

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2024年7月4日 (04.07.2024)



(10) 国际公布号
WO 2024/140934 A1

(51) 国际专利分类号:

C07D 491/22 (2006.01) C07K 1/107 (2006.01)
C07C 315/04 (2006.01) C07K 1/16 (2006.01)
C07C 317/28 (2006.01) C07K 5/033 (2006.01)
C07K 5/062 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2023/142851

(22) 国际申请日: 2023年12月28日 (28.12.2023)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

202211728484.2 2022年12月30日 (30.12.2022) CN

(71) 申请人: 上海复旦张江生物医药股份有限公司 (SHANGHAI FUDAN-ZHANGJIANG BIOPHARMACEUTICAL CO., LTD.) [CN/CN]; 中国上海市浦东新区张江高科技园区蔡伦路308号, Shanghai 201210 (CN)。

(72) 发明人: 刘宁 (LIU, Ning); 中国上海市浦东新区张江高科技园区蔡伦路308号, Shanghai 201210 (CN)。李振东 (LI, Zhendong); 中国上海市浦东新区张江高科技园区蔡伦路308号, Shanghai 201210 (CN)。沈磊 (SHEN, Lei); 中国上海市浦东新区张江高科技园区蔡伦路308号, Shanghai 201210 (CN)。杨周 (YANG, Zhou); 中国上海市浦东新区张江高科技园区蔡伦路308号, Shanghai 201210 (CN)。王东生 (WANG, Dongsheng); 中国

上海市浦东新区张江高科技园区蔡伦路308号, Shanghai 201210 (CN)。邱雪飞 (QIU, Xuefei); 中国上海市浦东新区张江高科技园区蔡伦路308号, Shanghai 201210 (CN)。王宝霞 (WANG, Baoxia); 中国上海市浦东新区张江高科技园区蔡伦路308号, Shanghai 201210 (CN)。

(74) 代理人: 上海弼兴律师事务所 (SHANGHAI BESHINING LAW OFFICE); 中国上海市徐汇区小木桥路681号外经大厦21楼, Shanghai 200032 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR,

(54) Title: PREPARATION METHOD FOR LINKER-DRUG CONJUGATE AND INTERMEDIATE THEREOF

(54) 发明名称: 一种连接基药物偶联物的制备方法及其中间体

(57) Abstract: Provided are a preparation method for a linker-drug conjugate and an intermediate thereof. Particularly provided is a preparation method for a compound LE14, comprising subjecting an intermediate, i.e., a compound of formula II, and a compound of formula III or mesylate thereof to an amide condensation reaction in the presence of a condensation agent, an alkali and a solvent so as to obtain a compound of formula I. The preparation method can prepare the high-purity intermediate II, then directly condense the intermediate II with exatecan mesylate to obtain the compound I, and then continue to perform subsequent reactions, so as to prepare the final product LE14. The preparation method has one or more following advantages: using the intermediate II as an initial raw material of process production reduces process steps, facilitates control of product quality, and remarkably reduces impurities in the final product so as to improve the purity of the final product; and using the more economical exatecan for condensation greatly lowers the production cost and makes the method more applicable to industrial production.

(57) 摘要: 提供一种连接基药物偶联物的制备方法及其中间体; 具体提供了化合物LE14的制备方法, 其通过将中间体式II化合物与式III化合物或其甲磺酸盐在缩合剂、碱以及溶剂存在下进行酰胺缩合反应得到式I化合物。该制备方法能够制备高纯度中间体II, 通过中间体II直接与依喜替康甲磺酸盐进行缩合, 得到化合物I, 继续进行后续反应, 制备得到终产物LE14。所述制备方法具有如下一个或多个优点: 将中间体II作为工艺生产的起始原料, 能够减少工艺步骤, 易于控制产品质量, 终产物杂质显著降低, 纯度提高; 同时使用更加经济的依喜替康进行缩合, 大幅降低了生产成本, 更适合工业化生产。

HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO,
PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF,
CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN,
TD, TG)。

根据细则4.17的声明:

- 发明人资格(细则4.17(iv))

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

一种连接基药物偶联物的制备方法及其中间体

本申请要求申请日为 2022/12/30 的中国专利申请 2022117284842 的优先权。本申请引用上述中国专利申请的全文。

技术领域

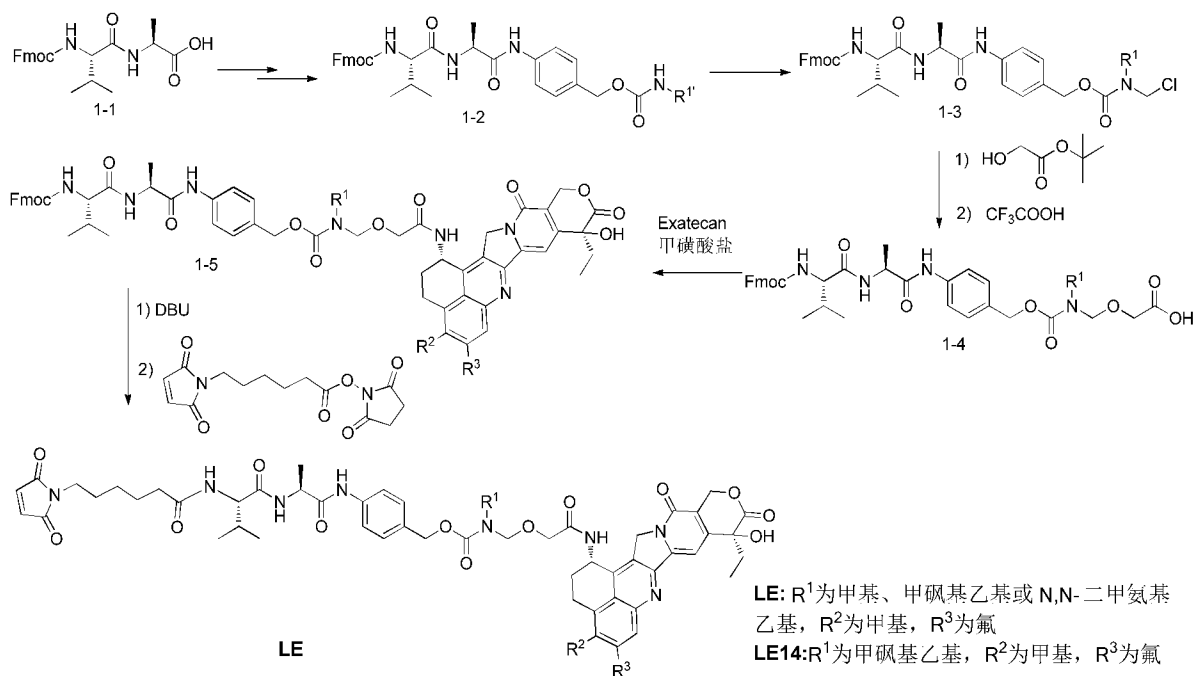
本发明属于药物合成领域，具体涉及一种连接基药物偶联物的制备方法及其中间体。

背景技术

抗体偶联药物(ADC)成为了近几年国内外医药企业争相布局的药物管线，是近年来制药行业关注的热点之一。ADC 药物由三大基本模块组成，包含抗体、连接子、效应分子。ADC 药物正是利用抗体特异性的靶向作用，将效应分子传输到肿瘤部位进行富集，从而达到杀死肿瘤细胞的目的。效应分子中有一类喜树碱类似物在 ADC 领域被广泛应用。近年来 Immunomedics 公司将其作为效应分子应用在其 ADC 药物 IMMU-132 (ZL200980156218)中，表现出了较好的抗肿瘤效果，第一三共使用另一种喜树碱类似物作为效应分子的 ADC 药物 DS-8201a (ZL201380053256)，同样表现出来较好的抗肿瘤效果。

专利申请 WO2020259258A1 公开了一种喜树碱衍生物 DXd 作为效应分子的 ADC 化合物，并提供了如路线 1 和路线 2 所示的连接基药物偶联物 LE14 的制备方法；专利申请 WO2022204947A1、CN115215921A 和 CN115385926A 提供了改进的路线 3、路线 4 和路线 5。

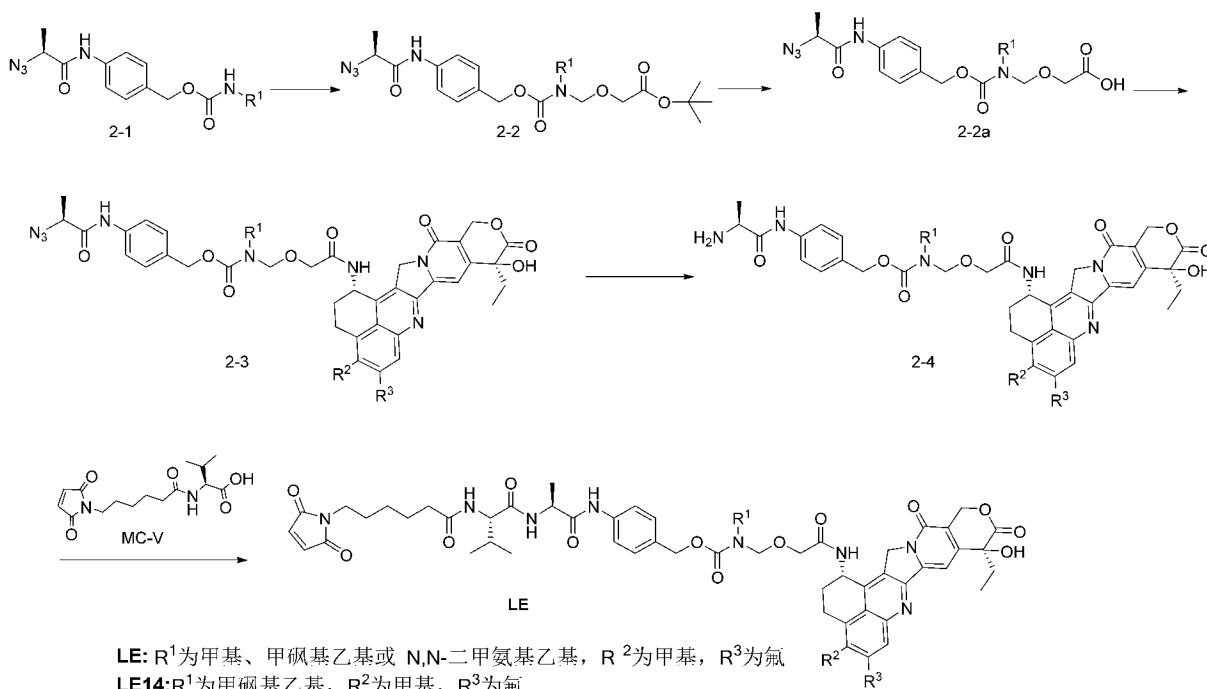
路线 1:



路线 1 的合成方法包括如下步骤：化合物 **1-1** 与 4-氨基苄醇反应，所得化合物与二（对硝基苯）碳酸酯反应后再与取代的烷基胺反应得到化合物 **1-2**，化合物 **1-2** 与多聚甲醛和三甲基氯硅烷反应得到化合物 **1-3**，化合物 **1-3** 与羟基乙酸叔丁酯反应后在三氟乙酸作用下脱去叔丁基得到化合物 **1-4**，化合物 **1-4** 与依喜替康甲磺酸盐反应得到化合物 **1-5**，在 DBU 作用下脱去氨基上的 Fmoc 保护后再与 6-(马来酰亚胺基)己酸琥珀酰亚胺酯发生偶联反应得到目标化合物 **LE14**。

该路线中以中间体 **1-3** 作为原料制备中间体 **1-4** 的步骤中，由于原料和产物对酸碱均不稳定，脱保护和纯化过程中会存在一定的分解风险，化合物 **1-4** 未经过纯化，使用粗品直接进行下一步反应，会造成 **1-5** 粗品中产生明显的杂质，这类杂质极性与产物接近，造成纯化困难，进而影响 **LE14** 的产品质量。

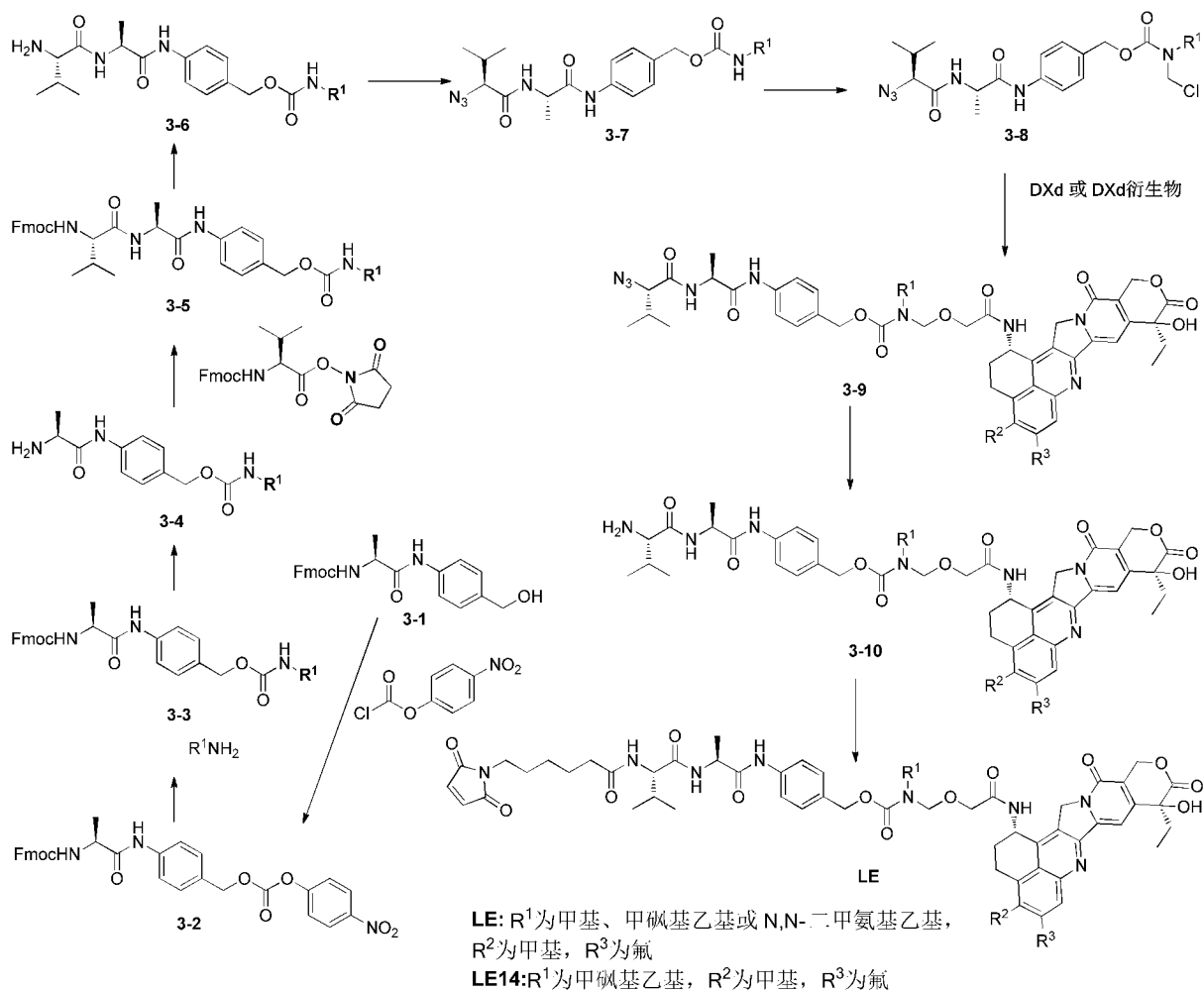
路线 2:



路线 2 的合成方法包括如下步骤: 化合物 **2-1** 与多聚甲醛和三甲基氯硅烷反应, 所得化合物再与羟基乙酸叔丁酯反应得到化合物 **2-2**, 化合物 **2-2** 在三氟乙酸作用下脱去叔丁基得到 **2-2a**, 再与依喜替康甲磺酸盐反应得到化合物 **2-3**, 化合物 **2-3** 在三乙基磷作用下将叠氮还原成氨基得到化合物 **2-4**, 化合物 **2-4** 与 MC-V 发生偶联反应得到目标化合物 **LE14**。

该路线中原料 **2-2** 和脱去叔丁基生成的羧酸中间体 **2-2a** 对酸碱均不稳定, 脱保护和纯化过程中存在一定的分解风险, 化合物 **2-2a** 未经过纯化, 使用粗品直接进行下一步反应, 会造成 **2-3** 粗品中产生明显的杂质, 这类杂质极性与产物接近, 造成纯化困难, 进而影响 **LE14** 的产品质量。

路线 3:

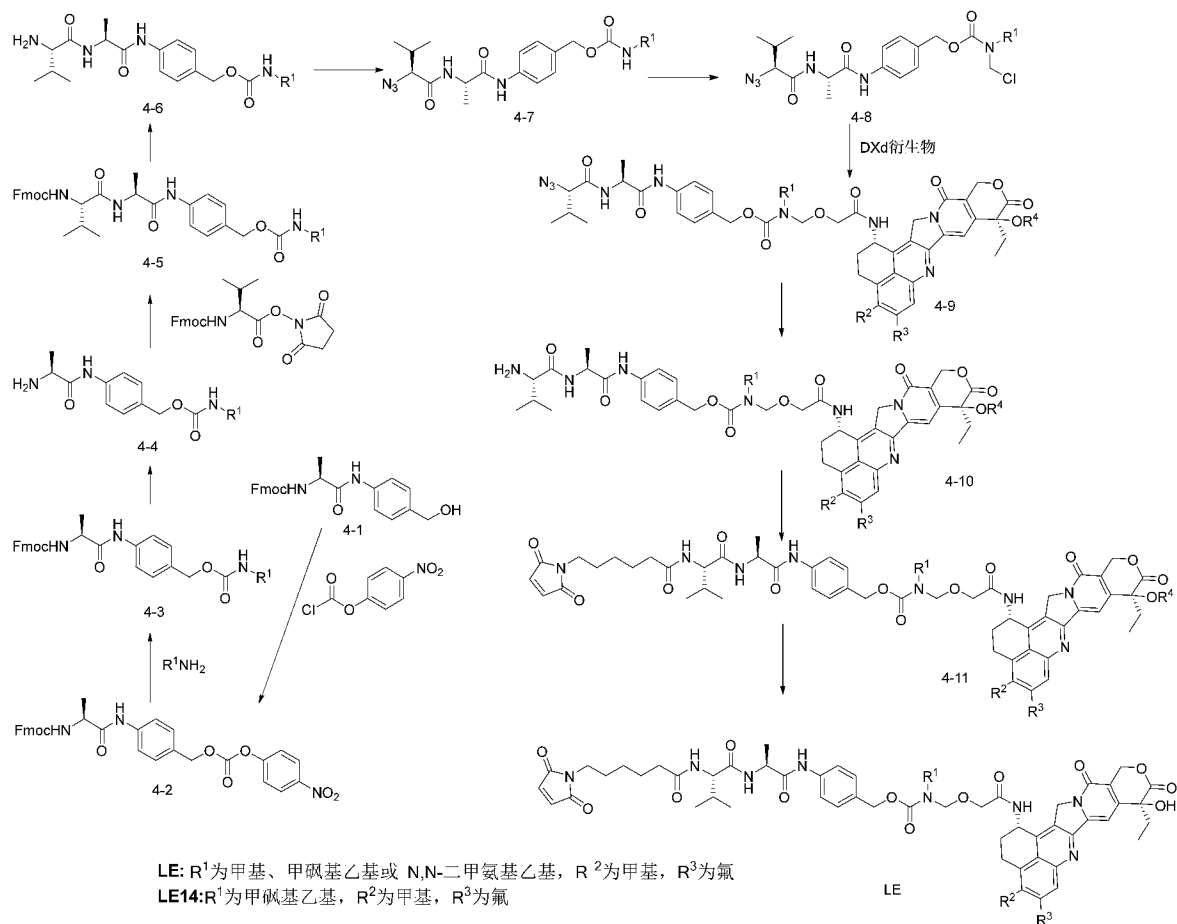


路线 3 的合成方法包括如下步骤：化合物 3-1 与对硝基苯基氯甲酸酯反应得到化合物 3-2，所得化合物再与相应的胺反应得到化合物 3-3，再经脱保护得到 3-4，进一步与氨基酸活性酯反应得到 3-5，经过脱保护得到 3-6，再与酰基叠氮试剂反应得到化合物 3-7，随后通过氯甲基化反应得到化合物 3-8，再与 DXd 或者 DXd 衍生物反应得到化合物 3-9，再将 3-9 中的叠氮基团还原得到化合物 3-10，最后接上马来酰亚胺接头得到终产物 LE14。

按照路线 3 的方法，以化合物 3-1 为起始原料制备 LE14 的总收率为 3.5%，以化合物 3-7 为起始原料制备 LE14 的总收率为 10.7%。

该路线中用 DXd 或 DXd 衍生物作为 payload 的来源，售价较贵，大大增加了制备 LE14 的成本。

路线 4:



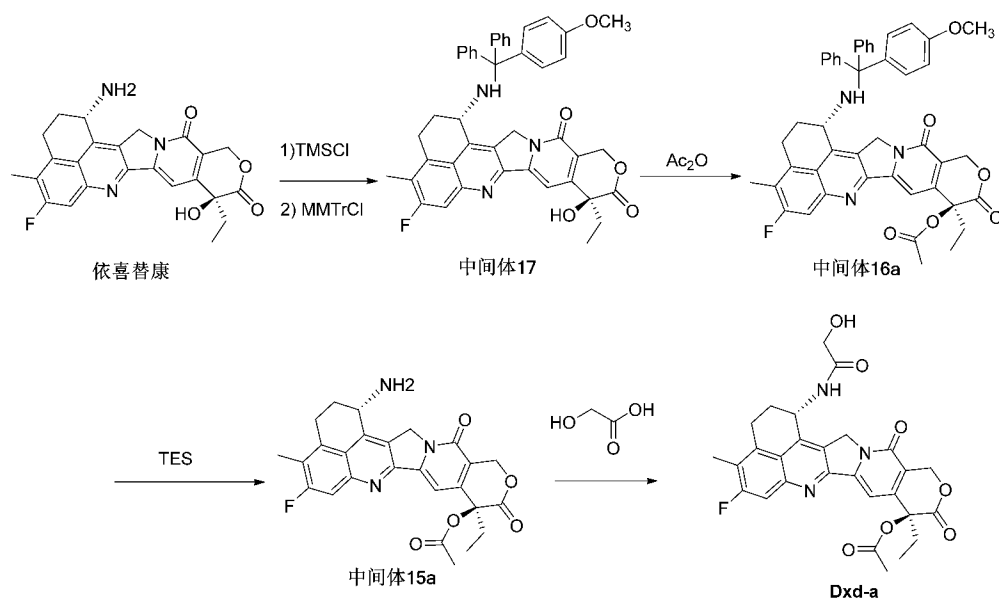
路线 4 的合成方法包括如下步骤: 化合物 4-1 与对硝基苯基氯甲酸酯反应得到化合物 4-2, 所得化合物再与相应的胺反应得到化合物 4-3, 经脱保护得到 4-4, 进一步与氨基酸活性酯反应得 4-5, 经过脱保护得到 4-6, 再与酰基叠氮试剂反应得到化合物 4-7, 随后通过氯甲基化反应得到化合物 4-8, 再与 DXd 衍生物反应得到化合物 4-9, 再将 4-9 中的叠氮基团还原得到化合物 4-10, 再接上马来酰亚胺接头得到 4-11, 最后脱除羟基保护基得到终产物 LE14。

按照路线 4 的方法, 以化合物 4-1 为起始原料, 以其中的 DXd-a 为 payload 来源制备 LE14 的总收率为 7.3% (4-1→DXd-a→LE14); 以化合物 4-1 为起始原料, 以其中的 DXd-b 为 payload 来源制备 LE14 的总收率为 12.9% (4-1→DXd-b→LE14)。

该路线中用 DXd 衍生物 DXd-a (结构见路线 4-a) 或 DXd-b (结构见路线 4-b) 作为 payload 的来源, 售价较贵, 大大增加了制备 LE14 的成本。

为了避免购买价格昂贵的 DXd 衍生物, 本公司开发了从依喜替康出发制备 DXd-a 和 DXd-b 的合成路线 4-a 和路线 4-b。

依喜替康衍生化路线 4-a: (依喜替康→DXd-a)

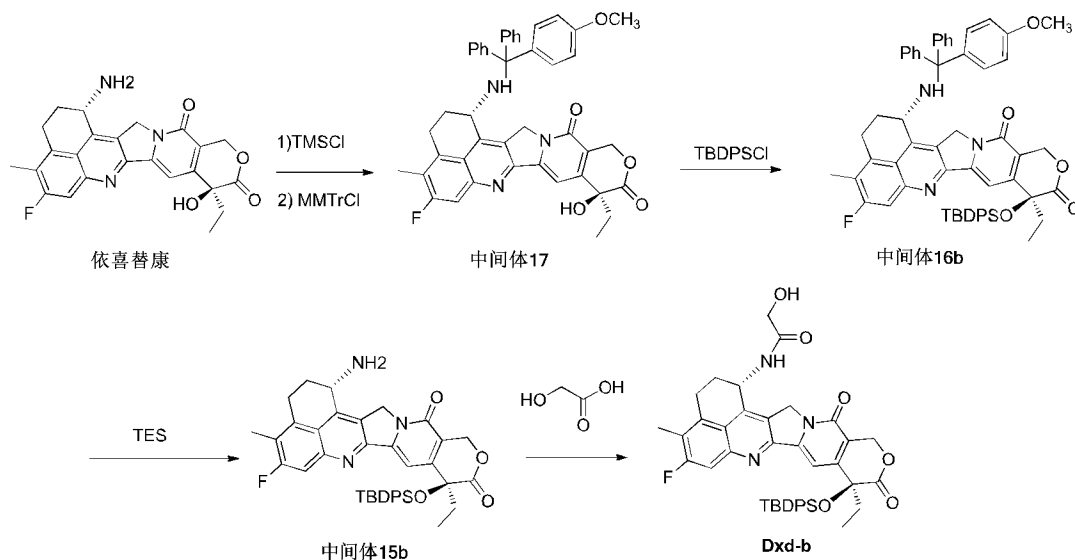


按照路线 4-a 制备 Dxd-a 的合成方法包括：将依喜替康或其甲磺酸盐在三甲基氯硅烷及 N,N-二异丙基乙胺的存在下与 4-甲氧基氯化三苯甲烷反应制备得到氨基保护的中间体化合物 17，化合物 17 在碱性条件下和乙酸酐反应得到乙酰化的中间体 16a，中间体 16a 在三乙基硅烷的作用下脱去氨基的保护后得到的中间体 15a 进一步与羟基乙酸反应得到化合物 Dxd-a，该以依喜替康为起始原料制备 Dxd-a 的总收率为 38.3%（依喜替康→Dxd-a；以下称为路线 4-a 的收率）。

将以化合物 4-1 为起始原料按照路线 4 的合成方法制备得到化合物 4-8 和以依喜替康为起始原料按照路线 4-a 的合成方法制备得到的 Dxd-a 为 payload 来源按照路线 4 的方法制备 LE14 的整体收率为 2.8%（4-1→Dxd-a→LE14 的收率与依喜替康衍生化路线 4-a 的收率相乘，即 $7.3\% \times 38.3\% = 2.8\%$ ）。

在以化合物 4-7 作为起始原料和以依喜替康为起始原料按照路线 4-a 的合成方法制备得到的 Dxd-a 为 payload 来源按照路线 4 的方法制备 LE14 的整体收率为 8.2%（4-7→Dxd-a→LE14 的收率与依喜替康衍生化路线 4-a 的收率相乘，即 $21.3\% \times 38.3\% = 8.2\%$ ）。

依喜替康衍生化路线 4-b：（依喜替康→Dxd-b）



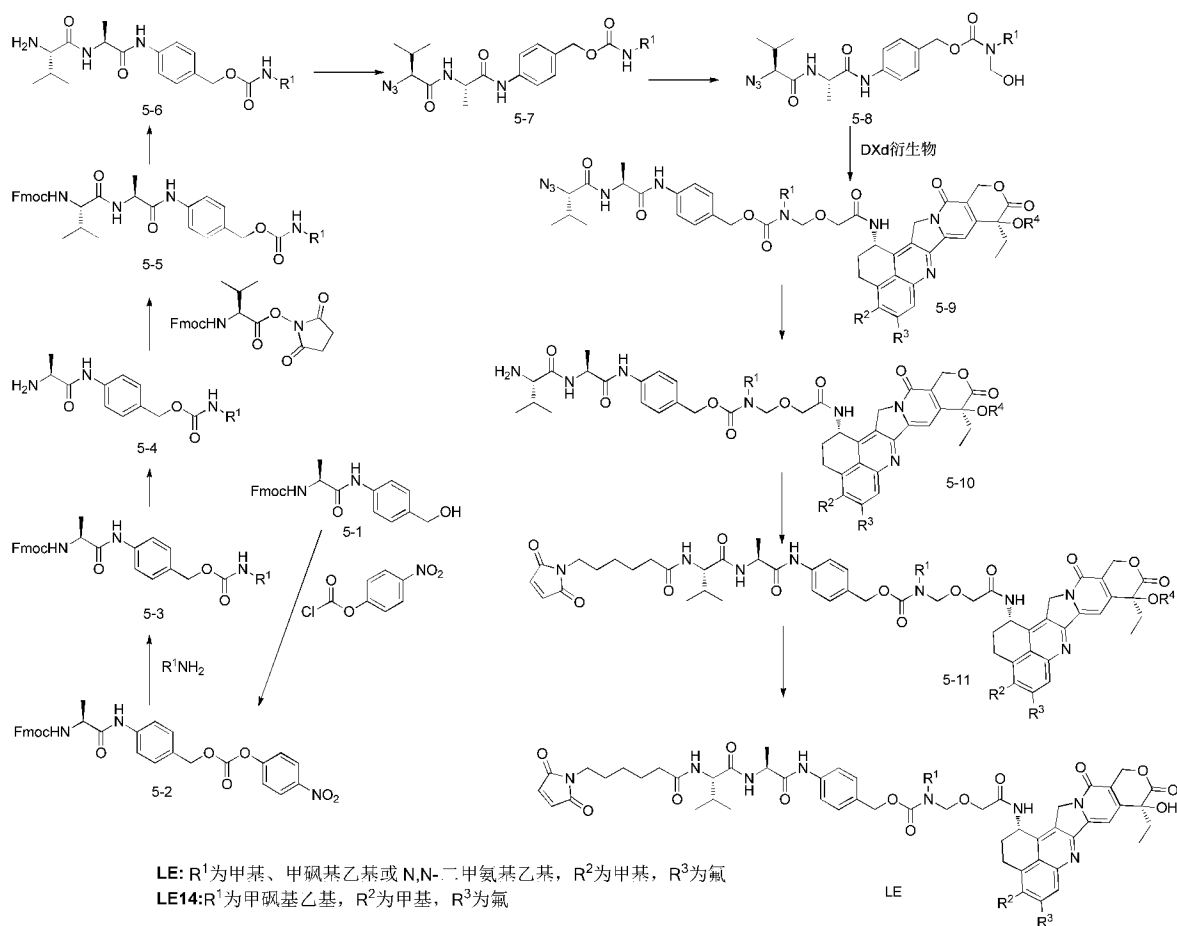
按照路线 4-b 制备 Dxd-b 的合成方法包括：将依喜替康或其甲磺酸盐在三甲基氯硅烷及 N,N-二异丙基乙胺的存在下与 4-甲氧基氯化三苯甲烷反应制备得到氨基保护的中间体化合物 17，化合物 17 在碱性条件下和叔丁基二苯基氯硅烷反应得到叔丁基二苯基硅烷化的中间体 16b，中间体 16b 在三乙基硅烷的作用下脱去氨基的保护后得到的中间体 15b 进一步与羟基乙酸反应得到化合物 Dxd-b，该以依喜替康为起始原料制备 Dxd-b 的总收率为 48.2%（依喜替康→Dxd-b；以下称为路线 4-b 的收率）。

将以化合物 4-1 为起始原料按照路线 4 的合成方法制备得到化合物 4-8 和以依喜替康为起始原料按照路线 4-b 的合成方法制备得到的 Dxd-b 为 payload 来源按照路线 4 的方法制备 LE14 的整体收率为 6.2%（4-1→Dxd-b→LE14 的收率与依喜替康衍生化路线 4-b 的收率相乘，即 $12.9\% \times 48.2\% = 6.2\%$ ）。

在以化合物 4-7 作为起始原料和以依喜替康为起始原料按照路线 4-b 的合成方法制备得到的 Dxd-b 为 payload 来源按照路线 4 的方法制备 LE14 的整体收率为 18.0%（4-7→Dxd-b→LE14 的收率与依喜替康衍生化路线 4-b 的收率相乘，即 $37.5\% \times 48.2\% = 18.0\%$ ）。

若将以依喜替康为起始原料，按照路线 4-a 和 4-b 的方法制备得到的 Dxd-a 和 Dxd-b 作为 Dxd 衍生物来源用于路线 4，虽然避免了直接用比较昂贵的 Dxd，但是增加了 4 步反应，增加了实验操作量，同时，依喜替康衍生化过程中，其损耗也是巨大的，反而增加了生产成本。

路线 5:



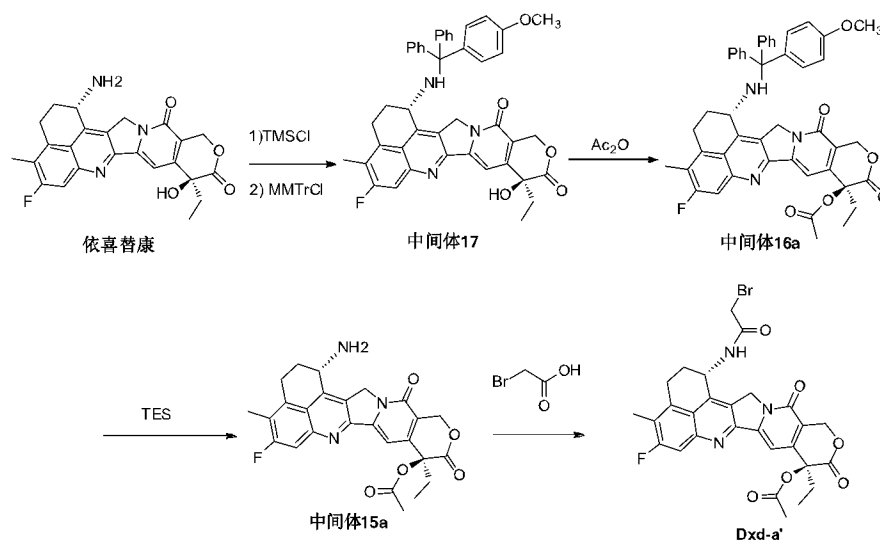
路线 5 的合成方法包括如下步骤：化合物 5-1 与对硝基苯基氯甲酸酯反应得到化合物 5-2，所得化合物再与相应的胺反应得到化合物 5-3，经脱保护得到 5-4，进一步与氨基酸活性酯反应得 5-5，经过脱保护得到 5-6，再与酰基叠氮试剂反应得到化合物 5-7，随后通过羟甲基化反应得到化合物 5-8，再与 DXd 衍生物反应得到化合物 5-9，再将 5-9 中的叠氮基团还原得到化合物 5-10，再接上马来酰亚胺接头得到 5-11，最后脱除羟基保护基得到终产物 LE14。

按照路线 5 的方法，以化合物 5-1 为起始原料，以其中的 Dxd-a'（在原专利申请中编号为 Dxd-a，结构见路线 5-a，为了与路线 4-a 中的 Dxd-a 区分，本申请中重新编号为 Dxd-a'）为 payload 来源制备 LE14 的总收率为 6.9%；以化合物 5-1 为起始原料，以其中的 Dxd-b'（在原专利申请中编号为 Dxd-b，结构见路线 5-b，为了与路线 4-b 中的 Dxd-b 区分，本申请中重新编号为 Dxd-b'）为 payload 来源制备 LE14 的总收率为 12.2%。

该路线中用 DXd 衍生物 Dxd-a' 或 Dxd-b' 作为 payload 的来源，售价较贵，大大增加了制备 LE14 的成本。

为了避免购买价格昂贵的 DXd 衍生物，本公司开发了从依喜替康出发制备 Dxd-a' 和 Dxd-b' 的合成路线 5-a 和路线 5-b。

依喜替康衍生化路线 5-a: (依喜替康→Dxd-a')

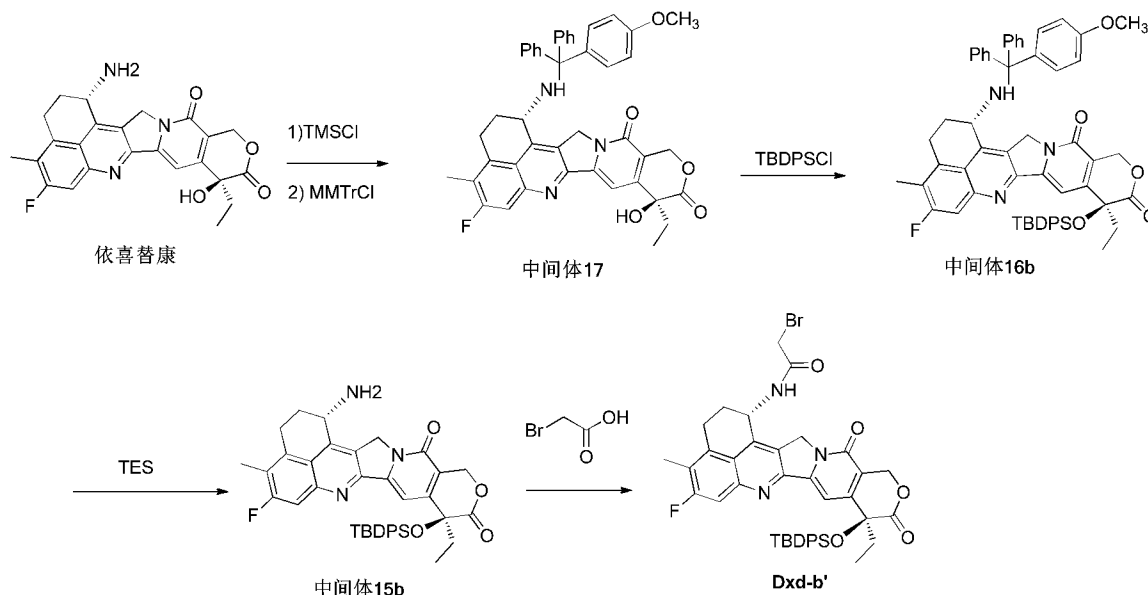


按照路线 5-a 制备 Dxd-a'的合成方法包括：将依喜替康或其甲磺酸盐在三甲基氯硅烷及 N,N-二异丙基乙胺的存在下与 4-甲氧基氯化三苯甲烷反应制备得到氨基保护的中间体化合物 17，化合物 17 在碱性条件下和乙酸酐反应得到乙酰化的中间体 16a，中间体 16a 在三乙基硅烷的作用下脱去氨基的保护后得到的中间体 15a 进一步与 2-溴乙酸反应得到化合物 Dxd-a'，该以依喜替康为起始原料制备 Dxd-a'的总收率为 27.6% (依喜替康→Dxd-a'，以下称为路线 5-a 的收率)。

将以化合物 5-1 为起始原料按照路线 5 的合成方法制备得到化合物 5-8 和以依喜替康为起始原料按照路线 5-a 的合成方法制备得到的 Dxd-a'为 payload 来源按照路线 5 的方法制备 LE14 的整体收率为 1.9% (5-1→Dxd-a'→LE14 的收率与依喜替康衍生化路线 5-a 的收率相乘，即 $6.9\% \times 27.6\% = 1.9\%$)。

在以化合物 5-7 作为起始原料和以依喜替康为起始原料按照路线 5-a 的合成方法制备得到的 Dxd-a'为 payload 来源按照路线 5 的方法制备 LE14 的整体收率为 6.5% (5-7→Dxd-a'→LE14 的收率与依喜替康衍生化路线 5-a 的收率相乘，即 $23.4\% \times 27.6\% = 6.5\%$)。

依喜替康衍生化路线 5-b: (依喜替康→Dxd-b')



按照路线 5-b 制备 Dxd-b' 的合成方法包括：将依喜替康或其甲磺酸盐在三甲基氯硅烷及 N,N-二异丙基乙胺的存在下与 4-甲氧基氯化三苯甲烷反应制备得到氨基保护的中间体化合物 17，化合物 17 在碱性条件下和叔丁基二苯基氯硅烷反应得到叔丁基二苯基硅烷化的中间体 16b，中间体 16b 在三乙基硅烷的作用下脱去氨基的保护后得到的中间体 15b 进一步与 2-溴乙酸反应得到化合物 Dxd-b'，该以依喜替康为起始原料制备 Dxd-b' 的总收率为 44.5%（依喜替康→Dxd-b'，以下称为路线 5-b 的收率）。

将以化合物 5-1 为起始原料按照路线 5 的合成方法制备得到化合物 5-8 和以依喜替康为起始原料按照路线 5-b 的合成方法制备得到的 Dxd-b' 为 payload 来源按照路线 5 的方法制备 LE14 的整体收率为 5.4%（5-1→Dxd-b'→LE14 的收率与依喜替康衍生化路线 5-b 的收率相乘，即 12.2%×44.5%=5.4%）。

在以化合物 5-7 作为起始原料和以依喜替康为起始原料按照路线 5-b 的合成方法制备得到的 Dxd-b' 为 payload 来源按照路线 5 的方法制备 LE14 的整体收率为 18.3%（5-7→Dxd-b'→LE14 的收率与依喜替康衍生化路线 5-b 的收率相乘，即 41.2%×44.5%=18.3%）。

若将以依喜替康为起始原料，按照路线 5-a 和 5-2 的方法制备得到的 Dxd-a' 和 Dxd-b' 作为 Dxd 衍生物来源用于路线 5，虽然避免了直接用比较昂贵的 Dxd，但是增加了 4 步反应，增加了实验操作量，同时，依喜替康衍生化过程中，其损耗也是巨大的，反而增加了生产成本。

经过验证评估下来，发现以上路线存在以下缺陷：

路线 1 和路线 2 中的中间体 1-3 和 2-2 需要通过脱除叔丁基制备羧酸中间体，但是该反应使用了三氟乙酸脱保护，条件剧烈，且三氟乙酸后处理难以除去，同时生成的 1-4

和 2-2a 羧酸中间体不稳定，在纯化过程中近乎完全损失，只能采用未经纯化的粗品直接进行下一步反应，进而造成终产品中存在一部分极性与其相近的杂质存在，增加了纯化难度；同时路线 3、路线 4 和路线 5 中需要用到 DXd 或者 DXd 的衍生物，大幅增加了生产成本。

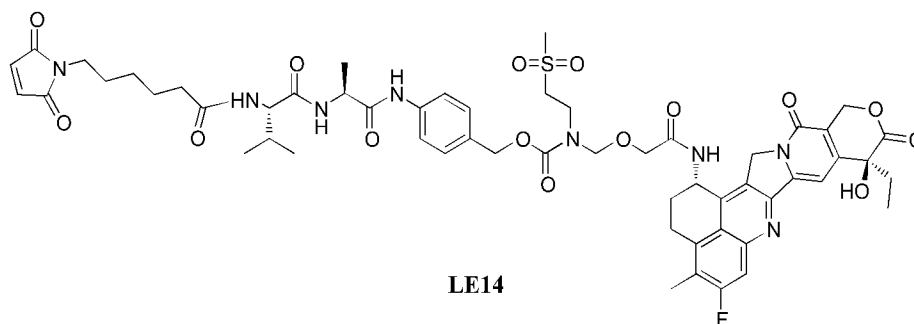
为了能拿到纯化的稳定的羧酸中间体，我们还尝试了用甲基或乙基保护羧基，例如将甲磺基乙基胺中间体和羟基乙酸甲酯或羟基乙酸乙酯反应，然后在碱性或者酸性条件下进行酯水解来得到羧酸，然而该类酯结构及水解后得到的羧酸均不耐酸碱，无法拿到纯化的羧酸产品；也尝试使用硅类保护基，如三甲基硅(TMS)、叔丁基二甲基硅基(TBS)保护羧基，然而对应的产物也不稳定，没办法拿到纯化的产品。

以上合成路线的缺陷及失败的尝试都限制了该类 ADC 药物的商业化生产，因此需要寻找一条更有效合理的制备路线及具有稳定易于纯化分离的中间体来解决这一问题。

发明内容

本发明所要解决的技术问题是克服在现有的式 **LE14** 所示的连接基药物偶联物的制备方法中存在的中间体不易纯化，导致制备得到的 **LE14** 纯度不高，以及 DXd 衍生物价格昂贵的缺陷，从而提供了一种连接基药物偶联物 **LE14** 的新的制备方法及其中间体，本发明的制备方法直接采用依喜替康或其甲磺酸盐作为 payload 的来源，并与本发明的新中间体 **II** 反应形成连接基药物偶联物化合物 **I**，最终通过后续工艺反应得到终产物 **LE14**。本发明制备方法具有以下一个或多个优点：能稳定地拿到纯化的羧酸中间体 **II** 产品，将其作为工艺生产的起始原料，显著减少工艺步骤，同时也降低终产品 **LE14** 的杂质含量；此外工艺中使用更加经济的依喜替康或其甲磺酸盐作为关键原料，大幅降低了生产成本。

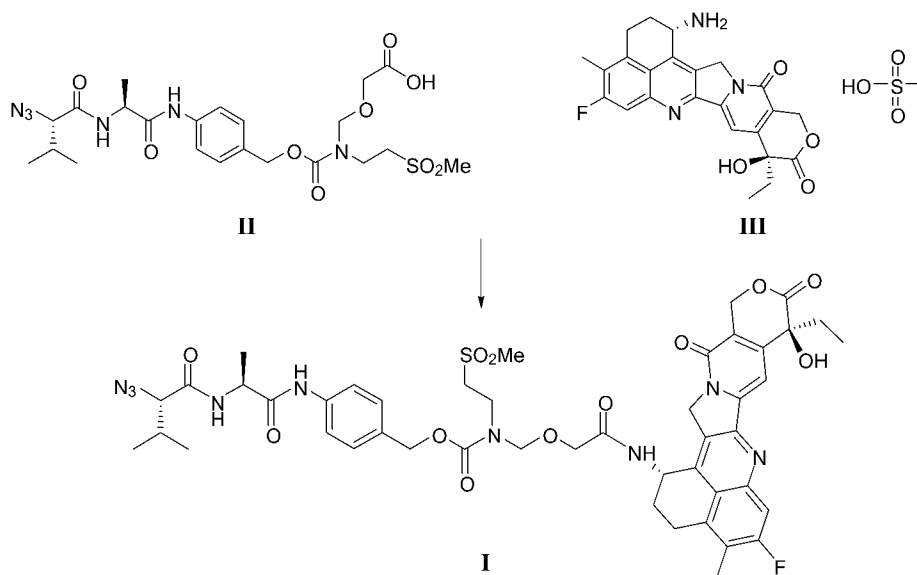
本发明涉及的抗体药物偶联物 **LE14** 的结构如下所示：



本发明主要是通过以下技术方案解决上述技术问题的。

本发明提供了一种式 **I** 化合物的制备方法，其包括如下步骤：将中间体式 **II** 化合物与式 **III** 化合物或其甲磺酸盐在缩合剂、碱以及溶剂存在下进行酰胺缩合反应得到所述的

式 I 化合物；



所述的式 I 化合物制备方法中，反应条件（例如溶剂用量、投料次序和加料方式、投料时间等）可以为本领域该类反应的常规条件，本发明中，优选如下方案：

在一些实施方案中，所述的式 I 化合物的制备方法中，反应物料为所述的式 II 化合物、所述的式 III 化合物或其甲磺酸盐、所述的缩合剂、所述的碱和所述的溶剂。

在一些实施方案中，所述的式 I 化合物的制备方法中，所述的酰胺缩合反应还包括如下具体步骤：式 II 化合物溶于溶剂，加入所述的缩合剂，立刻或反应一段时间后加入式 III 化合物或其甲磺酸盐和碱。

在一些实施方案中，所述的式 I 化合物的制备方法中，该反应全程避光处理。

在一些实施方案中，所述的式 I 化合物的制备方法中，所述的式 III 化合物与所述的式 II 化合物的摩尔比值可以为 0.8-1.5，优选为 0.9-1.2，进一步优选为 0.9-1.0，最优选为 0.9。

在一些实施方案中，所述的式 I 化合物的制备方法中，所述的缩合剂可以为氯化 4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉 (DMTMM)、氰代磷酸二乙酯 (DECP)、叠氮磷酸二苯酯 (DPPA)、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐 (EDCI)、1-羟基苯并三唑 (HOBt)、2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸酯 (HATU)、苯并三氮唑-N,N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸酯 (HBTU)、6-氯苯并三氮唑-1,1,3,3-四甲基脒六氟磷酸酯 (HCTU)、2-(1H-苯并三偶氮 L-1-基)-1,1,3,3-四甲基脒四氟硼酸酯 (TBTU)、2-琥珀酰亚胺基-1,1,3,3-四甲基脒四氟硼酸酯 (TSTU) 和 2-(5-降冰片烯-2,3-二甲酰亚胺基)-1,1,3,3-四甲基脒四氟硼酸季铵盐 (TNTU) 中的一种或其中任意两种或两种以上的混合，优选地，所述的缩合剂可以为氯化 4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉。

在一些实施方案中，所述的式 I 化合物的制备方法中，所述的缩合剂与所述的式 II 化合物的摩尔比值可以为 1-3，优选为 1-1.5，进一步优选为 1.5。

在一些实施方案中，所述的式 I 化合物的制备方法中，所述的碱可以为本领域此类反应常规的碱，可以为有机碱、无机碱或其混合，优选为有机碱；其中，所述的有机碱优选为 N,N-二异丙基乙胺、三乙胺和吡啶中的一种或其中任意两种或两种以上的混合，进一步优选为 N,N-二异丙基乙胺；所述的无机碱优选为碱金属氢氧化物、碱金属碳酸盐和碱金属磷酸盐中的一种或其中任意两种或两种以上的混合，进一步优选为碳酸氢钠、碳酸钠、碳酸钾、碳酸铯、氢氧化钠和氢氧化钾中的一种或其中任意两种或两种以上的混合。

在一些实施方案中，所述的式 I 化合物的制备方法中，所述的碱与所述的式 II 化合物的摩尔比值可以为 1-10，优选为 1-6，进一步优选为 1-3，最优选为 1.5。

在一些实施方案中，所述的式 I 化合物的制备方法中，所述的溶剂可以为 N, N-二甲基甲酰胺、二甲基亚砷、四氢呋喃和 1,4-二氧六环中的一种或其中任意两种或两种以上的混合，优选为 N, N-二甲基甲酰胺。

在一些实施方案中，所述的式 I 化合物的制备方法中，所述的缩合反应的温度可以为 20°C-50°C，优选为 20°C-30°C。

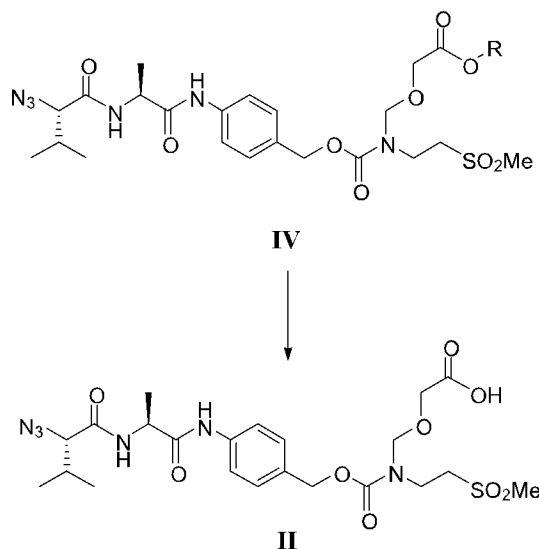
在一些实施方案中，所述的式 I 化合物的制备方法中，所述缩合反应优选在惰性气体保护下进行，例如在氮气或氩气环境中进行。

在一些实施方案中，所述的式 I 化合物的制备方法中，所述缩合反应的反应进程监测可采用本领域中的常规测试方法（例如 TLC、GC、HPLC 或 NMR 等）进行监控，一般以不再检测到式 III 化合物作为反应终点。

在一些实施方案中，所述的式 I 化合物的制备方法中，所述缩合反应的反应时间可以为 2-8 小时，优选为 3-5 小时，进一步优选为 2-4 小时。

在一些实施方案中，所述的式 I 化合物的制备方法中，所述缩合反应的反应完成后，还可以进一步包括如下后处理步骤：将反应液浓缩得到式 I 化合物粗品；优选地，将式 I 化合物粗品进行硅胶柱层析纯化得到式 I 化合物产品，更优选地，所述的硅胶柱层析的洗脱剂可以为氯仿和甲醇的混合溶剂，所述的氯仿和甲醇的体积比为(100-10):1，进一步优选为 10:1。

所述的式 I 化合物的制备方法还可以进一步包括式 II 化合物的制备方法，其可以包括如下步骤：在溶剂中，将式 IV 化合物在脱保护剂的存在下进行脱保护反应得到式 II 化合物；



其中，R 为-Si(C₁~C₆)₃ 取代的 C₁~C₆ 烷基。

在一些实施方案中，所述的式II化合物的制备方法中，所述的-Si(C₁~C₆)₃ 取代的 C₁~C₆ 烷基可以为三甲基硅基乙基、叔丁基二甲基硅基乙基；优选地，所述的-Si(C₁~C₆)₃ 取代的 C₁~C₆ 烷基为三甲基硅基乙基。

在一些实施方案中，所述的式 II 化合物的制备方法中，反应物料为所述的式 IV 化合物、所述的脱保护剂和所述的溶剂。

在一些实施方案中，所述的式II化合物的制备方法中，所述的脱保护剂可以为氟试剂，所述的氟试剂可以为四丁基氟化铵、四甲基氟化铵、四丁基氟化铵/醋酸、吡啶氟化氢络合物、叔丁基氟化铵、叔丁基氟化铵/醋酸、四乙基氟化铵，或者市售的四甲基氟化铵/四氢呋喃溶液、四乙基氟化铵/四氢呋喃溶液、四丁基氟化铵/四氢呋喃溶液，或者为四氟化硅、氟化钾、氟化钠、氟化锂和氟化铯中的一种或多种，优选为 1M 四丁基氟化铵/四氢呋喃溶液或者氟化钾。

在一些实施方案中，所述的式II化合物的制备方法中，所述的脱保护剂与所述的式IV化合物的摩尔比值可以为 1-5，优选为 1-3，进一步优选为 1.1-2.0，最优选为 1.5。

在一些实施方案中，所述的式II化合物的制备方法中，所述的溶剂可以为纯化水、N,N-二甲基甲酰胺、二甲基亚砜、四氢呋喃和 1,4-二氧六环中的一种或其中任意两种或两种以上的混合，优选为 N,N-二甲基甲酰胺或四氢呋喃，最优选为 N,N-二甲基甲酰胺。

在一些实施方案中，所述的式II化合物制备方法中的反应条件（例如溶剂用量、溶剂种类、投料顺序、加料方式和投料时间等）可以为本领域该类反应的常规条件，其可根据不同脱保护基的类型进行调整。例如可包括如下步骤：式IV化合物溶于溶剂，加入脱保护剂后加热开启反应、或者脱保护剂溶于溶剂，加入IV化合物后加热开启反应。

在一些实施方案中，所述的式II化合物的制备方法中，所述的脱保护反应的温度为

20°C-80°C，优选为 30°C-70°C，进一步优选为 40°C-70°C，更进一步优选为 40°C-60°C，最优选为 60°C。

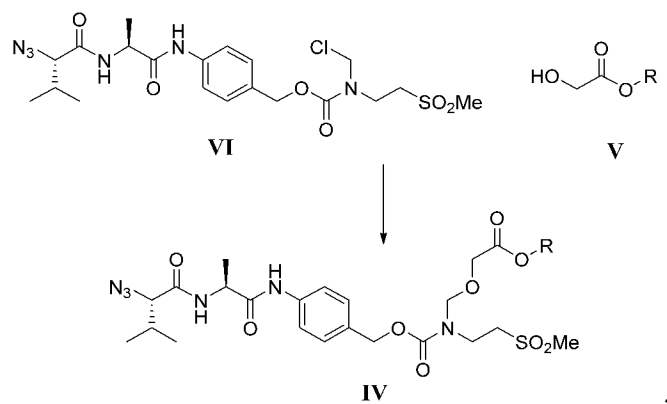
在一些实施方案中，所述的式II化合物的制备方法中，所述脱保护反应优选在惰性气体保护下进行，例如在氮气或氩气环境中进行。

在一些实施方案中，所述的式II化合物的制备方法中，所述脱保护反应的反应进程监测可采用本领域中的常规测试方法（例如 TLC、GC、HPLC 或 NMR 等）进行监控，一般以不再检测到式IV化合物作为反应终点。

在一些实施方案中，所述的式II化合物的制备方法中，所述脱保护反应的反应时间可以为 4-24 小时，优选为 5-16 小时，进一步优选为 5-8 小时。

在一些实施方案中，所述的式II化合物的合成方法中，反应完成后，还可以进一步包括后处理步骤：将反应液浓缩得到式II化合物粗品；优选地，将式II化合物粗品进行硅胶柱层析纯化得到式II化合物产品；更优选地，所述的硅胶柱层析所用的洗脱剂为二氯甲烷和甲醇的混合溶剂，所述的二氯甲烷和甲醇的体积比可以为(100-1):1，优选为(10-1):1。

所述的式 I 化合物的制备方法还可以进一步包括式 IV 化合物的制备方法，其可以包括如下步骤：将式 VI 化合物与试剂 V 在溶剂中、在碱存在下进行醚化反应得到式IV化合物；



其中，R 如上所述。

在一些实施方案中，所述的式 IV 化合物的制备方法中，反应物料为所述的式 VI 化合物、所述的试剂 V、所述的碱和所述的溶剂。

在一些实施方案中，所述的式IV化合物的制备方法中，所述的试剂V与所述的式VI化合物的摩尔比值可以为 1-5，优选为 1-3，进一步优选为 1.1-1.6，最优选为 1.5。

在一些实施方案中，所述的式 IV 化合物的制备方法中，所述碱试剂可以为有机碱、无机碱或其混合，优选为有机碱；其中，所述有机碱优选为叔丁醇钾、三乙胺、4-二甲氨

基吡啶、吡啶和潘必啶中的一种或其中任意两种或两种以上的混合，进一步优选为潘必啶；所述无机碱优选为碱金属氢氧化物、碱金属碳酸盐和碱金属磷酸盐中的一种或其中任意两种或两种以上的混合。

在一些实施方案中，所述的式 **IV** 化合物的制备方法中，所述的碱与所述的式 **VI** 化合物的摩尔比值可以为 1-5，优选为 1.2-4，进一步优选为 1.5-3，最优选为 1.5。

在一些实施方案中，所述的式 **IV** 化合物的制备方法中，所述溶剂为 N, N-二甲基甲酰胺、二甲基亚砜、四氢呋喃和 1,4-二氧六环中的一种或其中任意两种或两种以上的混合，优选为四氢呋喃或 1,4-二氧六环，进一步优选为四氢呋喃。

在一些实施方案中，所述的式 **IV** 化合物制备方法中，反应条件（例如溶剂用量、投料顺序、加料方式和投料时间等）可以为本领域该类反应的常规条件，其可根据不同碱试剂的类型进行调整，例如可包括如下步骤：式 **VI** 化合物溶于溶剂，加入碱后，立刻或反应一段时间后加入试剂 **V**。

在一些实施方案中，所述的式 **IV** 化合物的合成方法中，所述的醚化反应的温度可以为 0°C-80°C，优选为 40°C-70°C，最优选 60°C。

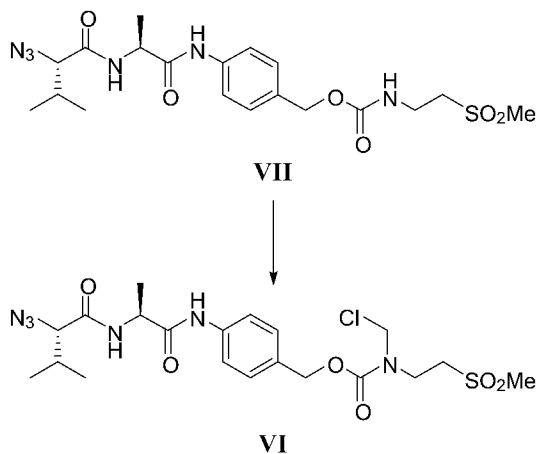
在一些实施方案中，所述的式 **IV** 化合物的制备方法中，所述的醚化反应优选在惰性气体保护下进行，例如在氮气或氩气环境中进行。

在一些实施方案中，所述的式 **IV** 化合物的制备方法中，所述的醚化反应进程的监测可采用本领域中的常规测试方法（例如 TLC、GC、HPLC 或 NMR 等）进行监控，一般以不再检测到式 **VI** 化合物作为反应终点。

在一些实施方案中，所述的式 **IV** 化合物的制备方法中，所述醚化反应时间可以为 3-24 小时，优选为 3-12 小时，进一步优选为 4-8 小时。

在一些实施方案中，所述的式 **IV** 化合物的制备方法中，反应完成后，还可以进一步包括后处理步骤：将反应液萃取，将有机相浓缩后得到式 **IV** 化合物粗品或者，反应液直接将反应液浓缩得到 **IV** 化合物粗品；优选地，通过将式 **IV** 化合物粗品进行硅胶柱层析纯化得到 **IV** 化合物产品；更优选地，所述的硅胶柱层析所用的洗脱剂为正庚烷和乙酸乙酯的混合溶液，所述的正庚烷和乙酸乙酯的体积比可以为(20-1):1，优选为(10-1):1。

所述的式 **I** 化合物的制备方法还可以进一步包括式 **VI** 化合物的制备方法，其可以包括如下步骤：将式 **VII** 化合物与多聚甲醛和三甲基氯硅烷在溶剂中进行取代反应得到所述式 **VI** 化合物；



其中所述的式VII化合物为叠氮类多肽化合物，来源为市售或者自制。

在一些实施方案中，所述的式VI化合物的制备方法中，反应物料为所述的式VII化合物、所述的多聚甲醛、所述的三甲基氯硅烷和所述的溶剂。

在一些实施方案中，所述的式VI化合物的制备方法中，所述的多聚甲醛与所述的式VII化合物的摩尔比值可以为1-10，优选为1-5，进一步优选为1.3-3.0，最优选为1.3。

在一些实施方案中，所述的式VI化合物的制备方法中，所述的三甲基氯硅烷与所述的式VII化合物的摩尔比值可以为1-5，优选为2-4，进一步优选为2-3，最优选为2.5。

在一些实施方案中，所述的式VI化合物的制备方法中，所述溶剂可以为N,N-二甲基甲酰胺、二甲基亚砷、四氢呋喃和1,4-二氧六环中的一种或其中任意两种或两种以上的混合，优选为四氢呋喃或1,4-二氧六环，进一步优选为1,4-二氧六环。

在一些实施方案中，所述的式VI化合物的制备方法中，所述的取代反应的温度为-10°C-50°C，优选为15°C-35°C，进一步优选为18°C-25°C。

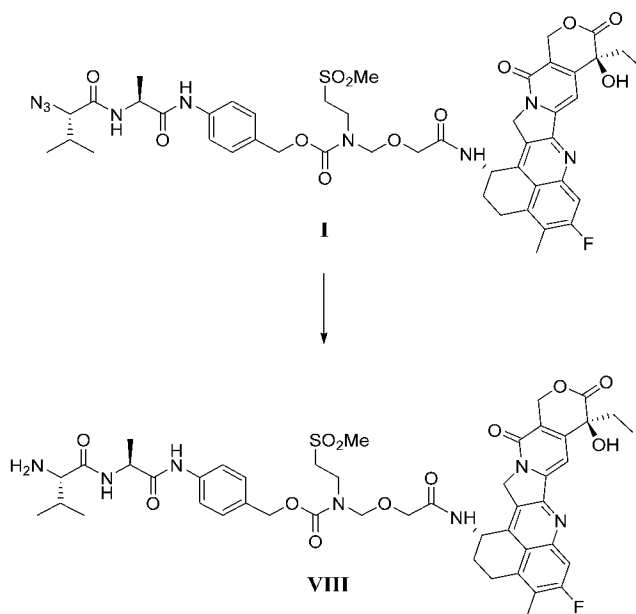
在一些实施方案中，所述的式VI化合物的制备方法中，所述的取代反应在惰性气体保护下进行，例如在氮气或氩气环境中进行。

在一些实施方案中，所述的VI化合物的制备方法中，所述取代反应的反应进程监测可采用本领域中的常规测试方法（例如TLC、GC、HPLC或NMR等）进行监控，一般以不再检测到式VII化合物（采用甲醇衍生化）作为反应终点。

在一些实施方案中，所述的VI化合物的制备方法中，所述的取代反应时间可以为3-24小时，优选为6-18小时，进一步优选为8-16小时。

在一些实施方案中，所述的式VI化合物的制备方法中，反应完成后，还可以进一步包括后处理步骤：将反应液进行固液分离（有固体存在的情况下）或者不进行固液分离，将有机相浓缩后得到式VI化合物；优选地，直接将浓缩后得到的式VI化合物粗品与试剂V反应。

本发明还提供了一种式 **VIII** 化合物的制备方法，其特征在于，包括如下步骤：将式 **I** 化合物和还原剂在溶剂中和酸缓冲液存在下进行还原反应得到式 **VIII** 化合物；



在一些实施方案中，所述的式 **VIII** 化合物的制备方法中，反应物料为所述的式 **I** 化合物、所述的还原剂、所述的酸缓冲液和所述的溶剂。

在一些实施方案中，所述的式 **VIII** 化合物的制备方法中，所述的还原剂可以为三苯基膦、三叔丁基膦或三甲基膦，或选择市售的三苯基膦/四氢呋喃溶液、三叔丁基膦/四氢呋喃溶液或三甲基膦/四氢呋喃溶液，优选为三甲基膦/四氢呋喃溶液，进一步优选为 1M 三甲基膦/四氢呋喃溶液。

在一些实施方案中，所述的式 **VIII** 化合物的制备方法中，所述的酸缓冲液可以为醋酸钠缓冲液、甲酸钠缓冲液，优选为醋酸钠缓冲液；所述酸缓冲液的 pH 优选为 4.0-6.0，进一步优选为 4.5-5.5，更进一步优选为 5.0。

在一些实施方案中，所述的式 **VIII** 化合物的制备方法中，所述的还原剂与所述的式 **I** 化合物的摩尔比值可以为 1.0-3.0，优选为 1.2-1.8，进一步优选为 1.5。

在一些实施方案中，所述的式 **VIII** 化合物的制备方法中，所述的酸缓冲液与所述的式 **I** 化合物的体积质量比可以为 2-10 mL/g，优选为 5-10 mL/g；进一步优选为 7-8 mL/g，最优选 7.7 mL/g。

在一些实施方案中，所述的式 **VIII** 化合物的制备方法中，所述的溶剂为醚类溶剂，例如四氢呋喃、乙醚、1,4-二氧六环、苯甲醚、甲基叔丁基醚中的一种或其中任意两种或两种以上的混合，进一步优选为四氢呋喃。

在一些实施方案中，所述的式 **VIII** 化合物的制备方法中，所述的还原反应的温度可

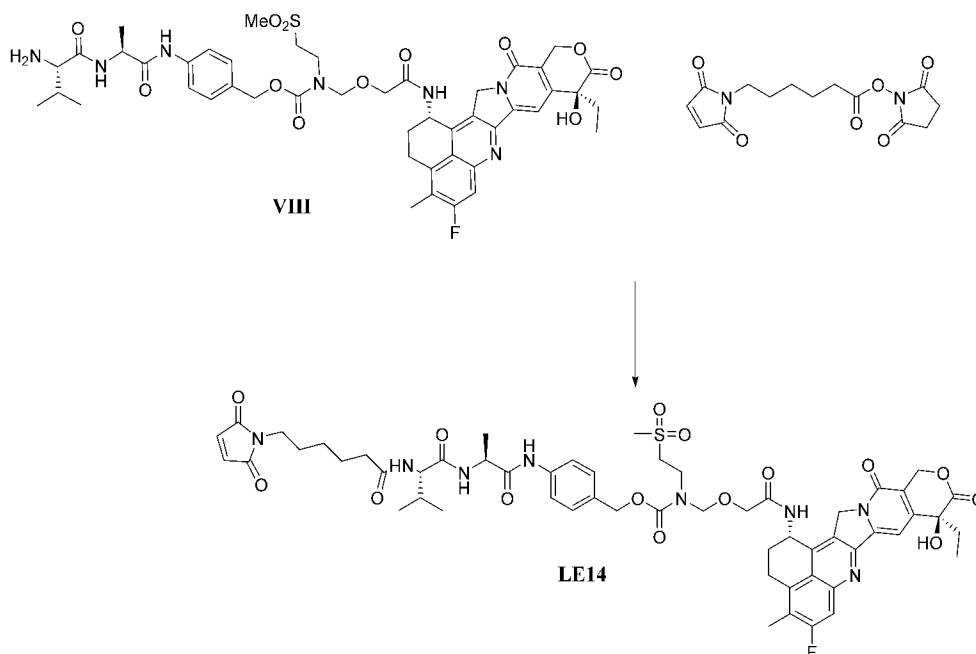
以为 0°C-20°C，优选为 0°C-10°C。

在一些实施方案中，所述的式 **VIII** 化合物的制备方法中，反应进程的监测可采用本领域中的常规测试方法（例如 TLC、GC、HPLC 或 NMR 等）进行监控，一般以不再检测到式 **I** 化合物作为反应终点。

在一些实施方案中，所述的式 **VIII** 化合物的制备方法中，反应时间可以为 0.5-5 小时，优选为 0.5-2.5 小时，进一步优选为 0.5-1.0 小时。

在一些实施方案中，所述的式 **VIII** 化合物的制备方法中，反应完成后，还可以进一步包括后处理步骤：将反应液萃取，将有机相浓缩后得到式 **VIII** 化合物粗品，或者直接将反应液浓缩得到式 **VIII** 化合物粗品；优选地，将式 **VIII** 化合物粗品进行硅胶柱层析纯化得到式 **VIII** 化合物产品；更优选地，所述的硅胶柱层析所用的洗脱剂为二氯甲烷和甲醇的混合溶剂，所述的二氯甲烷和甲醇的体积比可以为(100-1):1，优选为(10-1):1。

本发明还提供了一种化合物 **LE14** 的制备方法，包括如下步骤：将式 **VIII** 化合物和 6-(马来酰亚胺基)己酸琥珀酰亚胺酯在溶剂中进行偶联反应得到所述化合物 **LE14**，即连接基药物偶联物 **LE14**。



在一些实施方案中，所述的化合物 **LE14** 的制备方法中，反应物料为所述的式 **VIII** 化合物、所述的 6-(马来酰亚胺基)己酸琥珀酰亚胺酯和所述的溶剂。

在一些实施方案中，所述的化合物 **LE14** 的制备方法中，所述的 6-(马来酰亚胺基)己酸琥珀酰亚胺酯与式 **VIII** 化合物的摩尔比值可以为 1-5，优选为 1-3，进一步优选为 1.2-2.0，最优选为 2.0。

在一些实施方案中，所述的化合物 **LE14** 的制备方法中，所述溶剂可以为酰胺类溶

剂、氯代烷烃类溶剂、醚类溶剂和腈类溶剂中的一种或其中任意两种或两种以上的混合；优选为氯代烷烃类溶剂，其中，所述氯代烷烃类溶剂优选为二氯甲烷，1,2-二氯乙烷和氯仿中的一种或其中任意两种或两种以上的混合，进一步优选为二氯甲烷。

在一些实施方案中，所述的化合物 **LE14** 的制备方法中，反应温度为 0°C-45°C，优选为 25°C-40°C，进一步优选为 30°C-35°C，最优选为 35°C。

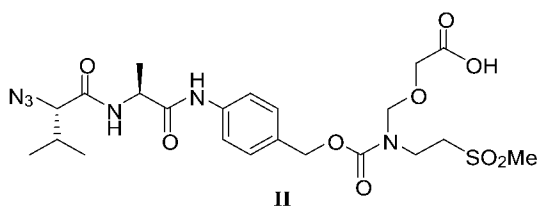
在一些实施方案中，所述的化合物 **LE14** 的制备方法中，反应进程的监测可采用本领域中的常规测试方法（例如 TLC、GC、HPLC 或 NMR 等）进行监控，一般以不再检测到式 **VIII** 化合物作为反应终点。

在一些实施方案中，所述的化合物 **LE14** 的制备方法中，反应时间可以为 3-24 小时，优选为 3-10 小时，进一步优选为 3-6 小时。

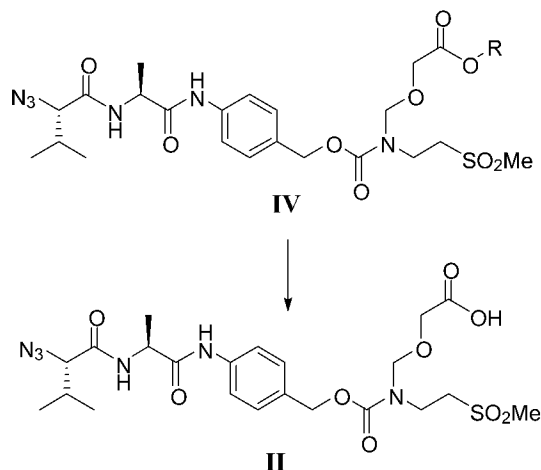
在一些实施方案中，所述的化合物 **LE14** 的制备方法中，反应完成后，还可以进一步包括后处理步骤：将反应液浓缩得到化合物 **LE14** 粗品；优选地，通过将化合物 **LE14** 粗品进行硅胶柱层析纯化得到化合物 **LE14** 产品；更优选地，所述的硅胶柱层析所用的洗脱剂为二氯甲烷和甲醇的混合溶剂，所述的二氯甲烷和甲醇的体积比可以为(100-1):1，优选为(10-1):1。

在一些实施方案中，所述的化合物 **LE14** 的制备方法中，所述的式 **VIII** 化合物可为如上式 **VIII** 化合物的制备方法中的任意方案制备得到。

本发明还提供了一种式 **II** 化合物：



本发明还提供了一种式 **II** 化合物的制备方法，其包括如下步骤：在溶剂中，将式 **IV** 化合物在脱保护剂的存在下进行脱保护反应得到式 **II** 化合物；



其中，R 为-Si(C₁~C₆)₃ 取代的 C₁~C₆ 烷基。

所述的式 II 化合物的制备方法中，反应条件均可以如前所述。

所述的式 II 化合物的制备方法还可以进一步包括本文所述的式 IV 化合物的制备方法。

定义

本发明中，术语“C₁~C₆ 烷基”表示包括 1-6 个、特别是 1-4 个碳原子的饱和直链或支链烷基，例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基等，特别是甲基或乙基。

本发明中，室温是指 20°C-30°C

本发明中涉及的化合物英文缩写和中文名称对照见表 1。

表 1

EMCS	6-(马来酰亚胺基)己酸琥珀酰亚胺酯
PMP	潘必啉/1,2,2,6,6,-五甲基哌啉
DMF	N,N-二甲基甲酰胺
DMSO	二甲亚砜
DMTMM	4-(4,6-二甲氧基三嗪-2-基)-4-甲基吗啉盐酸盐
TLC	薄层层析
GC	气相色谱
HPLC	高效液相色谱
NMR	核磁共振
DMAP	4-二甲氨基吡啶
TBAF	四丁基氟化铵

TMAF	四甲基氟化铵
DIEA	N,N-二异丙基乙胺
TEAF	四乙基氟化铵
HCHO	多聚甲醛
PMe ₃	三甲基磷
TMSCl	三甲基氯硅烷
Exatecan	依喜替康

在不违背本领域常识的基础上，上述各优选条件，可任意组合，即得本发明各较佳实例。

本发明所用试剂和原料来自市售或自制。

本发明的积极进步效果在于：本发明提供了一种新的式 I 所示的连接基药物偶联物中间体的制备方法，首先，该制备方法能够稳定的提供中间体 II 纯品，其收率可达 89.1%，纯度可达 90.16%，相比于路线 1 和 2 中脱除叔丁基制备羧酸中间体的方法，收率和纯度均大幅提升；

其次，利用纯化后的中间体 II 进行缩合反应，可以大大提高中间体 I 的纯度，减少杂质的产生，继续进行后续合成步骤，也能够显著提升终产物 LE14 的纯度，终产物 LE14 中最大单杂降低至 0.1% 以下；

最后，以中间体 II 作为商业化生产工艺的起始原料，可以简化生产步骤，同时，以中间体 II 与市售的 Exatecan 甲磺酸盐进行缩合，避免了使用昂贵的 DXd 物料，能够大幅度的降低生产成本。

具体实施方式

下面通过实施例的方式进一步说明本发明，但并不因此将本发明限制在所述的实施例范围之内。下列实施例中未注明具体条件的实验方法，按照常规方法和条件，或按照商品说明书选择。

以下实施例中，

质谱采用 Waters Acquity Xevo G2-XS QToF UPLC/MS 超高效液相色谱高分辨质谱联用系统；

¹H-NMR 采用 Bruker AVANCE III 400MHz 核磁共振仪或 Bruker AVANCE III HD 300MHz 核磁共振仪；

HPLC 检测条件：仪器为安捷伦 187260，色谱柱为 Agilent AdvanceBio Peptide Map，

3.5 μ m, 2.1 \times 250mm, 检测波长为 254 nm, 采用如表 2 所示的流动相梯度设置, 其中 A 相为 0.01mol/L 磷酸二氢钾水溶液(pH=5.0), B 相为 10%甲醇乙腈溶液, 流速为 1.0 mL/min。

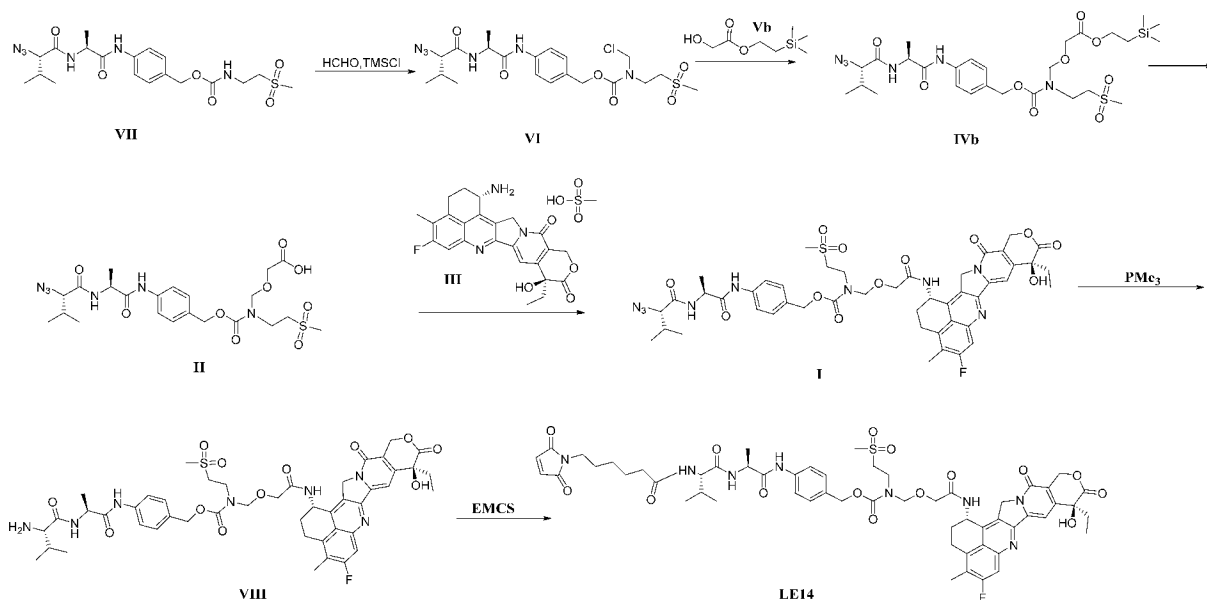
表 2. HPLC 检测流动相梯度设置

时间 (min)	流动相 A%	流动相 B%
0.00	80.0	20.0
5.00	60.0	40.0
35.00	60.0	40.0
40.00	30.0	70.0
46.00	30.0	70.0
46.10	80.0	20.0
60.00	80.0	20.0

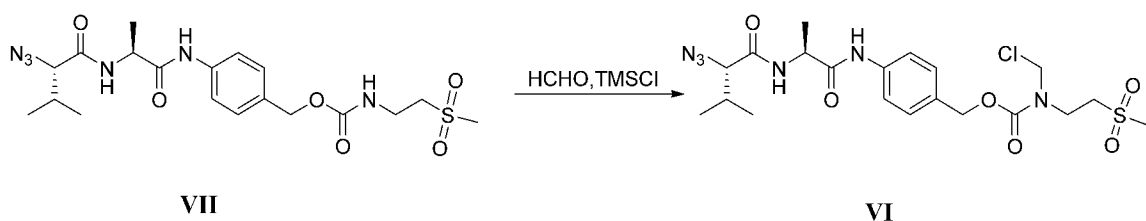
常规柱层析条件均为: 填料为 200-400 目无定形硅胶, 室温条件下进行柱层析。

以下实施例中, 室温指 20-30 $^{\circ}$ C。

实施例 1 化合物 LE14 的合成

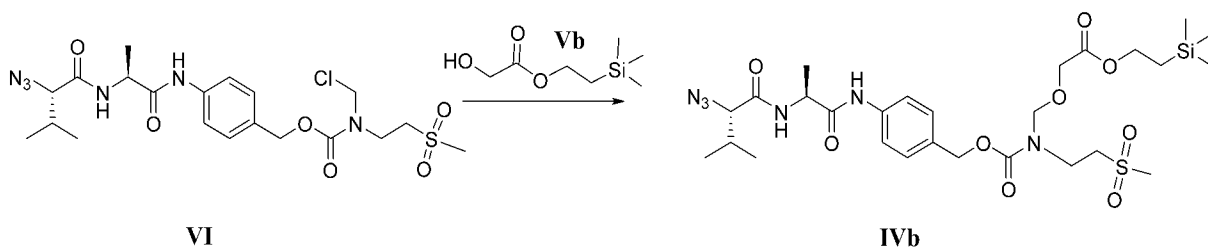


步骤 1: 式VI化合物的合成



将式**VI**化合物 (25.0 g, 53.36 mmol) 与多聚甲醛 (2.09 g, 69.37 mmol) 混合溶于 250.0 mL 的无水 1,4-二氧六环中, 慢慢加入三甲基氯硅烷 (14.43 g, 133.40 mmol), 18-25°C 范围内反应 15.0 h 得到式**VI**化合物的粗品溶液, 反应液取样中控检测, 待反应完毕后, 将反应液过滤, 然后将滤液浓缩即得到粗品式**VI**化合物 (28.40 g)。(直接用于下一步反应)

步骤 2: 式**IVb**化合物的合成

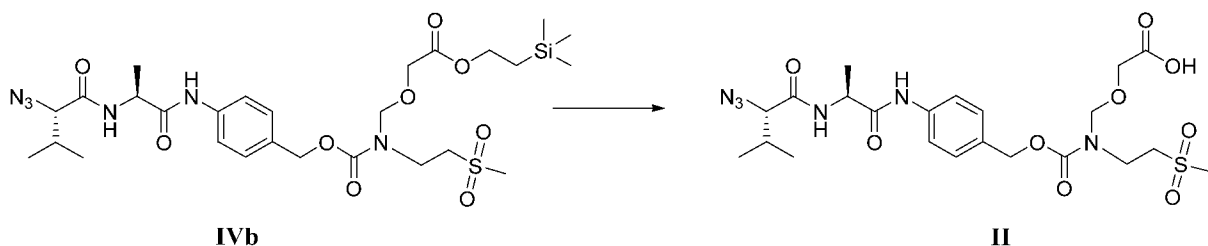


将所得粗品式**VI**化合物 (28.40 g, 按理论收率计算, 53.36 mmol) 溶于 250.0 mL 的无水四氢呋喃中, 加入潘必啶 (12.43 g, 80.05 mmol) 和式**Vb** 化合物 (14.12 g, 80.05 mmol), 反应在氮气保护下加热至 60°C, 并在此条件下反应 4.0~8.0 h。待原料反应完毕, 减压浓缩除去四氢呋喃, 然后加乙酸乙酯和饱和食盐水萃取, 所得有机相经干燥后减压浓缩, 所得粗品经硅胶柱层析 (正庚烷: 乙酸乙酯=10:1~1:1 (v/v)) 纯化得到式**IVb** 化合物 (17.88 g, 纯度 92.81%, 步骤 1 和步骤 2 合并收率 51.0%);

ESI-MS m/z : 657.4 (M+H);

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10.12 (s, 1H), 8.49 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H), 7.59 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.42–7.21 (m, 2H), 5.15–4.97 (m, 2H), 4.85 (s, 2H), 4.46 (p, $J = 7.0$ Hz, 1H), 4.12 (dd, $J = 29.5, 10.7$ Hz, 4H), 3.68 (dd, $J = 8.7, 6.0$ Hz, 2H), 3.49 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 3.40 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 2.97 (d, $J = 26.2$ Hz, 3H), 1.33 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H), 1.29–1.18 (m, 2H), 0.93 (dd, $J = 9.6, 6.6$ Hz, 6H), 0.87–0.82 (m, 1H), 0.15 (s, 9H).

步骤 3: 式**II**化合物的合成



方法 1: 使用氟化钾试剂进行脱保护

将式**IVb** 化合物 (5.0 g, 7.62 mmol) 溶于 50.0 mL 的 DMF 中, 室温下加入氟化钾 (0.67 g, 11.42 mmol) 形成混合溶液, 反应在氮气保护下加热至 60°C, 并在此条件下反应 5.0~8.0 h。待原料反应完毕, 减压浓缩除去溶剂, 所得粗品经硅胶柱层析 (二氯甲烷:

甲醇=10:1~1:1 (v/v)) 纯化得到式II化合物 (3.78 g, 收率 89.1%);

ESI-MS m/z: 556.0 (M-H);

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 10.57 (d, *J* = 38.3 Hz, 1H), 9.36 (d, *J* = 94.5 Hz, 1H), 7.61 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.28 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 5.01 (d, *J* = 10.8 Hz, 2H), 4.83 (s, 2H), 4.38 (s, 1H), 4.17 (s, 1H), 3.71 (s, 2H), 3.54 (s, 2H), 3.48 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 3.44 (s, 1H), 3.14 (s, 2H), 2.95 (d, *J* = 22.9 Hz, 3H), 1.32 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H), 0.89 (dd, *J* = 14.7, 6.7 Hz, 6H).

方法 2: 使用氟化钠试剂进行脱保护

操作步骤和反应条件同方法 1, 将氟化钾替换为等当量的氟化钠, 原料用量和溶剂用量同方法 1, 纯化得到式II化合物 (2.20 g, 收率 52.0%)。

方法 3: 使用氟化铯试剂进行脱保护

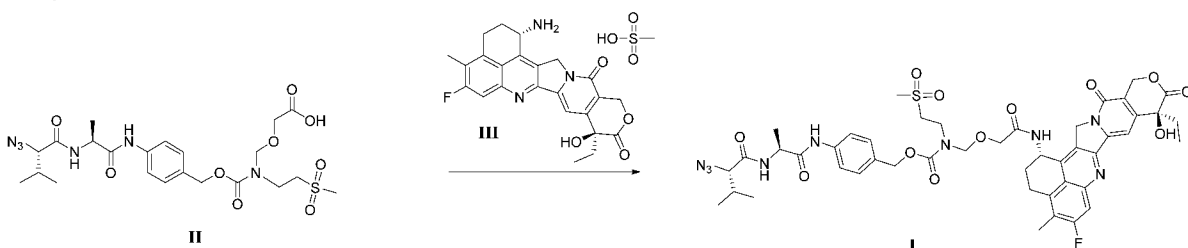
操作步骤和反应条件同方法 1, 将氟化钾替换为等当量的氟化铯, 原料用量和溶剂用量同方法 1, 纯化得到式II化合物 (1.84 g, 收率 43.5%)。

方法 4: 使用四丁基氟化铵试剂进行脱保护

将式IVb 化合物 (5.0 g, 7.62 mmol) 溶于四氢呋喃 (50.0 mL) 中, 室温下加入 1.0M 的四丁基氟化铵的四氢呋喃溶液 (11.5 mL, 11.43 mmol), 在氮气保护下缓慢升温至 40°C, 并在此条件下反应 8.0 h。减压浓缩除去溶剂, 所得粗品经硅胶柱层析 (二氯甲烷: 甲醇=10:1~1:1 (v/v)) 纯化得到式II化合物 (2.99 g, 收率 70.3%);

ESI-MS m/z: 557.5 (M+H)。

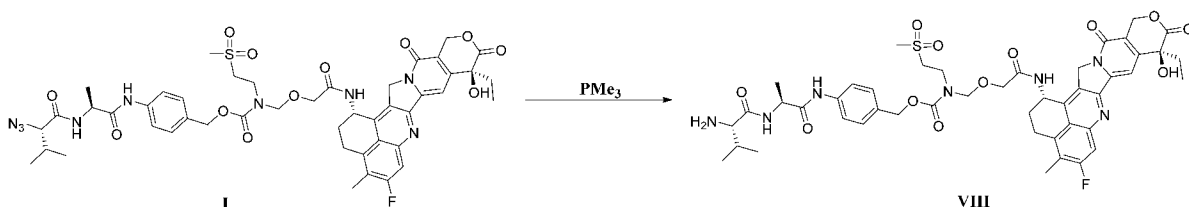
步骤 4: 式I化合物的合成



将式II化合物 (2.79 g, 5.00 mmol) 溶于 20.0 mL 无水 DMF 中, 加入 4-(4,6-二甲氧基三嗪-2-基)-4-甲基吗啉盐酸盐(DMTMM) (2.08 g, 7.50 mmol), 反应在室温下反应 1.0 h。然后向其中加入 N, N-二异丙基乙胺 (1.30 mL, 7.50 mmol) 和式 III 化合物 (Exatecan 甲磺酸盐) (2.40 g, 4.50 mmol) 并继续反应 1.5~2.0 h。待原料反应完毕, 减压浓缩除去溶剂, 所得粗品经硅胶柱层析 (氯仿: 甲醇=10:1 (v/v)) 纯化得到式I化合物 (3.44 g, 纯度 91.30%, 收率 70.5%);

ESI-MS m/z: 974.5 (M+H)。

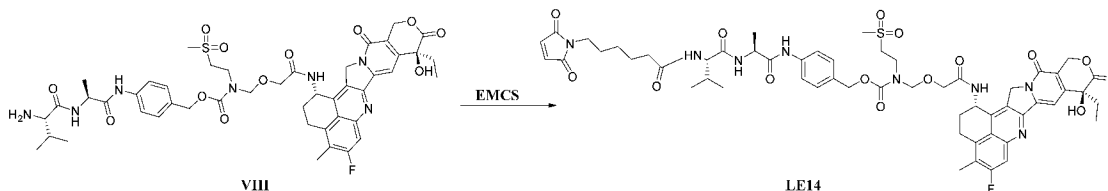
步骤 5: 式VIII化合物的合成



将 2.1 mL 的 1.0 mol/L 三甲基磷四氢呋喃溶液 (2.1 mL, 2.01 mmol) 与 5.0 mL THF 混合后的混合液滴加到盛有 10.0 mL 的醋酸钠缓冲液 (pH=5.0) 中, 反应在氮气保护下降温至 0~5°C。随后将溶有式 I 化合物 (1.30 g, 1.34 mmol) 的 5.0 mL 四氢呋喃缓慢滴加到反应体系中, 反应保持 0-10°C 条件下继续反应 0.5~1.0 h。待原料反应完毕, 减压馏去四氢呋喃溶剂, 二氯甲烷萃取, 所得有机相经干燥后减压蒸除溶剂, 所得粗品经硅胶柱层析 (二氯甲烷: 甲醇=10:1~1:1 (v/v)) 纯化得到式 VIII 化合物 (980 mg, 纯度 89.75%, 收率 77.5%);

ESI-MS m/z: 948.7 (M+H);

步骤 6: 化合物 LE14 的合成



将式 VIII 化合物 (0.98 g, 1.04 mmol) 溶于 30.0 mL 的无水二氯甲烷中, 加入 6-(马来酰亚胺基)己酸琥珀酰亚胺酯 (0.64 g, 2.08 mmol), 反应在氮气保护下加热至 35°C, 并在此条件下反应 3-6 h。待原料反应完毕, 减压馏去溶剂, 所得粗品经硅胶柱层析 (二氯甲烷: 甲醇=10:1~1:1 (v/v)) 纯化得到化合物 LE14 (861 mg, 纯度 99.66%, 收率 72.5%);

ESI-MS m/z: 1141.6 (M+H);

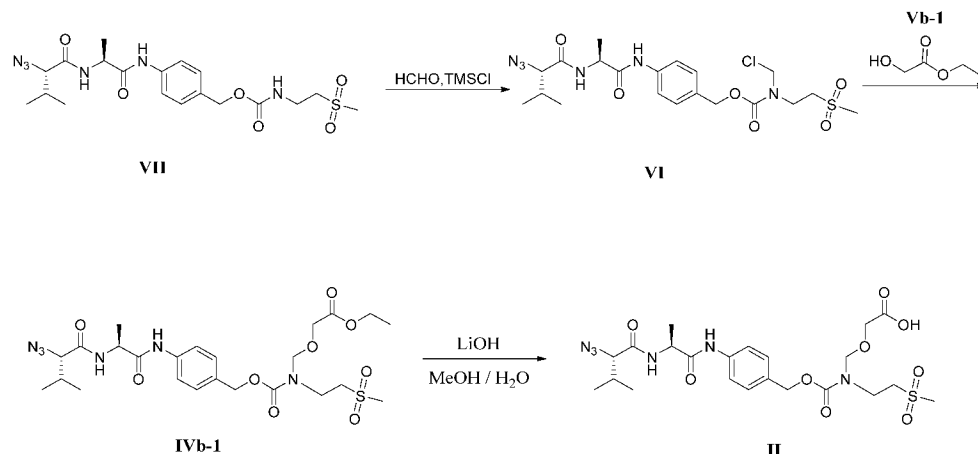
$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 9.93 (s, 1H), 8.49 (s, 1H), 8.13 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H), 7.76 (d, $J = 28.7$ Hz, 2H), 7.57 (s, 2H), 7.28 (s, 3H), 6.99 (s, 2H), 6.48 (s, 1H), 5.59 (s, 1H), 5.47–5.32 (m, 2H), 5.17 (s, 2H), 5.04–4.79 (m, 4H), 4.38 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 4.21–4.14 (m, 1H), 4.03 (s, 2H), 3.69 (d, $J = 2.8$ Hz, 2H), 3.37 (dt, $J = 14.2, 7.7$ Hz, 4H), 3.24–3.09 (m, 2H), 2.93 (d, $J = 37.1$ Hz, 3H), 2.36 (t, $J = 1.8$ Hz, 3H), 2.22–2.07 (m, 4H), 2.01–1.77 (m, 3H), 1.52–1.41 (m, 4H), 1.30 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H), 1.19 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 0.84 (d, $J = 12.0$ Hz, 9H)。

实施例 2

其他投料和反应条件不变, 依次按照实施例 1 步骤 1 至步骤 3 的方法制备得到的式 II 化合物粗品 (步骤 3 的反应液直接浓缩, 不进行纯化) 直接进行后续反应, 按照实施

例 1 步骤 4 至步骤 6 的操作，最终得到纯化的化合物 **LE14** (894 mg, 纯度 95.46%, 收率 75.3%)。

实施例 3



IVb-1 的合成步骤参考实施例 1 中的步骤 1 和步骤 2，将 **Vb** 替换为 **Vb-1** (羟基乙酸乙酯)，得到化合物 **IVb-1** (18.28 g, 纯度 94.10%，步骤 1 和步骤 2 合并收率 58.6%)；
式 **II** 化合物的合成步骤：

将式 **IVb-1** 化合物 (5.9 g, 10.00 mmol) 溶于 50.0 mL 的甲醇中，0-10°C 下加入氢氧化锂水溶液 (360 mg 氢氧化锂溶解于 10 mL 水中)，加料完毕 20-30°C 下反应 3-4 小时，监控原料反应完毕，减压浓缩除去甲醇，向浓缩液中滴加 1mol/L 氯化铵水溶液 (15 mL) 中和，所得混合物使用二氯甲烷/水体萃取分相，有机相浓缩得到粗品，所得粗品经硅胶柱层析纯化未得到式 **II** 化合物。

实施例 4 工艺路线综合对比

1、对比不同路线制备得到的羧酸中间体

将按照路线 1 方法得到的羧酸中间体 1-4 的粗品用硅胶柱层析 (氯仿: 甲醇=10:1 (v/v)) 纯化，未拿到纯化的中间体 1-4；将按照路线 2 的方法得到的羧酸中间体 2-2a 的粗品用硅胶柱层析 (氯仿: 甲醇=10:1 (v/v)) 纯化，未拿到纯化的中间体 2-2a；而按照实施例 1 的方法能以较好的收率得到羧酸中间体 **II**，三条合成路线制备羧酸中间体的纯化情况汇总对比见下表 3。

2、对比不同路线制备得到的化合物 **LE14**

将按照实施例 1、实施例 2 合成得到的化合物 **LE14** 与路线 1、路线 2、路线 3、路线 4 和路线 5 得到的化合物 **LE14** 通过高效液相进行纯度对比，所得结果见下表 4。

从表 4 的数据可以看出按照本发明实施例 1 的方法制备化合物 **LE14**，由于更换了保护基，脱保护条件更温和，产生的羧酸中间体能够稳定存在，一方面能降低最大单杂的

含量，另一方面可将化合物 **LE14** 产品的纯度提升至 99.5% 以上，优于路线 1 至路线 5 的方法（最大单杂含量高于 0.3%，化合物 **LE14** 产品纯度低于 98.7%）；实施例 2 中步骤 3 中的式 **II** 化合物不做纯化直接用于后续反应，拿到的化合物 **LE14** 产物中最大单杂含量高于 1%，产物纯度只有 95.46%，说明步骤 3 中式 **II** 化合物粗品的纯化与否对于 **LE14** 产物的纯度和最大单杂的含量有很大影响。

本发明中，实施例 1 中步骤 2 用三甲基硅乙基对羧酸进行保护得到的化合物 **IVb** 粗品中化合物 **IVb** 能稳定存在，化合物 **IVb** 粗品能通过常规柱层析的方法加以纯化，纯化过程中化合物 **IVb** 稳定，几乎不会损失，拿到了纯化的式 **IVb** 化合物，从而避免了将杂质带入后续反应步骤中。

本发明中，羧酸中间体化合物 **II** 能耐受步骤 3 中方法 1 脱除保护基的条件，并且在按照步骤 3 中方法 1 脱去保护基得到的化合物 **II** 粗品以及常规的柱层析条件下也能稳定存在，化合物 **II** 粗品通过常规柱层析的方法加以纯化得到纯度较高、杂质含量低的羧酸中间体 **II**，避免了将杂质带入后续反应步骤中，从而使得化合物 **LE14** 终产品纯度提高的同时最大单杂减少，拿到了纯度高于 99.5%、最大单杂含量低于 0.1% 的化合物 **LE14** 终产品。

所用液相条件：A 相为 0.01mol/L 磷酸二氢钾水溶液（pH=5.0），B 相为 10% 甲醇乙腈溶液，检测波长为 254 nm，仪器为安捷伦 187260，色谱柱为 Agilent AdvanceBio Peptide Map, 3.5 μ m, 2.1 \times 250mm，流速为 1.0 mL/min。梯度设置如下表 2。

表 2. 流动相梯度设置

时间 (min)	流动相 A%	流动相 B%
0.00	80.0	20.0
5.00	60.0	40.0
35.00	60.0	40.0
40.00	30.0	70.0
46.00	30.0	70.0
46.10	80.0	20.0
60.00	80.0	20.0

表 3. 四种不同工艺路线制得的羧酸中间体（1-4, 2-2a, **II**）比较

工艺路线	纯化情况
------	------

路线 1 (1-4)	纯化过程中分解, 未拿到纯化的产品	
路线 2 (2-2a)	纯化过程中分解, 未拿到纯化的产品	
实施例 3 (II)	纯化过程中分解, 未拿到纯化的产品	
本发明路线	纯化前 HPLC 纯度 81.14%	纯化后单步收率 89.1%
实施例 1 (II)	纯化后 HPLC 纯度 90.16%	

表 4. 不同工艺路线终产物 LE14 纯度对比数据

路线	Payload 来源	产品纯度	最大单杂含量
路线 1	依喜替康甲磺酸盐	95.22%	1.43%
路线 2	依喜替康甲磺酸盐	96.52%	0.97%
路线 3	DXd	97.71%	0.31%
路线 4	从依喜替康出发制备得到的 Dxd-a	98.00%	0.54%
	从依喜替康出发制备得到的 Dxd-b	98.01%	0.61%
路线 5	从依喜替康出发制备得到的 Dxd-a'	98.31%	0.49%
	从依喜替康出发制备得到的 Dxd-b'	98.42%	0.46%
本发明路线	实施例 1, 依喜替康甲磺酸盐	99.66%	0.08%
	实施例 2, 依喜替康甲磺酸盐	95.46%	1.07%

现有技术中, 合成路线 3、路线 4 和路线 5 都使用了与本发明相同的中间体 (化合物 5 与化合物 VII 结构相同), 可以从相同的中间体出发制备得到终产物 LE14, 三条路线制备得到终产物 LE14, 其路线总收率及终产物的纯度归纳见表 5。

表 5. 不同工艺路线终产物纯度和以同样的化合物 5 (VII) 作为起始物料的总收率对比

专利名称	步骤	产品纯度	以 5 或者 VII 投料计总收率
WO2022204947A1 (路线 3)	5→1	97.71%	10.7%
CN 115215921 A (路线 4)	5→1a→1	98.00%	21.3%
	5→1b→1	98.01%	37.5%
CN115385926A (路线 5)	5→1a→1	98.31%	23.4%
	5→1b→1	98.42%	41.2%
本发明路线	VII→LE14	99.66%	18.1%

在现有技术 CN115215921A 和 CN115385926A 的合成路线中,以依喜替康为起始物,合成终产物 1 的路线总收率均低于本发明,见表 6。

表 6. 不同工艺路线以依喜替康投料计总收率对比

专利名称	步骤	产品纯度	以依喜替康投料计总收率
CN 115215921 A (路线 4)	依喜替康→1a→1	98.00%	8.2%
	依喜替康→1b→1	98.01%	18.0%
CN115385926A (路线 5)	依喜替康→1a→1	98.31%	6.5%
	依喜替康→1b→1	98.42%	18.3%
本发明路线	依喜替康→1	99.66%	44.3%

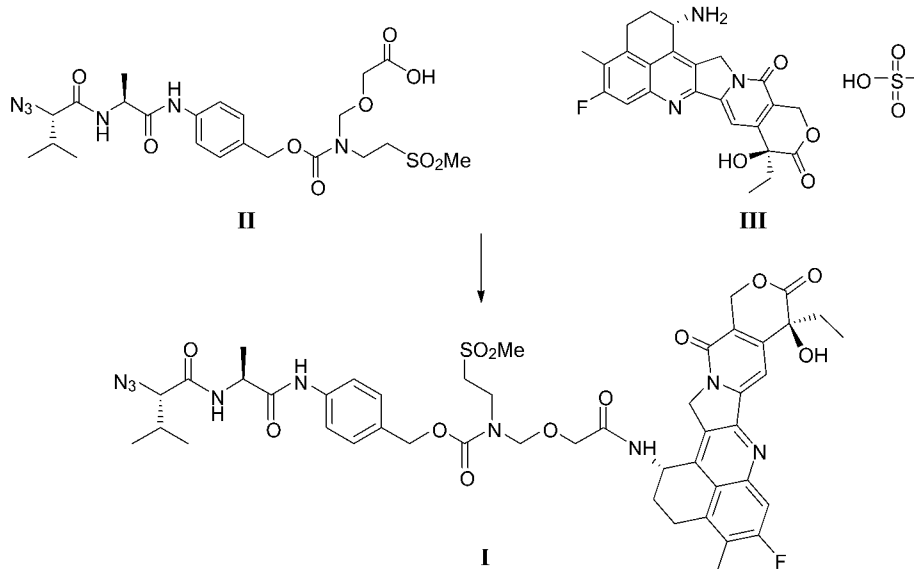
从表 5、表 6 可以看出,路线 3、路线 4 和路线 5 制备得到的产品纯度远不及本发明;路线 3 使用了价格比依喜替康更加昂贵的 DXd 作为 payload 来源,虽然节省了反应步骤,但是路线 3 的收率却远低于本发明而且 DXd 的利用率不高,而在路线 4、路线 5 和本发明的合成路线中,依喜替康是各个工艺路线中成本占比最大的一个关键物料,也是主要的成本控制点,路线 4 和 5 均对依喜替康进行了衍生化,一方面工艺反应步骤较多,生产操作繁琐,另一方面在制备过程中依喜替康损失也较多,以依喜替康为起始原料计算路线总收率,结果显示均远低于本发明路线,因此在路线 4 和路线 5 中,昂贵物料依喜替康的利用率较低从而使得生产成本较高,不适合进行大规模工业化生产。

本发明的合成路线不仅能提供高纯度的 LE14 化合物,而且通过提高依喜替康的利用率,从而大幅地降低了生产成本,更适合进行大规模的工业化生产。

虽然以上描述了本发明的具体实施方式,但是本领域的技术人员应当理解,这些仅是举例说明,在不背离本发明的原理和实质的前提下,可以对这些实施方式做出多种变更或修改。因此,本发明的保护范围由所附权利要求书限定。

权利要求

1. 一种式 I 化合物的制备方法，其特征在于，其包括如下步骤：将式 II 化合物与式 III 化合物或其甲磺酸盐在缩合剂、碱以及溶剂存在下进行酰胺缩合反应得到式 I 化合物；



2. 如权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于，所述的制备方法满足下述条件中的一种或多种：

(1) 所述的式 I 化合物制备方法中，所述的酰胺缩合反应还包括如下具体步骤：所述的式 II 化合物溶于溶剂，加入所述的缩合剂，立刻或反应一段时间后加入所述的式 III 化合物或其甲磺酸盐和所述的碱；

(2) 所述的式 I 化合物制备方法中，所述的缩合反应全程避光处理；

(3) 所述的式 I 化合物制备方法中，所述的式 III 化合物与所述的式 II 化合物的摩尔比值为 0.8-1.5，优选为 0.9-1.2，进一步优选为 0.9-1.0；

(4) 所述的式 I 化合物的制备方法中，所述的缩合剂为氯化 4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉、氰代磷酸二乙酯、叠氮磷酸二苯酯、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐、1-羟基苯并三唑、2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯、苯并三氮唑-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯、6-氯苯并三氮唑-1,1,3,3-四甲基脲六氟磷酸酯、2-(1H-苯并三偶氮 L-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲四氟硼酸酯、2-琥珀酰亚胺基-1,1,3,3-四甲基脲四氟硼酸酯和 2-(5-降冰片烯-2,3-二甲酰亚胺基)-1,1,3,3-四甲基脲四氟硼酸季铵盐中的一种或其中任意两种或两种以上的混合，优选地，所述的缩合剂为氯化 4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉；

(5) 所述的式 I 化合物的制备方法中，所述的缩合剂与所述的式 II 化合物的摩尔比值为 1-3，优选为 1-1.5；

(6) 所述的式 I 化合物的制备方法中, 所述的碱为有机碱、无机碱或其混合, 优选为有机碱; 其中, 所述的有机碱优选为 N,N-二异丙基乙胺、三乙胺和吡啶中的一种或其中任意两种或两种以上的混合, 进一步优选为 N,N-二异丙基乙胺; 所述的无机碱优选为碱金属氢氧化物、碱金属碳酸盐和碱金属磷酸盐中的一种或其中任意两种或两种以上的混合, 进一步优选为碳酸氢钠、碳酸钠、碳酸钾、碳酸铯、氢氧化钠和氢氧化钾中的一种或其中任意两种或两种以上的混合;

(7) 所述的式 I 化合物的制备方法中, 所述的碱与所述的式 II 化合物的摩尔比值为 1-10, 优选为 1-6, 进一步优选为 1-3, 最优选为 1.5;

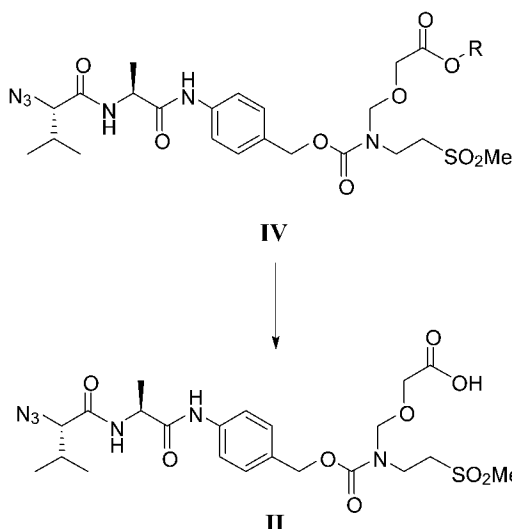
(8) 所述的式 I 化合物的制备方法中, 所述的溶剂为 N, N-二甲基甲酰胺、二甲基亚砜、四氢呋喃和 1,4-二氧六环中的一种或其中任意两种或两种以上的混合, 优选为 N, N-二甲基甲酰胺;

(9) 所述的式 I 化合物的制备方法中, 所述的缩合反应的温度为 20°C-50°C, 优选为 20°C-30°C;

(10) 所述的式 I 化合物的制备方法中, 所述缩合反应在惰性气体保护下进行, 例如在氮气或氩气环境中进行;

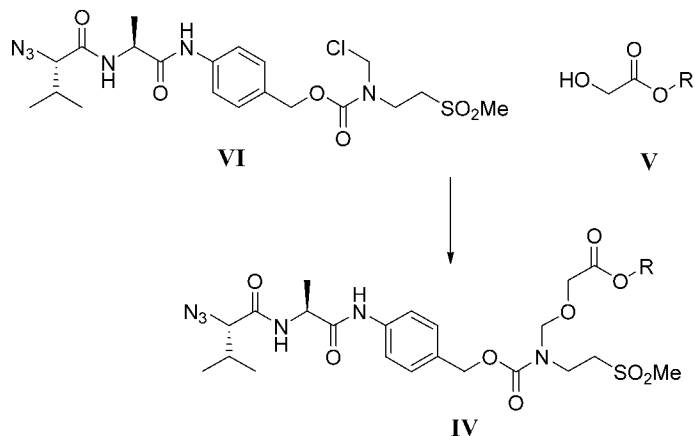
(11) 所述的式 I 化合物的制备方法中, 所述缩合反应的反应完成后, 还进一步包括如下后处理步骤: 将有机相浓缩后得到式 I 化合物粗品; 优选地, 将式 I 化合物粗品进行硅胶柱层析纯化得到式 I 化合物产品, 更优选地, 所述的硅胶柱层析的洗脱剂为氯仿和甲醇的混合溶剂, 所述的氯仿和甲醇的体积比为(100-10):1, 进一步优选为 10:1。

3. 如权利要求 2 所述的制备方法, 其特征在于, 所述的式 I 化合物的制备方法还包括式 II 化合物的制备方法, 其包括如下步骤: 在溶剂中, 将式 IV 化合物在脱保护剂的存在下进行脱保护反应得到式 II 化合物;



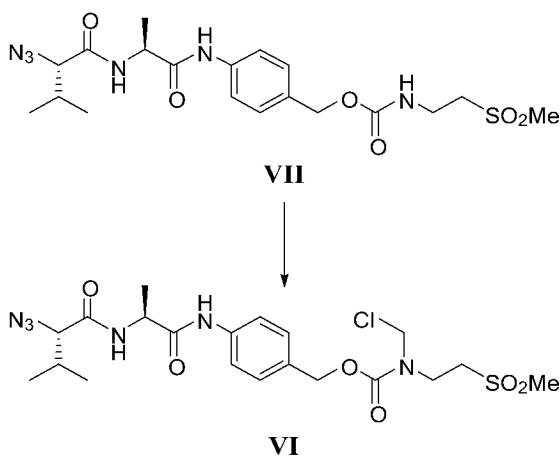
其中，R 为-Si(C₁~C₆)₃ 取代的 C₁~C₆ 烷基；

优选地，所述的式 I 化合物的制备方法还包括式 IV 化合物的制备方法，其包括如下步骤：将式 VI 化合物与试剂 V 在溶剂中、在碱的存在下进行醚化反应得到式 IV 化合物；



其中，R 为-Si(C₁~C₆)₃ 取代的 C₁~C₆ 烷基；

进一步优选地，所述的式 I 化合物的制备方法还包括式 VI 化合物的制备方法，其包括如下步骤：将式 VII 化合物与多聚甲醛和三甲基氯硅烷在溶剂中进行取代反应得到式 VI 化合物；



4. 如权利要求 3 所述的制备方法，其特征在于，所述的制备方法满足下述条件中的一种或多种：

(1) 所述的式 II 化合物的制备方法中，所述的脱保护反应还包括如下具体步骤：所述的式 IV 化合物溶于溶剂，加入所述的脱保护剂后加热开启反应、或者所述的脱保护剂溶于溶剂，加入所述的式 IV 化合物后加热开启反应；

(2) 所述的式 II 化合物的制备方法中，所述的-Si(C₁~C₆)₃ 取代的 C₁~C₆ 烷基为三甲基硅基乙基、叔丁基二甲基硅基乙基；优选地，所述的-Si(C₁~C₆)₃ 取代的 C₁~C₆ 烷基为三甲基硅基乙基；

(3) 所述的式 II 化合物的制备方法中, 所述的脱保护剂为氟试剂, 所述的氟试剂为四丁基氟化铵、四甲基氟化铵、四丁基氟化铵/醋酸、吡啶氟化氢络合物、叔丁基氟化铵、叔丁基氟化铵/醋酸、四乙基氟化铵, 或者市售的四甲基氟化铵/四氢呋喃溶液、四乙基氟化铵/四氢呋喃溶液、四丁基氟化铵/四氢呋喃溶液, 或者四氟化硅、氟化钾、氟化钠、氟化锂和氟化铯中的一种或多种, 优选为 1M 四丁基氟化铵/四氢呋喃溶液或者氟化钾;

(4) 所述的式 II 化合物的制备方法中, 所述的脱保护剂与所述的式 IV 化合物的摩尔比值为 1-5, 优选为 1-3, 进一步优选为 1.1-2.0, 最优选为 1.5;

(5) 所述的式 II 化合物的制备方法中, 所述的溶剂为纯化水、N, N-二甲基甲酰胺、二甲基亚砷、四氢呋喃和 1,4-二氧六环中的一种或其中任意两种或两种以上的混合, 优选为 N,N-二甲基甲酰胺或四氢呋喃, 最优选为 N,N-二甲基甲酰胺;

(6) 所述的式 II 化合物的制备方法中, 所述的脱保护反应的温度为 20°C-80°C, 优选为 30°C-70°C, 进一步优选为 40°C-60°C;

(7) 所述的式 II 化合物的制备方法中, 所述脱保护反应在惰性气体保护下进行, 例如在氮气或氩气环境中进行;

(8) 所述的式 II 化合物的制备方法中, 反应完成后, 进一步包括后处理步骤: 将反应液浓缩得到式 II 化合物粗品; 优选地, 通过将式 II 化合物粗品进行硅胶柱层析纯化得到式 II 化合物产品, 更优选地, 所述的硅胶柱层析所用的洗脱剂为二氯甲烷和甲醇的混合溶剂, 所述的二氯甲烷和甲醇的体积比为(100-1):1, 优选为(10-1):1;

(9) 所述的式 IV 化合物的制备方法中, 所述的醚化反应还包括如下具体步骤: 所述的式 VI 化合物溶于溶剂, 加入所述的碱后, 立刻或反应一段时间后加入式所述的试剂 V;

(10) 所述的式 IV 化合物的制备方法中, 所述的试剂 V 与所述的式 VI 化合物的摩尔比值为 1-5, 优选为 1-3, 进一步优选为 1.1-1.6, 最优选为 1.5;

(11) 所述的式 IV 化合物的制备方法中, 所述的碱为有机碱、无机碱或其混合, 优选为有机碱; 其中, 所述的有机碱优选为叔丁醇钾、三乙胺、4-二甲氨基吡啶、吡啶和潘必啶中的一种或其中任意两种或两种以上的混合, 进一步优选为潘必啶; 所述的无机碱优选为碱金属氢氧化物、碱金属碳酸盐和碱金属磷酸盐中的一种或其中任意两种或两种以上的混合;

(12) 所述的式 IV 化合物的制备方法中, 所述的碱与所述的式 VI 化合物的摩尔比值为 1-5, 优选为 1.2-4, 进一步优选为 1.5-3;

(13) 所述的式 IV 化合物的制备方法中, 所述的溶剂为 N, N-二甲基甲酰胺、二甲基亚砷、四氢呋喃和 1,4-二氧六环中的一种或其中任意两种或两种以上的混合, 优选为四氢呋喃

喃或 1,4-二氧六环, 进一步优选为四氢呋喃;

(14) 所述的式 **IV** 化合物的制备方法中, 所述的醚化反应的温度为 0°C-80°C, 优选为 40°C-70°C, 最优选 60°C;

(15) 所述的式 **IV** 化合物的制备方法中, 所述的醚化反应在惰性气体保护下进行, 例如在氮气或氩气环境中进行;

(16) 所述的式 **IV** 化合物的制备方法中, 反应完成后, 进一步包括后处理步骤: 将反应液萃取, 将有机相浓缩后得到式 **IV** 化合物粗品, 或者直接将反应液浓缩得到 **IV** 化合物粗品; 优选地, 通过将式 **IV** 化合物粗品进行硅胶柱层析纯化得到 **IV** 化合物产品; 更优选地, 所述的硅胶柱层析所用的洗脱剂为正庚烷和乙酸乙酯的混合溶液, 所述的正庚烷和乙酸乙酯的体积比为(20-1):1, 优选为(10-1):1;

(17) 所述的式 **VI** 化合物的制备方法中, 所述的多聚甲醛与所述的式 **VII** 化合物的摩尔比值为 1-10, 优选为 1-5, 进一步优选为 1.3-3.0, 最优选为 1.3;

(18) 所述的式 **VI** 化合物的制备方法中, 所述的三甲基氯硅烷与所述的式 **VII** 化合物的摩尔比值为 1-5, 优选为 2-4, 进一步优选为 2-3, 最优选为 2.5;

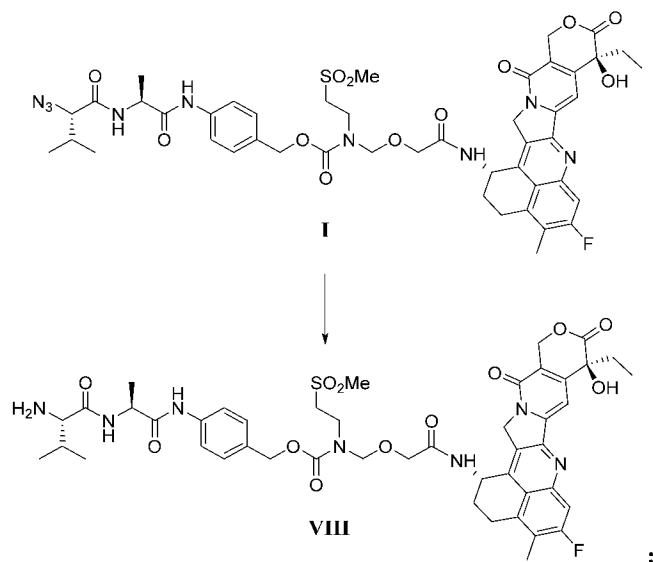
(19) 所述的式 **VI** 化合物的制备方法中, 所述的溶剂为 N, N-二甲基甲酰胺、二甲基亚砷、四氢呋喃和 1,4-二氧六环中的一种或其中任意两种或两种以上的混合, 优选为四氢呋喃或 1,4-二氧六环, 进一步优选为 1,4-二氧六环;

(20) 所述的式 **VI** 化合物的制备方法中, 所述的取代反应的温度为-10°C-50°C, 优选为 15°C-35°C, 进一步优选为 18°C-25°C;

(21) 所述的式 **VI** 化合物的制备方法中, 所述的取代反应在惰性气体保护下进行, 例如在氮气或氩气环境中进行;

(22) 所述的式 **VI** 化合物的制备方法中, 反应完成后, 进一步包括后处理步骤: 将反应液进行固液分离或者不进行固液分离, 将有机相浓缩后得到式 **VI** 化合物; 优选地, 直接将浓缩后得到的式 **VI** 化合物进行后续反应。

5. 一种式 **VIII** 化合物的制备方法, 其特征在于, 包括如下步骤: 将式 **I** 化合物和还原剂在溶剂中和酸缓冲液存在下进行还原反应得到式 **VIII** 化合物;



其中，所述的式 I 化合物为如权利要求 1-4 中任一项所述的制备方法制备得到。

6. 如权利要求 5 所述的制备方法，其特征在于，所述的制备方法满足下述条件中的一种或多种：

(1) 所述的式 VIII 化合物的制备方法中，所述的还原剂为三苯基膦、三叔丁基膦或三甲基膦，或三苯基膦/四氢呋喃溶液、三叔丁基膦/四氢呋喃溶液或三甲基膦/四氢呋喃溶液，优选为三甲基膦/四氢呋喃溶液，进一步优选为 1M 三甲基膦/四氢呋喃溶液；

(2) 所述的式 VIII 化合物的制备方法中，所述的酸缓冲液为醋酸钠缓冲液、甲酸钠缓冲液，优选为醋酸钠缓冲液；所述的酸缓冲液的 pH 优选为 4.0-6.0，进一步优选为 4.5-5.5，更进一步优选为 5.0；

(3) 所述的式 VIII 化合物的制备方法中，所述的还原剂与所述的式 I 化合物的摩尔比值为 1.0-3.0，优选为 1.2-1.8，进一步优选为 1.5；

(4) 所述的式 VIII 化合物的制备方法中，所述的酸缓冲液与所述的式 I 化合物的体积质量比为 2-10 mL/g，优选为 5-10 mL/g，进一步优选为 7-8 mL/g，最优选 7.7 mL/g；

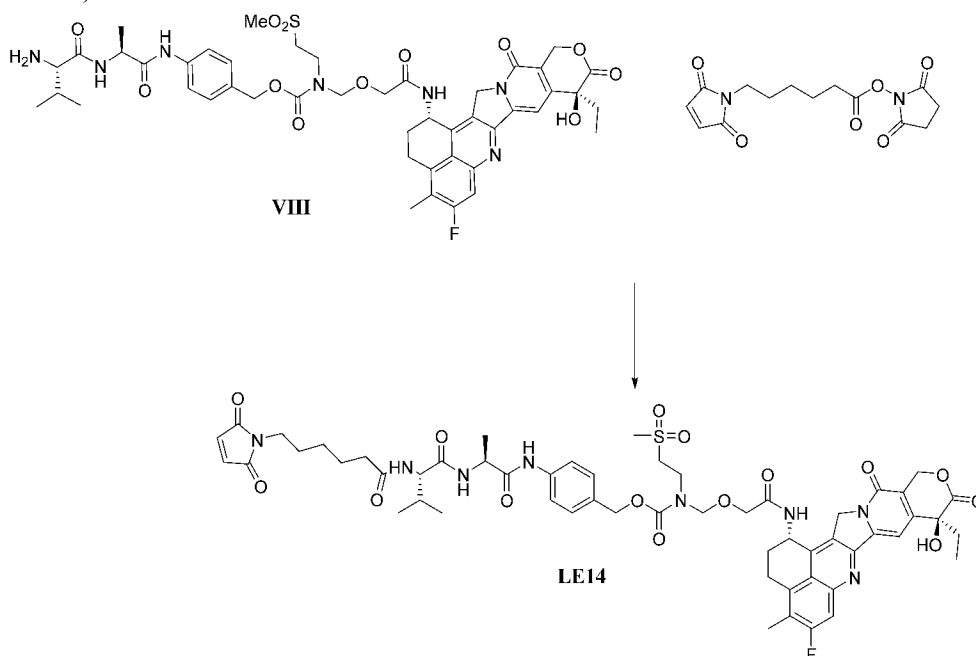
(5) 所述的式 VIII 化合物的制备方法中，所述的溶剂为醚类溶剂，优选为四氢呋喃、乙醚、1,4-二氧六环、苯甲醚、甲基叔丁基醚中的一种或其中任意两种或两种以上的混合，进一步优选为四氢呋喃；

(6) 所述的式 VIII 化合物的制备方法中，所述的还原反应的温度为 0°C-20°C，优选为 0°C-10°C；

(7) 所述的式 VIII 化合物的制备方法中，反应完成后，进一步包括后处理步骤：将反应液萃取，有机相浓缩后得到式 VIII 化合物粗品，或者直接将反应液浓缩得到式 VIII 化合物粗品；优选地，将式 VIII 化合物粗品进行硅胶柱层析纯化得到式 VIII 化合物产品；

更优选地，所述的硅胶柱层析所用的洗脱剂为二氯甲烷和甲醇的混合溶剂，所述的二氯甲烷和甲醇的体积比为(100-1):1，优选为(10-1):1。

7. 一种化合物 **LE14** 的制备方法，其特征在于，包括如下步骤：将式 **VIII** 化合物和 6-(马来酰亚胺基)己酸琥珀酰亚胺酯在溶剂中进行偶联反应得到化合物 **LE14**；



其中，所述的式 **VIII** 化合物为如权利要求 5 或 6 所述的制备方法制备得到。

8. 如权利要求 7 所述的制备方法，其特征在于，所述的制备方法满足下述条件中的一种或多种：

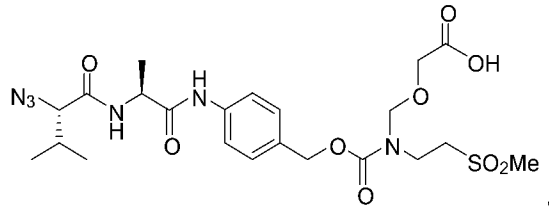
(1) 所述的化合物 **LE14** 的制备方法中，所述的 6-(马来酰亚胺基)己酸琥珀酰亚胺酯与式 **VIII** 化合物的摩尔比值为 1-5，优选为 1-3，进一步优选为 1.2-2.0；

(2) 所述的化合物 **LE14** 的制备方法中，所述的溶剂为酰胺类溶剂、氯代烷烃类溶剂、醚类溶剂和腈类溶剂中的一种或其中任意两种或两种以上的混合；优选为氯代烷烃类溶剂，其中，所述的氯代烷烃类溶剂优选为二氯甲烷，1,2-二氯乙烷和氯仿中的一种或其中任意两种或两种以上的混合，进一步优选为二氯甲烷；

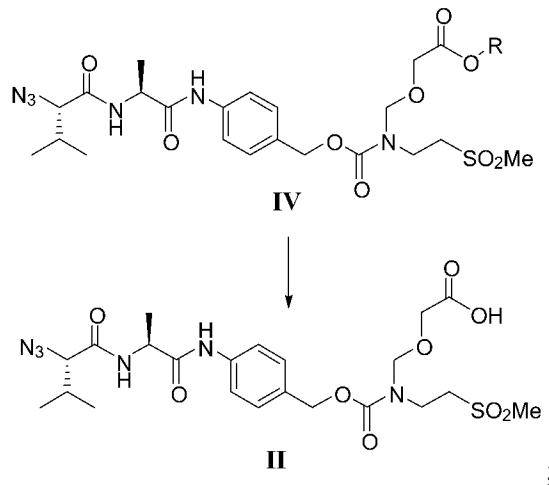
(3) 所述的化合物 **LE14** 的制备方法中，所述的偶联反应温度为 0°C-45°C，优选为 25°C-40°C，进一步优选为 30°C-35°C；

(4) 所述的化合物 **LE14** 的制备方法中，反应完成后，进一步包括后处理步骤：将反应液浓缩后得到化合物 **LE14** 粗品；优选地，通过将化合物 **LE14** 粗品进行硅胶柱层析纯化得到化合物 **LE14** 产品；更优选地，所述的硅胶柱层析所用的洗脱剂为二氯甲烷和甲醇的混合溶剂，所述的二氯甲烷和甲醇的体积比为(100-1):1，优选为(10-1):1。

9. 一种式 **II** 化合物；



10. 一种式 **II** 化合物的制备方法，其特征在于，其包括如下步骤：在溶剂中，将式 **IV** 化合物在脱保护剂的存在下进行脱保护反应得到式 **II** 化合物；反应条件如权利要求 4 所述；



其中，R 的定义如权利要求 3 或 4 所述。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/142851

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
C07D491/22(2006.01)i; C07C315/04(2006.01)i; C07C317/28(2006.01)i; C07K5/062(2006.01)i; C07K1/107(2006.01)i; C07K1/16(2006.01)i; C07K5/033(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC:C07D,C07C,C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNABS; DWPI; CNKI; Web of science; REGISTRY(STN); CAPLUS(STN); 张江生物, 刘宁, 李振东, 沈磊, 杨周, 王东生, 抗体偶联药物, 依喜替康, ADC, antibody, drug, Ixetecan, 结构检索, structural search		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2022204947 A1 (SHANGHAI FUDAN-ZHANGJIANG BIOPHARMACEUTICAL CO., LTD.) 06 October 2022 (2022-10-06) description, page 26	5-8
A	WO 2022204947 A1 (SHANGHAI FUDAN-ZHANGJIANG BIOPHARMACEUTICAL CO., LTD.) 06 October 2022 (2022-10-06) entire description	1-4, 9-10
X	CN 114642739 A (TAIZHOU FUDAN ZHANGJIANG PHARMACEUTICAL CO., LTD. et al.) 21 June 2022 (2022-06-21) description, page 19	7-8
X	WO 2022126593 A1 (SHANGHAI FUDAN-ZHANGJIANG BIOPHARMACEUTICAL CO., LTD.) 23 June 2022 (2022-06-23) description, page 26	7-8
X	WO 2020259258 A1 (SHANGHAI FUDAN-ZHANGJIANG BIOPHARMACEUTICAL CO., LTD.) 30 December 2020 (2020-12-30) description, pages 48 and 61	7-8
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 20 March 2024		Date of mailing of the international search report 26 March 2024
Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/142851

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 116217654 A (SHANGHAI FUDAN-ZHANGJIANG BIO-PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 06 June 2023 (2023-06-06) claims 1-10	1-10
PX	CN 116217655 A (SHANGHAI FUDAN-ZHANGJIANG BIO-PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 06 June 2023 (2023-06-06) claims 1-10	1-10
PX	CN 116178386 A (SHANGHAI FUDAN-ZHANGJIANG BIO-PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 30 May 2023 (2023-05-30) claims 1-10	1-10
A	CN 115385926 A (SHANGHAI FUDAN-ZHANGJIANG BIO-PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 25 November 2022 (2022-11-25) claims 1-10	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No. PCT/CN2023/142851

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
WO 2022204947 A1	06 October 2022	None	
CN 114642739 A	21 June 2022	None	
WO 2022126593 A1	23 June 2022	None	
WO 2020259258 A1	30 December 2020	None	
CN 116217654 A	06 June 2023	None	
CN 116217655 A	06 June 2023	None	
CN 116178386 A	30 May 2023	None	
CN 115385926 A	25 November 2022	None	

<p>A. 主题的分类</p> <p>C07D491/22(2006.01)i; C07C315/04(2006.01)i; C07C317/28(2006.01)i; C07K5/062(2006.01)i; C07K1/107(2006.01)i; C07K1/16(2006.01)i; C07K5/033(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																				
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>IPC:C07D,C07C,C07K</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNABS;DWPI;CNKI;Web of science;REGISTRY(STN);CAPLUS(STN); 张江生物, 刘宁, 李振东, 沈磊, 杨周, 王东生, 抗体偶联药物, 依喜替康, ADC, antibody,drug,lxetecan, 结构检索</p>																				
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>WO 2022204947 A1 (SHANGHAI FUDAN-ZHANGJIANG BIOPHARMACEUTICAL CO., LTD.) 2022年10月6日 (2022 - 10 - 06) 说明书第26页</td> <td>5-8</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2022204947 A1 (SHANGHAI FUDAN-ZHANGJIANG BIOPHARMACEUTICAL CO., LTD.) 2022年10月6日 (2022 - 10 - 06) 说明书全文</td> <td>1-4,9-10</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>CN 114642739 A (泰州复旦张江药业有限公司等) 2022年6月21日 (2022 - 06 - 21) 说明书第19页</td> <td>7-8</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>WO 2022126593 A1 (SHANGHAI FUDAN-ZHANGJIANG BIOPHARMACEUTICAL CO., LTD.) 2022年6月23日 (2022 - 06 - 23) 说明书第26页</td> <td>7-8</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>WO 2020259258 A1 (SHANGHAI FUDAN-ZHANGJIANG BIOPHARMACEUTICAL CO., LTD.) 2020年12月30日 (2020 - 12 - 30) 说明书第48,61页</td> <td>7-8</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	X	WO 2022204947 A1 (SHANGHAI FUDAN-ZHANGJIANG BIOPHARMACEUTICAL CO., LTD.) 2022年10月6日 (2022 - 10 - 06) 说明书第26页	5-8	A	WO 2022204947 A1 (SHANGHAI FUDAN-ZHANGJIANG BIOPHARMACEUTICAL CO., LTD.) 2022年10月6日 (2022 - 10 - 06) 说明书全文	1-4,9-10	X	CN 114642739 A (泰州复旦张江药业有限公司等) 2022年6月21日 (2022 - 06 - 21) 说明书第19页	7-8	X	WO 2022126593 A1 (SHANGHAI FUDAN-ZHANGJIANG BIOPHARMACEUTICAL CO., LTD.) 2022年6月23日 (2022 - 06 - 23) 说明书第26页	7-8	X	WO 2020259258 A1 (SHANGHAI FUDAN-ZHANGJIANG BIOPHARMACEUTICAL CO., LTD.) 2020年12月30日 (2020 - 12 - 30) 说明书第48,61页	7-8
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																		
X	WO 2022204947 A1 (SHANGHAI FUDAN-ZHANGJIANG BIOPHARMACEUTICAL CO., LTD.) 2022年10月6日 (2022 - 10 - 06) 说明书第26页	5-8																		
A	WO 2022204947 A1 (SHANGHAI FUDAN-ZHANGJIANG BIOPHARMACEUTICAL CO., LTD.) 2022年10月6日 (2022 - 10 - 06) 说明书全文	1-4,9-10																		
X	CN 114642739 A (泰州复旦张江药业有限公司等) 2022年6月21日 (2022 - 06 - 21) 说明书第19页	7-8																		
X	WO 2022126593 A1 (SHANGHAI FUDAN-ZHANGJIANG BIOPHARMACEUTICAL CO., LTD.) 2022年6月23日 (2022 - 06 - 23) 说明书第26页	7-8																		
X	WO 2020259258 A1 (SHANGHAI FUDAN-ZHANGJIANG BIOPHARMACEUTICAL CO., LTD.) 2020年12月30日 (2020 - 12 - 30) 说明书第48,61页	7-8																		
<p><input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p>																				
<p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>“D” 申请人在国际申请中引证的文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件</p> <p>“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件</p> <p>“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性</p> <p>“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性</p> <p>“&” 同族专利的文件</p>																				
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2024年3月20日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2024年3月26日</p>																		
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p>		<p>授权官员</p> <p>金英</p> <p>电话号码 (+86) 010-53962308</p>																		

C. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
PX	CN 116217654 A (上海复旦张江生物医药股份有限公司) 2023年6月6日 (2023 - 06 - 06) 权利要求1-10	1-10
PX	CN 116217655 A (上海复旦张江生物医药股份有限公司) 2023年6月6日 (2023 - 06 - 06) 权利要求1-10	1-10
PX	CN 116178386 A (上海复旦张江生物医药股份有限公司) 2023年5月30日 (2023 - 05 - 30) 权利要求1-10	1-10
A	CN 115385926 A (上海复旦张江生物医药股份有限公司) 2022年11月25日 (2022 - 11 - 25) 权利要求1-10	1-10

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2023/142851

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
WO 2022204947 A1	2022年10月6日	无	
CN 114642739 A	2022年6月21日	无	
WO 2022126593 A1	2022年6月23日	无	
WO 2020259258 A1	2020年12月30日	无	
CN 116217654 A	2023年6月6日	无	
CN 116217655 A	2023年6月6日	无	
CN 116178386 A	2023年5月30日	无	
CN 115385926 A	2022年11月25日	无	