

奥瑞他汀衍生物及其抗体药物偶联物

本申请要求于 2023 年 09 月 26 日提交中国专利局、申请号为 202311256590.X、发明名称为“奥瑞他汀衍生物及其抗体药物偶联物”的中国专利申请，2024 年 01 月 25 日提交中国专利局、申请号为 202410109076.1、发明名称为“奥瑞他汀衍生物及其抗体药物偶联物”，2024 年 06 月 20 日提交中国专利局、申请号为 202410806735.7、发明名称为“奥瑞他汀衍生物及其抗体药物偶联物”以及 2024 年 08 月 15 日提交中国专利局、申请号为 202411124033.7、发明名称为“奥瑞他汀衍生物及其抗体药物偶联物”的中国专利申请的优先权，2024 年 09 月 14 日提交中国专利局、申请号为 202411296153.5、发明名称为“奥瑞他汀衍生物及其抗体药物偶联物”的中国专利申请的优先权，其全部内容通过引用结合在本申请中。

技术领域

本申请属于药物领域，具体涉及一种奥瑞他汀衍生物及其抗体药物偶联物的制备方法和用途。

背景技术

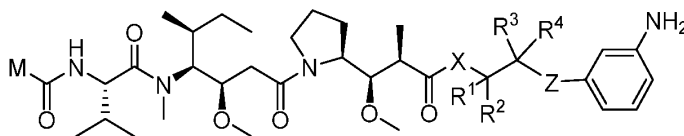
抗体药物偶联物 (antibody-drug conjugate, ADC) 是一类通过特定的连接头 (linker) 将靶标特异性的单克隆抗体 (Ab) 与高杀伤性的细胞毒性药物 (payload) 偶联起来的靶向生物药剂，以单抗为载体将小分子细胞毒性药物以靶向方式高效地运输至目标肿瘤细胞中。ADC 药物结合了靶向性、选择性强的抗体和高抗肿瘤活性细胞毒性药物的优势，在保留小分子细胞毒性药物肿瘤杀伤特性的同时，选择性降低小分子细胞毒性药物的脱靶毒副作用，有效提高了抗肿瘤治疗的获益风险比。

奥瑞他汀类衍生物 (auristatins) 是一种从印度洋截尾海兔中分离出来的缩肽衍生物，主要通过作用于微管蛋白来抑制肿瘤生长，其活性约为传统化疗药物的 1000 倍以上。MMAE (金盏花素 E) 和 MMAF (甲基金盏花素 F) 是 ADC 研发最常用的两种奥瑞他汀类化合物。

尽管近年来 ADC 的临床开发取得了重大进展，但其设计和开发仍面临许多挑战，存在较多临床不良反应，如德曲妥珠单抗 (Trastuzumab Deruxtecan, 商品名 Enhertu) 最常见的不良反应为上呼吸道感染、贫血、中性粒细胞减少症、血小板减少症、白细胞减少症、间质性肺疾病等，维布妥昔单抗 (Brentuximab Vedotin, 商品名 Adcetris) 存在血液学异常、胃肠道疾病等不良反应，因此，仍需开发更多安全有效的细胞毒药物及其抗体药物偶联物。

发明内容

本公开提供一种式(I)所示的细胞毒药物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐：



(I)

其中，M 选自 C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基、3-8 元杂环基；所述的 C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基、3-8 元杂环基任选进一步被选自 C₁₋₄ 烷基或 NR^{m1}R^{m2} 的取代基所取代，且所述的 3-8 元杂环基含有 1-3 个选自 N、O 或 S 的杂原子；

R^{m1} 和 R^{m2} 各自独立选自 H 或 C₁₋₄ 烷基；

X 选自 O 或 -N(R^{x1})-；

R^{x1} 选自 H、OH、C₁₋₄ 烷基、C₁₋₄ 烷氧基、C₂₋₄ 烯基、C₂₋₄ 炔基或 C₃₋₆ 环烷基；所述的 C₁₋₄ 烷基或 C₃₋₆ 环烷基任选进一步被 1-3 个选自卤素、CN、氧或 C₃₋₆ 环烷基的取代基所取代；

R³ 和 R⁴ 各自独立地选自 H 或 OH；

或者，X 与 R³ 及其相连的原子一起形成 4-8 元杂环，且所述的 4-8 元杂环含有 1-3 个选自 N、O、S 或 S(O)₂ 的杂原子或基团；

或者, X 与 R⁴ 及其相连的原子一起形成 4-8 元杂环, 且所述的 4-8 元杂环含有 1-3 个选自 N、O、S 或 S(O)₂ 的杂原子或基团;

R¹ 和 R² 各自独立地选自 H、OH、C₁₋₄ 烷基、C₂₋₄ 炔基、C₂₋₄ 烯基、C₃₋₆ 环烷基、3-8 元杂环基、-COOR^{1a} 或 -CONR^{1b}R^{1c}; 所述 C₁₋₄ 烷基、C₂₋₄ 烯基、C₃₋₆ 环烷基、3-8 元杂环基任选进一步被 1-3 个选自 CN、OH、N₃、卤素、-COOR^{1a}、-CONR^{1b}R^{1c} 或 C₁₋₄ 烷基的取代基所取代, 且所述的 3-8 元杂环基含有 1-3 个选自 N、O 或 S 的杂原子;

R^{1a}、R^{1b} 和 R^{1c} 各自独立地选自 H 或 C₁₋₄ 烷基;

或者, R¹、R² 与其相连的碳原子一起形成 C₃₋₆ 环烷基或 3-8 元杂环基;

Z 选自化学键或 -(CH₂)_n-, n 选自 1 或 2。

10 在一些实施方案中, 所述 M 选自 C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基、3-8 元杂环基; 所述的 C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基、3-8 元杂环基任选进一步被选自 C₁₋₄ 烷基或 NR^{m1}R^{m2} 的取代基所取代, 且所述的 3-8 元杂环基含有 1-3 个选自 N、O 或 S 的杂原子;

R^{m1} 和 R^{m2} 各自独立选自 H 或 C₁₋₄ 烷基;

X 选自 O 或 -N(R^{x1})-;

15 R^{x1} 选自 H、OH、C₁₋₄ 烷基、C₁₋₄ 烷氧基、C₂₋₄ 烯基或 C₂₋₄ 炔基; 所述的 C₁₋₄ 烷基任选进一步被 1-3 个选自卤素或 CN 的取代基所取代;

R³ 和 R⁴ 各自独立地选自 H 或 OH;

或者, X 与 R³ 及其相连的原子一起形成 4-8 元杂环, 且所述的 4-8 元杂环含有 1-3 个选自 N、O、S 或 S(O)₂ 的杂原子或基团;

20 或者, X 与 R⁴ 及其相连的原子一起形成 4-8 元杂环, 且所述的 4-8 元杂环含有 1-3 个选自 N、O、S 或 S(O)₂ 的杂原子或基团;;

R¹ 和 R² 各自独立地选自 H、OH、C₁₋₄ 烷基、C₂₋₄ 炔基、C₂₋₄ 烯基、C₃₋₆ 环烷基、3-8 元杂环基、-COOR^{1a} 或 -CONR^{1b}R^{1c}; 所述 C₁₋₄ 烷基、C₂₋₄ 烯基、C₃₋₆ 环烷基、3-8 元杂环基任选进一步被 1-3 个选自 CN、OH、N₃、卤素、-COOR^{1a}、-CONR^{1b}R^{1c} 的取代基所取代, 且所述的 3-8 元杂环基含有 1-3 个选自

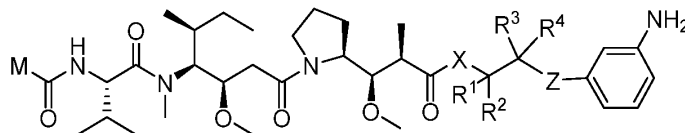
25 N、O 或 S 的杂原子;

R^{1a}、R^{1b} 和 R^{1c} 各自独立地选自 H 或 C₁₋₄ 烷基;

或者, R¹、R² 与其相连的碳原子一起形成 C₃₋₆ 环烷基或 3-8 元杂环基;

Z 选自化学键或 -(CH₂)_n-, n 选自 1 或 2。

30 在一些实施方案中, 式(I)所述的细胞毒药物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐:



(I)

其中, M 选自 C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基、3-8 元杂环基; 所述的 C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基、3-8 元杂环基任选进一步被选自 C₁₋₄ 烷基或 NR^{m1}R^{m2} 的取代基所取代, 且所述的 3-8 元杂环基含有 1-3 个选自 N、O 或 S 的杂原子;

35 R^{m1} 和 R^{m2} 各自独立选自 H 或 C₁₋₄ 烷基;

X 选自 O 或 -N(R^{x1})-;

R^{x1} 选自 H、OH、C₁₋₄ 烷基、C₁₋₄ 烷氧基、C₂₋₄ 烯基或 C₂₋₄ 炔基; 所述的 C₁₋₄ 烷基任选进一步被 1-3 个选自卤素或 CN 的取代基所取代;

40 R¹ 和 R² 各自独立地选自 H、OH、C₁₋₄ 烷基、C₂₋₄ 炔基、C₂₋₄ 烯基、C₃₋₆ 环烷基、3-8 元杂环基、-COOR^{1a} 或 -CONR^{1b}R^{1c}; 所述 C₁₋₄ 烷基、C₂₋₄ 烯基、C₃₋₆ 环烷基、3-8 元杂环基任选进一步被 1-3 个选自 CN、OH、N₃、卤素、-COOR^{1a}、-CONR^{1b}R^{1c} 的取代基所取代, 且所述的 3-8 元杂环基含有 1-3 个选自 N、O 或 S 的杂原子;

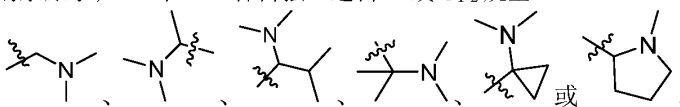
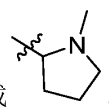
R^{1a}、R^{1b} 和 R^{1c} 各自独立地选自 H 或 C₁₋₄ 烷基;

或者, R^1 、 R^2 与其相连的碳原子一起形成 C_{3-6} 环烷基或 3-8 元杂环基;

R^3 和 R^4 各自独立地选自 H 或 OH;

Z 选自化学键或 $-(CH_2)_n-$, n 选自 1 或 2。

- 5 在一些实施方案中, 式(I)所示的细胞毒药物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐, 其中, 所述 M 选自 C_{1-4} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、3-6 元杂环基; 所述的 C_{1-4} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、3-6 元杂环基任选进一步被选自 C_{1-4} 烷基或 $NR^{m1}R^{m2}$ 的取代基所取代, 且所述的 3-6 元杂环基含有 1-3 个选自 N、O 或 S 的杂原子; R^{m1} 和 R^{m2} 各自独立选自 H 或 C_{1-2} 烷基。

在一些实施方案中, 所述 M 选自  或 .

10 在一些实施方案中, 所述 R^{m1} 选自 H、 $-CH_3$ 、OH、 $-OCH_3$ 、、、、、、、、、、、或 .

在一些实施方案中, 所述 X 选自 O、 $-NH-$ 、 $-N(CH_3)-$ 、、、、、 或 .

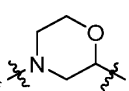
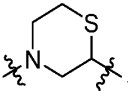
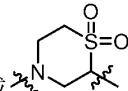
15 在一些实施方案中, 所述 X 选自 、、、、、、、、 或 .

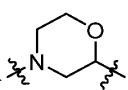
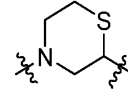
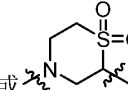
- 15 在一些实施方案中, 所述 R^1 和 R^2 各自独立地选自 H、 $-CH_3$ 、 $-CH_2OH$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CHF_2$ 、 $-CF_3$ 、 $-CH_2Cl$ 、、、、、、、、 $-COOH$ 、 $-COOCH_3$ 、 $-CONH_2$ 、 $-CONHCH_3$ 、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、、

在一些实施方案中,所述 R^3 和 R^4 各自独立地选自 H 或 OH, 优选地, R^3 和 R^4 各自独立地为 H。

在一些实施方案中,所述 X 与 R^3 及其相连的原子一起形成 5-6 元杂环, 且所述的 5-6 元杂环含有 1-3 个选自 N、O、S 或 $S(O)_2$ 的杂原子或基团;

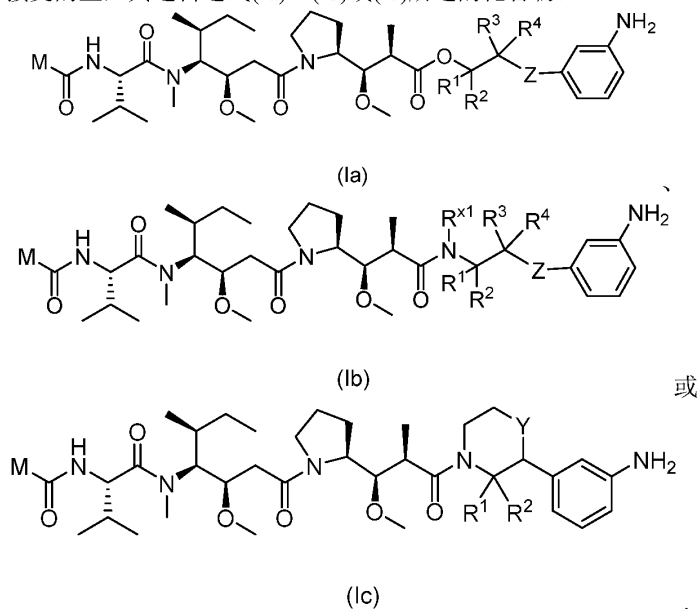
或者, X 与 R^4 及其相连的原子一起形成 5-6 元杂环, 且所述的 5-6 元杂环含有 1-3 个选自 N、O、S 或 $S(O)_2$ 的杂原子或基团。

在一些实施方案中,所述 X 与 R^3 及其相连的原子一起形成 、 或 ;

或者, X 与 R^4 及其相连的原子一起形成 、 或 。

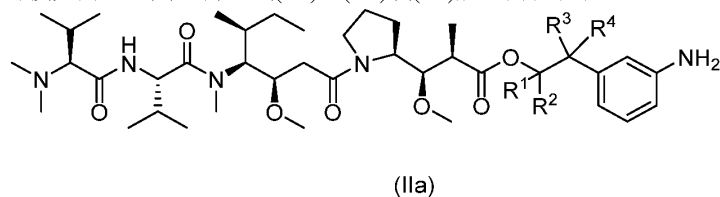
在一些实施方案中,所述 Z 选自化学键或 $-CH_2-$ 。

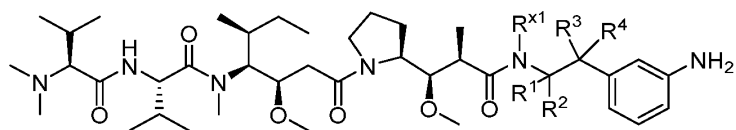
10 在一些实施方案中,式(I)所示的细胞毒药物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐,其选自通式(Ia)、(Ib)或(Ic)所述的化合物:



其中, Y 选自 O、S 或 $S(O)_2$, 所述 M、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^{x1} 和 Z 如式(I)所定义。

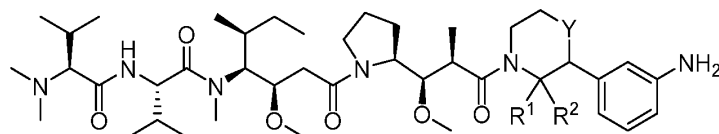
15 在一些实施方案中,式(I)所示的细胞毒药物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐,其选自通式(IIa)、(IIb)或(IIc)所述的化合物:





(IIb)

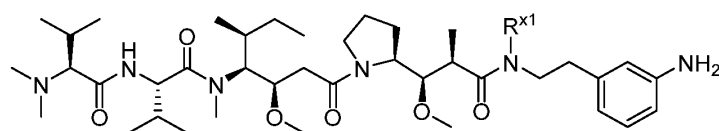
或



(IIc)

其中, Y 选自 O、S 或 S(O)₂, 所述 R¹、R²、R³、R⁴、R^{x1} 如式(I)所定义。

5 在一些实施方案中, 式(I)所示的细胞毒药物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐, 其选自通式(IIIa)所述的化合物:



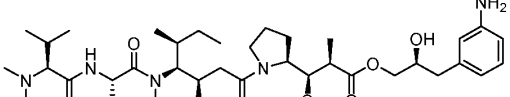
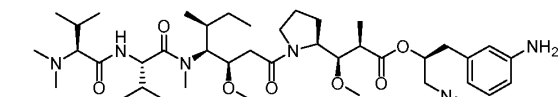
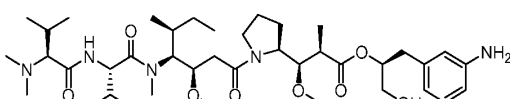
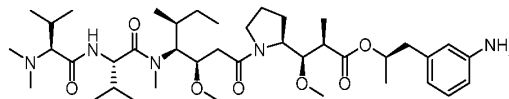
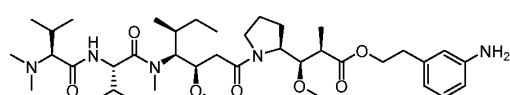
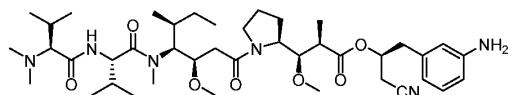
(IIIa)

其中, 所述 R^{x1} 选自 OH、C₁₋₄ 烷基、C₁₋₄ 烷氧基或 C₃₋₆ 环烷基, 且所述的 C₁₋₄ 烷基或 C₃₋₆ 环烷基进

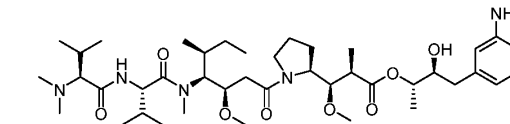
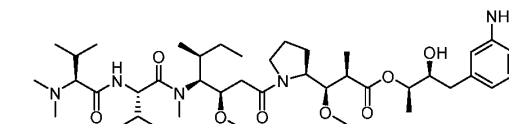
一步被 1-3 个选自氘、甲基、CN 或环丙基的取代基所取代; 优选地, R^{x1} 选自 -OCH₃、CN、CN、

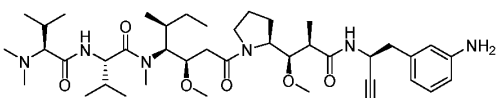
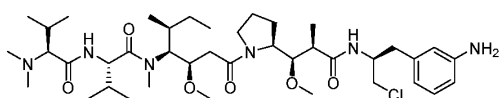
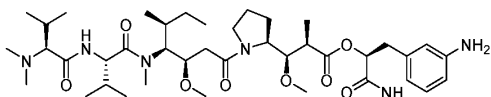
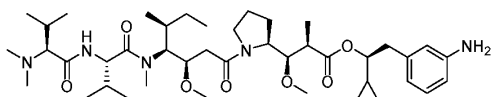
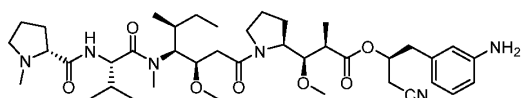
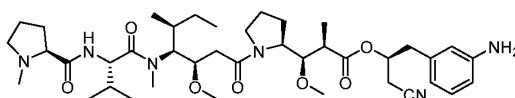
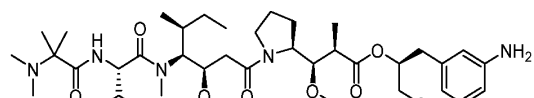
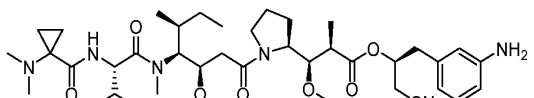
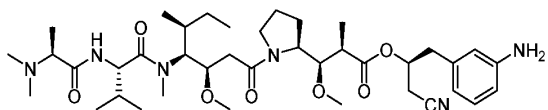
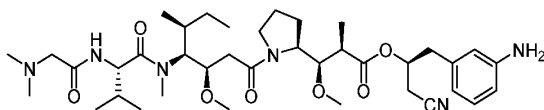
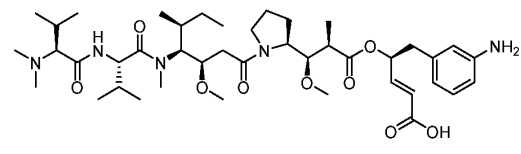
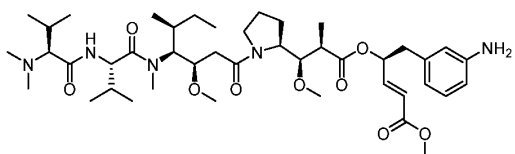
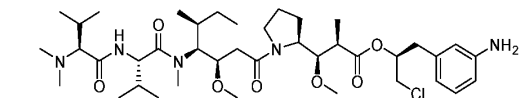
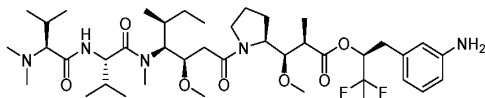
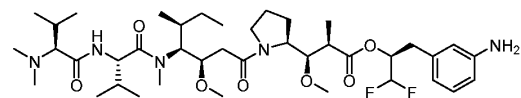
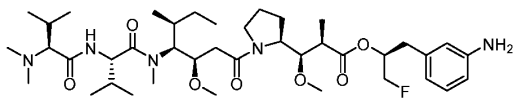
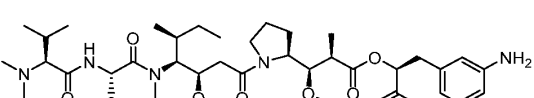
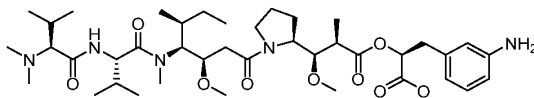
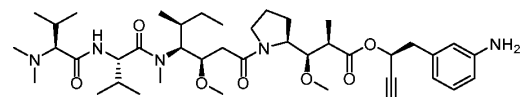
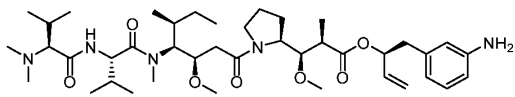
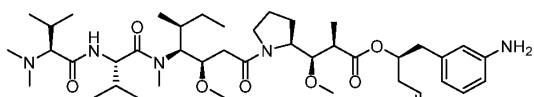
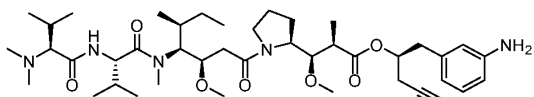
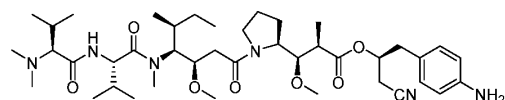
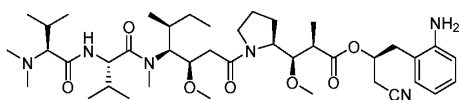
10 CN、CN、CN、CN、CN、CN、或 CN。

在一些实施方案中, 所述细胞毒药物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐, 其选自:



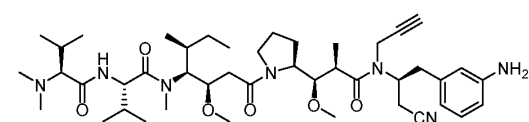
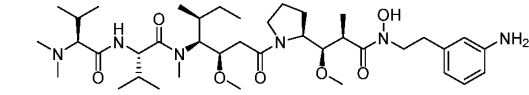
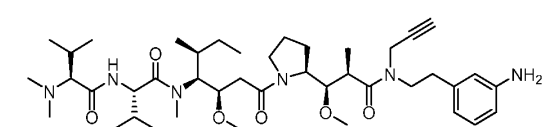
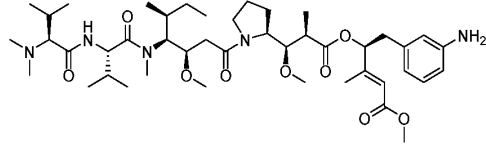
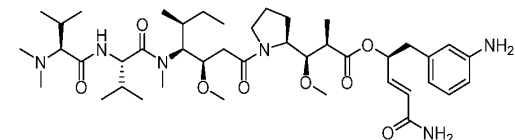
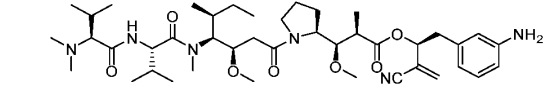
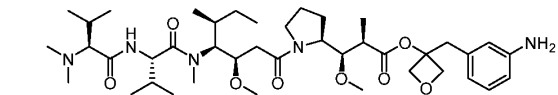
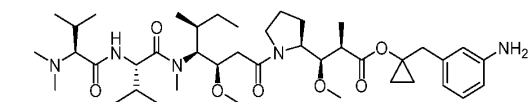
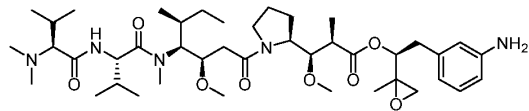
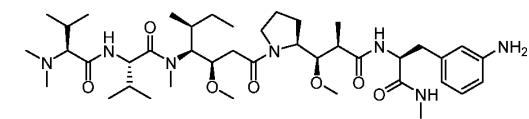
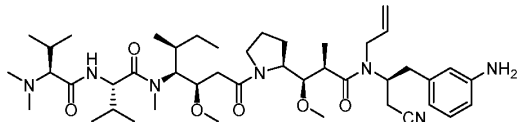
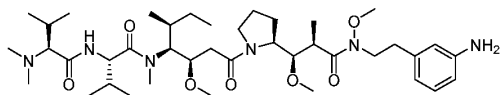
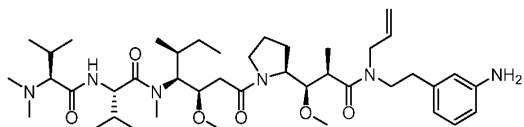
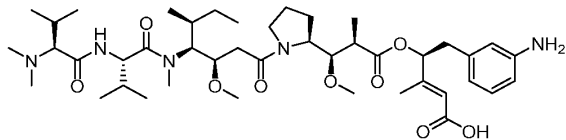
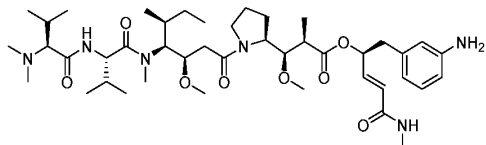
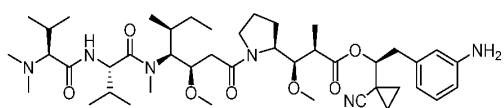
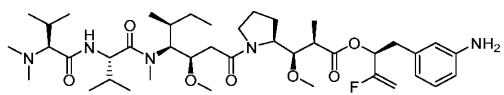
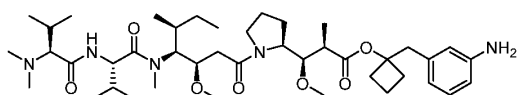
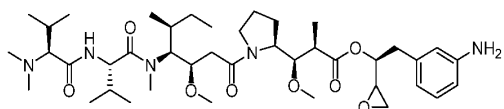
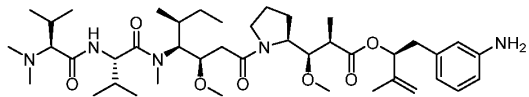
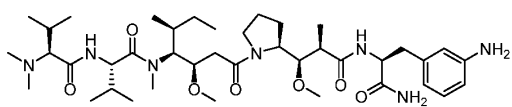
15





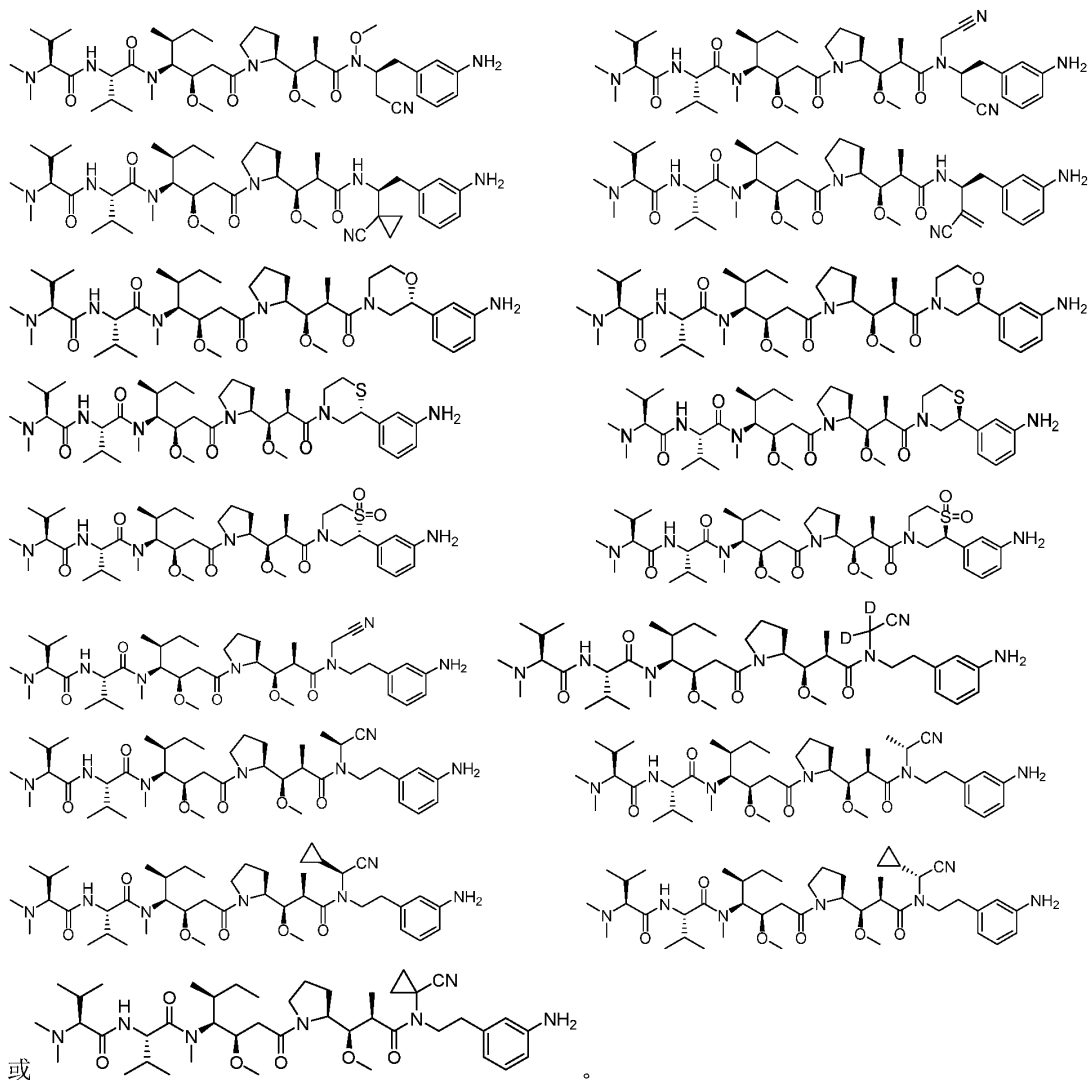
5

10

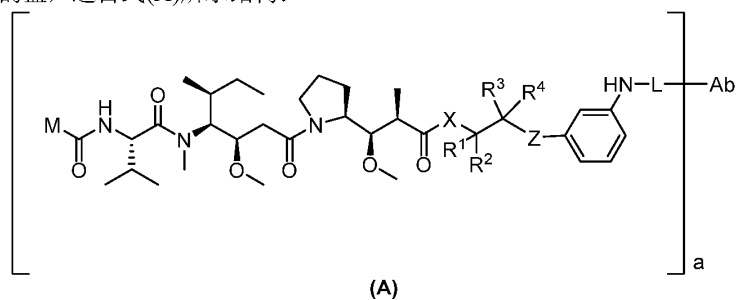


5

10



- 10 本公开还提供一种抗体药物偶联物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐，选自式(A)所示结构：



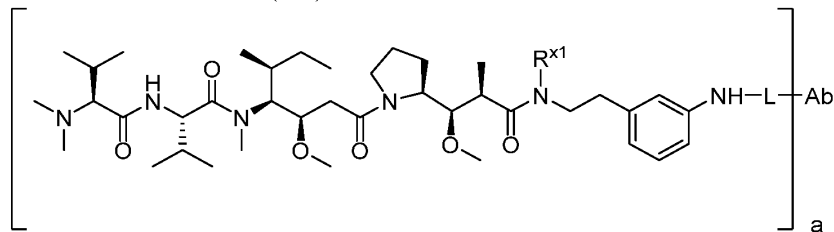
其中，Ab 为抗体或抗原结合片段；

L 为连接基团，其左端与细胞毒药物上的 NH 相连，右端与 Ab 相连；

- 15 a 选自 1~10 的数值；

所述 M、R¹、R²、R³、R⁴、X 和 Z 如式(I)所定义。

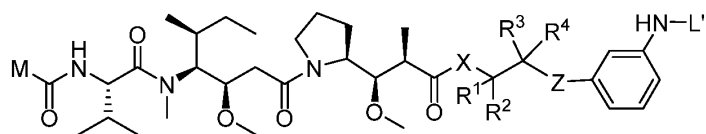
在一些实施方案中,所述抗体药物偶联物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐,选自式(A-1)所示结构:



(A-1)

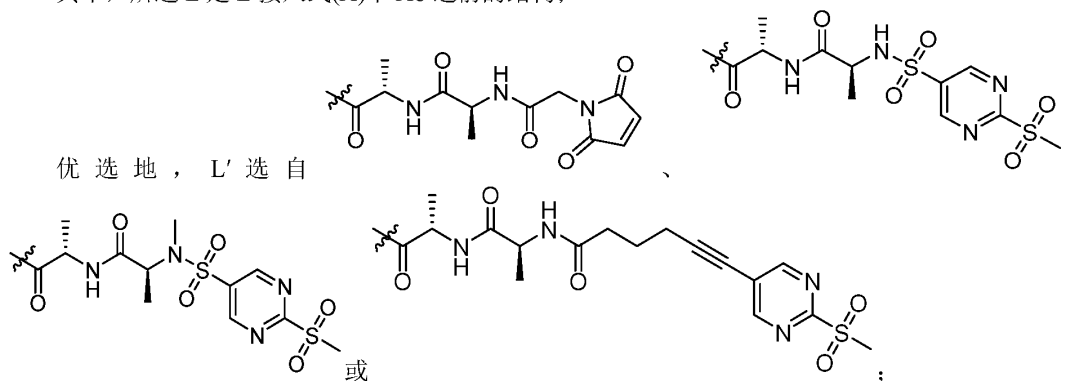
其中, Ab 为 Her2 抗体; 优选地, Ab 为曲妥珠单抗;

- 5 R^{x1} 选自 H、 $-CH_3$ 、OH、 $-OCH_3$ 、、、、、、、、、、、、



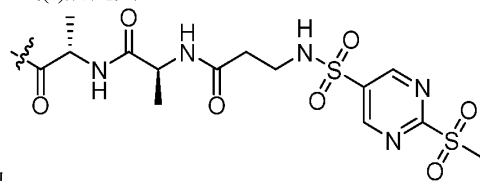
(B)

其中, 所述 L' 是 L 接入式(A)中 Ab 之前的结构;



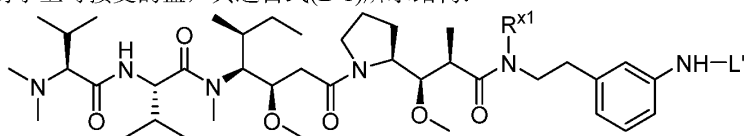
优选地, L' 选自

5 所述 M、R¹、R²、R³、R⁴、X 和 Z 如式(I)所定义。



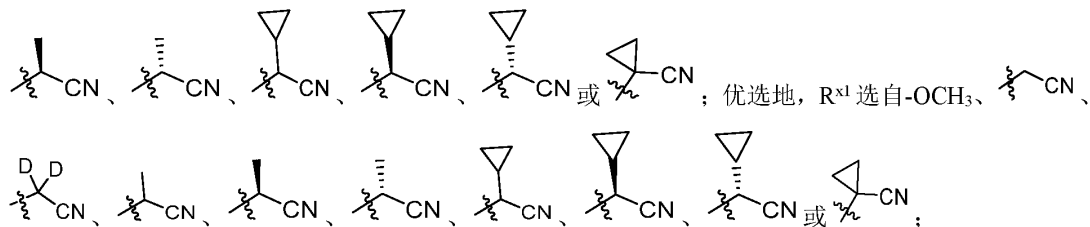
在一些实施方案中, 优选地, L' 选自

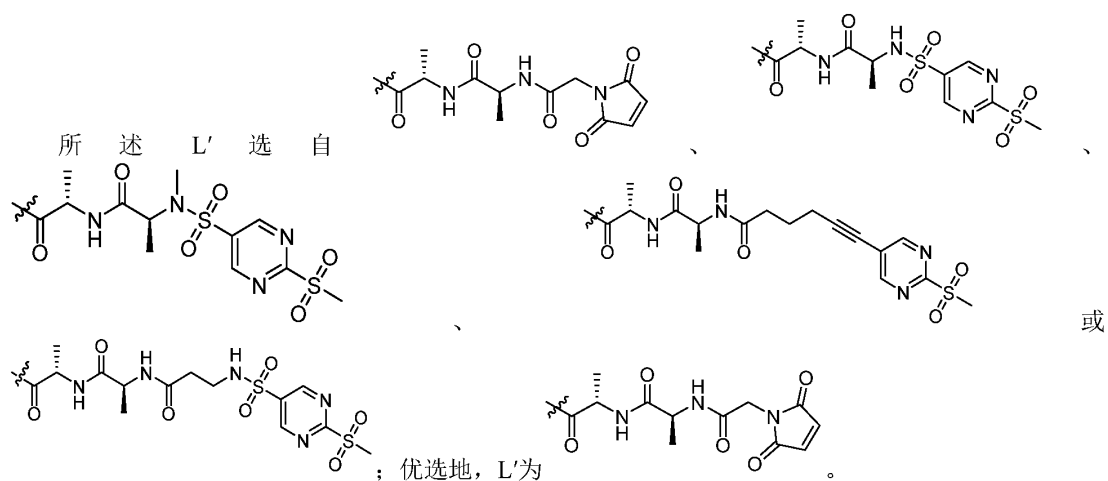
在一些实施方案中, 所述细胞毒药物-连接体、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐, 其选自式(B-1)所示结构:



(B-1)

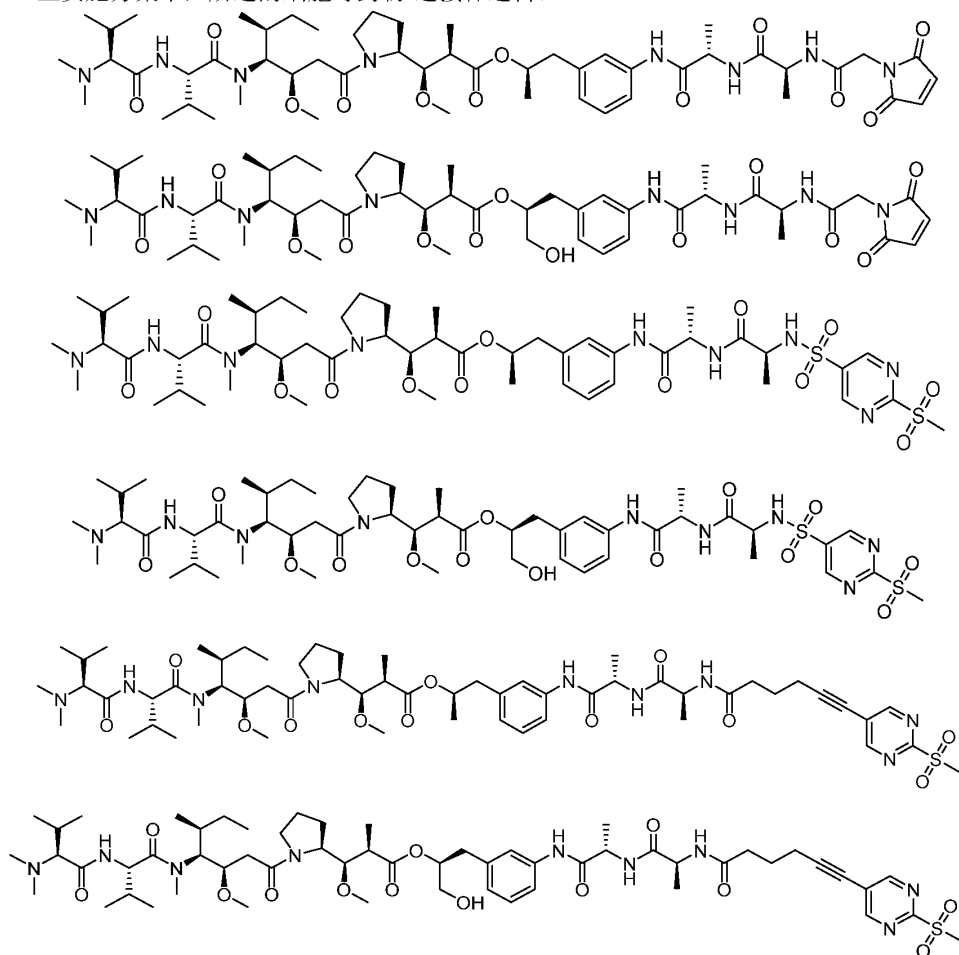
10 其中, 所述 R^{x1} 选自 H、-CH₃、OH、-OCH₃、、、、、、



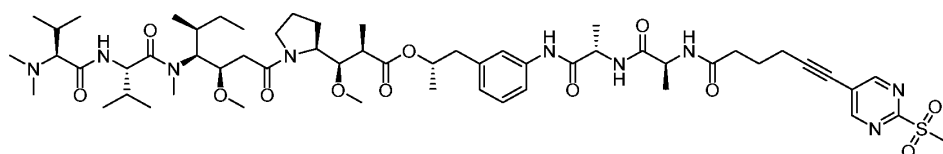
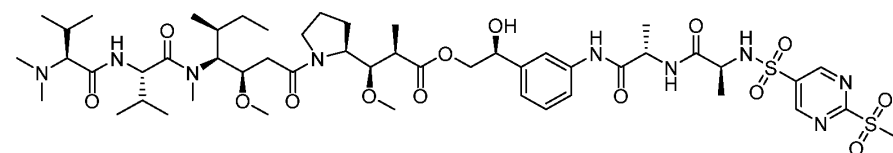
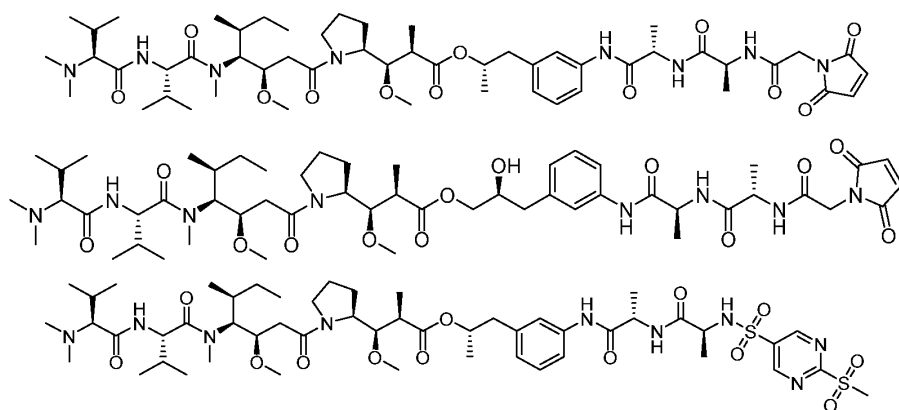


在一些实施方案中，所述的细胞毒药物-连接体选自：

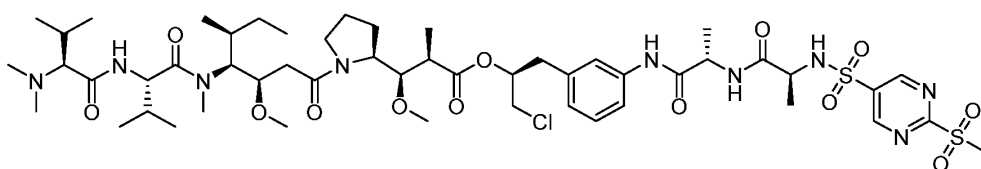
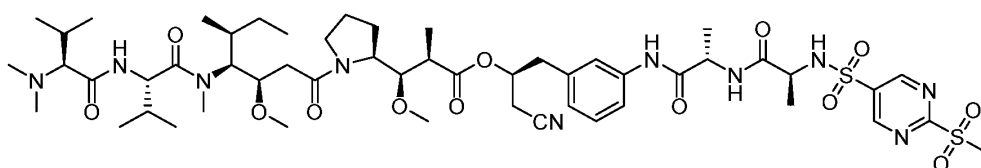
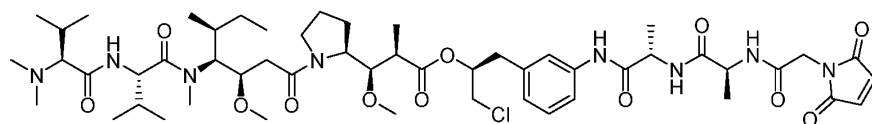
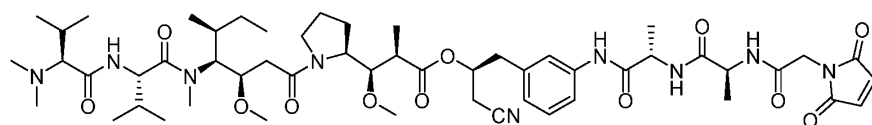
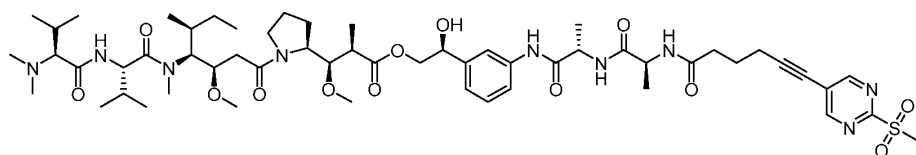
5



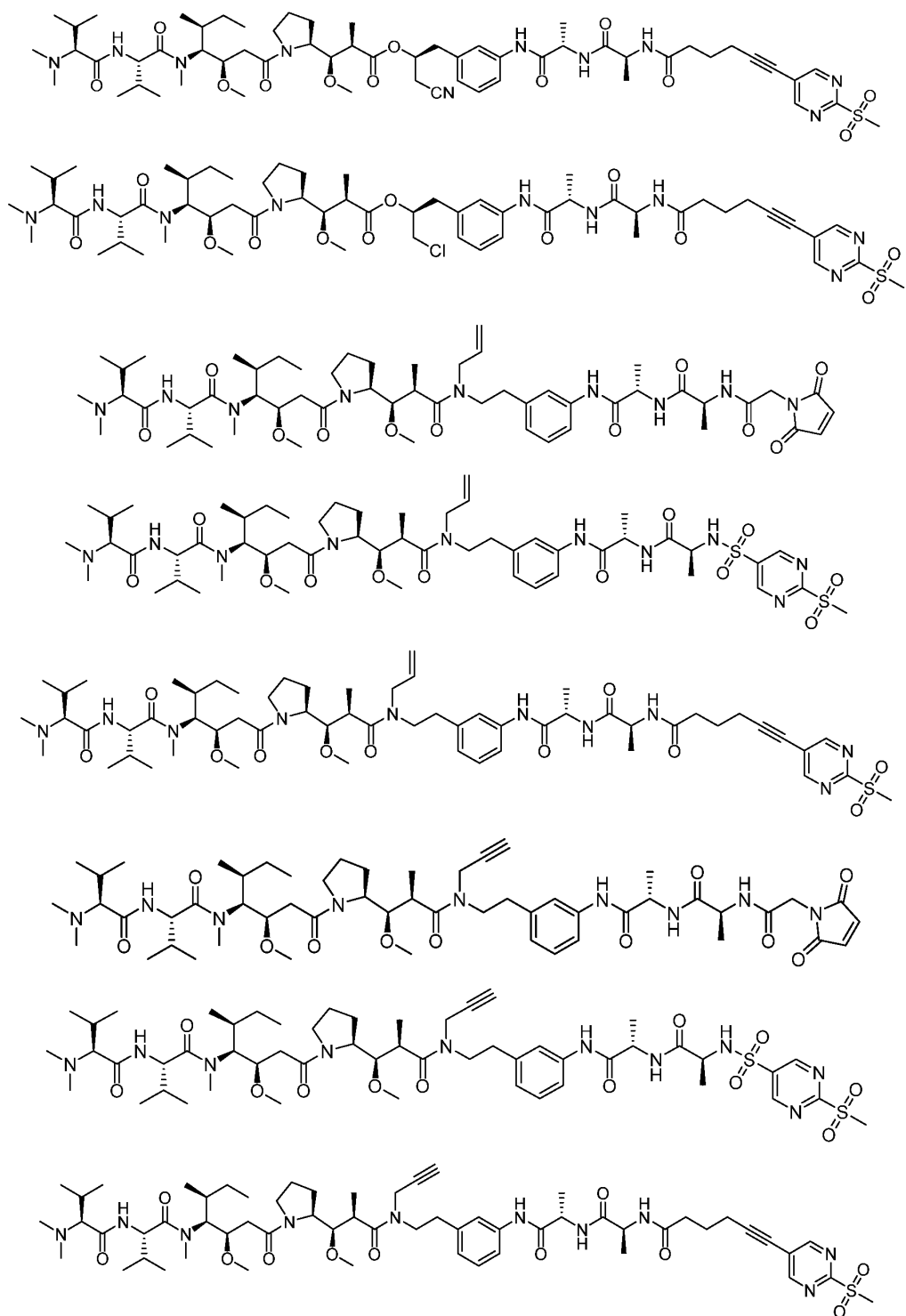
10

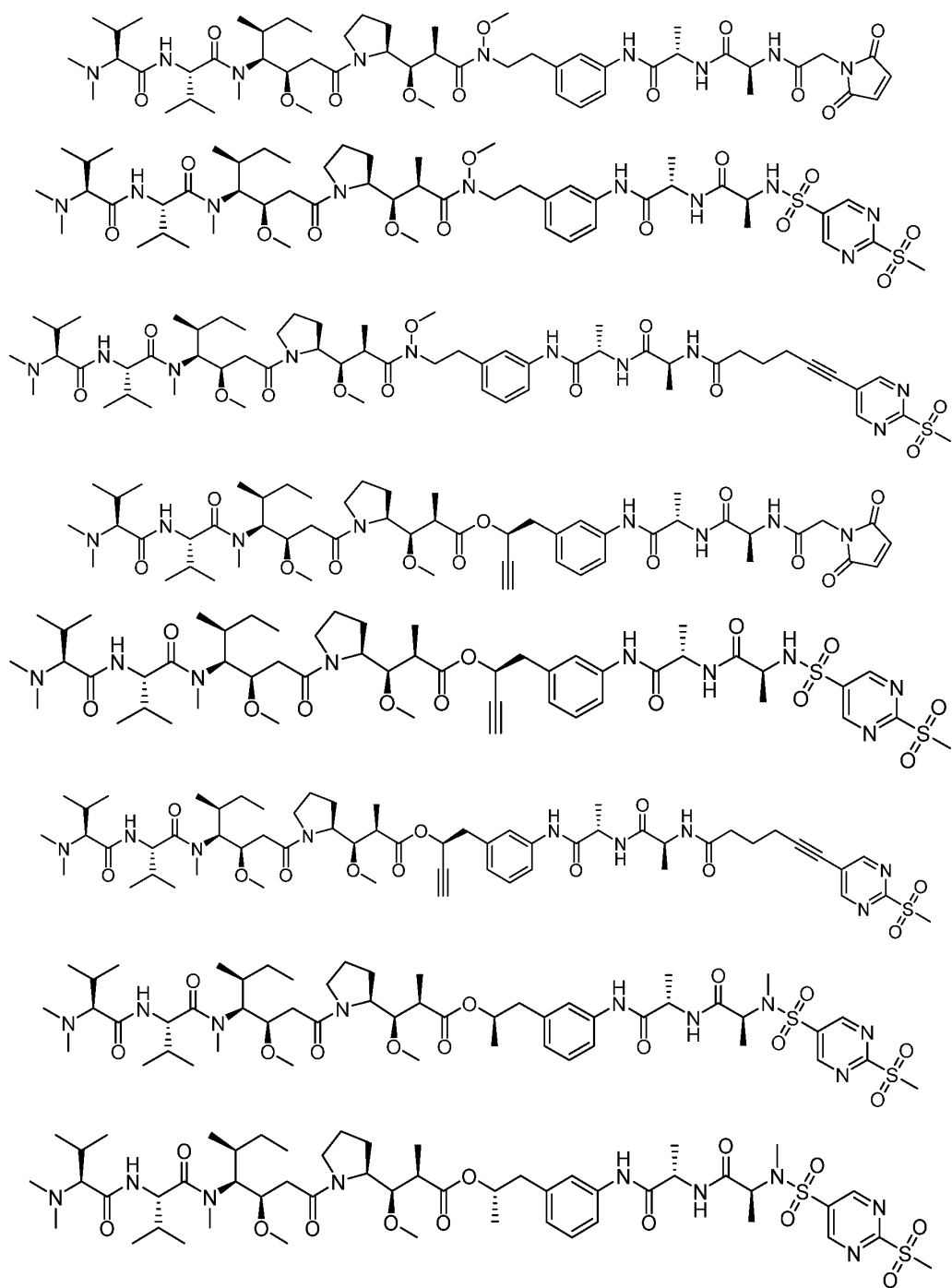


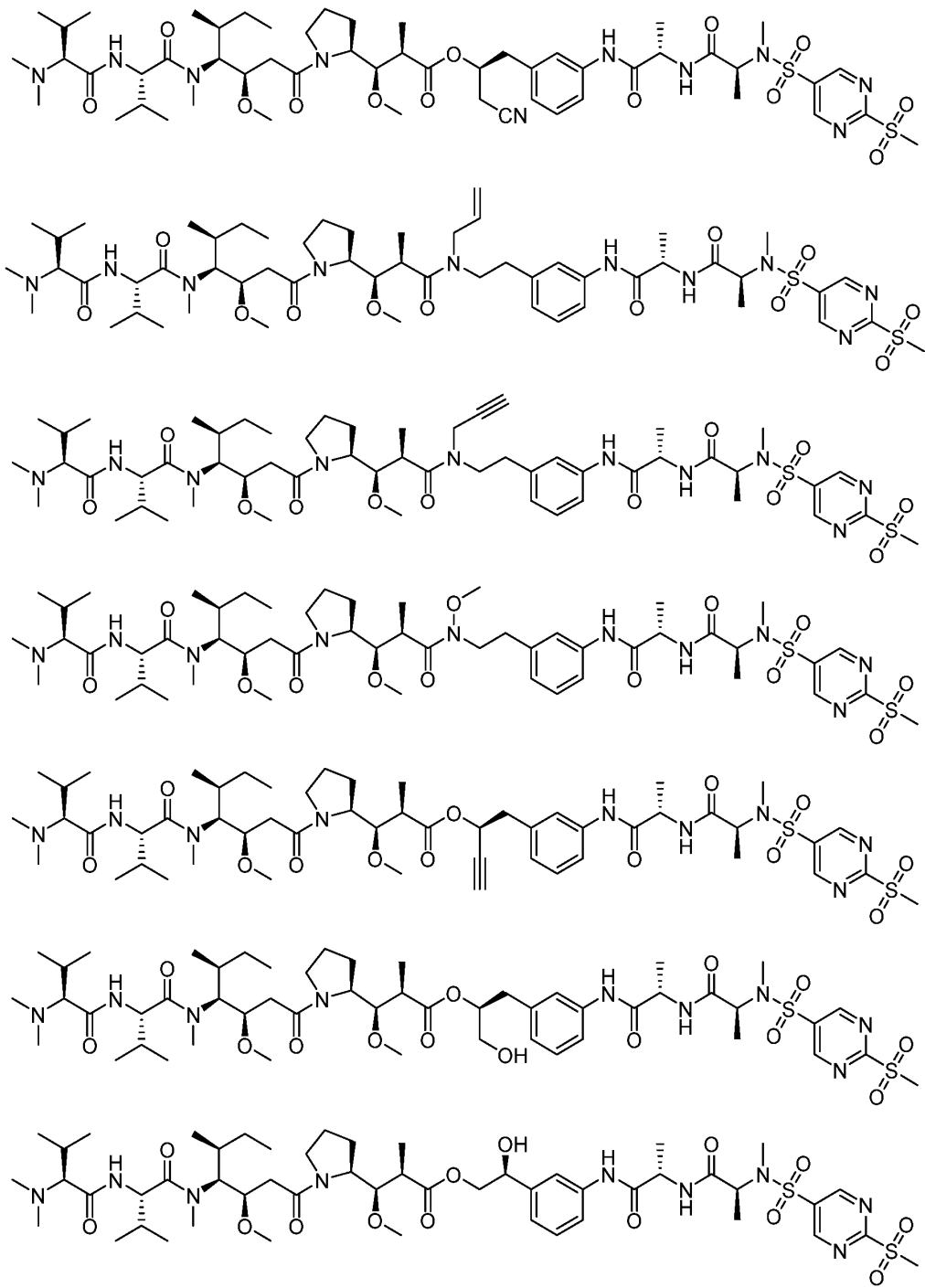
5

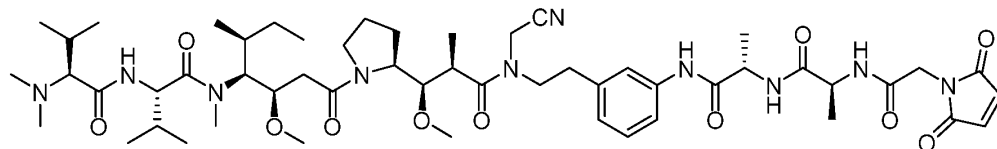
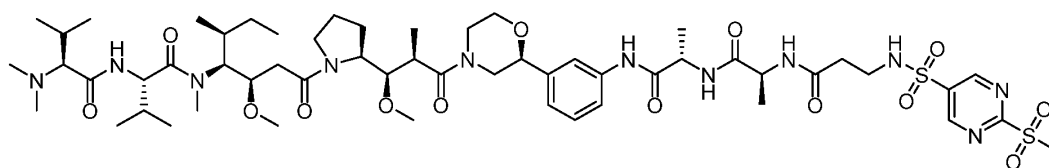
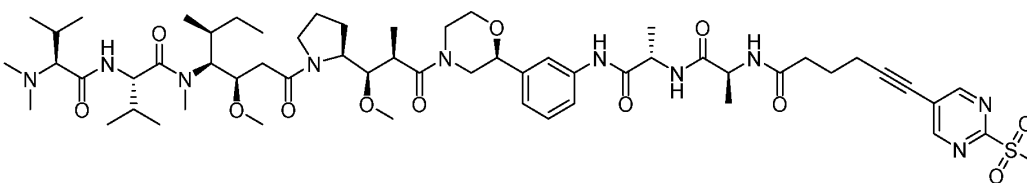
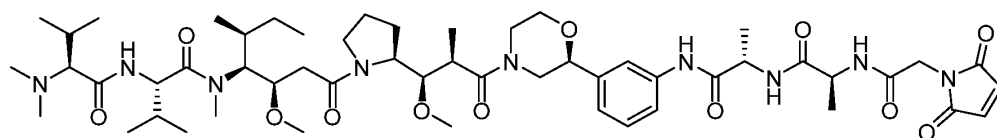
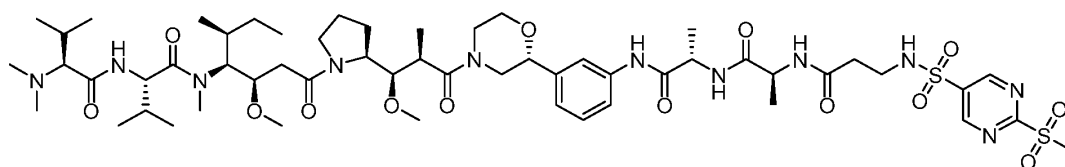
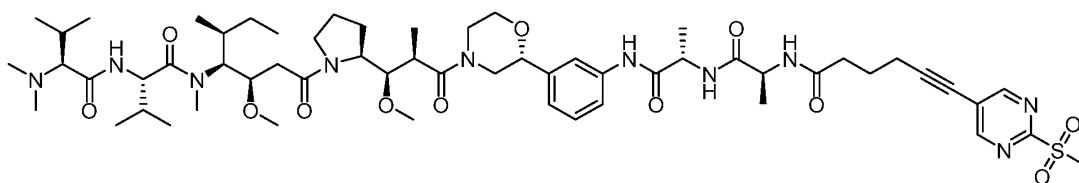
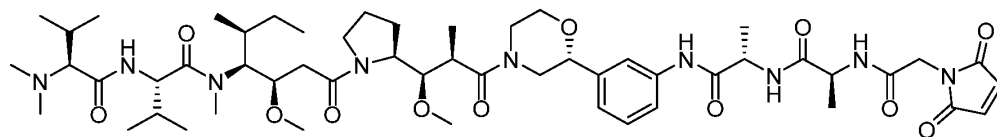
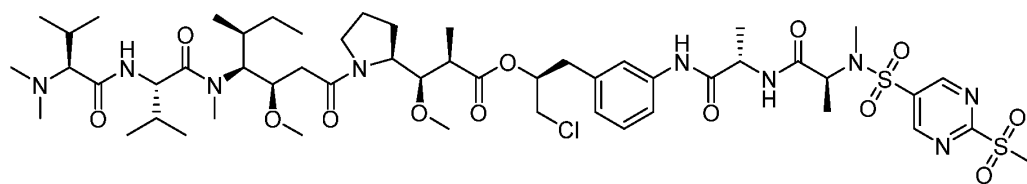


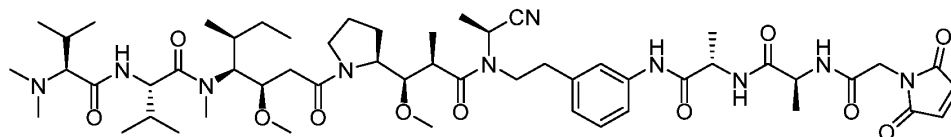
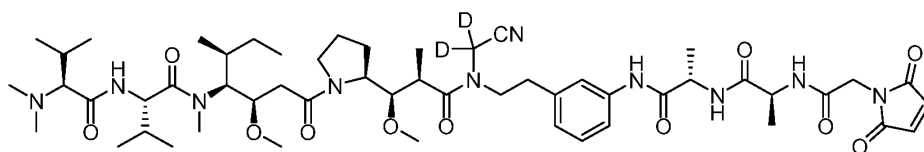
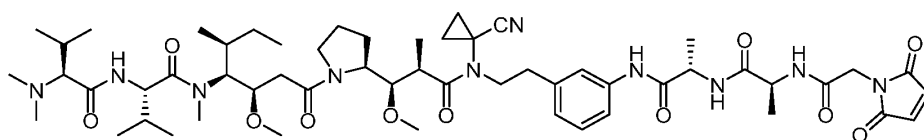
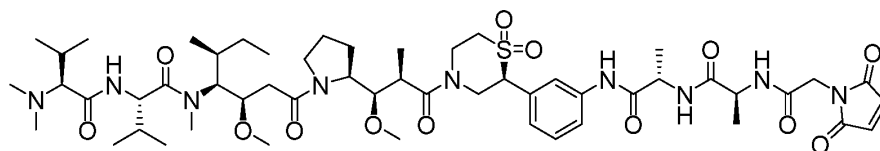
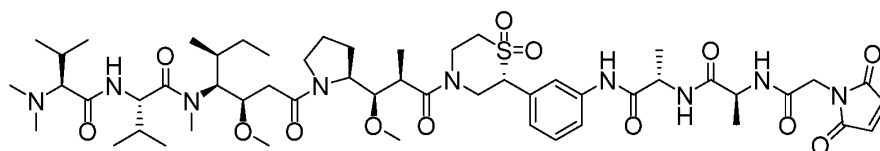
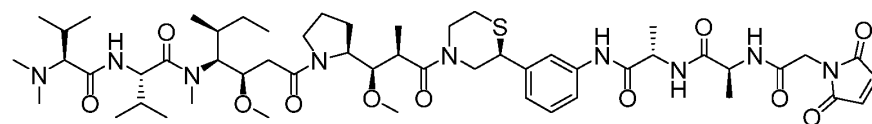
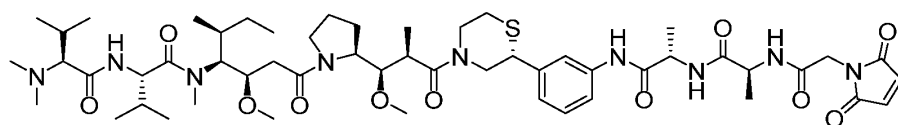
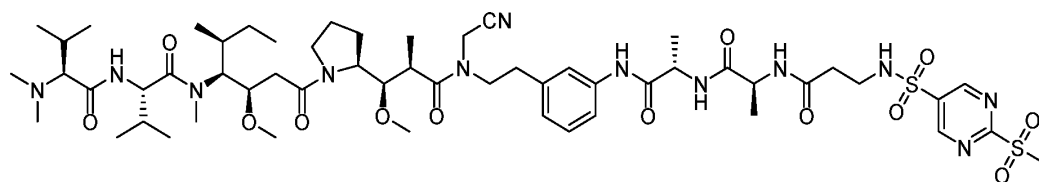
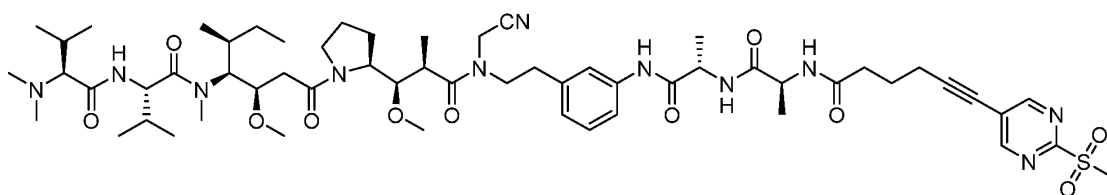
10

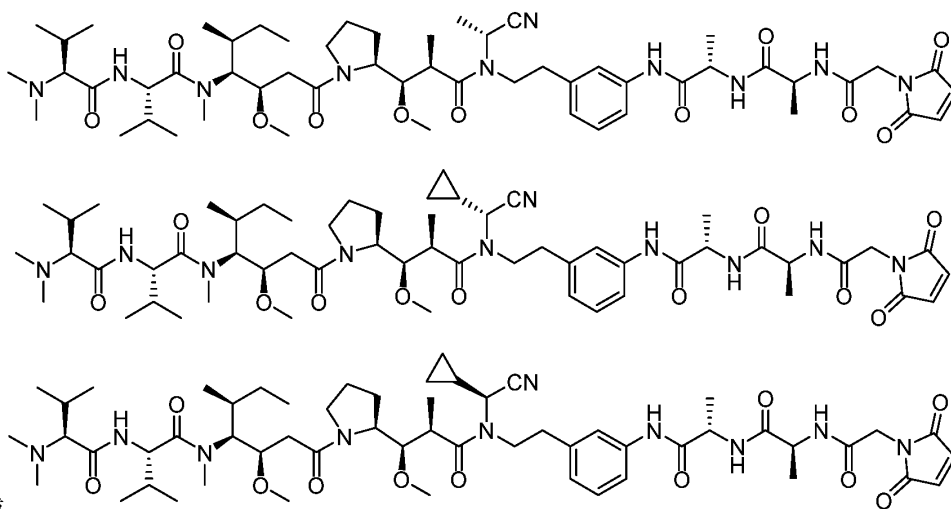




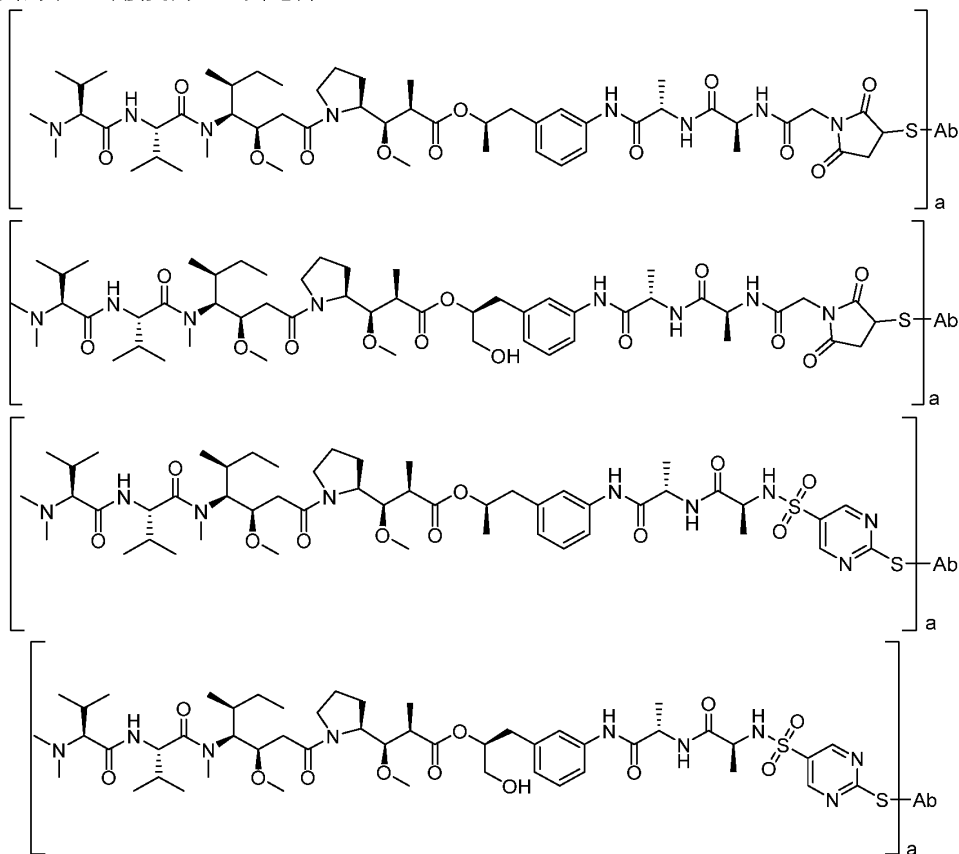


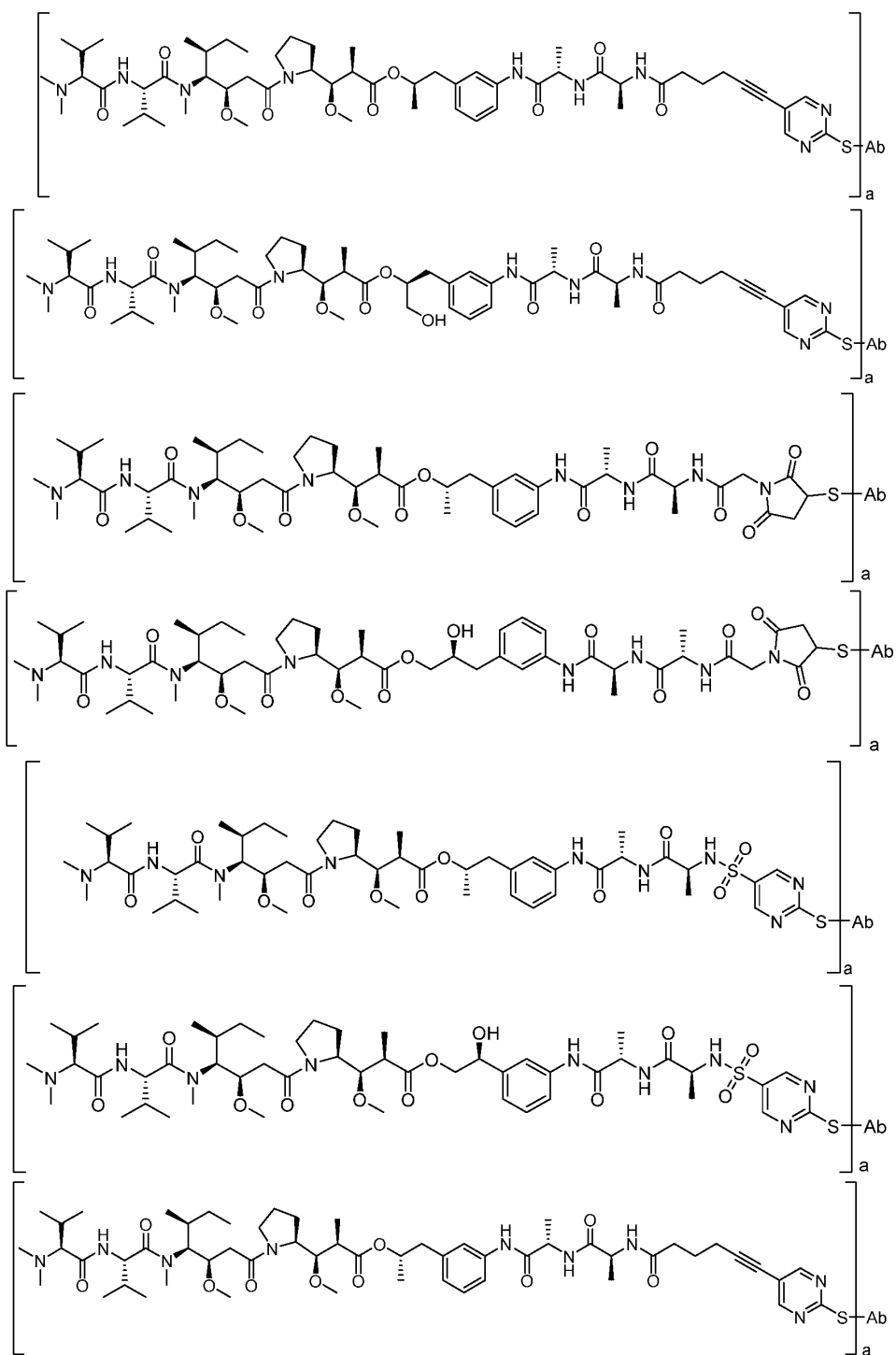


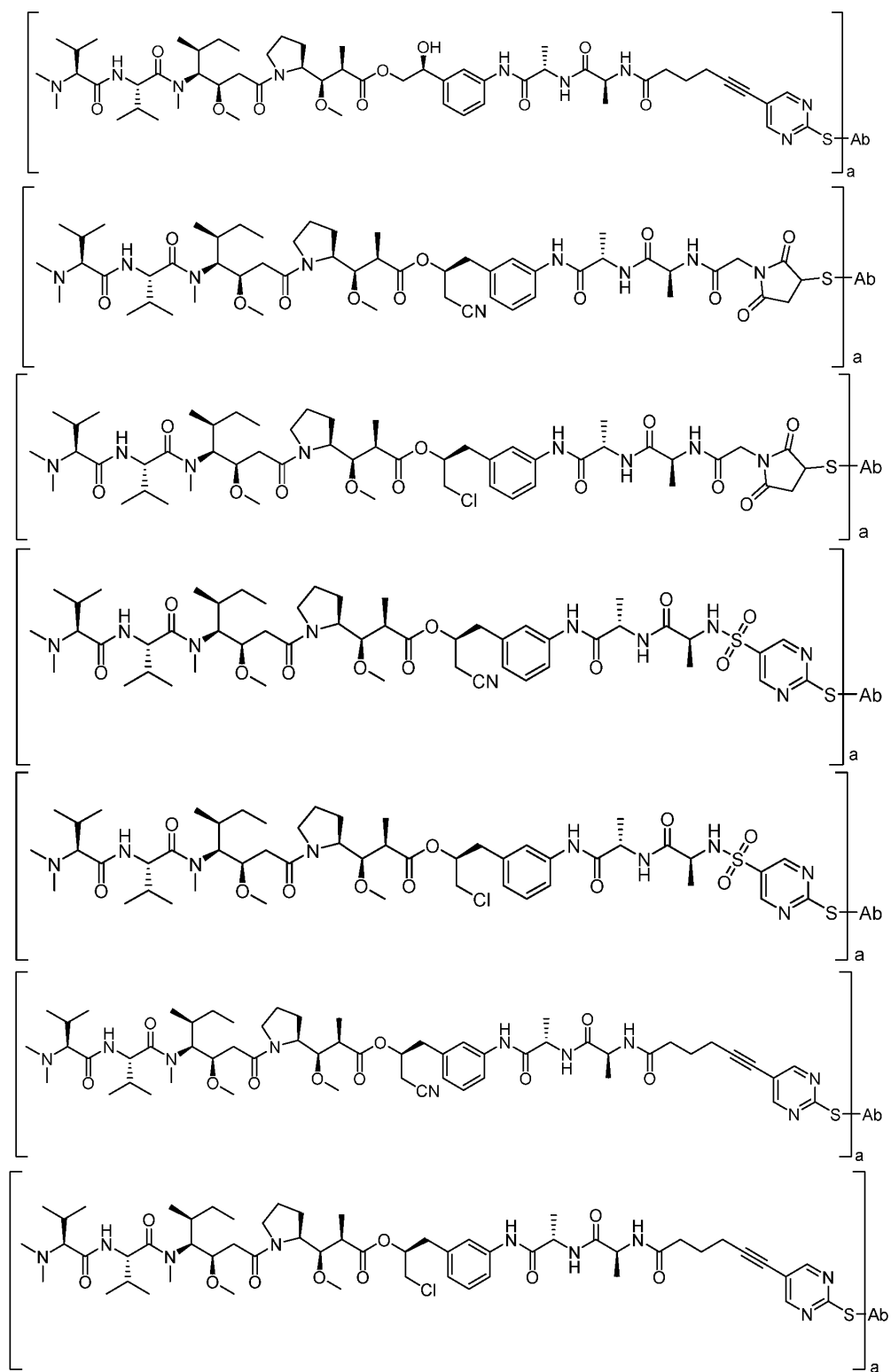


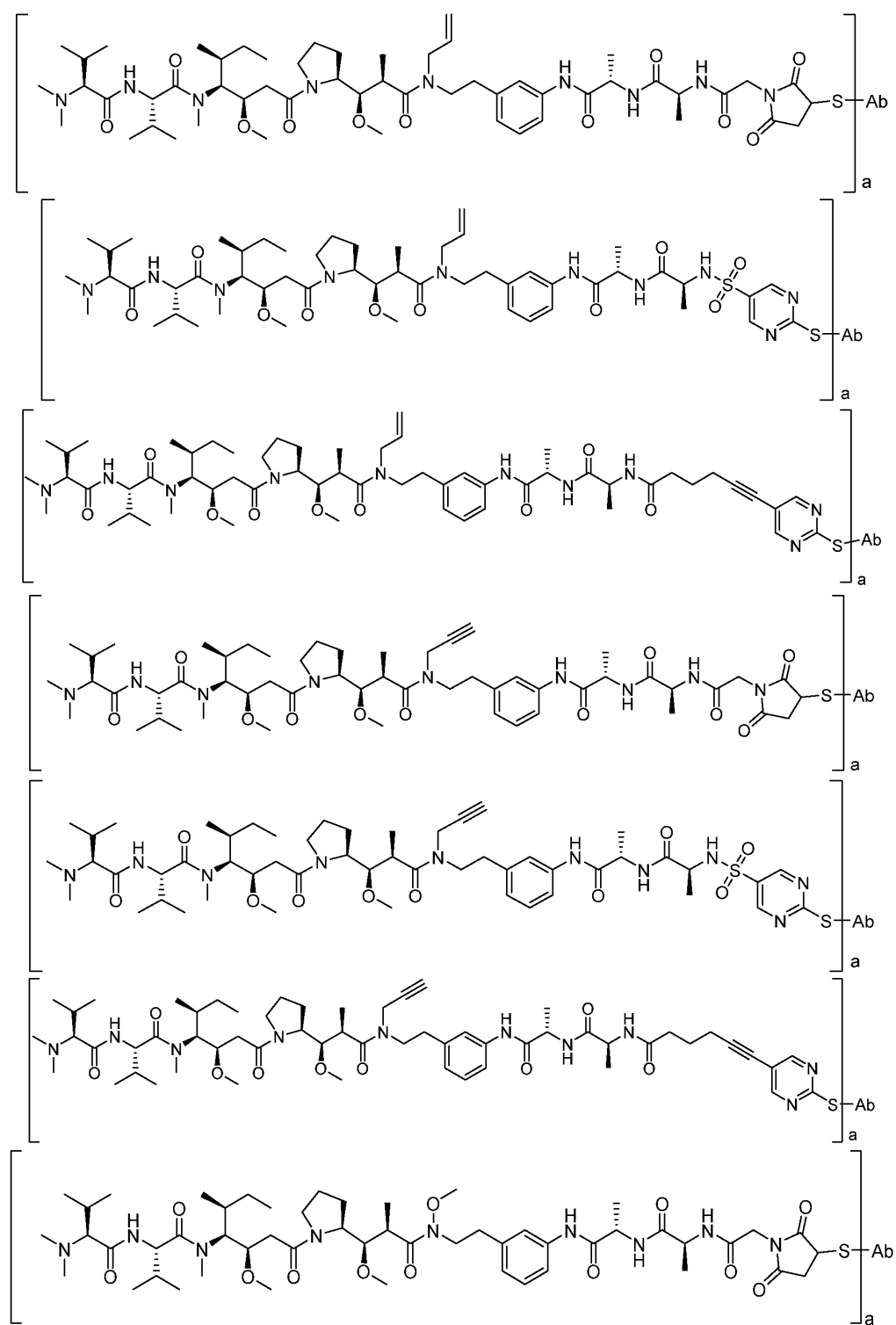


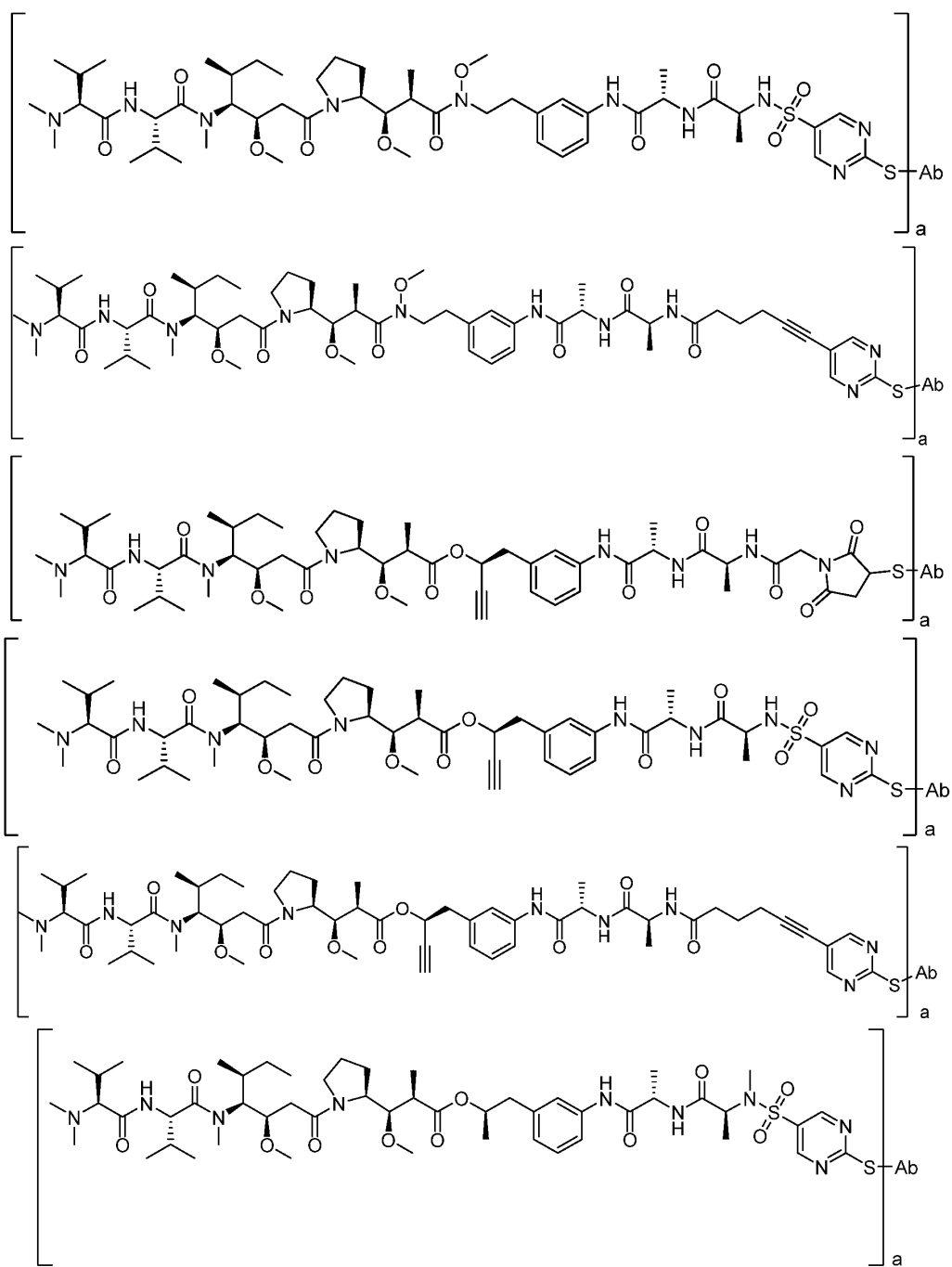
5 在一些实施方案中,所述的抗体药物偶联物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐,其选自:



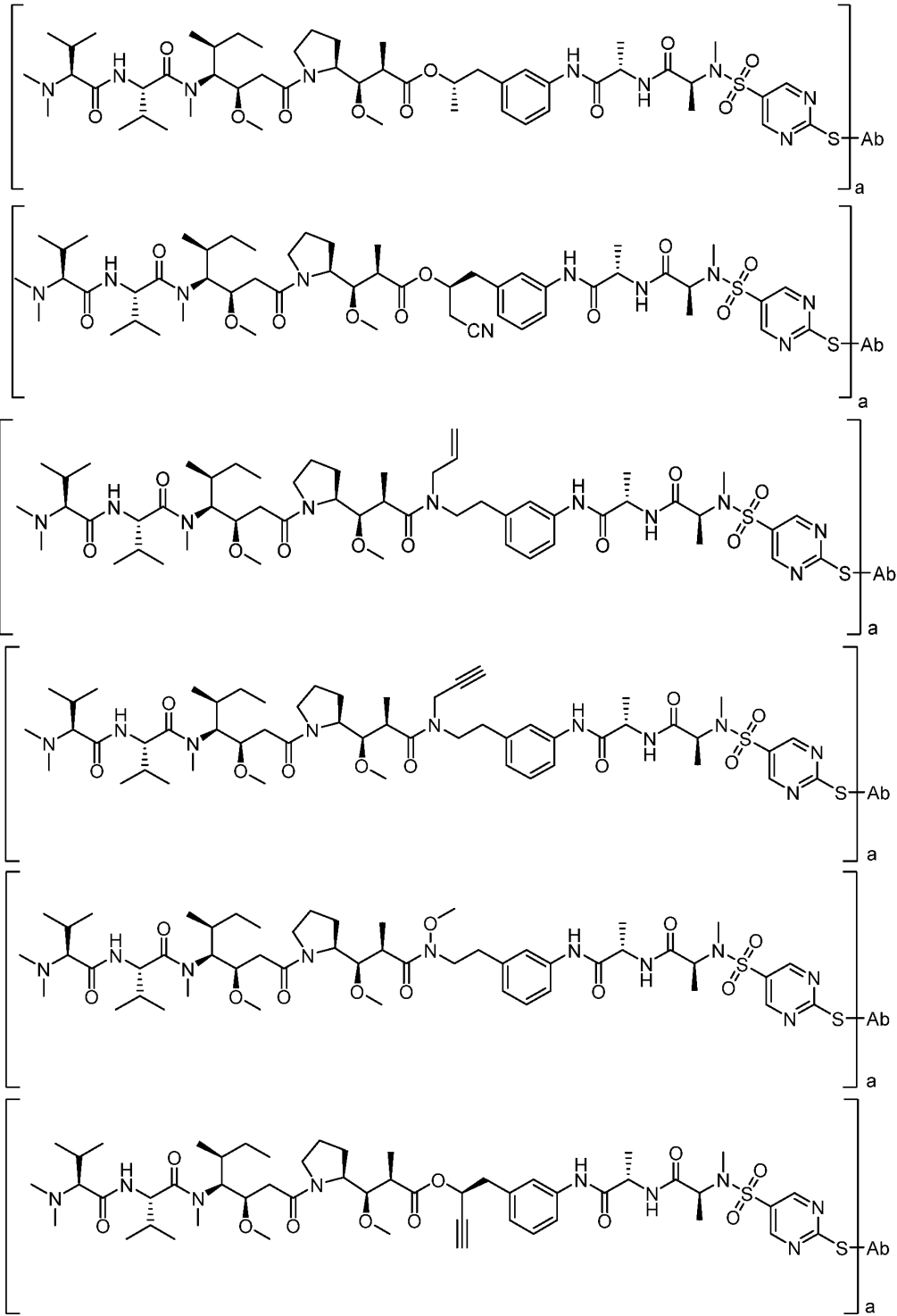


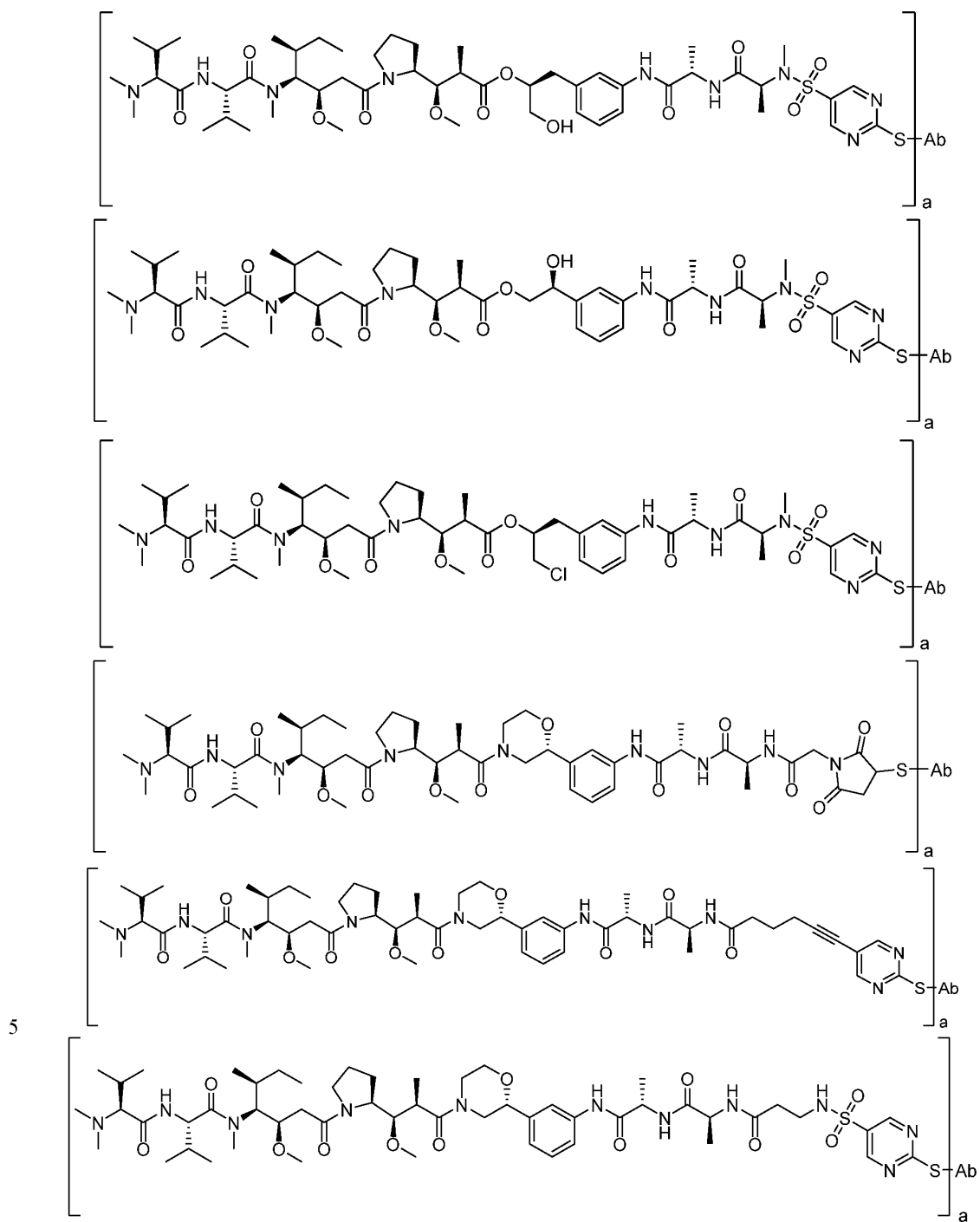


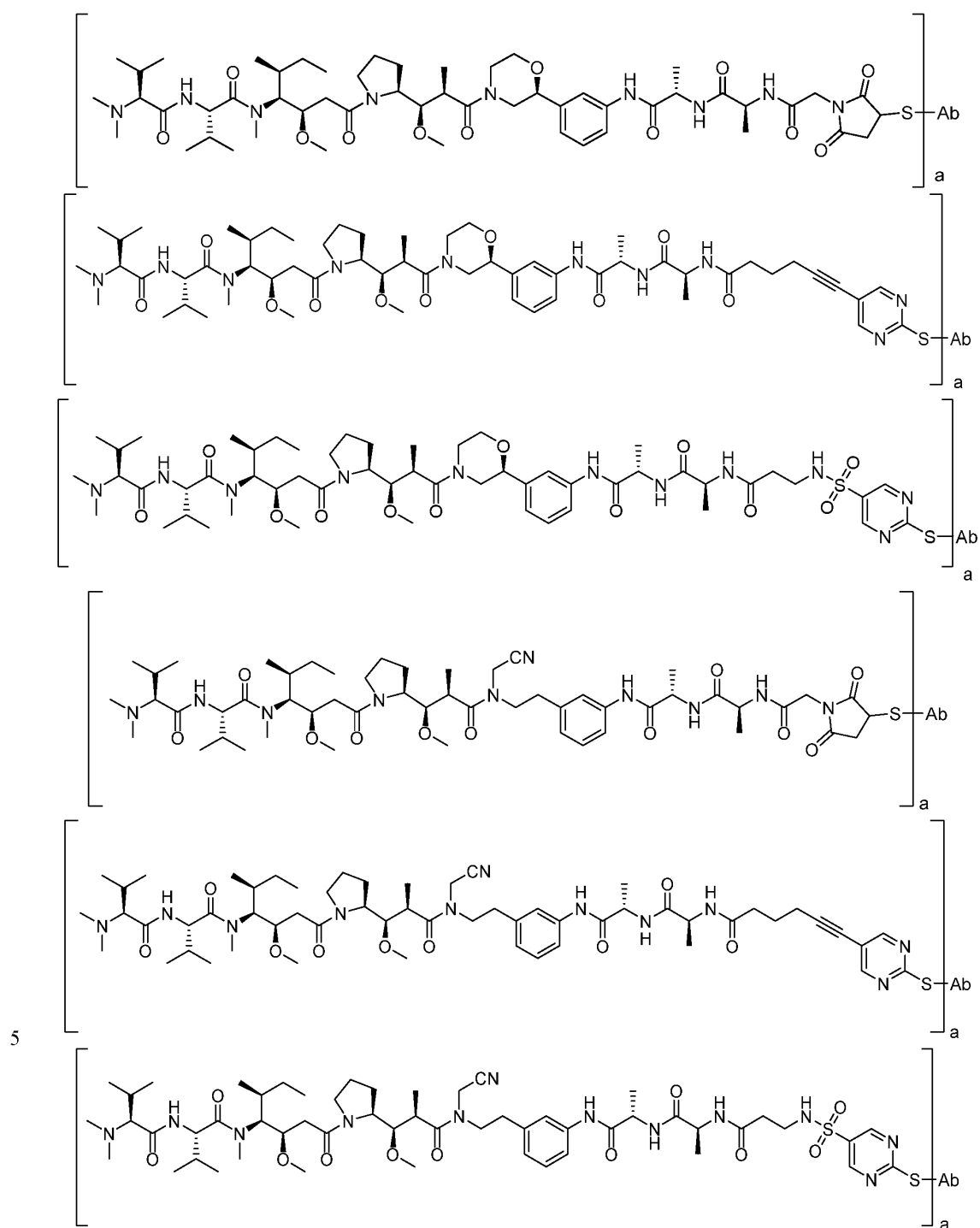


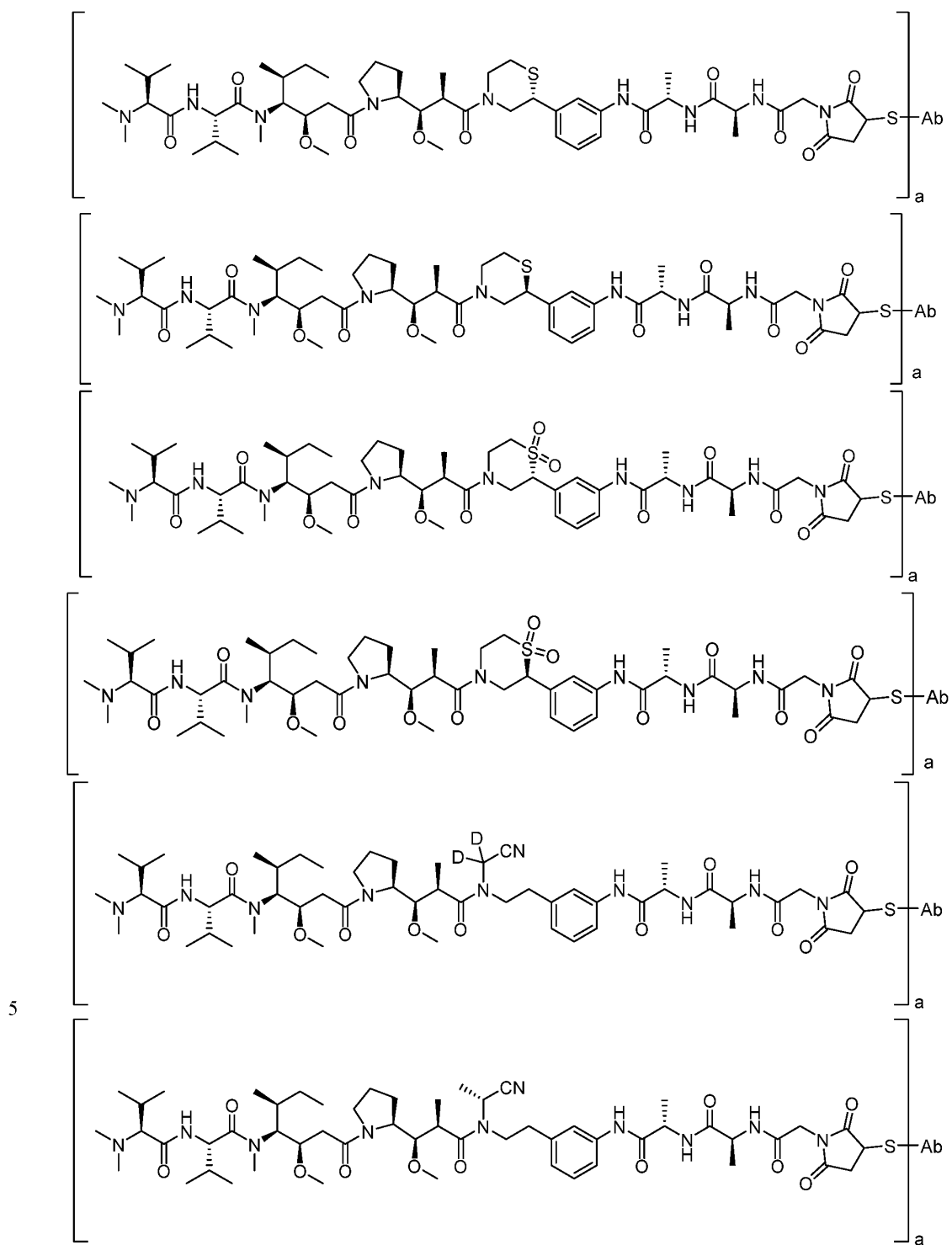


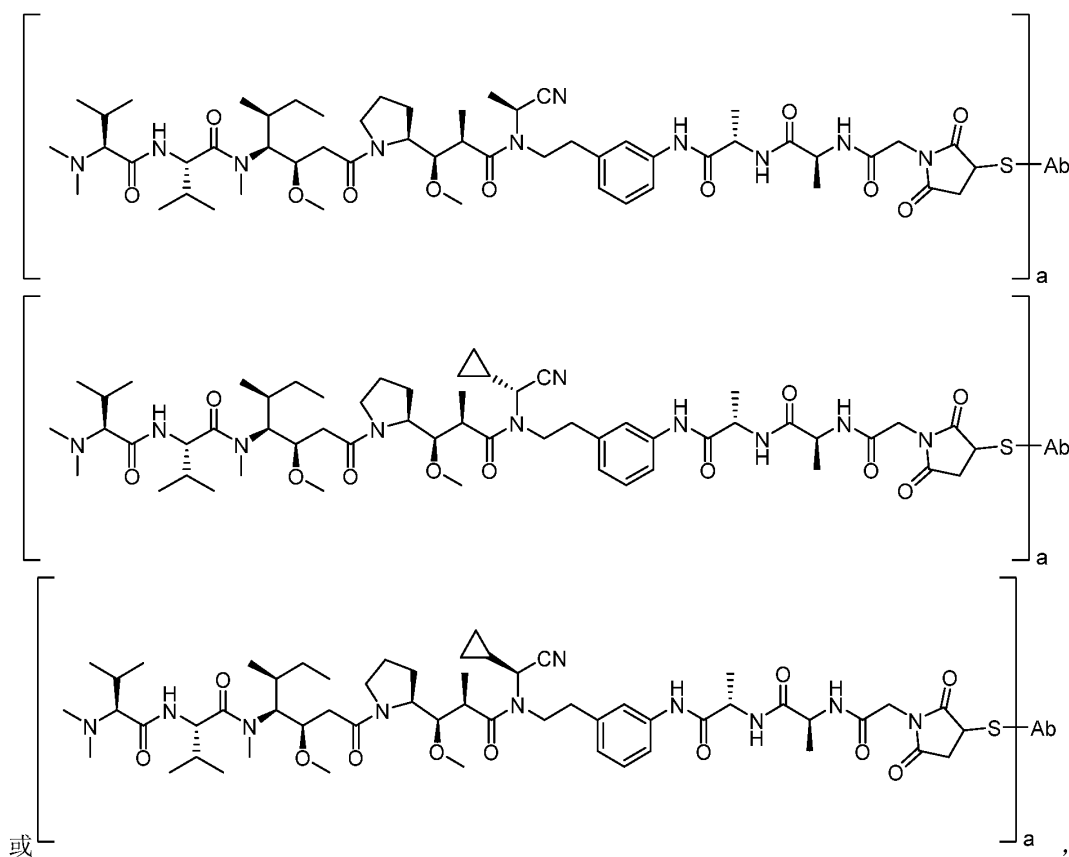
5











所述 Ab 为抗体，优选 Her2 抗体，更优选曲妥珠单抗；

5 a 选自 2-8 的数值，优选 4-8 的数值。

另一方面，本公开提供一种抗体药物偶联物，所述药物如上述化合物所示结构。

另一方面，本公开提供一种药物组合物，包含式(I)所述细胞毒药物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐，或式(A)所述的抗体药物偶联物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐，以及药学上可接受的载体。

10 在本发明的一些实施方案中，所述的药物组合物中，所述的抗体药物偶联物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐的含量选自 0.1mg-1000mg。

在本发明的一些实施方案中，所述的药物组合物中，所述的抗体药物偶联物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐的含量为 1%-95%。

15 在本发明的一些实施方案中，所述的药物组合物中，所述的药学上可接受的载体包括填充剂、崩解剂、粘合剂、助流剂、润滑剂中的一种或多种。

20 另一方面，本公开提供式(I)所述的细胞毒药物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐，式(B)或式(B-1)所述的细胞毒药物-连接体、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐，式(A)或式(A-1)所述的抗体药物偶联物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐，及其药物组合物用作药物的用途（即用于治疗的用途）。

25 另一方面，本公开还提供式(I)所述的细胞毒药物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐，式(B)或式(B-1)所述的细胞毒药物-连接体、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐，式(A)或式(A-1)所述的抗体药物偶联物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐，及其药物组合物用于制备治疗肿瘤药物中的应用。

另一方面，本公开还提供一种预防或治疗肿瘤的方法，包括向患者施用有效预防或治疗量的式(I)所述的细胞毒药物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐，式(B)或式(B-1)所述的细胞毒药物-连接体、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐，式(A)或式(A-1)所述的抗体药物偶联物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐，及其药物组合物。

在本发明的一些实施方案中，所述的肿瘤包括乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫癌、前列腺癌、肾癌、尿道癌、膀胱癌、肝癌、胃癌、子宫内膜癌、唾液腺癌、食道癌、黑色素瘤、神经胶质瘤、神经母细胞瘤、肉瘤、肺癌、头颈癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、白血病、皮肤癌、甲状腺癌、胰腺癌或淋巴瘤。

在本发明的一些实施方案中，所述肺癌选自小细胞肺癌和非小细胞肺癌；所述白血病选自急性淋巴细胞白血病、急性髓细胞白血病、急性早幼粒细胞白血病、慢性髓细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病；所述淋巴瘤选自霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤或复发性间变性大细胞淋巴瘤。

术语解释

除非另有说明，本文所用的下列术语和短语旨在具有下列含义。一个特定的术语或短语在没有特别定义的情况下不应该被认为是不确定的或不清楚的，而应该按照普通的含义去理解。

术语“细胞毒药物”或“药物”指能在肿瘤细胞内具有较强破坏其正常生长的小分子化合物。细胞毒药物原则上在足够高的浓度下都可以杀死肿瘤细胞，但由于缺乏特异性，在杀伤肿瘤细胞的同时，也会导致正常细胞的凋亡，导致严重的副作用。

术语“抗体药物偶联物”是指抗体通过稳定的连接体与具有生物活性的细胞毒药物相连。

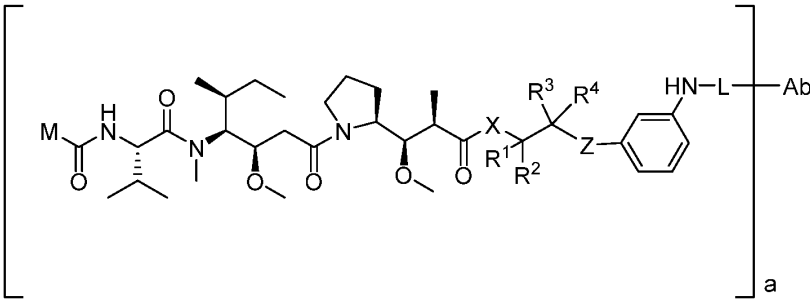
术语“抗体”是指免疫球蛋白，是由两条相同的重链或两条相同的轻链通过链间二硫键连接而成的四肽链结构。

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。

术语“接头部位”是指与 Ab 相连的化学结构片段或键。

术语“连接体”是指连接细胞毒药物和 Ab 的化学结构片段，本发明实施方案连接体为-L-。

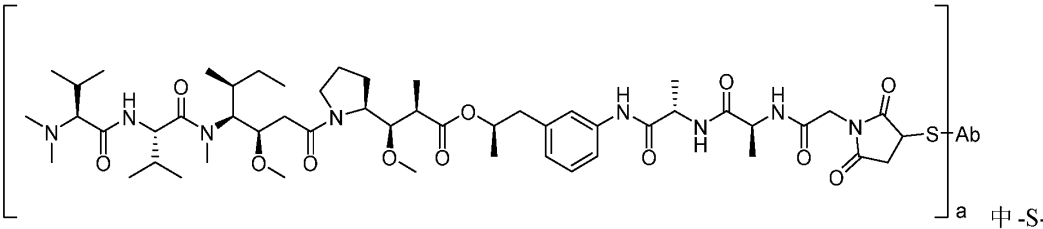
需要说明的是，对于结构式

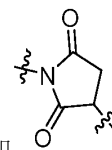


(A)

，所述 L 中的硫(S)，本领域技术人员可以理解的是 L 是与打开二硫键(例如通过还原剂 TCEP 还原二硫键可以打开二硫键，生成巯基 SH)后的 Ab (如抗体)自身所含有巯基进行连接，即 L 右端与 Ab 之间的 S 并非另外再外接的硫原子。

例如，





并非另外外接的硫原子，而是 Ab 打开双硫键后的 Ab 自身所含有巯基与 L 右端例如进行连接形成的-S-。

术语“药学上可接受的”指在合理的医学判断范围内适合与人类和动物的组织接触使用而无过度的毒性、刺激、过敏反应或其它的问题或并发症，与合理的收益/风险比相当的那些化合物、材料、组合物和/或剂型。

术语“药学上可接受的盐”是指本公开化合物与相对无毒的酸或碱制备得到的衍生物。这些盐可以在化合物合成、分离、纯化期间就被制备，或者单独使用经过纯化的化合物的游离形式与适合的酸或碱反应。当化合物中含有相对酸性的官能团时（例如-COOH、-OH、-SO₃H 等），与适当的无机或者有机阳离子(碱)反应得到碱加成盐，包括与碱金属或碱土金属形成的盐、与胺或其衍生物形成的铵盐、与氨基酸形成的盐等。当化合物中含有相对碱性的官能团(例如-NH₂等)时，与适当的无机或者有机阴离子(酸)反应得到酸加成盐，包括与无机酸或有机酸(例如羧酸等)形成的盐。

术语“药学上可接受的载体”是指本领域通常可接受的用于将生物活性药剂递送给动物、特别是哺乳动物的介质，根据给药方式和剂型的性质包括例如佐剂、赋形剂或赋形物，例如稀释剂、防腐剂、填充剂、流动调节剂、崩解剂、润湿剂、乳化剂、助悬剂、甜味剂、调味剂、芳香剂、抗菌剂、抗真菌剂、润滑剂和分散剂。药学上可接受的载体在本领域普通技术人员的眼界范围内根据大量因素配制。其包括但不限于：配制的活性药剂的类型和性质，要将含有该药剂的组合物给药的对象，组合物的预期给药途径，和目标治疗适应症。药学上可接受的载体包括含水介质和非水介质这两者以及多种固体和半固体剂型。除了活性药剂以外，这样的载体包括许多不同的成分和添加剂，因多种原因(例如稳定活性药剂、粘合剂等)在处方中包括的这样的另外的成分对于本领域普通技术人员是众所周知的。

术语“有效预防或治疗量”是指本公开化合物、其药学上可接受的盐或其异构体以适用于任何医学治疗和/或预防的合理效果/风险比治疗障碍的足够量的化合物。但应认识到，本公开式 I 所示化合物或其药学上可接受的盐和组合物的总日用量须由主治医师在可靠的医学判断范围内作出决定。对于任何具体的患者，具体的治疗有效剂量水平须根据多种因素而定，所述因素包括所治疗的障碍和该障碍的严重程度；所采用的具体化合物的活性；所采用的具体组合物；患者的年龄、体重、一般健康状况、性别和饮食；所采用的具体化合物的给药时间、给药途径和排泄率；治疗持续时间；与所采用的具体化合物组合使用或同时使用的药物；及医疗领域公知的类似因素。

本公开所述的“异构体”包括几何异构体以及立体异构体，例如阻转异构体、顺反异构体、对映异构体、非对映异构体、互变异构体、及其外消旋混合物和其他混合物，所有这些混合物都属于本公开的范围之内。

术语“对映异构体”是指互为镜像关系的立体异构体。术语“互变异构体”是指官能团异构体的一种，其通过一个或多个双键位移而具有不同的氢的连接点，例如，酮和它的烯醇形式是酮-烯醇互变异构体。术语“非对映异构体”是指分子具有两个或多个手性中心，并且分子间为非镜像的关系的立体异构体。术语“顺反异构体”是指分子中双键或者成环碳原子单键不能自由旋转而存在的不同空间构型。术语“阻转异构体”由于单键旋转受到阻碍或旋转非常缓慢从而能够分离出来的立体异构体。本公开化合物的立体异构体可以通过手性合成或手性试剂或者其他常规技术制备。例如本公开某化合物的一种对映体，可以通过不对称催化技术或者手性助剂衍生技术制备得到。或者通过手性拆分技术，从混合物中得到单一立体构型的化合物。或者用手性起始原料，直接制备得到。本公开中的光学纯化合物的分离通常是使用制备色谱完成的，采用手性色谱柱，达到分离手性化合物的目的。

术语“同位素衍生物”是指至少一个原子被具有相同原子序数但原子质量不同的原子替代的化合物。可引入到本公开化合物中的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、硫、氟、氯、溴和碘等的稳定和放射性的同位素，例如分别为 ²H（氘，D）、³H（氚，T）、¹¹C、¹³C、¹⁴C、¹⁵N、¹⁷O、¹⁸O、³²P、³³P、³⁴S、³⁵S、³⁶S、¹⁸F、³⁶Cl、⁸²Br、¹²³I、¹²⁴I、¹²⁵I、¹²⁹I 和 ¹³¹I 等，优选氘。相比于未氘代药物，氘代药物有降低毒副作用、增加药物稳定性、增强疗效、延长药物生物半衰期等优势。本公开的化合物的所有同位素组成的变换，无论放射性与否，都包括在本公开的范围之内。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，其中氘的替换可以是部分或完全的，部分氘的替换是指至少一个氢被至少一个氘

替换。

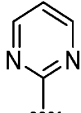
术语“氮氧化物”或“N-氧化物”是指含氮基团中氮原子进一步被氧化形成的衍生物，常见的 N-氧化物包括叔胺的 N-氧化物或含氮杂环中氮原子的 N-氧化物。

术语“前药”是指其自身具有较小药理活性或无药理学活性的本发明的化合物的某些衍生物，其具有可裂解基团并通过溶剂分解或在生理条件下分解成为本公开化合物。所述的前药类型包括但不限于酰胺、酯、酸酐、盐等。所述的“酯”是指当本公开化合物含有酸性基团（如羧酸）时，其与合适的醇形成的衍生物；当本公开化合物含有羟基基团时，其与合适的酸（包括有机酸或无机酸）形成的衍生物。前药的制备方法是本领域技术人员所熟知的。本发明的化合物能够以非溶剂化以及溶剂化形式存在，溶剂化包括水合物形式。一般而言，溶剂化形式等价于未溶剂化形式，也涵盖在本发明的范围内。化合物的绝对立体构型可以通过本领域常规技术手段予以确证。例如单晶 X 射线衍射法，也可以通过原料的手性结构以及不对称合成的反应机理来确证化合物的绝对构型。或者拆分后，通过与绝对构型确定的产品对照来确定其立体构型。本文中标记为“绝对构型未知/未确定”的化合物，通常是由消旋体化合物通过手性制备型 SFC 拆分为单一异构体，然后进行表征和测试。

本领域技术人员已知当一个环状化合物具有共平面的离域体系且 π 电子数为 $4n+2$ 时，该环具有芳香性，化合物中芳香性结构的表达方式即可以采用表示电子离域的虚线也可以采用单双键交替的方式

进行表示，如苯环，其结构画法可以为 ，也可以为 。

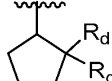
本公开所述“任选被取代”是指被取代基基团的一个或多个氢原子可以被一个或多个取代基“取代”或“不取代”的两种情形。

当取代基结构中出现  表示该原子为键合原子，例如  表示嘧啶环上的 C 原子为键合原子。取代基结构中出现破折号“-”指示用于取代基的连接点，例如 -CH₃ 通过 C 原子连接。
“”和“”表示一个立体中心的绝对构型，即 R 或 S 构型。“”或“”表示顺式 (cis) 或反式 (trans) 构型，双实键或双虚键均表示顺式构型，一实一虚表示反式构型。

当一个取代基的键可以交叉连接到一个环上时，表示这种取代基可以与这个环上的任意原子相键

合。例如，结构单元  表示取代基 R 可以在苯环上的任意一个位置发生取代。
当列出的取代基未指明该取代基通过哪个原子连接至给定基团或给定结构式时，则该取代基可通过其任一可键合原子来连接。

当任何变量(例如 R_d)在化合物的组成或结构中出现一次以上时，其在每一种情况下的定义都是独立

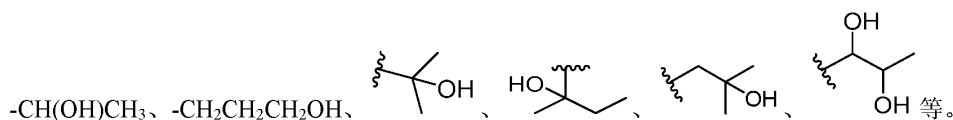
的。例如， 表示环戊基被 3 个 R_d 所取代，且每个 R_d 都有独立的选项。

除非另有规定，术语“卤素”表示氟、氯、溴或碘原子。

除非另有规定，术语“烷基”是指具有指定碳原子数的支链或直链饱和脂肪族烷烃去掉一个氢衍生的基团。例如“C₁₋₁₀ 烷基”是指包括 C₁、C₂、C₃、C₄、C₅、C₆、C₇、C₈、C₉、C₁₀ 烷基，“C₁₋₆ 烷基”、“C₁₋₄ 烷基”、“C₁₋₃ 烷基”；具体实例包括但不限于：甲基、乙基、正丙基、异丙基、仲丁基、2-甲基丁基、1,1-二甲基丁基等。

除非另有规定，术语“卤代烷基”是指一个或多个氢原子被卤原子取代的烷基。优选卤代 C₁₋₆ 烷基，更优选卤代 C₁₋₄ 烷基。卤代烷基的实例包括但不限于：一氟甲基、二氟甲基、三氟甲基、三氯甲基、三溴甲基、2,2,2-三氟乙基、2,2,2 三氯乙基等。烷基如前文所定义。

除非另有规定，术语“羟基烷基”是指烷基中的一个或多个氢原子被羟基取代所衍生的基团，本公开所述的“羟基烷基”包括“羟基C₁₋₆烷基”、“羟基C₁₋₄烷基”；具体实例包括但不限于 -CH₂OH、-CH₂CH₂OH、



除非另有规定，术语“烷氧基”是指本文所定义的烷基通过氧原子与其他基团相连，即“烷基-O-”。包括“C₁₋₆ 烷氧基”（结构为 C₁₋₆ 烷基-O-）、“C₁₋₄ 烷氧基”，具体实例包括但不限于甲氧基、乙氧基、丙氧基、1-甲基乙氧基、丁氧基、2-甲基丁氧基、3-甲基丁氧基、1,1-二甲基丙氧基、1,2-二甲基丙氧基等；优选地，

- 5 本公开所述的“烷氧基”优选为 C₁₋₄ 烷氧基，更优选为 C₁₋₃ 烷氧基，进一步优选为 C₁₋₂ 烷氧基。

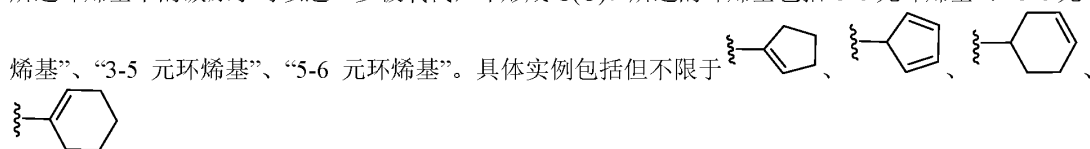
除非另有规定，术语“卤代烷氧基”是指烷氧基中的一个或多个氢被卤素取代所得到的基团，优选地，本公开所述的“卤代烷氧基”优选为“卤代C₁₋₆烷氧基”、“卤代C₁₋₄烷氧基”。本公开所述的具体实例如：氟代甲氧基（包括一氟甲氧基、二氟甲氧基、三氟甲氧基）、-OCH₂CF₃、-OCHFCH₃等。烷氧基如前文所定义。

- 10 除非另有规定，术语“烯基”是指直链或支链的烯烃（至少含有一个碳碳双键）去掉一个氢原子衍生的基团，包括“C₂₋₆ 烯基”、“C₂₋₅ 烯基”、“C₂₋₄ 烯基”、“C₂₋₃ 烯基”，具体实例包括但不限于具体实例包括但不限于：-CH=CH₂、-CH=CHCH₃、-C(CH₃)=CH₂、-CH₂CH=CH₂、-CH=CHCH₂CH₃、-CH₂CH=CHCH₃等。

- 15 除非另有规定，术语“炔基”是指直链或支链的炔烃（至少含有一个碳碳三键）去掉一个氢原子衍生的基团，包括“C₂₋₅ 炔基”、“C₂₋₄ 炔基”、“C₂₋₃ 炔基”，具体实例包括但不限于：-C≡CH、-C≡CHCH₃、-CH₂C≡CH、HC≡C-C≡C-等。

- 20 除非另有规定，术语“环”是指饱和的、部分饱和的或不饱和的单环以及多环，“多环”包括螺环、稠环或桥环。环去掉氢原子所衍生的基团称之为“环基”，其包括一价环、二价环（通常称之为亚环）、三价环、四价环等，具体价位视该环上连接的取代基个数而定。本公开对于“环基”的描述不再具体区分环的价位。代表性的“环基”包括被取代或未被取代的环烷基、杂环基、环烯基、杂环烯基、环炔基、杂环炔基、芳基或杂芳基。术语“杂”表示取代或未被取代的杂原子以及杂原子的氧化形式（也称为杂原子团），所述杂原子一般选自 N、O、S、P，氧化形式一般包括 NO、SO、S(O)₂、P(O)，氮原子可以是取代的，即 NR（R 为 H 或者文中定义的其他取代基）；环上原子的数目通常被定义为环的元数，例如，“3-6 元杂环烷基”是指 3-6 个原子环绕排列而成的环，每个环任选地包含 1~3 个杂原子和/或杂原子团，即 N、O、S、NO、SO、S(O)₂、P(O)、或 NR，每个环任选的被 R 基团所取代，R 为文中所定义的基团。

除非另有规定，“环烯基”是指“环烷基”中的一个或多个成环键为双键且所述环烯基不具有芳香性。所述环烯基中的碳原子可以进一步被氧化，即形成 C(O)。所述的环烯基包括“3-8 元环烯基”、“3-6 元环



- 30 除非另有规定，术语“杂环基”是指环烷基中的一个或多个环碳原子被杂原子和/或杂原子团替换所衍生的饱和环状基团。所述杂原子和/或杂原子团一般选自 N、O、S、NO、SO、S(O)₂、P(O)、以及 NR，其中杂环中的碳原子任选被氧化，即形成 -C(O)；优选地，所述的杂原子独立的选自 1-3 个 N 和/或 O。所述杂环基包括“3-8 元杂环基”、“3-6 元杂环基”、“3-5 元杂环基”、“4-6 元杂环基”、“5-6 元杂环基”。具体实例包括但不限于氧杂环丁烷基、氮杂环丁烷基、吡咯烷基、四氢呋喃基、哌啶基、哌嗪基、四氢吡喃基、吗啉基等。

除非另有规定，术语“芳基”是指不饱和的、通常为芳族的烃基，其可为单环或稠合在一起的多个环。优选 C₅₋₁₀ 芳基，更优选 C₅₋₈ 芳基，最优选单环的 C₅₋₆ 芳基；芳基的实例包括但不限于苯基、萘基。

除非另有规定，术语“稠环芳基”是指由两个或两个以上芳环彼此共用两个相邻的碳原子所形成的稠环基团，包括萘基、蒽基和菲基等。

- 40 本公开所述的“杂芳基”指至少一个环原子为杂原子和/或杂原子团的具有芳香性的单环基团，所述杂原子和/或杂原子团一般选自 N、O、S、P、NO、SO、S(O)₂、P(O)以及 NR，R 为 H 或任一可存在的取代基团，其中杂环中的碳原子任选被氧化，即形成 -C(O)；优选地，所述的杂原子独立的选自 1-3 个 N 和/或 O。所述的杂芳基包括“5-6 元杂芳基”；具体实例包括但不限于吡咯基、呋喃基、噻吩基、吡啶

基、咪唑基、吡嗪基、哒嗪基、三嗪基、恶唑基、异恶唑基、噻唑基、异噻唑基、吡啶基、嘧啶基。

除非另有规定，术语“环烷基”是指饱和的单环或多环烷基。环烷基优选 C₃₋₈ 环烷基，更优选 C₃₋₆ 环烷基，环烷基的实例包括但不限于，环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基等。

5 本申请的化合物存在异构体，例如顺反异构体、对映异构体、非对映异构体、及其外消旋混合物和其他混合物，所有这些混合物都属于本申请的范围之内。

术语“对映异构体”是指互为镜像关系的立体异构体。

术语“非对映异构体”是指分子具有两个或多个手性中心，并且分子间为非镜像的关系的立体异构体。

术语“顺反异构体”是指分子中双键或者成环碳原子单键不能自由旋转而存在的构型。

除非另有说明，用楔形实线键和楔形虚线键表示一个立体中心的绝对构型。

10 本申请化合物的立体异构体可以通过手性合成或手性试剂或者其他常规技术制备。例如本申请某化合物的一种对映体，可以通过不对称催化技术或者手性助剂衍生技术制备得到。或者通过手性拆分技术，从混合物中得到单一立体构型的化合物。或者用手性起始原料，直接制备得到。本申请中的光学纯化合物的分离通常是使用制备色谱完成的，采用手性色谱柱，达到分离手性化合物的目的。

15 特别说明，本发明所述的取代基和/或变量的组合应在这些组合产生稳定化合物或可用的合成中间体时才允许。稳定化合物或稳定结构是指足够稳定以经受化学反应、以有用的纯度分离出、可以配制成有效治疗药物的化合物。

在本申请实施例中，标题化合物的命名是借助 Chemdraw 通过化合物结构转化过来的。若化合物名称与化合物结构存在不一致的情况，可通过综合相关信息和反应路线辅助确定；无法通过其他来确认的，以给出的化合物结构式为准。本申请中部分化合物的制备方法引用了前述类似化合物的制备方法。本领域人员应当知晓，在使用或参照使用其引用的制备方法时，反应物的投料比、反应溶剂、反应温度等可根据反应物的不同，进行适当的调整。

本申请的化合物可以通过本领域技术人员所熟知的多种合成方法来制备，包括下面列举的具体实施方式、其与其他化学合成方法的结合所形成的实施方式以及本领域技术上人员所熟知的等同替换方式，优选的实施方式包括但不限于本申请的实施例。

25 实验仪器汇总：

本申请的化合物结构是通过核磁共振 (NMR) 或/和液质联用色谱 (LC-MS)，或超高效液质联用色谱 (UPLC-MS) 来确定的。NMR 化学位移 (δ) 以百万分之一 (ppm) 的单位给出。NMR 的测定是用 Bruker Neo 400M 或者 Bruker Ascend 400 核磁仪器，测定溶剂为氘代二甲基亚砷 (DMSO-d₆)，氘代甲醇 (CD₃OD) 和氘代氯仿 (CDCl₃)，重水 (D₂O)，内标为四甲基硅烷 (TMS)。

30 液质联用色谱 LC-MS 的测定用 Agilent 1260-6125B single quadrupole mass spectrometer，柱子为 Welch Biomate column (C18, 2.7 μ m, 4.6 $\times$ 50 mm) 或者 waters H-Class SQD2, 柱子为 Welch Ultimate column (XB-C18, 1.8 μ m, 2.1 $\times$ 50 mm) 质谱仪 (离子源为电喷雾离子化)。

超高效液质联用色谱 UPLC-MS 的测定用 waters UPLC H-class SQD 质谱仪 (离子源为电喷雾离子化)。

35 HPLC 的测定使用 waters e2695-2998 或 waters ARC 和 Agilent 1260 或 Agilent Poroshell HPH 高效液相色谱。

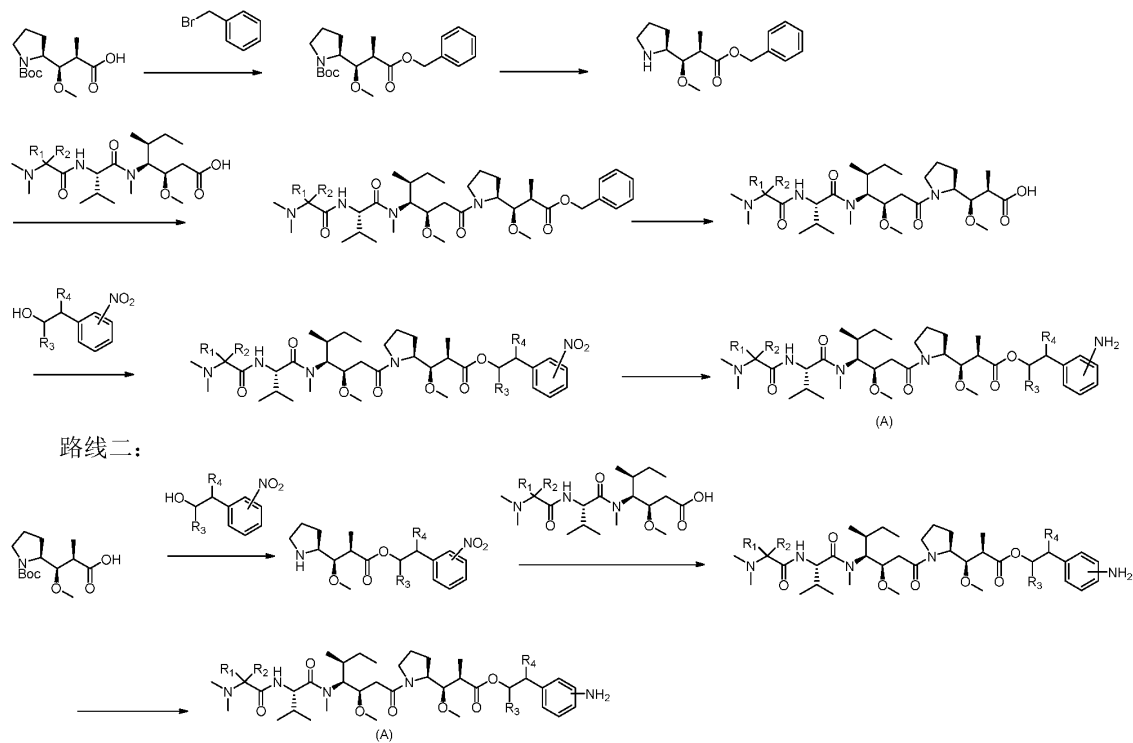
制备 HPLC 使用 waters 2555-2489 (10 μ m, ODS 250cm $\times$ 5cm) 或 GILSON Trilution LC, 柱子为 Welch XB-C18 柱 (5 μ m, 21.2 $\times$ 150 mm)。

40 薄层层析硅胶板使用烟台江友硅胶开发有限公司 GF254 硅胶板或乳山市上邦新材料有限公司 GF254 硅胶板，TLC 采用的规格是 0.15 mm~0.20 mm，制备型 20 $\times$ 20 cm，柱层析一般使用于成化工 200~300 目硅胶为载体。

本申请实施例中的起始原料是已知的并且可以在市场上买到，或者可以采用或按照本领域已知的方法来合成。在无特殊说明的情况下，本申请的所有反应均在连续的磁力搅拌下，在干燥氮气或氩气气氛下进行，溶剂为干燥溶剂，反应温度单位为摄氏度或 $^{\circ}$ C。

45 本申请化合物制备方法参考 WO202312228A1、WO2023081230A1，根据其结构差异进行相应反应底物的替换，或者本申请化合物采用以下路线制备：

路线一：



其中，路线中所述 R¹、R² 为 H 或 C₁₋₆ 烷基，或者 R¹、R² 与其相连的碳原子一起形成 C₃₋₆ 环烷基；
R³ 选自 C₂₋₄ 炔基、C₂₋₄ 烯基、-COOH、-COO-C₁₋₄ 烷基、C₁₋₄ 烷基、卤代 C₁₋₄ 烷基，所述的 C₂₋₄ 烯基、C₁₋₄ 烷基可任选进一步被-N₃、OH、CN、卤素、羧基取代。
R⁴ 选自 H 或羟基。
本申请化合物对 HCC1954 和 T47D 细胞的抑制活性 IC₅₀<1μM，优选 IC₅₀<100 nM，更优选 IC₅₀<20 nM，更进一步优选 IC₅₀<10 nM。

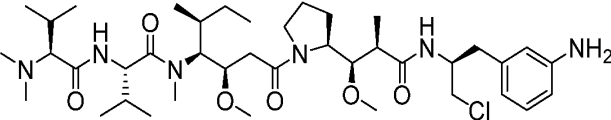
附图说明

图 1 为 NCI-N87 移植瘤模型 1mpk 给药剂量下各组肿瘤体积变化曲线；
图 2 为 NCI-N87 移植瘤模型 4mpk 给药剂量下各组肿瘤体积变化曲线。

具体实施方式

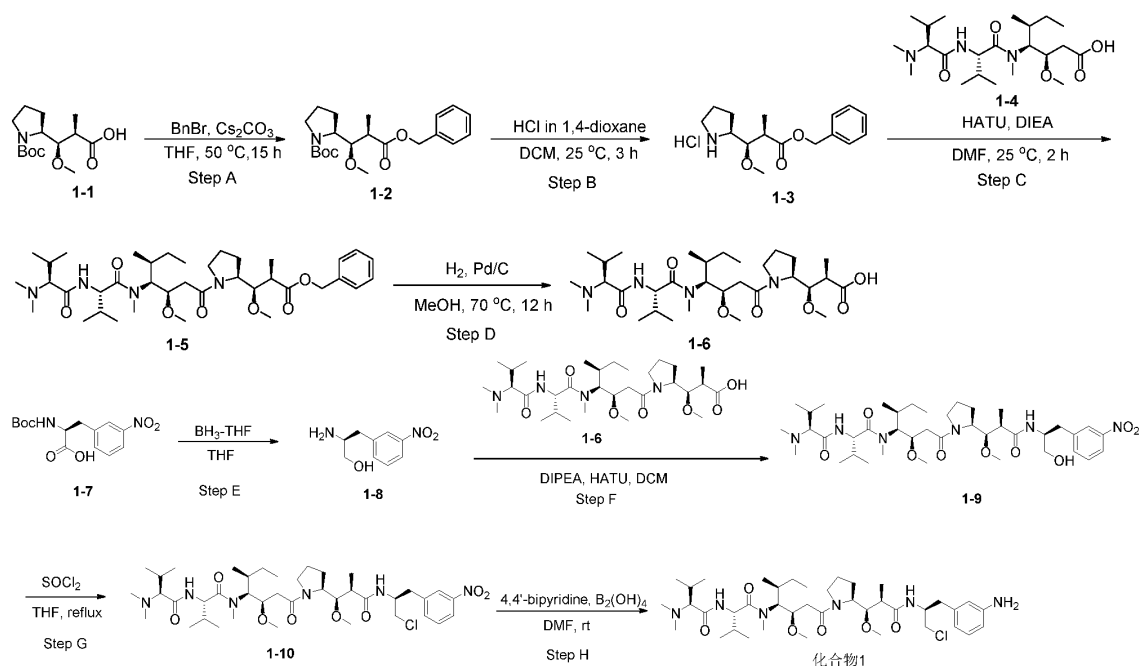
实施例 1：

(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((S)-1-(3-氨基苯基)-3-氯代丙烷-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((S)-2-(二甲氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺的制备。



化合物 1

反应路线：

**操作步骤:**

- 步骤 A:** 将化合物 1-1 (6.4 g, 22.27 mmol) 和碳酸铯 (14.51 g, 44.54 mmol) 加入单口瓶中, 依次加入四氢呋喃 (80 mL) 和溴化苄 (4.57 g, 26.72 mmol), 反应体系在氮气保护下, 50 °C 反应 16 小时。LCMS 监测反应完成后, 过滤反应液, 滤饼用四氢呋喃 (30 mL x 3) 洗涤。收集滤液并浓缩, 得到化合物 1-2 的粗品 (9.2 g, 黄色油状), 可直接使用无需进一步纯化。

LCMS (ESI) M/Z: 400.2 [M+Na⁺].

- 步骤 B:** 将化合物 1-2 (9.2 g, 粗品) 加入 250 mL 单口瓶中, 依次加入二氯甲烷 (50 mL) 和 HCl 的 1,4-二氧六环溶液 (30.5 mL, 122 mmol, 4 M), 反应体系在氮气保护下室温反应 3 小时。LCMS 监测反应完成后, 将反应液浓缩, 所得残余物重新溶解在二氯甲烷 (15 mL) 中, 加入 MTBE (150 mL), 0 °C 下搅拌 0.5 小时, 有白色固体沉淀产生。过滤, 滤饼用 MTBE:二氯甲烷=10:1 (10 mL x 3) 洗涤, 得到化合物 1-3 (6.6 g, 收率 86.4%)。

LCMS (ESI) M/Z: 278.2 [M+H⁺].

- 步骤 C:** 将化合物 1-3 (5 g, 11.64 mmol) 加入 25 mL 单口瓶中, 加入干燥 N,N-二甲基甲酰胺 (15 mL), 再依次加入化合物 1-4 (3.94 g, 12.57 mmol)、HATU (7.08 g, 18.62 mmol) 和 DIEA (5.79 mL, 34.92 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温反应 2 小时。反应完成后, 过滤, 滤液通过 Flash 纯化 (乙腈/0.1% 甲酸/水) 得到化合物 1-5 (6.2 g, 收率 77.4%)。

LCMS (ESI) M/Z: 689.5 [M+H⁺].

- 步骤 D:** 将化合物 1-5 (6.2 g, 9.0 mmol) 加入 500 mL 单口瓶中, 依次加入甲醇 (240 mL) 和 Pd/C (1.8 g, 10% Pd), 反应体系在氢气环境中于 70 °C 反应 12 小时。反应完成后, 过滤, 将滤液浓缩后得到化合物 1-6 (5.3 g, 收率 98.48%)。

LCMS (ESI) M/Z: 599.9 [M+H⁺].

- ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.13 – 7.98 (m, 1H), 4.64 (s, 1H), 4.59 – 4.45 (m, 1H), 4.06 – 3.90 (m, 2H), 3.83 (dd, J = 7.1, 3.4 Hz, 1H), 3.68 – 3.45 (m, 2H), 3.40 – 3.24 (m, 4H), 3.18 (d, J = 7.0 Hz, 3H), 3.09 – 2.94 (m, 3H), 2.68 – 2.61 (m, 1H), 2.48 – 2.39 (m, 1H), 2.39 – 2.27 (m, 2H), 2.20 (d, J = 2.4 Hz, 6H), 2.00 – 1.85 (m, 4H), 1.84 – 1.63 (m, 3H), 1.37 – 1.24 (m, 1H), 1.21 – 1.07 (m, 3H), 0.94 – 0.85 (m, 12H), 0.79 – 0.68 (m, 6H).

- 步骤 E:** 在干燥的反应瓶中加入四氢呋喃 (10 mL), 加入化合物 1-7 (2.00 g, 6.45 mmol), 搅拌均匀。然后加入硼烷四氢呋喃络合物 (2.77 g, 32.25 mmol)。反应液于常温条件下搅拌反应。经过 6 小时, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失, 有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束, 将反应液浓缩后经柱层析分离 (二氯甲烷/甲醇=95/5 - 90/10) 得到产物 1-8 (900 mg, 产率 71.17%)。

LCMS (ESI) M/Z: 197.2 [M+H⁺].

步骤 F: 在干燥的反应瓶中加入二氯甲烷 (5 mL), 加入化合物 1-8 (40 mg, 0.20 mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (77.54 mg, 0.60 mmol), 搅拌均匀。然后加入化合物 1-6 (100 mg, 0.17 mmol) 和 HATU (114.07 mg, 0.30 mmol)。反应液于常温条件下搅拌反应。经过 4 小时, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失, 有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束, 将反应液浓缩后经柱层析分离 (二氯甲烷/甲醇=99/1 - 90/10) 得到产物 1-9 (130 mg, 产率 82.07%)。

LCMS (ESI) M/Z: 777.5 [M+H⁺].

步骤 G: 在干燥的反应瓶中加入四氢呋喃 (5 mL), 加入化合物 1-9 (60 mg, 0.077 mmol), 搅拌均匀。然后加入二氯亚砷 (45.97 mg, 0.39 mmol)。油浴加热到 80 摄氏度, 搅拌回流。经过 2 小时, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失, 有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束, 将反应液浓缩后经柱层析分离 (二氯甲烷/甲醇=99/1 - 90/10) 得到产物 1-10 (40 mg, 产率 65.12%)。

LCMS (ESI) M/Z: 795.4 [M+H⁺].

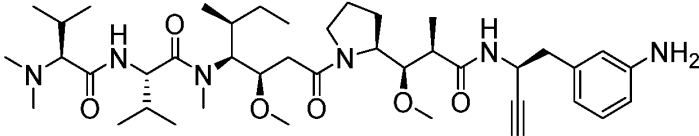
步骤 H: 在干燥的反应瓶中加入 N,N-二甲基甲酰胺 (2 mL), 加入化合物 1-10 (20 mg, 0.025 mmol), 搅拌均匀。然后加入 4,4'-联吡啶 (1.95 mg, 0.013 mmol), 搅拌 5 分钟后, 加入二硼酸 (11.21 mg, 0.13 mmol)。反应液于常温条件下搅拌反应。经过 15 分钟, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失, 有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束后, 反应液通过高效液相色谱制备纯化得到目标化合物 1 (3.5 mg, 产率 18.19%)。

LCMS (ESI) M/Z: 765.4 [M+H⁺].

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.04 – 6.93 (m, 2H), 6.64 – 6.56 (m, 2H), 6.51 (d, *J* = 9.2 Hz, 4H), 4.23 – 4.14 (m, 1H), 4.10 – 4.03 (m, 1H), 3.67 – 3.59 (m, 3H), 3.57 – 3.51 (m, 1H), 3.44 – 3.41 (m, 1H), 3.38 – 3.35 (m, 2H), 3.34 (s, 3H), 3.14 (s, 3H), 2.96 – 2.92 (m, 2H), 2.86 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 2.80 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 2.74 – 2.65 (m, 3H), 2.53 (d, *J* = 4.2 Hz, 2H), 2.42 (s, 6H), 2.12 – 2.08 (m, 2H), 1.81 – 1.77 (m, 2H), 1.45 – 1.39 (m, 2H), 1.22 – 1.19 (m, 3H), 1.17 – 1.13 (m, 3H), 1.04 – 1.02 (m, 3H), 1.01 – 1.01 (m, 3H), 1.00 – 0.99 (m, 3H), 0.91 – 0.89 (m, 3H), 0.88 – 0.87 (m, 3H).

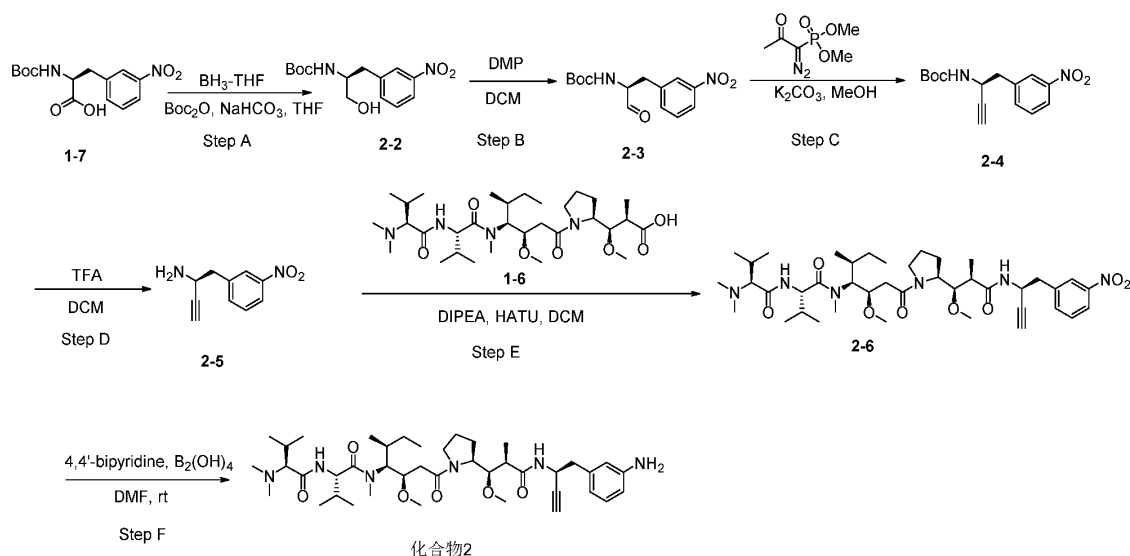
实施例 2:

(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((S)-1-(3-氨基苯基)-丁-3-炔-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((S)-2-(二甲氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺的制备。



30

反应路线:

**操作步骤:**

- 步骤 A:** 在干燥的反应瓶中加入四氢呋喃 (10 mL), 加入化合物 1-7 (1.00 g, 3.22 mmol), 搅拌均匀。然后加入硼烷四氢呋喃络合物 (830.18 mg, 9.66 mmol)。反应液于常温条件下搅拌反应。经过 6 小时, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失。向反应液加入 BOC 酸酐 (763.88 mg, 3.51 mmol) 和碳酸氢钠 (294.88 mg, 3.51 mmol), 继续搅拌反应过夜。取样品监测送 LCMS 分析, 结果显示有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束, 将反应液浓缩后经柱层析分离 (二氯甲烷/甲醇=95/5 - 90/10) 得到产物 2-2 (900 mg, 产率 71.17%)。
- LCMS (ESI) M/Z: 197.2 $[\text{M}+\text{H}^+-\text{Boc}]$.
- 步骤 B:** 在干燥的反应瓶中加入二氯甲烷 (15 mL), 加入化合物 2-2 (200 mg, 0.67 mmol), 搅拌均匀。然后加入戴斯-马丁氧化剂 (568.35 mg, 1.34 mmol)。反应液于常温条件下搅拌反应。经过 4 小时, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失, 有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束, 将反应液浓缩后经制备柱层析分离 (二氯甲烷/甲醇=99/1-98/2) 得到产物 2-3 (150 mg, 产率 75.51%)。
- LCMS (ESI) M/Z: 195.1 $[\text{M}+\text{H}^+-\text{Boc}]$.
- 步骤 C:** 在干燥的反应瓶中加入甲醇 (5 mL), 加入化合物 2-3 (150 mg, 0.51 mmol), 搅拌均匀。然后加入碳酸钾 (211.46 mg, 1.53 mmol) 和(1-重氮基-2-氧代丙基)膦酸二甲酯 (293.93 mg, 1.53 mmol)。反应液于常温条件下搅拌反应。经过 4 小时, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失, 有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束, 将反应液浓缩后经制备柱层析分离 (二氯甲烷/甲醇=99/1 - 90/10) 得到产物 2-4 (100 mg, 产率 67.58%)。
- LCMS (ESI) M/Z: 191.1 $[\text{M}+\text{H}^+-\text{Boc}]$.
- 步骤 D:** 在干燥的反应瓶中加入二氯甲烷 (4 mL), 加入化合物 2-4 (100 mg, 0.34 mmol), 搅拌均匀。然后加入三氟乙酸 (1 mL)。反应液于常温条件下搅拌反应。经过 4 小时, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失, 有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束, 过滤浓缩得粗品 2-5 (60 mg, 产率 91.58%), 不进一步纯化, 直接用于下一步。
- LCMS (ESI) M/Z: 191.1 $[\text{M}+\text{H}^+]$.
- 步骤 E:** 在干燥的反应瓶中加入二氯甲烷 (5 mL), 加入化合物 2-5 (40 mg, 0.21 mmol) 和 N,N -二异丙基乙胺 (81.42 mg, 0.63 mmol), 搅拌均匀。然后加入化合物 1-6 (100 mg, 0.17 mmol) 和 HATU (119.77 mg, 0.32 mmol)。反应液于常温条件下搅拌反应。经过 4 小时, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失, 有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束, 将反应液浓缩后经制备柱层析分离 (二氯甲烷/甲醇=99/1 - 90/10) 得到产物 2-6 (40 mg, 产率 24.67%)。
- LCMS (ESI) M/Z: 771.5 $[\text{M}+\text{H}^+]$.
- 步骤 F:** 在干燥的反应瓶中加入 N,N -二甲基甲酰胺 (1 mL), 加入 2-6 (130 mg, 0.17 mmol), 搅拌均匀。然后加入 4,4'-联吡啶 (0.013 g, 0.085 mmol) 和四羟基二硼 (76.20 mg, 0.85 mmol)。反应液于常温条

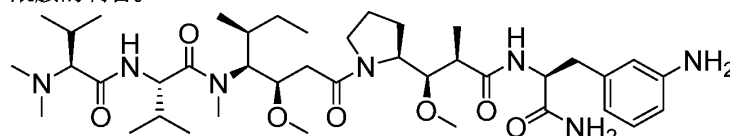
件下搅拌反应。经过 4 小时, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失, 有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束后, 反应液通过高效液相色谱制备纯化得到产物化合物 **2** (20 mg, 收率 16.01%)。

LCMS (ESI) M/Z: 741.5 [M+H⁺].

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.49 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 8.29 (dd, *J* = 12.9, 8.3 Hz, 1H), 8.01 (t, *J* = 9.2 Hz, 2H), 6.96 – 6.84 (m, 2H), 6.42 (d, *J* = 5.0 Hz, 2H), 6.39 – 6.33 (m, 3H), 4.95 – 4.89 (m, 1H), 4.67 – 4.63 (m, 1H), 4.52 (t, *J* = 8.8 Hz, 1H), 4.05 – 3.94 (m, 2H), 3.83 – 3.80 (m, 1H), 3.27 (s, 3H), 3.18 (s, 3H), 3.16 – 3.15 (m, 2H), 2.99 (s, 3H), 2.66 – 2.63 (m, 1H), 2.63 – 2.60 (m, 1H), 2.21 (s, 6H), 2.00 – 1.87 (m, 7H), 1.76 – 1.70 (m, 2H), 1.63 – 1.57 (m, 1H), 1.49 – 1.43 (m, 1H), 1.10 – 1.04 (m, 3H), 1.01 (t, *J* = 6.1 Hz, 3H), 0.91 – 0.90 (m, 3H), 0.89 – 0.88 (m, 3H), 0.88 – 0.87 (m, 3H), 0.75 – 0.73 (m, 3H), 0.72 – 0.69 (m, 3H).

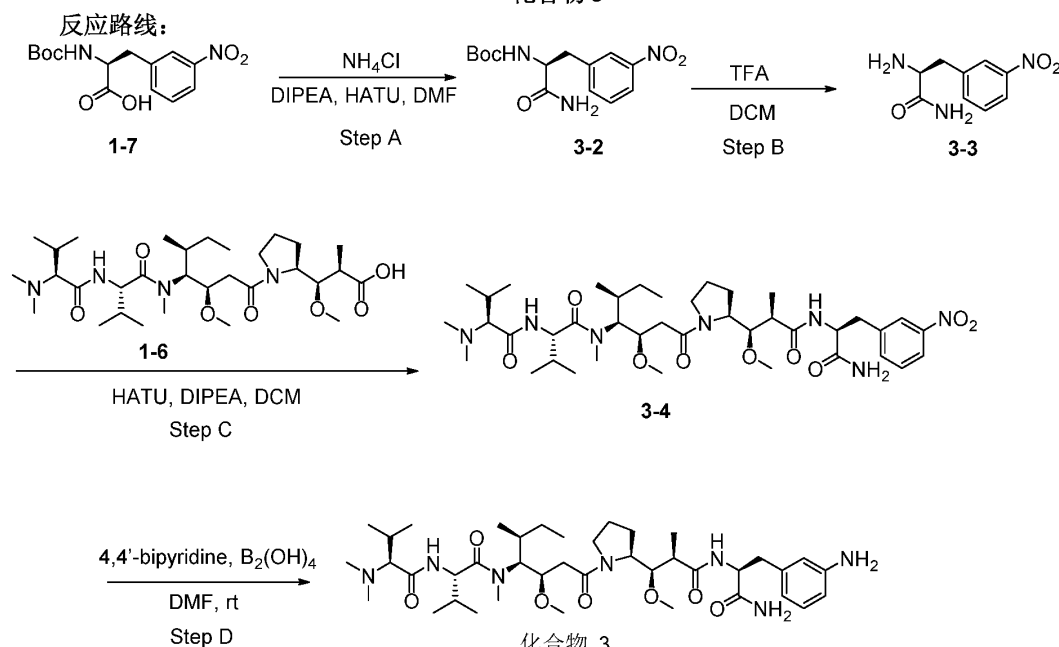
10 实施例 3:

(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((S)-1-氨基-3-(3-氨基苯基)-1-氧代丙烷-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((S)-2-(二甲氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺的制备。



化合物 3

15



操作步骤:

步骤 A: 在干燥的反应瓶中加入 N,N-二甲基甲酰胺 (4 mL), 加入化合物 **1-7** (300 mg, 0.97 mmol), N,N-二异丙基乙胺 (376.09 mg, 2.91 mmol) 和 HATU (553.23 mg, 1.46 mmol), 搅拌均匀。然后加入氯化铵 (103.77 mg, 1.94 mmol)。反应液于常温条件下搅拌反应。经过, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失, 有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束, 将反应液用二氯甲烷 (20 mL) 稀释, 加入水 (30 mL) 分液萃取, 油层干燥浓缩后经制备柱层析分离 (二氯甲烷/甲醇=99/1 - 90/10) 得到产物 **3-2** (280 mg, 收率 93.63%)。

LCMS (ESI) M/Z: 210.1 [M+H⁺-BOC].

步骤 B: 在干燥的反应瓶中加入二氯甲烷 (4 mL), 加入化合物 **3-2** (280 mg, 0.91 mmol), 搅拌均匀。然后加入三氟乙酸 (1 mL)。反应液于常温条件下搅拌反应。经过 4 小时, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失, 有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束, 过滤浓缩得粗品化合物 **3-3** (200

mg, 收率 105.61 %), 不进一步纯化, 直接用于下一步。

LCMS (ESI) M/Z: 210.1 [M+H⁺].

步骤 C: 在干燥的反应瓶中加入二氯甲烷 (5 mL), 加入化合物 3-3 (25 mg, 0.12 mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (46.53 mg, 0.36 mmol), 搅拌均匀。然后加入化合物 1-6 (70 mg, 0.12 mmol) 和 HATU (68.44 mg, 0.18 mmol)。反应液于常温条件下搅拌反应。经过 4 小时, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失, 有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束, 将反应液浓缩后经制备柱层析分离 (二氯甲烷/甲醇=99/1 - 90/10) 得到产物 3-4 (70 mg, 收率 74.15 %).

LCMS (ESI) M/Z: 790.5 [M+H⁺].

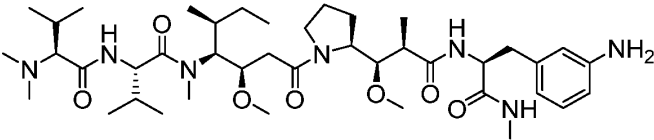
步骤 D: 在干燥的反应瓶中加入 N,N-二甲基甲酰胺 (1 mL), 加入 3-4 (35 mg, 0.044 mmol), 搅拌均匀。然后加入 4,4'-联吡啶 (3.44 mg, 0.022 mmol) 和四羟基二硼 (19.72 mg, 0.22 mmol)。反应液于常温条件下搅拌反应。经过 15 分钟, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失, 有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束后, 反应液通过高效液相色谱制备纯化得到产物化合物 3 (1.5 mg, 收率 4.45 %).

LCMS (ESI) M/Z: 760.5 [M+H⁺].

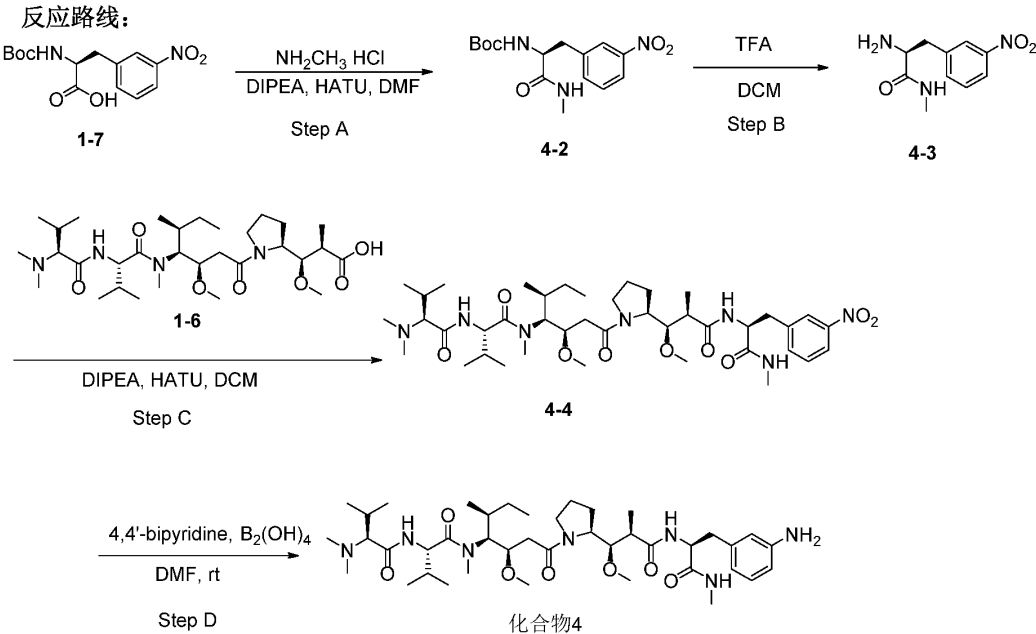
¹H NMR (400 MHz, Methanol-*d*₄) δ 7.04 – 6.94 (m, 1H), 6.66 – 6.47 (m, 3H), 4.67 – 4.63 (m, 1H), 4.61 – 4.55 (m, 1H), 4.19 – 4.03 (m, 1H), 3.88 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 3.79 – 3.66 (m, 1H), 3.57 – 3.47 (m, 1H), 3.45 – 3.37 (m, 2H), 3.36 – 3.32 (m, 6H), 3.28 – 3.25 (m, 2H), 3.20 – 3.16 (m, 1H), 3.19 – 3.05 (m, 3H), 2.82 – 2.70 (m, 2H), 2.53 – 2.45 (m, 2H), 2.39 – 2.34 (m, 6H), 2.15 – 1.97 (m, 3H), 1.96 – 1.82 (m, 2H), 1.82 – 1.69 (m, 2H), 1.68 – 1.56 (m, 1H), 1.20 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 1.09 (t, *J* = 6.2 Hz, 3H), 1.06 – 1.01 (m, 6H), 1.00 – 0.95 (m, 6H), 0.91 – 0.87 (m, 3H), 0.87 – 0.82 (m, 3H).

实施例 4

(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((S)-3-(3-氨基苯基)-1-(甲氨基)-1-氧代丙烷-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((S)-2-(二甲氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺的制备。



化合物 4



操作步骤:

步骤 A: 在干燥的反应瓶中加入 N,N-二甲基甲酰胺 (4 mL), 加入化合物 1-7 (300 mg, 0.97 mmol), N,N-二异丙基乙胺 (376.09 mg, 2.91 mmol) 和 HATU (553.23 mg, 1.46 mmol), 搅拌均匀。然后加入甲胺盐酸盐 (327.47 mg, 4.85 mmol)。反应液于常温条件下搅拌反应。经过, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失, 有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束, 将反应液用二氯甲烷 (20 mL) 稀释, 加入水 (30 mL) 分液萃取, 油层干燥浓缩后经制备柱层析分离 (二氯甲烷/甲醇=99/1 - 90/10) 得到产物 4-2 (250 mg, 收率 79.97 %)。

LCMS (ESI) M/Z: 224.1 [M+H⁺-BOC].

步骤 B: 在干燥的反应瓶中加入二氯甲烷 (4 mL), 加入化合物 4-2 (250 mg, 0.77 mmol), 搅拌均匀。然后加入三氟乙酸 (1 mL)。反应液于常温条件下搅拌反应。经过 4 小时, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失, 有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束, 过滤浓缩得粗品 4-3 (230 mg, 收率 133.26 %), 不进一步纯化, 直接用于下一步。

LCMS (ESI) M/Z: 224.1 [M+H⁺].

步骤 C: 在干燥的反应瓶中加入二氯甲烷 (2 mL), 加入化合物 4-3 (25 mg, 0.12 mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (42.65 mg, 0.33 mmol), 搅拌均匀。然后加入化合物 1-6 (70 mg, 0.12 mmol) 和 HATU (62.74 mg, 0.17 mmol)。反应液于常温条件下搅拌反应。经过 4 小时, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失, 有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束, 将反应液浓缩后经制备柱层析分离 (二氯甲烷/甲醇=99/1 - 90/10) 得到产物 4-4 (18 mg, 收率 19.99 %)。

LCMS (ESI) M/Z: 804.5 [M+H⁺].

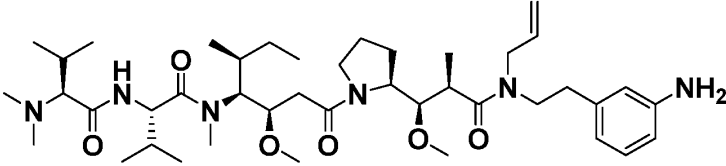
步骤 D: 在干燥的反应瓶中加入乙腈 (1 mL), 加入化合物 4-4 (18.49 mg, 0.023 mmol), 搅拌均匀。然后加入 4,4'-联吡啶 (1.80 mg, 0.011 mmol) 和四羟基二硼 (10.31 mg, 0.11 mmol)。反应液于常温条件下搅拌反应。经过 15 分钟, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失, 有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束后, 反应液通过高效液相色谱制备纯化得到产物化合物 4 (5.1 mg, 收率 28.65 %)。

LCMS (ESI) M/Z: 774.5 [M+H⁺].

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.18 (d, *J* = 8.7 Hz, 0H), 8.05 (t, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.99 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.87 - 7.74 (m, 1H), 6.83 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 6.44 - 6.28 (m, 3H), 4.73 - 4.58 (m, 2H), 4.53 (t, *J* = 8.9 Hz, 1H), 4.39 (ddd, *J* = 10.5, 8.4, 4.4 Hz, 1H), 4.02 - 3.96 (m, 1H), 3.84 (dd, *J* = 9.8, 2.1 Hz, 1H), 3.67 - 3.62 (m, 3H), 3.37 - 3.33 (m, 1H), 3.33 - 3.27 (m, 2H), 3.25 (d, *J* = 5.5 Hz, 3H), 3.19 (d, *J* = 2.8 Hz, 3H), 3.10 (s, 1H), 3.02 - 2.96 (m, 2H), 2.93 - 2.86 (m, 1H), 2.72 - 2.61 (m, 2H), 2.60 (dd, *J* = 4.6, 1.3 Hz, 3H), 2.47 - 2.36 (m, 1H), 2.34 - 2.26 (m, 1H), 2.20 (d, *J* = 7.7 Hz, 6H), 2.18 - 2.12 (m, 1H), 2.05 - 1.84 (m, 3H), 1.78 - 1.66 (m, 2H), 1.65 - 1.42 (m, 2H), 1.02 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H), 0.95 - 0.90 (m, 6H), 0.89 - 0.85 (m, 6H), 0.80 - 0.74 (m, 3H), 0.72 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H).

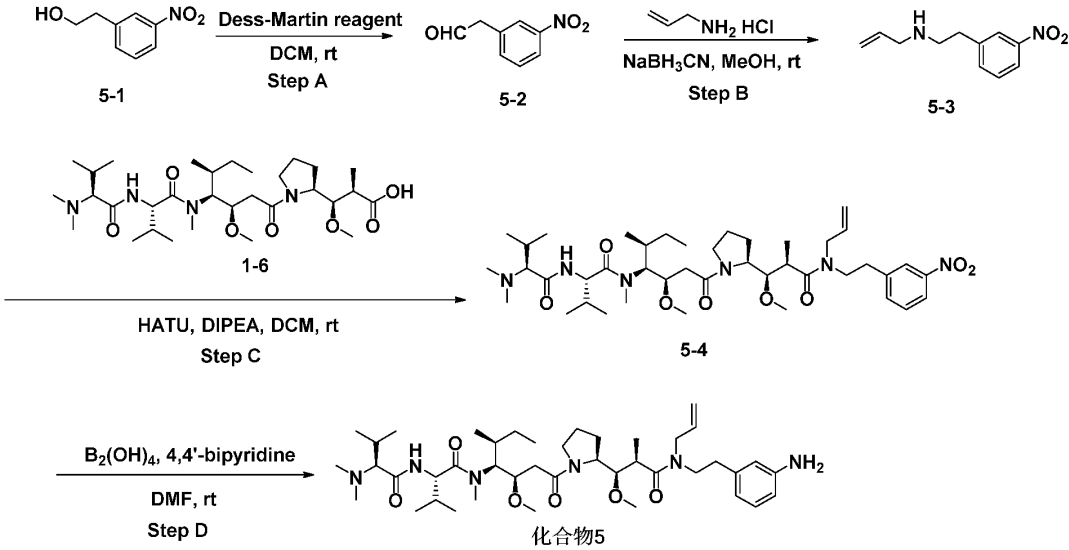
实施例 5

(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(烯丙基(3-氨基苯乙基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((S)-2-(二甲氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺的制备。



化合物 5

反应路线:



操作步骤:

步骤 A: 在干燥的反应瓶中加入二氯甲烷 (25 mL), 加入化合物 **5-1** (1 g, 5.98 mmol), 搅拌均匀。然后加入戴斯-马丁氧化剂 (3.80 g, 8.97 mmol)。反应液于常温条件下搅拌反应。经过 3 小时, 取样品检测 TLC 分析, 结果显示原料点消失, 有新点生成。经检测确认反应结束, 将反应液浓缩后经制备柱层析分离 (石油醚/乙酸乙酯=95/5 - 80/20) 得到产物化合物 **5-2** (500 mg, 收率 50.61 %)。

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 9.84 (t, *J* = 1.7 Hz, 1H), 8.18 (tt, *J* = 5.2, 2.4 Hz, 1H), 8.11 (t, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.58 - 7.51 (m, 2H), 3.88 (d, *J* = 1.6 Hz, 2H)。

步骤 B: 在干燥的反应瓶中加入甲醇 (5 mL), 加入化合物 **5-2** (100 mg, 0.61 mmol) 和 2-丙烯-1-胺盐酸盐 (100 mg, 1.07 mmol), 搅拌均匀。0.5 小时后加入氰基硼氢化钠 (95.83 mg, 1.52 mmol)。反应液于常温条件下搅拌反应。经过 4 小时, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失, 有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束, 将反应液浓缩后经制备柱层析分离 (二氯甲烷/甲醇=99/1 - 90/10) 得到产物 **5-3** (46 mg, 收率 36.84 %)。

LCMS (ESI) *m/z*: 207.1 [M+H⁺]

步骤 C: 在干燥的反应瓶中加入二氯甲烷 (3 mL), 加入化合物 **1-6** (130 mg, 0.22 mmol), N,N-二异丙基乙胺 (85.30 mg, 0.66 mmol) 和 HATU (125.48 mg, 0.33 mmol), 搅拌均匀。然后加入化合物 **5-3** (46 mg, 0.22 mmol)。反应液于常温条件下搅拌反应。经过 6 小时, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失, 有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束, 将反应液浓缩后经制备柱层析分离 (二氯甲烷/甲醇=99/1 - 90/10) 得到产物 **5-4** (54 mg, 收率 30.76 %)。

LCMS (ESI) *m/z*: 787.5 [M+H⁺]

步骤 D: 在干燥的反应瓶中加入 N,N-二甲基甲酰胺 (1 mL), 加入化合物 **5-4**, 搅拌均匀。然后加入四羟基二硼 (30.93 mg, 0.35 mmol) 和 4,4'-联吡啶 (5.39 mg, 0.035 mmol)。反应液于常温条件下搅拌反应。经过 15 分钟, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失, 有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束后, 反应液通过高效液相色谱制备纯化得到产物化合物 **5** (7.5 mg, 收率 14.44 %)。

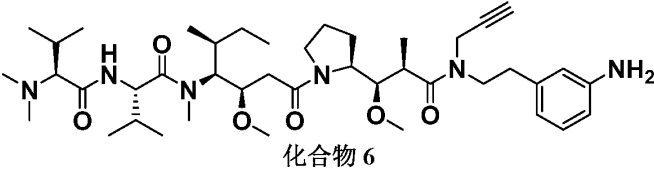
LCMS (ESI) *m/z*: 757.5 [M+H⁺]

¹H NMR (400 MHz, Methanol-*d*₄) δ 7.09 - 6.93 (m, 1H), 6.65 - 6.49 (m, 3H), 5.88 - 5.72 (m, 1H), 5.24 - 5.17 (m, 1H), 5.17 - 5.09 (m, 1H), 4.73 - 4.69 (m, 1H), 4.65 (dd, *J* = 8.5, 1.9 Hz, 1H), 4.21 - 4.01 (m, 2H), 4.00 - 3.90 (m, 2H), 3.89 - 3.77 (m, 1H), 3.71 - 3.60 (m, 2H), 3.55 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 3.51 - 3.45 (m, 1H), 3.41 (s, 3H), 3.39 - 3.36 (m, 1H), 3.34 (s, 3H), 3.29 (s, 3H), 3.28 - 3.21 (m, 1H), 3.16 - 3.08 (m, 2H), 2.91 - 2.83 (m, 1H), 2.81 - 2.70 (m, 3H), 2.68 - 2.57 (m, 1H), 2.57 - 2.48 (m, 1H), 2.44 (s, 6H), 2.21 - 2.11 (m, 1H), 2.10 - 1.99 (m, 3H), 1.97 - 1.90 (m, 1H), 1.84 - 1.72 (m, 2H), 1.48 - 1.37 (m, 1H), 1.24 - 1.13 (m, 3H), 1.06 - 1.01 (m, 6H), 1.01 - 0.97 (m, 6H), 0.91 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H), 0.87 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H)。

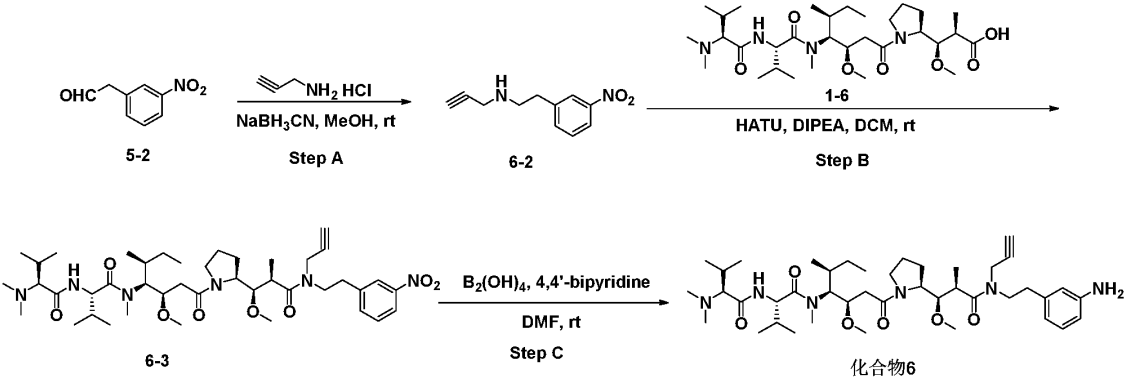
实施例 6

(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(3-氨基苯乙基)(丙-2-炔-1-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代

丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((S)-2-(二甲氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺的制备。



5 反应路线:



操作步骤:

步骤 A: 在干燥的反应瓶中加入甲醇 (5 mL), 加入化合物 5-2 (100 mg, 0.61 mmol) 和炔丙胺盐酸盐 (111.68 mg, 1.22 mmol), 搅拌均匀。0.5 小时后加入氰基硼氢化钠 (95.83 mg, 1.52 mmol)。反应液于常温条件下搅拌反应。经过 4 小时, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失, 有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束, 将反应液浓缩后经制备柱层析分离 (二氯甲烷/甲醇=99/1 - 90/10) 得到产物化合物 6-2 (59 mg, 收率 47.71 %)。

LCMS (ESI) M/Z: 205.1 [M+H⁺].

步骤 B: 在干燥的反应瓶中加入二氯甲烷 (3 mL), 加入化合物 1-6 (76 mg, 0.13 mmol)、N,N-二异丙基乙胺 (54.28 mg, 0.42 mmol) 和 HATU (79.85 mg, 0.21 mmol), 搅拌均匀。然后加入化合物 6-2 (29 mg, 0.14 mmol)。反应液于常温条件下搅拌反应。经过 6 小时, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失, 有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束, 将反应液浓缩后经制备柱层析分离 (二氯甲烷/甲醇=99/1 - 90/10) 得到产物 6-3 (48 mg, 收率 43.06 %)。

LCMS (ESI) M/Z: 785.5 [M+H⁺].

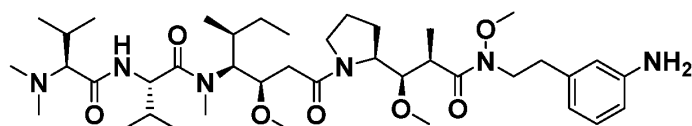
步骤 C: 在干燥的反应瓶中加入 N,N-二甲基甲酰胺 (1 mL), 加入化合物 6-3 (54 mg, 0.069 mmol), 搅拌均匀。然后加入四羟基二硼 (27.34 mg, 0.30 mmol) 和 4,4'-联吡啶 (4.76 mg, 0.030 mmol)。反应液于常温条件下搅拌反应。经过 15 分钟, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失, 有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束后, 反应液通过高效液相色谱制备纯化得到产物化合物 6 (6.04 mg, 收率 11.52 %)。

LCMS (ESI) M/Z: 755.5 [M+H⁺].

¹H NMR (400 MHz, Methanol-*d*₄) δ 7.07 – 6.97 (m, 1H), 6.64 – 6.49 (m, 3H), 4.74 – 4.69 (m, 1H), 4.66 – 4.62 (m, 1H), 4.25 – 4.12 (m, 1H), 4.11 – 4.04 (m, 2H), 3.92 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 3.69 (s, 2H), 3.65 – 3.56 (m, 1H), 3.43 – 3.39 (m, 3H), 3.37 – 3.34 (m, 1H), 3.32 (s, 3H), 3.29 (d, *J* = 2.6 Hz, 3H), 3.26 (s, 1H), 3.14 – 3.09 (m, 3H), 2.96 – 2.90 (m, 1H), 2.84 – 2.81 (m, 2H), 2.80 – 2.78 (m, 1H), 2.78 – 2.75 (m, 1H), 2.72 – 2.61 (m, 2H), 2.51 – 2.45 (m, 1H), 2.38 (s, 6H), 2.14 – 2.10 (m, 1H), 2.06 – 2.00 (m, 3H), 1.84 – 1.71 (m, 3H), 1.44 – 1.38 (m, 1H), 1.27 – 1.14 (m, 3H), 1.02 (d, *J* = 2.3 Hz, 3H), 1.01 (d, *J* = 1.9 Hz, 3H), 0.99 – 0.99 (m, 3H), 0.97 (d, *J* = 2.5 Hz, 3H), 0.89 – 0.87 (m, 3H), 0.86 (d, *J* = 1.8 Hz, 3H).

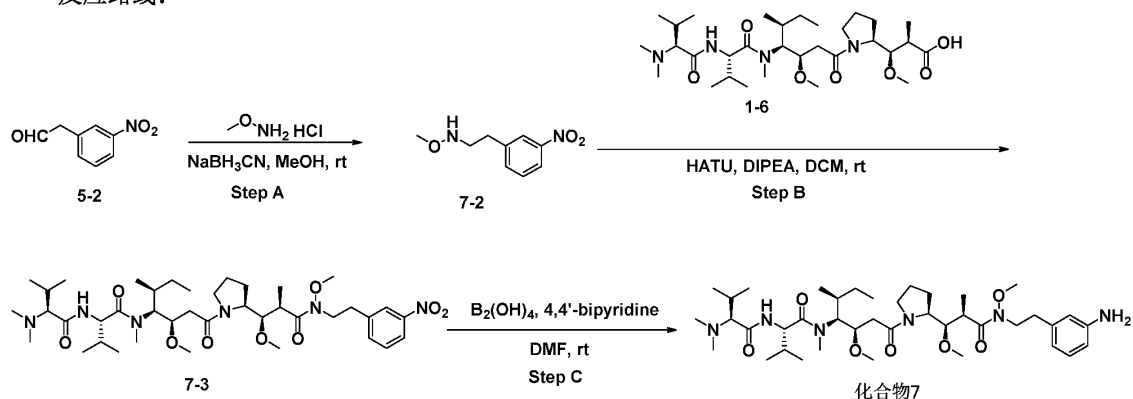
实施例 7

(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(3-氨基苯乙基)(甲氧基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((S)-2-(二甲氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺的制备。



化合物 7

反应路线:



5 操作步骤:

步骤 A: 在干燥的反应瓶中加入甲醇 (5 mL), 加入化合物 5-2 (100 mg, 0.61 mmol) 和甲氧基胺盐酸盐 (101.89 mg, 1.22 mmol), 搅拌均匀。0.5 小时后加入氰基硼氢化钠 (95.83 mg, 1.52 mmol)。反应液于常温条件下搅拌反应。经过 4 小时, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失, 有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束, 将反应液浓缩后经制备柱层析分离 (二氯甲烷/甲醇=99/1 - 90/10) 得到产物 7-2 (46 mg, 收率 38.72 %)。

LCMS (ESI) M/Z: 197.1 [M+H⁺].

步骤 B: 在干燥的反应瓶中加入二氯甲烷 (3 mL), 加入化合物 1-6 (76 mg, 0.13 mmol)、N,N-二异丙基乙胺 (46.53 mg, 0.36 mmol) 和 HATU (68.44 mg, 0.18 mmol), 搅拌均匀。然后加入化合物 7-2 (23 mg, 0.12 mmol)。反应液于常温条件下搅拌反应。经过 6 小时, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失, 有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束, 将反应液浓缩后经制备柱层析分离 (二氯甲烷/甲醇=99/1 - 90/10) 得到产物 7-3 (12 mg, 收率 13.17 %)。

LCMS (ESI) M/Z: 777.4 [M+H⁺].

步骤 C: 在干燥的反应瓶中加入 N,N-二甲基甲酰胺 (1 mL), 加入化合物 7-3 (12 mg, 0.015 mmol), 搅拌均匀。然后加入四羟基二硼 (6.72 mg, 0.075 mmol) 和 4,4'-联吡啶 (1.17 mg, 0.0075 mmol)。反应液于常温条件下搅拌反应。经过 15 分钟, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失, 有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束后, 反应液通过高效液相色谱制备纯化得到产物化合物 7 (3.0 mg, 收率 26.00 %)。

LCMS (ESI) M/Z: 747.5 [M+H⁺].

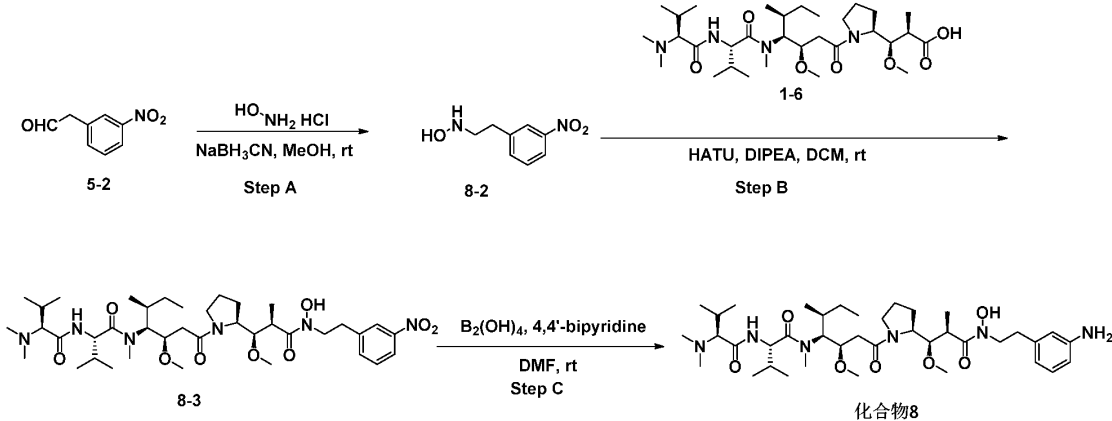
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.04 (dd, *J* = 15.6, 8.7 Hz, 1H), 6.91 (td, *J* = 7.7, 3.2 Hz, 1H), 6.43 - 6.33 (m, 3H), 4.94 (s, 1H), 4.76 - 4.61 (m, 1H), 4.60 - 4.48 (m, 1H), 4.04 - 3.88 (m, 2H), 3.82 (dd, *J* = 14.5, 7.4 Hz, 1H), 3.72 (dd, *J* = 7.5, 3.5 Hz, 1H), 3.62 (d, *J* = 11.0 Hz, 3H), 3.26 (s, 3H), 3.18 (d, *J* = 6.2 Hz, 6H), 3.15 - 3.13 (m, 2H), 3.00 (s, 3H), 2.68 - 2.65 (m, 1H), 2.65 - 2.61 (m, 2H), 2.34 - 2.27 (m, 1H), 2.20 (d, *J* = 9.2 Hz, 6H), 2.03 - 1.96 (m, 2H), 1.95 - 1.84 (m, 4H), 1.78 - 1.61 (m, 3H), 1.51 - 1.42 (m, 1H), 1.14 - 1.06 (m, 3H), 0.92 - 0.88 (m, 6H), 0.87 (d, *J* = 6.3 Hz, 6H), 0.77 - 0.74 (m, 3H), 0.73 - 0.69 (m, 3H).

30 实施例 8

(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(3-氨基苯乙基)(羟基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((S)-2-(二甲氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺的制备。



反应路线:



5 操作步骤:

步骤 A: 在干燥的反应瓶中加入甲醇 (5 mL), 加入化合物 5-2 (100 mg, 0.61 mmol) 和羟胺盐酸盐 (84.78 mg, 1.22 mmol), 搅拌均匀。0.5 小时后加入氰基硼氢化钠 (95.83 mg, 1.52 mmol)。反应液于常温条件下搅拌反应。经过 4 小时, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失, 有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束, 将反应液浓缩后经制备柱层析分离 (二氯甲烷/甲醇=99/1 - 90/10) 得到产物 8-2 (19 mg, 收率 17.22%)。

LCMS (ESI) M/Z: 183.1 [M+H⁺].

步骤 B: 在干燥的反应瓶中加入二氯甲烷 (3 mL), 加入化合物 1-6 (76 mg, 0.13 mmol)、N,N-二异丙基乙胺 (38.77 mg, 0.30 mmol) 和 HATU (57.03 mg, 0.15 mmol), 搅拌均匀。然后加入化合物 8-2 (19 mg, 0.10 mmol)。反应液于常温条件下搅拌反应。经过 6 小时, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失, 有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束, 将反应液浓缩后经制备柱层析分离 (二氯甲烷/甲醇=99/1 - 90/10) 得到产物 8-3 (25 mg, 收率 31.42%)。

LCMS (ESI) M/Z: 763.4 [M+H⁺].

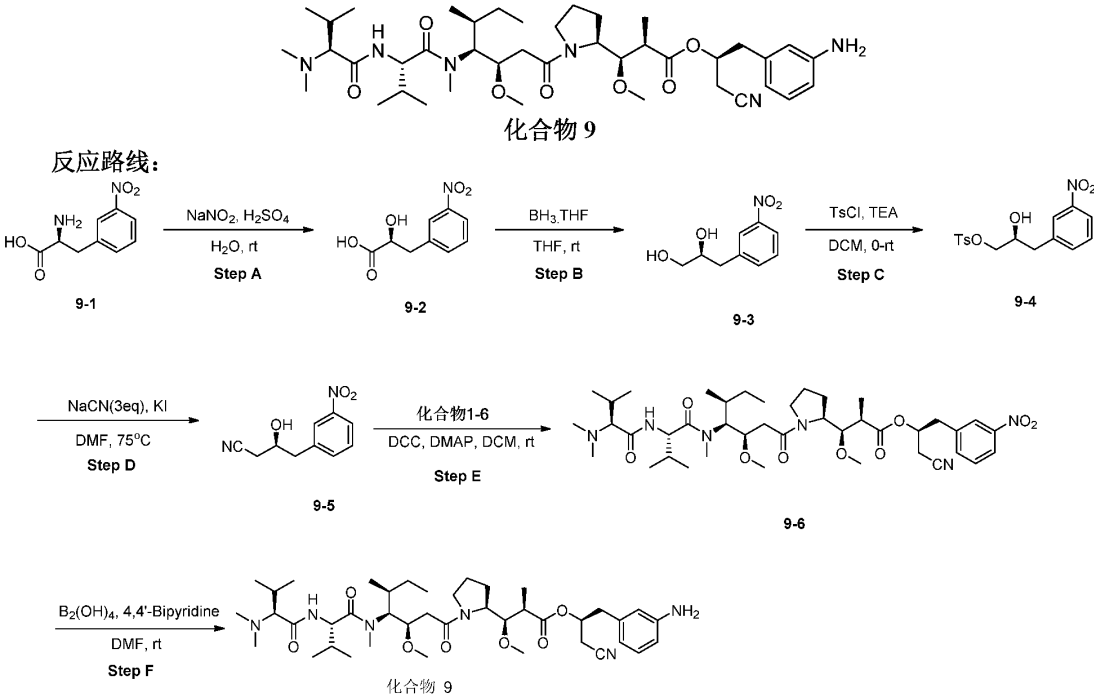
步骤 C: 在干燥的反应瓶中加入 N,N-二甲基甲酰胺 (1 mL), 加入化合物 8-3 (25 mg, 0.033 mmol), 搅拌均匀。然后加入四羟基二硼 (14.79 mg, 0.17 mmol) 和 4,4'-联吡啶 (2.58 mg, 0.017 mmol)。反应液于常温条件下搅拌反应。经过 15 分钟, 取样品检测送 LCMS 分析, 结果显示原料点消失, 有目标产物离子峰生成。经检测确认反应结束后, 反应液通过高效液相色谱制备纯化得到产物化合物 8 (1.4 mg, 收率 5.83%)。

LCMS (ESI) M/Z: 733.5 [M+H⁺].

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.03 (t, *J* = 8.6 Hz, 1H), 6.89 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 6.49 – 6.26 (m, 3H), 4.92 (s, 2H), 4.76 – 4.62 (m, 1H), 4.63 – 4.46 (m, 2H), 4.04 – 3.92 (m, 1H), 3.84 (dd, *J* = 18.9, 10.0 Hz, 1H), 3.77 – 3.68 (m, 1H), 3.30 (s, 3H), 3.28 (s, 3H), 3.20 – 3.19 (m, 1H), 3.17 (s, 3H), 3.14 – 3.08 (m, 2H), 2.99 (s, 3H), 2.71 – 2.61 (m, 3H), 2.34 – 2.26 (m, 1H), 2.20 (s, 6H), 2.04 – 1.97 (m, 1H), 1.96 – 1.89 (m, 2H), 1.88 – 1.81 (m, 2H), 1.78 – 1.58 (m, 3H), 1.56 – 1.36 (m, 1H), 1.13 – 1.02 (m, 3H), 0.94 – 0.89 (m, 6H), 0.88 – 0.85 (m, 6H), 0.78 – 0.74 (m, 3H), 0.72 – 0.69 (m, 3H).

30 实施例 9

(S)-1-(3-氨基苯基)-3-氰丙基-2-基(2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-(S)-(二甲基氨基)-3-甲基丁烷)-N,3-二甲基丁烷)-3-甲氧基-5-甲基庚烷基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙烷酸酯的制备。



5 操作步骤:

步骤 A: 将化合物 9-1 (2.0 g, 9.52 mmol) 溶于稀硫酸 (1 M, 20 mL), 然后降温至 0℃, 缓慢滴加亚硝酸钠水溶液 (3.9 g/12 mL, 57.31 mmol), 半个小时后滴加完成, 体系自然升温至室温并搅拌过夜。LCMS 显示反应完成, 反应混合物加乙酸乙酯 (100 mL) 萃取, 有机相依次用水 (50 mL)、饱和氯化钠 (50 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 粗品通过 Flash 纯化 (乙腈/0.1% 碳酸氢铵/水) 得到产物 9-2 (1.2 g, 收率 60%)。

LCMS (ESI) M/Z: 212.0 [M+H⁺].

步骤 B: 将化合物 9-2 (100 mg, 0.47 mmol) 溶于无水四氢呋喃 (3 mL), 然后降温至 0 摄氏度并滴加硼烷四氢呋喃 (2.8 mL, 2.8 mmol, 1 M 四氢呋喃), 反应体系在室温下搅拌 16 小时。LCMS 显示反应完成, 反应混合物加甲醇淬灭, 然后用二氯甲烷 (20 mL) 稀释, 并依次用饱和碳酸氢钠 (10 mL)、饱和氯化钠 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩得到粗品。粗品通过反相柱纯化 (乙腈/0.1%碳酸氢铵/水) 得到化合物 9-3 (60 mg, 收率 64%)。

LCMS (ESI) M/Z: 393.0 [M+H⁺].

步骤 C: 将化合物 9-3 (100 mg, 0.51 mmol) 溶于无水二氯甲烷 (3 mL), 然后降温至 0 摄氏度, 加入对甲苯磺酰氯 (145 mg, 0.76 mmol) 和三乙胺 (0.18 mL, 0.13 mmol), 反应自然升至室温并搅拌过夜。LCMS 显示反应完成, 反应液中加二氯甲烷 (10 mL) 稀释, 随后依次经过水 (10 mL)、饱和氯化钠 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩得到粗品。粗品通过反相柱纯化 (乙腈/0.1%碳酸氢铵/水) 得到化合物 9-4 (10 mg, 收率 56%)。

LCMS (ESI) M/Z: 369.0 [M+H⁺].

步骤 D: 将化合物 9-4 (80 mg, 0.20 mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (3 mL), 然后加入碘化钾 (38 mg, 0.20 mmol) 和氰化钠 (40 mg, 0.80 mmol), 反应体系在 75℃ 下搅拌 16 小时。LCMS 显示反应完成, 反应液加 EA (20 mL) 稀释, 随后依次用水 (10 mL) 和饱和氯化钠 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩得到粗品。粗品通过反相柱纯化 (乙腈/0.1% 碳酸氢铵/水) 后得到产物 9-5 (20 mg, 收率 43%)。

LCMS (ESI) M/Z: 411.0 [2M-H]⁻.

步骤 E: 将化合物 1-6 (200 mg, 0.33 mmol) 溶于干燥二氯甲烷 (5 mL), 再依次加入化合物 9-5 (199 mg, 0.96 mmol)、N,N'-二环己基碳二亚胺 (136 mg, 0.66 mmol) 和 4-二甲氨基吡啶 (4 mg, 0.03 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温反应 16 小时。LCMS 监测反应完成后, 过滤, 滤液通过 Flash 纯化得到

化合物 9-6 (140 mg, 收率 53 %).

LCMS (ESI) M/Z: 787.2 [M+H⁺].

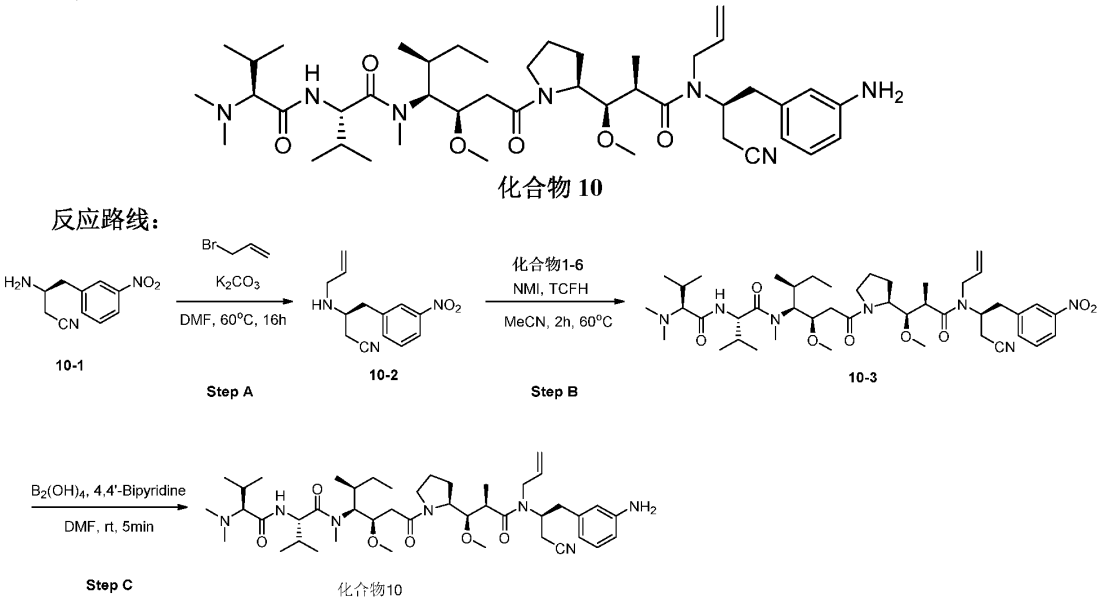
步骤 F: 将四羟基二硼 (58 mg, 0.64 mmol) 溶于干燥 N,N-二甲基甲酰胺 (5 mL), 再依次快速加入 4,4'-联吡啶 (78 mg, 0.37 mmol) 和化合物 9-6 (120 mg, 0.15 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温反应 5 分钟. LCMS 监测反应完成后, 加入少量甲醇淬灭反应, 过滤, 滤液通过高效液相色谱制备纯化得到目标化合物 9 (60 mg, 收率 52 %).

LCMS (ESI) M/Z: 757.5 [M+H⁺].

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.89 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.25 (m, 1H), 7.00 – 6.82 (m, 3H), 5.34 – 5.09 (m, 1H), 4.72 – 4.50 (m, 2H), 4.00 – 3.89 (m, 2H), 3.85 (m, 1H), 3.72 (m, 1H), 3.58 – 3.40 (m, 2H), 3.37 – 3.21 (m, 4H), 3.17 (m, 3H), 3.03 (m, 3H), 2.97 – 2.81 (m, 4H), 2.75 (m, 6H), 2.47 – 2.21 (m, 4H), 2.10 – 1.63 (m, 6H), 1.38 – 1.20 (m, 1H), 1.01 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 0.98 – 0.82 (m, 15H), 0.81 – 0.72 (m, 3H).

实施例 10

((S) -N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(烯丙基((S)-1-(3-氨基苯基))-3-氰基丙烷-2-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺的制备。



操作步骤:

步骤 A: 将化合物 10-1 (400 mg, 2 mmol) 溶于超干 N,N-二甲基甲酰胺 (15 mL), 加入烯丙基溴 (223 mg, 3 mmol) 和碳酸钾 (260 mg, 3 mmol), 60°C 搅拌 16 小时. LCMS 显示反应完成, 过滤, 滤液经高效液相色谱制备 (0.1% FA in 水/乙腈) 纯化, 得到产物 10-2 (200 mg, 收率 40.01%).

LCMS (ESI) M/Z: 246.1 [M+H⁺].

步骤 B: 将化合物 10-2 (200 mg, 0.9 mmol)、化合物 1-6 (400 mg, 0.67 mmol)、NMI (0.27 ml) 和 TCFH (470 mg, 1.68 mmol) 于氮气保护下加入 2 mL 无水 MeCN (5 mL), 所得混合物在 60°C 下搅拌过夜. LCMS 显示反应完成后, 浓缩反应液, 然后加入 3 mL 四氢呋喃, 过滤, 滤液用反相柱 (0.1% FA in 水/乙腈) 纯化, 得到化合物 10-3 (40 mg, 收率 20.63 %).

LCMS (ESI) M/Z: 826.4 [M+H⁺].

步骤 C: 将四羟基二硼 (80 mg, 0.1 mmol) 加入无水 N,N-二甲基甲酰胺 (1 mL), 随后立即加入 4,4'-二联吡啶 (15 mg, 0.1 mmol) 和化合物 10-3 (40 mg, 0.1 mmol), 所得体系在室温下搅拌 5 分钟. LCMS 显示反应完成后, 过滤, 滤液经高效液相色谱纯化得到目标化合物 10 (7 mg, 收率 30.59 %).

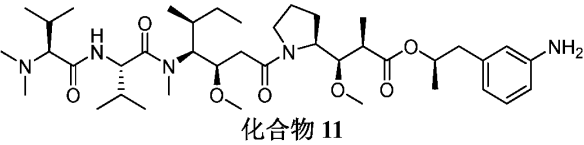
LCMS (ESI) M/Z: 796.5 [M+H⁺].

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.07 – 7.96 (m, 1H), 6.95 – 6.87 (m, 1H), 6.43 – 6.28 (m, 3H), 5.73 – 5.59 (m, 1H), 5.35 – 5.08 (m, 2H), 5.05 – 4.84 (m, 2H), 4.68 – 4.47 (m, 2H), 4.03 – 3.92 (m, 2H), 3.87 – 3.76 (m, 1H), 3.62 – 3.48 (m, 2H), 3.29 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 3.19 (d, J = 6.1 Hz, 5H), 3.10 (s, 2H), 3.00 (s, 3H), 2.89 –

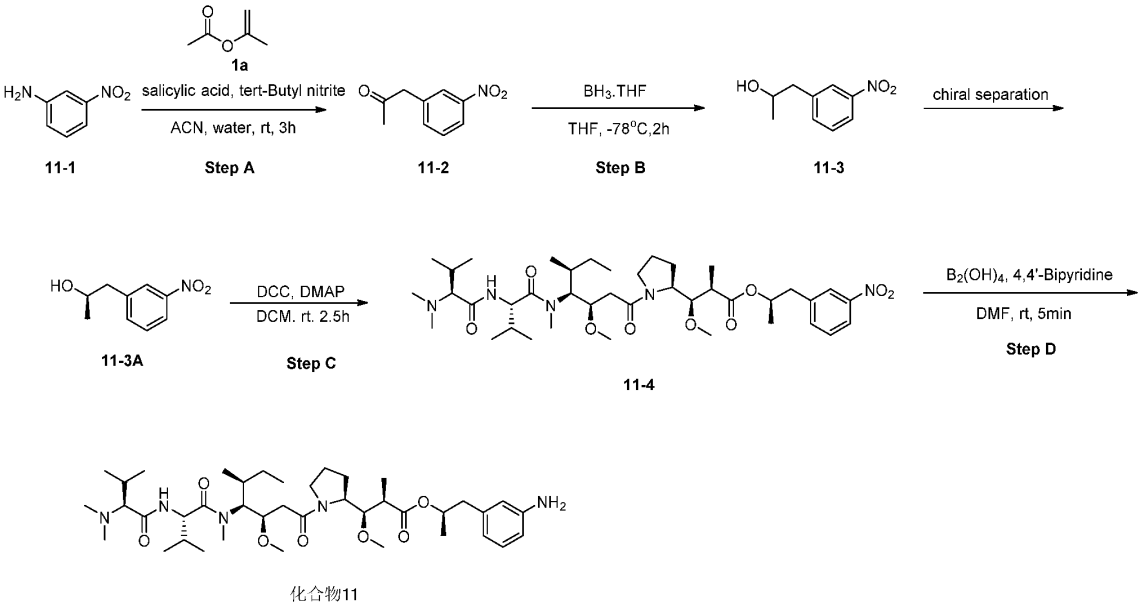
2.76 (m, 2H), 2.71 – 2.55 (m, 4H), 2.45 – 2.26 (m, 2H), 2.20 (d, $J = 10.0$ Hz, 6H), 2.01 – 1.63 (m, 8H), 1.37 – 1.28 (m, 1H), 0.97 – 0.85 (m, 15H), 0.78 – 0.66 (m, 6H).

实施例 11

1-(3-氨基苯基)丙-2-基 (2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酸酯的制备。



反应路线:



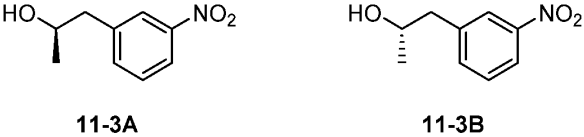
操作步骤:

步骤 A: 将原料 11-1 (2.5 g, 1.81 mmol) 溶于乙腈 (25 mL) 和水 (2.5 mL), 加入乙酸异丙酯 (1.82 g, 1.81 mmol) 和水杨酸 (250 mg, 0.181 mmol), 搅拌 5 min 后加入亚硝酸叔丁酯 (2.8 g, 2.71 mmol)。所得混合物在氮气保护下室温反应 3 h。TLC 显示反应完成, 加氯化铵 (20 mL) 淬灭反应, 二氯甲烷 (50 mL x 3) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 所得粗品通过柱层析 (PE : EA=10:1) 纯化, 得到产物 11-2 (0.9g, 收率 30%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.32 – 7.90 (m, 2H), 7.52 (d, $J = 5.3$ Hz, 2H), 3.86 (s, 2H), 2.26 (s, 3H)。

步骤 B: 将化合物 11-2 (600 mg, 2.7 mmol) 溶于无水四氢呋喃 (20 mL), 0 摄氏度下滴加硼烷四氢呋喃溶液 (5.6 mL, 5.6 mmol, 1 M in THF), 反应体系在室温下搅拌 16 小时。TLC 显示反应完成后, 加甲醇淬灭反应, 二氯甲烷 (20 mL) 稀释, 依次用饱和碳酸氢钠 (10 mL) 和饱和氯化钠 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩得到粗品。粗品通过柱层析 (PE : EA=9:1) 纯化后得到消旋体 11-3, 再经手性拆分得到单一构型的化合物 11-3A (200 mg, 收率 34%) 和化合物 11-3B (200 mg, 收率 34%), 拆分条件流动相: 超临界二氧化碳和 0.1% 氨的异丙醇溶液; 流速: 100 mL/分钟; 梯度: 保持 0.1% 氨的异丙醇为 20%; 检测波长: 214 nm; 循环时间: 7.5 min。

化合物 11-3A 保留时间 $R_t = 5.6$ min; 化合物 11-3B 保留时间 $R_t = 8.2$ min。



^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.19 – 7.94 (m, 2H), 7.75 – 7.49 (m, 2H), 4.65 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 3.87 (m,

$J = 11.4, 5.5 \text{ Hz}$, 1H), 2.90 – 2.64 (m, 2H), 1.08 (d, $J = 6.2 \text{ Hz}$, 3H).

步骤 C: 将化合物 **1-6** (132 mg, 0.22 mmol) 溶于干燥二氯甲烷 (5 mL), 再依次加入化合物 **11-3A** (40 mg, 0.22 mmol)、N,N'-二环己基碳二亚胺 (91 mg, 0.44 mmol) 和 4-二甲氨基吡啶 (3 mg, 0.02 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温反应 16 小时。LCMS 监测反应完成后, 过滤, 滤液通过 Flash 纯化 (乙腈 / 0.1% 碳酸氢铵/水) 得到化合物 **11-4** (120 mg, 收率 53 %)。

LCMS (ESI) M/Z: 762.4 $[M+H]^+$ 。

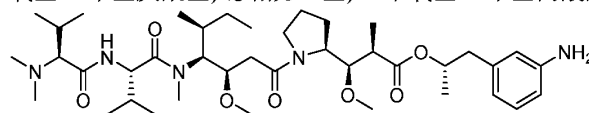
步骤 D: 将四羟基二硼 (95 mg, 1.01 mmol) 溶于干燥 N,N-二甲基甲酰胺 (5 mL), 再依次快速加入 4,4'-联吡啶 (20 mg, 0.25 mmol) 和化合物 **11-4** (100 mg, 0.15 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温反应 5 分钟。LCMS 监测反应完成后, 加入少量甲醇淬灭反应, 过滤, 滤液通过高效液相色谱制备纯化得到目标化合物 **11** (30 mg, 收率 52 %)。

LCMS (ESI) M/Z: 732.3 $[M+H]^+$ 。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 8.09 – 7.97 (m, 1H), 6.95 – 6.79 (m, 1H), 6.44 – 6.27 (m, 3H), 5.15 – 4.86 (m, 3H), 4.75 – 4.43 (m, 2H), 4.05 – 3.91 (m, 1H), 3.88 – 3.78 (m, 1H), 3.77 – 3.68 (m, 1H), 3.64 – 3.46 (m, 1H), 3.41 – 3.30 (m, 2H), 3.27 – 3.10 (m, 6H), 3.09 – 2.95 (m, 3H), 2.72 – 2.59 (m, 3H), 2.46 – 2.29 (m, 3H), 2.24 – 2.13 (m, 6H), 2.04 – 1.83 (m, 3H), 1.81 – 1.53 (m, 4H), 1.36 – 1.25 (m, 1H), 1.23 – 1.13 (m, 3H), 1.13 – 1.04 (m, 3H), 0.95 – 0.85 (m, 12H), 0.80 – 0.63 (m, 6H)。

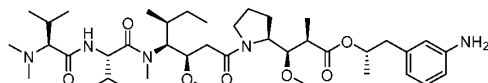
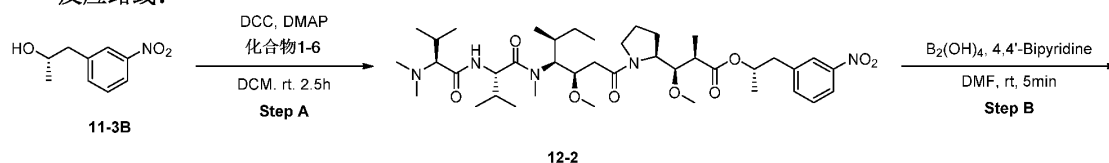
实施例 12

1-(3-氨基苯基)丙-2-基 (2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酸酯的制备。



化合物 12

反应路线:



化合物 12

操作步骤:

步骤 A: 将化合物 **1-6** (32 mg, 0.22 mmol) 溶于干燥二氯甲烷 (5 mL), 再依次加入化合物 **11-3B** (40 mg, 0.22 mmol)、N,N'-二环己基碳二亚胺 (91 mg, 0.44 mmol) 和 4-二甲氨基吡啶 (3 mg, 0.02 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温反应 16 小时。LCMS 监测反应完成后, 过滤, 滤液通过 Flash 纯化 (乙腈 / 0.1% 碳酸氢铵/水) 得到化合物 **12-2** (120 mg, 收率 53 %)。

LCMS (ESI) M/Z: 762.4 $[M+H]^+$ 。

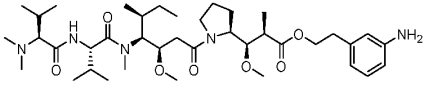
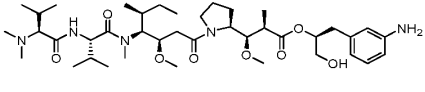
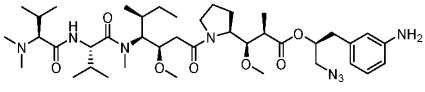
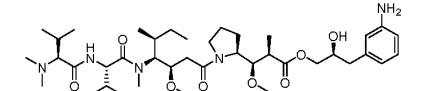
步骤 B: 将四羟基二硼 (95 mg, 1.01 mmol) 溶于干燥 N,N-二甲基甲酰胺 (5 mL), 再依次快速加入 4,4'-联吡啶 (20 mg, 0.25 mmol) 和化合物 **12-2** (100 mg, 0.15 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温反应 5 分钟。LCMS 监测反应完成后, 加入少量甲醇, 过滤, 滤液通过高效液相色谱制备纯化 (乙腈 / 0.1% 碳酸氢铵/水) 得到化合物 **12** (30 mg, 收率 52 %)。

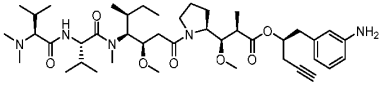
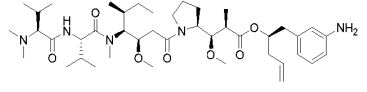
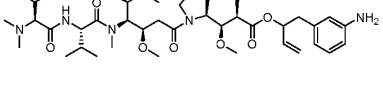
LCMS (ESI) M/Z: 732.3 $[M+H]^+$ 。

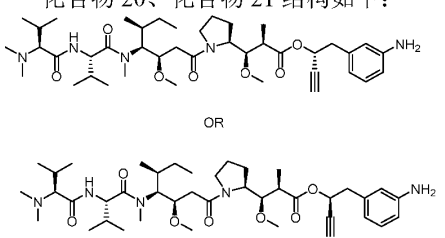
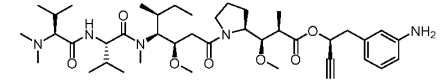
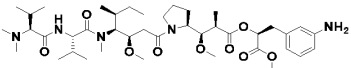
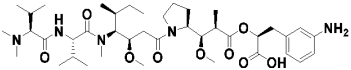
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 8.09 – 7.97 (m, 1H), 6.95 – 6.79 (m, 1H), 6.44 – 6.27 (m, 3H), 5.15 – 4.86 (m, 3H), 4.75 – 4.43 (m, 2H), 4.05 – 3.91 (m, 1H), 3.88 – 3.78 (m, 1H), 3.77 – 3.68 (m, 1H), 3.64 – 3.46 (m, 1H), 3.41 – 3.30 (m, 2H), 3.27 – 3.10 (m, 6H), 3.09 – 2.95 (m, 3H), 2.72 – 2.59 (m, 3H), 2.46 – 2.29 (m, 3H), 2.24 – 2.13 (m, 6H), 2.04 – 1.83 (m, 3H), 1.81 – 1.53 (m, 4H), 1.36 – 1.25 (m, 1H), 1.23 – 1.13 (m, 3H), 1.13 –

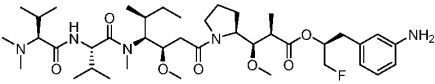
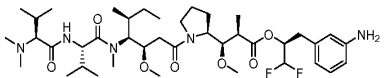
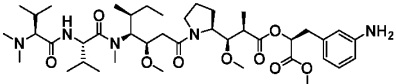
1.04 (m, 3H), 0.95 – 0.85 (m, 12H), 0.80 – 0.63 (m, 6H).

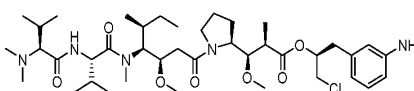
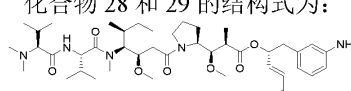
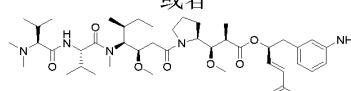
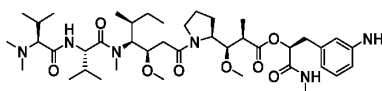
参考上述实施例的合成方法制备如下目标化合物:

实施例	结构式	¹ H NMR	MS (ESI) M/Z [M+H] ⁺
13		¹ H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.03 (d, <i>J</i> = 7.9 Hz, 1H), 6.91 (dt, <i>J</i> = 11.4, 7.7 Hz, 1H), 6.47 – 6.28 (m, 3H), 5.03 – 4.75 (m, 4H), 4.73 – 4.42 (m, 2H), 4.03 – 3.90 (m, 2H), 3.85 (dd, <i>J</i> = 7.4, 3.3 Hz, 1H), 3.56 – 3.38 (m, 3H), 3.30 – 3.25 (m, 3H), 3.17 (d, <i>J</i> = 6.4 Hz, 3H), 3.07 – 2.95 (m, 3H), 2.75 – 2.57 (m, 3H), 2.49 – 2.26 (m, 4H), 2.20 (d, <i>J</i> = 7.4 Hz, 6H), 2.04 – 1.85 (m, 5H), 1.82 – 1.62 (m, 3H), 1.53 – 1.37 (m, 1H), 1.05 (d, <i>J</i> = 6.9 Hz, 3H), 0.92 – 0.85 (m, 12H), 0.79 – 0.68 (m, 6H).	718.2
14		¹ H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.03 (d, <i>J</i> = 7.9 Hz, 1H), 6.91 (dt, <i>J</i> = 11.4, 7.7 Hz, 1H), 6.47 – 6.28 (m, 3H), 5.03 – 4.75 (m, 4H), 4.73 – 4.42 (m, 2H), 4.03 – 3.90 (m, 2H), 3.85 (dd, <i>J</i> = 7.4, 3.3 Hz, 1H), 3.56 – 3.38 (m, 3H), 3.30 – 3.25 (m, 3H), 3.17 (d, <i>J</i> = 6.4 Hz, 3H), 3.07 – 2.95 (m, 3H), 2.75 – 2.57 (m, 3H), 2.49 – 2.26 (m, 4H), 2.20 (d, <i>J</i> = 7.4 Hz, 6H), 2.04 – 1.85 (m, 5H), 1.82 – 1.62 (m, 3H), 1.53 – 1.37 (m, 1H), 1.05 (d, <i>J</i> = 6.9 Hz, 3H), 0.92 – 0.85 (m, 12H), 0.79 – 0.68 (m, 6H).	748.2
15		¹ H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.02 (d, <i>J</i> = 9.1 Hz, 1H), 6.91 (t, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1H), 6.43 – 6.37 (m, 2H), 6.33 (d, <i>J</i> = 7.5 Hz, 1H), 5.12 – 4.93 (m, 3H), 4.73 – 4.45 (m, 2H), 3.96 (d, <i>J</i> = 4.1 Hz, 2H), 3.90 – 3.78 (m, 1H), 3.67 – 3.42 (m, 3H), 3.30 (s, 2H), 3.26 (s, 3H), 3.19 – 3.15 (m, 3H), 3.07 – 2.97 (m, 3H), 2.70 (d, <i>J</i> = 6.7 Hz, 2H), 2.65 – 2.60 (m, 1H), 2.46 (s, 1H), 2.42 (t, <i>J</i> = 7.0 Hz, 2H), 2.36 – 2.29 (m, 1H), 2.23 – 2.16 (m, 6H), 2.03 – 1.98 (m, 1H), 1.93 – 1.85 (m, 3H), 1.79 – 1.67 (m, 3H), 1.10 – 1.04 (m, 3H), 0.92 – 0.86 (m, 12H), 0.77 – 0.69 (m, 6H).	773.6
16		¹ H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.08 – 7.98 (m, 1H), 6.89 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 1H), 6.44 – 6.32 (m, 3H), 4.91 (s, 3H), 4.72 – 4.46 (m, 2H), 4.17 – 3.77 (m, 6H), 3.56 – 3.46 (m, 1H), 3.31 –	748.5

		3.23 (m, 3H), 3.22 – 3.11 (m, 3H), 3.08 – 2.92 (m, 3H), 2.68 – 2.61 (m, 1H), 2.57 – 2.53 (m, 2H), 2.47 – 2.40 (m, 2H), 2.39 – 2.28 (m, 1H), 2.26 – 2.12 (m, 6H), 2.07 – 1.83 (m, 5H), 1.83 – 1.66 (m, 3H), 1.36 – 1.22 (m, 2H), 1.21 – 1.10 (m, 3H), 0.94 – 0.83 (m, 12H), 0.80 – 0.67 (m, 6H).	
17		¹ H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.15 – 7.97 (m, 1H), 6.90 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 6.57 – 6.31 (m, 3H), 4.98 (s, 3H), 4.78 – 4.47 (m, 2H), 4.02 – 3.93 (m, 1H), 3.87 – 3.80 (m, 1H), 3.76 – 3.70 (m, 1H), 3.60 – 3.47 (m, 3H), 3.30 – 3.24 (m, 2H), 3.22 – 3.13 (m, 5H), 3.01 (s, 2H), 2.95 – 2.89 (m, 1H), 2.88 – 2.76 (m, 1H), 2.76 – 2.61 (m, 2H), 2.48 – 2.44 (m, 2H), 2.43 – 2.28 (m, 3H), 2.25 – 2.15 (m, 6H), 2.08 – 1.53 (m, 8H), 1.35 – 1.29 (m, 1H), 1.17 – 1.06 (m, 3H), 0.94 – 0.86 (m, 12H), 0.78 – 0.69 (m, 6H).	756.5
18		¹ H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.14 – 7.95 (m, 1H), 6.88 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 6.48 – 6.24 (m, 3H), 5.92 – 5.65 (m, 1H), 5.19 – 4.89 (m, 5H), 4.74 – 4.44 (m, 2H), 4.05 – 3.93 (m, 1H), 3.80 (dd, J = 7.8, 4.0 Hz, 1H), 3.74 (dd, J = 6.7, 3.8 Hz, 1H), 3.55 – 3.44 (m, 1H), 3.24 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 3.21 – 3.11 (m, 5H), 3.07 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 3.02 – 2.97 (m, 2H), 2.82 – 2.54 (m, 4H), 2.46 – 2.36 (m, 2H), 2.34 – 2.24 (m, 3H), 2.20 (d, J = 6.4 Hz, 6H), 2.03 – 1.43 (m, 8H), 1.35 – 1.27 (m, 1H), 1.14 – 1.03 (m, 3H), 0.94 – 0.84 (m, 12H), 0.78 – 0.67 (m, 6H).	758.3
19		¹ H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.03 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 6.94 – 6.83 (m, 1H), 6.44 – 6.30 (m, 3H), 5.97 – 5.77 (m, 1H), 5.50 – 5.29 (m, 1H), 5.24 – 5.08 (m, 2H), 4.94 (s, 2H), 4.73 – 4.58 (m, 1H), 4.58 – 4.47 (m, 1H), 4.02 – 3.93 (m, 1H), 3.92 – 3.70 (m, 2H), 3.56 – 3.44 (m, 1H), 3.30 – 3.27 (m, 1H), 3.24 – 3.22 (m, 1H), 3.20 – 3.14 (m, 3H), 3.13 – 3.06 (m, 2H), 3.04 – 2.95 (m, 3H), 2.80 – 2.60 (m, 3H), 2.46 – 2.28 (m, 4H), 2.20 (s, 6H), 2.02 – 1.83 (m, 4H), 1.81 – 1.66 (m, 3H), 1.35 – 1.27 (m, 1H), 1.14 – 1.03 (m, 3H), 0.93 – 0.85 (m, 12H), 0.78 – 0.69 (m, 6H).	745.4

20 和 21	化合物 20、化合物 21 结构如下：  OR  化合物 20 和化合物 21 的拆分条件如下， 流动相：超临界二氧化碳和 0.1% 氨的异丙醇溶液；流速：100 mL/分钟；梯度：保持 0.1% 氨的异丙醇为 20%。检测波长：214 nm。循环时间：7.5 min。 化合物 20 保留时间 Rt = 5.5 min； 化合物 21 保留时间 Rt = 8.6 min。	^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.02 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 6.91 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 6.50 – 6.35 (m, 3H), 5.48 – 5.31 (m, 1H), 4.98 (s, 2H), 4.75 – 4.44 (m, 2H), 4.04 – 3.89 (m, 2H), 3.89 – 3.79 (m, 1H), 3.55 – 3.44 (m, 2H), 3.40 – 3.34 (m, 1H), 3.31 – 3.29 (m, 1H), 3.26 (s, 3H), 3.22 – 3.14 (m, 3H), 3.09 – 2.96 (m, 3H), 2.92 – 2.83 (m, 2H), 2.69 – 2.59 (m, 1H), 2.48 – 2.41 (m, 2H), 2.38 – 2.28 (m, 1H), 2.20 (d, J = 5.6 Hz, 6H), 2.03 – 1.70 (m, 7H), 1.29 (s, 1H), 1.11 – 1.03 (m, 3H), 0.93 – 0.85 (m, 12H), 0.78 – 0.68 (m, 6H).	742.5
22		^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.02 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.90 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 6.48 – 6.32 (m, 3H), 5.09 (dd, J = 7.8, 4.8 Hz, 1H), 4.99 (s, 2H), 4.71 – 4.58 (m, 1H), 4.52 (t, J = 8.7 Hz, 1H), 4.03 – 3.93 (m, 2H), 3.91 – 3.78 (m, 1H), 3.67 – 3.63 (m, 1H), 3.62 (s, 3H), 3.61 – 3.57 (m, 1H), 3.25 (s, 3H), 3.17 (s, 3H), 3.00 (s, 3H), 2.96 – 2.85 (m, 2H), 2.69 – 2.58 (m, 2H), 2.47 – 2.39 (m, 2H), 2.36 (s, 1H), 2.20 (s, 6H), 2.00 – 1.84 (m, 5H), 1.75 (dd, J = 12.3, 6.5 Hz, 3H), 1.15 – 1.05 (m, 3H), 0.91 (d, J = 5.6 Hz, 6H), 0.87 (dd, J = 6.7, 2.7 Hz, 6H), 0.75 (t, J = 7.1 Hz, 3H), 0.70 (d, J = 6.5 Hz, 3H).	776.5
23		^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.02 (d, J = 9.4 Hz, 1H), 6.91 – 6.81 (m, 1H), 6.49 – 6.29 (m, 3H), 5.04 – 4.78 (m, 2H), 4.69 – 4.60 (m, 1H), 4.60 – 4.48 (m, 2H), 4.10 – 4.02 (m, 1H), 4.01 – 3.95 (m, 1H), 3.89 (dd, J = 7.1, 3.7 Hz, 1H), 3.22 (s, 3H), 3.17 (s, 3H), 2.99 (d, J = 3.3 Hz, 3H), 2.98 – 2.96 (m, 1H), 2.69 – 2.66 (m, 1H), 2.65 – 2.62 (m, 1H), 2.44 – 2.40 (m, 1H), 2.36 – 2.33 (m, 1H), 2.33 – 2.30 (m, 1H), 2.19 (s, 6H), 1.98 – 1.86 (m, 5H), 1.76 – 1.63 (m, 3H), 1.00 (d, J = 7.4 Hz, 3H), 0.92 – 0.89 (m, 6H), 0.87 (d, J = 6.4 Hz, 6H), 0.77 – 0.73 (m, 3H), 0.72 – 0.69 (m, 3H).	762.6

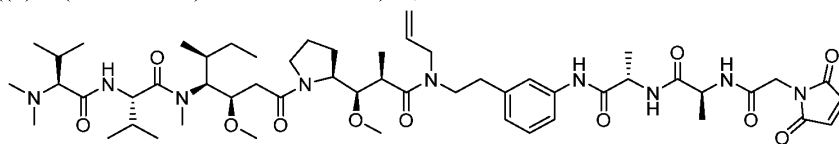
24		¹ H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.11 – 7.93 (m, 1H), 7.02 – 6.84 (m, 1H), 6.64 – 6.55 (m, 1H), 6.53 – 6.45 (m, 1H), 6.44 – 6.33 (m, 1H), 6.25 – 6.12 (m, 1H), 5.18 – 4.96 (m, 2H), 4.75 – 4.58 (m, 2H), 4.58 – 4.31 (m, 2H), 4.03 – 3.80 (m, 3H), 3.56 – 3.46 (m, 1H), 3.39 – 3.33 (m, 1H), 3.31 – 3.21 (m, 4H), 3.20 – 3.13 (m, 3H), 3.08 – 2.95 (m, 3H), 2.69 (ddd, J = 29.0, 15.9, 7.9 Hz, 2H), 2.57 – 2.51 (m, 1H), 2.47 – 2.39 (m, 2H), 2.32 (dd, J = 15.5, 9.4 Hz, 1H), 2.23 – 2.11 (m, 6H), 2.02 – 1.84 (m, 4H), 1.80 – 1.61 (m, 3H), 1.35 – 1.26 (m, 1H), 1.22 – 1.12 (m, 2H), 1.06 (d, J = 6.7 Hz, 1H), 0.94 – 0.84 (m, 12H), 0.78 – 0.67 (m, 6H). ¹⁹ F NMR (377 MHz, DMSO) δ - 229.23 (s).	750.2
25		¹ H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.03 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 6.99 – 6.81 (m, 1H), 6.49 – 6.31 (m, 3H), 6.29 – 5.96 (m, 1H), 5.33 – 5.15 (m, 1H), 5.00 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 4.73 – 4.46 (m, 2H), 4.06 – 3.92 (m, 1H), 3.91 – 3.81 (m, 2H), 3.65 – 3.48 (m, 1H), 3.44 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 3.29 – 3.19 (m, 3H), 3.16 (d, J = 8.9 Hz, 3H), 3.00 (d, J = 5.7 Hz, 3H), 2.92 – 2.81 (m, 1H), 2.70 – 2.61 (m, 2H), 2.48 – 2.37 (m, 2H), 2.36 – 2.26 (m, 1H), 2.20 (d, J = 7.5 Hz, 6H), 2.07 – 1.80 (m, 5H), 1.79 – 1.59 (m, 3H), 1.34 – 1.26 (m, 1H), 0.99 (dd, J = 6.7, 4.4 Hz, 3H), 0.93 – 0.86 (m, 12H), 0.78 – 0.69 (m, 6H). ¹⁹ F NMR (377 MHz, DMSO) δ - 127.73 (dd, J = 284.4, 12.6 Hz), - 131.01 (dd, J = 284.8, 95.7 Hz).	768.5
26		¹ H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.03 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 6.95 – 6.86 (m, 1H), 6.48 – 6.37 (m, 3H), 5.68 – 5.50 (m, 1H), 5.00 (s, 2H), 4.70 – 4.58 (m, 1H), 4.57 – 4.43 (m, 1H), 4.04 – 3.91 (m, 1H), 3.84 (d, J = 6.2 Hz, 1H), 3.75 – 3.67 (m, 1H), 3.64 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 3.24 – 3.19 (m, 3H), 3.17 (d, J = 2.2 Hz, 3H), 3.00 (s, 3H), 2.81 – 2.73 (m, 1H), 2.69 – 2.60 (m, 2H), 2.46 – 2.38 (m, 2H), 2.35 – 2.29 (m, 1H), 2.20 (s, 6H), 2.02 – 1.82 (m, 5H), 1.80 – 1.65 (m, 3H), 1.07 – 0.96 (m, 3H), 0.94 – 0.89 (m, 6H), 0.89 – 0.85 (m, 6H).	786.5

		0.75 (t, $J = 5.3$ Hz, 3H), 0.71 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H).	
27		^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.11 – 7.93 (m, 1H), 7.04 – 6.83 (m, 1H), 6.48 – 6.26 (m, 3H), 5.23 – 5.06 (m, 1H), 5.01 (s, 2H), 4.73 – 4.42 (m, 2H), 4.05 – 3.91 (m, 2H), 3.89 – 3.62 (m, 3H), 3.58 – 3.44 (m, 1H), 3.31 (s, 1H), 3.27 – 3.24 (m, 2H), 3.20 – 3.13 (m, 3H), 3.06 – 2.95 (m, 3H), 2.87 – 2.58 (m, 4H), 2.43 (dd, $J = 15.9, 11.4$ Hz, 3H), 2.32 (dd, $J = 15.6, 9.5$ Hz, 1H), 2.24 – 2.13 (m, 6H), 1.98 – 1.84 (m, 4H), 1.82 – 1.63 (m, 3H), 1.37 – 1.26 (m, 1H), 1.09 – 1.02 (m, 3H), 0.93 – 0.85 (m, 12H), 0.78 – 0.69 (m, 6H).	766.5
28	化合物 28 和 29 的结构式为:  或者 	^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.12 – 7.91 (m, 1H), 7.03 – 6.79 (m, 1H), 6.47 – 6.24 (m, 3H), 4.95 (dd, $J = 28.2, 9.1$ Hz, 2H), 4.79 – 4.45 (m, 2H), 4.17 – 3.81 (m, 2H), 3.79 – 3.56 (m, 2H), 3.55 – 3.41 (m, 2H), 3.39 – 3.33 (m, 1H), 3.30 – 3.25 (m, 2H), 3.22 – 3.09 (m, 5H), 3.05 – 2.71 (m, 6H), 2.69 – 2.53 (m, 4H), 2.47 – 2.37 (m, 1H), 2.28 – 2.14 (m, 6H), 2.08 – 1.55 (m, 8H), 1.38 – 1.25 (m, 1H), 1.11 – 0.96 (m, 3H), 0.93 – 0.85 (m, 12H), 0.79 – 0.67 (m, 6H).	802.5
29	化合物 28 和化合物 29 的拆分条件如下, 流动相: 超临界二氧化碳和 0.1% 氨的甲醇溶液; 流速: 120 mL/分钟; 梯度: 保持 0.1% 氨的异丙醇为 13%。检测波长: 214 nm。 循环时间: 3.1 min。 化合物 28 保留时间 $R_t = 5.20$ min; 化合物 29 保留时间 $R_t = 6.25$ min。	^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.16 – 7.89 (m, 1H), 6.99 – 6.83 (m, 2H), 6.48 – 6.42 (m, 1H), 6.38 (t, $J = 9.0$ Hz, 2H), 5.99 – 5.86 (m, 1H), 5.69 – 5.43 (m, 1H), 4.97 (s, 2H), 4.73 – 4.46 (m, 2H), 4.04 – 3.93 (m, 1H), 3.83 – 3.77 (m, 1H), 3.76 – 3.71 (m, 1H), 3.69 – 3.62 (m, 3H), 3.53 – 3.45 (m, 1H), 3.25 – 3.15 (m, 4H), 3.11 (s, 2H), 3.07 – 2.98 (m, 3H), 2.92 – 2.83 (m, 1H), 2.78 – 2.57 (m, 3H), 2.47 – 2.28 (m, 4H), 2.20 (s, 6H), 2.01 – 1.84 (m, 3H), 1.82 – 1.66 (m, 3H), 1.63 – 1.53 (m, 1H), 1.35 – 1.27 (m, 1H), 1.16 – 1.04 (m, 3H), 0.94 – 0.84 (m, 12H), 0.79 – 0.68 (m, 6H).	802.5
30		^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.08 – 7.99 (m, 1H), 7.93 (q, $J = 4.6$ Hz, 1H), 6.89 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 6.46 – 6.29 (m, 3H), 5.09 – 4.84 (m, 3H), 4.70 – 4.57 (m, 1H), 4.57 – 4.48 (m, 1H), 4.05 – 3.92 (m, 2H), 3.91 –	775.5

		3.84 (m, 1H), 3.56 – 3.47 (m, 2H), 3.22 (s, 3H), 3.17 (s, 3H), 3.00 (s, 3H), 2.91 – 2.85 (m, 1H), 2.80 – 2.72 (m, 1H), 2.68 – 2.61 (m, 2H), 2.58 (d, $J = 4.6$ Hz, 3H), 2.46 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H), 2.45 – 2.40 (m, 1H), 2.37 – 2.28 (m, 1H), 2.20 (s, 6H), 2.04 – 1.82 (m, 5H), 1.81 – 1.60 (m, 3H), 1.04 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H), 0.94 – 0.89 (m, 6H), 0.89 – 0.85 (m, 6H), 0.75 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H), 0.71 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H).	
31		¹ H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.11 – 7.96 (m, 1H), 6.96 – 6.82 (m, 1H), 6.45 – 6.30 (m, 3H), 5.37 – 5.16 (m, 1H), 5.00 – 4.79 (m, 4H), 4.73 – 4.45 (m, 2H), 4.02 – 3.91 (m, 1H), 3.91 – 3.80 (m, 1H), 3.80 – 3.65 (m, 1H), 3.56 – 3.42 (m, 1H), 3.39 – 3.32 (m, 4H), 3.30 – 3.15 (m, 5H), 3.13 – 2.93 (m, 4H), 2.78 – 2.61 (m, 2H), 2.46 – 2.29 (m, 3H), 2.25 – 2.13 (m, 6H), 2.01 – 1.64 (m, 9H), 1.34 – 1.22 (m, 1H), 1.07 – 0.96 (m, 3H), 0.93 – 0.84 (m, 12H), 0.78 – 0.69 (m, 6H).	758.5
32		¹ H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.04 (t, $J = 8.8$ Hz, 1H), 6.89 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.49 – 6.29 (m, 3H), 5.02 – 4.85 (m, 2H), 4.62 (s, 1H), 4.52 (t, $J = 8.7$ Hz, 1H), 4.07 – 3.89 (m, 1H), 3.84 – 3.68 (m, 2H), 3.55 – 3.39 (m, 1H), 3.29 (s, 1H), 3.24 (s, 2H), 3.22 – 3.16 (m, 3H), 3.12 (s, 1H), 3.01 – 2.93 (m, 3H), 2.86 – 2.78 (m, 1H), 2.69 – 2.60 (m, 1H), 2.45 – 2.38 (m, 1H), 2.35 – 2.23 (m, 2H), 2.20 (d, $J = 7.3$ Hz, 6H), 2.04 – 1.83 (m, 4H), 1.81 – 1.59 (m, 4H), 1.54 – 1.40 (m, 1H), 1.35 – 1.28 (m, 1H), 1.09 – 1.01 (m, 3H), 0.92 – 0.86 (m, 12H), 0.82 – 0.68 (m, 10H).	744.3

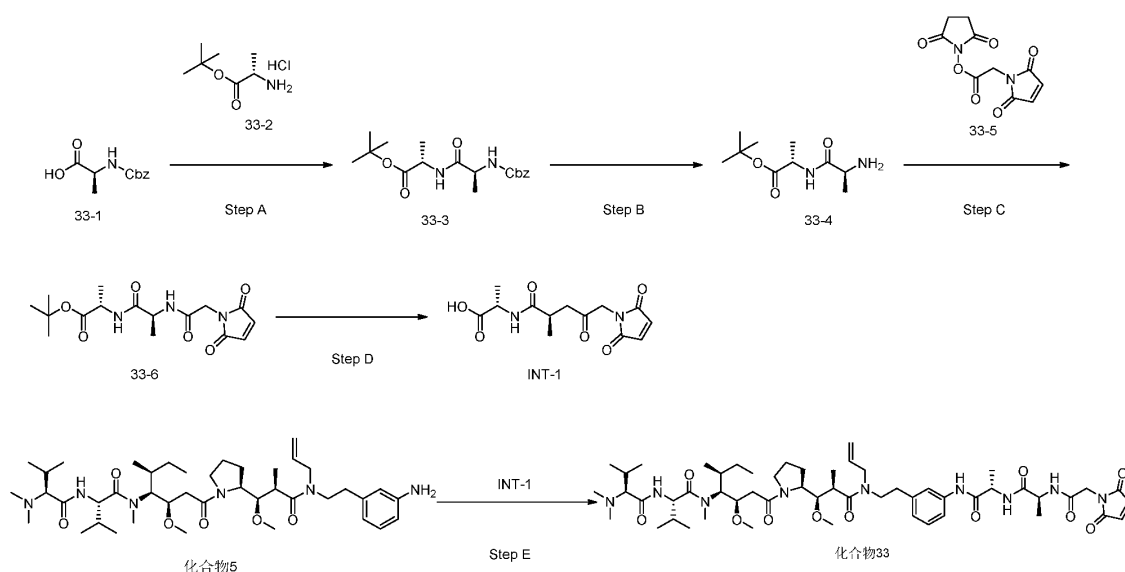
实施例 33

(S)-N-((3R,4S,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(烯丙基(3-((S)-2-((S)-2-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰胺)丙酰胺)苯乙基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺的制备。



化合物 33

反应路线：

**操作步骤:**

步骤 A: 将化合物 **33-1** (20 g, 89.59 mmol) 加入 500 mL 单口瓶中, 依次加入 N,N-二甲基甲酰胺 (150 mL)、化合物 **33-2** (17.9 g, 98.55 mmol)、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (18.89 g, 98.55 mmol) 和 HOBt (12.11 g, 89.59 mmol), 反应体系在氮气保护下, 25°C 反应 12 小时。LCMS 监测反应完成后, 反应液倒入水中, 用乙酸乙酯 (800 mL) 萃取之后, 再用饱和氯化钠溶液 (300 mL x 3) 洗涤有机相, 无水硫酸钠干燥有机相后, 过滤, 浓缩滤液, 所得粗品通过硅胶柱纯化 (PE/EA=3:1) 得到化合物 **33-3** (31 g, 收率 98.7%)。

LCMS (ESI) M/Z: 373.1 [M+H⁺].

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.15 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 7.46 – 7.24 (m, 6H), 5.01 (s, 2H), 4.08 (dt, *J* = 12.1, 7.3 Hz, 2H), 1.38 (s, 9H), 1.23 (dd, *J* = 12.8, 7.2 Hz, 6H).

步骤 B: 将化合物 **33-3** (15 g, 42.81 mmol) 加入 500 mL 单口瓶中, 依次加入甲醇 (300 mL)、水 (15 mL) 和 10% Pd/C (3 g), 反应体系在氢气保护下, 25°C 反应 2 小时。LCMS 监测反应完成后, 过滤, 将滤液浓缩后冻干得到化合物 **33-4** (9 g, 收率 97.2%)。

LCMS (ESI) M/Z: 217.1 [M+H⁺].

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.05 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 4.12 (p, *J* = 7.2 Hz, 1H), 3.26 (q, *J* = 6.9 Hz, 1H), 1.39 (s, 9H), 1.25 (d, *J* = 7.3 Hz, 3H), 1.12 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H).

步骤 C: 将化合物 **33-4** (8 g, 36.99 mmol) 加入 250 mL 单口瓶中, 加入干燥 N,N-二甲基甲酰胺 (80 mL), 再依次加入化合物 **33-5** (11.19 g, 44.39 mmol) 和 4-甲基吗啡啉 (7.48 mL, 8.13 mL), 反应体系在氮气保护下, 25°C 反应 12 小时。LCMS 监测反应完成后, 过滤, 滤液通过柱层析纯化 (乙腈/0.1% 甲酸水溶液) 得到化合物 **33-6** (9 g, 收率 68.8%)。

LCMS (ESI) M/Z: 376.1 [M+H⁺].

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.39 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 8.24 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 7.09 (s, 2H), 4.31 (p, *J* = 7.0 Hz, 1H), 4.15 – 3.98 (m, 3H), 1.38 (s, 9H), 1.23 (dd, *J* = 11.9, 7.2 Hz, 6H).

步骤 D: 将化合物 **33-6** (3 g, 9.0 mmol) 加入 500 mL 单口瓶中, 依次加入二氯甲烷 (150 mL) 和 TFA (30 mL), 反应体系在氮气保护下, 25°C 反应 12 小时。LCMS 监测反应完成后, 低温减压浓缩反应液, 粗品通过柱层析纯化 (乙腈/水) 得到中间体 INT-1 (2.3 g, 收率 91.1%)。

LCMS (ESI) M/Z: 298.2 [M+H⁺].

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.50 (s, 1H), 8.38 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 8.21 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.09 (s, 2H), 4.32 (p, *J* = 7.1 Hz, 1H), 4.18 (p, *J* = 7.3 Hz, 1H), 4.13 – 3.99 (m, 2H), 1.27 (d, *J* = 7.3 Hz, 3H), 1.20 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H).

步骤 E: 将化合物 **5** (30 mg, 0.04 mmol) 加入 50 mL 单口瓶中, 加入干燥 N,N-二甲基甲酰胺 (2 mL), 再依次加入中间体 INT-1 (15 mg, 0.04 mmol)、2-乙氧基-1-乙氧羰基-1,2-二氢喹啉 (25 mg, 0.06 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温下反应 2 小时。LCMS 监测反应完成后, 反应液通过柱层析纯化

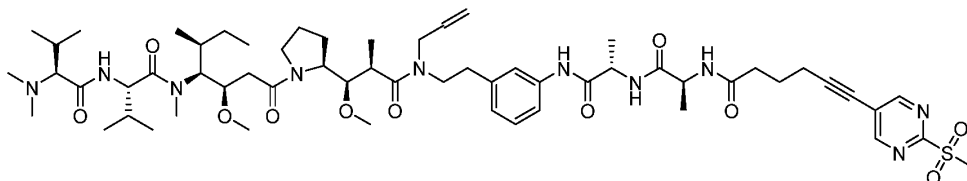
得到化合物 **33** (2.18 mg, 收率 20.51%)。

LCMS (ESI) M/Z: 1034.7 [M+H⁺].

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.90 – 9.76 (m, 1H), 9.58 (s, 1H), 8.91 (s, 1H), 8.48 – 8.37 (m, 1H), 8.25 – 8.10 (m, 1H), 7.54 – 7.37 (m, 2H), 7.27 – 7.17 (m, 1H), 7.09 (s, 2H), 6.98 – 6.86 (m, 1H), 5.87 – 5.61 (m, 1H), 5.24 – 5.03 (m, 2H), 4.78 – 4.55 (m, 2H), 4.44 – 4.26 (m, 2H), 4.13 – 3.70 (m, 8H), 3.59 – 3.47 (m, 3H), 3.33 – 3.28 (m, 4H), 3.22 – 3.09 (m, 6H), 3.00 (s, 1H), 2.80 – 2.65 (m, 9H), 2.47 – 2.41 (m, 1H), 2.35 – 2.23 (m, 2H), 2.04 – 1.63 (m, 7H), 1.32 – 1.28 (m, 3H), 1.23 – 1.20 (m, 3H), 1.11 – 1.05 (m, 2H), 0.98 – 0.84 (m, 16H), 0.80 – 0.75 (m, 3H).

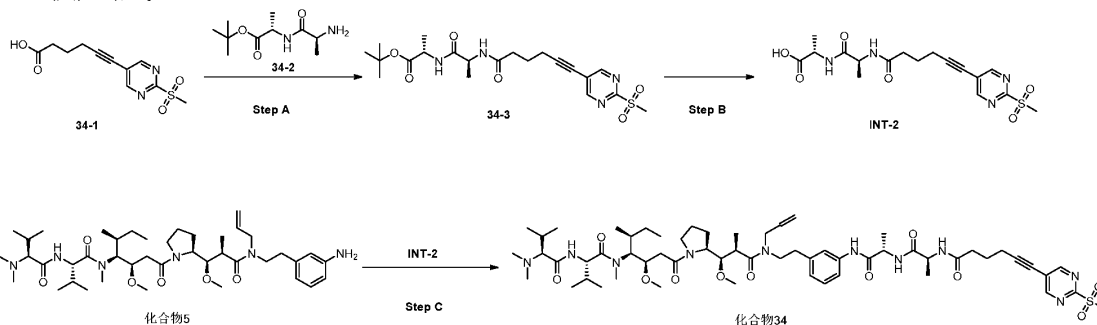
实施例 34

N-(((S)-1-(((S)-1-(3-(2-((2R,3R)-N-烯丙基-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-乙氧基-2-甲基丙酰胺基)乙基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)1-氧代丙-2-基)-6-(2-(甲基磺酰基)嘧啶-5-基)己-5-酰胺的制备。



化合物 34

反应路线:



操作步骤:

步骤 A: 将化合物 **34-1** (1.5 g, 5.60 mmol) 溶于干燥 N,N-二甲基甲酰胺 (20 mL), 再依次加入 HATU (2.34 g, 6.15 mmol)、化合物 **34-2** (1.66 g, 5.60 mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (1.52 g, 11.74 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温反应 2 小时。LCMS 监测反应完成后, 反应液通过柱层析纯化 (乙腈/0.1% 三氟乙酸水溶液) 得到化合物 **34-3** (2.4 g, 收率 92.01%)。

LCMS (ESI) M/Z: 489.0 [M+H⁺].

步骤 B: 将化合物 **34-3** (500 mg, 1.07 mmol) 溶于二氯甲烷 (50 mL), 再滴加 TFA (15 mL), 反应体系在氮气保护下搅拌 3 小时。LCMS 监测反应完成后, 浓缩反应液, 粗品用乙醚打浆, 得到中间体 INT-2 (400 mg, 收率 90.94%)。

LCMS (ESI) M/Z: 411.1 [M+H⁺].

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.12 (s, 2H), 8.14 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 8.03 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 4.46 – 4.26 (m, 1H), 4.18 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 3.41 (s, 3H), 2.56 (t, J = 7.1 Hz, 2H), 2.30 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 1.86 – 1.73 (m, 2H), 1.27 (d, J = 7.3 Hz, 3H), 1.19 (d, J = 7.1 Hz, 3H).

步骤 C: 将化合物 **5** (200 mg, 0.26 mmol) 加入 25 mL 单口瓶中, 加入干燥二氯甲烷 (15 mL), 再依次加入中间体 INT-2 (113.12 mg, 0.28 mmol)、2-乙氧基-1-乙氧羰基-1,2-二氢喹啉 (60 mg, 0.34 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温反应 20 分钟。LCMS 监测反应完成后, 低温下减压旋干溶剂, 所得残余物通过柱层析纯化 (乙腈/0.1% 三氟乙酸水溶液) 得到化合物 **34** (30 mg, 收率 32.25%)。

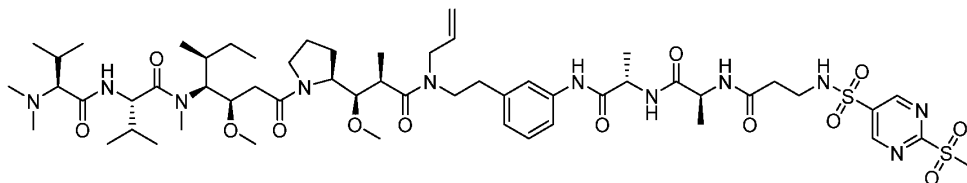
LCMS (ESI) M/Z: 1149.8 [M+H⁺].

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.91 – 9.65 (m, 1H), 9.57 (s, 1H), 9.15 – 9.04 (m, 2H), 8.97 – 8.83 (m, 1H), 8.39 – 8.07 (m, 2H), 7.58 – 7.40 (m, 2H), 7.27 – 7.14 (m, 1H), 6.97 – 6.86 (m, 1H), 5.86 – 5.64 (m, 1H), 5.21 – 5.03 (m, 2H), 4.78 – 4.54 (m, 2H), 4.42 – 4.23 (m, 2H), 4.04 – 3.91 (m, 3H), 3.90 – 3.81 (m, 3H), 3.79 – 3.75

(m, 2H), 3.56 – 3.45 (m, 3H), 3.41 (s, 3H), 3.35 – 3.25 (m, 4H), 3.21 – 3.15 (m, 4H), 3.11 – 2.99 (m, 2H), 2.82 – 2.70 (m, 8H), 2.59 – 2.55 (m, 2H), 2.38 – 2.22 (m, 4H), 2.05 – 1.98 (m, 1H), 1.93 – 1.76 (m, 5H), 1.73 – 1.59 (m, 2H), 1.32 – 1.28 (m, 3H), 1.23 – 1.18 (m, 3H), 1.09 – 1.04 (m, 2H), 0.99 – 0.74 (m, 21H).

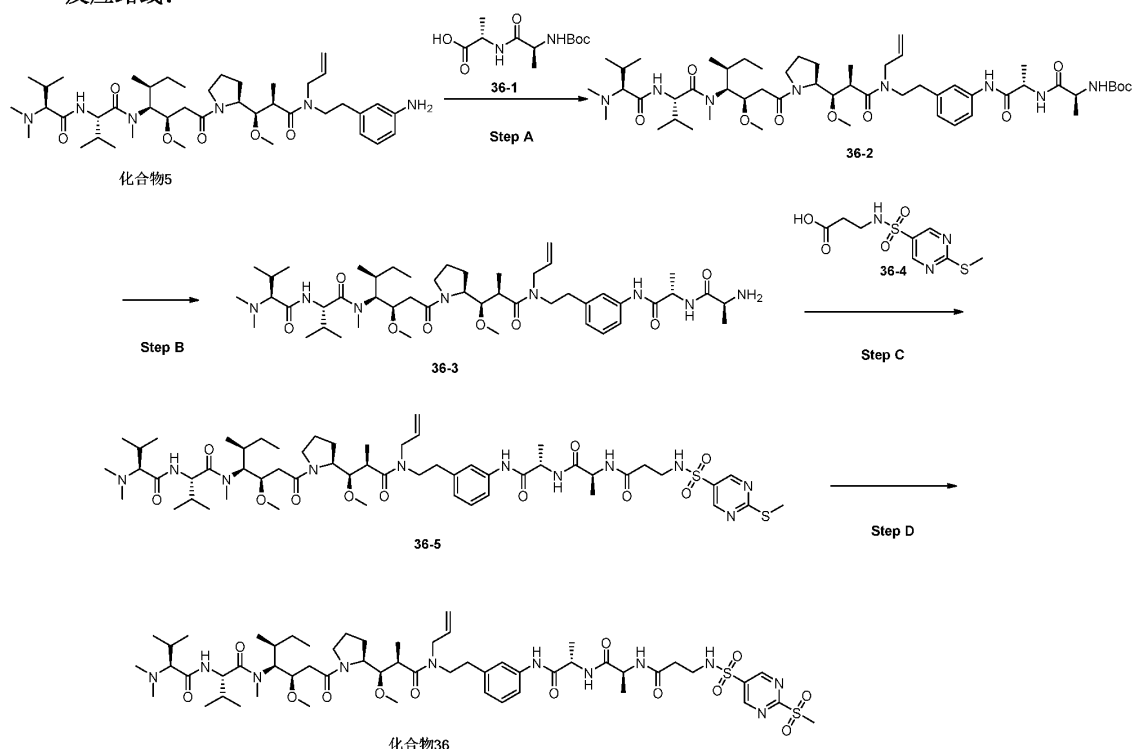
实施例 36

- 5 (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(烯丙基(3-(S)-2-[(S)-2-(3-((2-(甲基磺酰基)嘧啶)-5-磺酰胺基)丙酰胺基)丙酰胺基)苯乙基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧丙基)吡咯烷-1-甲氧基-5-氧代庚烷-4-基)-2-(S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺的制备。



化合物 36

10 反应路线:



操作步骤:

- 步骤 A: 将化合物 5 (78 mg, 0.10 mmol) 加入 25 mL 单口瓶中, 加入干燥二氯甲烷 (2 mL), 再依次加入化合物 36-1 (30 mg, 0.12 mmol) 和 2-乙氧基-1-乙氧羰基-1,2-二氢喹啉 (31 mg, 0.13 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温反应 2 小时。LCMS 监测反应完成后, 反应液经柱层析纯化 (二氯甲烷: 甲醇=10:1) 得到化合物 36-2 (100 mg, 收率 97%)。

LCMS (ESI) M/Z: 999.7 [M+H⁺].

- 步骤 B: 将化合物 36-2 (60 mg, 0.06 mmol) 加入 25 mL 单口瓶中, 加入二氯甲烷 (5 mL) 和三氟乙酸 (2.5 mL), 室温下搅拌 1 小时。LCMS 监测反应完成后, 用碳酸氢铵将反应液 pH 调节至 8 左右, 有机相用无水硫酸钠干燥, 旋干后得到化合物 36-3 (50 mg, 收率 92.63%)。

LCMS (ESI) M/Z: 899.5 [M+H⁺].

步骤 C: 将化合物 36-3 (50 mg, 0.067 mmol) 加入 25 mL 单口瓶中, 加入干燥二氯甲烷 (5 mL),

再依次加入化合物 **36-4** (37 mg, 0.134 mmol)、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (25 mg, 0.131 mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (25 mg, 0.194 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温反应 1 小时。LCMS 监测反应完成后, 反应液经柱层析纯化 (二氯甲烷/甲醇=10:1) 得到化合物 **36-5** (40 mg, 收率 62.10%)。

LCMS (ESI) M/Z: 1158.5 [M+H⁺].

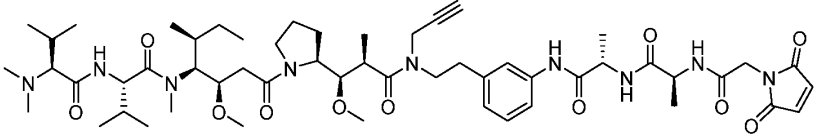
5 **步骤 D:** 将化合物 **36-5** (15 mg, 0.013 mmol) 加入 25 mL 单口瓶中, 加入干燥 2-甲基四氢呋喃 (2 mL) 和水 (0.5 mL), 再加入过氧单磺酸钾 (11 mg, 0.032 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温反应 1 小时。LCMS 监测反应完成后, 反应液经柱层析纯化 (二氯甲烷/甲醇=10:1) 得到化合物 **36** (7 mg, 收率 62.10%)。

LCMS (ESI) M/Z: 1188.5 [M+H⁺].

10 ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.92 – 9.72 (m, 1H), 9.53 (s, 1H), 9.39 (s, 2H), 8.90 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.30 – 8.05 (m, 2H), 7.61 – 7.35 (m, 2H), 7.26 – 7.16 (m, 1H), 7.00 – 6.83 (m, 1H), 5.94 – 5.59 (m, 1H), 5.20 – 5.00 (m, 2H), 4.76 – 4.55 (m, 2H), 4.42 – 4.20 (m, 3H), 4.05 – 3.92 (m, 3H), 3.89 – 3.77 (m, 3H), 3.75 – 3.68 (m, 2H), 3.65 – 3.51 (m, 7H), 3.20 – 3.10 (m, 6H), 3.00 (s, 2H), 2.84 – 2.67 (m, 8H), 2.40 – 2.21 (m, 4H), 2.05 – 1.83 (m, 5H), 1.72 – 1.60 (m, 2H), 1.51 – 1.43 (m, 1H), 1.35 – 1.27 (m, 5H), 1.21 – 1.16 (m, 3H), 1.12 – 1.03 (m, 3H), 0.97 – 0.83 (m, 15H), 0.81 – 0.74 (m, 3H).

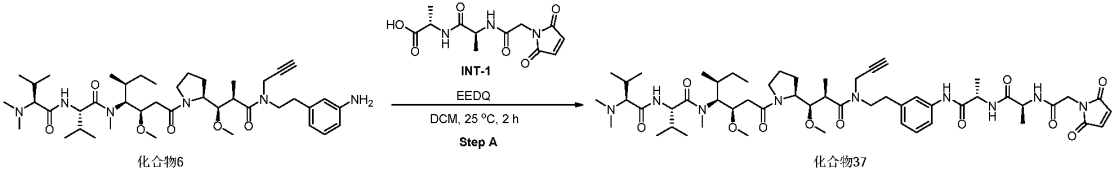
15 **实施例 37**

(S)-2-(((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N-(((3R,4S,5S)-1-(S)-2-((1R,2R)-3-(3-(((S)-2-(S)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰胺基)丙酰胺基)苯乙基)(丙-2-炔-1-基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-二甲基丁氧基的制备。



化合物 37

反应路线:



操作步骤:

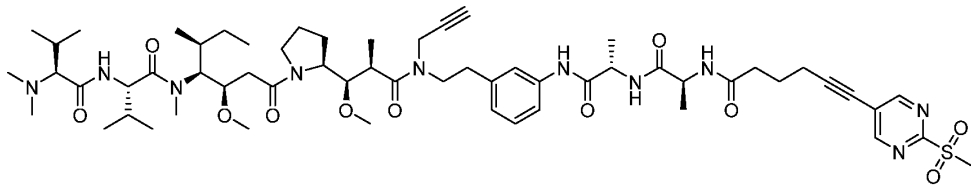
25 **步骤 A:** 将化合物 **6** (1 g, 1.32 mmol) 溶于干燥 N,N-二甲基甲酰胺 (30 mL), 再依次加入中间体 **INT-1** (394 mg, 1.32 mmol)、2-乙氧基-1-乙氧碳酰基-1,2-二氢喹啉 (489 mg, 1.98 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温下反应 2 小时。LCMS 监测反应完成后, 反应液直接通过柱层析纯化 (乙腈/0.1%三氟乙酸水溶液) 得到化合物 **37** (210 mg, 收率 15.4%)。

LCMS (ESI) M/Z: 1032.6 [M+H⁺].

30 ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.01 – 9.77 (m, 1H), 9.56 (s, 1H), 8.90 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 8.44 (d, J = 6.3 Hz, 1H), 8.17 (d, J = 6.9 Hz, 1H), 7.65 – 7.35 (m, 2H), 7.32 – 7.16 (m, 1H), 7.11 (s, 2H), 7.03 – 6.86 (m, 1H), 4.77 – 4.48 (m, 4H), 4.41 – 4.23 (m, 4H), 4.19 – 3.83 (m, 12H), 3.73 – 3.69 (m, 2H), 3.22 – 3.09 (m, 5H), 3.04 – 2.92 (m, 2H), 2.89 – 2.69 (m, 8H), 2.36 – 2.25 (m, 1H), 2.16 – 1.53 (m, 6H), 1.31 (d, J = 6.5 Hz, 3H), 1.26 – 1.07 (m, 5H), 1.00 – 0.82 (m, 18H), 0.80 – 0.74 (m, 3H).

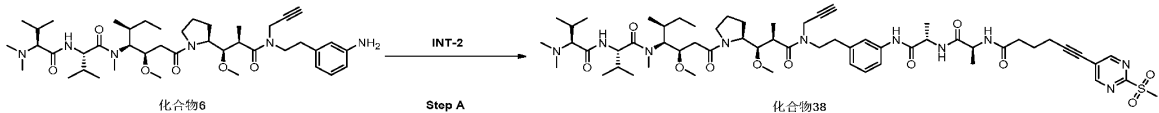
35 **实施例 38**

N-(((S)-1-(((S)-1-(3-(2-((2R,3R)-N-炔丙基-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-乙氧基-2-甲基丙酰胺基)乙基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)1-氧代丙 2-基)-6-(2-(甲磺酰基)嘧啶-5-基)己-5-酰胺的制备。



化合物 38

反应路线:



5

操作步骤:

步骤 A: 将化合物 6 (600 mg, 0.794 mmol) 溶于干燥二氯甲烷 (30 mL), 再依次加入中间体 INT-2 (113.12 mg, 0.794 mmol) 和 2-乙氧基-1-乙氧羰基-1,2-二氢喹啉 (294 mg, 0.119 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温反应 30 min。LCMS 监测反应完成后, 低温下减压旋干溶剂, 残余物通过柱层析纯化 (乙腈/0.1%三氟乙酸水溶液) 得到化合物 38 (230 mg, 收率 25.40%)。

10

LCMS (ESI) M/Z: 1147.5 [M+H⁺].

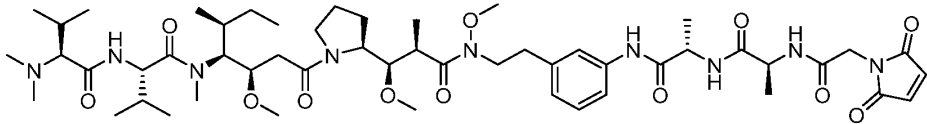
¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.90 – 9.80 (m, 1H), 9.60 (s, 1H), 9.11 (s, 2H), 8.91 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 8.11 (d, *J* = 5.1 Hz, 2H), 7.60 – 7.40 (m, 2H), 7.28 – 7.16 (m, 1H), 7.01 – 6.86 (m, 1H), 4.77 – 4.62 (m, 1H), 4.61 – 4.53 (m, 1H), 4.43 – 4.36 (m, 1H), 4.34 – 4.27 (m, 1H), 4.23 – 4.08 (m, 3H), 4.06 – 3.88 (m, 4H), 3.84 – 3.67 (m, 3H), 3.64 – 3.45 (m, 3H), 3.41 (s, 3H), 3.37 – 3.33 (m, 1H), 3.30 – 3.25 (m, 1H), 3.20 – 3.10 (m, 5H), 3.00 (s, 2H), 2.86 – 2.70 (m, 8H), 2.61 – 2.53 (m, 2H), 2.47 – 2.41 (m, 1H), 2.37 – 2.23 (m, 4H), 2.05 – 1.90 (m, 2H), 1.88 – 1.79 (m, 3H), 1.75 – 1.58 (m, 2H), 1.30 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H), 1.22 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H), 1.11 (dd, *J* = 12.9, 6.6 Hz, 1H), 1.04 – 0.73 (m, 22H).

15

实施例 40

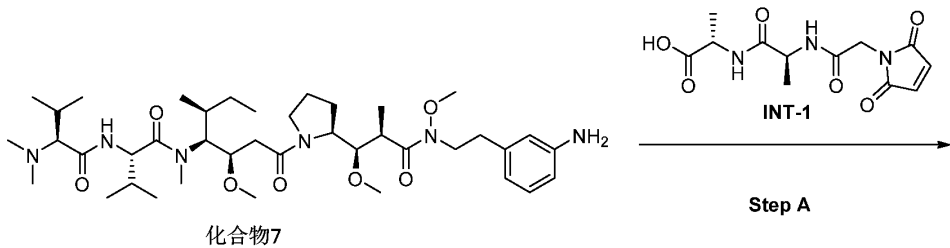
(S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N-((3R,4S,5S)-1-(S)-2-((1R,2R)-3-(3-((S,2-(S)-2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰胺基)丙酰胺基)苯乙基)(甲氧基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-N,3-二甲基丁酰胺的制备。

20

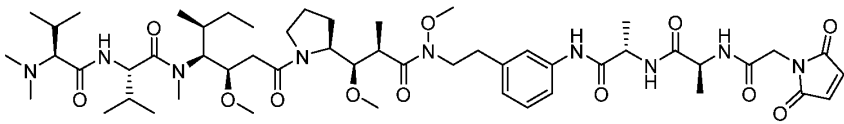


化合物 40

反应路线:



化合物7



化合物40

25

操作步骤:

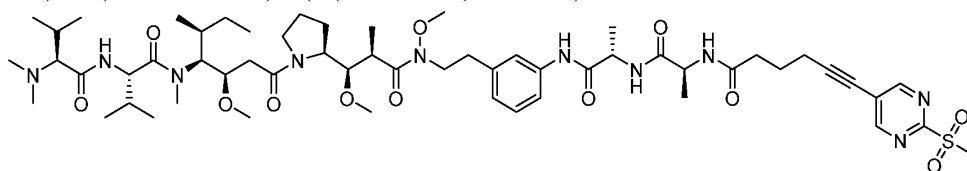
步骤 A: 将化合物 **7** (500 mg, 67 mmol) 加入 50 mL 单口瓶中, 加入干燥 N,N-二甲基甲酰胺 (10 mL), 再依次加入中间体 **INT-1** (211.11 mg, 0.71 mmol)、HATU (331.18 mg, 0.87 mmol) 和 2-6-二甲基吡啶 (215.37 mg, 2.01 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温下反应 15 分钟。LCMS 监测反应完成后, 反应液通过柱层析纯化 (四氢呋喃/0.1% 三氟乙酸水溶液) 得到化合物 **40** (470 mg, 收率 68.41%)。

5 LCMS (ESI) M/Z: 1026.7 [M+H⁺].

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.81 (s, 1H), 9.67 (s, 1H), 8.93 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 8.45 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 8.22 – 8.12 (m, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.41 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H), 7.19 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.09 (s, 2H), 6.92 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 4.76 – 4.54 (m, 2H), 4.43 – 4.27 (m, 2H), 4.15 – 4.04 (m, 2H), 3.99 (dd, *J* = 2.2, 1.6 Hz, 1H), 3.94 – 3.82 (m, 2H), 3.77 – 3.68 (m, 2H), 3.66 – 3.59 (m, 4H), 3.53 – 3.45 (m, 1H), 3.29 (d, *J* = 6.2 Hz, 1H), 3.24 (s, 2H), 3.19 (d, *J* = 2.3 Hz, 3H), 3.13 (s, 1H), 3.01 (s, 2H), 2.78 (s, 9H), 2.49 – 2.42 (m, 1H), 2.39 – 2.20 (m, 2H), 2.06 – 1.96 (m, 1H), 1.95 – 1.79 (m, 3H), 1.79 – 1.55 (m, 3H), 1.30 (dd, *J* = 6.9, 3.9 Hz, 4H), 1.22 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H), 1.14 – 1.04 (m, 3H), 0.98 – 0.84 (m, 16H), 0.81 – 0.74 (m, 3H).

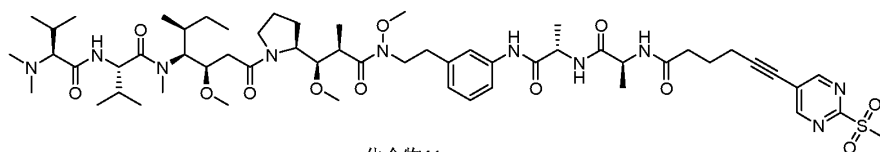
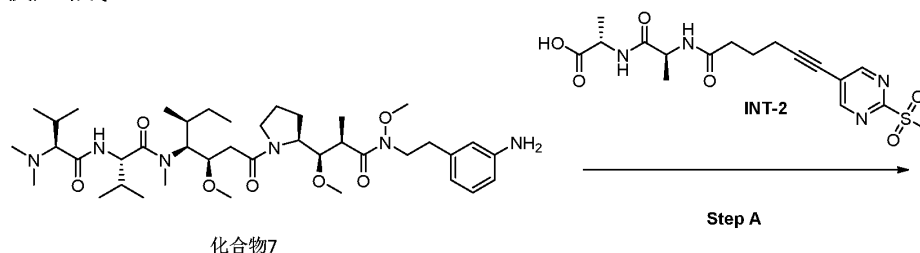
实施例 41

15 N-(((S)-1-(((S)-1-(3-(2-((2R,3R)-3-(S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S,2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-N-,3-二甲氧基-2-甲基丙酰胺基)乙基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-1-氧代丙-2-基)-6-(2-(甲基磺酰基)嘧啶-5-基)5-己酰胺的制备。



实施例 41

反应路线:



化合物41

20

操作步骤:

步骤 A: 将化合物 **7** (600 mg, 0.80 mmol) 加入 25 mL 单口瓶中, 加入干燥 N,N-二甲基甲酰胺 (12 mL), 再依次加入中间体 **INT-2** (350 mg, 0.82 mmol)、HATU (395.44 mg, 1.04 mmol) 和 2, 6-二甲基吡啶 (257.16 mg, 2.4 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温反应 15 分钟。LCMS 监测反应完成后, 通过柱层析纯化 (四氢呋喃/0.1% 三氟乙酸水溶液) 得到化合物 **41** (780 mg, 收率 85.23%)。

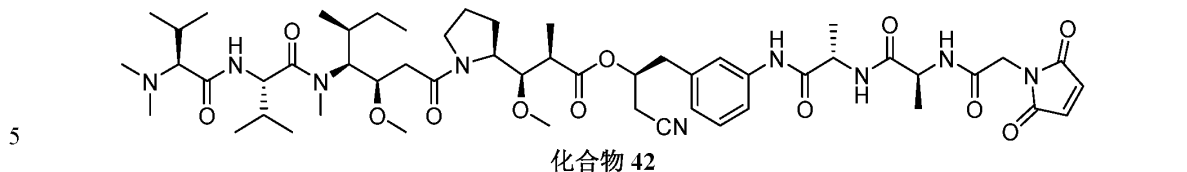
25 LCMS (ESI) M/Z: 1139.8 [M+H⁺].

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.82 (s, 1H), 9.66 (s, 1H), 9.14 – 9.07 (m, 2H), 8.93 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 8.12 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 7.46 (dd, *J* = 19.7, 11.3 Hz, 2H), 7.19 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 6.91 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 4.76 – 4.52 (m, 2H), 4.44 – 4.24 (m, 2H), 4.06 – 3.94 (m, 1H), 3.90 – 3.84 (m, 1H), 3.80 – 3.68 (m, 2H), 3.60 (dd, *J* = 22.7, 9.5 Hz, 4H), 3.53 – 3.43 (m, 1H), 3.41 (s, 3H), 3.37 – 3.27 (m, 2H), 3.24 (s, 2H), 3.21 – 3.05 (m, 5H), 3.01 (s, 2H), 2.79 (t, *J* = 13.8 Hz, 9H), 2.57 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.46 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 2.39 – 2.21 (m, 4H), 2.09 – 1.96 (m, 1H), 1.92 – 1.57 (m, 7H), 1.30 (dd, *J* = 7.0, 4.2 Hz, 4H), 1.22 (dd, *J* = 7.1, 2.3 Hz, 3H), 1.07 (dd, *J* = 11.7, 6.6 Hz, 3H), 0.99 – 0.83 (m, 16H), 0.81 – 0.74 (m, 3H).

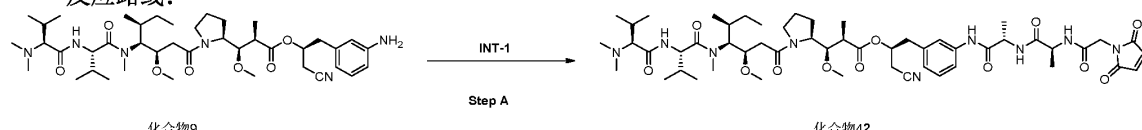
30

实施例 42

(S)-1-氟-3-(3-(S)-2-(S)-2-(2-(2,5-二氧基-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰氨基)丙胺)丙胺)苯基)丙基-2-基(2R,3R)-3-((S)-1-((S)- (S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁烷)-N,3-二甲基丁烷)-3-甲氧基-5-甲基庚烷基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲氧基-2-甲基丙酸酯的制备。



反应路线:



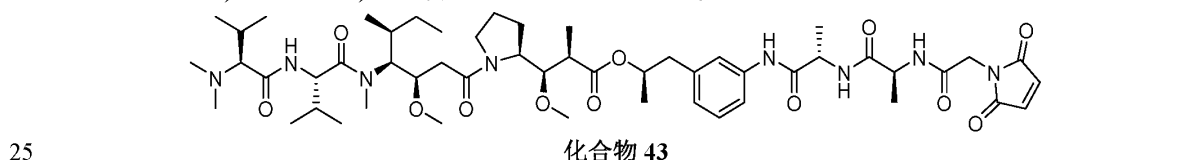
步骤 A: 将化合物 9 (40 mg, 0.04 mmol) 加入 25 mL 单口瓶中, 加入干燥二氯甲烷 (2.5 mL), 再依次加入中间体 INT-1 (12 mg, 0.04 mmol)、2-乙氧基-1-乙氧羰基-1,2-二氢喹啉 (12.35 mg, 0.05 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温下反应 15 分钟。LCMS 监测反应完成后, 反应液通过柱层析纯化 (乙腈/0.1%三氟乙酸水溶液) 得到化合物 42 (9 mg, 收率 16.4%)。

LCMS (ESI) M/Z: 1034.5 [M+H⁺].

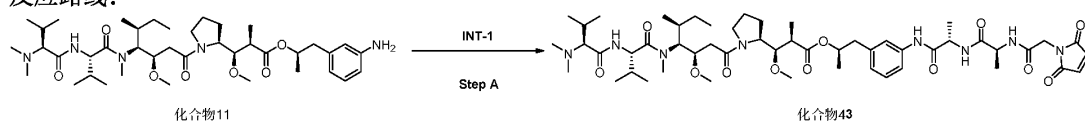
¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.98 – 9.80 (m, 1H), 8.48 – 8.33 (m, 1H), 8.27 – 8.18 (m, 1H), 8.09 – 7.95 (m, 1H), 7.59 – 7.37 (m, 2H), 7.29 – 7.14 (m, 1H), 7.08 (s, 2H), 6.91 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 5.27 – 5.07 (m, 1H), 4.71 – 4.55 (m, 1H), 4.51 (t, J = 8.6 Hz, 1H), 4.43 – 4.24 (m, 2H), 4.15 – 3.79 (m, 7H), 3.29 – 3.22 (m, 3H), 3.19 – 3.15 (m, 3H), 3.05 – 2.78 (m, 8H), 2.70 – 2.56 (m, 2H), 2.46 – 2.28 (m, 3H), 2.21 – 2.14 (m, 6H), 2.00 – 1.66 (m, 7H), 1.31 – 1.26 (m, 3H), 1.24 – 1.17 (m, 3H), 1.05 – 0.96 (m, 3H), 0.94 – 0.85 (m, 12H), 0.79 – 0.67 (m, 6H).

实施例 43

(R)-1-(3-(S)-2-(S)-2-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-2,5-吡啶基-1-基乙酰氨基)-丙酰胺-丙酰胺丙基-丙酰胺基-苯基-丙基-2-丙烷-2-丙烷-2-丙醇-2-丙烷-2-丙-2-丙烷-2-丙烯-2-丙烷-2-丙基-2-丙烷-3-甲基异庚烯酮-乙基异庚烯)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酸酯的制备。



反应路线:



操作步骤:

步骤 A:

将化合物 11 (20 mg, 0.03 mmol) 加入 50 mL 单口瓶中, 加入干燥 N,N-二甲基甲酰胺 (2mL), 再依次加入中间体 INT-1 (15 mg, 0.04 mmol)、2-乙氧基-1-乙氧羰基-1,2-二氢喹啉 (25 mg, 0.06 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温反应 2 小时。LCMS 监测反应完成后, 反应液通过柱层析纯化 (四氢呋喃/0.1%三氟乙酸水溶液) 得到化合物 43 (2.12 mg, 收率 35.31%)。

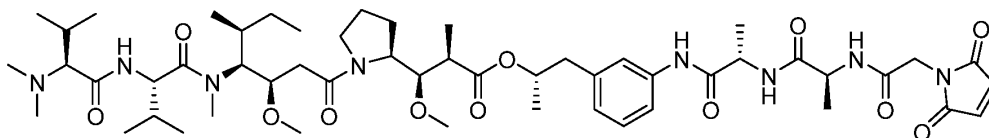
LCMS (ESI) M/Z: 1011.5 [M+H⁺].

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.81 (s, 1H), 9.53 (s, 1H), 8.92 (s, 1H), 8.43 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 8.16 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.51 – 7.39 (m, 2H), 7.22 – 7.15 (m, 1H), 7.09 (s, 2H), 6.91 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 5.08 – 4.93 (m, 1H), 4.68 – 4.54 (m, 2H), 4.41 – 4.28 (m, 2H), 4.15 – 3.90 (m, 4H), 3.78 – 3.67 (m, 3H), 3.52 – 3.48 (m, 1H), 3.23 – 3.17 (m, 3H), 3.14 – 3.13 (m, 2H), 3.07 – 2.99 (m, 3H), 2.81 – 2.73 (m, 8H), 2.45 – 2.26 (m, 5H), 2.17 –

1.88 (m, 2H), 1.88 – 1.49 (m, 6H), 1.31 – 1.28 (m, 3H), 1.23 – 1.18 (m, 6H), 1.07 – 1.01 (m, 3H), 0.96 – 0.88 (m, 12H), 0.86 – 0.82 (m, 3H), 0.79 – 0.74 (m, 3H).

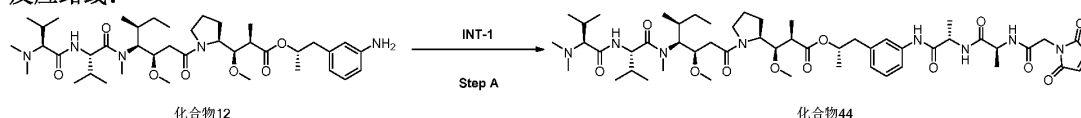
实施例 44

(S)-1-(3-((S)-2-(S)-2-(2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-2,5-吡啶基-1-基乙酰氨基)-丙酰胺-丙酰胺丙基-丙酰胺-5 基-苯基-丙基-2-丙烷-2-丙烷-2-丙醇-2-丙烷-2-丙-2-丙烷-2-丙烯-2-丙烷-2-丙基-2-丙烷-3-甲基异庚烯酮-乙基异庚烯)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酸酯)的制备。



化合物 44

反应路线:



操作步骤:

步骤 A:

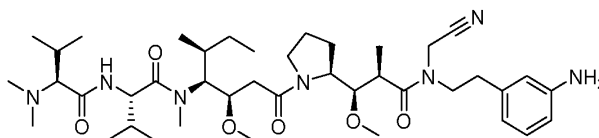
将化合物 **12** (20 mg, 0.03 mmol) 加入 50 mL 单口瓶中, 加入干燥 N,N-二甲基甲酰胺 (2 mL), 再依次加入中间体 **INT-1** (15 mg, 0.04 mmol)、2-乙氧基-1-乙氧碳酸基-1,2-二氢喹啉 (25 mg, 0.06 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温反应 2 小时。LCMS 监测反应完成后, 反应液通过柱层析纯化 (四氢呋喃/0.1%三氟乙酸水溶液) 得到化合物 **44** (2.39 mg, 收率 35.37%)。

LCMS (ESI) M/Z: 1011.5 [M+H⁺].

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.83 (s, 1H), 8.43 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 8.18 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 8.03 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.56–7.37 (m, 2H), 7.20 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.10 (s, 2H), 6.91 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 5.08–4.93 (m, 1H), 4.69–4.49 (m, 2H), 4.41–4.30 (m, 2H), 4.09 (d, J = 4.1 Hz, 2H), 4.02–3.75 (m, 4H), 3.54–3.47 (m, 2H), 3.25 (s, 3H), 3.19 (s, 2H), 3.03 (d, J = 19.8 Hz, 3H), 2.84–2.75 (m, 2H), 2.64 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 2.47–2.29 (m, 4H), 2.20 (d, J = 6.1 Hz, 6H), 1.98–1.67 (m, 8H), 1.31 (d, J = 7.0 Hz, 3H), 1.22 (d, J = 7.0 Hz, 3H), 1.15 (d, J = 6.1 Hz, 3H), 1.03 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 0.93–0.86 (m, 12H), 0.78–0.69 (m, 6H).

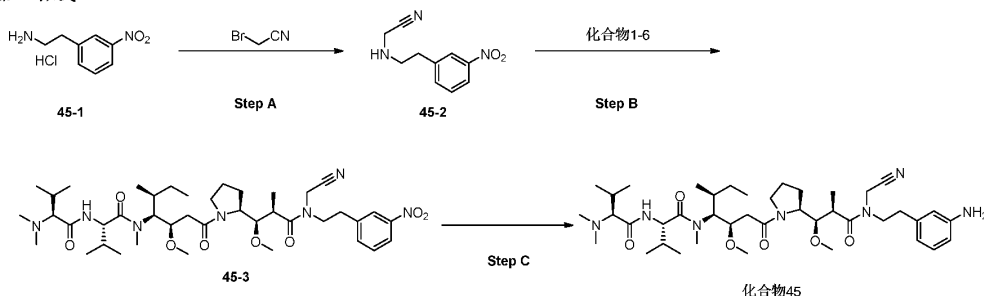
实施例 45

25 (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((3-氨基苯乙基)(氰基甲基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-(S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺的制备。



化合物 45

反应路线:



操作步骤:

步骤 A: 将化合物 **45-1** (500 mg, 2.48 mmol) 和 *N,N*-二异丙基乙胺 (960 mg, 7.44 mmol) 溶解在乙腈 (10 mL) 中, 室温下搅拌 10 分钟后, 缓慢滴加溴乙腈 (320 mg, 2.69 mmol), 然后在室温下继续搅拌 1 小时。LCMS 显示反应完成, 浓缩反应液, 粗品经反相柱纯化, 得到化合物 **45-2** (310 mg, 收率 61.29%)。

5 LCMS (ESI) *M/Z*: 206.2 [*M*+*H*]⁺。

步骤 B: 将化合物 **1-6** (883 mg, 1.48 mmol) 溶解在无水二氯甲烷 (10 mL) 中, 0 摄氏度下缓慢滴加草酰氯 (0.16 mL) 和 *N,N*-二甲基甲酰胺 (1 滴), 所得混合物在 0 摄氏度下搅拌 1 小时, 随后将反应体系在 0 摄氏度下旋干, 残余物溶解在 2 mL 二氯甲烷中备用。将化合物 **45-2** (250 mg, 1.21 mmol) 溶解在二氯甲烷 (10 mL) 中, 加入三乙胺 (0.37 mL), 0 摄氏度下缓慢滴加上述酰氯的二氯甲烷溶液, 然后

10 在室温下搅拌 1 小时。LCMS 显示反应完成, 浓缩反应液, 粗品经反相柱纯化, 得到化合物 **45-3** (408 mg, 收率 42.77%)。

LCMS (ESI) *M/Z*: 786.8 [*M*+*H*]⁺。

步骤 C: 将四羟基二硼 (158 mg, 1.78 mmol) 溶解在无水 *N,N*-二甲基甲酰胺 (5 mL) 中, 在氮气保护下加入 4,4'-二联吡啶 (35 mg, 0.22 mmol) 和化合物 **45-3** (400 mg, 0.51 mmol), 所得混合物在室温

15 下搅拌 5 分钟。LCMS 显示反应完成后, 反应液经反相柱纯化, 得到目标化合物 **45** (350 mg, 收率 85.76%)。

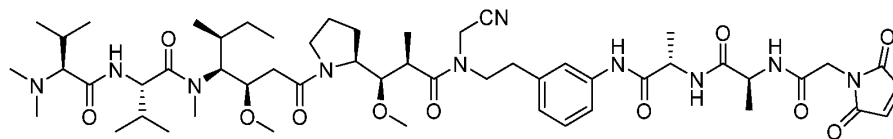
LCMS (ESI) *M/Z*: 756.4 [*M*+*H*]⁺。

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.18–8.00 (m, 1H), 6.99–6.88 (m, 1H), 6.52 (s, 1H), 6.46–6.34 (m, 3H), 5.01 (s, 1H), 4.73–4.25 (m, 4H), 4.00–3.91 (m, 1H), 3.80–3.41 (m, 5H), 3.28–3.24 (m, 2H), 3.21–3.09 (m, 5H), 2.99 (s, 2H), 2.79–2.60 (m, 4H), 2.46–2.40 (m, 1H), 2.33–2.19 (m, 6H), 2.01–1.56 (m, 8H), 1.35–

20 1.28 (m, 1H), 1.18–1.07 (m, 1H), 1.00 (d, *J* = 6.6 Hz, 1H), 0.95–0.84 (m, 15H), 0.79–0.70 (m, 6H)。

实施例 46

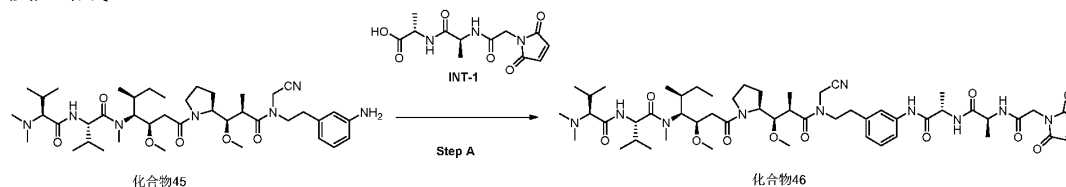
(*S*)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-(氧基甲基)(3-*S*)-2-[(*S*)-2](2-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1*H*-吡咯-1-基)乙酰胺基)丙酰胺基)苯乙基氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-(*S*)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-*N*,3-二甲基丁酰胺的制备。



25

化合物 46

反应路线:



30

操作步骤:

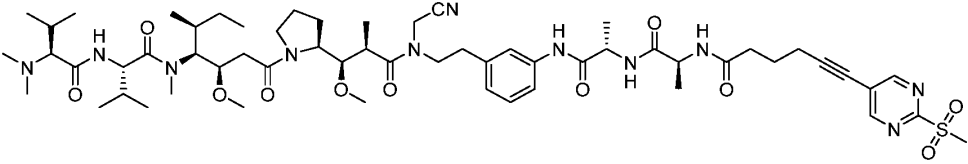
步骤 A: 将化合物 **45** (800 mg, 1.05 mmol) 加入 25 mL 单口瓶中, 加入干燥二氯甲烷 (20 mL), 再依次加入中间体 INT-1 (350 mg, 1.1 mmol)、HATU (500 mg, 1.3 mmol) 和 2, 6-二甲基吡啶 (0.45 mL), 反应体系在氮气保护下, 室温反应 20 分钟。反应完成后, 低温下减压浓缩反应液, 残余物通过柱层析纯化得到化合物 **46** (900 mg, 收率 85.67%)。

35 LCMS (ESI) *M/Z*: 1035.8 [*M*+*H*]⁺。

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.93–9.79 (m, 1H), 9.60 (brs, 1H), 8.89 (brs, 1H), 8.43 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 8.17 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H), 7.57–7.36 (m, 2H), 7.29–7.18 (m, 1H), 7.09 (s, 2H), 7.03–6.88 (m, 1H), 4.80–4.50 (m, 3H), 4.49–4.25 (m, 4H), 4.17–3.92 (m, 4H), 3.79–3.68 (m, 2H), 3.59–3.49 (m, 2H), 3.31–3.25 (m, 3H), 3.22–3.10 (m, 5H), 2.99 (s, 2H), 2.90–2.70 (m, 9H), 2.36–2.19 (m, 2H), 2.06–1.84 (m, 4H), 1.81–1.60 (m, 3H), 1.30 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H), 1.21 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H), 1.11 (dd, *J* = 12.6, 6.2 Hz, 1H), 1.04–0.83 (m, 19H), 0.81–0.74 (m, 3H)。

40 实施例 47

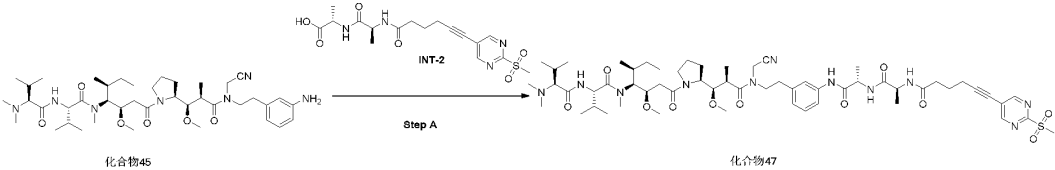
N-((S)-1-(((S)-1-((3-(2-((2R, 3R)-N-(氰甲基)-3-((S)-1-((3R, 4S, 5S)-4-((S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N, 3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酰胺基)乙基)苯基)-1-氧代丙-2-氨基的制备。



5

化合物 47

反应路线:



操作步骤:

- 步骤 A: 将化合物 45 (300 mg, 0.33 mmol) 加入 25 mL 单口瓶中, 加入干燥二氯甲烷 (10 mL), 再依次加入中间体 INT-2 (150 mg, 0.35 mmol)、HATU (195 mg, 0.42 mmol) 和 2, 6-二甲基吡啶 (0.15 mL), 反应体系在氮气保护下, 室温反应 20 分钟。反应完成后, 低温下减压旋干溶剂, 残余物经 N,N-二甲基甲酰胺溶解后, 通过柱层析纯化得到化合物 47 (300 mg, 收率 76.75 %)。

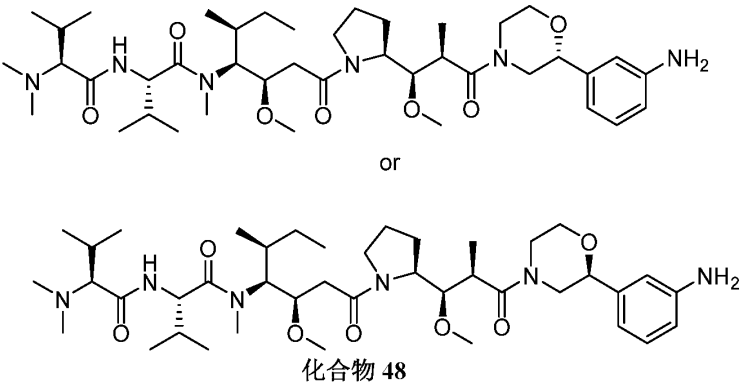
LCMS (ESI) M/Z: 1148.6 [M+H⁺].

- ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.90 – 9.82 (m, 1H), 9.12 – 9.09 (m, 2H), 8.17 – 7.97 (m, 4H), 7.56 – 7.44 (m, 2H), 7.29 – 7.20 (m, 1H), 7.03 – 6.91 (m, 1H), 4.75 – 4.55 (m, 2H), 4.54 – 4.47 (m, 1H), 4.46 – 4.28 (m, 4H), 4.07 – 3.87 (m, 2H), 3.78 – 3.75 (m, 1H), 3.69 – 3.59 (m, 1H), 3.59 – 3.44 (m, 3H), 3.34 – 3.30 (m, 4H), 3.27 (s, 2H), 3.20 (s, 1H), 3.17 – 3.15 (m, 3H), 3.12 (s, 1H), 2.99 (s, 2H), 2.90 – 2.61 (m, 5H), 2.59 – 2.55 (m, 2H), 2.48 – 2.40 (m, 1H), 2.34 – 2.30 (m, 2H), 2.22 – 2.20 (m, 2H), 2.19 (s, 3H), 1.96 – 1.77 (m, 7H), 1.74 – 1.64 (m, 2H), 1.32 – 1.29 (m, 3H), 1.21 (d, J = 7.1 Hz, 3H), 1.12 (dd, J = 13.8, 6.6 Hz, 1H), 1.01 (d, J = 6.7 Hz, 1H), 0.94 – 0.84 (m, 15H), 0.76 – 0.69 (m, 6H).

20

实施例 48

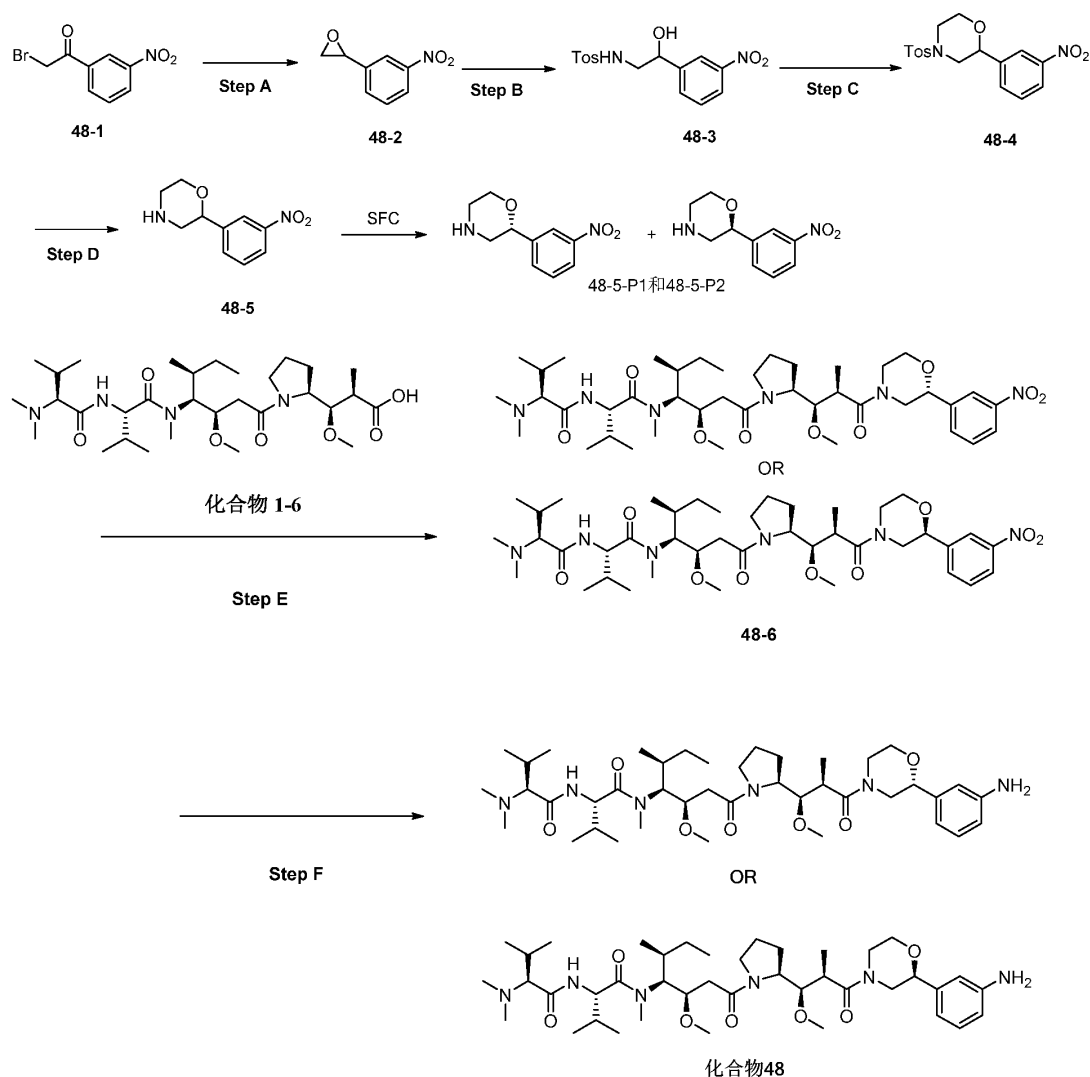
(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((R)-2-(3-氨基苯基)吗啉基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺的制备。



25

化合物 48

反应路线:



操作步骤:

- 5 **步骤 A:** 将化合物 **48-1** (10 g, 41.15 mmol) 加入 500 mL 单口瓶中, 加入乙醇 (200 mL) 溶解, 再加入硼氢化钠 (1.51 g, 39.92 mmol), 室温搅拌 1 小时, 随后加入氢氧化钾 (2.3 g, 41.07 mmol), 室温继续搅拌 2 小时。反应完成后, 减压除去乙醇, 剩余物加水并用二氯甲烷萃取, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩。粗品通过柱层析纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=40:1) 得到化合物 **48-2** (5 g, 收率 73.5%)。

- 10 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.19 – 8.02 (m, 2H), 7.61 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.52 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.05 – 3.77 (m, 1H), 3.36 – 3.09 (m, 1H), 2.98 – 2.57 (m, 1H)。

- 步骤 B:** 依次将化合物 **48-2** (5.54 g, 33.55 mmol)、TosNH₂ (11.49 g, 67.1 mmol)、TEBA (760 mg, 3.35 mmol) 和碳酸钾 (460 mg, 3.35 mmol) 加入 250 mL 单口瓶中, 加入 1,4-二氧六环 (70 mL) 溶解, 升温至 90°C 反应 4 小时。LCMS 监测反应完成后, 减压蒸馏除去 1,4-二氧六环, 剩余物通过柱层析纯化 (乙腈/0.1%碳酸氢铵水溶液) 得到化合物 **48-3** (6.93 g, 收率 61.42%)。

- 15 LCMS (ESI) M/Z : 359.1 $[M+H]^+$ 。

- 步骤 C:** 将化合物 **48-3** (7.18 g, 5.95 mmol) 加入单口瓶中, 加入无水二氯甲烷 (270 mL) 溶解, 冰浴下加入钠氢 (2.56 g, 64.05 mmol), 并在该温度下继续搅拌半小时, 然后加入 (2-溴乙基) 二苯基铈三氟甲烷磺酸盐 (14.20 g, 32.03 mmol), 体系升至室温反应 2 小时。LCMS 监测反应完成后, 加水淬灭反应, 二氯甲烷萃取, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩。残余物用 Flash (乙腈/0.1%甲酸水

溶液) 纯化得到化合物 **48-4** (1.86 g, 收率 20.04%)。

LCMS (ESI) M/Z: 385.1 [M+H⁺].

步骤 D: 将化合物 **48-4** (2.6 g, 7.17 mmol) 加入单口瓶中, 随后加入苯酚 (4.04 g, 43.03 mmol) 和 HBr (29 mL, 33% in AcOH), 75°C 反应 2 小时。LCMS 监测反应完成后, 反应液经柱层析纯化 (乙腈/0.1%甲酸水溶液) 得到化合物 **48-8** (1.2 g, 收率 80%), 再经手性拆分得到 **48-5-P1** (550 mg) 和 **48-5-P2** (610 mg)。拆分条件流动相: 超临界二氧化碳和 0.1% 氨的乙醇溶液; 流速: 50 mL/分钟; 梯度: 保持 0.1% 氨的异丙醇为 35%; 检测波长: 214 nm; 循环时间: 4.91 min。

化合物 **48-5-P1** 保留时间 Rt = 6.27 min; 化合物 **48-5-P2** 保留时间 Rt = 8.84 min。

LCMS (ESI) M/Z: 209.1 [M+H⁺].

步骤 E: 将化合物 **48-5-P1** (500 mg, 2.40 mmol) 加入 50 mL 单口瓶中, 加入干燥 N,N-二甲基甲酰胺 (20 mL), 再依次加入化合物 **1-6** (1.44 g, 2.4 mmol)、HATU (1.37 g, 3.6 mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (1.19 mL, 7.2 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温反应 2 小时。反应完成后, 过滤, 滤液通过柱层析纯化 (乙腈/0.1%甲酸水溶液) 得到化合物 **48-6** (1.05 g, 收率 55.42%)。

LCMS (ESI) M/Z: 789.5 [M+H⁺].

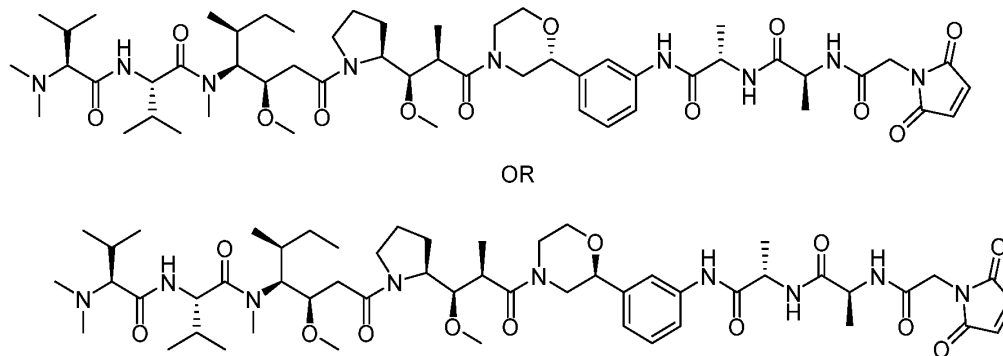
步骤 F: 将四羟基二硼 (408.8 mg, 4.56 mmol) 加入 25 mL 单口瓶中, 加入干燥 N,N-二甲基甲酰胺 (12 mL), 再依次快速加入 4,4'-联吡啶 (178.05 mg, 1.14 mmol) 和化合物 **48-6** (900 mg, 1.14 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温反应 5 分钟。LCMS 监测反应完成后, 加入少量甲醇助溶, 通过柱层析纯化 (乙腈/0.1%甲酸水溶液) 得到化合物 **48** (650 mg, 收率 75.07%)。

LCMS (ESI) M/Z: 759.6 [M+H⁺].

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.07 – 7.93 (m, 1H), 7.04 – 6.92 (m, 1H), 6.67 – 6.42 (m, 3H), 5.12 – 4.96 (m, 2H), 4.78 – 4.43 (m, 2H), 4.36 – 4.12 (m, 2H), 4.09 – 3.70 (m, 5H), 3.65 – 3.40 (m, 3H), 3.35 (s, 1H), 3.30 – 3.27 (m, 1H), 3.20 (d, J = 12.0 Hz, 2H), 3.16 – 3.04 (m, 3H), 3.03 – 2.86 (m, 3H), 2.83 – 2.68 (m, 1H), 2.67 – 2.55 (m, 2H), 2.47 – 2.39 (m, 1H), 2.35 – 2.13 (m, 7H), 1.98 – 1.63 (m, 7H), 1.34 – 1.26 (m, 1H), 1.20 – 1.09 (m, 2H), 1.08 – 1.03 (m, 1H), 0.94 – 0.85 (m, 11H), 0.81 – 0.67 (m, 8H).

实施例 49

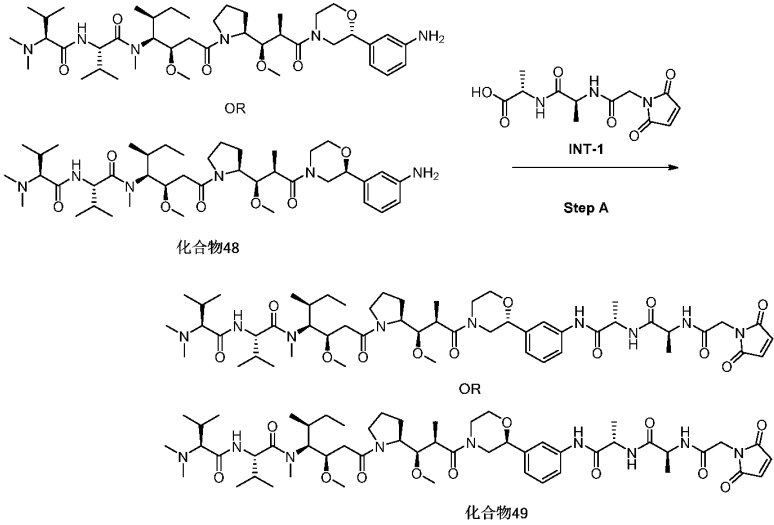
(S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺)-N-((3R,4S,5S)-1-(S)-2-((1R,2R)-3-((R)-2-(3-(S)-2-(S)-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰胺基)丙酰胺基)苯基)吗啉基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-N,3-二甲基丁酰胺的制备。



化合物49

30

反应路线:



操作步骤:

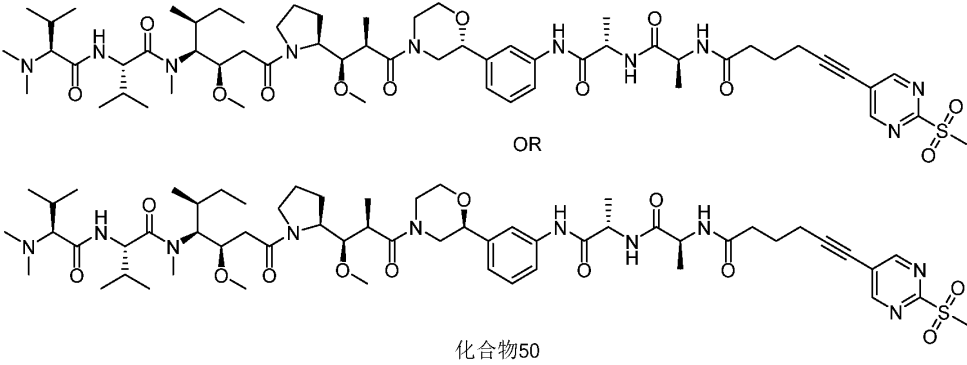
步骤 A: 将化合物 48 (300 mg, 0.40 mmol) 加入 25 mL 单口瓶中, 加入干燥二氯甲烷 (15 mL), 再依次加入中间体 INT-1 (126.04 mg, 0.42 mmol)、HATU (197.72 mg, 0.52 mmol) 和 2, 6-二甲基吡啶 (128.58 mg, 1.20 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温反应 20 分钟。反应完成后, 低温下减压蒸馏, 残余物用 N,N-二甲基甲酰胺溶解后, 通过柱层析纯化 (乙腈/0.1%三氟乙酸水溶液) 得到化合物 49 (195 mg, 收率 47.52%)。

LCMS (ESI) M/Z: 1038.7 [M+H⁺].

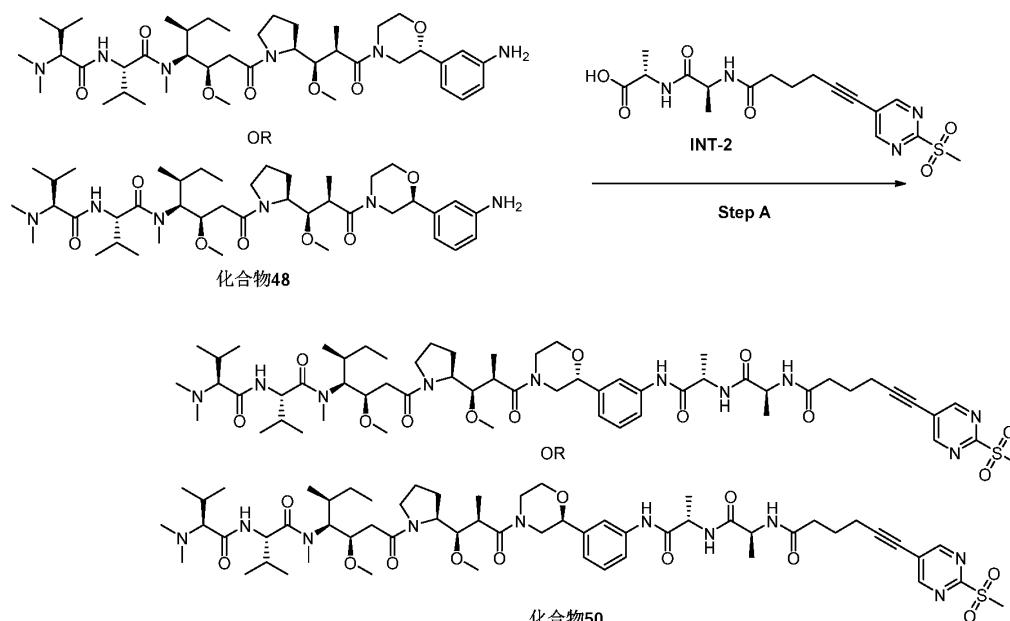
¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.00 – 9.82 (m, 1H), 9.59 (s, 1H), 8.88 (dd, J = 30.5, 7.7 Hz, 1H), 8.44 (dd, J = 7.0, 3.9 Hz, 1H), 8.16 (dd, J = 10.8, 7.3 Hz, 1H), 7.76 – 7.63 (m, 1H), 7.52 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.32 – 7.20 (m, 1H), 7.18 – 6.99 (m, 3H), 4.78 – 4.50 (m, 2H), 4.46 – 4.28 (m, 4H), 4.14 – 3.97 (m, 5H), 3.91 – 3.82 (m, 1H), 3.62 – 3.46 (m, 4H), 3.38 – 3.27 (m, 4H), 3.20 (d, J = 10.7 Hz, 2H), 3.16 – 3.04 (m, 3H), 2.99 (d, J = 6.7 Hz, 2H), 2.78 (t, J = 14.9 Hz, 7H), 2.62 (dd, J = 28.1, 11.8 Hz, 1H), 2.44 – 2.16 (m, 2H), 2.14 – 1.56 (m, 7H), 1.30 (t, J = 6.3 Hz, 3H), 1.20 (dd, J = 13.2, 6.8 Hz, 4H), 1.12 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 1.05 (t, J = 6.5 Hz, 1H), 0.99 – 0.82 (m, 15H), 0.81 – 0.68 (m, 5H).

实施例 50

N-((S)-1-(S)-1-[(S)-1,[(3-(R)-4-(2R,3R,3R)-3-(S)-1[(3R,4S,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺)-N,3-二甲基丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰基)吡咯烷-2-基)-3-乙氧基-2-甲基丙酰基)吗啉-2-基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)1-氧代丙-2-基)-6-(2-(甲基磺酰基)嘧啶-5-基)己-5-酰胺的制备。



反应路线:



操作步骤:

步骤 A: 将化合物 48 (200 mg, 0.26 mmol) 加入 25 mL 单口瓶中, 加入干燥二氯甲烷 (15 mL), 再依次加入中间体 INT-2 (113.12 mg, 0.28 mmol)、HATU (128.52 mg, 0.34 mmol) 和 2, 6-二甲基吡啶 (83.58 mg, 0.78 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温反应 20 分钟。LCMS 监测反应完成后, 低温下减压浓缩, 残余物经 N,N-二甲基甲酰胺溶解后, 通过柱层析纯化 (乙腈/0.1%三氟乙酸水溶液) 得到化合物 50 (280 mg, 收率 92.25%)。

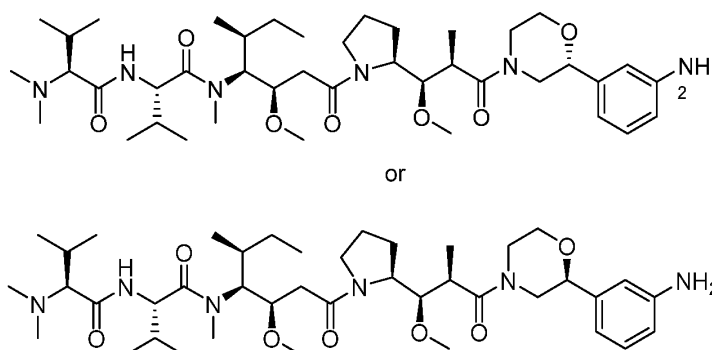
LCMS (ESI) M/Z: 1151.8 [M+H⁺].

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.97 – 9.86 (m, 1H), 9.60 (s, 1H), 9.10 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 8.97 – 8.81 (m, 1H), 8.11 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.70 (d, *J* = 17.5 Hz, 1H), 7.56 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 7.34 – 7.20 (m, 1H), 7.18 – 6.99 (m, 1H), 4.69 – 4.53 (m, 2H), 4.41 – 4.26 (m, 4H), 4.10 – 3.88 (m, 4H), 3.84 – 3.67 (m, 2H), 3.61 – 3.47 (m, 2H), 3.41 (s, 3H), 3.38 – 3.27 (m, 4H), 3.26 – 3.15 (m, 3H), 3.12 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 3.08 – 2.88 (m, 3H), 2.85 – 2.69 (m, 7H), 2.57 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.43 (d, *J* = 21.3 Hz, 1H), 2.36 – 2.25 (m, 3H), 2.14 – 1.57 (m, 9H), 1.30 (t, *J* = 6.4 Hz, 3H), 1.20 (dd, *J* = 15.2, 6.8 Hz, 4H), 1.12 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 1.05 (t, *J* = 6.5 Hz, 1H), 0.99 – 0.82 (m, 15H), 0.81 – 0.68 (m, 5H).

实施例 51

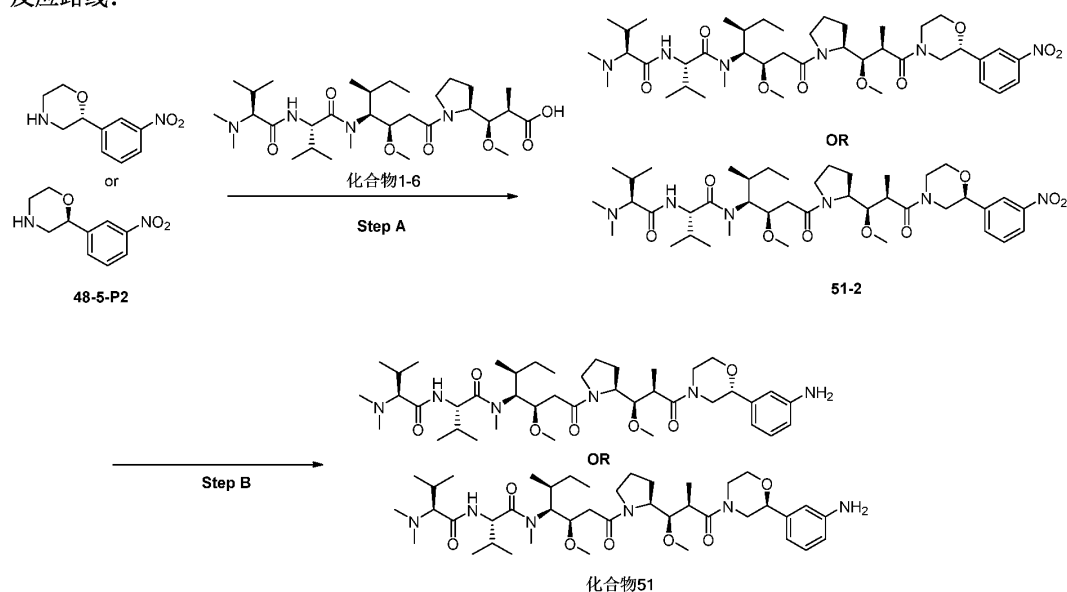
((S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((S)-2-(3-氨基苯基)吗啉基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺的制备。

68



化合物51

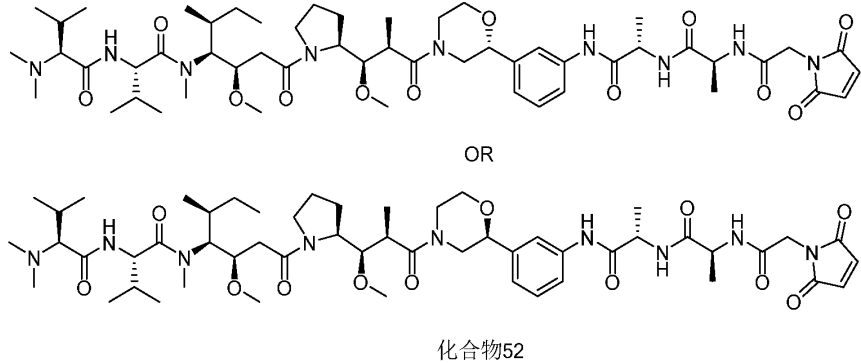
反应路线:



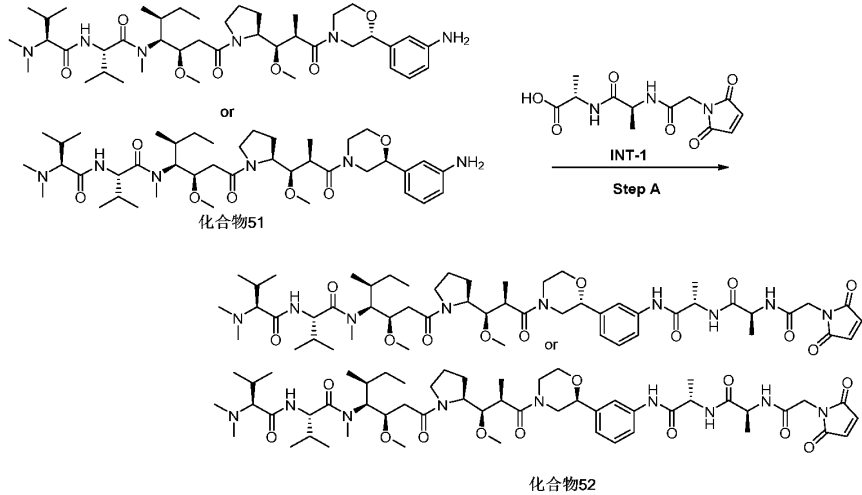
操作步骤:

- 5 **步骤 A:** 将化合物 **48-5-P2** (550 mg, 2.62 mmol) 加入 50 mL 单口瓶中, 加入干燥 N,N-二甲基甲酰胺 (20 mL), 再依次加入化合物 **1-6** (1.60 g, 2.62 mmol)、HATU (1.50 g, 3.93 mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺 (1.32 mL, 7.92 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温反应 2 小时。反应完成后, 过滤, 滤液通过柱层析纯化 (乙腈/0.1%甲酸水溶液) 得到化合物 **51-2** (1.20 g, 收率 56.52%)。
- LCMS (ESI) M/Z: 789.3 [M+H⁺].
- 10 **步骤 B:** 将四羟基二硼 (408.8 mg, 4.56 mmol) 加入 25 mL 单口瓶中, 加入干燥 N,N-二甲基甲酰胺 (12 mL), 再依次快速加入 4,4'-联吡啶 (178.05 mg, 1.14 mmol) 和化合物 **51-2** (900 mg, 1.14 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温反应 5 分钟。LCMS 监测反应完成后, 加入少量甲醇助溶, 通过柱层析纯化 (乙腈/0.1%甲酸水溶液) 得到化合物 **51** (800 mg, 收率 90.12%)。
- LCMS (ESI) M/Z: 759.6 [M+H⁺].
- 15 ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.02 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.05 – 6.92 (m, 1H), 6.67 – 6.40 (m, 3H), 5.05 (s, 2H), 4.78 – 4.47 (m, 2H), 4.41 – 4.10 (m, 2H), 4.07 – 3.89 (m, 4H), 3.86 – 3.71 (m, 1H), 3.64 – 3.40 (m, 3H), 3.31 – 3.29 (m, 2H), 3.22 – 3.11 (m, 5H), 3.08 – 2.96 (m, 2H), 2.93 – 2.71 (m, 2H), 2.69 – 2.55 (m, 2H), 2.38 – 2.11 (m, 7H), 2.03 – 1.57 (m, 8H), 1.21 (d, J = 6.7 Hz, 1H), 1.12 (dd, J = 14.5, 6.6 Hz, 2H), 1.05 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 0.96 – 0.82 (m, 13H), 0.78 – 0.68 (m, 6H).
- 20 **实施例 52**

(S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酰胺)-N-((3R,4S,5S)-1-(S)-2-((1R,2R)-3-((S)-2-(3-(S)-2-(S)-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰胺基)丙酰胺基)苯基)吗啉基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-N,3-二甲基丁酰胺的制备。



5 反应路线:



操作步骤:

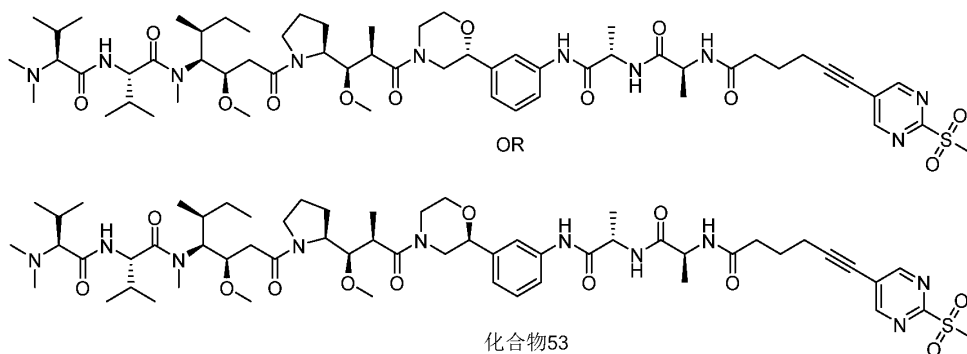
步骤 A: 将化合物 51 (300 mg, 0.40 mmol) 加入 25 mL 单口瓶中, 加入干燥二氯甲烷 (15 mL), 再依次加入中间体 INT-1 (126.04 mg, 0.42 mmol)、HATU (197.72 mg, 0.52 mmol) 和 2, 6-二甲基吡啶 (128.58 mg, 1.20 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温反应 20 分钟。反应完成后, 低温下减压浓缩, 残余物通过柱层析纯化 (乙腈/0.1%三氟乙酸水溶液) 得到化合物 52 (255 mg, 收率 55.47%)。

LCMS (ESI) M/Z: 1038.7 [M+H⁺].

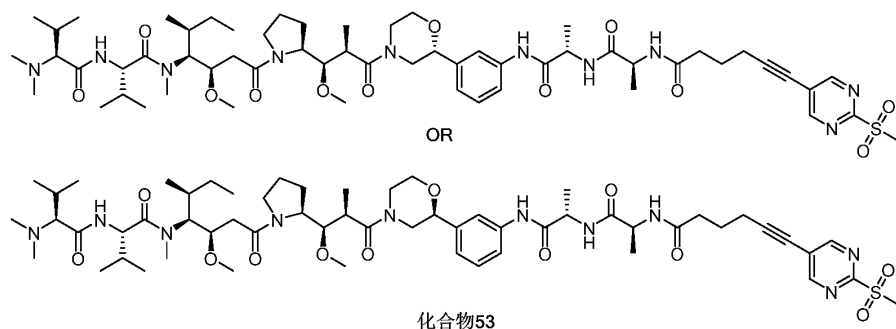
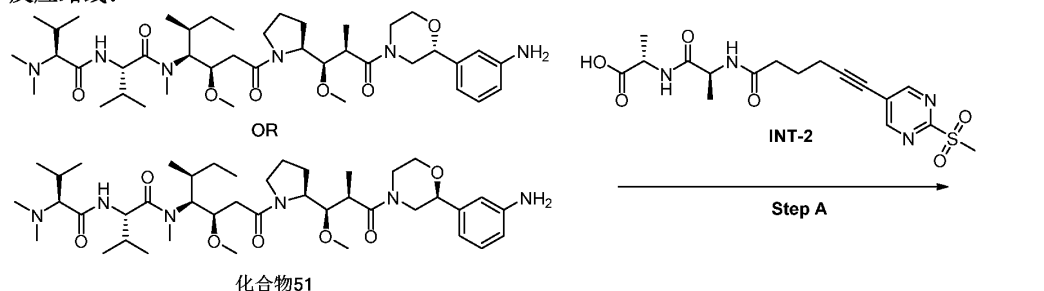
¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.91 (s, 1H), 9.67 (brs, 1H), 9.00 – 8.87 (m, 1H), 8.44 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 8.17 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 7.69 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 7.59 – 7.46 (m, 1H), 7.34 – 7.21 (m, 1H), 7.19 – 6.95 (m, 3H), 4.78 – 4.45 (m, 2H), 4.41 – 4.27 (m, 4H), 4.09 – 3.86 (m, 6H), 3.80 – 3.70 (m, 1H), 3.67 – 3.40 (m, 3H), 3.33 (dd, J = 15.1, 7.8 Hz, 4H), 3.24 – 3.12 (m, 6H), 3.01 (d, J = 11.7 Hz, 2H), 2.95 – 2.84 (m, 1H), 2.79 – 2.56 (m, 8H), 2.39 – 2.19 (m, 1H), 2.08 – 1.58 (m, 6H), 1.32 – 1.05 (m, 11H), 0.94 – 0.73 (m, 18H).

实施例 53

N-((S)-1-((S)-1-((3-(S)-4-((2R,3R)-3-(S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁烷胺)-4-((S)-2-(S)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁烷胺)-3-甲氧基-5-甲基庚烷基)吡咯烷-2-基)-N,3-二甲基丁烷胺)-1-氧丙基-2-基)氨基-1-氧丙基-2-基)氨基-6-(2-(甲基磺基)嘧啶-5-基)六-5-氨基酰胺的制备。



反应路线:



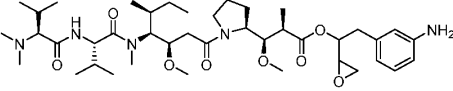
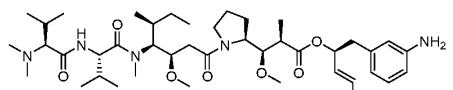
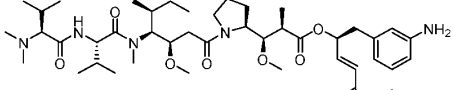
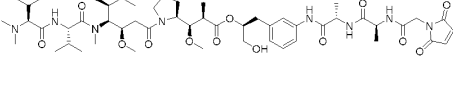
操作步骤:

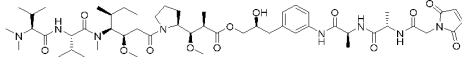
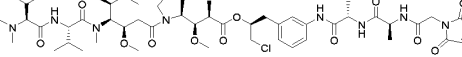
- 5 步骤 A: 将化合物 51 (250 mg, 0.33 mmol) 加入 25 mL 单口瓶中, 加入干燥二氯甲烷 (10 mL), 再依次加入中间体 INT-2 (142 mg, 0.35 mmol)、HATU (160 mg, 0.42 mmol) 和 2, 6-二甲基吡啶 (105 mg, 0.98 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温反应 20 分钟。反应完成后, 低温下减压旋干溶剂, 残余物经 N,N-二甲基甲酰胺溶解后, 通过柱层析纯化 (乙腈/0.1%三氟乙酸水溶液) 得到化合物 53 (320 mg, 收率 76.78 %)。

- 10 LCMS (ESI) M/Z: 1151.7 [M+H⁺].

- 15 ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.97 – 9.87 (m, 1H), 9.62 (s, 1H), 9.11 (s, 2H), 8.97 – 8.84 (m, 1H), 8.12 (d, J = 6.9 Hz, 2H), 7.70 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 7.61 – 7.52 (m, 1H), 7.35 – 7.22 (m, 1H), 7.14 – 6.96 (m, 1H), 4.68 – 4.55 (m, 2H), 4.41 – 4.28 (m, 4H), 4.09 – 3.87 (m, 4H), 3.83 – 3.65 (m, 2H), 3.62 – 3.51 (m, 2H), 3.41 (s, 3H), 3.37 – 3.29 (m, 3H), 3.24 – 3.10 (m, 6H), 3.06 – 2.96 (m, 2H), 2.94 – 2.87 (m, 1H), 2.82 – 2.70 (m, 7H), 2.59 – 2.55 (m, 2H), 2.48 – 2.43 (m, 1H), 2.36 – 2.26 (m, 3H), 2.07 – 1.56 (m, 9H), 1.31 (d, J = 7.0 Hz, 4H), 1.22 (d, J = 7.0 Hz, 4H), 1.16 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 1.11 (d, J = 6.5 Hz, 1H), 1.06 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 0.99 – 0.74 (m, 20H).

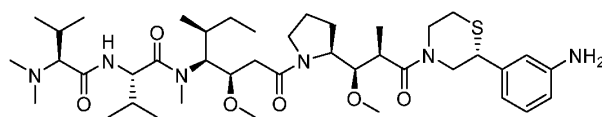
参考上述实施例的合成方法制备如下目标化合物:

实施例	结构式	¹ H NMR	MS (ESI) M/Z [M+H] ⁺
54		¹ H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.94 (d, <i>J</i> = 6.7 Hz, 1H), 7.31 – 7.04 (m, 1H), 6.99 – 6.70 (m, 3H), 5.16 – 4.83 (m, 1H), 4.76 – 4.53 (m, 2H), 4.05 – 3.88 (m, 1H), 3.88 – 3.68 (m, 2H), 3.64 – 3.45 (m, 1H), 3.45 – 3.09 (m, 8H), 3.09 – 2.93 (m, 4H), 2.92 – 2.57 (m, 9H), 2.55 – 2.15 (m, 6H), 2.11 – 1.97 (m, 1H), 1.94 – 1.50 (m, 5H), 1.30 (s, 1H), 1.17 – 0.70 (m, 23H).	760.5
55		¹ H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.92 (s, 1H), 7.64 – 7.42 (m, 1H), 7.35 – 6.92 (m, 3H), 6.86 – 6.50 (m, 4H), 6.23 – 5.89 (m, 1H), 5.70 – 5.43 (m, 1H), 4.65 (s, 1H), 4.61 – 4.52 (m, 1H), 4.00 – 3.91 (m, 2H), 3.88 – 3.83 (m, 1H), 3.82 – 3.72 (m, 2H), 3.58 – 3.49 (m, 1H), 3.43 – 3.31 (m, 1H), 3.29 – 3.14 (m, 6H), 3.10 – 2.83 (m, 5H), 2.76 (s, 6H), 2.47 – 2.20 (m, 4H), 2.07 – 1.97 (m, 1H), 1.93 – 1.85 (m, 1H), 1.80 – 1.65 (m, 3H), 1.21 – 1.11 (m, 1H), 1.09 – 1.04 (m, 2H), 1.01 – 0.60 (m, 21H).	787.5
56		¹ H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.09 – 7.92 (m, 2H), 6.95 – 6.85 (m, 1H), 6.65 – 6.50 (m, 1H), 6.43 – 6.33 (m, 3H), 6.15 – 5.94 (m, 1H), 5.57 – 5.38 (m, 1H), 5.02 – 4.92 (m, 2H), 4.73 – 4.46 (m, 2H), 3.98 – 3.74 (m, 3H), 3.56 – 3.48 (m, 1H), 3.24 (s, 2H), 3.20 – 3.15 (m, 4H), 3.06 – 2.95 (m, 3H), 2.78 (d, <i>J</i> = 7.4 Hz, 1H), 2.66 – 2.61 (m, 4H), 2.48 – 2.27 (m, 4H), 2.22 – 2.17 (m, 6H), 1.98 – 1.83 (m, 4H), 1.81 – 1.68 (m, 3H), 1.31 – 1.25 (m, 1H), 1.08 (d, <i>J</i> = 6.9 Hz, 3H), 1.05 – 0.81 (m, 15H), 0.77 – 0.68 (m, 6H).	801.5
57		¹ H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.91 – 9.76 (m, 1H), 9.57 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 8.42 (d, <i>J</i> = 7.3 Hz, 1H), 8.17 (d, <i>J</i> = 7.4 Hz, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.44 – 7.35 (m, 1H), 7.23 – 7.14 (m, 1H), 7.09 (s, 2H), 6.89 (d, <i>J</i> = 7.2 Hz, 1H), 4.97 – 4.82 (m,	1027.5

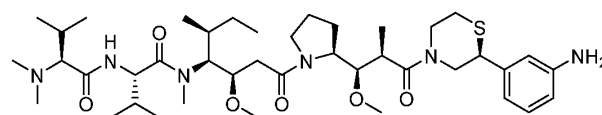
		2H), 4.73 – 4.49 (m, 2H), 4.41 – 4.24 (m, 2H), 4.15 – 4.03 (m, 2H), 4.00 – 3.87 (m, 2H), 3.84 – 3.78 (m, 1H), 3.73 – 3.67 (m, 1H), 3.55 – 3.41 (m, 3H), 3.30 – 3.15 (m, 7H), 3.06 – 2.97 (m, 3H), 2.90 – 2.62 (m, 8H), 2.44 – 2.22 (m, 5H), 2.08 – 1.60 (m, 7H), 1.31 – 1.27 (m, 3H), 1.25 – 1.18 (m, 3H), 1.09 – 0.98 (m, 3H), 0.98 – 0.80 (m, 15H), 0.79 – 0.73 (m, 3H).	
58		¹ H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.90 – 9.78 (m, 1H), 8.48 – 8.38 (m, 1H), 8.27 – 8.16 (m, 1H), 8.10 – 7.99 (m, 1H), 7.56 – 7.33 (m, 2H), 7.24 – 7.12 (m, 1H), 7.10 – 7.04 (m, 2H), 6.95 – 6.84 (m, 1H), 5.10 – 4.88 (m, 1H), 4.69 – 4.59 (m, 1H), 4.57 – 4.46 (m, 1H), 4.44 – 4.24 (m, 2H), 4.16 – 4.01 (m, 2H), 4.00 – 3.77 (m, 6H), 3.57 – 3.47 (m, 1H), 3.40 – 3.31 (m, 4H), 3.24 – 3.10 (m, 3H), 3.08 – 2.94 (m, 3H), 2.79 – 2.53 (m, 4H), 2.47 – 2.38 (m, 2H), 2.36 – 2.25 (m, 1H), 2.22 – 2.12 (m, 6H), 2.00 – 1.65 (m, 8H), 1.38 – 1.25 (m, 3H), 1.24 – 1.12 (m, 6H), 0.93 – 0.82 (m, 12H), 0.77 – 0.65 (m, 6H).	1027.5
59		¹ H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.86 (s, 1H), 9.69 (s, 1H), 8.91 (s, 1H), 8.44 (d, <i>J</i> = 7.1 Hz, 1H), 8.19 (d, <i>J</i> = 7.0 Hz, 1H), 7.56 (d, <i>J</i> = 9.5 Hz, 1H), 7.41 (t, <i>J</i> = 9.4 Hz, 1H), 7.21 (t, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 7.09 (s, 2H), 6.92 (d, <i>J</i> = 7.4 Hz, 1H), 5.17 (s, 1H), 4.71 – 4.52 (m, 2H), 4.41 – 4.28 (m, 2H), 4.15 – 4.02 (m, 2H), 4.00 – 3.92 (m, 2H), 3.87 – 3.66 (m, 4H), 3.56 – 3.50 (m, 1H), 3.31 – 3.23 (m, 4H), 3.22 – 3.14 (m, 3H), 3.05 – 2.97 (m, 3H), 2.98 – 2.81 (m, 3H), 2.80 – 2.64 (m, 5H), 2.46 – 2.38 (m, 2H), 2.36 – 2.26 (m, 2H), 2.11 – 1.64 (m, 7H), 1.37 – 1.14 (m, 6H), 1.06 – 0.67 (m, 21H).	1045.4

实施例 60

(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((R)-2-(3-氨基苯基)硫代吗啉烷基)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代杂基-4-基)-2-((S)-2-(二甲氨基)-3-甲基丁酰胺)-N,3-二甲基丁酰胺(化合物 60-P1 或化合物 60-P2)和(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(S)-2-(3-氨基苯基)硫代吗啉代)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-((S)-2-(二甲氨基)-3-甲基丁酰胺基)-N,3-二甲基丁酰胺(化合物 60-P2 或化合物 60-P1)的制备。

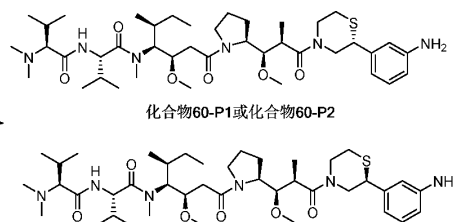
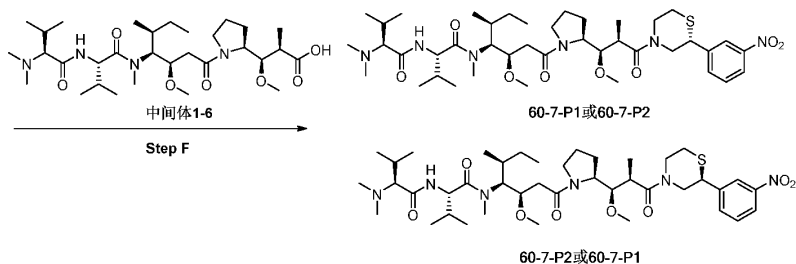
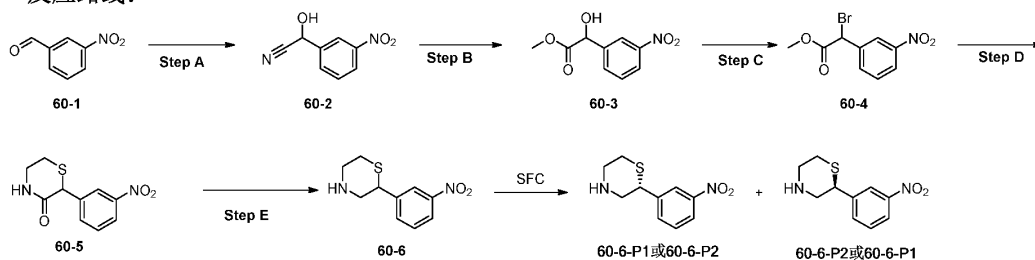


化合物60-P1或化合物60-P2



化合物60-P2或化合物60-P1

反应路线:



化合物60-P2或化合物60-P1

5

操作步骤:

步骤 A: 将化合物 **60-1** (5.0 g, 33.1 mmol) 加入 100 mL 单口瓶中, 加入干燥二氯甲烷 (30 mL), 在 0 摄氏度下加入三甲基氧硅烷 (4.6 mL, 37.1 mmol), 在室温下搅拌 6 小时, 再加入碘化锌 (0.21 g, 0.66 mmol) 在 50 摄氏度下回流反应 30 分钟, 然后加入 2 M 的盐酸 (100 mL) 和乙醚 (150 mL) 搅拌 16 小时。LCMS 显示反应结束后, 反应液用乙醚萃取, 收集有机相, 无水硫酸钠干燥, 浓缩得到残余物, 正相纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=1: 1), 得到化合物 **60-2** (5.26 g, 收率 89.24%)。

10

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.35 (t, *J* = 1.9 Hz, 1H), 8.15 (ddd, *J* = 8.2, 2.2, 0.9 Hz, 1H), 7.84 (d, *J* = 7.8

Hz, 1H), 7.51 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 5.34 (s, 1H), 3.76 (s, 3H).

步骤 B: 将化合物 **60-2** (5.0 g, 28.08 mmol) 加入 100 mL 单口瓶中, 加入盐酸甲醇溶液 (30 mL, 6 M in MeOH), 回流搅拌 3 小时。LCMS 显示反应结束后, 反应液用乙酸乙酯萃取, 收集有机相, 无水硫酸钠干燥, 浓缩得到残余物, 正相纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=1: 1), 得到化合物 **60-3** (5.35 g, 收率 90.26%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.34 (t, $J = 1.7$ Hz, 1H), 8.23 – 8.14 (m, 1H), 7.82 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.56 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 5.33 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 3.84 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 3.81 (s, 3H).

步骤 C: 将化合物 **60-3** (5.0 g, 23.68 mmol) 加入 100 mL 单口瓶中, 加入干燥二氯甲烷 (5 mL), 在 0 摄氏度下依次加入四溴化碳 (11.70 g, 35.28 mmol) 和三苯基磷 (9.30 g, 35.46 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温反应 2 小时。LCMS 显示反应结束后, 浓缩反应液, 正相纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=10: 1), 得到化合物 **60-4** (5.56 g, 收率 85.98%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.35 (t, $J = 1.9$ Hz, 1H), 8.15 (ddd, $J = 8.2, 2.2, 0.9$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.51 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 5.34 (s, 1H), 3.76 (s, 3H).

步骤 D: 将化合物 **60-4** (5.06 g, 18.46 mmol) 加入 500 mL 单口瓶中, 加入乙醇 (150 mL), 依次加入巯基乙胺盐酸盐 (2.11 g, 18.57 mmol) 和碳酸钾 (2.56 g, 18.55 mmol), 反应体系在氮气保护下, 85 摄氏度反应 10 小时。LCMS 显示反应结束后, 浓缩反应液, 向体系中加入石油醚打浆, 过滤并收集滤饼得到化合物 **60-5** (2.06 g, 收率 46.83%)。

LCMS (ESI) M/Z : 239.1 $[M+H]^+$.

步骤 E: 将化合物 **60-5** (0.5 g, 2.10 mmol) 加入 100 mL 单口瓶中, 加入干燥四氢呋喃 (10 mL), 在 0 摄氏度下加入硼烷二甲硫醚络合物 (6.2 mL, 1 M in THF), 反应体系在氮气保护下, 70 摄氏度反应 2 小时, 反应结束后加入对甲苯磺酸一水合物 (0.40 g, 2.10 mmol), 并继续搅拌 1 小时。LCMS 显示反应结束后, 在 0 摄氏度下缓慢加入甲醇淬灭反应, 随后浓缩反应液, 粗品通过柱层析纯化 (乙腈/0.1% 甲酸水溶液) 得到化合物 **60-6** (0.319 g, 收率 67.78%), 再经手性拆分得到 **60-6-P1** (119 mg) 和 **60-6-P2** (129 mg)。拆分条件流动相: 超临界二氧化碳和 0.1% 氨的甲醇溶液; 流速: 140 mL/分钟; 梯度: 保持 0.1% 氨的甲醇溶液为 30%; 检测波长: 214 nm; 循环时间: 8 min。

化合物 **60-6-P1** 保留时间 $R_t = 6.5-9$ min; 化合物 **60-6-P2** 保留时间 $R_t = 9.8-14$ min。

LCMS (ESI) M/Z : 225.1 $[M+H]^+$.

步骤 F: 将化合物 **60-6-P1** (50 mg, 0.22 mmol) 加入 25 mL 单口瓶中, 加入干燥二氯甲烷 (5 mL), 再依次加入化合物 **1-6** (200 mg, 0.33 mmol)、HATU (170 mg, 0.447 mmol) 和 N,N -二异丙基乙胺 (86 mg, 0.67 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温反应 2 小时。反应完成后, 过滤, 滤液通过柱层析纯化 (乙腈/0.1% 甲酸水溶液) 得到化合物 **60-7-P1** (150 mg, 收率 83.57%)。

类似地, 化合物 **60-6-P2** (20 mg, 0.089 mmol) 通过同样条件得到化合物 **60-7-P2** (75 mg, 收率 86.57%)。

LCMS (ESI) M/Z : 805.9 $[M+H]^+$.

步骤 G: 将化合物 **60-7-P1** (150 mg, 0.19 mmol) 和四羟基二硼 (89 mg, 0.99 mmol) 加入 25 mL 单口瓶中, 加入干燥 N,N -二甲基甲酰胺 (5 mL), 再加入 4,4'-联吡啶 (19 mg, 0.12 mmol) 反应体系在氮气保护下, 室温反应 5 分钟。LCMS 监测反应完成后, 加入少量甲醇助溶, 通过柱层析纯化 (乙腈/0.1% 甲酸水溶液) 得到化合物 **60-P1** (73 mg, 收率 50.55%)。

LCMS (ESI) M/Z : 775.5 $[M+H]^+$.

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.97 – 8.79 (m, 1H), 7.19 – 7.03 (m, 1H), 6.83 – 6.59 (m, 3H), 4.79 – 4.53 (m, 3H), 4.44 – 4.24 (m, 2H), 3.93 – 3.79 (m, 6H), 3.74 – 3.63 (m, 4H), 3.62 – 3.50 (m, 3H), 3.36 – 3.28 (m, 4H), 3.22 – 3.15 (m, 4H), 3.12 – 3.07 (m, 1H), 3.04 – 2.97 (m, 2H), 2.78 – 2.76 (m, 3H), 2.74 (s, 3H), 2.36 – 2.20 (m, 2H), 2.08 – 1.98 (m, 1H), 1.96 – 1.84 (m, 3H), 1.80 – 1.64 (m, 3H), 1.35 – 1.16 (m, 1H), 1.14 – 1.05 (m, 2H), 0.97 – 0.93 (m, 6H), 0.90 – 0.81 (m, 8H), 0.79 – 0.74 (m, 4H).

类似地, 化合物 **60-7-P2** (75 mg, 0.09 mmol) 通过同样条件得到化合物 **60-P2** (35 mg, 收率 52.75%)。

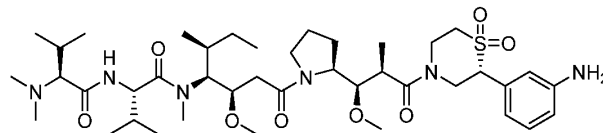
LCMS (ESI) M/Z : 775.6 $[M+H]^+$.

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.11 – 7.87 (m, 1H), 7.07 – 6.88 (m, 1H), 6.63 – 6.41 (m, 3H), 5.20 – 5.01 (m, 2H), 4.79 – 4.42 (m, 3H), 4.33 – 4.14 (m, 1H), 4.06 – 3.91 (m, 2H), 3.80 – 3.54 (m, 5H), 3.27 – 3.19 (m, 5H), 3.15 – 3.07 (m, 3H), 3.00 (s, 2H), 2.92 – 2.76 (m, 2H), 2.71 – 2.59 (m, 3H), 2.46 – 2.39 (m, 1H), 2.20 (s, 6H), 1.98 – 1.74 (m, 6H), 1.24 (s, 1H), 1.22 – 1.03 (m, 3H), 0.94 – 0.83 (m, 12H), 0.79 – 0.66 (m, 8H).

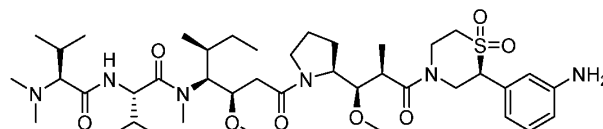
实施例 61

(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(R)-2-(3-氨基苯基)-1,1-二氧化物硫代吗啉代)-1-甲氧基-2-甲

基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-(S)-2-(二甲氨基)-3-甲基丁酰胺)-N,3-二甲基丁酰胺(化合物 61-P1 或化合物 61-P2)和(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(S)-2-(3-氨基苯基)-1,1-二氧化物硫代吗啉代)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基)吡咯烷-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-氧代庚烷-4-基)-2-(S)-2-(二甲氨基)-3-甲基丁酰胺)-N,3-二甲基丁酰胺(化合物 61-P2 或化合物 61-P1)的制备。



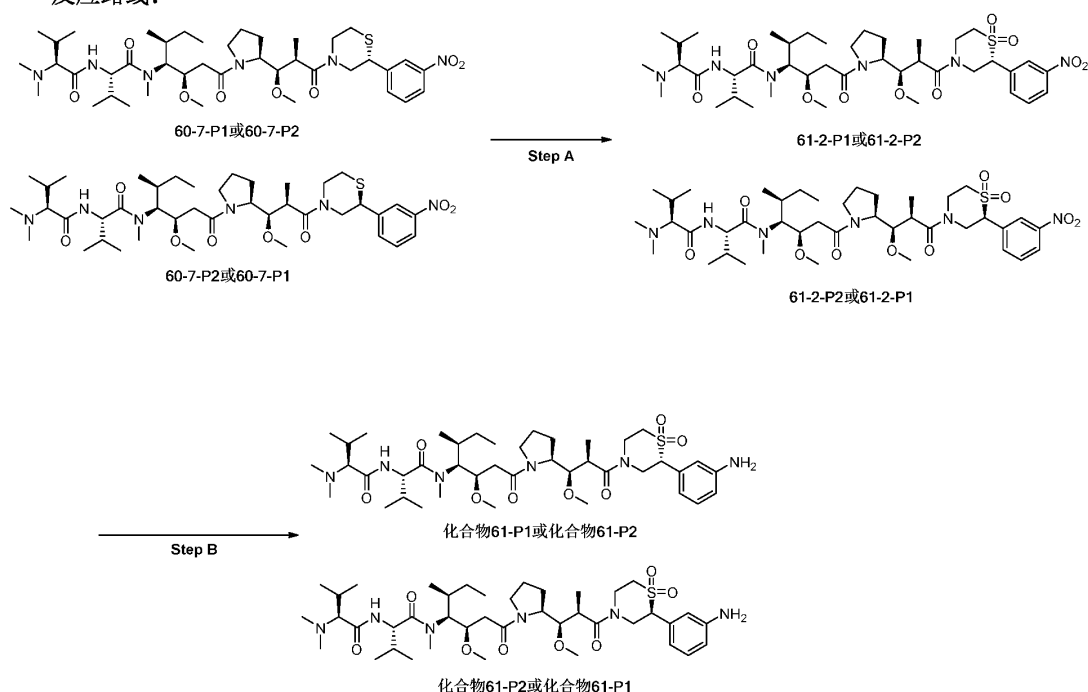
化合物61-P1或化合物61-P2



化合物61-P2或化合物61-P1

5

反应路线:



操作步骤:

步骤 A: 将化合物 60-7-P1 (50 mg, 0.22 mmol) 加入 25 mL 单口瓶中, 加入 2-甲基四氢呋喃/水 (2:1=2 mL/0.5 mL), 再加入过氧单磺酸钾 (273 mg, 0.446 mmol), 反应体系在氮气保护下, 室温反应 2 小时。反应完成后, 过滤, 滤液通过柱层析纯化 (乙腈/0.1%甲酸水溶液) 得到化合物 61-2-P1 (40 mg, 收率 80.26%)。

类似地, 化合物 60-7-P2 (50 mg, 0.22 mmol) 通过同样条件得到化合物 61-2-P2 (40 mg, 收率 80.26%)。LCMS (ESI) M/Z: 837.3 [M+H⁺].

步骤 B: 将化合物 61-2-P1 (40 mg, 0.062 mmol) 和四羟基二硼 (25 mg, 0.227 mmol) 加入 25 mL 单口瓶中, 加入干燥 N,N-二甲基甲酰胺 (2 mL), 再加入 4,4'-联吡啶 (8 mg, 0.40 mmol) 反应体系在氮气保护下, 室温反应 5 分钟。LCMS 监测反应完成后, 加入少量甲醇助溶, 通过柱层析纯化 (乙腈/0.1%甲酸水溶液) 得到化合物 61-P1 (25 mg, 收率 60.31%)。

LCMS (ESI) M/Z: 807.6 [M+H⁺].

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.98 – 8.75 (m, 1H), 7.19 – 7.04 (m, 1H), 6.80 – 6.57 (m, 3H), 4.85 – 4.66 (m, 2H), 4.60 – 4.47 (m, 2H), 4.45 – 4.30 (m, 2H), 4.27 – 4.18 (m, 2H), 4.06 – 4.03 (m, 1H), 3.98 – 3.93 (m, 2H), 3.64 – 3.59 (m, 2H), 3.34 – 3.30 (m, 3H), 3.28 – 3.24 (m, 2H), 3.21 – 3.16 (m, 3H), 3.02 – 2.96 (m, 3H), 2.78 – 2.68 (m, 6H), 2.36 – 2.12 (m, 3H), 2.05 – 1.63 (m, 8H), 1.31 – 1.22 (m, 1H), 1.18 – 1.05 (m, 3H), 0.97 – 0.84 (m, 12H), 0.81 – 0.68 (m, 8H).

类似地, 化合物 **61-2-P2** (40 mg, 0.062 mmol) 通过同样条件得到化合物 **61-P2** (25 mg, 收率 60.31%)。

LCMS (ESI) M/Z: 807.6 [M+H⁺].

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.97 – 8.77 (m, 1H), 7.17 – 7.02 (m, 1H), 6.76 – 6.56 (m, 3H), 4.87 – 4.52 (m, 4H), 4.43 – 4.20 (m, 4H), 4.07 – 3.94 (m, 5H), 3.35 – 3.30 (m, 3H), 3.24 – 3.20 (m, 3H), 3.16 – 3.11 (m, 2H), 3.06 – 2.99 (m, 3H), 2.79 – 2.73 (m, 5H), 2.46 – 2.40 (m, 1H), 2.35 – 2.17 (m, 3H), 2.07 – 1.66 (m, 8H), 1.23 – 1.18 (m, 1H), 1.14 – 1.04 (m, 3H), 1.00 – 0.83 (m, 16H), 0.80 – 0.73 (m, 4H).

曲妥珠抗体(Trastuzumab)购买自: 三优生物医药(上海)有限公司, 抗体序列如下:

轻链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 1 所示:

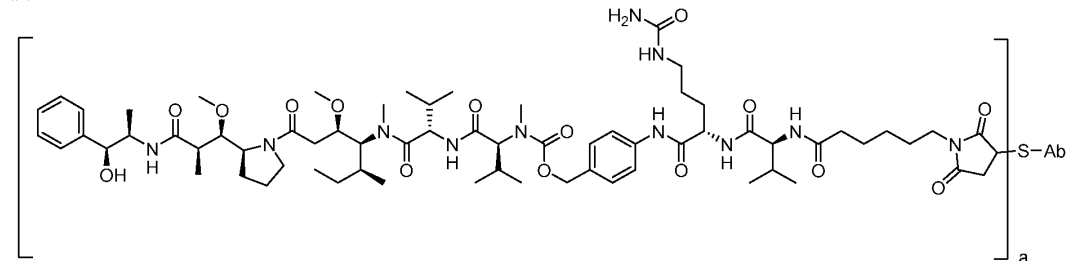
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPS
RFGSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQHQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLT
LSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 2 所示:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRY
ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

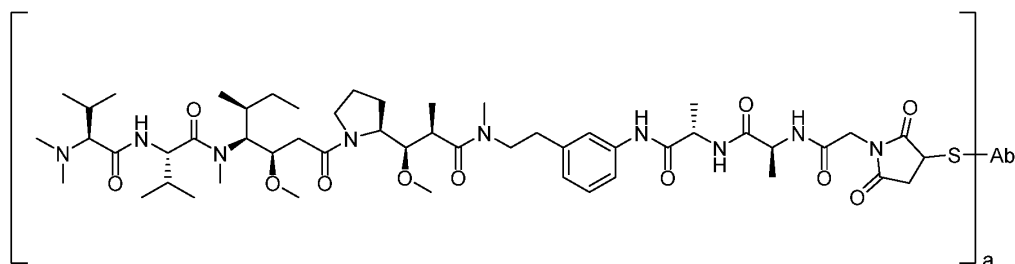
本发明载荷-linker 偶联物与曲妥珠抗体偶联方法如下:

偶联实施例 1: ADC-1



将曲妥珠抗体通过脱盐层析或者超滤换液置换至 pH 7.0 的 10 mM 的磷酸盐缓冲液中。使用 UV 方法, 测定抗体浓度。向抗体溶液 (10 mg/mL, 3 mL) 中加入 10 mM TCEP 溶液 (3.2 当量), 混匀后于 8°C 还原 3.5 小时。随后加入 10 mM mc-vc-PAB-MMAE (MCE, 货号: HY-15575) 的二甲基亚砜溶液 (6.5 当量), 混匀后 8°C 反应 2.0 小时。偶联反应完成后, 按照 20:1 (淬灭剂: 抗体) 的淬灭比, 添加 100 mM N-乙酰-半胱氨酸 (Merck, 货号: 1009005) 溶液, 摇匀后于室温淬灭 30 min 以终止偶联反应。将反应液用 Sephadex G25 凝胶柱脱盐纯化(洗脱相: pH 为 5.5 的含 0.02 M 的 His-HAc 溶液), 超滤浓缩后, 通过 0.2 μm 滤器过滤后获得 ADC-1 的 PBS 缓冲液 (12.13 mg/mL, 2.2 mL), 于 4°C 冷冻储存。RP-HPLC 计算每个抗体分子连接毒素量(DAR)平均值: a=4.14, SEC 纯度为: 98.8%。

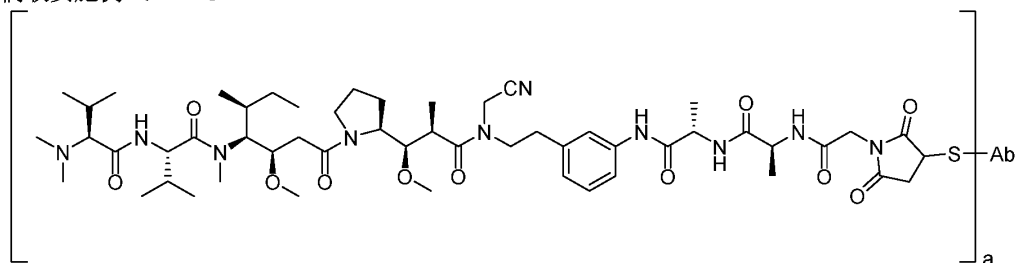
偶联实施例 2: ADC-2



参考专利 WO2023081230A1 的化合物 28 的方法合成参照连接子-载荷。

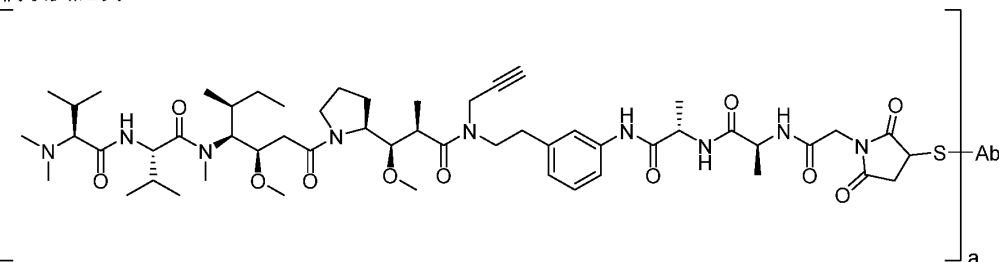
将曲妥珠抗体通过脱盐层析或者超滤换液置换至 pH 7.0 的 10 mM 的磷酸盐缓冲液中。使用 UV 方法，测定抗体浓度。向抗体溶液（10 mg/mL，3 mL）中加入 10 mM TCEP 溶液（10 当量），混匀后于 37°C 还原 3 小时。随后加入 10 mM 上述参照连接子-载荷的二甲基亚砷溶液（20 当量），混匀后 25°C 反应 2.5 小时。偶联反应完成后，用 Sephadex G25 凝胶柱脱盐纯化(洗脱相：pH 为 5.5 的含 0.02 M 的 His-HAc 溶液)，超滤浓缩后，通过 0.2 μ m 滤器过滤后获得 ADC-2 的 PBS 缓冲液(11.62 mg/mL，2.5 mL)，于 4°C 冷冻储存。RP-HPLC 计算每个抗体分子连接毒素量(DAR)平均值：a=7.78，SEC 纯度为：99.3%。

偶联实施例 3：ADC-3



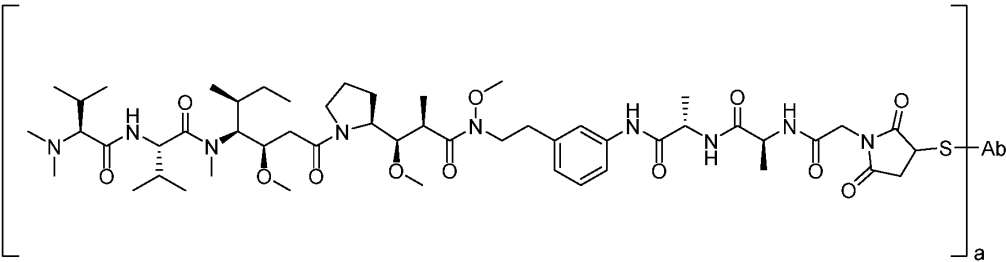
将曲妥珠抗体通过脱盐层析或者超滤换液置换至 pH 7.0 的 10 mM 的磷酸盐缓冲液中。使用 UV 方法，测定抗体浓度。向抗体溶液（10 mg/mL，3 mL）中加入 10 mM TCEP 溶液（10 当量），混匀后于 37°C 还原 3 小时。随后加入 10 mM 化合物 46 的二甲基亚砷溶液（20 当量），混匀后 25°C 反应 2.5 小时。偶联反应完成后，用 Sephadex G25 凝胶柱脱盐纯化(洗脱相：pH 为 5.5 的含 0.02 M 的 His-HAc 溶液)，超滤浓缩后，通过 0.2 μ m 滤器过滤后获得 ADC-3 的 PBS 缓冲液(15.3 mg/mL，1.7 mL)，于 4°C 冷冻储存。RP-HPLC 计算每个抗体分子连接毒素量(DAR)平均值：a=7.82，SEC 纯度为：99.0%。

偶联实施例 4：ADC-4



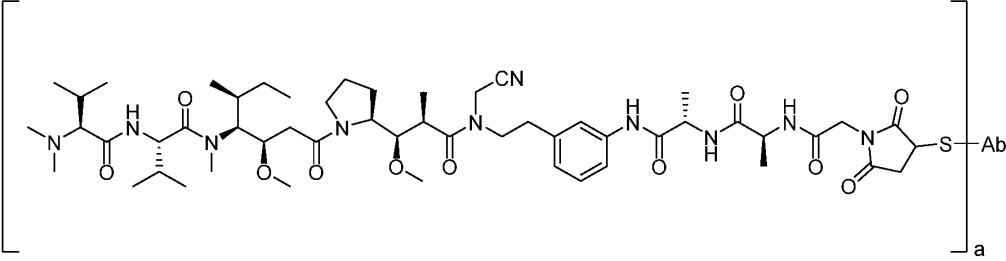
将曲妥珠抗体通过脱盐层析或者超滤换液置换至 pH 7.0 的 10 mM 的磷酸盐缓冲液中。使用 UV 方法，测定抗体浓度。向抗体溶液（10 mg/mL，3 mL）中加入 10 mM TCEP 溶液（10 当量），混匀后于 37°C 还原 3 小时。随后加入 10 mM 化合物 37 的二甲基亚砷溶液（20 当量），混匀后 25°C 反应 2.5 小时。偶联反应完成后，用 Sephadex G25 凝胶柱脱盐纯化(洗脱相：pH 为 5.5 的含 0.02 M 的 His-HAc 溶液)，超滤浓缩后，通过 0.2 μ m 滤器过滤后获得 ADC-4 的 PBS 缓冲液(4.67 mg/mL，6.2 mL)，于 4°C 冷冻储存。RP-HPLC 计算每个抗体分子连接毒素量(DAR)平均值：a=7.78，SEC 纯度为：99.2%。

偶联实施例 5：ADC-5



将曲妥珠抗体通过脱盐层析或者超滤换液置换至 pH 7.0 的 10 mM 的磷酸盐缓冲液中。使用 UV 方法，测定抗体浓度。向抗体溶液（10 mg/mL，3 mL）中加入 10 mM TCEP 溶液（10 当量），混匀后于 37°C 还原 3 小时。随后加入 10 mM 化合物 40 的二甲基亚砜溶液（20 当量），混匀后 25°C 反应 2.5 小时。偶联反应完成后，用 Sephadex G25 凝胶柱脱盐纯化(洗脱相：pH 为 5.5 的含 0.02 M 的 His-HAc 溶液)，超滤浓缩后，通过 0.2 μm 滤器过滤后获得 ADC-5 的 PBS 缓冲液(12.67 mg/mL，2.2 mL)，于 4°C 冷冻储存。RP-HPLC 计算每个抗体分子连接毒素量(DAR)平均值：a=7.65，SEC 纯度为：98.8%。

偶联实施例 6：ADC-6



将曲妥珠抗体通过脱盐层析或者超滤换液置换至 pH 7.0 的 10 mM 的磷酸盐缓冲液中。使用 UV 方法，测定抗体浓度。向抗体溶液（10 mg/mL，3 mL）中加入 10 mM TCEP 溶液（3.0 当量），混匀后于 8°C 还原 3.5 小时。随后加入 10 mM 化合物 46 的二甲基亚砜溶液（6 当量），混匀后 8°C 反应 2 小时。偶联反应完成后，将反应液用 Sephadex G25 凝胶柱脱盐纯化(洗脱相：pH 为 5.5 的含 0.02M 的 His-HAc 溶液)，通过 0.2 μm 滤器过滤后获得 ADC-6 的 PBS 缓冲液(4.52 mg/mL，5.6 mL)，于 4°C 冷冻储存。RP-HPLC 计算每个抗体分子连接毒素量(DAR)平均值：a=4.34，SEC 纯度为：98.8%。

生物测试例 1：化合物的细胞毒性试验

96 孔透明平底白板（Corning，#3610）

RPMI1640 培养基（Gibco，#A10491-01）

20 Fetal Bovine Serum（Sigma-Aldrich，#F8687-500ML）

CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay（Promega，# G7572/G7571）

实验方法：

人胃癌细胞 NCI-N87（ATCC，货号：CRL-5822），人乳腺癌细胞 MDA-MB-468（中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库，货号：TCHu136），人乳腺癌细胞 KPL-4（南京科佰生物科技有限公司，货号：CBP60379），用 PBS 洗涤后，用 0.25% Trypsin-EDTA 胰酶消化细胞约 3-10 分钟，用完全细胞培养基终止消化，1000 rpm 离心细胞 5 分钟，弃上清，完全细胞培养基重悬细胞，用细胞计数仪计数，调整细胞至所需密度，每孔加入 90.0 μL 细胞悬液，3000 细胞/孔，将细胞板放于 37°C，5% CO₂ 细胞培养箱中孵育过夜。

30 实验中分别设置 DMSO 对照组和供试品组，将细胞板从培养箱中取出观察细胞贴壁状态，待细胞贴壁后每孔加入 10.00 μL 样品（以终浓度 10 μM 起始，5 倍稀释，9 个浓度），轻轻摇匀后放入培养箱中孵育。

孵育 3 天后，加入 100.0 μL/孔 CellTiter-Glo™（Promega，货号：G7572/G7571）工作液，恒温震荡仪震荡以裂解细胞，10 min 后于酶标仪上读板。

细胞增殖抑制率计算公式：细胞增殖抑制率=（1-RLU_{供试品孔}/RLU_{DMSO 对照孔}）×100%。

数据分析：使用 GraphPad Prism 8.0 软件，以样品浓度的 Log 值为横坐标，以 Inhibition%为纵坐标作图，并对数据进行 Nonlinear regression (curve fit)分析，获得各供试品的 IC₅₀ 值。

表 1. 本发明化合物对细胞增殖的抑制活性

实施例化合物	KPL-4/IC ₅₀ (nM)	NCI-87/IC ₅₀ (nM)	MDA-MD-468/IC ₅₀ (nM)
1	0.41	0.74	0.63
2	0.21	0.51	0.36
3	18.9	38.39	25.13
4	5.26	14.66	6.12
5	3.56	4.28	8.81
6	2.96	3.93	12.61
7	0.45	0.89	13.40
8	0.14	0.66	0.56
9	0.74	3.84	3.34
10	1.25	3.35	1.97
11	0.10	0.15	3.00
12	1.42	4.05	11.79
13	0.18	0.58	0.56
14	1.13	5.13	3.82
15	2.00	11.30	2.74
16	0.91	3.72	3.18
17	<0.0256	<0.0256	<0.0256
18	<0.0256	<0.0256	<0.0256
19	<0.0256	<0.0256	<0.0256
20	<0.0256	0.21	0.12
21	<0.0256	<0.0256	<0.0256

22	0.37	3.85	0.34
24	<0.0256	<0.0256	<0.0256
25	<0.0256	<0.0256	<0.0256
27	0.50	7.10	4.58
28	<0.0256	3.33	3.25
29	<0.0256	3.73	3.17
30	2.42	5.62	0.72
31	<0.0256	<0.0256	0.11
32	<0.0256	<0.0256	<0.0256
45	0.65	2.21	NT
48	2.06	4.73	NT
51	6.03	16.06	NT
60-P1	5.81	9.63	8.02
60-P2	0.6	0.71	1.01
61-P1	49.53	93.94	34.63
61-P2	24.27	56.3	13.32

备注：NT 代表未测试。
结论：本公开化合物对 KPL-4、NCI-87 及 MDA-MD-468 细胞增殖具有较强的抑制作用。

生物测试例 2：化合物的血液毒性

5 实验目的：考察细胞毒药物对 CD34⁺造血干/祖细胞向巨核系分化发育的影响，以评估其致血小板减少的潜在血液毒性。

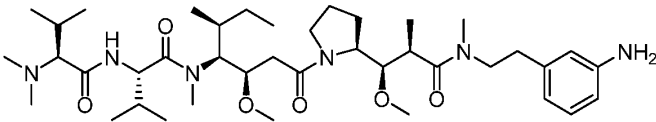
10 试验设计：骨髓动员外周血来源的 HSC 复苏后，以 2000 个/孔/180 μL 接种于超低吸附 96 孔圆底板，稳定 4 h，以最高剂量 1 μM 进行 5 倍梯度稀释，共 9 个浓度点进行加药处理，持续作用 10 days；应用 CTG 试剂（CellTiter-Glo 发光法细胞活力检测试剂盒，厂家：Promega，货号：G7571）对细胞活力进行检测。

表 2 细胞毒药物的血液毒性测试结果

编号	CD34 ⁺ /IC ₅₀ (nM)
实施例 6	3.962
实施例 7	0.144
实施例 45	0.235

WO2023081230A1 化合物 1	0.017
-------------------------	-------

对照化合物结构如下：



WO2023081230A1化合物1

5 结论：与 WO2023081230A1 化合物 1 相比，本公开化合物对 CD34⁺细胞的抑制作用较弱，说明其潜在的血液毒性较低。

生物测试例 3：体外血浆稳定性

实验目的：检测本公开的 HER2-ADC 药物在体外各种属血浆中的稳定性。

10 实验方法：在无菌环境中，将 ADC 样品、健康人血浆（齐鲁制药职工医院-科室同事捐献）、SD 大鼠血浆（山东欣博药物研究有限公司）、CD1 小鼠血浆（北京汇智泰康医药技术有限公司）分别用 0.22 μm 的过滤器过滤除菌。使用不同种属的血浆将药物原液稀释至 100 μg/mL，置于 37°C 细胞培养箱中孵育，将孵育当天记为第 0 天，随后在第 21 天取出样品，进行游离毒素检测。

15 **游离毒素检测方法：**将配制完成的生物样品或者未知浓度的生物样品（50 μL），加入 300 μL 的含内标乙腈溶液（内标：0.1 ng/mL 阿瑞匹坦），涡旋混匀 5 min，4000 rpm 低温（4°C）离心 10 min，取上清液 100 μL 至 100 μL 含 0.2%甲酸的水溶液中，涡旋 3 min，转至 96 孔进样板上进行 LC-MS/MS 分析（岛津 Exion LC-AB Triple Quad®5500+）。本公开实施例 Her2-ADC 化合物在血浆中的游离毒素的释放率见表 3。

20 **DAR 值检测方法：**人血浆样本使用 human her2 protein beads 捕获，分别加入 PBST（EZ-Buffers E 10X PBST Buffer，厂家：生工，货号：C520004-0500）后 1000 rpm 震荡孵育 1 h，依次使用 200 μL 的 PBST、PBS（pH7.4，厂家：源培，货号：B320KJ）、超纯水、10%乙腈清洗后，再用 100 μL 20%乙腈（含 0.5%甲酸）洗脱 5 min，取出全部上清液，加入 20 μL 的 100 mM 的 TCEP（厂家：西格玛，货号：C4706-2G）室温 1000 rpm 震荡反应 1 h，后上样分析（QTOF-MS），体外人血浆的 DAR 值丢失率测试结果见表 4。

表 3 ADC 的体外血浆稳定性试验结果

实施例编号	第 21 天 ADC 样品的游离毒素释放率（%）		
	人血浆	大鼠血浆	小鼠血浆
ADC-1	0.76%	3.13%	25.05%
ADC-2	0.12%	0.87%	1.36%
ADC-3	0.14%	0.41%	1.05%
ADC-4	0.34%	1.11%	1.25%
ADC-5	0.27%	0.02%	1.34%

25 从表 3 可以看出，本公开 ADC 的体外血浆稳定性优于对照组 ADC-1，各种属游离毒素脱落率均低于 2%。

表 4 ADC 的体外人血浆中的 DAR 值丢失率

实施例编号	人血浆中 DAR 值下降率（%）			
	3 天	7 天	14 天	21 天
ADC-1	59.8%	64.8%	68.0%	80.4%
ADC-2	5.3%	6.1%	7.1%	8.1%
ADC-3	0	0	0	0

30 从表 4 可以看出，本公开 ADC-3 在人血浆中 DAR 值没有下降，说明其细胞毒药物-连接体的稳定性优于其他 ADC。

生物测试例 4：ADC 的血液毒性

实验目的：考察 ADC 分子对 CD34⁺造血干/祖细胞向巨核系分化发育的影响，以评估其致血小板减少的潜在血液毒性。

5 试验设计：骨髓动员外周血来源的 HSC 复苏后，以 2000 个/孔/180 μL 接种于超低吸附 96 孔圆底板，稳定 4 h，以最高剂量 1 μM 进行 3 倍梯度稀释，共 9 个浓度点进行加药处理，持续作用 10 days；应用 CTG 试剂对细胞活力进行检测，实验结果见表 5。

表 5 ADC 的血液毒性测试结果

编号	CD34 ⁺ /IC ₅₀ (nM)
ADC-4	423.7
ADC-2	135.8
ADC-3	346.7
ADC-1	96.61

10 结论：本公开 ADC 对 CD34⁺细胞的抑制作用较弱，其血液毒性较低，具有潜在的降低血液不良反应的有益效果。

生物测试例 5：体外神经毒性评估

实验目的：考察 ADC 对小鼠背根神经节细胞的抑制作用；

实验设计：小鼠背根神经节（武汉普诺赛）复苏后，约 7500 个/孔接种于 96 孔板中，剂量 200 nM，持续作用 5 天；应用 CTG 试剂对细胞活力进行检测，试验结果见表 6。

15 表 6 ADC 对小鼠背根神经节细胞的抑制率

实施例编号	DRG Neuron 抑制率(%)@200nM
ADC-1	46.74
ADC-3	22.81
ADC-5	28.90
ADC-4	3.84
ADC-6	5.14

结论：相同浓度下，本公开 ADC 对小鼠神经节的抑制作用显著弱于 ADC-1 对照组，安全性更高。

生物测试例6：体外旁观者效应

20 旁观者效应指的是在抗原表达的细胞存在情况下，ADC 对抗原低表达或不表达细胞表现出额外的杀伤能力。该实验目的是为了评估本发明中的 ADC 药物的体外旁观者效应。

本试验采用的方法为介质转移法。

25 Her2 阳性细胞种板：收集 SKBR3 细胞（中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心），1000 rpm 离心 5 min，弃掉上清，分别用 1-2 mL 完全培养基（完全培养基 DMEM+10%FBS）重悬细胞。细胞悬液与台盼蓝染液等体积混合，利用 Countstar 计数仪对细胞进行计数，用完全培养基将细胞密度调整为 5×10⁴ 个/mL。按照“样品布局”，调整后的细胞以 100.0 μL/孔加入至相对应的 96 孔板中，培养过夜。采用 PBS 封板边，200 μL/孔。

与 Her2 阳性细胞共孵育 6 天：采用完全培养基将供试品稀释成 2×的工作液，起始浓度为 100 nM，3 倍梯度，10 个浓度。将配制好的供试品，以 100.0 μL/孔加入至相对应的 96 孔板中，给药完毕后，轻拍培养板混匀。将 96 孔板放置在培养箱中孵育 6 d。

30 Her2 阴性细胞种板：收集 MDA-MB-468 细胞，1000 rpm 离心 5 min，弃掉上清，分别用 1-2 ml 完全培养基（完全培养基：RPMI1640+10%FBS）重悬细胞。细胞悬液与台盼蓝染液等体积混合，利用 Countstar 计数仪对细胞进行计数，用完全培养基将细胞密度调整为 2×10⁴ 个/mL。按照“样品布局”，调整后的细胞以 100.0 μL/孔加入至相对应的 96 孔板中，培养过夜；设置 MDA-MB-468 给药板（100 μL SKBR3 细胞上清液）。采用 PBS 封板边，200 μL/孔。

35 介质转移法：将 Her2 阳性细胞给药板中的上清转移至 MDA-MB-468 给药板中，每孔 100 μL。放置在培养箱中孵育 6 d。孵育结束后，取出 96 孔细胞培养板于室温静置 30 min；每孔加入 50.0 μL CellTiter-Glo 发光染料，于室温 200 rpm 微孔板恒温振荡器中震荡 10 min；以上操作需在避光条件下进行。

数据处理：本实验的数据使用了数据处理软件 GraphPad prism8.0。

表 7 ADC 的旁观者效应

细胞系	MDA-MB-468（旁观者效应）	
样品名称	IC ₅₀ （nM）	最大抑制率%
ADC-2	0.53	86.6
ADC-1	0.15	84.2
ADC-5	0.04	92.77

结论：从表7可以看出，ADC-5的旁观者效应强于对照ADC。

生物测试例7：受试物在NCI-N87人乳腺癌模型中的体内药效评价

5 以BALB/c nude小鼠为实验动物，评价本发明ADC以及对对照组ADC对NCI-N87移植瘤的体内药效。

雌性BALB/c nude小鼠，购买于北京维通利华实验动物技术有限公司，在SPF动物房适应性饲养7天，用于后续的研究。将NCI-N87细胞以 5×10^6 个/0.1 mL接种于裸鼠的右侧腋部皮下。当平均肿瘤体积达到150 mm³左右时，挑选66只肿瘤体积适中的入组，分为11组，每组6只。分组当天为接种细胞后的第10天，开始静脉注射给药，单次给药，其中Vehicle给予0.9%氯化钠注射液。每周2次测量肿瘤大小并称重。采用游标卡尺进行肿瘤长径和短径的测量，肿瘤体积（mm³）=0.5×长径×短径。抑瘤率(%)=(Crtv-Trtv)/Crtv(%), Crtv, Trtv分别为实验结束时的空白对照组(Vehicle, PBS)及实验组的相对肿瘤体积。

10 试验结果如表 8、图 1-图 2 所示，与 Vehicle 比较，各受试分子均可以显著抑制 NCI-N87 肿瘤生长。在低剂量组 1mpk 条件下，与 ADC-1 对照组比较，本发明 ADC-3 药效稍优，ADC-4 和 ADC-5 的药效与其基本相当。在高剂量组 4mpk 条件下，本发明 ADC-3 和 ADC-5 的抗肿瘤活性略优于 ADC-1 对照组。

15 各给药组小鼠体重均呈增加趋势，耐受良好。综上，本发明所述的药物具有良好的药效和安全性，具有极大研究应用价值。

表8 受试物的抗肿瘤药效的评价指标

组别	第 38 天肿瘤体积 ^a	抑瘤率(%) ^b
G1：空白对照组	1155.1±185.6	/
G2：ADC-3（1 mg/kg）	613.4±60.1	53.5
G3：ADC-3（4 mg/kg）	18.9±8.0	113.3
G4：ADC-5（1 mg/kg）	877.4±108.7	27.0
G5：ADC-5（4 mg/kg）	4.5±1.5	114.3
G6：ADC-1（1 mg/kg）	862.4±98.2	29.2
G7：ADC-1（4 mg/kg）	42.1±9.9	110.9

备注：a，平均值±标准误；

b，抑瘤率(%)=[1-(T₃₈-T₁₀)/(V₃₈-V₁₀)]×100%；

20 生物测试例 8：大鼠耐受性实验

实验方案：尾静脉注射，每隔 3 周一次，3 只雄性大鼠一组（SD 大鼠，SPF 级，购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司），给药剂量分别为：10mpk、20mpk、30mpk、40mpk、60mpk，观察大鼠体重变化，检测血常规和血生化指标；

临检观察：观察体重指标和死亡现象，记录异常指标。

表 9 各剂量组给药后大鼠体征变化

实施例编号	DAR 值	10mpk	20mpk	30mpk	40mpk	60mpk
ADC-4	8	无异常	无异常	无异常	无异常	无异常
ADC-3	8	无异常	无异常	无异常	无异常	无异常
ADC-2	8	无异常	生殖器周围脱毛， 睾丸肿胀	生殖器周围脱毛， 睾丸肿胀	生殖器周围脱毛， 睾丸肿胀	生殖器周围脱毛， 睾丸肿胀
ADC-1	4	无异常	无异常	体重下降 2%	D5，一只大鼠死亡，一只濒	D3，全部死亡

					死状态	
--	--	--	--	--	-----	--

结论：从表 9 可以看出，在 SD 大鼠模型中，ADC-1 对照组的最大耐受剂量为 30mpk，而其他组别耐受剂量高于 60mpk。相对于对照组 ADC-1 和 ADC-2，本发明 ADC-3 和 ADC-4 在各剂量下均未出现异常，安全性好；而对照组 ADC-1 和 ADC-2 在中高剂量下出现生殖毒性、体重下降或死亡现象。

5

表 10 10mpk 剂量下，健康大鼠和各给药组大鼠给药后第 4 天血常规数据

检项	单位	健康大鼠	ADC-2	ADC-4	ADC-3	ADC-1
白细胞数目	×10 ⁹ /L	11.04±2.38	9.07±1.92	12.26±1.71	10.32±1.56	5.96±0.52
中性粒细胞数目	×10 ⁹ /L	1.52±0.23	1.11±0.25	1.4±0.17	1.75±0.52	0.52±0.07
网织红细胞数目	K/μL	783.8±40.5	715.9±44.1	710.2±30.4	725.8±78.2	60.8±14.9
血小板	K/μL	803±127.7	809±22.7	915.7±50.6	789.3±104.6	911.7±57.4
淋巴细胞数目	×10 ⁹ /L	8.34±1.88	7.07±1.58	9.6±1.59	7.44±1.01	4.65±0.5
单核细胞数目	×10 ⁹ /L	1.06±0.4	0.76±0.14	1.12±0.05	0.93±0.23	0.75±0.02

结论：10mpk 剂量下，ADC-1 对照组在给药后第四天出现明显的白细胞数减少、中性粒细胞数减少、淋巴细胞数减少、单核细胞数减少和网织红细胞数减少现象，而本发明公开 ADC 未见血常规指标异常。白细胞中又分淋巴细胞、中性粒细胞、嗜酸细胞、嗜碱细胞、单核细胞等等，最重要的是淋巴细胞和中性粒细胞。白细胞减少说明该药物具有骨髓抑制作用，容易继发严重感染。网织红细胞计数反映骨髓造血功能的重要指标。网织红细胞减少表示骨髓造血功能减低，常见于再障、骨髓病性贫血。以上数据说明 10mpk 条件下，ADC-1 对照组表现出明显的血液毒性，而本发明公开 ADC 未见明显血液毒性。

10

表 11 40mpk 剂量下，健康大鼠和各给药组大鼠给药后第 4 天的肝功能

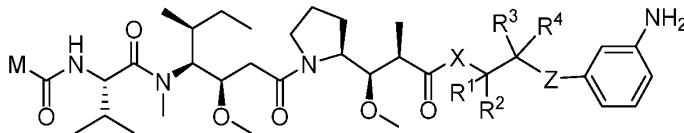
检项	单位	健康大鼠	ADC-2	ADC-4	ADC-3	ADC-1
谷丙转氨酶	U/L	37.8±5	31±11	39.1±5.3	33.2±5	235±118.6
谷草转氨酶	U/L	137±20.6	144.3±37.7	146.4±35.9	114.5±23.9	748.9±480.8

结论：40mpk 剂量下，ADC-1 对照组主要可见给药后谷丙转氨酶和谷草转氨酶升高，肝功能异常，具有潜在肝毒性；其它组别均未见这两个酶指标的异常。

15

权利要求书

1. 式(I)所示的细胞毒药物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐：



(I)

5 其中，M选自C₁₋₆烷基、C₃₋₆环烷基、3-8元杂环基；所述的C₁₋₆烷基、C₃₋₆环烷基、3-8元杂环基任选进一步被选自C₁₋₄烷基或NR^{m1}R^{m2}的取代基所取代，且所述的3-8元杂环基含有1-3个选自N、O或S的杂原子；

R^{m1}和R^{m2}各自独立选自H或C₁₋₄烷基；

10 X选自O或-N(R^{x1})-；

R^{x1}选自H、OH、C₁₋₄烷基、C₁₋₄烷氧基、C₂₋₄烯基、C₂₋₄炔基或C₃₋₆环烷基；所述的C₁₋₄烷基或C₃₋₆环烷基任选进一步被1-3个选自卤素、CN、氧或C₃₋₆环烷基的取代基所取代；

R³和R⁴各自独立地选自H或OH；

15 或者，X与R³及其相连的原子一起形成4-8元杂环，且所述的4-8元杂环含有1-3个选自N、O、S或S(O)₂的杂原子或基团；

或者，X与R⁴及其相连的原子一起形成4-8元杂环，且所述的4-8元杂环含有1-3个选自N、O、S或S(O)₂的杂原子或基团；

20 R¹和R²各自独立地选自H、OH、C₁₋₄烷基、C₂₋₄炔基、C₂₋₄烯基、C₃₋₆环烷基、3-8元杂环基、-COOR^{1a}或-CONR^{1b}R^{1c}；所述C₁₋₄烷基、C₂₋₄烯基、C₃₋₆环烷基、3-8元杂环基任选进一步被1-3个选自CN、OH、N₃、卤素、-COOR^{1a}、-CONR^{1b}R^{1c}或C₁₋₄烷基的取代基所取代，且所述的3-8元杂环基含有1-3个选自N、O或S的杂原子；

R^{1a}、R^{1b}和R^{1c}各自独立地选自H或C₁₋₄烷基；

或者，R¹、R²与其相连的碳原子一起形成C₃₋₆环烷基或3-8元杂环基；

25 Z选自化学键或-(CH₂)_n-，n选自1或2。

2. 根据权利要求1所述的细胞毒药物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐：

30 其中，M选自C₁₋₆烷基、C₃₋₆环烷基、3-8元杂环基；所述的C₁₋₆烷基、C₃₋₆环烷基、3-8元杂环基任选进一步被选自C₁₋₄烷基或NR^{m1}R^{m2}的取代基所取代，且所述的3-8元杂环基含有1-3个选自N、O或S的杂原子；

R^{m1}和R^{m2}各自独立选自H或C₁₋₄烷基；

X选自O或-N(R^{x1})-；

R^{x1}选自H、OH、C₁₋₄烷基、C₁₋₄烷氧基、C₂₋₄烯基或C₂₋₄炔基；所述的C₁₋₄烷基任选进一步被1-3个选自卤素或CN的取代基所取代；

35 R³和R⁴各自独立地选自H或OH；

或者，X与R³及其相连的原子一起形成4-8元杂环，且所述的4-8元杂环含有1-3个选自N、O、S或S(O)₂的杂原子或基团；

或者，X与R⁴及其相连的原子一起形成4-8元杂环，且所述的4-8元杂环含有1-3个选自N、O、S或S(O)₂的杂原子或基团；

40 R¹和R²各自独立地选自H、OH、C₁₋₄烷基、C₂₋₄炔基、C₂₋₄烯基、C₃₋₆环烷基、3-8元杂环基、-COOR^{1a}或-CONR^{1b}R^{1c}；所述C₁₋₄烷基、C₂₋₄烯基、C₃₋₆环烷基、3-8元杂环基任选进一步被1-3个选自CN、OH、N₃、卤素、-COOR^{1a}、-CONR^{1b}R^{1c}的取代基所取代，且所述的3-8元杂环基含有1-3个选自

N、O 或 S 的杂原子；

R^{1a} 、 R^{1b} 和 R^{1c} 各自独立地选自 H 或 C_{1-4} 烷基；

或者， R^1 、 R^2 与其相连的碳原子一起形成 C_{3-6} 环烷基或 3-8 元杂环基；

Z 选自化学键或 $-(CH_2)_n-$ ，n 选自 1 或 2。

5

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的细胞毒药物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐；

其中，M 选自 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、3-8 元杂环基；所述的 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、3-8 元杂环基任选进一步被选自 C_{1-4} 烷基或 $NR^{m1}R^{m2}$ 的取代基所取代，且所述的 3-8 元杂环基含有 1-3 个选自 N、O

10

或 S 的杂原子；

R^{m1} 和 R^{m2} 各自独立选自 H 或 C_{1-4} 烷基；

X 选自 O 或 $-N(R^{x1})-$ ；

R^{x1} 选自 H、OH、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{2-4} 烯基或 C_{2-4} 炔基；所述的 C_{1-4} 烷基任选进一步被 1-3 个选自卤素或 CN 的取代基所取代；

15

R^1 和 R^2 各自独立地选自 H、OH、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 炔基、 C_{2-4} 烯基、 C_{3-6} 环烷基、3-8 元杂环基、 $-COOR^{1a}$ 或 $-CONR^{1b}R^{1c}$ ；所述 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 烯基、 C_{3-6} 环烷基、3-8 元杂环基任选进一步被 1-3 个选自 CN、OH、 N_3 、卤素、 $-COOR^{1a}$ 、 $-CONR^{1b}R^{1c}$ 的取代基所取代，且所述的 3-8 元杂环基含有 1-3 个选自 N、O 或 S 的杂原子；

R^{1a} 、 R^{1b} 和 R^{1c} 各自独立地选自 H 或 C_{1-4} 烷基；

20

或者， R^1 、 R^2 与其相连的碳原子一起形成 C_{3-6} 环烷基或 3-8 元杂环基；

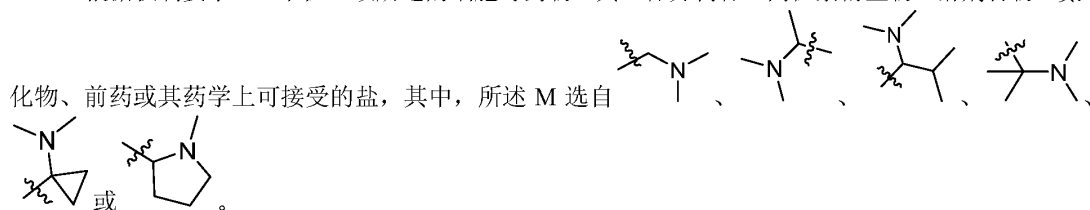
R^3 和 R^4 各自独立地选自 H 或 OH；

Z 选自化学键或 $-(CH_2)_n-$ ，n 选自 1 或 2。

4. 根据权利要求 1-3 中任一项所述的细胞毒药物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐，其中，所述 M 选自 C_{1-4} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、3-6 元杂环基；所述的 C_{1-4} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、3-6 元杂环基任选进一步被选自 C_{1-4} 烷基或 $NR^{m1}R^{m2}$ 的取代基所取代，且所述的 3-6 元杂环基含有 1-3 个选自 N、O 或 S 的杂原子； R^{m1} 和 R^{m2} 各自独立选自 H 或 C_{1-2} 烷基。

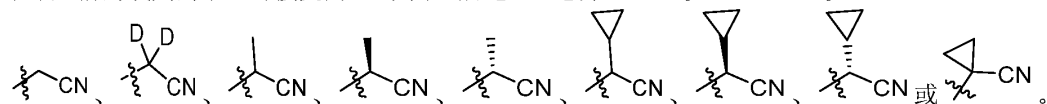
5. 根据权利要求 1-4 中任一项所述的细胞毒药物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐，其中，所述 M 选自

30

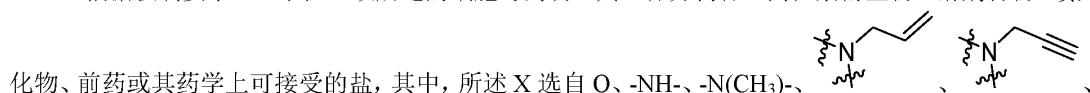


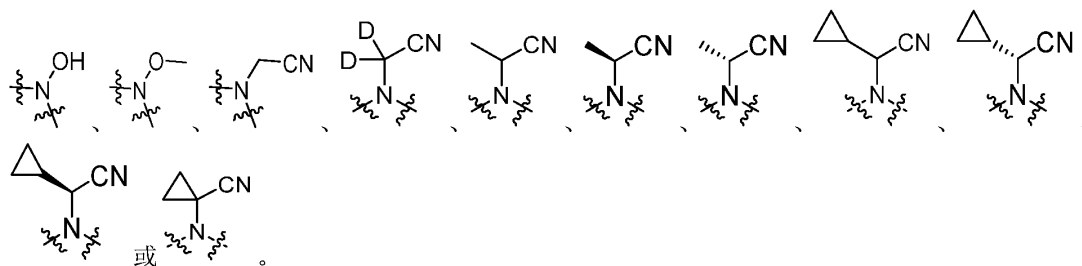
6. 根据权利要求 1-5 中任一项所述的细胞毒药物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐，其中，所述 R^{x1} 选自 H、 $-CH_3$ 、OH、 $-OCH_3$ 、 $-CH=CH_2$ 、 $-C\equiv CH$ 、

35

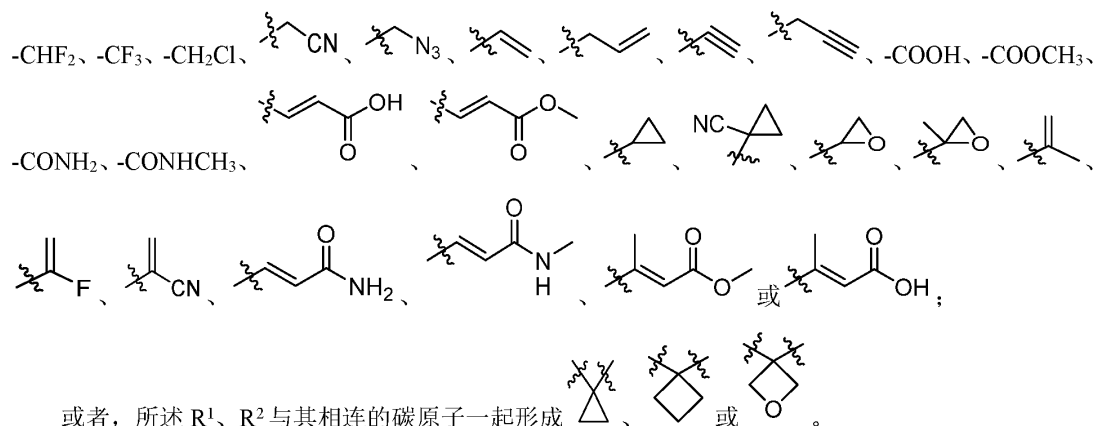


7. 根据权利要求 1-6 中任一项所述的细胞毒药物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐，其中，所述 X 选自 O、 $-NH-$ 、 $-N(CH_3)-$ 、 $-N(CH_2CH=CH_2)-$ 、 $-N(CH_2C\equiv CH)-$ 、





8. 根据权利要求 1-7 中任一项所述的细胞毒药物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐, 其中, 所述 R¹ 和 R² 各自独立地选自 H、-CH₃、-CH₂OH、-CH₂F、



或者, 所述 R¹、R² 与其相连的碳原子一起形成

10

9. 根据权利要求 1-8 中任一项所述的细胞毒药物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐, 其中, 所述 R³ 和 R⁴ 各自独立地选自 H 或 OH; 优选地, 所述 R³ 和 R⁴ 各自独立地为 H。

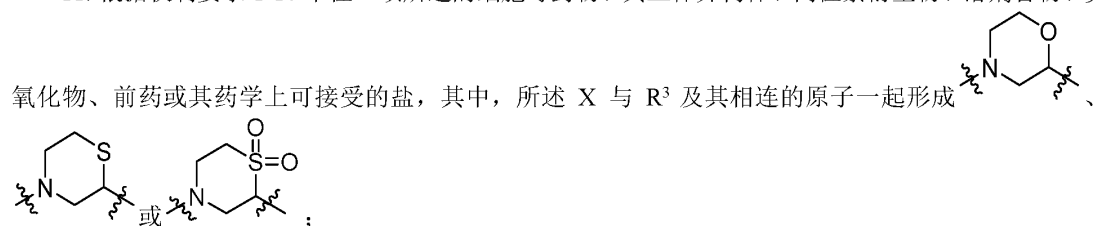
15

10. 根据权利要求 1-9 中任一项所述的细胞毒药物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐, 其中, 所述 X 与 R³ 及其相连的原子一起形成 5-6 元杂环, 且所述的 5-6 元杂环含有 1-3 个选自 N、O、S 或 S(O)₂ 的杂原子或基团;

或者, 所述 X 与 R⁴ 及其相连的原子一起形成 5-6 元杂环, 且所述的 5-6 元杂环含有 1-3 个选自 N、O、S 或 S(O)₂ 的杂原子或基团。

20

11. 根据权利要求 1-10 中任一项所述的细胞毒药物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮

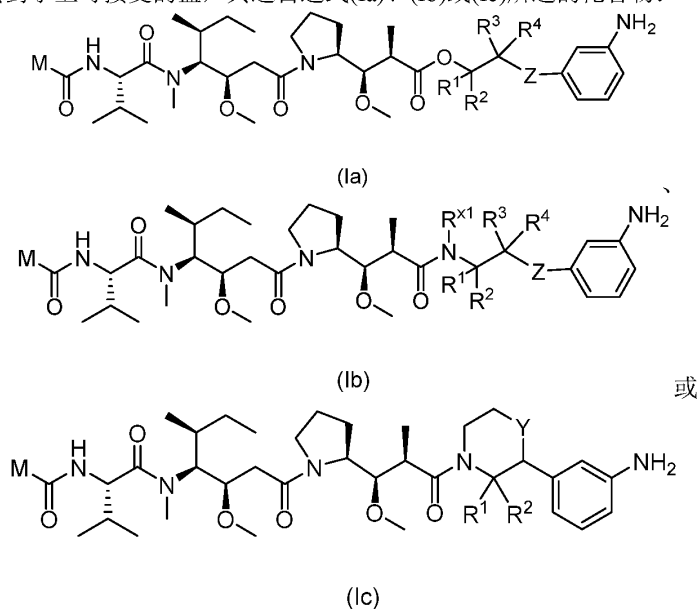


或者, 所述 X 与 R⁴ 及其相连的原子一起形成

25

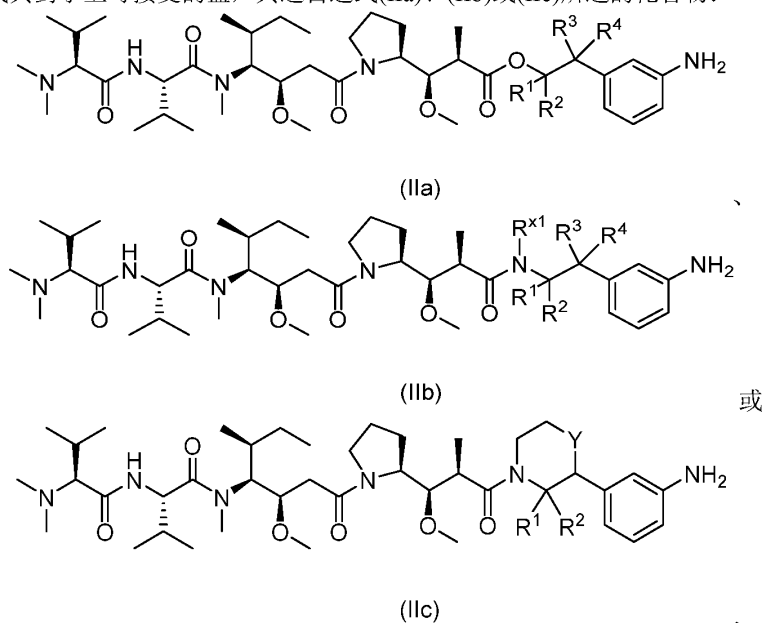
12. 根据权利要求 1-11 中任一项所述的细胞毒药物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐，其中，所述 Z 选自化学键或-CH₂-。

13. 根据权利要求 1-12 中任一项所述的细胞毒药物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐，其选自通式(Ia)、(Ib)或(Ic)所述的化合物：



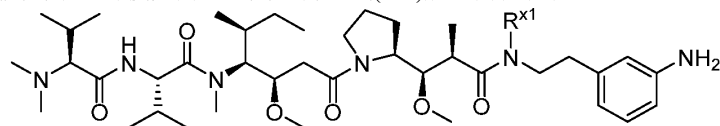
其中，Y 选自 O、S 或 S(O)₂，所述 M、R¹、R²、R³、R⁴、R^{x1} 和 Z 如权利要求 1-12 中任一项所定义。

14. 根据权利要求 1-13 中任一项所述的细胞毒药物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐，其选自通式(IIa)、(IIb)或(IIc)所述的化合物：



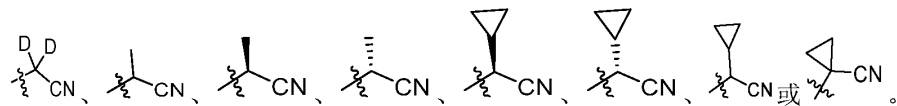
其中, Y 选自 O、S 或 S(O)₂, 所述 R¹、R²、R³、R⁴、R^{x1} 如权利要求 1-13 中任一项所定义。

15. 根据权利要求 1-14 中任一项所述的细胞毒药物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐, 其选自通式(IIIa)所述的化合物:

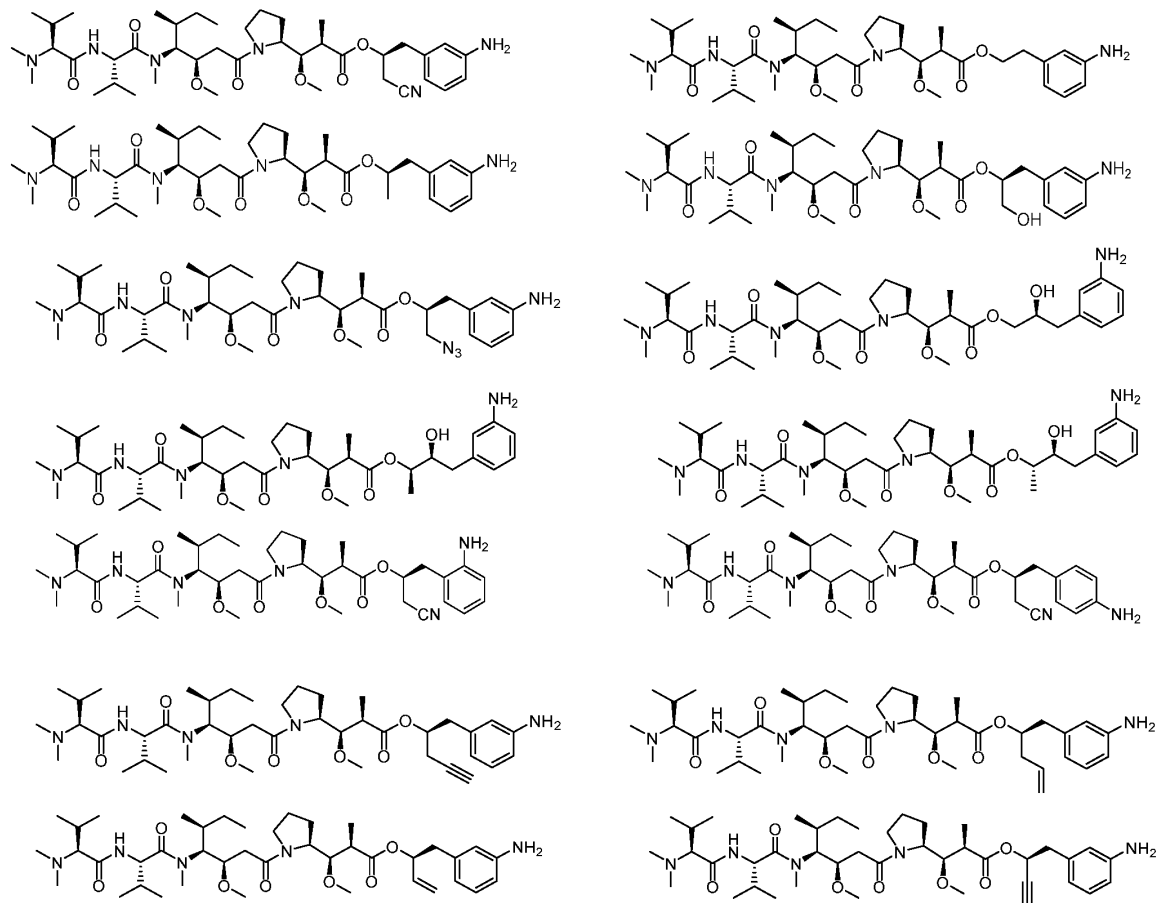


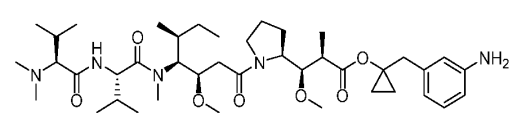
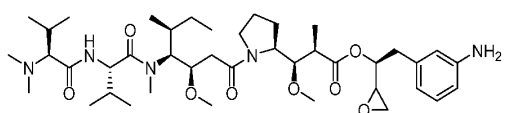
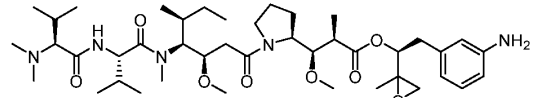
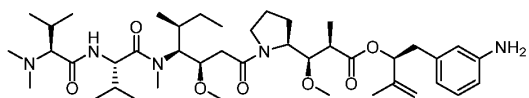
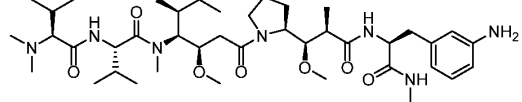
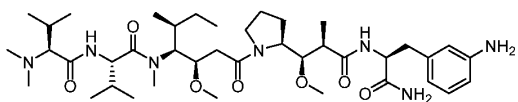
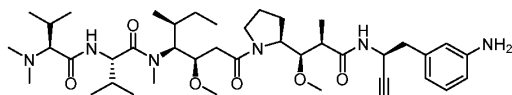
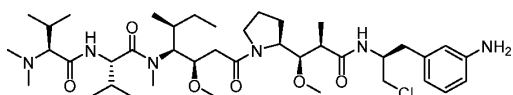
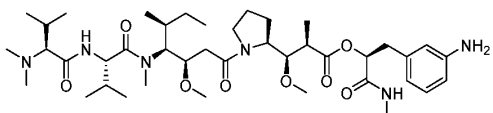
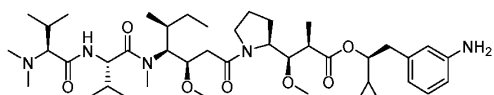
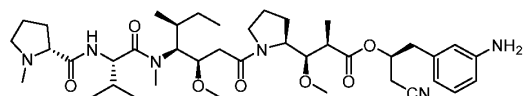
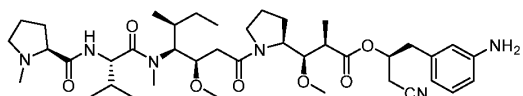
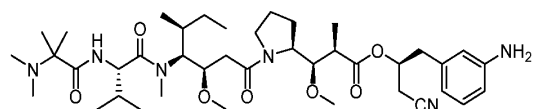
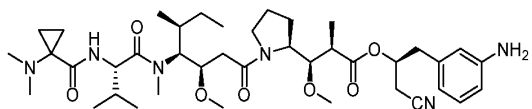
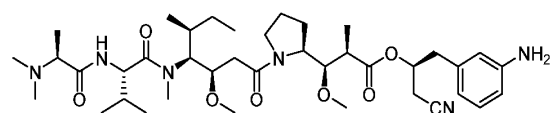
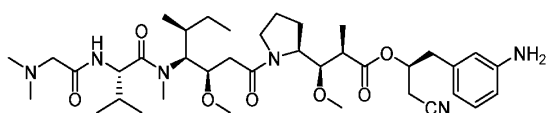
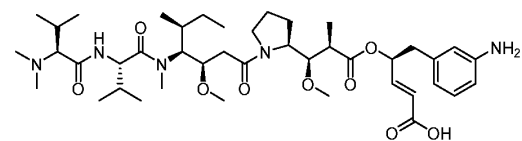
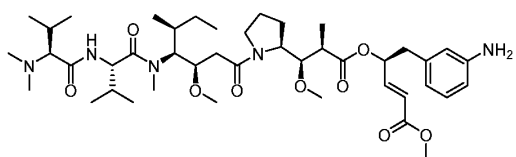
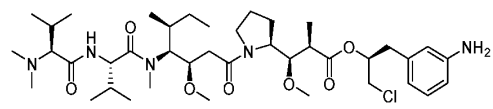
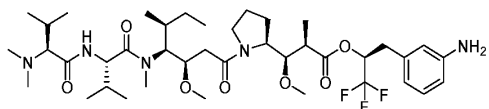
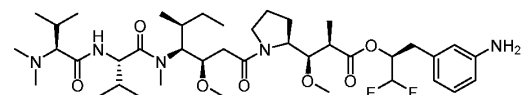
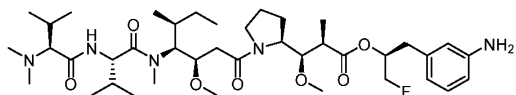
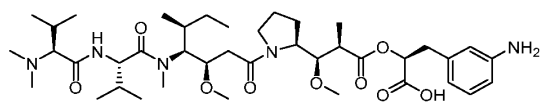
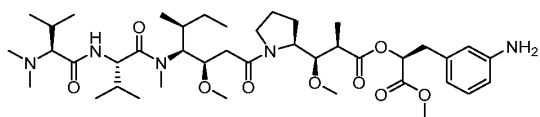
(IIIa)

其中, 所述 R^{x1} 选自 OH、C₁₋₄ 烷基、C₁₋₄ 烷氧基或 C₃₋₆ 环烷基, 且所述的 C₁₋₄ 烷基或 C₃₋₆ 环烷基进一步被 1-3 个选自氘、甲基、CN 或环丙基的取代基所取代; 优选地, 所述 R^{x1} 选自 -OCH₃、 CN、



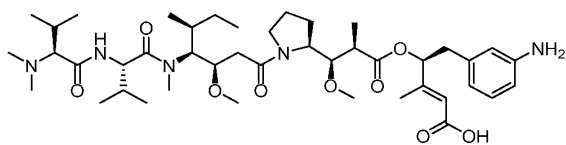
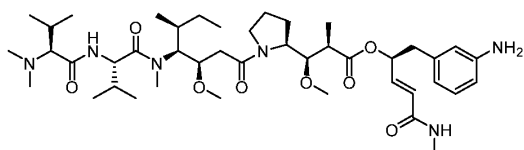
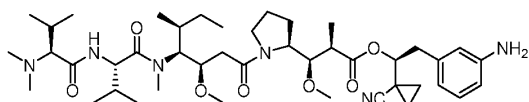
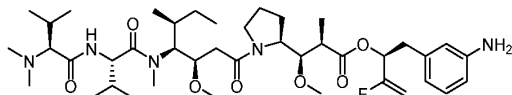
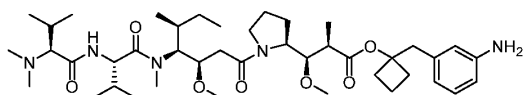
10 16. 根据权利要求 1 所述的细胞毒药物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐, 其选自:



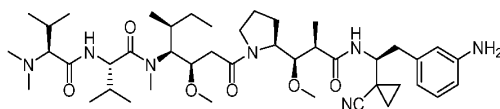
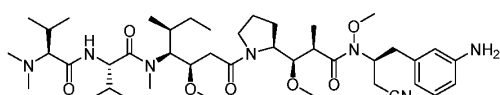
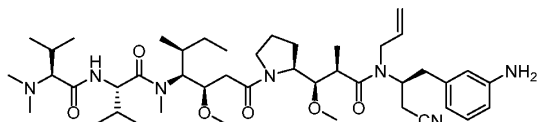
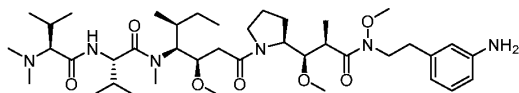
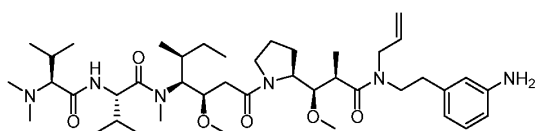


5

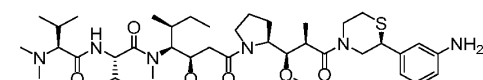
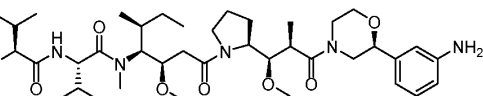
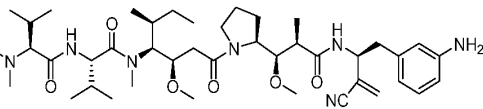
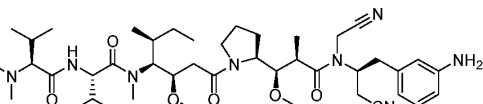
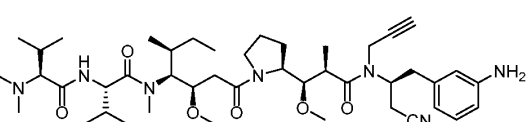
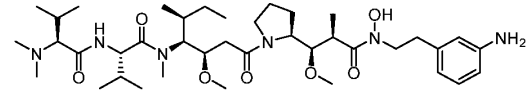
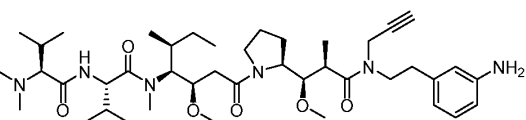
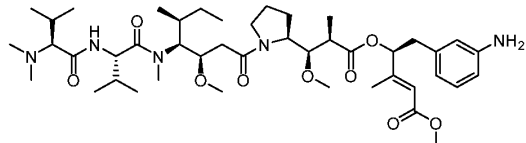
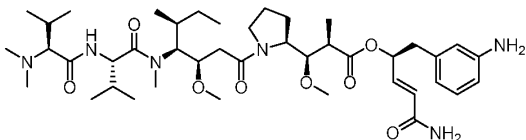
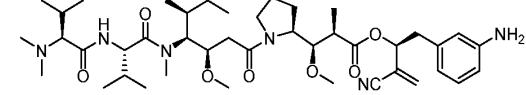
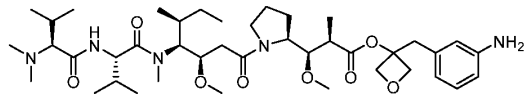
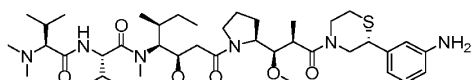
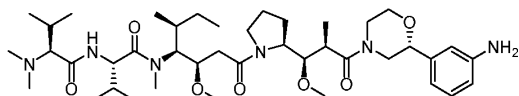
10

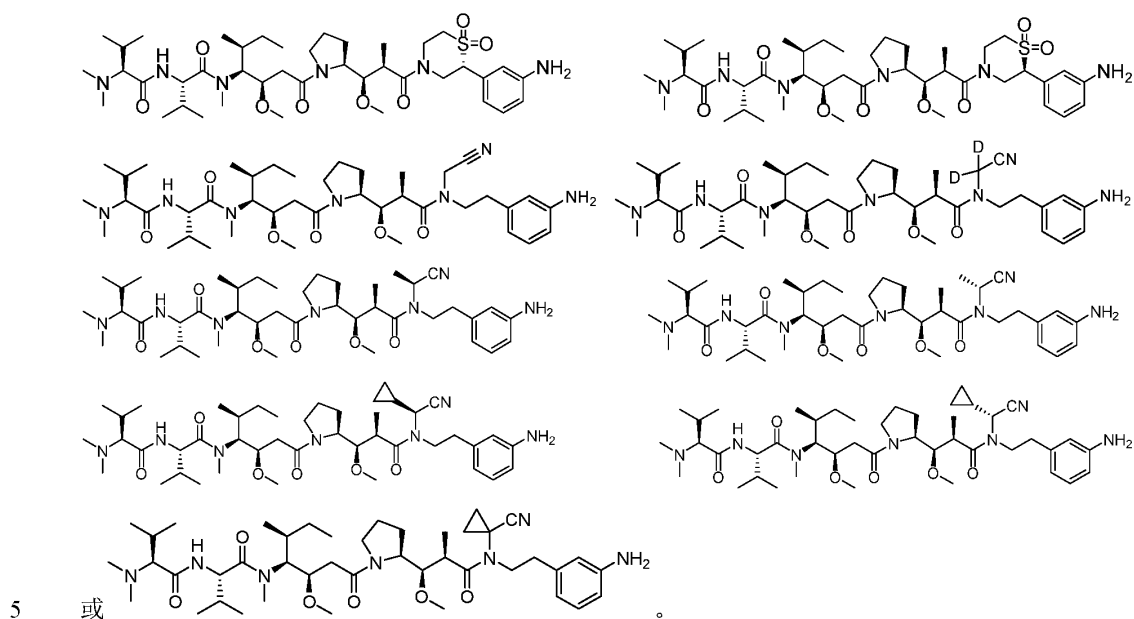


5

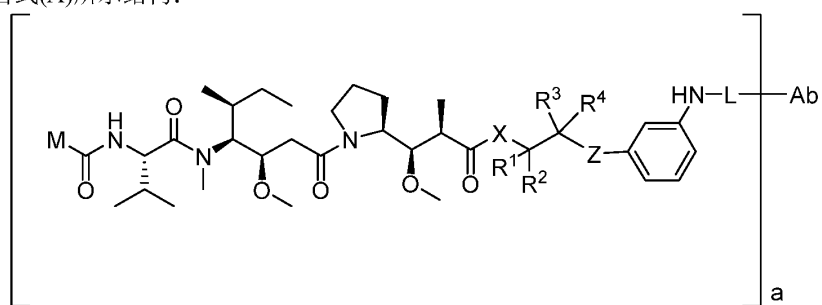


10





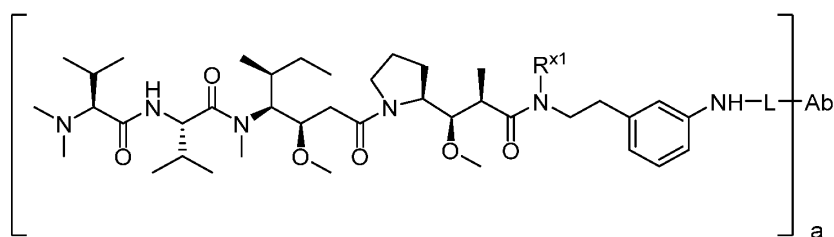
17. 抗体药物偶联物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐，选自式(A)所示结构：



(A)

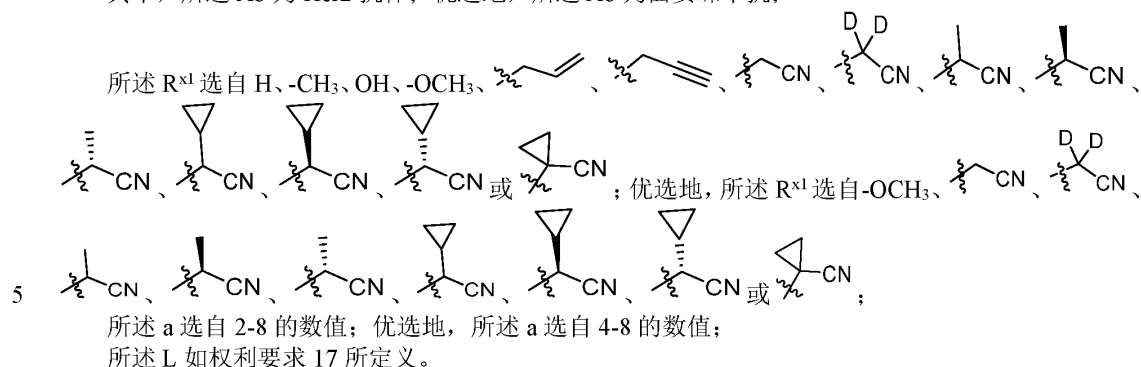
- 10 其中，Ab 为抗体或抗原结合片段；
L 为连接基团，其左端与细胞毒药物上的 NH 相连，右端与 Ab 相连；
a 选自 1~10 的数值；
所述 M、R¹、R²、R³、R⁴、X 和 Z 如权利要求 1-16 中任一项所定义。

- 15 18. 根据权利要求 17 所述的抗体药物偶联物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐，其选自式(A-1)所示结构：

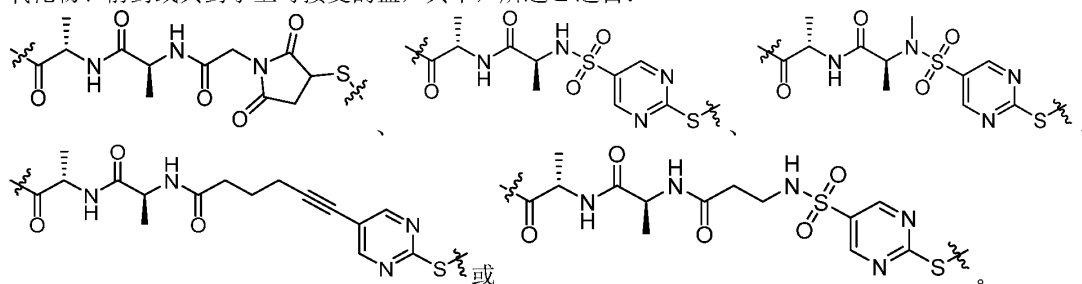


(A-1)

其中, 所述 Ab 为 Her2 抗体; 优选地, 所述 Ab 为曲妥珠单抗;

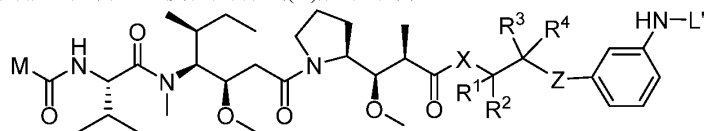


19. 根据权利要求 17 或 18 所述的抗体药物偶联物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐, 其中, 所述 L 选自:



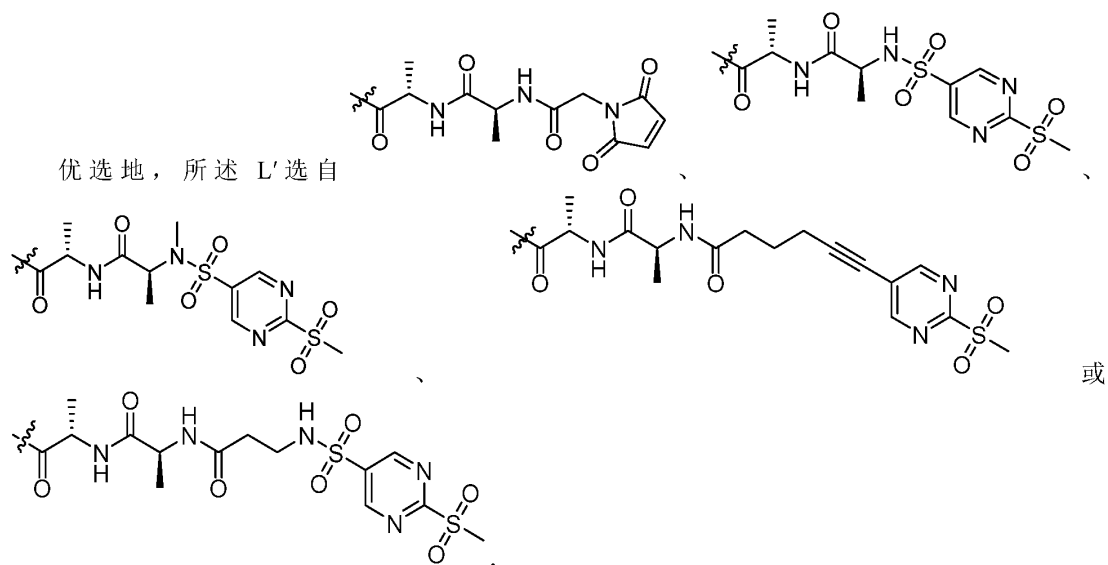
20. 根据权利要求 17-19 中任一项所述的抗体药物偶联物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐, 其中所述 a 选自 2~8 的数值; 优选地, 所述 a 选自 4~8 的数值。

21. 细胞毒药物-连接体、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐, 所述的细胞毒药物-连接体具有式(B)所示结构,



(B)

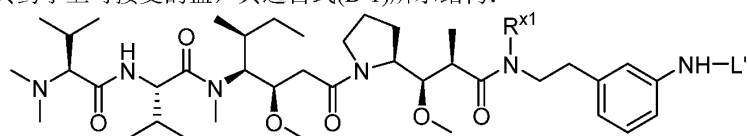
其中所述 L' 是 L 接入权利要求 17-20 中任一项所述 Ab 之前的结构;



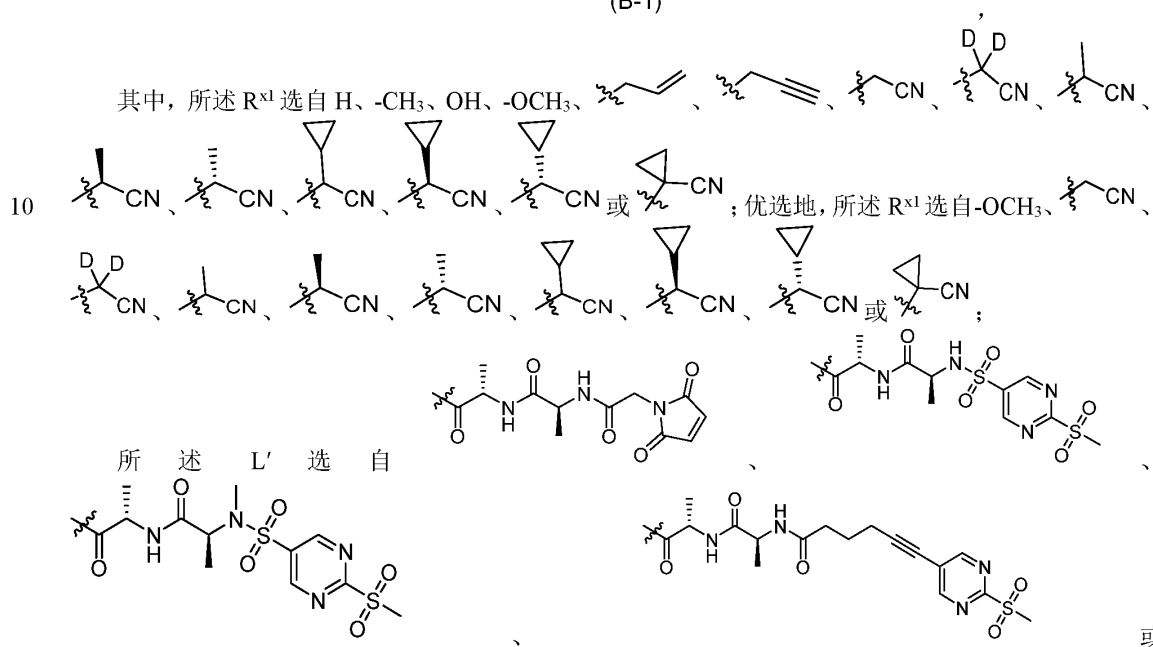
所述 M、R¹、R²、R³、R⁴、X 和 Z 如权利要求 1-16 中任一项所定义。

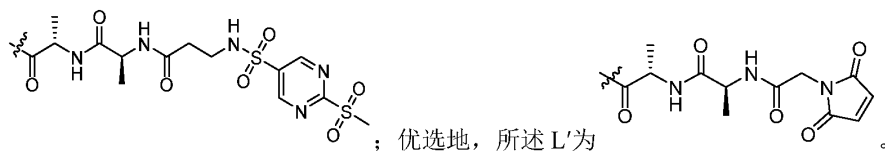
5

22. 根据权利要求 21 所述的细胞毒药物-连接体、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐, 其选自式(B-1)所示结构:



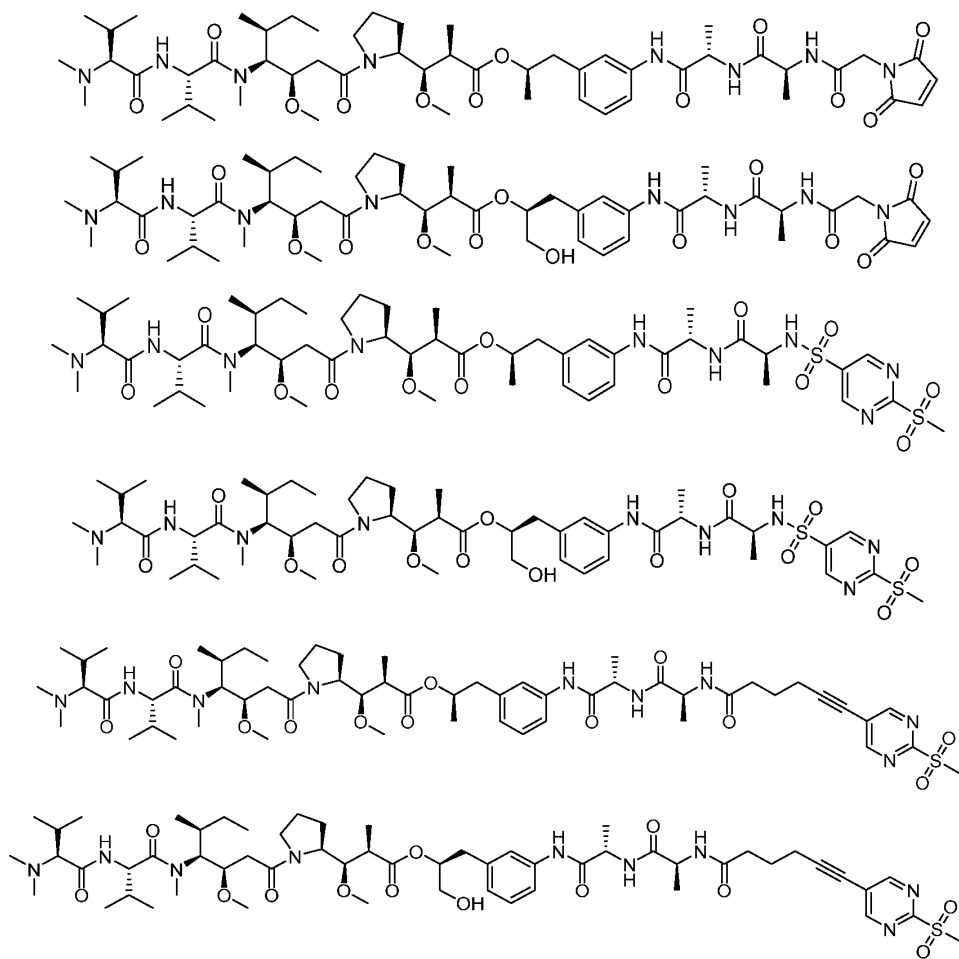
(B-1)



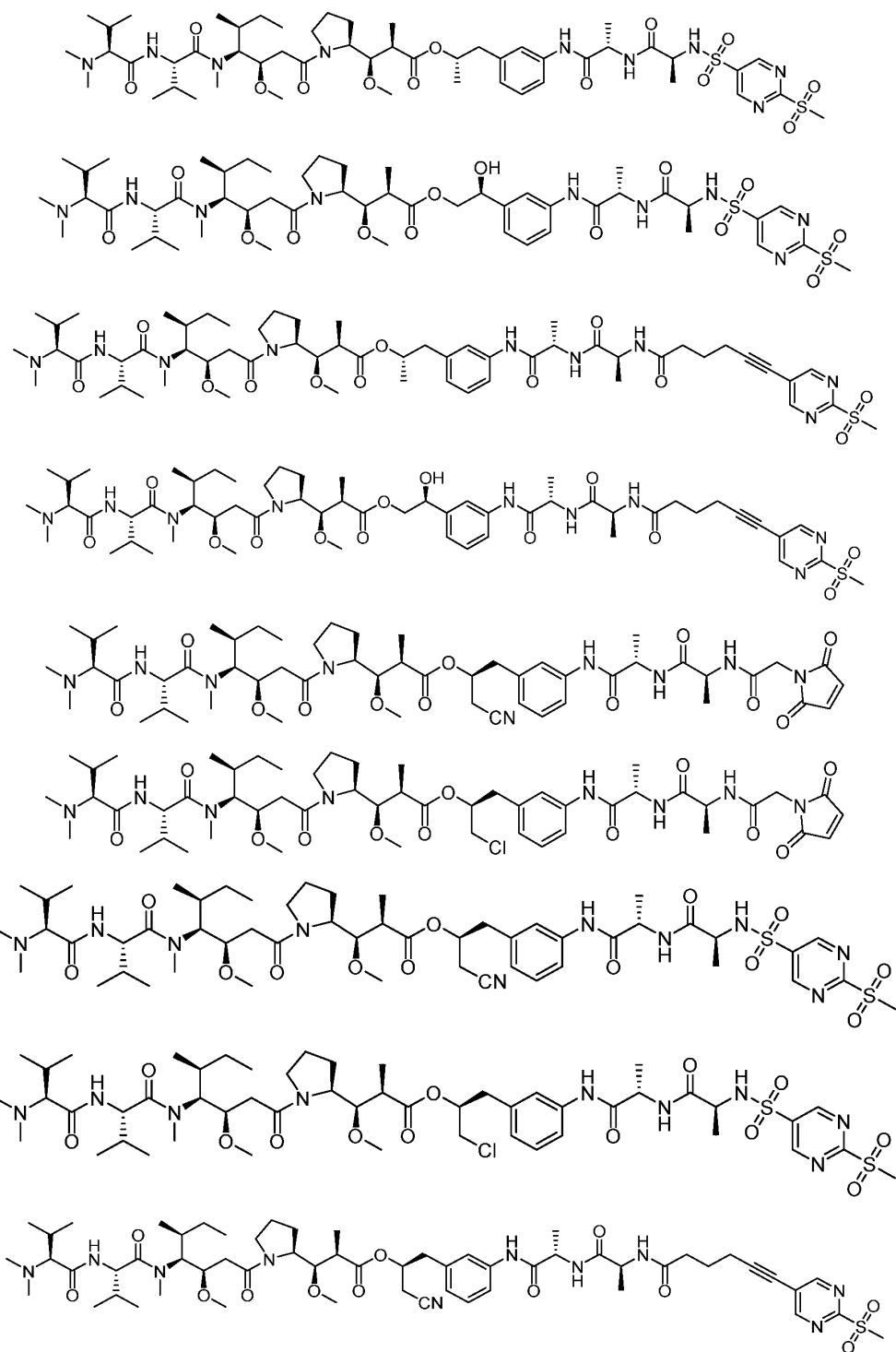


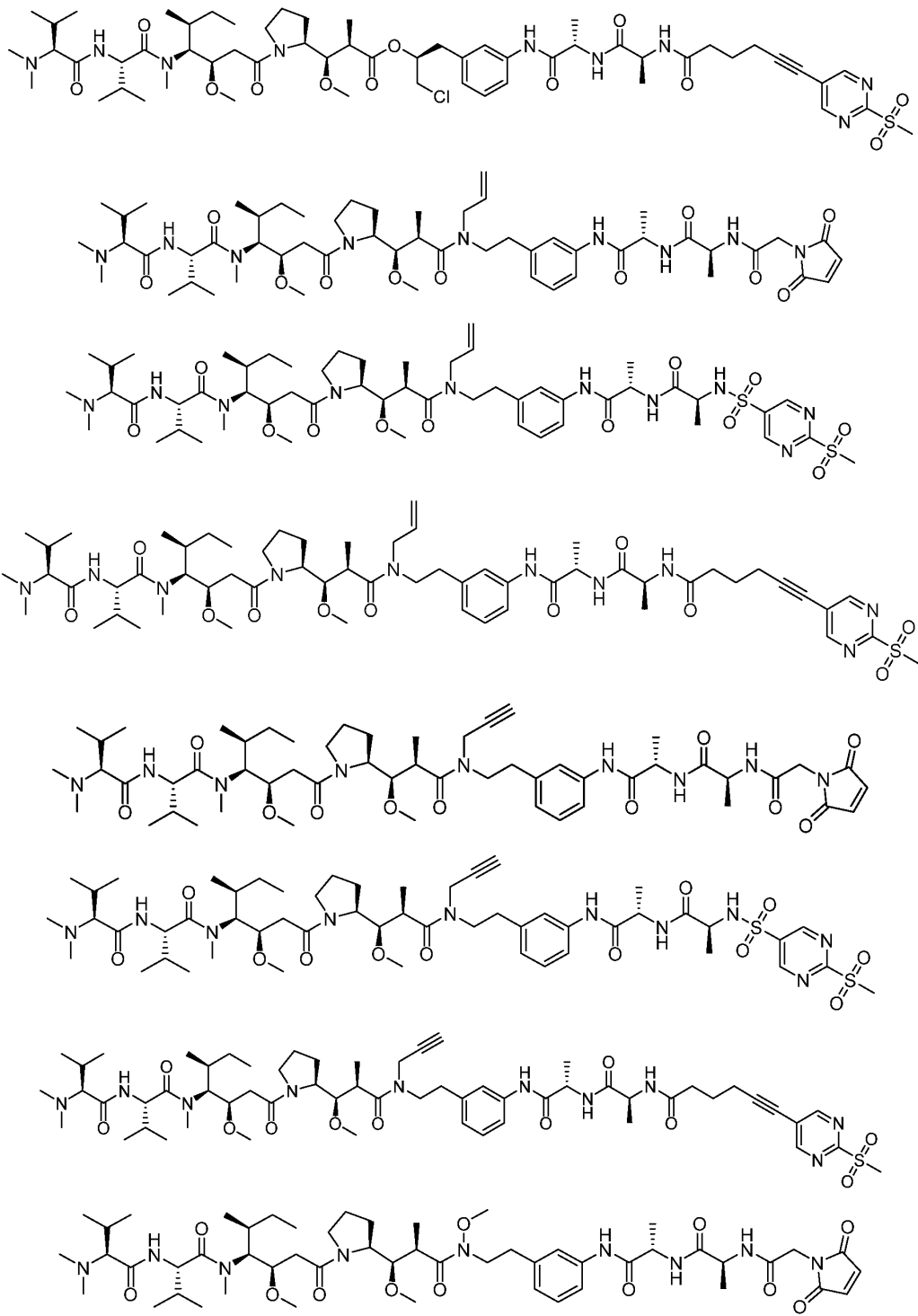
23. 根据权利要求 21 或 22 所述的细胞毒药物-连接体、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐，所述的细胞毒药物-连接体选自：

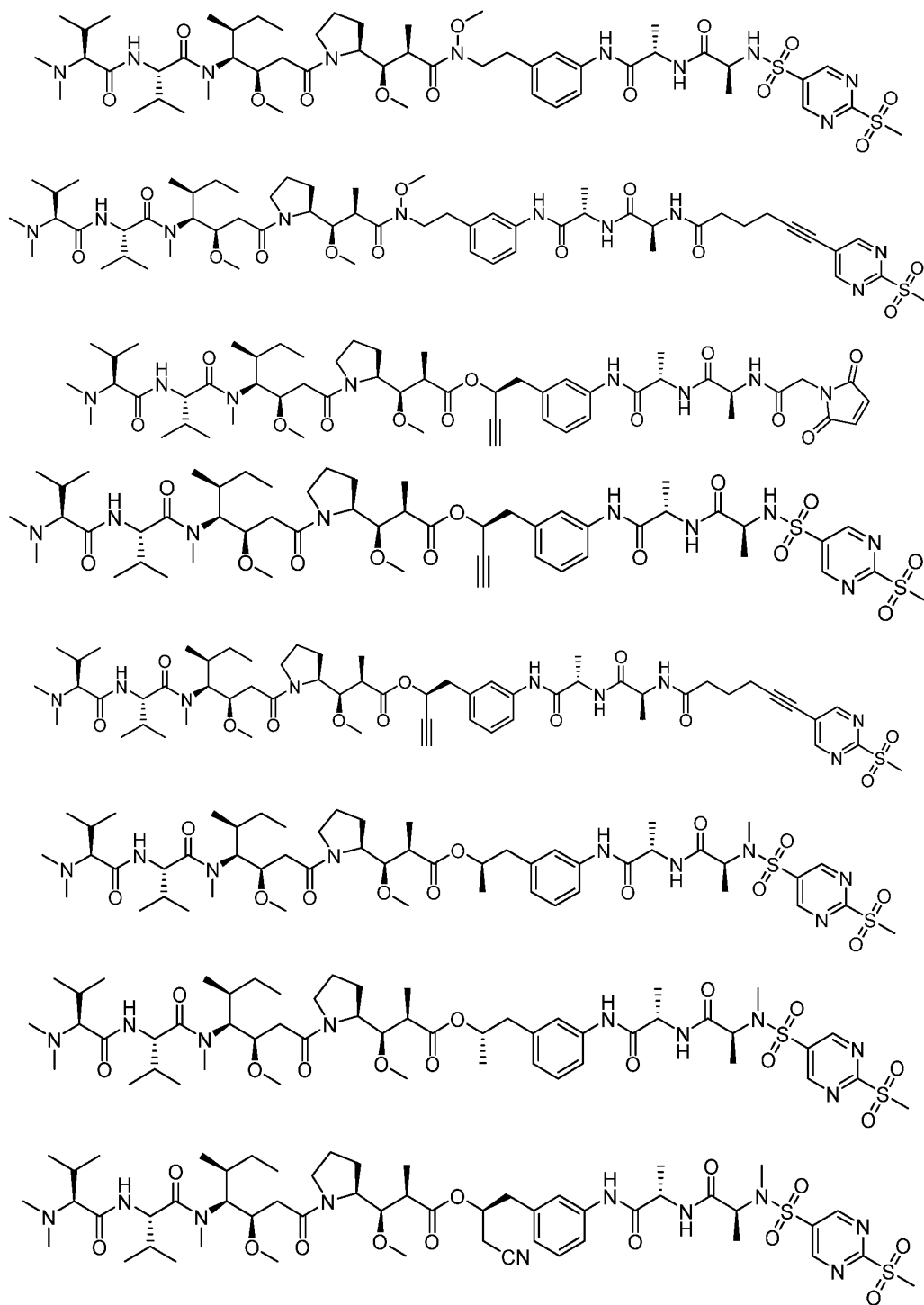
5

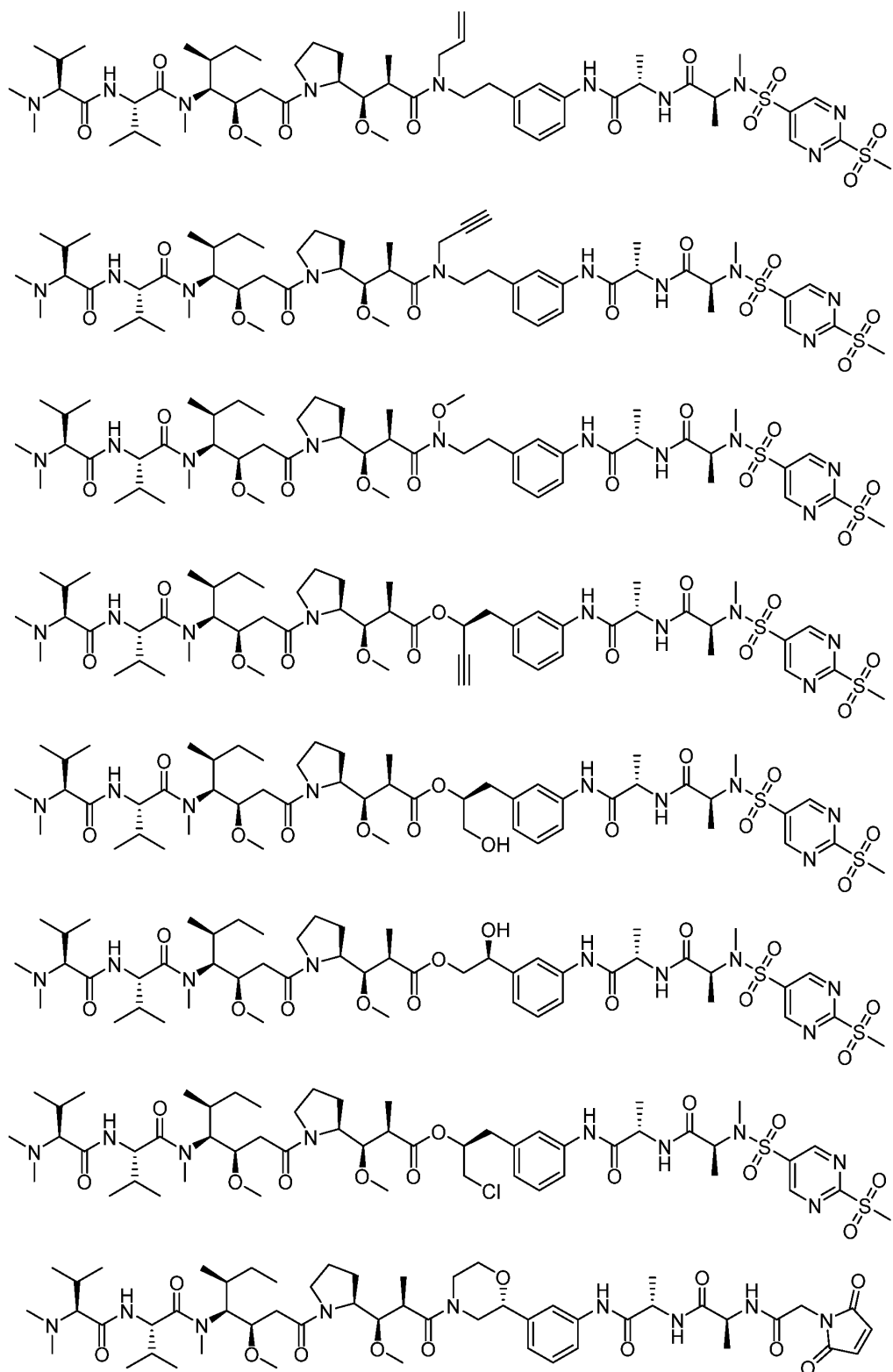


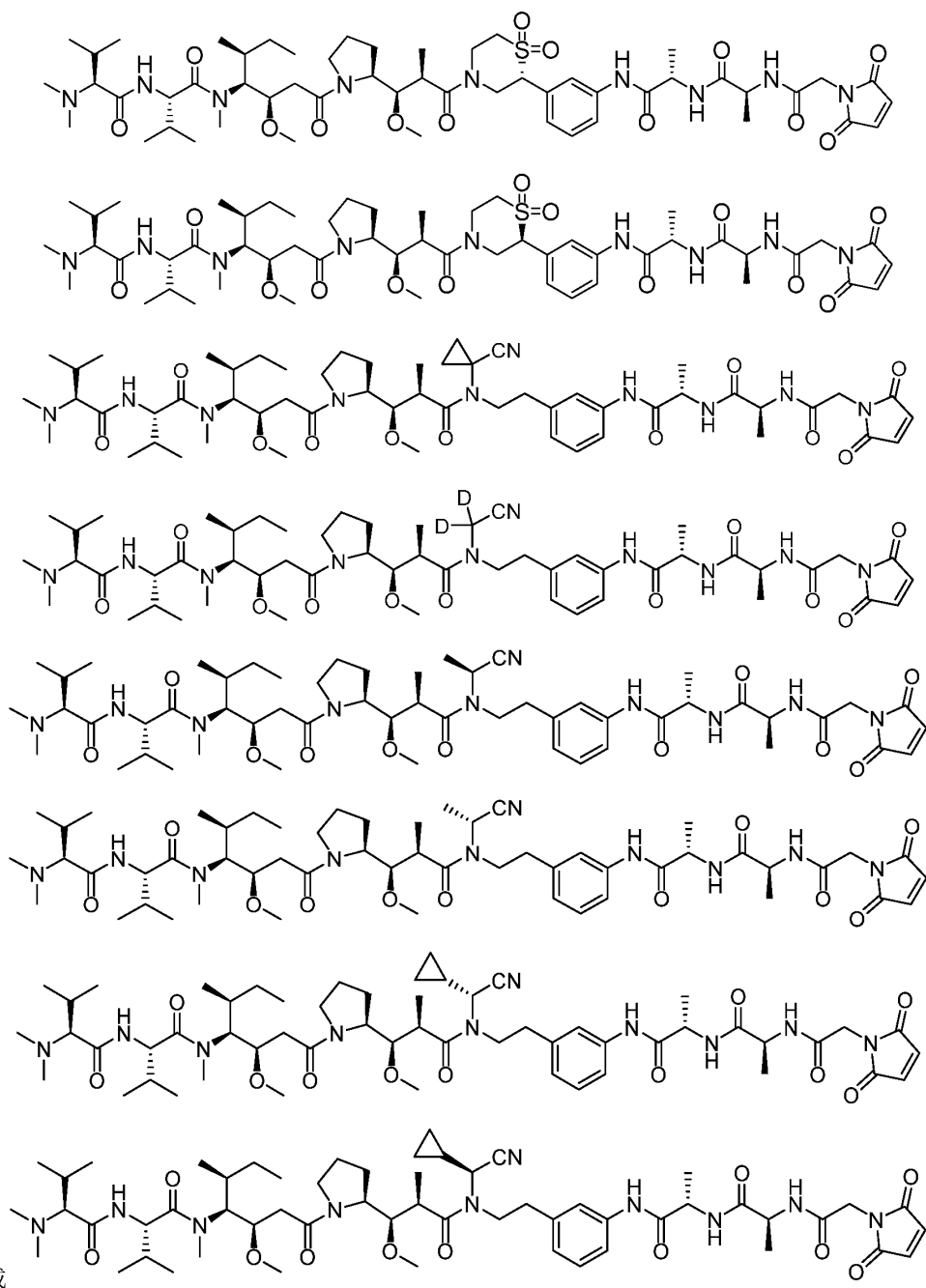
10



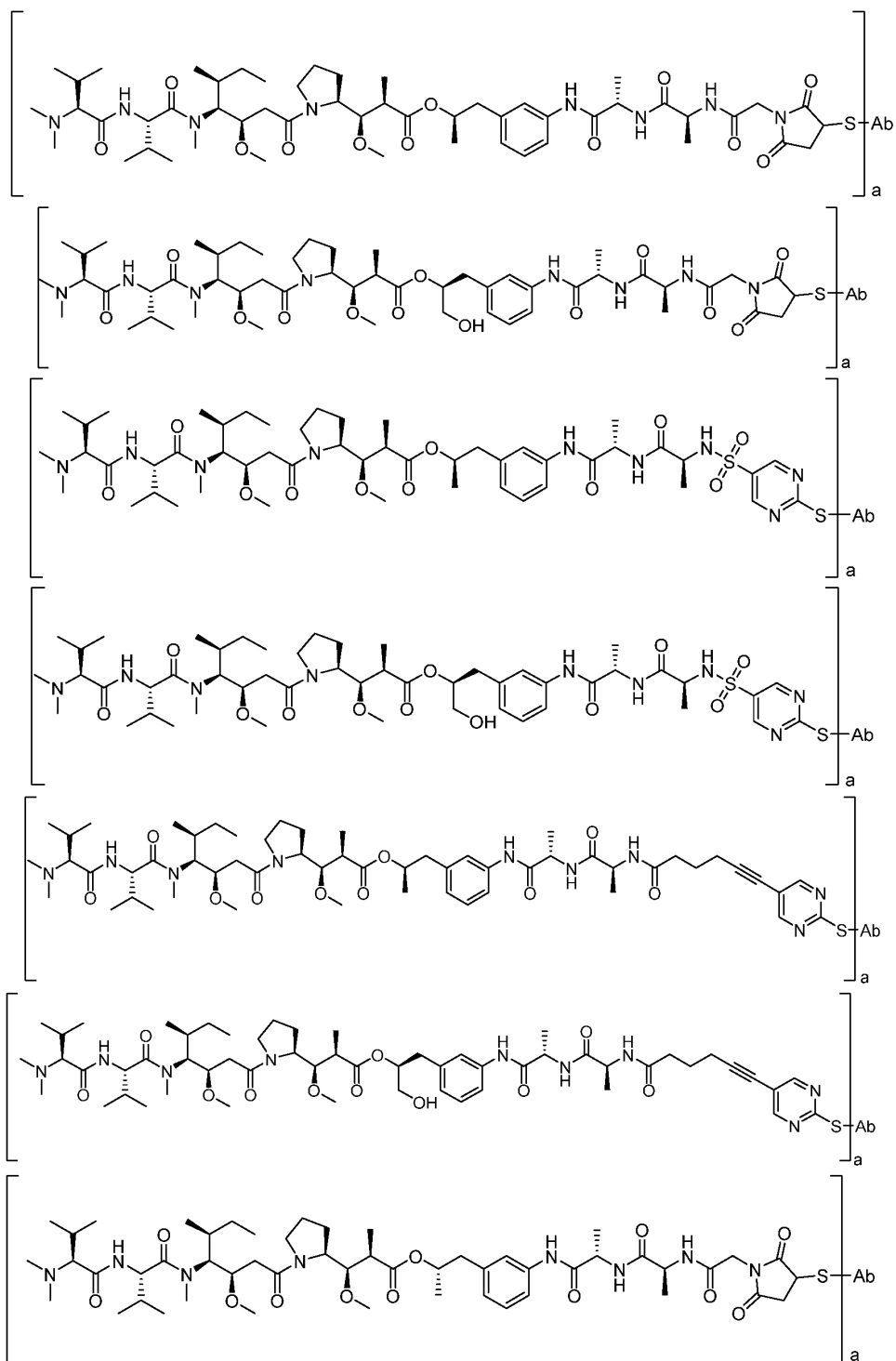




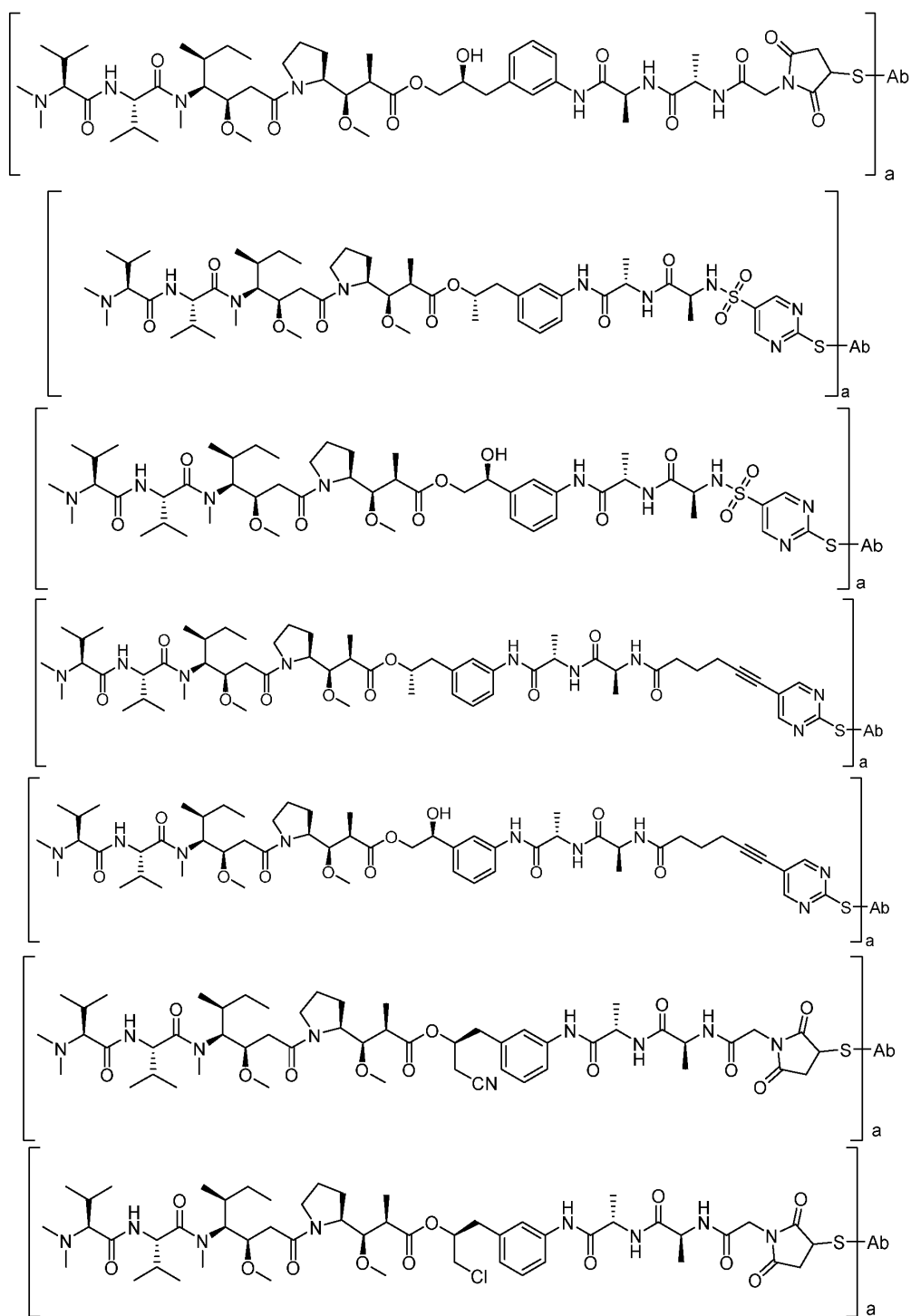




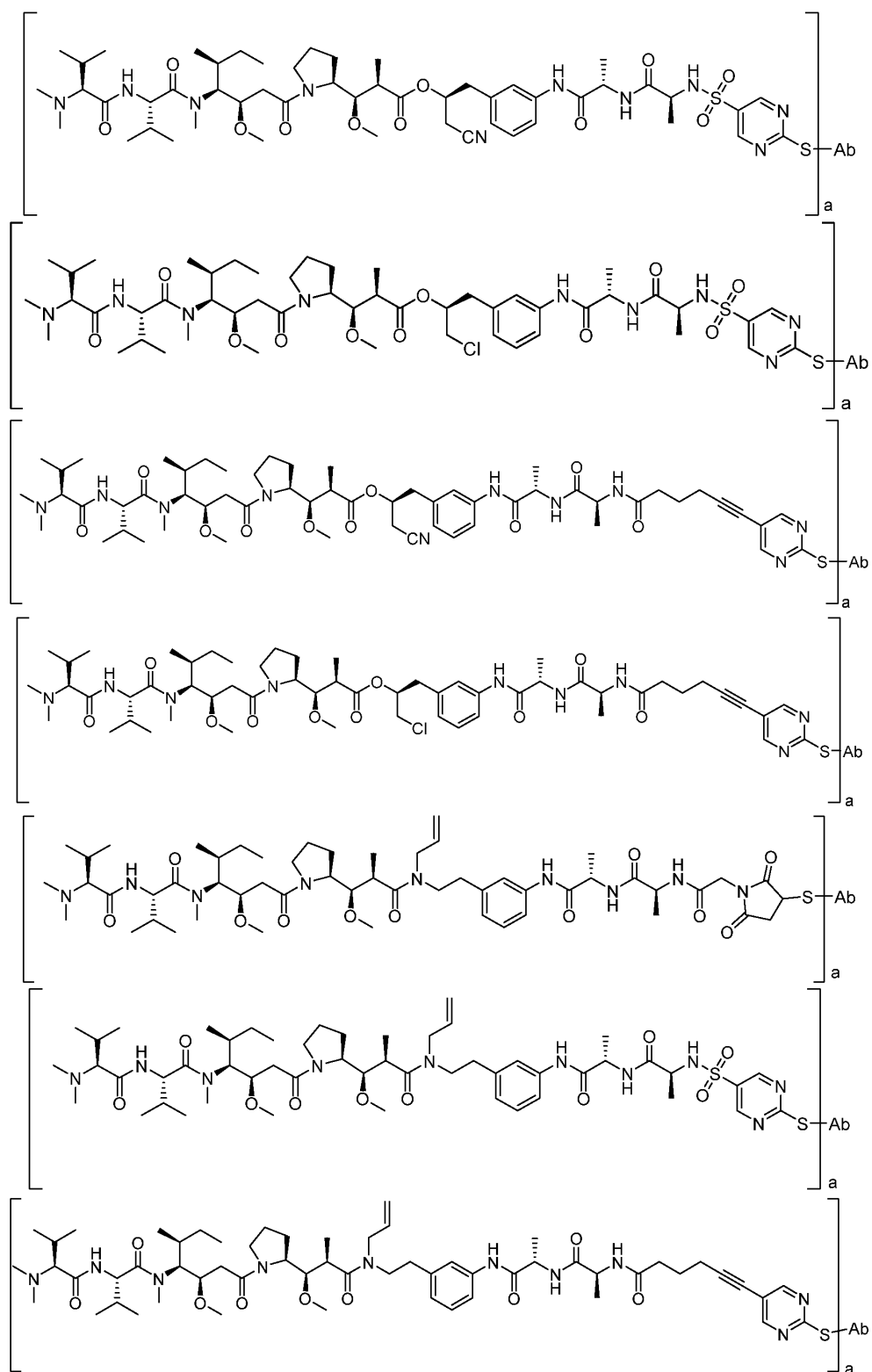
10 24. 根据权利要求 17-20 中任一项所述的抗体药物偶联物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐，其选自：

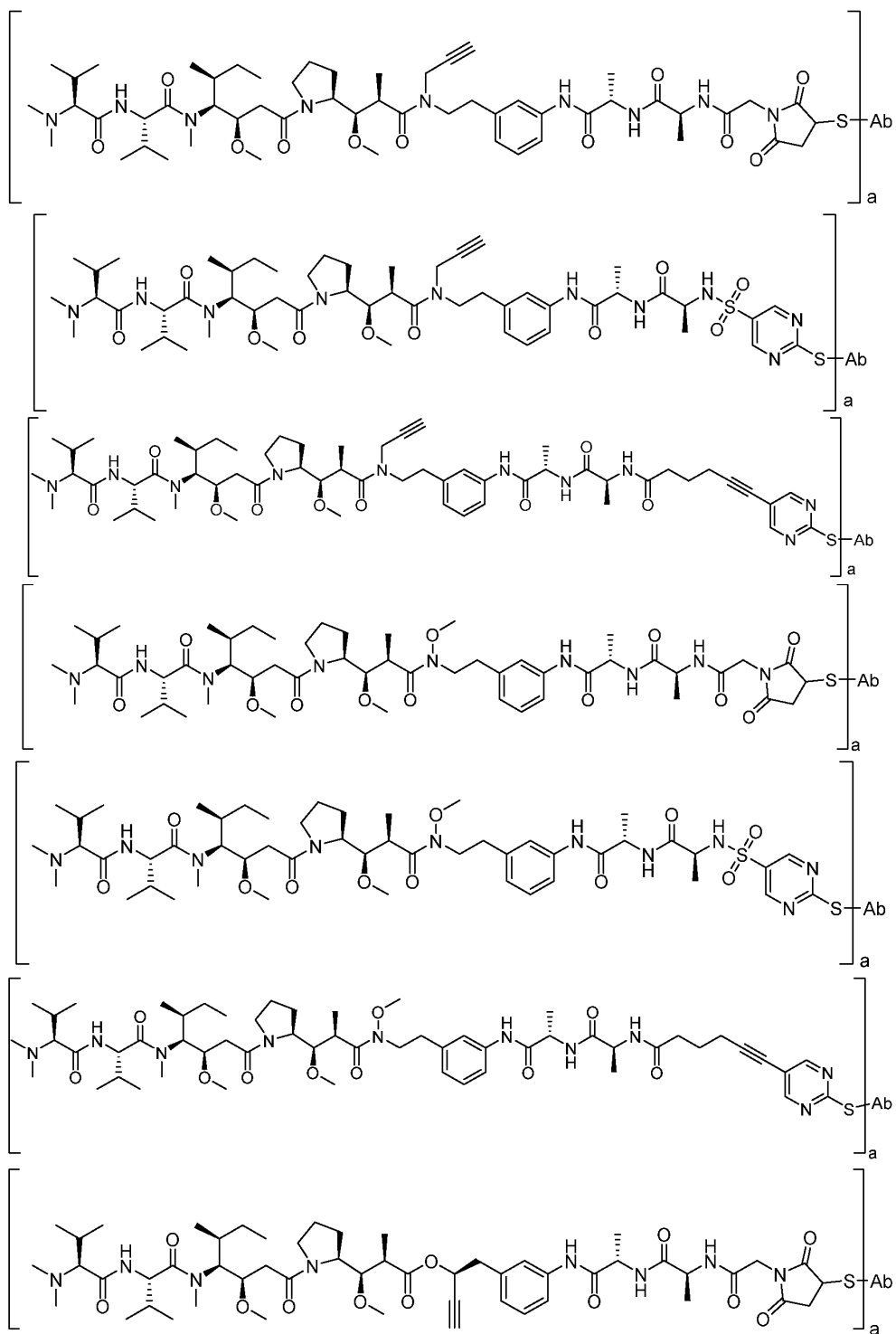


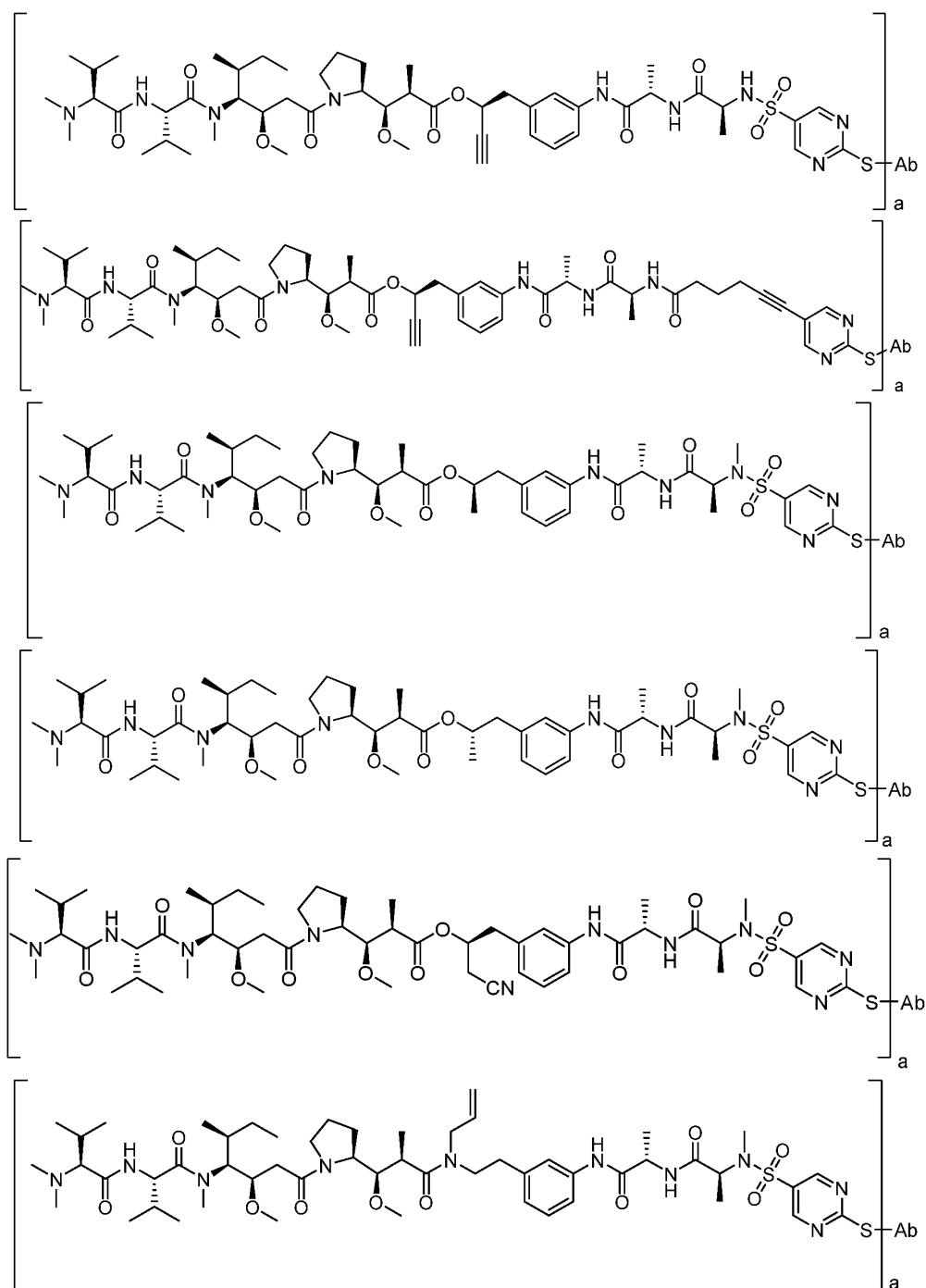
5



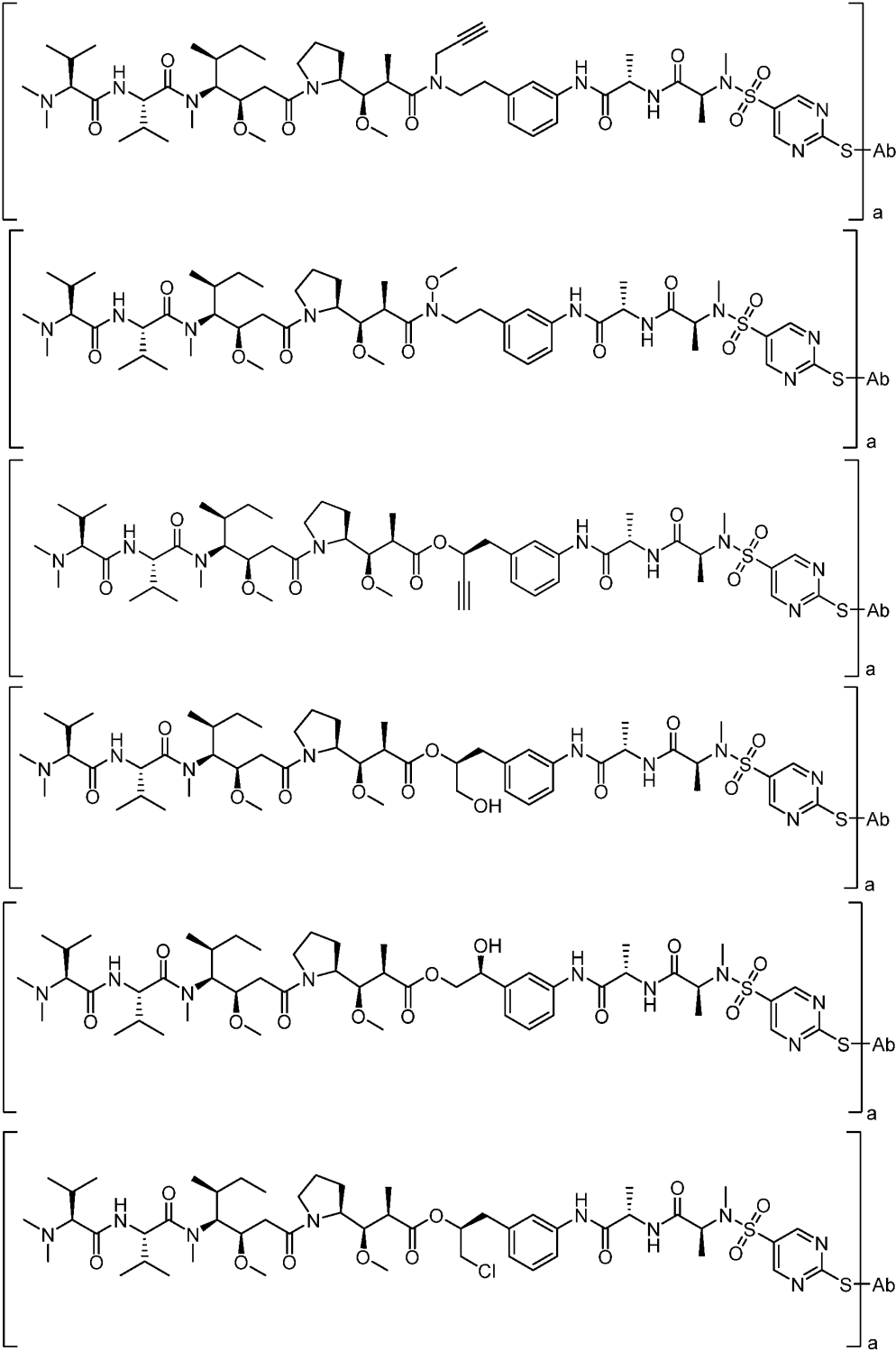
5

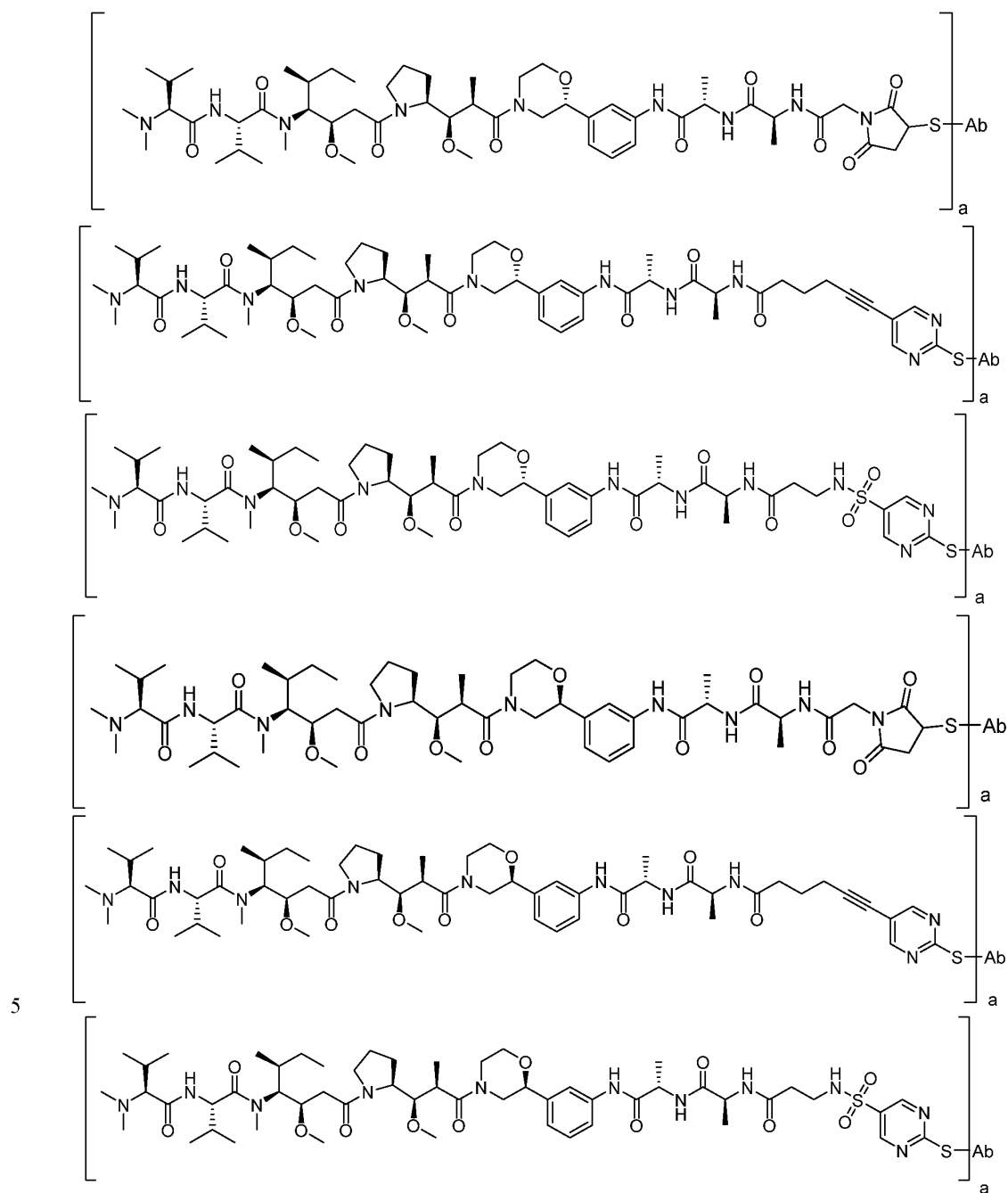


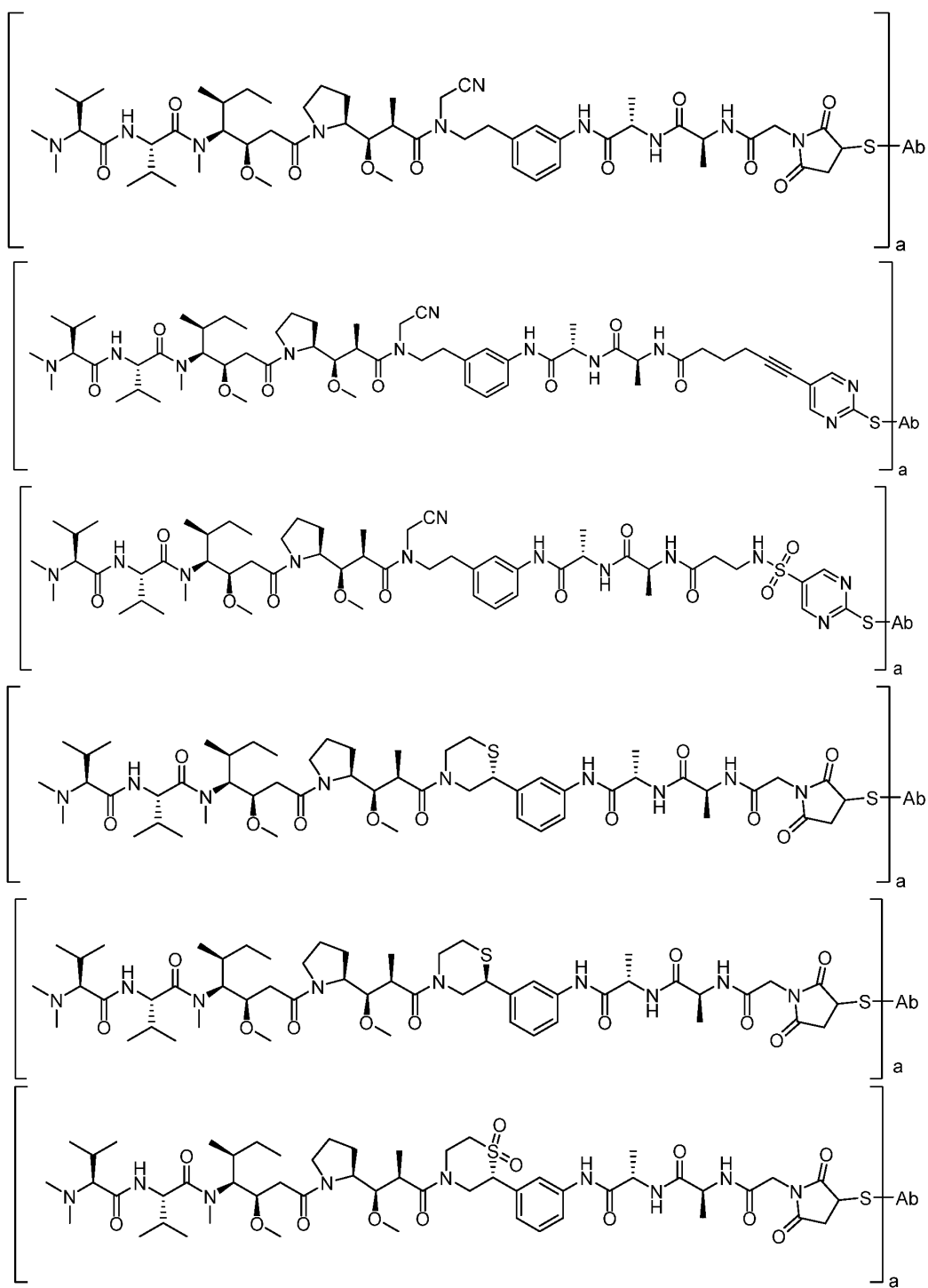


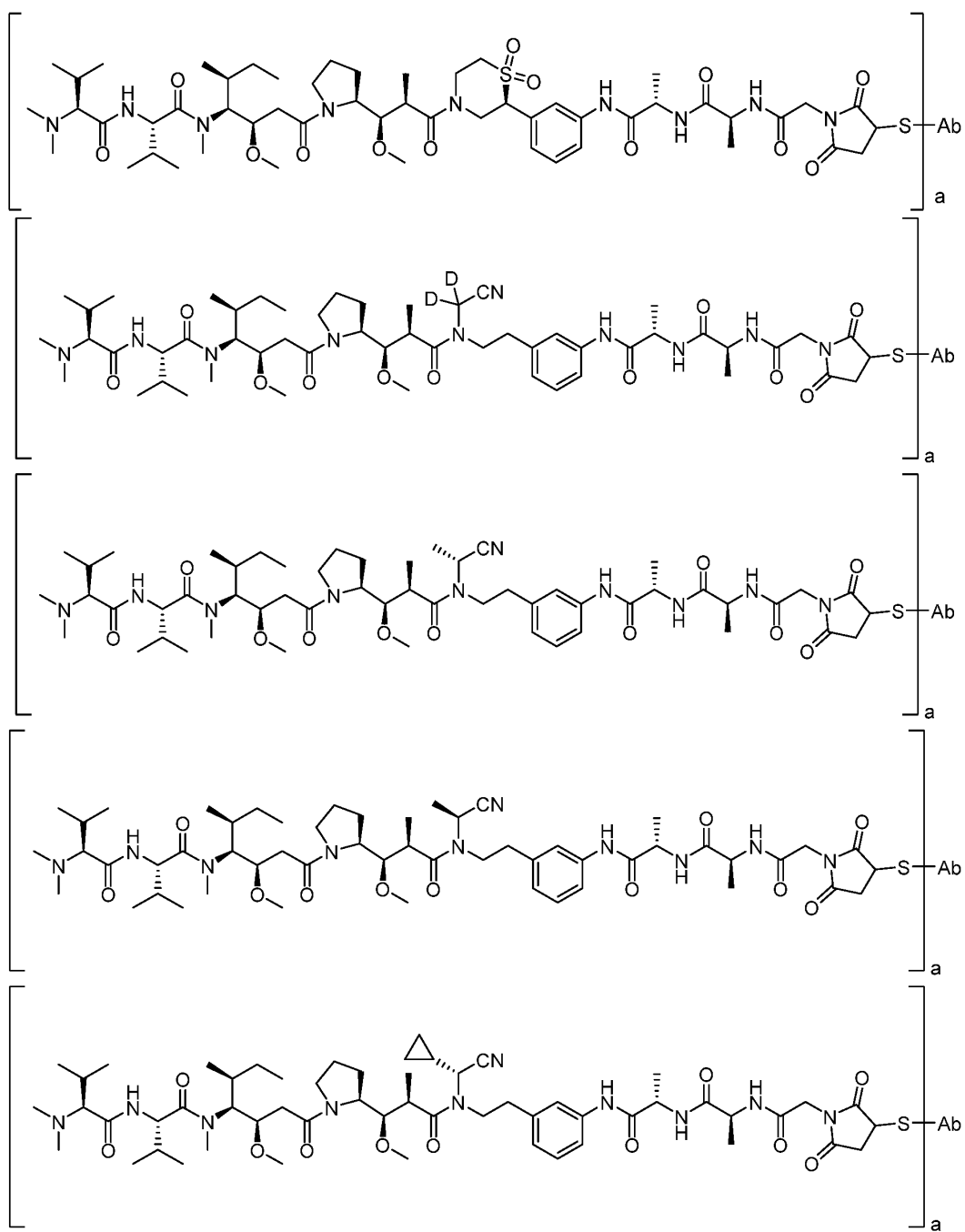


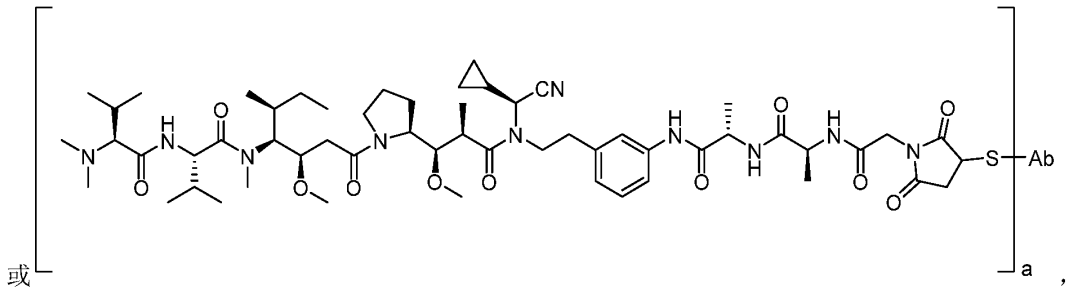
5











所述 Ab 为抗体，优选 Her2 抗体，更优选曲妥珠单抗；
所述 a 选自 2-8 的数值，优选 4-8 的数值。

5 25. 一种药物组合物，其包含权利要求 1-16 中任一项所述的细胞毒药物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐，或者权利要求 17-20 或 24 中任一项所述的抗体药物偶联物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐，以及药学上可接受的载体。

10 26. 权利要求 1-16 中任一项所述的细胞毒药物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐，权利要求 17-20 或 24 中任一项所述的抗体药物偶联物、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐，权利要求 21-23 中任一项所述的细胞毒药物-连接体、其立体异构体、同位素衍生物、溶剂合物、氮氧化物、前药或其药学上可接受的盐，或权利要求 25 所述的药物组合物用于制备治疗肿瘤药物中的应用。

15 27. 根据权利要求 26 所述的应用，其中所述肿瘤选自乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫癌、前列腺癌、肾癌、尿道癌、膀胱癌、肝癌、胃癌、子宫内膜癌、唾液腺癌、食道癌、黑色素瘤、神经胶质瘤、神经母细胞瘤、肉瘤、肺癌、头颈癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、白血病、皮肤癌、甲状腺癌、胰腺癌或淋巴瘤。

20