

一种抗肿瘤化合物及其应用

5 技术领域

本申请涉及生物医药领域，具体的涉及一种抗肿瘤化合物及其应用。

背景技术

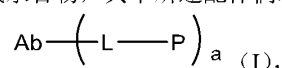
10 抗体-药物偶联物(antibody drug conjugate, ADC)将单克隆抗体或者抗体片段通过稳定的化学接头化合物与具有生物活性的细胞毒素相连，充分利用了抗体对正常细胞和肿瘤细胞表面抗原结合的特异性和细胞毒性物质的高效性，具有抗肿瘤作用。喜树碱衍生物依沙替康应用于抗体偶联药物(ADC)已有文献报道，但本领域仍需进一步开发疗效更好、安全性更高的ADC药物。但是目前已上市ADC药物仍然存在血浆稳定性差、脱靶毒副作用等问题，影响产品的疗效和安全性，仍然需要进一步开发新的、稳定性的连接体和/或连接体-药物分子来解决这些问题。

15

发明内容

本发明提供了一种稳定性高、疗效好、安全性高的配体偶联物，及其配体偶联物前体、连接体、连接体前体等。

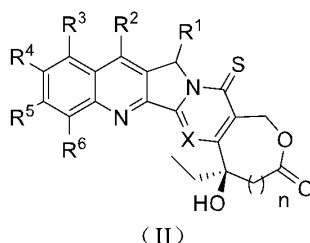
20 本发明的第一方面，提供了一种配体偶联物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体，或其可药用的盐或水合物，其中所述配体偶联物包含式 I 所示的结构：



其中，L为任选取代的连接体，其与P结构中的任意O原子、S原子或N原子相连；

25 Ab为配体，a为大于0的数，a是小数或整数；

P为毒素，且所述的P具有如下式II所示的结构：



其中，n为0或1；

30 X选自下组：N或CR⁰；

R⁰选自下组：H、D、卤素、C₁-C₈烷基、C₁-C₈烷氧基、OH、NH₂、N₃或NO₂；

R¹选自下组：氢原子、氘原子、卤素、C₁-C₈烷基、C₁-C₈烷氧基、C₁-C₈卤代烷基、C₁-C₈卤代烷氧基、N₃、NO₂、NH₂、NH-OH、-NR'R''、-COOR'、-CONR'R''、-NHR'''NR'R''；其中R'、R''和R'''各自独立地选自氢，氘，烷基，芳基，芳基烷基，酰基，烷氧羰基，芳基氧羰基；

35 R²、R³、R⁴、R⁵和R⁶各自独立地选自下组：氢原子、氘原子、卤素、羟基、氰基、NH₂、NO₂、取代或未取代的C₁-C₈烷基、取代或未取代的C₁-C₈烷氧基、取代或未取代的C₁-C₈烷硫基、取代或未取代的C₁-C₈氘代烷基、-(CH₂)_m三(C₁-C₄烷基)硅基、-(CH₂)_m(C₃-C₈环烷基)、-(CH₂)_m(3-12元杂环基)、-(CH₂)_mN(R⁷)₂、-(CH₂)_mS(CH₂)_pR⁷、-(CH₂)_mS(O)(CH₂)_pR⁷、-(CH₂)_mS(O)₂(CH₂)_pR⁷、-(CH₂)_mNH(CH₂)_pR⁷、-(CH₂)_mNHC(O)(CH₂)_pR⁷、-(CH₂)_mOC(O)(CH₂)_pR⁷、-(CH₂)_mC(O)(CH₂)_pR⁷、-CH=N(OtBu)；其中，m和p各自独立地为0、1、2、3或4；

40

或者，R²和R³与其相连接的碳原子一起形成取代或未取代的C₅-C₈碳环或取代或未取代的5-12元杂环基；

或者，R³和R⁴，或R⁴和R⁵与其相连接的碳原子共同形成选自下组的结构：未取代或被一个或多个R^e取代的饱和或不饱和的5-12元碳环、未取代或被一个或多个R^e取代的饱和或不饱和的5-12元杂环；所

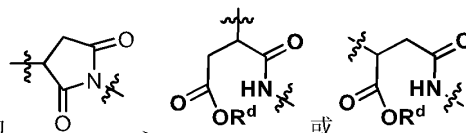
述R^c为取代或未取代的选自下组的取代基：氢原子、氘原子、卤素、腈基、硝基、羟基、氨基、C₁-C₆烷基-NH-、(C₁-C₆烷基)₂N-、C₁-C₆烷基、C₂-C₆烯基、C₂-C₆炔基、C₁-C₆烷氧基、烯丙基、苄基、C₆-C₁₂芳基、C₁-C₆烷氧基-C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基-羰基、苯氧羰基、C₂-C₆炔基-羰基、C₂-C₆烯基-羰基、C₃-C₆环烷基-羰基、C₁-C₆烷基-磺酰基、苯基、5-7元杂芳基、C₃-C₈环烷基、3-12元杂环基、-(CH₂)_mN(R⁷)₂、
5 -(CH₂)_mS(CH₂)_pR⁷、-(CH₂)_mS(O)(CH₂)_pR⁷、-(CH₂)_mS(O)₂(CH₂)_pR⁷、-(CH₂)_mNH(CH₂)_pR⁷、-(CH₂)_mNHC(O)(CH₂)_pR⁷、-(CH₂)_mOC(O)(CH₂)_pR⁷、-(CH₂)_mC(O)(CH₂)_pR⁷；其中，m和p各自独立地为0、1、2、3或4，优选为0、1或2；

R⁷选自下组：氢原子、氘原子、卤素、取代或未取代的C₁-C₈烷基、C₁-C₈卤代烷基、C₁-C₈氘代烷基、取代或未取代的C₁-C₈烷氧基、羟基、氨基、氰基、硝基、巯基、取代或未取代的C₁-C₈亚烷基-OH、
10 取代或未取代的C₁-C₈亚烷基-NH₂、SO₂Me、-OC(O)(取代或未取代的C₁-C₄烷基)、-C(O)(取代或未取代的C₁-C₄烷基)、取代或未取代的苯基、取代或未取代的5-7元杂芳基、取代或未取代的C₃-C₈环烷基、取代或未取代的3-12元杂环基；

除非特别说明，所述的各个“取代”指基团上的一个或多个氢原子被选自下组的取代基所取代：氢原子、氘原子、卤素、腈基、硝基、羟基、氨基、C₁-C₆烷基-NH-、(C₁-C₆烷基)₂N-、C₁-C₆烷基、C₂-C₆烯基、C₂-C₆炔基、C₁-C₆烷氧基、卤代C₁-C₆烷基、卤代C₂-C₆烯基、卤代C₂-C₆炔基、卤代C₁-C₆烷氧基、
15 烯丙基、苄基、C₆-C₁₂芳基、C₁-C₆烷氧基-C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基-羰基、苯氧羰基、C₂-C₆炔基-羰基、C₂-C₆烯基-羰基、C₃-C₆环烷基-羰基、C₁-C₆烷基-磺酰基、苯基、5-7元杂芳基、C₃-C₈环烷基、3-12元杂环基。

在另一优选例中，所述L具有如下式所示的结构：

20 -L₁-L₂-L₃-L₄-L₅-；



其中，所述L₁为任选取代的C₁-C₆氘代烷基、C₃-C₈环烷基或C₃-C₈氘代环烷基；

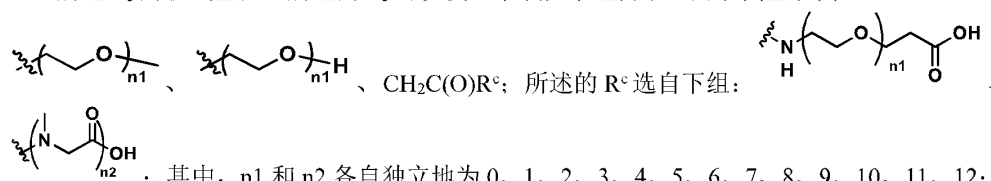
所述L₂为选自下组的基团：任选取代的-(CHR)_{m1}-X₁-(CH₂CH₂O)_{n3}-(CHR)_{m2}-C(O)-、任选取代的-(CHR)_{m1}-X₁-X₂-(CH₂CH₂O)_{n3}-(CHR)_{m2}-C(O)-、任选取代的-X₁-(CHROCHR)_{m2}-C(O)-、任选取代的-(CHR)_{p1}-C(O)-、任选取代的-(CHR)_{m1}-X₁-(CHR)_{m2}-C(O)-、任选取代的-(CHR)_{m1}-X₁-
25 (CHR)_{n3}-X₂-(CHR)_{m2}-C(O)-、任选取代的-X₁-(CHR)_{m1}-X₂-(CHR)_{m2}-C(O)-、任选取代的-(CH₂CH₂O)_{n3}-C(O)-；

X₁和X₂各自独立地选自以下组：-O-、-C(O)-、-C(O)-NR-、任选取代的C₆-C₁₀芳基、任选取代的5-9元杂芳基、任选取代的3-8元杂脂环基和任选取代的C₃-C₆脂环基；

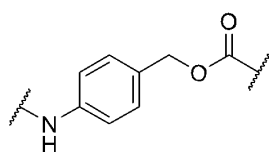
30 其中，所述的R各自独立地选自以下组：H、D、(CH₂)_{n4}OH、(CH₂)_{n4}NH₂、(CH₂O)_{n4}(CH₂CH₂O)_{n5}H、(CH₂O)_{n4}(CH₂CH₂O)_{n5}CH₃、(CH₂)_{n4}OCH₃、(CH₂CH₂O)_{n5}CH₃、CH₂C(O)NH(CH₂O)_{n4}(CH₂CH₂O)_{n5}H、CH₂C(O)NH(CH₂O)_{n4}(CH₂CH₂O)_{n5}CH₃；

其中，m₁、m₂、n₃、n₄和n₅各自独立地选自0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12；p₁选自0、1、2、3、4、5、6、7或8；

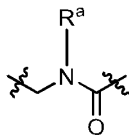
35 所述L₃为肽残基；且所述的L₃可以被一个或多个选自下组的取代基取代：



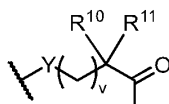
其中，n₁和n₂各自独立地为0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12；所述L₄为任选取代的-L_{4a}-(NR^b)_{n6}-R¹²-L_{4b}-，其中，L_{4a}不存在，或L_{4a}为任选取代的



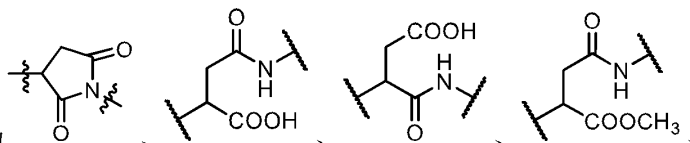
；其中 n_6 为0或1； R^{12} 为化学键、 CH_2 、或 CD_2 ；



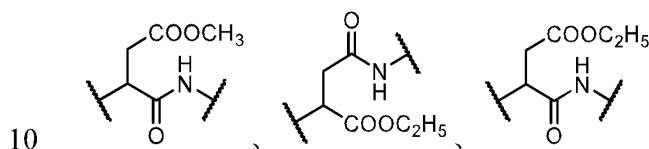
L_{4b} 不存在，或 L_{4b} 为任选取代的，其中， R^a 和 R^b 各自独立地选自以下组：氢、任选取代的 C_1 - C_4 烷基、和任选取代的 C_1 - C_4 氘代烷基；



所述 L_5 不存在，或为任选取代的，其中，Y选自下组：O、S或NH； v 选自0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10； R^{10} 和 R^{11} 各自独立地选自以下组：氢、氘、任选取代的 C_1 - C_4 烷基、任选取代的 C_1 - C_4 卤代烷基、任选取代的 C_3 - C_6 环烷基和任选取代的 C_4 - C_8 环烷基，或 R^{10} 和 R^{11} 与其相连接的原子一起形成任选取代的3-6元环烷基， R^{10} 和 R^{11} 各自独立地选自下组：氢原子、氘原子、卤素、任选取代的 C_1 - C_8 烷基、任选取代的 C_1 - C_8 卤代烷基和任选取代的 C_1 - C_8 氘代烷基。



在另一优选例中，所述的 L_1 为



在另一优选例中， X_1 和 X_2 各自独立地选自以下组：-O-、-C(O)-、-C(O)-NR-、任选取代的苯基、

任选取代的吡啶基、任选取代的 C_3 - C_6 环烷基、任选取代的或任选取代的.

在另一优选例中，所述的 L_2 为选自下组的基团：任选取代的 $-(CH_2)_{m1}-X_1-(CH_2CH_2O)_{n3}-(CH_2)_{m2}-C(O)-$ ；其中， X_1 为-C(O)-NH-；较佳地， m_1 和 m_2 各自独立地选自1、2或3； n_3 选自0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12。

在另一优选例中，所述的 L_2 为选自下组的基团：任选取代的 $-(CHR)_{m1}-X_1-X_2-(CH_2CH_2O)_{n3}-(CHR)_{m2}-$

C(O)-；其中， X_1 为任选取代的，或任选取代的； X_2 为-C(O)-NR-；较佳地， m_1 和 m_2 各自独立地选自0、1或2； n_3 选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12。

在另一优选例中，所述的 L_2 为选自下组的基团：任选取代的 $-X_1-(CHROCHR)_{m2}-C(O)-$ ；其中， X_1 为任选取代的芳基、任选取代的杂芳基；较佳地， m_2 选自0、1、2或3。

在另一优选例中，所述的 L_2 为选自下组的基团：任选取代的 $(CHR)_{p1}-C(O)-$ ； p_1 选自0、1或2；R选自下组：H、 $(CH_2)_{n4}OH$ 、 $(CH_2O)_{n4}(CH_2CH_2O)_{n5}H$ ；较佳地， n_4 和 n_5 各自独立地选自0、1、2或3。

在另一优选例中，所述的 L_2 为选自下组的基团：任选取代的 $-(CH_2)_{m1}-X_1-(CH_2CH_2O)_{n3}-(CHR)_{m2}-C(O)-$ ；其中， X_1 为-C(O)-；较佳地， m_1 和 m_2 各自独立地选自0、1、2或3； n_3 选自0、1或2。

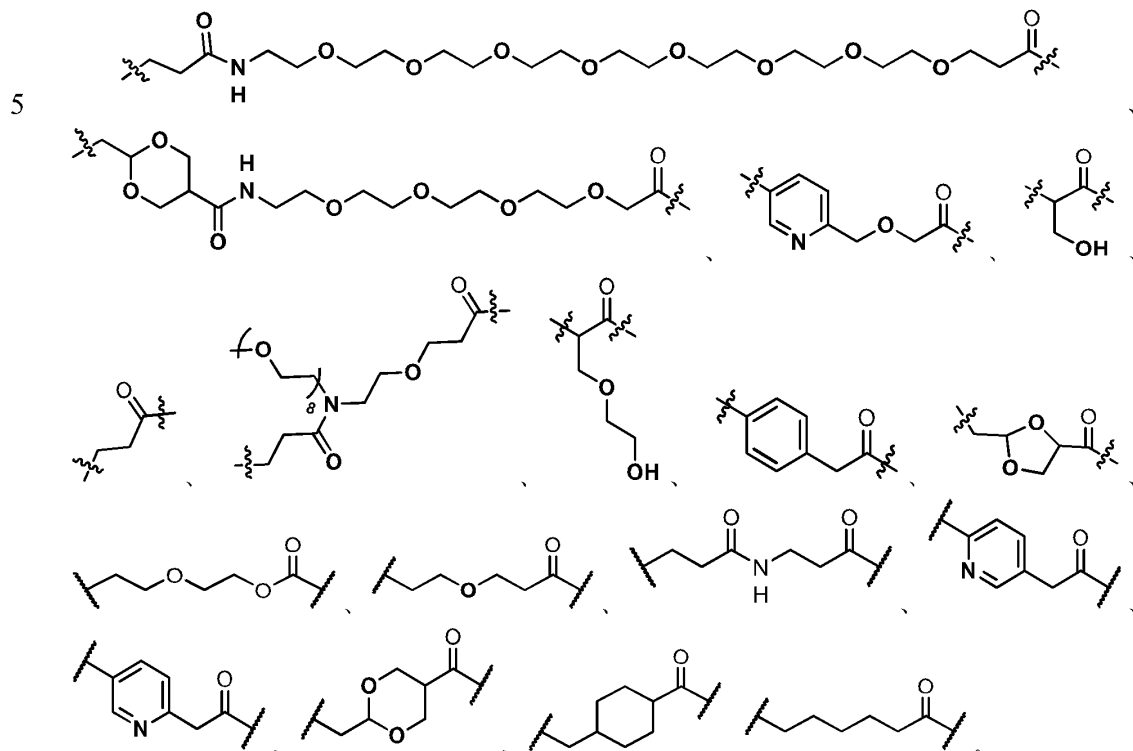
在另一优选例中，所述的 L_2 为选自下组的基团：任选取代的 $-X_1-(CH_2)_{m1}-X_2-(CHR)_{m2}-C(O)-$ ；其中， X_1 为任选取代的芳基或任选取代的杂芳基； X_2 为-C(O)-；较佳地， m_1 、 m_2 各自独立地选自0、1或2。

在另一优选例中，所述的 L_2 为选自下组的基团： $-(CHR)_{m1}-X_1-(CHR)_{m2}-C(O)-$ ；其中 X_1 为任选取代的3-8元杂脂环基或任选取代的 C_3 - C_6 脂环基；较佳地， m_1 为0、1或2， m_2 为0。

在另一优选例中，所述的 L_2 为选自下组的基团：任选取代的 $-(CHR)_{m1}-X_1-(CH_2CH_2O)_{n3}-(CHR)_{m2}-$

C(O)-; 其中, X_1 为 O; 较佳地, m_1 , n_3 和 m_2 各自独立地为 0、1 或 2。在另一优选例中, 所述的 L_2 为选自下组的基团: 任选取代的 $-(CHR)_{m_1}-X_1-(CHR)_{n_3}-X_2-(CHR)_{m_2}-C(O)-$; 其中 X_1 任选取代的 $-C(O)-NR-$, X_2 为 O; 较佳地, m_1 , n_3 和 m_2 各自独立地为 1、2 或 3; R 如上文中所述。

在另一优选例中, 所述 L_2 为任选取代的选自下组的结构:



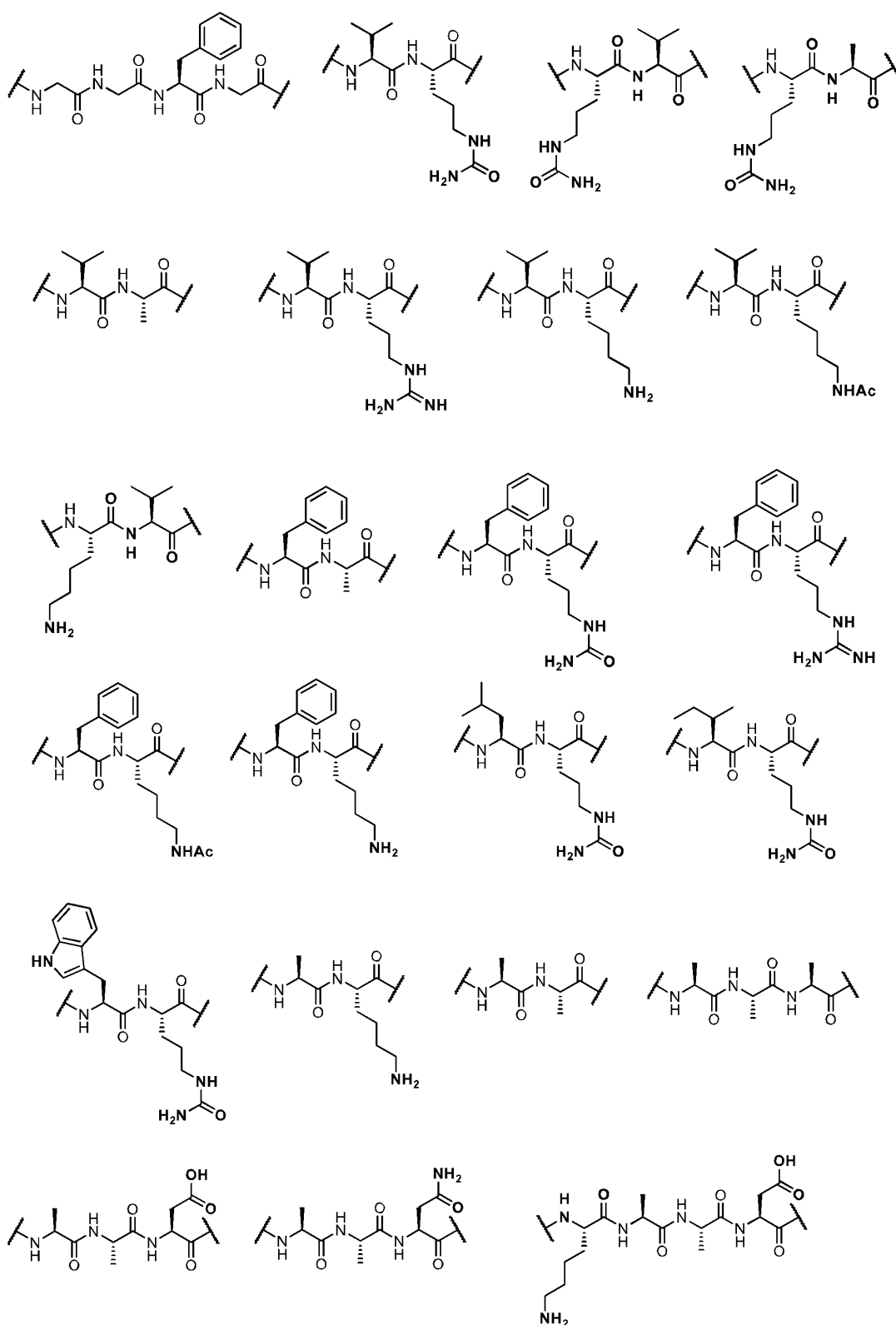
在一个优选的实施方式下, 选择上述的 L_2 结构, 能够使所得到的配体偶联物的马来酰亚胺基团形成开环结构, 从而抑制 Retro-Michael 反应, 提高配体偶联物的稳定性, 减少小分子部分的脱落, 从而改善配体偶联物药物的安全性。

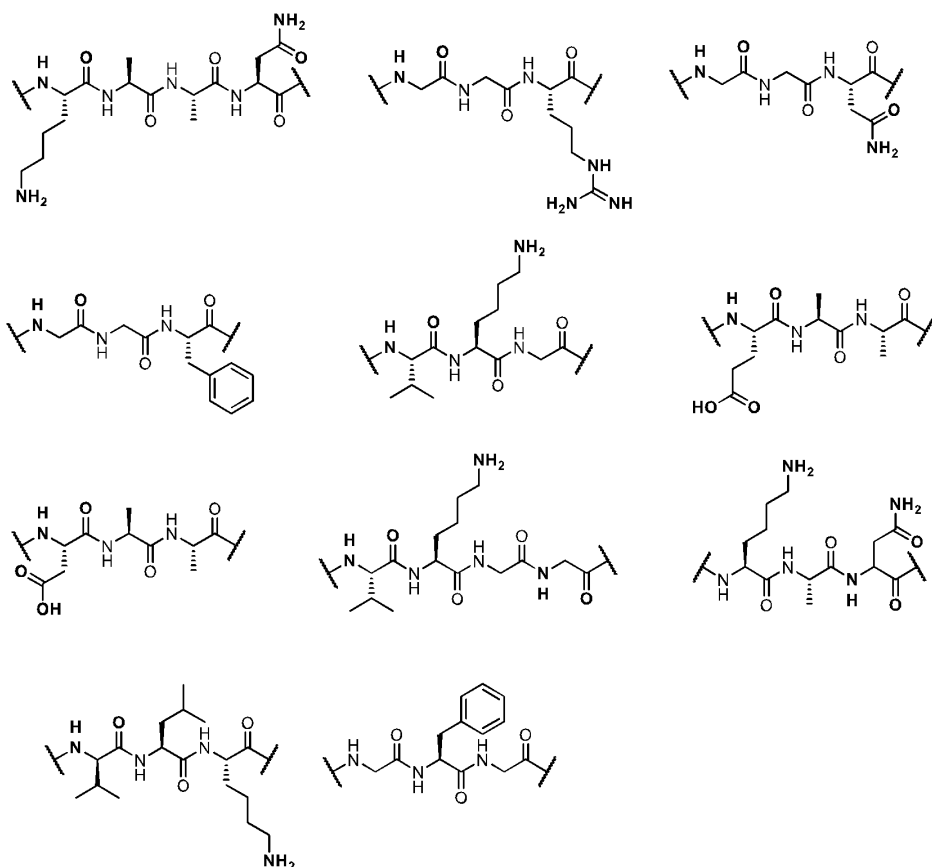
在另一优选例中, 所述 L_3 为未取代或被 $CH_2C(O)R^c$ 取代的选自以下组的氨基酸构成的肽残基: 苯丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、色氨酸、缬氨酸、甲硫氨酸、酪氨酸、丙氨酸、苏氨酸、组氨酸、丝氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、赖氨酸、天冬酰胺、谷氨酸、脯氨酸、瓜氨酸、天冬氨酸和甘氨酸。

在另一优选例中, 所述 L_3 为未取代或被 $CH_2C(O)R^c$ 取代的选自以下组的氨基酸构成的肽残基: 甘氨酸、丙氨酸、赖氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸和瓜氨酸。

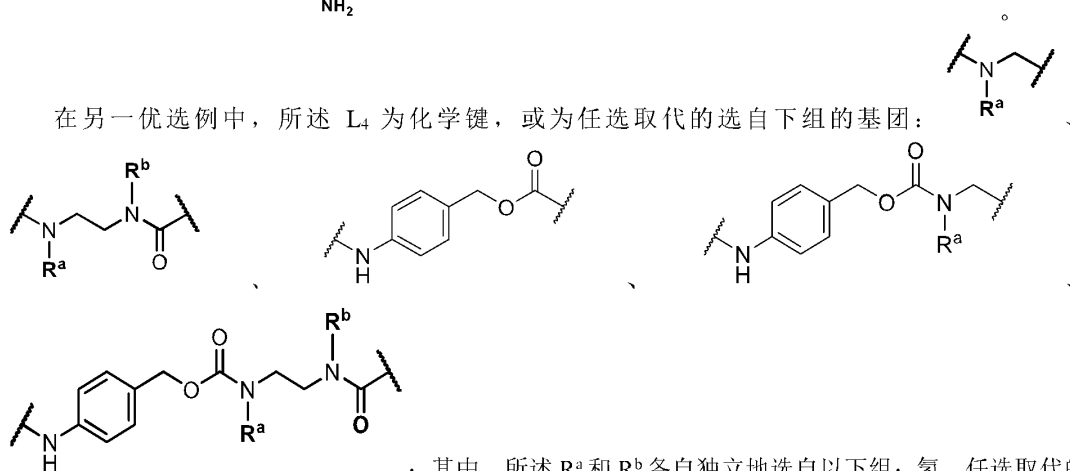
在另一优选例中, 所述 L_3 为未取代或被 $CH_2C(O)R^c$ 取代的选自以下组的肽残基: -甘氨酸-苯丙氨酸-甘氨酸-(-Gly-Phe-Gly-)、-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-甘氨酸-(-Gly-Gly-Phe-Gly-)、-缬氨酸-瓜氨酸-(-Val-Cit-)、-瓜氨酸-缬氨酸-(-Cit-Val-)、-瓜氨酸-丙氨酸-(-Cit-Ala-)、-缬氨酸-丙氨酸-(-Val-Ala-)、-缬氨酸-精氨酸-(-Val-Arg-)、-缬氨酸-赖氨酸-(-Val-Lys-)、-缬氨酸-赖氨酸(Ac)-(-Val-Lys(Ac)-)、-赖氨酸-缬氨酸-(-Lys-Val-)、-亮氨酸-瓜氨酸-(-Leu-Cit-)、-异亮氨酸-瓜氨酸-(-Ile-Cit-)、-色氨酸-瓜氨酸-(-Trp-Cit-)、-苯丙氨酸-赖氨酸-(-Phe-Lys-)、-苯丙氨酸-赖氨酸(Ac)-(-Phe-Lys(Ac)-)、-苯丙氨酸-瓜氨酸-(-Phe-Cit-)、-苯丙氨酸-丙氨酸-(-Phe-Ala-)、-苯丙氨酸-精氨酸-(-Phe-Arg-)、-丙氨酸-赖氨酸-(-Ala-Lys-)、-丙氨酸-丙氨酸-(-Ala-Ala-)、-丙氨酸-丙氨酸-丙氨酸-(-Ala-Ala-Ala-)、-丙氨酸-丙氨酸-天冬酰胺-(-Ala-Ala-Asn-)、-丙氨酸-丙氨酸-天冬氨酸-(-Ala-Ala-Asp-)、-赖氨酸-丙氨酸-丙氨酸-天冬酰胺-(-Lys-Ala-Ala-Asn-)、-赖氨酸-丙氨酸-丙氨酸-天冬氨酸-(-Lys-Ala-Ala-Asp-)、-(D)-缬氨酸-亮氨酸-赖氨酸-(-D-Val-Leu-Lys-)、-甘氨酸-甘氨酸-精氨酸-(-Gly-Gly-Arg-)、-甘氨酸-甘氨酸-天冬酰胺-(-Gly-Gly-Asn-)、-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-(-Gly-Gly-Phe-)、-缬氨酸-赖氨酸-甘氨酸-(-Val-Lys-Gly-)、-谷氨酸-丙氨酸-丙氨酸-(-Glu-Ala-Ala-)、-天冬氨酸-丙氨酸-丙氨酸-(-Asp-Ala-Ala-)、-缬氨酸-赖氨酸-甘氨酸-甘氨酸-(-Val-Lys-Gly-Gly-)和 -赖氨酸-丙氨酸-天冬酰胺-(-Lys-Ala-Asn-)。

在另一优选例中, 所述 L_3 为未取代或被 $CH_2C(O)R^c$ 取代的选自以下组的结构:



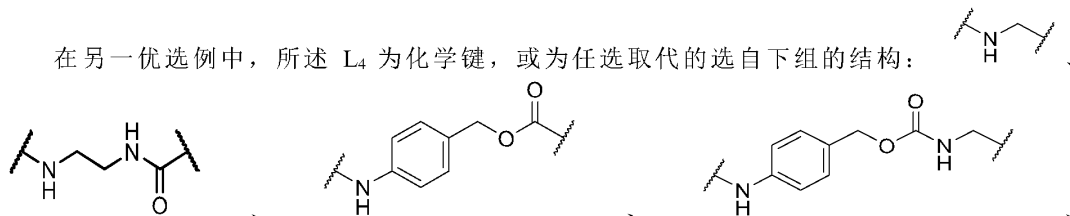


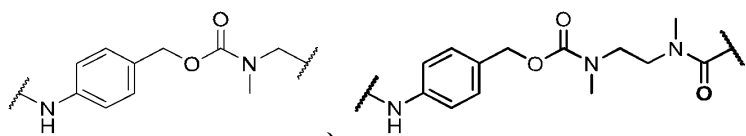
在另一优选例中, 所述 L₄ 为化学键, 或为任选取代的选自下组的基团:



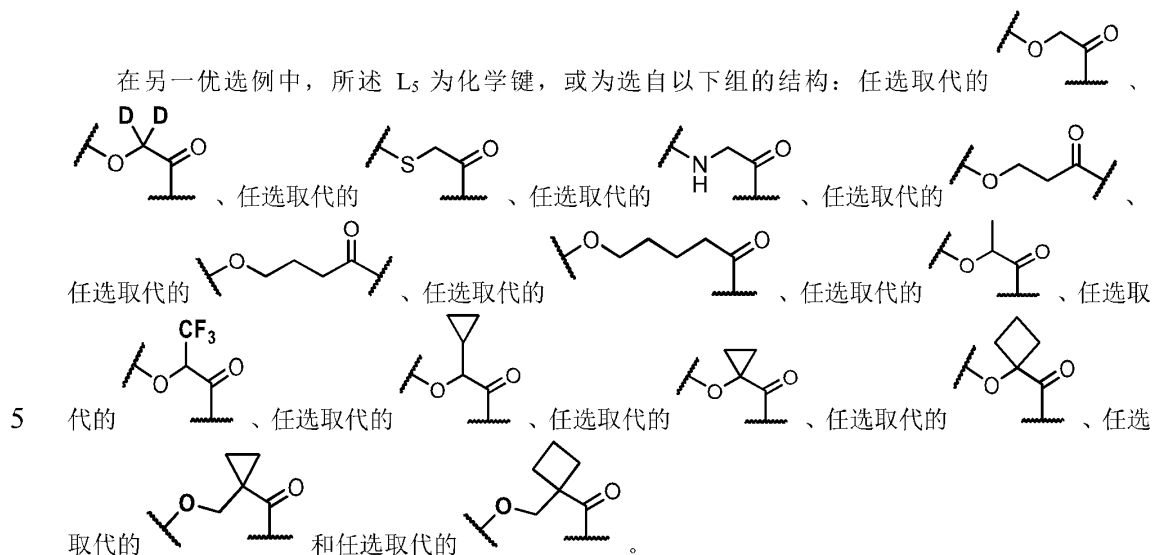
5 其中, 所述 R^a 和 R^b 各自独立地选自以下组: 氢、任选取代的 C₁-C₄ 烷基、任选取代的 C₁-C₄ 氘代烷基。

在另一优选例中, 所述 L₄ 为化学键, 或为任选取代的选自下组的结构:

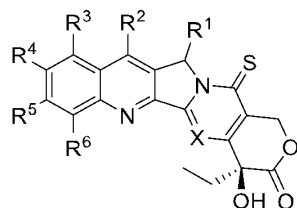




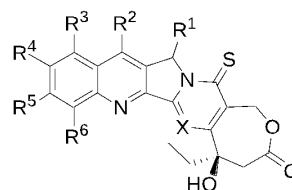
在另一优选例中, 所述 L_5 为化学键, 或为选自以下组的结构: 任选取代的



在另一优选例中, 所述的式II化合物选自下组:

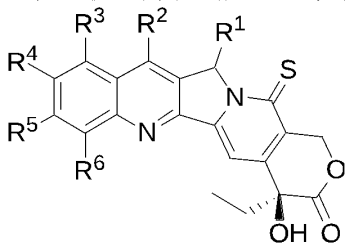


IIA

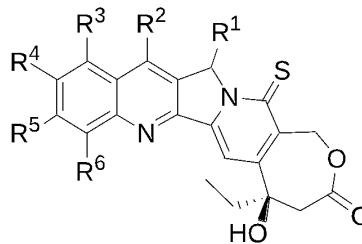


IIB.

10 在另一优选例中, 所述的式II化合物选自下组:

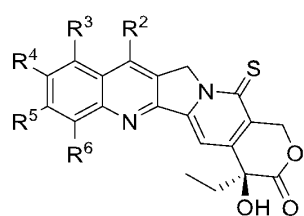


IV

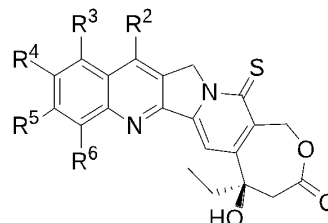


V.

在另一优选例中, 所述的式II化合物选自下组:



VI



VII.

15

在另一优选例中, 所述 R^4 选自下组: 氢原子、氘原子、卤素、羟基、氰基、 NH_2 、 NO_2 、取代或未取代的 C_1-C_8 烷基、取代或未取代的 C_1-C_8 烷氧基、取代或未取代的 C_1-C_8 烷基硫基、取代或未取代的 C_1-C_8 羧基、 $-(CH_2)_m(C_3-C_8$ 环烷基)、 $-(CH_2)_m(3-12$ 元杂环基)、 $-(CH_2)_mN(R^7)_2$ 、 $-(CH_2)_mS(O)(CH_2)_pR^7$ 、-

$(\text{CH}_2)_m\text{S}(\text{O})_2(\text{CH}_2)_p\text{R}^7$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{NH}(\text{CH}_2)_p\text{R}^7$ ；其中， m 和 p 各自独立地为0、1或2， R^7 的定义如上文所述；

R^5 选自下组：氢原子、氘原子、卤素、 NH_2 、 OH 、取代或未取代的 C_1 - C_8 烷基、取代或未取代的 C_1 - C_8 烷氧基；

- 5 或者， R^4 和 R^5 与其相连接的碳原子共同形成选自下组的结构：未取代或被一个或多个 R^e 取代的饱和或不饱和的5-6元碳环、未取代或被一个或多个 R^e 取代的饱和或不饱和的5-6元杂环；其中， R^e 的定义如上文所述。

- 10 在另一优选例中， R^2 和 R^3 各自独立地选自下组：氢原子、氘原子、卤素、 NH_2 、取代或未取代的 C_1 - C_8 烷基、取代或未取代的 C_1 - C_8 氘代烷基、 $-(\text{CH}_2)_m(\text{C}_3$ - C_6 环烷基)、 $-(\text{CH}_2)_m(3$ -6元杂环基)、 $-(\text{CH}_2)_m\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{OC}(\text{O})\text{R}^7$ ；其中， m 为0、1、2、3或4， R^7 的定义如上文所述；

或者， R^2 和 R^3 与其相连接的碳原子共同形成选自下组的结构：未取代或被一个或多个 R^e 取代的饱和或不饱和的5-6元环、未取代或被一个或多个 R^e 取代的饱和或不饱和的5-6元杂环；其中， R^e 的定义如上文所述。

在另一优选例中， R^1 和 R^6 各自独立地为氢原子。

- 15 在另一优选例中，所述 R^4 和 R^5 各自独立地选自下组：氢原子、氘原子、卤素、羟基、 NH_2 、取代或未取代的 C_1 - C_8 烷基；

或者， R^4 和 R^5 与其相连接的碳原子共同形成未取代或被一个或多个 R^e 取代的氧杂5-6元杂环；其中， R^e 的定义如上文所述。

- 20 在另一优选例中， R^2 选自下组：氘原子、卤素、 NH_2 、取代或未取代的 C_1 - C_8 烷基、取代或未取代的 C_1 - C_8 氘代烷基、 $-(\text{CH}_2)_m(\text{C}_3$ - C_6 环烷基)、 $-(\text{CH}_2)_m(3$ -6元杂环基)、 $-(\text{CH}_2)_m\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{OC}(\text{O})\text{R}^7$ ；其中， m 为0、1、2、3或4；

R^3 各自选自下组：氢原子、氘原子、卤素、取代或未取代的 C_1 - C_8 烷基、取代或未取代的 C_1 - C_8 氘代烷基、 $-(\text{CH}_2)_m(\text{C}_3$ - C_6 环烷基)、 $-(\text{CH}_2)_m(3$ -6元杂环基)、 $-(\text{CH}_2)_m\text{N}(\text{R}^7)_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_m\text{OC}(\text{O})\text{R}^7$ ；其中， m 为0、1、2、3或4；

- 25 或者， R^2 和 R^3 与其相连接的碳原子共同形成选自下组的结构：未取代或被一个或多个 R^e 取代的饱和或不饱和的5-6元环、未取代或被一个或多个 R^e 取代的饱和或不饱和的5-6元杂环；

R^4 选自下组：氢原子、氘原子、卤素、羟基、氰基、 NH_2 、 NO_2 、取代或未取代的 C_1 - C_8 烷基、取代或未取代的 C_1 - C_8 烷氧基；

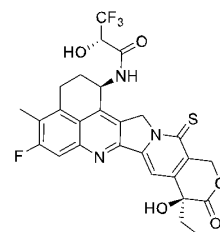
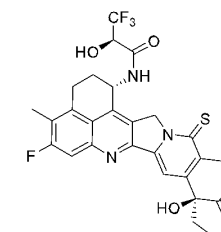
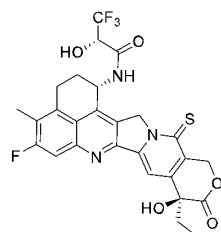
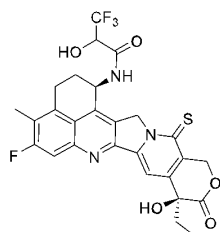
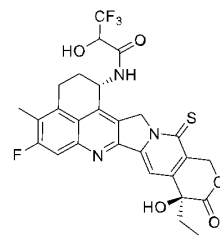
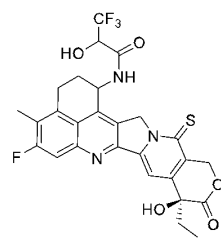
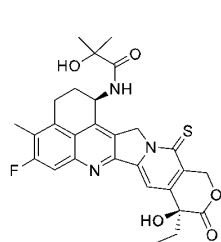
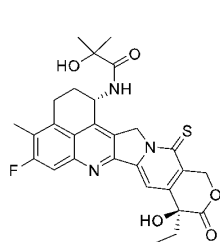
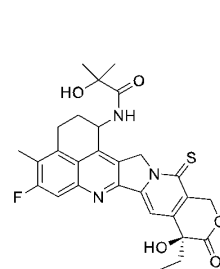
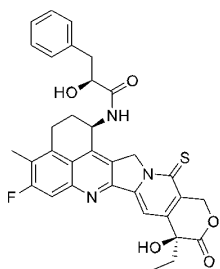
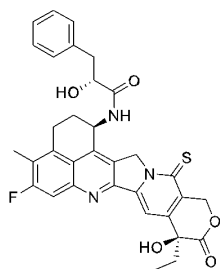
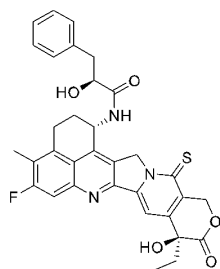
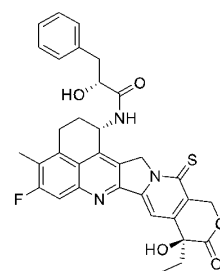
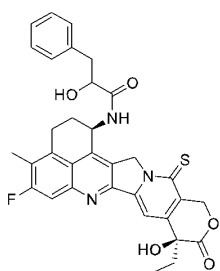
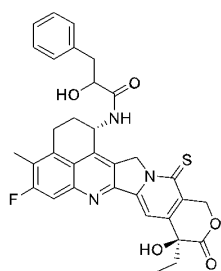
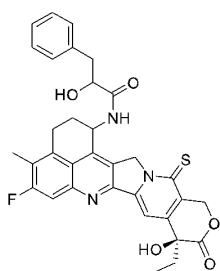
R^5 选自下组：氢原子、氘原子、卤素、取代或未取代的 C_1 - C_8 烷基；

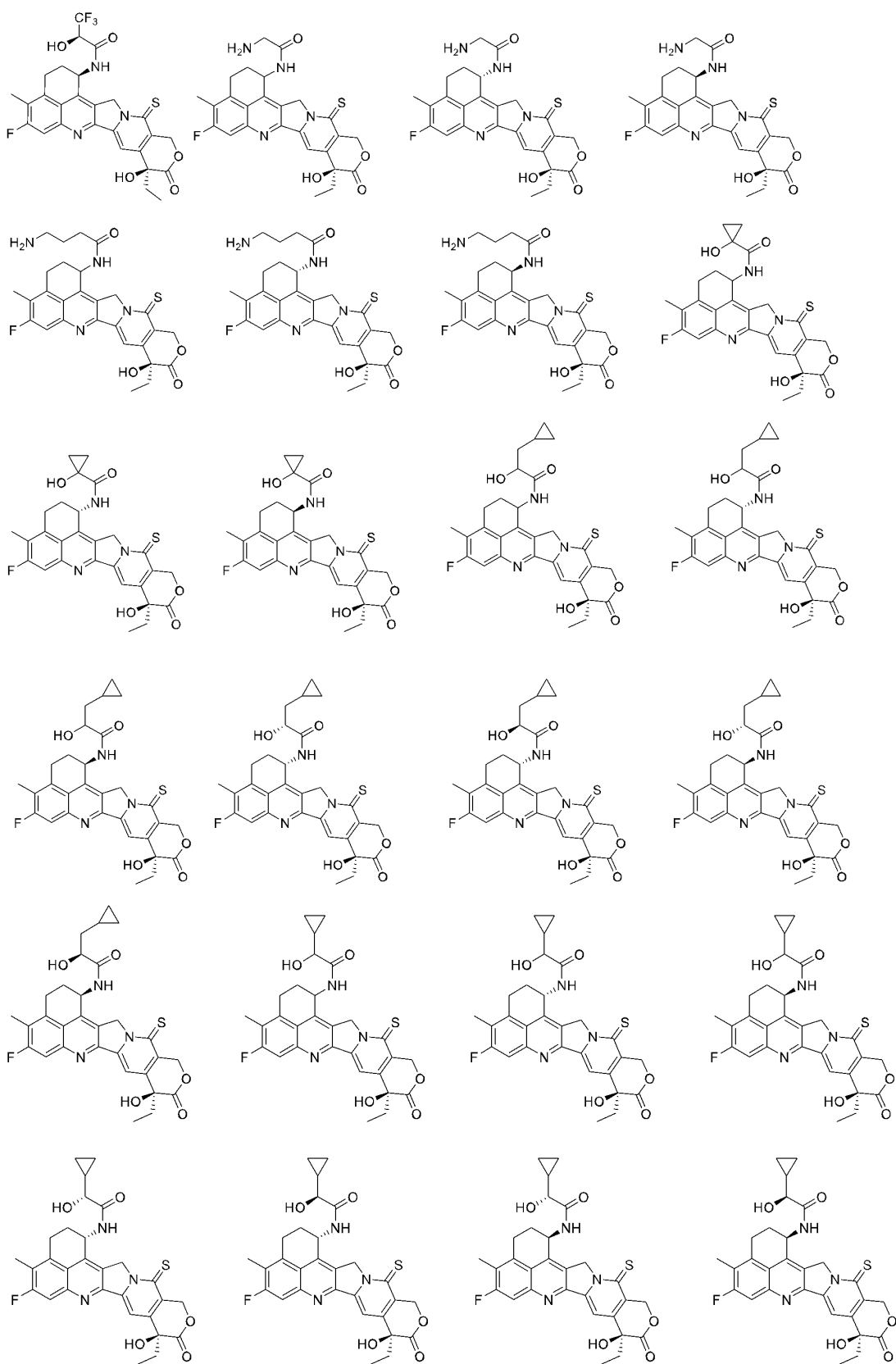
- 30 或者， R^4 和 R^5 与其相连接的碳原子共同形成未取代或被一个或多个 R^e 取代的选自下组的基团： $-\text{OCH}_2\text{O}-$ 或 $-\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{O}-$ ；

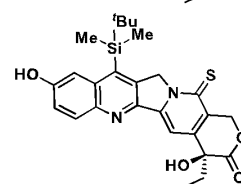
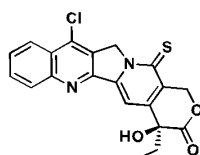
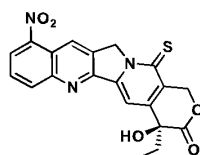
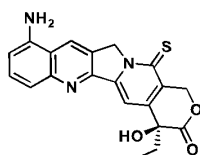
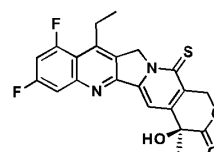
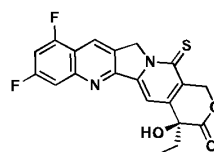
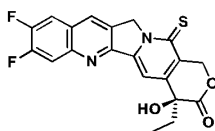
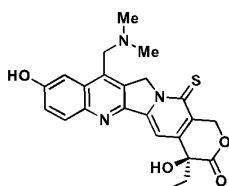
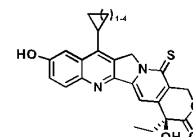
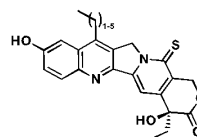
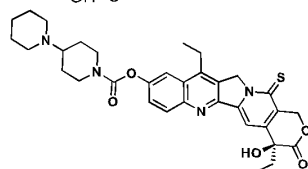
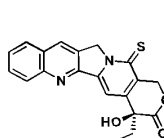
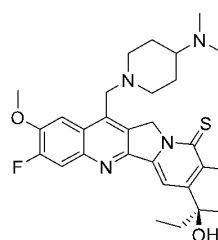
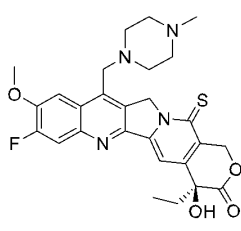
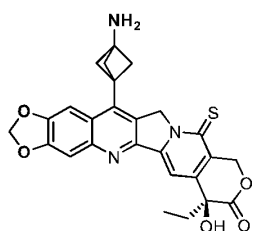
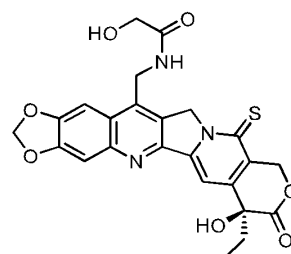
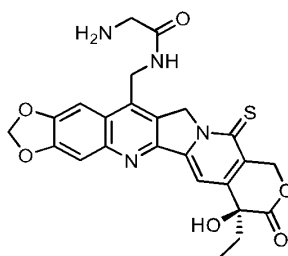
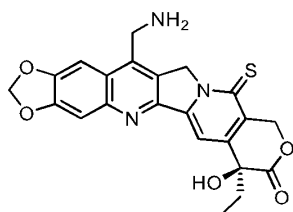
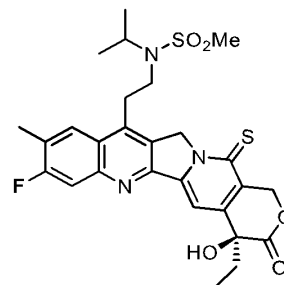
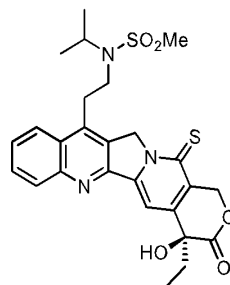
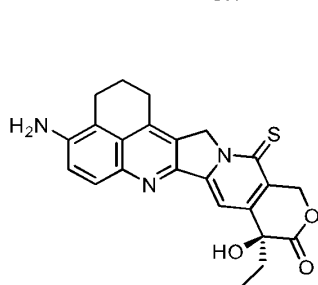
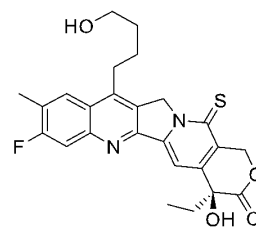
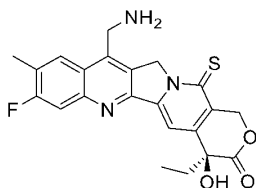
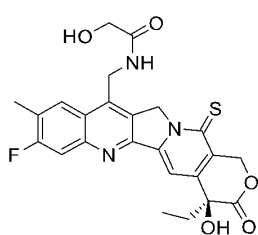
R^7 选自下组：氢原子、氘原子、卤素、取代或未取代的 C_1 - C_8 烷基、羟基、氨基、氰基、硝基、巯基；

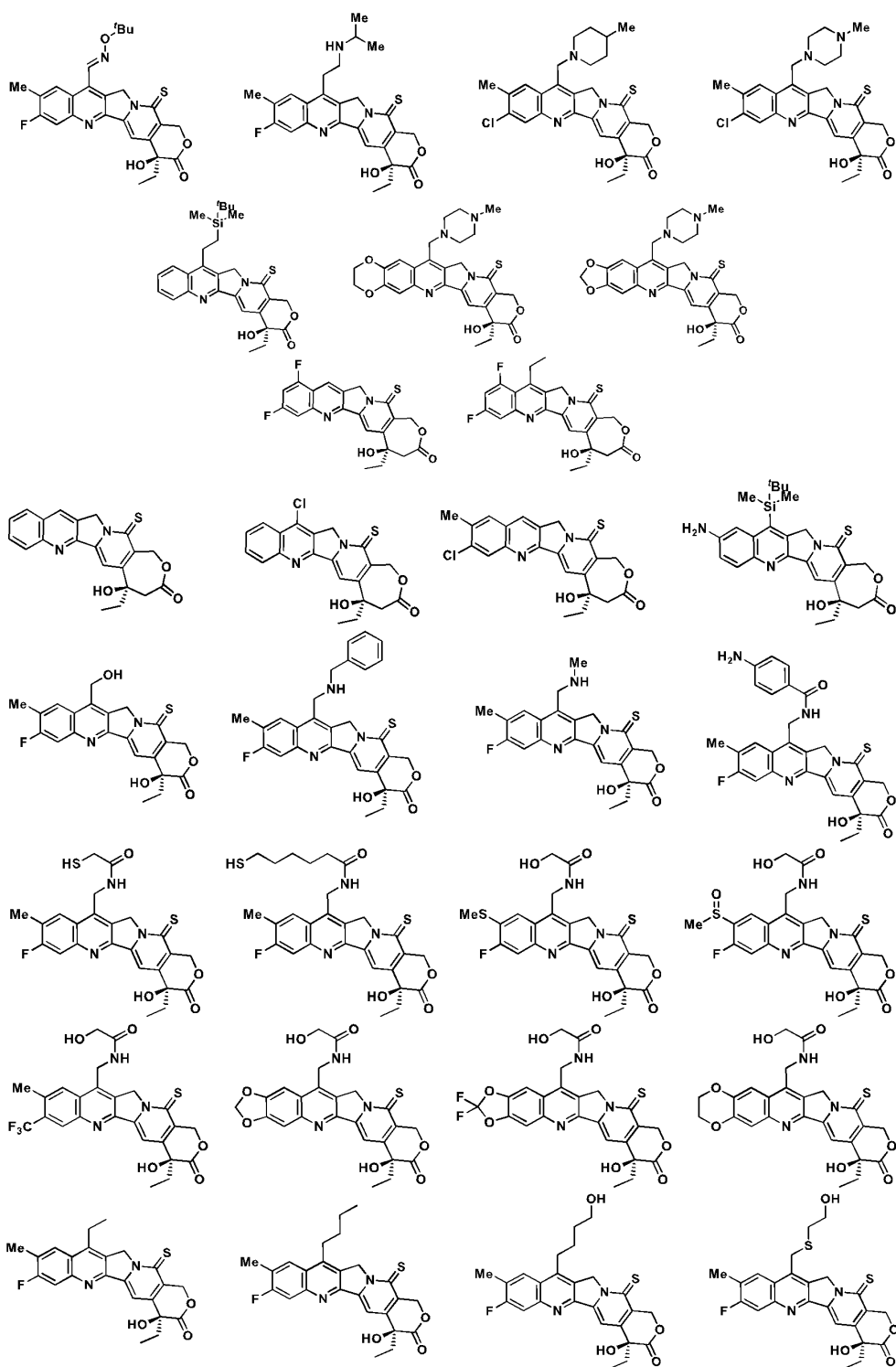
其中， R^e 的定义如上文所述。

- 35 在另一优选例中，所述的式II化合物选自下组：

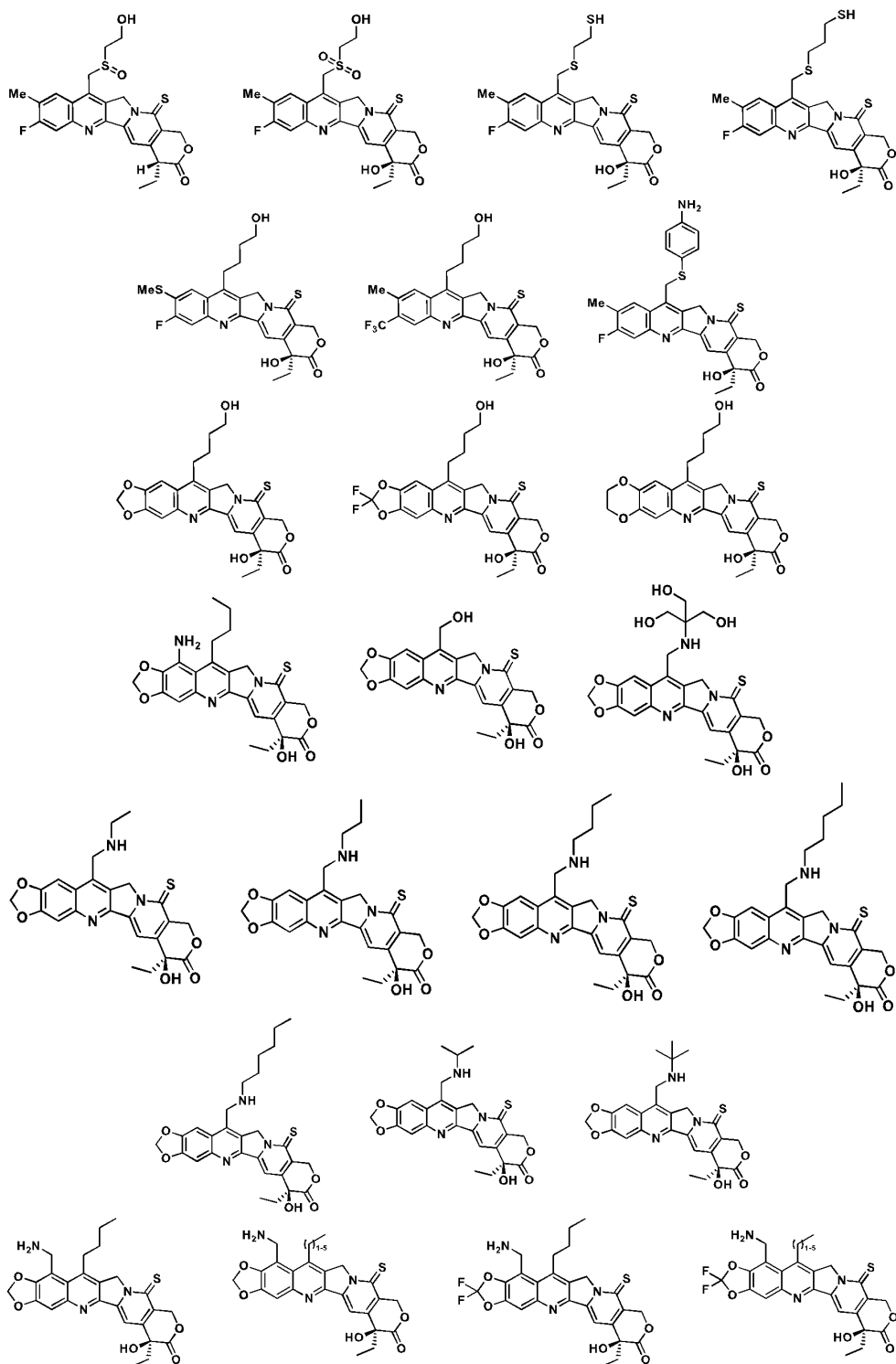


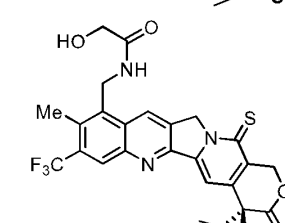
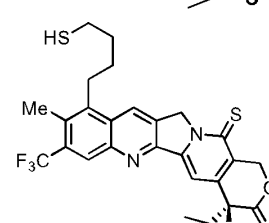
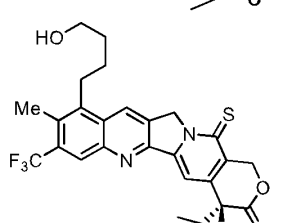
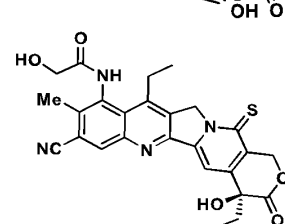
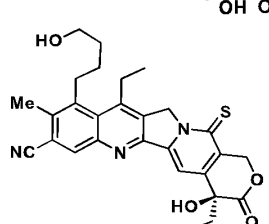
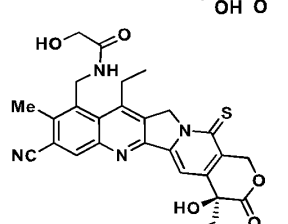
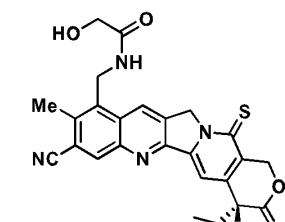
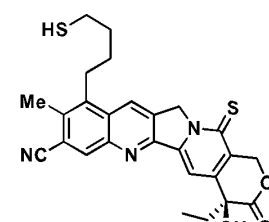
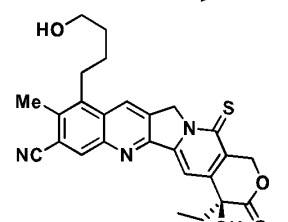
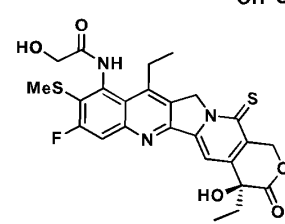
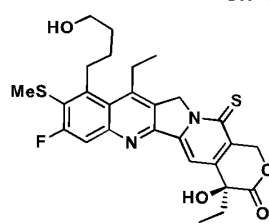
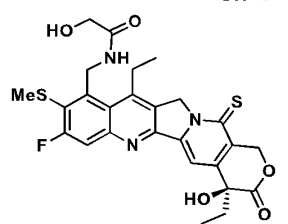
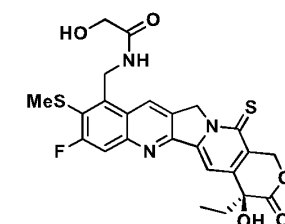
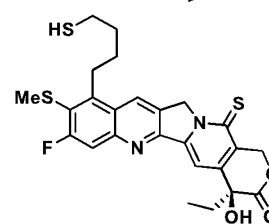
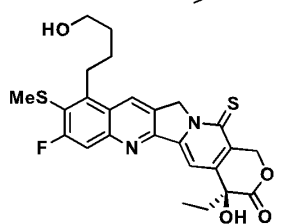
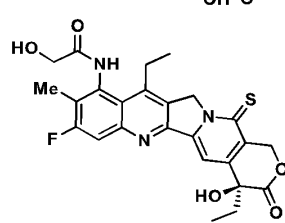
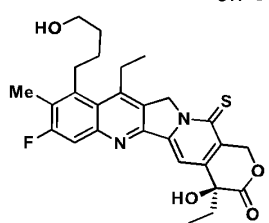
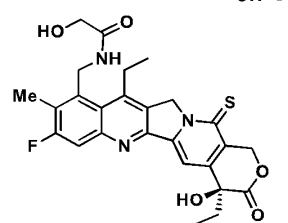
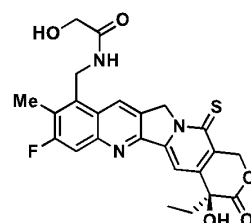
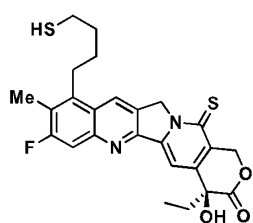
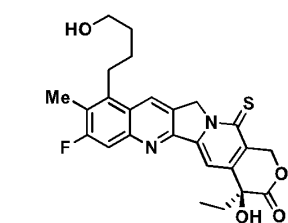


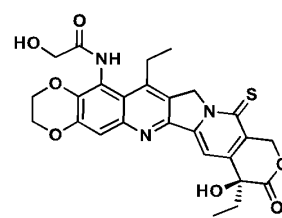
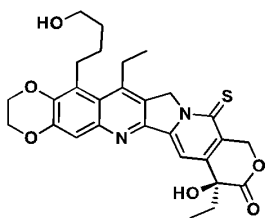
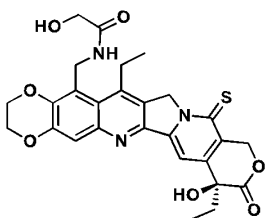
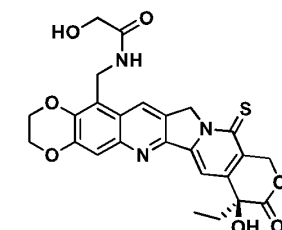
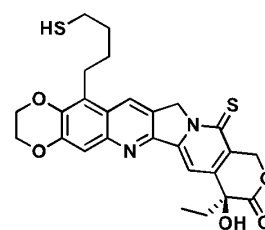
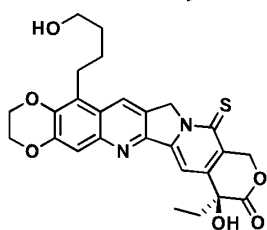
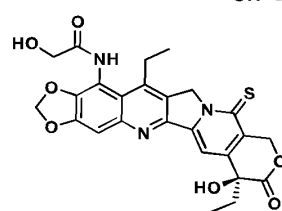
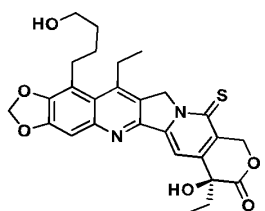
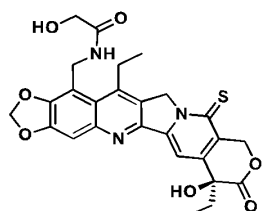
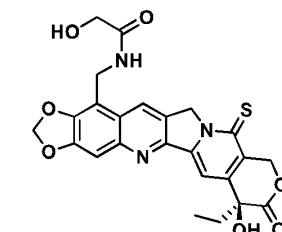
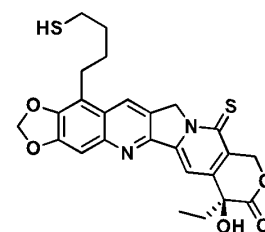
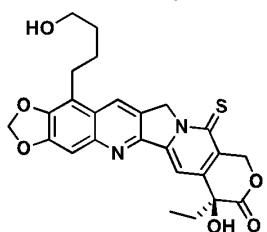
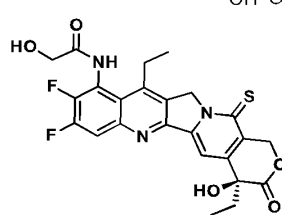
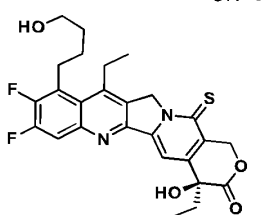
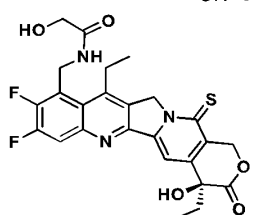
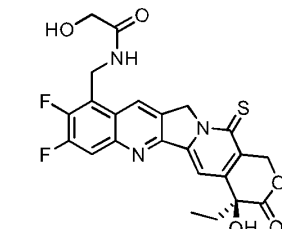
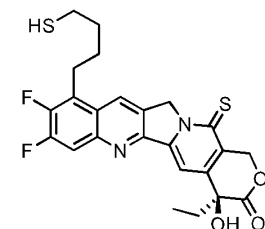
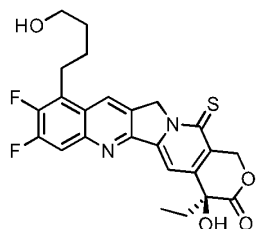
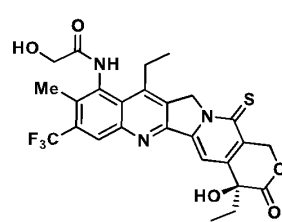
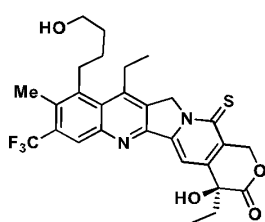
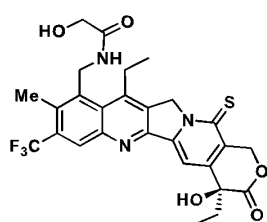




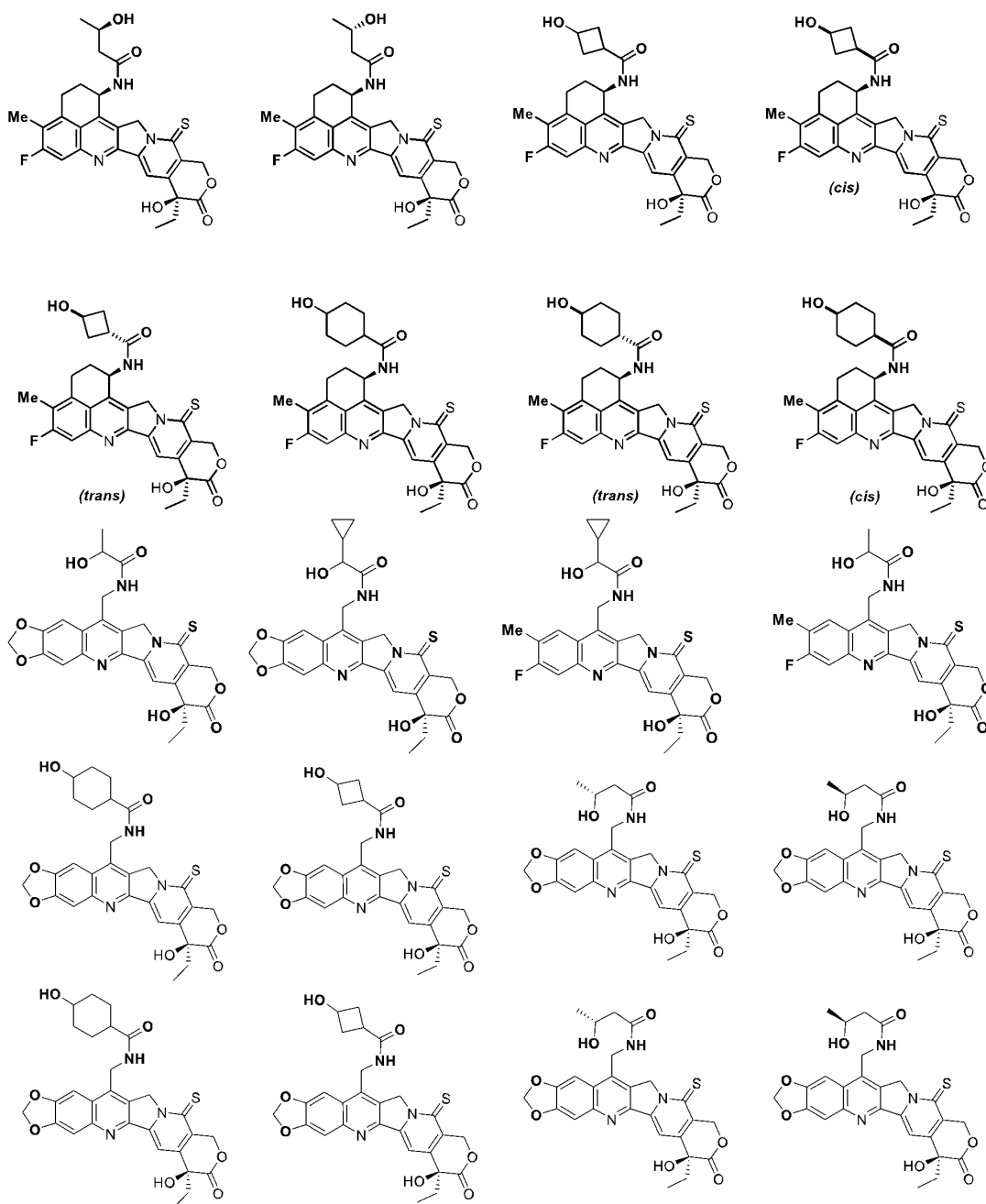
5





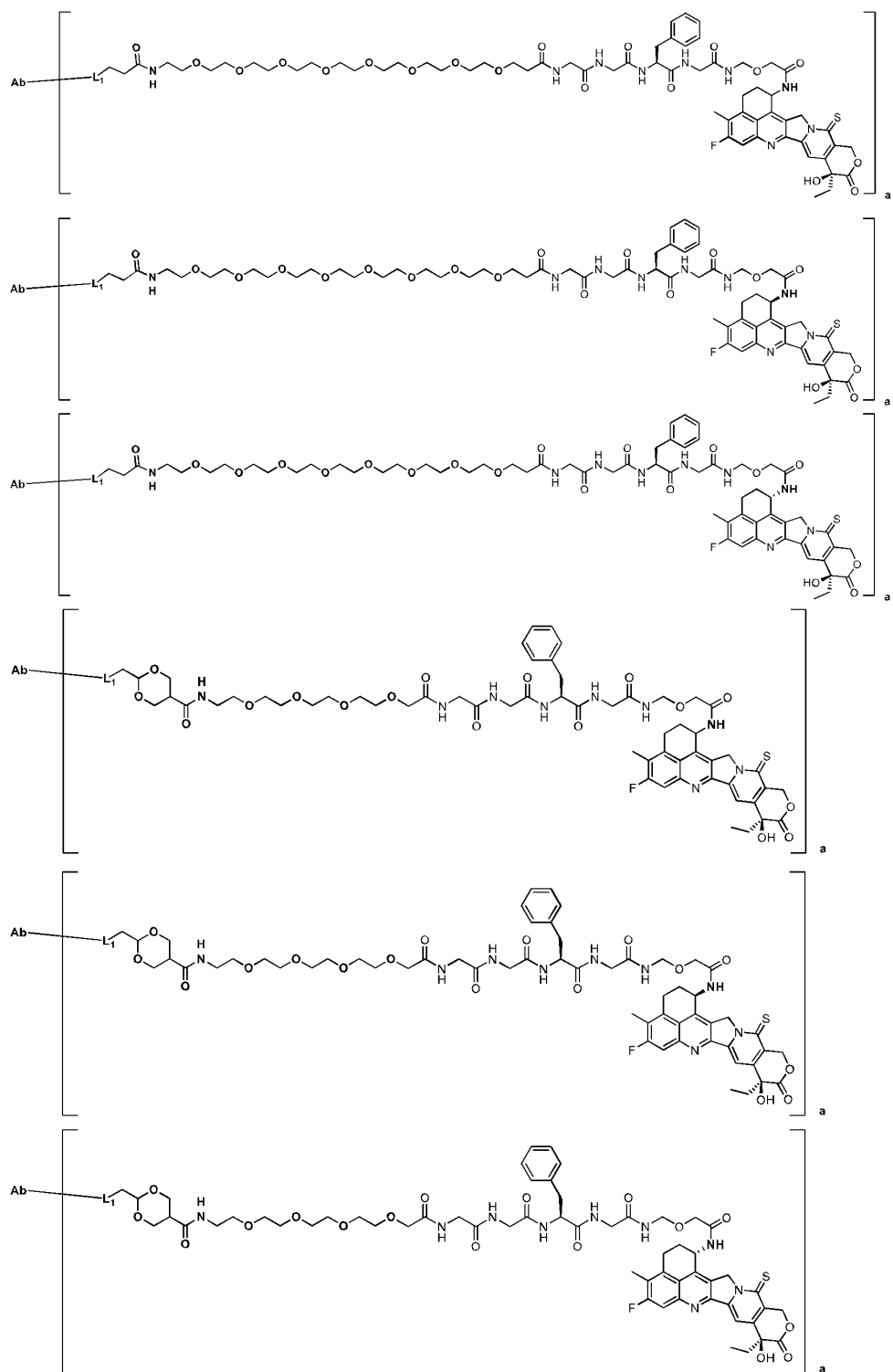


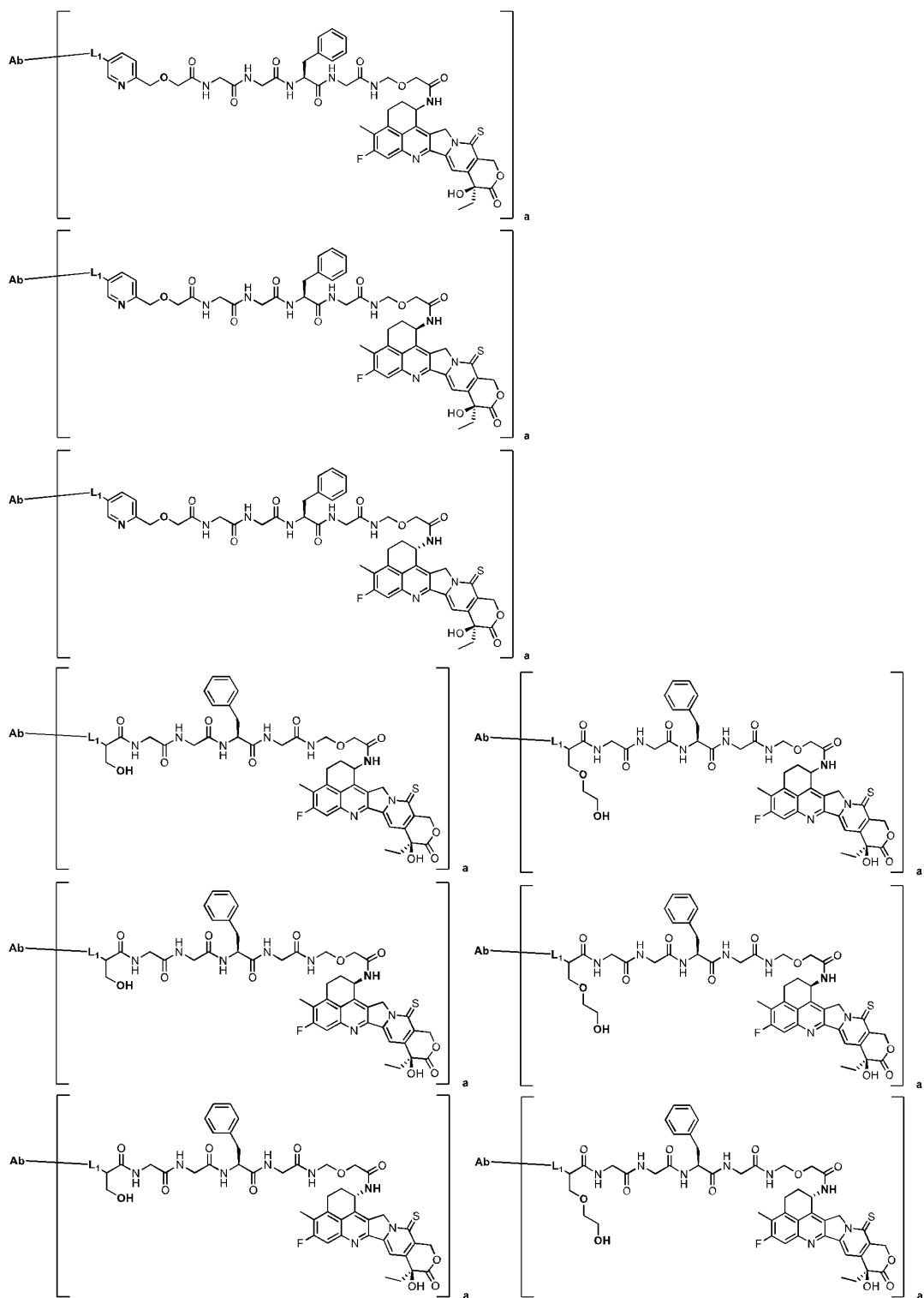


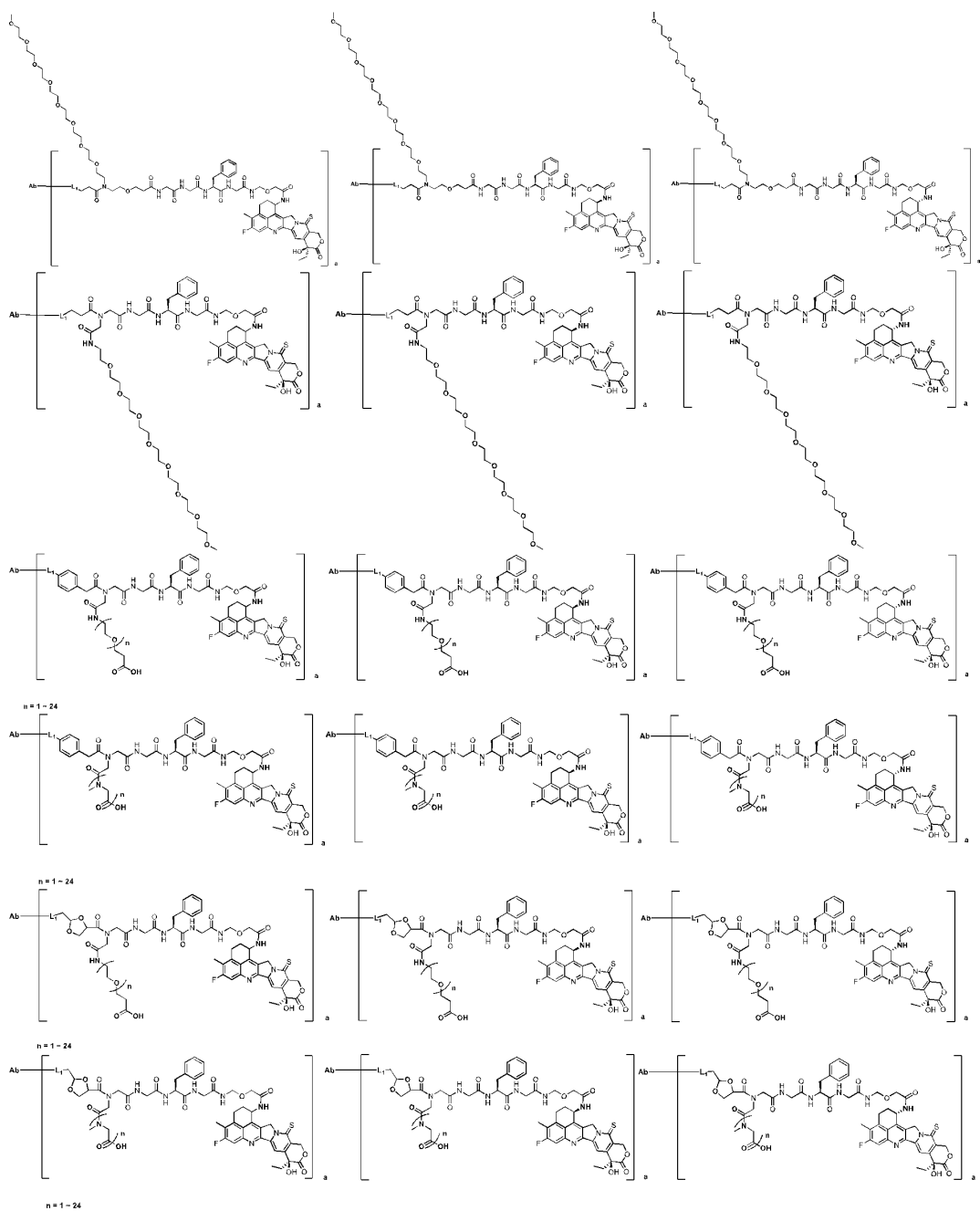


5

在一种优选的实施方式中，上述的配体偶联物选自下组：

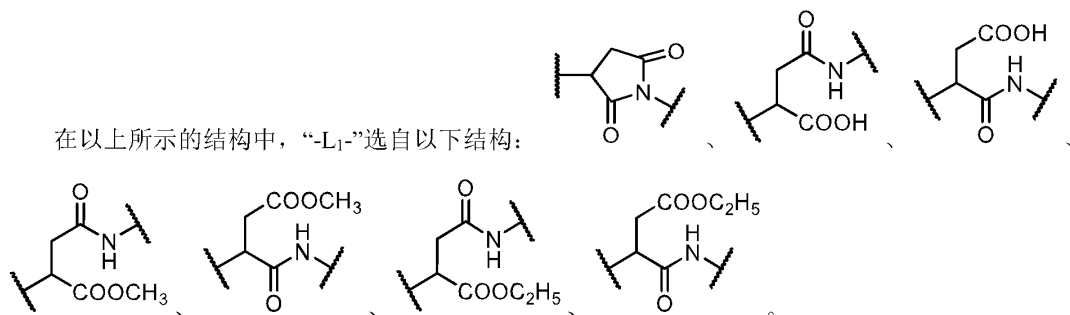




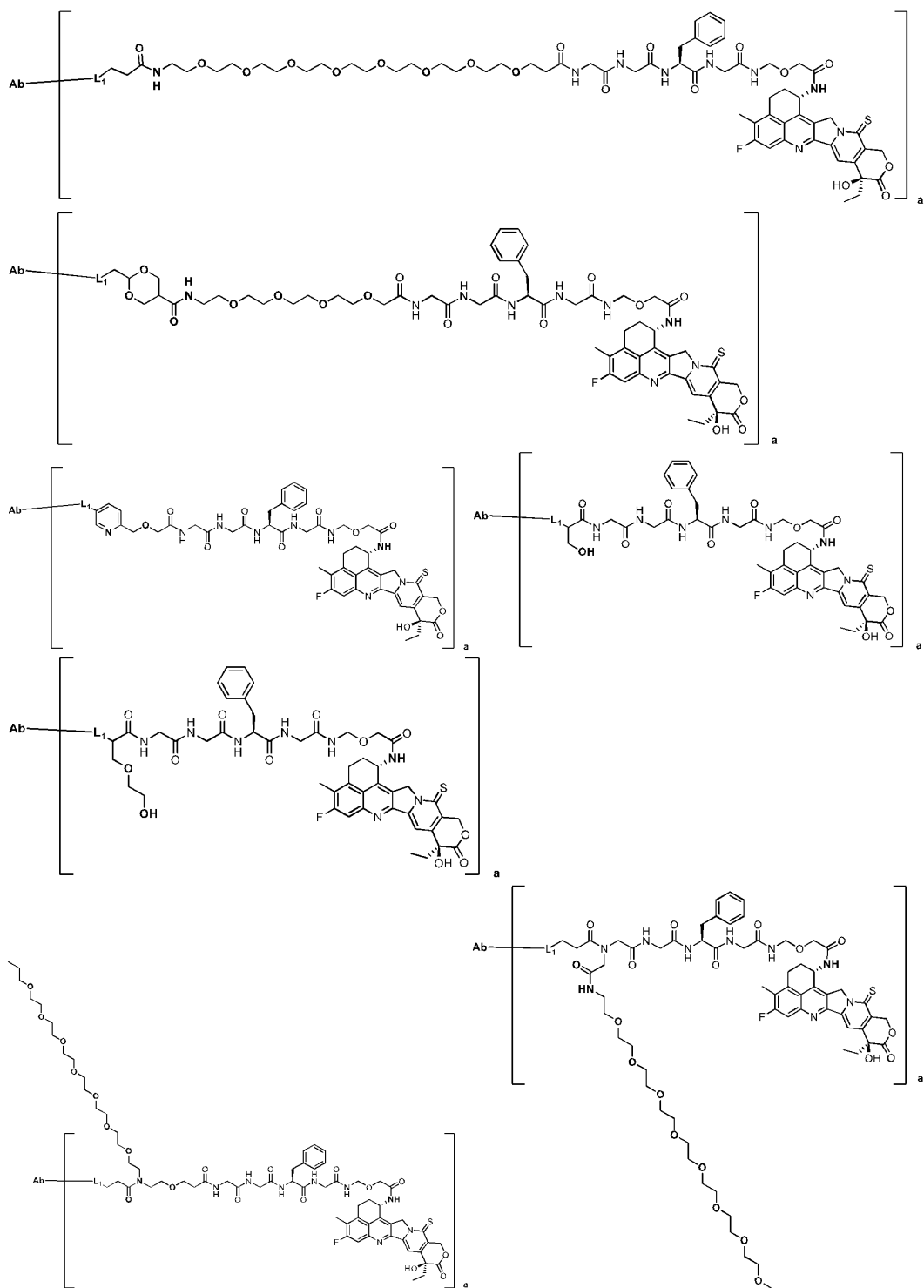


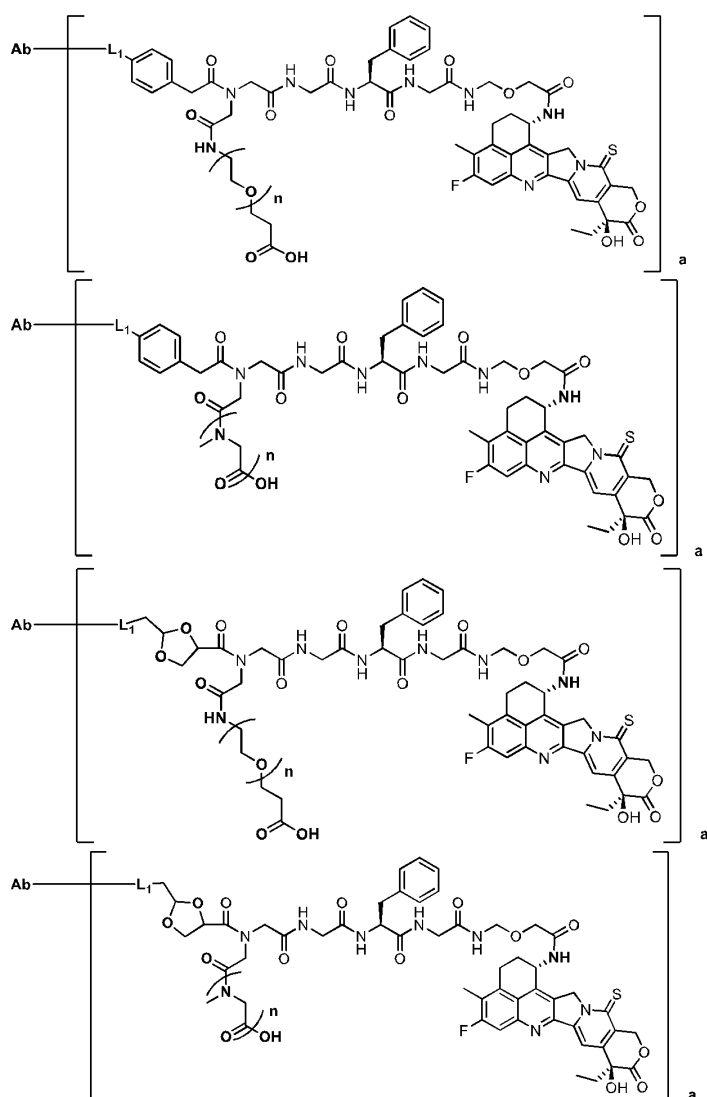
5

在以上所示的结构中，“-L₁-”选自以下结构：

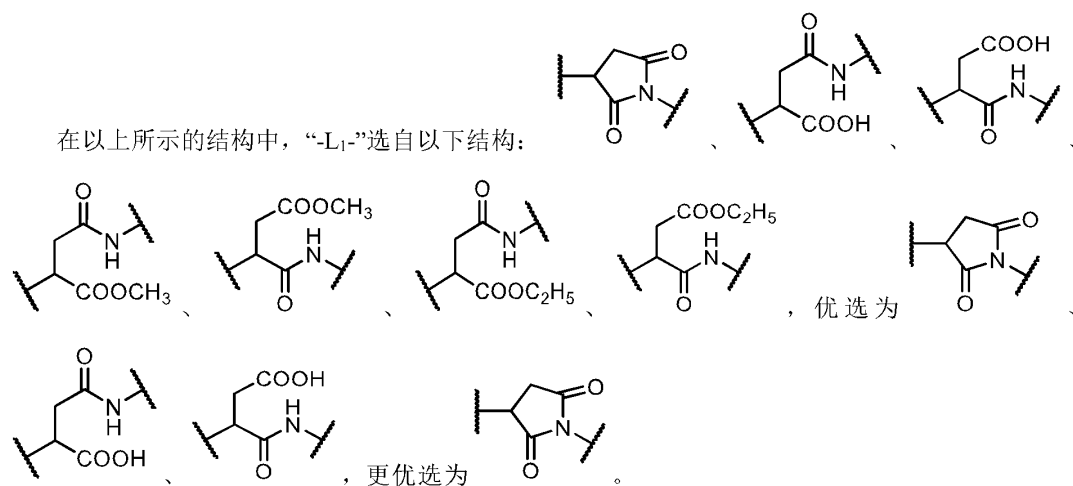


在一种优选的实施方式中，所述的配体偶联物选自下组：

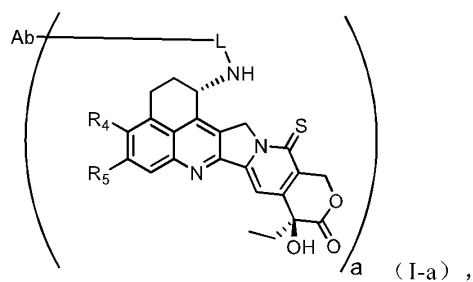




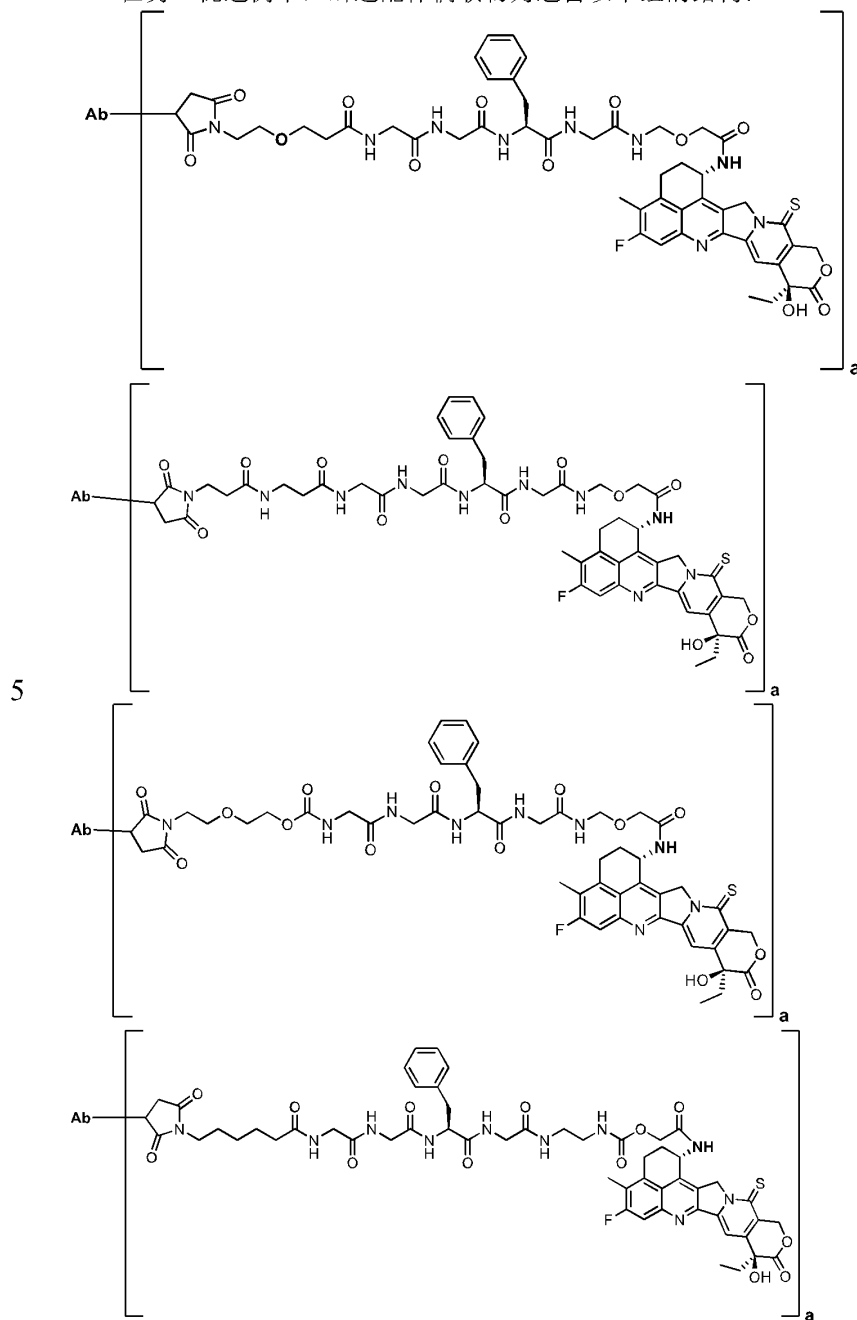
5 在以上所示的结构中，“-L₁-”选自以下结构：



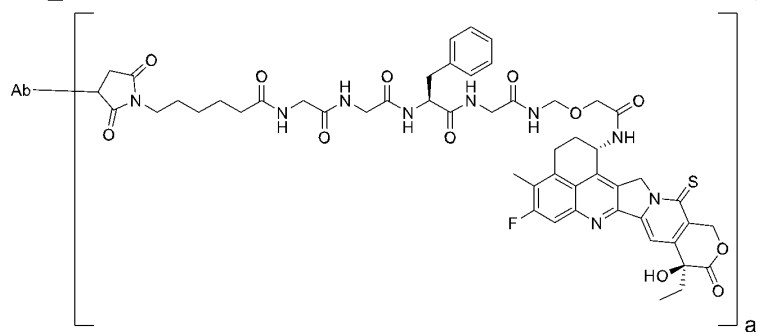
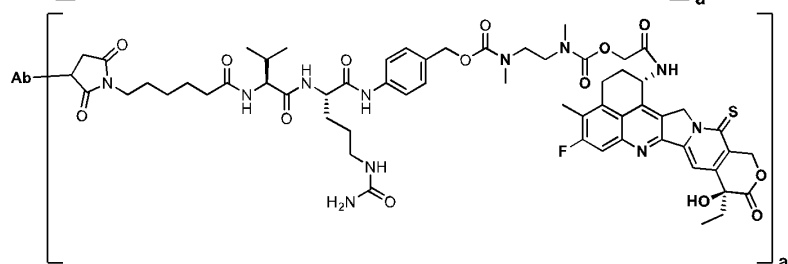
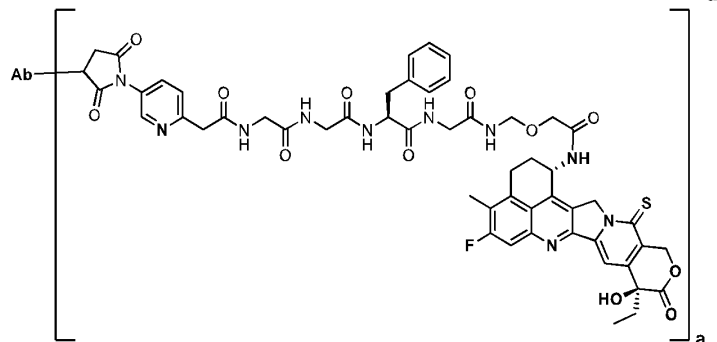
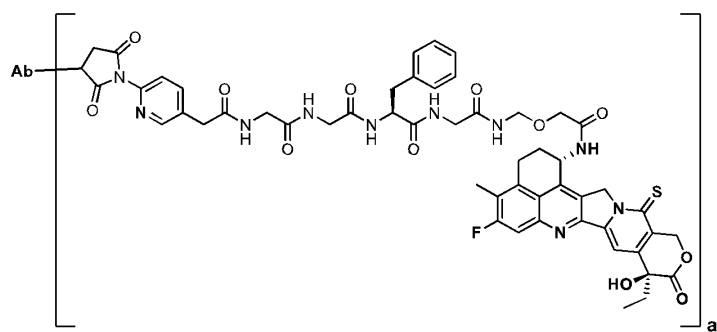
在另一优选例中，所述配体偶联物包含式 (I-a) 所示的结构：



其中， R_4 、 R_5 和L如本发明第一方面中的定义， a 为大于0的数， a 是小数或整数。
在另一优选例中，所述配体偶联物为选自以下组的结构：

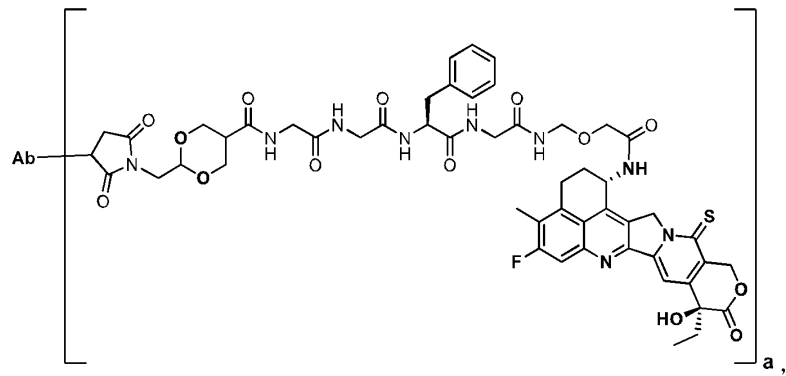






5

和



其中 a 为大于 0 的数, a 是小数或整数。

在另一优选例中, a 为 0 至 8 的非零整数或小数, 优选为 1-8 之间的整数或小数; 更优选为 2 至 8, 可以为整数, 也可以为小数; 最优选为 3 至 8, 可以为整数, 如: 4.0, 也可以为小数, 如: 3.9。

5 在另一优选例中, 所述 Ab 为抗体或其抗原结合片段。

在另一优选例中, 所述抗体选自以下组: 鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体和全人源抗体。

在另一优选例中, 所述抗体为单克隆抗体。

在另一优选例中, 所述抗原结合片段选自以下组: Fab, Fab', Fv 片段, F(ab')₂, F(ab)₂, scFv, di-scFv, VHH 和 dAb。

10 在另一优选例中, 所述的抗体选自下组: Her-2 特异性抗体 (如 Trastuzumab)、Trop2 特异性抗体 (如 US7238785B2 的 Humanized RS7 或 Sacituzumab)、PSMA 特异性抗体 (如 WO2003034903A2 的 PSMA 特异性单抗 AB-PG1-XG1-006)、FR- α 特异性抗体 (如 US5952484 的人源化 LK26 抗体 (Farletuzumab, MORAb-003)、B7H3 抗体 (如 WO2021244590A1 中的抗体 P7-C05-H4L3), 或 IGF-1R 特异性抗体。

15 在另一优选例中, 所述的抗体为 IGF-1R 特异性抗体。

在另一优选例中, 所述 IGF-1R 包含来源于灵长类动物的 IGF-1R。

在另一优选例中, 所述的抗体为 IgG1 或其突变。

在另一优选例中, 所述抗体包含 HCDR3, 所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 3 所示的氨基酸序列。

在另一优选例中, 所述抗体包含 HCDR2, 所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 2 所示的氨基酸序列。

20 在另一优选例中, 所述抗体包含 HCDR1, 所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列。

在另一优选例中, 所述抗体包含重链可变区 VH, 所述 VH 包含所述 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3, 所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 3 所示的氨基酸序列; 所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 2 所示的氨基酸序列; 且所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列。

25 在另一优选例中, 所述抗体包含重链可变区 VH, 所述 VH 包含 SEQ ID NO: 4 所示的氨基酸序列。

在另一优选例中, 所述的抗体具有如 SEQ ID No. 5 所示的全长序列。

在另一优选例中, 所述的抗体为上述任一抗体的变体, 且所述变体包括所述 CDR 区域。

在另一优选例中, 所述的变体为所述抗体的氨基酸序列经过取代、缺失和/或添加一个或多个氨基酸 (例如 1-30 个、1-20 个或 1-10 个, 又例如 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个、7 个、8 个或 9 个氨基酸取代、缺失和/或插入) 所形成的序列。

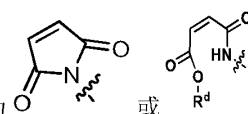
30 在另一优选例中, 所述的变体为所述抗体的氨基酸序列的同源物, 所述同源物可以为与所述 CDR 的氨基酸序列具有至少约 85% (例如, 具有至少约 85%、约 90%、约 91%、约 92%、约 93%、约 94%、约 95%、约 96%、约 97%、约 98%、约 99% 或更高的) 序列同源性的氨基酸序列。

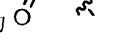
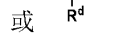
在另一优选例中, 所述的 CDR 通过 Kabat 编号方案确定。

35

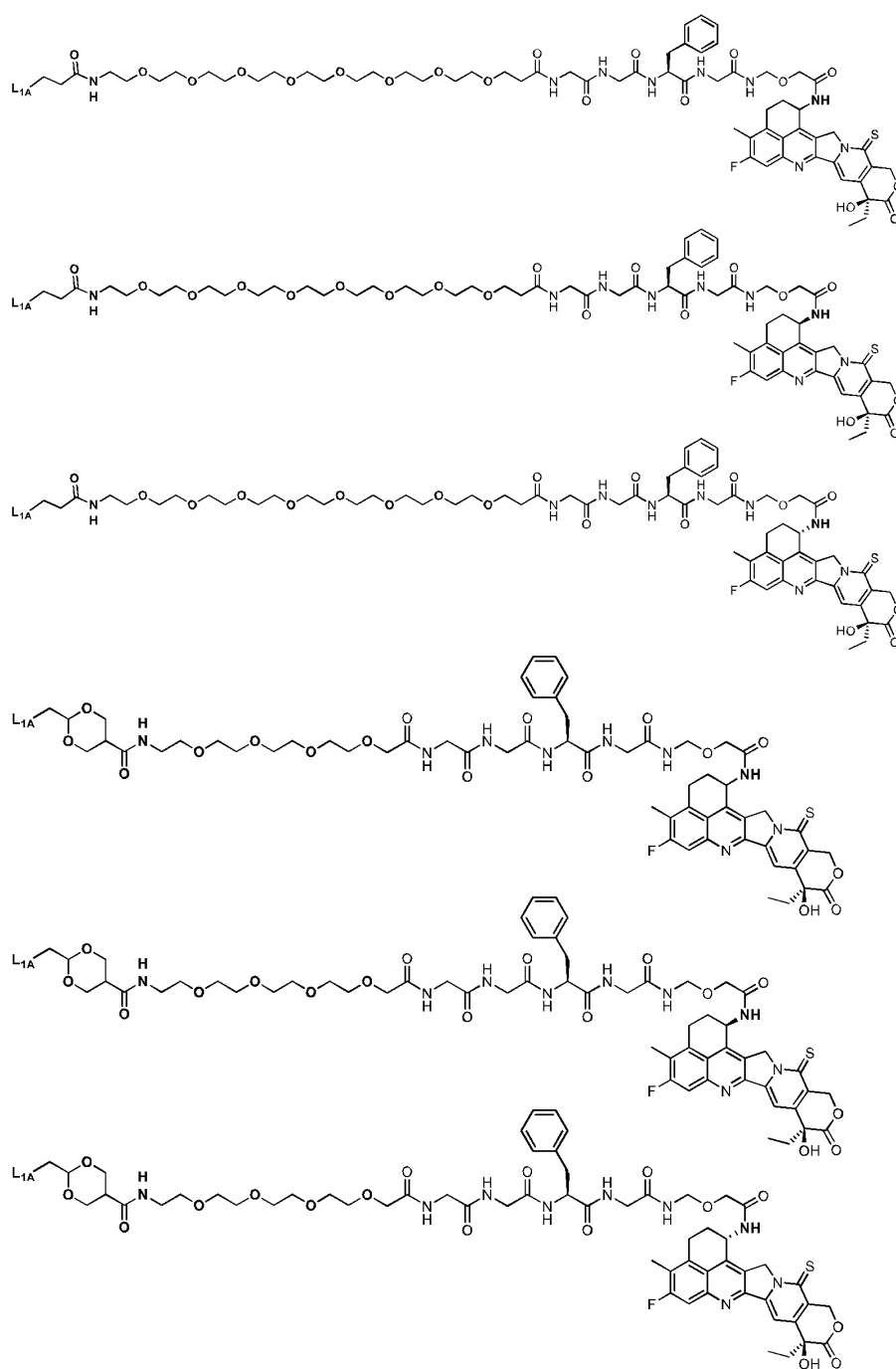
本发明的第二方面, 提供了一种配体偶联物前体, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体, 或其可药用的盐或水合物, 其中所述配体偶联物前体包含式 IA 所示的结构:

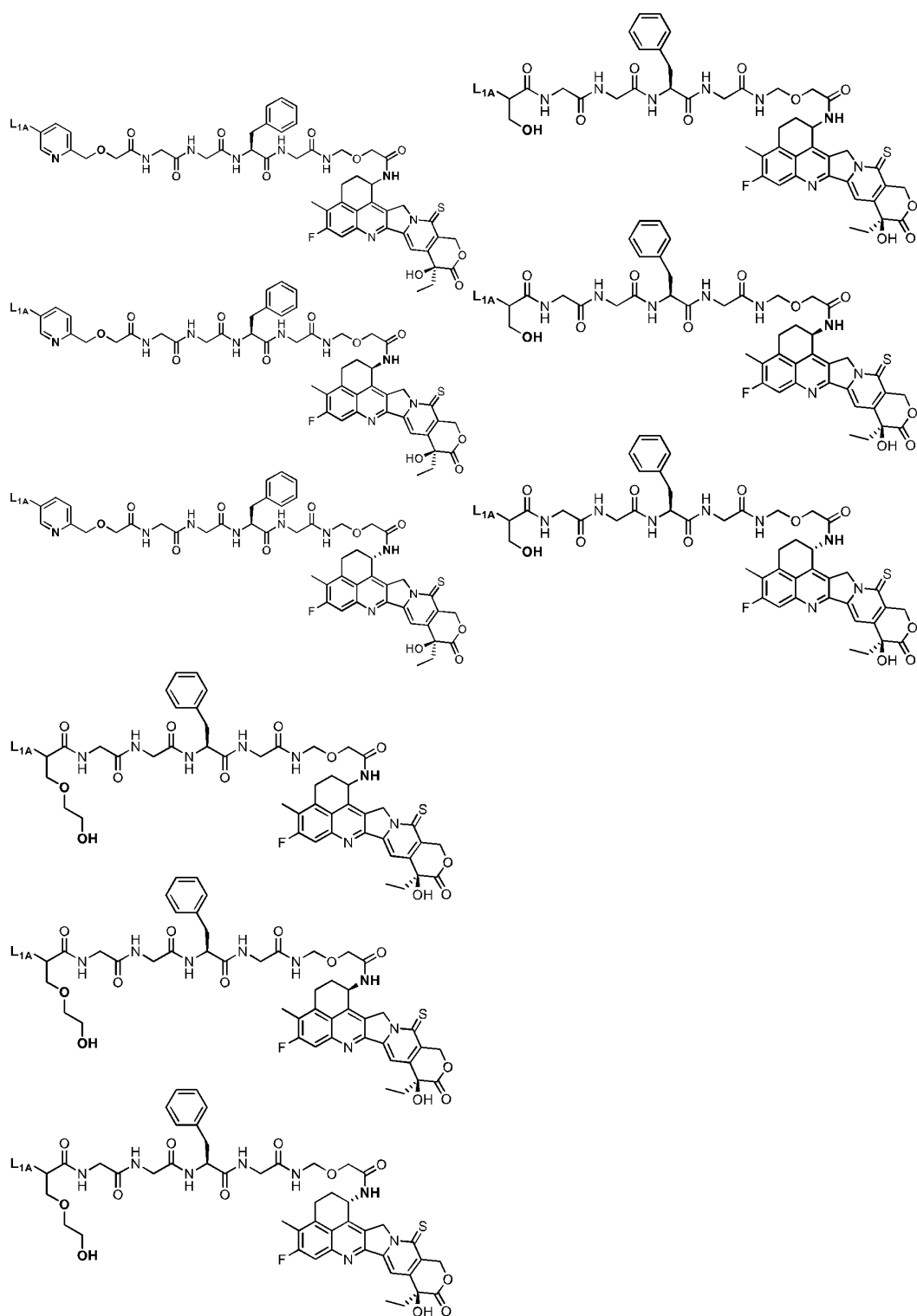
L_A-P (IA),

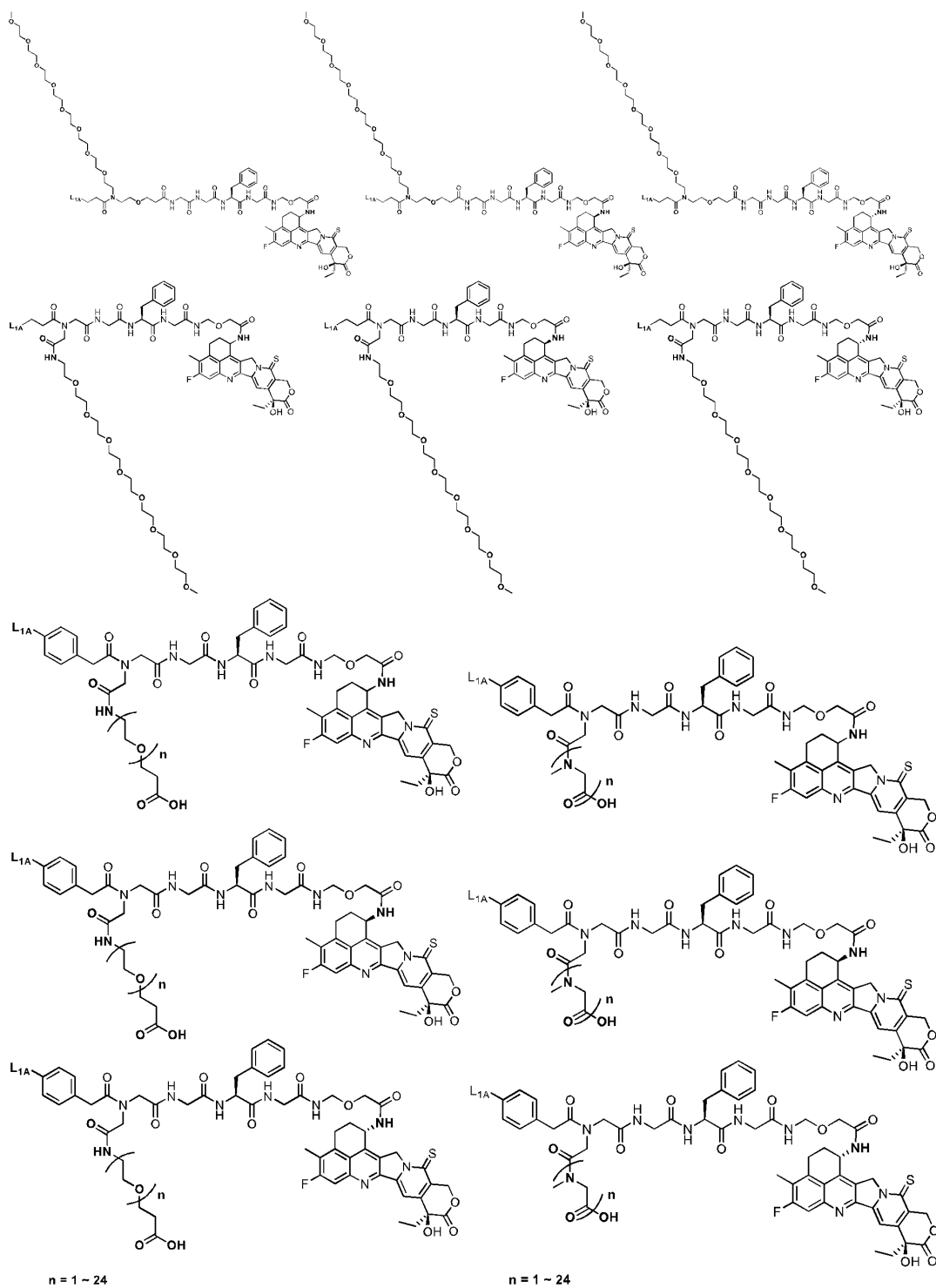


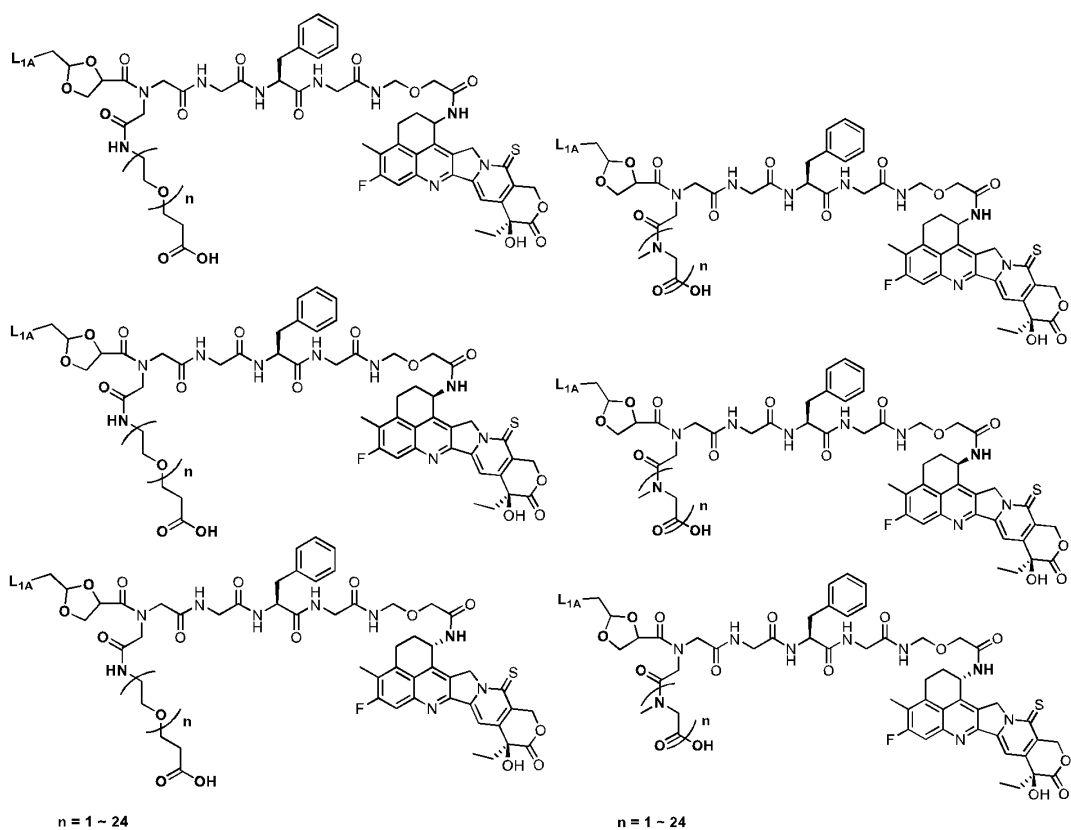
40 其中, L 为 L_{1A}-L₂-L₃-L₄-L₅-; 其中, L_{1A} 为  或 ; 其中, R^d、L₂、L₃、L₄、L₅ 和 P 定义如本发明第一方面中所述。

在另一优选例中, 所述的配体偶联物前体选自如下结构:

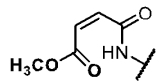
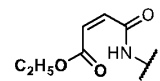








在以上所示的结构中， L_{1A} 选自

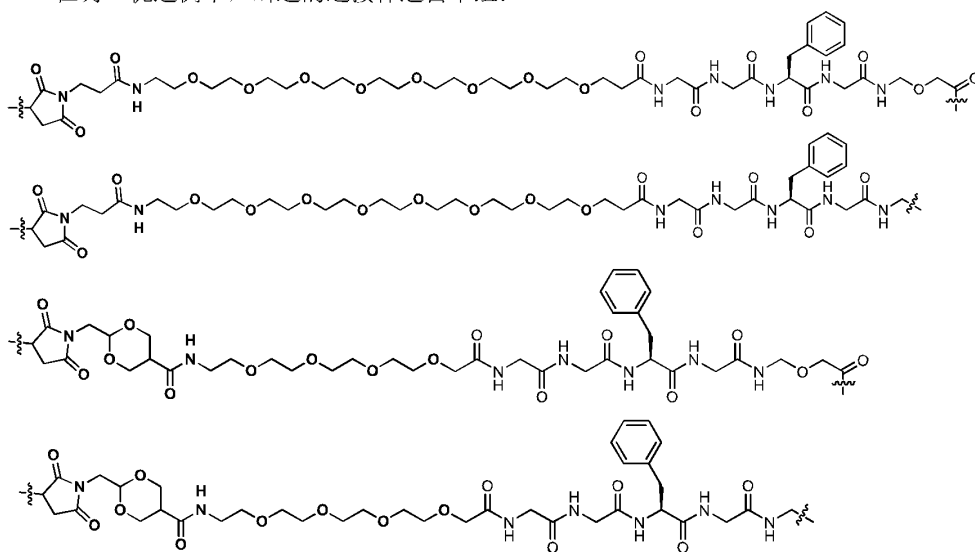




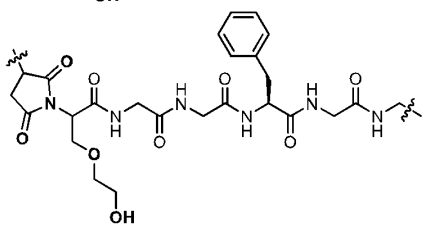
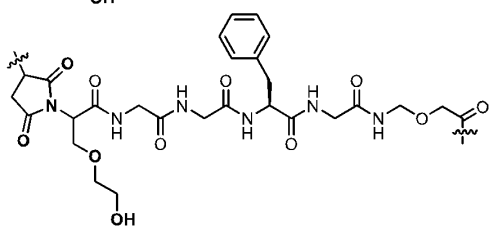
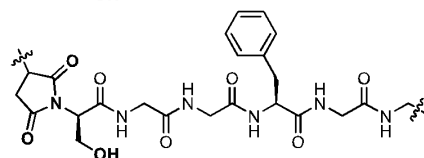
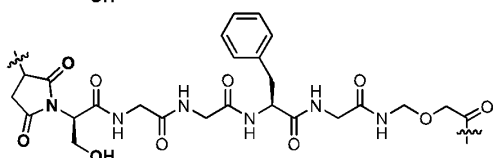
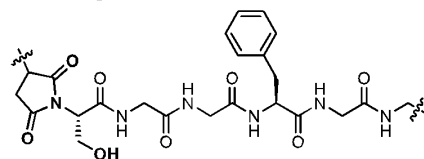
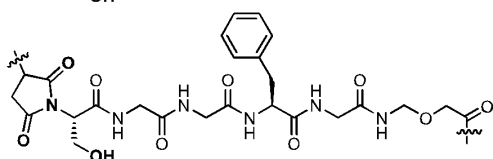
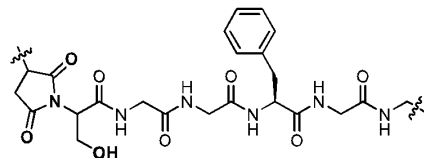
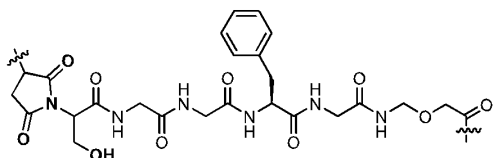
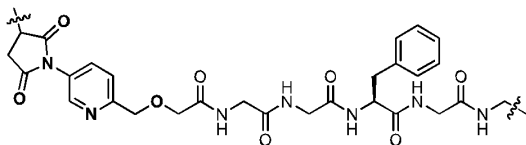
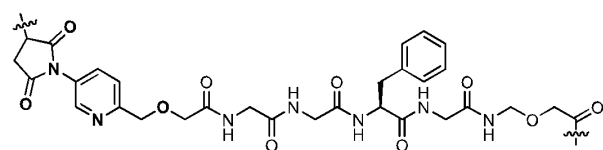
5 本发明的第三方面，提供了一种如式 (L) 所示的连接体，其将药物单元与配体连接而成的配体-药物偶联物：

$L_1-L_2-L_3-L_4-L_5$ (L) ,

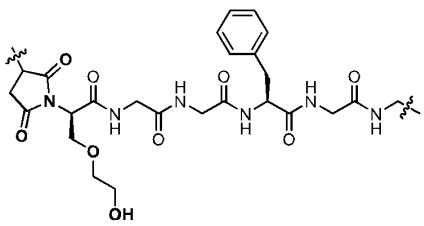
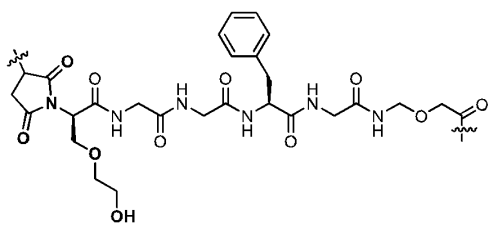
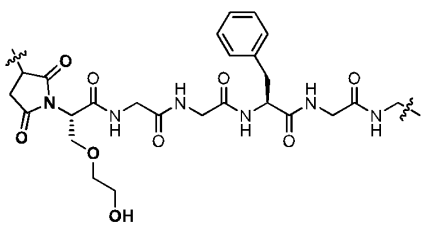
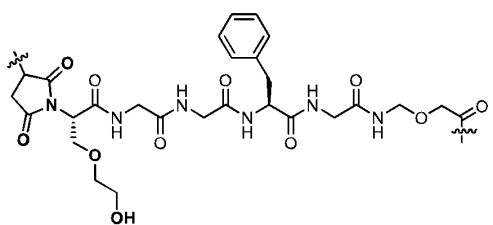
其中，其中，所述 L_1, L_2, L_3, L_4, L_5 的定义如本发明第一方面中所述。

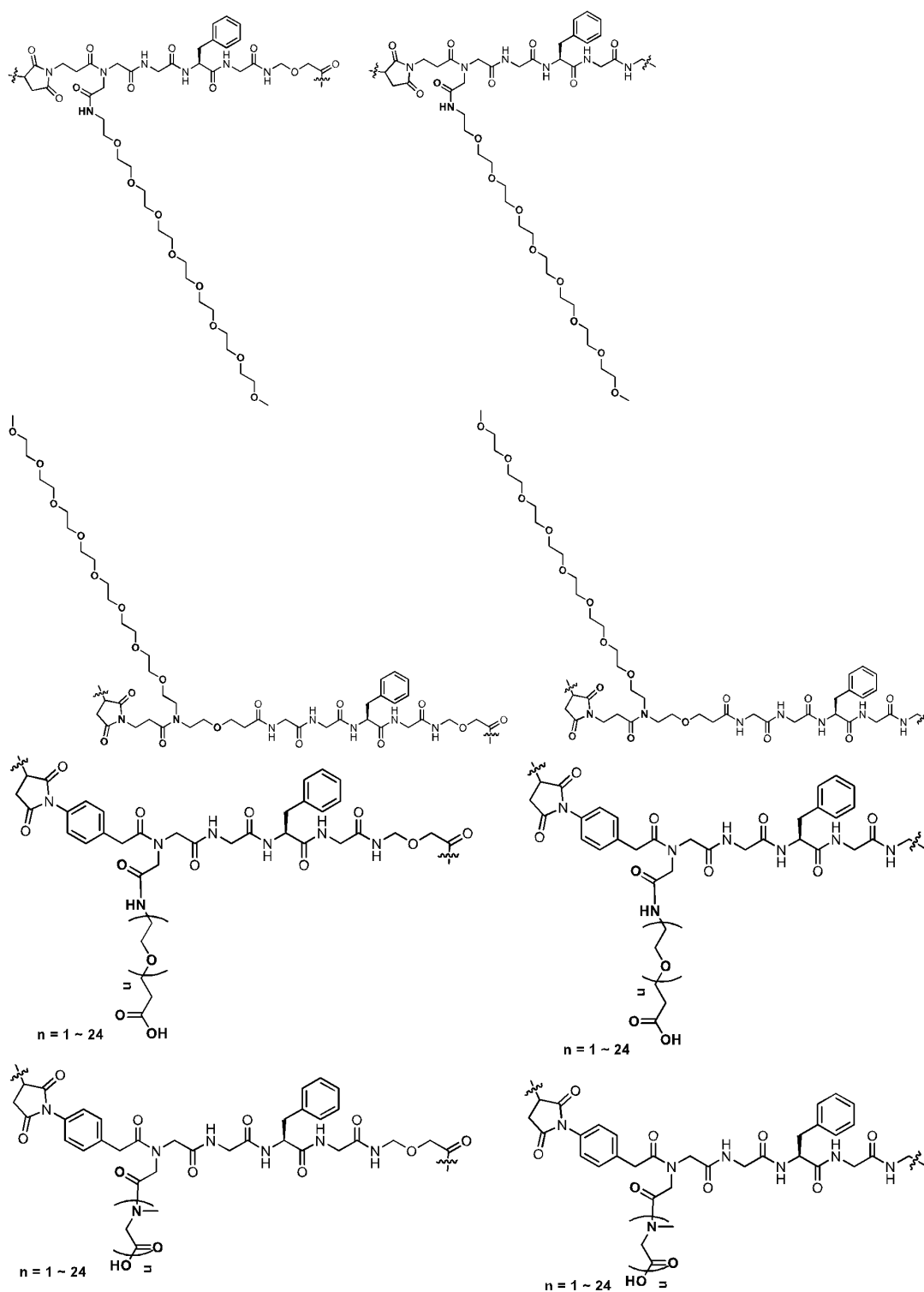
在另一优选例中，所述的连接体选自下组：

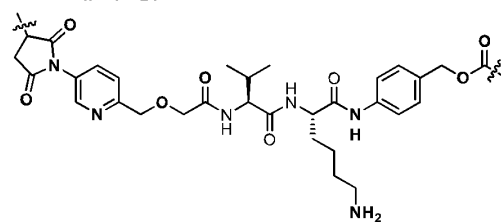
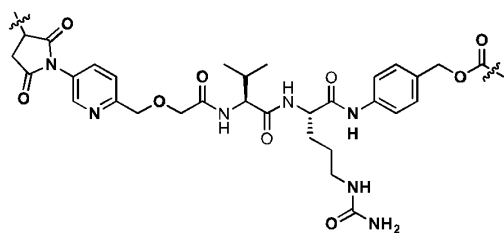
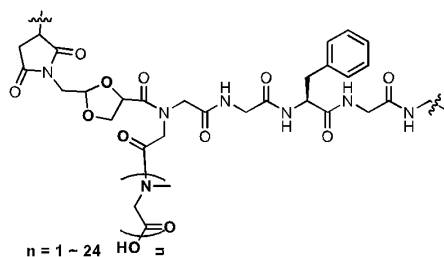
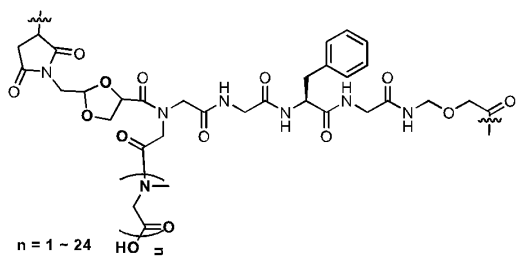
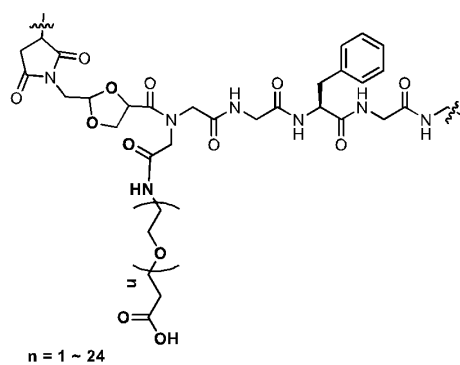
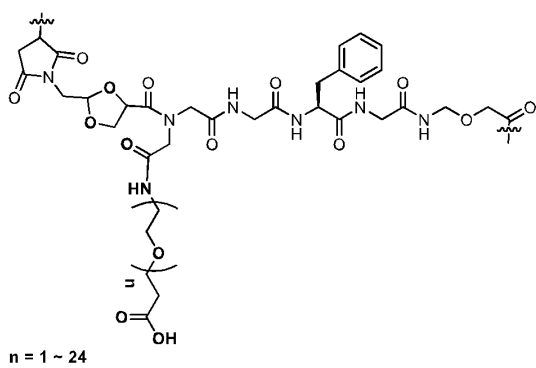




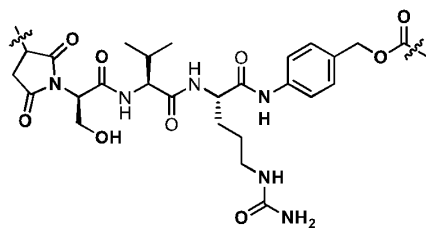
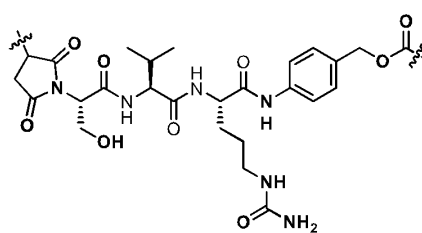
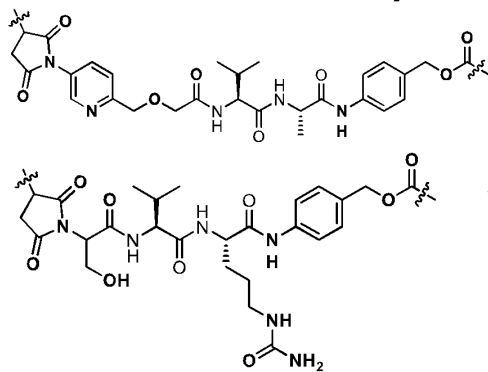
5

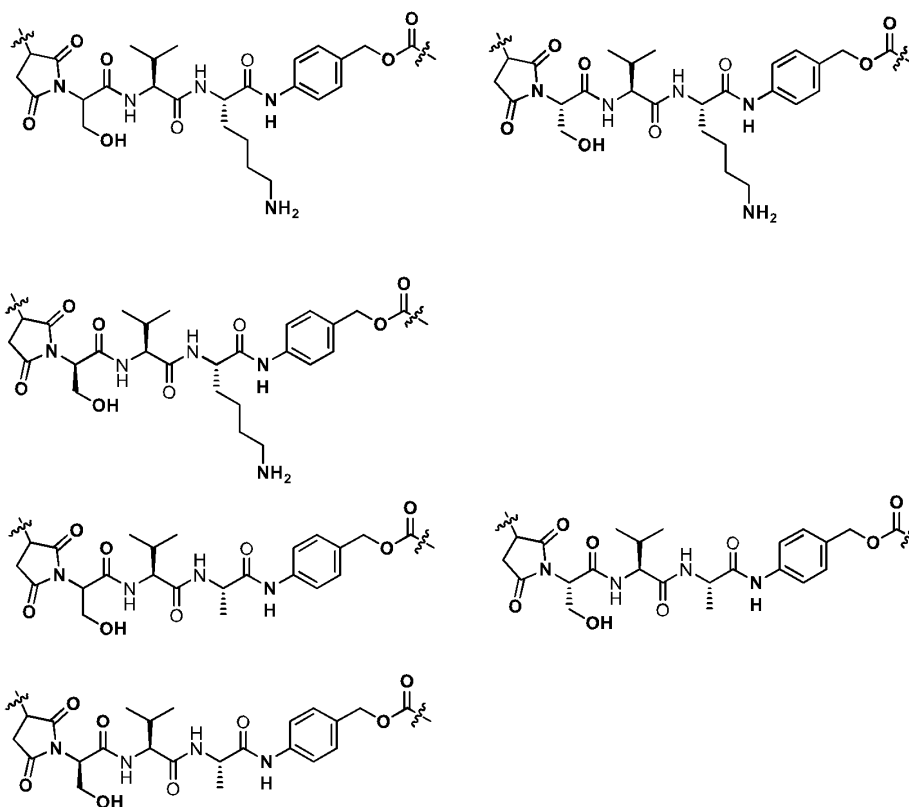






5





- 在另一优选例中，所述的连接体通过L₁段与配体相连，通过L₅段与P1相连，形成配体药物偶联物；且所述的P1选自下组：糖肽类抗生素，例如博来霉素或平阳霉素；DNA拓扑异构酶抑制剂，例如拓扑异构酶I抑制剂（例如喜树碱、羟基喜树碱、9-氨基喜树碱、SN-38、伊立替康、伊喜替康、拓扑替康、贝洛替康或卢比替康、DXd等），拓扑异构酶II抑制剂（例如放线菌素D、多柔比星、多卡米星、柔红霉素、米托蒽醌、鬼臼毒素或依托泊苷）；干扰DNA合成药物，例如甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶、阿糖胞苷、吉西他滨、硫嘌呤、喷司他丁、氟达拉滨、克拉屈滨或奈拉滨；作用于结构蛋白的药物，例如微管蛋白抑制剂，长春花生物碱类、长春新碱、长春碱、紫杉醇、多西他赛或卡巴他赛；肿瘤信号通路抑制剂，例如丝氨酸/苏氨酸激酶抑制剂、酪氨酸激酶抑制剂、天冬氨酸激酶抑制剂或组氨酸激酶抑制剂；蛋白酶体抑制剂；组蛋白去乙酰化酶抑制剂；肿瘤新生血管生成抑制剂；细胞周期蛋白抑制剂；美登素衍生物（例如DM1、DM4等）；卡里奇霉素衍生物；奥瑞他汀衍生物（例如单甲基澳瑞他汀E（MMAE）、单甲基澳瑞他汀F（MMAF）、澳瑞他汀E、澳瑞他汀F等）；Pyrrolobenzodiazepine dimers(PBD)衍生物；鹅膏毒素类衍生物（如α-Amanitin等）；蒽环类；杜卡霉素；艾日布林（eribulin）；美法仑；丝裂霉素C；苯丁酸氮芥；TLR激动剂；STING激动剂；糖皮质激素类以及其它抑制肿瘤细胞生长、促进肿瘤细胞凋亡或坏死的活性物质脱氢形成的基团。

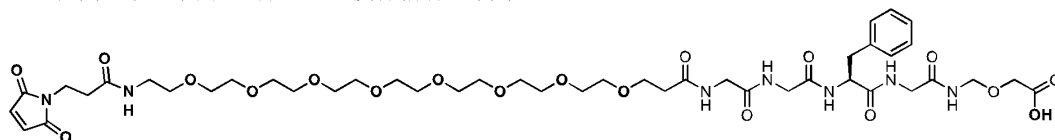
本发明的第四方面，提供了一种如式（L-1）所示的连接体前体，其用于得到将药物单元与配体连接而成的配体-药物偶联物：

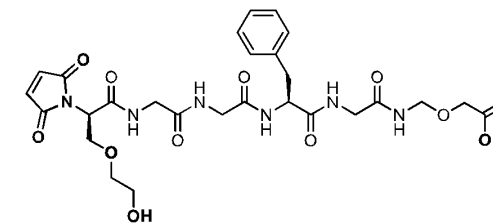
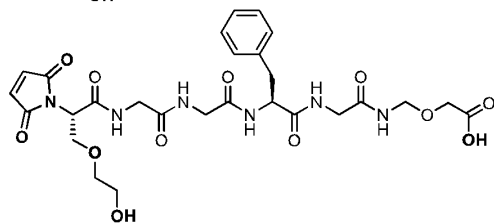
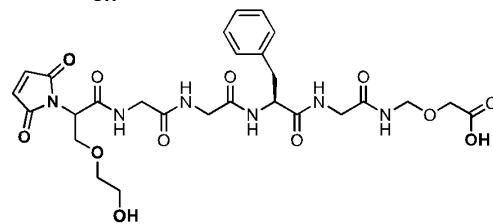
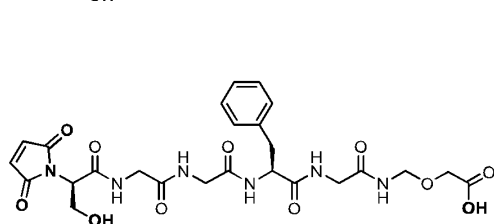
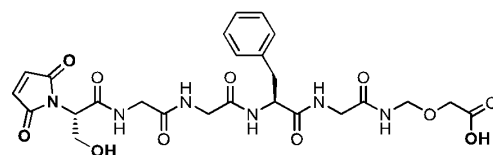
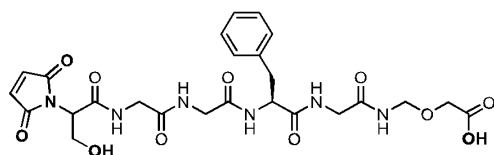
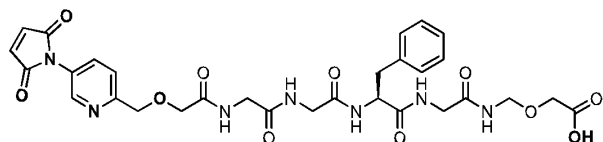
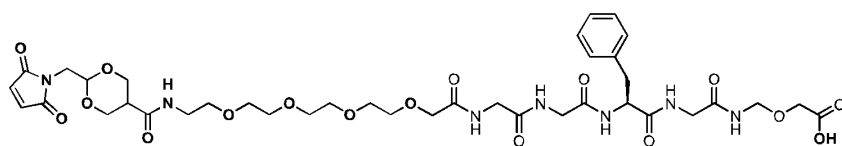
- 其用于得到将药物单元与配体连接而成的配体-药物偶联物：

20 L_A-R^S (L-1)，

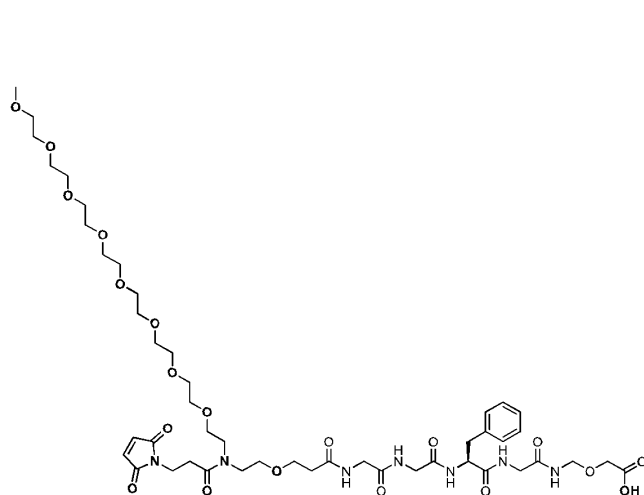
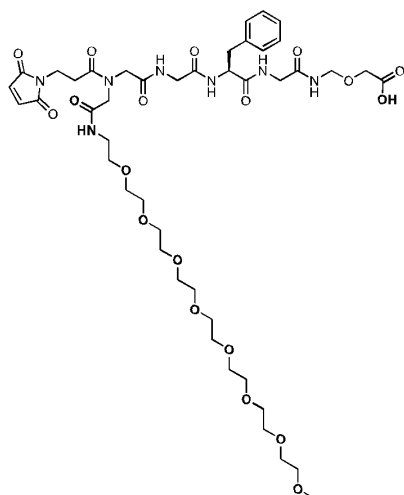
其中，R^S为H、OH、O(C₁-C₆烷基)；其中L_A的定义如本发明第三方面中所述。

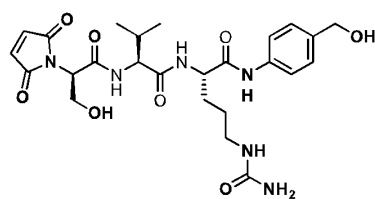
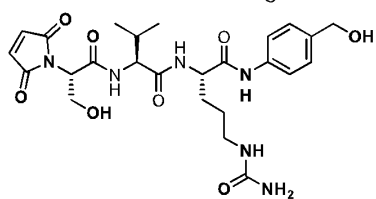
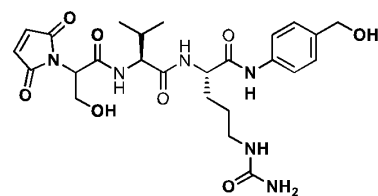
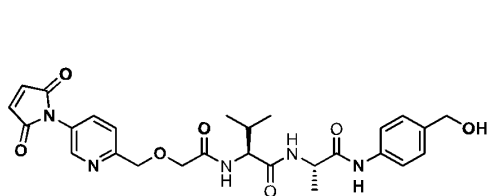
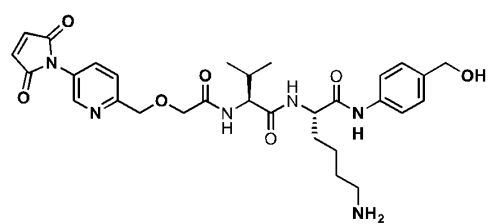
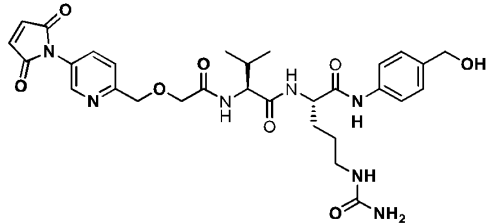
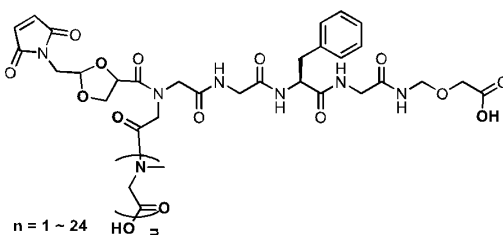
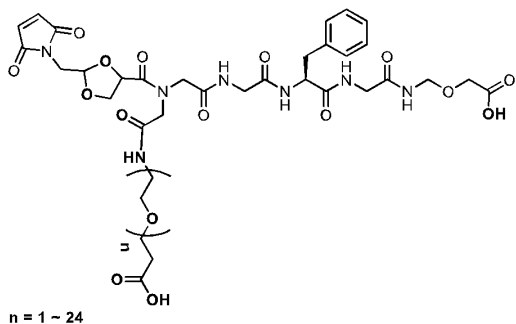
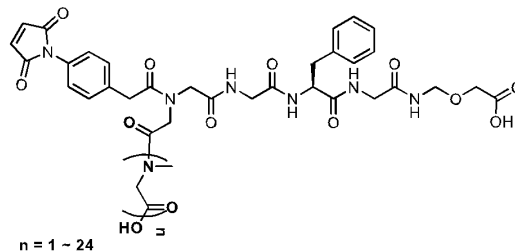
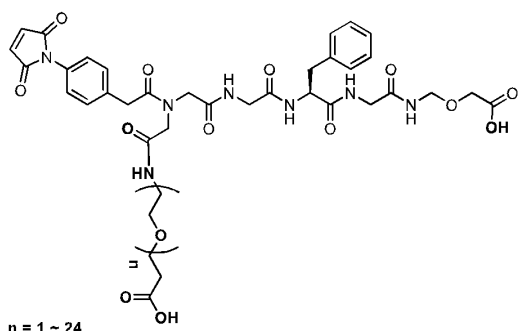
在另一优选例中，所述的连接体前体选自下组：



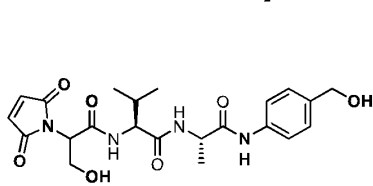
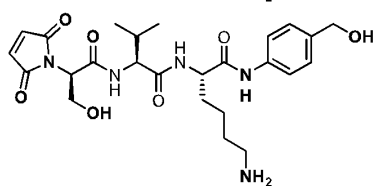
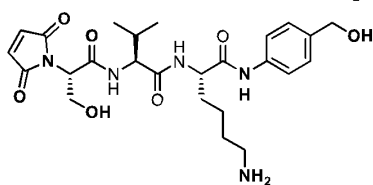
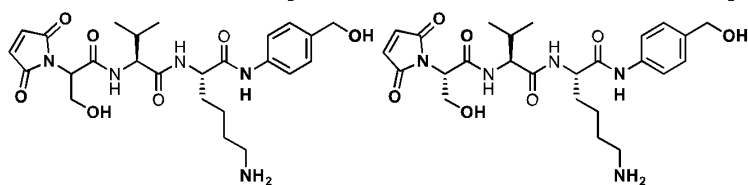


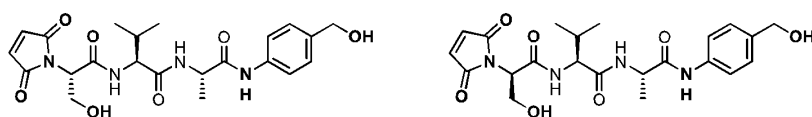
5





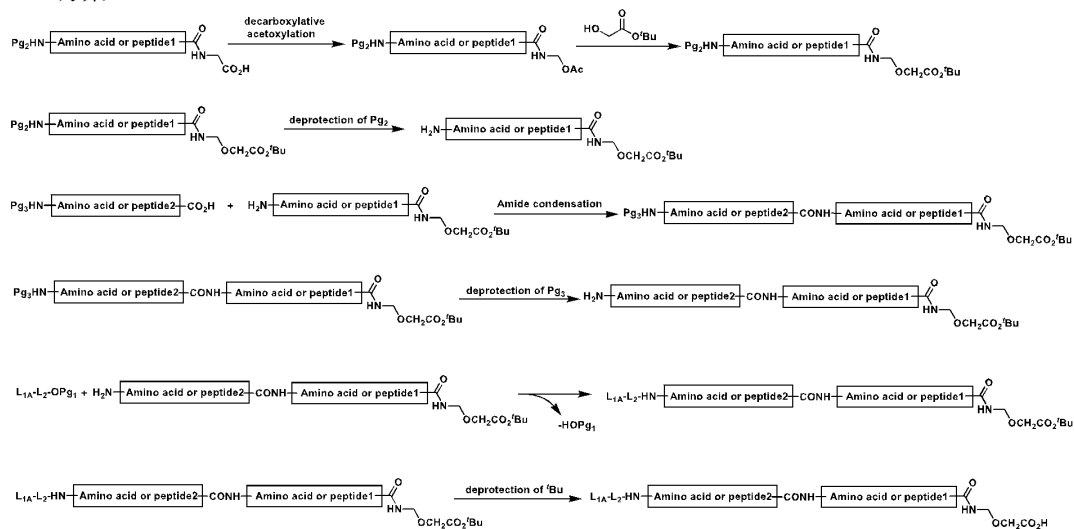
5





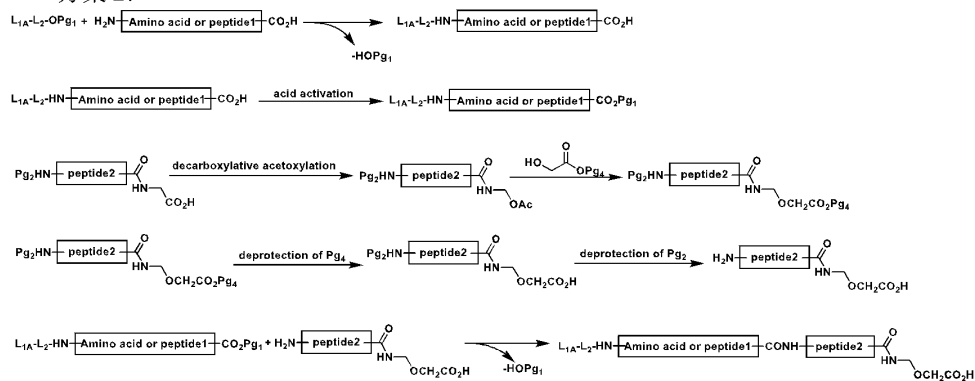
同时,本发明还提供了(L-1)另一优选例的合成方案,描述如下:

方案 1:



5 Pg_1 选自 ;
 Pg_2 选自 Boc、Fmoc、Cbz等;
 Pg_3 选自 Boc、Fmoc、Cbz等;

方案 2:



10

Pg_1 选自 ;
 Pg_2 选自 Boc、Fmoc、Cbz等;
 Pg_4 选自 Me、Et、ⁱPr、Allyl、^tBu、Bn、4-Methybenzyl、4-Methoxybenzyl、2,4-Dimethoxybenzyl、2,6-Dimethoxybenzyl、Trimethylsilyl、*tert*-Butyldimethylsilyl、Pentafluorophenyl等。

15

本发明的第五方面,提供了一种药物组合物,其含有本发明第一方面所述的配体偶联物,或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式,或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物,以及任选地药学上可接受的载体。

本发明的第六方面,提供了一种本发明第一方面所述的配体偶联物,或其互变异构体、内消旋体、

外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，和/或本发明的第五方面所述的药物组合物在制备用于治疗与/或预防与所述的配体的靶点表达相关和/或异常表达相关的疾病或病症的药物中的用途。

5 在另一优选例中，所述与所述配体的靶点表达相关和/或异常表达相关的疾病或病症为肿瘤/癌症、自身免疫疾病或者感染性疾病；较佳地，所述肿瘤/癌症为所述配体的靶点高表达、中表达、低表达的肿瘤/癌症。

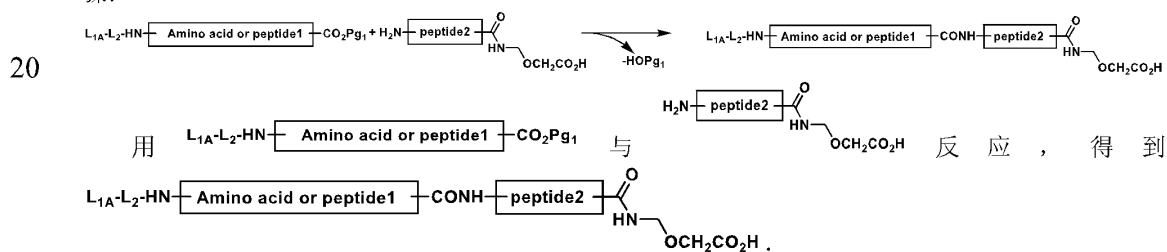
在另一优选例中，所述肿瘤选自与以下组靶点表达相关的肿瘤：Her-2、Trop2、PSMA、FR- α 、B7H3，或 IGF-1R。

在另一优选例中，所述肿瘤包含实体肿瘤和/或血液肿瘤。

10 在另一优选例中，所述肿瘤是与 IGF-1R 靶点表达相关的肿瘤。

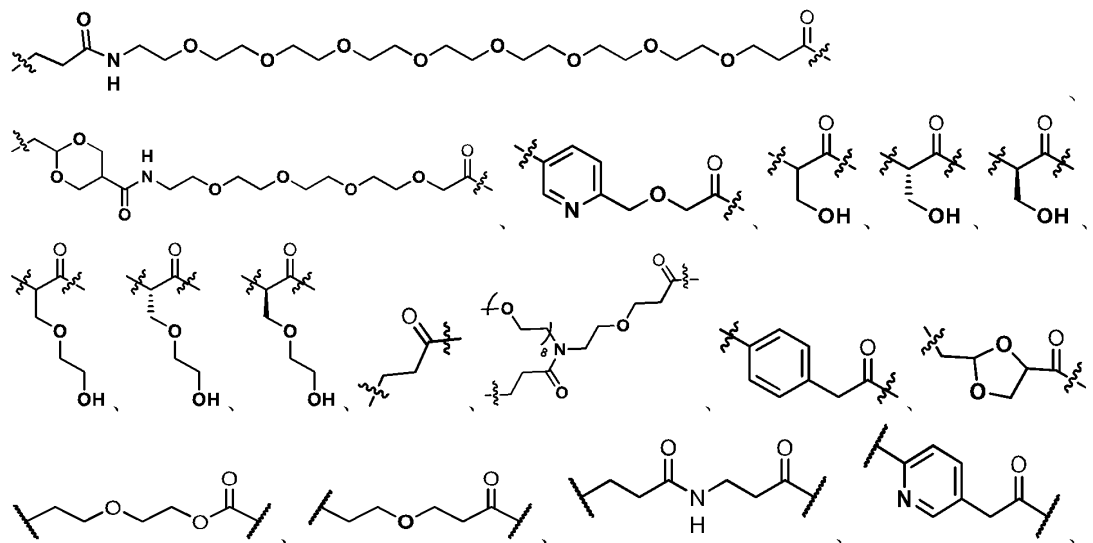
在另一优选例中，所述肿瘤选自下组：乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫内膜癌、尿路上皮癌、肺癌、前列腺癌、结直肠癌、胃癌、食管癌、膀胱癌、肾癌、胰腺癌、甲状腺癌和头颈癌。星形细胞瘤、基底或鳞状细胞癌、脑癌、神经母细胞瘤、胶质母细胞瘤、脂肪肉瘤、膀胱癌、结肠直肠癌、结肠癌、软骨肉瘤、肾癌、绒毛膜癌、白血病、多发性骨髓瘤、尤因肉瘤、胃肠癌、头颈癌、肝癌、胶质细胞瘤、肝细胞癌、平滑肌瘤、黑色素瘤、非小细胞肺癌、神经系统癌症、胰腺癌、肾细胞癌、横纹肌肉瘤、小细胞肺癌、胸腺瘤、甲状腺癌、睾丸癌和骨肉瘤。

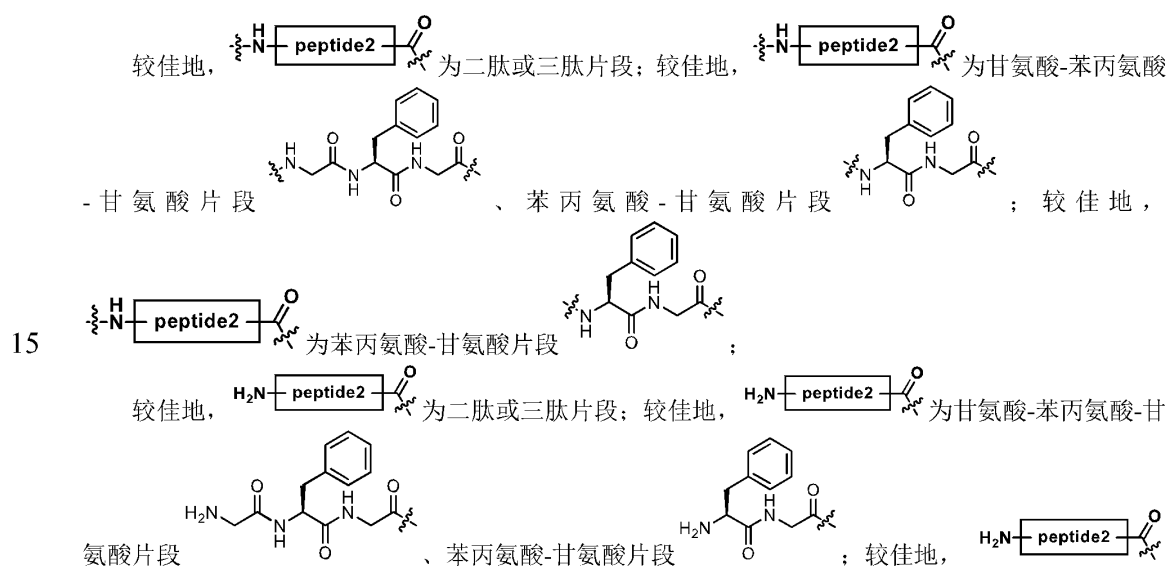
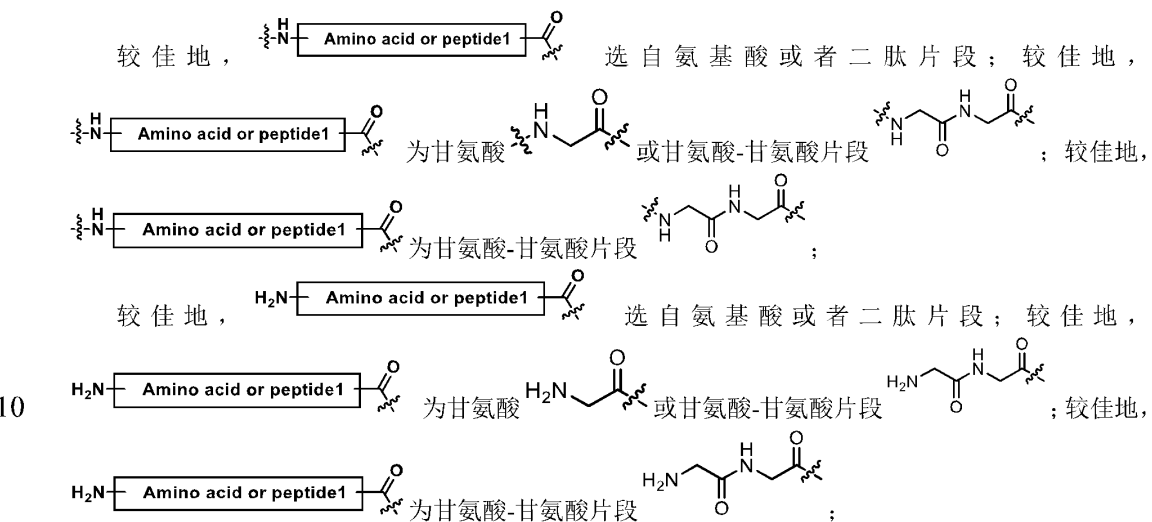
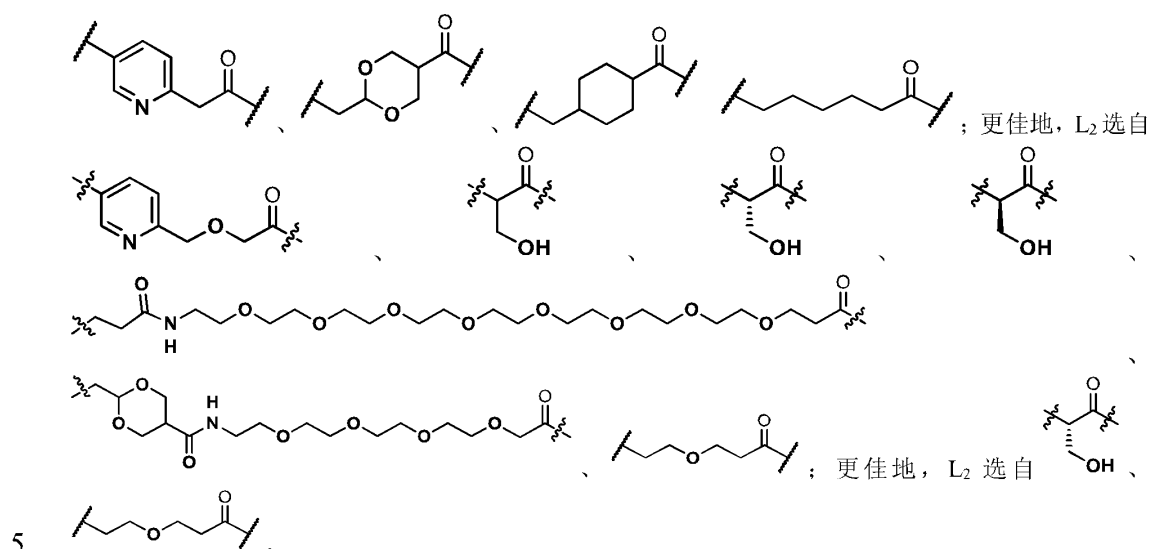
本发明的另一方面，提供了一种如式 (L-1) 所示的连接体前体的制备方法，其特征在于，包括步骤：

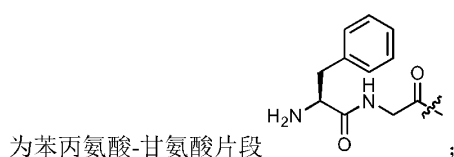


其中， L_{1A} 为  或 ；较佳地， L_{1A} 为 、、；更佳地， L_{1A} 为 。

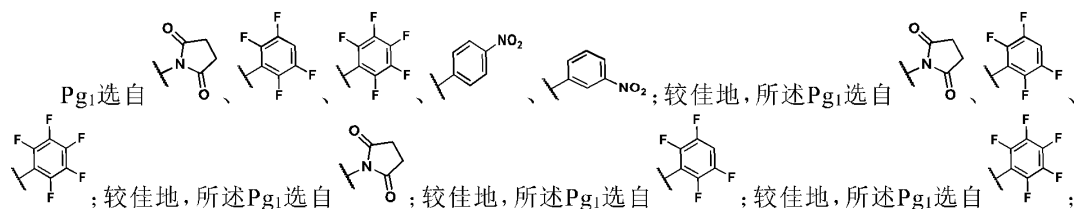
25 L_2 如上述任一方面中所述；较佳地， L_2 选自下组：



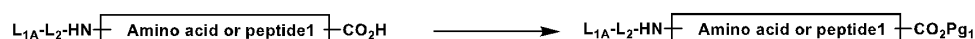
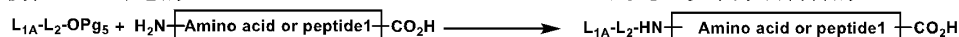




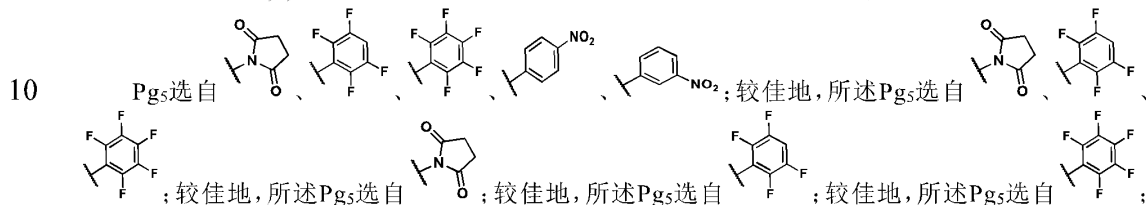
为苯丙氨酸-甘氨酸片段



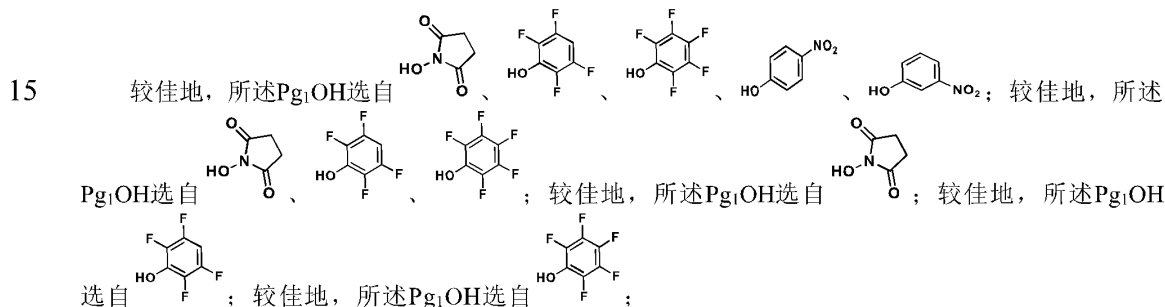
5 较佳地, 所述的 $L_{1A}-L_2-HN-\boxed{\text{Amino acid or peptide1}}-\text{CO}_2\text{Pg}_1$ 是通过以下方法制备的:



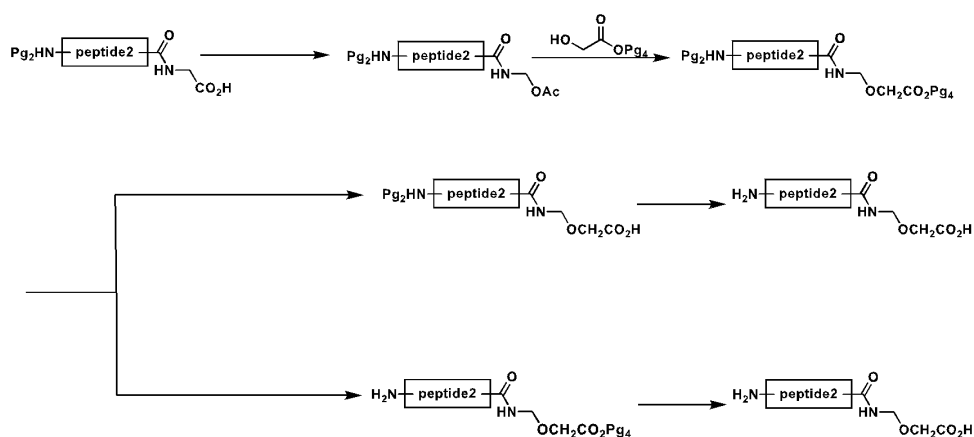
(1) 以 $L_{1A}-L_2-OPg_5$ 与 $H_2N-\boxed{\text{Amino acid or peptide1}}-CO_2H$ 反应, 得到 $L_{1A}-L_2-HN-\boxed{\text{Amino acid or peptide1}}-CO_2H$; 较佳地, 在无碱或者有碱参与下反应; 较佳地, 在无碱参与下反应; 较佳地, 所述碱选自三乙胺, N,N-二异丙基乙胺, 2,4,6-三甲基吡啶, DMAP, DBU, NMM, $NaHCO_3$; 较佳地, 所述的碱为 $NaHCO_3$;



(2) 用 Pg_1OH 与 $\text{L}_{1\text{A}}\text{-L}_{2\text{-HN}}\text{---}\boxed{\text{Amino acid or peptide1}}\text{---CO}_2\text{H}$ 反 应 , 得 到 $\text{L}_{1\text{A}}\text{-L}_{2\text{-HN}}\text{---}\boxed{\text{Amino acid or peptide1}}\text{---CO}_2\text{Pg}_1$.

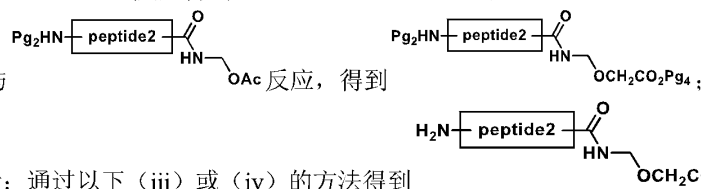


较佳地,所述的 OCH2CO2H 是通过以下方法制备的:



(i) 由式

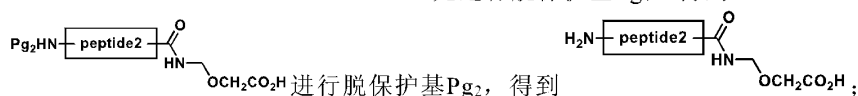
(ii) 用 $\text{HO}-\text{C}(=\text{O})-\text{OPg}_4$ 与



且所述的方法还包括：通过以下 (iii) 或 (iv) 的方法得到

5

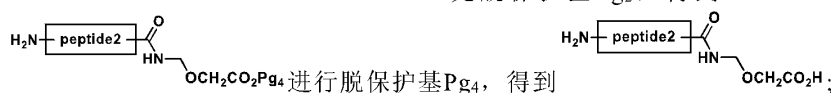
(iii) $\text{Pg}_2\text{HN-peptide2-OCH}_2\text{CO}_2\text{Pg}_4$ 先进行脱保护基 Pg_4 ，得到



较佳地，所述脱保护在碱存在下进行；较佳地，所述碱为有机碱；更佳地，所述碱为DBU；较佳地，所述脱保护在还原剂存在下进行；较佳地，所述的还原剂为 H_2 ；较佳地，所述脱保护在催化剂存在下进行；较佳地，所述催化剂为钯碳 Pd/C ；

10

(iv) $\text{Pg}_2\text{HN-peptide2-OCH}_2\text{CO}_2\text{Pg}_4$ 先脱保护基 Pg_2 ，得到



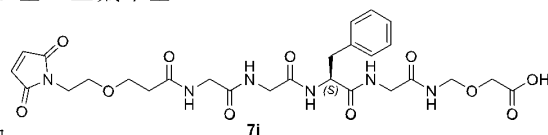
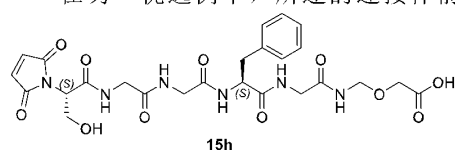
较佳地，所述脱保护在碱存在下进行；较佳地，所述碱为有机碱；更佳地，所述碱为DBU；较佳地，所述脱保护在还原剂存在下进行；较佳地，所述的还原剂为 H_2 ；较佳地，所述脱保护在催化剂存在下进行；较佳地，所述催化剂为钯碳 Pd/C ；

15

其中 Pg_2 选自 Boc、Fmoc、Cbz；

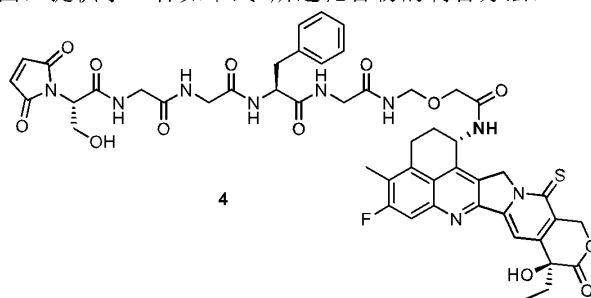
Pg_4 选自 Me、Et、 $i\text{Pr}$ 、Allyl、 $t\text{Bu}$ 、Bn、4-甲基苄基、4-甲氧基苄基、2,4-二甲氧基苄基、2,6-二甲氧基苄基、三甲基硅基、叔丁基二甲基硅基、五氟苯基。

在另一优选例中，所述的连接体前体为



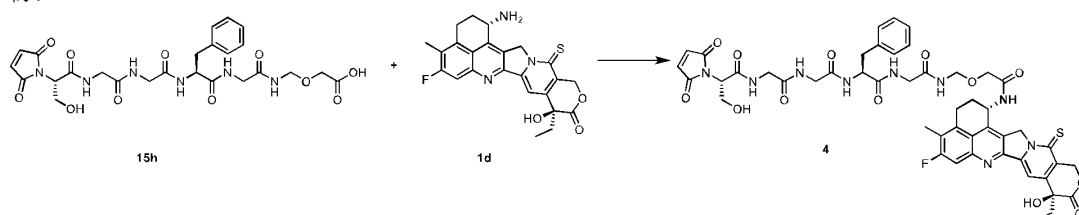
或

本发明的另一方面，提供了一种如下式**4**所述化合物的制备方法：



其特征在于，所述方法包括步骤：

- 5 在惰性溶剂中，用如下式**15h**所述化合物与式**1d**所述化合物发生缩合反应得到式**4**所述化合物：

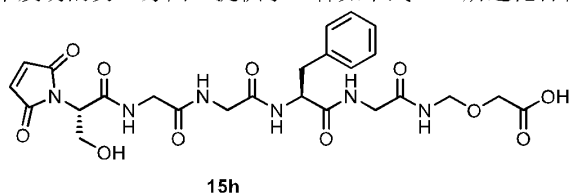


在另一优选例中，所述的惰性溶剂选自下组：二氯甲烷、四氢呋喃、N,N-二甲基甲酰胺、N,N-二甲基乙酰胺、HMPA，或其组合；优选为N,N-二甲基甲酰胺；

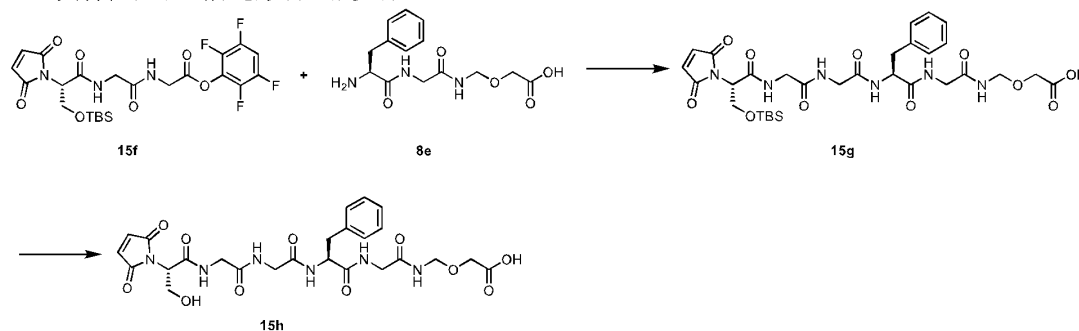
- 10 在另一优选例中，反应在缩合剂存在下进行；更优选地，所述的缩合剂选自下组：HATU、HBTU、TBTU、EDCI、HOAt、HOBt、CDI、TCFH、TFFH、DCC、DIC、BOP、AOP、PyAOP、BrOP、PyClOP、PyBrOP、DMTMM，或其组合，更优选地，所述缩合剂为HATU；

- 15 在另一优选例中，所反应在碱存在下反应；更优选地，所述的碱选自下组：TEA，DIPEA，DBU，DMAP，吡啶，2,6-二甲基吡啶，2,4,6-三甲基吡啶，咪唑，N-甲基咪唑，或其组合；更优选地，所述碱为2,4,6-三甲基吡啶。

本发明的另一方面，提供了一种如下式**15h**所述化合物的制备方法，

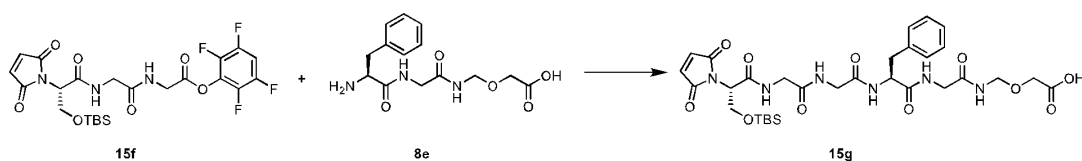


其特征在于，所述方法包括步骤：



20

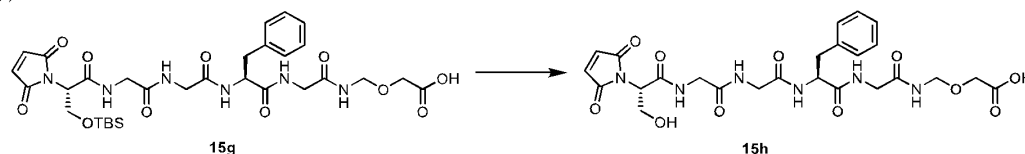
- (1) 在惰性溶剂中，用如下式**15f**所述化合物与式**8e**所述化合物反应得到式**15g**所述化合物；



在另一优选例中, 所述的惰性溶剂选自下组: 乙腈、水、四氢呋喃, 2-甲基四氢呋喃, 二氯甲烷, 或其组合; 进一步优选为乙腈、水, 或其组合; 进一步优选为乙腈和水体积比为10:1至1:10的组合; 更优选地, 所述惰性溶剂为乙腈和水体积比为2:1至4:1的组合; 更优选地, 所述惰性溶剂为乙腈和水体积比为3:1的组合;

在另一优选例中, 所述的反应可以在碱存在下进行; 较佳地, 所述碱选自TEA, DIPEA, NMM, 碳酸氢钠, DBU, 或其组合; 更优选地, 所述碱为DIPEA;

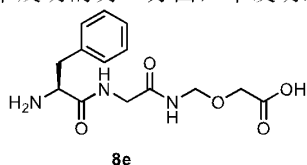
(2) 在惰性溶剂中, 如下式 15g 所述化合物经硅基脱除试剂脱除保护基, 得到式 15h 所述化合物;



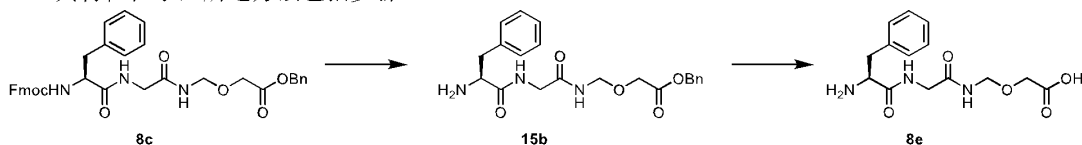
在另一优选例中, 所述的硅基脱除试剂选自下组: 酸、氟化试剂 (含氟试剂); 优选地, 所述硅基脱除试剂选自氟化氢、氟化氢水溶液、三乙胺三氢氟酸盐、吡啶氢氟酸盐、甲酸、乙酸、三氟乙酸、二氯乙酸、甲磺酸、三氟甲磺酸; 优选地, 所述的硅基脱除试剂为甲酸;

在另一优选例中, 所述的惰性溶剂选自下组: 四氢呋喃、N,N-二甲基甲酰胺、乙腈、水, 或其组合; 进一步优选为乙腈、水, 或其组合; 进一步优选为乙腈和水体积比为10:1至1:10, 进一步优选为乙腈: 水体积比为1:4至4:1, 进一步优选为乙腈: 水体积比为1:1.5。

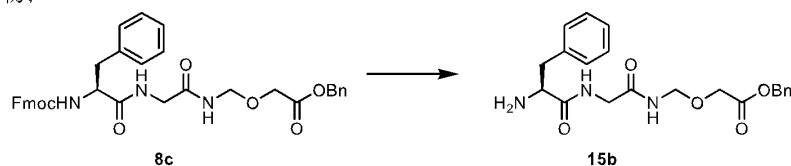
本发明的另一方面, 本发明还提供了一种如下式 8e 所述化合物的制备方法,



其特征在于, 所述方法包括步骤:



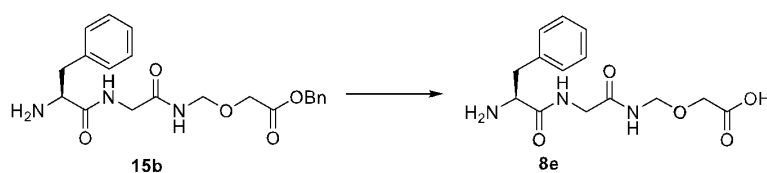
(1) 在惰性溶剂中, 用如下式 8c 所述化合物在碱性条件下脱除 Fmoc 保护基, 得到式 15b 所述化合物;



在另一优选例中, 所述惰性溶剂选自二氯甲烷、四氢呋喃、2-甲基四氢呋喃, 或其组合; 更优选地, 所述惰性溶剂为二氯甲烷;

在另一优选例中, 所述碱为有机碱; 更优选地, 所述碱为二甲胺, 二乙胺, DBU, 哌啶; 更优选地, 所述碱为DBU。

(2) 在惰性溶剂中, 用如下式 15b 所述化合物脱除苄基保护基, 得到式 8e 所述化合物;

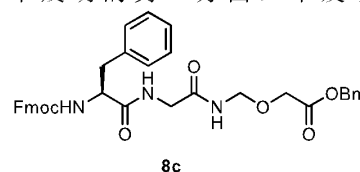


在另一优选例中，所述惰性溶剂选自四氢呋喃、水，或其组合；更优选地，所述惰性溶剂为水；更优选地，所述惰性溶剂为体积比为1:5至5:1的四氢呋喃和水的组合。

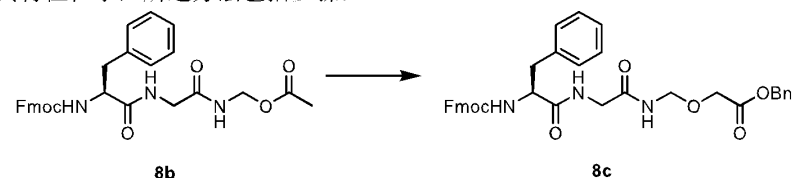
5 在另一优选例中，所述脱保护在碱存在下进行；更佳地，所述碱为有机碱；更佳地，所述碱为DBU；

在另一优选例中，所述脱保护在还原剂存在下进行；更佳地，所述的还原剂为氢气 H_2 ；更佳地，所述脱保护在催化剂存在下进行；更佳地，所述催化剂为钯碳Pd/C；

本发明的另一方面，本发明还提供了一种如下式8c所述化合物的制备方法；



10 其特征在于，所述方法包括步骤：

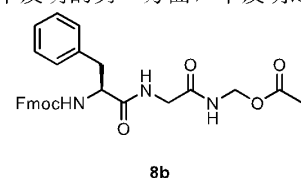


在惰性溶剂中，用如式8b所述化合物与乙醇酸苄酯反应，得到式8c所述化合物；

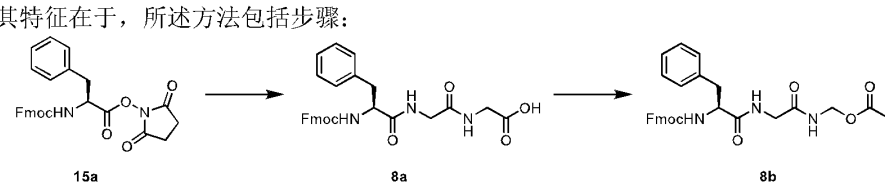
在另一优选例中，所述惰性溶剂选自二氯甲烷、四氢呋喃、2-甲基四氢呋喃，二氧六环，或其组合；更优选地，所述惰性溶剂为四氢呋喃。

15 在另一优选例中，反应在酸或碱存在下进行；更优选地，所述酸为对甲苯磺酸、对甲苯磺酸一水合物；更优选地，所述碱为氢氧化锂、氢氧化锂一水合物、叔丁醇钾、叔丁醇钠、氢氧化钠；更优选地，所述碱为氢氧化锂；更优选地，所述碱为氢氧化锂一水合物；

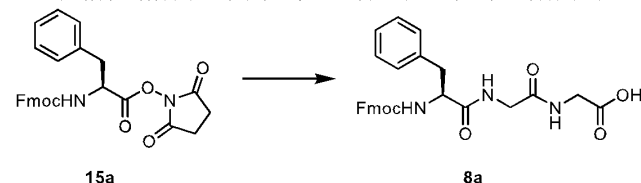
本发明的另一方面，本发明还提供了一种如下式8b所述化合物的制备方法：



20 其特征在于，所述方法包括步骤：



(1) 在惰性溶剂中，用下式15a所述化合物与双甘肽反应，得到式8a所述化合物；

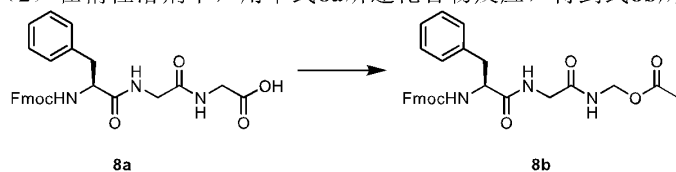


25 在另一优选例中，反应在碱存在下进行；更优选地，所述碱为碳酸氢钠；

在另一优选例中，所述惰性溶剂选自乙二醇二甲醚、水，或其组合；更优选地，所述惰性溶剂为乙二醇二甲醚和水的组合；更优选地，所述惰性溶剂为乙二醇二甲醚和水体积比为1:5至5:1

的组合；更优选地，所述惰性溶剂为乙二醇二甲醚和水体积比为1:2至2:1的组合；

(2) 在惰性溶剂中，用下式**8a**所述化合物反应，得到式**8b**所述化合物；



5 在另一优选例中，所述惰性溶剂选自N,N-二甲基甲酰胺、N,N-二甲基乙酰胺、HMPA；更优选地，所述惰性溶剂为N,N-二甲基甲酰胺。

在另一优选例中，反应在四乙酸铅存在下进行；

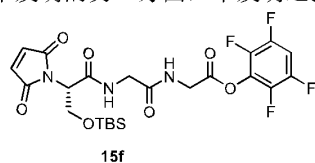
在另一优选例中，反应在乙酸铜存在下进行；

在另一优选例中，反应在乙酸存在下进行；

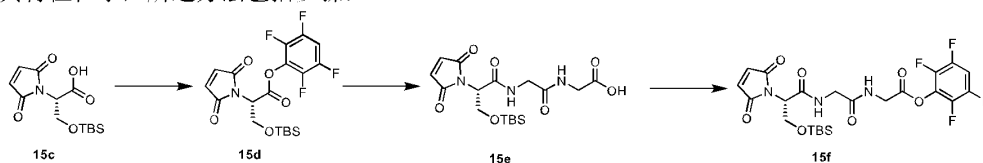
10 在另一优选例中，反应在乙酸、四乙酸铅、乙酸铜同时存在下进行；

在另一优选例中，反应在乙酸、四乙酸铅同时存在下进行；

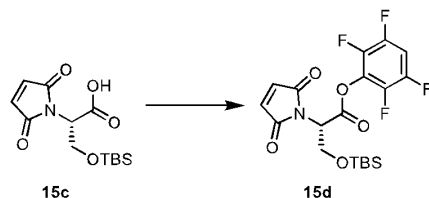
本发明的另一方面，本发明还提供了一种如下式**15f**所述化合物的制备方法：



其特征在于，所述方法包括步骤：



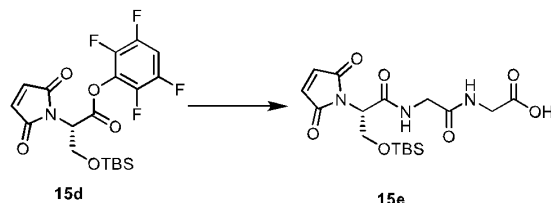
15 (1) 在惰性溶剂中，用下式**15c**所述化合物与四氟苯酚发生缩合反应，得到式**15d**所述化合物；



20 在另一优选例中，所述惰性溶剂选自二氯甲烷、四氢呋喃、2-甲基四氢呋喃；更优选地，所述惰性溶剂为二氯甲烷；

在另一优选例中，反应在缩合剂存在下进行；更优选地，所述的缩合剂选自下组：HATU、HBTU、TBTU、EDCI、HOAt、HOBt、CDI、TCFH、TFFH、DCC、DIC、BOP、AOP、PyAOP、BrOP、PyClOP、PyBrOP、DMTMM，或其组合；更优选地，所述缩合剂为DCC。

(2) 在惰性溶剂中，用下式**15d**所述化合物与双甘肽反应，得到式**15e**所述化合物；

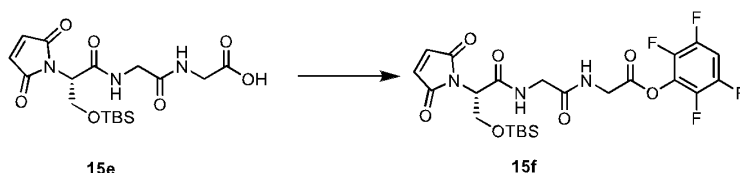


25 在另一优选例中，所述惰性溶剂选自乙二醇二甲醚、水，或其组合；更优选地，所述惰性溶剂为乙二醇二甲醚和水的组合；更优选地，所述惰性溶剂为乙二醇二甲醚和水体积比为1:5至5:1的组合；更优选地，所述惰性溶剂为乙二醇二甲醚和水体积比为1:2至2:1的组合；

30 在另一优选例中，反应在无碱或者有碱参与下反应；更优选地，所述碱选自三乙胺、N,N-二异丙基乙胺、2,4,6-三甲基吡啶、DMAP、DBU、NMM、NaHCO₃；更优选地，所述的碱为NaHCO₃；

(3) 在惰性溶剂中，用下式**15e**所述化合物与四氟苯酚发生缩合反应，得到式**15f**所述化合物

物；

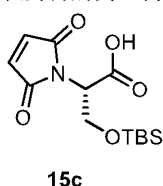


在另一优选例中，所述惰性溶剂选自二氯甲烷、四氢呋喃、2-甲基四氢呋喃；更优选地，所述惰性溶剂为二氯甲烷；

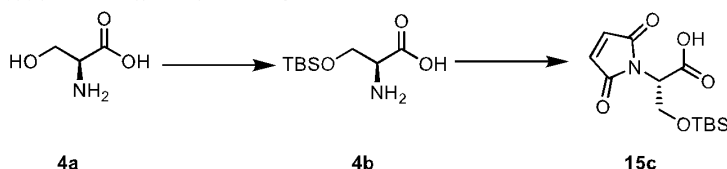
- 5 在另一优选例中，反应在缩合剂存在下进行；更优选地，所述的缩合剂选自下组：HATU、HBTU、TBTU、EDCI、HOAt、HOBt、CDI、TCFH、TFFH、DCC、DIC、BOP、AOP、PyAOP、BrOP、PyClOP、PyBrOP、DMTMM，或其组合；更优选地，所述缩合剂为DCC。

在另一优选例中，反应在有碱或无碱存在下进行；更优选地，所述反应无需碱的参与；

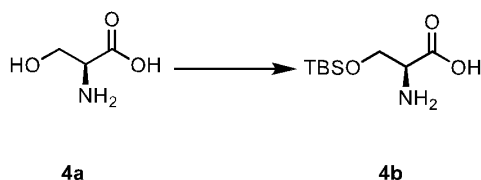
- 10 本发明的另一方面，本发明还提供了一种如下式 **15c** 所述化合物的制备方法：



其特征在于，所述方法包括步骤：



- (1) 在惰性溶剂中，用下式 **4a** 所述化合物与硅基试剂反应，得到式 **4b** 所述化合物：

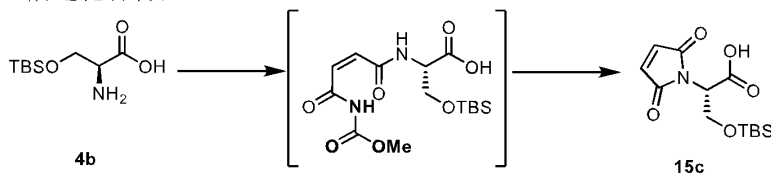


- 15 在另一优选例中，所述惰性溶剂选自组：乙腈、DMF、DMA、THF、二氯甲烷；更优选地，所述惰性溶剂为乙腈；

在另一优选例中，反应在碱存在下进行；更优选地，所述碱选自DBU、咪唑、DIPEA、TEA；更优选地，所述碱为DBU；

- 20 在另一优选例中，所述硅基试剂为TBSCl、TBSOTf；更优选地，所述硅基试剂为TBSCl；

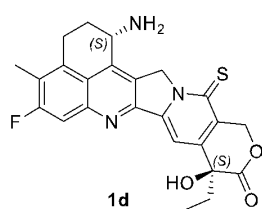
(2) 在惰性溶剂中，用下式 **4b** 所述化合物在碱存在下与N-甲氧基羰基顺丁烯二酰亚胺反应，得到 **15c** 所述化合物；



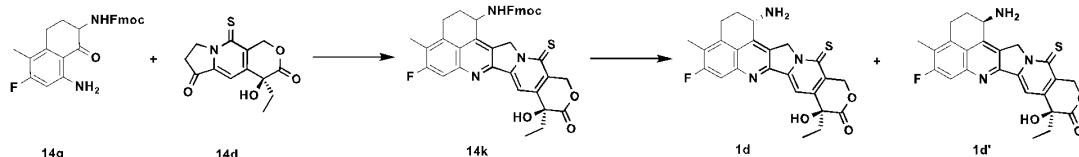
- 25 在另一优选例中，所述惰性溶剂选自组：水、THF、DMF，或其组合；更优选地，所述惰性溶剂为四氢呋喃和水体积比为1:1的组合；

在另一优选例中，所述碱选自组：碳酸氢钠、碳酸钠、三乙胺、二异丙基乙胺；更优选地，所述碱为碳酸氢钠。

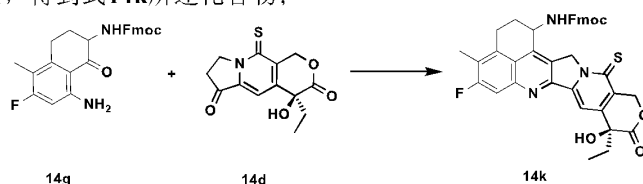
- 30 本发明的另一方面，本发明还提供了一种如下式 **1d** 所述化合物的制备方法，



其特征在于, 所述方法包括步骤:



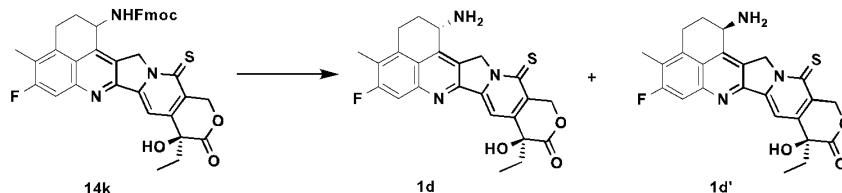
- 5 (1) 在惰性溶剂中, 用下式**14g**所述化合物与**14d**所述化合物在添加剂存在下发生缩合环化反应, 得到式**14k**所述化合物;



- 10 在另一优选例中, 所述惰性溶剂优选自甲苯、乙酸、氯苯, 或其组合; 更优选地, 所述惰性溶剂为甲苯和乙酸的组合; 更优选地, 所述惰性溶剂为甲苯和乙酸体积比为1:5至5:1的组合; 更优选地, 所述惰性溶剂为甲苯和乙酸体积比为1:2至2:1的组合; 更优选地, 所述惰性溶剂为甲苯和乙酸体积比为1:1的组合;

在另一优选例中, 反应可以在添加剂存在下进行; 更优选地, 所述添加剂可以选自组对甲苯磺酸, 对甲苯磺酸一水合物, 对甲苯磺酸吡啶盐; 更优选地, 所述添加剂为对甲苯磺酸吡啶盐。

- 20 (2) 在惰性溶剂中, 用下式**14k**所述化合物在有机碱条件下脱Fmoc保护基, 得到式**1d**和式**1d'**的混合物;

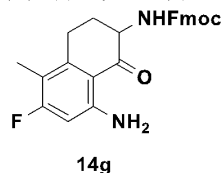


- 15 在另一优选例中, 所述有机碱选自二级胺、三级胺; 更优选地, 所述有机碱选自哌啶、二甲胺、二乙胺, 更优选地, 所述有机碱为哌啶;

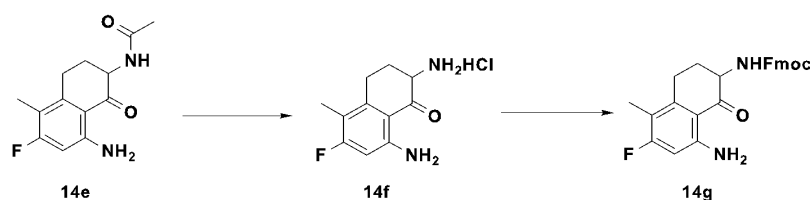
在另一优选例中, 所述惰性溶剂选自四氢呋喃、2-甲基四氢呋喃; 更优选地, 所述惰性溶剂为四氢呋喃。

- 20 (3) 对所得到的 **1d** 和 **1d'** 的混合物进行手性拆分, 得到 **1d**;

本发明的另一方面, 本发明还提供了一种如下式**14g**所述化合物的制备方法,



其特征在于, 所述方法包括步骤:



(1) 在惰性溶剂中, 用如式 **14e** 所述化合物脱乙酰基保护, 得到式 **14f** 所述化合物。

在另一优选例中, 所述惰性溶剂选自无溶剂、水、四氢呋喃, 或其组合; 更优选地, 所述惰性溶剂为水; 更优选地, 所述惰性溶剂为无溶剂;

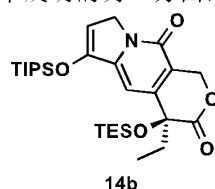
5 在另一优选例中, 反应在酸存在下进行; 更优选地, 所述酸为盐酸; 更优选地, 所述盐酸浓度为 3-9 N; 更优选地, 所述盐酸浓度为 6 N;

(2) 在碱存在下, 用如式 **14f** 所述化合物与 **FmocCl** 反应, 得到式 **14g** 所述化合物;

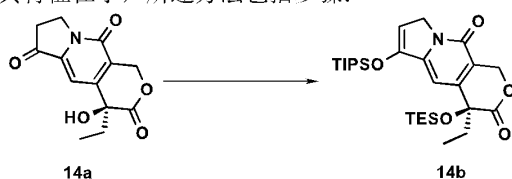
在另一优选例中, 所述碱选自有机碱和无机碱; 更优选地, 所述碱选自三乙胺、二异丙基乙胺、DBU、碳酸钠、碳酸钾、碳酸氢钠、碳酸氢钾; 更优选地, 所述碱为碳酸钾;

10 在另一优选例中, 所述惰性溶剂选自乙腈、DMF、DMA、二氯甲烷、水、四氢呋喃, 或其组合; 更优选地, 所述惰性溶剂为水和四氢呋喃体积比为 1:5 至 5:1 的组合; 更优选地, 所述惰性溶剂为水和四氢呋喃体积比为 3:4 的组合;

本发明的另一方面, 本发明还提供了一种如下式 **14b** 所述化合物的制备方法,



15 其特征在于, 所述方法包括步骤:



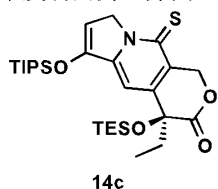
在碱存在下, 在惰性溶剂中, 用如式 **14a** 所述化合物与 2 种不同硅基试剂反应进行硅基保护, 得到式 **14b** 所述化合物;

20 在另一优选例中, 所述硅基试剂为 TESCl、TESOTf、TIPSCl、TIPSOTf; 更优选地, 所述硅基试剂选自 TESCl、TIPSCl;

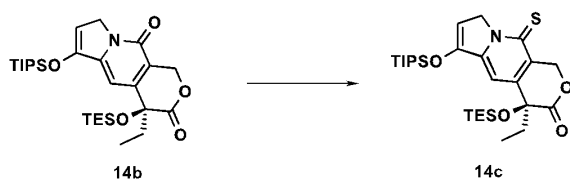
在另一优选例中, 所述惰性溶剂选自 N,N-二甲基甲酰胺、N,N-二甲基乙酰胺、HPMA、四氢呋喃、二氯甲烷; 更优选地, 所述惰性溶剂选自 N,N-二甲基甲酰胺;

25 在另一优选例中, 所述碱选自 TEA, DIPEA, NMM, 吡啶, 2,6-二甲基吡啶, 2, 4, 6-三甲基吡啶, 咪唑, DMAP; 更优选地, 所述碱为咪唑。

本发明的另一方面, 本发明还提供了一种如下式 **14c** 所述化合物的制备方法,



其特征在于, 所述方法包括步骤:

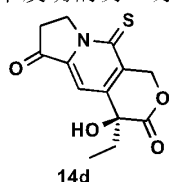


在惰性溶剂中，用如式 **14b** 所述化合物与劳森试剂反应，得到式 **14c** 所述化合物；

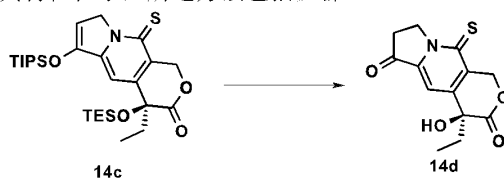
在另一优选例中，所述惰性溶剂选自四氢呋喃、二氧六环、2-甲基四氢呋喃、甲苯；更优选地，所述惰性溶剂为甲苯；

- 5 在另一优选例中，反应可以在有碱或者无碱存在下进行；所述碱优选自三乙胺，DIPEA，NMM，吡啶，2,6-二甲基吡啶，2,4,6-三甲基吡啶，DMAP，碳酸钠、碳酸钾、碳酸氢钠、碳酸氢钾，叔丁醇钾，叔丁醇钠；更优选地，所述碱选自碳酸钠、碳酸钾、碳酸氢钠、碳酸氢钾；更优选地，所述碱为碳酸钠。

- 10 本发明的另一方面，本发明还提供了一种如下式 **14d** 所述化合物的制备方法，



其特征在于，所述方法包括步骤：

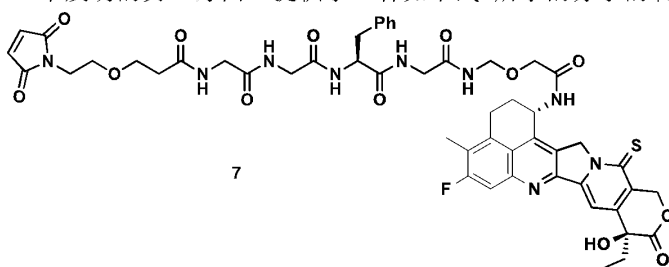


在惰性溶剂中，用如式 **14c** 所述化合物经硅基脱除试剂作用下脱除 TIPS 和 TES 硅基保护基，得到式 **14d** 所述化合物。

- 15 在另一优选例中，所述硅基脱除试剂选自下组：酸、氟化试剂（含氟试剂）；更优选地，所述硅基脱除试剂选自甲酸，乙酸，三氟乙酸，甲磺酸，三氟甲磺酸，二氯乙酸，氟化氢、氟化氢水溶液、三乙胺三氢氟酸盐、氟化氢吡啶盐；更优选地，所述硅基脱除试剂为氟化氢水溶液。

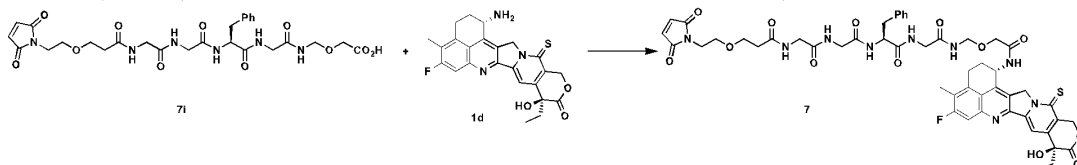
- 20 在另一优选例中，所述惰性溶剂选自四氢呋喃、2-甲基四氢呋喃，甲苯；更优选地，所述惰性溶剂为四氢呋喃。

本发明的另一方面，提供了一种如下式 **7** 所示的分子的制备方法：



其特征在于，所述方法包括步骤：

- 25 在惰性溶剂中，用如下式 **7i** 所述化合物和下式 **1d** 所述化合物发生缩合反应，生成式 **7** 化合物：



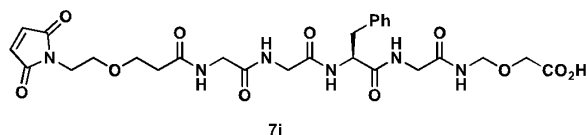
在另一优选例中，所述的惰性溶剂选自下组：二氯甲烷、四氢呋喃、N,N-二甲基甲酰胺、N,N-

二甲基乙酰胺、HMPA，或其组合；优选为N,N-二甲基甲酰胺。

在另一优选例中，所述的缩合剂选自下组：HATU、HBTU、TBTU、EDCI、HOAt、HOBt、CDI、TCFH、TFFH、DCC、DIC、BOP、AOP、PyAOP、BrOP、PyClOP、PyBrOP、DMTMM。或其组合，优选为EDCI。

- 5 在另一优选例中，所述的碱选自下组：TEA，DIPEA，NMM，DBU，DMAP，吡啶，2,6-二甲基吡啶，2,4,6-三甲基吡啶，咪唑，N-甲基咪唑，或其组合，优选为2,4,6-三甲基吡啶。

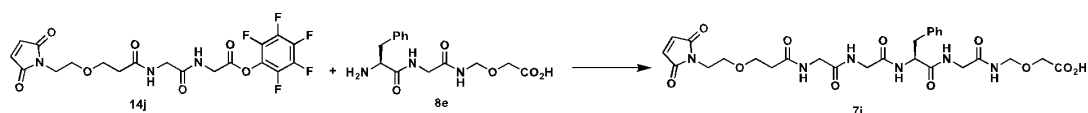
本发明的另一方面，提供了一种如下式 **7i** 所示的分子的制备方法，



10

其特征在于，所述方法包括步骤：

在惰性溶剂中，用如下式 **14j** 所述化合物与下式 **8e** 所述化合物反应，得到式 **7i** 化合物：



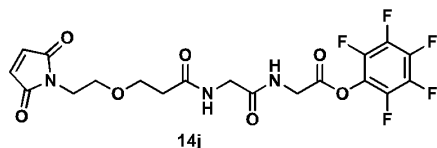
15

在另一优选例中，所述的惰性溶剂选自下组：乙腈、水、四氢呋喃，2-甲基四氢呋喃，二氯甲烷，或其组合；进一步优选为四氢呋喃。

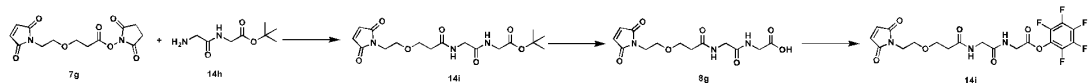
在另一优选例中，反应在无碱或者有碱参与下反应；优选地，所述碱选自三乙胺，N,N-二异丙基乙胺，2,6-二甲基吡啶，2,4,6-三甲基吡啶，DBU，NMM；更优选地，所述反应无需碱的参与；

20

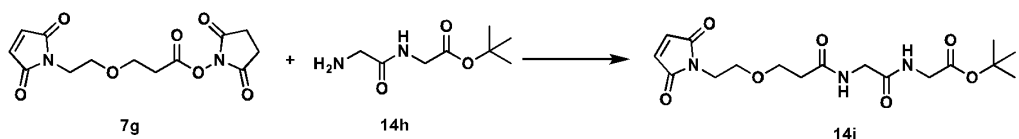
本发明的另一方面，本发明还提供了一种如下式 **14j** 所示的分子的制备方法：



其特征在于，所述方法包括步骤：



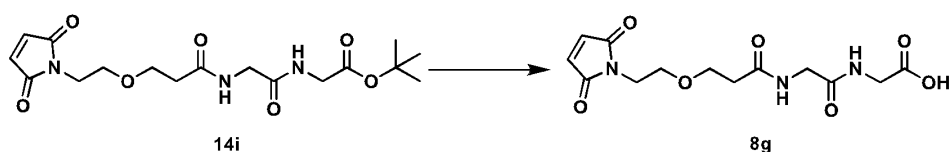
- 25 (1) 在惰性溶剂中，用下式 **7g** 所述化合物的与 **14h** 所述化合物发生缩合反应，得到式 **14i** 化合物；



在另一优选例中，所述的惰性溶剂选自下组：乙腈、水、四氢呋喃，2-甲基四氢呋喃，二氯甲烷，乙酸乙酯，或其组合；进一步优选为乙酸乙酯。

- 30 在另一优选例中，反应在无碱或者有碱参与下反应；优选地，所述碱选自三乙胺，N,N-二异丙基乙胺，2,6-二甲基吡啶，2,4,6-三甲基吡啶，DBU，NMM；更优选地，所述反应无需碱的参与；

(2) 在惰性溶剂中，用下式 **14i** 所述化合物在酸性条件下脱叔丁基保护，得到式 **8g** 化合物：



35

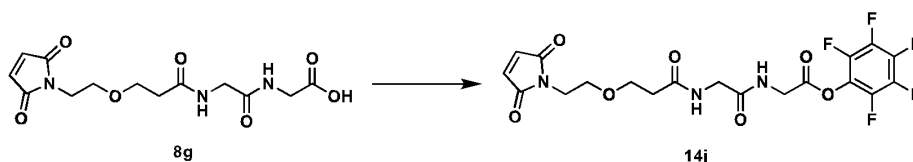
在另一优选例中，所述的惰性溶剂选自下组：二氯甲烷、四氢呋喃、二氧六环、乙酸乙酯、

甲苯，或其组合；进一步优选为甲苯。

在另一优选例中，所述的酸选自下组：盐酸，硫酸，氯化氢乙酸酯溶液，氯化氢四氢呋喃溶液，氯化氢二氧六环溶液，三氟乙酸，三氟甲磺酸，甲磺酸，二氯乙酸；优选地，所述酸选自三氟乙酸；

5

(3) 在惰性溶剂中，用下式**8g**所述化合物与五氟苯酚在缩合剂存在下发生缩合反应，得到式**14j**化合物；



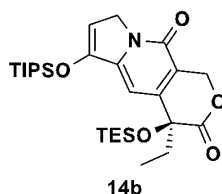
10

在另一优选例中，所述的缩合剂选自下组：HATU、HBTU、TBTU、EDCI、HOAt、HOBt、CDI、TCFH、TFFH、DCC、DIC、BOP、AOP、PyAOP、BrOP、PyClOP、PyBrOP、DMTMM。或其组合，优选为EDCI。

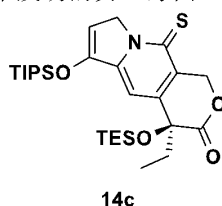
所述的惰性溶剂选自下组：二氯甲烷、四氢呋喃、2-甲基四氢呋喃、甲苯，或其组合；进一步优选为二氯甲烷。

15

本发明的另一方面，提供了一种如下式**14b**所示化合物：

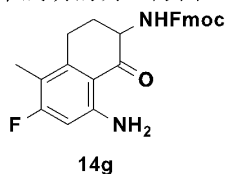


本发明的另一方面，提供了一种如下式**14c**所示化合物：

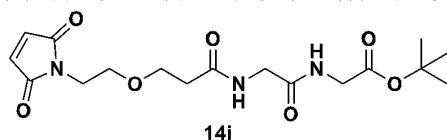


20

本发明的另一方面，提供了一种如下式**14g**所示化合物：

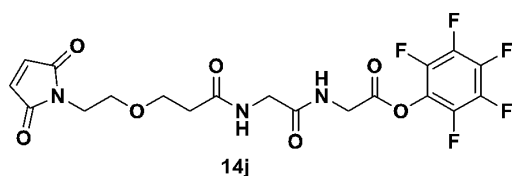


本发明的另一方面，提供了一种如下式**14i**所示化合物：

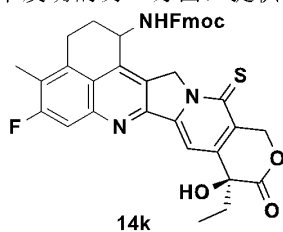


25

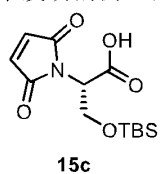
本发明的另一方面，提供了一种如下式**14j**所示化合物：



本发明的另一方面，提供了一种如下式**14k**所示化合物：

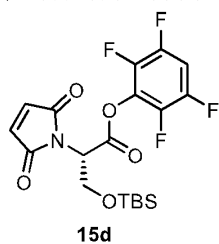


本发明的另一方面，提供了一种如下式**15c**所示化合物：

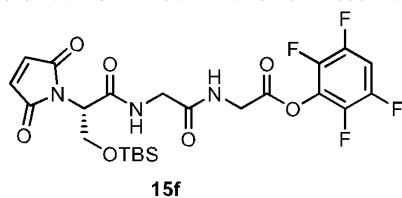


5

本发明的另一方面，提供了一种如下式**15d**所示化合物：

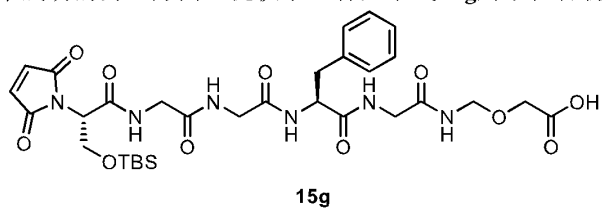


本发明的另一方面，提供了一种如下式**15f**所示化合物：

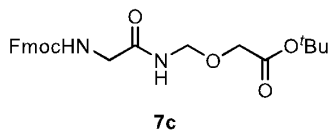


10

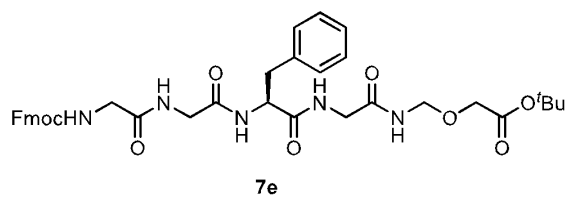
本发明的另一方面，提供了一种如下式**15g**所示化合物：



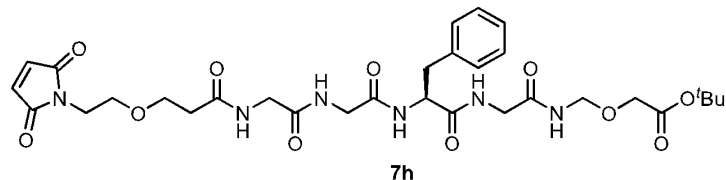
本发明的另一方面，提供了一种如下式**7c**所示化合物：



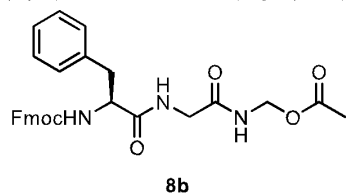
本发明的另一方面，提供了一种如下式**7e**所示化合物：



本发明的另一方面，提供了一种如下式**7h**所示化合物：

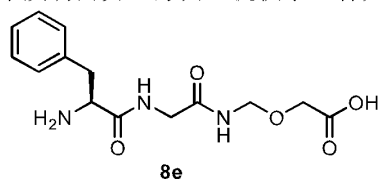


本发明的另一方面，提供了一种如下式**8b**所示化合物：

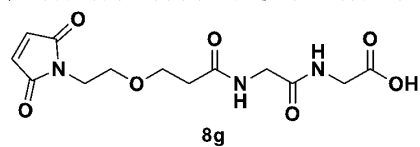


5

本发明的另一方面，提供了一种如下式**8e**所示化合物：

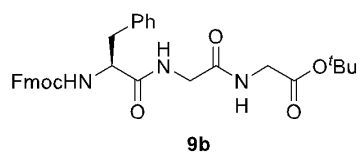


本发明的另一方面，提供了一种如下式**8g**所示化合物：



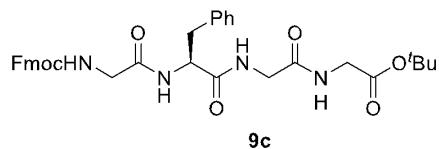
10

本发明的另一方面，提供了一种如下式**9b**所示化合物：

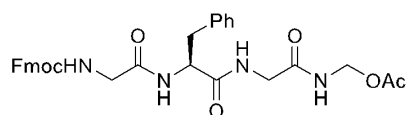


本发明的另一方面，提供了一种如下式**9c**所示化合物：

15

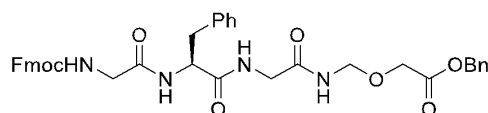


本发明的另一方面，提供了一种如下式**9e**所示化合物：



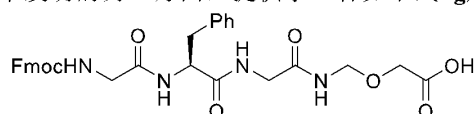
9e

本发明的另一方面，提供了一种如下式**9f**所示化合物：



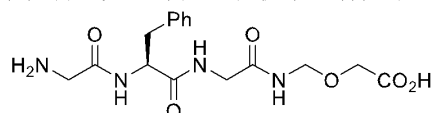
9f

5 本发明的另一方面，提供了一种如下式**9g**所示化合物：



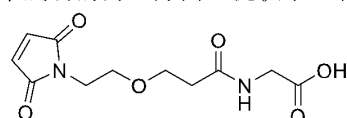
9g

本发明的另一方面，提供了一种如下式**9h**所示化合物：



9h

本发明的另一方面，提供了一种如下式**9i**所示化合物：



9i

10

应理解，在本发明范围内中，本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合，从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅，在此不再一一累述。

15 具体实施方式

本发明人基于长期而深入的研究，制备得到了一类结构新颖的配体偶联药物、适用于配体偶联物的药物分子（毒素）、适用于配体偶联物的连接体前体、适用于配体偶联物的配体偶联物前体，所述的药物稳定性更好、疗效好、安全性更高。基于上述发现，发明人完成了本发明。

20 术语

如本文所用，术语“烷基”包括直链或支链的烷基。例如C₁-C₈烷基表示具有1-8个碳原子的直链或支链的烷基，例如甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基等。

如本文所用，术语“烯基”包括直链或支链的烯基。例如C₂-C₆烯基指具有2-6个碳原子的直链或支链的烯基，例如乙烯基、烯丙基、1-丙烯基、异丙烯基、1-丁烯基、2-丁烯基、或类似基团。

25 如本文所用，术语“炔基”包括直链或支链的炔基。例如C₂-C₆炔基是指具有2-6个碳原子的直链或支链的炔基，例如乙炔基、丙炔基、丁炔基、或类似基团。

如本文所用，术语“C₃-C₁₀环烷基”指具有3-10个碳原子的环烷基。其可以是单环，例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、或类似基团。也可以是双环形式，例如桥环或螺环形式。

30 如本文所用，术语“C₁-C₈烷胺基”是指被C₁-C₈烷基所取代的胺基，可以是单取代或双取代的；例如，甲胺基、乙胺基、丙胺基、异丙胺基、丁胺基、异丁胺基、叔丁胺基、二甲胺基、二乙胺基、二丙胺基、二异丙胺基、二丁胺基、二异丁胺基、二叔丁胺基等。

如本文所用，术语“C₁-C₈烷氧基”是指具有1-8个碳原子的直链或支链的烷氧基；例如，甲氧基、

乙氧基、丙氧基、异丙氧基、丁氧基、异丁氧基、叔丁氧基等。

如本文所用，术语“具有1-3个选自下组N、S和O的杂原子的3-10元杂环烷基”是指具有3-10个原子的且其中1-3个原子为选自下组N、S和O的杂原子的饱和或部分饱和的环状基团。其可以是单环，也可以是双环形式，例如桥环或螺环形式。具体的实例可以为氧杂环丁烷、氮杂环丁烷、四氢-2H-吡喃基、哌啶基、四氢呋喃基、吗啉基和吡咯烷基等。

如本文所用，术语“C₆-C₁₀芳基”是指具有6-10个碳原子的芳基，例如，苯基或萘基等类似基团。

如本文所用，术语“具有1-3个选自下组N、S和O的杂原子的5-10元杂芳基”指具有5-10个原子的且其中1-3个原子为选自下组N、S和O的杂原子的环状芳香基团。其可以是单环，也可以是稠环形式。具体的实例可以为吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、三嗪基、吡咯基、吡唑基、咪唑基、(1,2,3)-三唑基以及(1,2,4)-三唑基、四唑基、呋喃基、噻吩基、异恶唑基、噻唑基、恶唑基等。

当未特别说明时，本文中的链状基团（如烷基、卤代烷基或氘代烷基）具有1-10个碳原子，优选具有1-6个碳原子，或1-4个碳原子；本文中的非芳香性环状基团（如环烷基、杂环烷基、脂环基、脂杂环基等）为3-12元，优选为3-8元，3-6元；本文中的芳香性环状基团（如芳基、杂芳基等）为5-15元，如6-10元芳基、5-7元杂芳基、5-10元杂芳基等。

本发明所述的基团除非特别说明是“取代的或未取代的”，否则本发明的基团均可被选自下组的取代基所取代：卤素、腈基、硝基、羟基、氨基、C₁-C₆烷基-胺基、C₁-C₆烷基、C₂-C₆烯基、C₂-C₆炔基、C₁-C₆烷氧基、卤代C₁-C₆烷基、卤代C₂-C₆烯基、卤代C₂-C₆炔基、卤代C₁-C₆烷氧基、烯丙基、苄基、C₆-C₁₂芳基、C₁-C₆烷氧基-C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基-羰基、苯氧羰基、C₂-C₆炔基-羰基、C₂-C₆烯基-羰基、C₃-C₆环烷基-羰基、C₁-C₆烷基-磺酰基等。

如本文所用，“卤素”或“卤原子”指F、Cl、Br、和I。更佳地，卤素或卤原子选自F、Cl和Br。“卤代的”是指被选自F、Cl、Br、和I的原子所取代。

除非特别说明，本发明所描述的结构式意在包括所有的同分异构形式(如对映异构，非对映异构和几何异构体(或构象异构体))：例如含有不对称中心的R、S构型，双键的(Z)、(E)异构体等。因此，本发明化合物的单个立体化学异构体或其对映异构体、非对映异构体或几何异构体(或构象异构体)的混合物都属于本发明的范围。

如本文所用，术语“互变异构体”表示具有不同能量的结构同分异构体可以超过低能垒，从而互相转化。比如，质子互变异构体(即质子移变)包括通过质子迁移进行互变，如1H-吡啶与2H-吡啶。化合价互变异构体包括通过一些成键电子重组而进行互变。

如本文所用，术语“水合物”是指本发明化合物与水进行配位形成的配合物。

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、具体实施方式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。

本申请所使用的溶剂可以经市售获得，化合物经人工或者ChemDraw®软件命名，市售化合物采用供应商目录名称。

在本申请中，术语“配体”通常指能识别和结合目标细胞相关的抗原或受体的大分子化合物。配体的作用可以是将药物呈递给与配体结合的目标细胞群，这些配体包括但不限于蛋白类激素、凝集素、生长因子、抗体或其他能与细胞、受体和/或抗原结合的分子。在本申请中，配体可以表示为Ab，配体抗原通过配体上的杂原子与连接单元形成连接键，可以为抗体或其抗原结合片段，所述抗体可以选自嵌合抗体、人源化抗体、全人抗体或鼠源抗体；所述抗体可以是单克隆抗体。

例如所述抗体可以是，靶向选自以下组的靶点的抗体或其抗原结合片段：HER2、TROP2、PSMA、FR- α 或B7H3和IGF-1R。

在本申请中，术语“Trop2”、“TROP2”通常是指单程跨膜I型细胞膜蛋白。在本申请中，术语“Trop2”还可涵盖Trop2的同源物、变体和同工型，包括剪接同工型。术语“Trop”还包括具有Trop2同源物、变体和同工型中的一个或多个序列的蛋白，以及该序列的片段，只要是该变体蛋白（包括同工型）。Trop2可以是人Trop2。例如，Uniprot登录号P09758提供了Trop2和序列的描述。

在本申请中，术语“HER2”通常是指人表皮生长因子受体2(HER2)。例如，术语“HER2”指来自任何人来源的任何天然HER2。该术语还涵盖“全长”和未加工的HER2以及源自细胞中加工的任何形式的HER2(例如成熟蛋白)。该术语还涵盖HER2的天然发生变体和同等型，例如剪接变体或等位变体。例如，Uniprot登录号P04626提供了HER2和序列的描述。

在本申请中，术语“PSMA”指谷氨酸羧基肽酶II。在本申请中，术语“PSMA”还可涵盖PSMA的同源物、变体和同工型。术语“PSMA”还包括具有各种不同来源（如人源）的PSMA同源物、

变体和同工型中的一个或多个序列的蛋白，以及该序列的片段。例如，Uniprot登录号Q04609提供了PSMA和序列的描述。

在本申请中，术语“FR- α ”指叶酸受体 α ，由FOLR1编码。在本申请中，术语“FR- α ”还可涵盖FR- α 的同源物、变体和同工型。术语“FR- α ”还包括具有各种不同来源（如人源）的FR- α 同源物、变体和同工型中的一个或多个序列的蛋白，以及该序列的片段。例如，Uniprot登录号P15328提供了FR- α 和序列的描述。

在本申请中，术语“B7H3”指CD276。在本申请中，术语“B7H3”可以涵盖其任意同源物、变体和同工型，也可以包括其在人类中可能的任意表达形式（如2Ig和4Ig）。术语“B7H3”还包括具有各种不同来源（如人源）的B7H3同源物、变体和同工型中的一个或多个序列的蛋白，以及该序列的片段。例如，Uniprot登录号Q5ZPR3提供了B7H3（CD276）和序列的描述。

在本申请中，术语“IGF-1R”指胰岛素样生长因子I受体。在本申请中，术语“IGF-1R”还可涵盖其同源物、变体和同工型。术语“IGF-1R”还包括具有各种不同来源（如人源）的IGF-1R同源物、变体和同工型中的一个或多个序列的蛋白，以及该序列的片段。例如，Uniprot登录号P08069提供了IGF-1R和序列的描述。

在本申请中，术语“肽残基”通常是指包含一个或多个氨基酸残基连接而成的残基。例如，多肽残基中的一个或多个氨基酸可以是任选取代的。例如，本申请的多肽残基可以包含甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-甘氨酸（Gly-Gly-Phe-Gly）。

在本申请中，术语“药物单元”通常是指直接或间接缀合抗体或抗原结合片段以形成免疫缀合物的化学部分。例如，“药物单元”包括但不限于文中描述的抗肿瘤活性的化合物。例如药物单元包括拓扑异构酶抑制剂。

在本申请中，术语“抗肿瘤活性的化合物”通常是指具有使肿瘤细胞的增殖速率、存活力或转移活性的降低的能力的化合物。例如，抗肿瘤活性可以由治疗期间出现的异常细胞的生长速率减少或肿瘤尺寸稳定或缩减显示的，或与在无治疗情况下对照相比因治疗所致的存活期更长显示的。抗肿瘤活性可使用公认的体外或体内肿瘤模型评估，例如异种移植模型。

在本申请中，术语“包含”通常是指包括明确指定的特征，但不排除其他要素。术语“以上”、“以下”通常是指包含本数的情况。

在本申请中，术语“约”通常是指在指定数值以上或以下0.5%-10%的范围内变动，例如在指定数值以上或以下0.5%、1%、1.5%、2%、2.5%、3%、3.5%、4%、4.5%、5%、5.5%、6%、6.5%、7%、7.5%、8%、8.5%、9%、9.5%、或10%的范围内变动。

在本申请中，本申请的化合物包含化合物的其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、和/或非对映异构体。

在本申请中，本申请的化合物的某些原子可能以一种以上的同位素形式出现。例如，氢可能以氕（ ^1H ）、氘（ ^2H ）和氚（ ^3H ）的形式存在，碳可能以三种不同的同位素（ ^{12}C 、 ^{13}C 和 ^{14}C ）自然存在。可并入本申请化合物中的同位素示例还包括但不限于 ^{15}N 、 ^{18}O 、 ^{17}O 、 ^{18}F 、 ^{32}P 、 ^{33}P 、 ^{129}I 、 ^{131}I 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I ，或者类似的同位素。因此，相对于这些同位素的自然丰度，本申请的化合物可以是一种或多种这些同位素富集的形式。如本领域技术人员所知，此类同位素富集化合物可用于多种用途。例如，用重同位素如氘（ ^2H ）替代可能会提供某些治疗优势，这可以是由于更高的代谢稳定性。

在本申请中，术语“药物组合物”通常是指含有一种或多种本申请所述化合物或其生理学上/可药用的盐或前体药物与其他化学组分的混合物，以及其他组分例如生理学/可药用的载体和赋形剂。药物组合物可以是促进对生物体的给药，利于活性成分的吸收进而发挥生物活性。常规的药物组合物的制备可以见本领域常用技术。

在本申请中，术语“药学上可接受的盐”或“可药用的盐”通常是指本申请化合物或配体-药物偶联物的盐，或本申请中所述的化合物的盐，这类盐用于哺乳动物体内时可以具有安全性和/或有效性，且可以具有应有的生物活性，本申请抗体-抗体药物偶联化合物可以与酸形成盐，药学上可接受的盐的非限制性实例包括：盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、柠檬酸盐、乙酸盐、琥珀酸盐、抗坏血酸盐、草酸盐、硝酸盐、梨酸盐、磷酸氢盐、磷酸二氢盐、水杨酸盐、柠檬酸氢盐、酒石酸盐、马来酸盐、富马酸盐、甲酸盐、苯甲酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、或对甲苯磺酸盐。

在本申请中，术语“偶联物”通常是指本申请的化合物通过一个或多个化学反应而制备的化合物，或者通过诸如桥接(bridge)，间隔物(spacer)，或连接部分等的一个或多个连接结构彼此连接。

在本申请中，术语“药学上可接受的载体”通常是指给予治疗剂，例如抗体或多肽、基因和其它治疗剂的载体。该术语指本身不诱导对接受组合物的个体有害的抗体产生并且可以给予而不产生过度毒性的任何药物载体。例如，药学上可接受的载体（carrier）可以与基因工程中用于包含目标基因的核酸载体（vector）相区分。合适的载体可以是大的、代谢缓慢的大分子，例如蛋白质、多糖、聚乳酸、聚乙醇酸、多聚氨基酸、氨基酸共聚物、脂质聚集物和灭活的病毒颗粒。本领域技术人员熟知这些载体。治疗组合物中药学上可接受的载体可包括液体，例如水、盐水、甘油和乙醇。这些载体中也可存在辅助物质，例如润湿剂或乳化剂、pH缓冲物质等。

在本申请中，“抗体”通常可以覆盖单克隆抗体、多克隆抗体、二聚体、多聚体、多特异性抗体（例如双特异性抗体）和抗体片段，只要它们表现出所需的生物活性。抗体可以为鼠、人、人源化、嵌合的抗体或来源于其它物种。抗体为由能够识别和结合特异性抗原的免疫系统产生的蛋白质。靶抗原一般具有由多种抗体的CDRs识别的大量结合位点，也称作表位。特异性结合不同表位的各抗体具有不同的结构。因此，一种抗原可以具有一种以上相应的抗体。抗体包括全-长免疫球蛋白分子或全-长免疫球蛋白分子的免疫活性部分，即含有特异性结合所关注靶标的抗原或其部分的分子，这类靶标包括，但不限于癌细胞或产生与自身免疫性疾病相关的自身免疫抗体的细胞。本申请描述的免疫球蛋白可以具有免疫球蛋白分子的任意类型（例如IgG、IgE、IgM、IgD和IgA）、类别（例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2，或其任意突变）或亚类。免疫球蛋白可以来源于任意的物种。然而，在一个方面中，免疫球蛋白来源于人、鼠或兔。“抗体片段”可以包含全长抗体的一部分，一般为其抗原结合区或可变区。抗体片段的实例包括：Fab、Fab'、F(ab')₂和Fv片段；双抗体；线性抗体；微抗体（minibody）；Fab表达文库制备的片段；抗-独特型（抗-Id）抗体；CDR（互补决定区）；和以免疫特异性方式结合癌细胞抗原、病毒抗原或微生物抗原的上述任意的表位-结合片段；单链抗体分子；和由抗体片段形成的多特异性抗体。本申请中组成抗体药物偶联物的抗体可以保持其原有野生状态时的抗原结合能力。因此，本申请中的抗体可以，例如可以专一性地，与抗原结合。涉及的抗原包括，例如，肿瘤相关抗原（TAA），细胞表面受体蛋白和其他细胞表面分子，细胞存活调节因子，细胞增殖调节因子，与组织生长与分化相关的分子（如已知或预知的具有功能性的），淋巴因子，细胞因子，参与细胞循环调节的分子，参与血管生成的分子，以及与血管生成有关的分子（如已知抗体结合的抗原可以是上述分类中一个或一个子集，而其它的子集则包含其它的具有特殊性质的分子/抗原（与目标抗原相比）。应用在抗体药物偶联物中的抗体包括，但不局限于，针对细胞表面受体和肿瘤相关抗原的抗体。这样的肿瘤相关抗原是业内所熟知的，可以通过业内熟知的抗体制备方法和信息来制备。这些目标物能够特异性地表达在一种或多种癌症细胞表面，而在一种或多种非癌细胞表面表达很少或不表达。通常，相对于非癌细胞表面而言，这样的肿瘤相关多肽在癌细胞表面可以更加过度表达。

在本申请中，术语“嵌合抗体（chimeric antibody）”通常是指鼠源性抗体的可变区与人抗体的恒定区融合而成的抗体，可以减轻鼠源性抗体诱发的免疫应答反应。建立嵌合抗体，可以建立分泌鼠源性特异性单抗的杂交瘤，然后从鼠杂交瘤细胞中克隆可变区基因，可以根据需要克隆人抗体的恒定区基因，将鼠可变区基因与人恒定区基因连接成嵌合基因后插入表达载体中，可以在真核系统或原核系统中表达嵌合抗体分子。

在本申请中，术语“人源化抗体（humanized antibody）”，也称为CDR移植抗体（CDR-grafted antibody），通常是指将鼠的CDR序列移植到人的抗体可变区框架，即不同类型的人种系抗体框架序列中产生的抗体。可以克服嵌合抗体由于携带大量鼠蛋白成分，从而诱导的异源性反应。此类构架序列可以从包括种系抗体基因序列的公共DNA数据库或公开的参考文献获得。如人重链和轻链可变区基因的种系DNA序列可以在“VBase”人种系序列数据库。

在本申请中，术语“全人源抗体”、“全人抗体”或“完全人源抗体”，也称“全人源单克隆抗体”，其抗体的可变区和恒定区可以都是人源的，去除免疫原性和毒副作用。单克隆抗体的发展经历了四个阶段，分别为：鼠源性单克隆抗体、嵌合性单克隆抗体、人源化单克隆抗体和全人源单克隆抗体。本申请所述抗体或配体可以为全人源单克隆抗体。全人抗体制备的相关技术可以为：人杂交瘤技术、EBV转化B淋巴细胞技术、噬菌体显示技术（phage display）、转基因小鼠抗体制备技术（transgenic mouse）和单个B细胞抗体制备技术等。

在本申请中，术语“CDR”通常是指抗体的可变结构域内主要促成抗原结合的6个高变区之一。所述6个CDR的最常用的定义之一由Kabat E.A.等人，或Chothia等人和MacCallum等人提供。如本申请中使用的，CDR的Kabat定义可以应用于轻链可变结构域的CDR1、CDR2和CDR3（LCDR1、LCDR2、LCDR3或L1、L2、L3），以及重链可变结构域的CDR1、CDR2和CDR3（HCDR1、HCDR2、HCDR3或H1、H2、H3）。

在本申请中，术语“能够与巯基偶联的基团”通常是指所述化合物A具有巯基，所述化合物B具有能够与巯基偶联的基团，化合物B通过能够与巯基偶联的基团与化合物A的巯基反应，可以以此实现化合物A与化合物B的连接。

5 在本申请中，术语“连接体”通常是指一端与一个基团连接而另一端与另一个基团相连的化学结构片段或键，也可以连接其他连接体后再与药物和/或配体相连。所述直接或间接连接配体可以是指所述基团通过共价键直接连接配体，也可以是通过连接体连接配体。例如，连接体可以是本申请所述连接体的所示的结构。例如，可以使用包含酸不稳定接头结构(例如脲)、蛋白酶敏感(例如肽酶敏感)接头结构、光不稳定接头结构、二甲基接头结构、或含二硫化物接头结构的化学结构片段或键作为连接体。

10 在本申请中，术语“连接基团”通常是指具有与另一个基团相连的能力的基团。例如，具有连接基团的化合物，可以通过该连接基团与另一个基团的偶联反应，实现该化合物与另一个基团的连接。例如，马来酰亚胺基团可以作为连接基团。

15 在本申请中，术语与某靶点“表达相关”的疾病通常是指该疾病的发生和/或进展与该靶点的表达水平有关联。例如，相对于来自组织或器官的正常细胞的表达水平，来自疾病区如患者的特定组织或器官内的细胞中某个靶点的表达水平提高，即高表达的。或者例如，相对于来自组织或器官的正常细胞的表达水平，来自疾病区如患者的特定组织或器官内的细胞中某个靶点的表达水平降低，即低表达的。或者例如，来自疾病区如患者的特定组织或器官内的细胞表达某个靶点，即阳性的。或者例如，来自疾病区如患者的特定组织或器官内的细胞不表达某个靶点，即阴性的。例如，靶点表达的特征可以由本领域已知的标准测定确定。

20 在本申请中，术语“有效量”通常是指治疗剂治疗、缓解或预防目标疾病或状况的量，或是表现出可检测的治疗或预防效果的量。对于某一对象的精确有效量取决于该对象的体型和健康状况、病症的性质和程度、以及选择给予的治疗剂和/或治疗剂的组合。因此，预先指定准确的有效量是没用的。然而，对于某给定的状况而言，可以用常规实验来确定该有效量，临床医师是能够判断出来的。

25 除非特别说明，本申请中，所有出现的化合物均意在包括所有可能的光学异构体，如单一手性的化合物，或各种不同手性化合物的混合物(即外消旋体)。本申请的所有化合物之中，各手性碳原子可以任选地为R构型或S构型，或R构型和S构型的混合物。

在本申请中，术语“本申请化合物”通常是指指本申请的化合物。该术语还包括本申请化合物的各种晶型形式、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物。

30 当本文中使用时，该商品名意在包括商品名产品制剂、其相应的仿制药，以及商品名产品的活性药物组分。

药物组合物和施用方法

35 由于本发明化合物具有优异的肿瘤细胞增殖的抑制活性，因此本发明化合物及其各种晶型，药学上可接受的无机或有机盐，水合物或溶剂合物，以及含有本发明化合物为主要活性成分的药物组合物可用于预防和/或治疗(稳定、减轻或治愈)治疗与肿瘤细胞增殖相关的疾病。

40 本发明的药物组合物包含安全有效量范围内的本发明化合物及药学上可以接受的赋形剂或载体。其中“安全有效量”指的是：化合物的量足以明显改善病情，而不至于产生严重的副作用。通常，药物组合物含有1-2000mg本发明化合物/剂，更佳地，含有1-200mg本发明化合物/剂。较佳地，所述的“一剂”为一个胶囊或药片，或者为单位剂量的注射制剂。

45 “药学上可接受的载体”指的是：一种或多种相容性固体或液体填料或凝胶物质，它们适合于人使用，而且必须有足够的纯度和足够低的毒性。“相容性”在此指的是组合物中各组份能和本发明化合物以及它们之间相互掺和，而不明显降低化合物的药效。药学上可以接受的载体部分例子有纤维素及其衍生物(如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素钠、纤维素乙酸酯等)、明胶、滑石、固体润滑剂(如硬脂酸、硬脂酸镁)、硫酸钙、植物油(如豆油、芝麻油、花生油、橄榄油等)、多元醇(如丙二醇、甘油、甘露醇、山梨醇等)、乳化剂(如吐温®)、润湿剂(如十二烷基硫酸钠)、着色剂、调味剂、稳定剂、抗氧化剂、防腐剂、无热原水等。

本发明化合物或药物组合物的施用方式没有特别限制，代表性的施用方式包括(但不限于)：口服、肠胃外(静脉内、肌肉内或皮下)。

50 用于口服给药的固体剂型包括胶囊剂、片剂、丸剂、散剂和颗粒剂。在这些固体剂型中，活性化合物与至少一种常规惰性赋形剂(或载体)混合，如柠檬酸钠或磷酸二钙，或与下述成分混合：(a) 填料或增容剂，例如，淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇和硅酸；(b) 粘合剂，例如，羟甲基纤维素、藻

酸盐、明胶、聚乙烯基吡咯烷酮、蔗糖和阿拉伯胶；(c) 保湿剂，例如，甘油；(d) 崩解剂，例如，琼脂、碳酸钙、马铃薯淀粉或木薯淀粉、藻酸、某些复合硅酸盐、和碳酸钠；(e) 缓溶剂，例如石蜡；(f) 吸收加速剂，例如，季胺化合物；(g) 润湿剂，例如鲸蜡醇和单硬脂酸甘油酯；(h) 吸附剂，例如，高岭土；和(i) 润滑剂，例如，滑石、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、十二烷基硫酸钠，或其混合物。胶囊剂、片剂和丸剂中，剂型也可包含缓冲剂。

固体剂型如片剂、糖丸、胶囊剂、丸剂和颗粒剂可采用包衣和壳材制备，如肠衣和其它本领域公知的材料。它们可包含不透明剂，并且，这种组合物中活性化合物或化合物的释放可以延迟的方式在消化道内的某一部分中释放。可采用的包埋组分的实例是聚合物物质和蜡类物质。必要时，活性化合物也可与上述赋形剂中的一种或多种形成微胶囊形式。

用于口服给药的液体剂型包括药学上可接受的乳液、溶液、悬浮液、糖浆或酏剂。除了活性化合物外，液体剂型可包含本领域中常规采用的惰性稀释剂，如水或其它溶剂，增溶剂和乳化剂，例如，乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、丙二醇、1,3-丁二醇、二甲基甲酰胺以及油，特别是棉籽油、花生油、玉米胚油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油或这些物质的混合物等。

除了这些惰性稀释剂外，组合物也可包含助剂，如润湿剂、乳化剂和悬浮剂、甜味剂、矫味剂和香料。

除了活性化合物外，悬浮液可包含悬浮剂，例如，乙氧基化异十八烷醇、聚氧乙烯山梨醇和脱水山梨醇酯、微晶纤维素、甲醇铝和琼脂或这些物质的混合物等。

用于肠胃外注射的组合物可包含生理上可接受的无菌含水或无水溶液、分散液、悬浮液或乳液，和用于重新溶解成无菌的可注射溶液或分散液的无菌粉末。适宜的含水和非水载体、稀释剂、溶剂或赋形剂包括水、乙醇、多元醇及其适宜的混合物。

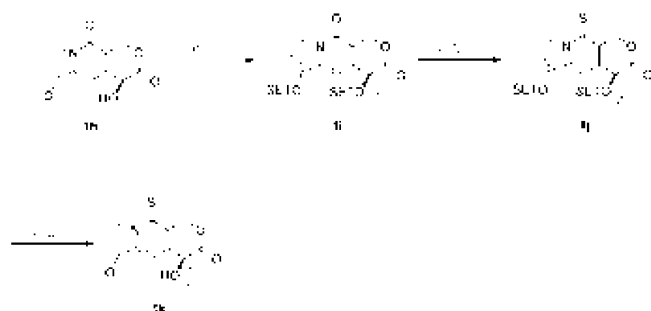
本发明化合物可以单独给药，或者与其他药学上可接受的治疗剂联合给药。

联合给药时，所述药物组合物还包括与一种或多种(2种，3种，4种，或更多种)其他药学上可接受的治疗剂。该其他药学上可接受的治疗剂中的一种或多种(2种，3种，4种，或更多种)可与本发明的化合物同时、分开或顺序地用于预防和/或治疗肿瘤细胞增殖相关的疾病。

使用药物组合物时，是将安全有效量的本发明化合物适用于需要治疗的哺乳动物(如人)，其中施用剂量为药学上认为的有效给药剂量，对于60kg体重的人而言，日给药剂量通常为1~2000mg，优选1~500mg。当然，具体剂量还应考虑给药途径、病人健康状况等因素，这些都是熟练医师技能范围内的。

一种毒素分子中间体的制备工艺

本发明中，还提供了一种毒素分子 **1d** 的合成中间体 **14d** (WO 2022262789 A1 中化合物 **1k**) 的全新制备工艺，其具体的制备工艺如上文中所述。现有技术中公开的合成路线 (WO 2022262789 A1) 如下：



相比于上式现有技术，本发明的制备工艺使用 TIPS 硅基保护基替换现有技术中的 2 个 TES 硅基保护基中 1 个，主要优势体现在：

1、本申请合成路线中间体 **14b** 和 **14c** 相比于上式现有技术中间体 **1i** 和 **1j** 稳定性更好，易于放大生产、长期保存；

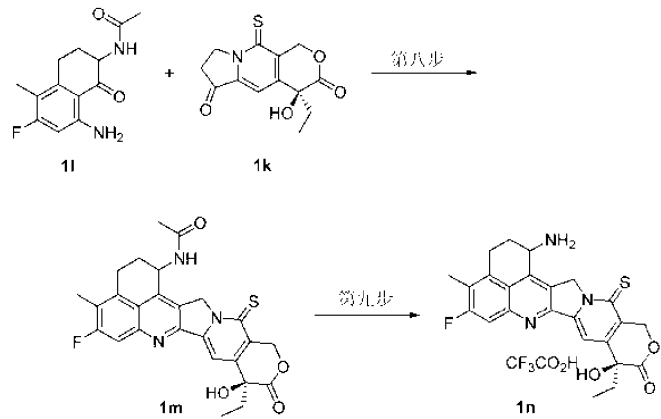
2、本申请合成路线中间体 **14b** 和 **14c** 实现均可以分离纯化，易于质量控制。而上式现有技术中间体 **1i** 和 **1j** 均以粗品用于下一步反应。

3、本申请合成路线收率相较于上式现有技术 (WO 2022262789 A1) 中的收率从 49%提高至 73%。

一种毒素分子的制备工艺

本发明还提供了一种毒素分子 **1d** (WO 2022262789 A1 中化合物 **1n-P1**) 的新制备工艺，在现有

技术中的合成路线（WO 2022262789 A1）如下：



相比于上式现有技术，本发明的制备工艺使用 Fmoc 保护基替换现有技术中乙酰基 Ac 保护基，主要优势体现在：

- 5
- 10
- 15
- 1、本申请合成路线中将上式现有技术合成路线中 **1l** 的乙酰基保护基替换为 Fmoc 保护基，得到化合物 **14g**，使化合物 **1d**（WO 2022262789 A1 中化合物 **1n-P1**）的合成收率，从 7.9%提高到 15.6%；
 - 2、上式现有技术（WO 2022262789 A1）合成路线中化合物 **1m** 的脱乙酰基保护基步骤，反应条件剧烈，重复性差，放大保护基脱除不完全；本申请方法 **14k** 脱除 Fmoc 保护基步骤反应条件更为温和，更适合放大生产。

下面结合具体实施例，进一步阐述本发明。应理解，这些实施例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法，通常按照常规条件，或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明，否则百分比和份数按重量计算。

缩写定义

中文名	英文名	缩写
二氯甲烷	Dichloromethane	DCM
乙酸乙酯	Ethyl acetate	EA or EtOAc
甲醇	Methanol	MeOH
四氢呋喃	Tetrahydrofuran	THF
N,N-二甲基甲酰胺	N,N-Dimethylformamide	DMF
N,N-二甲基乙酰胺	N,N-Dimethylacetamide	DMA or DMAc
二甲基亚砜	Dimethyl sulfoxide	DMSO
六甲基磷酰三胺	Hexamethylphosphoramide	HMPA
2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯	2-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium hexafluorophosphate	HATU
苯并三氮唑-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐	[benzotriazol-1-yloxy(dimethylamino)methylidene]-dimethylazanium; hexafluorophosphate	HBTU
2-(1H-苯并三偶氮L-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲四氟硼酸酯	benzotriazol-1-yl-tetramethyluronium tetrafluoroborate	TBTU
1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐	1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride	EDCI

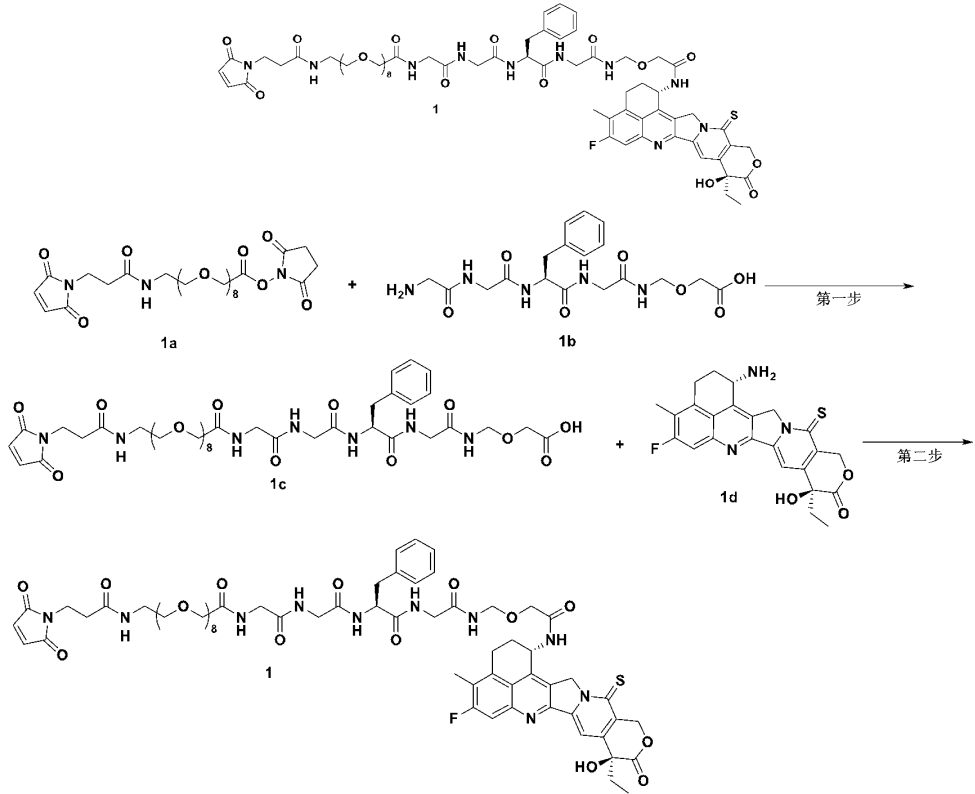
N-羟基-7-氮杂苯并三氮唑	N-Hydroxy-7-azobenzotriazole	HOAt
1-羟基苯并三唑	1-Hydroxybenzotriazole	HOBt
N,N'-羰基二咪唑	1,1'-Carbonyldiimidazole	CDI
N,N,N',N'-四甲基氯甲脒六氟磷酸盐	N,N,N',N'-Tetramethylchloroformamidinium hexafluorophosphate	TCFH
四甲基氟代脒六氟磷酸酯	Fluoro-N,N,N',N'-tetramethylformamidinium hexafluorophosphate	TFFH
N,N'-二环己基碳二亚胺	Dicyclohexylcarbodiimide	DCC
N,N'-二异丙基碳二亚胺	N,N'-Diisopropylcarbodiimide	DIC
苯并三氮唑-1-基氧基三(二甲基氨基)膦六氟磷酸盐	1H-Benzotriazol-1-yl oxytris(dimethylamino)phosphonium Hexafluorophosphate	BOP
7-氮杂苯并三唑-1-基氧基三(二甲胺基)膦六氟磷酸盐	7-Azabenzotriazol-1-yl oxytris(dimethylamino)phosphonium hexafluorophosphate	AOP
(7-氮杂苯并三唑-1-氧)三吡咯磷六氟磷酸盐	(3-Hydroxy-3H-1,2,3-triazolo[4,5-b]pyridinato-O)tri-1-pyrrolidinylphosphonium hexafluorophosphate	PyAOP
溴代三(二甲基氨基)膦六氟磷酸盐	Bromotris(dimethylamino)phosphonium hexafluorophosphate	BrOP
氯代三吡咯烷基六氟磷酸盐	Chlorotripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate	PyClOP
溴-三吡咯烷基磷代六氟磷酸酯	Bromo-tris-pyrrolidino-phosphonium hexafluorophosphate	PyBrOP
4-(4,6-二甲氧基三嗪-2-基)-4-甲基吗啉盐酸盐	4-(4,6-Dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methyl morpholinium chloride	DMTMM
三乙胺	Triethylamine	TEA
N,N-二异丙基乙胺	N,N-Diisopropylethylamine	DIPEA
N-甲基吗啉	4-Methylmorpholine	NMM
1,8-二偶氮杂双螺环[5.4.0]十一-7-烯	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undecane-7-ene	DBU
4,4'-二甲氨基吡啶	4-Dimethylaminopyridine	DMAP
吡啶	Pyridine	Py
2,6-二甲基吡啶	2,6-Lutidine	N/A
2,4,6-三甲基吡啶	2,4,6-Collidine	N/A
咪唑	Imidazole	N/A
N-甲基咪唑	1-Methylimidazole	NMI
氯甲酸-9-芴基甲酯	9-Fluorenylmethyl chloroformate	FmocCl
薄层色谱法	Thin-layer chromatography	TLC
S-(-)-1,1'-联萘-2,2'-双二苯膦	(S)-(-)-2,2'-Bis(diphenylphosphino)-1,1'-binaphthyl	BINAP
甲基	methyl	Me
乙基	ethyl	Et
异丙基	isopropyl	iPr
叔丁基	t-butyl	tBu
烯丙基	-	Allyl
苄基	benzyl	Bn
叔丁氧羰基	t-butoxycarbonyl	Boc
9-芴甲氧羰基	9-fluorenylmethoxycarbonyl	Fmoc

苄氧基羰基	benzyloxycarbonyl	Cbz
乙酰基	acetyl	Ac
三乙基硅基	triethylsilyl	TES
三异丙基硅基	triisopropylsilyl	TIPS
叔丁基二甲基硅基	tert-butyldimethylsilyl	TBS
三乙基氯硅烷	Chlorotriethylsilane	TESCl
三异丙基氯硅烷	Triisopropylsilyl chloride	TIPSCl
叔丁基二甲基氯硅烷	tert-Butyldimethylsilyl chloride	TBSCl
叔丁基二甲基硅基三氟甲磺酸酯	Trifluoromethanesulfonic acid tert-butyldimethylsilyl ester	TBSOTf

实施例

实施例1.1

5



第一步

10 将化合物**1b** (342 mg, 0.81 mmol) 与**1a** (500 mg, 0.85 mmol) 溶于乙腈 (3.42 mL) 和水 (6.84 mL) 的混合溶剂中, 混合体系冷却至0℃, 搅拌下逐滴加入*N,N*-二异丙基乙胺 (83 mg, 0.64 mmol), 加毕继续搅拌反应3h。反应液直接用制备色谱分离纯化得**1c** (283 mg), 收率: 39%。

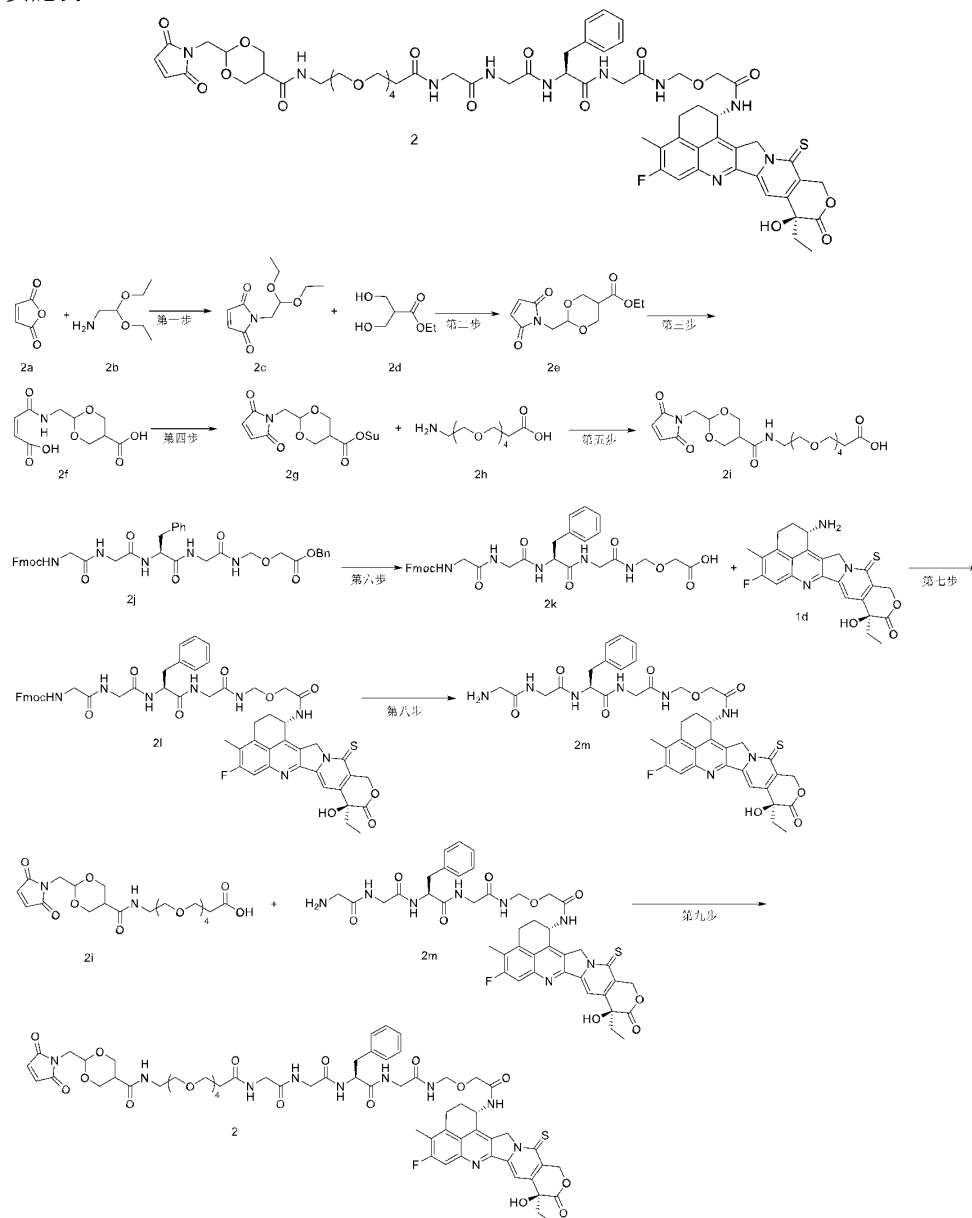
MS-ESI计算值 $[M+Na]^+=1020$, 实测值为1020。

第二步

15 将化合物**1c** (85 mg, 0.19 mmol) 溶于*N,N*-二甲基甲酰胺 (1.70 mL) 中, 加入三氟乙酸 (22 mg, 0.19 mmol), 混合体系冷却至0℃, 依次加入**1d** (226 mg, 0.23 mmol), 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (72 mg, 0.38 mmol) 和2,4,6-三甲基吡啶 (23 mg, 0.19 mmol), 加料完全后反应体系保持0℃~10℃继续搅拌反应1h。反应液用HCl_{aq} (0.05 M) 调至pH至6~7后用制备液相分离纯化得化合物**1** (134 mg), 收率: 49%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.66 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H), 8.60 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 8.28 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H), 8.15 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 8.09 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.04-7.95 (m, 2H), 7.84-7.77 (m, 2H), 7.28-7.14 (m, 5H), 6.99 (s, 2H), 6.69 (s, 1H), 5.91 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 5.70-5.62 (m, 1H), 5.56-5.45 (m, 2H), 5.35 (d, *J* = 18.8 Hz, 1H), 4.68 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 4.51-4.42 (m, 1H), 4.17-4.04 (m, 2H), 3.80-3.55 (m, 12H), 3.55-3.42 (m, 32H), 3.17-3.10 (m, 2H), 3.06-2.98 (m, 1H), 2.80-2.71 (m, 1H), 2.41-2.28 (m, 7H), 2.27-2.15 (m, 2H), 1.94-1.82 (m, 2H), 0.86 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H).

实施例1.2



第一步

将2a (14.72 g, 150.16 mmol) 溶于丙酮 (118 mL) 中, 冰浴下加入2b (20.00 g, 150.16 mmol), 混合体系搅拌5min后TLC监测反应完全。反应液浓缩得固体粗产品。粗产品用醋酸酐 (28 mL) 溶解, 加入乙酸钠 (24.63 g, 300.32 mmol), 反应体系升温至90°C回流反应2h。反应液过滤除去不溶性固体, 滤饼用甲苯淋洗, 滤液减压浓缩得粗品, 粗品经硅胶柱层析 (EA: Hexanes=0-100%) 分离得2c (17.43 g), 收率: 43%。

MS-ESI计算值 $[M+Na]^+=236$ ，实测值为236。

第二步

5 将**2c** (12.95 g, 60.74 mmol) 与**2d** (9.00 g, 60.74 mmol) 溶于甲苯 (180 mL) 中，加入对甲苯磺酸 (2.10 g, 12.15 mmol)，混合体系升温至90℃回流反应2h。反应液冷却至室温，减压浓缩得残余物，残余物溶解在乙酸乙酯中，有机相依次用饱和碳酸氢钠和饱和食盐水 (200 mL x 1) 洗，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩得粗品，粗品经硅胶柱层析 (EA: Hexanes=0-100%) 分离得**2e** (5.53 g)，收率：33%。

10 MS-ESI计算值 $[M+H]^+=270$ ，实测值为270。

第三步

15 将**2e** (3.87 g, 14.37 mmol) 溶解于THF (77.4 mL) 中，将氢氧化锂 (1.37 g, 57.49 mmol) 溶于H₂O (38.7 mL) 中并加入上述溶液中，混合体系室温下搅拌反应30min。反应液加入乙酸乙酯 (15 mL)，用HCl_{aq} (1N) 调节pH至2左右，水相用乙酸乙酯 (38 mL x 3) 萃取，合并有机相，有机相经饱和食盐水 (15 mL) 后用无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩得粗产品**2f** (3.06 g)。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+=260$ ，实测值为260。

第四步

20 将N-羟基丁二酰亚胺 (6.49 g, 56.37 mmol) 溶于N,N-二甲基甲酰胺 (36.5 mL) 中，冰浴下滴加三氟乙酸酐 (11.84 g, 56.37 mmol)，搅拌30min后滴加2,4,6-三甲基吡啶 (6.83 g, 56.37 mmol)，加料完全后混合体系继续搅拌40min，反应液记为A，待用。将粗产品**2f** (3.06 g) 溶于N,N-二甲基甲酰胺 (36.5 mL) 中，冰浴下滴加2,4,6-三甲基吡啶 (3.41 g, 28.15 mmol)，保持冰浴下搅拌30min后逐滴加入上述A反应液，反应体系自然升温至室温下搅拌反应24h。向反应液中加入二氯甲烷 (180 mL)，加入HCl_{aq} (0.7 N, 140 mL) 后继续搅拌30min，分液，水相用二氯甲烷 (70 mL) 萃取，合并有机相，有机相经水洗至pH=5~7，饱和食盐水洗1次，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩得粗品，粗品经硅胶柱层析 (EA: Hexanes=0-100%) 分离得**2g** (3.54 g)，收率：78%。

25 MS-ESI计算值 $[M+H]^+=339$ ，实测值为339。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.77 (s, 2H), 4.79 (t, *J* = 4.8 Hz, 1H), 4.49-4.40 (m, 2H), 3.91 (t, *J* = 11.6 Hz, 2H), 3.79-3.70 (m, 2H), 3.45-3.34 (m, 1H), 2.86 (s, 4H)。

30

第五步

35 将**2h** (850 mg, 3.38 mmol) 与**2g** (1.20 g, 3.55 mmol) 溶于N,N-二甲基甲酰胺 (8.5 mL) 中，冰浴下逐滴加入N,N-二异丙基乙胺 (437 mg, 3.38 mmol)，混合体系继续控温0℃~10℃搅拌反应2h。反应液经制备液相分离纯化得**2i** (740 mg)，收率：46%。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+=475$ ，实测值为475。

第六步

40 将**2j** (10.00 g, 13.59 mmol) 溶于THF (450 mL) 中，加入湿Pd/C (2 g, 20% w/w)，混合体系氢气氛围下搅拌反应66h。反应液过滤，用DCM/MeOH混合溶剂淋洗滤饼，滤液经无水硫酸钠干燥，过滤，浓缩得粗产品。粗产品经硅胶柱层析 (MeOH: DCM=0-100%) 分离得**2k** (6.10 g)，收率：69%。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+=668$ ，实测值为668。

第七步

45 氮气氛围下，将**1d** (2.70 g, 5.97 mmol) 和三氟乙酸 (680 mg, 5.97 mmol) 溶于N,N-二甲基甲酰胺 (54 mL) 中，冰浴下搅拌10min，然后向反应液中加入**2k** (5.40 g, 8.36 mmol)，1-(3-二氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (2.30 g, 11.94 mmol) 和2,4,6-三甲基吡啶 (722 mg, 5.97 mmol)，继续控温0℃~10℃搅拌反应2h。冰浴下向反应液中滴加HCl_{aq} (0.05N, 54 mL)，有固体析出，2-甲基四氢呋喃 (100 mL) 稀释悬浊液，搅拌至溶解后分液，水相用2-甲基四氢呋喃 (100 mL x 2) 萃取，合并有机相，有机相用饱和食盐水 (50 mL x 1) 洗，无水硫酸钠干燥后过滤，滤液减压浓缩得粗品。粗品经硅胶柱层析 (MeOH: DCM=0-100%) 分离得**2l** (6.00 g)，收率：84%。

50 MS-ESI计算值 $[M+H]^+=1079$ ，实测值为1079。

第八步

将**2l** (6.00 g, 5.56 mmol) 溶于DCM/MeOH (120 mL/12 mL) 的混合溶剂中, 冰浴下逐滴加入二乙胺 (24 mL), 加料完全后自然升温至室温下搅拌反应4h。将反应液直接浓缩得褐色固体粗品, 加入甲基叔丁基醚打浆, 过滤, 滤饼用甲基叔丁基醚淋洗3次, 滤液浓缩得黄色固体粗品。

- 5 取1g粗产品经制备液相分离得到**2m** (150 mg), 剩余粗品经硅胶柱层析 (MeOH: DCM=0-100%) 分离得**2m** (800 mg), 合并收率: 59%。

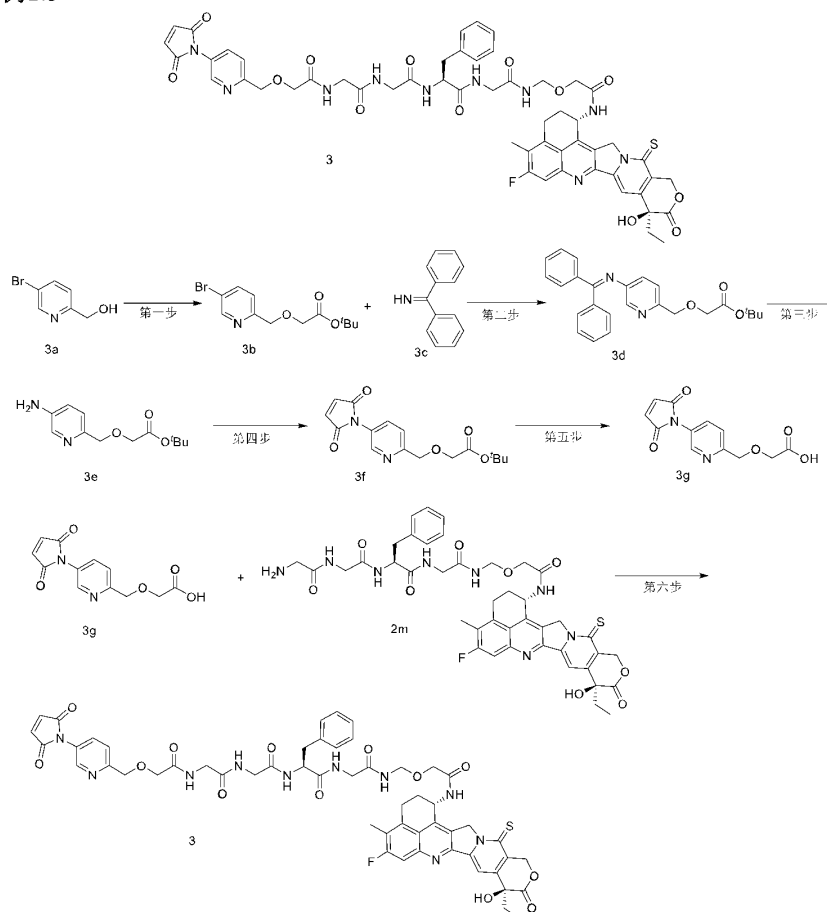
MS-ESI计算值 $[M+H]^+=857$, 实测值为857。

第九步

- 10 将**2i** (74 mg, 0.16 mmol) 溶于N,N-二甲基甲酰胺 (1.30 mL) 中, 氮气置换3次, 冰浴下加入2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (88 mg, 0.23 mmol), 搅拌10min后加入**2m** (132 mg, 0.16 mmol), 搅拌至溶解后加入2,4,6-三甲基吡啶 (54 mg, 0.45 mmol), 继续控温0°C~10°C反应2h。将反应液用HCl_{aq} (0.05N) 调节pH=6~7, 制备液相分离纯化得**2** (71 mg), 收率: 34%。

- 15 MS-ESI计算值 $[M+H]^+=1313$, 实测值为1313。

实施例1.3



- 20 第一步

氮气氛下, 将**3a** (5.00 g, 26.74 mmol) 溶于N,N-二甲基甲酰胺 (50 mL) 中, 降温至0~5°C后加入NaH (1.28 g, 32.09 mmol), 搅拌10min后加入溴乙酸叔丁酯 (6.23 g, 32.09 mmol), 混合体系保持0~5°C搅拌反应2h。向反应液中加入水 (200 mL), 水相用乙酸乙酯 (200 mL) 萃取, 有机相用饱和食盐水 (200 mL x 2) 洗后经无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得**3b** (4.60 g), 收率: 43%。

- 25 MS-ESI计算值 $[M+H]^+=302, 304$, 实测值为302, 304。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.60 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.84 (dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz, 1H), 7.45 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.69 (s, 2H), 4.10 (s, 2H), 1.49 (s, 9H).

第二步

5 氮气氛围下, 将**3b** (5.00 g, 16.60 mmol), **3c** (3.61 g, 19.93 mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0.76 g, 0.83 mmol), BINAP (1.03 g, 1.66 mmol), 碳酸铯 (13.53 g, 41.52 mmol) 溶于无水甲苯 (50 mL) 中, 混合体系升温至内温 80°C 搅拌反应16h。反应液过滤, 滤液减压浓缩得粗产品, 粗产品经硅胶柱层析 (EA: hexanes=0-100%) 分离得**3d** (4.50 g), 收率: 67%。

MS-ESI计算值 $[\text{M}+\text{H}]^+=403$, 实测值为403。

10

第三步

将**3d** (2.81 g, 6.98 mmol) 溶于THF (28 mL) 和 HCl_{aq} (1N, 28 mL) 混合溶剂中, 混合体系室温下搅拌反应3h。向反应液中加入水 (100 mL), 水相用乙酸乙酯 (100 mL x 2) 洗, 弃去有机相。水相用氨水调 $\text{pH}=8-9$ 后用乙酸乙酯 (100 mL x 2) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得**3e** (1.43 g), 收率: 86%。

15

MS-ESI计算值 $[\text{M}+\text{H}]^+=239$, 实测值为239。

第四步

20 将**3e** (1.83 g, 7.68 mmol), 马来酸酐 (0.75 g, 7.68 mmol) 溶于乙腈 (18.3 mL) 中, 室温下搅拌反应2h。反应液直接旋干得2.45g白色固体中间体。将2.45g白色固体中间体加入到反应瓶中, 依次加入乙酸酐 (5 mL), 乙酸钠 (2.09 g, 15.36 mmol), 混合体系室温下搅拌反应2h。向反应液中加入水 (50 mL), 水相用乙酸乙酯 (50 mL) 萃取, 有机相经无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液减压浓缩得残余物, 残余物经硅胶柱层析 (EA: hexanes=0-100%) 分离得**3f** (1.97 g), 收率: 80%。

25

MS-ESI计算值 $[\text{M}+\text{H}]^+=319$, 实测值为319。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.51 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.83 (dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz, 1H), 7.6 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.24 (s, 2H), 4.67 (s, 2H), 4.15 (s, 2H), 1.44 (s, 9H)。

第五步

30 将**3f** (0.90 g, 2.83 mmol) 溶于二氯甲烷 (9 mL) 中, 加入三氟乙酸 (1.8 mL), 室温下搅拌反应5h。将反应液直接旋干, 二氯甲烷 (45 mL x 5) 带蒸, 油泵浓缩至无明显油状物, 得粗产物**3g** (0.93 g)。

MS-ESI计算值 $[\text{M}+\text{H}]^+=263$, 实测值为263。

35

第六步

向反应瓶内依次加入**3g** (0.06 g), **2m** (0.20 g, 0.23 mmol) 和N,N-二甲基甲酰胺 (4 mL), 搅拌溶解后置于冰浴中, 加入2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸酯 (0.13 g, 0.35 mmol) 和2,4,6-三甲基吡啶 (0.26 g, 2.15 mmol), 混合体系保持 $0\sim 5^\circ\text{C}$ 下搅拌反应1h。反应液用 HCl_{aq} (0.5N) 调节 $\text{pH}=4-5$ 后送制备液相中性纯水体系制备分离得**3** (70 mg), 收率: 27%。

40

MS-ESI计算值 $[\text{M}+\text{H}]^+=1101$, 实测值为1101。

45 ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.65 (t, $J = 6.8$ Hz, 1H), 8.60 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 8.34-8.24 (m, 2H), 8.09 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.99 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H), 7.81 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.30-7.14 (m, 5H), 7.04 (s, 2H), 6.68 (s, 1H), 5.91 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H), 5.70-5.61 (m, 1H), 5.56-5.45 (m, 2H), 5.36 (d, $J = 19.6$ Hz, 1H), 5.05 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H), 4.68 (d, $J = 6.4$ Hz, 2H), 4.59 (dd, $J = 9.2, 6.0$ Hz, 1H), 4.52-4.42 (m, 1H), 4.17-4.05 (m, 2H), 4.00-3.92 (m, 1H), 3.89-3.79 (m, 1H), 3.78-3.68 (m, 5H), 3.64-3.54 (m, 2H), 3.01 (dd, $J = 8.8, 4.4$ Hz, 1H), 2.74 (dd, $J = 13.6, 9.6$ Hz, 1H), 2.39 (s, 3H), 2.26-2.18 (m, 2H), 1.94-1.82 (m, 2H), 0.86 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H)。

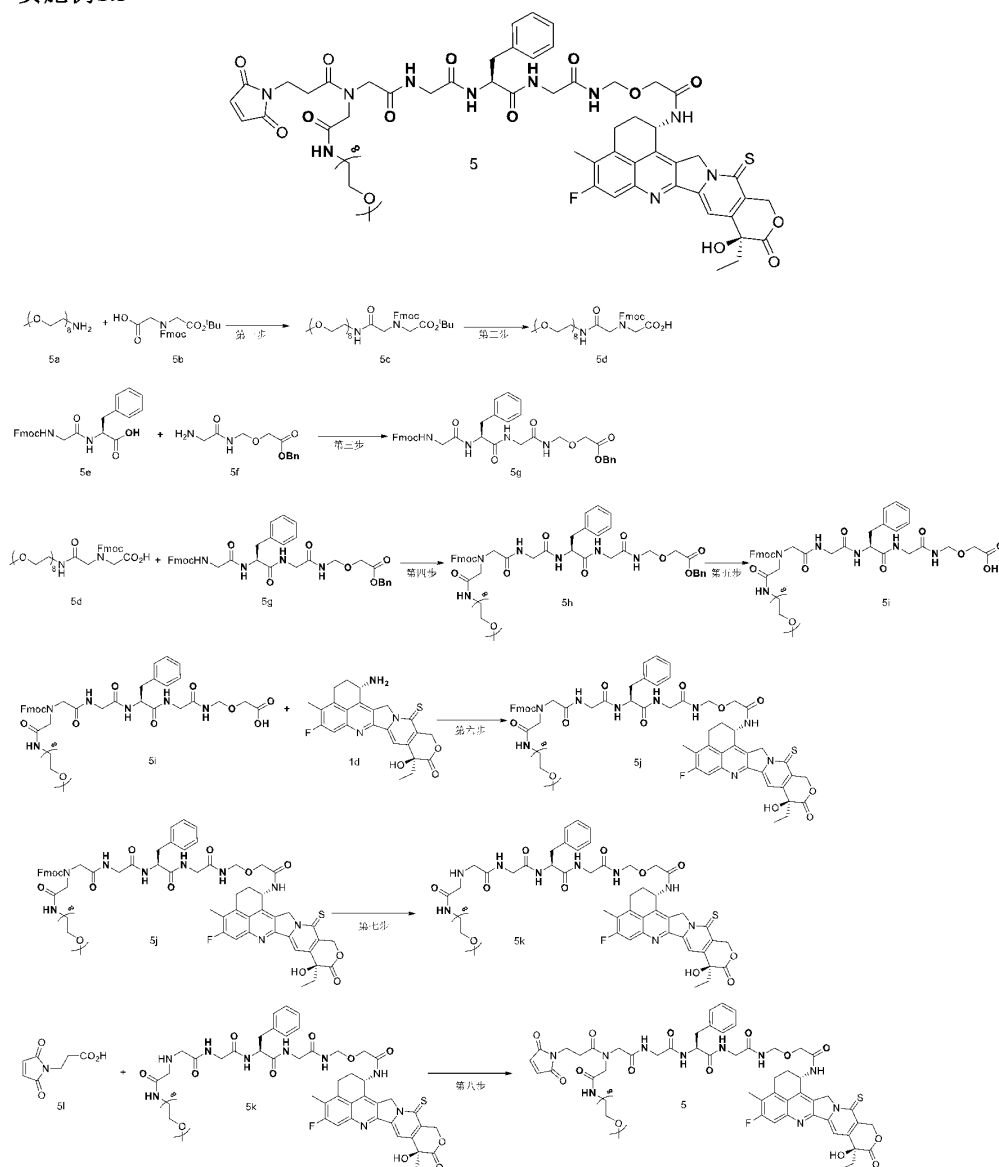
实施例1.4

率：14%。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+=1024$ ，实测值为1024。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.65 (t, $J = 6.8$ Hz, 1H), 8.60 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 8.29 (q, $J = 5.6$ Hz, 2H), 8.09 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.99 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H), 7.81 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.29-7.14 (m, 5H), 7.04 (s, 2H), 6.68 (s, 1H), 5.91 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H), 5.71-5.60 (m, 1H), 5.56-5.45 (m, 2H), 5.36 (d, $J = 19.6$ Hz, 1H), 5.05 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H), 4.68 (d, $J = 6.4$ Hz, 2H), 4.59 (dd, $J = 9.2$, 6.0 Hz, 1H), 4.52-4.43 (m, 1H), 4.17-4.04 (m, 2H), 4.00-3.92 (m, 1H), 3.98-3.80 (m, 1H), 3.78-3.68 (m, 5H), 3.64-3.54 (m, 2H), 3.20-3.09 (m, 1H), 3.00 (dd, $J = 14.0$, 4.4 Hz, 1H), 2.73 (dd, $J = 13.6$, 9.6 Hz, 1H), 2.39 (s, 3H), 2.26-2.17 (m, 2H), 1.94-1.83 (m, 2H), 0.86 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H)。

实施例1.5



第一步

将**5a** (650 mg, 1.70 mmol) 和**5b** (699 mg, 1.70 mmol) 溶于无水二氯甲烷 (6 mL) 中，冰浴下依次加入2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (771 mg, 2.03 mmol) 和N,N-二异丙基乙胺 (440 mg, 2.40 mmol)，加料完全后反应体系恢复至室温搅拌反应1h。反应液直接浓缩得残余物，残余物经硅胶柱层析 (MeOH: DCM=0-100%) 分离得**5c** (1.10 g)，收率：83%。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+=777$ ，实测值为777。

第二步

将**5c** (1.10 g, 1.42 mmol) 溶于无水二氯甲烷 (2.6 mL) 中, 冰浴下逐滴加入三氟乙酸 (2 mL), 加料完全后反应体系恢复至室温搅拌反应2h。反应液直接浓缩得残余物, 残余物经硅胶柱层析

5 (MeOH: DCM=0-100%) 分离得粗产品**5d** (1.16 g)。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+=721$, 实测值为721。

第三步

10 将**5f** (800 mg, 1.69 mmol) 溶于无水乙腈 (12 mL) 中, 冰浴下逐滴加入1,8-二偶氮杂双螺环 [5.4.0]十一-7-烯 (129 mg, 0.85 mmol), 加料完全后反应体系恢复至室温搅拌反应1h。将**5e** (750 mg, 1.69 mmol) 加入到上述反应液, 冰浴下依次加入2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (771 mg, 2.03 mmol) 和N,N-二异丙基乙胺 (654 mg, 5.07 mmol), 加料完全后反应体系恢复至室温搅拌反应2h。反应液用乙酸乙酯 (200 mL) 稀释, 有机相经饱和食盐水 (50 mL x 3) 洗, 无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液减压浓缩得残余物, 残余物经硅胶柱层析 (MeOH: DCM=0-

15 100%) 分离得粗产品**5g** (440 mg), 收率: 38%。

MS-ESI计算值 $[M+Na]^+=701$, 实测值为701。

第四步

20 将**5g** (420 mg, 0.62 mmol) 溶于无水乙腈 (10 mL) 中, 冰浴下逐滴加入1,8-二偶氮杂双螺环 [5.4.0]十一-7-烯 (94 mg, 0.62 mmol), 加料完全后反应体系恢复至室温搅拌反应2h。将**5d** (446 mg, 0.62 mmol) 加入到上述反应液, 冰浴下依次加入2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (353 mg, 0.93 mmol) 和N,N-二异丙基乙胺 (240 mg, 1.86 mmol), 加料完全后反应体系恢复至室温搅拌反应1h。反应液用乙酸乙酯 (100 mL) 稀释, 有机相经饱和食盐水 (25 mL x 3) 洗, 无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液减压浓缩得残余物, 残余物经硅胶柱层析 (MeOH: DCM=0-

25 100%) 分离得**5h** (600 mg), 收率: 83%。

MS-ESI计算值 $[M+Na]^+=1181$, 实测值为1181。

第五步

30 将**5h** (600 mg, 0.52 mmol) 溶于四氢呋喃/水 (8 mL/2 mL) 混合溶剂中, 加入Pd/C (60 mg, 10% W/W), 混合体系氢气氛围下搅拌反应5h。反应液过滤除去不溶物, 滤液减压浓缩得残余物, 残余物经硅胶柱层析 (MeOH: DCM=0-100%) 分离得**5i** (360 mg), 收率: 65%。

MS-ESI计算值 $[M+Na]^+=1091.5$, 实测值为1091.8。

第六步

35 向反应瓶内依次加入**1d** (50 mg, 0.11 mmol), **5i** (140 mg, 0.13 mmol) 和N,N-二甲基甲酰胺 (2 mL), 搅拌溶解后置于冰浴中, 加入2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (65 mg, 0.17 mmol) 和N,N-二异丙基乙胺 (44 mg, 0.34 mmol), 混合体系保持0~5°C下搅拌反应1h。反应液减压浓缩得残余物, 残余物经硅胶柱层析 (MeOH: DCM=0-100%) 分离得粗产品**5j** (140 mg), 收率: 85%。

40 MS-ESI计算值 $[M+H]^+=1502.6$, 实测值为1503。

第七步

45 将**5j** (55 mg, 0.037 mmol) 溶于无水乙腈 (2 mL) 中, 冰浴下逐滴加入二乙胺 (27 mg, 0.37 mmol), 加料完全后反应体系恢复至室温搅拌反应过夜。反应液减压浓缩得残余物, 残余物经硅胶柱层析 (MeOH: DCM=0-100%) 分离得**5k** (30 mg), 收率: 63%。

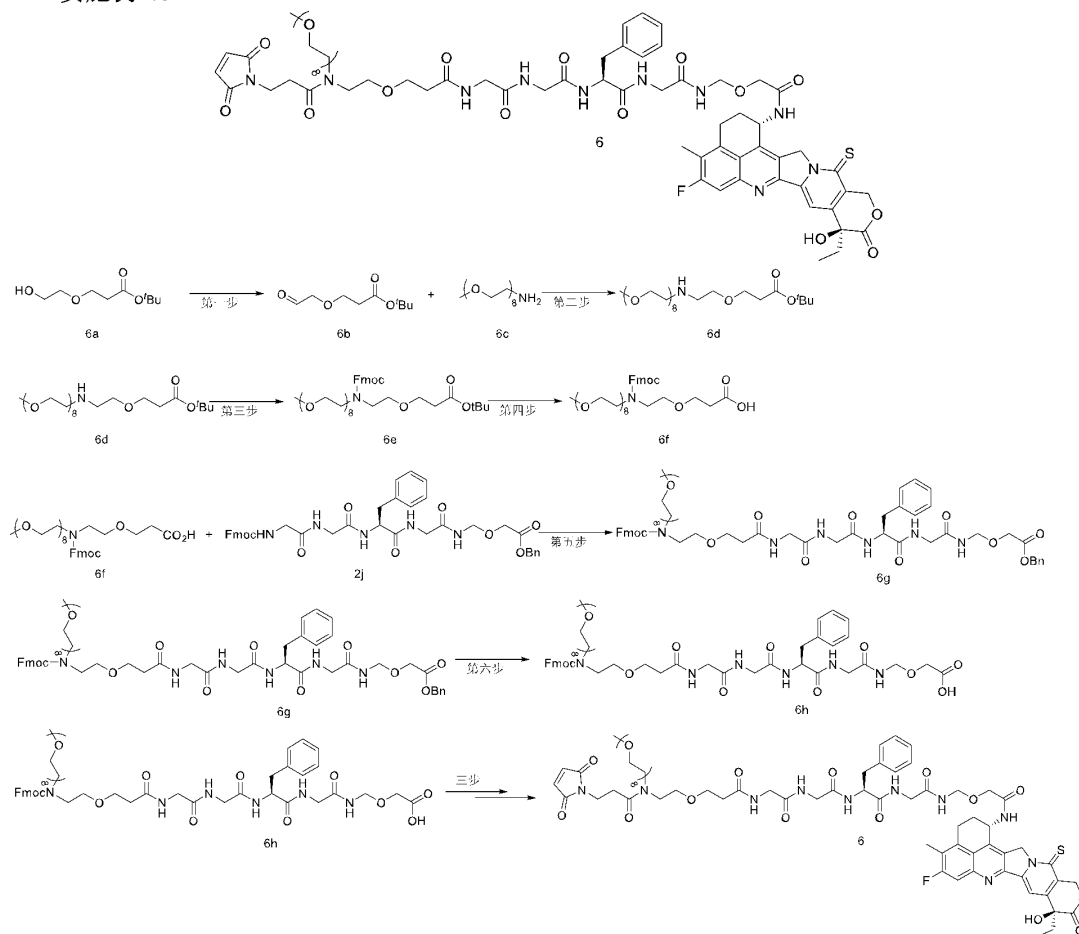
MS-ESI计算值 $[M+H]^+=1280.6$, 实测值为1281。

第八步

50 将**5k** (30 mg, 0.023 mmol) 和**5l** (20 mg, 0.12 mmol) 溶于无水二氯甲烷 (1 mL) 中, 冰浴下依次加入2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (35 mg, 0.092 mmol) 和N,N-二异丙基乙胺 (16 mg, 0.12 mmol), 混合体系室温下搅拌反应1h。反应液用HCl_{aq} (0.5 N) 调节pH=4-5后用制备液相中性纯水体系制备分离得**5** (15 mg), 收率: 45%。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+=1431.6$, 实测值为1432。

实施例1.6



5 第一步

将**6a** (4.00 g, 21.03 mmol) 溶于无水二氯甲烷 (64 mL) 中, 加入戴斯-马丁氧化剂 (11.15 g, 26.30 mmol), 加料完全后混合体系室温搅拌反应2h。反应液加二氯甲烷 (100 mL) 稀释, 有机相依次用饱和硫代硫酸钠溶液 (50 mL x 1) 和饱和食盐水 (50 mL x 2) 洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩粗产品**6b** (5.30 g)。

10

第二步

将粗产品**6b** (500 mg) 和**6c** (1.20 g, 3.19 mmol) 溶于无水甲醇 (25 mL) 中, 加入乙酸 (7.56 g, 126.00 mmol) 和氰基硼氢化钠 (418 mg, 6.65 mmol), 加料完全后混合体系室温搅拌反应3h。反应液加二氯甲烷 (150 mL) 稀释, 饱和碳酸氢钠 (50 mL) 淬灭过量的乙酸, 分液, 有机相用饱和食盐水 (50 mL x 2) 洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩粗产品**6d** (1.38 g)。

15

MS-ESI计算值 $[M+H]^+ = 556$, 实测值为556。

第三步

将粗产品**6d** (1.38 g) 溶于无水四氢呋喃 (30 mL) 中, 加入N,N-二异丙基乙胺 (482 mg, 3.73 mmol) 和氯甲酸-9-苄基甲酯 (1.29 g, 4.97 mmol), 加料完全后混合体系室温搅拌反应3h。反应液加二氯甲烷 (150 mL) 稀释, 有机相用饱和食盐水 (50 mL x 2) 洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩残余物, 残余物经硅胶柱层析 (MeOH: DCM=0-100%) 分离得**6e** (1.00 g), 收率: 65%。

20

MS-ESI计算值 $[M+H]^+ = 778$, 实测值为778。

25

第四步

将**6e** (1.00 g, 1.28 mmol) 溶于无水二氯甲烷 (4 mL) 中, 加入三氟乙酸 (1.46 g, 12.85 mmol) 混合体系室温搅拌反应1h后补加三氟乙酸 (1.46 g, 12.85 mmol), 反应液减压浓缩得残余物, 残余物经硅胶柱层析 (MeOH: DCM=0-100%) 分离得**6f** (500 mg), 收率: 54%。

MS-ESI计算值[M+H]⁺=722.4, 实测值为722.9。

5

第五步

将**2j** (500 mg, 0.68 mmol) 溶于无水乙腈 (5 mL) 中, 冰浴下逐滴加入1,8-二偶氮杂双螺环[5.4.0]十一-7-烯 (134 mg, 0.88 mmol), 加料完全后反应体系恢复至室温搅拌反应2h。将**6f** (490 mg, 0.68 mmol) 加入到上述反应液, 冰浴下依次加入2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (388 mg, 1.02 mmol) 和N,N-二异丙基乙胺 (220 mg, 1.70 mmol), 加料完全后反应体系恢复至室温搅拌反应1h。反应液用二氯甲烷 (100 mL) 稀释, 有机相经饱和食盐水 (25 mL x 3) 洗, 无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液减压浓缩得残余物, 残余物经硅胶柱层析 (MeOH: DCM=0-100%) 分离得**6g** (470 mg), 收率: 57%。

10

MS-ESI计算值 [M+Na]⁺=1239.6, 实测值为1239.9。

15

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.84 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.82-7.74 (m, 1H), 7.63 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.61-7.52 (m, 2H), 7.50-7.44 (m, 2H), 7.44-7.24 (m, 15H), 4.90-4.81 (m, 2H), 4.73-4.62 (m, 1H), 4.59 (m, *J* = 5.6 Hz, 2H), 4.30 (s, 2H), 4.29-4.25 (m, 1H), 4.15-4.02 (m, 1H), 4.00-3.89 (m, 2H), 3.86 (d, *J* = 5.2 Hz, 2H), 3.80-3.45 (m, 34H), 3.43 (s, 3H), 3.41-3.38 (m, 1H), 3.11 (dd, *J* = 14.0, 10.0 Hz, 1H)。

20

第六步

将**6g** (470 mg, 0.39 mmol) 溶于四氢呋喃/水 (4 mL/1 mL) 混合溶剂中, 加入湿Pd/C (62 mg, 13% W/W), 混合体系氢气氛围下搅拌反应2h。反应液过滤除去不溶物, 滤液减压浓缩得粗产品**6h** (360 mg)。

25

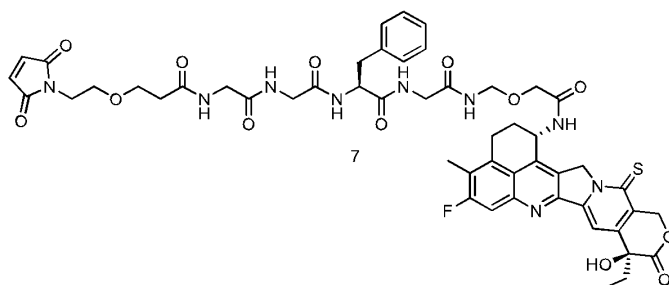
MS-ESI计算值 [M+Na]⁺=1149.5, 实测值为1149.9。

参照参考实施例5中由化合物**5i**与化合物**1d**经过三步反应合成化合物**5**, 化合物**6h**与化合物**1d**经三步反应合成化合物**6**。

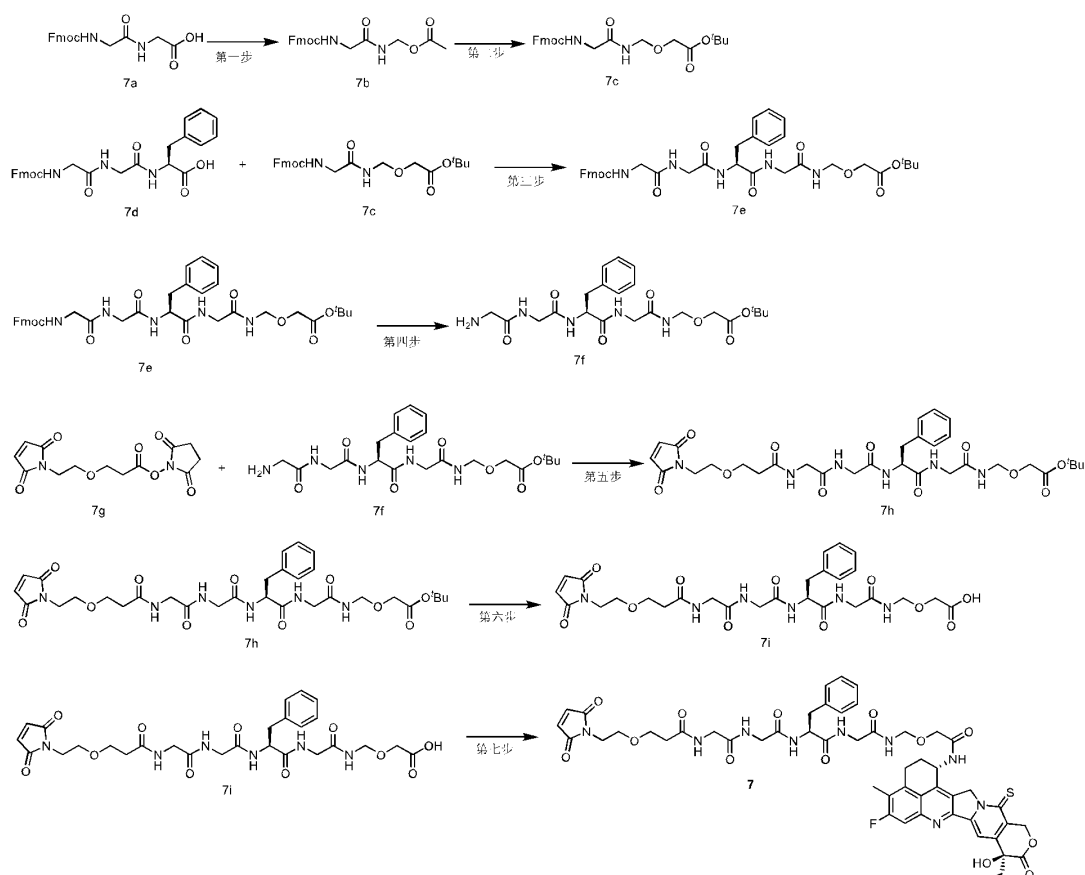
MS-ESI计算值 [M+H]⁺= 1489.6, 实测值为1490。

30

实施例1.7



合成路线1



第一步

氮气氛围下，将**7a** (10.60 g, 30.00 mmol) 溶于四氢呋喃/甲苯 (200 mL/50 mL) 混合溶剂中，加入四醋酸铅 (17.30 g, 39.00 mmol) 和吡啶 (3.08 g, 39.00 mmol)，混合体系升温至 75℃ 搅拌反应 4h。反应液过滤除去不溶物，滤液减压浓缩除去大部分溶剂，残余物用乙酸乙酯 (400 mL) 溶解，有机相依次经水 (100 mL x 2)，饱和碳酸氢钠水溶液 (100 mL)，稀盐酸 (0.5N, 100 mL x 2)，饱和食盐水 (100 mL x 2) 洗，无水硫酸钠干燥，过滤。滤液减压浓缩，残余物经硅胶柱层析 (EA: hexanes=0-100%) 分离得**7b** (9.70 g)，收率：88%。

MS-ESI 计算值 $[M+Na]^+=391$ ，实测值为 391。

第二步

氮气氛围下，将**7b** (8.00 g, 21.74 mmol) 溶于无水四氢呋喃 (40 mL) 中，冰浴下依次加入对甲苯磺酸 (374 mg, 2.18 mmol) 和羟乙酸叔丁酯 (8.60 g, 65.14 mmol)，加料完全后混合体系恢复至室温下搅拌反应 1h。反应液用乙酸乙酯 (200 mL) 稀释，有机相依次经水 (50 mL x 2)，饱和碳酸氢钠水溶液 (50 mL)，饱和食盐水 (100 mL x 2) 洗，无水硫酸钠干燥后过滤。滤液减压浓缩，残余物经硅胶柱层析 (EA: hexanes=0-100%) 分离得**7c** (5.90 g)，收率：62%。

MS-ESI 计算值 $[M+Na]^+=463$ ，实测值为 463。

第三步

氮气氛围下，将**7c** (4.90 g, 11.14 mmol) 溶于无水乙腈 (40 mL) 中，冰浴下加入 1,8-二偶氮杂双螺环[5.4.0]十一-7-烯 (847 mg, 5.57 mmol)，加料完全后混合体系恢复至室温下搅拌反应 3h。将**7d** (6.13 g, 11.14 mmol) 加入到上述反应液，冰浴下依次加入 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (6.34 mg, 16.68 mmol) 和 N,N'-二异丙基乙胺 (2.88 g, 22.32 mmol)，加料完全后反应体系恢复至室温搅拌反应 1h。反应液用乙酸乙酯 (200 mL) 稀释，有机相经饱和食盐水 (25 mL x 3) 洗，无水硫酸钠干燥后过滤，滤液减压浓缩得残余物，残余物经硅胶柱层析 (MeOH: DCM=0-100%) 分离得**7e** (5.8 g)，收率：74%。

MS-ESI计算值 $[M+Na]^+=724$ ，实测值为724。

第四步

5 氮气氛围下，将**7e** (2.80 g, 3.99 mmol) 溶于无水乙腈 (30 mL) 中，冰浴下加入1,8-二偶氮杂双螺环[5.4.0]十一-7-烯 (606 mg, 3.99 mmol)，加料完全后混合体系恢复至室温下搅拌反应5h。将反应液冷却至0℃，分批加入1-羟基苯并三唑 (1.08 g, 7.98 mmol)，反应体系析出固体 (呈果冻状)，保持冰浴下继续搅拌1h后过滤，上层滤饼用异丙醚/正己烷 (10 mL/40 mL) 打浆后再过滤，收集滤饼得**7f** (2.0 g)。

10 MS-ESI计算值 $[M+H]^+=480$ ，实测值为480。

第五步

15 将**7g** (0.99 g, 3.20 mmol) 和**7f** (2.40 g, 3.20 mmol) 溶于乙腈/水 (15 mL/15 mL) 混合溶剂中，冰浴下加入2,4,6-三甲基吡啶 (387 mg, 3.20 mmol)，加料完全后混合体系恢复至室温下搅拌反应2h。反应液用乙酸乙酯 (200 mL) 稀释，有机相依次经水 (30 mL x 2)，稀盐酸 (0.5 N, 50 mL x 2)，饱和食盐水 (50 mL x 3) 洗，无水硫酸钠干燥后过滤。滤液减压浓缩，残余物经硅胶柱层析 (MeOH: DCM=0-100%) 分离得**7h** (1.25 g)，收率：58%。

MS-ESI计算值 $[M+Na]^+=697$ ，实测值为697。

第六步

20 氮气氛围下，将溴化锌 (8.00 g, 35.60 mmol) 称入反应瓶内，加入硝基甲烷 (15 mL)，室温下搅拌10min，体系呈乳浊液状。将反应瓶置于冰浴下，逐滴加入**7h** (1.20 g, 1.78 mmol) 的硝基甲烷 (20 mL) 溶液，加料完全后混合体系保持在冰浴下继续搅拌反应4h。反应液加水 (50 mL) 稀释，水相用氨水 (2% w/w) 调节pH至5-6，分液。水相用二氯甲烷 (50 mL x 3) 洗后冻干，冻干所得残余物经硅胶柱层析 (MeOH: DCM=0-100%) 分离得**7i** (450 mg)，收率：41%。

25 MS-ESI计算值 $[M+Na]^+=641$ ，实测值为641。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.28-7.14 (m, 5H), 6.97 (s, 2H), 4.66-4.54 (m, 2H), 4.43 (dd, $J = 9.2, 4.4$ Hz, 1H), 3.81 (s, 2H), 3.77-3.52 (m, 12H), 3.07 (dd, $J = 14.0, 4.8$ Hz, 1H), 2.81 (dd, $J = 13.6, 9.6$ Hz, 1H), 2.33 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H)。

第七步

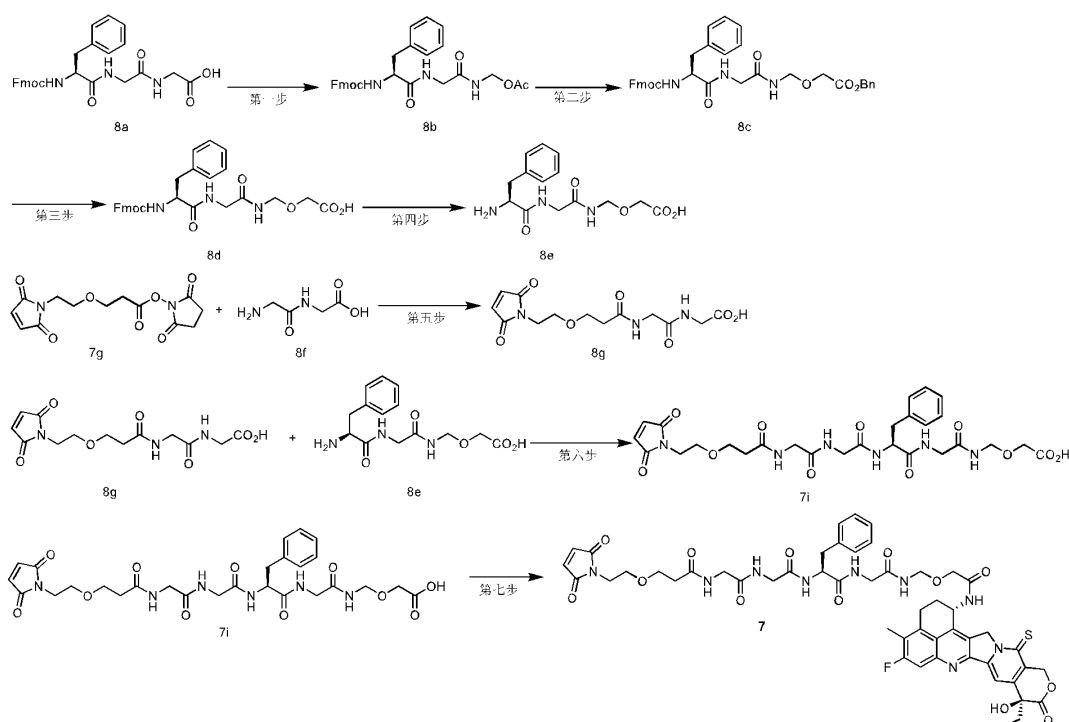
30 向10 mL单口瓶中依次加入化合物**1d** (50 mg, 0.11 mmol)，**7i** (74 mg, 0.12 mmol)，1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (31 mg, 0.16 mmol) 和N,N-二甲基甲酰胺 (2 mL)，冰浴下向混合体系逐滴加入2,4,6-三甲基吡啶 (60 mg, 0.49 mmol)。滴加完毕后恢复室温搅拌反应3小时。将反应液逐滴滴入甲基叔丁基醚 (60 mL) 中，固体析出，过滤收集固体，固体用二氯甲烷/甲醇混合溶剂 (24 mL/4 mL) 溶解，浓缩得到粗品，粗品经液相制备液相分离纯化得到化合物**7** (16 mg)，收率：17%。

35 MS-ESI计算值 $[M+H]^+=1052$ ，实测值：1052。

40 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.65 (t, $J = 6.8$ Hz, 1H), 8.61 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 8.28 (t, $J = 4.4$ Hz, 1H), 8.14-8.06 (m, 2H), 8.06 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H), 7.82 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.28-7.13 (m, 5H), 6.99 (s, 2H), 5.92 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H), 5.70-5.60 (m, 1H), 5.53 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 5.48 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 5.37 (d, $J = 19.6$ Hz, 1H), 4.68 (d, $J = 6.4$ Hz, 1H), 4.51-4.41 (m, 1H), 4.17-4.04 (m, 2H), 3.72-3.68 (m, 2H), 3.68-3.63 (m, 2H), 3.62-3.58 (m, 1H), 3.58-3.54 (m, 3H), 3.54-3.39 (m, 3H), 3.48-3.43 (m, 2H), 3.19-3.08 (m, 1H), 3.06-2.97 (m, 1H), 2.80-2.70 (m, 1H), 2.70-2.65 (m, 1H), 2.39 (s, 3H), 2.35-2.28 (m, 3H), 2.27-2.18 (m, 2H), 1.94-1.82 (m, 2H), 0.85 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H)。

45

合成路线2



第一步

5 氮气氛围下，将**8a** (4.50 g, 8.98 mmol) 溶于无水N,N-二甲基甲酰胺 (25 mL) 中，加入醋酸 (1.19 g, 19.76 mmol)，四醋酸铅 (7.96 g, 17.96 mmol) 和醋酸铜 (1.10 g, 8.98 mmol)，混合体系升温至50℃搅拌反应0.5h。反应液加水 (50 mL) 淬灭，水相用乙酸乙酯 (500 mL) 萃取，分液，有机相依次用饱和碳酸氢钠水溶液 (100 mL x 1)，水 (100 mL) 和饱和食盐水 (50 mL x 4) 洗，无水硫酸钠干燥后过滤。滤液减压浓缩得粗产品**8b** (4.70 g)。

MS-ESI计算值 $[M+Na]^+=538$ ，实测值为538。

10

第二步

15 氮气氛围下，将**8b** (4.70 g, 9.13 mmol) 溶于无水四氢呋喃 (40 mL) 中，冰浴下依次加入对甲苯磺酸 (235 mg, 1.37 mmol) 和羟乙酸苄酯 (5.30 g, 31.96 mmol)，加料完全后混合体系恢复至室温下搅拌反应4h。反应液用乙酸乙酯 (200 mL) 稀释，有机相依次经水 (50 mL x 1)，饱和碳酸氢钠水溶液 (50 mL x 1)，饱和食盐水 (50 mL x 2) 洗，无水硫酸钠干燥后过滤。滤液减压浓缩，残余物经硅胶柱层析 (EA: hexanes=0-100%) 分离得**8c** (4.50 g)，收率：79%。

MS-ESI计算值 $[M+Na]^+=644$ ，实测值为644。

第三步

20 将**8c** (4.50 g, 7.25 mmol) 溶于四氢呋喃/水 (50 mL/15 mL) 混合溶剂中，加入湿Pd/C (380 mg, 8% W/W)，混合体系氢气氛围下搅拌反应过夜。反应液过滤除去不溶物，滤液减压浓缩得粗产品**8d** (2.65 g)。

MS-ESI计算值 $[M+Na]^+=554$ ，实测值为554。

第四步

25 氮气氛围下，将**8d** (2.65 g, 4.99 mmol) 溶于无水乙腈 (30 mL) 中，冰浴下加入1,8-二偶氮杂双螺环[5.4.0]十一-7-烯 (1.52 g, 9.98 mmol)，加料完全后混合体系恢复至室温下搅拌反应5h。将反应液冷却至0℃，分批加入1-羟基苯并三唑 (1.35 g, 9.98 mmol)，反应体系析出固体，保持冰浴下继续搅拌2h后过滤，收集滤饼抽干得粗产品**8e** (1.85 g)。

30 MS-ESI计算值 $[M+H]^+=310$ ，实测值为310。

第五步

将**7g** (3.10 g, 10.00 mmol) 和**8f** (1.45 g, 11.00 mmol) 溶于乙腈/水 (25 mL/8 mL) 混合溶剂中, 冰浴下加入三乙胺 (1.51 g, 15.00 mmol), 加料完全后混合体系恢复至室温下搅拌反应2h。反应液旋去大部分乙腈, 残余物用二氯甲烷/水 (100 mL/50 mL) 稀释, 分液, 水相用二氯甲烷 (50 mL x 2) 洗后冻干, 冻干后残余物经硅胶柱层析 (MeOH: DCM=0-100%) 分离得粗产品**8g** (4.25 g)。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+=328$, 实测值为328。

第六步

将**8g** (1.03 g) 和N-羟基琥珀酰亚胺 (552 mg, 4.80 mmol) 溶于无水二氯甲烷 (10 mL) 中, 冰浴下加入二环己基碳二亚胺 (0.99 g, 4.80 mmol), 加料完全后混合体系恢复至室温下搅拌反应1.5h。反应液过滤除去不溶固体, 母液待用。冰浴下向母液中加入**8e** (0.52 g) 和2,4,6-三甲基吡啶 (203 mg, 1.68 mmol), 混合体系恢复至室温下搅拌反应4h。反应液加水 (50 mL) 稀释, 水相用二氯甲烷 (50 mL x 2) 洗后冻干, 冻干后残余物经硅胶柱层析 (MeOH: DCM=0-100%) 分离得**7i** (630 mg)。

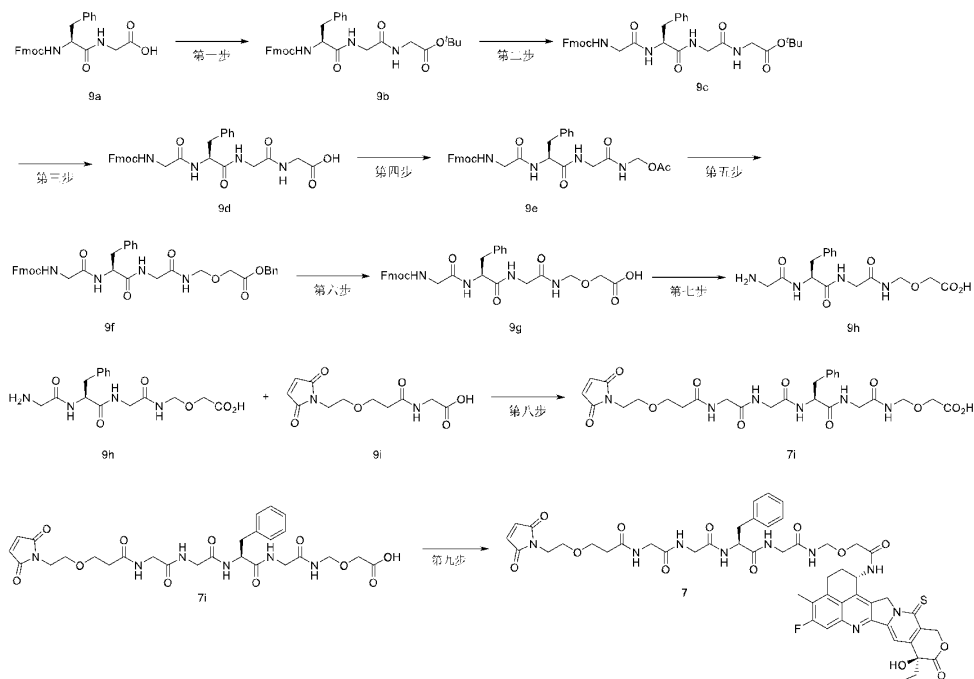
MS-ESI计算值 $[M+Na]^+=641$, 实测值为641。

第七步

将化合物**1d** (110 mg, 0.24 mmol), **7i** (195 mg, 0.32 mmol) 依次加入单口瓶 (10 mL) 中, 再加入无水N,N'-二甲基甲酰胺 (3 mL), 混合体系降温至0℃后, 依次逐滴滴加三氟乙酸 (29 mg, 0.25 mmol), 2,4,6-三甲基吡啶 (133 mg, 1.10 mmol) 和1-乙基-(3-二甲基氨基丙基) 碳二亚胺盐酸盐 (68 mg, 0.35 mmol), 加料完全后, 混合体系恢复至室温搅拌反应3小时。反应液直接经硅胶柱层析 (甲醇: 二氯甲烷=0-100%) 纯化得到化合物**7** (86 mg), 收率: 34%。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+=1052$, 实测值为1052。

合成路线3



第一步

氮气氛围下, 将**9a** (5.10 g, 11.48 mmol) 溶于无水二氯甲烷 (100 mL) 中, 依次加入2-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (6.54 g, 17.22 mmol), N,N'-二异丙基乙胺 (4.44 g, 34.44 mmol) 和甘氨酸叔丁酯 (1.80 g, 13.78 mmol)。加料完全室温搅拌反应2小时。反应液加入二氯甲烷 (100 mL) 稀释, 有机相依次经稀盐酸 (2N, 50 mL x 1), 水 (50 mL x 1) 和饱和食盐水 (50 mL x 2) 洗后干燥, 过滤, 滤液减压浓缩得到白色固体粗产品**9b** (6.80 g)。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+=558$ ，实测值为558。

第二步

5 氮气氛围下，将上一步粗产品**9b** (6.30 g) 溶于无水乙腈 (100 mL) 中，冰浴下加入1,8-二氮杂环[5,4,0]十一烯-7 (3.44 g, 22.62 mmol)，混合体系恢复至室温搅拌反应5h。将上述反应瓶再次置于冰浴中，依次加入Fmoc-甘氨酸 (4.03 g, 13.57 mmol)、2-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (5.16 g, 13.57 mmol) 和N,N-二异丙基乙胺 (2.19 g, 16.97 mmol)，加料完全室温继续搅拌反应1小时。反应液加入乙酸乙酯 (200 mL) 稀释，有机相依次经稀盐酸 (2N, 50 mL x 1)，水 (50 mL x 2) 和饱和食盐水 (50 mL x 2) 洗后干燥，过滤，滤液减压浓缩得残余物，残余物经硅胶柱层析 (甲醇：二氯甲烷=0-100%) 分离得粗产物**9c** (8.5 g)。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+=615$ ，实测值为615。

第三步

15 氮气氛围下，将**9c** (8.50 g, 13.83 mmol) 溶于无二氯甲烷 (20 mL) 中，冰水浴降温到0° C，逐滴滴加三氟乙酸 (20 mL, 0.261 mol)，混合体系自然升温到室温搅拌反应4小时。减压浓缩，向残余物中加入乙酸乙酯 (100 mL) 和水 (100 mL)，溶液体系经饱和碳酸氢钠调节pH至4-5之间 (有固体析出和水相形成乳浊液)，分液，收集水相乳浊液，水相经乙酸乙酯 (50 mL X 2) 洗涤，水相经1N 盐酸水溶液调节pH至1-2，加入二氯甲烷 (200 mL)，分液，水相经二氯甲烷 (150 mL x 2) 萃取，合并有机相，有机相经无水硫酸钠干燥后过滤，滤液减压浓缩得白色固体粗产品**9d** (4.10 g)。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+=559$ ，实测值为559。

第四步

25 氮气氛围下，反应瓶中依次加入**9d** (4.10 g, 7.34 mmol)、醋酸 (1.78 g, 29.35 mmol) 四醋酸铅 (13.00 g, 17.96 mmol) 和醋酸铜 (1.80 g, 14.68 mmol)，混合体系升温至50° C搅拌反应0.5h。向反应液加入水 (50 mL) 淬灭，水相经二氯甲烷 (500 mL) 萃取，分液，有机相依次饱和碳酸氢钠水溶液 (100 mL x 1)，水 (100 mL) 和饱和食盐水 (50 mL x 4) 洗，无水硫酸钠干燥后过滤。滤液减压浓缩得粗产品**9e** (3.84 g)。

MS-ESI计算值 $[M+Na]^+=595$ ，实测值为595。

第五步

35 氮气氛围下，将**9e** (3.80 g, 6.60 mmol) 溶于无水四氢呋喃 (40 mL) 中，冰浴下，依次加入对甲苯磺酸 (171 mg, 1.00 mmol) 和羟乙酸苄酯 (3.86 g, 25.20 mmol)，加料完全后混合体系恢复至室温下搅拌反应4h。反应液经乙酸乙酯 (200 mL) 稀释，有机相依次经水 (50 mL x 1)，饱和碳酸氢钠水溶液 (50 mL x 1)，饱和食盐水 (50 mL x 2) 洗涤，无水硫酸钠干燥后过滤。滤液减压浓缩，残余物经硅胶柱层析 (甲醇：二氯甲烷=0-100%) 分离得**9f** (2.14 g)，收率：48%。

MS-ESI计算值 $[M+Na]^+=701$ ，实测值为701。

第六步

40 将**9f** (2.10 g, 3.09 mmol) 溶于四氢呋喃/水 (50 mL/15 mL) 混合溶剂中，加入湿Pd/C (168 mg, 8% W/W)，混合体系氢气氛围下搅拌反应5小时。反应液过滤除去不溶物，滤液减压浓缩得粗产品**9g** (2.40 g)。

MS-ESI计算值 $[M+Na]^+=611$ ，实测值为611。

第七步

45 氮气氛围下，将**9g** (2.18 g, 3.70 mmol) 溶于无水乙腈 (30 mL) 中，冰浴下，加入1,8-偶氮杂双螺环[5.4.0]十一-7-烯 (1.13 g, 7.41 mmol)，加料完全后混合体系恢复至室温下搅拌反应5h。将反应液冷却至0°C，分批加入1-羟基苯并三唑 (1.35 g, 9.98 mmol)，反应体系析出固体，加入乙腈 (30 mL)，室温打浆2小时，过滤，滤饼经乙腈 (20 mL X 2) 洗涤，收集滤饼抽干得白色粉末粗产品**9h** (1.83 g)。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+=367$ ，实测值为367。

第八步

将**9i** (500 mg, 1.43 mmol, **9i**: 2,4,6-三甲基吡啶=1: 0.655)、2,4,6-三甲基吡啶 (494 mg, 4.08 mmol) 和N-羟基琥珀酰亚胺 (206 mg, 1.79 mmol) 溶于无水二氯甲烷 (25 mL) 中, 冰浴下, 加入二环己基碳二亚胺 (443 mg, 2.15 mmol), 加料完全毕, 混合体系在0℃下搅拌反应3h。冰浴下, 向上述反应液中加入**9h** (600 mg, 1.60 mmol), 混合体系恢复至室温并搅拌过夜。反应液加水 (100 mL) 稀释, 水相经二氯甲烷 (100 mL x 3) 洗涤, 水相冻干, 冻干后残余物经硅胶柱层析 (MeOH: DCM=0-50%) 分离得**7i** (550 mg), 收率: 62%。

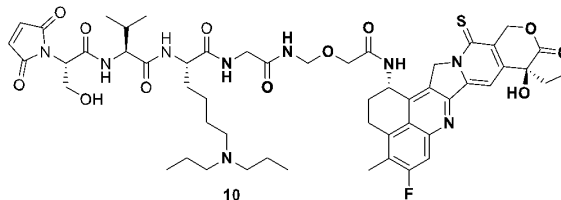
MS-ESI计算值[M+Na]⁺=641, 实测值为641。

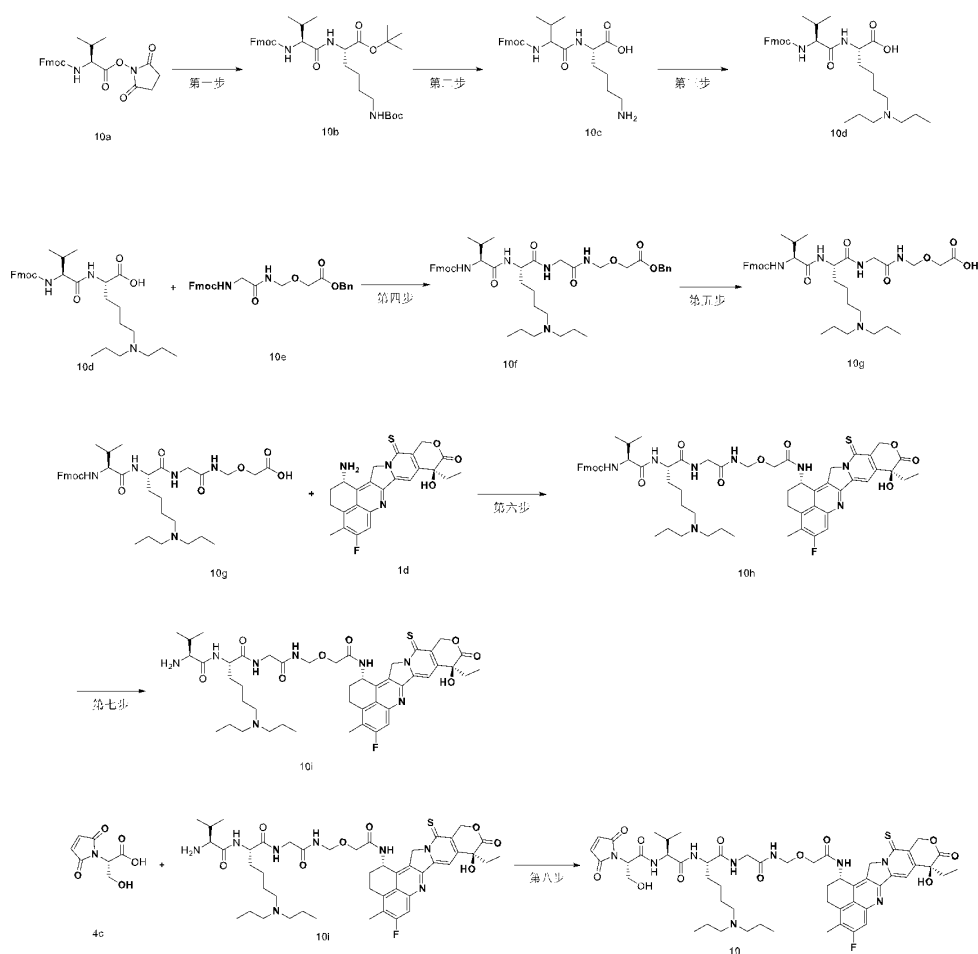
第九步

将化合物**1d** (110 mg, 0.24 mmol), **7i** (195 mg, 0.32 mmol) 依次加入单口瓶 (10 mL) 中, 再加入无水N,N-二甲基甲酰胺 (3 mL), 混合体系降温至0℃后, 依次逐滴滴加三氟乙酸 (29 mg, 0.25 mmol), 2,4,6-三甲基吡啶 (133 mg, 1.10 mmol) 和1-乙基-(3-二甲基氨基丙基) 碳二亚胺盐酸盐 (68 mg, 0.35 mmol), 加料完全后, 混合体系恢复至室温搅拌反应3小时。反应液直接经硅胶柱层析 (甲醇: 二氯甲烷= 0-100%) 纯化得到化合物**7** (90 mg), 收率: 35%。

MS-ESI计算值 [M+H]⁺=1052, 实测值为1052。

实施例1.8





第一步

氮气保护下,将**10a** (10 g, 22.91 mmol), N6-Boc-L-赖氨酸叔丁酯盐酸盐 (9.32 g, 27.50 mmol) 溶于四氢呋喃/水混合溶剂 ($V_{\text{四氢呋喃}}:V_{\text{水}}=4:1$, 100 mL) 中, 混合体系降温至0°C搅拌10分钟后加入碳酸氢钠 (3.85 g, 45.83 mmol), 混合体系保持0°C搅拌反应2小时。反应液加水 (100 mL) 和乙酸乙酯 (100 mL), 分液, 水相经乙酸乙酯 (100 mL x 2) 萃取, 合并有机相, 有机相经无水硫酸钠干燥后过滤, 减压浓缩得到残余物, 残余物经硅胶柱层析 (乙酸乙酯: 石油醚=0-100%) 纯化得到化合物**10b** (12.50 g), 收率: 87%。

MS-ESI计算值 $[M+Na]^+=646$, 实测值为646。

第二步

将**10b** (12.50 g, 20.04 mmol) 溶于氯化氢二氧六环溶液 (63 mL, 4 M) 中, 混合体系室温下搅拌反应3小时。反应液减压浓缩得到残余物, 残余物经甲基叔丁基醚 (150 mL) 打浆纯化得到粗品**10c** (11.40 g)。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+=468$, 实测值为468。

第三步

将**10c** (11.40 g) 溶于无水二氯甲烷 (190 mL) 中, 加入正丙醛 (7.01 g, 120.70 mmol), 混合体系室温下搅拌反应15分钟后分批次加入三乙酰氧基硼氢化钠 (21.33 g, 100.64 mmol), 加料完成后混合体系室温下继续搅拌反应1小时。反应体系用饱和氯化铵水溶液 (10 mL) 淬灭, 混合体系室温下搅拌1小时, 加水 (200 mL) 和乙酸乙酯 (100 mL), 分液, 水相经乙酸乙酯 (100 mL x 2) 萃取, 合并有机相, 有机相经无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液减压浓缩得到残余物, 残余物经硅胶柱层析 (甲醇: 二氯甲烷=0-100%) 纯化得到化合物**10d** (9.40 g), 两步收率: 85%。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+=552$, 实测值为552。

第四步

氮气保护下，将**10e** (2.5 g, 5.27 mmol) 溶于无水二氯甲烷 (35 mL) 中，再加入1,8-二偶氮杂双螺环[5.4.0]十一-7-烯 (1.20 g, 7.88 mmol)，混合体系降温至0°C搅拌反应10分钟后恢复至室温继续搅拌反应1小时。混合体系再次降温至0°C，加入**10d** (3.49 g, 6.33 mmol)，N,N-二异丙基乙胺 (1.02 g, 7.89 mmol)，2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (3.01 g, 7.92 mmol)，加料完全后保持0°C反应1小时。反应液加水 (50 mL) 和乙酸乙酯 (50 mL)，分液，水相经乙酸乙酯 (100 mL x 2) 萃取，合并有机相，有机相经无水硫酸钠干燥后过滤，滤液减压浓缩得到残余物，残余物经硅胶柱层析 (甲醇：二氯甲烷=0-100%) 纯化得到化合物**10f** (2.00 g)，收率：48%。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+ = 786$ ，实测值为786。

第五步

将**10f** (2.00 g, 2.54 mmol) 溶于四氢呋喃/水混合溶剂 ($V_{\text{四氢呋喃}} : V_{\text{水}} = 3 : 1$, 40 mL) 中，再加入10%湿钯碳 (200 mg)，混合体系保持氢气气氛下室温搅拌反应3小时。反应体系过滤除去不溶物，滤饼用乙酸乙酯淋洗，滤液减压浓缩得到残余水相，水相经乙酸乙酯 (20 mL x 3) 萃取，合并有机相，有机相经无水硫酸钠干燥后过滤，滤液减压浓缩得到残余物，残余物经硅胶柱层析 (甲醇：二氯甲烷=0-100%) 纯化得到化合物**10g** (930 mg)，收率：53%。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+ = 696$ ，实测值为696。

第六步

氮气气氛下，将**10g** (652 mg, 0.94 mmol)，**1d** (330 mg, 0.73 mmol) 溶于无水二氯甲烷 (5 mL) 中，混合体系降温至0°C，加入N,N-二异丙基乙胺 (189 mg, 1.46 mmol)，2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (330 mg, 0.87 mmol)，混合体系保持0°C下搅拌反应1小时。反应液减压浓缩得到残余物，残余物经硅胶柱层析 (甲醇：二氯甲烷=0-100%) 纯化得到化合物**10h** (730 mg)，收率：88%。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+ = 1129$ ，实测值为1129。

第七步

氮气保护下，将**10h** (720 mg, 0.64 mmol) 溶于无水四氢呋喃 (7 mL) 中，降温至0°C，再加入哌啶 (272 mg, 3.19 mmol)，混合体系保持0°C搅拌反应1小时。反应液减压浓缩得到残余物，残余物经硅胶柱层析 (甲醇：二氯甲烷=0-100%) 纯化得到化合物**10i** (350 mg)，收率：61%。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+ = 907$ ，实测值为907。

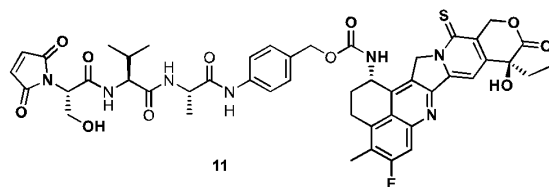
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7.78 (s, 1H), 7.72 (d, $J = 10.8$ Hz, 1H), 5.91 (d, $J = 16.4$ Hz, 1H), 5.70-5.60 (m, 1H), 5.49 (d, $J = 16.4$ Hz, 1H), 4.74-4.62 (m, 2H), 4.24-4.15 (m, 1H), 4.13 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H), 3.81-3.61 (m, 2H), 3.34-3.20 (m, 1H), 3.18 (s, 2H), 3.16-3.07 (m, 1H), 3.00 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 2.93-2.81 (m, 2H), 2.37 (s, 3H), 2.31-2.21 (m, 5H), 1.99-1.83 (m, 3H), 1.67-1.46 (m, 4H), 1.39-1.22 (m, 8H), 0.91-0.82 (m, 6H), 0.82 (t, $J = 7.2$ Hz, 6H), 0.76 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H)。

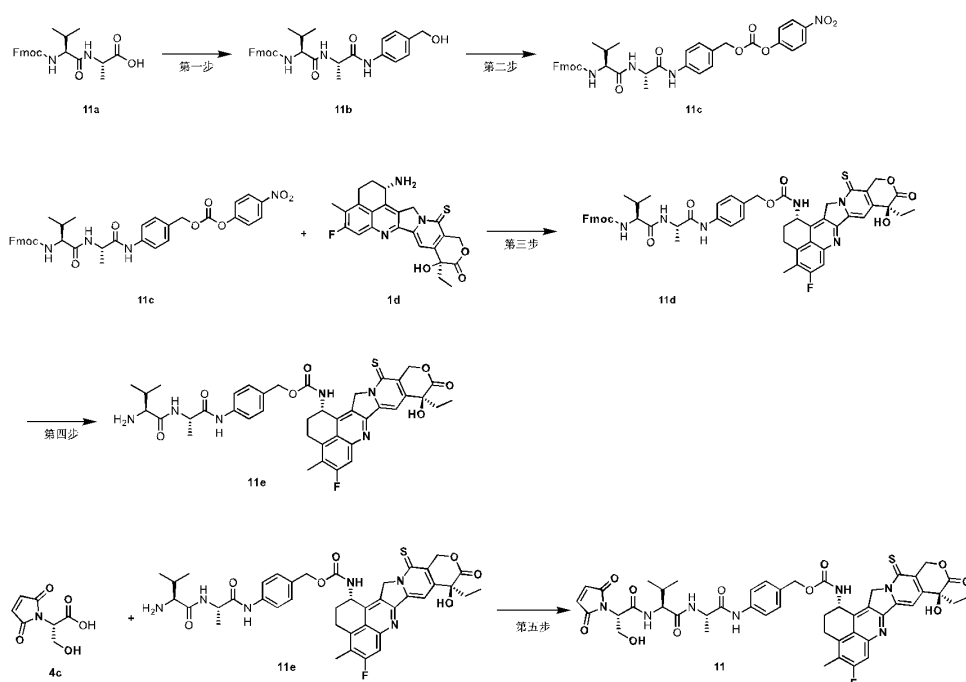
第八步

将**10i** (150 mg, 0.17 mmol) 溶于无水N,N-二甲基甲酰胺 (2 mL) 中，再加入2,4,6-三甲基吡啶 (60 mg, 0.50 mmol)，2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (94 mg, 0.25 mmol)，混合体系保持0°C搅拌反应5分钟后加入**4c** (57 mg, 0.20 mmol)，加料完全后保持0°C继续搅拌反应1小时。反应液加水 (5 mL) 和乙酸乙酯 (10 mL)，分液，水相经乙酸乙酯 (10 mL x 2) 萃取，合并有机相，有机相经无水硫酸钠干燥后过滤，滤液减压浓缩得到残余物，残余物经制备HPLC纯化得到化合物**10** (125 mg)，收率：67%。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+ = 1074$ ，实测值为1074。

实施例1.9





第一步

氮气保护下，将**11a**（5.00 g，12.18 mmol），对氨基苯甲醇（2.25 g，18.27 mmol）溶于无水二氯甲烷（100 mL）中，混合体系降温至0℃后加入N,N-二异丙基乙胺（3.94 g，30.49 mmol），2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸酯（5.56 g，14.62 mmol），加料完全后，继续保持0℃搅拌反应1小时。反应液加水（200 mL）和二氯甲烷/甲醇混合溶剂（V_{二氯甲烷}:V_{甲醇} = 10:1，300 mL），分液，水相经二氯甲烷/甲醇混合溶剂（V_{二氯甲烷}:V_{甲醇} = 10:1，300 mL x 2）萃取，合并有机相，有机相经无水硫酸钠干燥后过滤，滤液减压浓缩得到残余物，残余物经硅胶柱层析（甲醇：二氯甲烷= 0-100%）纯化得到化合物**11b**（6.68 g），收率：100%。

MS-ESI计算值 [M-OH]⁺=498，实测值为498。

第二步

氮气保护下，将**11b**（3.23 g，6.26 mmol），双(4-硝基苯基)碳酸酯（2.86 g，9.40 mmol）溶于无水二氯甲烷/N,N-二甲基甲酰胺混合溶剂（V_{二氯甲烷}:V_{N,N-二甲基甲酰胺} = 2:1，48 mL）中，加入N,N-二异丙基乙胺（2.43 g，18.80 mmol），加料完全后，混合体系室温下搅拌反应12小时。反应液加水（100 mL）淬灭，再加入乙酸乙酯（100 mL），分液，水相经乙酸乙酯（100 mL x 2）萃取，合并有机相，有机相经无水硫酸钠干燥后过滤，滤液减压浓缩得到残余物，加入甲基叔丁基醚（10 mL）打浆纯化得到化合物**11c**（2.00 g），收率：47%。

MS-ESI计算值 [M+Na]⁺=703，实测值为703。

第三步

氮气保护下，将**11c**（1.27 g，1.87 mmol），**1d**（430 mg，0.95 mmol）溶于无水N,N-二甲基甲酰胺（12 mL）中，混合体系降温至0℃后加入三滴三乙胺，保持0℃搅拌15分钟后加入1-羟基苯并三唑（299 mg，2.21 mmol），吡啶（2.15 g，27.18 mmol），加料完全后，混合体系保持0℃搅拌15 min后恢复至室温搅拌反应2小时。反应液加水（20 mL）和乙酸乙酯（30 mL），分液，水相经乙酸乙酯（30 mL x 2）萃取，合并有机相，有机相经无水硫酸钠干燥后过滤，滤液减压浓缩得到残余物，残余物经硅胶柱层析（甲醇：二氯甲烷= 0-100%）纯化得到化合物**11d**（550 mg），收率：58%。

MS-ESI计算值 [M+H]⁺=993，实测值为993。

第四步

将**11d**（500 mg，0.50 mmol）溶于1,4-二氧六环（5 mL），加入哌啶（5 mL），混合体系室温下搅拌反应2小时。向反应液中滴加石油醚（5 mL），大量固体析出，过滤，收集滤饼干燥得到**11e**（386 mg）收率：94%。

MS-ESI计算值 [M+H]⁺=771，实测值为771。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.76 (s, 1H), 7.66 (d, *J* = 10.4 Hz, 1H), 7.60 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.43 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 5.91 (d, *J* = 16.4 Hz, 1H), 5.49 (d, *J* = 16.4 Hz, 1H), 5.29 (q, *J* = 4.8 Hz, 1H), 5.20-5.02 (m, 2H), 4.50-4.39 (m, 1H), 3.30-3.14 (m, 1H), 3.14-3.02 (m, 1H), 2.99 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 2.31 (s, 3H), 2.30-2.21 (m, 1H), 2.13-1.98 (m, 1H), 1.98-1.80 (m, 3H), 1.30 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H), 0.88 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 0.84 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H), 0.78 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H).

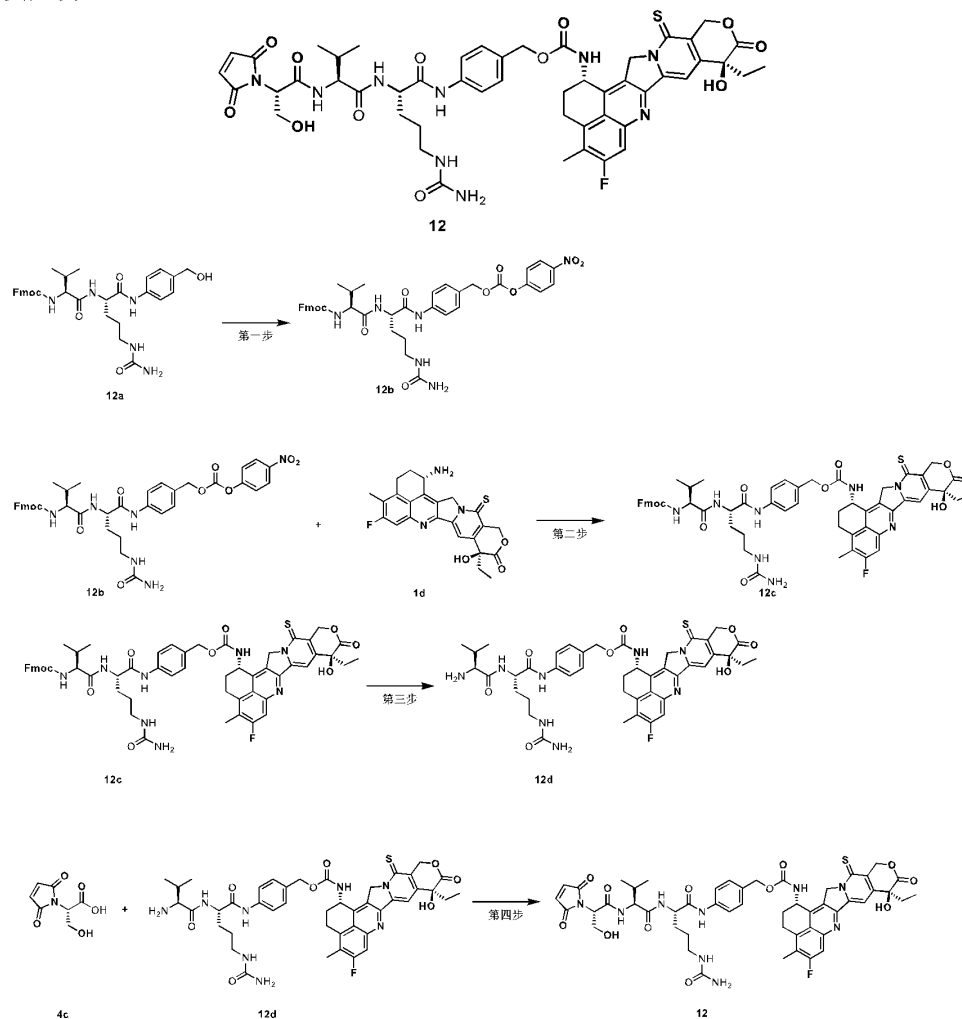
第五步

将11e (150 mg, 0.20 mmol) 溶于无水N,N-二甲基甲酰胺 (2 mL), 再加入2,4,6-三甲基吡啶 (71 mg, 0.59 mmol), 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (111 mg, 0.29 mmol), 保持0°C下搅拌5分钟后加入4c (67 mg, 0.23 mmol), 加料完全后, 混合体系保持0°C搅拌反应1小时。反应液加水 (5 mL) 和乙酸乙酯 (10 mL), 分液, 水相经乙酸乙酯 (10 mL x 2) 萃取, 合并有机相, 有机相经无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液减压浓缩得到残余物, 残余物经制备HPLC纯化得到化合物11 (38 mg), 收率: 21%。

MS-ESI计算值 [M+H]⁺=938, 实测值为938。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.56-8.00 (m, 3H), 7.78 (s, 1H), 7.72 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H), 7.59 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.42 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.02 (s, 2H), 5.92 (d, *J* = 16.4 Hz, 1H), 5.65-5.42 (m, 2H), 5.42-5.26 (m, 2H), 5.23-4.97 (m, 2H), 4.68-4.51 (m, 1H), 4.41-4.27 (m, 1H), 4.23-4.11 (m, 1H), 4.04-3.94 (m, 1H), 3.92-3.77 (m, 1H), 3.31-3.18 (m, 1H), 3.16-2.92 (m, 1H), 2.35 (s, 3H), 2.30-2.20 (m, 1H), 2.15-2.02 (m, 1H), 2.03-1.91 (m, 1H), 1.92-1.82 (m, 2H), 1.31-1.26 (m, 3H), 0.86 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H), 0.83-0.78 (m, 3H), 0.77 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H)。

实施例1.10



第一步

将**12a** (4.00 g, 6.65 mmol), 双(4-硝基苯基)碳酸酯 (10.08 g, 33.14 mmol) 溶于无水N,N-二甲基甲酰胺 (80 mL) 中, 加入N,N-二异丙基乙胺 (2.40 g, 18.57 mmol), 加料完全后, 混合体系室温下搅拌反应2小时。向反应液中依次逐滴滴加乙酸乙酯 (120 mL), 石油醚 (240 mL), 滴加完毕, 混合体系室温下搅拌10分钟后过滤, 收集滤饼干燥得到化合物**12b** (3.30 g), 收率: 65%。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+ = 767$, 实测值为767。

第二步

氮气保护下, 将**12b** (675 mg, 0.88 mmol), **1d** (270 mg, 0.60 mmol) 溶于无水N,N-二甲基甲酰胺 (5 mL) 中, 混合体系降温至0°C后, 加入三滴三乙胺, 搅拌15 min后加入1-羟基苯并三唑 (189 mg, 1.40 mmol) 和吡啶 (1.36 g, 17.19 mmol), 混合体系保持0°C搅拌15分钟恢复至室温继续搅拌反应2小时。反应液加水 (20 mL) 和乙酸乙酯 (30 mL), 分液, 水相经乙酸乙酯 (30 mL x 2) 萃取, 合并有机相, 有机相经无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液减压浓缩得到残余物, 残余物经硅胶柱层析 (甲醇: 二氯甲烷 = 0-100%) 纯化得到化合物**12c** (350 mg), 收率: 54%。

MS-ESI计算值 $[M+Na]^+ = 1101$, 实测值为1101。

第三步

将**12c** (570 mg, 0.53 mmol) 溶于无水四氢呋喃 (10 mL) 中, 加入哌啶 (450 mg, 5.28 mmol), 混合体系室温下搅拌反应3小时。反应液加入甲基叔丁基醚 (15 mL), 析出固体, 搅拌30分钟, 过滤, 滤饼干燥得到化合物**12d** (400 mg), 收率: 88%。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+ = 857$, 实测值为857。

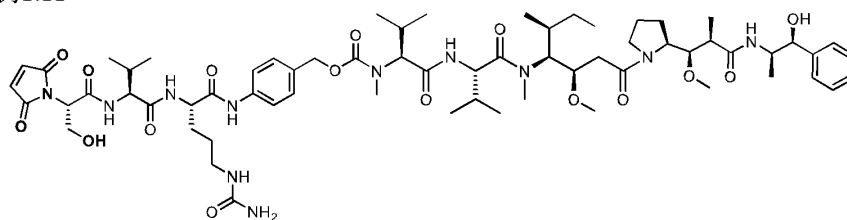
第四步

将**12d** (210 mg, 0.25 mmol) 溶于无水N,N-二甲基甲酰胺 (3 mL), 再加入2,4,6-三甲基吡啶 (89 mg, 0.73 mmol) 和2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (140 mg, 0.37 mmol), 保持0°C搅拌反应5分钟后加入**4c** (71 mg, 0.25 mmol), 加料完全后, 混合体系保持0°C搅拌反应1小时。反应液加水 (5 mL) 和乙酸乙酯 (10 mL), 分液, 水相经乙酸乙酯 (10 mL x 2) 萃取, 合并有机相, 有机相经无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液减压浓缩得到残余物, 残余物经制备HPLC纯化得到化合物**12** (30 mg), 收率: 12%。

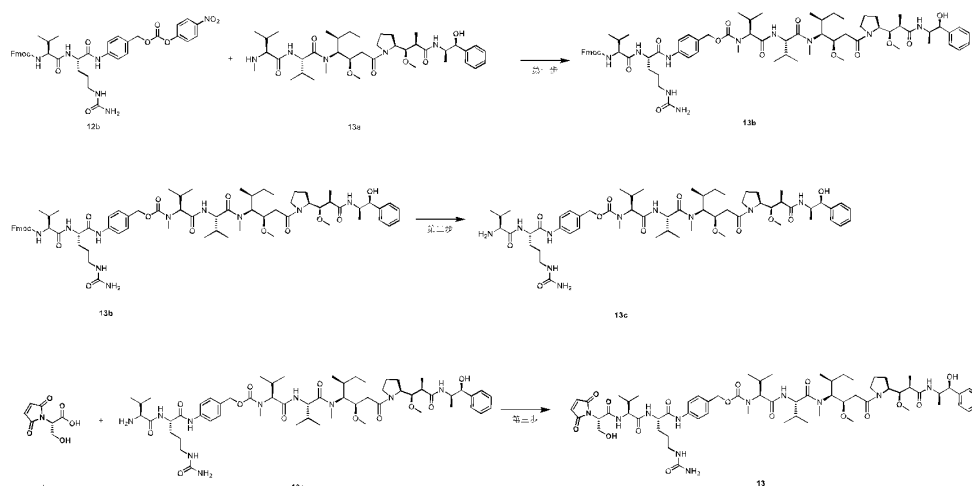
MS-ESI计算值 $[M+H]^+ = 1024$, 实测值为1024。

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7.79 (s, 1H), 7.75 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H), 7.59 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.42 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.02 (s, 2H), 5.92 (d, $J = 17.0$ Hz, 1H), 5.57 (d, $J = 20.0$ Hz, 1H), 5.51 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H), 5.37 (d, $J = 19.5$ Hz, 1H), 5.33-5.28 (m, 1H), 5.16 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H), 5.08 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H), 4.60-4.54 (m, 1H), 4.37-4.30 (m, 1H), 4.20-4.14 (m, 1H), 4.00-3.93 (m, 1H), 3.88-3.81 (m, 1H), 3.30-3.21 (m, 1H), 3.15-3.06 (m, 1H), 3.05-2.89 (m, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.31-2.23 (m, 1H), 2.14-2.03 (m, 1H), 2.02-1.93 (m, 1H), 1.92-1.82 (m, 2H), 1.74-1.64 (m, 1H), 1.64-1.53 (m, 1H), 1.48-1.31 (m, 2H), 0.89-0.80 (m, 6H), 0.76 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H)。

实施例1.11



13



第一步

将**12b** (427 mg, 0.56 mmol), **13a** (270 mg, 0.38 mmol) 溶于无水N,N-二甲基甲酰胺 (15 mL) 中, 再加入1-羟基苯并三唑 (51 mg, 0.38 mmol), 吡啶 (744 mg, 9.41 mmol), 混合体系室温下搅拌反应12小时。反应体系加水 (20 mL) 和乙酸乙酯 (30 mL), 分液, 水相经乙酸乙酯 (30 mL x 2) 萃取, 合并有机相, 有机相经无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液减压浓缩得到残余物, 残余物经硅胶柱层析 (甲醇: 二氯甲烷= 0-100%) 纯化得到化合物**13b** (220 mg), 收率: 43%。

MS-ESI计算值 $[(1/2M)+H]^+ = 673$, 实测值为673。

第二步

将**13b** (200 mg, 0.15 mmol) 溶于无水四氢呋喃/无水N,N-二甲基甲酰胺混合溶剂 ($V_{\text{四氢呋喃}}: V_{\text{N,N-二甲基甲酰胺}} = 2: 1$, 5.4 mL) 中, 加入哌啶 (66 mg, 0.78 mmol), 混合体系室温下搅拌反应1小时。反应液直接经硅胶柱层析 (甲醇: 二氯甲烷= 0-100%) 纯化得到化合物**13c** (110 mg), 收率: 66%。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+ = 1123.7$, 实测值为1123.4。

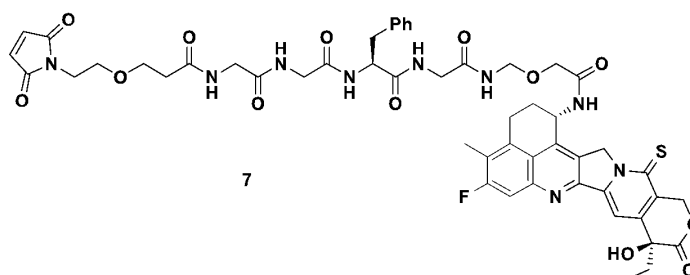
第三步

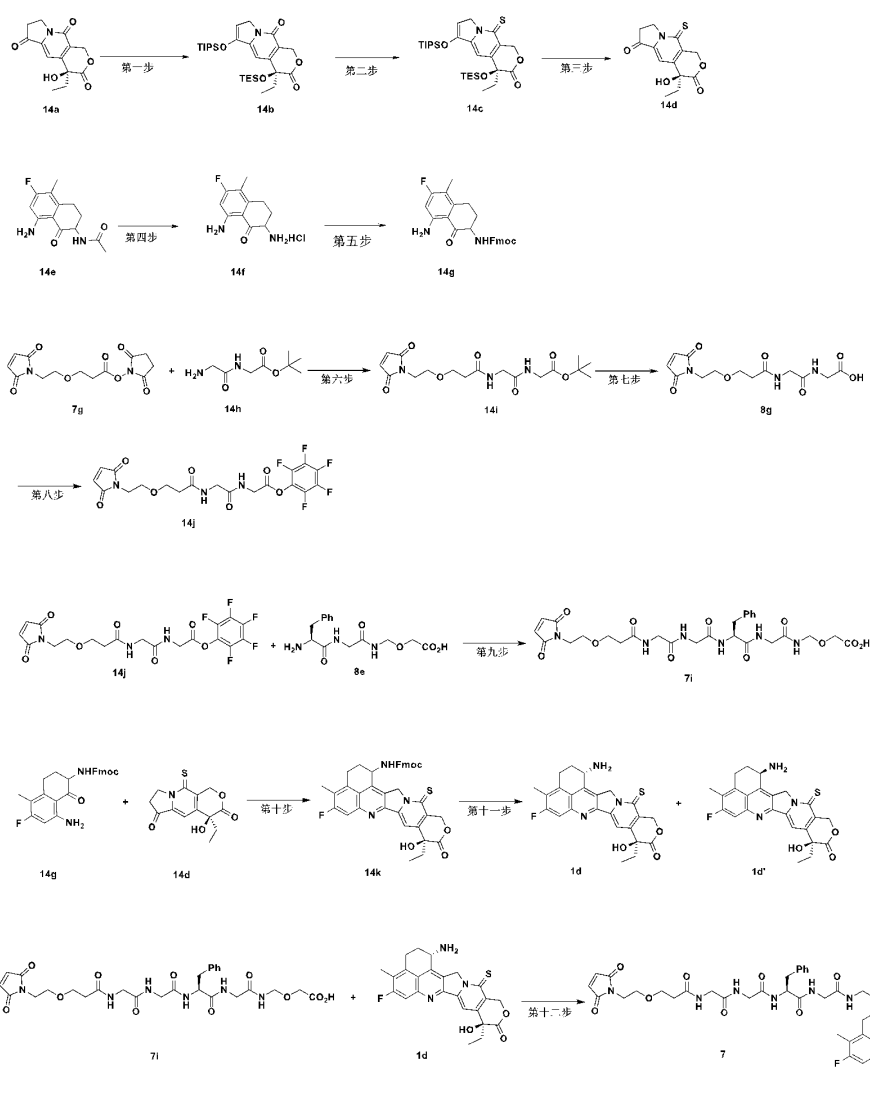
将**13c** (110 mg, 0.10 mmol) 溶于无水N,N-二甲基甲酰胺 (3 mL), 再加入2,4,6-三甲基吡啶 (25 mg, 0.21 mmol) 和2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (59 mg, 0.16 mmol), 混合体系保持0°C搅拌反应5分钟后加入**4c** (55 mg, 0.19 mmol), 加料完全后继续保持0°C搅拌反应1小时。反应液加水 (5 mL) 和乙酸乙酯 (10 mL), 分液, 水相经乙酸乙酯 (10 mL x 2) 萃取, 合并有机相, 有机相经无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液减压浓缩得到残余物, 残余物经制备HPLC纯化得到化合物**13** (54 mg), 收率: 43%。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+ = 1290.7$, 实测值为1290.4。

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.05 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.58-7.52 (m, 2H), 7.36-7.21 (m, 5H), 7.21-7.10 (m, 1H), 7.02 (s, 2H), 5.14-4.91 (m, 2H), 4.60-4.52 (m, 1H), 4.51-4.44 (m, 1H), 4.44-4.36 (m, 1H), 4.36-4.30 (m, 1H), 4.28-4.20 (m, 1H), 4.20-4.14 (m, 1H), 4.05-3.90 (m, 3H), 3.85 (dd, $J = 11.0$, 9.0 Hz, 1H), 3.59-3.51 (m, 1H), 3.25 - 3.20 (m, 3H), 3.21 - 3.15 (m, 3H), 3.10 (s, 1H), 3.07-2.90 (m, 3H), 2.88-2.80 (m, 2H), 2.43-2.34 (m, 1H), 2.30-2.20 (m, 1H), 2.16-1.88 (m, 4H), 1.85-1.63 (m, 4H), 1.62-1.22 (m, 6H), 1.06-0.96 (m, 6H), 0.89-0.86 (m, 2H), 0.85-0.80 (m, 10H), 0.80-0.70 (m, 12H)。

实施例1.12





第一步

5 氮气保护下, 将咪唑 (161.60 g, 2373.68 mmol) 溶于无水N,N-二甲基甲酰胺 (1.25 L) 中, 混合体系降温至0±5℃, 滴加三异丙基氯硅烷 (458.20 g, 2376.56 mmol), 混合体系保持0±5℃
10 搅拌反应30分钟, 向反应体系中滴加**14a** (250.00 g, 949.67 mmol) 的N,N-二甲基甲酰胺 (1250 mL) 溶液, 滴加完毕后, 混合体系保持0±5℃搅拌反应18小时。加入咪唑 (129.30 g, 1899.24 mmol), 搅拌10分钟后, 滴加三乙基氯硅烷 (286.50 g, 1900.86 mmol), 滴加完毕后, 混合体系保持0±5℃
10 搅拌反应18小时。向反应体系滴加甲醇 (250 mL), 混合体系保持0℃搅拌1小时。恢复至室温, 反应液用水 (5000 mL) 稀释, 水相用甲基叔丁基醚 (5000 mL x 2) 萃取, 合并有机相。有机相
10 经氯化钠水溶液 (2500 mL x 2, 5%) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液减压浓缩得
10 到残余物, 残余物经硅胶柱层析 (正庚烷: 乙酸乙酯=0-100%) 纯化得到**14b** (479.10 g), 纯度:
99.95%, 含量: 93.5%, 折含量收率: 88%。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+ = 534$, 实测值为534。

15 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.70 (s, 1H), 6.14 (d, *J* = 16.4 Hz, 1H), 5.69-5.66 (m, 1H), 5.59 (d, *J* = 16.4 Hz, 1H), 5.16 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 4.53 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H), 1.87-1.75 (m, 2H), 1.37-1.23 (m, 3H), 1.13 (d, *J* = 7.6 Hz, 18H), 0.95-0.87 (m, 12H), 0.67 (q, *J* = 7.6 Hz, 6H).

第二步

氮气保护下将**14b** (450.0 g, 含量: 93.5%, 788.13 mmol) 溶于甲苯 (4.5 L), 加入碳酸钠 (25.10 g, 236.81 mmol), 劳森试剂 (382.50 g, 945.68 mmol), 混合体系升温至110℃搅拌反应3小时。反应体系降温至50-60℃, 向反应体系中滴加正庚烷 (4500 mL), 搅拌1小时后过滤, 滤饼用正庚烷 (900 mL) 淋洗, 合并有机相, 滤液减压浓缩得到残余物, 残余物经硅胶柱层析 (正庚烷: 乙酸乙酯=0-100%) 纯化得到化合物**14c** (517.0 g), 直接用于下一步。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+ = 550$, 实测值为550。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.20 (s, 1H), 6.14 (d, $J = 16.4$ Hz, 1H), 5.87 (t, $J = 2.0$ Hz, 1H), 5.26 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H), 4.82 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 1.90-1.75 (m, 2H), 1.41-1.27 (m, 3H), 1.18-1.11 (m, 18H), 0.97-0.85 (m, 12H), 0.77-0.66 (m, 6H)。

第三步

氮气保护下, 将上一步粗品**14c** (517.0 g) 溶于无水四氢呋喃 (4.5 L) 中, 室温下加入氢氟酸 (295.50 g, 48 wt. %, 7092.00 mmol), 加料完全后, 室温搅拌反应36小时。反应液加水 (4500 mL) 稀释, 水相经乙酸乙酯 (4500 mL x 2) 萃取, 合并有机相。有机相经饱和食盐水 (2250 mL x 2) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液减压浓缩得到残余物, 残余物经硅胶柱层析 (二氯甲烷: 乙酸乙酯=0-100%) 纯化后得到粗品, 粗品中加入甲基叔丁基醚 (2250 mL) 打浆1小时, 过滤得到化合物**14d** (194.60 g), 含量: 94%, 两步收率: 83%。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+ = 280$, 实测值为280。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 6.63 (s, 1H), 5.82 (d, $J = 17.2$ Hz, 1H), 5.41 (d, $J = 17.2$ Hz, 1H), 4.45-4.30 (m, 2H), 2.99-2.92 (m, 2H), 1.80 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H), 0.78 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H)。

第四步

氮气保护下, 将水 (8.0 L) 和 $\text{HCl}_{(\text{aq})}$ (8.0 L, 6N) 加入反应釜 (50 L) 中, 再加入**14e** (800.00 g, 3196.55 mmol), 混合体系升温至 $100 \pm 5^\circ\text{C}$ 搅拌反应4小时。反应体系降温至 30°C , 向反应体系中缓慢滴加氨水 (3500 mL, 25%~28%) 调节pH至4~5 (滴加过程中, 控制反应体系温度 $< 40^\circ\text{C}$)。滴加完毕后, 混合体系搅拌30分钟, 过滤, 滤饼用水 (2500 mL x 1) 淋洗。滤饼经乙醇 (8 L) 室温下打浆1小时, 过滤, 滤饼用乙醇 (1000 mL x 1) 淋洗。收集滤饼, 滤饼在 $50 \pm 5^\circ\text{C}$ 下鼓风干燥得**14f** (709.00 g), 收率: 91%。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+ = 209$, 实测值为209。

第五步

将四氢呋喃 (10200 mL), 水 (10200 mL) 和**14f** (680.00 g, 2779.03 mmol) 加入反应釜 (50 L), 混合体系降温至 $0 \sim 10^\circ\text{C}$ 后加入碳酸钾 (653.00 g, 4724.69 mmol), 再缓慢滴加氯甲酸-9-苄基甲酯 (733.31 g, 2834.60 mmol) 的四氢呋喃 (3400 mL) 溶液 (滴加过程中控制反应液温度在 $0 \sim 10^\circ\text{C}$), 混合体系保持 $0 \sim 10^\circ\text{C}$ 搅拌反应1小时。反应液用2-甲基四氢呋喃 (10200 mL x 2) 萃取, 有机相再依次用水 (10200 mL x 1), 饱和食盐水 (10000 mL x 1) 洗涤。有机相经无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液减压浓缩得到残余物。向残余物中加入甲基叔丁基醚 (6800 mL), 室温下搅拌4小时, 过滤, 滤饼用甲基叔丁基醚 (680 mL x 1) 淋洗, 收集滤饼, 滤饼在 $50 \pm 5^\circ\text{C}$ 下鼓风干燥得**14g** (1090.00 g), 收率: 91%。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+ = 431$, 实测值为431。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7.90 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 7.80-7.73 (m, 2H), 7.53-7.28 (m, 6H), 6.39 (d, $J = 12.8$ Hz, 1H), 4.40-4.15 (m, 4H), 3.03-2.75 (m, 2H), 2.20-2.07 (m, 1H), 2.04-1.87 (m, 1H), 1.98 (s, 3H)。

第六步

氮气保护下, 将**7g** (150.00 g, 483.47 mmol) 加入三口瓶 (3 L) 中, 再加入乙酸乙酯 (1200 mL), 滴加**14h** (111.20 g, 含量: 90%, 531.69 mmol) 的乙酸乙酯 (300 mL) 溶液, 加料完全后, 混合体系保持室温搅拌反应2-6小时。向反应体系中加入饱和食盐水 (450 mL), 室温下搅拌10分钟后, 分液, 保留有机相。有机相经饱和食盐水 (450 mL x 1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液减压浓缩得到残余物, 残余物经硅胶柱层析 (乙酸乙酯: 石油醚=0-100%) 纯化得到化合物**14i** (134.00 g), 收率: 73%。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+ = 384$, 实测值为384。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.13-8.05 (m, 2H), 7.01 (s, 2H), 3.71 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H), 3.70 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H), 3.61-3.52 (m, 4H), 3.50-3.44 (m, 2H), 2.33 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 1.40 (s, 9H)。

第七步

氮气保护下, 将**14i** (184.30 g, 480.70 mmol) 加入三口瓶 (3 L) 中, 再加入甲苯 (1.84 L), 滴加三氟乙酸 (823.27 g, 7220.21 mmol), 加料完全后, 混合体系保持室温搅拌反应4.5小时。反应液减压浓缩得到残余物, 向残余物中加入甲苯 (600 mL), 继续减压浓缩, 连续操作三次, 直至固体析出。向固体中加入乙酸乙酯 (1.7 L), 打浆2小时后过滤得到化合物**8g** (150.20 g), 收率: 96%。

MS-ESI计算值 $[M-H]^- = 326$, 实测值为326。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.12-8.05 (m, 2H), 7.01 (s, 2H), 3.75 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H), 3.70 (d, $J = 5.6$ Hz, 2H), 3.60-3.52 (m, 4H), 3.50-3.44 (m, 2H), 2.33 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H)。

第八步

氮气保护下, 将**8g** (20.00 g, 61.11 mmol) 溶于二氯甲烷 (200 mL) 中, 降温至 $0\pm 5^\circ\text{C}$ 后, 加入五氟苯酚 (16.90 g, 91.82 mmol), 搅拌反应10分钟, 加入1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (17.60 g, 91.82 mmol), 混合体系保持 $0\pm 5^\circ\text{C}$ 搅拌反应4-16小时。反应液加水 (200 mL) 稀释, 搅拌10分钟, 分液, 有机相经饱和食盐水 (100 mL $\times$ 1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液减压浓缩得到残余物, 残余物经硅胶柱层析 (丙酮: 二氯甲烷 = 0-100%) 纯化得粗品, 向粗品中加入甲基叔丁基醚 (150 mL), 室温搅拌1小时, 过滤, 滤饼于 35°C 下干燥, 得到化合物**14j** (23.00 g), 收率: 76%。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+ = 494$, 实测值为494。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.12 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 6.96 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H), 6.70 (s, 1H), 4.42 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H), 4.03 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 3.72 (t, $J = 5.2$ Hz, 2H), 3.69 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 3.59 (t, $J = 5.2$ Hz, 2H), 2.49 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H)。

第九步

氮气保护下, 将**8e** (7.50 g, 24.25 mmol) 溶于四氢呋喃 (400 mL) 中, 室温搅拌1小时, 再加入**14j** (10.00 g, 20.27 mmol), 加料完全后, 混合体系保持室温下搅拌反应16小时。向反应液中加入乙酸乙酯 (400 mL), 搅拌1小时, 过滤, 干燥滤饼, 滤饼经二氯甲烷/甲醇 (v:v=20:1, 100 mL) 混合溶剂溶解, 混合溶液经硅胶柱层析 (甲醇: 二氯甲烷 = 0-100%) 纯化得到粗品 (14.51 g), 粗品经甲醇 (30 mL) 溶解, 向甲醇溶液中滴加乙酸乙酯 (450 mL), 保持室温下搅拌24小时, 过滤, 干燥滤饼得到化合物**7i** (10.20 g), 收率: 81%。

MS-ESI计算值 $[M+Na]^+ = 641$, 实测值为641。

第十步

氮气保护下, 依次将甲苯 (3200 mL), 乙酸 (3200 mL), **14d** (320.00 g, 1145.68 mmol), **14g** (592.00 g, 1375.21 mmol) 和对甲苯磺酸吡啶盐 (144.00 g, 573.02 mmol) 加入到反应瓶 (10L) 中, 混合体系加热至 110°C 搅拌反应24小时。反应液冷却至 $30\pm 10^\circ\text{C}$, 转移至萃取釜 (80 L) 中, 依次加入2-甲基四氢呋喃 (6400 mL) 和水 (6400 mL), 搅拌10-20分钟, 分液, 保留上层有机相。有机相依次经水 (4800 mL $\times$ 3) 和饱和氯化钠水溶液 (4800 mL $\times$ 1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液经减压浓缩 ($50\pm 5^\circ\text{C}$) 至基本无液滴滴出, 残余物用甲基叔丁基醚带蒸两遍 (640 mL $\times$ 2), 所得粗品1加入甲基叔丁基醚 (3200 mL) 打浆2~2.5小时, 过滤, 滤饼经甲叔醚淋洗 (640 mL $\times$ 2) 两次, 收集滤饼, 干燥得到粗品2。将粗品2溶于N,N-二甲基甲酰胺 (6400 mL), 滴加甲基叔丁基醚 (25600 mL), 滴加完毕后保持 $20\sim 30^\circ\text{C}$ 下搅拌析晶16~18小时, 过滤, 滤饼再用甲基叔丁基醚 (3200 mL) 打浆2~2.5小时后过滤, 滤饼经甲基叔丁基醚淋洗两遍 (640 mL $\times$ 2), 收集滤饼, 滤饼鼓风干燥 ($50\pm 5^\circ\text{C}$) 得**14k** (490g), 收率: 63%。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+ = 674$, 实测值为674。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.16-8.06 (m, 1H), 7.85 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 7.82-7.74 (m, 2H), 7.74-7.64 (m, 2H), 7.42-7.33 (m, 2H), 7.33-7.23 (m, 2H), 6.76-6.64 (m, 2H), 5.97-5.81 (m, 1H), 5.58-5.40 (m, 2H), 5.38-5.20 (m, 2H), 4.68-4.52 (m, 1H), 4.34 (s, 2H), 3.28-3.14 (m, 1H), 3.12-2.96 (m, 1H), 2.32 (s, 3H), 2.28-2.18 (m, 1H), 2.18-2.04 (m, 1H), 2.00-1.82 (m, 2H), 0.94-0.82 (m, 3H)。

第十一步

氮气下, 将四氢呋喃 (19200 mL), **14k** (480 g, 712.42 mmol) 依次加入到反应釜中, 混合体系降温至 $0\sim 5^\circ\text{C}$, 向反应瓶中缓慢滴加哌啶 (546 g, 6412.21 mmol), (滴加时控温 $0\sim 5^\circ\text{C}$), 滴毕, 反应体系保持 $0\sim 5^\circ\text{C}$ 搅拌反应22-24小时。向反应釜中缓慢滴加盐酸水溶液 (1440 mL, 6 N)

(滴加时控温0~10°C), 混合体系继续搅拌10-15分钟, 减压浓缩得到残余物, 残余物经水(9600 mL)打浆2-2.5小时, 过滤, 滤饼经乙腈(480 mL x 2)淋洗, 收集滤饼, 滤饼经干燥后送制备分离纯化(制备仪器: 汉邦工业级制备型液相色谱仪, 规格型号: DAC150, 制备柱填料: Welch Ultimate XB-C18, 150*250 mm, 10 μ m), 制备液使用5%氨水调节pH至7~8, 搅拌30~35分钟后过滤, 滤饼用水(1000 mL x 1)淋洗, 收集滤饼, 滤饼鼓风干燥(60°C) 24 $\pm$ 2小时得**1d**(97g), 收率: 30%。

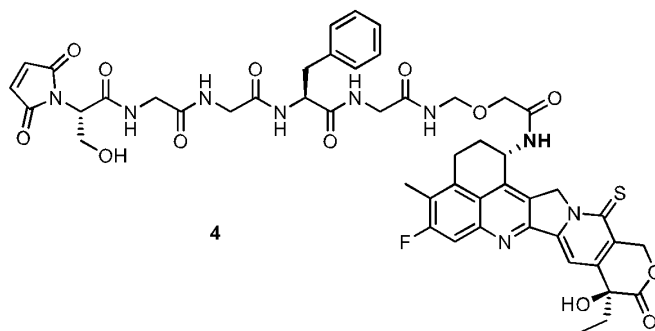
MS-ESI计算值 $[M+H]^+ = 452$, 实测值为452。

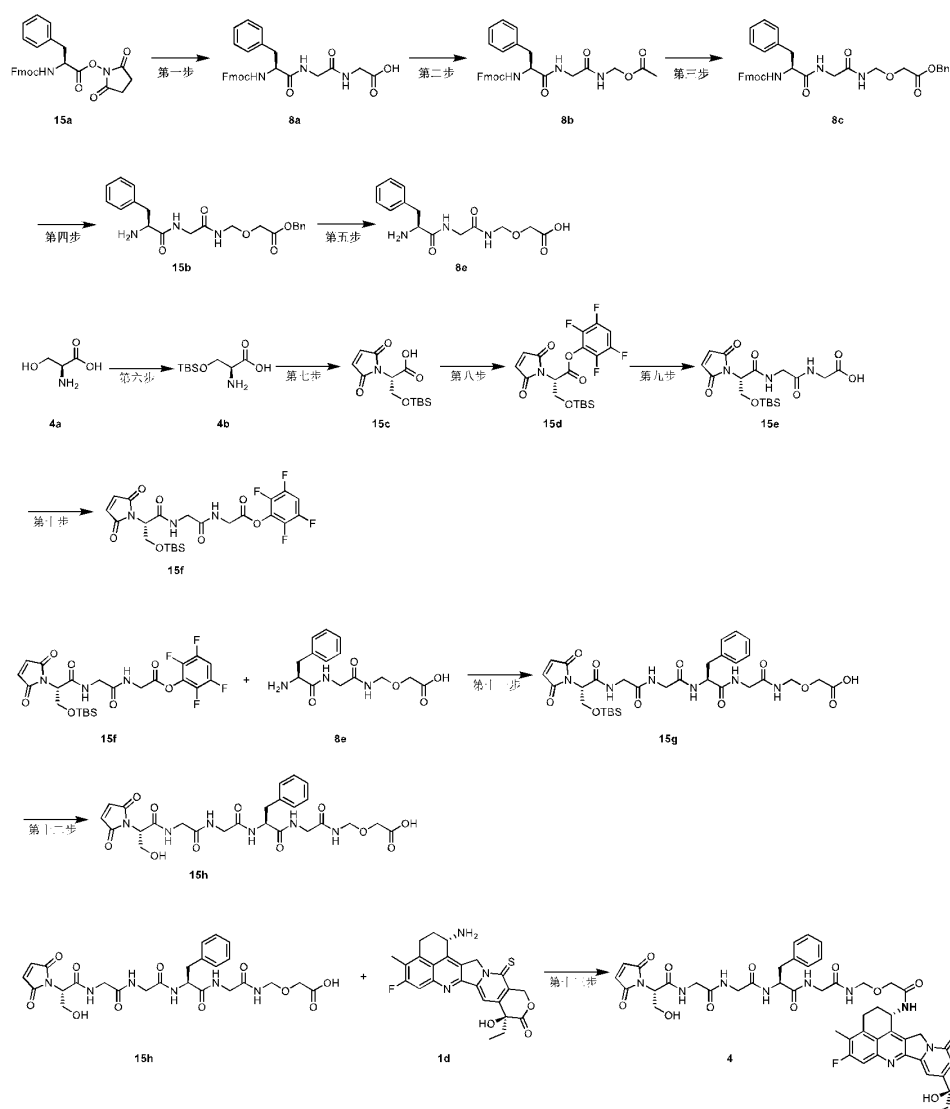
第十二步

10 氮气保护下, 将N,N-二甲基甲酰胺(1200 mL)加入到反应瓶中, 将**1d**(60.00 g, 132.89 mmol)和三氟乙酸(15.20 g, 133.31 mmol)加入到反应瓶中, 混合体系降温至0~10°C, 搅拌十分钟后加入**7i**(115.10 g, 186.07 mmol)、1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(51.00 g, 266.04 mmol)和2,4,6-三甲基吡啶(16.10 g, 132.86 mmol), 反应体系在0~10°C搅拌反应1小时。向反应瓶中滴加盐酸水溶液(1200 mL, 0.05 N), 继续滴加水(1800 mL), 搅拌10~20分钟, 过滤, 滤饼经水(300 mL x 2)洗涤, 收集滤饼, 滤饼经二氯甲烷/甲醇(V/V=30/1, 1800 mL)溶解, 溶液经无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液经硅胶柱层析纯化(甲醇: 二氯甲烷=0-100%)得粗品。粗品使用甲基叔丁基醚(600 mL)打浆1~1.5小时, 过滤, 滤饼经甲基叔丁基醚(300 mL x 2)淋洗, 收集滤饼用旋转蒸发仪抽干5 $\pm$ 1小时得化合物**7**(90.0g), 收率: 64%。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+ = 1052$, 实测值为1052。

实施例1.13





第一步

氮气保护下, 将**15a** (438.00 g, 904.0 mmol) 溶解于乙二醇二甲醚 (4380 mL) 中, 加入水 (2630 mL), 反应体系温度降至 0-5°C, 依次加入双甘肽 (238.87 g, 1808.0 mmol) 和碳酸氢钠 (151.87 g, 1808.0 mmol), 加料完全后, 反应体系温度升至 20-25°C 搅拌反应 1 小时。反应液降至 -5-0°C, 加入稀盐酸 (0.5M, 4380 mL), 搅拌 10 分钟, 水相依次经 2-甲基四氢呋喃 (8760 mL x 1) 和 2-甲基四氢呋喃 (4380 mL x 1) 萃取, 合并上述有机相。有机相经饱和食盐水 (4380 mL x 1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液旋干得到粗品, 粗品用丙酮 (8760 mL) 打浆 16 小时后过滤, 滤饼经干燥后得到**8a** (375.00g), 收率: 83%。

第二步

将**8a** (375.00 g, 747.69 mmol) 溶解于 N,N-二甲基甲酰胺 (4000 mL) 中, 向反应瓶内依次加入四乙酸铅 (730.11 g, 1646.70 mmol)、乙酸铜 (135.95 g, 748.50 mmol) 和乙酸 (98.80 g, 1646.70 mol), 混合体系升温至 45-50°C 搅拌反应 0.5 小时。将反应液加入到 2-甲基四氢呋喃 (7500 mL) 和水 (7500 mL) 中, 分液, 水相经 2-甲基四氢呋喃 (3750 mL x 1) 萃取, 合并上述有机相, 有机相依次经饱和碳酸氢钠水溶液 (3750 mL x 1)、水 (3750 mL x 1) 和饱和食盐水 (3750 mL x 1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得到粗品, 粗品经甲基叔丁基醚 (3750 mL) 打浆

16小时后过滤，滤饼经鼓风干燥16小时后得到**8b**（345.00 g），收率：89%。

MS-ESI计算值 $[M-CH_3COO]^+ = 456$ ，实测值为456。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.67 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H), 8.34 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 7.87 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.71-7.58 (m, 3H), 7.50-7.10 (m, 9H), 5.18-5.04 (m, 2H), 4.40-4.00 (m, 4H), 3.78 (d, *J* = 5.6 Hz, 2H), 3.83-3.69 (m, 2H), 3.05 (dd, *J* = 13.6, 4.0 Hz, 1H), 2.80 (dd, *J* = 13.2, 10.8 Hz, 1H), 1.98 (s, 3H).

第三步

10 氮气保护下，将**8b**（345.00 g，669.17 mmol）溶于四氢呋喃（3450 mL）中，反应体系冷却至0~5℃，向反应体系依次加入乙醇酸苄酯（244.47 g，1472.17 mmol）和对甲苯磺酸（17.20 g，100.37 mmol），加毕，反应体系升温至20~25℃搅拌反应1小时。向反应体系中加入乙酸乙酯（3450 mL）和水（3450 mL），分液，水相经乙酸乙酯（3450 mL x 1）萃取，合并上述有机相，有机相依次经水（3450 mL x 1）和食盐水（3450 mL x 1）洗涤，经无水硫酸钠干燥后过滤，滤液浓缩得粗品，粗品经硅胶柱层析（乙酸乙酯：石油醚=0-100%）纯化得到**8c**（178.00 g），收率：42%。

15 MS-ESI计算值 $[M+Na]^+ = 644$ ，实测值为644。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.63 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H), 8.35 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 7.87 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.71-7.60 (m, 3H), 7.45-7.13 (m, 14H), 5.13 (s, 2H), 4.67-4.61 (m, 2H), 4.32-4.24 (m, 1H), 4.22-4.09 (m, 5H), 3.83-3.69 (m, 2H), 3.06 (dd, *J* = 13.6, 4.0 Hz, 1H), 2.80 (dd, *J* = 13.6, 10.4 Hz, 1H).

20 第四步

氮气保护下，将**8c**（102.00 g，164.07 mmol）溶解于二氯甲烷（1020 mL）中，反应体系降温至-5~0℃，加入1,8-二偶氮杂双螺环[5.4.0]十一-7-烯（24.97 g，164.07 mmol），加料完全后，混合体系在0~5℃搅拌反应1小时。反应液直接经硅胶柱层析（二氯甲烷：异丙醇=0-100%）纯化得**15b**（43.50 g），收率：66%。

25 MS-ESI计算值 $[M+H]^+ = 400$ ，实测值为400。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.64 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H), 8.26-8.14 (m, 1H), 7.45-7.15 (m, 10H), 5.15 (s, 2H), 4.64 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 4.15 (s, 2H), 3.81-3.65 (m, 2H), 3.44 (dd, *J* = 8.4, 4.4 Hz, 1H), 2.98 (dd, *J* = 13.6, 4.8 Hz, 1H), 2.59 (dd, *J* = 13.6, 8.8 Hz, 1H).

30 第五步

35 氮气保护下，将**15b**（43.00 g，107.65 mmol）溶解于四氢呋喃（430 mL）和水（430 mL）混合溶剂中，反应体系降温至0~10℃，加入湿Pd/C（6.50 g），氢气置换三次，0~10℃保持氢气氛围下搅拌反应24小时。反应液过滤，滤饼依次经四氢呋喃（43 mL）和水（43 mL）洗涤，滤液减压浓缩除去四氢呋喃，残余水相经2-甲基四氢呋喃（430 mL x 2）洗涤后冻干得**8e**（31.50 g），收率：95%。

MS-ESI计算值 $[M-H]^- = 308$ ，实测值为308。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.07 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 7.33-7.26 (m, 2H), 7.25-7.18 (m, 3H), 4.68-4.56 (m, 2H), 3.92-3.71 (m, 4H), 3.52 (dd, *J* = 16.4, 4.0 Hz, 1H), 3.01 (dd, *J* = 13.6, 6.4 Hz, 1H), 2.79 (dd, *J* = 13.2, 7.6 Hz, 1H).

40

第六步

45 依次将**4a**（1000.00 g，9515.65 mmol）、乙腈（10.00 L）加入到反应瓶（20 L）中，向反应瓶中加入叔丁基二甲基氯硅烷（1505.92 g，9991.42 mmol），反应体系降温至0~10℃后缓慢加入1,8-二偶氮杂双螺环[5.4.0]十一-7-烯（1376.18 g，9039.84 mmol），加料完全后，反应体系恢复至室温继续搅拌反应40小时。将反应液直接过滤，所得滤饼经甲醇（18.00 L）溶解，过滤，滤液中加入乙腈（54.00 L），搅拌2小时析出固体，过滤收集滤饼干燥得**4b**（1481.60 g），收率：71%。

MS-ESI计算值 $[M-H]^- = 218$ ，实测值为218。

第七步

50 将**4b**（500.00 g，2279.36 mmol）和四氢呋喃（3.75 L）加入到反应瓶中，反应体系降温至0~5℃，加入N-甲氧基羰基顺丁烯二酰亚胺（395.00 g，含量：85%，2164.59 mmol），加料完全后恢复至室温搅拌反应16小时。将反应液再次降温至0~5℃，加入10%碳酸氢钠水溶液（3.75 L）（加料过程控温<20℃），加毕，反应体系升温至30℃搅拌反应88小时。将反应液降温至0~5℃，滴加5%柠檬酸水溶液调节pH至5~6，加入乙酸乙酯（3.75 L），搅拌分液，水相经乙酸乙酯（1.50

L) 萃取。合并有机相, 有机相依次经水 (3.75 L x 1) 和饱和食盐水 (3.75 L x 1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液减压浓缩得残余物, 残余物经硅胶柱层析 (乙酸乙酯: 石油醚=0-100%) 纯化得 **15c** (350.00 g), 含量: 88%, 收率: 45%。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+ = 300$, 实测值为300。

5 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 13.35 (br s, 1H), 7.14 (s, 2H), 4.69-4.81 (m, 1H), 4.13-3.97 (m, 2H), 0.77 (m, 9H), 0.00 (s, 3H), -0.06 (s, 3H)。

第八步

10 将二氯甲烷 (1260 mL) 和 **15c** (210.00 g, 701.40 mmol) 加入到反应瓶中, 反应体系冷却至 0-5°C, 依次加入N,N'-二环己基碳二亚胺 (159.30 g, 772.56 mmol) 的二氯甲烷 (420 mL) 溶液和四氟苯酚 (122.46 g, 737.40 mmol) 的二氯甲烷 (420 mL) 溶液, 反应体系保持 0-5°C 搅拌反应 1 小时。将反应液过滤, 滤饼经二氯甲烷 (1050 mL) 洗涤, 滤液旋干得残余物, 向残余物中加入甲基叔丁基醚 (2100 mL), 搅拌10分钟后过滤, 滤饼经甲基叔丁基醚 (630 mL) 淋洗, 滤液浓缩得残余物, 残余物中加入正己烷 (2100 mL) 打浆30分钟后过滤, 滤饼经正己烷 (630 mL) 洗

15 涤, 过滤, 干燥得到 **15d** (246.78 g), 收率: 79%。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+ = 448$, 实测值为448。

^1H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.48-7.36 (m, 1H), 6.98 (s, 2H), 5.30 (dd, $J = 9.2, 6.0$ Hz, 1H), 4.34-4.23 (m, 2H), 0.84 (s, 9H), 0.07 (s, 3H), 0.02 (s, 3H)。

20 第九步

将水 (1470 mL) 和双甘肽 (79.58 g, 602.91 mmol) 加入到反应瓶中, 开启搅拌, 再加入乙二醇二甲醚 (2450 mL), 反应体系降温至 5-10°C, 向反应体系中加入 **15d** (245.00 g, 547.53 mmol) 和碳酸氢钠 (92.09 g, 1096.18 mmol), 混合体系搅拌反应40小时。反应液经甲基叔丁基醚 (2450 mL x 2) 洗涤, 水相加入2-甲基四氢呋喃 (7350 mL), 加入预先冷却的柠檬酸水溶液 (3920 mL, 2.5%) 调节pH至 5-6 (滴加时控制温度在 0°C 左右), 分液, 水相经2-甲基四氢呋喃 (2450 mL x 1) 萃取, 合并有机相, 有机相依次经水 (7350 mL x 4) 和饱和氯化钠水溶液 (3680 mL x 1) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液减压浓缩得到残余物, 残余物经乙酸乙酯 (2450 mL) 打浆10分钟后过滤, 滤饼经乙酸乙酯 (735 mL) 洗涤, 所得滤液再次减压浓缩得到残余物, 残余物经乙酸乙酯 (1230 mL) 溶解, 滴加正己烷 (6125 mL) 析出固体, 搅拌16小时后过滤, 滤饼经正己烷 (735 mL) 淋洗, 干燥, 得到 **15e** (115.40 g), 收率: 51%。

30 MS-ESI计算值 $[M+H]^+ = 414$, 实测值为414。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.41 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H), 8.05 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H), 7.11 (s, 2H), 4.73 (dd, $J = 10.4, 5.2$ Hz, 1H), 4.11 (dd, $J = 10.4, 5.6$ Hz, 1H), 4.00 (t, $J = 10.4$ Hz, 1H), 3.83-3.73 (m, 3H), 3.57 (dd, $J = 16.8, 5.6$ Hz, 1H), 0.76 (s, 9H), -0.01 (s, 3H), -0.07 (s, 3H)。

35 第十步

将二氯甲烷 (1150 mL) 和 **15e** (115.00 g, 278.11 mmol) 加入到反应瓶中, 将反应体系温度降至 -40~-30°C, 依次加入N,N'-二环己基碳二亚胺 (86.10 g, 417.29 mmol) 的二氯甲烷 (155 mL) 溶液和四氟苯酚 (46.24 g, 278.44 mmol) 的二氯甲烷 (155 mL) 溶液, 保持 -40~-30°C 下搅拌反应5小时。反应液加水 (2300 mL) 淬灭, 反应液过滤除去不溶物, 滤液搅拌后分液, 水相经二氯甲烷 (1150 mL) 萃取, 合并有机相, 有机相经饱和食盐水 (1730 mL x 1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液减压浓缩得残余物, 残余物经乙酸乙酯 (1150 mL) 打浆30分钟后过滤, 滤饼经乙酸乙酯 (345 mL) 漂洗, 收集滤液浓缩, 残余物经 (甲基叔丁基醚: 正己烷=2: 13, 1730 mL) 打浆3小时后过滤, 滤饼经正己烷 (345 mL) 淋洗, 收集滤饼干燥得到 **15f** (146.80 g), 收率:

45 94%。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+ = 562$, 实测值为562。

^1H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.70-7.61 (m, 1H), 7.14-7.06 (m, 1H), 7.06-6.96 (m, 1H), 6.75 (s, 2H), 4.72 (dd, $J = 8.4, 6.4$ Hz, 1H), 4.50-4.35 (m, 2 H), 4.35-4.24 (m, 1H), 4.16-3.94 (m, 2H), 3.87 (dd, $J = 10.4, 6.4$ Hz, 1H), 0.87 (s, 9H), 0.085 (s, 3H), 0.078 (s, 3H)。

50 第十一步

将乙腈 (2628 mL), 水 (876 mL) 和 **15f** (146.00 g, 260.00 mmol) 加入到反应瓶中, 反应体系降温至 -5-0°C, 加入 **8e** (96.60 g, 312.30 mmol) 和N,N-二异丙基乙胺 (33.70 g, 260.65 mmol), 反应体系保持 -5-0°C 下搅拌反应18小时。向反应液中加入甲基叔丁基醚 (2920 mL) 和水 (1460

mL), 搅拌后分液, 有机相经水 (1460 mL x 1) 萃取, 合并水相, 水相用甲基叔丁基醚 (2190 mL x 3) 洗涤, 收集水相, 加入磷酸体系缓冲溶液 (2190 mL, 配样比例: 6.51g 磷酸二氢钠和 0.30 g 磷酸氢二钠溶解到 100.0 mL 水中), 搅拌 10~20 分钟, 混合溶液经 2-甲基四氢呋喃 (2190 mL x 3) 萃取, 合并有机相, 有机相经饱和食盐水 (2190 mL x 2) 洗涤, 经无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液减压浓缩得残余物经 HPLC 制备分离 (制备仪器: 汉邦工业级制备型液相色谱仪, 规格型号: DAC150, 制备柱填料: 月旭 Xtimate C18), 向制备液中加入约一半制备液体积的混合溶剂 (乙酸乙酯: 2-甲基四氢呋喃=1:1), 搅拌分液, 水相再用约一半制备液体积的乙酸乙酯萃取, 合并两次有机相, 有机相用约一半制备液体积的去离子水洗涤 3 次, 减压浓缩, 残余物经冻干得到 **15g** (83.54 g), 收率: 46%。

MS-ESI 计算值 $[M+Na]^+ = 727$, 实测值为 727。

第十二步

依次将乙腈 (664 mL)、H₂O (996 mL) 和 **15g** (83.00 g, 117.8 mmol) 加入到反应瓶中, 反应体系降温至 5~10°C, 加入甲酸 (65.11 g, 1414.5 mmol), 反应体系保持 5~10°C 下搅拌反应 40 小时。向反应液中加入甲基叔丁基醚 (830 mL), 分液, 有机相经水 (420 mL x 2) 萃取, 合并水相, 水相经冻干得粗品, 粗品中加入二氯甲烷 (1660 mL), 减压浓缩, 重复此操作 5 次 (除去残留甲酸) 后加水 (830 mL) 溶解, 水溶液再次冻干得到 **15h** (65.30 g), 收率: 94%。

MS-ESI 计算值 $[M+H]^+ = 591$, 实测值为 591。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.54 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H), 8.37-8.28 (m, 1H), 8.12 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 8.02 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H), 7.29-7.15 (m, 5H), 7.05 (s, 2H), 4.65-4.57 (m, 3H), 4.55-4.45 (m, 1H), 4.02-3.94 (m, 3H), 3.92-3.82 (m, 1H), 3.80-3.68 (m, 4H), 3.65-3.57 (m, 2H), 3.04 (dd, *J* = 13.6, 4.4 Hz, 1H), 2.78 (dd, *J* = 14.0, 10.0 Hz, 1H)。

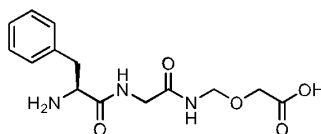
第十三步

氮气保护下, 将 **1d** (120.00 g, 265.77 mmol) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (2400 mL) 溶液加入到反应釜中, 混合体系降温至 -10~-5°C, 向反应釜中加入 **15h** (157.20 g, 266.19 mmol) 和 2-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸酯 (151.20 g, 397.64 mmol), 向反应釜中缓慢滴入 2,4,6-三甲基吡啶 (64.80 g, 534.74 mmol) (滴加期间温度保持在 -10~-5°C), 滴毕, 反应体系在 -10~-5°C 搅拌反应 4 小时。向反应釜中缓慢滴加 2% 柠檬酸水溶液 (7200 mL), 滴加完毕后继续搅拌 10~15 分钟后过滤, 滤饼经水 (1200 mL x 3) 洗涤, 干燥, 所得粗品化合物经反相色谱制备 (制备仪器: 汉邦工业级制备型液相色谱仪, 规格型号: DAC150, 制备柱填料: Kromasil 100-10-C18(W)), 制备液分批处理 (每 25.0 ± 5.0 kg 作为一个批次)。将每一批次制备液转移至 50L 反应釜中, 开启搅拌, 缓慢加入乙腈使溶液澄清, 然后加入乙酸乙酯 (10000 mL), 搅拌 5~10 分钟, 静置 5~10 分钟, 分层。有机相经水 (10000 mL x 3) 洗, 合并水相经乙酸乙酯 (10000 mL) 反萃, 合并上述两次有机相再经水 (10000 mL x 2) 洗, 有机相经旋转蒸发器浓缩至无液体滴出, 将旋转蒸发瓶中的物料转移至 10L 布氏漏斗中抽滤, 滤饼抽滤至无液体滴出后, 依次使用蒸馏水 (1200 mL x 2) 淋洗旋转蒸发瓶, 淋洗滤饼, 抽滤至滤饼无液体滴出。合并上述多批次湿品, 将湿品加入水 (2400 mL), 0~10°C 下搅拌 2~3 小时后过滤, 滤饼经水 (480 mL) 淋洗, 收集滤饼经真空烘箱 (30~35°C) 干燥 40 小时得到化合物 **4** (152.00 g), 收率: 56%。

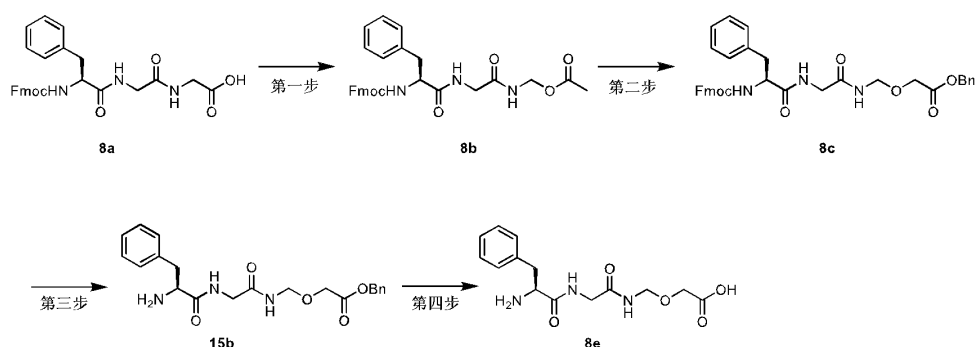
MS-ESI 计算值 $[M+H]^+ = 1024$, 实测值为 1024。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.70-8.62 (m, 1H), 8.56 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 8.35-8.24 (m, 2H), 8.09 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.04-7.95 (m, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.69 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.28-7.13 (m, 5H), 7.05 (s, 2H), 6.69 (s, 1H), 5.90 (d, *J* = 16.4 Hz, 1H), 5.72-5.62 (m, 1H), 5.48 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 5.42 (d, *J* = 20.0 Hz, 1H), 5.17 (d, *J* = 19.6 Hz, 1H), 5.06 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 4.68 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 4.60 (dd, *J* = 9.6, 6.0 Hz, 1H), 4.52-4.43 (m, 1H), 4.18-4.04 (m, 2H), 4.01-3.92 (m, 1H), 3.90-3.81 (m, 1H), 3.79-3.68 (m, 4H), 3.65-3.55 (m, 2H), 3.28-3.07 (m, 2H), 3.01 (dd, *J* = 13.6, 4.0 Hz, 1H), 2.73 (dd, *J* = 13.6, 9.6 Hz, 1H), 2.35 (s, 3H), 2.28-2.12 (m, 2H), 1.88 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 0.85 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H)。

实施例 1.14



8e



第一步

将**8a** (200.00 g, 399.12 mmol) 溶解于N,N-二甲基甲酰胺 (600 mL) 中, 待用。向反应瓶内依次加入N,N-二甲基甲酰胺 (400 mL)、乙酸 (119.80 g, 1996.67 mmol) 和四乙酸铅 (260.00 g, 598.66 mmol), 将上述**8a**的N,N-二甲基甲酰胺溶液缓慢滴入至反应瓶内, 滴加完全后, 混合体系升温至40℃搅拌反应4小时。向反应液中加入二氯甲烷 (4000 mL) 和水 (4000 mL), 搅拌30分钟, 过滤除去不溶物, 滤液分液, 水相经二氯甲烷 (1000 mL x 1) 萃取, 合并上述有机相, 有机相经水 (2000 mL x 3) 洗涤, 经减压浓缩得到粗品, 粗品经甲基叔丁基醚 (1000 mL) 打浆1小时后过滤, 收集滤饼干燥后得到**8b** (179.63 g), 收率: 87%。

MS-ESI计算值 $[M-CH_3COO]^+ = 456$, 实测值为456。

第二步

氮气保护下, 将**8b** (300.00 g, 582.29 mmol)、四氢呋喃 (1200 mL) 加入反应瓶中, 反应体系冷却至0-5℃后加入乙醇酸苄酯 (106.39 g, 640.50 mmol) (残余乙醇酸苄酯用300 mL四氢呋喃冲洗后加入反应瓶内), 随后滴加氢氧化锂 (16.70 g, 698.74 mmol) 的水 (300 mL) 溶液, 滴加完毕后, 反应体系保持0-5℃搅拌反应2小时。向反应体系中加入水 (3000 mL) 和二氯甲烷 (3000 mL) 稀释, 搅拌后分液, 有机相经食盐水 (4000 mL x 1) 洗, 有机相经减压浓缩至约450 g, 所得粗品溶液经硅胶柱层析 (乙酸乙酯: 石油醚=0-100%) 纯化得到**8c** (269.20 g), 收率: 74%。

MS-ESI计算值 $[M+Na]^+ = 644$, 实测值为644。

第三步

氮气保护下, 将**8c** (264.00 g, 424.98 mmol) 溶解于二氯甲烷 (26440 mL) 中, 反应体系降温至-5~0℃, 加入1,8-二偶氮杂双螺环[5.4.0]十一-7-烯 (64.60 g, 424.72 mmol), 加料完全后, 混合体系在0-5℃搅拌反应2小时。反应液直接经硅胶柱层析 (二氯甲烷: 异丙醇=0-100%) 纯化得**15b** (111.00 g), 收率: 66%。

MS-ESI计算值 $[M+H]^+ = 400$, 实测值为400。

第四步

依次将**15b** (108.00 g, 270.60 mmol) 和水 (2160 mL) 加入反应瓶中, 加入湿Pd/C (10.80 g), 氢气置换三次, 保持氢气氛围下搅拌反应3小时。反应液过滤除去不溶物, 水相直接冻干得**8e** (82.16 g), 收率: 98%。

MS-ESI计算值 $[M-H]^- = 308$, 实测值为308。

实施例2

抗体-药物偶联物制备方法

使用抗IGF-1R抗体序列进行制备, 所述的抗体具有如下所示的CDR区(Kabat定义):

CDR1: SFVMA (SEQ ID No. 1)

CDR2: AISGSGSRARYADSVKG (SEQ ID No. 2)

CDR3: NPRRATPDLTQYAY (SEQ ID No. 3)

重链可变区:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSFVMAWFRQAPGKGLEFVSAISGSGSRARYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAANPRRATPDLTQYAYWGQGTLVTVSS (SEQ ID No. 4)

全长序列如下:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSFYMAWFRQAPGKGLFVSAISGSGSRARYA
DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAANPRRATPDLTQYAYWGQGLVTVSSE
PKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD
5 GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID No. 5)

将抗体透析至50 mM PB缓冲液中，得到抗体中间体。取适量抗体中间体，依次加入 10 mM
三（2-羧乙基）膦盐酸盐（TCEP）母液、10 mM二乙烯三胺五乙酸（DTPA）母液，并补加50 mM
PB缓冲液，使反应体系抗体终浓度为20 mg/mL，TCEP与抗体摩尔比为4，DTPA终浓度为1 mM。
10 充分混匀后置于恒温混匀仪中，还原反应温度25±2℃，转速400rpm，还原反应2小时。还原结束
后，在冰水浴中依次向各反应体系中添加适量5 mM连接子-药物（linker-payload）母液，连接子
-药物与抗体摩尔比为4.5，补加DMSO至偶联反应DMSO终体积为20%。充分混匀后，置于恒温混
匀仪中，偶联反应温度25±2℃，转速400rpm，偶联反应1小时。偶联结束后，将ADC样品采用超
滤离心管透析至透析液（10 mM His/His-HCl, pH6.0±0.2）中，得到ADC原液，分装后-80℃保存。

15 分别采用高效排阻液相色谱（SEC-HPLC）和高效液相疏水色谱（HIC-HPLC）检测ADC的分
子大小变异体纯度及平均药物抗体偶联比（DAR, Drug-to-antibody ratio），主要参数如表1及表2
所示。制备得到的ADC的纯度和药物抗体偶联比结果如表3所示，检测结果表明，制备得到的ADC
均具有较高纯度，且药物抗体偶联比分布均一。

表1. 高效排阻液相色谱（SEC-HPLC）主要参数

色谱柱	TSKgel G3000SWxl column (5 μm) 7.8 mm*30 cm
流动相A	25 mM磷酸钠，0.3 M氯化钠，5%异丙醇(v/v)，pH 7.0

表2. 高效液相疏水色谱（HIC-HPLC）主要参数

色谱柱	TSKgel Butyl-NPR column (2.5 μm) 4.6 mm*35 mm
流动相A	20 mM磷酸钠，1.5M 硫酸铵，pH 7.0
流动相B	20 mM磷酸钠，25%异丙醇(v/v)，pH 7.0

表3. 抗体药物偶联物的纯度、平均药物抗体偶联比及DAR4百分比

ID	纯度（SEC）	平均药物抗体偶联比	DAR4 (%)
ADC-1（实施例1.1化 合物偶联产物）	99.4%	3.9	97.7%
ADC-2（实施例1.2化 合物偶联产物）	99.1%	3.8	94.3%
ADC-3（实施例1.3化 合物偶联产物）	97.6%	4.0	99.5%
ADC-4（实施例1.4化 合物偶联产物）	98.7%	3.9	95.0%
ADC-7（实施例1.7化 合物偶联产物）	99.4%	3.9	97.7%

实施例3
ADC血浆稳定性研究

25 参考本申请的实施例1方法得到本申请的连接子-药物（linker-payload），并参考本申请的实
施例2的方法得到本申请的抗体-药物偶联物（ADC）。

将适量待测ADC原液加入8 mL抗凝人血浆中，使血浆中ADC浓度为200 μg/mL，置于生化培
养箱中37℃孵育0h、24h、72h或168h后收取样品，经蛋白A层析纯化。取纯化后的ADC样品进行
超滤离心浓缩，离心结束后加入5M三（2-羧乙基）膦盐酸盐（TCEP）母液5 μL及适量超纯水至
30 总样品体积200 μL左右，置于56℃干式恒温仪中40 min后取出，再次进行超滤离心（12000rpm, 15
min），离心结束后加入100 μL的超纯水混匀后，进行RP-MS分析。质谱设置为positive模式，流
动相为A：0.1%甲酸水，B：0.1%甲酸乙腈，柱温为40℃，流速为0.4 mL/min。

根据分子量大小，分析偶联不同数目小分子药物质量数，根据各峰面积百分比和偶联药物个

数计算平均偶联率（Drug-to-antibody ratio, DAR），并通过不同孵育时间后的DAR值变化，研究ADC的血浆稳定性，检测结果如表4所示。其中平均偶联率值计算公式为：

$$DAR = \frac{0 \times DAR0\% + 1 \times DAR1\% + 2 \times DAR2\%}{DAR0\% + DAR1\% + DAR2\%} \times 2$$

实验结果表明，本申请制备得到的ADC均表现良好的血浆稳定性。

5 表4. 抗体药物偶联物在人血浆中孵育不同时间后DAR值变化

ID	DAR (0h)	DAR (24h) /降低百分数 (%)	DAR (72h) /降低百分数 (%)	DAR (168h) /降低百分数 (%)
ADC-1	4.0	3.52 / 12.0%	3.54 / 11.5%	3.58 / 10.5%
ADC-2	3.84	3.41 / 11.2%	3.49 / 9.1%	3.57 / 7.0%
ADC-3	4.0	3.97 / 0.7 %	3.86 / 3.5%	3.92 / 2.0%
ADC-4	4.0	4.0 / 0%	4.0 / 0%	4.0 / 0%

实施例4

人源肿瘤细胞体外增殖抑制检测

10 参考本申请的实施例1方法得到本申请的linker-payload，并参考本申请的实施例2的方法得到本申请的ADC。

收取对数生长长期的人源肿瘤细胞，消化后采用新鲜的完全培养液重悬并调整至合适浓度，加入96孔细胞培养板中，将细胞培养板放置于37℃、5% CO₂培养箱中培养过夜。次日，向细胞培养板的相应孔内加入不同浓度的待测ADC样品（最高终浓度1 μM、1: 4或1: 8梯度稀释）或者缓冲液对照，继续置于二氧化碳培养箱中培养168h后，将测试板平衡至室温，采用CellTiter Glo assay kit（Promega, G7558）、多功能酶标仪检测luminescence读值。按照以下公式计算细胞抑制率：抑制率（%）=（1-（RLU_{ADC} - RLU_{空白}）/（RLU_{缓冲液} - RLU_{空白}））×100%。利用Graphpad Prism软件绘制药效抑制率曲线并拟合EC₅₀值，各ADC在不同人源肿瘤细胞中的EC₅₀值如表5所示。

15 本申请制备得到的ADC表现优异的肿瘤细胞体外增殖抑制活性。

表5. ADC对人源肿瘤细胞体外增殖抑制活性

细胞系/ EC ₅₀ (nM)	ADC-1	ADC-2	ADC-3	ADC-4	ADC-7
人乳腺癌MCF-7	5.2	3.2	3.1	5.5	15.6
人乳腺癌T47D	3.5	1.8	2.3	2.7	8.3
人结肠直肠癌HCT-116	13.2	2.8	3.3	5.2	23.1
人胰腺癌BxPC-3	2.7	1.5	1.3	2.0	5.2

20

实施例5

体内抗肿瘤功效测定

25 参考本申请的实施例1方法得到本申请的linker-payload，并参考本申请的实施例2的方法得到本申请的ADC。

收取对数生长长期的人源肿瘤细胞，计数后调整至相应浓度，在冰上重悬于无血清培养基与Matrigel (Corning 356234) 1:1混合液中，接种至BALB/c裸鼠皮下，每只200 μL。待肿瘤生长至可测量范围后，采用游标卡尺测量各肿瘤的长径及短径，并按照下述公式计算肿瘤体积：V=(a×b²)/2，其中a代表肿瘤长径，b代表肿瘤短径。

30 待平均肿瘤体积达到100~200 mm³时，将动物按照肿瘤体积进行随机区组法分组。按照预定给药方案对荷瘤裸鼠经尾静脉注射溶剂对照（生理盐水）或者不同剂量的ADC（3 mg/kg或10 mg/kg）。每周测量2次肿瘤长、短径，并记录动物体重。统计各组肿瘤体积，并按照下述公式计算肿瘤生长抑制率TGI：TGI = 100%×[1-(TV_{IT}-TV_{0T})/(TV_{IC}-TV_{0C})]。其中(TV_{IT}代表给药组在测量当天的肿瘤体积，TV_{0T}代表给药组在分组时的肿瘤体积；TV_{IC}代表溶剂对照组在测量当天的肿瘤体积，TV_{0C}代表溶剂对照组在分组时的肿瘤体积。

35 本申请制备得到的ADC表现优异的体内抗肿瘤活性。

实施例6

大鼠体内药代动力学检测

取一只 6-8 周健康成年的 Sprague Dawley 大鼠，尾静脉推注 ADC 约 1 min ±10s，给 药体积为

5mL/kg, 给药浓度为 20mg/kg, 分别在给药结束后 0.083h、1h、2h、8h、24h、48h、72h、96h、120h、144h 和 168h 采集血液, 于 30-120 分钟之内离心分离血清。通过常规的 ELISA 方法检测血样中总抗体 (Tab) 和 ADC 的浓度。

5 总抗体的检测方法简述如下, 4°C 包被 Trop2-His 过夜, 浓度 0.75ug/mL, 37°C 5%的脱脂奶粉封闭 2h, 加入标曲和质控点孵育 2h, 标曲检测范围为 64ng/mL-0.5ng/mL, 64ng/mL 起始, 2 倍梯度稀释, 质控浓度点设置为 60ng/mL, 6ng/mL, 0.6ng/mL, 质控点回收率需要在 80%-120%之间, 随后加入 1:8000 稀释加入山羊中生产的抗人 κ 轻链过氧化物酶抗体, (厂家: sigma, 货号: A7164-1ML) 二抗, 孵育 1h, PBST 洗 8 遍后, 加入 TMB 显色, 0.1M 硫酸终止, OD450 酶标仪读板, 使用酶标检测仪分析软件 SoftMaxPro, 计算不同时间点血样浓度。

10 ADC 的检测方法简述如下, 4°C 包被 Trop2-His 过夜, 浓度 0.75ug/mL, 37°C 5%的脱脂奶粉封闭 2h, 加入标曲和质控点孵育 2h, 标曲检测范围为 64ng/mL-0.5ng/mL, 64ng/mL 起始, 2 倍梯度稀释, 质控浓度点设置为 60ng/mL, 6ng/mL, 0.6ng/mL, 质控点回收率需要在 80%-120%之间, 随后加入 1:8000 稀释加入山羊中生产的抗人 κ 轻链过氧化物酶抗体, (厂家: sigma, 货号: A7164-1ML) 二抗, 孵育 1h, PBST 洗 8 遍后, 加入 TMB 显色, 0.1M 硫酸终止, OD450 酶标仪读板, 使用酶标检测仪分析软件 SoftMaxPro, 计算不同时间点血样浓度。

15 使用 ELISA 绘制出血液中药物浓度变化曲线, ADC 浓度与总抗体浓度基本重合, 脱落极低, 在血液中很稳定。

实施例7

20 细胞增殖抑制实验

取对数生长期的 KPL-4 肿瘤细胞, 采用新鲜 RPMI1640 培养液重悬细胞, 计数并将细胞悬液调至 2×10^4 个/mL。将细胞悬液接种至 96 孔细胞培养板中, 100 μ L/孔, 置于二氧化碳培养箱 (37°C, 5% CO₂) 中培养过夜。第二天取出其中一块接种细胞的 96 孔板, 平衡至室温后向测试板各孔中加入预先平衡至室温并配制混匀的 CellTiter-Glo 试剂 (Promega, USA) 100 μ L, 避光孵育 30 分钟。25 分钟后在酶标仪中读取 luminescence 数值 (记为 G₀ 值); 取另一块平行板并在测试板的相应孔内加入不同浓度的待测化合物或者 DMSO (终浓度 0.5%), 于二氧化碳培养箱中培养 72h 后, 将测试板平衡至室温并采用 CellTiter-Glo 试剂检测细胞活性, 记为 G₃ 值。

根据以下公式计算细胞增殖率: 细胞增殖率 (%) = (待测化合物孔 G₃ 平均值 - G₀ 平均值) / (DMSO 对照孔 G₃ 平均值 - G₀ 平均值) * 100。采用 Graphpad Prism 软件拟合抑制曲线并计算 GI₅₀ 值。30 本申请制备得到的化合物表现优异的体内抗肿瘤活性。

实施例8

旁观杀伤活性实验

BxPC3 (人胰腺癌细胞, ATCC, CRL-1687) 和 MiaPaCa2 细胞 (人胰腺癌细胞, biocytogen, B-HCL-014) 分别用 RPMI1640 + 10%FBS 和 DMEM/高葡萄糖 + 10%FBS 培养, 细胞用胰酶消化, 新鲜培养基中和, 1000rpm 离心 3 分钟, 弃上清, 细胞用 RPMI1640 + 10%FBS 重悬。细胞计数后, 将 BxPC3 细胞密度调整为 6×10^4 个/mL, 将 MiaPaCa2-luc 细胞密度调整为 1.5×10^4 个/mL。12 孔板板 1 中每孔加入 500 μ L 的 BxPC3 细胞和 500 μ L 的 MiaPaCa2-luc 细胞。12 孔板板 2 中加入 500 μ L 的 MiaPaCa2-luc 细胞和 500 μ L 的含 10%FBS 血清的 RPMI1640 培养液。5%二氧化碳 37°C 培养 24 小时。

40 ADC 样品配制成 40x 浓度的中间溶液 (0.2 μ M)。各取 25 μ L 上述样品加入到 12 孔板相应孔中。设置溶剂对照组。5%二氧化碳 37°C 培养 6 天。12 孔板中的细胞用胰酶消化, 新鲜培养基中和, 1000rpm 离心 3 分钟, 弃上清, 用 1mL 的 FACS 缓冲液 (PBS + 2.5%FBS) 重悬, 取 20 μ L 的细胞加入 20 μ L 的台盼蓝, 计数。板 1 的细胞, 1000rpm 离心 3 分钟, 弃上清, 用 100 μ L 的 FACS Buffer 重悬, 加入 2 μ L 的单克隆抗体, 冰上孵育 30 分钟。4°C, 2000rpm 离心 1 分钟, 弃去上清, 加入 150 μ L FACS 缓冲液重悬细胞。用 BD 45 FACSVerse 检测。用 Flowjo 7.6 分析数据。

结果显示, 本公开中的 ADC 有明确的旁观杀伤效果, ADC 并不会杀伤靶点表达阴性的 MiaPaCa2 细胞, 但将靶点表达 BxPC3 细胞与阴性细胞 MiaPaCa2 混合后, ADC 对靶点表达阴性的细胞也有杀伤作用。

50 在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考, 就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解, 在阅读了本发明的上述讲授内容之后, 本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改, 这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

权 利 要 求 书

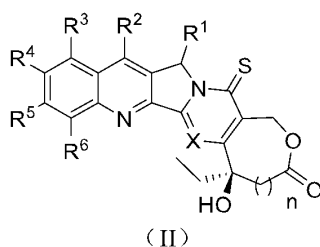
1、一种配体偶联物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体，或其可药用的盐或水合物，其中所述配体偶联物包含式 I 所示的结构：



其中，L为任选取代的连接体，其与P结构中的任意O原子、S原子或N原子相连；

Ab为配体，a为大于0的数，a是小数或整数；较佳地，所述的a为1-16(如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16)；更佳地，所述的a为2-8；

10 P为如下式(II)所述结构脱氢形成的基团：



其中，n为0或1；

X选自下组：N或CR⁰；

15 R⁰选自下组：H、D、卤素、C₁-C₈烷基、C₁-C₈烷氧基、OH、NH₂、N₃或NO₂；

R¹选自下组：氢原子、氘原子、卤素、C₁-C₈烷基、C₁-C₈烷氧基、C₁-C₈卤代烷基、C₁-C₈卤代烷氧基、N₃、NO₂、NH₂、NH-OH、-NR'¹、-COOR'¹、-CONR'¹、-NHR'¹NR'¹；其中R'¹、R''和R'''各自独立地选自氢，氘，烷基，芳基，芳基烷基，酰基，烷氧羰基，芳基氧羰基；

20 R²、R³、R⁴、R⁵和R⁶各自独立地选自下组：氢原子、氘原子、卤素、羟基、氰基、NH₂、NO₂、取代或未取代的C₁-C₈烷基、取代或未取代的C₁-C₈烷氧基、取代或未取代的C₁-C₈硫基、取代或未取代的C₁-C₈卤代烷基、-(CH₂)_m三(C₁-C₄烷基)硅基、-(CH₂)_m(C₃-C₈环烷基)、-(CH₂)_m(3-12元杂环基)、-(CH₂)_mN(R⁷)₂、-(CH₂)_mS(CH₂)_pR⁷、-(CH₂)_mS(O)(CH₂)_pR⁷、-(CH₂)_mS(O)₂(CH₂)_pR⁷、-(CH₂)_mNH(CH₂)_pR⁷、-(CH₂)_mNHC(O)(CH₂)_pR⁷、-(CH₂)_mOC(O)(CH₂)_pR⁷、-(CH₂)_mC(O)(CH₂)_pR⁷、-CH=N(OtBu)；其中，m和p各自独立地为0、1、2、3或4；

25 或者，R²和R³与其相连接的碳原子一起形成取代或未取代的C₅-C₈碳环或取代或未取代的5-12元杂环基；

30 或者，R³和R⁴，或R⁴和R⁵与其相连接的碳原子共同形成选自下组的结构：未取代或被一个或多个R^e取代的饱和或不饱和的5-12元碳环、未取代或被一个或多个R^e取代的饱和或不饱和的5-12元杂环；所述R^e为取代或未取代的选自下组的取代基：氢原子、氘原子、卤素、腈基、硝基、羟基、氨基、C₁-C₆烷基-NH-、(C₁-C₆烷基)₂N-、C₁-C₆烷基、C₂-C₆烯基、C₂-C₆炔基、C₁-C₆烷氧基、烯丙基、苄基、C₆-C₁₂芳基、C₁-C₆烷氧基-C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基-羰基、苯氧羰基、C₂-C₆炔基-羰基、C₂-C₆烯基-羰基、C₃-C₆环烷基-羰基、C₁-C₆烷基-磺酰基、苯基、5-7元杂芳基、C₃-C₈环烷基、3-12元杂环基、-(CH₂)_mN(R⁷)₂、-(CH₂)_mS(CH₂)_pR⁷、-(CH₂)_mS(O)(CH₂)_pR⁷、-(CH₂)_mS(O)₂(CH₂)_pR⁷、-(CH₂)_mNH(CH₂)_pR⁷、-(CH₂)_mNHC(O)(CH₂)_pR⁷、-(CH₂)_mOC(O)(CH₂)_pR⁷、-(CH₂)_mC(O)(CH₂)_pR⁷；其中，m和p各自独立地为0、1、2、3或4，优选为0、1或2；

35 R⁷选自下组：氢原子、氘原子、卤素、取代或未取代的C₁-C₈烷基、C₁-C₈卤代烷基、C₁-C₈卤代烷氧基、取代或未取代的C₁-C₈烷氧基、羟基、氨基、氰基、硝基、巯基、取代或未取代的C₁-C₈亚烷基-OH、取代或未取代的C₁-C₈亚烷基-NH₂、SO₂Me、-OC(O)(取代或未取代的C₁-C₄烷基)、-C(O)(取代或未取代的C₁-C₄烷基)、取代或未取代的苯基、取代或未取代的5-7元杂芳基、取代或未取代的C₃-C₈环烷基、取代或未取代的3-12元杂环基；

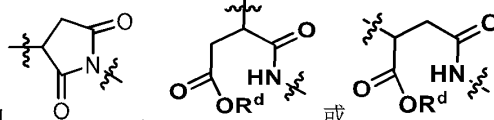
40 除非特别说明，所述的各个“取代”指基团上的一个或多个氢原子被选自下组的取代基所取代：氢原子、氘原子、卤素、腈基、硝基、羟基、氨基、C₁-C₆烷基-NH-、(C₁-C₆烷基)₂N-、C₁-C₆烷基、C₂-C₆烯基、C₂-C₆炔基、C₁-C₆烷氧基、卤代C₁-C₆烷基、卤代C₂-C₆烯基、卤代C₂-C₆炔基、卤代C₁-C₆烷氧基、烯丙基、苄基、C₆-C₁₂芳基、C₁-C₆烷氧基-C₁-C₆烷基、C₁-C₆烷氧基-羰基、苯氧羰基、C₂-C₆炔基-

羰基、C₂-C₆烯基-羰基、C₃-C₆环烷基-羰基、C₁-C₆烷基-磺酰基、苯基、5-7元杂芳基、C₃-C₈环烷基、3-12元杂环基。

2、如权利要求1所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于，所述L具有如下式所示的结构：

5

L₁-L₂-L₃-L₄-L₅;



其中，所述L₁为任选取代的基、或，R^d为H、C₁-C₆烷基、C₁-C₆氘代烷基、C₃-C₈环烷基或C₃-C₈氘代环烷基；

10 所述L₂为选自下组的基团：任选取代的-(CHR)_{m1}-X₁-(CH₂CH₂O)_{n3}-(CHR)_{m2}-C(O)-、任选取代的-(CHR)_{m1}-X₁-X₂-(CH₂CH₂O)_{n3}-(CHR)_{m2}-C(O)-、任选取代的-X₁-(CHROCHR)_{m2}-C(O)-、任选取代的-(CHR)_{p1}-C(O)-、任选取代的-(CHR)_{m1}-X₁-(CHR)_{m2}-C(O)-、任选取代的-(CHR)_{m1}-X₁-(CHR)_{n3}-X₂-(CHR)_{m2}-C(O)-、任选取代的-X₁-(CHR)_{m1}-X₂-(CHR)_{m2}-C(O)-、任选取代的-(CH₂CH₂O)_{n3}-C(O)-；

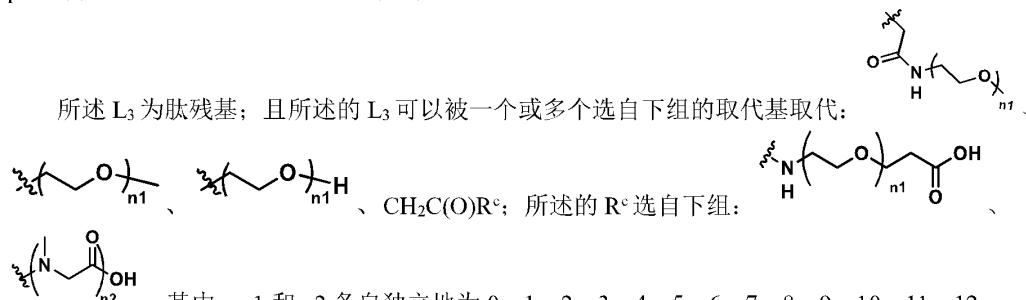
15 X₁和X₂各自独立地选自以下组：-O-、-C(O)-、-C(O)-NR-、任选取代的C₆-C₁₀芳基、任选取代的5-9元杂芳基、任选取代的3-8元杂脂环基和任选取代的C₃-C₆脂环基；

15 其中，所述的R各自独立地选自以下组：H、D、(CH₂)_{n4}OH、(CH₂)_{n4}NH₂、(CH₂O)_{n4}(CH₂CH₂O)_{n5}H、(CH₂O)_{n4}(CH₂CH₂O)_{n5}CH₃、(CH₂)_{n4}OCH₃、(CH₂CH₂O)_{n5}CH₃、CH₂C(O)NH(CH₂O)_{n4}(CH₂CH₂O)_{n5}H、CH₂C(O)NH(CH₂O)_{n4}(CH₂CH₂O)_{n5}CH₃；

其中，m₁、m₂、n₃、n₄和n₅各自独立地选自0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12；p₁选自0、1、2、3、4、5、6、7或8；

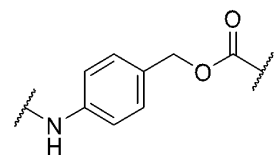
20

所述L₃为肽残基；且所述的L₃可以被一个或多个选自下组的取代基取代：



；其中，n₁和n₂各自独立地为0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12；

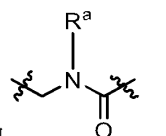
所述L₄为任选取代的-L_{4a}-(NR^b)_{n6}-R¹²-L_{4b}-，其中，L_{4a}不存在，或L_{4a}为任选取代的



；其中n₆为0或1；R¹²为化学键、CH₂、或CD₂；

25

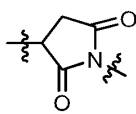
L_{4b}不存在，或L_{4b}为任选取代的基，其中，R^a和R^b各自独立地选自以下组：氢、任选取代的C₁-C₄烷基、和任选取代的C₁-C₄氘代烷基；

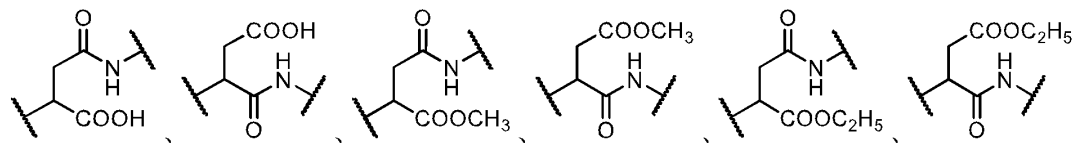


30

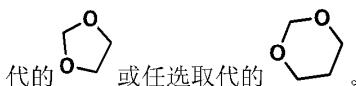
所述L₅不存在，或为任选取代的基，其中，Y选自下组：O、S或NH；v选自0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10；R¹⁰和R¹¹各自独立地选自以下组：氢、氘、任选取代的C₁-C₄烷基、任选取代的C₁-C₄卤代烷基、任选取代的C₃-C₆环烷基和任选取代的C₄-C₈环烷基基，或R¹⁰和R¹¹与其相连接的原子一起形成任选取代的3-6元环烷基，R¹⁰和R¹¹各自独立地选自下组：氢原子、氘原子、卤素、任选取代的C₁-C₈烷基、任选取代的C₁-C₈卤代烷基和任选取代的C₁-C₈氘代烷基。

3、如权利要求2所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映

异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于，所述的 L_1 为 、



4、如权利要求2所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于， X_1 和 X_2 各自独立地选自以下组：
-O-、-C(O)-、-C(O)-NR-、任选取代的苯基、任选取代的吡啶基、任选取代的 C_3 - C_6 环烷基、任选取



5、如权利要求2所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于，所述的 L_2 为选自下组的基团：任选取代的 $-(CH_2)_{m1}-X_1-(CH_2CH_2O)_{n3}-(CH_2)_{m2}-C(O)-$ ；其中， X_1 为 $-C(O)-NH-$ ；较佳地， $m1$ 和 $m2$ 各自独立地选自 1、2 或 3； $n3$ 选自 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12。

6、如权利要求2所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于，所述的 L_2 为选自下组的基团：任

选取代的 $-(CHR)_{m1}-X_1-X_2-(CH_2CH_2O)_{n3}-(CHR)_{m2}-C(O)-$ ；其中， X_1 为任选取代的 ，或任选取代的

； X_2 为 $-C(O)-NR-$ ；较佳地， $m1$ 和 $m2$ 各自独立地选自 0、1 或 2； $n3$ 选自 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12。

7、如权利要求2所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于，所述的 L_2 为选自下组的基团：任选取代的 $-X_1-(CHROCHR)_{m2}-C(O)-$ ；其中， X_1 为任选取代的芳基、任选取代的杂芳基；较佳地， $m2$ 选自 0、1、2 或 3。

8、如权利要求2所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于，所述的 L_2 为选自下组的基团：任选取代的 $(CHR)_{p1}-C(O)-$ ； $p1$ 选自 0、1 或 2； R 选自下组： H 、 $(CH_2)_{n4}OH$ 、 $(CH_2O)_{n4}(CH_2CH_2O)_{n5}H$ ；较佳地， $n4$ 和 $n5$ 各自独立地选自 0、1、2 或 3。

9、如权利要求2所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于，所述的 L_2 为选自下组的基团：任选取代的 $-(CH_2)_{m1}-X_1-(CH_2CH_2O)_{n3}-(CHR)_{m2}-C(O)-$ ；其中， X_1 为 $-C(O)-$ ；较佳地， $m1$ 和 $m2$ 各自独立地选自 0、1、2 或 3； $n3$ 选自 0、1 或 2。

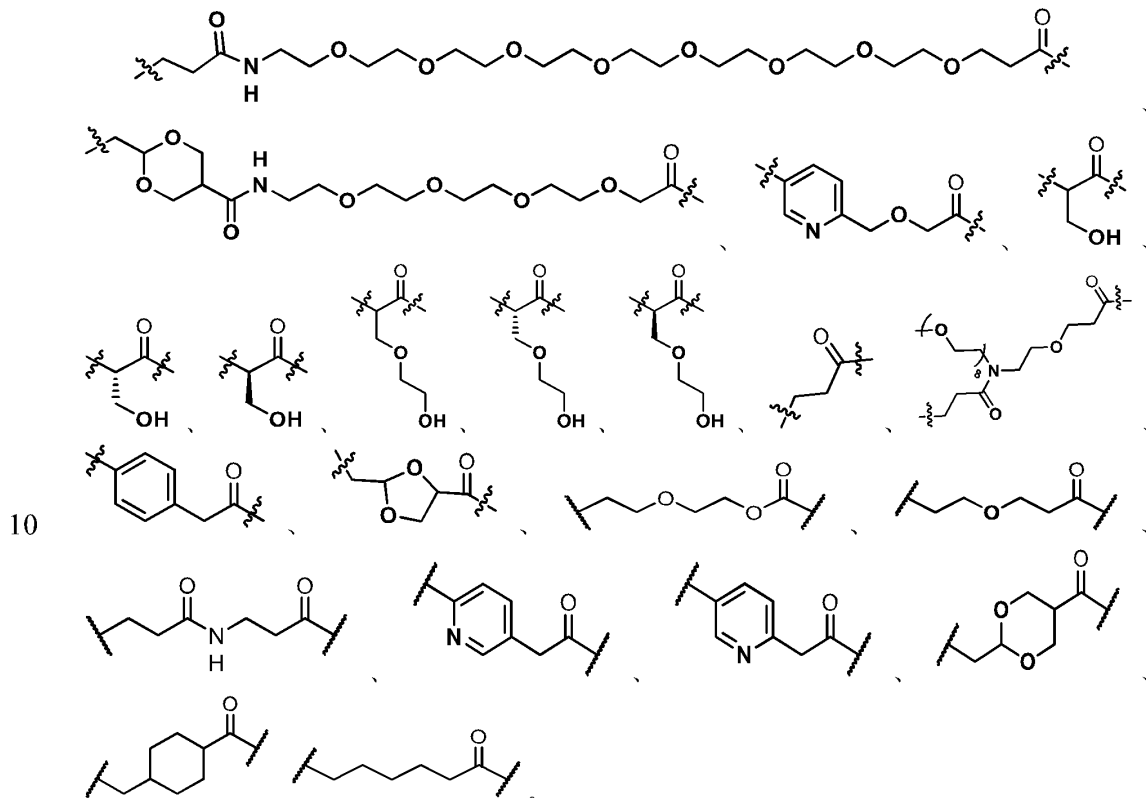
10、如权利要求2所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于，所述的 L_2 为选自下组的基团：任选取代的 $-X_1-(CH_2)_{m1}-X_2-(CHR)_{m2}-C(O)-$ ；其中， X_1 为任选取代的芳基或任选取代的杂芳基； X_2 为 $-C(O)-$ ；较佳地， $m1$ 、 $m2$ 各自独立地选自 0、1 或 2。

11、如权利要求2所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于，所述的 L_2 为选自下组的基团： $-(CHR)_{m1}-X_1-(CHR)_{m2}-C(O)-$ ；其中 X_1 为任选取代的 3-8 元杂脂环基或任选取代的 C_3 - C_6 脂环基；较佳地， $m1$ 为 0、1 或 2， $m2$ 为 0。

12、如权利要求2所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于，所述的 L_2 为选自下组的基团：任选取代的 $-(CHR)_{m1}-X_1-(CH_2CH_2O)_{n3}-(CHR)_{m2}-C(O)-$ ；其中， X_1 为 O ；较佳地， $m1$ 、 $n3$ 和 $m2$ 各自独立地为 0、1 或 2。

13、如权利要求2所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于，所述的 L_2 为选自下组的基团：任选取代的 $-(CHR)_{m1}-X_1-(CHR)_{n3}-X_2-(CHR)_{m2}-C(O)-$ ；其中 X_1 任选取代的 $-C(O)-NR-$ ， X_2 为 O；较佳地， $m1$ ， $n3$ 和 $m2$ 各自独立地为 1、2 或 3；R 如权利要求2中所述。

14、如权利要求2中所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，所述 L_2 为任选取代的选自下组的结构：



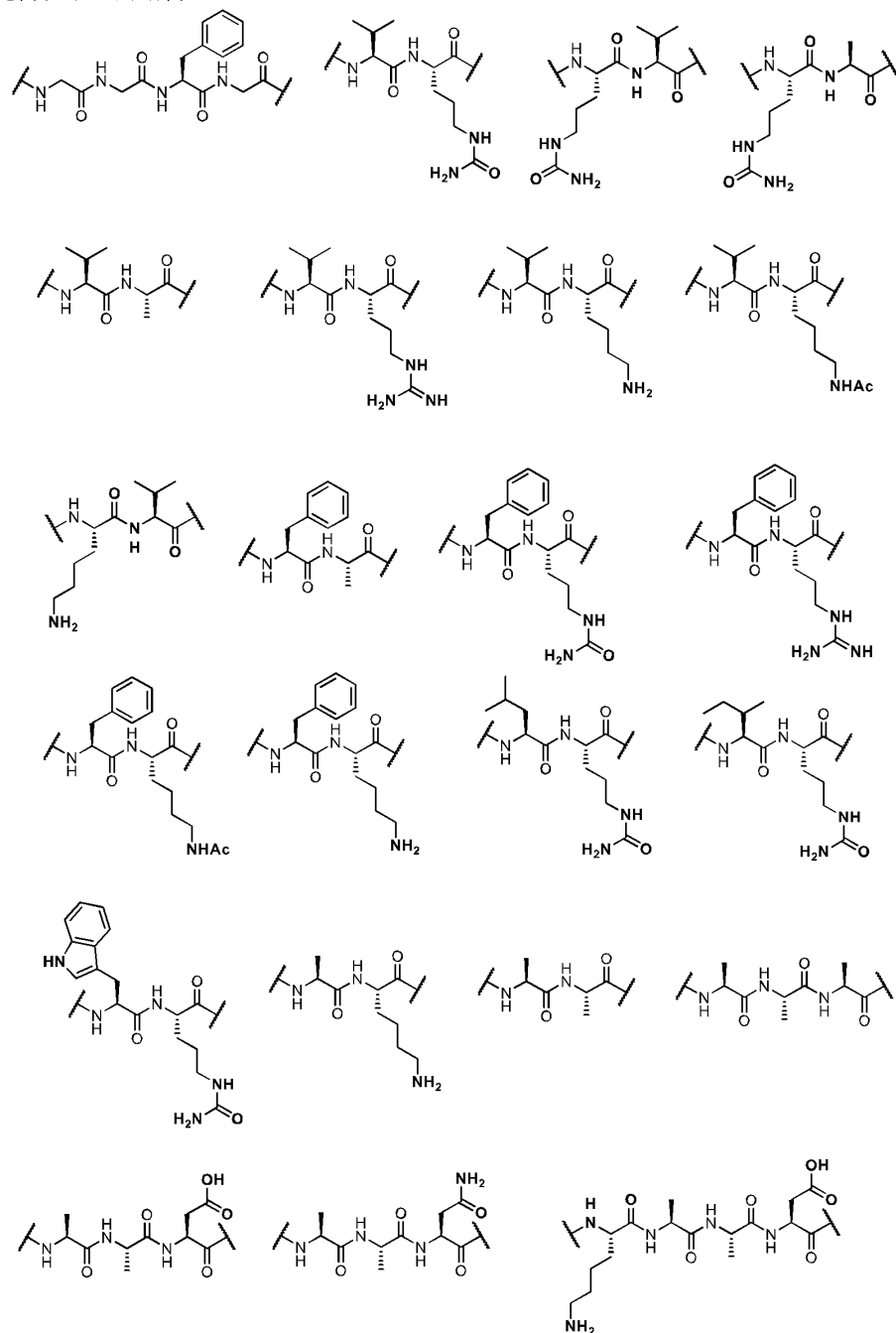
15、如权利要求2所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于，所述 L_3 为未取代或被 $CH_2C(O)R^c$ 取代的选自以下组的氨基酸构成的肽残基：苯丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、色氨酸、缬氨酸、甲硫氨酸、酪氨酸、丙氨酸、苏氨酸、组氨酸、丝氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、赖氨酸、天冬酰胺、谷氨酸、脯氨酸、瓜氨酸、天冬氨酸和甘氨酸。

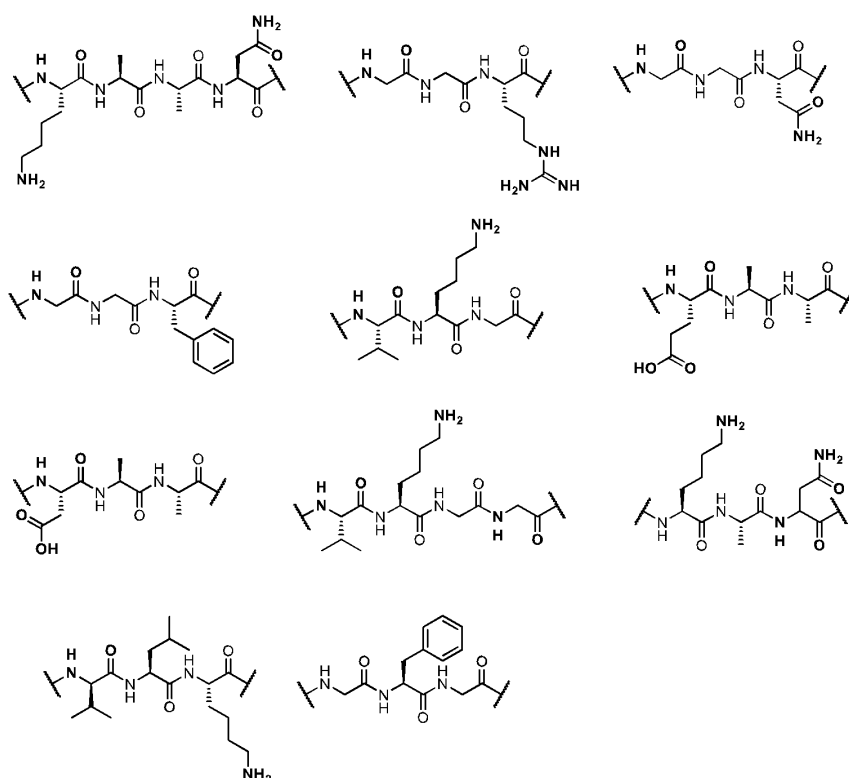
16、如权利要求2所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于，所述 L_3 为未取代或被 $CH_2C(O)R^c$ 取代的选自以下组的氨基酸构成的肽残基：甘氨酸、丙氨酸、赖氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸和瓜氨酸。

17、如权利要求2所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于，所述 L_3 为未取代或被 $CH_2C(O)R^c$ 取代的选自以下组的肽残基：-甘氨酸-苯丙氨酸-甘氨酸-(-Gly-Phe-Gly-)、-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-甘氨酸-(-Gly-Gly-Phe-Gly-)、-缬氨酸-瓜氨酸-(-Val-Cit-)、-瓜氨酸-缬氨酸-(-Cit-Val-)、-瓜氨酸-丙氨酸-(-Cit-Ala-)、-缬氨酸-丙氨酸-(-Val-Ala-)、-缬氨酸-精氨酸-(-Val-Arg-)、-缬氨酸-赖氨酸-(-Val-Lys-)、-缬氨酸-赖氨酸(Ac)-(-Val-Lys(Ac)-)、-赖氨酸-缬氨酸-(-Lys-Val-)、-亮氨酸-瓜氨酸-(-Leu-Cit-)、-异亮氨酸-瓜氨酸-(-Ile-Cit-)、-色氨酸-瓜氨酸-(-Trp-Cit-)、-苯丙氨酸-赖氨酸-(-Phe-Lys-)、-苯丙氨酸-赖氨酸(Ac)-(-Phe-Lys(Ac)-)、-苯丙氨酸-瓜氨酸-(-Phe-Cit-)、-苯丙氨酸-丙氨酸-(-Phe-Ala-)、-苯丙氨酸-精氨酸-(-Phe-Arg-)、-丙氨酸-赖氨酸-(-Ala-Lys-)、-丙氨酸-丙氨酸-(-Ala-Ala-)、-丙氨酸-丙氨酸-丙氨酸-(-Ala-Ala-Ala-)、-丙氨酸-丙氨酸-天冬酰胺-(-Ala-Ala-Asn-)、-丙氨酸-丙氨酸-天冬氨酸-(-Ala-Ala-Asp-)、-赖氨酸-丙氨酸-丙氨酸-天冬酰胺-(-Lys-Ala-Ala-Asn-)、-赖氨酸-丙氨酸-丙氨酸-天冬氨酸-(-Lys-Ala-Ala-Asp-)、-(D)-缬氨酸-亮氨酸-赖氨酸-(-D-Val-Leu-Lys-)、-甘氨酸-甘氨酸

-精氨酸-(-Gly-Gly-Arg-)、-甘氨酸-甘氨酸-天冬酰胺-(-Gly-Gly-Asn-)、-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-(-Gly-Gly-Phe-)、-缬氨酸-赖氨酸-甘氨酸-(-Val-Lys-Gly-)、-谷氨酸-丙氨酸-丙氨酸-(-Glu-Ala-Ala-)、-天冬氨酸-丙氨酸-丙氨酸-(-Asp-Ala-Ala-)、-缬氨酸-赖氨酸-甘氨酸-甘氨酸-(-Val-Lys-Gly-Gly-)和-赖氨酸-丙氨酸-天冬酰胺-(-Lys-Ala-Asn-)。

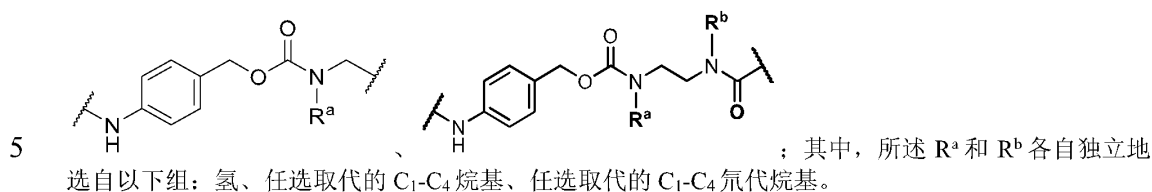
- 5 18、如权利要求2所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于，所述 L_3 为未取代或被 $CH_2C(O)R^c$ 取代的选自以下组的结构：





19、如权利要求 2 所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于，所述 L₄ 为化学键，或为任选取

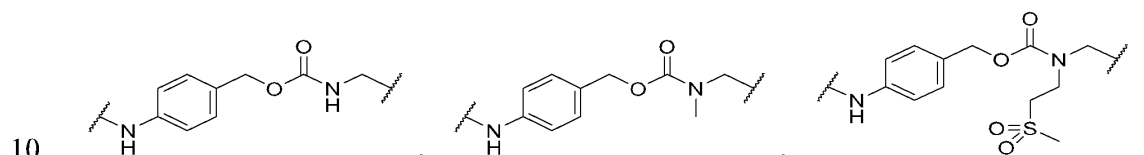
代的选自下组的基团：

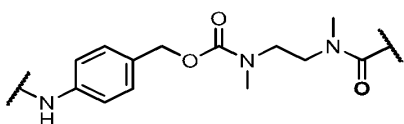


；其中，所述 R^a 和 R^b 各自独立地选自以下组：氢、任选取代的 C₁-C₄ 烷基、任选取代的 C₁-C₄ 氘代烷基。

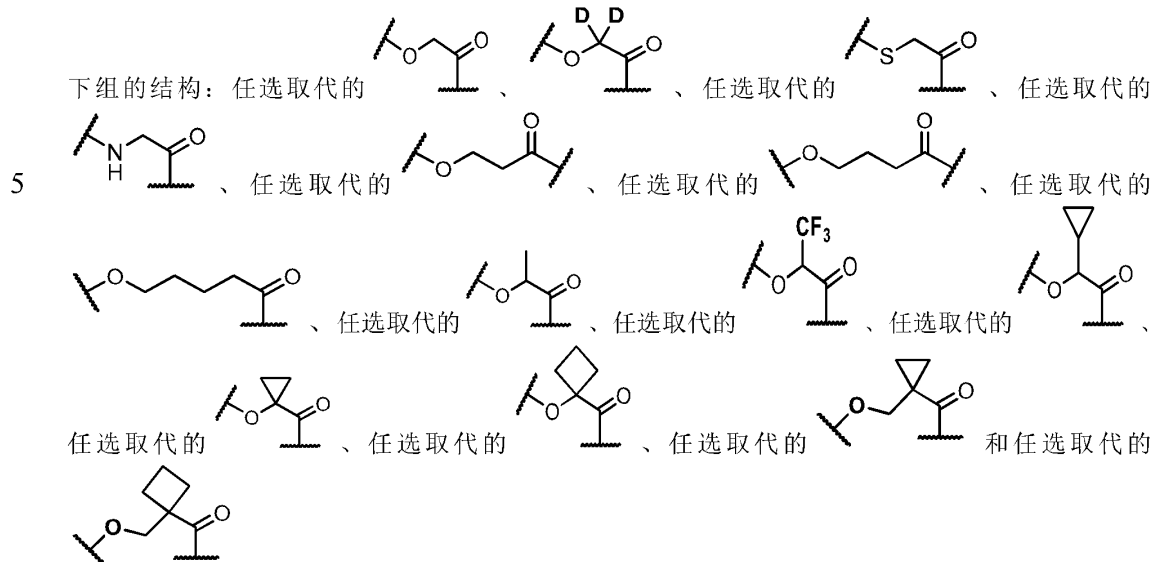
20、如权利要求 19 所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于，所述 L₄ 为化学键，或为任选取

代的选自下组的结构：

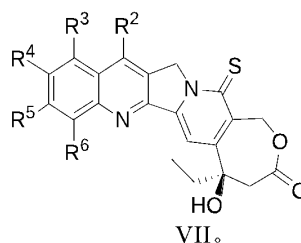
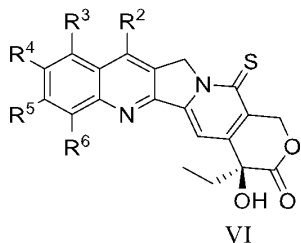




21、如权利要求 2 所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于，所述 L₅ 为化学键，或为选自以



22、如权利要求2所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于，所述的式II化合物选自下组：



23、如权利要求22所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于，所述R⁴选自下组：氢原子、氘原子、卤素、羟基、氰基、NH₂、NO₂、取代或未取代的C₁-C₈烷基、取代或未取代的C₁-C₈烷氧基、取代或未取代的C₁-C₈烷硫基、取代或未取代的C₁-C₈氘代烷基、-(CH₂)_m(C₃-C₈环烷基)、-(CH₂)_m(3-12元杂环基)、-(CH₂)_mN(R⁷)₂、-(CH₂)_mS(O)(CH₂)_pR⁷、-(CH₂)_mS(O)₂(CH₂)_pR⁷、-(CH₂)_mNH(CH₂)_pR⁷；其中，m和p各自独立地为0、1或2，R⁷的定义如上文所述；

20 R⁵选自下组：氢原子、氘原子、卤素、NH₂、OH、取代或未取代的C₁-C₈烷基、取代或未取代的C₁-C₈烷氧基；

或者, R⁴和R⁵与其相连接的碳原子共同形成选自下组的结构: 未取代或被一个或多个R^e取代的饱和或不饱和的5-6元碳环、未取代或被一个或多个R^e取代的饱和或不饱和的5-6元杂环; 其中, R^e的定义如上文中所述。

25 24、如权利要求22所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于， R^2 和 R^3 各自独立地选自下组：氢原子、氘原子、卤素、 NH_2 、取代或未取代的 C_1-C_8 烷基、取代或未取代的 C_1-C_8 氘代烷基、 $-(CH_2)_m(C_3-C_6$ 环烷基)、 $-(CH_2)_m(3-6$ 元杂环基)、 $-(CH_2)_mN(R^7)_2$ 、 $-(CH_2)_mOC(O)R^7$ ；其中， m 为0、1、2、3或4， R^7 的定义如上文所述；

30 或者, R^2 和 R^3 与其相连接的碳原子共同形成选自下组的结构: 未取代或被一个或多个 R^c 取代的饱

和或不饱和的5-6元环、未取代或被一个或多个R^e取代的饱和或不饱和的5-6元杂环；其中，R^e的定义如上文所述。

- 25、如权利要求22所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于，所述R⁴和R⁵各自独立地选自下组：氢原子、氘原子、卤素、羟基、NH₂、取代或未取代的C₁-C₄烷基；

或者，R⁴和R⁵与其相连接的碳原子共同形成未取代或被一个或多个R^e取代的氧杂5-6元杂环；其中，R^e的定义如上文所述。

- 26、如权利要求22所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于，

- 10 R²选自下组：氘原子、卤素、NH₂、取代或未取代的C₁-C₈烷基、取代或未取代的C₁-C₈氘代烷基、-(CH₂)_m(C₃-C₆环烷基)、-(CH₂)_m(3-6元杂环基)、-(CH₂)_mN(R⁷)₂、-(CH₂)_mOC(O)R⁷；其中，m为0、1、2、3或4；

- 15 R³各自选自下组：氢原子、氘原子、卤素、取代或未取代的C₁-C₈烷基、取代或未取代的C₁-C₈氘代烷基、-(CH₂)_m(C₃-C₆环烷基)、-(CH₂)_m(3-6元杂环基)、-(CH₂)_mN(R⁷)₂、-(CH₂)_mOC(O)R⁷；其中，m为0、1、2、3或4；

或者，R²和R³与其相连接的碳原子共同形成选自下组的结构：未取代或被一个或多个R^e取代的饱和或不饱和的5-6元环、未取代或被一个或多个R^e取代的饱和或不饱和的5-6元杂环；

R⁴选自下组：氢原子、氘原子、卤素、羟基、氰基、NH₂、NO₂、取代或未取代的C₁-C₈烷基、取代或未取代的C₁-C₈烷氧基；

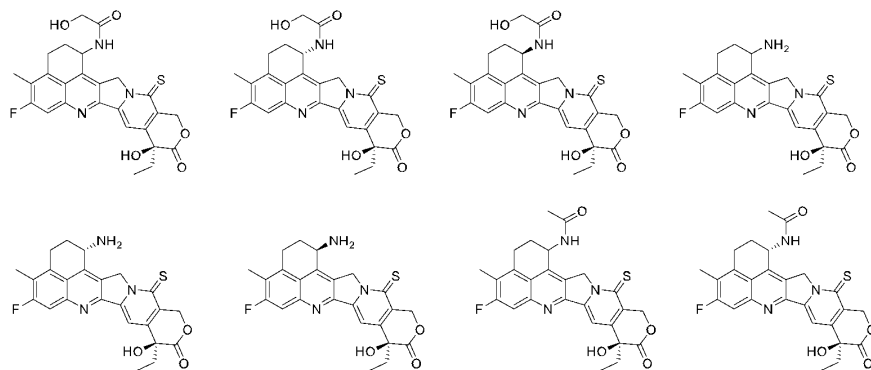
- 20 R⁵选自下组：氢原子、氘原子、卤素、取代或未取代的C₁-C₈烷基；

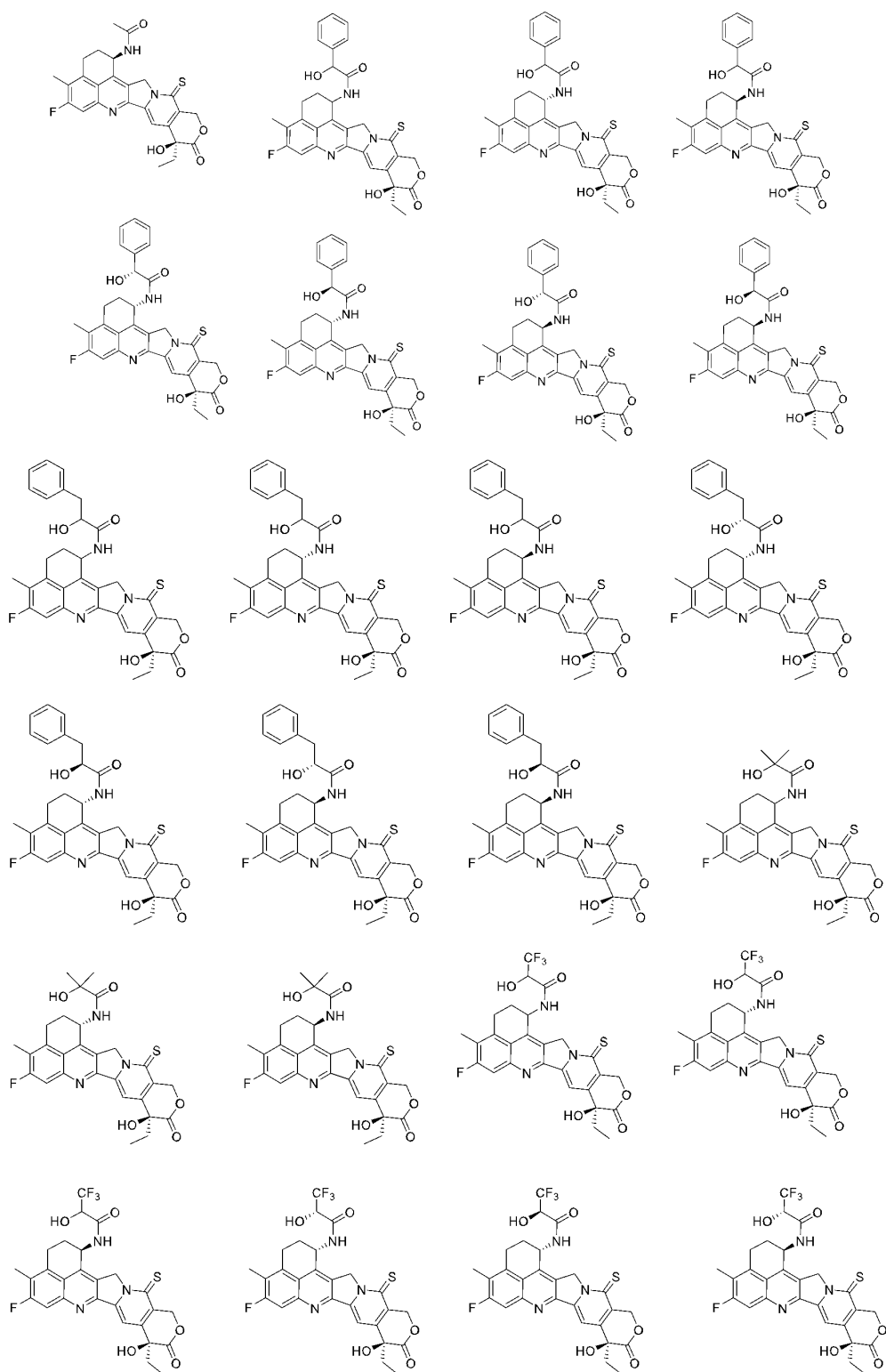
或者，R⁴和R⁵与其相连接的碳原子共同形成未取代或被一个或多个R^e取代的选自下组的基团：-OCH₂O-或-O(CH₂)₂O-；

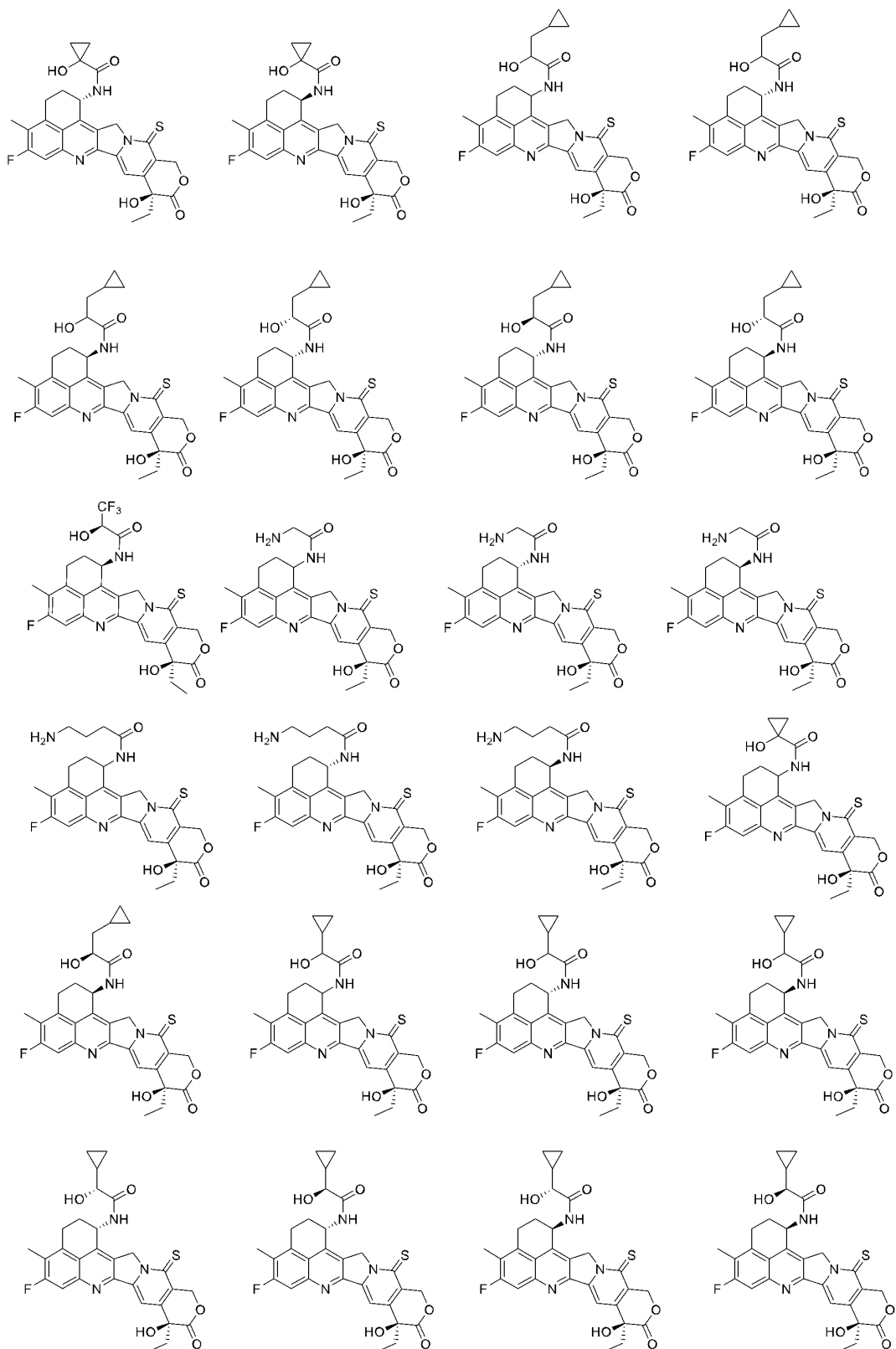
R⁷选自下组：氢原子、氘原子、卤素、取代或未取代的C₁-C₈烷基、羟基、氨基、氰基、硝基、巯基；

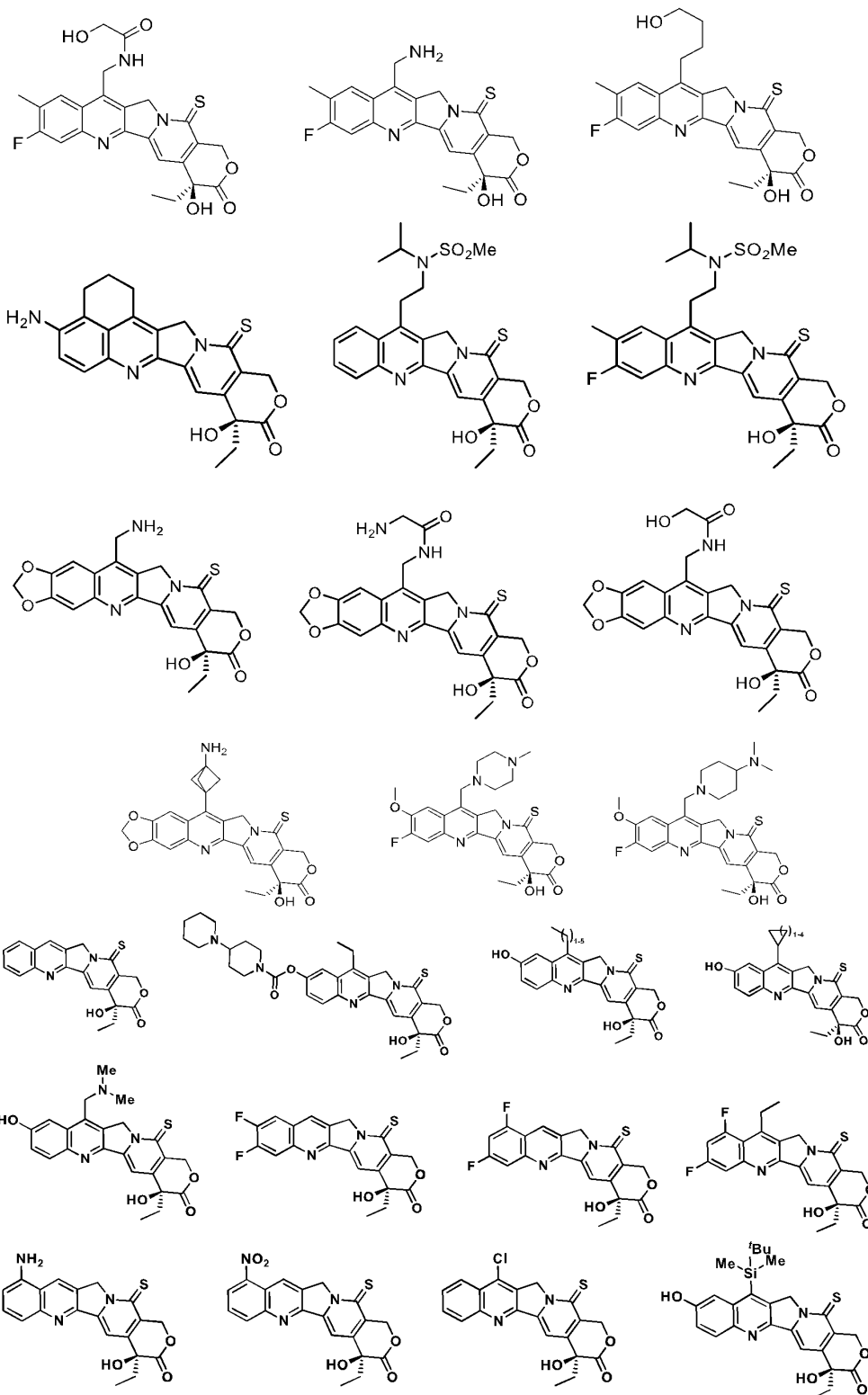
- 25 其中，R^e的定义如上文所述。

27、如权利要求22所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于，所述的式II化合物选自下组：

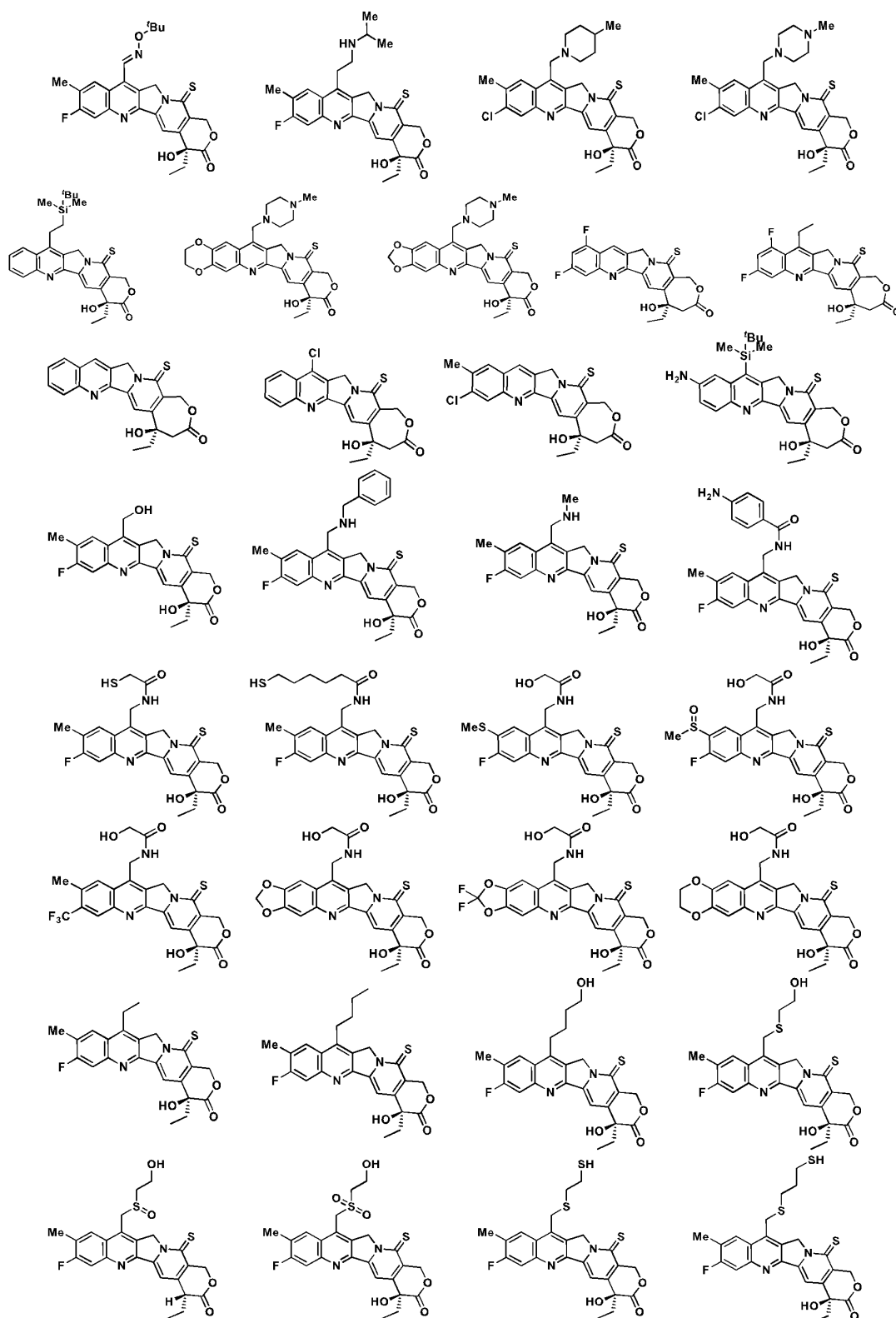


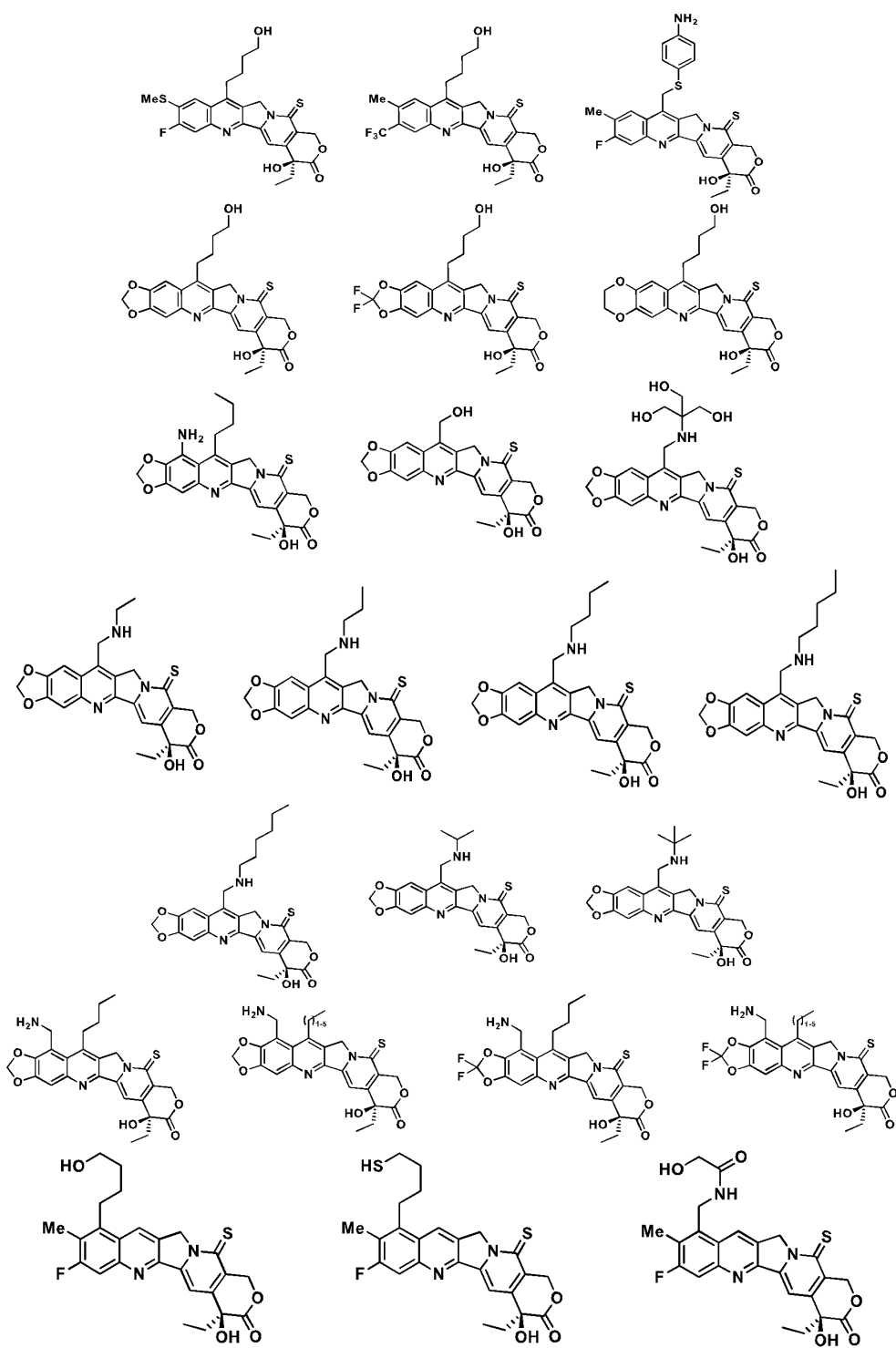


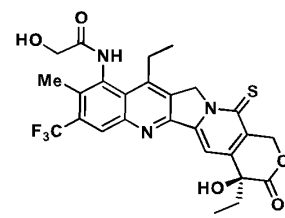
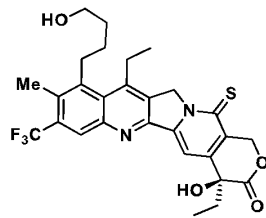
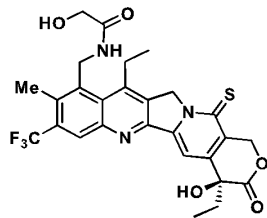
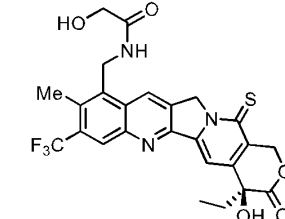
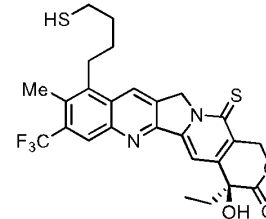
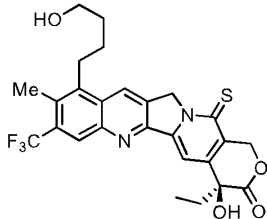
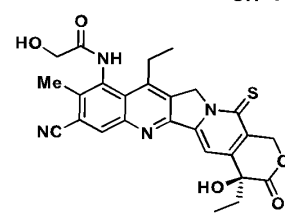
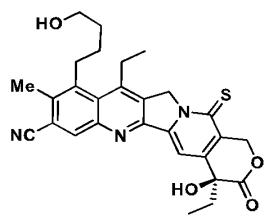
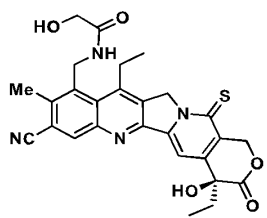
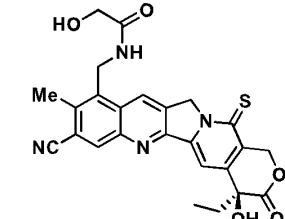
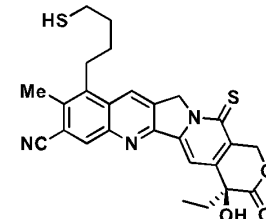
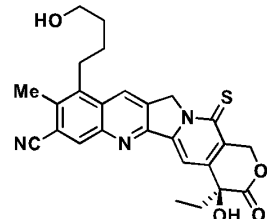
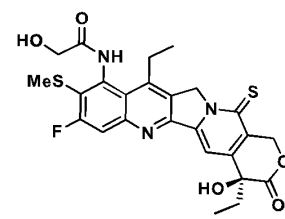
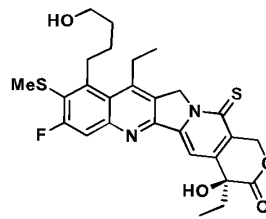
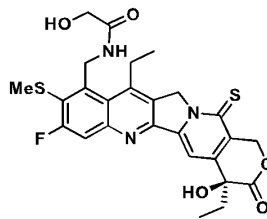
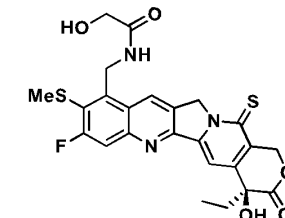
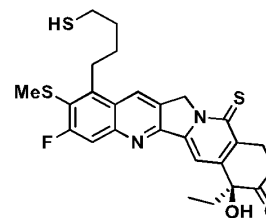
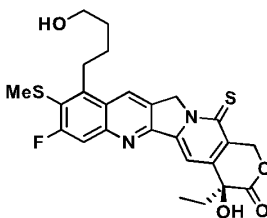
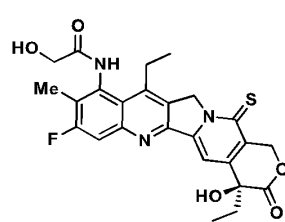
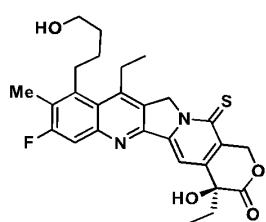
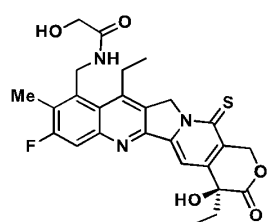


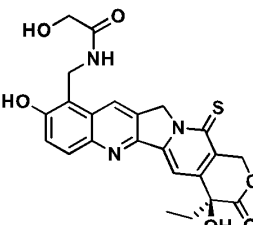
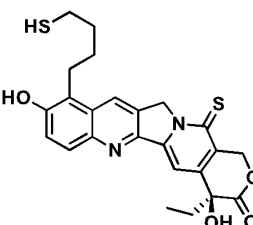
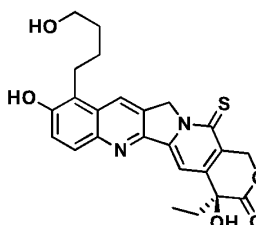
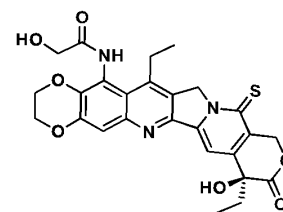
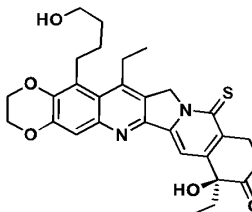
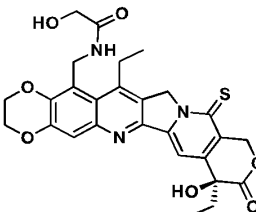
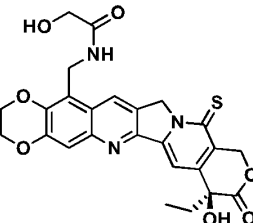
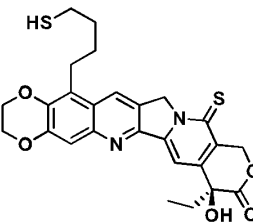
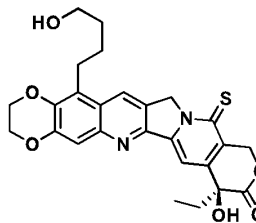
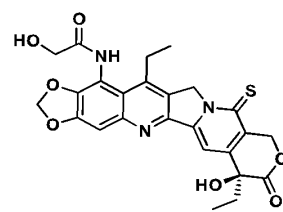
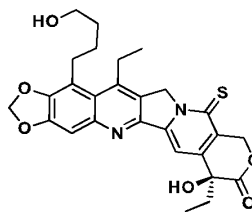
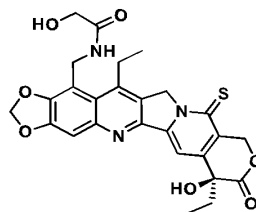
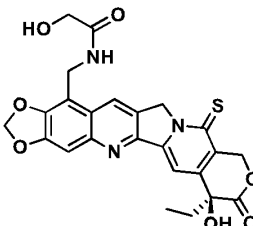
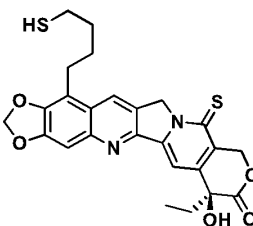
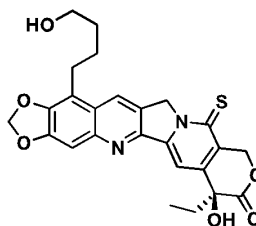
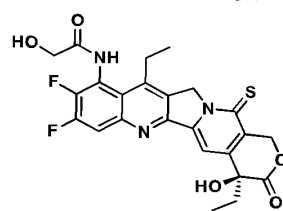
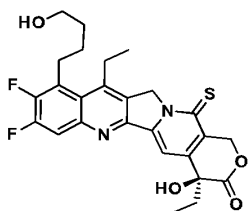
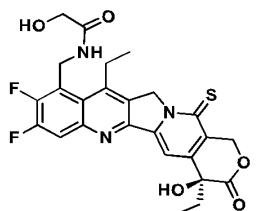
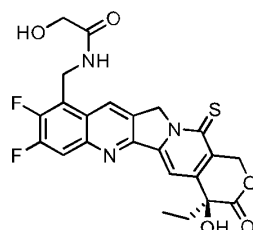
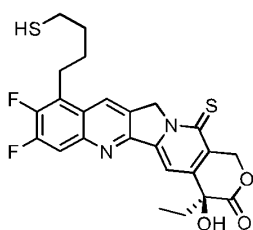
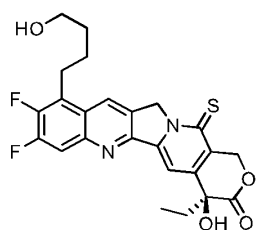


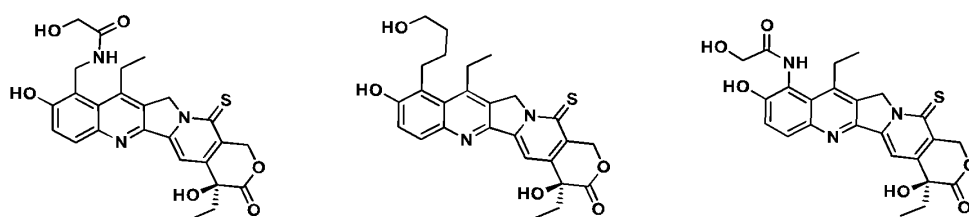
5











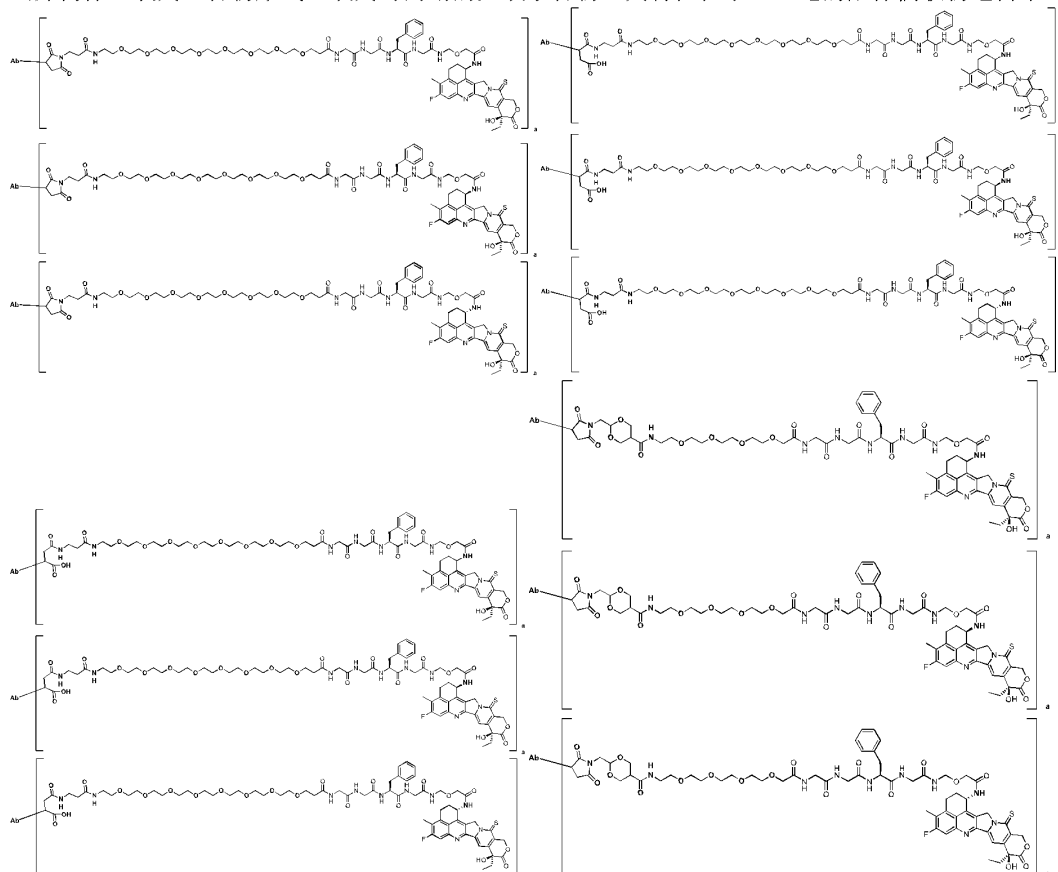
28、如权利要求 1 所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于，其中所述 Ab 为抗体或其抗原结合片段。

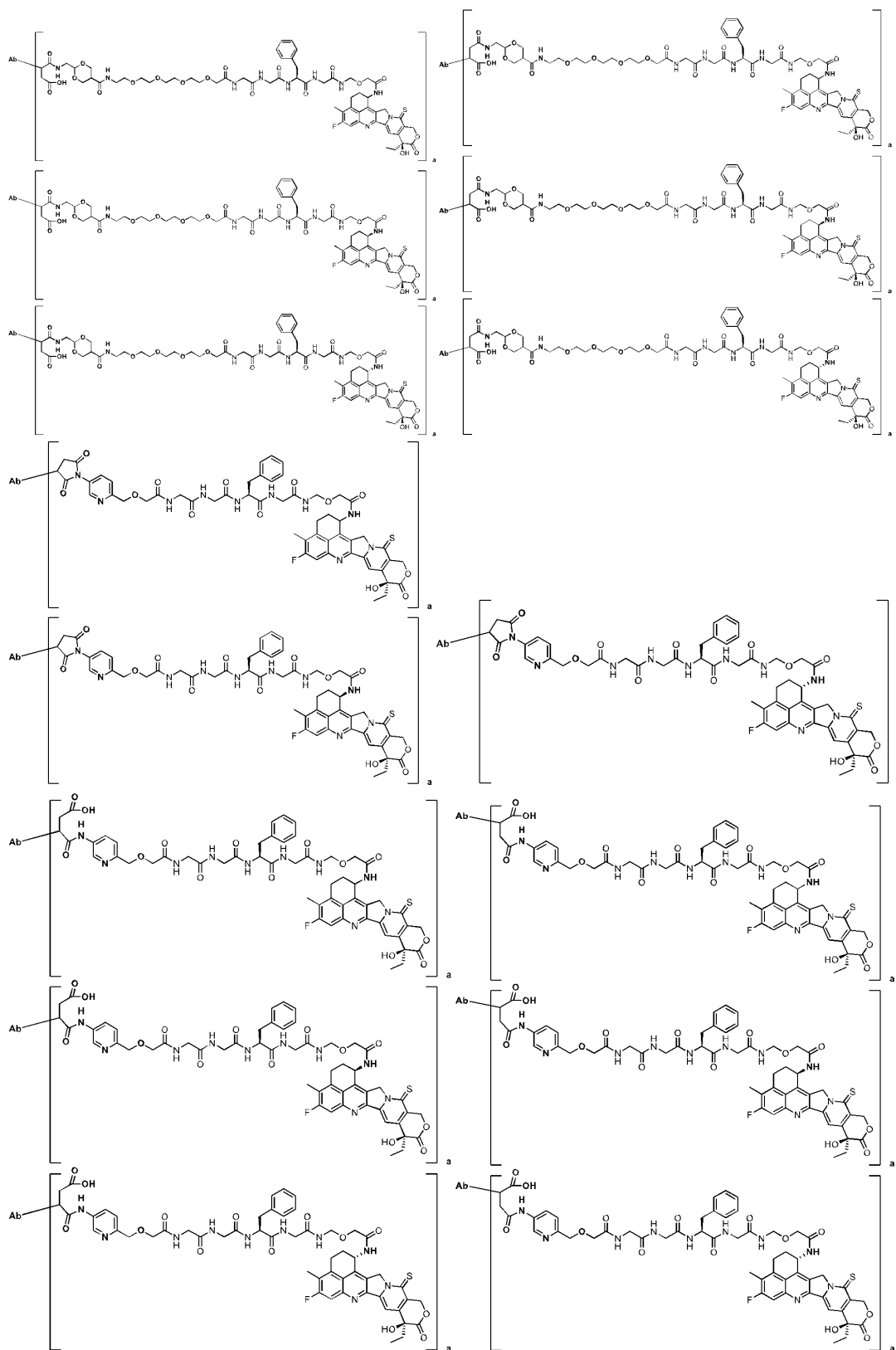
29、如权利要求 28 所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于，其中所述抗体选自以下组：鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体和全人源抗体。

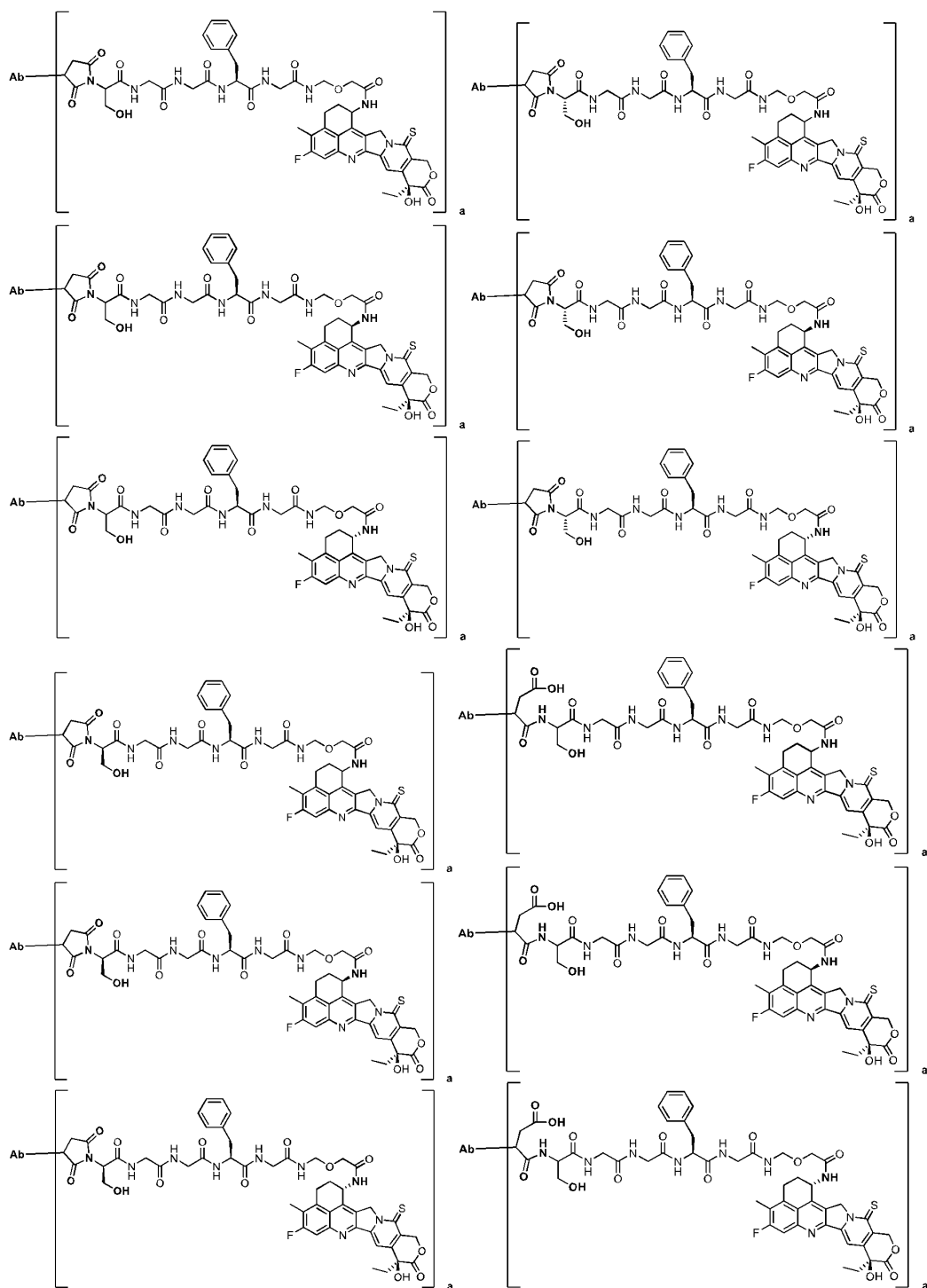
30、如权利要求 28 所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于，其中所述抗体为单克隆抗体、双特异抗体、多肽。

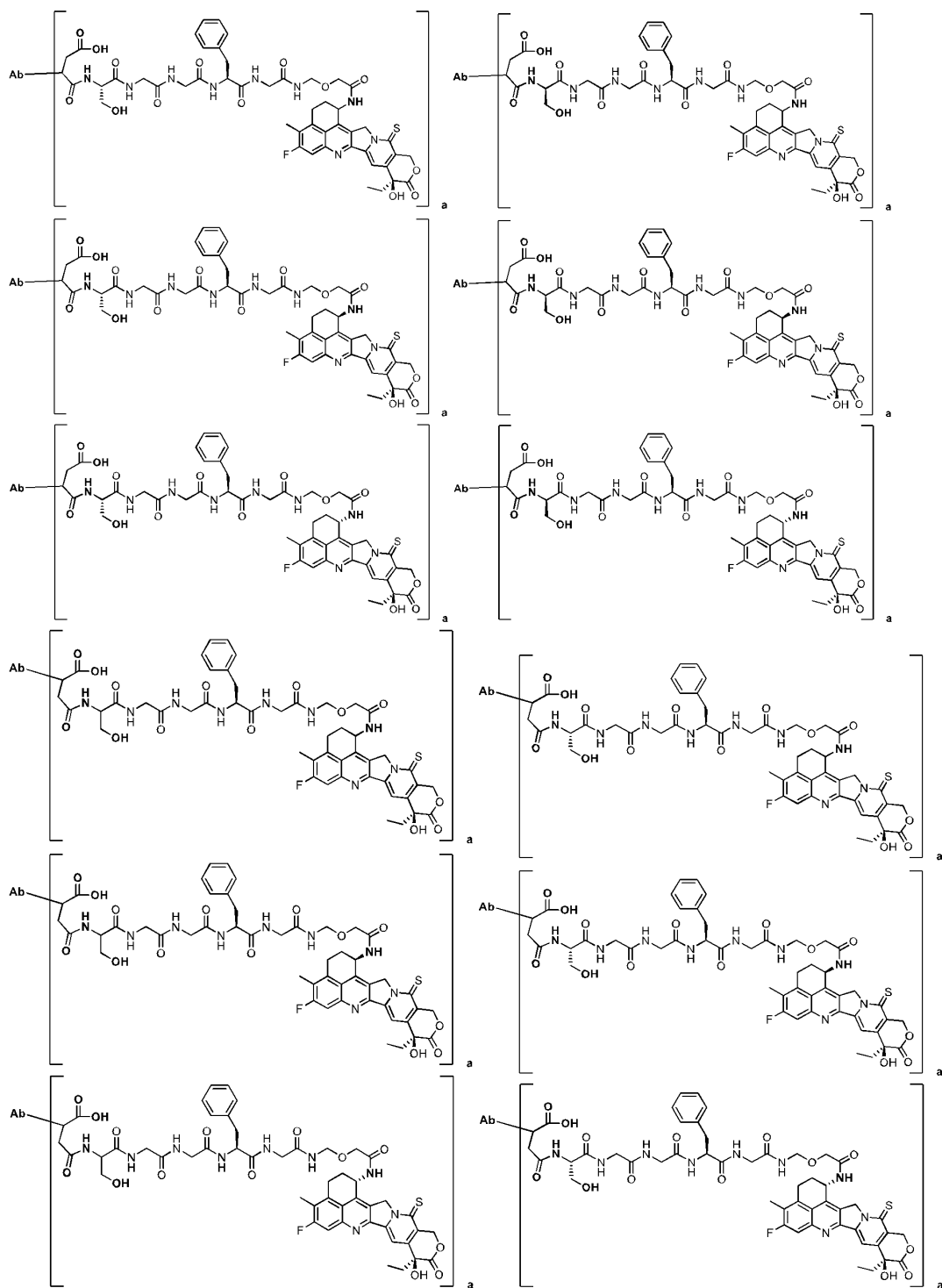
31、如权利要求 28 所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于，其中所述抗原结合片段选自以下组：Fab, Fab', Fv 片段, F(ab')₂, F(ab)₂, scFv, di-scFv, VHH 和 dAb。

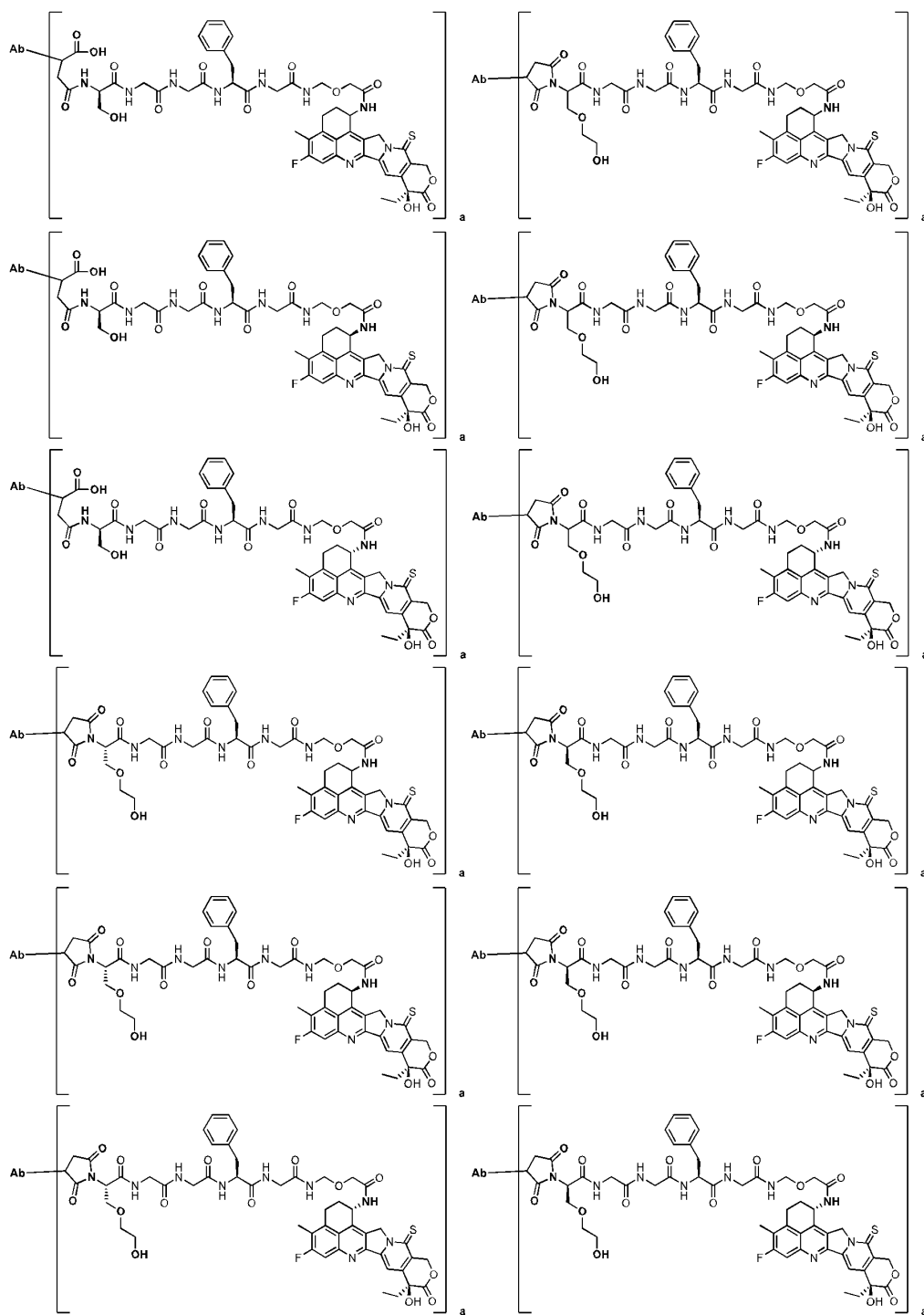
32、如权利要求 1 所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于，上述的配体偶联物选自下组：

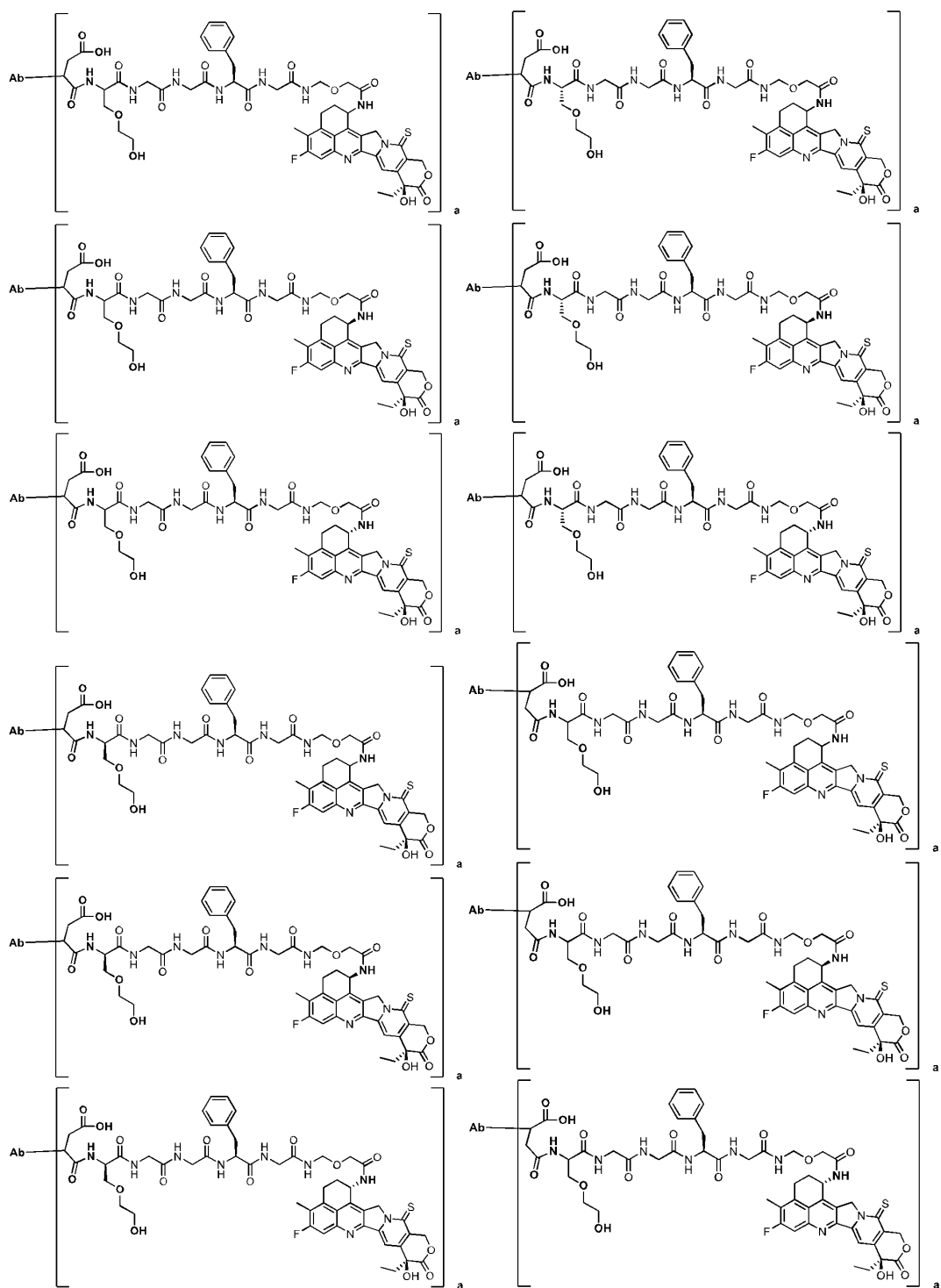


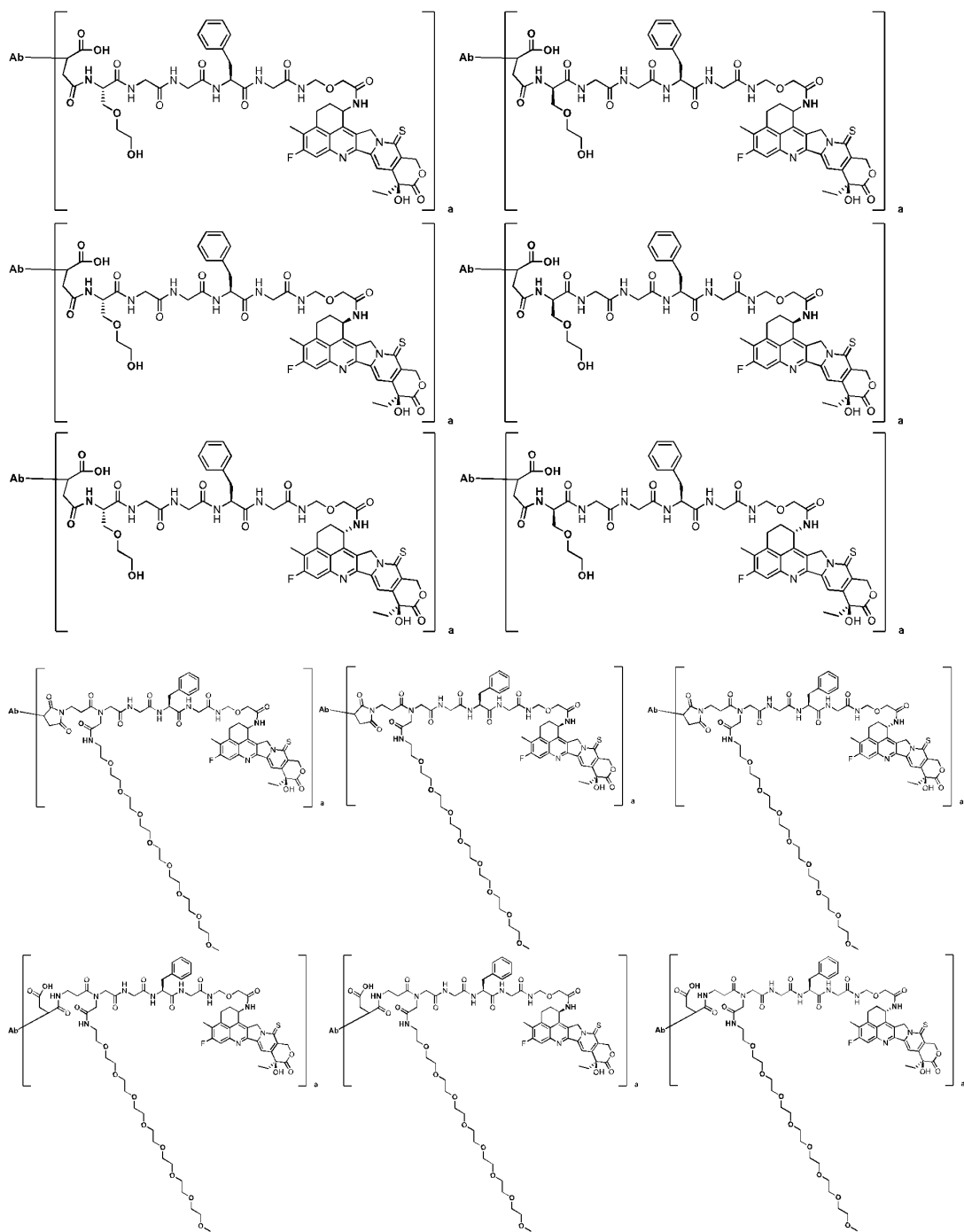


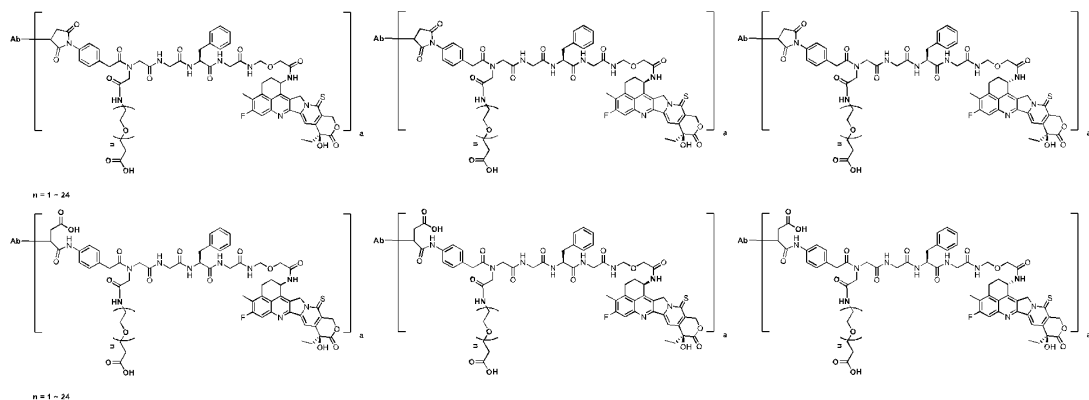
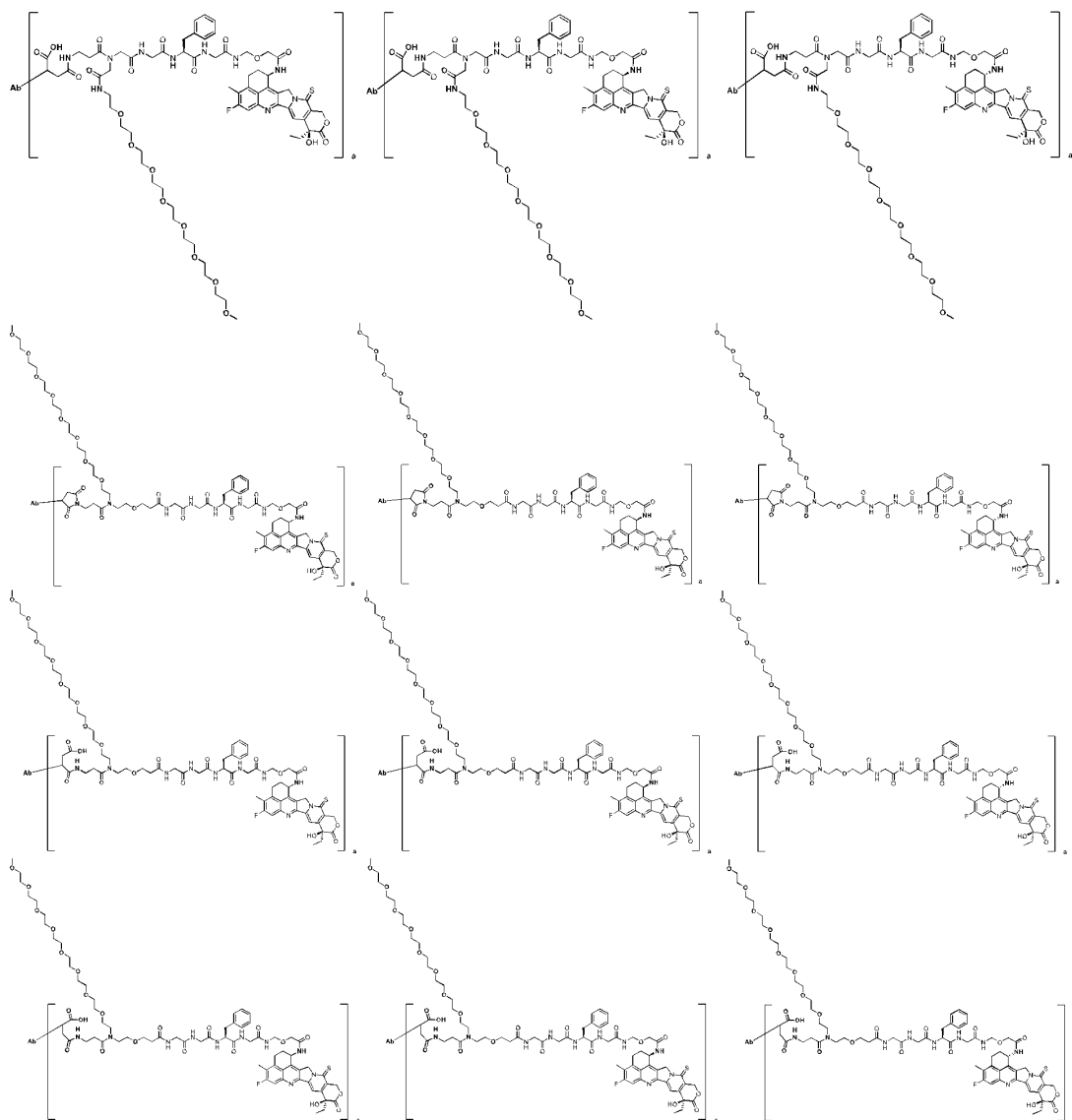


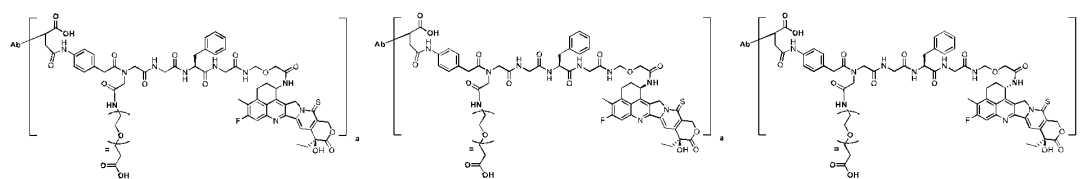
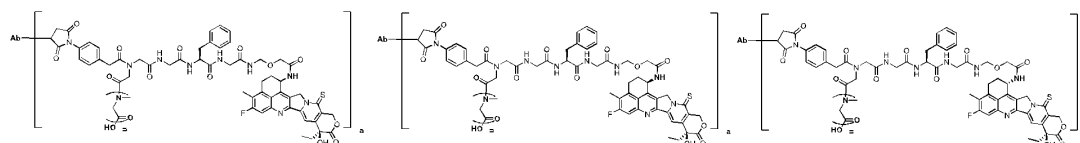
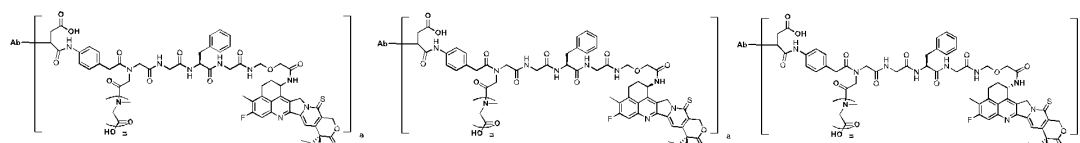
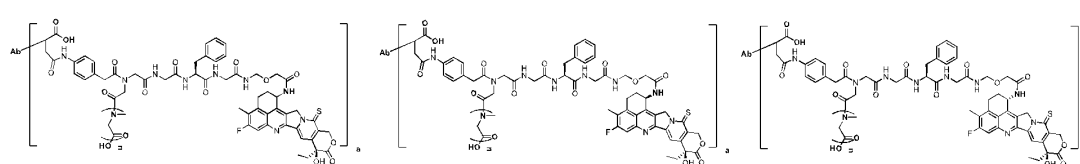
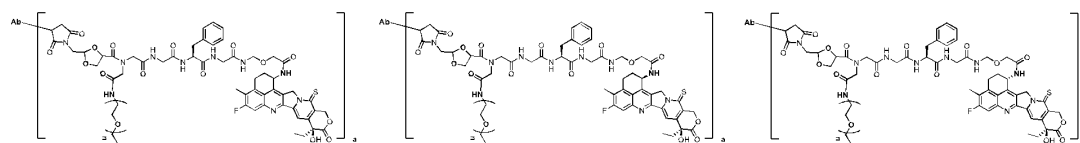
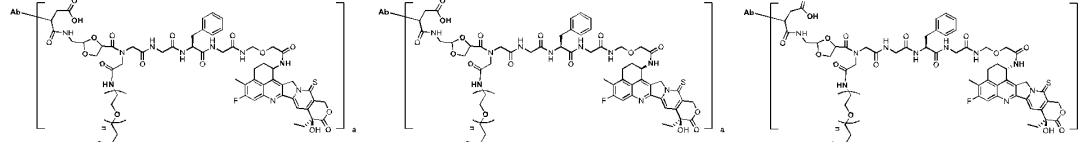
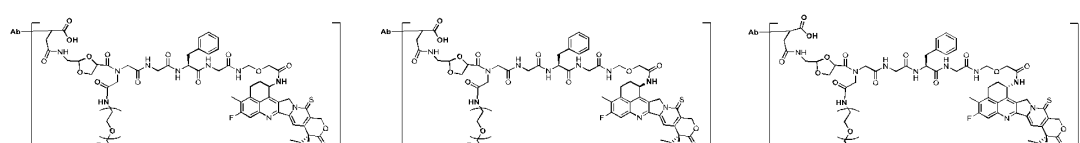


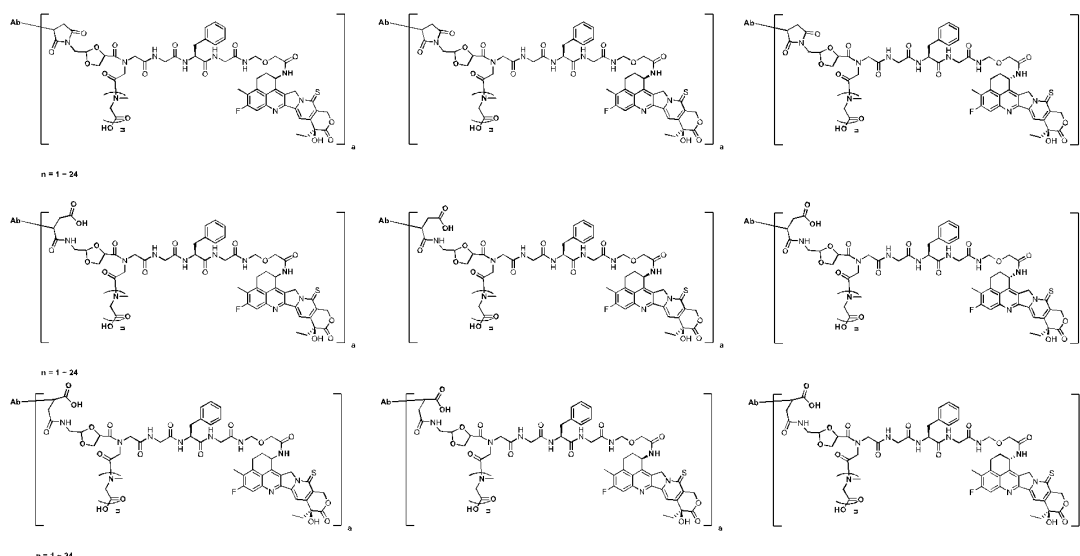




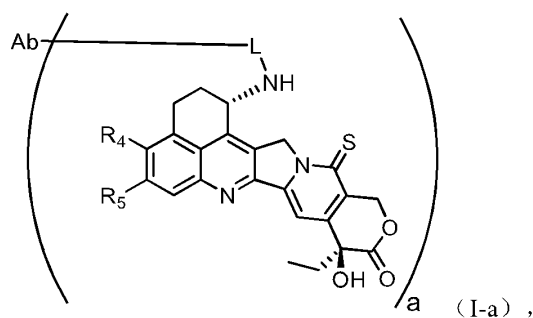




 $n = 1 - 24$  $n = 1 - 24$  $n = 1 - 24$  $n = 1 - 24$  $n = 1 - 24$  $n = 1 - 24$  $n = 1 - 24$

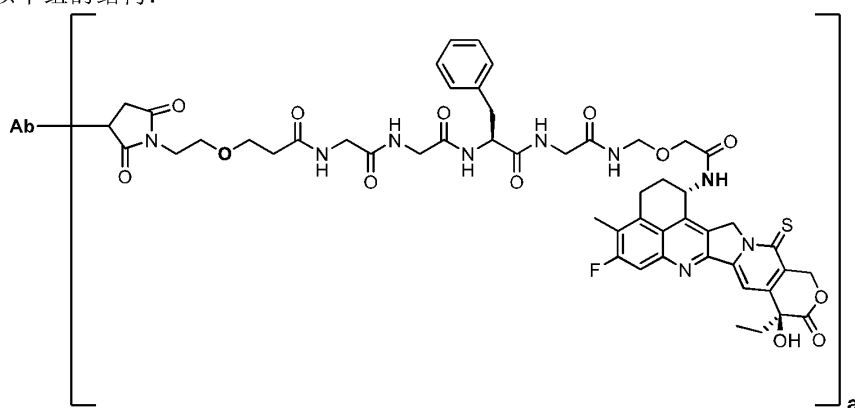


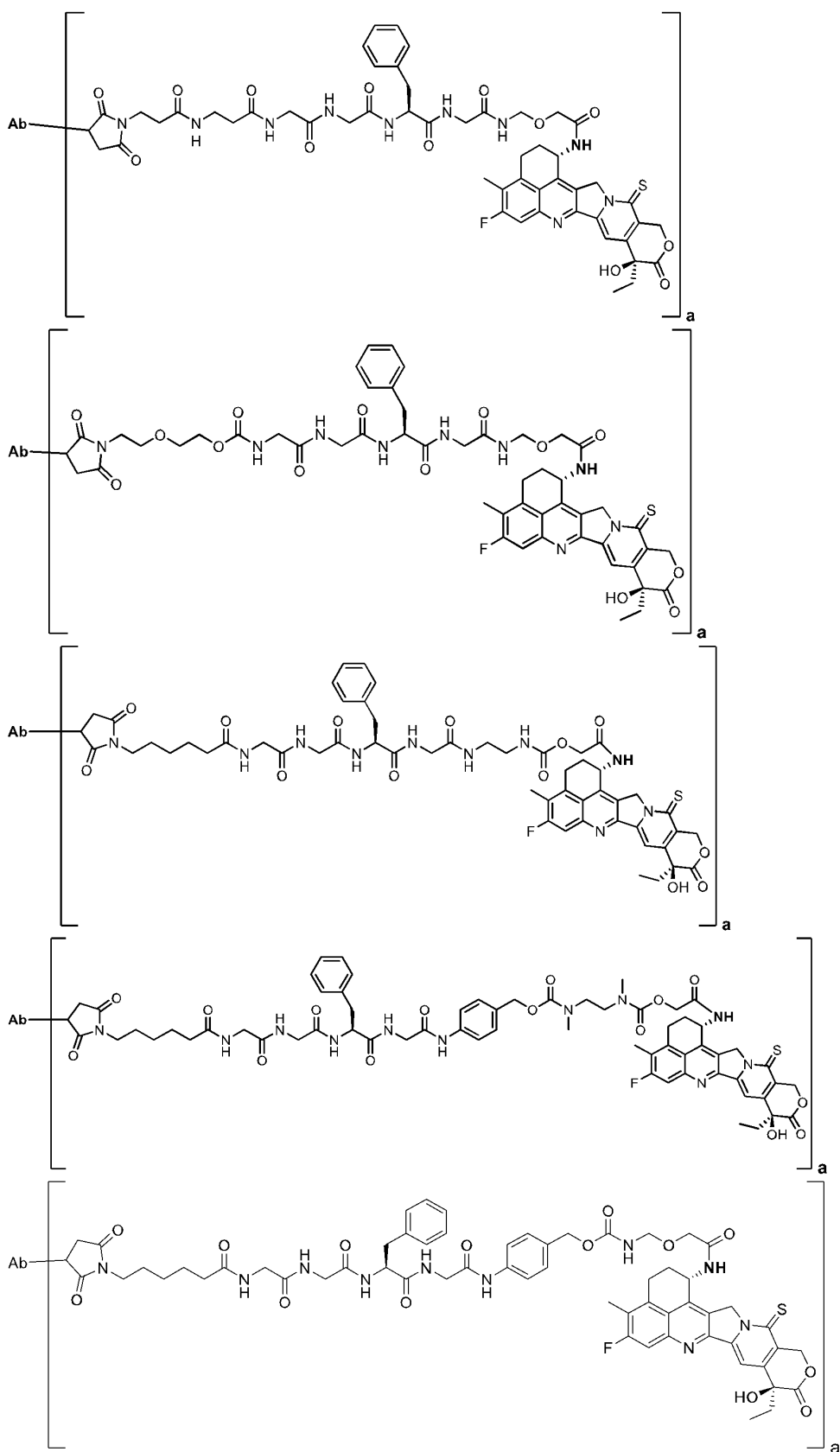
- 33、如权利要求1所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其中所述配体偶联物包含式 (I-a) 所示的结构：

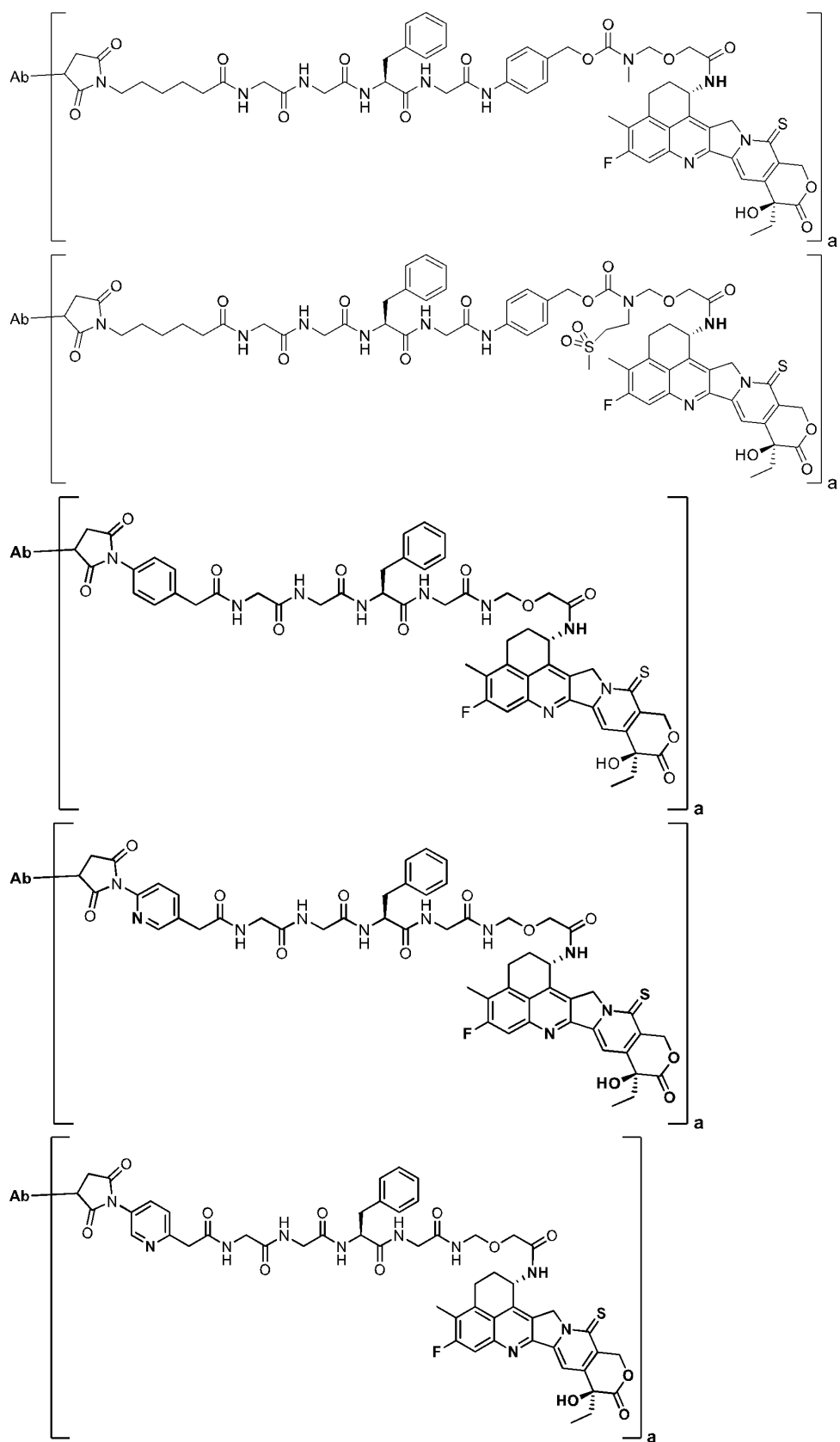


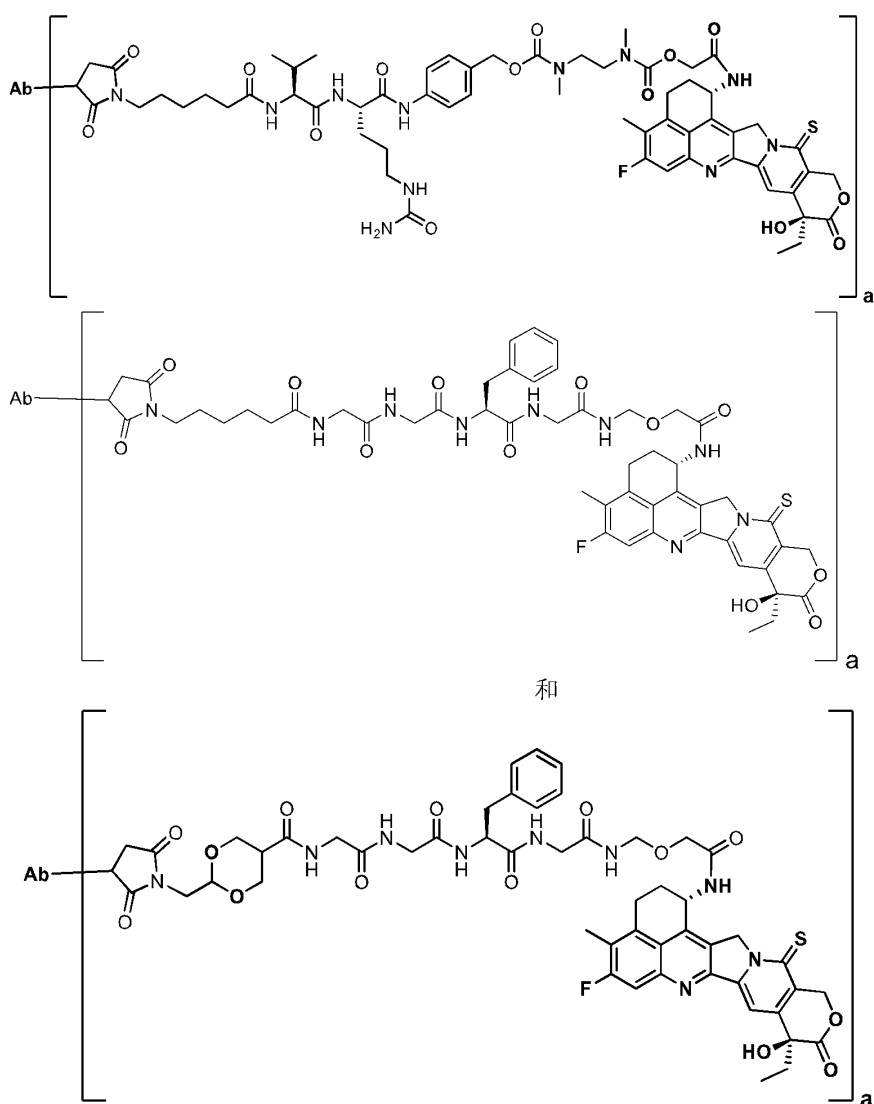
其中， R_4 、 R_5 和 L 如权利要求1中的定义， a 为大于0的数， a 是小数或整数。

- 34、如权利要求33所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其中所述配体偶联物为选自以下组的结构：









5

其中 a 为大于 0 的数， a 是小数或整数。

35、如权利要求 1-34 任一项所述的配体偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐或水合物，其特征在于所述的抗体为 IGF-1R 特异性抗体。

10 36、如权利要求 35 所述的配体偶联物，其特征在于，所述 IGF-1R 包含来源于灵长类动物的 IGF-1R。

37、如权利要求 36 所述的配体偶联物，其特征在于，所述抗体包含 HCDR3，所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 3 所示的氨基酸序列。

15 38、如权利要求 36 所述的配体偶联物，其特征在于，所述抗体包含 HCDR2，所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 2 所示的氨基酸序列。

39、如权利要求 36 所述的配体偶联物，其特征在于，所述抗体包含 HCDR1，所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列。

20 40、如权利要求 36 所述的配体偶联物，其特征在于，所述抗体包含重链可变区 VH，所述 VH 包含所述 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3，所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 3 所示的氨基酸序列；所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 2 所示的氨基酸序列；且所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列。

41、如权利要求 36 所述的配体偶联物，其特征在于，所述抗体包含重链可变区 VH，所述 VH 包含 SEQ ID NO: 4 所示的氨基酸序列。

42、如权利要求 36 所述的配体偶联物，其特征在于，所述的抗体具有如 SEQ ID No. 5 所示的全长序列。

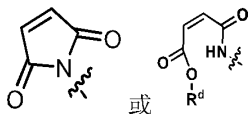
43、一种药物组合物，其含有权利要求 1-42 中任一所述的配体偶联物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，以及任选的药学上可接受的载体。

44、权利要求 1-42 中任一所述的配体偶联物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，和/或权利要求 43 所述的药物组合物在制备用于治疗/或预防与所述的配体的靶点表达相关和/或异常表达相关的疾病或病症的药物中的用途。

45、如权利要求 44 所述的用途，所述与所述配体的靶点表达相关和/或异常表达相关的疾病或病症为肿瘤、癌症、自身免疫疾病或者感染性疾病；较佳地，所述肿瘤/癌症为所述配体的靶点高表达、中表达、低表达的肿瘤/癌症。

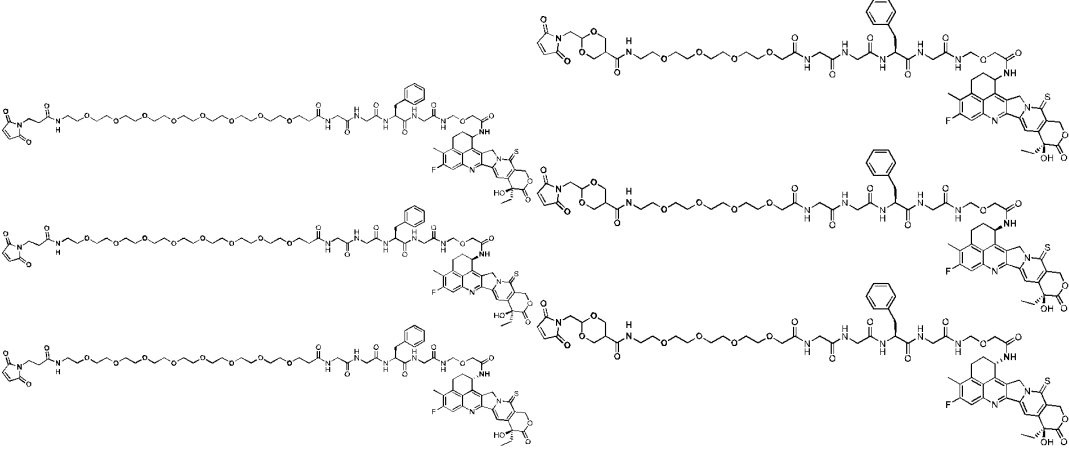
46、一种配体偶联物前体，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体，或其可药用的盐或水合物，其中所述配体偶联物前体包含式 IA 所示的结构：

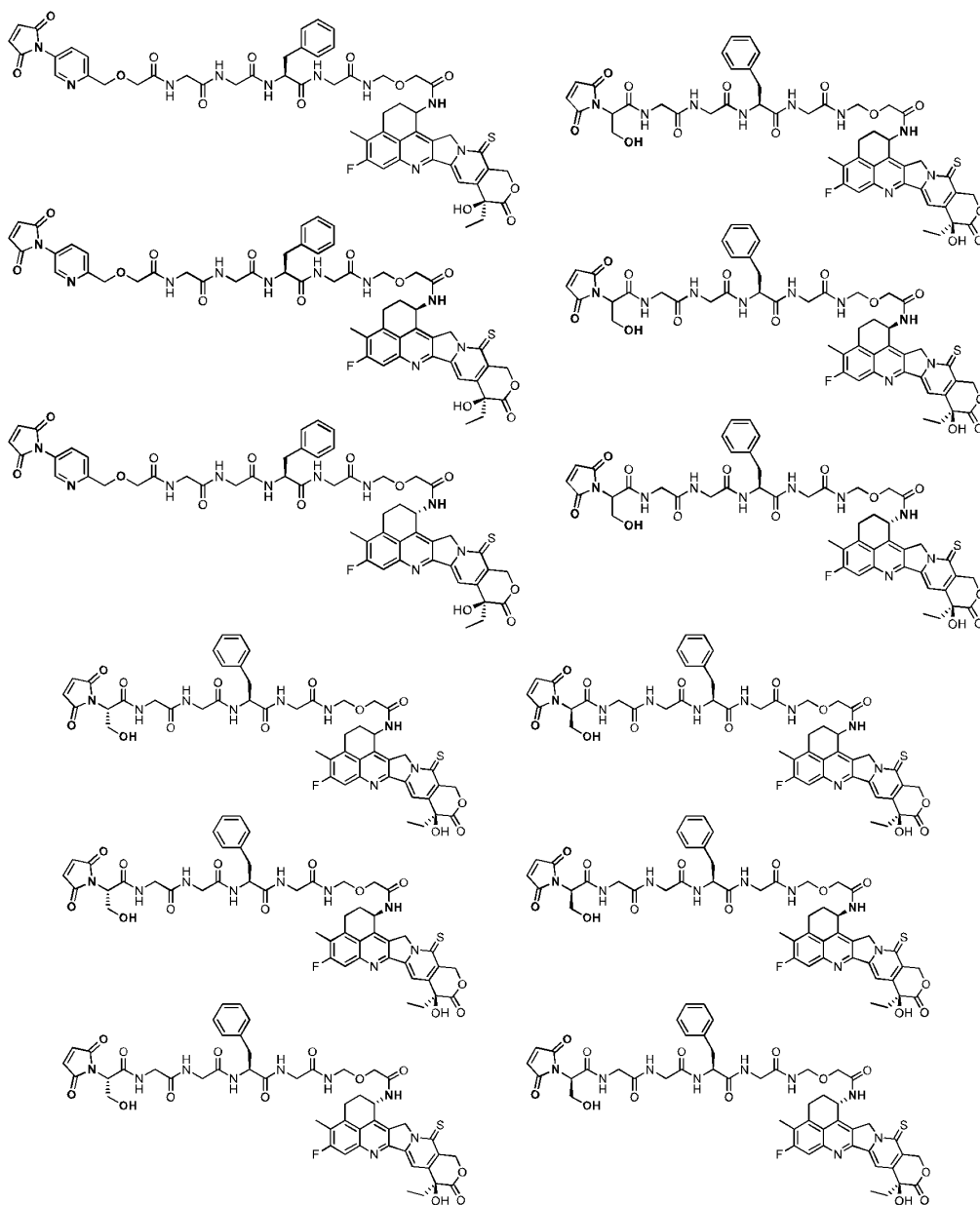
L_A-P (IA)，

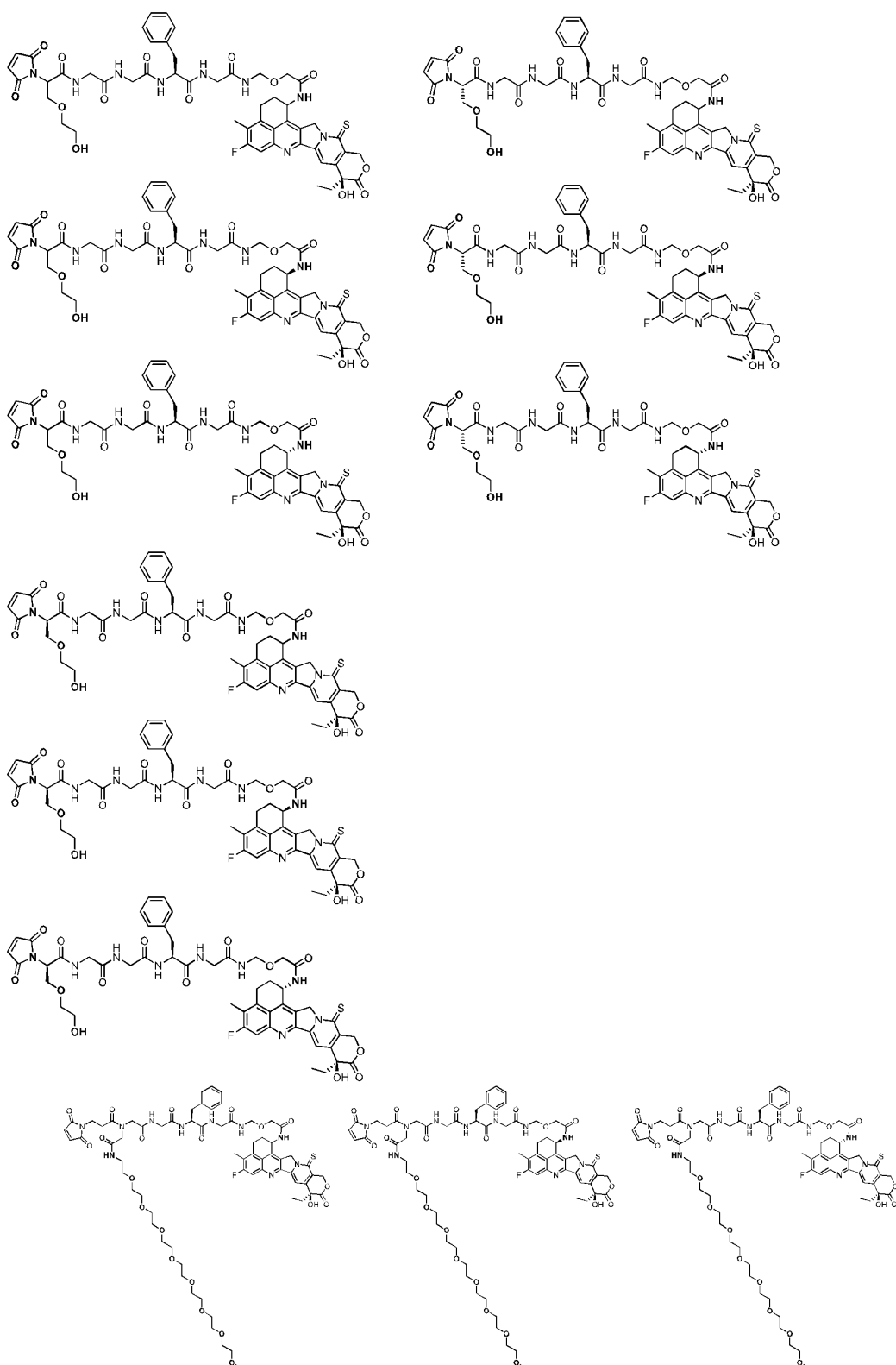


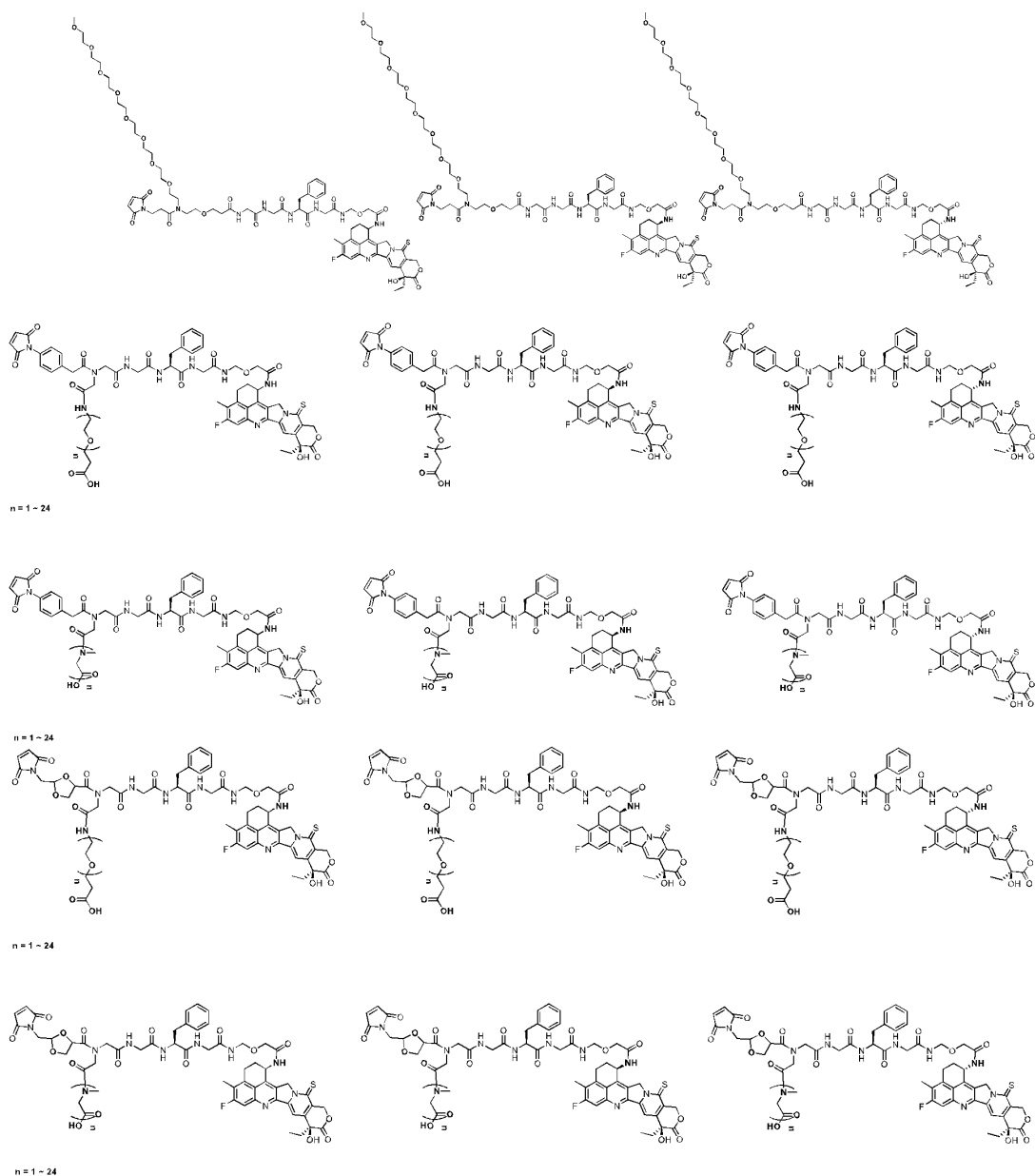
其中， L_A 为 L_{1A} - L_2 - L_3 - L_4 - L_5 ；其中， L_{1A} 为 或 ；
 R^d 、 L_2 、 L_3 、 L_4 、 L_5 和P定义如权利要求1-34任一中所述。

47、如权利要求46所述的配体偶联物前体，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体，或其可药用的盐或水合物，其中所述配体偶联物前体选自下组：









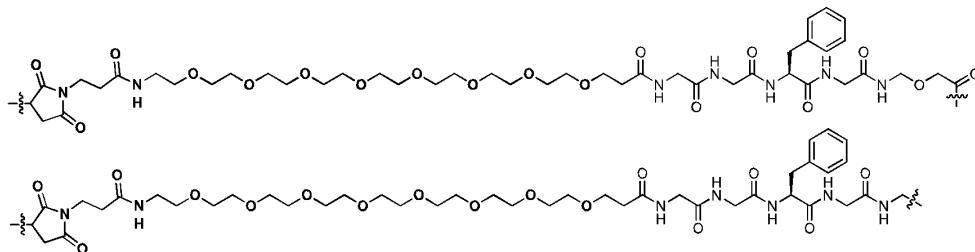
5

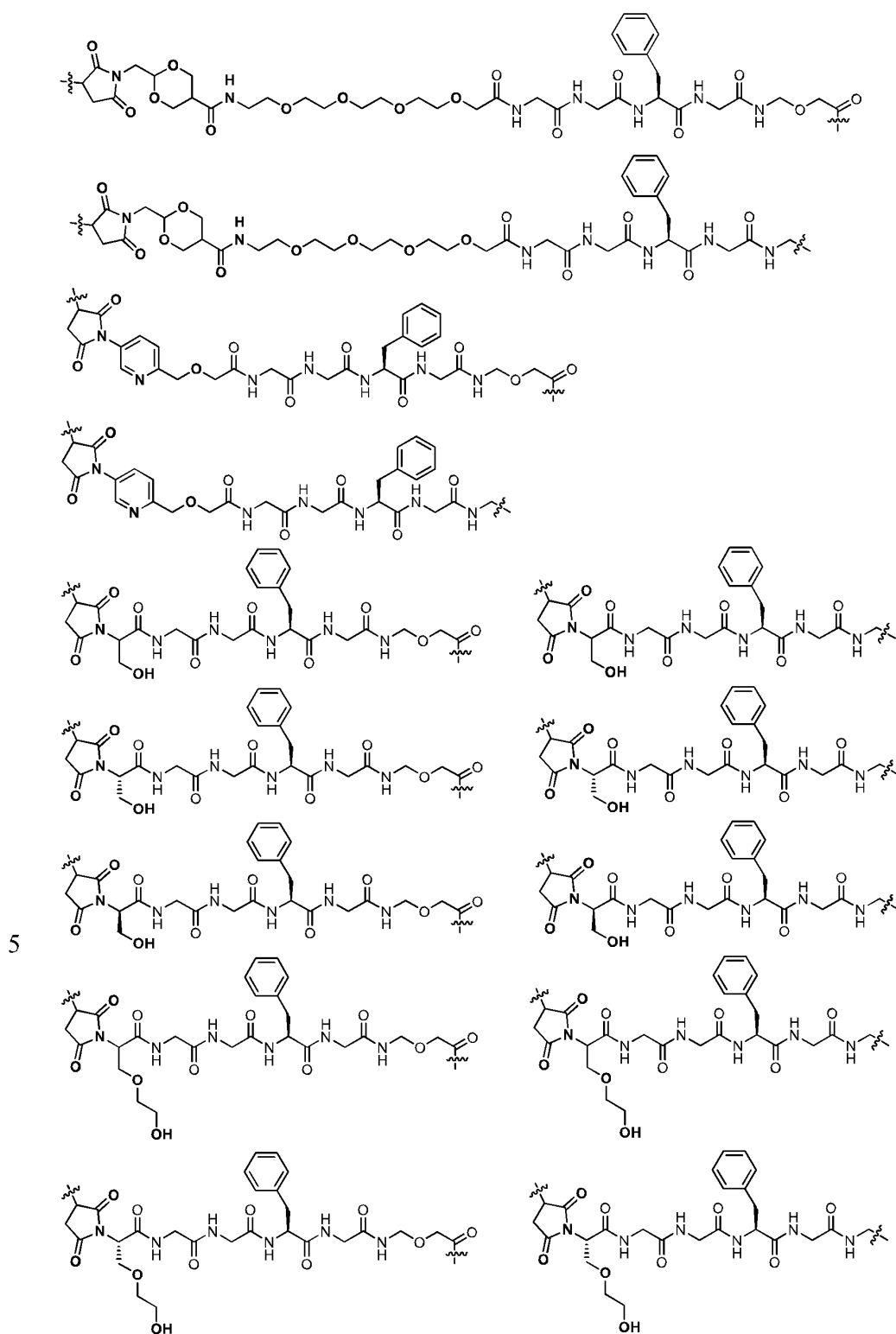
48、一种如式 (L) 所示的连接体，其将药物单元与配体连接而成的配体-药物偶联物：

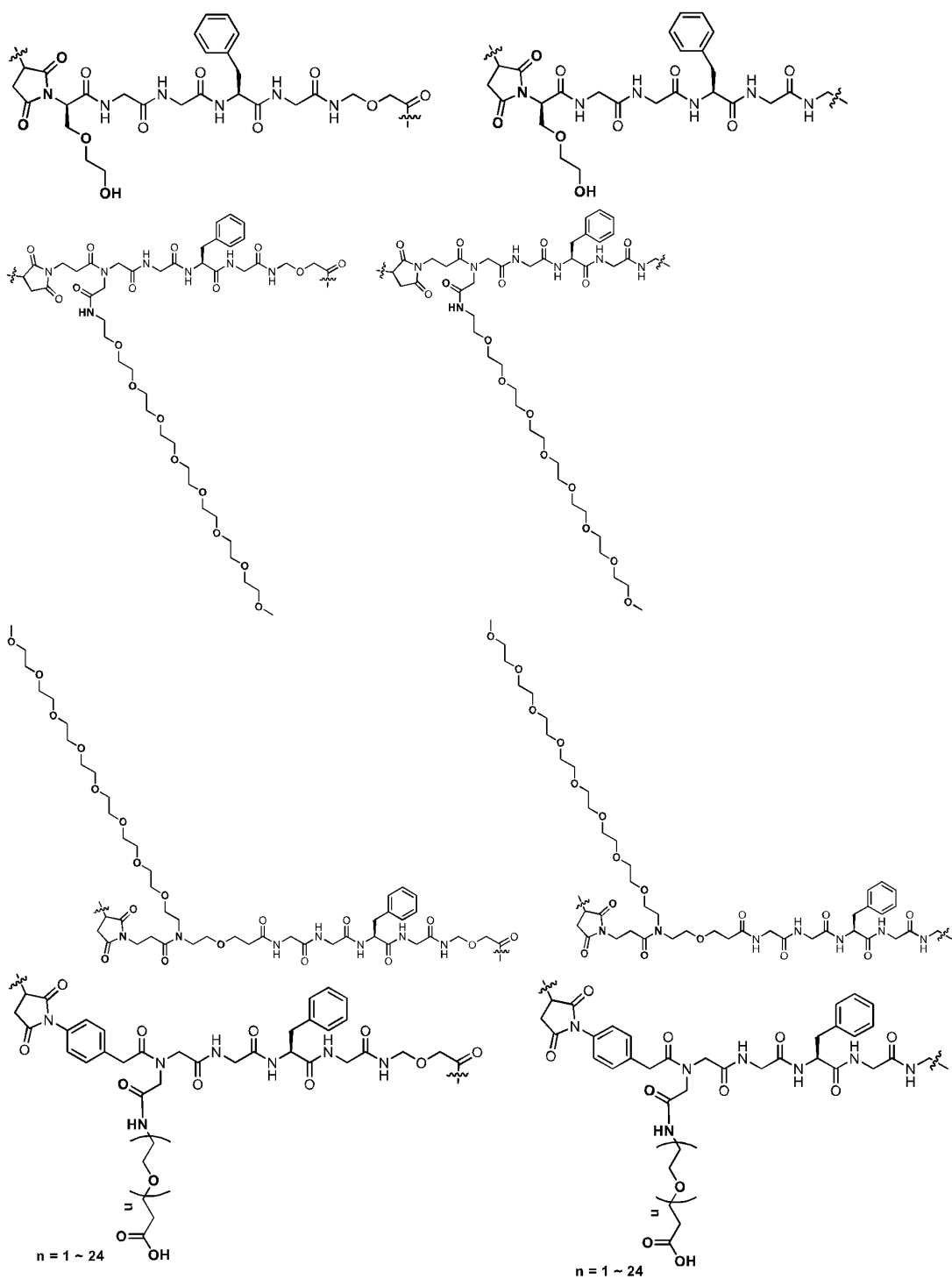
$L_1-L_2-L_3-L_4-L_5$ (L) ,

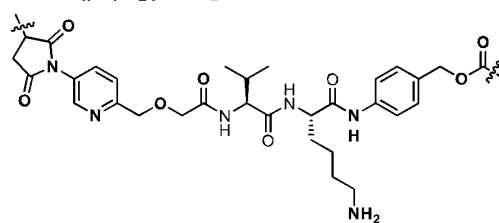
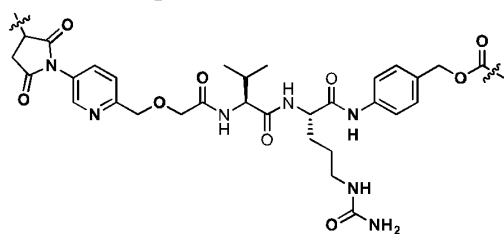
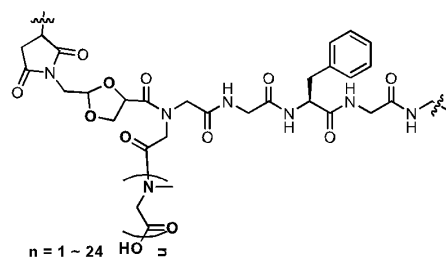
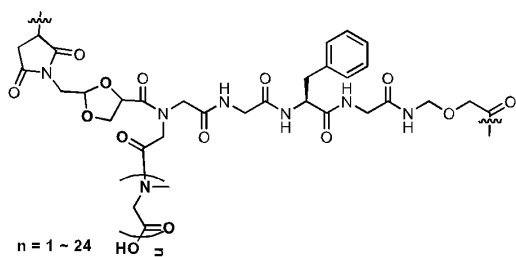
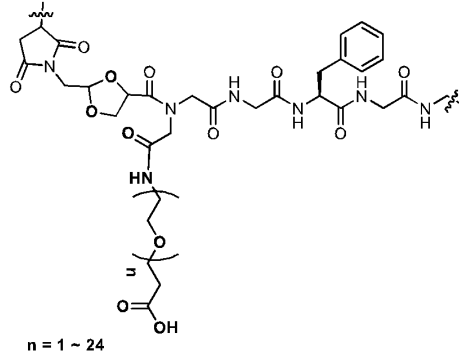
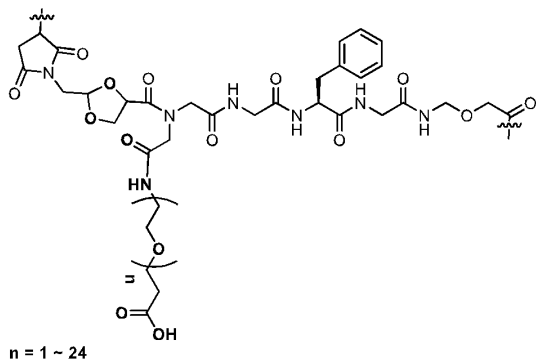
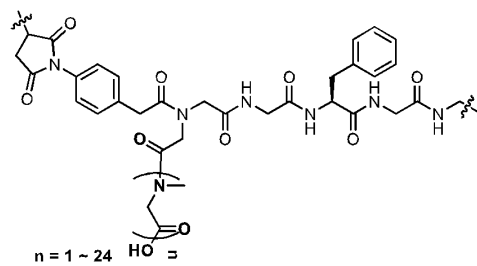
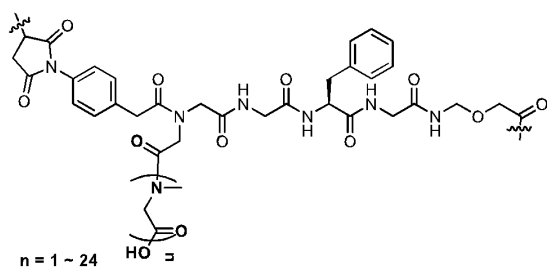
其中，其中，所述 L_1, L_2, L_3, L_4, L_5 的定义如权利要求 1-34 任一中所述。

49、如权利要求 48 所述的连接体，其特征在于，所述的连接体选自下组：

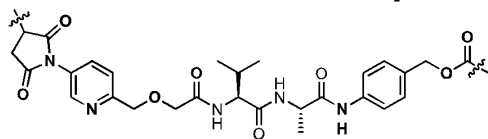


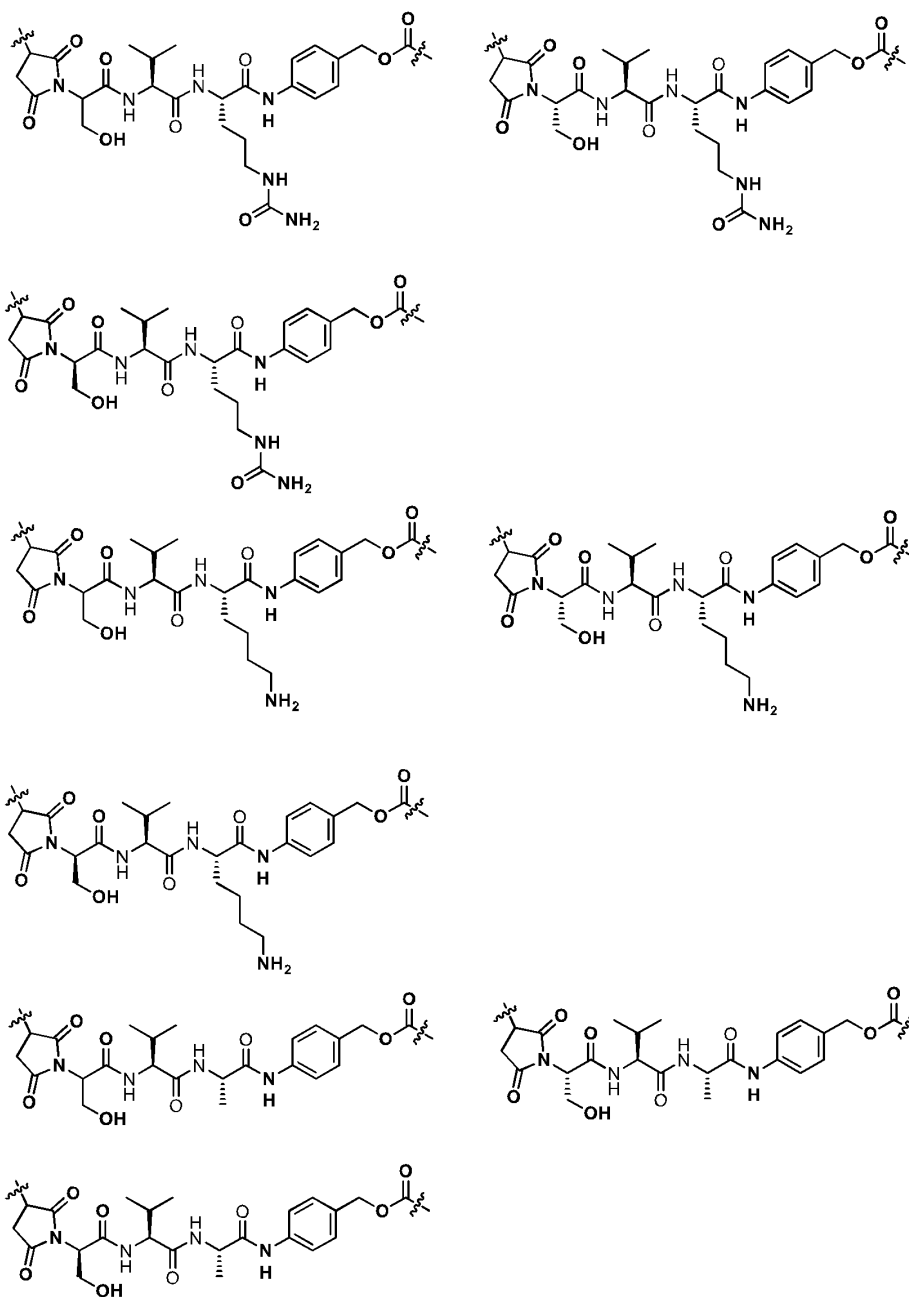






5





- 50、如权利要求48-49所述的连接体，其特征在于，所述的连接体通过L₁段与配体相连，通过L₂段与P1相连，形成配体药物偶联物；且所述的P1选自下组：糖肽类抗生素，例如博来霉素或平阳霉素；DNA拓扑异构酶抑制剂，例如拓扑异构酶I抑制剂（例如喜树碱、羟基喜树碱、9-氨基喜树碱、SN-38、伊立替康、伊喜替康、拓扑替康、贝洛替康或卢比替康、DXd等），拓扑异构酶II抑制剂（例如放线菌素D、多柔比星、多卡米星，柔红霉素、米托蒽醌、鬼臼毒素或依托泊苷）；干扰DNA合成药物，例如甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶、阿糖胞苷、吉西他滨、硫嘌呤、喷司他丁、氟达拉滨、克拉屈滨或奈拉滨；作用于结构蛋白的药物，例如微管蛋白抑制剂，长春花生物碱类、长春新碱、长春碱、紫杉醇、多西他赛或卡巴他赛；肿瘤信号通路抑制剂，例如丝氨酸/苏氨酸激酶抑制剂、酪氨酸激酶抑制剂、天冬氨酸激酶抑制剂或组氨酸激酶抑制剂；蛋白酶体抑制剂；组蛋白去乙酰化酶抑制剂；肿瘤新生血管生成抑制剂；细胞周期蛋白抑制剂；美登素衍生物（例如DM1、DM4等）；卡里奇霉素衍生物；奥瑞他汀衍生物（例如单甲基溴瑞他汀E（MMAE）、单甲基溴瑞他汀F（MMAF）、溴瑞他汀E、溴瑞
- 5
- 10

他汀F等)；Pyrrolobenzodiazepine dimers(PBD)衍生物；鹅膏毒素类衍生物(如 α -Amanitin等)；蒽环类；杜卡霉素；艾日布林(eribulin)；美法仑；丝裂霉素C；苯丁酸氮芥；TLR激动剂；STING激动剂；糖皮质激素类以及其它抑制肿瘤细胞生长、促进肿瘤细胞凋亡或坏死的活性物质脱氢形成的基团。

51、一种如式(L-1)所示的连接体前体，其用于得到将药物单元与配体连接而成的配体-药物偶联物：

L_A-R^g (L-1)，

其中， R^g 为H、OH、O(C₁-C₆烷基)；其中 L_A 的定义如权利要求46所述。

52、如权利要求51所述的连接体前体，其特征在于，所述的连接体前体选自下组：

