一种喜树碱类衍生物及其配体-药物偶联物

技术领域

本发明涉及一种喜树碱类衍生物及其配体-药物偶联物。

背景技术

配体-药物偶联物（ADC）作为新型的靶向药物，一般由三部分组成：抗体或抗体类配体，小分子药物以及将配体和药物偶联起来的连接子。抗体药物偶联物利用抗体对抗原的特异性识别，将药物分子运输至靶细胞附近并有效释放药物分子，达到治疗目的。2011 年 8 月，美国食品药品监督管理局（FDA）批准西雅图基因公司研制的用于治疗霍奇金淋巴瘤以及复发性变性大细胞淋巴瘤（ALCL）的 ADC 新药 Adecteis™ 上市，临床应用已经证明了此类药物的安全性和有效性。

喜树碱类药物作为抗肿瘤性的小分子化合物，已知作为抑制 DNA 拓扑异构酶 I 而呈现抗肿瘤作用，包括伊立替康，依喜替康，SN38 等。许多喜树碱类药物已在临床中广泛应用，主要适应症为骨癌、前列腺癌、乳腺癌、胰腺癌等。与目前临床使用的伊立替康不同，依喜替康不需要通过利用酶进行活化。另外，与作为伊立替康的药效本体的 SN-38、同在临床中使用的拓扑替康相比，依喜替康的拓扑异构酶 I 抑制活性更强，在体外针对多种癌细胞具有更强的杀细胞活性。尤其是，对于通过 P-糖蛋白的表达面对 SN-38 等显示耐性的癌细胞也显示效果。依喜替康作为单独化疗药物尚未成功上市，推测与其较高的细胞活性相关，导致治疗窗口窄。

抗体-药物偶联物（ADC）类药物的优势在于增加水溶性，提高靶向性，特异性抗体与抗原的结合，将药物携带至靶细胞周围，通过在靶细胞附近释放药物，有效杀灭肿瘤细胞，降低毒副作用。喜树碱类药物在 ADC 药物中具有可观的应用前景，目前以依喜替康为毒素的抗体偶联药物 trastuzumab deruxtecan（商品名为 Enhertu）已于 2019 年 12 月 20 日被美国 FDA 获批上市，作为第一个上市的喜树碱类 ADC 药物，很好证明了此类药物在 ADC 领域的成药能力和应用前景。

Enhertu 为针对 HER2 靶点的 ADC 药物，单个抗体上连接了约 8 个依喜替康衍生物（DAR=8）。但同时，其原研公司第一三共也意识到，因为安全性的原因，有必要降低 DAR 值，在其公布的在临床中的 ADC ：DS-1062 已将 DAR 值降低至 4, DAR 值的降低可能带来治疗效果的降低。由此可见，开发更加安全的喜树碱衍生物是很有必要

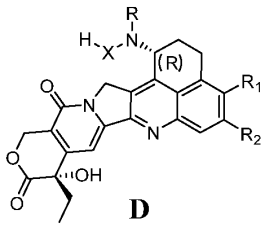
的。

在 ADC 药物中，为保证安全性会选择降低药物的 DAR 值，从而导致治疗效果的降低。而药物的溶解性是影响 DAR 值的重要因素之一，同时也是影响 ADC 药物的旁观者效应的主要因素。喜树碱类药物虽已在临床中广泛应用，但其水溶性差仍是亟待解决的难题。对于水溶性差的药物，提高药物的水溶性，可以改善药物的物理性质，改变其在体内的代谢情况，从而提高药效，加强治疗效果，减少药物剂量，降低成本。差的水溶性会导致 ADC 聚集程度增加，从而易于被正常细胞内吞，产生毒副作用或更易于被代谢、缩短半衰期。

本公司在研究过程中，意外的发现依喜替康的氨基手性异构体化合物具有明显优于依喜替康的水溶性，依据其合成的衍生物同样具有更好的水溶性，可合成制备更优的抗肿瘤喜树碱类 ADC 药物，使其具有更高的安全性、有效性，更好满足临床需求。

发明内容

本发明提供一种如通式 **D** 所示的喜树碱类衍生物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物；



D

其中：


与 相连的手性碳原子具有 R 构型的绝对手性；

R 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、芳基、取代芳基或杂芳基；

R_1 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、羧基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

R_2 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、羧基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

X 选自-C(O)-CR_aR_b-$(CR_3R_4)_m$-O-、-C(O)-CR_aR_b-$(CR_3R_4)_m$-NH-或-C(O)-CR_aR_b-$(CR_3R_4)_m$-S-;

R_a 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、氘代烷基、卤代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基;

R_b 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、氘代烷基、卤代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基;

或者，R_a、R_b 及其所连接碳原子构成 C_{3-6} 环烷基、环烷基烷基或杂环基;

R_3、R_4 相同或者不同，且分别独立地为氢原子、氘原子、卤素、烷基、卤代烷基、氘代烷基、烷氧基、羟基、氨基、氰基、硝基、羟烷基、环烷基或杂环基;

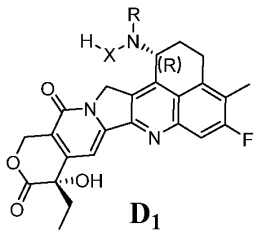
或者，R_3、R_4 及其所连接碳原子构成 C_{3-6} 环烷基、环烷基烷基或杂环基;

m 选自 0-4 的整数。

作为优选方式，R_1 选自 C_{1-3} 烷基。

作为优选方式，R_2 选自 C_{1-3} 烷基或氟原子。

喜树碱衍生物具有如下式 **D_1** 所示结构：



D_1

其中：


与 相连的手性碳原子具有 R 构型的绝对手性;

R 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、芳基、取代芳基或杂芳基;

X 选自-C(O)-CR_aR_b-$(CR_3R_4)_m$-O-、-C(O)-CR_aR_b-$(CR_3R_4)_m$-NH-或-C(O)-CR_aR_b-$(CR_3R_4)_m$-S-;

R_a 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、氘代烷基、卤代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基;

R_b 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、氘代烷基、卤代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

或者，R_a、R_b 及其所连接碳原子构成 C_{3-6} 环烷基、环烷基烷基或杂环基；

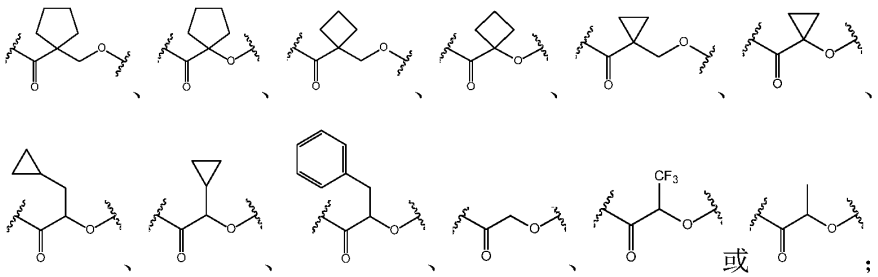
R_3、R_4 相同或者不同，且分别独立地为氢原子、氘原子、卤素、烷基、卤代烷基、氘代烷基、烷氧基、羟基、氨基、氰基、硝基、羟烷基、环烷基或杂环基；

或者，R_3、R_4 及其所连接碳原子构成 C_{3-6} 环烷基、环烷基烷基或杂环基；

m 选自 0-4 的整数。

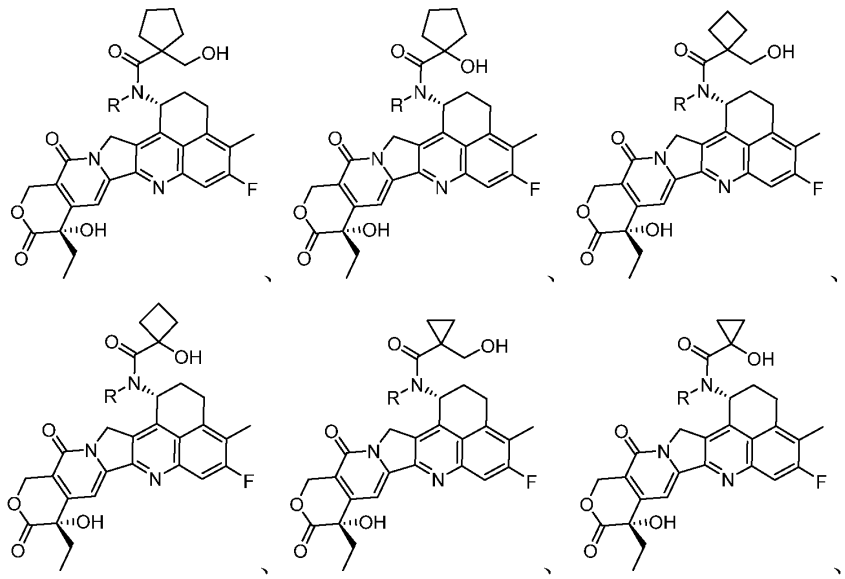
作为优选方式，所述 R 选自 C_{1-3} 烷基。

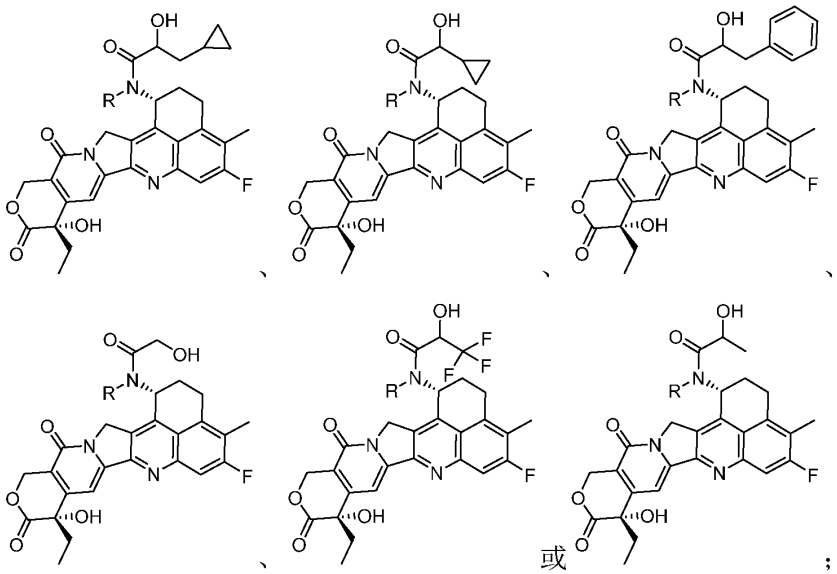
作为优选方式，所述 X 非限制性地选自以下结构：



其中左侧波浪线与喜树碱衍生物部分相连，右侧波浪线与连接单元相连。

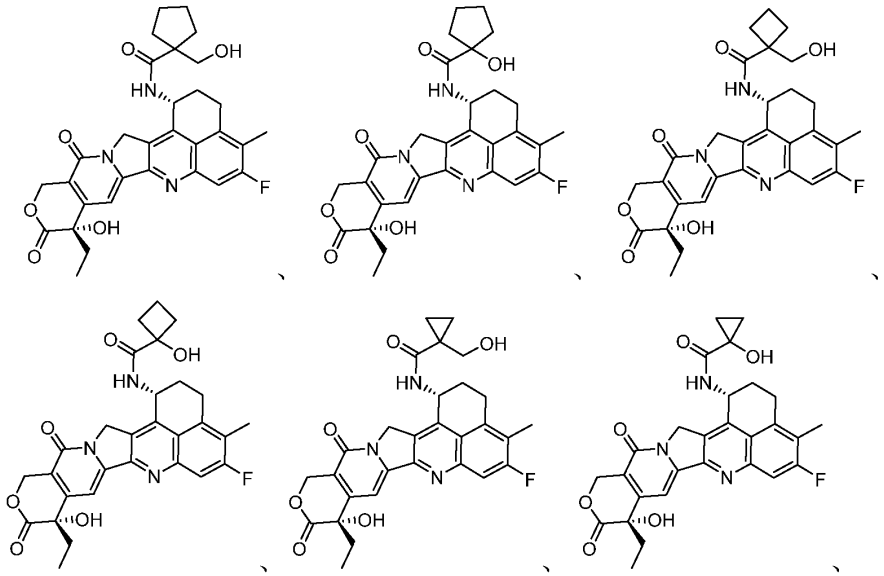
作为优选方式，所述化合物非限制性地选自以下所示的结构：

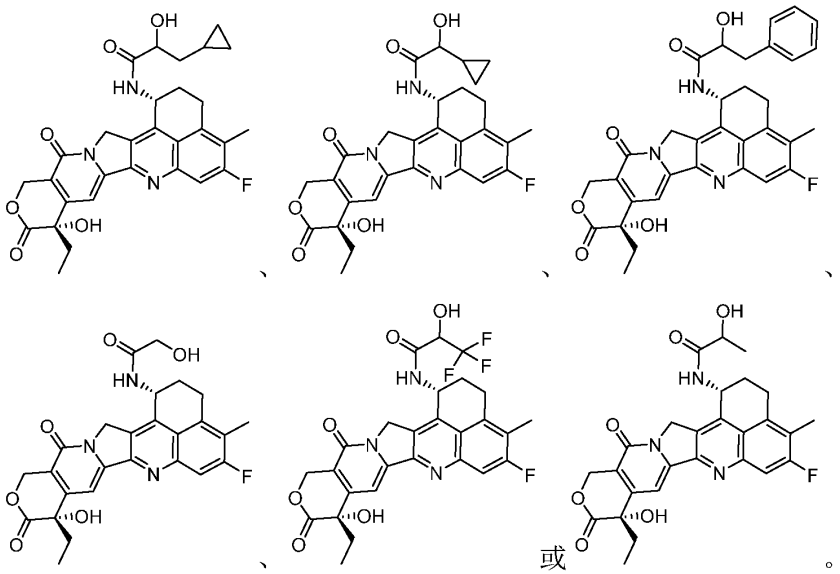




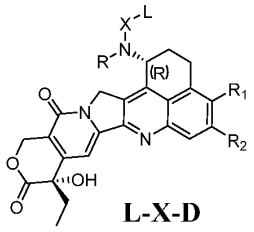
其中 R 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、芳基、取代芳基或杂芳基。

进一步优选，所述化合物非限制性地选自以下所示的结构：





本发明还提供了一种包括喜树碱类衍生物的连接子-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式：



L-X-D

其中：


与 相连的手性碳原子具有 R 构型的绝对手性；

R 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、芳基、取代芳基或杂芳基；

R_1 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、羧基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

R_2 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、羧基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

X 选自-C(O)-CR_aR_b-$(CR_3R_4)_m$-O-、-C(O)-CR_aR_b-$(CR_3R_4)_m$-NH-或-C(O)-CR_aR_b-$(CR_3R_4)_m$-S-;

R_a 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、氘代烷基、卤代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基;

R_b 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、氘代烷基、卤代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基;

或者，R_a、R_b 及其所连接碳原子构成 C_{3-6} 环烷基、环烷基烷基或杂环基;

R_3、R_4 相同或者不同，且分别独立地为氢原子、氘原子、卤素、烷基、卤代烷基、氘代烷基、烷氧基、羟基、氨基、氰基、硝基、羟烷基、环烷基或杂环基;

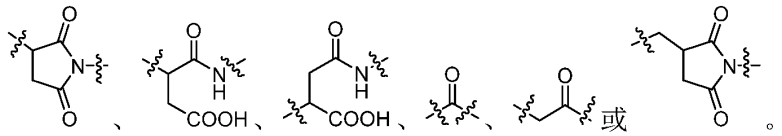
或者，R_3、R_4 及其所连接碳原子构成 C_{3-6} 环烷基、环烷基烷基或杂环基;

m 选自 0-4 的整数;

L 为-L_1-L_2-L_3-L_4-。

作为优选方式，-L-为-L_1-L_2-L_3-L_4-，其中 L_1 端与配体 Ab 相连，L_4 端与 X 相连。

进一步优选，L_1 非限制性地选自：



进一步优选，L_2 选自：-NC(R_5R_6)C(O)、-$NR_7(CH_2)_oC(O)$-、-$NR_7(CH_2CH_2O)_oCH_2C(O)$-、-$S(CH_2)_pC(O)$-或者化学键，其中 o 选自 0-20 的整数；p 选自 0-20 的整数;

R_5、R_6 相同或者不同，且各自独立地选自氢原子、氘原子、烷基、取代烷基、氘代烷基、杂烷基、羧基、氨基、取代氨基;

R_7 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、芳基、取代芳基或杂芳基;

L_1 与 L_2 共用 N 原子。

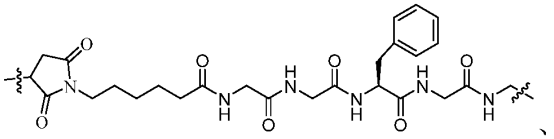
进一步优选，L_3 选自由氨基酸构成的肽残基，其中任选氨基酸进一步被选自氘原子、卤素、羟基、氰基、氨基、硝基、羧基、烷基、取代烷基、烷氧基和环烷基或者取代环烷基中的一个或多个取代基所取代；优选由一个、两个或者多个选自苯丙氨酸

(F)、甘氨酸(G)、缬氨酸(V)、赖氨酸(K)、瓜氨酸、丝氨酸(S)、谷氨酸(E)或者天冬氨酸(D)中的氨基酸形成的肽残基。

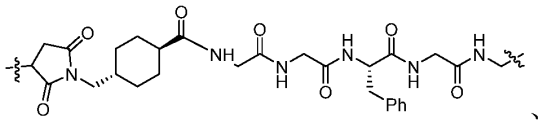
进一步优选，L_4 选自：$-NR_8(CR_9R_{10})_q-$、$-C(O)NR_8-$、$-C(O)NR_8(CH_2)_q-$或者化学键，q 选自 0-6 的整数；

R_8、R_9 和 R_{10} 相同或者不同，且各自独立地选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基。

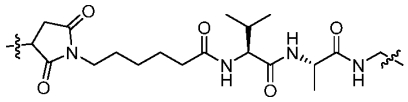
作为优选方式，所述连接单元-L-非限制性地选自以下结构；



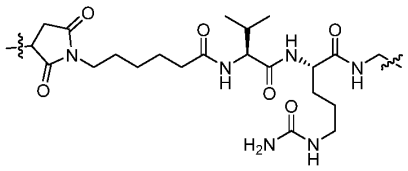
、



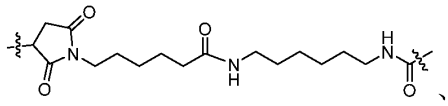
、



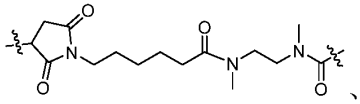
、



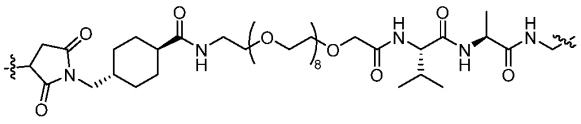
、



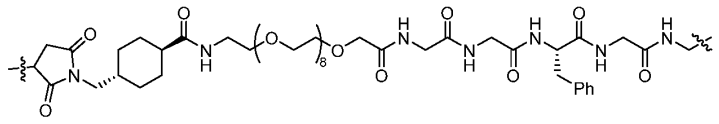
、

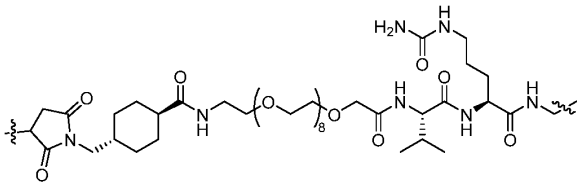


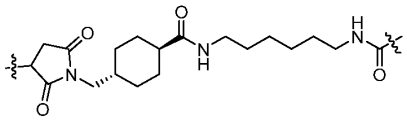
、

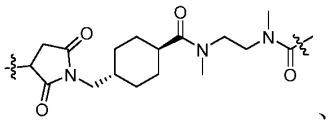


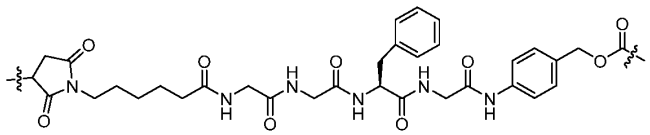
、

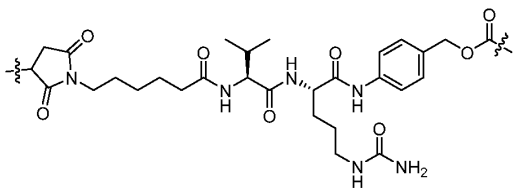


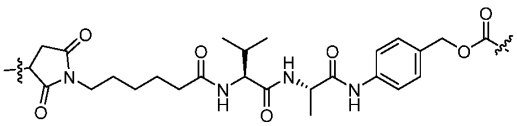


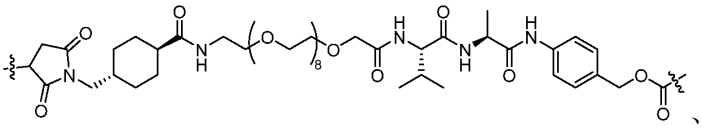


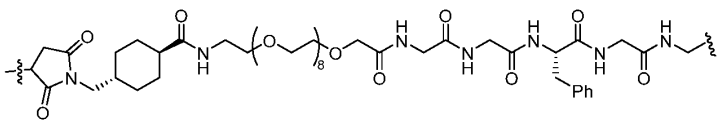


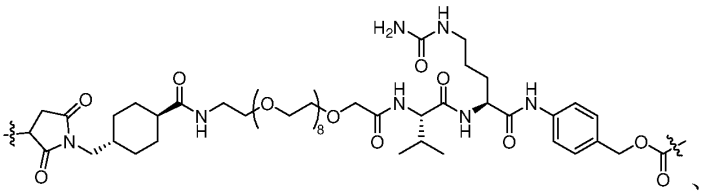


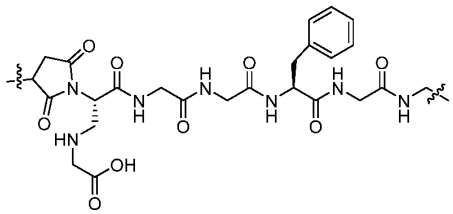


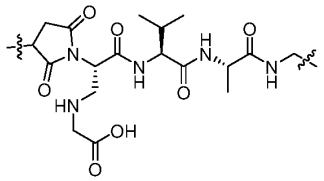


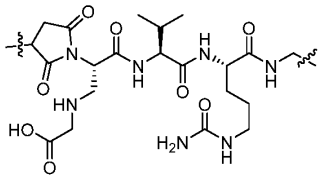


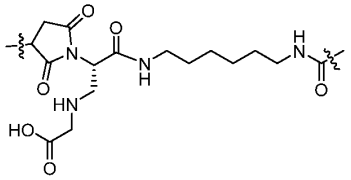


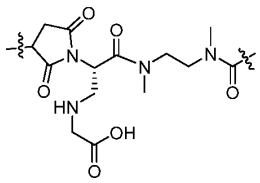


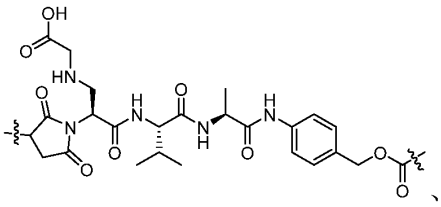


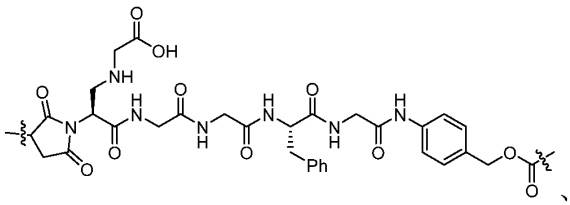


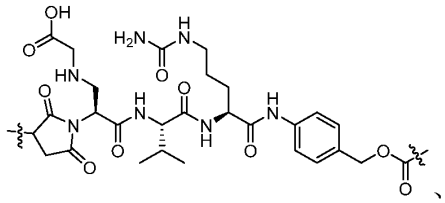


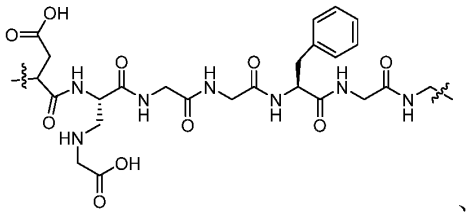


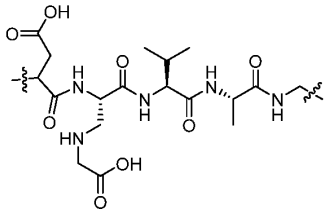


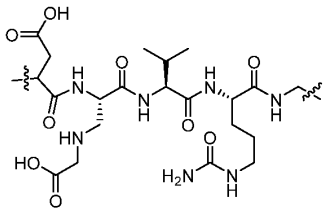


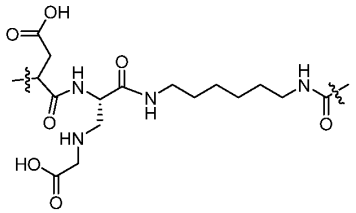


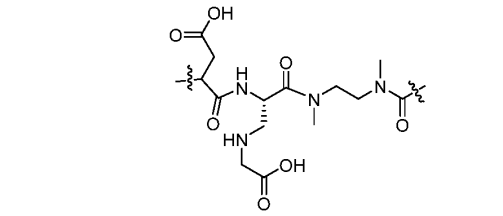


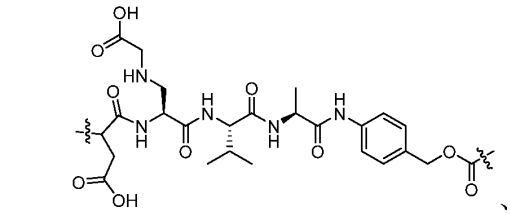


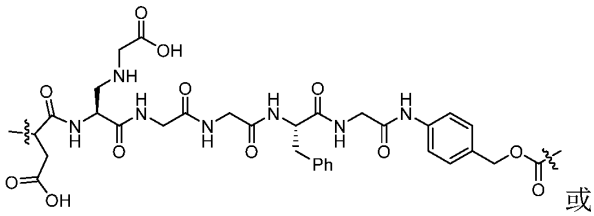




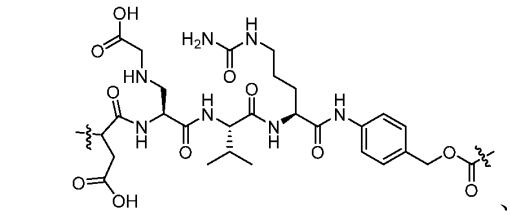






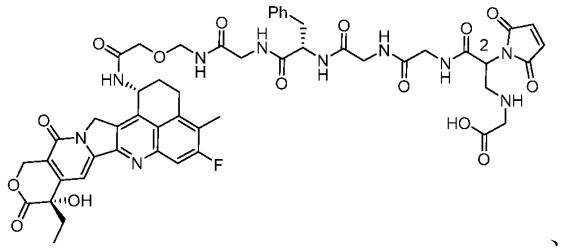


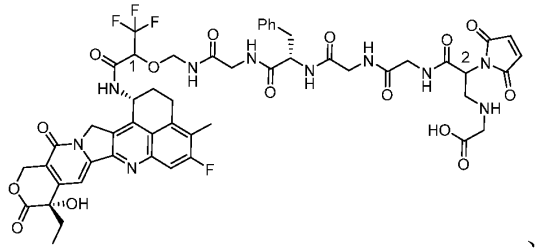
或

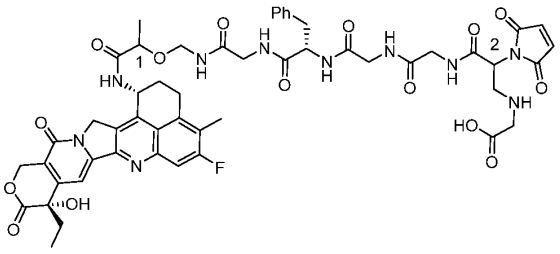


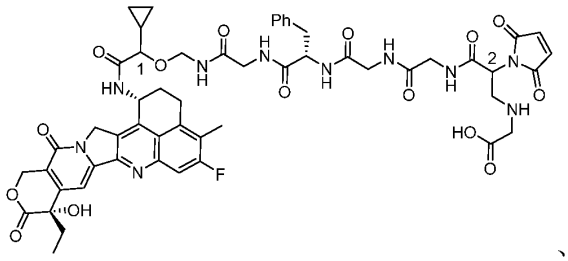
其中：左侧波浪线与配体部分相连，右侧波浪线与 X 相连。

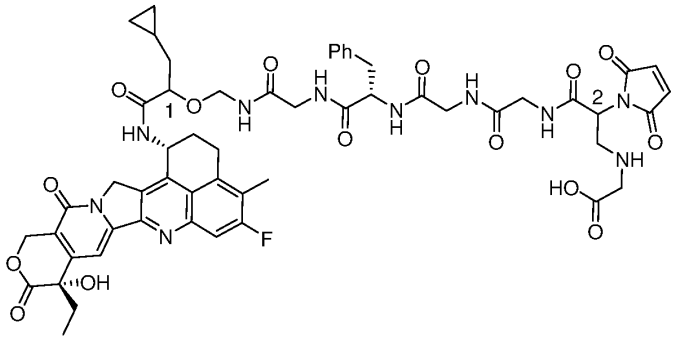
进一步优选，所述连接子-药物偶联物非限制性地选自以下结构：

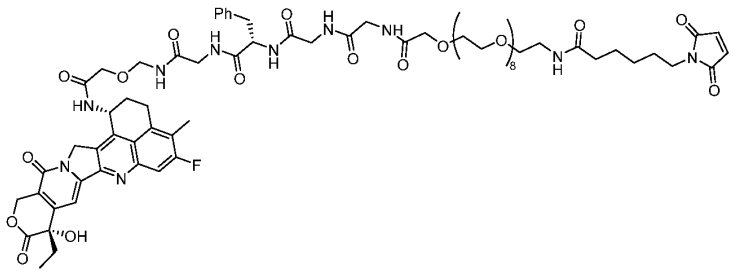


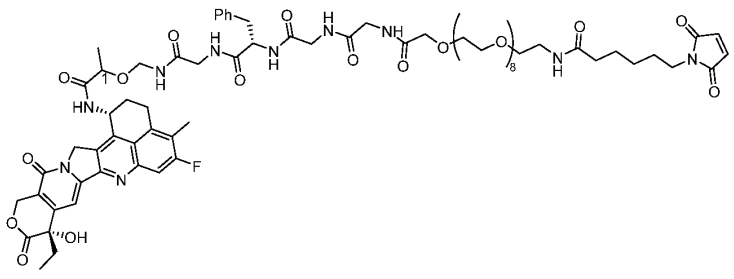


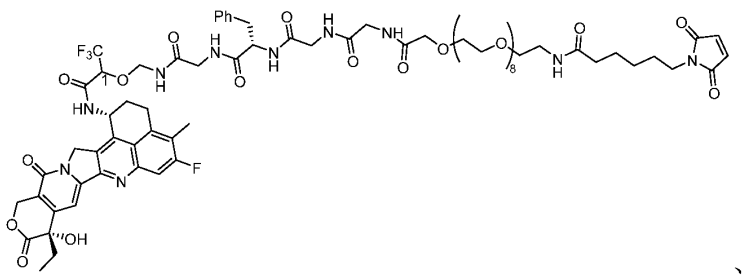


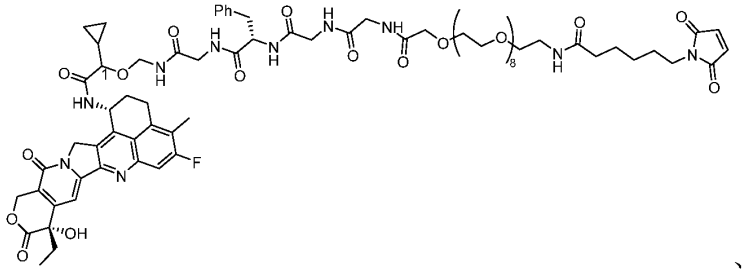


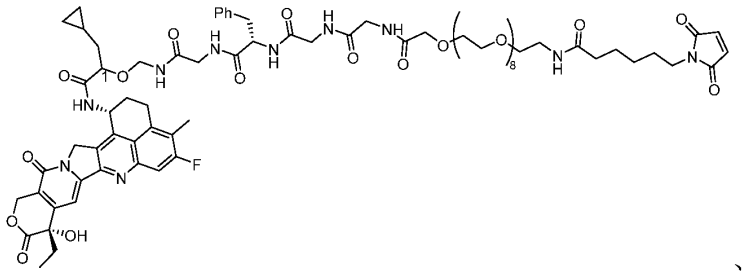


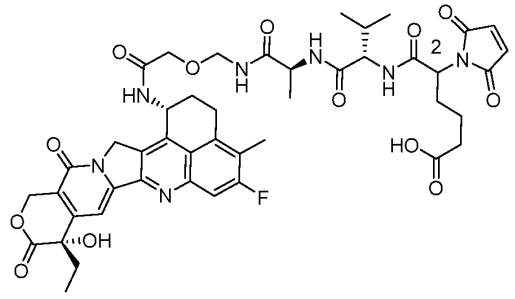


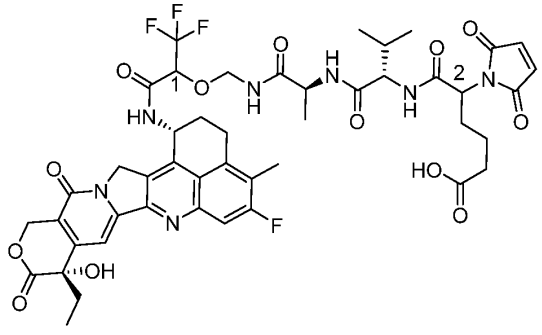


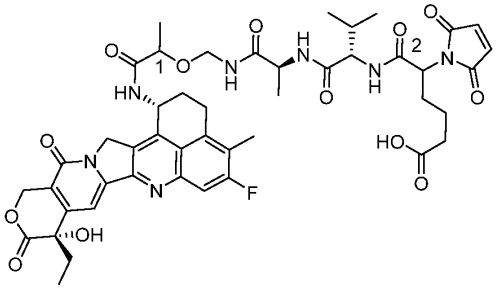




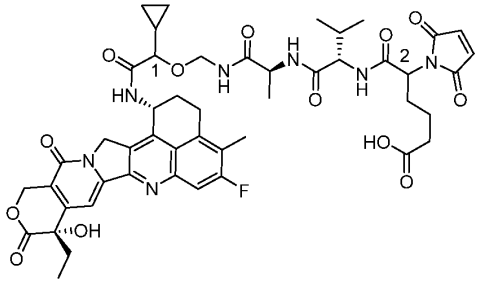




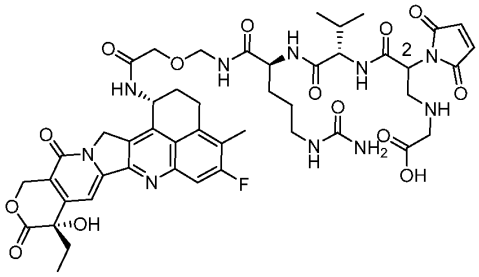




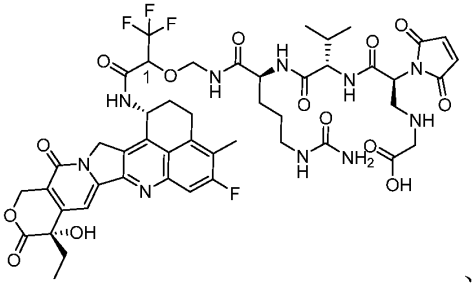
、



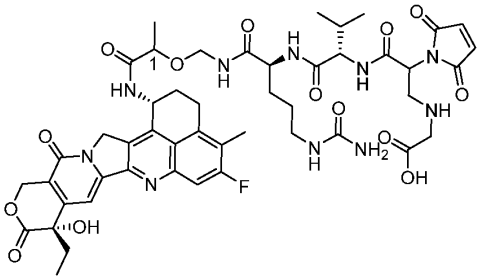
、



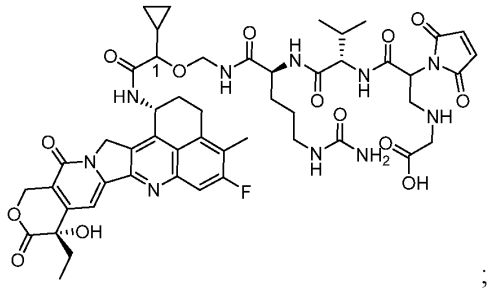
、



、



或

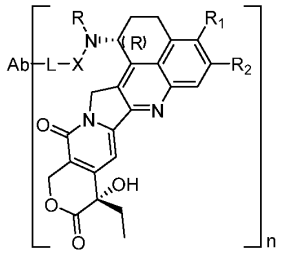


;

其中：

1 位碳原子具有 R 或 S 两种构型的绝对手性。

本发明还提供了一种包括连接子-药物偶联物的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，所述配体-药物偶联物包含式 Ⅰ 所示的结构：



式 Ⅰ

其中：



与 相连的手性碳原子具有 R 构型的绝对手性；

R 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、芳基、取代芳基或杂芳基；

R_1 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、羧基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

R_2 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、羧基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

X 选自-C(O)-CR_aR_b-$(CR_3R_4)_m$-O-、-C(O)-CR_aR_b-$(CR_3R_4)_m$-NH-或-C(O)-CR_aR_b-$(CR_3R_4)_m$-S-;

R_a 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、氘代烷基、卤代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

R_b 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、氘代烷基、卤代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

或者，R_a、R_b 及其所连接碳原子构成 C_{3-6} 环烷基、环烷基烷基或杂环基；

R_3、R_4 相同或者不同，且分别独立地为氢原子、氘原子、卤素、烷基、卤代烷基、氘代烷基、烷氧基、羟基、氨基、氰基、硝基、羟烷基、环烷基或杂环基；

或者，R_3、R_4 及其所连接碳原子构成 C_{3-6} 环烷基、环烷基烷基或杂环基；

Ab 为配体单元，选自抗体、抗体片段、靶向蛋白、Fc-融合蛋白等；

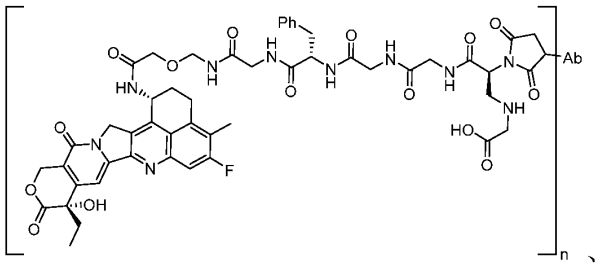
L 为与 Ab 连接单元；X 为药物部分修饰单元；

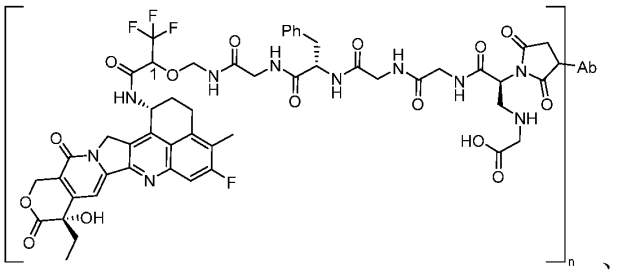
m 选自 0-4 的整数；n 选自 1-20 的整数或小数。

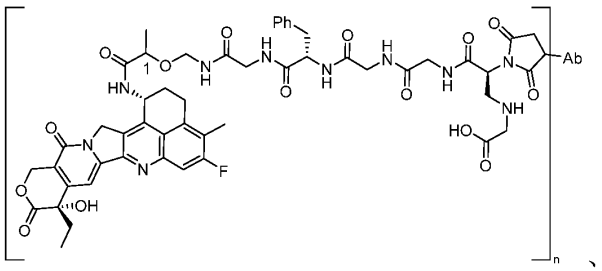
作为优选方式，所述配体选自鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体、全人源抗体、抗体片段、双特异性抗体及多特异性抗体。

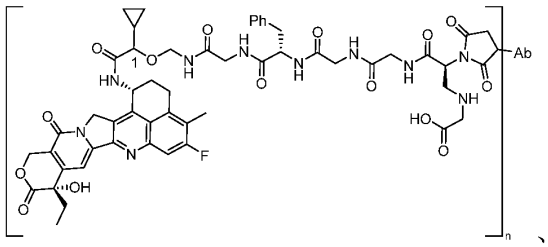
进一步优选，所述的抗体或其抗原结合片段，非限制性地选自：抗 EGFRvIII 抗体、抗 DLL-3 抗体、抗 PSMA 抗体、抗 CD70 抗体、抗 MUC16 抗体、抗 ENPP3 抗体、抗 TDGF1 抗体、抗 ETBR 抗体、抗 MSLN 抗体、抗 TIM-1 抗体、抗 LRRC15 抗体、抗 LIV-1 抗体、抗 CanAg/AFP 抗体、抗 cladin 18.2 抗体、抗 Mesothelin 抗体、抗 HER2(ErbB2）抗体、抗 EGFR 抗体、抗 c-MET 抗体、抗 SLITRK6 抗体、抗 KIT/CD117 抗体、抗 STEAP1 抗体、抗 SLAMF7/CS1 抗体、抗 NaPi2B/SLC34A2 抗体、抗 GPNMB 抗体、抗 HER3(ErbB3)抗体、抗 MUC1/CD227 抗体、抗 AXL 抗体、抗 CD166 抗体、抗 B7-H3(CD276)抗体、抗 PTK7/CCK4 抗体、抗 PRLR 抗体、抗 EFNA4 抗体、抗 5T4 抗体、抗 NOTCH3 抗体、抗 Nectin 4 抗体、抗 TROP-2 抗体、抗 CD142 抗体、抗 CA6 抗体、抗 GPR20 抗体、抗 CD174 抗体、抗 CD71 抗体、抗 EphA2 抗体、抗 LYPD3 抗体、抗 FGFR2 抗体、抗 FGFR3 抗体、抗 FRα 抗体、抗 CEACAMs 抗体、抗 GCC 抗体、抗 Integrin Av 抗体、抗 CAIX 抗体、抗 P-cadherin 抗体、抗 GD3 抗体、抗 Cadherin 6 抗体、抗 LAMP1 抗体、抗 FLT3 抗体、抗 BCMA 抗体、抗 CD79b 抗体、抗 CD19 抗体、抗 CD33 抗体、抗 CD56 抗体、抗 CD74 抗体、抗 CD22 抗体、抗 CD30 抗体、抗 CD37 抗体、抗 CD47 抗体、抗 CD138 抗体、抗 CD352 抗体、抗 CD25 抗体或抗 CD123 抗体。

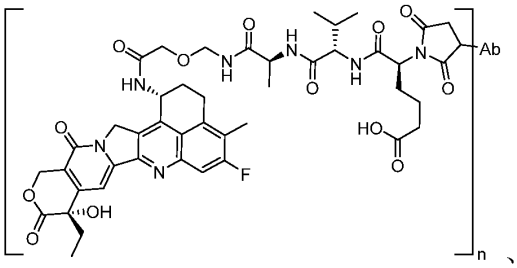
更进一步优选，所述配体-药物偶联物非限制性地选自以下结构：

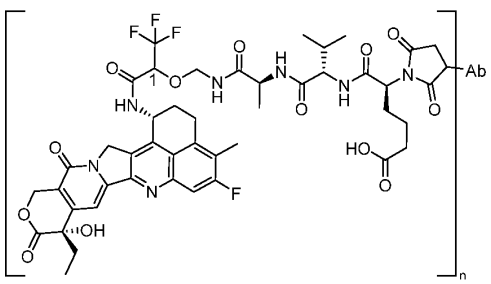


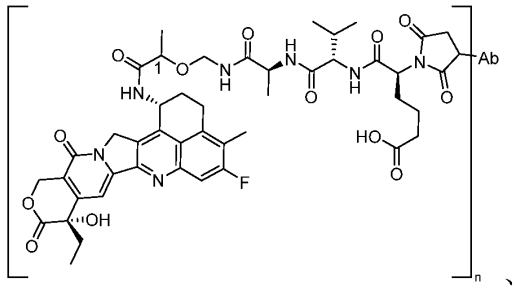


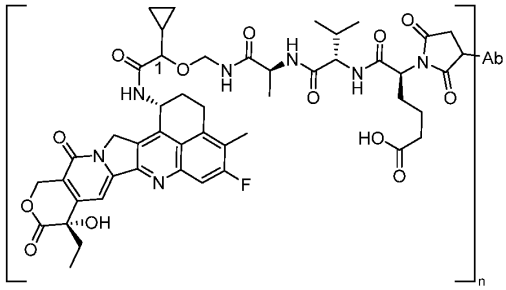


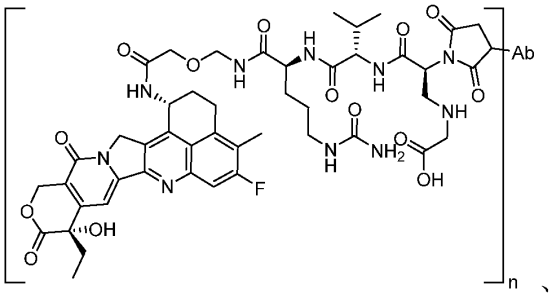


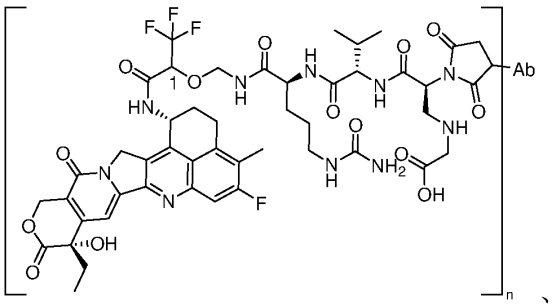


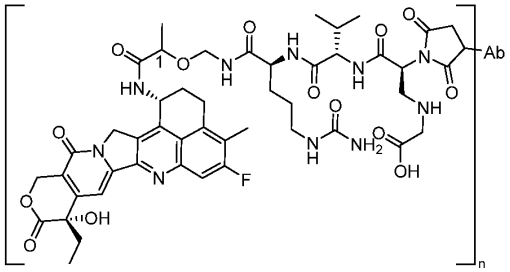


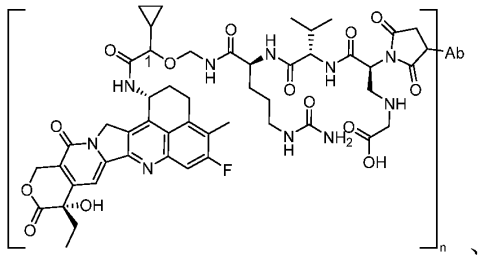


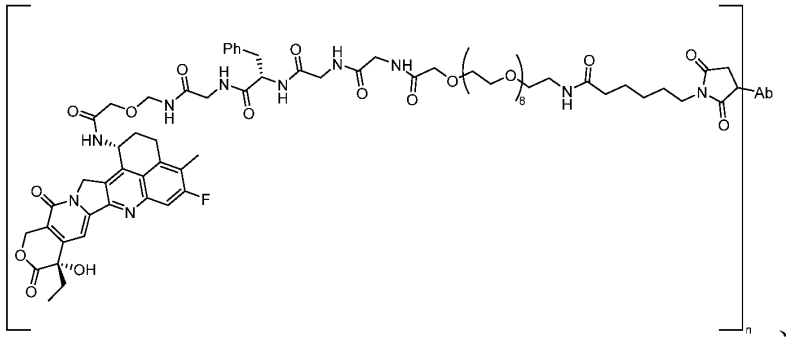




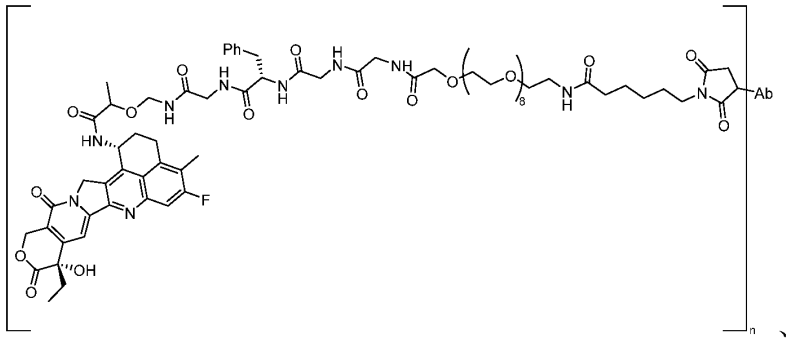




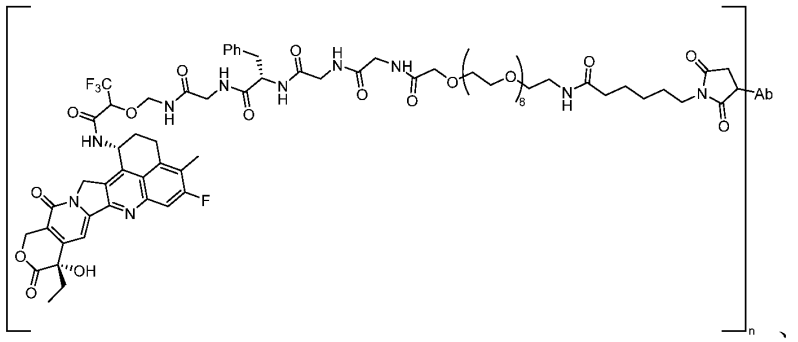




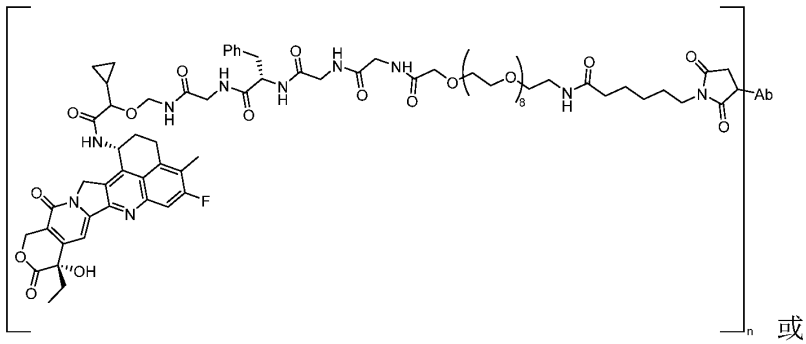
、



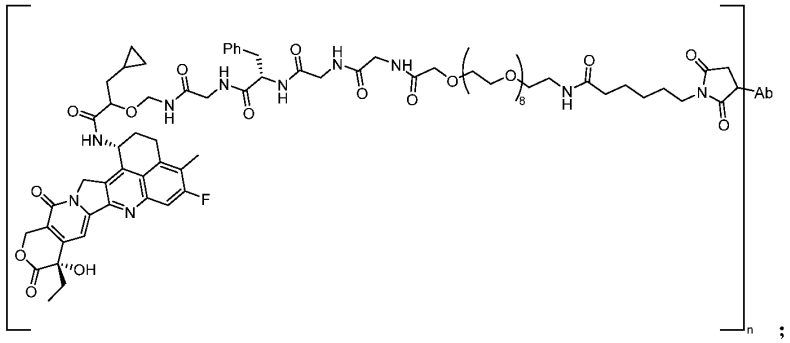
、



、



或

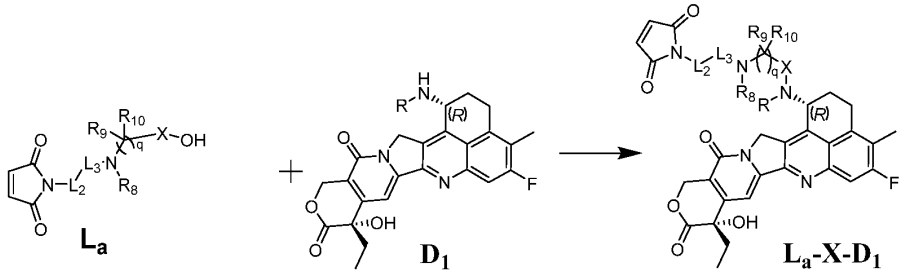


其中：

Ab 为配体单元；n 选自 1-20 的整数或小数；

1 位碳原子具有 R 或 S 两种构型的绝对手性。

本发明同时提供了一种制备连接子-药物偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物，或其药学上可接受的盐或溶剂化物的方法，包括如下步骤：



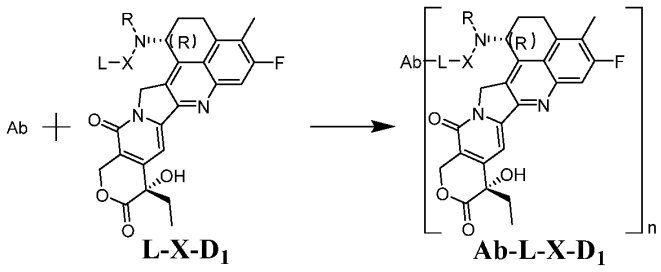
通过连接单元 L_a 与通式化合物 D_1 的取代反应，得到如通式 L_a-X-D_1 所示的连接子-药物偶联物；

其中：


相连的手性碳原子具有 R 构型的绝对手性；

L_2、L_3、R、R_8、R_9、R_{10}、q 及 X 如通式 L-X-D 所述。

本发明又提供了一种制备配体-药物偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物，或其药学上可接受的盐或溶剂化物的方法，包括如下步骤：



通过还原的抗体、抗体片段或者其抗原结合片段与通式（$L\text{-}X\text{-}D_1$）偶联反应，得到如通式 $Ab\text{-}L\text{-}X\text{-}D_1$ 所示配体-药物偶联物；

其中：



与 相连的手性碳原子具有 R 构型的绝对手性；

Ab、L、X、R 及 n 如通式 Ⅰ 所述。

喜树碱类衍生物、连接子-药物偶联物或配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，所述药学上可接受的盐包括与结构式中酸性官能团形成的钠盐、钾盐、钙盐或镁盐等；或与结构中碱性官能团形成的醋酸盐、三氟乙酸盐、柠檬酸盐、草酸盐、酒石酸盐、苹果酸盐、硝酸盐、氯化物、溴化物、碘化物、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、乳酸盐、油酸盐、抗坏血酸盐、水杨酸盐、甲酸盐、谷氨酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐或对甲苯磺酸盐。

本发明提供了一种药物组合物，其含有治疗有效量的权利要求 1-23 中任一项所述的喜树碱类衍生物、连接子-药物偶联物或配体-药物偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，以及药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

本发明提供了一种喜树碱类衍生物、连接子-药物偶联物或配体-药物偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化合物，以及药学上可接受的载体、稀释剂或者赋形剂，在制备用于治疗或预防肿瘤的药物中的用途。

作为优选方式，所述的肿瘤为乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫癌、前列腺癌、肾癌、尿道癌、膀胱癌、肝癌、胃癌、子宫内膜癌、唾液腺癌、食道癌、肺癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、骨癌、皮肤癌、甲状腺癌、胰腺癌、黑色素瘤、神经胶质

瘤、神经母细胞瘤、多形性胶质细胞瘤、肉瘤、淋巴瘤和白血病等实体瘤或血液瘤。

具体实施方式

发明的详细说明

除非另有限定，本文所用的所有技术和科学术语均与本公开所属领域普通技术人员的通常理解一致。虽然也可采用与本文所述相似或等同的任何方法和材料实施或测试本公开，但本文描述了优选的方法和材料。描述和要求保护本发明时，依据以下定义使用下列术语。

当本发明中使用商品名时，申请人旨在包括该商品名产品的制剂、该商品名产品的非专利药和活性药物部分。

除非有相反陈述，在说明书和权利要求书中使用的术语具有下述含义。

术语“配体”是能识别和结合目标细胞相关的抗原或受体的大分子化合物。配体的作用是将药物呈递给与配体结合的目标细胞群，这些配体包括但不限于蛋白类激素、凝集素、生长因子、抗体或其他能与细胞结合的分子。在本发明实施方式中，配体表示为 Ab，配体可通过配体上的杂原子与连接单元形成连接键，优选为抗体或其抗原结合片段，所述抗体选自嵌合抗体、人源化抗体、全人抗体或鼠源抗体；优选为单克隆抗体。

配体单元是与靶标部分特异性结合的靶向剂。所述配体能够特异性结合至细胞组分或结合至细胞组分或结合至其他感兴趣的靶标分子。靶标部分或靶标通常在细胞表面上。在一些方面中，配体单元的作用是将药物单元递送至配体单元与之相互作用的特定靶细胞群。配体包括但不限于蛋白质、多肽和肽，以及非蛋白质如糖。合适的配体单元包括，例如，抗体，例如全长（完整）抗体及其抗原结合片段。 在配体单元是非抗体靶向试剂的实施方式中，其可以是肽或多肽，或非蛋白质分子。这类靶向试剂的示例包括干扰素、淋巴因子、激素、生长因子和集落刺激因子、维生素、营养转运分子、或任何其他细胞结合分子或物质。在一些实施方式中，连接子共价连接至配体的硫原子。在一些方面中，硫原子是半胱氨酸残基的硫原子，其形成抗体的链间二硫键。在另一方面中，硫原子是已经导入配体单元的半胱氨酸残基的硫原子，其形成抗体的链间二硫键。在另一方面中，硫原子是已经导入配体单元的半胱氨酸残基的硫原子（例如，通过定点诱变或化学反应）。在其他方面中，连接子结合的硫原子选自形成抗体的链间二硫键的半胱氨酸残基或已经引入配体单元的额半胱氨酸残基（例如， 通

过定点诱变或化学反应）。在一些实施方式中，按照 Kabat（Kabat E.A 等，（1991））《免疫 学感兴趣的蛋白质序列》（Sequences of proteins of Immunological Interest）,第五版，NIH 出版 物 91-3242）中的 EU 索引编号系统。

如本文所用，“抗体”或“抗体单元”在其所属的范围内，包括抗体结构的任何部分。这一单元可以结合，反应性关联，或者络合一个受体，抗原，或者靶向细胞群体具有的其它受体单元。抗体可以是任何蛋白或蛋白类分子，它可以结合，络合，或者与待治疗或生物改造 的细胞群体的一部分发生反应。 本发明中组成抗体药物偶联物的抗体好保持其原有野生状态时的抗原结合能力。因此，本发明中的抗体能够，好专一性的与抗原结合。涉及的抗原包括，例如，肿瘤相关抗原 （TAA），细胞表面受体蛋白和其他细胞表面分子，细胞存活调节因子，细胞增殖调节因子，与组织生长与分化相关的分子（如已知或预知的具有功能性的），淋巴因子，细胞因子，参与细胞循环调节的分子，参与血管生成的分子，以及与血管生成有关的分子（如已知或预知的 具有功能性的）。肿瘤相关因子可以是簇分化因子（如 CD 蛋白）。

应用在抗体药物偶联物中的抗体包括，但不局限于，针对细胞表面受体和肿瘤相关抗原的抗体。这样的肿瘤相关抗原是业内所熟知的，可以通过业内熟知的抗体制备方法和信息来制备。为了开发可用于癌症诊断与治疗的有效的细胞水平目标物，研究人员力图找寻跨膜或其他肿瘤相关多肽。这些目标物能够特异性的表达在一种或多种癌细胞表面，而在一种或多种非癌细胞表面表达很少或不表达。通常，相对于非癌细胞表面而言，这样的肿瘤相关多肽在癌细胞表面更加过度表达。确认这样的肿瘤相关因子，可大大提高基于抗体治疗癌症的专 一靶向特性。为方便起见，为业内所熟知的抗原相关信息标示如下，包括名称，其他名称，基因库登录号。与肿瘤相关抗 原对应的核酸和蛋白序列可参见公开数据库，例如 Genbank。抗体靶向对应的肿瘤相关抗原包括所有的氨基酸序列变种和同种，与参考文献中确认的序列具有至少 70%, 80%, 85%, 90%或者 95%的同源性，或者具备与引用文献中的肿瘤相关抗原序列具有完全一致的生物性质和特征。

术语“抑制”或“的抑制”指，减少了可检测的量，或完全阻止。

术语“癌症”指的是以失调的细胞生长为特征的生理病症或疾病。“肿瘤”包括癌细胞。

术语“自身免疫疾病”是源自针对个体自身的组织或蛋白质的疾病或紊乱。

术语“药物”是指细胞毒性药物，药物表示为 D，能在肿瘤细胞内具有较强破坏其正常生长的化学分子。细胞毒性药物原则上在足够高的浓度下都可以杀死肿瘤细胞，但是由于缺乏特异性，在杀伤肿瘤细胞的同时，也会导致正常细胞的凋亡，导致严重的副作用。该术语包括毒素，如细菌、真菌、植物或动物来源的小分子毒素或酶活性毒素，放射性同位素（例如 At^{211}、I^{131} 、I^{125}、Y^{90}、Re^{186}、Re^{188}、 Sm^{153}、Bi^{212}、P^{32} 和 Lu 的放射性同位素），毒性药物，化疗药物，抗生素和核溶酶，优选为毒性药物。

术语“连接子”或“连接片段”或“连接单元”是指一端与配体连接而另一端与药物相连的化学结构片段或键，也可以连接其他接头后再与药物相连。

接头，包括延伸物、间隔物和氨基酸单元，可以通过本领域已知方法合成，诸如 US2005-0238649A1 中所记载的。接头可以是便于在细胞中释放药物的“可切割接头”。例如，可使用酸不稳定接头（例如腙）、蛋白酶敏感（例如肽酶敏感）接头、光不稳定接头、二甲基接头、或含二硫化物接头（Chari 等 Cancer Research 52:127-131,1992）；美国专利 No. 5, 208, 020。

按照在细胞内药物释放的机制，如本文所用，“连接子”或“抗体药物偶联物的连接子” 可被分为两类：不可断裂连接子和可断裂连接子。 对于含有不可断裂连接子的抗体药物偶联物，其药物释放机制为：偶联物与抗原结合并被细胞内吞后，抗体在溶酶体中被酶解，释放出由小分子药物，连接子，和抗体氨基酸残基共同组成的活性分子。由此带来的药物分子结构改变并不减弱其细胞毒性，但由于活性分子是带电荷的（氨基酸残基），从而导致其不能渗入邻近细胞。因此，此类活性药物不能杀死邻 近不表达靶向抗原（抗原阴性细胞）的肿瘤细胞（旁观者效应，bystander effect）（Ducry 等，2010，Bioconjugate Chem. 21: 5-13）。

术语“配体-药物偶联物"，指抗体通过稳定的连接单元与具有生物活性的药物相连。在本发明中“配体-药物偶联物"优选为抗体-药物偶联物(antibody drug conjugate, ADC)，指把单克隆抗体或者抗体片段通过稳定的连接单元与具有生物活性的毒性药物相连。

本公开所用氨基酸三字母代码和单字母代码如 *J. boil. Chem.* **1968**, *243*, 3558.中所述。

术语“烷基”指饱和脂肪族烃基团，其为包含 1 至 20 个碳原子的直链或支链基团，

优选含有 1 至 12 个碳原子的烷基，更优选含有 1 至 10 个碳原子的烷基，最优选含有 1 至 6 个碳原子的烷基。非限制性实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1, 1-二甲基丙基、1, 2-二甲基丙基、2, 2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1, 1, 2-三甲基丙基、1, 1-二甲基丁基、1, 2-二甲基丁基、2, 2-二甲基丁基、 1, 3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2, 3-二甲基丁基、正庚基、2-甲基己基、3-甲基己基、4-甲基己基、5-甲基己基、2, 3-二甲基戊基、2, 4-二甲基戊基、2, 2-二甲基戊基、3, 3-二甲基戊基、2-乙基戊基、3-乙基戊基、正辛基、2, 3-二甲基己基、2, 4-二甲基己基、2, 5-二甲基己基、2, 2-二甲基己基、3, 3-二甲基己基、4, 4-二甲基己基、2-乙基己基、3-乙基己基、4-乙基己基、2-甲基-2-乙基戊基、2-甲基-3-乙基戊基、正壬基、2-甲基-2-乙基己基、2-甲基-3-乙基己基、 2, 2-二乙基戊基、正癸基、3, 3-二乙基己基、2, 2-二乙基己基，及其各种支链异构体等。更优选的是含有 1 至 6 个碳原子的低级烷基，非限制性实施例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1, 1-二甲基丙基、1, 2-二甲基丙基、2, 2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1, 1, 2-三甲基丙基、1, 1-二甲基丁基、1, 2-二甲基丁基、2, 2-二甲基丁基、1, 3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2, 3-二甲基丁基等。烷基可以是取代的或非取代的，当被取代时，取代基可以在任何可使用的连接点上被取代，所述取代基优选为一个或多个以下基团，其独立地选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基、氧代基。

术语“取代烷基”指烷基中的氢被取代基团取代， 除非文中另有说明，烷基的取代基可以是选自下组的多种基团：-卤素、-OR’、-NR’R’’、-SR’、-SiR’R’’R’’’、-OC(O)R’、-C(O)R’、-CO_2R’、-CONR’R’’、-OC(O)NR’R’’、-NR’’C（O）R’、-NR’-C(O)NR’’R’’’、-NR’’C$(O)_2$R’、-NH-C(NH_2)=NH、-NR’C(NH_2)=NH、-NH-C(NH_2)=NR’、-S(O)R’、-S$(O)_2$R’、-S$(O)_2$NR’R’’、-NR’S$(O)_2$R’’、-CN 和-NO_2，取代基数量为 0 至(2m’+1)，其中 m’为该基团中碳原子的总数。R’、R’’和 R’’’各自独立的指代氢、未取代的 C_{1-8} 烷基、未取代的芳基、由 1-3 个卤素取代的芳基、未取代的 C_{1-8} 烷基、C_{1-8} 烷氧基或 C_{1-8} 硫代烷氧基、或未取代的芳基-C_{1-4} 烷基。R’和 R’’连接于同一个

氮原子时，它们可与该氮原子一起形成 3-，4-，5-，6-或 7-元环。例如，-NR'R''包括 1-吡咯烷基和 4-吗啉基。

术语"杂烷基"指含有一个或多个选自 N、O 或 S 的杂原子的烷基，其中烷基如上所定义。

术语"亚烷基"指饱和的直链或支链脂肪族烃基，其具有 2 个从母体烷的相同碳原子或两个不同的碳原子上除去两个氢原子所衍生的残基，其为包含 1 至 20 个碳原子的直链或支链基团，优选含有 1 至 12 个碳原子，更优选含有 1 至 6 个碳原子的亚烷基。亚烷基的非限制性实例包括但不限于亚甲基(-CH_2-、1, 1-亚乙基 (-CH(CH_3)-)、1, 2-亚乙基(-CH_2CH_2)-、 1, 1-亚丙基(-CH(CH_2CH_3)-)、1, 2-亚丙基 (-CH_2CH(CH_3)-)、1, 3-亚丙基(-$CH_2CH_2CH_2$-)、1, 4-亚丁基(-$CH_2CH_2CH_2CH_2$-)和 1, 5-亚丁基(-$CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2$-)等。亚烷基可以是取代的或非取代的，当被取代时，取代基可以在任何可使用的连接点上被取代，所述取代基优选独立地任选选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基和氧代基中的一个或多个取代基所取代。

术语"烷氧基"指-O-(烷基)和-O-(环烷基)，其中烷基或环烷基的定义如上所述。烷氧基的非限制性实例包括：甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、环丙氧基、环丁氧基、环戊氧基、环己氧基。烷氧基可以是任选取代的或非取代的，当被取代时，取代基优选为一个或多个以下基团，其独立地选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基。

术语"环烷基"指饱和或部分不饱和单环或多环环状烃取代基，环烷基环包含 3 至 20 个碳原子，优选包含 3 至 12 个碳原子，更优选包含 3 至 10 个碳原子，最优选包含 3 至 8 个碳原子。单环环烷基的非限制性实例包括环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、环己二烯基、环庚基、环庚三烯基、环辛基等；多环环烷基包括螺环、稠环和桥环的环烷基。

术语"杂环基"指饱和或部分不饱和单环或多环环状烃取代基，其包含 3 至 20 个环原子，其中一个或多个环原子为选自氮、氧或 S(O)m（其中 m 是整数 0 至 2）的杂原子，但不包括-O-O-、-O-S-或-S-S-的环部分，其余环原子为碳。优选包含 3 至 12 个环原子，其中 1~4 个是杂原子；更优选环烷基环包含 3 至 10 个环原子。单环杂环基的非

限制性实例包括吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、硫代吗啉基、高哌嗪基等。多环杂环基包括螺环、稠环和桥环的杂环基。

术语“螺杂环基"指 5 至 20 元的单环之间共用一个原子（称螺原子）的多环杂环基团，其中一个或多个环原子为选自氮、氧或 S(O)m(其中 m 是整数 0 至 2）的杂原子，其余环原子为碳。其可以含有一个或多个双键，但没有一个环具有完全共轭的兀电子系统。优选为 6 至 14 元，更优选为 7 至 10 元。根据环与环之间共用螺原子的数目将螺杂环基分为单螺杂环基、双螺杂环基或多螺杂环基，优选为单螺杂环基和双螺杂环基。更优选为 4 元/4 元、4 元/5 元、4 元/6 元、5 元/5 元或 5 元/6 元单螺杂环基。

术语“环烷基烷基”指烷基被一个或多个环烷基取代，优选被一个环烷基取代，其中烷基如上所定义，其中环烷基如上所定义。

术语“卤代烷基”指烷基被一个或多个卤素取代，其中烷基如上所定义。

术语“氘代烷基”指烷基被一个或多个氘原子取代，其中烷基如上所定义。

术语“羟基”指-OH 基团。

术语“卤素”指氟、氯、溴或碘。

术语“氨基”指-NH_2。术语“硝基”指-NO_2。

术语“酰胺基"指-C(O)N(烷基)或(环烷基)，其中烷基、环烷基如上所定义。

术语“羧酸酯基"指-C(O)O(烷基)或(环烷基)，其中烷基、环烷基如上所定义。

本发明还包括各种氘化形式。与碳原子连接的各个可用的氢原子可独立地被氘原子替换。本领域技术人员能够参考相关文献合成氘化化合物。在制备氘代化合物时，可使用市售的氘代起始物质，或它们可使用常规技术采用氘代试剂合成，氘代试剂的非限制性实例包括: 氘代甲醇、氘代水、氘代硼烷、三氘代硼烷四氢呋喃溶液、氘代氢化锂铝、氘代碘乙烷和氘代碘甲烷等。

术语“抗体”指免疫球蛋白，是由两条相同的重链和两条相同的轻链通过链间二硫键连接而成的四肽链结构。免疫球蛋白重链恒定区的氨基酸组成和排列顺序不同，故其抗原性也不同。据此，可将免疫球蛋白分为五类，或称为免疫球蛋白的同种型，即 IgM、IgD、IgG、IgA 和 IgE，其相应的重链分别为 μ 链、δ 链、γ 链、α 链和 ε 链。同一类 Ig 根据其铰链区氨基酸组成和重链二硫键的数目和位置的差别，又可分为不同的亚类，如 IgG 可分为 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4。轻链通过恒定区的不同分为 κ 链或 λ

链。五类 Ig 中每类 Ig 都可以有 κ 链或 λ 链。本发明所述的抗体优选为针对靶细胞上细胞表面抗原的特异性抗体，非限制性实施例为以下抗体：抗 EGFRvIII 抗体、抗 DLL-3 抗体、抗 PSMA 抗体、抗 CD70 抗体、抗 MUC16 抗体、抗 ENPP3 抗体、抗 TDGF1 抗体、抗 ETBR 抗体、抗 MSLN 抗体、抗 TIM-1 抗体、抗 LRRC15 抗体、抗 LIV-1 抗体、抗 CanAg/AFP 抗体、抗 cladin 18.2 抗体、抗 Mesothelin 抗体、抗 HER2(ErbB2）抗体、抗 EGFR 抗体、抗 c-MET 抗体、抗 SLITRK6 抗体、抗 KIT/CD117 抗体、抗 STEAP1 抗体、抗 SLAMF7/CS1 抗体、抗 NaPi2B/SLC34A2 抗体、抗 GPNMB 抗体、抗 HER3(ErbB3)抗体、抗 MUC1/CD227 抗体、抗 AXL 抗体、抗 CD166 抗体、抗 B7-H3(CD276)抗体、抗 PTK7/CCK4 抗体、抗 PRLR 抗体、抗 EFNA4 抗体、抗 5T4 抗体、抗 NOTCH3 抗体、抗 Nectin 4 抗体、抗 TROP-2 抗体、抗 CD142 抗体、抗 CA6 抗体、抗 GPR20 抗体、抗 CD174 抗体、抗 CD71 抗体、抗 EphA2 抗体、抗 LYPD3 抗体、抗 FGFR2 抗体、抗 FGFR3 抗体、抗 FRα 抗体、抗 CEACAMs 抗体、抗 GCC 抗体、抗 Integrin Av 抗体、抗 CAIX 抗体、抗 P-cadherin 抗体、抗 GD3 抗体、抗 Cadherin 6 抗体、抗 LAMP1 抗体、抗 FLT3 抗体、抗 BCMA 抗体、抗 CD79b 抗体、抗 CD19 抗体、抗 CD33 抗体、抗 CD56 抗体、抗 CD74 抗体、抗 CD22 抗体、抗 CD30 抗体、抗 CD37 抗体、抗 CD138 抗体、抗 CD352 抗体、抗 CD25 抗体或抗 CD123 抗体中一个或多个；优选为曲妥珠单抗(Trastuzumab,商品名 Herceptin)、帕妥珠单抗(Pertuzumab,也被称作 2C4，商品名 Perjeta)、尼妥珠单抗(Nimotuzumab，商品名泰欣生）、Enoblituzumab、Emibetuzumab、Inotuzumab、 Pinatuzumab、Brentuximab、Gemtuzumab、Bivatuzumab、Lorvotuzumab、cBR96 和 Glematumamab。

术语“溶剂化物”或“溶剂化合物”指本发明的配体-药物偶联物与一种或多种溶剂分子形成可药用的溶剂化物，溶剂分子的非限制性实例包括水、乙醇、乙腈、异丙醇、DMSO、乙酸乙酯。

术语“载药量”是指式 I 分子中每个抗体上加载的细胞毒性药物平均数量，也可以表示为药物量和抗体量的比值，药物载量的范围可以是每个抗体(Ab)连接 0-12 个，优选 1-10 个细胞毒性药物(D)。在本发明的实施方式中，载药量表示为 n, 示例性的可以为 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 的均值。可用常规方法如 UV/可见光光谱法，质谱，ELISA 试验和 HPLC 特征鉴定偶联反应后每个 ADC 分子的药物品均数量。

本发明的一个实施方式中，细胞毒性药物通过连接单元偶联在配体的 N 端氨基和/

或赖氨酸残基的 ε-氨基上，一般地，偶联反应中能与抗体偶联的药物分子数将小于理论上的最大值。

可以用以下非限制性方法控制配体细胞毒性药物偶联物的载量，包括：

（1）控制连接试剂和单抗的摩尔比，

（2）控制反应时间和温度，

（3）选择不同的反应试剂。

常规的药物组合物的制备见中国药典。

术语“药学上可接受的盐”或“可药用盐”是指本发明配体-药物偶联物的盐，或本发明中所述的化合物的盐，这类盐用于哺乳动物体内时具有安全性和有效性，且具有应有的生物活性，本发明配体-药物偶联化合物至少含有一个羧基，因此可以与碱形成盐，药学上可接受的盐的非限制性实例包括：钠盐、钾盐、钙盐或镁盐等。

术语“药学上可接受的盐”或“可药用盐”是指本发明抗体-药物偶联物的盐，或本发明中所述的化合物的盐，这类盐用于哺乳动物体内时具有安全性和有效性，且具有应有的生物活性，本发明配体-药物偶联化合物至少含有一个氨基，因此可以与酸形成盐，药学上可接受的盐的非限制性实例包括：盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、柠檬酸盐、乙酸盐、琥珀酸盐、抗坏血酸盐、草酸盐、硝酸盐、梨酸盐、磷酸氢盐、磷酸二氢盐、水杨酸盐、柠檬酸氢盐、酒石酸盐、马来酸盐、富马酸盐、甲酸盐、苯甲酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐。

“酸性氨基酸”指氨基酸的等电点小于 7，酸性氨基酸分子中往往带有一个或多个羧基等酸性基团，在结构中可有效电离为负离子形式而增加亲水性。酸性氨基酸可以为天然的， 也可为非天然的氨基酸。

“天然氨基酸”指由生物合成的氨基酸。天然氨基酸一般情况下是 *L*-型的，但也有少数例外，比如甘氨酸，包括天然的和生物体合成的。

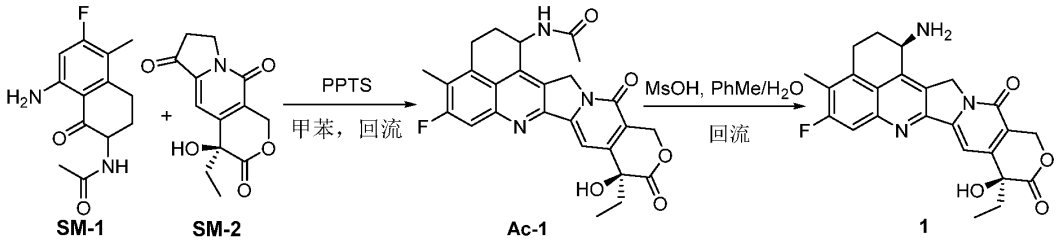
“非天然氨基酸”指通过合成手段所获得的氨基酸。

下面结合具体实施例，进一步阐述本发明，应理解，这些实施例只用于说明本发明，而不用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的试验方法，通常按照常规条件或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明，否则所有的百分数、比例、比率、或份数按重量计。

除非另行定义，文中所使用的所有专业和科学用于与本领域技术人员所熟悉的意义相同。

此外，任何与所记载内容相似或均等的方法及材料皆可应用于本发明方法中。文中所述的较佳实施方法与材料仅作示范之用。

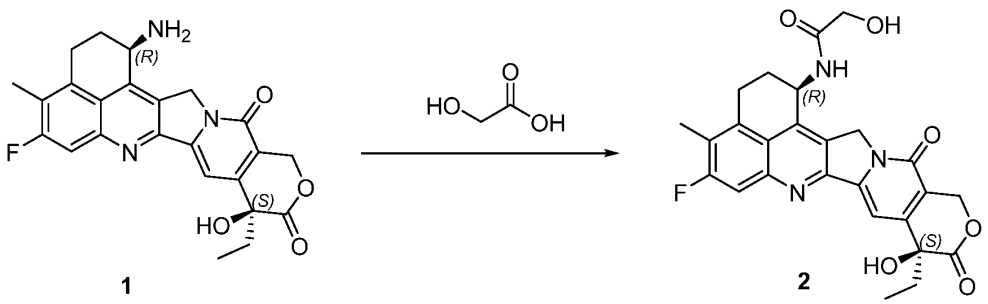
实施例 1：依喜替康手性异构化合物 **1** 的合成



向 1L 的圆底烧瓶中称入化合物 **SM-1**(N-(8-氨基-6-氟-5-甲基-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)乙酰胺，外购) (6.25g, 25.0mmol)、**SM-2**（(S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-吡喃O[3,4-F]吲哚嗪-3,6,10(4H)-酮，外购）(7.25g, 27.5mmol)、对甲苯磺酸吡啶盐（1.26g, 5.0mmol），加入 500mL 甲苯，加热回流分水，反应 5 小时，HPLC 监测反应至 **SM-2** 小于 10%，停止反应。降温，减压浓缩至溶液体积只剩一半，冰水浴搅拌析晶 2h，过滤，30mL 甲苯分三次洗涤滤饼，真空烘干，得到化合物 **Ac-1**: 10.68g，89%。LC-MS 得到$[M+H]^+$:478.2。

将 **Ac-1**（10.68g，22.5mmol)、甲磺酸(55mL)、水（110mL）和甲苯（55mL）混合于 1L 圆底烧瓶中，加热回流。4 小时后，TLC 监测反应，原料消失，将反应体系冷却至室温。4 室温下向体系中缓慢滴加 500mL 甲醇，并持续搅拌，待滴加完毕，搅拌过夜，将反应体系直接抽滤，甲醇洗涤滤饼，收集滤液，将滤饼烘干，得到灰白色固体化合物，为化合物 **1** 的异构体依喜替康，放置备用。将滤液减压浓缩，液相制备纯化，冻干，得到浅棕色固体（5.07g，41%），LC-MS 得到$[M+H]^+$:436.2。

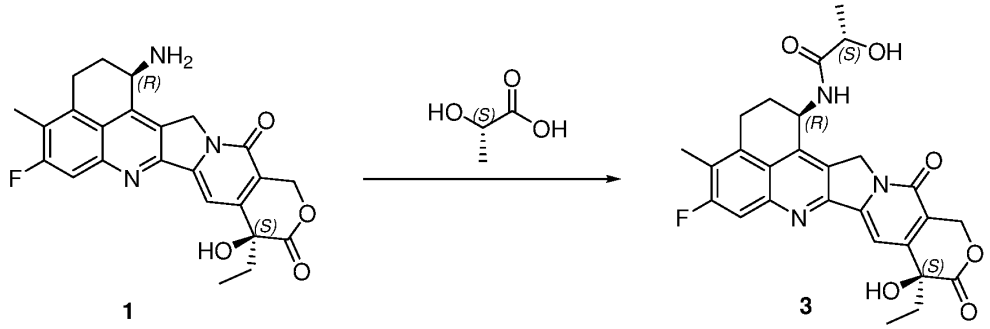
实施例 2：化合物 **2** 的合成



1 2

25ml 圆底烧瓶中加入化合物 **1**（为三氟乙酸盐的形式）（100.0mg，0.188mmol）、羟基乙酸（43.0mg，0.565mmol）、HATU（107.2mg，0.282mmol）、HOBt(38.1mg，0.282mmol)和 5ml 超干 DMF，瓶口液封。将烧瓶置于冰水浴下搅拌 10 分钟，然后加入 DIEA（94uL，0.565mmol）。TLC 检测反应进度，反应约 3h。反应完全后，反应液送制备分离，制备液 35℃真空浓缩，冻干，得白色固体化合物 **2**：63.8mg，收率 69.7%。LC-MS 结果显示$[M+H]^+$：493.9。^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 8.39 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.68 (d, J = 10.9 Hz, 1H), 7.29 (s, 1H), 6.51 (s, 1H), 5.53 (dt, J = 9.1, 6.0 Hz, 1H), 5.41 (s, 2H), 5.12 (d, J = 19.1 Hz, 1H), 4.92 (d, J = 18.9 Hz, 1H), 3.99 (s, 2H), 3.10 (qt, J = 16.7, 6.1 Hz, 2H), 2.29 (d, J = 1.8 Hz, 3H), 2.16 (q, J = 6.4 Hz, 2H), 2.00 – 1.81 (m, 2H), 0.91 (t, J = 7.3 Hz, 3H).

实施例 3：化合物 **3** 的合成



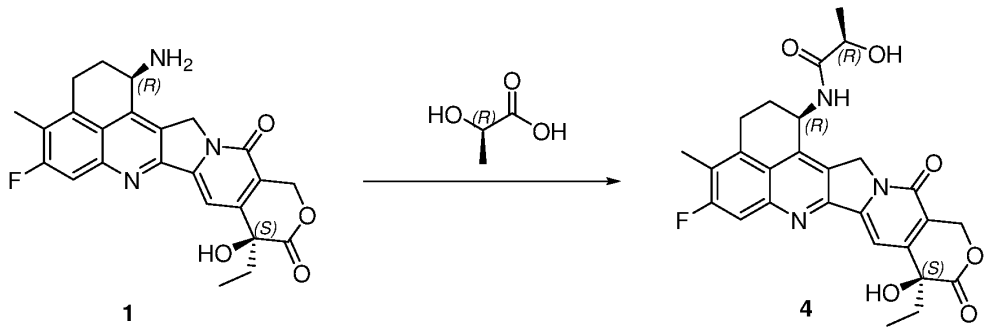
1 3

25ml 圆底烧瓶中加入化合物 **1**（为三氟乙酸盐的形式）（100.0mg，0.188mmol）、L-乳酸（56.6mg，0.565mmol）、HATU（107.2mg，0.282mmol）、HOBt(38.1mg，0.282mmol)和 5ml 超干 DMF，瓶口液封。将烧瓶置于冰水浴下搅拌 10 分钟，然后加入 DIEA（94uL，0.565mmol）。HPLC 检测反应进度，反应约 3h。反应完全后，反应液加入饱和氯化铵水溶液，抽滤得淡黄色粗品，粗品经 TLC 制备板刮板分离。得 42.0mg

淡黄色固体化合物 **3**，收率 46.1%。

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 8.46 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 7.71 (d, J = 10.9 Hz, 1H), 7.29 (s, 1H), 6.53 (s, 1H), 5.68 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 5.54 (q, J = 7.3 Hz, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.20 (d, J = 19.0 Hz, 1H), 4.93 (d, J = 18.9 Hz, 1H), 4.20 – 4.08 (m, 1H), 3.25 – 3.01 (m, 2H), 2.32 (s, 3H), 2.14 (q, J = 6.5 Hz, 2H), 1.96 – 1.80 (m, J = 7.1 Hz, 2H), 1.42 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 0.90 (t, J = 7.2 Hz, 3H).

实施例 4：化合物 **4** 的合成

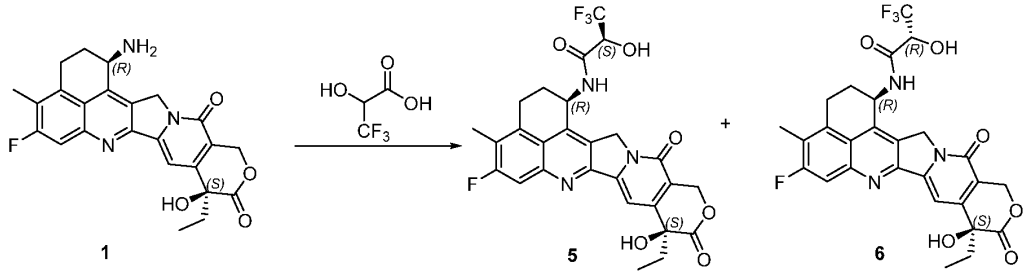


1 **4**

25ml 圆底烧瓶中加入化合物 **1**（为三氟乙酸盐的形式）（100.0mg，0.188mmol）、D-乳酸（56.6mg，0.565mmol）、HATU（107.2mg，0.282mmol）、HOBt(38.1mg，0.282mmol)和 5ml 超干 DMF，瓶口液封。将烧瓶置于冰水浴下搅拌 10 分钟，然后加入 DIEA（94uL，0.565mmol）。HPLC 检测反应进度，反应约 3h。反应完全后，反应液加入饱和氯化铵水溶液，抽滤得淡黄色粗品，粗品经 TLC 制备板刮板分离后，用二氯甲烷和甲醇对固体进行打浆纯化，得 16.8mg 淡黄色固体化合物 **4**，收率 18.4%。

LC-MS 结果显示$[M+H]^+$：508.2。

实施例 5：化合物 **5** 和化合物 **6** 的合成



1 **5** **6**

25ml 圆底烧瓶中加入化合物 **1**（为三氟乙酸盐的形式）（200mg，0.377mmol）、三氟乳酸（162.8mg，1.13mmol）、HATU（214.8mg，0.565mmol）、HOBt(76.3mg，0.565mmol)和 5ml 超干 DMF，瓶口液封。将烧瓶置于冰水浴下搅拌 10 分钟，然后加入 DIEA（187uL，1.13mmol）。HPLC 检测反应进度，反应约 6h。反应完全后，反应液液相制备分离纯化，制备液 35℃真空浓缩，冻干，得 49.7mg 淡黄色固体化合物 **5**，收率 48.7%；得 60.5mg 淡黄色固体化合物 **6**，收率 59.3%。

化合物 **5**：

LC-MS 结果显示$[M+H]^+$：562.2。

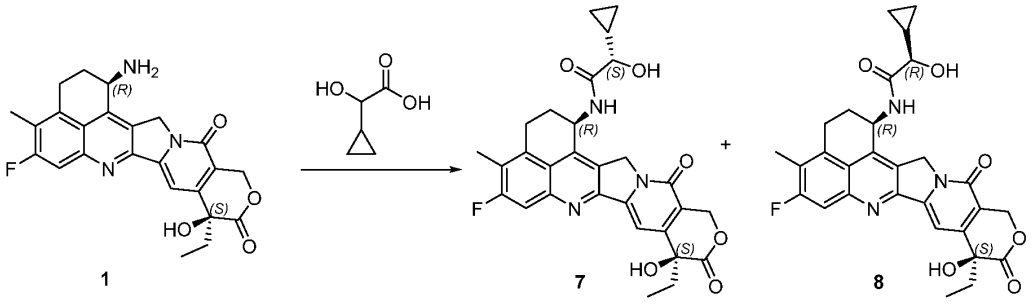
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 9.00 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.78 (d, J = 10.9 Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.19 (d, J = 6.9 Hz, 1H), 6.54 (s, 1H), 5.59 (dt, J = 10.1, 5.3 Hz, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.16 (q, J = 19.2 Hz, 2H), 4.63 (p, J = 7.6 Hz, 1H), 3.14 (s, 2H), 2.38 (s, 3H), 2.16 (p, J = 7.1 Hz, 2H), 1.87 (hept, J = 7.1 Hz, 2H), 0.88 (t, J = 7.3 Hz, 3H).

化合物 **6**：

LC-MS 结果显示$[M+H]^+$：562.2。

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 8.97 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.78 (d, J = 11.0 Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.26 (d, J = 6.7 Hz, 1H), 6.54 (s, 1H), 5.57 (dt, J = 9.5, 5.3 Hz, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.24 – 5.03 (m, 2H), 4.63 (p, J = 7.4 Hz, 1H), 3.14 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 2.38 (d, J = 1.9 Hz, 3H), 2.28 – 2.07 (m, 2H), 1.95 – 1.78 (m, J = 7.1 Hz, 2H), 0.88 (t, J = 7.3 Hz, 3H).

实施例 6：化合物 **7** 和化合物 **8** 的合成



25ml 圆底烧瓶中加入化合物 **1**（为三氟乙酸盐的形式）（200mg，0.377mmol）、1-羟基环丙烷甲酸（131.2mg，1.13mmol）、HATU（214.8mg，0.565mmol）、HOBt(76.3mg，0.565mmol)和 5ml 超干 DMF，瓶口液封。将烧瓶置于冰水浴下搅拌 10

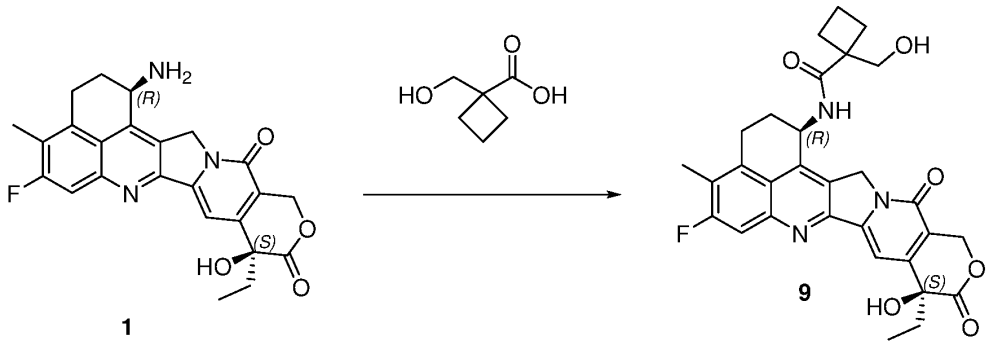
分钟，然后加入 DIEA（187uL，1.13mmol）。HPLC 检测反应进度，反应约 6h。反应完全后，反应液加水析出固体，饱和氯化铵水溶液洗涤 2 次，纯水洗涤 1 次，抽干后二氯甲烷和甲醇溶解固体。TLC 制备板刮板分离。得 81.0mg 淡黄色固体化合物 **7**，收率 82.4%；得 60.0 淡黄色固体化合物 **8**，收率 61.8%。

化合物 **7**：LC-MS 结果显示$[M+H]^+$：534.2。

^{1}H NMR (400 MHz, d6DMSO) δ 8.40 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.78 – 7.62 (m, 1H), 7.29 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 5.58 (dt, J = 5.3, 1.4 Hz, 1H), 5.53 (q, J = 7.5 Hz, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.26 – 4.91 (m, 2H), 3.62 (t, J = 5.8 Hz, 1H), 3.23 – 3.02 (m, 2H), 2.30 (d, J = 3.2 Hz, 3H), 2.14 (q, J = 7.9, 7.0 Hz, 2H), 1.90 (p, J = 7.0 Hz, 2H), 1.29 – 1.19 (m, 3H), 0.91 (t, J = 7.3 Hz, 3H), 0.57 – 0.37 (m, 4H).

化合物 **8**：LC-MS 结果显示$[M+H]^+$：534.2

实施例 7：化合物 **9** 的合成



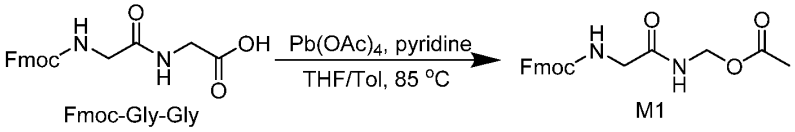
25ml 圆底烧瓶中加入化合物 **1**（为三氟乙酸盐的形式）（100.0mg，0.188mmol）、1-(羟甲基)环丁烷甲酸（43.0mg，0.565mmol）、HATU（107.2mg，0.282mmol）、HOBt(38.1mg，0.282mmol)和 5ml 超干 DMF，瓶口液封。将烧瓶置于冰水浴下搅拌 10 分钟，然后加入 DIEA（94uL，0.565mmol）。HPLC 检测反应进度，反应约 6h。反应完全后，反应液加入饱和氯化铵水溶液析出固体，抽滤得到固体，固体经水洗 2 次，乙酸乙酯洗涤 1 次，二氯甲烷洗涤 1 次。得 100.0mg 灰白色固体化合物 **9**，收率 98.0%。

LC-MS 结果显示$[M+H]^+$：548.2。

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 7.99 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.69 (d, J = 10.9 Hz, 1H), 7.29 (s,

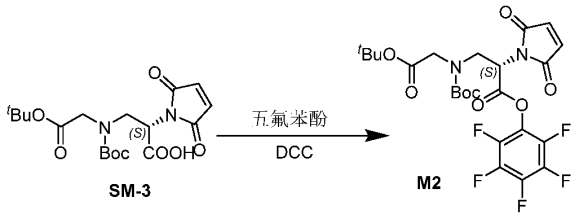
1H), 6.52 (s, 1H), 5.53 (dt, J = 8.7, 5.5 Hz, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.21 – 4.93 (m, 3H), 3.63 (d, J = 4.8 Hz, 2H), 3.10 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 2.39 – 2.24 (m, 5H), 2.12 (q, J = 6.3 Hz, 2H), 1.99 – 1.70 (m, 6H), 0.91 (t, J = 7.3 Hz, 3H).

实施例 8：化合物 **M1** 的合成



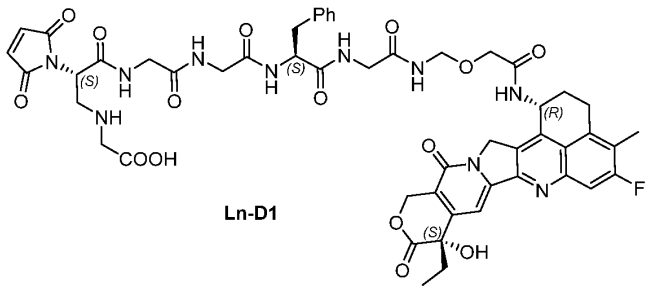
于 5000 mL 单口瓶中加入 *N*-芴甲氧羰基-甘氨酸-甘氨酸(100 g, 282 mmol, 1.0eq，外购)，四乙酸铅(175 g, 553 mmol, 1.4 eq)，2000 mL 干燥四氢呋喃和 670 mL 甲苯，搅拌均匀，氮气保护，加热至 85 ℃反应 2.5 h。TLC 监控，原料反应完后，冷却至室温，过滤，滤液减压浓缩，残余物经柱色谱纯化，得化合物 **M1**(91 g)。LC-MS：$[M+NH_4]^+$386.0。

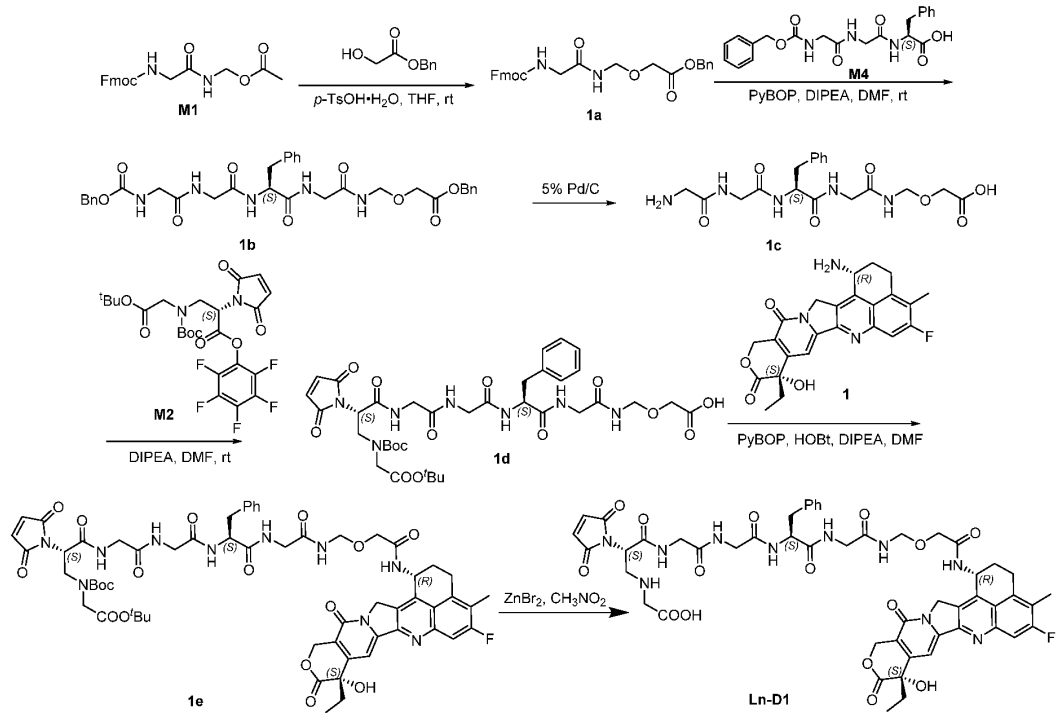
实施例 9：化合物 **M2** 的合成



于 1000 mL 单口瓶，加入化合物 **SM-3**(49.9 g，100.0 mmol, 1.0eq，参照本公司专利申请 CN108452321 公开的方法合成)、五氟苯酚(18.5 g, 110.0 mmol, 1.1 eq)、DCC(20.64 g, 110.0 mmol, 1.1 eq)及 THF(500 mL)，室温反应 1h (采用 TLC 监测反应完全)，过滤滤去不溶物，将此滤液记为滤液 A，2-8℃保存，以备后用(直接取用溶剂，按照 0.2M 计算使用)。LC-MS：$[M+H]^+$565.2。

实施例 10：化合物 **Ln-D1** 的合成





第一步：化合物 **1a** 的合成

500ml 圆底烧瓶中加入 M1（15.00g，40.75mmol）和 150ml THF 并置于冰水浴下搅拌 15min。加入一水合对甲苯磺酸（775.0mg，4.08mmol），继续搅拌 10min。烧瓶上端安装恒压滴液漏斗，滴加羟基乙酸苄酯（11.6ml，81.50mmol）。滴加完毕后继续冰水浴下搅拌，约 3h 反应完全。TLC 检测原料消失后，用饱和碳酸氢钠淬灭反应，混合液用乙酸乙酯萃取 3 次，无水硫酸钠干燥，浓缩后进行硅胶柱层析分离。分离得 9.06g 白色固体，收率 46.9%。

第二步：化合物 **1b** 的合成

向 1 号 50ml 圆底烧瓶中加入 **1a**（5.34g，11.26mmol）和 25ml DMF，置于冰水浴下搅拌 15min。滴加三乙胺(1854uL，12.39mmol)，反应约 5h，TLC 检测原料是否消失，反应完全后备用。向 2 号 100ml 圆底烧瓶中加入 **M4**（4.65g，11.25mmol）、PyBop（7.03g，13.52mmol）、DIEA（2226uL，13.56mmo）和 20ml DMF，置于冰水浴下搅拌 15min，将反应完全的 1 号瓶中反应液滴加入 2 号反应瓶中。HPLC 监测反应原料是否消失，待反应完全后，进行 HPLC 制备分离。冷冻干燥得产品 4.83g 白色固体，收率 66.3%。

第三步：化合物 **1c** 的合成

于 50 mL 单口瓶中加入 **1b**（500.0mg，0.772mmol）、5% Pd/C（500.0mg，100% m）和 10ml DCM，添加氢气球并置换氢气，室温下反应约 3h。HPLC 监测反应完全后。过滤，得滤液，得粗产品 **1c** 直接用于下一步反应。

第四步：化合物 **1d** 的合成

将粗产品 **1c** 置于冰水浴中，加入 DIPEA(0.14mL, 0.82 mmol)，再加入化合物 **M2**(4.0mL, 0.8 mmol)，加毕升至室温反应 1 h。HPLC 监测反应完毕，液相纯化，得制备液，冻干得到 370.2mg 白色固体，收率 59.7%。LC-MS：$[M+H]^+$ 804.4。

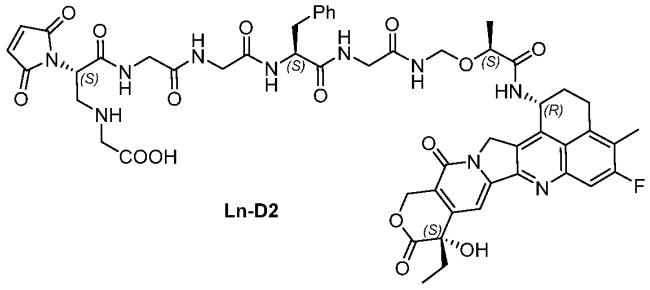
第五步：化合物 **1e** 的合成

10ml 单口瓶中加入 **1d**（260.0mg，0.281mmol）、化合物 **1**（149.3mg，0.281mmol）、HATU（160.4mg，0.422mmol）、HOBt（57.0mg，0.422mmol）和 5ml DMF，置于冰水浴下搅拌 10min，HPLC 监测反应完全后制备分离，制备液冻干得 368.0mg 黄色固体,收率 97.3%。LC-MS：$[M+H]^+$ 1221.5；

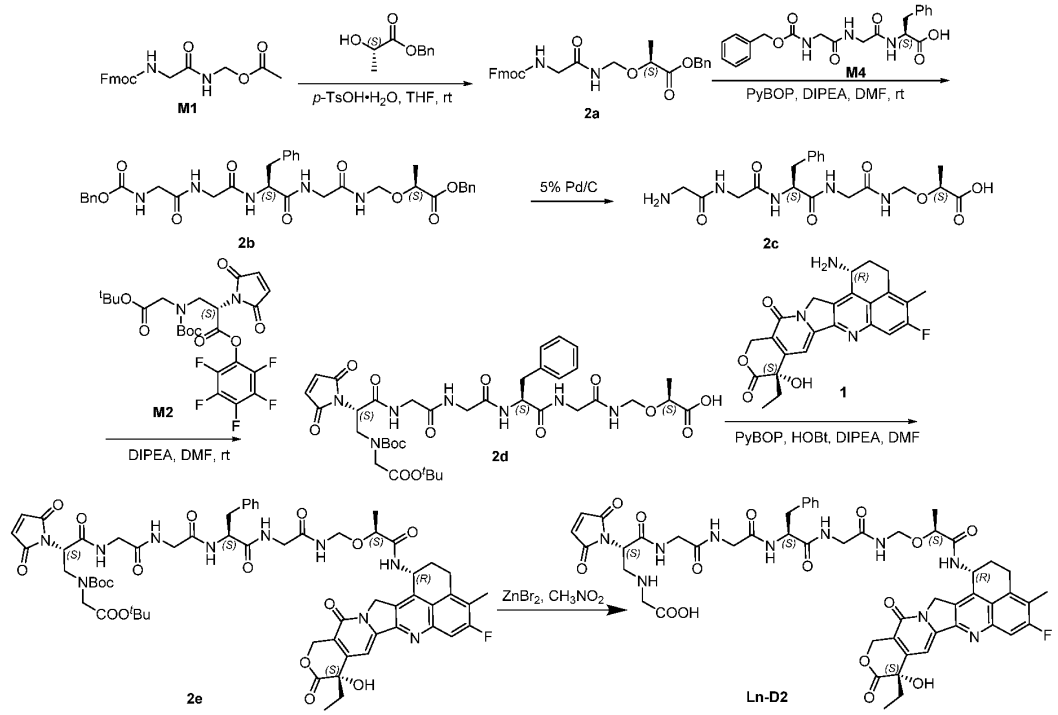
第六步：化合物 **Ln-D1** 的合成

25ml 单口瓶中加入 **1e**（368mg，0.289mmol）、溴化锌（1301.0mg，5.78mmol）和 15ml 硝基甲烷，置于室温下搅拌。HPLC 监测原料消失，反应液浓缩后 HPLC 制备纯化，制备液冻干，得 120mg 黄色固体，收率 38.5%。LC-MS：$[M+H]^+$ 1065.4。

实施例 11：化合物 **Ln-D2** 的合成



Ln-D2



第一步：化合物 **2a** 的合成

250ml 圆底烧瓶中加入 M1（7.45g，20.3mmol）和 120ml THF 并置于冰水浴下搅拌 15min。加入一水合对甲苯磺酸（385.0mg，2.03mmol），继续搅拌 10min。烧瓶上端安装恒压滴液漏斗，滴加羟基乙酸苄酯（6.0ml，41.5mmol），速度控制为 2 秒一滴。滴加完毕后继续冰水浴下搅拌，约 3h 反应完全。TLC 检测原料消失后，用饱和碳酸氢钠淬灭反应，混合液用乙酸乙酯萃取 3 次，无水硫酸钠干燥，浓缩后进行硅胶柱层析分离。分离得 4.82 白色固体，收率 49%。

第二步：化合物 **2b** 的合成

向 1 号 25ml 圆底烧瓶中加入 **2a**（2.53g，5.20mmol）和 10ml DMF，置于冰水浴下搅拌 15min。滴加 DBU(900uL，6.0mmol)，反应约 0.5h，TLC 检测原料是否消失，反应完全后备用。向 2 号 50ml 圆底烧瓶中加入 M4（2.31g，5.6mmol）、PyBop（3.50g，6.8mmol）、DIEA（1115uL，6.8mmo）和 10ml DMF，置于冰水浴下搅拌 15min，将反应完全的 1 号瓶中反应液滴加入 2 号反应瓶中。HPLC 监测反应原料是否消失，待反应完全后，进行 HPLC 制备分离。冷冻干燥得 2.53g 白色固体，收率 74%。

第三步：化合物 **2c** 的合成

于 50 mL 单口瓶中加入 **2b**（500.0mg，0.76mmol）、5% Pd/C（500.0mg，100% m）和 10ml DCM，添加氢气球并置换氢气，室温下反应约 3h。HPLC 监测反应完全后。过滤，得滤液，得粗产品 **2c** 直接用于下一步反应。

第四步：化合物 **2d** 的合成

将粗产品 **2c** 置于冰水浴中，加入 DIPEA(0.12mL, 0.70 mmol)，再加入化合物 **M2**(4.0mL, 0.8 mmol)，加毕升至室温反应 1 h。HPLC 监测反应完毕，液相纯化，得制备液，冻干得到 378.2mg 白色固体，收率 62%。LC-MS：$[M+H]^+$ 818.3。

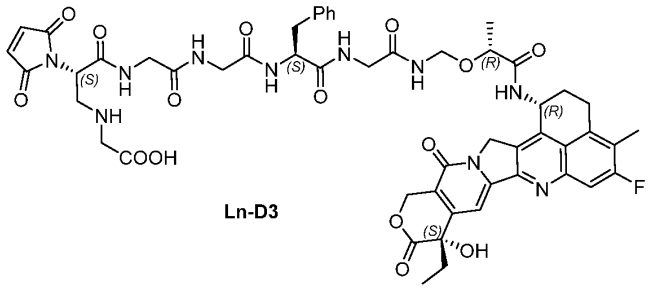
第五步：化合物 **2e** 的合成

10ml 单口瓶中加入 **2d** （228mg，0.28mmol）、化合物 **1**（148.3mg，0.28mmol）、HATU（160.1mg，0.42mmol）、HOBt（57.2mg，0.42mmol）和 5ml DMF，置于冰水浴下搅拌 10min，滴加 DIEA（140uL，0.84mmol）继续反应，HPLC 监测反应完全后制备分离，制备液冻干得 269.5mg 黄色固体,收率 78%。LC-MS：$[M+H]^+$ 1235.5；

第六步：化合物 **Ln-D2** 的合成

25ml 单口瓶中加入 **2e**（269.5mg，0.22mmol）、溴化锌（1012.9mg，0.44mmol）和 10ml 硝基甲烷，置于室温下搅拌。HPLC 监测原料消失，反应液浓缩后 HPLC 制备纯化，制备液冻干，得 96.3mg 黄色固体，收率 41%。LC-MS：$[M+H]^+$ 1079.4。

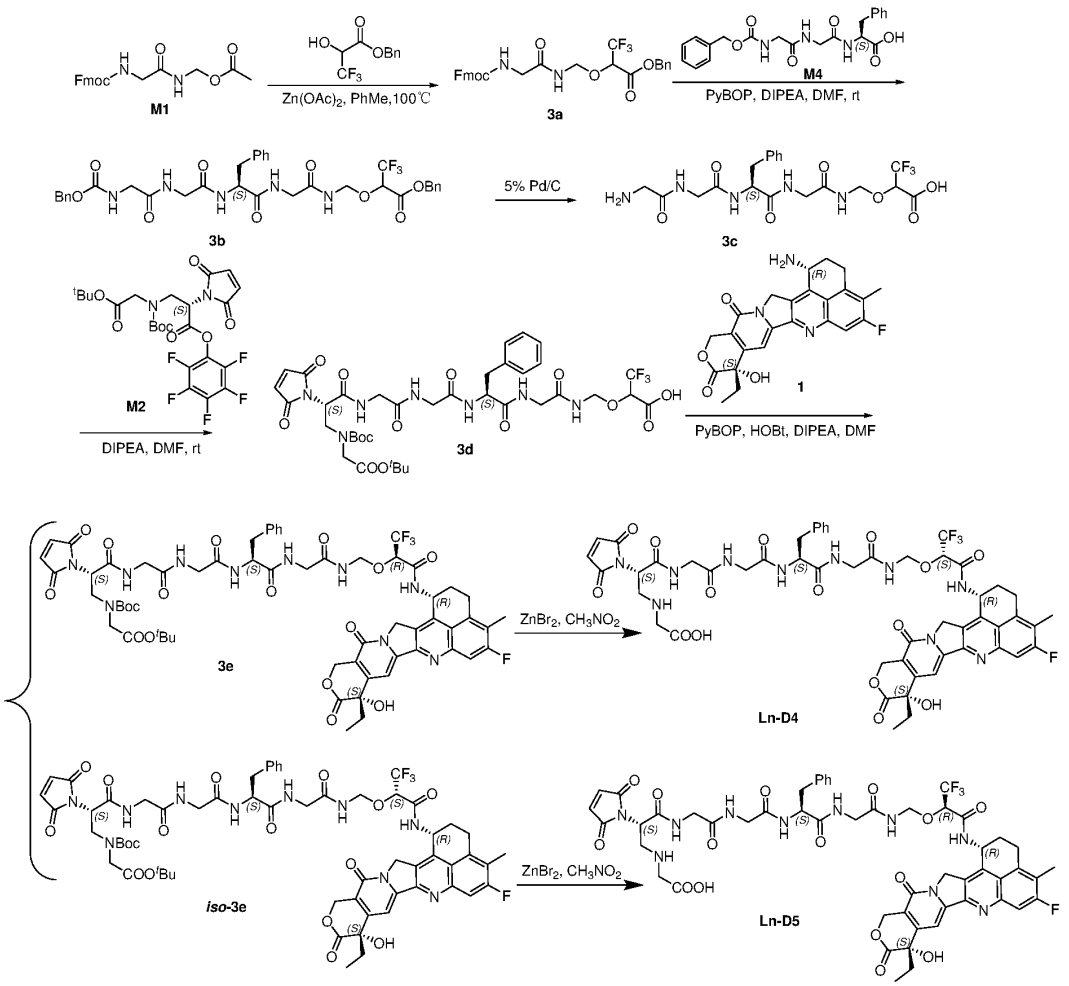
实施例 12：化合物 **Ln-D3** 的合成



Ln-D3

参照实施例 11 合成路线和方法，得到化合物 **L-D3**(93.8mg)。LC-MS：$[M+H]^+$ 1079.4。

实施例 13：化合物 **Ln-D4** 和 **Ln-D5** 的合成



第一步：化合物 **3a** 的合成

100ml 圆底烧瓶中加入 M1（2.87g，7.79mmol）、三氟乳酸苄酯（3.65g，15.59mmol）、无水醋酸锌（2.86g，15.59mmol）和 30ml 甲苯，氮气保护外温 100℃反应。TLC 监测反应进度，反应约 5h。反应完全后过滤，滤液浓缩得粗品油状物。粗品经硅胶柱层析纯化，得白色固体 1.51g，收率 35.7%。

第二步：化合物 **3b** 的合成

向 1 号 50ml 圆底烧瓶中加入 **3a**（2.82g，5.20mmol）和 10ml DMF，置于冰水浴下搅拌 15min。滴加 DB U(0.949g，6.24mmol)，反应约 0.5h，TLC 检测原料是否消失，反应完全后备用。向 2 号 50ml 圆底烧瓶中加入 M4（(2.36g，5.71mmol）、PyBop（3.25g，6.24mmol）、HOBt（0.84g，6.24mmol）、DIEA（1000uL，6.24mmol）和

10ml DMF，置于冰水浴下搅拌 15min，将反应完全的 1 号瓶中反应液滴加入 2 号反应瓶中。HPLC 监测反应原料是否消失，待反应完全后，进行 HPLC 制备分离。DCM 萃取制备液 3 次，无水硫酸钠干燥，浓缩有机相，真空干燥得 2.32g 白色固体，收率 62%。

第三步：化合物 **3c** 的合成

于 50 mL 单口瓶中加入 **3b**（500.0mg，0.70mmol）、5% Pd/C（500.0mg，100% m）和 10ml DMF，氢化室温下反应约 3h。HPLC 监测反应完全后。过滤，得滤液，得粗产品 **3c** 直接用于下一步反应。

第四步：化合物 **3d** 的合成

将粗产品 **3c** 置于冰水浴中，加入 DIPEA(0.12mL, 0.70 mmol)，再加入化合物 **M2**(4.0mL, 0.8 mmol)，加毕升至室温反应 1 h。HPLC 监测反应完毕，液相纯化，得制备液，冻干得到 280.0mg 白色固体，收率 46%。LC-MS：$[M+H]^+$ 872.3。

第五步：化合物 **3e** 的合成

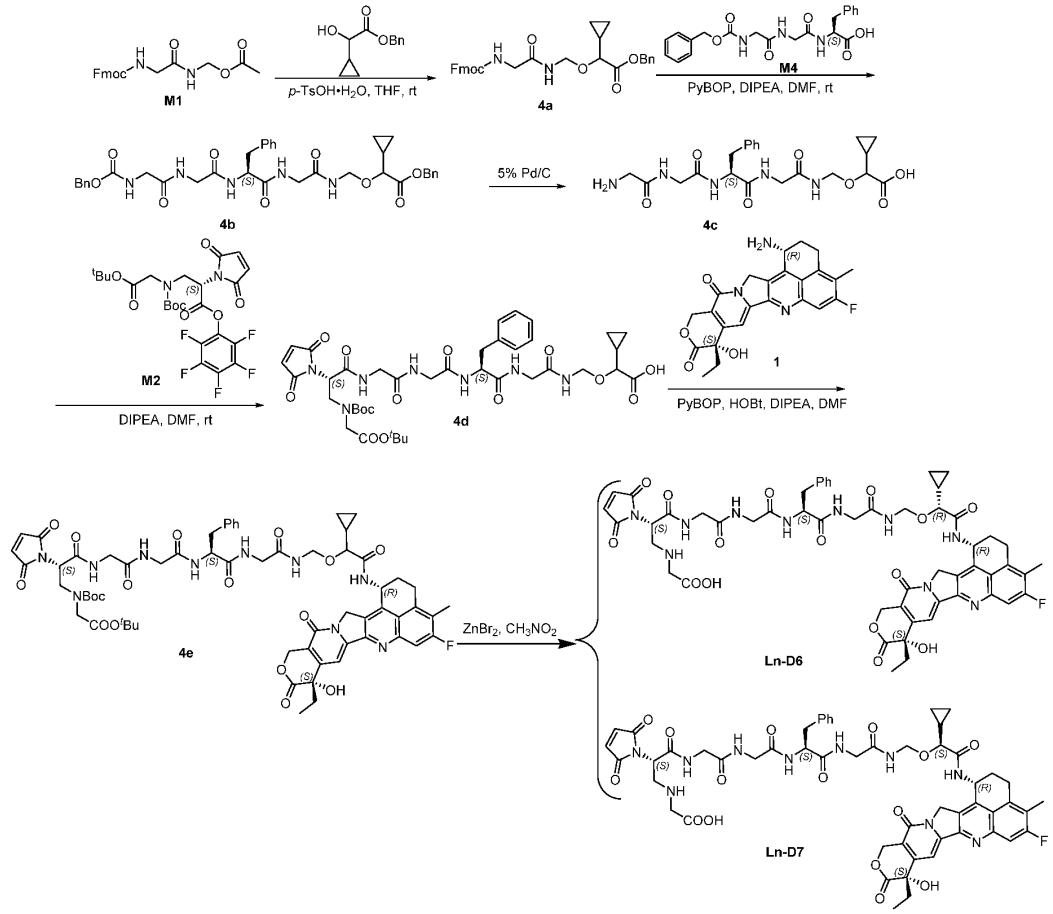
10ml 单口瓶中加入 **3d**（（280.0mg，0.241mmol）、化合物 **1**（142.2mg，0.241mmol）、HATU（137.6mg，0.362mmol）、HOBt（38.9mg，0.362mmol）和 5ml DMF，置于冰水浴下搅拌 10min，滴加 DIEA（120uL，0.723mmol）继续反应，HPLC 监测反应完全后制备分离，制备液冻干得 154.1mg 黄色固体 **3e**，收率 73.6%，LC-MS：$[M+H]^+$ 1289.5；得 62.5mg 黄色固体 ***iso*-3e**，收率 29.8%，LC-MS：$[M+H]^+$ 1289.5。

第六步：化合物 **Ln-D4** 和 **Ln-D5** 的合成

25ml 单口瓶中加入 **3e**（154.1mg，0.118mmol）、溴化锌（532.5mg，2.36mmol）和 10ml 硝基甲烷，置于室温下搅拌。HPLC 监测原料消失，反应液浓缩后 HPLC 制备纯化，制备液冻干，得 82.0mg 黄色固体，收率 60%。LC-MS：$[M+H]^+$ 1133.4。

25ml 单口瓶中加入 ***iso*-3e**（62.5mg，0.048mmol）、溴化锌（216.0mg，0.959mmol）和 7ml 硝基甲烷，置于室温下搅拌。HPLC 监测原料消失，反应液浓缩后 HPLC 制备纯化，制备液冻干，得 96.3mg 黄色固体，收率 41%。LC-MS：$[M+H]^+$ 1133.4。

实施例 14：化合物 **Ln-D6** 和 **Ln-D7** 的合成



第一步：化合物 **4a** 的合成

250ml 圆底烧瓶中加入 M1（3.75g，10.19mmol）和 50ml THF 并置于冰水浴下搅拌 15min。加入一水合对甲苯磺酸（194.0mg，1.02mmol），继续搅拌 10min。烧瓶上端安装恒压滴液漏斗，滴加 2-环丙基-2-羟基乙酸苄酯（4.34g，20.4mmol）约 6h 反应完全。TLC 检测原料消失后，用饱和碳酸氢钠淬灭反应，混合液用乙酸乙酯萃取 3 次，无水硫酸钠干燥，浓缩后进行硅胶柱层析分离。分离得 2.13g 白色固体，收率 41%。

第二步：化合物 **4b** 的合成

向 1 号 50ml 圆底烧瓶中加入 **4a**（2.80g，5.38mmol）和 10ml DMF，置于冰水浴下搅拌 15min。滴加 DIEA(0.981g，6.45mmol)，反应约 0.5h，TLC 检测原料是否消失，反应完全后备用。向 2 号 100ml 圆底烧瓶中加入 M4（2.22g，5.38mmol）、PyBop

（3.35g，6.45mmol）、HOBt（0.87g，6.45mmol）、DIEA（1000uL，6.45mmol）和10ml DMF，置于冰水浴下搅拌15min，将反应完全的1号瓶中反应液滴加入2号反应瓶中。HPLC监测反应原料是否消失，待反应完全后，进行HPLC制备分离。冷冻干燥得2.63g白色固体，收率61%。

第三步：化合物**4c**的合成

于50 mL单口瓶中加入**4b**（1003.1mg，1.46mmol）、5% Pd/C（1004.2mg，100% m）和15ml DMF，添加氢气球并置换氢气，室温下反应约3h。HPLC监测反应完全后。过滤，得滤液，得粗产品**4c**直接用于下一步反应。

第四步：化合物**4d**的合成

将粗产品**4c**置于冰水浴中，加入DIPEA(0.26mL, 1.6mmol)，再加入化合物**M2**(8.0mL, 1.6 mmol)，加毕升至室温反应2 h。HPLC监测反应完毕，液相纯化，得制备液，冻干得到945.1mg白色固体，收率76%。LC-MS：$[M+H]^+$ 844.4。

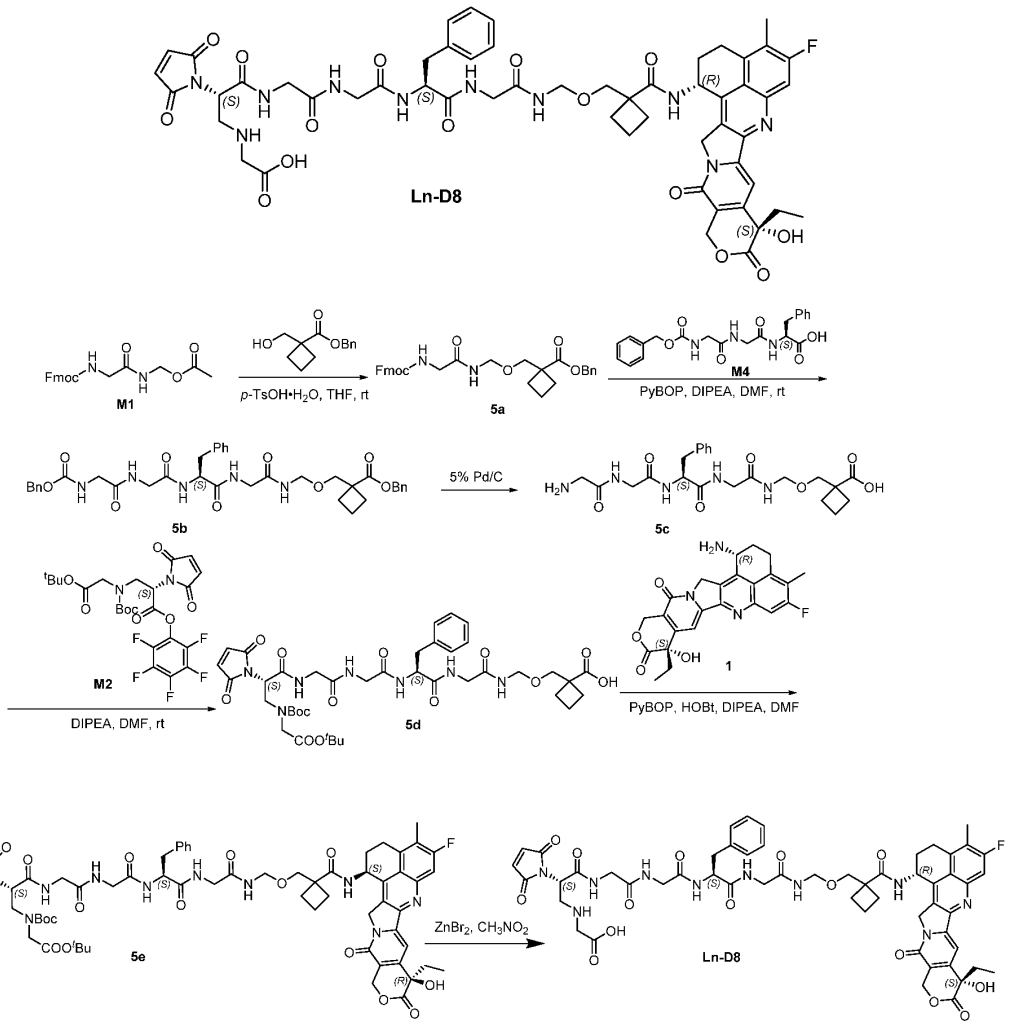
第五步：化合物**4e**的合成

10ml单口瓶中加入**4d**（422.0mg，0.50mmol）、化合物**1**（265.5mg，0.50mmol）、HATU（285.1mg，0.75mmol）、HOBt（101.3mg，0.75mmol）和5ml DMF，置于冰水浴下搅拌10min，滴加DIEA（248uL，1.50mmol）继续反应，HPLC监测反应完全后制备分离，制备液冻干得268.0mg黄色固体，收率42%，LC-MS：$[M+H]^+$ 1261.5。

第六步：化合物**Ln-D6**和**Ln-D7**的合成

50ml单口瓶中加入**4d**（（268.0mg，0.204mmol）、溴化锌（1168.1mg，5.187mmol）和10ml硝基甲烷，置于室温下搅拌。HPLC监测，待反应完全，反应液浓缩后HPLC制备纯化，制备液冻干，得**Ln-D6**黄色固体68.0mg，收率28%，LC-MS：$[M+H]^+$ 1105.4；得**Ln-D7**黄色固体82.0mg，收率35%，LC-MS：$[M+H]^+$ 1105.4。

实施例15：化合物**Ln-D8**的合成



第一步：化合物 **5a** 的合成

250ml 圆底烧瓶中加入 M1（3.74g，10.16mmol）和 50ml THF 并置于冰水浴下搅拌 15min。加入一水合对甲苯磺酸（193.1mg，1.02mmol），继续搅拌 10min。烧瓶上端安装恒压滴液漏斗，滴加 1-(羟甲基)环丁烷甲酸苄酯（4.59g，20.3mmol）。滴加完毕后继续冰水浴下搅拌，约 5h 反应完全。TLC 检测原料消失后，用饱和碳酸氢钠淬灭反应，混合液用乙酸乙酯萃取 3 次，无水硫酸钠干燥，浓缩后进行硅胶柱层析分离。分离得 4.60g 白色固体，收率 82%。

第二步：化合物 **5b** 的合成

向 1 号 50ml 圆底烧瓶中加入 **5a**（4.38g，8.29mmol）和 20ml DMF，置于冰水浴下

搅拌 15min。滴加 DBU(1363uL，9.11mmol)，反应约 0.5h，TLC 检测原料是否消失，反应完全后备用。向 2 号 50ml 圆底烧瓶中加入 M4（3.42g，8.29mmol）、PyBop（5.17g，9.95mmol）、HOBt（1.34g，9.95mmol）、DIEA（1640uL，9.95mmol）和 30ml DMF，置于冰水浴下搅拌 15min，将反应完全的 1 号瓶中反应液滴加入 2 号反应瓶中。HPLC 监测反应原料是否消失，待反应完全后，进行 HPLC 制备分离。冷冻干燥得 4.60g 白色固体，收率 68%。

第三步：化合物 **5c** 的合成

于 50 mL 单口瓶中加入 **5b**（1041.5mg，1.26mmol）、5% Pd/C（1056.7mg，100% m）和 10ml DMF，添加氢气球并置换氢气，室温下反应约 3h。HPLC 监测反应完全后，超声除氢气。过滤，得滤液，得粗产品 **5c** 直接用于下一步反应。

第四步：化合物 **5d** 的合成

将粗产品 **5c** 置于冰水浴中，加入 DIPEA(0.24mL, 1.4mmol)，再加入化合物 **M2**(7.0mL, 1.4 mmol)，加毕升至室温反应 1 h。HPLC 监测反应完毕，液相纯化，得制备液，冻干得到 803.5mg 白色固体，收率 64%。LC-MS：$[M+H]^+$ 858.4。

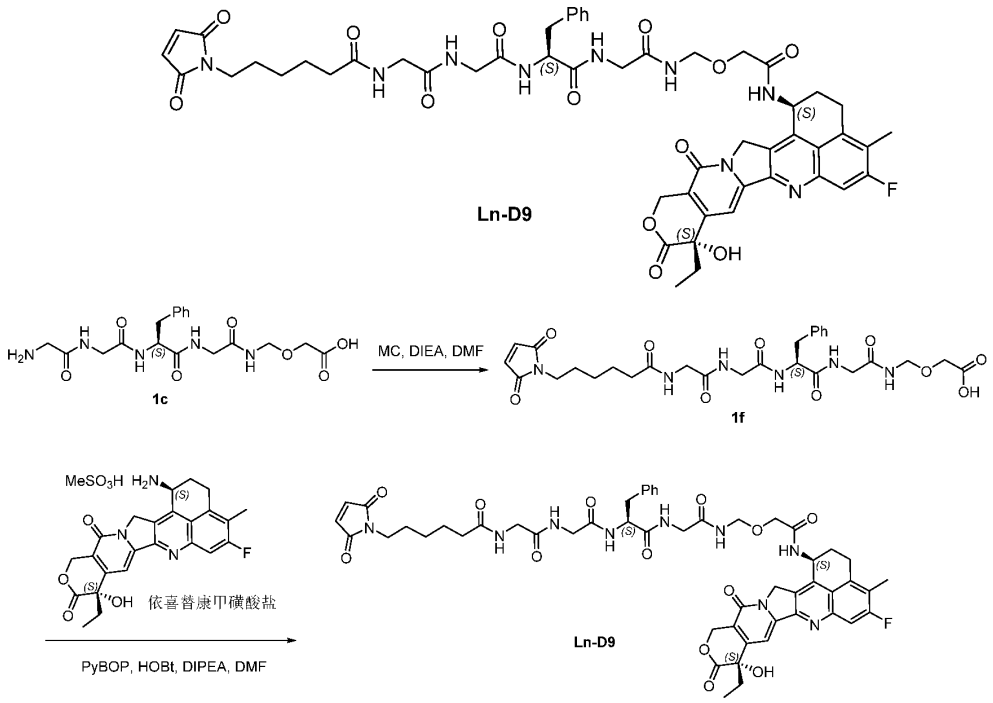
第五步：化合物 **5e** 的合成

10ml 单口瓶中加入 **5d** （201.3mg，0.203mmol）、M2 氨基异构（100.0mg，0.203mmol）、HATU（107.4mg，0.304mmol）、HOBt（38.2mg，0.304mmol）和 5ml DMF，置于冰水浴下搅拌 10min，滴加 DIEA（248uL，1.50mmol）继续反应，HPLC 监测反应完全后制备分离，制备液冻干得 219.1mg 黄色固体,收率 84%，LC-MS：$[M+H]^+$ 1275.5。

第六步：化合物 **Ln-D8** 的合成

50ml 单口瓶中加入 **5d**（219.1mg，0.170mmol）、溴化锌（765.3mg，3.40mmol）和 20ml 硝基甲烷，置于室温下搅拌。HPLC 监测，待反应完全，反应液浓缩后 HPLC 制备纯化，制备液冻干，得黄色固体 120.2mg，收率 62%，LC-MS：$[M+H]^+$ 1119.4。

实施例 16：化合物 **Ln-D9** 的合成



第一步：化合物 **1f** 的合成

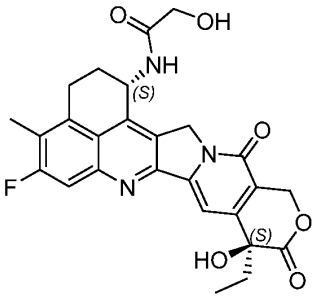
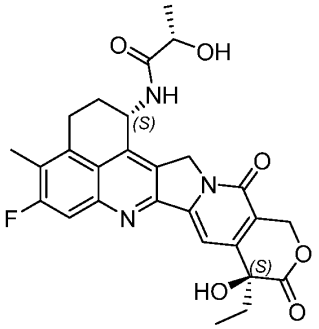
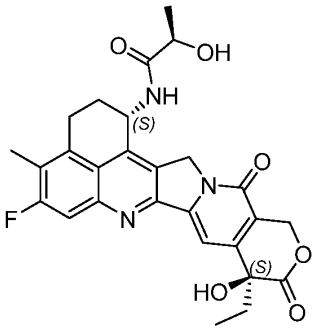
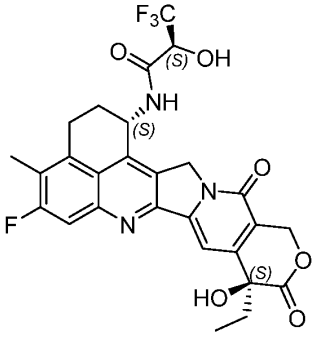
于 50 mL 单口瓶中加入 **1b**（500.0mg，0.772mmol）、5% Pd/C（500.0mg，100% m）和 10ml DMF，添加氢气球并置换氢气，室温下反应约 3h。HPLC 监测反应完全后，超声除氢气。过滤，得滤液，得粗产品 **1c**。冰水浴下，向滤液中依次加入 MC(280.1mg，0 .9mmol)，DIEA(235mg，1.8mmol)，氮气保护，加完后升至室温反应 1h，HPLC 监控，液相制备纯化，冻干得化合物 **1f**(268.9mg，86％)，MS：$[M+H]^+$617 .2。

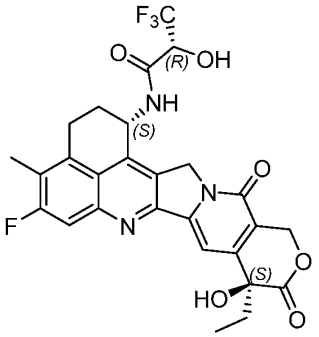
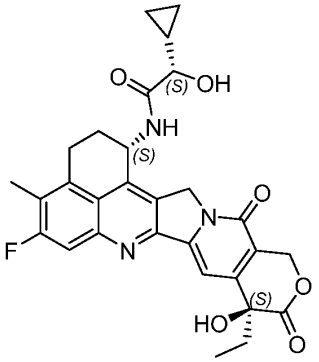
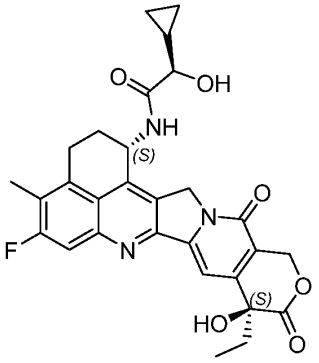
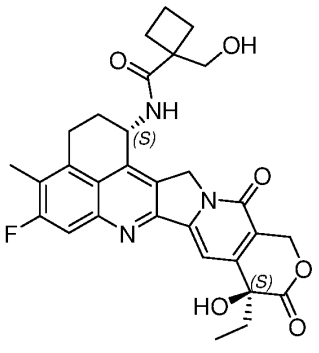
第二步：化合物 **Ln-D9** 的合成

10ml 单口瓶中加入 **1f** （268.9mg，0.44mmol）、依喜替康甲磺酸盐（233.8mg，0.44mmol，外购）、HATU（190.5mg，0.50mmol）、HOBt（67.8mg，0.50mmol）和 5ml DMF，置于冰水浴下搅拌 10min，滴加 DIEA（140uL，0.84mmol）继续反应，HPLC 监测反应完全后制备分离，制备液冻干得 254.3mg 黄色固体,收率 56%。LC-MS：$[M+H]^+$ 1034.4。

实施例 17：用于对照的化合物合成

参照专利 CN111689980 和 WO2020063676 中的方法合成得到下列化合物：

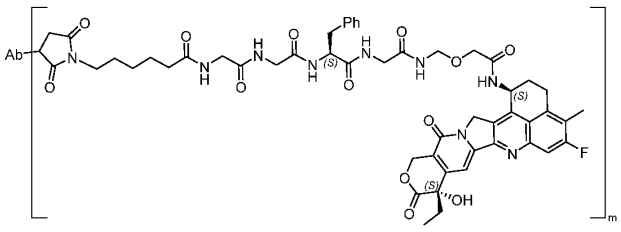
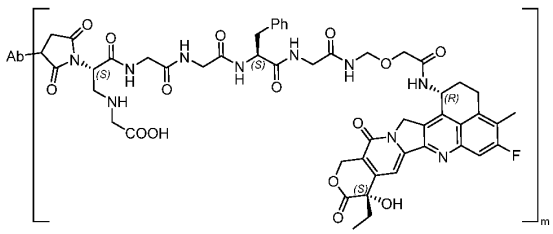
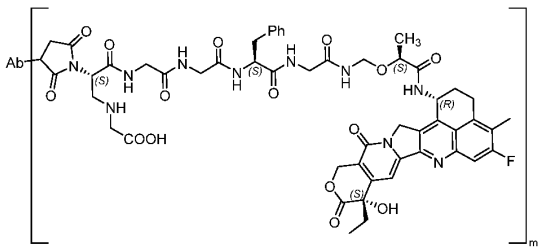
化合物编号	化合物结构
10	
11	
12	
13	

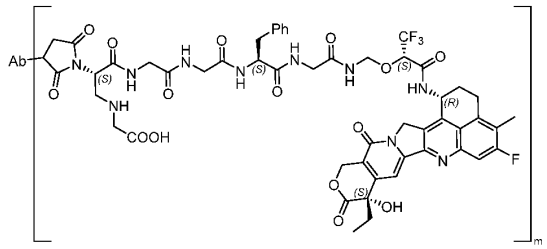
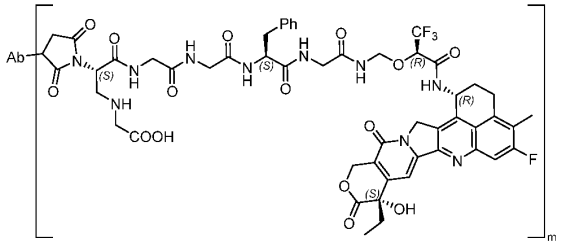
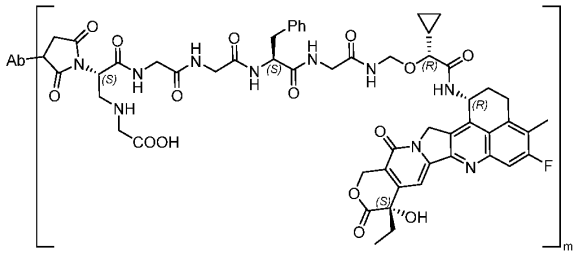
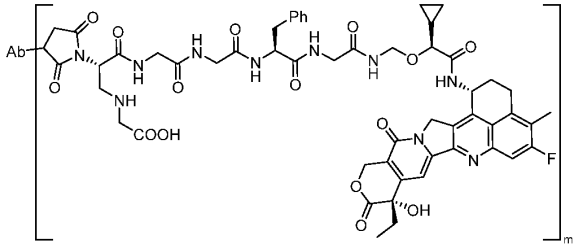
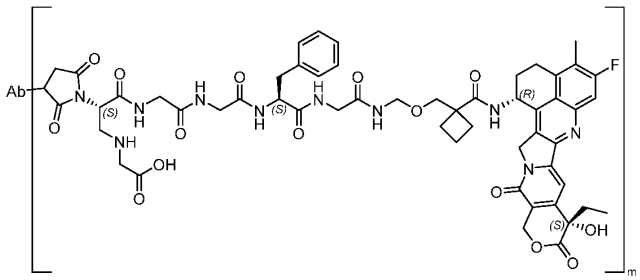
14	
15	
16	
17	

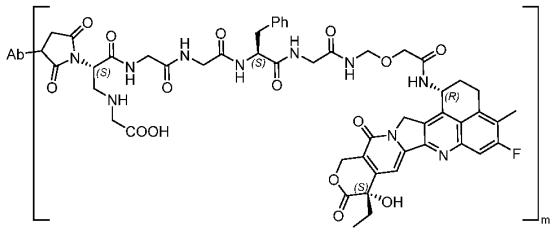
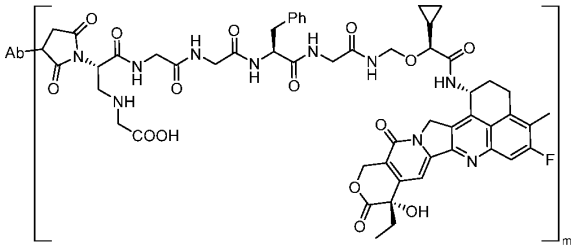
实施例 18：偶联制备 ADC 药物通法

将通过初步的纯化后单体率大于 95%的抗体 Ab，使用超滤离心管换液至磷酸盐缓冲液中，浓度 10mg/ml。加入 20 倍于抗体摩尔分子数的 TCEP，室温下反应 10h 以打开抗体链间二硫键。加入 20 倍于抗体摩尔分子数的连接子-毒素，室温下反应 2h。反应结束后，使用截留分子量为 30KDa 的超滤离心管换液至 PBS 中，并去除未偶联的 payload。换液后的 ADC 样品使用 0 .22 微米除菌过滤器过滤后备用。

将偶联用 payload 化合物 **Ln-D1**、**Ln-D2**、**Ln-D4**、**Ln-D5**、**Ln-D6**、**Ln-D7**、**Ln-D8** 和 **Ln-D9** 采用本实施例 18 所述偶联通法，与抗体分子 Ab 偶联（抗体分子 Ab 分别可为 A：Trastuzumab 抗体；B：Cetuximab 抗体）。偶联产物经反相高效液相色谱测定其平均药物/抗体比（DAR）值。所得 ADC 药物分子相关信息及与 payload 分子的对应情况如下：

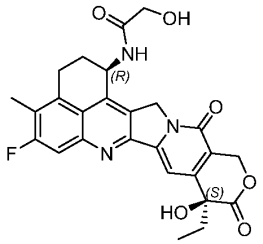
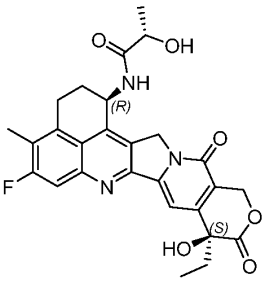
Payload 编号	**偶联产物 ADC 编号**	**抗体分子 Ab**	**ADC 结构**	**DAR**
Ln-D9	**ADC-1**	A		7.7
Ln-D1	**ADC-2**	A		7.4
Ln-D2	**ADC-3**	A		7.5

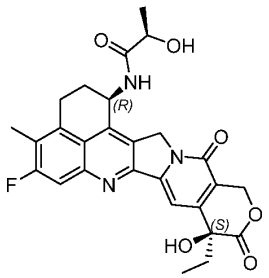
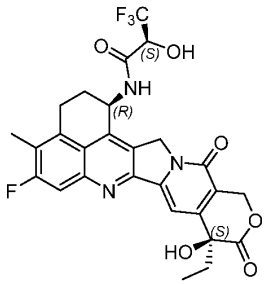
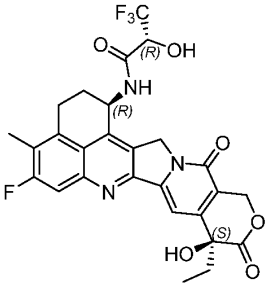
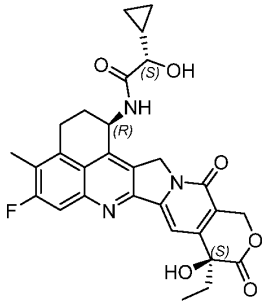
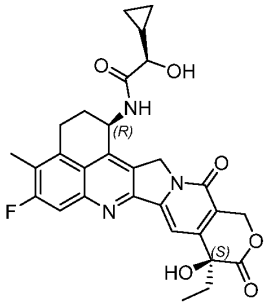
Ln-D4	**ADC-4**	A		7.3
Ln-D5	**ADC-5**	A		7.5
Ln-D6	**ADC-6**	A		7.5
Ln-D7	**ADC-7**	A		7.5
Ln-D8	**ADC-8**	A		7.7

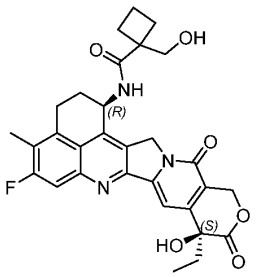
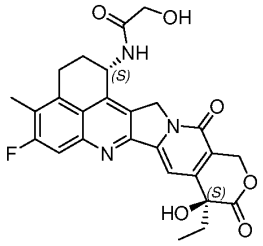
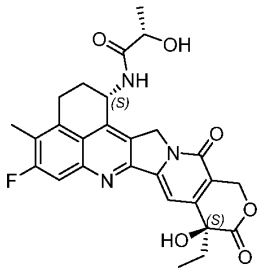
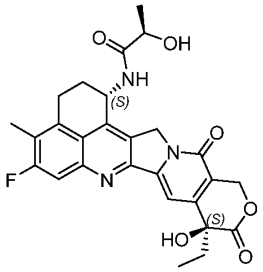
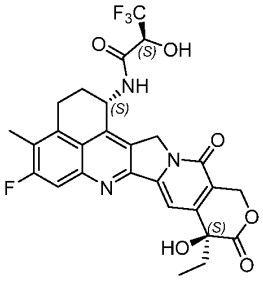
Ln-D2	**ADC-9**	B		7.3
Ln-D7	**ADC-10**	B		7.4

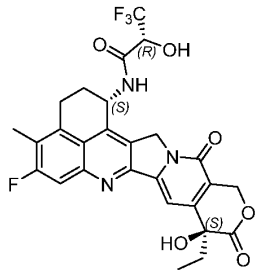
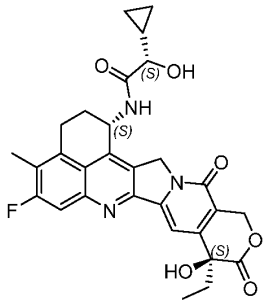
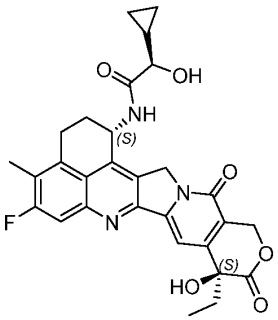
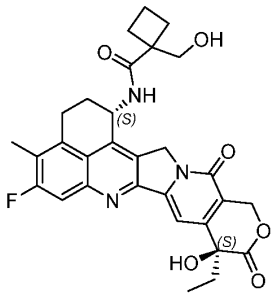
实施例 19：喜树碱手性衍生物的 logP 值测试

logP 值与化合物的水溶性、透膜性、体内 ADME 过程以及化合物与受体的亲和力均存在密切的关系，在化合物透过生物膜的过程中具有关键作用。通过测试喜树碱药物在正辛烷（油）和水中的分配系数来得到 logP 值，以对药物进行研究，结果如下：

喜树碱衍生物编号	喜树碱衍生物结构式	LogP
2		1.8
3		1.6

4		1.9
5		1.9
6		1.9
7		1.7
8		1.8

9		1.6
10		2.3
11		2.5
12		2.5
13		2.6

14		2.6
15		2.7
16		2.6
17		3.0

以上 LogP 结果可见，本发明的化合物具有更低的 LogP 值，水溶性更好。

实施例 20：ADC 的血浆聚集、降解测试

无菌取一定量的 ADC 样品，加入到已去除人 IgG 的人血浆中，使得 ADC 在血浆中的终浓度是 0.6mg/ml,每种 ADC 制备三管，放置在 37℃水浴中孵育，分别孵育 0h、72h、7d 后，取出 ADC 样品，每管加入 ProteinA（MabSelect SuRe TMLX

Lot:#10221479GE，取 PBS 洗涤过的）100μL，垂直混合仪晃动吸附 2h，经过洗涤、洗脱和 Tris-HCl 中和步骤，获得孵育后的 ADC，对孵育特定时间的 ADC 样品进行 SEC 检测，测定聚集降解情况。

ADC 编号	条件	HMW%/聚集%	LMW%/降解%
ADC-1	未孵育	2.05	2.67
	血浆孵育 0D	48.43	5.39
	血浆孵育 3D	46.84	3.55
	血浆孵育 7D	54.82	2.29
ADC-2	未孵育	8.18	2.34
	血浆孵育 0D	26.36	1.98
	血浆孵育 3D	25.16	1.72
	血浆孵育 7D	26.75	0.86
ADC-3	未孵育	4.41	2.44
	血浆孵育 0D	28.69	1.98
	血浆孵育 3D	28.89	1.50
	血浆孵育 7D	28.94	1.11
ADC-4	未孵育	4.01	2.53
	血浆孵育 0D	27.65	3.03
	血浆孵育 3D	27.70	2.35
	血浆孵育 7D	27.96	1.24
ADC-5	未孵育	2.28	2.35
	血浆孵育 0D	20.68	1.43
	血浆孵育 3D	16.60	0.96
	血浆孵育 7D	21.25	0.63
ADC-6	未孵育	2.90	2.49
	血浆孵育 0D	28.59	2.04
	血浆孵育 3D	26.16	1.72

	血浆孵育 7D	26.17	0.90
ADC-7	未孵育	3.12	2.62
	血浆孵育 0D	28.97	2.23
	血浆孵育 3D	31.02	1.53
	血浆孵育 7D	32.32	0.46
ADC-8	未孵育	3.08	2.49
	血浆孵育 0D	25.94	1.77
	血浆孵育 3D	26.52	1.22
	血浆孵育 7D	29.90	1.69
ADC-9	未孵育	2.16	2.76
	血浆孵育 0D	18.43	1.39
	血浆孵育 3D	22.48	1.92
	血浆孵育 7D	24.28	1.55
ADC-10	未孵育	3.27	2.38
	血浆孵育 0D	21.34	1.93
	血浆孵育 3D	26.48	1.78
	血浆孵育 7D	25.83	2.03

ADC-1 的 payload 与已上市抗肿瘤药物 Enhertu 的一致，从 ADC 药物在血浆中聚集和降解的测试实验可知，喜树碱手性衍生物 ADC 的聚集和降解明显低于 ADC-1，具有更好的物理性质和化学性质，能够在血浆中更稳定的存在。

实施例 21：喜树碱手性衍生物的细胞活性测试

通过下列实验过程测定喜树碱手性衍生物的细胞毒性活性：将喜树碱手性衍生药物分别加入到 A431、MDA-MB-468、SK-BR-3、Bxpc-3 和 SW620 肿瘤细胞中， 72 小时后测定细胞存活率。基于细胞的体外实验用于测定细胞存活率、细胞毒性和本发明喜树碱药物诱导的细胞程序性死亡。

通过细胞增殖试验测定喜树碱药物的体外药效。CellTiter 96® Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay 为商购的(Promega Corp ．， Madison ,WI) 。

CellTiter96®Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay(a)是一种用比色法来检测细胞增殖和细胞毒性实验中的活细胞数量的检测试剂。此试剂含有一个新型的四唑化合物[3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium ,inner salt；MTS]和一种电子偶联剂(phenazine ethosulfate；PES)。PES 具有增强的化学稳定性，这使它可与 MTS 混合形成稳定的溶液。试剂中的 MTS(Owen' s reagent)被细胞生物还原成为一种有色的甲臜产物，可直接溶解于培养基中。这种转化很可能是在代谢活跃的细胞中的脱氢酶产生的 NADPH 或 NADH 的作用下完成的。检测时，只需将适量的 CellTiter96®Aqueous One Solution Reagent 直接加入培养板孔的培养基中，孵育 1–4 小时，以酶标仪读取 490nm 的吸光度值。

在 490nm 处检测到的甲臜产物的量与培养中的活细胞数成正比。由于 MTS 的甲臜产物在组织培养基中可溶，CellTiter 96®Aqueous One Solution Assay 与 MTT 或 INT 法相比操作步骤更少。

本发明中采用 A431、MDA-MB-468、SK-BR-3、Bxpc-3 和 SW620 作为体外药效检测的研究体系。在 96 孔板中，均匀接种适当的细胞密度，二氧化碳培养箱 37℃孵育。24 小时后，显微镜下确认细胞状态正常，进行喜树碱药物加药。培养基稀释喜树碱药物(起始浓度为 1uM，7 倍稀释，8 个浓度点，最后两列分别为对照组（即细胞+培养基，无药物处理）和空白组（即无细胞，仅含有培养基，用于扣除背景），充分混匀药物后，将药物加入对应的细胞孔中放入二氧化碳培养箱 37℃孵育 3 天。3 天后每孔加入 20 ul MTS (Promegm，G3581)反应 2 小时，酶标仪(Molecular Device，型号：SpectraMAX190) 490nM 读数。通过检测线粒体内的脱氢酶的活性，计算 IC50 评价喜树碱药物对细胞的增殖抑制作用。相应的喜树碱手性衍生物 IC50（nM）测试结果如下：

细胞系	化合物编号								
	Dxd (购买)	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**
A431	4.991	4.496	4.188	3.104	2.829	0.689	0.961	1.841	1.516
BxPc-3	3.966	3.995	3.659	2.848	1.729	0.416	0.801	1.101	1.070
SW620	1.954	2.889	1.290	0.920	0.866	0.093	0.894	1.178	1.112
MDA-	10.653	0.002	0.22	-	8.913	2.79	<0.001	<0.001	0.525

MB-468									
SK-BR-3	19.72	1.78	14.982	-	8.49	9.10	<0.01	<0.01	7.32

Dxd 为已上市癌症 ADC 药物 Enhertu 的活性成分，是高活性的喜树碱类药物。发明人通过细胞活性实验，证明本发明所述的喜树碱手性衍生物在代表性的肿瘤细胞 BXPC-3、A431、SW620、MDA-MB-468 和 SK-BR-3 中均表现出了与 Dxd 相当或更高的细胞活性。

实施例 22：ADC 的体外血浆稳定性

无菌取一定量的 ADC 样品，加入到已去除人 IgG 的无菌人血浆中，使得 ADC 的终浓度是 0.6mg/ml，每种 ADC 制备三管，放置在 37℃水浴中孵育，分别孵育 0h、72h、7d 后，取出 ADC 样品，每管加入 ProteinA（MabSelect SuRe TMLX Lot:#10221479GE，取 PBS 洗涤过的）100μL，垂直混合仪晃动吸附 2h，经过洗涤、洗脱和 Tris-HCl 中和步骤，获得孵育后的 ADC，对孵育特定时间的 ADC 样品进行 RP-HPLC 检测其 DAR 值，以判定样品的血浆稳定性。实验结果表明，本发明的 ADC 在血浆孵育过程中几乎没有损失或者损失很少，在血浆中具有较好的稳定性，因为提前降解产生毒性的可能性较低。

ADC 编号	**ADC-1**	**ADC-2**	**ADC-3**	**ADC-4**	**ADC-5**	**ADC-6**	**ADC-7**	**ADC-8**	**ADC-9**	**ADC-10**
0 h（DAR 值）	7.51	7.44	7.29	7.42	7.49	7.47	7.52	7.62	7.39	7.42
72 h（DAR 值）	6.86	7.36	7.10	7.33	7.57	7.41	7.37	7.53	7.45	7.36
7 d（DAR 值）	6.76	7.30	6.95	7.24	7.58	7.34	7.30	7.40	7.38	7.29

实施例 23：ADC 抗肿瘤细胞活性测试

本发明中采用 MDA-MB-468、BT474 作为体外药效检测的研究体系。均匀接种适当数量肿瘤细胞系 96 孔板中，放入二氧化碳培养箱孵育。24 小时后，镜下确认细胞状态正常，进行药物加药处理。用培养基稀释药物（ADC 药物起始浓度为 500nM，稀释倍数为 7 倍，共 8 个浓度点，毒素与抗体的理论偶联比例(DAR)为 8:1，实际偶联比例大致为 7.5:1，因此毒素的起始浓度 4.0μM，7 倍浓度梯度稀释，8 个浓度点），混匀后加入对应的细胞孔中，其中最后两列分别为对照组（即细胞+培养基，无药物处理）和空白组（即无细胞，仅含有培养基，用于扣除背景），放入二氧化碳培养箱 37℃孵育 5 天。5 天后，每孔加入 20μL MTS(Promega，G3581) 反应 2 小时，用酶标仪(Molecular

Device，型号：SpectraMAX190)读取波长为 490nm 的吸光值读数。通过检测线粒体内的脱氢酶的活性，计算 IC50 评价 ADC 药物对肿瘤细胞的增殖抑制作用。

细胞系	ADC 编号								
	ADC-1	**ADC-2**	**ADC-3**	**ADC-5**	**ADC-6**	**ADC-7**	**ADC-8**	**ADC-9**	**ADC-10**
BT474	14.792	52.21	3.963	2.787	1.452	7.486	1.857	4.109	8.539
MDA-MB-468	24.59	29.01	2.155	3.223	19.1	2.422	2.58	5.016	4.152

ADC-1 为已上市抗肿瘤药物 Enhertu。经过以上 ADC 细胞活性测试，本发明所述的喜树碱手性衍生物药物在通过连接单元 L 与抗体偶联后，在多个肿瘤细胞系中均表现出良好的抗肿瘤活性，与 ADC-1 相比，部分 ADC 活性更优异，具有极大的临床应用价值。

实施例 24：ADC 体内药效实验

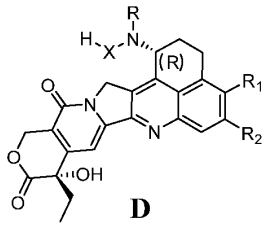
本发明中建立了单体瘤 NCI-N87 荷瘤裸鼠模型，以评价 ADC 偶联药物的体内药效。即以 5×10^6 个 NCI-N87 细胞通过接种至 4～6 周龄的 BALB/c 裸鼠右肩侧皮下，待小鼠肿瘤体积平均大小生长至 162mm^3，根据肿瘤大小随机分组，每组 5 只，在第 0、7、14、21 天分别静脉注射空白对照(缓冲溶液空白)和 3mg/kg 剂量的抗体药物偶联物 **ADC-1**、**ADC-2**、**ADC-3**、**ADC-5**、**ADC-6**、**ADC-7**。肿瘤体积测量数据显示为测量时肿瘤平均体积，同时记录小鼠体重变化情况，用以观察 ADC 药物的体内药效和初步毒性。

ADC 编号	测试内容	0 天	3 天	7 天	10 天	14 天	17 天	21 天	24 天	28 天	31 天
空白	平均瘤体积(mm^3)	160.54	226.64	314.71	421.80	477.89	574.75	560.01	727.32	782.74	778.79
	平均体重（g）	19.91	20.53	20.75	20.67	21.41	22.13	22.44	21.99	21.97	22.94
Trastuzumab	平均瘤体积(mm^3)	163.79	243.19	344.55	367.70	341.88	317.77	395.42	406.95	413.29	457.68
	平均体重（g）	20.18	20.90	21.19	21.17	22.42	22.68	22.95	22.85	22.59	23.50
ADC-1	平均瘤体积(mm^3)	164.40	177.07	179.04	166.23	100.80	137.68	171.61	197.29	206.69	249.40
	平均体重（g）	19.51	20.24	20.78	21.03	21.99	21.63	22.23	22.12	21.95	22.74
ADC-2	平均瘤体积(mm^3)	160.19	208.21	166.74	144.77	100.44	123.43	45.94	99.19	73.47	30.24
	平均体重（g）	20.07	20.10	20.33	20.77	21.64	21.61	21.74	21.68	21.32	22.45
ADC-3	平均瘤体积(mm^3)	160.90	210.46	230.67	257.95	212.00	228.95	172.11	187.24	160.82	112.08
	平均体重（g）	20.45	19.91	20.30	20.65	21.33	21.14	21.50	21.59	21.22	22.47
ADC-5	平均瘤体积(mm^3)	162.81	214.40	169.61	138.92	92.23	112.31	58.85	90.27	58.95	31.45
	平均体重（g）	20.74	20.59	20.97	21.02	21.73	21.82	22.04	22.06	21.91	22.58
ADC-7	平均瘤体积(mm^3)	163.29	184.66	139.76	98.26	43.92	64.85	22.76	35.30	31.30	13.43
	平均体重（g）	19.88	20.58	20.59	20.83	21.81	21.98	22.23	22.41	21.97	22.59

ADC-1 为已上市抗肿瘤药物 Enhertu。经过以上 ADC 小鼠体内药效实验，证明本发明所述的喜树碱手性衍生物药物在通过连接单元 L 与抗体偶联后，在荷瘤小鼠中表现出了明确的抗肿瘤活性，平均瘤体明显低于空白对照。与 ADC-1 相比，ADC-2 活性相当，ADC-5 更优，而 ADC-7 表现出了优异的活性。小鼠体重在给药期间无明显变化，组内无小鼠死亡，本发明所述的喜树碱手性衍生物药物具有良好的安全性，具有极大研究应用价值。

权利要求书

1. 一种如通式 **D** 所示的喜树碱类衍生物或其药学上可接受的盐或溶剂化物；



D

其中：



与 相连的手性碳原子具有 R 构型的绝对手性；

R 选自氢原子、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、芳基、取代芳基或杂芳基；

R_1 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、羧基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

R_2 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、羧基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

X 选自-C(O)-CR_aR_b-$(CR_3R_4)_m$-O-、-C(O)-CR_aR_b-$(CR_3R_4)_m$-NH-或-C(O)-CR_aR_b-$(CR_3R_4)_m$-S-;

R_a 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、氘代烷基、卤代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

R_b 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、氘代烷基、卤代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

或者，R_a、R_b 及其所连接碳原子构成 C_{3-6} 环烷基、环烷基烷基或杂环基；

R_3、R_4 相同或者不同，且分别独立地为氢原子、氘原子、卤素、烷基、卤代烷基、氘代烷基、烷氧基、羟基、氨基、氰基、硝基、羟烷基、环烷基或杂环基；

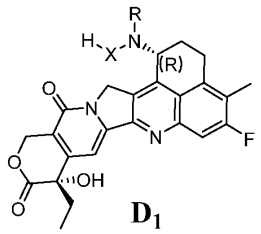
或者，R_3、R_4 及其所连接碳原子构成 C_{3-6} 环烷基、环烷基烷基或杂环基；

m 选自 0-4 的整数。

2. 根据权利要求 1 所述的喜树碱类衍生物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：R_1 选自 C_{1-3} 烷基。

3. 根据权利要求 1 所述的喜树碱类衍生物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：R_2 选自 C_{1-3} 烷基或氟原子。

4. 根据权利要求 1-3 中任一项所述的喜树碱类衍生物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：所述喜树碱衍生物具有如下式 **D_1** 所示结构：



D_1

其中：



与 相连的手性碳原子具有 R 构型的绝对手性；

R 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、芳基、取代芳基或杂芳基；

X 选自-C(O)-CR_aR_b-$(CR_3R_4)_m$-O-、-C(O)-CR_aR_b-$(CR_3R_4)_m$-NH-或-C(O)-CR_aR_b-$(CR_3R_4)_m$-S-;

R_a 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、氘代烷基、卤代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

R_b 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、氘代烷基、卤代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

或者，R_a、R_b 及其所连接碳原子构成 C_{3-6} 环烷基、环烷基烷基或杂环基；

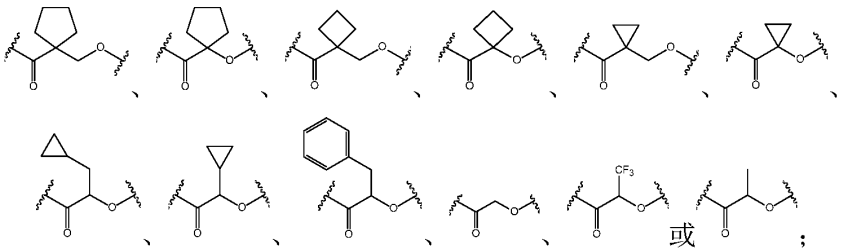
R_3、R_4 相同或者不同，且分别独立地为氢原子、氘原子、卤素、烷基、卤代烷基、氘代烷基、烷氧基、羟基、氨基、氰基、硝基、羟烷基、环烷基或杂环基；

或者，R_3、R_4 及其所连接碳原子构成 C_{3-6} 环烷基、环烷基烷基或杂环基；

m 选自 0-4 的整数。

5. 根据权利要求 4 所述的喜树碱类衍生物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：所述 R 选自 C_{1-3} 烷基。

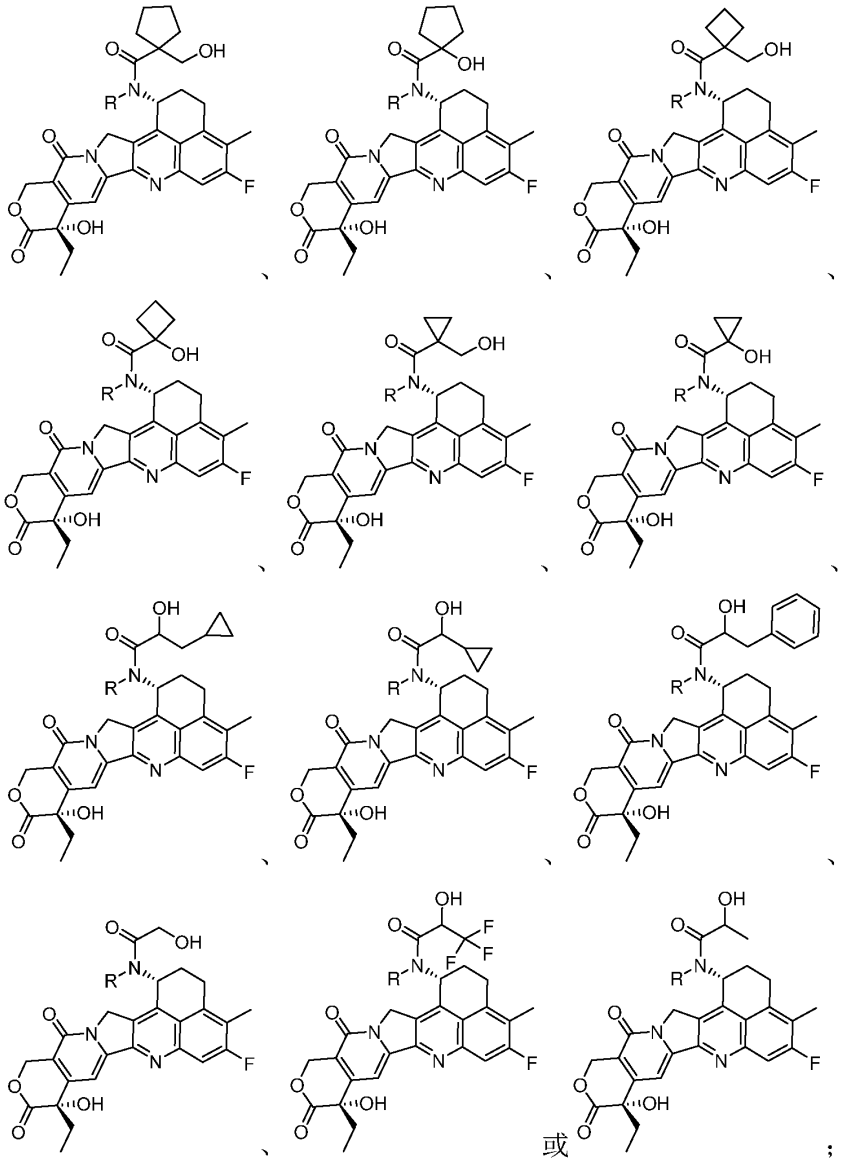
6. 根据权利要求 4 所述的喜树碱类衍生物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于，所述 X 非限制性地选自以下结构：



或 ；

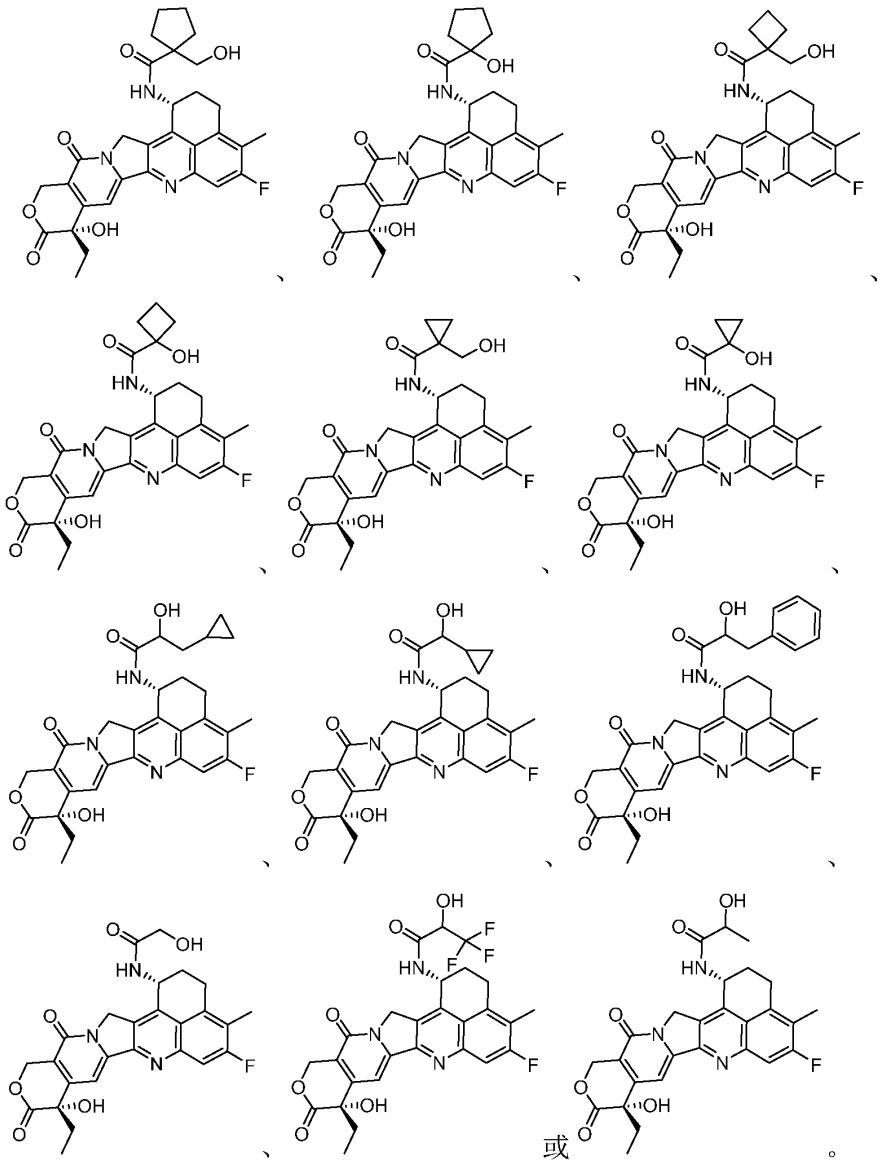
其中左侧波浪线与喜树碱衍生物部分相连，右侧波浪线与连接单元相连。

7. 根据权利要求 1 所述的喜树碱类衍生物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式、或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于，所述化合物非限制性地选自以下所示的结构：



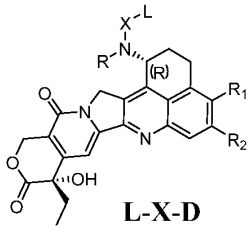
其中 R 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、芳基、取代芳基或杂芳基。

8. 根据权利要求 7 所述的喜树碱类衍生物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式、或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于所述化合物非限制性地选自以下所示的结构：



或。

9. 一种包括权利要求 1-8 任一所述喜树碱类衍生物的连接子-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式：



L-X-D

其中：


与 X-L 相连的手性碳原子具有 R 构型的绝对手性；

R 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、芳基、取代芳基或杂芳基；

R_1 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、羧基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

R_2 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、羧基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

X 选自-C(O)-CR_aR_b-$(CR_3R_4)_m$-O-、-C(O)-CR_aR_b-$(CR_3R_4)_m$-NH-或-C(O)-CR_aR_b-$(CR_3R_4)_m$-S-;

R_a 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、氘代烷基、卤代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

R_b 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、氘代烷基、卤代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

或者，R_a、R_b 及其所连接碳原子构成 C_{3-6} 环烷基、环烷基烷基或杂环基；

R_3、R_4 相同或者不同，且分别独立地为氢原子、氘原子、卤素、烷基、卤代烷基、氘代烷基、烷氧基、羟基、氨基、氰基、硝基、羟烷基、环烷基或杂环基；

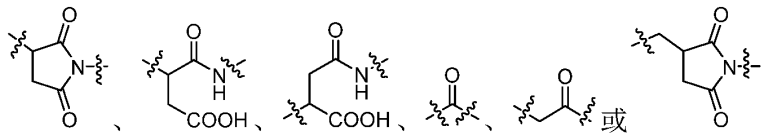
或者，R_3、R_4 及其所连接碳原子构成 C_{3-6} 环烷基、环烷基烷基或杂环基；

m 选自 0-4 的整数；

L 为-L_1-L_2-L_3-L_4-。

10. 根据权利要求 9 所述的连接子-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：-L-为-L_1-L_2-L_3-L_4-，其中 L_1 端与配体 Ab 相连，L_4 端与 X 相连。

11. 根据权利要求 9 或 10 中所述的连接子-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于 L_1 非限制性地选自：



12. 根据权利要求 9 或 10 中所述的连接子-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：

L_2 选自：$-NC(R_5R_6)C(O)-$、$-NR_7(CH_2)_oC(O)-$、$-NR_7(CH_2CH_2O)_oCH_2C(O)-$、$-S(CH_2)_pC(O)-$或者化学键，其中 o 选自 0-20 的整数；p 选自 0-20 的整数；

R_5、R_6 相同或者不同，且各自独立地选自氢原子、氘原子、烷基、取代烷基、氘代烷基、杂烷基、羧基、氨基、取代氨基；

R_7 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、芳基、取代芳基或杂芳基；

L_1 与 L_2 共用 N 原子。

13. 根据权利要求 9 或 10 所述的连接子-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：L_3 选自由氨基酸构成的肽残基，其中任选氨基酸进一步被选自氘原子、卤素、羟基、氰基、氨基、硝基、羧基、烷基、取代烷基、烷氧基和环烷基或者取代环烷基中的一个或多个取代基所取代；

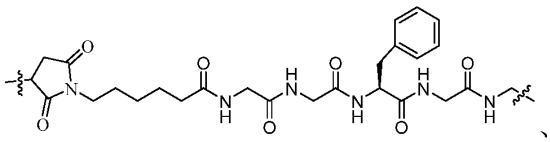
14. 根据权利要求 9 或 10 所述的连接子-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：L3 优选由一个、两个或者多个选自苯丙氨酸(F)、甘氨酸(G)、缬氨酸(V)、赖氨酸(K)、瓜氨酸、丝氨酸(S)、谷氨酸(E)或者天冬氨酸(D)中的氨基酸形成的肽残基。

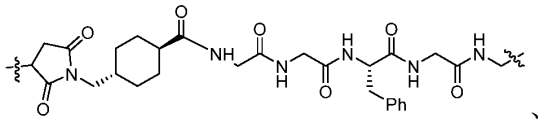
15. 根据权利要求 9 或 10 所述的连接子-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：

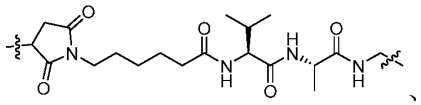
L_4 选自：$-NR_8(CR_9R_{10})_q-$、$-C(O)NR_8-$、$-C(O)NR_8(CH_2)_q-$或者化学键，q 选自 0-6 的整数；

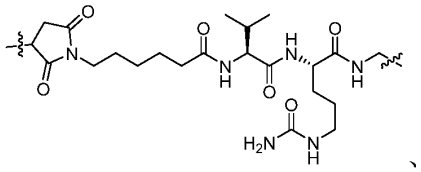
R_8、R_9 和 R_{10} 相同或者不同，且各自独立地选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基。

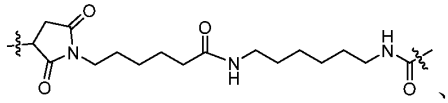
16. 根据权利要求 9 所述的连接子-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：所述连接单元-L-非限制性地选自以下结构；

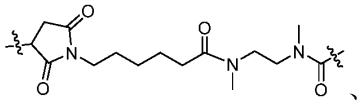


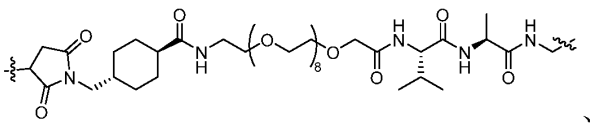


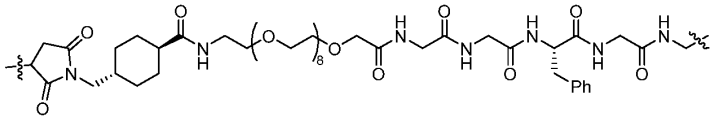


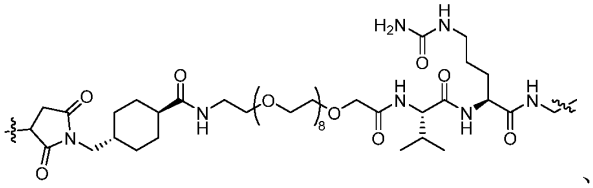


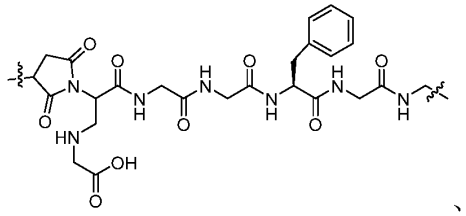


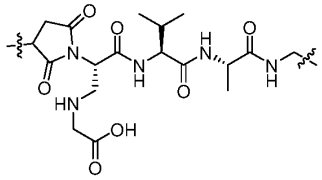


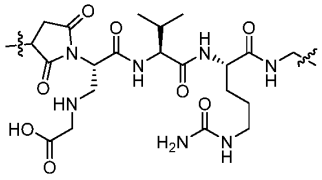


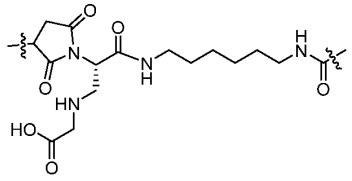


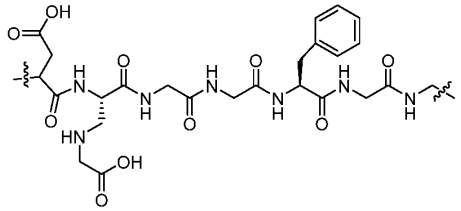


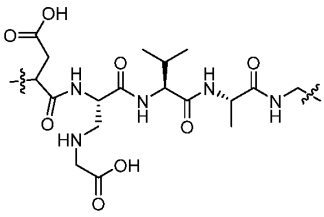


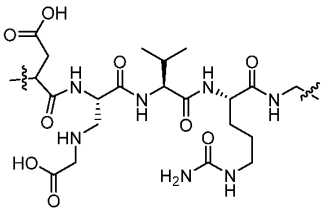


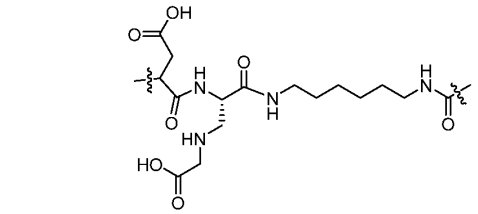


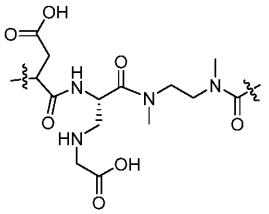


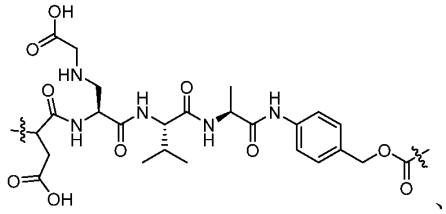




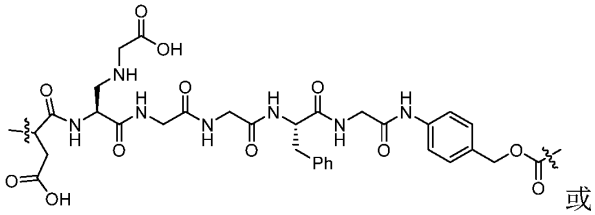




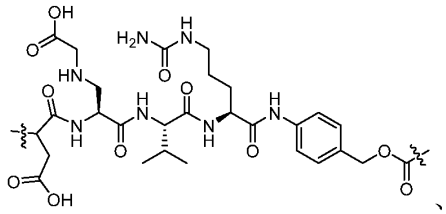




、



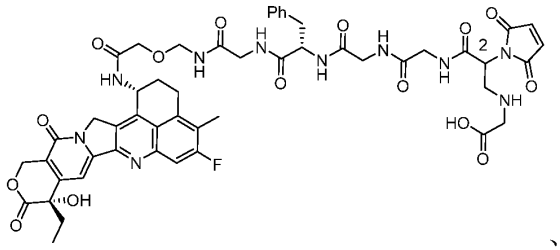
或



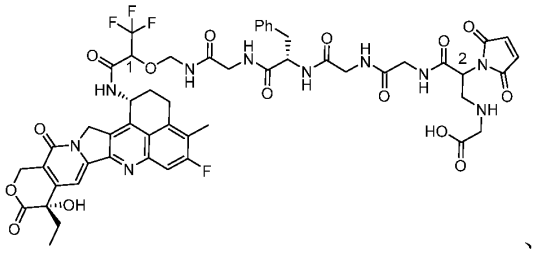
、

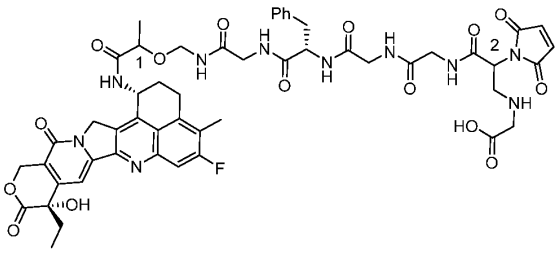
其中：左侧波浪线与配体部分相连，右侧波浪线与 X 相连。

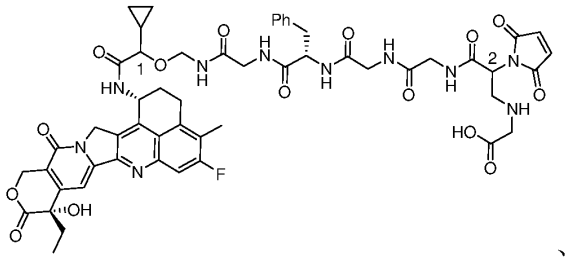
17. 根据权利要求 16 所述的连接子-药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：所述连接子-药物偶联物非限制性地选自以下结构：

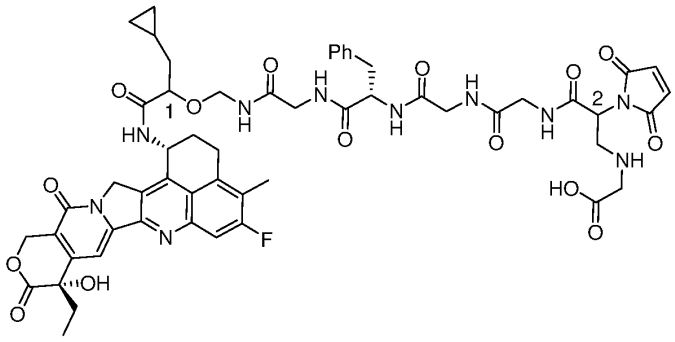


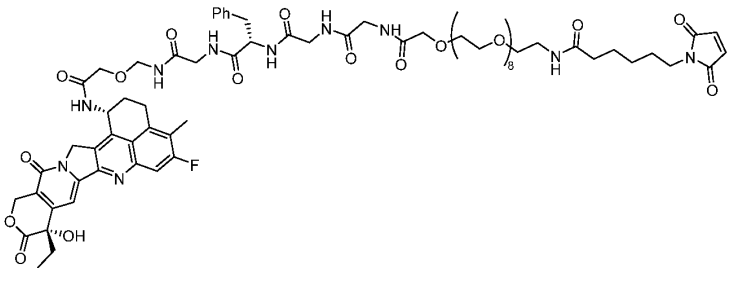
、

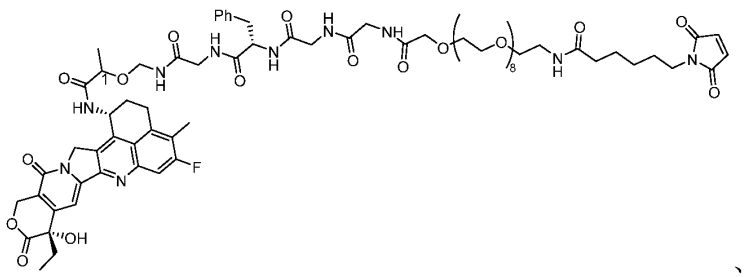


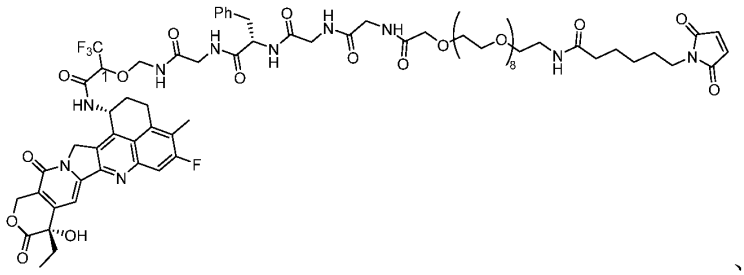


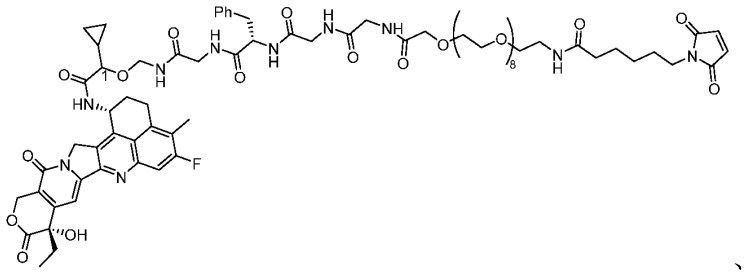


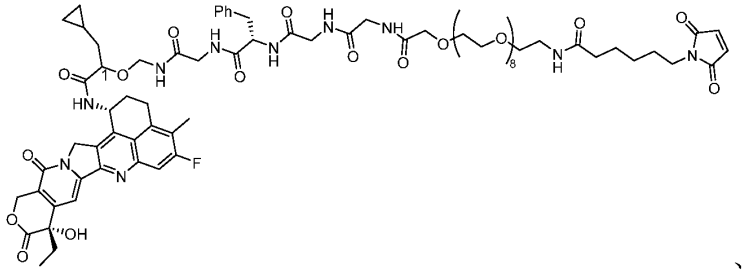


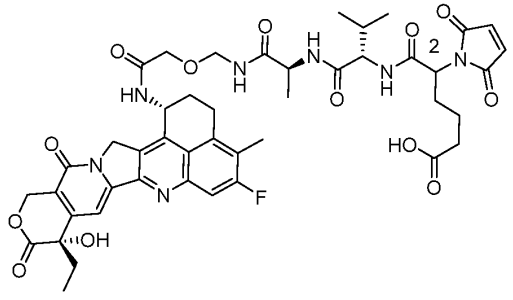


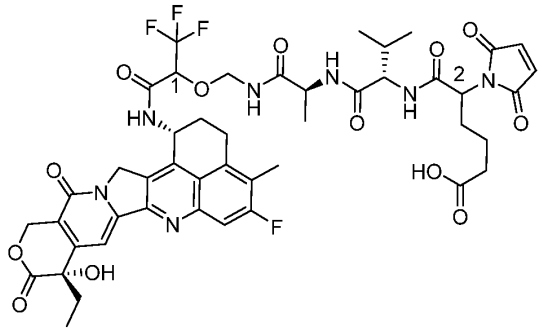


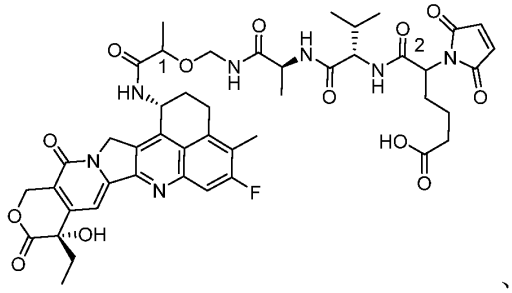


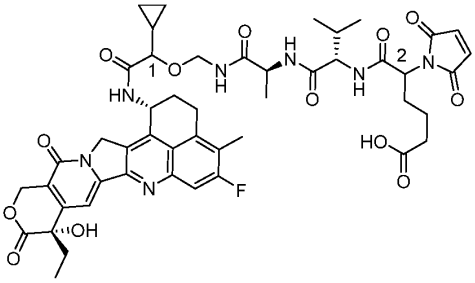


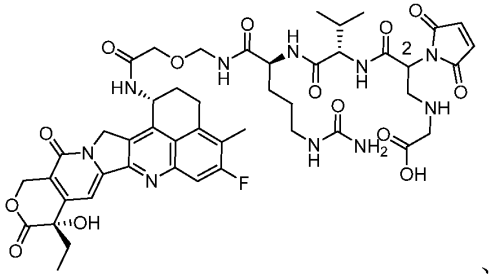


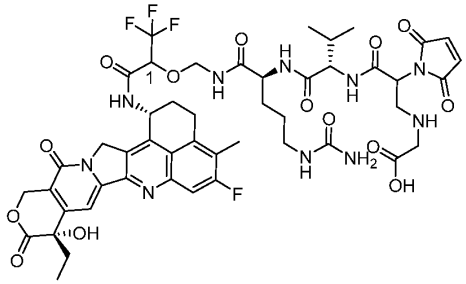


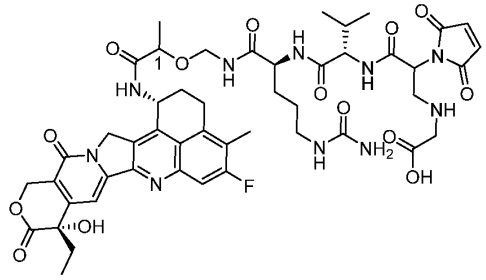




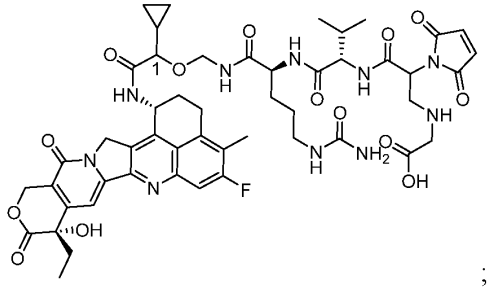








或

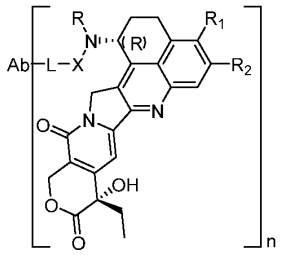


;

其中：

1 位碳原子具有 R 或 S 两种构型的绝对手性。

18. 一种包括权利要求 9-17 任一所述连接子-药物偶联物的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：所述配体-药物偶联物包含式 I 所示的结构：



式 I

其中：



与 相连的手性碳原子具有 R 构型的绝对手性；

R 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、芳基、取代芳基或杂芳基；

R_1 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、羧基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

R_2 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、羧基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

X 选自-C(O)-CR_aR_b-$(CR_3R_4)_m$-O-、-C(O)-CR_aR_b-$(CR_3R_4)_m$-NH-或-C(O)-CR_aR_b-$(CR_3R_4)_m$-S-;

R_a 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、氘代烷基、卤代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

R_b 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、氘代烷基、卤代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

或者，R_a、R_b 及其所连接碳原子构成 C_{3-6} 环烷基、环烷基烷基或杂环基；

R_3、R_4 相同或者不同，且分别独立地为氢原子、氘原子、卤素、烷基、卤代烷基、氘代烷基、烷氧基、羟基、氨基、氰基、硝基、羟烷基、环烷基或杂环基；

或者，R_3、R_4 及其所连接碳原子构成 C_{3-6} 环烷基、环烷基烷基或杂环基；

Ab 为配体单元，选自抗体、抗体片段、靶向蛋白、Fc-融合蛋白等；

L 为与 Ab 连接单元；X 为药物部分修饰单元；

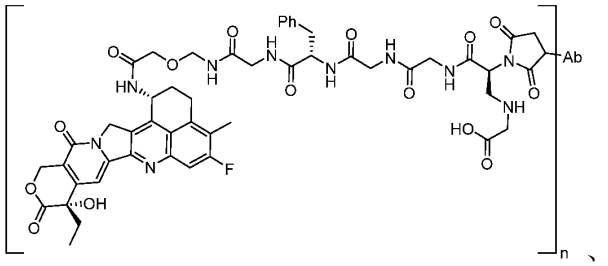
m 选自 0-4 的整数；n 选自 1-20 的整数或小数。

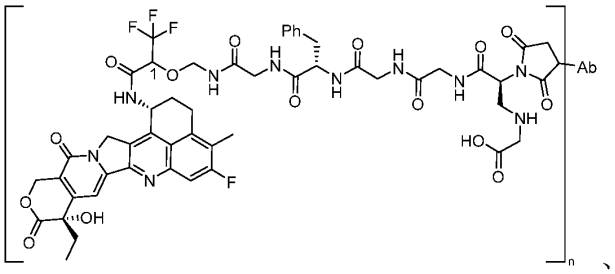
19. 根据权利要求 18 所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：Ab 为抗体，可通过其杂原子与连接单元形成连接键，所述抗体选自鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体、全人源抗体、抗体片段、双特异性抗体及多特异性抗体。

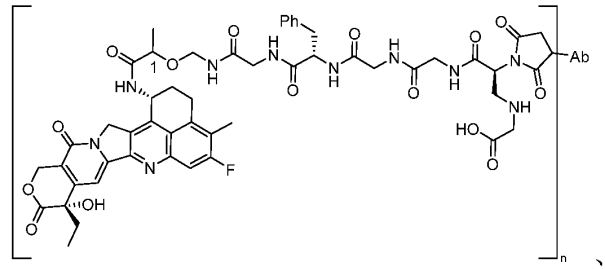
20. 根据权利要求 19 所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于，所述的抗体或其抗原结合片段，非限制性地选自：抗 EGFRvIII 抗体、抗 DLL-3 抗体、抗 PSMA 抗体、抗 CD70 抗体、抗 MUC16 抗体、抗 ENPP3 抗体、抗 TDGF1 抗体、抗 ETBR 抗体、抗 MSLN 抗体、抗 TIM-1 抗体、抗 LRRC15 抗体、抗 LIV-1 抗体、抗 CanAg/AFP 抗体、抗 cladin 18.2 抗体、抗 Mesothelin 抗体、抗 HER2(ErbB2）抗体、抗 EGFR 抗体、抗 c-

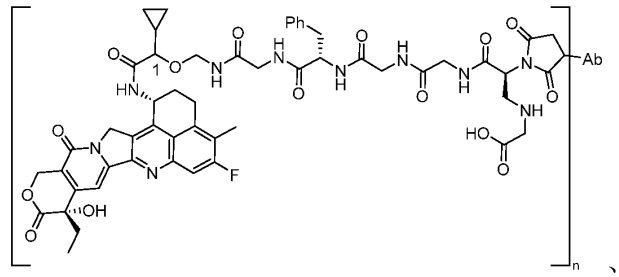
MET 抗体、抗 SLITRK6 抗体、抗 KIT/CD117 抗体、抗 STEAP1 抗体、抗 SLAMF7/CS1 抗体、抗 NaPi2B/SLC34A2 抗体、抗 GPNMB 抗体、抗 HER3(ErbB3)抗体、抗 MUC1/CD227 抗体、抗 AXL 抗体、抗 CD166 抗体、抗 B7-H3(CD276)抗体、抗 PTK7/CCK4 抗体、抗 PRLR 抗体、抗 EFNA4 抗体、抗 5T4 抗体、抗 NOTCH3 抗体、抗 Nectin 4 抗体、抗 TROP-2 抗体、抗 CD142 抗体、抗 CA6 抗体、抗 GPR20 抗体、抗 CD174 抗体、抗 CD71 抗体、抗 EphA2 抗体、抗 LYPD3 抗体、抗 FGFR2 抗体、抗 FGFR3 抗体、抗 FRα 抗体、抗 CEACAMs 抗体、抗 GCC 抗体、抗 Integrin Av 抗体、抗 CAIX 抗体、抗 P-cadherin 抗体、抗 GD3 抗体、抗 Cadherin 6 抗体、抗 LAMP1 抗体、抗 FLT3 抗体、抗 BCMA 抗体、抗 CD79b 抗体、抗 CD19 抗体、抗 CD33 抗体、抗 CD56 抗体、抗 CD74 抗体、抗 CD22 抗体、抗 CD30 抗体、抗 CD37 抗体、抗 CD47 抗体、抗 CD138 抗体、抗 CD352 抗体、抗 CD25 抗体或抗 CD123 抗体。

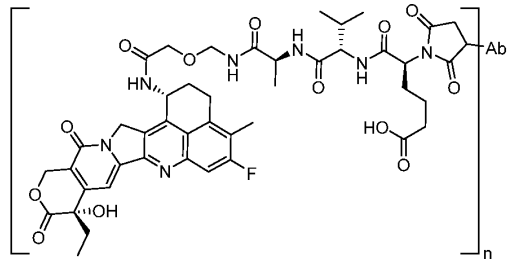
21. 根据权利要求 19 或 20 中所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式，其特征在于，所述配体-药物偶联物非限制性地选自以下结构：

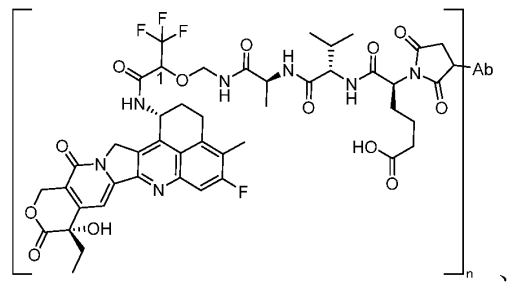


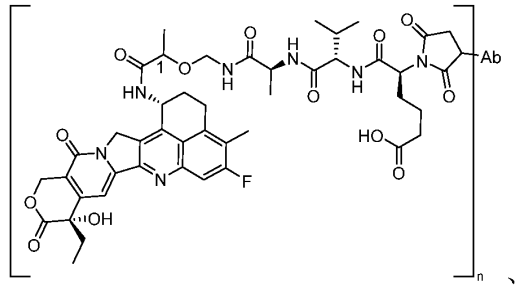


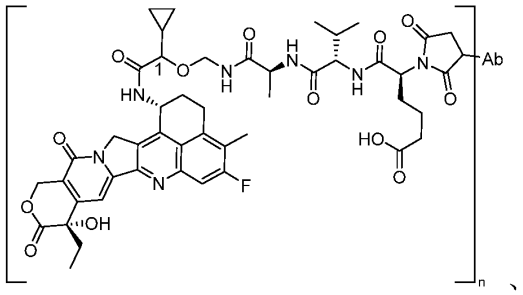


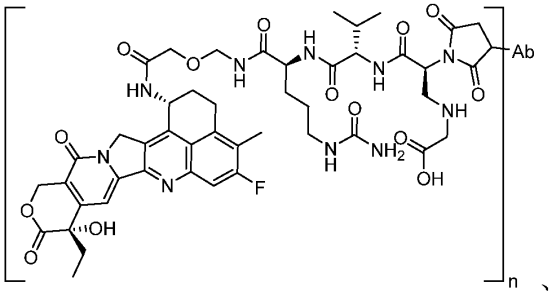


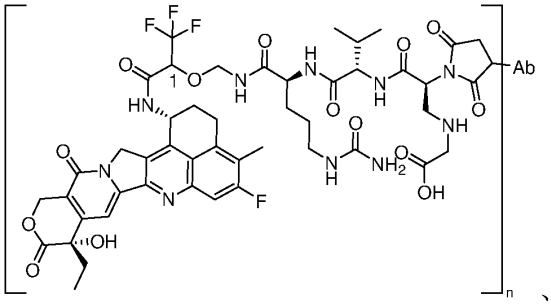


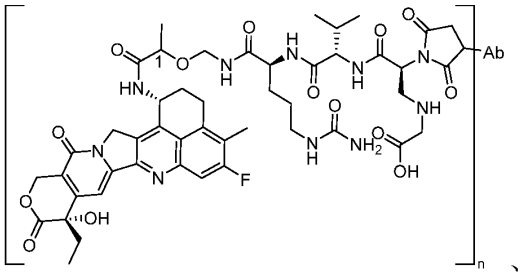


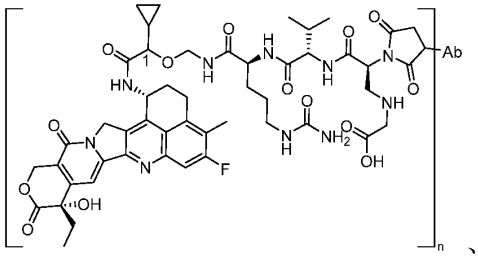


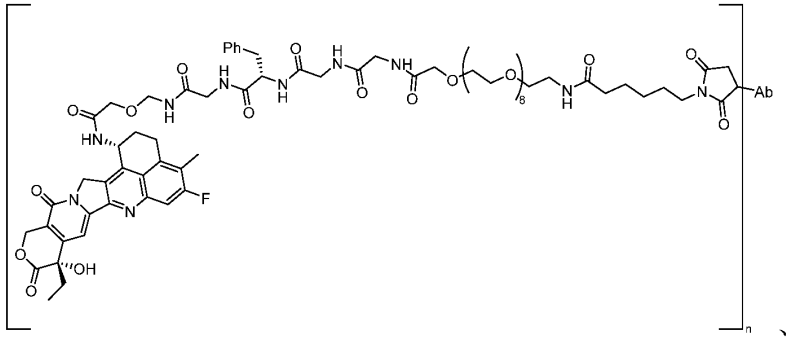




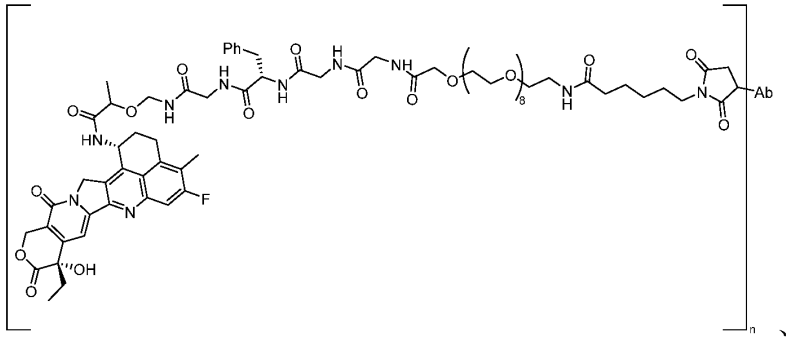




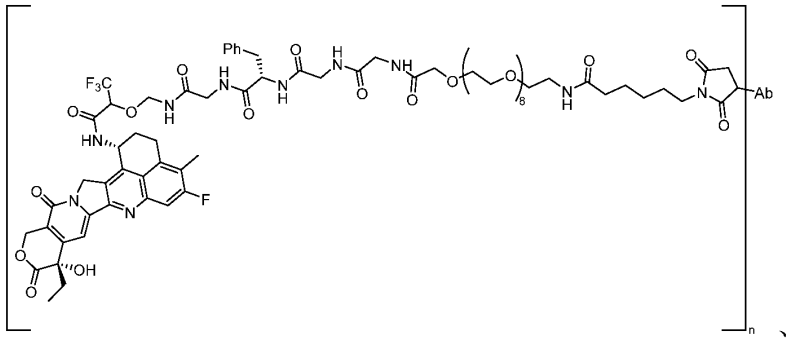




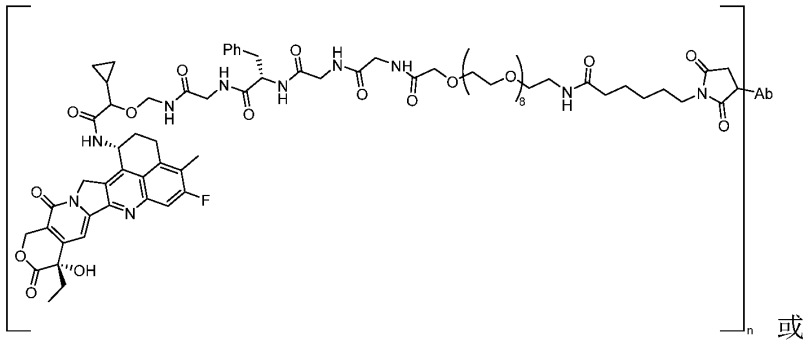
、



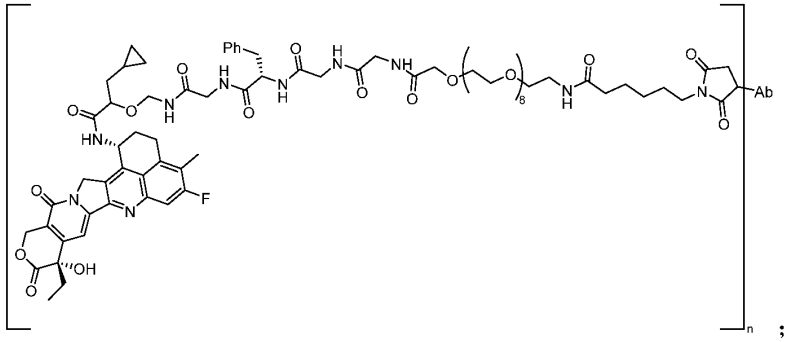
、



、



或

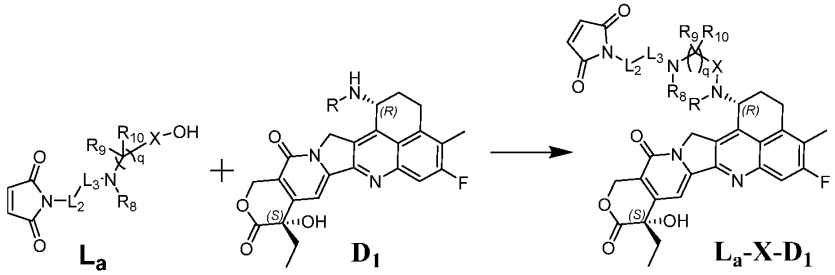


其中：

Ab 为配体单元；n 选自 1-20 的整数或小数；

1 位碳原子具有 R 或 S 两种构型的绝对手性。

22. 一种制备如权利要求 9-17 任一所述连接子-药物偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物，或其药学上可接受的盐或溶剂化物的方法，其特征在于，包括如下步骤：



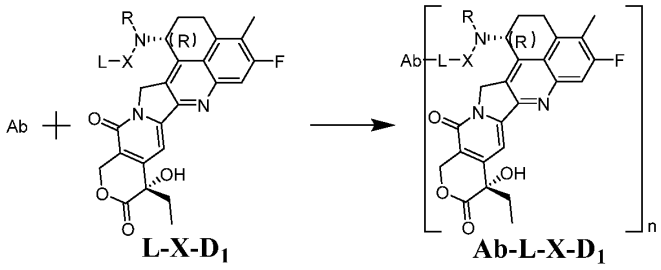
通过连接单元 L_a 与通式化合物 D_1 的取代反应，得到如通式 L_a-X-D_1 所示的连接子-药物偶联物；

其中：


与 相连的手性碳原子具有 R 构型的绝对手性；

L_2、L_3、R、R_8、R_9、R_{10}、q 及 X 如通式 L-X-D 所述。

23. 一种制备如权利要求 18-21 任一所述配体-药物偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物，或其药学上可接受的盐或溶剂化物的方法，其特征在于，包括如下步骤：



通过还原的抗体、抗体片段或者其抗原结合片段与通式（$L\text{-}X\text{-}D_1$）偶联反应，得到如通式 $Ab\text{-}L\text{-}X\text{-}D_1$ 所示配体-药物偶联物；

其中：


与 相连的手性碳原子具有 R 构型的绝对手性；

Ab、L、X、R 及 n 如通式 Ⅰ 所述。

24. 如权利要求 1-23 中任一项所述的喜树碱类衍生物、连接子-药物偶联物或配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：所述药学上可接受的盐包括与结构式中酸性官能团形成的钠盐、钾盐、钙盐或镁盐等；或与结构中碱性官能团形成的醋酸盐、三氟乙酸盐、柠檬酸盐、草酸盐、酒石酸盐、苹果酸盐、硝酸盐、氯化物、溴化物、碘化物、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、乳酸盐、油酸盐、抗坏血酸盐、水杨酸盐、甲酸盐、谷氨酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐或对甲苯磺酸盐。

25. 一种药物组合物，其含有治疗有效量的权利要求 1-24 中任一项所述的喜树碱类衍生物、连接子-药物偶联物或配体-药物偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，以及药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

26. 一种包括权利要求 1-24 中任一项所述的喜树碱类衍生物、连接子-药物偶联物或配体-药物偶联物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化合物，以及药学上可接受的载体、稀释剂或者赋形剂，在制备用于治疗或预防肿瘤的药

物中的用途。

27. 根据权利要求 26 所述的用途，其中所述的肿瘤为实体瘤和血液瘤。

28. 根据权利要求 27 所述的用途，其中所述的肿瘤为乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫癌、前列腺癌、肾癌、尿道癌、膀胱癌、肝癌、胃癌、子宫内膜癌、唾液腺癌、食道癌、肺癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、骨癌、皮肤癌、甲状腺癌、胰腺癌、黑色素瘤、神经胶质瘤、神经母细胞瘤、多形性胶质细胞瘤、肉瘤、淋巴瘤或白血病。