

一种药物连接体偶联物的制备方法及其中间体

本申请要求申请日为 2022/5/30 的中国专利申请 2022106005234 和申请日为 2022/8/25 的中国专利申请 2022110295935 的优先权。本申请引用上述中国专利申请的全文。

技术领域

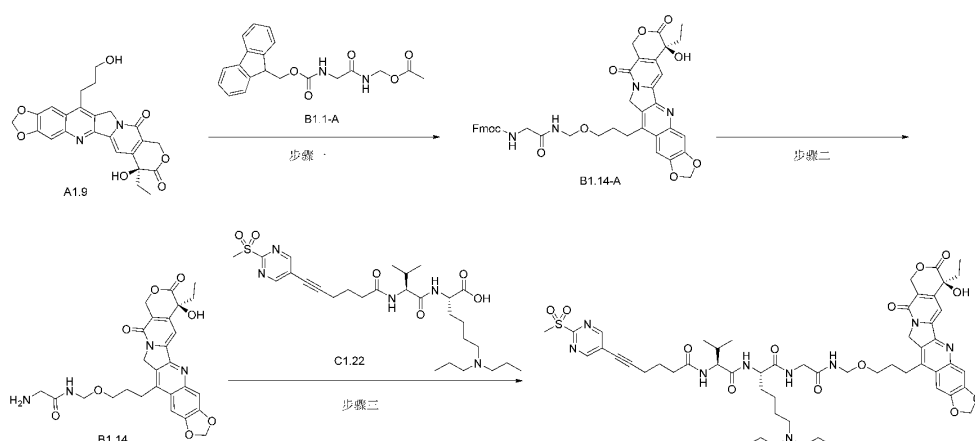
本申请属于药物化学领域，具体而言，本申请涉及一种药物连接体偶联物或其盐的制备方法及相关中间体或其盐。

背景技术

抗体药物偶联物（ADC）是抗体和小分子药物的偶联体，融合了抗体的肿瘤靶向作用和生物活性分子的活性，成为一种生物导弹，具有非常可期待的疗效和安全性优势。抗体引导 ADC 结合到靶细胞/组织，随后小分子药物在细胞内/组织中通过特定酶作用下释放，治疗疾病。在这其中，药物连接体偶联物（包含细胞毒性载荷（payload）和连接子（linker）），在 ADC 的制备中扮演着极为重要的角色。因此，发展简便高效、成本低廉，适合放量合成的药物连接体偶联物的合成方法对于 ADC 药物的开发和应用，有着重要意义。

Ds8201a 是已上市的 ADC 分子，其毒素连接子中含有较为特殊的氮氧杂缩醛结构（），对 Her2 中高表达的乳腺癌具有良好的治疗效果。但针对 ADC 分子中含有氮氧杂缩醛结构的合成方法较为有限。一是利用 Pb(OAc)₄ 对羧酸氧化重排获得乙酸酯结构，再通过酸催化得到目标分子。该方法使用到的 Pb(OAc)₄，对底物有较为苛刻的限制，分子中不能含有可被氧化的基团（例如氨基、取代的氨基），否则，反应收率极低。二是利用 Pb(OAc)₄ 氧化重排获得乙酸酯结构，与卤化试剂反应（例如 TMSCl、TMSBr）制得卤代物，再在碱性条件下与底物的羟基发生亲核取代反应。该方法除了使用 Pb(OAc)₄ 外，在亲核取代反应中用到碱（例如叔丁醇钾），不适用于对碱不稳定的底物，例如喜树碱类化合物。同时，由于上述方法均使用了 Pb(OAc)₄，体系中的 Pb 残留，对后续反应中通过金属催化加氢去除氨基保护基时，导致相应的金属催化剂中毒，反应产率受到极大影响。因此，亟需开发新的合成氮氧杂缩醛的方法，解决对底物限制性大、反应产率低等问题，从而满足大规模生产需求。

WO2022170971 公开了一类含有氮氧杂缩醛结构的 ADC 分子，其具有良好的抗肿瘤活性。用于制备 ADC 分子的药物连接体偶联物的合成路线如下所示：



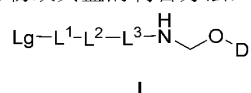
该路线以 A1.9 为起始原料, 经过三步反应得到目标化合物, 存在如下缺陷: 1、A1.9 为细胞毒类化合物, 属高活性分子, 在工艺放大生产时需在三步反应中使用隔离器, 操作困难; 2、B1.14-A 是该路线中的关键中间体之一, 需柱层析纯化, 溶剂使用量大, 难以放大生产; 3、B1.14 是该路线中的关键中间体之二, 其化学稳定性较差, 会快速聚合, 在工艺放大生产时难以进行质量控制; 4、该路线整体收率<5% (以 A1.9 计), 成本高。

综上, 上述路线是无法进行工艺放大生产的。如何减少高活性分子参与的反应步骤、避免不稳定中间体出现、简化纯化方法、提升收率直接关系到后续的工艺放大生产能否顺利进行, 为此急需开发一条新的合成路线, 满足放大生产要求。

发明内容

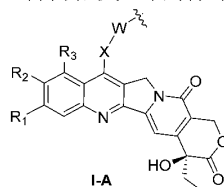
本申请提供一种药物连接体偶联物式 I 化合物的制备方法以及所用中间体或其盐的制备方法和中间体或其盐的用途。本申请所述制备方法, 底物适应性广, 操作更简单, 适合大规模生产。

一方面, 本申请提供一种式 I 化合物或其盐的制备方法,



其中,

D 为生物活性分子片段, 优选式 I-A 喜树碱类生物活性分子片段,



其中,

R₁、R₂ 各自独立地选自 H、卤素、-OH、任选取代的 C1-6 烷基和任选取代的 C1-6 烷氧基, 或者,

R₁ 和 R₂ 和与其相连的碳原子一起形成 5-7 元碳环或 5-7 元杂环, 所述杂环含有 1 个或多个 O,

S, N, 羰基, 亚砷基或砷基或其任意组合;

R₃ 选自 H、卤素、-OH、-NH₂、任选取代的 C1-6 烷基和任选取代的 C1-6 烷氧基, 或者,

R₃ 和 X 和与其相连的碳原子一起形成 5-7 元碳环或 5-7 元杂环，所述杂环含有 1 个或多个 O，S，N，羰基，亚砷基或砷基或其任意组合，或者，

R₃ 和 R₂ 和与其相连的碳原子一起形成 5-7 元碳环或 5-7 元杂环，所述杂环含有 1 个或多个 O，S，N，羰基，亚砷基或砷基或其任意组合；

W 不存在或存在, W 存在时, W 选自







和



, 1 位与 X 相连, 2 位与氧原子相连;

X 选自直接键, 任选取代的 $-O-(CH_2)_{n3}-$ 、 $-N(R_4)-(CH_2)_{n3}-$ 、 $-S-(CH_2)_{n3}-$ 、羰基 $-(CH_2)_{n3}-$ 、 $-SO_2-(CH_2)_{n3}-$ 、

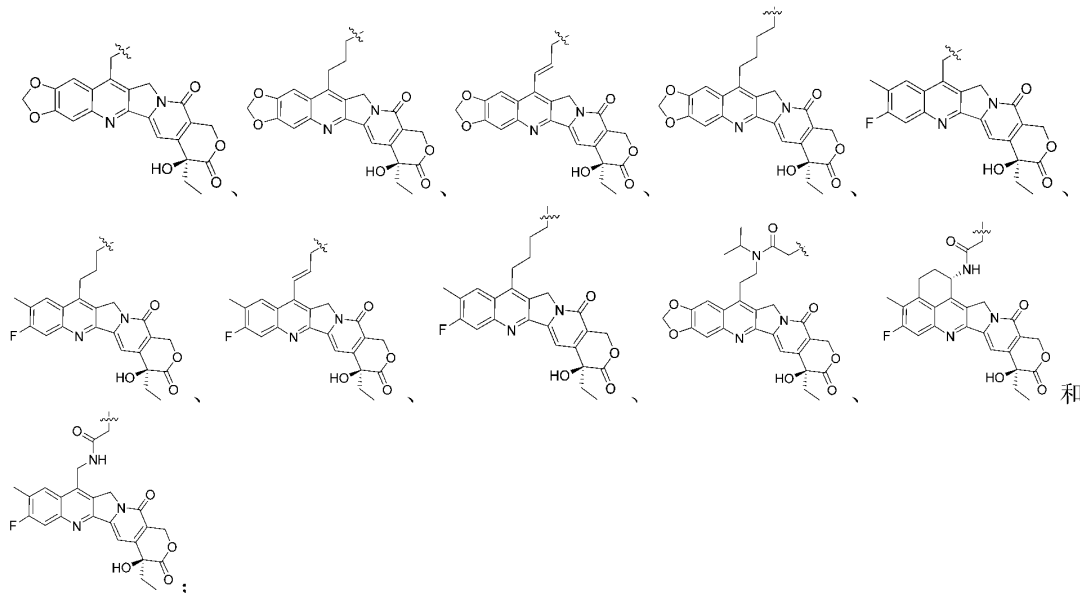
、
、
、
-(CH₂)_{n1}-、C3-6 环烷基、C6-10 芳基、5-10 元杂芳基和 4-10
元杂环基，1 位和母环相连，2 位和 W 或氧原子相连；所述取代基选自一个或多个 C1-4 烷基、C3-6
环烷基，或者多个 C1-4 烷基和与它们同时相连的碳原子一起形成 C3-6 环烷基；

各 M 独立地选自直接键和 $-\text{CR}^{5a}\text{R}^{5b}-$;

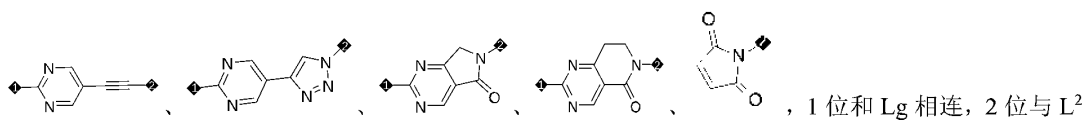
R₄、R₅、R^{5a}、R^{5b}、R₆、R₇各自独立地选自 H、任选取代的 C1-4 烷基、任选取代的 C1-4 烷氧基和任选取代的 C3-6 环烷基；

n, n', n_1, n_2, n_3 各自独立地选自 0 到 6 之间的任意整数;

更优选自如下结构:

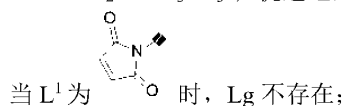


L¹ 选自:

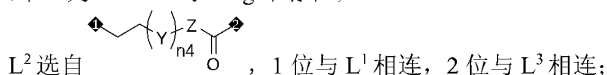


相连;

Lg 为和抗体反应时的离去基团; Lg 选自卤素、磺基、三级胺盐基 (Me_3N^+ 、 Et_3N^+)、重氮盐基、 $-\text{OMs}$ 、 MeSO_2^- 、 CF_3SO_3^- ; 优选地, Lg 选自 F、Cl、 MeSO_2^- ; 更优选地, Lg 为 MeSO_2^- ;



时, Lg 不存在;



, 1 位与 L¹ 相连, 2 位与 L³ 相连;

n₄ 选自 0-10 之间的任意整数;

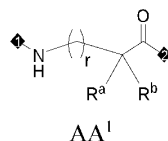
Y 选自 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$;

Z 选自 CR^mR^n 、 NR^m ;

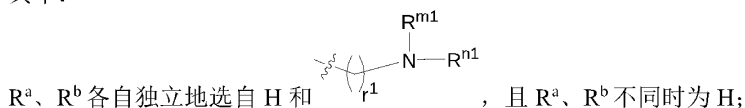
R^m 、 R^n 各自独立地选自 H、氘、C1-4 烷基、C2-4 烯基、C2-4 炔基、C3-6 环烷基、3-6 元杂环基, 或者, R^m 与 R^n 和与它们共同相连的碳原子一起, 形成 3-6 元碳环或 3-6 元杂环;

L³ 选自由 2-10 个氨基酸残基组成的短肽, 所述氨基酸残基选自天然氨基酸残基、非天然氨基酸残基、或 AA¹ 所示氨基酸残基或其立体异构体;

AA¹ 所示氨基酸残基的结构如下所示,



其中:



, 且 R^a 、 R^b 不同时为 H;
或者, R^a 与 R^b 和与它们共同相连的碳原子一起, 形成 4-10 元杂环, 所述 4-10 元杂环任选地被一个或多个 R^0 所取代;

r、r¹ 各自独立地选自 0-20 之间的任意整数;

R^{m1} 、 R^{n1} 各自独立地选自 H、C1-6 烷基、C3-6 环烷基;

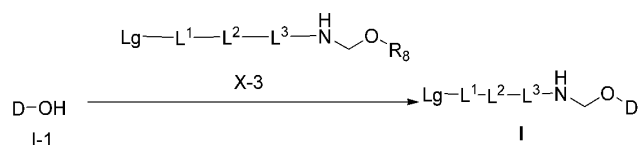
或者, R^{m1} 与 R^{n1} 和与它们共同相连的氮原子一起, 形成 4-10 元杂环, 所述 4-10 元杂环任选地被一个或多个 R^0 所取代;

R^0 、 $\text{R}^{0'}$ 各自独立地选自 C1-6 烷基、C3-6 环烷基、 $-\text{NR}^{m2}\text{R}^{n2}$ 和任选被 C1-6 烷基取代的 4-10 元杂环基;

R^{m2} 、 R^{n2} 各自独立地选自 H 和 C1-6 烷基。

所述制备方法包括以下步骤:

式 I-1 化合物或其盐与式 X-3 化合物或其盐反应得到式 I 化合物或其盐的步骤,



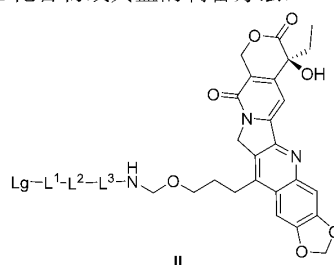
其中, R_8 选自氢、C1-30 烷基、C3-7 环烷基、3-20 元杂环基、5-10 元杂芳基、C6-10 芳基、C1-6 烷基-C3-6 环烷基、C1-6 烷基-4-6 元杂环基、C1-6 烷基-5-10 元杂芳基、C1-6 烷基-C6-10 芳基、
 $\text{---O---}(\text{---O---CH}_2\text{---})_{t^1}\text{---O---}$, 所述烷基、环烷基、杂环基、杂芳基、芳基任选的被一个或多个 R^x 所取代;

R^x 选自氢、氘、卤素、羟基、C1-4 烷基、C1-4 烷氧基、C2-4 烯基、C2-4 炔基、 $-\text{NR}^{\text{m}2}\text{R}^{\text{n}2}$ 、硝基、氰基、叠氮基、氧代基、酯基和羧基;

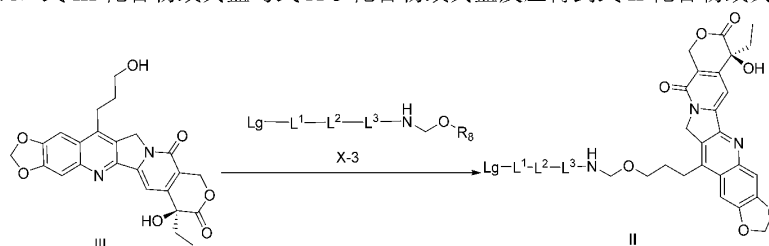
t^1 选自 0-10 之间的任意整数;

Lg 、 L^1 、 L^2 、 L^3 、 D 、 $\text{R}^{\text{m}2}$ 、 $\text{R}^{\text{n}2}$ 的定义如本申请中任一方案所述。

另一方面, 本申请提供一种式 II 化合物或其盐的制备方法,

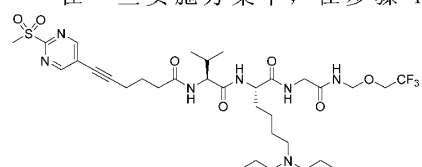


包括步骤 i) 式 III 化合物或其盐与式 X-3 化合物或其盐反应得到式 II 化合物或其盐,

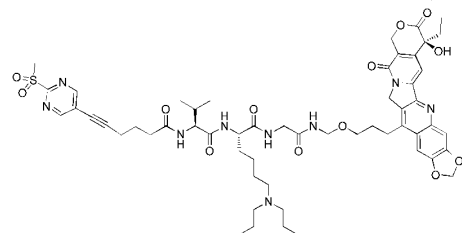


其中, Lg 、 L^1 、 L^2 、 L^3 、 R_8 的定义如本申请中任一方案所述。

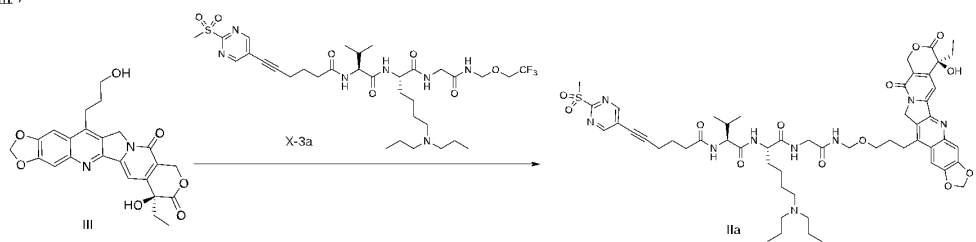
在一些实施方案中, 在步骤 i) 中, 所述式 X-3 所示化合物或其盐选自以下结构,



, 相应的, 所述式 II 化合物或其盐选自以下结构



即，步骤 i) 涉及以下反应：式 III 化合物或其盐与式 X-3a 化合物或其盐反应得到式 IIa 化合物或其盐，

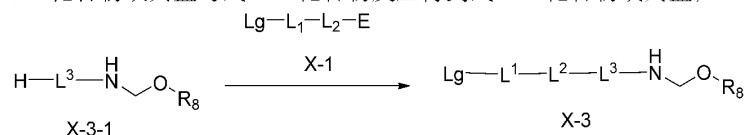


另一方面，本申请提供一种式 X-3 化合物或其盐的制备方法，包括以下步骤：

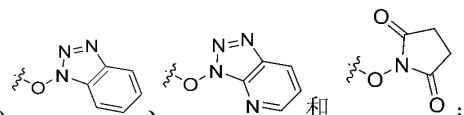
m-1) 从式 IV-2 化合物或其盐反应得到式 X-3-1 化合物或其盐：



m-2) 式 X-3-1 化合物或其盐与式 X-1 化合物反应得到式 X-3 化合物或其盐：



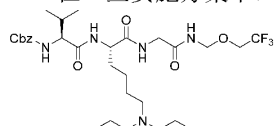
其中，E 选自羟基、卤素、活化的羟基，如羟基、氯、溴、



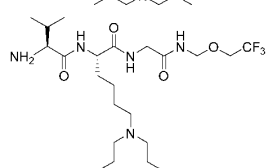
PG₂ 选自氨基保护基；

Lg、L¹、L²、L³、R₈ 的定义如本申请中任一方案所述。

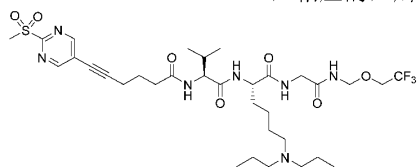
在一些实施方案中，在步骤 m-1) 和 m-2) 中，所述式 IV-2 所示化合物或其盐选自以下结构，



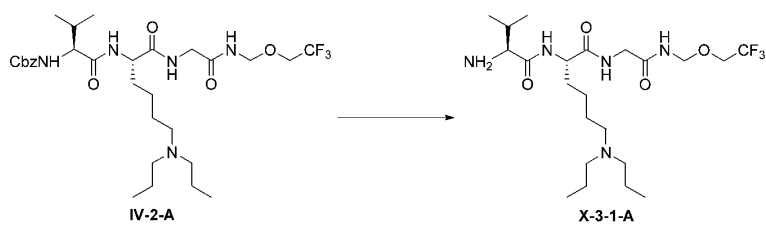
，相应的，所述式 X-3-1 化合物或其盐选自以下结构，



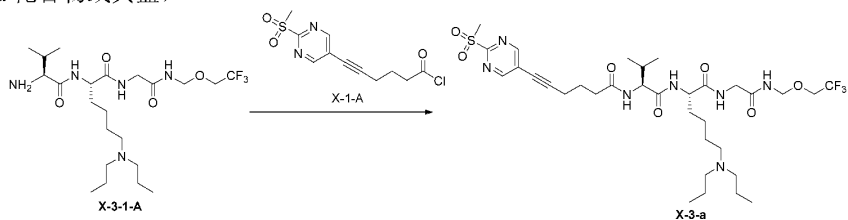
，相应的，所述式 X-3 所示化合物或其盐选自以下结构，



即，步骤 m-1) 涉及以下反应：式 IV-2-A 化合物或其盐在金属试剂-氢体系下脱除保护基 Cbz 得到式 X-3-1-A 化合物或其盐，



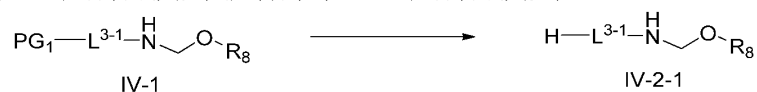
步骤 m-2) 涉及以下反应: 式 X-3-1-A 化合物或其盐与式 X-1-A 化合物在碱性条件下反应得到式 X-3a 化合物或其盐,



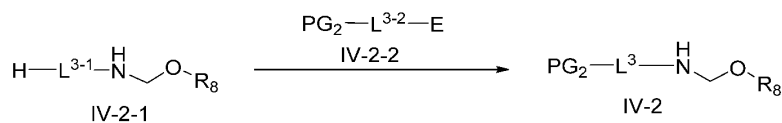
另一方面, 本申请提供一种式 IV-2 化合物或其盐的制备方法,

当 R_8 不为 H 时, 其包括以下步骤:

k-1) 从式 IV-1 化合物或其盐反应得到式 IV-2-1 化合物或其盐:



k-2) 式 IV-2-1 化合物或其盐与式 IV-2-2 化合物或其盐反应得到式 IV-2 化合物或其盐:



其中, $\text{PG}_2\text{---L}^3$ 即为 $\text{PG}_2\text{---L}^{3-2}\text{---L}^{3-1}$;

当 R_8 为 H 时, IV-2 即为 IV-2a, 其包括以下方法一或方法二:

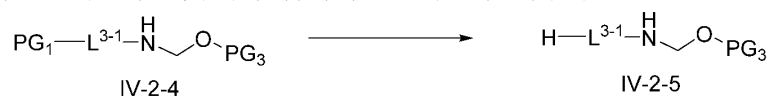
方法一, 其包括以下步骤:

k-3) 从式 IV-2-3 化合物或其盐反应得到式 IV-2a 化合物或其盐:

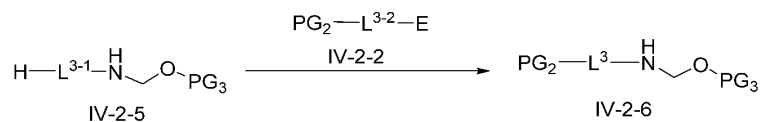


方法二, 其包括以下步骤:

k-4) 从式 IV-2-4 化合物或其盐反应得到式 IV-2-5 化合物或其盐:



k-5) 式 IV-2-5 化合物或其盐与式 IV-2-2 化合物或其盐反应得到式 IV-2-6 化合物或其盐:



k-6) 从式 IV-2-6 化合物或其盐反应得到式 IV-2a 化合物或其盐;



方法二中, $\text{PG}_2\text{—L}^3$ 即为 $\text{PG}_2\text{—L}^{3-2}\text{—L}^{3-1}$;

其中,

L^{3-1} 选自氨基酸残基或由 2-9 个氨基酸残基组成的短肽, 所述氨基酸残基选自天然氨基酸残基、非天然氨基酸残基、或 AA^1 所示氨基酸残基或其立体异构体;

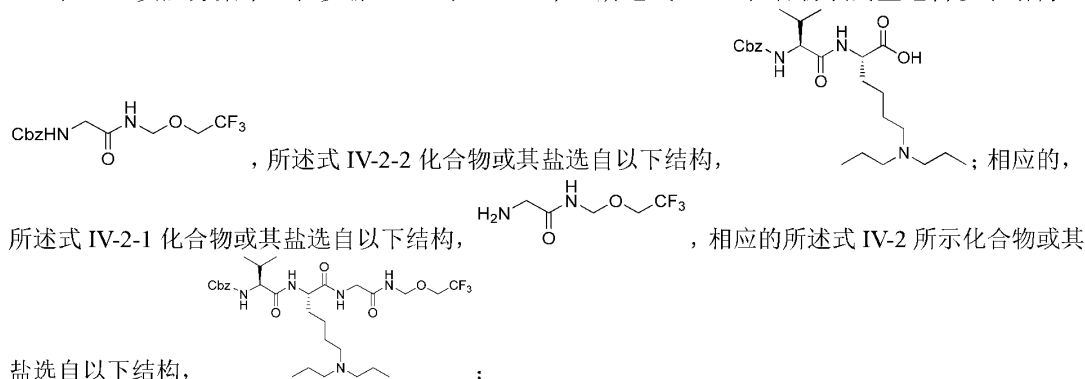
PG_1 选自氨基保护基;

L^{3-2} 选自氨基酸残基或由 2-9 个氨基酸残基组成的短肽, 所述氨基酸残基选自天然氨基酸残基、非天然氨基酸残基、或 AA^1 所示氨基酸残基或其立体异构体;

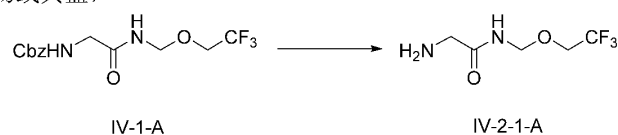
L^3 、 PG_2 、 R_8 、 E 的定义如本申请中任一方案所述;

PG_3 为羟基保护基, 例如苄基、取代的苄基、烯丙基。

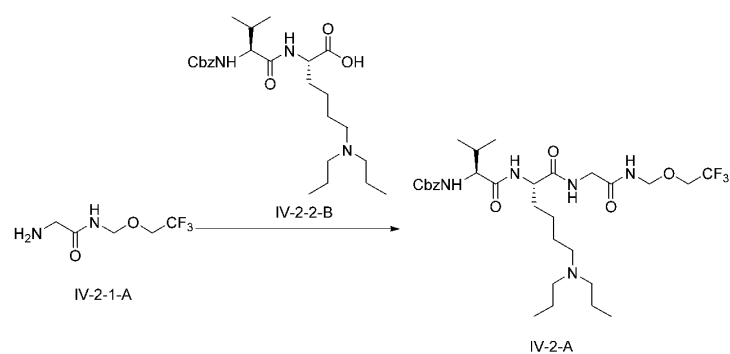
在一些实施方案中, 在步骤 k-1) 和 k-2) 中, 所述式 IV-1 化合物或其盐选自以下结构,



即, 步骤 k-1) 涉及以下反应: 式 IV-1-A 化合物或其盐在金属试剂-氢体系下脱除保护基 Cbz 得到式 IV-2-1-A 化合物或其盐,

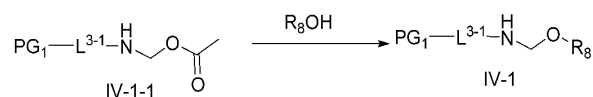


步骤 k-2) 涉及以下反应: 式 IV-2-1-A 化合物或其盐与式 IV-2-2-B 化合物或其盐在缩合剂和/或抗消旋试剂的作用下, 在碱性或中性条件下发生反应得到式 IV-2-A 化合物或其盐,



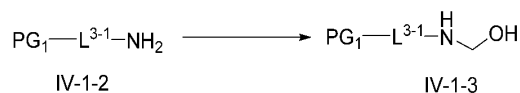
另一方面，本申请提供两种式 IV-1 化合物或其盐的制备方法，其包括以下方法一或方法二：

方法一，包括步骤 j) 式 IV-1-1 化合物或其盐与式 R_8OH 化合物或其盐反应得到式 IV-1 化合物或其盐；

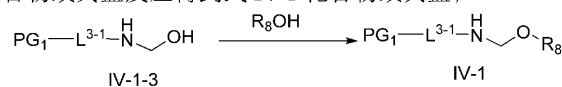


方法二，其包括以下步骤：

j-1) 从式 IV-1-2 化合物或其盐反应得到式 IV-1-3 化合物或其盐；

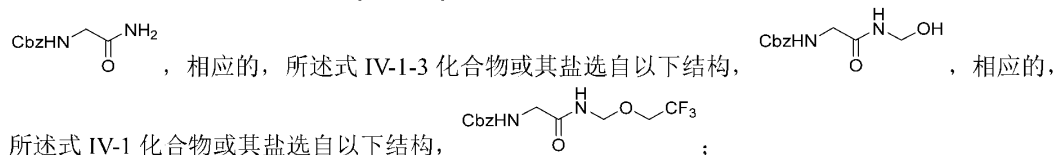


j-2) 从式 IV-1-3 化合物或其盐反应得到式 IV-1 化合物或其盐；



其中， L^{3-1} 、 PG_1 、 R_8 的定义如本申请中任一方案所述。

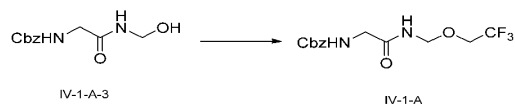
在一些实施方案中，在步骤 j-1) 和 j-2) 中，所述式 IV-1-2 化合物或其盐选自以下结构，

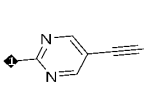
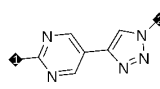


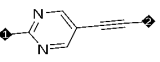
即，步骤 j-1) 涉及以下反应：式 IV-1-A-2 化合物或其盐在水中和碱性条件下与甲醛反应得到式 IV-1-A-3 化合物或其盐；

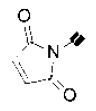


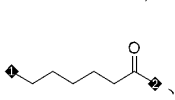
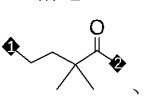
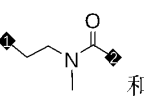
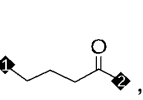
步骤 j-2) 涉及以下反应：式 IV-1-A-3 化合物或其盐在酸性条件下与 CF_3CH_2OH 反应得到式 IV-1-A 化合物或其盐；

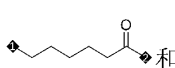
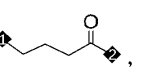


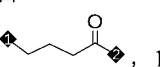
在一些实施方案中, L^1 选自 、 , 1 位与 L_g 相连, 2 位与 L_2 相连。

在一些实施方案中, L^1 为  , 1 位与 L_g 相连, 2 位与 L^2 相连。

在一些实施方案中, L^1 选自  , 2 位与 L^2 相连。

在一些实施方案中, L^2 选自 、、 和  , 1 位和 L^1 相连, 2 位和 L^3 相连。

在一些实施方案中, L^2 选自  和  , 1 位和 L^1 相连, 2 位和 L^3 相连。

在一些实施方案中, L^2 为  , 1 位和 L^1 相连, 2 位和 L^3 相连。

在一些实施方案中, Y 为 $-CH_2-$ 。

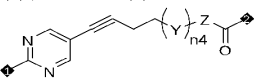
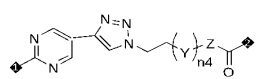
在一些实施方案中, n_4 选自 0、1、2、3。

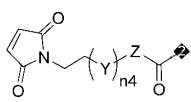
在一些实施方案中, Z 选自 $-CH_2-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 、 $-N(CH_3)-$ 和 $-NH-$ 。

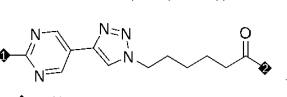
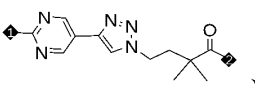
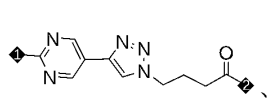
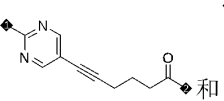
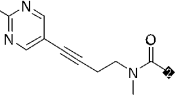
在一些实施方案中, R^m 、 R^n 各自独立地选自 H、C1-4 烷基、C2-4 烯基、C2-4 炔基、C3-6 环烷基、3-6 元杂环基;

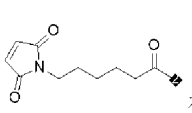
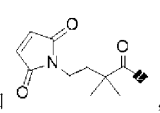
或者, R^m 与 R^n 和与它们共同相连的碳原子一起, 形成 3-6 元碳环或 3-6 元杂环。

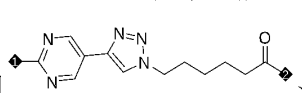
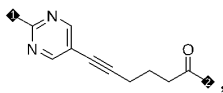
在一些实施方案中, R^m 、 R^n 各自独立地选自 H、Me。

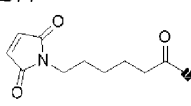
在一些实施方案中, L^1 - L^2 选自 、 时, 1 位与 L_g 相连, 2 位与 L^3 相连。

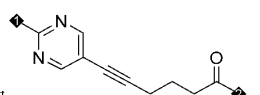
在一些实施方案中, L^1 - L^2 选自  , 2 位与 L^3 相连。

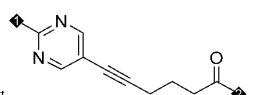
在一些实施方案中, L^1 - L^2 选自 、、、 和  , 1 位与 L_g 相连, 2 位与 L^3 相连;

还可以选自  和  , 2 位与 L^3 相连。

在一些实施方案中, L^1 - L^2 选自 、 , 1 位与 L_g 相

连, 2 位与 L^3 相连; 还可以选自  , 2 位与 L^3 相连。



在一些实施方案中, L^1 - L^2 为 , 1 位与 L_g 相连, 2 位与 L^3 相连。

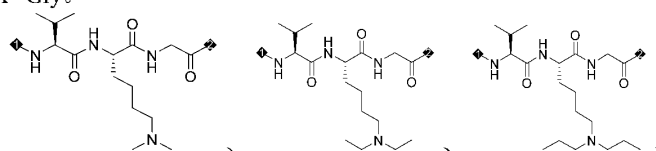
在一些实施方案中, L^3 选自由 2-4 个氨基酸残基组成的短肽, 例如二肽、三肽或四肽, 所述氨基酸残基选自天然氨基酸残基、非天然氨基酸残基、或 AA^1 所示氨基酸残基或其立体异构体。

在一些实施方案中, L^3 选自 Val-Ala、 AA^1 -Val-Ala、Val- AA^1 -Gly、Ala- AA^1 -Gly、Gly- AA^1 -Gly、Val- AA^1 -Ala、Val- AA^1 -Val、Ala- AA^1 -Ala、Ala- AA^1 -Val、Gly- AA^1 -Ala、Gly- AA^1 -Val、Ala-Ala-Ala、Ala-Ala-Asn、Gly-Gly-Phe-Gly 和 Gly-Gly-Val-Ala。

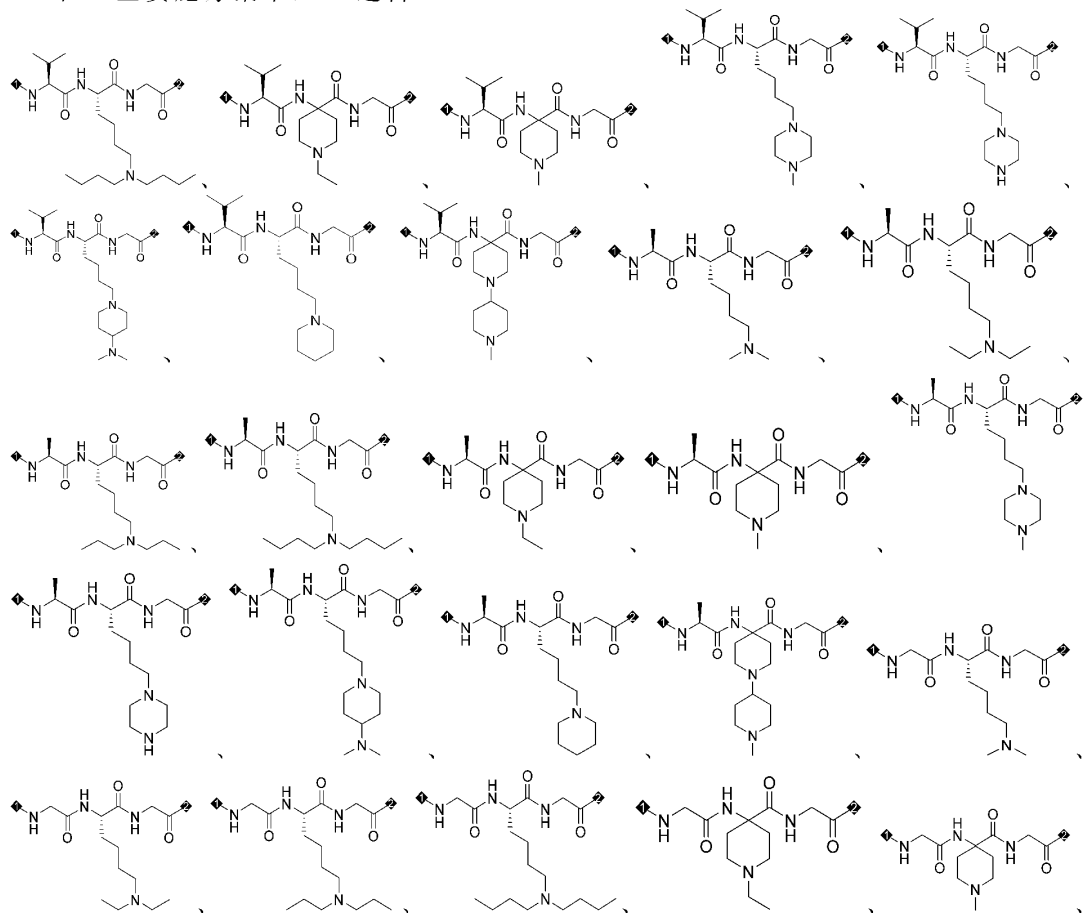
在一些实施方案中, L^3 选自 Val- AA^1 -Gly、Ala- AA^1 -Gly、Gly- AA^1 -Gly、Val- AA^1 -Ala、Val- AA^1 -Val、Ala- AA^1 -Ala、Ala- AA^1 -Val、Gly- AA^1 -Ala、Gly- AA^1 -Val、Ala-Ala-Ala、Ala-Ala-Asn 和 Gly-Gly-Phe-Gly。

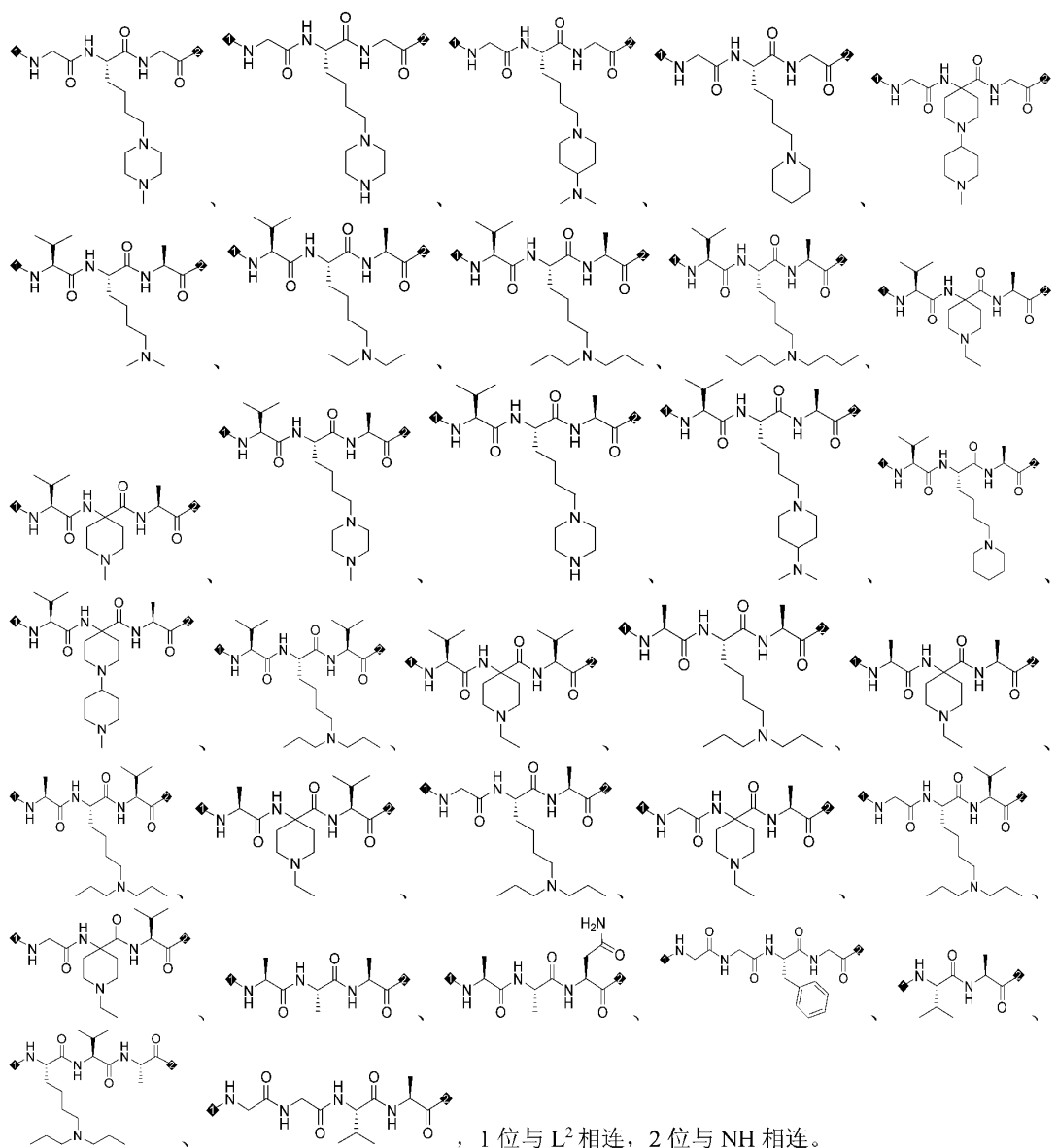
在一些实施方案中, L^3 选自 Ala-Ala-Ala、Ala-Ala-Asn、Val- AA^1 -Gly 和 Gly-Gly-Phe-Gly。

在一些实施方案中, L^3 为 Val- AA^1 -Gly。

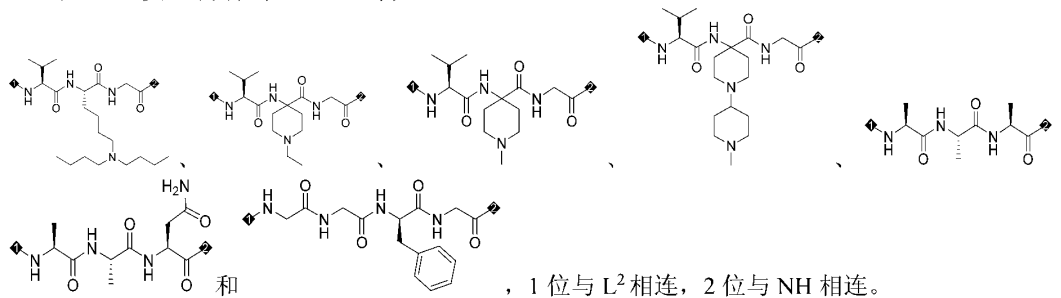


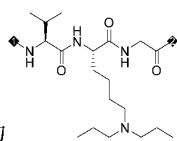
在一些实施方案中, L^3 选自

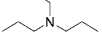


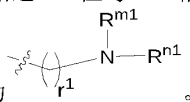


在一些实施方案中, L^3 选自





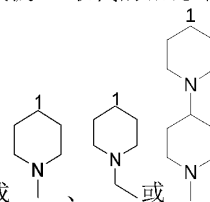
在一些实施方案中, L³ 为  , 1 位与 L² 相连, 2 位与 NH 相连。

在一些实施方案中, R^a、R^b 中, 任一个为 H, 另一个为  。

在一些实施方案中, R^a 与 R^b 和与它们共同相连的碳原子一起, 形成被 R⁰ 取代的 5-6 元杂环。

在一些实施方案中, R^a 与 R^b 和与它们共同相连的碳原子一起, 形成被 R⁰ 取代的哌啶环或哌嗪环。

在一些实施方案中, R^a 与 R^b 和与它们共同相连的碳原子一起, 形成被 R⁰ 取代的哌啶环。



在一些实施方案中, R^a 与 R^b 和与它们共同相连的碳原子一起, 形成 、 或  , 1 号碳原子为与 R^a 和 R^b 共同相连的碳原子。

在一些实施方案中, r、r¹ 各自独立地选自 0、1、2、3、4 和 5。

在一些实施方案中, r、r¹ 各自独立地选自 0 和 4。

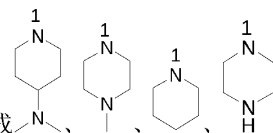
在一些实施方案中, r 为 0, r¹ 为 4。

在一些实施方案中, R^{m1}、Rⁿ¹ 各自独立地选自 H 和 C1-6 烷基。

在一些实施方案中, R^{m1}、Rⁿ¹ 各自独立地选自 H、甲基、乙基、正丙基和正丁基。

在一些实施方案中, R^{m1} 与 Rⁿ¹ 和与它们共同相连的氮原子一起, 形成任选被 R⁰ 取代的 5-6 元杂环。

在一些实施方案中, R^{m1} 与 Rⁿ¹ 和与它们共同相连的氮原子一起, 形成任选被 R⁰ 取代的哌啶环或哌嗪环。

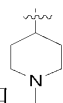


在一些实施方案中, R^{m1} 与 Rⁿ¹ 和与它们共同相连的氮原子一起, 形成 、、、 , 1 号氮原子为与 R^{m1} 和 Rⁿ¹ 共同相连的氮原子。

在一些实施方案中, R⁰、R^{0'} 各自独立地选自 C1-6 烷基、-NR^{m2}Rⁿ² 和任选被 C1-6 烷基取代的 5-6 元杂环基。

在一些实施方案中, R⁰ 选自 C1-6 烷基和被 C1-6 烷基取代的 5-6 元杂环基, 所述 5-6 元杂环基选自哌啶基和哌嗪基。

在一些实施方案中, R⁰ 选自甲基、乙基和被甲基取代的 5-6 元杂环基, 所述 5-6 元杂环基为哌啶基。



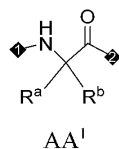
在一些实施方案中, R⁰ 选自甲基、乙基和  。

在一些实施方案中， R^0 选自 C1-6 烷基和 $-NR^{m2}R^{n2}$ 。

在一些实施方案中， R^0 选自甲基和 $-NR^{m2}R^{n2}$ 。

在一些实施方案中， R^{m2} 、 R^{n2} 为甲基。

在一些实施方案中， AA^I 所示氨基酸残基的结构如下所示，



其中：

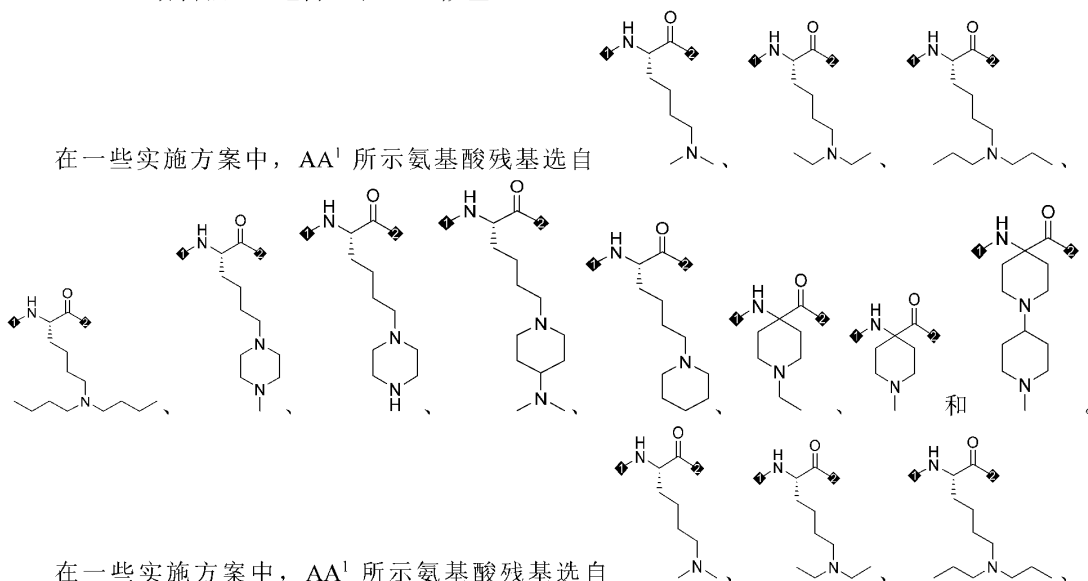
R^a 、 R^b 中，任一个为 H，另一个为 , r^1 为 4;

或者， R^a 与 R^b 与它们共同相连的碳原子一起，形成被 R^0 取代的 5-6 元杂环；

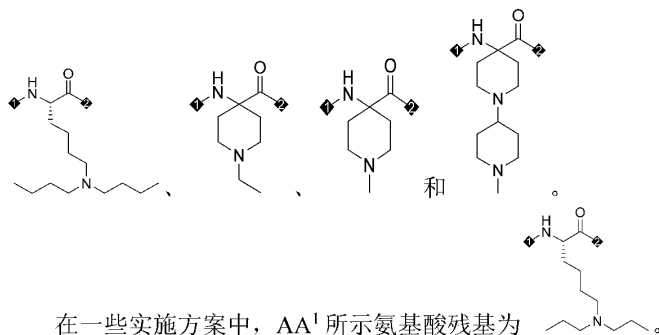
R^{m1} 、 R^{n1} 各自独立地选自 H、C1-6 烷基、C3-6 环烷基；

R^0 选自 C1-6 烷基、C3-6 环烷基、 $-NR^{m2}R^{n2}$ 和任选被 C1-6 烷基取代的 5-6 元杂环基；

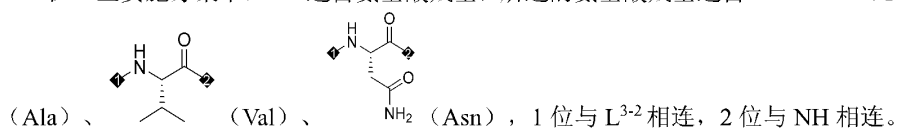
R^{m2} 、 R^{n2} 各自独立地选自 H 和 C1-6 烷基。



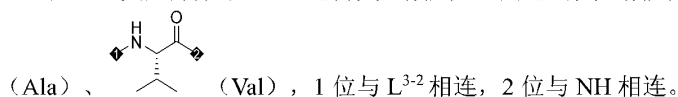
在一些实施方案中， AA^I 所示氨基酸残基选自



在一些实施方案中，L³⁻¹选自氨基酸残基，所述的氨基酸残基选自  (Gly)、



在一些实施方案中，L³⁻¹选自氨基酸残基，所述的氨基酸残基选自  (Gly)、



在一些实施方案中， L^{3-1} 为 Gly。

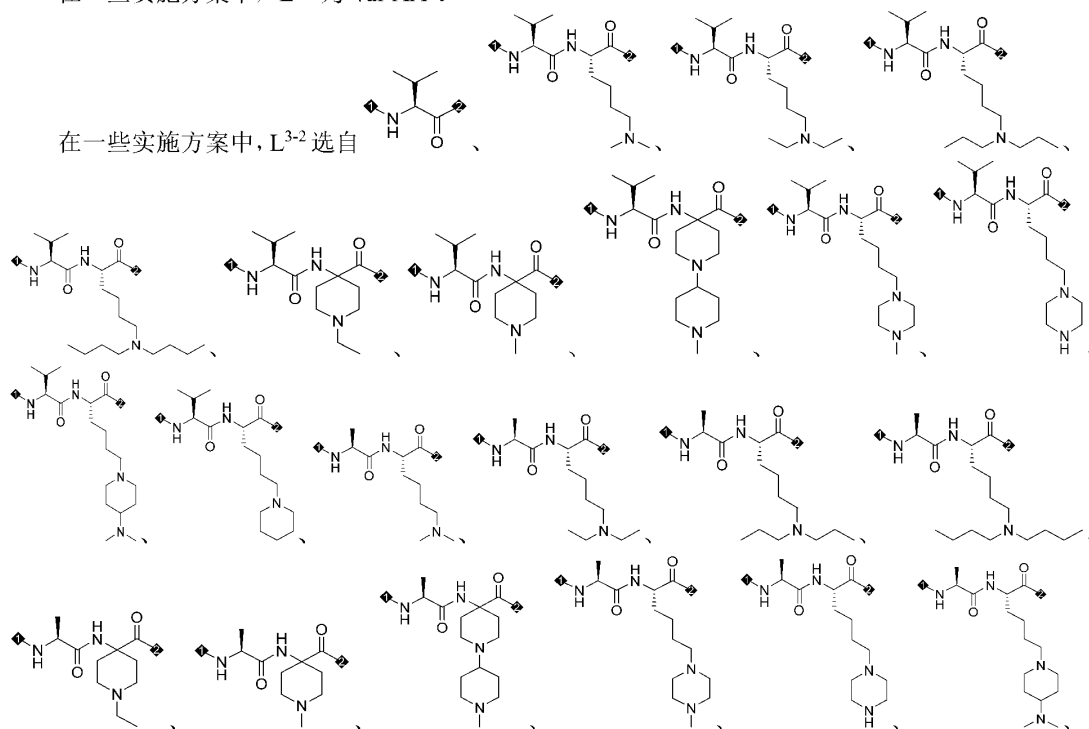
在一些实施方案中，L³⁻²选自氨基酸残基或由2-3个氨基酸残基组成的短肽，所述氨基酸残基选自天然氨基酸残基、非天然氨基酸残基、或AA¹所示氨基酸残基或其立体异构体。

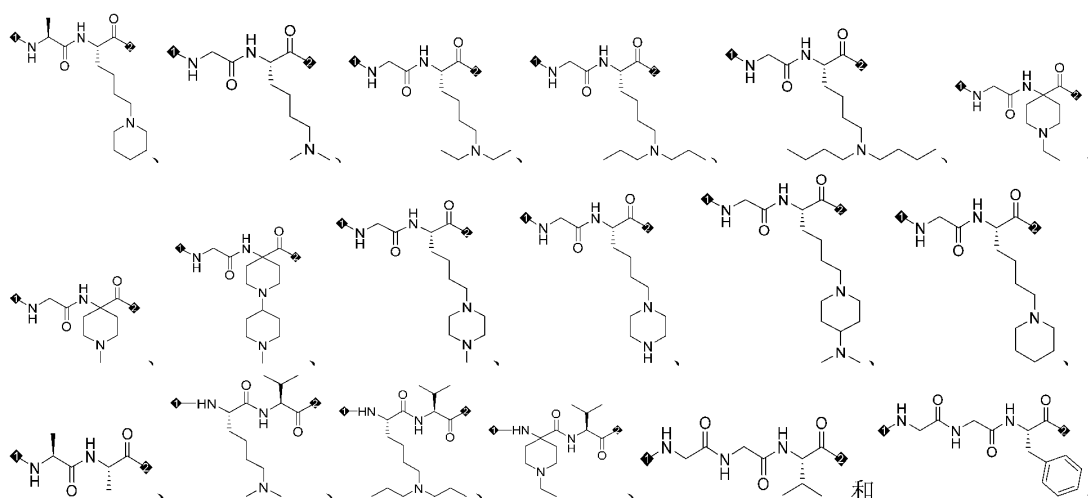
在一些实施方案中, L³⁻² 选自 Val、Val-AA¹、Ala-AA¹、Gly-AA¹、Ala-Ala、AA¹-Val、Gly-Gly-Val 和 Gly-Gly-Phe。

在一些实施方案中, L³⁻²选自 Val-AA¹、Ala-AA¹、Gly-AA¹、Ala-Ala 和 Gly-Gly-Phe。

在一些实施方案中，L³⁻²选自 Val-AA¹、Ala-Ala 和 Gly-Gly-Phe。

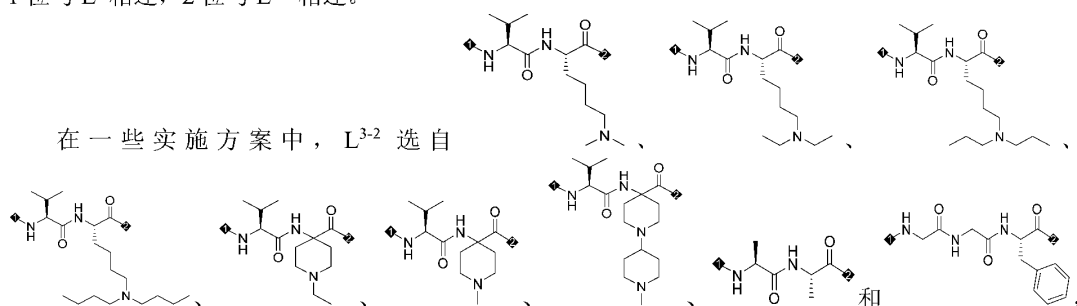
在一些实施方案中, L³⁻² 为 Val-AA¹。



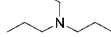


1 位与 L^2 相连, 2 位与 L^{3-1} 相连。

在一些实施方案中, L^{3-2} 选自



1 位与 L^2 相连, 2 位与 L^{3-1} 相连。

在一些实施方案中, L^{3-2} 为 , 1 位与 L^2 相连, 2 位与 L^{3-1} 相连。

在一些实施方案中, PG_1 、 PG_2 各自独立地选自苄氧羰基 (Cbz), 叔丁氧羰基 (Boc), 9-苄基甲氧羰基 (Fmoc), 烯丙氧羰基 (Alloc), 三甲基硅乙氧羰基 (Teoc), 甲氧羰基或乙氧羰基。

在一些实施方案中, PG_1 、 PG_2 各自独立地选自苄氧羰基 (Cbz), 9-苄基甲氧羰基 (Fmoc), 烯丙氧羰基 (Alloc)。

在一些实施方案中, PG_1 、 PG_2 为 9-苄基甲氧羰基 (Fmoc)。

在一些实施方案中, PG_1 、 PG_2 为苄氧羰基 (Cbz)。

在一些实施方案中, R_8 选自氢、C1-30 烷基、C3-7 环烷基、3-20 元杂环基、C1-6 烷基-C3-6 环烷基、C1-6 烷基-4-6 元杂环基、C1-6 烷基-C5-10 杂芳基和 C1-6 烷基-C6-10 芳基, 所述烷基、环烷基、杂环基、芳基任选的被一个或多个 R^x 所取代。

在一些实施方案中, R_8 选自氢、C1-30 烷基 (例如 C1-6 烷基)、C1-6 烷基-C6-10 芳基, 所述烷基、芳基任选的被一个或多个 R^x 所取代。

在一些实施方案中, R_8 选自氢、甲基、乙基、异丙基、叔丁基、2,2,2-三氟乙基、2,2,3,3,3-五氟-

1-丙基和苄基。

在一些实施方案中， R_8 选自氢、异丙基、叔丁基、2,2,2-三氟乙基、2,2,3,3,3-五氟-1-丙基和苄基。

在一些实施方案中， R^x 选自氢、氘、氟、氯、溴、甲基、甲氧基、氨基、二甲氨基、硝基、氰基、叠氮基。

在一些实施方案中， R^x 选自氢、氟、甲基、甲氧基。

在一些实施方案中， PG_3 选自被一个或多个 R^Y 所取代的苄基。

在一些实施方案中， PG_3 选自苄基、对甲氧苄基。

在一些实施方案中， R^Y 选自氢、氟、氯、溴、甲基、甲氧基、二甲氨基、硝基。

在一些实施方案中，在步骤 i) 中，式 III 化合物或其盐与式 X-3 化合物或其盐经共沸脱水后反应得到式 II 化合物或其盐。

在一些实施方案中，在步骤 i) 中，所述共沸溶剂选自甲苯、二甲苯、氯仿、乙腈、乙酸乙酯、二氯乙烷；优选甲苯、二甲苯。

在一些实施方案中，在步骤 i) 中，式 III 化合物或其盐与式 X-3 化合物或其盐在不加酸条件下得到式 II 化合物或其盐，所述反应温度选自 110-150℃；优选 120-130℃。

在一些实施方案中，在步骤 i) 中，式 III 化合物或其盐与式 X-3 化合物或其盐在酸性条件下得到式 II 化合物或其盐。

在一些实施方案中，在步骤 i) 中，式 III 化合物或其盐与式 X-3 化合物或其盐在酸性条件下得到式 II 化合物或其盐，所述反应温度选自 15-40℃；优选 20-35℃。

在一些实施方案中，在步骤 i) 中，所述酸为质子酸或非质子酸，例如氯化氢、氢溴酸、硫酸、三氟化硼乙醚、对甲苯磺酸、对甲苯磺酸吡啶盐、醋酸锌、三氯化铝 ($AlCl_3$)、三氯化铁 ($FeCl_3$)、三氟甲磺酸镱 ($Yb(OTf)_3$) 三乙胺盐酸盐、三氟化硼乙腈、三氟化硼四氢呋喃、氯化氢吡啶、溴化氢吡啶；优选氯化氢、氢溴酸、硫酸、三氟乙酸、对甲苯磺酸、对甲苯磺酸吡啶盐、醋酸锌、三氯化铝 ($AlCl_3$)、三氯化铁 ($FeCl_3$)、三氟化硼乙醚 ($BF_3 \cdot Et_2O$) 和三氟甲磺酸镱 ($Yb(OTf)_3$)；又例如氯化氢或三氟化硼乙醚；更优选氯化氢、硫酸；最优选三氟化硼乙醚。

在一些实施方案中，在步骤 i) 中，式 III 化合物或其盐与反应所选酸的摩尔比选自 1: 0.2-1: 6；优选 1: 2-1: 5；例如 1: 2.5、1: 3 或 1: 5。

在一些实施方案中，在步骤 i) 中，式 III 化合物或其盐与式 X-3 化合物或其盐的摩尔比选自 1: 1-1: 5；优选 1: 2-1: 3。

在一些实施方案中，在步骤 i) 中，反应溶剂选自醚类溶剂、腈类溶剂、酰胺类溶剂、砜类溶剂或水中的其中一种或其任意组合；优选酰胺类或砜类溶剂；更优选 *N,N*-二甲基甲酰胺 (DMF)、*N,N*-二甲基乙酰胺 (DMAc)、*N*-甲基吡咯烷酮 (NMP) 或二甲亚砜 (DMSO)；进一步优选 *N,N*-二甲基甲酰胺。

在一些实施方案中，在步骤 i) 中，式 III 化合物或其盐与所选溶剂的质量体积比 (g/mL) 选自 1: 2-1: 10；优选 1: 2.5-1: 7。

在一些实施方案中，在步骤 i) 中，反应温度选自 0-80℃；优选 15-40℃；更优选 25-35℃。

在一些实施方案中，在步骤 j) 中，式 IV-1-1 化合物或其盐和式 R_8OH 化合物或其盐在酸性条件下或碱性条件下得到式 IV-1 化合物或其盐。

在一些实施方案中，在步骤 j) 中，所述酸为质子酸或非质子酸，优选氯化氢、氢溴酸、硫酸、三氟乙酸、对甲苯磺酸、对甲苯磺酸吡啶盐、醋酸锌、三氯化铝 ($AlCl_3$)、三氯化铁 ($FeCl_3$)、三氟化硼乙醚 ($BF_3 \cdot Et_2O$) 和三氟甲磺酸镱 ($Yb(OTf)_3$)；更优选氯化氢、硫酸、醋酸锌，例如氯化氢。

在一些实施方案中，在步骤 j) 中，所述碱为有机碱或无机碱，优选氢氧化钠、叔丁醇钾、碳酸钾、三乙胺 (Et_3N)、*N,N*-二异丙基乙胺 (DIPEA) 和吡啶；优选叔丁醇钾。

在一些实施方案中，在步骤 j) 中，式 IV-1-1 化合物或其盐与反应所选酸的摩尔比选自 1: 0.01-1: 0.2，例如 1: 0.05。

在一些实施方案中，在步骤 j) 中，式 IV-1-1 化合物或其盐与反应所选碱的摩尔比选自 1: 0.9-1: 5。

在一些实施方案中，在步骤 j) 中，式 IV-1-1 化合物或其盐与式 R_8OH 化合物或其盐的摩尔比选自 1: 1-1: 20；优选 1: 2-1: 15。

在一些实施方案中，在步骤 j) 中，反应溶剂选自醇类、醚类、卤代烷烃类、芳烃类、腈类、酰胺类或砜类溶剂；更优选异丙醇、苄醇、叔丁醇、2,2,2-三氟乙醇、2,2,3,3,3-五氟-1-丙醇、乙二醇二乙醚、四氢呋喃、1,4-二氧六环、二氯甲烷、1, 2-二氯乙烷、甲苯、乙腈、DMF、DMAc、NMP 或 DMSO；进一步优选异丙醇、苄醇、叔丁醇、2,2,2-三氟乙醇、2,2,3,3,3-五氟-1-丙醇、甲苯、四氢呋喃、乙腈、DMF、DMAc、NMP，例如 2,2,2-三氟乙醇、DMF。

在一些实施方案中，在步骤 j) 中，式 IV-1-1 化合物或其盐与所选溶剂的质量体积比 (g/mL) 选自 1: 2-1: 10；优选 1: 2.5-1: 7。

在一些实施方案中，在步骤 j) 中，反应温度选自 0-120°C，例如 10-50°C。

在一些实施方案中，在步骤 j-1) 中，式 IV-1-2 化合物或其盐在水中和碱性条件下与甲醛反应得到式 IV-1-3 化合物或其盐。

在一些实施方案中，在步骤 j-1) 中，所述碱选自碳酸钾、碳酸氢钾、磷酸钾、碳酸钠、碳酸氢钠、三乙胺、二异丙基乙基胺等，优选碳酸钾。

在一些实施方案中，在步骤 j-1) 中，所述式 IV-1-2 化合物或其盐与碱的摩尔比为 1: 0.05-1: 1，优选 1: 0.1-1: 0.5。

在一些实施方案中，在步骤 j-1) 中，式 IV-1-2 化合物或其盐与甲醛的摩尔比为 1: 0.5-1: 2.5，优选 1: 1-1: 2，例如 1: 1.8。

在一些实施方案中，在步骤 j-1) 中，式 IV-1-2 化合物或其盐与水的质量体积比 (g/mL) 为 1:3-1:50，优选 1: 5-1: 20，例如 1: 15。

在一些实施方案中，在步骤 j-1) 中，反应温度为 0-80°C，优选 10-50°C。

在一些实施方案中，在步骤 j-2) 中，式 IV-1-3 化合物或其盐在酸性条件下与式 R_8OH 化合物或其盐反应得到式 IV-1 化合物或其盐。

在一些实施方案中,在步骤 j-2)中,所述酸为质子酸或非质子酸,优选氯化氢、氢溴酸、硫酸、三氟乙酸、对甲苯磺酸、对甲苯磺酸吡啶盐、醋酸锌、三氯化铝(AlCl_3)、三氯化铁(FeCl_3)、三氟化硼乙醚($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$)和三氟甲磺酸铯($\text{Yb}(\text{OTf})_3$);更优选氯化氢、硫酸、醋酸锌,例如氯化氢。

在一些实施方案中,在步骤 j-2)中,式 IV-1-3 化合物或其盐与反应所选酸的摩尔比选自 1: 0.01-1: 0.2,例如 1: 0.05。

在一些实施方案中,在步骤 j-2)中,式 IV-1-3 化合物或其盐与式 R_8OH 化合物或其盐的摩尔比选自 1: 1-1: 50;优选 1: 2-1: 30。

在一些实施方案中,在步骤 j-2)中,反应溶剂选自醇类、醚类、卤代烷烃类、芳烃类、腈类、酰胺类或砜类溶剂;更优选异丙醇、苄醇、叔丁醇、2,2,2-三氟乙醇、2,2,3,3,3-五氟-1-丙醇、乙二醇二乙醚、四氢呋喃、1,4-二氧六环、二氯甲烷、1,2-二氯乙烷、甲苯、乙腈、DMF、DMAc、NMP 或 DMSO;进一步优选异丙醇、苄醇、叔丁醇、2,2,2-三氟乙醇、2,2,3,3,3-五氟-1-丙醇、甲苯、四氢呋喃、乙腈、DMF、DMAc、NMP,例如 2,2,2-三氟乙醇、DMF。

在一些实施方案中,在步骤 j-2)中,式 IV-1-3 化合物或其盐与所选溶剂的质量体积比(g/mL)选自 1: 2-1: 10;优选 1: 2.5-1: 7。

在一些实施方案中,在步骤 j-2)中,反应温度选自 0-120°C,例如 0-50°C。

在一些实施方案中,在步骤 k-1)中,从式 IV-1 化合物或其盐脱除氨基上的保护基 PG_1 得到式 IV-2-1 化合物或其盐。

在一些实施方案中,在步骤 k-1)中,从式 IV-1 化合物或其盐脱除氨基上的保护基 PG_1 的反应可以采用本领域技术人员所熟知的常规反应条件进行,例如:在酸性条件下脱除,所述酸包括质子酸和非质子酸;在碱性条件下脱除,所述碱包括有机碱和无机碱;在金属试剂的条件下脱除,所述金属试剂优选自钯类试剂或者铂类试剂,进一步优选自钯碳、铂碳、二氧化铂、氢氧化钯。

在一些实施方案中,在步骤 k-1)中,所述 PG_1 为 9-苄基甲氧羰基(Fmoc)时,式 IV-1 化合物或其盐在碱性条件下脱除保护基 PG_1 。所述碱选自有机碱或无机碱,优选哌啶、二乙胺、吗啉、二异丙胺、DBU、三乙胺和 *N,N*-二异丙基乙胺;更优选哌啶、二乙胺或吗啉,例如二乙胺、DBU。

在一些实施方案中,在步骤 k-1)中,所述 PG_1 为 9-苄基甲氧羰基(Fmoc)时,式 IV-1 化合物或其盐与所选碱的摩尔比选自 1: 0.2-1: 40;例如 1: 0.2-1: 2;优选 1: 1-1: 10,例如 1: 0.4。

在一些实施方案中,在步骤 k-1)中,所述 PG_1 为 9-苄基甲氧羰基(Fmoc)时,反应溶剂选自 DMF、DMAc、NMP、二氯甲烷、四氢呋喃、1,4-二氧六环、乙腈中的其中一种或其任意组合,例如 DMF、四氢呋喃。

在一些实施方案中,在步骤 k-1)中,所述 PG_1 为 9-苄基甲氧羰基(Fmoc)时,式 IV-1 化合物或其盐与所选反应溶剂的质量体积比(g/mL)选自 1: 5-1: 50;优选 1: 6-1: 20。

在一些实施方案中,在步骤 k-1)中,所述 PG_1 为 9-苄基甲氧羰基(Fmoc)时,反应温度选自 0-50°C;优选 15-30°C。

在一些实施方案中,在步骤 k-1)中,所述 PG₁ 为苄氧羰基 (Cbz) 时,式 IV-1 化合物或其盐在金属试剂-氢体系下脱除保护基 PG₁。所述金属试剂选自钯类试剂或铂类试剂,优选钯碳、铂碳、二氧化铂、氢氧化钯,例如钯碳、氢氧化钯。

在一些实施方案中,在步骤 k-1)中,所述 PG₁ 为苄氧羰基 (Cbz) 时,式 IV-1 化合物与金属试剂的质量比为 1: 0.01-1, 优选 1: 0.03-0.5, 例如 1: 0.05、1: 0.1。

在一些实施方案中,在步骤 k-1)中,所述 PG₁ 为苄氧羰基 (Cbz) 时,使用的氢气为 1atm-50atm。

在一些实施方案中,在步骤 k-1)中,所述 PG₁ 为苄氧羰基 (Cbz) 时,反应温度为 0°C-100°C, 优选 20°C-70°C。

在一些实施方案中,在步骤 k-1)中,所述 PG₁ 为苄氧羰基 (Cbz) 时,反应溶剂选自醇类、醚类、酯类、酰胺类或水中的任何一种或以任意比例混合, 优选甲醇、乙醇、四氢呋喃、乙酸乙酯、DMF、DMAc、NMP 或水, 例如甲醇、四氢呋喃。

在一些实施方案中,在步骤 k-1)中,所述 PG₁ 为苄氧羰基 (Cbz) 时,式 IV-1 化合物或其盐与所选反应溶剂的质量体积比 (g/mL) 选自 1: 3-1: 20; 优选 1: 5-1: 10。

在一些实施方案中,在步骤 k-1)中,所述 PG₁ 为烯丙氧羰基 (Alloc) 时,式 IV-1 化合物或其盐在金属试剂条件下脱除保护基 PG₁。所述金属试剂选自钯类试剂, 优选四三苯基膦钯、二三苯基膦二氯化钯。

在一些实施方案中,在步骤 k-2)中,式 IV-2-1 化合物或其盐和式 IV-2-2 化合物或其盐通过缩合反应得到式 IV-2 化合物。

在一些实施方案中,在步骤 k-2)中,当 E 为羟基时,在缩合剂和/或抗消旋试剂的作用下,在碱性或中性条件下发生反应,所述缩合剂为本领域技术人员所熟知的试剂, 优选 DMTMM、HATU、HBTU、EDCI、COMU、N-乙炔基-N-甲基甲磺酰胺、EEDQ 和 T₃P; 更优选 DMTMM、HBTU。

在一些实施方案中,在步骤 k-2)中,当 E 为羟基时,所述抗消旋试剂选自 HOAt、HOBt。

在一些实施方案中,在步骤 k-2)中,当 E 为羟基时,所述碱选自 DBU、三乙胺、N,N-二异丙基乙胺、N-甲基吗啉。

在一些实施方案中,在步骤 k-2)中,当 E 为羟基时,式 IV-2-2 化合物或其盐与所述缩合剂的摩尔比选自 1: 1~1: 5; 优选 1: 1~1: 1.5。

在一些实施方案中,在步骤 k-2)中,当 E 为羟基时,式 IV-2-1 化合物或其盐与式 IV-2-2 化合物或其盐的摩尔比选自 1: 0.8~1: 3; 优选 1: 0.8~1: 1.2。

在一些实施方案中,在步骤 k-2)中,当 E 为羟基时,反应溶剂选自 DMF、乙腈、四氢呋喃、甲醇、二氯甲烷和水中的其中一种或其任意组合; 优选 DMF 或四氢呋喃。

在一些实施方案中,在步骤 k-2)中,当 E 为羟基时,式 IV-2-1 化合物或其盐与所选反应溶剂的质量体积比 (g/mL) 选自 1: 5~1: 20。

在一些实施方案中,在步骤 k-2)中,当 E 为羟基时,反应温度选自-20~100°C; 优选-15~50°C; 最优选低于-15°C。

在一些实施方案中,在步骤 k-2)中,当 E 为活化的羟基时,式 IV-2-1 化合物或其盐与式 IV-2-2 化合物或其盐在碱性或中性条件下发生反应,所述碱选自有机碱或无机碱,优选三乙胺、N,N-二异丙基乙胺、DBU 和 N-甲基吗啉。

在一些实施方案中,在步骤 k-2)中,当 E 为活化的羟基时,反应溶剂选自 DMF、四氢呋喃和二氯甲烷中的其中一种或其任意组合。

在一些实施方案中,在步骤 k-2)中,当 E 为活化的羟基时,式 IV-2-1 化合物或其盐与式 IV-2-2 化合物或其盐的摩尔比选自 1: 0.8-1: 1.2。

在一些实施方案中,在步骤 k-3)中,式 IV-2-3 化合物或其盐与醛类试剂在碱性条件下反应得到式 IV-2a 化合物或其盐。

在一些实施方案中,在步骤 k-3)中,所述醛类试剂选自甲醛水溶液、三聚甲醛、多聚甲醛。

在一些实施方案中,在步骤 k-3)中,所述碱为无机碱,优选碳酸钾、碳酸钠、碳酸氢钠、碳酸氢钾、叔丁醇钾、磷酸钾、磷酸氢二钾、磷酸二氢钾。

在一些实施方案中,在步骤 k-3)中,式 IV-2-3 化合物或其盐与醛类试剂的摩尔比选自 1: 20~1: 200; 优选 1: 40-1: 90。

在一些实施方案中,在步骤 k-3)中,反应溶剂选自醇类、醚类、腈类、酰胺类或水中的其中一种或其任意组合; 优选甲醇、乙醇、四氢呋喃、1,4-二氧六环、乙腈、DMF 中的其中一种或其任意组合。

在一些实施方案中,在步骤 k-3)中,反应温度选自 25-100℃; 优选 25-80℃。

在一些实施方案中,在步骤 k-4)中,从式 IV-2-4 化合物或其盐脱除氨基上的保护基 PG₁ 得到式 IV-2-5 化合物或其盐。

在一些实施方案中,在步骤 k-4)中,从式 IV-2-4 化合物或其盐脱除氨基上的保护基 PG₁ 的反应可以采用本领域技术人员所熟知的常规反应条件进行,例如: 在酸性条件下脱除; 在碱性条件下脱除; 在金属试剂的条件下脱除。

在一些实施方案中,在步骤 k-4)中,所述 PG₁ 为 9-苄基甲氧羰基 (Fmoc) 时,式 IV-2-4 化合物或其盐在碱性条件下脱除保护基 PG₁。所述碱选自有机碱或者无机碱,优选吡啶、二乙胺、吗啉、二异丙胺、DBU; 更优选二乙胺。

在一些实施方案中,在步骤 k-4)中,所述 PG₁ 为 9-苄基甲氧羰基 (Fmoc) 时,式 IV-2-4 化合物或其盐与所选碱的摩尔比选自 1: 0.2~1: 40; 优选 1: 1~1: 10。

在一些实施方案中,在步骤 k-4)中,所述 PG₁ 为 9-苄基甲氧羰基 (Fmoc) 时,反应溶剂选自 DMF、DMAc、NMP、二氯甲烷、四氢呋喃、1,4-二氧六环和乙腈; 优选 DMF。

在一些实施方案中,在步骤 k-4)中,所述 PG₁ 为 9-苄基甲氧羰基 (Fmoc) 时,式 IV-2-4 化合物或其盐与所选反应溶剂的质量体积比 (g/mL) 选自 1: 5~1: 50; 优选 1: 6~1: 20。

在一些实施方案中,在步骤 k-4)中,所述 PG₁ 为 9-苄基甲氧羰基 (Fmoc) 时,反应温度选自 0~50℃; 优选 15~30℃。

在一些实施方案中,在步骤 k-4)中,所述 PG₁ 为苄氧羰基 (Cbz) 时,式 IV-2-4 化合物或其盐在

金属试剂-氢体系下脱除保护基 PG₁。所述金属试剂选自钯类试剂或铂类试剂，优选钯碳、铂碳、二氧化钯、氢氧化钯。

在一些实施方案中，在步骤 k-4)中，所述 PG₁ 为烯丙氧羰基 (Alloc) 时，式 IV-2-4 化合物或其盐在钯试剂条件下脱除保护基 PG₁。所述金属试剂选自钯类试剂，优选四三苯基膦钯、二三苯基膦二氯化钯。

在一些实施方案中，在步骤 k-5)中，式 IV-2-5 化合物或其盐和式 IV-2-2 化合物或其盐通过缩合反应得到式 IV-2-6 化合物。

在一些实施方案中，在步骤 k-5)中，当 E 为羟基时，在缩合剂和/或抗消旋试剂的作用下，在碱性或中性条件下发生反应，所述缩合剂为本领域技术人员所熟知的试剂，优选 DMTMM、HATU、HBTU、EDCI、COMU、N-乙炔基-N-甲基甲磺酰胺、EEDQ 和 T₃P；更优选 DMTMM、HBTU。

在一些实施方案中，在步骤 k-5)中，当 E 为羟基时，所述抗消旋试剂选自 HOAt、HOBt。

在一些实施方案中，在步骤 k-5)中，当 E 为羟基时，所述碱选自三乙胺、N,N-二异丙基乙胺、N-甲基吗啉。

在一些实施方案中，在步骤 k-5)中，当 E 为羟基时，式 IV-2-2 化合物或其盐与所述缩合剂的摩尔比选自 1: 1~1: 5；优选 1: 1~1: 1.5。

在一些实施方案中，在步骤 k-5)中，当 E 为羟基时，式 IV-2-5 化合物或其盐与式 IV-2-2 化合物或其盐的摩尔比选自 1: 0.8~1: 1.2。

在一些实施方案中，在步骤 k-5)中，当 E 为羟基时，反应溶剂选自 DMF、乙腈、四氢呋喃、甲醇、二氯甲烷和水中的其中一种或其任意组合；优选 DMF。

在一些实施方案中，在步骤 k-5)中，当 E 为羟基时，式 IV-2-5 化合物或其盐与所选反应溶剂的质量体积比 (g/mL) 选自 1: 5~1: 20。

在一些实施方案中，在步骤 k-5)中，当 E 为羟基时，反应温度选自 -20~100℃；优选 -15~50℃。

在一些实施方案中，在步骤 k-5)中，当 E 为活化的羟基时，式 IV-2-5 化合物或其盐与式 IV-2-2 化合物或其盐在碱性或中性条件下发生反应，所述碱选自有机碱或无机碱，优选三乙胺、N,N-二异丙基乙胺和 N-甲基吗啉。

在一些实施方案中，在步骤 k-5)中，当 E 为活化的羟基时，反应溶剂选自 DMF、乙腈、四氢呋喃、二氯甲烷和水中的其中一种或其任意组合。

在一些实施方案中，在步骤 k-5)中，当 E 为活化的羟基时，式 IV-2-5 化合物或其盐与式 IV-2-2 化合物或其盐的摩尔比选自 1: 0.8~1: 1.2。

在一些实施方案中，在步骤 k-6)中，式 IV-2-6 化合物或其盐在酸性条件下，以金属催化剂-氢体系脱除羟基上的保护基得到式 IV-2a 化合物。

在一些实施方案中，在步骤 k-6)中，所述的酸为质子酸，优选甲酸、乙酸、三氟乙酸、盐酸。

在一些实施方案中，在步骤 k-6)中，式 IV-2-6 化合物或其盐与酸的摩尔比例为 1: 0.2-1: 2。

在一些实施方案中，在步骤 k-6)中，所述的金属催化剂选自钯碳、铂碳、二氧化钯、氢氧化钯。

在一些实施方案中,在步骤 k-6)中,式 IV-2-6 化合物或其盐与金属催化剂的比例为 0.5%-20%。

在一些实施方案中,在步骤 k-6)中,所述的氢源选自氢气、甲酸。

在一些实施方案中,在步骤 k-6)中,所述的氢源压力选自 1-5atm。

在一些实施方案中,在步骤 k-6)中,反应溶剂选自 DMF、乙腈、四氢呋喃、甲醇和乙酸乙酯中的其中一种或其任意组合。

在一些实施方案中,在步骤 m-1)中,从式 IV-2 化合物或其盐脱除氨基上的保护基 PG₂ 得到式 X-3-1 化合物或其盐。

在一些实施方案中,在步骤 m-1)中,从式 IV-2 化合物或其盐脱除氨基上的保护基 PG₂ 的反应可以采用本领域技术人员所熟知的常规反应条件进行,例如:在酸性条件下脱除,所述酸包括质子酸和非质子酸;在碱性条件下脱除,所述碱包括有机碱和无机碱;在金属试剂的条件下脱除,所述金属试剂优选自钯类试剂或者铂类试剂,进一步优选自钯碳、铂碳、二氧化铂、氢氧化钯。

在一些实施方案中,在步骤 m-1)中,所述 PG₂ 为 9-苄基甲氧羰基(Fmoc)时,式 IV-2 化合物或其盐在碱性条件下脱除保护基 PG₂。所述碱选自哌啶、二乙胺、吗啉、DBU;优选二乙胺。

在一些实施方案中,在步骤 m-1)中,所述 PG₂ 为 9-苄基甲氧羰基(Fmoc)时,式 IV-2 化合物或其盐与所选碱的摩尔比选自 1: 0.2-1: 40;优选 1: 1-1: 10。

在一些实施方案中,在步骤 m-1)中,所述 PG₂ 为 9-苄基甲氧羰基(Fmoc)时,反应溶剂选自 DMF、二氯甲烷、四氢呋喃、1,4-二氧六环;优选 DMF。

在一些实施方案中,在步骤 m-1)中,所述 PG₂ 为 9-苄基甲氧羰基(Fmoc)时,式 IV-2 化合物或其盐与所选反应溶剂的质量体积比(g/mL)选自 1: 5~1: 50;优选 1: 6~1: 20。

在一些实施方案中,在步骤 m-1)中,所述 PG₂ 为 9-苄基甲氧羰基(Fmoc)时,反应温度选自 0~50℃;优选 15~30℃。

在一些实施方案中,在步骤 m-1)中,所述 PG₂ 为苄氧羰基(Cbz)时,式 IV-2 化合物或其盐在金属试剂-氢体系下脱除保护基 PG₂。所述金属试剂为钯类试剂或者铂类试剂,优选钯碳、铂碳、二氧化铂、氢氧化钯,例如钯碳、氢氧化钯。

在一些实施方案中,在步骤 m-1)中,所述 PG₂ 为苄氧羰基(Cbz)时,式 IV-2 化合物与金属试剂的质量比为 1: 0.01-1,优选 1: 0.03-0.5,例如 1: 0.3。

在一些实施方案中,在步骤 m-1)中,所述 PG₂ 为苄氧羰基(Cbz)时,使用的氢气为 1atm-50atm;优选 1-4atm。

在一些实施方案中,在步骤 m-1)中,所述 PG₂ 为苄氧羰基(Cbz)时,反应温度为 0℃-100℃,优选 20℃-70℃。

在一些实施方案中,在步骤 m-1)中,所述 PG₂ 为苄氧羰基(Cbz)时,反应溶剂选自醇类、醚类、酯类、酰胺类或水中的任何一种或以任意比例混合,优选甲醇、乙醇、四氢呋喃、乙酸乙酯、DMF、DMAc、NMP 或水,例如甲醇、四氢呋喃。

在一些实施方案中,在步骤 m-1)中,所述 PG₂ 为苄氧羰基(Cbz)时,式 IV-2 化合物或其盐与所

选反应溶剂的质量体积比 (g/mL) 选自 1: 3-1: 50; 优选 1: 10-1: 30。

在一些实施方案中, 在步骤 m-1) 中, 所述 PG₂ 为烯丙氧羰基 (Alloc) 时, 式 IV-2 化合物或其盐在金属试剂条件下脱除保护基 PG₂。所述金属试剂为钯类试剂, 优选四三苯基膦钯、二三苯基膦二氯化钯。

在一些实施方案中, 在步骤 m-2) 中, 式 X-3-1 化合物或其盐和式 X-1 化合物或其盐通过缩合反应得到式 X-3 化合物或其盐。

在一些实施方案中, 在步骤 m-2) 中, 当 E 为羟基时, 在缩合剂的作用下, 在碱性或中性条件下发生反应, 所述缩合剂为本领域技术人员所熟知的试剂, 优选 DMTMM、HATU、HBTU、COMU、N-乙炔基-N-甲基甲磺酰胺; 更优选 DMTMM、HBTU。

在一些实施方案中, 在步骤 m-2) 中, 当 E 为羟基时, 所述碱选自有机碱或无机碱, 优选三乙胺、N,N-二异丙基乙胺、N-甲基吗啉; 优选 N,N-二异丙基乙胺。

在一些实施方案中, 在步骤 m-2) 中, 当 E 为羟基时, 式 X-1 化合物或其盐与所述缩合剂的摩尔比选自 1: 1-1: 5; 优选 1: 1-1: 1.5。

在一些实施方案中, 在步骤 m-2) 中, 当 E 为羟基时, 式 X-3-1 化合物或其盐与式 X-1 化合物或其盐的摩尔比选自 1: 0.9-1: 1.2。

在一些实施方案中, 在步骤 m-2) 中, 当 E 为羟基时, 反应溶剂选自 DMF、乙腈、四氢呋喃、甲醇、二氯甲烷和水中的其中一种或其任意组合; 优选 DMF。

在一些实施方案中, 在步骤 m-2) 中, 当 E 为羟基时, 反应温度选自 -20 - 100°C; 例如 -20 - 30°C; 优选 0-30°C。

在一些实施方案中, 在步骤 m-2) 中, 当 E 选自卤素 (例如氯、氟或溴) 时, 式 X-3-1 化合物或其盐和式 X-1 化合物或其盐在碱性条件下反应。所述碱选自三乙胺、N,N-二异丙基乙胺、DBU 和 N-甲基吗啉; 优选 N,N-二异丙基乙胺。

在一些实施方案中, 在步骤 m-2) 中, 当 E 选自卤素 (例如氯、氟或溴) 时, 式 X-1 化合物或其盐与反应所述的碱的摩尔比选自 1: 0.1~1: 5; 例如 1: 1~1: 5; 优选 1: 0.2~1: 1。

在一些实施方案中, 在步骤 m-2) 中, 当 E 为卤素 (例如氯、氟或溴) 时, 式 X-1 化合物或其盐与式 X-3-1 化合物或其盐的摩尔比选自 1: 0.8~1: 2.0; 优选 1: 0.9~1: 1.2。

在一些实施方案中, 在步骤 m-2) 中, 当 E 为卤素 (例如氯、氟或溴) 时, 反应溶剂选自 DMF、四氢呋喃、二氯甲烷、乙腈中的一种或任意组合; 优选乙腈。

在一些实施方案中, 在步骤 m-2) 中, 当 E 为卤素 (例如氯、氟或溴) 时, 式 X-1 化合物或其盐与所选反应溶剂的质量体积比 (g/mL) 选自 1: 2~1: 50; 优选 1: 3~1: 10。

在一些实施方案中, 在步骤 m-2) 中, 当 E 为卤素 (例如氯、氟或溴) 时, 反应温度选自 -20~100°C; 优选 0~30°C。

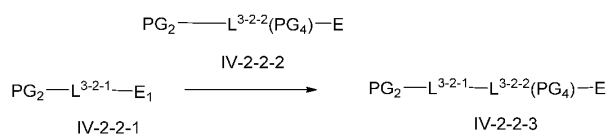
在一些实施方案中, 在步骤 m-2) 中, 当 E 为活化的羟基时, 式 X-3-1 化合物或其盐与式 X-1 化合物或其盐的摩尔比选自 1: 0.9~1: 1.2。

在一些实施方案中，在步骤 m-2) 中，当 E 为活化的羟基时，反应溶剂选自 DMF、乙腈、四氢呋喃和二氯甲烷中的其中一种或其任意组合。

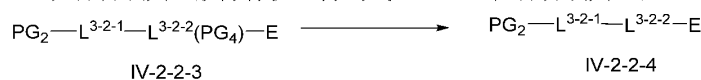
在一些实施方案中，在步骤 m-2) 中，当 E 为活化的羟基时，式 X-3-1 化合物或其盐与式 X-1 化合物或其盐在碱性条件下反应。所述碱选自有机碱或无机碱，优选吡啶、三乙胺、N,N-二异丙基乙胺和 N-甲基吗啉。

另一方面，本申请提供 IV-2-2 化合物或其盐的制备方法，

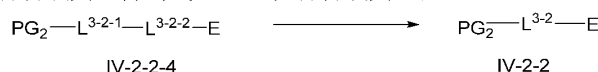
q-1) 从式 IV-2-2-1 化合物或其盐和式 IV-2-2-2 化合物或其盐和反应得到式 IV-2-2-3 化合物或其盐；



q-2) 式 IV-2-2-3 化合物或其盐脱除保护基得到式 IV-2-2-4 化合物或其盐；

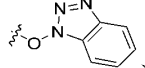
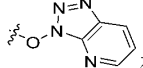
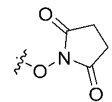


q-3) 式 IV-2-2-4 化合物或其盐得到式 IV-2-2 化合物或其盐；



其中，

L^{3-2-1} 和 L^{3-2-2} 各自独立的选自氨基酸残基或由 2-3 个氨基酸残基组成的短肽，所述氨基酸残基选自天然氨基酸残基、非天然氨基酸残基、或 AA¹ 所示氨基酸残基或其立体异构体；

E₁ 选自羟基、卤素、活化的羟基，如羟基、氯、溴、、 和 ；

PG₄ 选自氨基保护基，选自苄氧羰基 (Cbz)，叔丁氧羰基 (Boc)，9-苄基甲氧羰基 (Fmoc)，烯丙氧羰基 (Alloc)，三甲基硅乙氧羰基 (Teoc)，甲氧羰基或乙氧羰基；优选地，PG₄ 选自叔丁氧羰基 (Boc)，9-苄基甲氧羰基 (Fmoc)，烯丙氧羰基 (Alloc)；更优选地，PG₄ 为叔丁氧羰基 (Boc)；且 PG₄ 与 PG₂ 不相同；

PG₂、E 的定义如本申请中任一方案所述。

在一些实施方案中，在步骤 q-1) 中，式 IV-2-2-1 化合物或其盐和式 IV-2-2-2 化合物或其盐通过缩合反应得到式 IV-2-2-3 化合物或其盐。

在一些实施方案中，在步骤 q-1) 中，当 E 为活化的羟基时，式 IV-2-2-1 化合物或其盐与式 IV-2-2-2 化合物或其盐的摩尔比选自 1: 0.9-1: 1.2。

在一些实施方案中，在步骤 q-1) 中，当 E 为活化的羟基时，式 IV-2-2-1 化合物或其盐与式 IV-2-2-2 化合物或其盐在碱性条件下反应。所述碱选自有机碱或无机碱，优选碳酸氢钠、碳酸氢钾、碳酸钠、碳酸钾、氢氧化钠、氢氧化钾；进一步优选自碳酸氢钠。

在一些实施方案中，在步骤 q-1) 中，当 E 为活化的羟基时，式 IV-2-2-1 化合物或其盐与碱的摩尔

比选自 1: 1-1: 8, 优选自 1: 1-1: 4。

在一些实施方案中, 在步骤 q-1) 中, 当 E 为活化的羟基时, 反应溶剂可选自酮类、氯代烷烃类、醚类、酯类、腈类、酰胺类和水中的其中一种或其任意组合; 优选自丙酮、四氢呋喃、乙酸乙酯、二氯甲烷、甲基叔丁基醚和水中的其中一种或其任意组合; 进一步优选自丙酮、四氢呋喃、二氯甲烷和水的混合溶剂。

在一些实施方案中, 在步骤 q-1) 中, 当 E 为活化的羟基时, 反应温度选自 0-50℃, 优选自 15-30℃。

在一些实施方案中, 在步骤 q-1) 中, 当 E 为羟基时, 在缩合剂的作用下, 在碱性或中性条件下发生反应, 所述缩合剂为本领域技术人员所熟知的试剂, 优选 DMTMM、HATU、HBTU、COMU、N-乙炔基-N-甲基甲磺酰胺。

在一些实施方案中, 在步骤 q-1) 中, 当 E 为羟基时, 式 IV-2-2-1 化合物或其盐与所述缩合剂的摩尔比选自 1: 1-1: 5; 优选 1: 1-1: 1.5。

在一些实施方案中, 在步骤 q-1) 中, 当 E 为羟基时, 所述碱选自有机碱或无机碱, 优选三乙胺、N,N-二异丙基乙胺、N-甲基吗啉。

在一些实施方案中, 在步骤 q-1) 中, 当 E 为羟基时, 式 IV-2-2-1 化合物或其盐与式 IV-2-2-2 化合物或其盐的摩尔比选自 1: 0.9-1: 1.2。

在一些实施方案中, 在步骤 q-1) 中, 当 E 为羟基时, 反应溶剂选自 DMF、乙腈、四氢呋喃、甲醇、二氯甲烷和水中的其中一种或其任意组合; 优选 DMF。

在一些实施方案中, 在步骤 q-1) 中, 当 E 为羟基时, 反应温度选自 -20~100℃; 优选 0~30℃。

在一些实施方案中, 在步骤 q-2) 中, 式 IV-2-2-3 化合物或其盐通过脱保护反应得到式 IV-2-2-4 化合物或其盐。

在一些实施方案中, 在步骤 q-2) 中, 当 PG₄ 为 Boc 时, 式 IV-2-2-3 化合物或其盐在酸性条件下脱除保护基, 所述酸为质子酸, 选自盐酸、三氟乙酸、氢溴酸、硫酸、氯化氢/二氧六环、氯化氢/乙酸乙酯, 优选盐酸、氯化氢/二氧六环、氯化氢/乙酸乙酯, 进一步优选盐酸。

在一些实施方案中, 在步骤 q-2) 中, 当 PG₄ 为 Boc 时, 式 IV-2-2-3 化合物或其盐与酸的摩尔比选自 1: 1-1: 50; 优选 1: 1-1: 30; 例如 1: 1-1: 20; 进一步优选 1: 1-1: 5。

在一些实施方案中, 在步骤 q-2) 中, 当 PG₄ 为 Boc 时, 反应溶剂为醚类溶剂、酯类溶剂、卤代烷烃类溶剂和水中的其中一种或其任意组合, 优选自四氢呋喃、1, 4-二氧六环和水中的其中一种或其任意组合; 例如 1, 4-二氧六环或四氢呋喃; 优选四氢呋喃和水的混合溶剂。

在一些实施方案中, 在步骤 q-2) 中, 当 PG₄ 为 Boc 时, 反应温度为 0-120℃, 优选 25-80℃。

在一些实施方案中, 在步骤 q-3) 中, 式 IV-2-2-4 化合物或其盐在还原剂的作用下, 在酸或中性条件下与醛发生还原胺化反应得到式 IV-2-2 化合物或其盐。

在一些实施方案中, 在步骤 q-3) 中, 所述还原剂选自硼氢化钠、硼氢化钾、氰基硼氢化钠、三乙酰氧基硼氢化钠; 优选氰基硼氢化钠和或三乙酰氧基硼氢化钠。

在一些实施方案中, 在步骤 q-3) 中, 所述酸选自醋酸、甲酸、丙酸、三氟乙酸和盐酸; 优选醋酸

或盐酸。

在一些实施方案中，在步骤 q-3) 中，式 IV-2-2-4 化合物或其盐与所选还原剂的摩尔比选自 1: 2-1: 10; 优选 1: 2-1: 4。

在一些实施方案中，在步骤 q-3) 中，式 IV-2-2-4 化合物或其盐与醛的摩尔比选自 1: 1-1: 10; 优选 1: 3-1: 5。

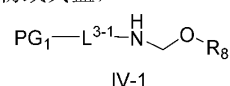
在一些实施方案中，在步骤 q-3) 中，式 IV-2-2-4 化合物或其盐与酸的摩尔比选自 1: 1-1: 10; 优选 1: 1-1: 5。

在一些实施方案中，在步骤 q-3) 中，反应溶剂选自醇类、醚类和水的一种或任意组合，优选自甲醇、乙醇、四氢呋喃和水的其中一种或其任意组合；优选四氢呋喃和水的混合溶剂。

在一些实施方案中，在步骤 q-3) 中，反应温度为 -10 - 50℃，优选 0-30℃。

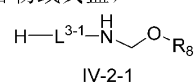
中间体

一方面，本申请提供如式 IV-1 化合物或其盐，



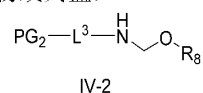
其中，L³⁻¹、PG₁、R₈ 的定义如本申请中任一方案所述。

另一方面，本申请提供如 IV-2-1 化合物或其盐，



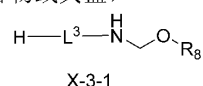
其中，L³⁻¹、R₈ 的定义如本申请中任一方案所述。

另一方面，本申请提供如式 IV-2 化合物或其盐，



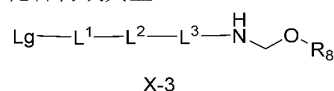
其中，L³、PG₂、R₈ 的定义如本申请中任一方案所述。

另一方面，本申请提供如式 X-3-1 化合物或其盐，



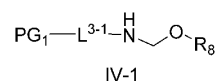
其中，L³、R₈ 的定义如本申请中任一方案所述。

另一方面，本申请提供如式 X-3 化合物或其盐，



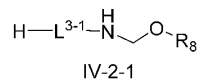
其中，Lg、L¹、L²、L³、R₈ 的定义如本申请中任一方案所述。

另一方面，本申请提供如式 IV-1 化合物或其盐在制备式 IV-2 化合物或其盐、式 IV-2-1 化合物或其盐、式 X-3-1 化合物或其盐、式 X-3 化合物或其盐、式 II 化合物或其盐或式 I 化合物或其盐中的用途，



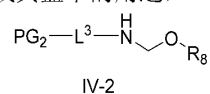
其中， L^{3-1} 、 PG_1 、 R_8 的定义如本申请中任一方案所述。

另一方面，本申请提供如式 IV-2-1 化合物或其盐在制备式 IV-2 化合物或其盐、式 X-3-1 化合物或其盐、式 X-3 化合物或其盐、式 II 化合物或其盐或式 I 化合物或其盐中的用途，



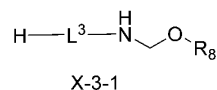
其中， L^{3-1} 、 R_8 的定义如本申请中任一方案所述。

另一方面，本申请提供如式 IV-2 化合物或其盐在制备式 X-3 化合物或其盐、式 X-3-1 化合物或其盐、式 II 化合物或其盐或式 I 化合物或其盐中的用途，



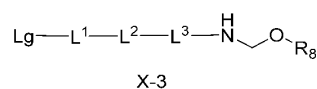
其中， L^3 、 PG_2 、 R_8 的定义如本申请中任一方案所述。

另一方面，本申请提供如式 X-3-1 化合物或其盐在制备式 X-3 化合物或其盐、式 II 化合物或其盐或式 I 化合物或其盐中的用途，



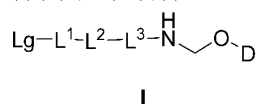
其中， L^3 、 R_8 的定义如本申请中任一方案所述。

另一方面，本申请提供如 X-3 化合物或其盐在制备式 II 化合物或其盐、式 I 化合物或其盐中的用途，



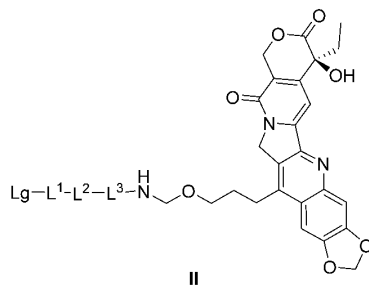
其中， Lg 、 L^1 、 L^2 、 L^3 、 R_8 的定义如本申请中任一方案所述。

另一方面，本申请提供如式 I 化合物或其盐在制备 ADC 药物中的用途，



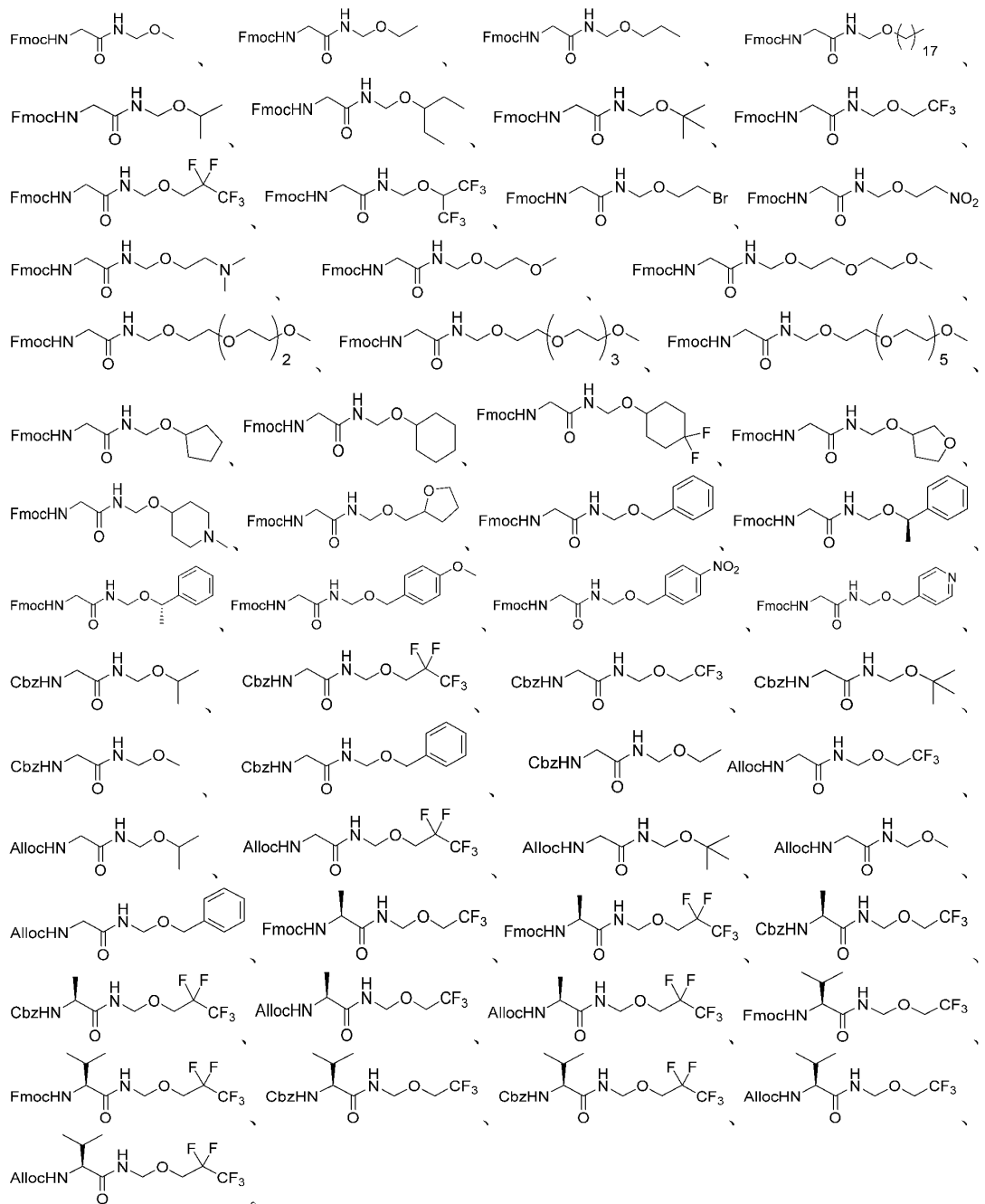
其中， Lg 、 L^1 、 L^2 、 L^3 和 D 的定义如本申请中任一方案所述。

另一方面，本申请提供如式 II 化合物或其盐在制备 ADC 药物中的用途，

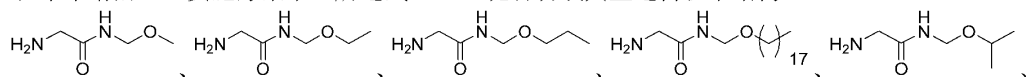


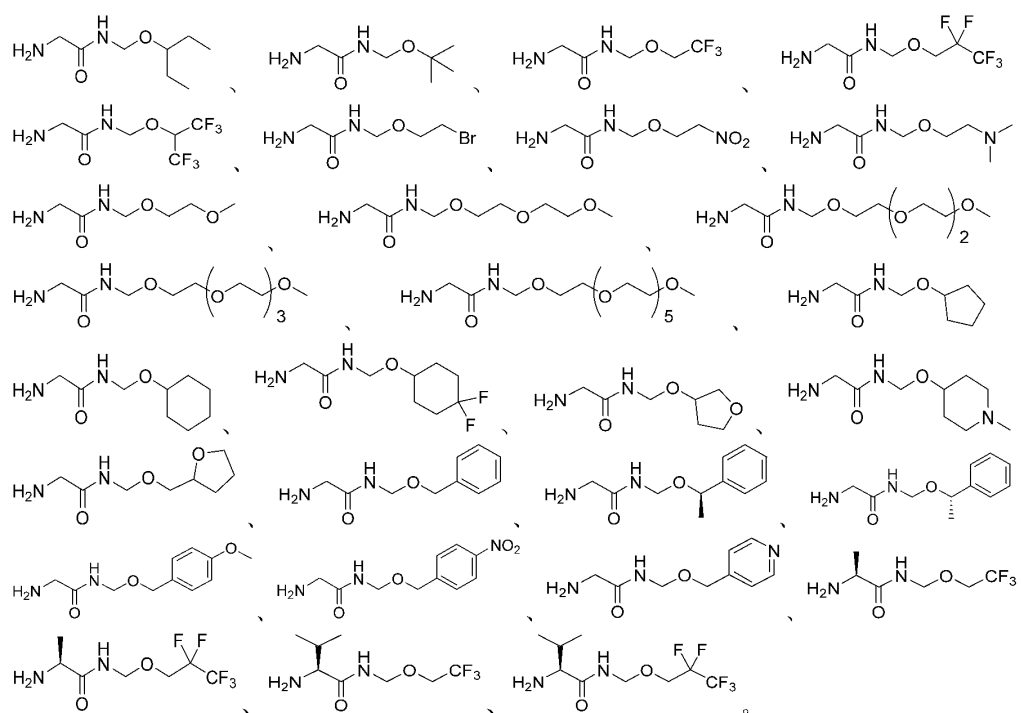
其中， L_g 、 L^1 、 L^2 和 L^3 的定义如本申请中任一方案所述。

在本申请的一些实施方案中, 所述式 IV-1 化合物或其盐选自以下结构,

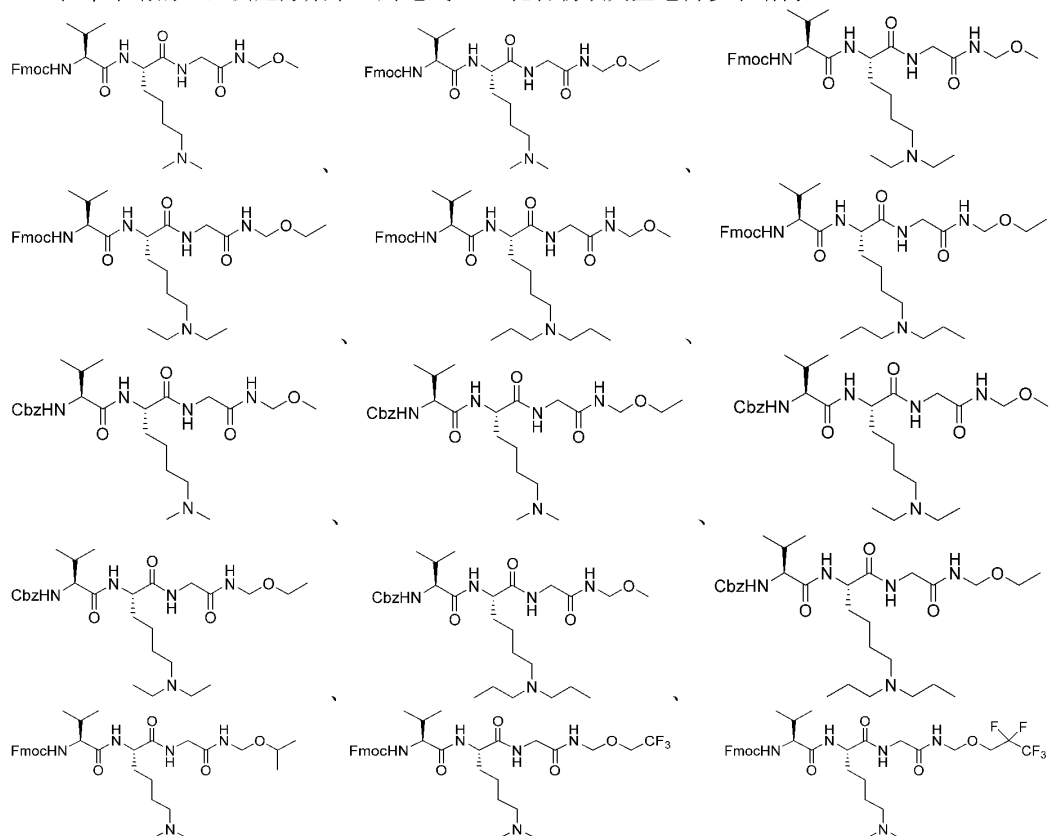


在本申请的一些实施方案中, 所述式 IV-2-1 化合物或其盐选自以下结构,

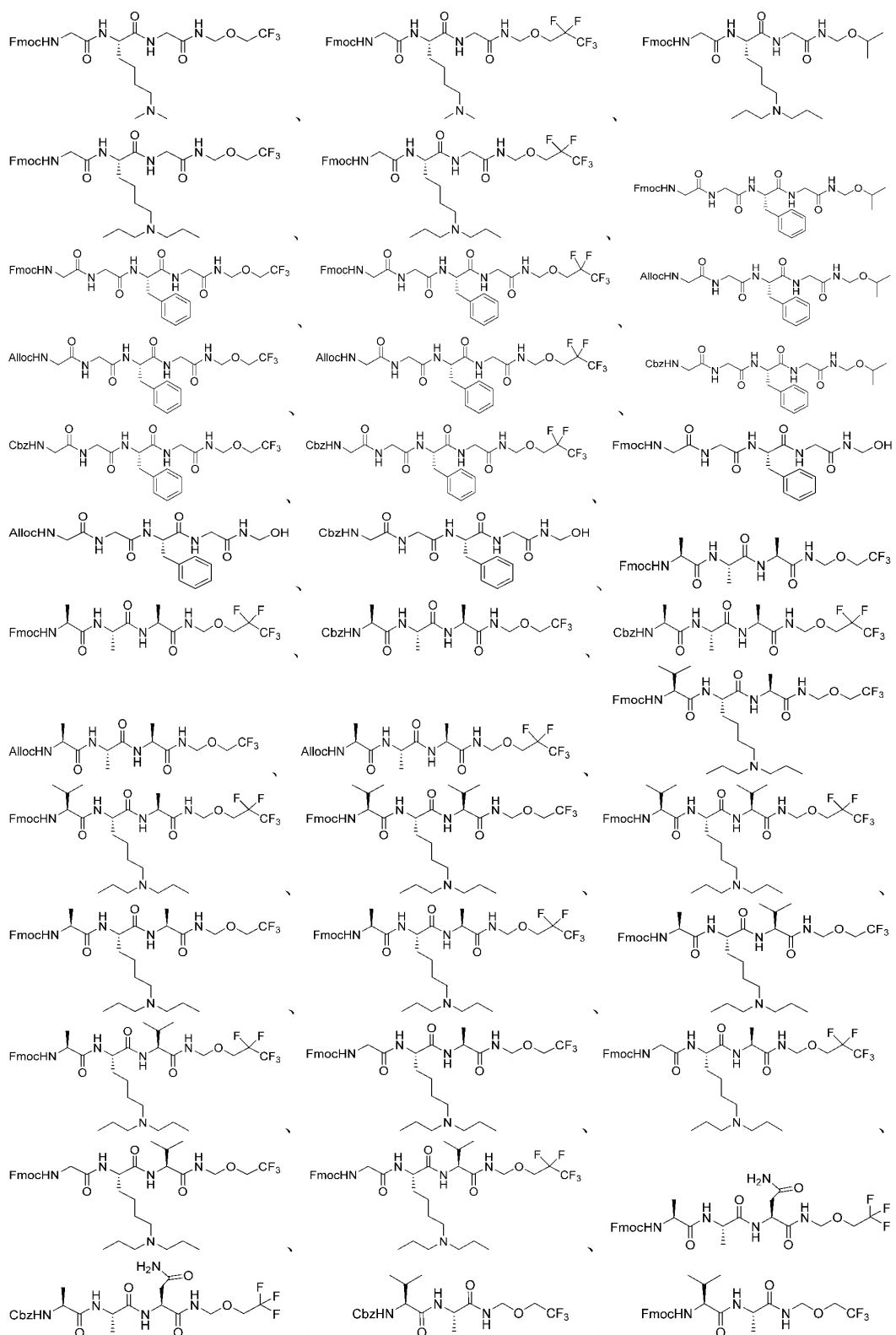


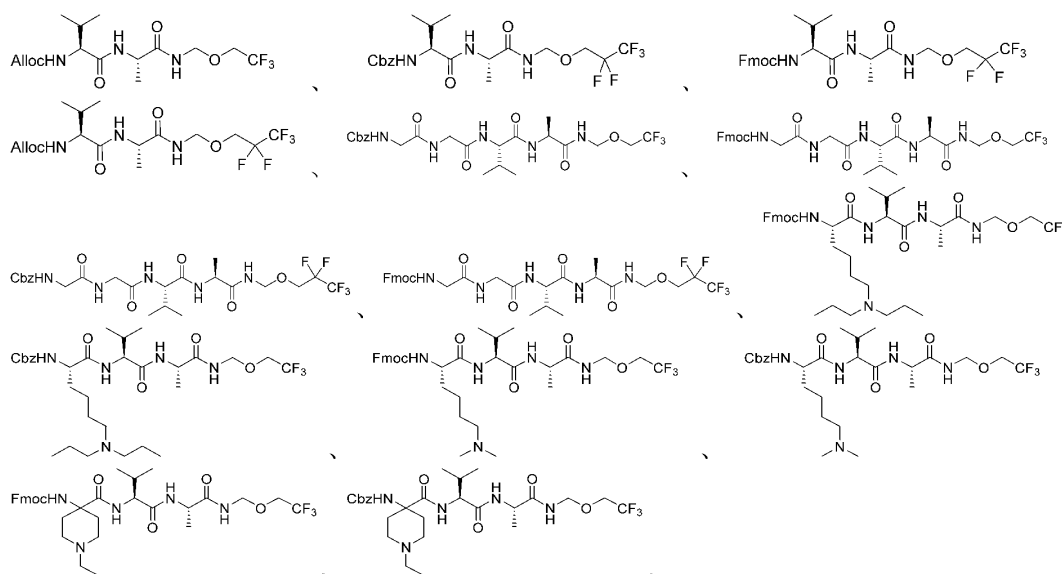


在本申请的一些实施方案中，所述式 IV-2 化合物或其盐选自以下结构，

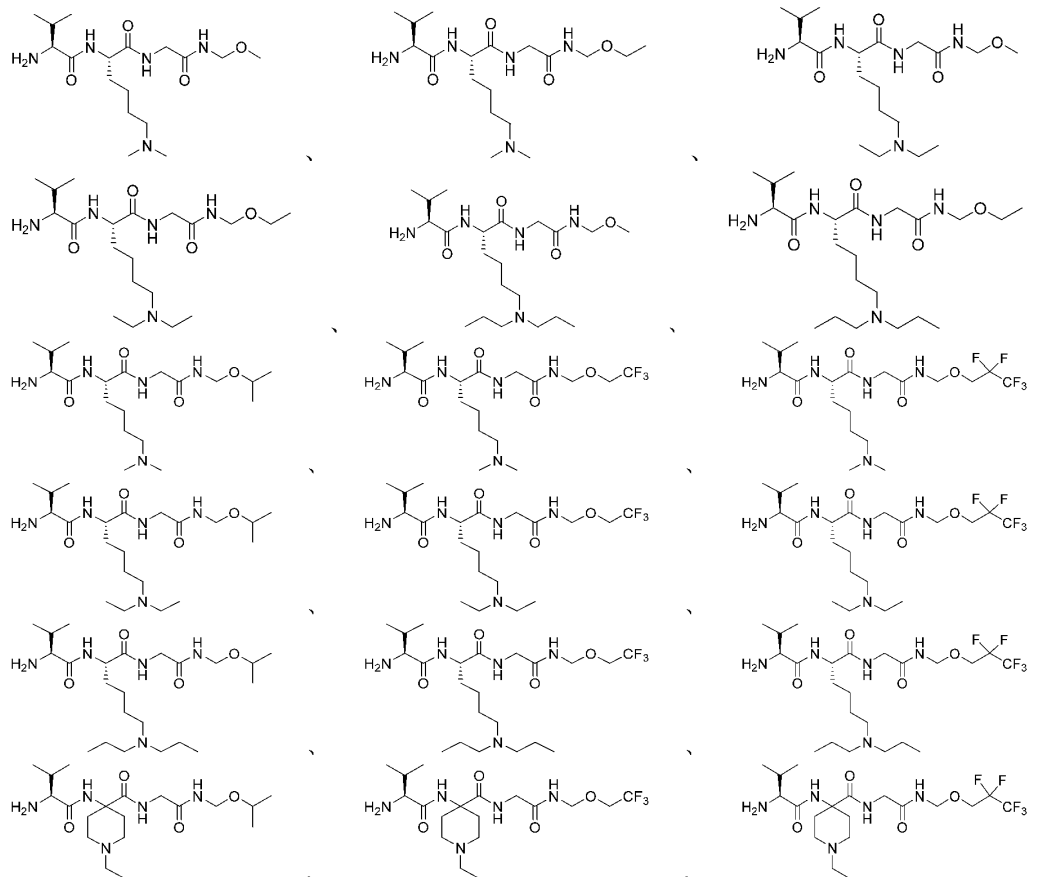


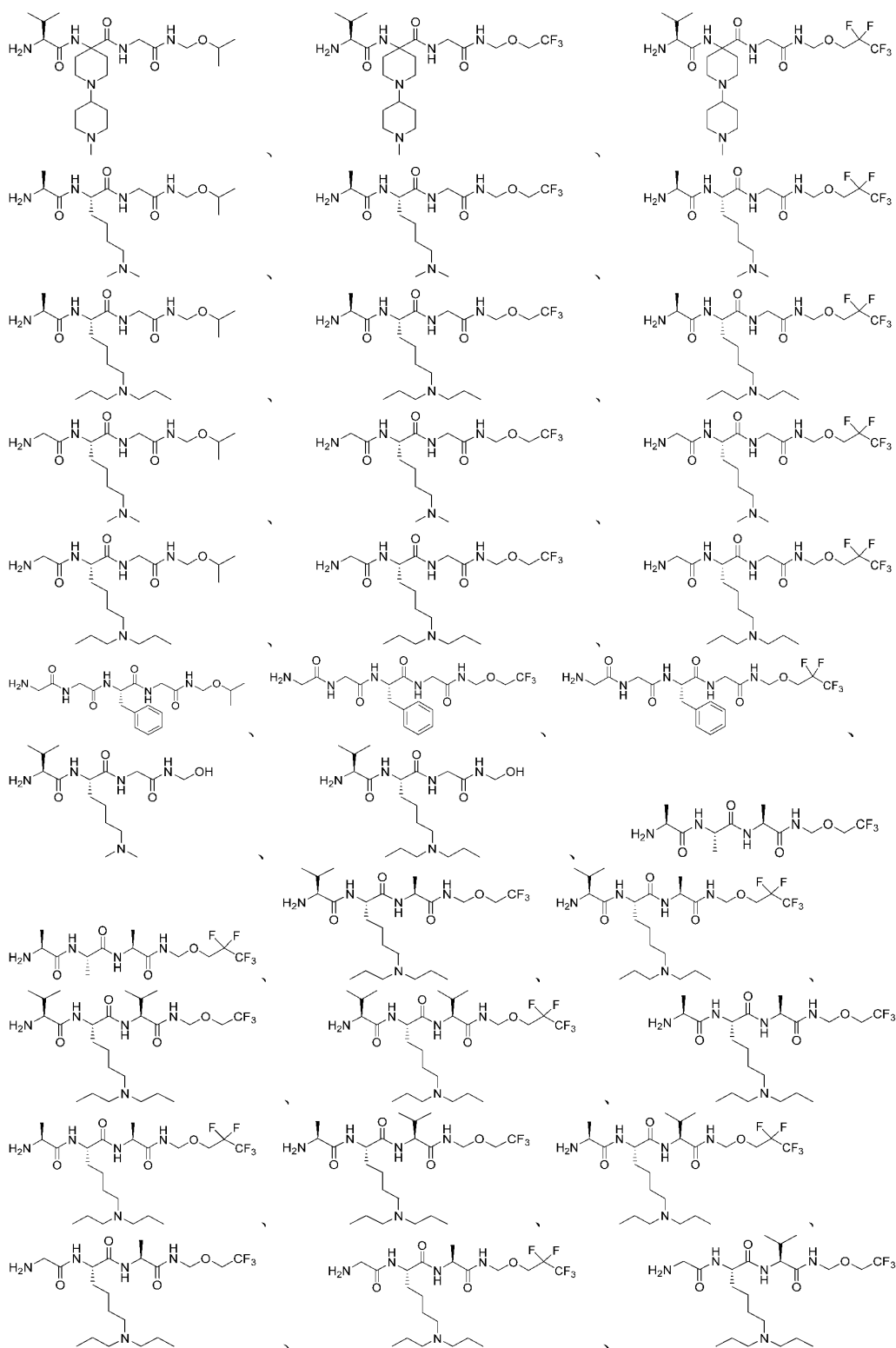


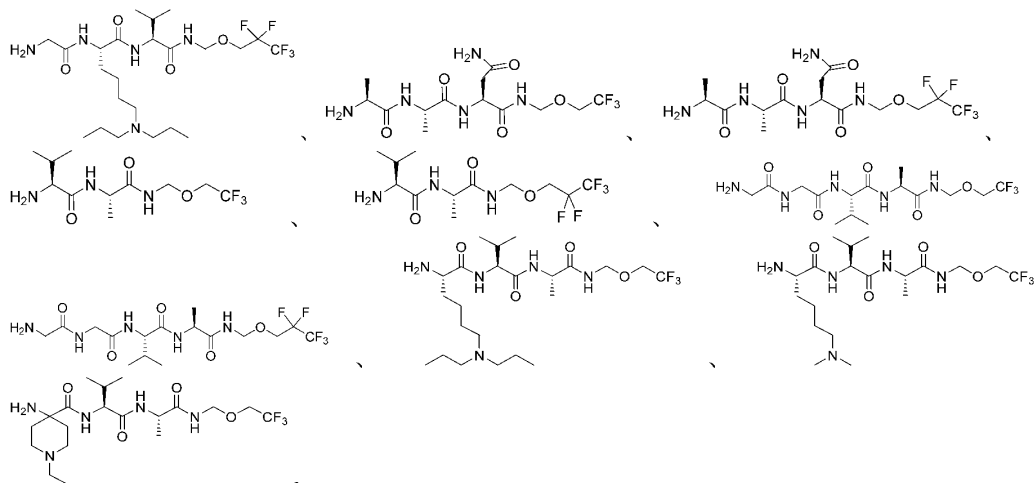




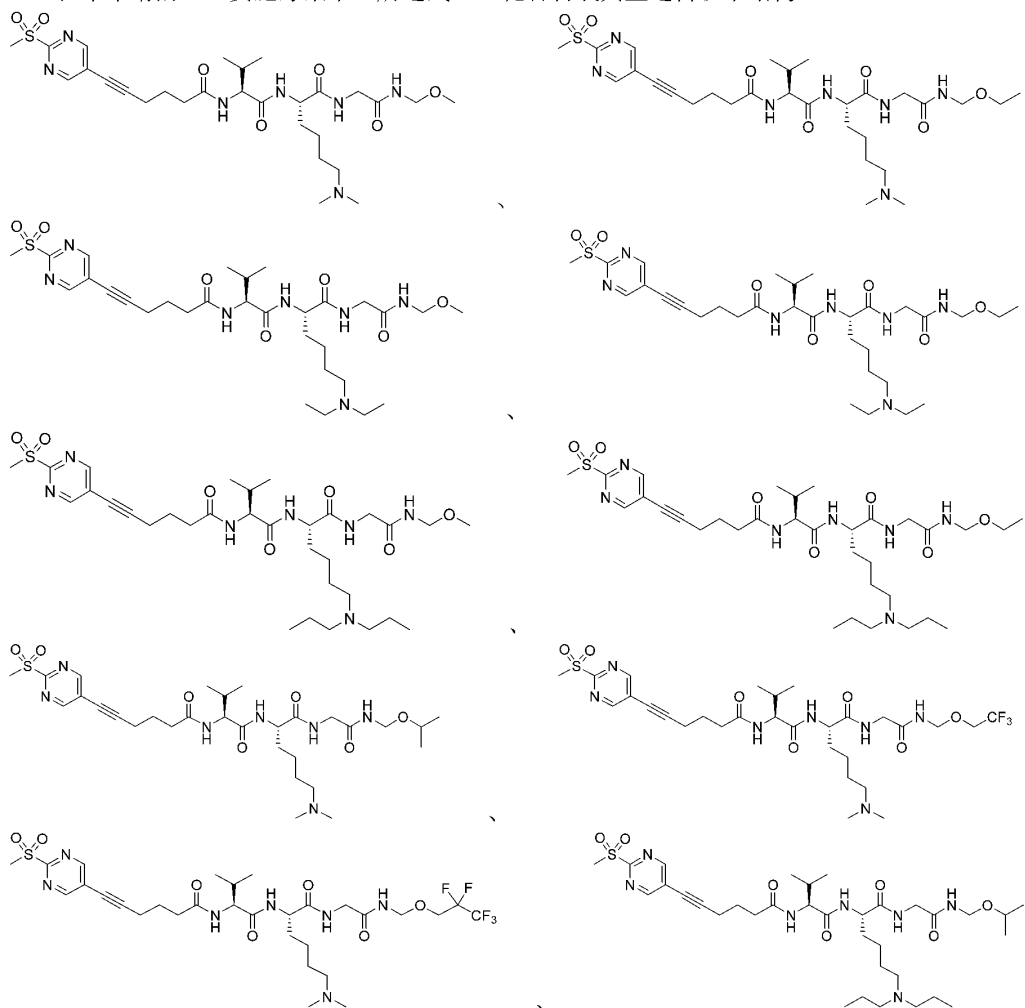
在本申请的一些实施方案中，所述式 X-3-1 化合物或其盐选自以下结构，

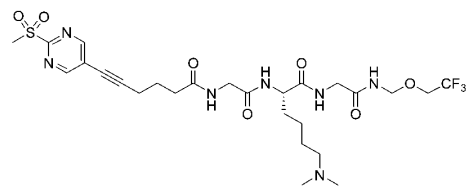
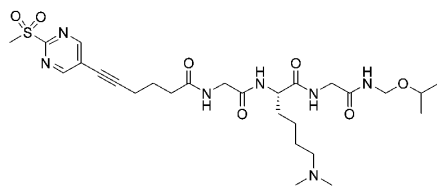
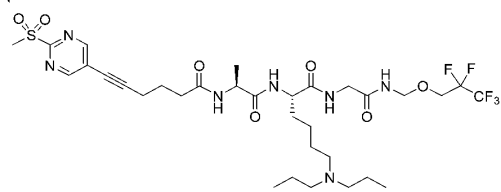
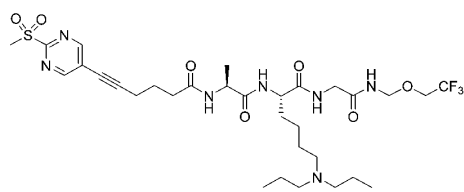
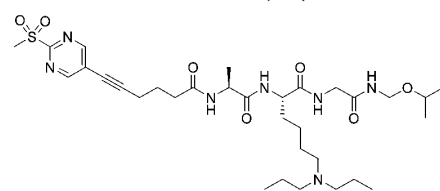
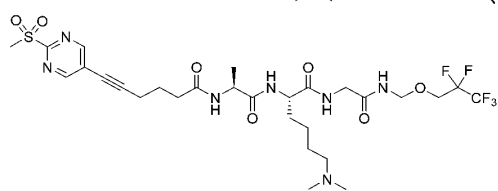
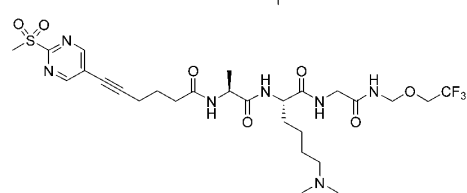
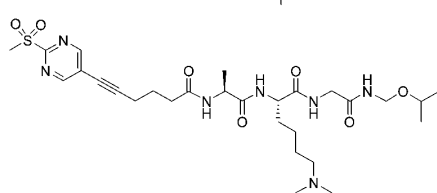
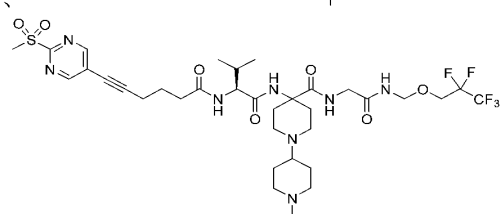
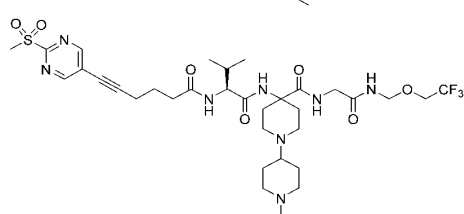
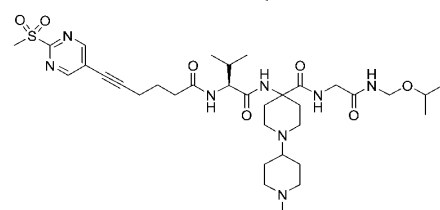
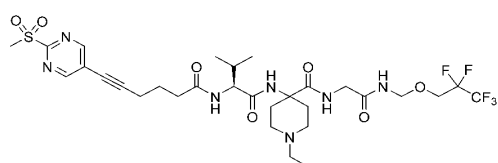
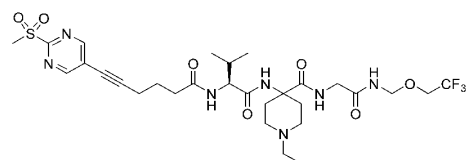
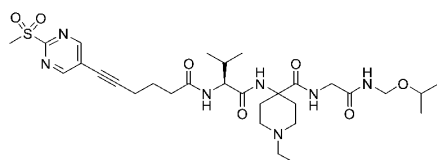
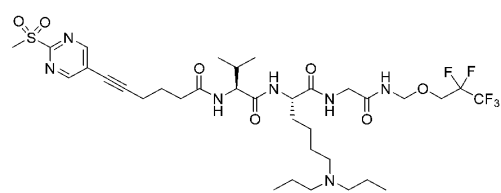
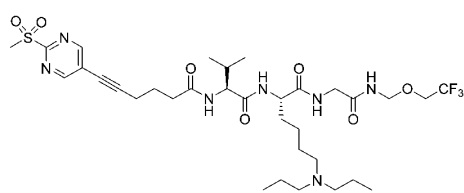


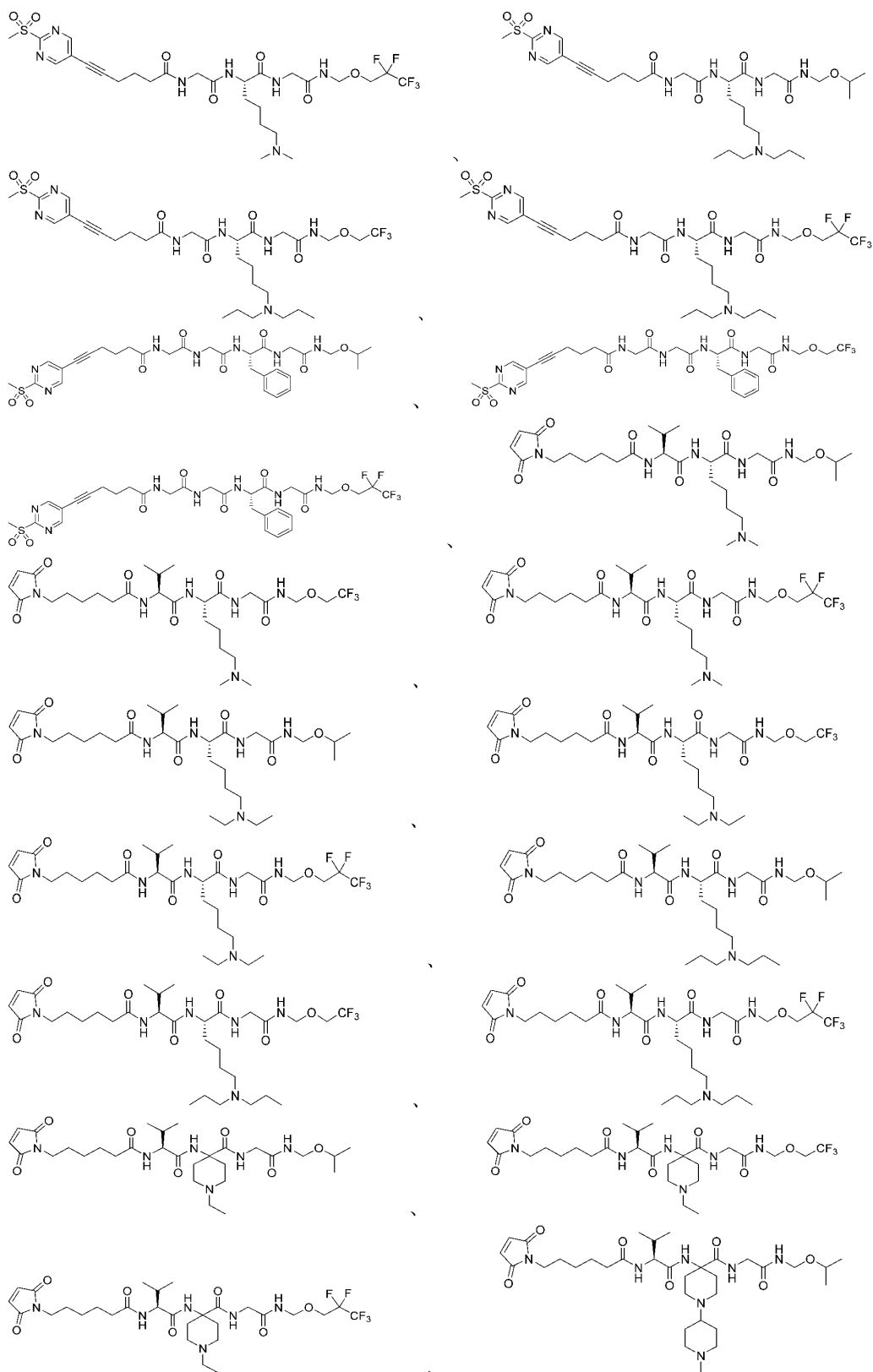


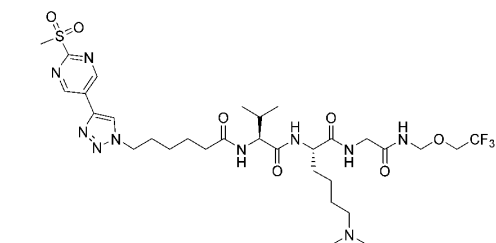
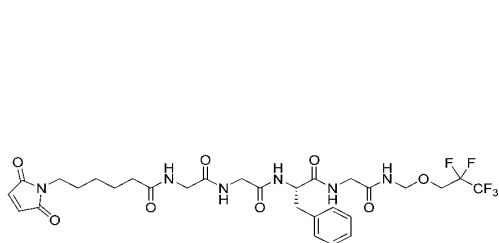
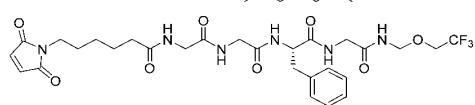
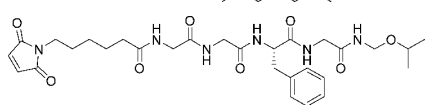
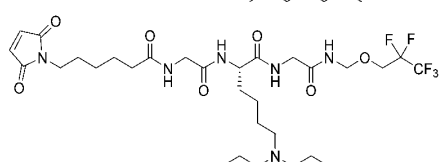
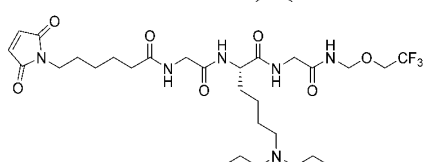
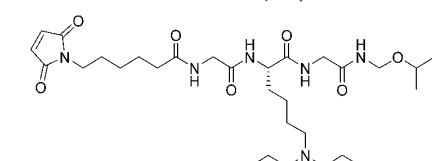
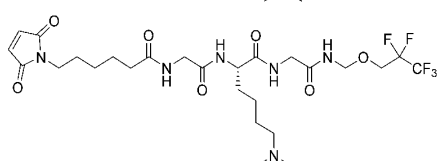
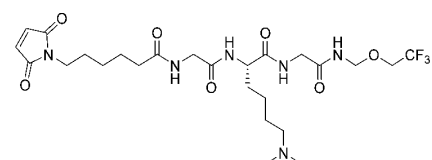
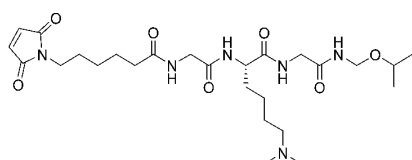
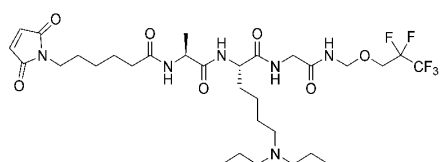
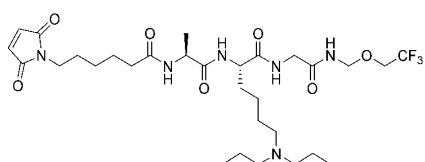
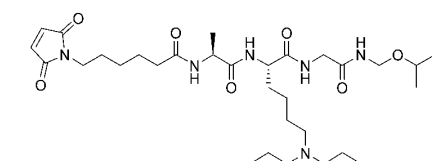
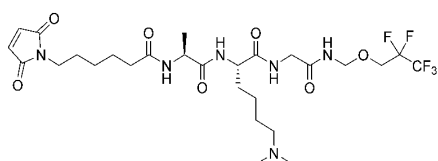
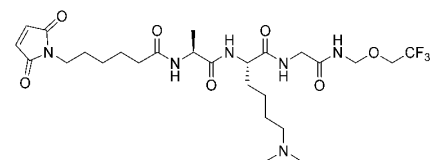
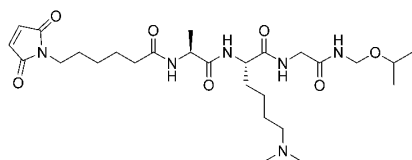
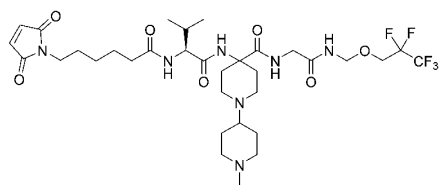
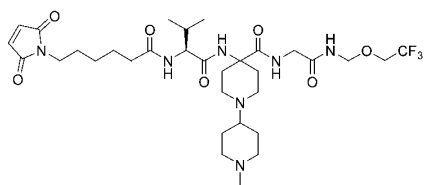


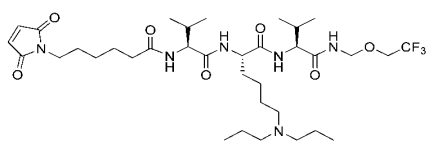
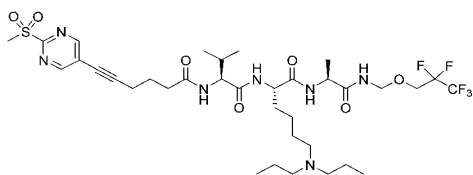
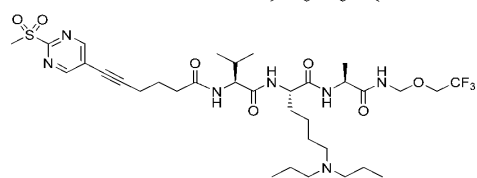
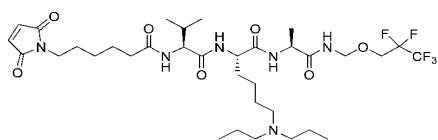
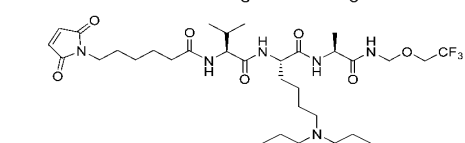
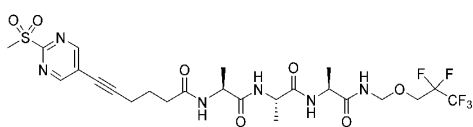
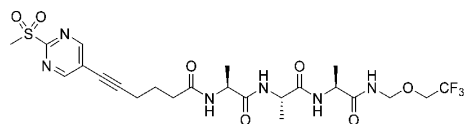
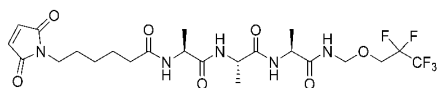
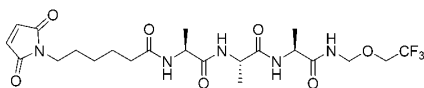
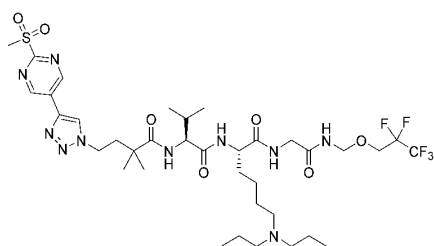
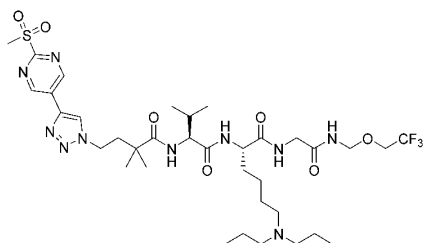
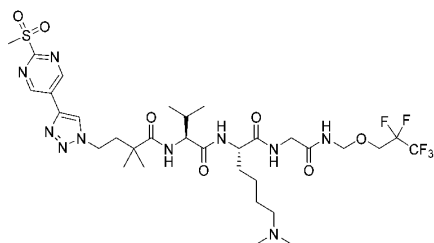
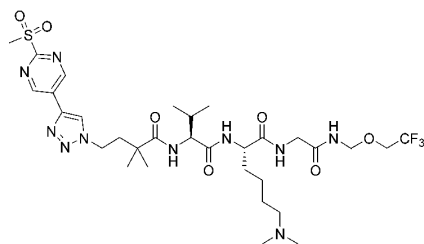
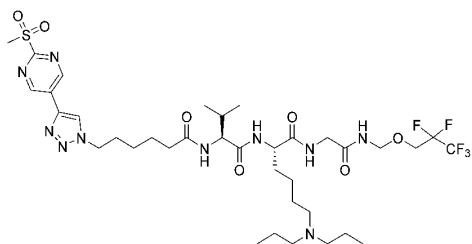
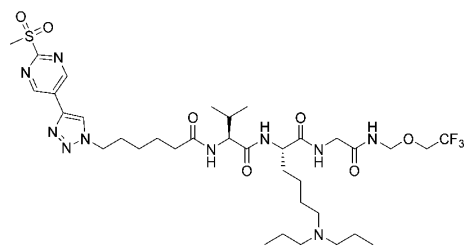
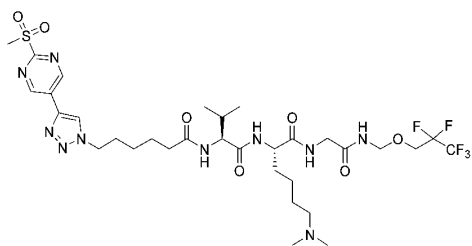
在本申请的一些实施方案中，所述式 X-3 化合物或其盐选自以下结构，

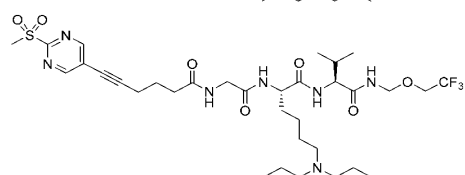
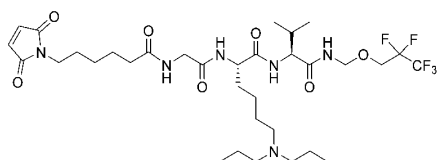
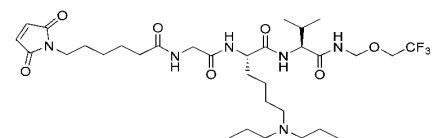
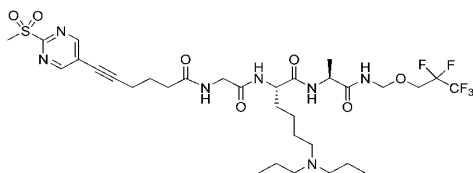
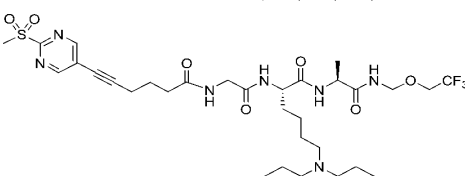
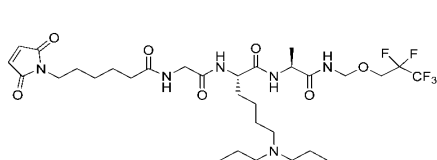
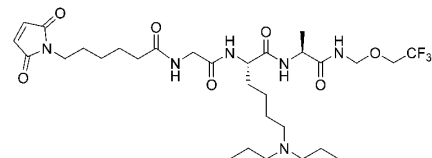
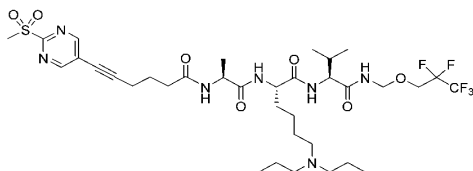
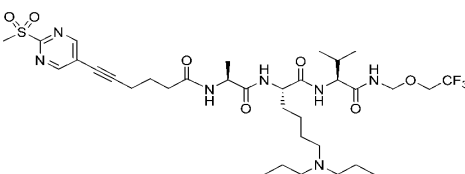
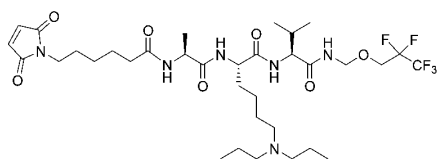
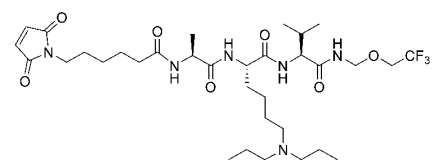
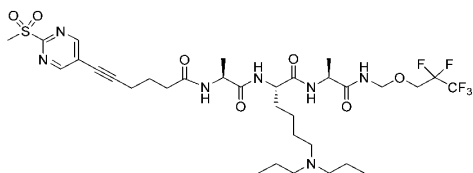
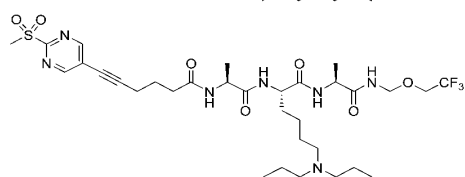
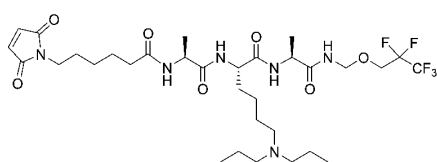
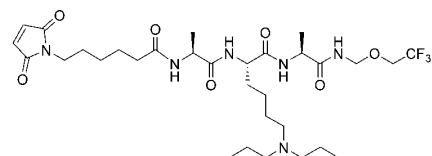
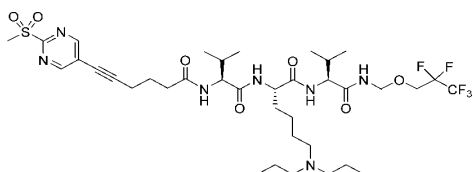
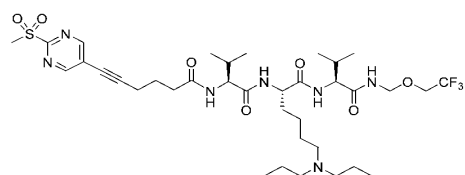
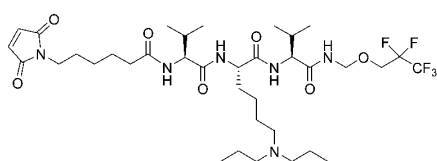


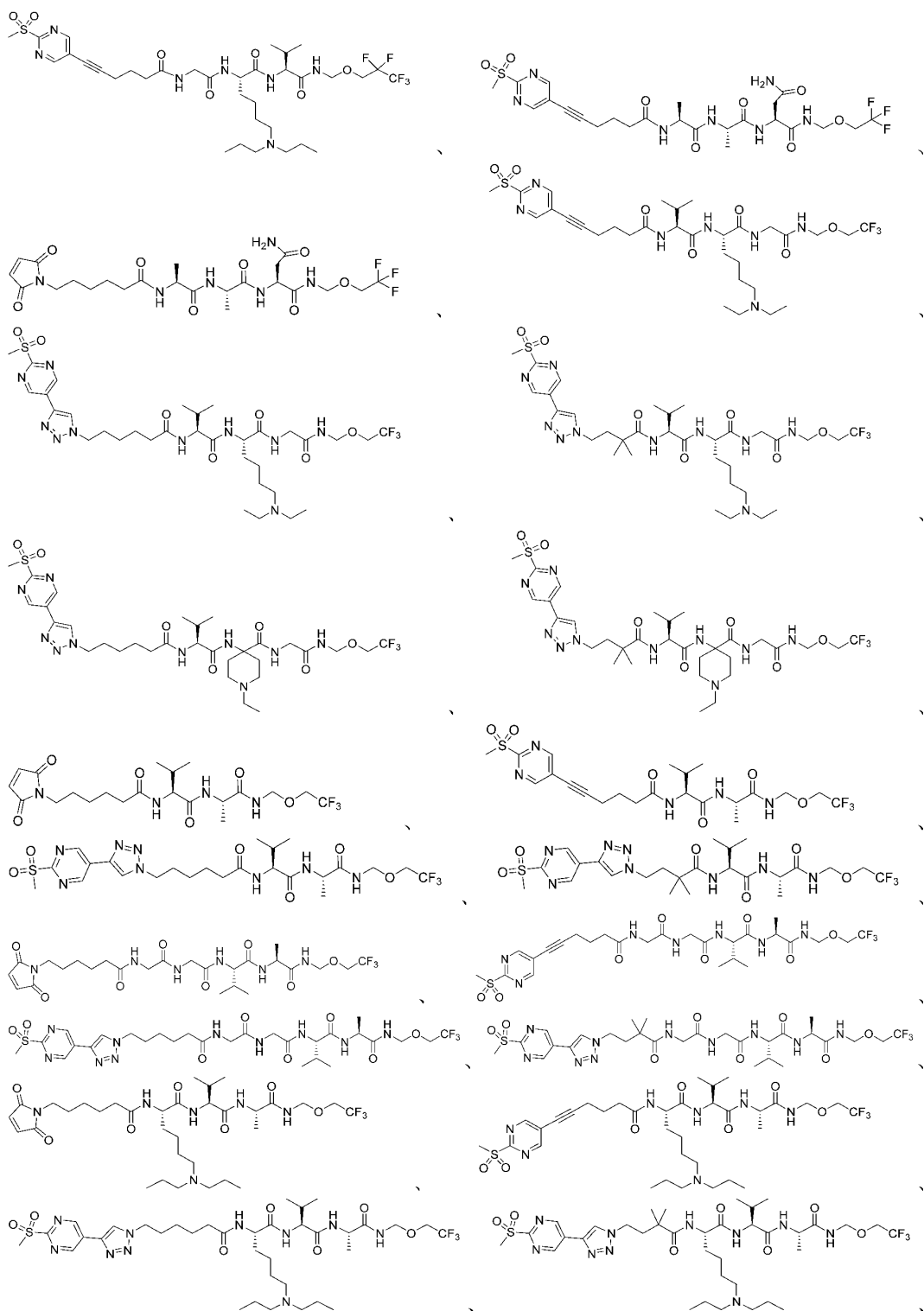


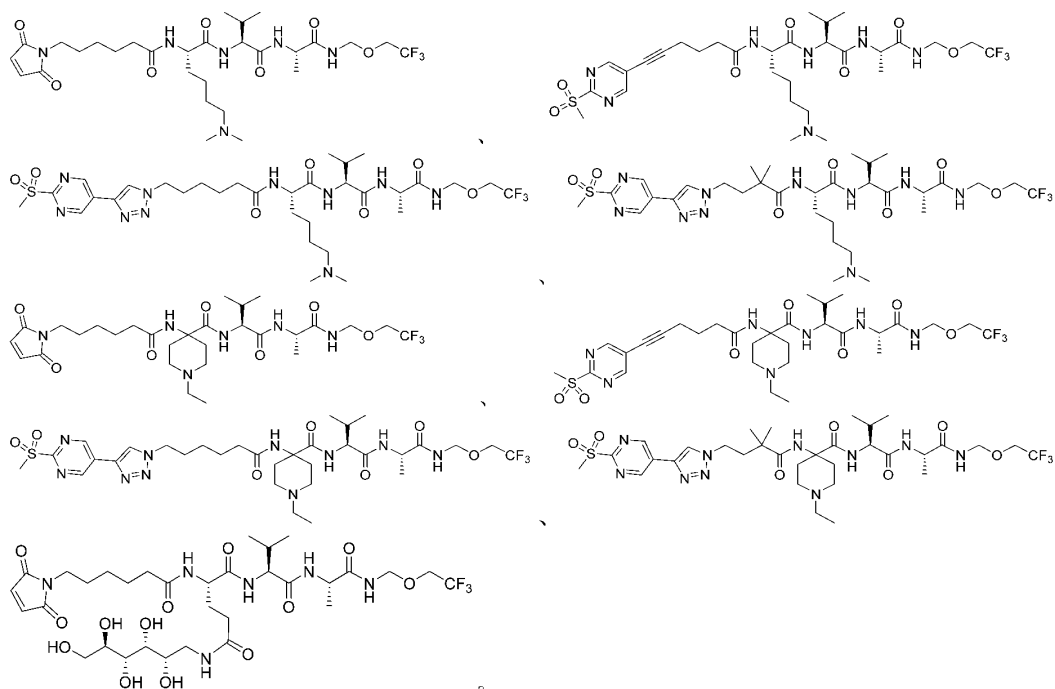




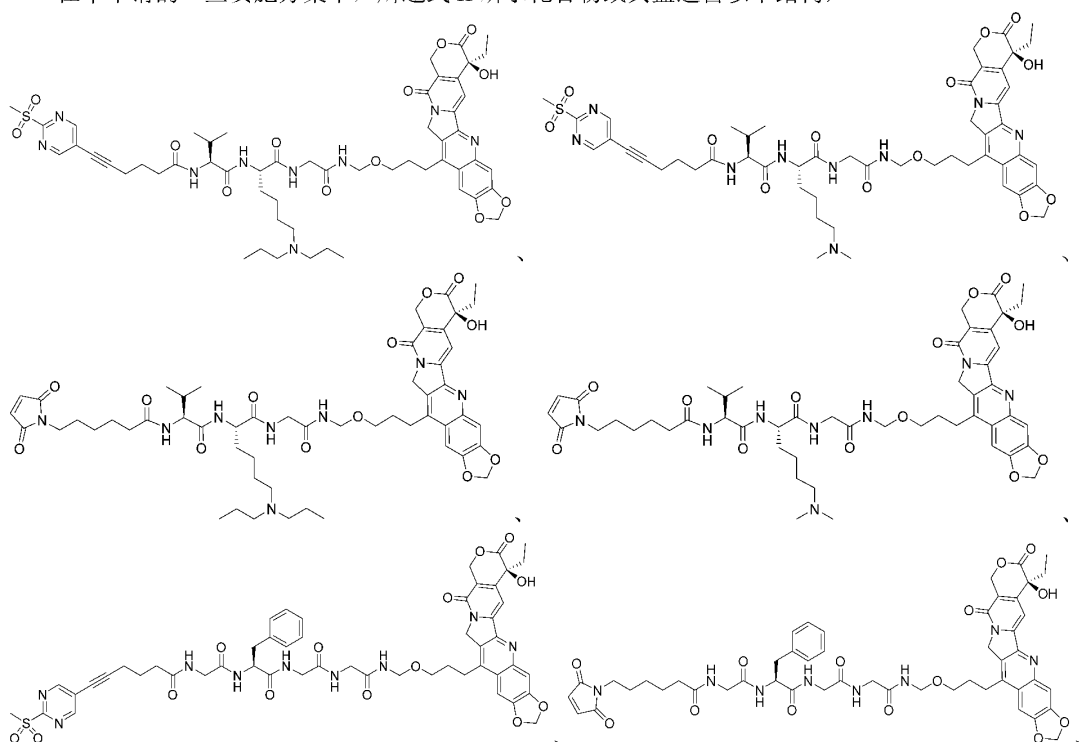


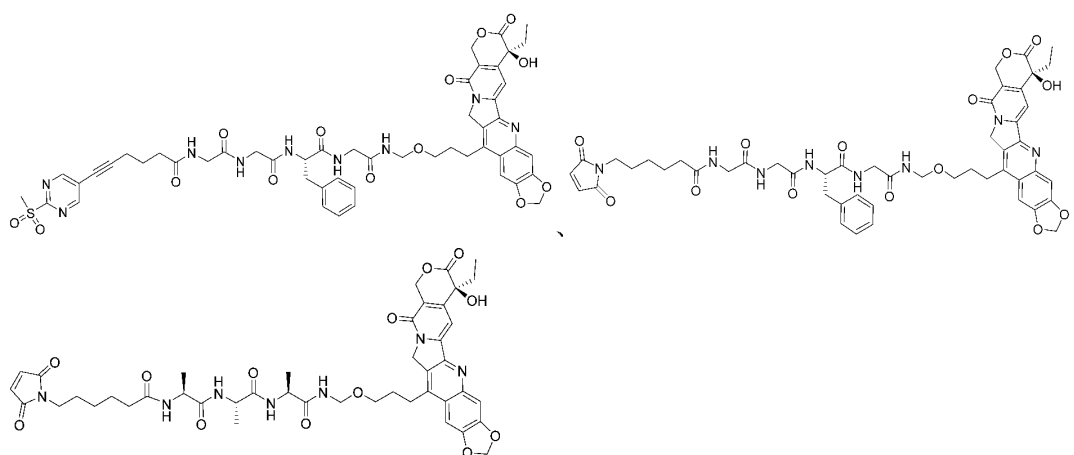






在本申请的一些实施方案中，所述式 II 所示化合物或其盐选自以下结构，





定义和术语

除非另有说明，本文所用的术语和短语具有下文所列的含义。特定的术语或短语在没有特别定义的情况下不应该认为是不确定的或不清楚的，而应该按照本领域技术人员通常理解的含义进行解释。当本文中出現商品名时，意在指代其对应的商品或其活性成分。

在本申请中，单数形式的词包括其复数形式，除非另有说明或上下文暗示。因此，提及的单数术语和“该”、“所述”通常包括各术语的复数。术语“包括”和“包含”应解释为包含在内，而不应进行排除性解释。

在本申请中，除非另有说明或上下文暗示，否则本申请使用的术语“其盐”是指化合物的盐形式(例如，式1化合物等)。盐形式的化合物具有一种或多种内盐形式和/或包括另一种分子。盐形式的化合物的抗衡离子通常是有机或无机部分，其稳定母体化合物上的电荷。化合物的盐形式在其结构中具有一個或多于一个带电原子。在多个带电原子是盐形式的一部分的情况下，存在多个抗衡离子和/或多个带电抗衡离子。因此，化合物的盐形式通常具有一个或多个带电原子，其对应于化合物的非盐形式和一个或多个抗衡离子。在一些方面，化合物的非盐形式含有至少一个氨基或其他碱性部分，因此在酸存在下，获得具有碱性部分的酸加成盐。在其他方面，化合物的非盐形式含有至少一个羧酸基团或其他酸性部分，因此在碱的存在下，获得羧酸盐或其他阴离子部分。

在本申请中，除非另有说明，否则本申请中使用的科学和技术名词具有本领域技术人员所通常理解的含义。并且，本申请中所用的细胞培养、分子遗传学、核酸化学、免疫学实验室操作步骤均为相应领域内广泛使用的常规步骤。同时，为了更好地理解本申请，下面提供相关术语的定义和解释。

如本申请所使用，术语“立体异构体”表示由于至少一个不对称中心形成的异构体。在具有一个或多个(例如一个、两个、三个或四个)不对称中心的化合物中，其可产生外消旋混合物、单一对映异构体、非对映异构体混合物和单独的非对映异构体。特定个别分子也可以几何异构体(顺式/反式)存在。类似地，本发明的化合物可以两种或更多种处于快速平衡的结构不同的形式的混合物(通常称作互变异构体)存在。互变异构体的代表性实例包括酮-烯醇互变异构体、苯酚-酮互变异构体、亚硝基-肟互变异构体、亚胺-烯胺互变异构体等。要理解，本申请的范围涵盖所有这样的以任意比例(例如60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%)的异构体或其混合物。

本申请中可使用实线(——)、实楔形或虚楔形描绘本发明的化合物的碳-碳键。使用实线以描绘键连至不对称碳原子的键欲表明,包括该碳原子处的所有可能的立体异构体(例如,特定的对映异构体、外消旋混合物等)。使用实或虚楔形以描绘键连至不对称碳原子的键欲表明,存在所示的立体异构体。当存在于外消旋混合物中时,使用实及虚楔形以定义相对立体化学,而非绝对立体化学。除非另外指明,否则本发明的化合物意欲可以立体异构体(其包括顺式及反式异构体、光学异构体(例如 R 及 S 对映异构体)、非对映异构体、几何异构体、旋转异构体、构象异构体、阻转异构体及其混合物)的形式存在。本发明的化合物可表现一种以上类型的异构现象,且由其混合物(例如外消旋混合物及非对映异构体对)组成。

本申请中,术语“生物活性分子”指抑制或防止细胞的功能和/或引起细胞死亡或破坏的物质,在本申请的部分实施方案中,偶联物中的生物活性分子为具有抗肿瘤生物活性的分子。例如:放射性同位素,例如 At211 和 Lu 的放射性同位素;金属配合物,例如金属铂配合物、金属金配合物、奥沙利铂等;糖肽类抗生素,例如博来霉素、平阳霉素;DNA 拓扑异构酶抑制剂,例如拓扑异构酶 I 抑制剂,喜树碱、羟基喜树碱、9-氨基喜树碱、SN-38、伊立替康、拓扑替康、贝洛替康、卢比替康,拓扑异构酶 II 抑制剂,放线菌素 D、阿霉素、多柔比星、多卡米星、柔红霉素、弥托蒽醌、鬼臼毒素、依托泊苷等;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、巯嘌呤、喷司他丁、氟达拉滨、克拉屈滨、奈拉滨等;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、卡巴他赛等;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等;还包括蛋白酶体抑制剂、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、卡里奇霉素衍生物、奥瑞他汀衍生物、PBD 衍生物、美法仑、丝裂霉素 C 或其它抑制肿瘤细胞生长、促进肿瘤细胞凋亡和坏死的活性物质;酶及其片段等。

本申请中,术语“药物”指抑制或防止细胞的功能和/或引起细胞死亡或破坏的物质。

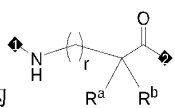
本申请中,术语“连接体”是指将生物活性化合物片段(药物分子)与抗体部分连接起来的片段。

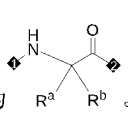
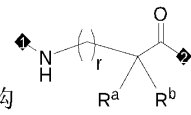
本申请中,术语“抗体”取其最广义的解释,包括完整的单克隆抗体、多克隆抗体以及由至少两个完整抗体形成的多特异性抗体(例如双特异性抗体),只要它们具有所需的生物学活性。在本申请中,“抗体”和“免疫球蛋白”可以互换使用。

在本申请中,术语“单克隆抗体”指抗体来自一群基本均一的抗体,即构成该集群的各抗体完全相同,除了可能存在的少量天然突变。单克隆抗体具有针对抗原的一个决定簇(表位)的高特异性,而与其相对的多克隆抗体则包含针对不同决定簇(表位)的不同抗体。除了特异性之外,单克隆抗体的优点还在于合成时可以不受其他抗体的污染。此处修饰语“单克隆”表示该抗体的特征在于来自一个基本均一的抗体群,而不应理解成需由特殊方法制得。

本申请中,除非以其他方式明确指出,在本申请中通篇采用的描述方式“各...独立地选自”和“...各自独立地选自”可以互换,均应做广义理解,其既可以是指在不同基团中,相同或不同的符号之间所表达的具体选项之间互相不影响,也可以表示在相同的基团中,相同或不同的符号之间所表达的具体

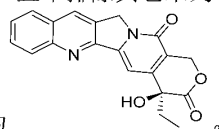
选项之间互相不影响。

本申请中，AA¹所示氨基酸残基的结构  中，若 r 为 0，则本领域技术人员可以理解

的是，AA¹所示氨基酸残基的结构将变为 。AA¹所示氨基酸残基的结构  中，若 R^a 与 R^b 和与它们共同相连的碳原子一起，形成 4-10 元杂环，所述 4-10 元杂环任选地被一个或多个 R⁰ 所取代，其中，术语“所述 4-10 元杂环任选地被一个或多个 R⁰ 所取代”的含义为，所述 4-10 元杂环可以不被取代，也可以被一个或多个 R⁰ 所取代，且所述多个 R⁰ 中，各 R⁰ 的定义可以相同，也可以不同。其余类似的定义可以参照前述内容进行理解。

在本说明书的各部分，本申请化合物的取代基按照基团种类或范围公开。特别指出，本申请包括这些基团种类和范围的各个成员的每一个独立的次级组合。例如，术语“C1-6 烷基”特别指独立公开的甲基、乙基、C3 烷基、C4 烷基、C5 烷基和 C6 烷基。

在本申请中，术语“包括”、“包含”、“具有”、“含有”或“涉及”及其在本文中的其它变体形式为包含性的(inclusive)或开放式的，且不排除其它未列举的元素或方法步骤。



在本申请中，“母环”为

在本申请中，术语“C1-30 烷基”表示直链或支链的含有 1-30 个碳原子的烷基，包括例如“C1-6 烷基”；术语“C1-6 烷基”表示直链或支链的含有 1-6 个碳原子的烷基，包括例如“C1-3 烷基”或“C1-4 烷基”，甲基、乙基等，具体实例包括但不限于：甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、戊基、己基。

在本申请中，术语“C2-6 烯基”是指含有至少一个双键且碳原子数为 2-6 的直链、支链或环状的烯基，包括例如“C2-4 烯基”等。其实例包括但不限于：乙烯基、1-丙烯基、2-丙烯基、1-丁烯基、2-丁烯基、1,3-丁二烯基、1-戊烯基、2-戊烯基、3-戊烯基、1,3-戊二烯基、1,4-戊二烯基、1-己烯基、2-己烯基、3-己烯基、1,4-己二烯基、环戊烯基、1,3-环戊二烯基、环己烯基、1,4-环己二烯基等。

在本申请中，术语“C2-6 炔基”是指含有至少一个三键且碳原子数为 2-6 的直链或支链的炔基，包括例如“C2-4 炔基”等。其实例包括但不限于：乙炔基、丙炔基、2-丁炔基、2-戊炔基、3-戊炔基、4-甲基-2-戊炔基、2-己炔基、3-己炔基、5-甲基-2-己炔基等。

在本申请中，术语“卤素”包括氟、氯、溴、碘。

在本申请中，术语“C3-7 环烷基”是指含有 3-7 个碳原子的饱和环状烷基，术语“C3-6 环烷基”是指含有 3-6 个碳原子的饱和环状烷基。任选地，环状结构中的碳原子可以被氧代。包括环丙烷基（即环丙基）、环丁烷基（即环丁基）、环戊烷基（即环戊基）、环己基。

在本申请中，术语“C1-6 烷氧基”是指通过氧原子连接至母体分子部分的如上文所定义的烷基，包括例如“C1-3 烷氧基”或“C1-4 烷氧基”。具体实例包括但不限于甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基。

基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、异丁氧基、叔丁氧基、戊氧基、己氧基等。

在本申请中，术语“C1-6 卤代烷基”是指通过卤素连接至母体分子部分的如上文所定义的烷基，包括例如“C1-3 卤代烷基”或“C1-4 卤代烷基”。具体实例包括但不限于氯代甲基、氟代乙基、溴代丙基等。

在本申请中，术语“3-20 元杂环基”是指含有 3-20 个环原子(其中至少一个环原子为杂原子，例如氮原子、氧原子或硫原子)的环状基团。术语“4-10 元杂环基”是指含有 4-10 个环原子(其中至少一个环原子为杂原子，例如氮原子、氧原子或硫原子)的环状基团。术语“3-6 元杂环基”是指含有 3-6 个环原子(其中至少一个环原子为杂原子，例如氮原子、氧原子或硫原子)的环状基团。术语“5-6 元杂环基”是指含有 5-6 个环原子(其中至少一个环原子为杂原子，例如氮原子、氧原子或硫原子)的环状基团。任选地，环状结构中的环原子(例如碳原子、氮原子或硫原子)可以被氧代。“4-8 元杂环基”包括例如“4-8 元含氮杂环基”、“4-8 元含氧杂环基”、“4-7 元杂环基”、“4-7 元含氧杂环基”、“4-7 元杂环基”、“4-6 元杂环基”、“5-7 元杂环基”、“5-6 元杂环基”、“5-6 元含氮杂环基”。包括但不限于氧代环丁烷基、吡咯烷基、四氢呋喃基、哌啶基、哌嗪基、四氢吡喃基、高哌嗪基等。

在本申请中，术语“4-10 元杂环”是指含有 4-10 个环原子(其中至少一个环原子为杂原子，例如氮原子、氧原子或硫原子)的环。术语“3-6 元杂环”是指含有 3-6 个环原子(其中至少一个环原子为杂原子，例如氮原子、氧原子或硫原子)的环。术语“5-6 元杂环”是指含有 5-6 个环原子(其中至少一个环原子为杂原子，例如氮原子、氧原子或硫原子)的环。任选地，环状结构中的环原子(例如碳原子、氮原子或硫原子)可以被氧代。包括但不限于吡咯烷、四氢呋喃、哌啶、哌嗪、四氢吡喃等环。

在本申请中，术语“芳基”是指具有芳香性的单环或多环烃基，例如 6-10 元芳基、5-8 元芳基等。具体的实例包括但不限于苯基、萘基、蒽基、菲基等。所述“6-10 元芳基”是指含有 6-10 个环原子的芳基。所述“C6-10 芳基”是指含有 6-10 个碳原子的芳基。

在本申请中，术语“杂芳基”是指具有芳香性的环状基团，其中至少一个环原子为杂原子，例如氮原子、氧原子或硫原子。任选地，环状结构中的环原子(例如碳原子、氮原子或硫原子)可以被氧代。具体实例包括但不限于 5-10 元杂芳基、5-6 元杂芳基、5-10 元含氮杂芳基、6-10 元含氧杂芳基、6-8 元含氮杂芳基、5-8 元含氧杂芳基等，例如呋喃基、噻吩基、吡咯基、噻唑基、异噻唑基、噻二唑基、噁唑基、异噁唑基、噁二唑基、咪唑基、吡唑基、1,2,3-三唑基、1,2,4-三唑基、1,2,3-噁二唑基、1,2,4-噁二唑基、1,2,5-噁二唑基、1,3,4-噁二唑基、吡啶基、2-吡啶酮基、4-吡啶酮基、嘧啶基、1,4-二氧杂环己二烯基、2H-1,2-噁嗪基、4H-1,2-噁嗪基、6H-1,2-噁嗪基、4H-1,3-噁嗪基、6H-1,3-噁嗪基、4H-1,4-噁嗪基、哒嗪基、吡嗪基、1,2,3-三嗪基、1,3,5-三嗪基、1,2,4,5-四嗪基、氮杂环庚三烯基、1,3-二氮杂环庚三烯基、氮杂环辛四烯基等。

本申请用波浪线“~”表示的结构式中的键意在表示，该结构表示顺式或反式异构体，或任意比例的顺式和反式异构体的混合物。

在本申请中，术语“室温”是指 $25 \pm 5^\circ\text{C}$ 。

在本申请中，所述保护基及其连接或脱除方法可以采用本领域的常规方法实现，该方法可以是一

步反应，也可以是多步反应，例如但不限于参照 Wiley 出版社的《Greene's Protective Groups in Organic Synthesis - 4th Edition》或化学工业出版社的《保护基化学》实现。

在本申请中，术语“氨基保护基”是指保护化合物中氨基的基团，可以选自本领域中已知的氨基保护基团。本申请所述保护反应的介质优选选自非质子溶剂、优选二氯甲烷。对氨基进行保护的上保护基反应可以采用本领域技术人员所熟知的常规反应条件进行。脱除氨基上的保护基的反应可以采用本领域技术人员所熟知的常规反应条件进行。优选地，本发明中使用的氨基保护基选自烷氧羰基类保护基，其可以是未被取代的或是取代的，如苄氧羰基、叔丁氧羰基、苄甲氧羰基、烯丙氧羰基、三甲基硅乙氧羰基、甲氧羰基或乙氧羰基。

在本申请中，术语“羟基保护基”是指保护化合物中羟基的基团，可以选自本领域中已知的羟基保护基团。对羟基进行保护的上保护基反应可以采用本领域技术人员所熟知的常规反应条件进行。脱除羟基上的保护基的反应可以采用本领域技术人员所熟知的常规反应条件进行。优选地，本发明中使用的羟基保护基选自苄基，其可以是未被取代的或是取代的，如苄基、对硝基苄基、对甲氧基苄基。

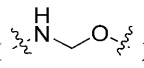
在本申请中，当术语“约”与数值或数值范围一起使用时，其通过向上和/或向下延长所述数值的边界来调整该数值或数值范围。例如，术语“约”旨在将数值向所述值的上和下修正 $\leq 20\%$ 、更优选 $\leq 10\%$ 。

在本申请中，如果针对一个化合物同时给出了该化合物的名称和结构式，在二者不一致的情况下，以化合物的结构为准，除非上下文表明化合物的结构不正确、而名称正确。

在本申请中，化合物可以存在特定的几何或立体异构体形式。本申请设想所有的这类化合物，包括顺式和反式异构体、(-)-和(+)-对映体、(R)-和(S)-对映体、非对映异构体、(D)-异构体、(L)-异构体，及其外消旋混合物和其他混合物，例如对映异构体或非对映体过量的混合物，所有这些混合物都属于本申请的范围之内。烷基等取代基中可存在另外的不对称碳原子。所有这些异构体以及它们的混合物，均包括在本发明的范围之内。

本发明所用试剂和原料均市售可得。

本发明的积极进步效果在于：

本公开经过大量的研究，开发了一种适用于工业化生产的制备含有氮氧杂缩醛结构 () 的药物连接体偶联物的合成方法。该制备方法具有以下优点：

1) 底物适用性广。对于含有在 $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ 存在时不稳定基团（例如氨基、取代的氨基）的分子，具有非常好的适用性。对于对碱性条件不稳定的底物（例如喜树碱类化合物），同时具有非常好的适用性。

2) 化合物的分离纯化操作简便，收率高（关键步骤收率高达 95%），适合工业化生产。

3) 反应条件温和，在常压下进行，反应温度易于控制。

4) 所涉及的原料易得且价格低廉。

5) 以 A1.9（即本申请化合物 III）作为起始原料，只经过一步反应即可获得目标分子，大大减少高活性分子参与的反应步骤（原路线为三步）。

6) 反应收率极大提升。以 A1.9（即本申请化合物 III）计，原路线的总收率 $<5\%$ ，新路线的总收

率>50%。

7) 所有中间体纯化方式简单、易放大。

8) 所有中间体稳定性好，无聚合物产生。

9) 整体工艺绿色环保，未使用 1 类、2A 类金属，无元素杂质残留对反应、对终产品的影响（例如现有技术使用 Pb(OAc)₄ 会有 Pb 残留导致后续金属催化加氢脱除氨基保护基的金属催化剂中毒，反应产率低）。

10) 整体工艺（尤其是使用 Cbz 保护基时，更适合液相反应），对应的中间体稳定性更好、反应条件更绿色、副产物为甲苯更便于去除。

具体实施方式

序列信息

本申请涉及的序列的信息描述于下面的表中。

SEQ ID NO	描述	序列
1	2E3-02 重链	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMNWVRQAPGKGLEWVSGIS GSGGSTYYADSVQGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKARSGY DYFFDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
2	2E3-02 轻链	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQRISSEFLAWYQQKPGQAPSLLIYGASSR ATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVFY CQQYSNSPLTFGGG TKVEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

本说明书中公开的所有特征，或公开的所有方法或过程中的步骤，除了互相排斥的特征和/或步骤以外，均可以以任何方式组合。

本说明书中公开的任一特征，除非特别叙述，均可被其他等效或具有类似目的的替代特征加以替换。即，除非特别叙述，每个特征只是一系列等效或类似特征中的一个例子而已。

实施例采用的实施条件可以根据具体要求做进一步调整，未注明的实施条件通常为常规实验中的条件。

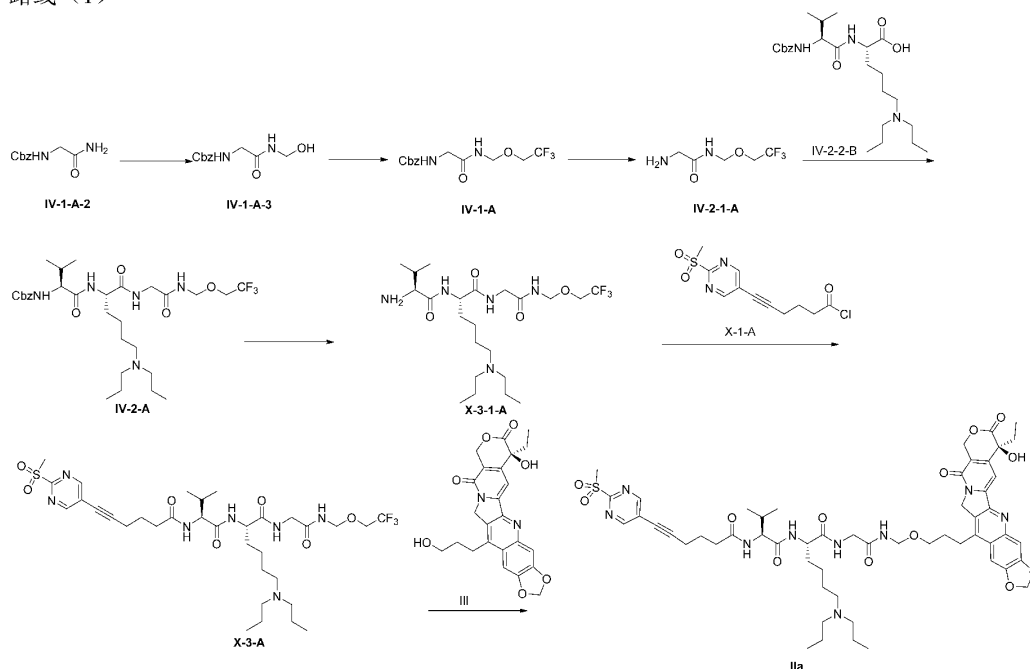
其中，在以下实施例中用到的化学试剂均为市购的化学试剂。

在常规的合成法以及实施例和中间体合成例中，各缩写或英文的含义如下表所示：

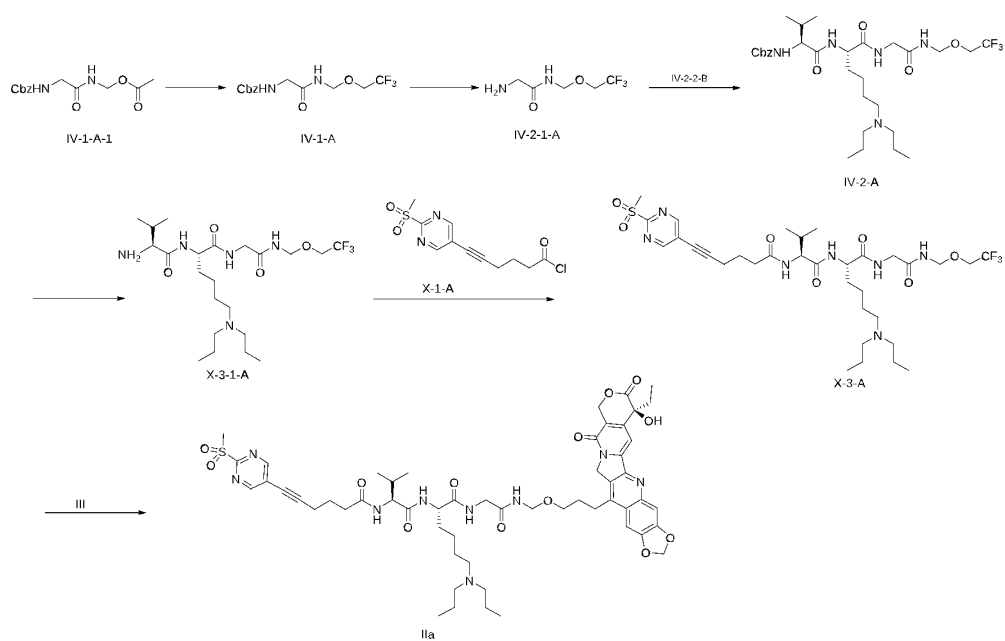
Cbz	苄氧羰基	Alloc	烯丙氧羰基
Fmoc	9-芴基甲氧羰基	Boc	叔丁氧羰基
Teoc	三甲基硅乙氧羰基	$\text{Pd(PPh}_3\text{)Cl}_2$	双(三苯基膦)氯化钯
HCl	氯化氢	PTSA	对甲苯磺酸一水合物
DMTMM	4-(4,6-二甲氧基三嗪-2-基)-4-甲基吗啉盐酸盐	NaHCO_3	碳酸氢钠
Na_2CO_3	碳酸钠	K_2CO_3	碳酸钾
Cs_2CO_3	碳酸铯	Et_3N	三乙胺
KHCO_3	碳酸氢钾	DIPEA	N,N-二异丙基乙胺
THF	四氢呋喃	Acetone	丙酮
CH_3CN	乙腈	1,4-dioxane	1,4-二氧六环
DMF	N,N-二甲基甲酰胺	DMSO	二甲亚砜
NMP	N-甲基吡咯烷酮	SnCl_2	二氯化锡
DCM	二氯甲烷	EA	乙酸乙酯
MeOH	甲醇	EtOH	乙醇
MTBE	甲基叔丁基醚	h	小时
min	分钟		

在本发明的示例性实施方式中，药物连接器偶联物 IIa 采用如下路线来合成：

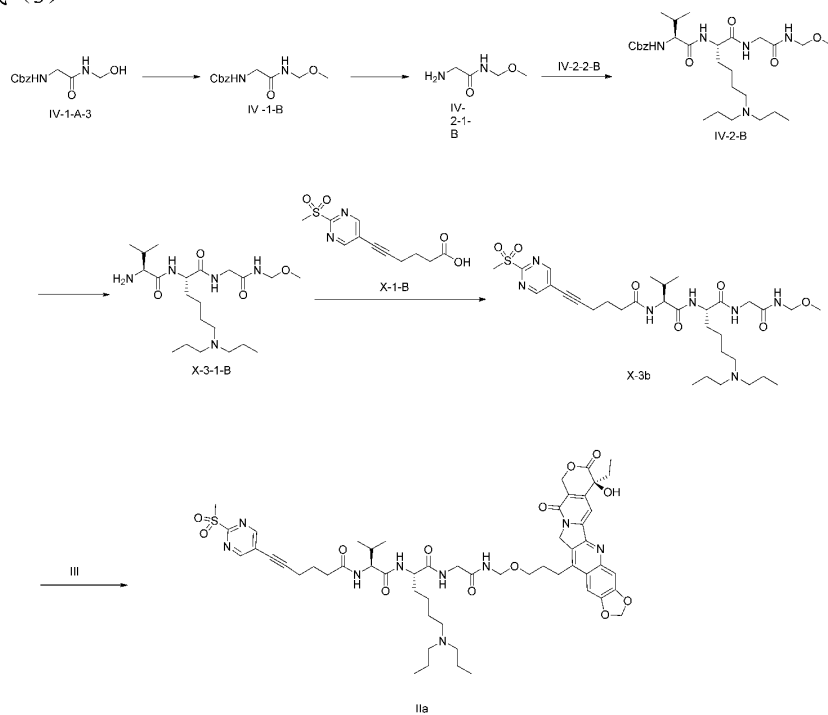
路线 (1)



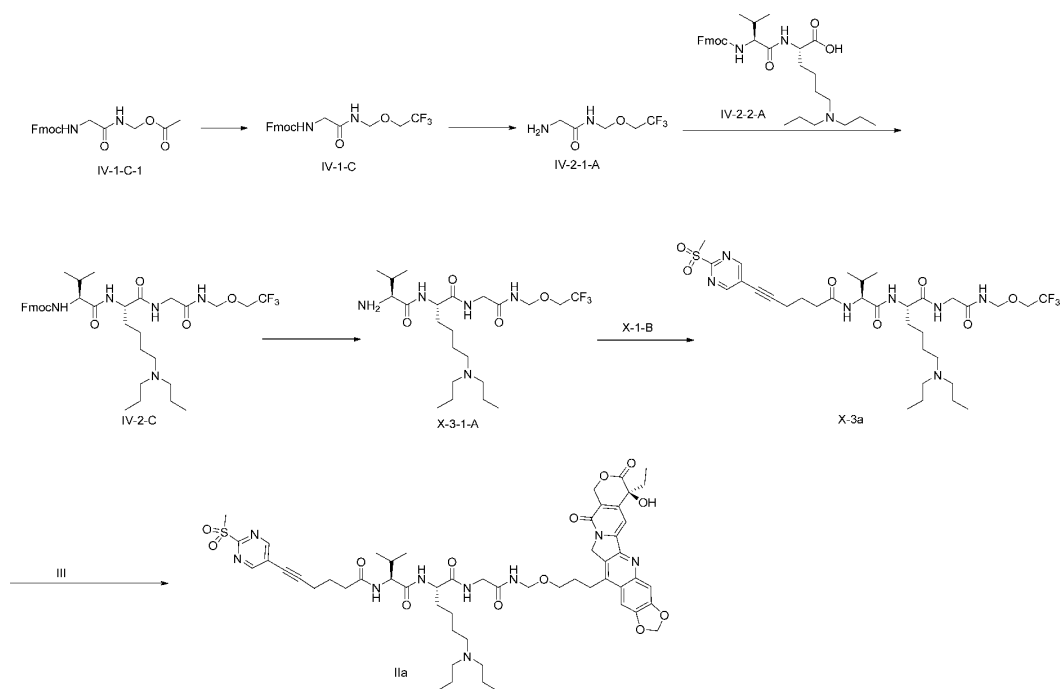
路线 (2)



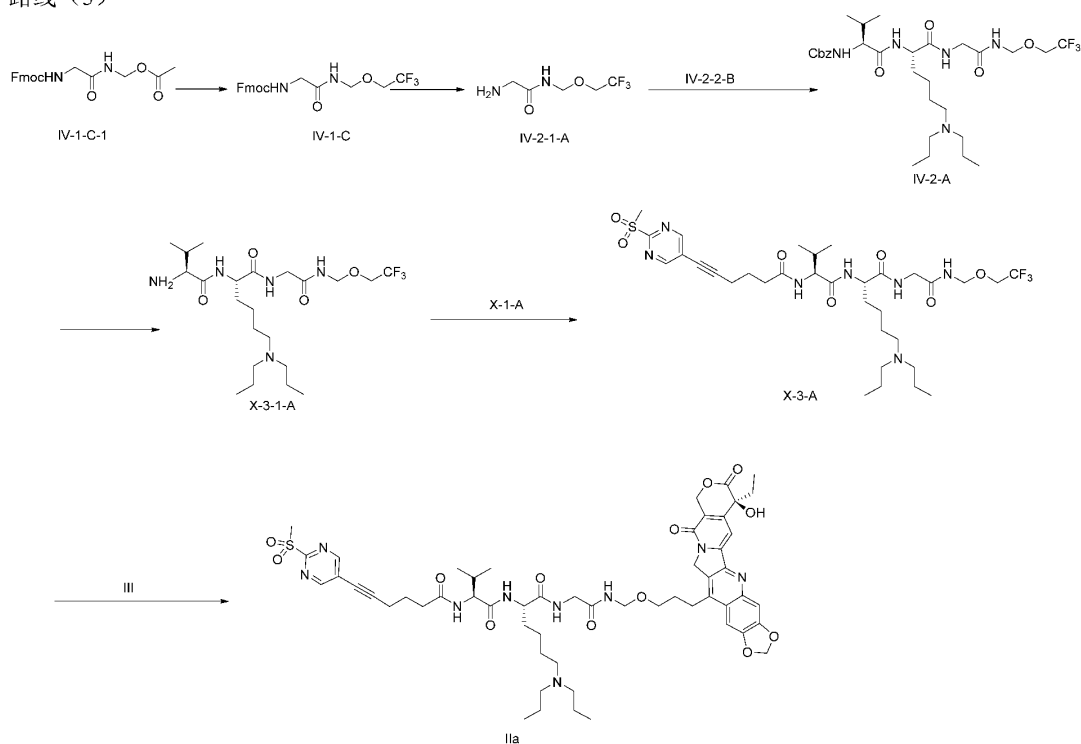
路线 (3)



路线 (4)



路线 (5)



制备 HPLC 色谱条件一

色谱柱: C18 制备柱(100mm×250mm,10μm), 波长: 214nm; 流速: 250ml/min; 流动相 A: 0.1%甲酸水溶液; 流动相 B: 乙腈

梯度表：

时间 min	0	8	18	30	35	45	50	55
流动相 A (%)	85	85	76	76	70	70	65	60
流动相 B (%)	15	15	24	24	30	30	35	40

制备 HPLC 色谱条件二

步骤一：纯化

色谱柱	DAC100（填料 YMC-ODS-AQ-HG，10um）					
流动相	流动相 A：醋酸铵溶液（5g/L，用醋酸调 pH 至 4.4） 流动相 B：乙腈					
阶段	平衡阶段	洗脱阶段				
时间 (min)	10	0	2	3	43	60
A%	90	90	80	72	64	60
B%	10	10	20	28	36	40
流速	240ml/min					

步骤二：脱盐浓缩

色谱柱	DAC100（填料 YMC-ODS-AQ-HG，10um）				
流动相	流动相 A：0.1%甲酸水溶液； 流动相 B：乙腈				
阶段	平衡阶段	洗脱阶段			
时间 (min)	10	0	10	15	50
A%	100	100	100	20	20
B%	0	0	0	80	80
流速	240ml/min				

HPLC 色谱条件（方法一）

色谱条件	色谱参数
色谱柱	Waters CORTECS T3，3.0×100mm 2.7μm
检测波长	UV 254 nm
进样量	5μl
柱温	40°C
流速	0.8 ml/min
洗脱时间	18 min（梯度洗脱）
稀释剂	0.1%三氟乙酸-乙腈（60-40）
洗针液	乙腈

样品浓度	0.5mg/ml					
流动相A	0.1%三氟乙酸					
流动相B	乙腈					
洗脱程序						
时间（min）	0	8	12	15	15.1	18
流动相A	80	50	10	10	80	80
流动相B	20	50	90	90	20	20

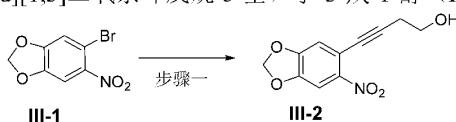
手性 HPLC 色谱条件

名称	参数
色谱柱	CHIRALPAK AGP 0.4cm I.D. ×15cm L ×5.0μm
流动相	50mM 醋酸铵溶液 (pH7.0) -异丙醇 (96/4)
流速	0.5ml/min
进样量	3μl
波长	254nm
柱温	20℃
样品溶液	2mg/ml, 用 10mM 甲酸铵溶液 (pH4.5) 溶解混匀。

药物连接体偶联物 IIa 的合成

实施例一：中间体 III 的合成

步骤一：4-(6-硝基苯并[d][1,3]二氧杂环戊烷-5-基)丁-3-炔-1-醇 (III-2) 的制备

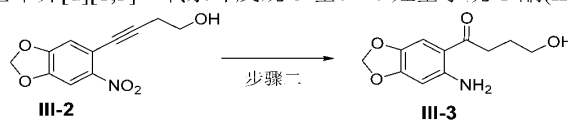


将化合物 III-1 (100 g, 408 mmol) 和 3-丁炔-1-醇 (11.4g, 163mmol), 溶于 NMP (300 mL) 中, 加入三乙胺 (102 g, 1.02mol, 141 mL), 氮气保护。再依次加入 CuI (3.88 g, 20.4 mmol), Pd(PPh₃)₂Cl₂ (2.9 g, 4.1 mmol), 50℃下反应 0.5h。滴加 3-丁炔-1-醇 (22.8g, 326mmol), 滴加完毕, 50℃下继续反应 4h。反应液降至室温, 倒入含有氨水 (3.26mol) 的水中 (4.5L), 析出固体, 搅拌 0.5h。抽滤, 将滤饼加入水中 (4.5L), 搅拌 0.5h。抽滤, 将滤饼加入水中 (4.5L), 搅拌 0.5h。抽滤, 滤饼干燥, 得到目标产物 III-2, 85.0 g, 收率 88%。

LCMS (ESI) [M+H]⁺ = 236.0

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.66 (s, 1H), 7.18 (s, 1H), 6.25 (s, 2H), 4.91 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 3.59 (dd, *J* = 12.6, 6.7 Hz, 2H), 2.59 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H).

步骤二：1-(6-氨基苯并[d][1,3]二氧杂环戊烷-5-基)-4-羟基丁烷-1-酮 (III-3) 的制备

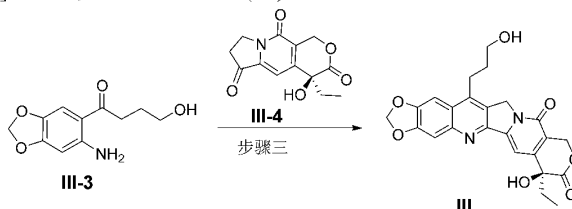


将化合物 III-2 (8.42 g, 35.79 mmol) 溶于 EtOH/H₂O (v:v=9:1, 152 mL) 的溶液中, 加入 Sn (8.46 g, 71.58 mmol), Na₂S•9H₂O (2.58 g, 10.74 mmol), 然后加入浓盐酸 (30 mL, 358 mmol), 78℃ 搅拌 1h。反应液趁热在硅藻土上抽滤, 滤液浓缩得到粗品。加入乙酸乙酯 (20 mL) 打浆, 抽滤, 滤饼用乙酸乙酯 (5 mL) 洗涤两次, 得到粗品。将粗品加入水 (50 mL), 滴加入碳酸氢钠饱和溶液至 pH 值 8.0, 室温搅拌 1h。抽滤, 滤液用乙酸乙酯萃取 (50 mL*2), 浓缩后得固体; 浓缩所得固体和滤饼合并, 干燥后, 得到目标产物 III-3, 3.6 g。

LCMS (ESI) [M-18+H]⁺ = 206.2

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.18 (s, 1H), 6.24 (s, 1H), 5.87 (s, 2H), 3.62 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H), 2.95-2.84 (m, 2H), 1.95-1.82 (m, 2H)。

步骤三: (S)-7-乙基-7-羟基-14-(3-羟丙基)-10,13-二氢-11H-[1,3]二氧杂环戊烷并[4,5-g]吡喃并[3',4':6,7]咪唑啉并[1,2-b]喹啉-8,11(7H)-二酮(III)的制备



将化合物 III-3 (41.80g, 0.19 mol)、III-4 (110.00g, 0.42 mol) 和对甲苯磺酸一水合物 (31.90g, 0.17 mol) 加入三口烧瓶, 量取 550 mL NMP 加入烧瓶, 氮气保护。110℃ 加热搅拌, 每间隔 0.5h 向反应体系中加 III-3 (31.35g, 0.14mol), 共加 3 次。加毕继续搅拌 1h。向反应液中加入异丙醇 (110 mL), 再滴水 (1.32 L), 降至 5℃ 搅拌 1.0h。抽滤, 滤饼水洗, 水 (13.75L) 打浆 2h, 抽滤, 滤饼再次水洗。将滤饼加入反应瓶中, 依次加入 DMF (165 mL) 和甲醇 (1.32 L), 25℃ 搅拌 12h, 抽滤, 滤饼用甲醇洗涤, 50℃ 真空干燥 48h, 得到目标产物 III, 184.0g。

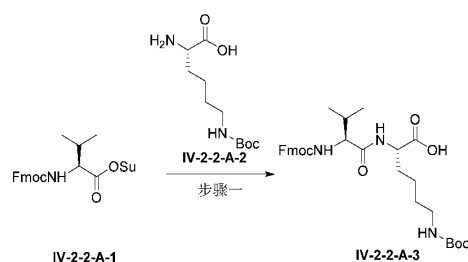
LCMS (ESI) [M+H]⁺ = 451.4

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.59 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.25 (s, 1H), 6.49 (s, 1H), 6.30 (s, 2H), 5.54 – 5.36 (m, 2H), 5.19 (s, 2H), 4.68 (t, *J* = 5.0 Hz, 1H), 3.51 (q, *J* = 5.6 Hz, 2H), 3.14 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 1.99-1.73 (m, 4H), 0.92 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H)。

实施例二: 中间体 IV-2-2 的合成

一、中间体 IV-2-2-A 的合成

步骤一: *N*²-((9H-芴-9-基) 甲氧基) 羰基)-L-缬氨酸)-*N*⁶-(叔丁氧基羰基)-L-赖氨酸 (IV-2-2-A-3) 的制备

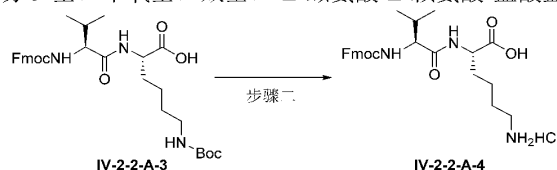


将化合物 IV-2-2-A-1 (100 g, 0.229 mol) 和化合物 IV-2-2-A-2 (56.4 g, 0.229 mol) 置于反应瓶中, 搅拌条件下, 加入丙酮/水 (1 L, v:v=1:1), 再加入 NaHCO_3 (76.95 g, 0.916 mol)。室温搅拌过夜。滤除不溶物, 滤液浓缩, 浓缩液加入盐酸 (4N) 调节 pH 至 5, 乙酸乙酯萃取 (0.75 L*2), 合并有机相用饱和食盐水 (300 mL*2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 滤液减压浓缩, 得到目标化合物 IV-2-2-A-3, 117 g, 收率 90%。

LCMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 568.3$

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7.91 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.82-7.73 (m, 2H), 7.64 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H), 7.58 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.44 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.40-7.31 (m, 2H), 6.68 (brs, 1H), 4.38-4.21 (m, 3H), 3.99-3.91 (m, 1H), 3.87 (dd, $J = 8.8, 6.8$ Hz, 1H), 2.92-2.80 (m, 2H), 2.17-2.01 (m, 1H), 1.70-1.67 (m, 1H), 1.64-1.52 (m, 1H), 1.42-1.16 (m, 13H), 0.93-0.83 (m, 6H).

步骤二 (((9H-芴-9-基) 甲氧基) 羰基) -L-缬氨酸-L-赖氨酸•盐酸盐 (IV-2-2-A-4) 的制备

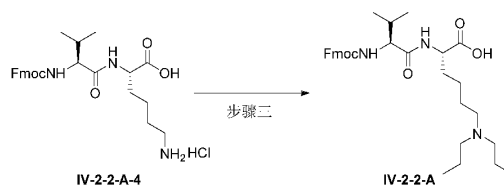


化合物 IV-2-2-A-3 (117 g, 206.2 mmol) 加入二氧六环 (1.5 L) 搅拌 10 分钟后再加入 HCl/dioxane (0.75 L, 4 mol/L), 室温搅拌 12h。反应液中加入甲基叔丁基醚 (2L), 搅拌 30min, 过滤, 滤饼干燥, 得到目标化合物 IV-2-2-A-4, 94 g, 收率 91%。

LCMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 468.3$

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.24 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 8.07 (brs, 3H), 7.90 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.77 (dd, $J = 7.1, 3.4$ Hz, 2H), 7.47-7.37 (m, 3H), 7.34 (td, $J = 7.4, 1.7$ Hz, 2H), 4.34-4.17 (m, 4H), 3.96 (dd, $J = 8.6, 7.4$ Hz, 1H), 2.83-2.65 (m, 2H), 2.04 (dd, $J = 13.5, 6.7$ Hz, 1H), 1.82-1.52 (m, 4H), 1.51-1.30 (m, 2H), 0.96-0.84 (m, 6H).

步骤三 N^2 -((((9H-芴-9-基) 甲氧基) 羰基) -L-缬氨酸)- N^6, N^6 -二丙基-L-赖氨酸 (IV-2-2-A) 的制备



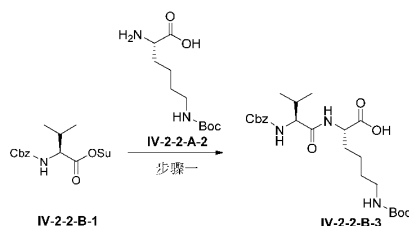
将化合物 IV-2-2-A-4 (55.0 g, 109.1 mmol) 和醋酸 (10 mL) 溶在甲醇 (500 mL) 溶液中, 冰水浴下, 向反应液中加入正丙醛 (25.35 g, 436.4 mmol), 室温下搅拌反应 30min, 冰水浴下再向反应液中加入氰基硼氢化钠 (27.43 g, 436.4 mmol), 反应在室温下搅拌反应 1h。LCMS 显示原料未反应完全。补加正丙醛 (12.67 g, 218.2 mmol), 氰基硼氢化钠 (13.72 g, 218.2 mmol), 继续反应 0.5 h。反应液过滤, 滤液浓缩, 浓缩液加入纯净水 (300 mL), DCM 萃取 (300 mL*2)。有机相经饱和食盐水洗涤, 无水 Na₂SO₄ 干燥后浓缩得粗品。粗品经柱层析纯化 (洗脱液为 MeOH 和 DCM), 得化合物 IV-2-2-A, 39 g, 收率 65%。

LCMS (ESI) [M+H]⁺ = 552.3

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.95-7.85 (m, 3H), 7.76 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.51-7.40 (m, 3H), 7.35 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 4.34-4.22 (m, 3H), 4.13 (dd, *J* = 12.6, 7.2 Hz, 1H), 3.91 (dd, *J* = 8.8, 7.1 Hz, 1H), 2.52 – 2.41 (m, 6H), 2.03 (dt, *J* = 13.5, 6.7 Hz, 1H), 1.79-1.67 (m, 1H), 1.66-1.56 (m, 1H), 1.42-1.36 (m, 6H), 1.36-1.21 (m, 2H), 0.90 (t, *J* = 6.9 Hz, 6H), 0.82 (t, *J* = 6.9 Hz, 6H).

二、中间体 IV-2-2-B 的合成

步骤一: N-((苄氧基)羰基)-L-缬氨酸)-N-(叔丁氧基羰基)-L-赖氨酸 (IV-2-2-B-3) 的合成



方法一:

称取化合物 IV-2-2-B-1 (50.0 g, 143.53 mmol) 和化合物 IV-2-2-A-2 (35.35 g, 143.53 mmol) 溶于丙酮 (250 mL) 和水 (250 mL) 中, 再加入 NaHCO₃ (48.23 g, 574.12 mmol), 室温搅拌过夜。抽滤, 滤液浓缩干丙酮后, 用盐酸 (4 mol/L) 调节 pH=5, 有大量固体析出。抽滤, 滤饼用水 (100mL) 淋洗, 所得滤饼再用 DCM (700mL) 打浆 30mins 后, 抽滤, 滤饼 50℃ 烘干得目标产物 IV-2-2-B-3, 65.0g, 收率 94.5%。

方法二:

称取化合物 IV-2-2-A-2 (35.35 g, 143.53 mmol), 加入到 NaHCO₃ (24.12 g, 287.06 mmol) 的水 (250mL) 溶液中, 冰水浴下滴加 IV-2-2-B-1 (50.0 g, 143.53 mmol) 的 DCM (250 mL) 溶液。滴加完毕后反应体系室温下搅拌 10h。用盐酸 (4mol/L) 调节体系 pH=5, 搅拌 1h 后抽滤, 滤饼干燥得目标产物 IV-2-2-B-3, 65.0g, 收率 94.5%。

方法三:

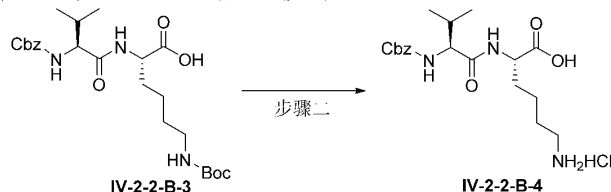
称取化合物 IV-2-2-A-2 (35.35 g, 143.53 mmol), 加入到 NaHCO₃ (24.12 g, 287.06 mmol) 的水 (250mL) 溶液中, 冰水浴下滴加 IV-2-2-B-1 (50.0 g, 143.53 mmol) 的 THF (250 mL) 溶液。滴加完毕后反应体系室温下搅拌 4h, 反应液浓缩除去有机溶剂后, 用盐酸 (4mol/L) 调节 pH=5, 搅拌 1h 后

抽滤，滤饼用 DCM（700mL）打浆 30mins 后，抽滤，滤饼干燥得目标产物 IV-2-2-B-3，65.0g，收率 94.5%。

LCMS (ESI) $[M+H-Boc]^+=380.31$

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.07 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.36 – 7.30 (m, 5H), 7.23 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.74 (t, $J = 8$ Hz, 1H), 5.04 (s, 2H), 4.18-4.12 (m, 1H), 3.94-3.90 (m, 1H), 2.91-2.87 (m, 2H), 1.97-1.85 (m, 1H), 1.74 – 1.64 (m, 1H), 1.62 – 1.52 (m, 1H), 1.42 – 1.23 (m, 13H), 0.90 - 0.83 (m, 6H).

步骤二：（（苄氧基）羰基）-L-缬氨酸-L-赖氨酸盐酸盐（IV-2-2-B-4）的合成



方法一：

化合物 IV-2-2-B-3（65.0g，135.54mmol）加入二氧六环(520mL)搅拌 10 分钟后加入 260mL HCl（4mol/L in Dioxane），在室温下搅拌过夜。向反应液中加入 MTBE(1300mL)，搅拌 30 分钟后过滤，滤饼烘干得目标化合物 IV-2-2-B-4，52 g，收率：93%。

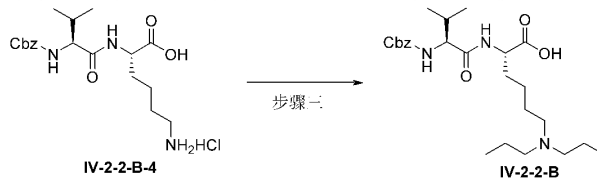
方法二：

称取化合物 IV-2-2-B-3 (50.0g, 104.26mmol) 加入至四氢呋喃(20mL)中，再加入浓盐酸(17.2mL, 206.40mmol)，60℃加热反应 1h，反应液冷却至室温，直接用于下步反应。

LCMS (ESI) $[M+H]^+=380.42$

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12.59 (s, 1H), 8.19 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.96 (s, 3H), 7.40 – 7.34 (m, 5H), 8.27 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 5.06 (s, 2H), 4.22 - 4.17 (m, 1H), 3.96 – 3.92 (m, 1H), 2.80 - 2.77 (m, 2H), 2.04-2.00 (m, 1H), 1.63 – 1.57 (m, 4H), 1.41 - 1.39 (m, 2H), 0.93 - 0.87 (m, 6H).

步骤三：N-（（苄氧基）羰基）-L-丙酰基-N,N-二丙基-L-赖氨酸（IV-2-2-B）的合成



方法一：

将步骤二方法一获得的化合物 IV-2-2-B-4（52 g，125.03 mmol）溶在甲醇（520 mL）中，搅拌溶解后，向反应液中加入氰基硼氢化钠（15.71 g，250.06 mmol），加入正丙醛（14.52g，250.06 mmol）反应 1 h。加入正丙醛（14.52g，250.06 mmol）反应 1 h。向反应液中加入水（45mL，2.5mol）搅拌 10mins 后浓缩，浓缩液加 THF（200mL）浓缩带水，重复上述操作一次。残余物加入 DCM（250mL）溶解，滤除不溶物，滤液浓缩，得到目标化合物 IV-2-2-B 粗品直接用于下步反应，按收率 100% 计算。

方法二：

向步骤二方法二获得的溶液中加入 THF (300mL), 冰水浴下加入氰基硼氢化钠 (19.7g, 312.78mmol), 加入正丙醛 (24.3g, 417.04mmol)。升至室温搅拌反应 1h。加入盐酸调节 pH=4-5, 搅拌 30mins。反应体系浓缩除去 THF, 加入水 (200mL) 和 DCM (200mL), 收集有机相。水相加入 60.0g 无水硫酸钠, 用 DCM (100mL) 再次萃取。合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 滤除不溶物, 浓缩得目标化合物 38.0g, 两步收率 78.6%。

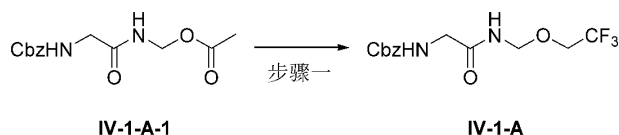
LCMS(ESI)[M+H]⁺=464.44

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.93 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.35 – 7.26 (m, 6H), 5.03 (s, 2H), 4.15 – 4.10 (m, 1H), 3.91 – 3.87 (m, 1H), 2.76 – 2.58 (m, 6H), 2.00 – 1.96 (m, 1H), 1.82 – 1.19 (m, 10H), 0.89 – 0.84(m, 12H).

实施例三：中间体 IV-1 的合成

一、IV-1-A 的合成

路线一：



方法一：

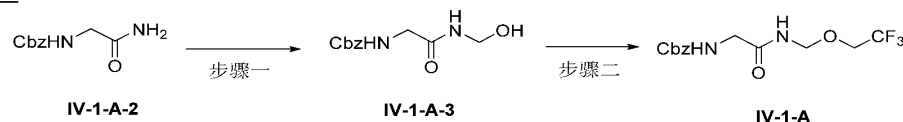
将化合物 IV-1-A-1 (5g, 17.84mmol) 加入至三氟乙醇 (30 mL) 中, 氩气保护, 40℃ 搅拌溶解, 然后加入 HCl 的 DMF 溶液 (2.1 mL, 0.4mol/L), 40℃ 下搅拌 2.5 h。反应液降至室温后加入 200 mL 乙酸乙酯稀释, 有机相用 2% 的碳酸氢钠溶液 (200mL) 洗涤萃取, 收集有机相。有机相用饱和氯化钠水溶液 (200mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥、过滤, 滤液旋蒸至干, 得到目标化合物 IV-1-A, 5.5g, 收率 96.3%。

方法二：

将化合物 IV-1-A-1 (5g, 17.84mmol) 加入至三氟乙醇 (30 mL) 中, 氩气保护, 40℃ 搅拌溶解, 然后加入 HCl 的 DMF 溶液 (2.1 mL, 0.4mol/L), 40℃ 下搅拌 2.5 h。反应液降至室温后加入到 120 mL 的碳酸氢钠水溶液中 (1%, W/V), 搅拌, 抽滤, 滤饼干燥得到目标化合物 IV-1-A, 5.3g, 收率 92.8%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.88 (t, *J* = 6.5 Hz, 1H), 7.54 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H), 7.40-7.32 (m, 5H), 5.07 (s, 2H), 4.70 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 4.03 (q, *J* = 9.4 Hz, 2H), 3.68 (d, *J* = 6.1 Hz, 2H).

路线二：



步骤一：(2-((羟甲基)氨基)-2-氧代乙基) 氨基甲酸苄酯 (IV-1-A-3) 的合成

方法一：

向 IV-1-A-2 (10.4 g, 50 mmol) 中加入水 (156 ml)、甲醛水溶液 (7.3 g, 90 mmol)、K₂CO₃ (0.69 g, 5 mmol), 室温反应 14 h。过滤, 水 (50 ml) 淋洗 2 次, 40℃ 真空干燥 4 h 得 9.23 g 产物。

收率: 77.5%。

方法二:

向 IV-1-A-2 (10.4 g, 50 mmol) 中加入水 (156 mL), 甲醛水溶液 (6.0 g, 75 mmol), K_2CO_3 (0.69 g, 5 mmol), 室温反应 14 h。过滤, 水 (50 mL) 淋洗 2 次, 40°C 真空干燥得 7.38 g 产品。收率: 62%。

LCMS (ESI) $[M+Na]^+ = 261.2$

1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$): δ 8.48 (t, $J = 6.1$ Hz, 1H), 7.47 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H), 7.44 – 7.25 (m, 5H), 5.60 (t, $J = 6.6$ Hz, 1H), 5.06 (s, 2H), 4.54 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.62 (d, $J = 6.1$ Hz, 2H).

步骤二: (2-氧代-2-(((2, 2, 2-三氟乙氧基)甲基)氨基)乙基)氨基甲酸苄酯 (IV-1-A) 的合成

方法一:

向化合物 IV-1-A-3 (2.38 g, 10 mmol) 中加入三氟乙醇 (14.4 mL, 6 V), HCl-DMF (1.25 mL, 0.5 mmol, 0.4 mol/L), 40°C 反应 3 h。反应体系降至 20°C, 滴加到 2% $NaHCO_3$ 水溶液 (58 mL) 中, 搅拌 0.5 h, 过滤, 水 (12 mL) 淋洗 2 次, 40°C 真空干燥 2 h, 得 2.61 g 产品。收率: 81.5%。纯度 98%。

方法二:

向化合物 IV-1-A-3 (10.0 g, 42 mmol) 中加入三氟乙醇 (60 mL), $BF_3 \cdot Et_2O$ (0.3 g, 2.1 mmol, 48%), 40°C 反应 3 h。反应体系降至 20°C, 滴加到 2% $NaHCO_3$ 水溶液 (245 mL) 中, 搅拌 0.5 h, 过滤, 水 (50 mL) 淋洗 2 次, 40°C 真空干燥得 10.6 g 产品。收率: 78.8%。纯度 97%。

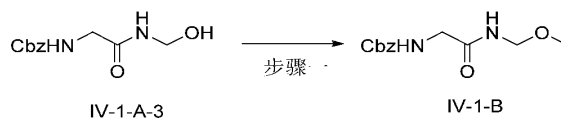
方法三:

向化合物 IV-1-A-3 (10.0 g, 42 mmol) 中加入三氟乙醇 (60 mL), HCl-DMF (63 mL, 25.2 mmol, 0.4 mol/L), 40°C 反应 3 h。反应体系降至 20°C, 滴加到 2% $NaHCO_3$ 水溶液 (245 mL) 中, 搅拌 0.5 h, 过滤, 水 (50 mL) 淋洗 2 次, 40°C 真空干燥得 9.5 g 产品。收率: 70.6%。纯度 88%。

LCMS (ESI) $[M+Na]^+ = 343.2$

1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$): δ 8.91 (t, $J = 6.8$ Hz, 1H), 7.57 (t, $J = 6.1$ Hz, 1H), 7.46 – 7.27 (m, 5H), 5.07 (s, 2H), 4.71 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H), 4.04 (q, $J = 9.4$ Hz, 2H), 3.70 (d, $J = 6.1$ Hz, 2H).

二、IV-1-B 的合成



向 IV-1-A-3 (20.0 g, 84 mmol) 中加入甲醇 (120 mL), HCl-DMF 溶液 (10.5 mL, 0.4 mol/L), 40°C 反应 4 h, 反应液滴加到碳酸氢钠水溶液 (720 mL, 2% wt) 中, 40°C 水浴减压浓缩除去 MeOH, EA (200 mL) 萃取 2 次, 合并有机相, 饱和氯化钠水溶液 (100 mL) 洗涤 1 次, 无水硫酸钠干燥 0.5 h, 减压浓缩至干, 所得产物真空干燥得 19.4 g IV-1-B。收率: 91.5%。

LCMS (ESI) $[M+Na]^+ = 275.19$

1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$): δ 8.67 (s, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.46-7.25 (m, 5H), 5.07 (s, 2H), 4.50 (s,

2H), 3.67 (s, 2H), 3.19 (s, 3H).

三、IV-1-C 的合成

步骤一：(9H-芴-9-基)甲基 (2-氧代-2-((2,2,2-三氟乙氧基)甲基)氨基)乙基)氨基甲酸酯 (IV-1-C) 的制备

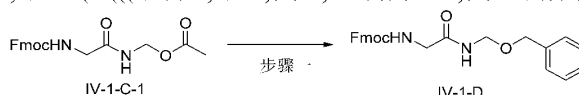


将化合物 IV-1-C-1 (10.00g, 27.15mmol) 加入至 2,2,2-三氟乙醇 (60mL) 中, 40℃ 搅拌溶解, 然后加入 HCl/DMF (3.4mL, 0.4M) 于反应液中, 反应液在 40℃ 下搅拌 2.0h。向反应液中加入乙酸乙酯 (200mL), 搅拌稀释, 用 2% 的碳酸氢钠溶液 (200mL)、饱和食盐水溶液 (200mL) 洗涤萃取, 分离有机相; 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩得目标产物 (IV-1-C), 10.51g, 收率 94.8%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.87 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H), 7.92 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.74 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.62 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H), 7.45 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.36 (td, *J* = 7.4, 1.2 Hz, 2H), 4.70 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 4.33 (d, *J* = 6.9 Hz, 2H), 4.29-4.22 (m, 1H), 4.03 (q, *J* = 9.4 Hz, 2H), 3.68 (t, *J* = 3.1 Hz, 2H)。

四、IV-1-D 的合成

步骤一：(9H-芴-9-基)甲基 (2-((苄氧基)甲基)氨基)-2-氧代乙基)氨基甲酸酯 (IV-1-D) 的合成

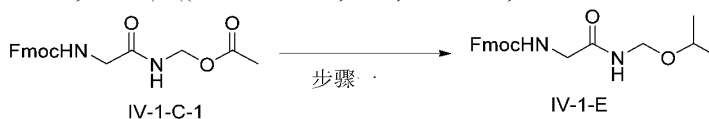


称取化合物 IV-1-C-1 (50.0 g, 0.135 mol) 溶于 DMF (300 mL) 中, 加入苄醇 (17.6 g, 0.163 mol)。25℃ 搅拌下, 一次性加 HCl/EA (4mol/L, 20.36mL), 继续搅拌反应 4h。向反应液中加入乙酸乙酯 (1.5 L), 用 2% 碳酸氢钠 (1L)、水 (1L*2) 和食盐水 (1L) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩蒸干得粗品。硅胶柱层析纯化 (洗脱剂: EA/PE=4/6), 干燥, 得到目标产物 IV-1-D, 40.0g, 收率 71%。

LCMS (ESI) [M+H]⁺=417.2

五、IV-1-E 的合成

步骤一：(9H-芴-9-基)甲基 (2-((异丙氧基)甲基)氨基)-2-氧代乙基)氨基甲酸酯 (IV-1-E) 的合成

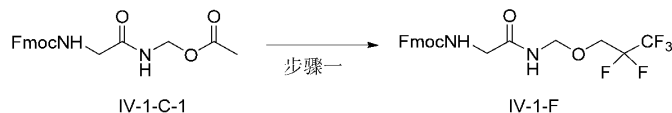


将化合物 IV-1-C-1 (10.00g, 27.15mmol) 加入至异丙醇 (60mL) 中, 40℃ 搅拌溶解, 然后加入 HCl/DMF (3.4mL, 0.4M) 于反应液中, 反应液在 40℃ 下搅拌 2.0h。向反应液中加入乙酸乙酯 (200mL), 搅拌稀释, 用 2% 的碳酸氢钠溶液 (200mL)、饱和食盐水溶液 (200mL) 洗涤萃取, 分离有机相; 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩得目标产物 9.50g, 收率 95.0%。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.56 (t, *J* = 6.6 Hz, 1H), 7.92 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.75 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.56 (t, *J* = 6.2 Hz, 1H), 7.45 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.36 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 4.57 (d, *J* = 6.5 Hz, 2H), 4.37-4.21 (m, 3H), 3.77-3.60 (m, 3H), 1.09 (dd, *J* = 6.2, 1.9 Hz, 6H)。

五、IV-1-F 的合成

步骤一：(9H-芴-9-基)甲基(2-氧代-2-(((2,2,3,3,3-五氟丙氧基)甲基)氨基)乙基)氨基甲酸酯 (IV-1-F) 的合成



将化合物 IV-1-C-1 (10.00g, 27.15mmol) 加入至 2,2,3,3,3-五氟-1-丙醇 (40mL) 中, 40℃ 搅拌溶解, 然后加入 HCl/DMF (3.4mL, 0.4M) 于反应液中, 反应液在 40℃ 下搅拌 2.0h。向反应液中加入乙酸乙酯 (200mL), 搅拌稀释, 用 2% 的碳酸氢钠溶液 (200mL)、饱和食盐水溶液 (200mL) 洗涤萃取, 分离有机相; 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩得目标产物, 8.75g, 收率 70.3%。

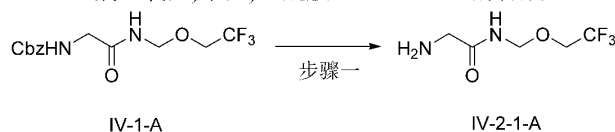
^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.86 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.90 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.73-7.71 (d, $J = 8.0$, 2H), 7.60 (t, $J = 8.0$, 2H), 7.44-7.40 (m, 2H), 7.35-7.30 (m, 2H), 4.70-4.68 (m, 2H), 4.31-4.20 (m, 2H), 4.25-4.22 (m, 1H), 4.13-4.06 (m, 2H), 3.67-3.65 (m, 2H).

实施例四：中间体 IV-2-1 的合成

一、中间体 IV-2-1-A 的合成

路线一：

2-氨基-N-((2, 2, 2-三氟乙氧基)甲基)乙酰胺 (IV-2-1-A) 的合成



方法一：

将化合物 IV-1-A (1.00 g, 3.29 mmol) 溶于 THF (10 ml), 再加入 10% Pd(OH)₂/C (100 mg), 氢气置换后室温反应 3 h。反应液加入 DMF (10mL), 过滤, 浓缩除去 THF 后, 得目标化合物 IV-2-1-A 的 DMF 溶液, 直接用于下一步反应。收率按 100% 计算。

方法二：

将化合物 IV-1-A (1.00 g, 3.29 mmol) 溶于 THF (5 ml), 再加入 5% Pd/C (50 mg), 氢气置换后室温反应 3 h。反应液加入 DMF (5mL), 过滤, 浓缩除去 THF 后, 得目标化合物 IV-2-1-A 的 DMF 溶液, 直接用于下一步反应。收率按 100% 计算。

方法三：

将化合物 IV-1-A (15.0 g, 49.35 mmol) 溶于 THF (75 ml), 再加入 5% Pd/C (750 mg), 氢气置换后室温反应 3 h。反应液加入 DMF (75mL), 过滤, 浓缩除去 THF 后, 得目标化合物 IV-2-1-A 的 DMF 溶液, 直接用于下一步反应。收率按 100% 计算。

化合物 Ia-A-3 的 HOBt 盐的核磁氢谱为: ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.18 (br, 1H), 7.79 – 7.71 (m, 1H), 7.49 – 7.41 (m, 1H), 7.25-7.18 (m, 2H), 4.74 (d, $J = 4.9$ Hz, 2H), 4.06 (q, $J = 9.4$ Hz, 2H), 3.47 (s, 2H).

路线二:

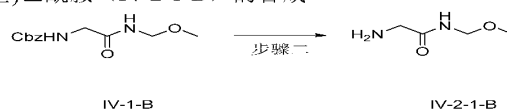
2-氨基-N-((2,2,2-三氟乙氧基)甲基)乙酰胺 (IV-2-1-A) 的制备



将 IV-1-C (57.0 g, 139.57 mmol) 溶于 DMF (350 mL) 和二乙胺 (17.5 mL) 的溶液中。25±5℃ 下搅拌 1 小时, 35℃ 减压浓缩 30min。得 2-氨基-N-((2,2,2-三氟乙氧基)甲基)乙酰胺 (IV-2-1-A) 的 DMF 溶液, 直接用于下一步反应。转化率按 100% 计算。

二、中间体 IV-2-1-B 的合成

2-氨基-N-(甲氧甲基)乙酰胺 (IV-2-1-B) 的合成

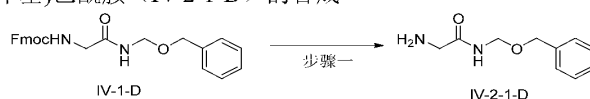


向化合物 IV-1-B (11.0 g, 43.6 mmol) 加入 THF (40 mL), MeOH (40 mL), Pd/C (550 mg, 10%, 55% water), 在氢气氛围下 30℃ 反应 7 h。反应结束后加入 DMF (55 mL), 减压浓缩掉 THF 和 MeOH, 不经纯化直接投入下一步。收率按 100% 计算。

LCMS (ESI) $[M+H]^+ = 119.21$

三、中间体 IV-2-1-D 的合成

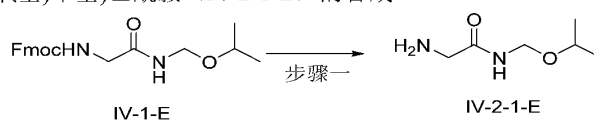
2-氨基-N-((苄氧基)甲基)乙酰胺 (IV-2-1-D) 的合成



将化合物 IV-1-D (38.0 g, 0.091 mol) 溶于 DMF (240 mL) 和二乙胺 (12 mL) 的溶液中。25℃ 下搅拌 1 小时, 反应液 35℃ 减压浓缩 30min。得 IV-2-1-D 的 DMF 溶液, 直接用于下一步反应。转化率按照 100% 计算。

四、中间体 IV-2-1-E 的合成

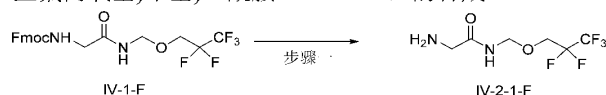
2-氨基-N-((异丙氧基)甲基)乙酰胺 (IV-2-1-E) 的合成



将化合物 IV-1-E (22.0 g, 59.83 mmol) 溶于 DMF (150 mL) 和二乙胺 (7.5 mL) 的溶液中。25℃ 下搅拌 1h。反应完成后, 反应液 35℃ 减压浓缩 30min, 得 IV-2-1-E 的 DMF 溶液, 直接用于下一步反应 (转化率按照 100% 计算)。

五、中间体 IV-2-1-F 的合成

2-氨基-N-((2,2,3,3,3-五氟丙氧基)甲基)乙酰胺 (IV-2-1-F) 的合成

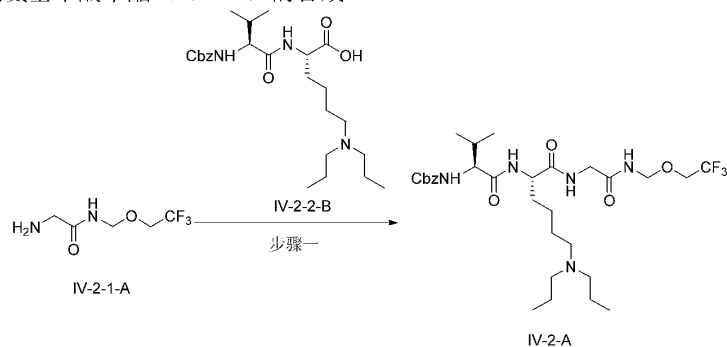


将化合物 IV-1-F (466.0mg, 1.00mmol) 溶于 DMF (10mL) 和二乙胺 (0.5mL) 的溶液中。25℃ 下搅拌 1h, 反应液 35℃ 减压浓缩 30min, 得 2-氨基-N-((2,2,3,3,3-五氟丙氧基)甲基)乙酰胺 (IV-2-1-F) 的 DMF 溶液, 直接用于下一步反应 (转化率按照 100% 计算)。

实施例五: 中间体 IV-2 的合成

一、IV-2-A 的合成

((10S, 13S)-10-(4-(二丙氨基)丁基)-1, 1, 1-三氟-14-甲基-6, 9, 12-三氧-3-氧杂-5, 8, 11-三氮杂十五烷-13-基)氨基甲酸苄酯 (IV-2-A) 的合成



方法一: 将化合物 IV-2-2-B (1.52g, 3.29 mmol) 加入至上步所得化合物 IV-2-1-A (3.29mmol) 的 DMF 溶液中, 控温-10℃, 加入 DMTMM (1.16 g, 3.98 mmol) 反应 1.5 h。向反应体系中加入 EA (50 mL), 依次用饱和 NaHCO₃ 水溶液 (15mL*3)、饱和食盐水 (15 mL) 洗涤, 有机相无水硫酸钠干燥, 抽滤, 滤液浓缩干。所得残余物用 EA 溶解 (3mL), 加入至正庚烷 (30mL) 中, 搅拌析出固体, 抽滤, 滤饼为目标化合物 1.55 g, 收率 74.9%。

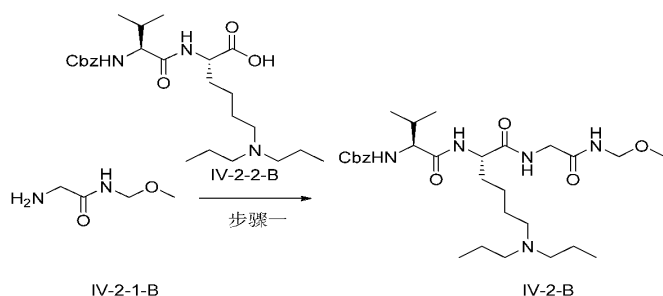
方法二: 将化合物 IV-2-2-A (33.4g, 72.3 mmol) 加入至上步得到的化合物 IV-2-1-A (139.57mmol) 的 DMF 溶液中, 控温-15℃, 加入 DMTMM (23.2 g, 79.6 mmol) 反应 1.5 h。向反应体系中加入 EA (1000 mL), 依次用饱和 NaHCO₃ 水溶液 (300mL*3)、饱和食盐水 (300 mL) 洗涤, 有机相无水硫酸钠干燥, 抽滤, 滤液浓缩干。所得残余物用 MTBE 溶解 (60 mL), 加入至正庚烷 (600 mL) 中, 搅拌析出固体, 抽滤, 滤饼为目标化合物 31.2 g, 收率 75.4%。

LCMS (ESI) [M+H]⁺ = 632.3.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.85 – 8.73 (m, 1H), 8.37 – 8.26 (m, 1H), 8.03 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 7.40-7.32 (m, 6H), 5.10 – 5.01 (m, 2H), 4.73-4.66 (m, 2H), 4.29 – 4.20 (m, 1H), 4.02 (q, J = 9.4 Hz, 2H), 3.93 (dd, J = 13.8, 6.6 Hz, 1H), 3.85 – 3.67 (m, 2H), 2.38-2.32 (m, 6H), 2.02-1.96 (m, 1H), 1.75 – 1.51 (m, 2H), 1.46 – 1.23 (m, 8H), 0.90-0.82(m, 12H).

二、IV-2-B 的合成

((9S, 12S)-9-(4-(二丙氨基)丁基)-13-甲基-5, 8, 11-三氧-2-氧杂-4, 7, 10-三氮杂十四烷-12-基)氨基甲酸苄酯 (IV-2-B) 的合成



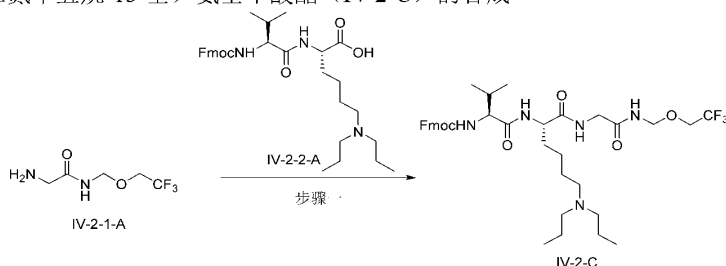
向上步的 IV-2-1-B (43.6 mmol) 的 DMF 溶液中加入 IV-2-2-B (23.6 g, 45.8 mmol, 90%wt), 降至-15℃, 控温-15~-10℃加入 DMTMM 一水合物 (12.9 g, 43.6 mmol), 反应 3h。向反应液中加入 NaHCO₃ 水溶液 (500 mL, 5%wt), EA (200 mL*4) 萃取, 合并有机相, 饱和氯化钠水溶液 (200 mL) 洗涤 1 次, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩干得粗品, 经柱层析纯化 (MeOH/DCM=1%-10%) 得 17.5 g IV-2-B。收率: 71.2%。

LCMS (ESI) $[M+H]^+ = 564.46$

甲酸盐: ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.57 (t, J = 6.6 Hz, 1H), 8.33-8.21 (m, 2H), 8.05 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 7.50-7.15 (m, 6H), 5.11-4.98 (m, 2H), 4.54-4.37 (m, 2H), 4.31-4.14 (m, 1H), 3.96-3.83 (m, 1H), 3.81-3.57 (m, 2H), 3.15 (s, 3H), 2.49 (s, 6H), 2.05-1.10 (m, 11H), 0.93-0.75 (m, 12H).

三、IV-2-C 的合成

(9*H*-芴-9-基)甲基((10*S*, 13*S*)-10-(4-(二丙胺基)丁基)-1,1,1-三氟-14-甲基-6,9,12-三氧代-3-氧基-5,8,11-三氮十五烷-13-基)氨基甲酸酯(IV-2-C)的合成



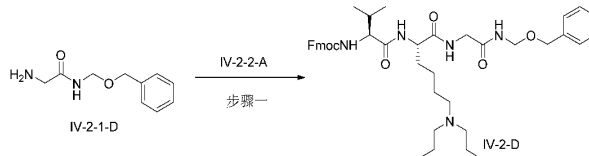
向 IV-2-1-A (139.57 mmol) DMF 溶液中, 加入 IV-2-2-A (70.0 g, 126.88 mmol) 和 DMF (350 mL)。将反应液冷却至 -15℃, 加入 DMTMM (42.13g, 152.26mmol), -10℃ 反应搅拌 2h。将反应液倒入 DCM (2000mL) 中, 有机相用 2%NaHCO₃ 水溶液 (1000mL*3)、水 (1000mL) 和饱和 NaCl 水溶液 (500mL) 洗涤。有机相无水硫酸钠干燥, 滤除不溶物, 浓缩得粗品硅胶柱层析 (洗脱剂: 0-7%MeOH/DCM) 纯化, 得 (9*H*-芴-9-基) 甲基 ((10*S*, 13*S*)-10-(4-(二丙胺基)丁基)-1,1,1-三氟-14-甲基-6,9,12-三氧代-3-氨基-5,8,11-三氮十五烷-13-基) 氨基甲酸酯 (IV-2-C), 70g, 收率 81%。

LCMS (ESI) $[M+H]^+=720.5$

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.78 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.28 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.02 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 7.90-7.88 (m, 2H), 7.72 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.46-7.39 (m, 3H), 7.34-7.30(m, 2H), 4.71-4.62 (m, 2H), 4.30-4.24 (m, 4H), 4.03-3.96 (m, 2H), 3.90-3.86 (m, 1H), 3.80-3.66 (m, 2H), 2.35-2.15 (m, 6H), 1.99-1.94 (m, 1H), 1.66-1.63 (m, 1H), 1.56-1.53 (m, 1H), 1.36-1.26 (m, 8H), 0.89-0.77 (m, 12H)。

四、IV-2-D 的合成

(9*H*-苄-9-基) 甲基 ((9*S*, 12*S*) -9-(4-(二丙胺基) 丁基) -13-甲基-5,8,11-三氧代-1-苯基-2-氧基-4,7,10-三氮十四烷-12-基) 氨基甲酸酯 (IV-2-D) 的合成



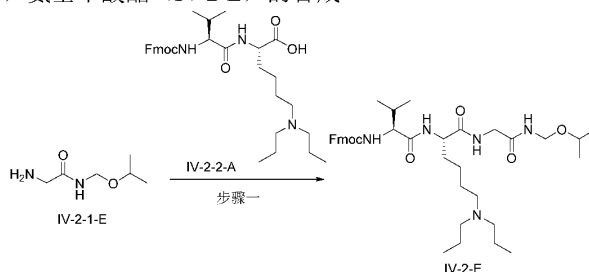
向 IV-2-1-D (0.091mol) 的 DMF 溶液中, 加入 IV-2-2-A (49.3 g, 0.089mmol), 将反应液冷却至 -15℃, 加入 DMTMM(26.9g, 0.091mol), -15℃ 搅拌 2h。将反应液倒入 DCM (720mL) 中, 依次用 2%NaHCO₃ 水溶液 (500mL*2) 和饱和 NaCl 水溶液 (500mL) 洗涤。有机相浓缩, 粗品硅胶柱层析纯化 (洗脱剂: 0-7%MeOH/DCM), 得 (9*H*-苄-9-基) 甲基 ((9*S*, 12*S*) -9-(4-(二丙胺基) 丁基) -13-甲基-5,8,11-三氧代-1-苯基-2-氧基-4,7,10-三氮十四烷-12-基) 氨基甲酸酯 (IV-2-D), 55g, 收率 85%。

LCMS (ESI) [M+H]⁺=728.6

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.69 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H), 8.27(t, *J* = 5.8 Hz, 1H), 8.03 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.93-7.87 (m, 2H), 7.75 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 7.48-7.30 (m, 10H), 4.71-4.56 (m, 2H), 4.47 (s, 2H), 4.30-4.25 (m, 4H), 3.93-3.69(m, 3H), 2.32-2.27 (m, 6H), 2.03-1.98 (m, 1H), 1.71-1.55 (m, 2H), 1.40-1.30 (m, 8H), 0.92-0.80(m, 12H).

五、IV-2-E 的合成

(9*H*-苄-9-基) 甲基 ((10*S*, 13*S*) -10-(4-(二丙胺基) 丁基) -2, 14-二甲基-6,9,12-三氧代-3-氧基-5,8,11-三氮十五烷-13-基) 氨基甲酸酯 (IV-2-E) 的合成



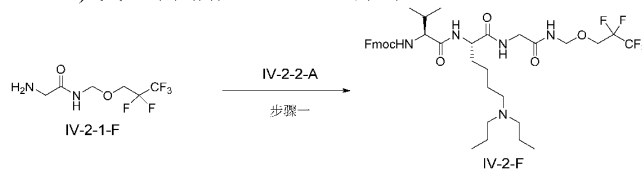
向 IV-2-1-E (59.83mmol) 的 DMF 溶液中, 加入 IV-2-2-A (30.0 g, 54.38mol)。将反应液冷却至 -15℃, 加入 DMTMM(18.0g, 65.26mmol), -10℃ 反应搅拌 2h。将反应液倒入 DCM (1L)。有机相依次用 2%NaHCO₃ 水溶液 (500mL*3)、水 (500mL) 和饱和 NaCl 水溶液 (500mL) 洗涤。有机相浓缩, 粗品经硅胶柱层析 (洗脱剂: 0-7%MeOH/DCM), 得目标产物 IV-2-E, 30.0g, 收率 81%。

LCMS (ESI) [M+H]⁺ = 680.5

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.54 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.27 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.08 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.90-7.88 (m, 2H), 7.75-7.73 (m, 2H), 7.46-7.40 (m, 3H), 7.34-7.30(m, 2H), 4.56-4.52 (m, 2H), 4.34-4.19 (m, 4H), 3.91-3.87 (m, 1H), 3.71-3.63 (m, 3H), 3.00-2.75 (m, 6H), 2.02-1.97 (m, 1H), 1.75-1.54 (m, 8H), 1.37-1.24 (m, 2H), 1.06-1.04 (m, 6H), 0.93-0.77 (m, 12H)。

六、IV-2-F 的合成

(9H-芴-9-基)甲基 ((11S,14S)-11-(4-(二丙氨基)丁基)-1,1,1,2,2-五氟-15-甲基-7,10,13-三氧代-4-氧杂-6,9,12-三氮杂十六烷-14-基) 氨基甲酸酯 (IV-2-F) 的合成



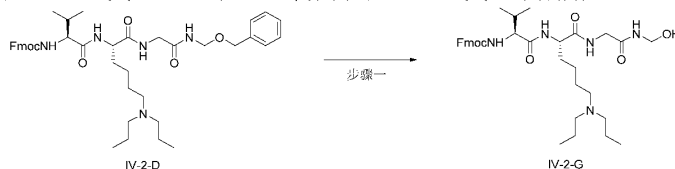
向 IV-2-1-F (1.00mmol) 的溶液中加入 IV-2-2-A (500.0mg, 0.91mmol)。将反应液冷却至-15℃, 加入 DMTMM(300.0mg, 1.09mmol), -10℃反应搅拌 2h。将反应液倒入 DCM (50mL)。有机相依次用 2%NaHCO₃ 水溶液 (20mL*3)、水 (10mL) 和饱和 NaCl 水溶液 (10mL) 洗涤。有机相浓缩, 粗品经硅胶柱层析 (洗脱剂: 0-7%MeOH/DCM), 得目标产物 (IV-2-F), 440.0mg, 收率 67%。

LCMS (ESI) [M+H]⁺ = 770.48

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.79 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.27 (t, *J* = 4.0 Hz, 1H), 8.00 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.90-7.88 (m, 2H), 7.73-7.70 (m, 2H), 7.45-7.39 (m, 3H), 7.33-7.30 (m, 2H), 4.71-4.63 (m, 2H), 4.33-4.22 (m, 4H), 4.11-4.04 (m, 2H), 3.90-3.86 (m, 1H), 3.79-3.67 (m, 2H), 2.30-2.20 (m, 6H), 2.01-1.94 (m, 1H), 1.66-1.52 (m, 2H), 1.35-1.23 (m, 8H), 0.86-0.76 (m, 12H).

七、IV-2-G 的合成

制备 (9H-芴-9-基) 甲基 ((S)-1-((S)-6-(二丙氨基)-1-((2-((羟甲基)氨基)-2-氧乙基)氨基)-1-氧代己烷-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基) 氨基甲酸酯 (IV-2-G) 的合成



将 IV-2-D(73mg, 0.10mmol)溶于四氢呋喃(1.4mL)中, 依次加入 10%钯碳(28mg)和 HCl/EA(4mol/L, 25uL), 抽换氢气三次, 在氢气氛围下 25℃搅拌 12h。滤除不溶物, 滤液浓缩, 经 prep-HPLC 纯化(色谱条件: 乙腈/0.05%FA 的水溶液: 5%-40%), 得 IV-3-G 的甲酸盐, 345mg, 收率 54%。

LCMS (ESI) [M+H]⁺=638.4

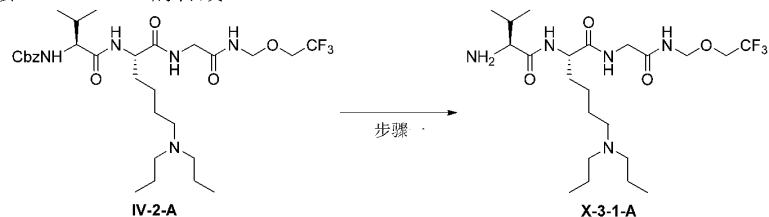
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.09(s, 1H), 8.47-8.46 (m, 1H), 8.24-8.23 (m, 1H), 8.12-8.08 (m, 1H), 7.95-7.72 (m, 2H), 7.78-7.75 (m, 2H), 7.52-7.33 (m, 5H), 4.58-4.50 (m, 3H), 4.36-4.31 (m, 2H), 4.27-4.21 (m, 2H), 3.92-3.89 (m, 1H), 3.72-3.71 (m, 2H), 2.99-2.96 (m, 6H), 2.03-1.98 (m, 1H), 1.74-1.72 (m, 1H), 1.60-1.58 (m, 7H), 1.33 (s, 2H), 0.89-0.90 (m, 12H).

实施例六: X-3-1 的合成

一、X-3-1-A 的合成

路线一: (S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺)-6-(二丙氨基)-N-(2-氧代-2-(((2,2,2-三氟乙氧基)甲基)氨基

基)乙基)己酰胺 (X-3-1-A) 的合成



方法一:

将化合物 IV-2-A (3.4 g, 5.4mmol) 溶解于 34 mL MeOH 中, 加入 680 mg 的 10%Pd(OH)₂/C, 氢气置换后反应过夜。继续补加催化剂 680 mg 的 10%Pd(OH)₂/C 反应 24 h。将反应液过滤后, 滤液减压浓缩, 得目标化合物 X-3-1-A, 2.5 g, 收率 93.5%。

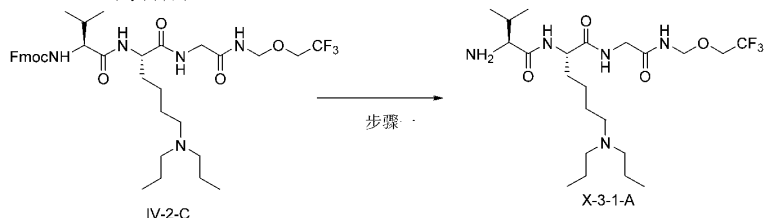
方法二:

将化合物 IV-2-A (4g, 6.3mmol) 溶解于 100mL 甲醇中, 通过全自动微反应加氢仪, 采用三氧化二铝负载的氢氧化铝为催化剂, 设定程序: 温度 50℃, 压力 2.5Mpa, 原料液体流速 0.3ml/min, 氢气流速 30ml/min。流出溶液减压浓缩得目标化合物 X-3-1-A, 3.0 g, 收率 95.1%。

LCMS (ESI) [M+H]⁺ = 498.3.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.89 – 8.77 (m, 1H), 8.42 – 8.30 (m, 1H), 8.14 (s, 1H), 4.70 (p, J = 10.3 Hz, 2H), 4.28 (s, 1H), 4.02 (q, J = 9.4 Hz, 2H), 3.80 (dd, J = 15.7, 4.9 Hz, 1H), 3.75 – 3.67 (m, 1H), 3.20 (brs, 2H), 3.11 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 2.35 (dd, J = 14.4, 7.3 Hz, 6H), 2.04 – 1.90 (m, 1H), 1.76 – 1.51 (m, 2H), 1.45 – 1.20 (m, 8H), 0.95 – 0.77 (m, 12H).

路线二: (S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺)-6-(二丙氨基)-N-(2-氧代-2-(((2,2,2-三氟乙氧基)甲基)氨基)乙基)己酰胺 (X-3-1-A) 的合成

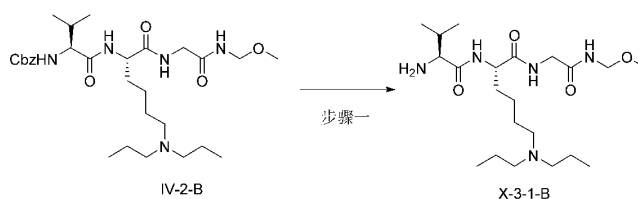


将化合物 IV-2-C (1.7 g, 2.4mmol) 溶于 DMF (10 mL) 中, 加入 DEA (0.5mL), 反应液在 25℃ 下搅拌反应 1h。向反应液加入四氢呋喃 (15mL), 减压浓缩, 此操作重复三次, 得目标化合物 X-3-1-A 的 DMF 溶液, 直接用于下一步反应 (转化率按照 100% 计算)。

LCMS (ESI) [M+H]⁺ = 498.3

二、X-3-1-B 的合成

(S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺)-6-(二丙氨基)-N-(2-((2-甲氧基)氨基)-2-氧代乙基)己酰胺 (X-3-1-B) 的合成



向化合物 IV-2-B (7.0 g, 12.4 mmol) 中加入 MeOH (70 mL), Pd/C (2.1 g, 10%, 55%water), 30°C 反应 48 h, LCMS 监测反应。反应结束后浓缩掉 MeOH, 加入 63 mL ACN, 不纯化直接用于下一步 (按 100%收率计算)。

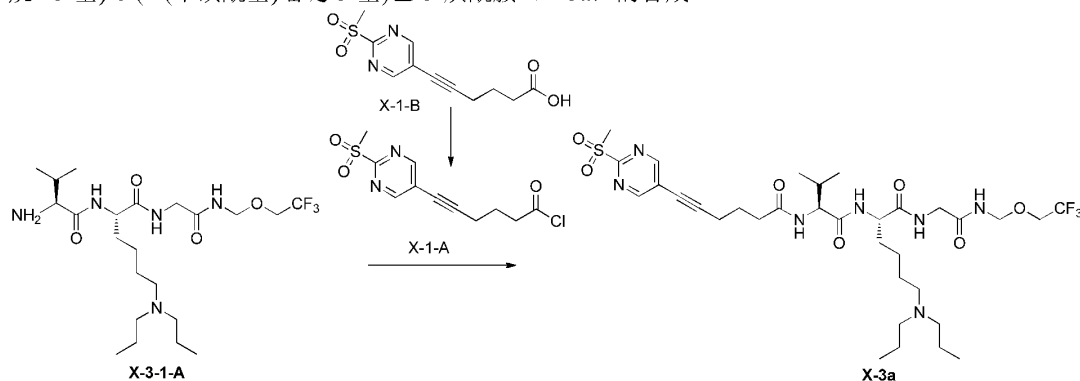
LCMS (ESI) $[M+H]^+ = 430.51$

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.59 (t, $J = 6.6$ Hz, 1H), 8.33 (t, $J = 5.9$ Hz, 1H), 8.21 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 4.52-4.36 (m, 2H), 4.32-4.13 (m, 1H), 3.80-3.57 (m, 2H), 3.18-3.03 (m, 4H), 2.44-2.23 (m, 6H), 2.06-1.91 (m, 1H), 1.76-1.47 (m, 2H), 1.45-1.13 (m, 8H), 0.96-0.71 (m, 12H).

实施例七: X-3 的合成

一、X-3a 的合成

N-((10S,13S)-10-(4-(二丙氨基)丁基)-1,1,1-三氟-14-甲基-6,9,12-三氧代-3-氧杂-5,8,11-三氮杂十五烷-13-基)-6-(2-(甲磺酰基)嘧啶-5-基)己-5-炔酰胺 (X-3a) 的合成



方法一:

氩气保护下, 向反应瓶中依次加入 X-1-B (2.95 g, 11.0 mmol)、DCM (20 mL) 和氯化亚砷 (3.93 g, 33.0 mmol), 室温搅拌 3h。减压蒸除溶剂, 得 X-1-A, 直接用于下一步反应 (转化率按照 100%计算)。

将化合物 X-3-1-A (5.0 g, 10.0 mmol) 溶解于 35 mL 乙腈中, 降温至 10°C, 加入 DIPEA (0.26 g, 2.0 mmol), 滴加化合物 X-1-A (11.0 mmol) 的乙腈 (15 mL) 溶液。反应 1h, 向反应液中加入甲叔醚 (500 mL), 析出固体, 抽滤, 滤饼干燥得目标化合物的盐酸盐, 7.13 g, 收率 91.0%。

方法二:

氩气保护下, 向反应瓶中依次加入 X-1-B (32.2 g, 120 mmol)、DCM (220 mL) 和氯化亚砷 (42.9 g, 360 mmol), 室温搅拌 3h。减压蒸除溶剂, 得 X-1-A, 直接用于下一步反应 (转化率按照 100%计算)。

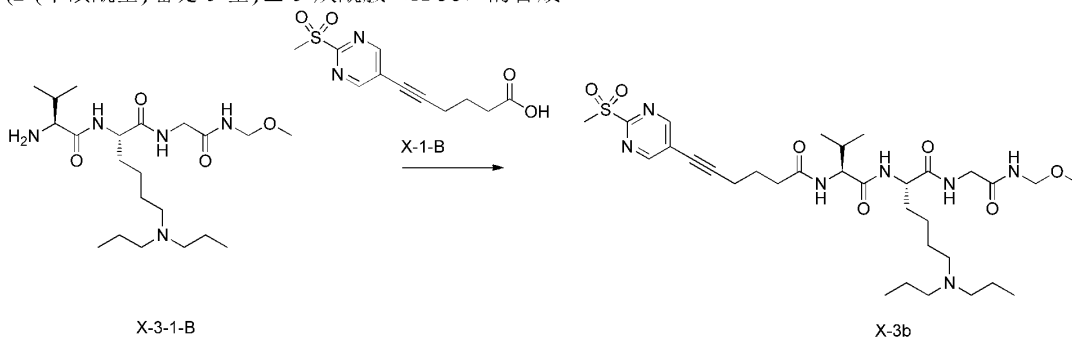
将化合物 X-3-1-A (50.0 g, 100 mmol) 溶解于 350 mL 乙腈中, 降温至 10℃, 加入 DIPEA (3.25 g, 25 mmol), 滴加化合物 X-1-A (由酸与氯化亚砷制备而得, 现制现用) (120 mmol) 的乙腈(150 mL)溶液。反应 1h, 向反应液中加入 2-甲基四氢呋喃(2.1L), 析出固体, 抽滤, 滤饼干燥得目标化合物的盐酸盐, 71.8 g, 收率 91.6%。

LCMS (ESI) $[M+H]^+ = 748.4$

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.15 (s, 2H), 8.78 (t, $J = 6.8$ Hz, 1H), 8.24 (t, $J = 5.8$ Hz, 1H), 8.05 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.95 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 4.75-4.66 (m, 2H), 4.24-4.19 (m, 2H), 4.03 (q, $J = 9.4$ Hz, 2H), 3.78-3.76 (m, 2H), 3.44 (s, 3H), 2.58 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.46-2.29 (m, 8H), 2.03-1.95 (m, 1H), 1.89-1.81 (m, 2H), 1.73-1.66 (m, 1H), 1.62-1.56 (m, 1H), 1.41-1.36 (m, 6H), 1.31-1.25 (m, 2H), 0.89-0.83 (m, 12H).

二、X-3b 的合成

N-((9S,12S)-9-(4-(二丙氨基)丁基)-13-甲基-5,8,11-三氧代-2-氧杂-4,7,10-三氮杂十四烷-12-基)-6-(2-(甲磺酰基)嘧啶-5-基)己-5-炔酰胺 (X-3b) 的合成



向化合物 X-3-1-B(12.4mmol)的 ACN 溶液中加入 DIPEA (321 mg, 2.48 mmol), 待用。

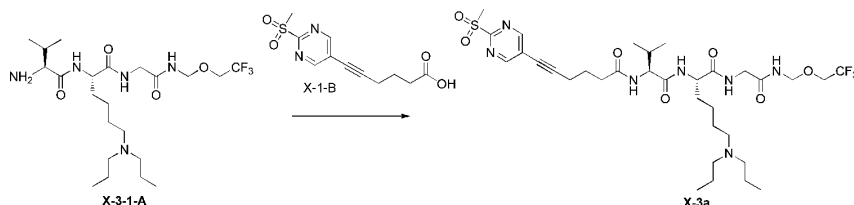
将化合物 X-1-B (3.66 g, 13.6 mmol) 加入二氯甲烷(40 mL) 中, 加入二氯亚砷(4.85 g, 40.8 mmol), 30℃搅拌反应 3.0 h。40℃水浴减压浓缩干, 加入 ACN (7 mL) 溶解, 控温 10~15℃滴加至准备好的化合物 X-3-1-B 的 ACN 溶液中。反应 2h 后, 加入 MTBE (490 mL), 过滤, 干燥, 得化合物 (5.40 g, 7.5 mmol)。收率: 60.5%。

LCMS (ESI) $[M+H]^+ = 680.42$

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.12 (s, 2H), 8.51 (t, $J = 6.6$ Hz, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.19 (t, $J = 5.9$ Hz, 1H), 8.04 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.95 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 4.57-4.35 (m, 2H), 4.25-4.04 (m, 2H), 3.82-3.62 (m, 2H), 3.41 (s, 3H), 3.14 (s, 3H), 2.54 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.43-2.18 (m, 8H), 2.02-1.88 (m, 1H), 1.87-1.73 (m, 2H), 1.72-1.45 (m, 2H), 1.43-1.16 (m, 8H), 0.92-0.73 (m, 12H).

三、X-3a 的合成

N-((10S,13S)-10-(4-(二丙氨基)丁基)-1,1,1-三氟-14-甲基-6,9,12-三氧代-3-氧杂-5,8,11-三氮杂十五烷-13-基)-6-(2-(甲磺酰基)嘧啶-5-基)己-5-炔酰胺 (X-3a) 的合成



25℃下, 向步骤一得到 X-3-1-A 的 DMF 溶液中依次加入 X-1-B (772mg, 2.9 mmol) 和 DMTMM(849mg, 2.9mmol), 继续搅拌反应 1h。反应液经 prep-HPLC 纯化、冻干, 得 *N*-((10*S*,13*S*)-10-(4-(二丙氨基)丁基)-1,1,1-三氟-14-甲基-6,9,12-三氧代-3-氧杂-5,8,11-三氮杂十五烷-13-基)-6-(2-(甲磺酰基)嘧啶-5-基)己-5-炔酰胺 (X-3a), 1.3g, 收率 76.5%。

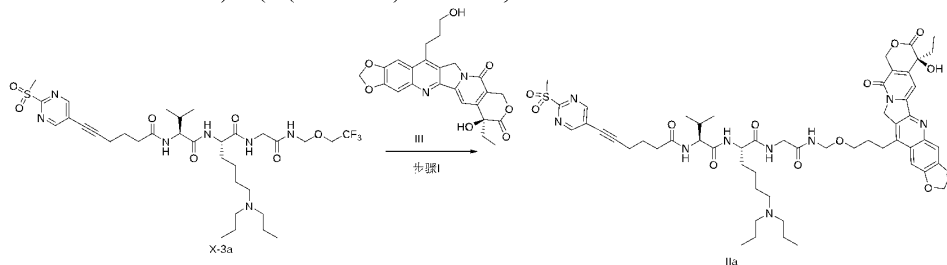
LCMS (ESI) $[M+H]^+ = 748.4$

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.15 (s, 2H), 8.78 (t, $J = 6.8$ Hz, 1H), 8.24 (t, $J = 5.8$ Hz, 1H), 8.05 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.95 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 4.75-4.66 (m, 2H), 4.24-4.19 (m, 2H), 4.03 (q, $J = 9.4$ Hz, 2H), 3.78-3.76 (m, 2H), 3.44 (s, 3H), 2.58 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.46-2.29 (m, 8H), 2.03-1.95 (m, 1H), 1.89-1.81 (m, 2H), 1.73-1.66 (m, 1H), 1.62-1.56 (m, 1H), 1.41-1.36 (m, 6H), 1.31-1.25 (m, 2H), 0.89-0.83 (m, 12H).

实施例八: IIa 的合成

路线一:

N-((11*S*,14*S*)-11-(4-(二丙氨基)丁基)-1-((*S*)-7-乙基-7-羟基-8,11-二氧代-7,8,11,13-四氢-10*H*-[1,3]二氧杂环戊烷并[4,5-*g*]吡喃并[3',4':6,7]咪唑并[1,2-*b*]喹啉-14-基)-15-甲基-7,10,13-三氧代-4-氧杂-6,9,12-三氮杂十六烷-14-基)-6-(2-(甲磺酰基)嘧啶-5-基)己-5-炔酰胺 (IIa) 的合成



方法 1: 室温下, 将化合物 III (2.0 g, 4.4 mmol) 溶于干燥的 DMF (10mL) 中, 加入 HCl 的 DMF 溶液 (3.3 mL, 4.02 mol/L), 搅拌至溶解。加入步骤八得到的 X-3a 的盐酸盐 (6.97 g, 8.8 mmol), 氮气保护下, 室温搅拌反应 3h。向反应液加入 DCM (72 mL), 加入乙腈/水混合溶液 (72 mL, v:v=30:70), 分液, 分别收集水相及有机相。有机相用 2%碳酸氢钠水溶液 (72 mL) 洗涤; 合并两次水相, 用 DCM (72 mL*2) 萃取两次。合并三次有机相, 依次用纯水 (72 mL) 和饱和食盐水 (72 mL) 洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤。滤液在 -20℃ 静置 12h, 滤除不溶物, 滤液浓缩得粗品。粗品经制备 HPLC 分离纯化, 得目标产物 IIa 的甲酸盐, 2.5g, 收率 51.2%。

LCMS (ESI) $[M+H]^+ = 1098.7$

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.10 (s, 2H), 8.59 (t, $J = 6.6$ Hz, 1H), 8.25 – 8.14 (m, 2H), 8.02 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.93 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.24 (s, 1H), 6.28 (s, 2H), 5.42 (d, $J = 2.2$ Hz,

2H), 5.23 (s, 2H), 4.66 – 4.52 (m, 2H), 4.26 – 4.11 (m, 2H), 3.80 – 3.64 (m, 2H), 3.49 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 3.40 (s, 3H), 3.15-3.06 (m, 2H), 2.54 (d, J = 7.3 Hz, 2H), 2.44 – 2.25 (m, 8H), 1.99 – 1.77 (m, 7H), 1.73 – 1.45 (m, 2H), 1.39 – 1.20 (m, 8H), 0.89 – 0.77 (m, 15H).

方法 2: 向化合物 III(10.0 g, 22.2mmol)和 X-3a 的盐酸盐 (35.0 g, 44.4mmol)的固体中加入甲苯 200 mL, 采用分水器 110℃搅拌回流除水 2.0h; 旋蒸除去甲苯; 加入 60mL DMF, 再加入三氟化硼乙醚 (9.5 g, 66.6 mmol), 30℃搅拌反应 16h。向反应液中加入 360mL DCM, 搅拌稀释; 用 (2%碳酸氢钠: 饱和食盐水=7:3)300mL*2、(水: 饱和食盐水=7:3) 300mL 洗涤, 有机相干燥, 过滤浓缩至干得粗品, 粗品经 prep-HPLC 分离纯化, 得目标产物 IIa 的甲酸盐, 16.7 g, 收率 68.3%。

LCMS (ESI) $[M+H]^+ = 1098.7$

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.09 (s, 2H), 8.57 (t, J = 6.6 Hz, 1H), 8.22-8.12 (m, 2H), 7.99 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 7.91 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.24 (s, 1H), 6.45 (s, 1H), 6.28 (s, 2H), 5.42 (d, J = 3.1 Hz, 2H), 5.23 (s, 2H), 4.58 (q, J = 10.2, 8.3 Hz, 2H), 4.26-4.11 (m, 2H), 3.81-3.64 (m, 2H), 3.50 (t, J = 6.1 Hz, 2H), 3.40 (s, 3H), 3.10 (t, J = 8.1 Hz, 2H), 2.54 (d, J = 7.1 Hz, 2H), 2.42-2.25 (m, 8H), 2.00-1.74 (m, 7H), 1.70-1.48 (m, 2H), 1.40-1.22 (m, 8H), 0.91 -0.74 (m, 15H)。

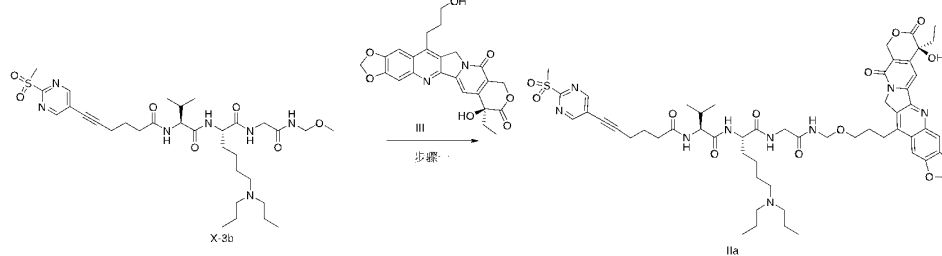
方法 3: 向化合物 III (10.0 g, 22.2mmol)和 X-3a 的盐酸盐 (35.0 g, 44.4 mmol)的固体中加入甲苯 200 mL, 采用分水器 110℃搅拌回流除水 2.0h; 旋蒸除去甲苯; 加入 60 mL NMP, 120℃搅拌反应 5h。将反应液冷却至室温, 滴加至 360mL EA 中, 搅拌 1h 抽滤, 滤饼经柱层析纯化 (MeOH/DCM=1%~20%) 得目标产物 I 的盐酸盐, 16.4 g, 收率 67.2%。

LCMS (ESI) $[M+H]^+ = 1098.7$

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.81 (s, 1H), 9.11 (s, 2H), 8.65 (t, J = 6.6 Hz, 1H), 8.23 (t, J = 5.8 Hz, 1H), 8.10 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 7.97 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.24 (s, 1H), 6.49 (s, 1H), 6.28 (d, J = 1.8 Hz, 2H), 5.42 (s, 2H), 5.22 (s, 2H), 4.65 – 4.52 (m, 2H), 4.25 (q, J = 7.3 Hz, 1H), 4.15 (dd, J = 8.5, 6.8 Hz, 1H), 3.74 (d, J = 5.9 Hz, 2H), 3.49 (t, J = 6.1 Hz, 2H), 3.40 (s, 3H), 3.13 – 3.03 (m, 2H), 2.95 (dt, J = 11.5, 5.0 Hz, 6H), 2.54 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 2.36 (dq, J = 24.7, 7.4 Hz, 2H), 2.04 – 1.54 (m, 15H), 1.37 – 1.25 (m, 2H), 0.94 – 0.72 (m, 15H)。

路线二:

(*N*-((1*S*,14*S*)-11-(4-(二丙基氨基)丁基)-1-((*S*)-7-乙基-7-羟基-8,11-二氧代-7,8,11,13-四氢-10*H*-[1,3]二氧杂环戊烷并[4,5-*g*]吡喃并[3',4':6,7]吡啶啉并[1,2-*b*]喹啉-14-基)-15-甲基-7,10,13-三氧代-4-氧杂-6,9,12-三氮杂十六烷-14-基)-6-(2-(甲磺酰基)嘧啶-5-基)己-5-炔酰胺 (IIa) 的合成



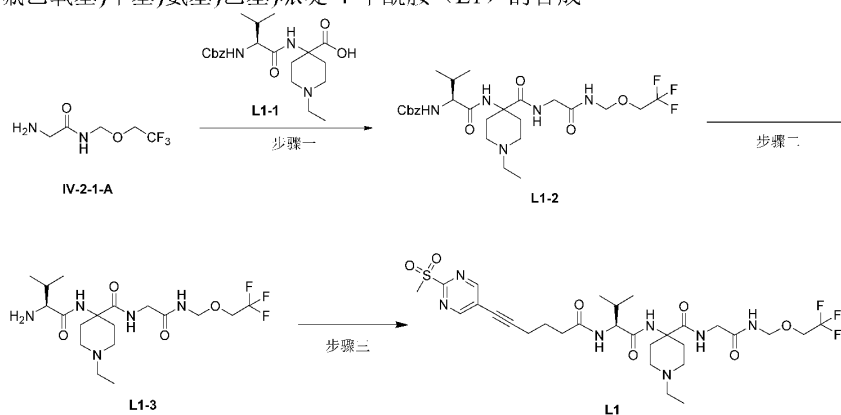
向 X-3b (816 mg, 1.2 mmol) 中加入 DMF (1.35 mL), 加入 III (300 mg, 90% 纯度, 0.6 mmol), HCl-DMF (4 mol/L, 0.45 mL), 30 °C 反应 3 h。向反应液中加入 DCM (12 mL), 加入乙腈/水混合溶液 (12 mL, v:v=30:70), 分液, 分别收集水相及有机相。有机相用 2% 碳酸氢钠水溶液 (12 mL) 洗涤; 合并两次水相, 用 DCM (12 mL*2) 萃取两次。合并三次有机相, 依次用纯水 (12 mL) 和饱和食盐水 (12 mL) 洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得粗品。粗品经制备 HPLC 分离纯化, 得目标产物 IIa 的甲酸盐, 347 mg, 收率 50.6%。

LCMS (ESI) $[M+H]^+ = 1098.7$

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.09 (s, 2H), 8.57 (t, $J = 6.6$ Hz, 1H), 8.22-8.12 (m, 2H), 7.99 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.91 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.24 (s, 1H), 6.45 (s, 1H), 6.28 (s, 2H), 5.42 (d, $J = 3.1$ Hz, 2H), 5.23 (s, 2H), 4.58 (q, $J = 10.2, 8.3$ Hz, 2H), 4.26-4.11 (m, 2H), 3.81-3.64 (m, 2H), 3.50 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H), 3.40 (s, 3H), 3.10 (t, $J = 8.1$ Hz, 2H), 2.54 (d, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.42-2.25 (m, 8H), 2.00-1.74 (m, 7H), 1.70-1.48 (m, 2H), 1.40-1.22 (m, 8H), 0.91-0.74 (m, 15H)。

其他 Linker 及药物连接体偶联物的合成

实施例一: (S)-1-乙基-4-(3-甲基-2-(6-(2-(甲磺酰基)嘧啶-5-基)己-5-炔酰胺)丁酰胺)-N-(2-氧代-2-(((2,2,2-三氟乙氧基)甲基)氨基)乙基)哌啶-4-甲酰胺 (L1) 的合成



步骤一:

取 IV-2-1-A (495.85 mg, 2.66 mmol) 的 DMF 溶液 (3 mL), 向其中加入 L1-1 (900 mg, 2.22 mmol)。将反应液冷却至 -15 °C, 加入 DMTMM (785.19 mg, 2.66 mmol), -10 °C 反应搅拌 2 h。将反应液倒入 DCM (200 mL) 中, 有机相依次用 2% NaHCO_3 水溶液 (100 mL*3)、水 (100 mL) 和饱和 NaCl 水溶液 (50 mL) 洗涤。有机相用无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤, 滤液浓缩得粗品, 粗品经硅胶柱层析 (洗脱剂: 0-7% MeOH/DCM) 纯化, 得目标化合物 L1-2 (900 mg)。

LCMS (ESI) $[M+H]^+ = 574.6$.

步骤二:

将化合物 L1-2 (900 mg, 1.57 mmol) 溶于 MeOH (10 mL) 中, 加入 $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (270 mg), 氢气氛围下, 25 °C 搅拌反应过夜。过滤, 滤液浓缩, 得目标化合物 L1-3 (620 mg)。

LCMS (ESI) $[M+H]^+ = 440.2$.

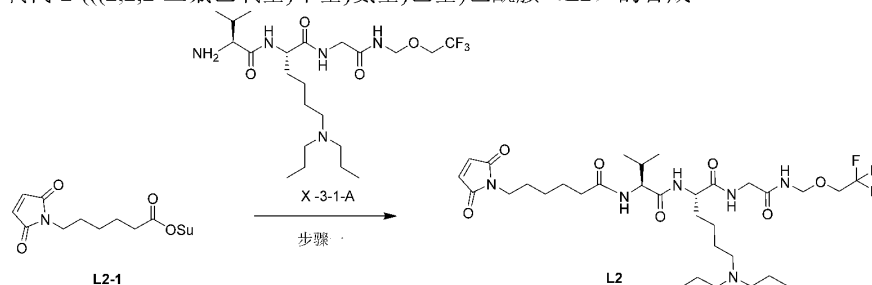
步骤三:

25 °C下, 将 L1-3(200 mg, 0.45 mmol)溶于 DMF (2 mL) 中, 然后依次加入 6-(2-(甲基磺酰基)嘧啶-5-基)己-5-炔酸 (121 mg, 0.45 mmol)和 DMTMM(133 mg, 0.45 mmol), 继续搅拌反应 1 h。反应液经制备 HPLC 纯化, 得目标化合物 L1 (180 mg)。

LCMS (ESI) $[M+H]^+ = 690.4$.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.11 (s, 2H), 8.43 (s, 1H), 8.37 (t, $J = 6.8$ Hz, 1H), 8.18-8.16 (m, 2H), 8.01 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H), 4.71 (dd, $J = 10.3, 7.1$ Hz, 1H), 4.60 (dd, $J = 10.3, 6.4$ Hz, 1H), 4.07-4.11 (m, 1H), 4.03-3.95 (m, 2H), 3.76-3.57 (m, 1H), 3.41 (s, 3H), 2.77-2.67 (m, 2H), 2.58-2.50 (m, 2H), 2.41-2.26 (m, 5H), 2.19-2.03 (m, 3H), 1.99-1.89 (m, 1H), 1.90-1.70 (m, 4H), 0.99 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H), 0.96-0.90 (m, 6H).

实施例二: (S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺)-3-甲基丁酰胺)-6-(二丙氨基)-N-(2-氧代-2-(((2,2,2-三氟乙氧基)甲基)氨基)乙基)己酰胺 (L2) 的合成

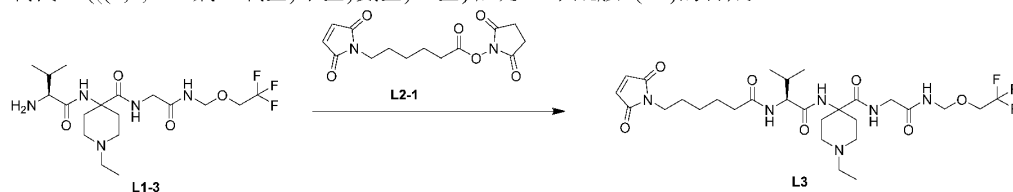


将 L2-1(300 mg, 0.97mmol), X-3-1-A (531 mg, 1.07mmol)加入反应瓶中, 再加入 DMF (5 mL)溶解, 室温下加入 DIPEA (151 mg, 1.16mmol)至混合物中, 室温下继续反应 3 h。反应液加入水(50 mL)和 DCM(20 mL)萃取两次, 合并有机相后。有机相经无水 Na_2SO_4 干燥后, 过滤, 滤液浓缩至 5 mL, 硅胶柱层析 ($\text{MeOH}:\text{DCM}=0\sim 15\%$) 纯化, 得目标化合物 L2 (300 mg)。

LCMS (ESI) $[M+H]^+ = 691.6$;

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.82 (t, $J = 6.8$ Hz, 1H), 8.25 (t, $J = 5.8$ Hz, 1H), 8.06 (t, $J = 9.9$ Hz, 1H), 7.80 (t, $J = 10.7$ Hz, 1H), 7.03 (s, 2H), 4.75-4.65 (m, 2H), 4.31-4.22 (m, 1H), 4.13 (dd, $J = 15.4, 7.3$ Hz, 1H), 4.02 (q, $J = 9.4$ Hz, 2H), 3.82-3.71 (m, 2H), 3.40 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 3.06-2.98 (m, 6H), 2.26-2.06 (m, 2H), 2.03-1.90 (m, 1H), 1.68-1.60 (m, 8H), 1.53-1.48 (m, 3H), 1.37-1.26 (m, 3H), 1.24-1.18 (m, 2H), 0.93 (t, $J = 7.3$ Hz, 6H), 0.85 (t, $J = 7.0$ Hz, 6H).

实施例三: (S)-4-(2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺)-3-甲基丁酰胺)-1-乙基-N-(2-氧代-2-(((2,2,2-三氟乙氧基)甲基)氨基)乙基)哌啶-4-甲酰胺 (L3)的合成。

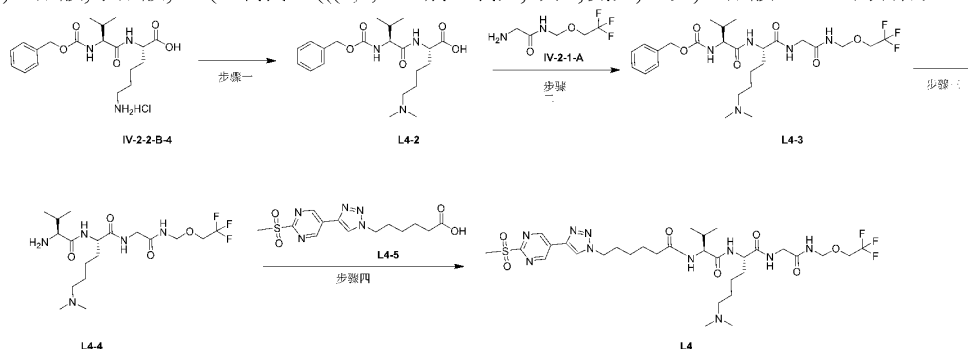


25 °C下, 将 L1-3(200 mg, 0.46 mmol)溶于 DMF (2 mL) 中, 然后依次加入 L2-1 (170 mg, 0.55 mmol)和 DIPEA(71 mg, 0.55 mmol), 加毕, 室温搅拌反应 1 h; LC-MS 监测反应; 反应液经制备高效液相色谱(乙腈: H₂O 含 0.05%FA=5%-50%)纯化, 得目标化合物 INT4 (200 mg)。

LCMS (ESI) [M+H]⁺ = 633.45.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.42 (s, 1H), 8.35 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H), 8.22 (s, 1H), 8.13-8.02 (m, 2H), 7.03 (s, 2H), 4.73 (dd, *J* = 10.3, 7.1 Hz, 1H), 4.62 (dd, *J* = 10.3, 6.4 Hz, 1H), 4.10-3.98 (m, 3H), 3.76-3.70 (m, 2H), 3.63-3.58 (m, 1H), 3.41-3.37 (m, 2H), 2.74- 2.71 (m, 2H), 2.36 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.30-2.04 (m, 6H), 1.98-1.93 (m, 1H), 1.86-1.84 (m, 1H), 1.53-1.43 (m, 4H), 1.25-1.14 (m, 2H), 1.02 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 0.95-0.92 (m, 6H).

实施例四: (S)-6-(二甲基氨基)-2-((S)-3-甲基-2-(6-(4-(2-(甲基磺酰基)嘧啶-5-基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)己酰胺)丁酰胺)-N-(2-氧代-2-(((2,2,2-三氟乙氧基)甲基)氨基)乙基)己酰胺 (L4) 的合成



步骤一:

将化合物 IV-2-2-B-4 (20 g, 48.09 mmol) 溶于四氢呋喃 (200 mL) 中, 搅拌下降温至 5 °C, 取氰基硼氢化钠 (9.07 g, 144.27 mmol) 加入溶液中, 温度升至 10 °C, 然后加入甲醛水溶液 (15.61 g, 192.36 mmol), 反应液移至室温搅拌反应 2 h; HPLC 监测反应; 向反应液中加入浓盐酸 (12 mL) 和水 (20 mL) 淬灭, 并在 30 °C 下搅拌过夜。反应液减压浓缩至无液滴滴下, 加入水 (200 mL)、二氯甲烷 (200 mL)、无水硫酸钠 (60 g), 在 40 °C 下搅拌溶解, 静置, 分液, 水相用二氯甲烷 (200 mL) 萃取, 水相调 pH 至 7, 依次加入二氯甲烷 (200 mL), 饱和氯化钠水溶液 (100 mL), 无水硫酸钠 (90 g) 并溶解完全, 静置, 分液, 水相加入二氯甲烷 (200 mL) 萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 有机相减压浓缩, 得目标化合物 L4-2 (16 g)。

LCMS (ESI) [M+H]⁺ = 408.54.

步骤二:

将化合物 L4-2 (16 g, 28.67 mmol) 溶于化合物 IV-2-1-A(4.85 g, 26.06 mmol)反应液体系中, 降温至-12 °C, 加入 DMTMM (7.21 g, 26.06 mmol), 保持-12 °C 反应 2 h; HPLC 监测反应; 向反应液加入 EA (425 mL), 过滤, 滤液用 2%碳酸氢钠水溶液洗涤 (200 mL*2), 有机相减压浓缩至无液滴滴下, 粗品加入乙腈 (30 mL) 溶解, 将其滴加至 5-10 °C 的柠檬酸 (12.5 g, 65.15 mmol) 水溶液 (300 mL) 中, 搅拌 30 min, 过滤, 滤液用碳酸钠调节 pH 值至 10, 加入 DCM (300 mL) 萃取, 有

机相减压浓缩至无液滴滴下，加入甲基叔丁基醚（45 mL）溶解，滴入至正庚烷（900 mL）中，有大量固体析出，过滤，滤饼干燥，得目标化合物 L4-3（4.3 g）。

LCMS (ESI) $[M+H]^+ = 576.38$.

步骤三：

将化合物 L4-3（800 mg，1.04 mmol）溶于甲醇（8 mL）中，氮气保护下加入氢氧化钡（0.15 g，1.04 mmol），氢气置换三次，在氢气氛围下，室温搅拌过夜。LCMS 监测反应；反应液直接过滤。滤液减压浓缩，得目标化合物 L4-4（460 mg）。

LCMS (ESI) $[M+H]^+ = 442.5$.

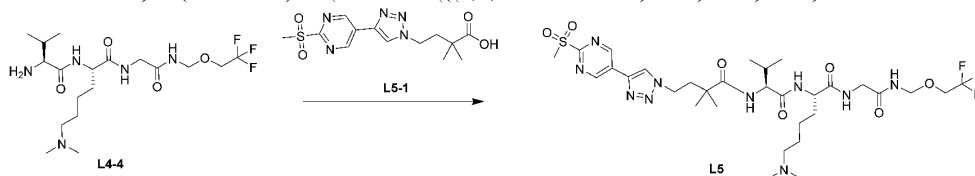
步骤四：

将化合物 L4-4（460 mg，1.05 mmol）溶于 DMF（5 mL）中，加入化合物 L4-5（0.36 g，1.05 mmol），搅拌下降温至 5 °C，一次性加入 DMTMM（0.29 g，1.05 mmol），保持 -12 °C 反应 2 h；LCMS 监测反应；反应液直接经制备高效液相色谱（乙腈：H₂O 含 0.05%FA=5%-50%）纯化，得目标化合物 L4（400 mg）。

LCMS (ESI) $[M+H]^+ = 763.53$.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.48 (s, 2H), 8.94 (s, 1H), 8.76 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H), 8.29-8.15 (m, 2H), 8.00 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.82 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 4.74-4.57 (m, 2H), 4.47 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 4.24-4.09 (m, 2H), 3.99 (q, *J* = 9.4 Hz, 2H), 3.82-3.63 (m, 2H), 3.44 (s, 3H), 2.27-2.08 (m, 10H), 1.92 (m, 2H), 1.73-1.47 (m, 4H), 1.43-1.19 (m, 6H), 0.80 (t, *J* = 7.3 Hz, 6H).

实施例五：(S)-2-((S)-2-(2,2-二甲基-4-(4-(2-(甲基磺酰基)嘧啶-5-基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)丁酰胺)-3-甲基丁酰胺)-6-(二甲氨基)-N-(2-氧代-2-(((2,2,2-三氟乙氧基)甲基)氨基)乙基)己酰胺 (L5) 的合成

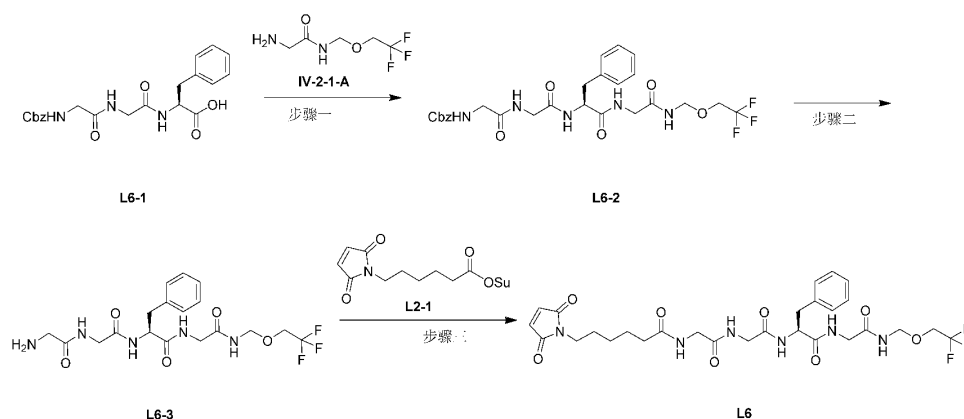


取化合物 L4-4（300 mg，0.68 mmol）溶于 DMF（5 mL）中，加入化合物 L5-1（0.23 g，0.68 mmol），降温至 -12 °C，加入 DMTMM（0.19 g，0.68 mmol），保持 -12 °C 反应 1 h。LCMS 监测反应。反应液直接经制备高效液相色谱（乙腈：H₂O 含 0.05%FA=5%-50%）纯化，得目标化合物 L5（170 mg）。

LCMS (ESI) $[M+H]^+ = 763.55$.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.51 (s, 2H), 8.97 (s, 1H), 8.81 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H), 8.32 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.05 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.45 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 4.68 (m, 2H), 4.51-4.38 (m, 2H), 4.29 (q, *J* = 7.2 Hz, 1H), 4.17 (t, *J* = 8.2 Hz, 1H), 4.01 (q, *J* = 9.4 Hz, 2H), 3.75 (t, *J* = 5.0 Hz, 2H), 3.47 (s, 3H), 2.29-2.01 (m, 10H), 1.78-1.51 (m, 2H), 1.46-1.18 (m, 10H), 0.90 (t, *J* = 6.7 Hz, 6H).

实施例六：(S)-N-(10-苄基-1,1,1-三氟-6,9,12,15-四氧-3-氧杂-5,8,11,14-四氮十六烷-16-基)-6-(2,5-二氧-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺(L6)合成



步骤一:

称量化合物 L6-1 (225.22mg, 1.21 mmol) 加入至单口瓶中, 加入无水 DMF (5 mL) 常温搅拌 5 min 后溶清, 再加入化合物 IV-2-1-A (500 mg, 1.21 mmol), 常温搅拌 5 min 后降温至 -10 °C 搅拌 5 min, 加入 DMTMM (392.25 mg, 1.33 mmol) 至反应液中, 继续 -10 °C 反应 1 h; LCMS 监测反应。反应液加入 DCM (30 mL) 溶解, 加入饱和 NaHCO₃ (30 mL) 水溶液搅拌 5 min, 静置分液, 水相再用 DCM (20 mL) 萃取, 合并有机相, 有机相用水 (50 mL) 洗涤, 减压浓缩至 10 mL 后直接湿法上样柱层析纯化 (MeOH: DCM=0-10%), 得目标化合物 L6-2 (300 mg)。

LCMS (ESI) [M+Na]⁺ = 604.28.

步骤二:

将化合物 L6-2 (300 mg, 0.52 mmol) 溶于甲醇 (10 mL) 中, 氮气保护下加入 Pd/C (73.02 mg, 0.052 mmol), 氢气置换 3 次后, 氢气氛围下反应过夜, LCMS 监测反应。反应液过滤, 滤液减压浓缩, 得目标化合物 L6-3 (210 mg)。

LCMS (ESI) [M+H]⁺ = 448.28.

步骤三:

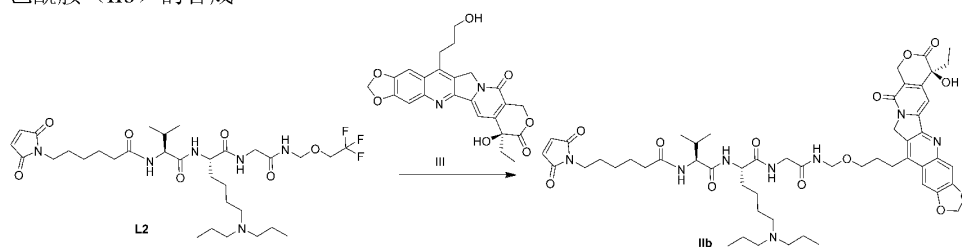
将化合物 L6-3 (210 mg, 0.47 mmol), DIPEA (72.89 mg, 0.56 mmol) 溶于 DMF (2 mL) 中, 加入 L2-1 (144.9 mg, 0.47 mmol), 室温搅拌 3 h; LCMS 监测反应。反应液直接经制备高效液相色谱 (乙腈: H₂O 含 0.05% FA = 5%-50%) 纯化, 得目标化合物 L6 (200 mg)。

LCMS (ESI) [M+Na]⁺ = 663.41.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.71 (t, *J* = 6.7 Hz, 1H), 8.33 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H), 8.14 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.08 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H), 8.01 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H), 7.31-7.18 (m, 5H), 7.02 (s, 2H), 4.71 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 4.56-4.50 (m, 1H), 4.04 (q, *J* = 9.4 Hz, 2H), 3.83-3.59 (m, 6H), 3.40 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.12-3.06 (m, 1H), 2.88-2.80 (m, 1H), 2.14 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 1.57-1.45 (m, 4H), 1.28-1.18 (m, 2H).

实施例七: (S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1*H*-吡咯-1-基)己酰胺)-3-甲基丁酰胺)-6-(二丙胺基)-N-(2-((3-((S)-7-乙基-7-羟基-8,11-二氧代-7,8,11,13-四氢-10*H*-[1,3]二氧

杂环戊烷并[4,5-*g*]吡喃并[3', 4': 6,7]吡啶并[1,2-*b*]喹啉-14-基)丙氧基)甲基)氨基)-2-氧代乙基)己酰胺 (IIb) 的合成



将化合物 L2 (10 mg, 0.022 mmol), 化合物 III (30 mg, 0.044 mmol) 溶于 DMF (0.2 mL) 中, 加入 HCl/DMF (1N, 0.11 mL)。反应液在室温下搅拌反应 3 h。反应液直接经制备高效液相色谱纯化, 得目标化合物 IIb (8 mg)。

LCMS (ESI) $[M/2+H]^+ = 521.7$;

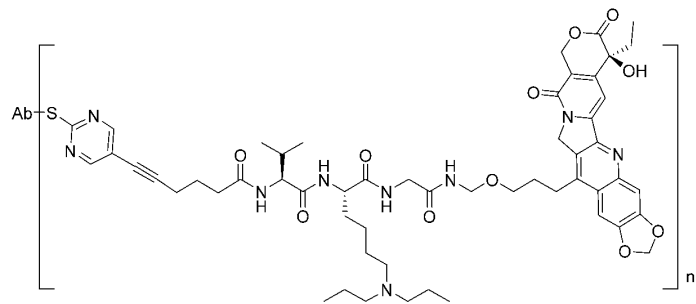
^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.59 (t, $J = 6.4$ Hz, 1H), 8.23 (s, 1H), 8.17 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H), 7.95 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.81 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.27 (s, 1H), 7.01 (s, 2H), 6.50 (s, 1H), 6.31 (s, 2H), 5.50–5.40 (m, 2H), 5.26 (s, 2H), 4.66–4.60 (m, 2H), 4.22 (dd, $J = 13.4, 7.5$ Hz, 1H), 4.14 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 3.80–3.70 (m, 3H), 3.54–3.51 (m, 2H), 3.16–3.11 (m, 2H), 2.38–2.32 (m, 6H), 2.22–2.06 (m, 2H), 1.98–1.85 (m, 5H), 1.72–1.65 (m, 1H), 1.55–1.52 (m, 1H), 1.51–1.45 (m, 4H), 1.40–1.35 (m, 7H), 1.29–1.17 (m, 4H), 0.90 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H), 0.84–0.80 (m, 12H)。

制备 ADC

实施例一: ADC-01 的制备

将 2E3-02 的重链氨基酸序列 (SEQ ID NO:1) 通过密码子优化及基因合成 (上海生工生物技术有限公司), 然后构建到 PTT5 载体上, 命名为 PPT5-02-CH; 将 2E3-02 的轻链氨基酸序列 (SEQ ID NO:2) 通过密码子优化及基因合成 (上海生工生物技术有限公司), 然后构建到 PTT5 载体上, 命名为 PPT5-02-CL; 通过 PEI max 试剂将抗 B7H3 抗体表达质粒 PPT5-02-CH/PTT5-02-CL 共转染 HEK293F 细胞 (ATCC) 进行表达, 37°C 5%CO₂ 摇床表达 7 天, 收集上清液, 通过 ProA 磁珠进行纯化, 获得抗 B7H3 抗体 2E3-02 (其重链序列为 SEQ ID NO:1, 轻链序列为 SEQ ID NO:2)。

取 25ml 2E3-02 抗体 (抗 B7H3, 浓度 28.5mg/ml, 20mM 醋酸缓冲液), 向其中加入 25ml 20mM 醋酸缓冲液稀释, 随后添加 1ml 含有 0.25M EDTA 的水溶液并混匀, 用 0.5M 磷酸氢二钠水溶液调样品 pH 至 7.6 后加入抗体 4.5 倍当量的 20mM TCEP (三 (2-羧乙基) 膦盐酸盐) 溶液并混匀, 室温下反应 90min。最后加入抗体 10 倍当量的溶解在 DMSO 中的 IIa, 混匀后继续室温反应 2h。反应结束后使用 30KDa 的超滤管将样品置换到 pH 为 5.5 的 10mM 组氨酸缓冲液中并去除低分子物质, 最后将样品浓缩以获得含有抗 B7H3 抗体 ADC 组合物的溶液 (ADC-01), 质谱法测定 DAR 值为 7.98。



其中，Ab 为 B7H3 抗体 2E3-02。

测定 DAR 值方法如下：

色谱条件：

色谱柱：PLRP-S，2.1*50mm,5μm；

流动相 A：0.1%FA/H₂O；流动相 B：0.1%FA/ACN

柱温：30℃ 样品室温度：8℃ 流速：0.6 ml/min 进样量：2μl

时间（min）	1	5	5.1	7	10
流动相 A	90	40	10	90	90
流动相 B	10	60	90	10	10

样品处理：取 ADC-01 样品 50 μg，加入 1M DTT 2μl，加超纯水至 50μl 稀释至约 1.0 mg/ml 浓度，混匀，室温还原 30min。

LC/MS 型号：Agilent 1290-6545XT Q-TOF。

质谱条件：Gas temp: 320℃，Drying Gas: Nebulizer : 35 psi；Sheath Gas Temp : 350℃；sheath Gas Flow : 11 l/min；m/z 500~3000。

结果如下所示：

肽链		mAb	DAR1	DAR2	DAR3
LC	理论值	23245	24262.4	25279.8	26297.2
	实测值	23247.41	24265.49	未检出	未检出
HC	理论值	50367	51384.4	52401.8	53419.2
	实测值	未检出	未检出	未检出	53426.64

表中，mAb 表示未偶联的抗体；LC 代表抗体轻链；HC 代表抗体重链；DAR1 代表包含轻链或重链偶联 1 个毒素分子的偶联物；DAR2 代表包含轻链或重链偶联 2 个毒素分子的偶联物；DAR3 代表包含轻链或重链偶联 3 个毒素分子的偶联物；其中，单抗理论分子量以 G0F 糖型计算。下文 mAb、LC、HC、DAR1、DAR2、DAR3 如上说明。

测定 2E3-02 抗体轻链偶联 0~1 个毒素分子（LC，DAR1 比例分别为 1.0%，99.0%）、重链偶联 0~3 个毒素分子（mAb、DAR1、DAR2、DAR3 的比例分别为 0%，0%，0%，100%），由此计算 ADC-01 的抗体-药物偶联比（DAR 值）为 7.98。

ADC 生物活性测试

实施例一：ADC 对 NCI-HT29 移植瘤药效测试

1. 实验材料

受试化合物：ADC-01

实验细胞：NCI-HT29 细胞，购自 ATCC；

实验动物：Balb/c nu 裸小鼠，雌性，5-6 周龄，购自维通利华实验动物有限公司。

2. 实验方案

2.1. 细胞处理

NCI-HT29 细胞用含 10 %FBS 的 1640 培养基培养于 15 cm 直径培养皿，达 80-90 %左右融合度时用胰蛋白酶-EDTA 消化，用 PBS 洗两次，然后离心重悬于预冷 PBS 中，细胞计数仪计数，PBS 稀释使细胞浓度为 $5 \times 10^7/\text{ml}$ 。

2.2. 肿瘤细胞移植

Balb/c nu 小鼠实验室环境适应 2-5 天，于右肋部皮下接种 NCI-HT29 细胞，接种细胞量为 $5 \times 10^6/$ 只，接种体积为 0.2 ml（含 50 % Matrigel），待肿瘤生长至 250 mm³ 左右时，进行实验。

2.3. 动物给药与检测

入组的荷瘤裸鼠，按以下方案给药：

No.	组别	动物数量	给药剂量	给药途径和周期
1	ADC-01	5	3 mg/kg	i.v., QW×3

给药周期结束后，继续观察 1-2 周。最后一次瘤体体积测量后，分离肿瘤，准确称取肿瘤重量并拍照记录。

2.4. 肿瘤体积及体重测定：

每周测量 2 次瘤体体积及体重，计算 TGI%。

肿瘤体积（V）计算公式为： $V = 1/2 \times L_{\text{长}} \times L_{\text{短}}^2$ 。

3. 实验结果

表 1. NCI-HT29 移植瘤模型数据（肿瘤体积 mm³）

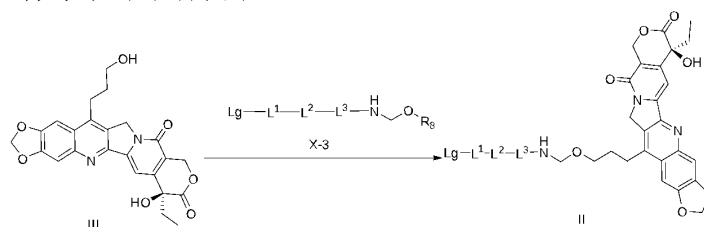
样品 \ 给药后天数	给药后天数					
	1	4	8	11	15	18
ADC-01	243.6	276.0	253.2	414.8	461.8	576.4

结论：如表 1 所示，本申请的 ADC 具有极强的抑制肿瘤的效果。给药期间，各组动物无明显体重下降和明显的药物毒性。

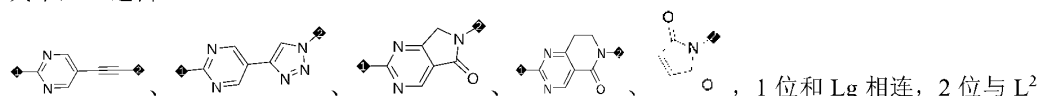
本发明并不局限于前述的具体实施方式。本发明扩展到任何在本说明书中披露的新特征或任何新的组合，以及披露的任一新的方法或过程的步骤或任何新的组合。

权利要求

1、一种式 II 化合物或其盐的制备方法，其特征在于，包括步骤 i) 式 III 化合物或其盐与式 X-3 化合物或其盐反应得到式 II 化合物或其盐，

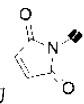


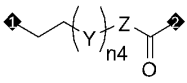
其中， L^1 选自：



相连；

L_g 为和抗体反应时的离去基团； L_g 选自卤素、磺基、三级胺盐基 (Me_3N^+ 、 Et_3N^+)、重氮盐基、 $-OMs$ 、 $MeSO_2-$ 、 CF_3SO_3- ；优选地， L_g 选自 F、Cl、 $MeSO_2-$ ；更优选地， L_g 为 $MeSO_2-$ ；

当 L^1 为  时， L_g 不存在；

L^2 选自 ，1 位与 L^1 相连，2 位与 L^3 相连；

n_4 选自 0-10 之间的任意整数；

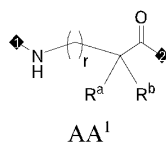
Y 选自 $-CH_2-$ 、 $-OCH_2CH_2-$ ；

Z 选自 CR^mR^n 、 NR^m ；

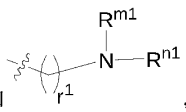
R^m 、 R^n 各自独立地选自 H、氘、C1-4 烷基、C2-4 烯基、C2-4 炔基、C3-6 环烷基、3-6 元杂环基，或者， R^m 与 R^n 和与它们共同相连的碳原子一起，形成 3-6 元碳环或 3-6 元杂环；

L^3 选自 Val-Ala、 AA^1 -Val-Ala、Val- AA^1 -Gly、Ala- AA^1 -Gly、Gly- AA^1 -Gly、Val- AA^1 -Ala、Val- AA^1 -Val、Ala- AA^1 -Ala、Ala- AA^1 -Val、Gly- AA^1 -Ala、Gly- AA^1 -Val、Ala-Ala-Ala、Ala-Ala-Asn、Gly-Gly-Phe-Gly 和 Gly-Gly-Val-Ala；

AA^1 所示氨基酸残基的结构如下所示，



其中：

R^a 、 R^b 各自独立地选自 H 和 ，且 R^a 、 R^b 不同时为 H；

或者, R^a 与 R^b 和与它们共同相连的碳原子一起, 形成 4-10 元杂环, 所述 4-10 元杂环任选地被一个或多个 R^0 所取代;

r 为 0, r^1 为 4;

R^{m1} 、 R^{n1} 各自独立地选自 H、C1-6 烷基、C3-6 环烷基;

或者, R^{m1} 与 R^{n1} 和与它们共同相连的氮原子一起, 形成 4-10 元杂环, 所述 4-10 元杂环任选地被一个或多个 R^0 所取代;

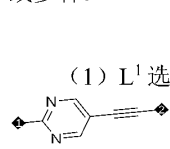
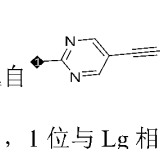
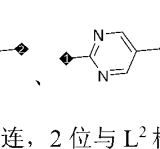
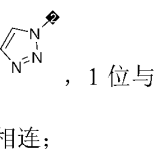
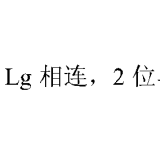
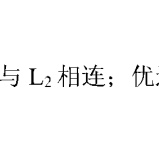
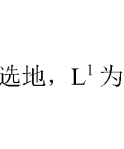
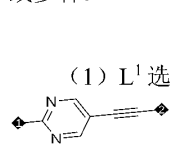
R^0 、 R^0 各自独立地选自 C1-6 烷基、C3-6 环烷基、 $-NR^{m2}R^{n2}$ 和任选被 C1-6 烷基取代的 4-10 元杂环基;

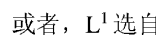
R^{m2} 、 R^{n2} 各自独立地选自 H 和 C1-6 烷基;

R_8 选自氢、C1-30 烷基、C3-7 环烷基、3-20 元杂环基、C1-6 烷基-C3-6 环烷基、C1-6 烷基-4-6 元杂环基、C1-6 烷基-C5-10 杂芳基、C1-6 烷基-C6-10 芳基, 所述烷基、环烷基、杂环基、芳基任选的被一个或多个 R^x 所取代;

R^x 选自氢、氘、氟、氯、溴、甲基、甲氧基、氨基、二甲氨基、硝基、氰基、叠氨基。

2、如权利要求 1 所述的式 II 化合物或其盐的制备方法, 其特征在于, 其满足下述条件中的一种或多种:

(1) L^1 选自 、、、、、、 , 1 位与 L_g 相连, 2 位与 L_2 相连; 优选地, L^1 为  , 1 位与 L_g 相连, 2 位与 L^2 相连;

或者, L^1 选自  , 2 位与 L^2 相连;

(2) Y 为 $-CH_2-$;

(3) n_4 选自 0、1、2、3;

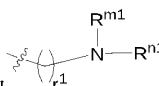
(4) Z 选自 $-CH_2-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 、 $-N(CH_3)-$ 和 $-NH-$;

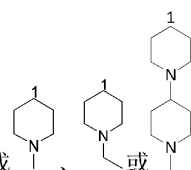
(5) R^m 、 R^n 各自独立地选自 H、C1-4 烷基、C2-4 烯基、C2-4 炔基、C3-6 环烷基、3-6 元杂环基; 或者, R^m 与 R^n 和与它们共同相连的碳原子一起, 形成 3-6 元碳环或 3-6 元杂环;

优选地, R^m 、 R^n 各自独立地选自 H、Me;

(6) L^3 选自 Val-AA¹-Gly、Ala-AA¹-Gly、Gly-AA¹-Gly、Val-AA¹-Ala、Val-AA¹-Val、Ala-AA¹-Ala、Ala-AA¹-Val、Gly-AA¹-Ala、Gly-AA¹-Val、Ala-Ala-Ala、Ala-Ala-Asn 和 Gly-Gly-Phe-Gly;

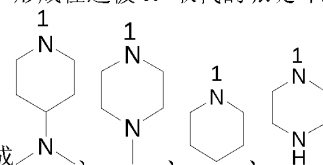
优选地, L^3 选自 Ala-Ala-Ala、Ala-Ala-Asn、Val-AA¹-Gly 和 Gly-Gly-Phe-Gly; 进一步优选地, L^3 为 Val-AA¹-Gly;

(7) R^a 、 R^b 中, 任一个为 H, 另一个为  ; 或者, R^a 与 R^b 和与它们共同相连的碳原子一起, 形成被 R^0 取代的 5-6 元杂环 (优选地, R^a 与 R^b 和与它们共同相连的碳原子一起, 形成被 R^0 取代的哌啶环或哌嗪环; 更优选地, R^a 与 R^b 和与它们共同相连的碳原子一起, 形成被 R^0 取代的哌



啉环；进一步优选地， R^a 与 R^b 和与它们共同相连的碳原子一起，形成、或，1号碳原子为与 R^a 和 R^b 共同相连的碳原子）；

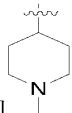
(8) R^{m1} 、 R^{n1} 各自独立地选自H和C1-6烷基（优选地， R^{m1} 、 R^{n1} 各自独立地选自H、甲基、乙基、正丙基和正丁基）；或者， R^{m1} 与 R^{n1} 和与它们共同相连的氮原子一起，形成任选被 R^0 取代的5-6元杂环（优选地， R^{m1} 与 R^{n1} 和与它们共同相连的氮原子一起，形成任选被 R^0 取代的哌啶环或哌嗪



环；更优选地， R^{m1} 与 R^{n1} 和与它们共同相连的氮原子一起，形成、、、，1号氮原子为与 R^{m1} 和 R^{n1} 共同相连的氮原子）；

(9) R^0 、 R^0 各自独立地选自C1-6烷基、 $-NR^{m2}R^{n2}$ 和任选被C1-6烷基取代的5-6元杂环基；

优选地， R^0 选自C1-6烷基和被C1-6烷基取代的5-6元杂环基，所述5-6元杂环基选自哌啶基和哌嗪基；更优选地， R^0 选自甲基、乙基和被甲基取代的5-6元杂环基，所述5-6元杂环基为哌啶基；



进一步优选地， R^0 选自甲基、乙基和；

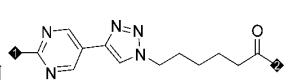
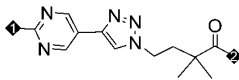
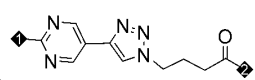
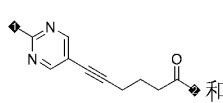
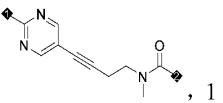
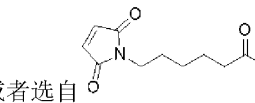
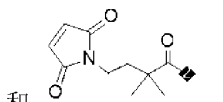
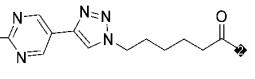
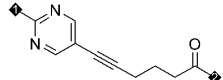
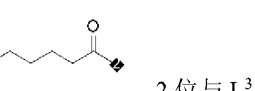
优选地， R^0 选自C1-6烷基和 $-NR^{m2}R^{n2}$ ；更优选地， R^0 选自甲基和 $-NR^{m2}R^{n2}$ ；

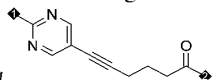
(10) R^{m2} 、 R^{n2} 为甲基；

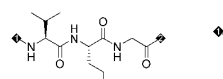
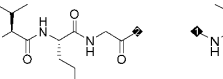
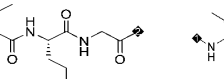
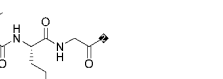
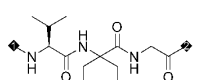
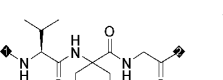
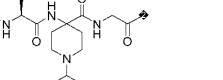
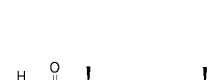
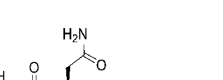
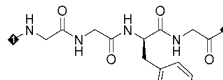
(11) R_8 选自氢、C1-30烷基（例如C1-6烷基）、C1-6烷基-C6-10芳基，所述烷基、芳基任选的被一个或多个 R^x 所取代；和 R^x 选自氢、氟、甲基、甲氧基；优选地， R_8 选自氢、甲基、乙基、异丙基、叔丁基、2,2,2-三氟乙基、2,2,3,3,3-五氟-1-丙基和苄基；更优选地， R_8 选自氢、异丙基、叔丁基、2,2,2-三氟乙基、2,2,3,3,3-五氟-1-丙基和苄基。

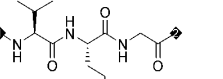
3、如权利要求1所述的式II化合物或其盐的制备方法，其特征在于，其满足下述条件中的一种或多种：

(1) L^1 - L^2 选自、时，1位与 L_g 相连，2位与相连；或者， L^1 - L^2 选自，2位与 L^3 相连；其中， L^2 优选地选自、和，1位和 L^1 相连，2位和 L^3 相连； L^2 更优选地选自和，1位和 L^1 相连，2位和 L^3 相连； L^2 进一步优选地为，1位和 L^1 相连，2位和 L^3 相连；

优选地, L^1 - L^2 选自 , , ,  和 , 1 位与 L_g 相连, 2 位与 L^3 相连; 或者选自  和 , 2 位与 L^3 相连; 更优选地, L^1 - L^2 选自 , , 1 位与 L_g 相连, 2 位与 L^3 相连; 或者, 选自 , 2 位与 L^3 相

连; 例如, L^1 - L^2 为 , 1 位与 L_g 相连, 2 位与 L^3 相连;

(2) L^3 选自 , , , , , , , ,  和 , 1 位与 L^2 相连, 2 位与 NH 相连;

优选地, L^3 为 , 1 位与 L^2 相连, 2 位与 NH 相连。

4、如权利要求 1 所述的式 II 化合物或其盐的制备方法, 其特征在于, 其满足下述条件中的一种或多种:

(1) 在步骤 i) 中, 式 III 化合物或其盐与式 X-3 化合物或其盐经共沸脱水后反应得到式 II 化合物或其盐; 优选地, 在步骤 i) 中, 所述共沸溶剂选自甲苯、二甲苯、氯仿、乙腈、乙酸乙酯、二氯乙烷; 优选甲苯、二甲苯;

(2) 在步骤 i) 中, 式 III 化合物或其盐与式 X-3 化合物或其盐在不加酸条件下得到式 II 化合物或其盐, 所述反应温度选自 110-150°C; 优选 120-130°C;

(3) 在步骤 i) 中, 式 III 化合物或其盐与式 X-3 化合物或其盐在酸性条件下得到式 II 化合物或其盐; 所述反应温度优选选自 0-80°C; 更优选 15-40°C; 进一步优选 20-35°C;

优选地, 在步骤 i) 中, 所述酸为质子酸或非质子酸, 例如氯化氢、氢溴酸、硫酸、三氟化硼乙醚、对甲苯磺酸、对甲苯磺酸吡啶盐、醋酸锌、三氯化铝 ($AlCl_3$)、三氯化铁 ($FeCl_3$)、三氟甲磺酸镱 ($Yb(OTf)_3$) 三乙胺盐、三氟化硼乙腈、三氟化硼四氢呋喃、氯化氢吡啶、溴化氢吡啶; 优选氯

化氢、氢溴酸、硫酸、三氟乙酸、对甲苯磺酸、对甲苯磺酸吡啶盐、醋酸锌、三氯化铝 (AlCl_3)、三氯化铁 (FeCl_3)、三氟化硼乙醚 ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$) 和三氟甲磺酸镱 ($\text{Yb}(\text{OTf})_3$)；又例如氯化氢或三氟化硼乙醚；更优选氯化氢、硫酸；最优选三氟化硼乙醚；

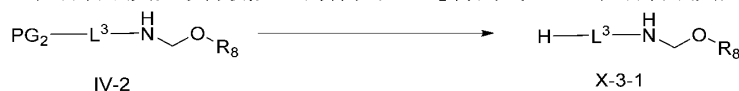
优选地，在步骤 i) 中，式 III 化合物或其盐与反应所选酸的摩尔比选自 1: 0.2-1: 6；优选 1: 2-1: 5；例如 1: 2.5、1: 3 或 1: 5；

(4) 在步骤 i) 中，式 III 化合物或其盐与式 X-3 化合物或其盐的摩尔比选自 1: 1-1: 5；优选 1: 2-1: 3；

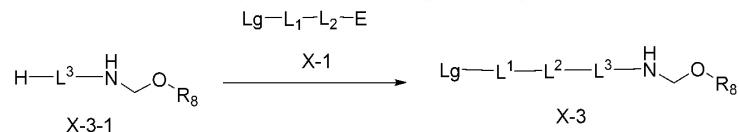
(5) 在步骤 i) 中，反应溶剂选自醚类溶剂、腈类溶剂、酰胺类溶剂、砜类溶剂或水中的其中一种或其任意组合；优选酰胺类或砜类溶剂；更优选 *N,N*-二甲基甲酰胺 (DMF)、*N,N*-二甲基乙酰胺 (DMAc)、*N*-甲基吡咯烷酮 (NMP) 或二甲亚砜 (DMSO)；进一步优选 *N,N*-二甲基甲酰胺；优选地，在步骤 i) 中，式 III 化合物或其盐与所选溶剂的质量体积比 (g/mL) 选自 1: 2-1: 10；优选 1: 2.5-1: 7。

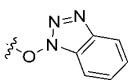
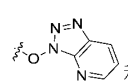
5、如权利要求 1 所述的式 II 化合物或其盐的制备方法，其特征在于，所述的式 II 化合物或其盐的制备方法还进一步包括式 X-3 化合物或其盐的制备方法，其包括以下步骤：

m-1) 式 IV-2 化合物或其盐脱除氨基上的保护基 PG_2 得到式 X-3-1 化合物或其盐；



m-2) 式 X-3-1 化合物或其盐与式 X-1 化合物通过缩合反应得到式 X-3 化合物或其盐；



其中，E 选自羟基、卤素、活化的羟基，如羟基、氯、溴、和；

PG_2 选自氨基保护基；优选地， PG_2 选自苄氧羰基 (Cbz)，叔丁氧羰基 (Boc)，9-苄基甲氧羰基 (Fmoc)，烯丙氧羰基 (Alloc)，三甲基硅乙氧羰基 (Teoc)，甲氧羰基或乙氧羰基；进一步优选地， PG_2 为 9-苄基甲氧羰基 (Fmoc)，或者 PG_2 为苄氧羰基 (Cbz)；

Lg 、 L^1 、 L^2 、 L^3 、 R_8 的定义如权利要求 1-3 中任一方案所述。

6、如权利要求 5 所述的式 II 化合物或其盐的制备方法，其特征在于，其满足下述条件中的一种或多种：

(1) 在步骤 m-1) 中，在酸性条件下脱除，所述酸优选包括质子酸和非质子酸；或者，在碱性条件下脱除，所述碱优选包括有机碱和无机碱；或者，在金属试剂的条件下脱除，所述金属试剂优选自钪类试剂或者钼类试剂，进一步优选自钪碳、钼碳、二氧化钼、氢氧化钪；

优选地，在步骤 m-1) 中，所述 PG_2 为 9-苄基甲氧羰基 (Fmoc) 时，式 IV-2 化合物或其盐在碱性条件下脱除保护基 PG_2 ；所述碱优选选自哌啶、二乙胺、吗啉、DBU；更优选二乙胺；式 IV-2 化合物或其盐与所选碱的摩尔比优选选自 1: 0.2-1: 40；更优选 1: 1-1: 10；

优选地, 在步骤 m-1) 中, 所述 PG₂ 为苄氧羰基 (Cbz) 时, 式 IV-2 化合物或其盐在金属试剂-氢体系下脱除保护基 PG₂; 所述金属试剂为钯类试剂或者铂类试剂, 优选钯碳、铂碳、二氧化铂、氢氧化钯, 例如钯碳、氢氧化钯; 式 IV-2 化合物与金属试剂的质量比优选为 1: 0.01-1, 优选 1: 0.03-0.5, 例如 1: 0.3; 使用的氢气优选为 1atm-50atm; 例如 1-4atm;

(2) 在步骤 m-1) 中, 所述 PG₂ 为 9-苄基甲氧羰基 (Fmoc) 时, 反应溶剂选自 DMF、二氯甲烷、四氢呋喃、1,4-二氧六环; 优选 DMF; 优选地, 式 IV-2 化合物或其盐与所选反应溶剂的质量体积比 (g/mL) 选自 1: 5~1: 50; 优选 1: 6~1: 20;

(3) 在步骤 m-1) 中, 所述 PG₂ 为 9-苄基甲氧羰基 (Fmoc) 时, 反应温度选自 0~50℃; 优选 15~30℃;

(4) 在步骤 m-1) 中, 所述 PG₂ 为苄氧羰基 (Cbz) 时, 反应温度为 0℃-100℃, 优选 20℃-70℃;

(5) 在步骤 m-1) 中, 所述 PG₂ 为苄氧羰基 (Cbz) 时, 反应溶剂选自醇类、醚类、酯类、酰胺类或水中的任何一种或以任意比例混合, 优选甲醇、乙醇、四氢呋喃、乙酸乙酯、DMF、DMAc、NMP 或水, 例如甲醇、四氢呋喃; 式 IV-2 化合物或其盐与所选反应溶剂的质量体积比 (g/mL) 优选选自 1: 3-1: 50; 例如 1: 10-1: 30;

(6) 在步骤 m-2) 中, 式 X-3-1 化合物或其盐和式 X-1 化合物或其盐通过缩合反应得到式 X-3 化合物或其盐;

(7) 在步骤 m-2) 中, 当 E 为羟基时, 在缩合剂的作用下, 在碱性或中性条件下发生反应;

所述缩合剂优选 DMTMM、HATU、HBTU、COMU、N-乙炔基-N-甲基甲磺酰胺; 更优选 DMTMM、HBTU;

所述碱选自有机碱或无机碱, 优选三乙胺、N,N-二异丙基乙胺、N-甲基吗啉; 更优选 N,N-二异丙基乙胺;

式 X-1 化合物或其盐与所述缩合剂的摩尔比优选选自 1: 1-1: 5; 更优选 1: 1-1: 1.5;

(8) 在步骤 m-2) 中, 当 E 为羟基时, 式 X-3-1 化合物或其盐与式 X-1 化合物或其盐的摩尔比选自 1: 0.9-1: 1.2;

(9) 在步骤 m-2) 中, 当 E 为羟基时, 反应溶剂选自 DMF、乙腈、四氢呋喃、甲醇、二氯甲烷和水中的其中一种或其任意组合; 优选 DMF;

(10) 在步骤 m-2) 中, 当 E 为羟基时, 反应温度选自 -20 - 100℃; 例如 -20 - 30℃; 优选 0-30℃;

(11) 在步骤 m-2) 中, 当 E 选自卤素 (例如氯、氟或溴) 时, 式 X-3-1 化合物或其盐和式 X-1 化合物或其盐在碱性条件下反应;

所述碱优选选自三乙胺、N,N-二异丙基乙胺、DBU 和 N-甲基吗啉; 更优选 N,N-二异丙基乙胺;

式 X-1 化合物或其盐与反应所述的碱的摩尔比优选选自 1: 0.1~1: 5; 例如 1: 1~1: 5; 更优选 1: 0.2~1: 1;

(12) 在步骤 m-2) 中, 当 E 为卤素 (例如氯、氟或溴) 时, 式 X-1 化合物或其盐与式 X-3-1 化合物或其盐的摩尔比选自 1: 0.8~1: 2.0; 优选 1: 0.9~1: 1.2;

(13) 在步骤 m-2) 中, 当 E 为卤素 (例如氯、氟或溴) 时, 反应溶剂选自 DMF、四氢呋喃、二

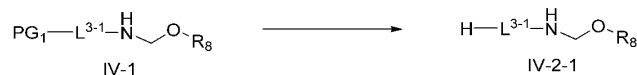
氯甲烷、乙腈中的一种或任意组合；优选乙腈；式 X-1 化合物或其盐与所选反应溶剂的质量体积比 (g/mL) 优选选自 1: 2~1: 50；优选 1: 3~1: 10；

(14) 在步骤 m-2) 中, 当 E 为卤素 (例如氯、氟或溴) 时, 反应温度选自 -20~100℃; 优选 0~30℃。

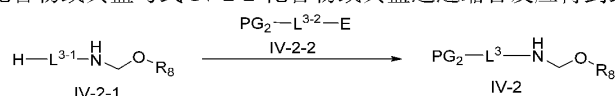
7、如权利要求 5 所述的式 II 化合物或其盐的制备方法, 其特征在于, 所述式 X-3 化合物或其盐的制备方法还进一步包括以下式 IV-2 化合物或其盐的制备方法:

当 R₈ 不为 H 时, 其包括以下步骤:

k-1) 从式 IV-1 化合物或其盐脱除氨基上的保护基 PG₁ 得到式 IV-2-1 化合物或其盐;

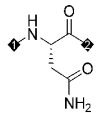


k-2) 式 IV-2-1 化合物或其盐与式 IV-2-2 化合物或其盐通过缩合反应得到式 IV-2 化合物或其盐;



PG₂-L³ 即为 PG₂-L³⁻²-L³⁻¹;

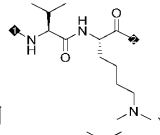
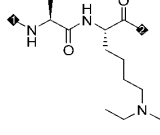
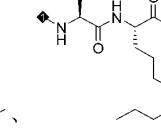
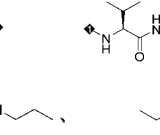
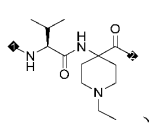
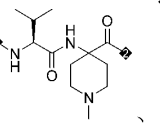
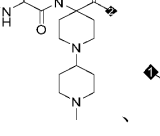
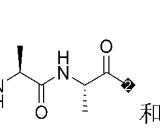
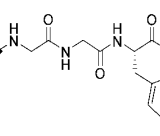
其中,

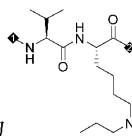
L³⁻¹ 选自氨基酸残基, 所述的氨基酸残基选自  (Gly)、 (Ala)、 (Val)、 (Asn), 1 位与 L³⁻² 相连, 2 位与 NH 相连; 优选地, L³⁻¹ 选自氨基酸残基, 所述的氨基酸残基选自  (Gly)、 (Ala)、 (Val), 1 位与 L³⁻² 相连, 2 位与 NH 相连; 更优选地, L³⁻¹ 为 Gly;

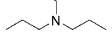
PG₁ 选自氨基保护基; PG₁ 优选选自苄氧羰基 (Cbz), 叔丁氧羰基 (Boc), 9-苄基甲氧羰基 (Fmoc), 烯丙氧羰基 (Alloc), 三甲基硅乙氧羰基 (Teoc), 甲氧羰基或乙氧羰基; 优选地, PG₁ 选自苄氧羰基 (Cbz), 9-苄基甲氧羰基 (Fmoc); 更优选地, PG₁ 为 9-苄基甲氧羰基 (Fmoc); 例如, PG₁ 为苄氧羰基 (Cbz);

L³⁻² 选自 Val、Val-AA¹、Ala-AA¹、Gly-AA¹、Ala-Ala、AA¹-Val、Gly-Gly-Val 和 Gly-Gly-Phe;

优选地, L³⁻² 选自 Val-AA¹、Ala-Ala 和 Gly-Gly-Phe; 例如 L³⁻² 为 Val-AA¹;

具体的, L³⁻² 选自 、、、、、、、 和  , 1 位与 L² 相连,



2 位与 L^{3-1} 相连；更优选地， L^{3-2} 为 ，1 位与 L^2 相连，2 位与 L^{3-1} 相连；

L^3 、 R_8 、 E 的定义如权利要求 1-3 中任一方案所述；

PG_2 的定义如权利要求 5 中任一方案所述。

8、如权利要求 7 所述的式 II 化合物或其盐的制备方法，其特征在于，其满足下述条件中的一种或多种：

(1) 在步骤 k-1) 中，在酸性条件下脱除，所述酸包括质子酸和非质子酸；或者，在碱性条件下脱除，所述碱包括有机碱和无机碱；或者，在金属试剂的条件下脱除，所述金属试剂优选自钯类试剂或者铂类试剂，进一步优选自钯碳、铂碳、二氧化铂、氢氧化钯；

优选地，在步骤 k-1) 中，所述 PG_1 为 9-苄基甲氧羰基 (Fmoc) 时，式 IV-1 化合物或其盐在碱性条件下脱除保护基 PG_1 ；所述碱选自有机碱或无机碱，优选哌啶、二乙胺、吗啉、二异丙胺、DBU、三乙胺和 N,N -二异丙基乙胺；更优选哌啶、二乙胺或吗啉，例如二乙胺、DBU；式 IV-1 化合物或其盐与所选碱的摩尔比优选选自 1: 0.2-1: 40；例如 1: 0.2-1: 2；优选 1: 1-1: 10，例如 1: 0.4；

优选地，在步骤 k-1) 中，所述 PG_1 为苄氧羰基 (Cbz) 时，式 IV-1 化合物或其盐在金属试剂-氢体系下脱除保护基 PG_1 ；所述金属试剂选自钯类试剂或铂类试剂，优选钯碳、铂碳、二氧化铂、氢氧化钯，例如钯碳、氢氧化钯；式 IV-1 化合物与金属试剂的质量比优选为 1: 0.01-1，优选 1: 0.03-0.5，例如 1: 0.05、1: 0.1；使用的氢气优选为 1atm-50atm；

(2) 在步骤 k-1) 中，所述 PG_1 为 9-苄基甲氧羰基 (Fmoc) 时，反应溶剂选自 DMF、DMAc、NMP、二氯甲烷、四氢呋喃、1,4-二氧六环、乙腈中的其中一种或其任意组合，例如 DMF、四氢呋喃；式 IV-1 化合物或其盐与所选反应溶剂的质量体积比 (g/mL) 优选选自 1: 5-1: 50；优选 1: 6-1: 20；

(3) 在步骤 k-1) 中，所述 PG_1 为 9-苄基甲氧羰基 (Fmoc) 时，反应温度选自 0-50℃；优选 15-30℃；

(4) 在步骤 k-1) 中，所述 PG_1 为苄氧羰基 (Cbz) 时，反应温度为 0℃-100℃，优选 20℃-70℃；

(5) 在步骤 k-1) 中，所述 PG_1 为苄氧羰基 (Cbz) 时，反应溶剂选自醇类、醚类、酯类、酰胺类或水中的任意一种或以任意比例混合，优选甲醇、乙醇、四氢呋喃、乙酸乙酯、DMF、DMAc、NMP 或水，例如甲醇、四氢呋喃；式 IV-1 化合物或其盐与所选反应溶剂的质量体积比 (g/mL) 优选选自 1: 3-1: 20；优选 1: 5-1: 10；

(6) 在步骤 k-2) 中，当 E 为羟基时，在缩合剂和/或抗消旋试剂的作用下，在碱性或中性条件下发生反应，优选地，当 E 为羟基时，在缩合剂的作用下，在中性条件下发生反应，

所述缩合剂优选 DMTMM、HATU、HBTU、EDCI、COMU、 N -乙炔基- N -甲基甲磺酰胺、EEDQ 和 T_3P ；更优选 DMTMM、HBTU；

所述抗消旋试剂优选选自 HOAt、HOBt；

所述碱优选选自 DBU、三乙胺、 N,N -二异丙基乙胺、 N -甲基吗啉；

式 IV-2-2 化合物或其盐与所述缩合剂的摩尔比优选选自 1: 1~1: 5; 优选 1: 1~1: 1.5;

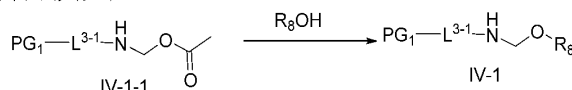
(7) 在步骤 k-2) 中, 当 E 为羟基时, 式 IV-2-1 化合物或其盐与式 IV-2-2 化合物或其盐的摩尔比选自 1: 0.8~1: 3; 优选 1: 0.8~1: 1.2;

(8) 在步骤 k-2) 中, 当 E 为羟基时, 反应溶剂选自 DMF、乙腈、四氢呋喃、甲醇、二氯甲烷和水中的其中一种或其任意组合; 优选 DMF 或四氢呋喃; 式 IV-2-1 化合物或其盐与所选反应溶剂的质量体积比 (g/mL) 优选选自 1: 5~1: 20;

(9) 在步骤 k-2) 中, 当 E 为羟基时, 反应温度选自 -20~100°C; 优选 -15~50°C; 最优选低于 -15°C。

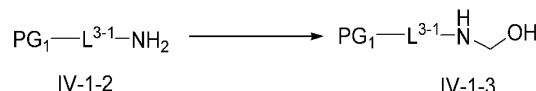
9、如权利要求 7 所述的式 II 化合物或其盐的制备方法, 其特征在于, 所述式 IV-2 化合物或其盐的制备方法还进一步包括以下式 IV-1 化合物或其盐的制备方法:

方法一, 包括步骤 j) 式 IV-1-1 化合物或其盐与式 R₈OH 化合物或其盐在酸性条件下或碱性条件下反应得到式 IV-1 化合物或其盐;

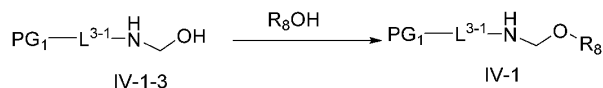


方法二, 其包括以下步骤:

j-1) 从式 IV-1-2 化合物或其盐在水中或碱性条件下与甲醛反应得到式 IV-1-3 化合物或其盐;



j-2) 从式 IV-1-3 化合物或其盐在酸性条件下与式 R₈OH 化合物或其盐反应得到式 IV-1 化合物或其盐;



其中, L³⁻¹、PG₁、R₈的定义如权利要求 7 任一方案所述。

10、如权利要求 9 所述的式 II 化合物或其盐的制备方法, 其特征在于, 其满足下述条件中的一种或多种:

(1) 在步骤 j) 中, 所述酸为质子酸或非质子酸, 优选氯化氢、氢溴酸、硫酸、三氟乙酸、对甲苯磺酸、对甲苯磺酸吡啶盐、醋酸锌、三氯化铝 (AlCl₃)、三氯化铁 (FeCl₃)、三氟化硼乙醚 (BF₃·Et₂O) 和三氟甲磺酸铯 (Yb(OTf)₃); 更优选氯化氢、硫酸、醋酸锌, 例如氯化氢; 在步骤 j) 中, 式 IV-1-1 化合物或其盐与反应所选酸的摩尔比优选选自 1: 0.01~1: 0.2, 例如 1: 0.05;

(2) 在步骤 j) 中, 所述碱为有机碱或无机碱, 优选氢氧化钠、叔丁醇钾、碳酸钾、三乙胺 (Et₃N)、N,N-二异丙基乙胺 (DIPEA) 和吡啶; 优选叔丁醇钾; 式 IV-1-1 化合物或其盐与反应所选碱的摩尔比优选选自 1: 0.9~1: 5;

(3) 在步骤 j) 中, 式 IV-1-1 化合物或其盐与式 R₈OH 化合物或其盐的摩尔比选自 1: 1~1: 20; 优选 1: 2~1: 15;

(4) 在步骤 j) 中, 反应溶剂选自醇类、醚类、卤代烷烃类、芳烃类、腈类、酰胺类或砜类溶剂;

优选异丙醇、苄醇、叔丁醇、2,2,2-三氟乙醇、2,2,3,3,3-五氟-1-丙醇、乙二醇二乙醚、四氢呋喃、1,4-二氧六环、二氯甲烷、1, 2-二氯乙烷、甲苯、乙腈、DMF、DMAc、NMP 或 DMSO；进一步优选异丙醇、苄醇、叔丁醇、2,2,2-三氟乙醇、2,2,3,3,3-五氟-1-丙醇、甲苯、四氢呋喃、乙腈、DMF、DMAc、NMP，例如 2,2,2-三氟乙醇、DMF；式 IV-1-1 化合物或其盐与所选溶剂的质量体积比（g/mL）优选选自 1：2-1：10；优选 1：2.5-1：7；

（5）在步骤 j) 中，反应温度选自 0-120℃，例如 10-50℃；

（6）在步骤 j-1) 中，所述碱选自碳酸钾、碳酸氢钾、磷酸钾、碳酸钠、碳酸氢钠、三乙胺、二异丙基乙基胺，优选碳酸钾；

（7）在步骤 j-1) 中，所述式 IV-1-2 化合物或其盐与碱的摩尔比选自 1：0.05-1：1，优选 1：0.1-1：0.5；

（8）在步骤 j-1) 中，式 IV-1-2 化合物或其盐与甲醛的摩尔比为 1：0.5-1：2.5，优选 1：1-1：2，例如 1：1.8；

（9）在步骤 j-1) 中，式 IV-1-2 化合物或其盐与水的质量体积比（g/mL）优选为 1:3-1:50，优选 1：5-1：20，例如 1：15；

（10）在步骤 j-1) 中，反应温度为 0-80℃，优选 10-50℃；

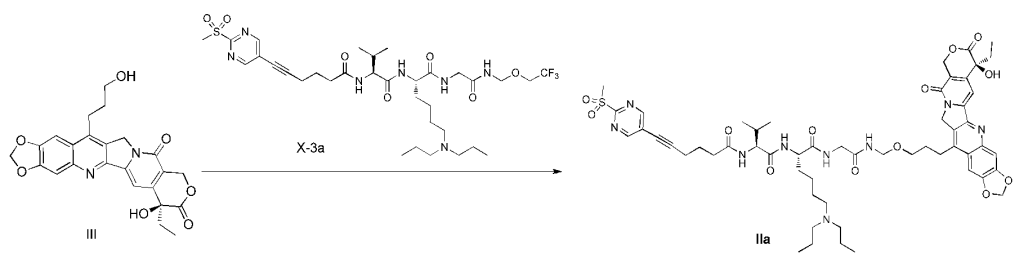
（11）在步骤 j-2) 中，所述酸为质子酸或非质子酸，优选氯化氢、氢溴酸、硫酸、三氟乙酸、对甲苯磺酸、对甲苯磺酸吡啶盐、醋酸锌、三氯化铝（AlCl₃）、三氯化铁（FeCl₃）、三氟化硼乙醚（BF₃•Et₂O）和三氟甲磺酸镱（Yb(OTf)₃）；更优选氯化氢、硫酸、醋酸锌，例如氯化氢；式 IV-1-3 化合物或其盐与反应所选酸的摩尔比优选选自 1：0.01-1：0.2，例如 1：0.05；

（12）在步骤 j-2) 中，式 IV-1-3 化合物或其盐与式 R₃OH 化合物或其盐的摩尔比选自 1：1-1：50；优选 1：2-1：30；

（13）在步骤 j-2) 中，反应溶剂选自醇类、醚类、卤代烷烃类、芳烃类、腈类、酰胺类或砜类溶剂；更优选异丙醇、苄醇、叔丁醇、2,2,2-三氟乙醇、2,2,3,3,3-五氟-1-丙醇、乙二醇二乙醚、四氢呋喃、1,4-二氧六环、二氯甲烷、1, 2-二氯乙烷、甲苯、乙腈、DMF、DMAc、NMP 或 DMSO；进一步优选异丙醇、苄醇、叔丁醇、2,2,2-三氟乙醇、2,2,3,3,3-五氟-1-丙醇、甲苯、四氢呋喃、乙腈、DMF、DMAc、NMP，例如 2,2,2-三氟乙醇、DMF；式 IV-1-3 化合物或其盐与所选溶剂的质量体积比（g/mL）优选选自 1：2-1：10；优选 1：2.5-1：7；

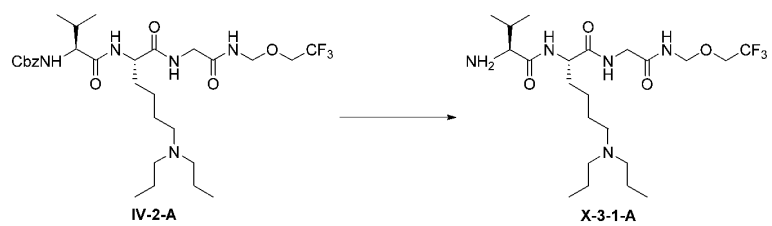
（14）在步骤 j-2) 中，反应温度选自 0-120℃，例如 0-50℃。

11、如权利要求 1 所述的式 II 化合物或其盐的制备方法，其特征在于，所述的式 II 化合物或其盐的制备方法具体包括以下式 IIa 化合物或其盐的制备方法：式 III 化合物或其盐与式 X-3a 化合物或其盐经共沸脱水后反应得到式 IIa 化合物或其盐，

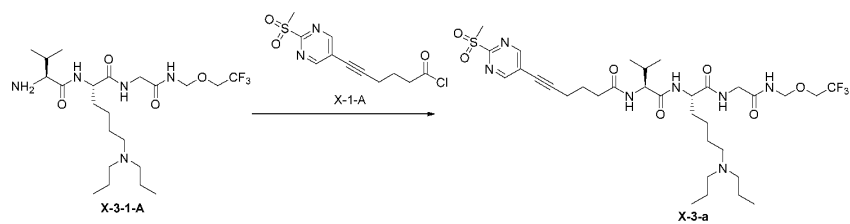


优选地，式 IIa 化合物或其盐的制备方法还包括以下 X-3a 化合物或其盐的制备方法：

步骤 m-1)：式 IV-2-A 化合物或其盐在金属试剂-氢体系下脱除保护基 Cbz 得到式 X-3-1-A 化合物或其盐，

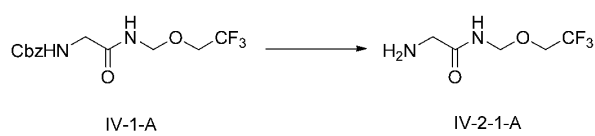


步骤 m-2)：式 X-3-1-A 化合物或其盐与式 X-1-A 化合物在碱性条件下反应得到式 X-3a 化合物或其盐，

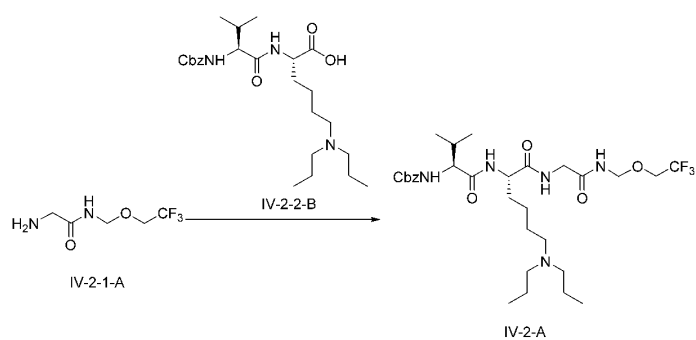


进一步优选地，式 IIa 化合物或其盐的制备方法进一步包括以下式 IV-2a 化合物或其盐的制备方法：

步骤 k-1)：式 IV-1-A 化合物或其盐在金属试剂-氢体系下脱除保护基 Cbz 得到式 IV-2-1-A 化合物或其盐，



步骤 k-2)：式 IV-2-1-A 化合物或其盐与式 IV-2-2-B 化合物或其盐在缩合剂和/或抗消旋试剂的作用下，在碱性或中性条件下发生反应得到式 IV-2-A 化合物或其盐，

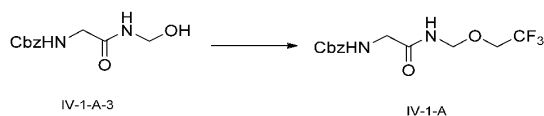


更进一步优选地，式 IIa 化合物或其盐的制备方法进一步包括以下式 IV-1a 化合物或其盐的制备方法：

步骤 j-1)：式 IV-1-A-2 化合物或其盐在水中和碱性条件下与甲醛反应得到 IV-1-A-3 化合物或其盐；

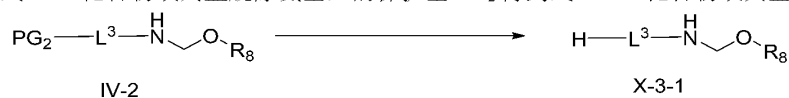


步骤 j-2)：式 IV-1-A-3 化合物或其盐在酸性条件下与 $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{OH}$ 反应得到式 IV-1-A 化合物或其盐；

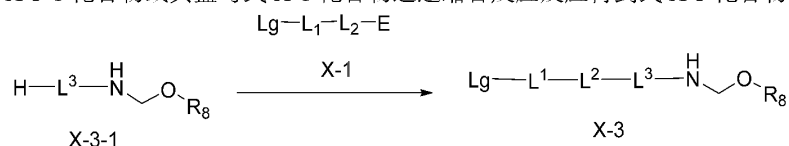


12、一种式 X-3 化合物或其盐的制备方法，其特征在于，其包括以下步骤：

m-1) 从式 IV-2 化合物或其盐脱除氨基上的保护基 PG_2 得到式 X-3-1 化合物或其盐：



m-2) 式 X-3-1 化合物或其盐与式 X-1 化合物通过缩合反应反应得到式 X-3 化合物或其盐；



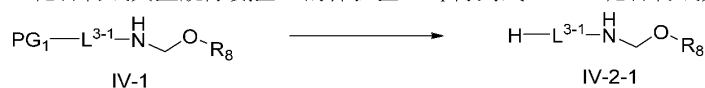
其中，

E、 PG_2 、Lg、 L^1 、 L^2 、 L^3 、 R_8 的定义如权利要求 5 中任一方案所述；

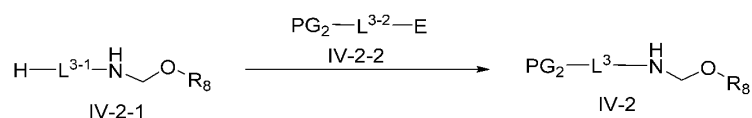
所述式 X-3 化合物或其盐的制备方法的条件和操作如权利要求 5-10 中任一方案所述。

13、一种式 IV-2 化合物或其盐的制备方法，其特征在于，当 R_8 不为 H 时，其包括以下步骤：

k-1) 从式 IV-1 化合物或其盐脱除氨基上的保护基 PG_1 得到式 IV-2-1 化合物或其盐；



k-2) 式 IV-2-1 化合物或其盐与式 IV-2-2 化合物或其盐通过缩合反应得到式 IV-2 化合物或其盐；



其中, PG_2-L^3 即为 $\text{PG}_2-\text{L}^{3-2}-\text{L}^{3-1}$;

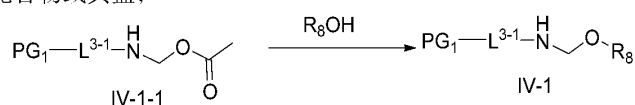
其中,

L^{3-1} 、 L^{3-2} 、 L^3 、 PG_1 、 PG_2 、 R_8 、 E 的定义如权利要求 7 中任一方案所述;

所述式 IV-2 化合物或其盐的制备方法的条件和操作如权利要求 7-10 中任一方案所述。

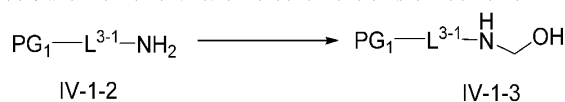
14、一种式 IV-1 化合物或其盐的制备方法, 其特征在于, 其包括以下方法一或方法二:

方法一, 包括步骤 j) 式 IV-1-1 化合物或其盐与式 R_8OH 化合物或其盐在酸性条件下或碱性条件下反应得到式 IV-1 化合物或其盐;

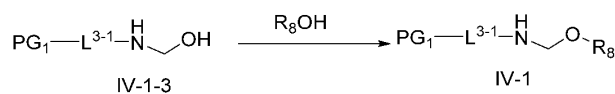


方法二, 其包括以下步骤:

j-1) 从式 IV-1-2 化合物或其盐在水中和碱性条件下与甲醛反应得到式 IV-1-3 化合物或其盐;



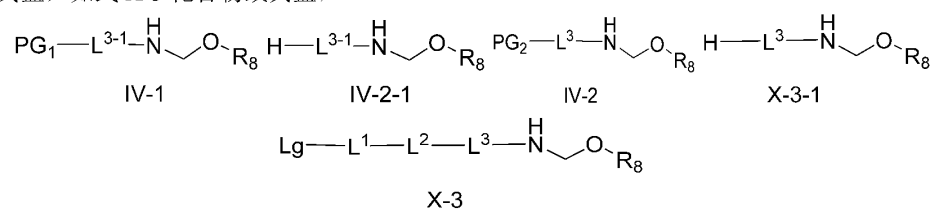
j-2) 从式 IV-1-3 化合物或其盐在酸性条件下与式 R_8OH 化合物或其盐反应得到式 IV-1 化合物或其盐;



其中, L^{3-1} 、 PG_1 、 R_8 的定义如权利要求 9 任一方案所述;

所述式 IV-1 化合物或其盐的制备方法的条件和操作如权利要求 9-10 中任一方案所述。

15、如式 IV-1 化合物或其盐, 如式 IV-2-1 化合物或其盐, 如式 IV-2 化合物或其盐, 如式 X-3-1 化合物或其盐, 如式 X-3 化合物或其盐,



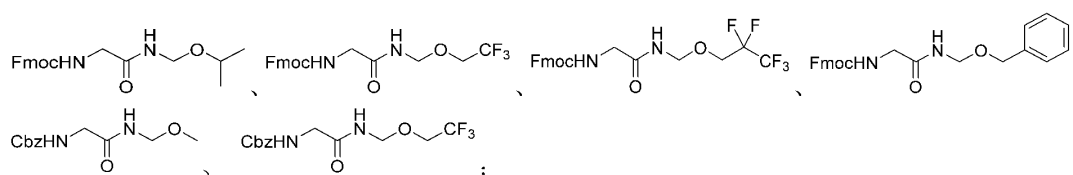
Lg 、 L^1 、 L^2 、 L^3 、 R_8 的定义如权利要求 1-3 中任一方案所述;

PG_2 的定义如权利要求 5 中任一方案所述;

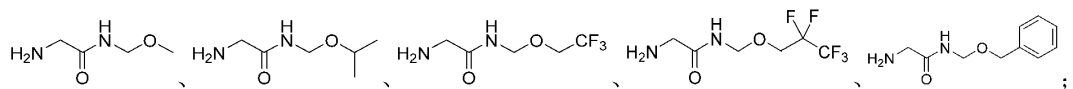
L^{3-1} 、 PG_1 的定义如权利要求 7 中任一方案所述;

优选地,

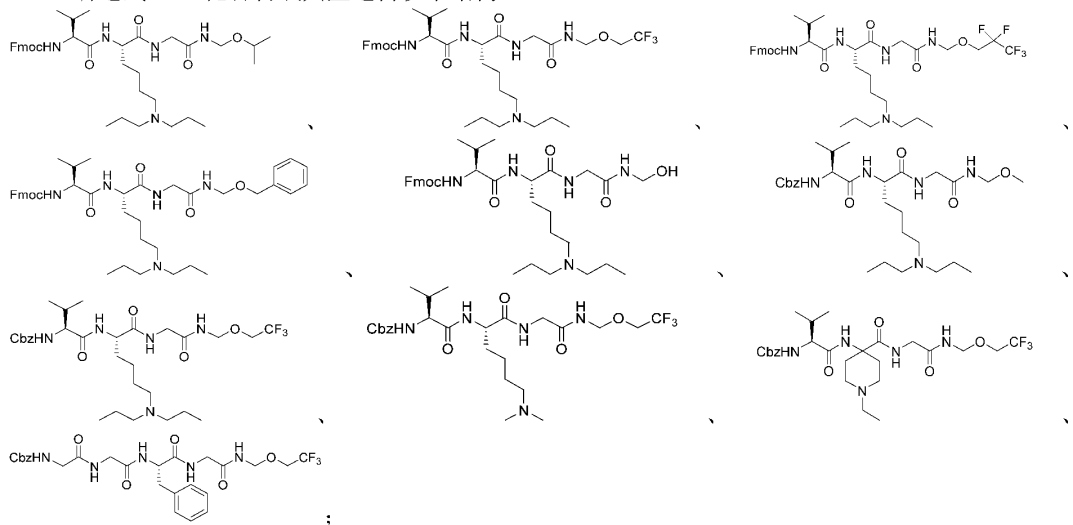
所述式 IV-1 化合物或其盐选自以下结构:



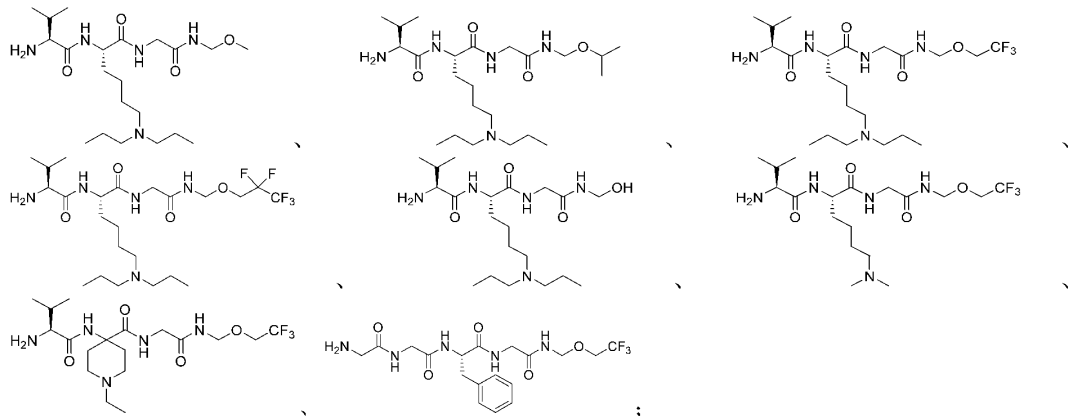
所述式 IV-2-1 化合物或其盐选自以下结构:



所述式 IV-2 化合物或其盐选自以下结构,



所述式 X-3-1 化合物或其盐选自以下结构,



所述式 X-3 化合物或其盐选自以下结构:

