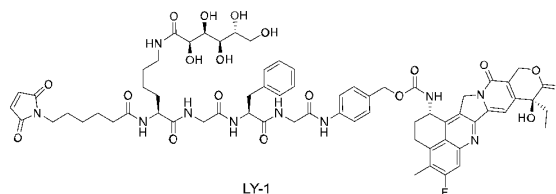
步骤 2: 2-(2-氨基乙氧基)-N-(3-叠氮丙基)乙酰胺盐酸盐 (TS-1) 的制备

- 于三口瓶中加入于化合物叔丁基 (2-(2-(3-叠氮基丙基)氨基)-2-氧代乙氧基)乙基)氨基甲酸酯 (TS-13) (482.0 mg, 1.6 mmol, 1.0 eq) 和 5 mL 甲醇, 0°C 缓慢滴加 6 M HCl 的 1,4-二氧六环溶液 (1.6 mL), 温度不超过 5°C。升至室温搅拌 16 小时后, 浓缩反应体系。残余物通过高效液相色谱法 (Oriundo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10 $\mu$ m; 流动相: 水 (0.1% HCl) - 乙腈, 水的洗脱比例从 55% 到 85% 洗脱) 纯化, 冻干, 得到无色油状化合物 TS-1, 94.8 mg (收率 24.7%)。

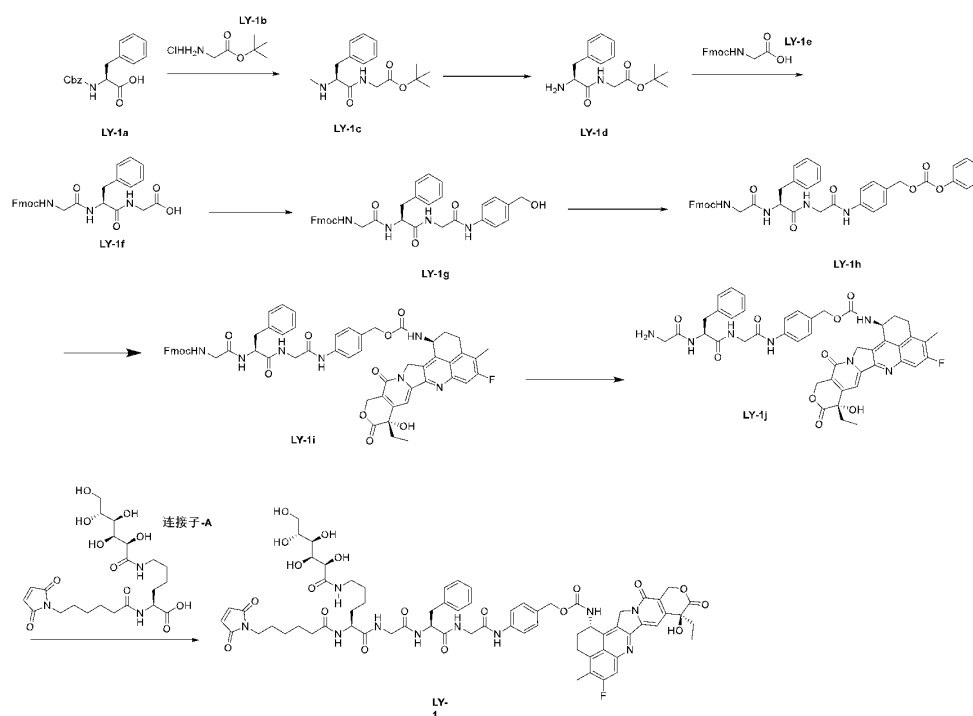
LCMS (ESI):  $m/z$ , 202  $[M+H]^+$ 。

- 25 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  ppm 1.67 - 1.72 (m,  $J=6.85$  Hz, 2 H), 2.97 - 3.04 (m,  $J=5.30$  Hz, 2 H), 3.15 - 3.20 (q,  $J=6.71$  Hz, 2 H), 3.34 - 3.37 (t,  $J=6.82$  Hz, 2 H), 3.62 - 3.64 (t,  $J=5.00$  Hz, 2 H), 3.91 (s, 2 H), 8.21 - 8.30 (m, 3 H)。

实施例 1: 化合物 LY-1 的制备



LY-1



#### 步骤 1: 甲基-L-苯丙氨酰基甘氨酸叔丁酯 (LY-1c) 的制备

将((苄氧基)羰基)-L-苯丙氨酸 (LY-1a) (3.0g, 10.0mmol) 溶于 50mL DMF, 依次加入甘氨酸叔丁酯盐酸 (1.9 g, 10.1mmol)、HOBt (0.68g, 5.0mmol)、EDCI (2.3g, 12.0mmol) 和 DIPEA (3.87g, 30.0mmol)。氮气氛下, 室温搅拌 18h。加水 (80mL) 稀释, DCM (100 mL) 萃取两次, 合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 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 1:5) 纯化, 得化合物 LY-1c (3.5 g, 收率 85%), 无色油状物。

#### 步骤 2: L-苯丙氨酰基甘氨酸叔丁酯 (LY-1d) 的制备

将甲基-L-苯丙氨酰基甘氨酸叔丁酯 (LY-1c) (3.0g, 7.3mmol) 溶于 30 mL 二氯甲烷, 在 0°C 加入 10mL 的三氟乙酸。氮气氛下, 室温搅拌 2h。减压浓缩。产品未经纯化直接用于下一步, 淡黄色固体。

#### 步骤 3: ((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)甘氨酸酰基-L-苯丙氨酰基甘氨酸 (LY-1f) 的制备

将 L-苯丙氨酰基甘氨酸叔丁酯 (LY-1d) (1.39 g, 5 mmol), LY-1c (1.49 g, 5mmol) 溶于 50mL DMF, 依次加入 HOBt (0.68g, 5.0mmol)、EDCI (1.9g, 10.0mmol) 和 DIPEA (3.87g, 30.0mmol)。氮气氛下, 室温搅拌 18h。加稀盐酸 (30mL) 调节 pH 至 1-2, DCM (100 mL) 萃取两次, 合并有机相, 饱和食盐水洗涤, 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 1:5) 分离纯化, 得化合物 LY-1f (3.1 g, 收率 84%, 两步), 白色固体。

LCMS (ESI): m/z, 502.4 [M+H]<sup>+</sup>。

步骤 4: (9H-芴-9-基)甲基-(2-(1-(2-(4-(羟甲基)苯基)氨基)-2-氧代乙基)氨基)-1-氧代-3-苯丙烷-2-基)氨基)-2-氧代乙基)氨基甲酸酯 (**LY-1g**) 的制备

将化合物((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)甘氨酸基-L-苯丙氨酸基甘氨酸 (2.5g, 5 mmol)溶于 20mL DMF, 依次加入 HATU(2.3g, 6.0mmol)和 DIPEA(1.9g, 15.0mmol)以及 4-氨基苯甲醇 (0.74g, 6mmol)。氮气氛下, 室温搅拌 10h。加水 (50mL) 稀释, DCM (100 mL) 萃取两次, 合并有机相, 饱和食盐水洗涤, 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 1:5) 分离纯化, 得化合物 **LY-1g** (2.8 g, 收率 92%), 白色固体。

LCMS (ESI): m/z, 607.2 [M+H]<sup>+</sup>。

步骤 5: (9H-芴-9-基)甲基-(2-(1-(2-(4-(4-(硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-2-氧代乙基)氨基)-1-氧代-3-苯丙烷-2-基)氨基)-2-氧代乙基)氨基甲酸酯 (**LY-1h**) 的制备

将(9H-芴-9-基)甲基-(2-(1-(2-(4-(羟甲基)苯基)氨基)-2-氧代乙基)氨基)-1-氧代-3-苯丙烷-2-基)氨基)-2-氧代乙基)氨基甲酸酯 (**LY-1g**) (2.0g, 3.3mmol) 和碳酸双(4-硝基苯基)酯(2g, 6.6mmol)溶于 DMF(20mL), 加入 DIPEA(0.43g, 3.3mmol)。氮气氛下, 室温搅拌 2h。加水 (30mL) 稀释, DCM 萃取两次, 合并有机相, 饱和食盐水洗涤, 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 1:5) 分离纯化, 得化合物 **LY-1h** (0.92g, 收率 36%), 白色固体。

步骤 6: 化合物 (**LY-1i**) 和 (**LY-1j**) 的制备

将(9H-芴-9-基)甲基-(2-(1-(2-(4-(4-(硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-2-氧代乙基)氨基)-1-氧代-3-苯丙烷-2-基)氨基)-2-氧代乙基)氨基甲酸酯 (**LY-1h**) (397mg, 0.54mmol) 和伊喜替康甲磺酸盐 (300mg, 0.56mmol) 溶于 DMF (2mL), 加入 HOBt (73mg, 0.54mmol)、吡啶 (425mg, 5.38mmol) 和 DIPEA (208mg, 1.61mmol), 室温搅拌过夜, 得到 **LY-1i**。加入 NMM (109mg, 1.08mmol), 室温搅拌 8h。反应液通过制备 HPLC (色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 从 45%到 85%洗脱) 分离, 得化合物 **LY-1j** (123mg, 收率 21%), 白色固体。

LCMS (ESI): m/z, 1068.5 [M+H]<sup>+</sup>。

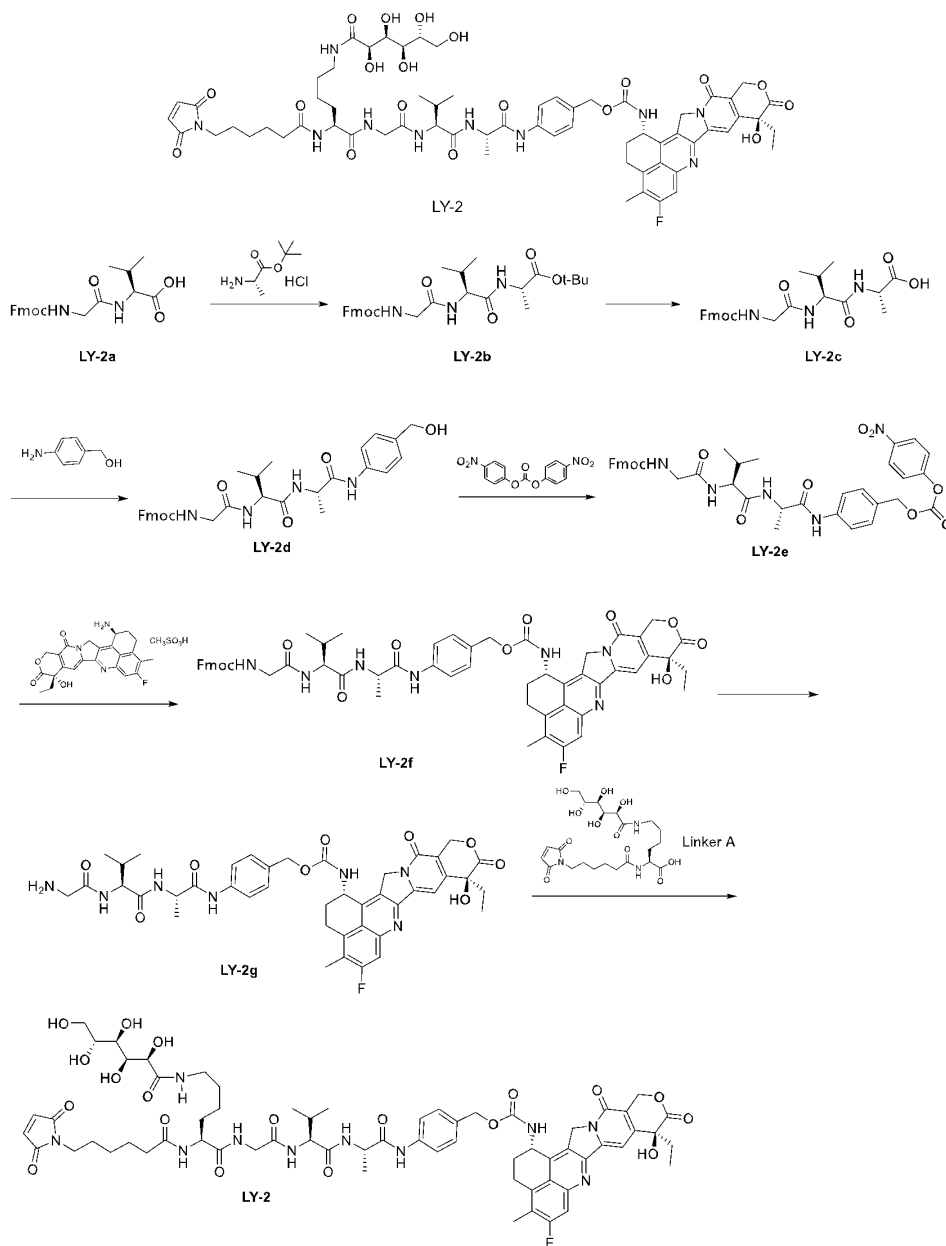
步骤 7: 化合物 (**LY-1**) 的制备

于连接子 **A** (11.2 mg, 0.022 mmol, 1.2 eq) 的无水四氢呋喃 (7 mL) 溶液中依次加入 HATU (10.3 mg, 0.027 mmol, 1.5 eq)、DIPEA (7.0 mg, 0.054 mmol, 3.0 eq) 和 **LY-1j** (15 mg, 0.018 mmol, 1 eq)。将反应液在 60°C搅拌 2 小时。反应液通过高效液相色谱制备 (色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 从 45%到 85%洗脱) 分离纯化, 冻干, 得到黄色固体目标化合物 **LY-1** (9.4 mg, 收率 38%)。

LCMS (ESI): m/z, 1345.6 [M+H]<sup>+</sup>, 673.5 [1/2M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.87 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 8.10 (dd, *J* = 20.8, 8.0 Hz, 3H), 7.94 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.78 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H), 7.66 – 7.53 (m, 3H), 7.37 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.31 (s, 1H), 7.27 – 7.22 (m, 3H), 7.18 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H), 6.98 (d, *J* = 2.2 Hz, 2H), 6.53 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.35 (s, 1H), 5.29 (s, 3H), 5.08 (s, 2H), 4.50 (dd, *J* = 13.6, 8.4 Hz, 5H), 4.18 – 4.07 (m, 1H), 3.96 (s, 1H), 3.93 – 3.83 (m, 3H), 3.72 (s, 1H), 3.64 – 3.51 (m, 2H), 3.46 (s, 2H), 3.23 (s, 4H), 3.05 (dt, *J* = 15.2, 7.2 Hz, 5H), 2.90 – 2.77 (m, 2H), 2.38 (d, *J* = 1.9 Hz, 3H), 2.25 – 2.01 (m, 5H), 1.92 – 1.82 (m, 2H), 1.58 (s, 2H), 1.49 – 1.33 (m, 6H), 1.26 – 1.10 (m, 4H), 0.87 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H)。

## 10 实施例 2：化合物 LY-2 的制备



步骤 1: ((9H-苈-9-基)甲氧基)羰基)甘氨酸-L-戊酰基-L-丙氨酸叔丁酯 (LY-2b) 的制备

将(((9H-苈-9-基)甲氧基)羰基)甘氨酸基-L-缬氨酸 (LY-2a) (8g, 20.2mmol)、氨基乙酸叔丁酯 (3.66g, 20.2mmol) 加入 250mL 三口瓶中, 加入 DMF (80ml), 5 氮气氛下, 滴加 DIEA (7.8g, 60.6mmol), 加毕搅拌 5 分钟, 滴加 HATU (9.2g, 24.2mmol) 的 DMF (30mL) 溶液, 加毕室温搅拌 1 小时。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, 水洗一次, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 得 9.5g 黄色油状物, 收率: 90%。

<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: ((9H-苈-9-基)甲氧基)羰基)甘氨酸基-L-缬氨酸基-L-丙氨酸 (LY-2c) 的制备

15 将((9H-苈-9-基)甲氧基)羰基)甘氨酸-L-戊酰基-L-丙氨酸叔丁酯 (LY-2b) (6g, 11.47mmol)溶于 DCM (30mL) 中, 氮气氛下, 滴加 TFA (20mL), 加毕室温反应 2 小时。将反应液浓缩至小体积, 加入饱和碳酸氢钠溶液调节至 pH=7-8, 加入 DCM (100mL) 萃取杂质, 用 1N HCl 调 pH 至 1-2, EA (200mL×2) 萃取, 用水 (100mL×3) 洗涤有机相, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 得 4.8g 20 白色固体, 收率: 89%。

<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: (9H-苈-9-基)甲基(2-((S)-1-((S)-1-((4-(羟甲基)苯基)氨基)-1-氧代丙烷-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-2-氧代乙基)氨基甲酸酯 (LY-2d) 的制备

25 将((9H-苈-9-基)甲氧基)羰基)甘氨酸基-L-缬氨酸基-L-丙氨酸 (LY-2c) (2.5g, 5.35mmol)、氨基苯甲醇 (645mg, 5.24mmol) 加入反应瓶, 加入 DMF (25mL) 溶解, 氮气氛下, 加入 2,6-二甲基吡啶 (1.72g, 16mmol), 加毕搅拌 5 分钟, 滴加 HATU (2.44g, 6.4mmol) 的 DMF (8mL) 溶液, 加毕室温反应 1 小时。将反应液加入水 (200mL) 中, EA (200mL×2) 萃取, 稀盐酸洗涤有机相, 碳酸氢钠洗涤有机相, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 得 2.4g 近白色固体, 30 收率: 80%。

<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: (9H-苈-9-基)甲基(2-((S)-3-甲基-1-((S)-1-(4-(硝基苯氧基)羰基)氧基)

甲基)苯基)氨基)-1-氧代丙烷-2-基)氨基)-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-2-氧代乙基)氨基甲酸酯 (LY-2e) 的制备

将(9H-芴-9-基)甲基(2-((S)-1-((S)-1-((4-(羟甲基)苯基)氨基)-1-氧代丙烷-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-2-氧代乙基)氨基甲酸酯 (LY-2d) (1g, 1.74mmol)、二(4-硝基苯基)碳酸酯 (0.8g, 2.62mmol) 溶于 DMF (10mL) 中, 氮气氛下, 滴加 DIEA (563mg, 4.37mmol), 加毕室温反应 2 小时。将反应液加入水 (50mL) 中, EA (100mL×2) 萃取, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (PE:EA=10:1) 纯化, 得 1g 近白色固体, 收率: 78%。

<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: (9H-芴-9-基)甲基(2-((S)-1-((S)-1-((4-(((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧代-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4:6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-1-基)氨甲酰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代丙烷-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-2-氧代乙基)氨基甲酸酯 (LY-2f) 的制备

将 (9H-芴-9-基)甲基(2-((S)-3-甲基-1-((S)-1-((4-(硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代丙烷-2-基)氨基)-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-2-氧代乙基)氨基甲酸酯 (LY-2e) (415mg, 0.54mmol) 和伊喜替康甲磺酸盐 (300mg, 0.56mmol) 溶于 DMF (2mL), 加入 HOBt (73mg, 0.54mmol)、吡啶 (425mg, 5.38mmol) 和 DIPEA (208mg, 1.61mmol)。室温搅拌过夜, 得到 LY-2f。反应液直接用于下一步。

步骤 6: 化合物 (LY-2g) 的制备

将步骤 5 的反应液加入哌啶 (92mg, 1.08mmol), 室温搅拌 8h。反应液通过高效液相色谱制备 (Oriundo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 从 45%到 85%洗脱) 纯化, 得化合物 LY-2g (81.0 mg, 收率 18.5%), 白色固体, 直接用于下一步。

LCMS (ESI): *m/z*, 834.4 [M+Na]<sup>+</sup>, 812.5 [M+H]<sup>+</sup>。

步骤 7: 化合物 (LY-2) 的制备

向连接子 A (3.9 mg, 0.0074 mmol, 1.2 eq) 的无水四氢呋喃 (2 mL) 的溶液中依次加入 HATU (2.83 mg, 0.0074 mmol, 1.2 eq)、DIPEA (2.4 mg, 0.019 mmol, 3.0 eq) 和化合物 LY-2g (5 mg, 0.0062 mmol, 1 eq)。反应液在 60°C 搅拌 2 小时。反应液通过高效液相色谱制备 (Oriundo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 从 45%到 85%洗脱) 分离, 冻干, 得到黄色固体化合物 LY-2 (2.0 mg, 收率 24.6%)。

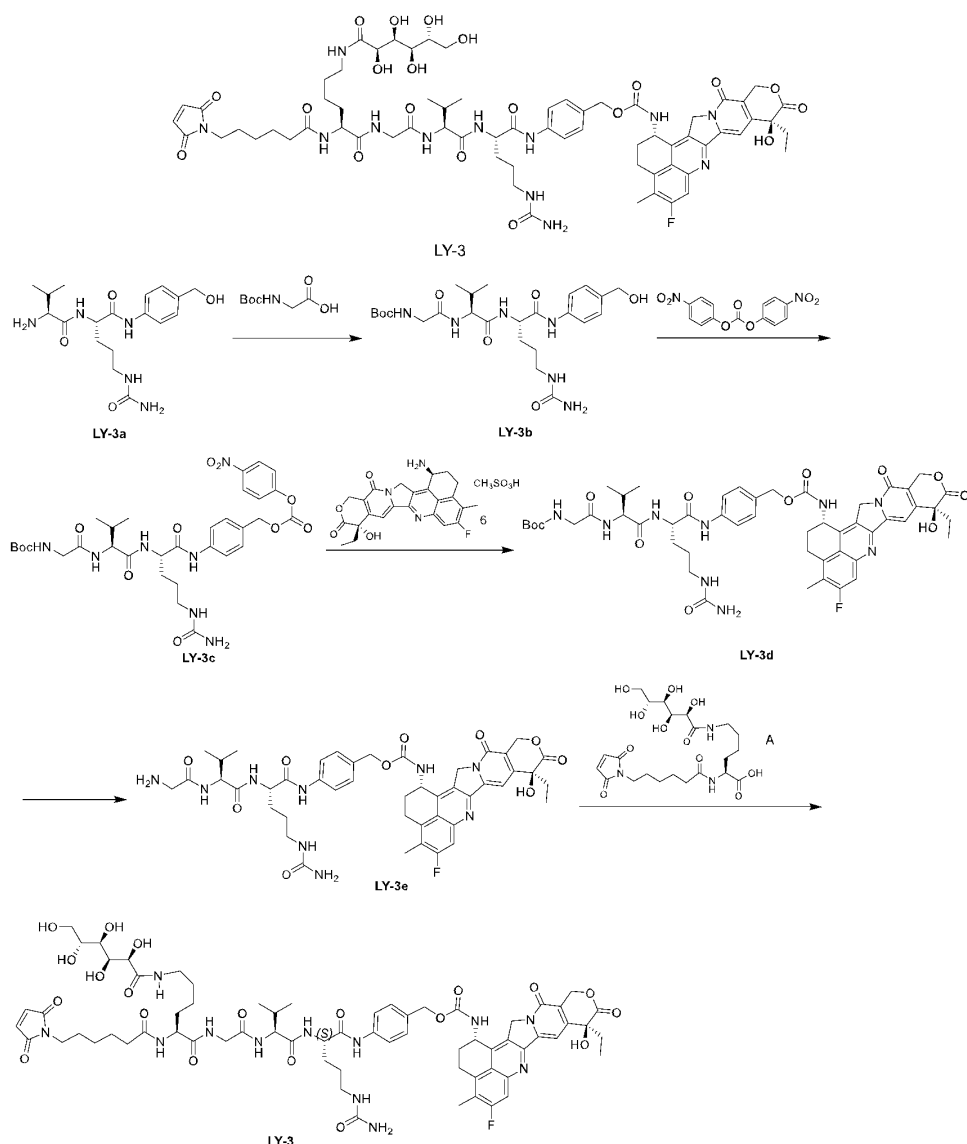


LCMS (ESI) :  $m/z$ , 1333.5  $[M+Na]^+$ , 1311.6  $[M+H]^+$ , 656.4  $[1/2M+H]^+$ 。

$^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.91 (s, 1H), 8.25 – 8.14 (m, 2H), 8.06 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 1H), 7.93 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 7.75 (dd,  $J$  = 21.2, 9.6 Hz, 2H), 7.65 – 7.55 (m, 3H), 7.36 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 2H), 7.31 (s, 1H), 7.00 (s, 2H), 6.52 (s, 1H), 5.45 (s, 2H), 5.29 (s, 3H), 5.07 (s, 2H), 4.37 (t,  $J$  = 7.0 Hz, 2H), 4.23 – 4.10 (m, 3H), 3.97 (d,  $J$  = 3.6 Hz, 1H), 3.90 (s, 1H), 3.73 (d,  $J$  = 5.6 Hz, 2H), 3.59 – 3.53 (m, 1H), 3.46 (s, 2H), 3.22 (s, 1H), 3.04 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 3H), 2.38 (s, 3H), 2.25 – 2.04 (m, 5H), 2.01 – 1.80 (m, 4H), 1.60 (s, 2H), 1.52 – 1.35 (m, 7H), 1.30 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 3H), 1.19 (dt,  $J$  = 15.4, 9.0 Hz, 4H), 0.92 – 0.75 (m, 9H)。

10

### 实施例 3：化合物 LY-3 的制备



步骤1：(2-(S)-1-(S)-1-(4-(羟甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊烷-2-基)氨基)-3-

甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-2-氧代乙基)氨基甲酸叔丁酯 (LY-3b) 的制备

室温, 将(S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-N-(4-(羟甲基)苯基)-5-脲基戊酰胺 (皓元生物, LY-3a) (300 mg, 0.79 mmol) 溶解于N,N-二甲基甲酰胺中(10 mL), 再分别加入Boc保护的甘氨酸 (138.5 mg, 0.79 mmol)、EDCI (227.7 mg, 1.19 mmol)、HOBt (53.4 mg, 0.40 mmol) 和三乙胺 (240 mg, 2.37 mmol)。反应液于室温搅拌16小时。反应液过滤, 通过高效液相色谱制备 (Oriundo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 从45%到85%洗脱) 分离, 得到白色固体化合物LY-3b (300 mg, 收率69.04%)。

LCMS:  $[M+H]^+ = 537.3$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.84 (s, 1H), 8.32 – 8.04 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 7.58-7.64 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H), 7.49-7.54 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.17-7.22 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.00-7.08 (t,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 5.90-6.00 (t,  $J = 5.6$  Hz, 1H), 5.37 (s, 2H), 5.06 (t,  $J = 6.0$  Hz, 1H), 4.37-4.42 (d,  $J = 5.6$  Hz, 2H), 4.30 – 4.36 (m, 1H), 4.19-4.26 (m, 1H), 3.52-3.58 (m, 2H), 2.85-3.05 (m, 3H), 2.05-2.07 (m, 1H), 1.85-2.05 (m, 1H), 1.74 – 1.44 (m, 2H), 1.33 (s, 9H), 0.75 – 0.90 (dd,  $J = 17.6, 6.8$  Hz, 6H)。

步骤 2: (2-(((S)-3-甲基-1-((S)-1-((4-(4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊烷-2-基)氨基)-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-2-氧代乙基)氨基甲酸叔丁酯 (LY-3c) 的制备

室温, 将(2-(S)-1-(S)-1-(4-(羟甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊烷-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-2-氧乙基)氨基甲酸叔丁酯 (LY-3b) (250 mg, 0.466 mmol) 溶解于N,N-二甲基甲酰胺 (10 mL) 中, 加入4-硝基碳酸酯 (383.45 mg, 0.932 mmol) 和 DIEA (180.3 mg, 1.4 mmol), 反应液于室温搅拌16小时。反应液过滤, 通过高效液相色谱制备 (Oriundo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 从45%到85%洗脱) 分离, 得到黄色固体化合物LY-3c (200 mg, 收率61.18%)。

LCMS:  $[M+H]^+ = 702.3$ 。

步骤3: 化合物 (LY-3d) 的制备

室温下, 将化合物 (LY-3c) (200 mg, 0.285 mmol) 溶解于N,N-二甲基甲酰胺 (10 mL) 中, 再分别加入伊喜替康甲磺酸盐 (148.9 mg, 0.342 mmol)、HOBt (19.26 mg, 0.143 mmol) 和DIEA (110.3 mg, 0.855 mmol), 反应液于室温搅拌8小时。将反应液过滤, 通过高效液相色谱制备 (Oriundo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水 (0.225% 三氟乙酸) - 乙腈, 从45%到85%洗脱) 分离, 得到白色固体化合物LY-3d (200 mg, 收率70.31%)。

LCMS:  $[M+H]^+ = 998.60$ 。

步骤4: 化合物 (LY-3e) 的制备

在0°C, 将化合物LY-3d (200 mg, 0.2 mmol) 加入10%三氟乙酸/二氯甲烷溶

液 (15mL) 中, 反应液于0°C搅拌4小时。反应液减压浓缩, 残余物通过制备HPLC (流动相: 乙腈/水; 酸性体系: 0.1% HCl) 分离纯化, 得到黄色固体化合物**LY-3e** (120 mg, 收率: 66.69%)。

LCMS:  $[M+H]^+=898.3$ 。

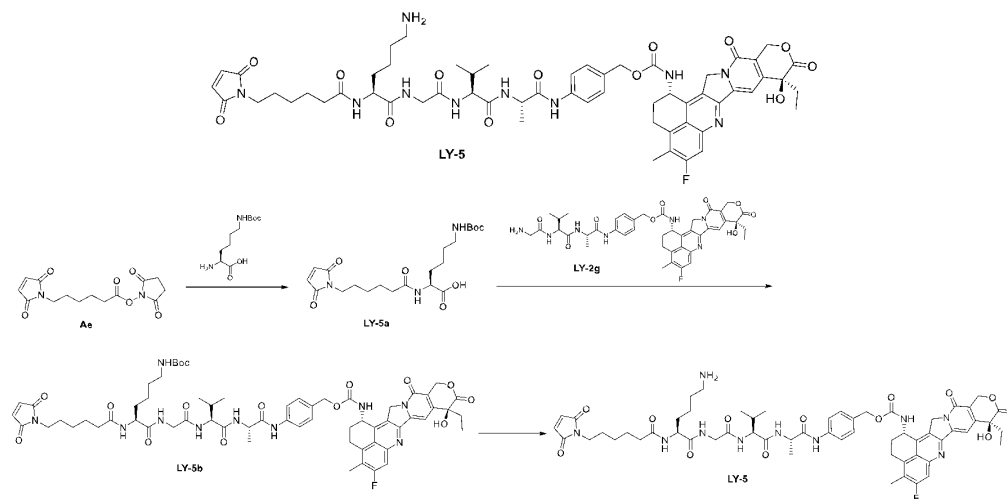
#### 5 步骤5: 化合物 (**LY-3**) 的制备

室温, 分别将化合物**LY-3e** (120 mg, 0.133mmol)、连接子 **A** (83mg, 0.160 mmol) 和HATU (61 mg, 0.160mmol) 溶解于N,N-二甲基甲酰胺 (6mL) 中, 再向其中加入DIEA (51.72 mg, 0.4mmol)。将反应液于60°C搅拌1小时。将反应液过滤, 再通过高效液相色谱制备 (Oriendo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10 $\mu$ m; 流动相: 水 (1%甲酸) -乙腈, 从45%到85%洗脱) 分离, 得到黄色固体化合物**LY-3** (74.4 mg, 收率39.84%)。

LCMS:  $[M/2+2H]^+=699.4$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.92 (s, 1H), 8.18-8.08 (m, 2H), 8.02 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 7.90 (d,  $J = 6.0$  Hz, 1H), 7.73 (d,  $J = 10.9$  Hz, 1H), 7.68 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H), 7.57 (m, 3H), 7.32 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 7.27 (s, 1H), 6.96 (s, 2H), 5.97 (s, 1H), 5.41 (s, 2H), 5.24 (m, 3H), 5.04 (s, 2H), 4.33 (m, 1H), 4.19 (m, 1H), 4.13 – 4.06 (m, 1H), 3.94 (d,  $J = 4$  Hz 1H), 3.86 (m, 1H), 3.70 (m, 3H), 3.31-3.17 (m, 9H), 3.13-2.83 (m, 7H), 2.33 (m, 3H), 2.22 – 1.02 (m, 25H), 0.97 – 0.67 (m, 10H)。

#### 20 实施例 4: 化合物 **LY-5** 的制备



#### 25 步骤1: 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

后，室温反应 16h。经过高效液相制备色谱法（Oriundo，BRIX-2860；色谱柱：Phenomenex Luna C18 250×50mm×10 $\mu$ 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>。

#### 5 步骤 2：化合物（**LY-5b**）的制备

氮气氛围下，向反应瓶中加入化合物 **LY-5a**（6.33 mg, 1.3 eq）、HATU（5 mg, 1.2 eq）、化合物 **LY-2g**（9 mg, 1.0 eq）、DIPEA（4.3 mg, 3 eq），然后加入 3 mL DMF。氮气氛围下，室温反应 2h。反应液经制备高效液相色谱法（色谱柱：Phenomenex Luna C18 250×50mm×10 $\mu$ m；流动相：水（0.225%HCOOH）-乙腈，从 45%到 85%洗脱）分离，得到 2 mg 的化合物 **LY-5b**，黄色固体。

LCMS（ESI）：m/z, 1255.5 [M+Na]<sup>+</sup>, 1233.8 [M+H]<sup>+</sup>。

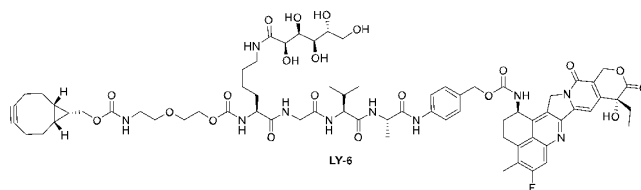
#### 步骤 3：化合物（**LY-5**）的制备

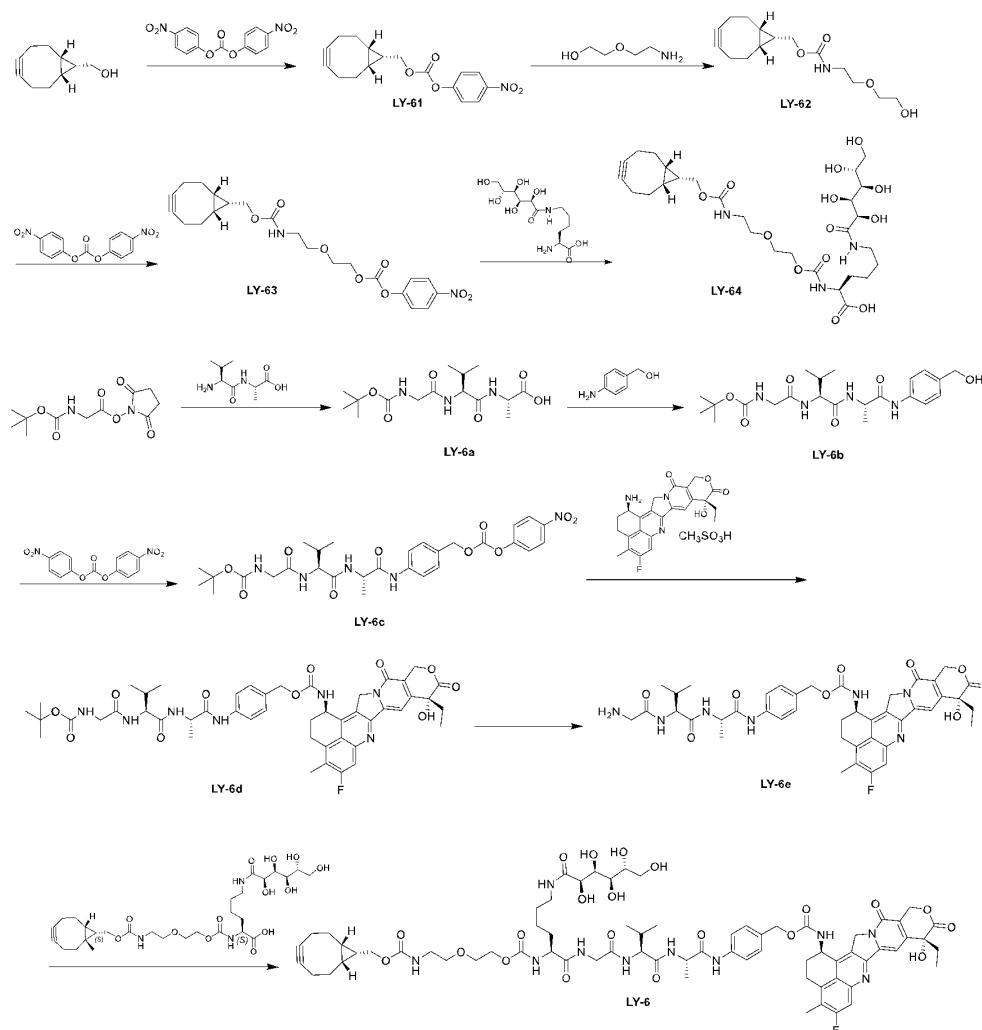
向反应瓶中加入化合物 **LY-5b**（2 mg, 1.0 eq），然后加入 3 mL DCM 和 0.3 mL TFA，15℃反应 1 小时。将反应液减压浓缩，加入 5 mL DCM，减压浓缩，残余物通过制备 HPLC（Oriundo，BRIX-2860；色谱柱：Phenomenex Luna C18 250×50mm×10 $\mu$ m；流动相：水（0.225%HCOOH）-乙腈，从 45%到 85%洗脱）分离，得到 0.61 mg 化合物 **LY-5**，白色固体。

LCMS（ESI）：m/z, 1155.6 [M+Na]<sup>+</sup>, 1133.6 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sup>6</sup>)  $\delta$  9.92 (s, 1H), 8.22 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 8.16 (s, 1H), 8.01 (dd, *J* = 39.6, 8.2 Hz, 3H), 7.79 (d, *J* = 10.4 Hz, 2H), 7.59 (d, *J* = 8.2 Hz, 4H), 7.36 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.31 (s, 1H), 7.00 (s, 2H), 6.53 (s, 1H), 5.45 (s, 2H), 5.29 (s, 2H), 5.08 (s, 2H), 4.38 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 4.20 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 3.74 (d, *J* = 5.7 Hz, 2H), 2.78-2.72 (m, 3H), 2.68-2.65 (m, 2H), 2.38 (s, 3H), 2.34-2.32 (m, 3H), 2.20 (d, *J* = 10.4 Hz, 2H), 2.10 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 1.98 (q, *J* = 6.8 Hz, 2H), 1.88 (dd, *J* = 15.6, 7.2 Hz, 3H), 1.52-1.48 (m, 4H), 1.31 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H), 1.18 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 0.89-0.86 (m, 4H), 0.82 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H)。

#### 实施例 5：化合物 **LY-6** 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)羧酸酯 (**LY-61**) 的制备

将((1R,8S,9s)双环[6.1.0]壬-4-炔-9-基)甲醇 (BCN) (500 mg, 3.33 mmol) 和  
 5 DIEA (1.3 g, 9.99 mmol) 溶于 DMF (8 mL) 中, 于室温缓慢加入硝基苯基碳酸酯 (2.03 g, 6.66 mmol), 搅拌过夜。加入 100 mL 水稀释, EA (30mL×3) 萃取, 减压浓缩, 残余物通过柱层析色谱法 (乙酸乙酯: 正己烷=1:10) 纯化, 得到 850 mg 白色固体化合物 **LY-61**。

LCMS:  $m/z = 338.1 [M+Na]^+$ 。

10 步骤 2: ((1R,8S,9s)双环[6.1.0]壬-4-炔-9-基)甲基 (2-(2-羟基乙氧基)乙基)氨基甲酸酯 (**LY-62**) 的制备

将((1R,8S,9s)双环[6.1.0]壬-4-炔-9-基)甲基 (4-硝基苯基)羧酸酯 (**LY-61**) (750 mg, 2.5 mmol)、Et<sub>3</sub>N (0.78 g, 7.5 mmol) 溶于 DMF (10 mL) 中, 于室温逐滴加入乙二醇乙胺 (0.54 g, 5 mmol), 搅拌过夜。加入 100 mL 水稀释, EA (30mL

×3) 萃取, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩。残余物通过高效液相色谱制备 (Oriendo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 从 45% 到 85% 洗脱) 纯化, 冻干, 得到 265 mg 化合物 **LY-62**, 白色固体。

5 LCMS:  $m/z = 304.2 [M+Na]^+$ 。

步骤 3: ((1R,8S,9s)双环[6.1.0]壬-4-炔-9-基)甲基(2-(2-(4-硝基苯氧基)羰基)氧基)乙氧基)氨基甲酸酯 (**LY-63**) 的制备

将((1R,8S,9s)双环[6.1.0]壬-4-炔-9-基)甲基 (2-(2-羟基乙氧基)乙基)氨基甲酸酯 (**LY-62**) (500 mg, 1.78 mmol)、DIEA (689 mg, 5.33 mmol) 溶于 DMF (10 mL) 中, 于室温加入硝基苯基碳酸酯 (1.08 g, 3.55 mmol), 搅拌过夜。残余物通过高效液相色谱制备 (Oriendo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 从 45% 到 85% 洗脱) 纯化, 得到 295 mg 白色固体化合物 **LY-63**。

LCMS:  $m/z = 447.2 [M+1]^+$ 。

15 步骤 4: **LY-64** 的制备

将((1R,8S,9s)双环[6.1.0]壬-4-炔-9-基)甲基(2-(2-(4-硝基苯氧基)羰基)氧基)乙氧基)氨基甲酸酯 (**LY-63**) (446 mg, 1.0 mmol)、DIEA (689 mg, 5.33 mmol) 溶于 DMF (10 mL) 中, 于室温加入 N6-((2R, 3S, 4R, 5R)-2,3,4,5,6-五羟基己酰基)-L-赖氨酸 (1.15 g, 3.55 mmol), 搅拌过夜。残余物通过高效液相色谱制备 (Oriendo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 从 45% 到 85% 洗脱) 纯化, 得到 380 mg 白色固体化合物 **LY-64**。

LCMS:  $m/z = 632.2 [M+1]^+$ 。

步骤 5: (叔丁氧羰基)甘氨酸基-L-缬氨酸基-L-丙氨酸 (**LY-6a**) 的制备

25 向 2,5-二氧化吡咯烷-1-基(叔丁氧羰基)甘氨酸酯 (7.23 g, 27 mmol) 的 THF (100 mL) 和水 (50 mL) 溶液中加入碳酸氢钠 (26 g, 79 mmol) 和 L-缬氨酸基-L-丙氨酸 (5 g, 27 mmol), 室温搅拌 12 小时。将反应液减压浓缩, 用 EA (60 mL) 萃取, 水相用 2 mol/L 稀 HCl 调节 pH 至 3~5, 再用 EA (15 mL×3) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤滤液减压浓缩, 得 9g 化合物 **LY-6a**, 白色固体。

30 LCMS:  $m/z = 346.2 [M+1]^+$ 。

步骤 6: (2-((S)-1-((S)-1-((4-(羟甲基)苯基)氨基)-1-氧代丙烷-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-2-氧代乙基)氨基甲酸叔丁酯 (**LY-6b**) 的制备

向(叔丁氧羰基)甘氨酸基-L-缬氨酸基-L-丙氨酸 (**LY-6a**) (9 g, 26 mmol) 的 DMF (100 mL) 溶液中加入 T<sub>3</sub>P (14.9 g, 46.9 mmol) 和氨基苯甲醇 (3.53 g, 29 mmol), 35 室温搅拌 12 小时。反应液通过高效液相色谱制备 (Oriendo, BRIX-2860; 色谱柱:

Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 从 45% 到 85% 洗脱) 纯化, 得到 2g 化合物 **LY-6b**, 黄色固体。

步骤 7: (2-((S)-3-甲基-1-((S)-1-((4-((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)氨基)-1-氧代丙烷-2-基)氨基)-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-2-氧代乙基)氨基甲酸叔丁酯  
5 (LY-6c) 的制备

向(2-((S)-1-((S)-1-((4-(羟甲基)苯基)氨基)-1-氧代丙烷-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基)-2-氧代乙基)氨基甲酸叔丁酯 (**LY-6b**) (500 mg, 1.11 mmol) 的 DMF (15 mL) 溶液中加入 DIEA (430.3, 3.33 mmol) 和硝基苯基碳酸酯 (675.3 mg, 2.22 mmol), 室温搅拌 12 小时。反应液通过高效液相色谱制备 (Oriundo,  
10 BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 从 45% 到 85% 洗脱) 纯化, 得到 412mg 化合物 **LY-6c**, 黄色固体。

LCMS:  $m/z = 638.2 [M+Na]^+$ 。

步骤 8: 化合物 (**LY-6d**) 的制备

15 向化合物 **LY-6c** (100 mg, 1 eq) 的 DMF (5 mL) 溶液中加入 HOBt (11 mg, 0.5 eq)、DIEA (63 mg, 3 eq) 和伊喜替康甲磺酸盐 (103.6 mg, 1.2 eq), 室温搅拌 12 小时。反应液通过高效液相色谱制备 (Oriundo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 从 45% 到 85% 洗脱) 纯化, 得到 150 mg 化合物 **LY-6d**, 黄色固体。

20 LCMS:  $m/z = 912.4 [M+1]^+$ 。

步骤 9: 化合物 (**LY-6e**) 的制备

在冰浴下, 向化合物 **LY-6d** (10 mg, 1 eq) 的 DCM (1 mL) 溶液中加入 TFA (0.1 mL), 并搅拌 1 小时, 反应液减压浓缩, 得到粗产物 8.9 mg 直接用于下一步反应。

25 LCMS:  $m/z = 812.4 [M+1]^+$ 。

步骤 10: 化合物 (**LY-6**) 的制备

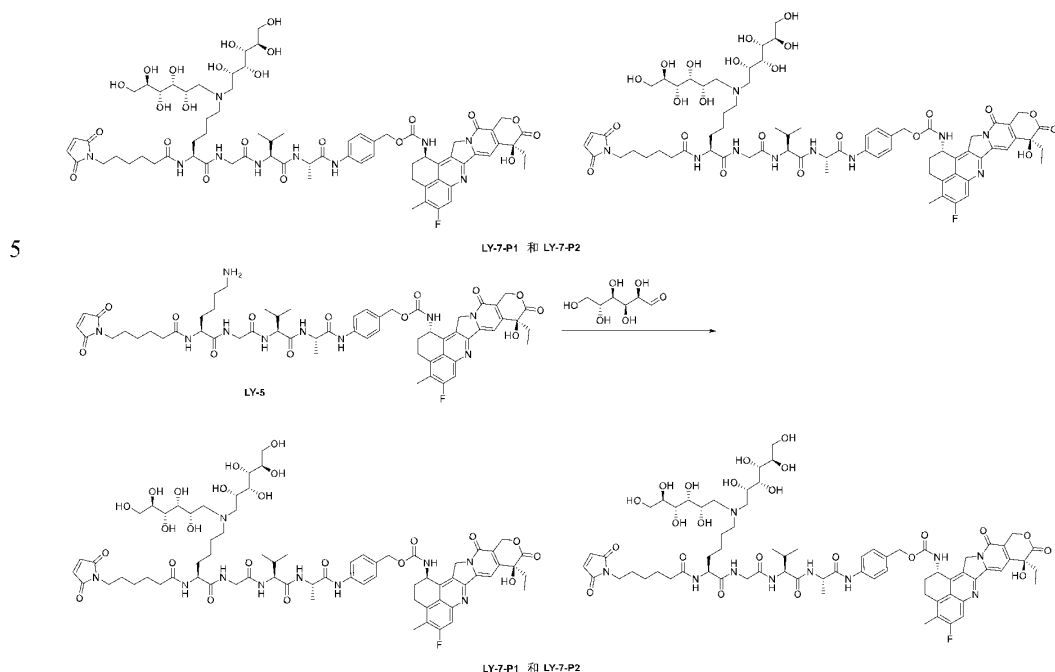
向化合物 **LY-6e** (8.9 mg, 0.01 mmol) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入化合物 **LY-64** (7 mg, 0.01 mmol)、HATU (6.3 mg, 0.015 mmol) 和 DIEA (4.5 mg, 0.03 mmol), 室温搅拌 1 小时。反应液通过高效液相色谱制备 (Oriundo, BRIX-2860;  
30 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm; 流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 从 45% 到 85% 洗脱) 纯化, 得到 4 mg 化合物 **LY-6**, 黄色固体。

LCMS:  $m/z = 713.5 [M/2+1]^+$ 。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sup>6</sup>) δ 9.86 - 9.96 (m, 1 H), 7.99 - 8.27 (m, 3 H), 7.52 - 7.82 (m, 5 H), 7.27 - 7.45 (m, 4 H), 7.12 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.45 - 6.56 (m, 1 H), 5.42 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 5.20 - 5.36 (m, 4 H), 5.01 - 5.14 (s, 2H), 4.27 - 4.58 (m, 6 H), 3.81 - 4.09 (m, 6 H), 3.64 - 3.80 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.38 - 3.62 (m, 5 H), 2.94 - 3.20 (m, 7 H),

2.64 - 2.70 (m, 1 H), 2.30 - 2.42 (m, 4 H), 2.05 - 2.29 (m, 8 H), 1.76 - 2.04 (m, 4 H), 1.16 - 1.68 (m, 12 H), 0.70 - 0.94 (m, 11 H)。

### 实施例 6: 化合物 **LY-7-P1** 和 **LY-7-P2** 的制备



氮气氛围下，向反应瓶加入化合物 **LY-5** (25 mg, 20  $\mu$ mol, 1.0 eq, TFA 盐)，然后加入 MeOH (8 mL) /HOAc (0.8 mL)、(2R,3S,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己醛 (D-葡萄糖) (108 mg, 0.6 mmol, 30 eq) 和 NaBH<sub>3</sub>CN (19 mg, 0.3 mmol, 15 eq)。

10 加毕，氮气氛围下，65°C 反应 6 小时，补加化合物 D-葡萄糖 (108 mg, 0.6 mmol, 30 eq) 和 NaBH<sub>3</sub>CN (19 mg, 0.3 mmol, 15 eq)，然后继续于 65°C 反应 16 小时。反应液减压浓缩，通过制备高效液相色谱法 (Oriundo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250 $\times$ 50mm $\times$ 10 $\mu$ m; 流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 从 45% 到 85% 洗脱) 纯化, 冻干, 得白色固体化合物 **LY-7-P1** (5.11 mg, 收率 17.5%) 和 **LY-7-P2** (3.81 mg, 收率 13%) (在碱性条件下, 手型碳消旋)。

15

**LY-7-P1** (保留时间 2.013 min)。

LCMS (ESI): m/z, 731.5 [M+2]<sup>+</sup>/2, 1483.7 [M+Na]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sup>6</sup>)  $\delta$  9.93 (s, 2H), 8.33 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 8.23 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 8.14 (s, 1H), 8.05 (s, 4H), 7.80 - 7.72 (m, 3H), 7.64 - 7.57 (m, 3H), 7.39 - 7.34 (m, 3H), 7.31 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H), 6.98 (d, *J* = 3.2 Hz, 2H), 6.53 (s, 2H), 5.44 (s, 3H), 5.29 (d, *J* = 3.5 Hz, 5H), 5.07 (s, 3H), 4.52 (d, *J* = 5.6 Hz, 3H), 4.43 - 4.30 (m, 6H), 4.15 (d, *J* = 12.5 Hz, 4H), 3.74 (d, *J* = 6.8 Hz, 5H), 3.59 (d, *J* = 4.4 Hz, 5H), 2.37 (d, *J* = 2.0 Hz, 4H), 2.12 - 2.07 (m, 3H), 1.87 (dd, *J* = 10.0, 7.2 Hz, 2H), 1.47 (d, *J* = 10.8 Hz, 6H), 1.30 (dd, *J* = 7.2, 5.6 Hz, 4H), 1.23 - 1.16 (m, 4H), 0.90 - 0.81 (m, 12H)。

20



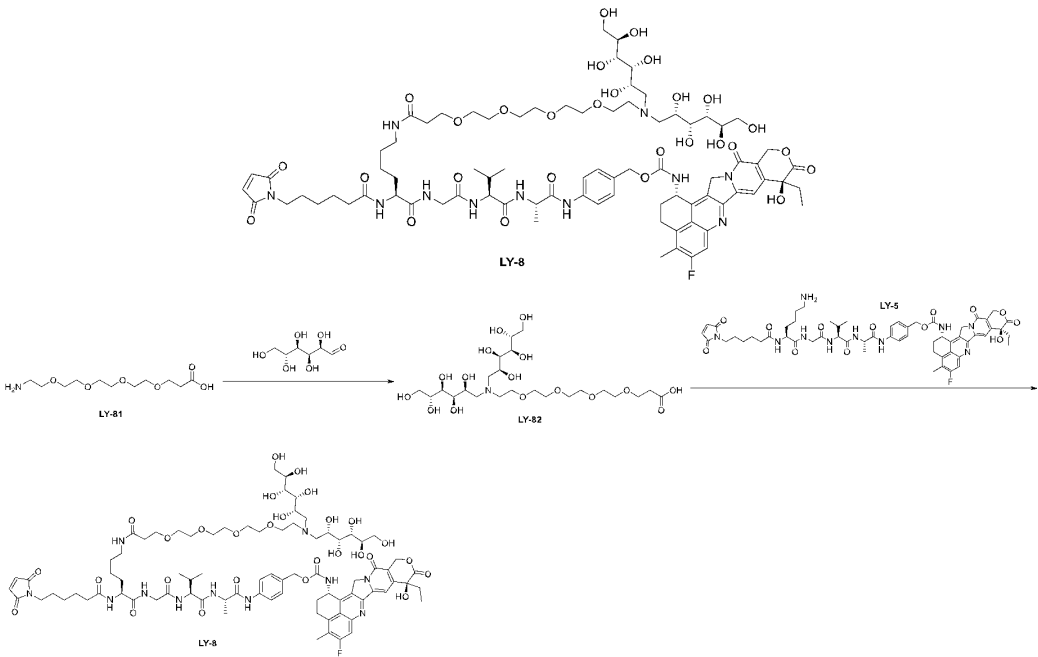
LY-7-P2（保留时间 2.070 min）。

LCMS（ESI）：m/z，731.4 [M+2]<sup>+</sup>/2，1483.5 [M+Na]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sup>6</sup>) δ 9.92 (s, 2H), 8.33 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 8.21 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.97 (dd, *J* = 15.6, 7.2 Hz, 2H), 7.81 – 7.71 (m, 3H), 7.65 – 7.56 (m, 3H), 7.39 – 7.30 (m, 4H), 6.99 (d, *J* = 3.0 Hz, 2H), 6.53 (s, 1H), 5.45 (s, 3H), 5.28 (s, 3H), 5.08 (s, 2H), 4.51 (d, *J* = 5.6 Hz, 3H), 4.46 – 4.31 (m, 7H), 4.17 (t, *J* = 8.8 Hz, 4H), 3.73 (s, 5H), 3.57 (d, *J* = 11.0 Hz, 5H), 2.38 (d, *J* = 2.0 Hz, 4H), 2.13 – 2.07 (m, 3H), 1.88 (dd, *J* = 15.6, 7.6 Hz, 4H), 1.46 (s, 9H), 1.32 – 1.27 (m, 4H), 1.22 – 1.13 (m, 4H), 0.89-0.80 (m, 12H)。

10

实施例 7：化合物（LY-8）的制备



15 步骤 1：(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 NaBH<sub>3</sub>CN（237 mg, 3.77 mmol, 5 eq），加毕，在氮气氛围下，在 40-45℃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×10μm；流动相：水（0.225% HCOOH）-乙腈，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）。

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

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  4.22-4.20 (m, 2H), 3.90-3.88 (m, 2H), 3.87-3.59 (m, 25H), 3.49-3.44 (m, 5H), 2.63 (t,  $J = 8.0$  Hz, 2H)。

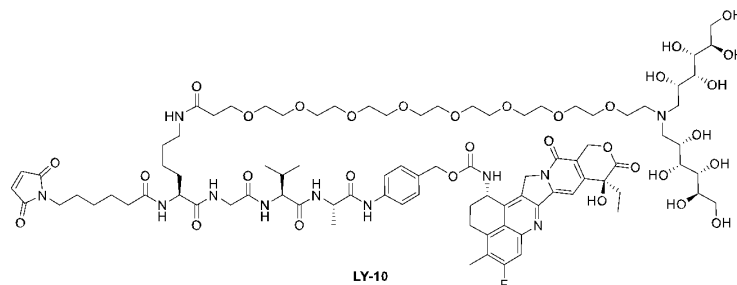
#### 步骤 2: 化合物 (LY-8) 的制备

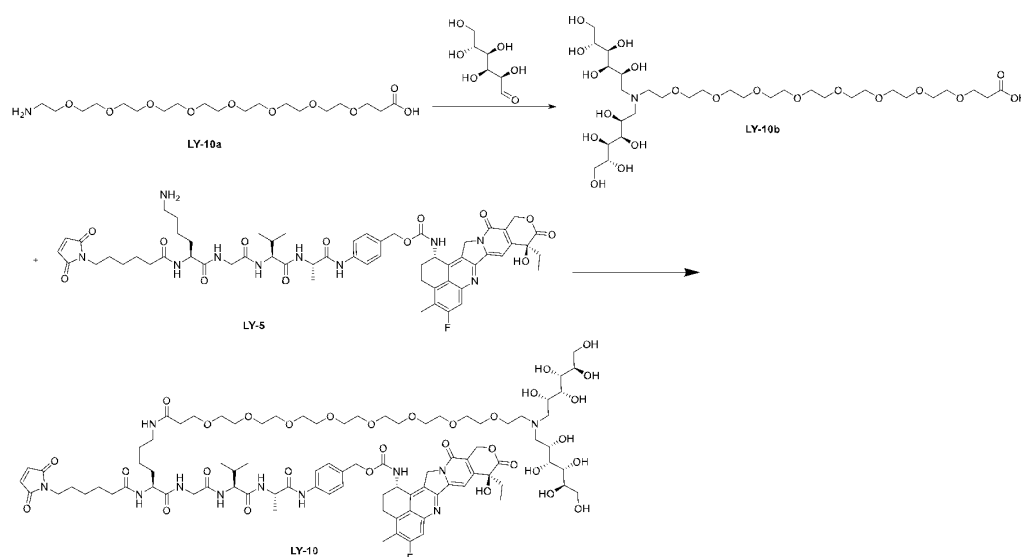
向化合物 **LY-82** (5 mg, 8.50  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq, TFA 盐)、化合物 **LY-5** (8 mg, 8.50  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq, TFA 盐) 的无水 DMF (2 mL) 溶液中加入 HATU (3.2 mg, 1.2 eq) 和 DIPEA (3.7 mg, 4 eq), 室温继续搅拌 2 h。反应液通过制备高效液相色谱法 (Oriundo, BRIX-2860; 色谱柱: Phenomenex Luna C18 250 $\times$ 50mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ ; 流动相: 水 (0.225% $\text{HCOOH}$ ) - 乙腈, 从 45%到 85%洗脱) 纯化, 冻干, 得白色固体化合物 **LY-8** (3.06 mg, 收率 25%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 854.9 $[\text{M}+2]^+/2$ , 1730.8  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  9.92 (s, 1H), 8.34 (s, 2H), 8.25 – 8.15 (m, 2H), 8.07 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 7.94 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 7.82 – 7.71 (m, 3H), 7.60 (dd,  $J = 11.8, 8.4$  Hz, 2H), 7.36 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.31 (s, 1H), 6.98 (d,  $J = 3.4$  Hz, 2H), 6.54 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.29 (s, 3H), 5.07 (s, 2H), 4.50 (d,  $J = 5.6$  Hz, 2H), 4.42 – 4.30 (m, 4H), 4.16 (dq,  $J = 13.8, 7.2$  Hz, 3H), 3.76 – 3.47 (m, 28H), 2.98 (d,  $J = 6.7$  Hz, 4H), 2.67-2.66 (m, 2H), 2.58 (dd,  $J = 13.2, 4.4$  Hz, 3H), 2.37 (d,  $J = 1.8$  Hz, 3H), 2.34-2.32 (m, 2H), 2.27 (td,  $J = 6.8, 2.8$  Hz, 3H), 2.21 – 2.04 (m, 5H), 2.00 – 1.81 (m, 5H), 1.60 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 1.47 (d,  $J = 11.8$  Hz, 5H), 1.36 – 1.14 (m, 10H), 0.91 – 0.77 (m, 8H)。

#### 实施例 8: 化合物 LY-10 的制备





步骤 1: (30S,31R,32R,33R)-30,31,32,33,34-五羟基-28-(2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)-4,7,10,13,16,19,22,25-八氧杂-28-氮杂三十四甲酸 (**LY-10b**) 的制备

5 向 1-氨基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂庚烷-27-油酸 (**LY-10a**) (123 mg, 0.28 mmol, 1.0 eq) 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),  $40^\circ\text{C}$  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  $250 \times 50 \text{ mm} \times 10 \mu\text{m}$ ; 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)。

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)。

15 步骤 2: 化合物 **LY-10** 的制备

冰水浴下, 向化合物 **LY-10b** (14.3 mg, 18.53  $\mu\text{mol}$ , 2.0 eq, TFA 盐) 的 DMF (3 mL) 的溶液中加入 HATU (7 mg, 18.5  $\mu\text{mol}$ , 2.0 eq)、DIEPA (7.2 mg, 55.6  $\mu\text{mol}$ , 6 eq)、化合物 **LY-5** (10.5 mg, 9.27  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq, TFA 盐), 加毕室温反应 2 小时。反应液通过高效液相色谱制备 (色谱柱: Phenomenex Luna C18  $250 \times 50 \text{ mm} \times 10 \mu\text{m}$ ; 流动相: 水 (0.225%  $\text{HCOOH}$ ) - 乙腈, 从 45% 到 85% 洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物 **LY-10** (9.3 mg, 8.29 mg, 收率 40%)。

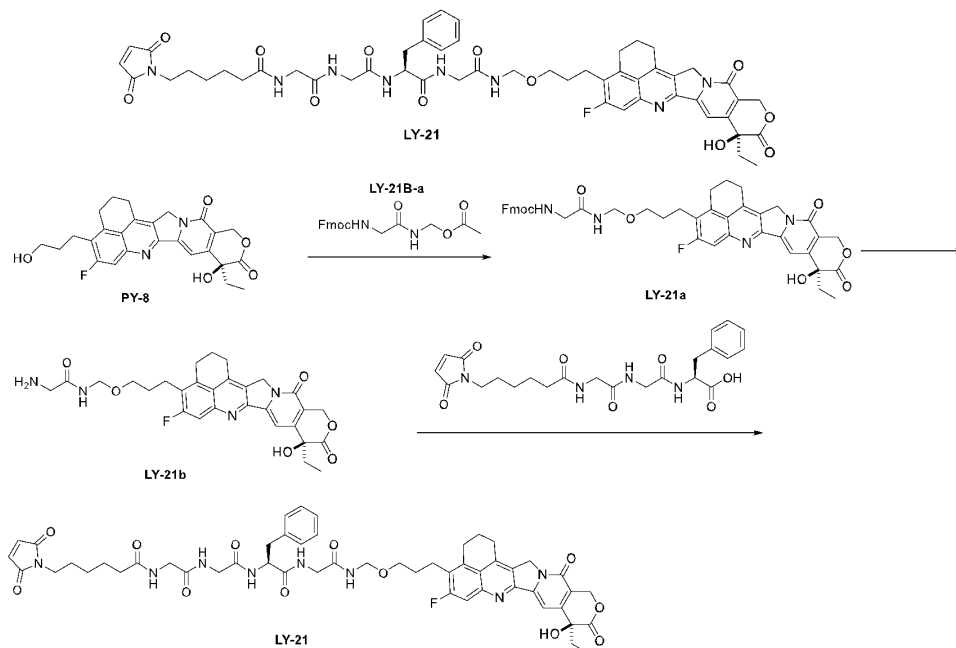
LCMS (ESI):  $m/z$ , 943.1  $[\text{M}+2]^+/2$ , 1908.1  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  9.89 (s, 1H), 8.41 – 8.29 (m, 2H), 8.23 – 8.12 (m, 2H), 8.08 – 7.90 (m, 3H), 7.81 – 7.67 (m, 4H), 7.61 (dd,  $J = 11.8, 8.4$  Hz, 2H), 7.36 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.31 (s, 1H), 6.99 (d,  $J = 3.2$  Hz, 2H), 6.50 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.29 (d,  $J = 3.2$  Hz, 3H), 5.08 (s, 2H), 4.60 – 4.25 (m, 12H), 4.16-4.13 (m, 4H), 3.73 (d,  $J =$

5.6 Hz, 2H), 3.65 (dt,  $J = 8.4, 4.4$  Hz, 3H), 3.59-3.57 (m, 7H), 3.50 (d,  $J = 4.2$  Hz, 28H), 2.99 (q,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 2.73 – 2.63 (m, 3H), 2.61 – 2.53 (m, 4H), 2.38 (d,  $J = 1.8$  Hz, 3H), 2.33 – 2.24 (m, 3H), 2.10 (td,  $J = 7.2, 4.4$  Hz, 3H), 2.00 – 1.84 (m, 4H), 1.53 – 1.42 (m, 5H), 1.35 – 1.16 (m, 9H), 0.86-0.82 (m, 9H)。

5

### 实施例 9：化合物 **LY-21** 的制备



### 10 步骤 1：化合物 **LY-21a** 的制备

将化合物 **PY-8** (50 mg, 0.1 mmol)、(2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙酰胺)乙酸甲酯 (**LY-21B-a**) (成都正善达) (79 mg, 0.2 mmol) 溶于 3mL 四氢呋喃中, 加入 PPTS (13 mg, 0.05 mmol), 45°C 搅拌 12 小时。反应液经过 prep-HPLC (制备色谱厂家岛津, 型号 Lab311-DJ-R2, 色谱柱为 Saga 220×50mm×10μm。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 洗脱比例从 21% 到 51%) 得到黄色固体 **LY-21a** (20 mg, 收率: 25%)。

LCMS:  $m/z = 733.3$  [ $M+1$ ]<sup>+</sup>;  $R_t = 2.133$ 。

### 步骤 2：化合物 **LY-21b** 的制备

20 将化合物 **LY-21a** (12 mg, 0.015 mmol) 溶于 1mL DMAc 中, 加入二乙胺 (5 mg, 0.075 mmol), 25°C 搅拌两小时。油泵抽 10 分钟去除多余的乙二胺, 得到黄色固体粗品 (10mg, 收率: 85%), 直接用于下一步反应。

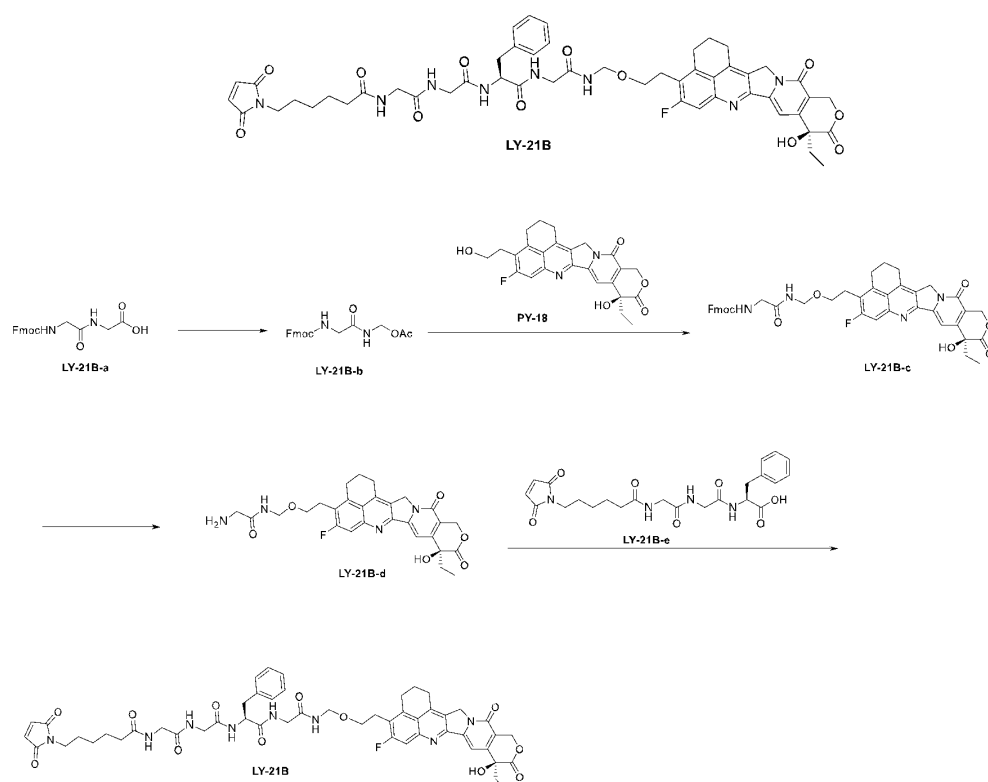
LCMS:  $m/z = 551.1$  [ $M+1$ ]<sup>+</sup>;  $R_t = 0.657$ 。

### 步骤 3：化合物 **LY-21** 的制备

将化合物**LY-21b** (10 mg, 0.018 mmol)、(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰)甘氨酸-L-苯丙氨酸 (成都正善达) (8 mg, 0.018 mmol)、PPTS (9 mg, 0.036 mmol)、HOBt (10 mg, 0.074 mmol) 溶于DMAc (1 mL), 加入EDCI (4 mg, 0.02 mmol), 25°C下搅拌12小时。反应液经过高效液相色谱制备 (制备色谱厂家岛津, 型号R5, 色谱柱为Welch Xtimate C18 250×30mm×10μm。流动相 (0.225% HCOOH)-乙腈, 洗脱比例从21%到51%) 纯化, 得到黄色固体化合物**LY-21** (2.71mg, 收率: 15%)。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.53 (s, 2H), 8.31 (s, 1H), 8.16 – 8.02 (m, 3H), 7.72 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 7.23 (d, *J* = 6.0 Hz, 4H), 7.17 (dd, *J* = 6.0, 2.5 Hz, 1H), 6.98 (s, 2H), 6.51 (s, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.23 (s, 2H), 4.57 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 4.48 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 3.79 – 3.69 (m, 3H), 3.66 (d, *J* = 5.6 Hz, 2H), 3.58 (dd, *J* = 16.8, 5.4 Hz, 2H), 3.44 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.14 (q, *J* = 5.6 Hz, 4H), 3.04 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H), 2.84 (dt, *J* = 19.6, 6.0 Hz, 4H), 2.09 (q, *J* = 9.2, 8.3 Hz, 4H), 1.89 – 1.82 (m, 2H), 1.74 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 1.46 (q, *J* = 7.6 Hz, 4H), 1.17 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 0.87 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H)。

#### 实施例 10: 化合物 **LY-21B** 的制备



20

步骤 1: (2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙酰胺)乙酸甲酯 (**LY-21B-b**) 的制备

氮气氛围下, 将化合物 **LY-21B-a** (5 g, 14.11 mmol, 1 eq)、LTA (8.76 g, 19.75

mmol, 1.4 eq) 的 THF (100 mL) 和甲苯 (33 mL) 溶液置于 85°C 搅拌 2.5 小时。反应液用硅藻土过滤, 滤液浓缩后用 (PE:EA=8:1) 打浆, 溶液呈油状, 加石油醚继续搅拌, 溶液变为白色悬浊液。过滤得滤饼, 油泵抽干得白色固体产物 **LY-21B-b** (5.56 g, 收率: 99%)。

5 LCMS (ESI):  $m/z$ , 391[M+Na]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CHCl<sub>3</sub>-*d*)  $\delta$  7.77 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 2H), 7.59 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 2H), 7.44 – 7.38 (m, 2H), 7.32 (td,  $J$  = 7.4, 1.2 Hz, 2H), 7.11 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 1H), 5.42 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 5.25 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 2H), 4.45 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 2H), 4.23 (t,  $J$  = 6.8 Hz, 1H), 3.90 (d,  $J$  = 5.6 Hz, 2H), 2.06 (s, 3H)。

10 步骤 2: 化合物 **LY-21B-c** 的制备

氮气氛下, 向化合物 **LY-21B-b** (44.16 mg, 119.87  $\mu$ mol, 1.5 eq) 和 **PY-18** (36 mg, 79.92  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DMF (3.5 mL) 溶液中加入 HCl (59.94  $\mu$ L, 239.75  $\mu$ mol, 3 eq, 4 M 在二氧六环中), 并置于室温搅拌 2 小时, 然后补加化合物(2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙酰胺)乙酸甲酯 (50 mg, 135.8  $\mu$ mol), 继续搅拌过夜。反应液浓缩, 经反相制备色谱法 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250×50mm×7 $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 35% 到 70% 洗脱) 纯化, 得产物 **LY-21B-c** (20.4 mg, 收率 33.6%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 759[M+H]<sup>+</sup>。

20 步骤 3: 化合物 **LY-21B-d** 的制备

将化合物 **LY-21B-c** (20.4 mg, 26.88  $\mu$ mol, 1 eq) 和二乙胺 (16.6  $\mu$ L, 161.3  $\mu$ mol, 6 eq) 的 DMF 溶液置于室温搅拌 2 小时。油泵抽干, 得化合物 **LY-21B-d** 的粗品 (19 mg)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 537[M+H]<sup>+</sup>。

25 步骤 4: 化合物 **LY-21B** 的制备

氮气氛下, 将化合物 **LY-21B-d** (19 mg, 35.41  $\mu$ mol, 1 eq)、(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰)甘氨酸-L-苯丙氨酸 (**LY-21B-e**) (成都正善达) (16.73 mg, 35.41  $\mu$ mol, 1 eq)、PPTS (17.8 mg, 70.82  $\mu$ mol, 2 eq)、HOBT (19.14 mg, 141.64  $\mu$ mol, 4 eq) 和 EDCI (7.47 mg, 38.95  $\mu$ mol, 1.1 eq) 的 DMA (1.5 mL) 溶液置于室温搅拌过夜, 反应液经高效液相色谱制备 (制备色谱厂家岛津 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250×30mm×10 $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 20% 到 55% 洗脱) 纯化, 得白色固体 **LY-21B** (3.23 mg, 9.2%)。

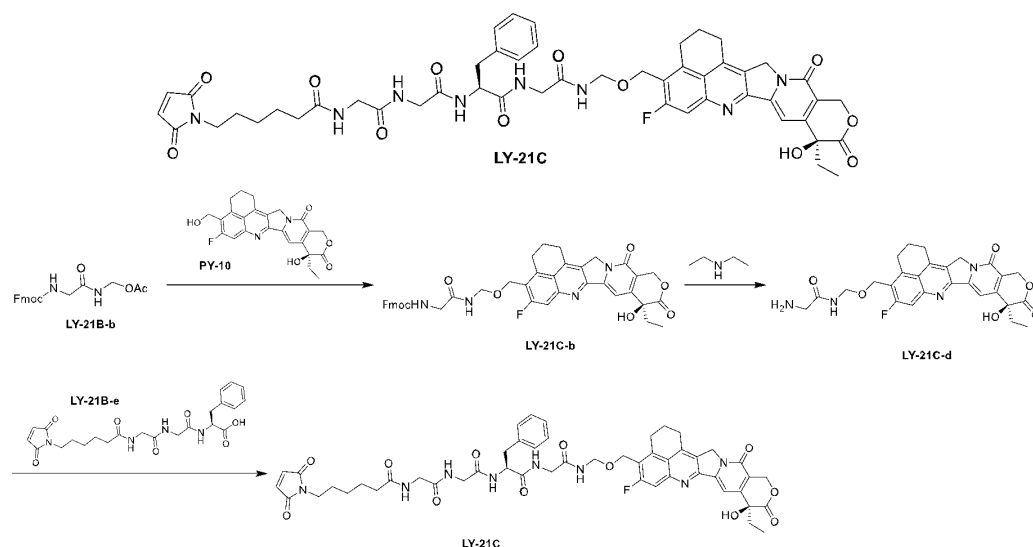
LCMS (ESI):  $m/z$ , 991[M+H]<sup>+</sup>。

35 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.46 (t,  $J$  = 6.6 Hz, 1H), 8.25 (t,  $J$  = 5.8 Hz, 1H), 8.10 – 8.05 (m, 2H), 8.00 (t,  $J$  = 5.6 Hz, 1H), 7.73 (d,  $J$  = 11.2 Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 7.22 – 7.12 (m, 5H), 6.98 (s, 2H), 6.53 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.21 (s, 2H),

4.55 (d,  $J = 6.6$  Hz, 2H), 4.45 (q,  $J = 4.6$  Hz, 1H), 3.74 – 3.53 (m, 10H), 3.15 (dd,  $J = 15.6, 6.2$  Hz, 4H), 3.11 – 3.06 (m, 2H), 2.98 (dd,  $J = 13.8, 4.4$  Hz, 1H), 2.74 – 2.69 (m, 1H), 2.08 (q,  $J = 7.6$  Hz, 4H), 1.87 (p,  $J = 6.8$  Hz, 2H), 1.46 (h,  $J = 7.2$  Hz, 4H), 1.21 – 1.14 (m, 2H), 0.88 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H);  $^{19}\text{F}$  NMR (377 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  -112.37。

5

### 实施例 11：化合物 **LY-21C** 的制备



#### 10 步骤 1：化合物 **LY-21C-b** 的制备

向化合物 **LY-21B-b** (243.68 mg, 100%, 661.48  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq) 的四氢呋喃 (20 mL) 溶液中加入化合物 **PY-10** (195 mg, 98.7%, 440.99  $\mu\text{mol}$ , 1 eq)，再加入对甲苯磺酸 (TSOH) (75.94 mg, 70.97  $\mu\text{L}$ , 440.99  $\mu\text{mol}$ , 1 eq)。反应液在 26°C 搅拌 12 小时。减压浓缩，残余物通过柱层析色谱法 (二氯甲烷：甲醇=1: 0~10: 1) 纯化，然后通过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO-4。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 50mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相 Water (0.225%FA) -ACN, 水的洗脱比例从 30%到 60%洗脱) 分离纯化, 冻干, 得到白色固体产物 **LY-21C-b** (95 mg, 收率: 28.92%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 745.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

#### 20 步骤 2：化合物 **LY-21C-d** 的制备

将化合物 **LY-21C-b** (13 mg, 15.15  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DMF (6 mL)，向该溶液中加入二乙胺 (33.93 mg, 47.79  $\mu\text{L}$ , 463.88  $\mu\text{mol}$ , 3.6367 eq)，氮气氛下，在 10°C 搅拌 2 小时。反应液减压浓缩，得到粗品 **LY-21C-d**，直接用于下一步。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 523.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

#### 25 步骤 3：化合物 **LY-21C** 的制备

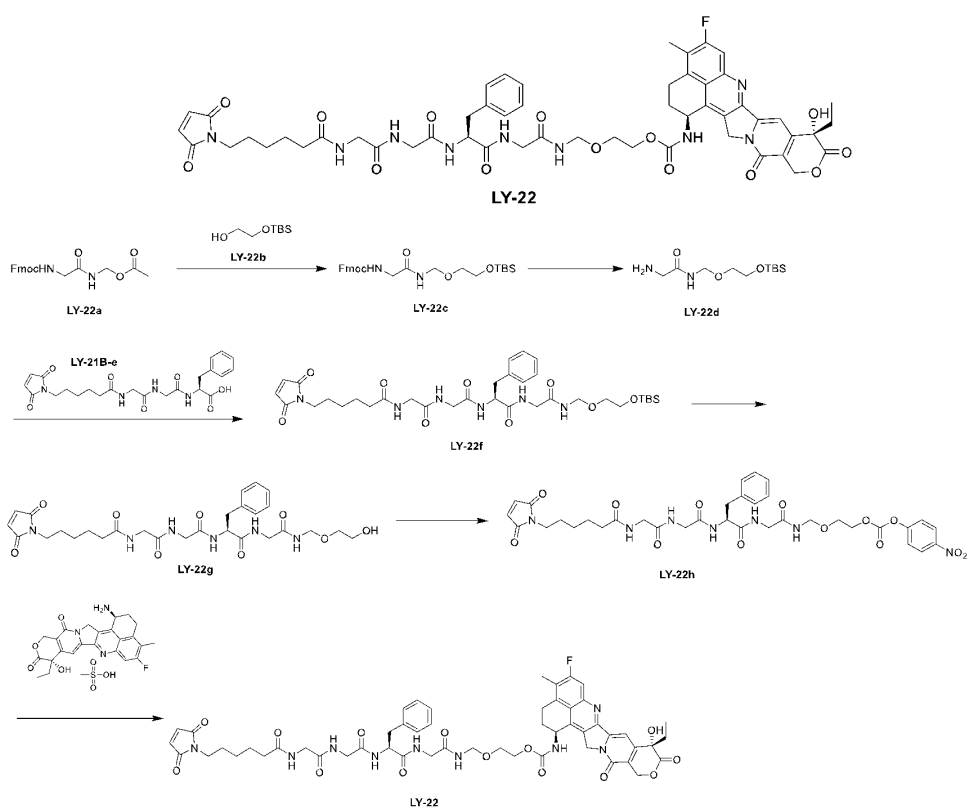
将化合物 **LY-21C-d** (65 mg, 124.39  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 与化合物 **LY-21B-e** (70.53 mg, 149.27  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 溶于 DMF (5 mL)，依次加入 1-羟基-苯并-三氮唑 (25.21 mg,

16.81  $\mu\text{L}$ , 186.59  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq)和 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (35.77 mg, 40.79  $\mu\text{L}$ , 186.59  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq), 搅拌 2 小时。反应液过滤后, 用反相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO-6。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相 Water (0.225%FA) -ACN, 水的洗脱比例从 21%到 51% 洗脱) 分离, 得到白色固体产物 **LY-21C** (84.85 mg, 收率: 69.81%)。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.73 (t,  $J$  = 6.7 Hz, 1H), 8.38 (t,  $J$  = 5.9 Hz, 1H), 8.18 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 8.07 (dt,  $J$  = 19.9, 5.8 Hz, 2H), 7.76 (d,  $J$  = 11.2 Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.25 (d,  $J$  = 4.4 Hz, 4H), 7.19 – 7.15 (m, 1H), 6.99 (s, 2H), 6.55 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.26 (s, 2H), 4.69 (d,  $J$  = 6.5 Hz, 4H), 4.52 – 4.47 (m, 1H), 4.37 (t,  $J$  = 5.1 Hz, 1H), 3.81 – 3.75 (m, 2H), 3.73 (dd,  $J$  = 5.9, 2.0 Hz, 1H), 3.66 (d,  $J$  = 5.7 Hz, 2H), 3.59 (dd,  $J$  = 16.7, 5.4 Hz, 1H), 3.47 – 3.41 (m, 1H), 3.20 (dd,  $J$  = 17.1, 5.8 Hz, 3H), 3.10 – 3.03 (m, 1H), 2.82 (dd,  $J$  = 13.8, 9.7 Hz, 1H), 2.11 – 2.03 (m, 4H), 1.87 (dt,  $J$  = 15.0, 7.1 Hz, 2H), 1.45 (h,  $J$  = 7.6 Hz, 4H), 1.21 – 1.12 (m, 2H), 1.05 (t,  $J$  = 7.0 Hz, 2H), 0.87 (t,  $J$  = 7.3 Hz, 3H)。

LCMS (ESI) : m/z, 977.2[M+H] $^+$ 。

## 实施例 12: 化合物 **LY-22** 的制备



步骤 1: 化合物 **LY-22c** 的制备

氮气氛围下, 将(2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙酰胺基)乙酸酯 (成都正善



达) (3 g, 8.14 mmol, 1 eq)溶于四氢呋喃(60 mL), 室温加入化合物 2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙烷-1-醇(2.87 g, 16.29 mmol, 2 eq), 再加入催化量的对甲苯磺酸(140.23 mg, 131.06  $\mu$ L, 814.35  $\mu$ mol, 0.1 eq)。反应液在 20-25°C 搅拌 2.5 小时。将反应液慢慢倒入冰水(60 mL)中, 用乙酸乙酯(60 mL  $\times$  3)萃取, 5 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 所得粗品用硅胶柱层析色谱法纯化, 流动相为石油醚/乙酸乙酯, 梯度为 1:0~1:2, 得到半固体状白色固体化合物 **LY-22c** (2.10 g, 收率: 53.21%, 纯度: 96%)。

LCMS (ESI): m/z, 507.3 [M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 2: 化合物 **LY-22d** 的制备

10 将化合物 **LY-22c** (2.10 g, 96%, 4.16 mmol, 1 eq) 溶于 DMA (20 mL) 中, 向该溶液中加入 DBU (316.62 mg, 310.72  $\mu$ L, 2.08 mmol, 0.5 eq), 氮气氛下, 溶液在 15°C 搅拌 1.5 小时。反应液不做任何处理, 直接用于下一步。

步骤 3: 化合物 **LY-22f** 的制备

0°C, 向化合物 **LY-22d** (1.14 g, 4.34 mmol, 1 eq) 的 DMA (20 mL) 的溶液 15 中加入对甲苯磺酸 (374.02 mg, 349.55  $\mu$ L, 2.17 mmol, 0.5 eq), 再依次加入化合物 **LY-21B-e** (1.85 g, 3.91 mmol, 0.9 eq)、HOBt (586.99 mg, 4.34 mmol, 1 eq), 最后加入 EDCI (832.75 mg, 4.34 mmol, 1 eq), 加完后, 氮气氛下, 反应液在 0-10°C 搅拌 2 小时。反应液慢慢倒入冰水(60 mL)中, 用二甲基四氢呋喃(60 mL  $\times$  2)萃取, 有机相依次用饱和碳酸氢钠(60 mL)、饱和氯化钠(60 mL)、水(60 mL) 20 洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 所得粗品用硅胶柱色谱法纯化 (Instrument Name: ISCO-4, 流动相为 DCM:MeOH, 梯度为 0: 1~10: 1), 得到白色固体化合物 **LY-22f** (2.80 g, 收率 89.91%, 纯度 96%)。

LCMS (ESI): m/z, 512.3 (片段峰的 lcms 值)。

步骤 4: 化合物 **LY-22g** 的制备

25 将化合物 **LY-22f** (1.04 g, 96%, 1.39 mmol, 1 eq) 溶于 THF (10 mL), 0°C 加入试剂 TEA.3HF (899.47 mg, 5.58 mmol, 4 eq)。氮气氛下, 将反应液在 25°C 搅拌 6 小时。反应液用反相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO-4。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250 $\times$ 50mm $\times$ 7 $\mu$ m。流动相水 (0.05% NH<sub>3</sub>H<sub>2</sub>O) - 乙腈, 水的洗脱比例从 5% 到 20% 洗脱) 分离纯化, 冻干后得到白色固体产物 **LY-22g** (600 30 mg, 收率: 71.38%)。

LCMS (ESI): m/z, 512.3 (片段峰的 lcms 值)。

步骤 5: 化合物 **LY-22h** 的制备

将化合物 **LY-22g** (300 mg, 497.80  $\mu$ mol, 1 eq) 溶于 DMA (20 mL), 向该 35 反应液中加入 NPC (181.72 mg, 597.36  $\mu$ mol, 1.2 eq)、DIPEA (77.21 mg, 98.73  $\mu$ L, 597.36  $\mu$ mol, 1.2 eq)。氮气氛下, 反应液在 30°C 搅拌 4 小时。反应液不做处理, 直接用于下一步。

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 790.3[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 6: 化合物 **LY-22** 的制备

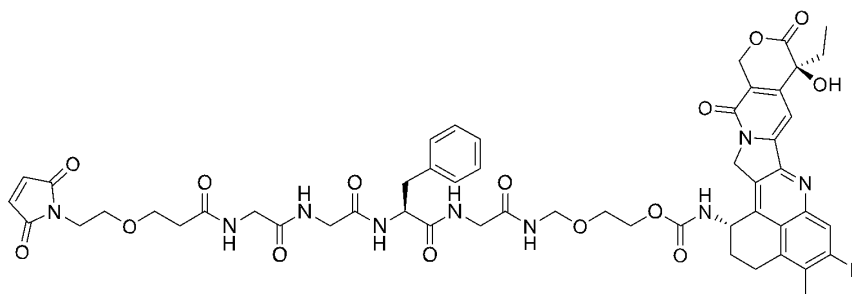
将化合物伊喜替康甲磺酸盐 (皓元医药购买) (263.10 mg, 494.95  $\mu$ mol, 1 eq) 溶于 DMA (2mL), 加入 DIPEA (63.97 mg, 81.81  $\mu$ L, 494.95  $\mu$ mol, 1 eq), 该反应液在 25°C 搅拌 10 分钟, 然后将化合物 **LY-22h** (380 mg, 494.95  $\mu$ mol, 1 eq) 的反应液加入, 再依次加入 HOBt (33.44 mg, 22.29  $\mu$ L, 247.48  $\mu$ mol, 0.5 eq) 和吡啶 (195.75 mg, 200.16  $\mu$ L, 2.47 mmol, 5 eq), 氮气氛围下, 反应液在 25°C 搅拌 3 小时。反应液直接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 $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 冻干后得白色固体产物 (220 mg, 收率: 41.77%)。

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 1064.5[M+H]<sup>+</sup>。

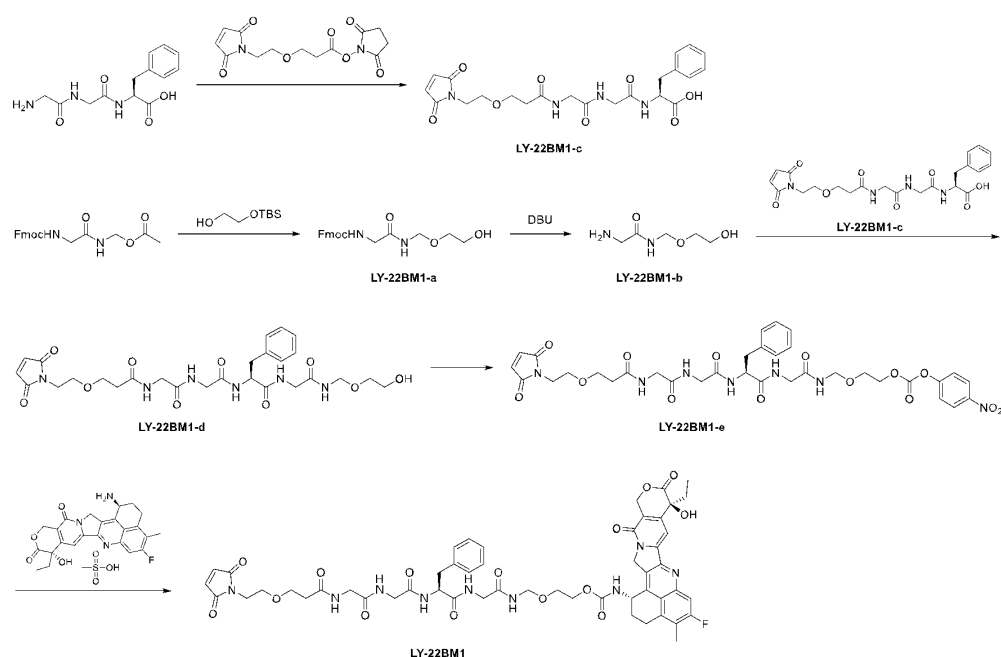
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 8.52 (t,  $J$  = 6.7 Hz, 1H), 8.30 (t,  $J$  = 5.8 Hz, 1H), 8.15 – 7.97 (m, 4H), 7.78 (d,  $J$  = 10.9 Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.28 – 7.12 (m, 5H), 6.99 (s, 2H), 6.52 (s, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.25 (s, 3H), 4.62 – 4.55 (m, 2H), 4.48 (s, 1H), 4.18 (s, 2H), 3.78 – 3.53 (m, 8H), 3.23 (s, 2H), 3.15 – 2.99 (m, 3H), 2.78 (dd,  $J$  = 13.8, 9.7 Hz, 1H), 2.38 (d,  $J$  = 1.8 Hz, 2H), 2.18 (s, 2H), 2.09 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 2H), 1.86 (dt,  $J$  = 15.4, 7.0 Hz, 3H), 1.46 (h,  $J$  = 7.1 Hz, 4H), 1.19 (h,  $J$  = 7.7 Hz, 2H), 0.87 (t,  $J$  = 7.3 Hz, 3H)。

20

实施例 13: 化合物 **LY-22BM1** 的制备



**LY-22BM1**



#### 步骤 1: 化合物 LY-22BM1-c 的制备

向化合物甘氨酸-L-苯丙氨酸（购买自皓元医药）（500 mg, 98%, 1.75 mmol, 1 eq）和化合物马来酰亚胺-聚乙二醇-丙烯酸琥珀酰亚胺酯（544.34 mg, 98%, 1.75 mmol, 1 eq）的 DMF（5 mL）溶液中加入 DIPEA（680.23 mg, 99%, 869.87  $\mu$ L, 5.26 mmol, 3 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（C18）（ISCO, R-220g SepaFlash Silica Flash Column, Eluent of 5-25% H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN, 80 mL/min）纯化，得到白色固体化合物 LY-22BM1-c（696.60 mg, Yield: 83.68%, Purity: 97%）。LCMS（ESI）： $m/z$ , 475[M+H]<sup>+</sup>。

#### 步骤 2: 化合物 LY-22BM1-a 的制备

向化合物乙酸[[2-(Fmoc-氨基)乙酰氨基]甲基]酯（1 g, 2.71 mmol, 1 eq）和 2-(叔丁基二甲基硅烷氧基)乙醇（957.3 mg, 5.43 mmol, 2 eq）的 THF（15 mL）溶液中加入 TsOH（472.2 mg, 2.71 mmol, 1 eq），置于 30°C 下搅拌 2 小时，LCMS 显示原料消失，反应液通过硅胶柱层析色谱法（C18）（ISCO, R-330g SepaFlash Silica Flash Column, Eluent of 5-35% H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN, 100 mL/min）纯化（中压），得白色固体的 LY-22BM1-a（316 mg, Yield=31.43%）。

LCMS（ESI）： $m/z$ , 393 [M+Na]<sup>+</sup>, Rt=1.537 min。

#### 步骤 3: 化合物 LY-22BM1-b 的制备

向化合物 LY-22BM1-a（316 mg, 853.11  $\mu$ mol, 1 eq）的 DMF（3 mL）溶液中加入 DBU（63.73  $\mu$ L, 426.55  $\mu$ mol, 0.5 eq），将反应置于室温下搅拌 1 小时，LCMS 显示原料反应完全。向反应液中加入 TsOH（74.19 mg, 426.55  $\mu$ mol, 0.5 eq）。直接投下一步。LY-22BM1-b 的理论质量为 126.40 mg（粗品不计产率）。

#### 步骤 4: 化合物 LY-22BM1-d 的制备

氮气保护下，冰浴下向化合物 LY-22BM1-c (208.65 mg, 426.57  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入 LY-22BM1-b (63.20 mg, 426.57  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), HOBT (57.66 mg, 426.57  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), EDCI (82.60 mg, 426.57  $\mu\text{mol}$ , 1 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 (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 20% 到 50% 洗脱) 纯化得淡黄色固体的 LY-22BM1-d (172.40 mg, Yield=66.8%)。

LCMS (ESI) : m/z, 627 [M+Na]<sup>+</sup>, Rt=0.764 min。

步骤 5: 化合物 LY-22BM1-e 的制备

10 向 LY-22BM1-d (172.40 mg, 285.14  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (5 mL) 溶液中加入 DIEA (142.80  $\mu\text{L}$ , 855.42  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和二(对硝基苯)碳酸酯 (178.85 mg, 570.28  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 并置于 35 $^{\circ}\text{C}$  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%) 纯化得白色固体的 LY-22BM1-e (99.60 mg, Yield=45.38%)。

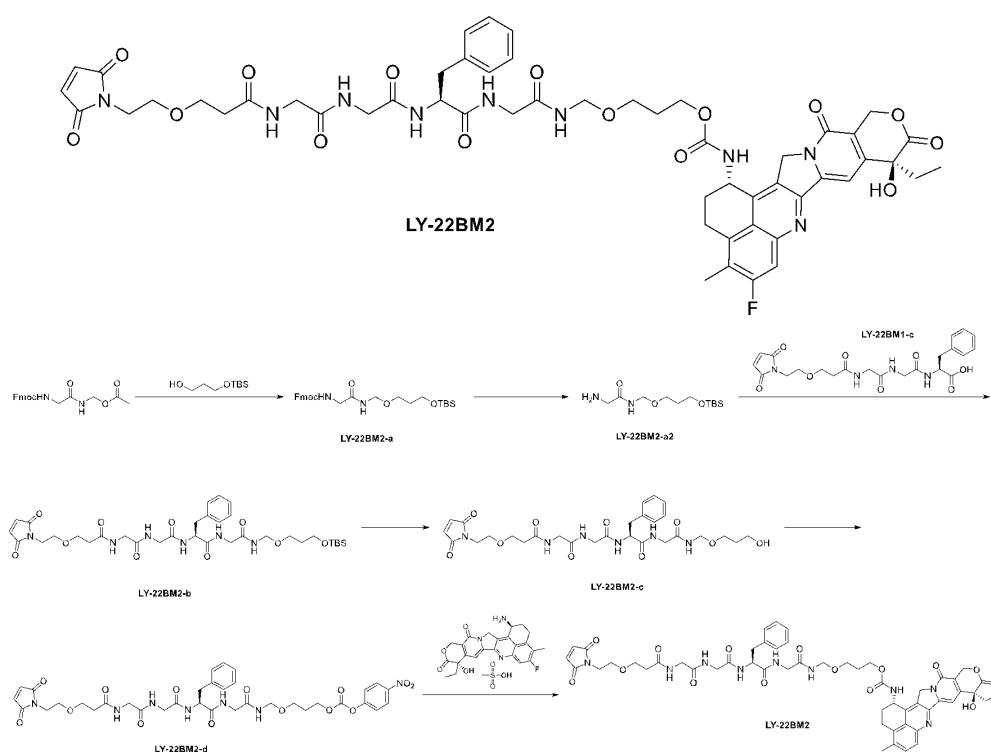
15 LCMS (ESI) : m/z, 792 [M+Na]<sup>+</sup>, Rt=1.563 min。

步骤 6: 化合物 LY-22BM1 的制备

向化合物 LY-22BM1-e (99.60 mg, 129.40  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和依喜替康甲磺酸盐 (69.11 mg, 130  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (6 mL) 溶液中加入 DIEA (85.54  $\mu\text{L}$ , 517.59  $\mu\text{mol}$ , 4 eq) 和 HOBT (8.75 mg, 64.70  $\mu\text{mol}$ , 0.5 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) 得淡黄色固体的 LY-22BM1 (66.50 mg, Yield=48.21%, Purity=94.38%)。

LCMS (ESI) : m/z, 1066 [M+H]<sup>+</sup>, Rt=1.675。 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  
25  $\delta$  8.53 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.12 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 8.05 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.78 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.28 – 7.15 (m, 5H), 7.00 (s, 2H), 6.52 (s, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.25 (s, 3H), 4.58 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 4.48 (s, 1H), 4.18 (s, 2H), 3.78 – 3.64 (m, 5H), 3.61 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H), 3.54 (dt, *J* = 11.4, 5.8 Hz, 4H), 3.45 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 3.12 (s, 2H), 3.03 (dd, *J* = 13.8, 4.6 Hz, 1H), 2.87 – 2.70 (m, 2H), 2.38 (s, 3H),  
30 2.33 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 2.18 (s, 2H), 1.86 (dt, *J* = 15.4, 7.2 Hz, 2H), 0.87 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H)。

实施例 14: 化合物 LY-22BM2 的制备



步骤 1：化合物（（9H-苄-9-基）甲基（2,2,3,3-四甲基-11-氧代-4,8-二氧代-10-氮杂-3-硅十二烷-12-基）氨基甲酸酯（LY-22BM2-a）的制备

5 将化合物(2-(((9H-苄-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙酰胺基)乙酸甲酯(购买自成都正善达)（1 g, 2.71 mmol, 1 eq）溶于 THF（20 mL），加入 3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丙-1-醇（1.03 g, 99%, 5.43 mmol, 2 eq）和 TsOH（46.75 mg, 99%, 43.69  $\mu$ L, 271.46  $\mu$ mol, 0.1 eq），在 25°C 下搅拌 1 小时。LCMS 显示目标产物。

10 反应液通过硅胶柱层析色谱法(C18)(ISCO, R-330g SepaFlash Silica Flash Column, Eluent of 5-30% H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN, 100 mL/min)纯化，得棕色固体产物（600 mg, Yield: 44.32%）。

LCMS (ESI) : m/z, 521.3[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 2：化合物 LY-22BM2-a2 的制备

15 将化合物 LY-22BM2-a（600.01 mg, 1.20 mmol, 1 eq）溶于 DMF（20 mL），加入 DBU（91.58 mg, 89.88  $\mu$ L, 601.57  $\mu$ mol, 0.5 eq），在 25°C 下搅拌 2 小时。LCMS 显示目标产物。反应液无需纯化，直接用于下一步。

LCMS (ESI) : m/z, 299.3[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 3：化合物 LY-22BM2-b 的制备

20 将化合物 LY-22BM2-a2（150 mg, 542.59  $\mu$ mol, 1 eq）溶于 DMF（5 mL）中，加入 TsOH（47.19 mg, 99%, 44.10  $\mu$ L, 271.30  $\mu$ mol, 0.5 eq），再依次加入化合物 LY-22BM1-c（该化合物的合成请参考 LY-22BM1 的合成实施例）（265.41 mg,

542.59  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 HOBT (88.01 mg, 99.96%, 58.68  $\mu\text{L}$ , 651.11  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq, 最后在 0°C 下加入 EDCI (126.08 mg, 99%, 651.11  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 反应液在 25°C 下搅拌 1 小时。LCMS 显示有产物生成。得到黄色溶液 (300 mg, Yield: 75.44%), 直接用于下一步。

5 LCMS (ESI) : m/z, 755.4[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 4: 化合物 LY-22BM2-c 的制备

向化合物 LY-22BM2-b (300 mg, 409.33  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (5 mL) 溶液中, 加入 Et<sub>3</sub>N·3HF (68.03 mg, 97%, 66.72  $\mu\text{L}$ , 409.33  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 25°C 下搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完全。反应液通过硅胶柱层析色谱法制备, 得到白色固体  
10 产物 (150 mg, Yield: 59.24%)。

硅胶柱层析色谱法制备条件如下:

残留物通过硅胶柱层析色谱法 (C18) (ISCO, R-120g SepaFlash Silica Flash Column, Eluent of 25-50% H<sub>2</sub>O (0.225%FA) -ACN, 100 mL/min) 纯化。

LCMS (ESI) : m/z, 641.3[M+Na]<sup>+</sup>。

15 步骤 5: 化合物 LY-22BM2-d 的制备

室温下将化合物 LY-22BM2-c (150 mg, 242.47  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DMF (5 mL), 加入二(对硝基苯)碳酸酯 (152.08 mg, 97%, 101.39  $\mu\text{L}$ , 484.93  $\mu\text{mol}$ , 2 eq) 和 DIPEA (94.96 mg, 99%, 121.43  $\mu\text{L}$ , 727.40  $\mu\text{mol}$ , 3 eq), 反应液在 33°C 下搅拌 3 小时, LCMS 显示原料反应完全。反应液浓缩至干, 残留物硅胶柱层析色谱  
20 法 (洗脱剂: 乙酸乙酯/石油醚=1:1, 再二氯甲烷: 甲醇=10:1) 纯化, 得白色固体产物 (150 mg, Yield: 78.93%)。

LCMS (ESI) : m/z, 806.3[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 6: 化合物 LY-22BM2 的制备

将化合物 LY-22BM2-d (60 mg, 76.56  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DMF (3 mL), 加入依喜替康甲磺酸盐 (41.11 mg, 99%, 76.56  $\mu\text{mol}$ , 1 eq)、DIPEA (39.98 mg, 99%, 51.12  $\mu\text{L}$ , 306.22  $\mu\text{mol}$ , 4 eq) 和 HOBT (5.17 mg, 99.96%, 3.45  $\mu\text{L}$ , 38.28  $\mu\text{mol}$ , 0.5 eq), 反应液在 25°C 下搅拌 2 小时, LCMS 显示原料反应完全。反应液  
25 通过高效液相色谱制备, 得到黄色固体产物 (31.19 mg, Yield: 37.72%, Purity: 95%)。

30 高效液相色谱制备条件如下:

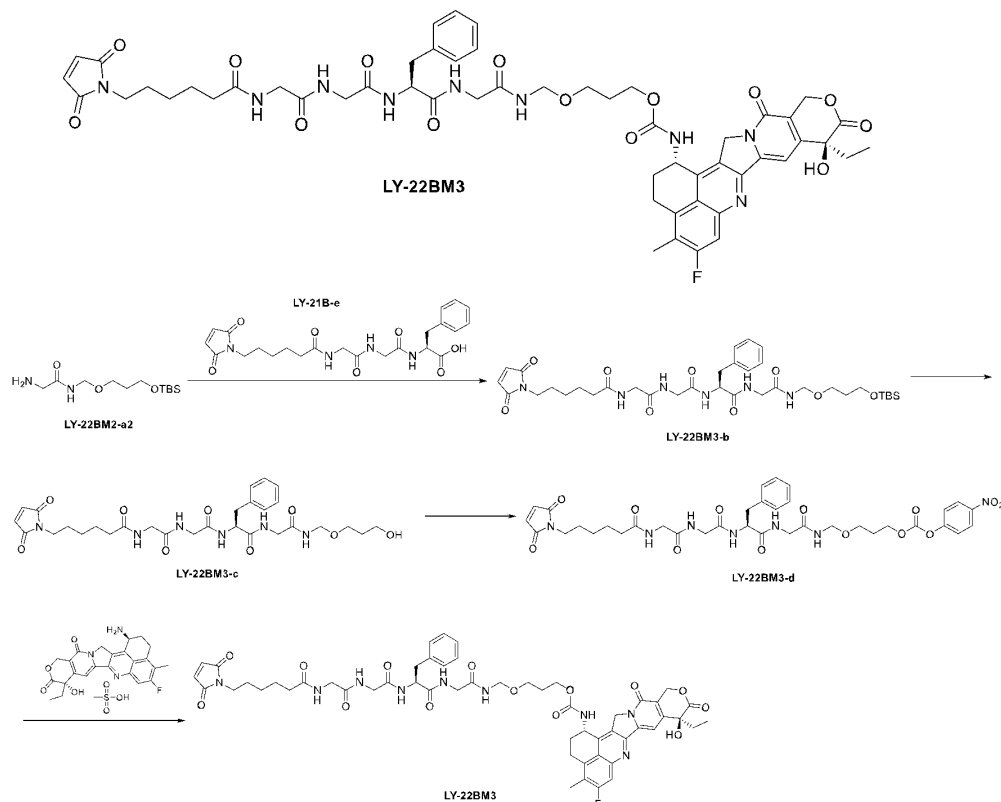
制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250×50mm×7 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225%HCOOH) -乙腈, 水的洗脱比例从 30%到 60% 洗脱。

LCMS (ESI) : m/z, 1078.5[M+H]<sup>+</sup>。

35 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sup>6</sup>)  $\delta$  8.49 (t, *J* = 6.6 Hz, 1H), 8.30 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H), 8.15 – 8.08 (m, 2H), 8.03 – 7.92 (m, 2H), 7.78 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.28 –

7.13 (m, 5H), 7.00 (s, 2H), 6.52 (s, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.23 (d,  $J = 7.4$  Hz, 3H), 4.51 (dd,  $J = 23.3, 5.8$  Hz, 3H), 4.21 – 4.04 (m, 2H), 3.81 – 3.63 (m, 5H), 3.56 (ddd,  $J = 17.9, 13.2, 5.4$  Hz, 5H), 3.50 – 3.41 (m, 4H), 3.23 (s, 2H), 3.15 – 3.07 (m, 1H), 3.03 (dd,  $J = 14.0, 4.5$  Hz, 1H), 2.77 (dd,  $J = 13.8, 9.6$  Hz, 1H), 2.38 (d,  $J = 1.9$  Hz, 3H), 2.32 (t,  $J = 6.6$  Hz, 2H), 2.17 (d,  $J = 24.5$  Hz, 2H), 1.86 (dp,  $J = 18.5, 6.8, 6.2$  Hz, 4H), 0.87 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H)。

### 实施例 15：化合物 LY-22BM3 的制备



10

#### 步骤 1：化合物 LY-22BM3-b 制备

将化合物 LY-22BM2-a2（该化合物的合成请参考 LY-22BM2 的合成实施例）（80 mg, 289.38  $\mu\text{mol}$ , 1 eq）溶于 DMF（3 mL）中，加入 TsOH（24.92 mg, 99%, 23.29  $\mu\text{L}$ , 144.69  $\mu\text{mol}$ , 0.5 eq），再依次加入 LY-21B-e（购买自成都正善达）（136.73 mg, 289.38  $\mu\text{mol}$ , 1 eq）和 HOBT（46.92 mg, 99.96%, 31.28  $\mu\text{L}$ , 347.26  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq），最后在 0°C 下加入 EDCI（66.57 mg, 99%, 347.26  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq），反应液在 0-10°C 下搅拌 2 小时。LCMS 显示有产物生成。得到黄色溶液（150 mg, Yield: 70.92%），直接用于下一步。

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 753.5 $[M+Na]^+$ 。

20

#### 步骤 2：化合物 LY-22BM3-c 的制备

向化合物 LY-22BM3-b（150 mg, 205.22  $\mu\text{mol}$ , 1 eq）的 DMF（3 mL）溶液

中，加入  $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3\text{HF}$  (170.53 mg, 97%, 172.43  $\mu\text{L}$ , 1.03 mmol, 5 eq),  $25^\circ\text{C}$  下搅拌 1 小时。LCMS 显示反应完全。反应液通过高效液相色谱制备，得到白色固体产物 LY-22BM3-c (80 mg, Yield: 63.22%)。

反向色谱谱制备条件如下：

- 5 残留物通过硅胶柱层析色谱法 (C18) (ISCO, R-330g SepaFlash Silica Flash Column, Eluent of 12-42%  $\text{H}_2\text{O}$  (0.225%FA) -ACN, 100 mL/min) 纯化

LCMS (ESI) : m/z, 639.3[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 3：化合物 LY-22BM3-d 的制备

- 室温下将化合物 LY-22BM3-c (80 mg, 129.73  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DMF (2 mL),  
10 加入 二(对硝基苯)碳酸酯 (81.37 mg, 97%, 54.25  $\mu\text{L}$ , 259.46  $\mu\text{mol}$ , 2 eq) 和 DIPEA (50.81 mg, 99%, 64.97  $\mu\text{L}$ , 389.19  $\mu\text{mol}$ , 3 eq), 反应液在  $30^\circ\text{C}$  下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全。反应液浓缩至干, 残留物硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 乙酸乙酯/石油醚=1:1, 再二氯甲烷: 甲醇=10:1) 纯化, 得白色固体产物 (90 mg, Yield: 88.74%)。

- 15 LCMS (ESI) : m/z, 804.4[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 4：化合物 LY-22BM3 的制备

- 将化合物 LY-22BM3-d (40 mg, 51.17  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DMF (3 mL), 加入依喜替康甲磺酸盐 (27.20 mg, 51.17  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 DIPEA (26.72 mg, 99%, 34.17  $\mu\text{L}$ , 204.66  $\mu\text{mol}$ , 4 eq), HOBT (3.46 mg, 99.96%, 2.31  $\mu\text{L}$ , 25.58  $\mu\text{mol}$ ,  
20 0.5 eq), 反应液在  $25^\circ\text{C}$  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, 得到黄色固体产物 LY-22BM3 (32.19 mg, Yield: 58.35%, Purity: 98%)。

高效液相色谱制备条件如下：

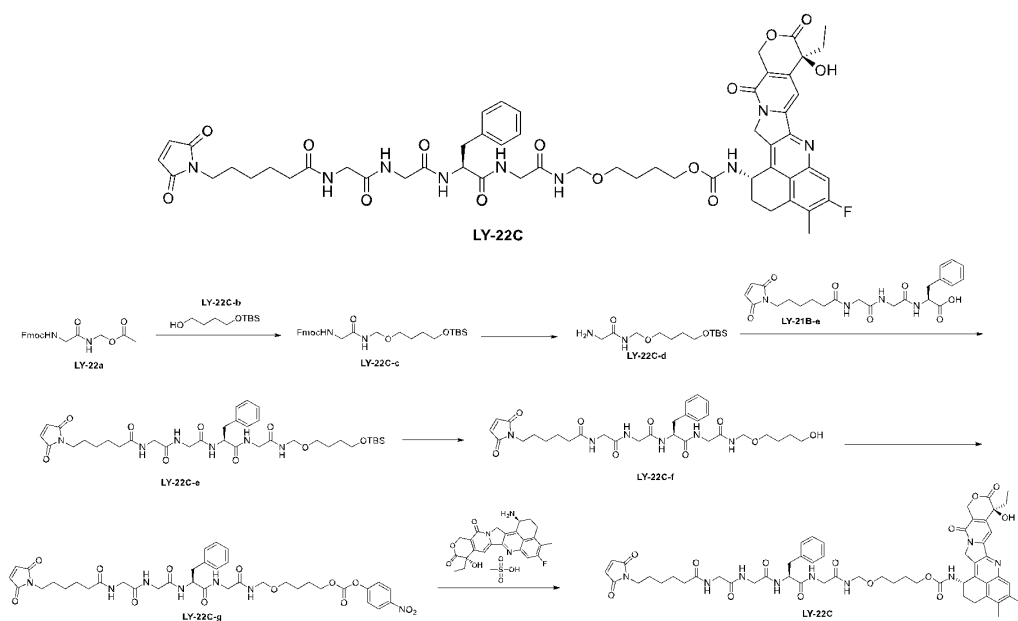
- 制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18  
25 250×50mm×7 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% $\text{HCOOH}$ )-乙腈, 水的洗脱比例从 30%到 60% 洗脱。

LCMS (ESI) : m/z, 1078.5[M+H]<sup>+</sup>。

- <sup>1</sup>H NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8.49 (t,  $J$  = 6.6 Hz, 1H), 8.30 (t,  $J$  = 5.9 Hz, 1H), 8.12 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 1H), 8.07 (t,  $J$  = 5.7 Hz, 1H), 8.01 (t,  $J$  = 5.7 Hz, 1H), 7.95 (d,  $J$  = 9.0 Hz, 1H), 7.77 (d,  $J$  = 10.9 Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.27-7.12 (m, 5H), 6.99 (s, 2H), 6.53 (s, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.31-5.16 (m, 3H), 4.61-4.43 (m, 3H), 4.13 (ddt,  $J$  = 19.6, 12.9, 6.4 Hz, 2H), 3.80-3.53 (m, 6H), 3.47 (t,  $J$  = 6.2 Hz, 2H), 3.31-3.18 (m, 3H), 3.12 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 1H), 3.03 (dd,  $J$  = 13.8, 4.4 Hz, 1H), 2.78 (dd,  $J$  = 13.8, 9.7 Hz, 1H), 2.41-2.33 (m, 3H), 2.24-2.05 (m, 4H), 1.86 (dp,  $J$  = 18.8, 6.8, 6.3 Hz, 4H), 1.46 (h,  $J$  =  
35 7.2 Hz, 4H), 1.18 (p,  $J$  = 7.8, 7.4 Hz, 2H), 0.87 (t,  $J$  = 7.3 Hz, 3H)。

实施例 16：化合物 LY-22C 的制备

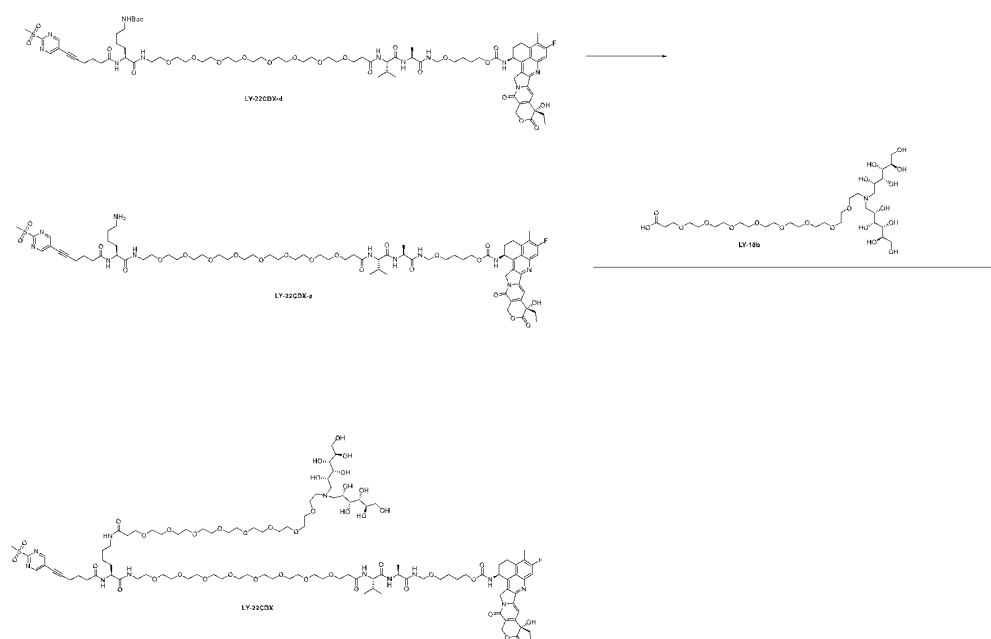




与实施例 12 的制备方法相同，除了用 4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丁-1-醇代替 2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙烷-1-醇，制得化合物 **LY-22C**。

#### 实施例 17：化合物 LY-22CDX 的制备





#### 步骤 1：化合物 LY-22CDX-a 的制备

冰浴下，向化合物 LY-39A-b（500 mg，1.23 mmol，1 eq，90% purity，该化合物的合成参考 LY-39A 和 LY-44A 的合成过程）的 DMF（3 mL）溶液中加入 DIEA（318.36 mg，407.11  $\mu$ L，2.46 mmol，2 eq），而后逐滴加入 (2S)-2-氨基-6-(叔丁氧羰基氨基)己酸（303.36 mg，1.23 mmol，1 eq）的 DMF（2 mL），并置于室温下搅拌 2 小时，LCMS 显示原料基本反应完全。残留物通过硅胶柱层析色谱法（C18）（ISCO, R-330g SepaFlash Silica Flash Column, Eluent of 5-40%  $H_2O/CH_3CN$ , 100 mL/min）纯化（中压）得到白色固体 LY-22CDX-a（484.60 mg，Yield= 68.93%，Purity=87%）。

LCMS（ESI）： $m/z$ ，519 $[M+Na]^+$ ， $R_t$ =1.478min。

#### 步骤 2：化合物 LY-22CDX-b 的制备

冰浴下向 LY-22CDX-a（484.6 mg，849.01  $\mu$ mol，1 eq）和 N-羟基丁二酰亚胺（122.14 mg，1.061 mmol，1.25 eq）的 DMF（10 mL）溶液中加入 DIC（264.55 mg，1.7 mmol，2 eq），并置于室温下搅拌 3 小时，LCMS 显示原料反应完全，向反应液中加入 EA（10 mL）和水（10 mL），分液后用水（10 mL）洗有机相三次，饱和食盐水（10 mL）两次，合并有机相用无水硫酸钠干燥，过滤浓缩直接投下一步，得粗品 LY-22CDX-b（579.50 mg，Yield=95.62%，Purity=80%）。

LCMS（ESI）： $m/z$ ，616 $[M+Na]^+$ ， $R_t$ =1.788min。

#### 步骤 3：化合物 LY-22CDX-c 的制备

冰浴下，向化合物 LY-22CDX-b（579.5 mg，780.93  $\mu$ mol，1 eq）和 LY-28b（344.78 mg，780.93  $\mu$ mol，1 eq，购买自毕得医药）的 DMF（10 mL）溶液中加入 DIEA（258.12  $\mu$ L，1.56 mmol，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 150×30mm×10μm。流动相水（0.225%HCOOH）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 20-50 %洗脱）得黄色油状的 LY-22CDX-c（408.90 mg，Yield=56.9%）。

LCMS（ESI）：m/z，942[M+Na]<sup>+</sup>，Rt=1.563 min。

5 步骤 4 :化合物 LY-22CDX-d 制备

冰浴下，向化合物 LY-22CDX-c（48.9 mg，53.27 μmol，1 eq）和 LY-22CD-b（40 mg，53.27 μmol，1 eq，该化合物的合成参考 LY-22CD 的合成实施例）的 DMF（3 mL）溶液中加入 DIEA（17.21 mg，22.01 μL，133.19 μmol，2.5 eq）和 HATU（30.39 mg，79.91 μmol，1.5 eq），并置于室温下搅拌 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 150×30mm×10μm。流动相水（0.225%HCOOH）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 30-60 %洗脱）纯化得白色固体的 LY-22CDX-d（54.6 mg，Yield=62%）。

LCMS（ESI）：m/z，1675[M+Na]<sup>+</sup>，Rt=2.151 min。

15 步骤 5:化合物 LY-22CDX-e 的制备

冰浴下向 LY-22CDX-d（54.6 mg，33 μmol，1 eq）的 DCM（5 mL）溶液中加入 TFA（0.5 mL），搅拌 10 分钟后立即浓缩，而后加入 DMF（1 mL），送 LCMS 检测显示原料基本反应完全，直接投下一步，LY-22CDX-e 的理论量为 34.19 mg（粗品不计产率）。

20 LCMS（ESI）：m/z，1553[M+H]<sup>+</sup>，Rt=1.653 min。

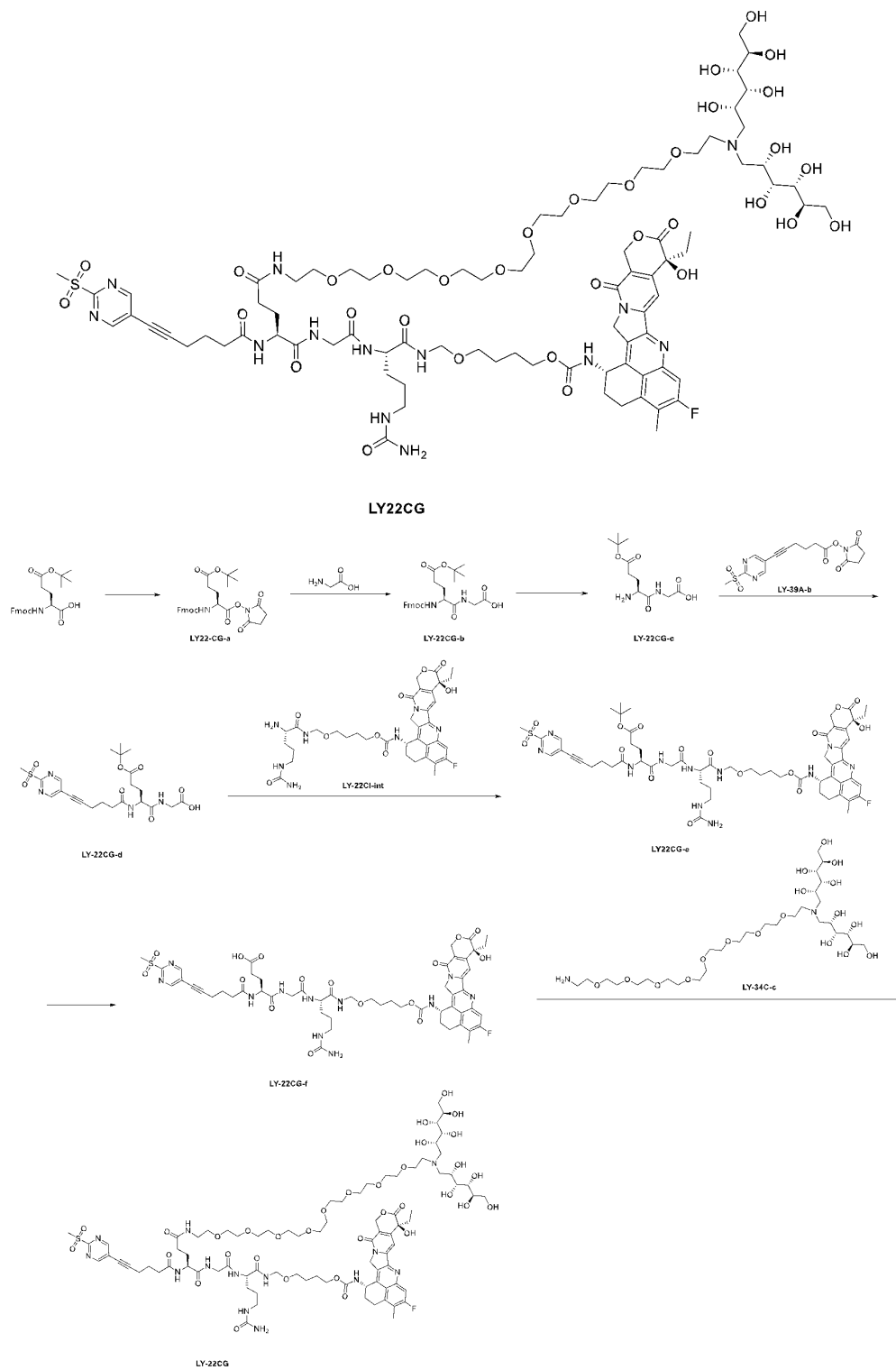
步骤 6:化合物 LY-22CDX 的制备

冰浴下，向化合物 LY-22CDX-e（34.19 mg，22 μmol，1 eq）和 LY-10b（18.6 mg，24.2 μmol，1.1 eq，该化合物的合成请参考 LY-10 的合成实施例）的 DMF（3 mL）溶液中加入 DIEA（18.2 mL，110 μmol，5 eq）和 HATU（10 mg，26.4 μmol，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 200×30mm×10μm。流动相水（0.225%HCOOH）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 20-50 %洗脱）纯化得白色固体的 LY-22CDX（27.8 mg，Yield=55%）。

LCMS（ESI）：m/z，1153[1/2M+H]<sup>+</sup>，Rt=1.583 min。 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.12 (s, 2H), 8.55 (t, *J* = 6.6 Hz, 1H), 8.05 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.99 – 7.89 (m, 3H), 7.85 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.82 – 7.75 (m, 2H), 7.31 (s, 1H), 6.53 (s, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.30 – 5.19 (m, 3H), 4.61 – 4.42 (m, 6H), 4.32 (t, *J* = 5.8 Hz, 3H), 4.19 (dt, *J* = 15.0, 8.0 Hz, 4H), 4.14 – 3.97 (m, 3H), 3.65 (dd, *J* = 8.0, 4.2 Hz, 2H), 3.57 (td, *J* = 6.8, 4.2 Hz, 7H), 3.53 – 3.44 (m, 50H), 3.40 (d, *J* = 8.6 Hz, 11H), 3.20 (q, *J* = 7.0, 5.8 Hz, 6H), 3.16 – 3.07 (m, 2H), 2.98 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.77 – 2.60 (m, 4H), 2.59 – 2.54 (m, 3H), 2.44 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.40 – 2.37 (m, 3H), 2.36 – 2.23 (m, 6H), 2.22 – 2.06 (m, 3H), 1.98 – 1.75 (m, 6H), 1.68 – 1.42 (m, 7H), 1.34 (s, 3H), 1.21 (d, *J* = 7.2 Hz, 4H), 0.94 – 0.74

(m, 9H)。

## 实施例 18: 化合物 LY-22CG 的制备



## 步骤 1：化合物 LY-22CG-a 的合成

冰浴下，向化合物 Fmoc-L-谷氨酸 5-叔丁酯（2 g, 4.70 mmol, 1 eq）的二氯甲烷（40 mL）溶液中加入 N-羟基丁二酰亚胺（649.20 mg, 5.64 mmol, 1.2 eq）和 N,N'-二环己基碳二亚胺（1.26 g, 6.11 mmol, 1.3 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，浓缩后残余物通过硅胶柱层析色  
5 谱法（洗脱剂：乙酸乙酯：石油醚=0：1-1:1，甲醇：二氯甲烷=0:100-3:97）纯化得白色固体 LY-22CG-a（1.13 g, Yield=42.74%, Purity=93%）。

LCMS (ESI) : m/z, 545 [M+Na]<sup>+</sup>。

## 步骤 2：化合物 LY-22CG-b 的制备

10 将甘氨酸（40.08 mg, 533.92 μmol, 1 eq）和碳酸氢钠（44.85 mg, 533.92 μmol, 1 eq）溶于水（5 mL）中，置于室温下搅拌 15 分钟，后向该溶液中加入 LY22CG-a（300 mg, 533.92 μmol, 1 eq）的四氢呋喃（5 mL）溶液，置于室温下搅拌 24 小时，LCMS 显示原料反应完全，浓缩后，在 0℃下用 2N 稀盐酸调节至 pH= 3，加入水（5 mL），水相用乙酸乙酯（5 mL）萃取 3 次，合并有机相用饱和食盐水（15  
15 mL）洗一次，无水硫酸钠干燥，过滤浓缩得粗品 LY22CG-b（323.20 mg，粗品不计产率）。

LCMS (ESI) : m/z, 505 [M+Na]<sup>+</sup>。

## 步骤 3：化合物 LY-22CG-c 的制备

向 LY22CG-b（323.20 mg, 535.84 μmol, 1 eq）的 DMF（5 mL）溶液中加入  
20 Et<sub>2</sub>NH（276 μL, 2.68 mmol, 5 eq），并置于室温下搅拌 1 小时，LCMS 显示原料反应完全，油泵拉干直接投下一步。LY22CG-c 的理论质量为（139.47 mg，粗品不计产率）。

LCMS (ESI) : m/z, 261 [M+H]<sup>+</sup>。

## 步骤 4：化合物 LY-22CG-d 的制备

25 冰浴下，向化合物 LY-39A-b（217.52 mg, 535.83 μmol, 1 eq）的 DMF（3 mL）溶液中加入 DIEA（177.11 μL, 1.07 mmol, 2 eq）和 LY-22CG-c（139.47 mg, 535.83 μmol, 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 20%到 50%洗脱）纯化，经冻干得到白色固体化合物 LY-22CG-d（198.20 mg,  
30 Yield=43.47%, Purity=60%）。

LCMS (ESI) : m/z, 533 [M+Na]<sup>+</sup>。

## 步骤 5：化合物 LY-22CG-e 的制备

0℃下向化合物 LY-22CG-d（15.22 mg, 29.82 μmol, 1.1 eq）和 LY-22CI-int（该化合物的合成请参考 LY-22CI 合成过程）（20 mg, 27.11 μmol, 1 eq）的 DMF（2  
35 mL）溶液中加入 DIEA（8.96 μL, 54.22 μmol, 2 eq）和 HATU（12.37 mg, 32.53 μmol,

1.2 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 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)纯化, 经冻干得到白色固体化合物 LY-22CG-e (25 mg, Yield=74.96%, Purity=95%)。

LCMS (ESI) : m/z, 1230 [M+H]<sup>+</sup>。

步骤 6: 化合物 LY-22CG-f 的制备

0°C 下向化合物 LY-22CG-e (26.32 mg, 95%, 20.32  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DCM (4 毫升) 溶液中加入 TFA (1.6 毫升)。加毕, 反应液在 0-5°C 下反应 3 小时。LCMS 显示反应完成。反应液直接旋干得到白色固体化合物 LY-22CG-f (24 mg, 粗品)。

LCMS (ESI) : m/z, 1196.5 [M+Na]<sup>+</sup>。

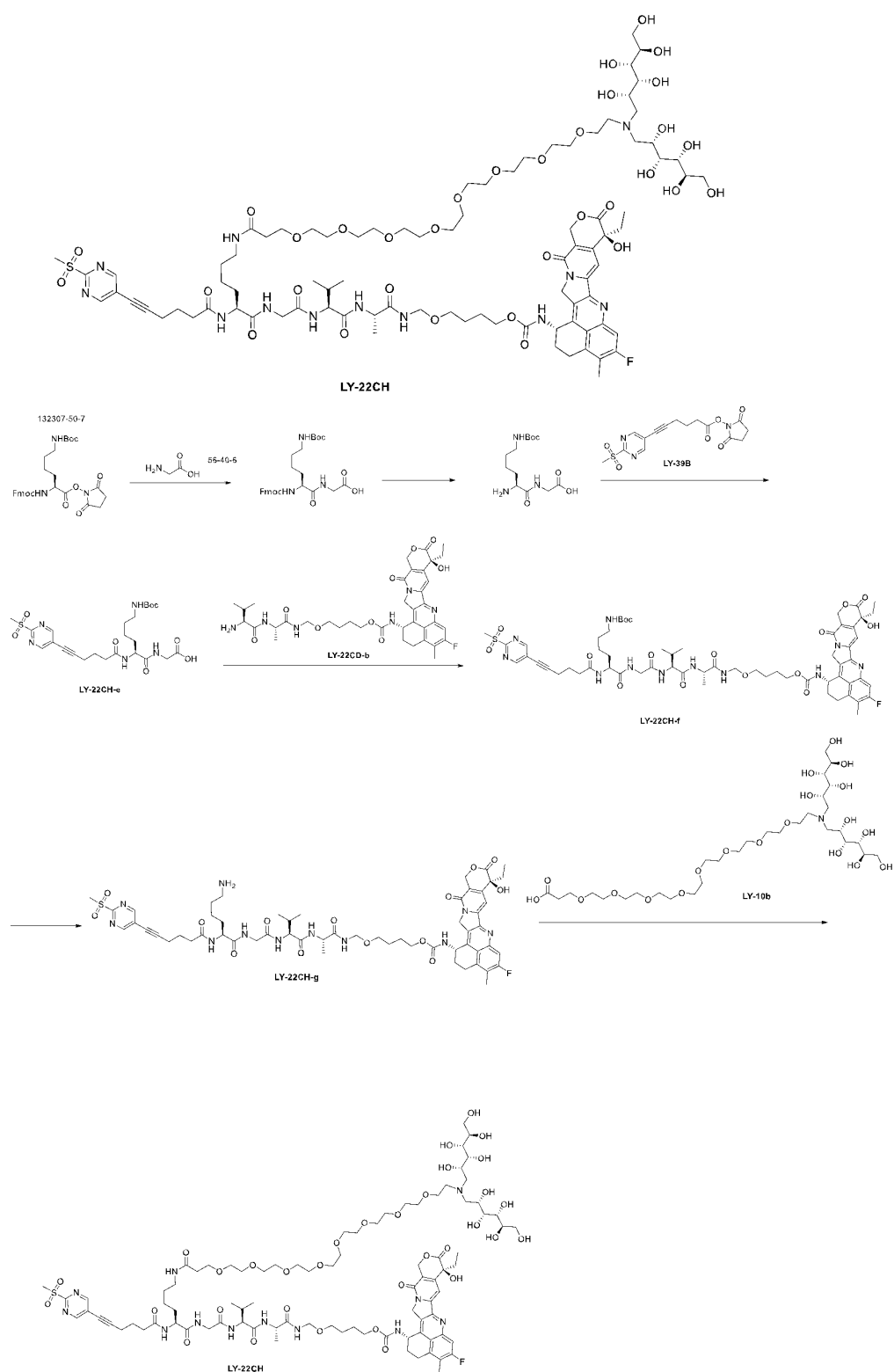
步骤 7: 化合物 LY-22CG 的制备

0°C 下向化合物 LY-22CG-f (24 mg, 20.44  $\mu$ mol, 1 eq) 和 LY-34C-c (该化合物的合成请参考 LY-34C 合成实施例) (15.14 mg, 20.44  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入 DIEA (13.21 mg, 16.89  $\mu$ L, 102.19  $\mu$ mol, 5 eq) 和 HATU (7.77 mg, 20.44  $\mu$ mol, 1 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 150×30mm×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 LY-22CG (11.51 mg, Yield: 29.69%, Purity: 95%)。

LCMS (ESI) : m/z, 1897.1 [M+H]<sup>+</sup>, 949.1 [1/2M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  9.10 (s, 2H), 8.62 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 8.22 – 8.10 (m, 3H), 7.98 – 7.86 (m, 3H), 7.77 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 5.92 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 5.40 (d, *J* = 23.6 Hz, 4H), 5.24 (d, *J* = 3.2 Hz, 3H), 4.58 – 4.43 (m, 5H), 4.31 (s, 3H), 4.20 (dt, *J* = 14.4, 8.3 Hz, 3H), 4.07 (s, 2H), 3.77 – 3.63 (m, 4H), 3.61 – 3.54 (m, 4H), 3.49 (q, *J* = 2.2 Hz, 30H), 3.39 (d, *J* = 6.0 Hz, 9H), 3.16 (p, *J* = 6.7, 6.2 Hz, 5H), 2.93 (p, *J* = 6.8 Hz, 3H), 2.77 – 2.67 (m, 2H), 2.65 – 2.53 (m, 5H), 2.38 (d, *J* = 1.9 Hz, 3H), 2.32 (t, *J* = 6.6 Hz, 3H), 2.24 – 2.06 (m, 5H), 1.85 (ddd, *J* = 30.7, 14.4, 7.3 Hz, 7H), 1.68 – 1.42 (m, 7H), 1.33 (s, 3H), 0.87 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H)。

实施例 19: 化合物 LY-22CH 的制备



5 步骤 1: 化合物 N2-((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-N6-(叔丁氧基羰基)-L-赖氨酸

## 甘氨酸的制备

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 2,5-二氧化吡咯烷-1-基 N2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-N6-(叔丁氧羰基)-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-芴-9-基)甲氧基)羰基)-N6-(叔丁氧羰基)-L-赖氨酸甘氨酸 (427 mg, Yield: 91.90%)。LCMS (ESI): m/z, 548[M+Na]<sup>+</sup>。

## 步骤 2: 化合物 N6-(叔丁氧羰基)-L-赖氨酸甘氨酸的制备

向化合物 N2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-N6-(叔丁氧羰基)-L-赖氨酸甘氨酸 (427 mg, 812.40  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DMF (10 mL) 溶液中加入  $\text{Et}_2\text{NH}$  (297.10 mg, 418.45  $\mu$ L, 4.06 mmol, 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 N6-(叔丁氧羰基)-L-赖氨酸甘氨酸 (246.45 mg, 粗品不计产率), 直接用于下一步, LCMS (ESI): m/z, 304[M+H]<sup>+</sup>。

## 步骤 3: 化合物 LY-22CH-e 的制备

向化合物 N6-(叔丁氧羰基)-L-赖氨酸甘氨酸 (246.45 mg, 812.40  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DMF (3 mL) 溶液中加入 DIPEA (209.99 mg, 268.53  $\mu$ L, 1.62 mmol, 2 eq), 0 $^\circ$ C下滴加化合物 LY-39B (329.80 mg, 90%, 812.40  $\mu$ mol, 1 eq) (见 LY-39B 的合成实施例) 和 DMF (1 mL) 混合溶液, 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-120g SepaFlash Silica Flash Column, Eluent of 5-45% water/ $\text{CH}_3\text{CN}$ , 60 mL/min) 纯化纯化, 得到白色固体化合物 LY-22CH-e (386.30 mg, Yield: 85.89%), LCMS (ESI): m/z, 576[M+Na]<sup>+</sup>。

## 步骤 4: 化合物 LY-22CH-f 的制备

0 $^\circ$ C下, 向化合物 LY-22CH-e (22.12 mg, 39.96  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入 LY-22CD-b (30 mg, 39.96  $\mu$ mol, 1 eq) (合成过程参见 LY-22CD 的合成实施例), DIPEA (10.33 mg, 13.21  $\mu$ L, 79.91  $\mu$ mol, 2 eq) 和 HATU (30.39 mg, 79.91  $\mu$ mol, 2 eq), 室温反应 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 $\mu$ m。流动相水 (0.225% $\text{HCOOH}$ ) - 乙腈, 水的洗脱比例从 30% 到 60%洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物 LY-22CH-f (26.60 mg, Yield: 51.75%)。LCMS (ESI): m/z, 1308[M+Na]<sup>+</sup>。

## 步骤 5: 化合物 LY-22CH-g 的制备

0 $^\circ$ C下, 向化合物 LY-22CH-f (26.60 mg, 20.68  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DCM (3 mL) 溶液中加入 TFA (921 mg, 600  $\mu$ L), 0 $^\circ$ C反应 25 分钟, LCMS 显示反应完成,

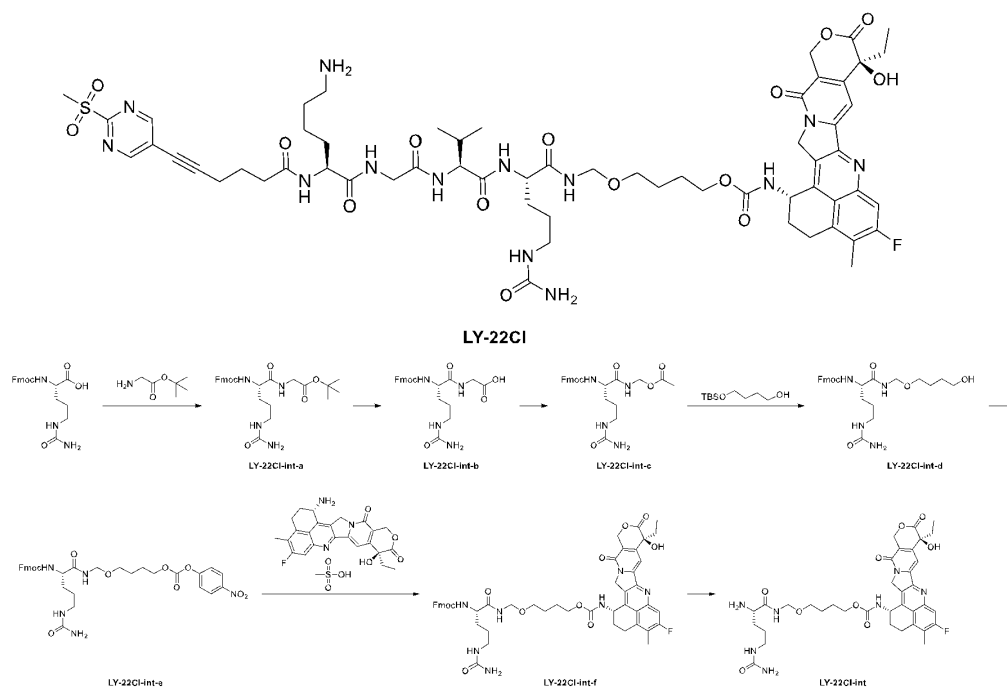


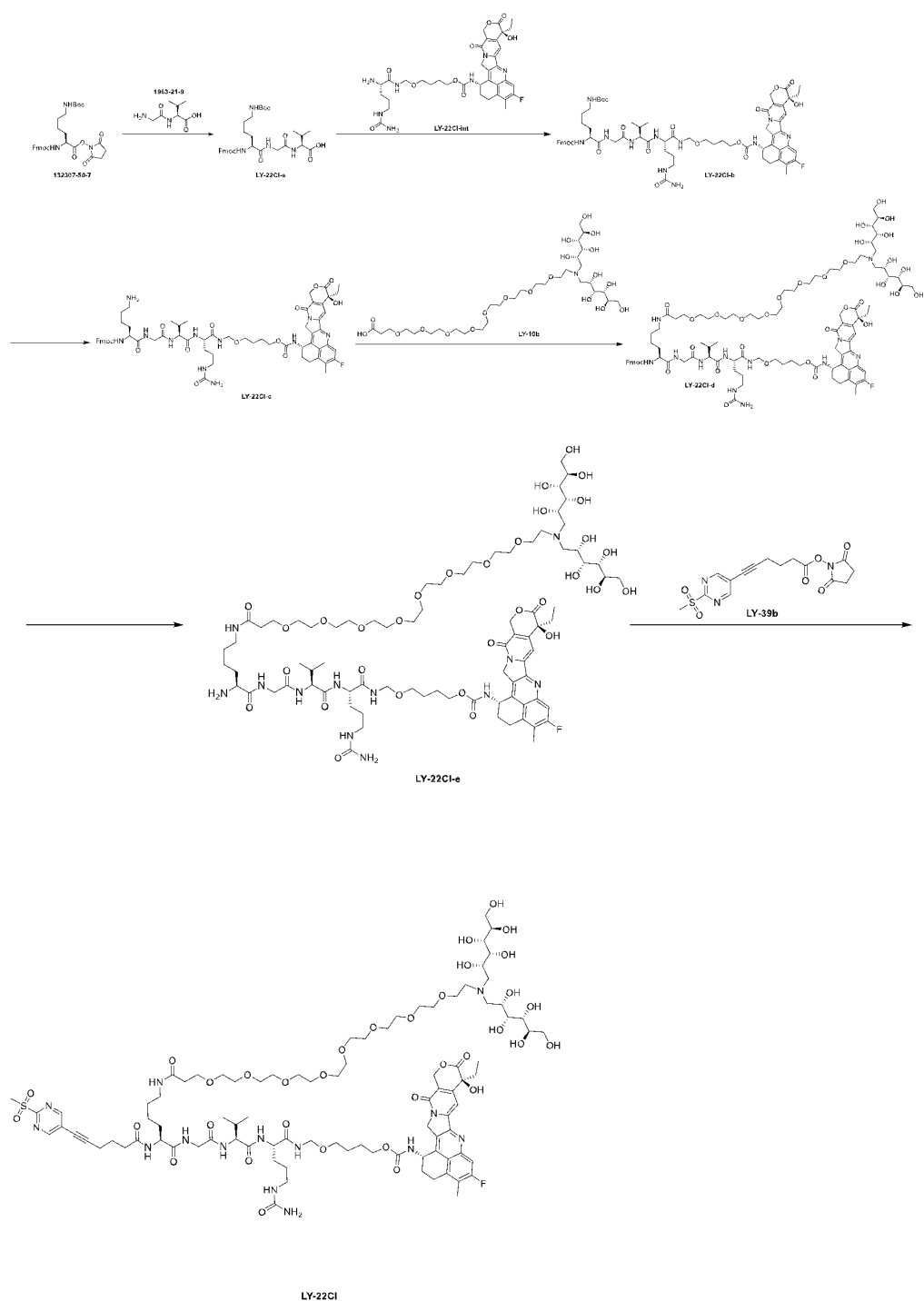
旋干得到白色固体化合物 LY-22CH-g (24.53 mg, 粗品不计产率), 直接用于下一步, LCMS (ESI) :  $m/z$ , 1208 $[M+Na]^+$ 。

#### 步骤 6: 化合物 LY-22CH 的制备

0°C下, 向化合物 LY-22CH-g (20 mg, 81%, 13.66  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入化合物 LY-10b (52.56 mg, 68.28  $\mu\text{mol}$ , 5 eq) (该化合物的合成请参考 LY-10 的合成实施例), DIPEA (17.65 mg, 22.57  $\mu\text{L}$ , 136.56  $\mu\text{mol}$ , 10 eq) 和 HATU (25.96 mg, 68.28  $\mu\text{mol}$ , 5 eq), 室温反应 16 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 Synergi Max-RP 200 $\times$ 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) 纯化, 得到白色固体化合物 LY-22CH (3.07 mg, Yield: 9.67%)。LCMS (ESI) :  $m/z$ , 1939.1 $[M+Na]^+$ 。  $R_t=1.524$  min。

#### 实施例 20: 化合物 LY-22CI 的制备





### 步骤 1: 化合物 LY-22CI-int-a 的制备

- 5 向化合物 Fmoc-L-瓜氨酸 (10 g, 25.16 mmol, 1 eq) 和甘氨酸叔丁酯 (4.95 g, 37.74 mmol, 1.5 eq) 的 DCM (20 mL) 溶液中, 加入化合物 DIPEA (9.76 g, 75.49 mmol, 3 eq) 和 HATU (11.48 g, 30.19 mmol, 1.2 eq), 反应液在室温下搅拌过夜。LCMS 显示反应完成。向反应液中加入二氯甲烷/甲醇 (10:1, 300mL) 和水

(100mL)，混合物用稀盐酸(0.5M)洗2次，每次100mL，用饱和食盐水洗2次，每次100mL，用无水硫酸钠干燥过滤后减压旋干，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1:9纯化)得到白色固体产物 LY-22CI-int-a (11.90 g, Yield: 92.62%)。LCMS (ESI) : m/z, 511.3[M+H]<sup>+</sup>。

5 步骤 2: 化合物 LY-22CI-int-b 的制备

0°C下向化合物 LY-22CI-int-a (3.20 g, 6.27 mmol, 1 eq) 的 DCM (20mL) 溶液中加入 TFA (4mL)，反应在室温条件下搅拌过夜。LCMS 显示反应完成。反应液减压旋干，残留物通过硅胶柱层析色谱法(C18) (ISCO, R-330g SepaFlash Silica Flash Column, Eluent of 10-45% water (0.225%FA) /CH<sub>3</sub>CN, 100 mL/min) 纯化得到白色固体产物 LY-22CI-int-b (2.02 g, Yield: 70.92%)。LCMS (ESI) : m/z, 455.2[M+H]<sup>+</sup>。

步骤 3: 化合物 LY-22CI-int-c 的制备

向化合物 LY-22CI-int-b (2.02 g, 4.44 mmol, 1 eq) 的 DMF (20 mL) 溶液中加入醋酸 (800.70 mg, 764.03 μL, 13.33 mmol, 3 eq)，醋酸铜 (242.18 mg, 226.76 μL, 1.33 mmol, 0.3 eq) 和醋酸铅 (3.94 g, 1.78 mL, 8.89 mmol, 2 eq)，反应在 60°C 条件下搅拌 1 小时。LCMS 显示反应完成。反应液减压旋干，向残余物中加入饱和 NaHCO<sub>3</sub> 溶液调节 pH=7，加入 DCM/MeOH (10:1, 2000mL)，混合溶液用 DCM/MeOH (10:1) 萃取 3 次，每次 1000mL，合并有机相，用饱和食盐水 (1000mL) 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。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 10:1 纯化)得到白色固体产物 LY-22CI-int-c (540 mg, Yield: 25.93%)。LCMS (ESI) : m/z, 491.3[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 4: 化合物 LY-22CI-int-d 的制备

向化合物 LY-22CI-int-c (200 mg, 426.89 μmol, 1 eq) 和 4-(叔丁基二甲基硅烷基) 氧代-1-丁醇 (174.49 mg, 853.77 μmol, 2 eq) 的 THF (5 mL) 溶液中加入甲磺酸 (73.51 mg, 426.89 μmol, 1 eq)，反应在 35°C 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%HCOOH) -乙腈，水的洗脱比例从 20%到 50%洗脱)得到白色固体产物 LY-22CI-int-d (48.80 mg, Yield: 22.93%)。LCMS (ESI): m/z, 521.3[M+Na]<sup>+</sup>。

30 步骤 5: 化合物 LY-22CI-int-e 的制备

向化合物 LY-22CI-int-d (209 mg, 419.19 μmol, 1 eq) 的 DMF (5 mL) 溶液中加入二(对硝基苯)碳酸酯 (765.13 mg, 510.09 μL, 2.52 mmol, 6 eq) 和 DIPEA (325.06 mg, 415.67 μL, 2.52 mmol, 6 eq)，反应在 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：甲醇/二氯甲烷 0:1 到 10:1 纯化)得到白色固体产物 LY-22CI-int-e (223 mg, Yield: 80.16%)。LCMS (ESI) : m/z, 686.4[M+Na]<sup>+</sup>。

## 步骤 6: 化合物 LY-22CI-int-f 的制备

向化合物 LY-22CI-int-e (223 mg, 336.01  $\mu\text{mol}$ , 1.3 eq) 和依喜替康甲磺酸盐 (137.40 mg, 258.47  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (5 mL) 溶液中加入 DIPEA (100.21 mg, 775.40  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和 HOBt (34.92 mg, 258.47  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 反应在室温下搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完成。反应液通过硅胶柱层析色谱法 (C18) (ISCO, R-120g SepaFlash Silica Flash Column, Eluent of 10-50% water/ $\text{CH}_3\text{CN}$ , 60 mL/min) 纯化得到白色固体产物 LY-22CI-int-f (277 mg, 粗品不计收率)。LCMS (ESI):  $m/z$ , 960.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

## 步骤 7: 化合物 LY-22CI-int 的制备

向化合物 LY-22CI-int-f (277 mg, 粗品) 的 DMF (3 mL) 溶液中加入二乙胺 (211.03 mg, 2.89 mmol, 10 eq), 置于室温下搅拌 2 小时, LCMS 显示原料反应完全。反应液通过硅胶柱层析色谱法 (C18) (ISCO, R-120g SepaFlash Silica Flash Column, Eluent of 5-35% water/ $\text{CH}_3\text{CN}$ , 60 mL/min) 纯化得到白色固体 LY-22CI-int (105 mg, Yield: 49.32%)。LCMS (ESI):  $m/z$ , 738.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

## 步骤 8: 化合物 LY-22CI-a 的制备

室温下向甘氨酸-L-缬氨酸 (61.60 mg, 353.59  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的  $\text{H}_2\text{O}$  (5 mL) 溶液中加入  $\text{NaHCO}_3$  (29.71 mg, 353.59  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 反应液在 25°C 下搅拌 30 分钟后加入 N6-[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]-N2-[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]-L-赖氨酸 2,5-二氧化-1-吡咯烷基酯 (200 mg, 353.59  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 THF (5 mL) 溶液。加完后反应液在 25°C 下搅拌 90 分钟, LCMS 显示反应完成。反应液减压下除去溶剂, 用 1N HCl 调节 pH 为 2, 然后用乙酸乙酯 (20 mL $\times$ 3) 萃取, 合并有机相用饱和食盐水 (60 mL) 洗涤, 加入无水硫酸钠干燥, 减压下旋干, 得到白色油状化合物 LY-22CI-a (240 mg, 粗品)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 647.5 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

## 步骤 9: 化合物 LY-22CI-b 的制备

0°C 下向 LY-22CI-a (38.63 mg, 54.22  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 LY-22CI-int (40 mg, 54.22  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF 溶液 (1 mL) 中分别加入 DIEA (21.02 mg, 26.88  $\mu\text{L}$ , 162.65  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和 HATU (30.92 mg, 81.32  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq)。加完后反应液在 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 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。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, 水的洗脱比例从 50% 到 80% 洗脱) 经冻干得到白色固体化合物 LY-22CI-b (23 mg, Yield: 31.55%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1367.7 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

## 步骤 10: 化合物 LY-22CI-c 的制备

0°C 下向化合物 LY-22CI-b (23 mg, 17.11  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DCM (2.5 mL) 溶液中加入三氟乙酸 (0.5 mL), 加毕, 反应液在 0°C 下搅拌 30 分钟。LCMS 显示

反应完成，反应液直接旋干得到黄色油状化合物 LY-22CI-c (21 mg, 粗品)。

LCMS (ESI) : m/z, 1245.7[M+H]<sup>+</sup>。

步骤 11: 化合物 LY-22CI-d 的制备

0°C下向 LY-22CI-c (21 mg, 16.88 μmol, 1 eq) 和 LY-10b (该化合物的合成  
5 请参考 LY-10 的合成实施例) (38.97 mg, 50.63 μmol, 3 eq) 的 DMF 溶液 (1 mL)  
中分别加入 DIEA (13.09 mg, 16.73 μL, 101.25 μmol, 6 eq) 和 HATU (19.25 mg,  
50.63 μmol, 3 eq)。加完后反应液在 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 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色  
谱柱为 Phenomenex Luna C18 250×30mm×10μm。流动相水 (0.225%HCOOH) -  
10 乙腈, 水的洗脱比例从 30%到 60%洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物  
LY-22CI-d (5 mg, Yield: 14.84%)。

LCMS (ESI) : m/z, 998.4[(M+2)/2]<sup>+</sup>。

步骤 12 :化合物 LY-22CI-e 的制备

0°C下向化合物 LY-22CI-d (5 mg, 2.50 μmol, 1 eq) 的 DMF (0.5 毫升) 溶液  
15 中加入二乙胺 (915.99 μg, 1.29 μL, 12.52 μmol, 5 eq), 加毕, 反应液在 25°C下  
搅拌 30 分钟。LCMS 显示反应完成, 反应液直接旋干得到浅黄色油状化合物  
LY-22CI-e (4.44 mg, 粗品)。

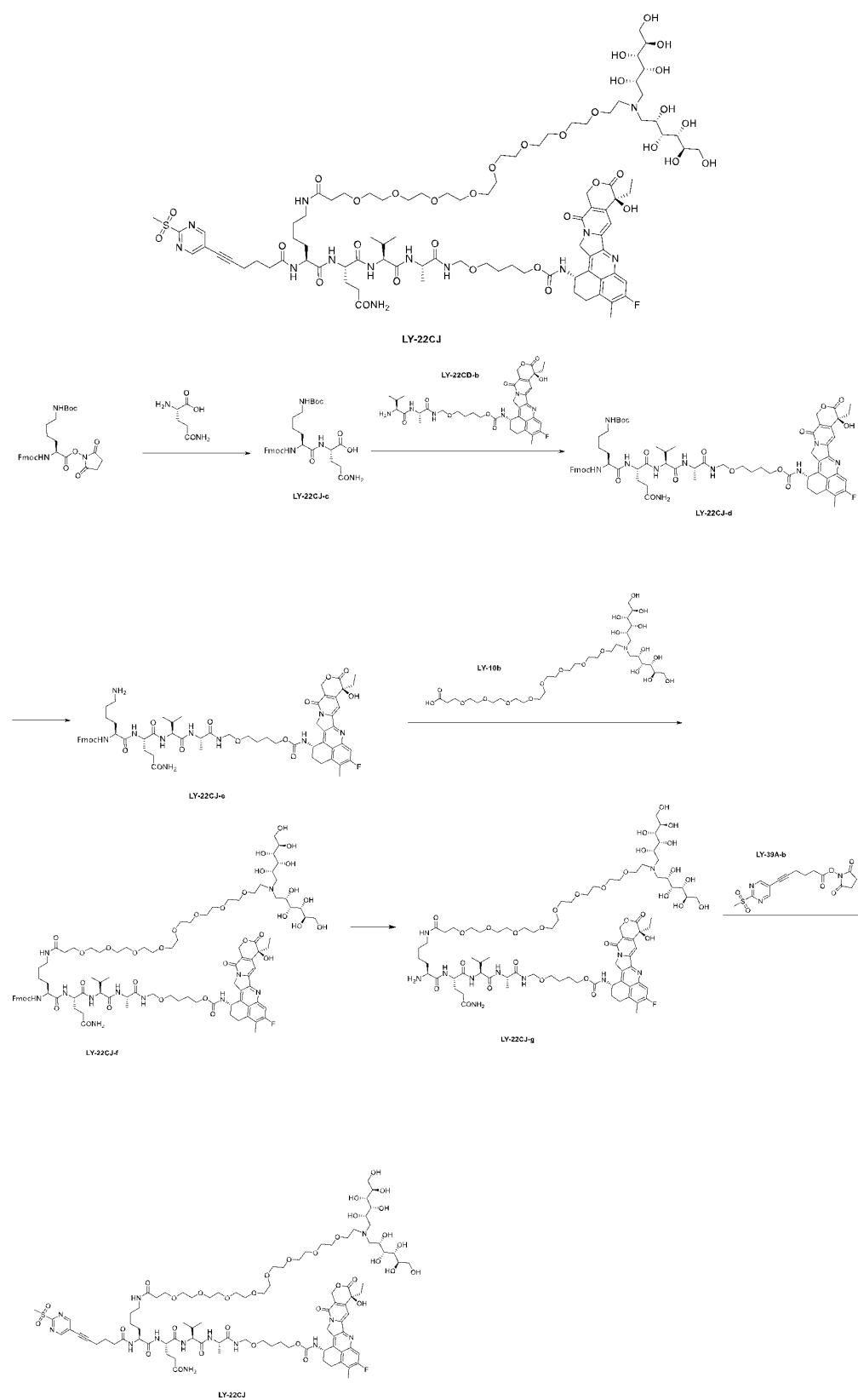
LCMS (ESI) : m/z, 887.7[(M+2)/2]<sup>+</sup>。

步骤 13 : 化合物 LY-22CI 的制备

20 向 LY-22CI-e (4.44 mg, 2.50 μmol, 1 eq) 的 DMF (0.5 毫升) 溶液中依次加  
入 LY-39b(该化合物的合成请参考 LY-39 的合成实施例)(2.03 mg, 90%, 5.01 μmol,  
2 eq) 和 DIEA (970.41 μg, 1.24 μL, 7.51 μmol, 3 eq), 加毕, 反应液在 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。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×21.2mm×5μm。流动相  
25 水 (0.225%FA) -乙腈, 水的洗脱比例从 30%到 60%洗脱) 纯化, 经冻干得到白  
色固体化合物 LY-22CI (1.92 mg, Yield: 37.90%)。

LCMS (ESI) : m/z, 1012.8[(M+2)/2]<sup>+</sup>。

实施例 21: 化合物 LY-22CJ 的制备



步骤 1：化合物 N2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-N6-(叔丁氧基羰基)-L-赖氨酸-L-谷氨酰胺的制备

将 L-谷氨酰胺乙酯 (194.65 mg, 1.87 mmol, 3 eq) 溶于水 (15 mL) 中, 加入 NaHCO<sub>3</sub> (96.54 mg, 52.47  $\mu$ L, 1.15 mmol, 1.3 eq), 0°C 下, 再加入 2,5-二氧代吡咯烷-1-基 N2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-N6-(叔丁氧基羰基)-L-赖氨酸盐 (500 mg, 883.98  $\mu$ mol, 1 eq) 的 THF (15 mL) 溶液, 反应置于 25°C 下搅拌 12 小时。LCMS 显示反应完成, 反应液用 1 N 盐酸水溶液调节 pH=5, 用乙酸乙酯萃取 (50 mL  $\times$  2), 有机相用无水硫酸钠干燥、过滤, 浓缩, 残留物通过硅胶柱层析色谱法 (C18) (ISCO, R-220g SepaFlash Silica Flash Column, Eluent of 10-50% water/CH<sub>3</sub>CN, 100 mL/min) 纯化, 得到白色固体 (500 mg, Yield: 94.80%)。

LCMS (ESI) : m/z, 619.4[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 2：化合物 LY-22CJ-d 的制备

向化合物 N2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-N6-(叔丁氧基羰基)-L-赖氨酸-L-谷氨酰胺 (30 mg, 50.28  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 LY-22CD-b (该化合物的合成请参考 LY-22CD 的合成实施例) (37.75 mg, 50.28  $\mu$ mol, 1 eq) 和 DIPEA (13 mg, 16.62  $\mu$ L, 100.56  $\mu$ mol, 2 eq), 0°C 下, 加入 HATU (28.68 mg, 75.42  $\mu$ mol, 1.5 eq), 反应在 25°C 下搅拌 1 小时, LCMS 显示有目标产物生成。反应液通过高效液相色谱纯化, 得白色固体产物 LY-22CJ-d (30 mg, Yield: 44.88%)。

高效液相色谱条件如下:

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, 水的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱。

LCMS (ESI) : m/z, 1329.9[M+H]<sup>+</sup>。

步骤 3：化合物 LY-22CJ-e 的制备

0°C 下, 向 LY-22CJ-d (25 mg, 18.80  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DCM (3 mL) 溶液中加入 TFA (3.84 g, 2.50 mL, 33.66 mmol, 1789.834 eq), 10°C 下搅拌 0.5 小时, LCMS 显示原料反应完全。反应液直接旋干, 得到黄色油状产物 (20 mg, Yield: 86.52%), 直接用于下一步。

LCMS (ESI) : m/z, 1229.7 [M+H]<sup>+</sup>。

步骤 4：化合物 LY-22CJ-f 的制备

向化合物 LY-22CJ-e (20 mg, 16.27  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 LY-10b (25.05 mg, 32.54  $\mu$ mol, 2 eq) 和 DIPEA (2.10 mg, 2.69  $\mu$ L, 16.27  $\mu$ mol, 1 eq), 0°C 下, 加入 HATU (9.28 mg, 24.40  $\mu$ mol, 1.5 eq), 并置于 25°C 下搅拌 1 小时, LCMS 显示原料反应完全, 反应液通过高效液相色谱纯化, 得白色固体产物 LY-22CJ-f (20 mg, Yield: 62.05%)。

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×10μm。流动相水（0.225% $\text{HCOOH}$ ）-乙腈，水的洗脱比例从 20%到 50%洗脱。

5 LCMS (ESI) :  $m/z$ , 1982.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 5: 化合物 LY-22CJ-g 的制备

向 LY-22CJ-f (10 mg, 5.05 μmol, 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入  $\text{Et}_2\text{NH}$  (1.85 mg, 2.60 μL, 25.24 μmol, 5 eq)，并置于室温下搅拌 1 小时，LCMS 显示原料反应完全。反应液直接旋干，得黄色油状产物 (8 mg, Yield: 90.11%)，直接  
10 用于下一步。

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 880.1 $[(\text{M}+2\text{H})/2]^+$ 。

步骤 6: 化合物 LY-22CJ 的制备

向化合物 LY-22CJ-g (8 mg, 4.55 μmol, 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入 2,5-二氧化吡咯烷-1-基-6-(2-(甲基磺酰基)嘧啶-5-基)己-5-炔酸酯 (1.76 mg, 2.26 μL, 13.64 μmol, 3 eq)，DIPEA (1.76 mg, 2.26 μL, 13.64 μmol, 3 eq)，并置于室  
15 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，得到白色固体产物 LY-22CJ (1.23 mg, Yield: 13.46%, Purity: 96%)。

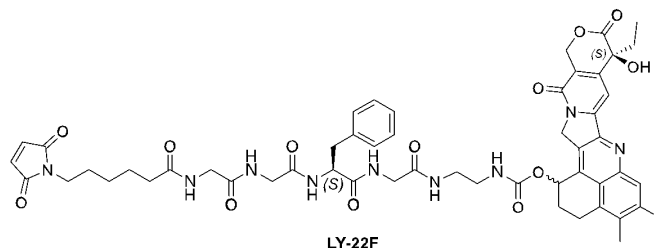
高效液相色谱条件如下：

制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 BRIX-2860。色谱柱为 Welch Xtimate C18  
20 250×30mm×10μm。流动相水（0.225% $\text{HCOOH}$ ）-乙腈，水的洗脱比例从 20%到 50%洗脱。

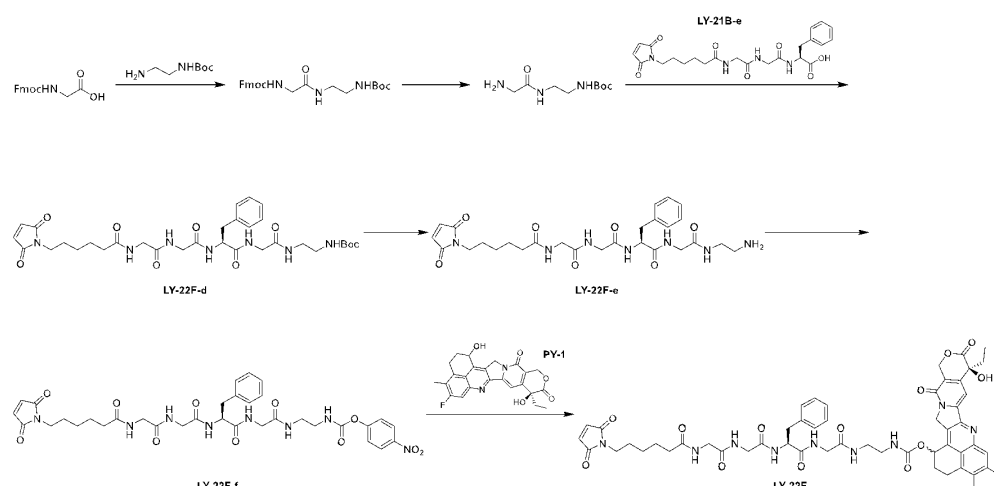
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  9.11 (s, 2H), 8.59 (t,  $J = 6.6$  Hz, 1H), 8.11 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 8.04 (dd,  $J = 7.5, 4.4$  Hz, 2H), 7.92 (d,  $J = 8.9$  Hz, 1H), 7.82-7.75 (m, 2H), 7.69 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.25 (s, 1H), 6.82-6.74 (m, 1H), 6.53 (s, 1H),  
25 5.43 (s, 2H), 5.24 (s, 3H), 4.66-4.39 (m, 6H), 4.33 (q,  $J = 5.7$  Hz, 2H), 4.28 – 4.02 (m, 7H), 3.75 (t,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 3.56 (t,  $J = 6.5$  Hz, 5H), 3.54-3.43 (m, 23H), 3.41 (s, 3H), 3.23 (s, 8H), 3.16-3.03 (m, 4H), 2.98 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 2.59-2.52 (m, 3H), 2.38 (d,  $J = 1.9$  Hz, 3H), 2.34-2.23 (m, 4H), 2.22-2.05 (m, 5H), 1.89-1.87 (m, 9H), 1.67-1.42 (m, 7H), 1.40-1.14 (m, 8H), 0.92 – 0.73 (m, 8H)。

30

实施例 22: 化合物 LY-22F 的制备







步骤 1: N-{2-[2-({[(9H-苈-9-基)甲氧基]羰基}氨基)乙酰胺基]乙基}氨基甲酸叔丁酯的制备

氮气氛下, 将((9H-苈-9-基)甲氧基)羰基)甘氨酸 (300 mg, 1.01 mmol, 1 eq) 溶于 DMF (10 mL)。室温下, 加化合物 N-叔丁氧羰基乙二胺 (193.99 mg, 190.94  $\mu$ L, 1.21 mmol, 1.2 eq) 和 DIPEA (195.61 mg, 250.15  $\mu$ L, 1.51 mmol, 1.5 eq), 然后再加入 HATU (575.52 mg, 1.51 mmol, 1.5 eq)。该反应液在 15°C 搅拌 2 小时。反应液直接用于下一步反应, 产物量按理论收率计算 (440 mg, 收率: 99.21%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 462.2  $[M+Na]^+$ 。

步骤 2: N-[2-[(2-氨基乙酰基)氨基]乙基]-氨基甲酸 1,1-二甲基乙酯的制备

将 N-{2-[2-({[(9H-苈-9-基)甲氧基]羰基}氨基)乙酰胺基]乙基}氨基甲酸叔丁酯 (440 mg, 1 mmol, 1 eq) 溶于 DMF (5 mL), 向该溶液中加入 DBU (76.20 mg, 74.78  $\mu$ L, 500.56  $\mu$ mol, 0.5 eq), 该溶液在 20°C 搅拌 2 小时。反应液不做任何处理, 产物按理论量 200 mg (收率: 91.95%) 计算, 直接用于下一步。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 259.3  $[M+H+MeCN]^+$ 。

步骤 3: 化合物 LY-22F-d 的制备

0°C 下, 向化合物 (2-(2-氨基乙酰氨基)乙基)氨基甲酸叔丁酯 (100 mg, 460.26  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DMF (3 mL) 溶液中, 加入 LY-21B-e (217.47 mg, 460.26  $\mu$ mol, 1 eq), 再依次加入 TsOH (39.63 mg, 37.04  $\mu$ L, 230.13  $\mu$ mol, 0.5 eq)、HOBt (62.19 mg, 41.46  $\mu$ L, 460.26  $\mu$ mol, 1 eq), 最后加入 EDCI (88.23 mg, 100.61  $\mu$ L, 460.26  $\mu$ mol, 1 eq), 反应液在 20°C 下搅拌 2 小时。反应液通过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, BRIX-2860 (R1, 4,5,6))。色谱柱为 Synergi Max-RP 250 $\times$ 40mm $\times$ 10 $\mu$ m。流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 21% 到 51% 洗脱) 纯化, 得到白色固体产物 (120 mg, 收率: 38.81%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 694.3  $[M+Na]^+$ 。

步骤 4: 化合物 LY-22F-e 的制备

将化合物 LY-22F-d (120 mg, 178.64  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DCM (3 mL) /TFA (1 mL), 反应液在 15°C 搅拌 2 小时。反应液减压浓缩, 得到黄色油状产物 (100 mg, 收率: 97.93%)。

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 572.3  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

#### 5 步骤 5: 化合物 LY-22F-f 的制备

将化合物 LY-22F-e (100 mg, 174.94  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DMF (3 mL), 向该反应液中加入 DIPEA (67.83 mg, 86.73  $\mu\text{L}$ , 524.81  $\mu\text{mol}$ , 3 eq), 然后加入双(4-硝基苯基)碳酸酯 (106.43 mg, 70.96  $\mu\text{L}$ , 349.87  $\mu\text{mol}$ , 2 eq)。反应液在 30°C 搅拌 12 小时。反应液减压浓缩, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 二氯甲烷/甲醇 1:0 到 1:10) 纯化, 得到无色油状产物 (120 mg, 收率: 93.11%)。

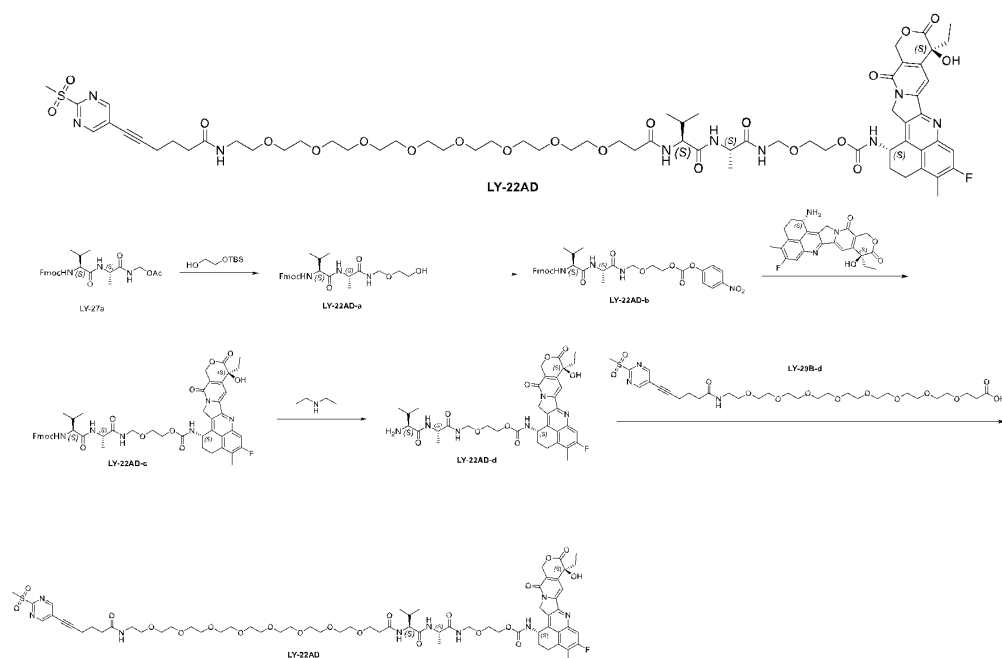
LCMS (ESI) :  $m/z$ , 737.3  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

#### 步骤 6: 化合物 LY-22F 的制备

将化合物 LY-22F-f (25.32 mg, 34.37  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq) 溶于 DMF (1 mL), 加入 PY-1 (10 mg, 22.91  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 DIPEA (8.88 mg, 11.36  $\mu\text{L}$ , 68.74  $\mu\text{mol}$ , 3 eq)。反应液通过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, BRIX-2860 (R1,4, 5,6))。色谱柱为 Synergi Max-RP 250 $\times$ 40mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) -乙腈, 水的洗脱比例从 21% 到 51% 洗脱) 纯化, 得到两个批次白色固体产物 (保留时间不同, 应该是 2 个异构体), 产物量分别为 (1.67 mg, 收率: 6.77%, 纯度: 96%), (2.46 mg, 收率: 9.97%, 纯度: 96%)。

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 1056.4  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

#### 实施例 23: 化合物 LY-22AD 的制备



## 步骤 1：化合物 LY-22AD-a 的制备

0°C下，向化合物 LY-27a (800 mg, 1.66 mmol, 1 eq) 的 THF (10mL) 溶液中加入 2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙烷-1-醇 (585.87 mg, 3.32 mmol, 2 eq) 和 TsOH (85.82 mg, 80.21  $\mu$ L, 498.39  $\mu$ mol, 0.3 eq)，加毕，30°C (外温) 反应 3 小时。反应液冷却到室温，减压浓缩，残余物通过常规反相 Flash 纯化，冻干得到白色固体化合物 LY-22AD-a (342 mg, 收率：42.57%)。

LCMS (ESI)：m/z, 506.3[M+H]<sup>+</sup>, Rt=1.817 min。

## 步骤 2：化合物 LY-22AD-b 的制备

0°C下向化合物 LY-22AD-a (43.01 mg, 93%, 82.72  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DMF (4mL) 溶液中加入二(对硝基苯)碳酸酯 (50.33 mg, 33.55  $\mu$ L, 165.44  $\mu$ mol, 2 eq) 和 DIEA (32.07 mg, 41.01  $\mu$ L, 248.15  $\mu$ mol, 3 eq)。加毕反应液在 30°C (外温) 搅拌 2 小时。反应液减压浓缩得到粗品，粗品通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂：二氯甲烷/甲醇 20:1 到 10:1) 纯化，得到化合物 LY-22AD-b (61 mg, 收率：80.72%，纯度：71%)。

LCMS (ESI)：m/z, 671.3[M+H]<sup>+</sup>。Rt=2.645 min。

## 步骤 3：化合物 LY-22AD-c 的制备

将伊喜替康甲磺酸盐 (35.49 mg, 66.77  $\mu$ mol, 1 eq) 溶于 DMA (3mL)，加入 DIPEA (8.63 mg, 11.03  $\mu$ L, 66.77  $\mu$ mol, 1 eq)，该反应液在 25°C下搅拌 10 分钟，然后加入 LY-22AD-b (61 mg, 71%, 66.77  $\mu$ mol, 1 eq)、HOBt (4.51 mg, 3.01  $\mu$ L, 33.38  $\mu$ mol, 0.5 eq) 和吡啶 (26.41 mg, 27  $\mu$ L, 333.84  $\mu$ mol, 5 eq)。氮气氛下，反应液在 25°C搅拌 3 小时。LCMS 显示有 7%原料剩余，补加 DIPEA (17 mg, 2.0 eq)，反应液继续在 25°C搅拌 2 小时。反应液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 Welch Xtimate C18 250×30mm×10 $\mu$ m。流动相：水 (0.225%FA) -乙腈，水的洗脱比例从 50%到 80% 洗脱) 纯化，冻干后得白色固体产物 LY-22AD-c (43 mg, 粗品，收率：61.34%，纯度：90%)。

LCMS (ESI)：m/z, 945.5[M+H]<sup>+</sup>。Rt=2.606 min。

## 步骤 4：化合物 LY-22AD-d 的制备

0°C下向化合物 LY-22AD-c (43 mg, 90%, 40.95  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DMF (3 mL) 溶液中加入二乙胺 (14.98 mg, 21.09  $\mu$ L, 204.76  $\mu$ mol, 5 eq)，加毕反应液在 25°C下搅拌 2 小时。反应液减压浓缩，得黄色固体化合物 LY-22AD-d (29 mg, 粗品收率不计)。

LCMS (ESI)：m/z, 745.4[M+Na]<sup>+</sup>, Rt=1.323 min。

## 步骤 5：化合物 LY-22AD 的制备

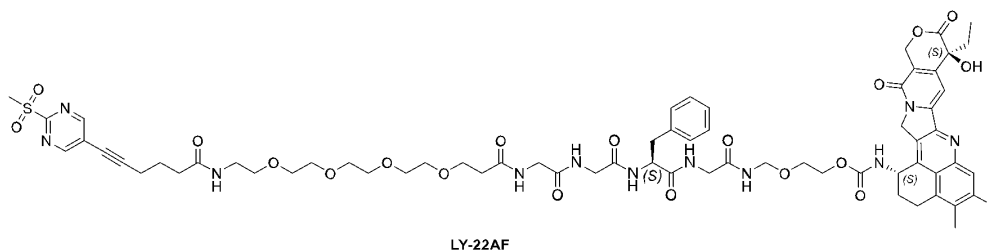
0°C下向化合物 LY-29B-d (16.89 mg, 85%, 20.75  $\mu$ mol, 1 eq)、化合物 LY-22AD-d

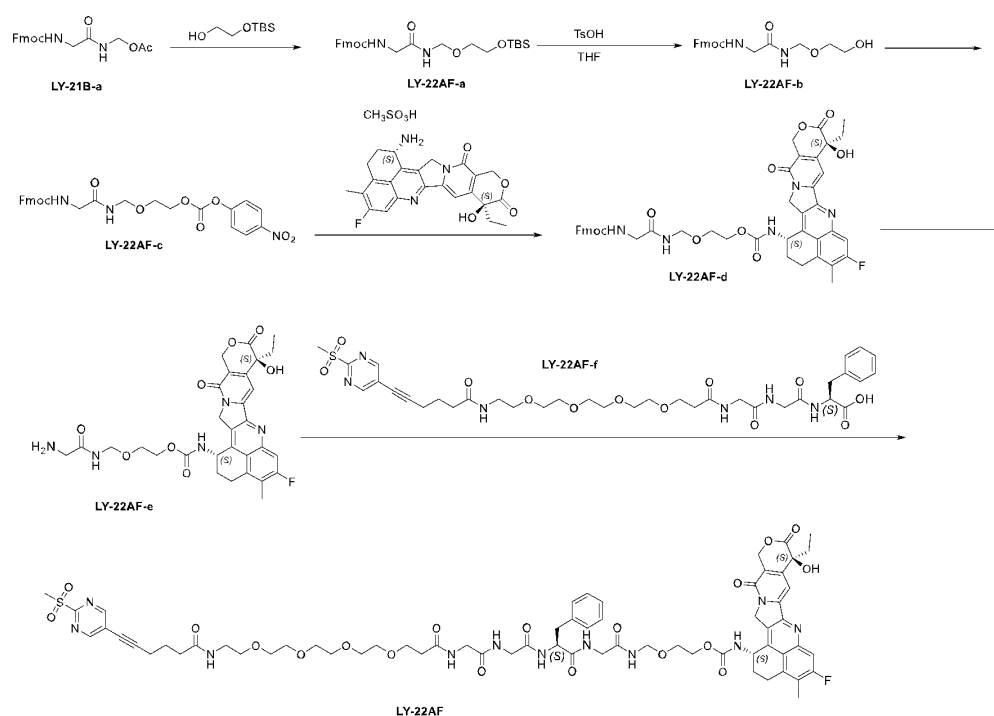
(15 mg, 20.75  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (3 mL) 溶液中加入 DIEA (8.05 mg, 10.29  $\mu\text{L}$ , 62.26  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和 HATU (9.47 mg, 24.90  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 加毕 25°C 反应 2 小时。反应液通过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 150 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相: 水 (0.225%FA) - 乙腈, 水的洗脱比例从 30%到 60%洗脱) 纯化, 冻干得白色固体化合物 LY-22AD (6.18 mg, 收率: 21.32%, 纯度: 97.98%)。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.11 (s, 2H), 8.59 (s, 1H), 8.04 (d,  $J = 6.9$  Hz, 2H), 7.93 (s, 1H), 7.85 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 7.78 (d,  $J = 10.9$  Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.25 (s, 3H), 4.57 (dd,  $J = 16.9, 6.6$  Hz, 2H), 4.26 – 4.10 (m, 4H), 3.59 (d,  $J = 6.3$  Hz, 3H), 3.53 – 3.44 (m, 22H), 3.40 (d,  $J = 2.8$  Hz, 10H), 3.20 (q,  $J = 5.8$  Hz, 4H), 2.57 – 2.53 (m, 2H), 2.43 (t,  $J = 6.9$  Hz, 2H), 2.40 – 2.36 (m, 3H), 2.26 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 2.17 (d,  $J = 9.7$  Hz, 2H), 1.94 – 1.76 (m, 5H), 1.20 (d,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 0.91 – 0.75 (m, 8H)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1418.8 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,  $R_t=1.803$  min。HPLC: $R_t=4.812$  min。

#### 实施例 24: 化合物 LY-22AF 的制备





#### 步骤 1: 化合物 LY-22AF-a 的制备

将 2-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)乙烷-1-醇 (311.1 mg, 2.0eq) 和化合物  
 5 (2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙酰胺基)乙酸甲酯 (成都正善达) (325 mg, 1.0 eq) 溶解于无水四氢呋喃 (15 mL) 中, 加入对甲苯磺酸 (45.58 mg, 0.3eq) 后, 于 25°C 搅拌反应 1 小时。反应液直接用于下一步。

LCMS:  $m/z = 507.3$   $[M+Na]^+$ ;  $R_t = 3.030$  min。

#### 步骤 2 : 化合物 LY-22AF-b 的制备

10 向化合物 LY-22AF-a (427 mg) 的反应液中加入对甲苯磺酸 (45.51 mg, 0.3 eq), 然后于 25°C 搅拌 1 小时。将反应液减压浓缩, 残余物用少量 DMF 溶解后过滤, 滤液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 250×50mm×10μm。流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 20% 到 50% 洗脱) 纯化, 得到化合物 LY-22AF-b (190 mg, 收率 58.2%)。

15 LCMS:  $m/z = 393.2$   $[M+Na]^+$ ;  $R_t = 1.496$  min。

#### 步骤 3: 化合物 LY-22AF-c 的制备

20 将化合物 LY-22AF-b (370 mg, 1.0eq) 溶解于无水 DMF (5 mL) 中, 0°C 下加入 DIPEA (471 μL, 3.0eq) 和二(对硝基苯)碳酸酯 (577.4 mg, 2.0 eq) 后, 升温至 25°C 搅拌反应 2 小时。将反应液过滤, 滤液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 Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm。流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 得到化合物 LY-22AF-c (235 mg, 收率 32.4 %, 纯度 70.4%)。

LCMS:  $m/z = 558.3$   $[M+Na]^+$ ;  $R_t = 2.433$  min。

#### 步骤 4: 化合物 LY-22AF-d 的制备

将伊喜替康甲磺酸盐 (76.3 mg, 1.0eq) 溶解于无水 DMF (5 mL) 中, 向其中加入 DIPEA (23.7  $\mu$ L, 1.0 eq) 后, 于 25°C 搅拌十分钟。然后依次加入化合物 LY-22AF-c (142.8 mg, 1.3eq) 和吡啶 (58.1  $\mu$ L, 5.0eq)、HOBT (9.7 mg, 0.5eq), 补加 DIPEA (71.2  $\mu$ L, 3.0 eq), 于 25°C 搅拌反应 2 小时。将反应液过滤, 滤液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 Welch Xtimate 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) 纯化, 得到化合物 LY-22AF-d (130 mg, 收率 80 %, 纯度 85.8%)。

LCMS:  $m/z = 854.3$   $[M+Na]^+$ ;  $R_t = 2.303$  min。

#### 步骤 5: 化合物 LY-22AF-e 的制备

将化合物 LY-22AF-d (110 mg, 1.0 eq) 溶解于无水 DMF (2 mL) 中, 加入二乙胺 (117.1  $\mu$ L, 10.0eq) 后, 于 25°C 搅拌反应 2 小时。将反应液减压浓缩, 粗品直接用于下一步反应。

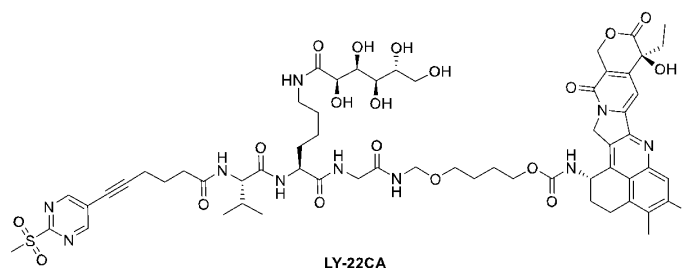
LCMS:  $m/z = 610.3$   $[M+H]^+$ ;  $R_t = 1.169$  min。

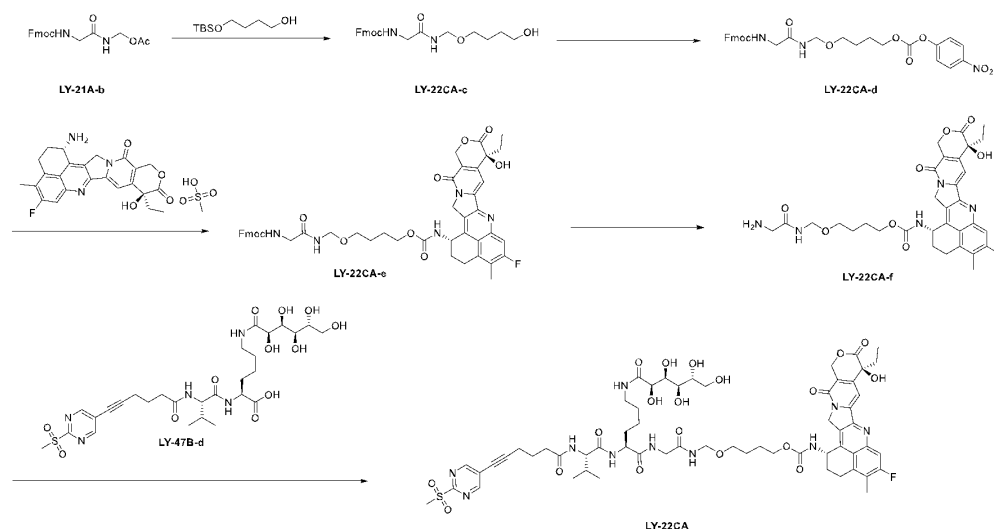
#### 步骤 6: 化合物 LY-22AF 的制备

将化合物 LY-22AF-e (40 mg, 1.0eq) 和化合物 LY-22CE-f (63.7 mg, 1.0eq) 溶解于无水 DMF (2 mL) 中, 0°C 下加入 DIPEA (32.5  $\mu$ L, 3.0eq) 和 HATU (37.4 mg, 1.5 eq), 然后升温至 25°C 搅拌反应 2 小时。将反应液过滤, 滤液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 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) 纯化, 得到产品 LY-22AF (8.10 mg, 收率 8.67 %)。

LCMS:  $m/z = 1391.5$   $[M+Na]^+$ ;  $R_t = 1.730$  min。

#### 实施例 25: 化合物 LY-22CA 的制备





### 步骤 1: 化合物 LY-22CA-c 的制备

向化合物 LY-21A-b (1 g, 2.36 mmol, 1 eq) 和 4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丁-1-醇 (965.3 mg, 4.72 mmol, 2 eq) 的四氢呋喃 (20 mL) 溶液中加入对

5 甲苯磺酸 (122 mg, 708.51  $\mu$ mol, 0.3 eq), 并置于 30°C 搅拌 3 小时。反应液加水 (20 mL) 淬灭, 用乙酸乙酯 (20 mL) 萃取水相 3 次, 合并有机相用饱和食盐水 (30 mL) 洗涤 1 次, 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 1:2-1:1) 纯化, 得化合物 LY-22CA-c (519 mg, 收率=55.1%)。

10 LCMS (ESI):  $m/z$ , 421[M+Na]<sup>+</sup>。

### 步骤 2: 化合物 LY-22CA-d 的制备

向化合物 LY-22CA-c (519 mg, 1.3 mmol, 1 eq) 和二(对硝基苯)碳酸酯 (790.5 mg, 2.6 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 (0.64 mL, 3.9 mmol, 3 eq), 并置于室温下搅拌 2 小时。加水 (10 mL) 淬

15 灭, 用乙酸乙酯 (10 mL) 萃取水相 3 次, 合并有机相用饱和食盐水 (20 mL) 洗涤 1 次, 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 1:3-1:1) 纯化, 得化合物 LY-22CA-d (425.1 mg, 收率=58.0%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 586[M+Na]<sup>+</sup>。

其余步骤与实施例 16 相同, 除了用 LY-22CA-d 代替化合物 LY-22AF-c, 用

20 LY-47B-d 代替 LY-22CE-f, 制得化合物 LY-22CA。

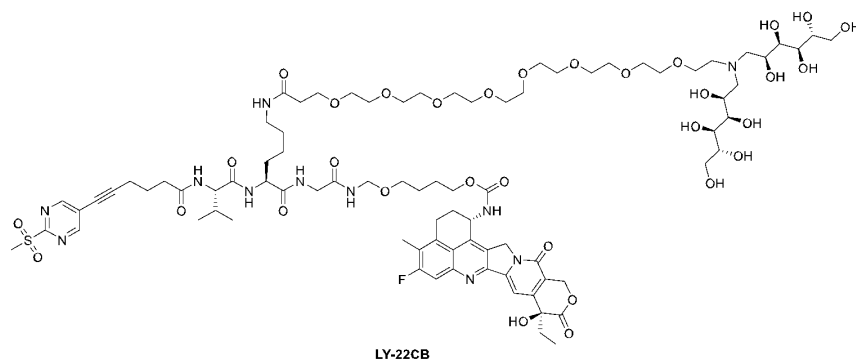
LCMS (ESI):  $m/z$ , 1293[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  9.11 (s, 2H), 8.51 (t,  $J$  = 6.6 Hz, 1H), 8.17 (t,  $J$  = 5.8 Hz, 1H), 8.04 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 1H), 7.93 (dd,  $J$  = 8.6, 4.6 Hz, 2H), 7.77 (d,  $J$  = 10.8 Hz, 1H), 7.63 (t,  $J$  = 6.0 Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.37 (d,  $J$  = 5.0 Hz, 1H), 5.23 (d,  $J$  = 3.6 Hz, 2H), 4.51 (ddd,  $J$  = 17.6, 9.8, 5.6 Hz, 4H), 4.40 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 1H), 4.34 (s, 1H), 4.21- 4.13 (m, 2H), 4.07 (d,  $J$  = 6.0 Hz, 2H), 3.97 (d,  $J$  = 4.2

25

Hz, 1H), 3.90 (s, 1H), 3.70 (qd,  $J = 16.8, 5.6$  Hz, 2H), 3.57 (d,  $J = 11.2$  Hz, 1H), 3.47 (s, 2H), 3.41 (s, 7H), 3.06 (ddt,  $J = 27.2, 13.2, 6.6$  Hz, 4H), 2.55 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 2.38 (d,  $J = 2.0$  Hz, 4H), 2.24-2.11 (m, 2H), 2.02-1.88 (m, 2H), 1.89-1.77 (m, 4H), 1.62 (q,  $J = 6.8, 6.2$  Hz, 3H), 1.58-1.49 (m, 3H), 1.39 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 1.25 (d,  $J = 12.8$  Hz, 2H), 0.91-0.78 (m, 9H).  $^{19}\text{F}$  NMR (377 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  -111.35.

### 实施例 26: 化合物 LY-22CB 的制备







### 步骤 1：LY-22CB-c 的制备

- 5 冰浴下，向化合物 LY-37d (10.68 mg, 18.82  $\mu\text{mol}$ , 1.2eq) 和化合物 LY-22CA-f (10 mg, 15.68  $\mu\text{mol}$ , 1 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 (5.18  $\mu\text{L}$ , 31.36  $\mu\text{mol}$ , 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 (7.75 mg, 20.39  $\mu\text{mol}$ , 1.3 eq)，而后恢复室温搅拌 2 小时。反应液通过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。色谱柱
- 10 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 48%到 78%洗脱)，得产物 LY-22CB-c (14.4 mg, 收率=40.7%)。

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 1187 $[M+H]^+$ 。

步骤 2: LY-22CB-d 的制备

向化合物 LY-22CB-c (14.4 mg, 12.13  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (1 mL) 溶液中加入二乙胺 (6.25  $\mu\text{L}$ , 60.64  $\mu\text{mol}$ , 5 eq), 并置于室温下搅拌 2 小时。减压浓缩, 得粗品 LY-22CB-d (14.7 mg)。

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 965 $[M+H]^+$ 。

步骤 3: LY-22CB-f 的制备

向化合物 LY-39A-b (8.85 mg, 24.22  $\mu\text{mol}$ , 2 eq) 的二氯甲烷 (1 mL) 溶液中加入 *N,N*-二异丙基乙胺 (6  $\mu\text{L}$ , 36.33  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和 LY-22CB-d (14.7 mg, 12.11  $\mu\text{mol}$ , 1 eq, 79.5% 纯度), 并置于室温下搅拌过夜。反应物通过高效液相色谱法 (制备色谱厂家 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。色谱柱为 YMC-Triart Prep 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) 纯化, 得产物 LY-22CB-f (10.1 mg, Yield=68.63%)。

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 1215 $[M+H]^+$ 。

步骤 4: LY-22CB-g 的制备

冰浴下, 向化合物 LY-22CB-f (10.1 mg, 8.31  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的二氯甲烷 (2 mL) 溶液中加入三氟乙酸 (0.2 mL), 并置于冰浴下搅拌 2 小时。减压浓缩, 得粗品 LY-22CB-g (16.4 mg)。

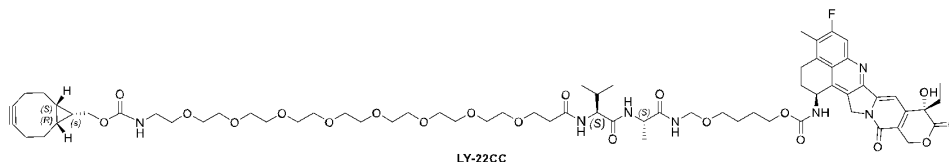
LCMS (ESI) :  $m/z$ , 1115 $[M+H]^+$ 。

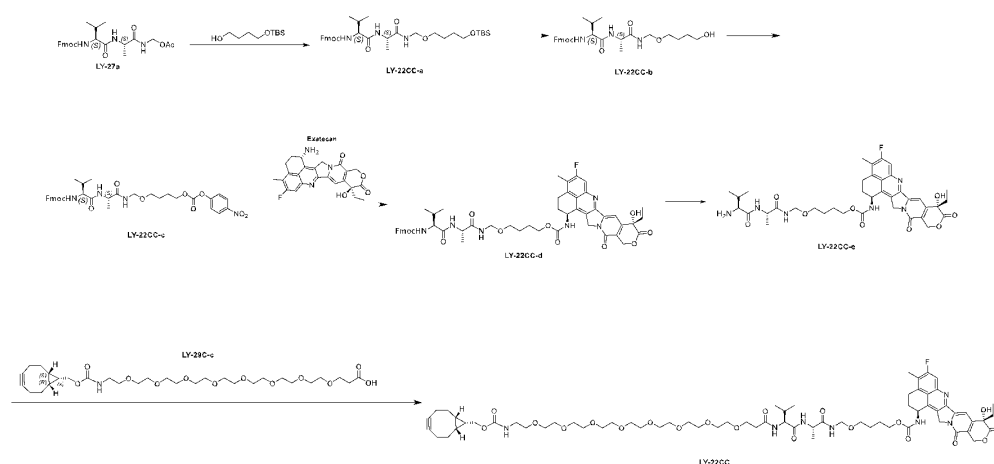
步骤 5: LY-22CB 的制备

向化合物 LY-22CB-g (16.4 mg, 8.31  $\mu\text{mol}$ , 1 eq, 56.5% 纯度) 和化合物 LY-10b (19.2 mg, 24.93  $\mu\text{mol}$ , 3 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 (8.24  $\mu\text{L}$ , 49.85  $\mu\text{mol}$ , 6 eq) 和 *N,N,N',N'*-四甲基-O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)六氟磷酸脲 (6.32 mg, 16.62  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 置于室温搅拌 2 小时。反应液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 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 21% 到 51% 洗脱) 纯化, 得产物 LY-22CB (1.83 mg, 收率=11.8%)。

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 1866 $[M+H]^+$ 。

实施例 27: 化合物 LY-22CC 的制备





### 步骤 1: 化合物 LY-22CC-a 的制备

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-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丁-1-醇 (424.42 mg, 2.08 mmol, 2 eq) 和 TsOH (16.46 mg, 15.38  $\mu$ L, 95.59  $\mu$ mol, 1 eq), 该反应液在 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

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, 水的洗脱比例从 40% 到 70% 洗脱) 纯化, 得白色固体化合物 LY-22CC-b (70 mg, 收率: 17.13%)。

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

### 步骤 3: 化合物 LY-22CC-c 的制备

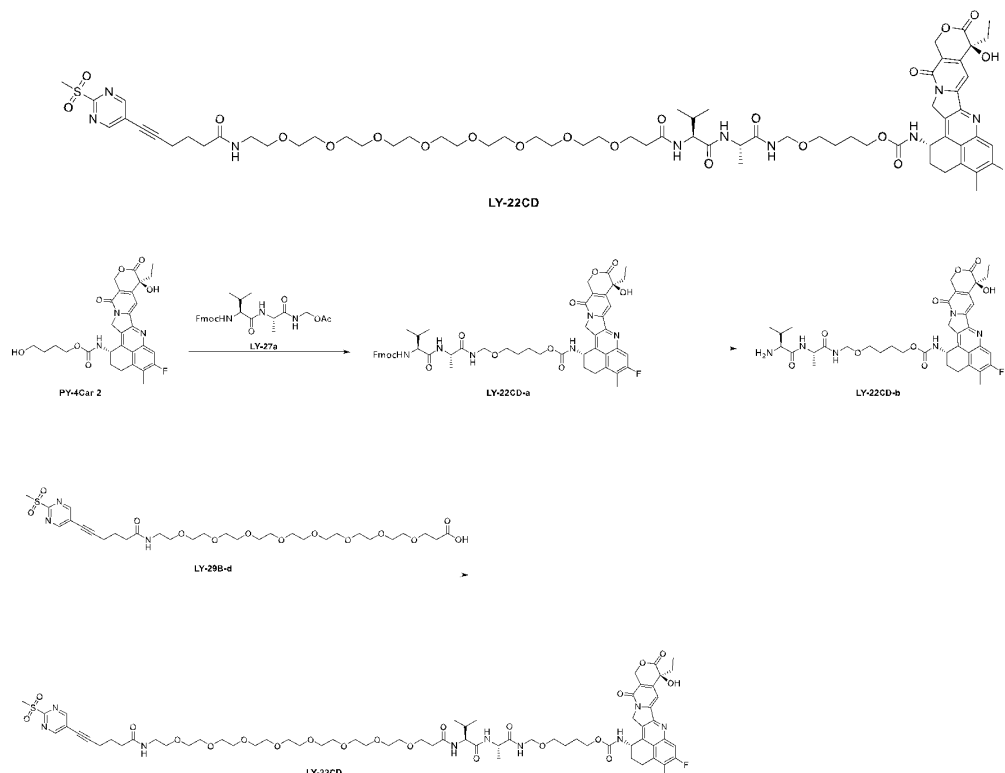
将化合物 LY-22CC-b (70 mg, 136.82  $\mu$ mol, 1 eq) 溶于 DMF (5 mL) 的溶液中, 加入双(4-硝基苯基)碳酸酯 (83.24 mg, 55.50  $\mu$ L, 273.64  $\mu$ mol, 2 eq) 和 DIPEA (53.05 mg, 67.84  $\mu$ L, 410.46  $\mu$ mol, 3 eq)。反应液在 15°C 下搅拌 12 小时。反应液浓缩大部分 DMF, 加入 DCM (30 mL), 用水 (30 mL) 洗涤, 有机相干燥过滤, 减压浓缩, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: DCM:MeOH=0:1~5:1) 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  $[M+Na]^+$ 。

其余步骤与实施例 16 相同, 除了用 LY-22CC-c 代替 LY-22AF-c, 用 LY-29C-c 代替 LY-22CE-f, 制得化合物 LY-22CC。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1350.7  $[M+H]^+$ 。

## 实施例 28：化合物 LY-22CD 的制备



## 5 步骤 1：LY-22CD-a 的制备

向 PY-4Car2 (25.25 mg, 45.66  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和化合物 LY-27a (219.87 mg, 456.59  $\mu\text{mol}$ , 10 eq) 的四氢呋喃 (5 mL) 溶液中加入对甲苯磺酸 (7.86 mg, 45.66  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 并置于 30°C 下搅拌 20 小时。将反应液浓缩后, 用 *N,N*-二甲基甲酰胺溶解后过滤, 滤液通过高效液相制备色谱法(制备色谱厂家 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。色

10 谱柱为 XT-15\*30-10。流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 60% 到 90% 洗脱) 纯化, 得产物 LY-22CD-a (12.8 mg, Yield=28.81%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 995[M+Na]<sup>+</sup>。

## 步骤 2：LY-22CD-b 的制备

将化合物 LY-22CD-a (12.8 mg, 12.15  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (2 mL) 溶液中加入二乙胺 (6.78  $\mu\text{L}$ , 65.77  $\mu\text{mol}$ , 5 eq), 并置于室温下搅拌 2 小时。减压浓缩得粗品 LY-22CD-b (15 mg)。

15

LCMS (ESI):  $m/z$ , 773[M+Na]<sup>+</sup>。

## 步骤 3：LY-22CD 的制备

将化合物 LY-22CD-b (9.88 mg, 13.16  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和化合物 LY-29B-d (11.78 mg, 14.47  $\mu\text{mol}$ , 1.1 eq) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (2 mL) 溶液中加入 *N,N,N',N'*-四甲基-*O*-(7-氮杂苯并三唑-1-基)六氟磷酸脲 (6 mg, 15.79  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 并置于室温下搅拌 2 小时。反应液经过高

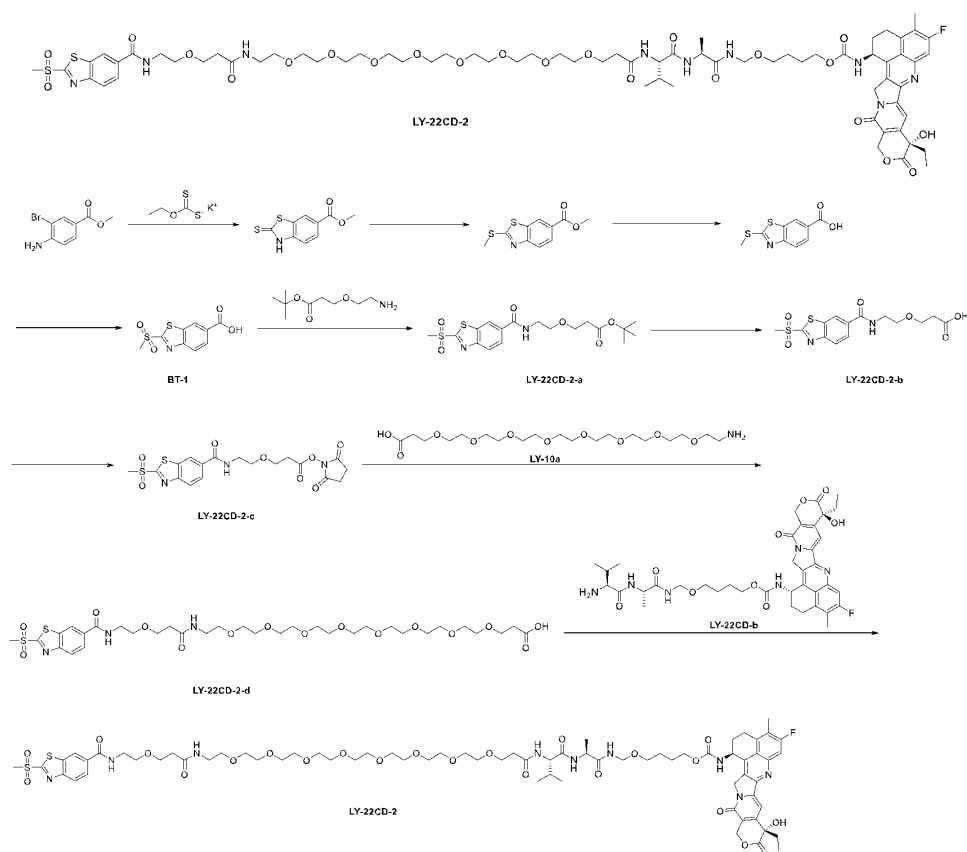
20

效液相制备色谱法（制备色谱厂家 SHIMADZU，型号 LC-20AP。色谱柱为 Global 30mm×250mm。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，得到产物 LY-22CD（4.05 mg，收率=21.6%）。

LCMS（ESI）： $m/z$ ，1446 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

5

### 实施例 29：化合物 LY-22CD-2 的制备



#### 步骤 1：2-亚硫基-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-6-羧酸甲酯的制备

10 将化合物 2-溴-4-甲氧基羰基苯胺（7 g，30.43 mmol，1 eq）和（乙氧基甲硫酰基）磺酰胺钾（9.75 g，60.85 mmol，2 eq）的 *N,N*-二甲基甲酰胺（30 mL）溶液置于 130°C 下搅拌 16 小时。恢复室温，将溶液缓慢滴入冰水（50 mL）中，用浓盐酸调节至 pH=1，析出固体，过滤并用冰水（10 mL）洗涤，收集滤饼用甲醇溶解，通过 C18 反相柱分离得到白色固体 2-亚硫基-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-6-羧酸甲酯

15 （454.4 mg，收率=6.63%）。

LCMS（ESI）： $m/z$ ，226 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

#### 步骤 2：2-(甲基硫烷基)-1,3-苯并噻唑-6-羧酸甲酯的制备

室温下向化合物 2-亚硫基-2,3-二氢-1,3-苯并噻唑-6-羧酸甲酯（454.4 mg，2.017 mmol，1 eq）和碘甲烷（150.7  $\mu\text{L}$ ，2.42 mmol，1.2 eq）的乙醇（8 mL）溶液中滴

入三乙胺 (336  $\mu\text{L}$ , 2.42 mmol, 1.2 eq), 而后置于 90°C 搅拌 1 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=10%-15%) 纯化, 得产物 2-(甲基硫烷基)-1,3-苯并噻唑-6-羧酸甲酯 (434.9 mg, 收率=90%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 240 $[M+H]^+$ 。

5 步骤 3: 2-(甲基硫烷基)-1,3-苯并噻唑-6-羧酸的制备

冰浴下向化合物 2-(甲基硫烷基)-1,3-苯并噻唑-6-羧酸甲酯 (234.9 mg, 0.981 mmol, 1 eq) 的四氢呋喃/水 (4 mL/0.6 mL) 溶液中加入一水合氢氧化锂 (164.8 mg, 3.92 mmol, 4 eq), 室温下搅拌 10 小时后, LCMS 显示反应未完全, 加热至 80°C 搅拌 5 小时后, LCMS 显示原料反应完全。加二氯甲烷 (5 mL) 和水 (5 mL) 稀  
10 释, 后用 1 N 稀盐酸调节至 pH=3, 用二氯甲烷 (5 mL) 反萃水相三次, 合并有机相用饱和食盐水 (15 mL) 洗涤一次, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩得产物 2-(甲基硫烷基)-1,3-苯并噻唑-6-羧酸 (209.1 mg, 收率=94.6%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 226 $[M+H]^+$ 。

步骤 4: 2-甲基磺酰基-1,3-苯并噻唑-6-羧酸的制备

15 将化合物 2-(甲基硫烷基)-1,3-苯并噻唑-6-羧酸 (209.1 mg, 0.928 mmol, 1 eq) 和间氯过氧苯甲酸 (800.9 mg, 4.64 mmol, 5 eq) 的二氯甲烷 (5 mL) 溶液置于室温下搅拌 16 小时。用饱和硫代硫酸钠溶液 (3 mL) 淬灭反应, 饱和碳酸氢钠溶液调节 pH 至中性, 二氯甲烷 (10 mL) 萃取水相三次, 合并有机相, 饱和食盐水 (10 mL) 洗涤一次, 无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩, 残余物通过高效液相制备色谱  
20 法 (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, 水的洗脱比例从 20% 到 50% 洗脱) 纯化, 得产物 2-甲基磺酰基-1,3-苯并噻唑-6-羧酸 (150.4 mg, 收率=63%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 258 $[M+H]^+$ 。

25 步骤 5: 3-{2-[(2-甲基磺酰基-1,3-苯并噻唑-6-基)甲酰胺基]乙氧基}丙酸叔丁酯 (LY-22CD-2-a) 的制备

将化合物 2-甲基磺酰基-1,3-苯并噻唑-6-羧酸 (150.4 mg, 0.585 mmol, 1 eq) 和化合物 3-(2-氨基乙氧基)丙酸叔丁酯 (132.7 mg, 0.702  $\mu\text{mol}$ , 1.2 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 (193 mL, 1.17  $\mu\text{mol}$ , 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 (266.9 mg, 0.702  $\mu\text{mol}$ ,  
30 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-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, 水的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 得产物 LY-22CD-2-a (169.9 mg, 收率=67.8%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 451 $[M+Na]^+$ 。

35 步骤 6: 3-{2-[(2-甲基磺酰基-1,3-苯并噻唑-6-基)甲酰胺基]乙氧基}丙酸 (LY-22CD-2-b) 的制备

冰浴下向化合物 LY-22CD-2-a (169.9 mg, 0.396 mmol, 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 (200 mg)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 373[M+H]<sup>+</sup>。

5 步骤 7: 2,5-二氧代吡咯烷-1-基 3-{2-((2-甲基磺酰基-1,3-苯并噻唑-6-基)甲酰胺基)乙氧基}丙酸酯 (LY-22CD-2-c) 的制备

冰浴下向化合物 LY-22CD-2-b (147.7 mg, 0.396 mmol, 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 (91.15 mg, 0.792 mmol, 2 eq) 和 *N,N'*-二异丙基碳二亚胺 (123 mL, 0.792 mmol, 2 eq), 于室温下搅拌 18 小时后, 10 LCMS 显示基本未反应, 补加 *N*-羟基丁二酰亚胺 (182.3 mg, 1.584 mmol, 4 eq) 和 *N,N'*-二异丙基碳二亚胺 (246 mL, 1.584 mmol, 4 eq), 于 50°C 搅拌 6 小时后, LCMS 显示原料反应完全。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-R1。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 20% 到 15 50% 洗脱) 得产物 2,5-二氧代吡咯烷-1-基 3-{2-((2-甲基磺酰基-1,3-苯并噻唑-6-基)甲酰胺基)乙氧基}丙酸酯 (124.3 mg, 收率=67.0%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 470[M+H]<sup>+</sup>。

步骤 8: 1-(3-(2-((2-甲基磺酰基-1,3-苯并噻唑-6-基)甲酰胺基)乙氧基)丙酰胺基)-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂环庚烷-27-酸 (LY-22CD-2-d) 的制备

20 向化合物 LY-22CD-2-c (60 mg, 127.8 μmol, 1 eq) 和 27-氨基-4,7,10,13,16,19,22,25-八氧杂二十七烷酸 (LY-10a) (67.71 mg, 153.36 μmol, 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 (42.24 mL, 255.6 μmol, 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 250×30mm×10μm。流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 10% 到 25 40% 洗脱) 得化合物 LY-22CD-2-d (81 mg, 收率=79.6%)。

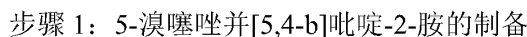
LCMS (ESI):  $m/z$ , 796[M+H]<sup>+</sup>。

步骤 9: 化合物 LY-22CD-2 的制备

冰浴下向化合物 LY-22CD-b (19.03 mg, 82.6% 纯度, 20.94 μmol, 1 eq) 和化 30 合物 LY-22CD-2-d (20 mg, 25.13 μmol, 1.2 eq) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (2 mL) 溶液中加入 *N,N*-二异丙基乙胺 (6.92 mL, 41.88 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 (9.55 mg, 25.13 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-R1。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×30mm×10μm。流动相: 水 35 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 得产物 LY-22CD-2 (13.48 mg, 收率=42.11%)。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.81 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 8.73 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 8.54 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H), 8.32 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 8.14 (dd, *J* = 8.6, 1.8 Hz, 1H), 8.03 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.91 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.84 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.77 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.51 (s, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.23 (s, 3H), 4.51 (ddd, *J* = 29.6, 10.0, 6.4 Hz, 2H), 4.19 (dt, *J* = 15.6, 7.4 Hz, 2H), 4.06 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.67-3.51 (m, 9H), 3.51-3.43 (m, 26H), 3.37 (t, *J* = 5.8 Hz, 6H), 3.23 (s, 2H), 3.18 (q, *J* = 5.8 Hz, 4H), 2.48 – 2.33 (m, 7H), 2.28-2.05 (m, 3H), 1.97-1.81 (m, 3H), 1.66-1.50 (m, 4H), 1.21 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H), 0.96-0.70 (m, 9H)。

### 实施例 30: 化合物 LY-22CD-3 的制备



234



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

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  7.96 (s, 2H), 7.57 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H), 7.43 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H)。

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

5 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°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  
10 (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)。

15 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

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  
20 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%-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),  
25 1.53 (s, 9H)。

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  
30 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)。

35 步骤 5: 2-溴噻唑并[5,4-b]吡啶-5-羧酸甲酯的制备

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%)。

5 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×10 $\mu$ m。流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 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%)。

15 LCMS (ESI):  $m/z$ , 241.1[M+H]<sup>+</sup>。

步骤 7: 2-(甲基硫烷基)-1,3-苯并噻唑-6-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  $\mu$ mol, 1 eq) 和一水合氢氧化锂 (62.92 mg, 41.67  $\mu$ L, 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, 向其中加入水 (50 mL) 和盐酸 (2M, aq) 至 pH<5, 过滤, 用水 (3 mL×2) 洗涤, 并收集滤饼, 得产物 2-(甲基硫烷基)-1,3-苯并噻唑-6-羧酸 (169 mg, 粗品)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 227.1[M+H]<sup>+</sup>。

步骤 8: 2-甲基磺酰基-1,3-苯并噻唑-6-羧酸的制备

25 向 2-(甲基硫烷基)-1,3-苯并噻唑-6-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 H<sub>2</sub>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×10 $\mu$ m。流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 10%到 40%洗脱) 纯化, 得产物 2-甲基磺酰基-1,3-苯并噻唑-6-羧酸 (220 mg, 收率=71.65%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 259.1 [M+H]<sup>+</sup>。

35 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  $\mu$ mol, 1.2 eq) 和

2-甲基磺酰基-1,3-苯并噻唑-6-羧酸 (80 mg, 309.75  $\mu\text{mol}$ , 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  $\mu\text{L}$ , 619.51  $\mu\text{mol}$ , 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 (141.34 mg, 371.70  $\mu\text{mol}$ , 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 $\times$ 40mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相: 水 (0.225% $\text{HCOOH}$ ) - 乙腈, 水的洗脱比例从 30%到 60%洗脱) 纯化, 得化合物 LY-22CD-3-a (114.3 mg, 收率=85.91%)。

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

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  $\mu\text{mol}$ , 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 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

步骤 11: 化合物 (LY-22CD-3-c) 的制备

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  $^{\circ}\text{C}$  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 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相: 水 (0.225% $\text{HCOOH}$ ) - 乙腈, 水的洗脱比例从 10%到 40%洗脱) 纯化, 得化合物 LY-22CD-3-c (100 mg, 收率: 79.87%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 493 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

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-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 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相: 水 (0.225% $\text{HCOOH}$ ) - 乙腈, 水的洗脱比例从 10%到 40%洗脱) 纯化, 得化合物 LY-22CD-3-d (48.4 mg, 收率=28.57%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 797 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 13: 化合物 LY-22CD-3 的制备

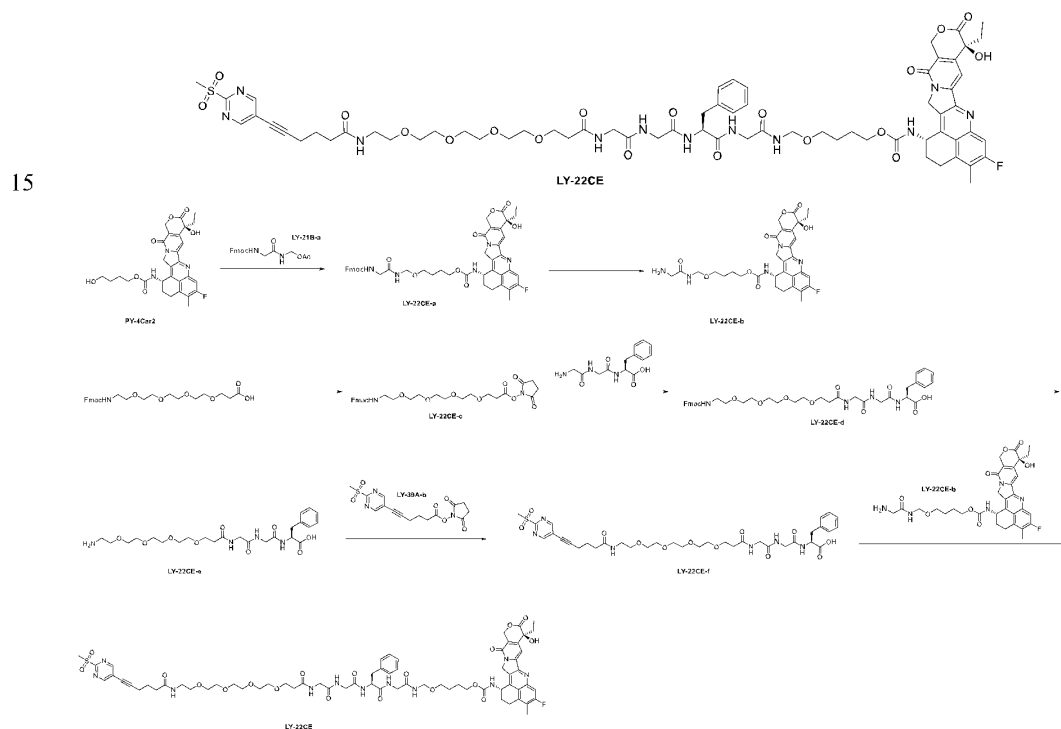
冰浴下向化合物 LY-22CD-b (22.07 mg, 29.39  $\mu\text{mol}$ ) 和化合物 LY-22CD-3-d (28.11 mg, 35.27  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (2 mL) 溶液中加入 *N,N*-二异丙基乙胺 (7.60 mg, 9.72  $\mu\text{L}$ , 58.79  $\mu\text{mol}$ , 2 eq) 和 *N,N,N',N'*-四甲基-O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)六氟磷酸脲 (13.41 mg, 35.27  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 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-R7。色谱柱为 Synergi Max-RP 250×40mm×10μm。流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 30%到 60%洗脱) 纯化, 得产物 LY-22CD-3 (17.03 mg, 收率=37.87%)。

5 LCMS (ESI) :  $m/z$ , 1551[M+Na]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.05 (s, 1H), 8.86 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 8.54 (t, *J* = 6.6 Hz, 1H), 8.37 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 8.03 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.90 (s, 2H), 7.84 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.77 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.51 (s, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.23 (s, 3H), 4.58-4.44 (m, 3H), 4.19 (dt, *J* = 15.8, 7.4 Hz, 3H), 4.06 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H),  
10 3.66-3.52 (m, 10H), 3.48 (d, *J* = 3.2 Hz, 28H), 3.18 (q, *J* = 5.8 Hz, 3H), 2.43 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.38 (s, 3H), 2.33 (d, *J* = 6.2 Hz, 3H), 2.24-2.11 (m, 3H), 1.97-1.81 (m, 4H), 1.67-1.49 (m, 5H), 1.21 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H), 0.90-0.77 (m, 9H)。

### 实施例 31: 化合物 LY-22CE 的制备



#### 步骤 1: 化合物 LY-22CE-a 的制备

向 PY-4Car2 (30 mg, 54.39 μmol, 1 eq) 和(2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙酰胺基)乙酸甲酯 (200.36 mg, 543.9 μmol, 10 eq) 的四氢呋喃 (5 mL) 溶液  
20 中加入对甲苯磺酸 (9.37 mg, 54.39 μmol, 1 eq), 并置于 30°C 搅拌 21 小时, 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 SHIMADZU, 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 60%到 90%洗脱) 纯化, 得产物

LY-22CE-a (7.7 mg, 80% 纯度, 收率=13.17%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 882[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 2: 化合物 LY-22CE-b 的制备

将化合物 LY-22CE-a (7.7 mg, 7.16  $\mu$ mol, 1 eq, 80%纯度) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (1 mL) 溶液中加入二乙胺 (3.69  $\mu$ L, 35.82  $\mu$ mol, 5 eq), 并置于室温下搅拌 2 小时。减压浓缩得粗品 LY-22CE-b (10 mg)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 638[M+H]<sup>+</sup>。

步骤 3: 化合物 LY-22CE-c 的制备

室温下, 将化合物 5,8,11,14-四氧杂-2-氮杂十七烷二酸 (1 g, 2.05 mmol, 1 eq)、*N*-羟基丁二酰亚胺 (259.67 mg, 162.29  $\mu$ L, 2.26 mmol, 1.1 eq) 和二环己基碳二亚胺 (465.53 mg, 574.72  $\mu$ L, 2.26 mmol, 1.1 eq) 依次加入到二氯甲烷 (20 mL) 中。20°C 下搅拌 60 小时。反应液过滤后, 滤液减压浓缩后, 得到粗品化合物 LY-22CE-c (1.1 g)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 585.2[M+H]<sup>+</sup>。

步骤 4: 化合物 LY-22CE-d 的制备

室温下将化合物 LY-22CE-c (1.65 g)、甘氨酸-甘氨酸-L-苯丙氨酸 (788.28 mg, 2.82 mmol, 1 eq) 和 *N,N*-二异丙基乙胺 (1.09 g, 1.40 mL, 8.47 mmol, 3 eq) 依次加入到 *N,N*-二甲基甲酰胺 (16 mL) 和水 (4 mL) 中。20°C 下搅拌 1.5 小时。反应液经过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO-R5。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250 $\times$ 50mm $\times$ 7 $\mu$ m。流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 冻干后得到白色固体化合物 LY-22CE-d (1.84 g, 两步收率: 82%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 749.4[M+H]<sup>+</sup>。

步骤 5: 化合物 LY-22CE-e 的制备

将二乙胺 (1.80 g, 2.53 mL, 24.57 mmol, 10 eq) 加入到化合物 LY-22CE-d (1.84 g, 2.46 mmol, 1 eq) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (20 mL) 溶液中, 并置于 20°C 下搅拌 2 小时。减压浓缩得黄色油状粗品化合物 LY-22CE-e (2.43 g)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 527.3[M+H]<sup>+</sup>。

步骤 6: LY-22CE-f 的制备

室温下, 将化合物 LY-39A-b (982.93 mg, 2.69 mmol, 1.1 eq)、化合物 LY-22CE-e (2.43 g, 粗品纯度 53%, 2.45 mmol, 1 eq) 和 *N,N*-二异丙基乙胺 (948.26 mg, 1.21 mL, 7.34 mmol, 3 eq) 依次加入到 *N,N*-二甲基甲酰胺 (30 mL) 中。20°C 下搅拌 16 小时。反应液经过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO-R5。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250 $\times$ 50mm $\times$ 7 $\mu$ m。流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 10% 到 30% 洗脱) 纯化, 冻干后得到白色固体产物 LY-22CE-f。

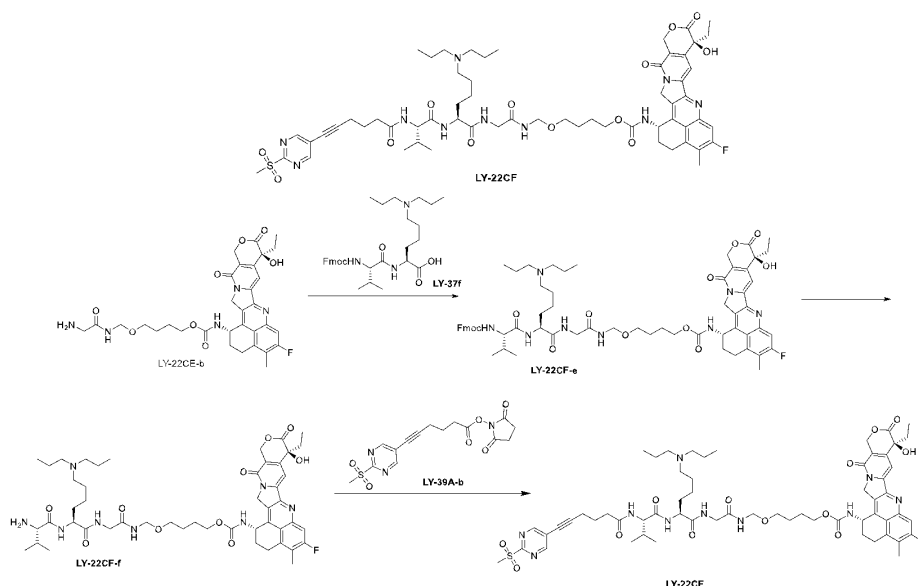
LCMS (ESI) :  $m/z$ , 777.3[M+H]<sup>+</sup>。

#### 步骤 7: LY-22CE 的制备

向化合物 LY-22CE-f (12.25 mg, 7.88  $\mu\text{mol}$ , 1.1 eq, 50%纯度) 和化合物 LY-22CE-b (4.57 mg, 7.17  $\mu\text{mol}$ , 1 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 (1.18  $\mu\text{L}$ , 7.17  $\mu\text{mol}$ , 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 (3.27 mg, 8.6  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 并置于室温下搅拌 2 小时。反应液经过高效液相制备色谱法(制备色谱厂家 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。色谱柱为 P 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 40%到 60%洗脱), 得到产物 LY-22CE (0.86 mg, 收率 =8.59%)。

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 1418[M+Na]<sup>+</sup>。

#### 实施例 32: 化合物 LY-22CF 的制备



#### 步骤 1: 化合物 LY-22CF-e 的制备

向化合物 LY-22CE-b (17.50 mg, 27.44  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和化合物 LY-37f (16.66 mg, 30.19  $\mu\text{mol}$ , 1.1 eq) 的 DMF (2 mL) 中, 冰浴下加入 DIPEA (7.09 mg, 9.07  $\mu\text{L}$ , 54.89  $\mu\text{mol}$ , 2 eq) 和 HATU (12.52 mg, 32.93  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 恢复室温继续搅拌 2 小时。反应物经高效液相制备色谱法(制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860 R5。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) 纯化, 冻干, 得到白色固体) 化合物 LY-22CF-e (5.60 mg, 收率: 17.42%, 纯度: 100%)。

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 1193[M+Na]<sup>+</sup>。

#### 步骤 2: 化合物 LY-22CF-f 的制备

向化合物 LY-22CF-e (5.60 mg, 100%, 4.78  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中, 加入二乙胺 (1.75 mg, 2.46  $\mu\text{L}$ , 23.90  $\mu\text{mol}$ , 5 eq), 将反应置于室温下搅拌 2 小时。减压浓缩, 得到黄色油状液体粗品 (4.50 mg)。

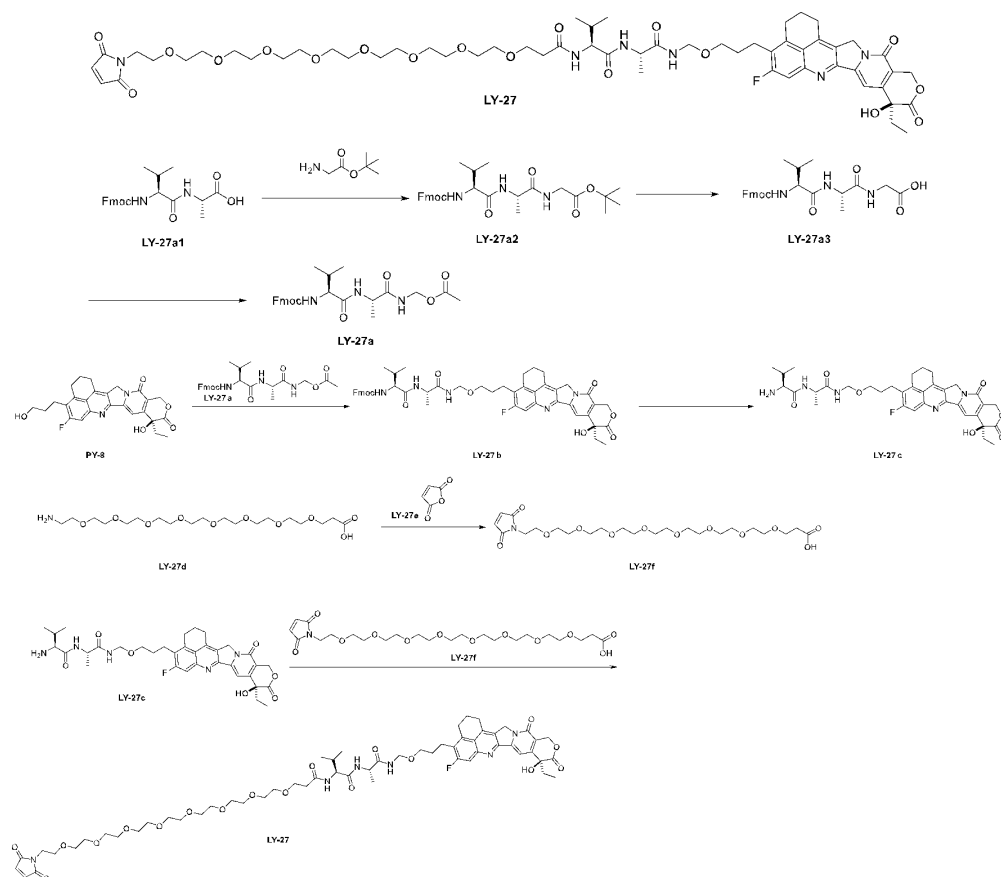
LCMS (ESI):  $m/z$ , 949[M+H]<sup>+</sup>。

### 5 步骤 3: 化合物 LY-22CF 的制备

向化合物 LY-22CF-f (4.50 mg, 4.74  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和化合物 2,5-二氧代吡咯烷-1-基-6-(2-甲基磺酰基嘧啶-5-基)己-5-炔酸酯 (LY-39A-b) (2.08 mg, 5.69  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 的 DMF (1 mL) 中, 加入 DIPEA (1.23 mg, 1.57  $\mu\text{L}$ , 9.48  $\mu\text{mol}$ , 2 eq) 搅拌 4 小时。反应物经高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 Lab311-DJ-R2。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), 冻干, 得到白色固体 LY-22CF (0.61 mg, 收率: 10.7%, 纯度: 95%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1199[M+H]<sup>+</sup>。

### 15 实施例 33: 化合物 LY-27 的制备



### 20 步骤 1: 化合物 LY-27a2 的制备

冰浴下，向(((9H-芴-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]<sup>+</sup>。

步骤 3：化合物 **LY-27a** 的制备

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%）。

LCMS (ESI) : m/z, 504[M+Na]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 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)。

步骤 4：化合物 **LY-27b** 的制备

向化合物 **PY-8**（50 mg, 107.64 μmol, 1 eq, 80%的纯度）和化合物 **LY-27a**（51.84 mg, 107.64 μmol, 1 eq）的 10 mL THF 溶剂中，加入 0.39 倍当量 PPTS（10.55 mg, 41.98 μmol），将反应置于 45°C 搅拌 16 小时。反应液过滤后，经高效液相制备色谱法（制备色谱厂家 SHIMADZU，型号 LC-20AP。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×30mm×10 μm。流动相水（0.225% HCOOH）-乙腈，水的洗脱比例从 12% 到 42% 洗脱）纯化，冻干，得黄色固体化合物 **LY-27b**（17 mg, 产率：14%，纯度：78%）。

LCMS (ESI) : m/z, 886.4 [M+H]<sup>+</sup>。

步骤 5：化合物 **LY-27c** 的制备

向化合物 **LY-27b**（17 mg, 78%的纯度，12.33 μmol, 1 eq）的 4 mL 的四氢呋喃与二氯甲烷（体积比为 1:1）的混合溶液中，加入 10 倍当量二乙胺（16 μL, 123.3



$\mu\text{mol}$ , 10 eq), 将反应置于  $25^{\circ}\text{C}$  搅拌 16 小时。反应液过滤, 经高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。色谱柱为 Welch Xtimate C18  $250\times 30\text{mm}\times 10\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% $\text{HCOOH}$ )-乙腈, 水的洗脱比例从 12% 到 42% 洗脱) 纯化, 冻干, 得 14mg 的黄色固体 **LY-27c**。

5 LCMS (ESI):  $m/z$ , 664.1  $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ 。

步骤 6: 化合物 **LY-27f** 的制备

将氨基-八聚乙二醇-羧酸 (皓元医药, 200 mg, 452.98  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和马来酸酐 (44.42 mg, 30.01  $\mu\text{L}$ , 452.98  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 加入到醋酸 (10 mL) 溶液中,  $160^{\circ}\text{C}$  搅拌 16 h。反应液减压浓缩, 经过 prep-HPLC (制备色谱厂家 luna, 型号  
10 Lab311-ISCO-R4。色谱柱为 Phenomenex Luna C18  $250\times 50\text{mm}\times 10\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% $\text{HCOOH}$ )-乙腈, 水的洗脱比例从 12% 到 42% 洗脱) 纯化, 得到白色固体 **LY-27f** (90 mg, 173  $\mu\text{mol}$ , 收率: 38%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 522.3  $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ 。

步骤 7: 化合物 **LY-27** 的制备

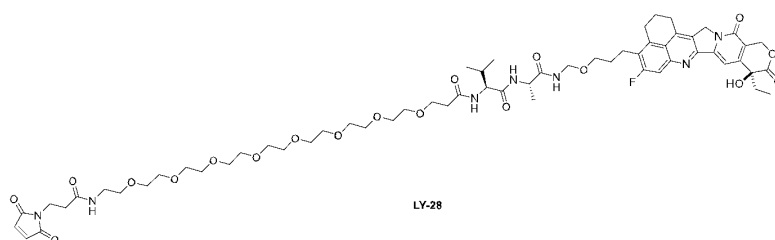
15 将四甲基氯代脲六氟磷酸酯 (2.5 mg, 9.0  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 和 N-甲基咪唑 (1.9 mg, 23  $\mu\text{mol}$ , 3.0 eq) 加入到化合物 **LY-27c** (5.0 mg, 7.5  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq) 和化合物 **LY-27f** (3.9 mg, 7.5  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (0.5 mL) 溶液中,  $25^{\circ}\text{C}$  搅拌 2 h。反应液经过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 luna, 型号 Lab311-ISCO-R4。色谱柱为 Phenomenex Luna C18  $250\times 50\text{mm}\times 10\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% $\text{HCOOH}$ )-  
20 乙腈, 水的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 得到白色固体 **LY-27** (0.64 mg, 0.5 FA salt, 5% 收率)。

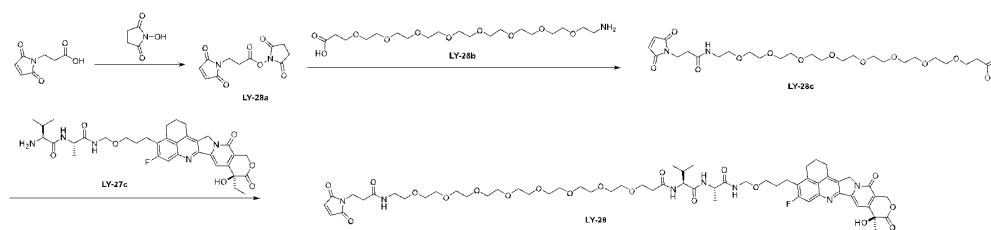
LCMS (ESI):  $m/z$ , 1189.6  $[\text{M}+\text{Na}]^{+}$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.58 (t,  $J = 6.7$  Hz, 1H), 8.05 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 7.85 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 7.72 (d,  $J = 11.3$  Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 7.02 (s, 2H), 6.52 (s, 1H), 5.43 (s, 3H), 5.24 (s, 2H), 4.56 (qd,  $J = 10.2, 6.4$  Hz, 3H), 4.28 – 4.13 (m, 3H),  
25 3.56 (dd,  $J = 8.8, 5.6$  Hz, 4H), 3.51 (s, 2H), 3.46 (s, 12H), 3.45 – 3.43 (m, 5H), 3.11-3.14 (m, 5H), 2.85 (t,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 2.47 – 2.32 (m, 4H), 2.10-2.08 (m, 3H), 1.90-1.85 (m, 4H), 1.74 (t,  $J = 7.6$  Hz, 3H), 1.20 (d,  $J = 7.2$  Hz, 4H), 0.93 – 0.76 (m, 12H)。

30

实施例 34: 化合物 **LY-28** 的制备





### 步骤 1: 化合物 **LY-28a** 的制备

氮气氛下, 向 3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酸 (500 mg, 2.96 mmol, 1 eq)、*N*-羟基丁二酰亚胺 (425.6 mg, 3.7 mmol, 1.25 eq) 的低温 DMF (15 mL) 溶液中加入 DIC (747.1 mg, 5.92 mmol, 2 eq), 在冰浴下搅拌 10 分钟后恢复室温搅拌过夜。反应液减压浓缩, 用水 (15 mL) 洗涤 3 次, 饱和食盐水 (15 mL) 洗涤 2 次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 得粗白色固体化合物 (859.1mg)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 289  $[M+Na]^+$ 。

### 步骤 2: 化合物 **LY-28c** 的制备

氮气氛下, 向化合物 **LY-28a** (507 mg, 1.15mmol, 1 eq) 的 DCM (5mL) 溶液中加入三乙胺 (348 mg, 3.44 mmol, 4 eq) 和化合物 **LY-28b** (皓元医药) (459.1 mg, 1.72 mmol, 1.5 eq), 室温搅拌 1 小时。反应液减压浓缩, 残余物经高效液相制备法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO-3。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250×30mm×10 $\mu$ m。流动相 Water (0.225%FA) -ACN, 水的洗脱比例从 21%到 51% 洗脱) 纯化, 得淡黄色油状的化合物 **LY-28c** (500 mg)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 593 $[M+H]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CHCl}_3-d$ )  $\delta$  6.96 (s, 1H), 6.70 (s, 2H), 3.84 (t,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 3.77 (t,  $J = 6.0$  Hz, 2H), 3.68 – 3.62 (m, 28H), 3.54 (t,  $J = 4.8$  Hz, 2H), 3.42 (q,  $J = 5.2$  Hz, 2H), 2.60 (t,  $J = 6.0$  Hz, 2H), 2.53 (t,  $J = 7.2$  Hz, 2H)。

### 步骤 3: 化合物 **LY-28** 的制备

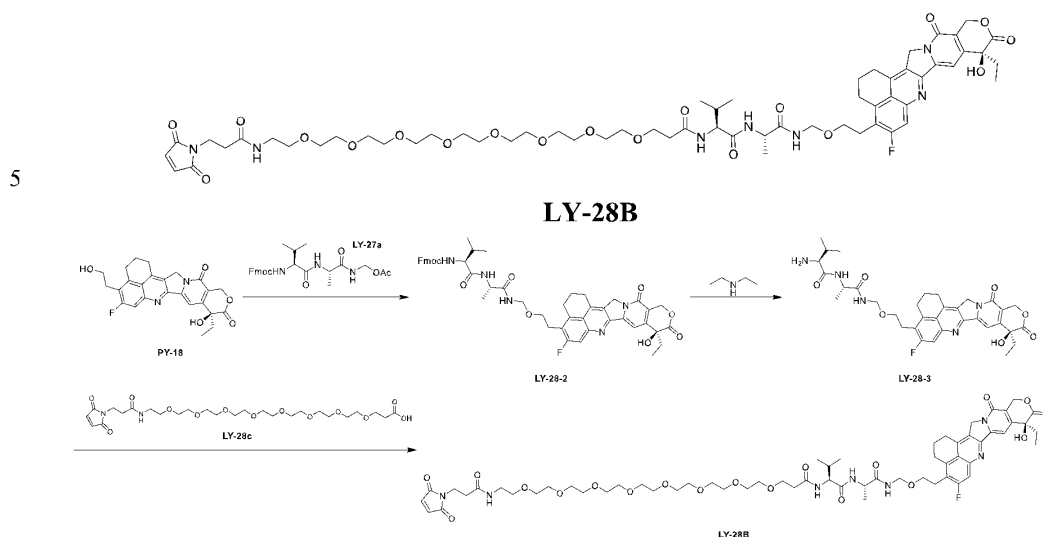
氮气氛下, 向化合物 **LY-28c** (6.9 mg, 11.6  $\mu$ mol, 1.1 eq) 和化合物 **LY-27c** (7 mg, 10.6  $\mu$ mol, 1 eq) 的乙腈 (1 mL) 和 DMF (0.3 mL) 溶液中加入 TCFH (3.55 mg, 12.7  $\mu$ mol, 1.2 eq) 和 NMI (2.6 mg, 31.8  $\mu$ mol, 3 eq), 室温搅拌 1 小时。将反应液浓缩, 残余物经高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO-3。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250×30mm×10 $\mu$ m。流动相 Water (0.225%FA)-ACN, 水的洗脱比例从 31%到 61%洗脱) 纯化, 得化合物 **LY-28** (1.03 mg, 白色固体)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1260 $[M+Na]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CHCl}_3-d$ )  $\delta$  7.68-7.60 (m, 2H), 7.41 (s, 1H), 7.20 (s, 1H), 6.92 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.70 (s, 2H), 5.75 (d,  $J = 16.2$  Hz, 1H), 5.30 (s, 6H), 5.18 (s, 2H), 4.79 – 4.69 (m, 2H), 4.49 (q,  $J = 6.8, 6.4$  Hz, 1H), 4.16 (t,  $J = 6.4$  Hz, 1H), 3.87 – 3.76 (m, 4H), 3.64 (dq,  $J = 8.4, 3.2$  Hz, 26H), 3.58 – 3.51 (m, 4H), 3.41 (q,  $J = 5.2$  Hz, 2H), 3.14 (dt,  $J = 18.8, 6.2$  Hz, 4H), 2.93 (t,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 2.71 – 2.63 (m,

1H), 2.52 (t,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 2.20 (q,  $J = 7.4, 6.4$  Hz, 3H), 1.93-1.83 (m, 4H), 1.37 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 1.07-0.93 (m, 9H)。

### 实施例 35: 化合物 **LY-28B** 的制备



#### 步骤 1: 化合物 **LY-28-2** 的制备

向化合物 **PY-18** (14.20 mg, 93.2%, 29.38  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的四氢呋喃 (1 mL) 溶液中加入化合物 **LY-27a** (21.22 mg, 44.07  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq), 再加入催化量的对甲苯磺酸 (1.52 mg, 1.42  $\mu\text{L}$ , 8.81  $\mu\text{mol}$ , 0.3 eq)。反应液在 20°C 搅拌 12 小时。反应液用反相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO-4。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相 Water (0.225%FA) -ACN, 水的洗脱比例从 39%到 69%洗脱) 分离纯化, 冻干后得到白色固体化合物 **LY-28-2** (12 mg, 收率: 43.66%)。

10

15

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 872.4[M+H]<sup>+</sup>。

#### 步骤 2: 化合物 **LY-28-3** 的制备

将化合物 **LY-28-2** (12 mg, 13.76  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DMF (1 mL), 向该溶液中加入二乙胺 (6.04 mg, 8.51  $\mu\text{L}$ , 82.57  $\mu\text{mol}$ , 6 eq), 氮气氛下, 该溶液在 20°C 搅拌 2 小时。反应液减压浓缩, 得到粗品产物 **LY-28-3** (8.50 mg, 收率: 95.06%), 直接用于下一步。

20

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 650.4 [M+H]<sup>+</sup>。

#### 步骤 3: 化合物 **LY-28B** 的制备

向化合物 **LY-28-3** (4 mg, 6.16  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (0.5 mL) 溶液中加入化合物 **LY-28c** (4.38 mg, 7.39  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq)、DIPEA (1.59 mg, 2.04  $\mu\text{L}$ , 12.31  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 再加入 HATU (3.51 mg, 9.23  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq), 反应液在 20°C 搅拌 1 小时。反应液通过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO-6。色谱柱为

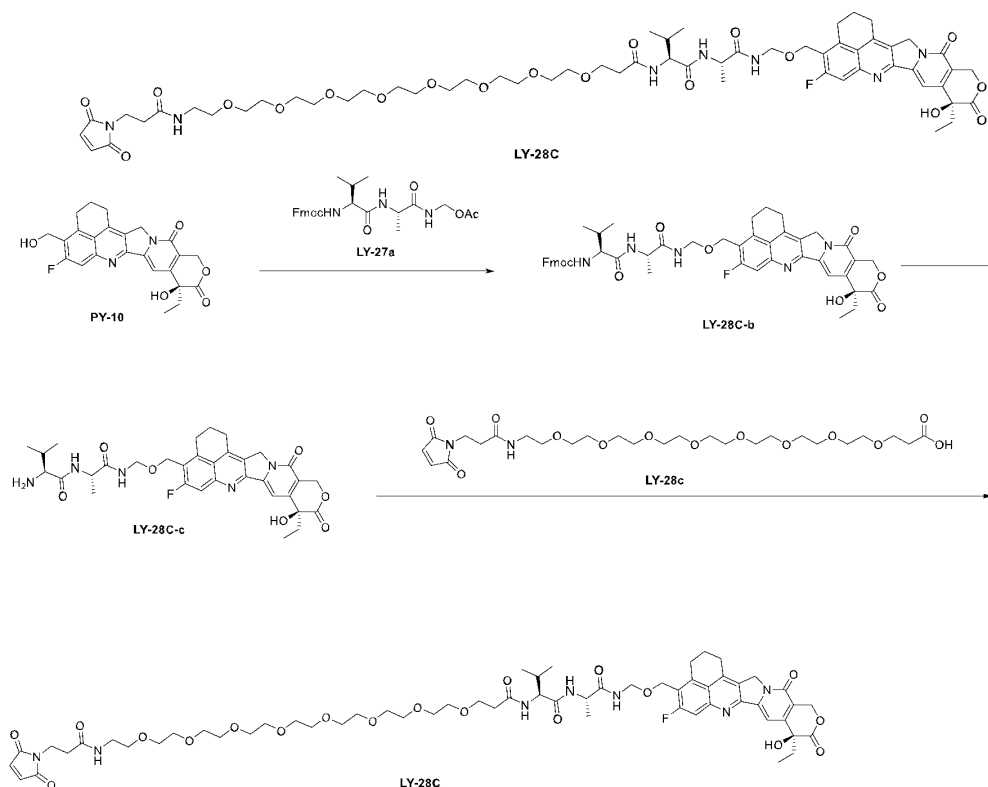
25

YMC-Triart Prep C18 250×50mm×7μm。流动相 Water (0.225%FA) -ACN, 水的洗脱比例从 30%到 60%洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物 **LY-28B** (2.84 mg, 收率: 37.68%, 纯度: 98.02%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1246.2[M+H]<sup>+</sup>。

5

### 实施例 36: 化合物 **LY-28C** 的制备

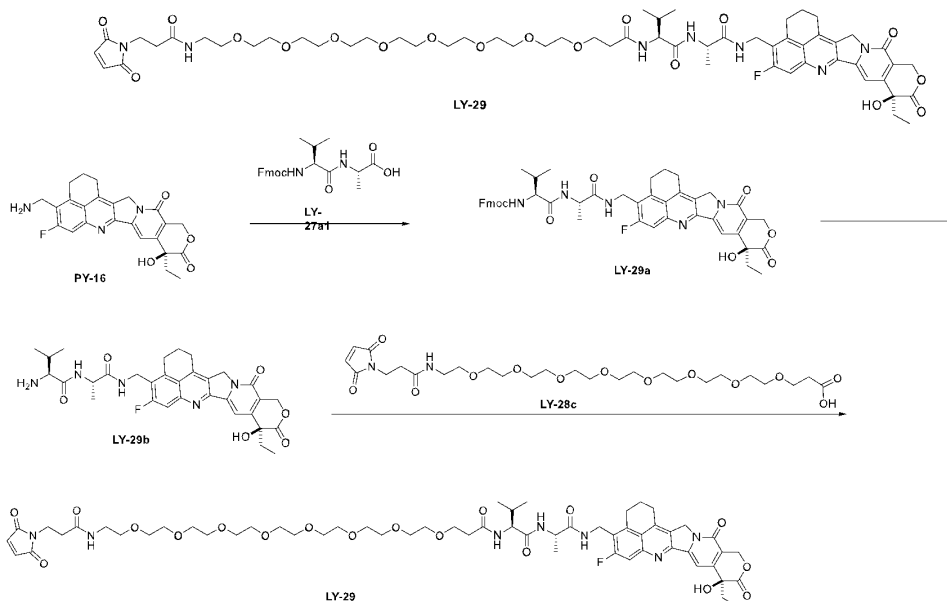


10

与实施例 10 的制备方法相同, 用化合物 **PY-10** 代替化合物 **PY-18**, 制得化合物 **LY-28C**。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1210[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.83 (t,  $J$  = 6.6 Hz, 1H), 8.11 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 1H), 8.02 (t,  $J$  = 5.6 Hz, 1H), 7.88 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 1H), 7.75 (d,  $J$  = 11.2 Hz, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.00 (s, 2H), 6.53 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.26 (s, 2H), 4.74 (dd,  $J$  = 10.4, 7.0 Hz, 1H), 4.68-4.61 (m, 3H), 4.30 (p,  $J$  = 7.2 Hz, 1H), 4.21 (dd,  $J$  = 8.8, 6.6 Hz, 1H), 3.59 (ddd,  $J$  = 8.0, 6.4, 2.4 Hz, 4H), 3.50-3.48 (m, 26H), 3.16 (dq,  $J$  = 17.2, 6.2, 5.8 Hz, 8H), 2.47-2.34 (m, 4H), 2.30 (s, 2H), 2.10-2.02 (m, 2H), 1.96 (dt,  $J$  = 15.2, 7.6 Hz, 1H), 1.87 (dt,  $J$  = 14.8, 7.2 Hz, 2H), 1.29 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 3H), 0.90 – 0.86 (m, 6H), 0.83 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 3H)。 <sup>19</sup>F NMR (377 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  -114.09。

实施例 37：化合物 **LY-29** 的制备步骤 1：化合物 **LY-29a** 的制备

- 5 向化合物 **LY-27a1** (246.89 mg, 601.48  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和化合物 **PY-16** (327.4 mg, 601.48  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (8 mL) 中加入 *N,N*-二异丙基乙胺 (0.2 mL, 1.2 mmol, 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 (274.45 mg, 721.77  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 并置于室温搅拌 2 小时。将反应液逐滴加入冰水 (20 mL) 中, 收集滤饼用甲醇溶解, 经柱层析色谱法
- 10 纯化, 得到化合物 **LY-29a** (223.3 mg, 收率=44.84%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 828  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 2：化合物 **LY-29b** 的制备

- 向化合物 **LY-29a** (223.3 mg, 248.14  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (8 mL) 溶液中加入二乙胺 (0.15 mL, 1.49 mmol, 6 eq), 并置于室温搅拌 1 小时。减压
- 15 浓缩, 并加入少量乙腈和水, 冻干得淡黄色固体化合物 **LY-29b** (215.9 mg, 粗品)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 606  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

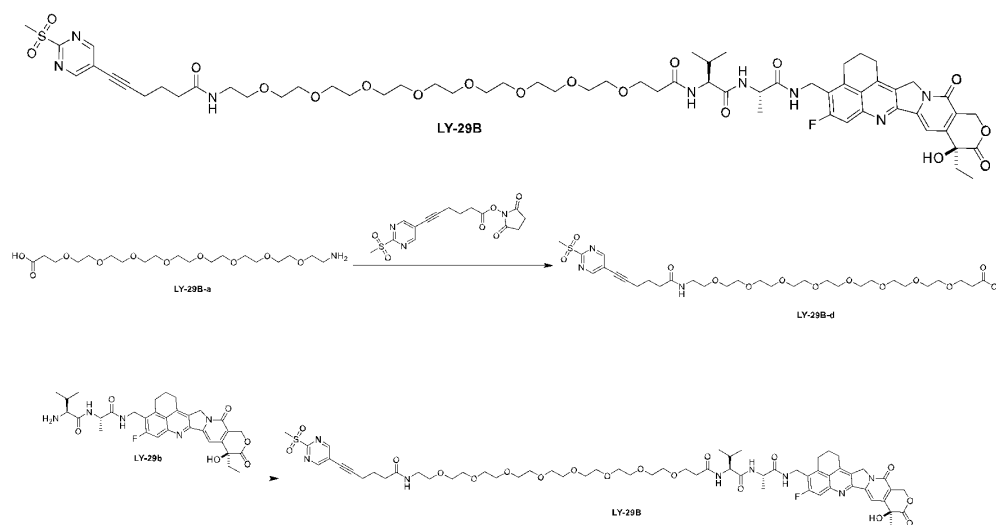
步骤 3：化合物 **LY-29** 的制备

- 向化合物 **LY-29b** (158 mg, 182.61  $\mu\text{mol}$ , 1 eq, 70%纯度) 和化合物 **LY-28c** (151.51 mg, 255.65  $\mu\text{mol}$ , 1.4 eq) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (10 mL) 溶液中加入
- 20 *N,N*-二异丙基乙胺 (60.36  $\mu\text{L}$ , 365.22  $\mu\text{mol}$ , 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 (76.38 mg, 200.87  $\mu\text{mol}$ , 1.1 eq), 并置于室温搅拌 2 小时。经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 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 20%到 55%洗脱) 纯化, 得化合物 **LY-29** (96.83 mg, 收率
- 25 =44.93%)。

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 1080  $[M+H]^+$ 。

$^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.16 (t,  $J = 5.2$  Hz, 1H), 8.02 (d,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 7.84 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H), 7.74 (d,  $J = 11.2$  Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.00 (s, 2H), 6.53 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.23 (s, 2H), 4.51 (s, 2H), 4.25 (t,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 4.13 (dd,  $J = 8.6$ , 6.6 Hz, 1H), 3.59 (t,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 3.56-3.40 (m, 34H), 3.15 (p,  $J = 5.2$  Hz, 6H), 2.47-2.34 (m, 2H), 2.10-2.01 (m, 2H), 1.89 (dq,  $J = 17.0$ , 6.6 Hz, 3H), 1.19 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 0.88 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H), 0.79 (q,  $J = 7.2$ , 6.4 Hz, 6H)。  $^{19}F$  NMR (377 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  -112.70。

# 10 实施例 38: 化合物 **LY-29B** 的制备



## 步骤 1: 化合物 **LY-29B-d** 的制备

15 将化合物 **LY-29B-a** (毕得医药, 60 mg, 135.89  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 2,5-二氧吡咯烷-1-基 6-(2-(甲基磺酰基)吡啶-5-基)己-5-炔酸酯 (参见 LY-44A 的合成实施例, 实施例 56, 59.11 mg, 84%, 135.89  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (3 mL), 然后加入 *N,N*-二异丙基乙胺 (35.13 mg, 44.92  $\mu\text{L}$ , 271.79  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 反应在 20°C 搅拌 1 小时。反应液通过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号

20 ISCO-6。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 50mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相 Water(0.225%FA)-ACN, 水的洗脱比例从 12%到 42%洗脱), 得黄色产物 (23 mg, 粗品, 收率: 24.47%)。

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 692.3  $[M+H]^+$ 。

## 步骤 2: 化合物 **LY-29B** 的制备

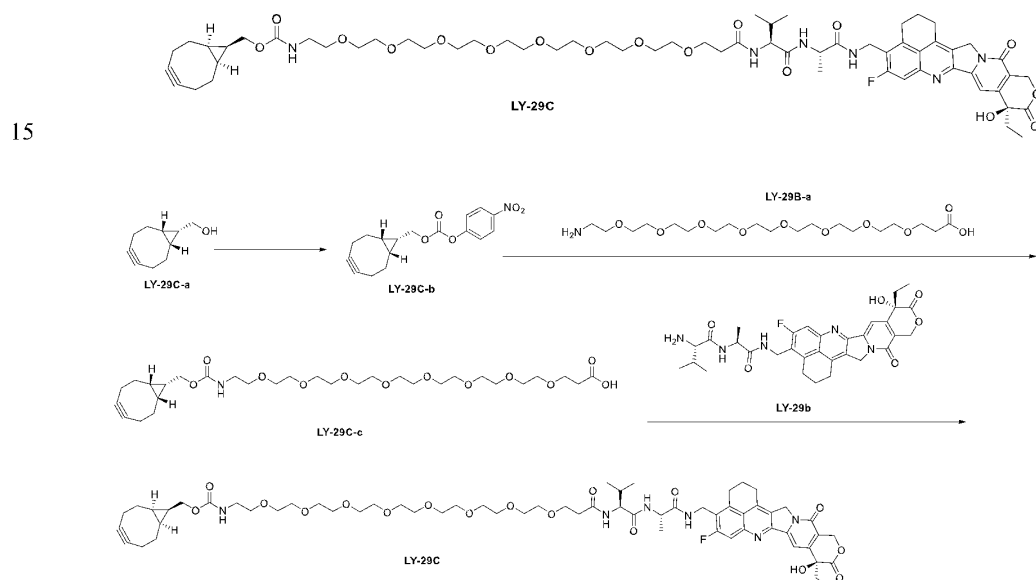
25 将化合物 **LY-29B-d** (18 mg, 26.02  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (2 mL), 向该溶液中加入化合物 **LY-29b** (15.76 mg, 26.02  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 *N,N*-二异丙基乙胺 (6.73 mg, 8.60  $\mu\text{L}$ , 52.04  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 然后加入 HATU 14.84 mg, 39.03  $\mu\text{mol}$ ,

1.5 eq)，溶液在 20℃搅拌 12 小时。反应液用高效液相制备色谱法（制备色谱厂家 ISCO，型号 ISCO-6。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×50mm×10μm。流动相 Water (0.225%FA)-ACN，水的洗脱比例从 21%到 51%洗脱）纯化，得产物 **LY-29B** (9.71 mg，收率：28.73%，纯度：98.51%)。

5 LCMS (ESI) : m/z, 1279.6[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sup>6</sup>) δ 9.11 (s, 2H), 8.16 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 8.02 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.93 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 7.83 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.75 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H), 7.32 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.26 (s, 2H), 4.51 (s, 2H), 4.25 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 4.13 (dd, *J* = 8.6, 6.7 Hz, 1H), 3.57-3.46 (m, 26H), 3.45-3.41 (m, 4H), 3.18 (dq, *J* = 15.6, 5.9 Hz, 7H), 2.58-2.52 (m, 3H), 2.42 (dt, *J* = 13.8, 6.7 Hz, 2H), 2.33-2.24 (m, 3H), 2.05 (t, *J* = 6.4 Hz, 3H), 1.95-1.75 (m, 6H), 1.18 (d, *J* = 7.1 Hz, 3H), 0.88 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H), 0.80-0.73 (m, 6H)。

### 实施例 39: 化合物 **LY-29C** 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

20 氮气氛下，0℃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 μmol, 1 eq) (山东行致生物) 的无水 DCM (5 mL) 中加入吡啶 (105.31 mg, 107.68 μL, 1.33 mmol, 2.5 eq) 和 4-硝基苯基氯甲酸酯 (134.18 mg, 665.69 μmol, 1.25 eq)，加完室温反应半小时。0℃将反应液用饱和氯化铵 (10 mL) 淬灭，用 DCM (40 mL × 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

氮气氛下, 0℃向化合物 **LY-29B-a** (156.82 mg, 355.18 μmol, 1 eq) 的无水 DMF (5 mL) 加入 **LY-29C-b** (112 mg, 355.18 μmol, 1 eq) 和 DIPEA (114.77 mg, 146.76 μL, 887.96 μmol, 2.5 eq), 加完室温反应 16 小时, 不超过 40℃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 250×40mm×10μm。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 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%)。

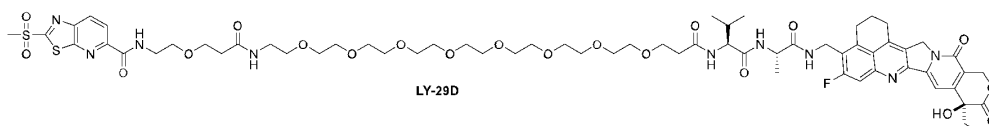
### 步骤 3: 化合物 **LY-29C** 的制备

氮气氛下, 向化合物 **LY-29C-c** (10 mg, 16.2 μmol, 1 eq) 和 **LY-29b** (23.3 mg, 16.2 μmol, 1 eq) 的 DMF (3 mL) 溶液中加入 DIEA (5.35 μL, 32.4 μmol, 2 eq) 和 HATU (7.4 mg, 19.4 μmol, 1.2 eq), 并置于冰浴下自然恢复室温, 反应两个小时。通过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。色谱柱 Synergi Max-RP 280×30mm×10μm。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 30%到 60%洗脱) 纯化, 得产物 **LY-29C** (7.77 mg, 收率=39.8%)。

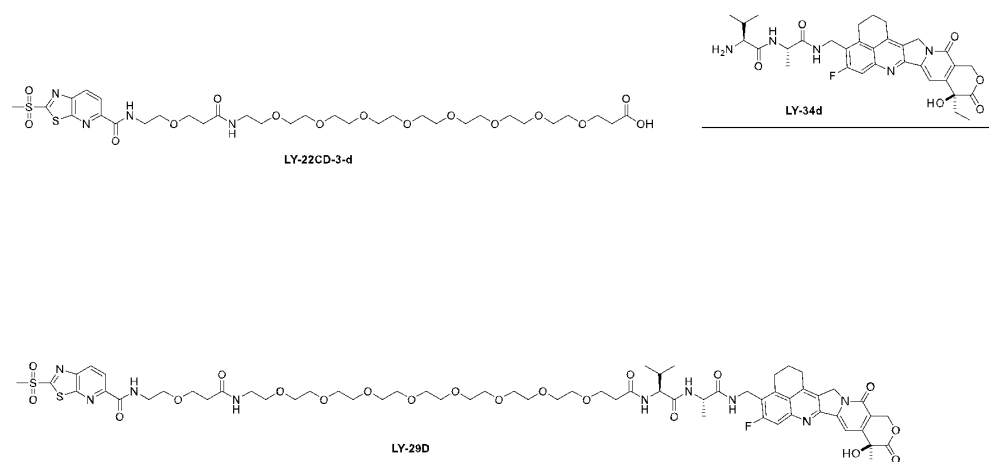
LCMS (ESI) : m/z, 1205[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.16 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 8.02 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.83 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.74 (t, *J* = 11.6 Hz, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.08 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H), 6.53 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.26 (s, 2H), 4.51 (s, 2H), 4.25 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 4.13 (dd, *J* = 8.6, 6.6 Hz, 1H), 4.02 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 3.56-3.40 (m, 36H), 3.13 (dq, *J* = 21.6, 6.0 Hz, 6H), 2.41 (q, *J* = 7.2, 6.8 Hz, 2H), 2.32-2.10 (m, 4H), 2.09-2.00 (m, 2H), 1.96-1.81 (m, 3H), 1.51 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H), 1.31-1.22 (m, 1H), 1.20-1.14 (m, 4H), 0.88 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H), 0.83 (s, 1H), 0.78 (t, *J* = 7.2 Hz, 6H)。 <sup>19</sup>F NMR (377 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ -112.71。

### 实施例 40: 化合物 **LY-29D** 的制备





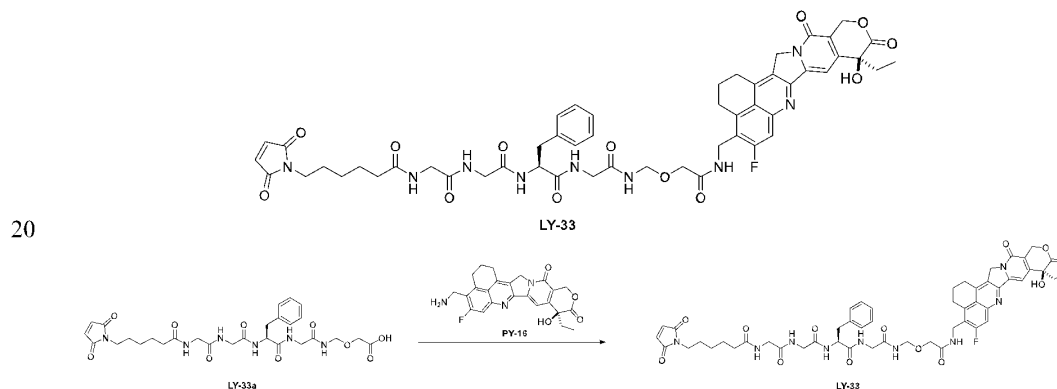


### 步骤 1: 化合物 LY-29D 的制备

向化合物 LY-22CD-3-d (25 mg, 31.37  $\mu\text{mol}$ , 1 eq, LY-22CD-3-d 的合成参考 LY-22CD-3 的合成实施例) 和化合物 LY-34d (40.98 mg, 51%, 34.51  $\mu\text{mol}$ , 1.1 eq, LY-34d 的合成参考 LY-34B 的合成实施例) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入 DIEA (12.16 mg, 15.55  $\mu\text{L}$ , 94.11  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和 HATU (11.93 mg, 31.37  $\mu\text{mol}$ , 1 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(R5)。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) 得产物 LY-29D (15.29 mg, Yield=35.20%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1384 $[M+H]^+$ .  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.20 (t,  $J$  = 5.6 Hz, 1H), 9.00 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 8.51 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 8.30 (d,  $J$  = 5.4 Hz, 1H), 8.16 (d,  $J$  = 7.4 Hz, 1H), 8.04 (t,  $J$  = 5.8 Hz, 1H), 7.98 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 7.89 (d,  $J$  = 11.2 Hz, 1H), 7.46 (s, 1H), 6.67 (s, 1H), 5.58 (s, 2H), 5.40 (s, 2H), 4.65 (s, 2H), 4.39 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 1H), 4.31-4.24 (m, 1H), 3.78 (d,  $J$  = 10.6 Hz, 5H), 3.71-3.54 (m, 34H), 3.32 (q,  $J$  = 6.2, 6.0 Hz, 6H), 2.60-2.38 (m, 5H), 2.20 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 2H), 2.01 (tt,  $J$  = 14.2, 6.8 Hz, 3H), 1.32 (d,  $J$  = 7.0 Hz, 3H), 1.02 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 3H), 0.92 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 6H).

### 实施例 41: 化合物 LY-33 的制备

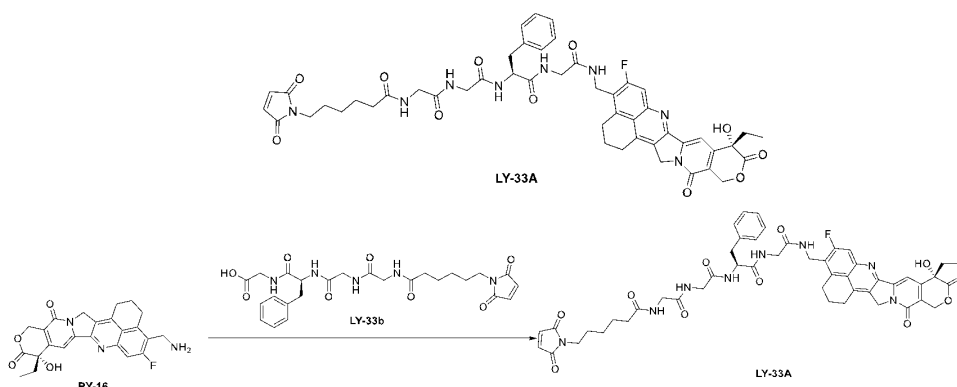


氮气氛下，向化合物 **LY-33a**（成都正善达）（30 mg, 48.65  $\mu$ mol, 1 eq）和化合物 **PY-16**（27.5 mg, 63.25  $\mu$ mol, 1.3 eq）的 DMF（2 mL）溶液中加入 TCFH（16.4 mg, 58.38  $\mu$ mol, 1.2 eq）和 NMI（12.0 mg, 145.95  $\mu$ mol, 3 eq），并将反应液置于室温搅拌 1 小时，反应液经高效液相制备色谱法（制备色谱厂家 SHIMADZU，型号 LC-20AP。色谱柱为 Synergi Max-RP 280 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu$ m。流动相水（0.225%FA）-ACN，乙腈的洗脱比例从 30%到 50%洗脱）纯化，得淡黄色固体化合物 **LY-33**（6.62 mg，收率=13.2%）。

LCMS（ESI）：m/z, 1034[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.58 (t, *J* = 6.6 Hz, 1H), 8.29 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H), 8.17-8.10 (m, 2H), 8.06 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 7.99 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 7.73 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H), 7.30 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.24-7.15 (m, 5H), 6.98 (s, 2H), 6.51 (s, 1H), 5.43 (s, 1H), 5.23 (s, 1H), 4.57 (d, *J* = 6.2 Hz, 4H), 4.47-4.43 (m, 1H), 3.88 (s, 2H), 3.78 – 3.52 (m, 8H), 3.23 (d, *J* = 5.6 Hz, 2H), 3.16 – 3.13 (m, 2H), 3.01 (dd, *J* = 13.6, 4.6 Hz, 2H), 2.81-2.74 (m, 2H), 2.08 (d, *J* = 8.0 Hz, 4H), 1.90-1.84 (m, 2H), 1.46 (q, *J* = 7.4 Hz, 4H), 1.17 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 0.88 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H)。

#### 实施例 42：化合物 **LY-33A** 的制备



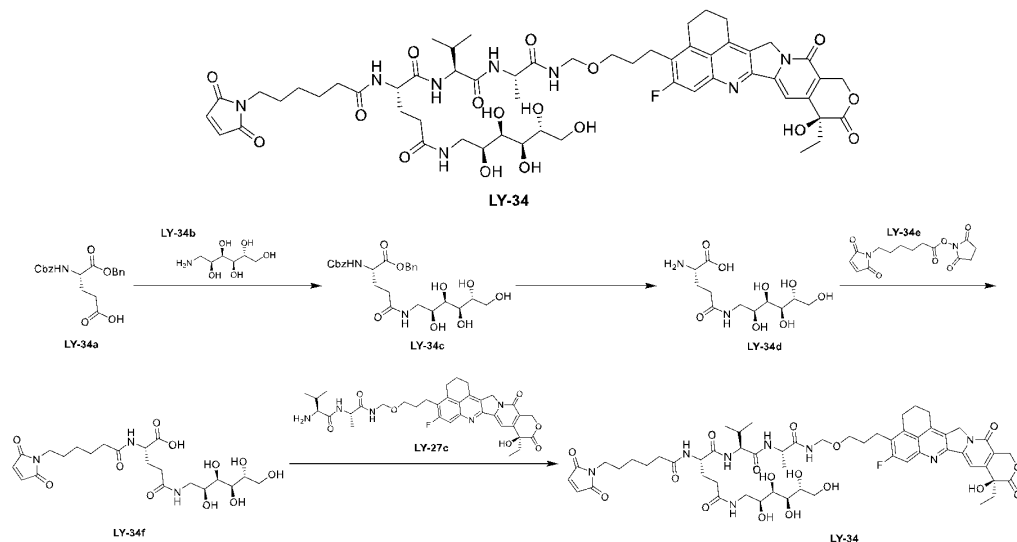
将 HOBt（11.5 mg, 85.0  $\mu$ mol, 3.0 eq）和 EDCI（9.8 mg, 60  $\mu$ mol, 1.8 eq）加入到化合物 **PY-16**（16 mg, 37  $\mu$ mol, 1.3 eq）和化合物 **LY-33b**（15 mg, 28  $\mu$ mol, 1.0 eq）（成都正善达购买）的 DMA（0.5 mL）溶液中，25 $^{\circ}$ C 搅拌 2 h。反应液经过高效液相制备色谱法（制备色谱厂家 luna，型号 Lab311-ISCO-R4。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250 $\times$ 50mm $\times$ 10 $\mu$ m。流动相水（0.225%HCOOH）-乙腈，水的洗脱比例从 21%到 51%洗脱）纯化，洗脱液冻干后得到白色固体化合物 **LY-33A**（3.63 mg，14% 收率）。

LCMS（ESI）：m/z, 947.4 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.24 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 8.18 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 8.07 (dd, *J* = 7.2, 4.0 Hz, 2H), 7.99 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 7.76 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.26-7.18 (m, 4H), 7.15 (td, *J* = 6.0, 2.4 Hz, 1H), 6.98 (s, 2H), 6.53 (s, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.25 (s, 2H), 4.53 (d, *J* = 5.2 Hz, 2H), 4.48-4.43 (m, 1H), 3.72-3.62 (m, 5H), 3.55

(d,  $J = 5.6$  Hz, 1H), 3.52-3.50 (m, 1H), 3.22 (t,  $J = 6.0$  Hz, 2H), 3.17-3.12 (m, 2H), 3.02-2.97 (m, 1H), 2.78-2.72 (m, 1H), 2.09 (dd,  $J = 10.4, 4.4$  Hz, 4H), 1.86 (dq,  $J = 14.0, 7.2$  Hz, 2H), 1.45 (h,  $J = 7.2$  Hz, 4H), 1.27-1.09 (m, 3H), 0.87 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H)。

## 5 实施例 43: 化合物 **LY-34** 的制备



### 步骤 1: 化合物 **LY-34c** 的制备

10 将化合物 N-苄氧羰基-L-谷氨酸 1-苄酯 (**LY-34a**) (1.50 g, 4.04 mmol, 1 eq) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (60 mL), 室温加入化合物 4-(4,6-二甲氧基三嗪)-4-甲基吗啉盐酸盐 (毕得医药, 2.24 g, 8.08 mmol, 2 eq) 和三乙胺 (613.04 mg, 842.09  $\mu$ L, 6.06 mmol, 1.5 eq), 反应在 25°C 搅拌 0.5 小时, 再加入 D-葡萄糖胺 (731.80 mg, 4.04 mmol, 1 eq)。反应液在 25°C 搅拌 11.5 小时。反应液通过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO-R4。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250  $\times$  50mm  $\times$  10  $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 11% 到 31% 洗脱) 纯化, 得白色固体产物 (2 g, 收率: 78.74%, 纯度: 85%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 535.3  $[M+H]^+$ 。

### 步骤 2: 化合物 **LY-34d** 的制备

20 将化合物 **LY-34c** (300 mg, 561.21  $\mu$ mol, 1 eq) 溶于甲醇 (10 mL)/水 (10 mL), 向该溶液中加入钯碳 (59.72 mg, 4.97  $\mu$ L, 561.21  $\mu$ mol, 1 eq), 置换氢气三次后, 在氢气氛围下 25°C 搅拌 12 小时。反应液过滤, 冻干后得白色固体产物 (180 mg, 收率: 103.36%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 333.1  $[M+Na]^+$ 。

### 25 步骤 3: 化合物 **LY-34f** 的制备

向化合物 **LY-34d** (130 mg, 418.95  $\mu$ mol, 1 eq) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (6 mL) 溶液中, 加入 6-(马来酰亚胺基)己酸琥珀酰亚胺酯 (142.07 mg, 460.84  $\mu$ mol, 1.1 eq)

和三乙胺 (169.57 mg, 232.93  $\mu$ L, 1.68 mmol, 4 eq), 反应液在 25°C 搅拌 12 小时。反应液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 250 $\times$ 50mm $\times$ 7 $\mu$ m。流动相水 (0.225% 甲酸) - 乙腈, 水的洗脱比例从 1% 到 24% 洗脱) 纯化, 得到白色固体产物 (70 mg, 收率: 33.18%)。

5 LCMS (ESI):  $m/z$ , 504.2[M+H]<sup>+</sup>。

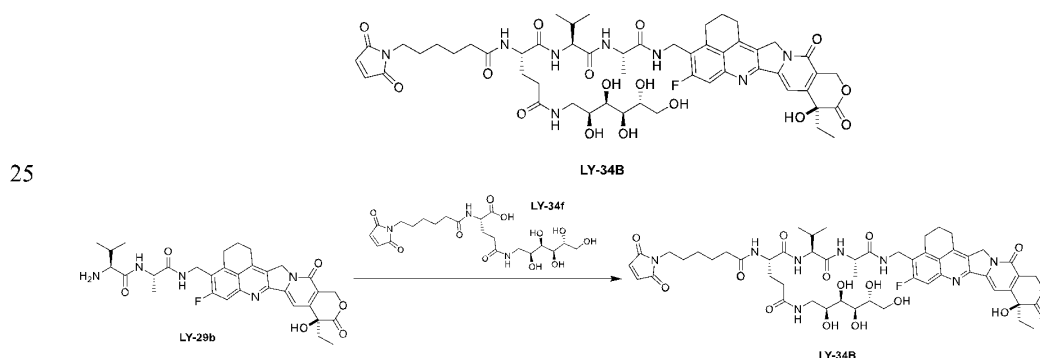
步骤 4: 化合物 **LY-34** 的制备

向化合物 **LY-34f** (5 mg, 9.93 $\mu$ mol, 1 eq) 的 N,N-二甲基乙酰胺溶液中加入化合物 **LY-27c** (6.59 mg, 9.93 $\mu$ mol, 1 eq) 和对甲苯磺酸 (4.99 mg, 19.86  $\mu$ mol, 2 eq)、4-羟基苯并三唑 (5.37 mg, 39.72 $\mu$ mol, 4eq), 最后加入 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐 (2.28 mg, 2.60 $\mu$ L, 11.92 $\mu$ mol, 1.2 eq)。反应在 25°C 搅拌 12 小时。反应液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 Synergi Max-RP 250 $\times$ 40mm $\times$ 10 $\mu$ m。流动相水 (0.225% 甲酸) - 乙腈, 水的洗脱比例从 21% 到 51% 洗脱) 纯化, 得到白色固体产物 **LY-34** (1.13 mg, 收率: 9.90%)。

15 LCMS (ESI):  $m/z$ , 1149.5[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  8.61 (t,  $J$  = 6.7 Hz, 2H), 8.11 (d,  $J$  = 7.0 Hz, 2H), 8.00 (s, 1H), 7.72 (d,  $J$  = 11.0 Hz, 4H), 7.66 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 2H), 7.30 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 2H), 6.99 (s, 2H), 6.54 (d,  $J$  = 10.6 Hz, 2H), 5.43 (s, 2H), 5.26 (s, 2H), 4.75 (d,  $J$  = 4.6 Hz, 1H), 4.60-4.52 (m, 3H), 4.48 (s, 1H), 4.37 (dd,  $J$  = 13.5, 5.9 Hz, 3H), 4.27 - 4.18 (m, 5H), 3.62-3.56 (m, 4H), 3.15 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 4H), 3.03-2.99 (m, 2H), 2.86 (s, 2H), 2.09 (s, 5H), 1.88 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 2H), 1.46 (dd,  $J$  = 12.7, 5.7 Hz, 6H), 1.19 (t,  $J$  = 6.5 Hz, 6H), 0.82 (dt,  $J$  = 14.7, 7.4 Hz, 9H)。

实施例 44: 化合物 **LY-34B** 的制备

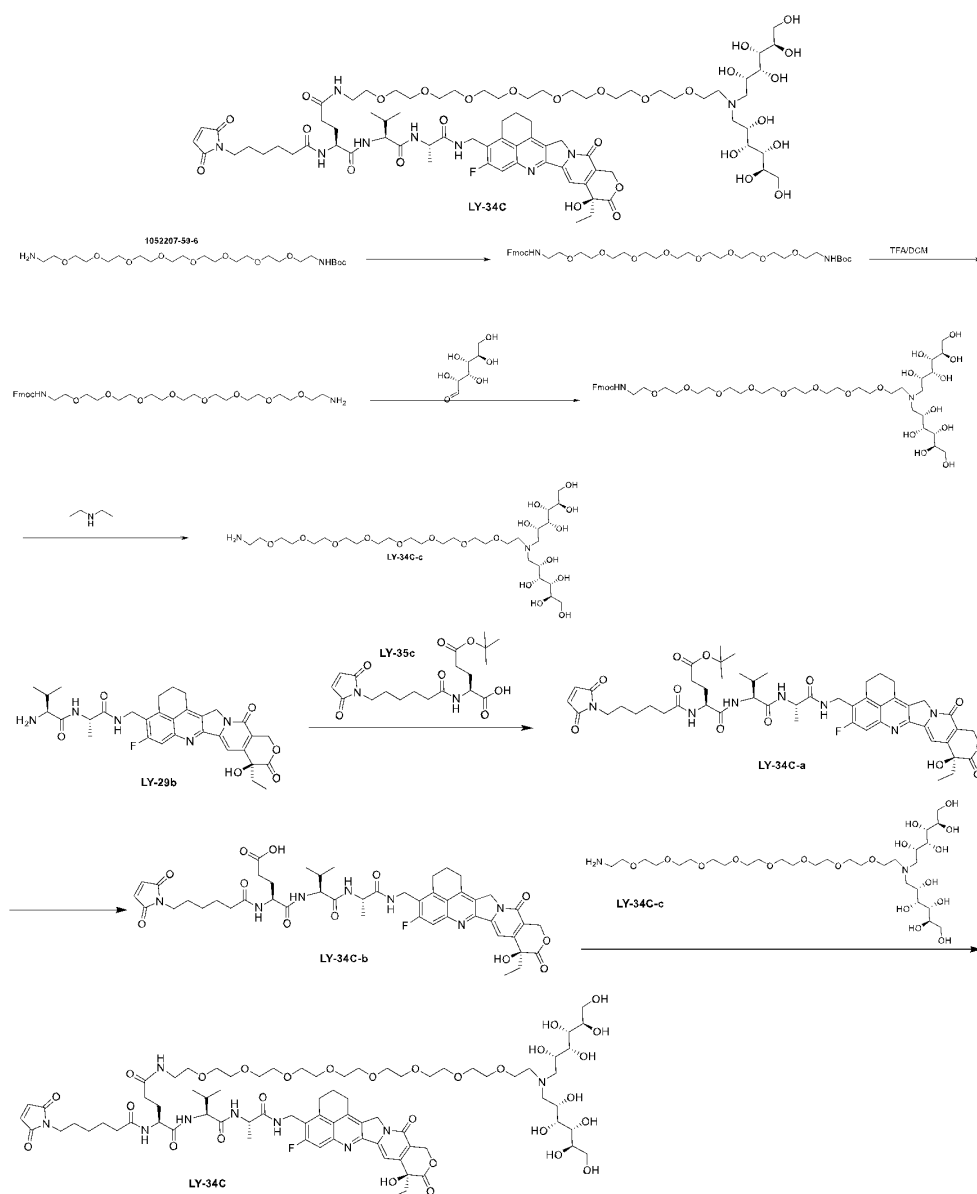


向化合物 **LY-29b** (7.50 mg, 12.38  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DMF (0.5 mL) 溶液中, 加入化合物 **LY-34f** (6.23 mg, 12.38  $\mu$ mol, 1 eq) 和 HOBt (2.51 mg, 1.67  $\mu$ L, 18.57  $\mu$ mol, 1.5 eq), 再加入 EDCI (3.56 mg, 4.06  $\mu$ L, 18.57  $\mu$ mol, 1.5 eq), 加完后, 氮气氛围下, 反应液在 25°C 搅拌 2 小时。反应液用高效液相制备色谱法 (制备色谱 30 厂家 ISCO, 型号 ISCO-4。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250 $\times$ 50mm $\times$ 7 $\mu$ m。流动

相水 (0.225%FA) -乙腈, 水的洗脱比例从 21%到 51%洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物 **LY-34B** (450  $\mu\text{g}$ , 收率: 3.18%, 纯度: 99.6%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1091.5。

## 5 实施例 45: 化合物 **LY-34C** 的制备



## 10 步骤 1: (9H-芴-9-基)甲基叔丁基(3,6,9,12,15,18,21,24-八氧六己烷-1,26-基)二甲酸叔丁酯的制备

0°C向(26-氨基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧六羰基)氨基甲酸酯(毕得医药)(569 mg, 1.11 mmol, 1 eq)的四氢呋喃(20ml)溶液中加入(9H-芴-9-基)甲基(2,5-二氧代吡咯烷-1-基)碳酸酯(411.86 mg, 1.22 mmol, 1.1 eq)和碳酸钠(235.29 mg, 92.63

μL, 2.22 mmol, 2 eq, 溶于 5ml 水中)。加毕, 25°C 反应 2 小时, LCMS 显示反应完成, 反应液先浓缩除去大部分四氢呋喃, 残留物用 30ml 水稀释, 然后用乙酸乙酯萃取 3 次 (30 mL × 3), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得到黄色油状 (9H-芴-9-基) 甲基叔丁基 (3,6,9,12,15,18,21,24-八氧六己烷-1,26-基) 二甲酸叔丁酯 (890 mg)。

LCMS (ESI): m/z, 757.4 [M+H]<sup>+</sup>。

步骤 2: (9H-芴-9-基) 甲基 (26-氨基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧六羰基) 氨基甲酸酯的制备

0°C, 于 (9H-芴-9-基) 甲基叔丁基 (3,6,9,12,15,18,21,24-八氧六己烷-1,26-基) 二甲酸叔丁酯 (890 mg, 1.21 mmol, 1 eq) 的二氯甲烷 (15ml) 加入三氟乙酸 (1.5ml), 加毕 20°C 反应 2 小时。反应浓缩得到黄色油状化合物 (70 mg)。

LCMS (ESI): m/z, 635.4 [M+H]<sup>+</sup>。

步骤 3: (9H-芴-9-基) 甲基 ((29S,30R,31R,32R)-29,30,31,32,33-五羟基-27-((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂-27-氮杂三戊基) 氨基甲酸酯的制备

于 (9H-芴-9-基) 甲基 (26-氨基-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧六羰基) 氨基甲酸酯 (770 mg, 1.21 mmol, 1 eq)、D-葡萄糖 (2.19 g, 12.13 mmol, 10 eq) 的甲醇 (20ml) 和醋酸 (2ml) 溶液中加入氰基硼氢化钠 (381.14 mg, 6.07 mmol, 5 eq), 加毕升温到 55°C 反应 40 小时。反应液通过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250×50mm×7μm。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 经过冻干得到黄色油状化合物 (676 mg, 收率: 54.97%, 纯度: 95%)。

LCMS (ESI): m/z, 963.6 [M+H]<sup>+</sup>。

步骤 4: 化合物 LY-34C-c 的制备

于 (9H-芴-9-基) 甲基 ((29S,30R,31R,32R)-29,30,31,32,33-五羟基-27-((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己基)-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂-27-氮杂三戊基) 氨基甲酸酯 (676 mg, 95%, 666.82 μmol, 1 eq) 的 DMF (5ml) 溶液中加入二乙胺 (243.86 mg, 343.46 μL, 3.33 mmol, 5 eq), 加完 25°C 反应 16 小时。反应液通过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO-R5。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×30mm×10 μm。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 1% 到 24% 洗脱) 纯化, 经冻干得到无色油状化合物 (490 mg, 收率: 99.19%)。

LCMS (ESI): m/z, 741.5 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, 氘代水) δ 3.90-3.53 (m, 47H), 3.22 (t, J = 5.0 Hz, 6H)。

步骤 5: 化合物 LY-34C-a 的制备

向化合物 **LY-29b** (10 mg, 16.51  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (0.5 mL) 溶液中, 加入化合物 **LY-35c** (7.85 mg, 19.81  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 再依次加入 4-羟基苯并三唑 (3.35 mg, 2.23  $\mu\text{L}$ , 24.77  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq)、*N*-(3-二甲基氨基丙基)-*N'*-乙基碳二亚胺盐酸盐 (4.75 mg, 24.77  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq), 加完后, 反应液在 25°C 搅拌 2 小时。反应液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 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 32% 到 62% 洗脱) 纯化, 得到白色固体产物 (8 mg, 收率: 49.24%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 984.5。

10 步骤 6: 化合物 **LY-34C-b** 的制备

25°C, 化合物 **LY-34C-a** (6 mg, 6.10  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 在二氯甲烷/三氟乙酸 (体积比为 5: 1, 总体积为 1 mL) 中搅拌 1 小时。反应液直接浓缩, 得到粗品黄色固体产物 (5 mg, 收率: 88.37%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 928.4 $[M+H]^+$ 。

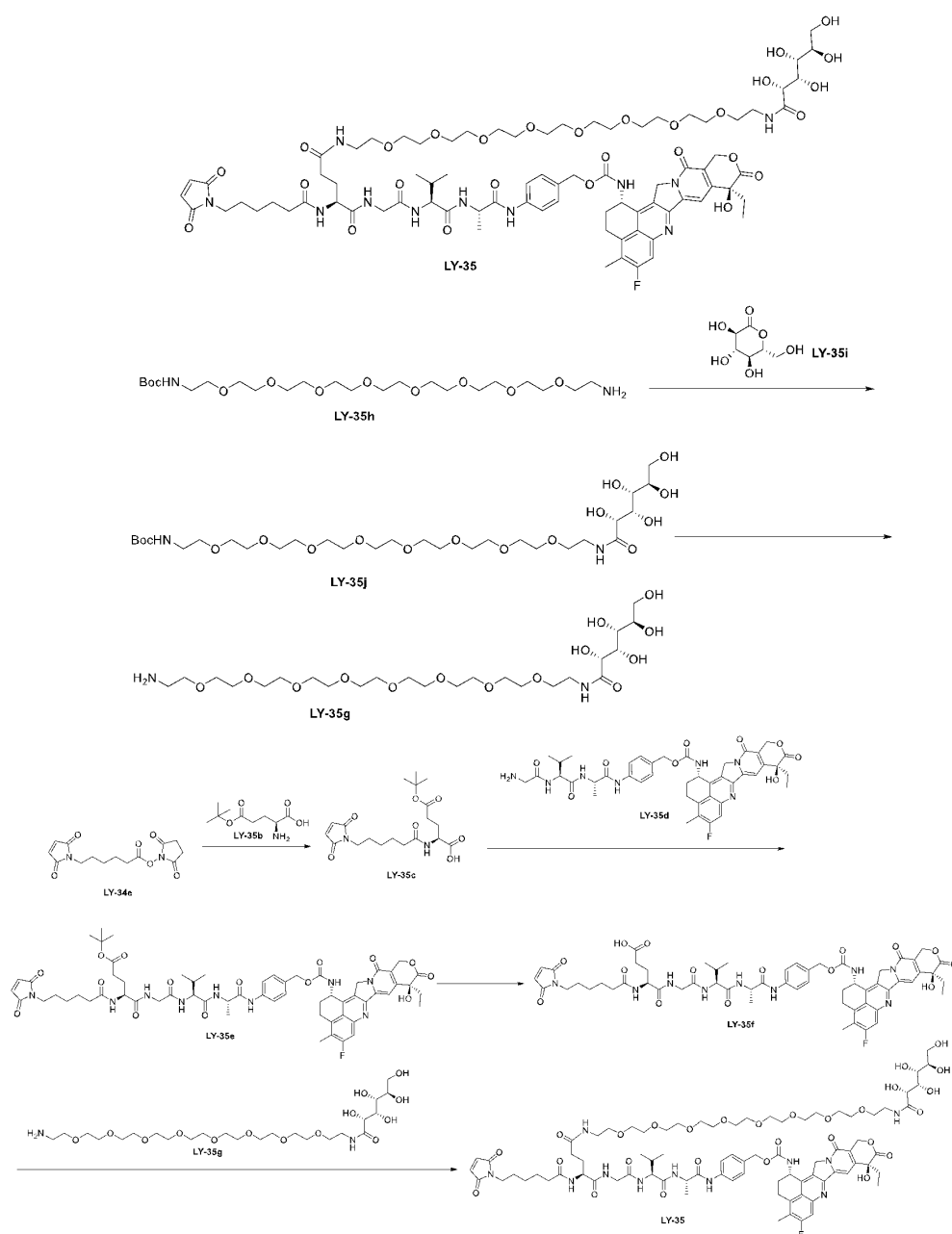
15 步骤 7: 化合物 **LY-34C** 的制备

向化合物 **LY-34C-b** (4 mg, 4.31  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (500  $\mu\text{L}$ ) 中加入化合物 **LY-34C-c** (3.19 mg, 4.31  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 *N,N*-二异丙基乙胺 (1.11 mg, 1.42  $\mu\text{L}$ , 8.62  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 然后加入 2-(7-偶氮苯并三氮唑)-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸酯 (1.97 mg, 5.17  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 反应液在 0°C 搅拌 2 小时。反应液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 250 $\times$ 50mm $\times$ 7 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% 甲酸) - 乙腈, 水的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 得白色固体产物 (3.31 mg, 收率: 45.93%, 纯度: 98.73%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1651.7 $[M+H]^+$ 。

25  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.20 (d,  $J$  = 5.5 Hz, 1H), 8.05 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 1H), 7.97 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 7.84 (t,  $J$  = 5.7 Hz, 1H), 7.75 (d,  $J$  = 11.2 Hz, 1H), 7.61 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 1H), 7.32 (s, 1H), 6.98 (s, 2H), 6.52 (s, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.26 (s, 2H), 4.56-4.45 (m, 6H), 4.32 (t,  $J$  = 5.6 Hz, 4H), 4.26-4.07 (m, 6H), 3.65 (dt,  $J$  = 8.6, 4.4 Hz, 3H), 3.60-3.54 (m, 5H), 3.52-3.47 (m, 30H), 3.25-3.01 (m, 14H), 2.74-2.68 (m, 2H), 2.59 (dd,  $J$  = 13.2, 4.3 Hz, 3H), 2.06 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 6H), 1.87 (tq,  $J$  = 14.8, 7.5, 7.1 Hz, 5H), 1.65 (dd,  $J$  = 13.5, 6.7 Hz, 2H), 1.44 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 4H), 1.18 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 4H), 0.89 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 3H), 0.77 (dd,  $J$  = 14.3, 6.7 Hz, 5H)。

实施例 46: 化合物 **LY-35** 的制备



#### 步骤 1: 化合物 LY-35j 的制备

- 5 氮气氛下，室温，向化合物 LY-35h（西安积学）（300 mg，0.58 mmol，1 eq）的甲醇（15 mL）溶液中加入 (3R,4S,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-酮（1.04 g，5.85 mmol，10 eq）和三乙胺（296 mg，2.93 mmol，5 eq），70°C 反应 14 小时，冷却到室温，反应液减压浓缩，得到粗品化合物 LY-35j（410 mg）。

LCMS (ESI) : m/z, 691.4[M+1]<sup>+</sup>/713.3 [M+Na]<sup>+</sup>。

- 10 步骤 2: 化合物 LY-35g 的制备



冰浴下，向化合物 **LY-35j** (410 mg, 0.593 mmol, 1.0 eq) 的 DCM (15 mL) 溶液中加入 TFA (4 mL)，加完室温反应 2 小时，反应液减压浓缩得到粗品，粗品经高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO-R1。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250×50mm×7μm。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 1% 到 24% 洗脱) 纯化, 得到黄色油状化合物 **LY-35g** (181 mg, 51% 收率)。

LCMS (ESI): m/z, 591.4[M+1]<sup>+</sup>/613.3 [M+Na]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sup>6</sup>) δ 4.29 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H), 4.06 (d, *J* = 3.1 Hz, 1H), 3.87 – 3.54 (m, 36H), 3.43 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H), 3.21 – 3.15 (m, 2H)。

10 步骤 3: 化合物 **LY-35c** 的制备

向 2,5-二氧化吡咯烷-1-基 6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酸酯 (1 g, 3.24 mmol, 1.0 eq) 的 DMF (15 ml) 溶液中加入(S)-2-氨基-5-(叔丁氧基)-5-氧代戊酸 (660 mg, 3.24 mmol, 1.0 eq)、DIEA (839 mg, 6.49 mmol, 2.0 eq)，加完室温反应 6 小时，反应液浓缩二分之一的 DMF，经高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO-R4。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 10% 到 40% 洗脱) 纯化, 得到无水油状化合物 **LY-35c** (1.18 g, 91% 收率)。

LCMS (ESI): m/z, 419.2 [M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 4: 化合物 **LY-35e** 的制备

20 氮气氛围下, 0°C, 向化合物 **LY-35c** (61 mg, 154 μmol, 2.5 eq) 的 DMF (5 mL) 溶液中加入化合物 **LY-35d** (成都正善达购买) (50 mg, 61.6 μmol, 1 eq)、HATU (30.4 mg, 80 μmol, 1.3 eq)、DIPEA (48 mg, 370 μmol, 6.0 eq)，室温反应 2h。反应液经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 250×40mm×10μm, 流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 39% 到 69% 洗脱) 纯化, 冻干得到白色固体化合物 **LY-35e** (38.4 mg, 37.4% 收率)。

LCMS (ESI): m/z, 1190.6[M+H]<sup>+</sup>/1212.5[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 5: 化合物 **LY-35f** 的制备

30 0°C, 于化合物 **LY-35e** (10 mg, 8.4 μmol, 1.0 eq) 的 DCM (4 mL) 溶液中, 滴加 TFA (0.8 mL)，加完 0-10°C 反应 4h, 反应液室温浓缩, 得到化合物 **LY-35f** (10 mg, 75.56% 收率, 72% 纯度)。

LCMS (ESI): m/z, 1134.5[M+H]<sup>+</sup>/567.8[1/2M+H]。

步骤 6: 化合物 **LY-35** 的制备

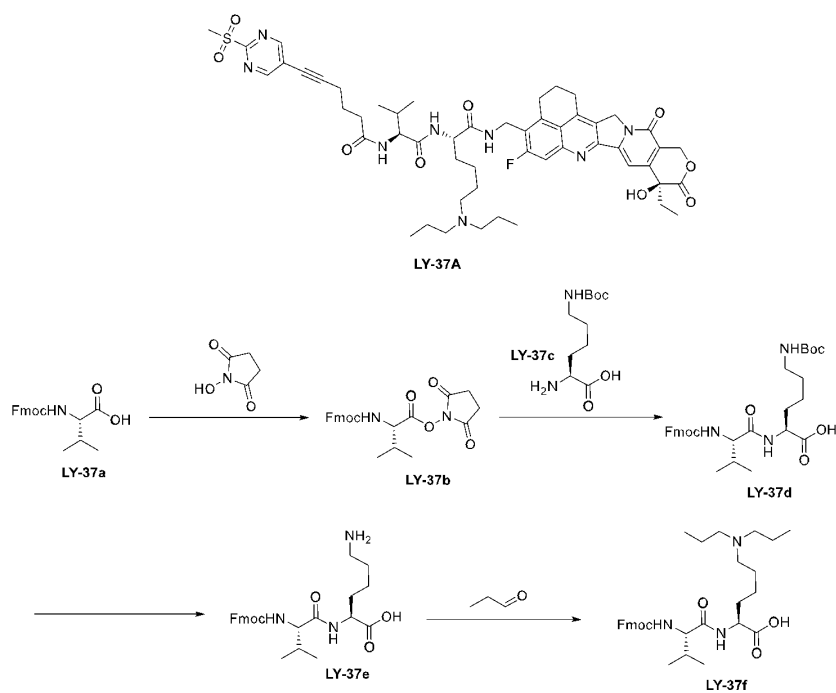
35 氮气氛围下, 0°C, 向化合物 **LY-35f** (10 mg, 6.35 μmol, 72% 纯度, 1eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入化合物 **LY-35g** (4.9 mg, 8.25 μmol, 1.3 eq)、HATU (3.14 mg, 8.25 μmol, 1.3 eq)、DIPEA (5 mg, 38.09 μmol, 6.0 eq)，加完室温反应

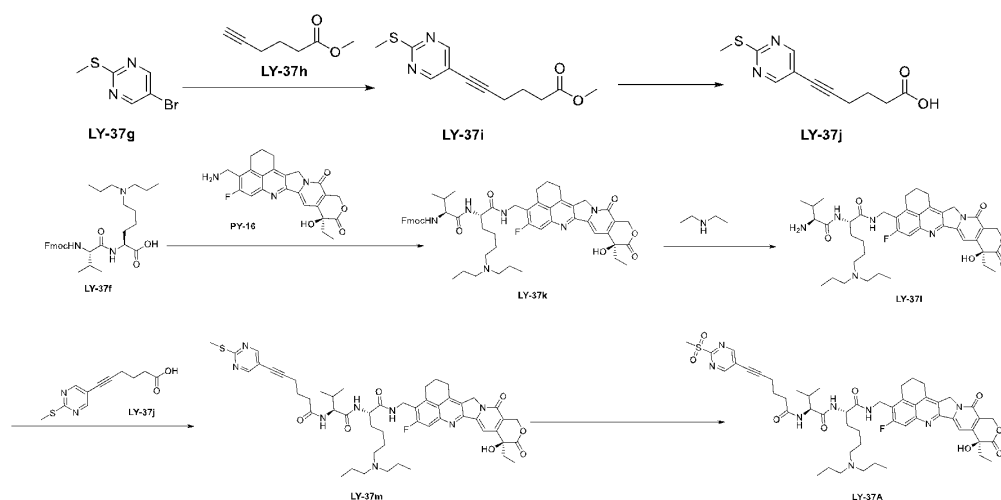
2h。反应液经高效液相制备色谱法（制备色谱厂家 ISCO，型号 ISCO-R1。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250×50mm×7μm，流动相水（0.225% HCOOH）-乙腈，水的洗脱比例从 30%到 60%洗脱）纯化，冻干得到白色固体 **LY-35**（4.34 mg，29.45% 收率）。

- 5  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.93 (s, 2H), 8.47 (s, 4H), 8.36 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 1H), 8.25 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 1H), 8.20-8.11 (m, 2H), 8.09-8.00 (m, 3H), 7.85 (t,  $J$  = 5.8 Hz, 2H), 7.81-7.73 (m, 3H), 7.64-7.57 (m, 4H), 7.36 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 2H), 7.31 (s, 1H), 6.98 (d,  $J$  = 3.3 Hz, 2H), 6.53 (s, 1H), 5.44 (s, 4H), 5.29 (s, 4H), 5.07 (s, 2H), 4.54 (d,  $J$  = 22.8 Hz, 4H), 4.45-4.33 (m, 5H), 4.18-4.16 (m, 4H), 3.99 (s, 2H), 3.90 (s, 2H),  
10 3.76-3.71 (m, 3H), 3.57 (d,  $J$  = 11.2 Hz, 1H), 3.18 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 4H), 2.38 (d,  $J$  = 2.0 Hz, 3H), 2.09 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 9H), 1.97-1.77 (m, 9H), 1.46 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 5H), 1.35-1.27 (m, 5H), 1.17 (t,  $J$  = 8.1 Hz, 3H), 0.91 – 0.80 (m, 13H)。

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 1728.8 $[\text{M}+\text{Na}]^+$  / 854 $[1/2\text{M}+\text{H}]^+$ 。

#### 15 实施例 47：化合物 **LY-37A** 的制备





### 步骤 1: 化合物 LY-37b 的制备

5 氮气氛围下，将化合物(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-L-缬氨酸 (5g, 1.0eq) 和 NHS (2.03 g, 1.2eq) 溶解于无水四氢呋喃 (40mL) 中，加入 DCC (3.65 g, 4.50 mL, 1.2eq)，室温搅拌反应 16 小时。反应液用无水四氢呋喃 (20 mL) 稀释，过滤，滤饼用四氢呋喃 (20 mL) 洗涤，合并滤液后浓缩得到化合物 2,5-二氧代吡咯烷-1-基(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-L-缬氨酸 (7.3 g, 收率 113%)，直接用于下一步反应。

LCMS:  $m/z = 459.2$   $[M+Na]^+$ ;  $R_t = 1.034$ 。

### 步骤 2: 化合物 LY-37d 的制备

15 氮气氛围下，将化合物 LY-37b (3.0 g, 1.0eq) 和化合物 LY-37c (毕得) (2.03 g, 1.2eq) 溶解于四氢呋喃 (37.5 mL) 中，滴加碳酸氢钠水溶液 (其中碳酸氢钠 2.31 g, 4.0eq, 水 37.5 mL)，滴加完毕后室温搅拌反应 16 小时。将反应液用石油醚 (30 mL) 洗涤一次，洗涤液用稀盐酸中和至 pH=5 左右，加入乙酸乙酯 (30 mL) 萃取 2 次，合并有机相，干燥后浓缩，得到化合物 LY-37d (3.6g, 收率 92%)，白色固体，直接用于下一步反应。

LCMS:  $m/z = 468.3$   $[M+H]^+$ ;  $R_t = 0.971$  min。

### 20 步骤 3: 化合物 LY-37e 的制备

将化合物 LY-37d (245mg, 1.0eq) 溶解于无水二氯甲烷 (15 mL) 中，冷却至 0°C，滴加三氟乙酸 (1.5ml, 46.5eq)，升温至室温搅拌 2 小时。将反应液浓缩至干，得到粗品化合物 LY-37e (201 mg, 收率 99%)，直接用于下一步反应。

LCMS:  $m/z = 468.3$   $[M+H]^+$ ;  $R_t = 0.771$  min。

### 25 步骤4: 化合物 LY-37f 的制备

氮气氛围下，将化合物 LY-37e (202mg, 1.0eq) 和丙醛 (312 $\mu$ L, 10.0eq) 溶解于四氢呋喃 (10mL) 和甲醇 (2.5mL) 中，冷却至 0°C，加入氰基硼氢化钠 (136 mg,

5.0eq)，升温至室温搅拌反应 16 小时。将反应液浓缩至干，残余物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 LY-37f（190 mg，收率 80%）。

LCMS:  $m/z = 552.4 [M+H]^+$ ;  $R_t = 0.830 \text{ min}$ 。

5 步骤 5: 化合物 LY-37i 的制备

氮气氛围下，将 5-溴-2-(甲硫基)嘧啶（5g，1.0eq）和己-5-炔酸甲酯（3.26mL，1.0eq）溶解于无水 DMF（80mL）中，加入碘化亚铜（465mg,0.1eq）、三乙胺（1.5mL，1.0eq）和催化剂双三苯基膦二氯化钯（1.8g，0.1eq），加热至 95°C 搅拌反应 12 小时。将反应液浓缩，残余物通过硅胶柱层析色谱法（洗脱剂：石油醚/乙酸乙酯 5:1）纯化，得到化合物 6-(2-(甲硫基)嘧啶-5-基)己-5-炔酸甲酯（LY-37i）（3.3g，收率 54%），黄色油状物。

LCMS:  $m/z = 251.1 [M+H]^+$ ;  $R_t = 2.072 \text{ min}$ 。

步骤 6: 化合物 LY-37j 的制备

将化合物 LY-37i（1.0g，1.0eq）溶解于四氢呋喃（20mL）和水（20mL）中，加入氢氧化锂一水合物（1.2g，7.0eq），20°C 搅拌反应 12 小时。反应液用纯水（40 mL）稀释，并用 1M 盐酸中和至 pH=3 左右，并用二氯甲烷（60mL）分三次萃取，合并有机相，干燥浓缩后得到淡黄色固体化合物 6-(2-(甲硫基)嘧啶-5-基)己-5-炔酸（LY-37j）（930mg，收率 98%）。

LCMS:  $m/z = 237.1 [M+H]^+$ ;  $R_t = 1.455 \text{ min}$ 。

20 步骤 7: 化合物 LY-37k 的制备

将化合物 N<sup>2</sup>-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-L-戊酰基)-N<sup>6</sup>，N<sup>6</sup>-二丙基-L-赖氨酸（LY-37f）（19.01 mg，1.0eq）和化合物 PY-16（15mg,1.0eq）溶解于无水 DMF（2 mL）中，0°C 加入 HATU（19.65 mg，1.5eq）和 DIPEA（17.1μL，3.0eq），升至室温搅拌反应 16 小时。将反应液过滤，滤液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 280×30mm×10μm。流动相水，（0.225% HCOOH）-乙腈，水的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱）纯化，得到化合物 LY-37k（12 mg，收率 36%），白色固体粉末。

LCMS:  $m/z = 969.5 [M+H]^+$ ;  $R_t = 2.026 \text{ min}$ 。

步骤 8: 化合物 LY-37l 的制备

30 将化合物 LY-37k（12 mg，1.0 eq）溶解于 DMF（1 mL）中，加入二乙胺（12.7μL，10.0 eq），室温搅拌反应 3 小时。将反应液浓缩至干，得到粗品 LY-37l（10 mg，粗品不计收率）。

LCMS:  $m/z = 747.5 [M+H]^+$ ;  $R_t = 0.633 \text{ min}$ 。

步骤 9: 化合物 LY-37m 的制备

35 将化合物 LY-37l（10mg，1.0eq）和化合物 LY-37j（3.16 mg，1.0eq）溶解于无水 DMF（1 mL）中，0°C 加入 HATU（6.11mg，1.2eq）和 DIPEA（6.6μL，3.0eq），

升温至室温搅拌反应 2 小时。将反应液过滤，滤液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 280×30mm×10μm。流动相水（0.225% HCOOH）-乙腈，水的洗脱比例从 21%到 51%洗脱）纯化，得到白色固体产品 LY-37m（5 mg，收率 38%）。

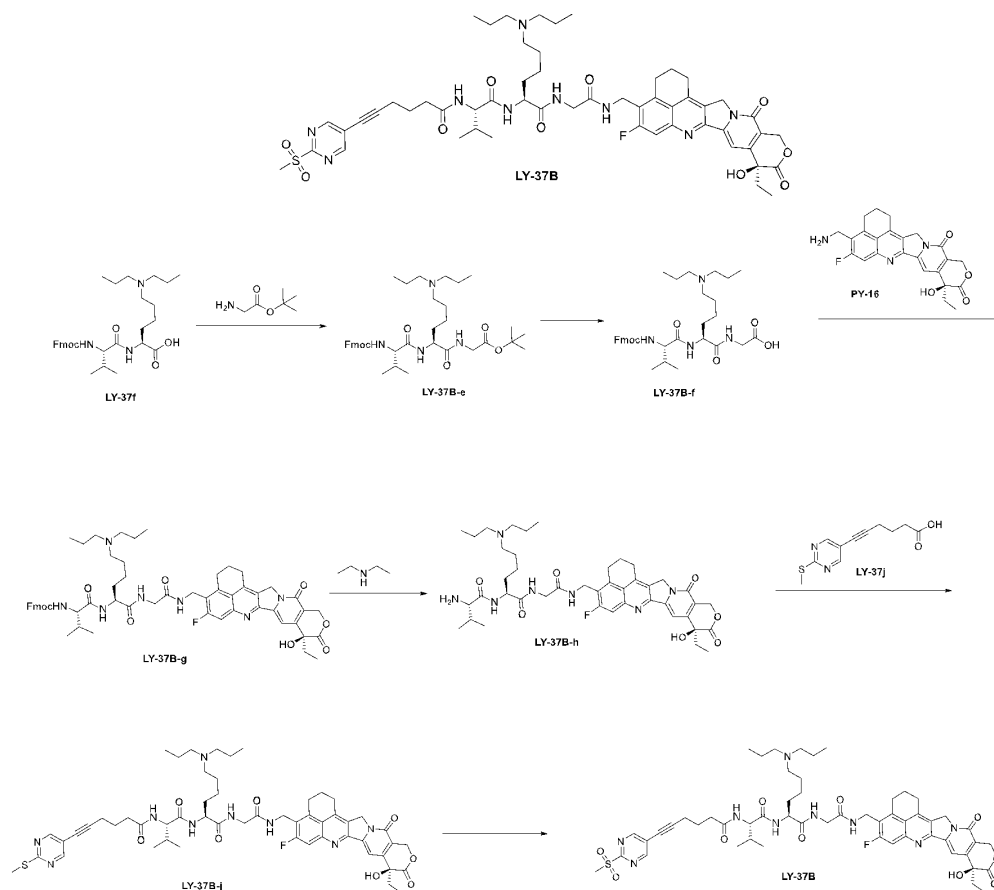
5 LCMS:  $m/z = 965.6 [M+H]^+$ ;  $R_t = 1.795 \text{ min}$ 。

步骤 10: 化合物 LY-37A 的制备

10 将化合物 LY-37m（4 mg，1.0 eq）溶解于四氢呋喃（2 mL）和水（2 mL）中，加入 Oxone（23 mg，10 eq），于室温搅拌反应 16 小时。反应液用亚硫酸钠溶液淬灭，减压浓缩除去四氢呋喃，残余物加少量纯水稀释后过滤，滤液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 280×30mm×10μm。流动相水，（0.225% HCOOH）-乙腈，水的洗脱比例从 12%到 42%洗脱）纯化，得到白色固体化合物 LY-37A（0.24 mg，收率 5.8%）。

LCMS:  $m/z = 997.5 [M+H]^+$ ;  $R_t = 1.544 \text{ min}$ 。

15 实施例 48: 化合物 LY-37B 的制备



步骤 1: 化合物 LY-37B-e 的制备

0°C，向化合物 LY-37f（170 mg，308 μmol，1.0eq）、甘氨酸叔丁酯（48.5 mg，

370  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 的 DMF (5 ml) 溶液中加入 HATU (141 mg, 370  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 和 DIEA (119 mg, 924  $\mu\text{mol}$ , 3.0 eq), 加完室温反应 4 小时。反应液用乙酸乙酯稀释, 倒入冷水中搅拌 3 分钟, 水相用乙酸乙酯萃取 2 次, 有机相合并, 有机相用水洗涤 2 次, 再用食盐水洗涤 1 次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到黄色固体化合物 LY-37B-e (206 mg, 粗品收率不计)。

LCMS:  $m/z = 665.5 [M+H]^+$ ;  $R_t = 2.246 \text{ min}$ 。

步骤 2: 化合物 LY-37B-f 的制备

向化合物 LY-37B-e (206 mg, 310  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq) 的 DCM (10 ml) 溶液中加入 TFA (1 ml), 加完室温反应 3 小时, 反应液减压浓缩得到粗品, 粗品通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 二氯甲烷/甲醇 1: 20 到 1:5) 纯化, 得到化合物 LY-37B-f (174 mg, 收率: 85%, 93% 纯度)。

LCMS:  $m/z = 609.4 [M+H]^+$ ;  $R_t = 1.803 \text{ min}$ 。

步骤 3: 化合物 LY-37B-g 的制备

0°C, 向化合物 LY-37B-f (60 mg, 91.66  $\mu\text{mol}$ , 1.0eq)、化合物 PY-16 (40 mg, 91.66  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq) 的 DMF (2 ml) 溶液中加入 HATU (42 mg, 110  $\mu\text{mol}$ , 1.2eq) 和 DIEA (36 mg, 275  $\mu\text{mol}$ , 3.0 eq), 加完室温反应 3 小时, 反应液倒入水中, 用乙酸乙酯萃取 3 次, 有机相用水洗涤 2 次, 再用食盐水洗涤一次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到黄色固体化合物 LY-37B-g (62 mg, 粗品)。

LCMS:  $m/z = 1026.5 [M+H]^+/513.8 [1/2M+1]^+$ ;  $R_t = 1.020 \text{ min}$ 。

步骤 4: 化合物 LY-37B-h 的制备

向化合物 LY-37B-g (62 mg, 48.33  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq, 粗品) 的 DMF (2 ml) 溶液中加入二乙胺 (18 mg, 242  $\mu\text{mol}$ , 5.0 eq), 加完室温反应 2 小时, 反应液减压浓缩, 得到黄色固体化合物 LY-37B-h (38 mg, 粗品)。

LCMS:  $m/z = 804.5 [M+H]^+$ ;  $R_t = 1.083 \text{ min}$ 。

步骤 5: 化合物 LY-37B-j 的制备

0°C, 向化合物 LY-37j (10 mg, 42.3  $\mu\text{mol}$ , 1.0eq) 和化合物 LY-37B-h (34 mg, 42.3  $\mu\text{mol}$ , 1.0eq) 的无水 DMF (4 mL) 溶液中, 加入 HATU (20.9 mg, 55  $\mu\text{mol}$ , 1.3 eq) 和 DIPEA (27 mg, 211  $\mu\text{mol}$ , 5.0 eq), 加完后升温至室温搅拌反应 12 小时。反应液浓缩, 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 YMC-Triart Prep C18 250 $\times$ 50mm $\times$ 7 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 21% 到 51% 洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物 LY-37B-j (13 mg, 收率 27%)。

LCMS:  $m/z = 1022.4 [M+H]^+/511.8 [1/2+1]^+$ ;  $R_t = 1.71 \text{ min}$ 。

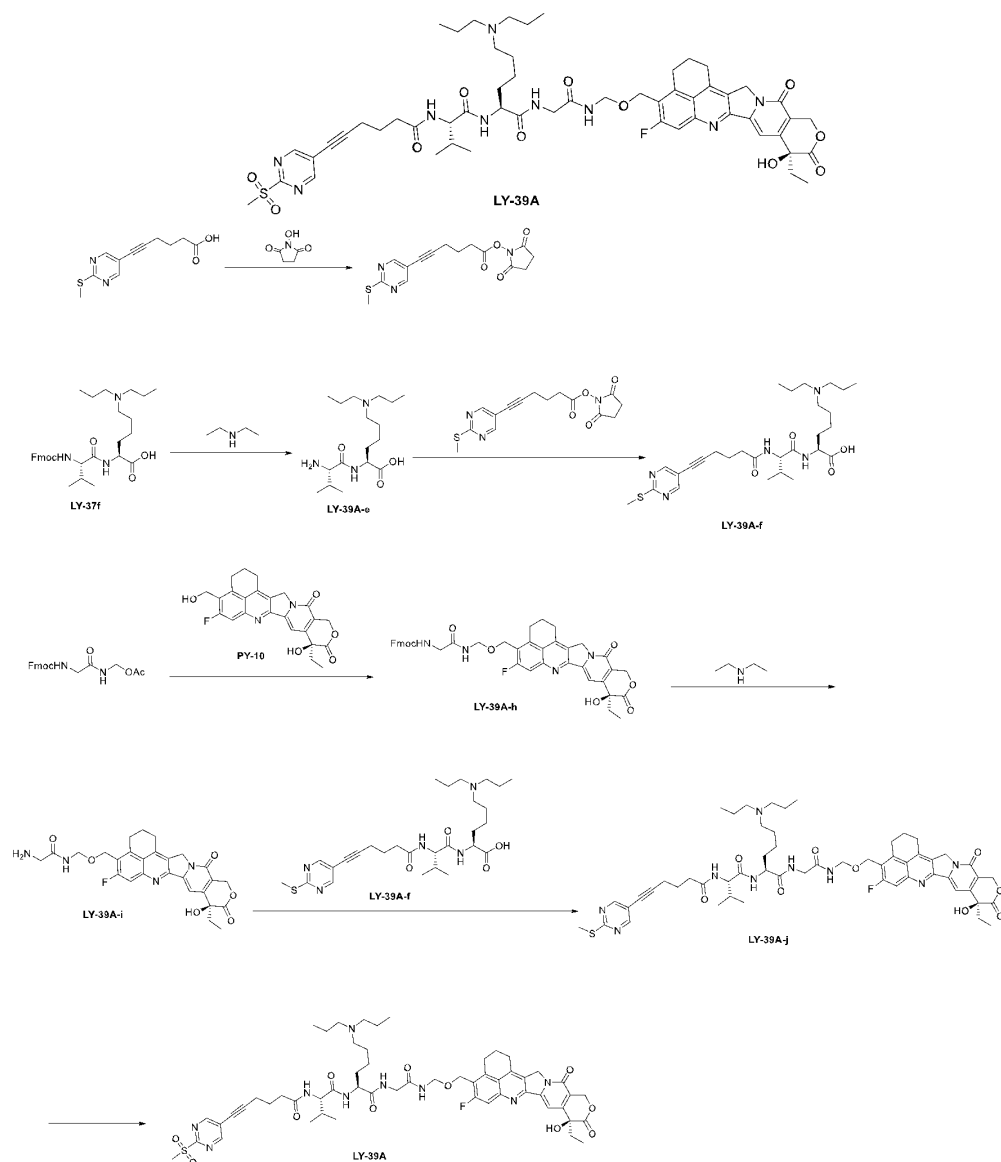
步骤 6: 化合物 LY-37B 的制备

向化合物 LY-37B-j (2 mg, 1.96  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq) 的 THF (1 mL) / H<sub>2</sub>O (1 mL) 的溶液中加入 Oxone (12 mg, 19.56  $\mu\text{mol}$ , 10.0 eq), 加完 25°C 反应 16 小时。将

反应液过滤后,滤液通过高效液相制备色谱法(制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO-R4。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×21.2mm×5 $\mu$ m。流动相水 (10mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>) - 乙腈, 水的洗脱比例从 21%到 51%洗脱) 纯化, 冻干得到白色固体化合物 LY-37B (1 mg, 收率: 48%)。

5 LCMS:  $m/z = 1054.4 [M+H]^+$ ;  $R_t = 1.47$  min。

#### 实施例 49: 化合物 LY-39A 的制备



10 步骤 1: 化合物 2,5-二氧代吡咯烷-1-基 6-(2-(甲硫基)嘧啶-5-基)己-5-炔酸酯的制备

氮气氛围下, 将化合物 6-(2-(甲硫基)嘧啶-5-基)己-5-炔酸 (300 mg, 1.0eq) 和 NHS (183 mg, 1.2eq) 溶解于 DMF (10 mL) 中, 冷却至 0°C, 加入 DIC (401  $\mu$ L,

2.0eq) 后于室温搅拌反应 16 小时。反应液用二氯甲烷 (25 mL) 和水 (20 mL) 稀释, 搅拌后静置分层, 收集有机相, 水相用二氯甲烷 (20 mL) 再萃取两次, 合并有机相, 饱和食盐水洗涤, 干燥后浓缩, 得到粗品化合物 2,5-二氧代吡咯烷-1-基 6-(2-(甲硫基)嘧啶-5-基)己-5-炔酸盐 (520 mg), 淡黄色固体, 直接用于下一步反应。

LCMS:  $m/z = 334.0$   $[M+H]^+$ ;  $R_t = 0.659$  min。

步骤 2: 化合物  $N^2$ -(L-缬氨酸)- $N^6, N^6$ -二丙基-L-赖氨酸 (LY-39A-e) 的制备

将化合物 LY-37f (250 mg, 1.0 eq) 溶解于无水 DMF (5 mL) 中, 加入二乙胺 (467  $\mu$ L, 10.0eq), 室温搅拌反应 3 小时。将反应液浓缩, 得到粗品化合物 LY-39A-e (150 mg), 不经纯化直接用于下一步反应。

LCMS:  $m/z = 330.2$   $[M+H]^+$ ;  $R_t = 0.473$  min。

步骤 3: 化合物 LY-39A-f 的制备

将化合物 LY-39A-e (135 mg, 1.0 eq) 和化合物 2,5-二氧代吡咯烷-1-基 6-(2-(甲硫基)嘧啶-5-基)己-5-炔酸盐 (164 mg, 1.2 eq) 混合于无水 DMF (2 mL) 中, 室温加入 DIPEA (237  $\mu$ L, 3.5eq), 搅拌反应 12 小时。将反应液过滤后, 滤液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 280 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 12% 到 42% 洗脱) 纯化, 得到化合物 LY-39A-f (37 mg, 收率 16.5%) 白色固体。

LCMS:  $m/z = 548.4$   $[M+H]^+$ ;  $R_t = 1.497$  min。

步骤 4: 化合物 LY-39A-h 的制备

氮气氛围下, 将化合物 (2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙酰胺) 乙酸甲酯 (成都正善达) (92.85 mg, 5.5eq) 和化合物 PY-10 (20 mg, 1.0eq) 混合于无水四氢呋喃 (3 mL) 中, 加入对甲苯磺酸 (2.37 mg, 0.3 eq), 于室温搅拌反应 16 小时。补加化合物 (2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙酰胺) 乙酸甲酯 (92.85 mg, 5.5 eq) 继续搅拌反应 16 小时。将反应液过滤后浓缩, 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 YMC-Triart Prep C18 250 $\times$ 50mm $\times$ 7 $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 39% 到 69% 洗脱) 纯化, 得到化合物 LY-39A-h (22 mg, 收率 64.5%)。

LCMS:  $m/z = 745.3$   $[M+H]^+$ ;  $R_t = 2.111$  min。

步骤 5: 化合物 LY-39A-i 的制备

将化合物 LY-39A-h (22 mg, 1.0eq) 溶解于无水 DMF (1 mL) 中, 加入二乙胺 (30.43  $\mu$ L, 10.0eq), 于室温搅拌反应 3 小时。将反应液浓缩, 得到粗品化合物 LY-39A-i (15 mg), 不经纯化直接用于下一步反应。

LCMS:  $m/z = 523.2$   $[M+H]^+$ ;  $R_t = 0.598$  min。

步骤 6: 化合物 LY-39A-j 的制备

将化合物 LY-39A-i (10 mg, 1.0 eq) 和化合物 LY-39A-f (10.48 mg, 1.0eq)



混合于无水 DMF (2 mL) 中, 加入 HATU (9.5 mg, 1.3 eq) 和 DIEA (8.7 mg, 3.5 eq), 加完室温搅拌反应 1 小时。反应液直接用于下一步。

LCMS:  $m/z = 1052.5 [M+H]^+$ ;  $R_t = 1.776 \text{ min}$ 。

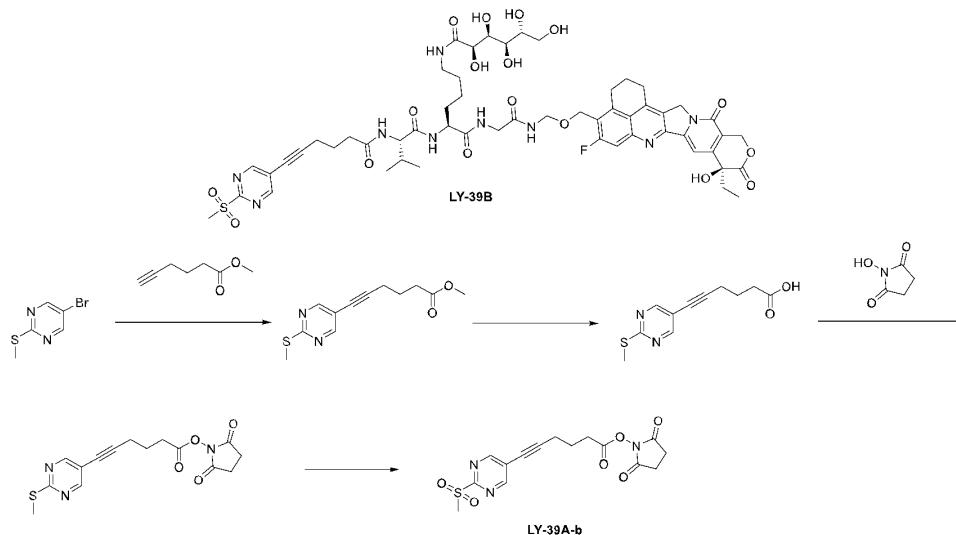
步骤 7: 化合物 **LY-39A** 的制备

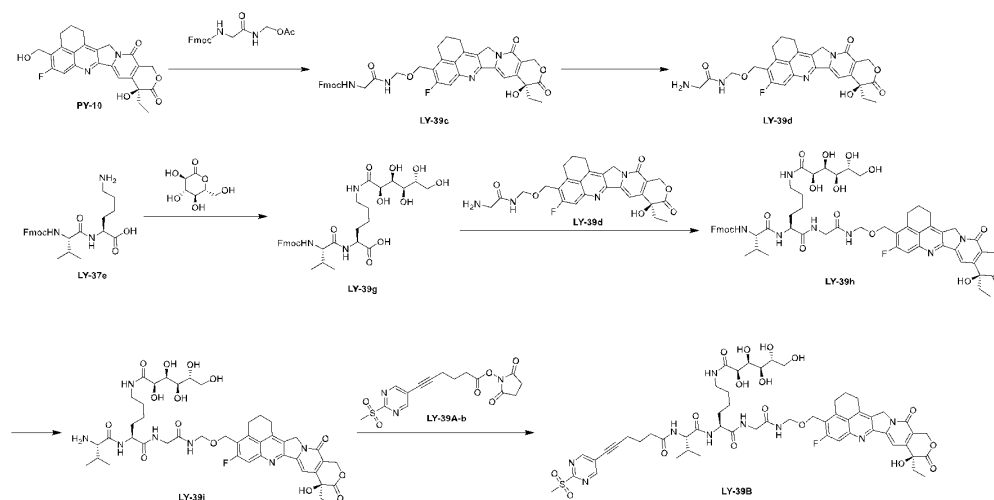
- 5 向含有化合物 **LY-39A-j** (20.14 mg, 1.0eq) 的反应液中, 加入四氢呋喃 (1 mL) 和水 (1 mL) 以及 DMF (4 mL), 室温加入 Oxone (106 mg, 33 eq), 于室温搅拌反应 16 小时。将反应液过滤, 滤液浓缩, 残余物通过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO-R1。色谱柱为 Synergi Max-RP 280×30mm×10 $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 12% 到 42% 洗脱) 纯化, 得到化合物 **LY-39A** (3.13 mg, 收率 15.08 %)。

LCMS:  $m/z = 1084.5 [M+H]^+$ ;  $R_t = 4.199 \text{ min}$ 。

- $^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.08 (s, 1H), 8.76 (t,  $J = 6.6 \text{ Hz}$ , 1H), 8.33 (s, 1H), 8.23 (t,  $J = 5.8 \text{ Hz}$ , 1H), 8.04 (d,  $J = 7.2 \text{ Hz}$ , 2H), 7.95 (d,  $J = 8.5 \text{ Hz}$ , 2H), 7.74 (d,  $J = 11.1 \text{ Hz}$ , 2H), 7.32 (s, 2H), 6.54 (s, 2H), 5.44 (s, 2H), 5.26 (s, 2H), 4.69 (d,  $J = 5.6 \text{ Hz}$ , 5H), 4.19 (dt,  $J = 27.8, 7.5 \text{ Hz}$ , 5H), 3.85-3.68 (m, 6H), 3.19 (dd,  $J = 13.8, 6.6 \text{ Hz}$ , 12H), 2.40-2.22 (m, 15H), 2.07 (t,  $J = 6.3 \text{ Hz}$ , 4H), 2.00-1.73 (m, 12H), 1.68 (s, 2H), 1.56 (dd,  $J = 9.1, 4.9 \text{ Hz}$ , 3H), 1.33 (h,  $J = 7.3 \text{ Hz}$ , 10H), 1.24 (s, 2H), 0.91-0.75 (m, 9H)。

## 20 实施例 50: 化合物 **LY-39B** 的制备





### 步骤 1: 6-(2-(甲硫基)嘧啶-5-基)己-5-炔酸甲酯的制备

氮气氛围下, 向 5-溴-2-(甲硫基)嘧啶 (5 g, 24.38 mmol, 1 eq) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (60 mL) 溶液中, 加入 5-炔酸己甲酯 (3.91 mL, 29.26 mmol, 1.2 eq)、三乙胺 (3.39 mL, 24.38 mmol, 1 eq)、碘化亚铜 (664.35 mg, 2.44 mmol, 0.1 eq)、双(三苯基膦)二氯化钯 (2.6 g, 2.44 mmol, 0.1 eq), 将反应置于 95°C 反应 12 小时, LCMS 监控反应, 原料反应完全, 加等体积乙酸乙酯溶解过滤, 加水 (100 mL) 稀释, 用乙酸乙酯 (100 mL×3) 萃取, 将有机相合并用水 (100 mL×2)、饱和食盐水 (100 mL×1) 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法 (洗脱剂: 石油醚/二氯甲烷=5:1) 纯化, 得到黄色油状 6-(2-(甲硫基)嘧啶-5-基)己-5-炔酸甲酯 (3.43 g, 收率=56.20%)。

LCMS (ESI): m/z, 251[M+H]<sup>+</sup>。

### 步骤 2: 6-(2-(甲硫基)嘧啶-5-基)己-5-炔酸的制备

向 6-(2-(甲硫基)嘧啶-5-基)己-5-炔酸甲酯 (3.4 g, 24.38 mmol, 1 eq) 的四氢呋喃 (60 mL) 和水 (60 mL) 溶液中, 加入氢氧化锂一水合物 (4.02 g, 95.64 mmol, 7 eq), 将反应置于 25°C 反应 12 小时, 加等体积水溶解过滤, 用 1 N 盐酸调节 pH=3, 用二氯甲烷 (200 mL×3) 萃取, 将有机相合并用水 (200 mL×2)、饱和食盐水 (100 mL×1) 洗涤, 再用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 得到黄色油状 6-(2-(甲硫基)嘧啶-5-基)己-5-炔酸 (2.76 g, 收率=85.49%)。

LCMS (ESI): m/z, 237[M+H]<sup>+</sup>。

### 步骤 3: 2,5-二氧化吡咯烷-1-基 6-(2-(甲硫基)嘧啶-5-基)己-5-炔酸酯的制备

向 6-(2-(甲硫基)嘧啶-5-基)己-5-炔酸 (1.69 g, 14.72 mmol, 2 eq) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (20 mL) 溶液中加入 1-羟基吡咯烷-2,5-二酮 (1.98 g, 7.36 mmol, 1 eq), 0°C 加入 N,N-二异丙基碳二亚胺 (2.32 mL), 将反应置于 25°C 反应 12 小时, 加等体积乙酸乙酯溶解过滤, 再用 100 mL 水稀释, 用乙酸乙酯 (100 mL×3) 萃取, 将有机相合并用水 (100 mL×2)、饱和食盐水 (100 mL×1) 洗涤, 再用无水硫

酸钠干燥，过滤，浓缩，得到黄色油状 2,5-二氧化吡咯烷-1-基 6-(2-(甲硫基)嘧啶-5-基)己-5-炔酸酯 (4.4 g, 收率=163.59%)。

LCMS (ESI) : m/z, 366[M+H]<sup>+</sup>。

5 步骤 4: 2,5-二氧化吡咯烷-1-基 6-(2-(甲基磺酰基)嘧啶-5-基)己-5-炔酸酯的制备

向 2,5-二氧化吡咯烷-1-基 6-(2-(甲硫基)嘧啶-5-基)己-5-炔酸酯 (4.4 g, 13.2 mmol, 2 eq) 的四氢呋喃 (70 mL), 水 (70 mL) 溶液中, 加入过氧单磺酸钾 (22.20 g, 131.99 mmol, 10 eq), 将反应置于 25°C 反应 12 小时, 加等体积冰水, 搅拌 2 分钟, 用二氯甲烷 (200 mL×3) 萃取, 将有机相合并用水 (200 mL×2)、饱和食盐水 (200 mL) 洗涤, 再用无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 得到黄色油状 2,5-二氧化吡咯烷-1-基 6-(2-(甲基磺酰基)嘧啶-5-基)己-5-炔酸酯 (2.58 g, 收率=51.78%)。

LCMS (ESI) : m/z, 366[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9.14 (s, 2H), 3.41 (s, 3H), 2.90 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.83 (s, 4H), 2.70 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 1.96 (p, *J* = 7.2 Hz, 2H)。

步骤 5: 化合物 LY-39c 的制备

向化合物 PY-10 (30 mg, 68.74 μmol, 1 eq) 的四氢呋喃 (2 mL) 溶液中加入化合物(2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙酰胺)乙酸甲酯 (50.64 mg, 137.48 μmol, 2 eq), 再加入催化量的对甲苯磺酸 (3.55 mg, 3.32 μL, 20.62 μmol, 0.3 eq)。反应液在 20°C 搅拌 12 小时。反应液用高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO-4。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250×30mm×10μm。流动相 Water (0.225%FA) -ACN, 水的洗脱比例从 39%到 69%洗脱) 分离纯化, 冻干后得到白色固体产物 LY-39c (13 mg, 收率: 25.39%)。

LCMS (ESI) : m/z, 745.3 [M+H]<sup>+</sup>。

25 步骤 6: 化合物 LY-39d 的制备

将化合物 LY-39c (13 mg, 15.15 μmol, 1 eq) 溶于 DMF (1 mL), 向该溶液中加入二乙胺 (7.66 mg, 10.79 μL, 104.73 μmol, 6 eq), 氮气氛围下, 溶液在 20°C 搅拌 3 小时。反应液减压浓缩, 得到产物 LY-39d (8 mg, 收率: 87.71%), 直接用于下一步。

30 LCMS (ESI) : m/z, 1045.3 [2M+H]<sup>+</sup>。

步骤 7: 化合物 LY-39g 的制备

将化合物 LY-37c (400 mg, 855.49 μmol, 1 eq) 溶于 MeOH (10 mL), 加入 TEA (432.83 mg, 4.28 mmol, 5 eq) 和 (3R,4S,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-酮 (304.79 mg, 507.99 μL, 1.71 mmol, 2 eq), 在 70°C 搅拌 12 h。反应液用高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO-6。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×50mm×10μm。流动相 Water (0.225%FA) -ACN, 水的洗脱比例

从 21%到 41%洗脱) 纯化, 冻干后, 得到白色固体产物 **LY-39g** (18 mg, 收率: 3.26%)。

LCMS (ESI) : m/z, 646.3。

步骤 8: 化合物 **LY-39h** 的制备

5 向化合物 **LY-39g** (12 mg, 18.58  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (1 mL) 中加入 HOBt (3.77 mg, 2.51  $\mu\text{L}$ , 27.88  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq) 和化合物 **LY-39d** (9.71 mg, 18.58  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 然后再加入 EDCI (5.34 mg, 27.88  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq)。反应液在 20°C 搅拌 1 小时。反应液直接经高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO-6。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相 Water (0.225%FA) -ACN, 10 水的洗脱比例从 21%到 51%洗脱) 纯化, 冻干后得白色固体 **LY-39h** (10 mg, 收率: 46.78%)。

LCMS (ESI) : m/z, 1150.6[M+H]<sup>+</sup>。

步骤 9: 化合物 **LY-39i** 的制备

向化合物 **LY-39h** (10 mg, 8.69  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (2 mL) 中加入 Et<sub>2</sub>NH (3.18 15 mg, 4.48  $\mu\text{L}$ , 43.47  $\mu\text{mol}$ , 5 eq), 反应液在 20°C 搅拌 1 小时。反应液减压浓缩, 得产物 **LY-39i** (8 mg, 收率: 99.16%)。

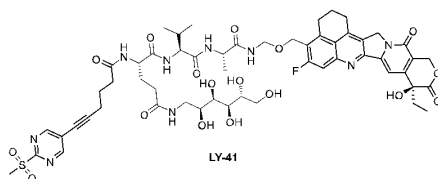
LCMS (ESI) : m/z, 928.4[M+H]<sup>+</sup>。

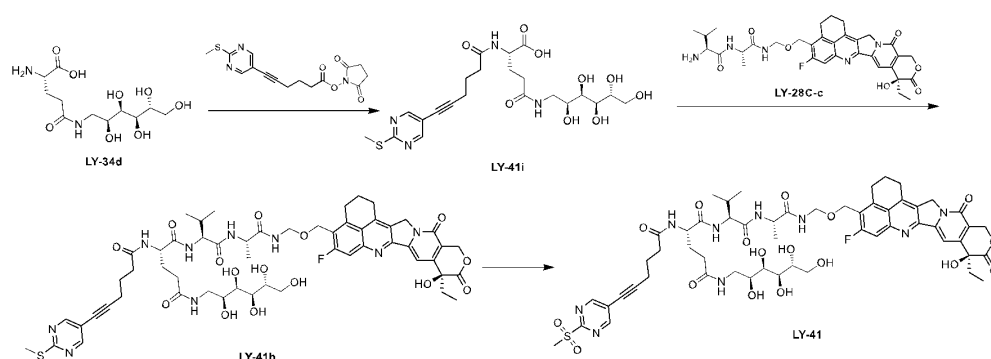
步骤 10: 化合物 **LY-39B** 的制备

向化合物 **LY-39i** (5 mg, 5.39  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中加入化合物 20 **LY-39A-b** (5 mg, 5.39  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 DIPEA (696.41  $\mu\text{g}$ , 5.39  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 反应在 20°C 搅拌 2h。反应液过滤后经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 Synergi Max-RP 280 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225%HCOOH) -乙腈, 水的洗脱比例从 12%到 42%洗脱) 纯化, 冻干后得白色固体化合物 **LY-39B** (840  $\mu\text{g}$ , 收率: 13.23%)。

25 LCMS (ESI) : m/z, 1178.5[M+H]<sup>+</sup>。

实施例 51: 化合物 **LY-41** 的制备





### 步骤 1: 化合物 LY-41i 的制备

将化合物 LY-34d (30 mg, 96.68  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DMF (0.5 mL), 向其中  
 5 加入 DIPEA (24.99 mg, 31.96  $\mu\text{L}$ , 193.36  $\mu\text{mol}$ , 2 eq) 和化合物 2,5-二氧化吡咯  
 烷-1-基 6-(2-(甲硫基)嘧啶-5-基)己-5-炔酸盐 (32.23 mg, 96.68  $\mu\text{mol}$ , 1 eq)。反应  
 液在 20°C 搅拌 2 小时。反应液经高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号  
 ISCO-6。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250 $\times$ 50mm $\times$ 7 $\mu\text{m}$ 。流动相 Water (10mM  
 $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ )-ACN, 水的洗脱比例从 1% 到 24% 洗脱) 纯化, 冻干后得白色固体 LY-41i  
 10 (30 mg, 收率: 58.70%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 529.2[M+H]<sup>+</sup>。

### 步骤 2: 化合物 LY-41h 的制备

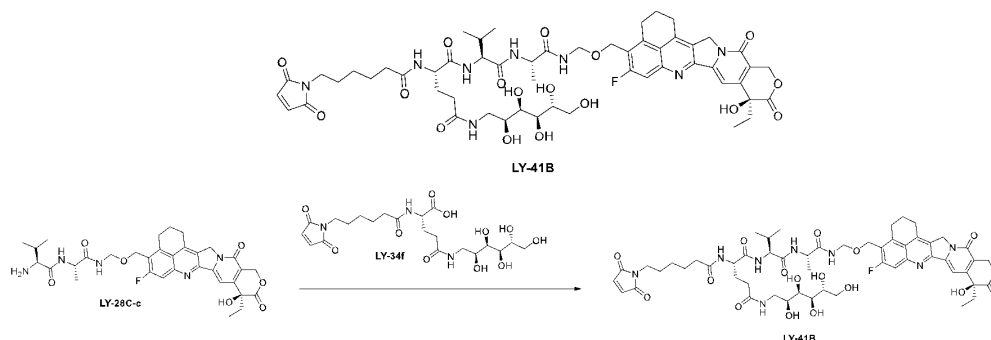
向化合物 LY-41i (5 mg, 9.46  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (0.5 mL) 中加入化合物  
 LY-28C-c (6.01 mg, 9.46  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 再依次加入 HOBt (1.92 mg, 1.28  $\mu\text{L}$ ,  
 15 14.19  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq)、EDCI (2.72 mg, 14.19  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq), 氮气氛围下, 反应  
 液在 25°C 搅拌 1 小时。反应液经高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家橙达 Oriendo,  
 型号 BRIX-2860。色谱柱为 Synergi Max-RP 280 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水  
 (0.225% $\text{HCOOH}$ )-乙腈, 水的洗脱比例从 21% 到 51% 洗脱) 纯化, 冻干后得白  
 色固体产物 LY-41h (3 mg, 收率: 27.67%)。

20 LCMS (ESI):  $m/z$ , 1146.3[M+H]<sup>+</sup>。

### 步骤 3: 化合物 LY-41 的制备

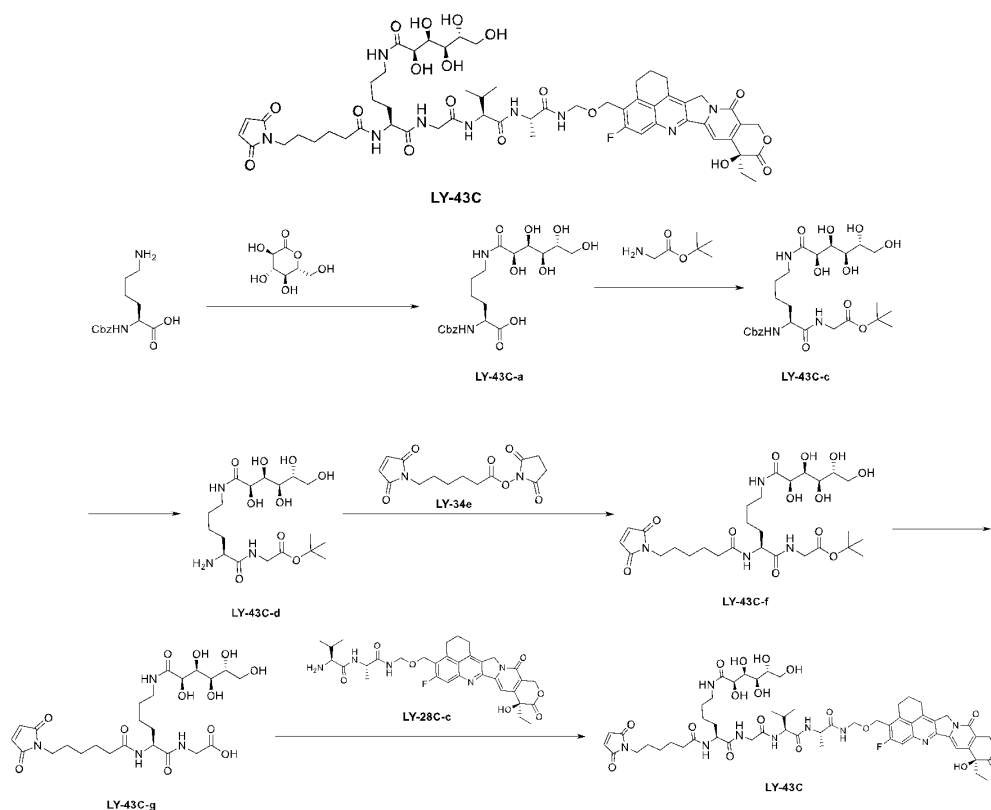
向化合物 LY-41h (4 mg, 3.49  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 THF (0.5 mL) / $\text{H}_2\text{O}$  (0.5 mL)  
 溶液中加入 Oxone (5.87 mg, 34.90  $\mu\text{mol}$ , 10 eq), 反应在 20°C 搅拌 12h。反应  
 液过滤后, 经高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 BRIX-2860。  
 25 色谱柱为 Synergi Max-RP 280 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% $\text{HCOOH}$ )-乙腈,  
 水的洗脱比例从 12% 到 42% 洗脱) 纯化, 冻干后得白色固体化合物 LY-41 (230  $\mu\text{g}$ ,  
 收率: 5.59%, 纯度: 100%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1200.4[M+Na]<sup>+</sup>。

实施例 52: 化合物 **LY-41B** 的制备

向化合物 **LY-28C-c** (12 mg, 18.88  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (60 mL) 溶液中,  
 5 加入 **LY-34f** (14.26 mg, 28.32  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq), 然后加入 HOBT (3.83 mg, 2.55  $\mu\text{L}$ ,  
 28.32  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq) 和 EDCI.HCl (5.43 mg, 6.19  $\mu\text{L}$ , 28.32  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq), 该  
 反应液在 10°C 搅拌 12 小时。反应液通过反相制备色谱法 (制备色谱厂家岛津, 型  
 号 LC-20AP。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150 $\times$ 21.2mm $\times$ 5 $\mu\text{m}$ 。流动相: 水  
 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 14% 到 42% 洗脱) 纯化, 冻干后, 得  
 10 到白色固体产物 **LY-41B** (1.20 g, 收率: 55.58%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1121.2[M+H]<sup>+</sup>。

实施例 53: 化合物 **LY-43C** 的制备

15

步骤 1: 化合物 **LY-43C-a** 的制备

向 ((苄氧基)羰基)-L-赖氨酸 (3 g, 10.70 mmol, 1 eq) 的甲醇 (100 mL) 溶液中加入葡萄糖酸内酯 (3.81 g, 6.35 mL, 21.40 mmol, 2 eq) 和三乙胺 (5.41 g, 7.44 mL, 53.51 mmol, 5 eq), 加完后 70°C 搅拌 16 小时。反应液通过反相 C18 柱色谱法 (ISCO, 80 g SepaFlash Silica Flash Column, 洗脱梯度: 0-45% 水/乙腈, 50 mL/min) 纯化, 得到白色固体化合物 **LY-43C-a** (3.84 g, 收率: 78%)。

LCMS:  $m/z = 459.1 [M+H]^+$ ;  $R_t = 1.43 \text{ min}$ 。

步骤 2: 化合物 **LY-43C-c** 的制备

氮气氛围下, 向化合物 **LY-43C-a** (450 mg, 981.55  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (10 mL) 溶液中加入甘氨酸叔丁酯 (154.51 mg, 1.18 mmol, 1.2 eq)、1-羟基苯并三唑 (198.94 mg, 1.47 mmol, 1.5 eq) 和 1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺 (282.24 mg, 1.47 mmol, 1.5 eq), 于室温搅拌 2 小时。反应液经高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。色谱柱为 YMC-Triart Prep 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 12% 到 45% 洗脱) 纯化, 得化合物 **LY-43C-c** (523 mg, 收率=93.2%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 572 $[M+H]^+$ 。

步骤 3: 化合物 **LY-43C-d** 的制备

氢气氛围下, 向化合物 **LY-43C-c** (260 mg, 454.85  $\mu\text{mol}$ ) 的甲醇 (8 mL) 溶液加入钯碳 (100 mg), 并于室温搅拌 2 小时, 反应液用硅藻土过滤, 并用水和甲醇 (5 mL/5 mL) 洗涤, 浓缩得化合物 **LY-43C-d** (232 mg)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 438 $[M+H]^+$ 。

步骤 4: 化合物 **LY-43C-f** 的制备

向化合物 **LY-43C-d** (232 mg, 530.3  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和化合物 **LY-34e** (196.18 mg, 636.36  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (6 mL) 溶液中加入 *N,N*-二异丙基乙胺 (262.92  $\mu\text{L}$ , 1.59 mmol, 3 eq), 并置于室温搅拌 2 小时。反应液经高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 橙达 SHIMADZU, 型号 LC-20 AP。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 12% 到 42% 洗脱) 纯化, 得化合物 **LY-43C-f** (165 mg, 收率=49.3%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 631 $[M+H]^+$ 。

步骤 5: 化合物 **LY-43C-g** 的制备

冰浴下, 向化合物 **LY-43C-f** (165 mg, 261.62  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的二氯甲烷 (5 mL) 溶液中加入三氟乙酸 (1 mL), 搅拌 10 分钟后恢复室温搅拌 2 小时, 再加入三氟乙酸 (1 mL), 并于室温搅拌 3 小时。反应液减压浓缩, 得化合物 **LY-43C-g** (311.2 mg)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 575 $[M+H]^+$ 。

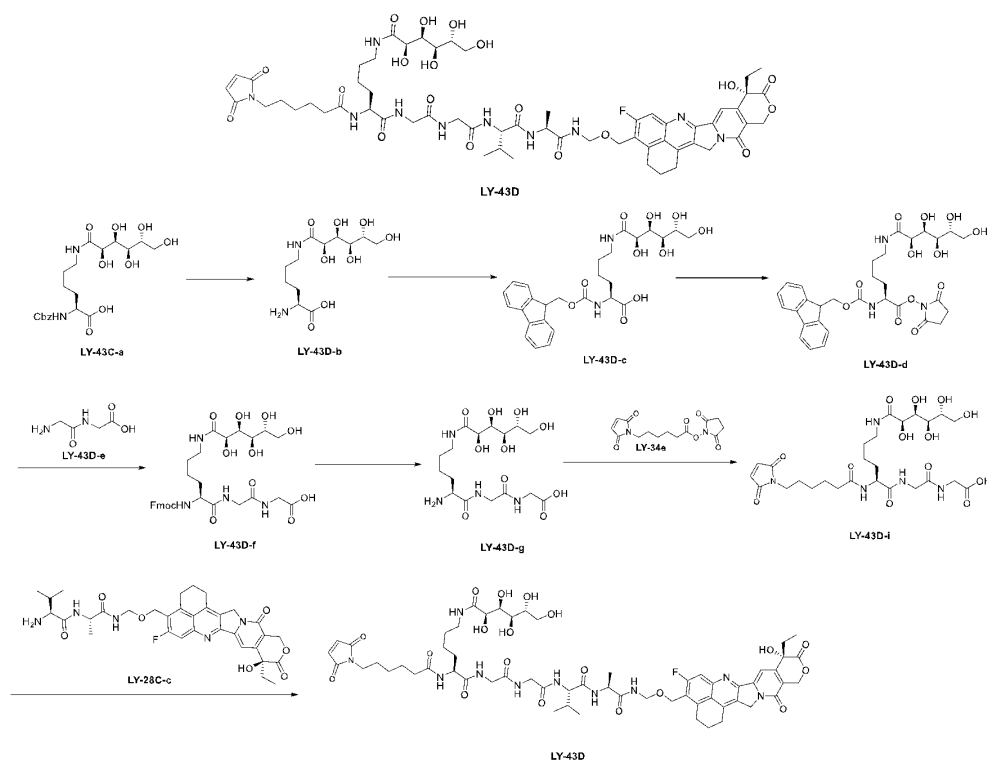
步骤 6: 化合物 **LY-43C** 的制备

向化合物 **LY-43C-g** (22 mg, 1.5 eq) 和化合物 **LY-28C-c** (13 mg, 20.45  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (6 mL) 溶液中加入 *N,N*-二异丙基乙胺 (33.8 mL, 204.5  $\mu\text{mol}$ , 10 eq), 然后加入 *N,N,N',N'*-四甲基-*O*-(7-氮杂苯并三唑-1-基)六氟磷酸脲 (9.33 mg, 24.54  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 并置于冰浴下搅拌 5 分钟后恢复室温, 搅拌 2 小时。反应液经高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家橙达 SHIMADZU, 型号 LC-20 AP。色谱柱为 YMC-Triart Prep 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 12%到 42%洗脱) 纯化, 得化合物 **LY-43C** (0.56 mg, 收率=2.94%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1192 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

10

#### 实施例 54: 化合物 **LY-43D** 的制备



#### 步骤 1: 化合物 **LY-43D-b** 的制备

室温下, 将 Pd/C (10%纯度, 286 mg) 加入到化合物 **LY-43C-a** (1.43 g, 3.12 mmol, 1 eq) 的甲醇 (25 mL) 溶液中, 在氢气氛围下 (15 Psi) 20 $^{\circ}\text{C}$  搅拌 16 小时。反应液过滤, 滤液减压浓缩得到产物 320 mg。将滤饼加入到水 (20 mL) 中, 室温搅拌 0.5 小时, 然后过滤, 滤液冻干后得到白色固体产物 **LY-43D-b** (1.12 g)。

#### 步骤 2: 化合物 **LY-43D-c** 的制备

在室温下, 将化合物 **LY-43D-b** (1.44 g, 粗品)、9-苄基-N-琥珀酰亚胺基碳酸酯 (1.65 g, 4.88 mmol, 1.1 eq) 加入到四氢呋喃 (30 mL) 中。将碳酸氢钠 (1.12 g, 518.05  $\mu\text{L}$ , 13.32 mmol, 3 eq) 溶于水 (10 mL) 中, 将此溶液室温下加入到上



述溶液中, 15°C搅拌 16 h。反应液减压浓缩, 残余物经过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 luna, 型号 Lab311-ISCO-R4。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm。流动相水 (0.225%甲酸) -乙腈, 水的洗脱比例从 21%到 51%洗脱) 纯化, 冻干后得到化合物 **LY-43D-c** (1.60 g, 2.93 mmol, 二步收率: 94%)。

5 LCMS (ESI) : m/z, 547.2 [M+H]<sup>+</sup>。

步骤 3: 化合物 **LY-43D-d** 的制备

在室温下将化合物 **LY-43D-c** (470 mg, 860 μmol, 1 eq)、二异丙基碳酰亚胺 (130.22 mg, 160.77 μL, 1.03 mmol, 1.2 eq) 和 N-羟基丁二酰亚胺 (118.76 mg, 74.23 μL, 1.03 mmol, 1.2 eq) 加入到四氢呋喃 (4 mL) 和 N,N-二甲基甲酰胺 (4 mL) 中, 25°C搅拌 3 小时。反应液直接用于下一步。

10 LCMS (ESI) : m/z, 644.3 [M+H]<sup>+</sup>。

步骤 4: 化合物 **LY-43D-f** 的制备

在室温下将双甘氨酸 (113.61 mg, 860 μmol, 1 eq)、三乙胺 (174.03 mg, 239 μL, 1.72 mmol, 2 eq) 和水 (3 mL) 加入到 **LY-43D-d** 的反应液中。20°C搅拌 16 小时。反应液减压浓缩, 残余物通过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 luna, 型号 Lab311-ISCO-R4。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm。流动相水 (0.225%甲酸) -乙腈, 水的洗脱比例从 21%到 51%洗脱) 纯化, 冻干后得到化合物 **LY-43D-f** (232 mg, 351 μmol, 二步收率: 41%)。

15 LCMS (ESI) : m/z, 661.2 [M+H]<sup>+</sup>。

20 步骤 5: 化合物 **LY-43D-g** 的制备

在室温下将化合物 **LY-43D-f** (40 mg, 60.54 μmol, 1 eq) 和二乙胺 (22.14 mg, 31.18 μL, 302.72 μmol, 5 eq) 加入到 N,N-二甲基甲酰胺 (1 mL) 中。20°C搅拌 2 小时。反应液减压浓缩得到化合物 **LY-43D-g** (33 mg)。

LCMS (ESI) : m/z, 439.2 [M+H]<sup>+</sup>。

25 步骤 6: 化合物 **LY-43D-i** 的制备

在室温下将化合物 **LY-43D-g** (33 mg)、6-(马来酰亚胺基)己酸琥珀酰亚胺酯 (**LY-34e**) (23.20 mg, 75.27 μmol, 1 eq) 和 N,N-二异丙基乙胺 (29.18 mg, 37.32 μL, 225.80 μmol, 3 eq) 加入到 N,N-二甲基甲酰胺 (1 mL) 中。20°C搅拌 16 小时。反应液经过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 luna, 型号 Lab311-ISCO-R4。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm。流动相水 (0.225%甲酸) -乙腈, 水的洗脱比例从 3%到 33%洗脱) 纯化, 冻干后得到化合物 **LY-43D-i** (20 mg, 31.7 μmol, 二步收率: 52.3%)。

30 LCMS (ESI) : m/z, 632.2 [M+H]<sup>+</sup>。

步骤 7: 化合物 **LY-43D** 的制备

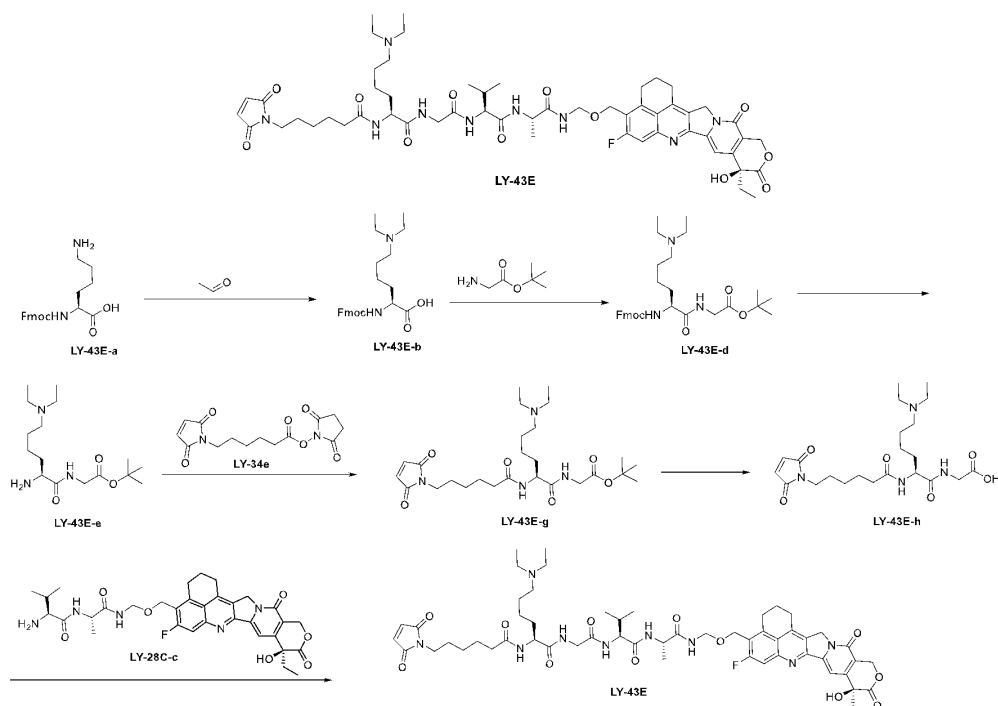
35 在室温下, 将化合物 **LY-43D-i** (6.9 mg, 10.9 μmol, 1.3 eq)、化合物 **LY-28C-c** (8 mg, 66.8%纯度, 8.41 μmol, 1 eq)、2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基

脲六氟磷酸酯 (4.48 mg, 11.77  $\mu\text{mol}$ , 1.4 eq) 和 N,N-二异丙基乙胺 (3.26 mg, 4.17  $\mu\text{L}$ , 25.22  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 加入到 N,N-二甲基甲酰胺 (1 mL) 中, 15°C 搅拌 2 小时。反应液经过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 luna, 型号 Lab311-ISCO-R4。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250×50mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% 甲酸) - 乙腈, 水的洗脱比例从 12% 到 42% 洗脱) 纯化, 冻干后得到化合物 **LY-43D** (3.26 mg, 2.91  $\mu\text{mol}$ , 收率: 51%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1271.6[M+Na]<sup>+</sup>。

### 实施例 55: 化合物 **LY-43E** 的制备

10



#### 步骤 1: 化合物 **LY-43E-b** 的制备

将化合物 **LY-43E-a** (4.0 g, 1.0 eq) 和乙醛 (6.09 mL, 10.0eq) 溶解于四氢呋喃 (30 mL) 和甲醇 (7.5 mL) 中, 冰浴冷却下加入氰基硼氢化钠 (3.41 g, 5.0 eq), 然后自然升温至室温搅拌反应 16 小时。将反应液浓缩, 剩余物中加入水 (30mL) 并用二氯甲烷/甲醇 (10:1, 30mL) 萃取二次, 合并有机相后浓缩, 残余物通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: 二氯甲烷/甲醇=5:1) 纯化, 得到化合物 **LY-43E-b** (1.9 g, 41.2% 收率)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 425.3 [M+H]<sup>+</sup>。

20

#### 步骤 2: 化合物 **LY-43E-d** 的制备

将化合物 **LY-43E-b** (1.0g, 1.0eq) 和甘氨酸叔丁酯 (370.8 mg, 1.2eq) 溶解于无水 DMF (10 mL) 中, 加入 HATU (1.07 g, 1.2eq) 和 DIPEA (1.17 mL, 3.0eq)

后于室温搅拌反应 1 小时。将反应液浓缩，残余物通过硅胶柱层析色谱法（洗脱剂：二氯甲烷/甲醇=8:1）纯化，得到化合物 **LY-43E-d**（900 mg，71%收率）。

LCMS (ESI) : m/z, 538.3[M+H]<sup>+</sup>。

步骤 3: 化合物 **LY-43E-e** 的制备

5 向化合物 **LY-43E-d**（900 mg，1.67 mmol，1 eq）的 N,N-二甲基甲酰胺（20 mL）溶液中加入二乙胺（1.72 mL，16.74 mmol，10 eq），并于室温搅拌 2 小时。减压浓缩，得粗品（840.8 mg）。

LCMS (ESI) : m/z, 316[M+H]<sup>+</sup>。

步骤 4: 化合物 **LY-43E-g** 的制备

10 向化合物 **LY-43E-e**（840.8 mg，62.8%纯度，1.67 mmol，1 eq）和化合物 **LY-34e**（619.23 mg，2.01 mmol，1.2 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（829.89  $\mu$ L，5.02 mmol，3 eq），并于室温搅拌 2 小时。反应液经高效液相制备色谱法（制备色谱厂家 SHIMADZU，型号 LC-20AP。色谱柱为 Synergi Max-RP 250 $\times$ 40mm $\times$ 10 $\mu$ m。流动相水（0.225% $\text{HCOOH}$ ）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 10%到 45%洗脱）纯化，得化合物 **LY-43E-g**（234 mg，收率=27.5%）。

LCMS (ESI) : m/z, 509[M+H]<sup>+</sup>。

步骤 5: 化合物 **LY-43E-h** 的制备

冰浴下向化合物 **LY-43E-g**（234 mg，460.03  $\mu$ mol，1 eq）的二氯甲烷（15 mL）溶液中加入三氟乙酸（3 mL），搅拌 5 分钟后恢复室温搅拌 4 小时，反应液浓缩，  
20 然后用二氯甲烷浓缩，得粗品 **LY-43E-h**（308 mg）。

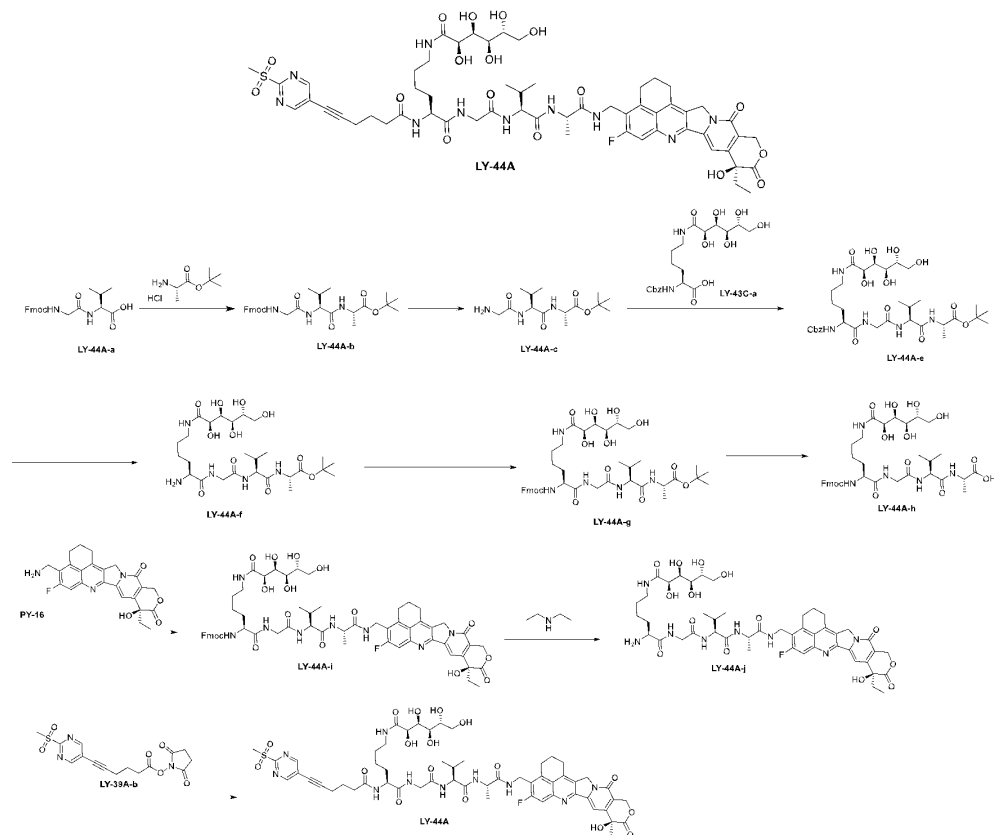
LCMS (ESI) : m/z, 453[M+H]<sup>+</sup>。

步骤 6: 化合物 **LY-43E** 的制备

向化合物 **LY-28C-c**（21.2 mg，70.2%纯度，23.41  $\mu$ mol，1 eq）和化合物 **LY-43E-h**（18.7 mg，67.6%纯度，27.96  $\mu$ mol，1.2 eq）的 N,N-二甲基甲酰胺（2 mL）溶液  
25 中加入 1-羟基苯并三唑（5.06 mg，37.46  $\mu$ mol，1.6 eq）和 1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺（6.73 mg，35.12  $\mu$ mol，1.5 eq），将反应置于室温搅拌过夜，反应液经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 Synergi Max-RP 250 $\times$ 40mm $\times$ 10 $\mu$ m。流动相水（0.225% $\text{HCOOH}$ ）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 10%到 45%洗脱）纯化，得化合物 **LY-43E**（7.01 mg，收率=28.11%）。

30 LCMS (ESI) : m/z, 1070[M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sup>6</sup>)  $\delta$  8.80 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.16 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.99 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.78-7.72 (m, 2H), 7.33 (s, 1H), 7.01 (s, 2H), 6.53 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.27 (s, 2H), 4.70 (ddt, *J* = 32.2, 16.6, 8.8 Hz, 4H), 4.30 (q, *J* = 7.2 Hz, 1H), 4.27-4.18 (m, 2H), 3.75 (d, *J* = 5.6 Hz, 2H), 3.24-2.89 (m, 7H), 2.09 (dq, *J* = 12.8, 6.4, 5.8 Hz, 4H), 2.00 (q, *J* = 6.6 Hz, 1H), 1.93-1.82 (m, 2H), 1.67 (s, 1H),  
35 1.62-1.40 (m, 8H), 1.30 (d, *J* = 7.2 Hz, 6H), 1.18 (d, *J* = 16.8 Hz, 9H), 0.90-0.86 (m, 6H), 0.82 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H). <sup>19</sup>F NMR (377 MHz, DMSO-*d*<sup>6</sup>)  $\delta$  -114.09。

实施例 56: 化合物 **LY-44A** 的制备5 步骤 1: 化合物 **LY-44A-b** 的制备

向化合物 **LY-44A-a** (500 mg, 1.26 mmol, 1.0 eq) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (10 ml) 溶液中, 分别加入 1.2 倍当量的 L-丙氨酸叔丁酯盐酸盐 (275 mg)、1.2 倍当量 O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-六氟磷酸四甲基脒 (576 mg, 1.2 eq) 以及 3.0 倍当量的 N,N-二异丙基乙胺 (489mg), 加完后室温搅拌 16 小时。反应液用 20ml 水猝灭, 用乙酸乙酯 (10 mL×3) 萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水洗涤一次, 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/石油醚 1; 20 到 1:5) 纯化, 得到白色固体化合物 **LY-44A-b** (567 mg, 产率: 80%; 纯度: 93%) (无色油状物)。

LCMS:  $m/z = 546.3$   $[M+Na]^+$ ;  $R_t = 2.584$  min。

$^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.35 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 7.89 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.76 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H), 7.71 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.55 (t,  $J = 6.2$  Hz, 1H), 7.42 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.33 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 4.33 – 4.20 (m, 4H), 4.11 (p,  $J = 7.0$  Hz, 1H), 3.67 (d,  $J = 6.2$  Hz, 2H), 1.95 (dt,  $J = 12.6, 6.3$  Hz, 1H), 1.38 (d,  $J = 2.0$  Hz, 9H), 1.24 (d,  $J = 7.2$  Hz, 3H), 0.86 (dd,  $J = 19.2, 6.7$  Hz, 6H)。

20 步骤 2: 化合物 **LY-44A-c** 的制备

向化合物 **LY-44A-b** (567mg, 1.01 mmol, 1.0eq) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (10 ml) 溶液中, 加入 10 倍当量的二乙胺 (1.0 ml)。反应液室温搅拌 16 小时。减压浓缩, 得到黄色油状物 (300 mg, 粗品)。

LCMS:  $m/z = 302.2 [M+H]^+$ ;  $R_t = 0.852 \text{ min}$ 。

5 步骤 3: 化合物 **LY-44A-e** 的制备

0°C向化合物**LY-44A-c** (170.37 mg, 371.61  $\mu\text{mol}$ , 1 eq)、化合物**LY-43C-a** (112 mg, 371.61  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的DMF (3 mL) 溶液中加入*N,N*-二异丙基乙胺 (144 mg, 1.11 mmol, 3 eq) 和*O*-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-*N,N,N',N'*-六氟磷酸四甲基脲 (141.30 mg, 371.61  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 加完室温搅拌2小时。反应液减压浓缩, 残余物通过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家ISCO, 型号ISCO-R2。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 流动相水 (0.225%FA) -乙腈, 水的洗脱比例从21%到51%洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物**LY-44A-e** (198 mg, 收率: 64.8%)。

LCMS:  $m/z = 741.1 [M+H]^+/764.4[M+Na]^+$ ;  $R_t = 1.552 \text{ min}$ 。

步骤4: 化合物**LY-44A-f**的制备

15 向化合物**LY-44A-e** (20 mg, 26.96  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的MeOH (3 ml) 溶液中加入钯碳 (12 mg), 加完用氢气球置换3次, 然后在氢气氛围下反应2个小时。反应液加入2 mL 水, 然后通过硅藻土过滤, 滤饼用甲醇洗涤, 滤液减压浓缩, 得到化合物**LY-44A-f** (16 mg)。

LCMS:  $m/z = 608.3 [M+H]^+$ ;  $R_t = 0.883 \text{ min}$ 。

20 步骤5: 化合物**LY-44A-g**的制备

0°C向化合物**LY-44A-f** (55 mg, 90.51  $\mu\text{mol}$ , 1 eq)、*N*-(9-氟苯基甲氧基羰基氧基)琥珀酰亚胺 (30.53 mg, 90.51  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的四氢呋喃 (6 mL) 溶液中加入碳酸氢钠 (22.81 mg, 10.56  $\mu\text{L}$ , 271.52  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) (溶于2 ml水中)。25°C反应16小时, 反应液减压浓缩, 粗品用水和甲醇溶解, 通过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家ISCO, 型号ISCO-R2。色谱柱为 Synergi Max-RP 250 $\times$ 40mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$  流动相水 (0.225%FA) -乙腈, 水的洗脱比例从30%到60%洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物**LY-44A-g** (70 mg, 收率: 72%)。

LCMS:  $m/z = 830.5 [M+H]^+/852.5[M+Na]^+$ ;  $R_t = 2.3 \text{ min}$ 。

步骤6: 化合物**LY-44A-h**的制备

30 0°C向化合物 **LY-44A-g** (70 mg, 84.34  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的二氯甲烷 (10 ml) 溶液中加入三氟乙酸 (2 ml), 25°C反应 2 小时, 反应液减压浓缩, 得到无色油状化合物 **LY-44A-h** (60 mg, 粗品)。

LCMS:  $m/z = 774.3 [M+H]^+$ ;  $R_t = 1.793 \text{ min}$ 。

步骤 7: 化合物 **LY-44A-i** 的制备

35 0°C向化合物 **LY-44A-h** (60 mg, 77.54  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和化合物 **PY-16** (33.76 mg, 77.54  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的无水 DMF (3 mL) 溶液中, 加入 *N,N*-二异丙基乙胺 (40 mg,

310.14  $\mu\text{mol}$ , 4 eq) 和 O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-六氟磷酸四甲基脲 (35.38 mg, 93.04  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 加完后升温至 20°C 搅拌反应 2 小时。将反应液通过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO-R5。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250×30mm×10 $\mu\text{m}$  流动相水 (0.225%FA) -乙腈, 水的洗脱比例从 30%到 60%洗脱), 得到白色固体化合物 **LY-44A-i** (17 mg, 收率 18.4%)。

LCMS:  $m/z = 1191.3[M+H]^+/596.3[1/2M+1]^+$ ;  $R_t = 1.64 \text{ min}$ 。

步骤 8: 化合物 **LY-44A-j** 的制备

0°C向化合物 **LY-44A-i** (8 mg, 6.72  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (2 mL) 的溶液中加入二乙胺 (2.46 mg, 33.58  $\mu\text{mol}$ , 5 eq), 加完 20°C 反应 2 小时。将反应液浓缩, 得到白色固体化合物 **LY-44-j** (6.5 mg, 粗品)。

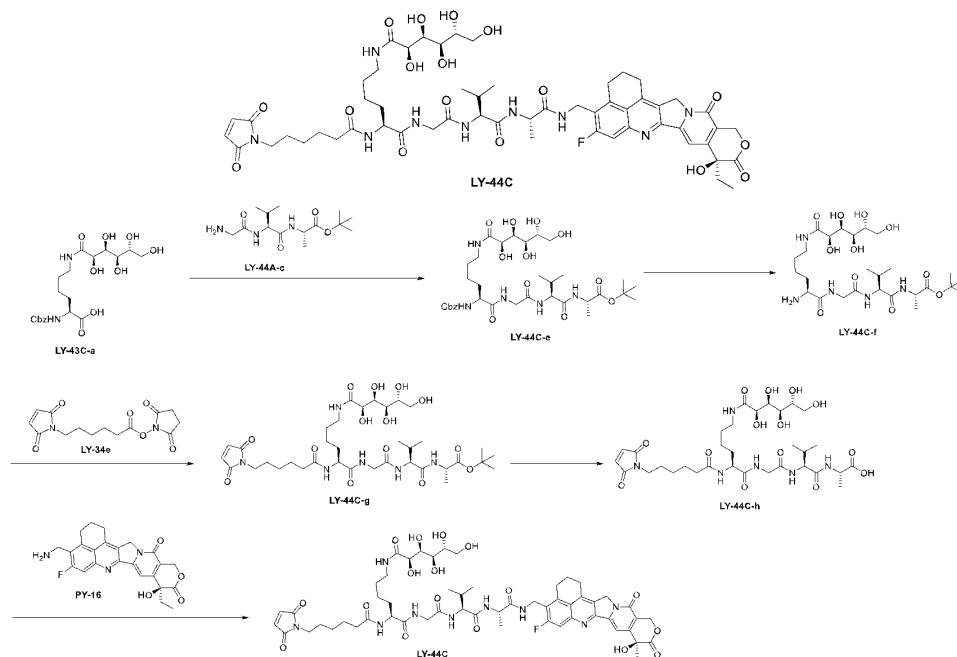
LCMS:  $m/z = 969.4[M+H]^+$ ;  $R_t = 1.090 \text{ min}$ 。

步骤 9: 化合物 **LY-44A** 的制备

0°C向化合物 **LY-44A-j** (6.50 mg, 6.71  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (1 mL) 的溶液中加入化合物 **LY-39A-b** (6.09 mg, 60%, 10  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 N,N-二异丙基乙胺 (3.47 mg, 4.43  $\mu\text{L}$ , 26.83  $\mu\text{mol}$ , 4 eq), 加完 20°C 反应 2 小时。将反应液通过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO-R2。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250×30mm×10 $\mu\text{m}$  流动相水 (0.225%FA) -乙腈, 水的洗脱比例从 21%到 51%洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物 **LY-44A** (2.71 mg, 收率: 33.13%)。

LCMS:  $m/z = 1219.2[M+H]^+/610.2[1/2M+1]^+$ ;  $R_t = 1.318 \text{ min}$ 。

实施例 57: 化合物 **LY-44C** 的制备



步骤 1: 化合物 **LY-44C-e** 的制备

0°C向化合物 **LY-43C-a** (456.35 mg, 0.99 mmol, 1 eq)、化合物 **LY-44A-c** (300 mg, 0.99 mmol, 1 eq) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (10 ml) 溶液中加入 *N,N*-二异丙基乙胺 (385.96 mg, 2.99 mmol, 3 eq) 和 *O*-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-*N,N,N',N'*-六氟磷酸四甲基脲 (454.18 mg, 1.19 mmol, 1.2 eq)。加完室温反应 16 小时。反应液通过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO-R6。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×30mm×10μm 流动相水 (0.225%FA)-乙腈, 水的洗脱比例从 21% 到 51%洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物 **LY-44C-e** (417 mg, 收率: 56%, 82% 纯度)。

LCMS:  $m/z = 742.2 [M+H]^+$ ;  $R_t = 1.551 \text{ min}$ 。

步骤 2: 化合物 **LY-44C-f** 的制备

氮气氛围下, 向化合物 **LY-44C-e** (110 mg, 82%, 121.32 μmol, 1 eq) 的甲醇 (10 ml) 溶液中加入钯碳 (36 mg)。加完用氢气置换 3 次, 在氢气氛下反应 2 小时。向反应液里加入 3ml 水, 然后反应液通过硅藻土过滤, 滤液减压浓缩, 得到无水油状化合物 **LY-44C-f** (75 mg, 粗品)。

LCMS:  $m/z = 608.3 [M+H]^+$ ;  $R_t = 1.103 \text{ min}$ 。

步骤 3: 化合物 **LY-44C-g** 的制备

向化合物 **LY-44C-f** (75 mg, 123.42 μmol, 1 eq) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (3 ml) 溶液中加入化合物 **LY-34e** (46 mg, 148.10 μmol, 1.2 eq) 和 *N,N*-二异丙基乙胺 (47.85 mg, 61.19 μL, 370.25 μmol, 3 eq), 加完 20°C反应 16 小时, 反应液减压浓缩, 残余物通过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO-R3。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250×50mm×7μm 流动相水 (0.225%FA)-乙腈, 水的洗脱比例从 12%到 42%洗脱) 纯化, 得到化合物 **LY-44C-g** (70 mg, 收率: 70.8%)。

LCMS:  $m/z = 801.4 [M+H]^+$ ;  $R_t = 1.345 \text{ min}$ 。

步骤 4: 化合物 **LY-44C-h** 的制备

0°C向化合物 **LY-44C-g** (70 mg, 87.40 μmol, 1 eq) 的二氯甲烷 (4 mL) 溶液中加入三氟乙酸 (0.8 mL), 加完 20°C反应 2 小时。反应液减压浓缩, 得无水油状化合物 **LY-44C-h** (65 mg, 粗品)。

LCMS:  $m/z = 745.4 [M+H]^+$ ;  $R_t = 0.770 \text{ min}$ 。

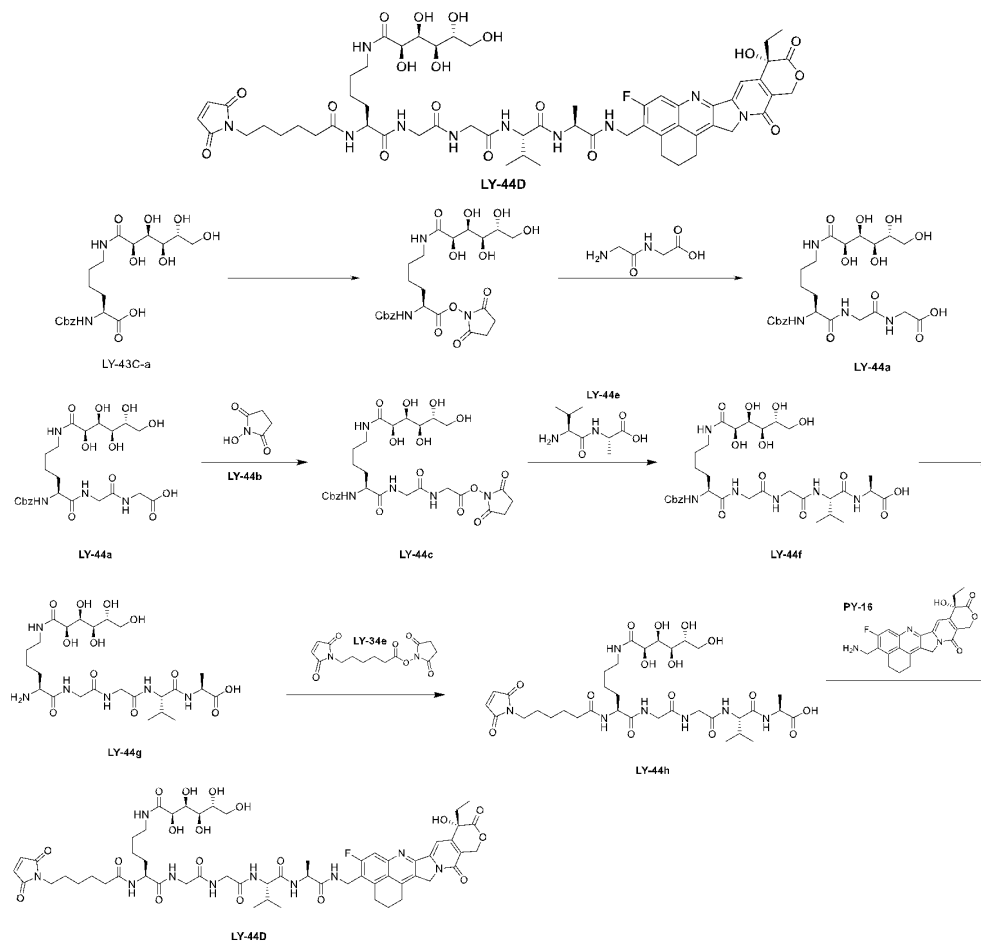
步骤 5: 化合物 **LY-44C** 的制备

0°C向化合物 **LY-44C-h** (30 mg, 40.28 μmol, 1 eq)、化合物 **PY-16** (15.79 mg, 36.25 μmol, 0.9 eq) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (2 ml) 溶液中加入 *N,N*-二异丙基乙胺 (20.82 mg, 26.63 μL, 161.12 μmol, 4 eq) 和 *O*-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-*N,N,N',N'*-六氟磷酸四甲基脲 (18.38 mg, 48.34 μmol, 1.2 eq), 加完 25°C反应 2 小时, 反应液通过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO-R6。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250×30mm×10μm, 流动相: 水 (0.01%TFA)-乙腈, 水的洗脱

比例从 12%到 42%洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物 **LY-44C** (1.49 mg, 收率: 3.18 %)。

LCMS:  $m/z = 1162.4 [M+H]^+$ ;  $R_t = 1.332 \text{ min.}$

## 5 实施例 58: 化合物 **LY-44D** 的制备



步骤 1: 2,5-二氧代吡咯烷-1-基  $N^2$ -((苄氧基)羰基)- $N^6$ -((2R,3S,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己酰基)-L-赖氨酸的制备

于化合物 **LY-43C-a** (800 mg, 1.74 mmol, 1 eq) 的 THF (8mL) 和 DMF (4mL) 溶液中加入 DIC (264.26 mg, 330.32  $\mu\text{L}$ , 2.09 mmol, 1.2 eq) 和 NHS (240.99 mg, 2.09 mmol, 1.2 eq) 中。加完 25°C 反应 4 小时, 反应液不经处理直接用于下一步。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 556.2  $[M+H]^+$ 。

步骤 2:  $N^2$ -((苄氧基)羰基)- $N^6$ -((2R,3S,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己酰基)-L-赖氨酸酰甘氨酸 (**LY-44a**) 的制备

于 2,5-二氧代吡咯烷-1-基  $N^2$ -((苄氧基)羰基)- $N^6$ -((2R,3S,4R,5R)-2,3,4,5,6-五羟基己酰基)-L-赖氨酸 (969 mg, 1.74 mmol, 1 eq) 的 THF (8mL) 和 DMF (4mL)



溶液加入甘氨酸甘氨酸 (230.45 mg, 1.74 mmol, 1 eq) 和三乙胺 (353 mg, 484.89  $\mu\text{L}$ , 3.49 mmol, 2 eq) 以及 5ml 水。加毕 25°C 反应 16 小时, 反应液减压浓缩, 残余物通过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 R3。色谱柱为 GS-120-10-C18AP, 流动相: 水 (0.225%FA) - 乙腈, 水的洗脱比例从 3% 到 33% 洗脱) 纯化, 冻干得到白色固体化合物 **LY-44a** (680 mg, 收率: 68.09%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 595.3  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

步骤 3: 化合物 **LY-44c** 的制备

将化合物 **LY-44a** (200 mg, 349.30  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (5 mL), 然后加入化合物 1-羟基吡咯烷-2,5-二酮 (**LY-44b**) (48.24 mg, 419.16  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 再加入 1,3-二异丙基碳二亚胺 (52.90 mg, 66.12  $\mu\text{L}$ , 419.16  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq)。反应在 15°C 搅拌 5 小时。反应液不做处理, 直接用于下一步。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 670.3  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 4: 化合物 **LY-44f** 的制备

将化合物 **LY-44c** (200 mg, 298.67  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (2 mL), 向该溶液中加入 L-缬氨酸-L-丙氨酸 (**LY-44e**) (7.66 mg, 10.79  $\mu\text{L}$ , 104.73  $\mu\text{mol}$ , 6 eq) 和 N,N-二异丙基乙胺 (77.21 mg, 98.73  $\mu\text{L}$ , 597.34  $\mu\text{mol}$ , 2 eq)。氮气氛围下, 该溶液在 15°C 搅拌 12 小时。反应液用高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO-6。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 50mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相: 水 (0.225%FA) - ACN, 水的洗脱比例从 12% 到 42% 洗脱) 纯化, 得化合物 **LY-44f** (55 mg, 收率: 24.79%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 743.3  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 5: 化合物 **LY-44g** 的制备

将化合物 **LY-44f** (35 mg, 47.12  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于甲醇 (3 mL), 加入钯碳 (15 mg, 140.95  $\mu\text{mol}$ , 2.9913 eq), 氢气置换三次, 反应在氢气氛围下搅拌 2 小时。反应液过滤后减压浓缩, 得到白色固体产物 **LY-44g** (25 mg, 收率: 87.17%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 609.3  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 6: 化合物 **LY-44h** 的制备

将化合物 **LY-44g** (20 mg, 32.86  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (1 mL), 然后加入 N,N-二异丙基乙胺 (12.74 mg, 16.29  $\mu\text{L}$ , 98.58  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和化合物 **LY-34e** (304.79 mg, 507.99  $\mu\text{L}$ , 1.71 mmol, 2 eq), 反应在 15°C 搅拌 12 h。反应液用高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO-6。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 50mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相: 水 (0.225%FA) - ACN, 水的洗脱比例从 3% 到 33% 洗脱) 纯化, 冻干后得到白色固体产物 **LY-44h** (12 mg, 收率: 45.54%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 802.3  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 7: 化合物 **LY-44D** 的制备

向化合物 **LY-44h** (12 mg, 14.97  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (0.5 mL) 中, 加入化合物 **PY-16** (7.82 mg, 17.96  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 和 N,N-二异丙基乙胺 (2.90 mg, 3.71  $\mu\text{L}$ , 22.45  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq), 然后加入 2-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (8.54 mg, 22.45  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq)。反应液在 15°C 搅拌 2 小时。

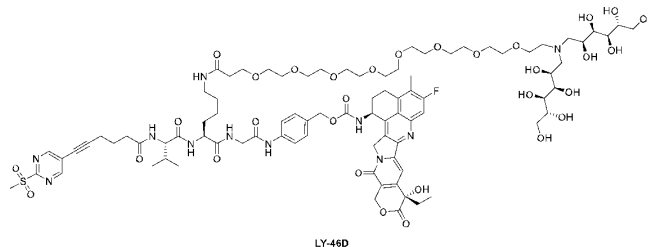
5 反应液经高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 ISCO-6。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相 Water (0.225%FA) -ACN, 水的洗脱比例从 12%到 42%洗脱) 纯化, 冻干后得白色固体 **LY-44D** (5.57 mg, 收率: 30.53%, 纯度: 97.4%)。

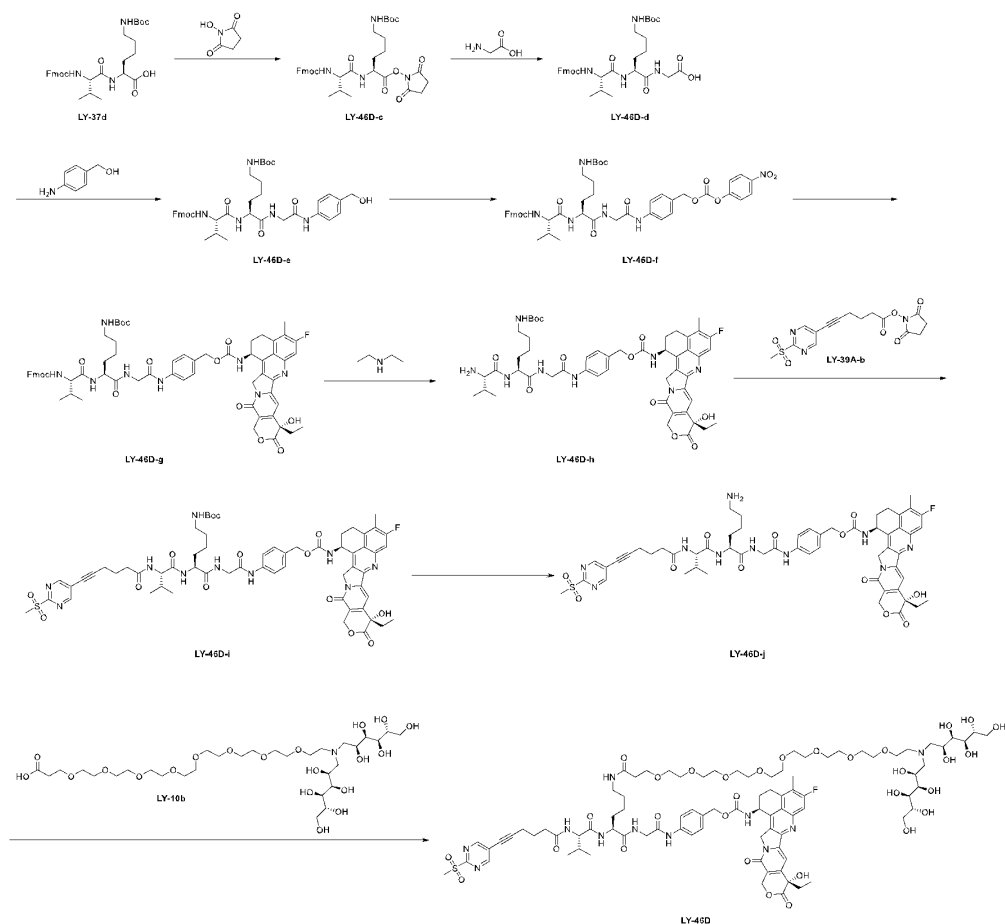
LCMS (ESI):  $m/z$ , 1219.5[M+H]<sup>+</sup>。

10 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.20 – 8.13 (m, 2H), 8.09 (d,  $J$  = 7.4 Hz, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.93 (d,  $J$  = 7.4 Hz, 1H), 7.76 (dd,  $J$  = 10.0, 5.7 Hz, 2H), 7.61 (t,  $J$  = 5.8 Hz, 1H), 7.32 (s, 1H), 6.99 (s, 2H), 6.52 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.35 (d,  $J$  = 5.0 Hz, 1H), 5.26 (s, 2H), 4.52 (s, 3H), 4.47 (d,  $J$  = 5.0 Hz, 1H), 4.39 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 1H), 4.32 (t,  $J$  = 5.7 Hz, 1H), 4.24 (t,  $J$  = 7.1 Hz, 1H), 4.16 (t,  $J$  = 7.8 Hz, 2H), 3.97 (t,  $J$  = 4.4 Hz, 1H),

15 3.90 (s, 1H), 3.71 (dd,  $J$  = 12.6, 5.7 Hz, 4H), 3.55 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 1H), 3.47 (s, 2H), 3.21-3.13 (m, 5H), 3.07-3.02 (m, 2H), 2.07 (dd,  $J$  = 14.0, 5.3 Hz, 4H), 1.89 (dt,  $J$  = 14.8, 7.1 Hz, 4H), 1.62 (s, 1H), 1.52-1.35 (m, 8H), 1.18 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 8H), 0.88 (t,  $J$  = 7.3 Hz, 3H), 0.77 (dd,  $J$  = 9.9, 6.8 Hz, 6H)。

20 实施例 59: 化合物 **LY-46D** 的制备





### 步骤 1: 化合物 **LY-46D-c** 的制备

室温下，向 N-羟基丁二酰亚胺（1.22 g, 760.27  $\mu$ L, 10.57 mmol, 1.2 eq）和  
5 化合物 **LY-37d**（5 g, 8.81 mmol, 1 eq）的二氯甲烷（100 mL）溶液中加入二环己基碳二亚胺（1.82 g, 2.24 mL, 8.81 mmol, 1 eq），20℃下搅拌 16 小时。将反应液过滤，滤液浓缩后得白色固体产物 **LY-46D-c**（4.40 g, 收率：75.15%，纯度：90%）。

LCMS (ESI) : m/z, 687.4[M+Na]<sup>+</sup>.

### 步骤 2: 化合物 LY-46D-d 的制备

将碳酸氢钠 (250.23 mg, 135.99  $\mu$ L, 2.98 mmol, 1 eq) 和甘氨酸 (223.60 mg, 140.19  $\mu$ L, 2.98 mmol, 1 eq) 溶于水 (22 mL) 中, 20 $^{\circ}$ C 下搅拌 15 分钟。将 LY-46D-c (2.20 g, 90%, 2.98 mmol, 1 eq) 溶于四氢呋喃 (22 mL), 然后加入到上述溶液中, 20 $^{\circ}$ C 下搅拌 16 小时。反应液通过加压蒸馏除去四氢呋喃, 剩余的水相通过 2 M 盐酸酸化至 pH=2, 用乙酸乙酯 (20 mL) 萃取三次。合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 减压浓缩后得粗品 **LY-46D-d** (3.3 g, 粗品不计产率)。

LCMS (ESI) : m/z, 647.4[M+Na]<sup>+</sup>.

### 步骤 3: 化合物 **LY-46D-e** 的制备

室温下，将化合物 **LY-46D-d** (3.30 g, 63%, 3.33 mmol, 1 eq)、对氨基苯甲醇 (614.72 mg, 4.99 mmol, 1.5 eq) 和 2-乙氧基-1-乙氧碳酰基-1,2-二氢喹啉 (2.47 g, 2.06 mL, 9.98 mmol, 3 eq) 依次加入到二氯甲烷 (50 mL) 和甲醇 (25 mL) 中。25°C下搅拌 60 小时。反应液过滤得到滤饼，滤饼减压干燥后，得到白色固体产物 **LY-46D-e** (1 g, 1.37 mmol, 收率: 41.17%)。滤液减压浓缩后得到粗品，粗品通过石油醚 (10 mL) 和乙酸乙酯打浆 (10 mL)。过滤得到滤饼，滤饼减压干燥后得到乳白色固体产物 **LY-46D-e** (290 mg, 粗品不计产率)。

LCMS (ESI) : m/z, 752.5[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 4: 化合物 **LY-46D-f** 的制备

室温下，将化合物 **LY-46D-e** (1 g, 100%, 1.37 mmol, 1 eq)、4-硝基苯基碳酸酯 (833.59 mg, 555.73  $\mu$ L, 2.74 mmol, 2 eq) 和 N,N-二异丙基乙胺 (531.21 mg, 679.30  $\mu$ L, 4.11 mmol, 3 eq) 依次加入到 N,N-二甲基甲酰胺 (10 mL) 中。20°C下搅拌 16 小时。反应液经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 Phenomenex Luna C18 250 $\times$ 50mm $\times$ 10  $\mu$ m。流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 10%到 70%洗脱) 纯化, 冻干后得到白色固体产物 **LY-46D-f** (290 mg, 收率: 23.65%, 纯度: 80%) 和不纯的白色固体产物 **LY-46D-f** (94 mg, 纯度: 60%)

LCMS (ESI) : m/z, 917.5[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 5: 化合物 **LY-46D-g** 的制备

室温下将伊喜替康甲磺酸盐 (137.80 mg, 259.22  $\mu$ mol, 1 eq) 和 N,N-二异丙基乙胺 (33.50 mg, 42.84  $\mu$ L, 259.22  $\mu$ mol, 1 eq) 加入 N,N-二甲基甲酰胺 (15 mL), 20°C下搅拌 20 分钟。然后, 室温下将化合物 **LY-46D-f** (290 mg, 80%, 259.22  $\mu$ mol, 1 eq) 和 1-羟基苯并三唑 (17.51 mg, 11.68  $\mu$ L, 129.61  $\mu$ mol, 0.5 eq)、吡啶 (102.52 mg, 104.83  $\mu$ L, 1.30 mmol, 5 eq) 依次加入上述反应液中, 20°C下搅拌 16 小时。反应液直接用于下一步。

LCMS (ESI) : m/z, 1191.4[M+H]<sup>+</sup>。

步骤 6: 化合物 **LY-46D-h** 的制备

室温下将二乙胺 (189.60 mg, 267.04  $\mu$ L, 2.59 mmol, 10 eq) 加入到上一步的反应液中, 20°C下搅拌 3 小时。反应液减压浓缩后得到棕色油状粗品产物 **LY-46D-h** (理论产量 251 mg)。

LCMS (ESI) : m/z, 991.5[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 7: 化合物 **LY-46D-i** 的制备

室温下向化合物 **LY-39A-b** (113.56 mg, 310.81  $\mu$ mol, 1.2 eq) 和化合物 **LY-46D-h** (251 mg, 259.01  $\mu$ mol, 1 eq) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (6 mL) 中加入 N,N-二异丙基乙胺 (100.42 mg, 128.42  $\mu$ L, 777.03  $\mu$ mol, 3 eq), 20°C下搅拌 2 小时。反应液经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 Phenomenex Luna C18 250×50mm×10 μm。流动相：水（0.225% $\text{HCOOH}$ ）-乙腈，水的洗脱比例从 39%到 69%洗脱）纯化，冻干后得到白色固体产物 **LY-46D-i**（255 mg, 209.13 μmol, 四步收率：15%）。

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 1241.6 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

#### 5 步骤 8: 化合物 **LY-46D-j** 的制备

0°C下将化合物 **LY-46D-i**（135 mg, 110.71 μmol, 1 eq）加入到三氟乙酸（0.2 mL）和二氯甲烷（2 mL）中。0°C下搅拌 2 小时，然后升温至 20°C，搅拌 14 小时。反应液减压浓缩后，得到黄色固体产物 **LY-46D-j**（124 mg, 110.8 μmol, 理论产量）。

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 1119.6 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

#### 10 步骤 9: 化合物 **LY-46-D** 的制备

室温下向化合物 **LY-46D-j**（124 mg, 110.79 μmol, 1 eq）、化合物 **LY-10b**（255.87 mg, 332.37 μmol, 3 eq）和  $N,N$ -二异丙基乙胺（114.55 mg, 146.48 μL, 886.32 μmol, 8 eq）的  $N,N$ -二甲基甲酰胺（6 mL）溶液中加入  $N,N,N',N'$ -四甲基- $O$ -(7-氮杂苯并三唑-1-基)六氟磷酸脲（105.32 mg, 276.97 μmol, 2.5 eq），20°C下搅拌 2 小时。

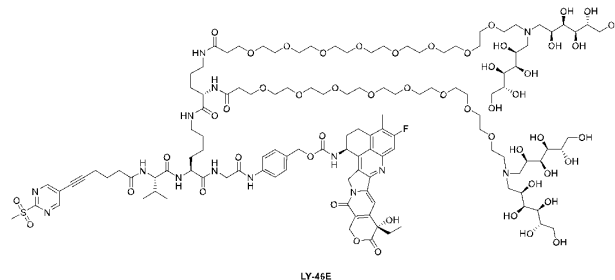
15 反应液经过高效液相制备色谱法（制备色谱厂家橙达 Oriendo，型号 BRIX-2860。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250×50mm×10 μm。流动相：水（0.1%TFA）-乙腈，水的洗脱比例从 20%到 50%洗脱）纯化，得到产物 **LY-46-D**（72.67 mg, 38.84 μmol, 二步收率：35%，纯度：98.01%）。

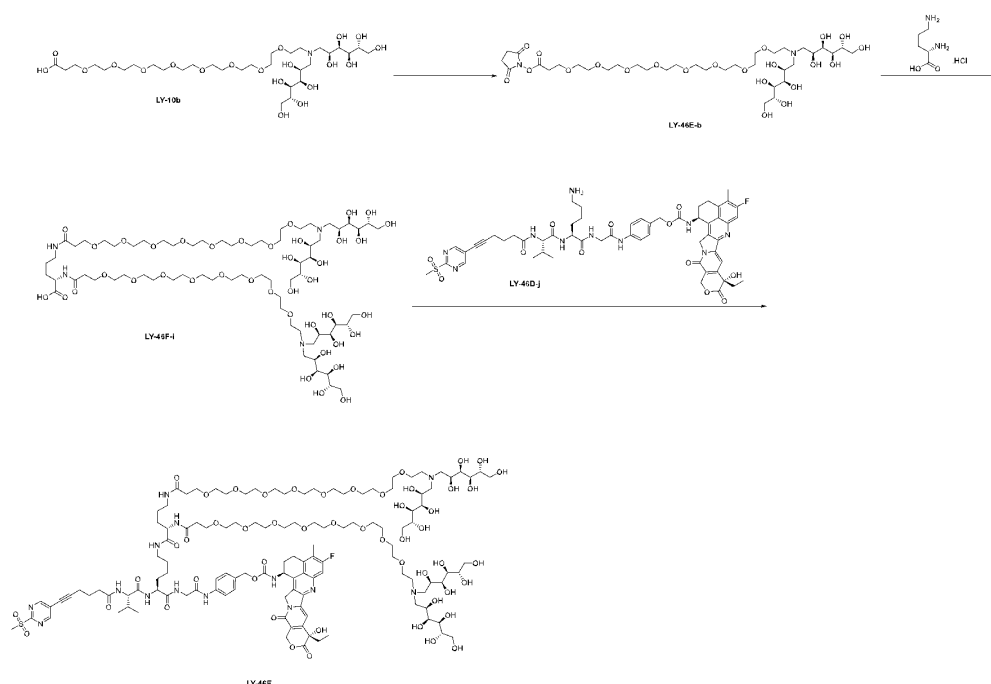
LCMS (ESI) :  $m/z$ , 936.4 $[\text{1/2M}+\text{H}]^+$ 。

20  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  9.85 (s, 1H), 9.10 (s, 2H), 8.25 (t,  $J = 5.6$  Hz, 1H), 8.18-8.03 (m, 3H), 7.95 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.82-7.75 (m, 2H), 7.62 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.37 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.31 (s, 1H), 6.53 (s, 1H), 5.44 (d,  $J = 7.2$  Hz, 4H), 5.28 (s, 3H), 5.07 (s, 2H), 4.79 (s, 2H), 4.54 (s, 5H), 4.20 (dd,  $J = 16.4, 7.6$  Hz, 2H), 3.99 (s, 2H), 3.90-3.84 (m, 2H), 3.78 (t,  $J = 5.2$  Hz, 2H), 3.68 (s, 2H), 3.61 (d,  $J = 3.2$  Hz, 1H),  
25 3.59-3.54 (m, 6H), 3.53-3.46 (m, 25H), 3.43 (s, 2H), 3.40 (s, 4H), 3.25 (d,  $J = 14.4$  Hz, 3H), 3.13 (s, 2H), 3.01 (q,  $J = 6.4$  Hz, 2H), 2.55 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 2.39-2.33 (m, 4H), 2.29 (t,  $J = 6.8$  Hz, 2H), 2.18 (d,  $J = 14.0$  Hz, 2H), 2.02-1.95 (m, 1H), 1.92-1.76 (m, 4H), 1.68 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 1.60-1.53 (m, 1H), 1.42-1.22 (m, 6H), 1.16-1.08 (m, 1H), 0.91-0.80 (m, 13H)。

30

#### 实施例 60: 化合物 **LY-46E** 的制备





#### 步骤 1: 化合物 **LY-46E-b** 的制备

室温下将化合物 **LY-10b** (100 mg, 129.90  $\mu\text{mol}$ , 1 eq)、N-羟基丁二酰亚胺 (14.95 mg, 9.34  $\mu\text{L}$ , 129.90  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (32.37 mg, 36.91  $\mu\text{L}$ , 168.87  $\mu\text{mol}$ , 1.3 eq) 加入到 *N,N*-二甲基甲酰胺 (2.5 mL) 中, 20°C 下搅拌 16 小时。反应液直接用于下一步。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 867.4 $[M+H]^+$ 。

#### 步骤 2: 化合物 **LY-46F-i** 的制备

室温下向下一步反应液中依次加入 L-鸟氨酸盐酸盐 (12 mg, 71.17  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 *N,N*-二异丙基乙胺 (45.99 mg, 58.81  $\mu\text{L}$ , 355.83  $\mu\text{mol}$ , 5 eq), 20°C 下搅拌 16 小时。反应液经过高效液相制备色谱法 (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, 水的洗脱比例从 1% 到 25% 洗脱) 纯化, 冻干后得到白色固体产物 **LY-46F-i** (54 mg, 33.01  $\mu\text{mol}$ , 二步收率: 24%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 818.7 $[1/2M+H]^+$ 。

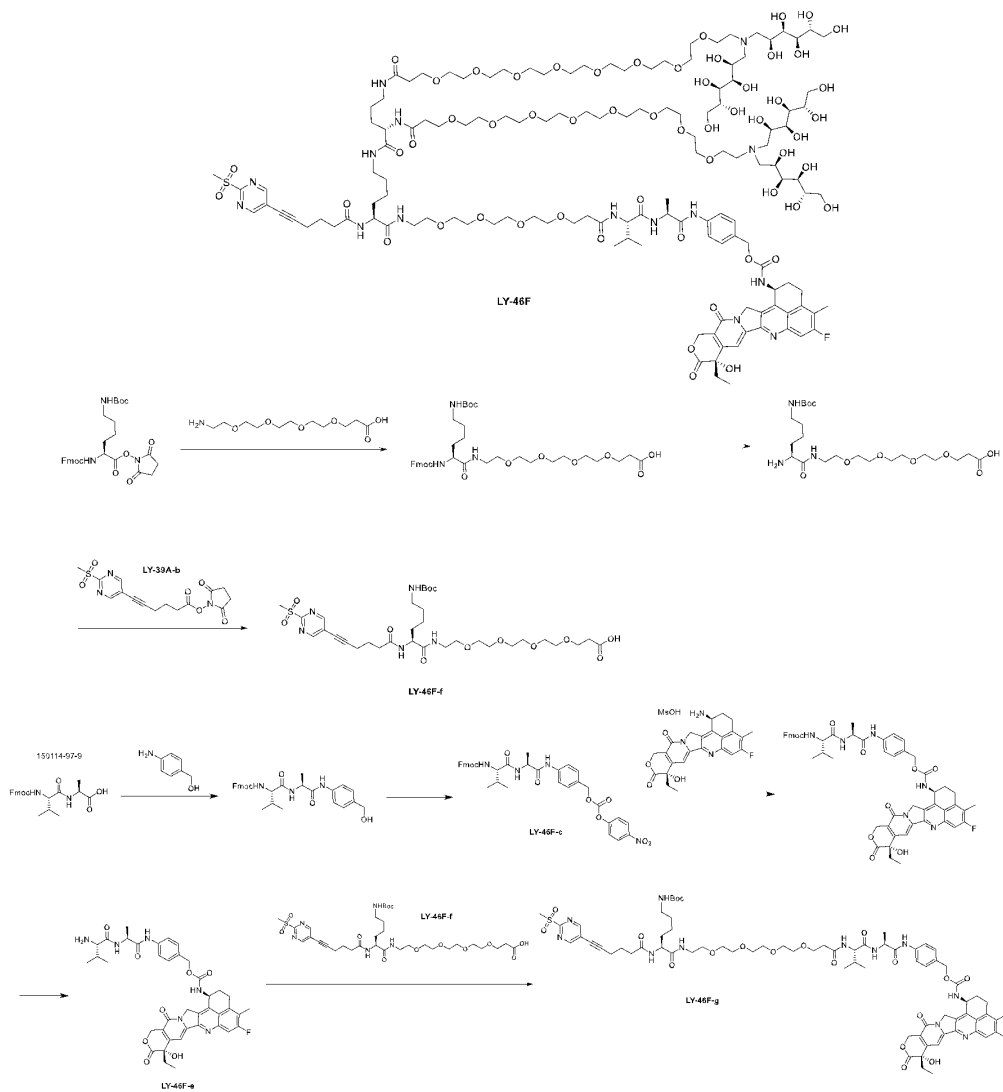
#### 步骤 3: 化合物 **LY-46E** 的制备

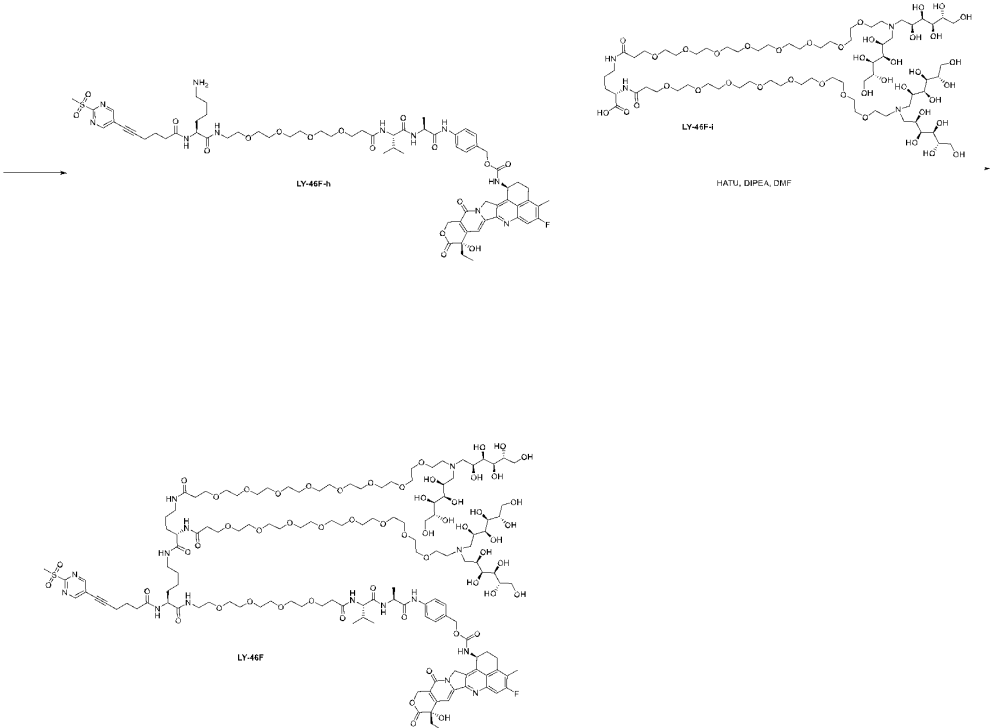
室温下向化合物 **LY-46D-j** (6.43 mg, 5.74  $\mu\text{mol}$ , 1 eq)、化合物 **LY-46F-i** (28.19 mg, 17.23  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和 *N,N,N',N'*-四甲基-O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)六氟磷酸脲 (5.46 mg, 14.36  $\mu\text{mol}$ , 2.5 eq) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (1 mL) 溶液中加入 *N,N*-二异丙基乙胺 (5.94 mg, 7.60  $\mu\text{L}$ , 45.96  $\mu\text{mol}$ , 8 eq), 20°C 下搅拌 2 小时。反应液经过高效液相制备色谱法 (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 (0.1% TFA)) 纯化, 冻干后得到白色固体产物 **LY-46E** (10 mg, 3.16  $\mu\text{mol}$ , 二步收率: 24%)。

-乙腈, 水的洗脱比例从 21%到 51%洗脱) 纯化, 冻干后得到产物 **LY-46-E** (2.56 mg, 935.32 nmol 收率: 16.28%, 纯度: 96.98%)。

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 913.5[1/3M+2]<sup>+</sup>。

## 5 实施例 61: 化合物 **LY-46F** 的制备





步骤 1: (S)-10-(((9H-苈-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-2,2-二甲基-4,11-二氧代-3,15,18,24-五氧杂-5,12-二氮杂庚烷-27-酸的制备

室温下向 1-氨基-3,6,9,12-四氧十五烷-15-酸 (234.52 mg, 883.99  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 N<sup>6</sup>-[(1,1-二甲基乙氧基)羰基)-N<sup>2</sup>-[(9H-苈-9-基)甲氧基)羰基)-L-赖氨酸 2,5-二氧代-1-吡咯烷基酯 (500 mg, 883.99  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (10 mL) 溶液中加入 N,N-二异丙基乙胺 (342.74 mg, 438.29  $\mu\text{L}$ , 2.65 mmol, 3 eq)。该反应液在 20°C 搅拌 16 小时。反应液通过高效液相制备色谱法(制备色谱厂家橙达 Oriendo, BRIX-2860。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 150×25mm×10 $\mu\text{m}$ 。流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 10% 到 55% 洗脱) 纯化, 冻干得到白色固体产物(S) -10-(((9H-苈-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-2,2-二甲基-4,11-二氧代-3,15,18,24-五氧杂-5,12-二氮杂庚烷-27-酸 (300 mg, 收率: 47.41%)。

LCMS (ESI): m/z, 738.5 [M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 2: (S)-10-氨基-2,2-二甲基-4-11-二氧代-3,15,18,24-五氧杂-5,12-二氮杂庚烷-27-酸的制备

室温下, 向(S)-10-(((9H-苈-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-2,2-二甲基-4,11-二氧代-3,15,18,24-五氧杂-5,12-二氮杂庚烷-27-酸 (50 mg, 69.85  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (1 mL) 溶液中加入乙二胺 (51.09 mg, 71.95  $\mu\text{L}$ , 698.48  $\mu\text{mol}$ , 10 eq)。该反应液在 20°C 下搅拌 2 小时。反应液通过减压浓缩得到黄色油状产物 (34 mg, 粗品不计收率)。

LCMS (ESI): m/z, 494.3 [M+Na]<sup>+</sup>。



步骤 3: 化合物 **LY-46F-f** 的制备

将(S)-10-氨基-2,2-二甲基-4-11-二氧化-3,15,18,24-五氧杂-5,12-二氮杂庚烷-27-酸 (25.17 mg, 68.88  $\mu\text{mol}$ , 1 eq)、化合物 **LY-39A-b** (25.17 mg, 68.88  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 N,N-二异丙基乙胺 (26.71 mg, 34.15  $\mu\text{L}$ , 206.65  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 依次加入到 N,N-二甲基甲酰胺 (1 mL) 溶液中加入。该反应液在 20°C 下搅拌 2 小时。反应液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 YMC-Triart Prep C18 250 $\times$ 50mm $\times$ 7 $\mu\text{m}$ 。流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 20% 到 50% 洗脱) 纯化, 冻干, 得到白色固体产物 **LY-46F-f** (15 mg, 三步收率: 14%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 766.4  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

## 步骤 4: (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

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), 加入(4-氨基苯基)甲醇 (360.04 mg, 2.92 mmol, 1.2 eq) 和 EEDQ (903.71 mg, 753.09  $\mu\text{L}$ , 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%)。

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

步骤 5: 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)-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), 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  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

步骤 6: 化合物 **LY-46F-d** 的制备

将化合物伊喜替康甲磺酸盐 (78.10 mg, 146.91  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DMF (3 mL) 的溶液中, 加入 DIPEA (18.99 mg, 24.28  $\mu\text{L}$ , 146.91  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 反应液搅拌 10 min, 再加入化合物 **LY-46F-c** (100 mg, 146.91  $\mu\text{mol}$ , 1 eq)、HOBT (9.93 mg, 6.62  $\mu\text{L}$ , 73.45  $\mu\text{mol}$ , 0.5 eq) 和 吡啶 (58.10 mg, 59.41  $\mu\text{L}$ , 734.54  $\mu\text{mol}$ , 5 eq), 反应液在 25°C 下搅拌 16 小时。反应液减压浓缩, 通过硅胶柱层析色谱法 (洗脱剂: DCM:MeOH=1:0~10:1), 得到黄色固体产物 **LY-46F-d** (150 mg, 收率: 104.50%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 977.4  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 7: 化合物 **LY-46F-e** 的制备

将化合物 **LY-46F-d** (150 mg, 153.52  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DMF (5 mL), 加入  $\text{Et}_2\text{NH}$  (56.14 mg, 79.07  $\mu\text{L}$ , 767.61  $\mu\text{mol}$ , 5 eq), 在 25°C 搅拌 2 小时。反应液减压浓缩, 得到棕色油状产物 **LY-46F-e** (100 mg, 收率: 86.30%)。

5 LCMS (ESI):  $m/z$ , 755.4  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

步骤 8: 化合物 **LY-46F-g** 的制备

将化合物 **LY-46F-f** 溶于 DMF (2 mL), 向该反应液中加入化合物 **LY-46F-e** (10.15 mg, 13.44  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 DIPEA (3.47 mg, 4.44  $\mu\text{L}$ , 26.89, 0°C 下再加入 HATU (7.67 mg, 20.16  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq), 反应液在 5°C 条件下搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完成。反应液通过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家橙达 Oriendo, 10 BRIX-2860 (R1,4,5,6)。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 150 $\times$ 25mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相: 水 (0.225%  $\text{HCOOH}$ ) - 乙腈, 水的洗脱比例从 40% 到 70% 洗脱) 纯化, 经过冻干得到白色固体产物 **LY-46F-g** (9 mg, 收率: 45.21%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1502.7  $[(\text{M}+\text{Na})]^+$ 。

15 步骤 9: 化合物 **LY-46F-h** 的制备

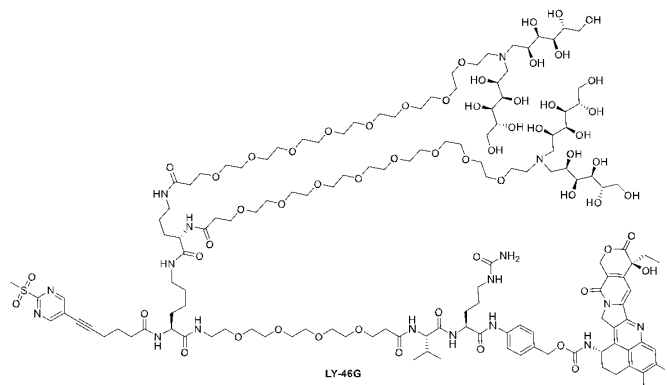
将化合物 **LY-46F-g** (9 mg, 6.08  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DCM (5 mL), 向该反应液中加入 TFA (693.05  $\mu\text{g}$ , 465.1  $\mu\text{L}$ , 6.08  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 反应液在 5°C 条件下搅拌 2 小时。反应液直接旋干, 得黄色固体产物 (8 mg, 收率: 95.34%)。

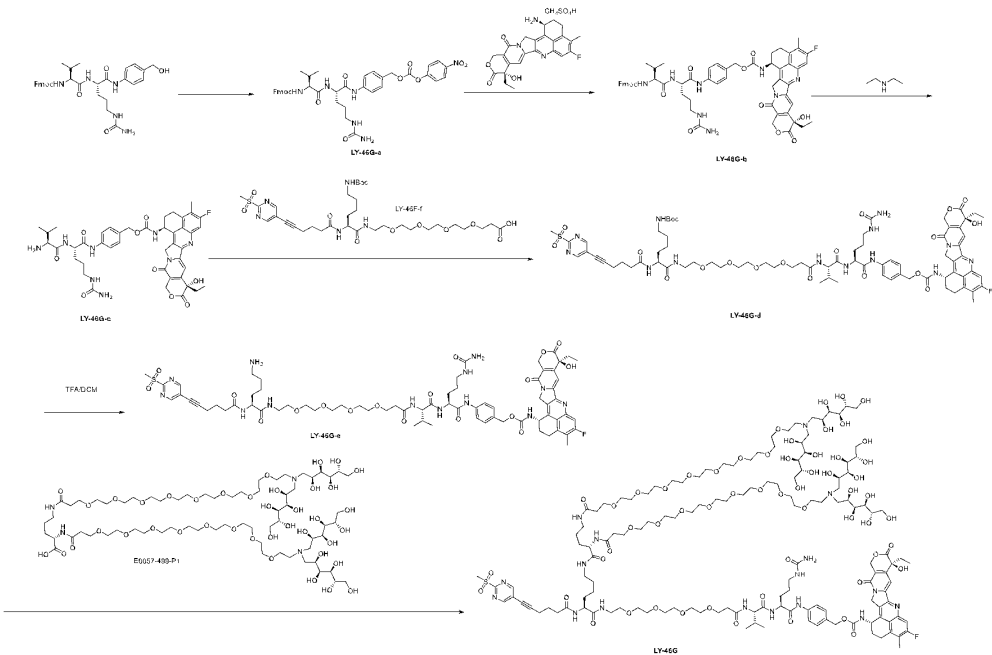
LCMS (ESI):  $m/z$ , 1380.5  $[(\text{M}+\text{H})]^+$ 。

20 步骤 10: 化合物 **LY-46F** 的制备

将化合物 **LY-46F-h** (8 mg, 5.79  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DMF (1 mL), 向该反应液中加入化合物 **LY-46E-i** (9.48 mg, 5.79  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 DIPEA (1.50 mg, 1.92  $\mu\text{L}$ , 11.59  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 将反应液冷却至 0°C, 加入 HATU (3.31 mg, 8.69  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq), 反应液在 25°C 条件下搅拌 1 小时。反应液通过高效液相制备色谱法, 得白色固体产物 (620  $\mu\text{g}$ , 收率: 3.57%, 纯度: 98%)。 25

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1000.13  $[(\text{M}+2\text{H})/2]^+$ 。

实施例 62: 化合物 **LY-46G** 的制备



步骤 1：化合物 **LY-46G-a** 的制备

将化合物 (9H-芴-9-基)甲基 ((S)-1-(((S)-1-(4-(羟甲基)苯基)氨基)-1-氧代-5-脲基戊烷-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸酯 (300 mg, 1.0eq, 购买于毕得医药) 溶解于无水 DMF (6 mL) 中, 冰浴冷却下加入 DIEA (164.8  $\mu$ L, 2.0eq) 和二(对硝基苯)碳酸酯 (303.35 mg, 2.0eq) 后于 25°C 下搅拌反应 1 小时。将反应液冷却至 0°C, 向其中缓慢滴加乙醚 (120 mL), 析出固体后在 0°C 下继续搅拌 1 小时, 过滤, 干燥得到化合物 **LY-46G-a**, 黄色固体 (400 mg, 粗收率 104.6%)

LCMS:  $m/z = 767.4$   $[M+H]^+$ ;  $R_t = 2.664$  min。

步骤 2：化合物 **LY-46G-b** 的制备

将化合物伊喜替康甲磺酸盐 (197.58 mg, 1.0eq, 购买于 MCE) 溶解于无水 DMF (5 mL) 中, 25°C 下加入 DIPEA (61.43  $\mu$ L, 1.0eq) 后搅拌十分钟。然后将化合物 **LY-46G-a** (300 mg, 1.0eq) 加入其中, 再加入 HOBt (25.11 mg, 0.5eq) 和吡啶 (150.3  $\mu$ L, 5.0eq), 后于 25°C 下搅拌反应 16 小时。将反应液过滤, 滤液通过反相 C18 纯化 (流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 10% 到 65% 洗脱), 得到化合物 **LY-46G-b** (270 mg, 收率 68.33%)。

LCMS:  $m/z = 1063.5$   $[M+H]^+$ ;  $R_t = 2.525$  min。

步骤 3：化合物 **LY-46G-c** 的制备

将化合物 **LY-46G-b** (250 mg, 1.0eq) 溶解于无水 DMF (2 mL) 中, 加入二乙胺 (238  $\mu$ L, 10.0eq) 后, 于 25°C 搅拌反应 2 小时。将反应液浓缩至干, 得到粗品化合物 **LY-46G-c** (240 mg, 收率 92.89%), 不经纯化直接用于下一步反应。

LCMS:  $m/z = 841.5$   $[M+H]^+$ ;  $R_t = 1.423$  min。

步骤 4：化合物 **LY-46G-d** 的制备

将化合物 **LY-46G-c** (30 mg, 1.2 eq) 和化合物 **LY-46F-f** (25.52 mg, 1.0 eq) 溶解于无水 DMF (2 mL) 中, 0°C 下加入 DIEA (11.06  $\mu$ L, 3.0eq) 和 HATU (11.02 mg, 1.3eq) 后于 25°C 下搅拌反应 2 小时。将反应液过滤, 滤液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 GS-120-10-C18AP。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 得到化合物 **LY-46G-d** (56 mg, 收率 56.93%)。

LCMS:  $m/z = 1589.8[M+Na]^+$ ;  $R_t = 2.088$  min.

### 步骤 5: 化合物 LY-46G-e 的制备

将化合物 **LY-46G-d** (51.07 mg, 1.0eq) 分散于无水 DCM (2 mL) 中, 冷却  
10 至 0°C 滴加三氟乙酸 (200  $\mu$ L, 84.0eq) 后, 于 0°C 下搅拌反应 1 小时。将反应液  
浓缩除去二氯甲烷和三氟乙酸后, 得到粗品化合物 **LY-46G-e** (54 mg, 粗收率  
100%), 不经纯化直接用于下一步反应。

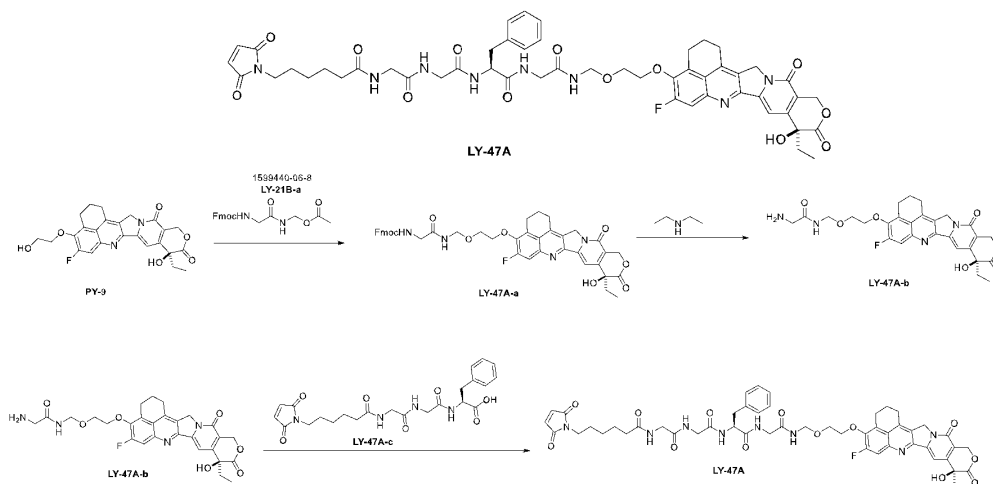
LCMS:  $m/z = 1489.7$   $[M+Na]^+$ ;  $R_t = 1.598$  min.

### 步骤 6: 化合物 LY-46G 的制备

15 将化合物 **LY-46G-c** (54 mg, 1.0eq) 和化合物 **E0057-499-P1** 溶解于无水 DMF (2 mL) 中, 冷却至 0°C, 加入 DIEA (21.78  $\mu$ L, 4.0eq) 和 HATU (16.29 mg, 1.3eq) 后于 0°C 下搅拌反应 1 小时。将反应液过滤, 滤液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 Synergi Max-RP 250 $\times$ 40mm $\times$ 10 $\mu$ m。流动相: 水 (0.225% HCOOH)-乙腈, 水的洗脱比例从 20% 到 20 50% 洗脱), 得到白色固体化合物 **LY-46G** (7.02 mg, 收率 6.91%)。

LCMS:  $m/z = 1542.8$   $[1/2M+H]^+$ ;  $R_t = 1.421$  min.

### 实施例 63：化合物 LY-47A 的制备



### 步骤 1: 化合物 **LY-47A-a** 的制备

将化合物 **PY-9** (150 mg, 1.0 eq) 和化合物 **LY-21B-a** (213.2 mg, 1.8 eq) 溶

解于无水四氢呋喃（8 mL）中，加入对甲苯磺酸（55 mg，1.0eq）后于 30°C 下搅拌反应 3 小时。将反应液过滤后，滤液通过反相制备色谱法（制备色谱厂家 ISCO，型号 ISCO-R1。色谱柱为 Phenomenex Luna 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）纯化，得到化合物

5 **LY-47A-a**（57 mg，收率 23%）。

LCMS:  $m/z = 775.3$   $[M+H]^+$ ;  $R_t = 2.118$  min。

步骤 2: 化合物 **LY-47A-b** 的制备

将化合物 **LY-47A-a**（57 mg，1.0eq）溶解于无水 DMF（2 mL）中，加入二乙胺（76 μL，10.0 eq）后于 25°C 下搅拌反应 4 小时。将反应液直接浓缩干后，得到  
10 化合物 **LY-47A-b**（42 mg，粗品），直接用于下一步反应。

LCMS:  $m/z = 553.3$   $[M+H]^+$ ;  $R_t = 1.025$  min。

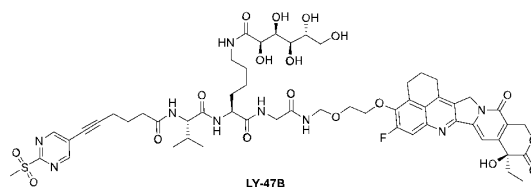
步骤 3: 化合物 **LY-47A** 的制备

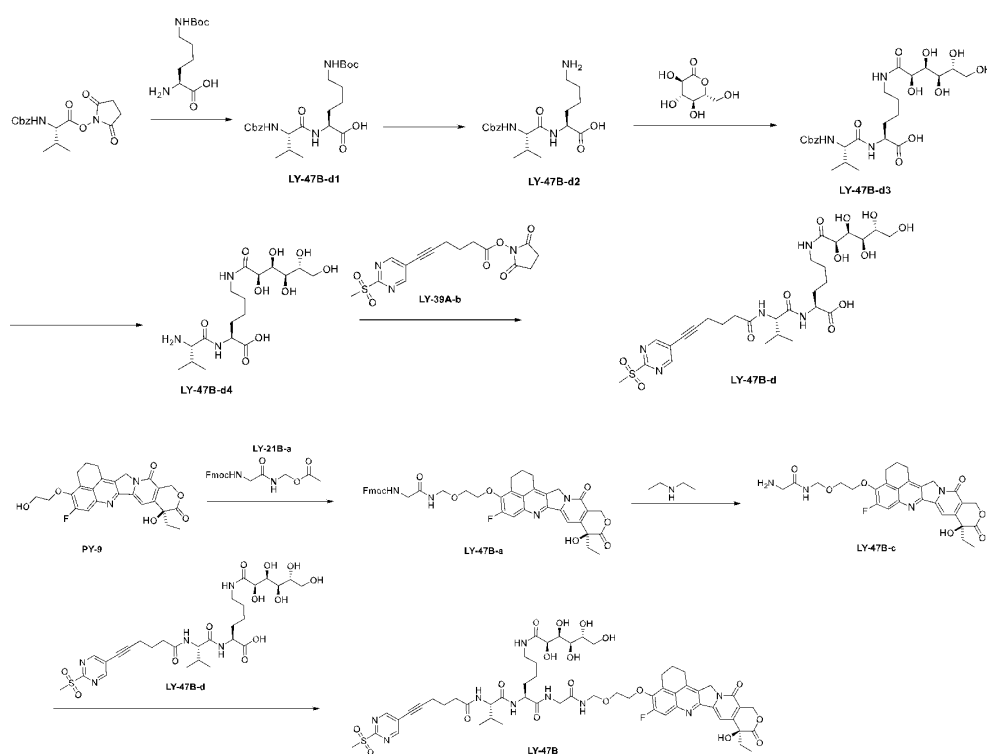
将化合物 **LY-47A-b**（21 mg，1.0eq）和(6-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰)甘氨酸-L-苯丙氨酸（购买于成都正善达）（18 mg，1.0eq）溶解于无水 DMF  
15 （3 mL）中，加入 EDCI（11 mg，1.5eq）和 HOBT（8.22 mg，1.6eq）后于 25°C 下搅拌反应 5 小时。将反应液过滤，滤液通过高效液相制备色谱法（制备色谱厂家 ISCO，型号 ISCO-R1。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm。流动相水（0.225% HCOOH）-乙腈，水的洗脱比例从 21% 到 51% 洗脱）纯化，得到白色固体化合物 **LY-47A**（7.97 mg，收率 20.8%）。

20 LCMS:  $m/z = 1007.5$   $[M+H]^+$ ;  $R_t = 1.652$  min。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d^6$ )  $\delta$  8.57 (t,  $J = 6.7$  Hz, 1H), 8.31 (t,  $J = 5.9$  Hz, 1H), 8.13 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 8.07 (t,  $J = 5.8$  Hz, 1H), 8.02 (t,  $J = 5.7$  Hz, 1H), 7.83 (d,  $J = 12.5$  Hz, 1H), 7.29 (s, 1H), 7.22 (s, 3H), 7.28-7.12 (m, 2H), 6.99 (s, 2H), 6.51 (s, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.24 (s, 2H), 4.62 (d,  $J = 6.7$  Hz, 2H), 4.53-4.43 (m, 1H), 4.26-4.20 (m, 2H), 3.81-3.63 (m, 8H), 3.58 (dd,  $J = 16.7, 5.5$  Hz, 1H), 3.14 (t,  $J = 6.1$  Hz, 4H), 3.03 (dd,  $J = 13.8, 4.5$  Hz, 1H), 2.78 (dd,  $J = 13.8, 9.7$  Hz, 1H), 2.06 (dt,  $J = 24.4, 6.8$  Hz, 4H), 1.96-1.77 (m,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 1.46 (h,  $J = 7.5$  Hz, 4H), 1.18 (qd,  $J = 9.5, 9.0, 6.0$  Hz, 2H), 0.88 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H)。

30 实施例 64: 化合物 **LY-47B** 的制备





### 步骤 1: 化合物 **LY-47B-d1** 的制备

- 5        0℃向 2,5-二氧化吡咯烷-1-基((苄氧基)羰基)-L-缬氨酸酯 (10 g, 28.71 mmol, 1 eq) 和 N<sup>6</sup>-(叔丁氧基羰基)-L-赖氨酸 (7.07 g, 28.71 mmol, 1 eq) 的无水 DMF (100 mL) 的溶液中加入 DIPEA (11.13 g, 14.24 mL, 86.13 mmol, 3 eq), 加毕, 升温到 20℃反应 16 小时。反应液在不超过 40℃浓缩掉大部分 DMF, 然后向残余物加入 200mL 水。0℃用 2 N 的盐酸将残余物的水溶液 pH 调到 4, 然后用乙酸乙酯
- 10    (100 mL × 3) 萃取, 合并有机相, 分别用水 (300mL, 2 次) 洗涤, 饱和食盐水 (100mL) 洗涤 1 次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到化合物 **LY-47B-d1** (15.9 g, 粗品)。

LCMS (ESI): m/z, 502.2[M+Na]<sup>+</sup>。

### 步骤 2: 化合物 **LY-47B-d2** 的制备

- 15        0℃向化合物 **LY-47B-d1** (8.30 g, 17.31 mmol, 1 eq) 的无水 DCM (60 mL) 的溶液中加入 HCl/二氧六环 (4M/L, 50 mL), 加毕, 升温到 20℃反应 2 小时。反应液减压浓缩, 得化合物 **LY-47B-d2** (6 g, 粗品)。

LCMS (ESI): m/z, 380.2[M+H]<sup>+</sup>。

### 步骤 3: 化合物 **LY-47B-d3** 的制备

- 20        室温下向化合物 **LY-47B-d2** (3.95 g, 34%, 3.54 mmol, 1 eq) 的无水 MeOH (40 mL) 溶液中加入 (3R,4S,5S,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-酮 (1.26 g, 2.10 mL, 7.08 mmol, 2 eq) 和三乙胺 (1.79 g, 2.46 mL, 17.70 mmol, 5 eq), 加毕, 升温到 70℃反应 16 小时。反应液浓缩掉大部分甲醇, 加入 5ml 水, 然后通过

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 Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm。流动相水（0.225% HCOOH）-乙腈，水的洗脱比例从 12%到 42%洗脱）纯化，冻干得白色固体化合物 **LY-47B-d3**（866 mg，收率：43.88%）。

5 LCMS (ESI) : m/z, 558.3[M+H]<sup>+</sup>。

步骤 4: 化合物 **LY-47B-d4** 的制备

氢气气氛下，向化合物 **LY-47B-d3**（866 mg, 1.55 mmol, 1 eq）的甲醇（30 mL）溶液中，加入钯碳（200 mg, 16.64 μL, 1.88 mmol, 1.2101 eq），将反应于室温搅拌 16 小时。向反应液中加入水（3 mL），过滤，减压浓缩，得到固体产物 **LY-47B-d4**

10 （566 mg，收率=86%）。

LCMS (ESI) : m/z, 424[M+H]<sup>+</sup>。

步骤 5: 化合物 **LY-47B-d** 的制备

向化合物 **LY-47B-d4**（566 mg, 1.34 mmol, 1 eq）和化合物 **LY-39A-b**（634.85 mg, 1.74 mmol, 1.3 eq）的 N,N-二甲基甲酰胺（30 mL）溶液中，加入 N,N-二异丙基乙胺（883.60 μL, 5.35 mmol, 4 eq），将反应置于室温搅拌 2 小时。反应液经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 Phenomenex Luna C18 250×30mm×10μm。流动相水（0.225% HCOOH）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 3%到 33%洗脱）纯化，冻干，得到白色固体产物 **LY-47B-d**（411 mg，收率=45.6%）。

20 LCMS (ESI) : m/z, 674[M+H]<sup>+</sup>。

步骤 6: 化合物 **LY-47B-a** 的制备

将化合物 **PY-9**（100 mg, 1.0 eq）和(2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙酰胺)乙酸甲酯（**LY-21B-a**）（157.9 mg, 2.0 eq）溶解于无水四氢呋喃（3 mL）中，加入对甲苯磺酸（36.9 mg, 1.0eq）后于 30℃搅拌反应 3 小时。将反应液过滤后，滤液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 Phenomenex Luna 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）纯化，得到化合物 **LY-47B-a**（20 mg，收率 12.1%）。

25 LCMS: m/z = 775.3 [M+H]<sup>+</sup>; Rt = 2.118 min。

步骤 7: 化合物 **LY-47B-c** 的制备

30 将化合物 **LY-47B-a**（20 mg, 1.0eq）溶解于无水 DMF（1 mL）中，加入二乙胺（26.6 μL, 10.0 eq）后于 25℃搅拌反应 2 小时。将反应液减压浓缩，得到化合物 **LY-47B-c**（14.26 mg，粗品），直接用于下一步反应。

LCMS: m/z = 553.3 [M+H]<sup>+</sup>; Rt = 1.104 min。

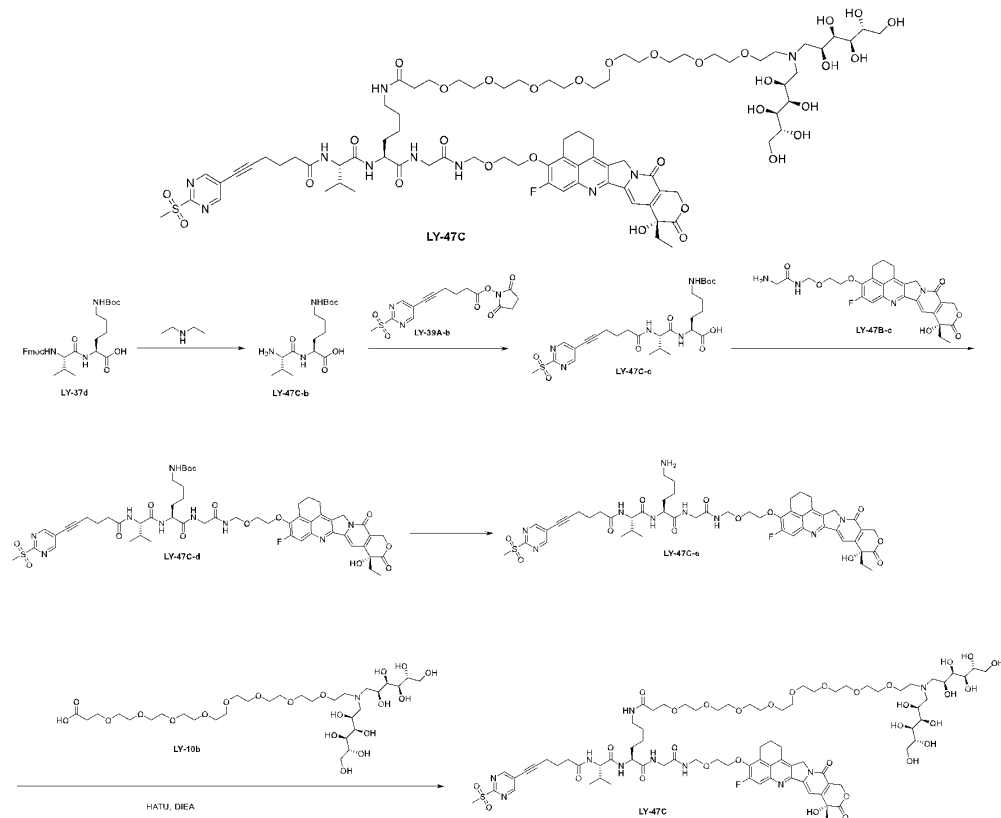
步骤 8: 化合物 **LY-47B** 的制备

35 将化合物 **LY-47B-c**（14.26 mg, 1.0eq）和化合物 **LY-47B-d**（20.87 mg, 1.2 eq）溶解于无水 DMF（5 mL）中，加入 EDCI（7.42 mg, 1.5 eq）和 HOBT（5.58 mg，

1.6 eq) 后于 25°C 搅拌反应 3 小时。将反应液过滤后, 滤液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 Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm。流动相水 (0.1%TFA)-乙腈, 水的洗脱比例从 21%到 51%洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物 **LY-47B** (6.08 mg, 收率 19.5%) 白色固体。

5 LCMS:  $m/z = 1208.6 [M+H]^+$ ;  $R_t = 1.363 \text{ min}$ 。

### 实施例 65: 化合物 **LY-47C** 的制备



#### 10 步骤 1: 化合物 **LY-47C-b** 的制备

向化合物 **LY-37d** (20 mg, 35.23 μmol, 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入二乙胺 (25.77 mg, 36.29 μL, 352.31 μmol, 10 eq)。加毕该反应液在 25°C 下反应 6 小时, 反应液减压浓缩, 得到类白色化合物 **LY-47C-b** (12 mg, 粗品收率不计)。

LCMS (ESI):  $m/z, 346.3[M+H]^+$ 。

#### 15 步骤 2: 化合物 **LY-47C-c** 的制备

0°C 下向化合物 **LY-47C-b** (100 mg, 289.49 μmol, 1 eq)、化合物 **LY-39A-b** 的 DMF (2 mL) 溶液中, 加入 DIEA (112.24 mg, 143.53 μL, 868.46 μmol, 3 eq)。加毕该反应液在 25°C 搅拌 16 小时。反应液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 Welch Xtimate C18 250×30mm×10μm。



流动相：水（0.225%FA）-乙腈，水的洗脱比例从 21%到 51%洗脱）纯化，经冻干得到白色固体化合物 **LY-47C-c**（100 mg，收率：57.99%）。

LCMS（ESI）：m/z, 618.2[M+H]<sup>+</sup>。

步骤 3：化合物 **LY-47C-d** 的制备

- 5        0°C下向化合物 **LY-47C-c**（21.56 mg, 36.20 μmol, 1 eq）、化合物 **LY-47B-c**（20 mg, 36.20 μmol, 1 eq）的 DMF（2 mL）溶液中，加入 HOBt（8.31 mg, 5.54 μL, 61.53 μmol, 1.7 eq）和 EDCI（10.41 mg, 11.87 μL, 54.29 μmol, 1.5 eq）。加毕该反应液在 25°C搅拌 2 小时。反应液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 Synergi Max-RP 250×40mm×10μm。流动相：水（0.225%FA）-乙腈，水的洗脱比例从 30%到 60%洗脱）纯化，经冻干得到白色固体化合物 **LY-47C-d**（22 mg，收率：53.78%）。

LCMS（ESI）：m/z, 1152.3[M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 4：化合物 **LY-47C-e** 的制备

- 15        0°C下向化合物 **LY-47C-d**（22 mg, 19.46 μmol, 1 eq）的 DCM（9 mL）溶液中，加入 TFA（0.9 mL）。加毕该反应液在 0-10°C搅拌 3 小时。反应液减压浓缩，然后加水和乙腈冻干，得到白色固体化合物 **LY-47C-e**（23 mg，收率：82.62%，纯度：80%）。

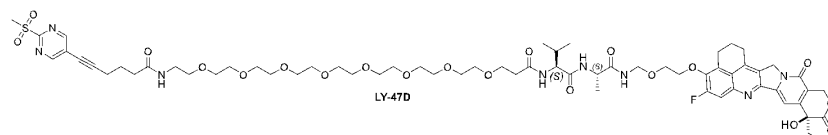
LCMS（ESI）：m/z, 1052.3[M+H]<sup>+</sup>。

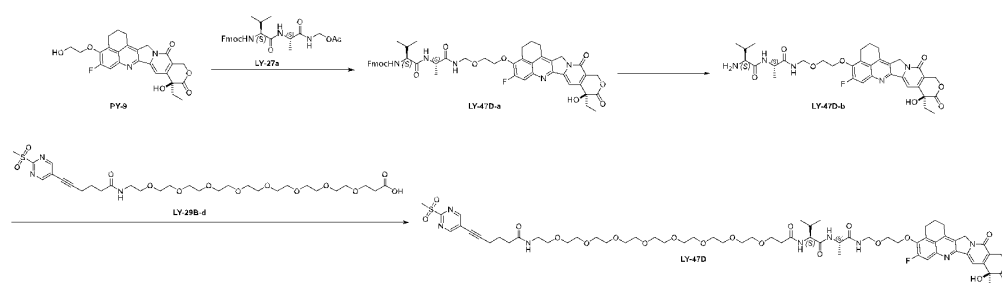
步骤 5：化合物 **LY-47C** 的制备

- 20        向化合物 **LY-10**（35.87 mg, 46.60 μmol, 3 eq）、化合物 **LY-47C-e**（20 mg, 80%, 15.53 μmol, 1 eq）的 DMF（10 mL）溶液中，加入 DIPEA（12.04 mg, 15.40 μL, 93.19 μmol, 6 eq）和 HATU（11.81 mg, 31.06 μmol, 2 eq）。加毕该反应液在 20°C下反应 2 小时，反应液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 Phenomenex Luna C18 250×30mm×10μm。流动相：水（0.225%FA）-乙腈，水的洗脱比例从 21%到 51%洗脱）纯化，经冻干得到白色固体化合物 **LY-47C**（10.88 mg，收率：34.18%）。

LCMS（ESI）：m/z, 1803.6 [M+Na]<sup>+</sup>, 891.4[1/2M+1]<sup>+</sup>。HPLC: Rt =3.924 min。

实施例 66：化合物 **LY-47D** 的制备





### 步骤 1: 化合物 **LY-47D-a** 的制备

将化合物 **PY-9** (50 mg, 105.04  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和化合物 **LY-27a** (505.84 mg, 1.05  $\mu\text{mol}$ , 10 eq) 的四氢呋喃 (10 mL) 溶液中加入对甲苯磺酸 (18.09 mg, 105.04  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 并置于室温下搅拌 15 小时。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 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。色谱柱为 PWelch 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 39%到 69%洗脱), 得产物 **LY-47D-a** (43.7 mg, 收率=46.8%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 888 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

### 步骤 2: 化合物 **LY-47D-b** 的制备

将化合物 **LY-47D-a** (43.7 mg, 49.21  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (5 mL) 溶液中加入二乙胺 (25.35  $\mu\text{L}$ , 246.07  $\mu\text{mol}$ , 5 eq), 并置于室温下搅拌 2 小时。减压浓缩得粗品 (41 mg, 粗品不计产率)。

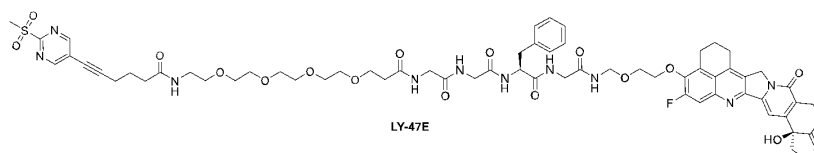
LCMS (ESI):  $m/z$ , 666 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

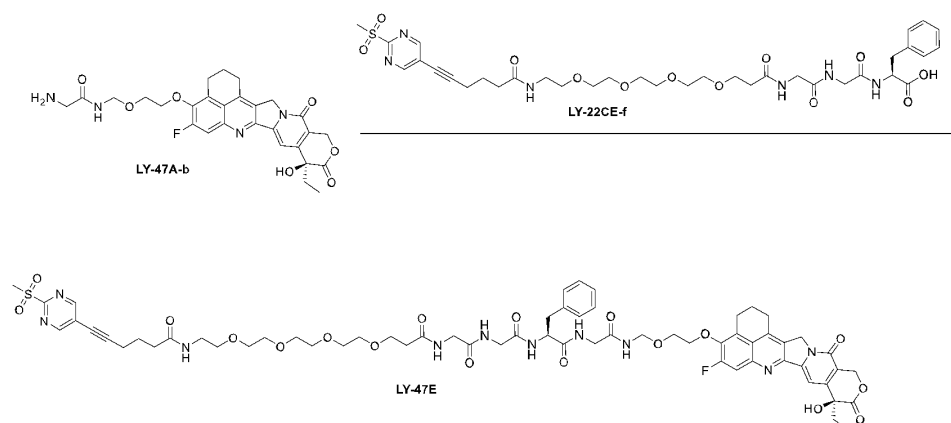
### 步骤 3: 化合物 **LY-47D** 的制备

将化合物 **LY-47D-b** (41 mg, 49.2  $\mu\text{mol}$ , 1 eq, 79.9%纯度) 和化合物 **LY-29B-d** (40.8 mg, 59.04  $\mu\text{mol}$ , 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 (19.08 mg, 147.6  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 和 *N,N,N',N'*-四甲基-*O*-(7-氮杂苯并三唑-1-基)六氟磷酸脲 (22.5 mg, 59.04  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 并置于室温下搅拌 2 小时。反应液经过高效液相制备色谱法(制备色谱厂家 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。色谱柱为 Global 30mm $\times$ 250mm。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 **LY-47D** (11.17 mg, 收率=19.3%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1361 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

### 实施例 67: 化合物 **LY-47E** 的制备

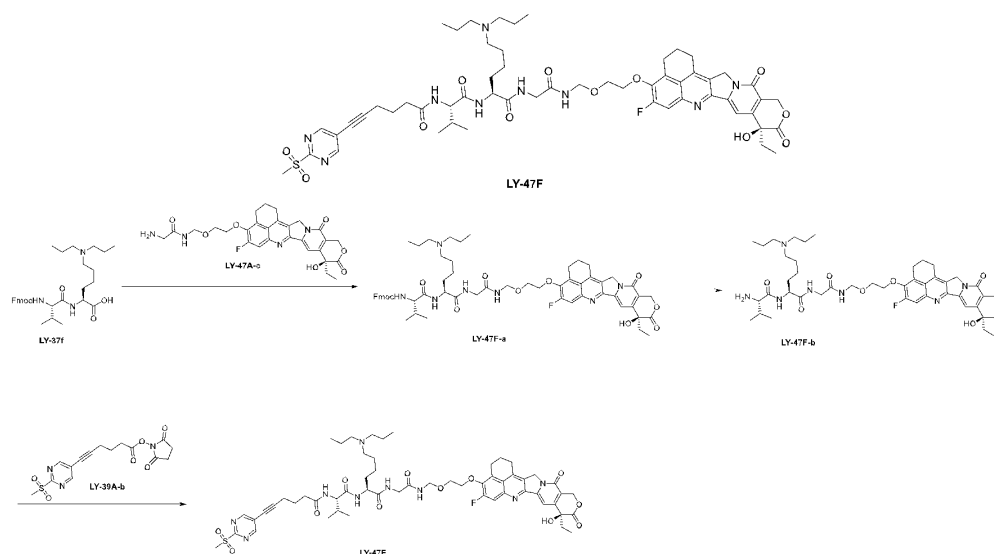




将化合物 **LY-47A-b** (20 mg, 1.0 eq) 和化合物 **LY-22CE-f** (53.43 mg, 50%纯度) 溶解于无水 DMF (2 mL) 中, 冰浴冷却至 0°C, 加入 DIPEA (17  $\mu$ L, 3.0eq) 和 HATU (17 mg, 1.3 eq) 后, 自然升温至室温搅拌反应 4 小时。将反应液过滤, 滤液通过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家岛津, 型号 LC-20AP。色谱柱为 GS-120-10-C18AP。流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 21% 到 51% 洗脱) 纯度, 得到白色固体化合物 **LY-47E** (4.73 mg, 收率 10.5%)。

LCMS:  $m/z = 1333.5 [M+Na]^+$ ;  $R_t = 1.583$  min。

#### 10 实施例 68: 化合物 **LY-47F** 的制备



##### 步骤 1: 化合物 **LY-47F-a** 的制备

将化合物 **LY-37f** (35.57 mg, 1.5eq) 和化合物 **LY-47A-c** (25 mg, 1.0 eq) 溶解于无水 DMF (2 mL) 中, 降温至 0°C, 加入 HATU (21.25 mg, 1.3 eq) 和 DIPEA (21.3  $\mu$ L, 3.0eq) 后升温至 25°C 搅拌反应 16 小时。将反应液过滤后, 滤液通过常规反相制备色谱法 (流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 10% 到 50% 洗脱) 纯化, 得到化合物 **LY-47F-a** (30 mg, 收率 64.3%)。

LCMS:  $m/z = 1086.6$   $[M+H]^+$ ;  $R_t = 2.033$  min。

步骤 2: 化合物 **LY-47F-b** 的制备

将化合物 **LY-47F-a** (30 mg, 1.0eq) 溶解于无水 DMF (2 mL) 中, 室温 25°C 下加入二乙胺 (28.45  $\mu$ L, 10.0eq) 后, 搅拌反应 2 小时。将反应液直接浓缩干, 得到粗品 (20 mg, 收率 83.8%), 直接用于下一步反应。

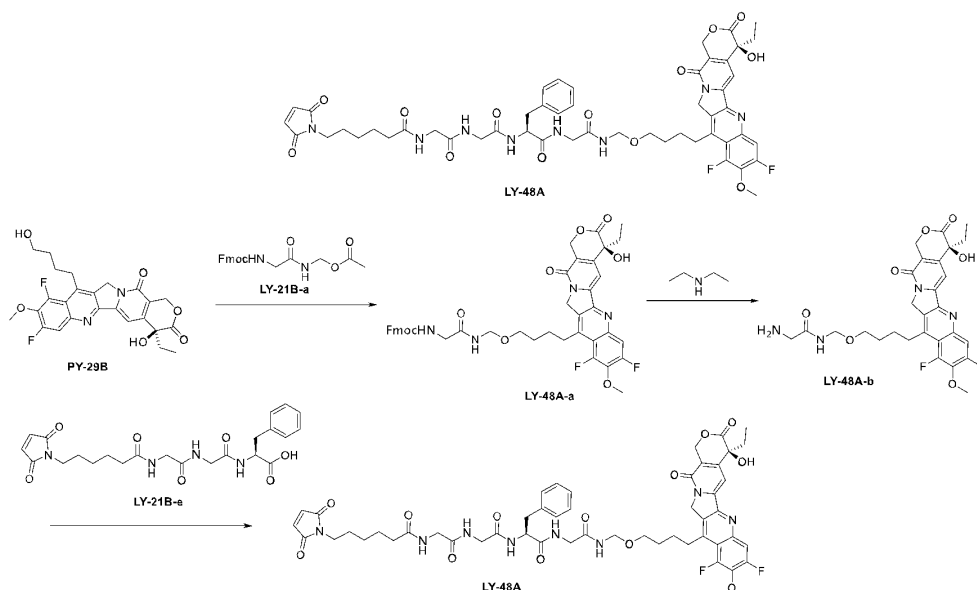
LCMS:  $m/z = 864.5$   $[M+H]^+$ ;  $R_t = 1.144$  min。

步骤 3: 化合物 **LY-47F** 的制备

将化合物 **LY-47F-b** (20 mg, 1.0 eq) 和化合物 **LY-39A-b** (13.19 mg, 1.3 eq) 溶解于无水 DMF (5 mL) 中, 冷却至 0°C, 滴加 DIPEA (13.77  $\mu$ L, 3.0eq) 后升温至 25°C 搅拌反应 2 小时。将反应液过滤, 滤液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 Phenomenex Luna C18 150 $\times$ 25mm $\times$ 10 $\mu$ m。流动相水 (0.225% HCOOH)-乙腈, 水的洗脱比例从 20% 到 50% 洗脱), 得到白色固体化合物 **LY-47F** (2.66 mg, 收率 8.6%)。

LCMS:  $m/z = 1114.5$   $[M+Na]^+$ ;  $R_t = 1.559$  min。

实施例 69: 化合物 **LY-48A** 的制备



步骤 1: 化合物 **LY-48A-a** 的制备

向化合物 **PY-29B** (23mg, 95%纯度, 47.28  $\mu$ mol, 1 eq) 的 3ml 四氢呋喃中, 分别加入化合物 **LY-21B-a** (34.83 mg, 94.56  $\mu$ mol, 2 eq) 和对甲苯磺酸 (8.14 mg, 7.61  $\mu$ L, 47.28  $\mu$ mol, 1 eq), 该反应在 25°C 搅拌 16 小时。浓缩得到 37.5mg 粗品化合物 **LY-48A-a** (纯度: 48%), 直接用于下一步反应。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 795.3  $[M+H]^+$ 。

步骤 2: 化合物 **LY-48A-b** 的制备

向粗品化合物 **LY-48A-a** (37.50 mg, 纯度 48%, 22.65  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 3mL DMF 溶剂中, 加入二乙胺 (16.56 mg, 23.33  $\mu\text{L}$ , 226.47  $\mu\text{mol}$ , 10 eq), 加毕将反应在 25°C 搅拌 16 小时。反应液经高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 12% 到 42% 洗脱) 纯化, 冻干得淡黄色固体化合物 **LY-48A-b** (1.8 mg, 产率: 14%)。

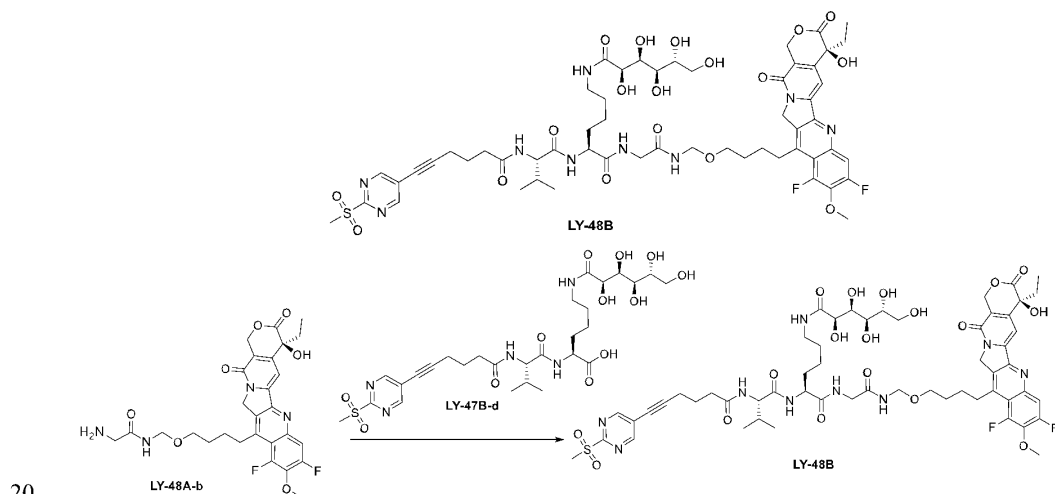
LCMS (ESI):  $m/z$ , 573.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

### 步骤 3: 化合物 **LY-48A** 的制备

向化合物 **LY-48A-b** (9.70 mg, 16.94  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 2ml DMF 溶剂中, 分别加入化合物 **LY-21B-e** (成都正善达) (9.61 mg, 20.33  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq)、EDCI (5.55  $\mu\text{L}$ , 25.41  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq) 以及 HOBt (3.66 mg, 2.44  $\mu\text{L}$ , 27.11  $\mu\text{mol}$ , 1.6 eq), 反应在 25°C 搅拌 16 小时。反应液经高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 12% 到 42% 洗脱) 纯化, 冻干得 1.21mg 白色固体化合物 **LY-48A** (产率: 7%)。

LCMS:  $m/z$  = 1027.3  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ;  $R_t$  = 1.929 min。

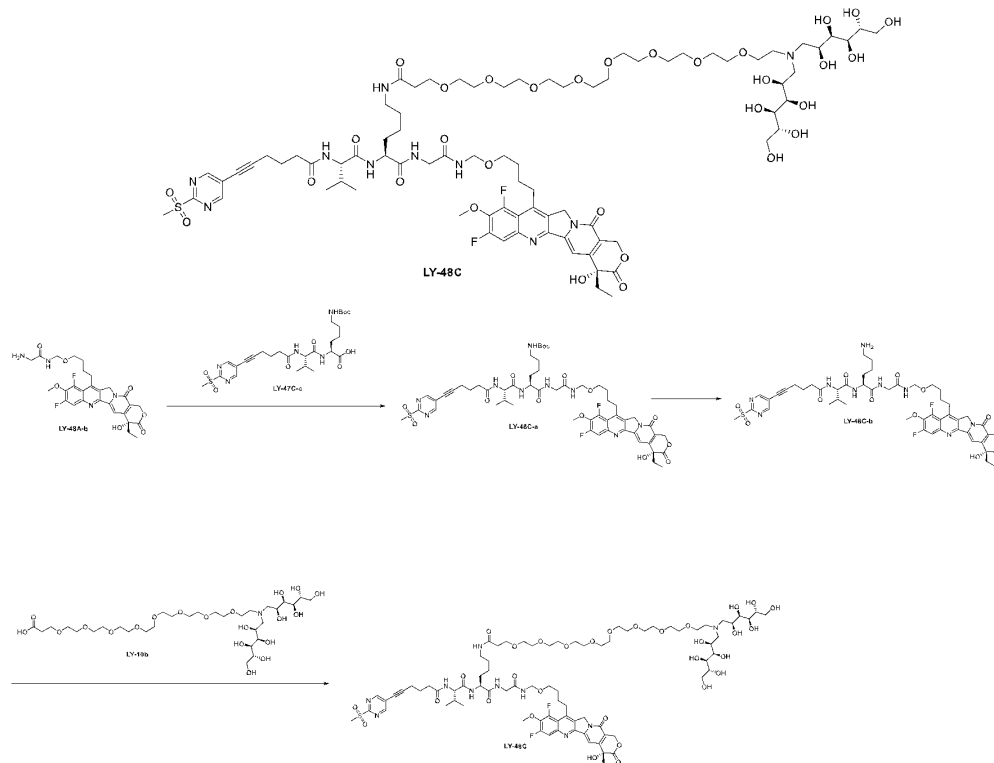
### 实施例 70: 化合物 **LY-48B** 的制备



0°C 向化合物 **LY-48A-b** (1.80 mg, 3.14  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 1mL DMF 溶剂中, 分别加入 **LY-47B-d** (2.54 mg, 3.77  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq)、EDCI (903.98  $\mu\text{g}$ , 4.72  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq) 以及 HOBt (679.65  $\mu\text{g}$ , 5.03  $\mu\text{mol}$ , 1.6 eq)。加毕将反应在 25°C 搅拌 16 小时。反应液经高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 12% 到 42% 洗脱) 纯化, 冻干得白色固体化合物 **LY-48B** (1.50 mg, 产率: 39%)。

LCMS (ESI) : m/z, 1228.3 [M+H]<sup>+</sup>; Rt= 1.625 min。

### 实施例 71: 化合物 **LY-48C** 的制备



5

#### 步骤 1 : 化合物 **LY-48C-a** 的制备

向化合物 **LY-47C-c** (6.24 mg, 10.48  $\mu$ mol, 1.2 eq)、化合物 **LY-48A-b** (5 mg, 8.73  $\mu$ mol, 1 eq) 的 2mL DMF 溶剂中, 加入 HOBt (1.89 mg, 1.26  $\mu$ L, 13.97  $\mu$ mol, 1.6 eq)、EDCI (2.51 mg, 2.86  $\mu$ L, 13.10  $\mu$ mol, 1.5 eq)。加毕该反应在 25°C 搅拌 3 小时, 反应液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 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu$ m。流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 39% 到 69% 洗脱) 纯化, 冻干得白色固体化合物 **LY-48C-a** (6 mg, 收率: 59.73%)。

LCMS (ESI) : m/z, 1172.4[M+Na]<sup>+</sup>。

#### 15 步骤 2: 化合物 **LY-48C-b** 的制备

0°C 下向化合物 **LY-48C-a** (6 mg, 5.22  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DCM (4 mL) 溶液中, 加入 TFA (0.4 mL)。加毕该反应液在 0-10°C 搅拌 2 小时。反应液不超过 35°C 浓缩, 然后加水和乙腈冻干得到浅黄色固体化合物 **LY-48C-b** (6 mg, 粗品收率: 98.81%)。

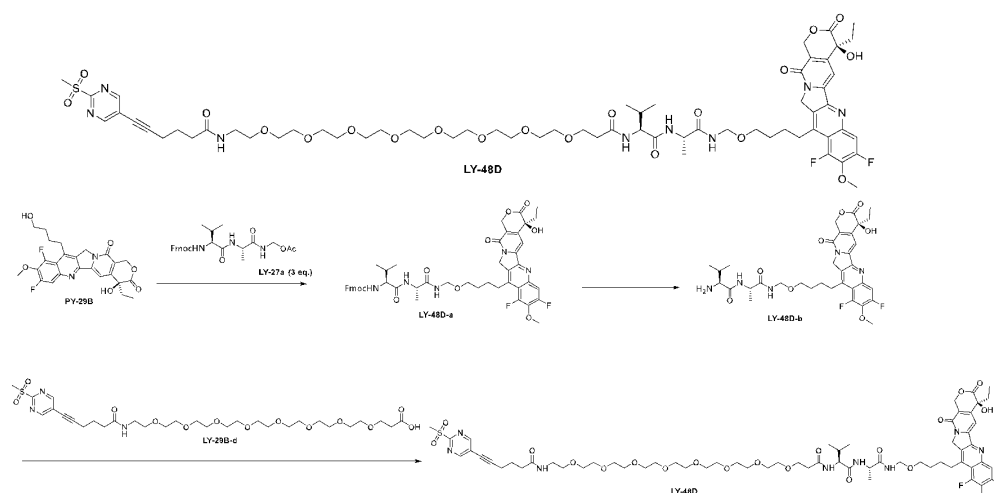
20 LCMS (ESI) : m/z, 1050.4[M+H]<sup>+</sup>。

#### 步骤 3: 化合物 **LY-48C** 的制备

向化合物 **LY-10b** (9.13 mg, 11.85  $\mu\text{mol}$ , 3 eq)、化合物 **LY-48C-b** (4.60 mg, 3.95  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中, 加入 DIPEA (3.57 mg, 4.57  $\mu\text{L}$ , 27.66  $\mu\text{mol}$ , 7 eq) 和 HATU (3.76 mg, 9.88  $\mu\text{mol}$ , 2.5 eq)。加毕该反应液在 20°C 下反应 2 小时, 反应液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 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相: 水(0.1%TFA)-乙腈, 水的洗脱比例从 21%到 51%洗脱) 纯化, 经冻干得到白色固体化合物 **LY-48C** (4.98 mg, 收率: 53.80%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1801.7  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 902 $[1/2\text{M}+1]^+$ 。HPLC:  $R_t=4.298$  min。

## 10 实施例 72: 化合物 **LY-48D** 的制备



### 步骤 1: 化合物 **LY-48D-a** 的制备

向化合物 **PY-29B** (159 mg, 326.84  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和化合物 **LY-27a** (524.64 mg, 90%, 980.53  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 的 THF (30 mL) 中加入 TsOH (159 mg, 326.84  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 并将混合物在 25°C 下搅拌 2 小时。减压浓缩该混合物以除去溶剂, 用 DMF 溶解并过滤, 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 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 50%到 80%洗脱) 纯化, 冻干, 得到白色固体化合物 **LY-48D-a** (33.80 mg, 收率: 38.12%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 930 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

### 步骤 2: 化合物 **LY-48D-b** 的制备

向化合物 **LY-48D-a** (33.80 mg, 37.23  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 在 DMF (2 mL) 中加入  $\text{Et}_2\text{NH}$  (13.61 mg, 19.17  $\mu\text{L}$ , 186.13  $\mu\text{mol}$ , 5 eq), 混合物在 25°C 下搅拌 2 小时。反应液减压浓缩, 得到白色固体产物 (36.6 mg, 粗品不计产率)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 686 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

### 步骤 3: 化合物 **LY-48D** 的制备

向化合物 **LY-48D-b** (90 mg, 131.25  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和化合物 **LY-29B-d** (213.64 mg, 85%, 262.49  $\mu\text{mol}$ , 2 eq) 的 DMF (5 mL) 溶液中, 冰浴下加入 DIPEA (33.92 mg, 43.38  $\mu\text{L}$ , 262.49  $\mu\text{mol}$ , 2 eq) 和 HATU (74.86 mg, 196.87  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq), 将混合物在 25°C 下搅拌 2 小时。反应物经高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家橙

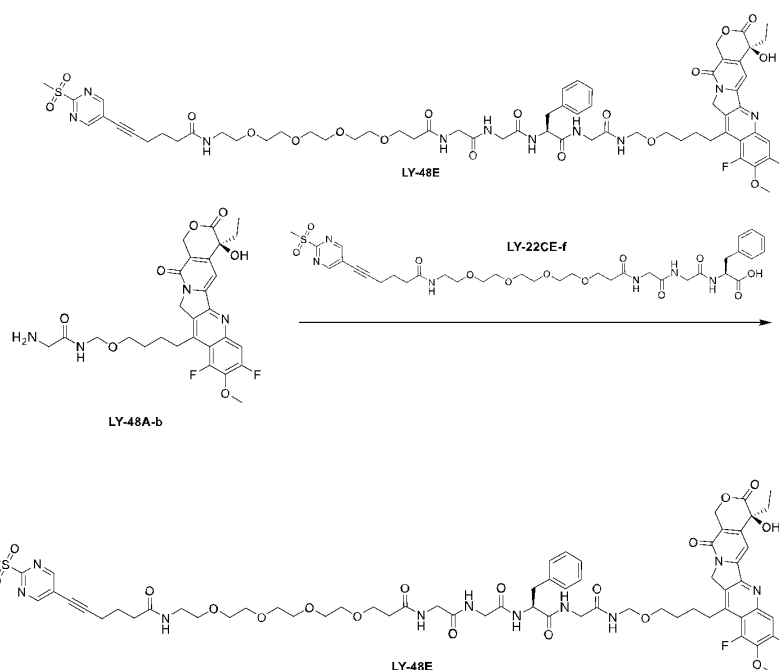
5 达 Oriendo, 型号 Lab311-DJ-R2。色谱柱为 GS-120-10-C18AP。流动相水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 乙腈的洗脱比例从 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 冻干得到白色固体产物 **LY-48D** (3.42 mg, 收率: 24.75%, 纯度: 98%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1381[M+Na]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sup>6</sup>)  $\delta$  9.11 (s, 2H), 8.55 (s, 1H), 8.04 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 7.95 (d,  $J = 12.2$  Hz, 2H), 7.82 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.55 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.33 (s, 2H), 4.54 (dd,  $J = 12.8, 6.7$  Hz, 2H), 4.22 (t,  $J = 7.1$  Hz, 1H), 4.18 – 4.13 (m, 1H), 4.09 (s, 3H), 3.56 (t,  $J = 6.5$  Hz, 2H), 3.49 (d,  $J = 5.9$  Hz, 28H), 3.40 (d,  $J = 2.9$  Hz, 10H), 3.20 (d,  $J = 6.3$  Hz, 6H), 2.42 (s, 2H), 2.36 (s, 2H), 2.26 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H), 1.89-1.84 (m, 2H), 1.80 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 1.19 (d,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 0.87 (t,  $J =$

15 7.3 Hz, 3H), 0.79 (dd,  $J = 11.0, 6.7$  Hz, 6H)。

### 实施例 73: 化合物 **LY-48E** 的制备



#### 20 步骤 1: 化合物 **LY-48E** 的制备

将化合物 **LY-48A-b** (4 mg, 6.99  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 溶于 DMF (2 mL) 中, 加入 **LY-22CE-f** (9.71 mg, 80%, 10  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和 DIPEA (1.81 mg, 2.31  $\mu\text{L}$ , 13.97  $\mu\text{mol}$ , 2 eq), 最后加入 HATU (4.52 mg, 11.89  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq), 反应液在 25°C 下搅拌 1 小时。反应液通过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家岛津, 型号

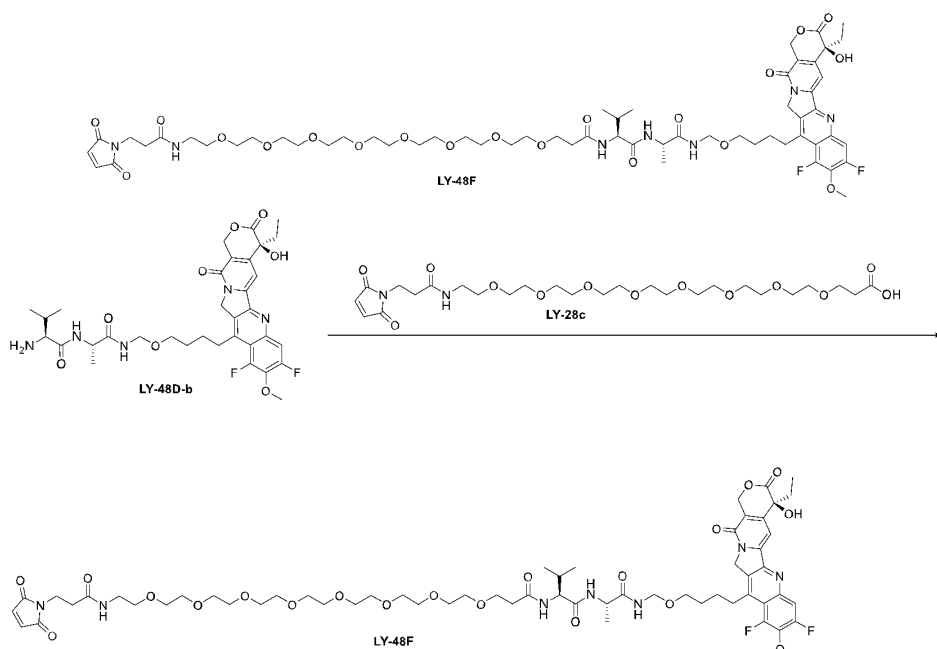


LC-20AP。色谱柱为 Welch Xtimate C18 150×21.2mm×5 $\mu$ m。流动相水（0.225% $\text{HCOOH}$ ）-乙腈，水的洗脱比例从 30%到 60%洗脱），得到白色固体产物 **LY-48E**（1.47 mg，收率：15.80%，纯度：96%）。

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 1353.5  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

5

#### 实施例 74：化合物 **LY-48F** 的制备

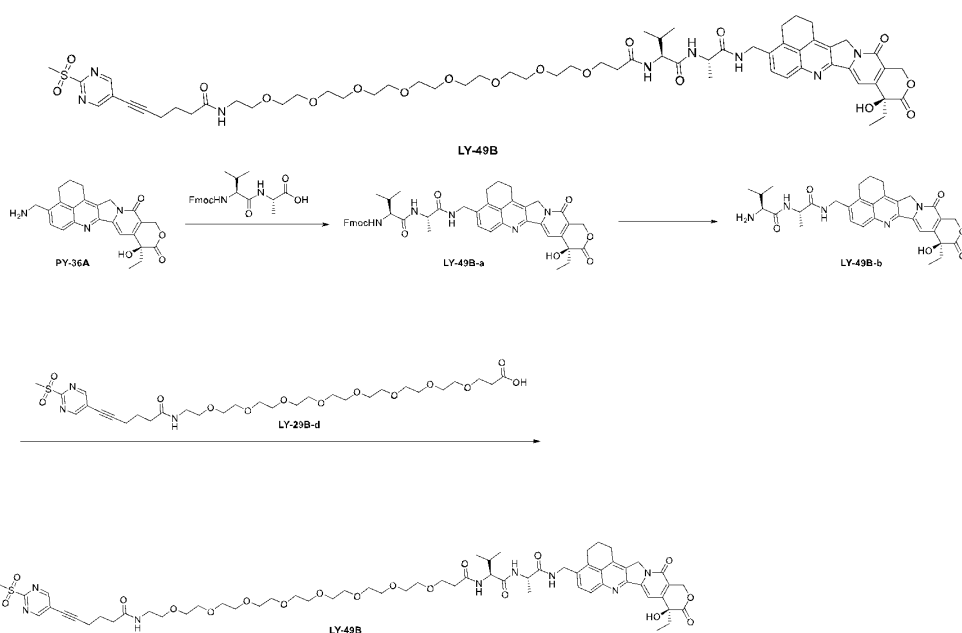


向化合物 **LY-48D-b**（163.58 mg, 238.55 $\mu$ mol, 1 当量）和化合物 **LY-28c**（282.73 mg, 477.10 $\mu$ mol, 2 当量）加入 HATU（136.06 mg, 357.82 $\mu$ mol, 1.5 当量），混合物在 25 $^{\circ}\text{C}$ 搅拌 2 小时。反应物经过高效液相制备色谱法（制备色谱厂家橙达 Oriendo, 型号 Lab311-DJ-R2。色谱柱为 GS-120-10-C18AP。流动相：水（0.225%  $\text{HCOOH}$ ）-乙腈，乙腈的洗脱比例从 30%到 60%洗脱）纯化，冻干得到白色固体产物 **LY-48F**（240.60 mg，收率：80.03%，纯度：88%）。

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 1260 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8.56 (t,  $J$  = 6.6 Hz, 1H), 8.10-7.99 (m, 2H), 7.95 (d,  $J$  = 11.5 Hz, 1H), 7.83 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.00 (s, 1H), 6.55 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.32 (s, 2H), 4.61-4.47 (m, 2H), 4.22 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 1H), 4.15 (dd,  $J$  = 8.7, 6.6 Hz, 1H), 4.09 (s, 3H), 3.62-3.53 (m, 4H), 3.52-3.38 (m, 34H), 3.16 (dd,  $J$  = 14.3, 8.5 Hz, 5H), 2.42 (s, 2H), 2.33 (td,  $J$  = 8.3, 6.6 Hz, 3H), 1.87 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 4H), 1.19 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 3H), 0.87 (t,  $J$  = 7.3 Hz, 3H), 0.79 (dd,  $J$  = 11.0, 6.8 Hz, 6H)。

#### 实施例 75：化合物 **LY-49B** 的制备



#### 步骤 1: 化合物 **LY-49B-a** 的制备

向化合物 **PY-36A** (5 mg, 11.98  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-L-缬氨酸-L-丙氨酸 (4.92 mg, 11.98  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (1.5 mL) 溶液中加入 *N,N*-二异丙基乙胺 (3.96  $\mu\text{L}$ , 23.95  $\mu\text{mol}$ , 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 (5.46 mg, 14.37  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 并置于室温下搅拌 2 小时。反应液经过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 SHIMADZU, 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 30% 到 60% 洗脱) 纯化, 得到产物 **LY-49B-a** (6.1 mg, 收率=62.88%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 810[M+H]<sup>+</sup>。

#### 步骤 2: 化合物 **LY-49B-b** 的制备

将化合物 **LY-49B-a** (6.1 mg, 7.53  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (1 mL) 溶液中加入二乙胺 (3.88  $\mu\text{L}$ , 37.66  $\mu\text{mol}$ , 5 eq), 并置于室温下搅拌 2 小时。减压浓缩得粗品化合物 **LY-49B-b** (7 mg)。

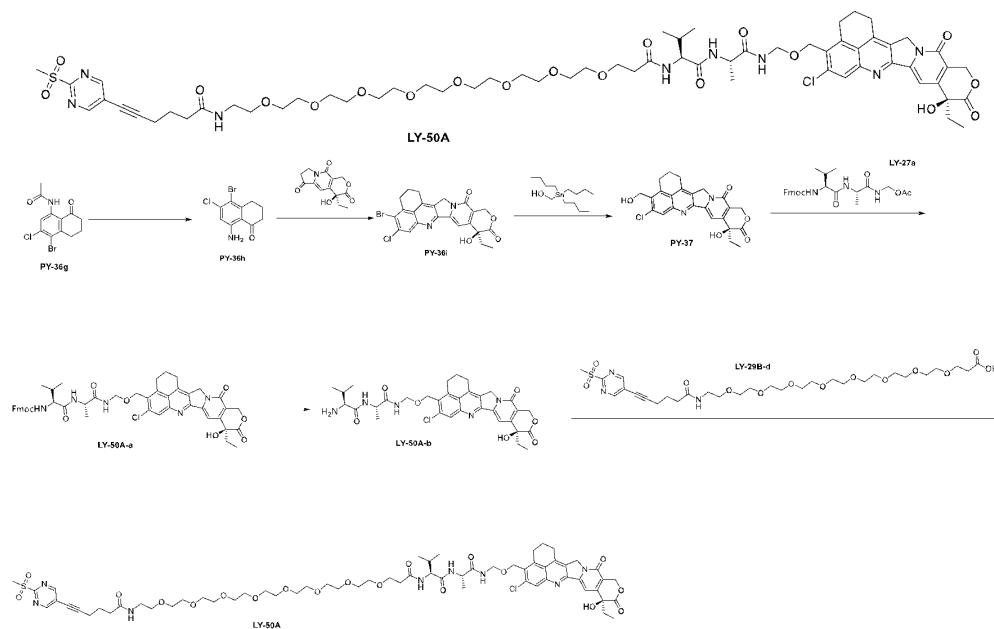
LCMS (ESI):  $m/z$ , 588[M+H]<sup>+</sup>。

#### 步骤 3: 化合物 **LY-49B** 的制备

将化合物 **LY-49B-b** (4.43 mg, 7.54  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和化合物 **LY-29B-d** (11.78 mg, 14.47  $\mu\text{mol}$ , 1.1 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 (2.49  $\mu\text{L}$ , 15.08  $\mu\text{mol}$ , 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 (3.44 mg, 9.05  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 并置于室温下搅拌 2 小时。反应液经过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。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 20% 到 50% 洗脱) 纯化, 得到产物 **LY-49B** (2.93 mg, 收率=30.3%)。

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 1261[M+H]<sup>+</sup>。

### 实施例 76: 化合物 **LY-50A** 的制备



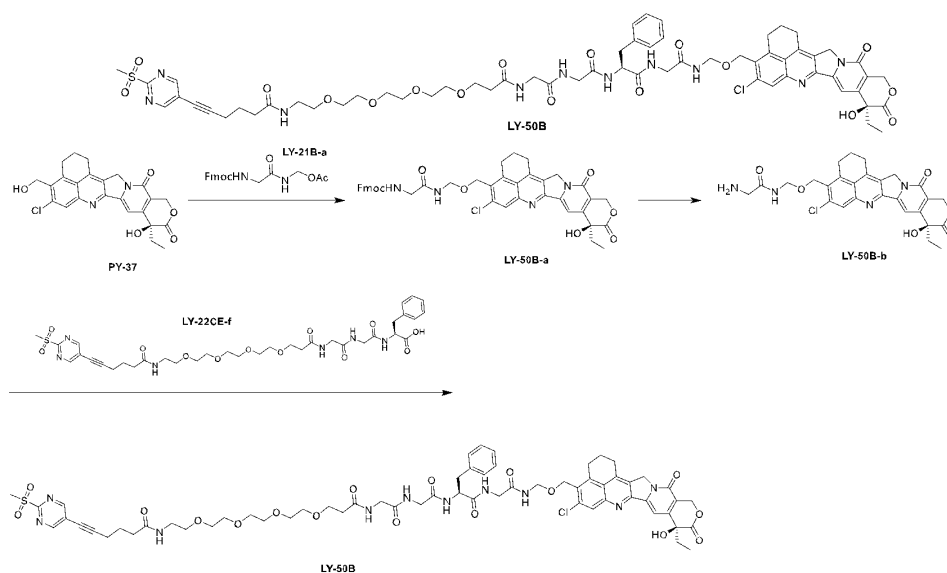
5

与实施例 75 的制备方法相同,除了用化合物 **PY-37** 代替化合物 **PY-36A**,并且用化合物 **LY-27a** 代替化合物(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-L-缬氨酸-L-丙氨酸,制得化合物 **LY-50A**。

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 1347.5[M+Na]<sup>+</sup>,  $R_t$ =1.687 min; HPLC:  $R_t$ =5.52 min。

10

### 实施例 77: 化合物 **LY-50B** 的制备



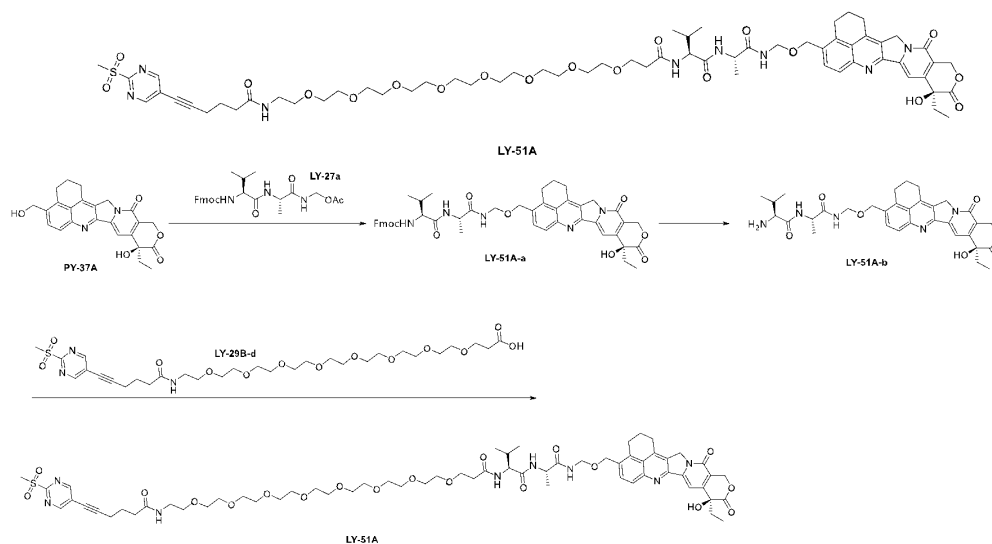
与实施例 76 的制备方法相同,除了用化合物 **LY-21B-a** 代替化合物 **LY-27a**,

并且用化合物 LY-22CE-f 代替化合物 LY-29B-d, 制得化合物 **LY-50B**。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1297.4  $[M+H]^+$ 。

### 实施例 78: 化合物 **LY-51A** 的制备

5

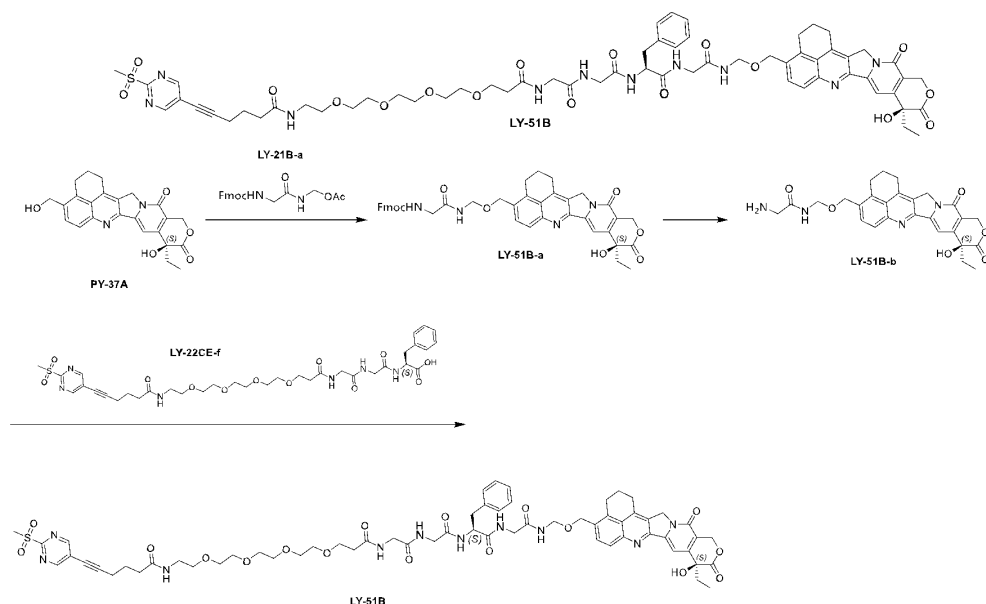


与实施例 76 的制备方法相同, 除了用化合物 **PY-37A** 代替化合物 **PY-37**, 制得化合物 **LY-51A**。

LCMS:  $m/z$  = 1291.6  $[M+H]^+$ ;  $R_t$  = 1.538 min。

10

### 实施例 79: 化合物 **LY-51B** 的制备

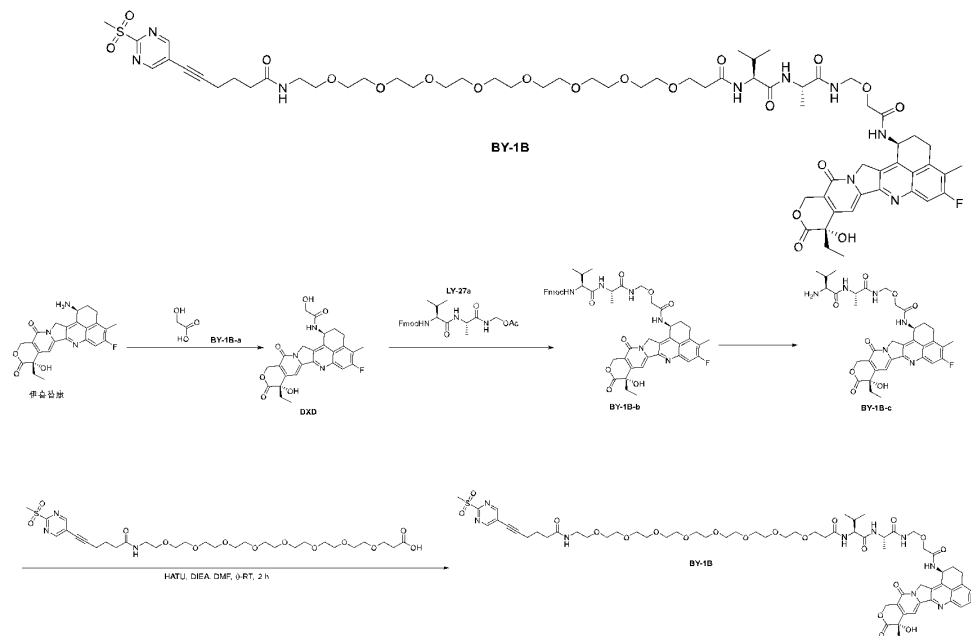


与实施例 77 的制备方法相同, 除了用化合物 **PY-37A** 代替化合物 **PY-37**, 制得化合物 **LY-51B**。

15

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 1285.6  $[M+Na]^+$ .

### 实施例 80: 化合物 **BY-1B** 的制备



5

#### 步骤 1: 化合物 **DXD** 的合成

氮气保护下, 向化合物伊喜替康甲磺酸盐 (20 mg, 37.63  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和羟基乙酸 (2.48  $\mu\text{L}$ , 41.39  $\mu\text{mol}$ , 1.1 eq) 的 DMF (2 mL) 溶液中加入 DIEA (18.66  $\mu\text{L}$ , 0.113 mmol, 3 eq), 室温下搅拌 3 分钟后, 冰浴下加入 HATU (17.17 mg, 45.15  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq), 恢复室温继续搅拌 2 小时, 反应液经反相制备色谱法 (制备色谱

10 厂家 SHIMADZU, 型号 LC-20AP。色谱柱为 YMC-Triart Prep 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 55% 洗脱) 纯化, 得 **DXD** (7.22 mg, 38.9%)。

LCMS (ESI) :  $m/z$ , 494  $[M+H]^+$ 。

15  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.42 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 1H), 7.77 (dd,  $J$  = 10.8, 3.2 Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.53 (s, 1H), 5.62-5.55 (m, 1H), 5.51 (t,  $J$  = 5.8 Hz, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.26-5.11 (m, 2H), 3.96 (d,  $J$  = 3.8 Hz, 2H), 3.23-3.10 (m, 2H), 2.39 (d,  $J$  = 2.0 Hz, 3H), 2.18 (ddd,  $J$  = 13.2, 10.4, 6.0 Hz, 2H), 1.93-1.80 (m, 2H), 0.87 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 3H).  $^{19}\text{F}$  NMR (377 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  -111.33。

#### 20 步骤 2: 化合物 **BY-1B-b** 制备

向化合物 DXD (30 mg, 97%, 58.97  $\mu\text{mol}$ , 1 eq) 和化合物 **LY-27a** (85.19 mg, 176.90  $\mu\text{mol}$ , 3 eq) 的 THF (2 mL) 溶液中, 冰浴下加入 TsOH (10.15 mg, 9.49  $\mu\text{L}$ , 58.97  $\mu\text{mol}$ , 1 eq), 恢复室温继续搅拌 4 小时。反应物经高效液相制备色谱法 (制备色谱型号型号 BRIX-2860 R7。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,

25

冻干得到白色固体产物 **BY-1B-b** (14.10 mg, 收率: 26.13%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 914[M+H]<sup>+</sup>, 937 [M+Na]<sup>+</sup>。

步骤 2: 化合物 **BY-1B-c** 的制备

向化合物 **BY-1B-b** (14.10 mg, 15.41  $\mu$ mol, 1 eq) 的 DMF (1 mL) 溶液中,  
5 加入二乙胺 (5.64 mg, 7.94  $\mu$ L, 77.05  $\mu$ mol, 5 eq), 将反应置于室温下搅拌 2 小时。反应液减压浓缩, 得到棕色固体粗品 (14.30 mg, 粗品不计产率)。

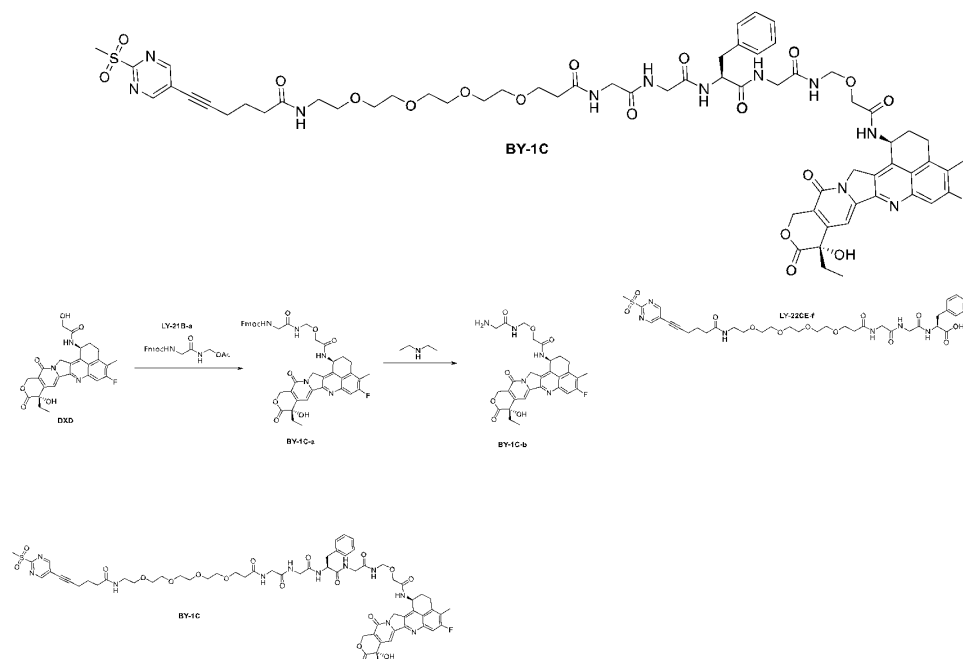
LCMS (ESI):  $m/z$ , 639[M+H]<sup>+</sup>。

步骤 3: 化合物 **BY-1B** 的制备

向化合物 **BY-1B-c** (14.30 mg, 20.64  $\mu$ mol, 1 eq) 和化合物 **LY-29B-d** (18.48  
10 mg, 85%, 22.71  $\mu$ mol, 1.1 eq) 的 DMF (2 mL) 中, 冰浴下加入 DIPEA (5.34 mg,  
6.82  $\mu$ L, 41.28  $\mu$ mol, 2 eq) 和 HATU (9.42 mg, 24.77  $\mu$ mol, 1.2 eq), 恢复室温  
继续搅拌 4 小时。反应液通过高效液相制备色谱法 (制备色谱型号 R6。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, 冻干得到白色固体 **BY-1B** (4.40 mg, 收率:  
15 15.60%, 纯度: 96%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1388[M+Na]<sup>+</sup>。

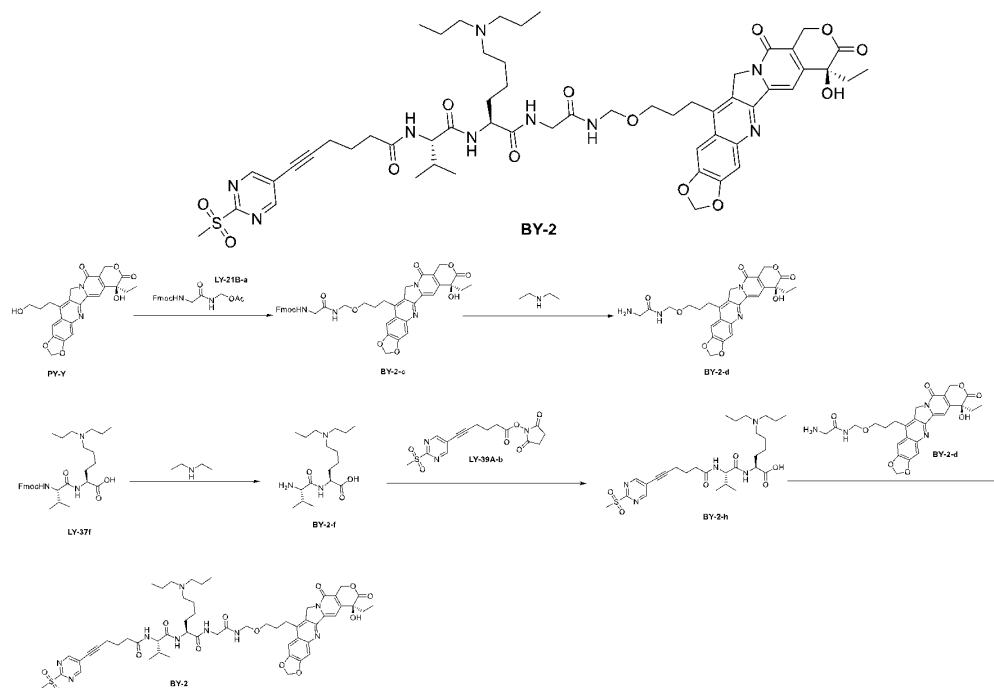
实施例 81: 化合物 **BY-1C** 的制备



20

与实施例 80 的制备方法相同, 除了用化合物 **LY-21B-a** 代替化合物 **LY-27a**,  
用化合物 **LY-22CF-f** 代替化合物 **LY-29B-d**, 得到化合物 **BY-1C**。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1338.5 [M+H]<sup>+</sup>/1360.5[M+Na]<sup>+</sup>; HPLC: Rt=4.508 min。

实施例 82：化合物 **BY-2** 的制备步骤 1：化合物 **BY-2-c** 的制备

- 5 将化合物 **PY-Y** (20 mg, 1.0eq) 和化合物 **LY-21B-a** (40.89 mg, 2.5eq) 溶解于无水四氢呋喃 (2 mL) 中, 加入对甲苯磺酸 (7.65 mg, 1.0 eq) 后室温下反应 16 小时。将反应液浓缩后, 残余物用  $N,N$ -二甲基甲酰胺 (4mL) 溶解, 过滤后, 经过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 Lab311-DJ-R2。色谱柱为 Synergi Max-RP 250×40mm×10 $\mu$ m。流动相: 水 (0.225% $HCOOH$ ) -乙腈, 水的洗脱比例从 30%到 60%洗脱) 纯化, 得到化合物 **BY-2-c** (16 mg, 收率 47.5%)。
- 10

LCMS:  $m/z$  = 759.1  $[M+H]^+$ ;  $R_t$  = 2.010 min。

步骤 2：化合物 **BY-2-d** 的制备

- 将化合物 **BY-2-c** (16 mg, 1.0 eq) 溶解于 DMF (1 mL) 中, 加入二乙胺 (21.72  $\mu$ L, 10.0 eq) 后, 室温下搅拌反应 2 小时。将反应液浓缩至干, 得到粗品 (12 mg),
- 15 直接用于下一步反应。

LCMS:  $m/z$  = 537.1  $[M+H]^+$ ;  $R_t$  = 1.383 min。

步骤 3：化合物 **BY-2-f** 的制备

- 将化合物 **LY-37f** (66 mg, 1.0eq) 溶解于无水 DMF (1 mL) 中, 加入二乙胺 (123.2  $\mu$ L, 10 eq) 后, 于室温下搅拌反应 2 小时。将反应液浓缩至干, 得到化合物 **BY-2-f**
- 20 粗品 (12 mg), 直接用于下一步反应。

LCMS:  $m/z$  = 330.2  $[M+H]^+$ ;  $R_t$  = 1.337 min。

步骤 4：化合物 **BY-2-h** 的制备

将化合物 **BY-2-f** (29.86 mg, 1.0eq) 和化合物 **LY-39A-b** (61.13 mg, 1.2 eq)

溶解于无水 DMF 中, 加入 DIPEA (44.93  $\mu\text{L}$ , 3.0 eq) 后, 于室温下搅拌反应 2 小时。将反应液过滤后, 经过高效液相制备色谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 Lab311-DJ-R3。色谱柱为 GS-120-10-C18AP。流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 12% 到 42% 洗脱) 纯化, 得到化合物 **BY-2-h** (15 mg, 收率 28.6%)。

5 LCMS:  $m/z = 580.3$   $[M+H]^+$ ;  $R_t = 1.118$  min。

步骤 5: 化合物 **BY-2** 的制备

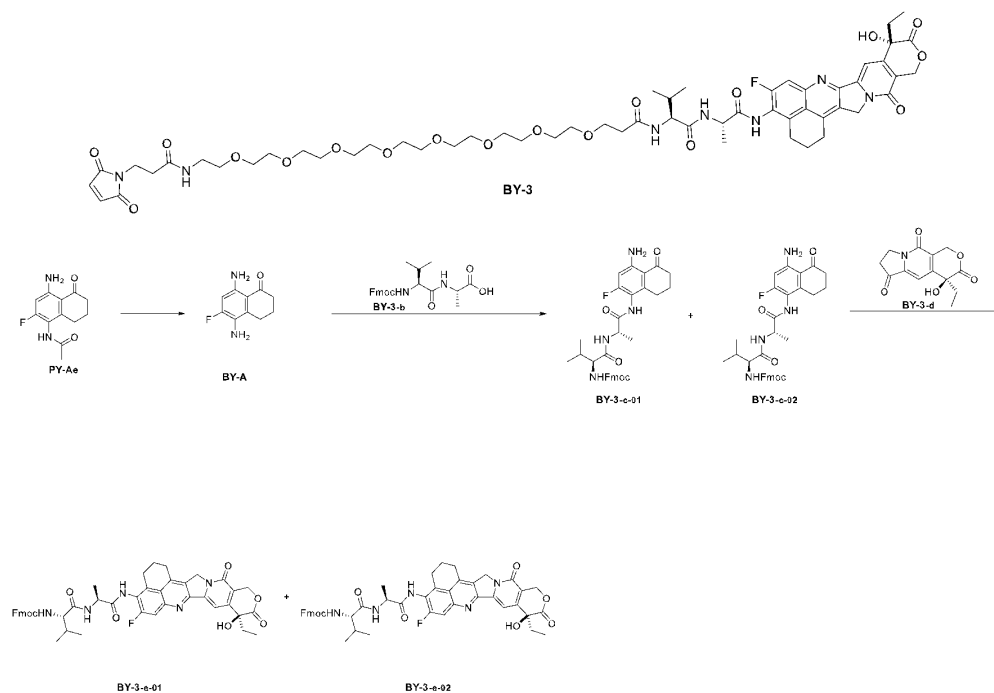
将化合物 **BY-2-h** (12.21 mg, 1.0eq) 和化合物 **BY-2-d** (11.3 mg, 1.0 eq) 溶解于无水 DMF (1 mL) 中, 室温下加入 HATU (10.41 mg, 1.3eq) 和 DIPEA (10.44  $\mu\text{L}$ , 3.0eq) 后, 室温下搅拌反应 1 小时。将反应液过滤后, 经过高效液相制备色  
10 谱法 (制备色谱厂家 ISCO, 型号 Lab311-DJ-R2。色谱柱为 YMC-Triart Prep C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu\text{m}$ 。流动相: 水 (0.225% HCOOH) - 乙腈, 水的洗脱比例从 21% 到 51% 洗脱) 纯化, 得到白色固体化合物 **BY-2** (3.65 mg, 收率 15.8%)。

LCMS:  $m/z = 1098.4$   $[M+H]^+$ ;  $R_t = 1.703$  min。

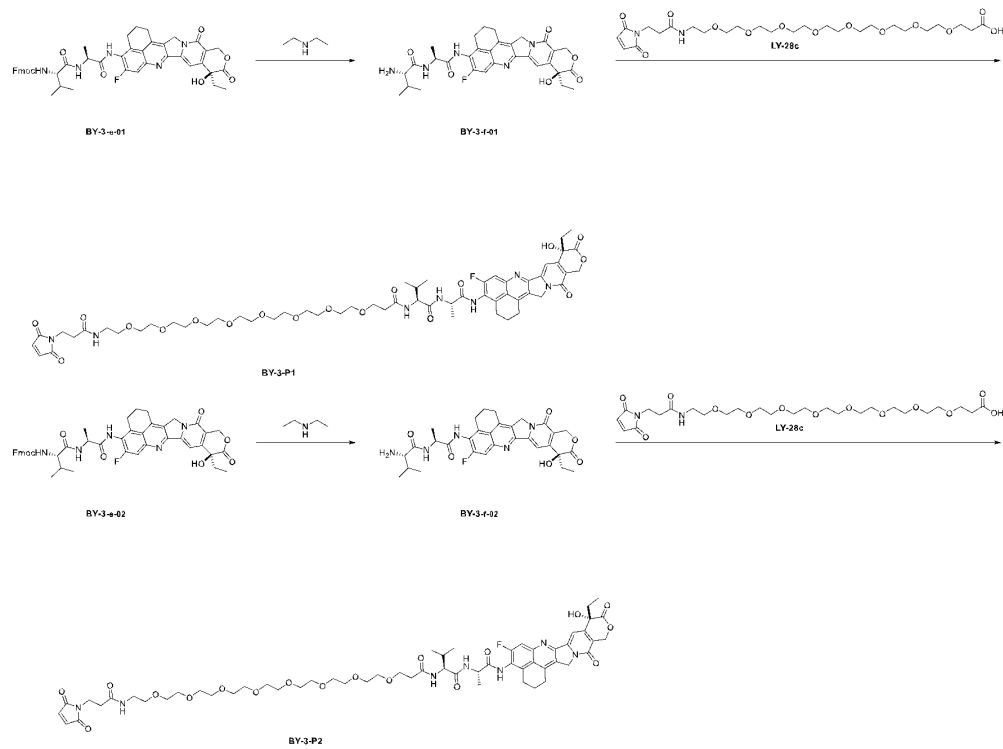
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.10 (s, 2H), 8.62 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 8.06 (d,  $J$   
15 = 7.4 Hz, 1H), 7.96 (dd,  $J = 21.1, 8.5$  Hz, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.24 (s, 1H), 6.49 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 6.28 (s, 2H), 5.42 (s, 2H), 5.25 (s, 2H), 4.65-4.52 (m, 2H), 4.23 (d,  $J = 7.1$  Hz, 1H), 4.15 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 3.73 (t,  $J = 4.6$  Hz, 2H), 3.50 (t,  $J = 6.0$  Hz, 3H), 3.40 (s, 3H), 3.15-3.03 (m, 4H), 2.93 (s, 1H), 2.33 (dd,  $J = 23.2, 7.7$  Hz, 7H), 2.03-1.73 (m, 12H), 1.28 (s, 2H), 1.23 (s, 2H), 0.84 (dt,  $J = 18.7, 6.8$  Hz, 15H)。

20

实施例 83: 化合物 **BY-3** 的制备







步骤 1：化合物 BY-A 的制备

0°C下将化合物 PY-Ae（该化合物的合成参见 PY-A 的制备例）（240 mg, 1.02 mmol, 1 eq）加入到 25 mL 的浓盐酸溶液中，加完，80°C搅拌 16 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 BY-A（206 mg，收率：75.91%）。

步骤 2：化合物 BY-3-c-01 和 BY-3-c-02 的制备

在室温下将 N,N-二异丙基乙基胺（548.34 mg，701.21  $\mu$ L，4.24 mmol，4 eq）和 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯（604.99 mg，1.59 mmol，1.5 eq）加入到 5,8-二氨基-6-氟-1,2,3,4-四氢萘-1-酮（206 mg，1.06 mmol，1 eq）、Fmoc-L-缬氨酰-L-丙氨酸（522.47 mg，1.27 mmol，1.2 eq）的 N,N-二甲基甲酰胺（10 mL）溶液中，50°C搅拌 16 h。反应液经过高效液相制备色谱法（制备色谱厂家 ISCO，型号 ISCO-R6。色谱柱为 Welch Xtimate C18 250 $\times$ 30mm $\times$ 10 $\mu$ m。流动相：水（0.225%FA）-乙腈，水的洗脱比例从 39%到 69%洗脱）纯化，冻干后得到白色固体异构体产物 BY-3-c-01（2.21min，121 mg），BY-3-c-02（2.25min，75 mg）（收率 32%）。

LCMS（ESI）：m/z，587.4 [M+H]<sup>+</sup>。

步骤 3：化合物 BY-3-e-01 和 BY-3-e-01 的制备

在室温下将化合物 BY-3-c-01 和 BY-3-c-02（混合物，75 mg，127.84  $\mu$ mol，1 eq）、（S）-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃[3,4-f]中氮茚-3,6,10（4H）-三酮（BY-3-d）（购买于皓元医药）（33.65 mg，127.84  $\mu$ mol，1 eq）和 4-甲基苯磺酸吡啶（32.13 mg，127.84  $\mu$ mol，1 eq）加入到甲苯（7 mL）溶液中，氮气置换 3 次。120°C搅拌

16 h。反应液减压浓缩后得到粗品，粗品经过高效液相制备色谱法（制备色谱厂家 luna，型号 Lab311-ISCO-R4。色谱柱为 Phenomenex Luna C18 250×50mm×10μm。流动相：水（0.225%甲酸）-乙腈，水的洗脱比例从 30%到 60%洗脱）纯化，洗脱液冻干后得到白色固体异构体产物 **BY-3-e-01**（2.14 min，49 mg）和 **BY-3-e-02**  
5 （2.31min，46 mg）（收率 53%）。

LCMS（ESI）：m/z，814.3 [M+H]<sup>+</sup>。

步骤 3：化合物 **BY-3-f-01** 的制备

在室温下将 **BY-3-e-01**（49 mg，60.21 μmol，1 eq）和二乙胺（22.02 mg，31.01 μL，301.03 μmol，5 eq）依次加入到 N,N-二甲基甲酰胺（5 mL）中，25℃搅拌 16  
10 h。反应液减压浓缩后得到粗品产物 **BY-3-f-01**（0.981 min，49 mg）（粗品不计收率）。

LCMS（ESI）：m/z，592.2 [M+H]<sup>+</sup>。

步骤 4：化合物 **BY-3-P1** 的制备

在室温下将 DIPEA（23.59 mg，30.17 μL，182.54 μmol，3 eq）加入到化合物  
15 **BY-3-f-01**（36 mg，60.85 μmol，1 eq）、化合物 **LY-28c**（43.27 mg，73.02 μmol，1.2 eq）和 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯（27.76 mg，73.02 μmol，1.2 eq）的 N,N-二甲基甲酰胺（3 mL）溶液中，25℃搅拌 16 h。反应液经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 YMC-Triart Prep C18 250×50mm×7μm。流动相：水（0.225%HCOOH）-乙腈，水的洗脱比例  
20 从 21%到 51%洗脱）纯化，洗脱液冻干后得到白色固体产物 **BY-3-P1**（12.14 mg，二步收率：19%）。

LCMS（ESI）：m/z，1166.7 [M+H]<sup>+</sup>。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sup>6</sup>) δ 9.75 (s, 1H), 8.46 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 8.02 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.81 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.00 (s, 2H), 6.52 (s, 1H), 5.44 (s,  
25 2H), 5.27 (s, 2H), 4.56 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 4.19 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 3.59 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.54 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 3.51-3.46 (m, 22H), 3.45 (s, 5H), 3.44-3.40 (m, 4H), 3.15 (dq, *J* = 11.6, 6.0 Hz, 4H), 2.96 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 2.46 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 2.34 (dt, *J* = 14.4, 6.8 Hz, 3H), 2.01 (dp, *J* = 27.6, 7.2 Hz, 3H), 1.87 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 1.41 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H), 0.93-0.84 (m, 10H)。

30 步骤 5：化合物 **BY-3-f-02** 的制备

在室温下将化合物 **BY-3-e-02**（46 mg，56.52 μmol，1 eq）和二乙胺（20.67 mg，29.11 μL，282.60 μmol，5 eq）依次加入到 N,N-二甲基甲酰胺（5 mL）中，25℃搅拌 16 h。反应液减压浓缩后得到粗品产物 **BY-3-f-02**（0.888 min，46 mg）（粗品  
不计收率）。

35 LCMS（ESI）：m/z，592.2 [M+H]<sup>+</sup>。

步骤 6：化合物 **BY-3-P2** 的制备

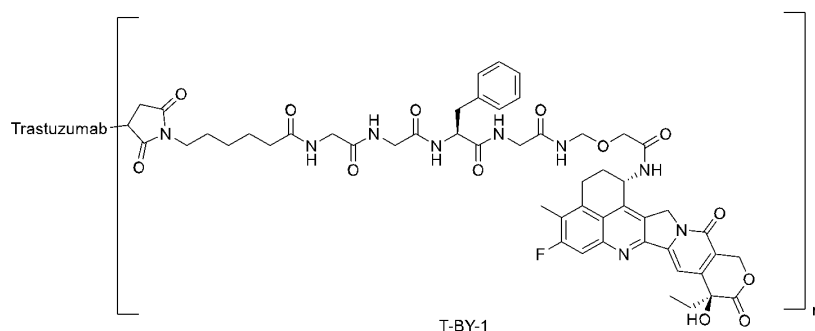
在室温下将 DIPEA（22.28 mg，28.49 μL，172.40 μmol，3 eq）加入到化合物

**BY-3-f-02** (34 mg, 57.47  $\mu\text{mol}$ , 1 eq)、化合物 **LY-28c** (40.87 mg, 68.96  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 和 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (26.22 mg, 68.96  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (3 mL) 溶液中, 25°C 搅拌 16 h。反应液经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 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 12% 到 42% 洗脱) 纯化, 洗脱液冻干后得到白色固体产物 **BY-3-P2** (5.78 mg, 二步收率: 12%)。

LCMS (ESI):  $m/z$ , 1166.7  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d^6$ )  $\delta$  9.86 (s, 1H), 8.27 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 8.01 (t,  $J = 5.6$  Hz, 1H), 7.92 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 7.81 (d,  $J = 10.8$  Hz, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.00 (s, 2H), 6.52 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.26 (s, 2H), 4.54 (t,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 4.26 (dd,  $J = 8.8, 6.4$  Hz, 1H), 3.59 (td,  $J = 7.2, 3.2$  Hz, 4H), 3.50 (d,  $J = 3.6$  Hz, 28H), 3.36 (d,  $J = 6.0$  Hz, 2H), 3.18-3.11 (m, 4H), 2.96 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 2.46-2.40 (m, 1H), 2.40 - 2.29 (m, 3H), 1.99 (dq,  $J = 13.2, 8.0, 6.8$  Hz, 3H), 1.87 (p,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 1.41 (d,  $J = 7.2$  Hz, 3H), 0.94-0.79 (m, 10H)。

ADC 制备例 1: Trastuzumab Deruxtecan(Enhertu) (T-BY-1) 的制备 (方法 1A, DAR 8)



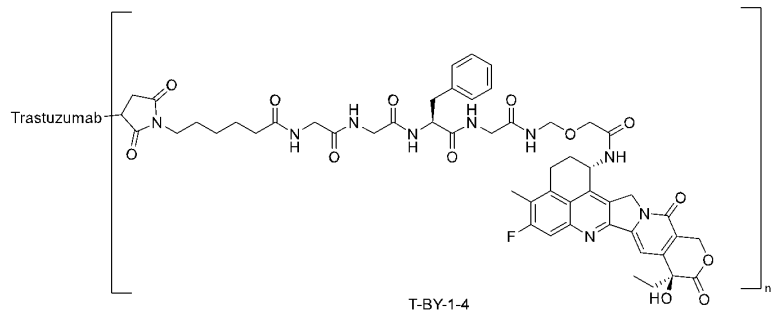
在 37°C 条件下, 向曲妥珠单抗 (Trastuzumab) (Herceptin, Genentech, 10.0mg/mL, 2mL, 133nmol) 的 PBS 缓冲水溶液 (pH=7.4 的 0.04M 的 PBS 缓冲水溶液) 加入三(2-羧乙基)膦 (TCEP) 的水溶液 (40mM, 23.3 $\mu\text{L}$ , 931nmol), 置于水浴锅中, 于 37°C 反应 2 小时, 停止反应。将反应液用水浴降温至 25°C。

将化合物 BY-1 (皓元生物, 1.38mg, 1330nmol) 溶解于 83.3 $\mu\text{L}$  DMSO 中, 加入到上述反应液中, 置于水浴锅中, 于 25°C 反应 20 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 Trastuzumab Deruxtecan (Enhertu) 的 PBS 缓冲液 (4.353mg/mL, 3.30mL), 于 4°C 储存, 长期保存于 -80°C。

LC-MS 计算的载药量平均值:  $n=8.0$  (LC-MS 见制备例 3)。

ADC 制备例 2: Trastuzumab Deruxtecan(Enhertu) (T-BY-1-4) 的制备 (方法 1B,

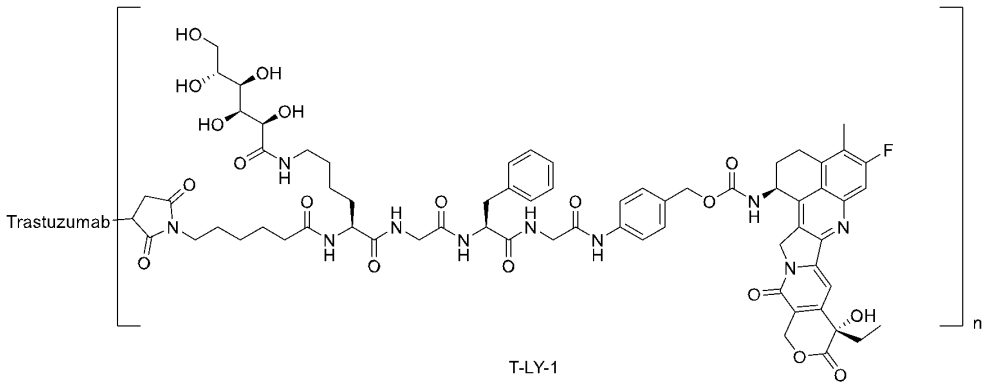
DAR 4)



在 25°C条件下，向曲妥珠单抗（Trastuzumab）的硼酸钠缓冲水溶液（pH=7.4 的 25mM 的硼酸钠缓冲水溶液；5.0mg/mL，0.3mL，10nmol）加入三(2-羧乙基) 5 膦（TCEP）的水溶液（5mM，4.8μL，24nmol），置于水浴锅中，于 25°C下反应 2 小时，停止反应。

将化合物 BY-1 溶解于 DMSO（10mM BY-1），加入到上述反应液中（10μL，100nmol），置于水浴锅中，于 25°C反应 2 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 Trastuzumab Deruxtecan 10 （Enhertu）的 PBS 缓冲液（3.275mg/mL，0.3mL），于 4°C储存，长期保存于-80°C。 RP-HPLC 计算的载药量平均值：n=4.2（见制备例 3）。

ADC 制备例 3：T-LY-1 的制备（方法 1A）



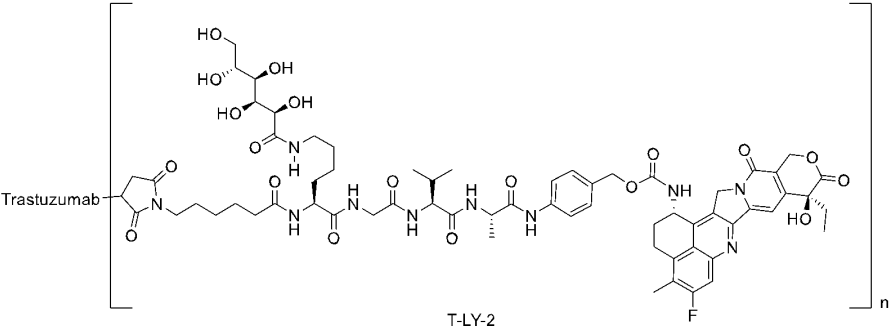
在 37°C条件下，向曲妥珠单抗（Trastuzumab）（Herceptin，基因泰克，10.0mg/mL，2mL，133nmol）的 PBS 缓冲水溶液（pH=7.4 的 0.04M 的 PBS 缓冲 15 水溶液）加入三(2-羧乙基)膦（TCEP）的水溶液（40mM，23.3μL，931nmol），置于水浴锅中，于 37°C反应 2 小时，停止反应。将反应液用水浴降温至 25°C。

20 将化合物 LY-1（1.94mg，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 20 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-LY-1 的 PBS 缓冲液（4.364mg/mL，3.85mL），于 4°C

储存，长期保存于-80℃。

LC-MS 计算的载药量平均值: n=8.0 (LC-MS 实验仪器为 UPLC-MS, Thermo Fisher Scientific, DionexUltiMate 3000 UPLC-Q Exactive MS; High resolution mass spectrometer, Thermo Q EXACTIVE HF-X; 色谱柱为 Waters XBridge BEH C4, 300Å, 3.5μm, 4.6×100mm; 流动相水 (0.1% 三氟乙酸)-乙腈 (0.1% 三氟乙酸) 从 20%-80%洗脱; 数据分析采用 Protein Deconvolution software 进行解析)。

ADC 制备例 4: T-LY-2 的制备 (方法 1A)

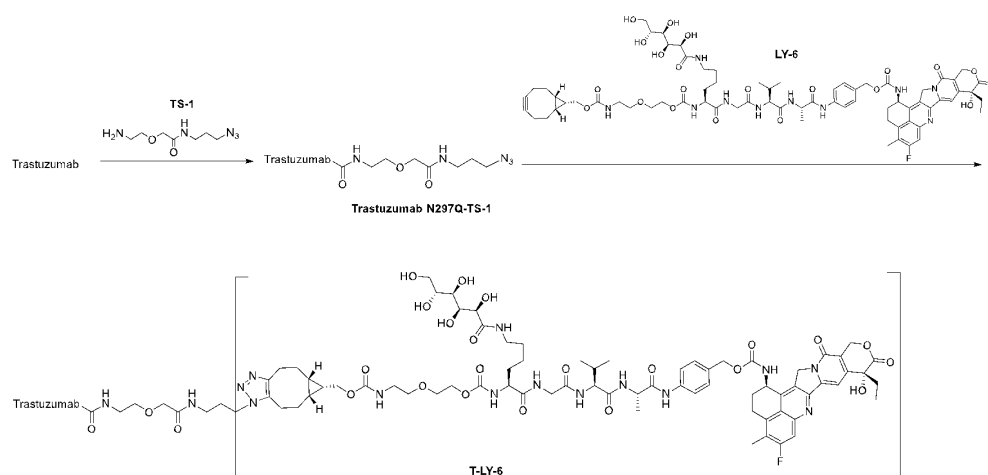


在 37℃条件下，向曲妥珠单抗 (Trastuzumab) (Herceptin, Genentech, 10.0mg/mL, 2mL, 133nmol) 的 PBS 缓冲水溶液 (pH=7.4 的 0.04M 的 PBS 缓冲水溶液) 加入三(2-羧乙基)膦 (TCEP) 的水溶液 (40mM, 23.3μL, 931nmol)，置于水浴锅中，于 37℃反应 2 小时，停止反应。将反应液用水浴降温至 25℃。

将化合物 LY-2 (1.90mg, 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℃反应 20 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-LY-2 的 PBS 缓冲液 (4.353mg/mL, 3.70mL)，于 4℃储存，长期保存于-80℃。

LC-MS 计算的载药量平均值: n=8.0 (LC-MS 方法同上)。

ADC 制备例 5: T-LY-6 的制备 (T-LY-6, Site-specific DAR4) (方法 2)

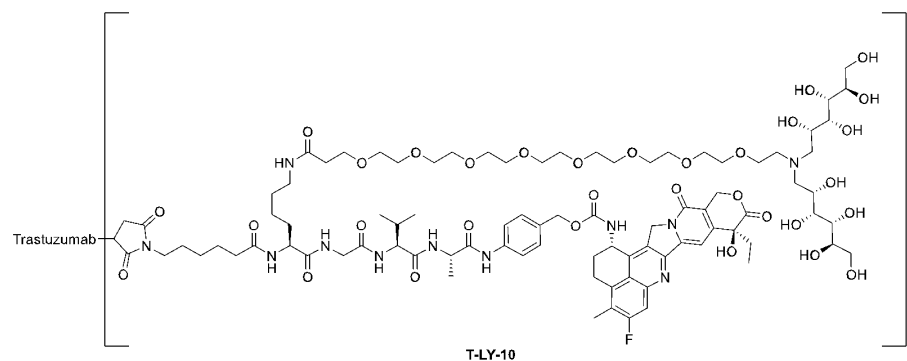


按照文献 (*Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 9995–9997) 描述的方法制备叠氮修饰的曲妥珠单抗突变体 (Trastuzumab N297Q-TS-1) (1.0mg/mL, 1mL, 6.9 $\mu$ M)。

将化合物 LY-6 溶解于 DMSO (2mM)，加入到曲妥珠单抗突变体的 PBS 水溶液中 (69 $\mu$ M)，置于水浴锅中，于 25°C 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-LY-6 的 PBS 缓冲液，于 4°C 储存，长期保存于 -80°C。

RP-HPLC 计算的载药量平均值：n=4.0 (见制备例 3)。

#### 10 ADC 制备例 6: T-LY-10 的制备 (方法 3)

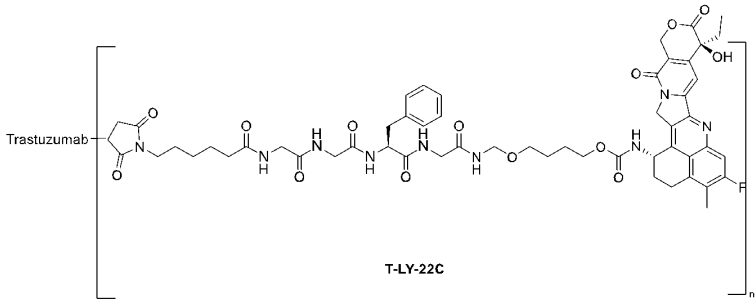


在 37°C 条件下，向抗体 Trastuzumab (Herceptin, Genentech, 10.0mg/mL, 2mL, 133nmol) 的 PBS 缓冲水溶液 (pH=7.4 的 0.04M 的 PBS 缓冲水溶液) 加入配置好的三(2-羧乙基)膦 (TCEP) 的水溶液 (40mM, 23.3 $\mu$ L, 931nmol)，置于水浴锅中，于 37°C 下反应 2 小时，停止反应。将反应液用水浴降温至 25°C。

将化合物 LY-10 (2.51mg, 1330nmol) 溶解于 83.3 $\mu$ L DMSO 中，加入到上述反应液中，置于水浴锅中，于 25°C 下反应 2 小时，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，得到示例性产物 T-LY-10 的 PBS 缓冲液 (2.88mg/mL)，分装后于 4°C 储存，长期保存于 -80°C。

LC-MS 计算的载药量平均值：n=8.0。

ADC 制备例 7：T-LY-22C 的制备（方法 4）

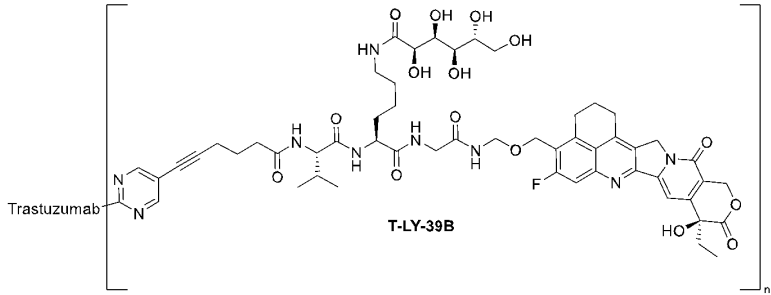


5       在 37℃条件下，向抗体 Trastuzumab（Herceptin，Genentech，10.0mg/mL，2mL，133nmol）的 PBS 缓冲水溶液（pH=7.4 的 0.04M 的 PBS 缓冲水溶液）加入配制好的三(2-羧乙基)膦（TCEP）的水溶液（40mM，23.3μL，931nmol），置于水浴锅中，于 37℃反应 2 小时，停止反应。将反应液用水浴降温至 25℃。

10       将化合物 **LY-22C**（2.12mg，1995nmol）溶解于 125μL DMSO 中，加入到上述反应液中，置于水浴锅中，于 25℃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-LY-22C 的 PBS 缓冲液，于 4℃储存，长期保存于 -80℃。

RP 计算的载药量平均值：n=7.13。

15       ADC 制备例 8：T-LY-39B 的制备（方法 5）



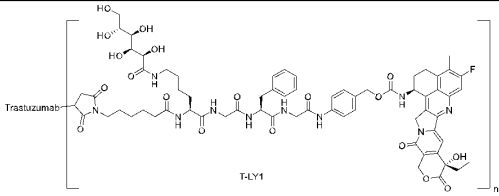
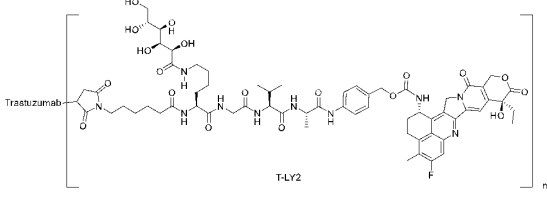
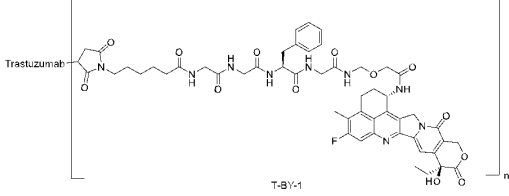
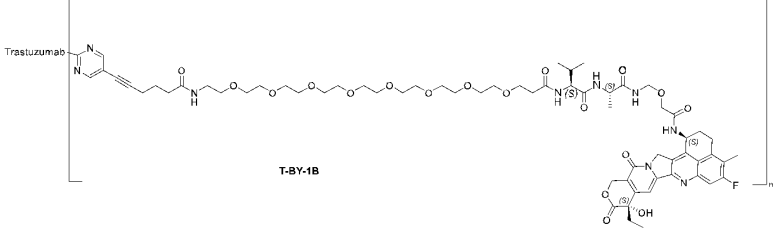
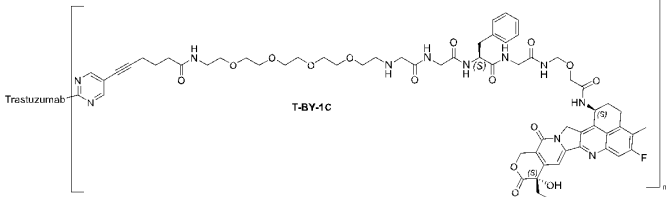
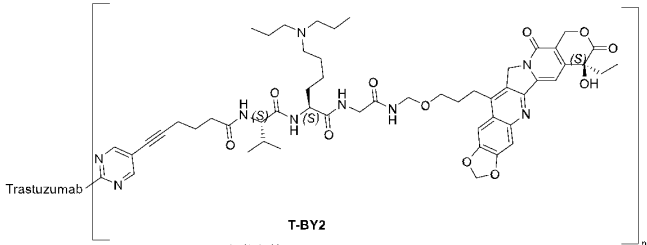
20       在 37℃条件下，向抗体 Trastuzumab（Herceptin，Genentech，10.0mg/mL，2mL，133nmol）的 PBS 缓冲水溶液（pH=7.4 的 0.04M 的 PBS 缓冲水溶液）加入配制好的三(2-羧乙基)膦（TCEP）的水溶液（40mM，23.3μL，931nmol），置于水浴锅中，于 37℃反应 2 小时，停止反应。将反应液用水浴降温至 25℃。

25       将化合物 **LY-39B**（1.57mg，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℃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-LY-39B 的 PBS 缓冲液，于 4℃储存，长期保

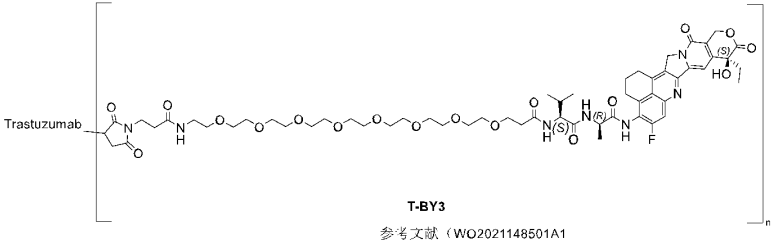
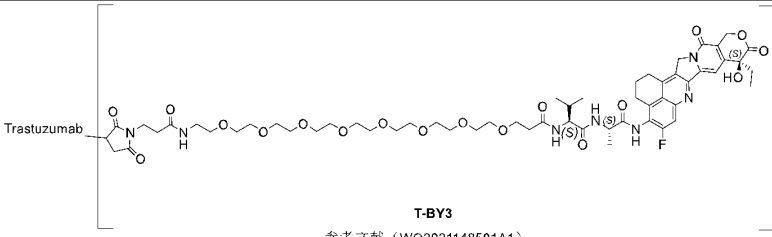
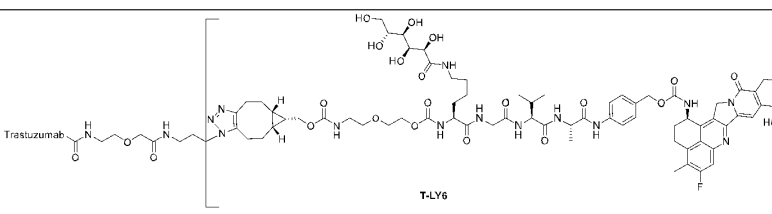
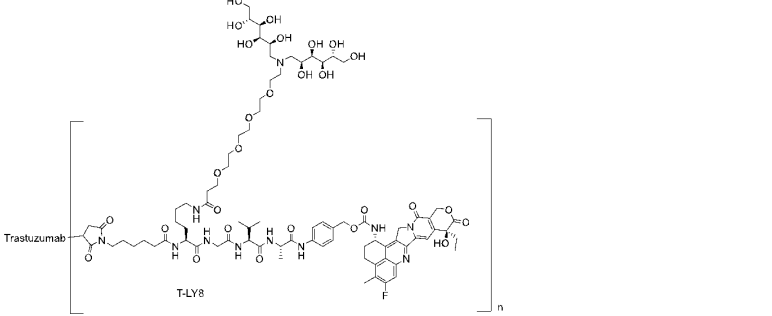
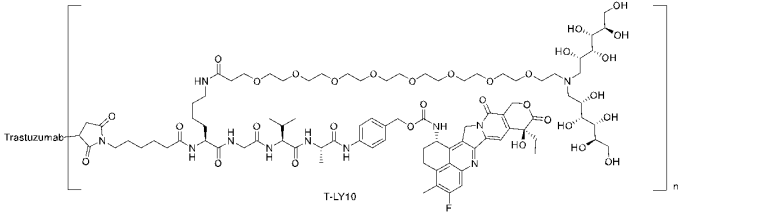
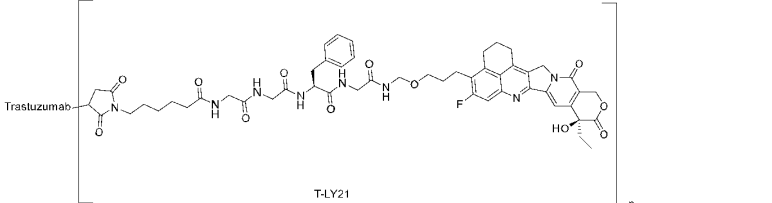
存于-80℃。

RP 计算的载药量平均值：n=7.25。

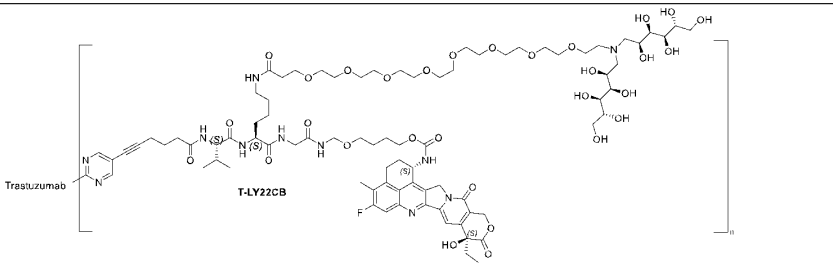
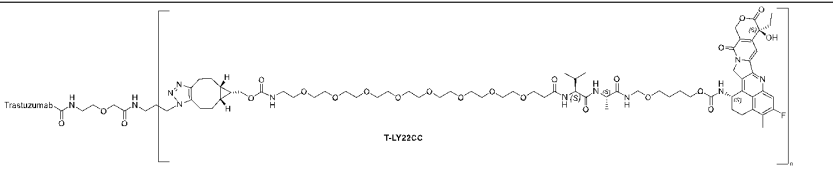
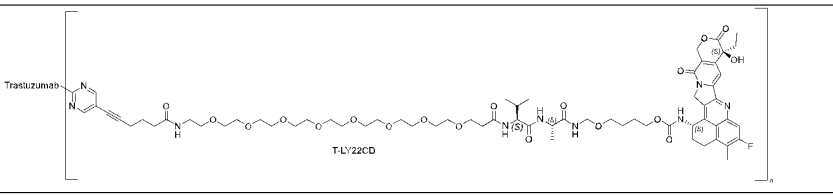
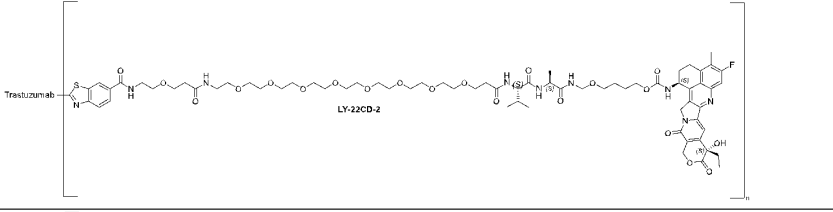
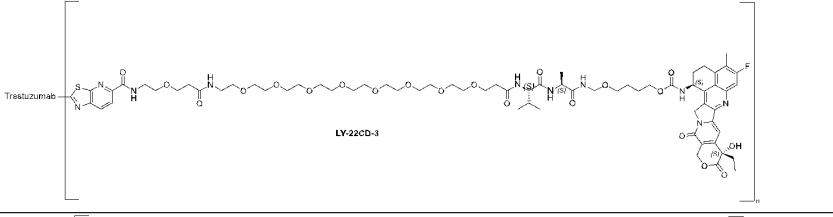
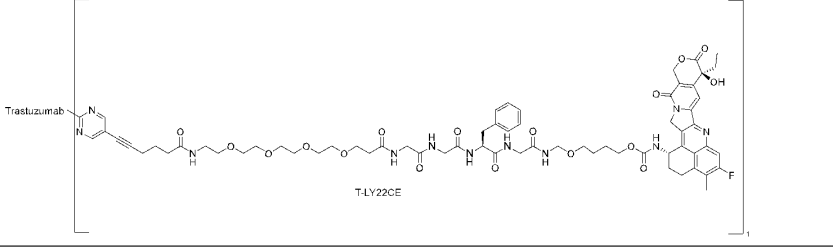
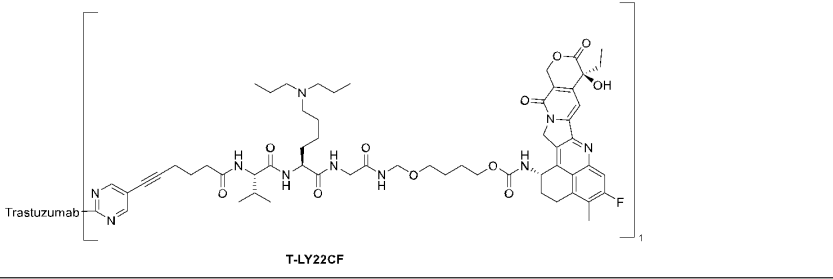
本发明制备的 ADC 如下表所示：

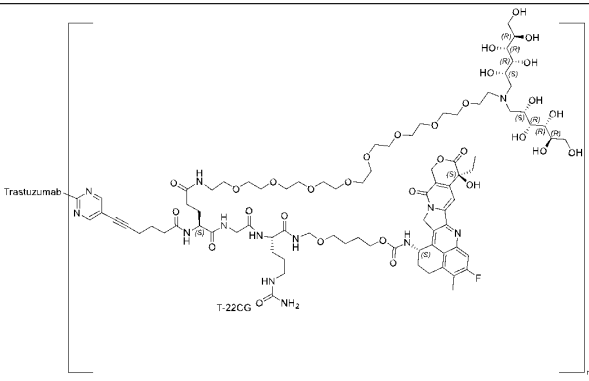
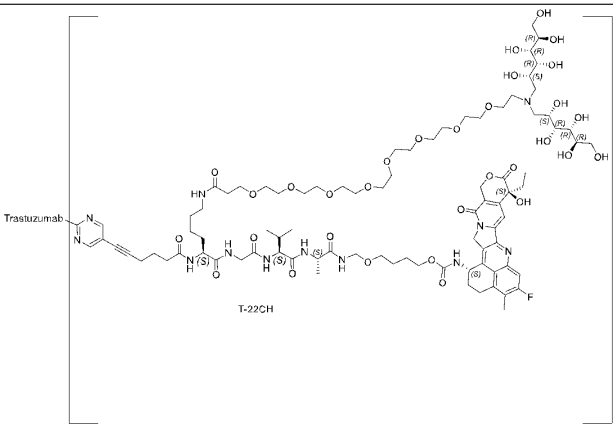
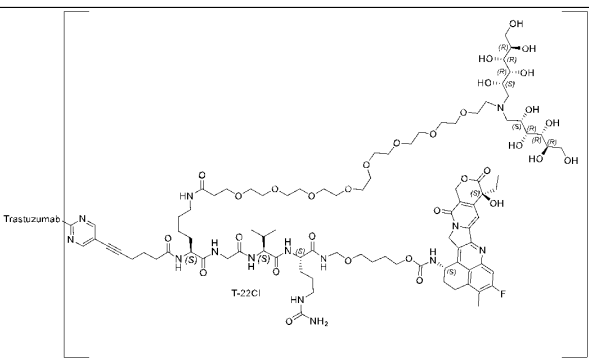
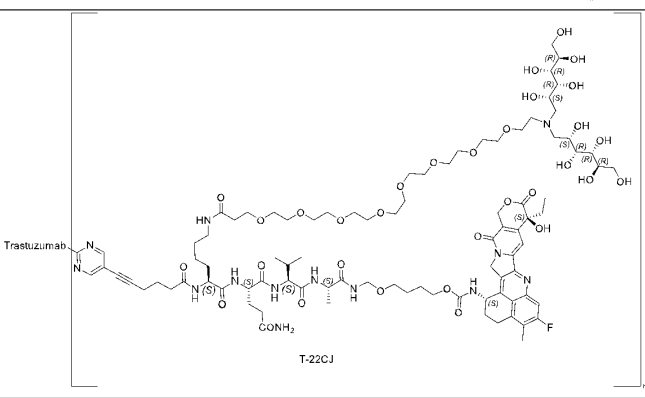
| 编号     | 结构                                                                                                            | DAR  | 方法 |
|--------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|----|
| T-LY1  |                              | 8.0  | 1A |
| T-LY2  |                              | 8.0  | 1A |
| T-BY1  |                             | 8.0  | 1A |
| T-BY1B |                           | 7.66 | 5  |
| T-BY1C |                           | 7.57 | 5  |
| T-BY2  | <br>参考文献 (WO2022170971A1) | 6.81 | 5  |

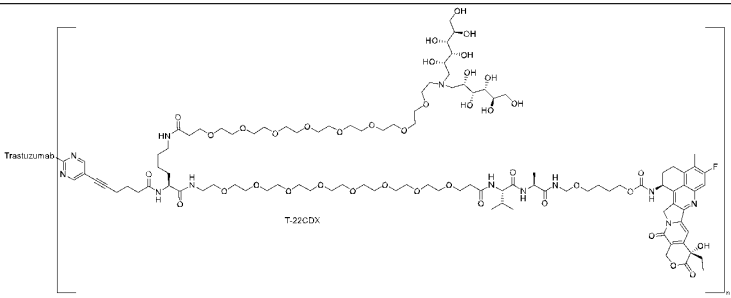
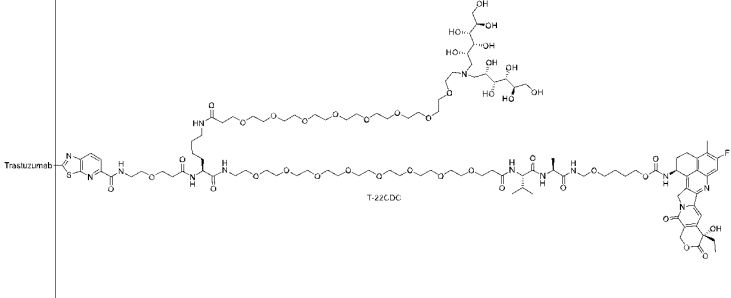
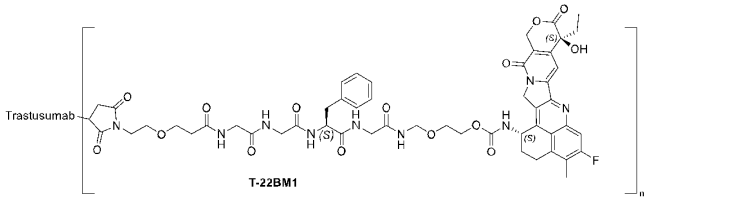
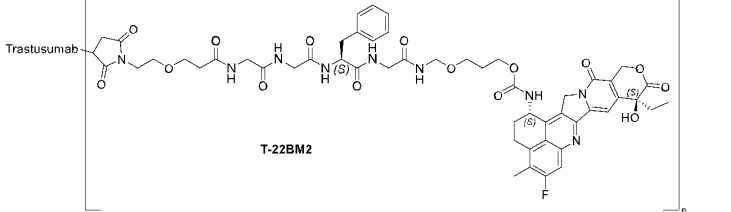
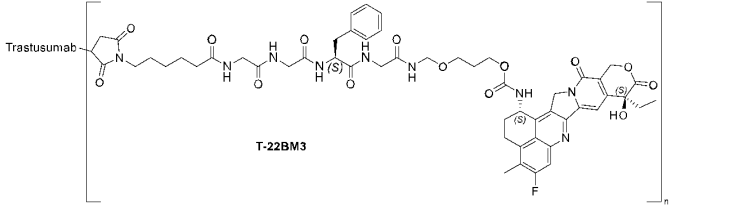
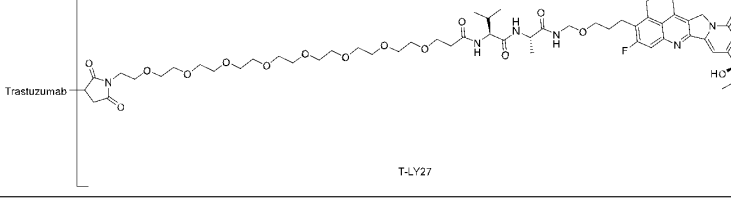


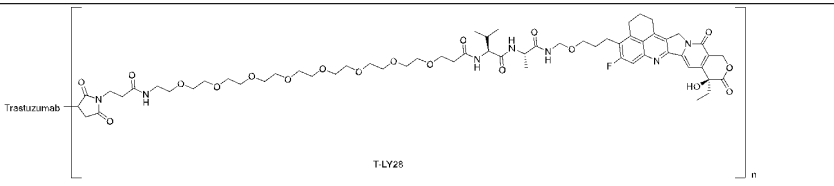
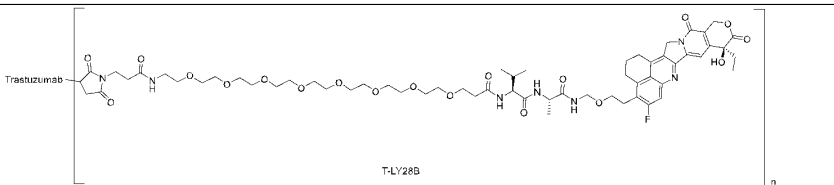
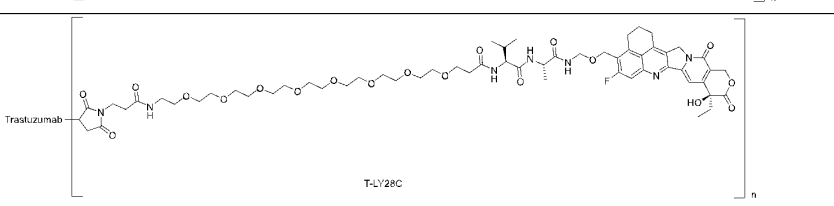
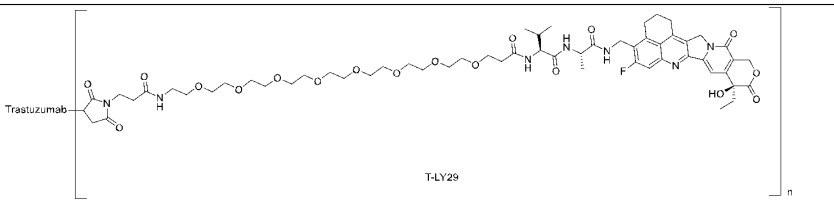
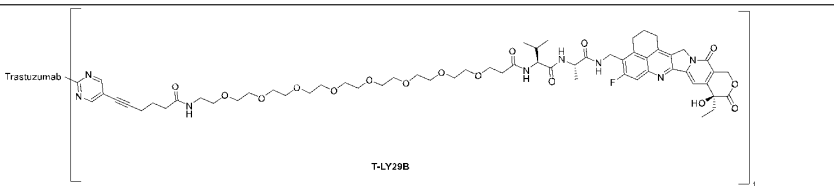
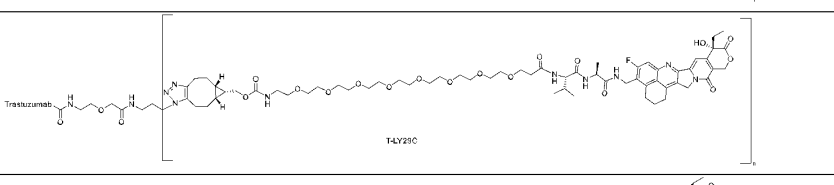
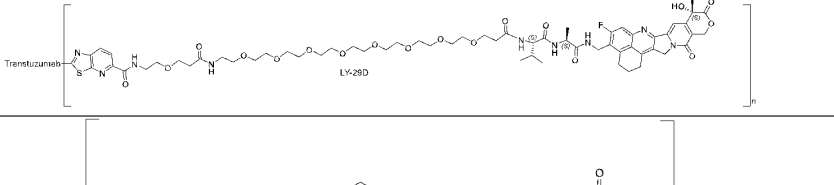
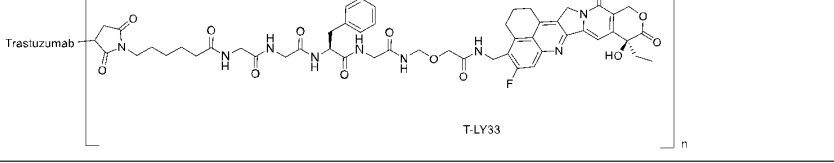
|         |                                                                                                                                                                                |      |    |
|---------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|----|
| T-BY3P1 | <div><div>Trastuzumab</div><div><div>T-BY3</div><div>参考文献 (WO2021148501A1)</div></div></div> | 7.90 | 1A |
| T-BY3P2 | <div><div>Trastuzumab</div><div><div>T-BY3</div><div>参考文献 (WO2021148501A1)</div></div></div> | 7.82 | 1A |
| T-LY6   | <div><div>Trastuzumab</div><div><div>T-LY6</div></div></div>                                 | 4.0  | 2  |
| T-LY8   | <div><div>Trastuzumab</div><div><div>T-LY8</div></div></div>                                | 6.92 | 1A |
| T-LY10  | <div><div>Trastuzumab</div><div><div>T-LY10</div></div></div>                              | 8.0  | 3  |
| T-LY21  | <div><div>Trastuzumab</div><div><div>T-LY21</div></div></div>                              | 5.4  | 1A |

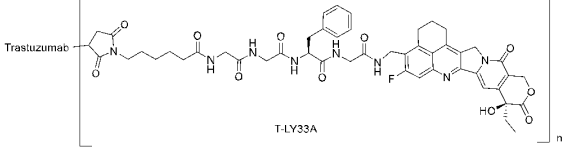
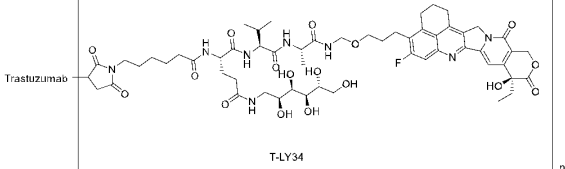
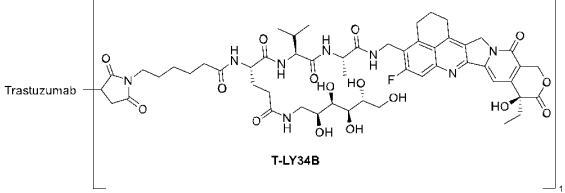
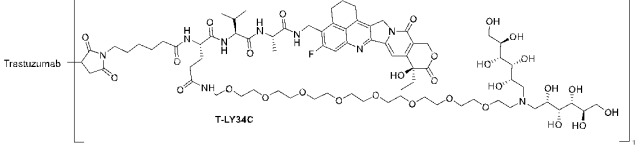
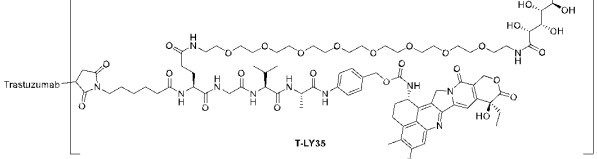
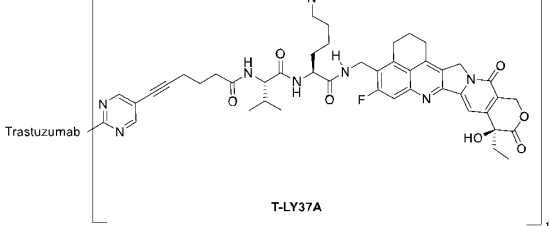
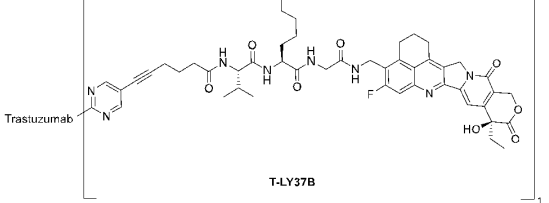
|          |                                                                 |      |    |
|----------|-----------------------------------------------------------------|------|----|
| T-LY21B  | <div><div>Trastuzumab</div><div></div><div>T-LY21B</div></div>  | 6.25 | 1A |
| T-LY21C  | <div><div>Trastuzumab</div><div></div><div>T-LY21C</div></div>  | 7.95 | 1A |
| T-LY22   | <div><div>Trastuzumab</div><div></div><div>T-LY22</div></div>   | 7.09 | 1A |
| T-LY22AD | <div><div>Trastuzumab</div><div></div><div>T-LY22AD</div></div> | 7.76 | 5  |
| T-LY22AF | <div><div>Trastuzumab</div><div></div><div>T-LY22AF</div></div> | 7.62 | 5  |
| T-LY22C  | <div><div>Trastuzumab</div><div></div><div>T-LY-22C</div></div> | 7.81 | 4  |
| T-LY22CA | <div><div>Trastuzumab</div><div></div><div>T-LY22CA</div></div> | 7.92 | 5  |

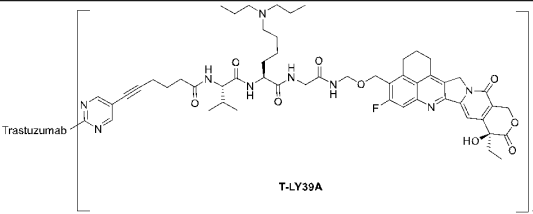
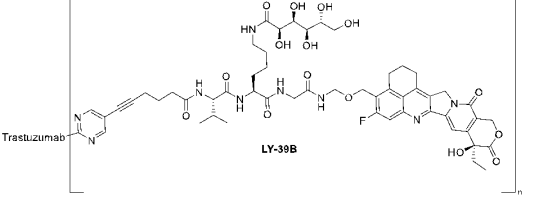
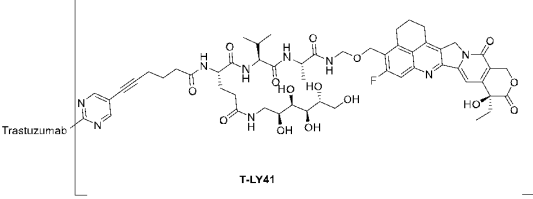
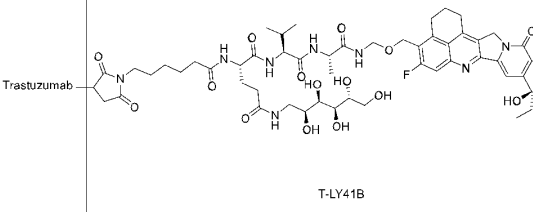
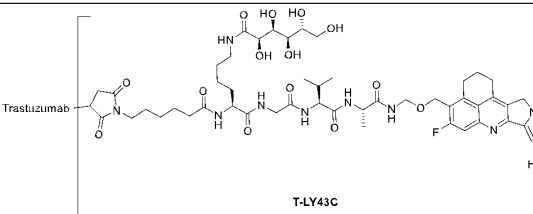
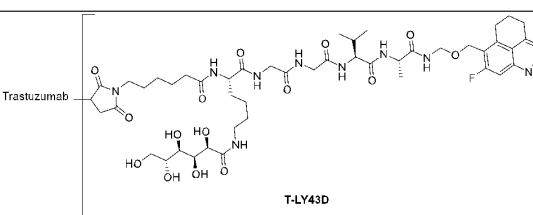
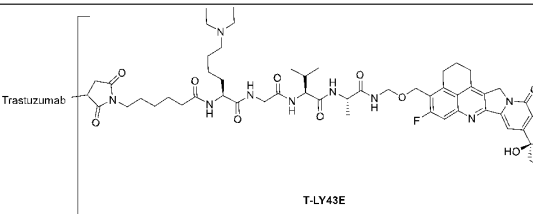
|            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |      |   |
|------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|---|
| T-LY22CB   |  <p>Chemical structure of T-LY22CB conjugate. It features a Trastuzumab antibody linked via a triazole ring to a linker containing a triazole, a carbamate, and a polyethylene glycol (PEG) chain. The linker is terminated with a complex sugar moiety.</p> | 7.80 | 5 |
| T-LY22CC   |  <p>Chemical structure of T-LY22CC conjugate. It features a Trastuzumab antibody linked via a triazole ring to a linker containing a triazole, a carbamate, and a PEG chain. The linker is terminated with a complex sugar moiety.</p>                       | 4.0  | 2 |
| T-LY22CD   |  <p>Chemical structure of T-LY22CD conjugate. It features a Trastuzumab antibody linked via a triazole ring to a linker containing a triazole, a carbamate, and a PEG chain. The linker is terminated with a complex sugar moiety.</p>                       | 7.87 | 5 |
| T-LY22CD-2 |  <p>Chemical structure of T-LY22CD-2 conjugate. It features a Trastuzumab antibody linked via a triazole ring to a linker containing a triazole, a carbamate, and a PEG chain. The linker is terminated with a complex sugar moiety.</p>                    | 7.85 | 5 |
| T-LY22CD-3 |  <p>Chemical structure of T-LY22CD-3 conjugate. It features a Trastuzumab antibody linked via a triazole ring to a linker containing a triazole, a carbamate, and a PEG chain. The linker is terminated with a complex sugar moiety.</p>                   | 7.82 | 5 |
| T-LY22CE   |  <p>Chemical structure of T-LY22CE conjugate. It features a Trastuzumab antibody linked via a triazole ring to a linker containing a triazole, a carbamate, and a PEG chain. The linker is terminated with a complex sugar moiety.</p>                     | 7.42 | 5 |
| T-LY22CF   |  <p>Chemical structure of T-LY22CF conjugate. It features a Trastuzumab antibody linked via a triazole ring to a linker containing a triazole, a carbamate, and a PEG chain. The linker is terminated with a complex sugar moiety.</p>                     | 7.5  | 5 |

|          |                                                                                                                                                   |      |   |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|---|
| T-LY22CG | <div><div>Trastuzumab</div><div><div>T-22CG</div></div></div>    | 7.90 | 5 |
| T-LY22CH | <div><div>Trastuzumab</div><div><div>T-22CH</div></div></div>  | 7.51 | 5 |
| T-LY22CI | <div><div>Trastuzumab</div><div><div>T-22CI</div></div></div>  | 7.92 | 5 |
| T-LY22CJ | <div><div>Trastuzumab</div><div><div>T-22CJ</div></div></div> | 6.94 | 5 |

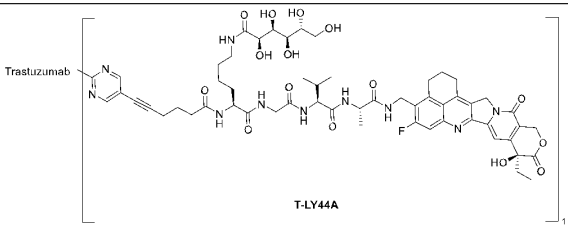
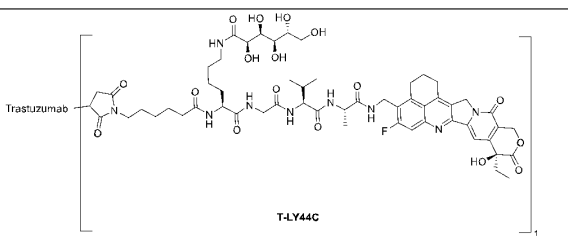
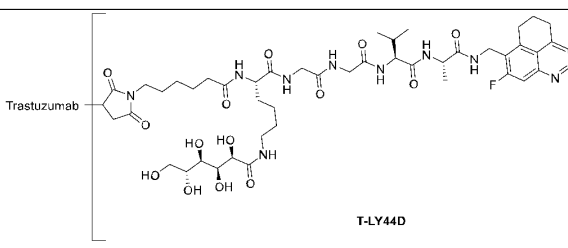
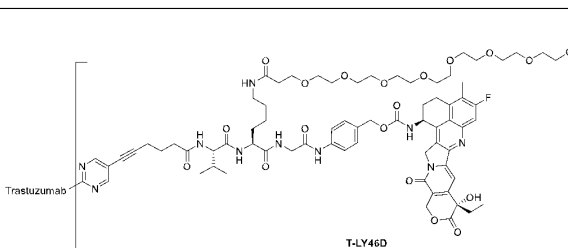
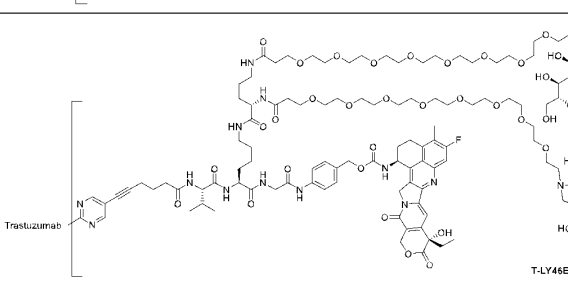
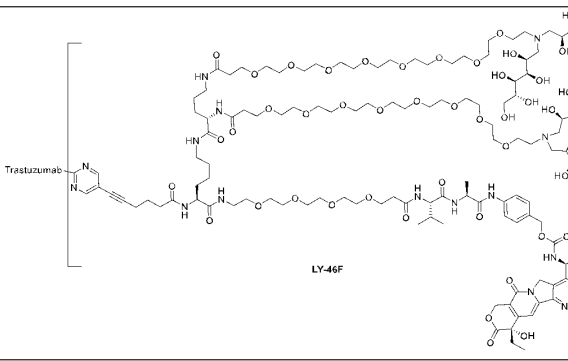
|           |                                                                                                     |      |   |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|------|---|
| T-LY22CDX |  <p>T-22CDX</p>   | 7.86 | 5 |
| T-LY22CDC |  <p>T-22CDC</p>   | 7.74 | 5 |
| T-LY22BM1 |  <p>T-22BM1</p>  | 7.92 | 3 |
| T-LY22BM2 |  <p>T-22BM2</p> | 7.89 | 3 |
| T-LY22BM3 |  <p>T-22BM3</p> | 7.94 | 3 |
| T-LY27    |  <p>T-LY27</p>  | 6.30 | 3 |

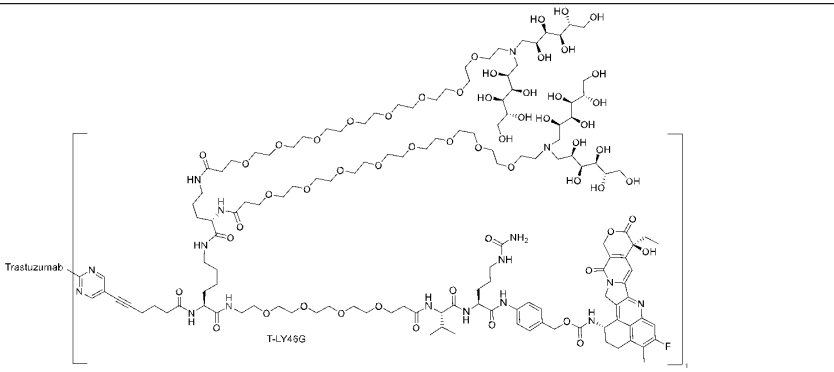
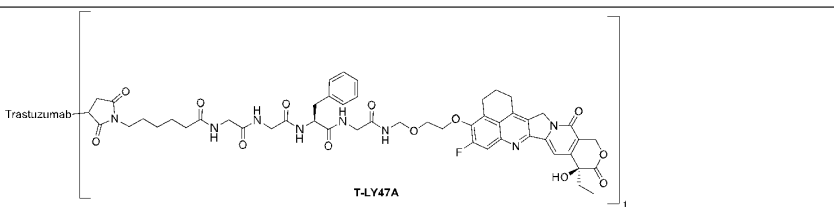
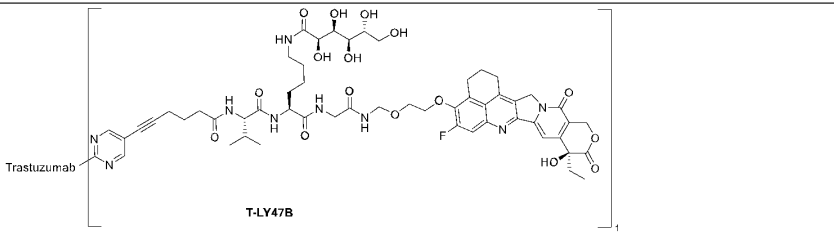
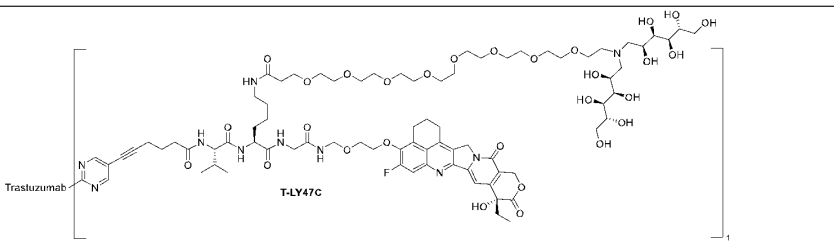
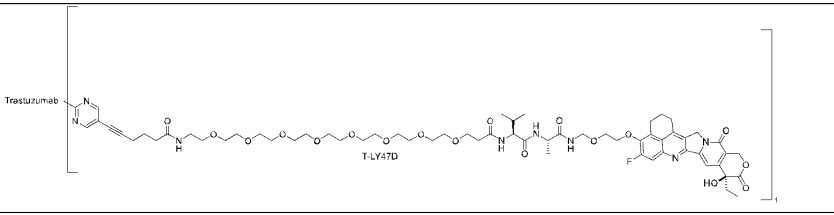
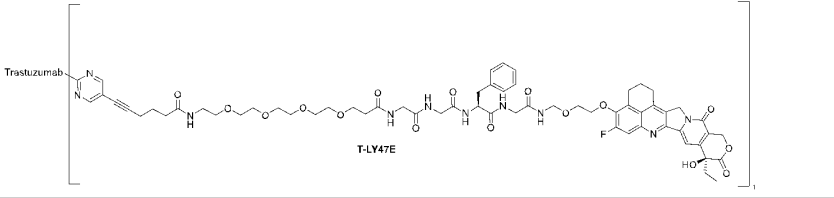
|         |                                                                                                                                                    |      |    |
|---------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|----|
| T-LY28  | <div><div>Trastuzumab</div><div></div><div>T-LY28</div></div>    | 5.80 | 3  |
| T-LY28B | <div><div>Trastuzumab</div><div></div><div>T-LY28B</div></div>   | 6.95 | 3  |
| T-LY28C | <div><div>Trastuzumab</div><div></div><div>T-LY28C</div></div>   | 7.07 | 1A |
| T-LY29  | <div><div>Trastuzumab</div><div></div><div>T-LY29</div></div>   | 7.59 | 1A |
| T-LY29B | <div><div>Trastuzumab</div><div></div><div>T-LY29B</div></div> | 5.53 | 5  |
| T-LY29C | <div><div>Trastuzumab</div><div></div><div>T-LY29C</div></div> | 3.87 | 2  |
| T-LY29D | <div><div>Trastuzumab</div><div></div><div>T-LY29D</div></div> | 4.01 | 2  |
| T-LY33  | <div><div>Trastuzumab</div><div></div><div>T-LY33</div></div>  | 7.6  | 3  |

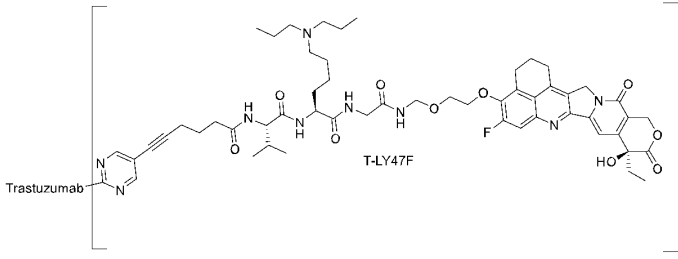
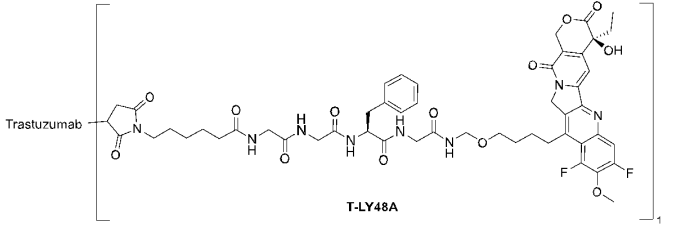
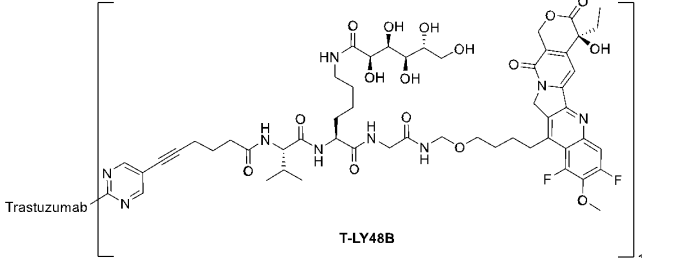
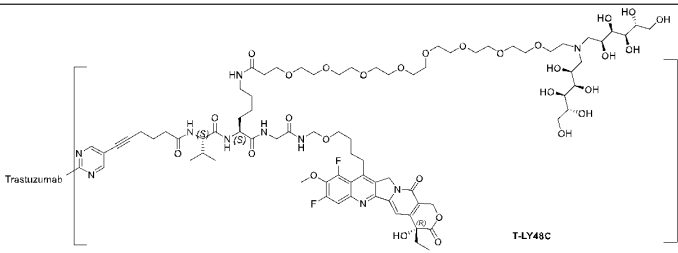
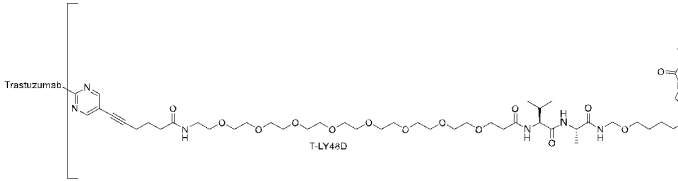
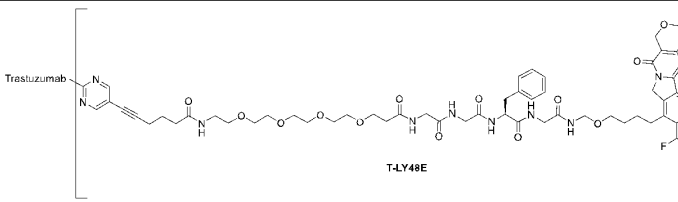
|         |                                                                                                                                                   |      |    |
|---------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|----|
| T-LY33A | <div><div>Trastuzumab</div><div><div>T-LY33A</div></div></div>   | 7.96 | 3  |
| T-LY34  | <div><div>Trastuzumab</div><div><div>T-LY34</div></div></div>    | 7.50 | 3  |
| T-LY34B | <div><div>Trastuzumab</div><div><div>T-LY34B</div></div></div>   | 6.85 | 3  |
| T-LY34C | <div><div>Trastuzumab</div><div><div>T-LY34C</div></div></div> | 8.0  | 1A |
| T-LY35  | <div><div>Trastuzumab</div><div><div>T-LY35</div></div></div> | 6.30 | 1A |
| T-LY37A | <div><div>Trastuzumab</div><div><div>T-LY37A</div></div></div> | 2.60 | 5  |
| T-LY37B | <div><div>Trastuzumab</div><div><div>T-LY37B</div></div></div> | 7.28 | 5  |

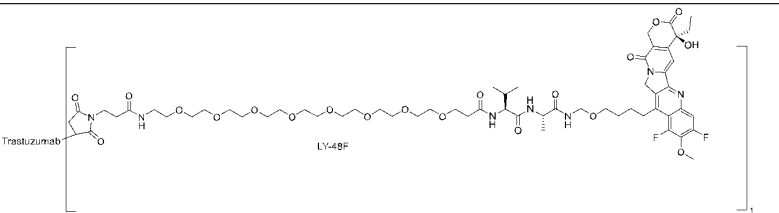
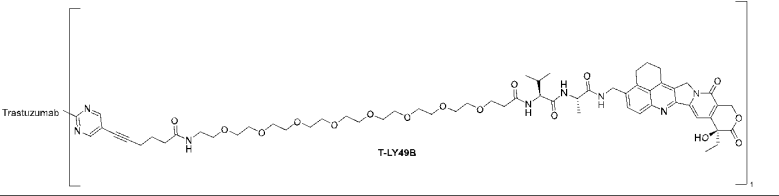
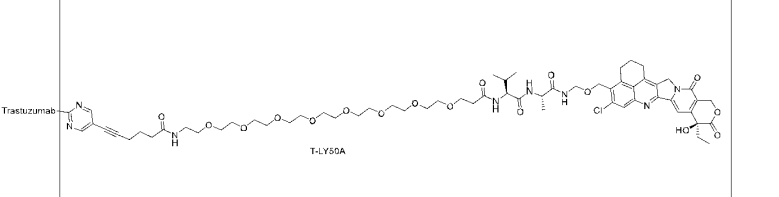
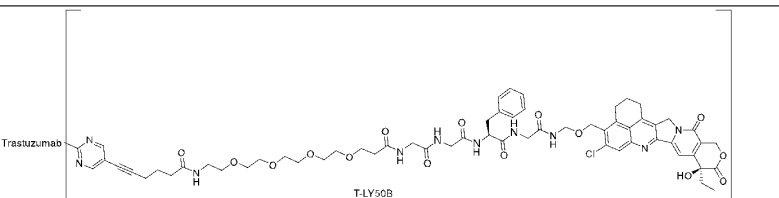
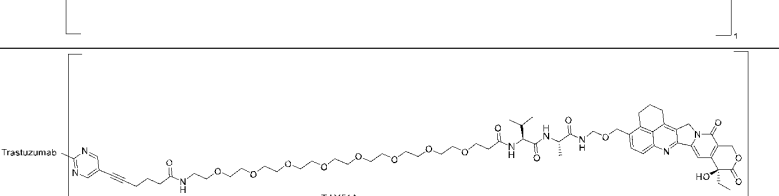
|         |                                                                                     |      |    |
|---------|-------------------------------------------------------------------------------------|------|----|
| T-LY39A |    | 7.42 | 5  |
| T-LY39B |    | 7.25 | 5  |
| T-LY41  |    | 6.80 | 5  |
| T-LY41B |   | 7.90 | 1A |
| T-LY43C |  | 4.71 | 1B |
| T-LY43D |  | 8.0  | 1A |
| T-LY43E |  | 4.65 | 1B |



|         |                                                                                                    |      |    |
|---------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|------|----|
| T-LY44A |  <p>T-LY44A</p>   | 7.1  | 1A |
| T-LY44C |  <p>T-LY44C</p>   | 5.58 | 1A |
| T-LY44D |  <p>T-LY44D</p>   | 7.95 | 1A |
| T-LY46D |  <p>T-LY46D</p>  | 7.19 | 5  |
| T-LY46E |  <p>T-LY46E</p> | 7.63 | 5  |
| T-LY46F |  <p>T-LY46F</p> | 7.65 | 5  |

|         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |      |   |
|---------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|---|
| T-LY46G |  <p>Chemical structure of T-LY46G conjugate. It features a Trastuzumab antibody linked via a pyridine ring to a long, flexible polyether chain. This chain is further connected to a complex molecule containing a fluorinated quinoline system and a sugar moiety. The entire structure is enclosed in brackets with a subscript 1.</p> | 7.81 | 5 |
| T-LY47A |  <p>Chemical structure of T-LY47A conjugate. It shows a Trastuzumab antibody linked to a molecule containing a fluorinated quinoline system and a sugar moiety. The structure is enclosed in brackets with a subscript 1.</p>                                                                                                            | 7.92 | 4 |
| T-LY47B |  <p>Chemical structure of T-LY47B conjugate. It features a Trastuzumab antibody linked to a molecule containing a fluorinated quinoline system and a sugar moiety. The structure is enclosed in brackets with a subscript 1.</p>                                                                                                        | 7.41 | 5 |
| T-LY47C |  <p>Chemical structure of T-LY47C conjugate. It shows a Trastuzumab antibody linked to a molecule containing a fluorinated quinoline system and a sugar moiety. The structure is enclosed in brackets with a subscript 1.</p>                                                                                                          | 8.00 | 5 |
| T-LY47D |  <p>Chemical structure of T-LY47D conjugate. It features a Trastuzumab antibody linked to a molecule containing a fluorinated quinoline system and a sugar moiety. The structure is enclosed in brackets with a subscript 1.</p>                                                                                                       | 7.84 | 5 |
| T-LY47E |  <p>Chemical structure of T-LY47E conjugate. It shows a Trastuzumab antibody linked to a molecule containing a fluorinated quinoline system and a sugar moiety. The structure is enclosed in brackets with a subscript 1.</p>                                                                                                          | 7.76 | 5 |

|         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |      |   |
|---------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|---|
| T-LY47F |  <p>Chemical structure of T-LY47F conjugate. It consists of a Trastuzumab antibody linked via a pyridine ring to a linker containing a terminal triethylammonium group. The linker is connected to a fluorinated pyrazole moiety.</p> | 7.92 | 5 |
| T-LY48A |  <p>Chemical structure of T-LY48A conjugate. It features a Trastuzumab antibody linked to a linker with a terminal benzamide group. The linker is connected to a fluorinated pyrazole moiety.</p>                                     | 7.89 | 5 |
| T-LY48B |  <p>Chemical structure of T-LY48B conjugate. It features a Trastuzumab antibody linked to a linker with a terminal triethylammonium group. The linker is connected to a fluorinated pyrazole moiety.</p>                             | 7.35 | 5 |
| T-LY48C |  <p>Chemical structure of T-LY48C conjugate. It features a Trastuzumab antibody linked to a linker with a terminal triethylammonium group. The linker is connected to a fluorinated pyrazole moiety.</p>                            | 7.80 | 5 |
| T-LY48D |  <p>Chemical structure of T-LY48D conjugate. It features a Trastuzumab antibody linked to a linker with a terminal triethylammonium group. The linker is connected to a fluorinated pyrazole moiety.</p>                            | 7.86 | 5 |
| T-LY48E |  <p>Chemical structure of T-LY48E conjugate. It features a Trastuzumab antibody linked to a linker with a terminal triethylammonium group. The linker is connected to a fluorinated pyrazole moiety.</p>                            | 7.37 | 5 |

|         |                                                                                      |      |    |
|---------|--------------------------------------------------------------------------------------|------|----|
| T-LY48F |    | 7.83 | 1A |
| T-LY49B |    | 7.92 | 5  |
| T-LY50A |    | 7.92 | 5  |
| T-LY50B |   | 7.92 | 5  |
| T-LY51A |  | 7.88 | 5  |
| T-LY51B |  | 8.00 | 5  |

生物学测试

测试例 1: 本发明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 40 $\mu$ m 筛网过滤后，加入相应

培养基稀释至细胞密度为  $1 \times 10^4$  个/ml，传代至 96 孔白色细胞培养板（碧云天，FCP968），每孔加入 100 $\mu$ L，置于 37 $^{\circ}$ C，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 100 $\mu$ L 稀释后的样品加入 96 孔板，置于 37 $^{\circ}$ C，5% CO<sub>2</sub> 培养箱，继续培养 144 小时。取出细胞培养板，每孔加入 100 $\mu$ L 细胞活力检测试剂（CellTiter-Glo<sup>®</sup> 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。

本发明化合物对 N87 胃癌细胞和 MDA-MB-468（中国科学院上海细胞库，TCHu136）乳腺癌细胞的抑制 IC<sub>50</sub> 值如下表 1 所示。将 DXD（PY-X）的 IC<sub>50</sub> 值设为 1，其他化合物的 IC<sub>50</sub> 值为 DXD 的倍数关系。其中，也展示了不同毒素 PY-10、PY-13、PY-16 在不同细胞系上的抑制 IC<sub>50</sub> 效果，如表 2 所示。“相比 PY-X 的抑制 IC<sub>50</sub> 值的倍数”是指 PY-X 的 IC<sub>50</sub> 值与其他毒素的 IC<sub>50</sub> 值的比值，数值越大表明毒素相比较 PY-X 细胞毒性越强。PY-E 为伊喜替康甲磺酸盐，PY-X 是伊喜替康 DXD（均购自上海皓元医药股份有限公司）；PY-Y 见文献（WO2022170971A1）；PY-A 见文献（WO2021148501A1）。

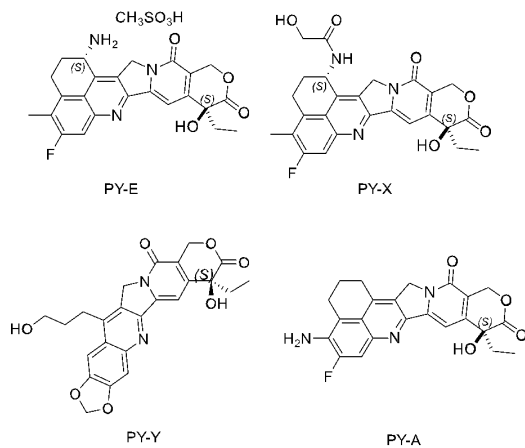


表 1 本发明化合物对 N87 胃癌细胞和 MDA-MB-468 乳腺癌细胞的抑制 IC<sub>50</sub> 值

|                     |                      |                         |                       |         |        |              |          |          |
|---------------------|----------------------|-------------------------|-----------------------|---------|--------|--------------|----------|----------|
| 编号                  | PY-E                 | PY-X (DXD) <sup>a</sup> | PY-1                  | PY-1AB  | PY-4   | PY-4Car      | PY-4Car2 | PY-5     |
| N87 细胞              | 0.4782               | 1.0000                  | 0.1589                | 0.2668  | 1.1725 | 0.3427       | 0.5294   | 2.3591   |
| 468 <sup>c</sup> 细胞 | 0.3546               | 1.0000                  | 0.0931                | 0.3750  | 2.2546 | 0.3552       | 0.5959   | 3.4395   |
| 编号                  | PY-8                 | PY-8B                   | PY-9                  | PY-10   | PY-10d | PY-27(10Car) | PY-10B   | PY-11    |
| N87 细胞              | 0.1486               | 0.3360                  | 0.4712                | 0.0904  | 0.0602 | 3.3500       | 0.1623   | 0.0606   |
| 468 <sup>c</sup> 细胞 | 0.4035               | 2.3133                  | 1.0622                | 0.2283  | 0.3129 | 3.7610       | 0.4362   | 0.9642   |
| 编号                  | PY-12A               | PY-12B                  | PY-13                 | PY-14   | PY-16  | PY-16Car     | PY-17    | PY-18    |
| N87 细胞              | 1.6441               | 5.3044                  | 0.0852                | 4.3321  | 0.2446 | 2.9600       | 3.7859   | 0.0938   |
| 468 <sup>c</sup> 细胞 | 3.3035               | 8.4257                  | 0.0798                | 10.5958 | 0.3458 | 2.7200       | 8.0396   | 0.2154   |
| 编号                  | PY-19                | PY-20                   | PY-21A                | PY-24   | PY-25A | PY-25B       | PY-26    | PY-29    |
| N87 细胞              | 0.7040               | 1.0070                  | 0.7361                | 1.5288  | 9.0899 | 2.9428       | 6.0638   | 8.4714   |
| 468 <sup>c</sup> 细胞 | 0.7356               | 1.2806                  | 1.4821                | 2.2057  | 8.4260 | 1.3101       | 5.8345   | 176.8753 |
| 编号                  | PY-29B               | PY-36                   | PY-37                 | PY-37A  | PY-37B | PY-38        | PY-Y     | PY-A     |
| N87 细胞              | 0.5572               | 0.8205                  | 0.6030                | 0.4267  | 6.728  | 0.3502       | 0.2989   | 0.0662   |
| 468 <sup>c</sup> 细胞 | 1.1096               | 1.0551                  | 0.8515                | 0.5446  | 17.58  | 0.8774       | 0.4878   | 0.0828   |
| 编号                  | PY-4Car <sup>a</sup> | PY-4Car3C <sup>b</sup>  | PY-4Car2 <sup>b</sup> |         |        |              |          |          |
| N87 细胞              | 0.3112               | 0.3593                  | 0.5046                |         |        |              |          |          |
| 468 <sup>c</sup> 细胞 | 0.5193               | 0.5740                  | 0.8170                |         |        |              |          |          |

a: PY-X (DXD) 的 IC<sub>50</sub> 值设为 1, 表格中毒素的 IC<sub>50</sub> 值是其实测值与 DXD 的比值; b: 样品一起复测

根据上述相似的方法, 使用不同的细胞得到本发明化合物的抑制 IC<sub>50</sub> 值如下表 2-1、2-2 所示。

表 2-1 本发明化合物在不同细胞的抑制 IC<sub>50</sub> 值

| 细胞名称     | 细胞来源       | IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> 值 |        |        |        |
|----------|------------|---------------------------------|--------|--------|--------|
|          |            | PY-4CAR                         | PY-16  | PY-10  | PY-13  |
| H358     | NSCLC      | 0.3935                          | 0.2592 | 0.1289 | 0.1062 |
| H82      | SCLC       | 0.4523                          | 0.3391 | 0.1525 | 0.1364 |
| H1650    | NSCLC      | 0.4491                          | 0.1421 | 0.0456 | 0.0415 |
| H1975    | NSCLC      | 0.3814                          | 0.0716 | 0.0655 | 0.0426 |
| H1437    | NSCLC      | 0.6526                          | 0.2768 | 0.1209 | 0.0969 |
| H23      | NSCLC      | 0.7911                          | 0.1634 | 0.0895 | 0.0819 |
| SW1573   | NSCLC      | 0.3187                          | 0.2256 | 0.1540 | 0.1570 |
| PANC-1   | Pancreatic | 0.4763                          | 0.1325 | 0.0915 | 0.0810 |
| Colo-205 | Colon      | 0.2923                          | 0.3082 | 0.1546 | 0.1643 |
| HT-29    | Colon      | 0.3312                          | 0.1933 | 0.0874 | 0.1434 |
| A549     | NSCLC      | 0.4832                          | 0.2053 | 0.0792 | 0.0899 |
| FADU     | HNSCC      | 0.4574                          | 0.4215 | 0.1913 | 0.1648 |
| OVCAR3   | Ovarian    | 0.2626                          | 0.2646 | 0.0681 | 0.0560 |
| PA-1     | Ovarian    | 1.0605                          | 0.4925 | 0.1746 | 0.1600 |
| SW1990   | Pancreatic | 0.4822                          | 0.4346 | 0.2133 | 0.1255 |
| DMS53    | SCLC       | 0.5151                          | 0.5137 | 0.1968 | 0.1624 |

a: PY-X (DXD) 的 IC<sub>50</sub> 值设为 1，表格中毒素的 IC<sub>50</sub> 值是其实测值与 DXD 的比值。

表 2-2 本发明化合物在不同细胞的抑制 IC<sub>50</sub> 值

| 细胞名称     | 细胞来源       | IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> 值 |          |        |        |        |        |        |
|----------|------------|---------------------------------|----------|--------|--------|--------|--------|--------|
|          |            | PY-E                            | PY-4Car2 | PY-37  | PY-37A | PY-36  | PY-29B | PY-09  |
| H358     | NSCLC      | 0.2694                          | 0.6362   | 0.7007 | 0.3022 | 1.1695 | 0.7611 | 0.3899 |
| H82      | SCLC       | 0.5103                          | 0.5803   | 1.1563 | 0.4153 | 1.5585 |        |        |
| H1650    | NSCLC      | 0.1570                          | 0.7384   | 0.7310 | 0.2611 | 0.8758 |        |        |
| H1975    | NSCLC      | 0.0963                          | 0.7358   | 0.6276 | 0.1711 | 0.5909 | 0.3282 | 0.1922 |
| H1437    | NSCLC      | 0.2303                          | 0.9590   | 0.9440 | 0.2619 | 1.1187 |        |        |
| H23      | NSCLC      | 0.1245                          | 1.1508   | 0.6637 | 0.2785 | 0.5677 | 0.4416 | 0.2937 |
| SW1573   | NSCLC      | 0.3310                          | 0.4766   | 0.6712 | 0.2884 | 0.7619 |        |        |
| PANC-1   | Pancreatic | 0.1086                          | 0.4865   | 0.3514 | 0.1992 | 0.6317 |        |        |
| Colo-205 | Colon      | 0.2938                          | 0.4478   | 0.6449 | 0.2763 | 0.9857 |        |        |
| HT-29    | Colon      | 0.1376                          | 0.4854   | 0.4700 | 0.2181 | 0.4909 |        |        |
| A549     | NSCLC      | 0.1645                          | 0.5433   | 0.4179 | 0.2044 | 0.4500 |        |        |
| FADU     | HNSCC      | 0.4464                          | 0.8139   | 0.9803 | 2.9002 | 1.7031 | 1.6627 | 0.6274 |
| OVCAR3   | Ovarian    | 0.2269                          | 0.3491   | 0.4392 | 0.0793 | 0.7701 | 0.5623 | 0.2965 |
| PA-1     | Ovarian    | 0.3572                          | 1.3950   | 0.8566 | 0.4153 | 1.1505 | 0.8427 | 0.5130 |
| SW1990   | Pancreatic | 0.3581                          | 0.3573   | 0.7777 | 0.2986 | 1.3305 |        |        |

a: PY-X (DXD) 的 IC<sub>50</sub> 值设为 1，表格中毒素的 IC<sub>50</sub> 值是其实测值与 DXD 的比值。

测试例 2：本发明 ADC 对于癌细胞的抑制活性

1) 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 (468 细胞, N87 或者 HCC1954), 外圈加入 200μL 无菌水或 PBS, 孵育 24h。
- 5 Day1: 培养基梯度稀释样品 (9 个梯度+1 个阴性对照), N87 铺板 Payload 或 ADC: 板一 (T-LY21、T-LY29、T-LY33)、板二 (T-LY33A、T-LY22、T-LY22C)、板三 (T-LY34、T-LY34B、T-LY35), 板四 (T-LY21C、T-LY28B、T-LY28C), 板五 (T-LY43C、T-LY43D、T-LY43E), 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
- 10 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。
- 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。
- 15 表 3 ADC 对 N87 胃癌细胞和MDA-MB-468 以及 HCC1954 等乳腺癌细胞的抑制 IC<sub>50</sub> 值

| ADC 编号   | DAR  | 抑制 IC <sub>50</sub> 值 (nM) |       |         |
|----------|------|----------------------------|-------|---------|
|          |      | N87                        | 468   | HCC1954 |
| T-BY1    | 7.99 | 0.126                      | 49.44 |         |
| T-BY1B   | 7.66 | 0.237                      | 32.2  |         |
| T-BY1C   | 7.54 | 0.252                      | 35.83 |         |
| T-BY2    | 6.81 | 0.1382                     | 157   |         |
| T-BY3P1  | 7.9  | >100                       | 301.7 |         |
| T-BY3P2  | 7.82 | 0.1545                     | 128.5 |         |
| T-LY1    | /    | 1.793                      | 8.242 |         |
| T-LY2    | /    | 6.579                      | 57.05 |         |
| T-LY8    | 6.92 | 0.06801                    | 55.31 |         |
| T-LY10   | 8    | 8.088                      | 603.7 |         |
| T-LY21   | 5.4  | 8.088                      | /     | 603.7   |
| T-LY21B  | 6.25 | 0.13                       | 25.3  | 0.1764  |
| T-LY21C  | 7.94 | 0.0622                     | 19.97 |         |
| T-LY22   | 7.7  | 0.0606                     | 31.73 |         |
| T-LY22AD | 7.76 | 0.1446                     | 412.1 |         |
| T-LY22AF | 7.62 | 0.09849                    | 126.2 |         |
| T-LY22C  | 7.69 | 0.5088                     | 17.89 |         |
| T-LY22CA | 7.08 | 0.1971                     | 39.4  |         |
| T-LY22CB | 7.8  | 0.3026                     | 345.8 |         |
| T-LY22CD | 7.43 | 0.4744                     | 184.6 |         |



|            |      |         |       |          |
|------------|------|---------|-------|----------|
| T-LY22CD-2 | 7.8  | 0.3559  | 163.1 |          |
| T-LY22CD-3 | 7.6  | 0.3336  | 200.3 |          |
| T-LY22CE   | 7.85 | 0.3156  | 252.9 |          |
| T-LY22CF   | 7.7  | 0.4258  | 185.2 |          |
| T-LY22CG   | 7.90 | 0.4286  | 187.3 |          |
| T-LY22CH   | 7.51 | 0.4998  | 116.3 |          |
| T-LY22CI   | 7.92 | 0.4209  | 90.6  |          |
| T-LY22CJ   | 6.94 | 1.668   | 56.51 |          |
| T-LY22CDX  | 7.86 | 0.4163  | 139.9 |          |
| T-LY22CDC  | 7.74 | 0.4791  | 83.11 |          |
| T-LY22BM1  | 7.92 | 0.2072  | 58.95 |          |
| T-LY22BM2  | 7.89 | 0.2942  | 89.57 |          |
| T-LY22BM3  | 7.94 | 0.3884  | 77.47 |          |
| T-LY28B    | 6.95 | 0.0924  | 44.07 |          |
| T-LY28C    | 7.07 | 0.0681  | 55.31 |          |
| T-LY29     | 7.59 | 0.0537  | 165.4 |          |
| T-LY29B    | 7.62 | 0.0754  | 104.9 |          |
| T-LY29C    | 7.75 | 0.0945  | 45.68 |          |
| T-LY29D    | 4.01 | 0.0577  | 174.1 |          |
| T-LY33     | 7.6  | 0.5647  | /     | ~0.09825 |
| T-LY33A    | 7.54 | 0.0547  | 49.62 | 0.02866  |
| T-LY34     | 7.5  | 0.0442  | 73.57 |          |
| T-LY34B    | 6.85 | 0.07023 | 59.5  | 0.3278   |
| T-LY34C    | 7.5  | 0.06872 | 15.61 |          |
| T-LY35     | 6.3  | 0.1216  | /     | 0.3505   |
| T-LY37B    | 7.26 | 0.5173  | 186.1 |          |
| T-LY39A    | 7.42 | 0.0880  | 40.9  |          |
| T-LY39B    | 7.25 | 0.0841  | 114.8 |          |
| T-LY43C    | 8    | 0.1078  | 3.899 |          |
| T-LY43D    | 8    | 0.0924  | 15.96 |          |
| T-LY43E    | 8    | 0.0811  | 2.826 |          |
| T-LY44C    | 5.58 | 0.08413 | 114.8 |          |
| T-LY44D    | 7.95 | 0.08243 | 14.45 |          |
| T-LY46D    | 7.15 | 0.4295  | 110.7 |          |
| T-LY46E    | 7.63 | 0.8186  | 94.67 |          |
| T-LY46E    | 7.65 | 0.6967  | 333   |          |
| T-LY46G    | 7.81 | 0.3705  | 131   |          |
| T-LY47A    | 7.62 | 0.10    | 28.22 |          |
| T-LY47B    | 7.53 | 12.71   | 21.19 |          |

|         |      |        |        |  |
|---------|------|--------|--------|--|
| T-LY47C | 7.24 | 0.877  | 73.57  |  |
| T-LY47D | 7.84 | 0.6118 | 396.14 |  |
| T-LY47E | 7.76 | 0.4615 | \      |  |
| T-LY47F | 7.92 | 0.2761 | 201.6  |  |
| T-LY48A | 7.68 | 0.16   | 79.54  |  |
| T-LY48B | 7.74 | 15.76  | 48.75  |  |
| T-LY48C | 7.65 | 0.877  | 73.57  |  |
| T-LY48D | 7.68 | 0.9574 | 419.35 |  |
| T-LY48E | 7.58 | 1.2150 | 382.52 |  |
| T-LY48F | 7.83 | 0.3716 | 254    |  |
| T-LY50A | 7.92 | 0.1972 | 161.4  |  |
| T-LY50B | 7.92 | 0.2441 | 290.5  |  |
| T-LY51A | 7.88 | 0.1755 | 69.63  |  |
| T-LY51B | 8    | 0.1054 | 67.87  |  |

注：在细胞抑制实验的时候 DAR 值都校正为 DAR8。

测试例 3：抗体药物偶联物在人胃癌 NCI-N87 移植瘤模型中的药效实验

人胃癌 NCI-N87 细胞株(ATCC，CTL-5822)在 RPMI-1640 培养基（Gibco，货号：22400-089，添加 10% FBS（Excell Bio，货号：FCS500））中，培养于含 5% CO<sub>2</sub> 的 37℃ 培养箱。细胞连续培养十代之前，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 NCI-N87 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 200 mm<sup>3</sup> 左右时，按表 4 所示方案给药，DAR 值全部调整为 8。

表 4

| No. | 组别       | 动物数量 | 给药剂量    | 给药途径和周期 |
|-----|----------|------|---------|---------|
| 1   | PBS      | 6    | -       | i.v. 一次 |
| 2   | T-BY1    | 6    | 1 mg/kg | i.v. 一次 |
| 3   | T-LY10   | 6    | 1 mg/kg | i.v. 一次 |
| 4   | T-LY46D  | 6    | 1 mg/kg | i.v. 一次 |
| 5   | T-LY22   | 6    | 1 mg/kg | i.v. 一次 |
| 6   | T-LY22CD | 6    | 1 mg/kg | i.v. 一次 |
| 7   | T-LY44D  | 6    | 1 mg/kg | i.v. 一次 |
| 8   | T-LY43D  | 6    | 1 mg/kg | i.v. 一次 |
| 9   | T-LY47D  | 6    | 1 mg/kg | i.v. 一次 |
| 10  | T-LY48D  | 6    | 1 mg/kg | i.v. 一次 |

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  $TGI\% = (1 - T/C) \times 100\%$
- 5 (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。试验结束, 处死小鼠, 取肿瘤称重。
- 试验结果见表 5 和图 1。

表 5 NCI-N87 胃癌荷瘤小鼠模型的肿瘤体积数据

|          | 肿瘤体积 mm <sup>3</sup> |            |             |             |             |             |             |             | T/C(%)      | TGI%        |
|----------|----------------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 样品       | 给 药<br>0 天           | 给 药<br>7 天 | 给 药<br>11 天 | 给 药<br>14 天 | 给 药<br>18 天 | 给 药<br>21 天 | 给 药<br>24 天 | 给 药<br>27 天 | 给 药<br>27 天 | 给 药<br>27 天 |
| PBS      | 203.91               | 269.21     | 314.34      | 394.15      | 438.09      | 523.40      | 614.61      | 705.18      | -           | -           |
| T-BY1    | 204.14               | 83.77      | 123.0       | 108.05      | 108.00      | 149.44      | 148.70      | 149.73      | 18.65       | 81.35       |
| T-LY10   | 205.09               | 90.05      | 78.10       | 66.55       | 74.38       | 91.34       | 83.88       | 90.73       | 10.16       | 89.84       |
| T-LY46D  | 205.01               | 61.90      | 62.17       | 34.34       | 29.87       | 35.75       | 32.03       | 45.86       | 5.82        | 94.18       |
| T-LY21   | 204.33               | 42.28      | 30.30       | 20.06       | 17.19       | 15.61       | 11.05       | 15.22       | 1.93        | 98.07       |
| T-LY12CD | 204.22               | 20.06      | 16.91       | 5.45        | 4.26        | 4.23        | 4.74        | 6.50        | 1.03        | 98.97       |
| T-LY44D  | 204.05               | 41.32      | 42.76       | 23.23       | 11.53       | 16.56       | 16.03       | 17.77       | 2.21        | 97.79       |
| T-LY43D  | 204.51               | 30.90      | 23.85       | 14.51       | 8.53        | 5.29        | 5.56        | 9.55        | 1.19        | 98.81       |
| T-LY47D  | 204.76               | 28.86      | 28.29       | 29.92       | 19.59       | 18.49       | 16.02       | 26.39       | 3.21        | 96.79       |
| T-LY48D  | 203.76               | 55.11      | 51.90       | 62.47       | 68.01       | 100.37      | 95.19       | 105.25      | 13.03       | 86.97       |

10 结果: 第 27 天, 溶媒组 (PBS) 的肿瘤体积平均值达到 705mm<sup>3</sup>, 各个给药组

的肿瘤体积平均值都小于 200mm<sup>3</sup>。而且, T-LY10, T-L46D, T-LY22, T-LY22CD, T-LY44D, T-LY43D, T-LY47D, T-LY48D 的相对肿瘤抑制率优于 T-BY1 对照。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: 本发明化合物具有良好的肿瘤抑制活性。

5

测试例 4: 抗体药物偶联物在人乳腺癌 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 1x10<sup>8</sup>/mL。

10

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 5x10<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 6 所示方案给药。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 6

| No. | 组别         | 动物数量 | 给药剂量    | 给药途径和周期 |
|-----|------------|------|---------|---------|
| 1   | PBS        | 6    | -       | i.v. 两次 |
| 2   | T-BY1      | 6    | 3 mg/kg | i.v. 两次 |
| 3   | T-LY22     | 6    | 3 mg/kg | i.v. 两次 |
| 4   | T-LY22BM1  | 6    | 3 mg/kg | i.v. 两次 |
| 5   | T-LY22BM2  | 6    | 3 mg/kg | i.v. 两次 |
| 6   | T-LY22BM3  | 6    | 3 mg/kg | i.v. 两次 |
| 7   | T-LY22C    | 6    | 3 mg/kg | i.v. 两次 |
| 8   | T-LY22CD   | 6    | 3 mg/kg | i.v. 两次 |
| 9   | T-LY22CD-3 | 6    | 3 mg/kg | i.v. 两次 |
| 10  | T-LY22CDC  | 6    | 3 mg/kg | i.v. 两次 |

15

试验结果见表 7 和图 2。

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 (mm³) |        |        |         |         |         |         |         | TC(%) | TGI(%) |
|------------|------------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|-------|--------|
|            | 给药 0 天     | 给药 4 天 | 给药 8 天 | 给药 13 天 | 给药 15 天 | 给药 19 天 | 给药 22 天 | 给药 25 天 |       |        |
| PBS        | 163.47     | 219.48 | 290.36 | 352.15  | 385.55  | 442.62  | 476.97  | 587.87  |       |        |
| T-BY1      | 164.38     | 159.07 | 168.66 | 130.09  | 135.92  | 142.86  | 149.41  | 203.64  | 34.45 | 65.55  |
| T-LY22     | 162.87     | 201.05 | 162.51 | 152.50  | 135.29  | 117.52  | 158.23  | 221.09  | 37.75 | 62.25  |
| T-LY22BM1  | 163.53     | 171.76 | 175.77 | 143.63  | 141.19  | 137.48  | 138.70  | 197.89  | 33.65 | 66.35  |
| T-LY22BM2  | 163.01     | 179.39 | 141.33 | 136.68  | 141.02  | 120.77  | 119.14  | 161.00  | 27.46 | 72.54  |
| T-LY22BM3  | 163.03     | 197.76 | 145.53 | 133.48  | 119.87  | 92.57   | 96.78   | 154.02  | 26.27 | 73.73  |
| T-LY22C    | 164.10     | 163.16 | 154.58 | 115.43  | 104.12  | 88.90   | 83.70   | 111.12  | 18.83 | 81.17  |
| T-LY22CD   | 162.51     | 184.26 | 128.73 | 120.65  | 91.08   | 85.47   | 98.34   | 110.29  | 18.87 | 81.13  |
| T-LY22CD-3 | 164.09     | 222.89 | 207.28 | 156.43  | 120.12  | 92.06   | 100.26  | 105.99  | 17.96 | 82.04  |
| T-LY22CDC  | 163.93     | 196.96 | 126.39 | 123.55  | 111.60  | 95.83   | 114.50  | 127.57  | 21.64 | 78.36  |

结果：第 25 天，溶媒组（PBS）的肿瘤体积平均值达到 588mm<sup>3</sup>，各个给药组的肿瘤体积平均值都小于 250mm<sup>3</sup>。而且，T-LY22 和 T-LY22BM1 相对肿瘤抑制率 5 和 T-BY1 对照相似。T-LY22BM2 和 T-LY22BM3 相对肿瘤抑制率比 T-BY1 对照更高。T-LY22C，T-LY22CD，T-LY22CD-3，T-LY22CDC 相对肿瘤抑制率最高。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：本发明化合物具有良好的肿瘤抑制活性。

10        测试例 5：抗体药物偶联物在人胃癌 NCI-N87 移植瘤模型中的药效实验

人胃癌 NCI-N87 细胞株(ATCC，CTL-5822)在 RPMI-1640 培养基（Gibco，货号：22400-089，添加 10% FBS（Excell Bio，货号：FCS500））中，培养于含 5% CO<sub>2</sub> 的 37℃ 培养箱。细胞连续培养十代之前，用 0.25%胰蛋白酶-EDTA 消化，PBS 15 洗两次，细胞计数仪计数，PBS 稀释使细胞浓度为 1x10<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 NCI-N87 细胞，接种细胞量为 5x10<sup>6</sup>/只，接种体积为 0.1 mL（含 50 % Matrigel），待肿瘤生长至 100 mm<sup>3</sup> 左右时，按表 8 所示方案给药，DAR 值全部调整为 8。

表 8

| No. | 组别         | 动物数量 | 给药剂量    | 给药途径和周期 |
|-----|------------|------|---------|---------|
| 1   | PBS        | 6    | -       | i.v. 一次 |
| 2   | T-BY1      | 6    | 1 mg/kg | i.v. 一次 |
| 3   | T-LY22     | 6    | 1 mg/kg | i.v. 一次 |
| 4   | T-LY22BM1  | 6    | 1 mg/kg | i.v. 一次 |
| 5   | T-LY22BM2  | 6    | 1 mg/kg | i.v. 一次 |
| 6   | T-LY22BM3  | 6    | 1 mg/kg | i.v. 一次 |
| 7   | T-LY22C    | 6    | 1 mg/kg | i.v. 一次 |
| 8   | T-LY22CD   | 6    | 1 mg/kg | i.v. 一次 |
| 9   | T-LY22CD-3 | 6    | 1 mg/kg | i.v. 一次 |
| 10  | T-LY22CDC  | 6    | 1 mg/kg | i.v. 一次 |

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  $T/C(\%) = T_{RTV} / C_{RTV} \times 100\%$

5        ( $T_{RTV}$  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:  $V = 1/2 \times L_{长} \times L_{短}^2$ ,

10       其中  $L_{长}$ 、 $L_{短}$  分别表示肿瘤长径、短径。试验结束, 处死小鼠, 取肿瘤称重。  
试验结果见表 9 和图 6A-6B。

表 9 NCI-N87 胃癌荷瘤小鼠模型的肿瘤体积数据

| 样品         | 肿瘤体积 (mm <sup>3</sup> ) |        |         |         |         |         |         |         | TC(%)   | TGI(%)  |
|------------|-------------------------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
|            | 给药 0 天                  | 给药 7 天 | 给药 10 天 | 给药 13 天 | 给药 16 天 | 给药 19 天 | 给药 24 天 | 给药 28 天 | 给药 28 天 | 给药 28 天 |
| PBS        | 98.78                   | 221.61 | 304.07  | 360.23  | 415.38  | 465.79  | 564.23  | 804.54  |         |         |
| T-BY1      | 98.08                   | 147.97 | 187.85  | 220.18  | 224.36  | 230.25  | 199.35  | 210.98  | 26.41   | 73.59   |
| T-LY22     | 98.13                   | 94.76  | 79.17   | 55.16   | 53.06   | 48.56   | 30.70   | 32.70   | 4.09    | 95.91   |
| T-LY22BM1  | 98.20                   | 78.56  | 43.11   | 34.07   | 39.27   | 42.24   | 29.22   | 33.23   | 4.15    | 95.85   |
| T-LY22BM2  | 97.56                   | 73.27  | 79.91   | 64.36   | 40.52   | 47.25   | 26.34   | 27.97   | 3.52    | 96.48   |
| T-LY22BM3  | 97.11                   | 77.91  | 49.72   | 41.44   | 35.82   | 30.42   | 21.30   | 20.81   | 2.63    | 97.37   |
| T-LY22C    | 97.76                   | 53.06  | 37.42   | 36.79   | 39.60   | 34.71   | 10.49   | 13.92   | 1.75    | 98.25   |
| T-LY22CD   | 97.16                   | 58.37  | 35.03   | 30.53   | 22.61   | 25.49   | 3.49    | 8.13    | 1.03    | 98.97   |
| T-LY22CD-3 | 96.90                   | 57.67  | 31.65   | 31.66   | 27.54   | 21.40   | 5.97    | 7.71    | 0.98    | 99.02   |
| T-LY22CDC  | 96.93                   | 50.47  | 39.54   | 35.47   | 25.42   | 17.38   | 7.70    | 9.81    | 1.24    | 98.76   |

15       结果: 第 28 天, 溶媒组 (PBS) 的肿瘤体积平均值达到 804mm<sup>3</sup>, 各个给药组的肿瘤体积平均值都小于 210mm<sup>3</sup>。而且, T-LY22, T-LYBM1, T-LYBM2, T-LYBM3, T-LY22C, T-LY22CD, T-LY22CD-3, T-LY22CDC 的相对肿瘤抑制率优于 T-BY1 对照。其中, 在可裂解的相同氨基酸序列下 T-LYBM2 和 T-LYBM3

肿瘤抑制率略优于 T-LY22, T-LYBM1, 但是略劣于 T-LY22C; 同样的毒素情况下, 含有更稳定连接子的 T-LY22CD 和 T-LY22CD-3 的肿瘤抑制率优于 T-LY22C。仅增加连接子的亲水性的情况下, 没有看到 LYT-LY22CDC 的肿瘤抑制率优于 T-LY22CD 和 T-LY22CD-3。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: 含有脂溶性更好的毒素和稳定性更好的连接子的 ADC 具有更好的肿瘤抑制活性。

测试例 6: 旁观者杀伤试验

试验方法:

NCI-N87 细胞 (中国科学院上海细胞库, SCSP-534) 用 RPMI1640 培养基 (Gibco, 22400-089) +10%胎牛血清 (BOVOGEN) 培养。MDA-MB-468-luc 细胞 (中国科学院上海细胞库, TCHu136) 带有稳定转染的萤火虫荧光素酶基因自行构建), 用 DMEM 培养基 (Gibco, 11995-065) +10%胎牛血清 (BOVOGEN) 培养。胰酶消化细胞, 取 3 块黑色透明底细胞培养板 (Corning, 3063), 板一加入 1000 个 N87 细胞/孔, 板二加入 1000 个 468-luc 细胞/孔, 板三加入 2000 个 N87 和 1000 个 468-luc 混合细胞/孔, 细胞都置于 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 温箱培养过夜。ADC 样品用培养基稀释至终浓度 10nM 和 1nM, 每孔加入 100μL, 并设置空白培养基作为对照组, 细胞继续培养 144h。板一每孔加入 100μL CELL Counting-Lite 2.0 检测试剂 (Vazyme, DD1101-03), 避光显色 5 min。板二和板三每孔加入 100μL One-LumiTMII 检测试剂 (Beyotime, RG056M), 避光显色 10 min。多功能酶标仪 (Tecan Spark) 检测荧光值, 读取时间 200ms。旁观者杀伤活性计算公式: (对照组读数-ADC 组读数) / (对照组读数) × 100 %。

试验结果:

旁观者杀伤试验结果如图 3A、3B 和 3C 所示。在 1nM 和 10nM 浓度条件下, T-BY1 和 T-LY22C 都有效杀伤 HER2 高表达 N87 细胞, 但是基本不能杀伤 HER2 低表达 468-luc 细胞。当 N87 和 468-luc 细胞混合培养时, T-BY1 和 T-LY22C 都能有效杀伤 468-luc 细胞。在 1nM 和 10nM 浓度条件下, T-BY1 对 468-luc 细胞杀伤比例为 13.9%和 34.0%, T-LY22C 对 468-luc 细胞杀伤比例为 39.3%和 48.5%。以上结果说明 T-LY22C 的旁观者杀伤活性明显高于 T-BY1。

结论: 本发明化合物具有良好旁观者杀伤效应。

测试例7: 大鼠急性毒性研究

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210-250g体重的大鼠随机分为3组, 每组5只, 尾静脉注射200mg/kg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21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。

5           2、试验结果

第一次大鼠急性毒性研究

给药后第1天-第10天，LY-22CD组大鼠体重与溶媒对照类似，但是T-BY1组大鼠体重明显低于溶媒对照，见图4。

第二次大鼠急性毒性研究

10           给药后第1天-第10天，LY-22CD和LY-22CD-3组大鼠体重与溶媒对照类似，但是T-BY1、T-LY22、T-LY22C以及T-LY22BM3组大鼠体重明显低于溶媒对照。给药后第5天，T-LY22组有3只大鼠死亡，T-LY22BM3组有1只大鼠死亡。其他组没有大鼠死亡，但是LY22C组体重相对于溶媒组降低大约5%。给药后第7天，T-LY22组剩余大鼠体重降低约18%，T-LY22BM3组剩余大鼠体重降低约9%，  
15   LY22C组体重相对于溶媒组基本恢复。给药后第2天-第21天，T-LY22CD组和T-LY22CD-3组大鼠体重增长情况和溶媒对照一直相似，见图5。

结论：在相同的连接子的情况下，本发明毒素耐受性顺序为T-LY22C>T-LY22BM3>T-LY22。相同毒素不同连接子的情况下耐受性顺序为T-LY22CD~T-LY22CD-3>T-LY22C。这说明毒素结构和连接子对整体ADC耐受性  
20   都有重要影响，ADC T-LY22CD和T-LY22CD-3相比T-BY1有更大的治疗窗口。

测试例8：小分子LogD性质研究

1、配置缓冲液：

1) 配制100 mM 磷酸盐缓冲液（PB），pH 分别为2.5和7.4：

25           a. 100 mM H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 水溶液的制备：将14.7 M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 用水稀释至100 mM H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>，测得pH约为1.8。

b. 100 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 的制备：将5.999 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 用500 mL水溶解，测得pH约为4.5。

30           c. 100 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 的制备：将7.098 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 加水溶解到500 mL中，测得pH约为9.4。

d. 100 mM PB (pH 2.5) 的制备：将15 mL 100 mM H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 添加到50 mL管中，然后用100 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 调节pH至2.5±0.05。

e. 100 mM PB (pH 7.4) 的制备：将15 mL 100 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 添加到50 mL



管中，然后用 100 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 调节 pH 至 7.4 ±0.05。

2) PB (pH 2.5 和 7.4) 用 1-辛醇饱和：将 10 mL 1-辛醇加入到 100 mL 100 mM PB (pH 2.5 和 7.4) 中，剧烈摇动混合物，然后在室温下静置过夜，待用。

3)PB 饱和的 1-辛醇 (pH 2.5 和 7.4)：将 10 mL 100 mM PB (pH 2.5 和 7.4) 加入到 100 mL 1-辛醇中，剧烈摇动混合物，然后在室温下静置过夜，待用。

2、操作过程

2.1) 将测试化合物和对照化合物的 2μL 10 mM DMSO 原液等分到试管中，一式两份。

2.2) 分别向管中添加 149μL PB 饱和的 1-辛醇 (pH 2.5 和 7.4) 。

2.3) 分别将 149μL 用 1-辛醇饱和的 PB (pH 2.5 和 7.4) 添加到相应的管中。

2.4) 每管剧烈混合 2 分钟，然后在室温下以 800rpm 的速度振荡 1 小时。

2.5) 室温下 4000rpm 离心 5 分钟。

2.6) 等分适当体积的缓冲层样品和 1-辛醇层样品。

2.7) 将这些样品稀释并使用 LC-MS/MS 方法进行检测，无需运行校准曲线。

2.8) 数据分析：用以下公式计算每种化合物的 log D 值：

$$\text{Log } D_{\text{octanol/buffer}} = \log_{10} \left( \frac{\text{Mean Octanol Layer Peak Area Ratio} * \text{Octanol Layer Dilution Factor}}{\text{Mean Buffer Layer Peak Area Ratio} * \text{Buffer Layer Dilution Factor}} \right)$$

3、LC-MS 分析条件

| 分析物名称               | 柱子型号                                                            | 流动相 A         | 流动相 B          |
|---------------------|-----------------------------------------------------------------|---------------|----------------|
| 盐酸氯丙嗪               | ACQUITY UPLC BEH C18 1.7μm 2.1 ×50mm Column, Part No.186002350  | A: 0.1% 甲酸水溶液 | B: 0.1% 甲酸乙腈溶液 |
| 纳多洛尔                | ACQUITY UPLC BEH C18 1.7μm 2.1 ×50mm Column, Part No.186002350  | A: 0.1% 甲酸水溶液 | B: 0.1% 甲酸乙腈溶液 |
| 盐酸普萘洛尔              | ACQUITY UPLC BEH C18 1.7μm 2.1 ×50mm Column, Part No.186002350  | A: 0.1% 甲酸水溶液 | B: 0.1% 甲酸乙腈溶液 |
| PY-4Car 2           | ACQUITY UPLC Protein BEH C4 300μm 2.1 × 50 mm Part No.186004495 | A: 2% 甲酸水溶液   | B: 2% 甲酸乙腈溶液   |
| PY-4Car             | ACQUITY UPLC Protein BEH C4 300μm 2.1 × 50 mm Part No.186004495 | A: 2% 甲酸水溶液   | B: 2% 甲酸乙腈溶液   |
| PY-X (DXD)          | ACQUITY UPLC Protein BEH C4 300μm 2.1 × 50 mm Part No.186004495 | A: 2% 甲酸水溶液   | B: 2% 甲酸乙腈溶液   |
| PY-4Car 3C (pH 7.4) | ACQUITY UPLC Protein BEH C4 300μm 2.1 × 50 mm Part No.186004495 | A: 2% 甲酸水溶液   | B: 2% 甲酸乙腈溶液   |

|                        |                                                                    |                 |                  |
|------------------------|--------------------------------------------------------------------|-----------------|------------------|
| PY-4Car<br>3C (pH 2.5) | ACQUITY UPLC Protein BEH C4 300μm 2.1 ×<br>50 mm Part No.186004495 | A: 2% 甲酸<br>水溶液 | B: 2% 甲酸乙腈<br>溶液 |
|------------------------|--------------------------------------------------------------------|-----------------|------------------|

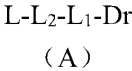
4、分析结果:

| 化合物名称      | 批号            | Log D2.5 (Oct/buff) Result | Log D7.4 (Oct/buff) Result |
|------------|---------------|----------------------------|----------------------------|
| PY-4Car    | E0006-1145-P1 | 2.10                       | 2.09                       |
| PY-4Car3C  | E0600-039-P1  | 2.20                       | 2.29                       |
| PY-4Car2   | E0010-367-P1  | 2.44                       | 2.43                       |
| PY-X (DXD) | E0006-794-1   | 1.68                       | 1.67                       |

5       实验结论:PY-4Car2在不同的pH值下,其在正辛醇的溶解度比相应的PY-4Car和PY-4Car3C都好,也比对照DXD要好。这意味着PY-4Car2有更好的脂溶性,预测在体内有更好的旁观者效应,这与体内药效结果一致。

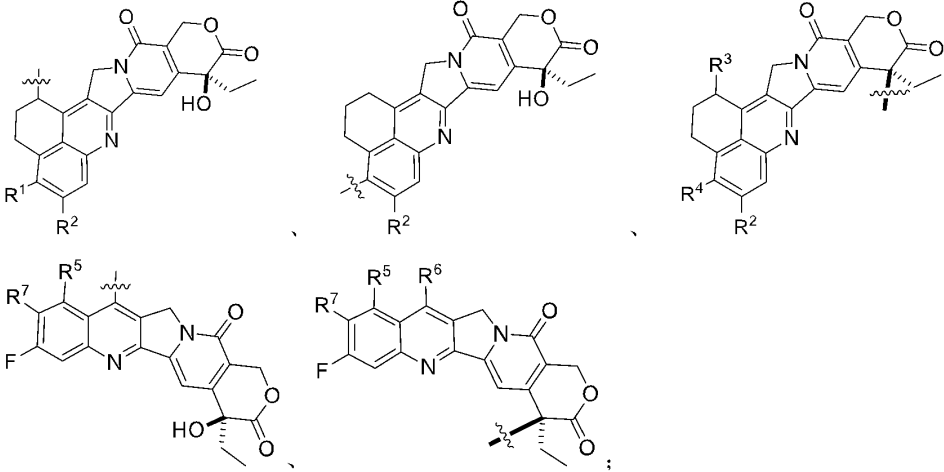
# 权 利 要 求 书

1. 一种通式 (A) 所示的化合物或其药学上可接受的盐,



其中:

Dr 选自以下结构:



10  $R^1$  选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基、环烷基、  
 $-\text{NR}^{\text{d}}\text{R}^{\text{e}}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-NR}^{\text{d}}\text{R}^{\text{e}}$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^{\text{f}}\text{-(CH}_2)_m\text{-OH}$ 、  
 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^{\text{f}}\text{-(CH}_2)_m\text{-NR}^{\text{d}}\text{R}^{\text{e}}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-C}(=\text{O})\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-C}(=\text{O})\text{-NR}^{\text{d}}\text{R}^{\text{e}}$ 、  
 $-(\text{CH}_2)_m\text{-C}(=\text{O})\text{NR}^{\text{f}}\text{-(CH}_2)_n\text{-OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-C}(=\text{O})\text{NR}^{\text{f}}\text{-(CH}_2)_n\text{-NR}^{\text{d}}\text{R}^{\text{e}}$ 、 $-\text{NR}^{\text{f}}\text{-(CH}_2)_m\text{-OH}$ 、  
 $-\text{NR}^{\text{f}}\text{-(CH}_2)_m\text{-NR}^{\text{d}}\text{R}^{\text{e}}$ 、 $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m\text{-OH}$ 、 $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m\text{-NR}^{\text{d}}\text{R}^{\text{e}}$ 、 $-\text{NR}^{\text{f}}\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_m\text{-OH}$ 、  
15  $-\text{NR}^{\text{b}}\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_m\text{-NR}^{\text{d}}\text{R}^{\text{e}}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-NR}^{\text{f}}\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_n\text{-OH}$ 、  
 $-(\text{CH}_2)_m\text{-NR}^{\text{f}}\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_n\text{-NR}^{\text{d}}\text{R}^{\text{e}}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-OC}(=\text{O})\text{NR}^{\text{f}}\text{-(CH}_2)_n\text{-NR}^{\text{d}}\text{R}^{\text{e}}$ 、  
 $-(\text{CH}_2)_m\text{-OC}(=\text{O})\text{NR}^{\text{f}}\text{-(CH}_2)_n\text{-OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-NR}^{\text{f}}\text{C}(=\text{O})\text{-(CH}_2)_n\text{-NR}^{\text{d}}\text{R}^{\text{e}}$ 、  
 $-(\text{CH}_2)_m\text{-NR}^{\text{f}}\text{C}(=\text{O})\text{-(CH}_2)_n\text{-OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-NR}^{\text{f}}\text{C}(=\text{O})\text{-G}-(\text{CH}_2)_n\text{-OH}$ , 所述烷基、烷氧基、  
20 烯基、炔基、环烷基任选进一步被选自卤素、氘、氨基、烷基、羟基的一个或多个基团取代; 上述 $-(\text{CH}_2)_m\text{-}$ 任选被一个或多个氘或卤素取代; G 选自亚环烷基、亚杂环基、亚杂芳基、亚芳基;

$R^2$  选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基, 所述烷基、烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自卤素的一个或多个基团取代;

25  $R^3$  选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基、 $\text{CH}_2=$ 、  
 $-\text{NR}^{\text{d}}\text{R}^{\text{e}}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-NR}^{\text{d}}\text{R}^{\text{e}}$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^{\text{f}}\text{-(CH}_2)_m\text{-OH}$ 、  
 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^{\text{f}}\text{-(CH}_2)_m\text{-NR}^{\text{d}}\text{R}^{\text{e}}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-C}(=\text{O})\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-C}(=\text{O})\text{-NR}^{\text{d}}\text{R}^{\text{e}}$ 、  
 $-(\text{CH}_2)_m\text{-C}(=\text{O})\text{NR}^{\text{f}}\text{-(CH}_2)_n\text{-OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{-C}(=\text{O})\text{NR}^{\text{f}}\text{-(CH}_2)_n\text{-NR}^{\text{d}}\text{R}^{\text{e}}$ 、 $-\text{NR}^{\text{f}}\text{-(CH}_2)_m\text{-OH}$ 、

$-\text{NR}^f(\text{CH}_2)_m\text{NR}^d\text{R}^e$ 、 $-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{R}^d$ 、 $-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_m\text{R}^d$ 、 $-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_m\text{R}^d$ 、  
 $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m\text{OH}$ 、 $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m\text{NR}^d\text{R}^e$ 、 $-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_m\text{OH}$ 、  
 $-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{NR}^d-(\text{CH}_2)_m\text{OH}$ 、 $-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{NR}^d-(\text{CH}_2)_m\text{O}-(\text{CH}_2)_n\text{OH}$ 、  
 $-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_m\text{O}-(\text{CH}_2)_n\text{OH}$ 、 $-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{NR}^d-(\text{CH}_2)_m\text{O}-(\text{CH}_2)_n\text{NR}^d\text{R}^e$ 、  
5  $-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_m\text{O}-(\text{CH}_2)_n\text{NR}^d\text{R}^e$ 、 $-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{NR}^d-(\text{CH}_2)_m\text{NR}^d\text{R}^e$ 、  
 $-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_m\text{NR}^d\text{R}^e$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_n\text{OH}$ 、  
 $-(\text{CH}_2)_m\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_n\text{NR}^d\text{R}^e$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^f-(\text{CH}_2)_n\text{NR}^d\text{R}^e$ 、  
 $-(\text{CH}_2)_m\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^f-(\text{CH}_2)_n\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_n\text{NR}^d\text{R}^e$ 、  
 $-(\text{CH}_2)_m\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_n\text{OH}$ ，所述烷基、烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自  
10 卤素、氘、氨基、烷基、羟基的一个或多个基团取代；

$\text{R}^4$  选自氢、卤素、羟基、羧基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基、  
环烷基、 $-\text{NR}^d\text{R}^e$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{NR}^d\text{R}^e$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^f-(\text{CH}_2)_m\text{OH}$ 、  
 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^f-(\text{CH}_2)_m\text{NR}^d\text{R}^e$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{C}(=\text{O})-\text{NR}^d\text{R}^e$ 、  
 $-(\text{CH}_2)_m\text{C}(=\text{O})\text{NR}^f-(\text{CH}_2)_n\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{C}(=\text{O})\text{NR}^f-(\text{CH}_2)_n\text{NR}^d\text{R}^e$ 、 $-\text{NR}^f-(\text{CH}_2)_m\text{OH}$ 、  
15  $-\text{NR}^f-(\text{CH}_2)_m\text{NR}^d\text{R}^e$ 、 $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m\text{OH}$ 、 $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m\text{NR}^d\text{R}^e$ 、 $-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_m\text{OH}$ 、  
 $-\text{NR}^b\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_m\text{NR}^d\text{R}^e$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_n\text{OH}$ 、  
 $-(\text{CH}_2)_m\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_n\text{NR}^d\text{R}^e$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^f-(\text{CH}_2)_n\text{NR}^d\text{R}^e$ 、  
 $-(\text{CH}_2)_m\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^f-(\text{CH}_2)_n\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_n\text{NR}^d\text{R}^e$ 、  
 $-(\text{CH}_2)_m\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_n\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})-\text{G}-(\text{CH}_2)_n\text{OH}$ ，所述烷基、烷氧  
20 基、烯基、炔基、环烷基任选进一步被选自卤素、氘、氨基、烷基、羟基的一个  
或多个基团取代；上述 $-(\text{CH}_2)_m$ -任选被一个或多个氘或卤素取代；G 选自亚环烷基、  
亚杂环基、亚杂芳基、亚芳基；

$\text{R}^5$  选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基，所述烷  
基、烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自卤素的一个或多个基团取代；

25  $\text{R}^6$  选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基，所述烷  
基、烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自卤素的一个或多个基团取代；

$\text{R}^7$  选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基，所述烷  
基、烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自卤素的一个或多个基团取代；

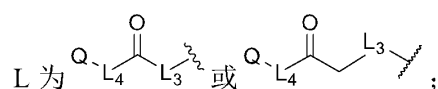
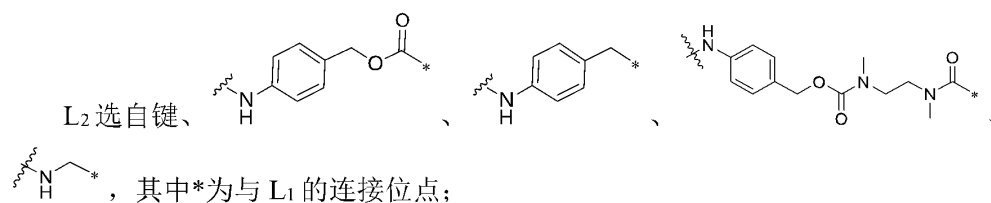
$\text{R}^d$  和  $\text{R}^e$  各自独立地选自氢和烷基；

30  $\text{R}^f$  选自氢、烷基、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^e$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{R}^e$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^e$ ，所述烷基任选进一步被环烷  
基所取代；其中  $\text{R}^e$  选自氢、羟基、烷基；

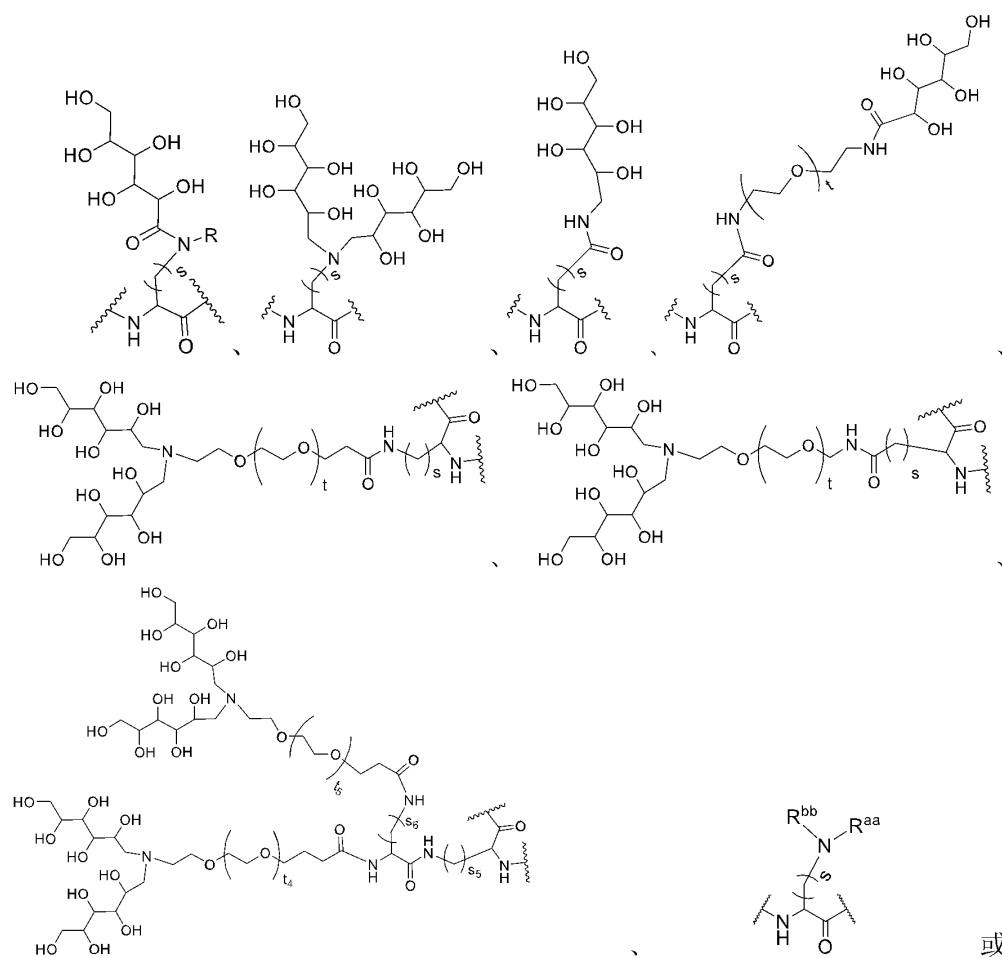
$\text{L}_1$  选自键、 $-(\text{CH}_2)_m^*$ 、 $-\text{O}^*$ 、 $-\text{NR}^a^*$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{O}^*$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{NR}^a^*$ 、  
 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^b-(\text{CH}_2)_m\text{O}^*$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^b-(\text{CH}_2)_m\text{NR}^a^*$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{C}(=\text{O})\text{O}^*$ 、  
 $-(\text{CH}_2)_m\text{C}(=\text{O})\text{NR}^a^*$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{C}(=\text{O})\text{NR}^b-(\text{CH}_2)_n\text{O}^*$ 、  
35  $-(\text{CH}_2)_m\text{C}(=\text{O})\text{NR}^b-(\text{CH}_2)_n\text{NR}^a^*$ 、 $-\text{NR}^b-(\text{CH}_2)_m\text{O}^*$ 、 $-\text{NR}^b-(\text{CH}_2)_m\text{NR}^a^*$ 、  
 $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m\text{O}^*$ 、 $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m\text{NR}^a^*$ 、 $-\text{NR}^b\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_m\text{O}^*$ 、

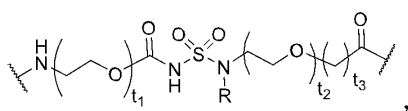
$-\text{NR}^b\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^a-*$  、  $-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^b\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{O}-*$  、  
 $-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^b\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^a-*$  、  $-(\text{CH}_2)_m-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^b-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^a-*$  、  
 $-(\text{CH}_2)_m-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^b-(\text{CH}_2)_n-\text{O}-*$  、  $-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^b\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^a-*$  、  
 $-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^b\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_n-\text{O}-*$  , 其中\*为与  $\text{L}_2$  的连接位点;

- 5  $\text{R}^a$  和  $\text{R}^b$  各自独立地选自氢、烷基、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^c$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{R}^c$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^c$  , 所述烷基任选进一步被环烷基所取代; 其中  $\text{R}^c$  选自氢、羟基、烷基;

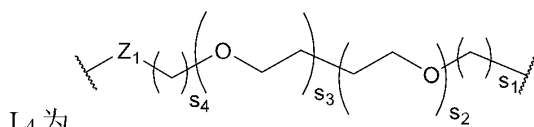


- 10  $\text{L}_3$  为由两个或多个氨基酸形成的氨基酸残基, 且  $\text{L}_3$  任选包含选自以下的一个或多个结构,  $\text{L}_6$  选自以下的一个或多个结构:





其中 R、R<sup>aa</sup>、R<sup>bb</sup> 各自独立地选自氢和烷基；



L<sub>4</sub> 为

Z<sub>1</sub> 选自键、-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-、-(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)<sub>q</sub>-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-C(O)NH-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-C(O)NH-、  
 5 -(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-C(O)-L<sub>6</sub>-NH-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-C(O)-L<sub>6</sub>-NH-、-C(O)NH-、-C(O)O-、-C(O)-、  
 -OC(O)-、-NH-、-O-和-OC(O)NH-；

m 为 1 至 6 的整数；

n 为 1 至 6 的整数；

s 为 1 至 6 的整数；

10 t 为 0 至 10 的整数；

s<sub>1</sub>、s<sub>2</sub>、s<sub>3</sub>、s<sub>4</sub> 各自独立地为 0 至 10 的整数；

s<sub>5</sub>、s<sub>6</sub> 各自独立地为 1 至 6 的整数；

t<sub>1</sub> 为 1 至 6 的整数；

t<sub>2</sub> 为 0 至 6 的整数；

15 t<sub>3</sub> 为 1 至 6 的整数；

t<sub>4</sub> 为 0 至 10 的整数；

t<sub>5</sub> 为 0 至 10 的整数；

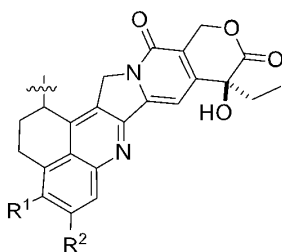
p 为 1 至 10 的整数；

q 为 1 至 10 的整数；

20 Q 为接头单元。

2. 根据权利要求 1 所述的通式 (A) 所示的化合物或其药学上可接受的盐，  
 其中，

Dr 选自以下结构：



25

L<sub>1</sub> 选自 -O-\*、-NR<sup>a</sup>-\*、-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-O-\*、-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-NR<sup>a</sup>-\*、-OC(=O)NR<sup>b</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-O-\*、  
 -OC(=O)NR<sup>b</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-NR<sup>a</sup>-\*、-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-C(=O)O-\*、-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-C(=O)NR<sup>a</sup>-\*、  
 -NR<sup>b</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-O-\*、-NR<sup>b</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-NR<sup>a</sup>-\*、-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-O-\*、-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-NR<sup>a</sup>-\*、

$-\text{NR}^b\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{O}-^*$ 、 $-\text{NR}^b\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^a-^*$ 、  
 $-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^b\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^a-^*$ 、 $-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^b\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_n-\text{O}-^*$ ，其中\*为与  $\text{L}_2$  的连接位点；

$\text{R}^a$  选自氢、 $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基；

5  $\text{R}^b$  选自氢、烷基、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^c$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{R}^c$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^c$ ，所述烷基任选进一步被环烷基所取代；其中  $\text{R}^c$  选自氢、羟基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基；

$m$  为 1 至 6 的整数；优选 1 至 4 的整数；进一步优选 1 至 2 的整数；

$n$  为 1 至 6 的整数；优选 1 至 4 的整数；进一步优选 1 至 2 的整数；

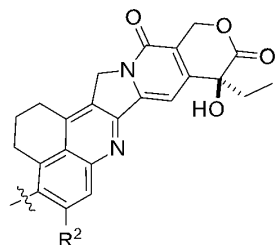
$\text{R}^1$  选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷氧基、 $\text{C}_2\text{-C}_6$  烯基、  
 10  $\text{C}_2\text{-C}_6$  炔基、 $\text{C}_3\text{-C}_6$  环烷基、 $-\text{NR}^d\text{R}^e$ 、 $-(\text{CH}_2)_m-\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^d\text{R}^e$ 、  
 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^f-(\text{CH}_2)_m-\text{OH}$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^f-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^d\text{R}^e$ 、 $-(\text{CH}_2)_m-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ 、  
 $-(\text{CH}_2)_m-\text{C}(=\text{O})-\text{NR}^d\text{R}^e$ 、 $-(\text{CH}_2)_m-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^f-(\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ 、  
 $-(\text{CH}_2)_m-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^f-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^d\text{R}^e$ 、 $-\text{NR}^f-(\text{CH}_2)_m-\text{OH}$ 、 $-\text{NR}^f-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^d\text{R}^e$ 、  
 $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{OH}$ 、 $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^d\text{R}^e$ 、 $-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{OH}$ 、  
 15  $-\text{NR}^b\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^d\text{R}^e$ 、 $-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ 、  
 $-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^d\text{R}^e$ 、 $-(\text{CH}_2)_m-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^f-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^d\text{R}^e$ 、  
 $-(\text{CH}_2)_m-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^f-(\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^d\text{R}^e$ 、  
 $-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})-\text{G}-(\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ ，所述  $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基、  
 $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷氧基、 $\text{C}_2\text{-C}_6$  烯基、 $\text{C}_2\text{-C}_6$  炔基、 $\text{C}_3\text{-C}_6$  环烷基任选进一步被选自卤素、氘、  
 20 氨基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基、羟基的一个或多个基团取代；优选  $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷氧基；  
 上述  $-(\text{CH}_2)_m-$  任选被一个或多个氘或卤素取代； $\text{G}$  选自亚环烷基、亚杂环基、亚杂芳基、亚芳基；

$\text{R}^2$  选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷氧基、 $\text{C}_2\text{-C}_6$  烯基、  
 $\text{C}_2\text{-C}_6$  炔基，所述  $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$  烷氧基、 $\text{C}_2\text{-C}_6$  烯基、 $\text{C}_2\text{-C}_6$  炔基任选进一步被  
 25 选自卤素的一个或多个基团取代；优选卤素；

$\text{R}^d$ 、 $\text{R}^e$ 、 $\text{R}^f$ 、 $m$ 、 $n$  如权利要求 1 所定义。

3. 根据权利要求 1 所述的通式 (A) 所示的化合物或其药学上可接受的盐，  
 其中，

30  $\text{Dr}$  选自以下结构：



L<sub>1</sub> 选自键、-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-\*、-O-\*、-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-O-\*、-NR<sup>a</sup>-\*、-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-NR<sup>a</sup>-\*、  
-NR<sup>b</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-O-\*、-NR<sup>b</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-NR<sup>a</sup>-\*、-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-O-\*、-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-NR<sup>a</sup>-\*、  
-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-OC(=O)NR<sup>b</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-NR<sup>a</sup>-\*、-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-OC(=O)NR<sup>b</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-\*、  
-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-NR<sup>b</sup>C(=O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-NR<sup>a</sup>-\*、-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-NR<sup>b</sup>C(=O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-\*，其中\*为与 L<sub>2</sub> 的  
5 连接位点；

R<sup>a</sup> 选自氢、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基；

R<sup>b</sup> 选自氢、烷基、-C(O)R<sup>c</sup>、-S(O)R<sup>c</sup>、-S(O)<sub>2</sub>R<sup>c</sup>，所述烷基任选进一步被环烷基所取代；其中 R<sup>c</sup> 选自氢、羟基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基；

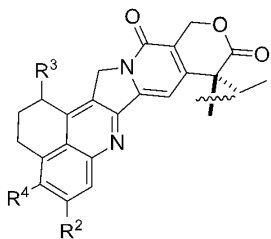
m 为 1 至 6 的整数；优选 1 至 4 的整数；

10 n 为 1 至 6 的整数；优选 1 至 4 的整数；

R<sup>2</sup> 选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷氧基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 烯基、  
C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 炔基，所述 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷氧基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 烯基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 炔基任选进一步被  
选自卤素的一个或多个基团取代；优选卤素。

15 4. 根据权利要求 1 所述的通式 (A) 所示的化合物或其药学上可接受的盐，  
其中，

Dr 选自以下结构：



L<sub>1</sub> 选自-O-\*，其中\*为与 L<sub>2</sub> 的连接位点；

20 R<sup>2</sup> 选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷氧基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 烯基、  
C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 炔基，所述 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷氧基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 烯基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 炔基任选进一步被  
选自卤素的一个或多个基团取代；优选卤素；

R<sup>3</sup> 选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷氧基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 烯基、  
C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 炔基、CH<sub>2</sub>=、-NR<sup>d</sup>R<sup>e</sup>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-OH、-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-NR<sup>d</sup>R<sup>e</sup>、-OC(=O)NR<sup>f</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-OH、  
25 -OC(=O)NR<sup>f</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-NR<sup>d</sup>R<sup>e</sup>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-C(=O)OH、-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-C(=O)-NR<sup>d</sup>R<sup>e</sup>、  
-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-C(=O)NR<sup>f</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-OH、-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-C(=O)NR<sup>f</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-NR<sup>d</sup>R<sup>e</sup>、-NR<sup>f</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-OH、  
-NR<sup>f</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-NR<sup>d</sup>R<sup>e</sup>、-NR<sup>f</sup>-C(=O)R<sup>d</sup>、-NR<sup>f</sup>-C(=O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sup>d</sup>、-NR<sup>f</sup>C(=O)O-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sup>d</sup>、  
-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-OH、-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-NR<sup>d</sup>R<sup>e</sup>、-NR<sup>f</sup>C(=O)O-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-OH、  
-NR<sup>f</sup>C(=O)NR<sup>d</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-OH、-NR<sup>f</sup>C(=O)NR<sup>d</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-OH、  
30 -NR<sup>f</sup>C(=O)O-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-OH、-NR<sup>f</sup>C(=O)NR<sup>d</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-NR<sup>d</sup>R<sup>e</sup>、  
-NR<sup>f</sup>C(=O)O-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-NR<sup>d</sup>R<sup>e</sup>、-NR<sup>f</sup>C(=O)NR<sup>d</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-NR<sup>d</sup>R<sup>e</sup>、  
-NR<sup>f</sup>C(=O)O-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-NR<sup>d</sup>R<sup>e</sup>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-NR<sup>f</sup>C(=O)O-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-OH、



$-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-NR^dR^e$  、  $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$  、  
 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$  、  $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-NR^dR^e$  、  
 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-OH$ ，所述 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷氧基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 烯基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 炔基任选进一步被选自卤素、氘、氨基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、羟基的一个或多个基团取代；

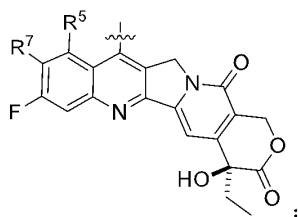
5 优选氢或羟基；

$R^4$  选自氢、卤素、羟基、羧基、氨基、氰基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷氧基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 烯基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 炔基、C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> 环烷基、 $-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、  
 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)OH$ 、  
 $-(CH_2)_m-C(=O)-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、  
 10  $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、 $-NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、  
 $-O-(CH_2)_m-OH$ 、 $-O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-OH$ 、  
 $-NR^bC(=O)O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-OH$ 、  
 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、  
 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、  
 15  $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-G-(CH_2)_n-OH$ ，所述 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、  
 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷氧基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 烯基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 炔基、C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> 环烷基任选进一步被选自卤素、氘、  
 氨基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、羟基的一个或多个基团取代；优选羟基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷  
 氧基；上述  $-(CH_2)_m$ -任选被一个或多个氘或卤素取代；G 选自亚环烷基、亚杂环基、  
 亚杂芳基、亚芳基；

20  $R^d$ 、 $R^e$ 、 $R^f$ 、m、n 如权利要求 1 所定义。

5. 根据权利要求 1 所述的通式 (A) 所示的化合物或其药学上可接受的盐，其中，

Dr 选自以下结构：



25

$L_1$  选自  $-(CH_2)_m-O^*$ 、 $-(CH_2)_m-NR^a-^*$ ，其中  $^*$  为与  $L_2$  的连接位点；

m 为 1 至 6 的整数；优选 1 至 4 的整数；

$R^a$  选自氢、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基；

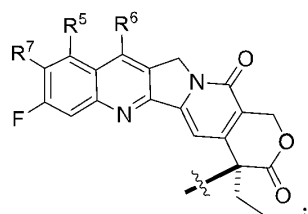
$R^5$  选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷氧基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 烯基、  
 30 C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 炔基，所述 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷氧基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 烯基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 炔基任选进一步被  
 选自卤素的一个或多个基团取代；优选卤素；

$R^7$  选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷氧基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 烯基、

C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 炔基, 所述 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷氧基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 烯基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 炔基任选进一步被选自卤素的一个或多个基团取代; 优选羟基、氨基。

6. 根据权利要求 1 所述的通式 (A) 所示的化合物或其药学上可接受的盐,  
5 其中,

Dr 选自以下结构:



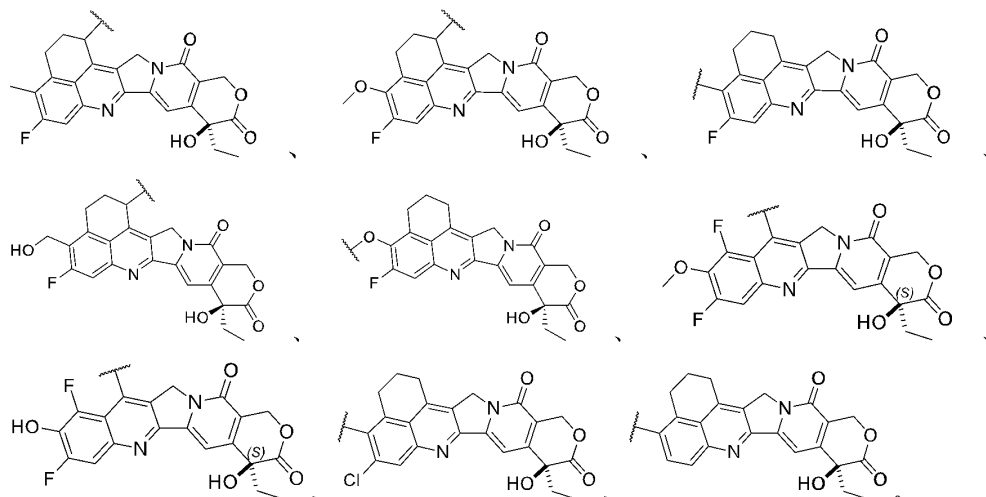
L<sub>1</sub> 选自 -O-\*, 其中\*为与 L<sub>2</sub> 的连接位点;

- R<sup>5</sup> 选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷氧基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 烯基、  
10 C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 炔基, 所述 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷氧基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 烯基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 炔基任选进一步被  
选自卤素的一个或多个基团取代; 优选卤素;

R<sup>6</sup> 选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷氧基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 烯基、  
C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 炔基, 所述 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷氧基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 烯基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 炔基任选进一步被  
选自卤素的一个或多个基团取代; 优选羟基、氨基;

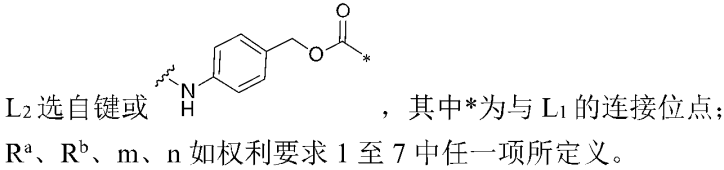
- R<sup>7</sup> 选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷氧基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 烯基、  
15 C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 炔基, 所述 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷氧基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 烯基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 炔基任选进一步被  
选自卤素的一个或多个基团取代; 优选羟基、氨基。

7. 根据权利要求 1 至 6 中任一项所述的通式 (A) 所示的化合物或其药学上  
20 可接受的盐, 其中, Dr 选自:



8. 根据权利要求 1 至 7 中任一项所述的通式 (A) 所示的化合物或其药学上可接受的盐, 其中,

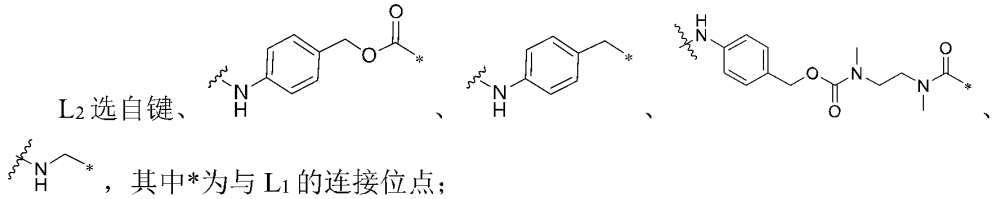
当  $L_1$  选自  $-NR^a-*$ 、 $-(CH_2)_m-NR^a-*$ 、 $-OC(=O)NR^b-(CH_2)_m-NR^a-*$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^a-*$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^b-(CH_2)_n-NR^a-*$ 、 $-NR^b-(CH_2)_m-NR^a-*$ 、  
5  $-O-(CH_2)_m-NR^a-*$ 、 $-NR^bC(=O)O-(CH_2)_m-NR^a-*$ 、 $-(CH_2)_m-NR^bC(=O)O-(CH_2)_n-NR^a-*$ 、 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^b-(CH_2)_n-NR^a-*$  或  $-(CH_2)_m-NR^bC(=O)-(CH_2)_n-NR^a-*$ , 其中 \* 为与  $L_2$  的连接位点时;



10

9. 根据权利要求 1 至 7 中任一项所述的通式 (A) 所示的化合物或其药学上可接受的盐, 其中,

当  $L_1$  选自键、 $-O-*$ 、 $-(CH_2)_m-O-*$ 、 $-NR^a-*$ 、 $-OC(=O)NR^b-(CH_2)_m-O-*$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)O-*$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^b-(CH_2)_n-O-*$ 、 $-NR^b-(CH_2)_m-O-*$ 、  
15  $-O-(CH_2)_m-O-*$ 、 $-NR^bC(=O)O-(CH_2)_m-O-*$ 、 $-(CH_2)_m-NR^bC(=O)O-(CH_2)_n-O-*$ 、 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^b-(CH_2)_n-O-*$  或  $-(CH_2)_m-NR^bC(=O)-(CH_2)_n-O-*$ , 其中 \* 为与  $L_2$  的连接位点时;

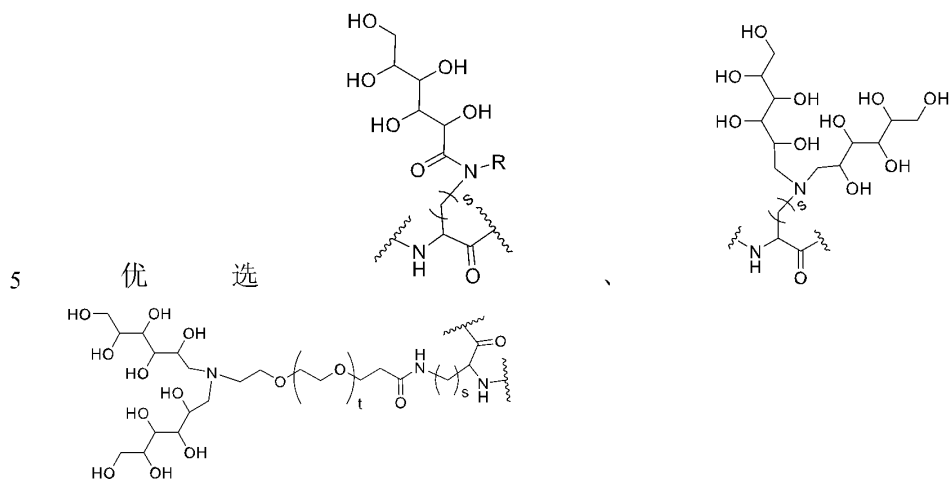
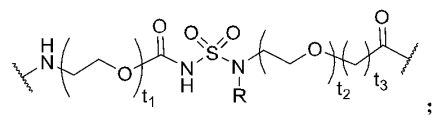
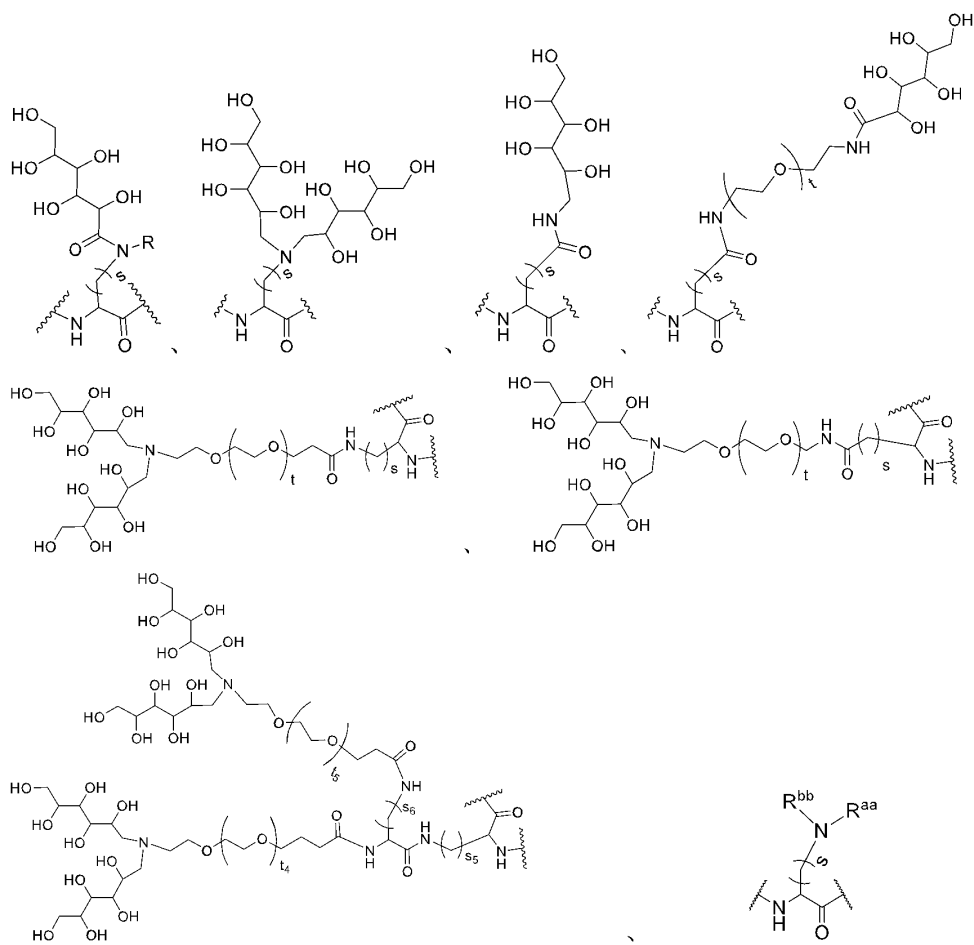


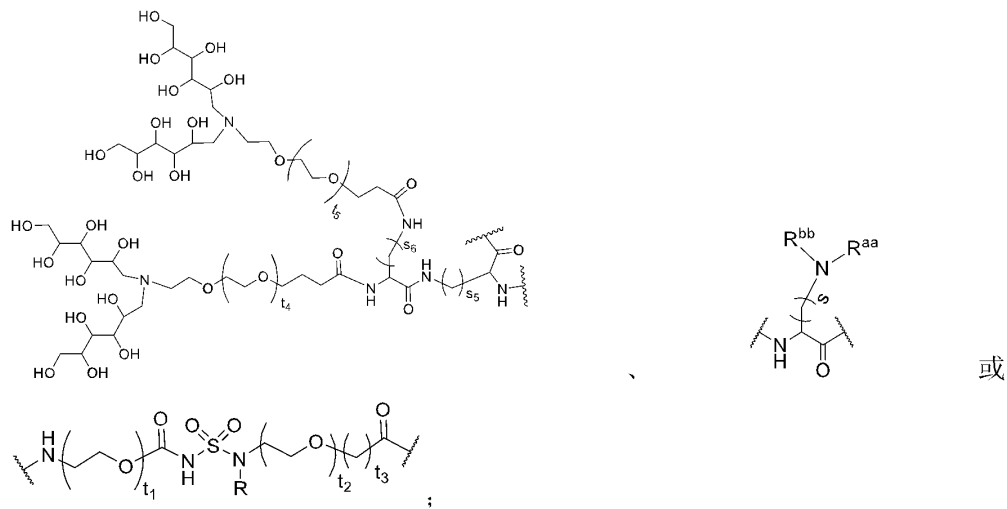
20

$R^a$ 、 $R^b$ 、 $m$ 、 $n$  如权利要求 1 至 7 中任一项所定义。

10. 根据权利要求 1 至 9 中任一项所述的通式 (A) 所示的化合物或其药学上可接受的盐, 其中,

$L_3$  为由两个或多个选自苯丙氨酸、丙氨酸、甘氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、色氨酸、酪氨酸、组氨酸、赖氨酸、瓜氨酸、丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、  
25 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, 且  $L_3$  任选包含选自以下的一个或多个结构:

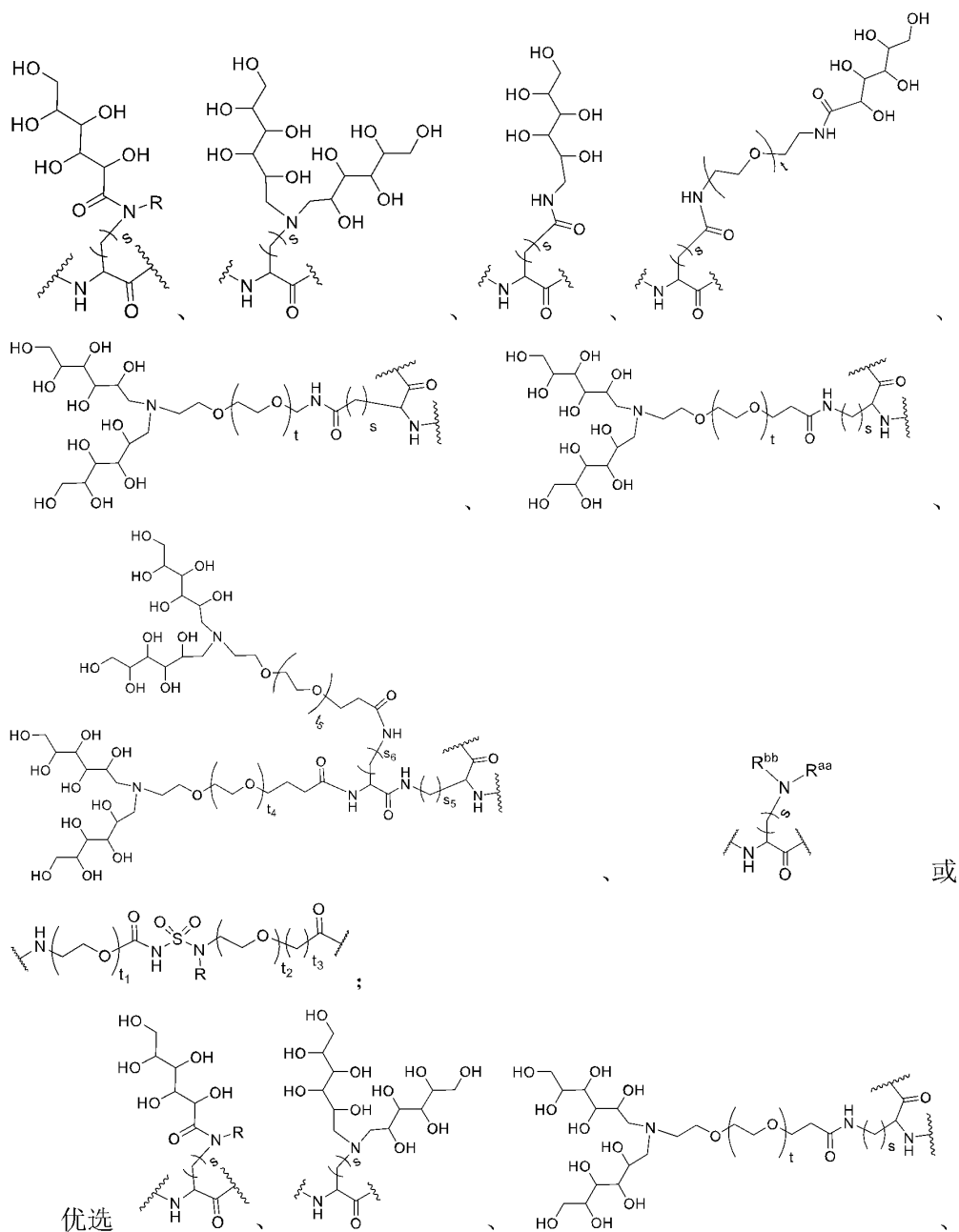


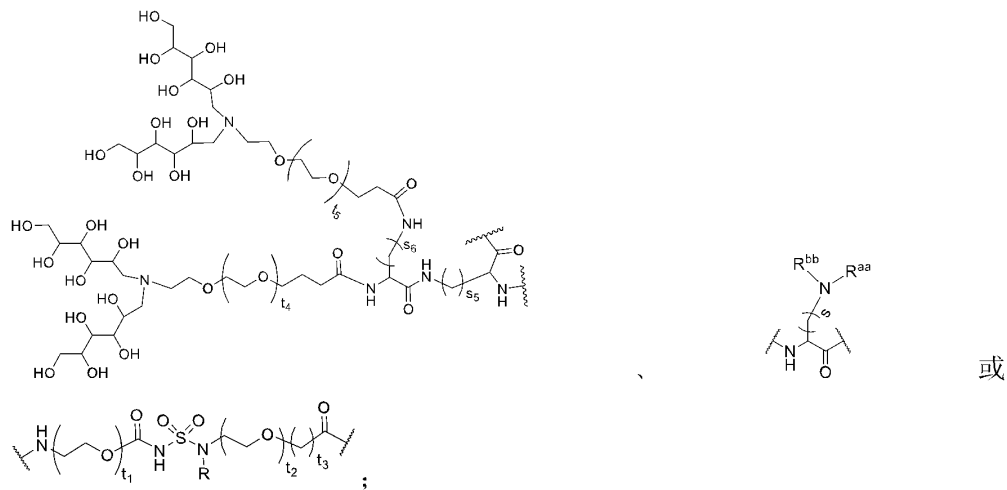


- 其中 R、R<sup>aa</sup>、R<sup>bb</sup> 各自独立地选自氢和 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基；
- s 为 1 至 6 的整数；优选 2 至 6 的整数；更优选 2 至 4 的整数；
- 5 s<sub>5</sub>、s<sub>6</sub> 各自独立地为 1 至 6 的整数；优选 2 至 6 的整数；更优选 2 至 4 的整数；
- t 为 0 至 10 的整数；
- t<sub>1</sub> 为 1 至 6 的整数；优选 1 至 4 的整数，还优选 2 至 4 的整数，还优选 1 或 2；
- t<sub>2</sub> 为 0 至 6 的整数；优选 1 至 4 的整数，还优选 1 或 2；
- t<sub>3</sub> 为 1 至 6 的整数；优选 1 至 4 的整数，更优选 1 或 2；
- 10 t<sub>4</sub> 为 0 至 10 的整数；
- t<sub>5</sub> 为 0 至 10 的整数。

11. 根据权利要求 1 至 10 中任一项所述的通式 (A) 所示的化合物或其药学

- 上可接受的盐，其中，L<sub>3</sub> 为  $\cdot \text{---} \text{L}_{1a} \text{---} \text{L}_{1b}^*$  或  $\cdot \text{---} \text{L}_{1b} \text{---} \text{L}_{1a}^*$  或
- 15  $\cdot \text{---} \text{L}_{1b} \text{---} \text{L}_{1a} \text{---} \text{L}_{1b}'^*$ ，\* 为与 L<sub>2</sub> 连接的位置，• 为与羰基或亚甲基连接的位置；
- 其中，L<sub>1b</sub> 和 L<sub>1b</sub>' 各自独立地为由一个或多个选自苯丙氨酸、丙氨酸、甘氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、色氨酸、酪氨酸、组氨酸、赖氨酸、瓜氨酸、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；
- 20 L<sub>1a</sub> 为键或者选自以下的一个或多个结构：



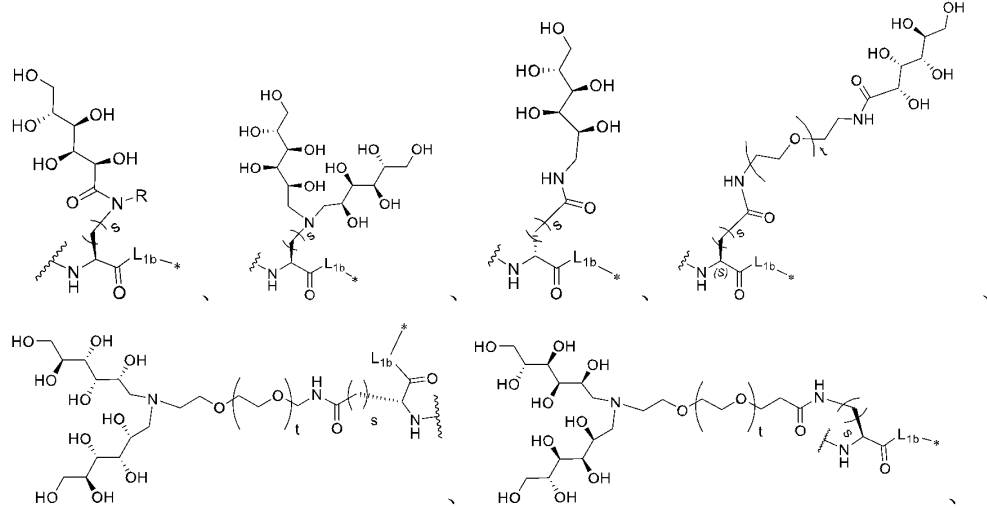


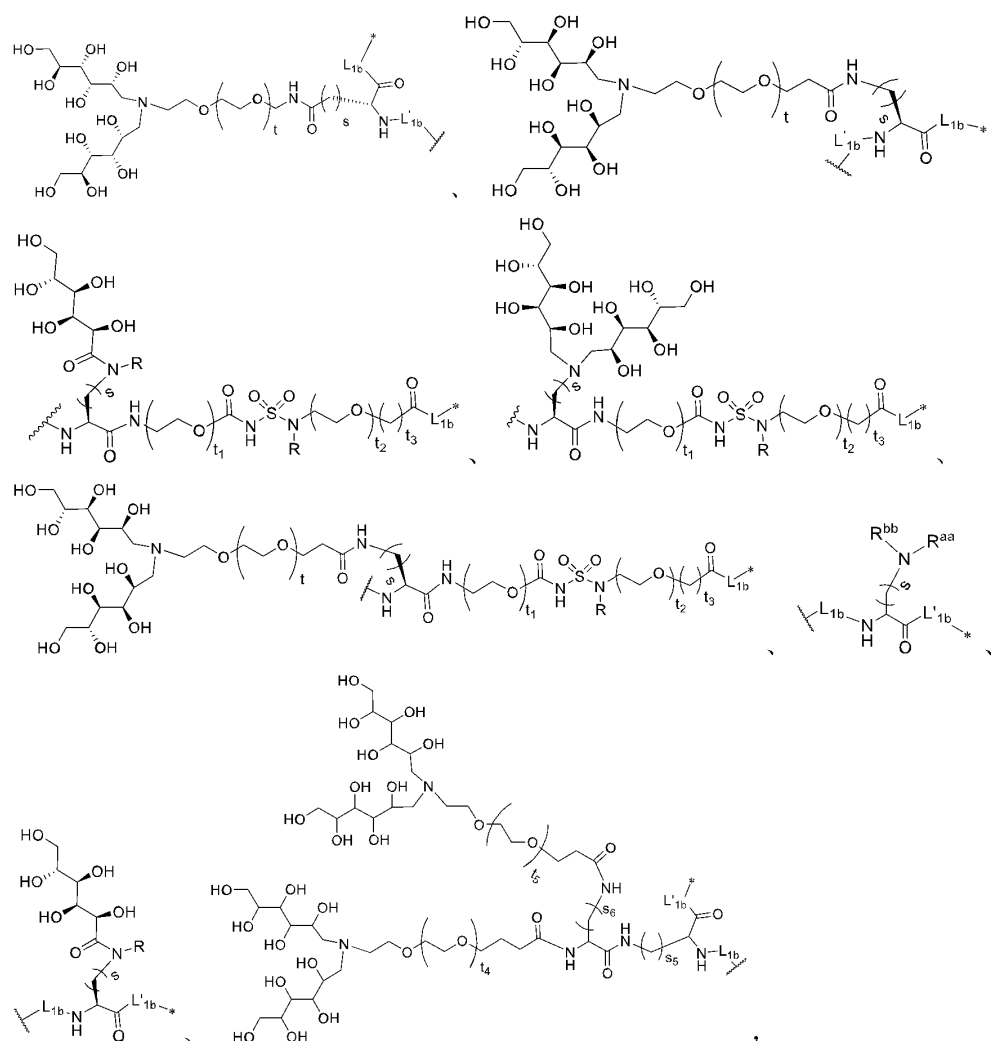
其中 R 选自氢和 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基，优选氢；

R<sup>aa</sup>、R<sup>bb</sup> 各自独立地选自 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基；

- 5        s 为 1 至 6 的整数；优选 2 至 6 的整数；更优选 2 至 4 的整数；  
      s<sub>5</sub>、s<sub>6</sub> 各自独立地为 1 至 6 的整数；优选 2 至 6 的整数；更优选 2 至 4 的整数；  
      t 为 0 至 10 的整数；  
      t<sub>1</sub> 为 1 至 6 的整数；优选 1 至 4 的整数，还优选 2 至 4 的整数，还优选 1 或 2；  
      t<sub>2</sub> 为 0 至 6 的整数；优选 1 至 4 的整数，还优选 1 或 2；  
10      t<sub>3</sub> 为 1 至 6 的整数；优选 1 至 4 的整数，更优选 1 或 2；  
      t<sub>4</sub> 为 0 至 10 的整数；  
      t<sub>5</sub> 为 0 至 10 的整数。

12. 根据权利要求 1 至 11 中任一项所述的通式 (A) 所示的化合物或其药学  
15    上可接受的盐，其中，L<sub>3</sub> 选自：





5

其中:

L<sub>1b</sub> 和 L<sub>1b</sub> 各自独立地为由一个或多个选自苯丙氨酸、丙氨酸、甘氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、色氨酸、酪氨酸、组氨酸、赖氨酸、瓜氨酸、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；

10

R 选自氢和 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基, 优选氢;

$R^{aa}$ 、 $R^{bb}$  各自独立地选自  $C_1$ - $C_6$  烷基;

s 为 1 至 6 的整数；优选 2 至 6 的整数；更优选 2 至 4 的整数；

s5、s6 各自独立地为 1 至 6 的整数；优选 2 至 6 的整数；更优选 2 至 4 的整数；

t 为 0 至 10 的整数:

15

$t_1$  为 1 至 6 的整数; 优选 1 至 4 的整数, 还优选 2 至 4 的整数, 还优选 1 或 2;

$t_2$  为 0 至 6 的整数; 优选 1 至 4 的整数, 还优选 1 或 2;

$t_3$  为 1 至 6 的整数; 优选 1 至 4 的整数, 更优选 1 或 2;



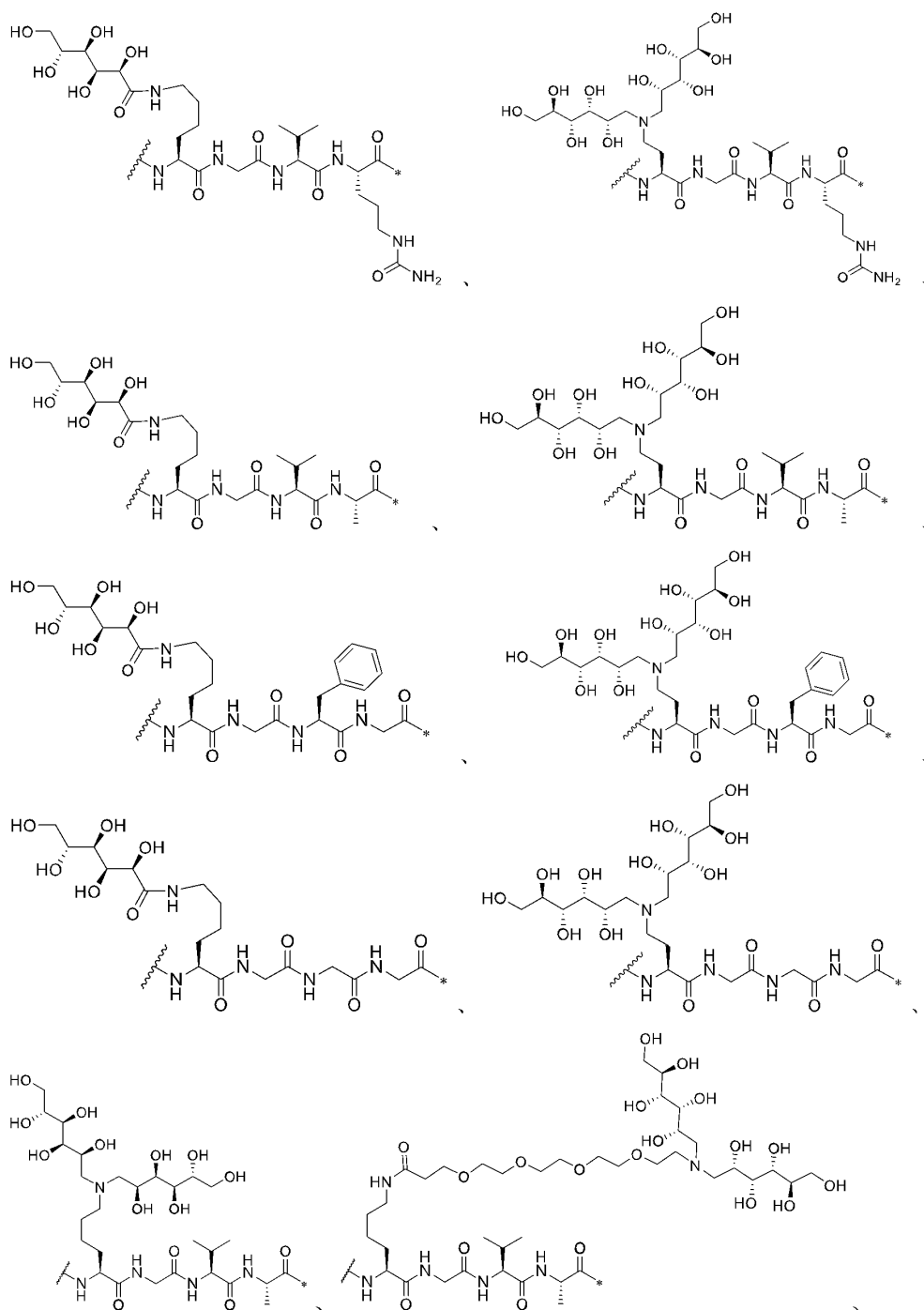
$t_4$  为 0 至 10 的整数;  
 $t_5$  为 0 至 10 的整数;  
\* 为与  $L_2$  连接的位置,  
~ 为与羰基或亚甲基连接的位置。

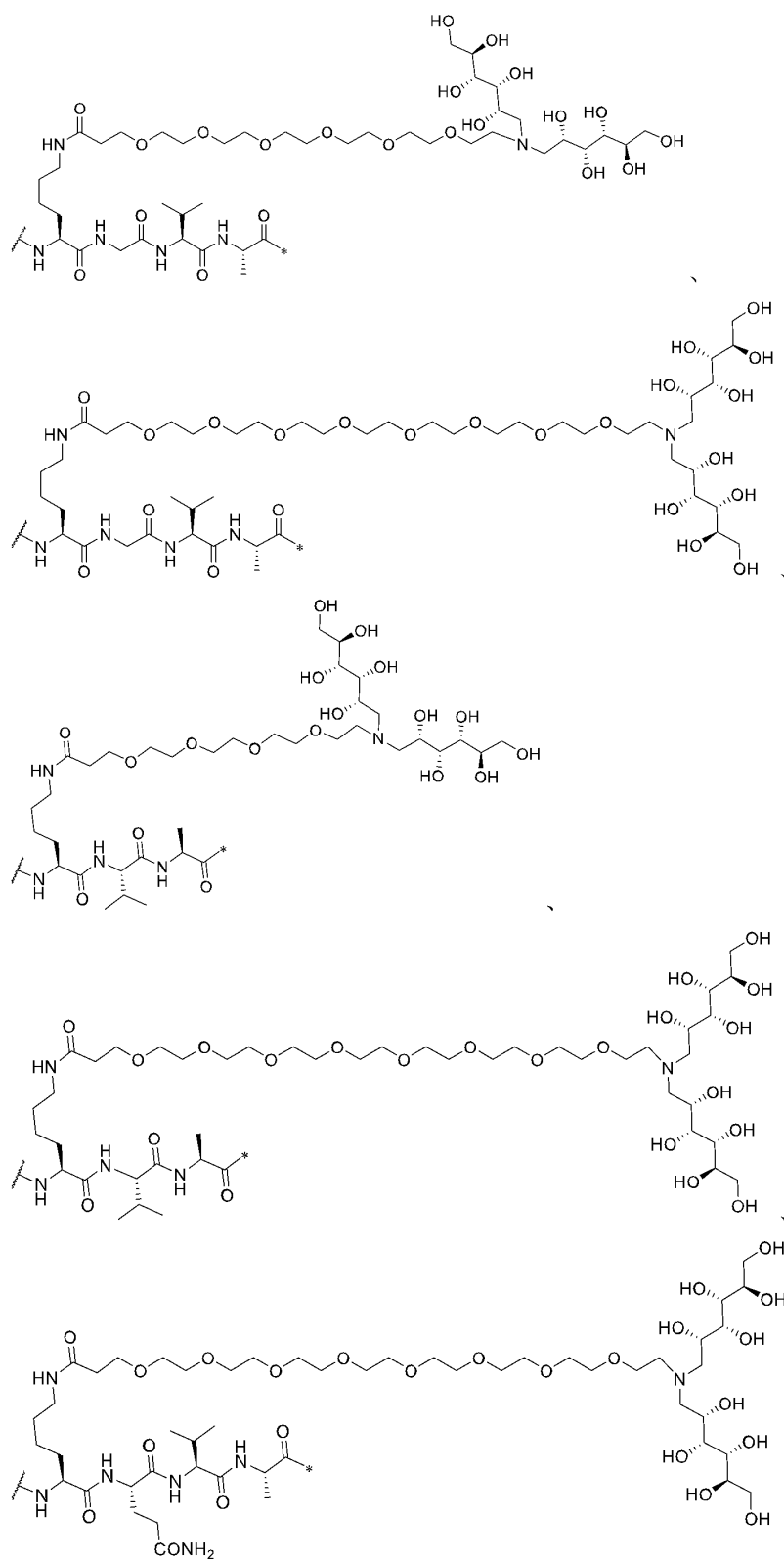
5

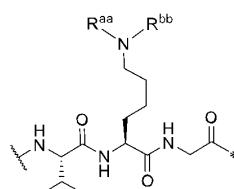
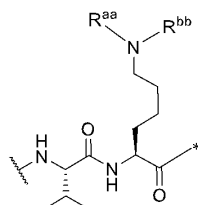
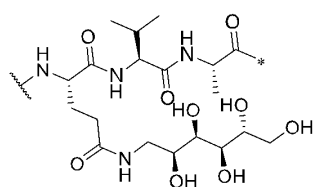
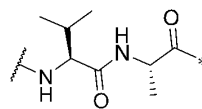
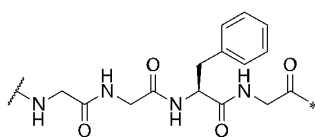
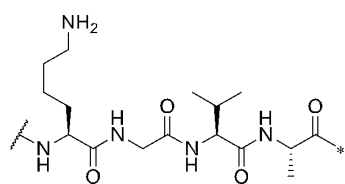
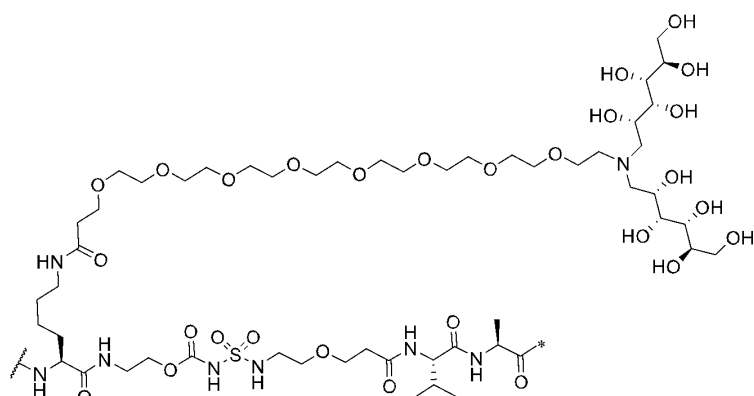
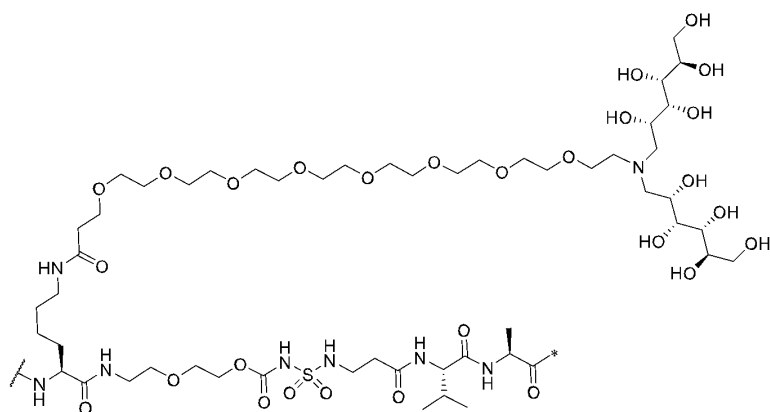
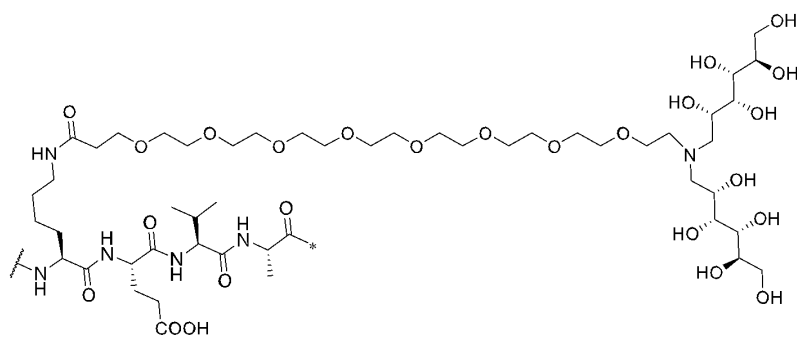
13. 根据权利要求 11 或 12 所述的通式 (A) 所示的化合物或其药学上可接受的盐, 其中,  $L_{1b}$  和  $L'_{1b}$  各自独立地为由一个或多个选自甘氨酸、苯丙氨酸、瓜氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、丙氨酸、缬氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、精氨酸、谷氨酸、赖氨酸中的氨基酸形成的氨基酸残基, 优选为由两个或多个选自甘氨酸、苯丙氨酸、瓜氨酸、缬氨酸、赖氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、天冬氨酸、亮氨酸、丙氨酸的氨基酸形成的氨基酸残基。

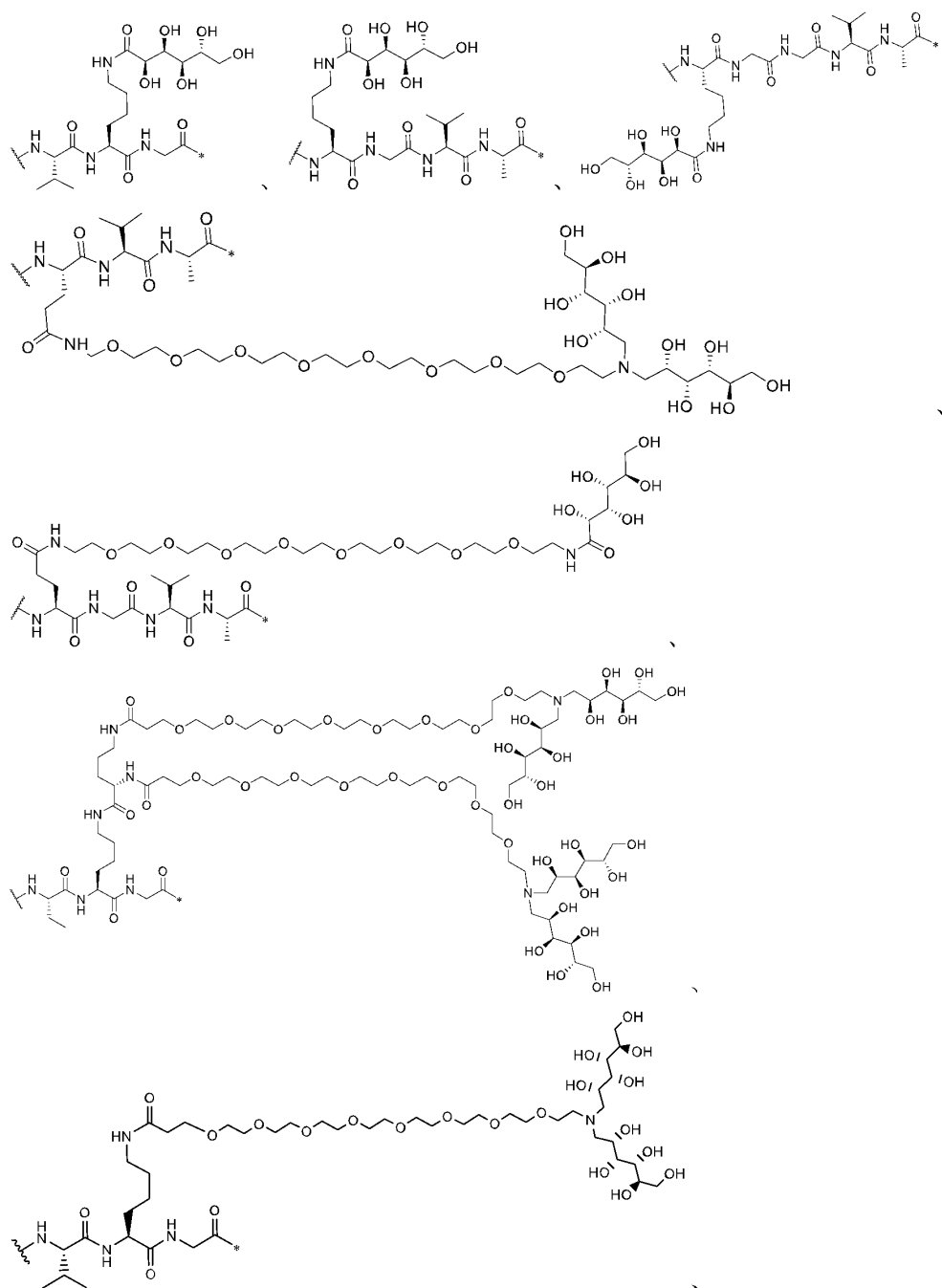
14. 根据权利要求 11 至 13 中任一项所述的通式 (A) 所示的化合物或其药学上可接受的盐, 其中,  $L_{1b}$  和  $L'_{1b}$  各自独立地选自: -Gly-\*、-Val-\*、-Gly-Phe-Gly-\*、-Phe-Gly-\*、-Gly-Val-Cit-\*、-Val-Cit-\*、-Gly-Val-Arg-\*、-Val-Arg-\*、-Gly-Val-Ala-\*、-Val-Ala-\*、-Gly-Phe-\*、-Phe-Gly-\*、-Gly-Gly-Gly-\*、Gly-Gly-\*、-Gly-Val-Gly-\*、-Gly-Ala-Gly-\*、-Gly-Phe-Cit-\*、-Gly-Phe-Val-\*、-Gly-Phe-Ala-\*、-Gly-Phe-Lys-\*、-Phe-Lys-\*、-Gly-Val-\*、-Gly-Cit-\*、-Gly-Ala-\*、-Gly-Gly-Lys-\*、Gly-Lys'-\*、-Ala-Ala-Ala-\*、-Gln-Val-Ala-\*、-Gln-Val-Cit-\*、-Asp-Val-Ala-\*、-Asp-Val-Cit-\*、-Lys-Gly-Val-Ala-\*、-Lys-Gly-Val-Cit-\*、-Lys-Gly-Gly-Val-Ala-\*、-Lys-Gly-Gly-Val-Cit-\*、Gly-Gly-Phe-Gly-\*、-Lys-Gln-Val-Cit-\*、-Lys-Gln-Val-Ala-\*、-Lys-Glu-Val-Cit-\*、-Lys-Glu-Val-ALa-\*、-Lys-Asp-Val-Cit-\*、-Lys-Asp-Val-Ala-\*、Glu-Val-Cit-\*、Glu-Val-Ala-\*、-Lys-Val-Ala-\*、-Lys-Val-Cit-\*、-Val-Lys-Gly-\*、-Val-Lys-\*、优选 -Gly-Phe-Gly-\*、-Gly-Val-Cit-\*、-Val-Cit-\*、-Gly-Val-Ala-\*、-Val-Ala-\*、-Gly-Phe-Gly-\*、-Phe-Gly-\*、-Gly-Phe-Lys-\*、-Phe-Lys-\*、-Gln-Val-Ala-\*、-Gln-Val-Cit-\*、-Asp-Val-Ala-\*、-Lys-Gly-Val-Ala-\*、-Lys-Gly-Val-Cit-\*、-Lys-Gly-Gly-Val-Ala-\*、-Lys-Gly-Gly-Val-Cit-\*、Gly-Gly-Phe-Gly-\*、-Lys-Gln-Val-Cit-\*、-Lys-Gln-Val-Ala-\*、-Lys-Glu-Val-Cit-\*、-Lys-Glu-Val-ALa-\*、-Lys-Asp-Val-Cit-\*、-Lys-Asp-Val-Ala-\*、Glu-Val-Cit-\*、Glu-Val-Ala-\*、-Lys-Val-Ala-\*、-Lys-Val-Cit-\*、-Val-Lys-Gly-\*、-Val-Lys-\*、-Asp-Val-Cit-\*; 其中\* 为与  $L_2$  连接的位置。

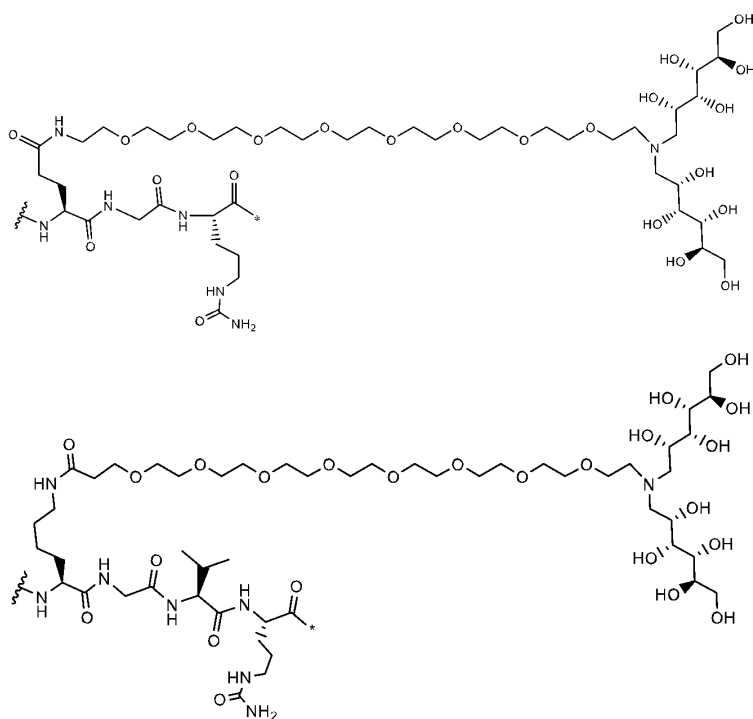
15. 根据权利要求 1 至 14 中任一项所述的通式 (A) 所示的化合物或其药学上可接受的盐, 其中,  $L_3$  选自:











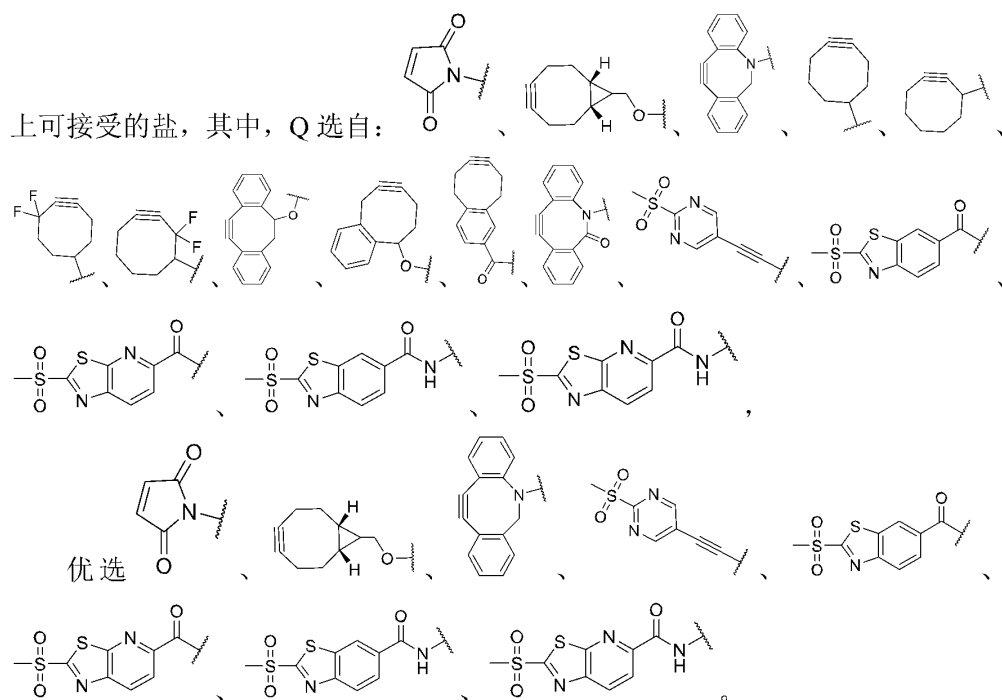
R<sup>aa</sup> 和 R<sup>bb</sup> 各自独立地选自 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基;

\*为与  $L_2$  连接的位置,

~~~~~ 为与羰基或亚甲基连接的位置。

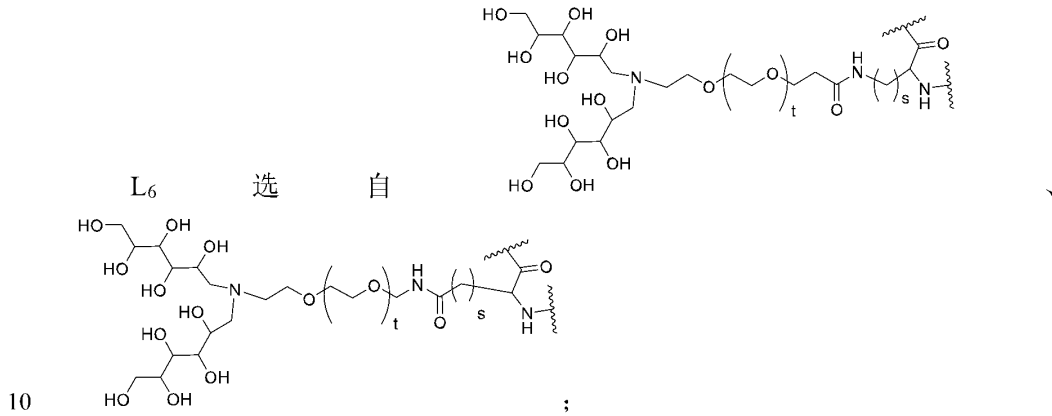
5

16. 根据权利要求 1 至 15 中任一项所述的通式 (A) 所示的化合物或其药学

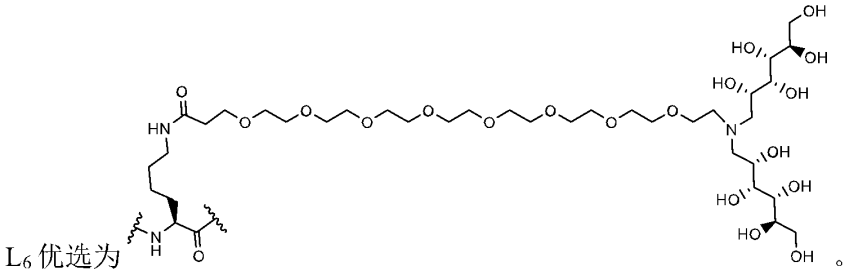


17. 根据权利要求 1 至 16 中任一项所述的通式 (A) 所示的化合物或其药
学上可接受的盐, 其中, Z_1 选自键、 $-(CH_2)_p-$ 、 $-(CH_2)_p-C(O)NH-$ 、
 $-(CH_2)_p-O-(CH_2)_p-C(O)NH-$ 、 $-(CH_2)_p-C(O)-L_6-NH-$ 、 $-(CH_2)_p-O-(CH_2)_p-C(O)-L_6-NH-$ 、
5 $-C(O)NH-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 和 $-OC(O)NH-$; p 为 1 至 10 的整数, 优选 1
至 6 的整数;

s_1 、 s_2 、 s_3 、 s_4 各自独立地为 0 至 10 的整数; 优选 0 至 6 的整数; 还优选 0 至
4 的整数, 进一步优选 0 至 2 的整数;



s 为 1 至 6 的整数; 优选 2 至 6 的整数; 更优选 2 至 4 的整数;
 t 为 0 至 10 的整数;



15 18. 根据权利要求 1 至 17 中任一项所述的通式 (A) 所示的化合物或其药
学上可接受的盐, 其中,

Z_1 选自键、 $-(CH_2)_p-$ 、 $-(CH_2)_p-C(O)NH-$ 、 $-(CH_2)_p-O-(CH_2)_p-C(O)NH-$ 、 $-C(O)NH-$ 、
20 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 和 $-OC(O)NH-$;

s_1 为 0 至 6 的整数, 优选 0 至 2 的整数;

20 s_2 为 0 至 6 的整数, 优选 0 至 2 的整数;

s_3 为 0;

s_4 为 0;

p 为 1 至 10 的整数, 优选 1 至 6 的整数。

19. 根据权利要求 1 至 17 中任一项所述的通式 (A) 所示的化合物或其药学上可接受的盐, 其中,

Z_1 选自 $-(CH_2)_p-C(O)NH-$ 、 $-(CH_2)_p-O-(CH_2)_p-C(O)NH-$ 、 $-C(O)NH-$;

s_1 为 1 至 6 的整数, 优选 2 至 6 的整数;

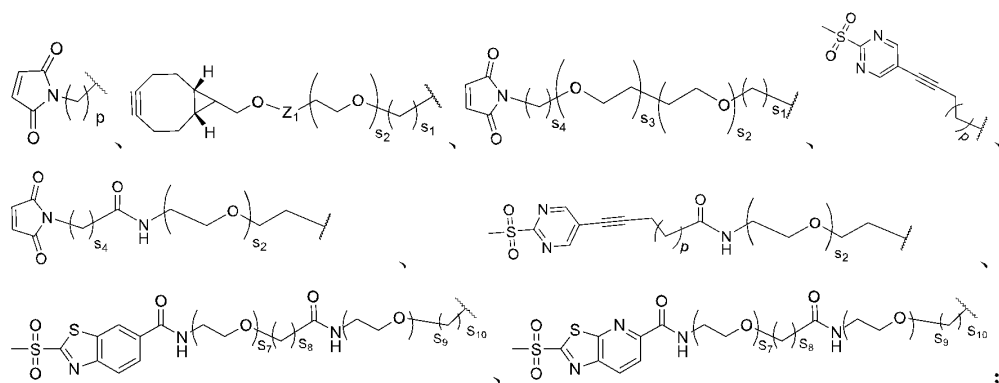
5 s_2 为 1 至 10 的整数, 优选 2 至 10 的整数;

s_3 为 0;

s_4 为 0;

p 为 1 至 10 的整数, 优选 1 至 6 的整数。

10 20. 根据权利要求 1 至 19 中任一项所述的通式 (A) 所示的化合物或其药学上可接受的盐, 其中, Q-L₄-选自:



15 其中:

Z_1 选自 $-C(O)NH-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 和 $-OC(O)NH-$, 优选 $-C(O)NH-$;

p 为 1 至 10 的整数, 优选 1 至 6 的整数;

s_1 为 0 至 6 的整数, 优选 0 至 2 的整数;

s_2 为 1 至 10 的整数, 优选 1 至 8 的整数;

20 s_3 为 0 至 6 的整数, 优选 0 至 2 的整数;

s_4 为 1 至 6 的整数, 优选 1 至 2 的整数;

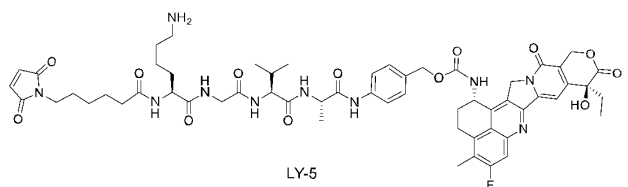
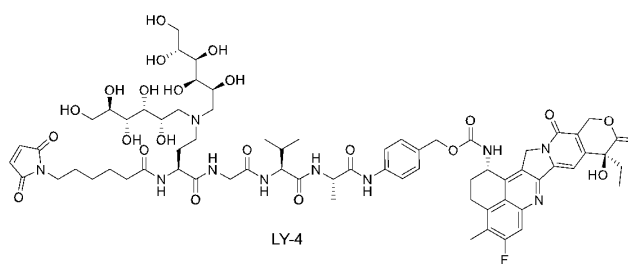
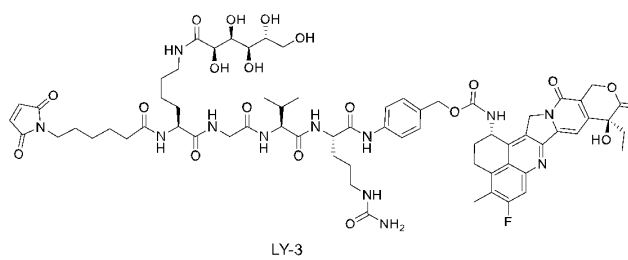
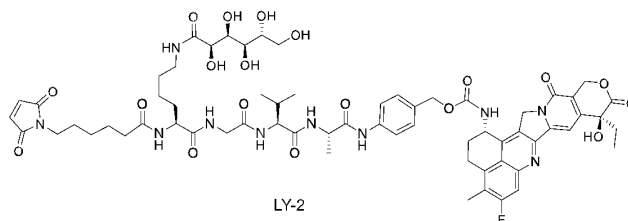
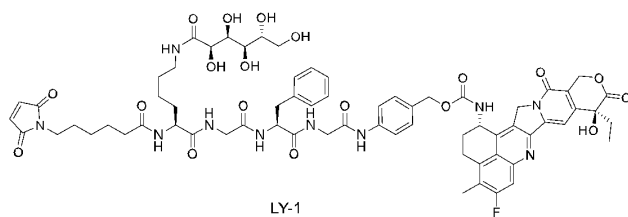
s_7 为 0 至 6 的整数, 优选 1 至 2 的整数;

s_8 为 1 至 4 的整数, 优选 1 至 2 的整数;

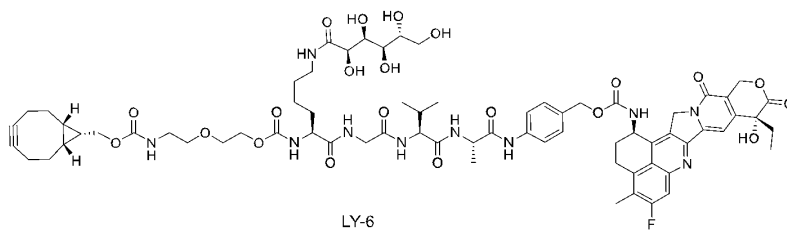
s_9 为 1 至 10 的整数, 优选 1 至 8 的整数;

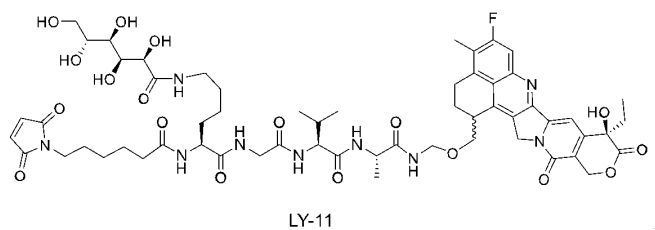
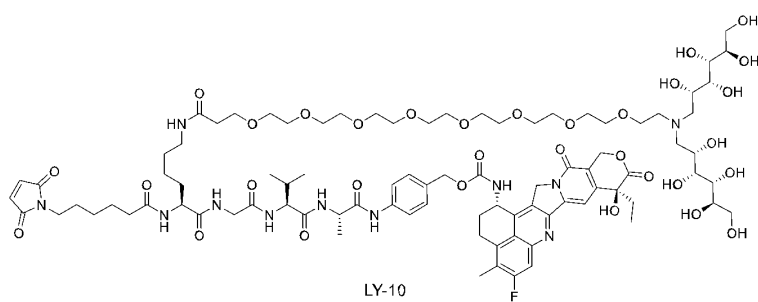
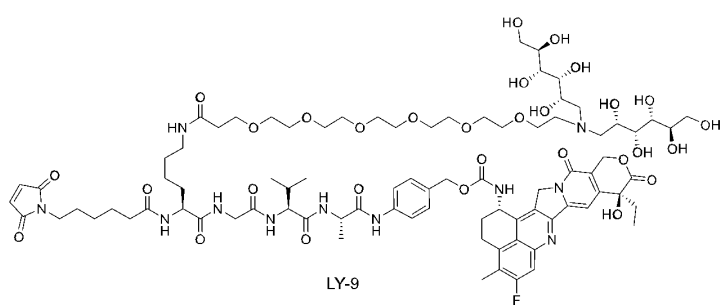
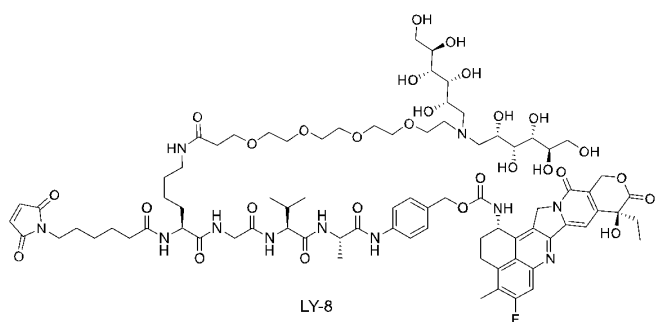
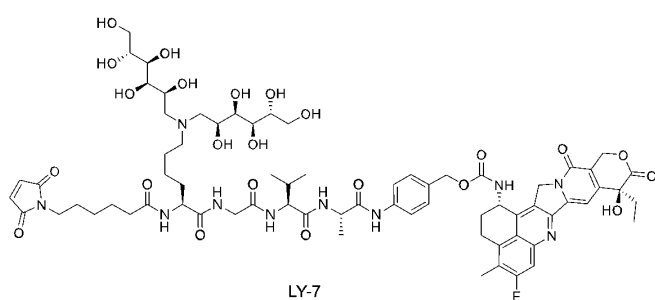
25 s_{10} 为 1 至 4 的整数, 优选 1 至 2 的整数。

21. 根据权利要求 1 至 20 中任一项所述的通式 (A) 所示的化合物或其药学上可接受的盐, 其中所述化合物选自:

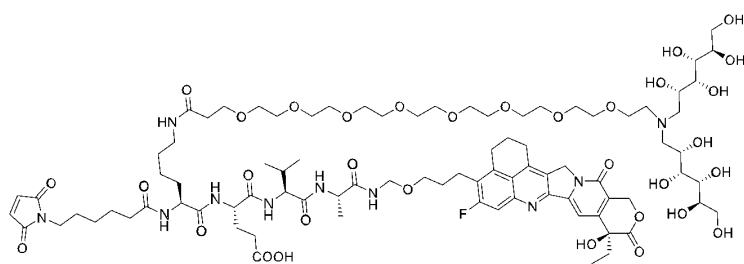


5

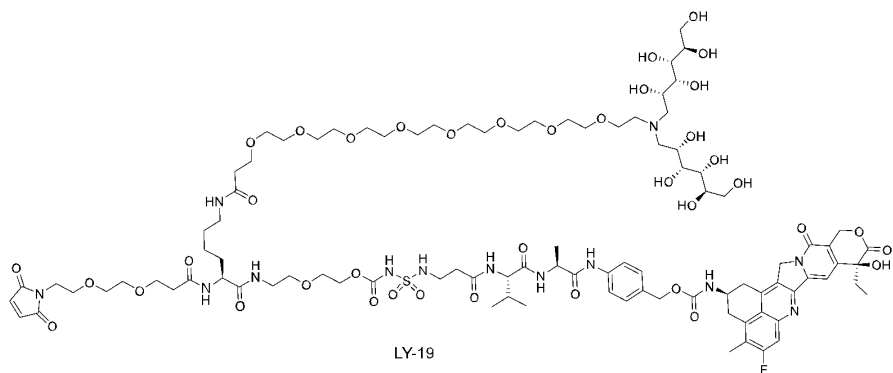




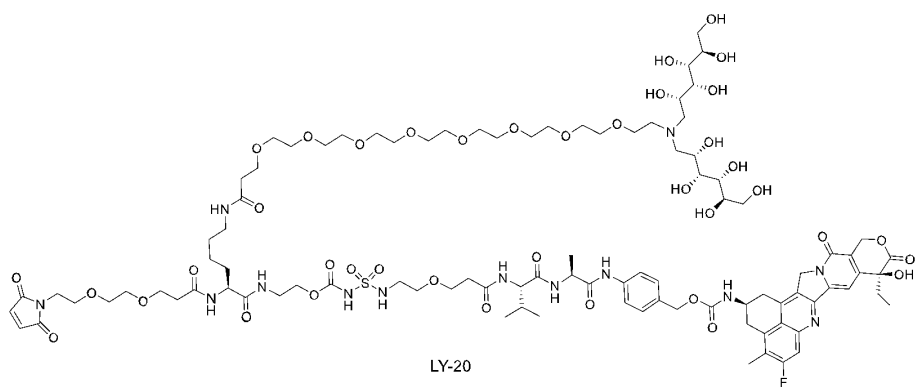
[illegible][illegible][illegible]CC1=C(C(=O)O)OC(=O)c2cnc3c4ccccc4c(F)c5ccccc35n2C1OCCNC(=O)[C@H](C)NC(=O)[C@@H](C)NC(=O)CCNC(=O)CCCCC1=CC=CC=C1[illegible]



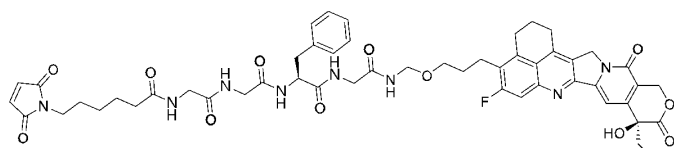
LY-18D



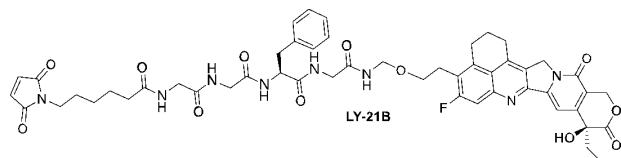
LY-19



LY-20

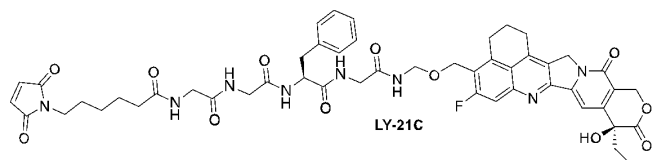


LY-21

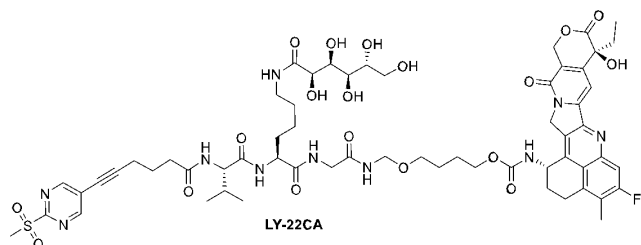
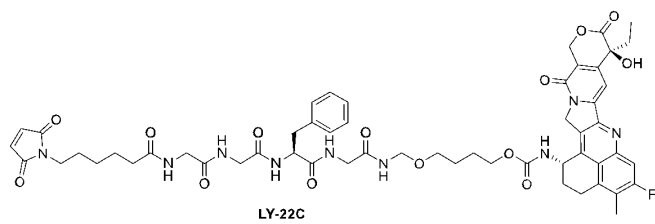
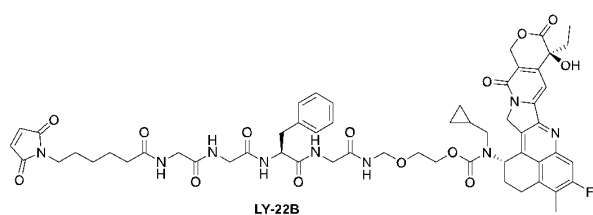
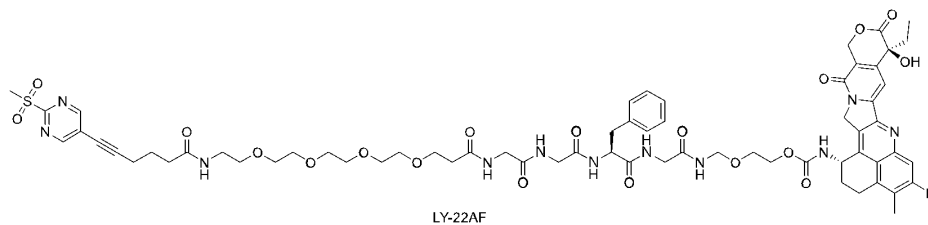
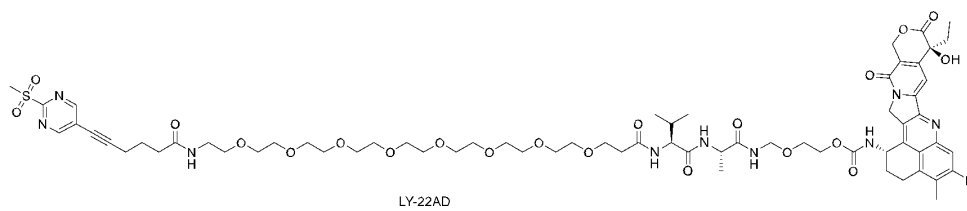
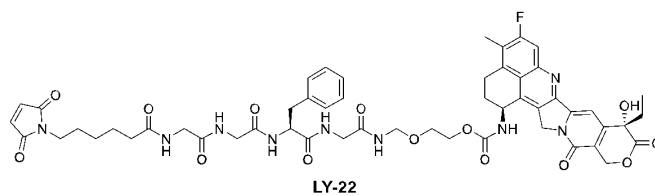
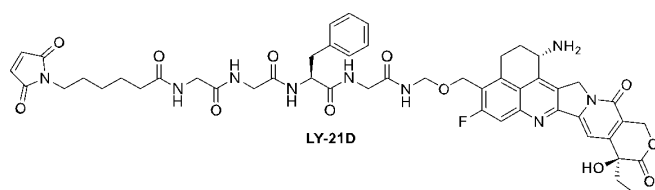


LY-21B

5



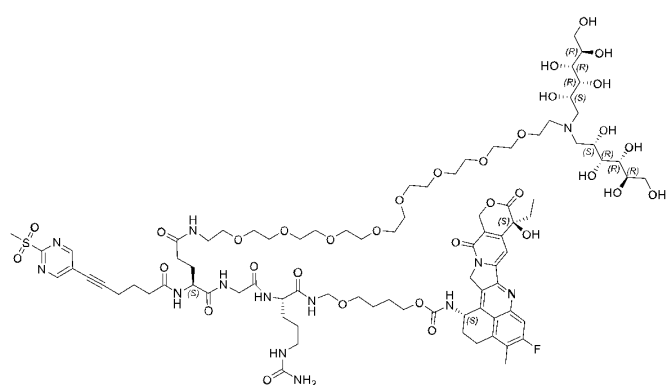
LY-21C



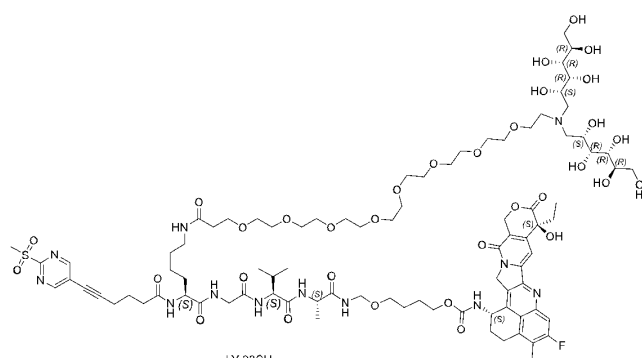


LY-22CE

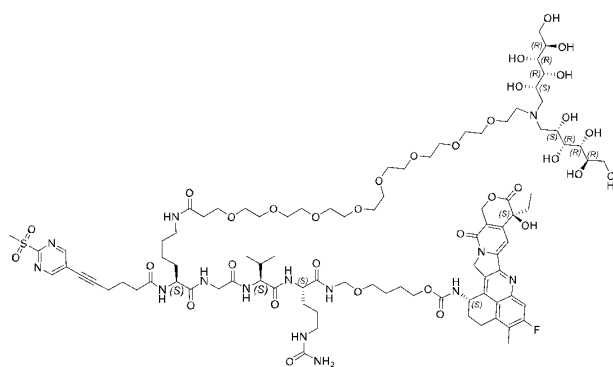




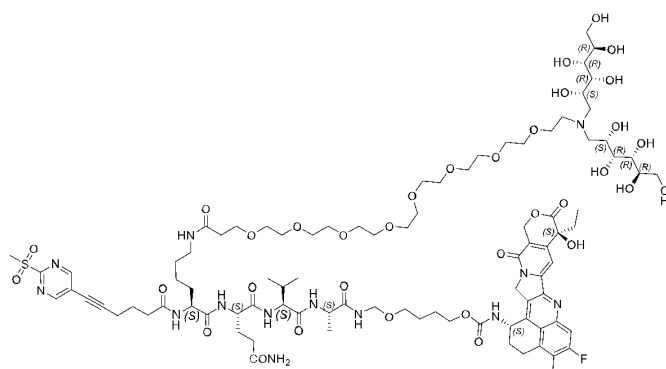
LY-22CG



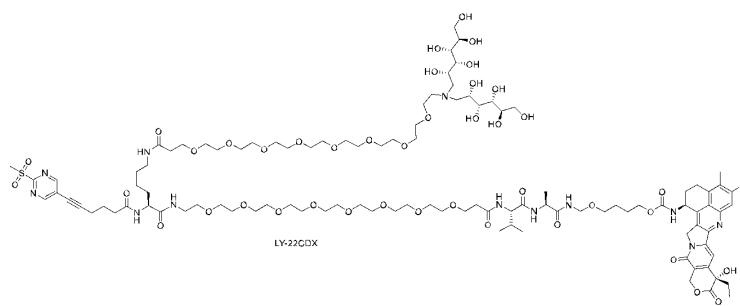
LY-22CH



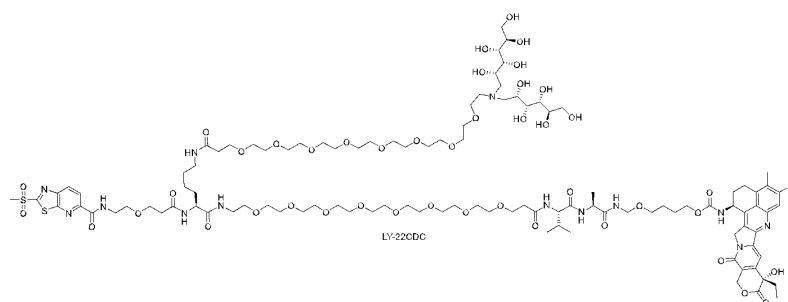
LY-22CI



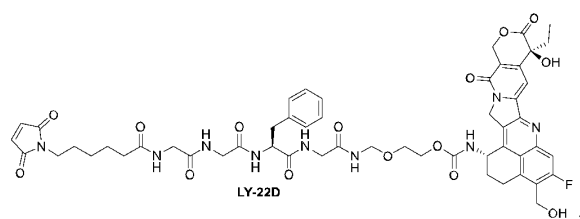
LY-22CJ



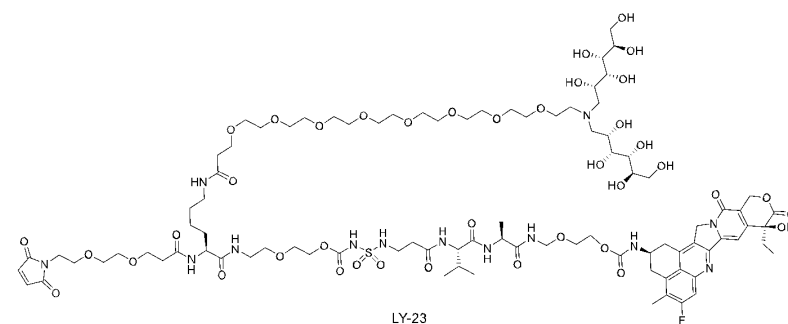
LY-22CDX



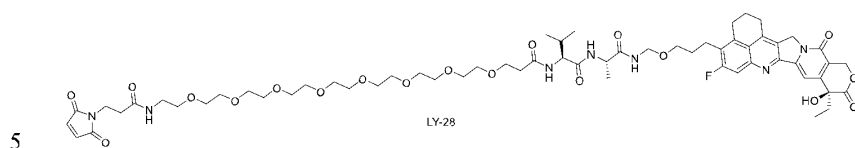
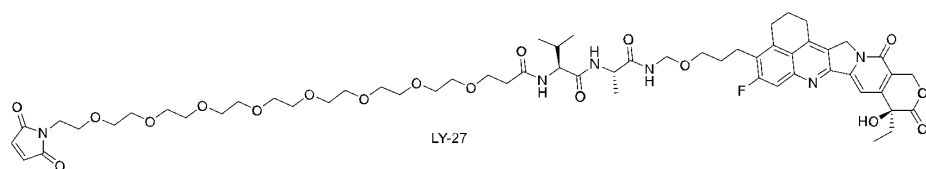
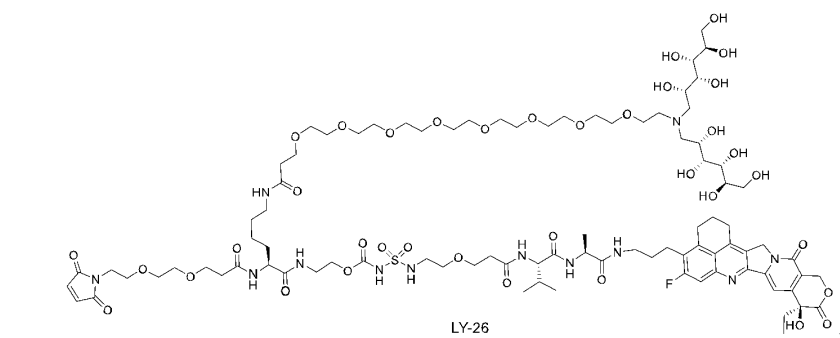
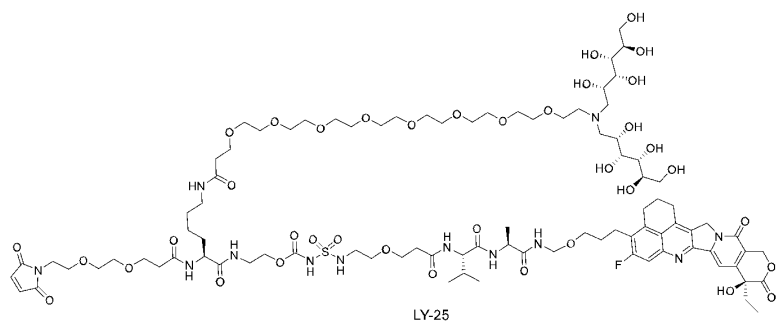
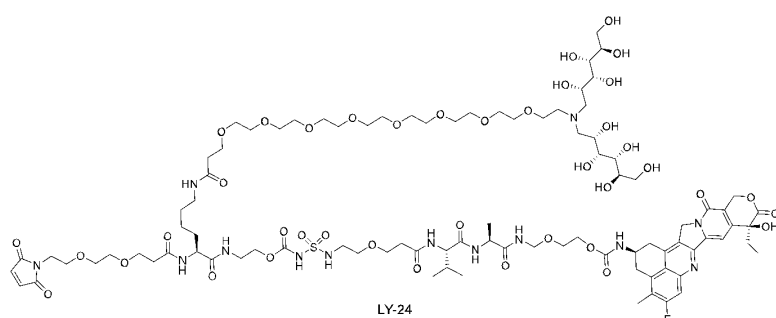
LY-22CDC



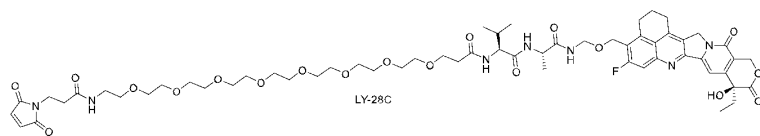
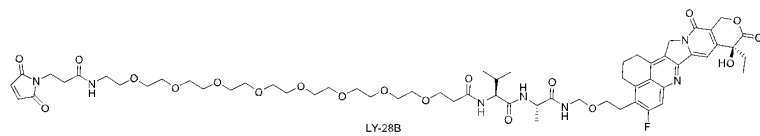
LY-22D

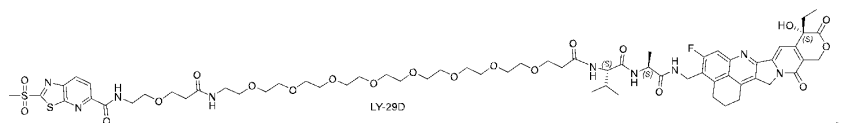
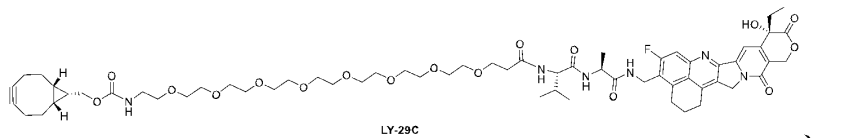
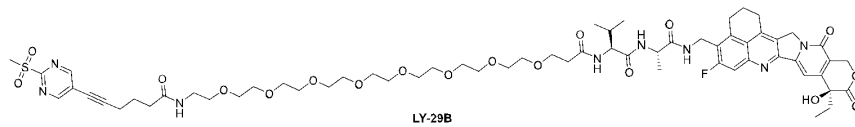
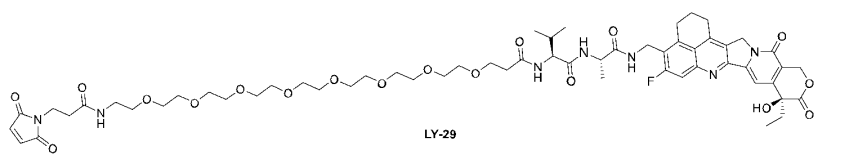


LY-23

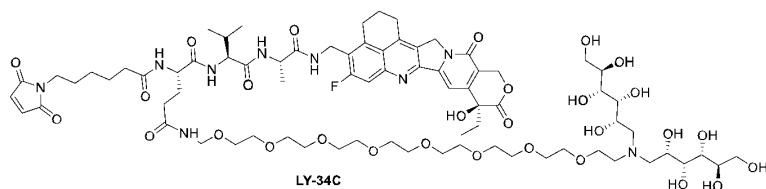
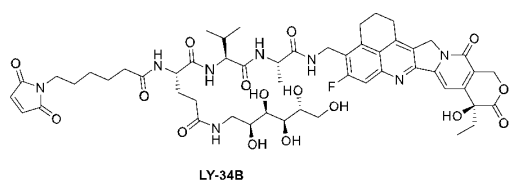
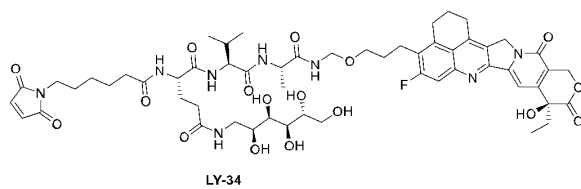
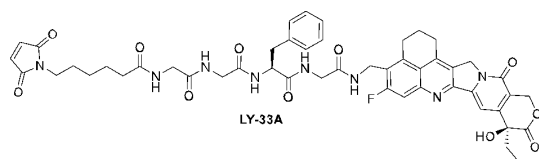
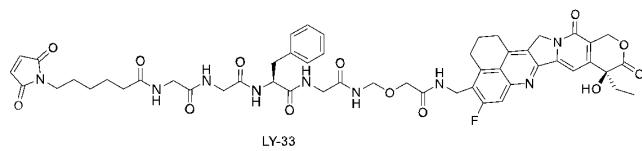


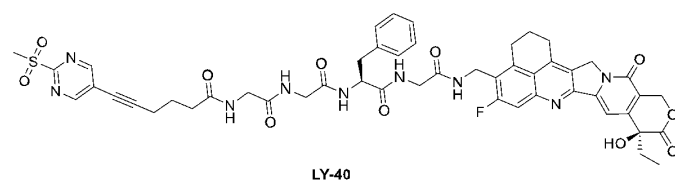
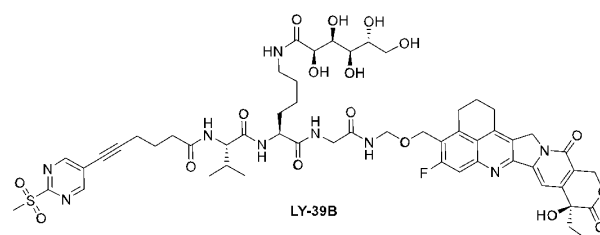
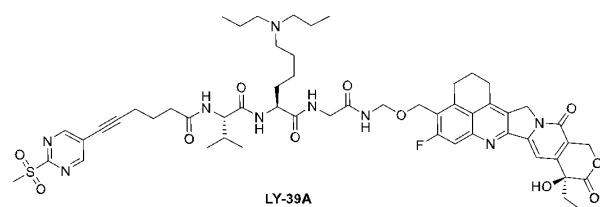
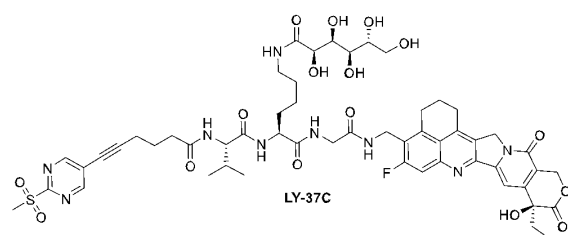
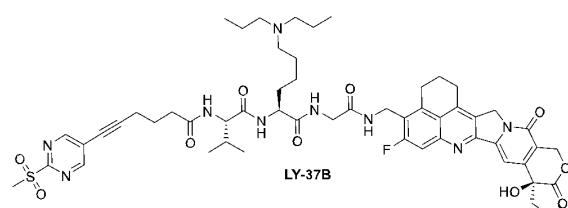
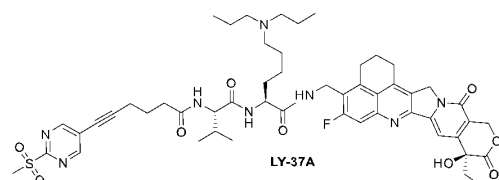
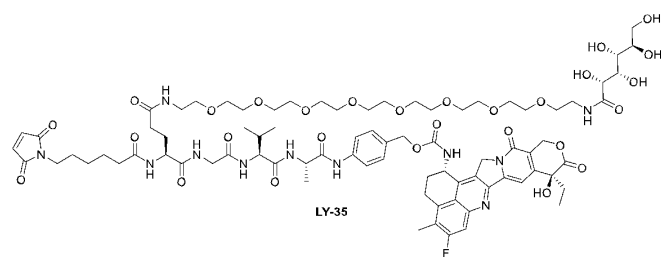
5

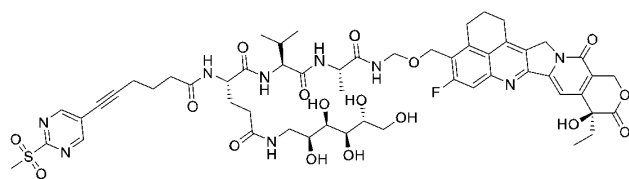




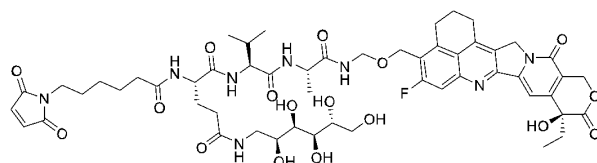
5



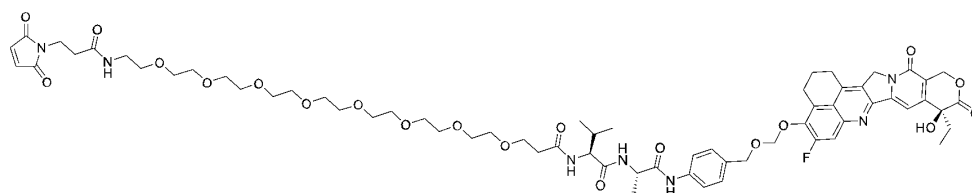




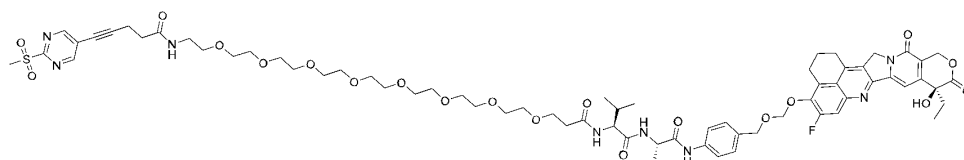
LY-41



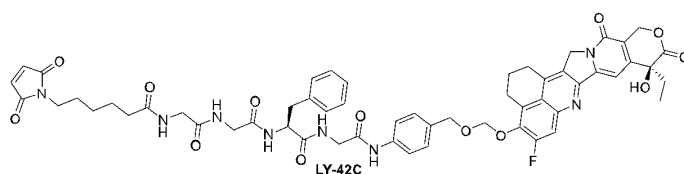
LY-41B



LY-42A

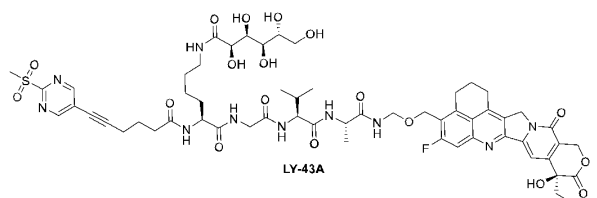


LY-42B

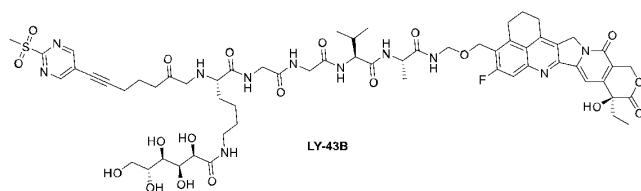


LY-42C

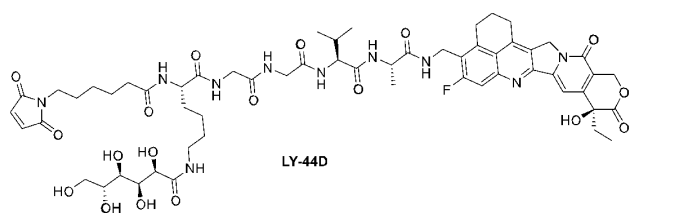
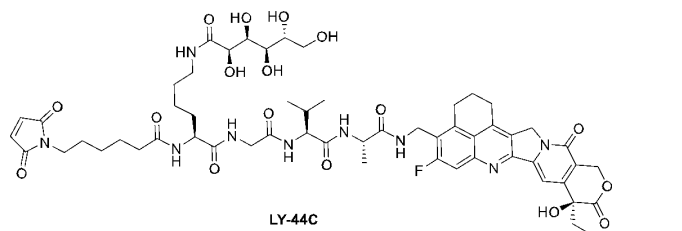
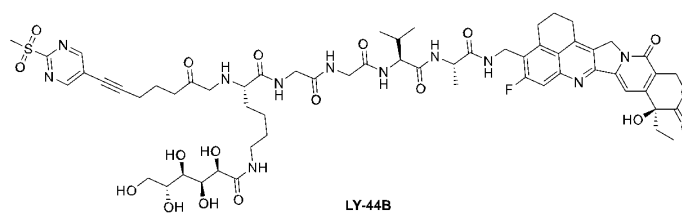
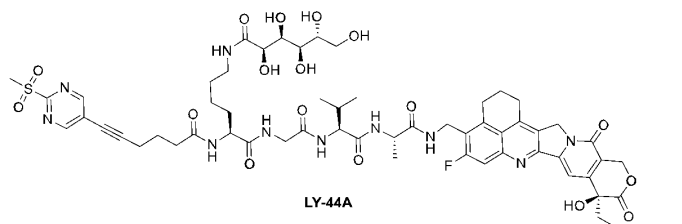
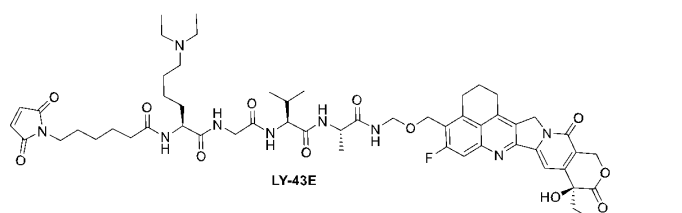
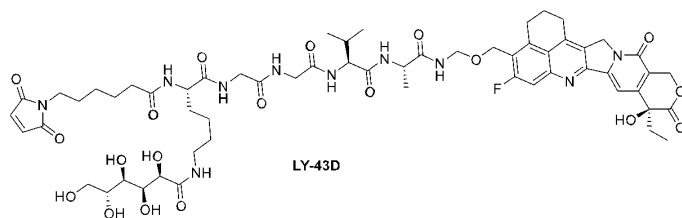
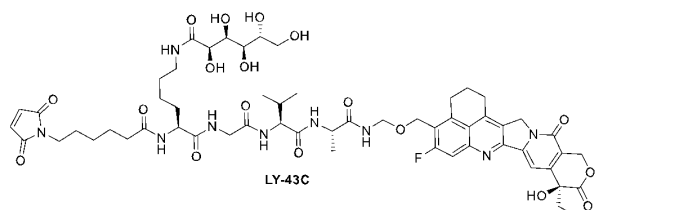
5

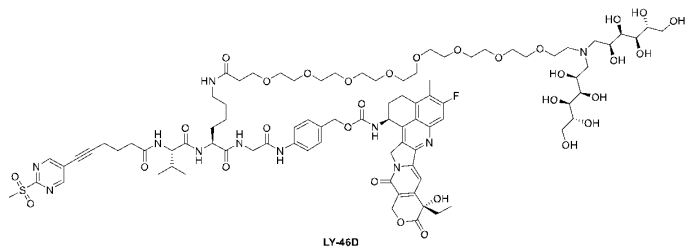
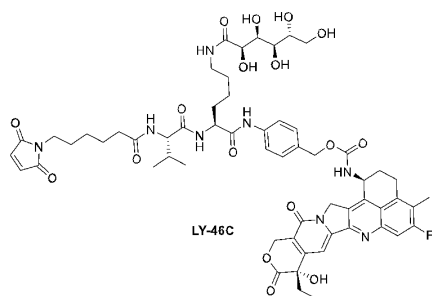
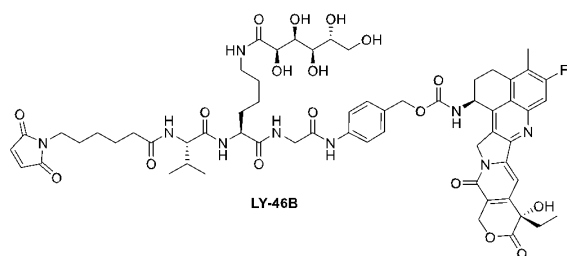
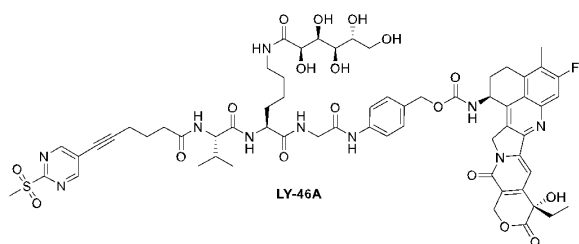
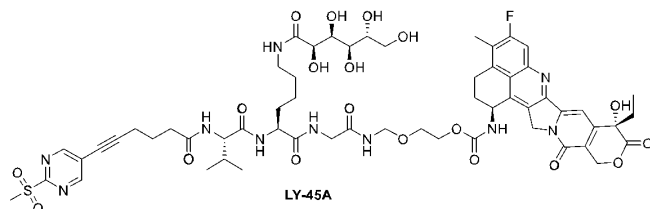
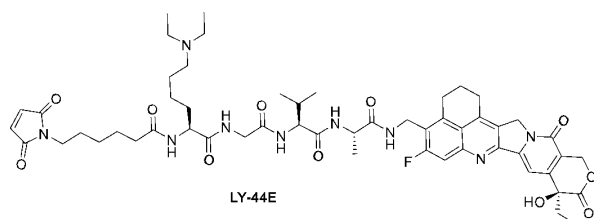


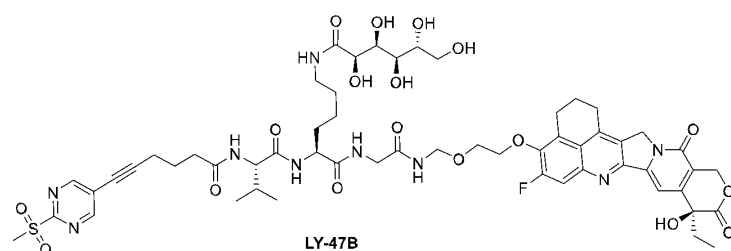
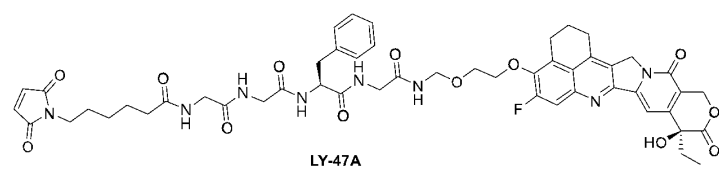
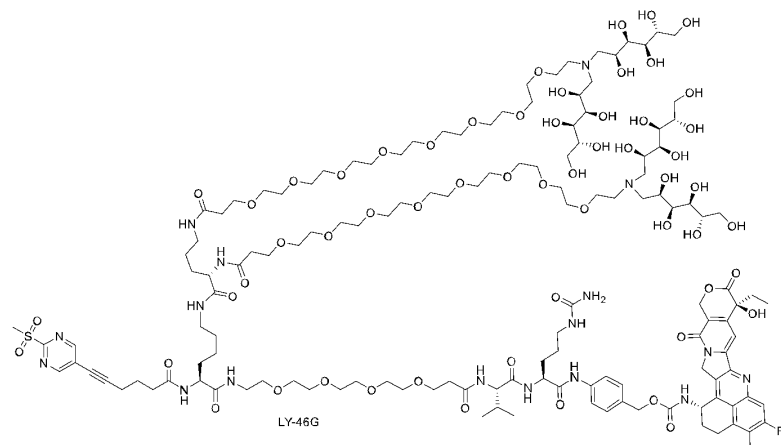
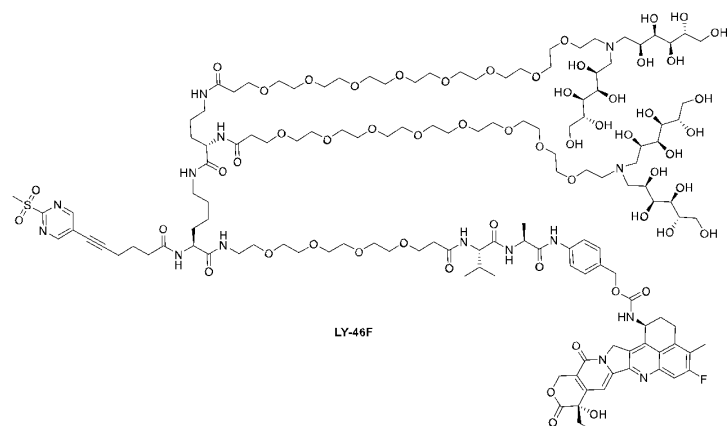
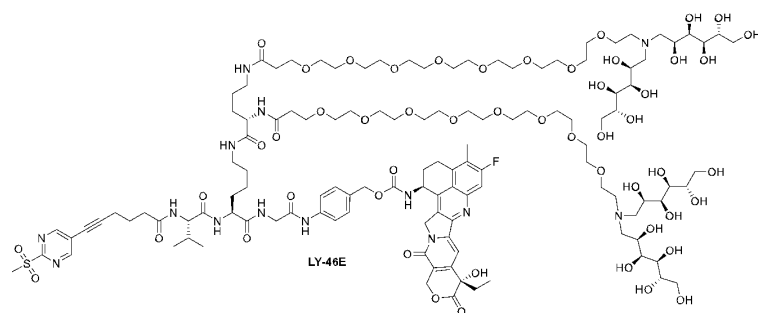
LY-43A

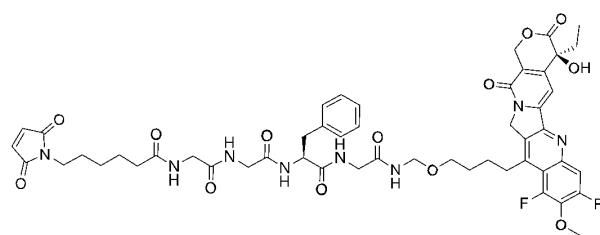
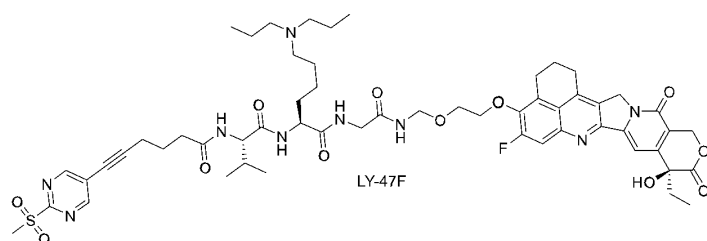
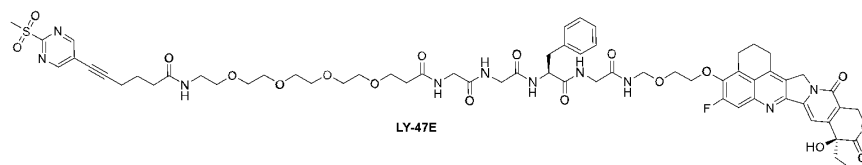
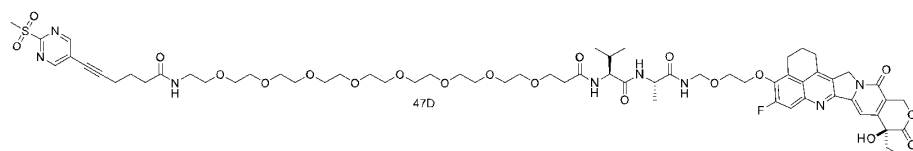
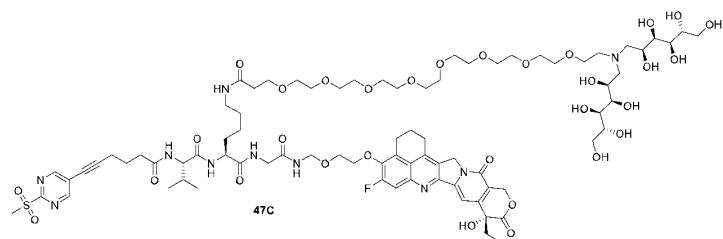


LY-43B

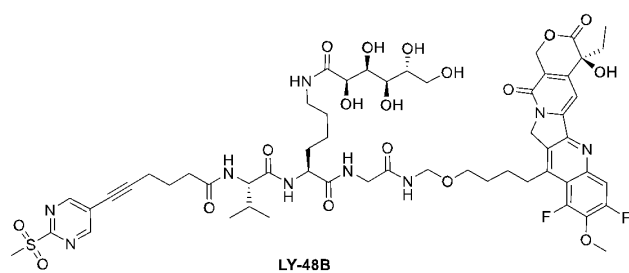


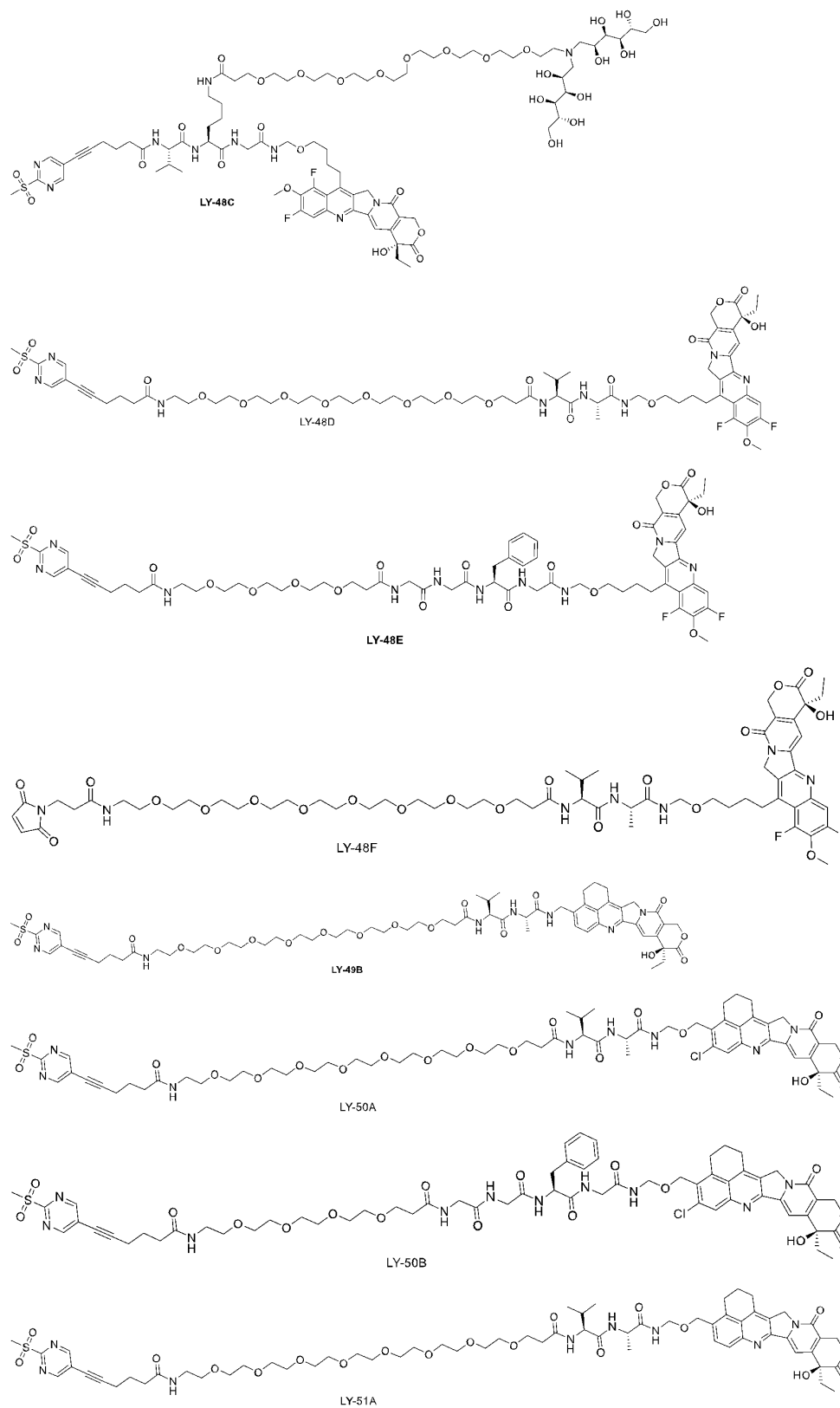


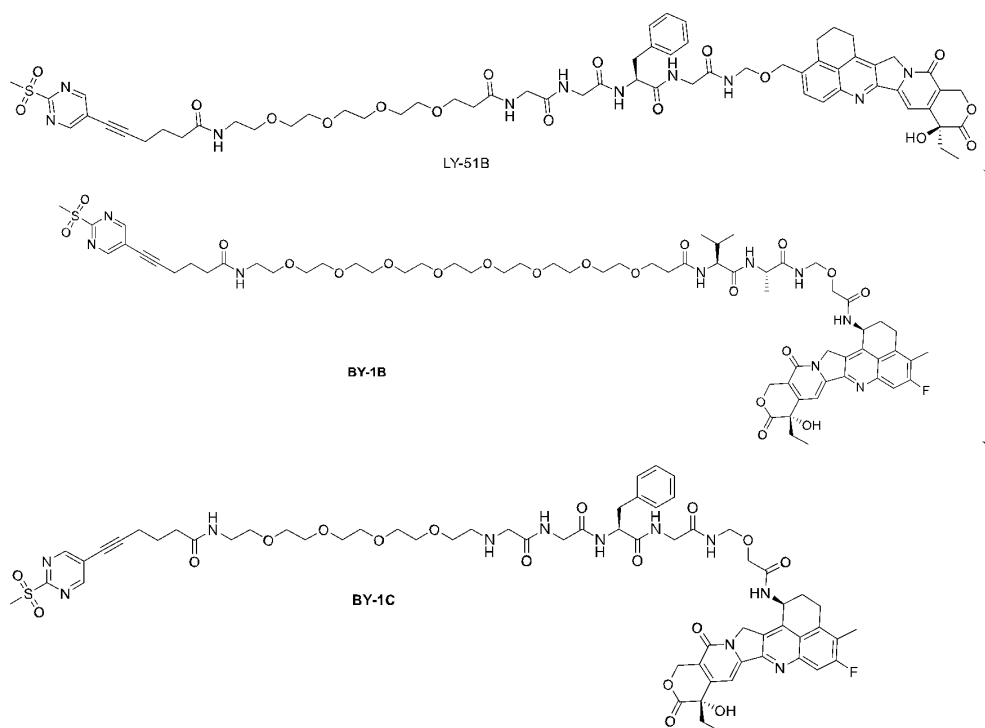




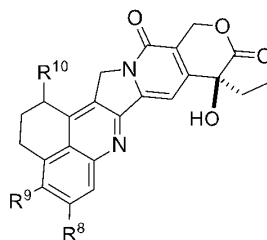
5







22. 一种通式 (I) 所示的化合物或其立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐，



(I)

其中，

- R^8 选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基，所述烷基、烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自卤素的一个或多个基团取代；优选卤素；
- R^9 选自氢、卤素、羟基、羧基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基、环烷基、
 $-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、
 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)-NR^dR^e$ 、
 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、
 $-NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-O-(CH_2)_m-OH$ 、 $-O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-OH$ 、
 $-NR^bC(=O)O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-OH$ 、

$-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、
 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、
 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-G-(CH_2)_n-OH$ ，所述烷基、烷氧基、烯基、炔基、环烷基任选进一步被选自氘、卤素、氨基、烷基、羟基的一个或多个基团取代；优选，羟基、C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烷氧基、C₃-C₆ 环烷基、 $-NR^dR^e$ 、
 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-OH$ 、
 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-OH$ 、 $-O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、
 $-O-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-G-(CH_2)_n-OH$ ；上述 $-(CH_2)_m$ -任选被一个或多个氘或卤素取代；

10 G 选自亚环烷基、亚杂环基、亚杂芳基、亚芳基；

R^{10} 选自氢、卤素、羟基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基、 $CH_2=$ 、 $-NR^dR^e$ 、
 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、
 $-(CH_2)_m-C(=O)OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、
 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、 $-NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、
 $-NR^f-C(=O)R^d$ 、 $-NR^f-C(=O)-(CH_2)_m-R^d$ 、 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-R^d$ 、 $-O-(CH_2)_m-OH$ 、
 $-O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-OH$ 、 $-NR^fC(=O)NR^d-(CH_2)_m-OH$ 、
 $-NR^fC(=O)NR^d-(CH_2)_m-O-(CH_2)_n-OH$ 、 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-O-(CH_2)_n-OH$ 、
 $-NR^fC(=O)NR^d-(CH_2)_m-O-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-O-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、
 $-NR^fC(=O)NR^d-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、
 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、
 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、
 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-OH$ ，所述烷基、烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自卤素的一个或多个基团取代；优选，氢、羟基、氨基、
 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)OH$ 、
 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、 $-NR^f-C(=O)R^d$ 、
 $-NR^f-C(=O)-(CH_2)_m-R^d$ 、 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-R^d$ 、 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-OH$ 、
 $-NR^fC(=O)NR^d-(CH_2)_m-OH$ 、 $-NR^fC(=O)NR^d-(CH_2)_m-O-(CH_2)_n-OH$ 、
 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-O-(CH_2)_n-OH$ 、 $-NR^fC(=O)NR^d-(CH_2)_m-O-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、
 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-O-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-NR^fC(=O)NR^d-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、
 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ ；

30 R^d 和 R^e 各自独立地选自氢、C₁-C₆ 烷基；

R^f 选自氢、C₁-C₆ 烷基、 $-C(O)R^e$ 、 $-S(O)R^e$ 、 $-S(O)_2R^e$ ，所述 C₁-C₆ 烷基任选进一步被 C₃-C₆ 环烷基所取代；其中 R^e 选自氢、羟基、C₁-C₆ 烷基；

m 为 1 至 6 的整数；

35 n 为 1 至 6 的整数。

23. 根据权利要求 22 所述的通式 (I) 所示的化合物或其立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐，

其中， R^9 选自氢、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、羟基、羧基、 $-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OH$ 、
5 $-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、
 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-OH$ 、 $-O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-O-(CH_2)_m-OH$ ；

R^d 和 R^e 各自独立地选自氢、 C_1-C_6 烷基；

R^f 选自氢、 C_1-C_6 烷基；

m 为 1 至 6 的整数；

10 n 为 1 至 4 的整数，优选 1 或 2。

24. 根据权利要求 22 或 23 所述的通式 (I) 所示的化合物或其立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐，

15 其中， R^{10} 选自氢、羟基、氨基、 $CH_2=$ 、 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、
 $-(CH_2)_m-C(=O)OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、 $-NR^f-C(=O)R^d$ 、
 $-NR^f-C(=O)-(CH_2)_m-R^d$ 、 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-R^d$ 、 $-NR^f-C(=O)-(CH_2)_m-OH$ 、
 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-OH$ ；

R^d 和 R^e 各自独立地选自氢、 C_1-C_6 烷基；

20 R^f 选自氢、 C_1-C_6 烷基、 $-C(O)R^e$ 、 $-S(O)R^e$ 、 $-S(O)_2R^e$ ，所述 C_1-C_6 烷基任选进一步被 C_3-C_6 环烷基所取代；其中 R^e 选自氢、羟基、 C_1-C_6 烷基；

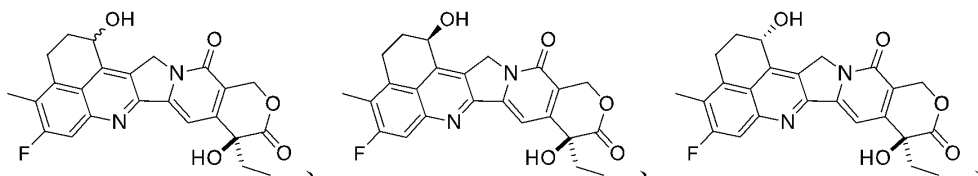
m 为 1 至 6 的整数；优选 1 至 4 或 4 至 6 的整数；

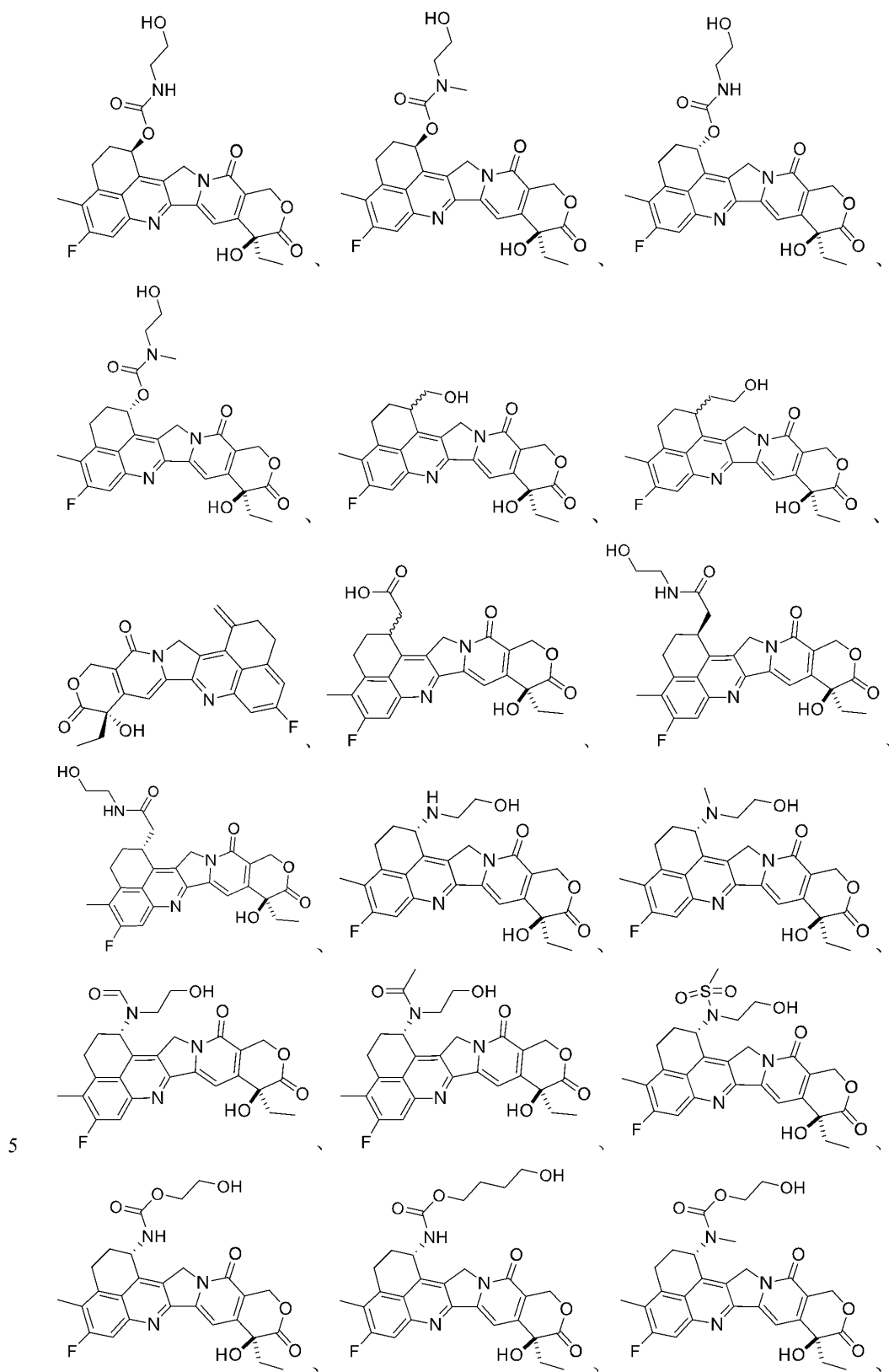
n 为 1 至 4 的整数，优选 1 或 2。

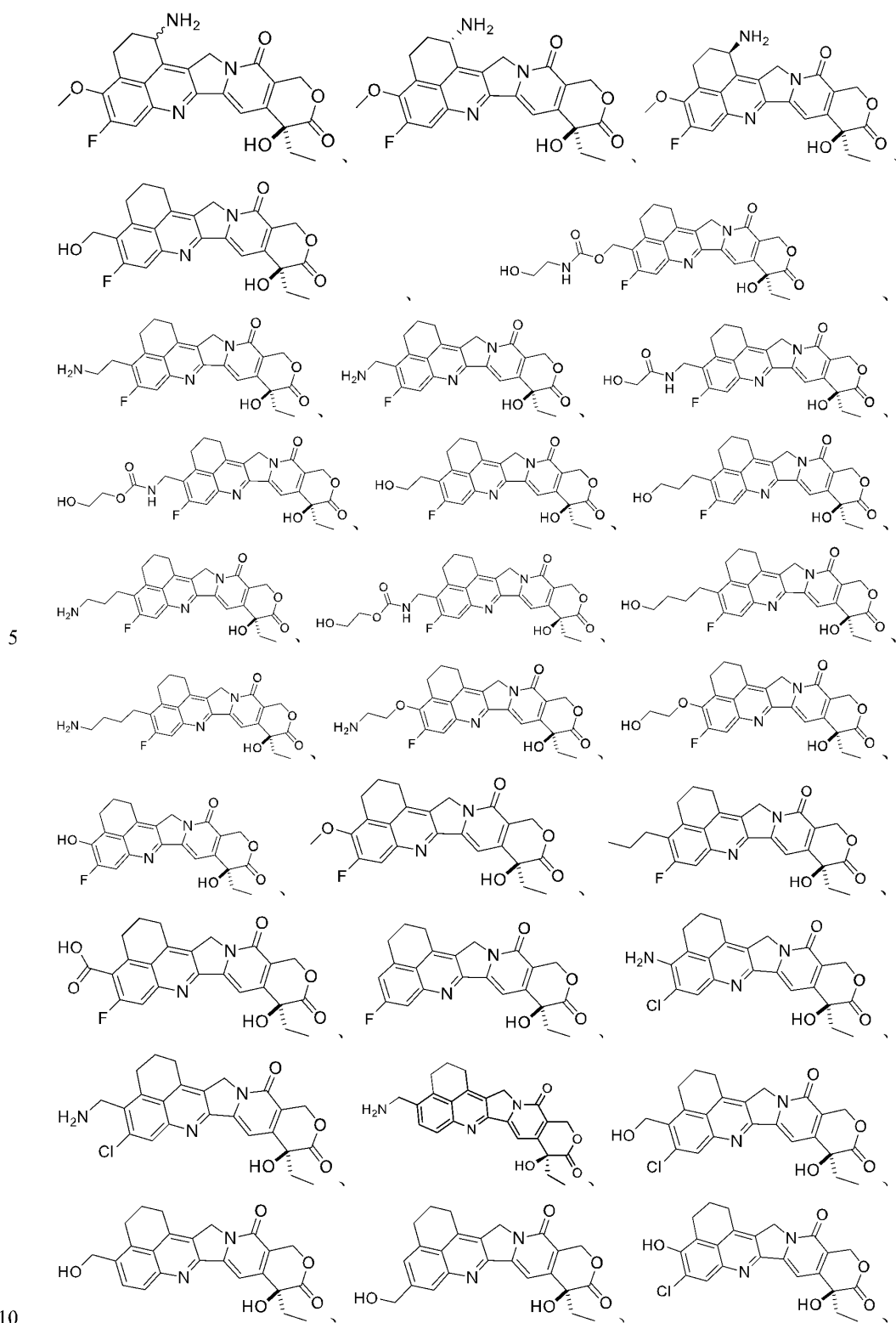
25. 根据权利要求 22 至 24 中任一项所述的通式 (I) 所示的化合物或其立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐，

其中， R^8 选自卤素。

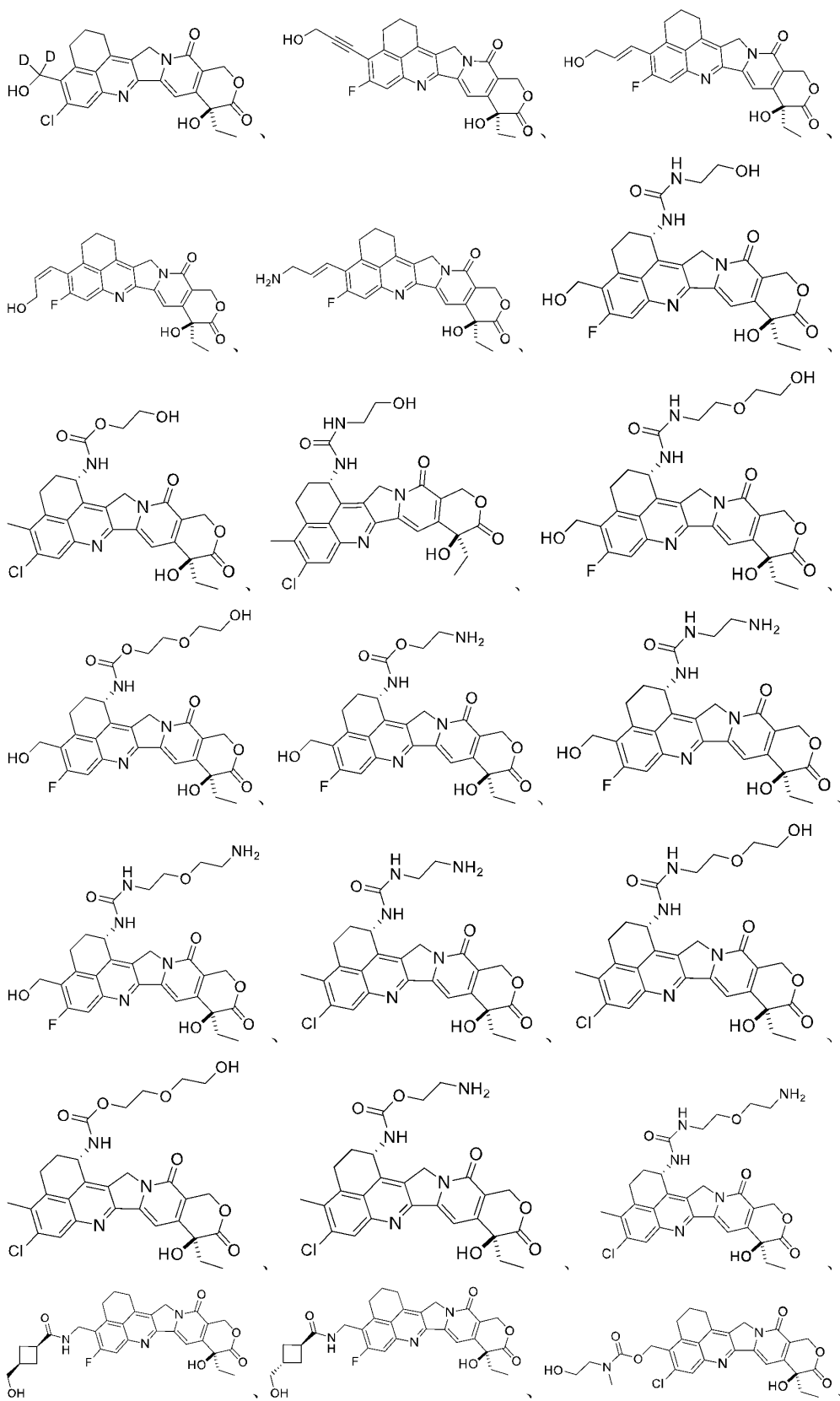
30 26. 根据权利要求 22 至 25 中任一项所述的通式 (I) 所示的化合物或其立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐，其选自：

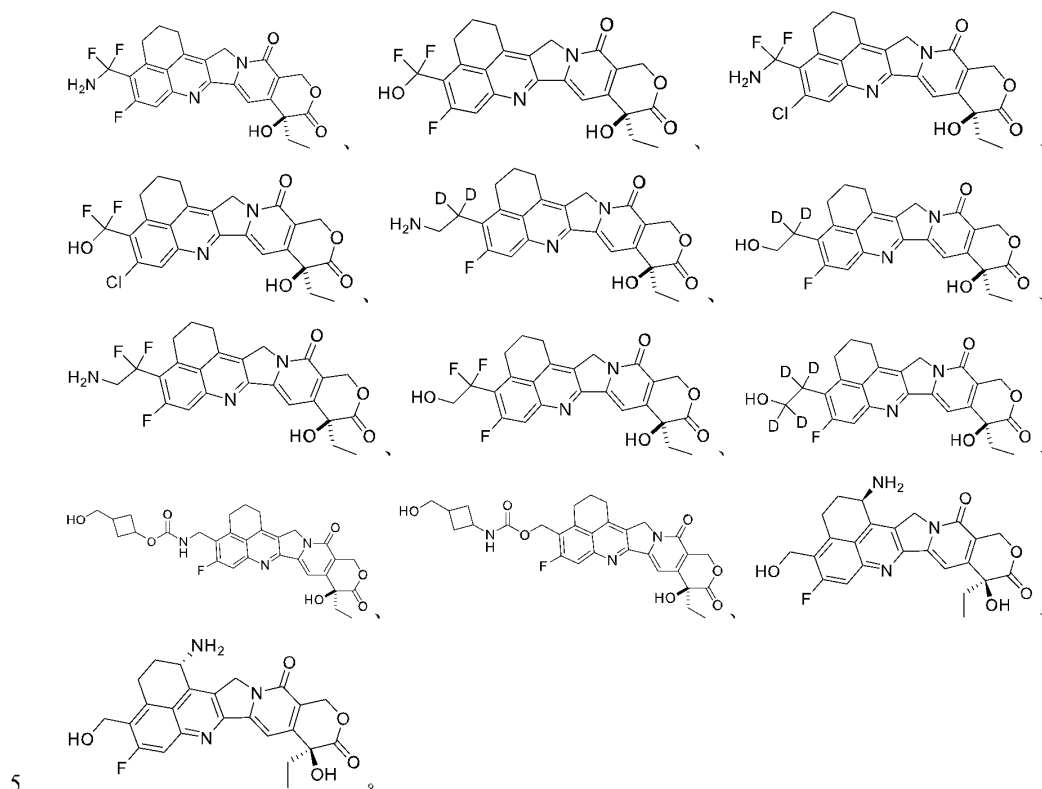




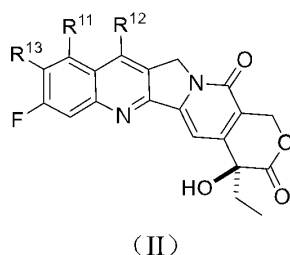








27. 一种通式 (II) 所示的化合物或其立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐，



其中，

R^{11} 选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基，所述烷基、烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自卤素的一个或多个基团取代；优选卤素、氰基；

15 R^{12} 选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基、 $-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、 $-NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-O-(CH_2)_m-OH$ 、 $-O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-OH$ 、
20 $-NR^bC(=O)O-(CH_2)_m-NR^a-$ 、 $-(CH_2)_m-NR^bC(=O)O-(CH_2)_n-O-$ 、

$-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、
 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、
 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-OH$ ，所述烷基、烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自
 5 卤素的一个或多个基团取代；优选，羟基、氨基、C₁-C₆ 烷基、 $-(CH_2)_m-OH$ 、
 $-(CH_2)_m-NR^dR^e$ ；

R^{13} 选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基、 $-NR^dR^e$ 、
 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、
 $-(CH_2)_m-C(=O)OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、
 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、 $-NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、
 10 $-O-(CH_2)_m-OH$ 、 $-O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-OH$ 、
 $-NR^bC(=O)O-(CH_2)_m-NR^a*$ 、 $-(CH_2)_m-NR^bC(=O)O-(CH_2)_n-O*$ 、
 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、
 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、
 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-OH$ ，所述烷基、烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自
 15 卤素的一个或多个基团取代；优选，羟基、氨基；

R^d 和 R^e 各自独立地选自氢、C₁-C₆ 烷基；

R^f 选自氢、C₁-C₆ 烷基、 $-C(O)R^e$ 、 $-S(O)R^e$ 、 $-S(O)_2R^e$ ，其中 R^e 选自氢、羟基、
 C₁-C₆ 烷基；

m 为 1 至 6 的整数；

20 n 为 1 至 6 的整数。

28. 根据权利要求 27 所述的通式 (II) 所示的化合物或其立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐，其中 R^{11} 选自卤素、氰基。

25

29. 根据权利要求 27 所述的通式 (II) 所示的化合物或其立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐，其中 R^{12} 选自 C₁-C₆ 烷基、 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^dR^e$ ；

R^d 和 R^e 各自独立地选自氢、C₁-C₆ 烷基；

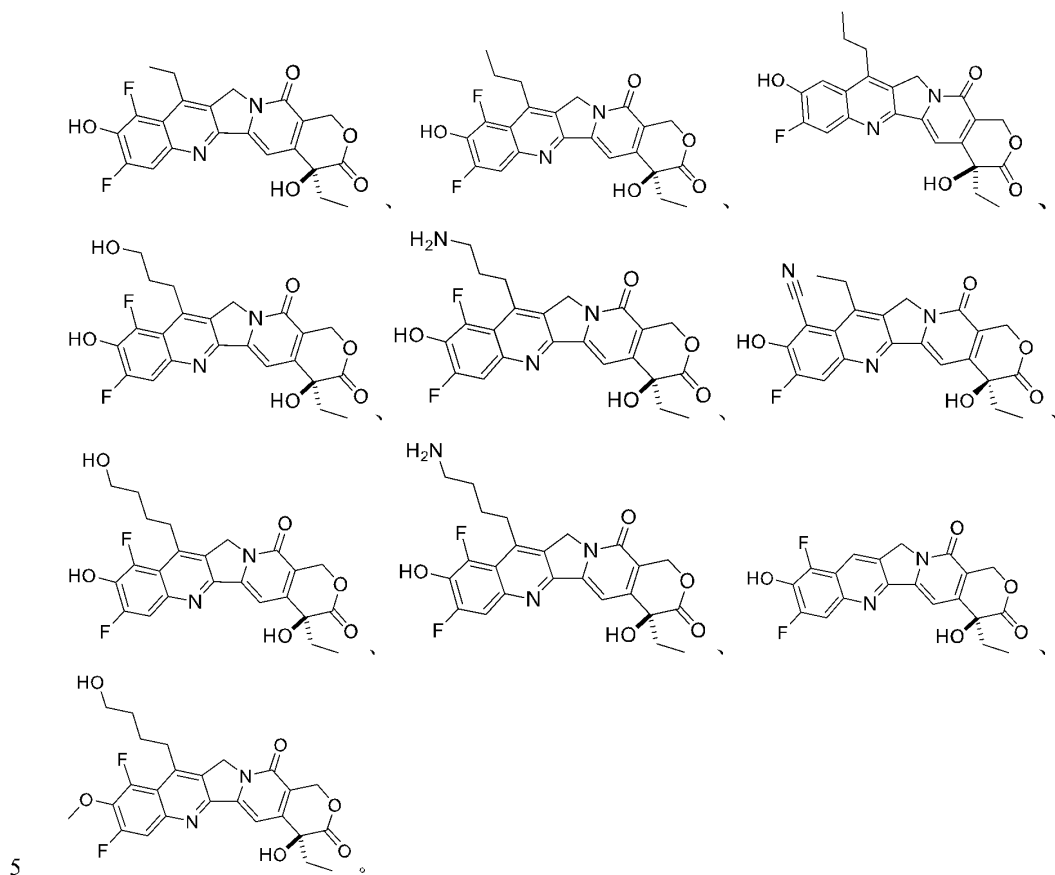
30 m 为 1 至 6 的整数。

30. 根据权利要求 27 所述的通式 (II) 所示的化合物或其立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐，其中 R^{13} 选自羟基、C₁-C₆ 烷氧基。

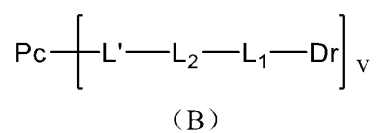
35

31. 根据权利要求 27 至 30 中任一项所述的通式 (II) 所示的化合物或其立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其

混合物形式、或其可药用盐，其选自：

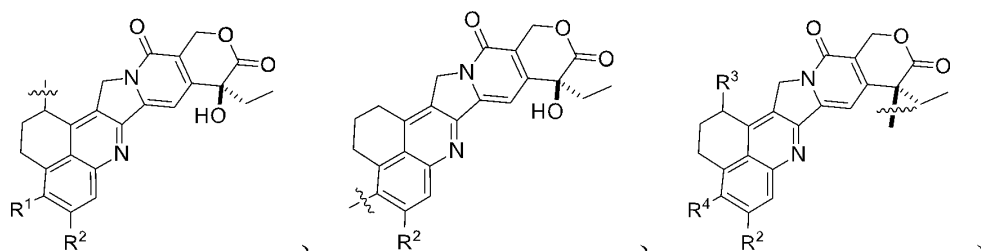


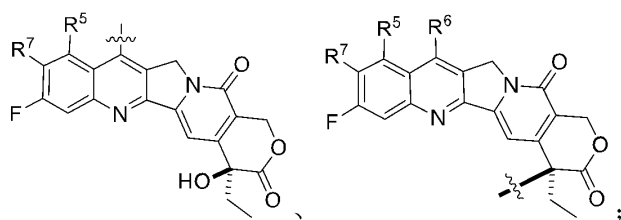
32. 一种通式 (B) 所示的配体药物偶联物或其药学上可接受的盐，



10 其中：

Dr 选自以下结构：





R^1 选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基、环烷基、
 $-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、
 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)-NR^dR^e$ 、
 5 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、
 $-NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-O-(CH_2)_m-OH$ 、 $-O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-OH$ 、
 $-NR^bC(=O)O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-OH$ 、
 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、
 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、
 10 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-G-(CH_2)_n-OH$ ，所述烷基、烷氧基、
 烯基、炔基、环烷基任选进一步被选自卤素、氘、氨基、烷基、羟基的一个
 或多个基团取代；上述 $-(CH_2)_m$ -任选被一个或多个氘或卤素取代；G 选自亚环烷基、
 亚杂环基、亚杂芳基、亚芳基；

R^2 选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基，所述烷
 15 基、烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自卤素的一个或多个基团取代；

R^3 选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基、 $CH_2=$ 、
 $-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、
 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)-NR^dR^e$ 、
 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、
 20 $-NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-NR^f-C(=O)R^d$ 、 $-NR^f-C(=O)-(CH_2)_m-R^d$ 、 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-R^d$ 、
 $-O-(CH_2)_m-OH$ 、 $-O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-OH$ 、
 $-NR^fC(=O)NR^d-(CH_2)_m-OH$ 、 $-NR^fC(=O)NR^d-(CH_2)_m-O-(CH_2)_n-OH$ 、
 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-O-(CH_2)_n-OH$ 、 $-NR^fC(=O)NR^d-(CH_2)_m-O-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、
 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-O-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-NR^fC(=O)NR^d-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、
 25 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-OH$ 、
 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、
 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、
 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-OH$ ，所述烷基、烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自
 卤素、氘、氨基、烷基、羟基的一个或多个基团取代；

R^4 选自氢、卤素、羟基、羧基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基、
 30 环烷基、 $-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、
 $-OC(=O)NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)-NR^dR^e$ 、

$-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-NR^f-(CH_2)_m-OH$ 、
 $-NR^f-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-O-(CH_2)_m-OH$ 、 $-O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-NR^fC(=O)O-(CH_2)_m-OH$ 、
 $-NR^bC(=O)O-(CH_2)_m-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-OH$ 、
 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)O-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、
 5 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^f-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-NR^dR^e$ 、
 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_m-NR^fC(=O)-G-(CH_2)_n-OH$ ，所述烷基、烷氧基、烯基、炔基、环烷基任选进一步被选自卤素、氘、氨基、烷基、羟基的一个或多个基团取代；上述 $-(CH_2)_m$ 任选被一个或多个氘或卤素取代；G选自亚环烷基、亚杂环基、亚杂芳基、亚芳基；

10 R^5 选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基，所述烷基、烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自卤素的一个或多个基团取代；

R^6 选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基，所述烷基、烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自卤素的一个或多个基团取代；

15 R^7 选自氢、卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基，所述烷基、烷氧基、烯基、炔基任选进一步被选自卤素的一个或多个基团取代；

R^d 和 R^e 各自独立地选自氢和烷基；

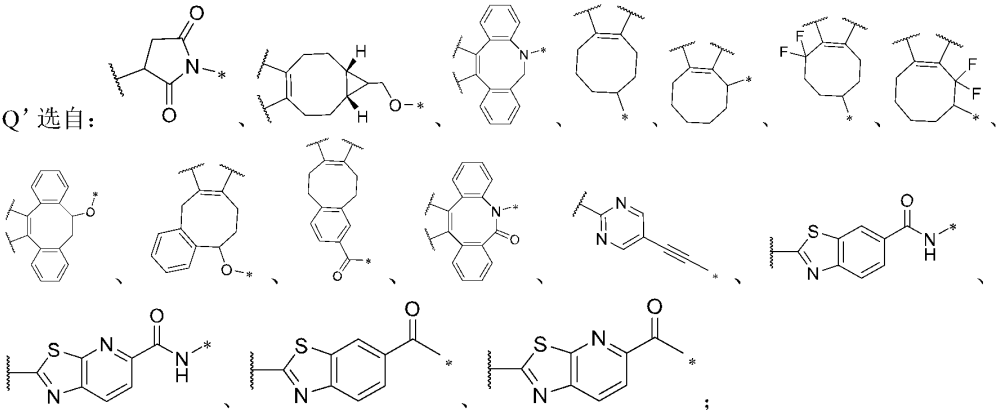
R^f 选自氢、烷基、 $-C(O)R^c$ 、 $-S(O)R^c$ 、 $-S(O)_2R^c$ ，所述烷基任选进一步被 C_3-C_6 环烷基所取代；其中 R^c 选自氢、羟基、烷基；

L_1 选自键、 $-(CH_2)_m-*$ 、 $-O-*$ 、 $-NR^a-*$ 、 $-(CH_2)_m-O-*$ 、 $-(CH_2)_m-NR^a-*$ 、
 20 $-OC(=O)NR^b-(CH_2)_m-O-*$ 、 $-OC(=O)NR^b-(CH_2)_m-NR^a-*$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)O-*$ 、
 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^a-*$ 、 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^b-(CH_2)_n-O-*$ 、
 $-(CH_2)_m-C(=O)NR^b-(CH_2)_n-NR^a-*$ 、 $-NR^b-(CH_2)_m-O-*$ 、 $-NR^b-(CH_2)_m-NR^a-*$ 、
 $-O-(CH_2)_m-O-*$ 、 $-O-(CH_2)_m-NR^a-*$ 、 $-NR^bC(=O)O-(CH_2)_m-O-*$ 、
 $-NR^bC(=O)O-(CH_2)_m-NR^a-*$ 、 $-(CH_2)_m-NR^bC(=O)O-(CH_2)_n-O-*$ 、
 25 $-(CH_2)_m-NR^bC(=O)O-(CH_2)_n-NR^a-*$ 、 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^b-(CH_2)_n-NR^a-*$ 、
 $-(CH_2)_m-OC(=O)NR^b-(CH_2)_n-O-*$ 、 $-(CH_2)_m-NR^bC(=O)-(CH_2)_n-NR^a-*$ 、
 $-(CH_2)_m-NR^bC(=O)-(CH_2)_n-O-*$ ，其中*为与 L_2 的连接位点；

R^a 和 R^b 各自独立地选自氢、烷基、 $-C(O)R^c$ 、 $-S(O)R^c$ 、 $-S(O)_2R^c$ ，所述烷基任选进一步被环烷基所取代；其中 R^c 选自氢、羟基、烷基；

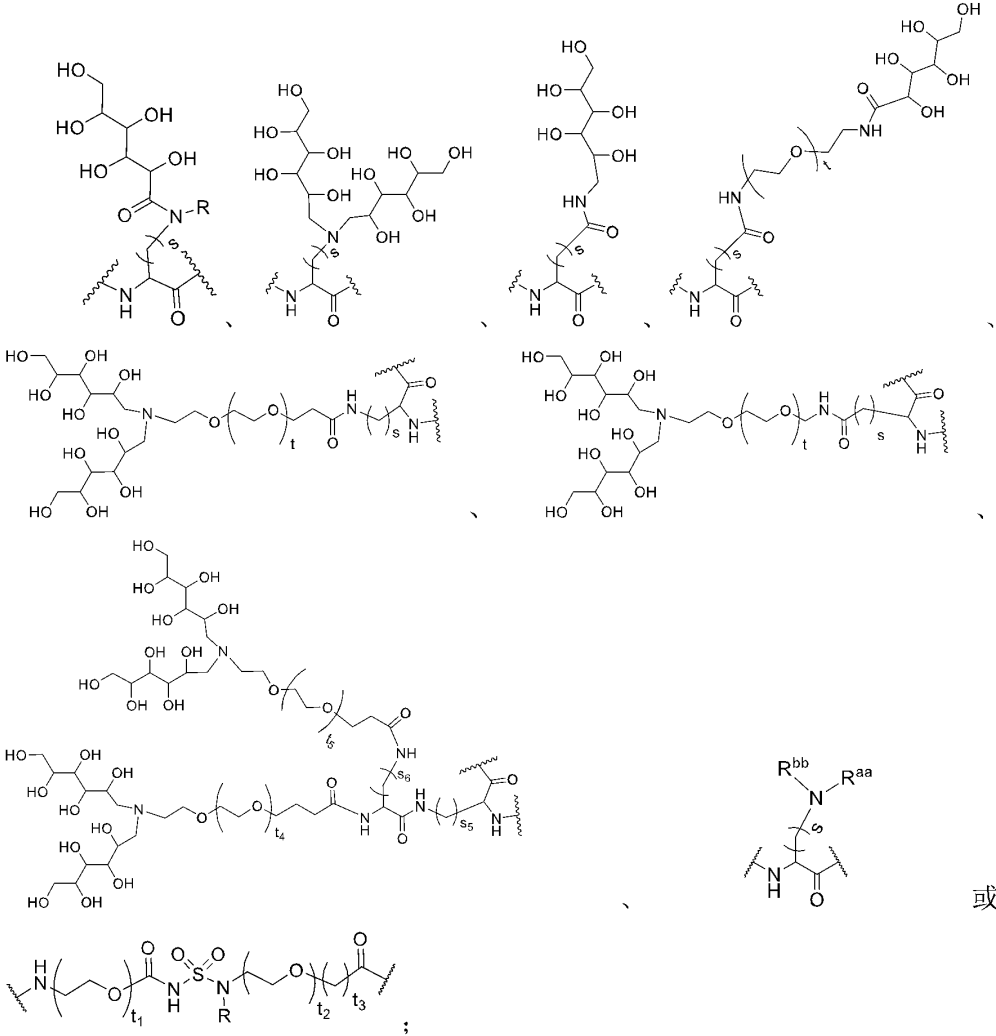
30 L_2 选自键、、、、
，其中*为与 L_1 的连接位点；

L' 为 $Q'-L_4-C(=O)-L_3$ 或 $Q'-L_4-C(=O)-L_3$ ；



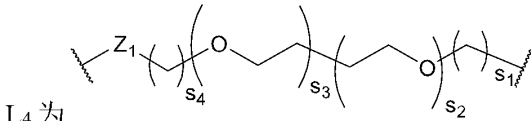
其中, *为与 L4 连接的位置, ~ 为与 Pc 连接的位置;

5 L3 为由两个或多个氨基酸形成的氨基酸残基, 且 L3 任选包含选自以下的一个或多个结构, L6 选自以下的一个或多个结构:



10

其中 R、R^{aa}、R^{bb} 各自独立地选自氢和烷基;



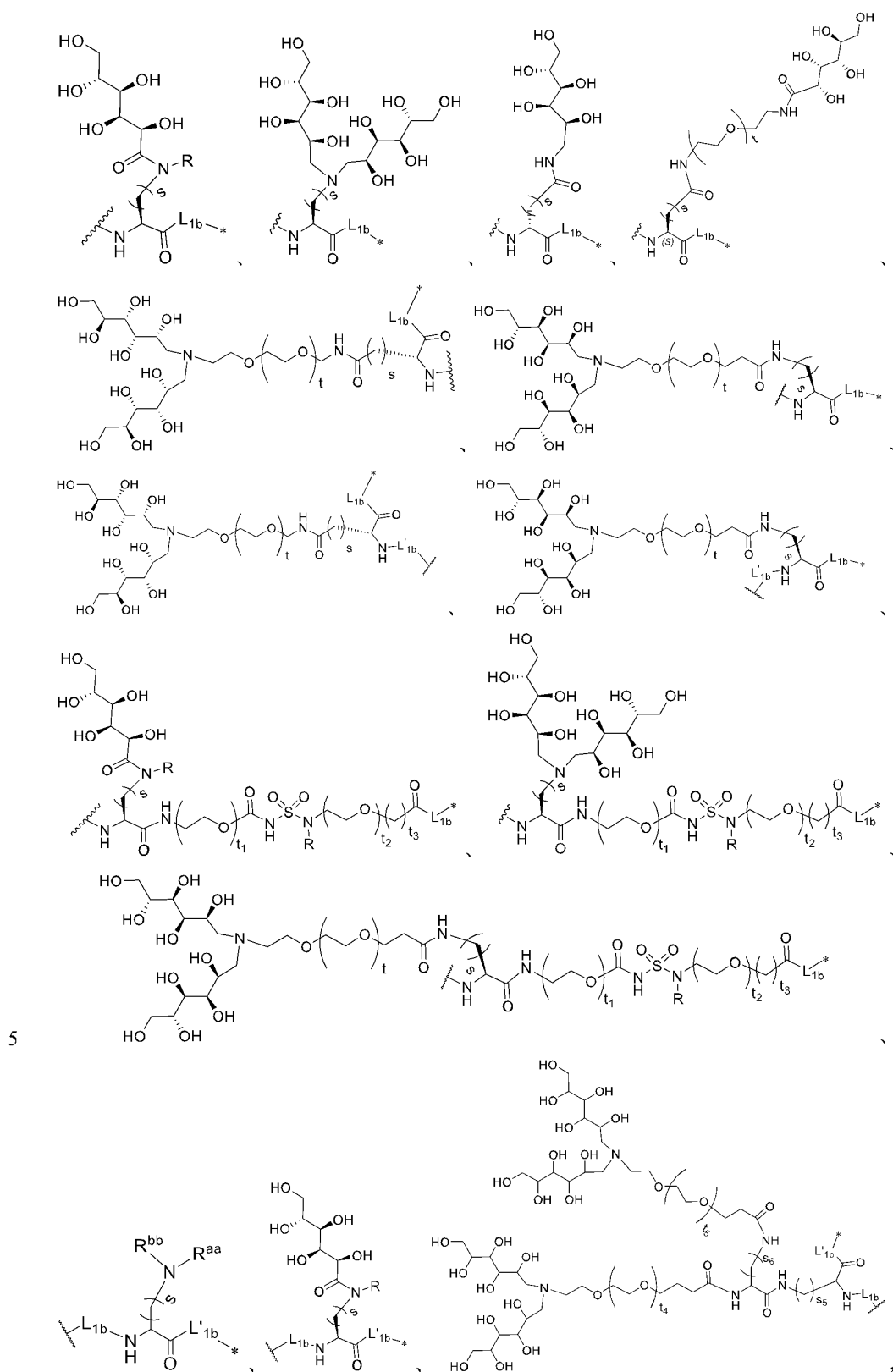
L₄ 为

Z₁ 选自键、-(CH₂)_p-、-(C₂H₄O)_q-、-(CH₂)_p-C(O)NH-、-(CH₂)_p-O-(CH₂)_p-C(O)NH-、
-(CH₂)_p-C(O)-L₆-NH-、-(CH₂)_p-O-(CH₂)_p-C(O)-L₆-NH-、-C(O)NH-、-C(O)O-、-C(O)-、
-OC(O)-、-NH-、-O-和-OC(O)NH-;

- 5 m 为 1 至 6 的整数;
 n 为 1 至 6 的整数;
 s 为 1 至 6 的整数;
 t 为 0 至 10 的整数;
 s₁、s₂、s₃、s₄ 各自独立地为 0 至 10 的整数;
10 s₅、s₆ 各自独立地为 1 至 6 的整数;
 t₁ 为 1 至 6 的整数;
 t₂ 为 0 至 6 的整数;
 t₃ 为 1 至 6 的整数;
 t₄ 为 0 至 10 的整数;
15 t₅ 为 0 至 10 的整数;
 p 为 1 至 10 的整数;
 q 为 1 至 10 的整数;
 v 为 1 至 10, v 为小数或整数;
 Pc 为抗体或其抗原结合片段, 或者为修饰抗体;
20 所述修饰抗体具有 Pc'-((L₅)_w-F)_x 结构, 其中:
 Pc' 为抗体;
 L₅ 为连接子;
 w 为 0 或 1;
 F 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,
25 优选地 F 为叠氮基;
 x 为 1 至 8 的整数。

33. 根据权利要求 32 所述的通式 (B) 所示的配体药物偶联物或其药学上可接受的盐, 其中:

- 30 L₃ 选自:



R 选自氢和 C₁-C₆ 烷基, 优选氢;

R^{aa}、R^{bb}各自独立地选自 C₁-C₆ 烷基；

s 为 1 至 6 的整数；优选 2 至 6 的整数；更优选 2 至 4 的整数；

s₅、s₆各自独立地为 1 至 6 的整数；优选 2 至 6 的整数；更优选 2 至 4 的整数；

t 为 0 至 10 的整数；

5 t₁ 为 1 至 6 的整数；优选 1 至 4 的整数，还优选 2 至 4 的整数，还优选 1 或 2；

t₂ 为 0 至 6 的整数；优选 1 至 4 的整数，还优选 1 或 2；

t₃ 为 1 至 6 的整数；优选 1 至 4 的整数，更优选 1 或 2；

t₄ 为 0 至 10 的整数；

t₅ 为 0 至 10 的整数；

10 * 为与 L₂ 连接的位置；

~ 为与羰基或亚甲基连接的位置；

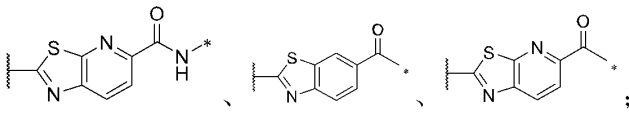
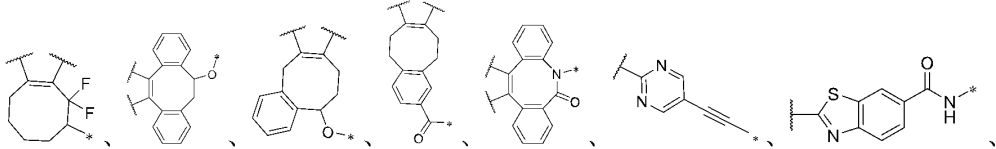
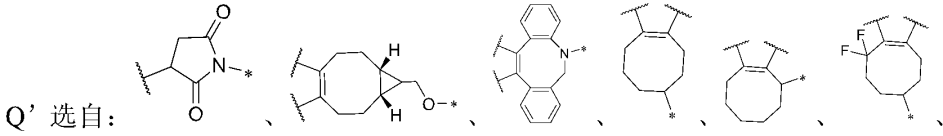
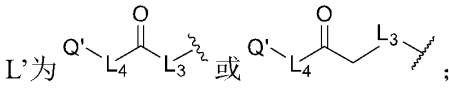
L_{1b} 和 L'_{1b} 各自独立地为由一个或多个选自甘氨酸、苯丙氨酸、瓜氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、丙氨酸、缬氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、精氨酸、谷氨酸、赖氨酸中的氨基酸形成的氨基酸残基，优选为由两个或多个选自甘氨酸、苯丙氨酸、瓜氨酸、缬氨酸、赖氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、亮氨酸、丙氨酸的氨基酸形成的氨基酸残基；

优选地，L_{1b} 和 L'_{1b} 各自独立地选自：-Gly-*、-Val-*、-Gly-Phe-Gly-*、-Phe-Gly-*、-Gly-Val-Cit-*、-Val-Cit-*、-Gly-Val-Arg-*、-Val-Arg-*、-Gly-Val-Ala-*、-Val-Ala-*、-Gly-Phe-*、-Phe-Gly-*、-Gly-Gly-Gly-*、Gly-Gly-*、-Gly-Val-Gly-*、-Gly-Ala-Gly-*、-Gly-Phe-Cit-*、-Gly-Phe-Val-*、-Gly-Phe-Ala-*、-Gly-Phe-Lys-*、-Phe-Lys-*、-Gly-Val-*、-Gly-Cit-*、-Gly-Ala-*、-Gly-Gly-Lys-*、Gly-Lys'-*、-Ala-Ala-Ala-*、-Gln-Val-Ala-*、-Gln-Val-Cit-*、-Asp-Val-Ala-*、-Asp-Val-Cit-*、-Lys-Gly-Val-Ala-*、-Lys-Gly-Val-Cit-*、-Lys-Gly-Gly-Val-Ala-*、-Lys-Gly-Gly-Val-Cit-*、Gly-Gly-Phe-Gly-*、-Lys-Gln-Val-Cit-*、-Lys-Gln-Val-Ala-*、-Lys-Glu-Val-Cit-*、-Lys-Glu-Val-Ala-*、-Lys-Asp-Val-Cit-*、-Lys-Asp-Val-Ala-*、Glu-Val-Cit-*、Glu-Val-Ala-*、-Lys-Val-Ala-*、-Lys-Val-Cit-*、-Val-Lys-Gly-*、-Val-Lys-*，优选 -Gly-Phe-Gly-*、-Gly-Val-Cit-*、-Val-Cit-*、-Gly-Val-Ala-*、-Val-Ala-*、-Gly-Phe-Gly-*、-Phe-Gly-*、-Gly-Phe-Lys-*、-Phe-Lys-*、-Gln-Val-Ala-*、-Gln-Val-Cit-*、-Asp-Val-Ala-*、-Lys-Gly-Val-Ala-*、-Lys-Gly-Val-Cit-*、-Lys-Gly-Gly-Val-Ala-*、-Lys-Gly-Gly-Val-Cit-*、Gly-Gly-Phe-Gly-*、-Lys-Gln-Val-Cit-*、-Lys-Gln-Val-Ala-*、-Lys-Glu-Val-Cit-*、-Lys-Glu-Val-Ala-*、-Lys-Asp-Val-Cit-*、-Lys-Asp-Val-Ala-*、Glu-Val-Cit-*、Glu-Val-Ala-*、-Lys-Val-Ala-*、-Lys-Val-Cit-*、-Val-Lys-Gly-*、-Val-Lys-*、-Asp-Val-Cit-*；其中* 为与 L₂ 连接的位置。

35

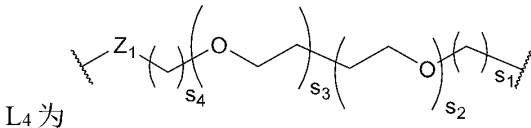
34. 根据权利要求 32 所述的通式 (B) 所示的配体药物偶联物或其药学上可接

受的盐，其中：



其中，*为与 L_4 连接的位置， $\sim$ 为与 Pc 连接的位置；

L_3 为由两个或多个选自甘氨酸、苯丙氨酸、瓜氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、丙氨酸、缬氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、精氨酸、谷氨酸、赖氨酸中的氨基酸形成的氨基酸残基，优选为由两个或多个选自甘氨酸、苯丙氨酸、瓜氨酸、缬氨酸、赖氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、亮氨酸、丙氨酸的氨基酸形成的氨基酸残基；



Z_1 选自键、 $-(CH_2)_p-$ 、 $-(CH_2)_p-C(O)NH-$ 、 $-(CH_2)_p-O-(CH_2)_p-C(O)NH-$ 、 $-(CH_2)_p-C(O)-L_6-NH-$ 、 $-(CH_2)_p-O-(CH_2)_p-C(O)-L_6-NH-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-NH-$ 、 $-O-$ 和 $-OC(O)NH-$ ；

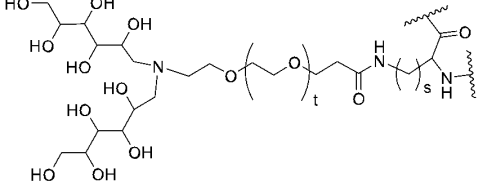
s_1 为 1 至 6 的整数，优选 2 至 6 的整数；

s_2 为 1 至 10 的整数，优选 2 至 10 的整数；

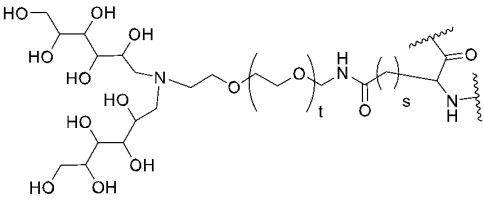
s_3 为 0；

s_4 为 0；

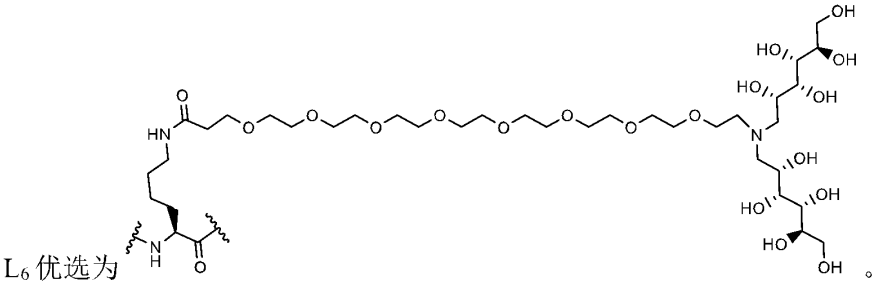
p 为 1 至 10 的整数，优选 1 至 6 的整数；



L_6 选自



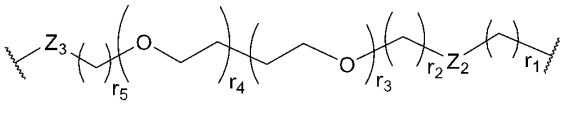
s 为 1 至 6 的整数；优选 2 至 6 的整数；更优选 2 至 4 的整数；
t 为 0 至 10 的整数；



L₆ 优选为

5

35. 根据权利要求 32 至 34 中任一项所述的通式 (B) 所示的配体药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中，L₅ 为



Z₂ 和 Z₃ 各自独立地选自 -C(O)NH-、-C(O)O-、-C(O)-、-OC(O)-、-NH-、-O- 和 -OC(O)NH-；优选 -C(O)NH-；

10

r₁ 为 1 至 8 的整数，优选 1 至 6 的整数，更优选 1 至 3 的整数；
r₂ 为 1 至 6 的整数，优选 1 至 4 的整数，更优选 1 至 2 的整数；
r₃ 为 0 至 6 的整数，优选 0 至 4 的整数，更优选 0 至 2 的整数；
r₄ 为 0 至 6 的整数，优选 0 至 4 的整数，更优选 0 至 2 的整数；
r₅ 为 1 至 6 的整数，优选 1 至 4 的整数，更优选 1 至 2 的整数。

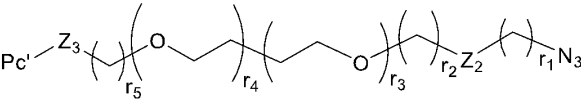
15

36. 根据权利要求 32 至 35 中任一项所述的通式 (B) 所示的配体药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中：当 w 为 0 时，F 为巯基；当 w 为 1 时，F 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，优选地 F 为叠氮基。

20

37. 根据权利要求 32 至 36 中任一项所述的通式 (B) 所示的配体药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中：

Pc 为修饰抗体，所述修饰抗体具有结构：



其中：

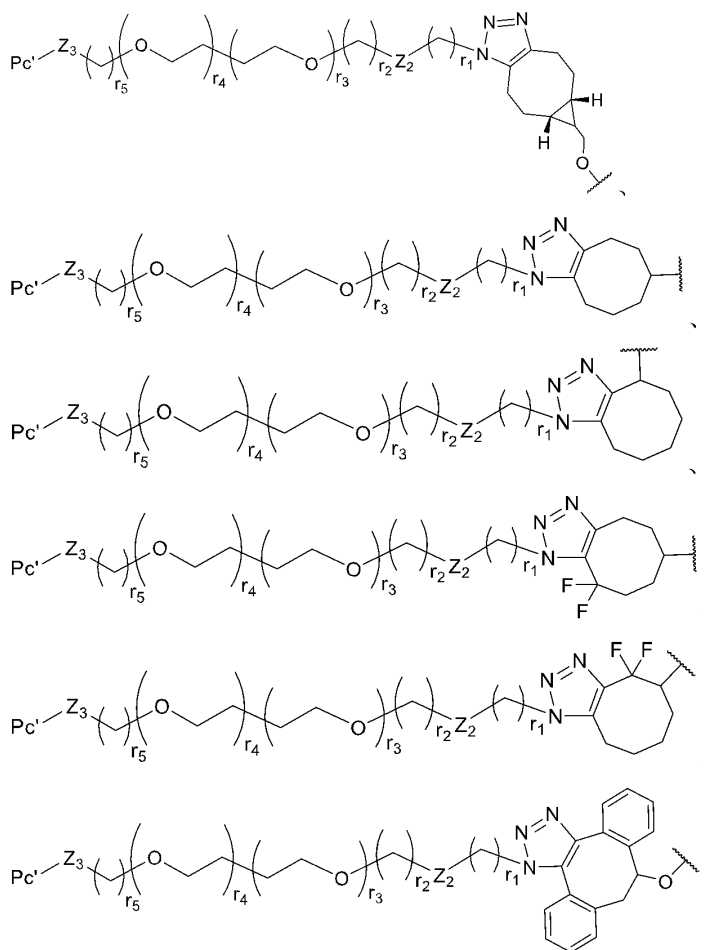
Pc'为抗体；

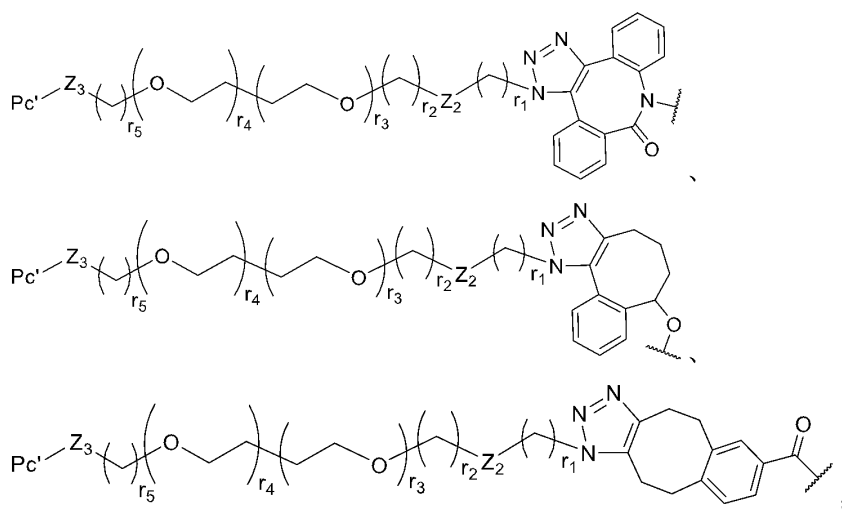
Z₂ 和 Z₃ 各自独立地选自-C(O)NH-、-C(O)O-、-C(O)-、-OC(O)-、-NH-、-O-和-OC(O)NH-；优选-C(O)NH-；

- 5 r₁ 为 1 至 8 的整数，优选 1 至 6 的整数，更优选 1 至 3 的整数；
 r₂ 为 1 至 6 的整数，优选 1 至 4 的整数，更优选 1 至 2 的整数；
 r₃ 为 0 至 6 的整数，优选 0 至 4 的整数，更优选 0 至 2 的整数；
 r₄ 为 0 至 6 的整数，优选 0 至 4 的整数，更优选 0 至 2 的整数；
 r₅ 为 1 至 6 的整数，优选 1 至 4 的整数，更优选 1 至 2 的整数。

10

38. 根据权利要求 32 至 37 中任一项所述的通式 (B) 所示的配体药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中：Pc 为修饰抗体，Pc-Q'选自结构：





Pc'为抗体;

- 5 Z₂ 和 Z₃ 各自独立地选自-C(O)NH-、-C(O)O-、-C(O)-、-OC(O)-、-NH-、-O-和-OC(O)NH-; 优选-C(O)NH-;

r₁ 为 1 至 8 的整数, 优选 1 至 6 的整数, 更优选 1 至 3 的整数;

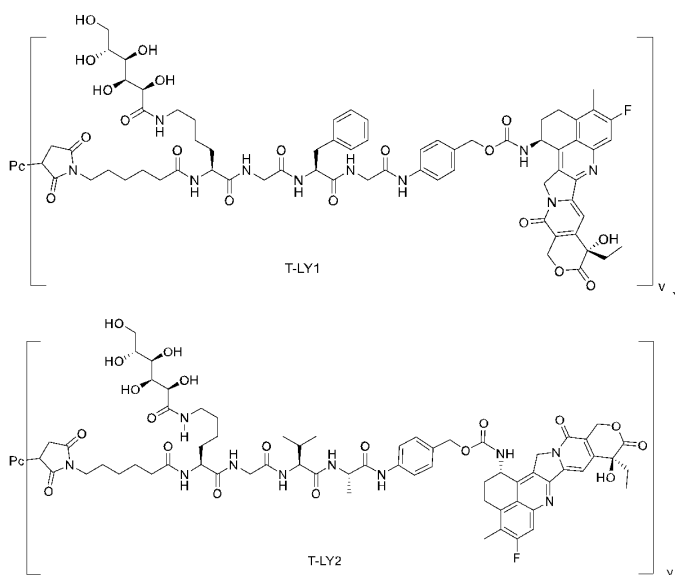
r₂ 为 1 至 6 的整数, 优选 1 至 4 的整数, 更优选 1 至 2 的整数;

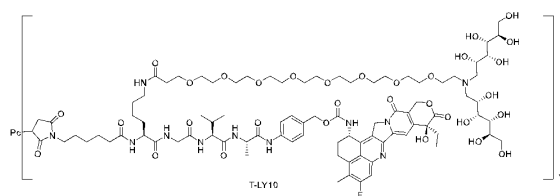
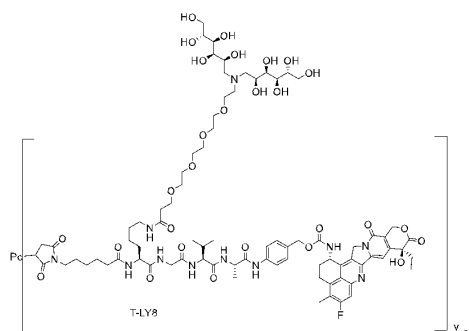
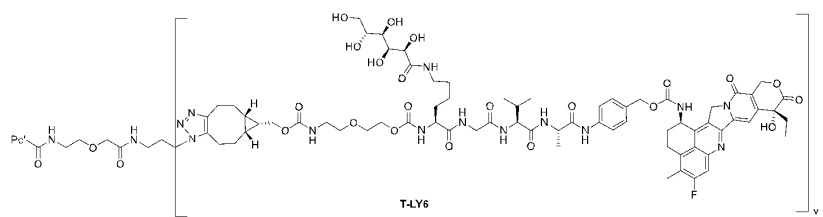
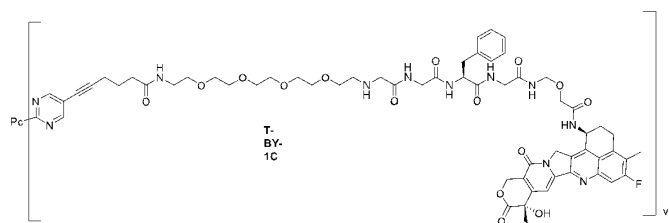
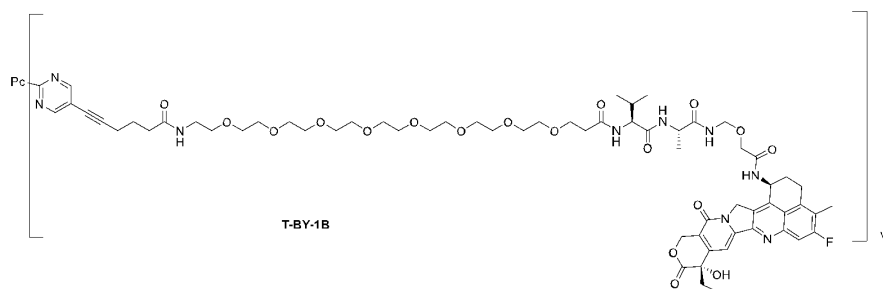
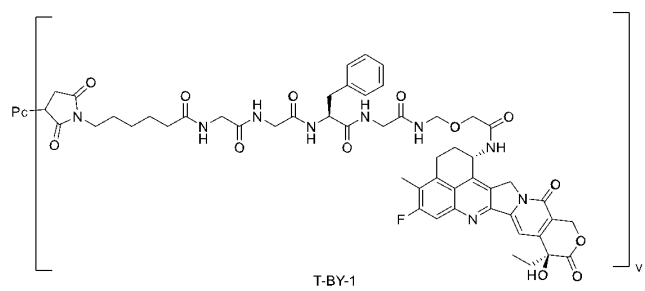
r₃ 为 0 至 6 的整数, 优选 0 至 4 的整数, 更优选 0 至 2 的整数;

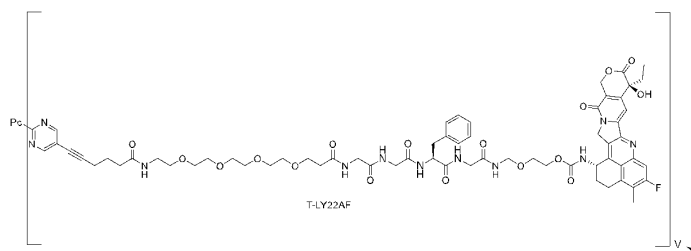
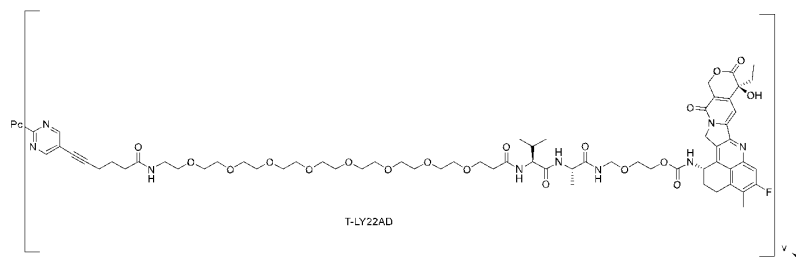
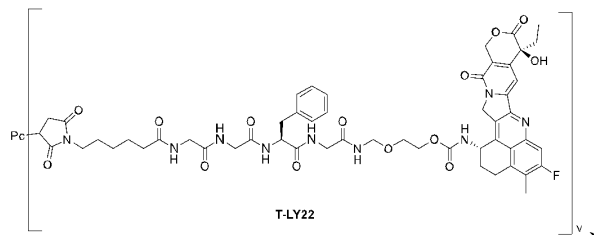
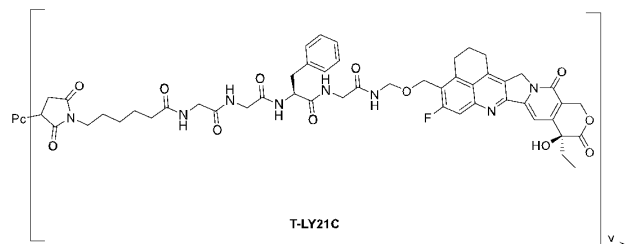
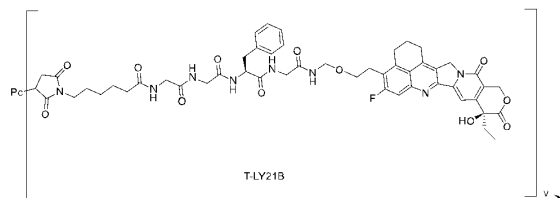
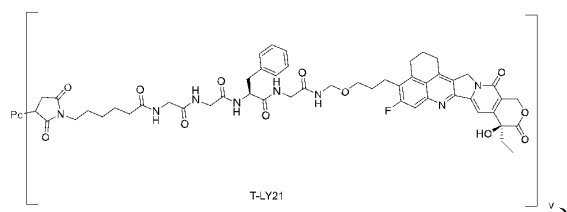
10 r₄ 为 0 至 6 的整数, 优选 0 至 4 的整数, 更优选 0 至 2 的整数;

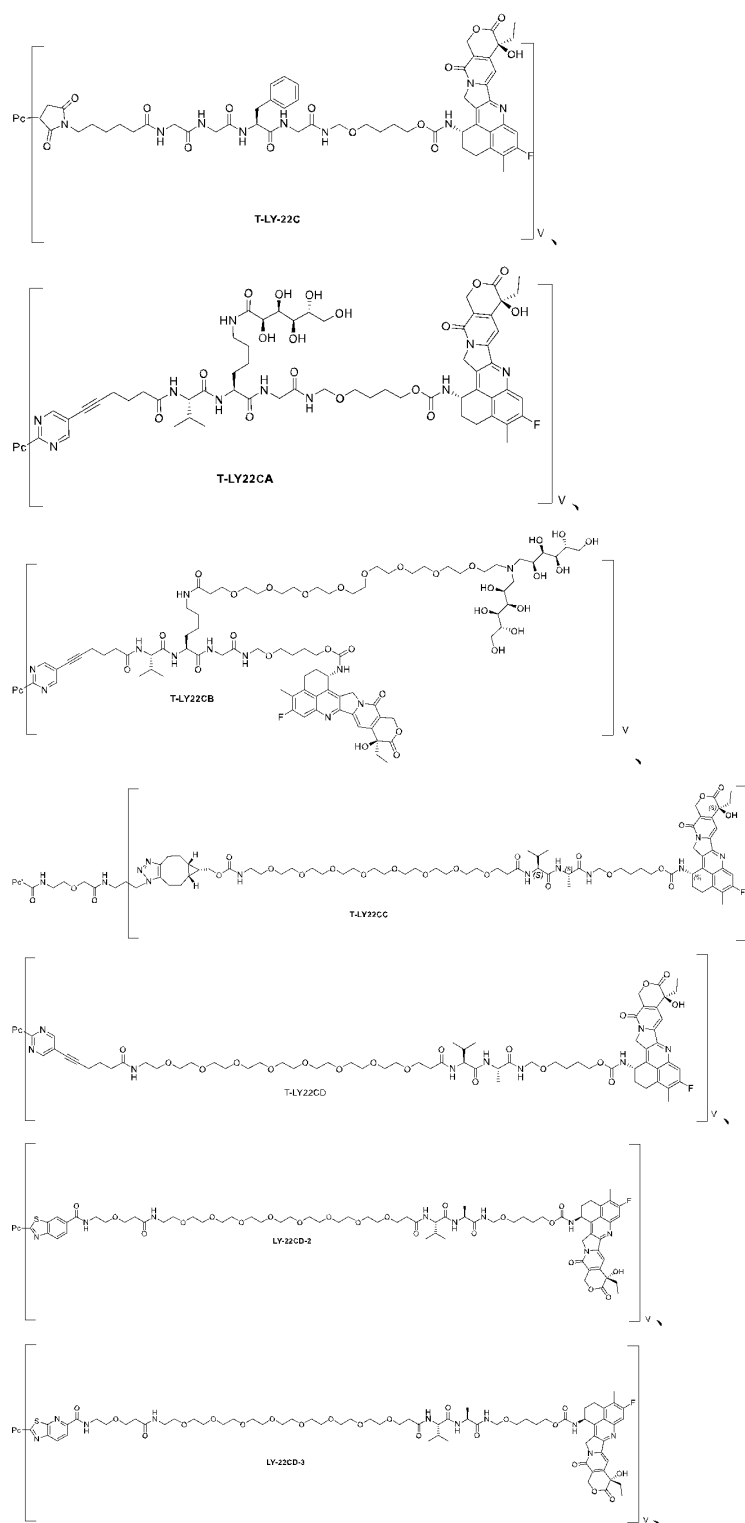
r₅ 为 1 至 6 的整数, 优选 1 至 4 的整数, 更优选 1 至 2 的整数。

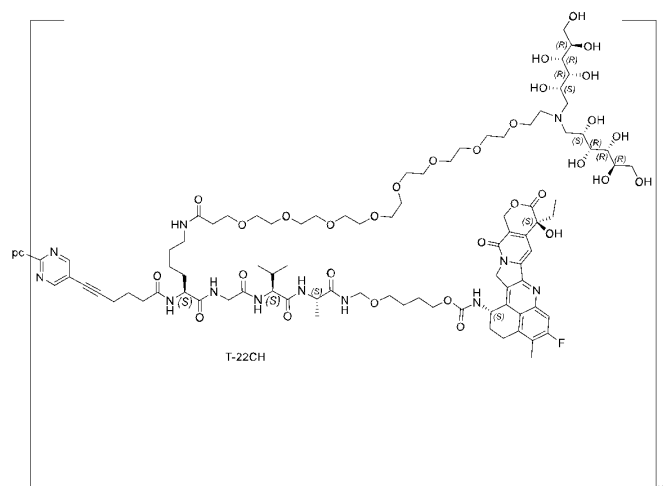
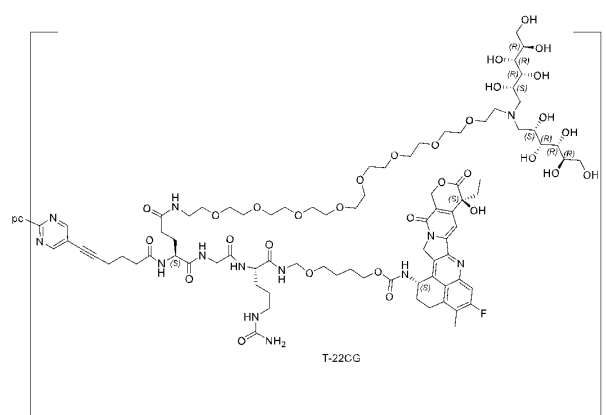
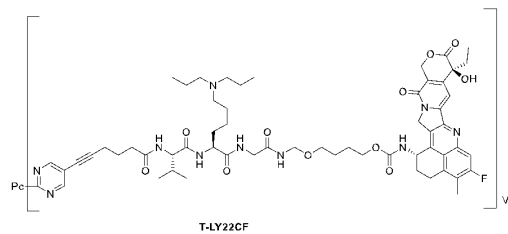
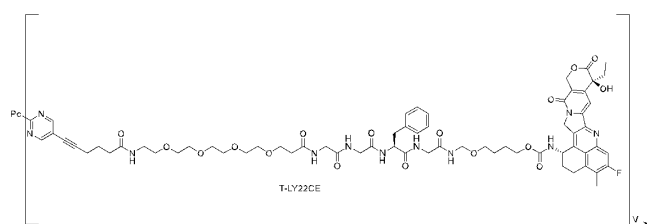
39. 根据权利要求 32 至 38 中任一项所述的通式 (B) 所示的配体药物偶联物或其药学上可接受的盐, 其选自:

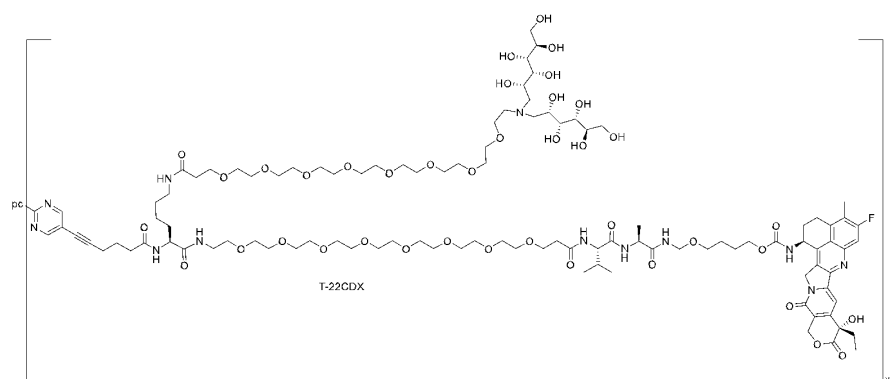
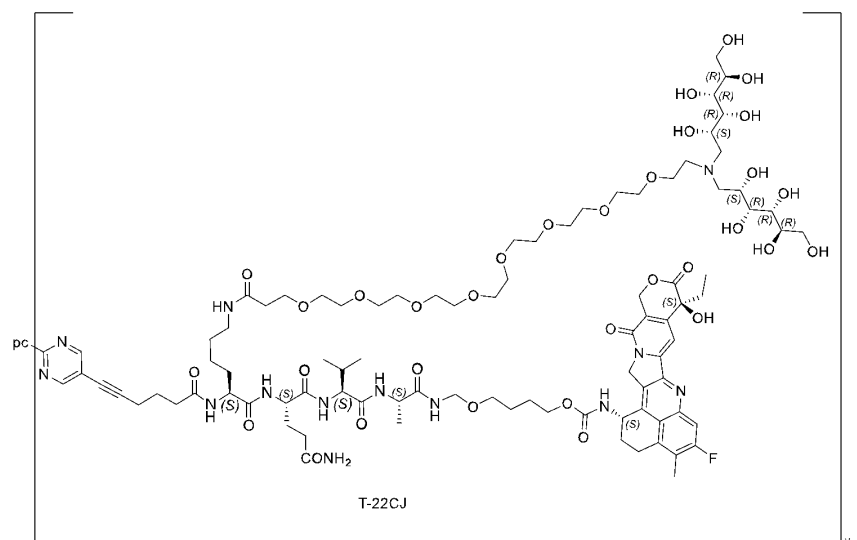
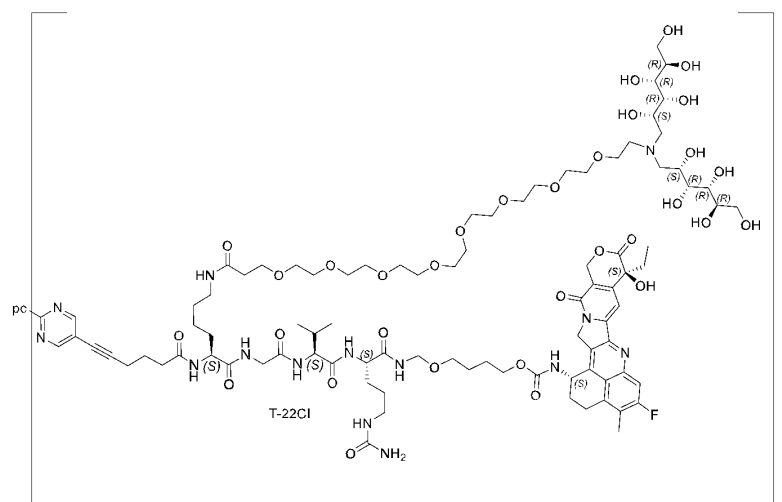


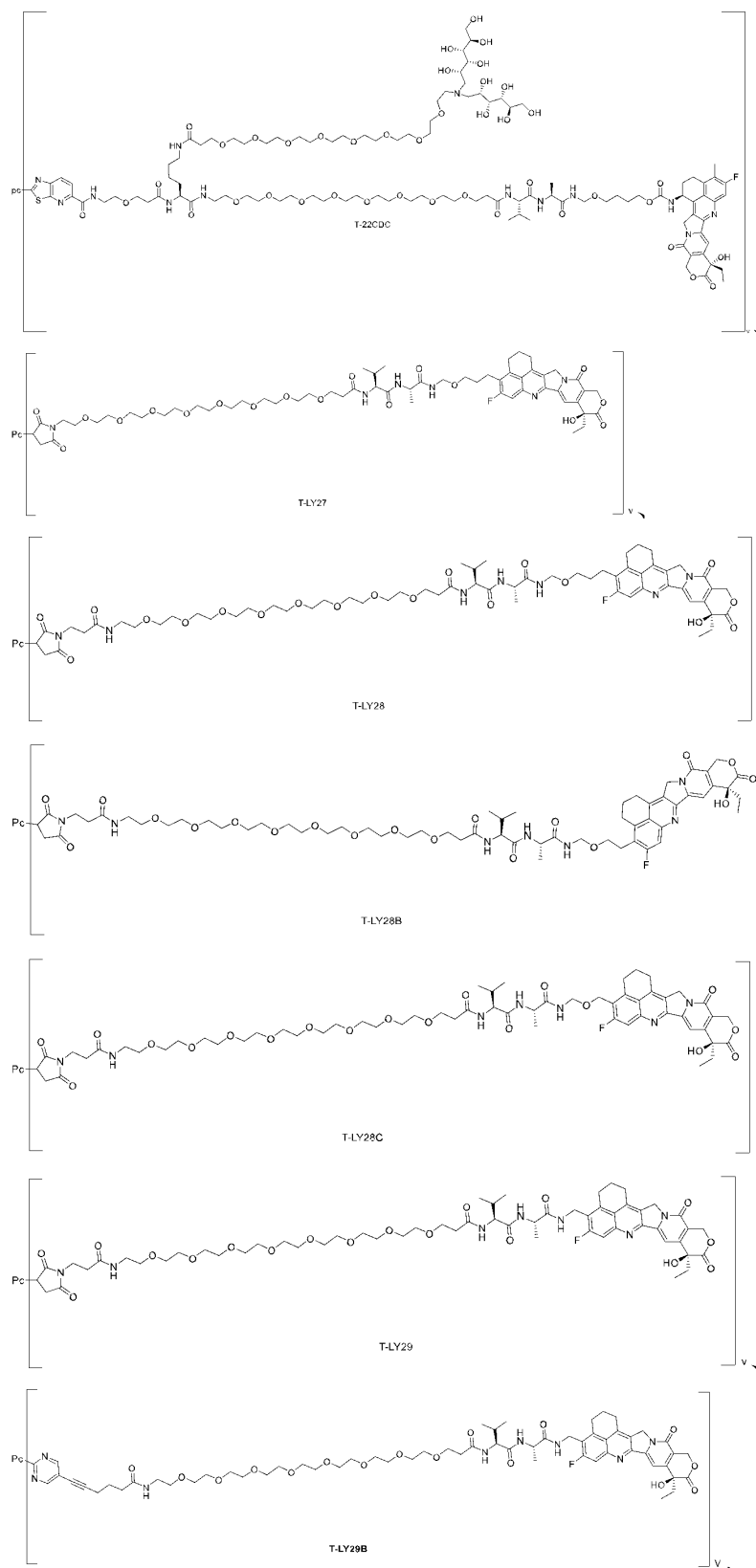


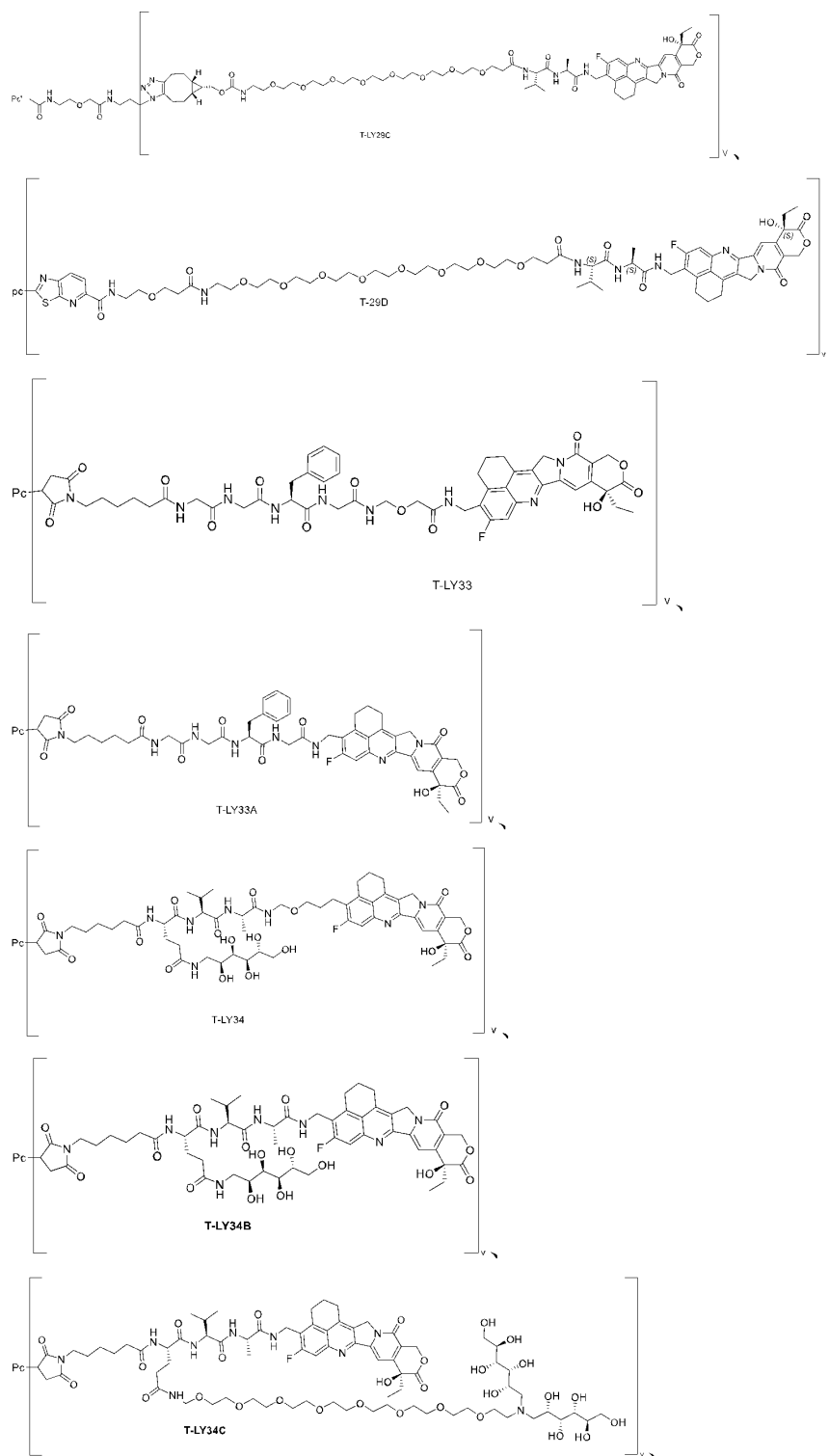


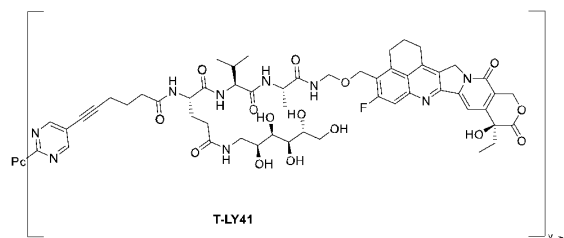
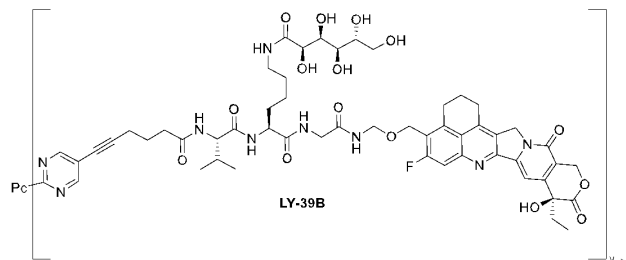
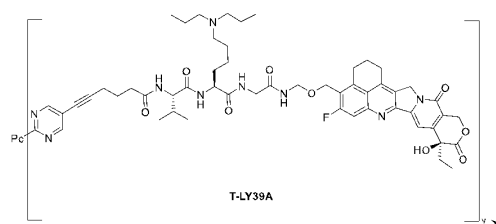
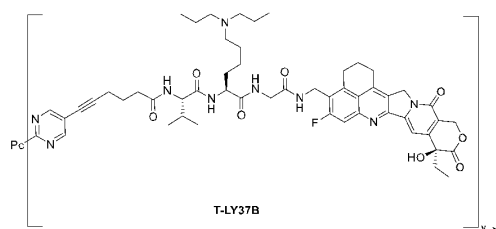
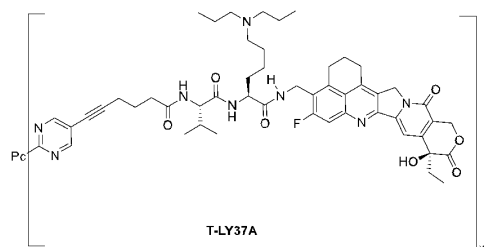
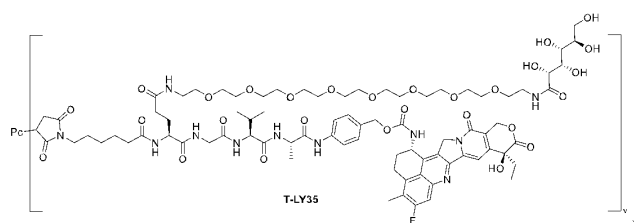


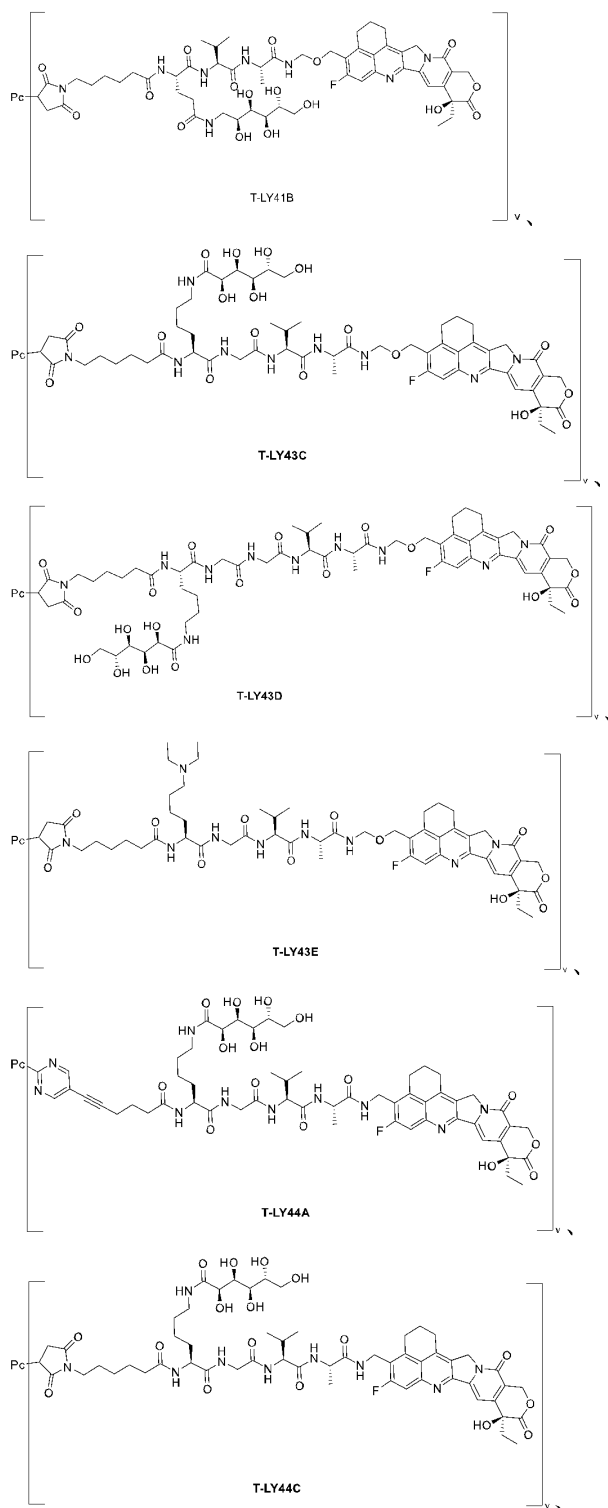


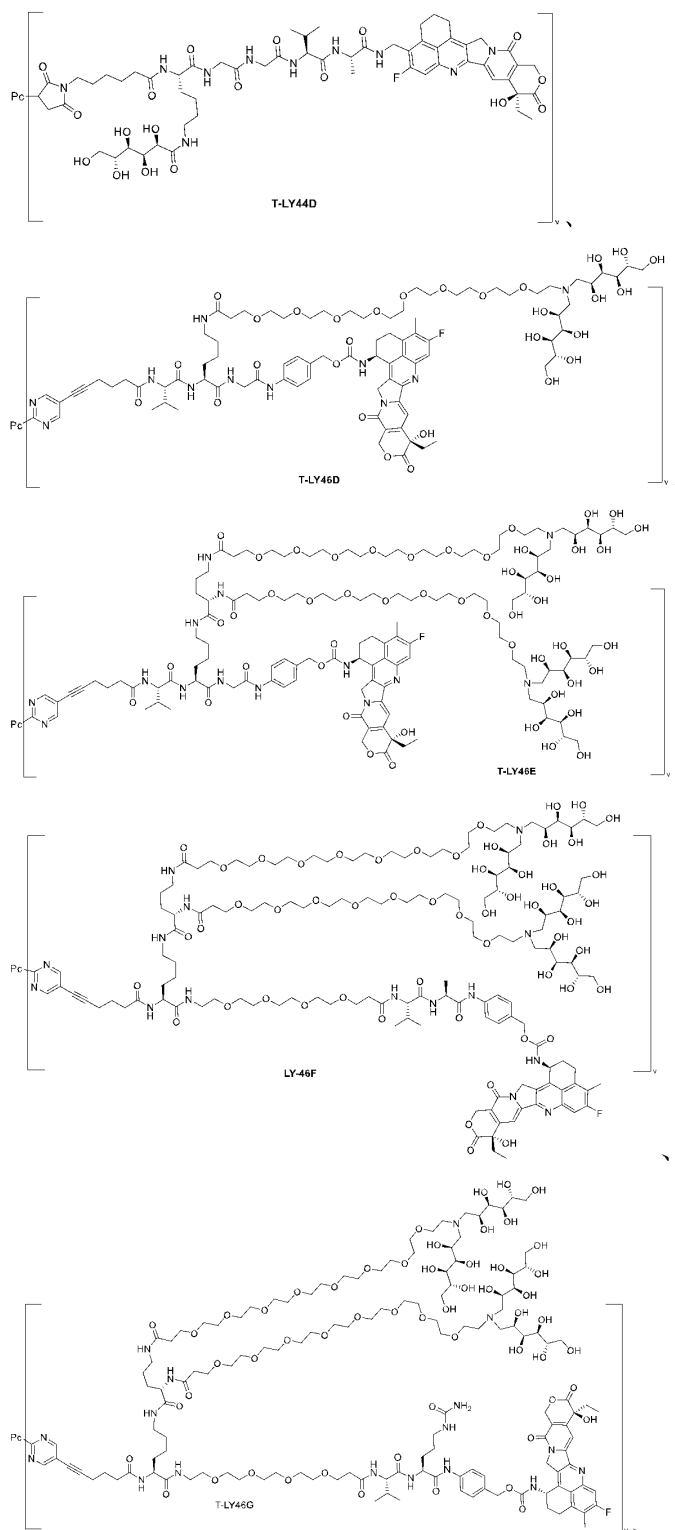


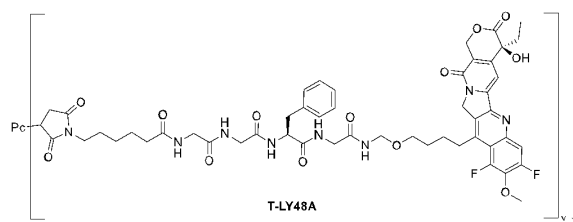
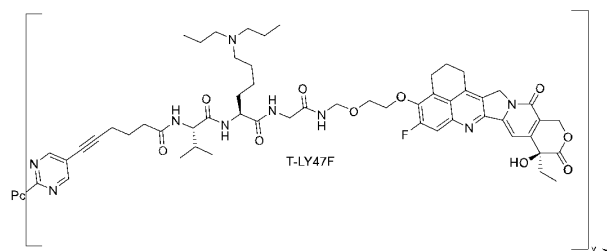
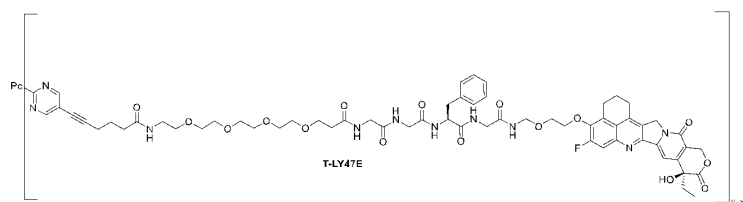
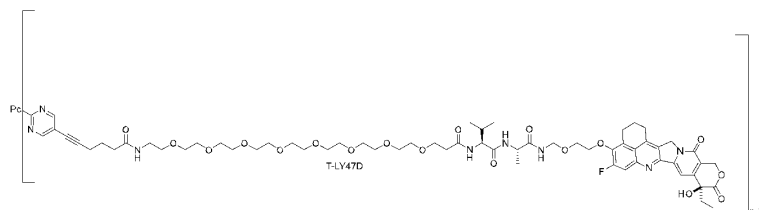
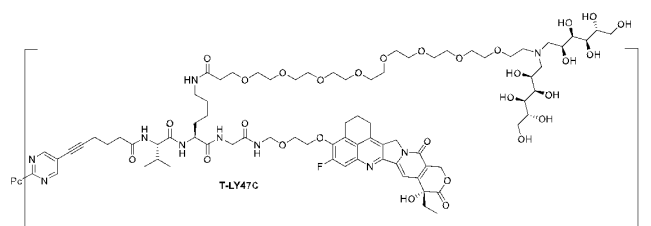
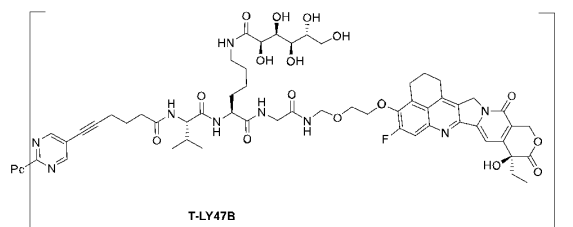
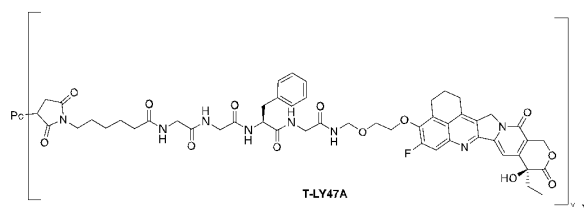


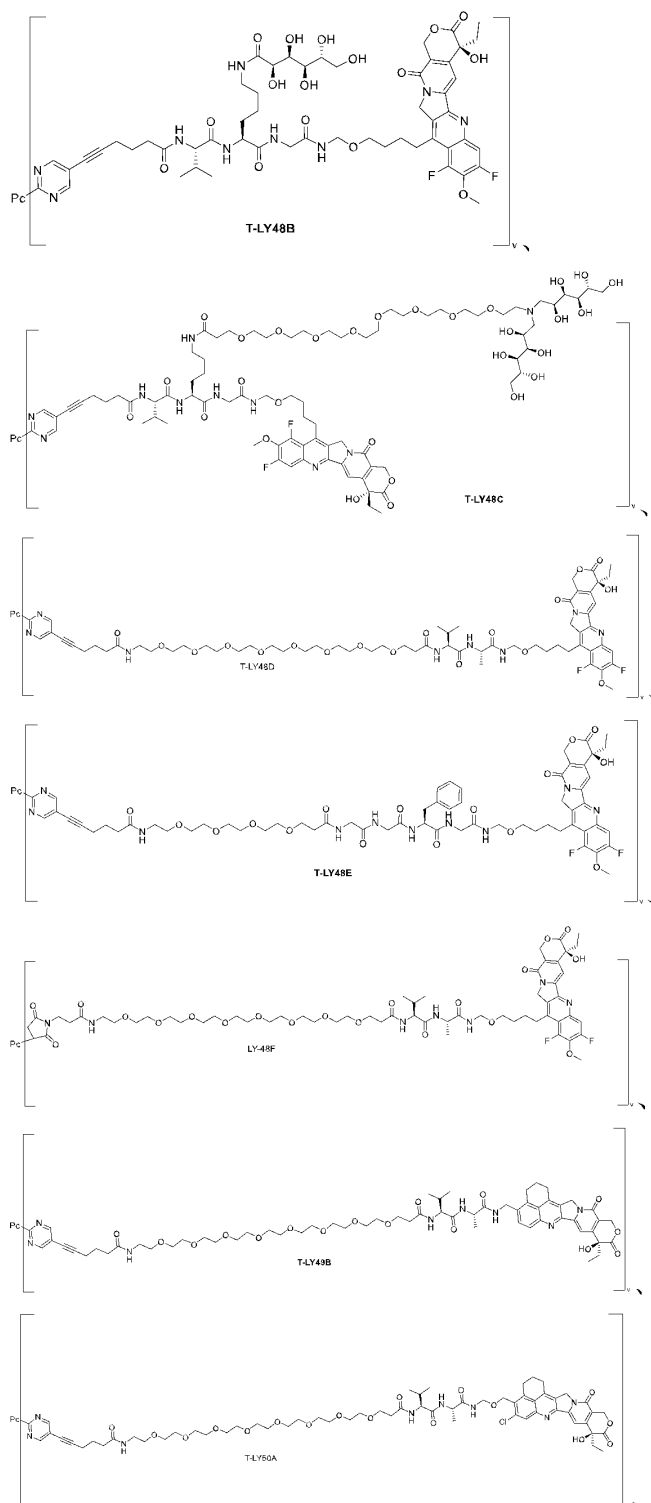


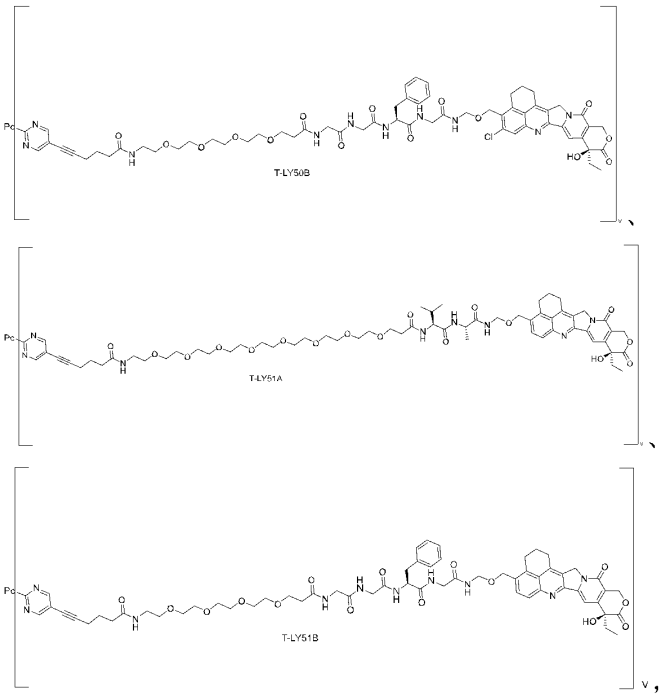












其中：

v 为 1 至 10， v 为小数或整数；

Pc 为抗体或其抗原结合片段；

Pc' 为抗体。

5

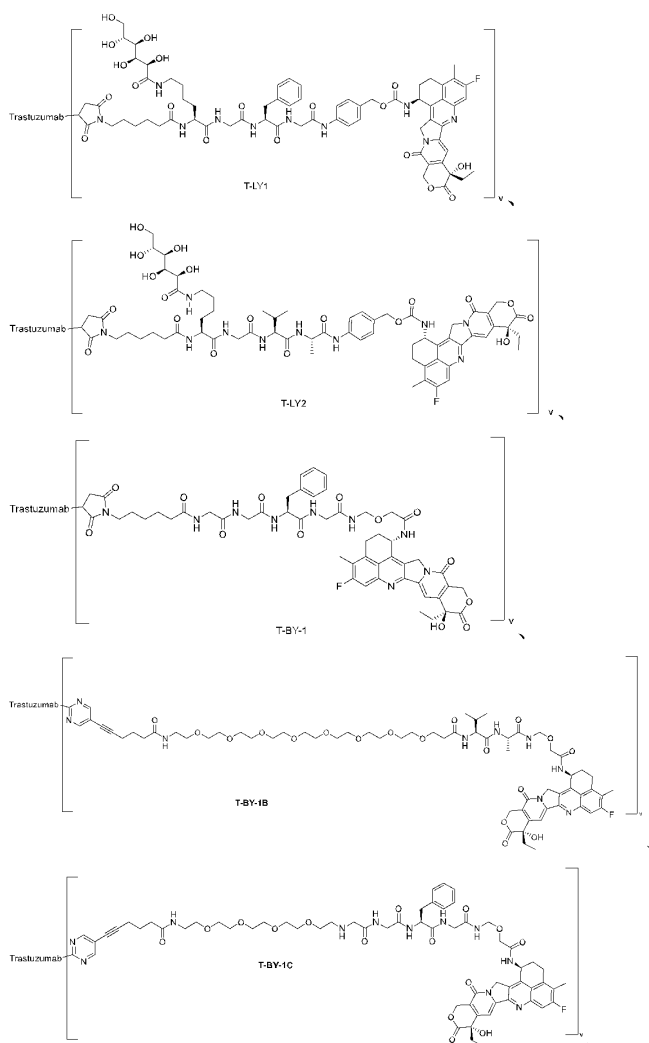
40. 根据权利要求 32 至 39 中任一项所述的通式 (B) 所示的配体药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中所述抗体选自鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体和全人源抗体；优选地，所述抗体或其抗原结合片段选自抗 HER2(ErbB2)抗体、抗 EGFR 抗体、抗 B7-H3 抗体、抗 c-Met 抗体、抗 HER3(ErbB3)抗体、抗 HER4(ErbB4)抗体、抗 ROR1 抗体、抗 CLDN6 抗体、抗 CLDN9 抗体、抗 CLDN18.2 抗体、抗 NaPi-2b 抗体、抗 TNF- α 抗体、抗 ENPP3 抗体、抗 DLL3 抗体、抗 CD20 抗体、抗 CD22 抗体、抗 CD28 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、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。

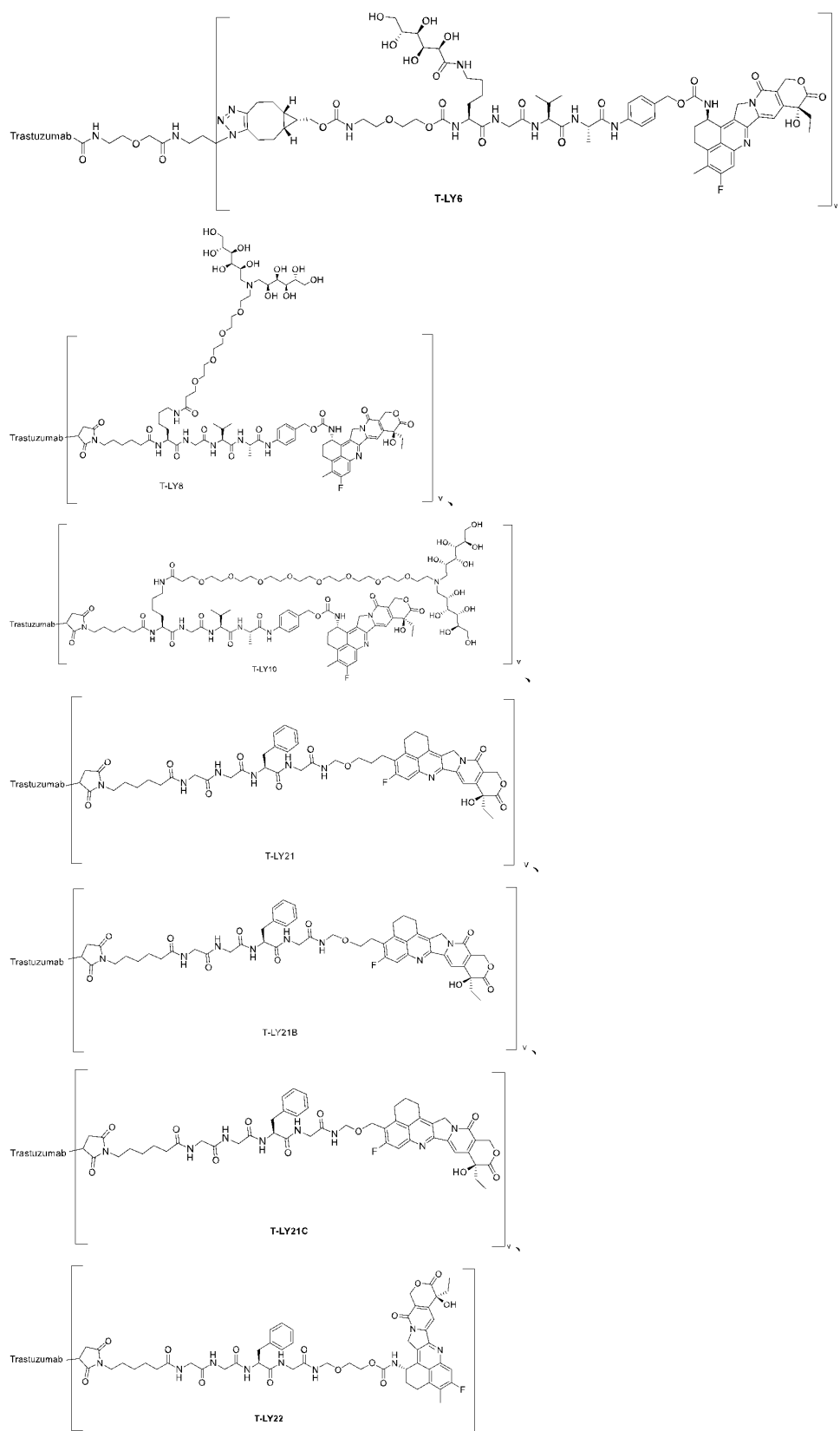
20

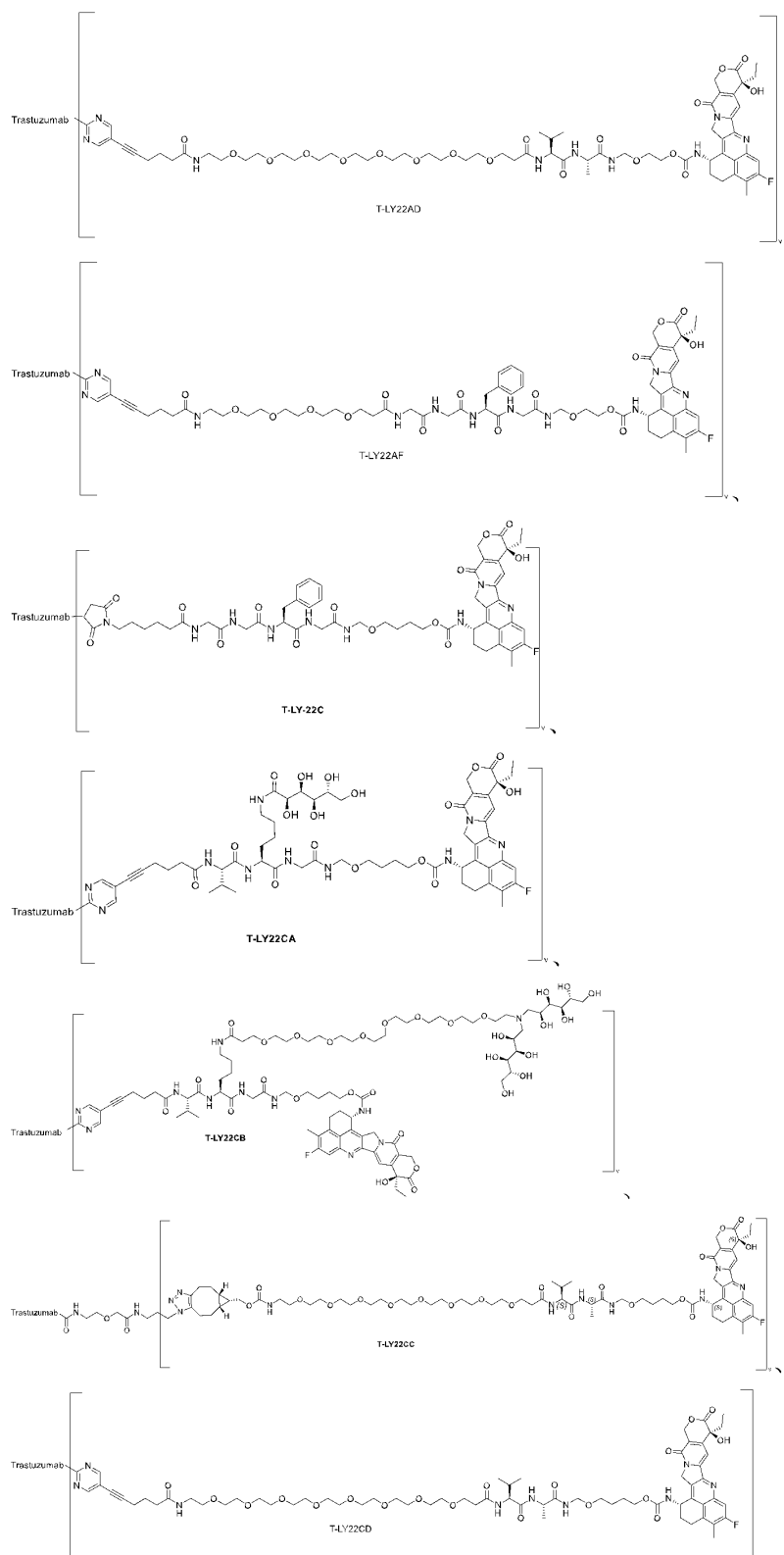
41. 根据权利要求 32 至 40 中任一项所述的通式 (B) 所示的配体药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中所述抗体或其抗原结合片段选自曲妥珠单抗

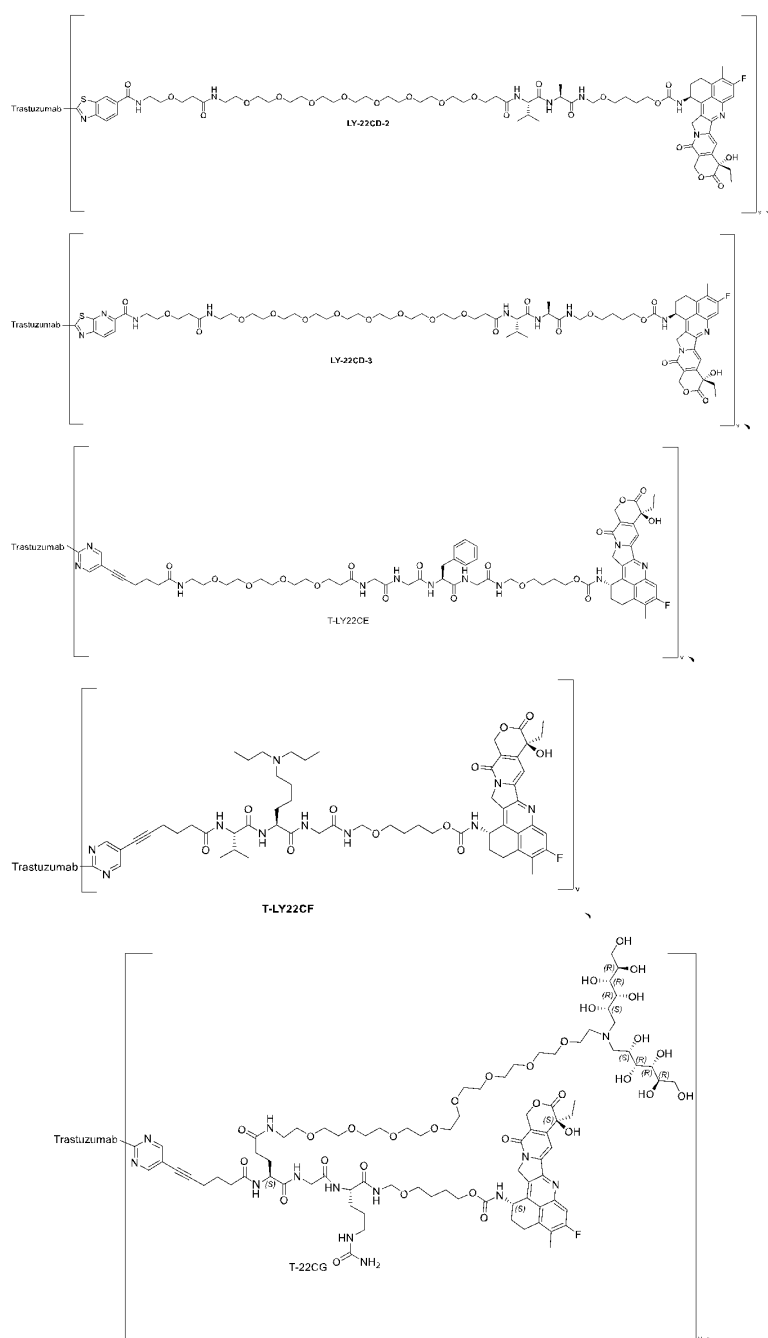
(Trastuzumab)、西妥昔单抗(Cetuximab)、帕妥珠单抗(Pertuzumab)、尼妥珠单抗(Nimotuzumab)、恩波妥珠单抗(Enoblituzumab)、依玛妥珠单抗(Emibetuzumab)、奥英妥珠单抗(Inotuzumab)、维汀-匹那妥珠单抗(Pinatuzumab) 维布妥昔单抗(Brentuximab)、吉妥单抗(Gemtuzumab)、比伐珠单抗(Bivatuzumab)、莫洛伐妥单抗(Lorvotuzumab)，或其抗原结合片段。

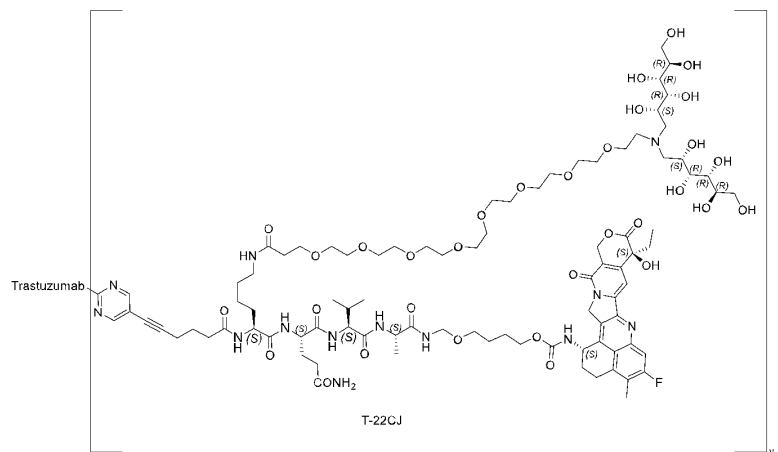
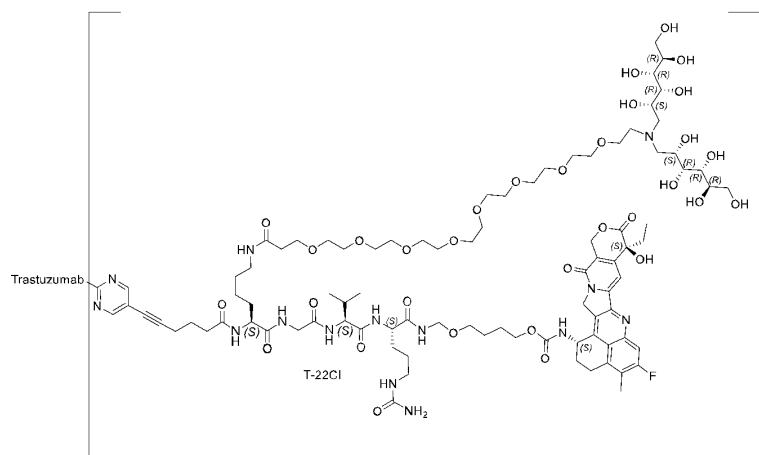
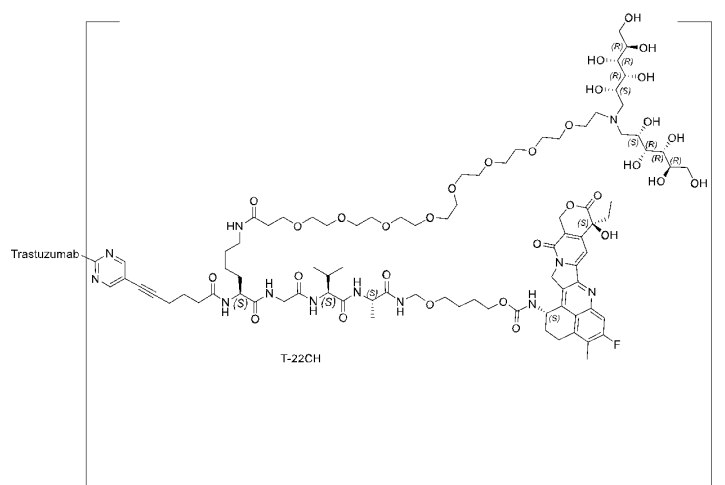
42. 根据权利要求 32 至 41 中任一项所述的通式 (B) 所示的配体药物偶联物或其药学上可接受的盐，其选自：

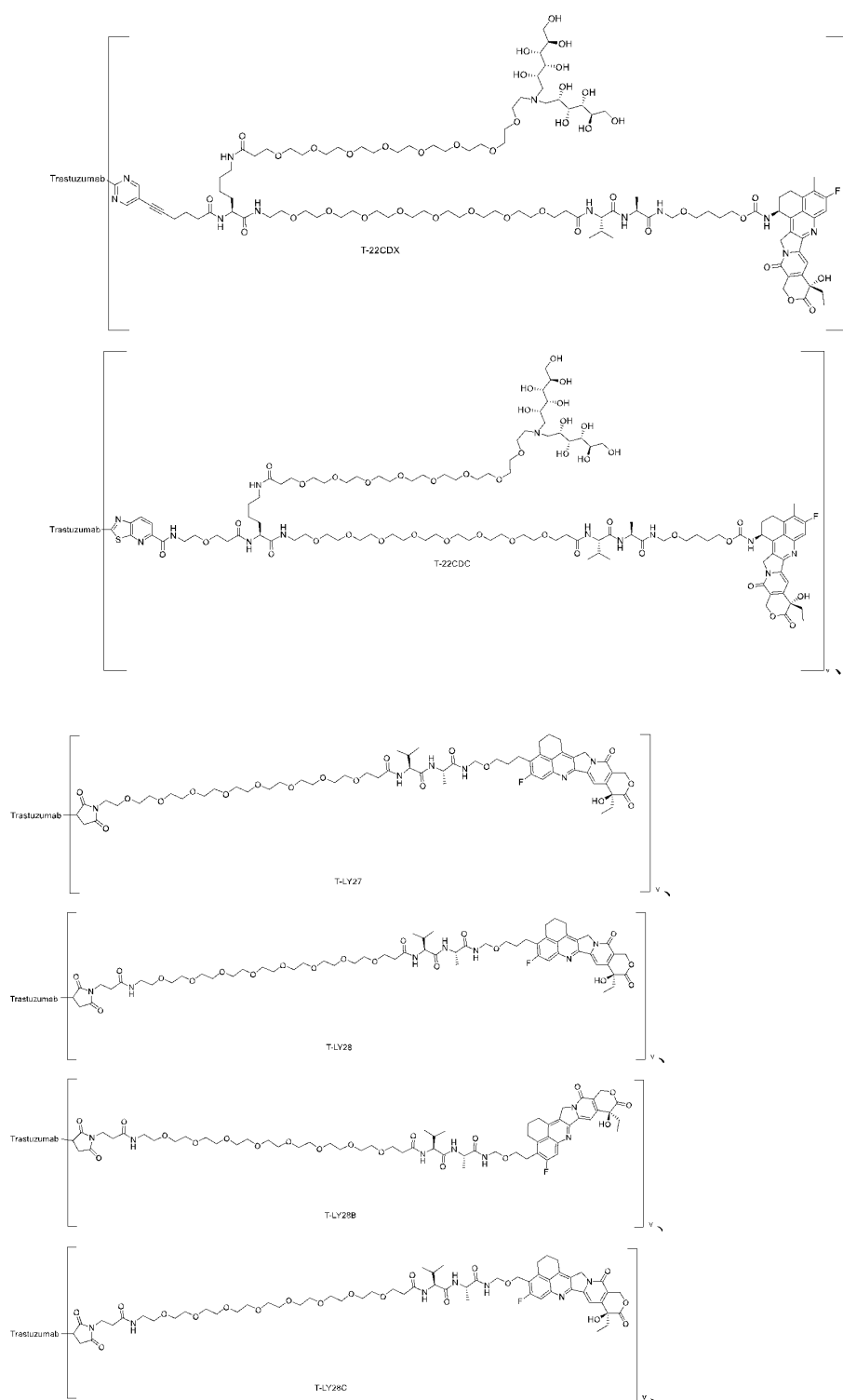


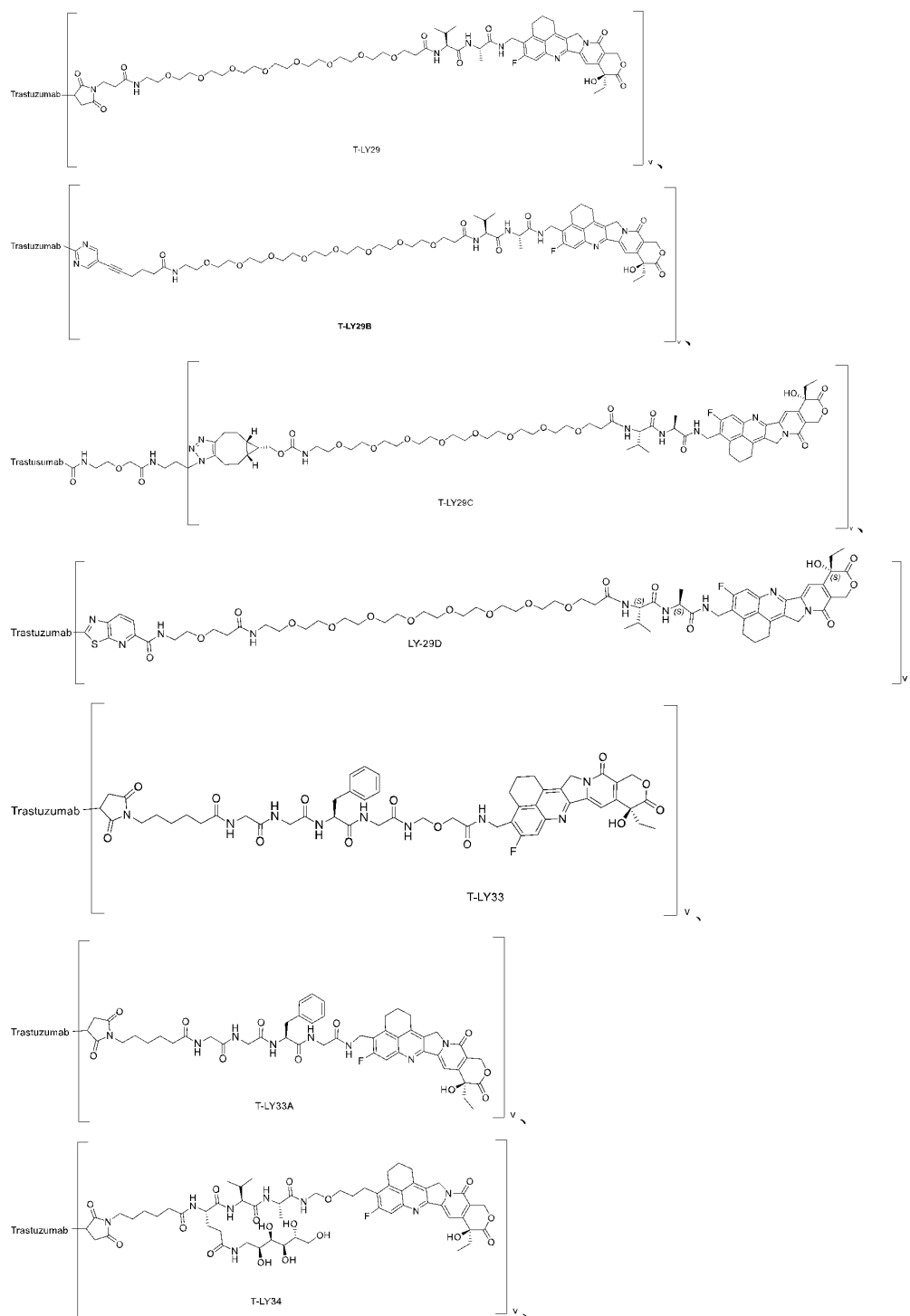


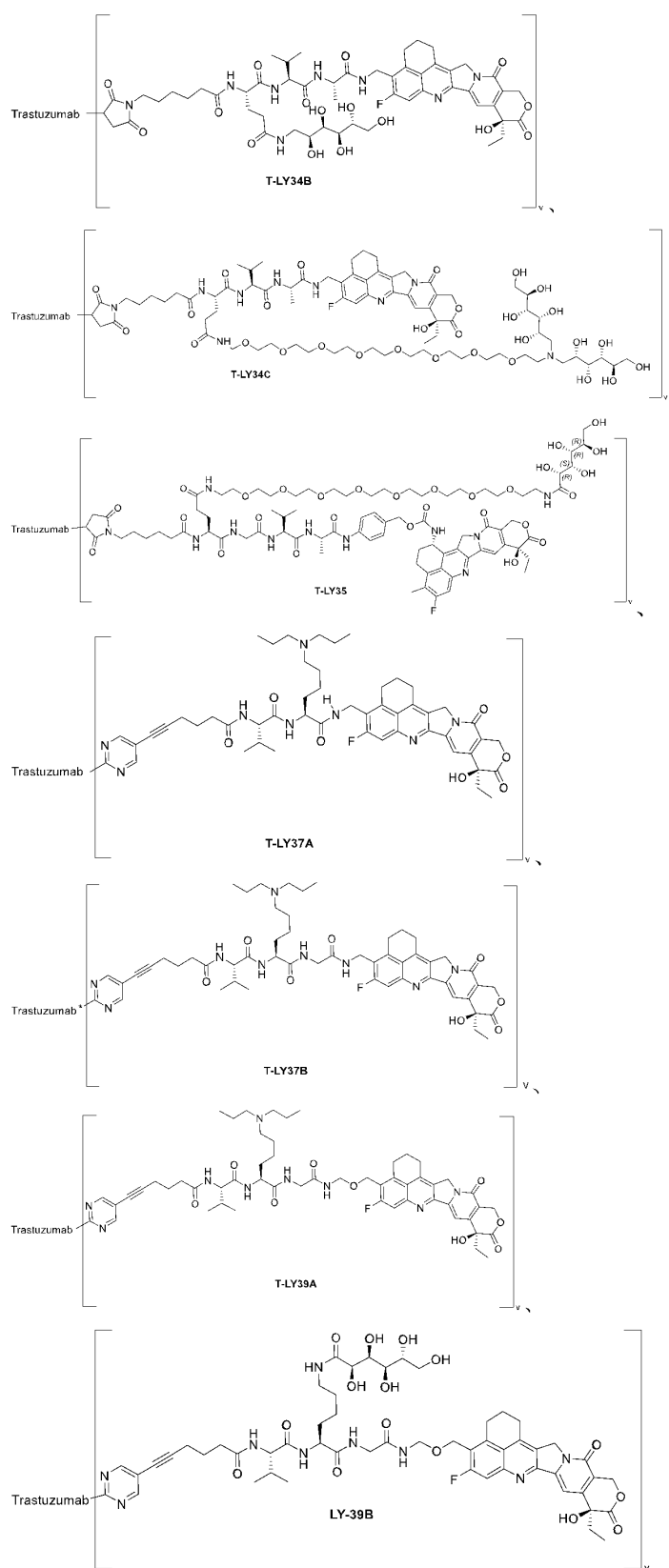


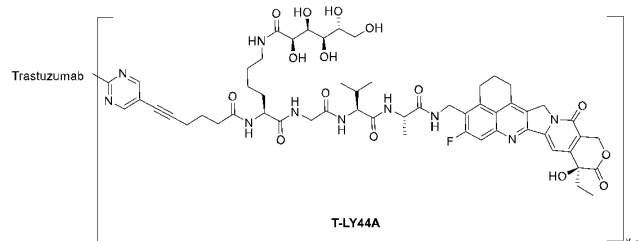
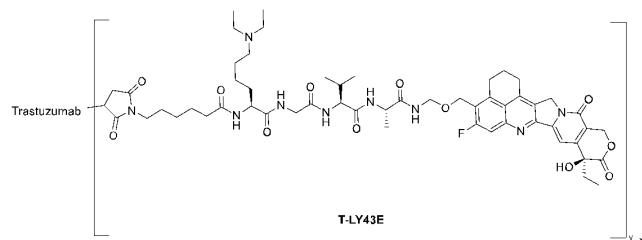
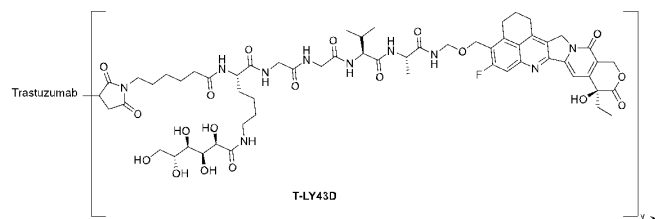
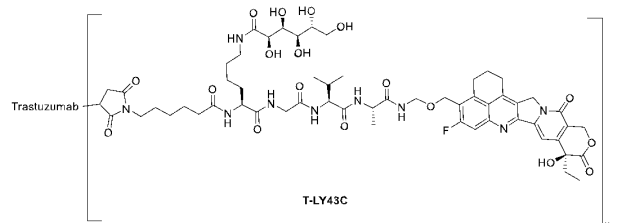
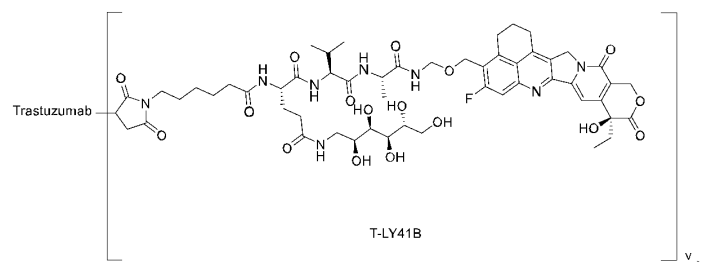
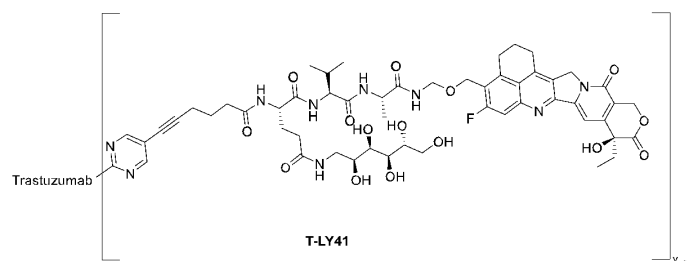


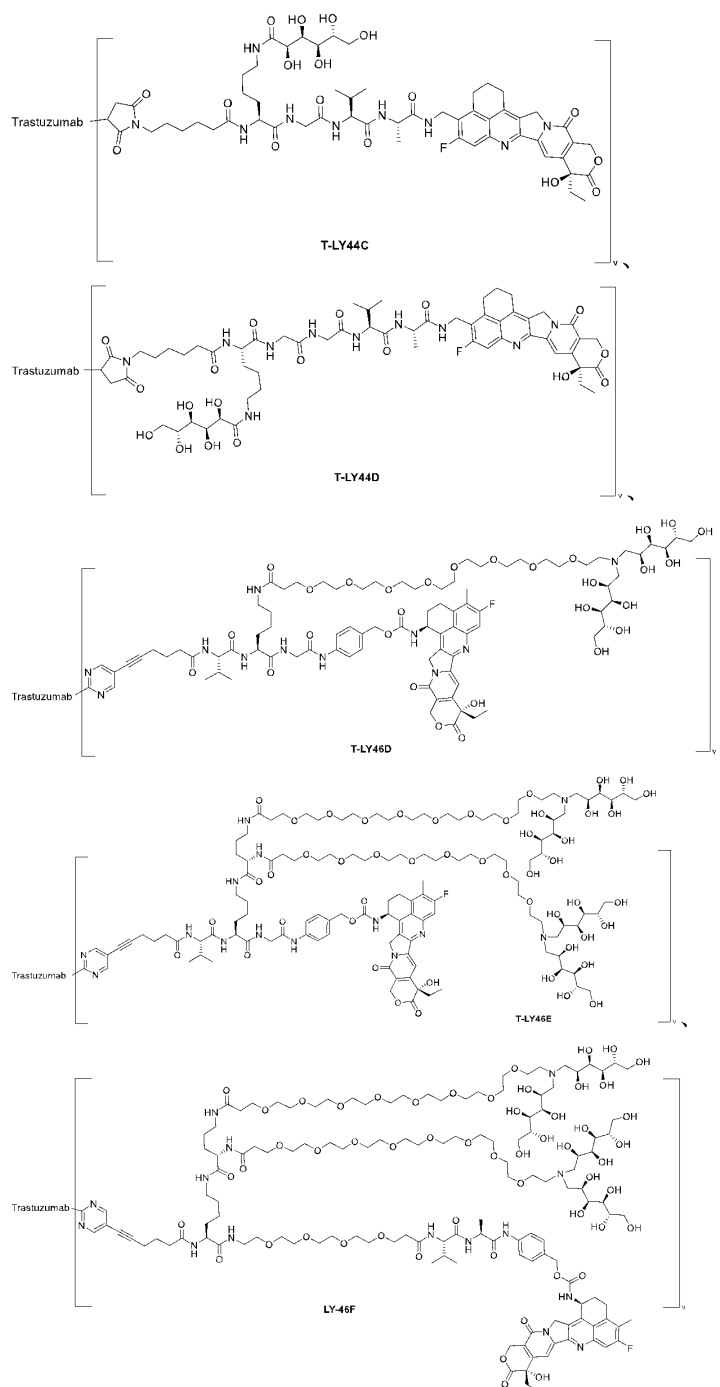


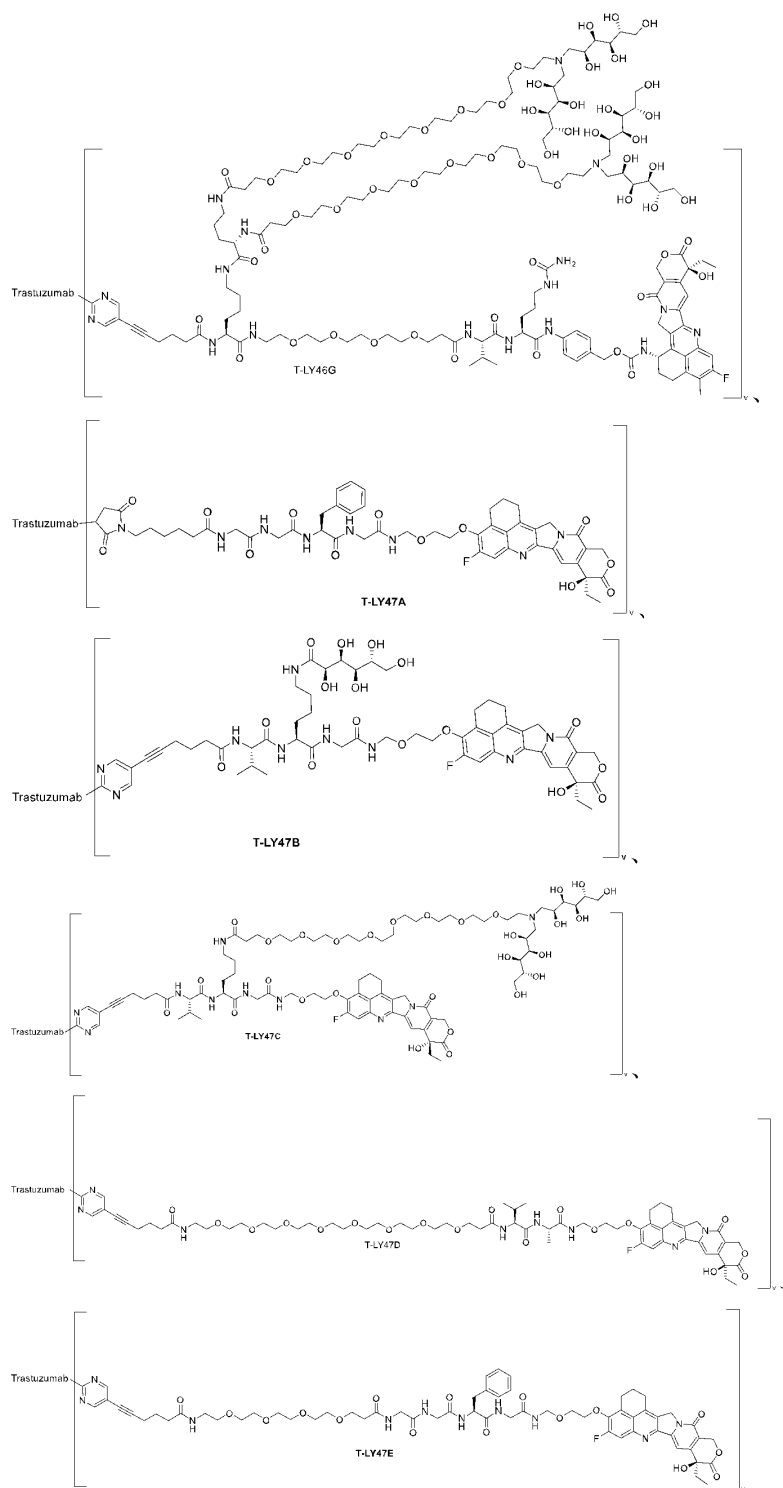


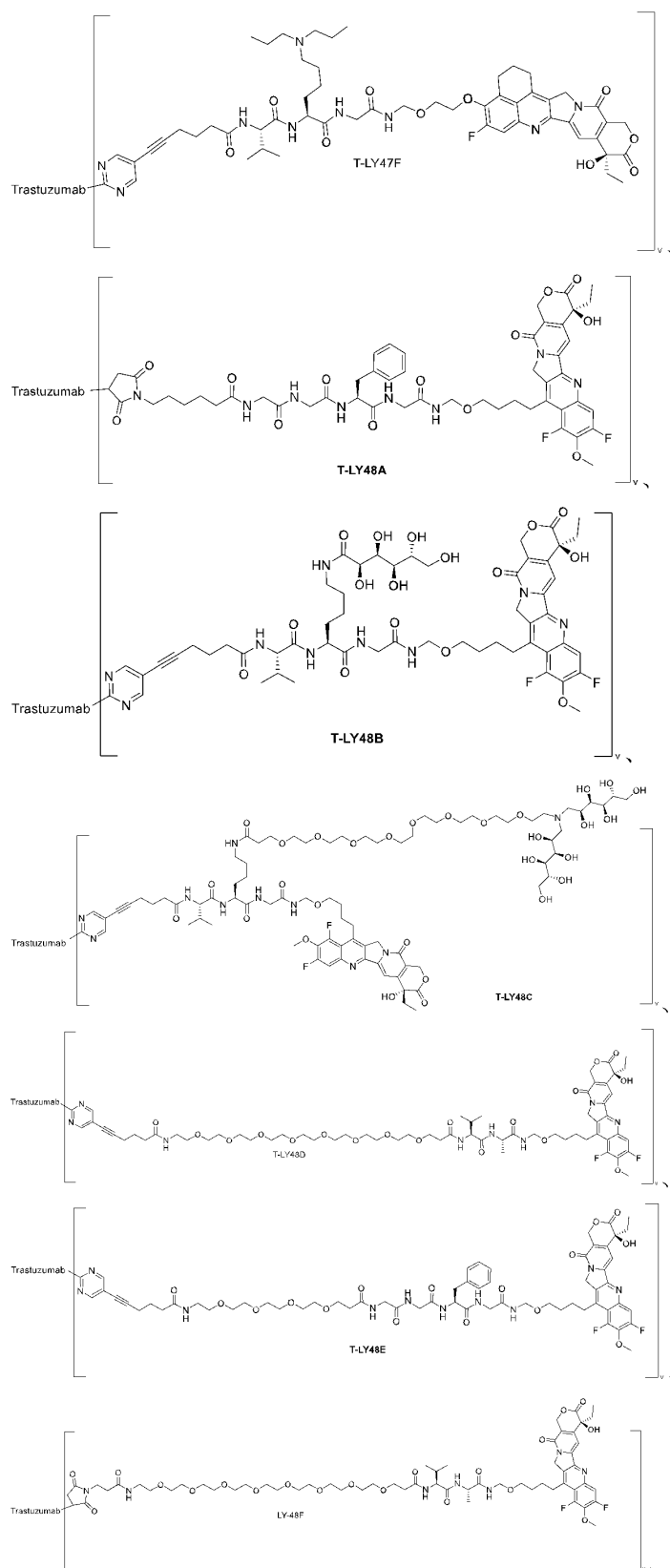


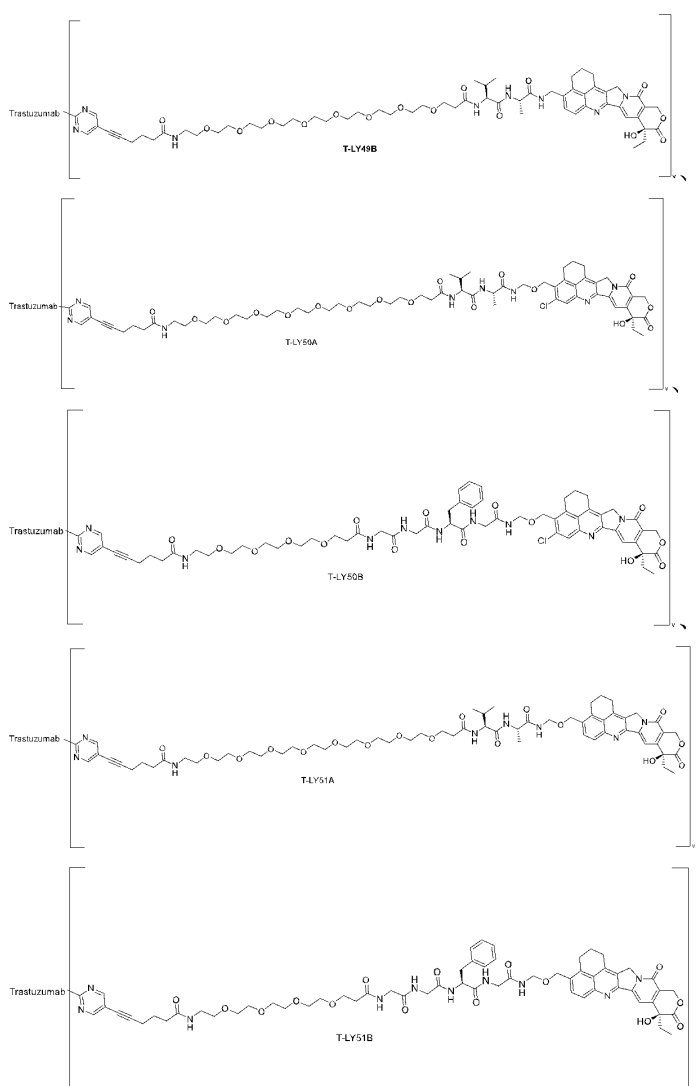












其中 v 为 1 至 10 的整数或小数，优选 2 至 8 的整数或小数。

43. 一种药物组合物，其包含根据权利要求 32 至 42 中任一项所述的通式 (B) 所示的配体药物偶联物或其药学上可接受的盐以及一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂。

44. 根据权利要求 1 至 21 中任一项所述的通式 (A) 所示的化合物或其药学上可接受的盐或者根据权利要求 22 至 26 中任一项所述的通式 (I) 所示的化合物或其立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐或者根据权利要求 27 至 31 中任一项所述的通式 (II) 所示的化合物或其立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐在制备配体-药物偶联

物中的用途。

45. 根据权利要求 32 至 42 中任一项所述的通式 (B) 所示的配体药物偶联物或其药学上可接受的盐或者根据权利要求 43 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，所述癌症优选乳腺癌、卵巢癌、软组织肉瘤、脂肪肉瘤、肺癌、非小细胞肺癌、胃癌、黑色素瘤、头颈癌、宫颈癌、前列腺癌。

46. 根据权利要求 22 至 26 中任一项所述的通式 (I) 所示的化合物或其立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐或者根据权利要求 27 至 31 中任一项所述的通式 (II) 所示的化合物或其立体异构体、互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐在制备用于治疗肿瘤或癌症的药物中的用途，所述癌症优选乳腺癌、卵巢癌、软组织肉瘤、脂肪肉瘤、肺癌、非小细胞肺癌、胃癌、黑色素瘤、头颈癌、宫颈癌、前列腺癌。