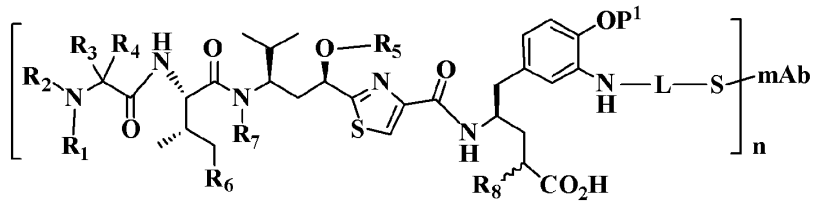
# 权 利 要 求 书

**1.** 一种抗体-Tubulysin B 衍生物（同系物）偶联物，其特征在于，所述偶联物具有如下式(I)所示的结构：



(I)

或者以具有式 I 所示结构为母体的药学上可接受的盐、水合物或水合盐，具有式 I 所示结构的多晶型物，式 I 所示结构的光学异构体，式 I 所示结构的一个或多个氘（$^{2}H$）原子代替氢（$^{1}H$）原子，或式 I 所示结构的一个或多个 $^{13}C$ 原子代替 $^{12}C$ 原子；

其中，$P^1$ 是 H、$COCH_3$、COH、$PO(OH)_2$、$CH_2OPO(OH)_2$、$CONHCH_3$、$CON(CH_3)_2$、$CON(CH_2CH_2)_2NCH_3$、$CON(CH_2CH_3)_2$ 或 $CON(CH_2CH_2)_2CHN(CH_2CH_2)_2CH_2$；

$R_1$、$R_2$、$R_3$ 和 $R_4$ 分别独立地是 H、$C_1$-$C_6$ 烷烃基、$C_1$-$C_6$ 烯烃基、$C_1$-$C_6$ 烷醚基、$C_1$-$C_6$ 烷羰基、$C_1$-$C_6$ 烷酯基、$C_1$-$C_6$ 烷羧基或 $C_1$-$C_6$ 烷酰胺基；

或者，$R_1$ 和 $R_2$ 一起，$R_1$ 和 $R_3$ 一起，$R_2$ 和 $R_3$ 一起，或 $R_3$ 和 $R_4$ 一起构成 $C_2$-$C_7$ 杂环基或 $C_2$-$C_7$ 环烷基结构；

$R_5$ 是 H、O-$C_1$-$C_6$ 烷烃基、C(O)-H、C(O)-$C_1$-$C_6$（直链或支链）烷烃基、C(O)-NH-$C_1$-$C_6$（直链或支链）烷基或 C(O)-N($C_1$-$C_6$（直链或支链）烷基）$_2$；

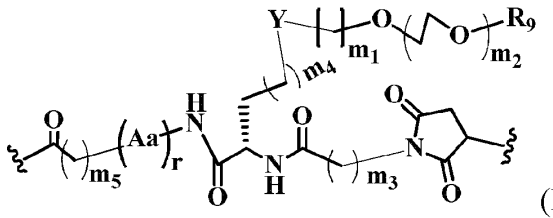
$R_6$、$R_7$ 和 $R_8$ 分别独立地是 H、$C_1$-$C_6$ 烷烃基、$C_1$-$C_6$ 烷醚基、$C_1$-$C_6$ 烷羰基、$C_1$-$C_6$ 烷酯基、$C_1$-$C_6$ 烷羧基或 $C_1$-$C_6$ 烷酰胺基；优选 $R_6$、$R_7$ 和 $R_8$ 分别独立地是 H 或 $CH_3$；

mAb 是抗体、抗体片段、单克隆抗体、多克隆抗体、纳米抗体、前药抗体，或者用合成分子或蛋白进行修饰过的抗体及抗体片段；

L 是含有亲水支链的连接体，其主要构架是 $C_2$-$C_{100}$ 的肽单元(1~12 个天然或非天然氨基酸)、腙键基团、二硫化物基团、酯基团、肟基团、酰胺基团或硫醚键基团构成；

n = 1-30。

**2.** 如权利要求 1 所述的偶联物，其特征在于，L 的结构为：



(Ia),

其中 Aa 是 L-或 D-天然或非天然氨基酸；

r 是 0-12 之间的整数；当 r 不是 0 时，$(Aa)_r$ 是由相同或不同的氨基酸构成的肽单元；

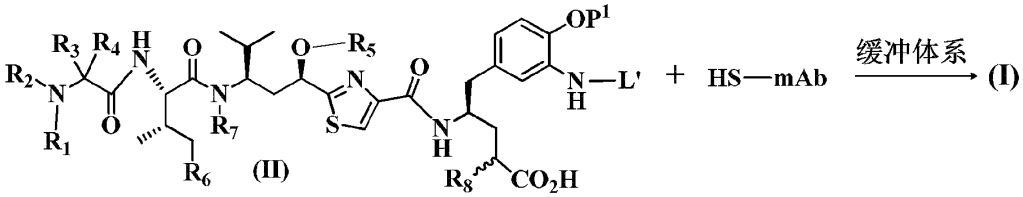
$m_1$ = 1-18 之间的整数；$m_2$ = 1-100 之间的整数；$m_3$ = 1-8 之间的整数；$m_4$ = 0-8 之间的整数；$m_5$ = 1-8 之间的整数；

Y 是 NHC(=O)、$NHS(O_2)$、NH(SO)、$NHS(O_2)NH$、NHP(O)(OH)NH 或 C(O)NH；

$R_9$ 是 H、$(O=)CR_1$、$(O=)CNHR_1$、$R_1COOH$、$R_1(COCH_2NH)_{m2}H$、$R_1(Aa)_r$ 或 $R_1(COCH_2NCH_3)_{m2}H$，以及

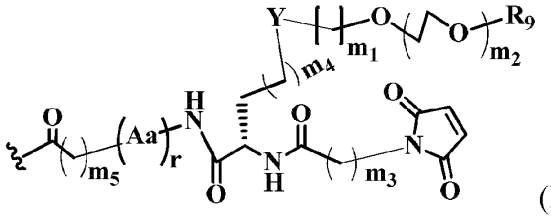
$R_1$、$m_2$ 和 $(Aa)_r$ 定义如权利要求 1 和上述定义所述。

**3.** 如权利要求 1-2 中任一项所述的偶联物，其特征在于，所述偶联物的合成包括下列步骤中的一种或多种：



其中结构式(II)中的 $P^1$、“〰”、$R_1$、$R_2$、$R_3$、$R_4$、$R_5$、$R_6$、$R_7$ 和 $R_8$ 以及 mAb 如权利要求 1-2 中任一项所述；

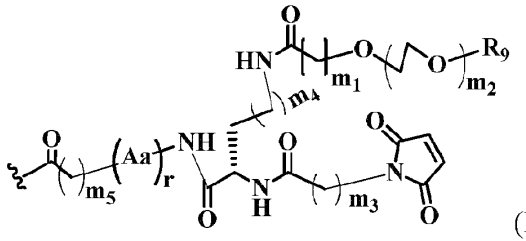
L’的结构为：



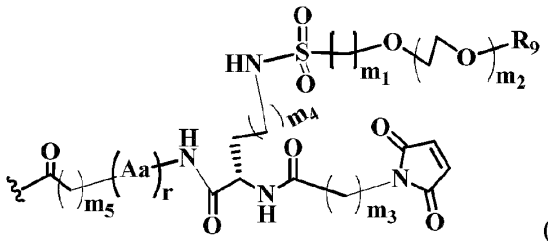
(II-0)

其中 $m_1$、$m_2$、$m_3$、$m_4$、$m_5$、Aa、r 和 $R_9$ 如权利要求 1-2 中任一项所述。

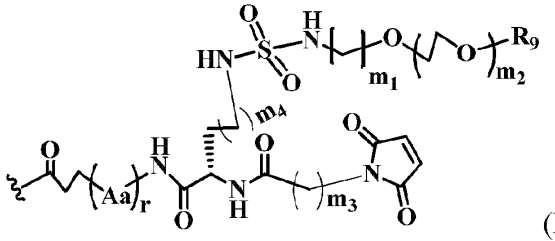
**4.** 如权利要求 3 所述的偶联物，其特征在于，L’的结构为：



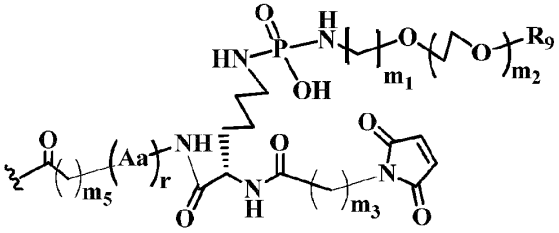
(II-1)、



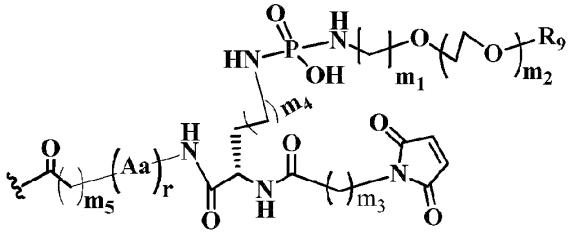
(II-2)、



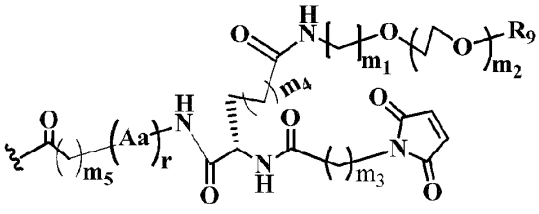
(II-3)、



(II-4)、



(II-5)或



(II-6)；

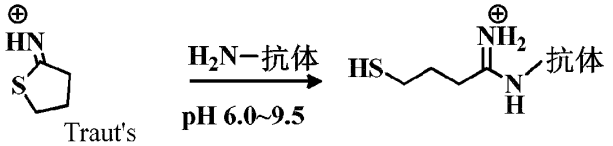
其中 $m_1$、$m_2$、$m_3$、$m_4$、$m_5$、Aa、r 和 $R_9$ 如权利要求 1-2 中任一项所述。

**5.** 如权利要求 3-4 中任一项所述的偶联物，其特征在于，mAb-SH 的制

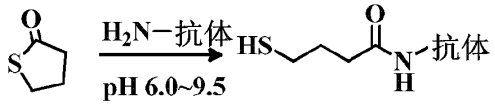
备方法包括以下 a)~c)中的任一个：

a). 由还原剂(优选，三(2-羧基乙基)膦(TCEP)、二硫苏糖醇(DTT)、二硫季戊四醇(DTE)、L-谷胱甘肽(GSH)、2-巯基乙胺(β-MEA)或/和 β-巯基乙醇(β-ME，2-ME))还原抗体、抗体片段、单克隆抗体、多克隆抗体、纳米抗体、前药抗体(probody)或用合成分子或蛋白进行修饰过的抗体及抗体片段重轻链间、重重链间或自身链间的二硫键来获取；

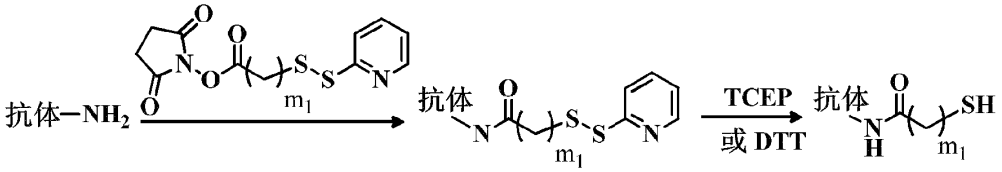
b). 通过 Traut 试剂或硫内酯与抗体分子的胺反应形成硫醇来制备：



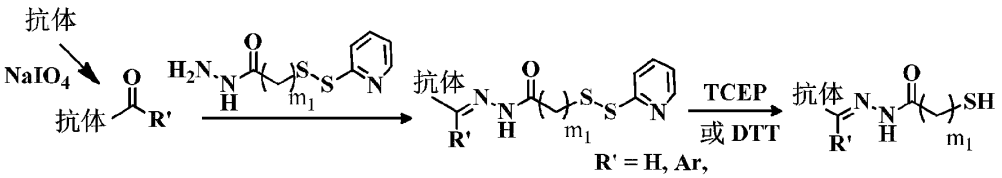

或

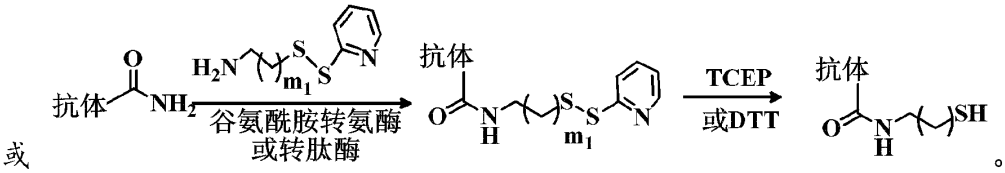



c). 在缓冲体系条件下，通过生化反应，在抗体上引入较易还原的二硫键基团，然后用 TCEP、DTT、GSH、β-MEA、β-ME 还原：




，




或

。

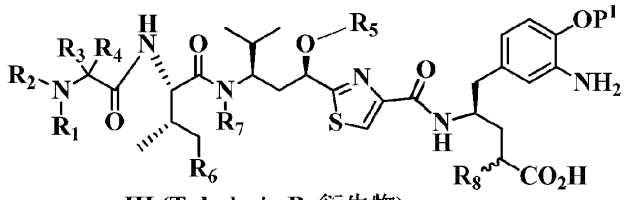
6. 如权利要求 3-5 中任一项所述的偶联物，其特征在于，偶联物的合成中使用的缓冲体系是：pH 5.0～9.5，浓度为 1 mM～1000 mM 的磷酸、醋酸、柠檬酸、硼酸、碳酸、巴比妥酸、Tris(三羟甲基氨基甲烷)、苯甲酸或三乙醇胺、或它们的混合物缓冲溶液，并含有体积比为 0%～35%的水溶性有机溶剂：甲醇、乙醇、正丙醇、异丙醇、正丁醇、异丁醇、乙腈、丙酮、DMF、DMA 或 DMSO，偶联反应温度控制在 0 ℃～45 ℃，偶联反应是 5 分

钟~96 小时。

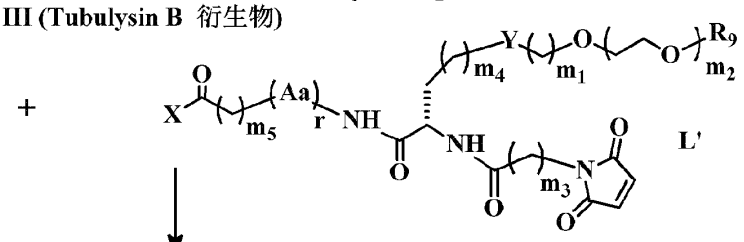
**7.** 如权利要求 3-6 中任一项所述的偶联物，其特征在于，在偶联反应完成后，采用超滤或柱层析法进行纯化获得结构式为(I)的偶联物。

**8.** 如权利要求 7 所述的偶联物，其特征在于，所述柱层析包括分子筛柱、阳离子柱、阴离子柱、疏水(HIC)柱、反相柱或者蛋白 A 或 G 亲和柱。

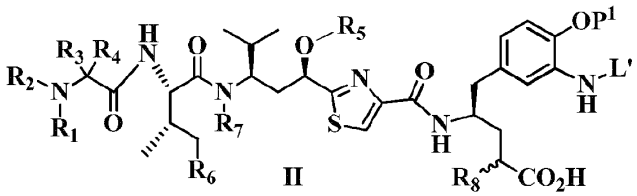
**9.** 如权利要求 3-8 中任一项所述的偶联物，其特征在于，结构式为(II)的合成由结构式为**(III)**的 Tubulysin B 衍生物和结构式为(L')的化合物缩合反应获得：



**III (Tubulysin B 衍生物)**

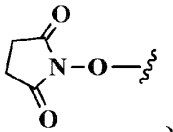
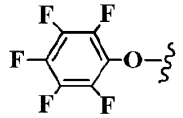
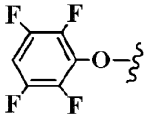
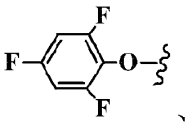
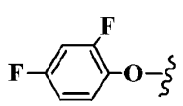
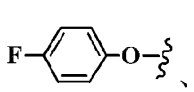
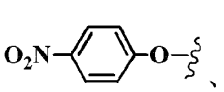
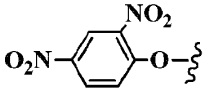
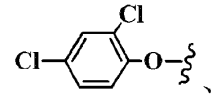
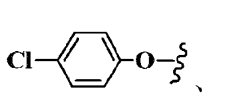
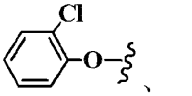


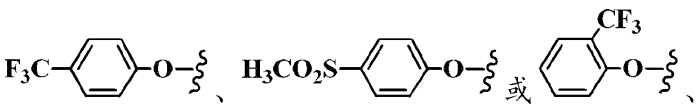
L'



**II**

，

其中 X 是 OH、卤素(F、Cl、Br、或 I)、苯酚、五氯酚、三氟甲基磺酸、咪唑、二氯苯酚、四氯苯酚、1-羟基苯并三氮唑、对甲苯磺酸、甲磺酸、2-乙基-5-苯基异噁唑-3'-磺酸、、、、、、、、、、、

、自我酸酐或与其他酸酐如乙酰酐、甲酸酐形成的酸酐；或多肽缩合反应中间体或 Mitsunobu 反应中间体；

其中，

缩合反应是在含有体积比为 1% - 100%的吡啶、三乙胺或二异丙基乙胺的有机溶剂二氯甲烷、二氯乙烷、DMF、DMA、四氢呋喃(THF)、DMSO、丙酮、异丙醇、正丁醇或乙腈中，或上面二种或三种以上溶剂的混合溶剂，或有或无惰性气体(氮气、氩气、氦气)保护下，温度控制在-20 ℃ – 150 ℃条件下，反应时长 5 分钟 – 120 小时完成；

或者

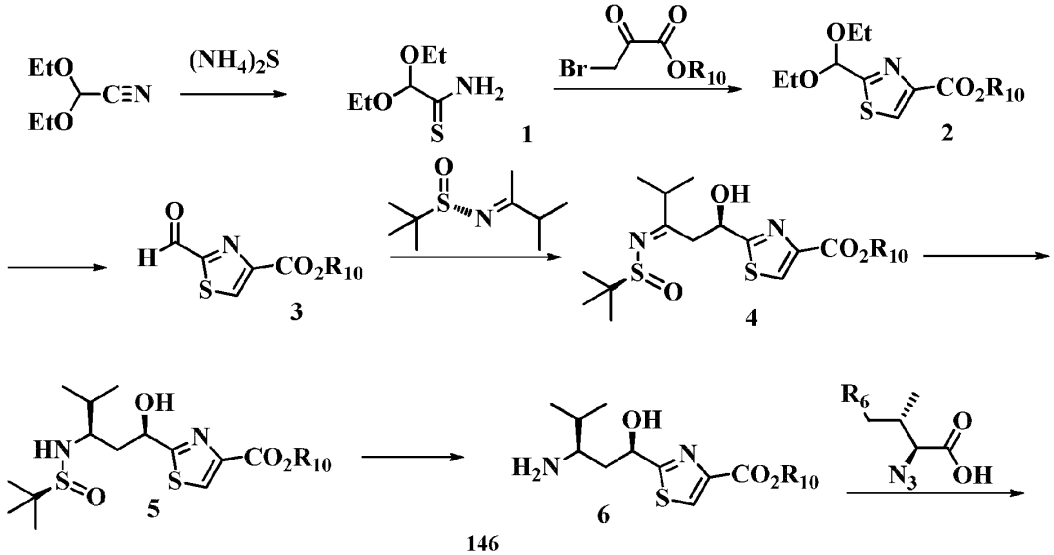
缩合反应在如下缓冲体系及如下条件下进行，所述缓冲体系是：pH 5.0 ~ 9.5, 浓度为 1 mM ~ 1000 mM 的磷酸、醋酸、柠檬酸、硼酸、碳酸、巴比妥酸、Tris(三羟甲基氨基甲烷)、苯甲酸或三乙醇胺、或它们的混合物缓冲溶液，并含有体积比为 0% ~ 35%的水溶性有机溶剂：甲醇、乙醇、正丙醇、异丙醇、正丁醇、异丁醇、乙腈、丙酮、DMF、DMA 或 DMSO，偶联反应温度控制在 0 ℃ ~ 45 ℃，偶联反应是 5 分钟~ 96 小时。

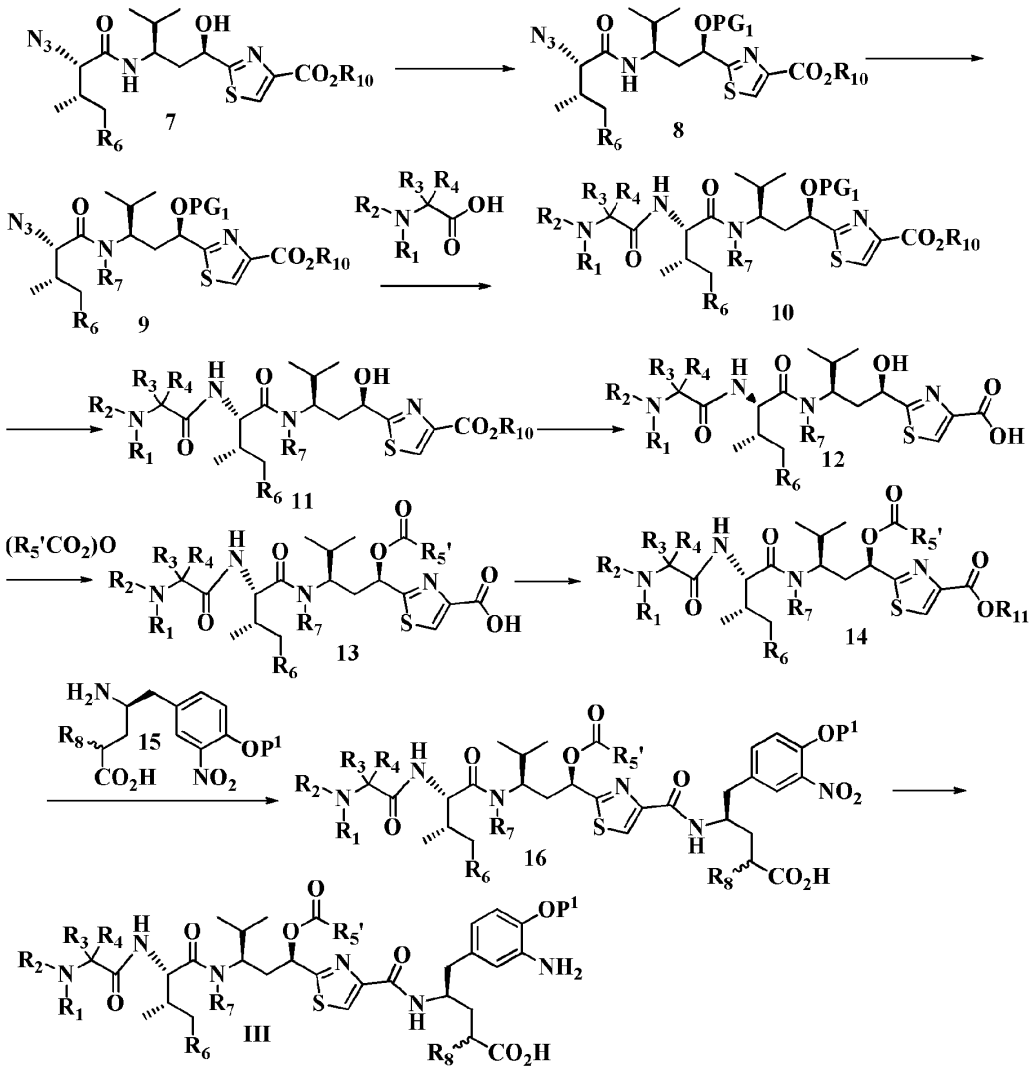
**10.** 如权利要求 9 所述的偶联物，其特征在于，结构式(III)中的 $NH_2$ 基团是以三氟乙酸盐、盐酸盐、甲酸盐、醋酸盐、硫酸盐、磷酸盐、硝酸盐、柠檬酸盐、丁二酸盐、苯甲酸、磺酸盐形式进行缩合反应。

**11.** 如权利要求 9-10 中任一项所述的偶联物，其特征在于，当 X 是 OH 时，上述缩合反应需借助缩合试剂，所述缩合试剂是：1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)，二环己基碳二亚胺(DCC)，N,N'-二异丙基碳二酰亚胺(DIC)，1-环己基-2-吗啉乙基碳二亚胺对甲苯磺酸盐(CMC 或 CME-CDI)，羰基二咪唑(CDI)， O-苯并三氮唑-N,N,N',N'-四甲基脲四氟硼酸(TBTU)，O-苯并三氮唑-四甲基脲六氟磷酸酯(HBTU)，苯并三氮唑-1-基氧基三(二甲基氨基)磷鎓六氟磷酸盐(BOP)，六氟磷酸苯并三唑-1-基-氧基三吡咯烷基磷(PyBOP)，焦碳酸二乙酯(DEPC)，N,N,N',N'-四甲基氯甲脒六氟磷酸盐，2-(7-氧化苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯(HATU)，1-[(二甲胺)(吗啉基)亚甲基]-1 [1,2,3]三唑并[4,5-b] 1-吡啶-3-氧六氟磷酸盐(HDMA)，2-氯-1,3-二甲基咪唑鎓六氟磷酸盐(CIP)，氯代三吡咯烷基鏻六氟

磷酸盐(PyCloP)，双(四亚甲基)氟代甲酰胺(BTFFH)，N,N,N',N'-四甲基-硫-(1-氧代-2-吡啶基)硫脲鎓六氟磷酸盐，2-(2-吡啶酮-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲四氟硼酸盐(TPTU)，硫-(1-氧代-2-吡啶基)-N,N,N',N'-四甲基硫脲六氟磷酸盐，O-[(乙氧基羰基)氰基甲胺]-N,N,N',N'-四甲基硫脲六氟磷酸盐(HOTU)，(1-氰基-2-乙氧基-2-氧代亚乙基氨基氧基)二甲基氨基-吗啉-碳鎓六氟磷酸盐(COMU)，(苯并三氮唑-1-基氧基)二吡咯烷碳六氟磷酸盐(HBPyU)，N-苄基-N'-环己基碳二亚胺(或荷载在聚合物上)，二吡咯烷基(N-琥珀酰亚氨氧基)碳鎓六氟磷酸盐(HSPyU)，1-(氯-1-吡咯烷基亚甲基)吡咯烷六氟磷酸盐(PyClU)，2-氯-1,3-二甲基咪唑四氟硼酸盐(CIB)，(苯并三氮唑-1-基氧基)二哌啶碳六氟磷酸盐(HBPipU)，6-氯苯并三氮唑-1,1,3,3-四甲基脲四氟硼酸酯(TCTU)，溴化三(二甲基氨基)膦六氟磷酸(BrOP)，1-正丙基磷酸酐(PPACA，T3P®)，2-异氰基乙基吗啉(MEI)，N,N,N',N'-四甲基脲-氧-(N-琥珀酸亚胺基)六氟磷酸盐(HSTU)，2- 溴 -1 -乙基吡啶四氟硼酸盐(BEP)，氧-[(乙氧基羰基)氰基甲胺]-N,N,N',N'-四甲基硫尿四氟硼酸盐(TOTU)，4-(4,6-二甲氧基三嗪-2-基)-4-甲基吗啉盐酸盐(MMTM, DMTMM)，2-琥珀酰亚胺基-1,1,3,3-四甲基脲四氟硼酸酯(TSTU)，N,N,N',N'-四甲基-O-(3,4-二氢-4-氧代-1,2,3-苯并三嗪-3-基)脲四氟硼酸盐(TDBTU)，偶氮二甲酰二哌啶(ADD)，双(4-氯苄基)偶氮二甲酸酯(DCAD)，偶氮二甲酸二叔丁酯(DBAD)，偶氮二甲酸二异丙酯(DIAD)或偶氮二甲酸二乙酯(DEAD)。

**12.** 如权利要求 9-11 中任一项所述的偶联物，其特征在于，结构式(III)的 Tubulysin B 衍生物的合成包括下列步骤中的一种或多种：

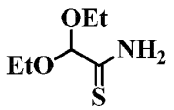




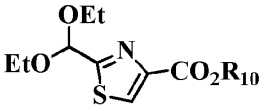
$R_5$'是 H、$C_1$-$C_6$烷烃基、$C_1$-$C_6$烷烃基、或 $C_1$-$C_6$（直链或支链）胺烷基；

**13.** 如权利要求 12 所述的偶联物，其特征在于，结构式(III)的 Tubulysin B 衍生物的合成包括下列步骤中的一种或多种：

步骤 1. 将二乙氧基乙腈与硫化铵的水溶液在室温搅拌，得到化合物 1 即 2,2-二乙氧基硫代乙酰胺；

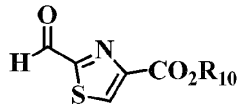


步骤 2. 将化合物 1 与溴丙酮酸酯在无水溶剂(如无水四氢呋喃、二氯甲烷、乙腈、N,N-二甲基甲酰胺、甲醇、异丙醇)中加热，缩合得化合物 2；



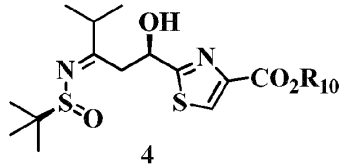
2

步骤 3. 将化合物 2 溶解在溶剂(如四氢呋喃、二氯甲烷、乙酸乙酯、正庚烷、二氧六环、乙腈)中，用路易斯酸或质子酸(包括盐酸、硫酸、磷酸、甲磺酸、甲酸、草酸、乙酸、对甲苯磺酸、对甲苯磺酸吡啶、$AlCl_3$、$FeCl_3$、$ZnCl_2$、$BF_3$、$BCl_3$、$BBr_3$、$TiCl_4$、$ZnBr_2$、$LiBF_4$)水解，得到化合物 3；



3

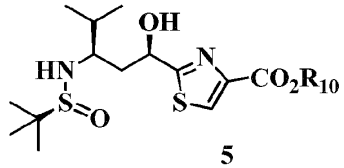
步骤 4. 不饱和亚磺酰胺在低温条件下(如-45℃至-78℃)被正丁基锂等碱脱氢，然后在路易斯酸存在的条件下与化合物 3 发生加成反应，得到化合物 4；



4

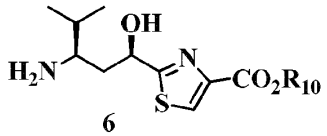
路易斯酸选择为包括盐酸、硫酸、磷酸、甲磺酸、甲酸、草酸、乙酸、对甲苯磺酸、对甲苯磺酸吡啶、$AlCl_3$、$FeCl_3$、$ZnCl_2$、$BF_3$、$BCl_3$、$BBr_3$、$TiCl_4$、$ZnBr_2$、$LiBF_4$；

步骤 5. 化合物 4 在低温条件(如-45℃至-78℃)被下被还原剂(如 $NaBH_4$、$LiBH_4$、$Na(OAc)_3BH$、$Na(CN)BH_3$ 等)选择性地还原，通过加入路易斯酸(如 Ti(Oet)4)，控制其立体化学，得到化合物 5；



5

步骤 6. 将化合物 5 溶解在溶剂(如甲醇、乙醇、异丙醇、四氢呋喃、乙腈)中，被盐酸、硫酸和磷酸等酸脱去叔丁基亚磺酰基，得到化合物 6；



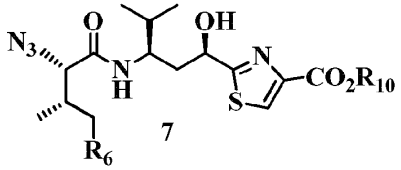
6

步骤 7. 将化合物 6 和叠氮酸溶解在溶剂(如正庚烷、四氢呋喃、二氯

甲烷、N,N-二甲基甲酰胺)中，在缩合试剂(如 DIC/HOBt、DCC/HOBt、EDC/HOBt、HATU、BOP、T3P、BrOP)存在下，或通过缩合反应路线，发生缩合反应，得到化合物 7；

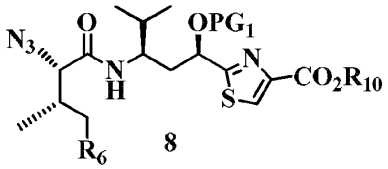
或者，叠氮酸与氯甲酸异丁酯在有机碱(如三乙胺、二异丙基乙胺、N-甲基吗啡啉等)存在时在 THF 中反应，得到混合酸酐，再和化合物 6 的盐酸盐发生缩合，得到化合物 7；

或者，叠氮酸在溶剂(如正庚烷、正己烷、二氯甲烷、四氢呋喃)中与草酰氯、三乙胺和催化剂量的 DMF 反应，被转换成酰氯，再和化合物 6 的盐酸盐发生缩合，得到化合物 7；



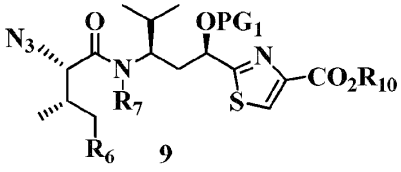
7

步骤 8. 在溶剂(如二氯甲烷、四氢呋喃、乙腈)中，化合物 7 上的羟基与羟基保护试剂(如 TESCl)，在有机碱(如咪唑、三乙胺、吡啶)的作用下得到化合物 8；



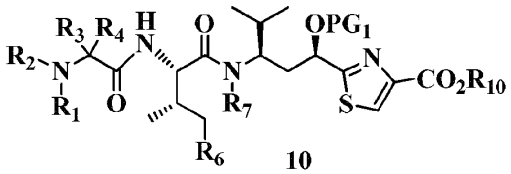
8

步骤 9. 化合物 8 被溶解在溶剂(如四氢呋喃、二氯甲烷、乙腈)中，在碱(如 KHMDS，LiHMDS，NaHMDS，KOtBu，NaH，KH)的作用下，酰胺发生去质子化，然后与碘甲烷、溴甲烷、硫酸二甲酯、三氟甲磺酸甲酯或碘乙烷等发生烷基化反应，得到化合物 9；



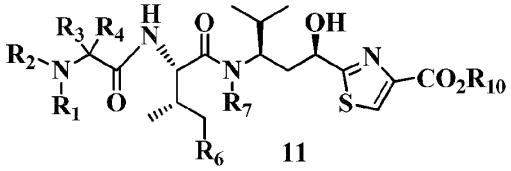
9

步骤 10. 化合物 9 被溶解在溶剂(如四氢呋喃、二氯甲烷、乙酸乙酯)中，其中的叠氮基在一定的条件下，如在氢气和钯碳催化剂、三苯基膦和水(Staudinger 反应)的存在下，被还原成氨基，然后与酸或者具有反应活性的酸衍生物发生缩合，得到化合物 10；



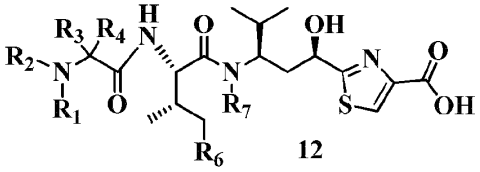
10

步骤 11. 化合物 10 中的羟基保护基 $PG_1$ 在适当的条件(如 TES 保护基团可以在盐酸、THF/MeOH/AcOH、$nBu_4NF$ 或吡啶氢氟酸盐的 THF 溶液中被脱保护)下被脱保护，得到化合物 11；



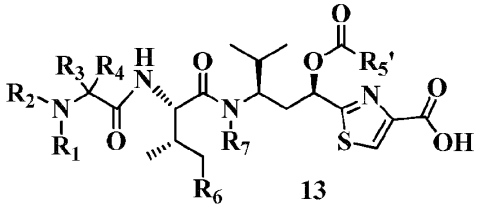
11

步骤 12. 化合物 11 中的酯基在碱(如 LiOH、NaOH、KOH)的作用下，或其他适当条件(如甲酯可以在 LiCl、LiI、Me3SiOK 等试剂的作用下被转化成羧酸)下被转化成酸化合物 12；



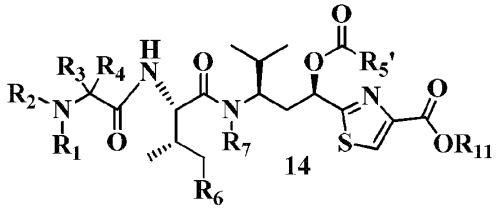
12

步骤 13. 在碱(如三乙胺、N,N-二异丙基乙胺、吡啶)和催化剂(如 DMAP)存在时，一定的温度条件(如 0℃至 23℃)下，化合物 12 与乙酸酐，丙酸酐、异丙酸酐等酸酐、乙酰卤、丙酸卤、丙酸卤、甲酰胺卤、异酰胺卤、二甲酰胺卤等酸卤作用，得到化合物 13，该反应也可不使用碱或者催化剂；



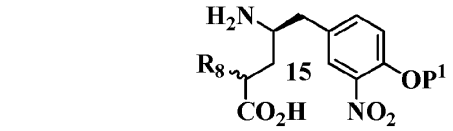
13

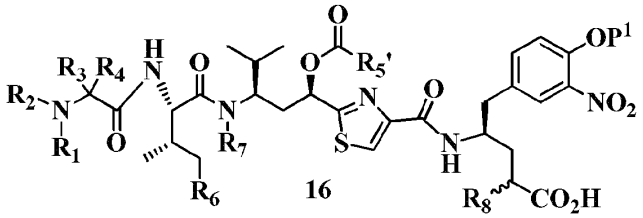
步骤 14. 化合物 13 与适当的含羟基的化合物如五氟苯酚或 N-羟基琥珀酰亚胺在缩合试剂(如 EDC、DIC、DCC、HATU、HBTU)存在时，发生缩合反应，得到具有反应活性的酯化合物 14；



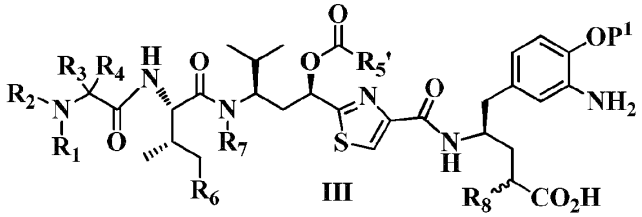
14

步骤 15. 化合物 15 与化合物 14，在水相、一定的 pH 值条件(如 pH = 5.0-8.0)下，或者有机相、存在有机碱(如 TEA、DBU、DIPEA)或无机碱(如 $Na_2CO_3$、$Cs_2CO_3$、$K_2CO_3$、$NaHCO_3$)时，发生缩合反应，得到化合物 16；反应也任选不使用任何碱，条件是需要控制一定的反应温度(如 0°C至 23°C)和反应时间(如 30 分钟至 18 小时)；



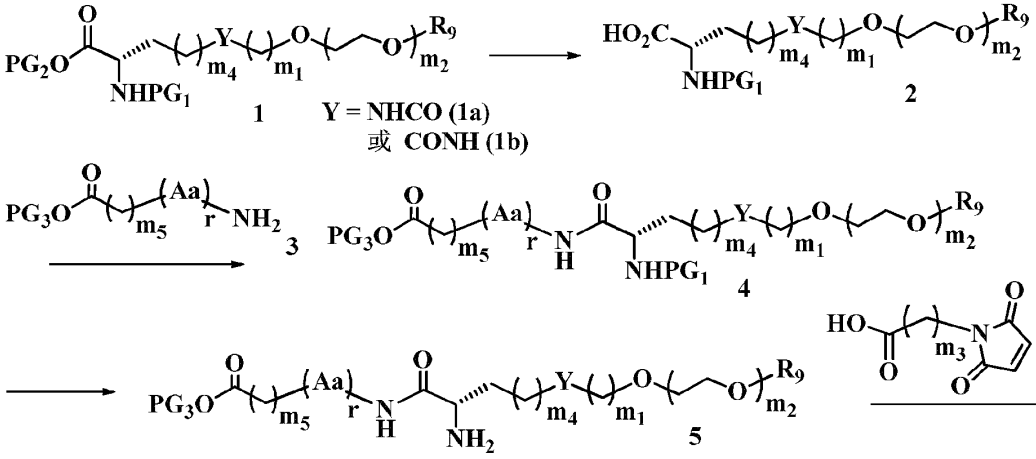


步骤 16. 化合物 16 中的硝基在还原条件下，如在氢气和钯碳催化剂、水合肼和 $FeCl_3$、铁粉和醋酸等的存在的条件下，被还原成氨基，得到化合物 III；



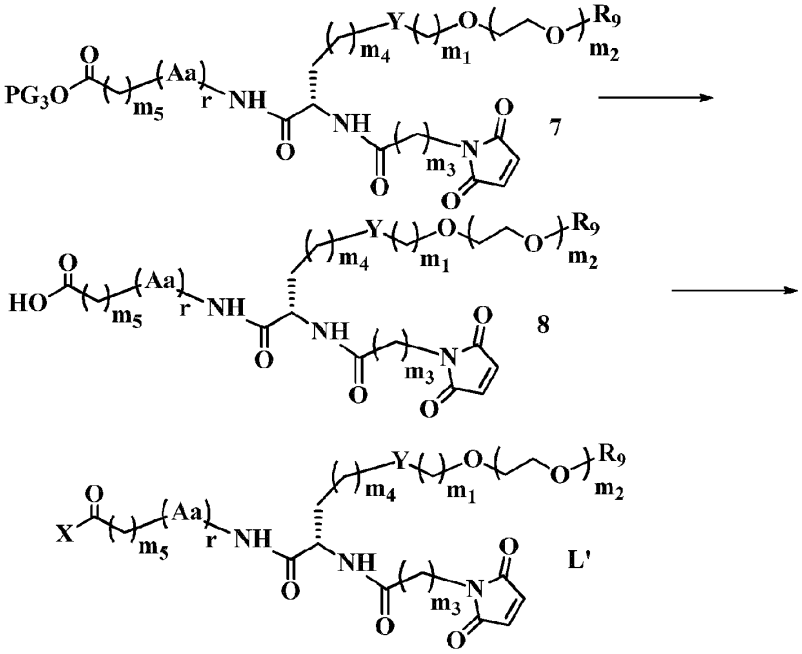
。

**14.** 如权利要求 9-13 中任一项所述的偶联物，其特征在于，结构式为(L')的化合物的合成包括下列步骤中的一种或多种：



或 CONH (1b)

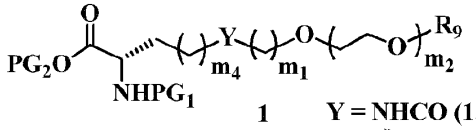
15



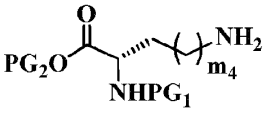
**15.** 如权利要求 14 所述的偶联物，其特征在于，结构式为(L')的化合物的合成包括下列步骤中的一种或多种：

步骤 1. 化合物 1-1 和化合物 1-2 在缩合剂(如 EDC、HATU、DIC、DCC)的作用下缩合，或者经过缩合反应路线发生缩合反应(如化合物 1-2 在缩合试剂如 DIC 和 EDC 的作用下与五氟苯酚、硝基苯酚或 N-羟基琥珀酰亚胺发生缩合反应，生产相应的活性酯，然后再与化合物 1-1 反应)，得到化合物物 1a；

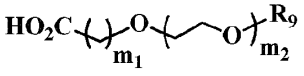
或者，化合物 1-3 和化合物 1-4 在缩合剂(如 EDC、HATU、DIC、DCC)的作用下，或者经过缩合反应路线发生缩合反应，得到化合物物 1b；



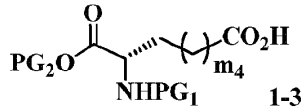
1 Y = NHCO (1a)
或 CONH (1b)



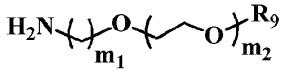
1-1



1-2



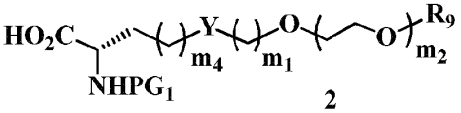
1-3



1-4

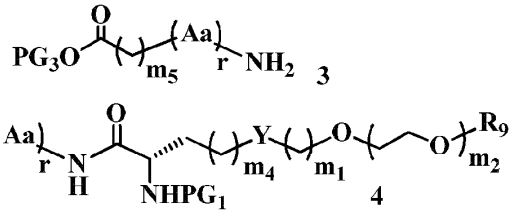
步骤 2. 化合物 1 中的羧基保护基 $PG_2$ 在脱保护试剂作用下(如叔丁酯基

在酸的作用下)，被去除，得到化合物 2；

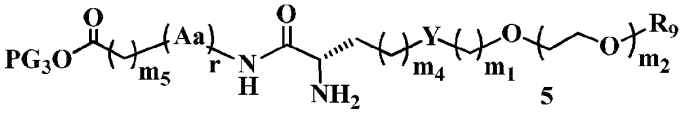


2

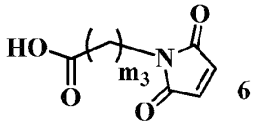
步骤 3. 含羧基的化合物 2 和含氨基的化合物 3 在缩合剂(如 EDC、HATU、DIC、DCC)作用下，或者经过缩合反应路线发生缩合反应，得到化合物 4；



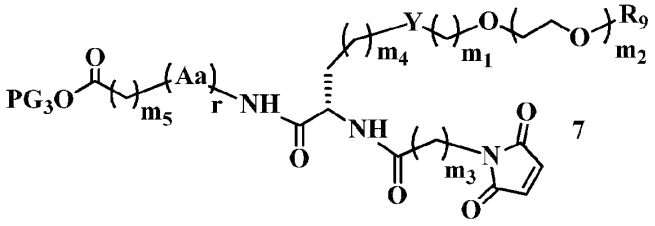
步骤 4. 化合物 4 上的氨基保护基团 $PG_1$ 在去保护条件下被去除，如氨基上的 Cbz 保护基可以在氢气和钯炭催化剂的作用下被切除，氨基上的 Boc 保护基可以在酸性条件下被切除，得到化合物 5；



步骤 5. 含羧基化合物 6 和含氨基的化合物 5 在缩合剂(如 EDC、HATU、DIC、DCC)作用下，或者经过缩合反应路线发生缩合反应，得到化合物 7；

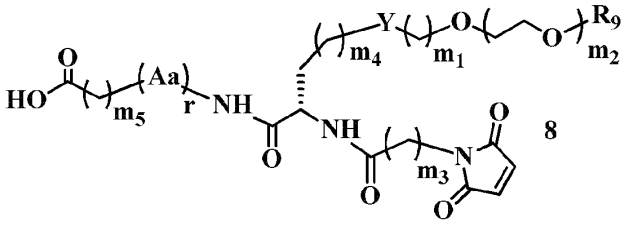


6



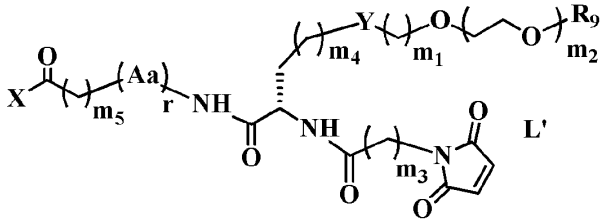
7

步骤 6. 化合物 7 上的羧基保护基团 $PG_3$ 在去保护条件下被去除(如羧基上的叔丁基酯保护基可以在甲酸、乙酸、三氟乙酸、盐酸、磷酸等的作用下被切除)，得到化合物 8；



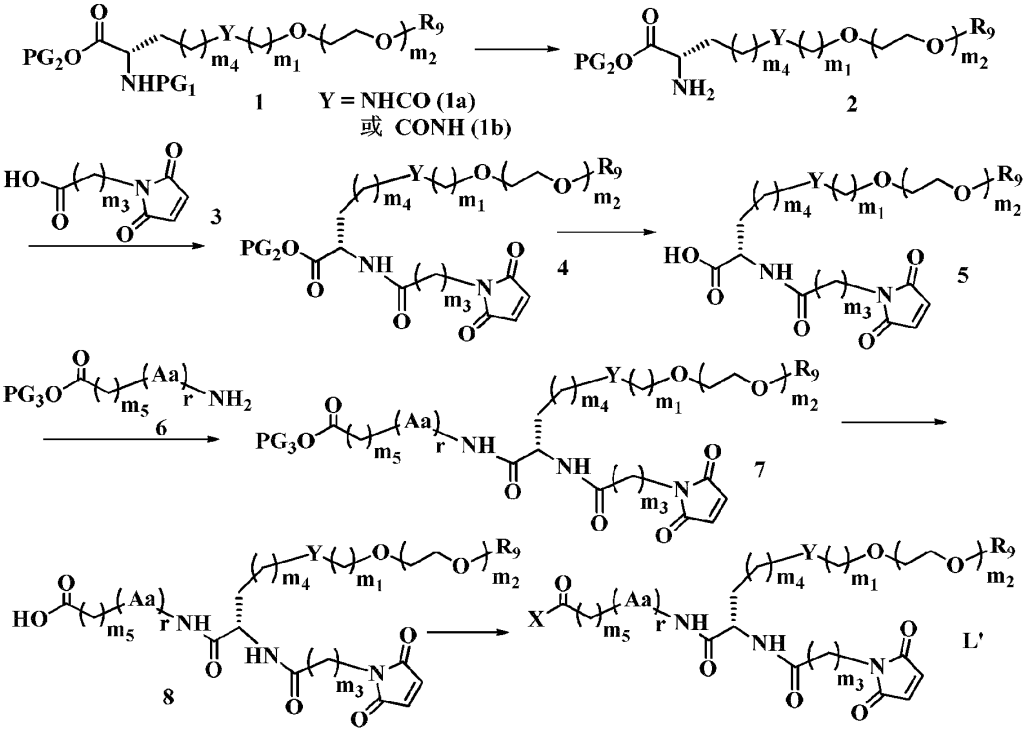
8

步骤 7. 化合物 8 与含羟基的化合物(如五氟苯酚或 N-羟基琥珀酰亚胺)在缩合试剂(如 EDC、HATU、DIC、DCC)存在时，发生缩合反应，得到具有反应活性的酯化合物，或与其他酸活化基团反应得到具有缩合反应活性的化合物 L’;



L'

**16.** 如权利要求 9-13 中任一项所述的偶联物，其特征在于，结构式为(L’)的化合物的合成包括下列步骤中的一种或多种:



1 Y = NHCO (1a)
或 CONH (1b)

2

3

4

5

6

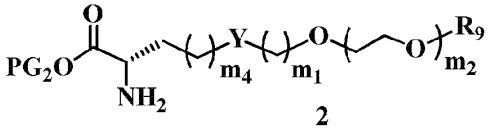
7

8

L'

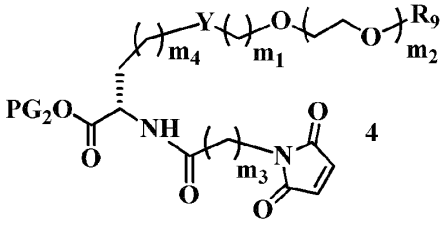
**17.** 如权利要求 16 所述的偶联物，其特征在于，结构式为(L’)的化合物的合成包括下列步骤中的一种或多种:

步骤 1. 化合物 1 上的氨基保护基团 $PG_1$ 在去保护条件下被去除，如氨基上的 Cbz 保护基可以在氢气和钯炭催化剂的作用下被切除，氨基上的 Boc 保护基可以在酸性条件下被切除，得到化合物 2；



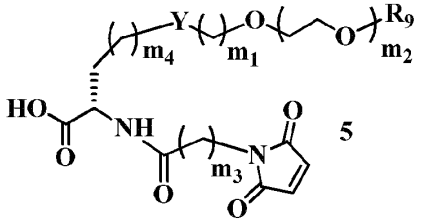
2

步骤 2. 含氨基的化合物 2 和含羧基的化合物 3 在缩合试剂(如 EDC、HATU、DIC、DCC)作用下，或者经过缩合反应路线发生缩合反应，得到化合物 4；



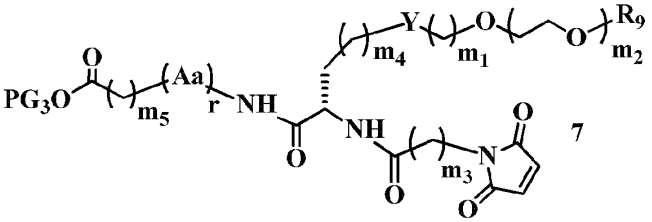
4

步骤 3. 化合物 4 上的羧基保护基团 $PG_2$ 在去保护条件下被去除，如羧基上的叔丁基酯保护基可以在甲酸、乙酸、三氟乙酸、盐酸、磷酸等的作用下被切除，得到化合物 5；



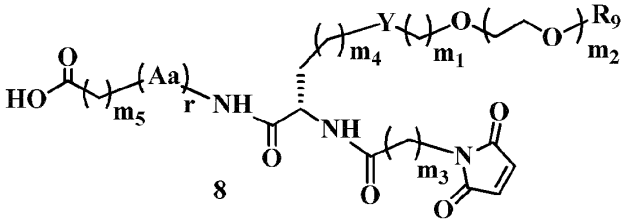
5

步骤 4. 含羧基化合物 5 和含氨基的化合物 6 在缩合剂(如 EDC、HATU、DIC、DCC)作用下，或者经过缩合反应路线发生缩合反应，得到化合物 7；



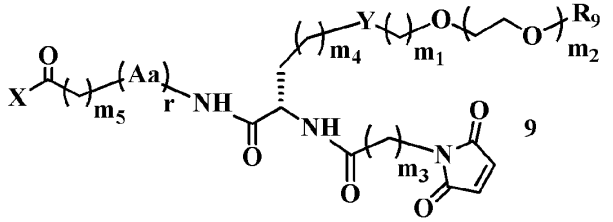
7

步骤 5. 化合物 7 上的羧基保护基团 $PG_3$ 在去保护条件下被去除，如羧基上的叔丁基酯保护基可以在甲酸、乙酸、三氟乙酸、盐酸、磷酸等的作用下被切除，得到化合物 8；



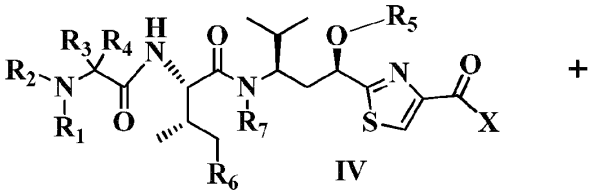
8

步骤 6. 化合物 8 与含羟基的化合物(如五氟苯酚或 N-羟基琥珀酰亚胺)在缩合试剂存在时，发生缩合反应，得到具有反应活性的酯化合物，或与其他酸活化基团反应得到具有缩合反应活性的化合物 9；



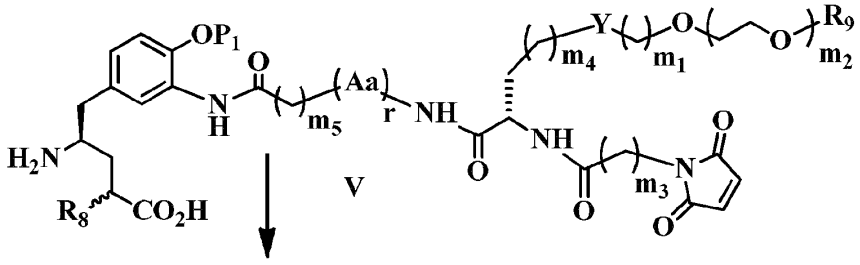
9

**18.** 如权利要求 3-11 中任一项所述的偶联物，其特征在于，结构式为(II)化合物的合成由结构式(IV)和结构式(V)缩合反应获得：

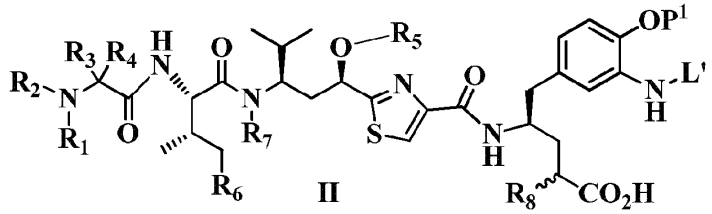


IV

+



V



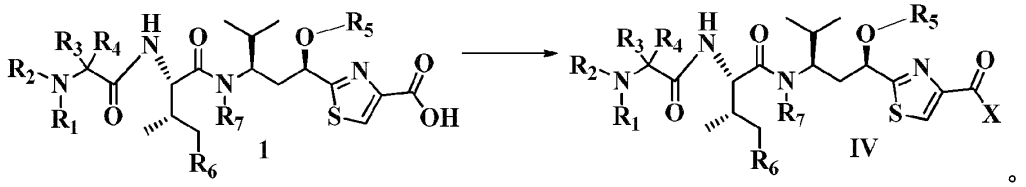
II

其中 X 定义及缩合反应条件如权利要求 9-11 中任一项所述。

**19.** 如权利要求 18 所述的偶联物，其特征在于，结构式(V)中的 $NH_2$ 基团是以三氟乙酸盐、盐酸盐、甲酸盐、醋酸盐、硫酸盐、磷酸盐、硝酸盐、

柠檬酸盐、丁二酸盐、苯甲酸或磺酸盐形式进行缩合反应。

**20.** 如权利要求 18-19 中任一项所述的偶联物，其特征在于，结构式(IV)的合成包括下列步骤中的一种或多种：



。

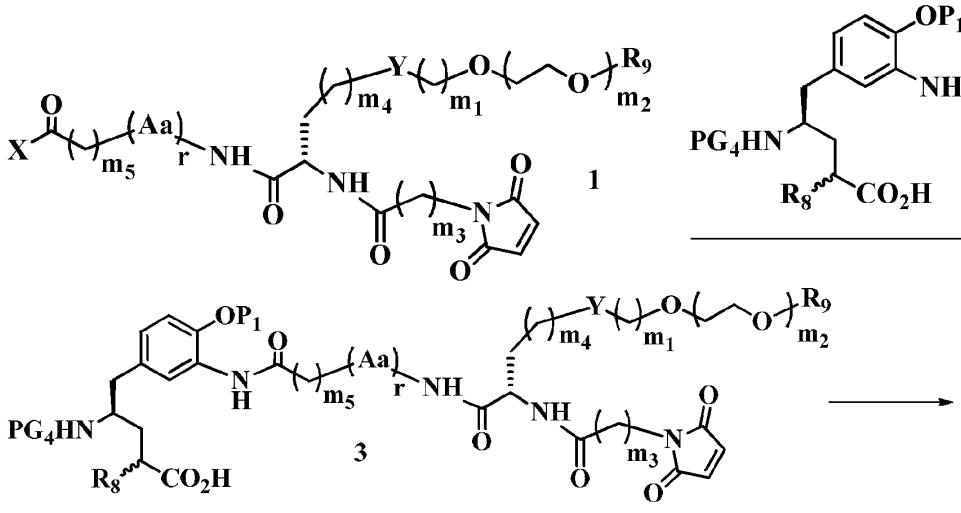
**21.** 如权利要求 20 所述的偶联物，其特征在于，结构式(IV)的合成包括下列步骤中的任一种：

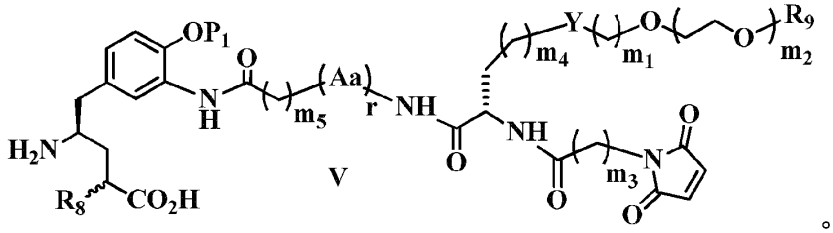
羧酸化合物 1 与含羟基的化合物(如五氟苯酚或 N-羟基琥珀酰亚胺)在缩合试剂(如 EDC、DIC、DCC、HATU、HBTU)存在时，发生缩合反应，得到具有反应活性的酯；

或者，羧酸化合物 1 与氯甲酸乙酯、氯甲酸异丁酯等，在有机碱(如 N-甲基吗啡啉、三乙胺、二异丙基乙胺等有机碱)存在下反应，得到具有反应活性的混合酸酐；

或者，羧酸化合物 1 与草酰氯，在三乙胺等有机碱和催化剂量(如 0.01 当量至 0.5 当量)的 DMF 存在条件下，反应得到酰氯。

**22.** 如权利要求 18-21 中任一项所述的偶联物，其特征在于，结构式(V)的合成包括下列步骤中的一种或多种：

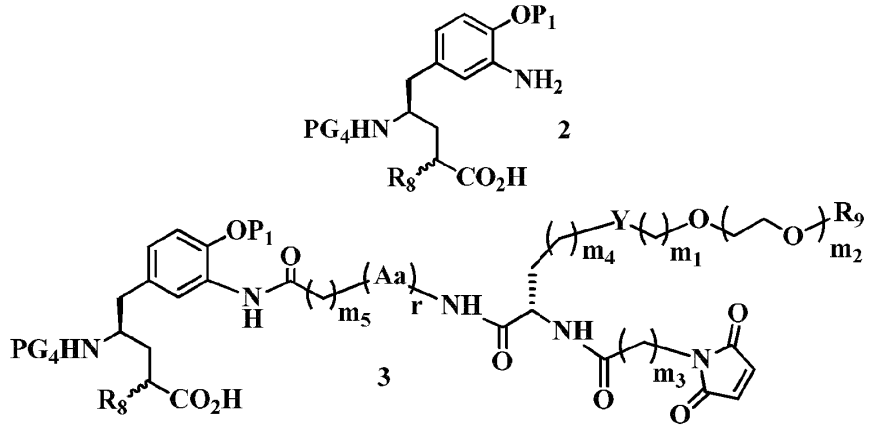




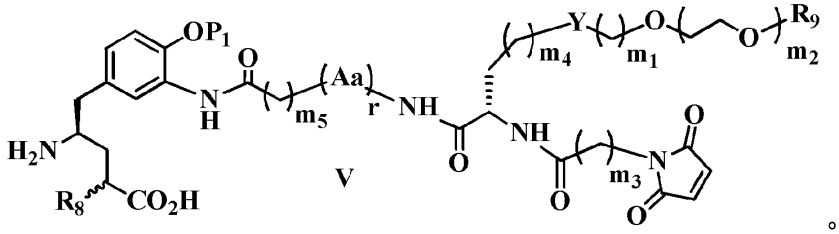

。

**23**. 如权利要求 22 所述的偶联物，其特征在于，结构式(V)的合成包括下列步骤中的一种或多种：

步骤 1. 化合物 1 与化合物 2，在水相，一定的 pH 值条件(如 pH = 5.0-8.0)下，或者有机相，存在有机碱(如 TEA、DBU、DIPEA)或无机碱(如 $Na_2CO_3$、$Cs_2CO_3$、$K_2CO_3$、$NaHCO_3$)时，发生缩合反应，得到化合物 3；反应也任选不使用任何碱，但是需要控制合适的反应温度和反应时间；

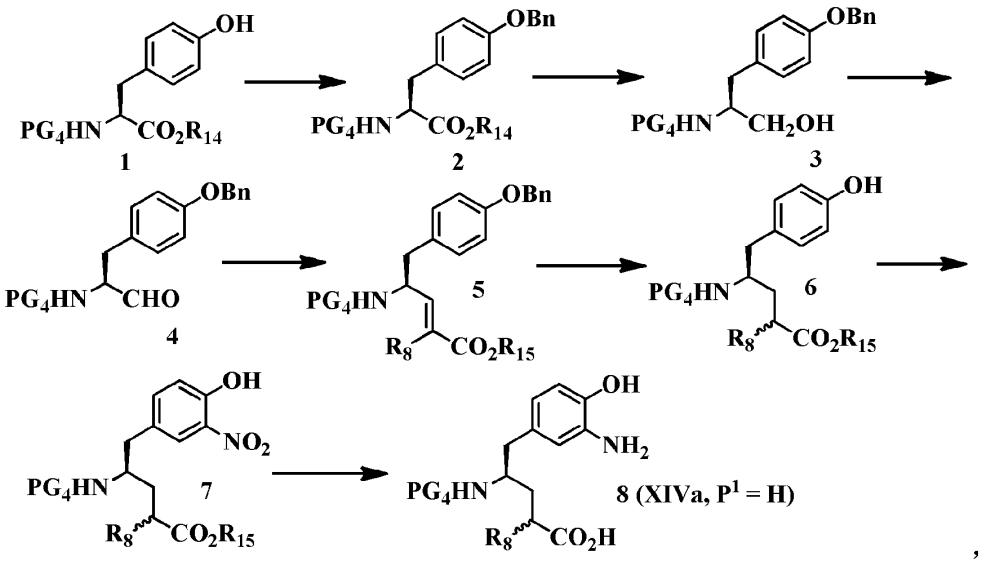



步骤 2. 化合物 3 上的氨基保护基团 $PG_4$ 在去保护条件下被去除(如氨基上的 Cbz 保护基可以在氢气和钯炭催化剂的作用下被切除)，氨基上的 Boc 保护基可以在酸性条件下被切除，得到化合物 V；




。

**24.** 如权利要求 22-23 中任一项所述的偶联物，其特征在于，化合物 2 的合成包括下列步骤中的一种或多种：




，

其中，该合成步骤中得到的化合物 8(化合物 XIVa)即为所述目标化合物 2。

**25.** 如权利要求 24 所述的偶联物，其特征在于，化合物 2 的合成包括下列步骤中的一种或多种：

步骤 1. 将 L-酪氨酸的酯类衍生物 1 溶解于适当的溶剂，如丙酮、四氢呋喃、乙腈、二氯甲烷等，或者这些溶剂与水的混合溶剂，与苄基氯、苄基溴或其它苄基化合物，在 0 至 60 °C 反应，可在反应体系中加入适当的有机或无机碱，如碳酸钠、碳酸钾、碳酸氢钠、碳酸氢钾、氢氧化钠、氢氧化钾、三乙胺、DBU、氢化钠等，也可在体系内加入适当的添加剂如碘化钠或相转移催化剂，如苄基三乙基氯化铵(TEBA)、四丁基溴化铵(TBAB)、四丁基氯化铵、四丁基硫酸氢铵、三辛基甲基氯化铵、十二烷基三甲基氯化铵、十四烷基三甲基氯化铵等，得到化合物 2；

步骤 2. 将化合物 2 溶解于有机溶剂如二氯甲烷、四氢呋喃、甲醇、乙醇、乙醚等，用还原剂，如氢化铝锂、DIBAL、硼氢化钠、硼氢化锂、二氢双(2-甲氧乙氧基)铝酸钠(Red-Al)、乙硼烷等还原，可在反应体系中加入添加剂，如 $I_2$、三氯化铁、氯化锌、氯化镁、氯化锂、氯化钙等控制还原剂的活性，得到化合物 3；

步骤 3. 醇类化合物 3 在适当的氧化条件下，如 swern 氧化(草酰氯、DMSO、三乙胺)、Parikh-Doering 氧化(三氧化硫吡啶氧化)、Dess-Martin 氧化等，被氧化成醛 4；

步骤 4. 醛 4 与磷酸酯反应(Horner-Wadsworth-Emmons 反应)或者磷叶立

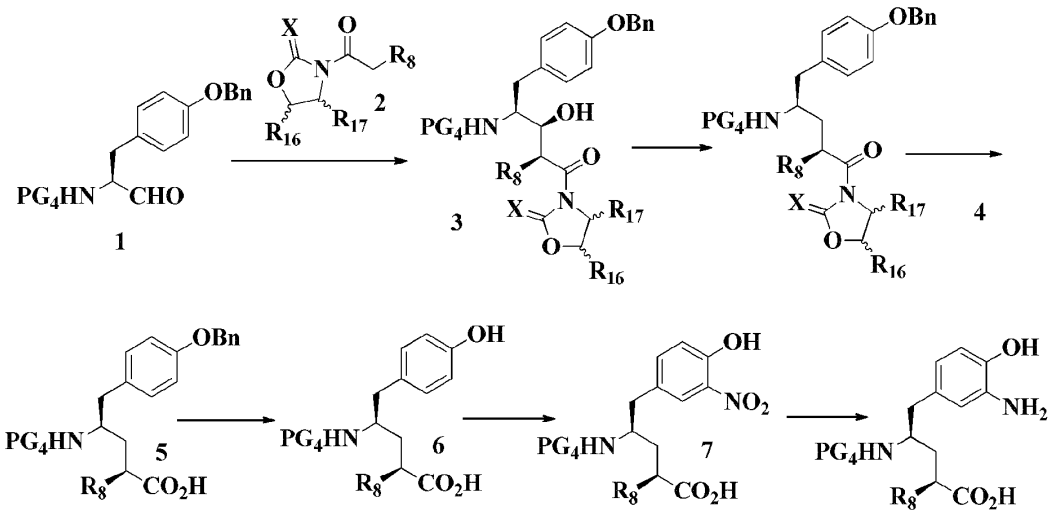
德反应(Wittig 反应)，进行碳链延长，得到化合物 5；

步骤 5. 化合物 5 中的双键在均相或两相催化剂的作用下被氢化还原，其中的苄基也同时被脱去，得到立体结构单一的手性化合物，或者两个非对映异构体的混合物；催化剂包括 Pd/C、$Pd(OH)_2/C$、$Pd/BaSO_4$、$PtO_2$、$Pt/Al_2O_3$、Ru/C、Raney 镍等两相催化剂，均相不对称氢化催化剂，如 Crabtree 催化剂、[Ru(II)-(BINAP)]类催化剂、$[(Ph3P)CuH]_6$ 催化剂等；

步骤 6. 将化合物 6 溶解在有机溶剂中，如四氢呋喃、乙腈、二氯甲烷，在硝化反应条件下被硝化，硝化试剂包括硝酸、硝酸/醋酸、硝酸钾/硫酸、亚硝基叔丁酯、硝酸/三氟乙酸酐、$NO_2BF_4$、硝基吡啶鎓盐等；

步骤 7. 在以下条件下化合物 7 中的硝基被还原成氨基，这些条件包括 $H_2/Pd/C$，Fe 或 Zn/HOAc，$SnCl_2/HCl$。

**26.** 如权利要求 22-23 中任一项所述的偶联物，其特征在于，化合物 2 的合成包括下列步骤中的一种或多种：




**8 (XIVb, $P^1$ = H)**

其中，该合成步骤中得到的化合物 8(化合物 XIVb)即为所述目标化合物 2。

**27.** 如权利要求 26 所述的偶联物，其特征在于，化合物 2 的合成包括下列步骤中的一种或多种：

步骤 1. 化合物 1 在-78°C 至-45°C 条件下，与 Evans 手性 N-酰基噁唑烷酮或硫酮 2，其中 X = O 或 S，$R_{16}$ = H，甲基，苯基，$R_{17}$ = H，甲基，异丙基、苯基、苄基等，进行 Aldol 反应，得到立体构型单一的化合物 3；

步骤 2. 化合物 3 上的羟基在以下条件下被脱去，这些条件包括

Barton–McCombie 去氧反应，即醇首先转化为硫代酰基衍生物，如烷基黄原酸盐、硫代氯甲酸苯酯、硫代羰基咪唑酯，然后用 $Bu_3SnH$ 处理，发生自由基断裂得到脱羟基产物；自由基断键的条件包括：n-$Bu_3SnH$/AIBN，n-$Bu_3SnH$/AIBN/n-BuOH/PMHS，$(Bu_4N)_2S_2O_8/HCO_2Na$；

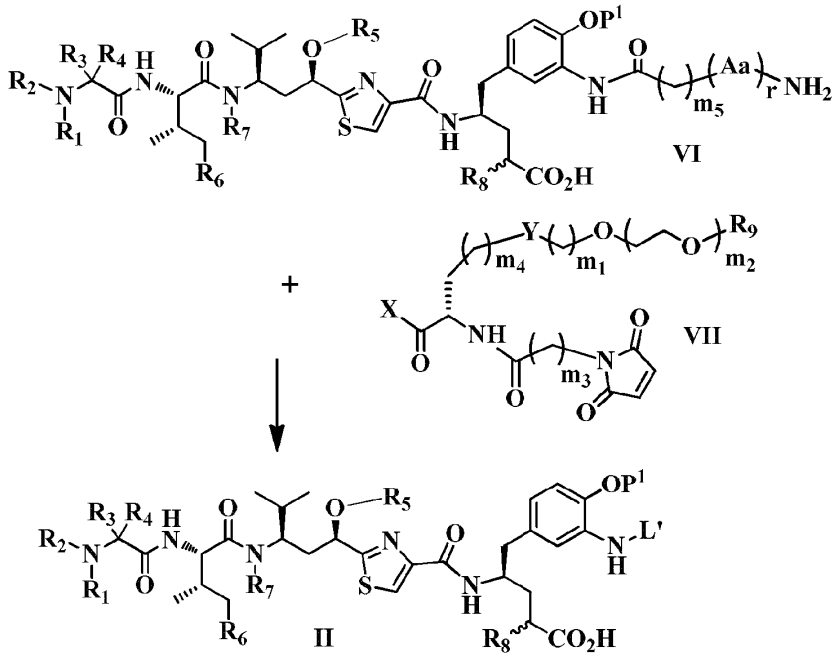
步骤 3. 将化合物 4 溶解在四氢呋喃中，Evans 手性辅基在 $LiOH/H_2O_2$ 的条件下被切断得到相应的酸 5；

步骤 4. 化合物 5 被溶解在有机溶剂中，如乙酸乙酯、甲醇、二氯甲烷、乙醇或乙酸等，其中的苄基在钯炭催化剂存在下被催化氢解，得到化合物 6；

步骤 5. 将化合物 6 溶解在有机溶剂中，如四氢呋喃、乙腈、二氯甲烷，在硝化反应条件下被硝化，硝化试剂包括硝酸、硝酸/醋酸、硝酸钾/硫酸、亚硝基叔丁酯、硝酸/三氟乙酸酐、$NO_2BF_4$、硝基吡啶鎓盐等；

步骤 6. 在以下条件下化合物 7 中的硝基被还原成氨基，这些条件包括 $H_2$/Pd/C，Fe 或 Zn/HOAc，$SnCl_2$/HCl 等，得到立体构型单一的手性化合物 8。

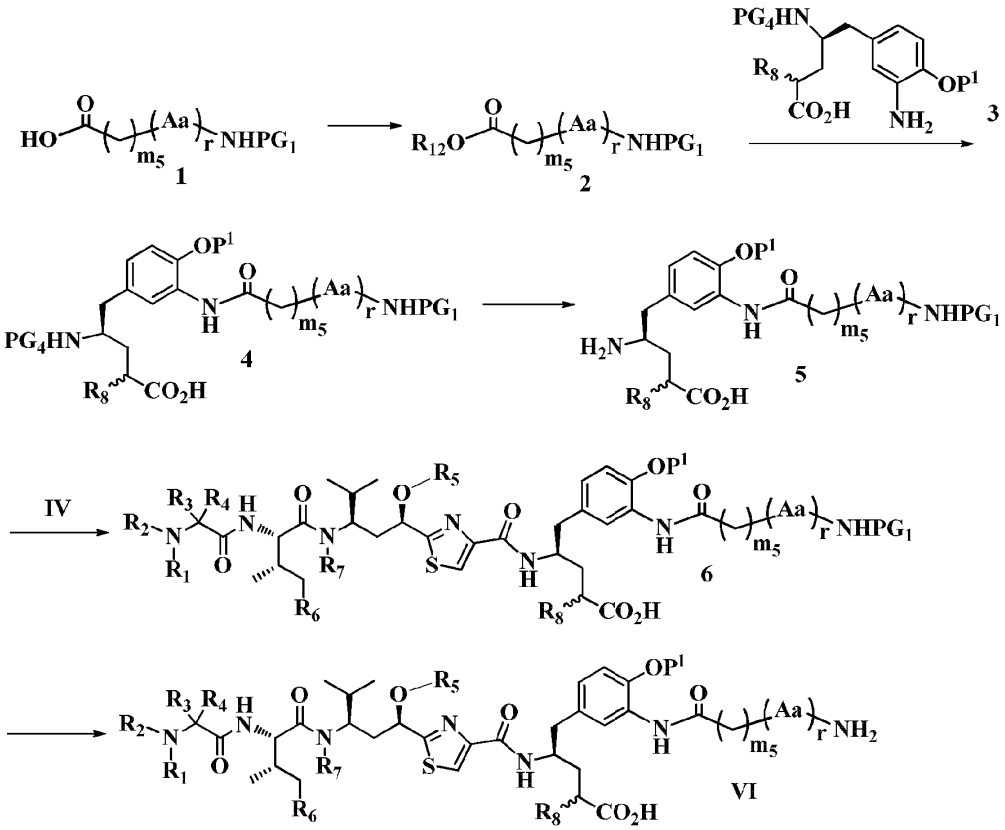
**28.** 权利要求 3-11 中任一项所述的偶联物，其特征在于，结构式为(II)的合成由结构式(VI)和结构式(VII)缩合反应获得：



其中 X 定义及缩合反应条件如权利要求 9-11 中任一项所述。

**29.** 如权利要求 28 所述的偶联物，其特征在于，结构式(VI)的合成包括下

列步骤中的一种或多种：



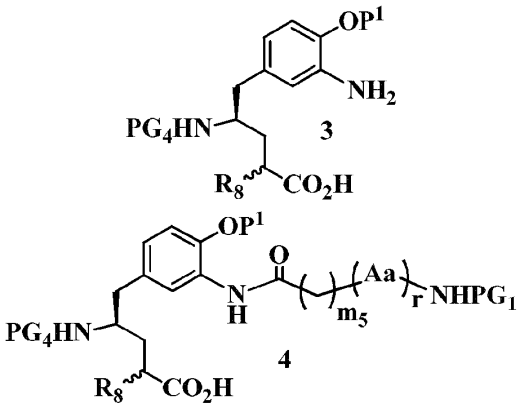
。

**30.** 如权利要求 29 所述的偶联物，其特征在于，结构式(VI)的合成包括下列步骤中的一种或多种：

步骤 1. 化合物 1 与适当的含羟基的化合物(如五氟苯酚或 N-羟基琥珀酰亚胺)在缩合试剂存在时，发生缩合反应，得到具有反应活性的酸的衍生物化合物 2；



步骤 2. 化合物 2 与化合物 3，在水相，一定的 pH 值条件(如 pH = 5.0-8.0)下，或者有机相，存在有机碱(如 TEA、DBU、DIPEA)或无机碱(如 $Na_2CO_3$、$Cs_2CO_3$、$K_2CO_3$、$NaHCO_3$)时，发生缩合反应，得到化合物 4；反应也任选不使用任何碱，但是需要控制合适的反应温度和反应时间；

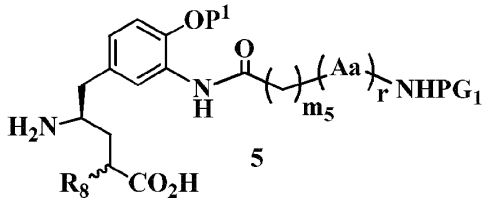


3



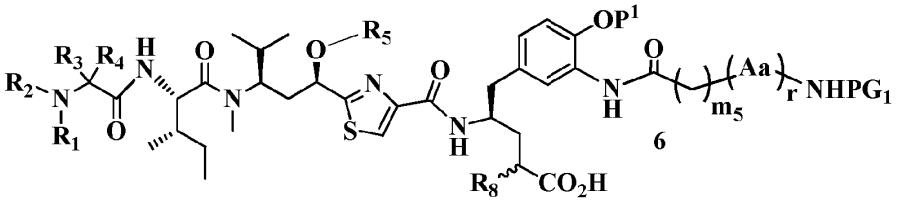
4

步骤 3. 化合物 4 上的氨基保护基团 $PG_4$ 在去保护条件下被选择性地去除(如氨基上的 Cbz 保护基可以在氢气和钯炭催化剂的作用下被切除)，氨基上的 Boc 保护基可以在酸性条件下被切除，得到化合物 5；



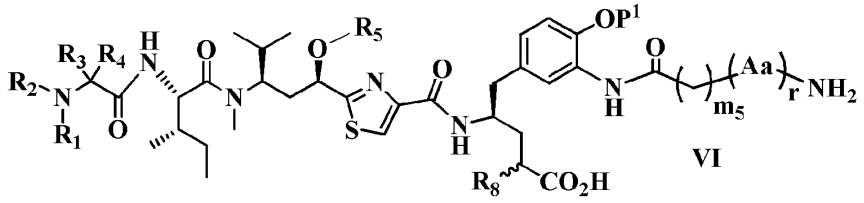
5

步骤 4. 化合物 5 与结构式(IV)，在水相，一定的 pH 值条件(如 pH = 5.0-8.0)下，或者有机相，存在有机碱(如 TEA、DBU、DIPEA)或无机碱(如 $Na_2CO_3$、$Cs_2CO_3$、$K_2CO_3$、$NaHCO_3$)时，发生缩合反应，得到化合物 6；反应也任选不使用任何碱，但是需要控制合适的反应温度和反应时间；



6

步骤 5. 化合物 6 上的氨基保护基团 $PG_1$ 在去保护条件下被去除(如氨基上的 Cbz 保护基可以在氢气和钯炭催化剂的作用下被切除)，氨基上的 Boc 保护基可以在酸性条件下被切除，得到化合物 VI；

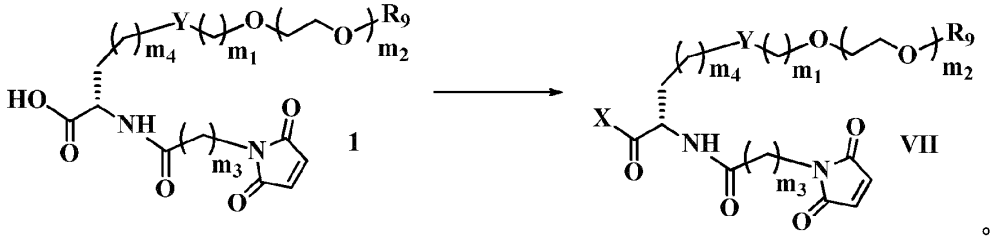


VI

。

**31.** 如权利要求 28-30 中任一项所述的偶联物，其特征在于，结构式(VII)

的合成包括下列步骤中的一种或多种：



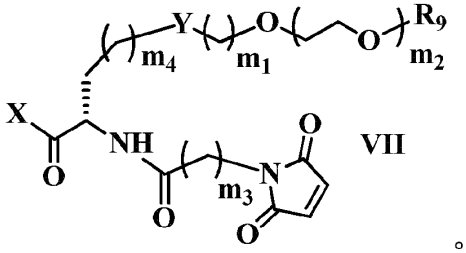
。

**32.** 如权利要求 31 所述的偶联物，其特征在于，结构式(VII)的合成包括下列步骤中的一种或多种：

步骤 1. 羧酸化合物 1 与含羟基的化合物(如五氟苯酚或 N-羟基琥珀酰亚胺)在缩合试剂(如 EDC、HATU、DIC、DCC)存在时，发生缩合反应，得到具有反应活性的酯；

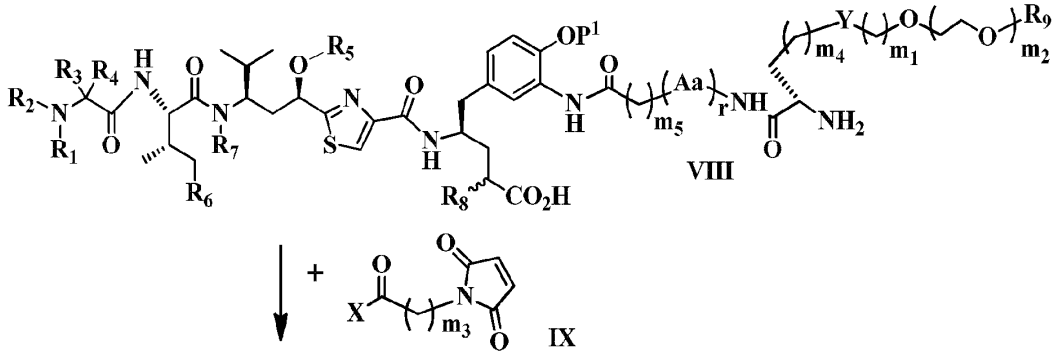
或者，羧酸化合物 1 与氯甲酸乙酯、氯甲酸异丁酯等，在有机碱(如 N-甲基吗啡啉、三乙胺、二异丙基乙胺等有机碱)存在下反应，得到具有反应活性的混合酸酐；

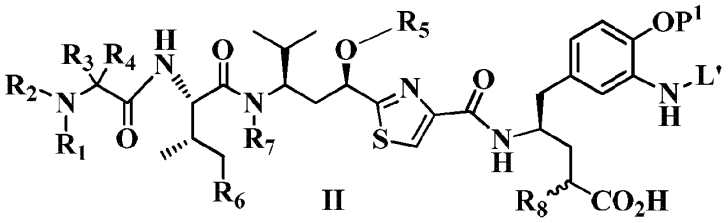
或者，羧酸化合物 1 与草酰氯，在三乙胺等有机碱和催化剂量(如 0.01 当量至 0.5 当量)的 DMF 存在条件下，反应得到酰氯；



。

**33.** 权利要求 3-11 中任一项所述的偶联物，其特征在于，结构式为(II)的合成由结构式(VIII)和结构式(IX)缩合反应获得：



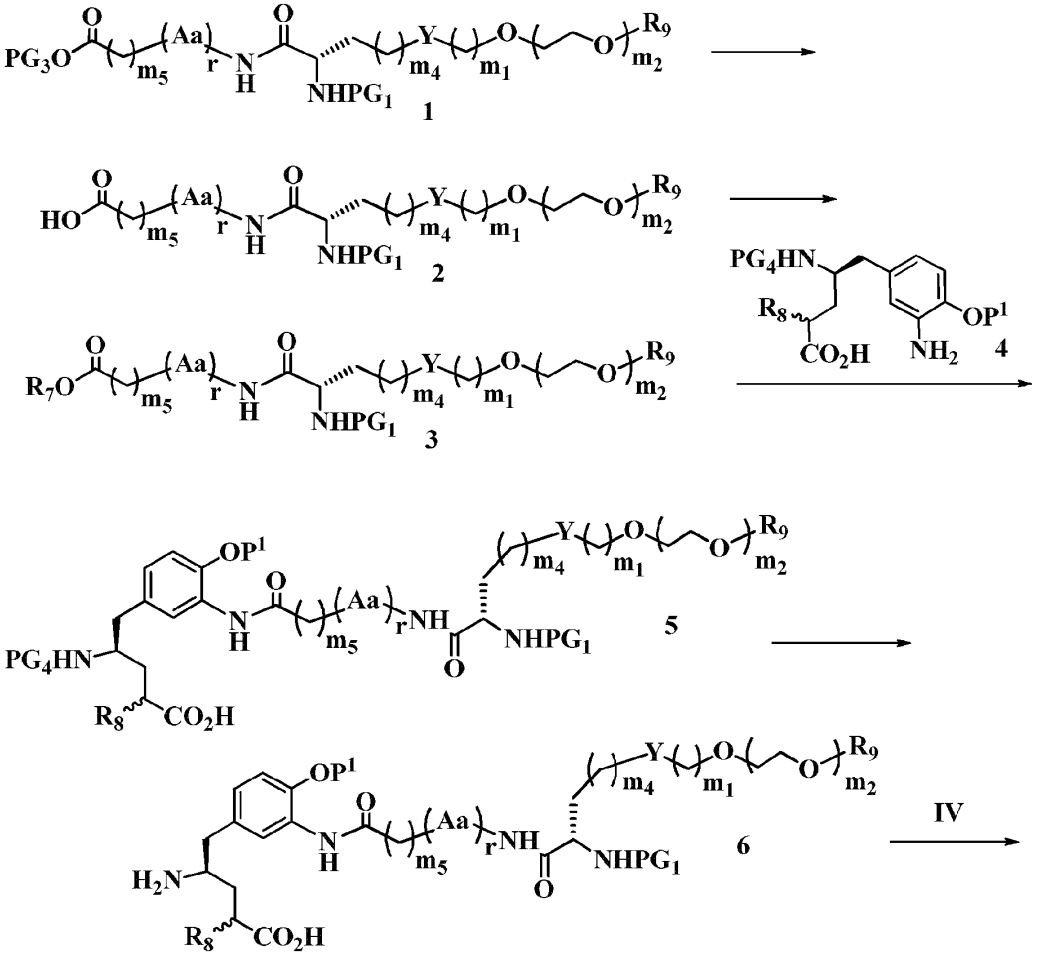


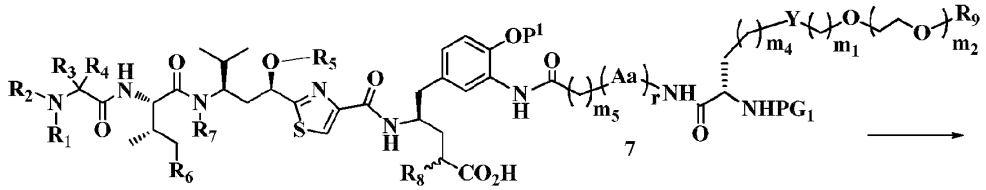
II

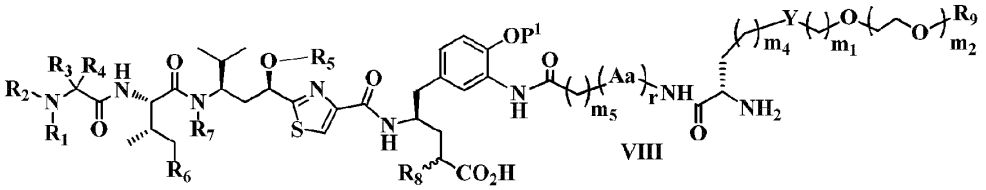
其中 X 定义及缩合反应条件如权利要求 9-11 中任一项所述。

**34.** 如权利要求 33 所述的偶联物，其特征在于，结构式(VIII)中的 $NH_2$ 基团是以三氟乙酸盐、盐酸盐、甲酸盐、醋酸盐、硫酸盐、磷酸盐、硝酸盐、柠檬酸盐、丁二酸盐、苯甲酸或磺酸盐形式进行缩合反应。

**35.** 如权利要求 33-34 中任一项所述的偶联物，其特征在于，结构式(VIII)的合成包括下列步骤中的一种或多种：

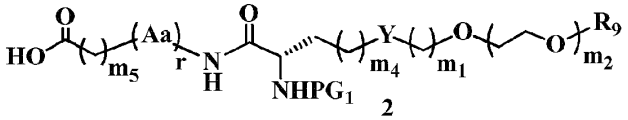




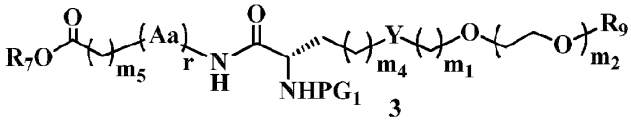


**36.** 如权利要求 35 所述的偶联物，其特征在于，结构式(VIII)的合成包括下列步骤中的一种或多种：

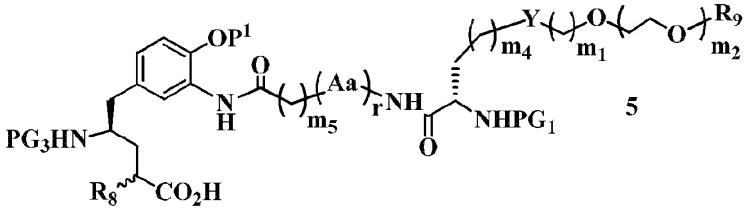
步骤 1. 化合物 1 上的羧基保护基 $PG_3$ 在去保护条件下被去除(如羧基上的叔丁基酯保护基可以在甲酸、乙酸、三氟乙酸、盐酸、磷酸等的作用下被切除)，得到化合物 2；



步骤 2. 化合物 2 与含羟基的化合物(如五氟苯酚或 N-羟基琥珀酰亚胺)在缩合试剂(如 EDC、HATU、DIC、DCC)存在时，发生缩合反应，得到具有反应活性的酯化合物 3；

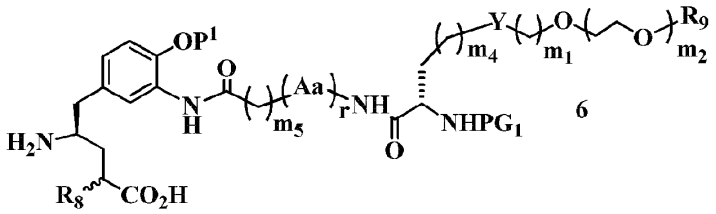


步骤 3. 化合物 3 与化合物 4，在水相，一定的 pH 值条件(如 pH = 5.0-8.0)下，或者有机相，存在有机碱(如 TEA、DBU、DIPEA)或无机碱(如 $Na_2CO_3$、$Cs_2CO_3$、$K_2CO_3$、$NaHCO_3$)时，发生缩合反应，得到化合物 5；反应也任选不使用任何碱，但是需要控制合适的反应温度和反应时间；



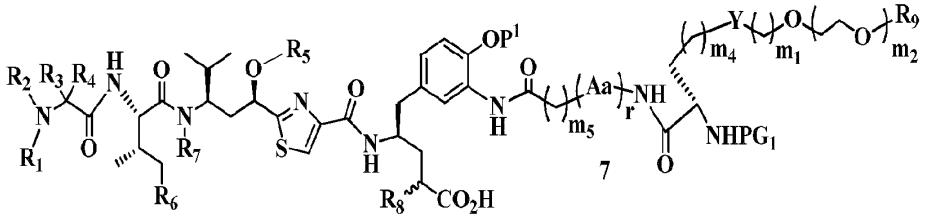
步骤 4. 化合物 5 上的氨基保护基团 $PG_3$ 在去保护条件下被去除(如氨基上的 Cbz 保护基可以在氢气和钯炭催化剂的作用下被切除)，氨基上的 Boc

保护基可以在酸性条件下被切除，得到化合物 6；



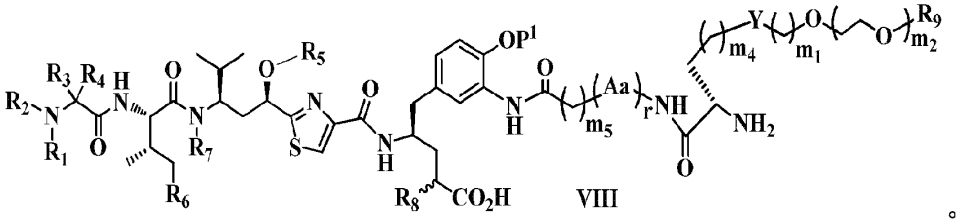
6

步骤 5. 化合物 6 与结构式(IV)(即权利要求 18-21 中任一项所述的结构式(IV))，在水相，一定的 pH 值条件(如 pH = 5.0-8.0)下，或者有机相，存在有机碱(如 TEA、DBU、DIPEA)或无机碱(如 $Na_2CO_3$、$Cs_2CO_3$、$K_2CO_3$、$NaHCO_3$)时，发生缩合反应，得到化合物 7；反应也任选不使用任何碱，但是需要控制合适的反应温度和反应时间；



7

步骤 6. 化合物 7 上的氨基保护基团 $PG_1$ 在去保护条件下被去除，如氨基上的 Cbz 保护基可以在氢气和钯炭催化剂的作用下被切除，氨基上的 Boc 保护基可以在酸性条件下被切除，得到化合物 VIII；



VIII

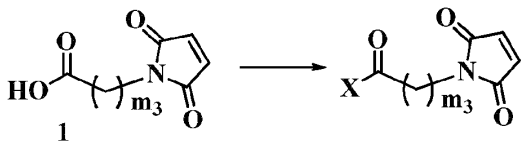
。

**37.** 如权利要求 33-36 中任一项所述的偶联物，其特征在于，结构式(IX)的合成包括下列步骤中的一种或多种：

羧酸化合物 1 与适当的含羟基的化合物(如五氟苯酚或 N-羟基琥珀酰亚胺)在缩合试剂存在时，发生缩合反应，得到具有反应活性的酯 IX；

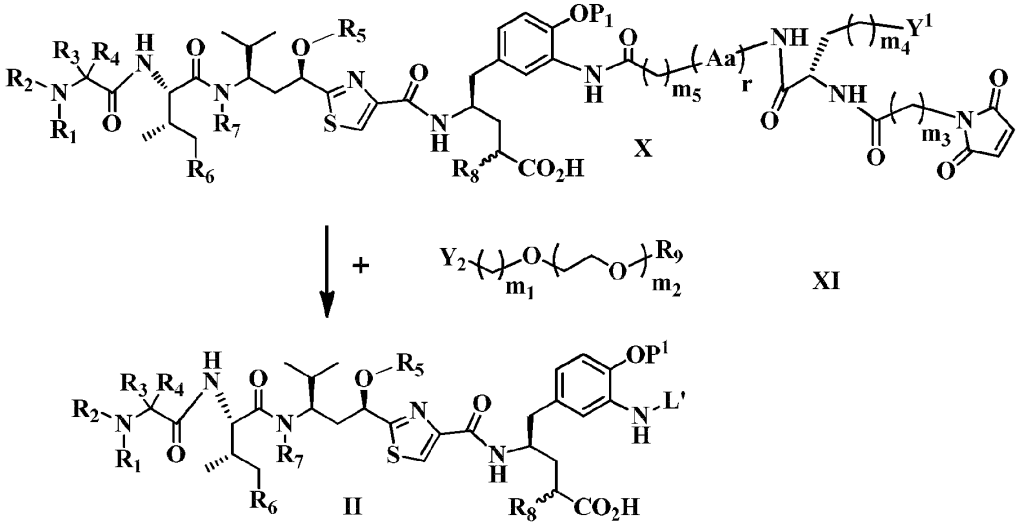
或者，羧酸化合物 1 与氯甲酸乙酯、氯甲酸异丁酯等，在有机碱(如 N-甲基吗啡啉、三乙胺、二异丙基乙胺等有机碱)存在下反应，得到具有反应活性的混合酸酐 IX；

或者，羧酸化合物 1 与草酰氯，在三乙胺等有机碱和催化剂量的 DMF 存在条件下，反应得到酰氯 IX；

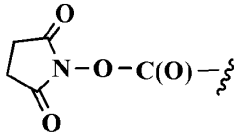
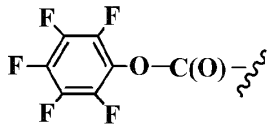
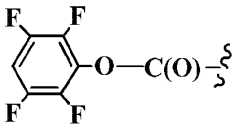
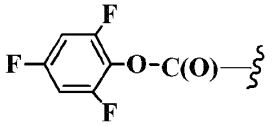
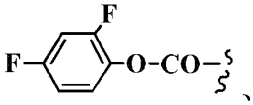
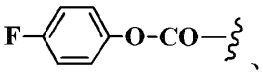
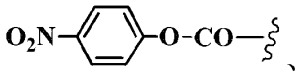
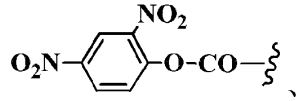
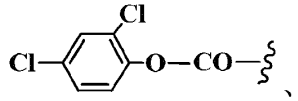
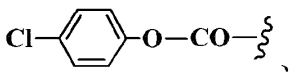
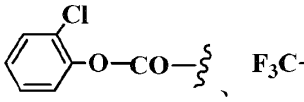
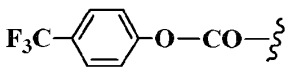
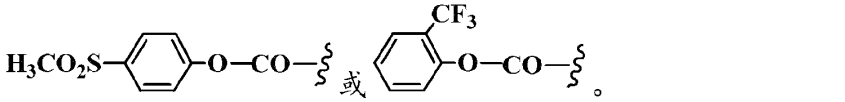


1 IX 。

**38**. 如权利要求 3-11 中任一项所述的偶联物，其特征在于，结构式为(II)的合成由结构式(X)和结构式(XI)缩合反应获得：

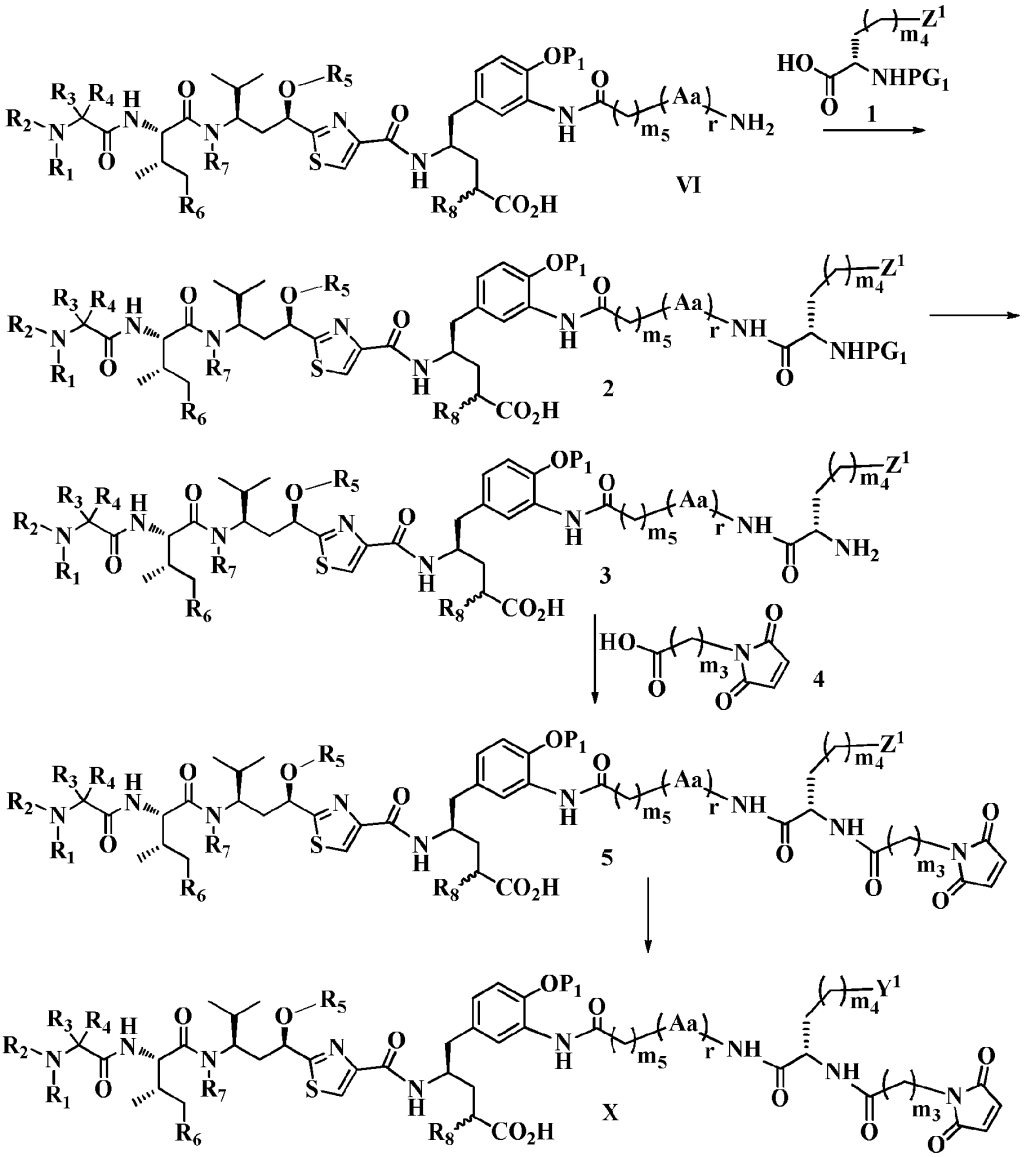


其中 $Y^1$ 和 $Y^2$ 基团缩合构成 Y 基团；$Y^1$ 和 $Y^2$ 分别是 $NH_2$、$^+NH_3$、COOH、COX、$SO_2Cl$、$P(O)Cl_2$、NHCOX、$NHSO_2Cl$、$NHP(O)Cl_2$、NHP(O)(OH)Cl、


(NHS)、

(PFP)、

、

、

、

、

、

、

、

、

、

、

或

。

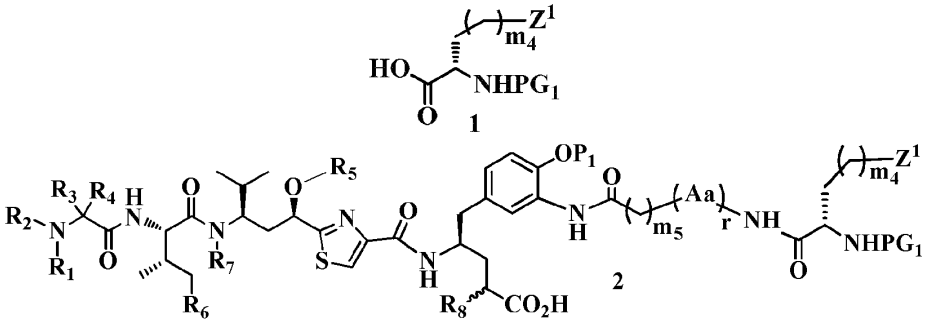
**39**. 如权利要求 38 所述的偶联物，其特征在于，结构式(X)的合成包括下列步骤中的一种或多种：



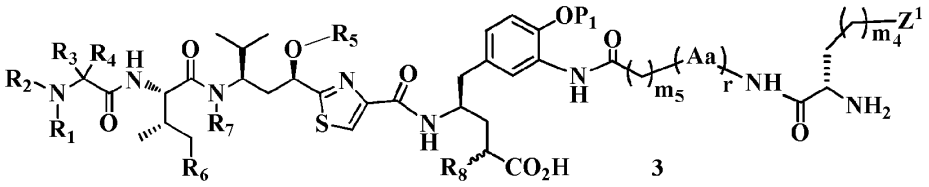
。

**40.** 如权利要求 39 所述的偶联物，其特征在于，结构式(X)的合成包括下列步骤中的一种或多种：

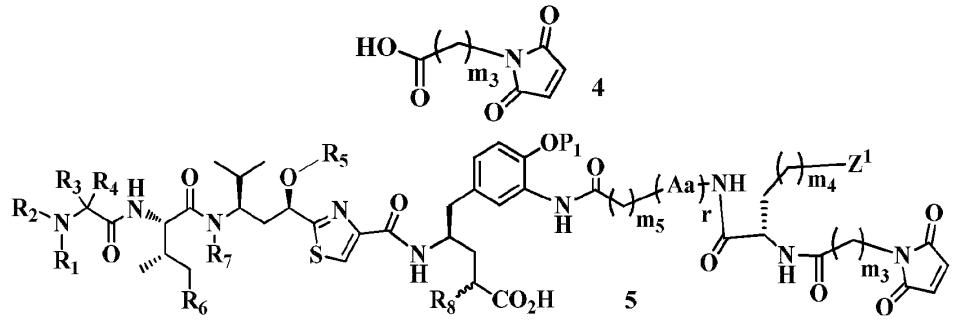
步骤 1. 含羧基的化合物 1 和化合物 VI 在缩合剂(如 EDC、HATU、DIC、DCC)作用下，或者经过缩合反应路线，发生缩合反应，得到化合物 2；其中 $Z^1$ 为 $Y^1$ 的前体，如经过适当基团保护的氨基、羧基、酰胺基、磷酰胺基和磺酰胺基、羧酸酯、磷酸酯、膦酸酯等；



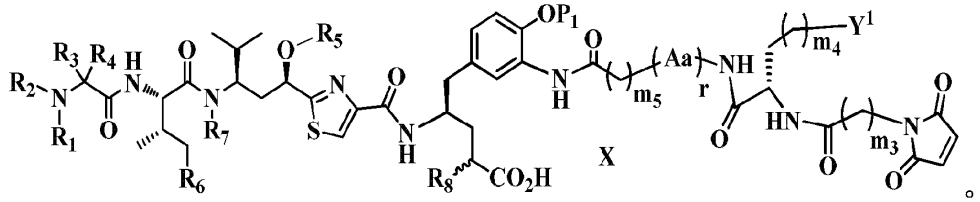
步骤 2. 化合物 2 上的氨基保护基团 $PG_1$ 在去保护条件下被去除，如氨基上的 Cbz 保护基可以在氢气和钯炭催化剂的作用下被切除，氨基上的 Boc 保护基可以在酸性条件下被切除，得到化合物 3；



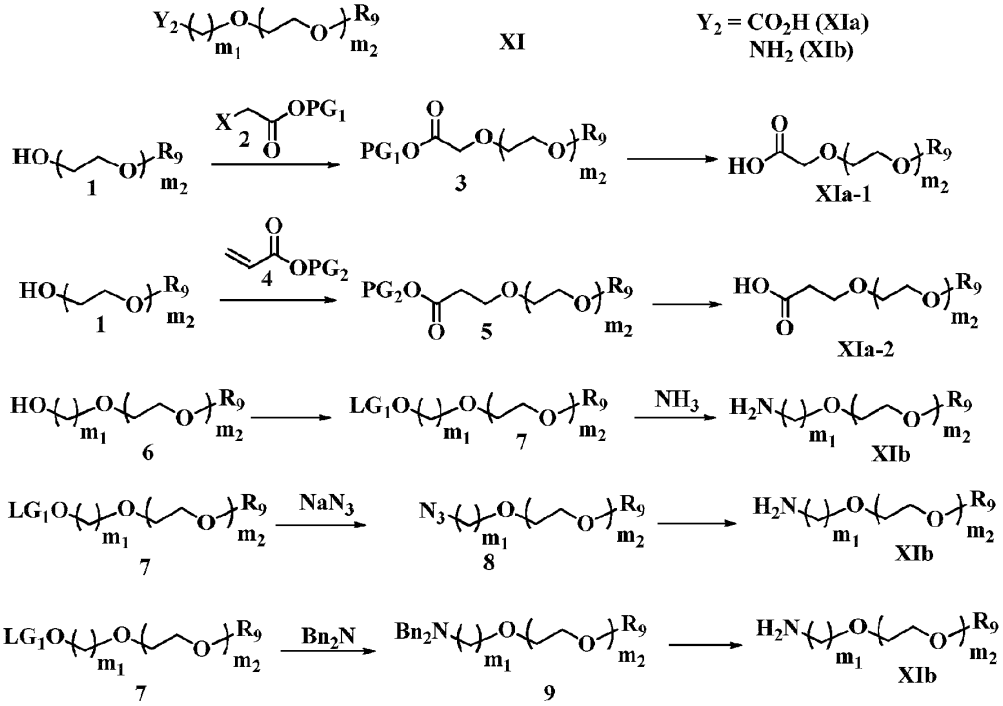
步骤 3. 含羧基化合物 4 和含氨基的化合物 3 在缩合剂作用下，或者经过缩合反应路线发生缩合反应，得到化合物 5；



步骤 4. 化合物 5 中的官能团 $Z^1$ 经过适当的化学转换，如羧基和氨基的脱保护等操作，生成官能团 $Y^1$，得到化合物 X；



**41.** 如权利要求 38-40 中任一项所述的偶联物，其特征在于，结构式(XI)的合成包括下列步骤中的一种或多种：




**42.** 如权利要求 41 所述的偶联物，其特征在于，结构式(XI)的合成包括下列步骤中的一种或多种：

步骤 1. 将化合物 1 溶解在有机溶剂，如四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、二甲亚砜中，用碱，如氢化钠、钠、氢氧化钠等拔氢，然后与化合物 2(其中 X 为氯、溴、碘等卤素或者其他离去基团)在一定的温度下搅拌，反应得到化合物 3；

步骤 2. 化合物 3 上的羧基保护基团 PG1 在去保护条件下被去除，如叔丁基酯保护基可以在甲酸、乙酸、三氟乙酸、盐酸、磷酸等的作用下被切除，得到化合物 XIa-1；

步骤 3. 将化合物 1 溶解在有机溶剂，如四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、二甲亚砜中，用碱，如氢化钠、钠、氢氧化钠等拔氢，然后与化合物 4(在一定的温度下搅拌，反应得到化合物 5；

步骤 4. 化合物 5 上的羧基保护基团 $PG_1$ 在去保护条件下被去除，如叔丁基酯保护基可以在甲酸、乙酸、三氟乙酸、盐酸、磷酸等的作用下被切除，得到化合物 XIa-2；

步骤 5. 将化合物 6 溶解在有机溶剂中，如四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、二甲亚砜等，加入适当的有机碱，如三乙胺、N,N-二异丙

基乙胺、吡啶等，与甲基磺酰氯、4-甲苯磺酰氯等在 0-5°C 反应，得到化合物 7；

步骤 6. 化合物 7 与氨水在水相或有机溶剂中，如甲醇、乙醇、乙腈、四氢呋喃、环氧六环等，发生反应，反应可适当加热，得到化合物 XIb。

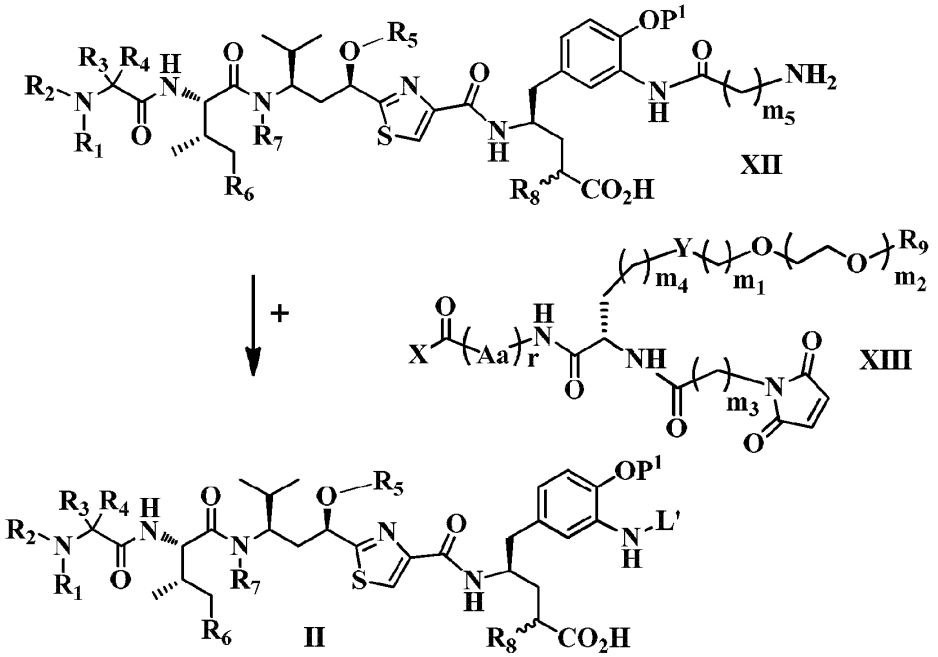
步骤 7. 化合物 7 与叠氮化钠在有机溶剂中，如四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、二甲亚砜等，发生反应，得到化合物 8；

步骤 8. 叠氮化合物 8 在钯碳催化剂存在的条件下被氢化还原，或者三苯基膦和水的作用下被还原，得到化合物 XIb；

步骤 9. 化合物 7 与二苄胺在有机溶剂中，如四氢呋喃、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、二甲亚砜等，优选 N,N-二甲基甲酰胺，在 100°C 发生反应，得到化合物 9；

步骤 10. 将化合物 9 溶解在溶剂中，如乙酸乙酯、甲醇、乙醇、乙酸、四氢呋喃等，在一定的氢气压力下，在钯碳催化剂上被还原，反应可适当加热至 45°C，得到化合物 XIb。

**43.** 权利要求 3-11 中任一项所述的偶联物，其特征在于，结构式为(II)的合成由结构式(XII)和结构式(XIII)缩合反应获得：

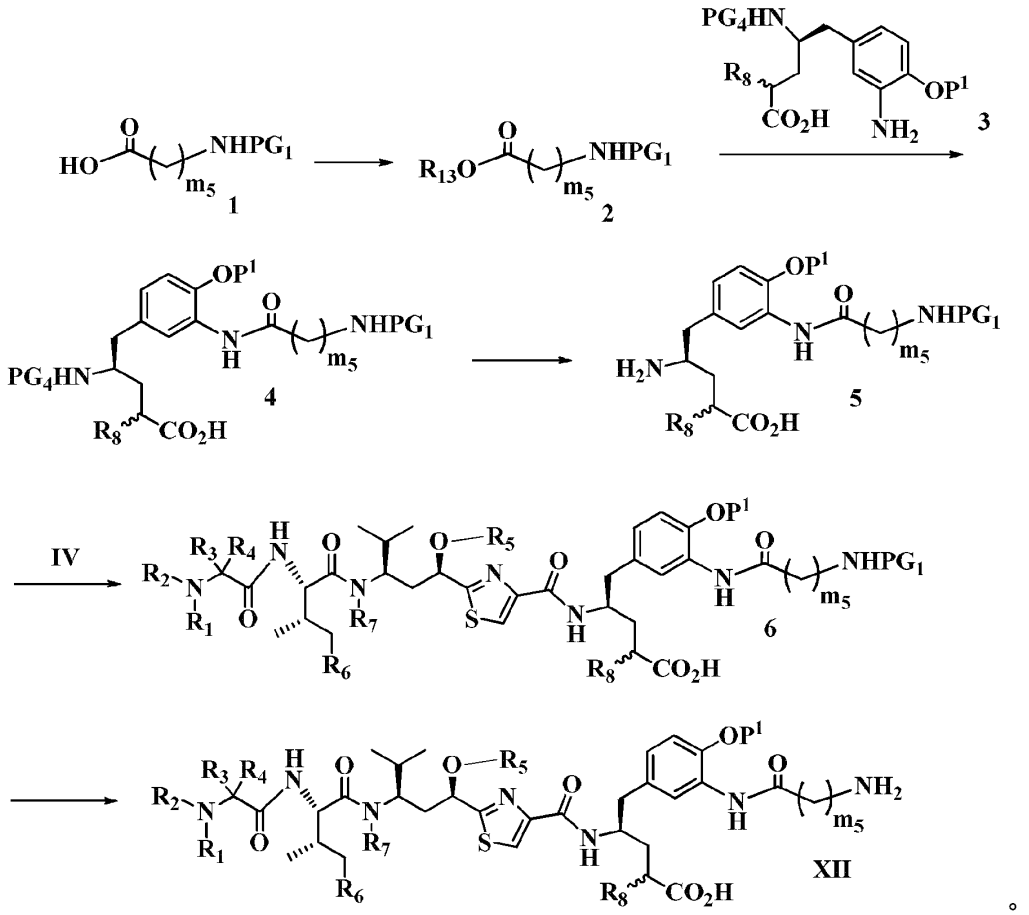


其中 X 定义及缩合反应条件如权利要求 9-11 中任一项所述。

**44.** 权利要求 43 所述的偶联物，其特征在于，结构式(XII)中的 $NH_2$ 基团

是以三氟乙酸盐、盐酸盐、甲酸盐、醋酸盐、硫酸盐、磷酸盐、硝酸盐、柠檬酸盐、丁二酸盐、苯甲酸或磺酸盐形式进行缩合反应。

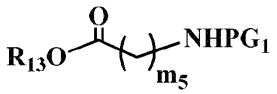
**45.** 如权利要求 43-44 中任一项所述的偶联物，其特征在于，结构式(XII)的合成包括下列步骤中的一种或多种：



。

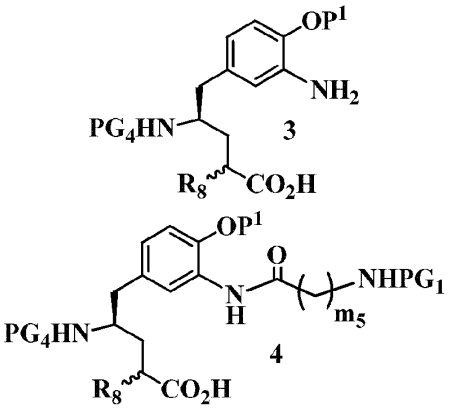
**46.** 如权利要求 45 所述的偶联物，其特征在于，结构式(XII)的合成包括下列步骤中的一种或多种：

步骤 1. 化合物 1 与适当的含羟基的化合物(如五氟苯酚或 N-羟基琥珀酰亚胺)在缩合试剂存在时，发生缩合反应，得到具有反应活性的酸的衍生物化合物 2；

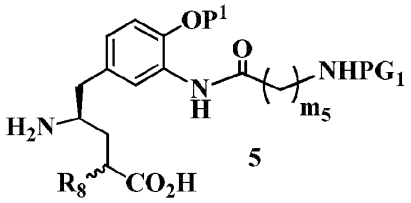


步骤 2. 化合物 2 与化合物 3，在水相，一定的 pH 值条件(如 pH = 5.0-8.0)下，或者有机相，存在有机碱(如 TEA、DBU、DIPEA)或无机碱(如 $Na_2CO_3$、

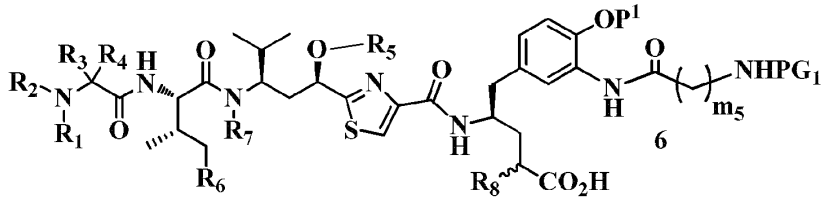
$Cs_2CO_3$、$K_2CO_3$、$NaHCO_3$)时，发生缩合反应，得到化合物 4；反应也任选不使用任何碱，但是需要控制合适的反应温度和反应时间；



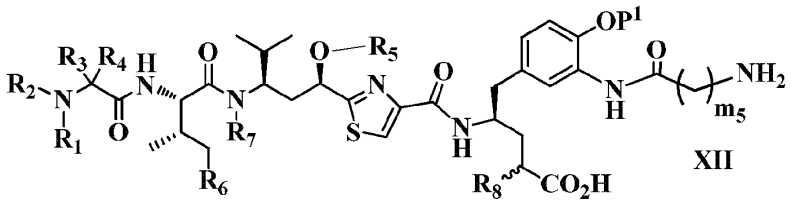

步骤 3. 化合物 4 上的氨基保护基团 $PG_4$ 在去保护条件下被选择性地去除(如氨基上的 Cbz 保护基可以在氢气和钯炭催化剂的作用下被切除)，氨基上的 Boc 保护基可以在酸性条件下被切除，得到化合物 5；




步骤 4. 化合物 5 与结构式(IV)(即权利要求 18-21 中任一项所述的结构式(IV))，在水相，一定的 pH 值条件(如 pH = 5.0-8.0)下，或者有机相，存在有机碱(如 TEA、DBU、DIPEA)或无机碱(如 $Na_2CO_3$、$Cs_2CO_3$、$K_2CO_3$、$NaHCO_3$)时，发生缩合反应，得到化合物 6；反应也任选不使用任何碱，但是需要控制合适的反应温度和反应时间；

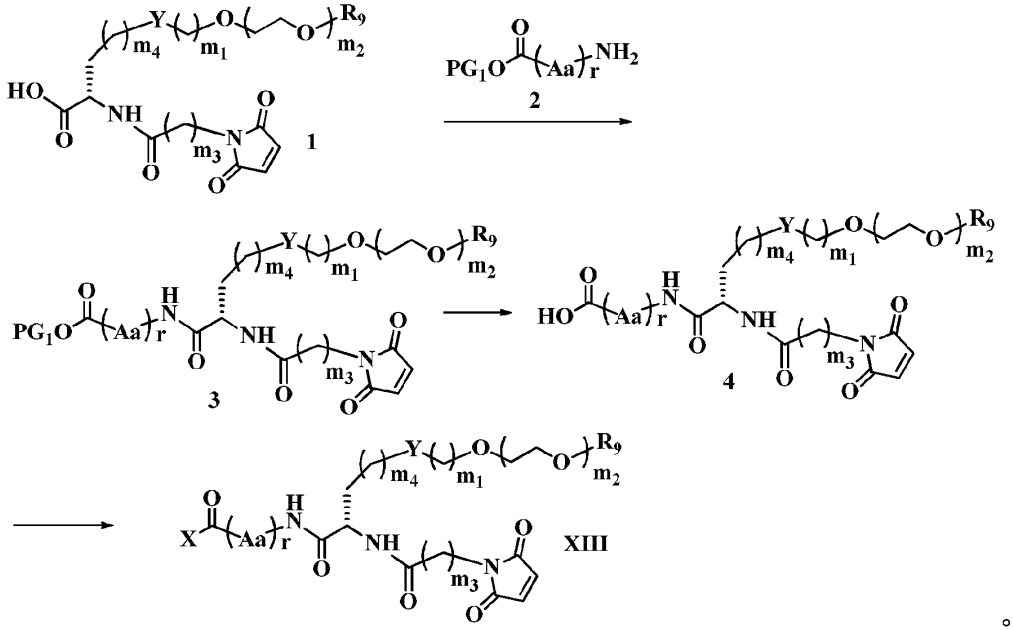



步骤 5. 化合物 6 上的氨基保护基团 PG1 在去保护条件下被去除(如氨基上的Cbz保护基可以在氢气和钯炭催化剂的作用下被切除)，氨基上的Boc保护基可以在酸性条件下被切除，得到化合物 XII；




。

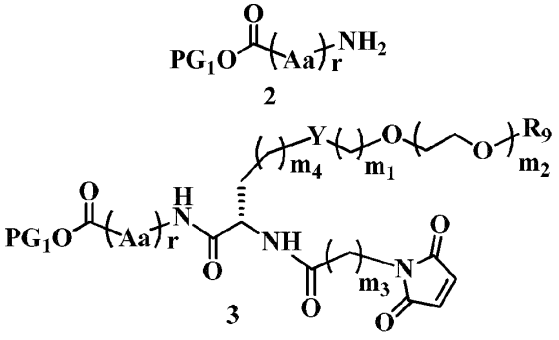
**47.** 如权利要求 43-46 中任一项所述的偶联物，其特征在于，结构式(XIII)的合成包括下列步骤中的一种或多种：




。

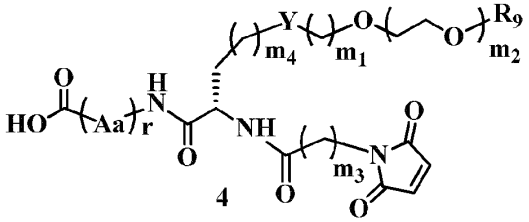
**48.** 如权利要求 47 所述的偶联物，其特征在于，结构式(XIII)的合成包括下列步骤中的一种或多种：

步骤 1. 含羧基化合物 1 和含氨基的化合物 2 在缩合剂(如 EDC、HATU、DIC、DCC)作用下，或者经过缩合反应路线发生缩合反应，得到化合物 3；




步骤 2. 化合物 3 上的羧基保护基团 $PG_1$ 在去保护条件下被去除(如羧基上的叔丁基酯保护基可以在甲酸、乙酸、三氟乙酸、盐酸、磷酸等的作用

下被切除)，得到化合物 4；

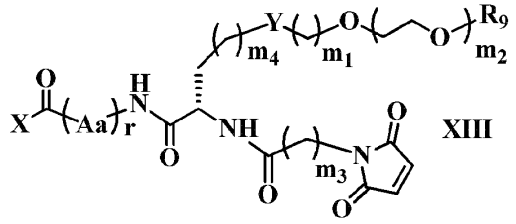


4

步骤 3. 羧酸化合物 4 与含羟基的化合物(如五氟苯酚或 N-羟基琥珀酰亚胺)在缩合试剂存在时，发生缩合反应，得到具有反应活性的酯结构式(XIII)；

或者，羧酸化合物 4 与氯甲酸乙酯、氯甲酸异丁酯等，在有机碱如 N-甲基吗啡啉、三乙胺、二异丙基乙胺等有机碱存在下反应，得到具有反应活性的混合酸酐结构式(XIII)；

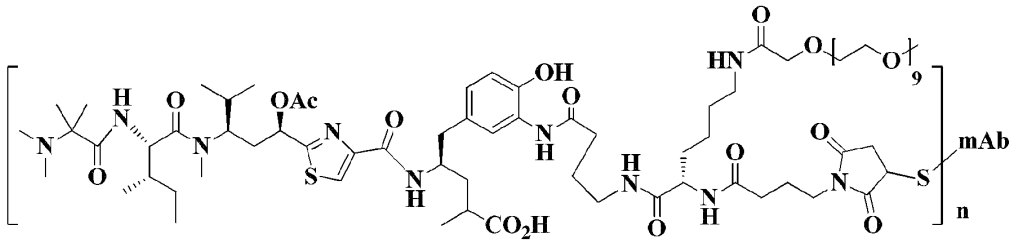
或者，羧酸化合物 4 与草酰氯，在三乙胺等有机碱和催化剂量的 DMF 存在条件下，反应得到酰氯结构式(XIII)，



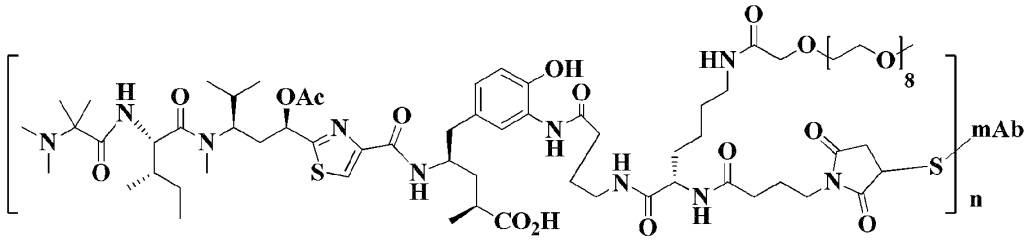
XIII

。

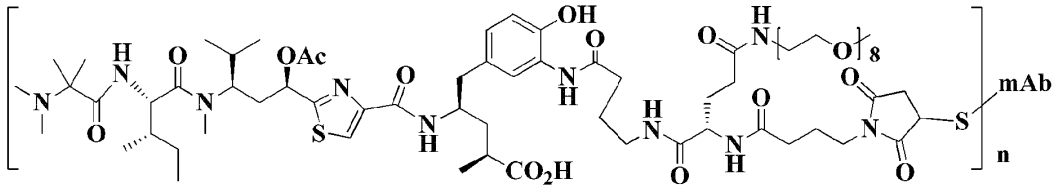
**49.** 如权利要求 1-48 中任一项所述的偶联物，其特征在于，所述式(I)化合物的结构如下：



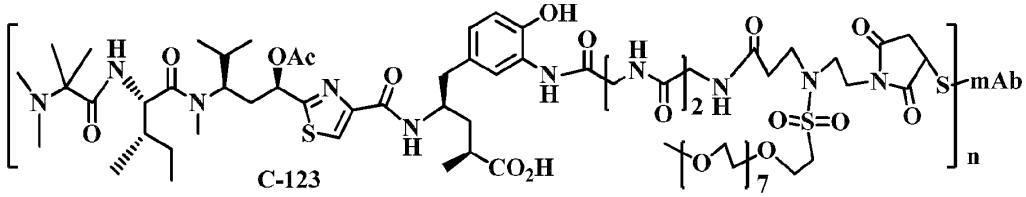
C-37、



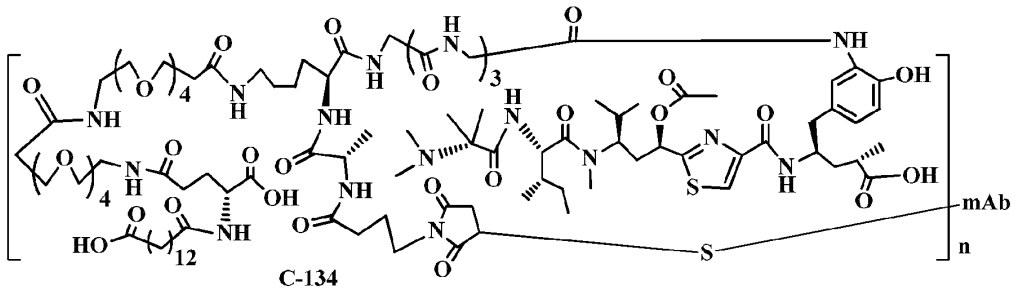
C-59 或



C-72。

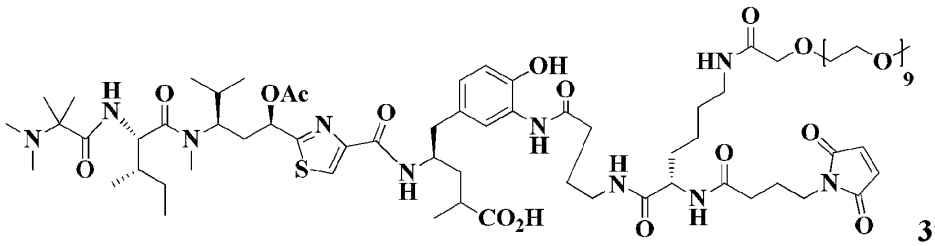


C-123

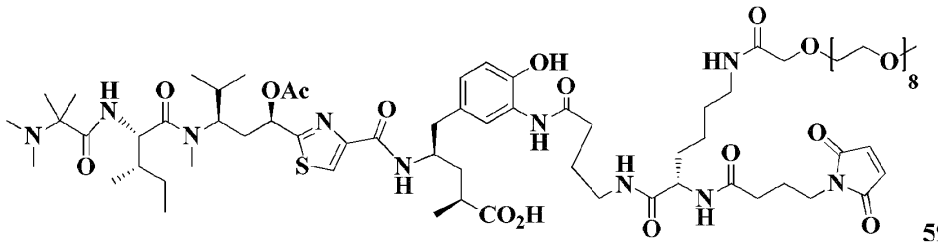


C-134

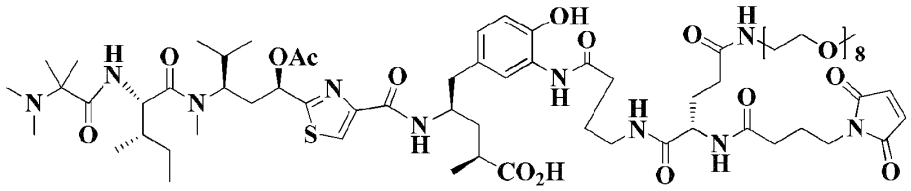
50. 一种化合物，其特征在于，所述式(II)化合物结构如下：



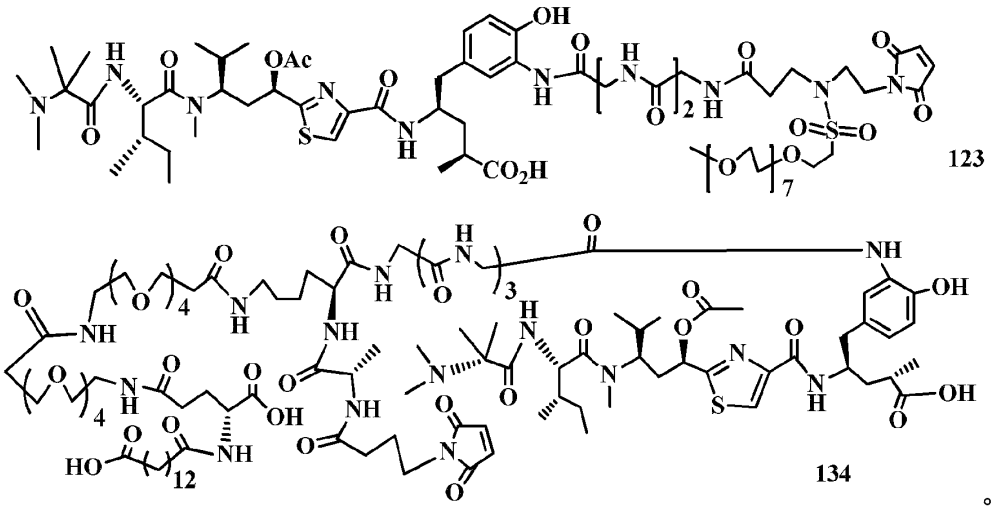
37、



59、



72、



123



134

。

**51.** 一种药物组合物，其包含权利要求 1-49 中任一项所述的偶联物或以权利要求 50 所述的化合物构成的偶联物，以及药学上可接受的辅料。

**52.** 权利要求 1-49 中任一项所述的偶联物在用于制备治疗癌症、感染或自身免疫疾病的药物中用途。

**53.** 权利要求 50 所述的化合物在用于制备治疗癌症、感染或自身免疫疾病的药物中用途。

**54.** 权利要求 51 所述的药物组合物在用于制备治疗癌症、感染或自身免疫疾病的药物中用途。