

一种连接子-药物的制备方法

相关申请的交叉引用

本申请是以 CN 申请号为 202311077479.4、申请日为 2023 年 8 月 23 日的申请，以及 CN 申请号为 202411139357.8、申请日为 2024 年 8 月 19 日的申请为基础，并主张其优先权，所有申请的内容在此作为整体引入本申请中。

技术领域

本发明涉及医药领域，具体涉及一种连接子-药物的制备方法。

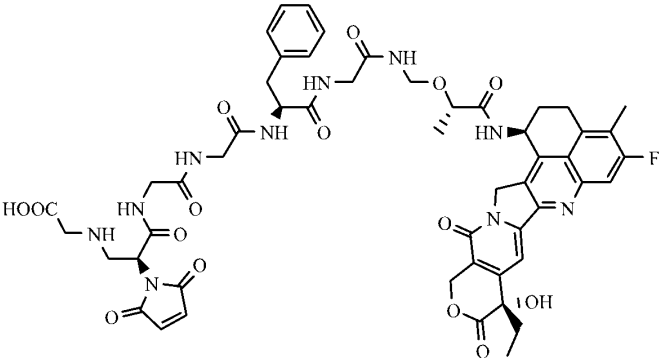
背景技术

抗体-药物偶联物(Antibody-Drug Conjugates, ADC)是将有细胞杀伤效果的小分子毒素通过连接子连接于抗体上得到的具有特异靶向性杀伤作用的分子，主要用于肿瘤的治疗和其他疾病的治疗。抗体-药物偶联药物所使用的抗体能特异性地与肿瘤细胞表面的蛋白质结合，因此具有传统药物所达不到的肿瘤特异性和潜力。目前，全球已经有 12 款 ADC 药物获得上市批准，并有上百个项目正在进行临床试验。

连接子-药物是连接子与小分子毒素连接形成的化合物，是制备 ADC 的中间体，在决定抗体-药物偶联物的整体成功方面起着关键作用。

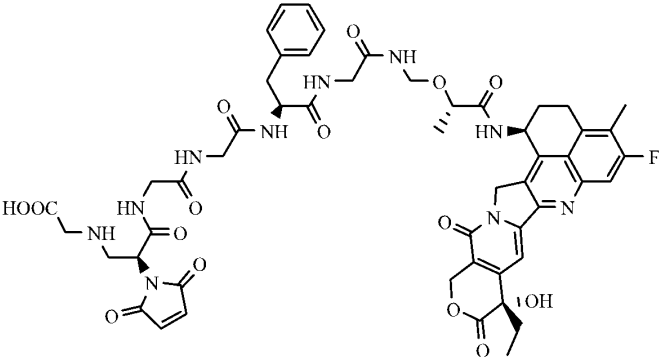
发明内容

本发明的目的在于提供一种式 A 所示的连接子-药物的新的制备方法。



式 A

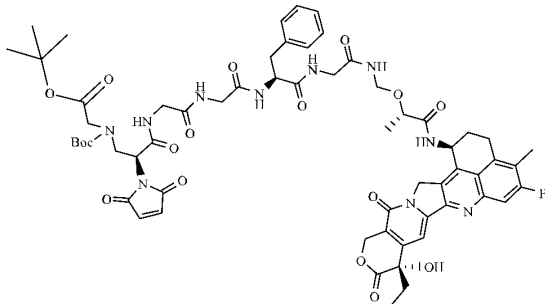
具体地，在本发明的第一方面，本发明提供了一种制备式 A 所示化合物的方法，其包括：



式 A

将式 a 所示的化合物与路易斯酸发生反应，获得粗产物；所述粗产物经过纯化得到式

A 所示化合物;

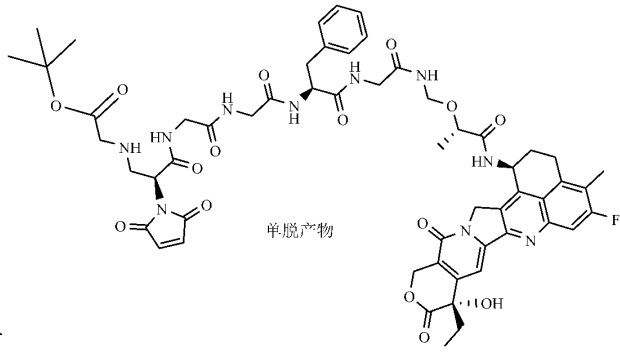


式 a。

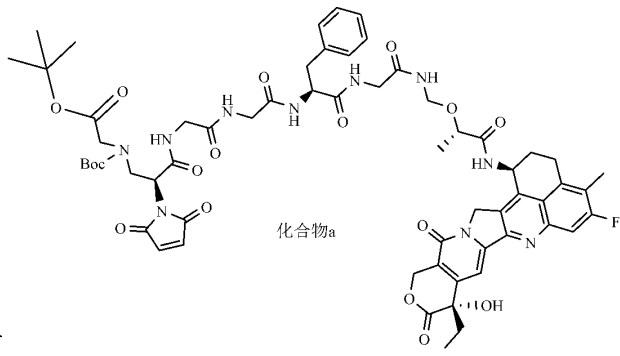
5 在一些实施方案中, 所述路易斯酸为溴化物、TMSI (三甲基碘硅烷) 或 TMSOTf (三氟甲磺酸三甲基硅酯)。

在一些实施方案中, 所述路易斯酸为溴化锌。

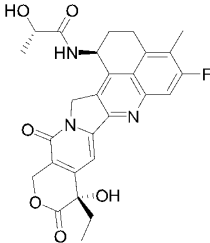
发明人发现, 化合物 a 在酸性脱保护试剂作用下, 可能产生的杂质包括:



1) 单脱产物杂质



2) 化合物 a 杂质



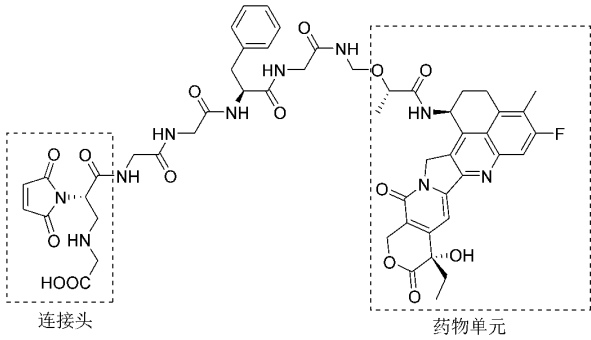
10

3) 药物单元杂质

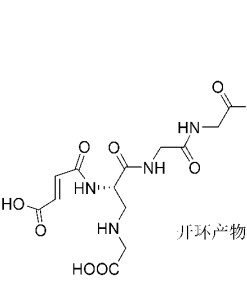
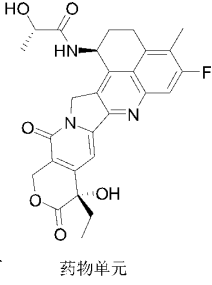
以上杂质的产生均会影响最终制备的 ADC 载药量 (DAR), 由此, 在目标化合物成品生产工序中, 需严格控制以上杂质的含量 (单脱产物需控制在 10% 以内, 化合物 a 需控制在 2% 以内, 药物单元需控制在 5% 以内), 方能保证目标化合物与抗体的偶联效果。

本申请发明人通过实验研究后发现，以上反应中，相比于非路易斯酸（如三氟乙酸等）作为酸性脱保护试剂，路易斯酸（如溴化锌）作为酸性脱保护试剂时，杂质含量显著降低，尤其是药物单元杂质的含量，可以低至不超过 5%，甚至低至不超过 2%，满足质量控制标准，甚至远优于质量控制标准。尤其是，当溴化锌作为酸性脱保护试剂时，杂质含量显著降低，远优于质量控制标准。

进一步地，以上反应结束后，所述粗产物进行纯化时，发明人发现，可能产生的杂质包括：



1) 药物单元杂质



2) 连接头开环产物杂质

以上杂质的产生会显著影响最终制备的 ADC 载药量 (DAR) (具体地，一方面，式 A 所示连接子-药物的连接头中含有的丁二酰亚胺结构通过双键与抗体巯基发生迈克尔加成，形成 ADC。可见，产生的开环产物杂质不能再与抗体偶联，进而影响载药量。另一方面，药物单元杂质的产生使得其与连接子分离，分离的连接子仍然会与抗体进行偶联但却不再产生药效，进而影响载药量)，由此，在目标化合物成品生产工序中，需严格控制以上杂质的含量 (开环产物控制在 10% 以内，药物单元需控制在 5% 以内)，方能保证目标化合物与抗体的偶联效果。

本申请发明人通过实验研究后发现，以上纯化中，通过将一定条件的制备型液相色谱纯化与纳滤步骤相结合，杂质含量显著降低，能够达到产品的质量控制标准 (开环产物控制在 10% 以内，药物单元控制在 5% 以内)，甚至远优于该质量控制标准 (开环产物低至 3% 以内，药物单元低至 2% 以内)。

在一些实施方案中，所述纯化包括以下步骤：

(2-1) 将所述粗产物用制备型液相色谱进行纯化，获得制备液；

(2-2) 将所述制备液进行浓缩、干燥, 获得式 A 所示化合物;
任选地, 在步骤 (2-1) 获得所述制备液之后, 步骤 (2-2) 之前, 还包括萃取的步骤;
任选地, 在步骤 (2-1) 获得所述制备液之后, 步骤 (2-2) 之前, 还包括以下步骤:
(2-i) 采用有机溶剂萃取所述制备液, 弃去有机相, 获得水相;
5 其中, 步骤 (2-1) 中, 用制备型液相色谱进行纯化时, 流动相 A 为 TFA/水, 流动相 B 为 TFA/乙腈; 步骤 (2-2) 中, 所述浓缩是纳滤浓缩。
本领域技术人员可以理解, 步骤 (2-i) 获得水相后, 后续的步骤 (2-2) 便会适应性调整为: 将所述水相进行浓缩、干燥, 获得式 A 所示化合物。
在一些实施方案中, 所述纯化包括以下步骤:
10 (2-1) 将所述粗产物用制备型液相色谱进行纯化, 获得制备液;
(2-2) 将所述制备液进行浓缩、干燥, 获得式 A 所示化合物;
其中, 步骤 (2-1) 中, 用制备型液相色谱进行纯化时, 流动相 A 为 TFA/水, 流动相 B 为 TFA/乙腈; 步骤 (2-2) 中, 所述浓缩是纳滤浓缩。
在一些实施方案中, 所述纯化包括以下步骤:
15 (2-1) 将所述粗产物用制备型液相色谱进行纯化, 获得制备液;
(2-i) 采用有机溶剂萃取所述制备液, 弃去有机相, 获得水相;
(2-2) 将所述水相进行浓缩、干燥, 获得式 A 所示化合物;
其中, 步骤 (2-1) 中, 用制备型液相色谱进行纯化时, 流动相 A 为 TFA/水, 流动相 B 为 TFA/乙腈; 步骤 (2-2) 中, 所述浓缩是纳滤浓缩。
20 在一些实施方案中, 步骤 (2-1) 中, 用制备型液相色谱进行纯化时, 流动相 A 为 0.2%TFA/水, 流动相 B 为 0.1%TFA/乙腈; 步骤 (2-2) 中, 所述浓缩是纳滤浓缩。
在一些实施方案中, 步骤 (2-1) 中, 用制备型液相色谱进行纯化时, 采用梯度洗脱。
在一些实施方案中, 梯度条件为:

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0~5	90~75	10~25
5~32	75~60	25~40
32~39	10~0	90~100
39~50	90~75	10~25

25 在一些实施方案中, 梯度条件为:

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	80	20
3	80	20
6	75	25
10	75	25
15	70	30
15.5	63	37
25	63	37
29	62	38
31	62	38
31.5	2	98
39	2	98
39.5	80	20
43	80	20

在一些实施方案中, 梯度条件为:

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%	流速/mL·min ⁻¹
0	80	20	200
3	80	20	200
6	75	25	200
10	75	25	200
15	70	30	190
15.5	63	37	160
25	63	37	160
29	62	38	160
31	62	38	160
31.5	2	98	200
39	2	98	200
39.5	80	20	200
43	80	20	200

。在一些实施方案中，步骤（2-1）中，用制备型液相色谱进行纯化时，色谱柱为 UniSil 10-100 C18 450mm*100mm。

5 在一些实施方案中，步骤（2-1）中，用制备型液相色谱进行纯化时，检测波长为 200-365nm，例如 200 nm、220 nm、250 nm、270 nm、300 nm、350 nm 或 365nm，或者如 200-230nm。

在一些实施方案中，步骤（2-1）中，用制备型液相色谱进行纯化时，检测波长为 214nm。

在一些实施方案中，步骤（2-2）中，所述纳滤是在温度≤30°C的条件下进行的。

在一些实施方案中，所述纳滤是通过纳滤设备实现的。

10 在一些实施方案中，步骤（2-2）中，所述干燥为冻干。

在一些实施方案中，步骤（2-i）中，所述有机溶剂为混合溶剂 1 和/或混合溶剂 2，所述混合溶剂 1 为乙酸乙酯和正己烷的混合溶剂，所述混合溶剂 2 为二氯甲烷和正己烷的混合溶剂。

15 在一些实施方案中，步骤（2-i）是通过如下方式进行的：依次采用混合溶剂 1、混合溶剂 2 分别萃取所述制备液，弃去有机相，获得水相。

在一些实施方案中，所述混合溶剂 1 与所述制备液的体积比为(1-5):1，例如 1:1、2:1、3:1、4:1 或 5:1，优选为 1:1。

在一些实施方案中，所述制备液与所述混合溶剂 2 的体积比为(1-5):1，例如 1:1、2:1、3:1、4:1 或 5:1，优选为 5:2。

20 在一些实施方案中，所述混合溶剂 1 中，所述乙酸乙酯与所述正己烷的体积比为(1-5):1，例如 1:1、2:1、3:1、4:1 或 5:1，优选为 3:1。

在一些实施方案中，所述混合溶剂 2 中，所述二氯甲烷和所述正己烷的体积比为(1-5):1，例如 1:1、2:1、3:1、4:1 或 5:1，优选为 3:1。

25 在一些实施方案中，所述路易斯酸与式 a 所示的化合物的物质的量比不低于 10:1，例如 10:1、15:1、20:1、25:1、30:1、35:1、40:1 或 45:1，优选 20:1。

在一些实施方案中，所述路易斯酸与式 a 所示的化合物的物质的量比为（10-30）:1，例如 10:1、15:1、20:1、25:1 或 30:1，优选 20:1。

30 在一些实施方案中，所述反应是在溶剂存在的条件下进行的，所述溶剂选自硝基烷烃类（如硝基甲烷、硝基乙烷）、卤代烷烃（如二氯甲烷、二氯乙烷、氯仿）、水、酮类（如丙酮、丁酮等）、甲苯类（如甲苯、三氟甲苯）、酯类（如乙酸乙酯、碳酸二甲酯）、乙腈以及以上两种或多种溶剂任意比例混合得到的混合溶剂，优选选自硝基甲烷、碳酸二甲酯、二氯甲烷、混合溶液二氯甲烷/酮类、混合溶液二氯甲烷/水、混合溶液二氯甲烷/酯类。

在一些实施方案中,所述溶剂选自硝基甲烷、二氯甲烷/水、碳酸二甲酯。其中,本领域技术人员可以理解,例如,“二氯甲烷/水”指的是二氯甲烷和水的混合物。

在一些实施方案中,式 a 所示的化合物的质量与所述溶剂的体积比为 1g/(5-50mL),例如 1g/5mL、1g/10mL、1g/15mL、1g/20mL、1g/25mL、1g/30mL、1g/35mL、1g/40mL、
5 1g/45mL 或 1g/50mL,优选为 1g/(5-35mL)。

在一些实施方案中,所述溶剂为硝基甲烷。

在一些实施方案中,式 a 所示的化合物的质量与所述硝基甲烷的体积比为 1g/(20-50mL),例如 1g/20mL、1g/25mL、1g/30mL、1g/35mL、1g/40mL、1g/45mL 或 1g/50mL,优选为 1g/35mL。

10 在一些实施方案中,所述溶剂为二氯甲烷/水。

在一些实施方案中,式 a 所示的化合物的质量与所述二氯甲烷/水的体积比为 1g/(10-30mL),例如 1g/10mL、1g/15mL、1g/16mL、1g/20mL、1g/25mL 或 1g/30mL,优选 1g/(15-16mL)。

在一些实施方案中,所述二氯甲烷/水中,所述二氯甲烷和所述水的体积比为(500-1000):1,例如 500:1、550:1、600:1、650:1、700:1、750:1、800:1、850:1、900:1、950:1 或 1000:1,优选为 750:1。

在一些实施方案中,所述溶剂为碳酸二甲酯。

在一些实施方案中,式 a 所示的化合物的质量与所述碳酸二甲酯的体积比为 1g/(5-30mL),例如 1g/5mL、1g/10mL、1g/15mL、1g/20mL、1g/25mL 或 1g/30mL,优选 1g/(5-15mL)。

在一些实施方案中,所述反应是在温度为 20-110℃(如 20℃、30℃、40℃、50℃、60℃、70℃、80℃、90℃、100℃或 110℃)的条件下进行的。

在一些实施方案中,所述反应是在温度为 20-50℃(例如 20℃、30℃、35℃、40℃、45℃或 50℃,优选 40℃)的条件下进行的。

25 在一些实施方案中,所述反应是在温度为 30-50℃(例如 30℃、35℃、40℃、45℃或 50℃,优选 40℃)的条件下进行的。

在一些实施方案中,所述反应进行的时间为 20min-24h(如 20min、30min、40min、1h、2h、3h、4h、5h、6h、7h、8h、9h、10h、11h、12h、13h、14h、15h、16h、17h、18h、19h、20h、21h、22h、23h 或 24h)。

30 在一些实施方案中,所述反应进行的时间为 20-120min(例如 20 min、25 min、30 min、35 min、40 min、45 min、50 min、55 min、60 min、70min、80min、90min、100min、110min 或 120min)。在一些实施方案中,所述反应进行的时间为 20-60min。在一些实施方案中,所述反应进行的时间为 30-60min。在一些实施方案中,所述反应进行的时间为 30min。

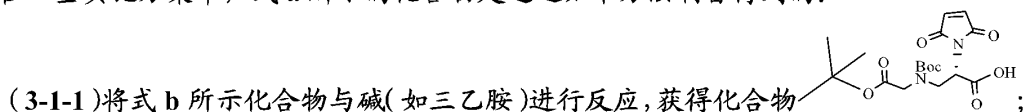
35 在一些实施方案中,将式 a 所示的化合物与路易斯酸发生反应后,纯化前,还包括后处理的步骤。

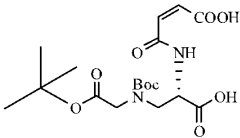
在一些实施方案中,所述后处理包括:将获得的反应物进行减压浓缩,获得粗产物。

在一些实施方案中,所述后处理包括:将获得的反应物进行析晶、过滤、干燥,获得粗产物。

40 在一些实施方案中,所述减压浓缩是在温度为 30-55℃(例如 30℃、35℃、40℃、45℃、50℃或 55℃,优选 45℃)的条件下进行的。

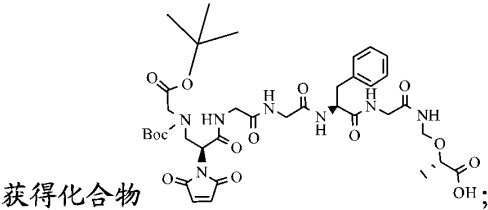
在一些实施方案中,式 a 所示的化合物是通过如下方法制备得到的:



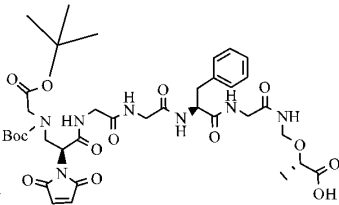


式 b

(3-1-2) 将化合物 与化合物 进行反应，



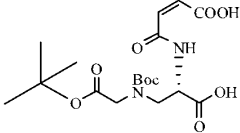
获得化合物



5 (3-1-3) 将化合物 与依喜替康甲磺酸盐进行反应，获得式 a 所示的化合物；

或者，式 a 所示的化合物是通过如下方法制备得到的：

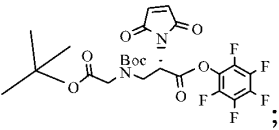
(3-2-1) 将式 b 所示化合物与碱(如三乙胺)进行反应，获得化合物 ；



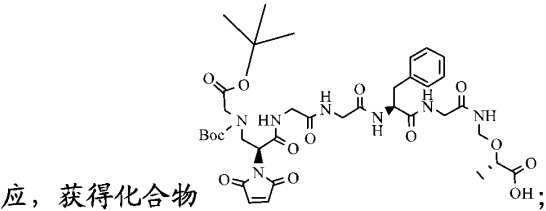
式 b

10

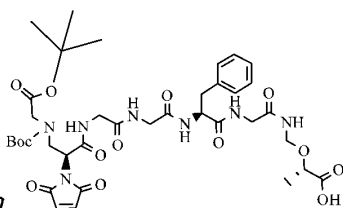
(3-2-2) 将化合物 与五氟苯酚和 DCC 进行反应，获得化合物

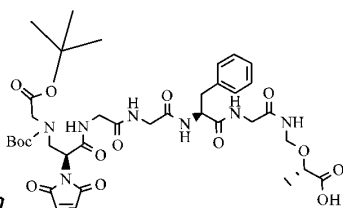


(3-2-3) 将化合物 与化合物 进行反

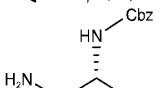
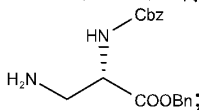


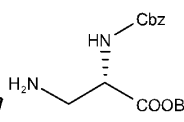
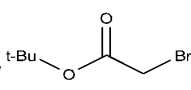
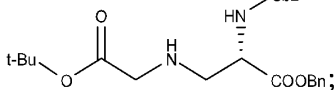
应，获得化合物

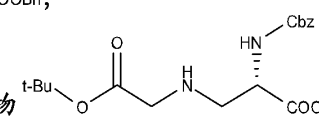
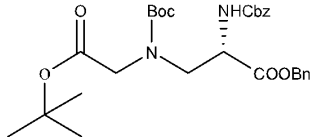


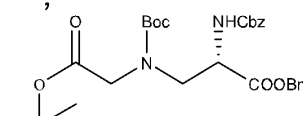
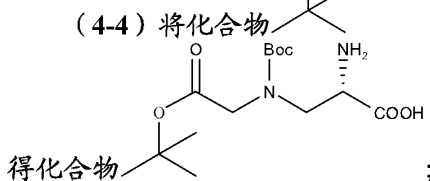
(3-2-4) 将化合物  与依喜替康甲磺酸盐进行反应, 获得式 a 所示的化合物。

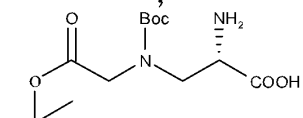
在一些实施方案中, 式 b 所示化合物是通过如下方法制备的:

(4-1) 将化合物  与氯化亚砷和苄醇进行反应, 获得化合物 ;

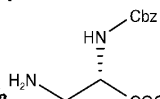
(4-2) 将化合物  与化合物  进行反应, 获得化合物 ;

(4-3) 将化合物  与 (Boc)₂O 进行反应, 获得化合物 ;

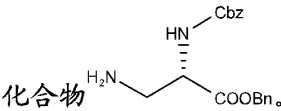
(4-4) 将化合物  与氢气在 Pd/C 存在的条件下进行反应, 获得化合物 ;

(4-5) 将化合物  与顺丁烯二酸酐进行反应, 获得式 b 所示的化合物。

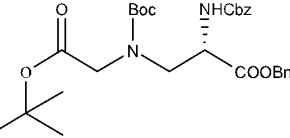
在一些实施方案中, 步骤 (4-1) 是通过如下方式进行的:

(4-1-1) 将氯化亚砷滴加至苄醇中, 之后再加入化合物  进行反应;

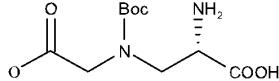
(4-1-2) 向步骤 (4-1-1) 获得的反应物中加入异丙醚析晶后过滤, 将滤饼烘干, 获得



在一些实施方案中，步骤（4-4）是通过如下方式进行的：

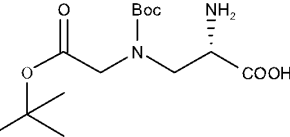


- (4-4-1) 将化合物  与氢气在 Pd/C 存在的条件下进行反应；
(4-4-2) 将步骤（4-4-1）获得的反应物进行过滤，将滤液减压浓缩，获得粗品；



- 5 (4-4-3) 将所述粗品用异丙醇/水进行重结晶，晶体即化合物  ；
优选地，所述重结晶时，所述异丙醇和水的体积比为(1-5):1，优选 3:1。

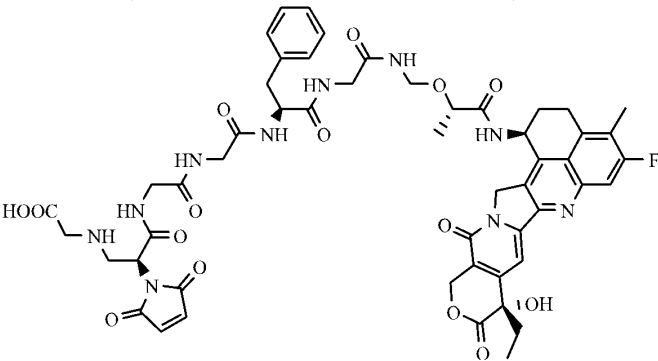
在一些实施方案中，步骤（4-5）是通过如下方式进行的：



- (4-5-1) 将化合物  与顺丁烯二酸酐进行反应；
(4-5-2) 向步骤（4-5-1）获得的反应物中加入正己烷析晶后过滤，将滤饼烘干，获得

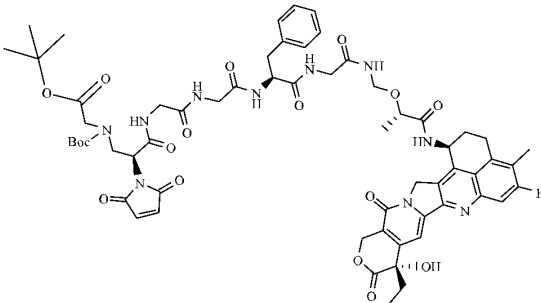
10 式 b 所示的化合物。

在本发明的另一方面，本发明还提供了一种制备式 A 所示化合物的方法，其包括：



式 A

- 15 (1-1) 将式 a 所示的化合物与硝基甲烷和溴化锌进行混合后反应，获得粗产物；



式 a

- (1-2) 将所述粗产物用制备型液相色谱进行纯化，获得制备液；

(1-3) 采用有机溶剂萃取所述制备液，弃去有机相，获得水相；
(1-4) 将所述水相进行浓缩、干燥，获得式 A 所示化合物；

其中，步骤 (1-2) 中，用制备型液相色谱进行纯化时，流动相 A 为 0.2%TFA/水，流动相 B 为 0.1%TFA/乙腈；步骤 (1-4) 中，所述浓缩是纳滤浓缩。

5 在一些实施方案中，步骤 (1-2) 中，用制备型液相色谱进行纯化时，采用梯度洗脱。
在一些实施方案中，梯度条件为：

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%	流速/mL·min ⁻¹
0	80	20	200
3	80	20	200
6	75	25	200
10	75	25	200
15	70	30	190
15.5	63	37	160
25	63	37	160
29	62	38	160
31	62	38	160
31.5	2	98	200
39	2	98	200
39.5	80	20	200
43	80	20	200

在一些实施方案中，步骤 (1-2) 中，用制备型液相色谱进行纯化时，色谱柱为 UniSil 10-100 C18 450mm*100mm。

在一些实施方案中，步骤 (1-2) 中，用制备型液相色谱进行纯化时，检测波长为 214nm。

10 在一些实施方案中，步骤 (1-4) 中，所述纳滤是在温度≤30°C 的条件下进行的。

在一些实施方案中，所述纳滤是通过纳滤设备实现的。

在一些实施方案中，步骤 (1-4) 中，所述干燥为冻干。

15 在一些实施方案中，步骤 (1-3) 中，所述有机溶剂为混合溶剂 1 和/或混合溶剂 2，所述混合溶剂 1 为乙酸乙酯和正己烷的混合溶剂，所述混合溶剂 2 为二氯甲烷和正己烷的混合溶剂。

在一些实施方案中，步骤 (1-3) 是通过如下方式进行的：依次采用混合溶剂 1、混合溶剂 2 分别萃取所述制备液，弃去有机相，获得水相。

在一些实施方案中，所述混合溶剂 1 与所述制备液的体积比为(1-5):1，例如 1:1、2:1、3:1、4:1 或 5:1，优选为 1:1。

20 在一些实施方案中，所述制备液与所述混合溶剂 2 的体积比为(1-5):1，例如 1:1、2:1、3:1、4:1 或 5:1，优选为 5:2。

在一些实施方案中，所述混合溶剂 1 中，所述乙酸乙酯与所述正己烷的体积比为(1-5):1，例如 1:1、2:1、3:1、4:1 或 5:1，优选为 3:1。

25 在一些实施方案中，所述混合溶剂 2 中，所述二氯甲烷和所述正己烷的体积比为(1-5):1，例如 1:1、2:1、3:1、4:1 或 5:1，优选为 3:1。

在一些实施方案中，步骤 (1-1) 中，所述溴化锌与式 a 所示的化合物的物质的量比为 (10-30):1，例如 10:1、15:1、20:1、25:1 或 30:1，优选 20:1。

30 在一些实施方案中，步骤 (1-1) 中，式 a 所示的化合物的质量与所述硝基甲烷的体积比为 1g/(20-50mL)，例如 1g/20mL、1g/25mL、1g/30mL、1g/35mL、1g/40mL、1g/45mL 或 1g/50mL，优选为 1g/35mL。

在一些实施方案中，步骤 (1-1) 中，所述反应是在温度为 30-50°C (例如 30°C、35°C、40°C、45°C 或 50°C，优选 40°C) 的条件下进行的。

在一些实施方案中，步骤（1-1）中，所述反应进行的时间为 20-60min（例如 20 min、25 min、30 min、35 min、40 min、45 min、50 min、55 min 或 60 min，优选 30min）。

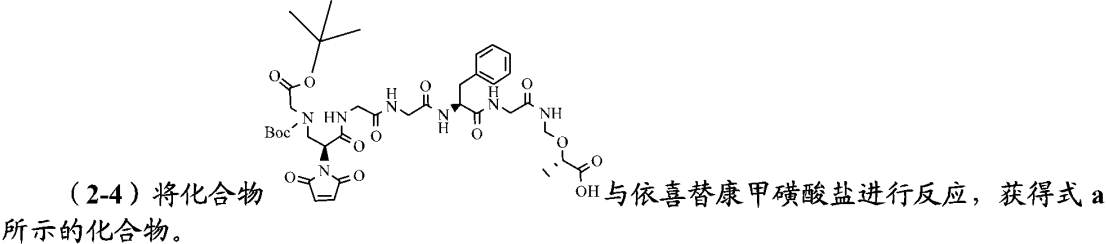
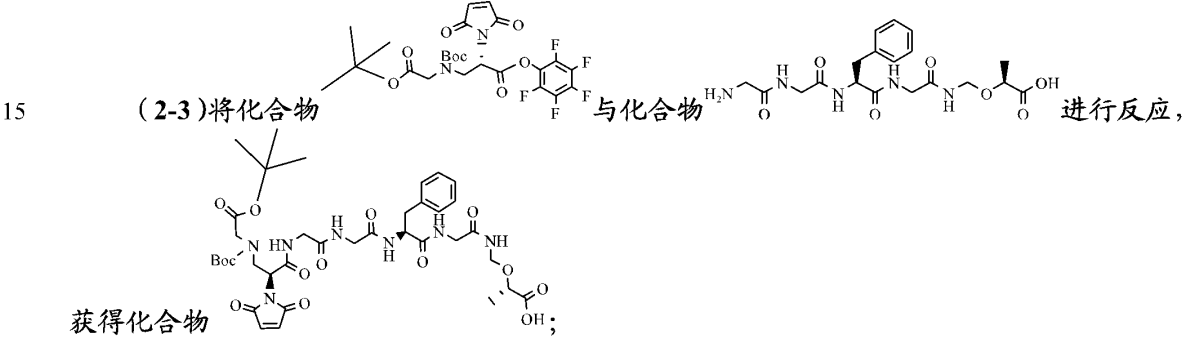
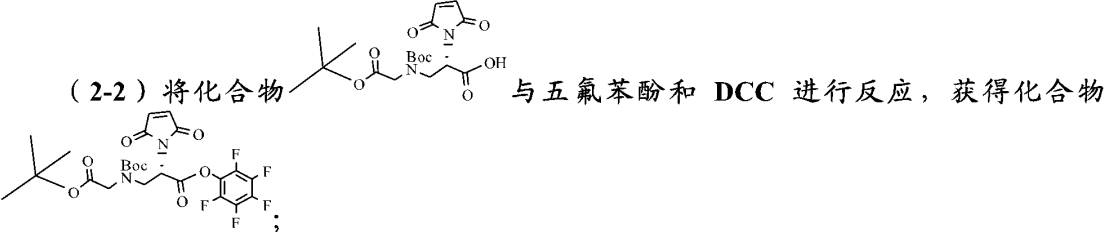
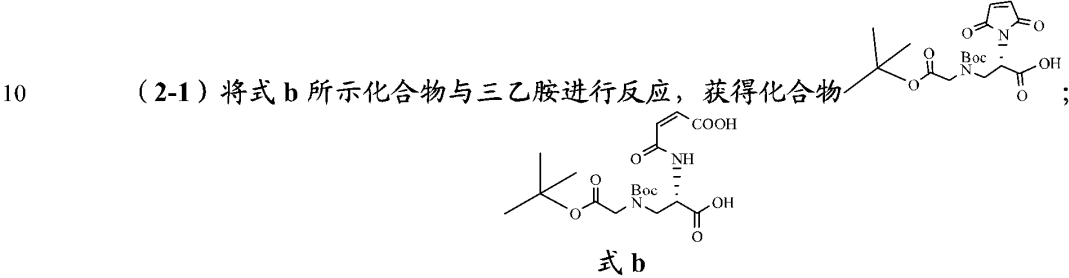
在一些实施方案中，步骤（1-1）中，将式 a 所示的化合物与硝基甲烷和溴化锌进行混合后反应是通过如下方式进行的：

5 （1-1-1）将式 a 所示化合物与硝基甲烷进行混合，溶解后再加入溴化锌进行反应；

 （1-1-2）将步骤（1-1-1）获得的反应物进行减压浓缩，获得粗产物。

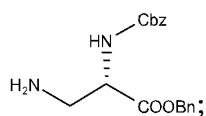
在一些实施方案中，所述减压浓缩是在温度为 30-55℃（例如 30℃、35℃、40℃、45℃、50℃或 55℃，优选 45℃）的条件下进行的。

在一些实施方案中，式 a 所示的化合物是通过如下方法制备得到的：

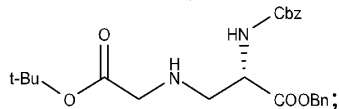


在一些实施方案中，式 b 所示化合物是通过如下方法制备的：

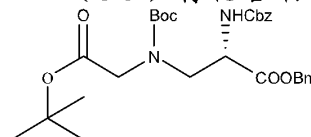




(3-2) 将化合物 与化合物 进行反应，获得化合物

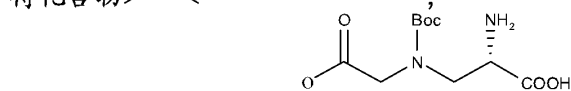
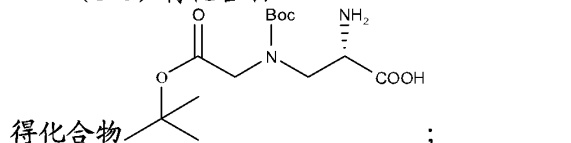


(3-3) 将化合物 与 (Boc)₂O 进行反应，获得化合物



5

(3-4) 将化合物 与氢气在 Pd/C 存在的条件下进行反应，获得化合物

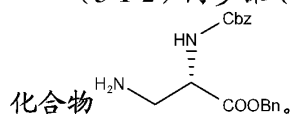


(3-5) 将化合物 与顺丁烯二酸酐进行反应，获得式 b 所示的化合物。

10 在一些实施方案中，步骤 (3-1) 是通过如下方式进行的：

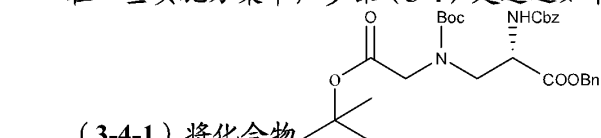
(3-1-1) 将氯化亚砷滴加至苄醇中，之后再加入化合物 进行反应；

(3-1-2) 向步骤 (3-1-1) 获得的反应物中加入异丙醚析晶后过滤，将滤饼烘干，获得



化合物 ；

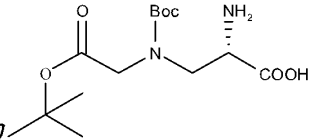
在一些实施方案中，步骤 (3-4) 是通过如下方式进行的：



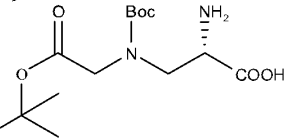
15

(3-4-1) 将化合物 与氢气在 Pd/C 存在的条件下进行反应；

(3-4-2) 将步骤 (3-4-1) 获得的反应物进行过滤，将滤液减压浓缩，获得粗品；



(3-4-3)将所述粗品用异丙醇/水进行重结晶，晶体即化合物。
在一些实施方案中，所述重结晶时，所述异丙醇和水的体积比为(1-5):1，例如 1:1、2:1、3:1、4:1 或 5:1，优选 3:1。
在一些实施方案中，步骤 (3-5) 是通过如下方式进行的：



5 (3-5-1) 将化合物与顺丁烯二酸酐进行反应；
(3-5-2) 向步骤 (3-5-1) 获得的反应物中加入正己烷析晶后过滤，将滤饼烘干，获得式 b 所示的化合物。

附图说明

10 图 1 显示了本发明实施例 1 的第一步的杂质检测结果；
图 2 显示了本发明实施例 2 的第一步的杂质检测结果；
图 3 显示了本发明实施例 3 的第一步的杂质检测结果；
图 4 显示了本发明对比例 1 的第一步的杂质检测结果；
图 5 显示了本发明实施例 1 的第二步的杂质检测结果；
15 图 6 显示了本发明对比例 2 的第二步的杂质检测结果；
图 7 显示了本发明对比例 3 的第二步的杂质检测结果；
图 8 显示了本发明对比例 4 的第二步的杂质检测结果；
图 9 显示了本发明对比例 5 的第二步的杂质检测结果；
图 10 显示了本发明对比例 6 的第二步的杂质检测结果；
20 图 11 显示了本发明对比例 7 的第二步的杂质检测结果；
图 12 显示了本发明对比例 8 的第二步的杂质检测结果；
图 13 显示了本发明对比例 9 的第二步的杂质检测结果。

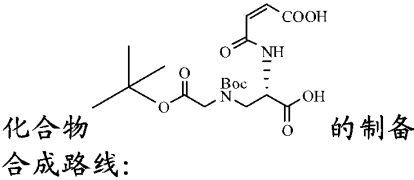
具体实施方式

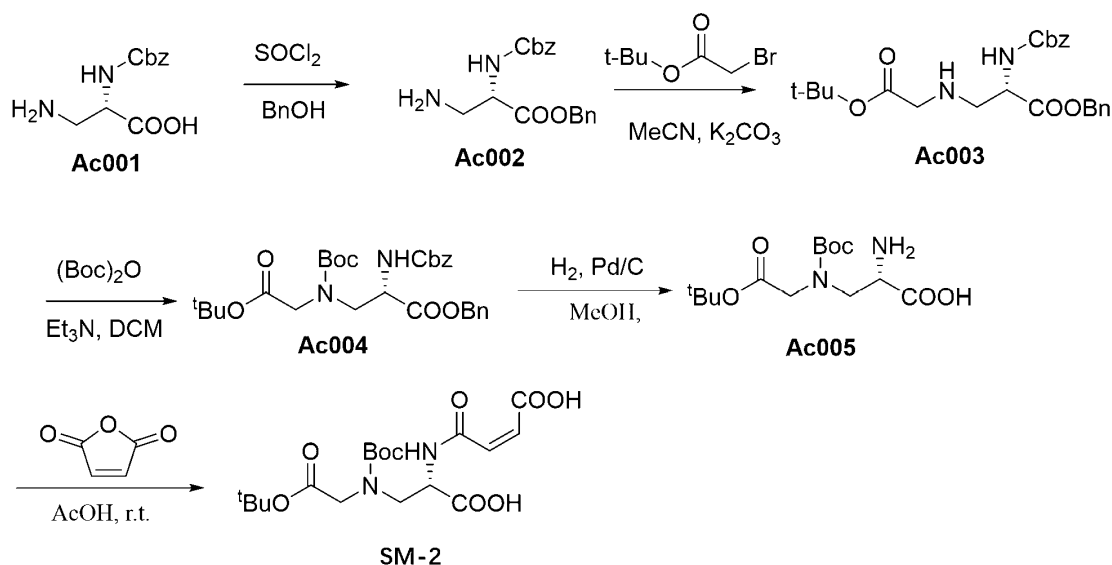
25 下面将结合附图和实施例对本发明的实施方案进行详细描述，但是本领域技术人员将理解，下列附图和实施例仅用于说明本发明，而不是对本发明的范围的限定。根据附图和优选实施方案的下列详细描述，本发明的各种目的和有利方面对于本领域技术人员来说将变得显然。

以下实验步骤中，没有特别说明的原料均可以市购获得。

30

预备例 1:





第一步: Ac002

向 5L 三口瓶中加入 2.8L 苄醇, 降温至 10℃ 以下, 滴加氯化亚砷(36mL, 0.50mol, 2.0eq), 滴毕升至室温反应 2h。再加入 3-氨基-N-Cbz-L-丙氨酸(60g, 0.25mol, 1.0eq), 室温反应 16h, TLC 监测原料(Ac001)基本消失, 结束反应。向体系中加入 12L 异丙醚, 析晶 2h, 过滤, 滤饼经过鼓风 45℃ 干燥, 得 55.2g Ac001, 收率 60.2%。

第二步: Ac003

向 1L 反应瓶中加入 Ac002 (55g, 0.15mol, 1.0eq), 300mL 乙腈, 33mL 纯化水, 搅拌溶解后, 加入碳酸钾(31.2g, 0.225mol, 1.5eq), 滴加溴乙酸叔丁酯(26.42g, 0.135mol, 0.9eq), 滴毕室温反应 20h, TLC 监测原料(Ac002)基本消失, 结束反应。向体系中加入纯化水(1.5L), 用乙酸乙酯萃取(1L), 分液, 有机层经过 10% 氯化钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥、过滤减压浓缩得到粗品。粗品经过柱层析纯化(石油醚/乙酸乙酯), 得到 44.4g Ac003, 收率 66%。

第三步: Ac004

向 500mL 反应瓶中加入 Ac003 (44.2g, 0.1mol, 1.0eq), 100mL 二氯甲烷, 搅拌溶解, 加入三乙胺(15mL, 0.11mol, 1.1eq), 滴加 Boc 酸酐(22.9g, 0.105mol, 1.05eq), 室温反应 20h, TLC 监测原料(Ac003)基本消失, 结束反应。向体系中加入纯化水(100mL), 分液, 水层用二氯甲烷萃取(40mL), 合并有机层, 用纯化水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤, 减压浓缩得 55.3g 黄色油状物, 直接用于下一步。

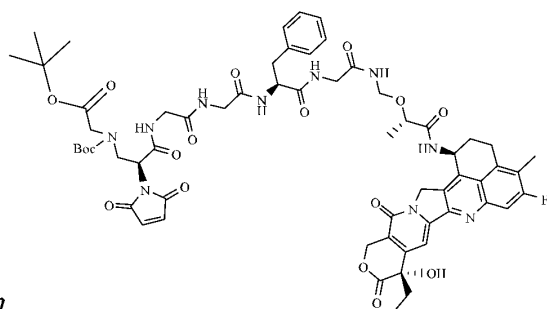
第四步: Ac005

向 1L 单口瓶中加入第三步的黄色油状物(55.3g), 200mL 甲醇, 搅拌溶解, 再加入 5% Pd/C(8.3g, 15% m/m), 氢化反应 4h, TLC 监测原料(Ac004)基本消失, 结束反应。反应液过滤, 滤液减压浓缩得粗品。粗品经过异丙醇/水(体积 3/1)重结晶, 得到 18.4g Ac005, 收率 58% (两步)。

第五步: SM-2

向 500mL 单口瓶中加入 Ac005 (18g, 0.056mol, 1.0eq), 100mL 二氯甲烷, 17mL 冰乙酸, 搅拌溶解, 加入顺丁烯二酸酐(6g, 0.062mol, 1.1eq), 室温反应 4h, TLC 监测原料(Ac005)基本消失, 结束反应。向体系中加入正己烷(80mL), 降温至 10℃, 析晶 2h, 过滤, 滤饼经过 50℃ 鼓风干燥 4h, 得到 20.6g SM-2, 收率 87%。

预备例 2:

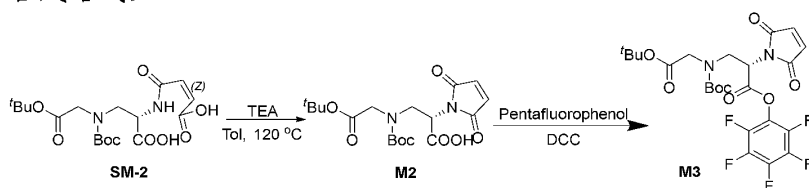


化合物

的制备

1、化合物 M3 的合成:

合成路线:



5 第一步: 化合物 M2

于 1000 mL 单口瓶中加入化合物 SM-2(40 g, 96 mmol, 1.0 eq), 三乙胺(26.7 mL, 2.0 eq), 甲苯(400 mL), 升温至 120 °C 下回流反应 2h。TLC 监测基本完全反应, 降温至 50 °C 下减压旋除溶剂。用乙酸乙酯(150 mL), 水(40 mL)溶解, 冰浴搅拌下用 1M HCl 调 pH 至 2-3, 分液。水层用乙酸乙酯再萃取一次, 合并有机层, 加入无水硫酸钠干燥。过滤后, 浓缩得到淡黄色油状粗品, 粗品经柱层析纯化(DCM:MeOH=40:1), 得到化合物 M2(26.6 g); LC-MS: $[M+H]^+=399.3$ 。

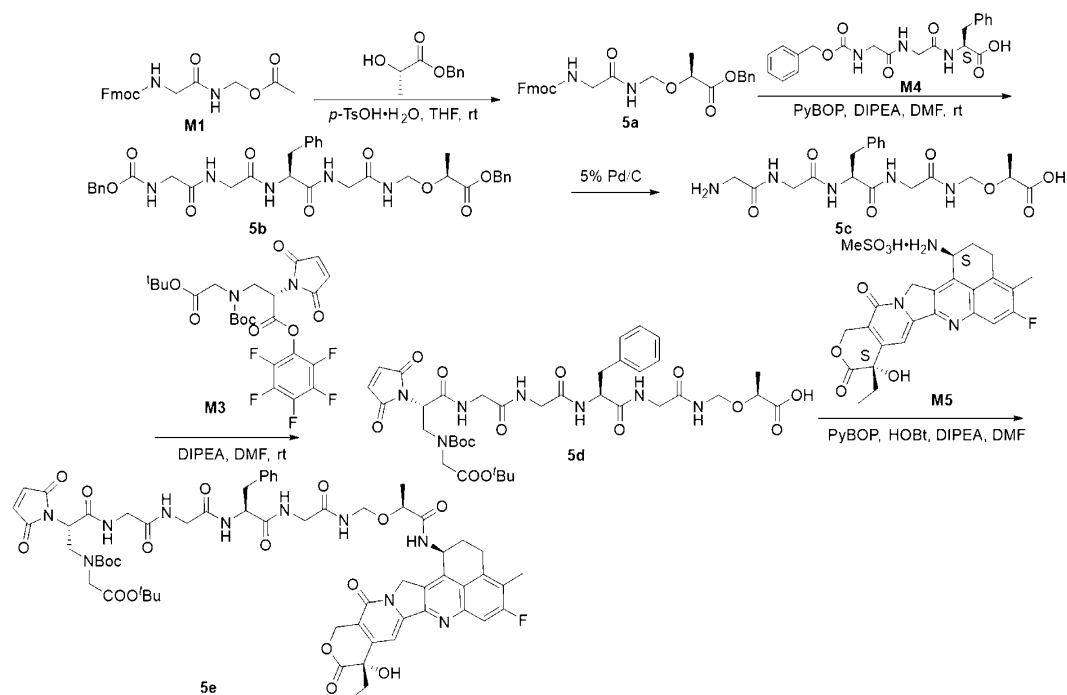
10 第二步: 化合物 M3

于 1000 mL 单口瓶, 加入化合物 M2(26.5 g, 60.5 mmol, 1.0eq)、五氟苯酚(12.2 g, 66.5 mmol, 1.1 eq)、DCC(13.7 g, 66.5 mmol, 1.1 eq)及 THF(300 mL), 室温反应 30 min(采用 TLC 监测), 过滤滤去不溶物。反应液直接经制备纯化, 制备液水泵减压水浴 35 °C 浓缩除去乙腈, 冻干得到化合物 M3(31.5g), 收率 64%; LC-MS: $[M+H]^+=565.1$ 。

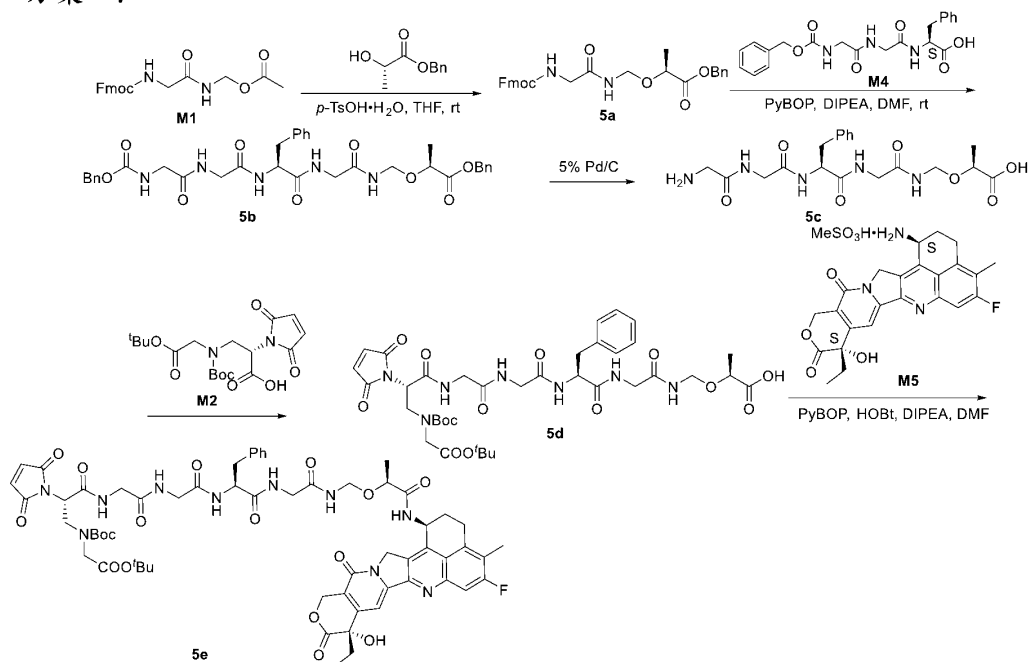
2、化合物 5e 的合成:

合成路线:

方案一:



方案二:



第一步: 化合物 5a

- 5 于 25mL 单口瓶中加入 M1(500mg, 1.4mmol, 1.0eq), 对甲苯磺酸一水合物(26mg, 0.1mmol, 0.1eq)及 10 mL THF, 搅拌均匀后, 降至 0 °C, 再缓慢加入 *L*-乳酸苄酯(1.2 g, 7.0 mmol, 5 eq), 加完后升至室温反应。TLC 监控, 反应结束后, 加入饱和 NaHCO₃ 溶液, 用乙酸乙酯萃取, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 残余物经反相柱纯化得 5a(400mg); LC-MS: [M+NH₄]⁺=506.2。

¹H NMR(400 Mz, CDCl₃/CD₃OD):1.39 (3H, d, *J* = 6.8 Hz), 3.78 (2H, t, *J* = 4.0 Hz), 4.17-4.27 (2H, m), 4.42 (2H, d, *J* = 4.0 Hz), 4.72-4.85 (2H, m), 5.11-5.58 (2H, m), 5.43 (1H, s), 7.06 (1H, t, *J* = 8.0 Hz), 7.25-7.33 (6H, m), 7.38 (2H, t, *J*=8.0 Hz), 7.57 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.75 (2H, d, *J* = 8.0 Hz)..

5 第二步：化合物 5b

于 25 mL 单口瓶中加入化合物 5a(400 mg, 0.8 mmol, 1.0 eq)和 4 mL DMF, 搅拌均匀后, 降至 0 °C, 再缓慢加入 DBU(137 mg, 0.9 mmol, 1.1 eq), 加完后升至室温反应。TLC 监控, 反应结束, 记为反应液①;

10 另取 25 mL 单口瓶中加入 M4(372 mg, 0.9 mmol, 1.1 eq), PyBOP(852 mg, 1.6 mmol, 2.0 eq)和 3 mL DMF, 室温搅拌 5 分钟, 加入反应液①, 室温反应, HPLC 监测。反应完毕, 反应液经高效液相纯化得化合物 5b(326mg); LC-MS: [M+NH₄]⁺=679.2。

第三步：化合物 5c

15 于 100mL 单口瓶中加入 5b (4.0 g, 6.05 mmol, 1.0 eq), DMF(60 mL)溶解, 再加入 5%Pd/C(4 g), 室温氢化反应 4 h(采用 HPLC 监测反应进程)。过滤 Pd/C, 滤液未经浓缩, 直接置于冰水浴(约 0 °C)中, 待用。

第四步：化合物 5d

方案一：将粗产品 5c 置于冰水浴中, 加入 DIPEA(1.1 mL, 1.1 eq), 再加入化合物 M3(3.4 g, 6.05 mmol), 加毕升至室温反应 2 h。HPLC 监测反应完毕, 反应液经高效液相纯化, 得制备液, 制备液冻干得到 5d(3.15g); LC-MS: [M-H]⁻=816.3。

20 方案二：于单口瓶中加入化合物 M2 (2.4g, 6.05mmol, 1.0eq), 乙腈 (24mL) 溶解, 降温至 -10±5 °C, 加入 EEDQ (1.49g, 6.05mmol, 1.0eq), 保温反应 2h, 再将粗产品 5c 加至体系中, 保温反应 1h, HPLC 监测反应毕, 反应液经过高效液相纯化, 得制备液, 制备液经过二氯甲烷萃取, 浓缩得到 5d (3.0g)。

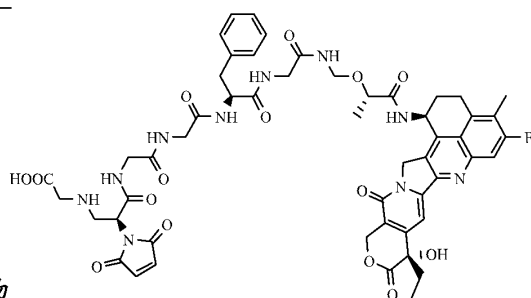
第五步：化合物 5e

25 于 100 mL 单口瓶中加入 5d(2.07 g, 2.53 mmol, 1.0 eq), 依喜替康甲磺酸盐 M5(1.35 g, 2.53 mmol, 1.0 eq), PyBOP(1.98 g, 3.79 mmol, 1.5 eq), HOBt(0.51 g, 3.79 mmol, 1.5 eq)及 DMF(40 mL), 冰水浴下加入 DIPEA(1.05 mL, 1.5 eq), 升至室温反应 2 h(采用 HPLC 监测)。反应液直接经制备纯化, 制备液水泵减压水浴 35 °C 浓缩除去乙腈, 冻干得到化合物 5e(1.92 g), 收率 61%; LC-MS: [M+H]⁺=1235.4。

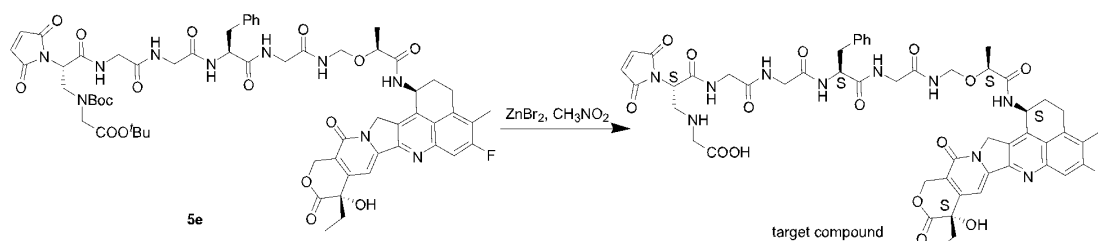
30

实施例 1:

目标化合物
合成路线:



的制备



第一步：于 100mL 单口瓶中加入化合物 5e(1.0 g, 0.8 mmol, 1.0 eq), 35 mL 硝基甲烷, 溶解后再加入溴化锌(3.64 g, 16 mmol, 20.0 eq), 油浴 40 °C(提前预热稳定)反应 30 min(采用 HPLC 监测), 水泵减压水浴 45 °C 浓缩除去硝基甲烷, 得黄色残余物固体。

杂质检测方法:

将目标化合物用 HPLC 进行杂质检测, 结果如下表 1 和图 1 所示。

仪器: 高效液相色谱仪

色谱柱: YMC-Triart C18-5 μ m-12nm 4.6mm*250mm

流动相: A—0.05%TFA/水 (1L 纯化水中加入 0.5mL TFA)

流动相: B—0.05% TFA/乙腈 (1L 乙腈中加入 0.5mL TFA)

检测波长: 214nm

流速: 1mL/min

柱温: 30 °C

梯度条件:

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	70	30
20	55	45
20.01	2	98
30	2	98
30.01	70	30
40	70	30

第二步: 经酸法制备纯化 (流动相: 0.2%TFA/水-0.1%TFA/乙腈), 得到目标化合物的制备液 (体积 V), 依次采用乙酸乙酯 (0.75V)/正己烷 (0.25V)、二氯甲烷 (0.3V)/正己烷 (0.1V) 萃取制备液中的有机溶剂, 弃去有机相, 获得水相, 水相再利用纳滤设备进行低温 ($\leq 30^{\circ}\text{C}$) 浓缩, 进行冻干, 得到目标化合物。

LC-MS: $[M+H]^+=1079.4$;

^1H NMR (400 MHz, DMSO-

d6) δ 9.39 – 9.02 (m, 1H), 8.70 (t, $J = 6.5$ Hz, 1H), 8.64 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H), 8.56 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 8.34 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H), 8.16 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 8.01 (t, $J = 5.5$ Hz, 1H), 7.71 (d, $J = 10.9$ Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 7.28 – 7.15 (m, 4H), 7.14 (s, 2H), 5.53 (dd, $J = 14.5, 6.4$ Hz, 1H), 5.49 – 5.34 (m, 2H), 5.22 (d, $J = 18.8$ Hz, 1H), 5.09 (d, $J = 18.7$ Hz, 1H), 5.03 (dd, $J = 9.6, 3.9$ Hz, 1H), 4.73 (dd, $J = 9.9, 6.9$ Hz, 1H), 4.59 (dd, $J = 10.1, 6.5$ Hz, 1H), 4.49 (ddd, $J = 13.2, 8.6, 4.4$ Hz, 1H), 4.14 (dd, $J = 13.3, 6.6$ Hz, 2H), 3.93 (s, 2H), 3.84 (dd, $J = 16.5, 6.3$ Hz, 1H), 3.76 (dd, $J = 16.9, 5.7$ Hz, 2H), 3.70 (d, $J = 5.2$ Hz, 2H), 3.60 (dd, $J = 16.7, 5.4$ Hz, 1H), 3.52 (dd, $J = 16.4, 5.1$ Hz, 1H), 3.45 (dd, $J = 12.8, 10.1$ Hz, 1H), 3.25 – 3.15 (m, 1H), 3.14 – 3.05 (m, 1H), 3.01 (dd, $J = 13.7, 4.1$ Hz, 1H), 2.73 (dd, $J = 13.5, 9.8$ Hz, 1H), 2.54 – 2.47 (m, 1H), 2.33 (s, 2H), 2.17 (d, $J = 5.5$ Hz, 2H), 1.91 – 1.79 (m, 2H), 1.33 (d, $J = 6.6$ Hz, 2H), 0.87 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H)。

制备纯化具体条件如下:

仪器: 制备液相色谱仪

色谱柱: UniSil 10-100 C18 450mm*100mm
流动相: A—0.2%TFA/水 (1L 纯化水中加入 2mL TFA)
流动相: B—0.1% TFA/乙腈 (1L 乙腈中加入 1mL TFA)
检测波长: 214nm
梯度条件:

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%	流速/mL·min ⁻¹
0	80	20	200
3	80	20	200
6	75	25	200
10	75	25	200
15	70	30	190
15.5	63	37	160
25	63	37	160
29	62	38	160
31	62	38	160
31.5	2	98	200
39	2	98	200
39.5	80	20	200
43	80	20	200

杂质检测方法:
将目标化合物用 HPLC 进行杂质检测, 结果如下表 2 和图 5 所示。
杂质检测时 HPLC 检测条件如下:

仪器: 高效液相色谱仪
色谱柱: YMC-Triart C18-5μm-12nm 4.6mm*250mm
流动相: A—0.05%TFA/水 (1L 纯化水中加入 0.5mL TFA)
流动相: B—0.05% TFA/乙腈 (1L 乙腈中加入 0.5mL TFA)
检测波长: 214nm
流速: 1mL/min
柱温: 30℃
梯度条件:

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	70	30
20	55	45
20.01	2	98
30	2	98
30.01	70	30
40	70	30

实施例 2:

合成路线:

相比于实施例 1, 区别仅在于第一步, 第二步与实施例 1 相同。具体地, 第一步: 于 100mL 单口瓶中加入化合物 5e(1.0 g, 0.8 mmol, 1.0 eq), 15 mL 二氯甲烷, 加入 20uL 水, 溶解后再加入溴化锌(3.64 g, 16 mmol, 20.0 eq), 油浴 40 °C(提前预热稳定)反应 1h(采用 HPLC 监测), 水泵减压水浴 45 °C 浓缩除去二氯甲烷, 得黄色残余物固体。

第一步杂质检测方法:
第一步的杂质检测方法 与实施例 1 相同, 结果如下表 1 和图 2 所示。

实施例 3:

合成路线:

5 相比于实施例 1，区别仅在于第一步，第二步与实施例 1 相同。具体地，第一步：
于 100mL 单口瓶中加入化合物 5e(1.0 g, 0.8 mmol, 1.0 eq)，15 mL 碳酸二甲酯，溶解
后再加入溴化锌(3.64 g, 16 mmol, 20.0 eq)，油浴 40 °C(提前预热稳定)反应 30min(采用
HPLC 监测)，反应完毕后加入 20mL 二氯甲烷进行析晶，析晶后过滤，干燥得到粗产
物固体。

第一步杂质检测方法:

10 第一步的杂质检测方法方法与实施例 1 相同，结果如下表 1 和图 3 所示。

对比例 1:

合成路线:

15 相比于实施例 1，区别仅在于第一步，第二步与实施例 1 相同。具体地，第一步：
于 100mL 单口瓶中加入化合物 5e(1.0 g, 0.8 mmol, 1.0 eq)，10 mL 二氯甲烷，溶解后
再加入 1ml 三氟乙酸，室温反应 30min(采用 HPLC 监测)，反应完毕后减压浓缩得到
粗产物。

第一步杂质检测方法:

20 第一步的杂质检测方法方法与实施例 1 相同，结果如下表 1 和图 4 所示。

表 1: 杂质的检测结果

编号	杂质情况 (HPLC 峰面积比)			
	目标化合物	单脱产物	式 a	药物单元
实施例 1	96.91%	2.59%	0.09%	0.41%
实施例 2	97.64%	1.92%	0.20%	0.25%
实施例 3	99.24%	0.32%	0.08%	0.36%
对比例 1	85.54%	0.22%	0.11%	14.14%

25 从以上实施例 1-3 和对比例 1 的结果对比可以直观地看出，在目标化合物的生产
工艺中，只有本申请请求保护的制备方法方能达到产品的质量(单脱产物需控制在
10%以内，化合物 a 需控制在 2%以内，药物单元需控制在 5%以内)，甚至远优于该质量
标准 (药物单元低至 2%以内)。

对比例 2:

合成路线:

30 相比于实施例 1，第一步与实施例 1 相同，区别仅在于第二步。具体地，第二步：
经制备纯化 (流动相: 纯水-乙腈)，得到目标化合物的制备液。对于制备纯化的具体条
件，除将流动相 A 替换成纯水，将流动相 B 替换成乙腈之外，制备纯化的其余具体条
件与实施例 1 相同。

第二步杂质检测方法:

35 第二步的杂质检测方法方法与实施例 1 相同，结果如下表 2 和图 6 所示。

对比例 3:

合成路线:

相比于实施例 1，第一步与实施例 1 相同，区别仅在于第二步。具体地，第二步:

经酸法制备纯化(流动相: 0.1%TFA/水-乙腈), 得到目标化合物的制备液(体积 V), 依次采用乙酸乙酯(0.75V)/正己烷(0.25V)、二氯甲烷(0.3V)/正己烷(0.1V)萃取制备液中的有机溶剂, 弃去有机相, 获得水相, 水相再利用纳滤设备进行低温($\leq 30^{\circ}\text{C}$)浓缩, 进行冻干, 得到目标化合物。对于制备纯化的具体条件, 除将流动相 A 替换成 0.1%TFA/水, 将流动相 B 替换成乙腈之外, 制备纯化的其余具体条件与实施例 1 相同。

第二步杂质检测方法:

第二步的杂质检测方法与实施例 1 相同, 结果如下表 2 和图 7 所示。

对比例 4:

合成路线:

相比于实施例 1, 第一步与实施例 1 相同, 区别仅在于第二步。具体地, 第二步: 经酸法制备纯化(流动相: 0.1%TFA/水-乙腈), 得到目标化合物的制备液(体积 V), 依次采用乙酸乙酯(0.75V)/正己烷(0.25V)、二氯甲烷(0.3V)/正己烷(0.1V)萃取制备液中的有机溶剂, 弃去有机相, 获得水相, 水相再经油泵减压水浴 35°C 浓缩, 进行冻干, 得到目标化合物。对于制备纯化的具体条件, 除将流动相 A 替换成 0.1%TFA/水, 将流动相 B 替换成乙腈之外, 制备纯化的其余具体条件与实施例 1 相同。

第二步杂质检测方法:

第二步的杂质检测方法与实施例 1 相同, 结果如下表 2 和图 8 所示。

对比例 5:

合成路线:

相比于实施例 1, 第一步与实施例 1 相同, 区别仅在于第二步。具体地, 第二步: 经酸法制备纯化(流动相: 0.1%TFA/水-0.1%TFA/乙腈), 得到目标化合物的制备液(体积 V), 依次采用乙酸乙酯(0.75V)/正己烷(0.25V)、二氯甲烷(0.3V)/正己烷(0.1V)萃取制备液中的有机溶剂, 弃去有机相, 获得水相, 水相再利用纳滤设备进行低温($\leq 30^{\circ}\text{C}$)浓缩, 进行冻干, 得到目标化合物。对于制备纯化的具体条件, 除将流动相 A 替换成 0.1%TFA/水之外, 制备纯化的其余具体条件与实施例 1 相同。

第二步杂质检测方法:

第二步的杂质检测方法与实施例 1 相同, 结果如下表 2 和图 9 所示。

对比例 6:

合成路线:

相比于实施例 1, 第一步与实施例 1 相同, 区别仅在于第二步。具体地, 第二步: 经酸法制备纯化(流动相: 0.1%TFA/水-0.1%TFA/乙腈), 得到目标化合物的制备液(体积 V), 依次采用乙酸乙酯(0.75V)/正己烷(0.25V)、二氯甲烷(0.3V)/正己烷(0.1V)萃取制备液中的有机溶剂, 弃去有机相, 获得水相, 水相再经油泵减压水浴 35°C 浓缩, 进行冻干, 得到目标化合物。对于制备纯化的具体条件, 除将流动相 A 替换成 0.1%TFA/水之外, 制备纯化的其余具体条件与实施例 1 相同。

第二步杂质检测方法:

第二步的杂质检测方法与实施例 1 相同, 结果如下表 2 和图 10 所示。

对比例 7:

合成路线:

相比于实施例 1, 第一步与实施例 1 相同, 区别仅在于第二步。具体地, 第二步:

经酸法制备纯化(流动相: 0.2%TFA/水-0.1%TFA/乙腈),得到目标化合物的制备液(体积 V),依次采用乙酸乙酯(0.75V)/正己烷(0.25V)、二氯甲烷(0.3V)/正己烷(0.1V)萃取制备液中的有机溶剂,弃去有机相,获得水相,水相再经油泵减压水浴 35℃浓缩,进行冻干,得到目标化合物。制备纯化的具体条件与实施例 1 相同。

5 第二步杂质检测方法:
 第二步的杂质检测方法与实施例 1 相同,结果如下表 2 和图 11 所示。

对比例 8:
 合成路线:

10 相比于实施例 1,第一步与实施例 1 相同,区别仅在于第二步。具体地,第二步:
 经酸法制备纯化(流动相: 0.2%TFA/水-0.2%TFA/乙腈),得到目标化合物的制备液(体
 积 V),依次采用乙酸乙酯(0.75V)/正己烷(0.25V)、二氯甲烷(0.3V)/正己烷(0.1V)
 萃取制备液中的有机溶剂,弃去有机相,获得水相,水相再利用纳滤设备进行低温
 (≤30℃)浓缩,进行冻干,得到目标化合物。对于制备纯化的具体条件,除将流动相
15 B 替换成 0.2%TFA/乙腈之外,制备纯化的其余具体条件与实施例 1 相同。

 第二步杂质检测方法:
 第二步的杂质检测方法与实施例 1 相同,结果如下表 2 和图 12 所示。

对比例 9:
 合成路线:

20 相比于实施例 1,第一步与实施例 1 相同,区别仅在于第二步。具体地,第二步:
 经酸法制备纯化(流动相: 0.2%TFA/水-0.2%TFA/乙腈),得到目标化合物的制备液(体
 积 V),依次采用乙酸乙酯(0.75V)/正己烷(0.25V)、二氯甲烷(0.3V)/正己烷(0.1V)
 萃取制备液中的有机溶剂,弃去有机相,获得水相,水相再经油泵减压水浴 35℃浓缩,
25 进行冻干,得到目标化合物。对于制备纯化的具体条件,除将流动相 B 替换成 0.2%TFA/
 乙腈之外,制备纯化的其余具体条件与实施例 1 相同。

 第二步杂质检测方法:
 第二步的杂质检测方法与实施例 1 相同,结果如下表 2 和图 13 所示。

30 表 2: 杂质的检测结果

流动相	浓缩操作	编号	杂质情况 (HPLC 峰面积比)		
			开环产物	目标化合物	药物单元
纯水-乙腈	/	对比例 2	31.7%	65.1%	3.1%
0.1%TFA/ 水 - 乙腈	纳 滤 浓 缩 (≤30℃)	对比例 3	16.5%	82.7%	0.83%
	35℃ 减压 浓 缩	对比例 4	24.8%	73.5%	1.55%
0.1%TFA/ 水 - 0.1%TFA/乙腈	纳 滤 浓 缩 (≤30℃)	对比例 5	12.9%	86.2%	0.87%
	35℃ 减压 浓 缩	对比例 6	18.9%	80.3%	0.81%
0.2%TFA/ 水 - 0.1%TFA/乙腈	纳 滤 浓 缩 (≤30℃)	实施例 1	2.1%	96.9%	1.01%
	35℃ 减压 浓 缩	对比例 7	11.5%	87.6%	0.88%

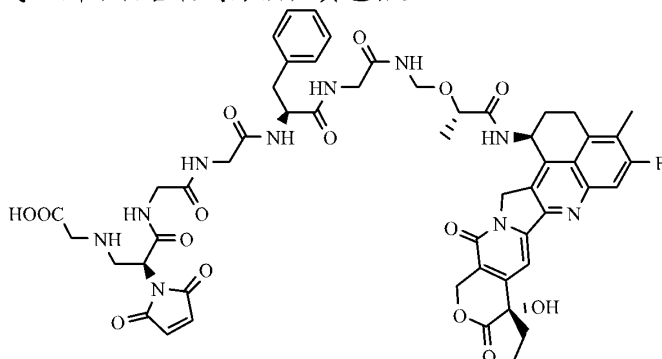
0.2%TFA/ 水 - 0.2%TFA/乙腈	纳 滤 浓 缩 (≤30℃)	对比例 8	4.0%	90.3%	5.7%
	35℃ 减 压 浓 缩	对比例 9	4.1%	86.1%	9.8%

从以上实施例 1 和对比例 2-9 的结果对比可以直观地看出，在目标化合物的生产工艺中，只有本申请请求保护的制备方法方能达到产品的质量标准(开环产物控制在 10% 以内，药物单元控制在 5%以内)，甚至远优于该质量标准（开环产物低至 3%以内，药物单元低至 2%以内）。5

应当理解的是，本文所述发明不限于特定的方法学、实验方案或试剂，因为这些是可以变化的。本文所提供的论述和实例仅是为了描述特定的实施方案呈现而非意在限制本发明的范围，本发明的范围仅受到权利要求的限定。

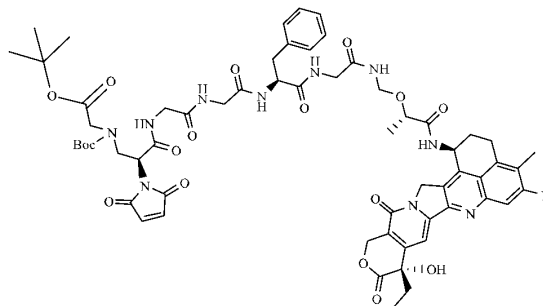
权利要求

1、一种制备式 A 所示化合物的方法，其包括：



式 A

将式 a 所示的化合物与路易斯酸发生反应，获得粗产物；所述粗产物经过纯化得到式 A 所示化合物；



式 a

优选地, 所述路易斯酸为溴化物、TMSI 或 TMSOTf;

更优选地, 所述路易斯酸为溴化锌。

2、权利要求1所述的方法，其中，所述纯化包括以下步骤：

(2-1) 将所述粗产物用制备型液相色谱进行纯化, 获得制备液;

(2-2) 将所述制备液进行浓缩、干燥, 获得式 A 所示化合物;

任选地, 在步骤(2-1)获得所述制备液之后, 步骤(2-2)之前, 还包括萃取的步骤:

任选地，在步骤（2-1）获得所述制备液之后，步骤（2-2）之前，还包括以下步骤：

(2-i) 采用有机溶剂萃取所述制备液，弃去有机相，获得水相；

其中，步骤（2-1）中，用制备型液相色谱进行纯化时，流动相 A 为 TFA/水，流动相 B 为 TFA/乙腈；步骤（2-2）中，所述浓缩是纳滤浓缩。

3、权利要求2所述的方法，其中，所述方法还具有选自以下(i)-(iii)中的一项或多项技术特征：

(i) 步骤(2-1)中, 用制备型液相色谱进行纯化时, 采用梯度洗脱;

梯度条件为:

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0~5	90~75	10~25
5~32	75~60	25~40
32~39	10~0	90~100

39~50	90~75	10~25
-------	-------	-------

(ii) 步骤(2-1)中, 用制备型液相色谱进行纯化时, 检测波长为 200-365nm;

(iii) 步骤(2-2)中, 所述纳滤是在温度 $\leq 30^{\circ}\text{C}$ 的条件下进行的;

优选地, 所述纳滤是通过纳滤设备实现的。

4、权利要求 2-3 任一项所述的方法, 其中, 所述方法还具有选自以下(i)-(ii)中的一项或多项技术特征:

(i) 步骤(2-2)中, 所述干燥为冻干;

(ii) 步骤(2-i)中, 所述有机溶剂为混合溶剂 1 和/或混合溶剂 2, 所述混合溶剂 1 为乙酸乙酯和正己烷的混合溶剂, 所述混合溶剂 2 为二氯甲烷和正己烷的混合溶剂;

优选地, 步骤(2-i)是通过如下方式进行的: 依次采用混合溶剂 1、混合溶剂 2 分别萃取所述制备液, 弃去有机相, 获得水相;

优选地, 所述混合溶剂 1 与所述制备液的体积比为(1-5):1, 优选为 1:1;

优选地, 所述制备液与所述混合溶剂 2 的体积比为(1-5):1, 优选为 5:2;

优选地, 所述混合溶剂 1 中, 所述乙酸乙酯与所述正己烷的体积比为(1-5):1, 优选为 3:1;

优选地, 所述混合溶剂 2 中, 所述二氯甲烷和所述正己烷的体积比为(1-5):1, 优选为 3:1。

5、权利要求 1-4 任一项所述的方法, 其中, 所述方法还具有选自以下(i)-(iv)中的一项或多项技术特征:

(i) 所述路易斯酸与式 a 所示的化合物的物质的量比不低于 10:1;

(ii) 所述反应是在溶剂存在的条件下进行的, 所述溶剂选自硝基烷烃类(如硝基甲烷、硝基乙烷)、卤代烷烃(如二氯甲烷、二氯乙烷、氯仿)、水、酮类(如丙酮、丁酮等)、甲苯类(如甲苯、三氟甲苯)、酯类(如乙酸乙酯、碳酸二甲酯)、乙腈以及以上两种或多种溶剂任意比例混合得到的混合溶剂, 优选选自硝基甲烷、碳酸二甲酯、二氯甲烷、混合溶液二氯甲烷/酮类、混合溶液二氯甲烷/水、混合溶液二氯甲烷/酯类。

(iii) 所述反应是在温度为 20-110 $^{\circ}\text{C}$ 的条件下进行的;

(iv) 所述反应进行的时间为 20min-24h。

6、权利要求 1-5 任一项所述的方法, 其中, 将式 a 所示的化合物与路易斯酸发生反应后, 纯化前, 还包括后处理的步骤;

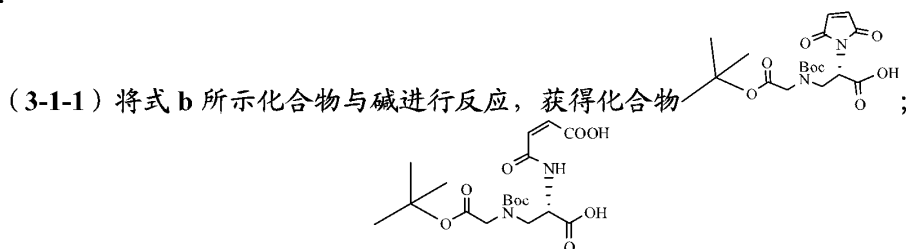
优选地, 所述后处理包括(i)或(ii):

(i) 将获得的反应物进行减压浓缩, 获得粗产物;

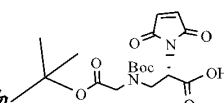
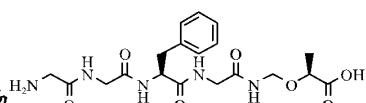
(ii) 将获得的反应物进行析晶、过滤、干燥, 获得粗产物;

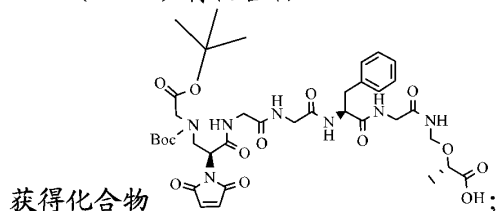
优选地, 所述减压浓缩是在温度为 30-55 $^{\circ}\text{C}$ 的条件下进行的。

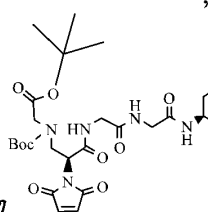
7、权利要求 1-6 任一项所述的方法, 其中, 式 a 所示的化合物是通过如下方法制备得到的:



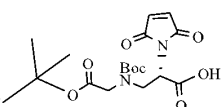
式 b

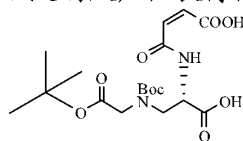
(3-1-2) 将化合物  与化合物  进行反应，



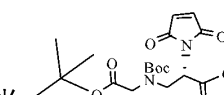
(3-1-3) 将化合物  与依喜替康甲磺酸盐进行反应，获得式 a 所示的化合物；

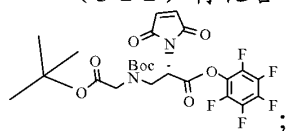
或者，式 a 所示的化合物是通过如下方法制备得到的：

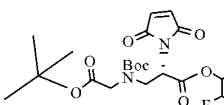
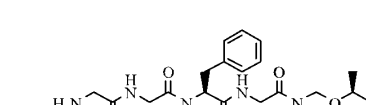
(3-2-1) 将式 b 所示化合物与碱进行反应，获得化合物 

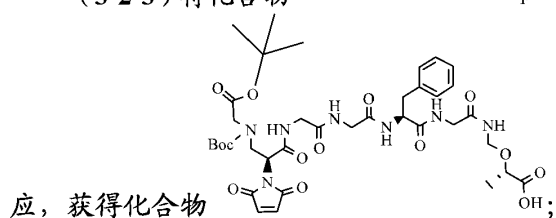


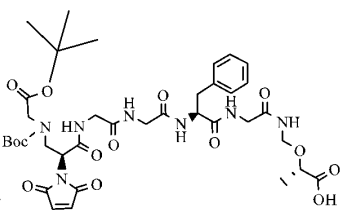
式 b

(3-2-2) 将化合物  与五氟苯酚和 DCC 进行反应，获得化合物



(3-2-3) 将化合物  与化合物  进行反





(3-2-4) 将化合物与依喜替康甲磺酸盐进行反应, 获得式 a 所示的化合物。

8、权利要求 7 所述的方法, 其中, 式 b 所示化合物是通过如下方法制备的:

(4-1) 将化合物与氯化亚砷和苄醇进行反应, 获得化合物

(4-2) 将化合物与化合物进行反应, 获得化合物

(4-3) 将化合物与 (Boc)₂O 进行反应, 获得化合物

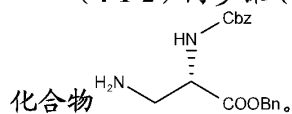
(4-4) 将化合物与氢气在 Pd/C 存在的条件下进行反应, 获得化合物

(4-5) 将化合物与顺丁烯二酸酐进行反应, 获得式 b 所示的化合物。

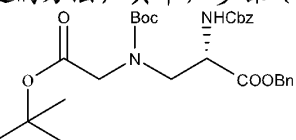
9、权利要求 8 所述的方法, 其中, 步骤 (4-1) 是通过如下方式进行的:

(4-1-1) 将氯化亚砷滴加至苄醇中, 之后再加入化合物进行反应;

(4-1-2) 向步骤 (4-1-1) 获得的反应物中加入异丙醚析晶后过滤, 将滤饼烘干, 获得

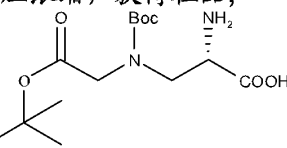


10、权利要求 8 所述的方法, 其中, 步骤 (4-4) 是通过如下方式进行的:



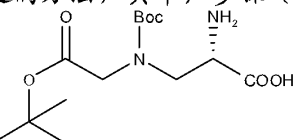
(4-4-1) 将化合物  与氢气在 Pd/C 存在的条件下进行反应;

(4-4-2) 将步骤 (4-4-1) 获得的反应物进行过滤, 将滤液减压浓缩, 获得粗品;



(4-4-3) 将所述粗品用异丙醇/水进行重结晶, 晶体即化合物  ;
优选地, 所述重结晶时, 所述异丙醇和水的体积比为 (1-5):1, 优选 3:1。

11、权利要求 8 所述的方法, 其中, 步骤 (4-5) 是通过如下方式进行的:



(4-5-1) 将化合物  与顺丁烯二酸酐进行反应;

(4-5-2) 向步骤 (4-5-1) 获得的反应物中加入正己烷析晶后过滤, 将滤饼烘干, 获得式 b 所示的化合物。