

一种抗体药物偶联物

相关申请的交叉引用

本申请要求 2023 年 04 月 27 日向中国国家知识产权局提交的专利申请号为 2023104680075 以及 2024 年 01 月 30 日向中国国家知识产权局提交的专利申请号为 2024101290645、发明名称皆为“一种抗体药物偶联物”的两件在先申请的优先权。两件在先申请的全文通过引用的方式结合于本发明中。

技术领域

本发明属于生物技术和医药领域，特别涉及一种抗体药物偶联物、其制备方法及应用。

背景技术

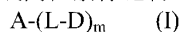
抗体偶联药物或抗体药物偶联物（ADC）是当前抗肿瘤药物研发的最大热点之一。截止目前，已上市的抗体偶联药物有 14 种。他们分别是：2000 年被批准的用于治疗 CD33 阳性的急性髓细胞白血病（AML）的 Mylotarg；2011 年被批准的用于霍奇金淋巴瘤的 Adcetris；2013 年被批准的用于 Her2 阳性乳腺癌的 Kadcyla；2017 年被批准的用于 B 细胞淋巴瘤白血病的 Besponsa；2018 年被批准的用于复发性或难治性的毛细管白血病的 Lumoxiti；2019 年被批准的用于复发性或难治性弥漫性大 B 细胞淋巴瘤的 Polivy；2019 年被批准的用于尿路上皮癌的 Padcev；2019 年被批准的用于 Her2 阳性乳腺癌的 Enhertu；2020 年被批准的用于三阴性乳腺癌的 Trodelvy；2020 年被批准的用于头颈癌的光免疫药物 Akalux；2021 年被批准的用于大 B 细胞淋巴瘤的 Zynlonta；2021 年被批准的用于 Her2 阳性胃癌的爱地希；2022 年被批准的用于宫颈癌的 Tivdak；以及 2022 年被批准的用于卵巢癌的 Elahere。值得一提的是，Mylotarg 曾经由于毒性太大而在 2010 年被撤市，后在 2017 年调整临床用量后重新上市，同时，Blenrep 于 2020 年被加速批准用于多发性骨髓瘤，但后续临床结果不理想遭撤市。

抗体偶联药物包含抗体、连接子（linker）和生物活性分子（drug）三部分，其中抗体与疾病靶点息息相关，linker 和 drug 决定了 ADC 的有效性与安全性，是最为核心的部分。在已上市的 ADC 药物中，大部分采用的西雅图基因公司几十年前的技术，即使用微管抑制剂作为活性分子，配上组织蛋白酶水解 linker，通过马来酰亚胺与抗体半胱氨酸实现偶联。该技术所得到的 ADC 往往毒性较大，疏水性强，药代动力学性质差。第一三共采用亲水的四肽 linker 获得的 ADC 虽然有很大程度改善，但仍然与裸抗性质相差较大。Trodelvy 采用含聚乙二醇以及可成盐的赖氨酸 linker，所得到的 ADC 虽然亲水性较好，但稳定性较差。有文献报道一种含有聚肌氨酸的 linker，可以大大改善 ADC 的亲水性，但是该 linker 只适合于含有二级胺结构的活性分子，例如 MMAE，对于 Exatecan 这种一级胺结构的活性分子，该 linker 连接形成的碳酰胺键稳定性较差。

本发明的目的在于解决以上问题，提供一种亲水 linker 可满足大部分活性分子的连接，并且所获得的 ADC 具有较好的稳定性和亲水性以及良好的药代动力学性质。

发明内容

本发明提供一种具有式(I)结构的抗体药物偶联物及其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物：



其中 A 为一种靶向配体，其选自抗体（如单克隆抗体）或抗原结合片段，小分子配体，多肽；

L 为连接子部分，一端与配体 A 连接，一端与生物活性分子 D 连接；

D 为含氨基的生物活性分子或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、同位素标记物，通过其分子结构中的氨基与连接子部分 L 共价连接；

m 表示细胞毒性药物分子与抗体 A 的摩尔比（又称 DAR，即药物抗体偶联比率）。

m 为 1 到 12 的整数或小数（如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12）。

当 m 为小数时，其指每个抗体单元（A）缀合的接头-药物分子（L-D）个数的平均数。

在一些实施方案中，A 选自靶向 HER2(ErbB2)、HER3(ErbB3)、HER4(ErbB4)、EGFR、DLL3、TROP2、B7H3、c-Met、CD20、CD22、CD30、CD33、CD44、CD47、CD56、CD70、CD73、CD79b、CD105、CEA、A33、Cripto、EphA2、G250、MUC1、Lewis Y、VEGFR、VEGF、PD-1、PD-L1、MET、RET、GPNMB、Integrin、PSMA、Tenascin-C、SLC44A4、FR α 或 Mesothelin 的抗体或其抗原结合片段。

在一些实施方案中, A 是可以修饰的, 例如一个或多个氨基酸的改变、增加或减少。

在一些实施方案中 A 选自靶向 Her2、DLL3、B7H3、FR α 的抗体或其抗原结合片段。

在一些实施方案中, A 为靶向 B7H3 的抗体或其抗原结合片段, 所述抗体或其抗原结合片段包括重链和/或轻链, 所述重链包括 3 个互补决定区 (CDR), 其中重链互补决定区 1 (HCDR1) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:1 所示, 重链互补决定区 2 (HCDR2) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:2 所示, 重链互补决定区 3 (HCDR3) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:3 所示; 所述轻链包括轻链 3 个互补决定区 (CDR), 其中轻链互补决定区 1 (LCDR1) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:4 所示, 轻链互补决定区 2 (LCDR2) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:5 所示, 轻链互补决定区 3 (LCDR3) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:6 所示, 其中 CDR 按照 Kabat 编号规则确定。

在一些实施方案中, A 为靶向 B7H3 的抗体或其抗原结合片段, 所述抗 B7H3 抗体或其抗原结合片段包括重链和/或轻链, 所述重链的可变区 (HV) 序列如 SEQ ID NO:7 所示, 所述轻链的可变区 (LV) 序列如 SEQ ID NO:8 所示。

在一些实施方案中, A 为靶向 B7H3 的抗体, 所述抗 B7H3 抗体还包括重链恒定区序列或其变体, 和/或轻链恒定区序列或其变体。

在一些实施方案中, A 为靶向 B7H3 的抗原结合片段, 所述抗原结合片段选自 Fab、Fab'、Fab'-SH、Fv、scFv 或 F(ab')₂。

在一些实施方案中, A 为靶向 B7H3 的抗体或其抗原结合片段, 所述抗 B7H3 抗体或其抗原结合片段为人源化或全人源抗体或其抗原结合片段。

在一些实施方案中, A 为靶向 B7H3 的抗体或其抗原结合片段, 所述抗 B7H3 抗体包括重链和/或轻链, 所述重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO:9 或 SEQ ID NO:10 所示, 所述轻链的氨基酸序列如 SEQ ID NO:11 所示。

在一些实施方案中, A 为靶向 DLL3 的抗体或其抗原结合片段, 所述抗体或其抗原结合片段包括重链和/或轻链, 所述重链包括 3 个互补决定区 (CDR), 其中重链互补决定区 1 (HCDR1) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:12 所示, 重链互补决定区 2 (HCDR2) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:13 所示, 重链互补决定区 3 (HCDR3) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:14 所示; 所述轻链包括轻链 3 个互补决定区 (CDR), 其中轻链互补决定区 1 (LCDR1) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:15 所示, 轻链互补决定区 2 (LCDR2) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:16 所示, 轻链互补决定区 3 (LCDR3) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:17 所示, 其中 CDR 按照 Kabat 编号规则确定。

在一些实施方案中, A 为靶向 DLL3 的抗体或其抗原结合片段, 所述抗 DLL3 抗体或其抗原结合片段包括重链和/或轻链, 所述重链的可变区 (HV) 序列如 SEQ ID NO:18 所示, 所述轻链的可变区 (LV) 序列如 SEQ ID NO:19 所示。

在一些实施方案中, A 为靶向 DLL3 的抗体, 所述抗 DLL3 抗体还包括重链恒定区序列或其变体, 和/或轻链恒定区序列或其变体。

在一些实施方案中, A 为靶向 DLL3 的抗原结合片段, 所述抗原结合片段选自 Fab、Fab'、Fab'-SH、Fv、scFv 或 F(ab')₂。

在一些实施方案中, A 为靶向 DLL3 的抗体或其抗原结合片段, 所述抗 DLL3 抗体或其抗原结合片段为人源化或全人源抗体或其抗原结合片段。

在一些实施方案中, A 为靶向 DLL3 的抗体或其抗原结合片段, 所述抗 DLL3 抗体包括重链和/或轻链, 所述重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO:20 所示, 所述轻链的氨基酸序列如 SEQ ID NO:21 所示。

在一些实施方案中, A 为靶向 FR α 的抗体或其抗原结合片段, 所述抗体或其抗原结合片段包括重链和/或轻链, 所述重链包括 3 个互补决定区 (CDR), 其中重链互补决定区 1 (HCDR1) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:22 所示, 重链互补决定区 2 (HCDR2) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:23 所示, 重链互补决定区 3 (HCDR3) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:24 所示; 所述轻链包括 3 个互补决定区 (CDR), 其中轻链互补决定区 1 (LCDR1) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:25 所示, 轻链互补决定区 2 (LCDR2) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:26 所示, 轻链互补决定区 3 (LCDR3) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:27 所示, 其中 CDR 按照 Kabat 编号规则确定。

在一些实施方案中, A 为靶向 FR α 的抗体或其抗原结合片段, 所述抗 FR α 抗体或其抗原结合片段包括重链和/或轻链, 所述重链的可变区 (HV) 序列如 SEQ ID NO:28 所示, 所述轻链的可变区 (LV) 序列如 SEQ ID NO:29 所示。

在一些实施方案中, A 为靶向 FR α 的抗体, 所述抗 FR α 抗体还包括重链恒定区序列或其变体, 和/或轻链恒定区序列或其变体。

在一些实施方案中, A 为靶向 FR α 的抗原结合片段, 所述抗原结合片段选自 Fab、Fab'、Fab'-SH、Fv、scFv 或 F(ab')₂。

在一些实施方案中, A 为靶向 FR α 的抗体或其抗原结合片段, 所述抗 FR α 抗体或其抗原结合片段为人源化或全人源抗体或其抗原结合片段。

在一些实施方案中, A 为靶向 FR α 的抗体或其抗原结合片段, 所述抗 FR α 抗体包括重链和/或轻链, 所述重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO:30 或 SEQ ID NO:32 所示, 所述轻链的氨基酸序列如 SEQ ID NO:31 所示。

在一些实施方案中, A 为靶向 HER2 的抗体或其抗原结合片段, 所述抗体或其抗原结合片段包括重链和/或轻链, 所述重链包括 3 个互补决定区 (CDR), 其中重链互补决定区 1 (HCDR1) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:37 所示, 重链互补决定区 2 (HCDR2) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:38 所示, 重链互补决定区 3 (HCDR3) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:39 所示; 所述轻链包括轻链 3 个互补决定区 (CDR), 其中轻链互补决定区 1 (LCDR1) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:40 所示, 轻链互补决定区 2 (LCDR2) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:41 所示, 轻链互补决定区 3 (LCDR3) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:42 所示, 其中 CDR 按照 Kabat 编号规则确定。

在一些实施方案中, A 为靶向 HER2 的抗体或其抗原结合片段, 所述抗 HER2 抗体或其抗原结合片段包括重链和/或轻链, 所述重链的可变区 (HV) 序列如 SEQ ID NO:35 所示, 所述轻链的可变区 (LV) 序列如 SEQ ID NO:36 所示。

在一些实施方案中, A 为靶向 HER2 的抗体, 所述抗 HER2 抗体还包括重链恒定区序列或其变体, 和/或轻链恒定区序列或其变体。

在一些实施方案中, A 为靶向 HER2 的抗原结合片段, 所述抗原结合片段选自 Fab、Fab'、Fab'-SH、Fv、scFv 或 F(ab')₂。

在一些实施方案中, A 为靶向 HER2 的抗体或其抗原结合片段, 所述抗 HER2 抗体或其抗原结合片段为人源化或全人源抗体或其抗原结合片段。

在一些实施方案中, A 为靶向 HER2 的抗体或其抗原结合片段, 所述抗 HER2 抗体包括重链和/或轻链, 所述重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO:33 所示, 所述轻链的氨基酸序列如 SEQ ID NO:34 所示。

在一些实施方案中 A 选自靶向 B7H3 的 43A 或 43B, 靶向 DLL3 的 33B, 靶向 FR α 的法妥组单抗 (farletuzumab) 或法妥组单抗-FcS (farletuzumab-FcS), 靶向 Her2 的曲妥珠单抗 (Trastuzumab) 或其生物类似物。

43A 包括 2 条相同的重链和轻链, 重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:9 所示, 轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:11 所示。

>43A 重链序列 (SEQ ID NO:9)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYFMNWVRQAPGQGLEWMGDVNPKTGSPSYNQKFK
GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARRYGFLYSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK
STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNH
KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAASIEKTISKAKGQP
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

>43A 轻链序列 (SEQ ID NO:11)

DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKVLIIYTSRLHSGVPSRFRSGSGSGTDF
TFTISLQPEDATYYCQOGNTHPFTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA
KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGE
C

其中, 粗体标示的氨基酸序列为重链/轻链 CDR 序列, HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、LCDR3 分别命名为 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5 和 SEQ ID NO:6:

HCDR1: DYFMN	SEQ ID NO:1
HCDR2: DVNPKTGSPSYNQKFKG	SEQ ID NO:2
HCDR3: RYGFLYSMDY	SEQ ID NO:3
LCDR1: RASQDISNYLN	SEQ ID NO:4
LCDR2: YTSRLHS	SEQ ID NO:5
LCDR3: QQGNTHPFT	SEQ ID NO:6

其中,下划线标示的氨基酸序列为重链/轻链可变区序列,HV、LV 分别命名为 SEQ ID NO:7 和 SEQ ID NO:8。

43A 重链可变区(HV)序列 (SEQ ID NO:7):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYFMNWVRQAPGQGLEWMGDVNPKTGSPSYNQKFKG
RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARRYGLYSMDYWGQGTSTVTVSS

43A 轻链可变区(LV)序列 (SEQ ID NO:8):

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKVLIIYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDF
TFTISLQPEDATYYCQQGNTHPFTFGGGTKVEIK

43B 包括 2 条相同的重链和轻链,重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:10 所示,轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:11 所示。

>43B 重链序列 (SEQ ID No:10)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYFMNWVRQAPGQGLEWMGDVNPKTGSPSYNQKFK
GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARRYGLYSMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK
STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNH
KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTSPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSHEDPEVKF
NWWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAASIEKTISKAKGQP
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

>43B 轻链序列 (SEQ ID NO:11)

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKVLIIYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDF
TFTISLQPEDATYYCQQGNTHPFTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREA
KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGE
C

其中,粗体标示的氨基酸序列为重链/轻链 CDR 序列,HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、LCDR3 分别命名为 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5 和 SEQ ID NO:6:

HCDR1: DYFMN	SEQ ID NO:1
HCDR2: DVNPKTGSPSYNQKFKG	SEQ ID NO:2
HCDR3: RYGLYSMDY	SEQ ID NO:3
LCDR1: RASQDISNYLN	SEQ ID NO:4
LCDR2: YTSRLHS	SEQ ID NO:5
LCDR3: QQGNTHPFT	SEQ ID NO:6

下划线标示的氨基酸序列为重链/轻链可变区序列,HV、LV 分别命名为 SEQ ID NO:7 和 SEQ ID NO:8。

43B 重链可变区(HV)序列 (SEQ ID NO:7):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYFMNWVRQAPGQGLEWMGDVNPKTGSPSYNQKFKG
RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARRYGLYSMDYWGQGTSTVTVSS

43B 轻链可变区(LV)序列 (SEQ ID NO:8):

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKVLIIYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDF
TFTISLQPEDATYYCQQGNTHPFTFGGGTKVEIK

33B 包括 2 条相同的重链和轻链,重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:20 所示,轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:21 所示。

>33B 重链序列 (SEQ ID NO:20)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYMKWVRQAPGQRLWMAFNLNNGDTFYNQ
KFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARDVYGYGDYWGQGTSTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS
KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVN

HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

>33B 轻链序列 (SEQ ID NO:21)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLDSGVPDRFSGSGGTDFLTITSLQAEDVAVYYC**QHSREL**PYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

其中, 重链可变区序列如 SEQ ID NO:18 所示, 轻链可变区序列如 SEQ ID NO:19 所示。

>33B 重链可变区(HV)序列 (SEQ ID NO:18)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT**DYYMK**WVRQAPGQRLEWMGA**AFNLNNGDTFYNQKFKGR**VTITRDTASASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARD**DVYGYGDY**WGQGTSTVTVSS

>33B 轻链可变区(LV)序列 (SEQ ID NO:19)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLDSGVPDRFSGSGGTDFLTITSLQAEDVAVYYC**QHSREL**PYTFGGGTKLEIK

其中, 重链 CDR 序列 HCDR1、HCDR2、HCDR3 分别命名为 SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14, 轻链 CDR 序列 LCDR1、LCDR2、LCDR3 分别命名为 SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16 和 SEQ ID NO:17

HCDR1: DYYMK	SEQ ID NO:12
HCDR2: AFNLNNGDTFYNQKFKG	SEQ ID NO:13
HCDR3: DVYGYGDY	SEQ ID NO:14
LCDR1: RASKSVSTSGYSYMH	SEQ ID NO:15
LCDR2: LASNLDS	SEQ ID NO:16
LCDR3: QHSRELPTY	SEQ ID NO:17

Farletuzumab 包括 2 条相同的重链和轻链(WO 2023/170247 A1), 重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:30 所示, 轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:31 所示。

> Farletuzumab 重链序列 (SEQ ID NO:30):

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFTFSGYGLSWVRQAPGKGLEWVAMISSGGSYTYYADSVKGRF
AISRDNAKNTLFLQMDSLRPEDTGVYFCARHGDDPAWFAYWGQGTPTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> Farletuzumab 轻链序列 (SEQ ID NO:31):

DIQLTQSPSSLSASVGDRVITCSVSSISSNNLHWYQQKPGKAPKRWIYGTSNLASGVPSRFSGSGGTIDYTFITSLQPEDATYYC**QQWSSYPYMYT**FGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

其中, 粗体标示的氨基酸序列为重链/轻链 CDR 序列, HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、LCDR3 分别命名为 SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26 和 SEQ ID NO:27:

HCDR1: GYGLS	SEQ ID NO:22
HCDR2: MISSGGSYTYYADSVKG	SEQ ID NO:23
HCDR3: HGDDPAWFAY	SEQ ID NO:24

LCDR1: SVSSSISSNNLH	SEQ ID NO:25
LCDR2: GTSNLAS	SEQ ID NO:26
LCDR3: QQWSSYPYMYT	SEQ ID NO:27

其中，重链/轻链可变区序列，HV、LV 分别命名为 SEQ ID NO:28 和 SEQ ID NO:29。

Farletuzumab 重链可变区(HV)序列 (SEQ ID NO:28):

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFTFS**GYGLSWVRQAPGKGLEWVAMISSGGSYTYADSVKGRF**
AISRDNAKNTLFLQMDSLRPEDTGVYFCAR**HGDDPAWFAYWGQGPVTVSS**

Farletuzumab 轻链可变区(LV)序列 (SEQ ID NO:29):

DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCS**SVSSSISSNNLHWYQQKPGKAPKRWIYGTSNLASGVPSRFS**
YTFTISLQPEDATYYC**QQWSSYPYMYT**FGQGTKVEIK

Farletuzumab-FcS 包括 2 条相同的重链和轻链，重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:32 所示，轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:31 所示。

> Farletuzumab-FcS 重链序列 (SEQ ID NO:32):

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFTFS**GYGLSWVRQAPGKGLEWVAMISSGGSYTYADSVKGRF**
AISRDNAKNTLFLQMDSLRPEDTGVYFCAR**HGDDPAWFAYWGQGPVTVSS**ASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPK
SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAASIEKTISKAKGQPR
EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSK
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> Farletuzumab-FcS 轻链序列 (SEQ ID NO:31):

DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCS**SVSSSISSNNLHWYQQKPGKAPKRWIYGTSNLASGVPSRFS**
YTFTISLQPEDATYYC**COOWSSYPYMYT**FGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNF
YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKS
FNRGEC

其中，粗体标示的氨基酸序列为重链/轻链 CDR 序列，HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、LCDR3 分别命名为 SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26 和 SEQ ID NO:27:

HCDR1: GYGLS	SEQ ID NO:22
HCDR2: MISSGGSYTYADSVKG	SEQ ID NO:23
HCDR3: HGDDPAWFAY	SEQ ID NO:24
LCDR1: SVSSSISSNNLH	SEQ ID NO:25
LCDR2: GTSNLAS	SEQ ID NO:26
LCDR3: QQWSSYPYMYT	SEQ ID NO:27

其中，重链/轻链可变区序列，HV、LV 分别命名为 SEQ ID NO:28 和 SEQ ID NO:29。

Farletuzumab-FcS 重链可变区(HV)序列 (SEQ ID NO:28):

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFTFS**GYGLSWVRQAPGKGLEWVAMISSGGSYTYADSVKGRF**
AISRDNAKNTLFLQMDSLRPEDTGVYFCAR**HGDDPAWFAYWGQGPVTVSS**

Farletuzumab-FcS 轻链可变区(LV)序列 (SEQ ID NO:29):

DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCS**SVSSSISSNNLHWYQQKPGKAPKRWIYGTSNLASGVPSRFS**
YTFTISLQPEDATYYC**QQWSSYPYMYT**FGQGTKVEIK

Trastuzumab 包括 2 条相同的重链和轻链，重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:33 所示，轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:34 所示。

> Trastuzumab 重链 (SEQ ID NO:33)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFN**KD**TYIHWRQAPGKGLEWV**ARIYPTNGYTRYADSVKGRF**
TISADTSKNTAYLQMNSLR**AEDTAVYYCSRWG**GDGFY**AMDYWGQGLTVTVSS**ASTKGPSVFPLAPSSK
TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK

PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR
EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> Trastuzumab 轻链 (SEQ ID NO:34)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQDVNTAWAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDF
TLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE
AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
EC

其中, 重链可变区序列如 SEQ ID NO:35 所示, 轻链可变区序列如 SEQ ID NO:36 所示。

>Trastuzumab 重链可变区(HV)序列 (SEQ ID NO:35)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARITYPTNGYTRYADSVKGRF
TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSS

>Trastuzumab 轻链可变区(LV)序列 (SEQ ID NO:36)

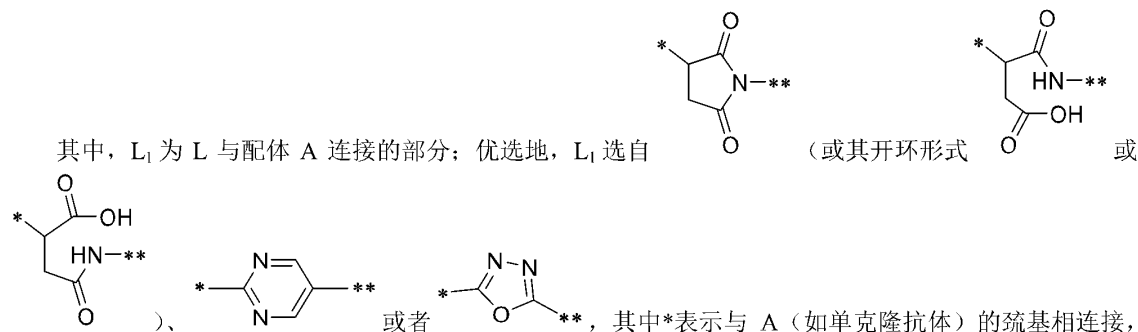
DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQDVNTAWAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDF
TLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKEIK

其中, 重链 CDR 序列 HCDR1、HCDR2、HCDR3 分别命名为 SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、轻链 CDR 序列 LCDR1、LCDR2、LCDR3 分别命名为 SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41 和 SEQ ID NO:42

HCDR1: DTYIH	SEQ ID NO:37
HCDR2: RIYPTNGYTRYADSVKG	SEQ ID NO:38
HCDR3: WGGDGFYAMDY	SEQ ID NO:39
LCDR1: RASQDVNTAVA	SEQ ID NO:40
LCDR2: SASFLYS	SEQ ID NO:41
LCDR3: QQHYTTPPT	SEQ ID NO:42

在一些实施方案中, 连接子部分-L-由下式表示:

-L₁-L₂-L₃-L₄-



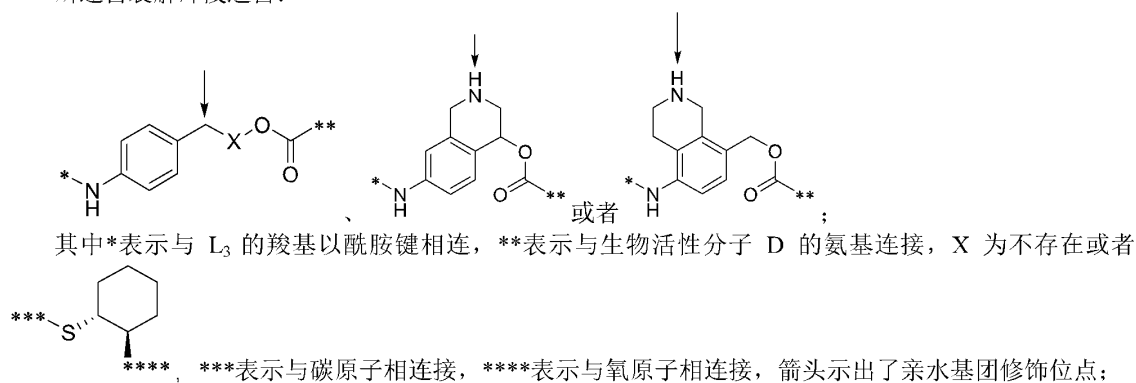
L₂ 为间隔子; 优选地, 其选自 -L_{2a}-C(O)-、-L_{2a}-L_{2b}-C(O)-、-L_{2a}-NH-C(O)-、-L_{2a}-L_{2b}-NH-C(O)-、-L_{2a}-L_{2b}-C(O)-NH-、-L_{2a}-C(O)-NH-L_{2b}-C(O)-、-L_{2a}-NH-C(O)-L_{2b}-C(O)-、-L_{2a}-C(O)-NH-L_{2b}-C(O)-NH-、-L_{2a}-NH-C(O)-L_{2b}-NH-C(O)-、-L_{2a}-NR¹-SO₂-NH-C(O)-O-L_{2b}-C(O)- 或者 -L_{2a}-NR¹-SO₂-NH-C(O)-O-L_{2b}-NH-C(O)-, 其中 L_{2a} 选自 -C₁-C₈ 亚烷基-、-C₁-C₈ 亚烷基-C₃-C₈ 亚环烷基-、-C₆-C₁₄ 亚芳基-、-C₆-C₁₄ 亚芳基-C₁-C₈ 亚烷基-、-5-6 元亚杂芳基-、-5-6 元亚杂芳基-C₁-C₈ 亚烷基-、1-50 (优选 1-20, 更优选 1-12, 最优选 1-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50) 个原子的直链或支链亚杂烷基-、1-50 (优选 1-20, 更优选 1-12, 最优选 1-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50) 个原子的直链或支链亚杂烷基-3-8 元亚杂环基, 所述亚烷基、亚环烷基、亚芳基、亚杂

烷基、亚烷基、亚芳基、亚杂环基各自任选地被独立地选自 C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 杂烷基、C₁-C₆ 烷氧基、羟基、氨基、羧基或 C₃-C₈ 环烷基中的一个或者多个取代基所取代，所述亚烷基、亚杂环基、杂烷基含有 1-12（优选 1-8，如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12）个杂原子，所述亚烷基、亚杂环基、亚杂芳基、杂烷基的杂原子选自 N、O 或 S 中的一个或多个（如两个或三个）；L_{2b} 选自 -C₁-C₈ 亚烷基-、1-50（优选 1-20，更优选 1-12，最优选 1-8，如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50）个原子的直链或支链亚烷基基，R¹ 选自氢、C₁-C₆ 烷基、C₃-C₈ 环烷基、3-8 元杂环基、C₁-C₆ 卤代烷基、2-8 个原子的杂烷基、C₆-C₁₄ 芳基、5-6 元杂芳基，所述烷基、杂环基、杂烷基、芳基、杂芳基各自任选地被独立地选自 C₁-C₆ 烷基、2-6 个原子的杂烷基、C₁-C₆ 烷氧基、氨基或羧基中的一个或者多个取代基所取代，所述杂烷基、亚烷基含有 1-12（优选 1-8，如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12）个杂原子，所述杂烷基、杂环基、杂芳基、亚烷基、亚杂芳基的杂原子选自 N、O 或 S 中的一个或多个（如两个或三个）；

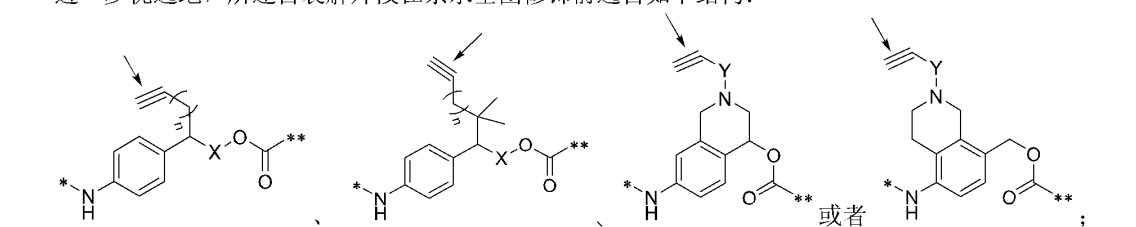
L₃ 为多肽序列；优选地，选自由 2-8（如 2、3、4、5、6、7、8）个天然或非天然氨基酸构成的肽残基，其中氨基酸任选进一步被选自 C₁-C₆ 烷基、2-6 个原子的杂烷基、C₁-C₆ 烷氧基、羟基、氨基、羧基或 C₃-C₈ 环烷基中的一个或者多个取代基所取代；

L₄为亲水基团修饰的自裂解片段,

所述自裂解片段选自：



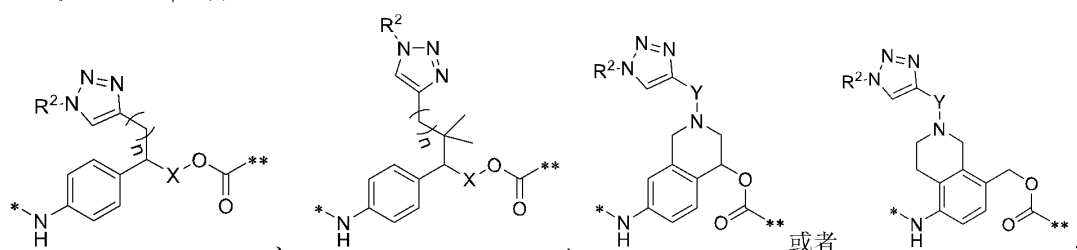
进一步优选地, 所述自裂解片段在亲水基团修饰前选自如下结构:



其中 Y 为 C₁-C₆ 亚烷基或者 -R³-C(O)-, 其中 R³ 为 C₁-C₆ 亚烷基或者含 1-8 个 -OCH₂CH₂- 结构单元的亚杂烷基, n 为 0 到 6 的整数;

所述亲水基团具有至少一个叠氮基团并包含聚乙二醇基团、聚天然氨酸或非天然氨基酸基团、单糖、低聚糖或者多糖或上述基团的组合；

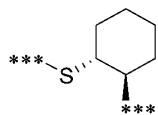
优选地, L_4 选自:



其中*表示与 L₃ 的羧基以酰胺键相连, **表示与生物活性分子 D 的氨基连接;

R²为亲水片段, 优选地, 选自包含 4-50 (优选 4-24, 更优选 6-24, 最优选 8-24, 如 4、5、6、7、8、

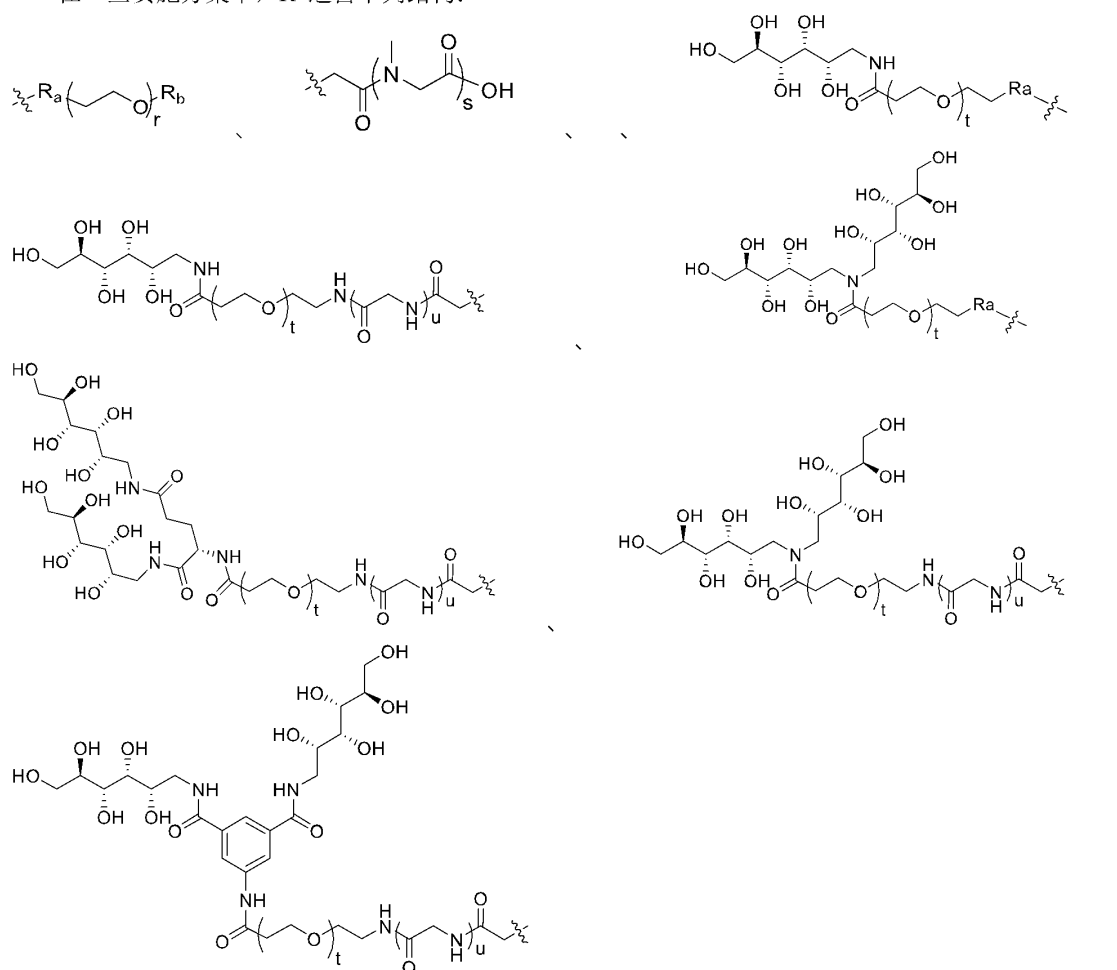
9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50) 个 $-OCH_2CH_2-$ 结构单元的直接或支链杂烷基、包含 4-50 (优选 4-24, 更优选 8-24, 最优选 10-24, 如 4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50) 个蛋白氨基酸 (如甘氨酸) 或非蛋白氨基酸 (如肌氨酸) 的肽链、包含单糖、低聚糖或者多糖的直接或支链杂烷基; X 为不存在或者



****, ***表示与碳原子相连接, ****表示与氧原子相连接; Y 为 C_1-C_6 亚烷基或者 $-R^3-C(O)-$, 其中 R^3 为 C_1-C_6 亚烷基或者含 1-24 个 (优选 1-8 个, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12) $-OCH_2CH_2-$ 结构单元的亚杂烷基;

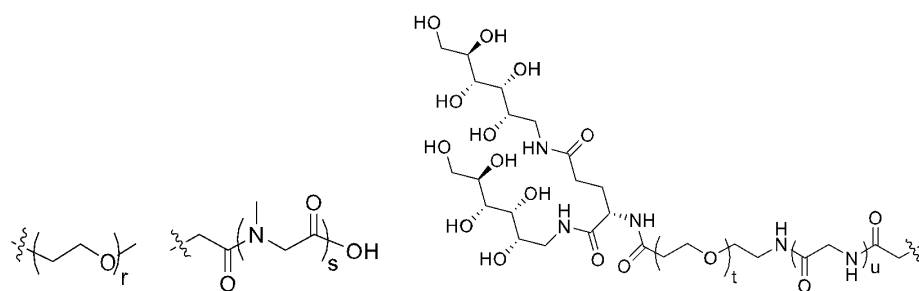
n 为 0 到 6 的整数 (如 0、1、2、3、4、5、6)。

在一些实施方案中, R^2 选自下列结构:



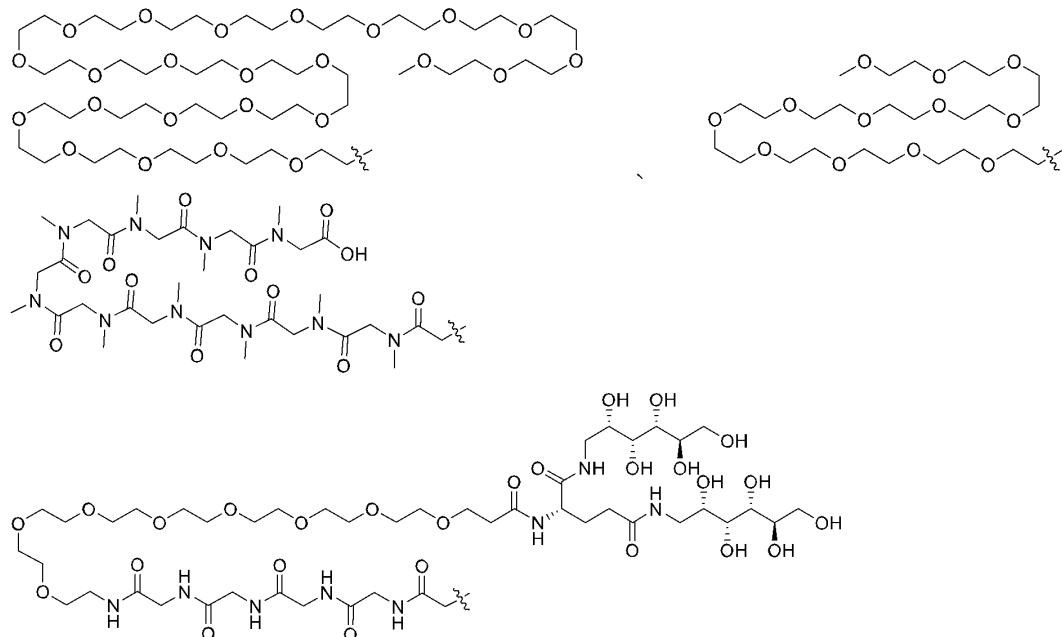
其中, r、s、t、u 各自独立的选自 1-50 的整数 (如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50); R_a 选自键、 C_1-C_3 亚烷基, 如亚甲基、亚乙基、亚正丙基、亚异丙基; R_b 选自 C_1-C_3 烷基, 如甲基、乙基、正丙基、异丙基。

在一些实施方案中, R^2 选自下列结构:



其中, r 、 s 、 t 、 u 各自独立的选自 1-50 的整数 (如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50)。

在一些实施方案中, R^2 选自下列结构:



在一些实施方案中, Y 为 C_1 - C_6 亚烷基或者 $-R^3-C(O)-$, 其中 R^3 为 C_1 - C_6 亚烷基或者 $-C_1$ - C_6 亚烷基 $-(OCH_2CH_2)_v-$, 其中 v 选自 1-12 的整数 (如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12)。

在一些实施方案中, Y 为 C_1 - C_3 亚烷基或者 $-R^3-C(O)-$, 其中 R^3 为 C_1 - C_3 亚烷基或者 $-C_1$ - C_3 亚烷基 $-(OCH_2CH_2)_v-$, 其中 v 选自 1-12 的整数 (如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12)。

在一些实施方案中, Y 为亚甲基、亚乙基、亚正丙基、亚异丙基或者 $-R^3-C(O)-$, 其中 R^3 为亚甲基 $-(OCH_2CH_2)_v-$ 、亚乙基 $-(OCH_2CH_2)_v-$ 、亚正丙基 $-(OCH_2CH_2)_v-$ 、亚异丙基 $-(OCH_2CH_2)_v-$, 其中 v 选自 1-12 的整数 (如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12)。

在一些实施方案中, Y 选自 $-CH_2-(OCH_2CH_2)_4C(O)-$ 。

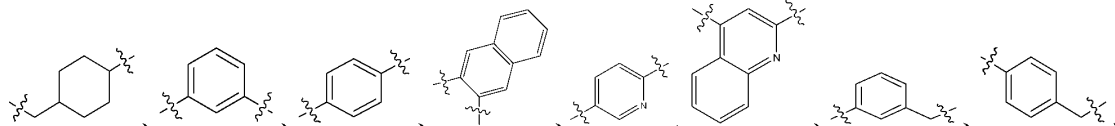
在一些实施方案中, L_2 选自 $-L_{2a}-C(O)-$ 、 $-L_{2a}-NH-C(O)-L_{2b}-C(O)-$ 或者 $-L_{2a}-NR^1-SO_2-NH-C(O)-O-L_{2b}-C(O)-$, 其中 L_{2a} 选自 $-C_1$ - C_6 亚烷基、 $-C_1$ - C_6 亚烷基- C_3 - C_6 亚环烷基、 $-C_6$ - C_{10} 亚芳基、 $-C_6$ - C_{10} 亚芳基- C_1 - C_6 亚烷基、 $-5-6$ 元亚杂芳基、 $-5-6$ 元亚杂芳基- C_1 - C_6 亚烷基、1-50 (优选 1-20, 更优选 1-12, 最优选 1-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50) 个原子的直链或支链亚杂烷基、1-50 (优选 1-20, 更优选 1-12, 最优选 1-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50) 个原子的直链或支链亚杂烷基-3-6 元亚杂环基, 所述亚烷基、亚环烷基、亚芳基、亚杂烷基、亚杂芳基、亚杂环基各自任选地被独立地选自卤素、 C_1 - C_3 烷基、1-3 个原子的杂烷基、 C_1 - C_3 烷氧基、羟基、氨基、羧基或 C_3 - C_6 环烷基。

中的一个或者多个取代基所取代,所述亚烷基、亚杂烷基、杂烷基含有 1-12 (优选 1-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12) 个杂原子,所述亚烷基、亚杂烷基、亚芳基、杂烷基的杂原子选自 N、O 或 S 中的一个或多个; L_{2b} 选自 $-C_1-C_6$ 亚烷基-、1-50 (优选 1-20, 更优选 1-12, 最优选 1-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50) 个原子的直链或支链亚烷基, R^1 选自氢、 C_1-C_3 烷基、 C_3-C_6 环烷基、3-6 元杂环基、 C_1-C_3 卤代烷基、2-6 个原子的杂烷基、 C_6-C_{10} 芳基、5-6 元杂芳基,所述烷基、杂烷基、芳基、杂芳基、环烷基、杂环基各自任选地被独立地选自 C_1-C_3 烷基、2-3 个原子的杂烷基、 C_1-C_3 烷氧基、氨基或羧基中的一个或者多个取代基所取代,所述杂烷基、亚杂烷基含有 1-12 (优选 1-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12) 个杂原子,所述杂烷基、杂环基、杂芳基、亚杂烷基的杂原子选自 N、O 或 S 中的一个或多个。

在一些实施方案中, L_2 选自 $-L_{2a}-C(O)-$ 、 $-L_{2a}-NH-C(O)-L_{2b}-C(O)-$ 或者 $-L_{2a}-NR^1-SO_2-NH-C(O)-O-L_{2b}-C(O)-$, 其中 L_{2a} 选自亚甲基、亚乙基、亚正丙基、亚正丁基、亚正戊基、亚正己基、 $-CH_2(CH_3)CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 、 $-C_1-C_3$ 亚烷基-亚环己烷基-、-亚苯基-、-亚苯基- C_1-C_3 亚烷基-、-5-6 元亚杂芳基- C_1-C_3 亚烷基-、1-50 (优选 1-20, 更优选 1-12, 最优选 1-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50) 个原子的直链或支链亚烷基、1-50 (优选 1-20, 更优选 1-12, 最优选 1-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50) 个原子的直链或支链亚杂烷基-3-6 元亚杂环基,所述亚烷基、亚环烷基、亚芳基、亚杂烷基、亚杂芳基、亚杂环基各自任选地被独立地选自卤素、甲基、乙基、正丙基、异丙基、1-3 个原子的杂烷基、甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、羟基、氨基、羧基或环丙基、环丁基、环戊基、环己基中的一个或者多个取代基所取代,所述亚烷基、亚杂烷基、杂烷基含有 1-12 (优选 1-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12) 个杂原子,所述亚烷基、亚杂烷基、亚杂芳基、杂烷基的杂原子选自 N、O 或 S 中的一个或多个; L_{2b} 选自亚甲基、亚乙基、亚正丙基、亚正丁基、亚正戊基、亚正己基、 $-CH_2(CH_3)CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 、1-50 (优选 1-20, 更优选 1-12, 最优选 1-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50) 个原子的直链或支链亚烷基, R^1 选自氢、甲基、乙基、正丙基、异丙基、环丙基、环丁基、环戊基、环己基、3-6 元杂环基、 $-CF_3$ 、 $-CF_2CF_3$ 、2-3 个原子的杂烷基、苯基、5-6 元杂芳基,所述烷基、杂烷基、苯基、杂芳基、环烷基、杂环基各自任选地被独立地选自甲基、乙基、正丙基、异丙基、2-3 个原子的杂烷基、甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、氨基或羧基中的一个或者多个取代基所取代,所述杂烷基、亚杂烷基含有 1-12 (优选 1-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12) 个杂原子,所述杂烷基、杂环基、杂芳基、亚杂烷基的杂原子选自 N、O 或 S 中的一个或多个。

在一些实施方案中, L_{2a} 选自 $-C_1-C_8$ 亚烷基-、 $-C_1-C_8$ 亚烷基- C_3-C_8 亚环烷基、 C_6-C_{14} 亚芳基- C_1-C_8 亚烷基、1-50 (优选 1-20, 更优选 1-12, 最优选 1-8) 个原子的直链或支链亚杂烷基,所述亚烷基、亚环烷基、亚芳基、亚杂烷基各自任选地被独立地选自卤素、 C_1-C_6 烷基、2-6 个原子的杂烷基、 C_1-C_6 烷氧基、羟基、氨基、羧基或 C_3-C_8 环烷基中的一个或者多个取代基所取代,所述亚烷基、杂烷基含有 1-12 (优选 1-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12) 个杂原子,所述亚烷基、杂烷基的杂原子选自 N、O 或 S 中的一个或多个; L_{2b} 选自 $-C_1-C_8$ 亚烷基-、1-50 (优选 1-20, 更优选 1-12, 最优选 1-8) 个原子的直链或支链亚杂烷基, R^1 选自氢、 C_1-C_6 烷基、2-8 个原子的杂烷基、 C_6-C_{14} 芳基,所述烷基、杂烷基、芳基各自任选地被独立地选自 C_1-C_6 烷基、2-6 个原子的杂烷基、 C_1-C_6 烷氧基、氨基或羧基中的一个或者多个取代基所取代,所述杂烷基含有 1-12 (优选 1-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12) 个杂原子,所述杂烷基、亚杂烷基的杂原子选自 N、O 或 S 中的一个或多个。

在一些实施方案中, L_{2a} 选自 $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_p-$ 、 $-(OCH_2CH_2)_p-$ 、 $-CH_2(OCH_2CH_2)_p-$ 、 $-CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_pCH_2-$ 、 $-CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_pCH_2CH_2-$ 、 $-CH_2(OCH_2CH_2)_pCH_2CH_2-$ 、



其中 p 为 1 到 12 的整数 (优选 2-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12); L_{2b} 选自 $-CH_2OCH_2-$ 、 $-CH_2CH_2OCH_2-$ 、 $-CH_2CH_2OCH_2CH_2-$ 、 $-CH_2O-$ 、 $-CH_2CH_2O-$ 、 $-CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2-$ 、

$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{q}}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{q}}-$ 、 $-\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{q}}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{q}}\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{q}}\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{\text{q}}\text{CH}_2\text{CH}_2-$ ， R^1 选自氢、甲基、乙基、正丙基、异丙基、环丙基，其中 q 为 1 到 12 的整数（优选 2-8，如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12）。

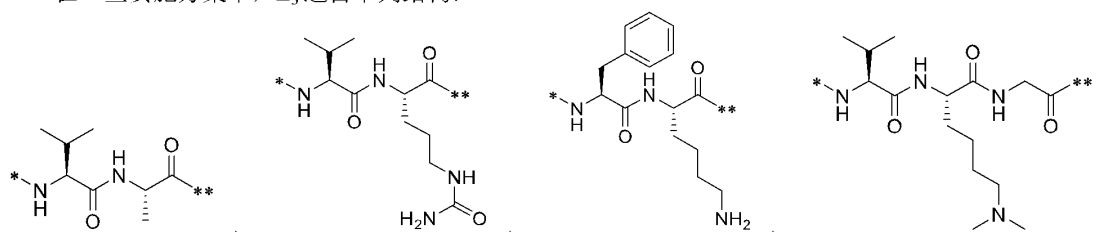
在一些实施方案中， L_2 选自下列结构：

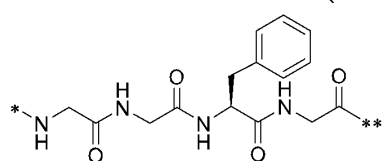
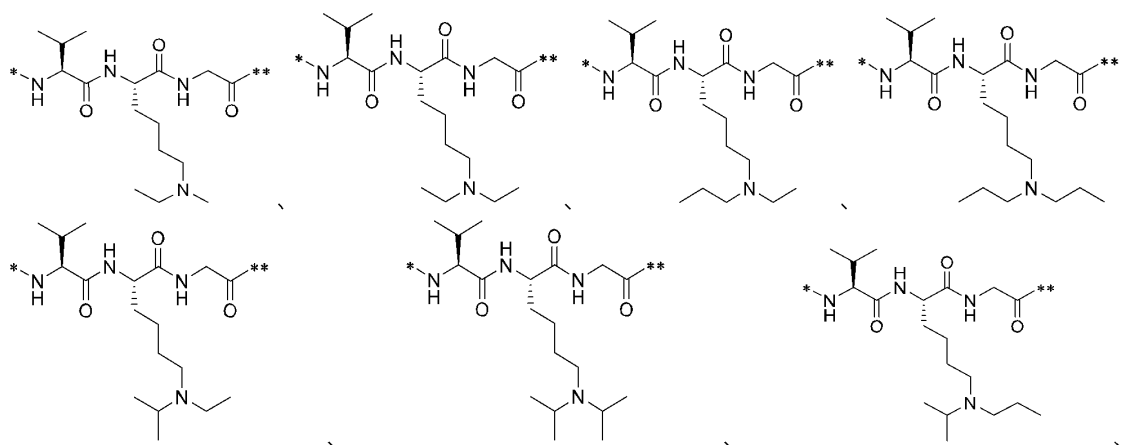
(1)	(7)
(2)	(8)
(3)	(9)
(4)	(10)
(5)	(11)
(6)	(12)

其中， w 选自 1-12 的整数（如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12），*表示与 L_1 相连接，**表示与 L_3 相连接。

在一些实施方案中， L_3 选自由 2-8 个选自苯丙氨酸 (F)、甘氨酸 (G)、缬氨酸 (V)、脯氨酸 (C)、谷氨酸 (E)、丙氨酸 (A)、赖氨酸 (K)、 C_1 - C_6 烷基取代的赖氨酸（如 C_1 - C_3 烷基取代的赖氨酸，如甲基取代的赖氨酸、乙基取代的赖氨酸、正丙基取代的赖氨酸、异丙基取代的赖氨酸）等氨基酸形成的肽残基。例如 -ValCit-；-CitVal-；-AlaAla-；-AlaCit-；-CitAla-；-AsnCit-；-CitAsn-；-CitCit-；-ValGlu-；-GluVal-；-SerCit-；-CitSer-；-LysCit-；-CitLys-；-AspCit-；-CitAsp-；-AlaVal-；-ValAla-；-PheAla-；-AlaPhe-；-PheLys-；-LysPhe-；-ValLys-；-LysVal-；-AlaLys-；-LysAla-；-PheCit-；-CitPhe-；-LeuCit-；-CitLeu-；-IleCit-；-CitIle-；-PheArg-；-ArgPhe-；-CitTrp-；-TrpCit-；-AlaAlaAla-；-PhePheLys-；-LysPhePhe-；-DPhePheLys-；-DLysPhePhe-；-GlyPheLys-；-LysPheGly-；-GlyPheLeuGly-；-GlyLeuPheGly-；-GluValCit-；-AlaLeuAlaLeu-；-GlyGlyGly-；-GlyGlyGlyGly-；-GlyPheValGly-；-GlyValPheGly-；-GlyGlyPheGly-；-GlyGlyValGly-。

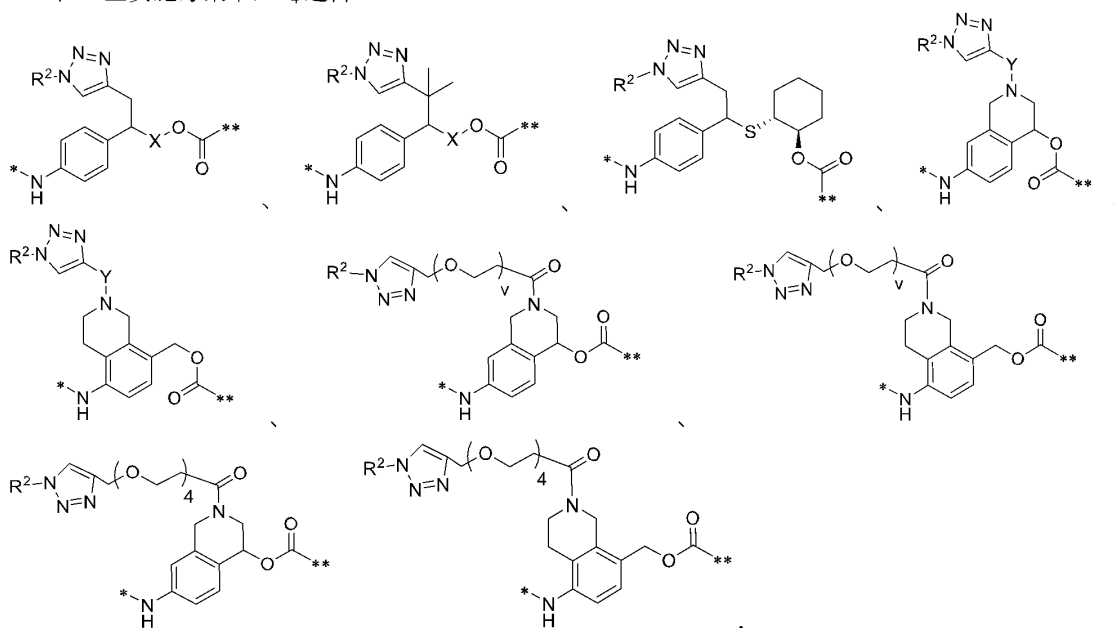
在一些实施方案中， L_3 选自下列结构：





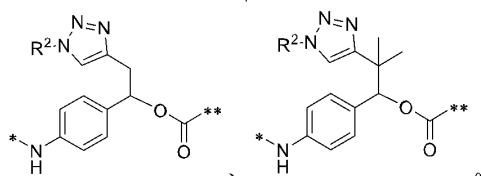
其中*表示与 L₂ 相连接, **表示与 L₄ 相连接。

在一些实施方案中, L₄ 选自:

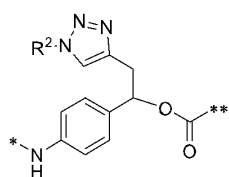


其中, v 选自 1-12 的整数 (如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12), *表示与 L₃ 的羧基以酰胺键相连, **表示与生物活性分子 D 的氨基连接。

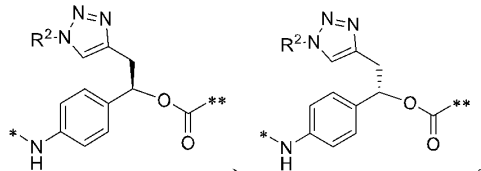
在一些实施方案中, L₄ 选自:



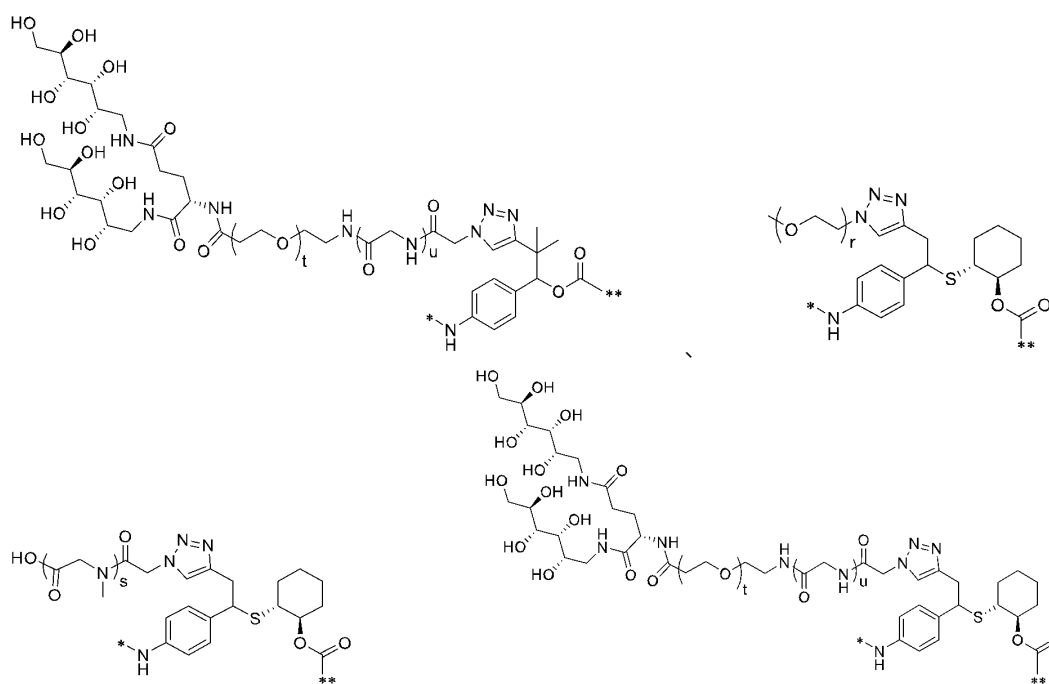
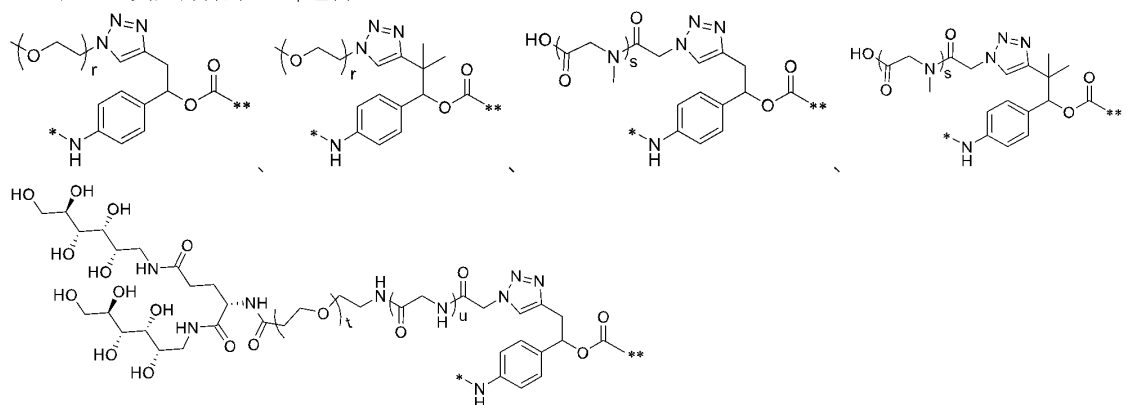
在一些实施方案中, L₄ 选自:

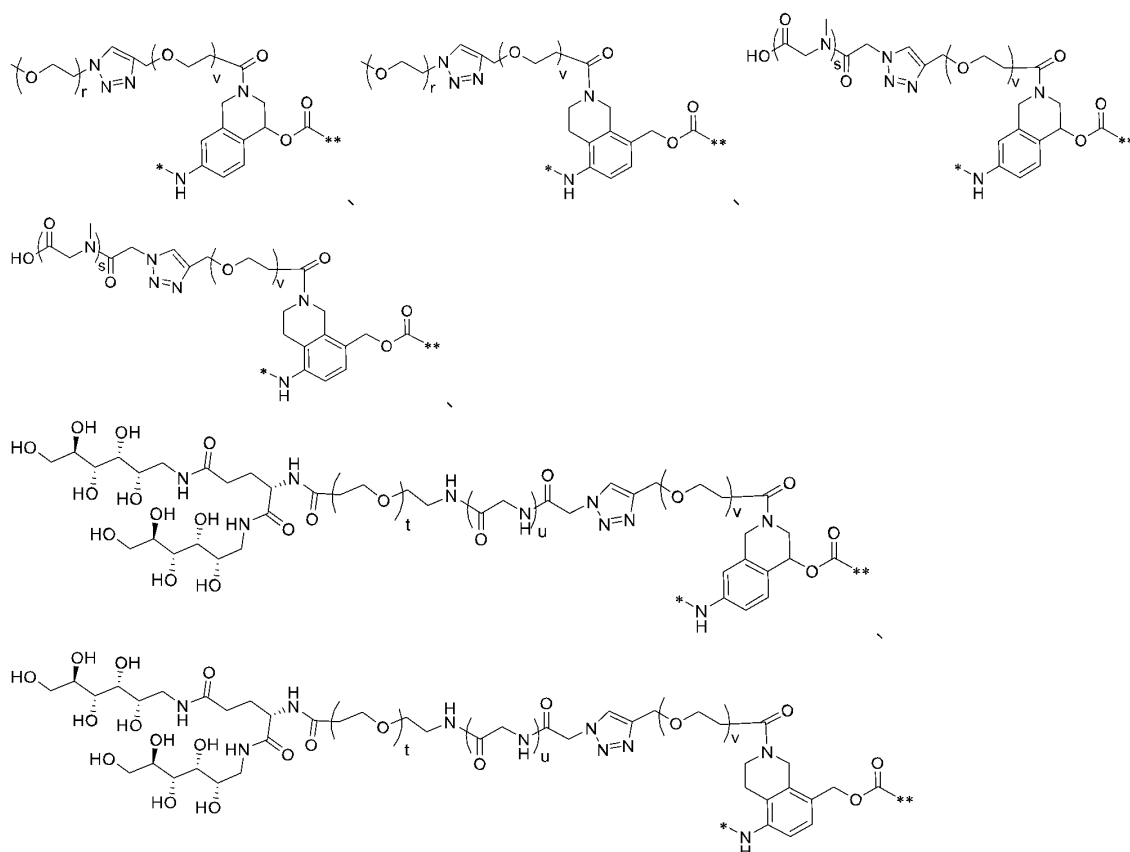


在一些实施方案中， L_4 选自：



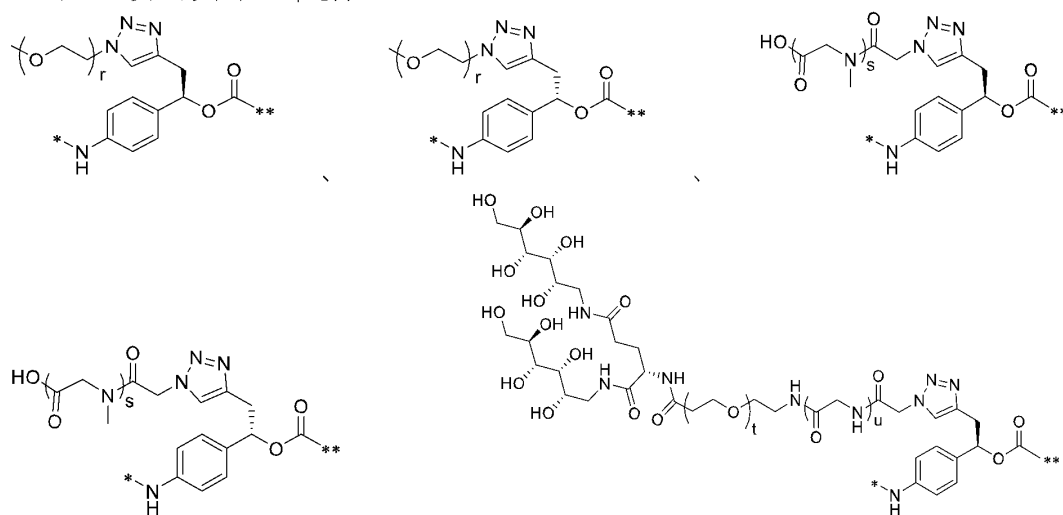
在一些实施方案中， L_4 选自：

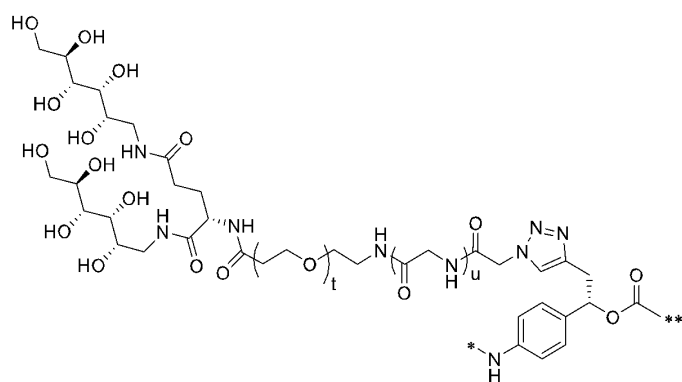




其中, r 、 s 、 t 、 u 各自独立的选自 1-50 的整数 (如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50), v 选自 1-12 的整数 (如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12), *表示与 L_3 的羧基以酰胺键相连, **表示与生物活性分子 D 的氨基连接。

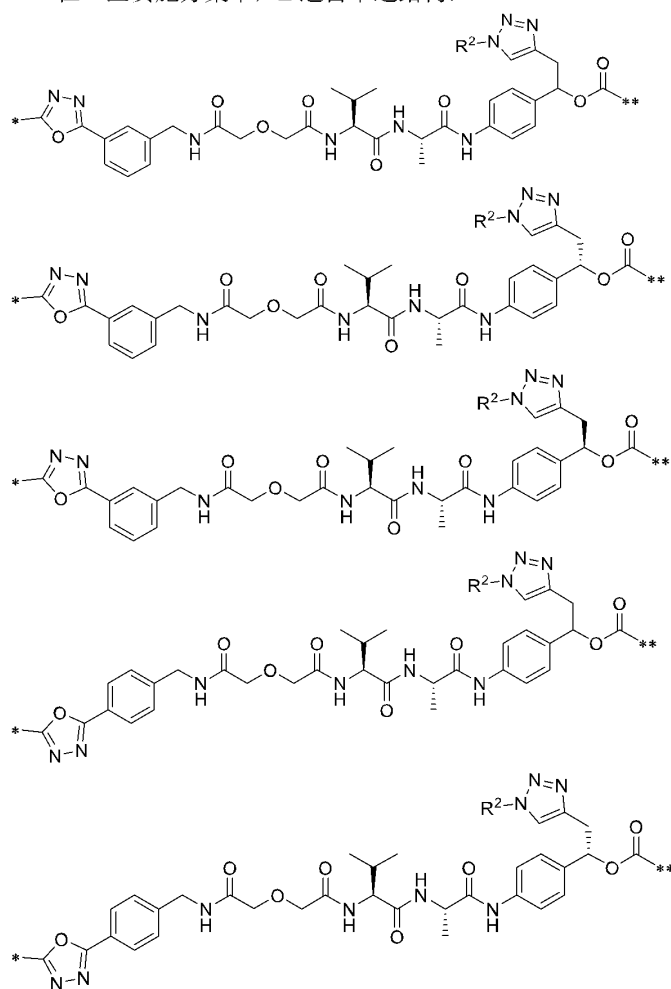
在一些实施方案中, L_4 选自:

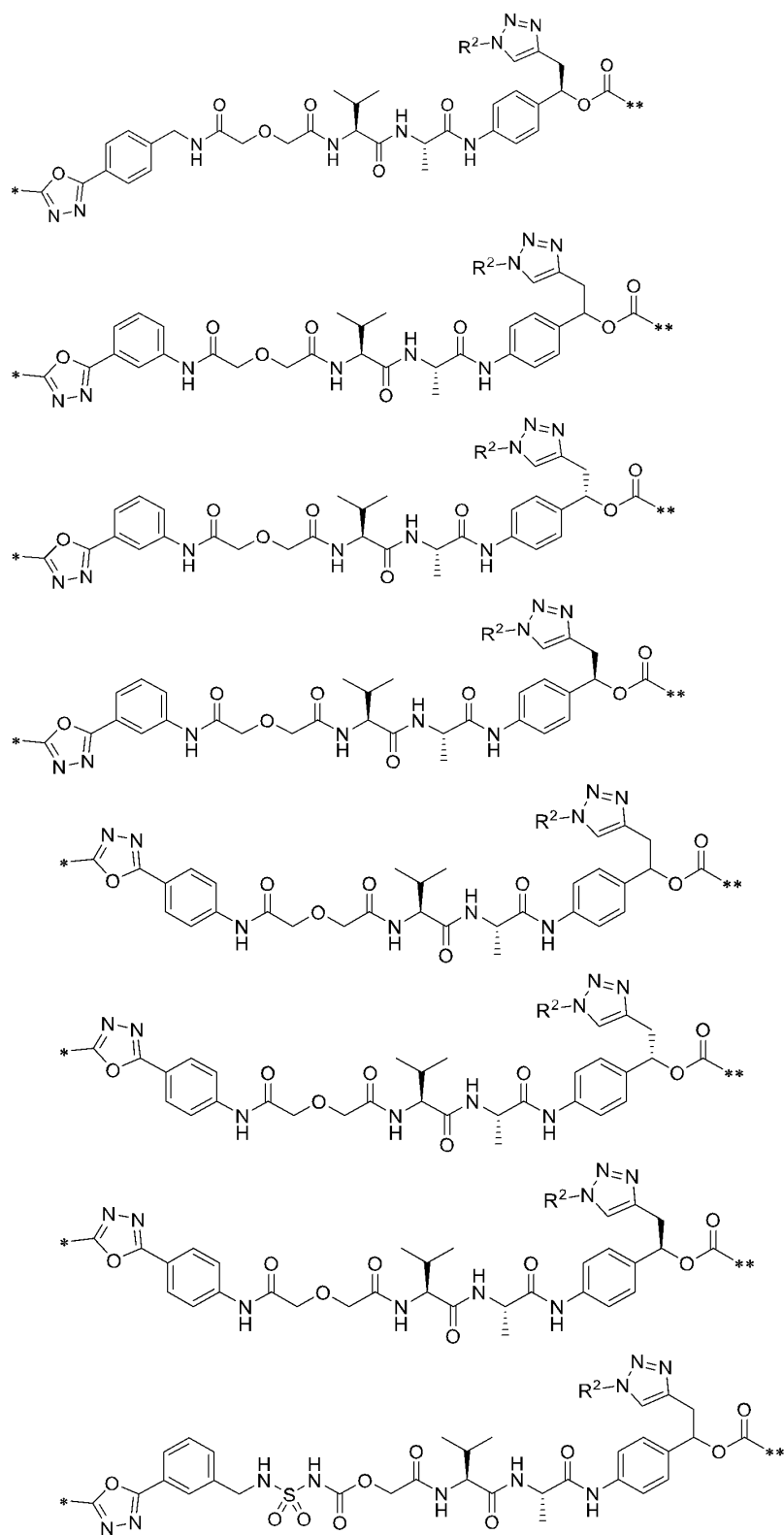


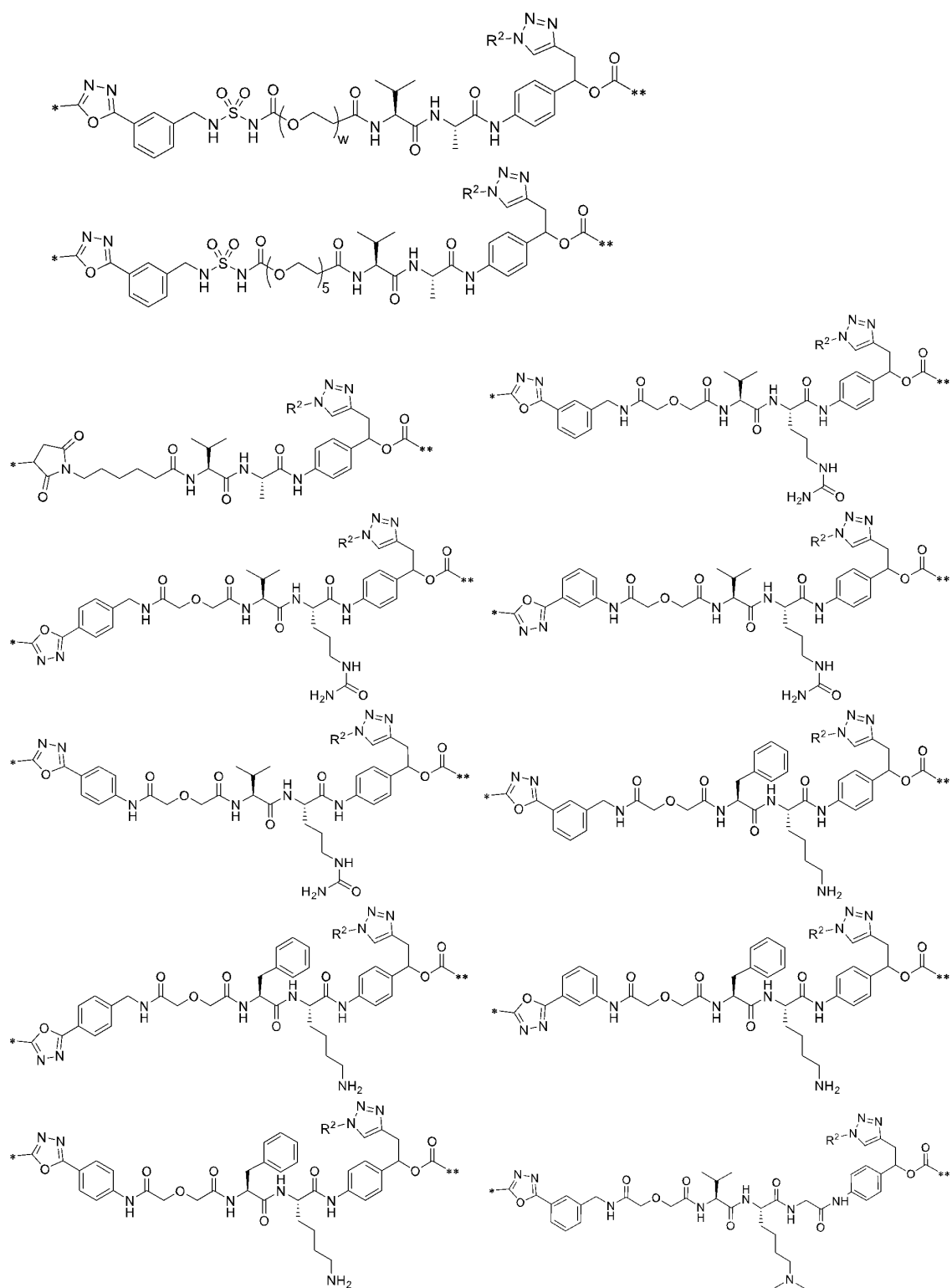


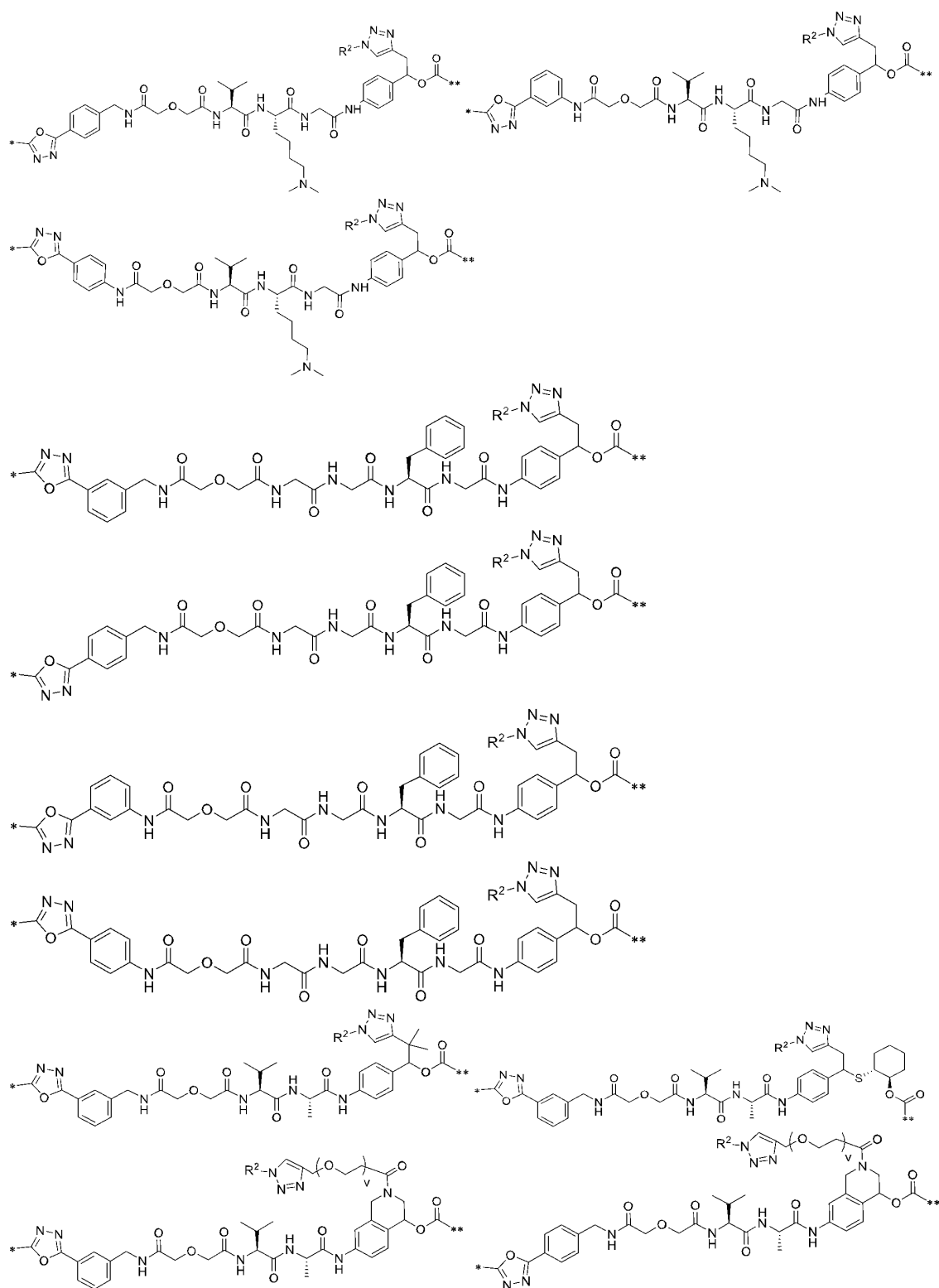
其中, r、s、t、u 各自独立的选自 1-50 的整数 (如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50), *表示与 L₃ 的羧基以酰胺键相连, **表示与生物活性分子 D 的氨基连接。

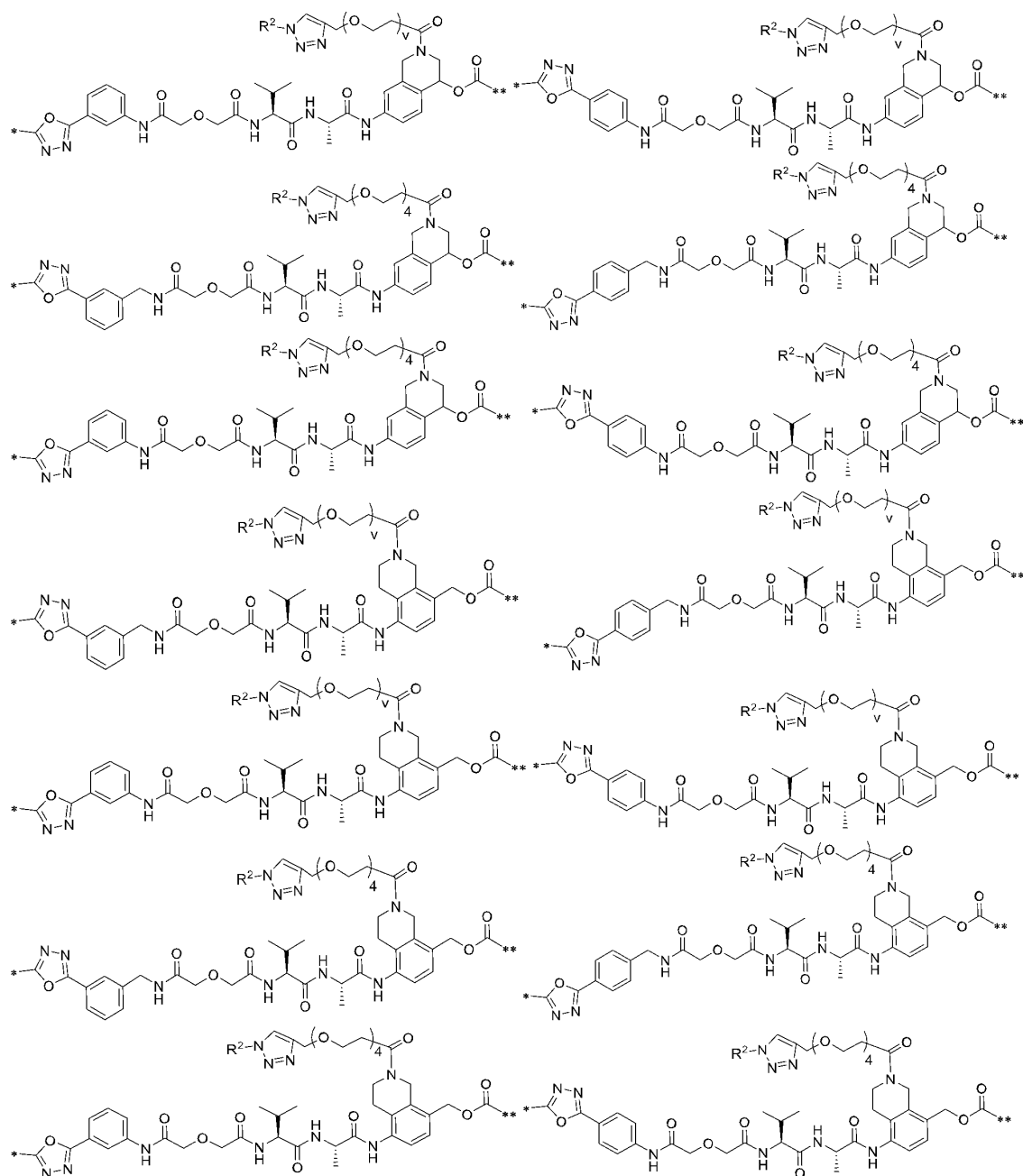
在一些实施方案中, L 选自下述结构:





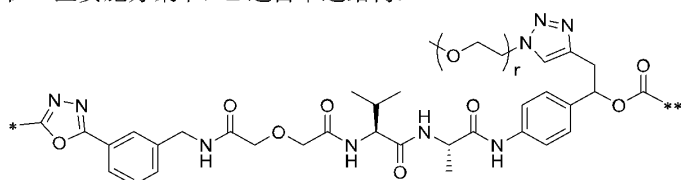


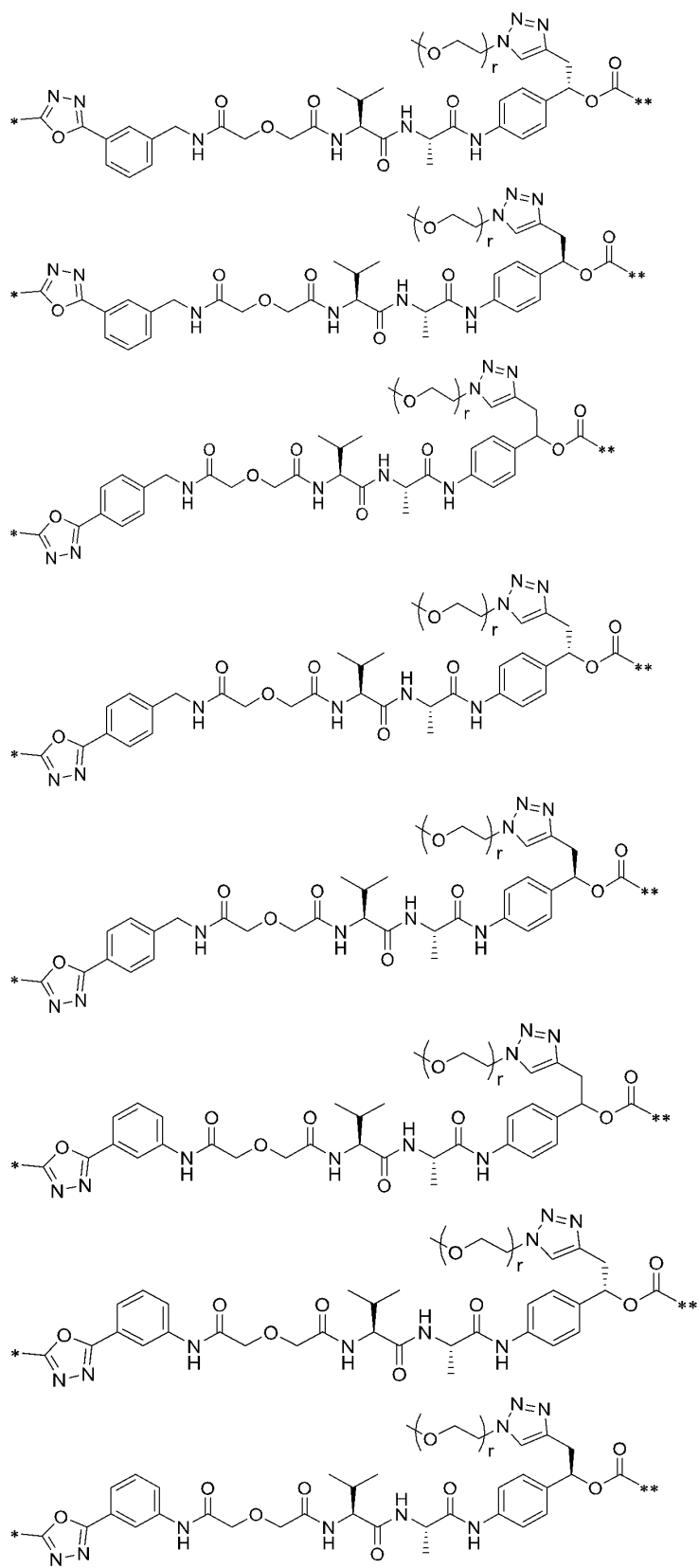


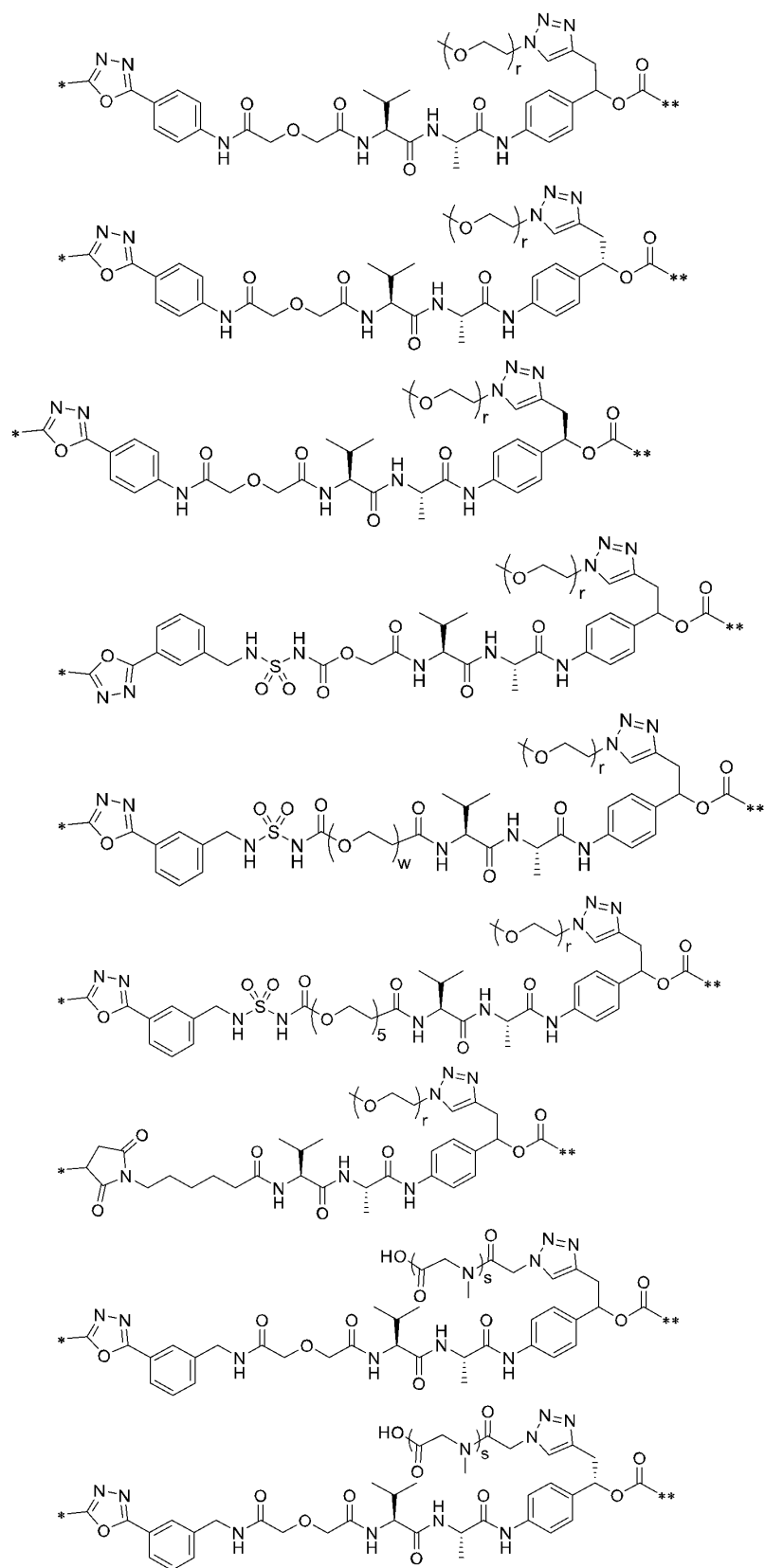


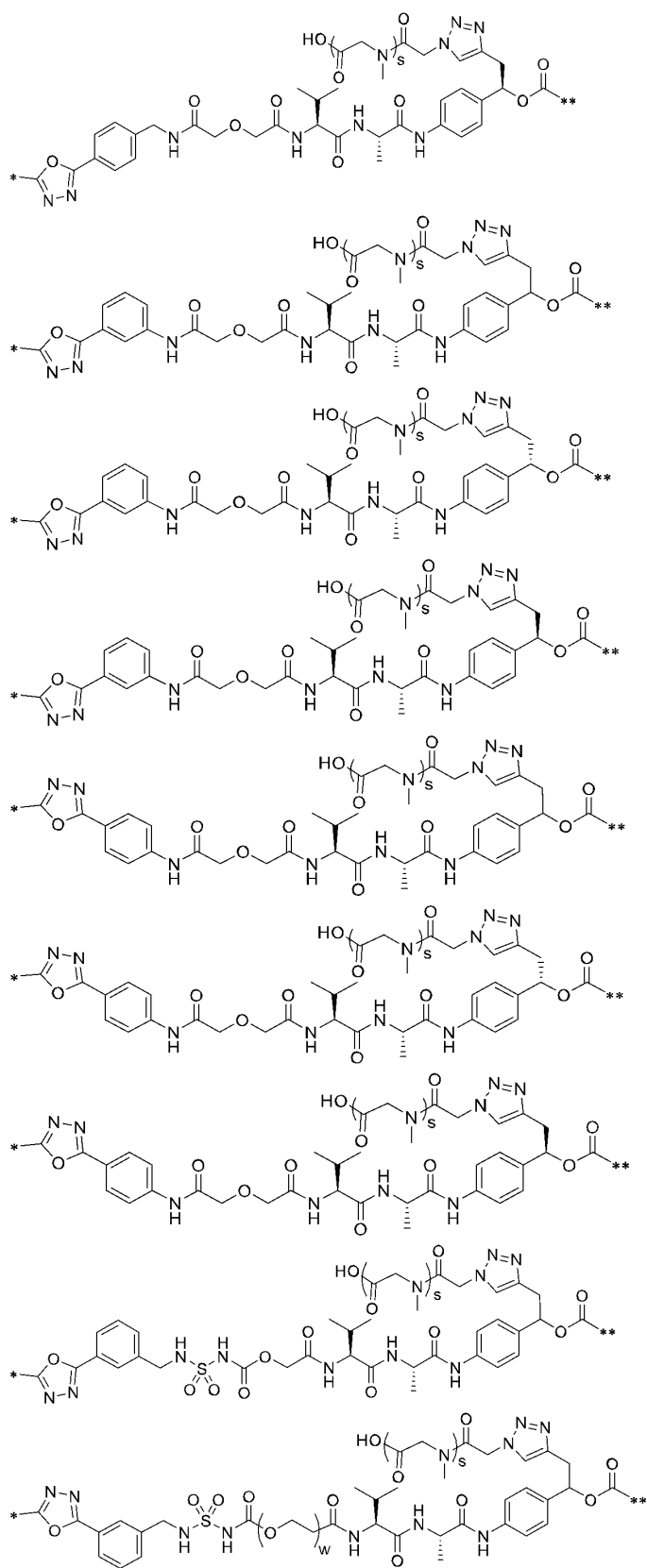
其中, v 和 w 各自独立地选自 1-12 的整数 (如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12), *表示与抗体 A 巯基相连接, **表示与生物活性分子 D 氨基相连接。

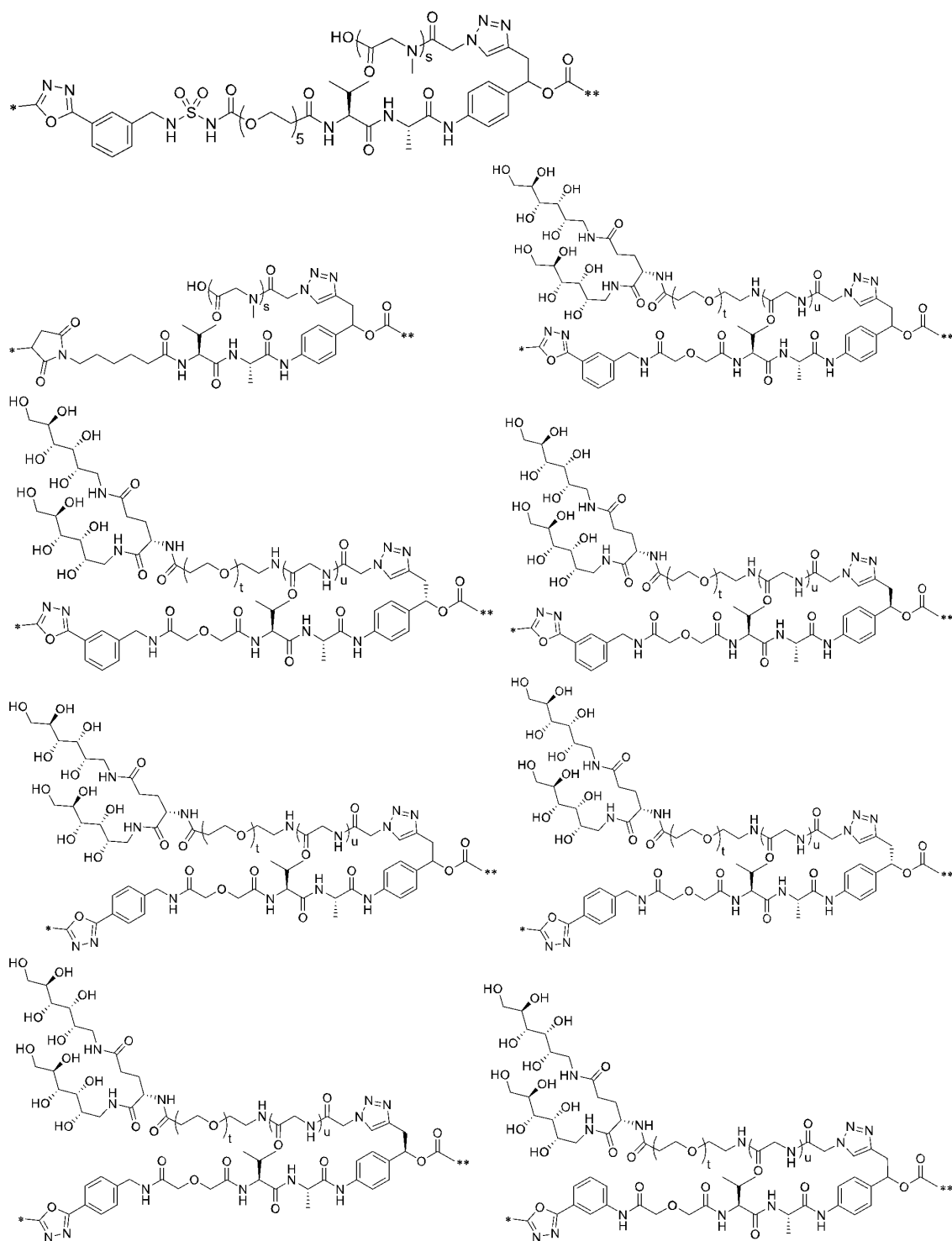
在一些实施方案中, L 选自下述结构:

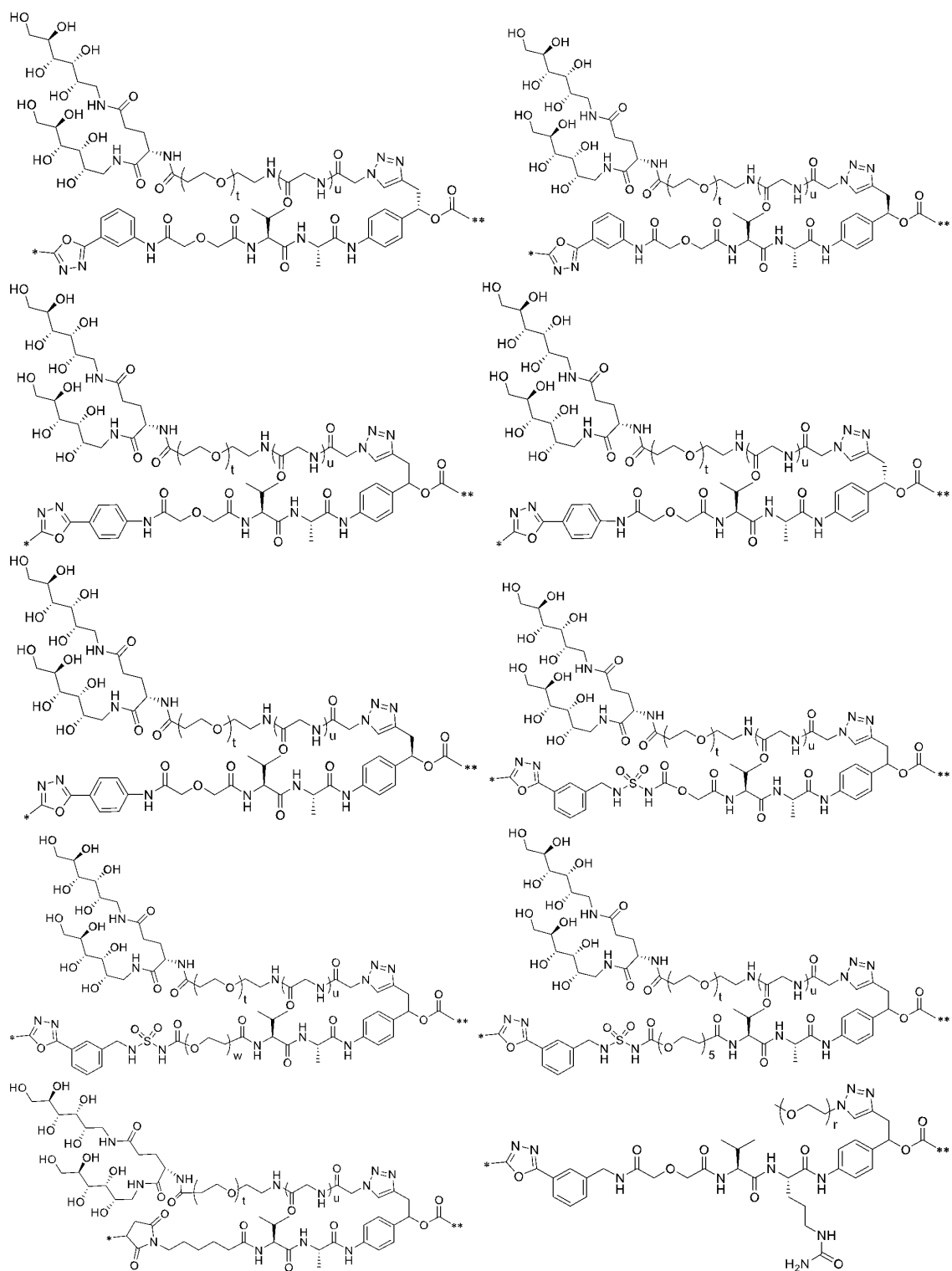


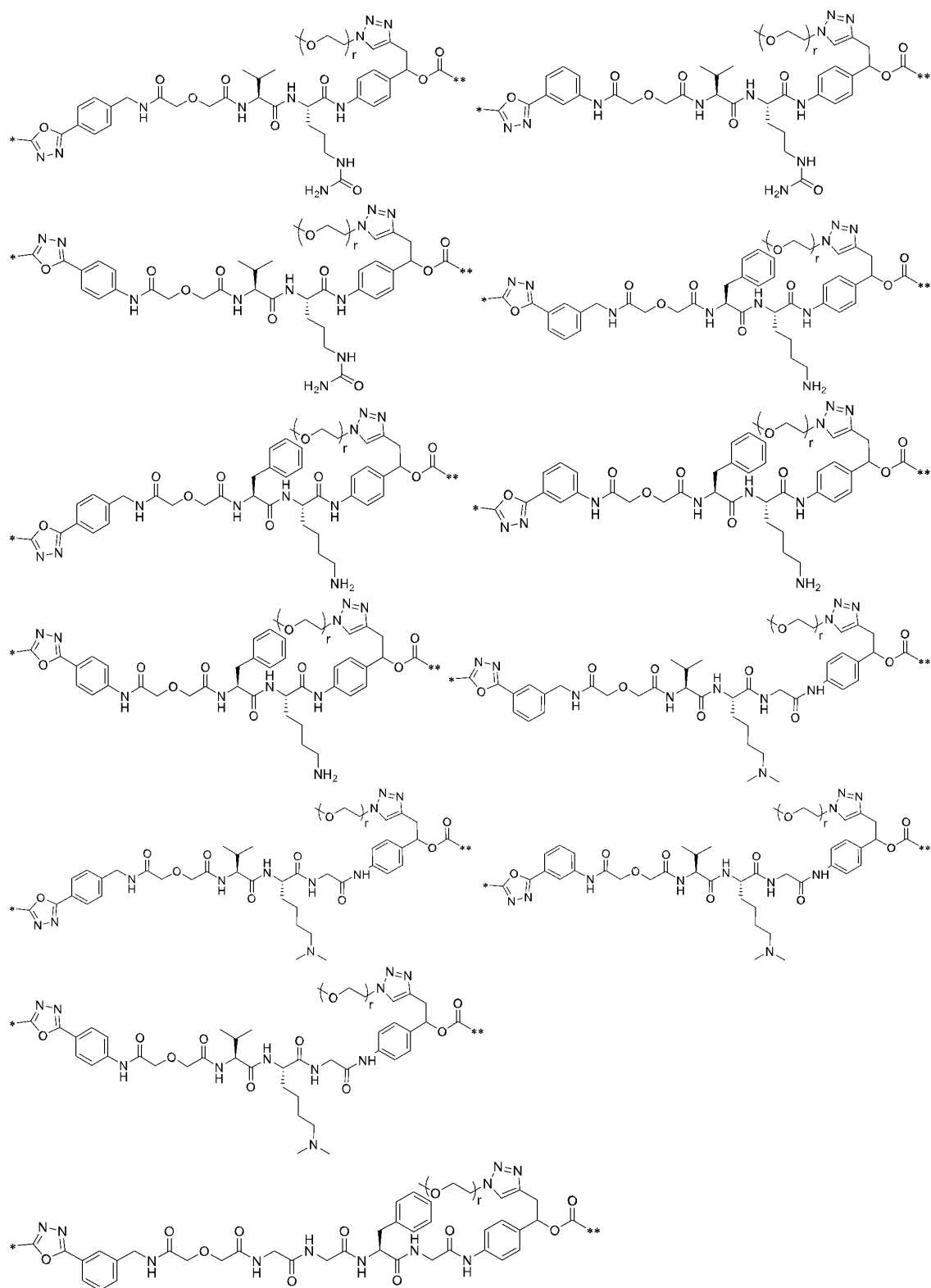


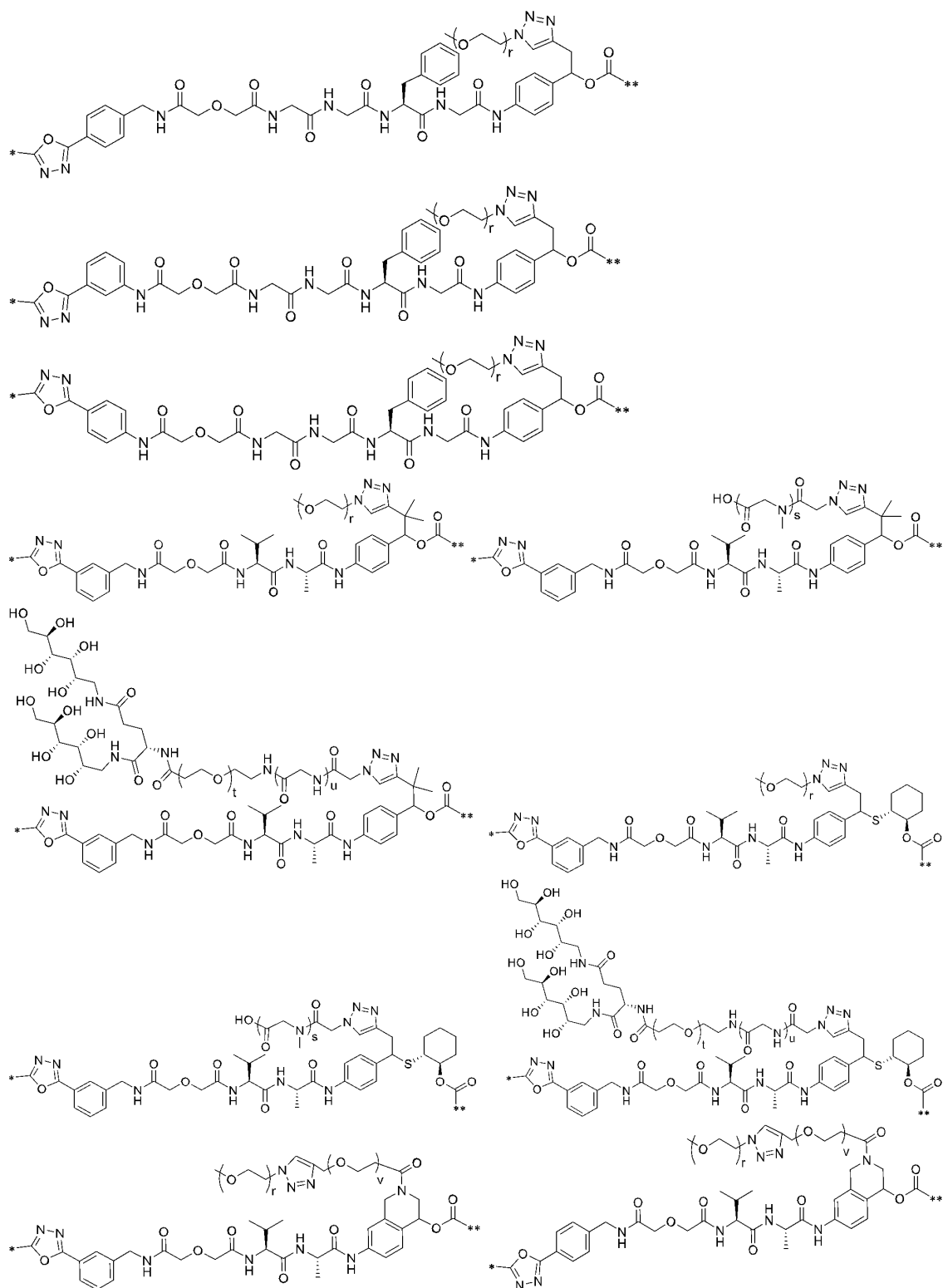


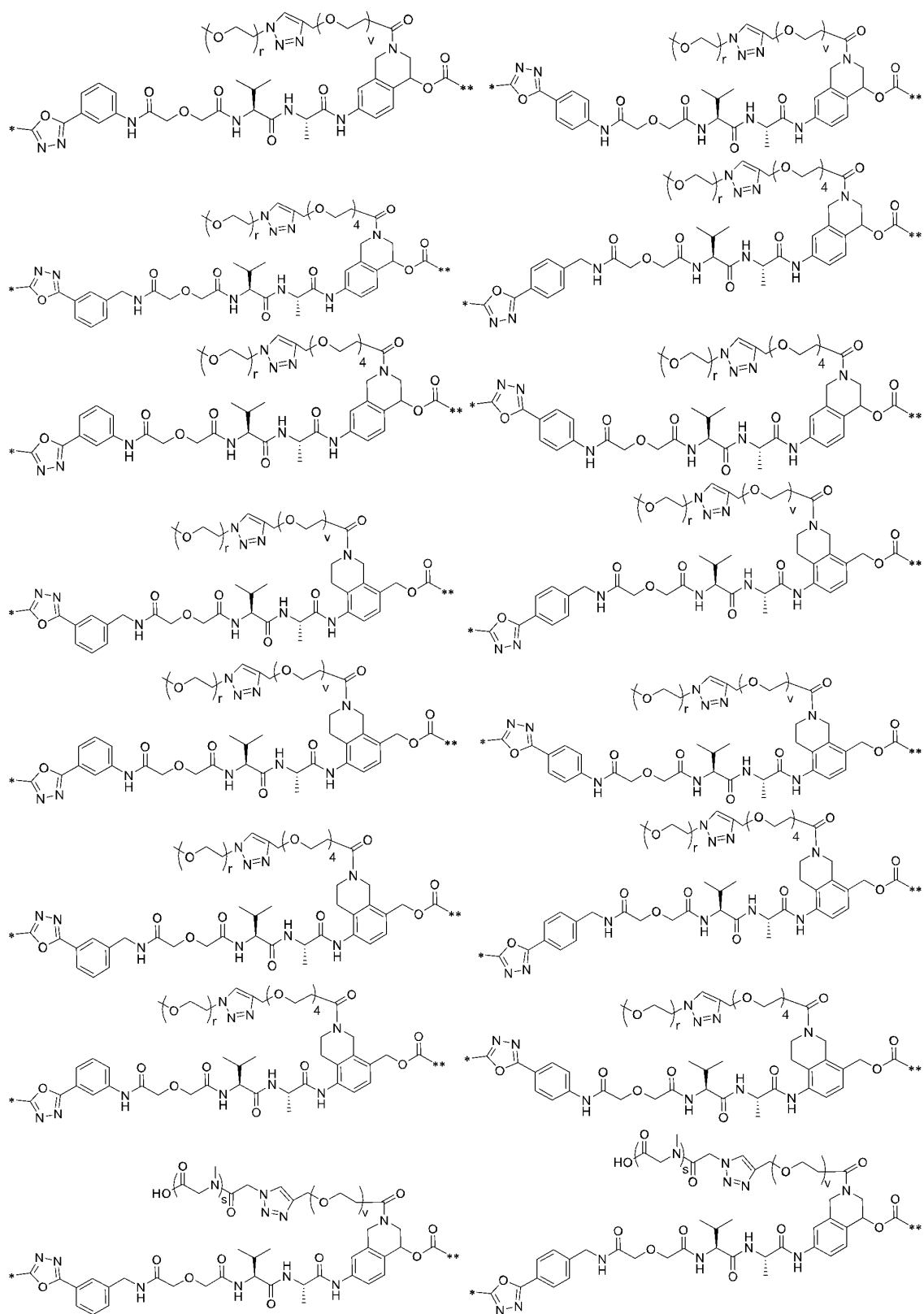


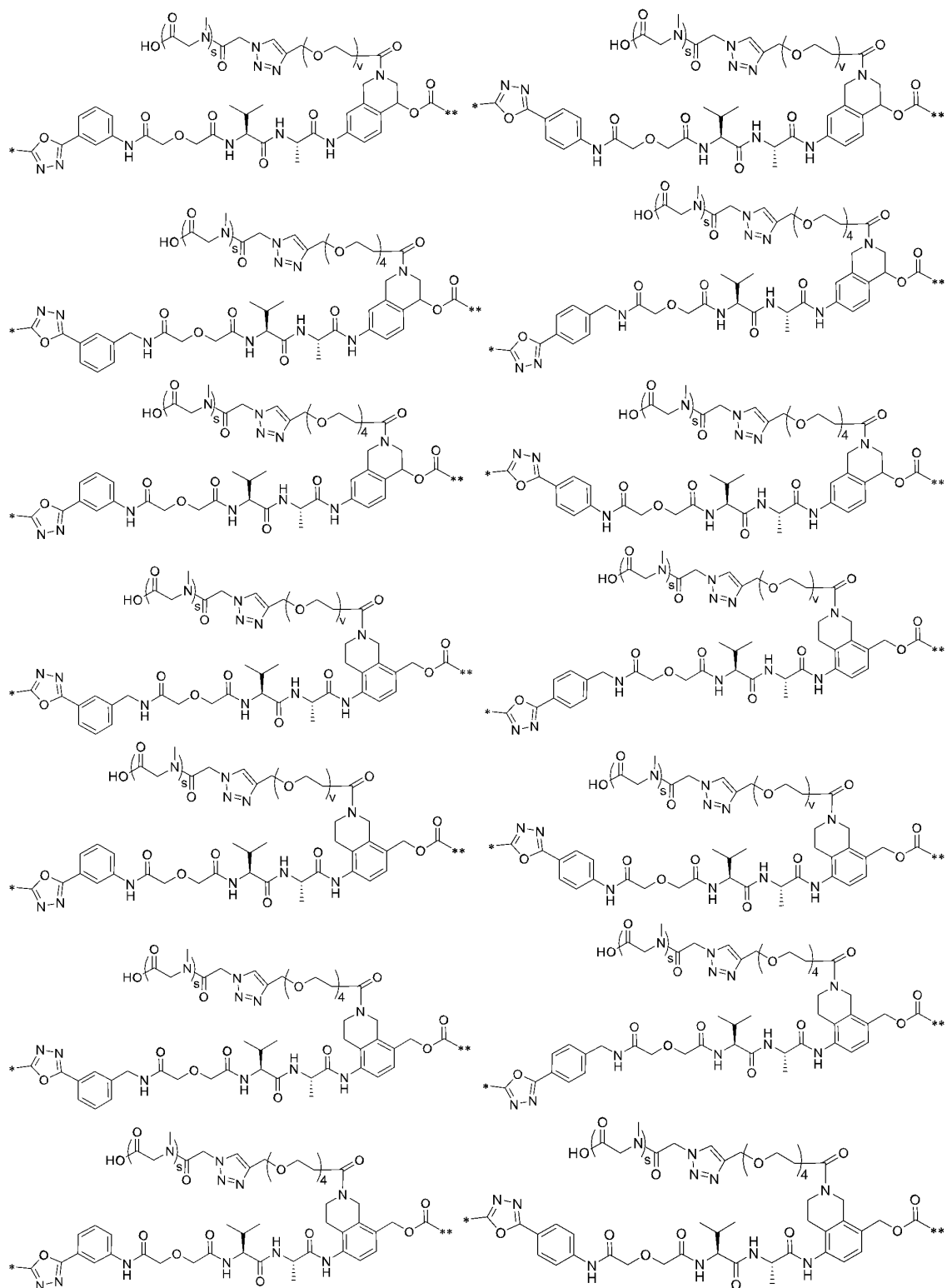


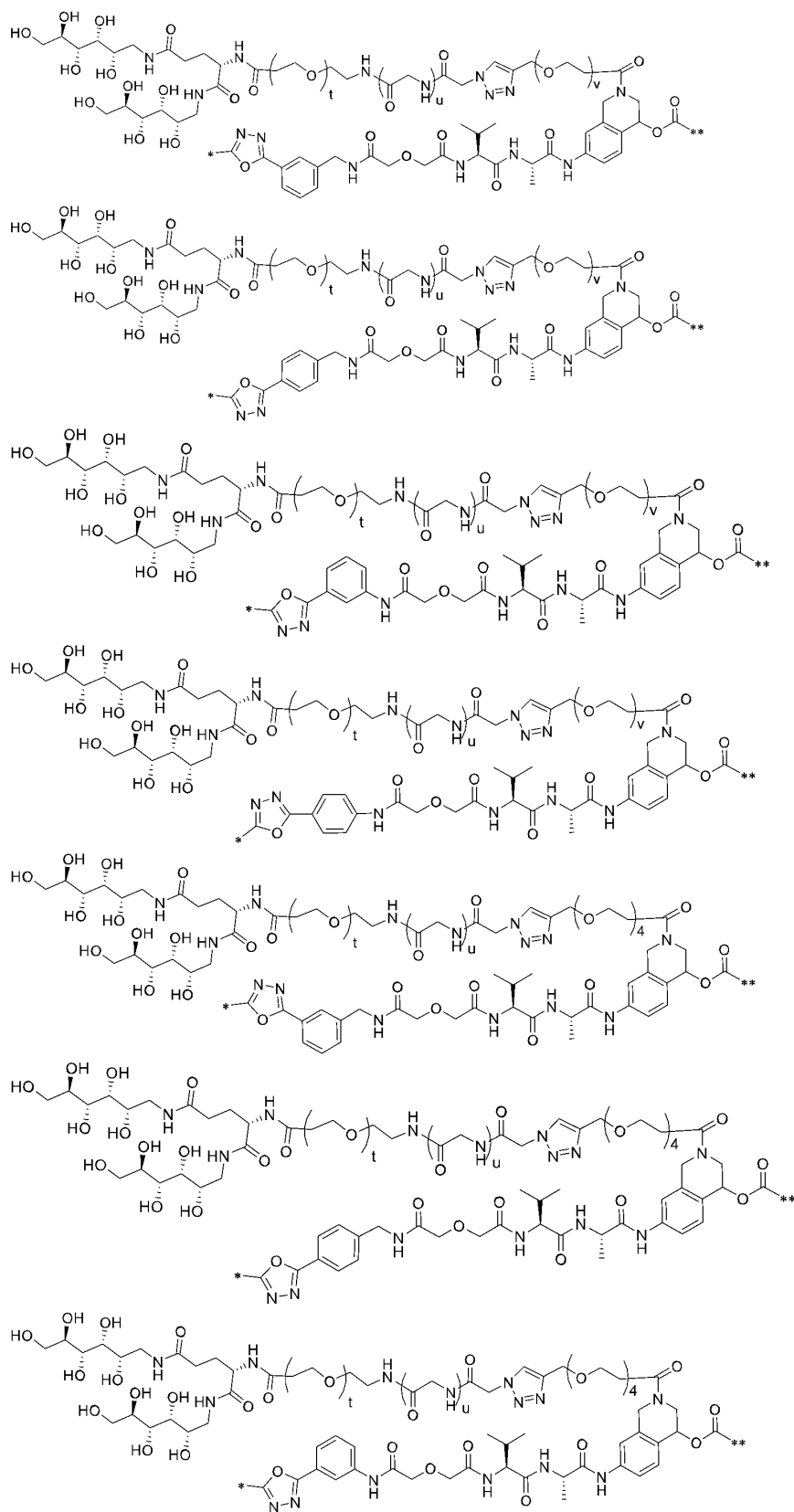




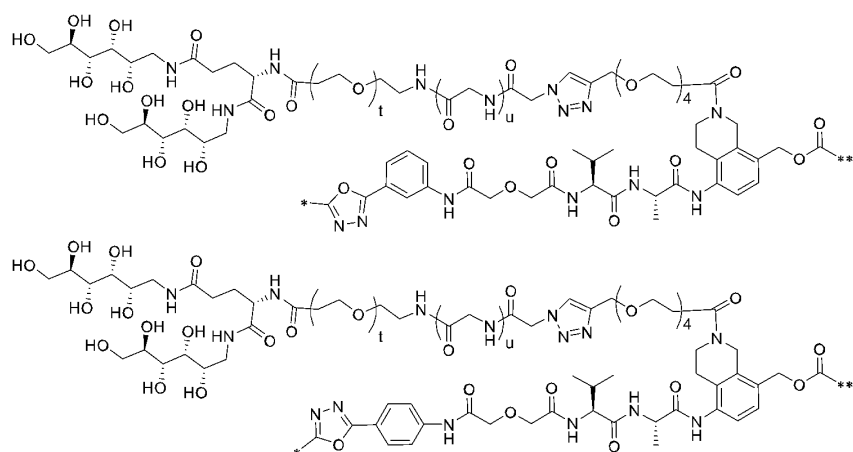






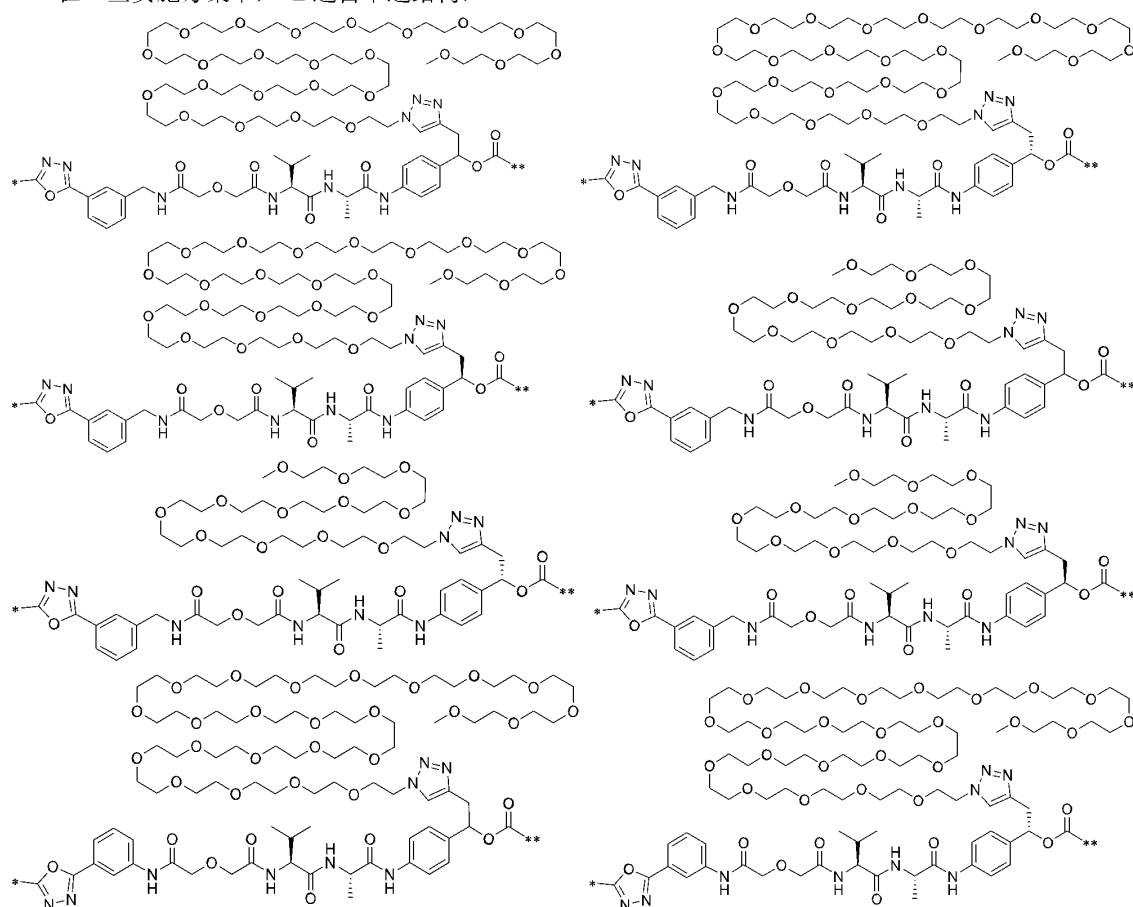


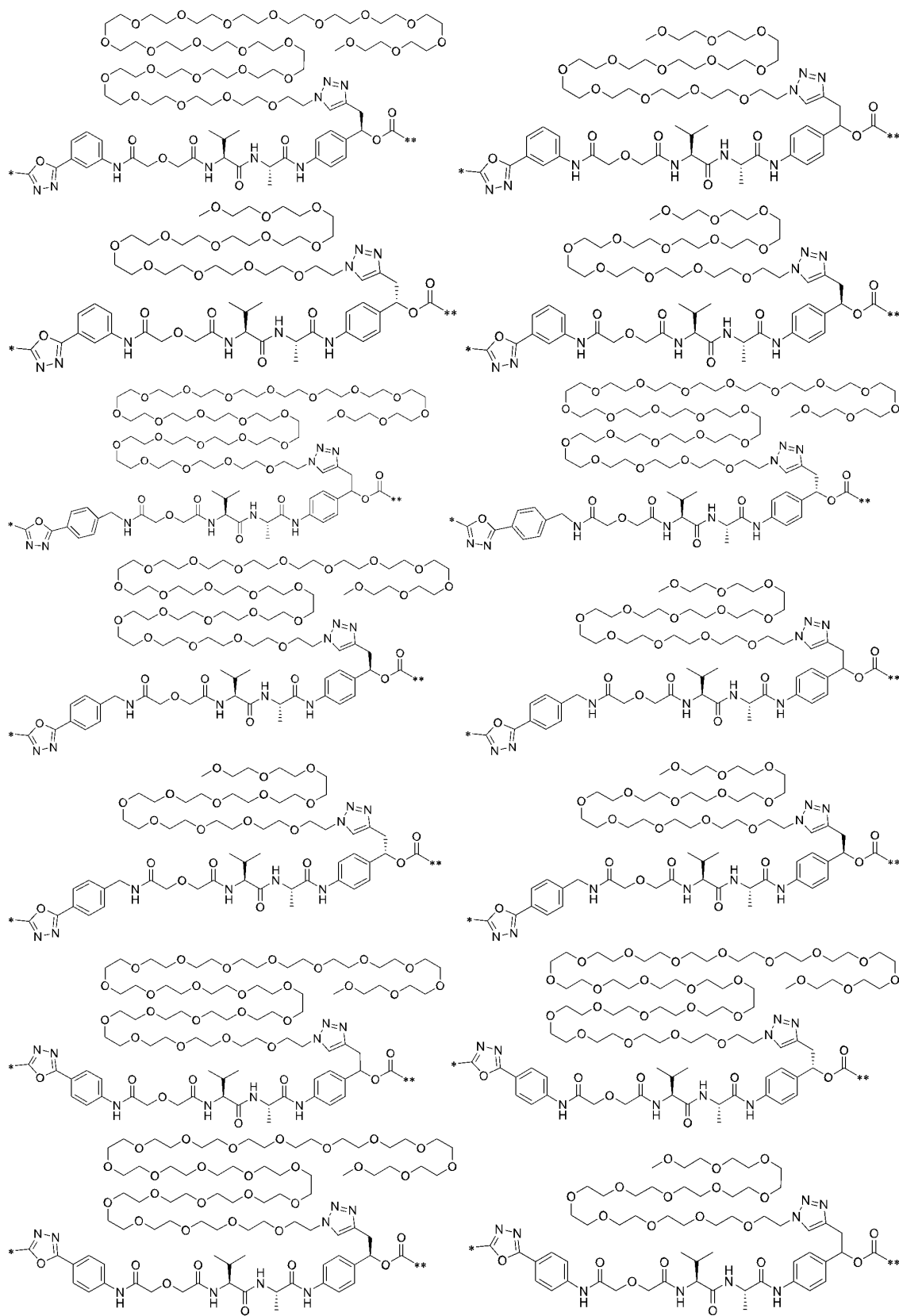


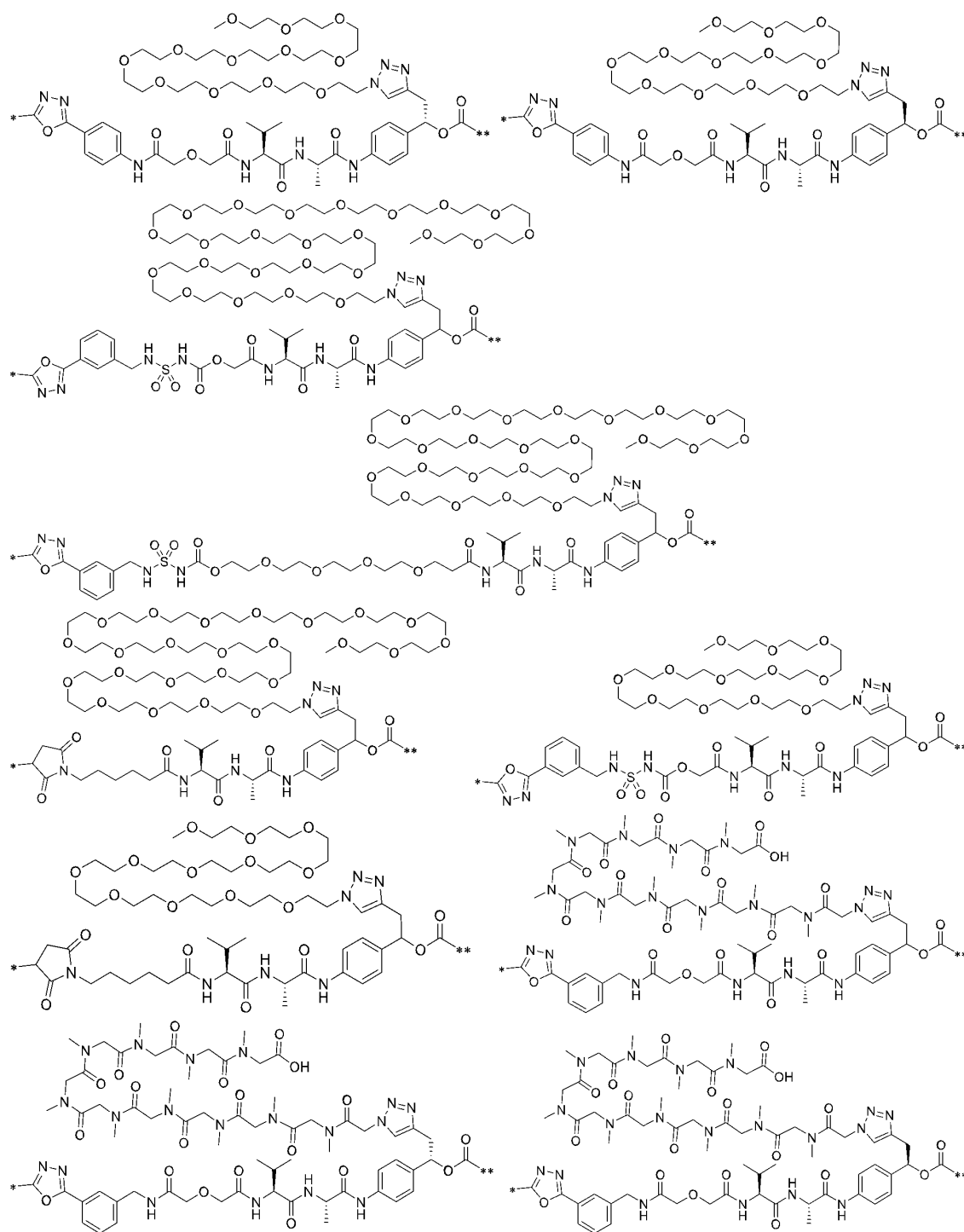


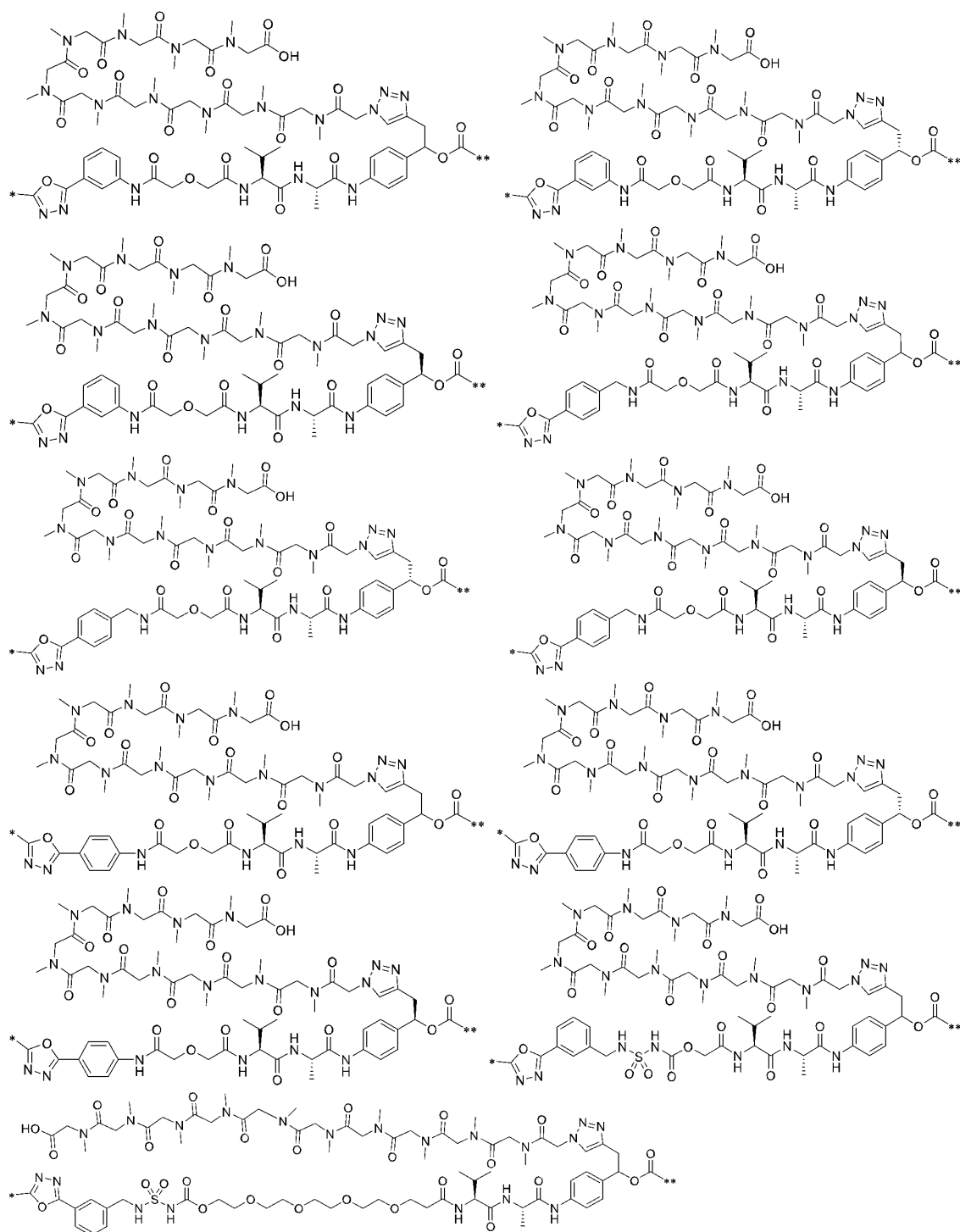
其中，v 和 w 各自独立地选自 1-12 的整数（如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12），*表示与抗体 A 巯基相连接，**表示与生物活性分子 D 氨基相连接；r、s、t、u 各自独立的选自 1-50 的整数（如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50）。

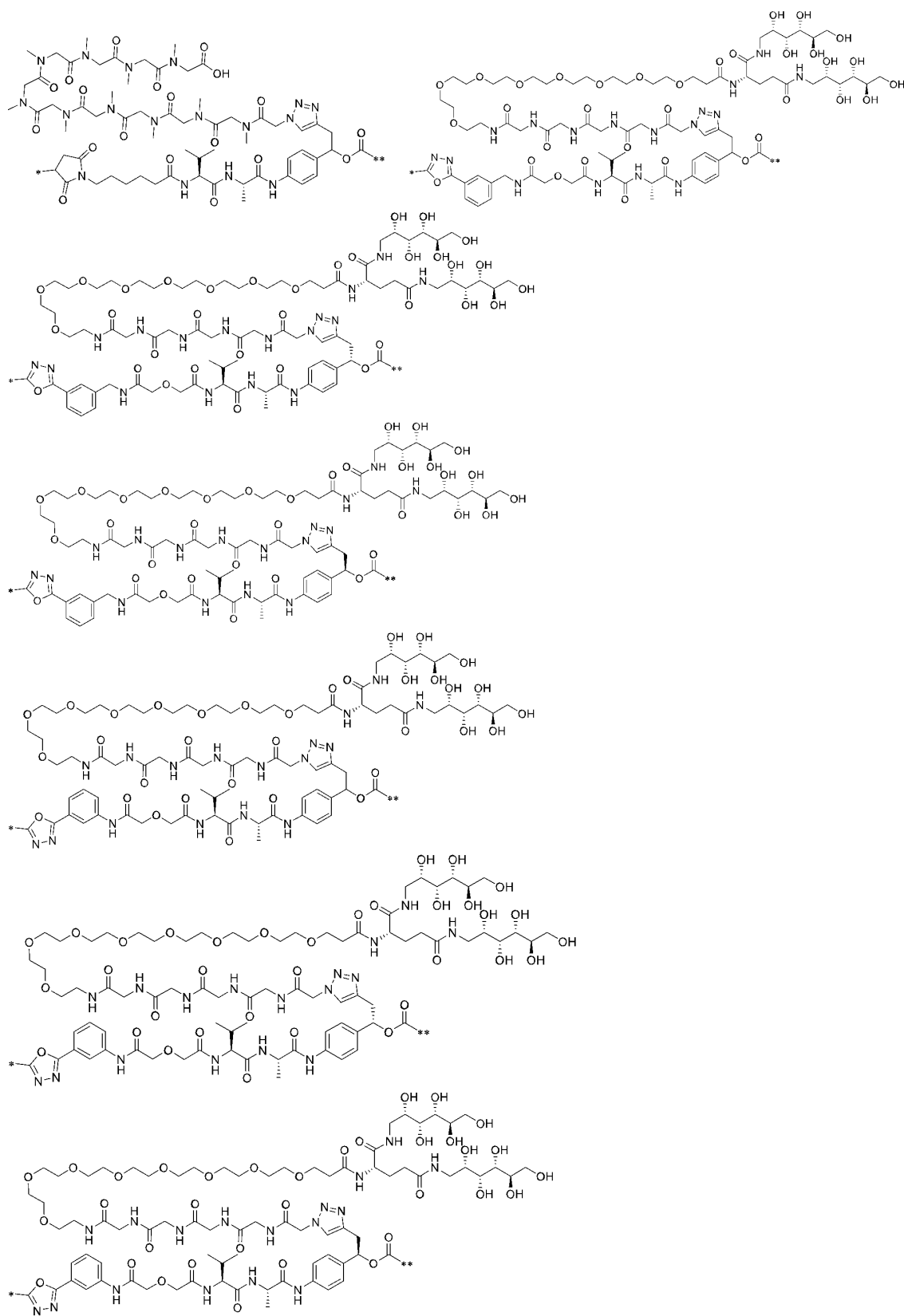
在一些实施方案中，L 选自下述结构：

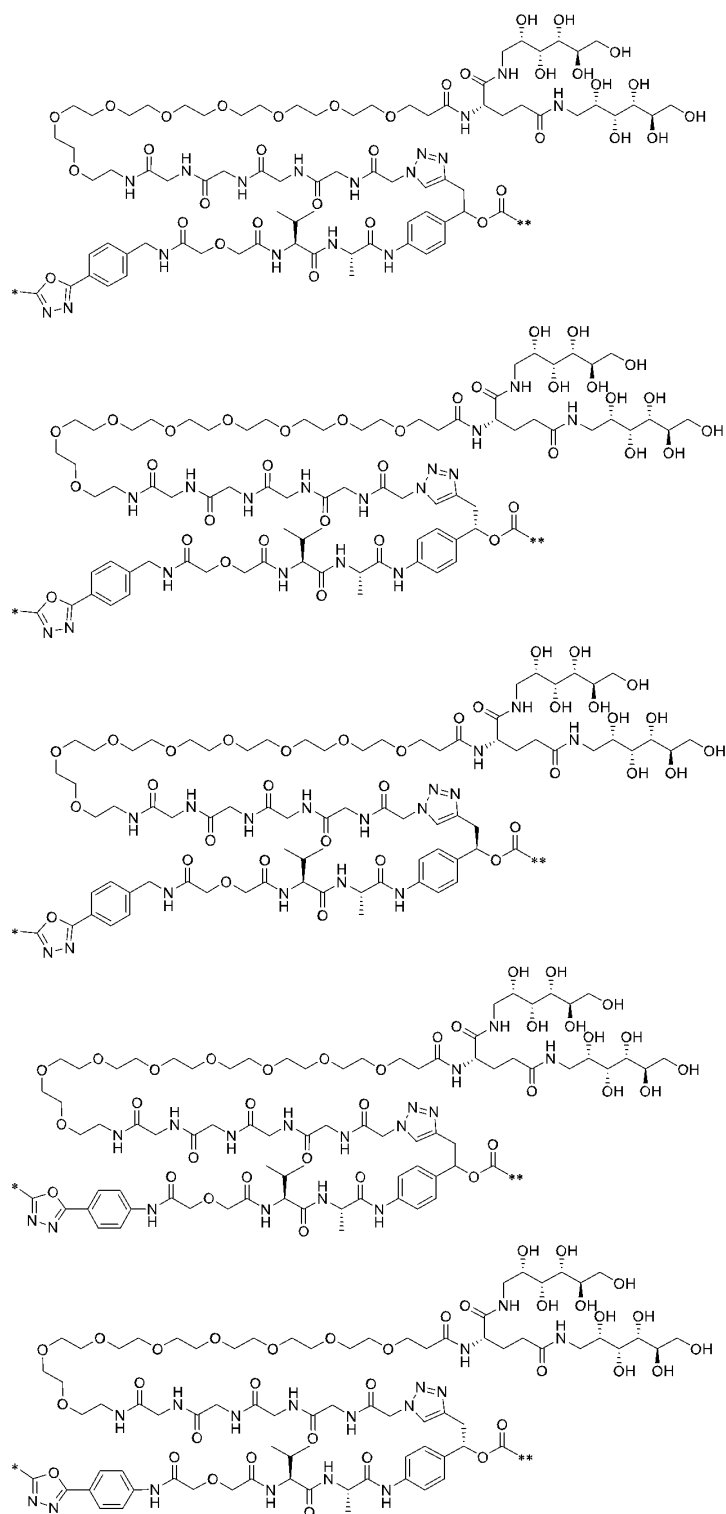


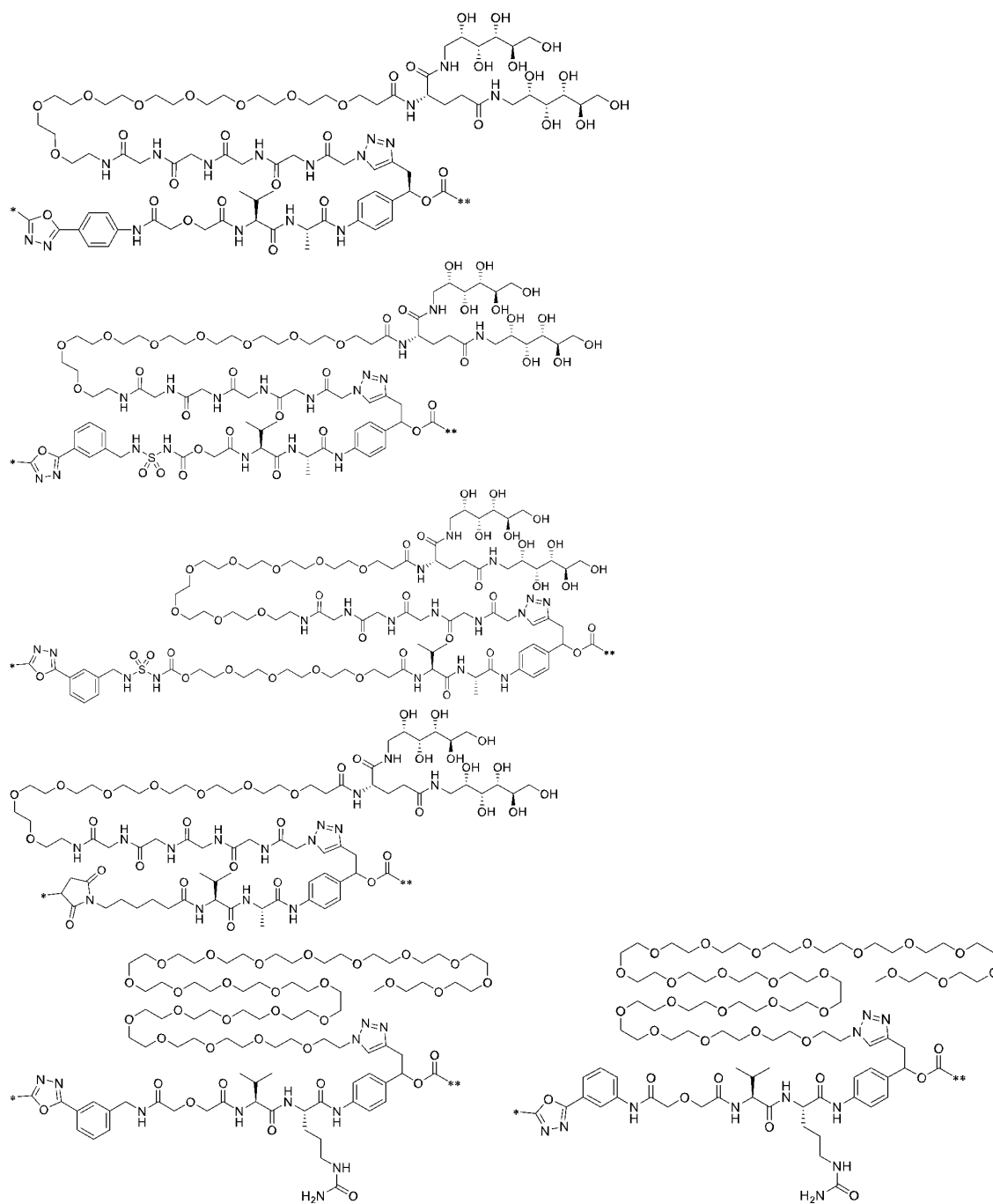


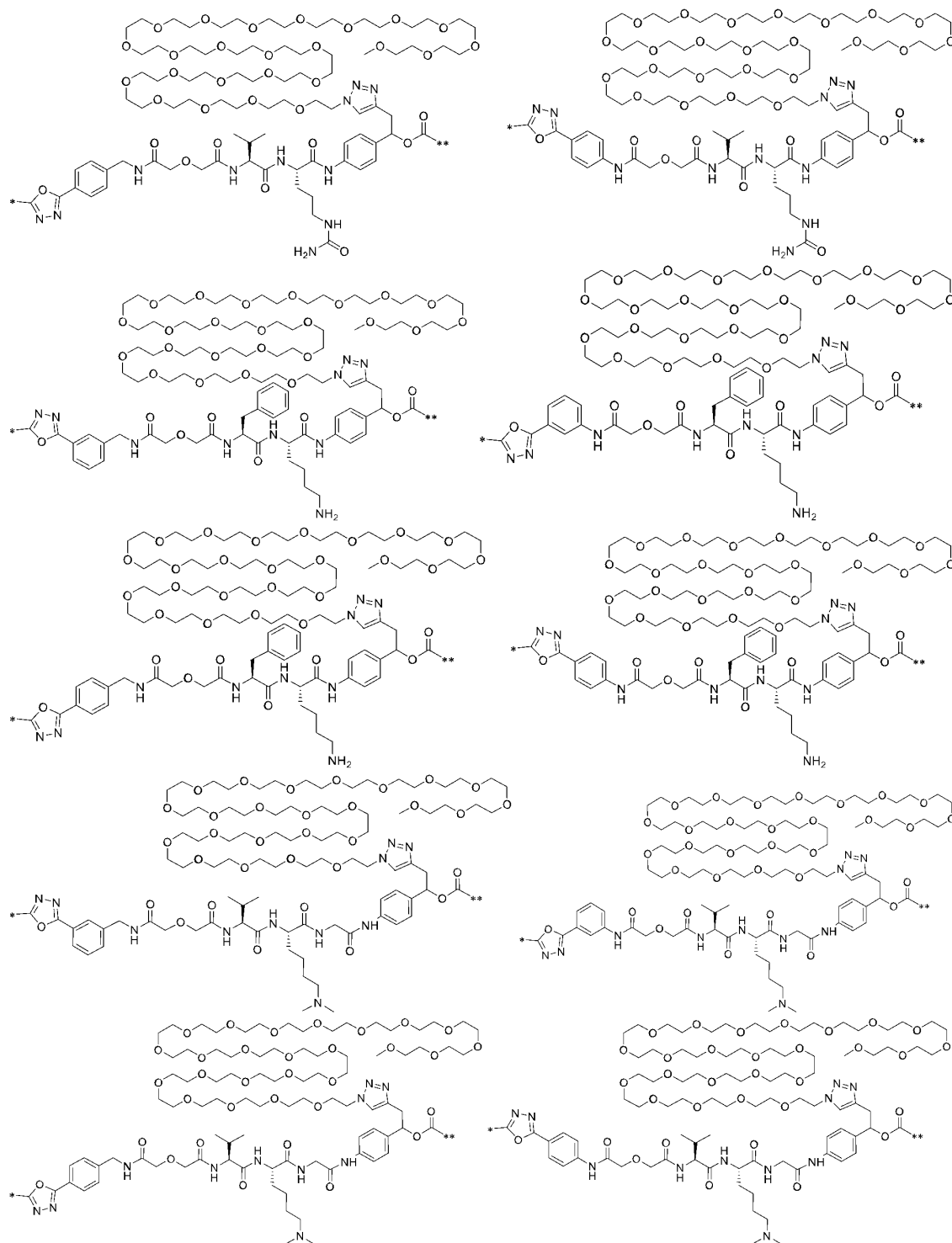




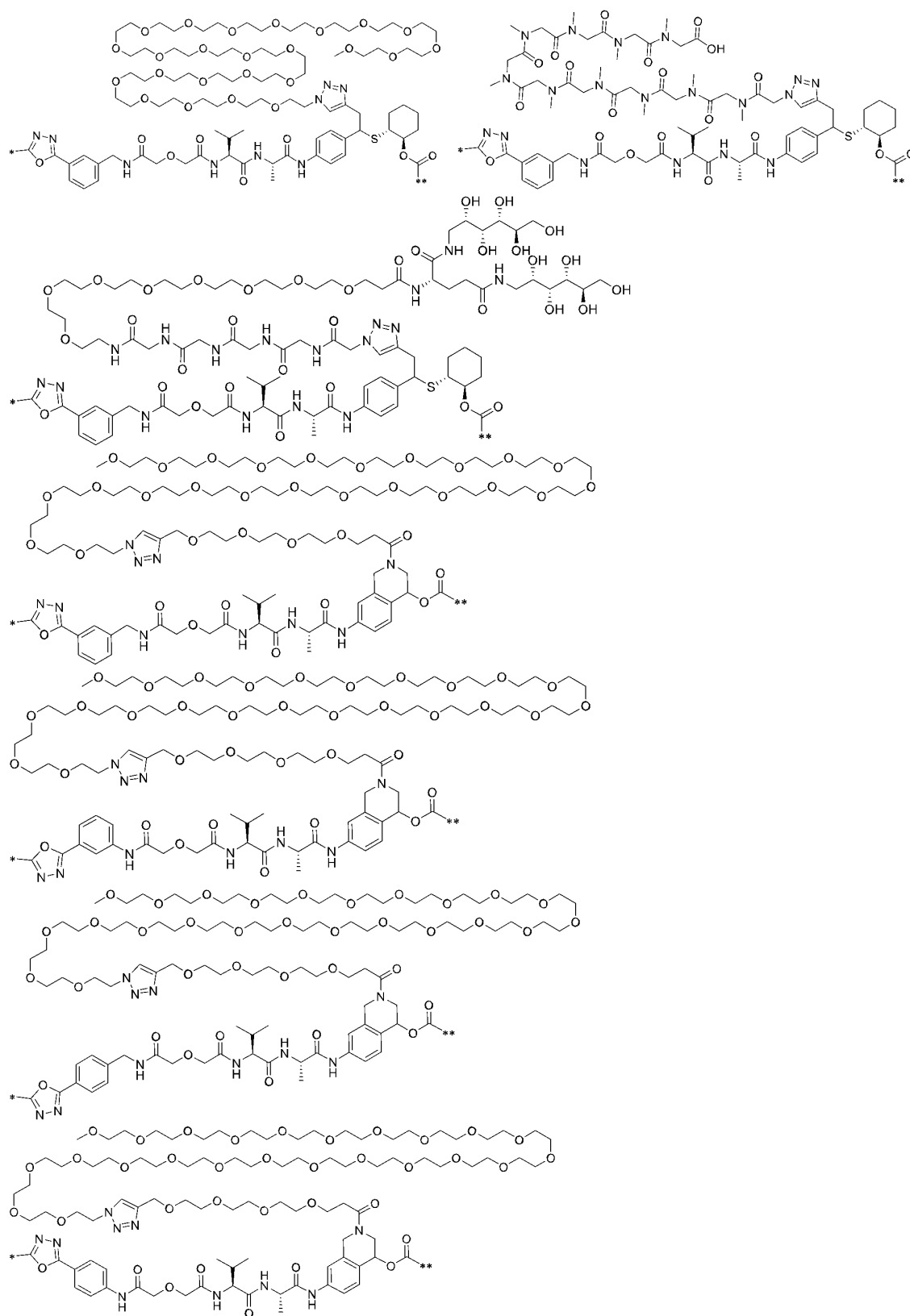


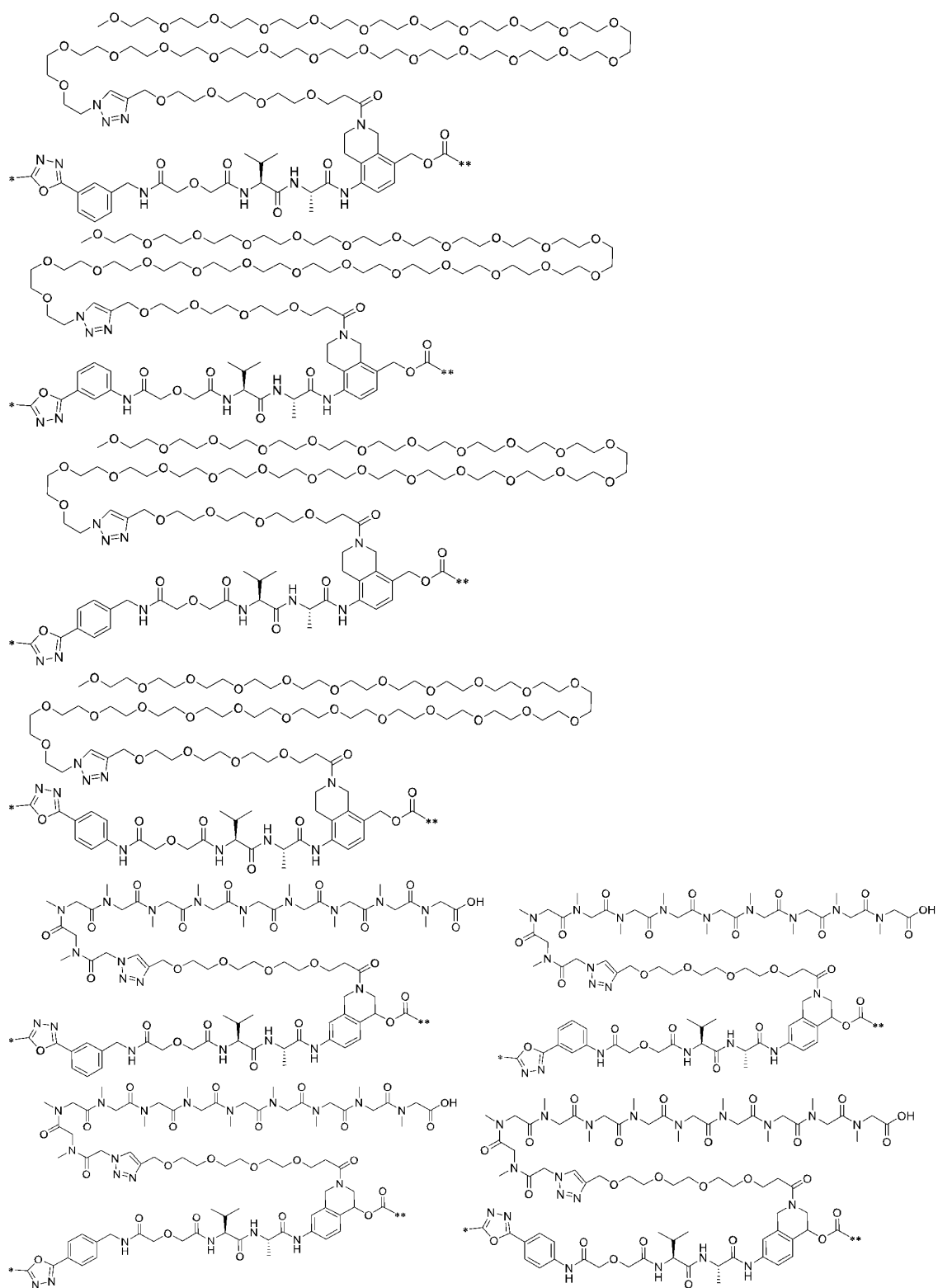


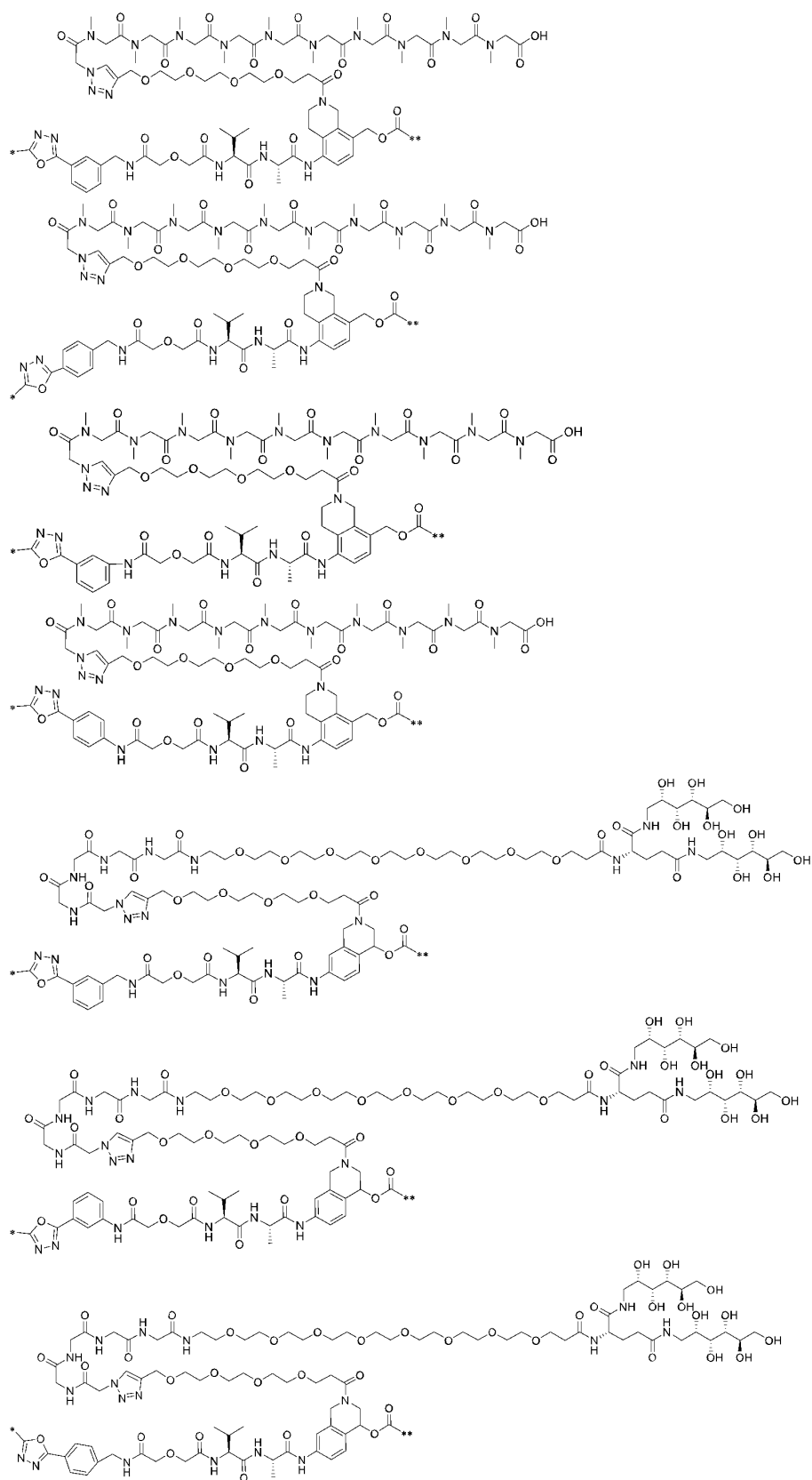


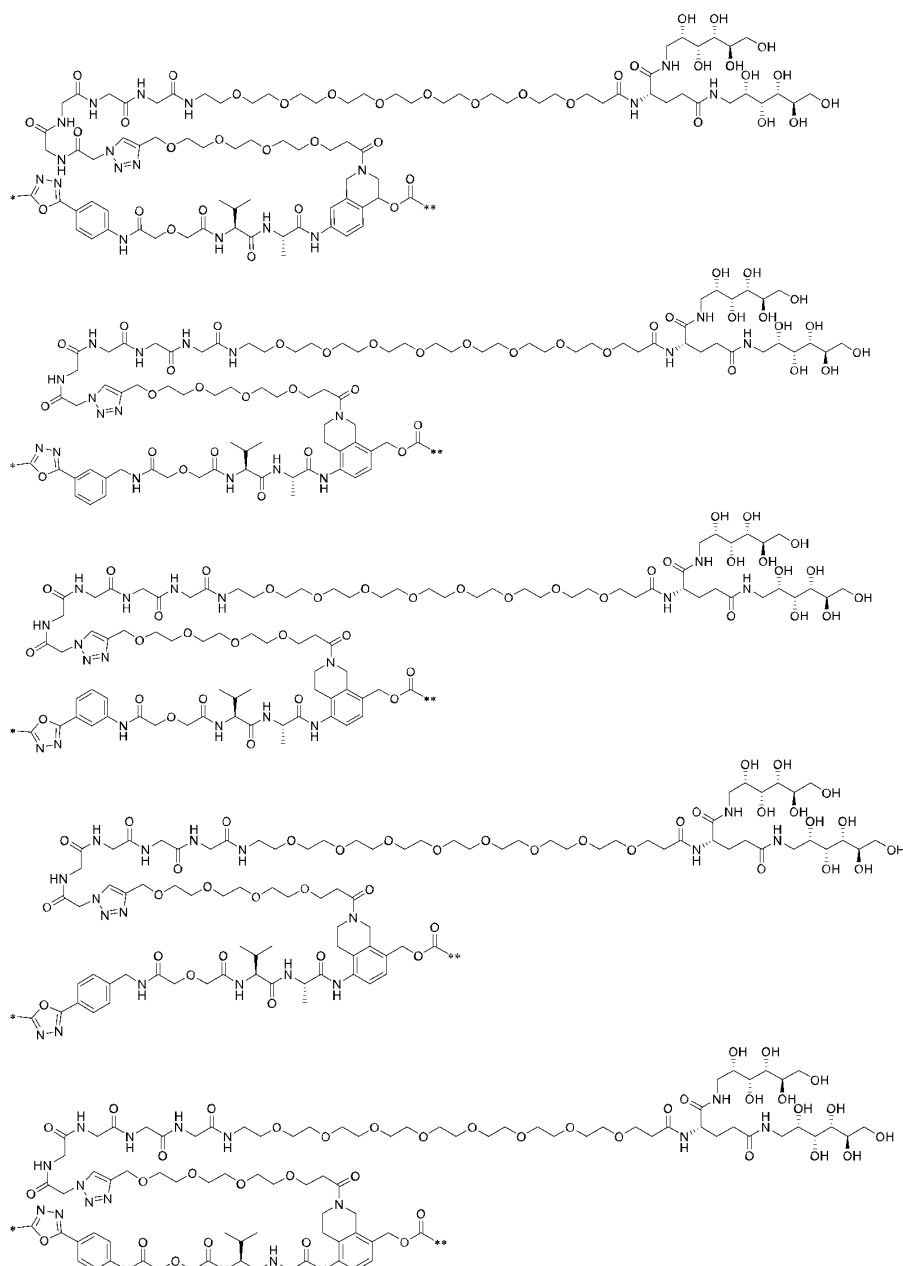








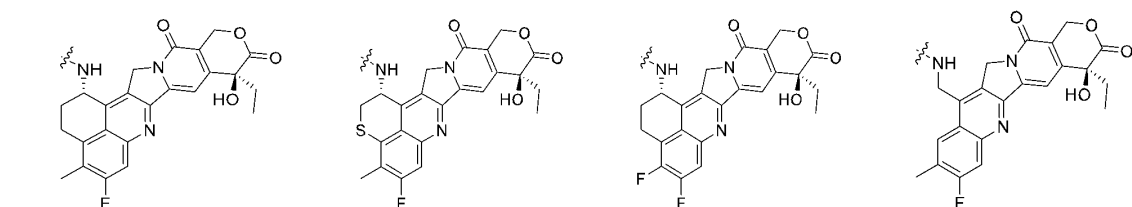


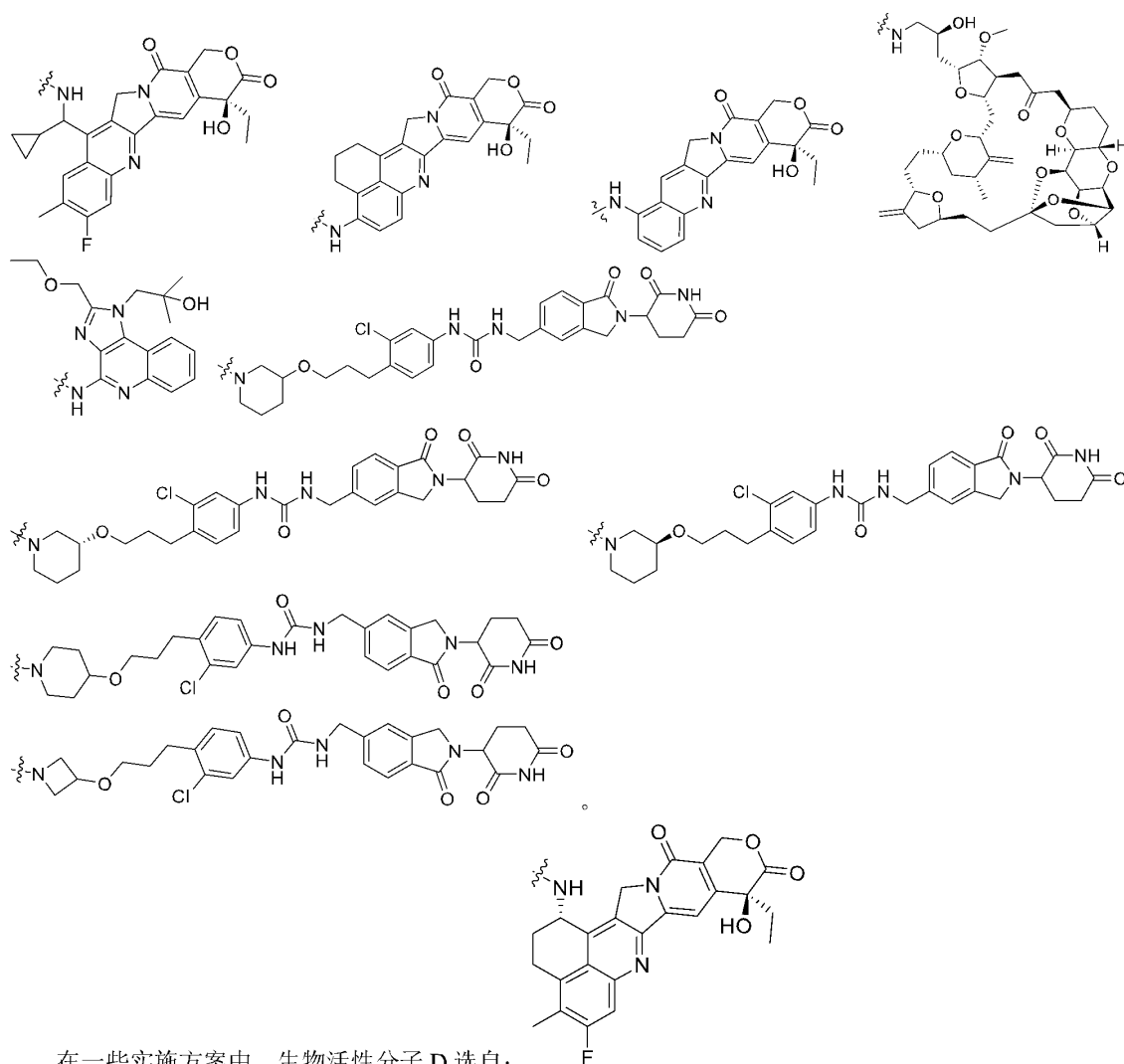


其中*表示与抗体 A 巯基相连接，**表示与生物活性分子 D 氨基相连接。

在一些实施方案中，生物活性分子 D 选自喜树碱衍生物、艾日布林、分子胶类。

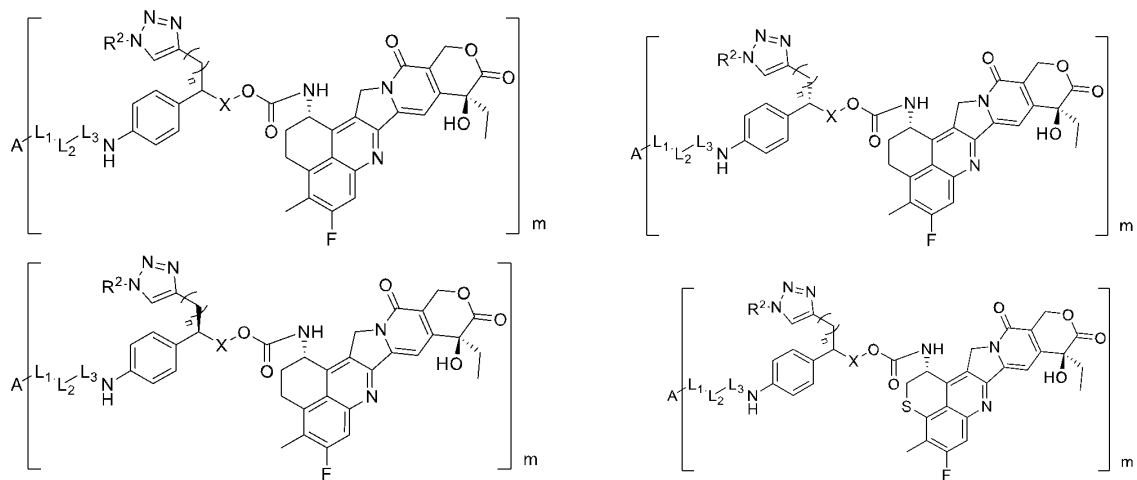
在一些实施方案中，生物活性分子 D 选自下式的化合物：

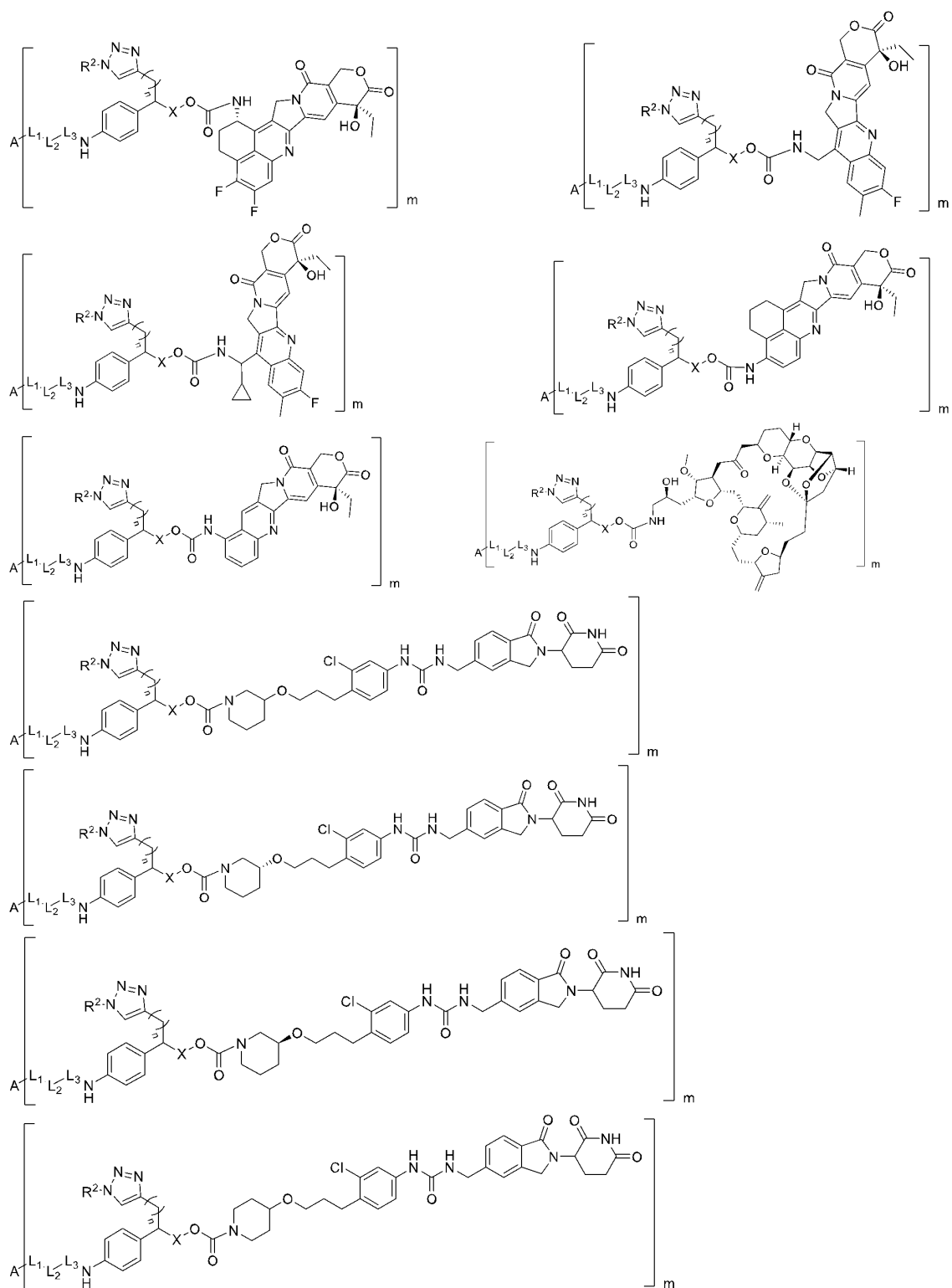


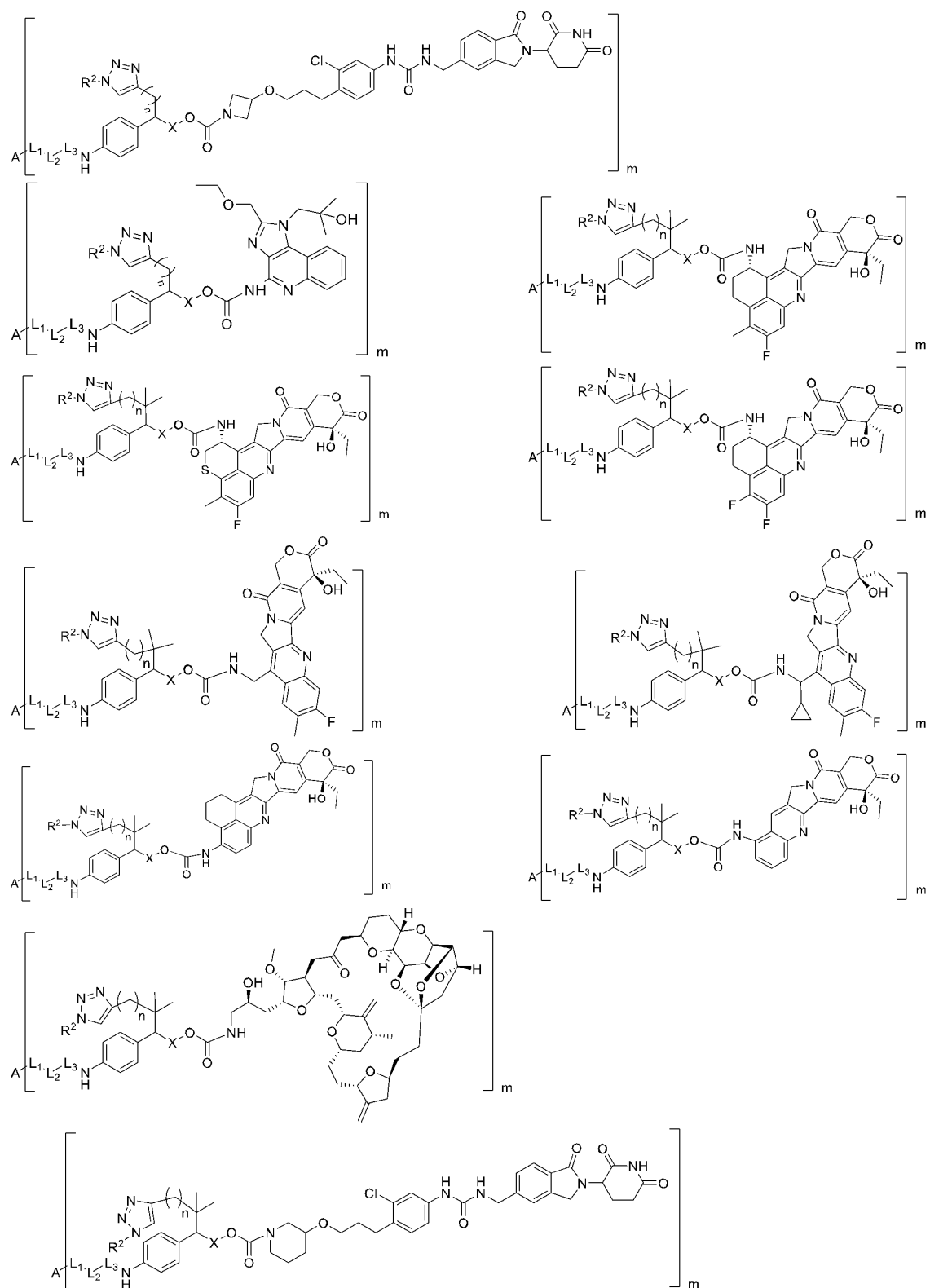


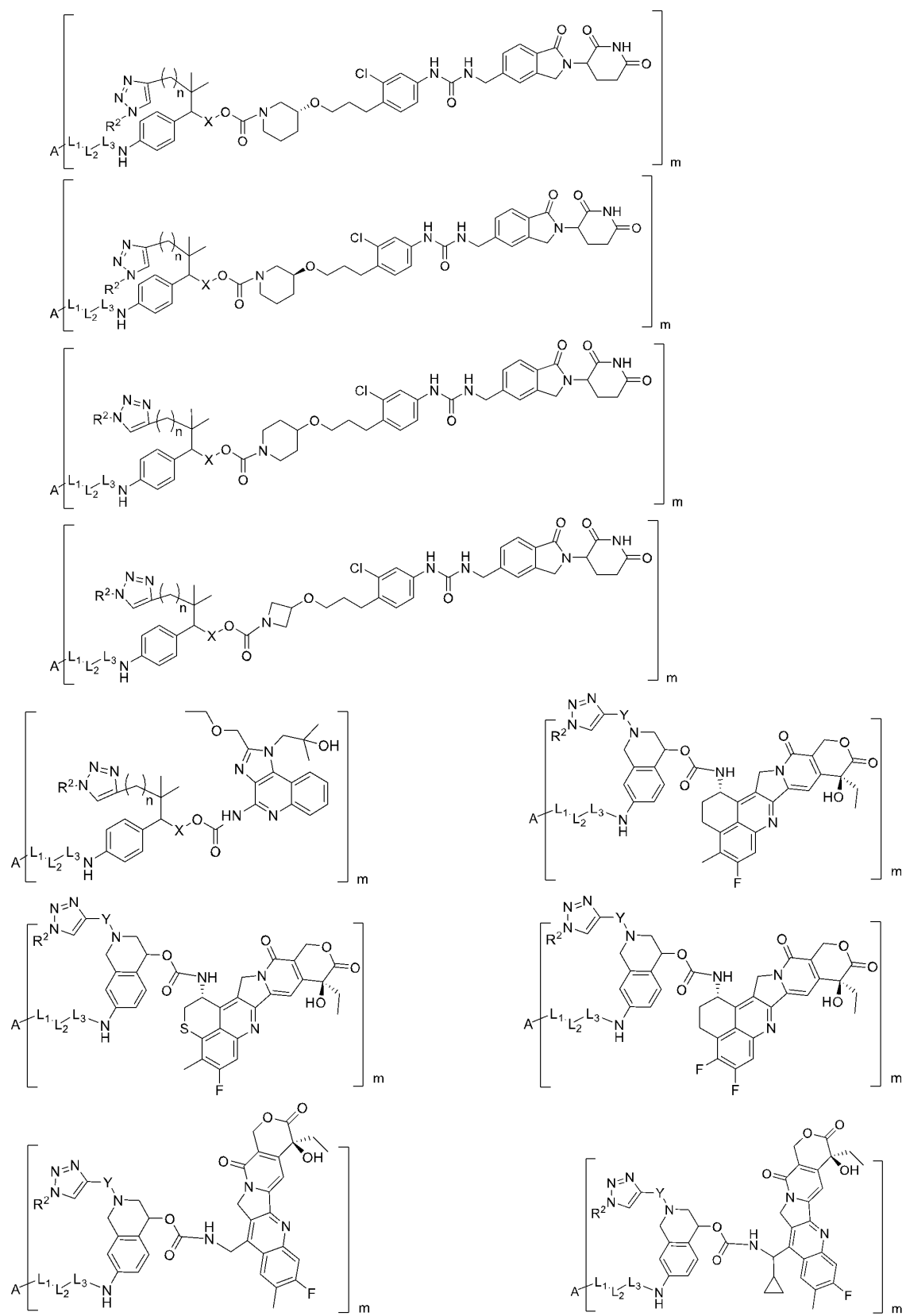
在一些实施方案中，生物活性分子 D 选自：

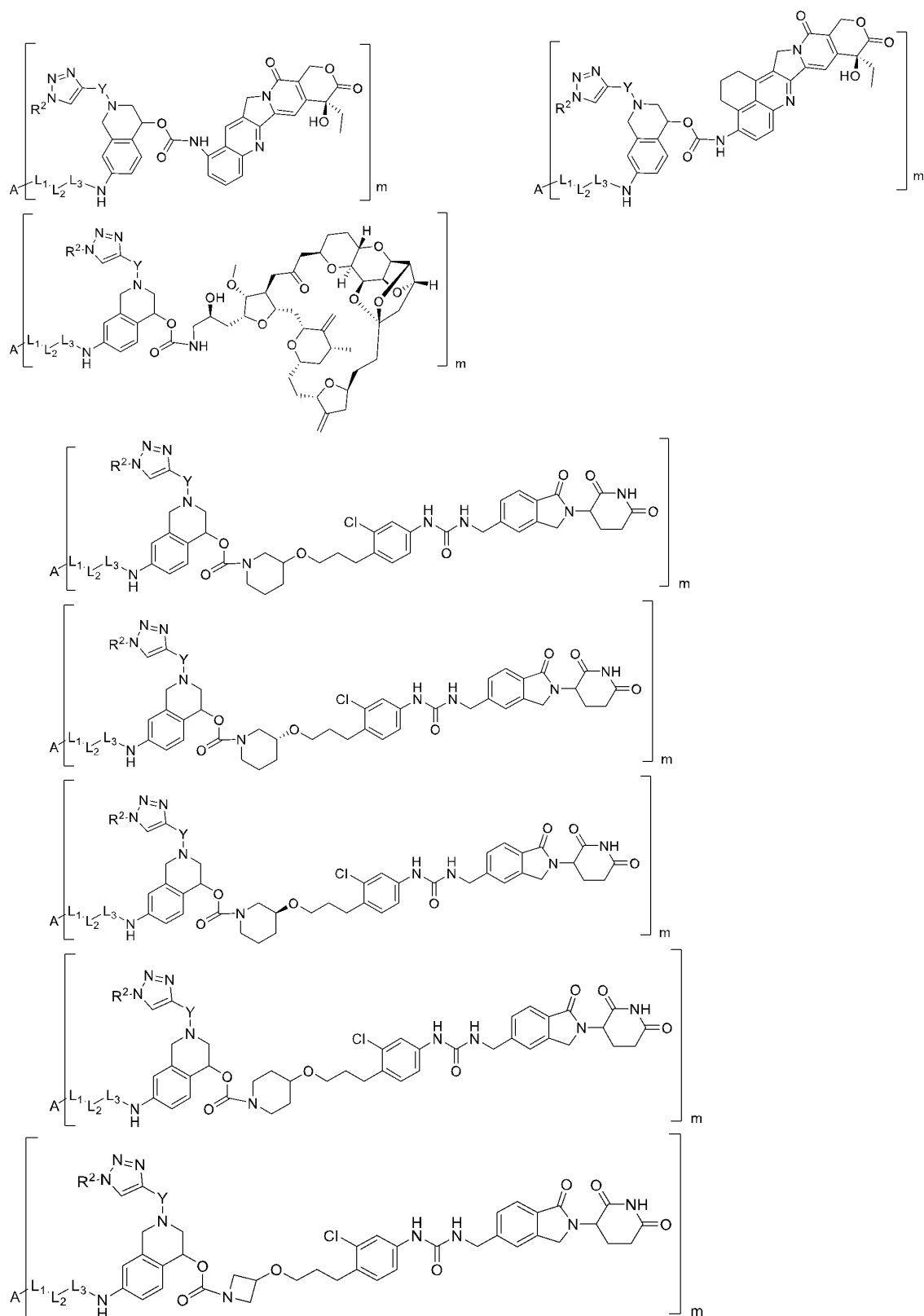
在一些实施方案中，式 I 所示的抗体药物偶联物及其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物选自以下结构：

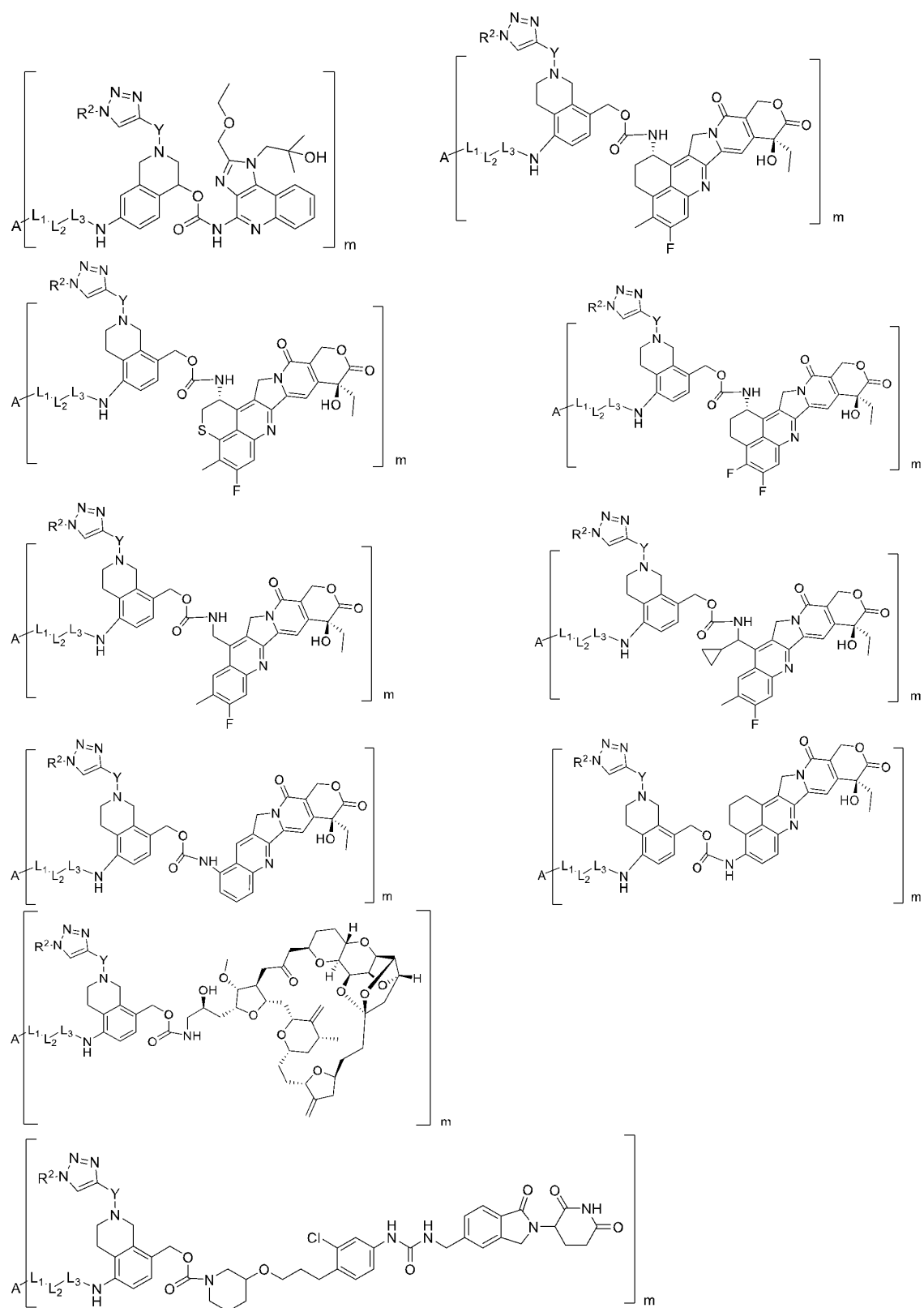




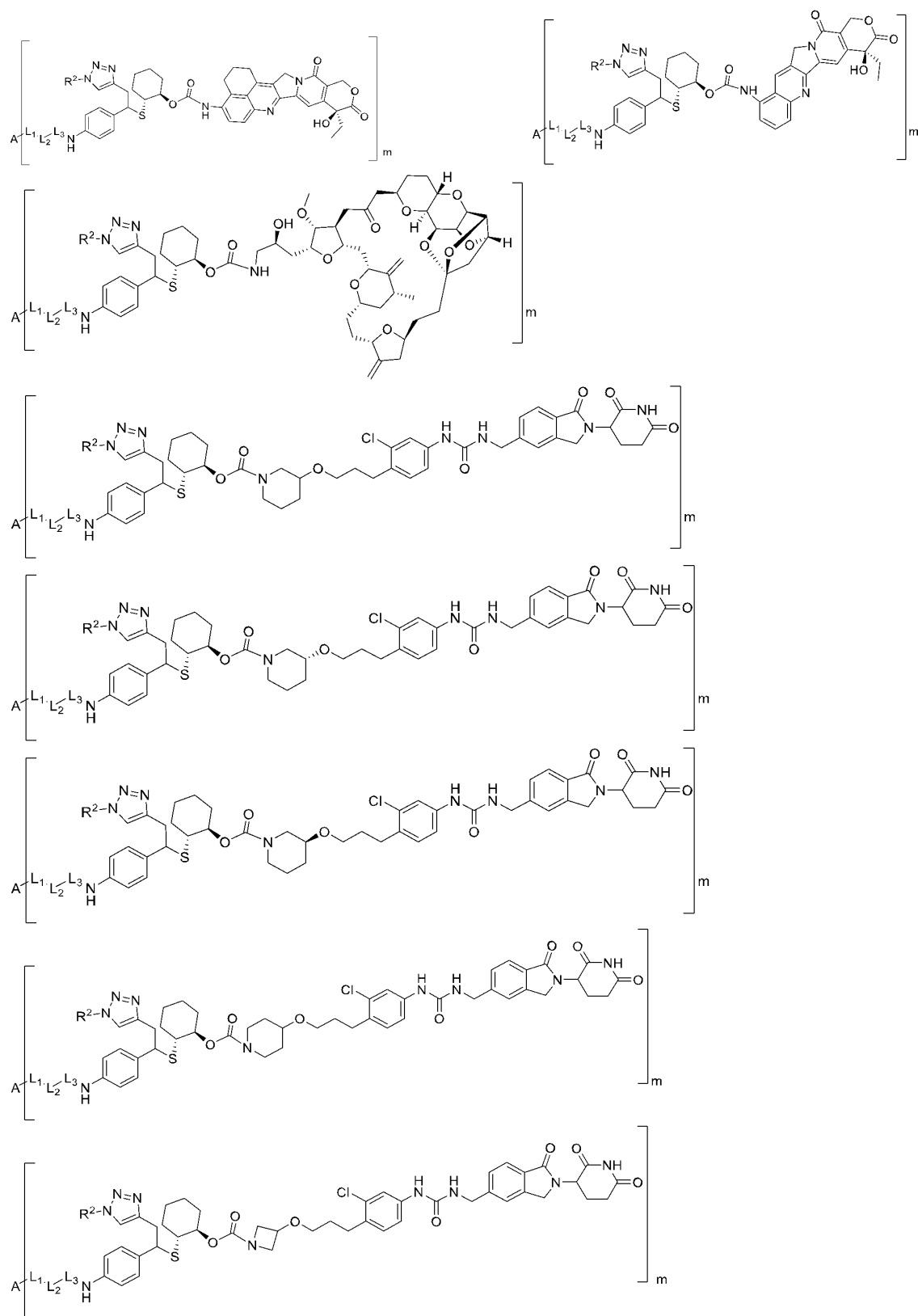


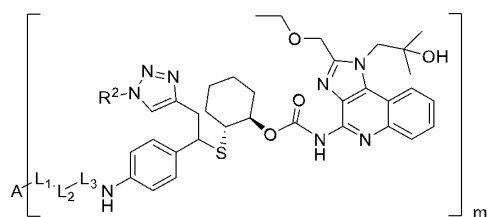




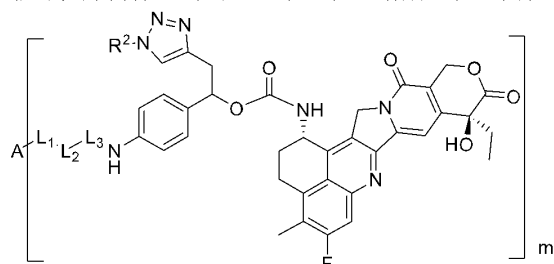




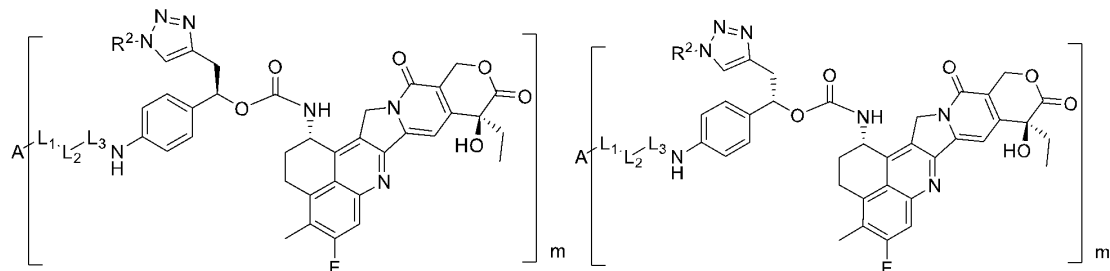




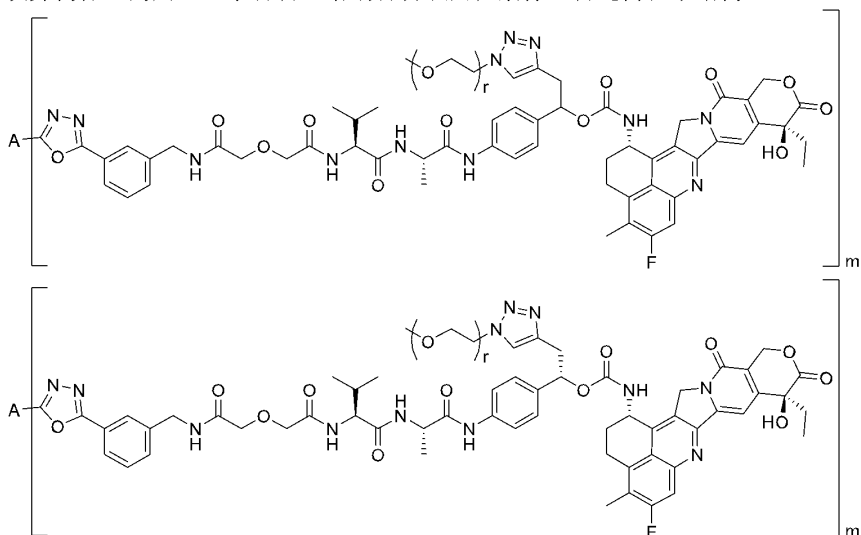
在一些实施方案中, 式 I 所示的抗体药物偶联物及其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物选自以下结构:

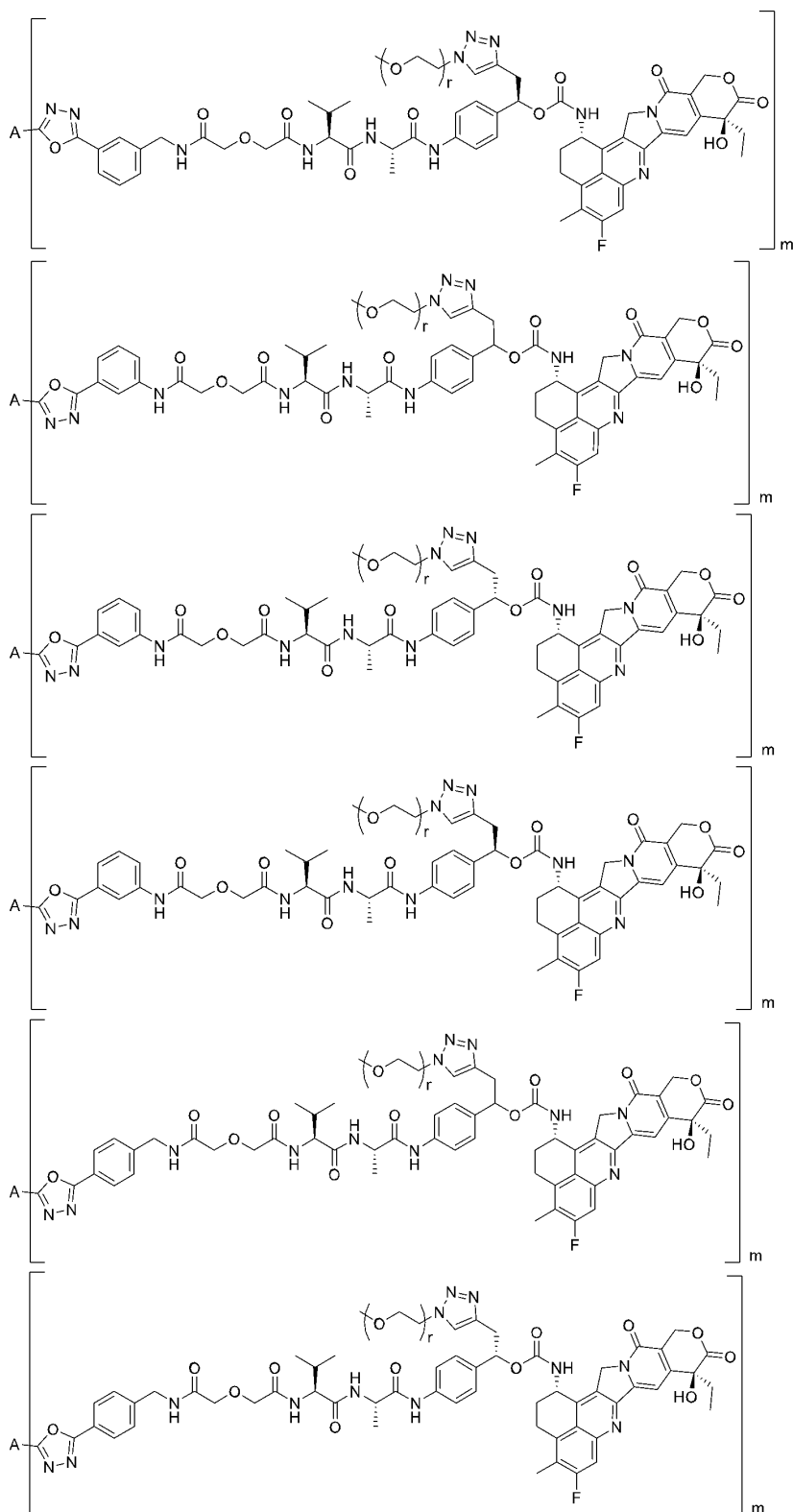


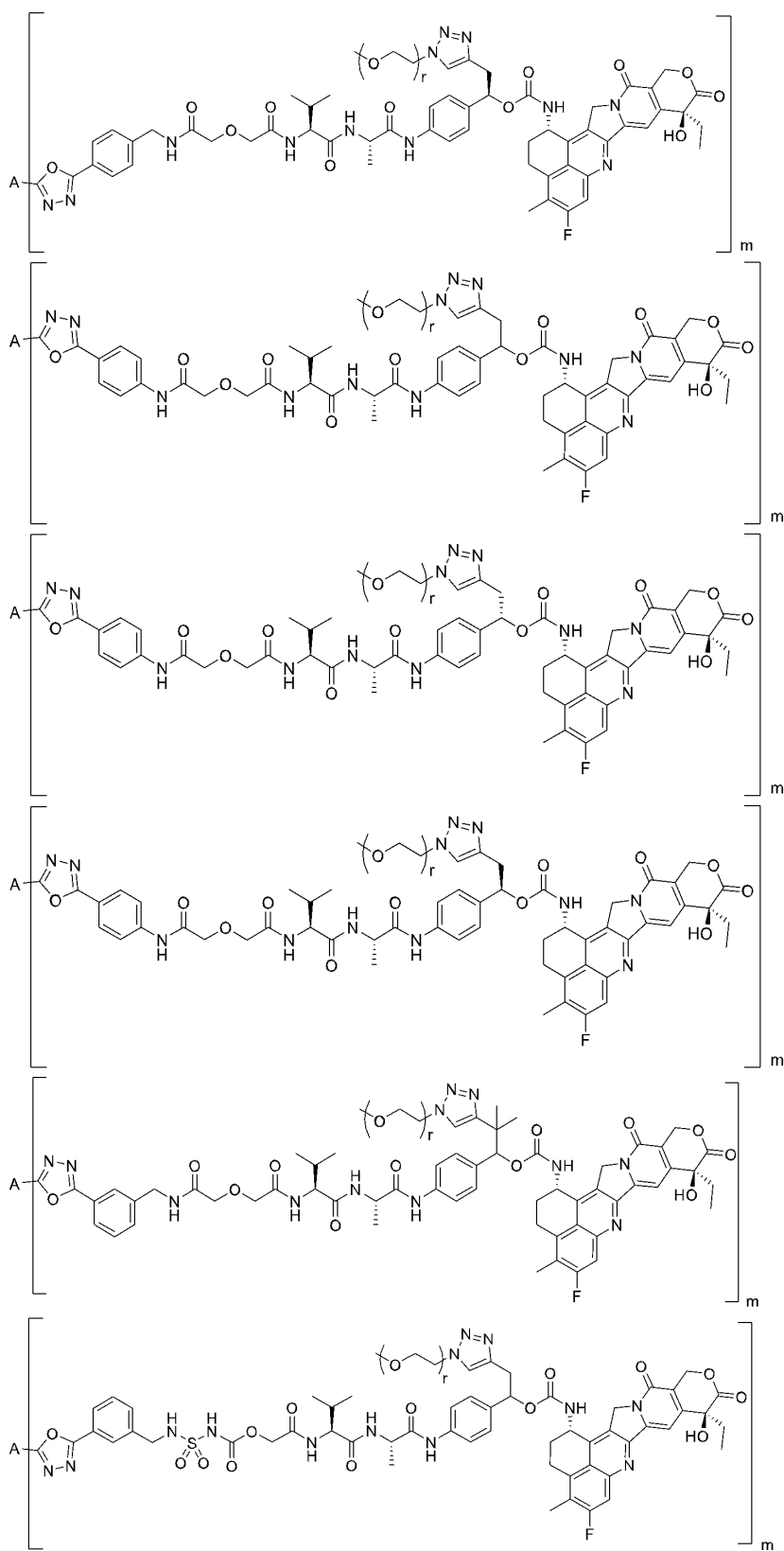
在一些实施方案中, 式 I 所示的抗体药物偶联物及其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物选自以下结构:

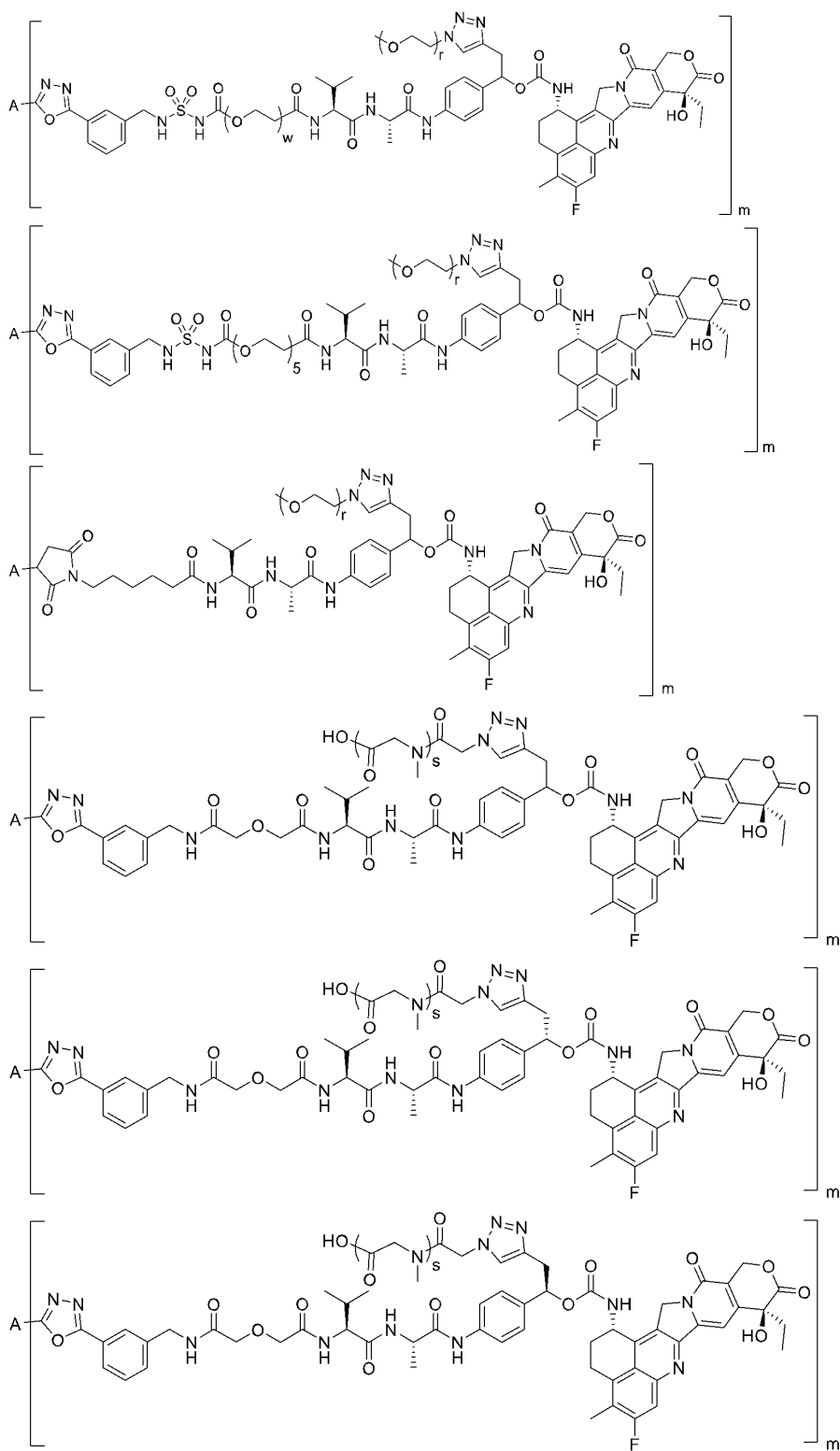


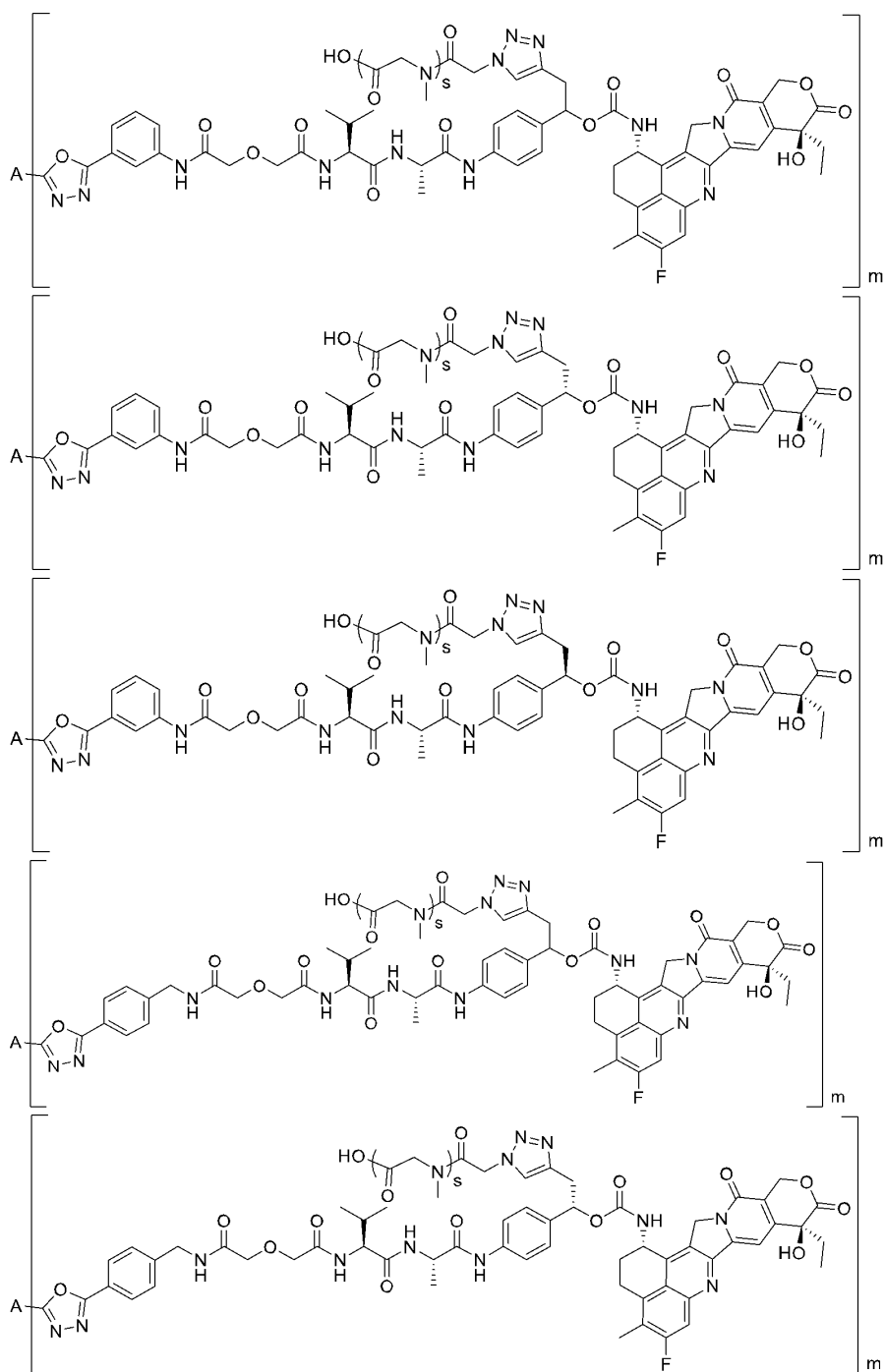
在一些实施方案中, 式 I 所示的抗体药物偶联物及其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物选自以下结构:

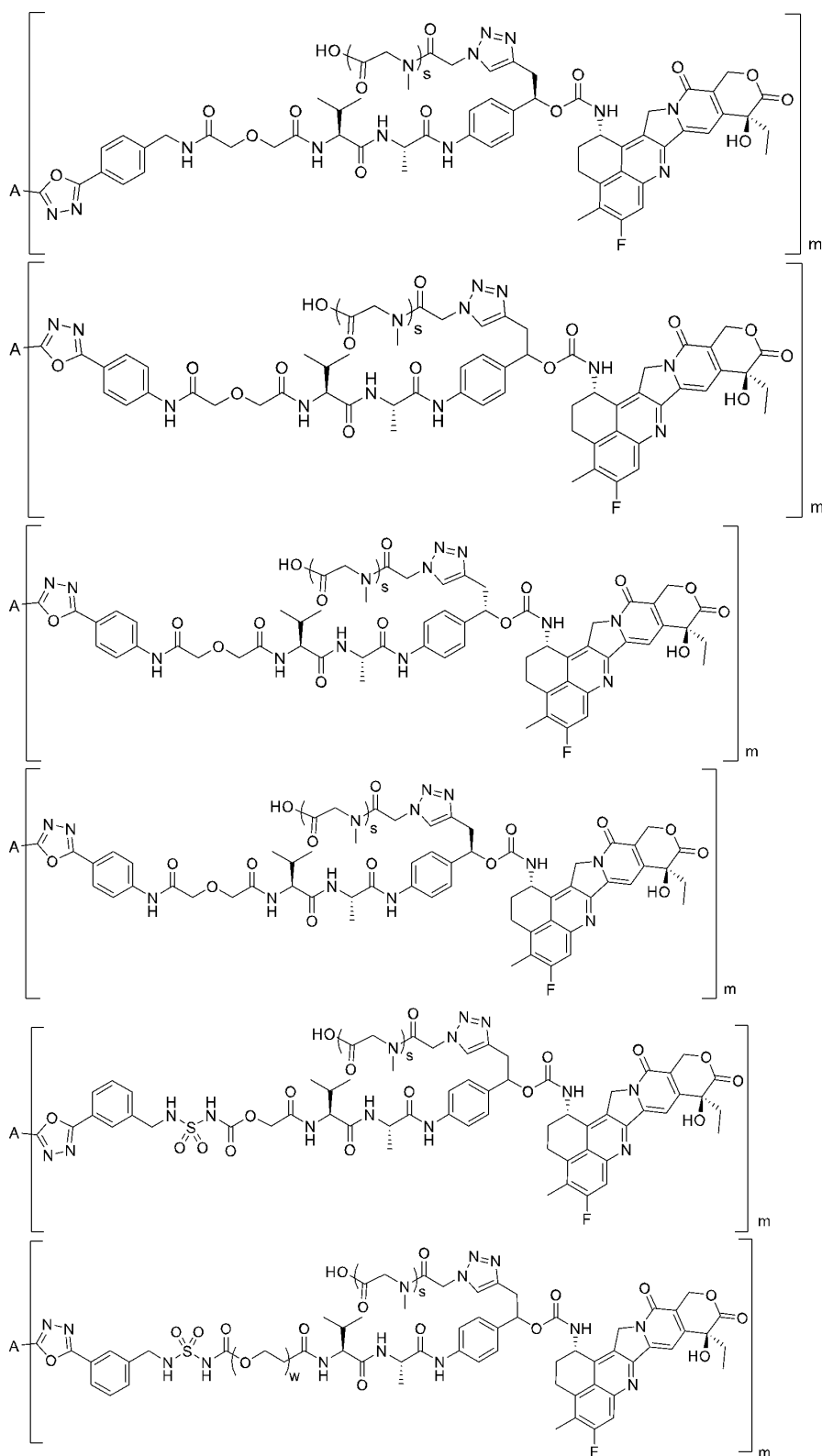


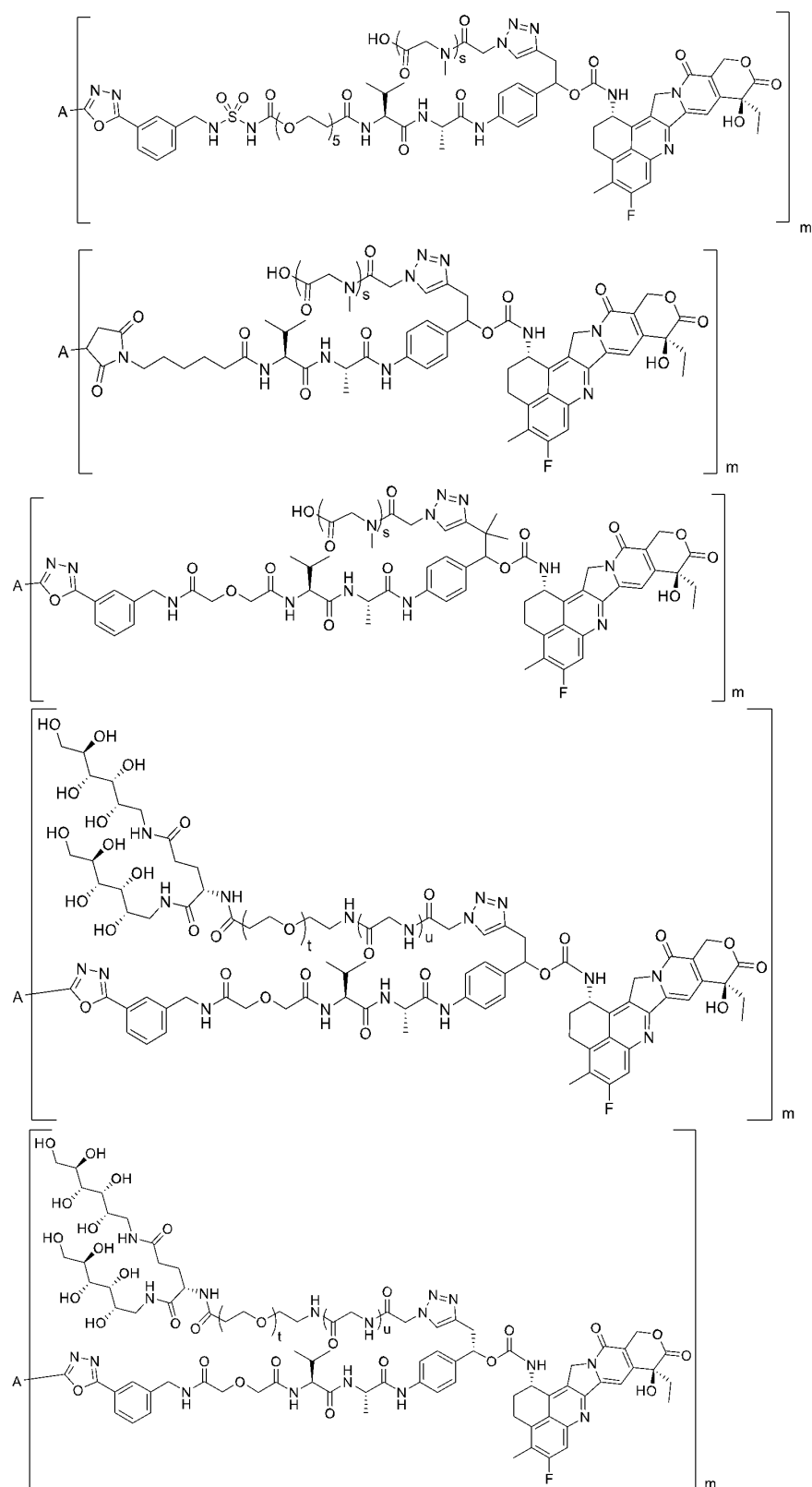


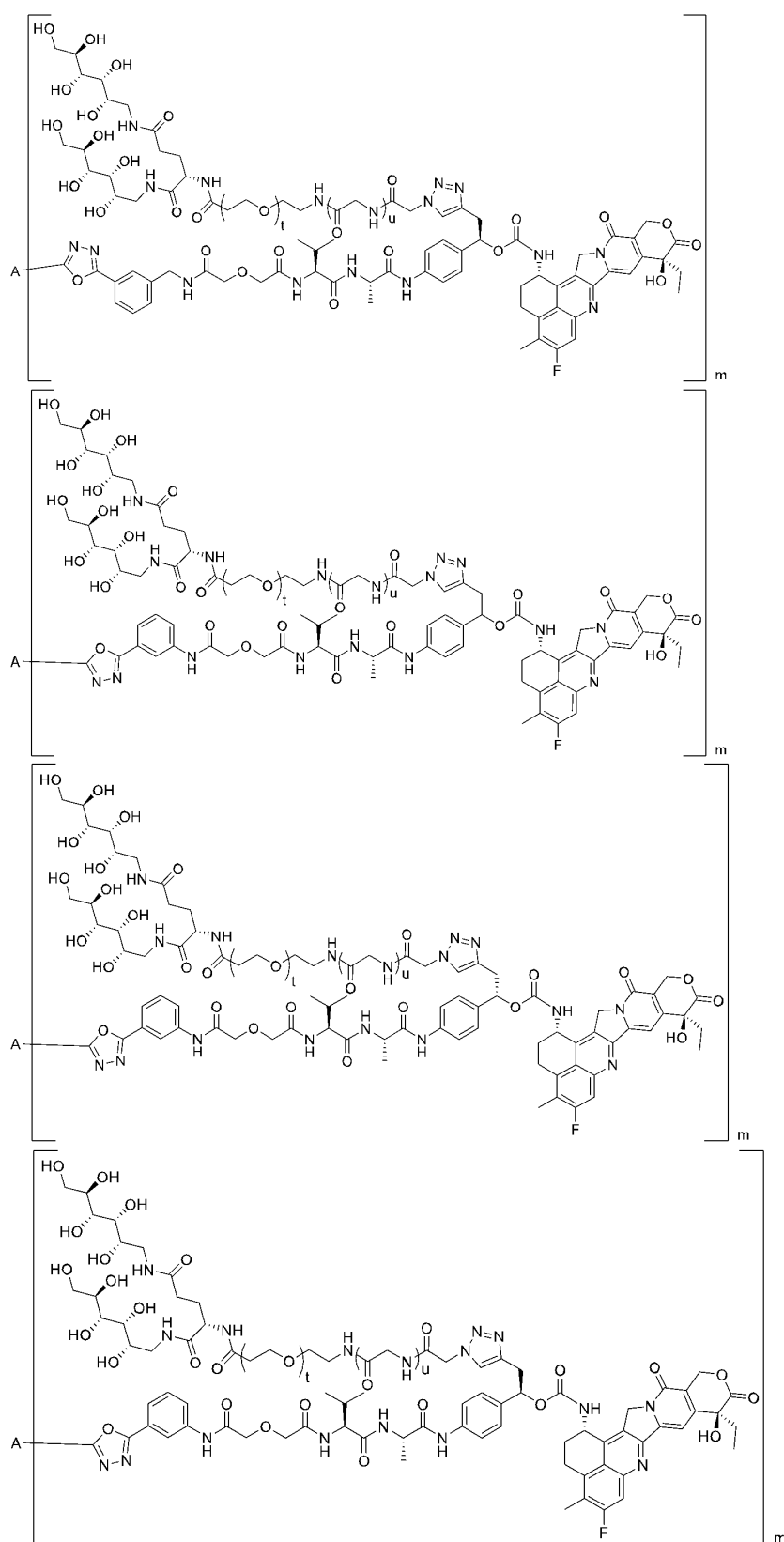


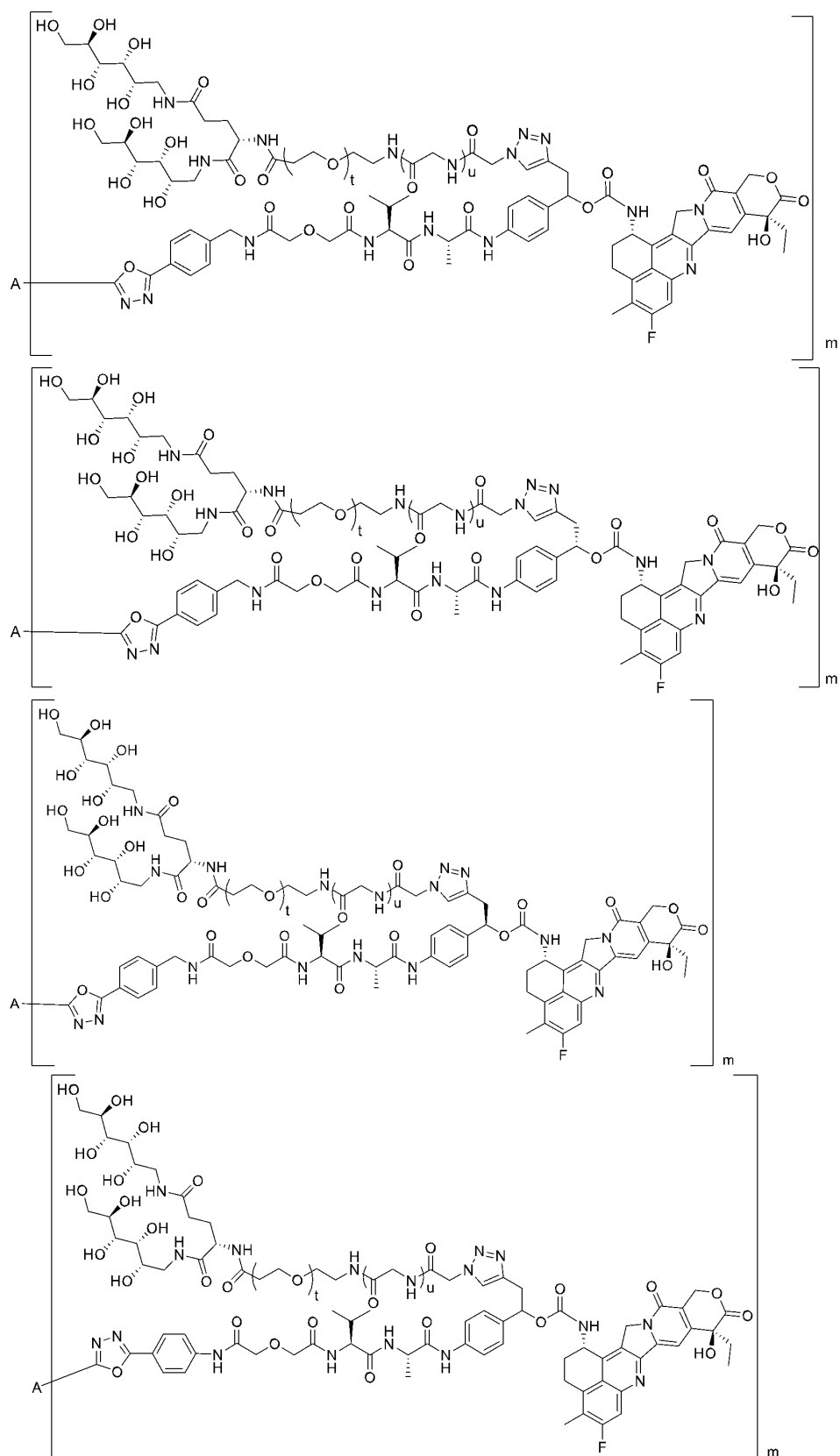


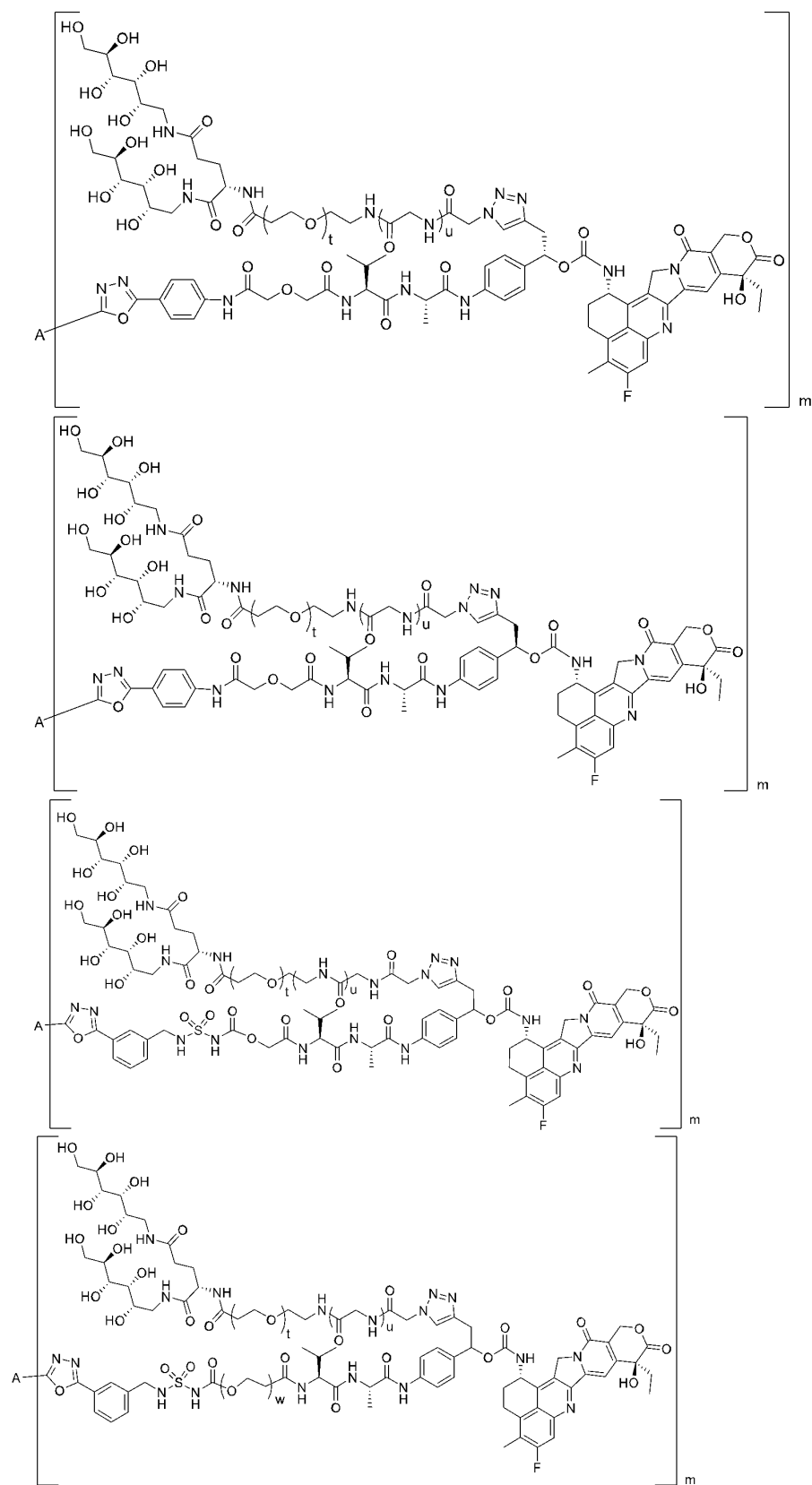


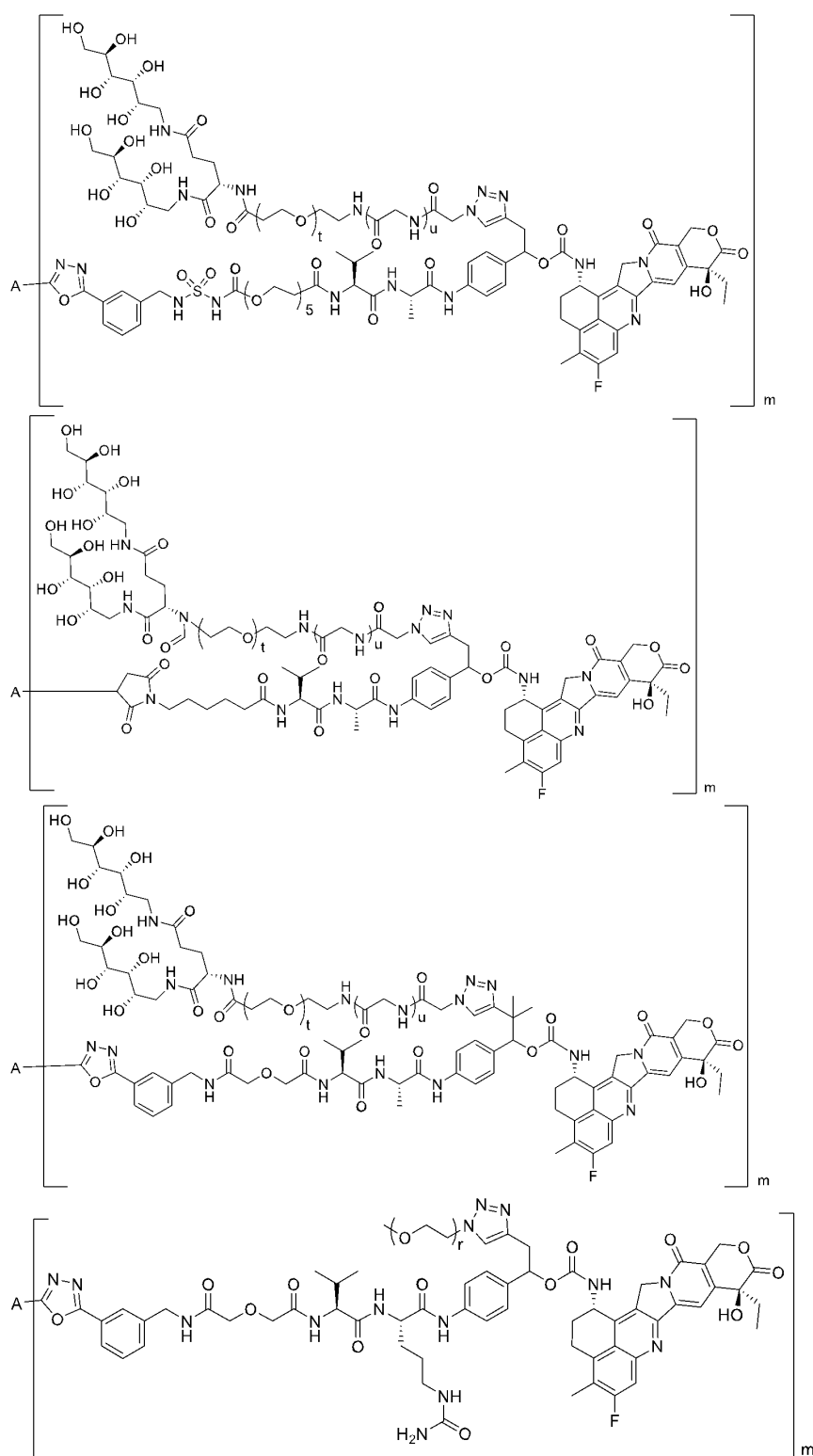


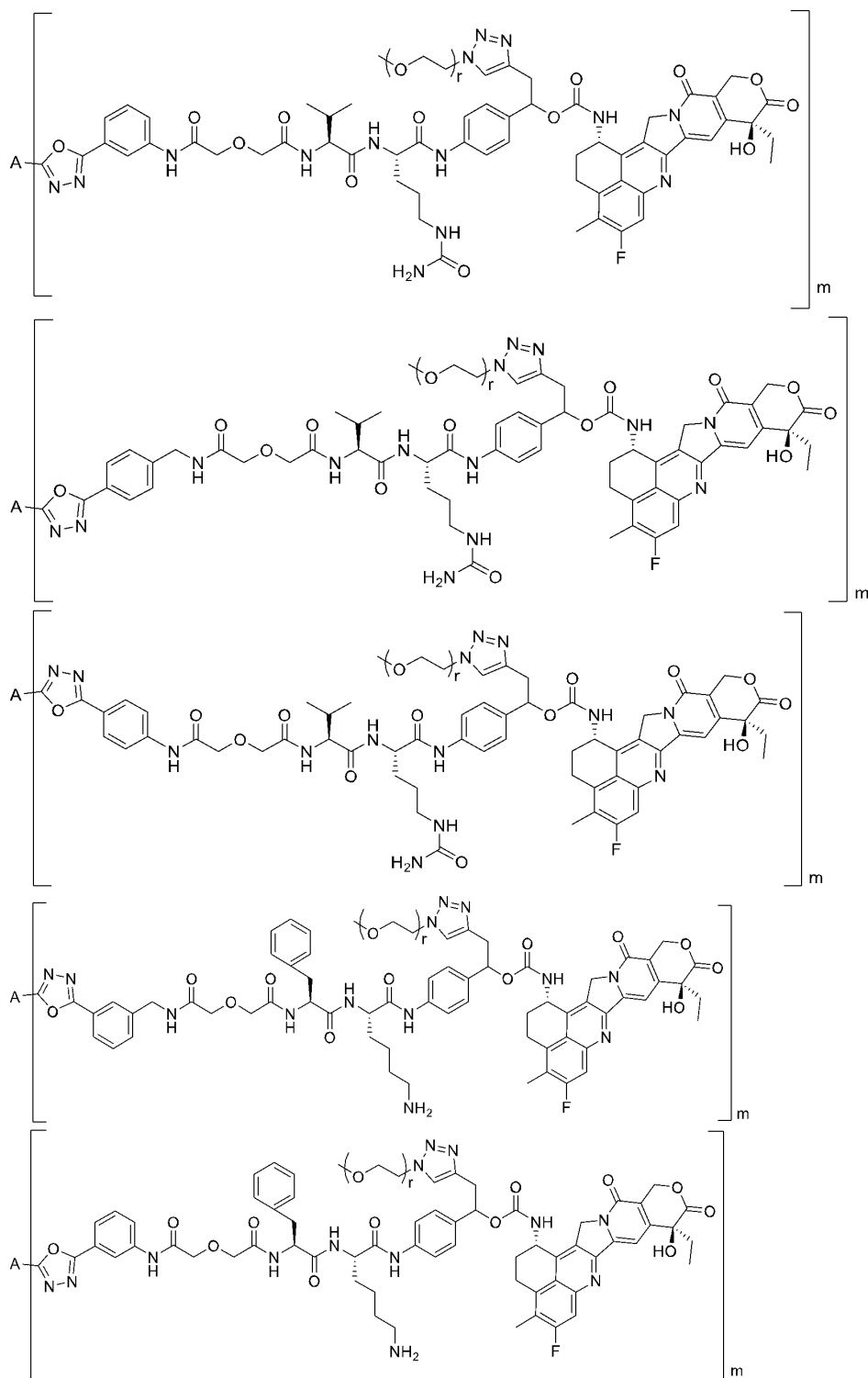


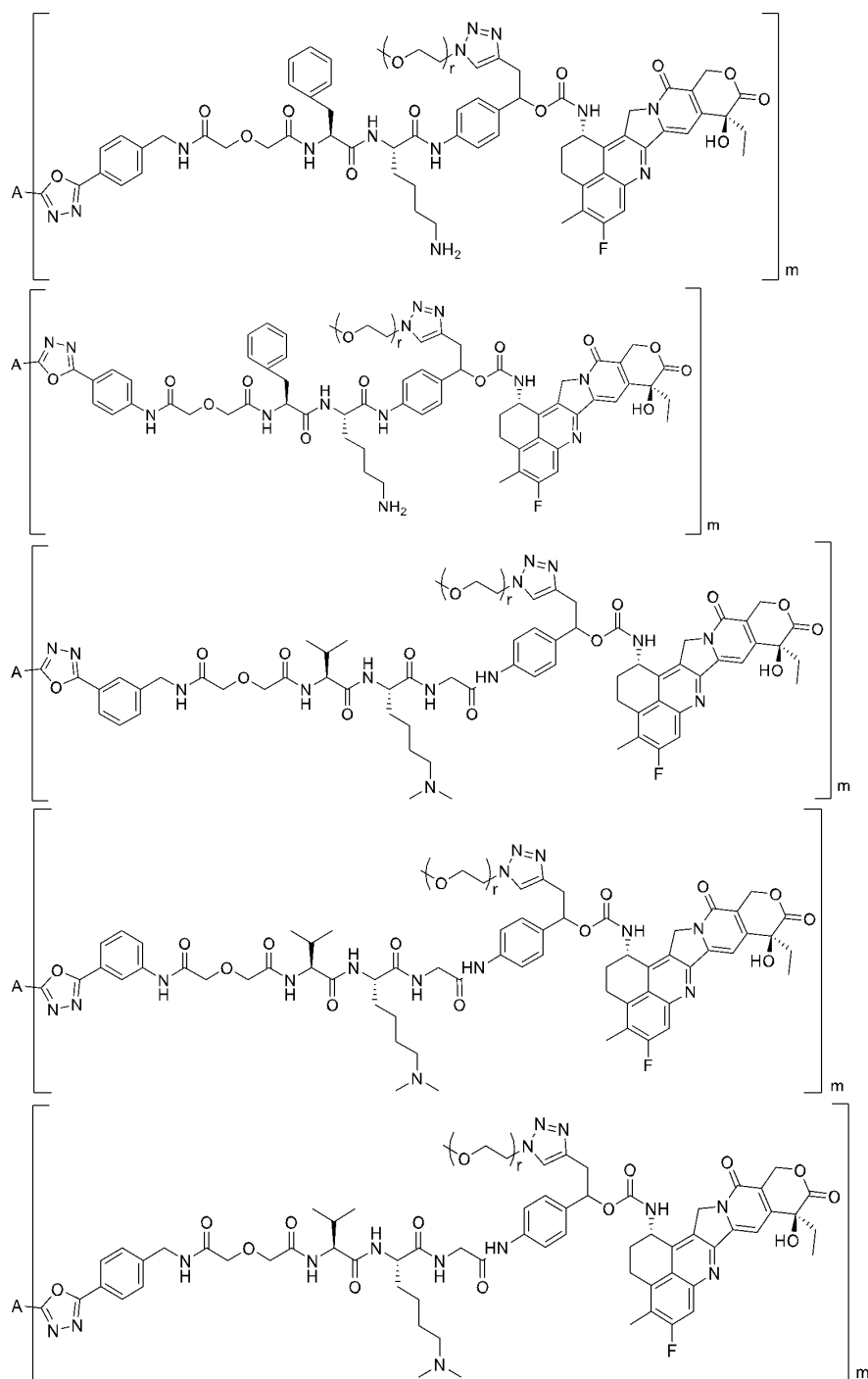


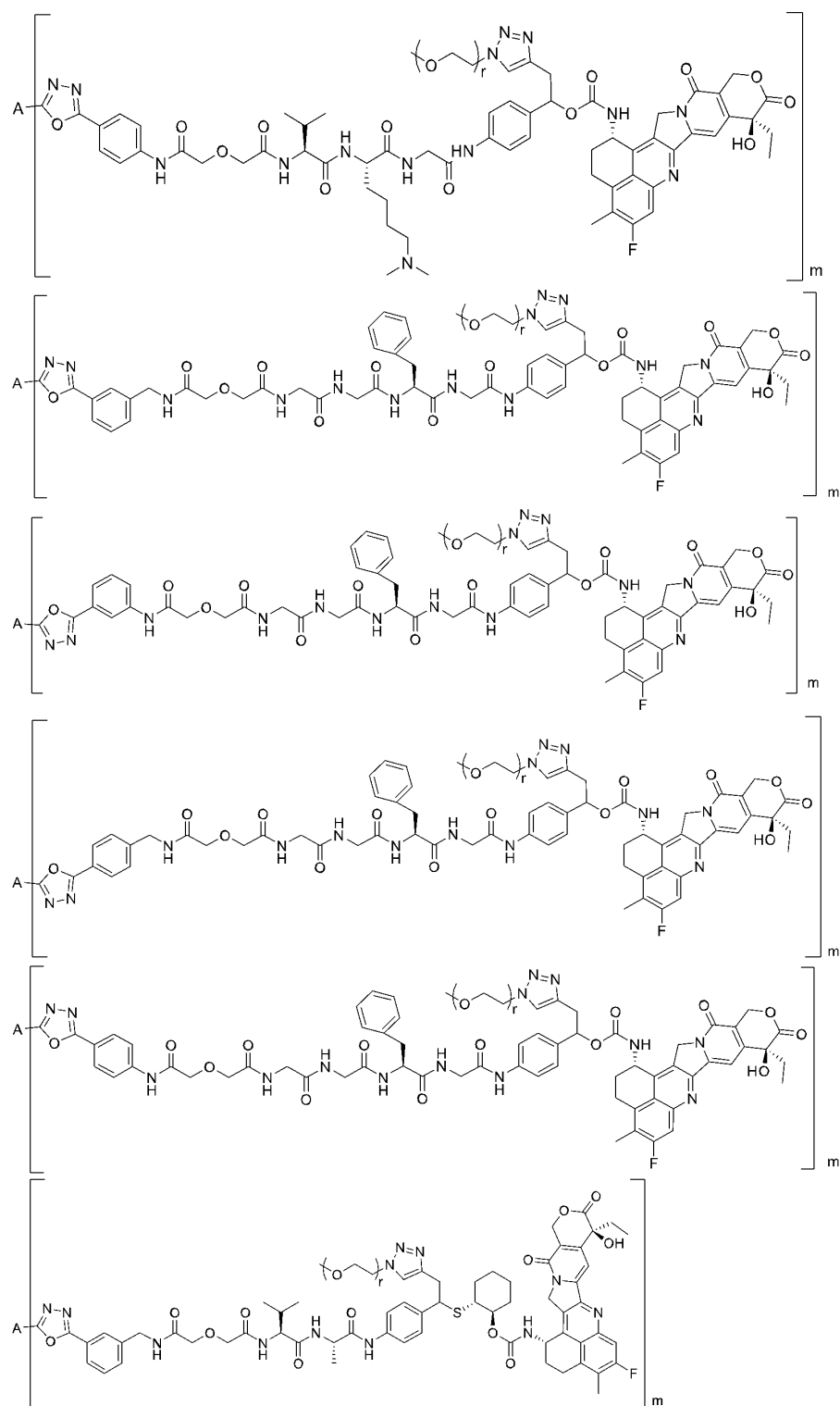


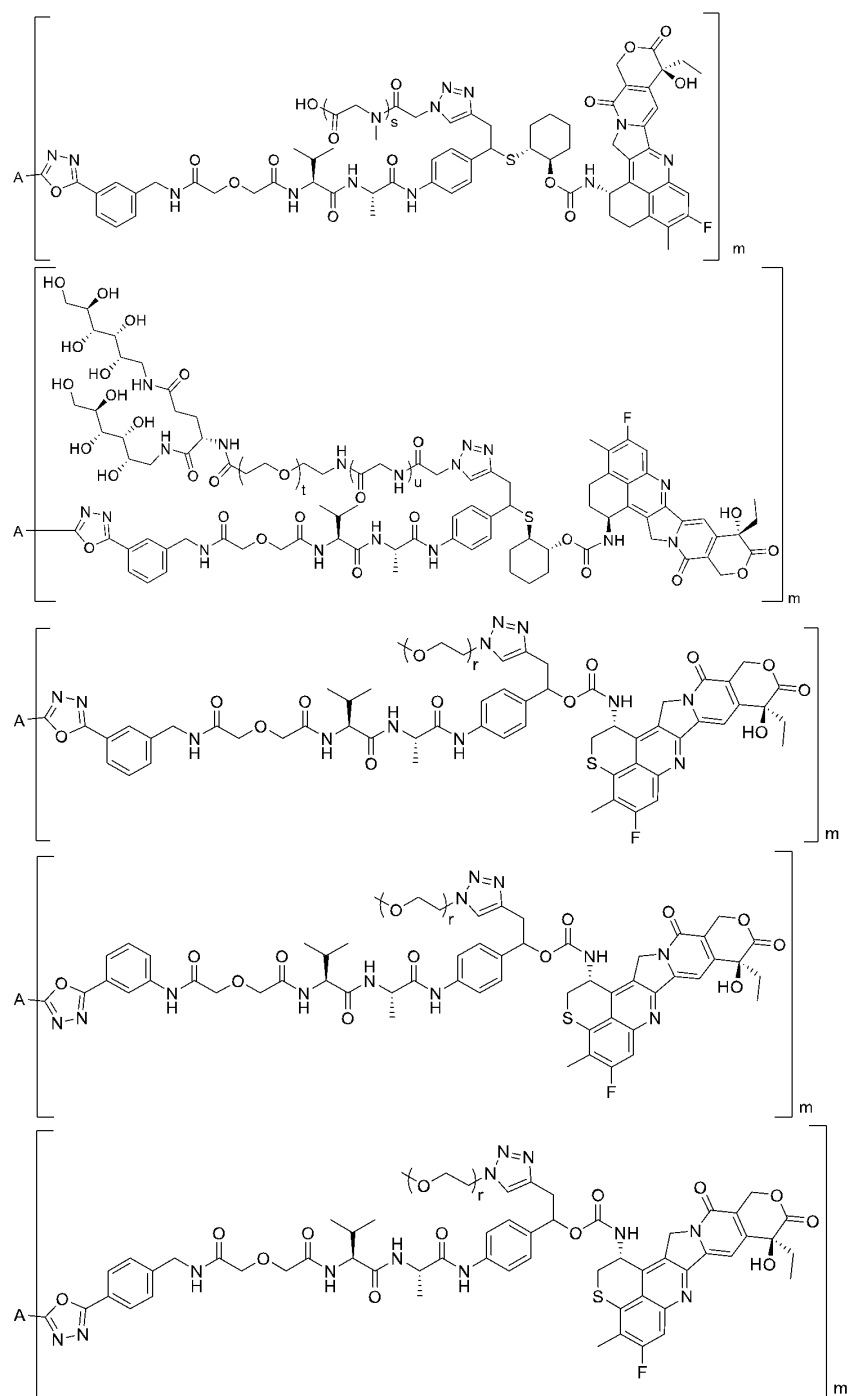


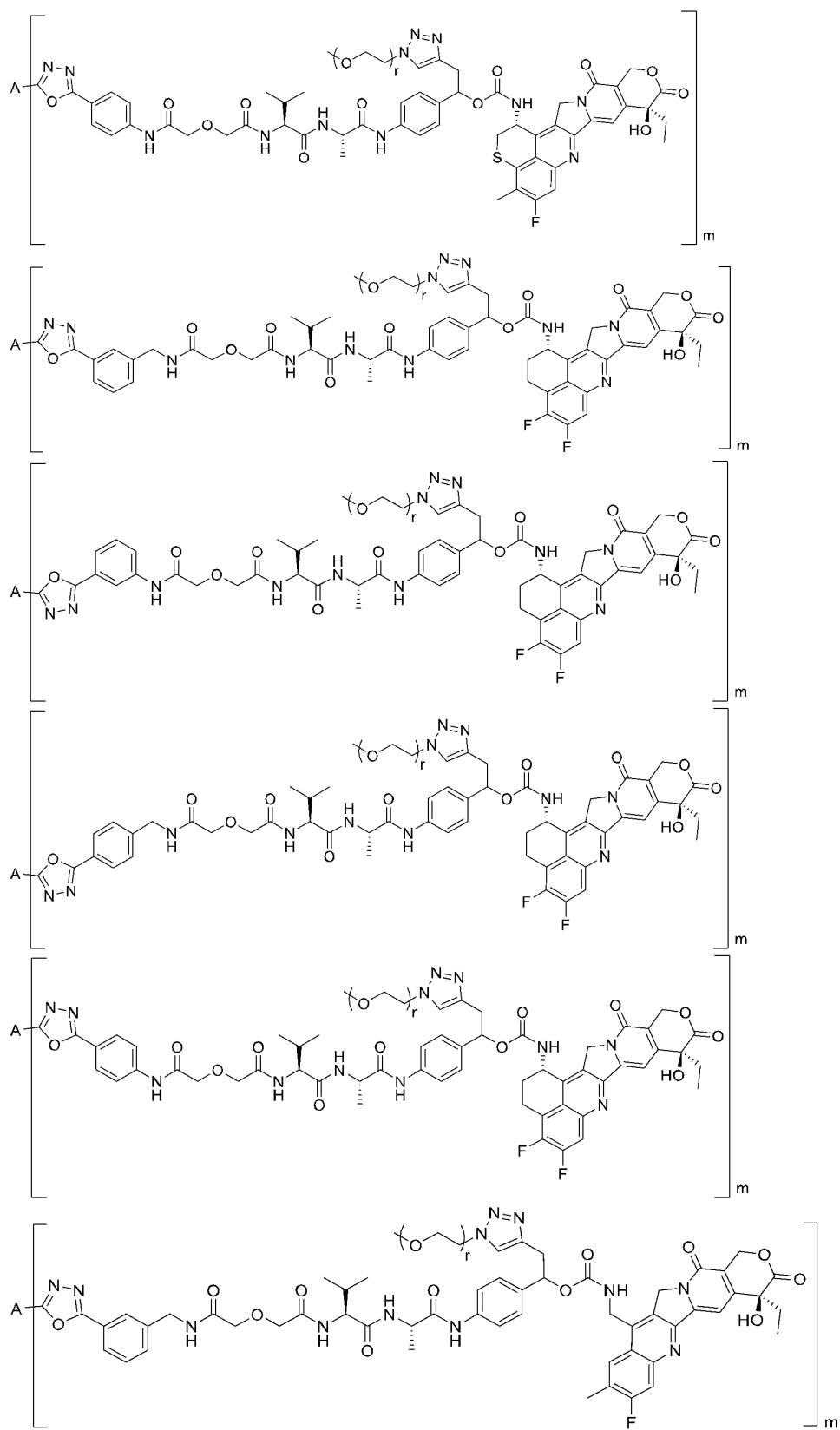


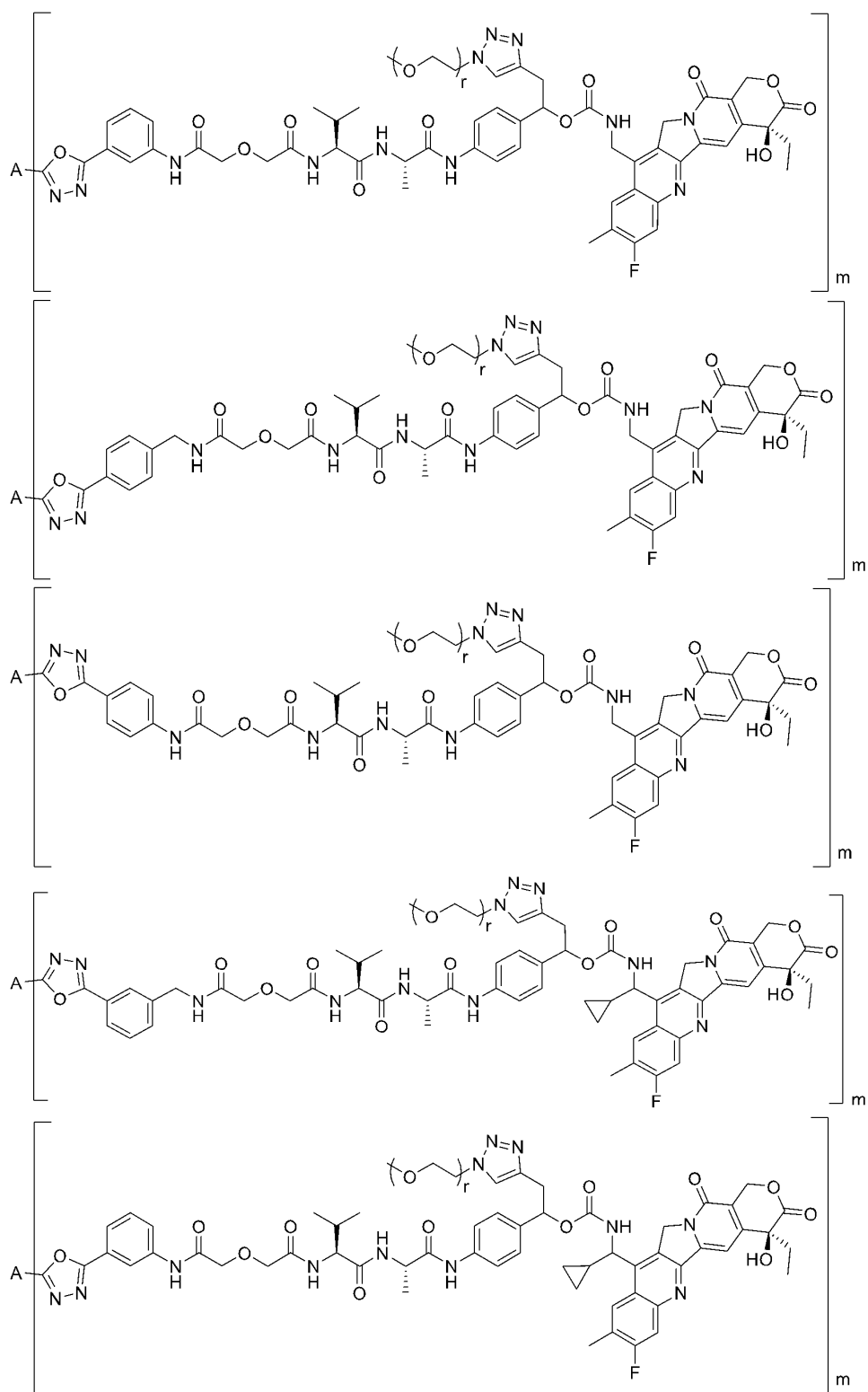


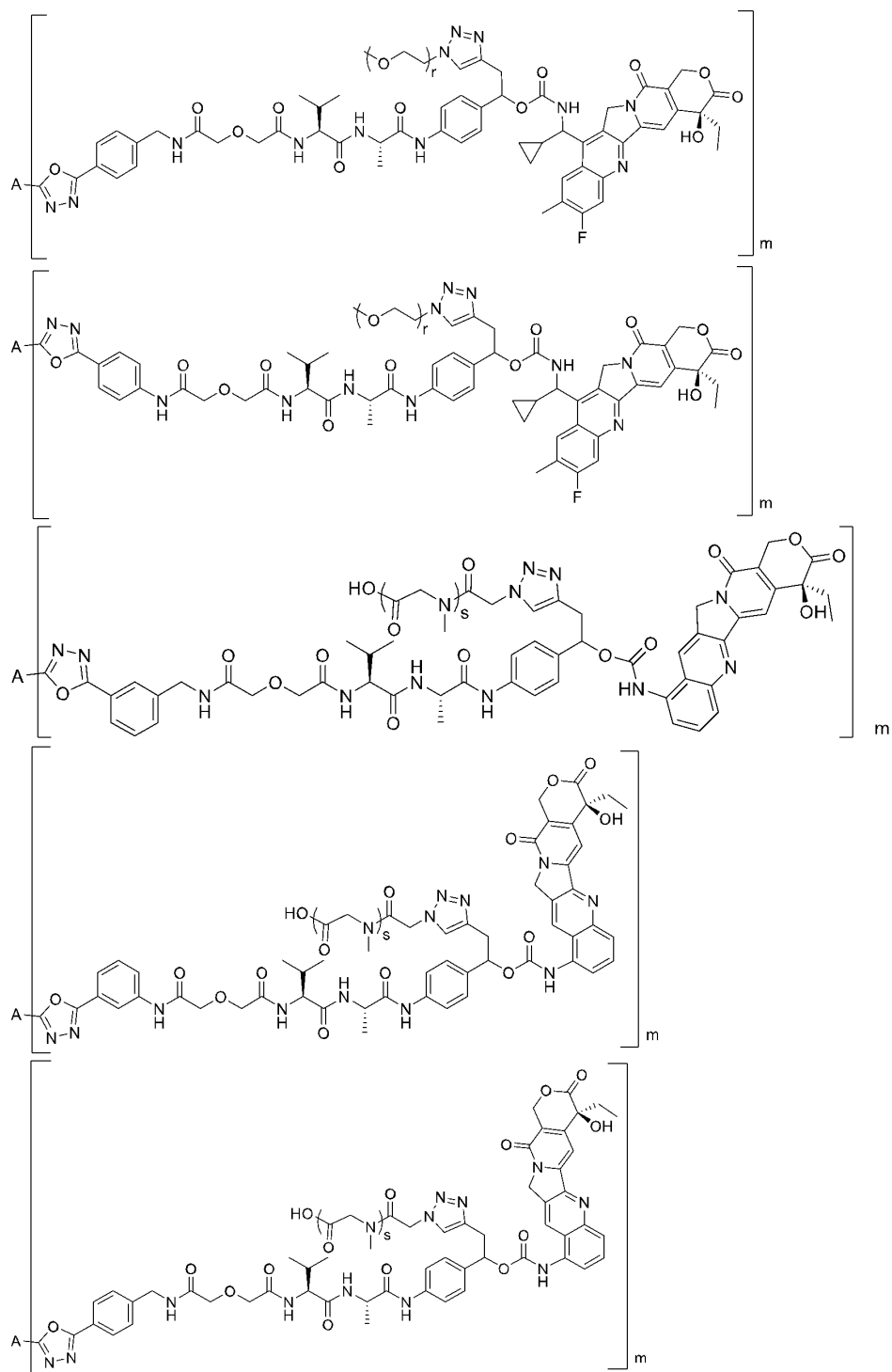


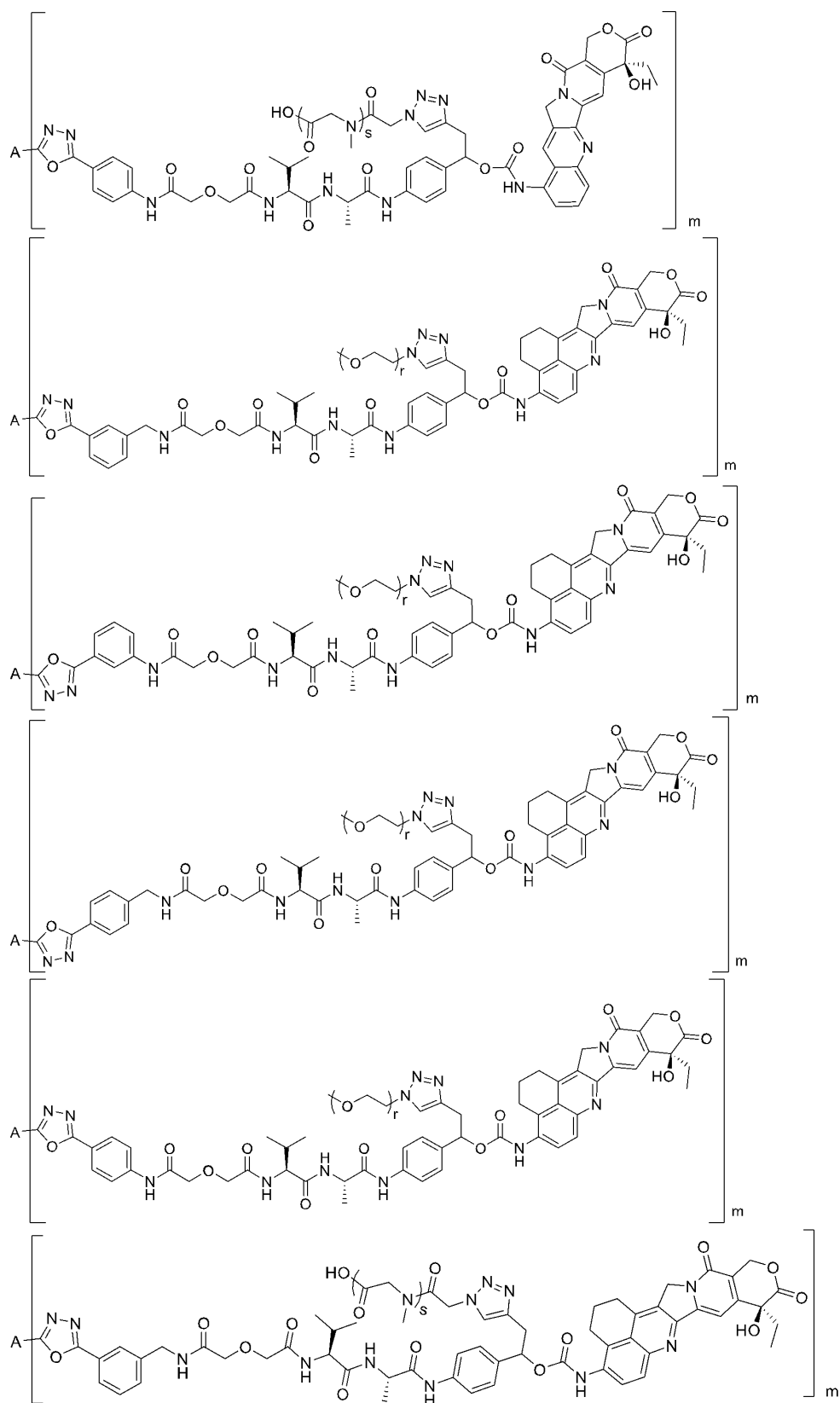


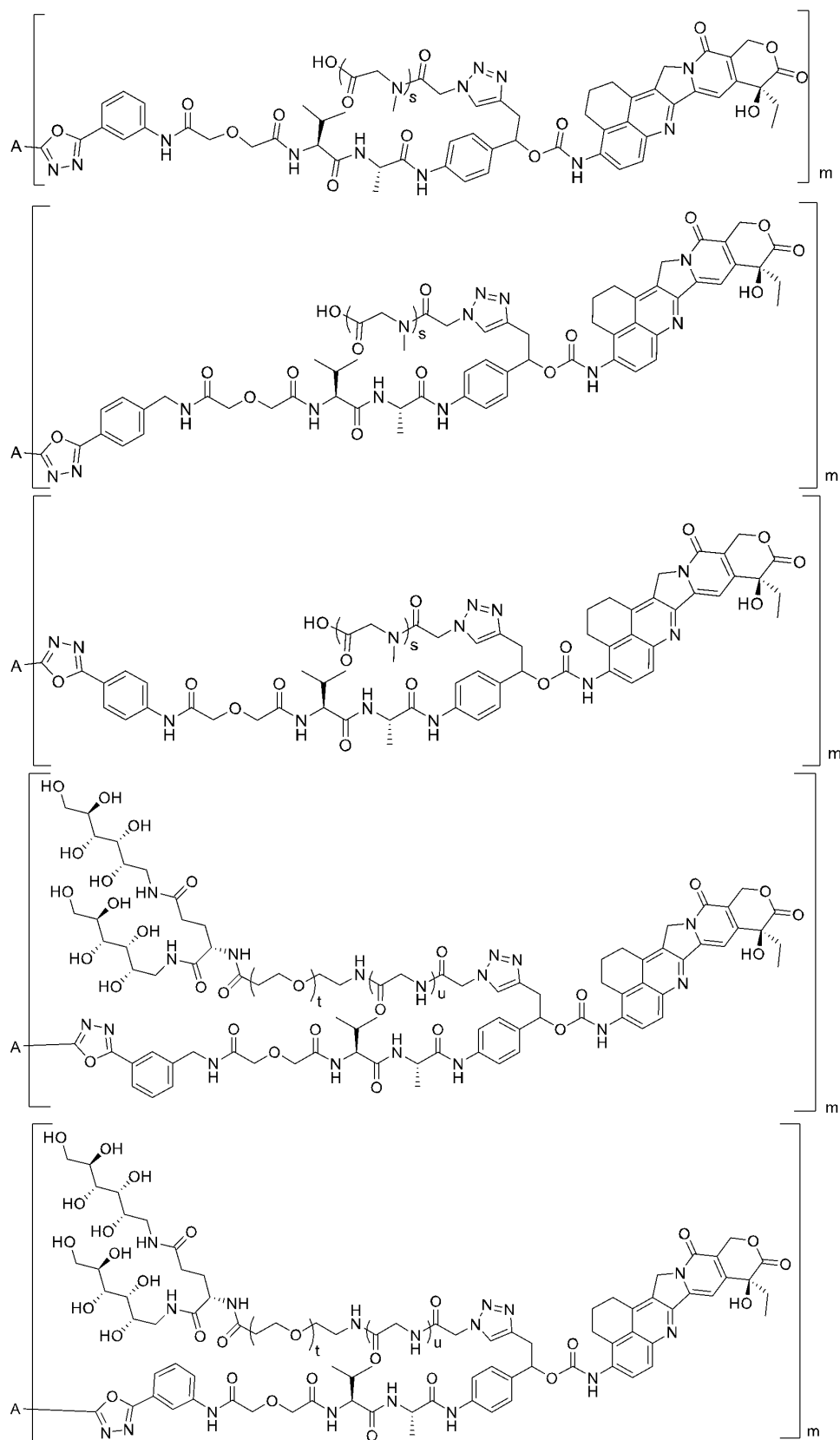


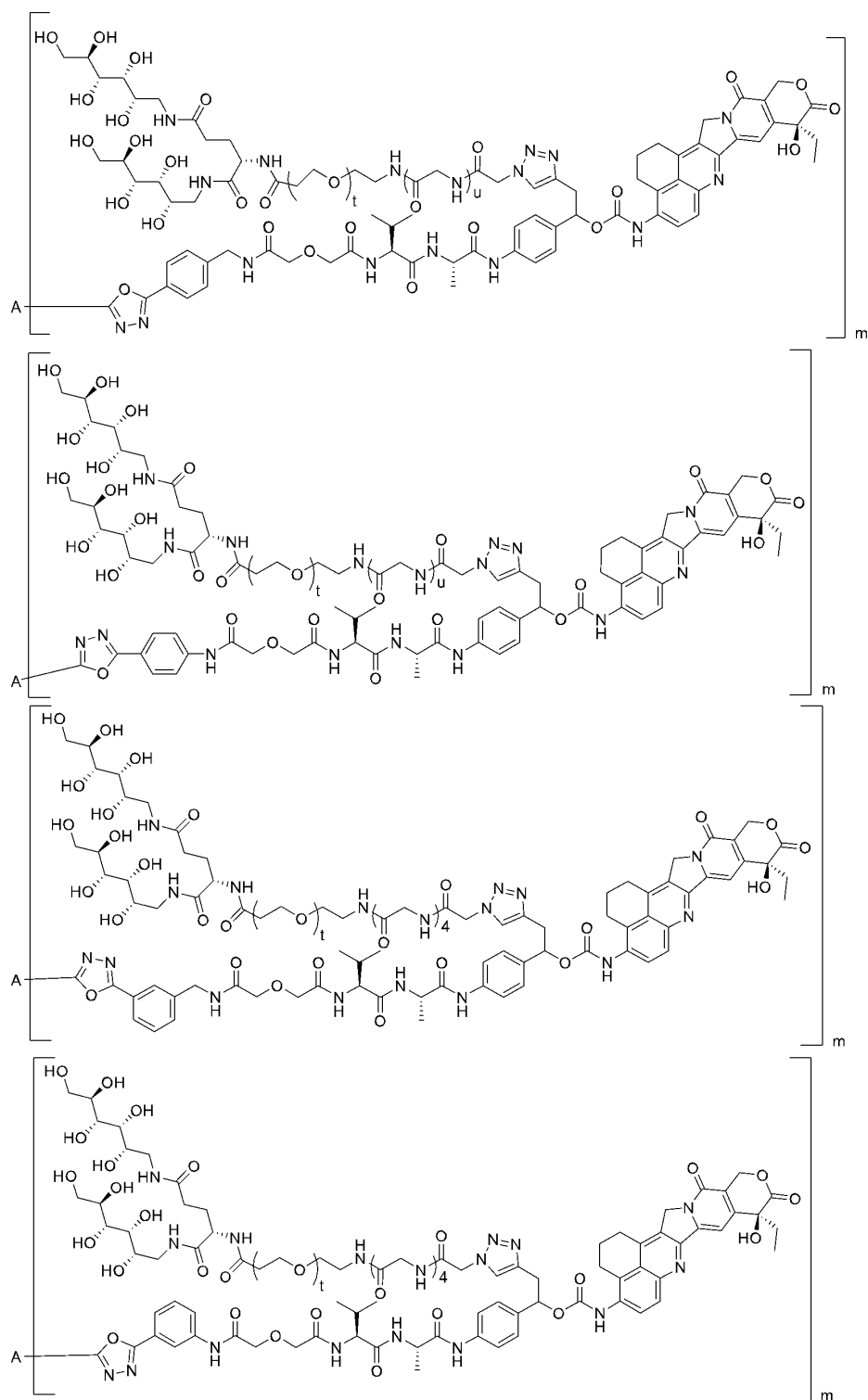


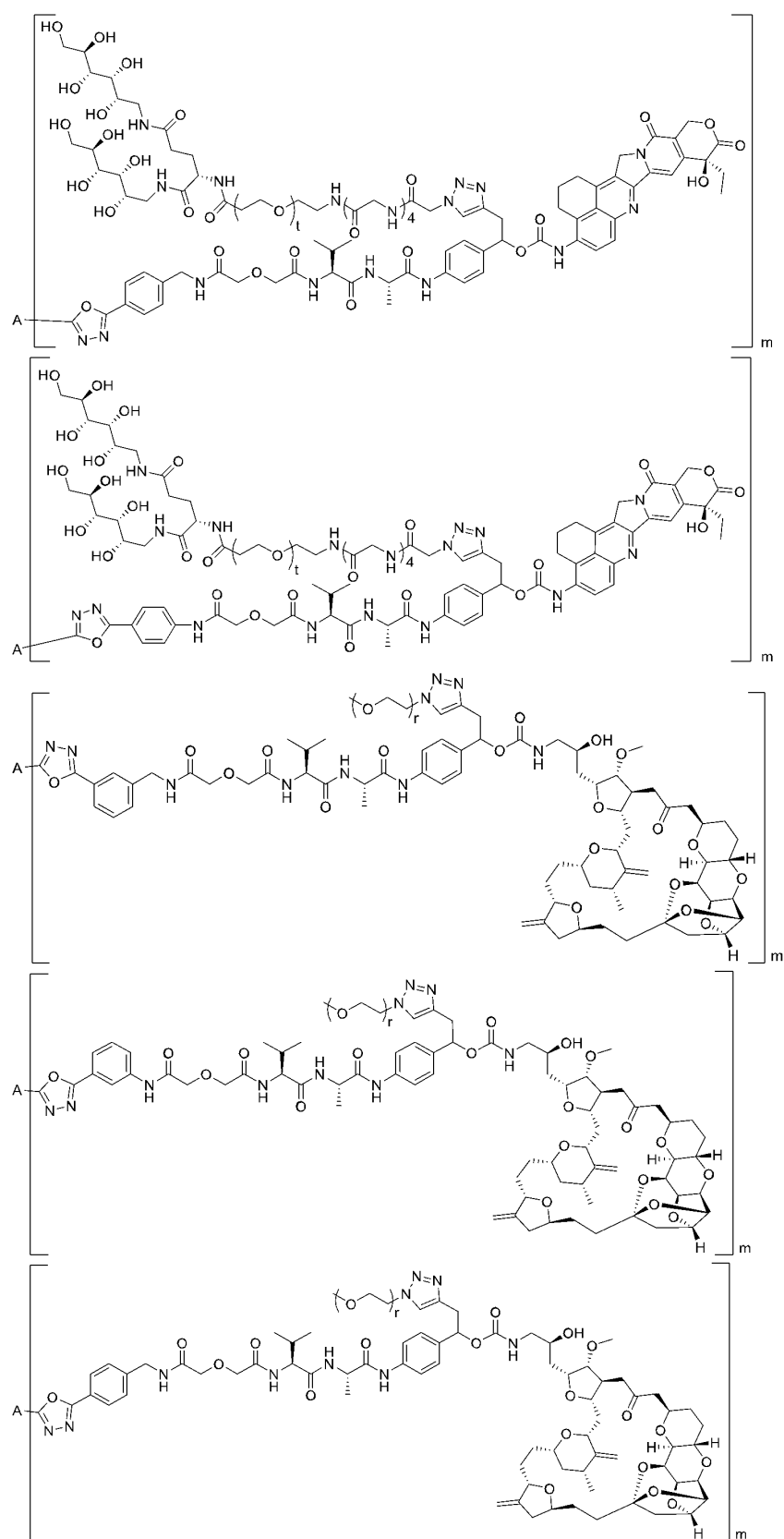


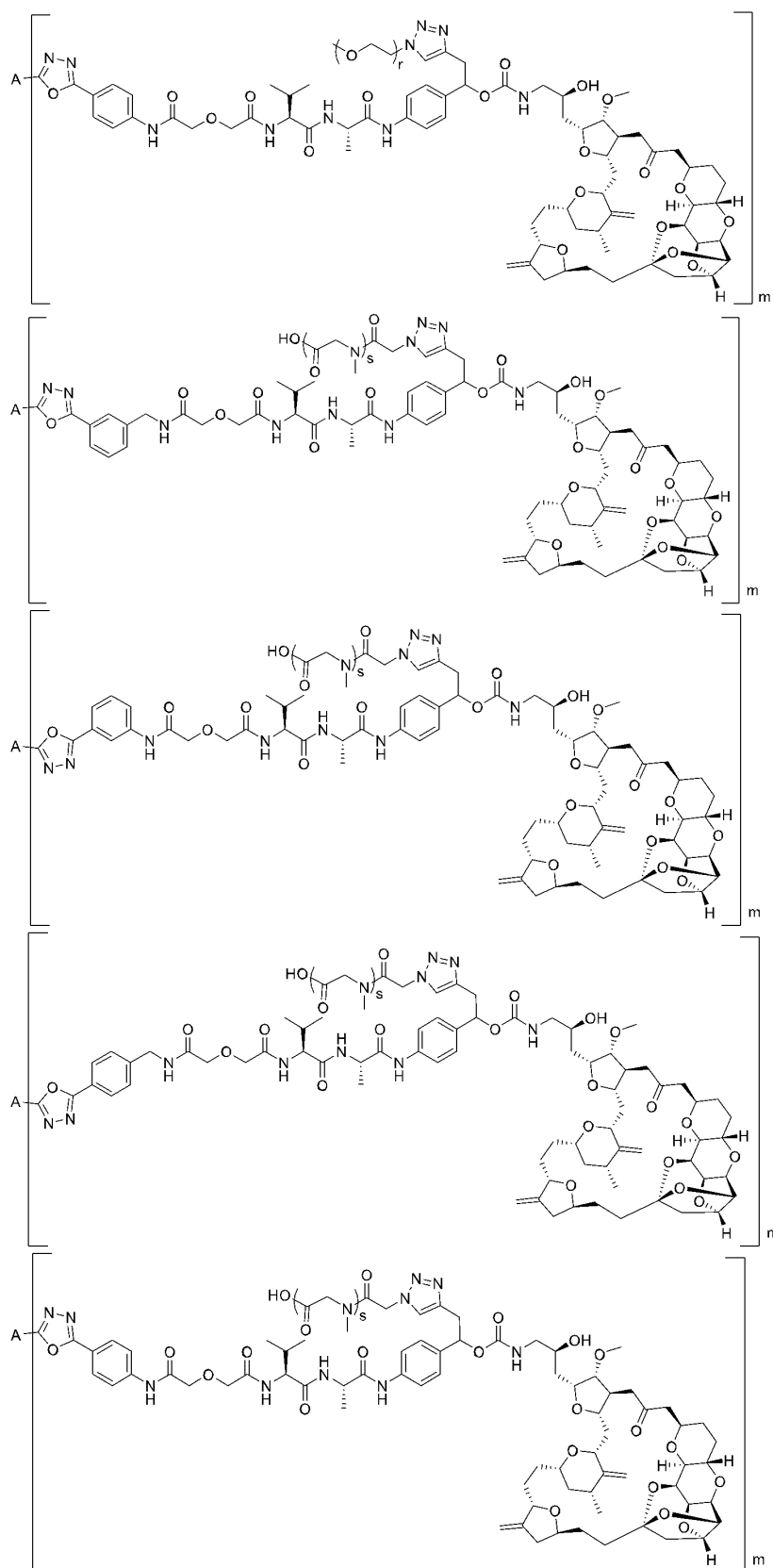


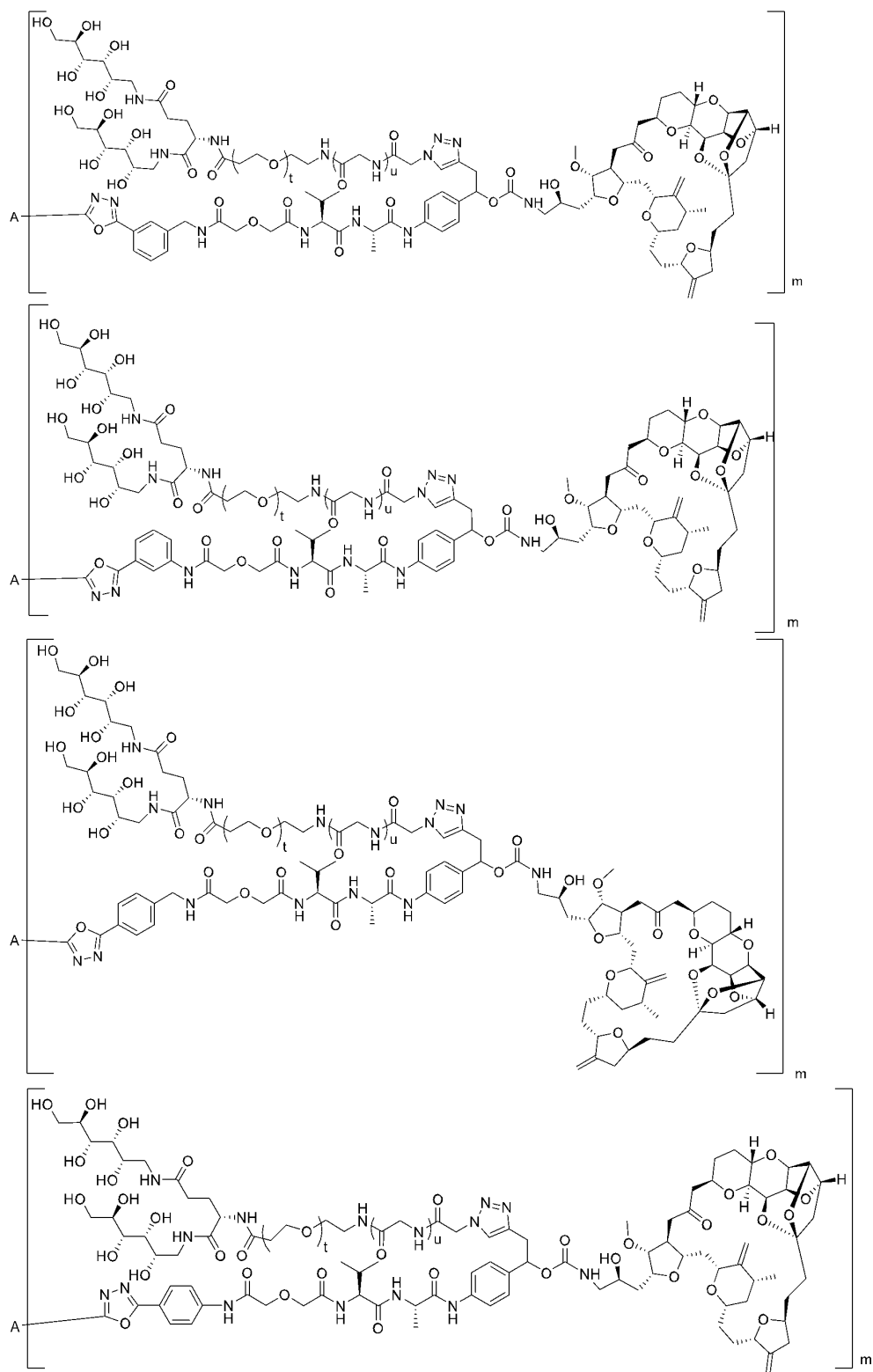


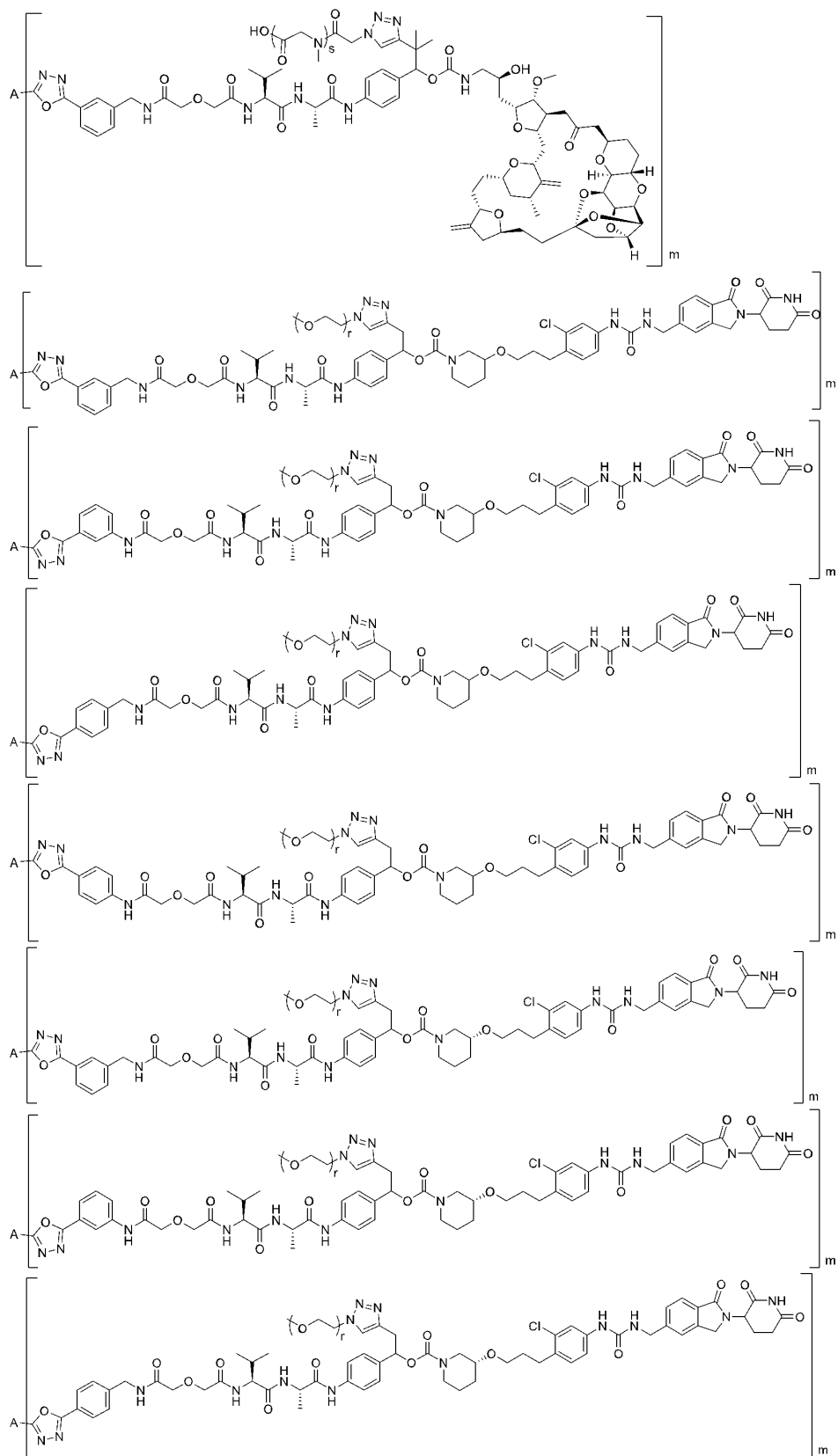




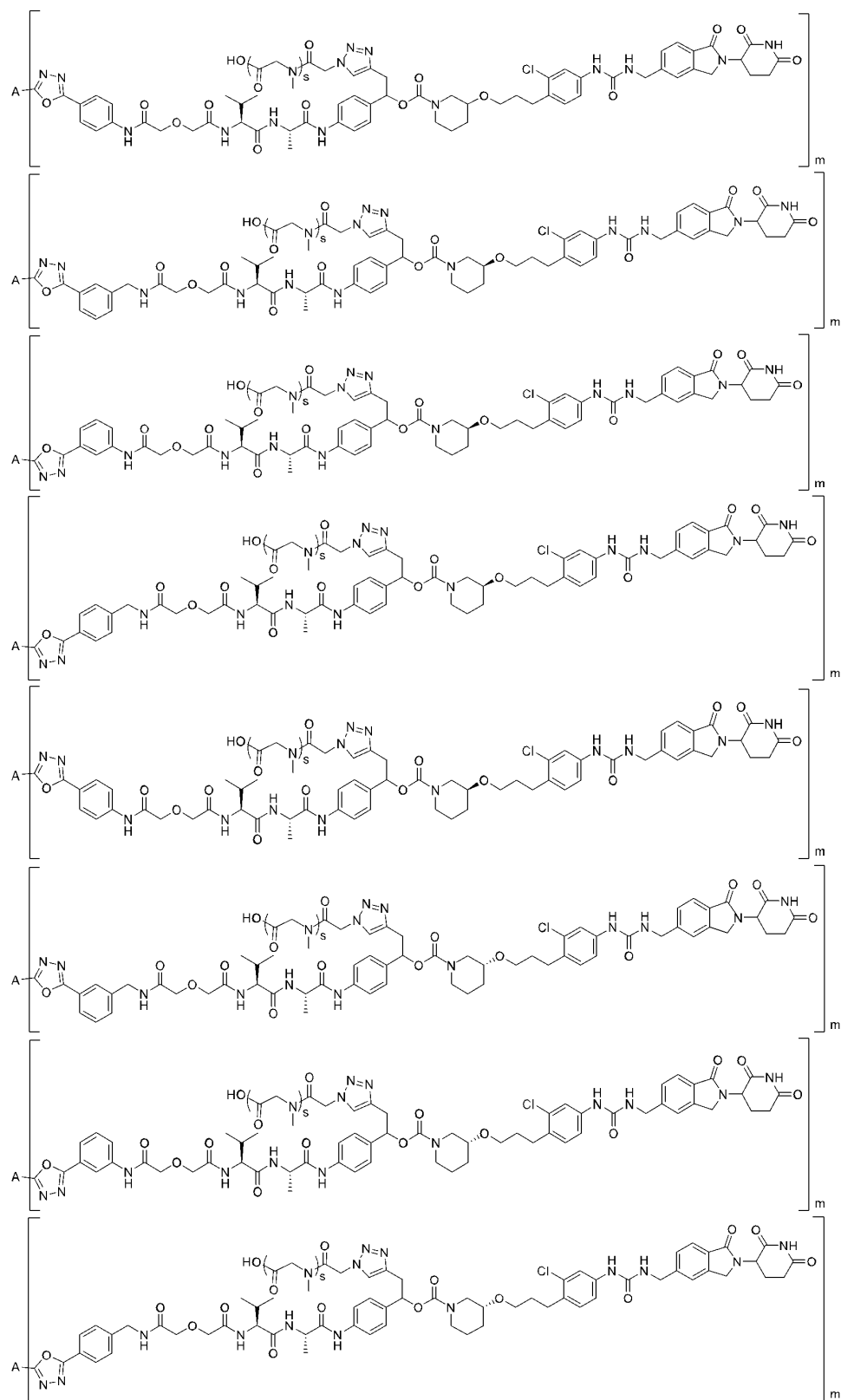


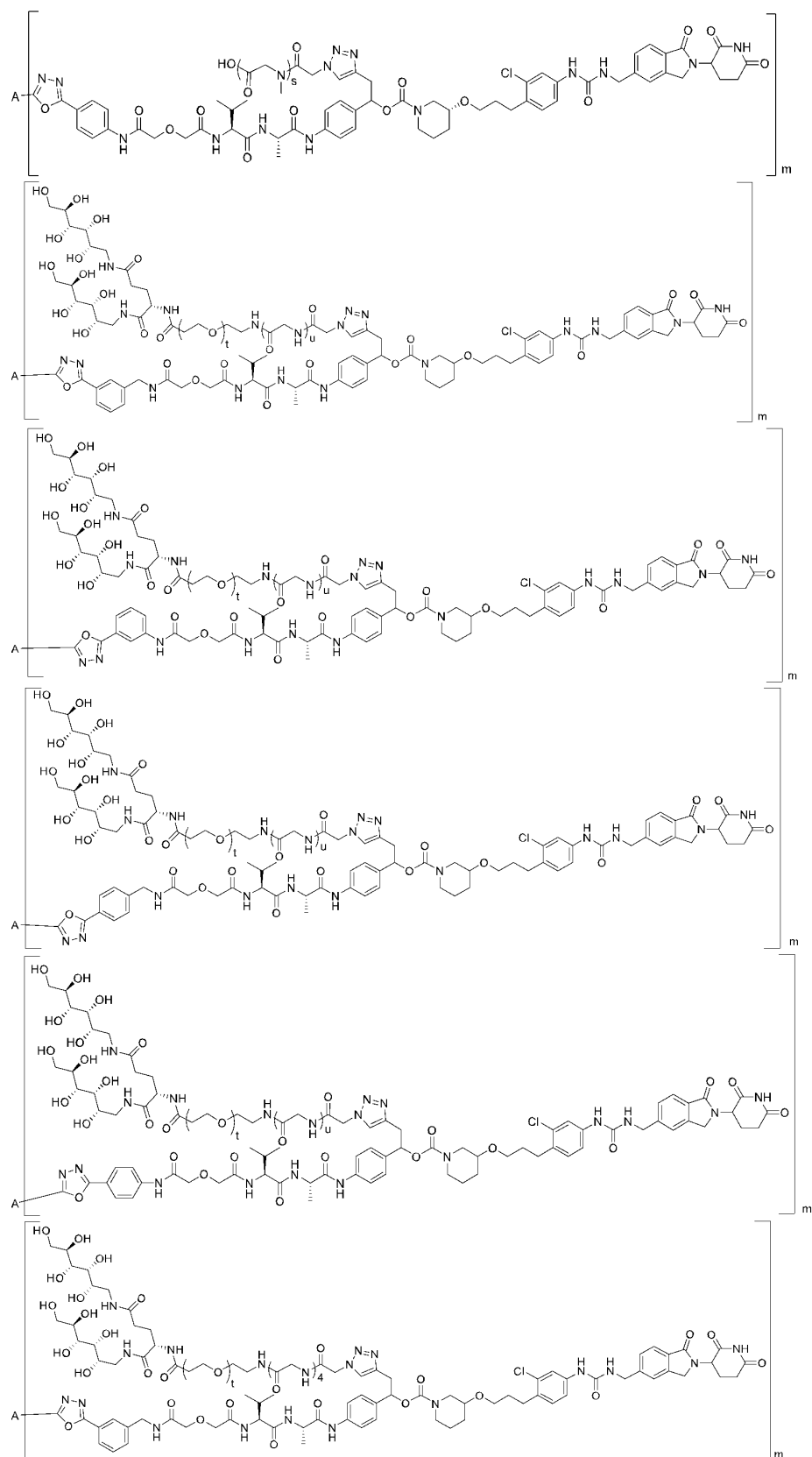




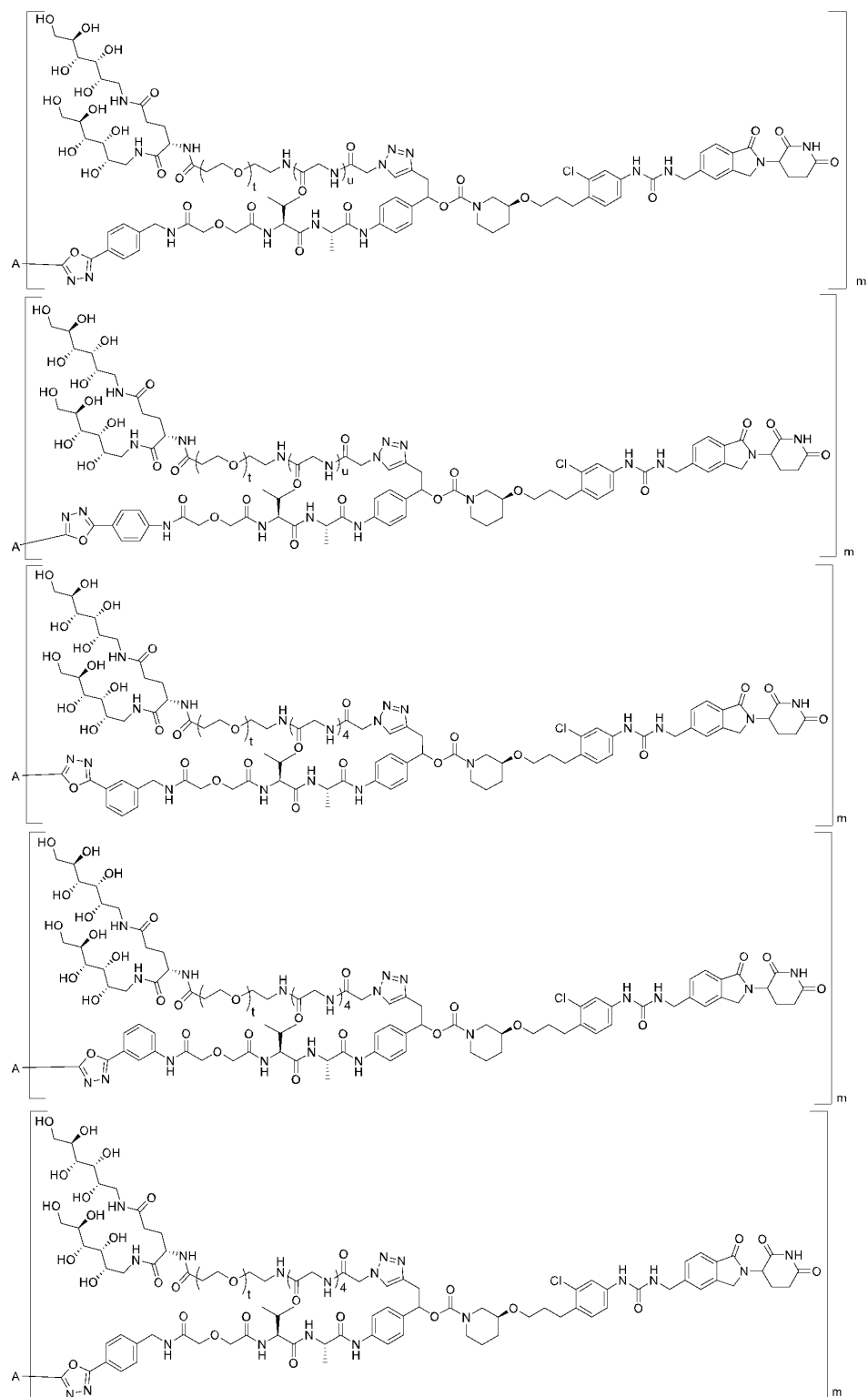


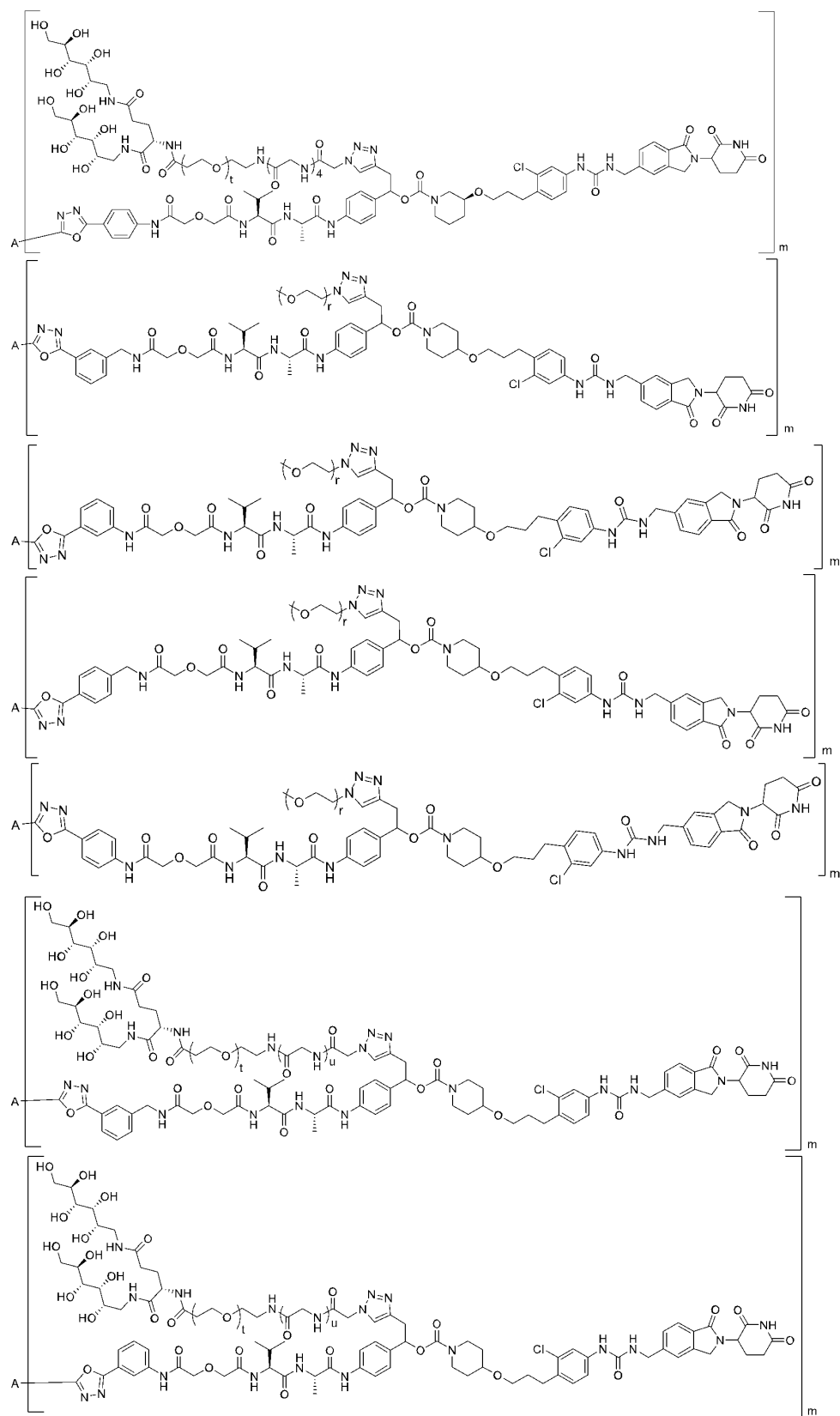


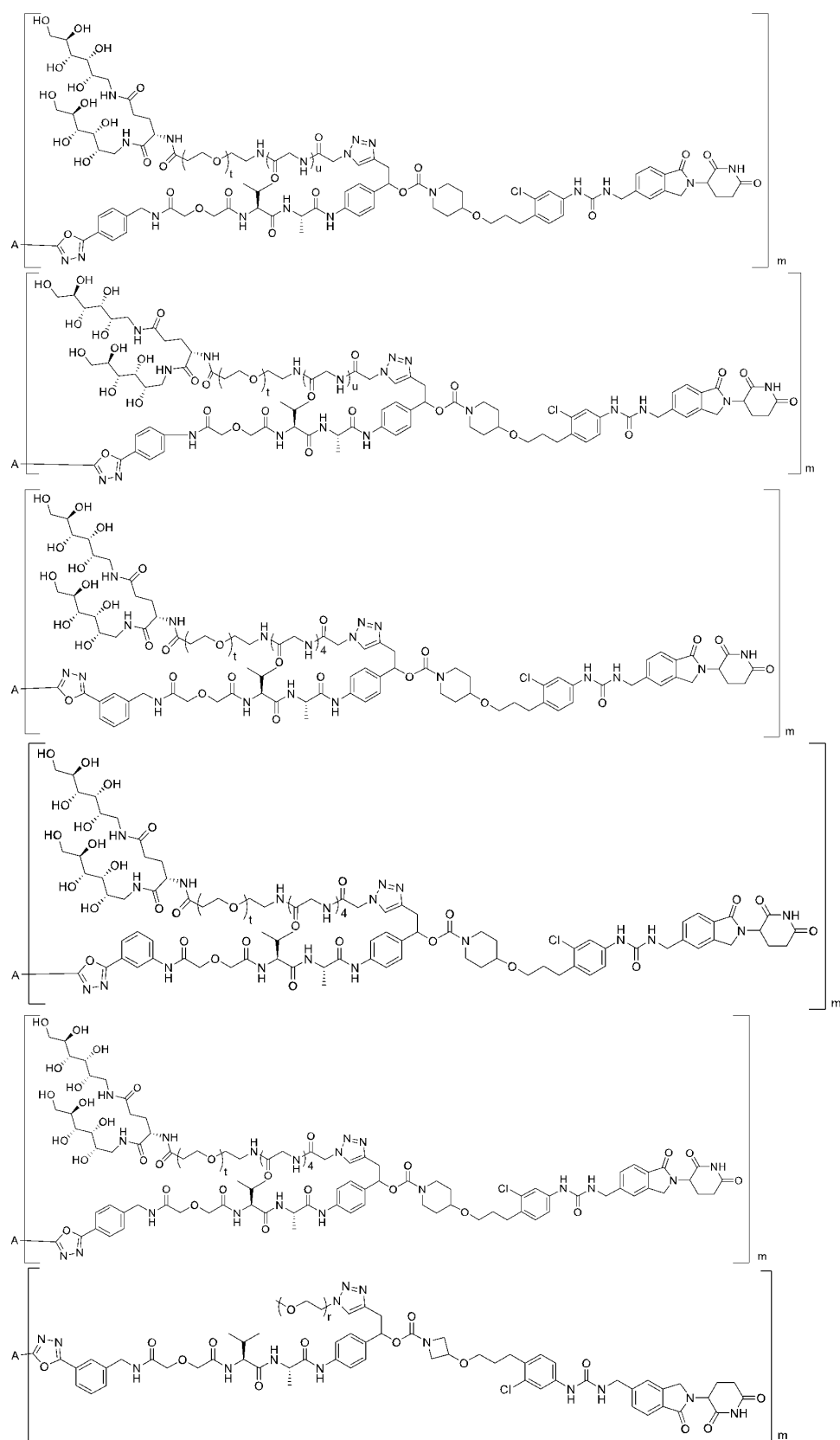


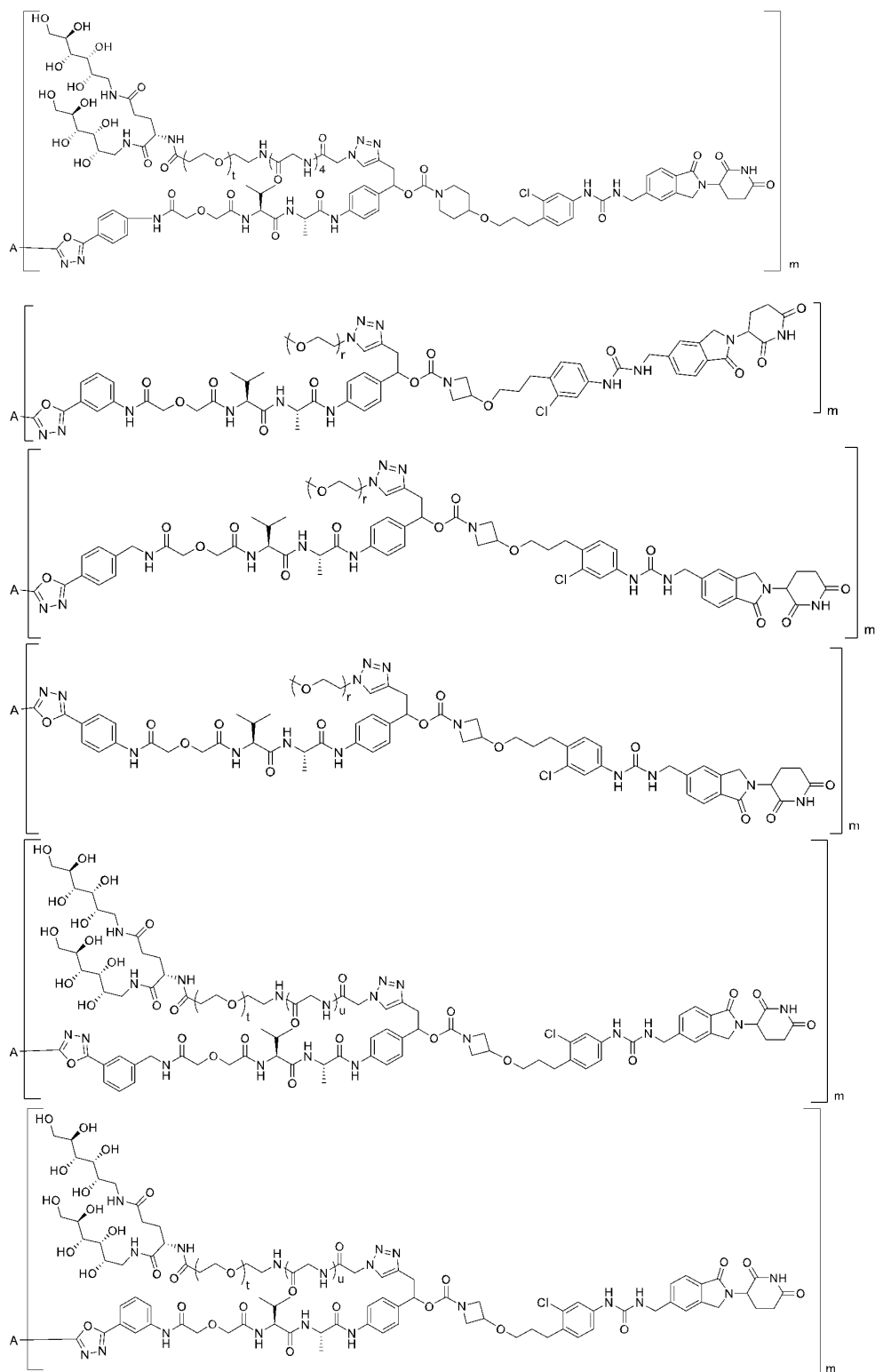


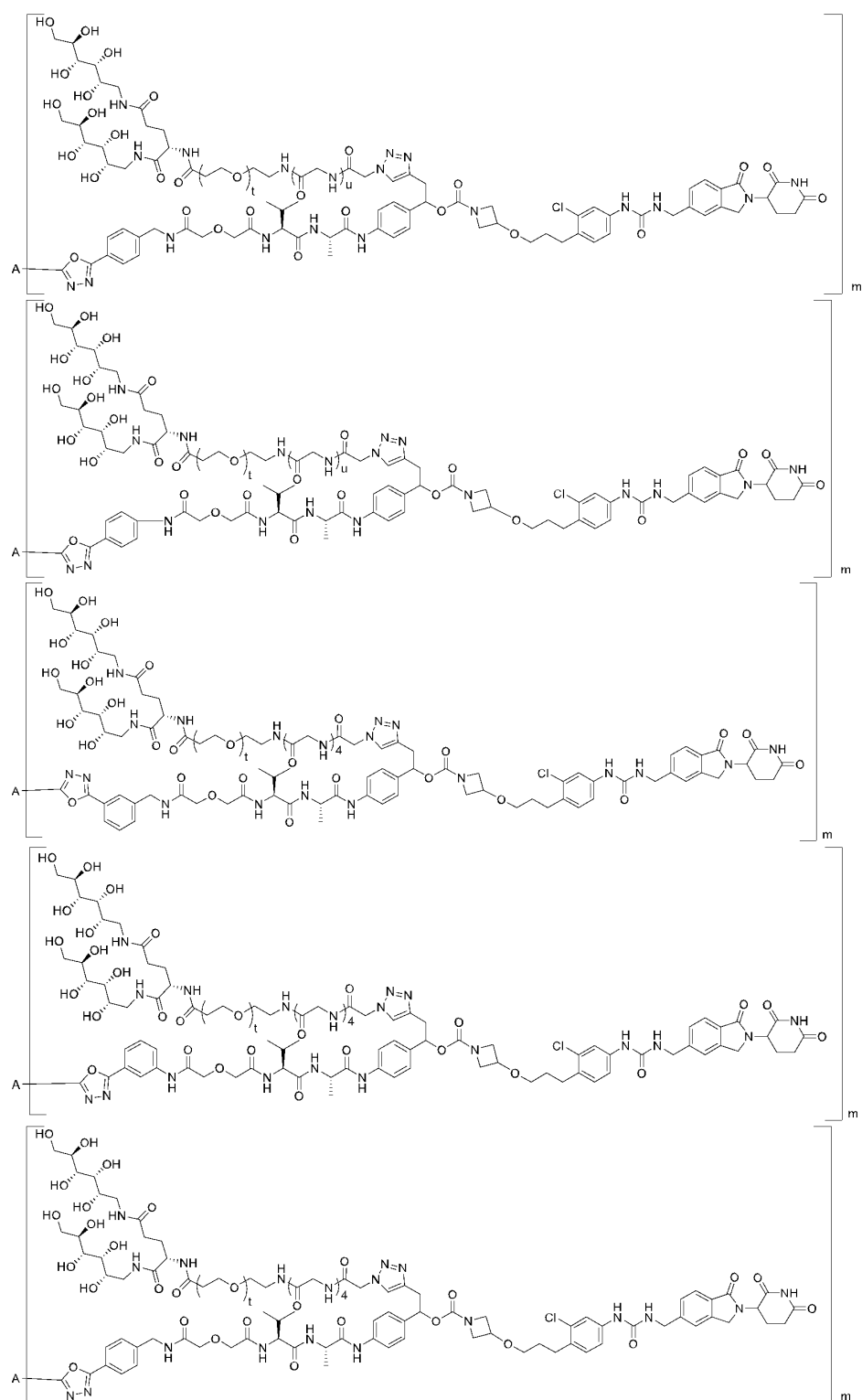


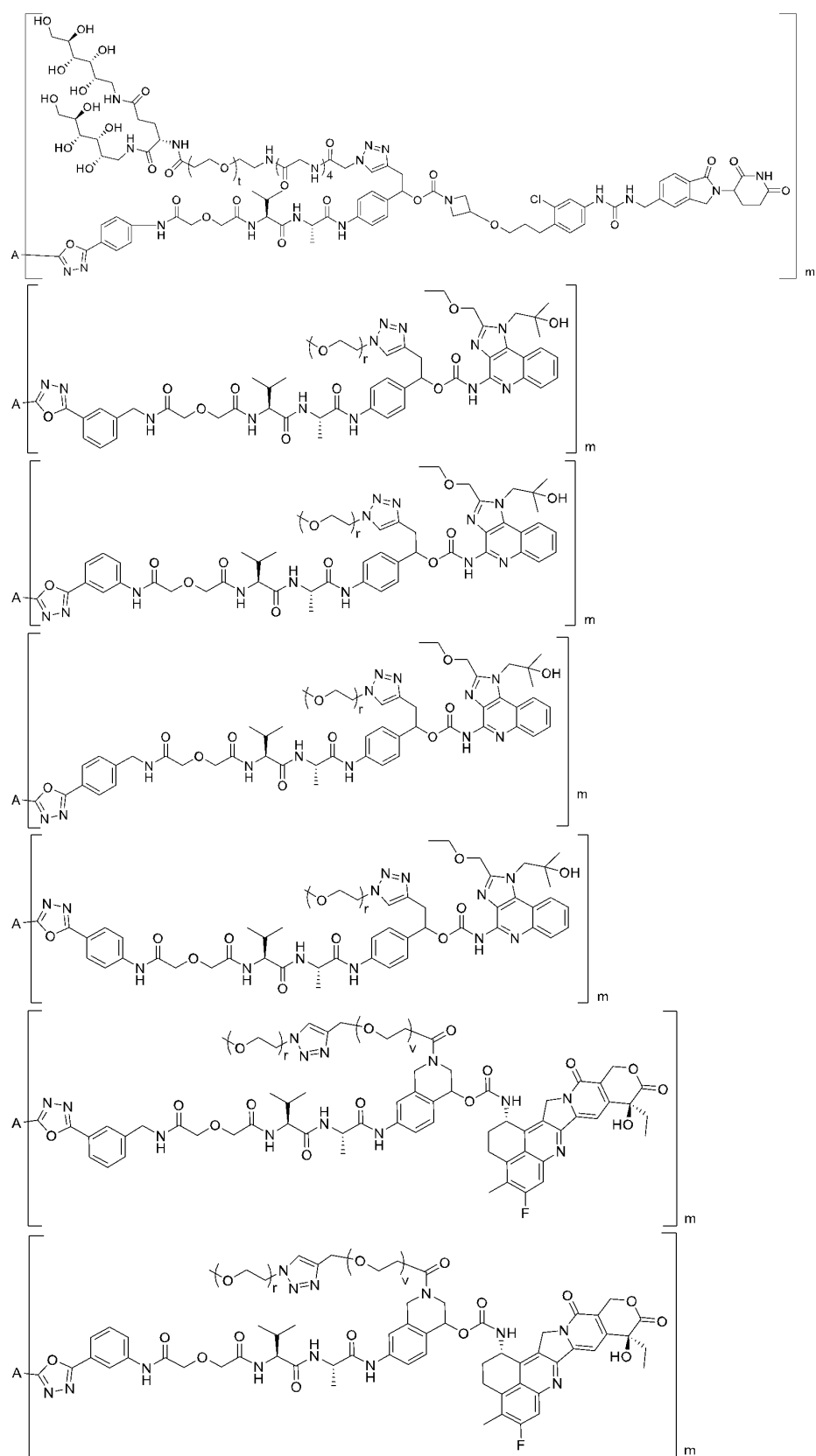


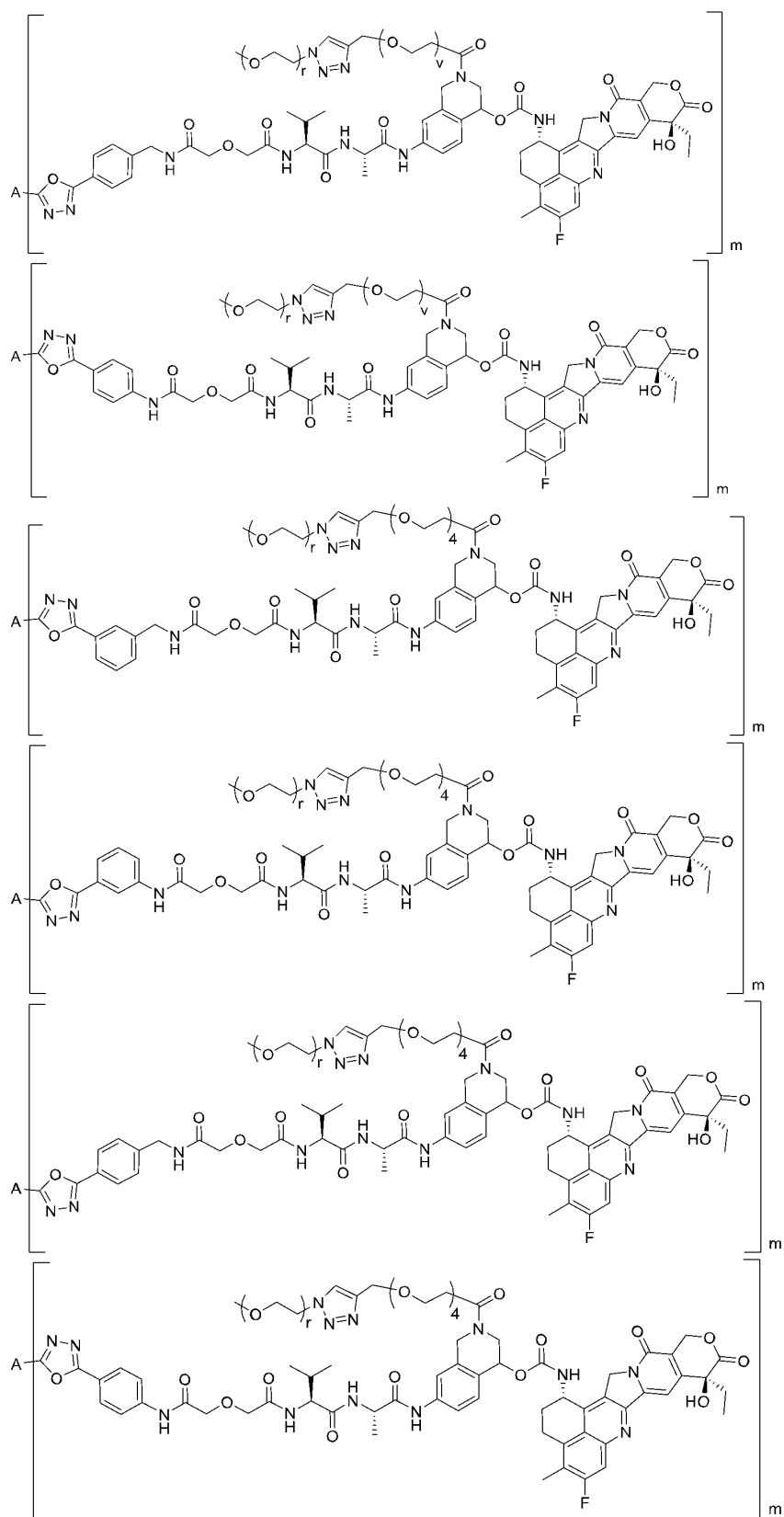


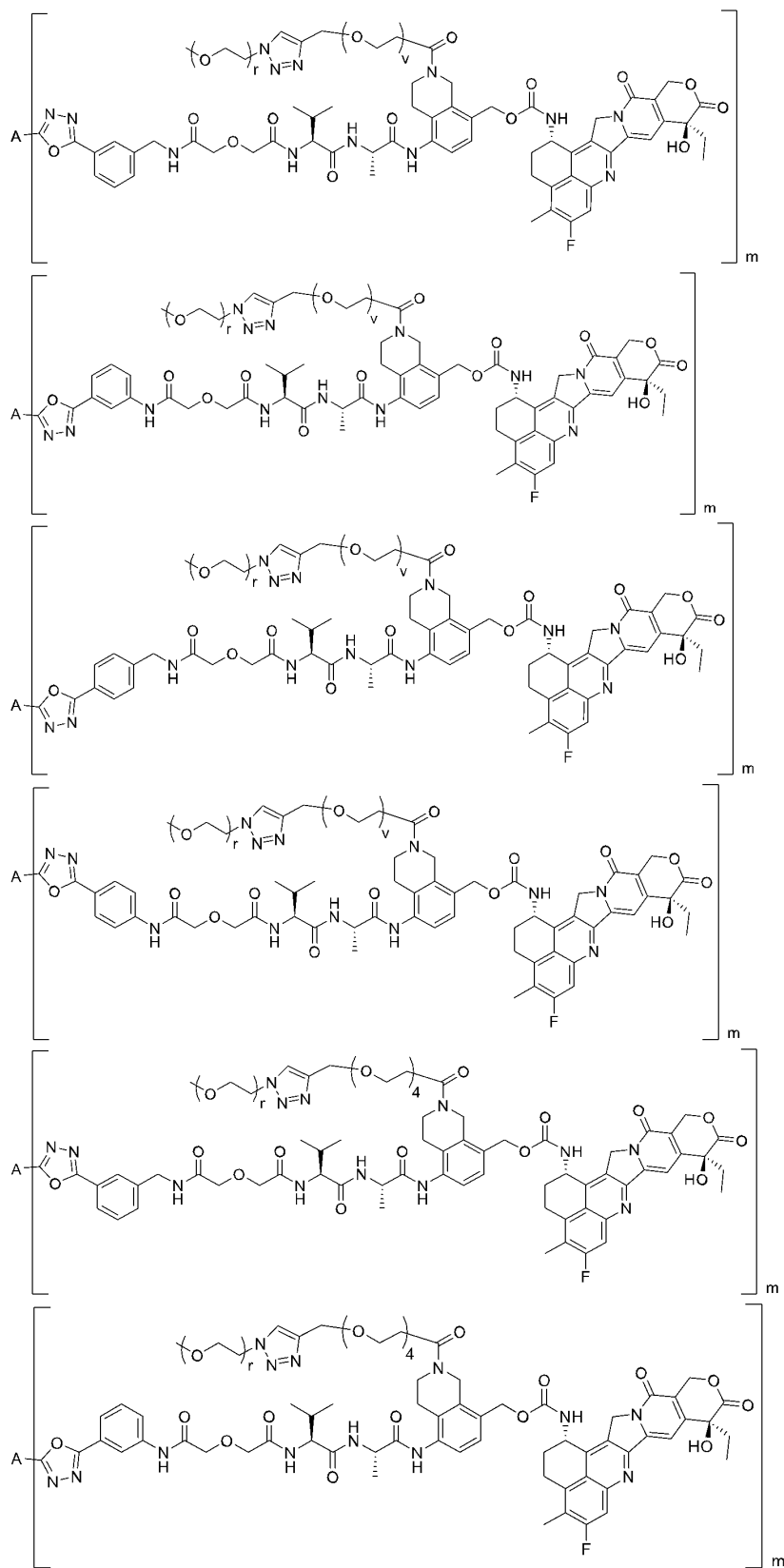


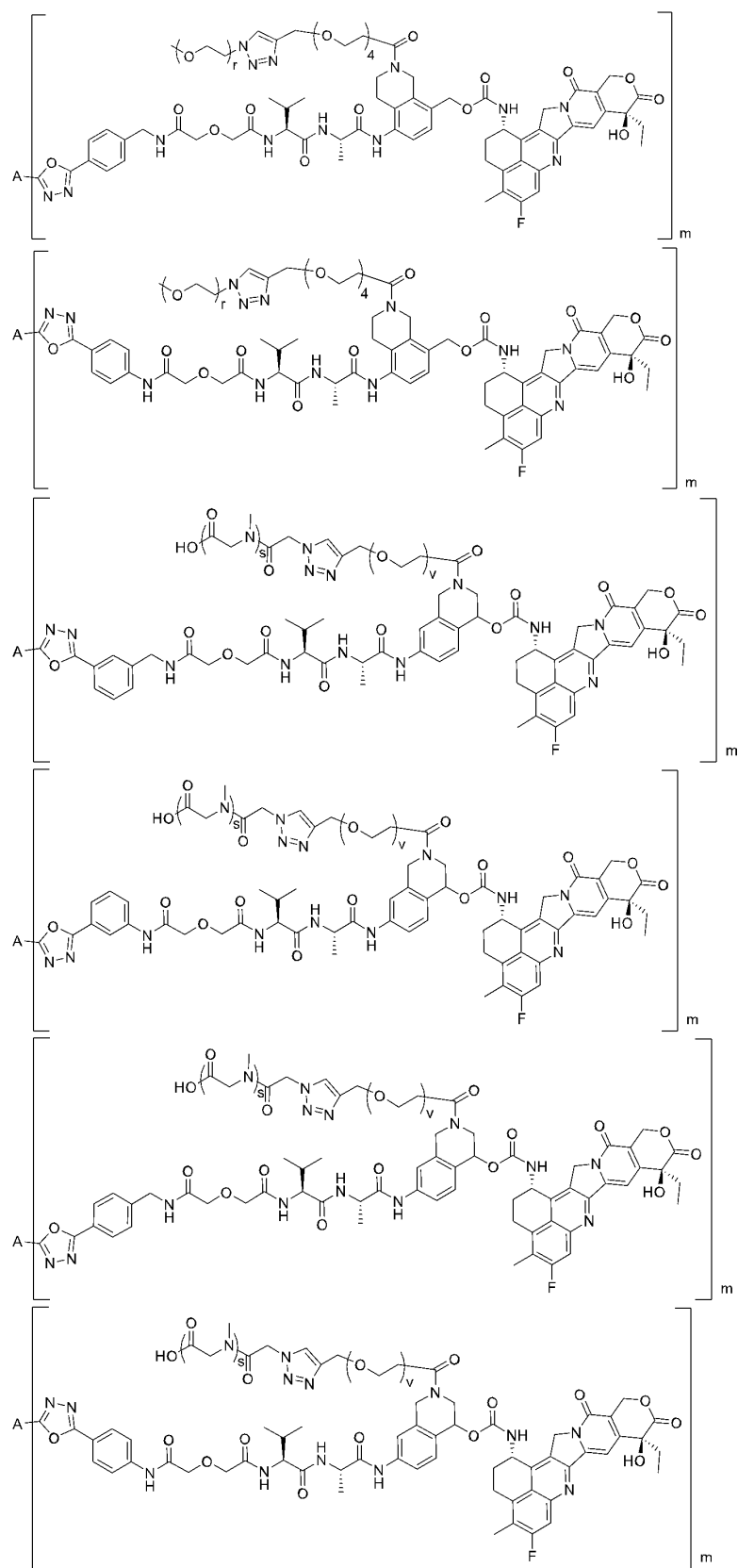


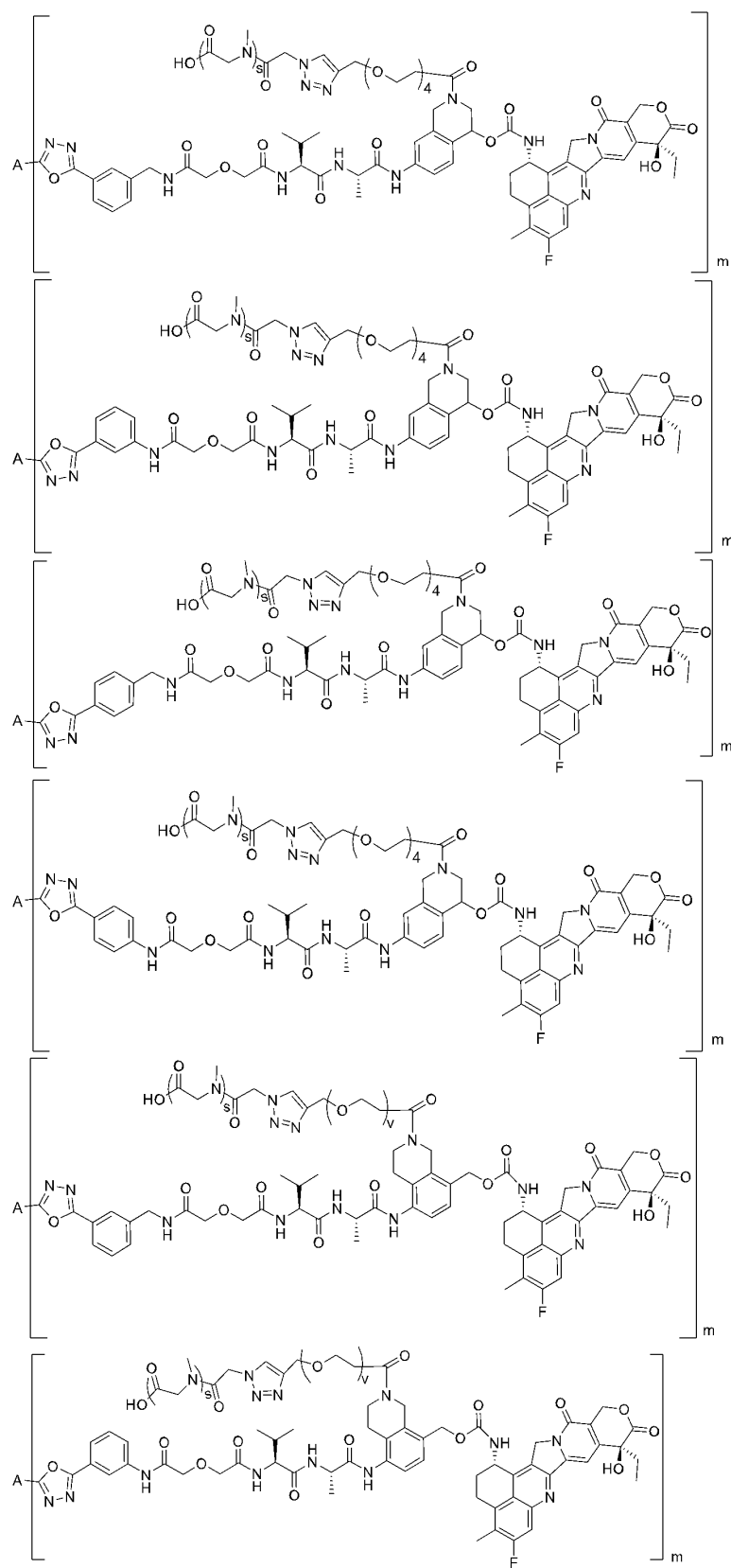


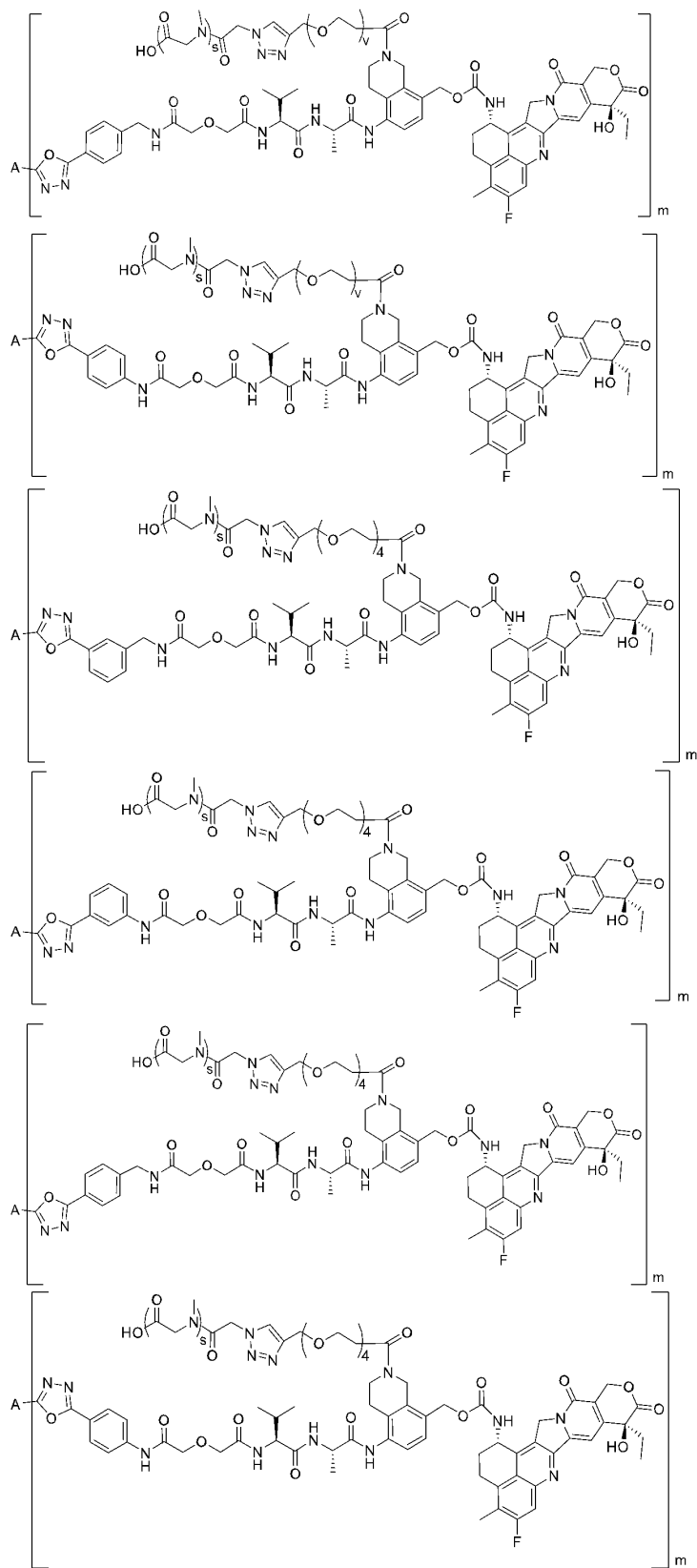




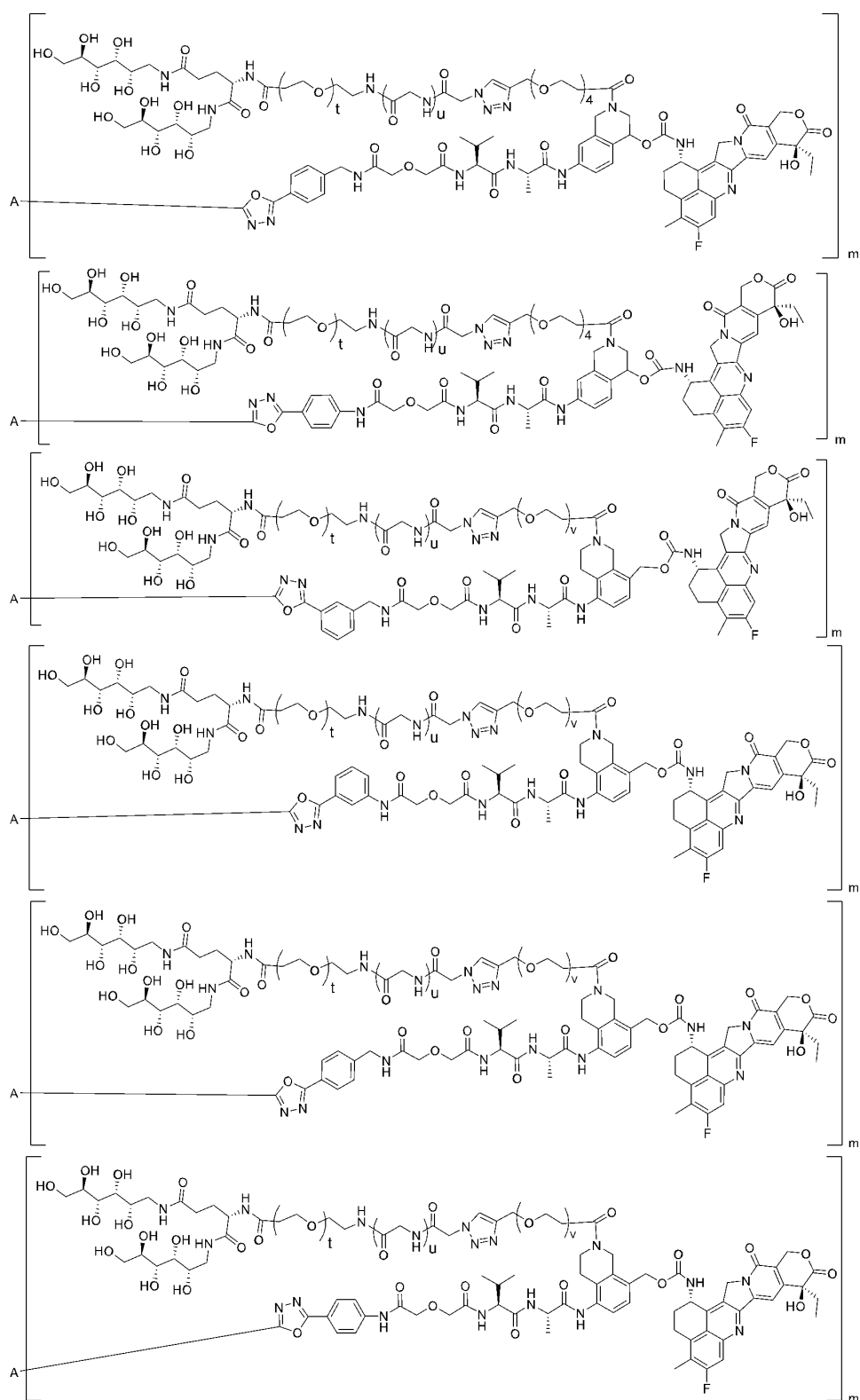


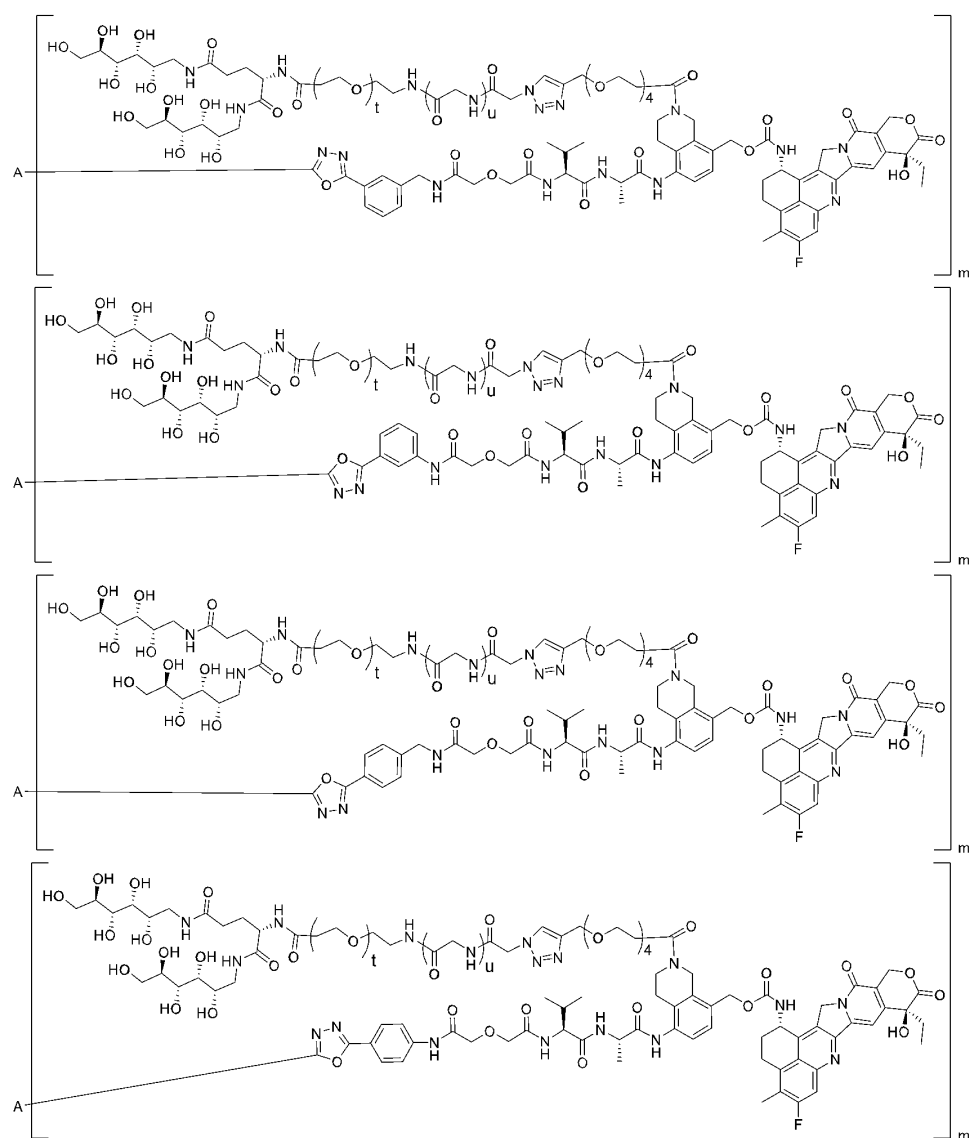








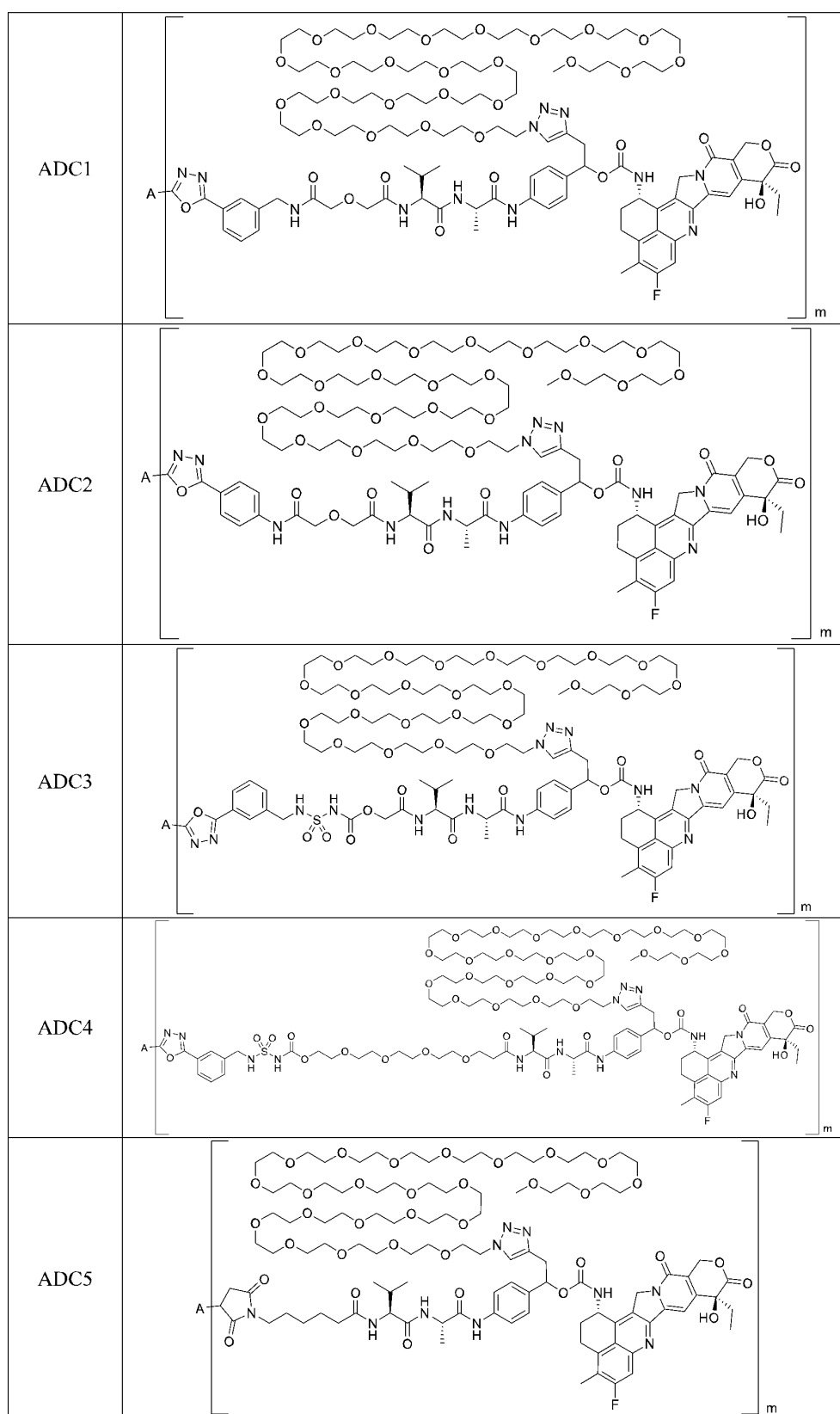


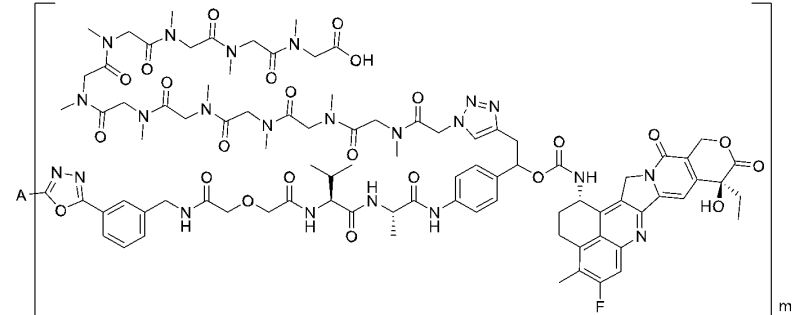
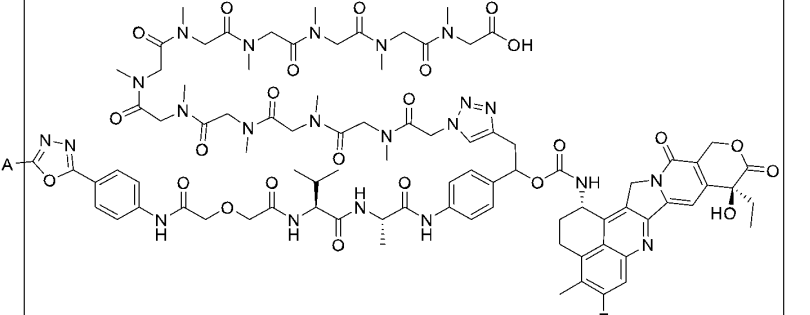
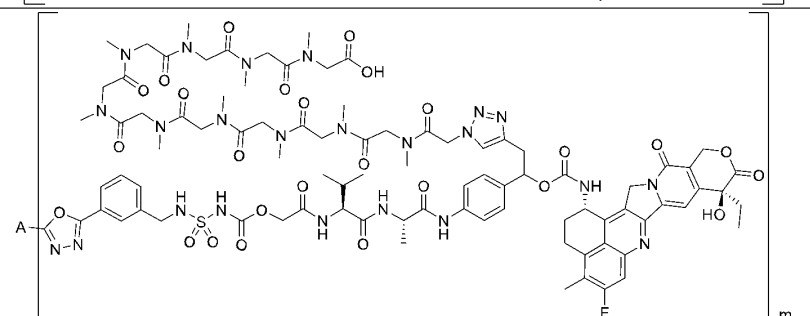
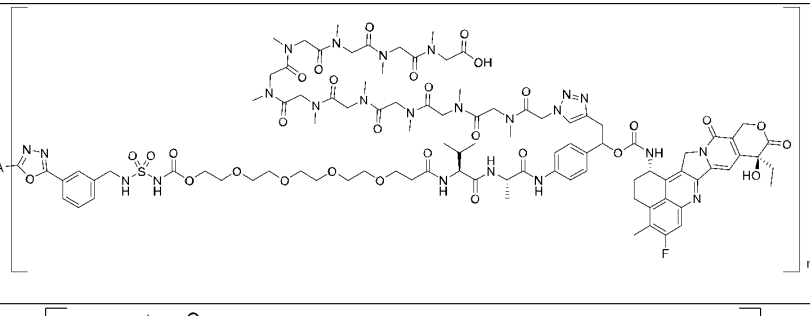
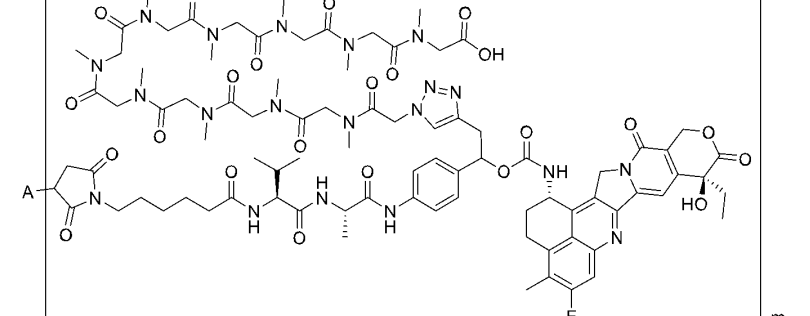


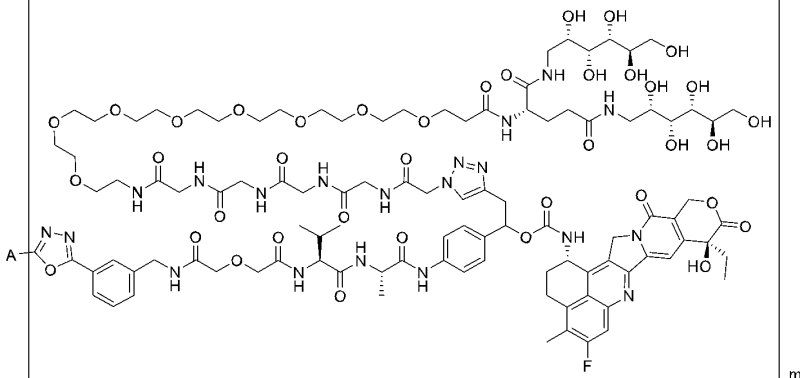
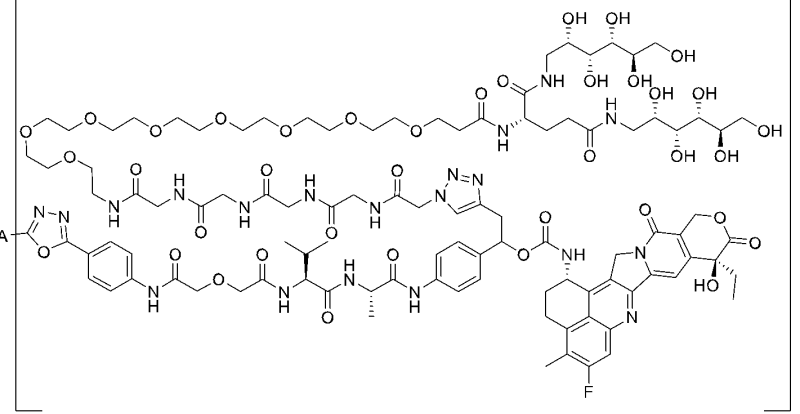
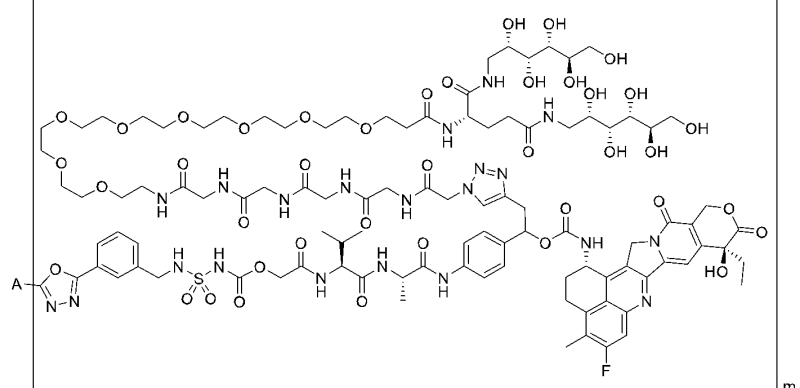
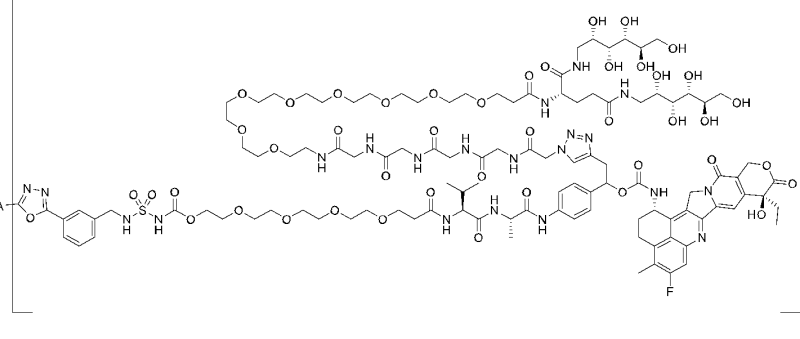
其中, r 、 s 、 t 、 u 各自独立的选自 1-50 的整数 (如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50), v 和 w 各自独立地选自 1-12 的整数 (如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12)。

在一些实施方案中, 式 I 所示的抗体药物偶联物及其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物选自以下结构:

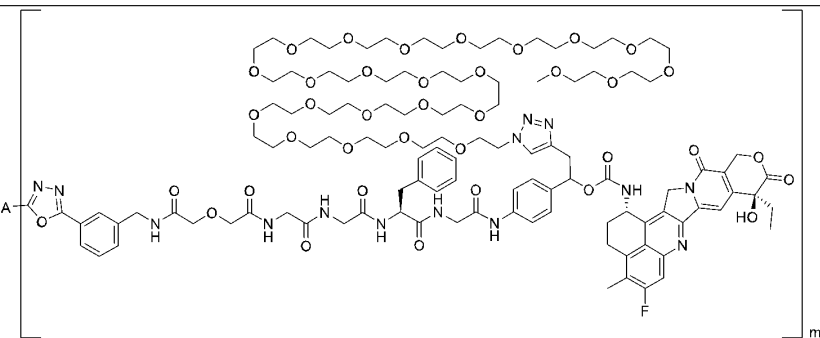
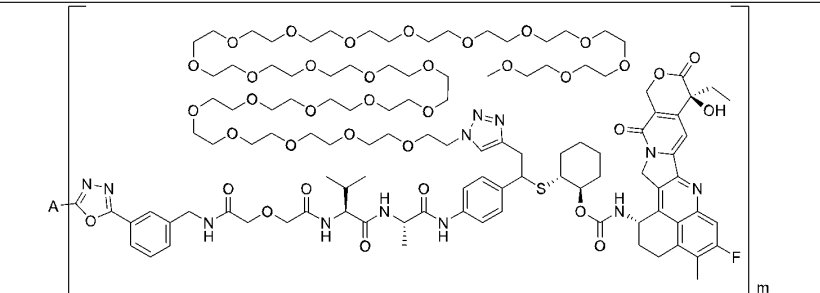
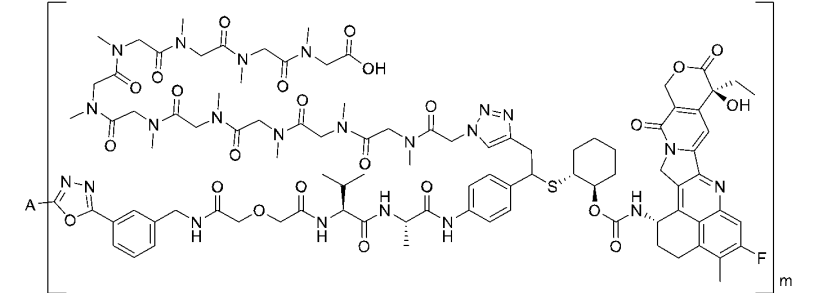
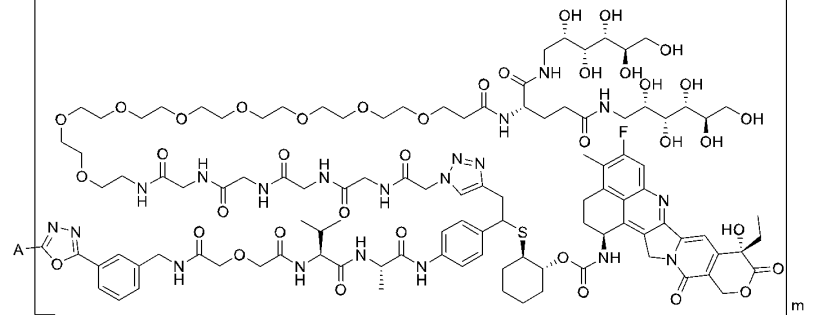
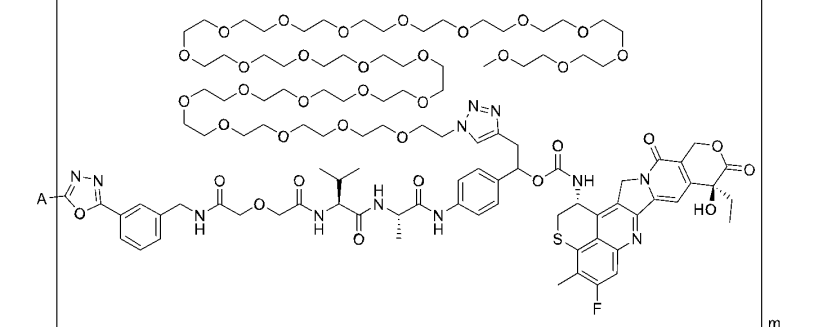
编号	结构
----	----



ADC6	
ADC7	
ADC8	
ADC9	
ADC10	

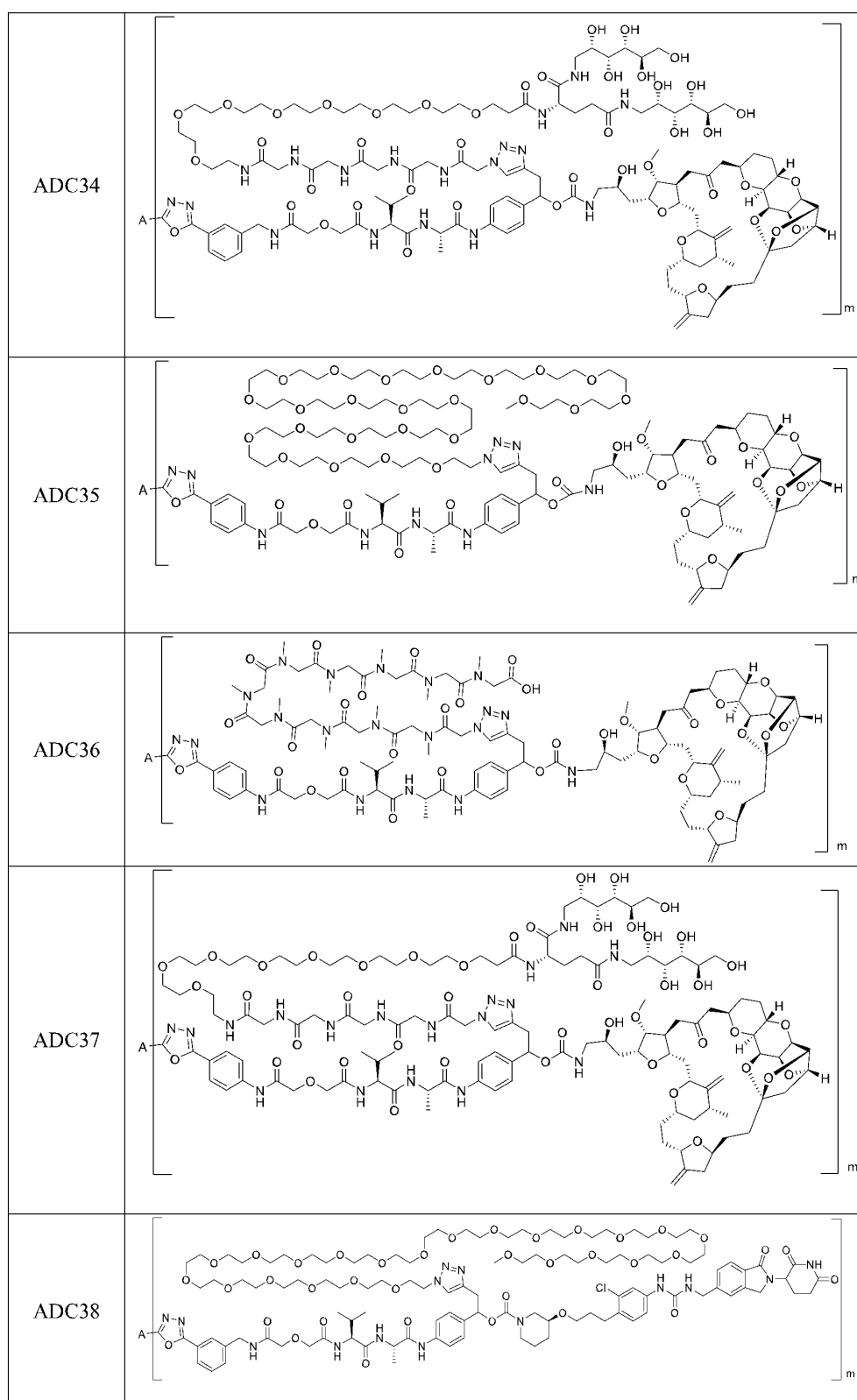
ADC11	 Chemical structure of ADC11, a conjugate consisting of a fluorinated quinoline core linked via an amide bond to a long poly(ethylene glycol) (PEG) chain. The PEG chain is terminated with a hydroxyl group. The structure is shown within brackets with a subscript 'm'.
ADC12	 Chemical structure of ADC12, a conjugate consisting of a fluorinated quinoline core linked via an amide bond to a long poly(ethylene glycol) (PEG) chain. The PEG chain is terminated with a hydroxyl group. The structure is shown within brackets with a subscript 'm'.
ADC13	 Chemical structure of ADC13, a conjugate consisting of a fluorinated quinoline core linked via an amide bond to a long poly(ethylene glycol) (PEG) chain. The PEG chain is terminated with a hydroxyl group. The structure is shown within brackets with a subscript 'm'.
ADC14	 Chemical structure of ADC14, a conjugate consisting of a fluorinated quinoline core linked via an amide bond to a long poly(ethylene glycol) (PEG) chain. The PEG chain is terminated with a hydroxyl group. The structure is shown within brackets with a subscript 'm'.

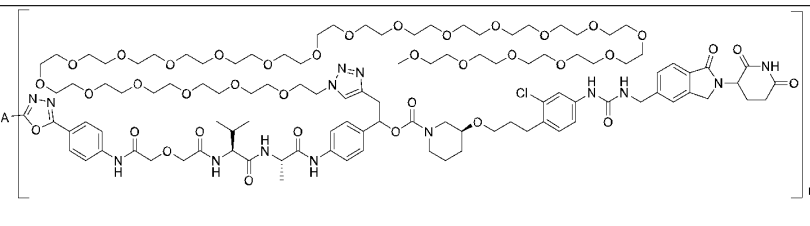
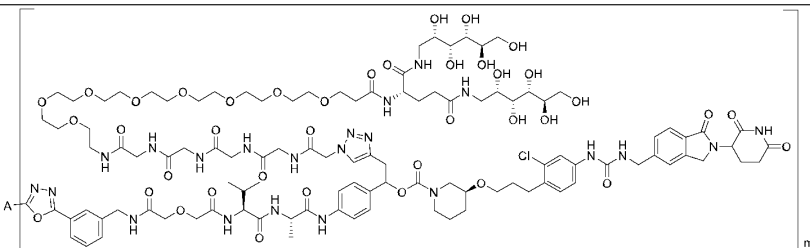
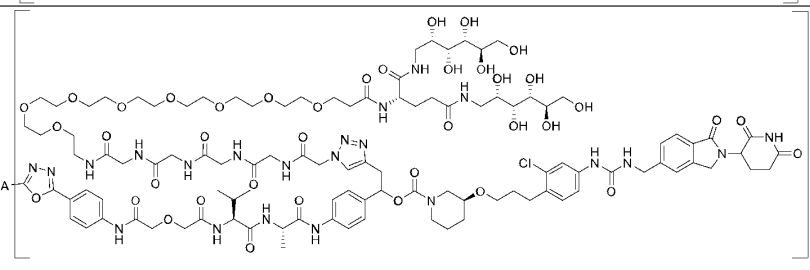
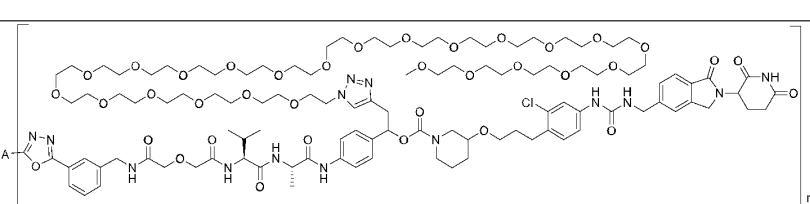
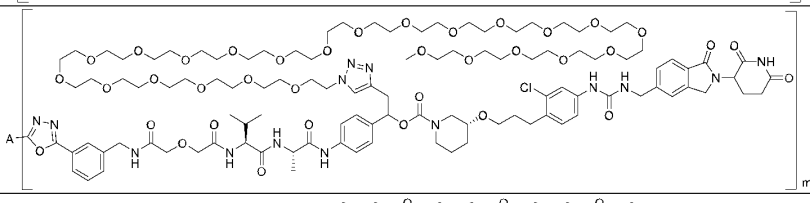
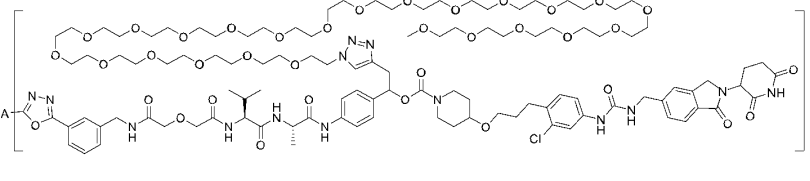
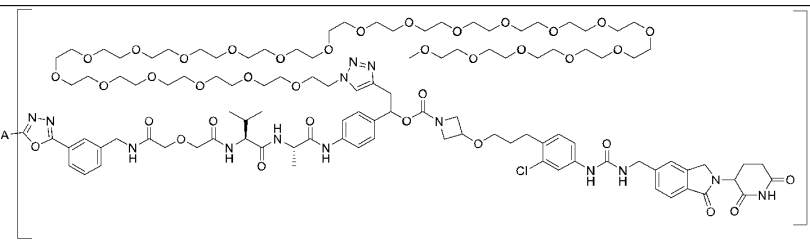
ADC15	
ADC16	
ADC17	
ADC18	

ADC19	
ADC20	
ADC21	
ADC22	
ADC23	

ADC24	
ADC25	
ADC26	
ADC27	
ADC28	

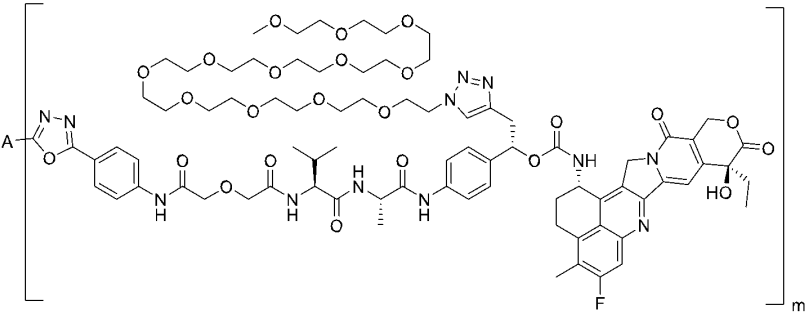
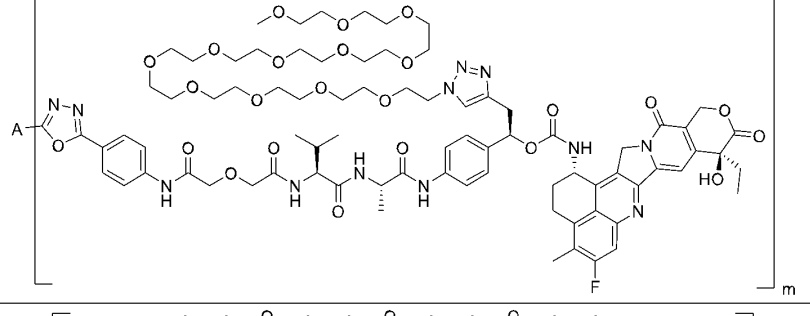
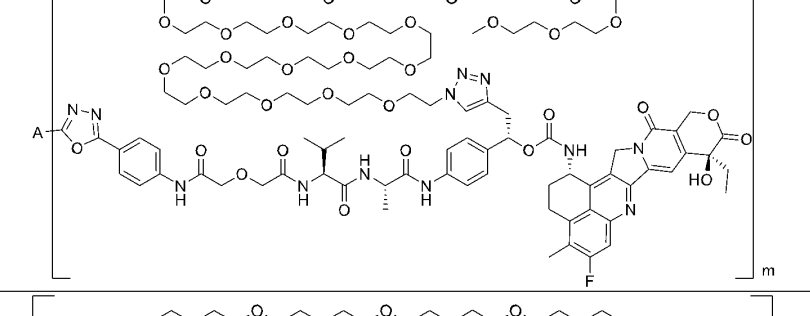
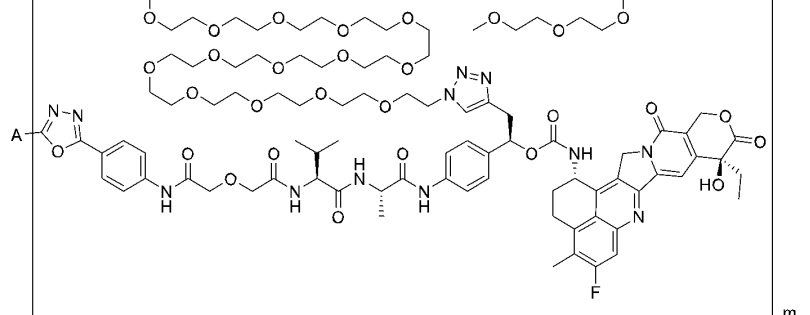
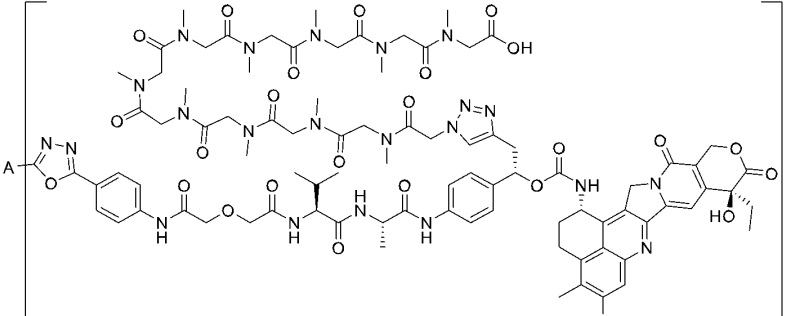
ADC29	
ADC30	
ADC31	
ADC32	
ADC33	

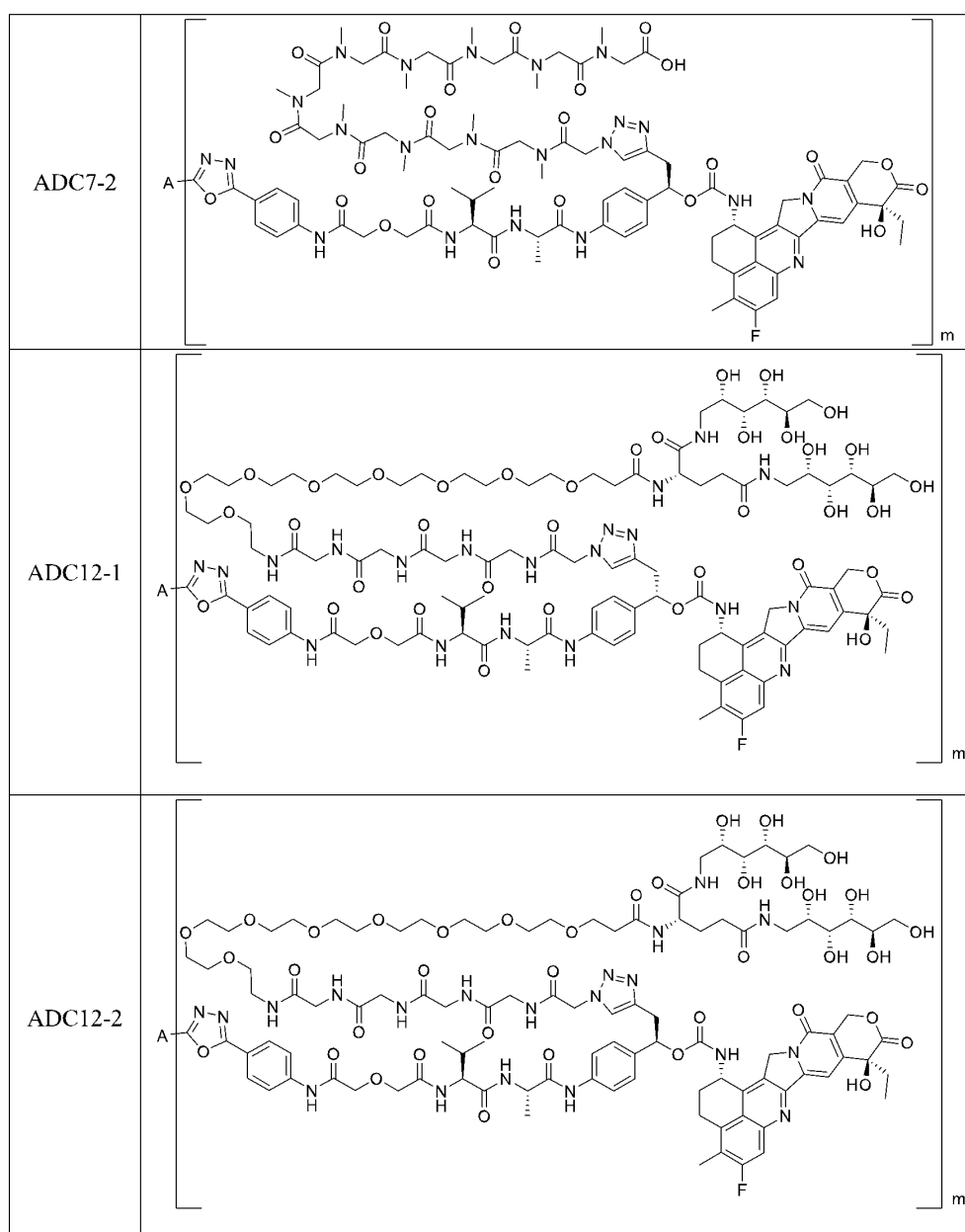


ADC39	
ADC40	
ADC41	
ADC42	
ADC43	
ADC44	
ADC45	

ADC46	
ADC47	
ADC48	
ADC49	
ADC50	

[illegible]

ADC55-1	
ADC55-2	
ADC2-1	
ADC2-2	
ADC7-1	



在一些实施方案中, ADC1 至 ADC55 及 ADC2-1、ADC2-2、ADC7-1、ADC7-2、ADC12-1、ADC12-2、ADC55-1、ADC55-2 的抗体选自 Trastuzumab。

在一些实施方案中, ADC1 至 ADC55 及 ADC2-1、ADC2-2、ADC7-1、ADC7-2、ADC12-1、ADC12-2、ADC55-1、ADC55-2 的抗体选自 Farletuzumab。

在一些实施方案中, ADC1 至 ADC55 及 ADC2-1、ADC2-2、ADC7-1、ADC7-2、ADC12-1、ADC12-2、ADC55-1、ADC55-2 的抗体选自 Farletuzumab FcS。

在一些实施方案中, ADC1 至 ADC55 及 ADC2-1、ADC2-2、ADC7-1、ADC7-2、ADC12-1、ADC12-2、ADC55-1、ADC55-2 的抗体选自 33B。

在一些实施方案中, ADC1 至 ADC55 及 ADC2-1、ADC2-2、ADC7-1、ADC7-2、ADC12-1、ADC12-2、ADC55-1、ADC55-2 的抗体选自 43A。

在一些实施方案中, ADC1 至 ADC55 及 ADC2-1、ADC2-2、ADC7-1、ADC7-2、ADC12-1、ADC12-2、ADC55-1、ADC55-2 的抗体选自 43B。

在一些实施方案中, 式 I 所示的抗体药物偶联物及其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、

非对映异构体、药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物选自以下结构：

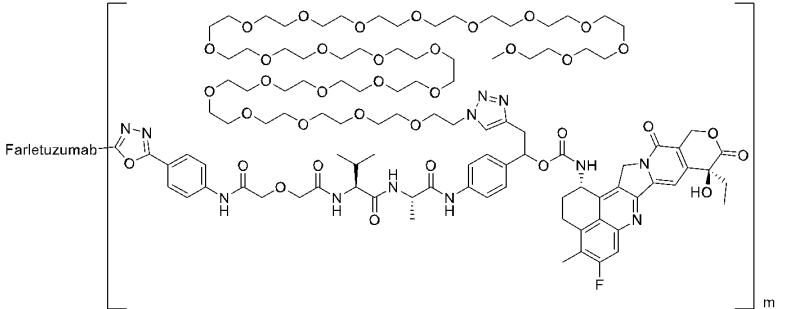
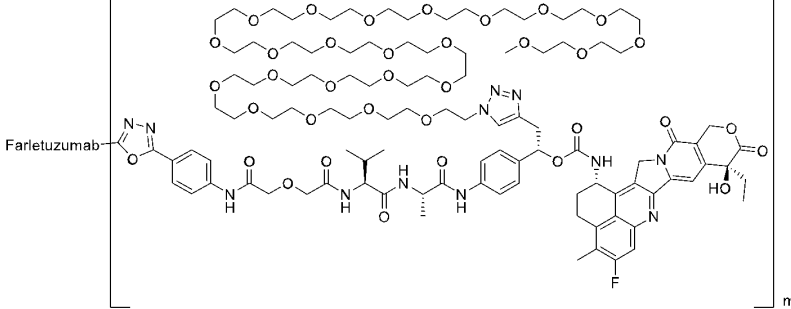
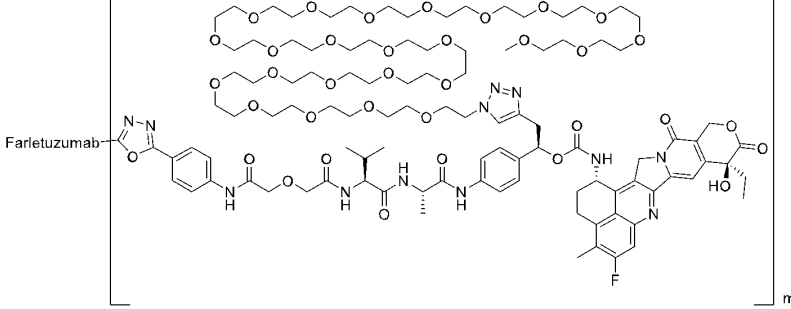
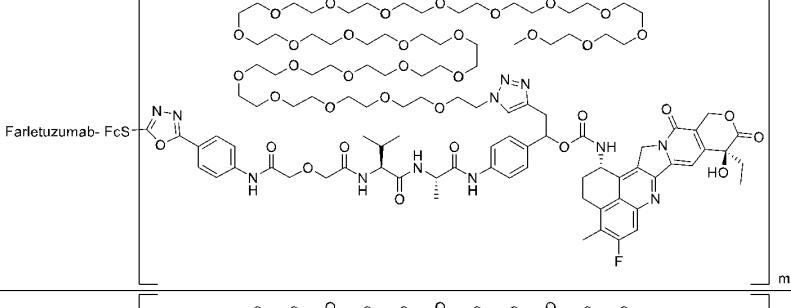
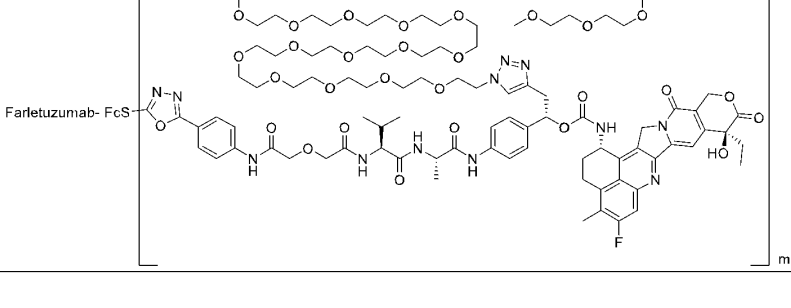
抗体 结构 编号	Trastuzumab	Farletuzumab	Farletuzumab -FcS	33B	43B
ADC1	T-ADC1	F-ADC1	FS-ADC1	D-ADC1	B-ADC1
ADC2	T-ADC2	F-ADC2	FS-ADC2	D-ADC2	B-ADC2
ADC2-1	T-ADC2-1	F-ADC2-1	FS-ADC2-1	D-ADC2-1	B-ADC2-1
ADC2-2	T-ADC2-2	F-ADC2-2	FS-ADC2-2	D-ADC2-2	B-ADC2-2
ADC3	T-ADC3	F-ADC3	FS-ADC3	D-ADC3	B-ADC3
ADC4	T-ADC4	F-ADC4	FS-ADC4	D-ADC4	B-ADC4
ADC5	T-ADC5	F-ADC5	FS-ADC5	D-ADC5	B-ADC5
ADC6	T-ADC6	F-ADC6	FS-ADC6	D-ADC6	B-ADC6
ADC7	T-ADC7	F-ADC7	FS-ADC7	D-ADC7	B-ADC7
ADC7-1	T-ADC7-1	F-ADC7-1	FS-ADC7-1	D-ADC7-1	B-ADC7-1
ADC7-2	T-ADC7-2	F-ADC7-2	FS-ADC7-2	D-ADC7-2	B-ADC7-2
ADC8	T-ADC8	F-ADC8	FS-ADC8	D-ADC8	B-ADC8
ADC9	T-ADC9	F-ADC9	FS-ADC9	D-ADC9	B-ADC9
ADC10	T-ADC10	F-ADC10	FS-ADC10	D-ADC10	B-ADC10
ADC11	T-ADC11	F-ADC11	FS-ADC11	D-ADC11	B-ADC11
ADC12	T-ADC12	F-ADC12	FS-ADC12	D-ADC12	B-ADC12
ADC12-1	T-ADC12-1	F-ADC12-1	FS-ADC12-1	D-ADC12-1	B-ADC12-1
ADC12-2	T-ADC12-2	F-ADC12-2	FS-ADC12-2	D-ADC12-2	B-ADC12-2
ADC13	T-ADC13	F-ADC13	FS-ADC13	D-ADC13	B-ADC13
ADC14	T-ADC14	F-ADC14	FS-ADC14	D-ADC14	B-ADC14
ADC15	T-ADC15	F-ADC15	FS-ADC15	D-ADC15	B-ADC15
ADC16	T-ADC16	F-ADC16	FS-ADC16	D-ADC16	B-ADC16
ADC17	T-ADC17	F-ADC17	FS-ADC17	D-ADC17	B-ADC17
ADC18	T-ADC18	F-ADC18	FS-ADC18	D-ADC18	B-ADC18
ADC19	T-ADC19	F-ADC19	FS-ADC19	D-ADC19	B-ADC19
ADC20	T-ADC20	F-ADC20	FS-ADC20	D-ADC20	B-ADC20
ADC21	T-ADC21	F-ADC21	FS-ADC21	D-ADC21	B-ADC21
ADC22	T-ADC22	F-ADC22	FS-ADC22	D-ADC22	B-ADC22
ADC23	T-ADC23	F-ADC23	FS-ADC23	D-ADC23	B-ADC23
ADC24	T-ADC24	F-ADC24	FS-ADC24	D-ADC24	B-ADC24
ADC25	T-ADC25	F-ADC25	FS-ADC25	D-ADC25	B-ADC25
ADC26	T-ADC26	F-ADC26	FS-ADC26	D-ADC26	B-ADC26
ADC27	T-ADC27	F-ADC27	FS-ADC27	D-ADC27	B-ADC27
ADC28	T-ADC28	F-ADC28	FS-ADC28	D-ADC28	B-ADC28
ADC29	T-ADC29	F-ADC29	FS-ADC29	D-ADC29	B-ADC29
ADC30	T-ADC30	F-ADC30	FS-ADC30	D-ADC30	B-ADC30
ADC31	T-ADC31	F-ADC31	FS-ADC31	D-ADC31	B-ADC31
ADC32	T-ADC32	F-ADC32	FS-ADC32	D-ADC32	B-ADC32
ADC33	T-ADC33	F-ADC33	FS-ADC33	D-ADC33	B-ADC33
ADC34	T-ADC34	F-ADC34	FS-ADC34	D-ADC34	B-ADC34
ADC35	T-ADC35	F-ADC35	FS-ADC35	D-ADC35	B-ADC35
ADC36	T-ADC36	F-ADC36	FS-ADC36	D-ADC36	B-ADC36
ADC37	T-ADC37	F-ADC37	FS-ADC37	D-ADC37	B-ADC37
ADC38	T-ADC38	F-ADC38	FS-ADC38	D-ADC38	B-ADC38
ADC39	T-ADC39	F-ADC39	FS-ADC39	D-ADC39	B-ADC39
ADC40	T-ADC40	F-ADC40	FS-ADC40	D-ADC40	B-ADC40
ADC41	T-ADC41	F-ADC41	FS-ADC41	D-ADC41	B-ADC41
ADC42	T-ADC42	F-ADC42	FS-ADC42	D-ADC42	B-ADC42
ADC43	T-ADC43	F-ADC43	FS-ADC43	D-ADC43	B-ADC43
ADC44	T-ADC44	F-ADC44	FS-ADC44	D-ADC44	B-ADC44
ADC45	T-ADC45	F-ADC45	FS-ADC45	D-ADC45	B-ADC45
ADC46	T-ADC46	F-ADC46	FS-ADC46	D-ADC46	B-ADC46

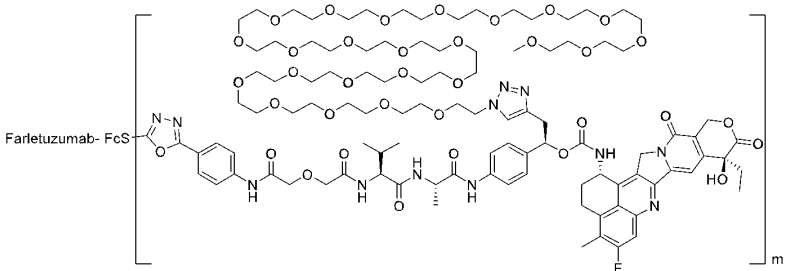
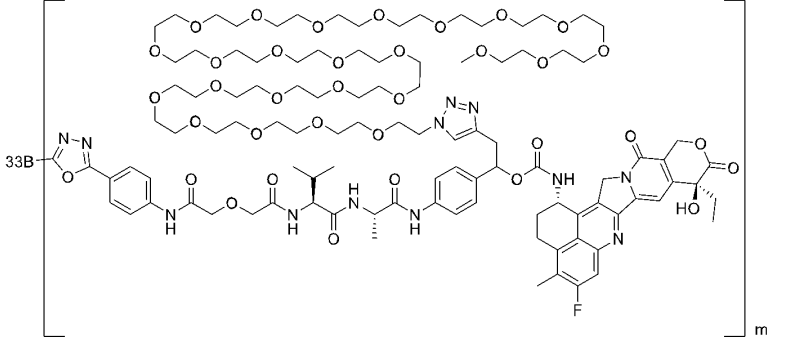
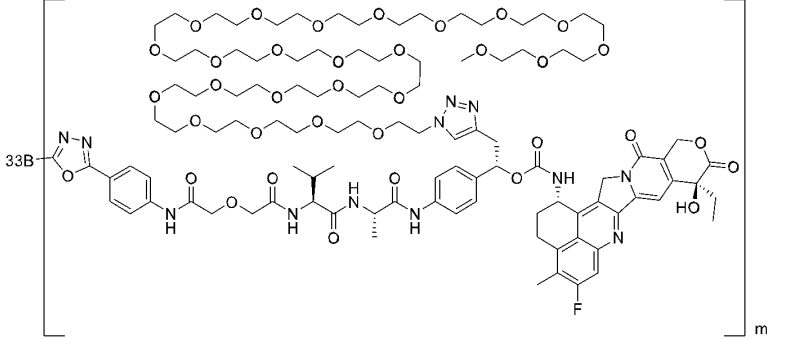
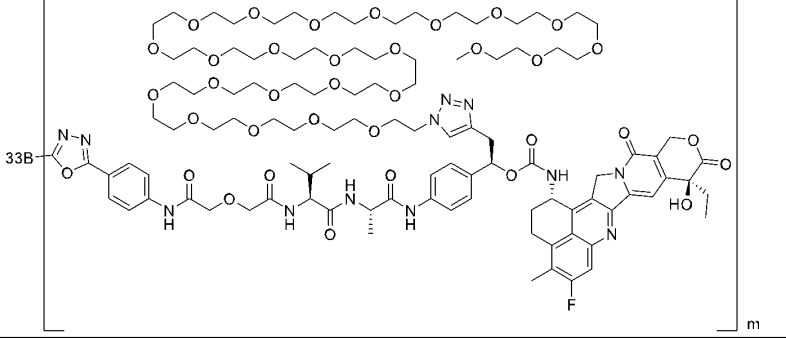
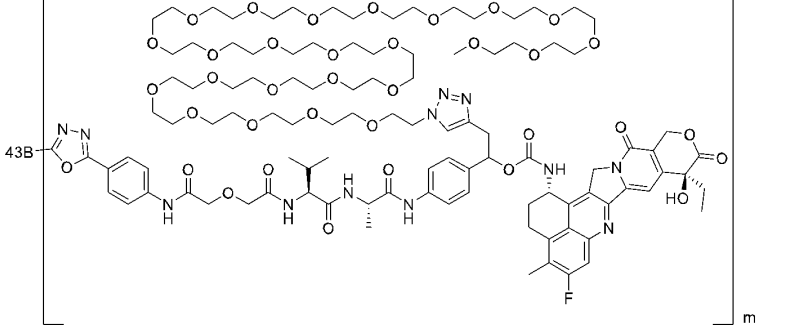
ADC47	T-ADC47	F-ADC47	FS-ADC47	D-ADC47	B-ADC47
ADC48	T-ADC48	F-ADC48	FS-ADC48	D-ADC48	B-ADC48
ADC49	T-ADC49	F-ADC49	FS-ADC49	D-ADC49	B-ADC49
ADC50	T-ADC50	F-ADC50	FS-ADC50	D-ADC50	B-ADC50
ADC51	T-ADC51	F-ADC51	FS-ADC51	D-ADC51	B-ADC51
ADC52	T-ADC52	F-ADC52	FS-ADC52	D-ADC52	B-ADC52
ADC53	T-ADC53	F-ADC53	FS-ADC53	D-ADC53	B-ADC53
ADC54	T-ADC54	F-ADC54	FS-ADC54	D-ADC54	B-ADC54
ADC55	T-ADC55	F-ADC55	FS-ADC55	D-ADC55	B-ADC55
ADC55-1	T-ADC55-1	F-ADC55-1	FS-ADC55-1	D-ADC55-1	B-ADC55-1
ADC55-2	T-ADC55-2	F-ADC55-2	FS-ADC55-2	D-ADC55-2	B-ADC55-2

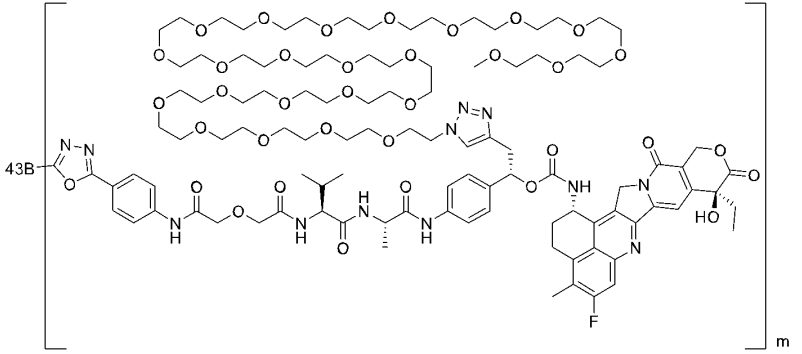
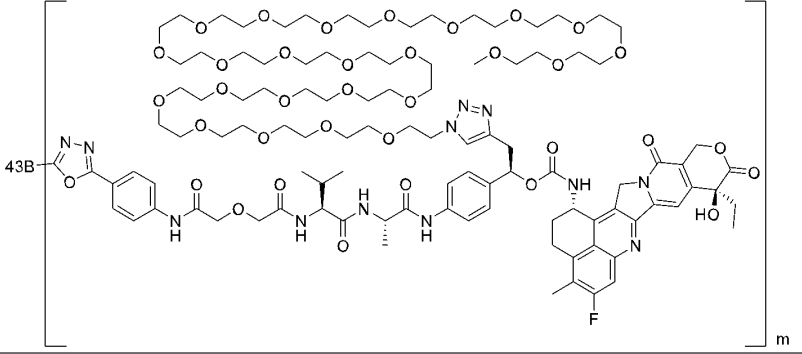
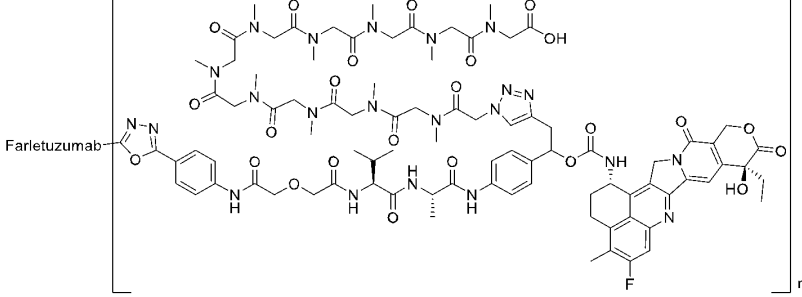
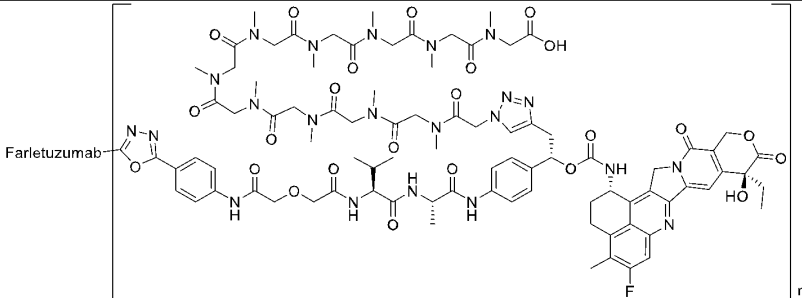
注：表中，T-ADC1 即指 ADC1 中，抗体 A 为 Trastuzumab 的 ADC，其他 ADC 类似。

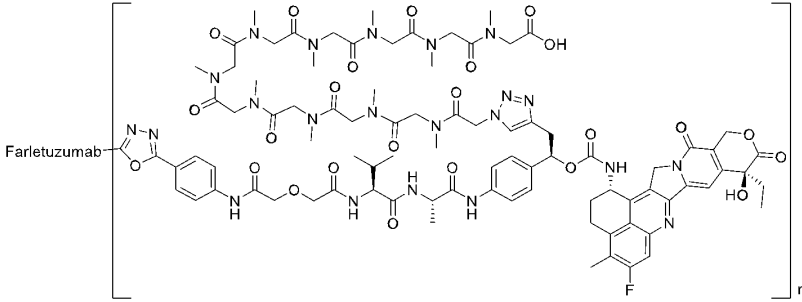
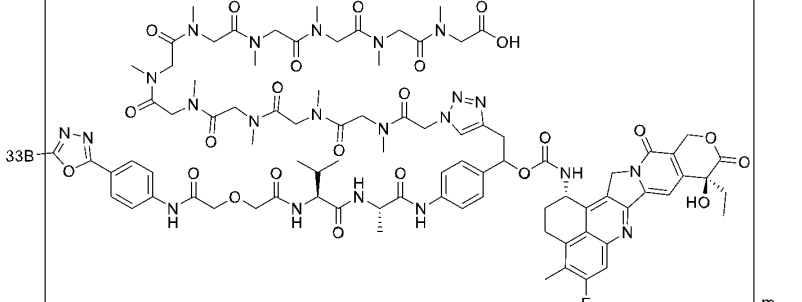
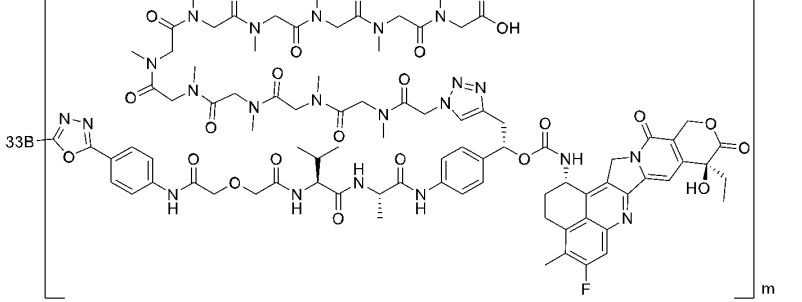
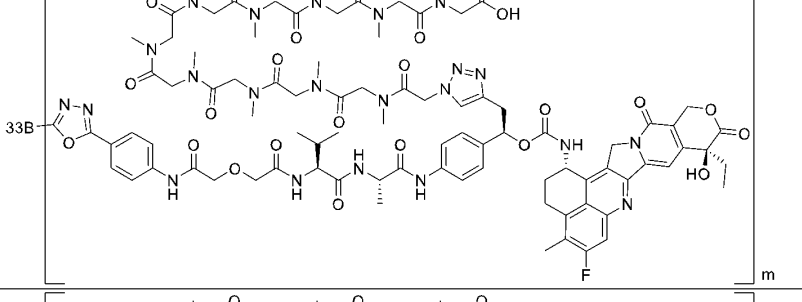
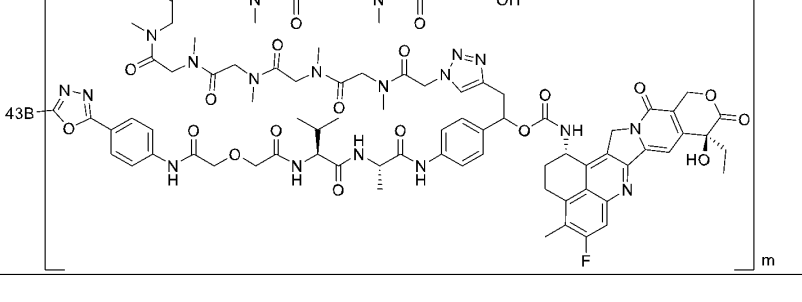
在一些实施方案中，式 I 所示的抗体药物偶联物及其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物选自以下结构：

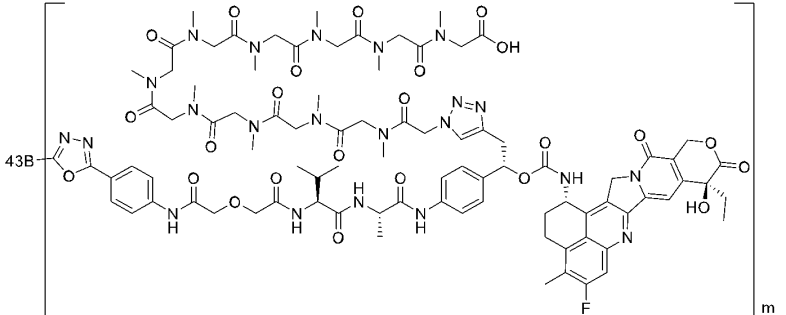
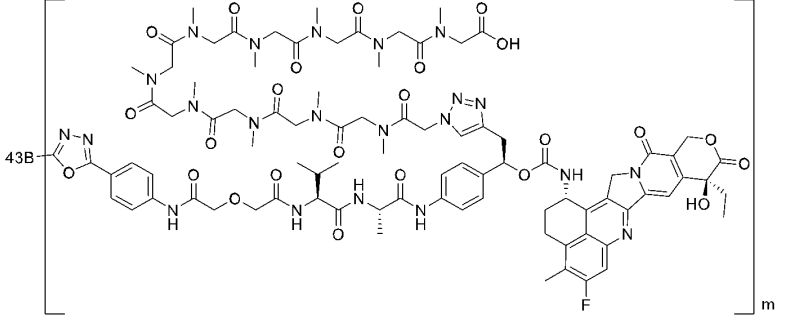
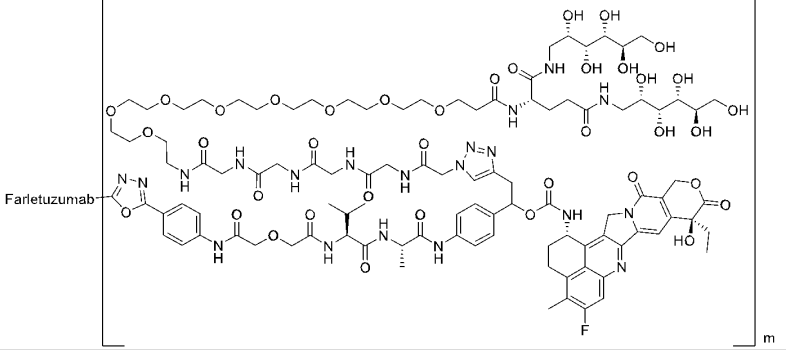
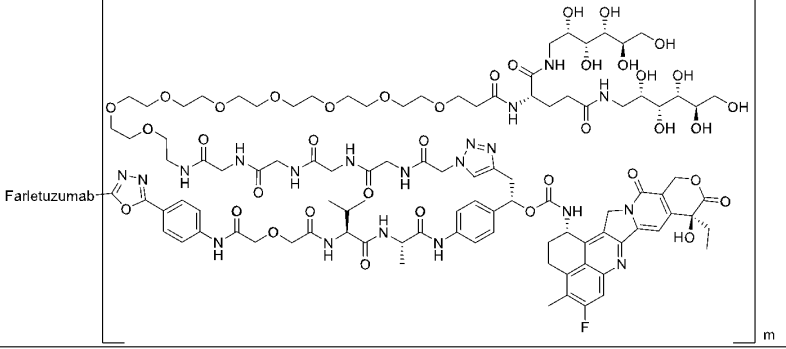
编号	结构
T-ADC2	
T-ADC2-1	
T-ADC2-2	

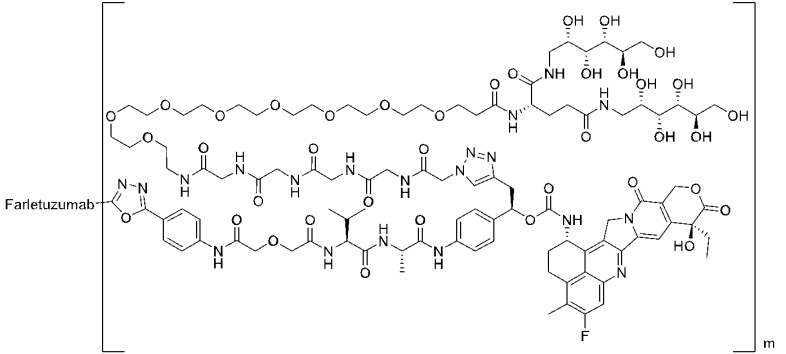
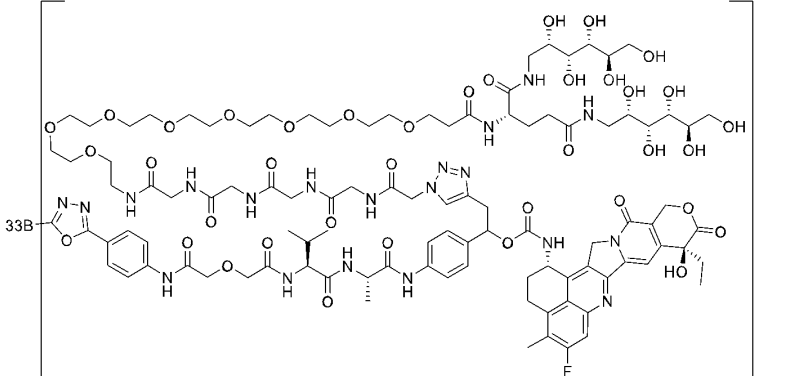
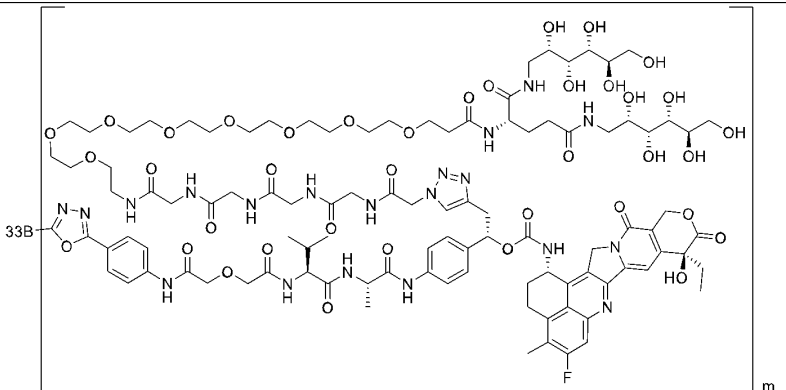
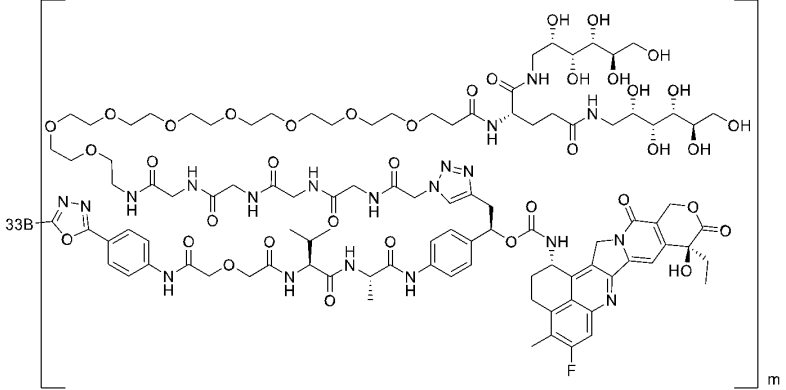
F-ADC2	
F-ADC2-1	
F-ADC2-2	
FS-ADC2	
FS-ADC2-1	

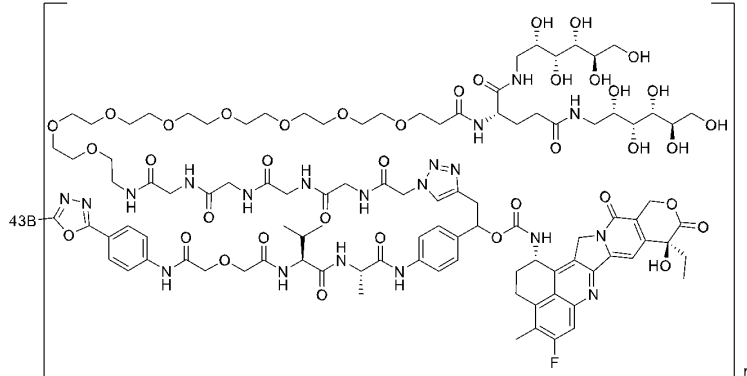
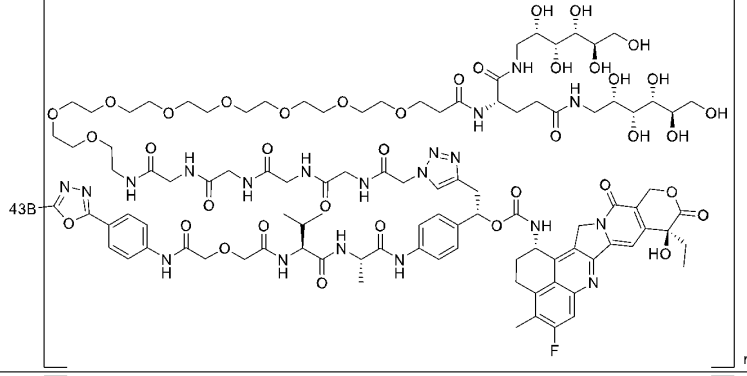
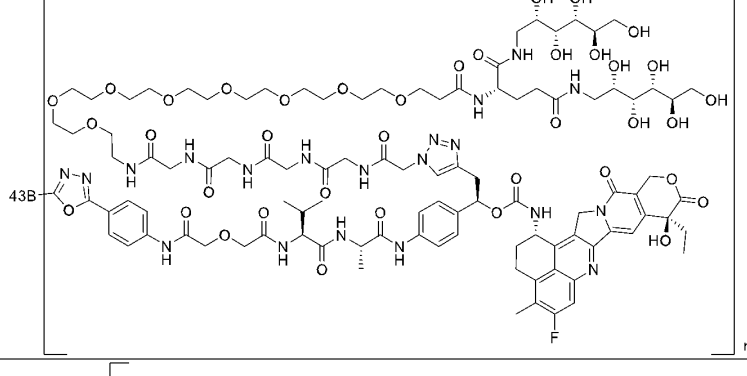
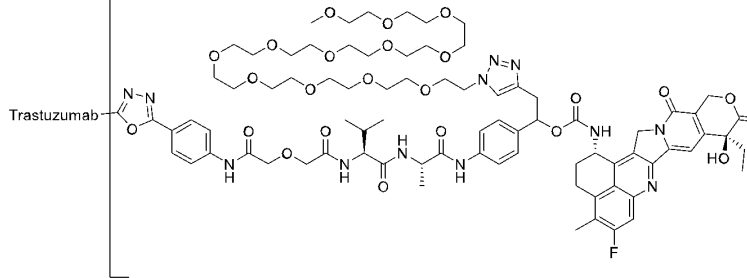
FS-ADC2-2	
D-ADC2	
D-ADC2-1	
D-ADC2-2	
B-ADC2	

B-ADC2-1	
B-ADC2-2	
F-ADC7	
F-ADC7-1	

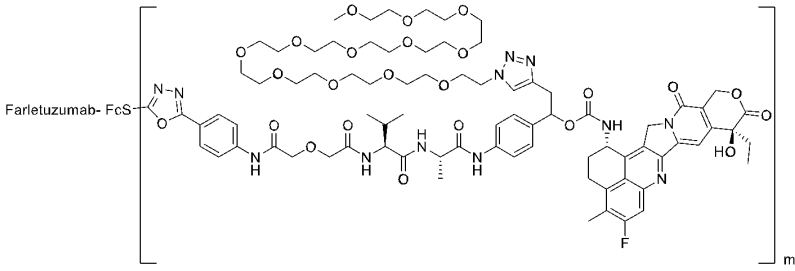
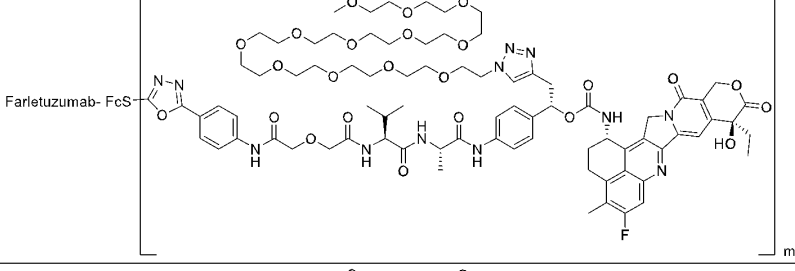
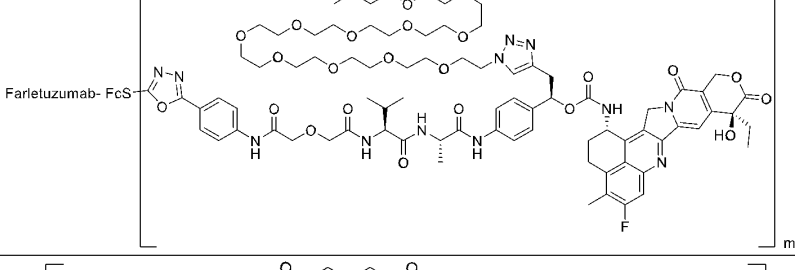
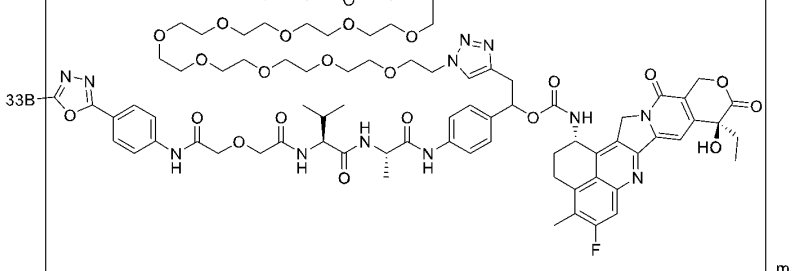
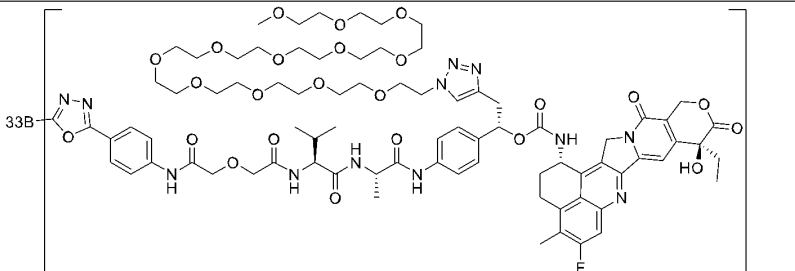
F-ADC7-2	
D-ADC7	
D-ADC7-1	
D-ADC7-2	
B-ADC7	

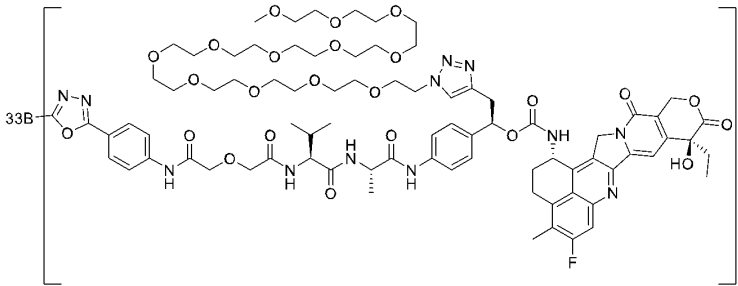
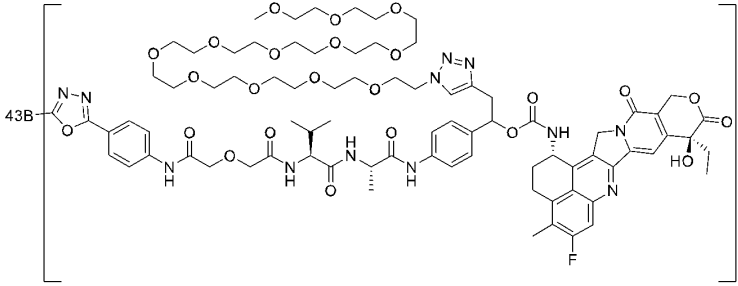
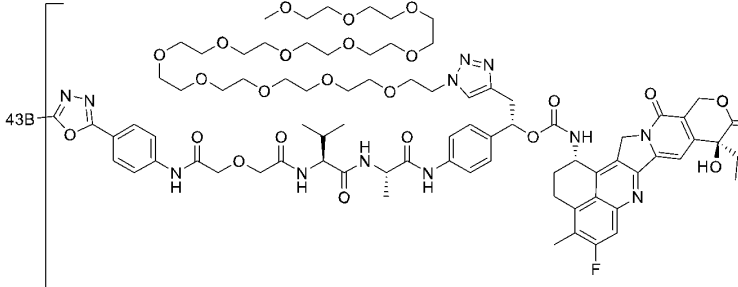
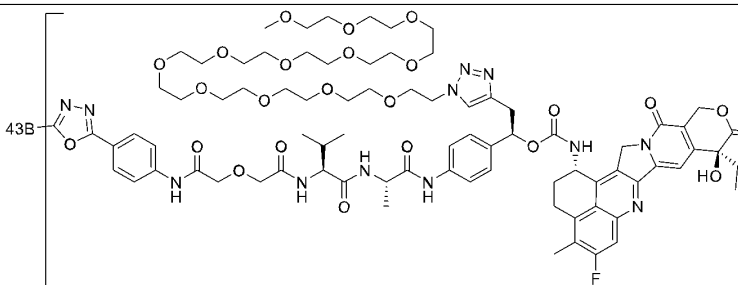
B-ADC7-1	
B-ADC7-2	
F-ADC12	
F-ADC12-1	

F-ADC12-2	 Chemical structure of F-ADC12-2, a conjugate consisting of a Farletuzumab antibody (labeled 33B) linked via a linker to a fluorinated nucleoside derivative (labeled F). The structure is shown within brackets with a subscript 'm'.
D-ADC12	 Chemical structure of D-ADC12, a conjugate consisting of a fluorinated nucleoside derivative (labeled F) linked via a linker to a nucleoside derivative (labeled 33B). The structure is shown within brackets with a subscript 'm'.
D-ADC12-1	 Chemical structure of D-ADC12-1, a conjugate consisting of a fluorinated nucleoside derivative (labeled F) linked via a linker to a nucleoside derivative (labeled 33B). The structure is shown within brackets with a subscript 'm'.
D-ADC12-2	 Chemical structure of D-ADC12-2, a conjugate consisting of a fluorinated nucleoside derivative (labeled F) linked via a linker to a nucleoside derivative (labeled 33B). The structure is shown within brackets with a subscript 'm'.

B-ADC12	 m
B-ADC12-1	 m
B-ADC12-2	 m
T-ADC55	 m

T-ADC55-1	
T-ADC55-2	
F-ADC55	
F-ADC55-1	
F-ADC55-2	

FS-ADC55	
FS-ADC55-1	
FS-ADC55-2	
D-ADC55	
D-ADC55-1	

D-ADC55-2	
B-ADC55	
B-ADC55-1	
B-ADC55-2	

其中 m 选自 2、4、6、8。

在一些实施方案中，本发明提供式(I)结构的抗体药物偶联物及其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物在制备治疗癌症的药物中的用途。所述癌症包括肝癌、肾癌、肺癌（例如小细胞肺癌和非小细胞肺癌）、胃癌、食道癌、口腔癌、尿道癌、膀胱癌、结肠癌、直肠癌、前列腺癌、乳腺癌、卵巢癌、胰腺癌、黑色素瘤、血液肿瘤或多形成胶质细胞瘤、淋巴瘤（例如霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤或复发性间变性大细胞淋巴瘤）、宫颈癌、子宫癌、子宫内膜癌、唾液腺癌、神经胶质瘤、神经母细胞瘤、肉瘤、结直肠癌、白血病（例如急性淋巴细胞白血病、急性髓细胞白血病、急性早幼粒细胞白血病、慢性髓细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病）骨癌、皮肤癌、甲状腺癌等。

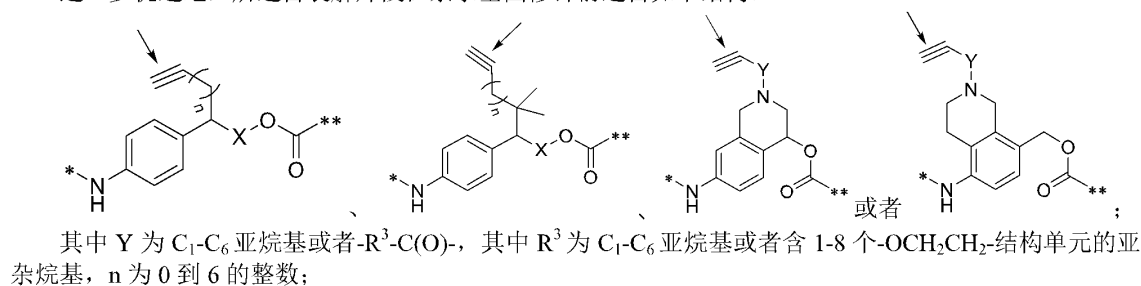
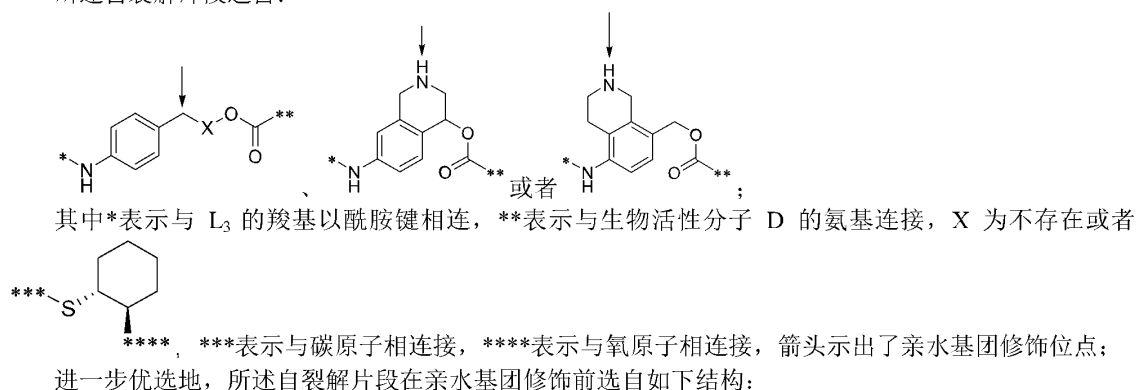
在一些实施方案中，本发明提供式(I)结构的抗体药物偶联物及其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物用于治疗癌症的用途。所述癌症包括肝癌、肾癌、肺癌（例如小细胞肺癌和非小细胞肺癌）、胃癌、食道癌、口腔癌、尿道癌、膀胱癌、结肠癌、直肠癌、前列腺癌、乳腺癌、卵巢癌、胰腺癌、黑色素瘤、血液肿瘤或多形成胶质细胞瘤、淋巴瘤（例如霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤或复发性间变性大细胞淋巴瘤）、宫颈癌、子宫癌、子宫内膜癌、

39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50) 个原子的直链或支链亚杂烷基, R^1 选自氢、 C_1-C_6 烷基、 C_3-C_8 环烷基、3-8 元杂环基、 C_1-C_6 卤代烷基、2-8 个原子的杂烷基、 C_6-C_{14} 芳基、5-6 元杂芳基, 所述烷基、杂环基、杂烷基、芳基、杂芳基各自任选地被独立地选自 C_1-C_6 烷基、2-6 个原子的杂烷基、 C_1-C_6 烷氧基、氨基或羧基中的一个或者多个取代基所取代, 所述杂烷基、亚杂烷基含有 1-12 (优选 1-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12) 个杂原子, 所述杂烷基、杂环基、杂芳基、亚杂烷基、亚杂芳基的杂原子选自 N、O 或 S 中的一个或多个;

L_3 为多肽序列; 优选地, 选自由 2-8 (如 2、3、4、5、6、7、8) 个天然或非天然氨基酸构成的肽残基, 其中氨基酸任选进一步被选自 C_1-C_6 烷基、2-6 个原子的杂烷基、 C_1-C_6 烷氧基、羟基、氨基、羧基或 C_3-C_8 环烷基中的一个或者多个取代基所取代;

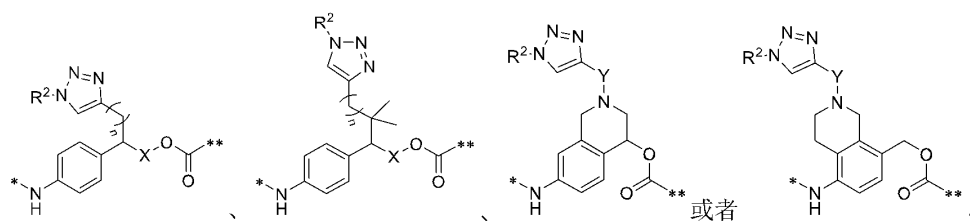
L_4 为亲水基团修饰的自裂解片段,

所述自裂解片段选自:

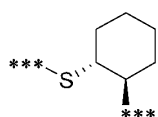


所述亲水基团具有至少一个叠氮基团并包含聚乙二醇基团、聚天然氨基酸或非天然氨基酸基团、单糖、低聚糖或者多糖或上述基团的组合;

优选地, L_4 选自:

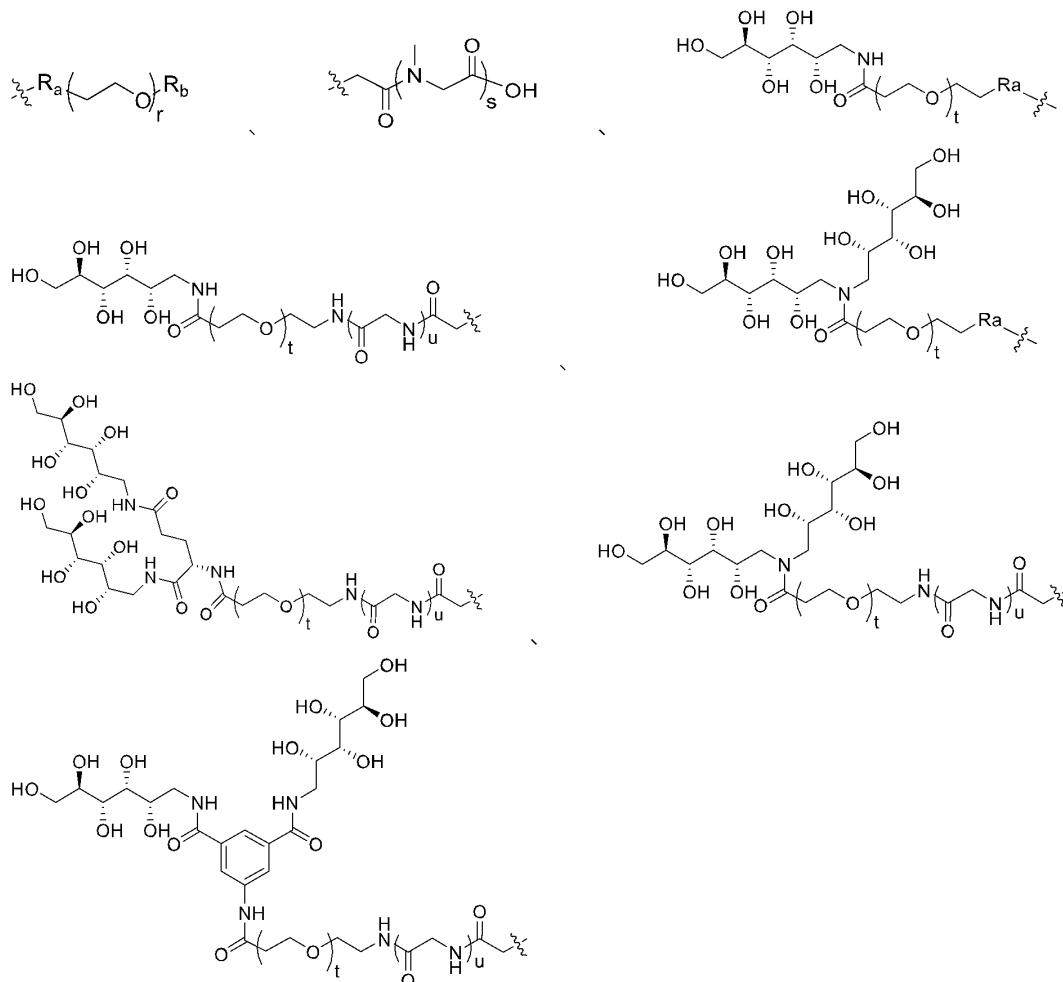


R^2 为亲水片段, 优选地, 选自包含 4-50 (优选 4-24, 更优选 6-24, 最优选 8-24, 如 4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50) 个 (OCH_2CH_2) 结构单元的直链或支链杂烷基、包含 4-50 (优选 4-24, 更优选 8-24, 最优选 10-24, 如 4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50) 个蛋白氨基酸 (如甘氨酸) 或非蛋白氨基酸肽链 (如肌氨酸)、包含单糖、低聚糖或者多糖的直链或支链杂烷基; X 为不存在或者



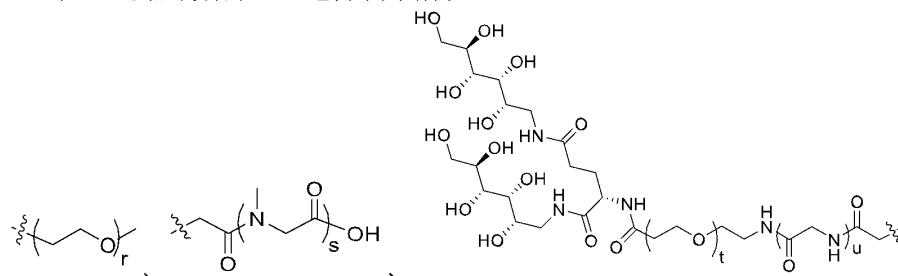
****, ***表示与碳原子相连接, ****表示与氧原子相连接; Y 为 C_1-C_6 亚烷基或者 $-R^3-C(O)-$, 其中 R^3 为 C_1-C_6 亚烷基或者含 1-24 个(优选 1-8 个, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12) $-OCH_2CH_2-$ 结构单元的亚杂烷基, n 为 0 到 6 的整数(如 0、1、2、3、4、5、6)。

在一些实施方案中, R^2 选自下列结构:



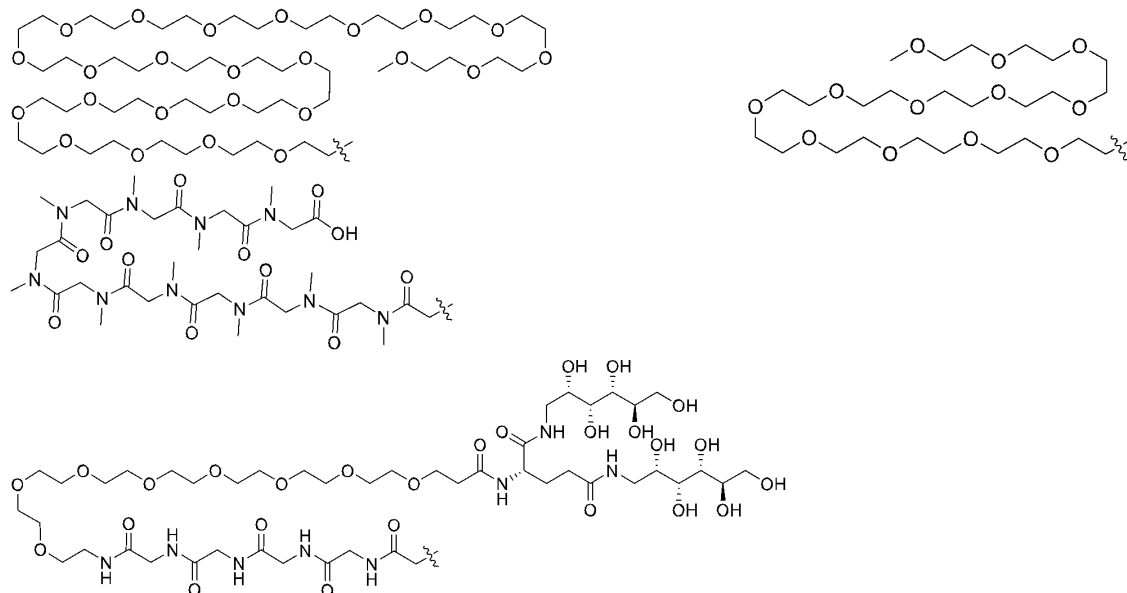
其中, r, s, t, u 各自独立的选自 1-50 的整数(如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50); R_a 选自键、 C_1-C_3 亚烷基, 如亚甲基、亚乙基、亚正丙基、亚异丙基; R_b 选自 C_1-C_3 烷基, 如甲基、乙基、正丙基、异丙基。

在一些实施方案中, R^2 选自下列结构:



其中, r、s、t、u 各自独立的选自 1-50 的整数 (如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50)。

在一些实施方案中, R^2 选自下列结构:



在一些实施方案中, Y 为 C_1-C_6 亚烷基或者 $-R^3-C(O)-$, 其中 R^3 为 C_1-C_6 亚烷基或者 $-C_1-C_6$ 亚烷基 $-(OCH_2CH_2)_v-$, 其中 v 选自 1-12 的整数 (如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12)。

在一些实施方案中, Y 为 C_1-C_3 亚烷基或者 $-R^3-C(O)-$, 其中 R^3 为 C_1-C_3 亚烷基或者 $-C_1-C_3$ 亚烷基 $-(OCH_2CH_2)_v-$, 其中 v 选自 1-12 的整数 (如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12)。

在一些实施方案中, Y 为亚甲基、亚乙基、亚正丙基、亚异丙基或者 $-R^3-C(O)-$, 其中 R^3 为亚甲基 $-(OCH_2CH_2)_v-$ 、亚乙基 $-(OCH_2CH_2)_v-$ 、亚正丙基 $-(OCH_2CH_2)_v-$ 、亚异丙基 $-(OCH_2CH_2)_v-$, 其中 v 选自 1-12 的整数 (如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12)。

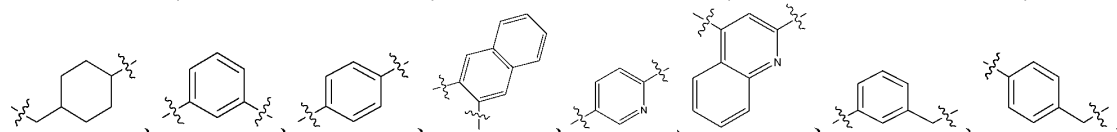
在一些实施方案中, Y 选自 $-CH_2-(OCH_2CH_2)_4C(O)-$ 。

在一些实施方案中, L_2 选自 $-L_{2a}-C(O)-$ 、 $-L_{2a}-NH-C(O)-L_{2b}-C(O)-$ 或者 $-L_{2a}-NR^1-SO_2-NH-C(O)-O-L_{2b}-C(O)-$, 其中 L_{2a} 选自 $-C_1-C_6$ 亚烷基、 $-C_1-C_6$ 亚烷基- C_3-C_6 亚环烷基、 $-C_6-C_{10}$ 亚芳基、 $-C_6-C_{10}$ 亚芳基- C_1-C_6 亚烷基、 $-5-6$ 元亚杂芳基、 $-5-6$ 元亚杂芳基- C_1-C_6 亚烷基、1-50 (优选 1-20, 更优选 1-12, 最优选 1-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50) 个原子的直链或支链亚杂烷基、1-50 (优选 1-20, 更优选 1-12, 最优选 1-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50) 个原子的直链或支链亚杂烷基-3-6 元亚杂环基, 所述亚烷基、亚环烷基、亚芳基、亚杂烷基、亚杂芳基、亚杂环基各自任选地被独立地选自卤素、 C_1-C_3 烷基、1-3 个原子的杂烷基、 C_1-C_3 烷氧基、羟基、氨基、羧基或 C_3-C_6 环烷基中的一个或者多个取代基所取代, 所述亚杂烷基、亚杂环基、杂烷基含有 1-12 (优选 1-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12) 个杂原子, 所述亚杂烷基、亚杂环基、亚杂芳基、杂烷基的杂原子选自 N、O 或 S 中的一个或多个 (如两个或三个); L_{2b} 选自 $-C_1-C_6$ 亚烷基、1-50 (优选 1-20, 更优选 1-12, 最优选 1-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50) 个原子的直链或支链亚杂烷基, R^1 选自氢、 C_1-C_3 烷基、 C_3-C_6 环烷基、3-6 元杂环基、 C_1-C_3 卤代烷基、2-6 个原子的杂烷基、 C_6-C_{10} 芳基、5-6 元杂芳基, 所述烷基、杂烷基、芳基、杂芳基、环烷基、杂环基各自任选地被独立地选自 C_1-C_3 烷基、2-3 个原子的杂烷基、 C_1-C_3 烷氧基、氨基或羧基中的一个或者多个取代基所取代, 所述杂烷基、亚杂烷基含有 1-12 (优选 1-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12) 个杂原子, 所述杂烷基、杂环基、杂芳基、亚杂烷基的杂原子选自 N、O 或 S 中的一个或多个 (如两个或三个)。

在一些实施方案中, L_2 选自 $-L_{2a}-C(O)-$ 、 $-L_{2a}-NH-C(O)-L_{2b}-C(O)-$ 或者 $-L_{2a}-NR^1-SO_2-NH-C(O)-O-L_{2b}-C(O)-$, 其中 L_{2a} 选自亚甲基、亚乙基、亚正丙基、亚正丁基、亚正戊基、亚正己基、 $-\text{CH}_2(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-C_1-C_3$ 亚烷基-亚环己烷基-、-亚苯基-、-亚苯基- C_1-C_3 亚烷基-、-5-6 元亚杂芳基- C_1-C_3 亚烷基-、1-50 (优选 1-20, 更优选 1-12, 最优选 1-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50) 个原子的直链或支链亚杂烷基、1-50 (优选 1-20, 更优选 1-12, 最优选 1-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50) 个原子的直链或支链亚杂烷基-3-6 元亚杂环基, 所述亚烷基、亚环烷基、亚芳基、亚杂烷基、亚杂芳基、亚杂环基各自任选地被独立地选自卤素、甲基、乙基、正丙基、异丙基、1-3 个原子的杂烷基、甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、羟基、氨基、羧基或环丙基、环丁基、环戊基、环己基中的一个或者多个取代基所取代, 所述亚杂烷基、亚杂环基、杂烷基含有 1-12 (优选 1-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12) 个杂原子, 所述亚杂烷基、亚杂环基、亚杂芳基、杂烷基的杂原子选自 N、O 或 S 中的一个或多个 (如两个或三个); L_{2b} 选自亚甲基、亚乙基、亚正丙基、亚正丁基、亚正戊基、亚正己基、 $-\text{CH}_2(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、1-50 (优选 1-20, 更优选 1-12, 最优选 1-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50) 个原子的直链或支链亚杂烷基, R^1 选自氢、甲基、乙基、正丙基、异丙基、环丙基、环丁基、环戊基、环己基、3-6 元杂环基、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CF}_2\text{CF}_3$ 、2-3 个原子的杂烷基、苯基、5-6 元杂芳基, 所述烷基、杂烷基、芳基、杂芳基、环烷基、杂环基各自任选地被独立地选自甲基、乙基、正丙基、异丙基、2-3 个原子的杂烷基、甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、氨基或羧基中的一个或者多个取代基所取代, 所述杂烷基、亚杂烷基含有 1-12 (优选 1-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12) 个杂原子, 所述杂烷基、杂环基、杂芳基、亚杂烷基的杂原子选自 N、O 或 S 中的一个或多个 (如两个或三个)。

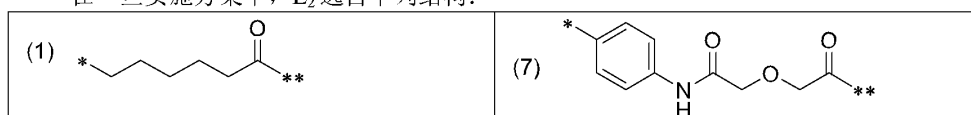
在一些实施方案中, L_{2a} 选自 $-C_1-C_8$ 亚烷基-、 $-C_1-C_8$ 亚烷基- C_3-C_8 亚环烷基-、 C_6-C_{14} 亚芳基- C_1-C_8 亚烷基-、1-50 (优选 1-20, 更优选 1-12, 最优选 1-8) 个原子的直链或支链亚杂烷基, 所述亚烷基、亚环烷基、亚芳基、亚杂烷基各自任选地被独立地选自 C_1-C_6 烷基、2-6 个原子的杂烷基、 C_1-C_6 烷氧基、羟基、氨基、羧基或 C_3-C_8 环烷基中的一个或者多个取代基所取代, 所述亚杂烷基、杂烷基含有 1-12 (优选 1-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12) 个杂原子, 所述亚杂烷基、杂烷基的杂原子选自 N、O 或 S 中的一个或多个 (如两个或三个); L_{2b} 选自 $-C_1-C_8$ 亚烷基-、1-50 (优选 1-20, 更优选 1-12, 最优选 1-8) 个原子的直链或支链亚杂烷基, R^1 选自氢、 C_1-C_6 烷基、2-8 个原子的杂烷基、 C_6-C_{14} 芳基, 所述烷基、杂烷基、芳基各自任选地被独立地选自 C_1-C_6 烷基、2-6 个原子的杂烷基、 C_1-C_6 烷氧基、氨基或羧基中的一个或者多个取代基所取代, 所述杂烷基含有 1-12 (优选 1-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12) 个杂原子, 所述杂烷基、亚杂烷基的杂原子选自 N、O 或 S 中的一个或多个 (如两个或三个)。

在一些实施方案中, L_{2a} 选自 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p-$ 、 $-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p-$ 、 $-\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、



其中 p 为 1 到 12 的整数 (优选 2-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12); L_{2b} 选自 $-\text{CH}_2\text{OCH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{O}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ 、 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_q-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_q-$ 、 $-\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_q-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_q\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_q\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_q\text{CH}_2\text{CH}_2-$, R^1 选自氢、甲基、乙基、正丙基、异丙基、环丙基, q 为 1 到 12 的整数 (优选 2-8, 如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12)。

在一些实施方案中, L_2 选自下列结构:

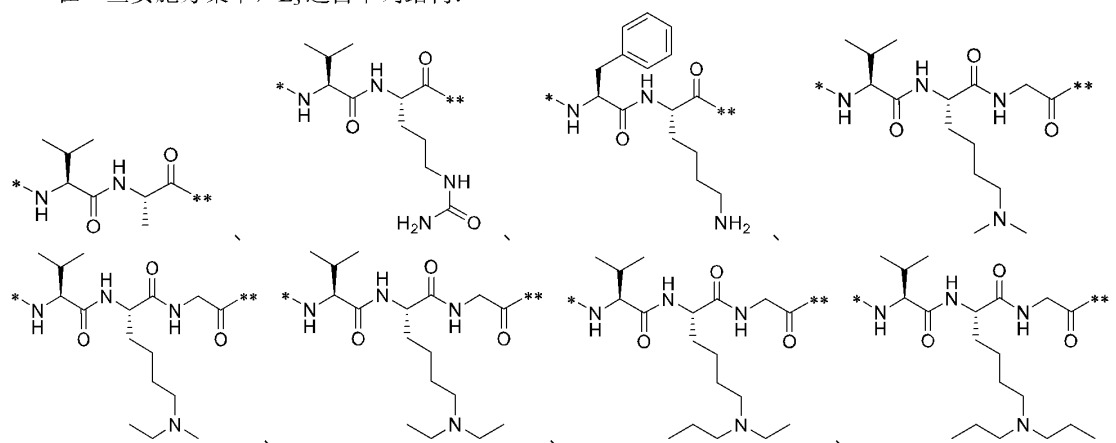


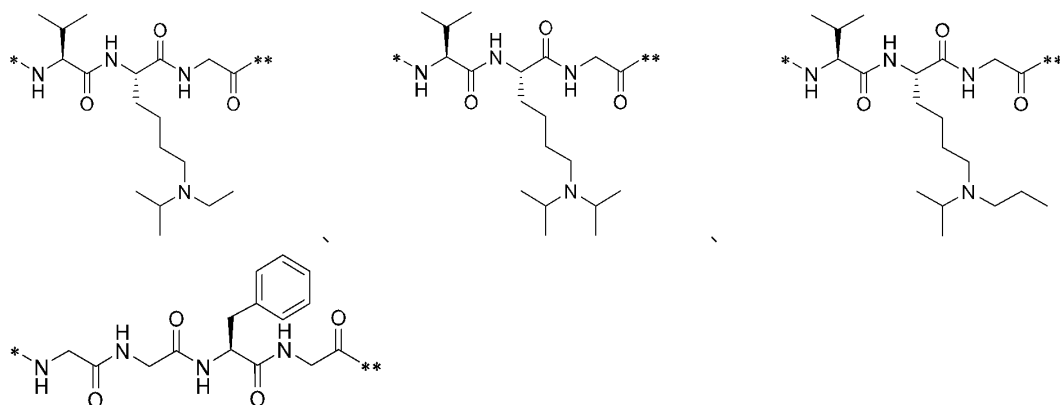
(2)	(8)
(3)	(9)
(4)	(10)
(5)	(11)
(6)	(12)

其中, w 选自 1-12 的整数 (如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12), *表示与 L₁ 相连接, **表示与 L₃ 相连接。

在一些实施方案中, L₃ 选自由 2-8 个选自苯丙氨酸 (F)、甘氨酸 (G)、缬氨酸 (V)、瓜氨酸 (C)、谷氨酸 (E)、丙氨酸 (A)、赖氨酸 (K)、C₁-C₆ 烷基取代的赖氨酸 (如 C₁-C₃ 烷基取代的赖氨酸, 如甲基取代的赖氨酸、乙基取代的赖氨酸、正丙基取代的赖氨酸、异丙基取代的赖氨酸) 等氨基酸形成的肽残基。例如 -ValCit-; -CitVal-; -AlaAla-; -AlaCit-; -CitAla-; -AsnCit-; -CitAsn-; -CitCit-; -ValGlu-; -GluVal-; -SerCit-; -CitSer-; -LysCit-; -CitLys-; -AspCit-; -CitAsp-; -AlaVal-; -ValAla-; -PheAla-; -AlaPhe-; -PheLys-; -LysPhe-; -ValLys-; -LysVal-; -AlaLys-; -LysAla-; -PheCit-; -CitPhe-; -LeuCit-; -CitLeu-; -IleCit-; -CitIle-; -PheArg-; -ArgPhe-; -CitTrp-; -TrpCit-; -AlaAlaAla-; -PhePheLys-; -LysPhePhe-; -DPhePheLys-; -DLysPhePhe-; -GlyPheLys-; -LysPheGly-; -GlyPheLeuGly-; -GlyLeuPheGly-; -GluValCit-; -AlaLeuAlaLeu-; -GlyGlyGly-; -GlyGlyGlyGly-; -GlyPheValGly-; -GlyValPheGly-; -GlyGlyPheGly-; -GlyGlyValGly-。

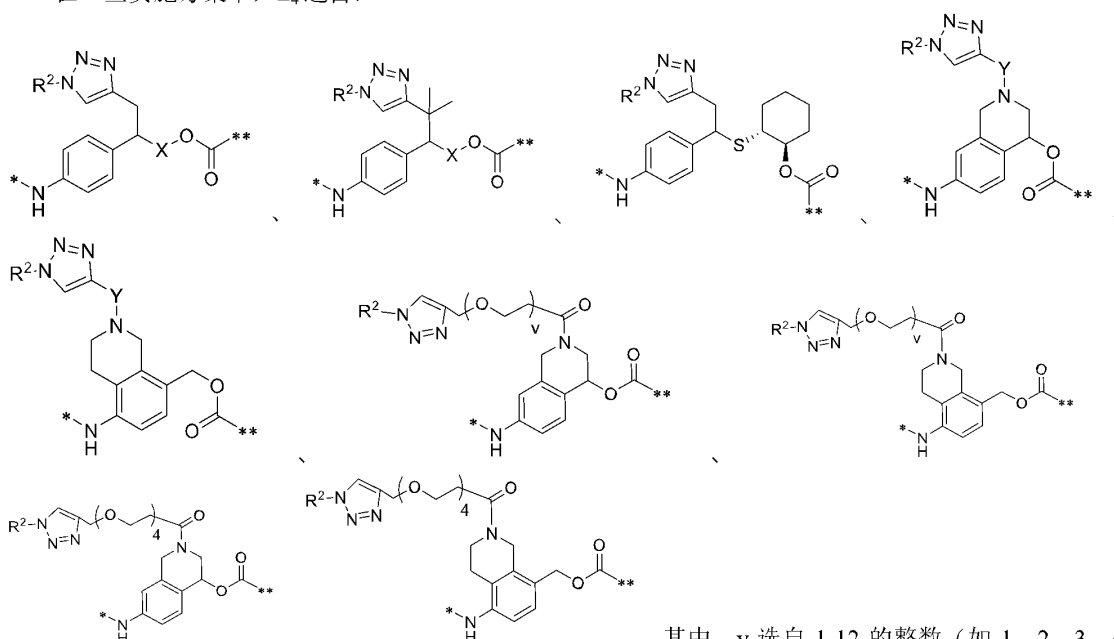
在一些实施方案中, L₃ 选自下列结构:





其中*表示与 L₂ 相连接, **表示与 L₄ 相连接。

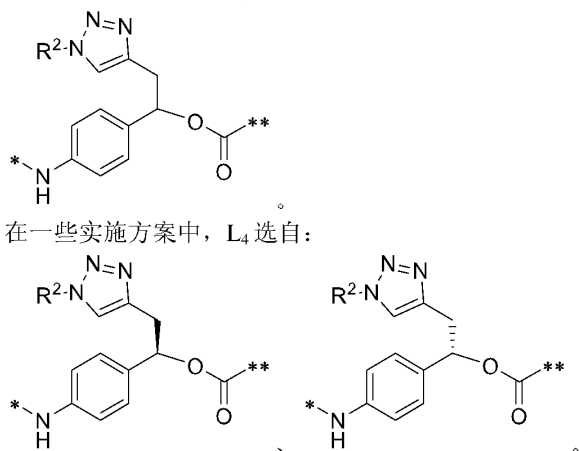
在一些实施方案中, L₄ 选自:



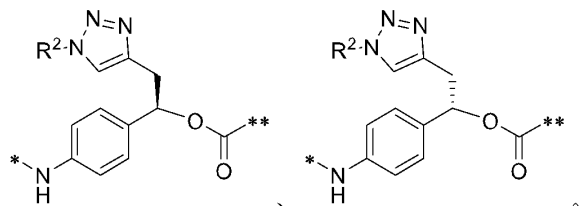
, 其中, v 选自 1-12 的整数 (如 1、2、3、4、

5、6、7、8、9、10、11、12), *表示与 L₃ 的羧基以酰胺键相连, **表示与生物活性分子 D 的氨基连接。

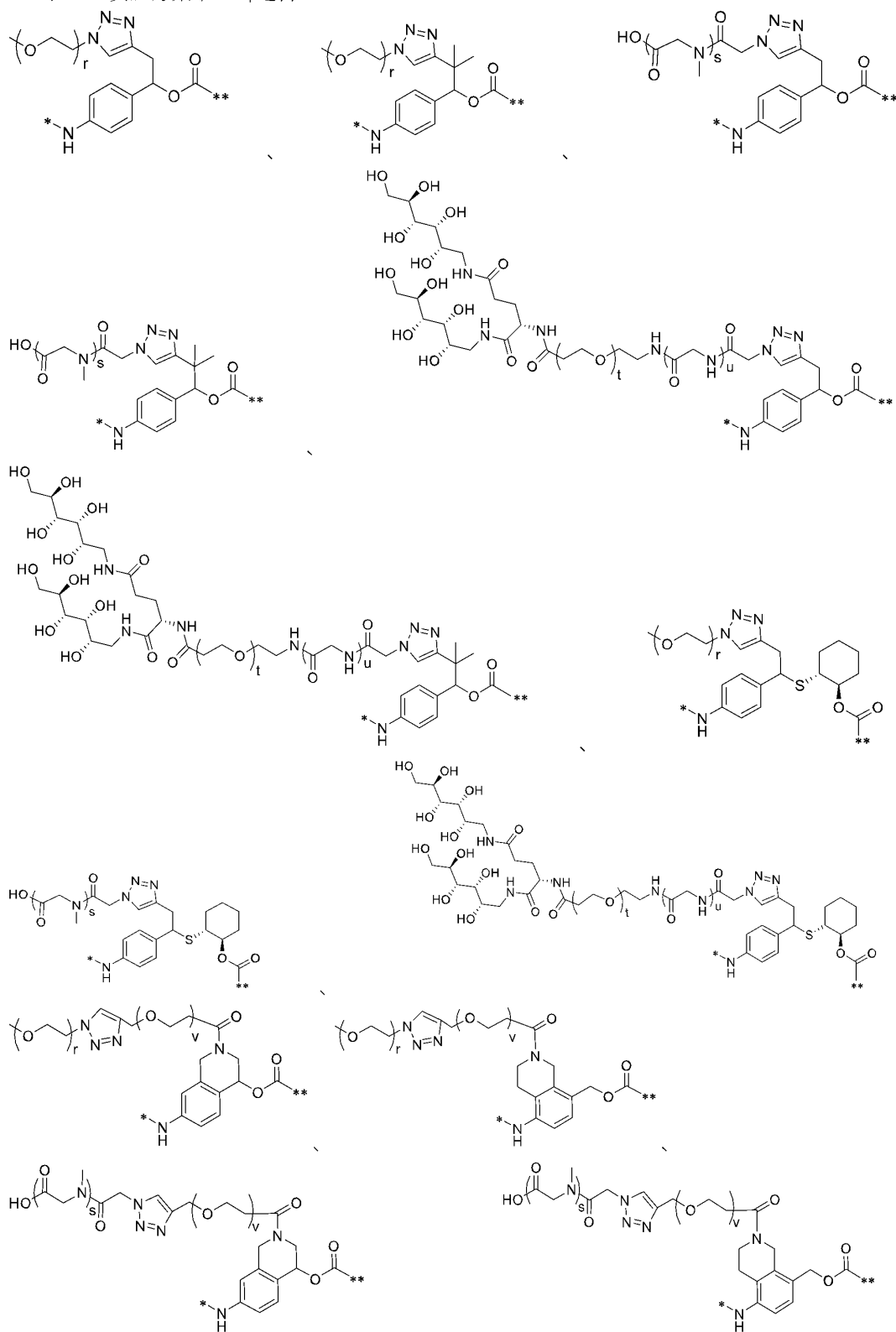
在一些实施方案中, L₄ 选自:

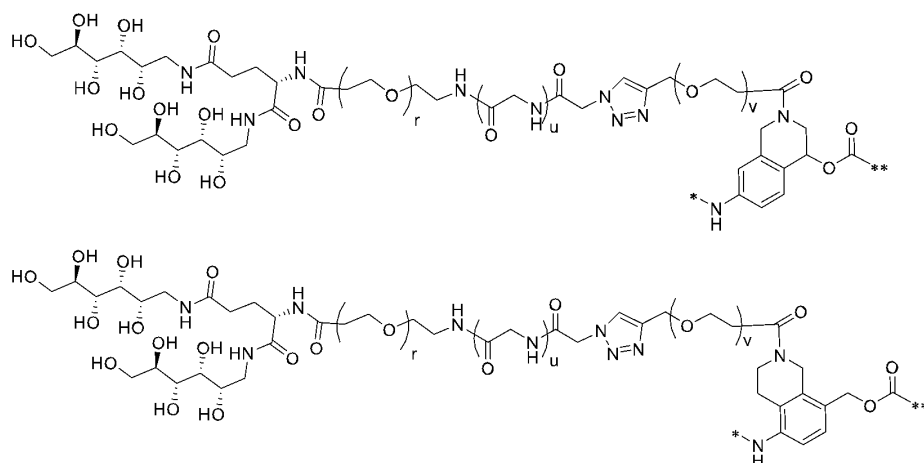


在一些实施方案中, L₄ 选自:



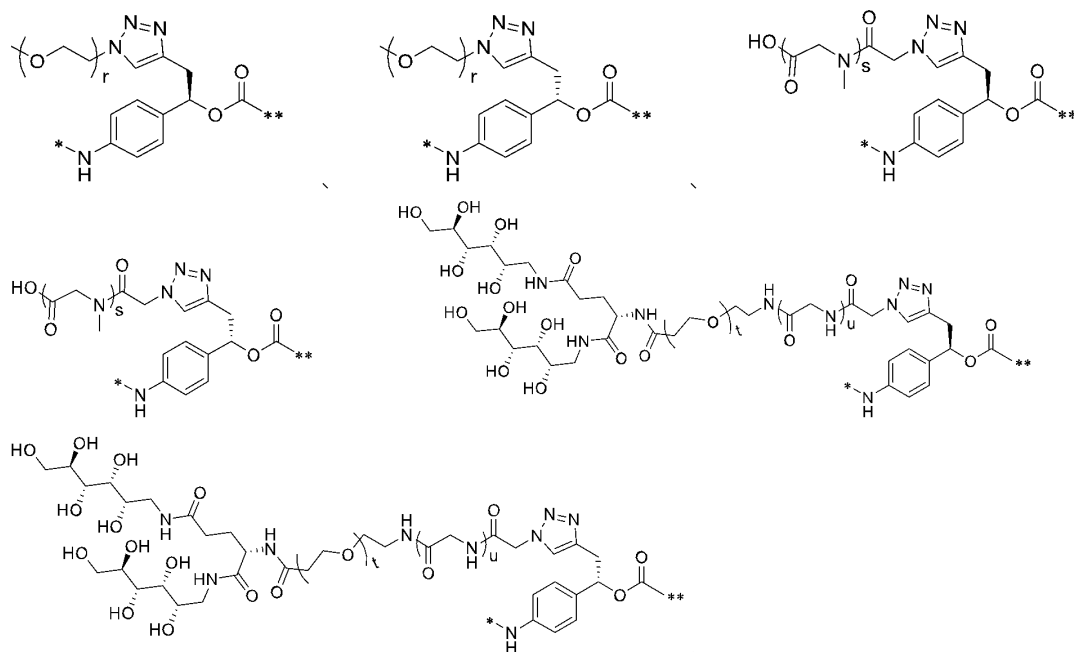
在一些实施方案中，L₄选自：





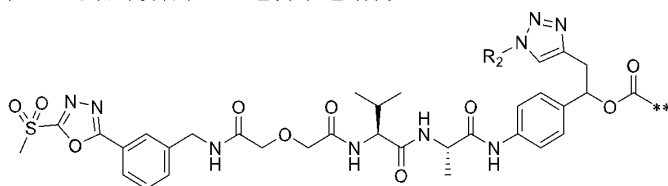
其中, r 、 s 、 t 、 u 各自独立的选自 1-50 的整数 (如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50), v 选自 1-12 的整数 (如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12), *表示与 L_3 的羧基以酰胺键相连, **表示与生物活性分子 D 的氨基连接。

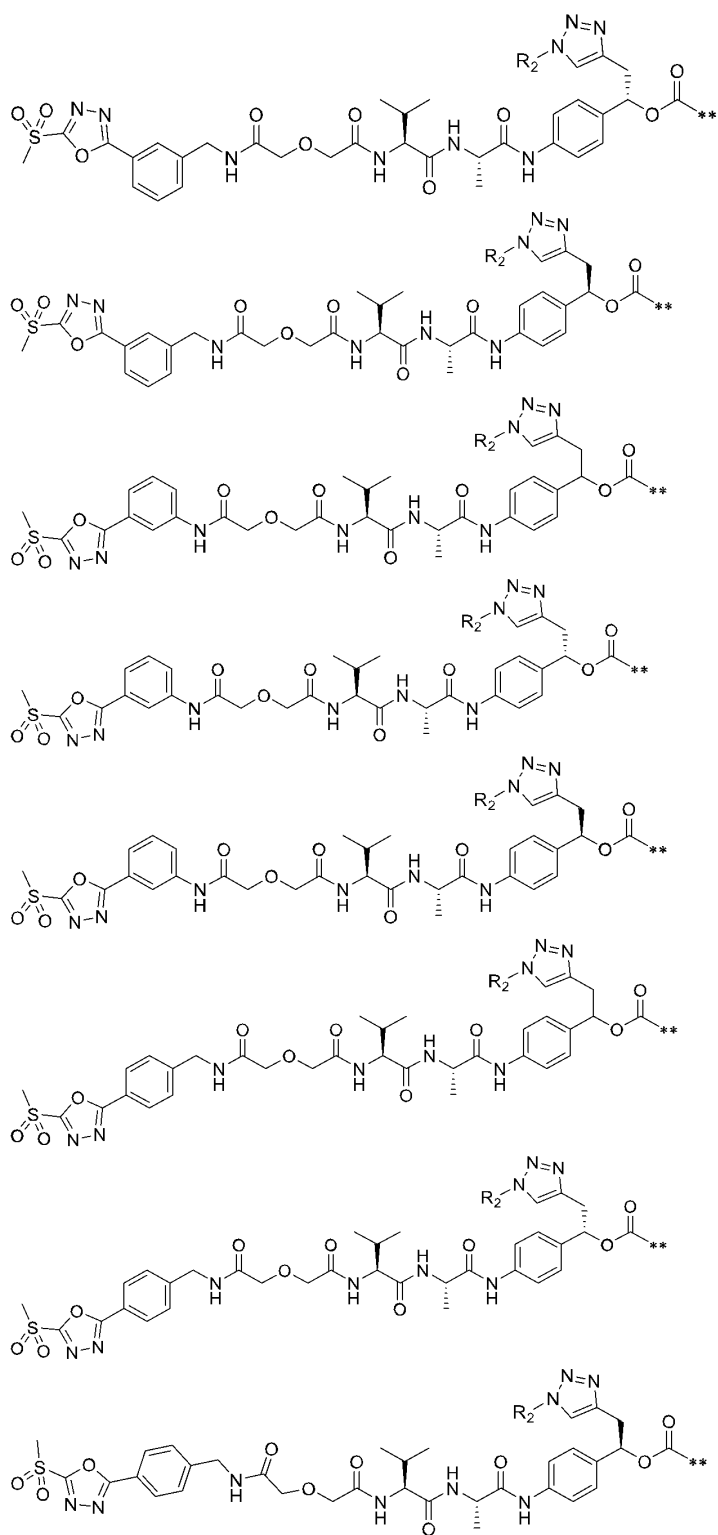
在一些实施方案中, L_4 选自:

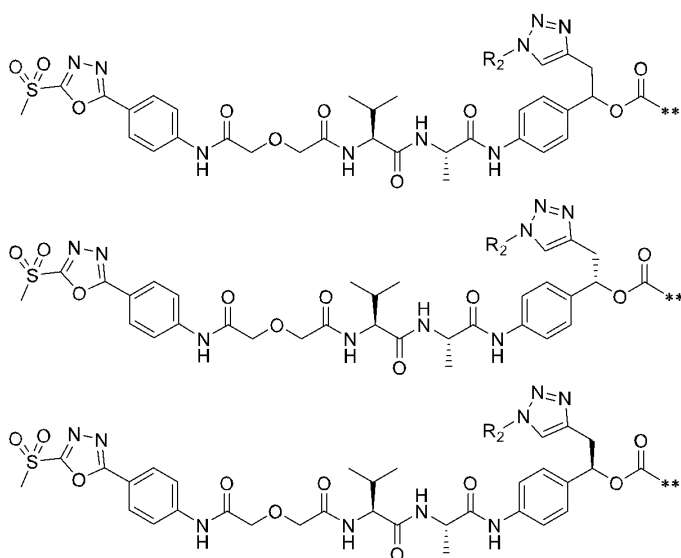


其中, r 、 s 、 t 、 u 各自独立的选自 1-50 的整数 (如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50), v 选自 1-12 的整数 (如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12), *表示与 L_3 的羧基以酰胺键相连, **表示与生物活性分子 D 的氨基连接。

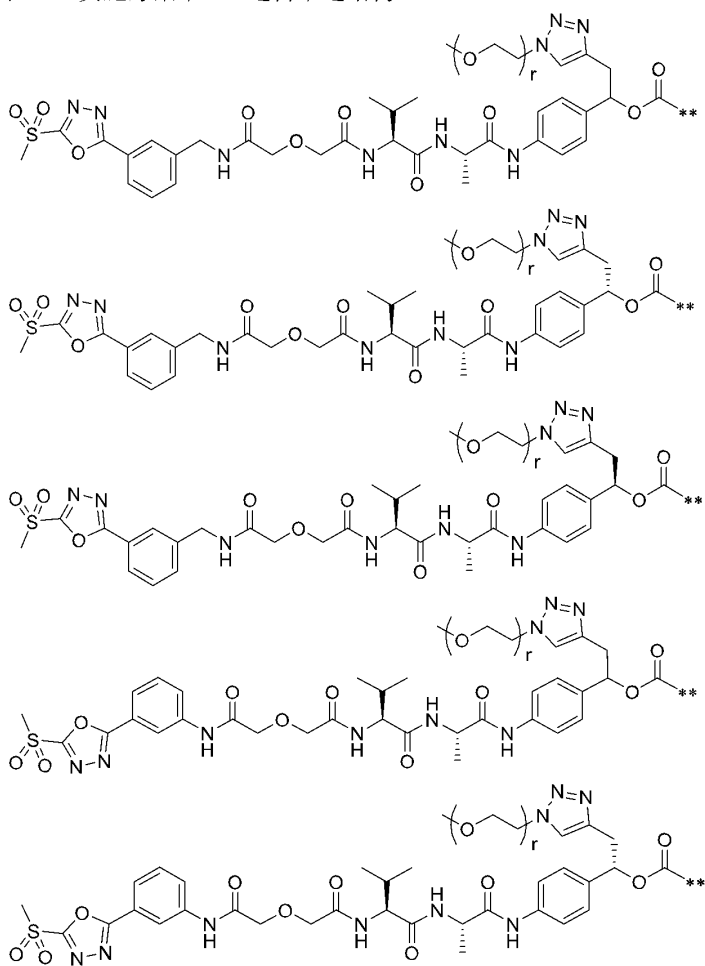
在一些实施方案中, L' 选自下述结构:

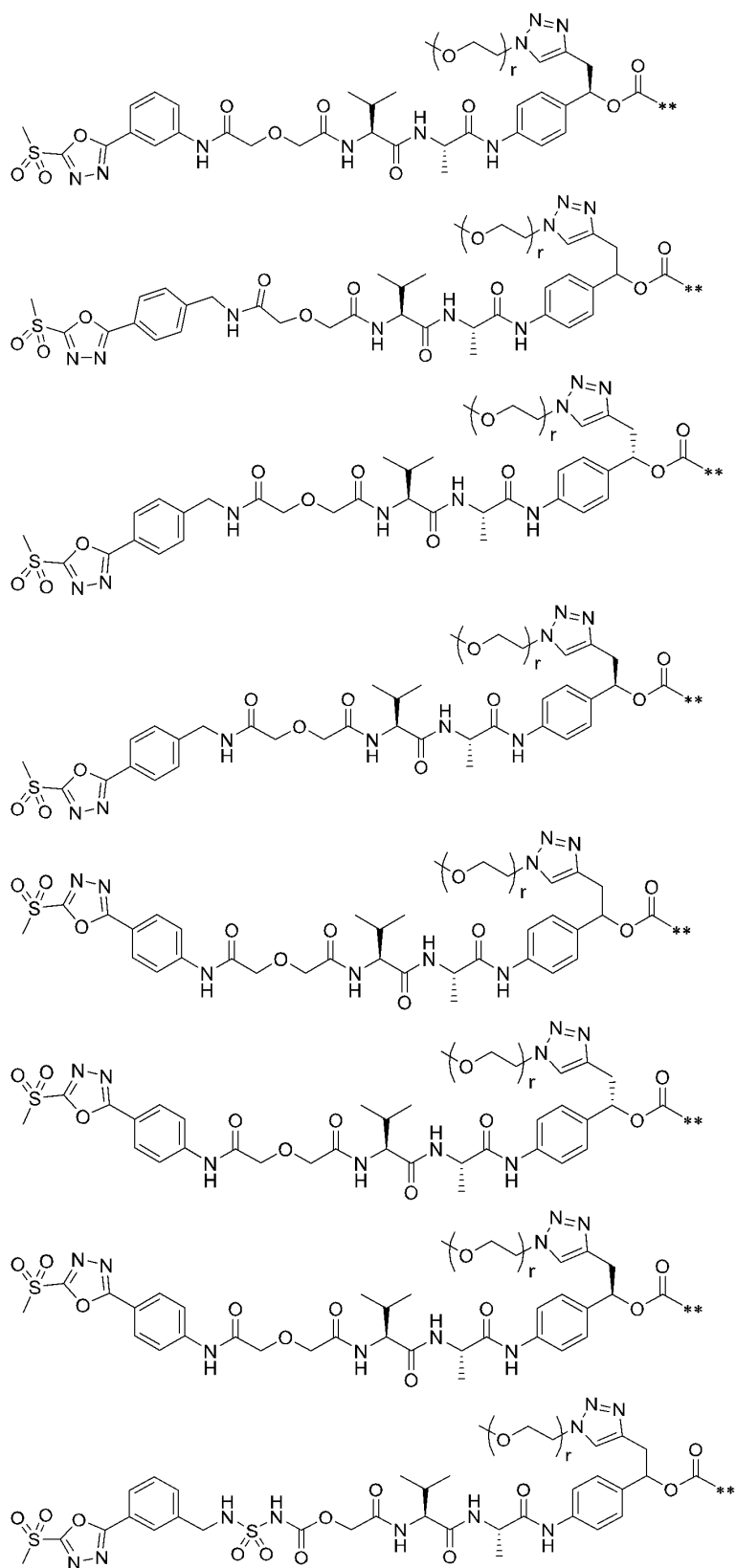


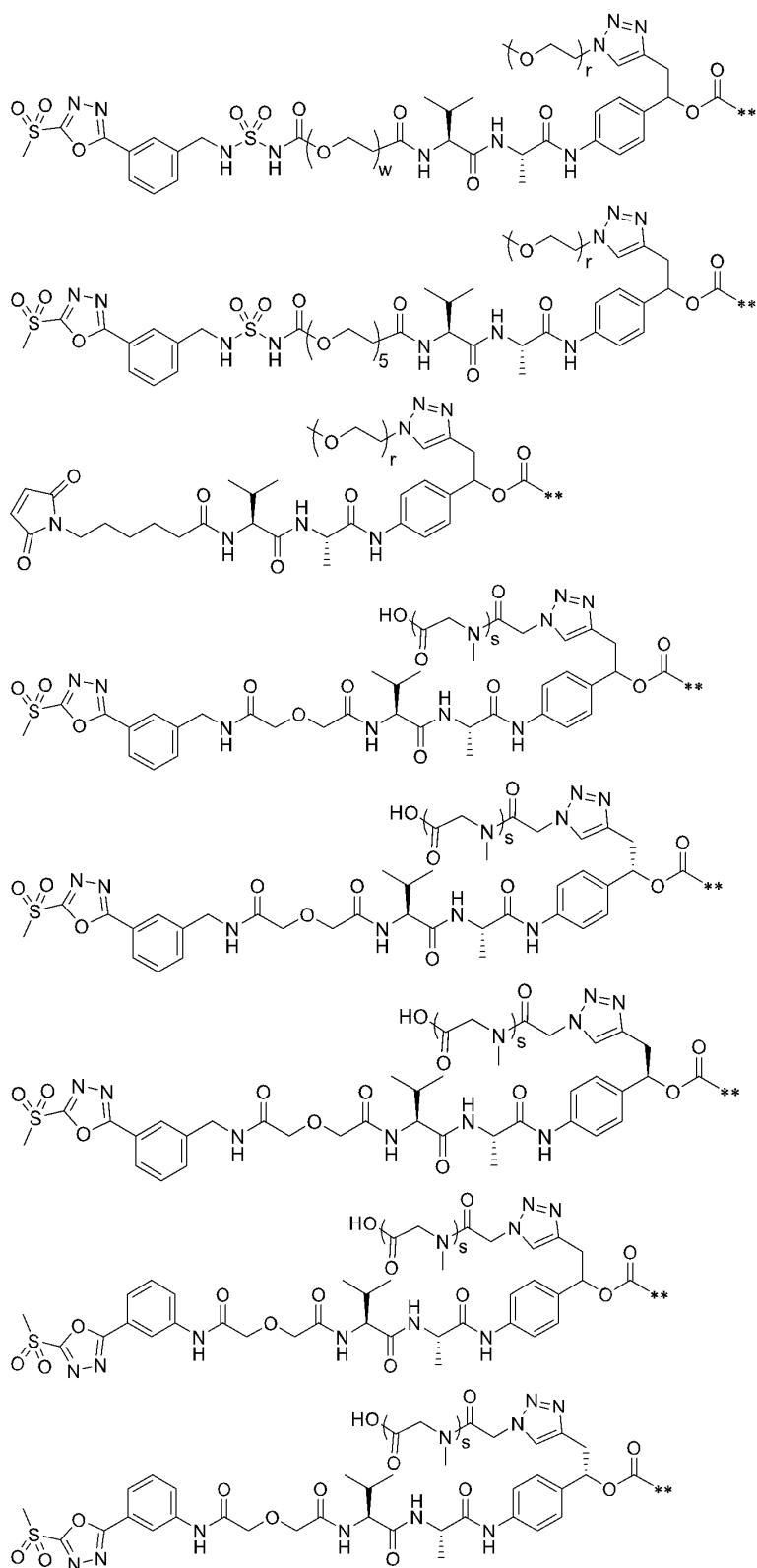


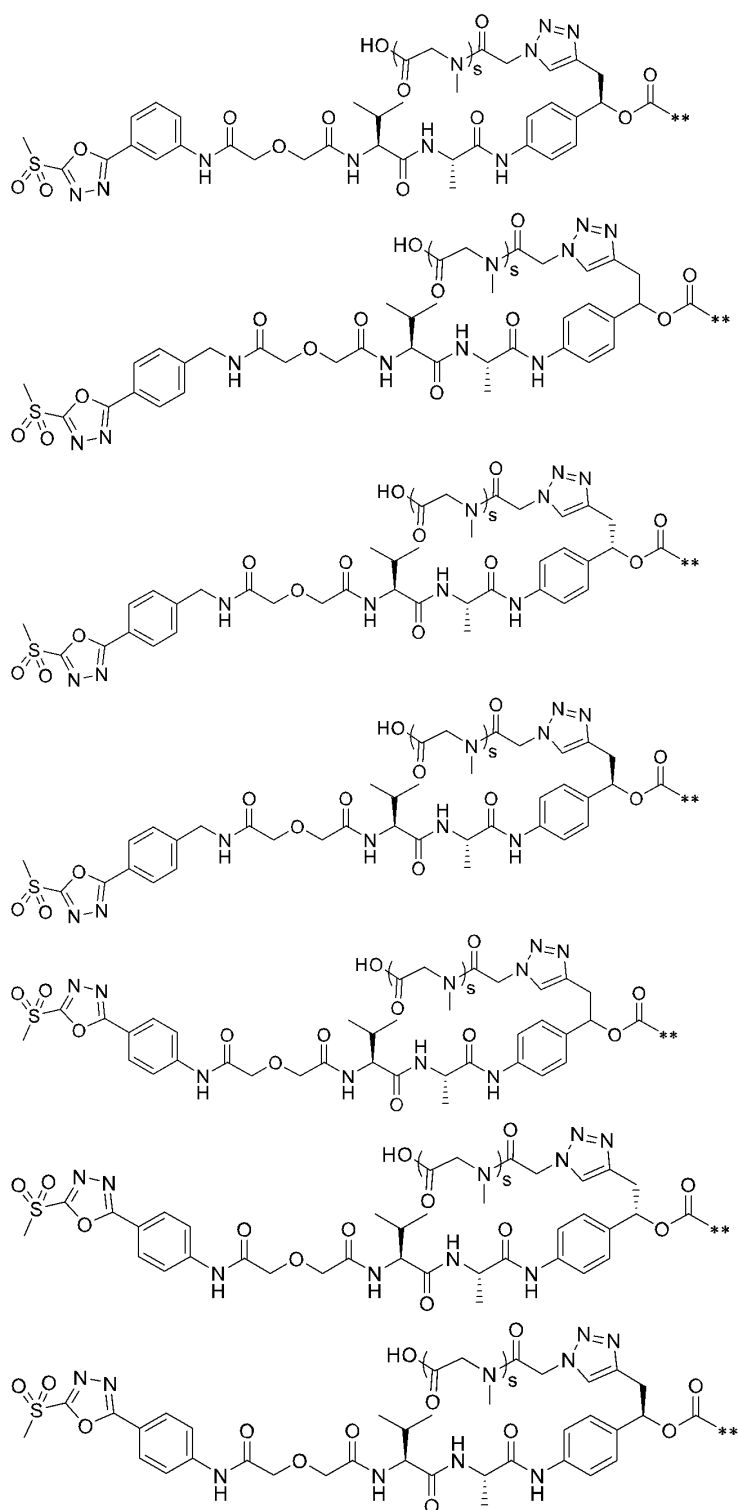


在一些实施方案中，L'选自下述结构：

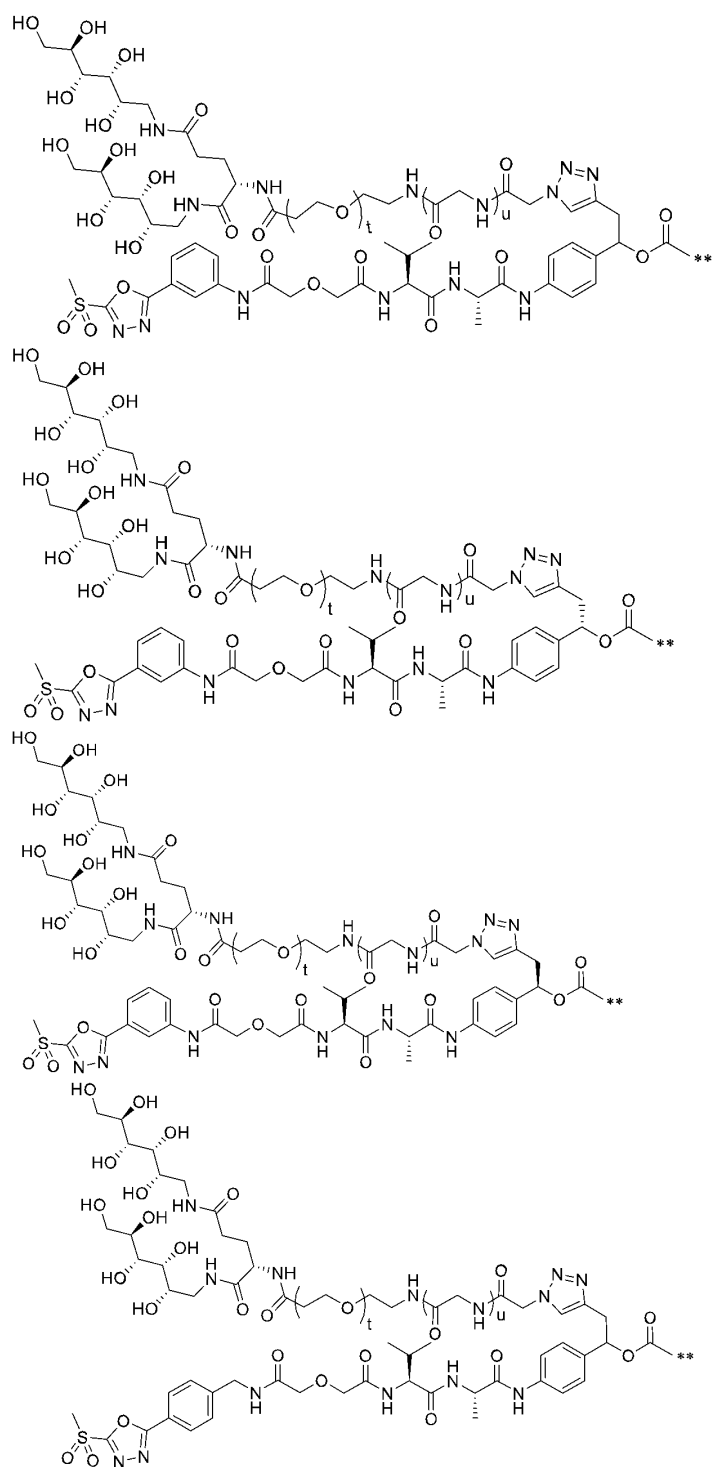




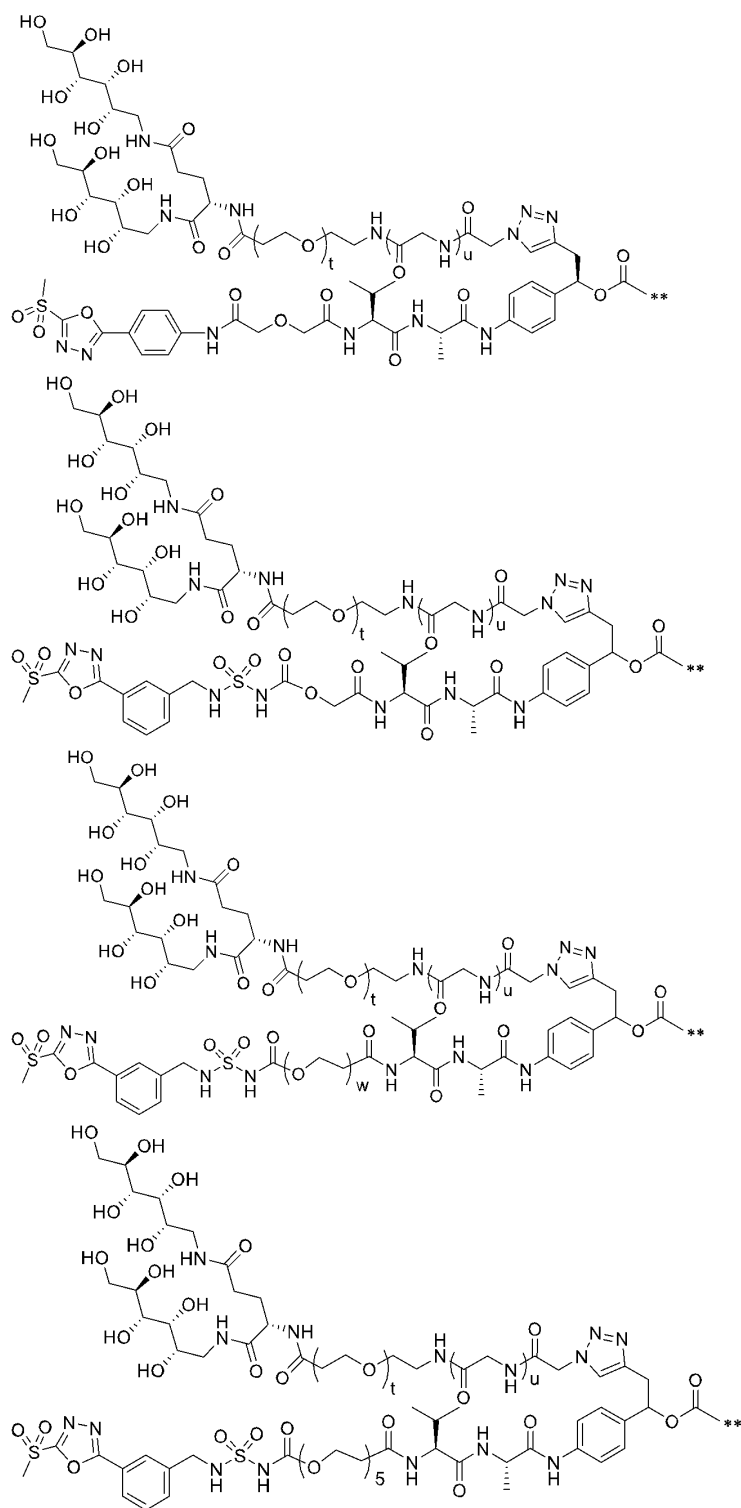


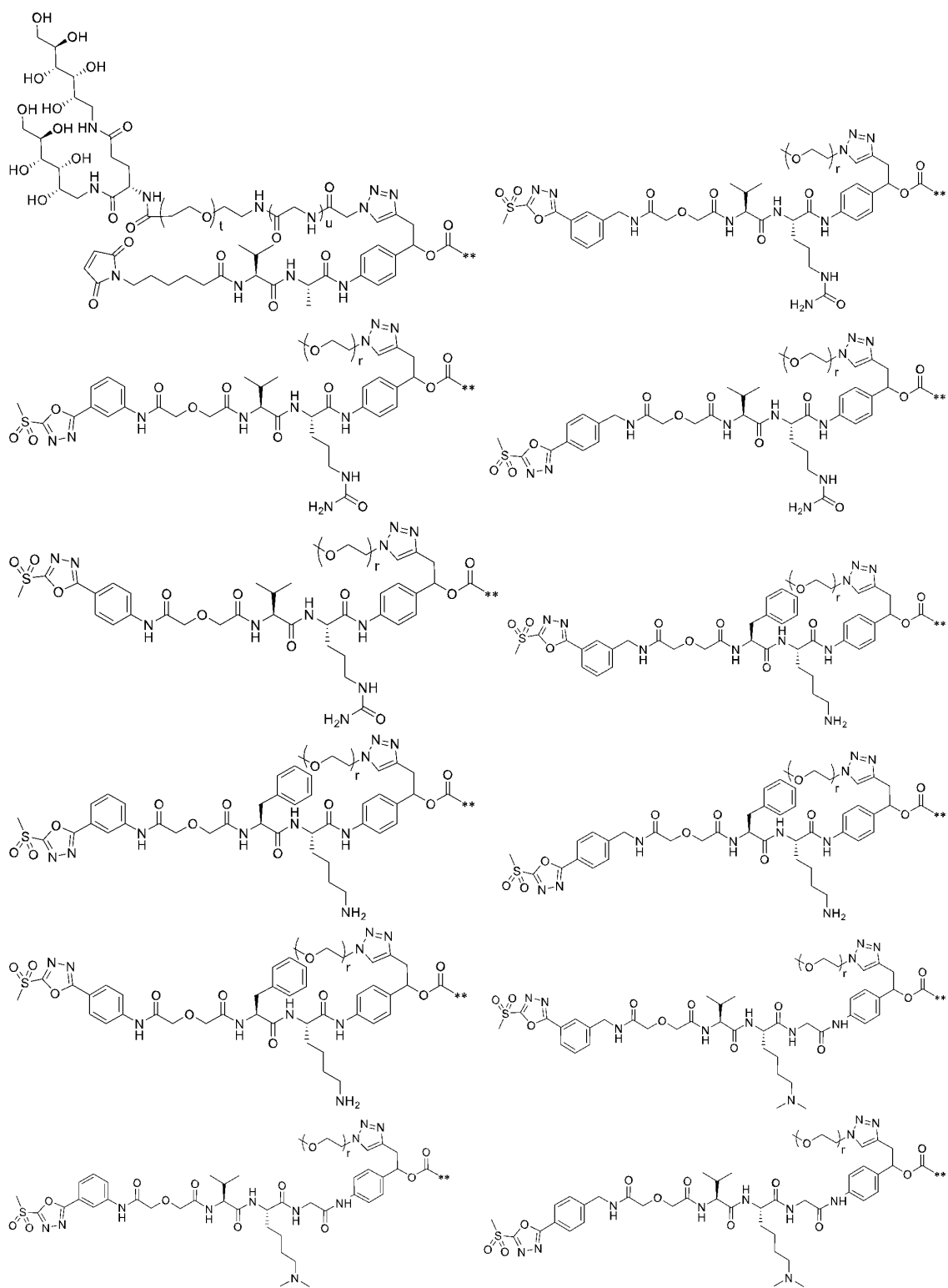


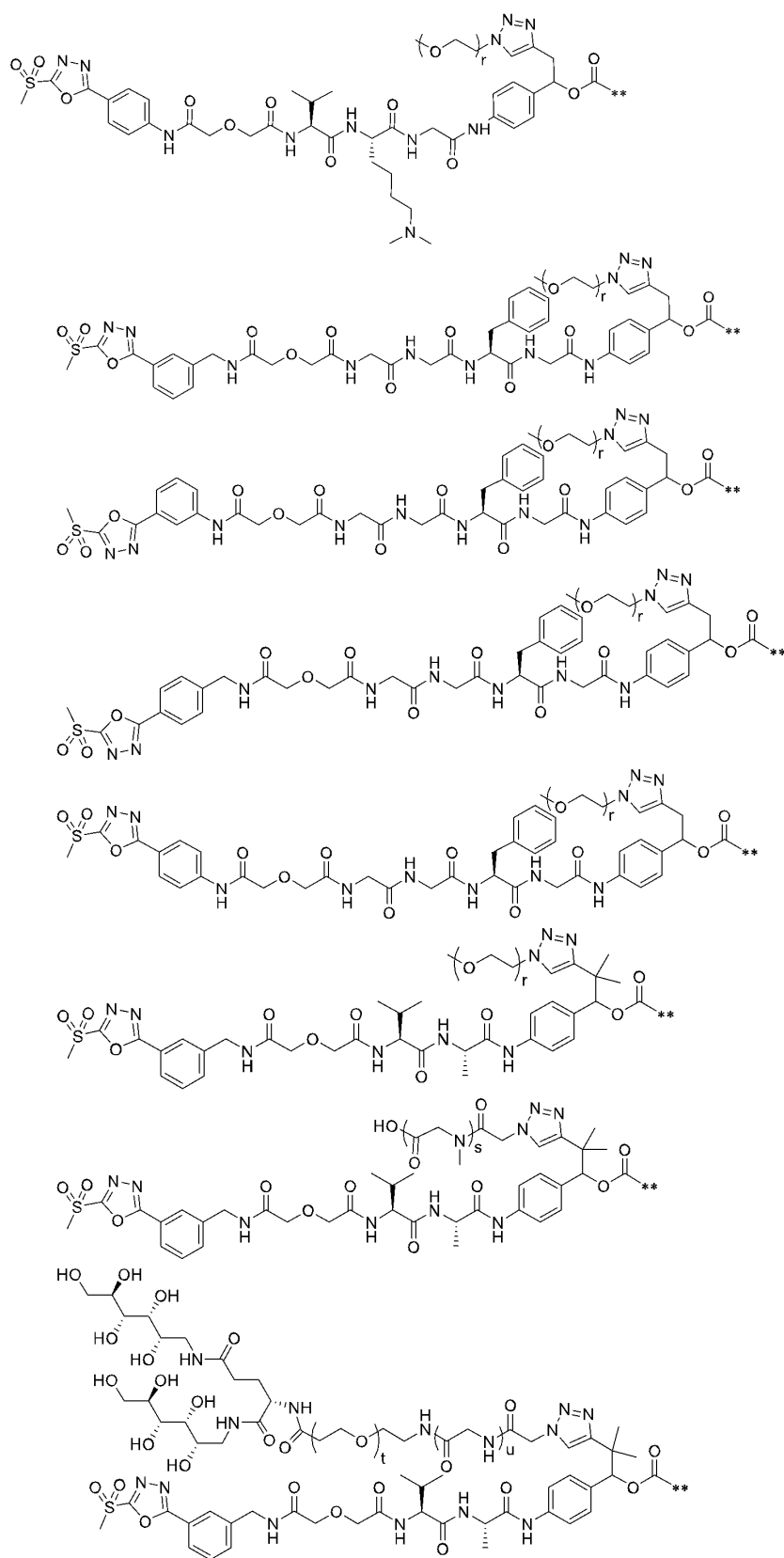


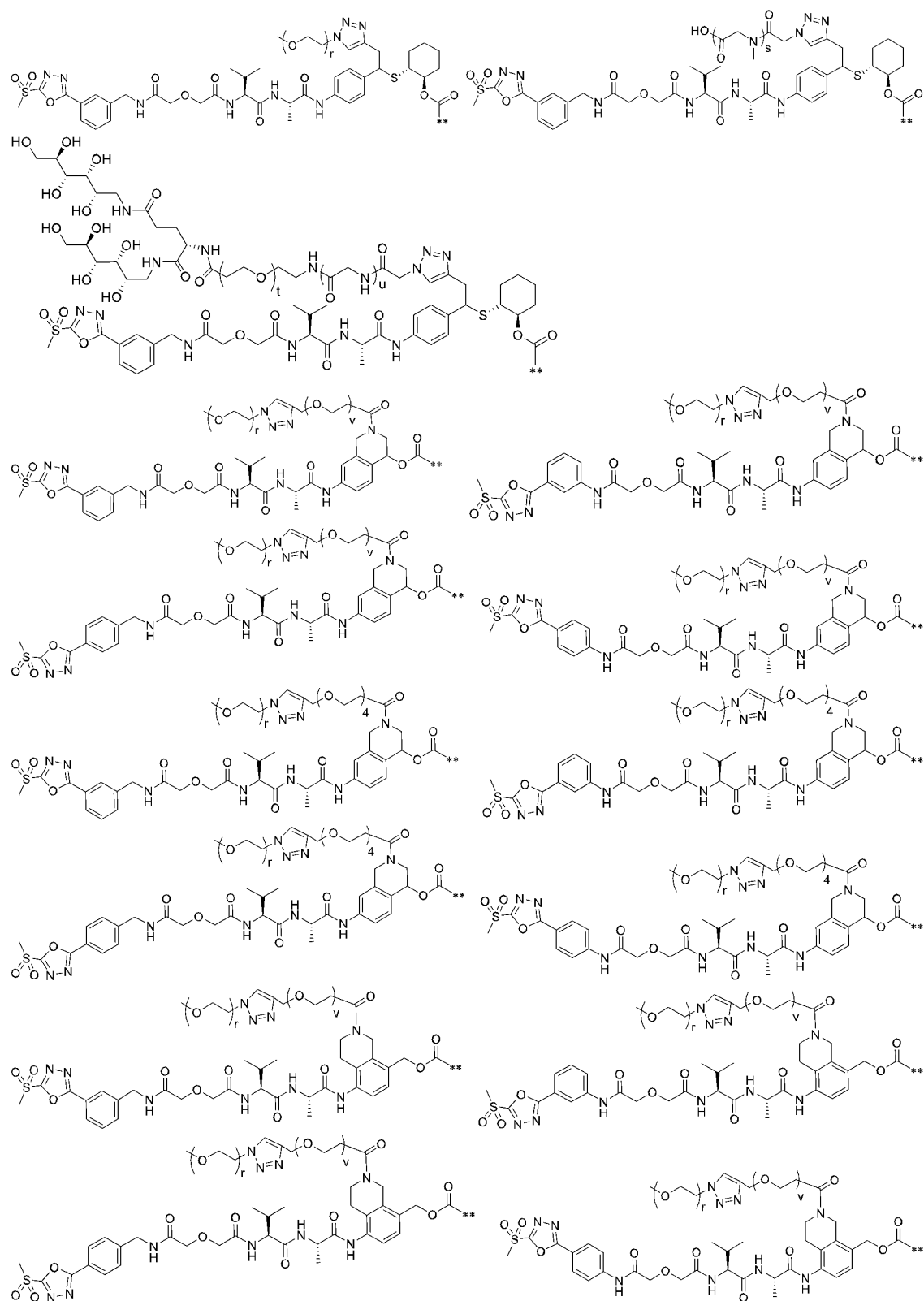


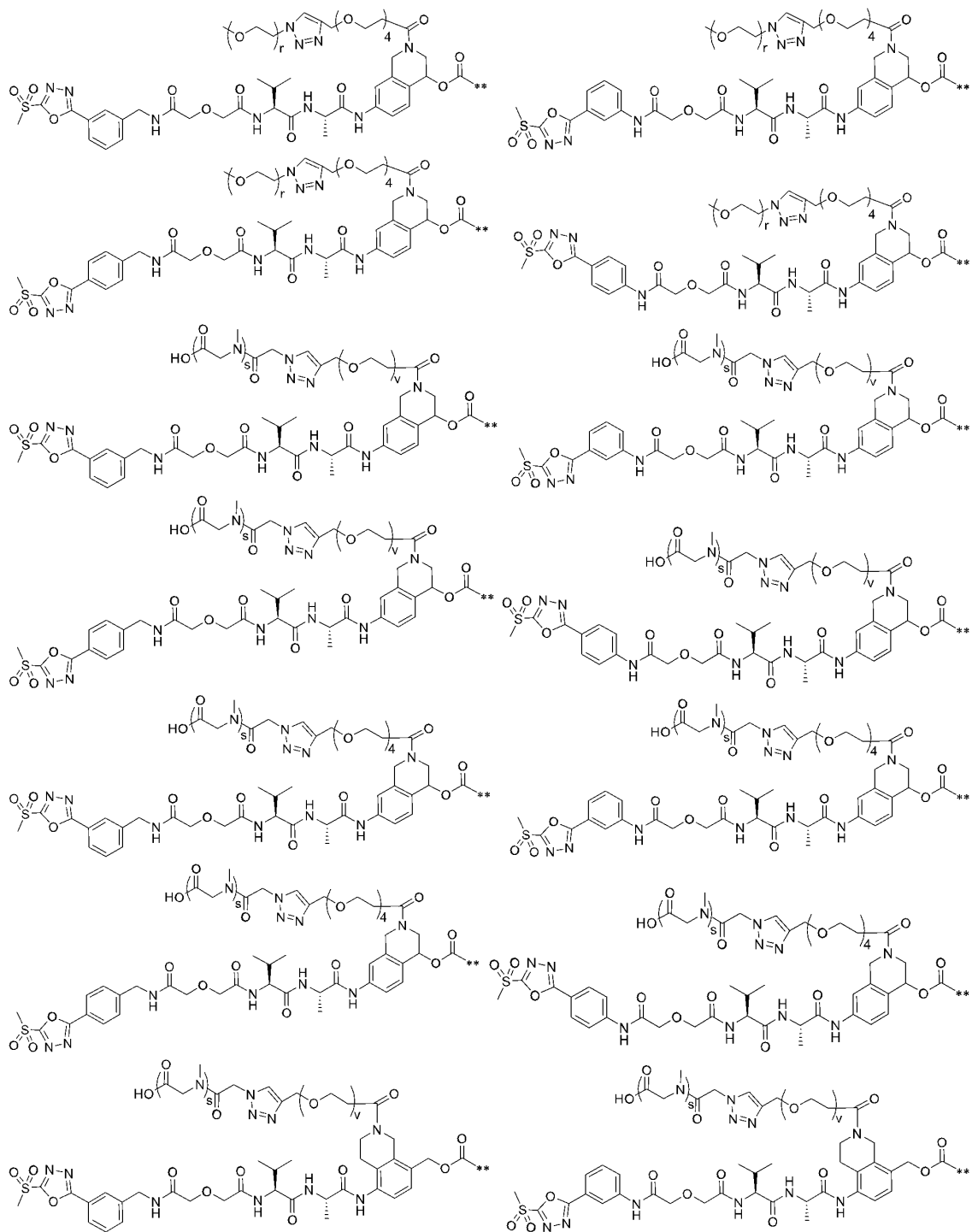


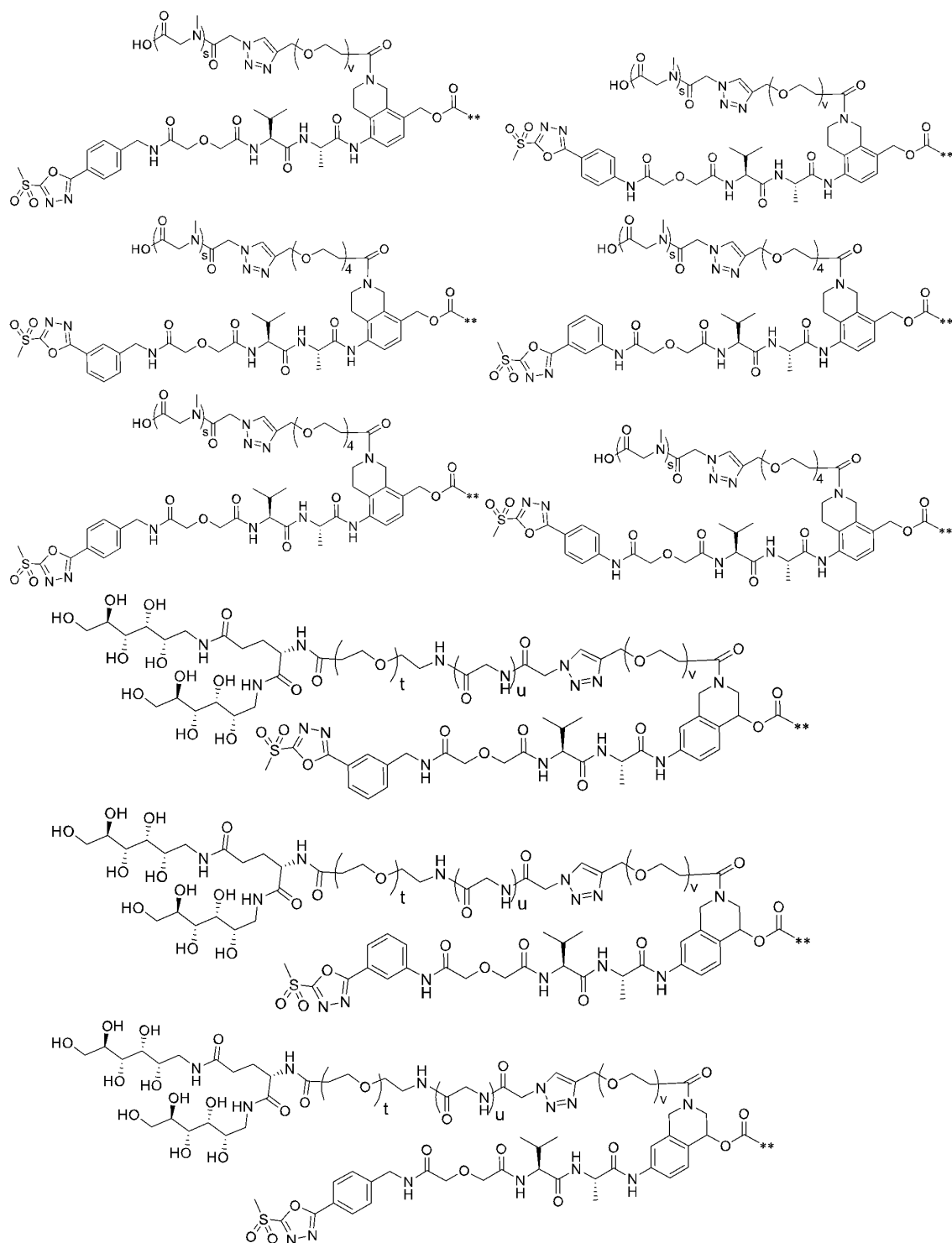


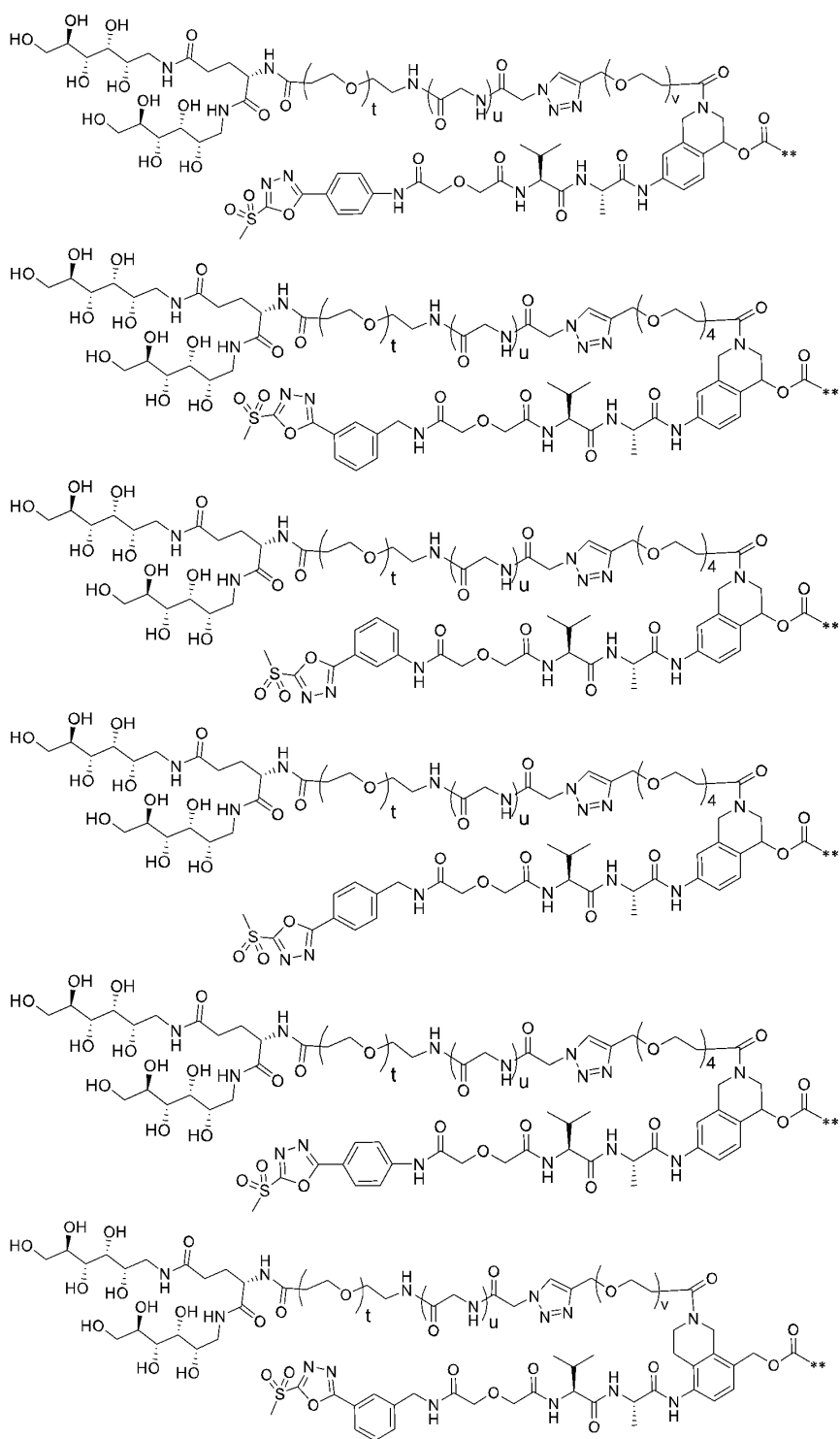


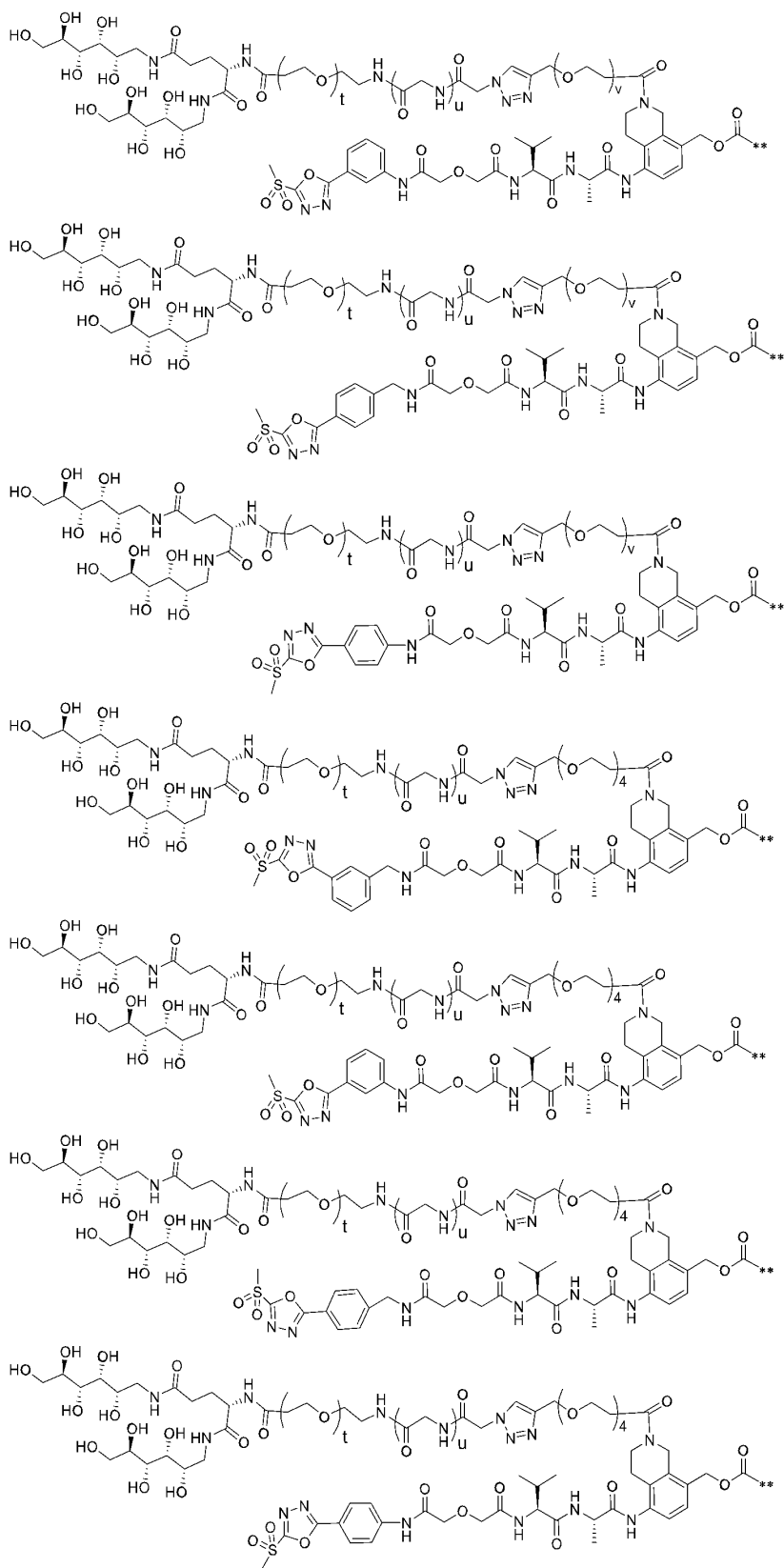






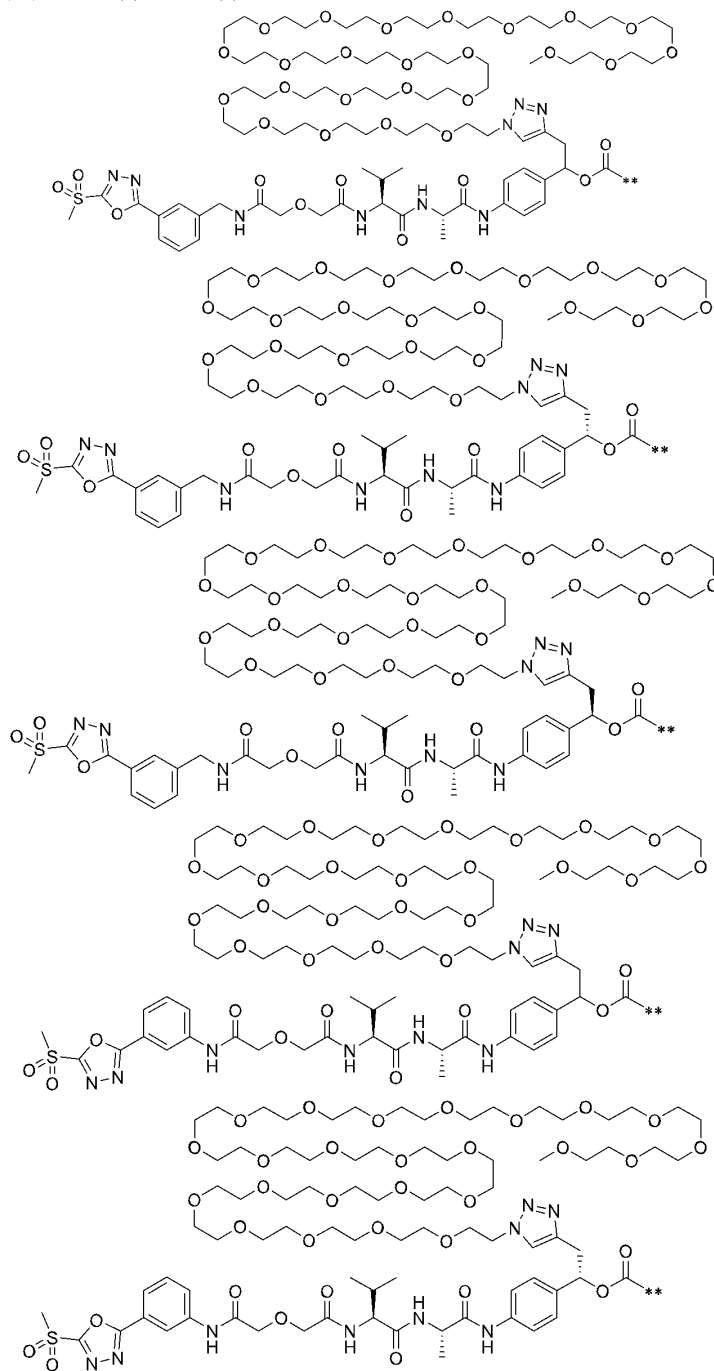


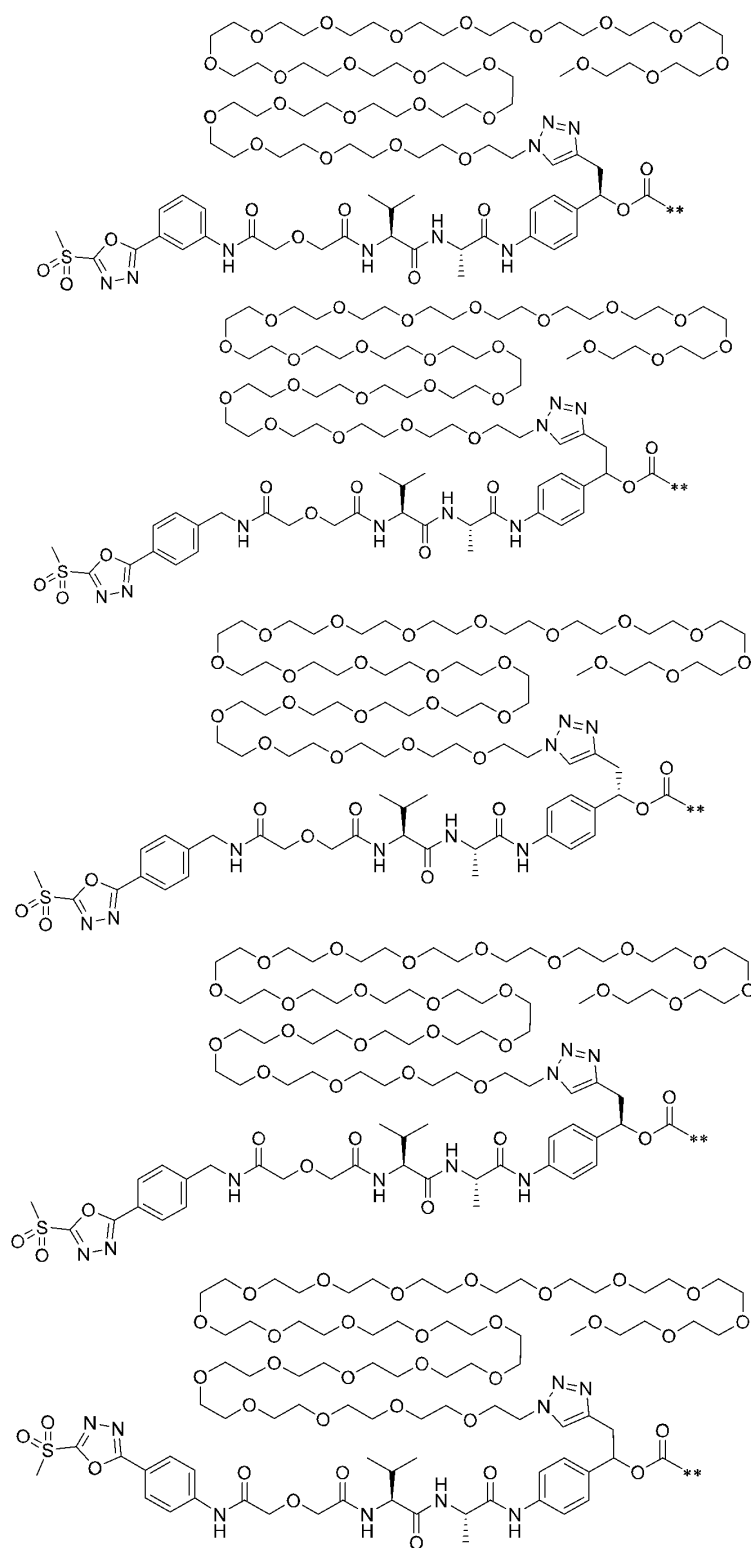


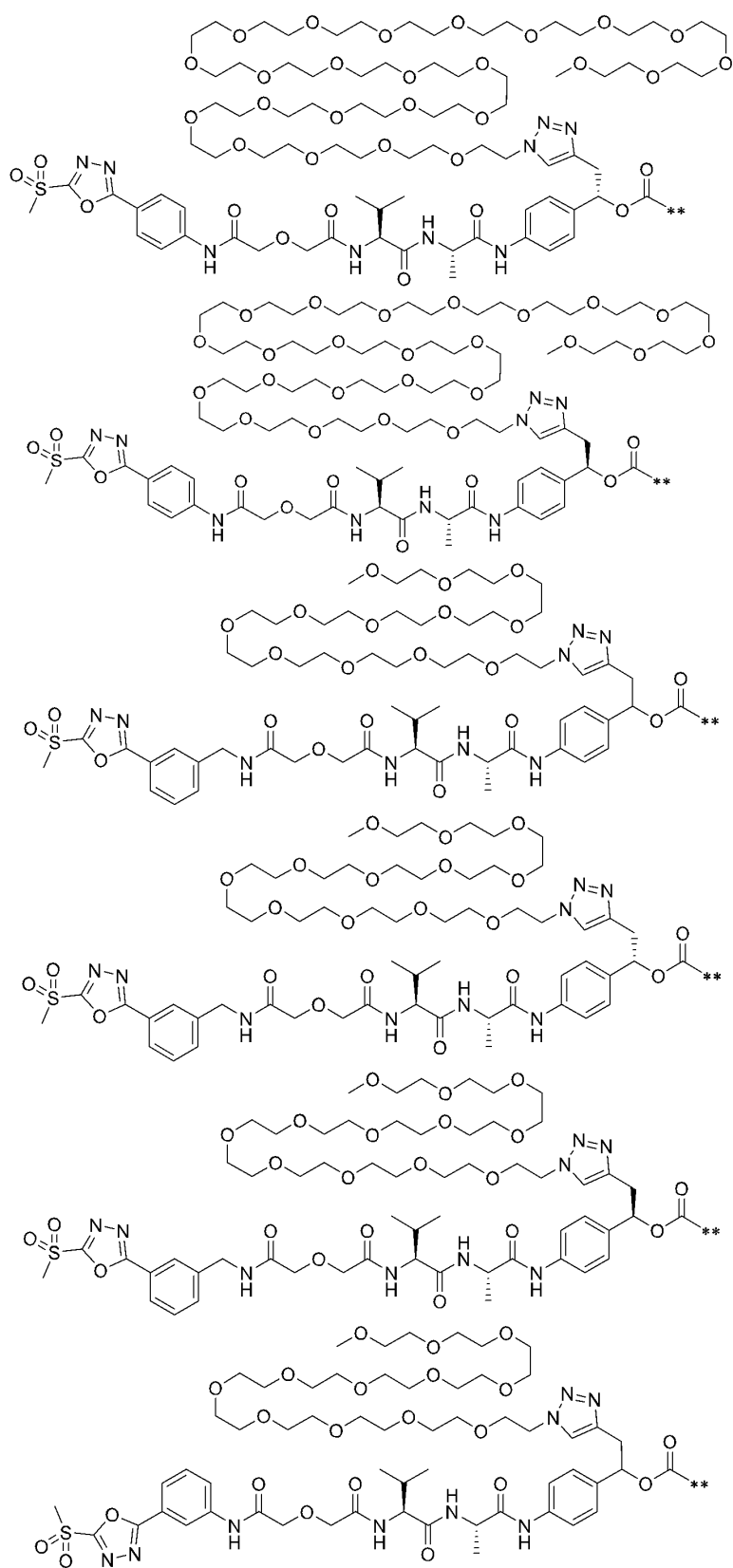


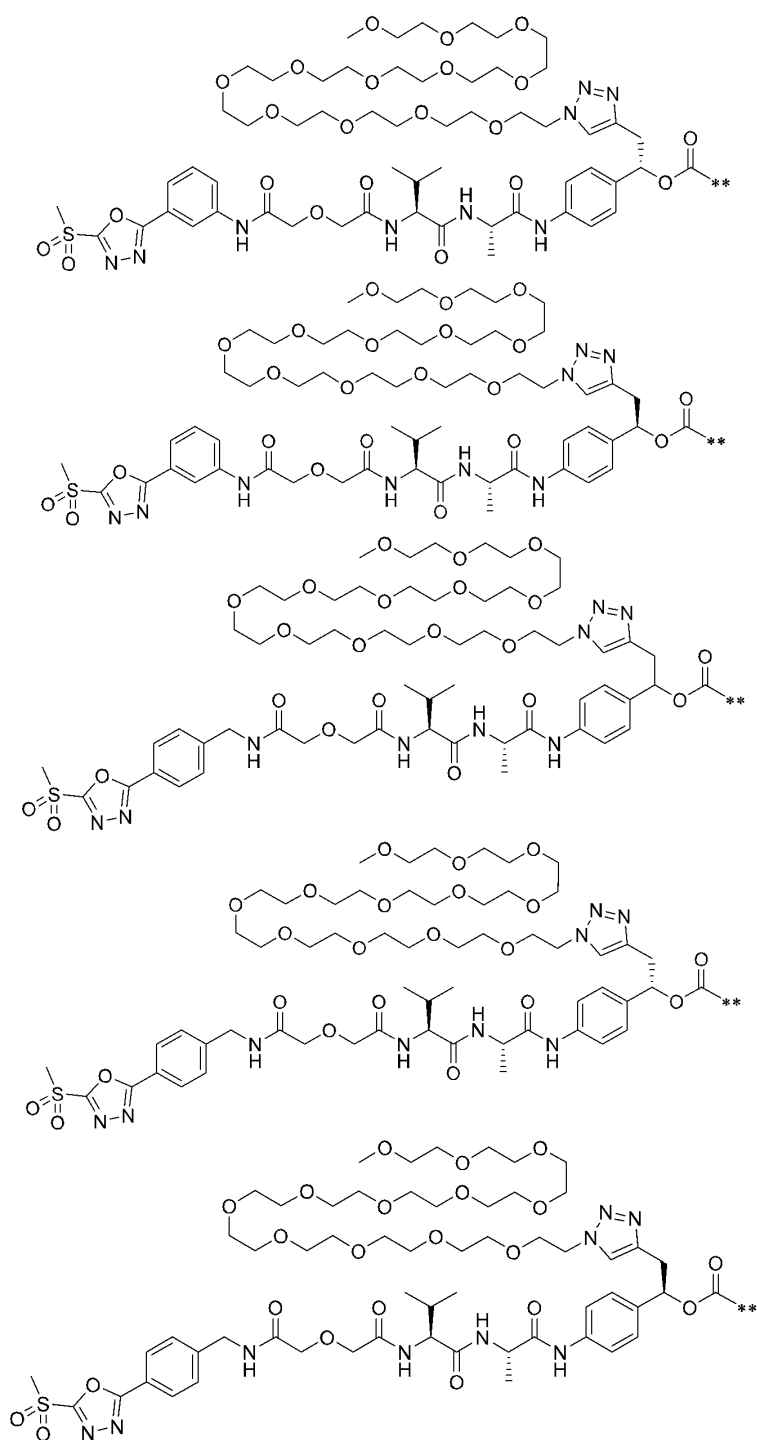
其中, v 和 w 各自独立地选自 1-12 的整数 (如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12), **表示与生物活性分子 D 氨基相连接; r、s、t、u 各自独立的选自 1-50 的整数 (如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50)。

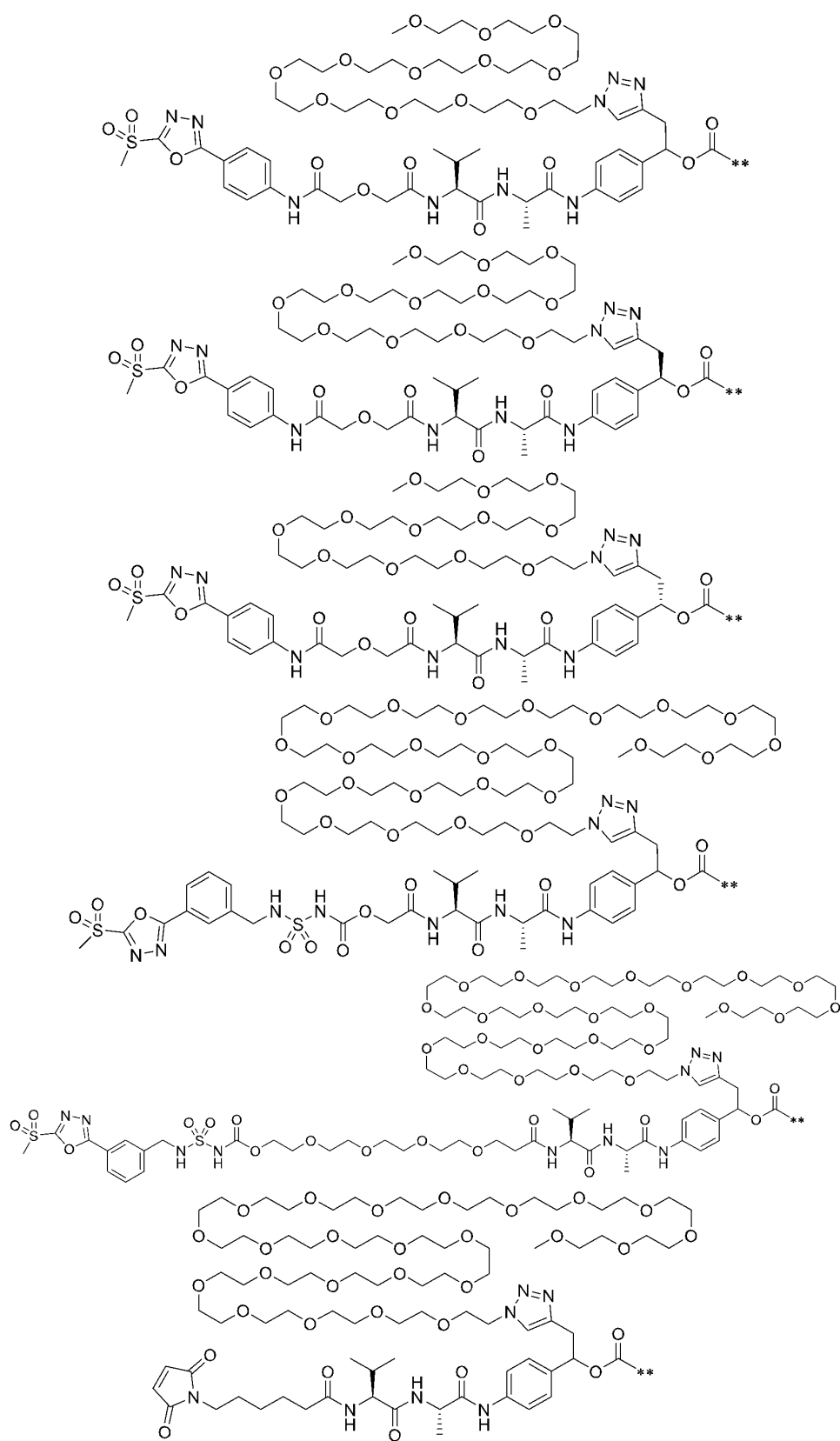
在一些实施方案中，L'选自下述结构：

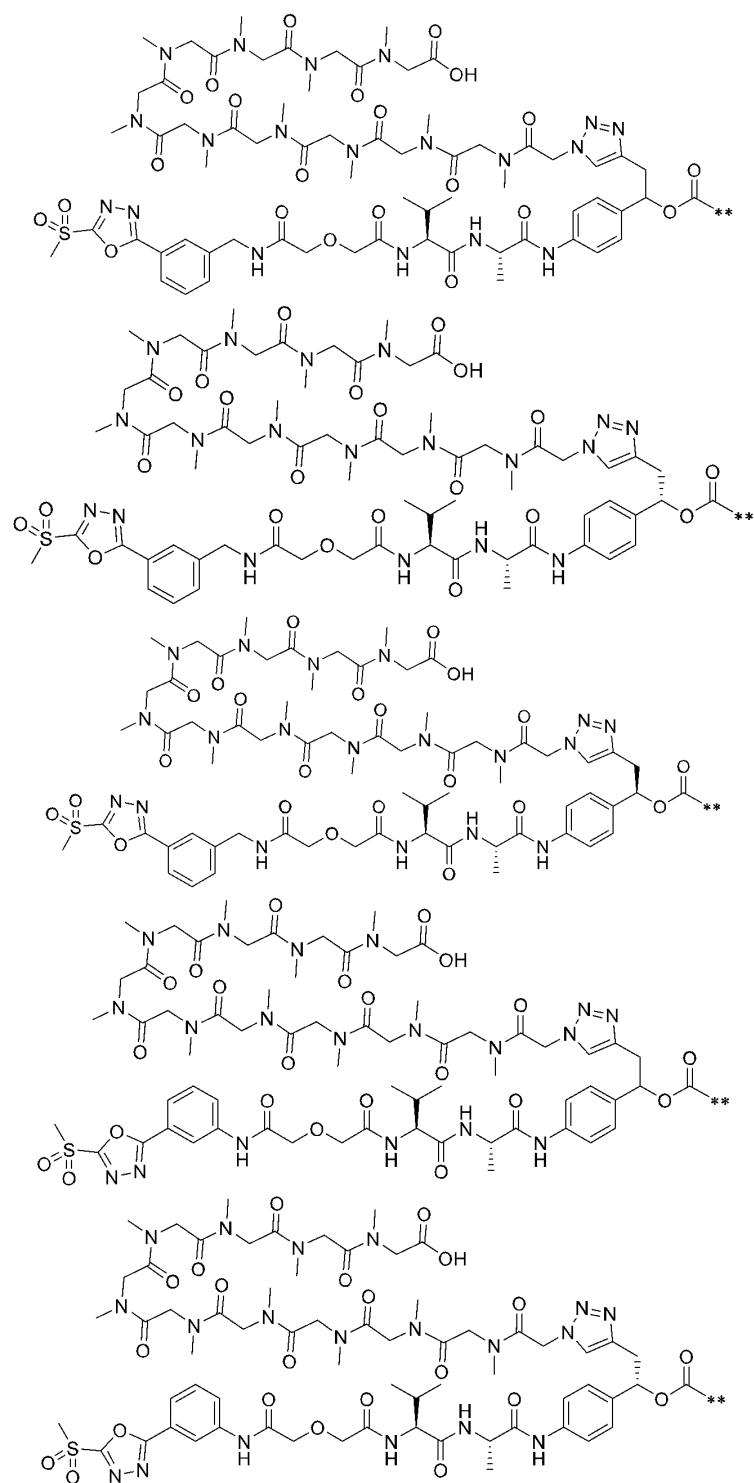


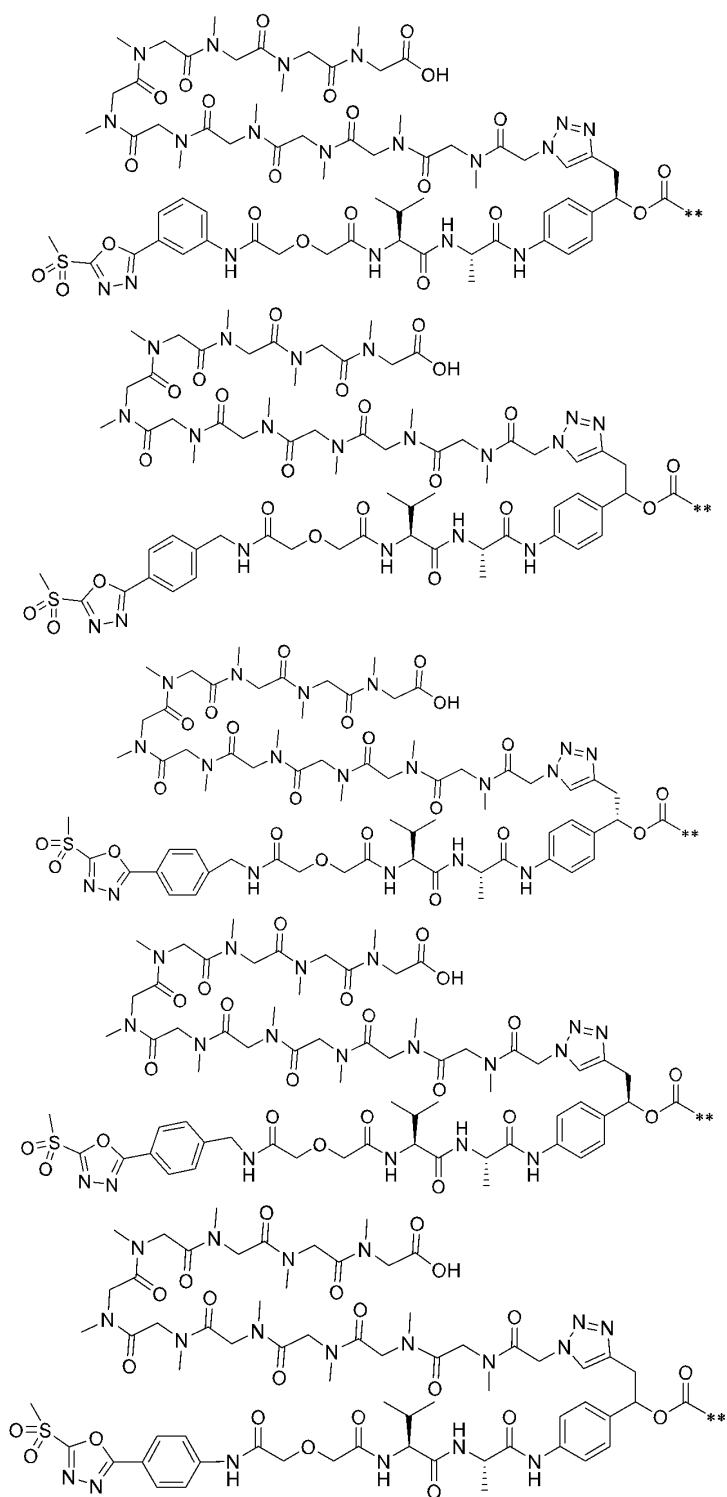


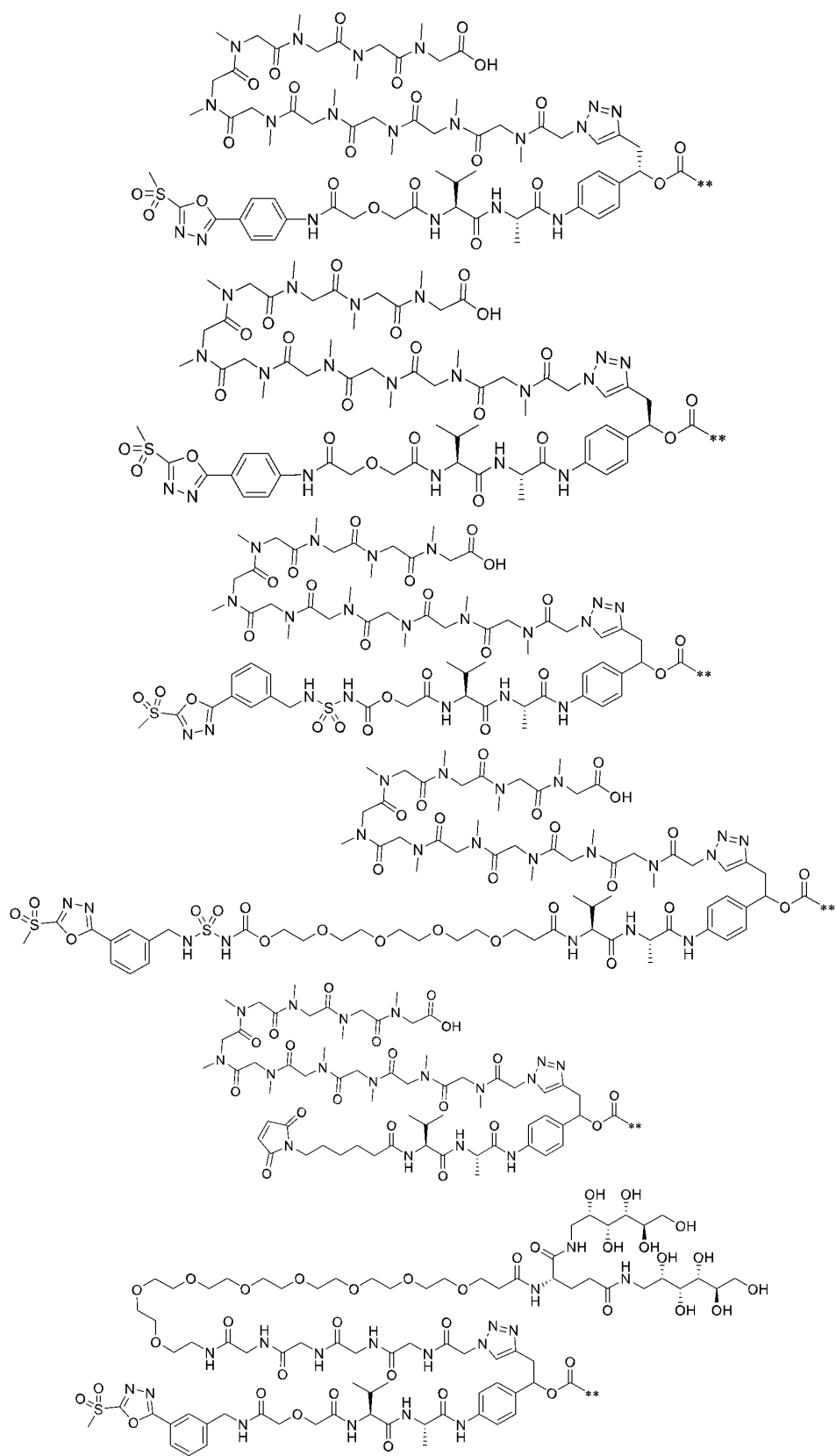


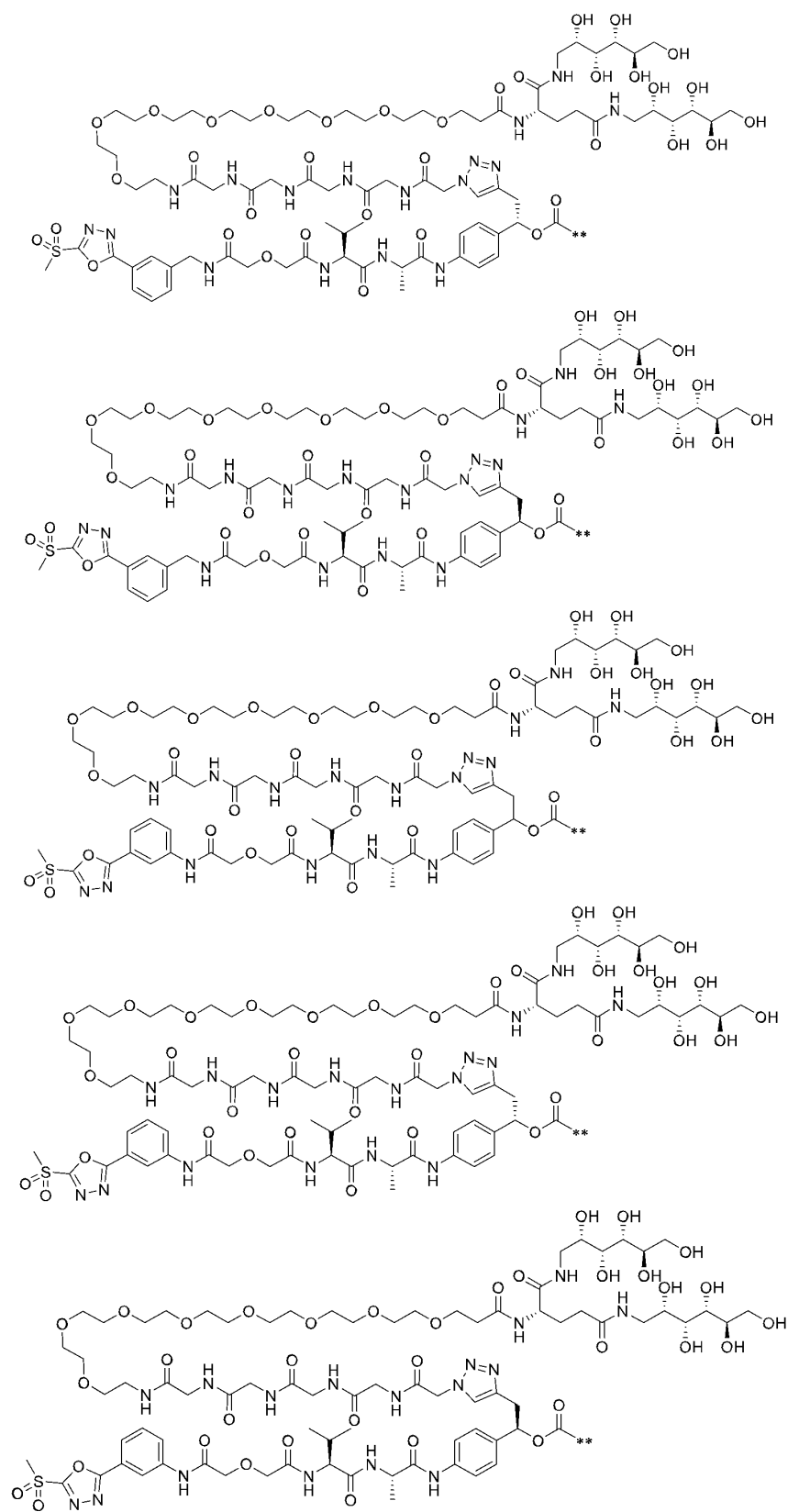


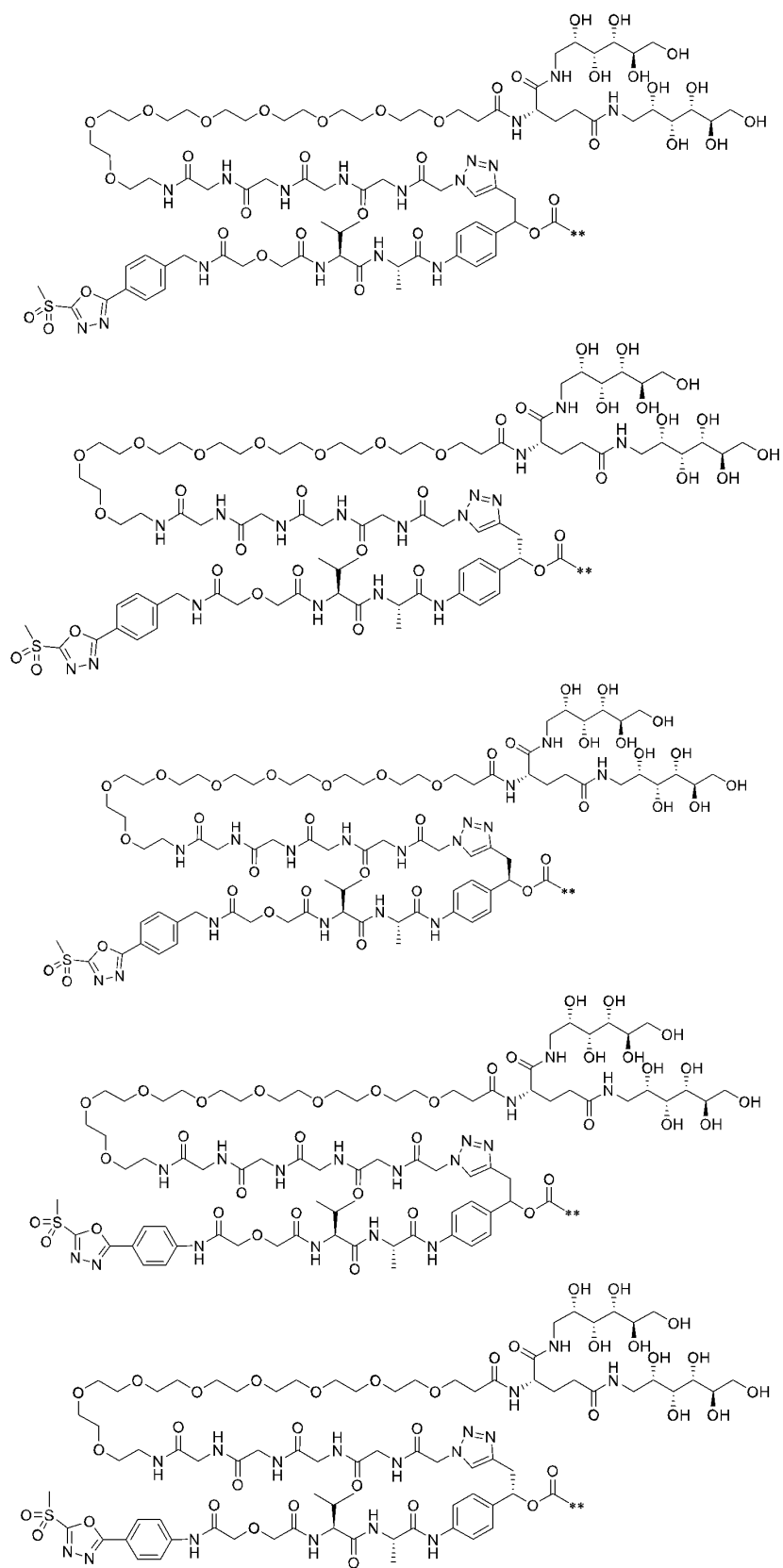


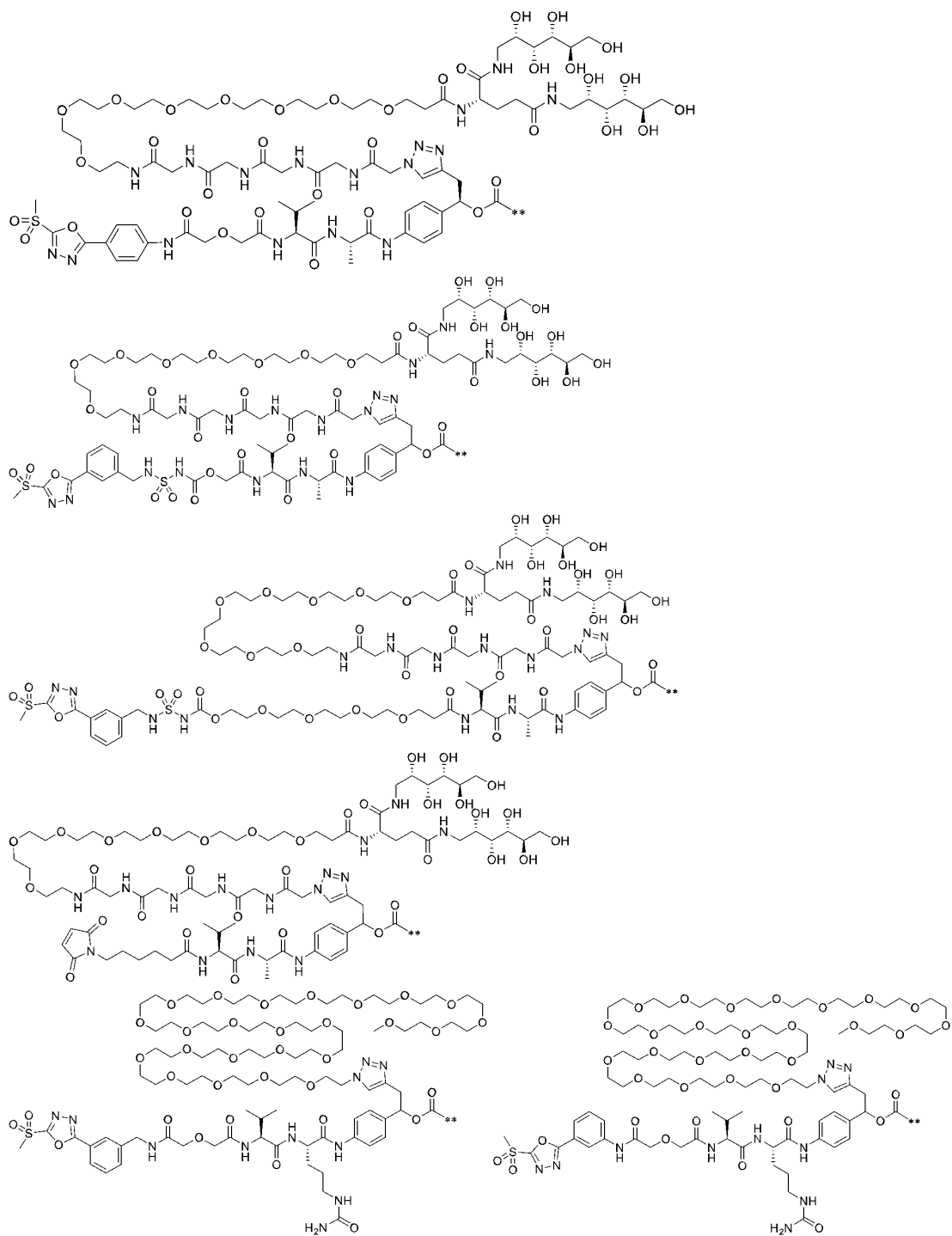


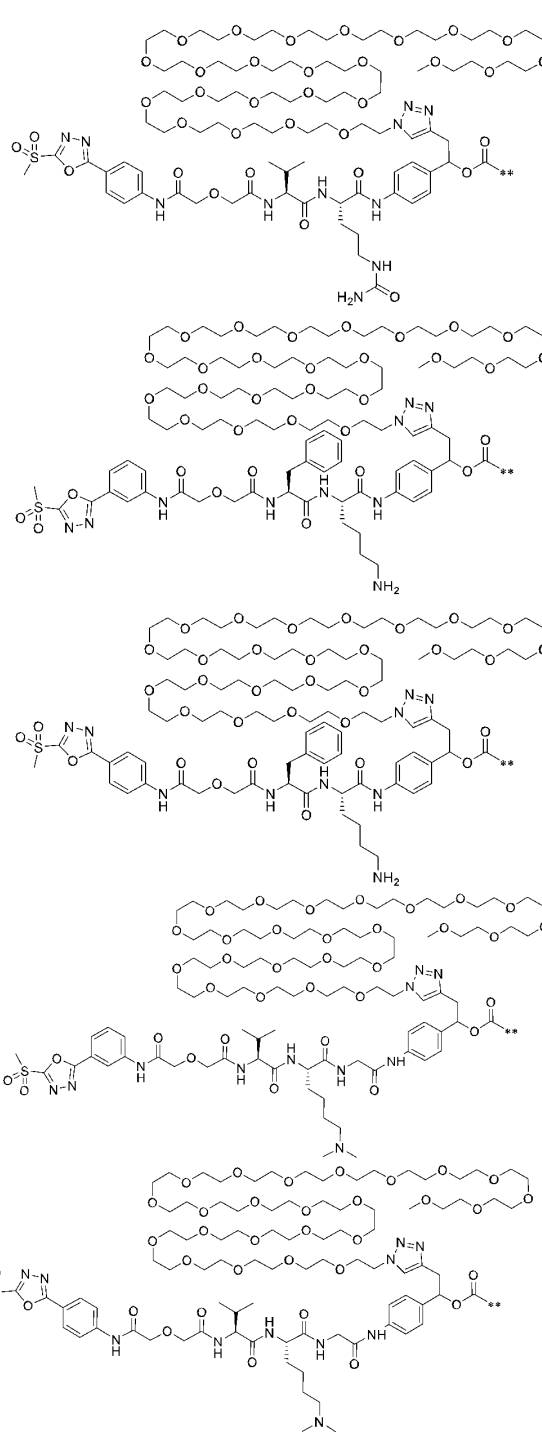
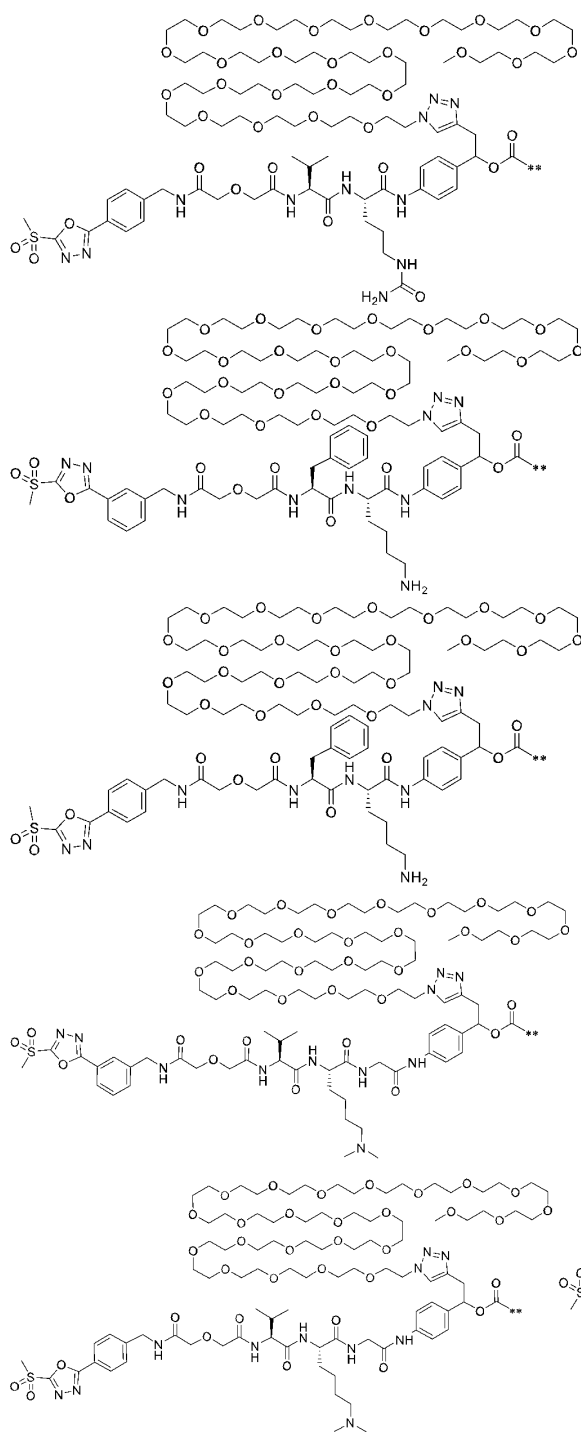


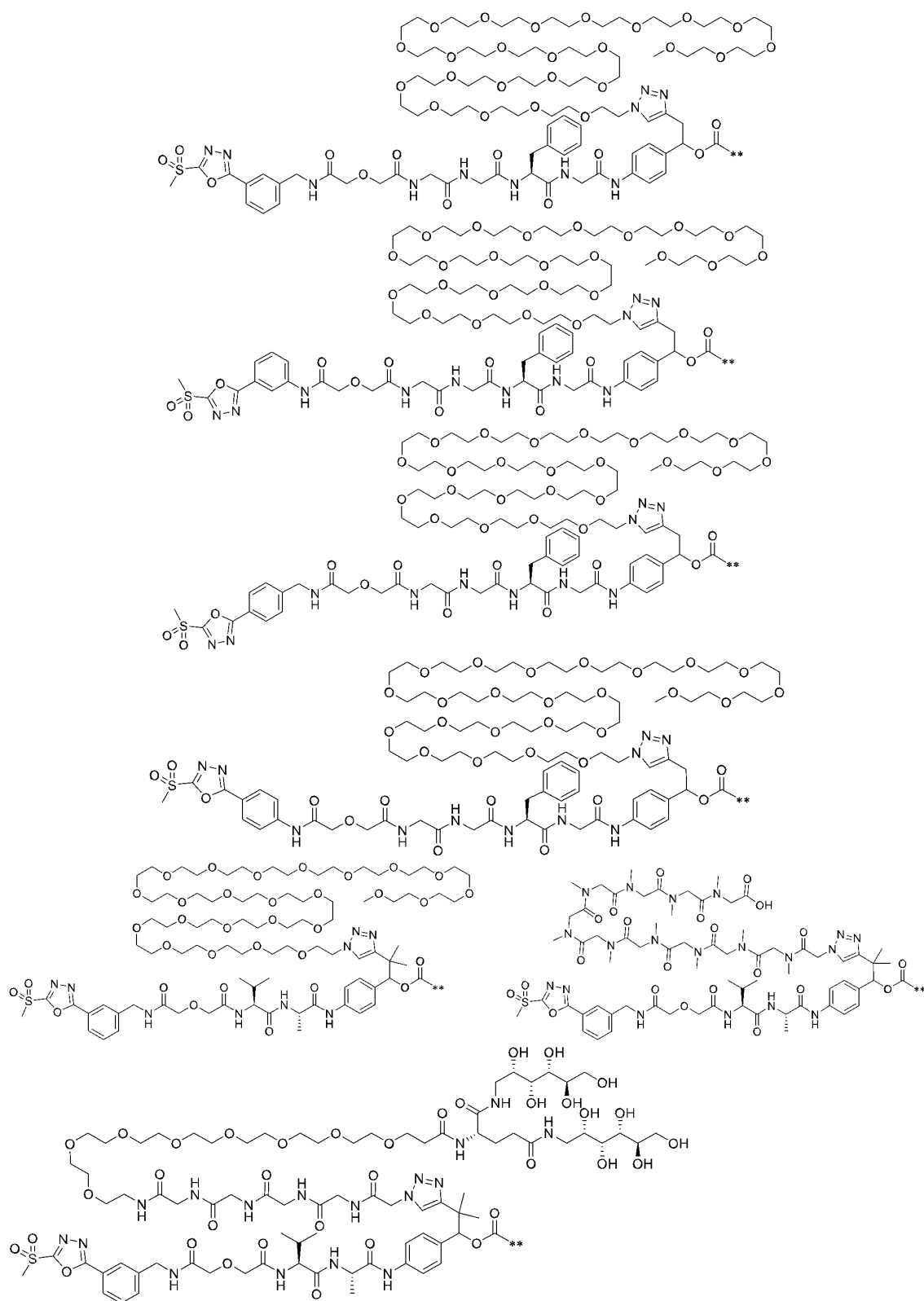


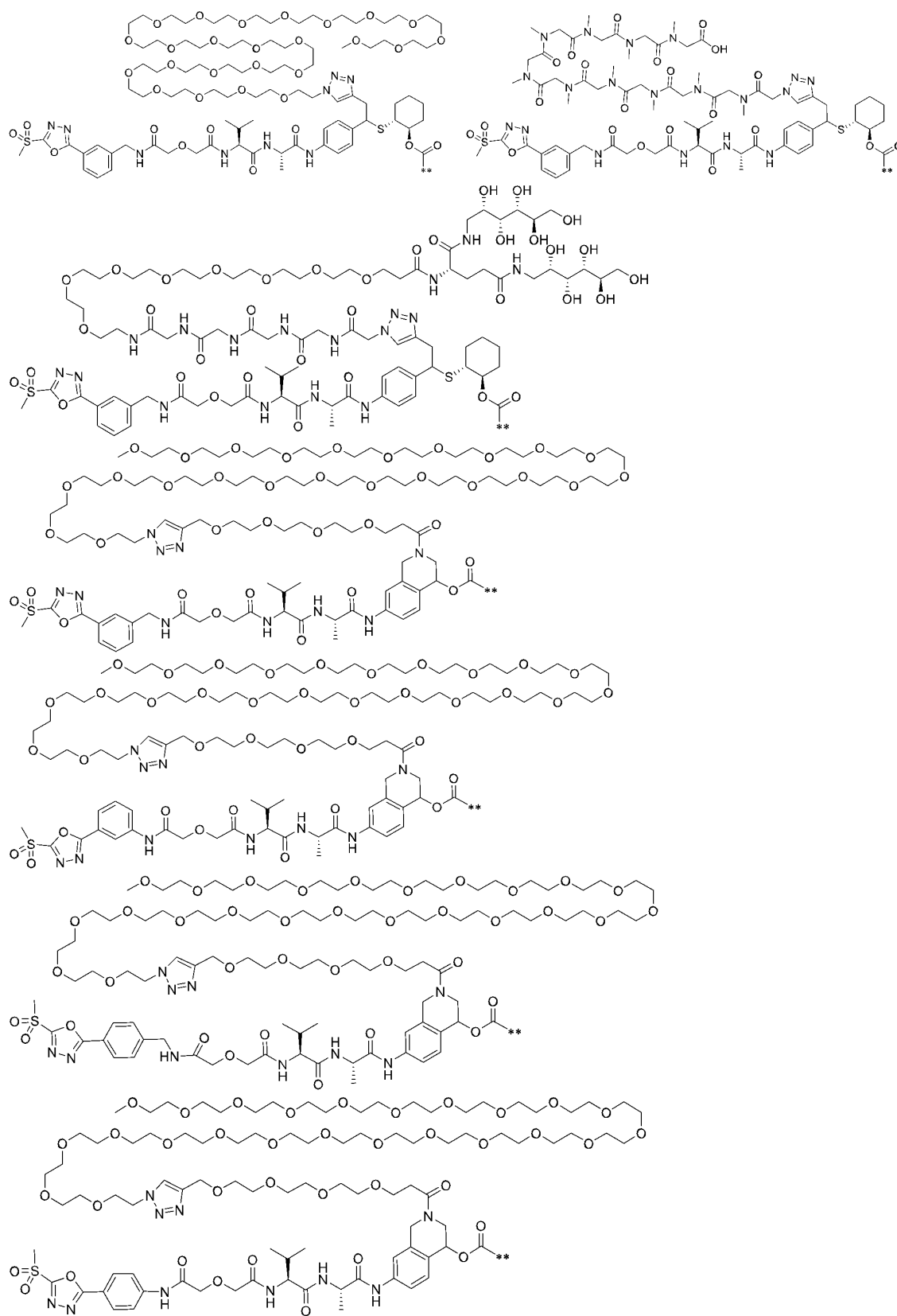


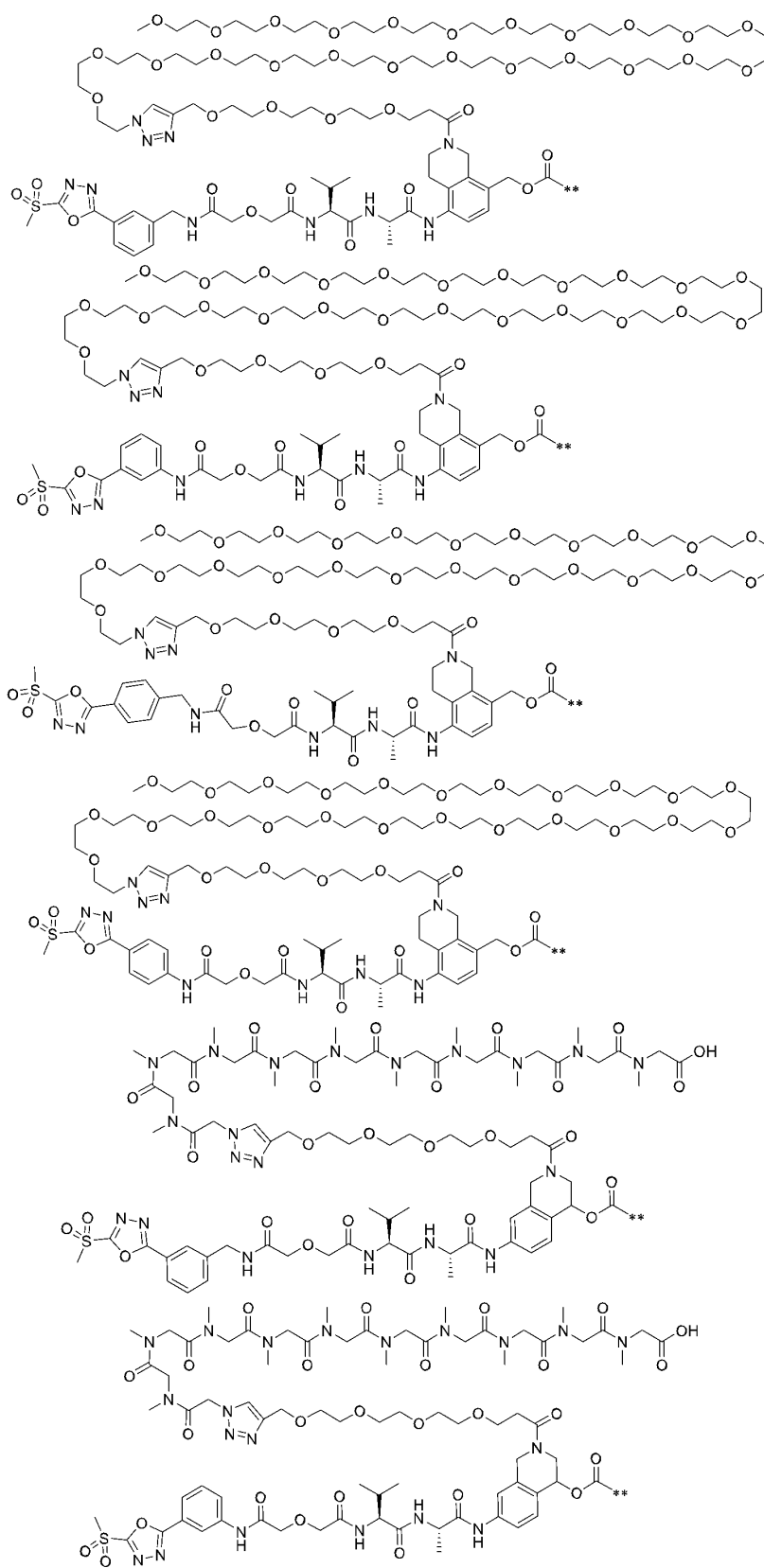


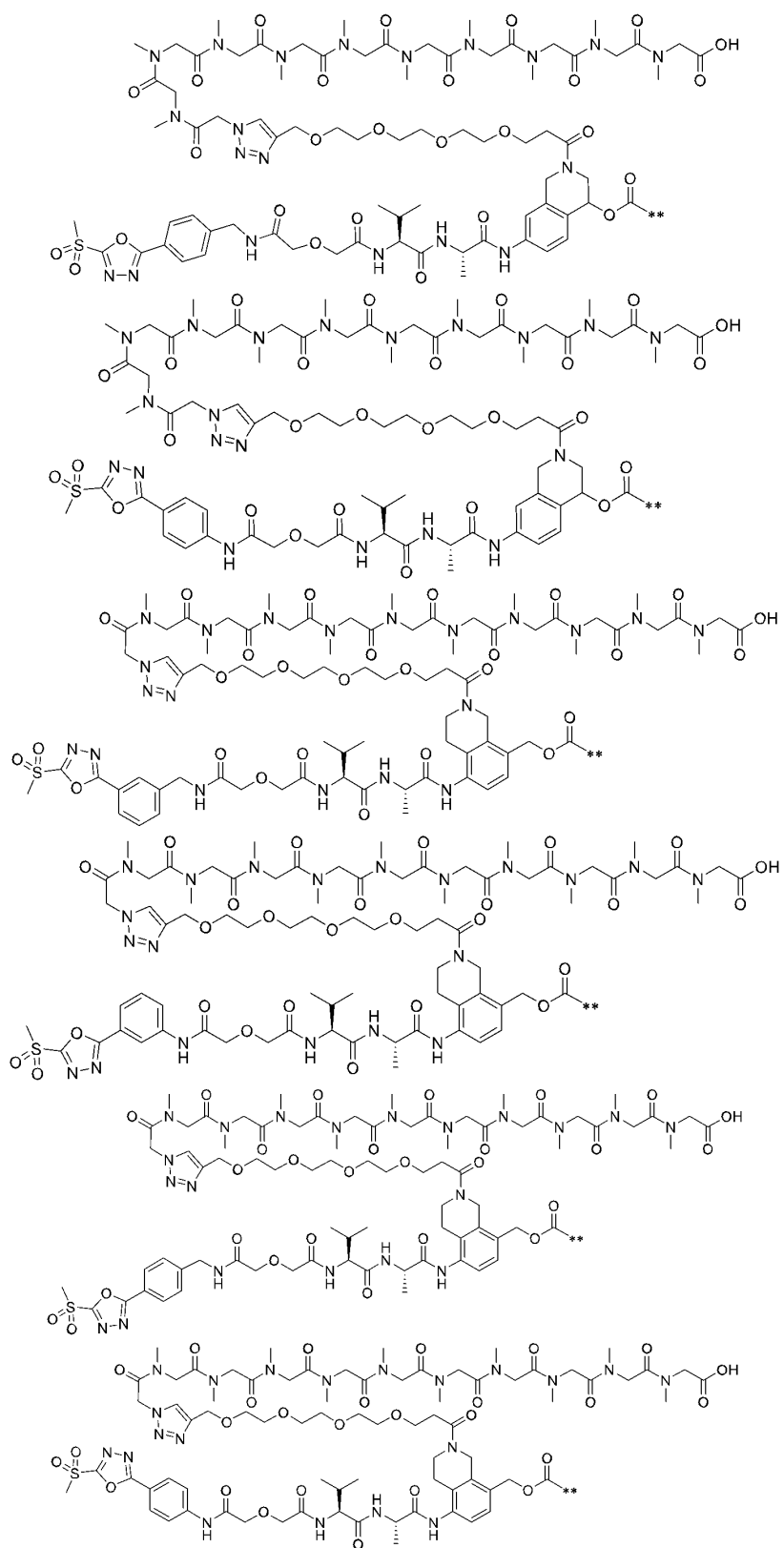


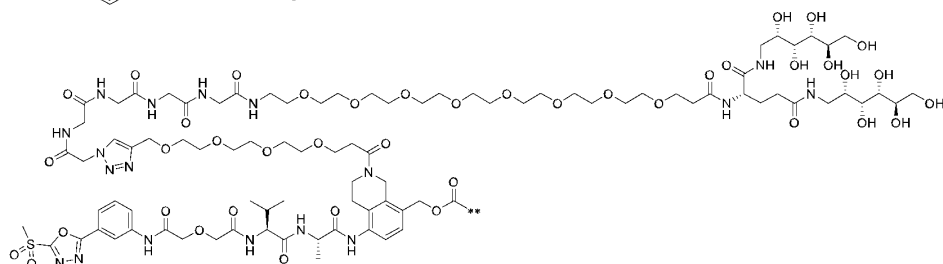
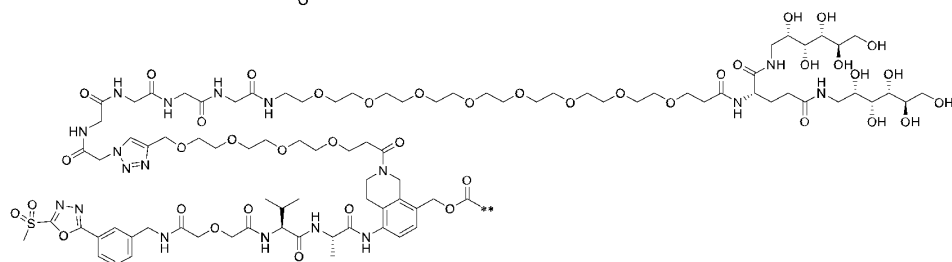
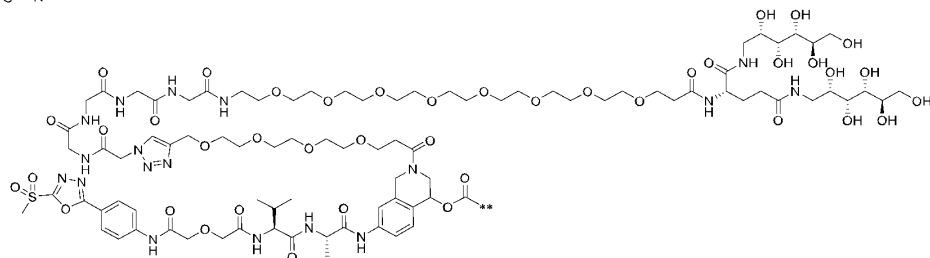
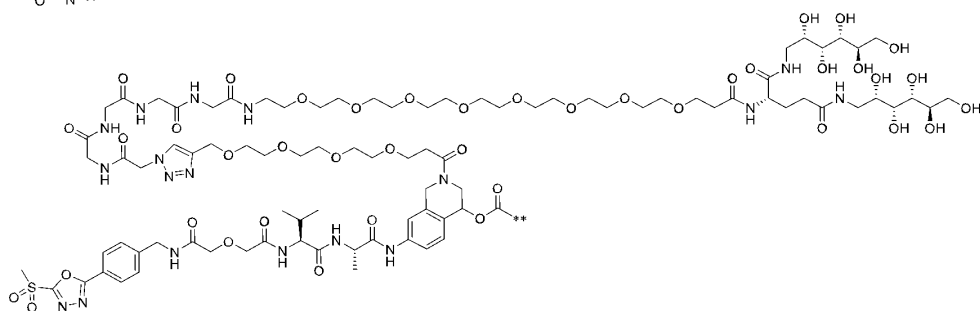
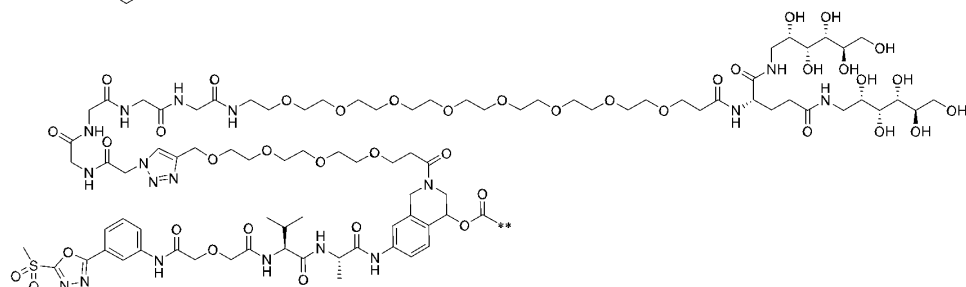
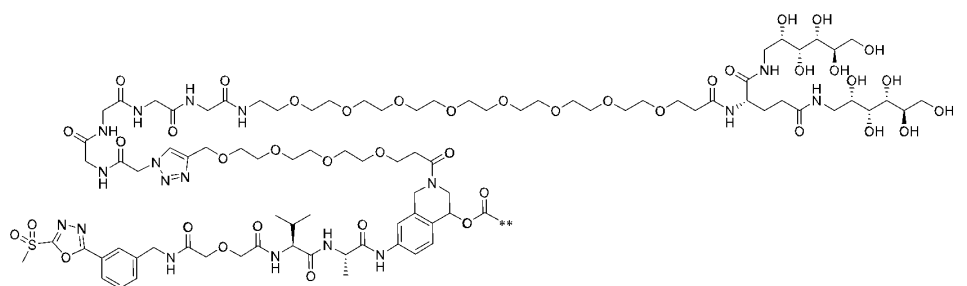


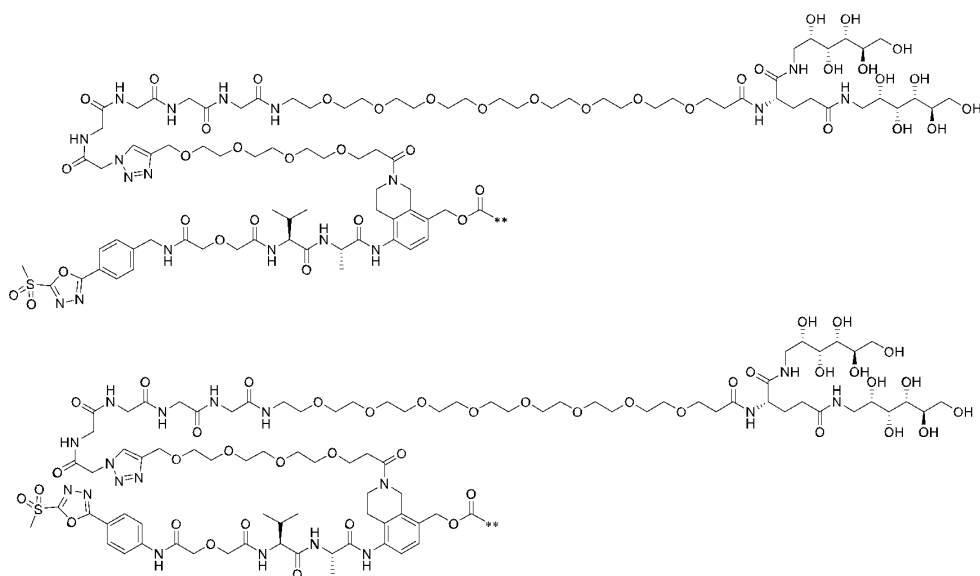








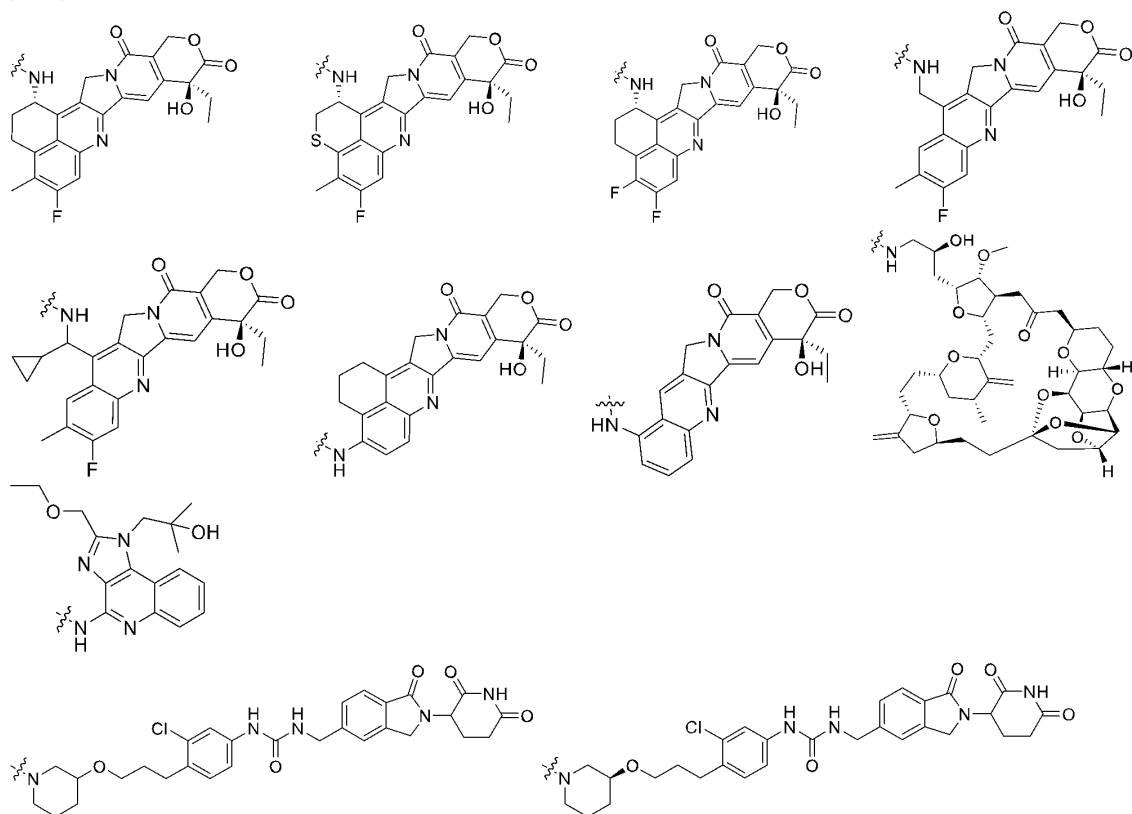


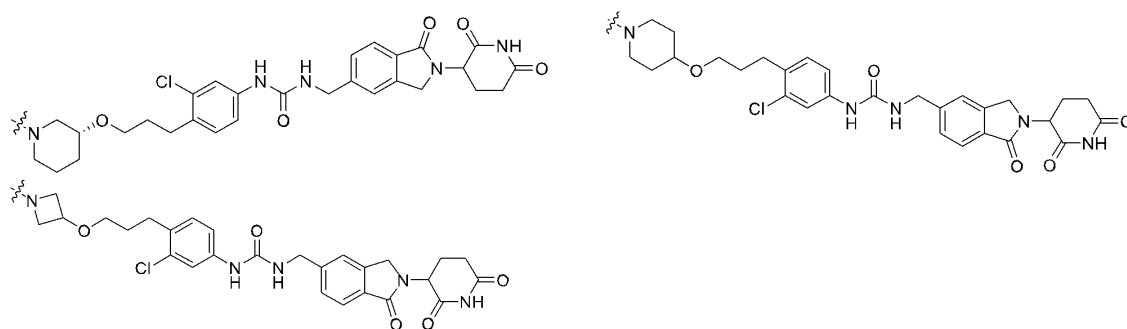


其中**表示与生物活性分子 D 氨基相连接。

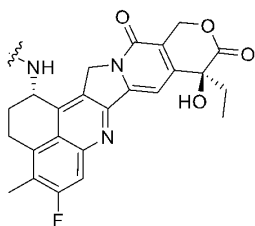
在一些实施方案中，式(II)所示的连接子-药物化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、及其药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物，其中生物活性分子 D 选自喜树碱衍生物、艾日布林、分子胶类。

在一些实施方案中，式(II)所示的连接子-药物化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、及其药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物，其中生物活性分子 D 选自下式的化合物：

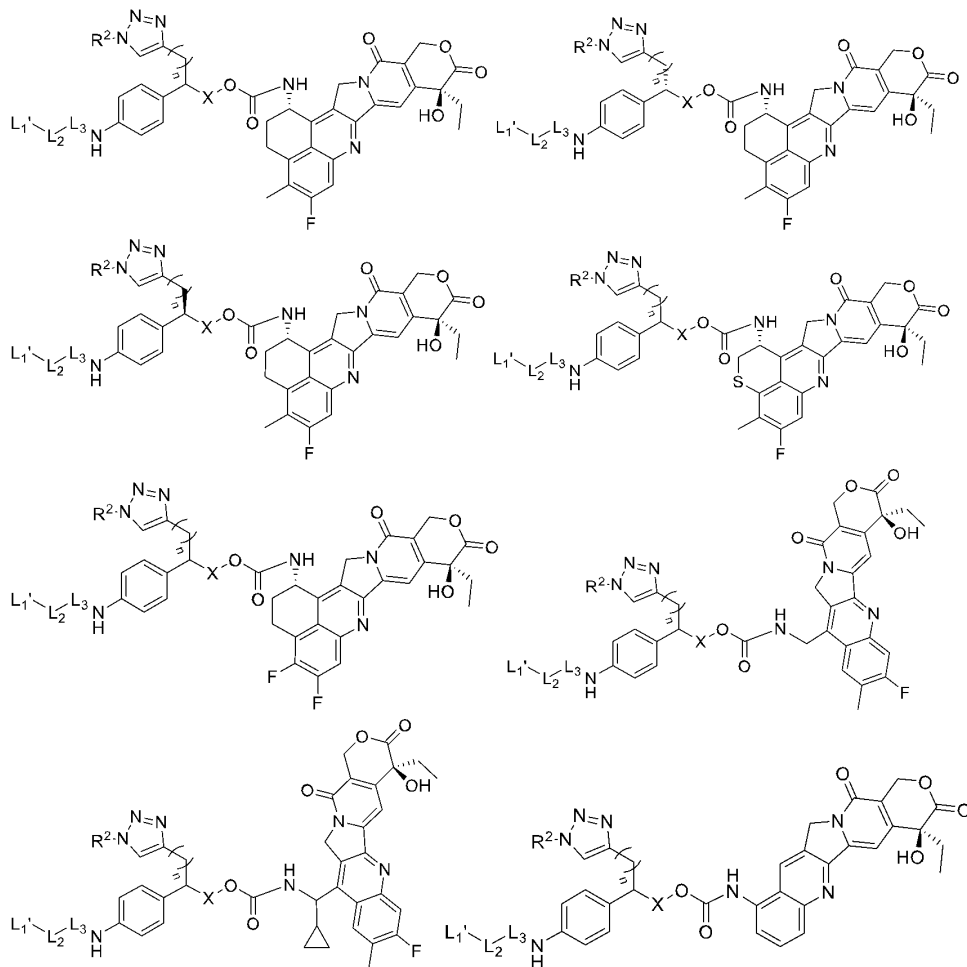


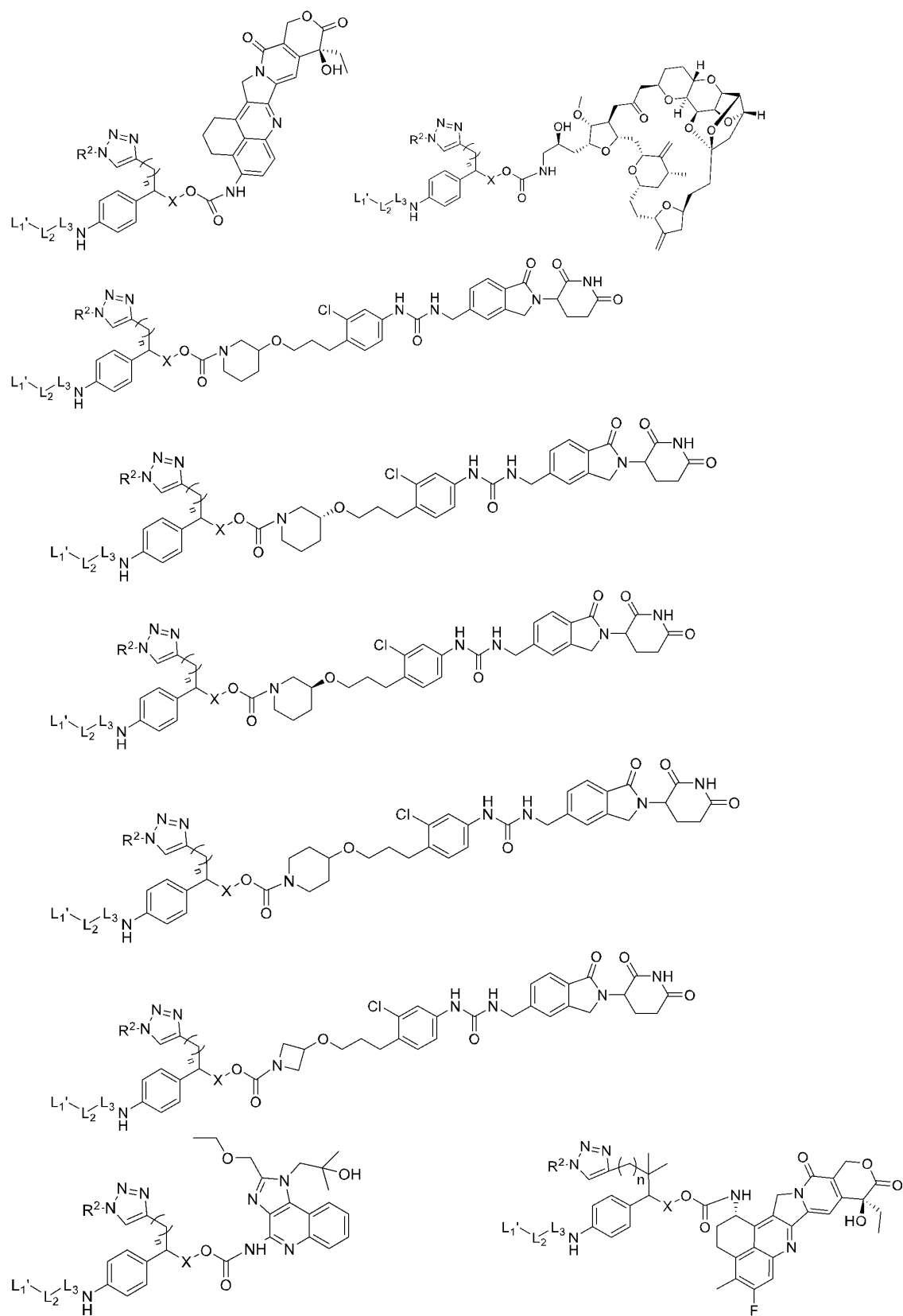


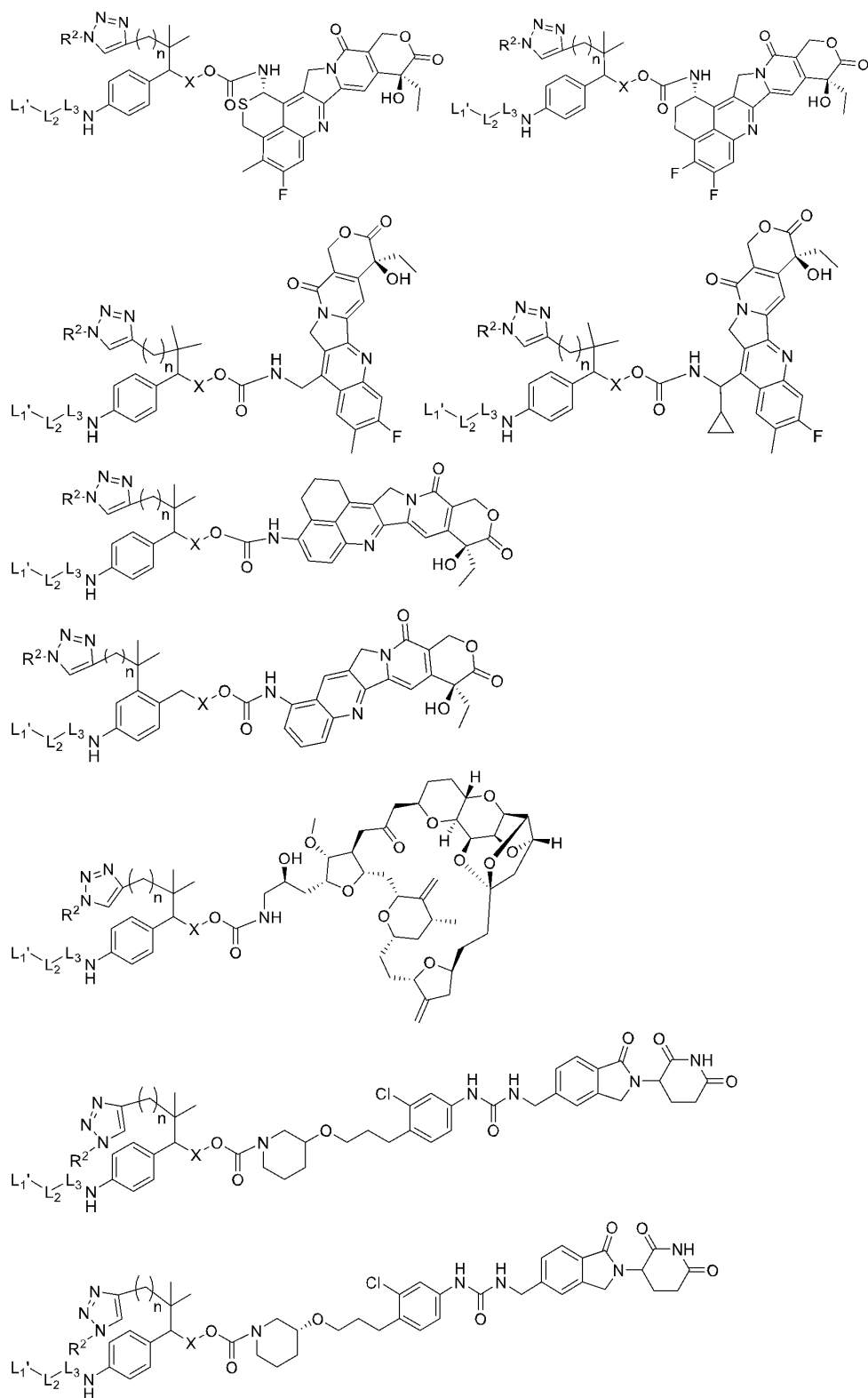
在一些实施方案中，式(II)所示的连接子-药物化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、及其药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物，其中生物活性分子 D 选自：

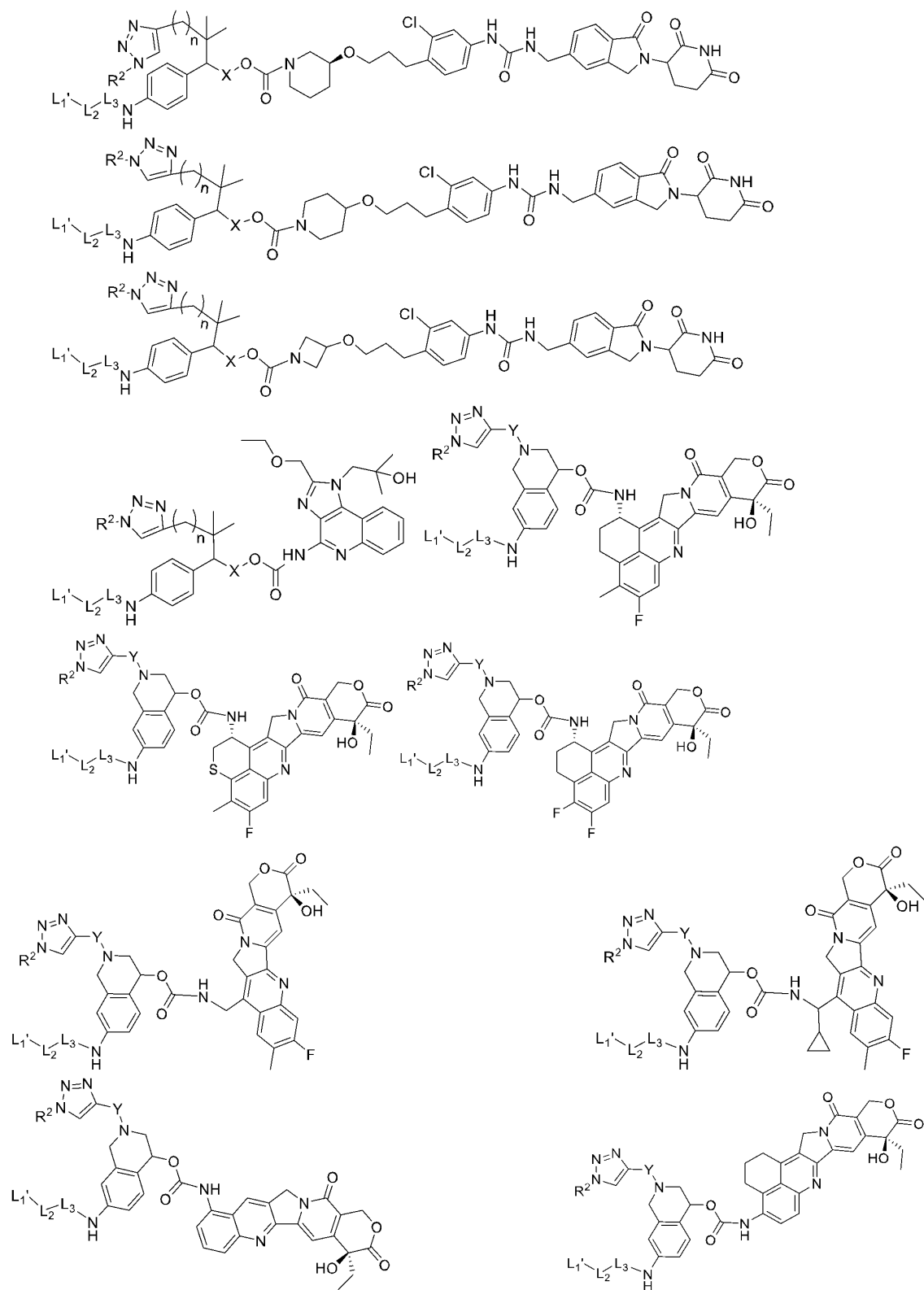


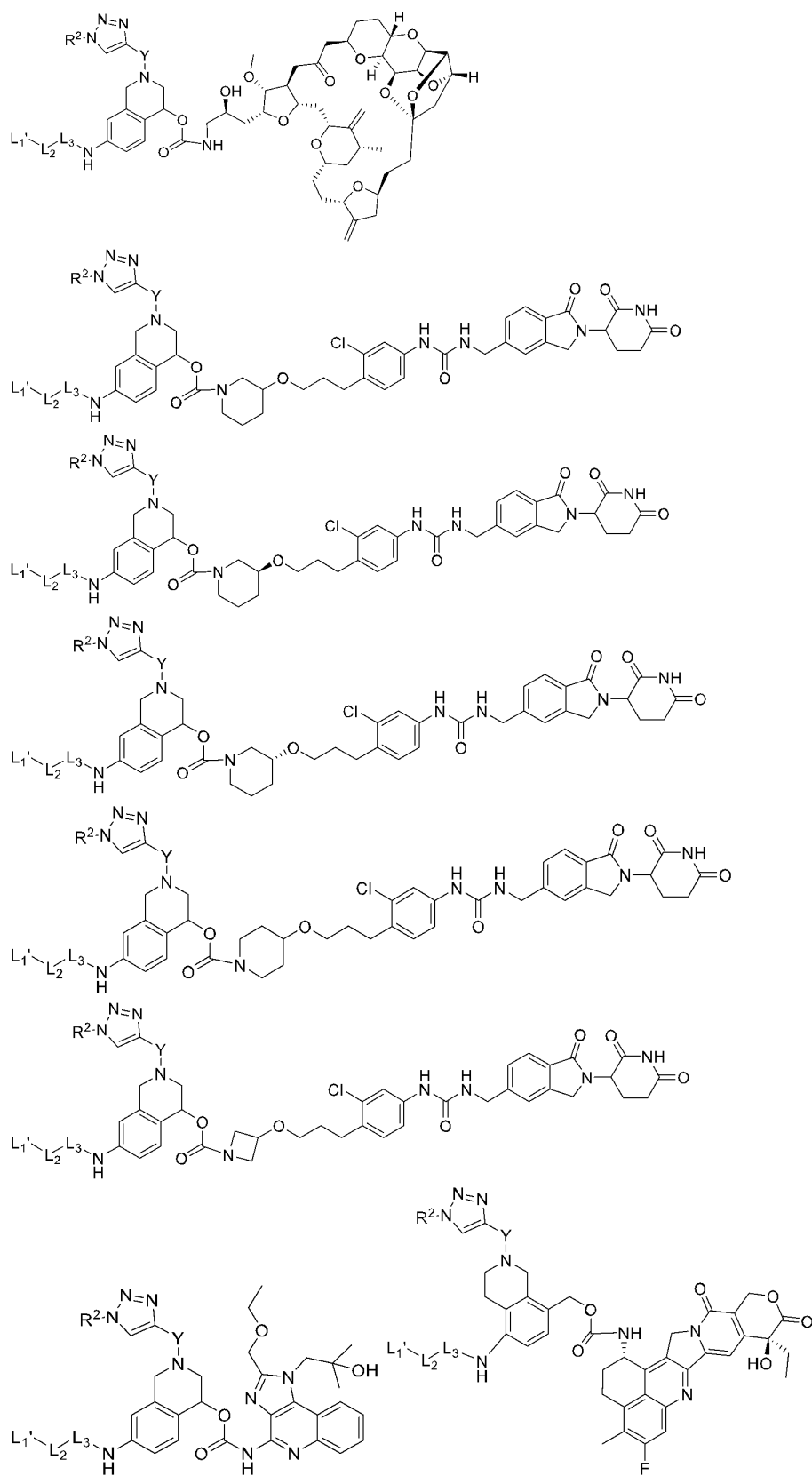
在一些实施方案中，式(II)所示的连接子-药物化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、及其药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物，结构如下列所示：

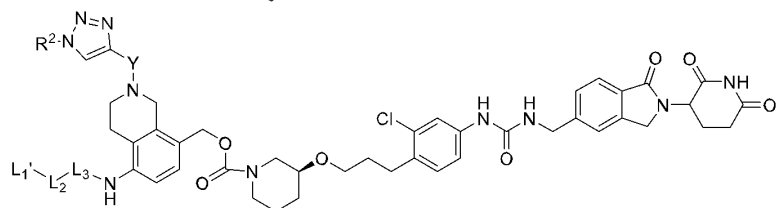
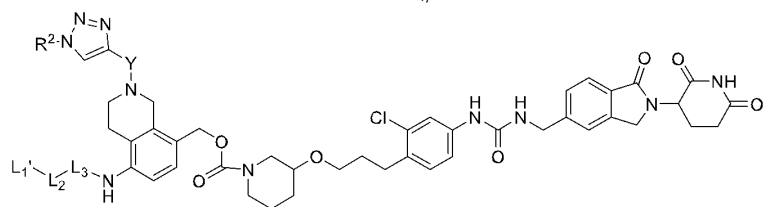
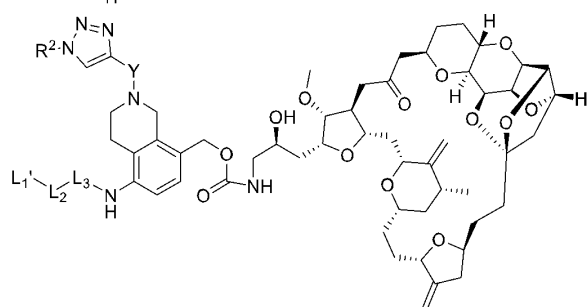
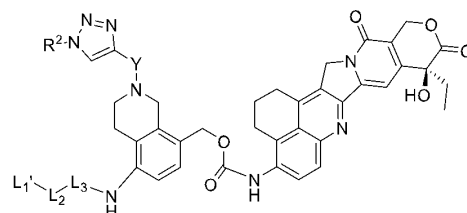
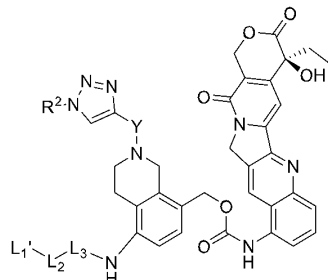
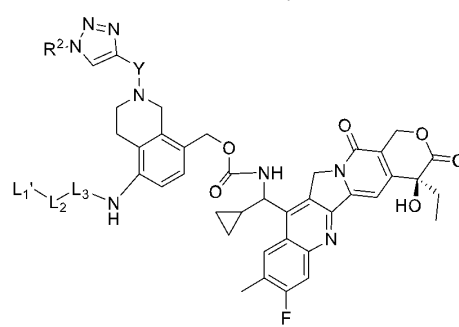
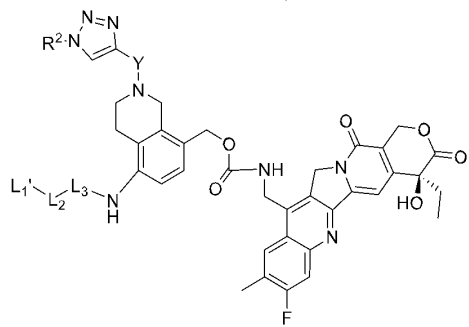
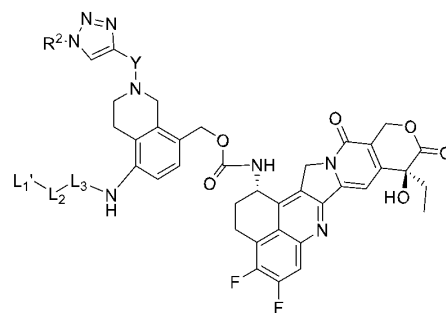
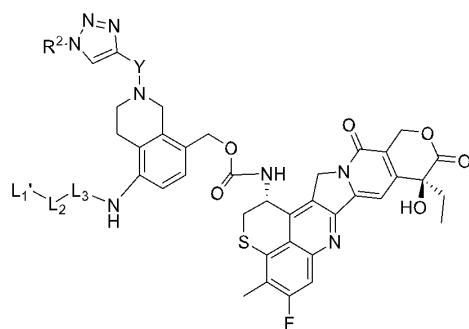


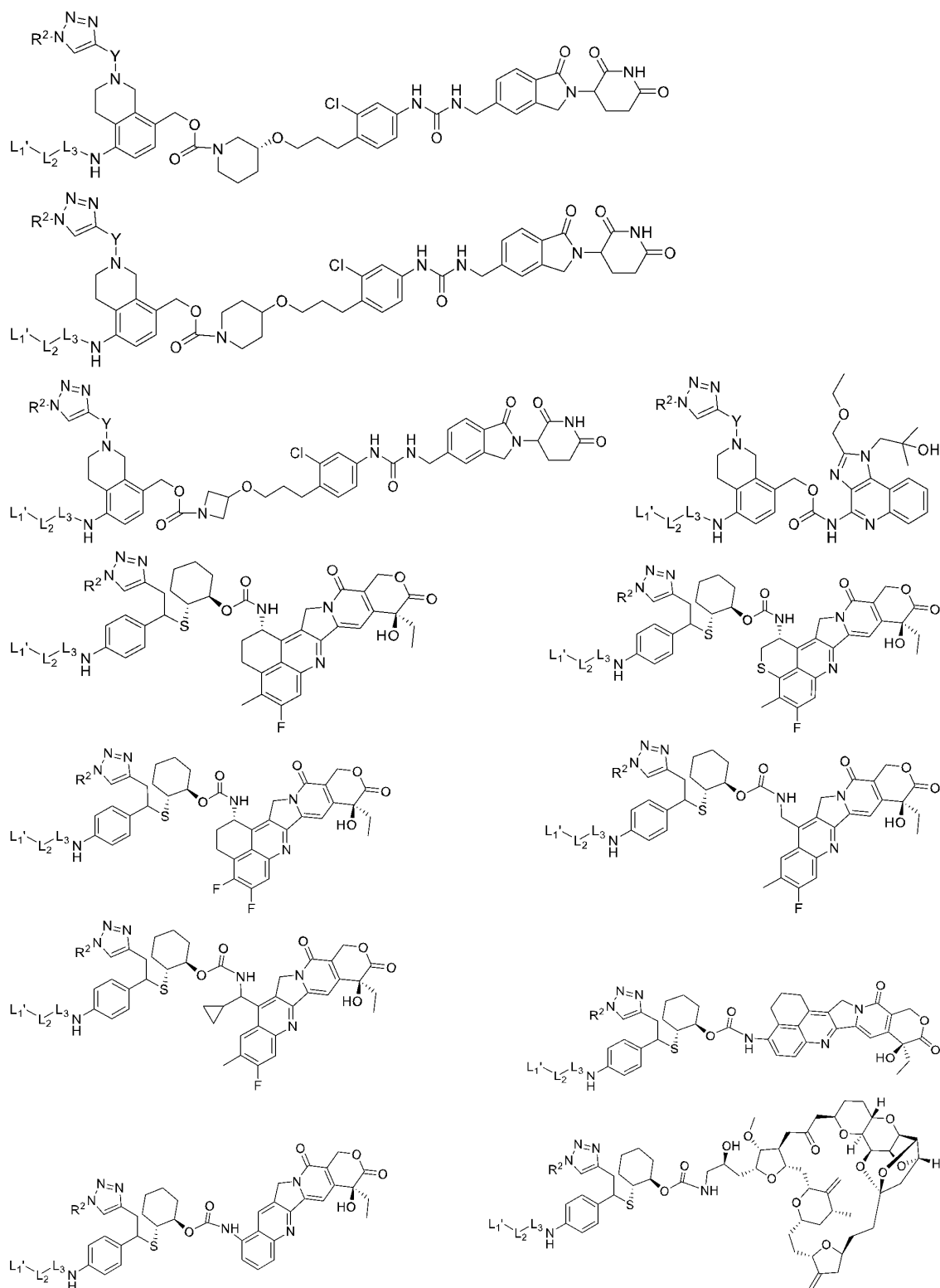


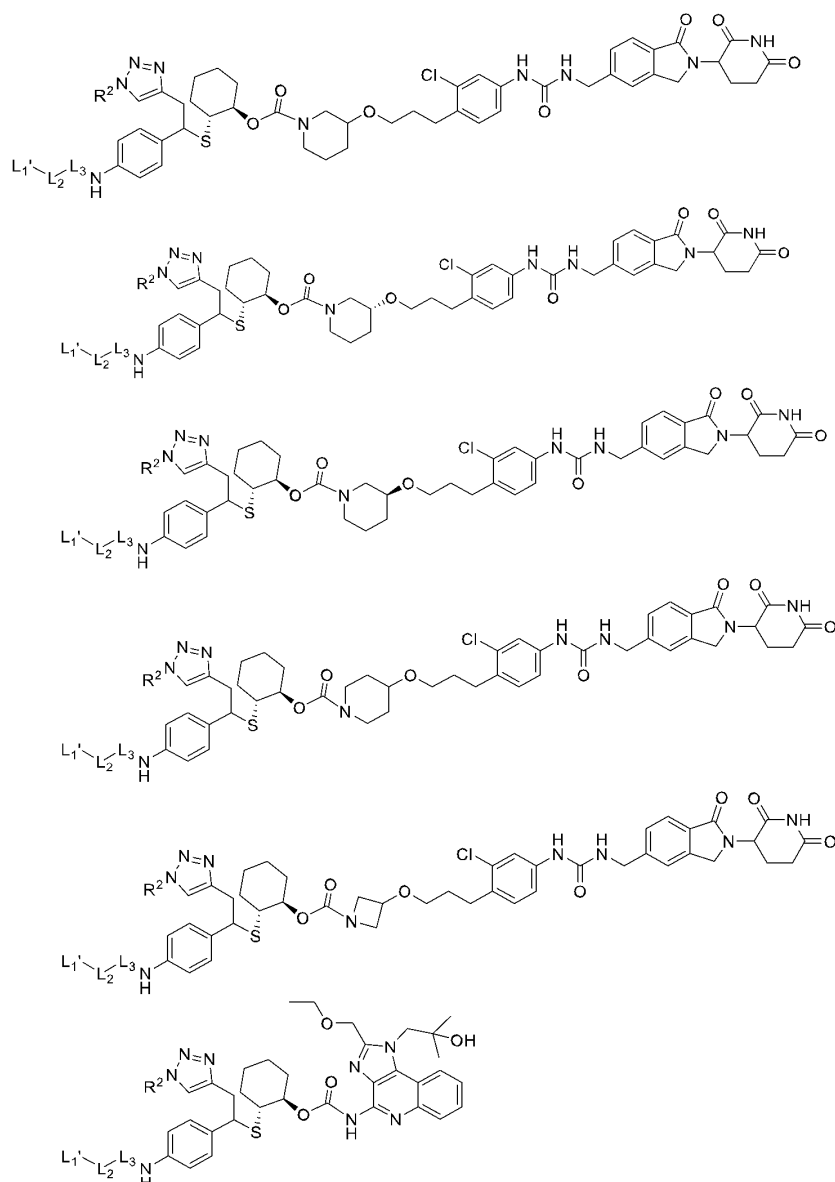




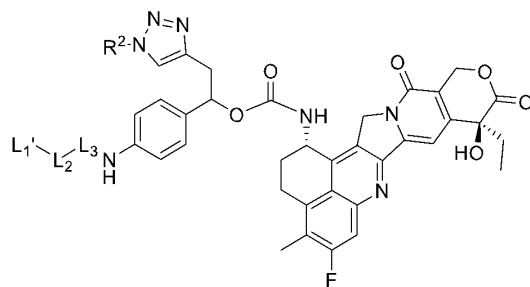




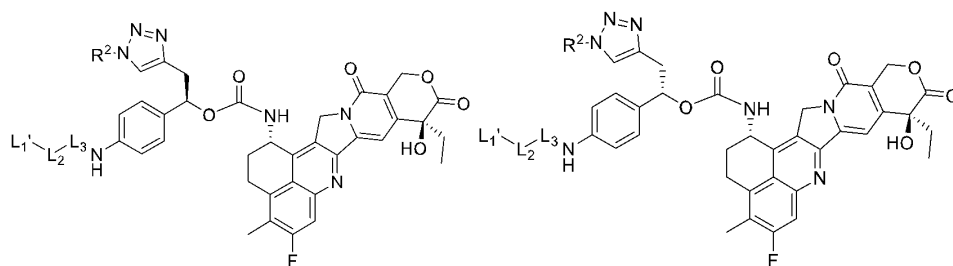




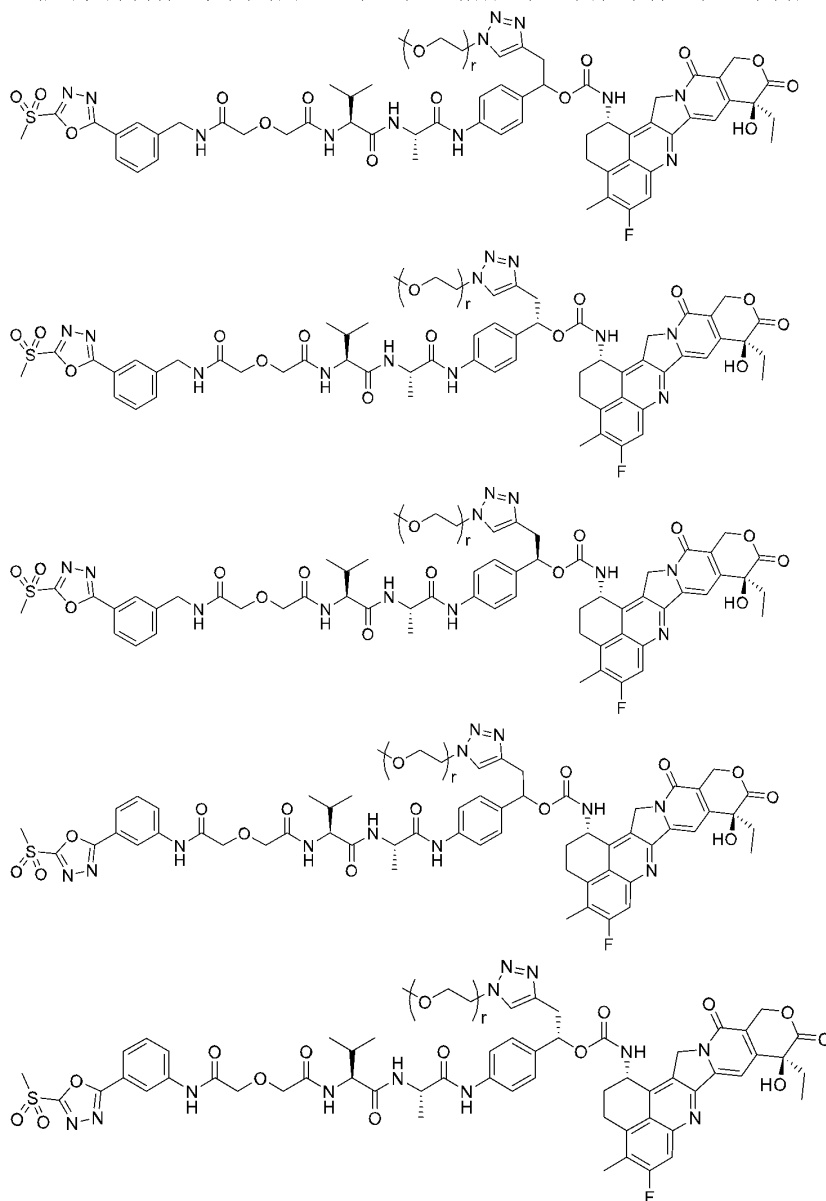
在一些实施方案中, 式(II)所示的连接子-药物化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、及其药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物, 结构如下列所示:

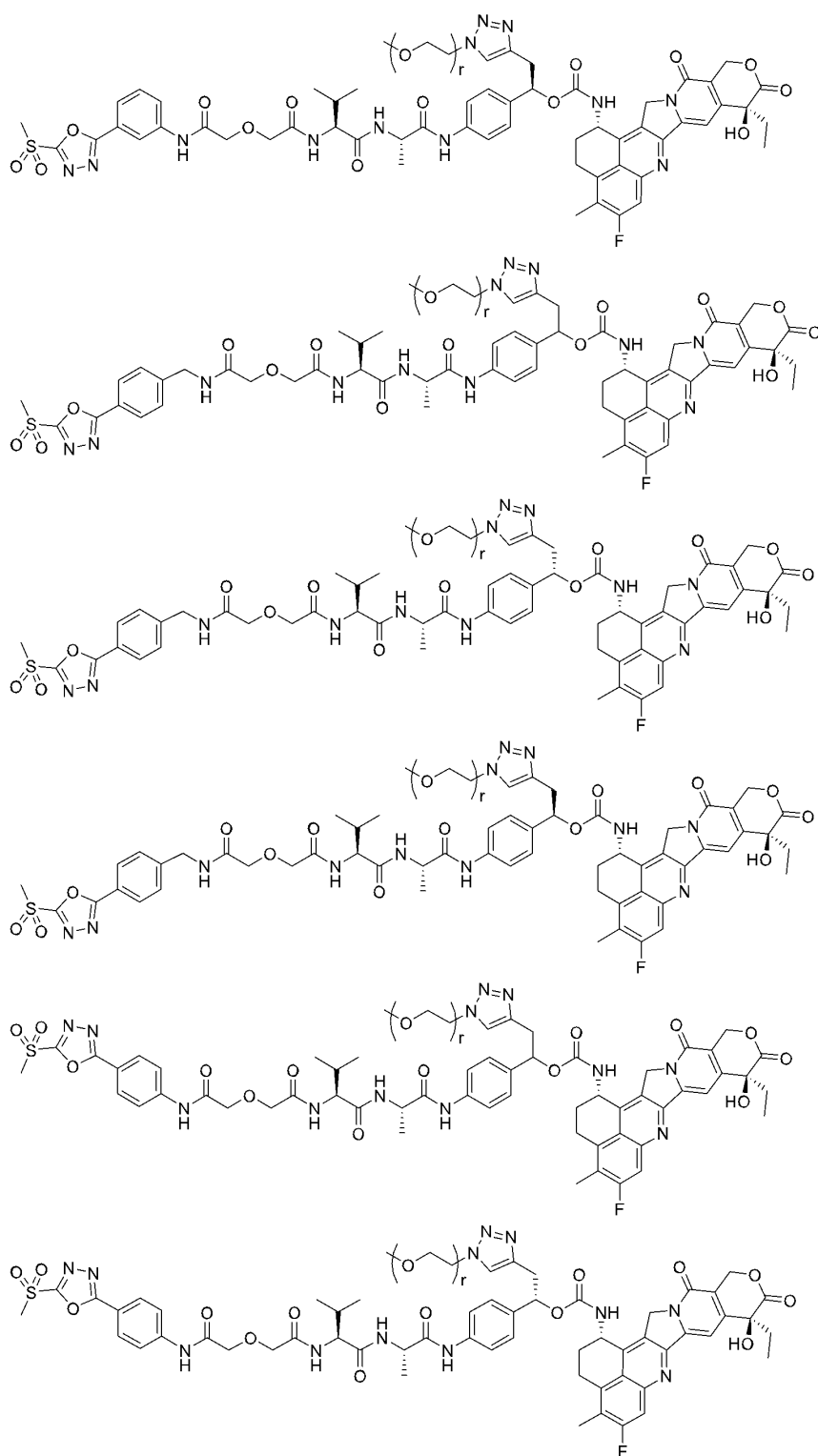


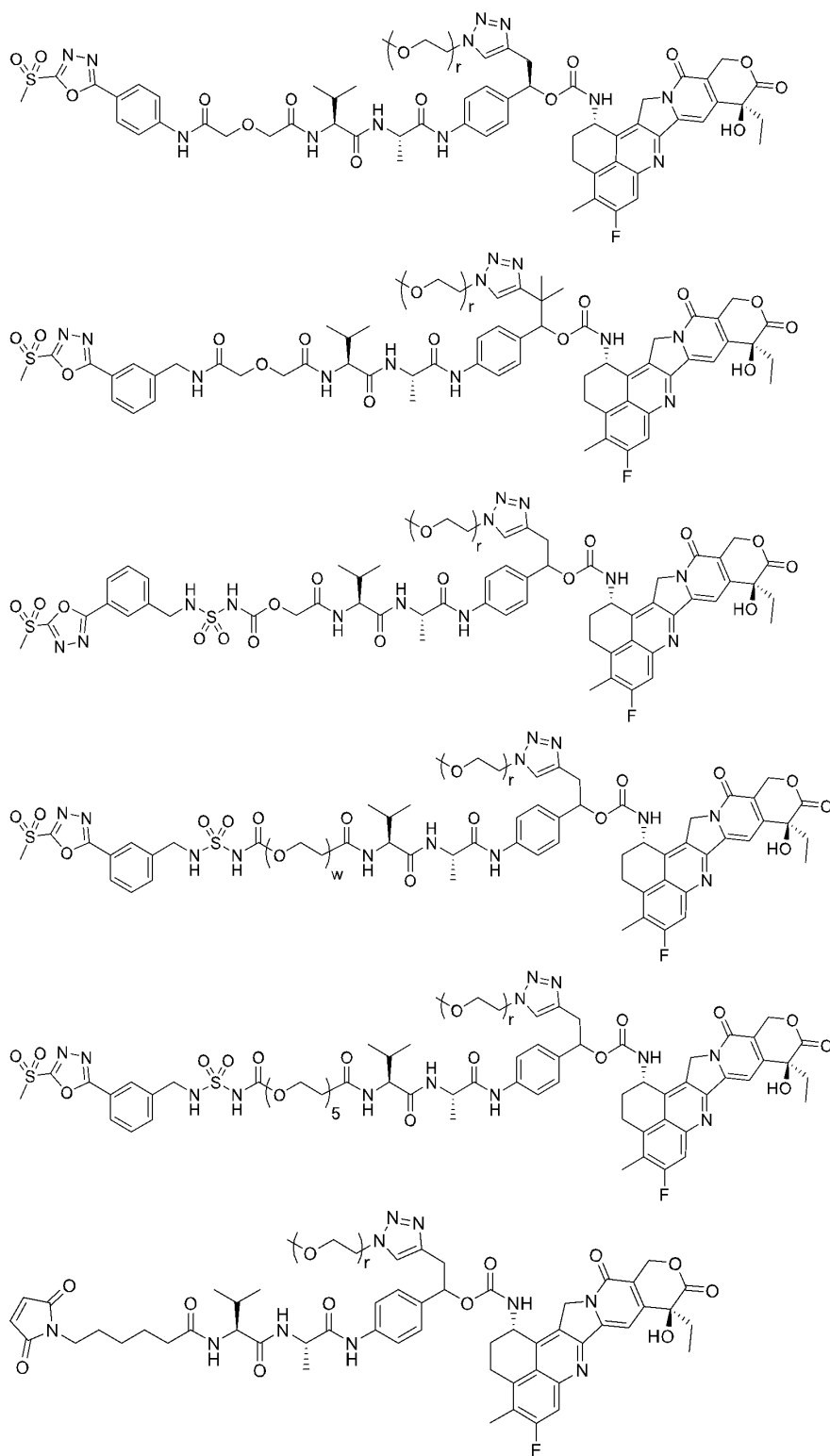
在一些实施方案中, 式(II)所示的连接子-药物化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、及其药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物, 结构如下列所示:

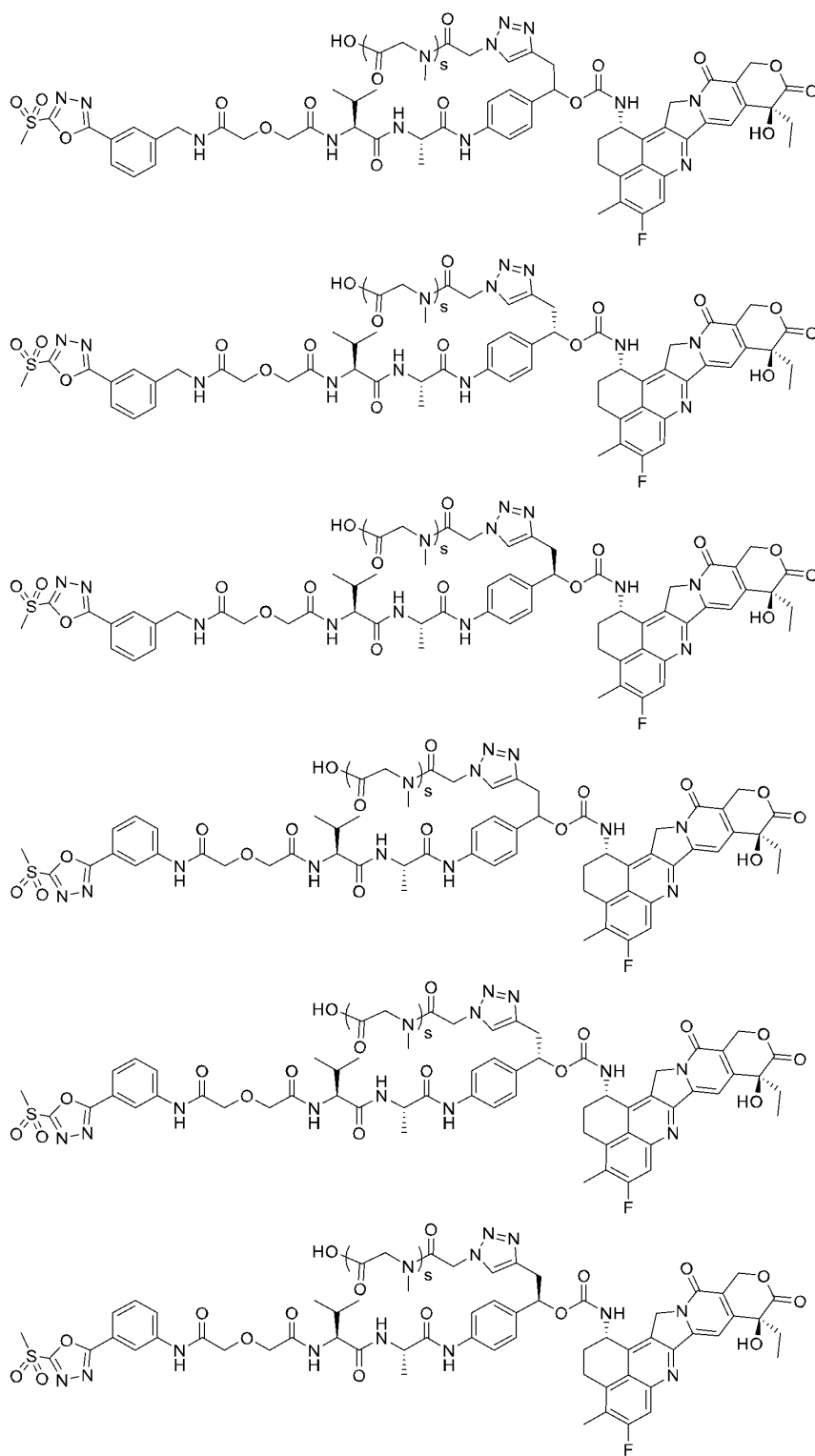


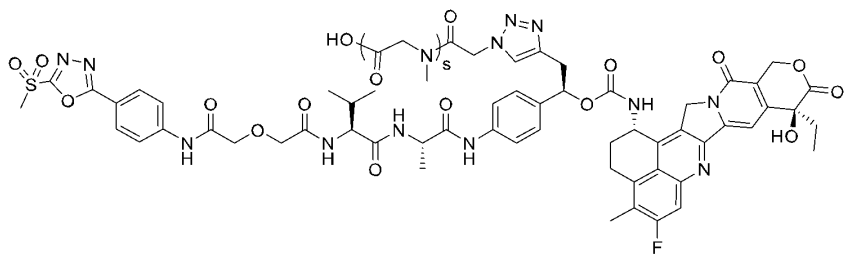
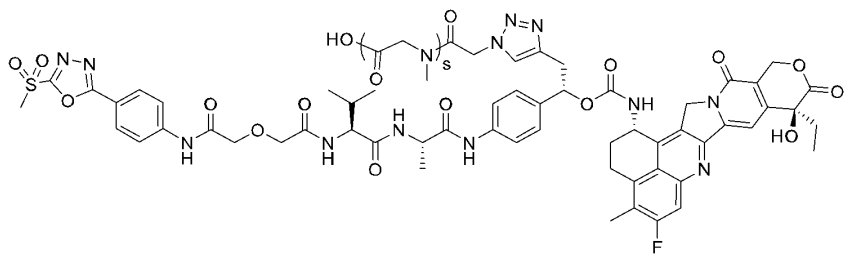
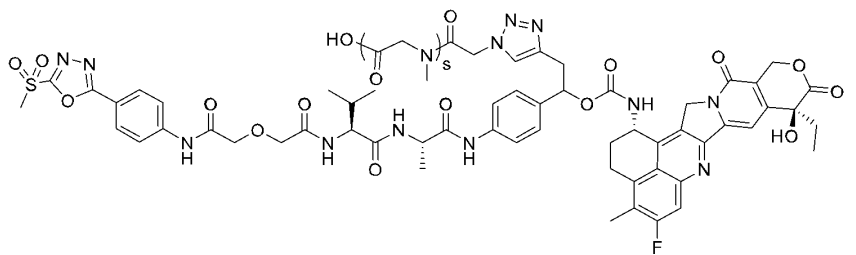
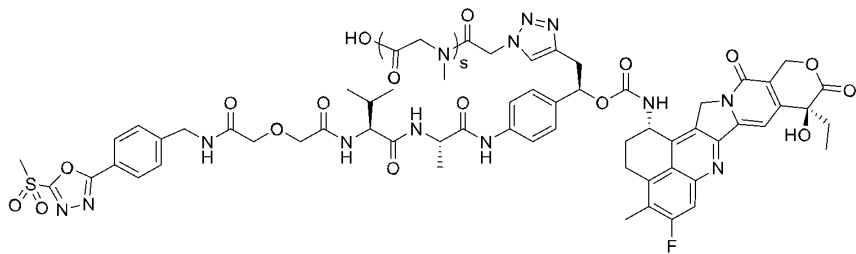
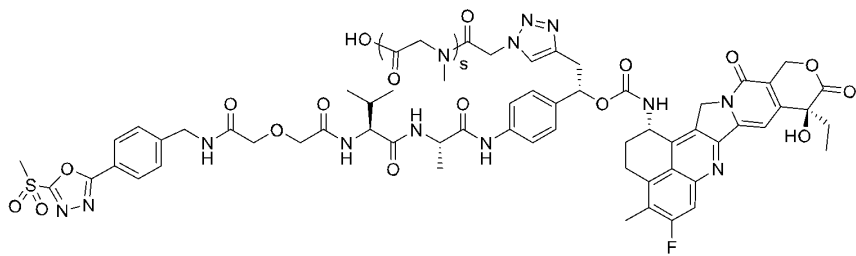
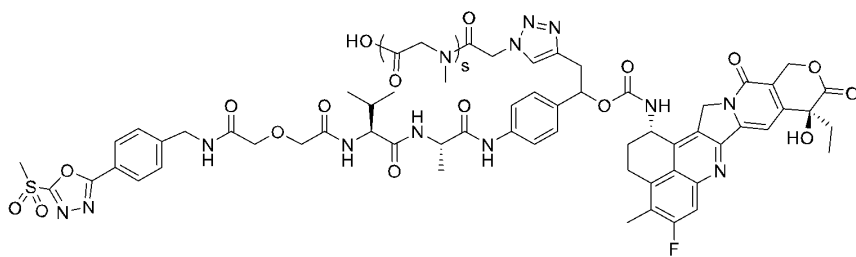
在一些实施方案中, 式(II)所示的连接子-药物化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、及其药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物, 结构如下列所示:

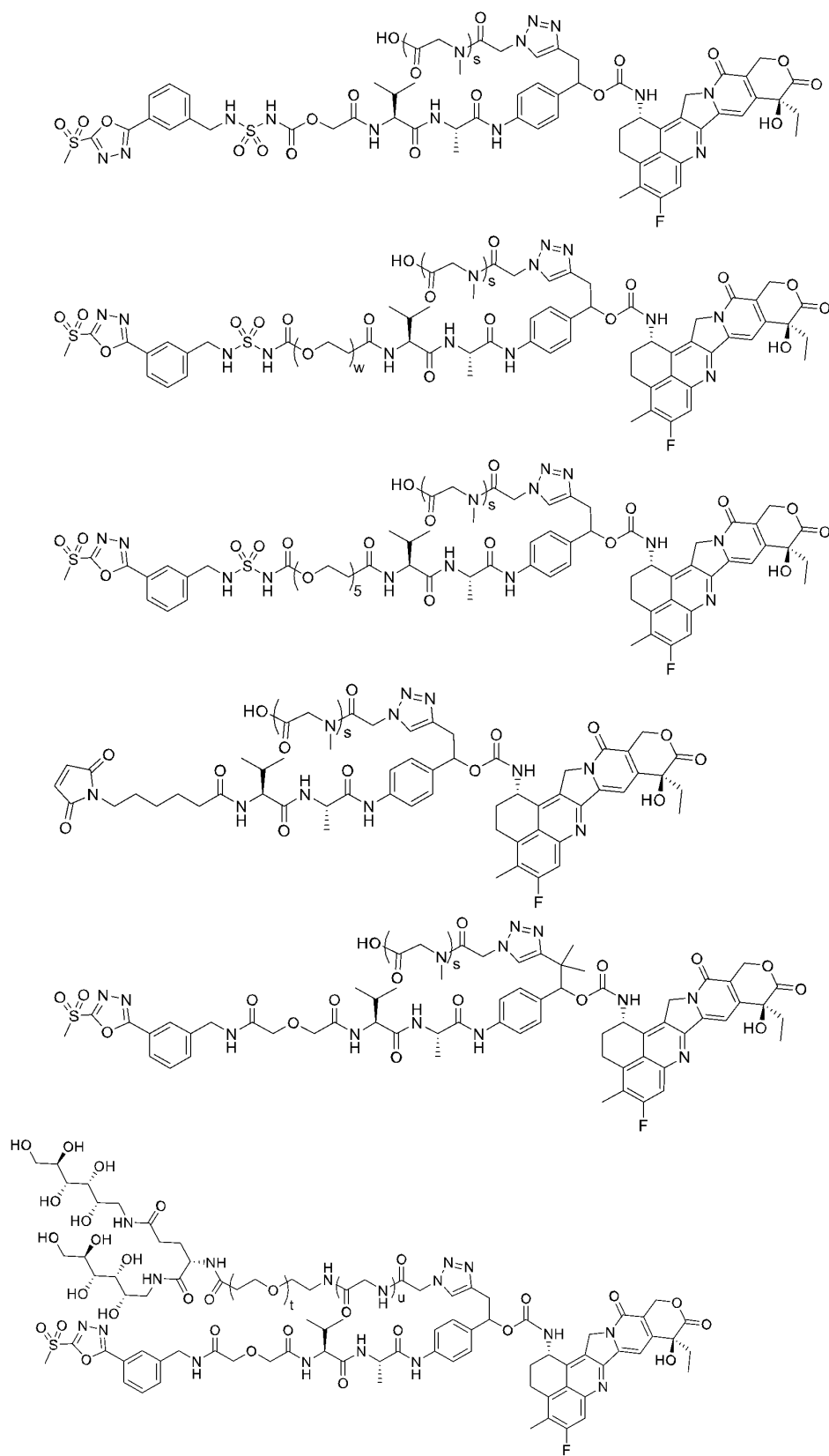


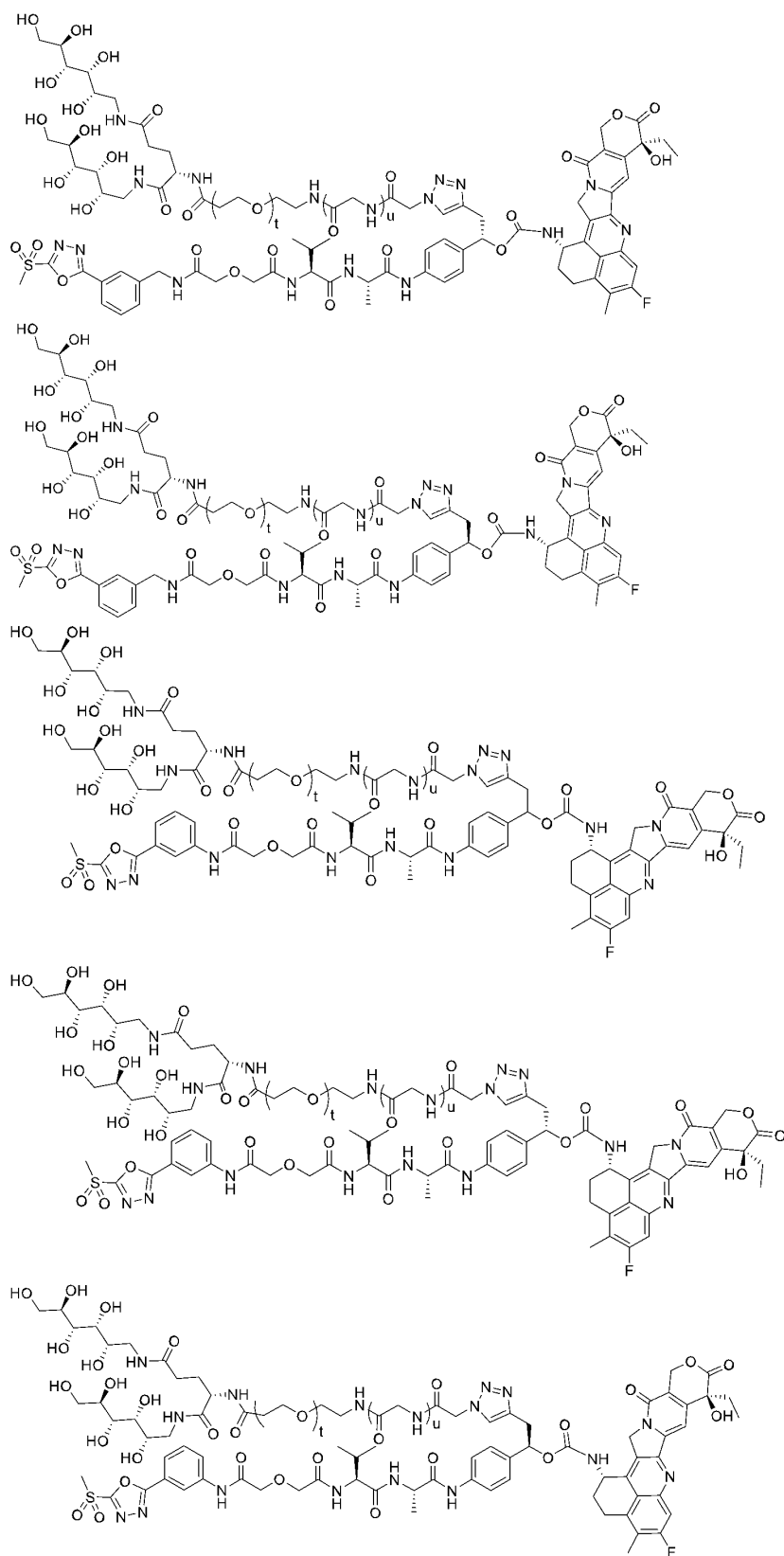


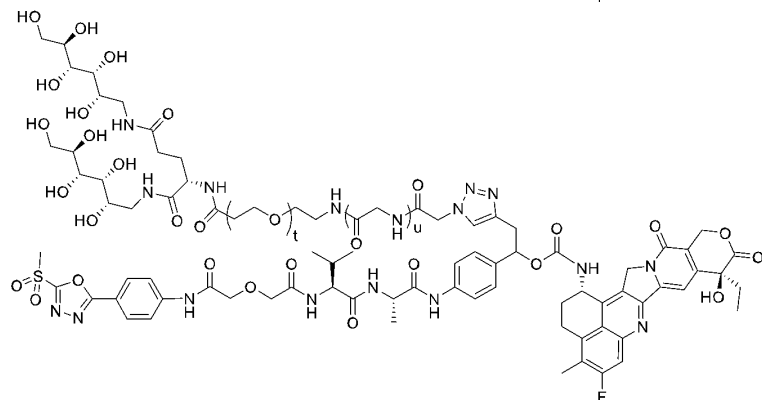
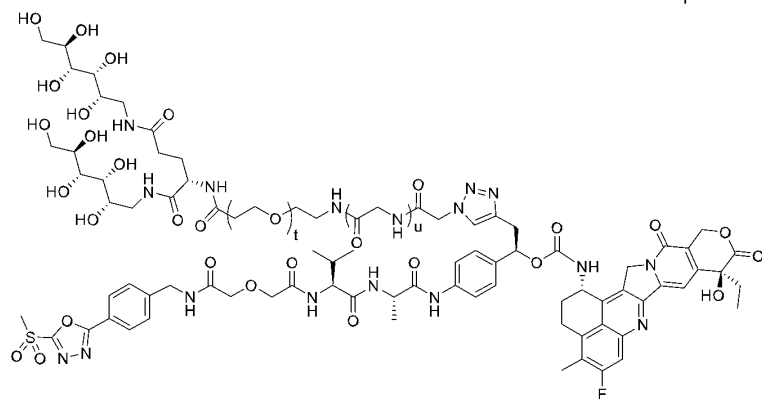
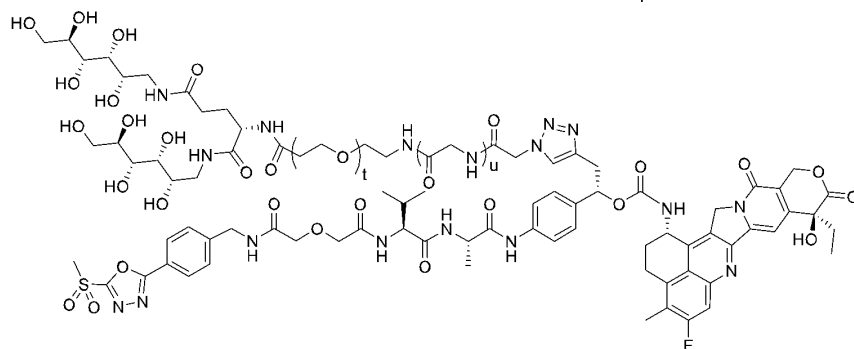
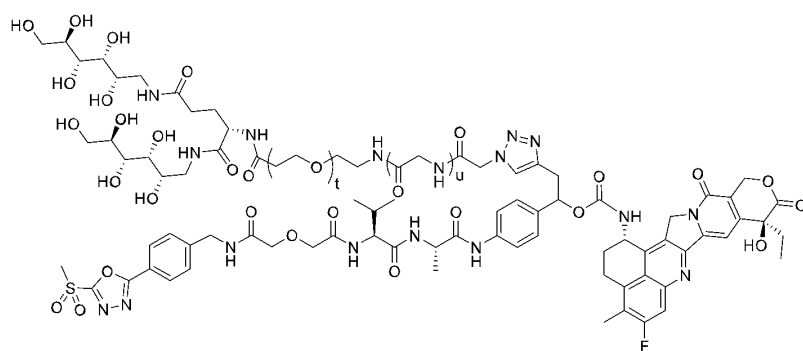


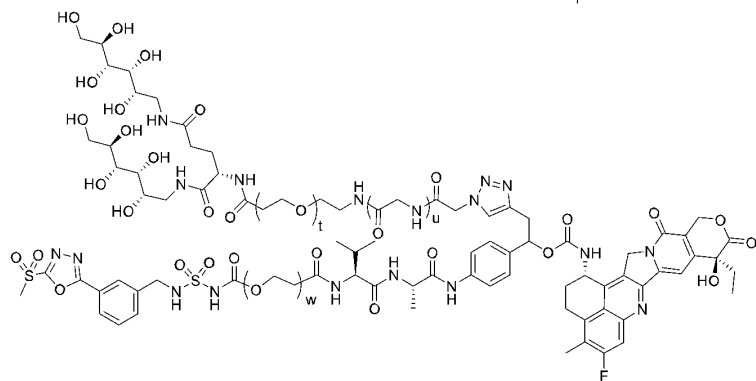
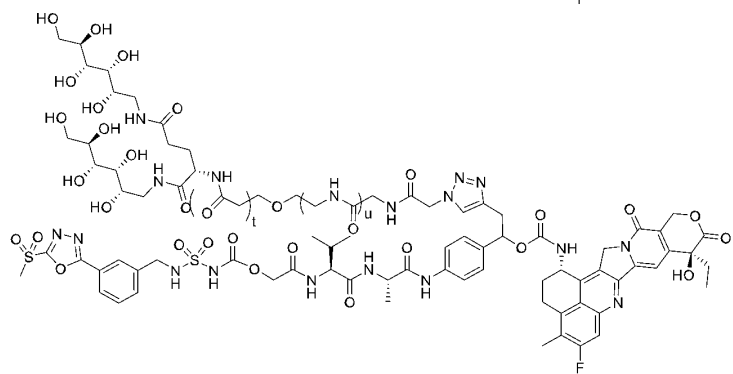
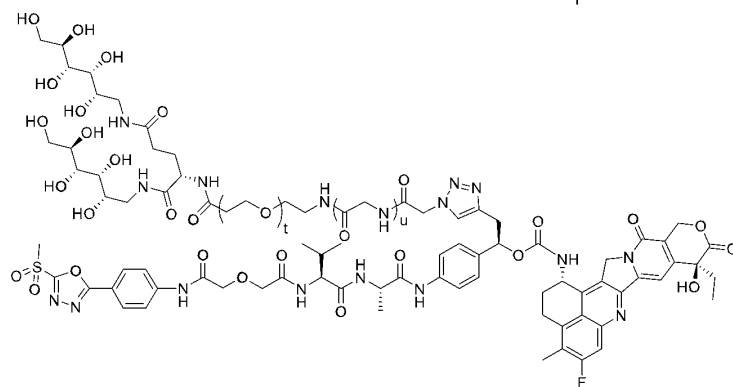
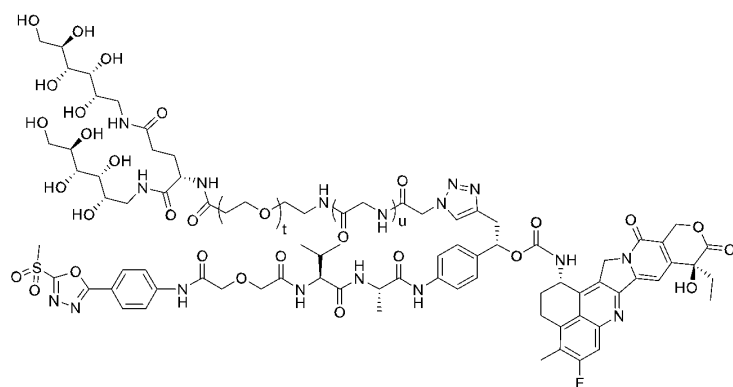


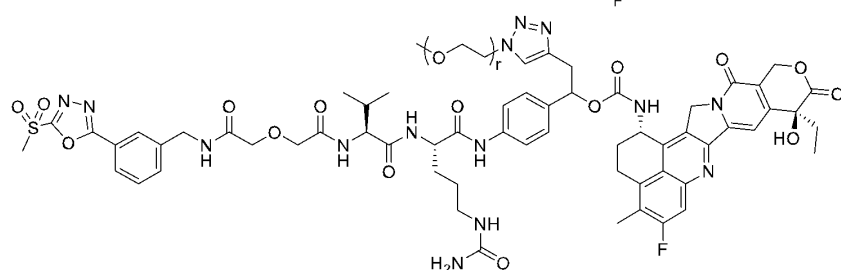
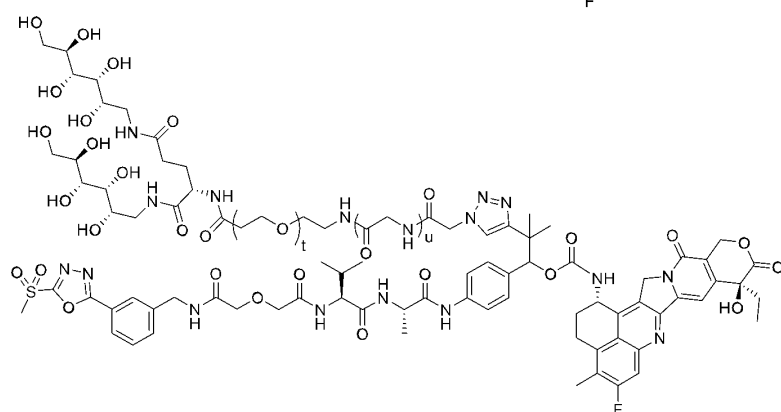
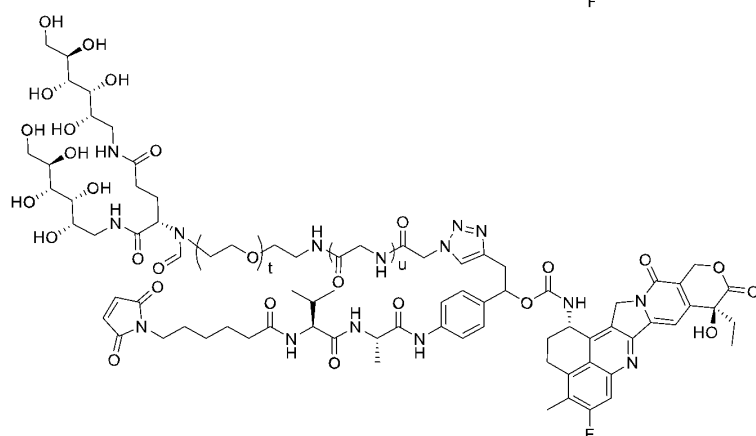
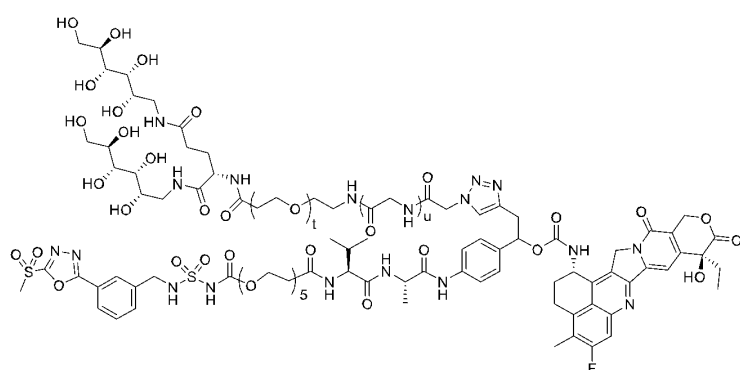






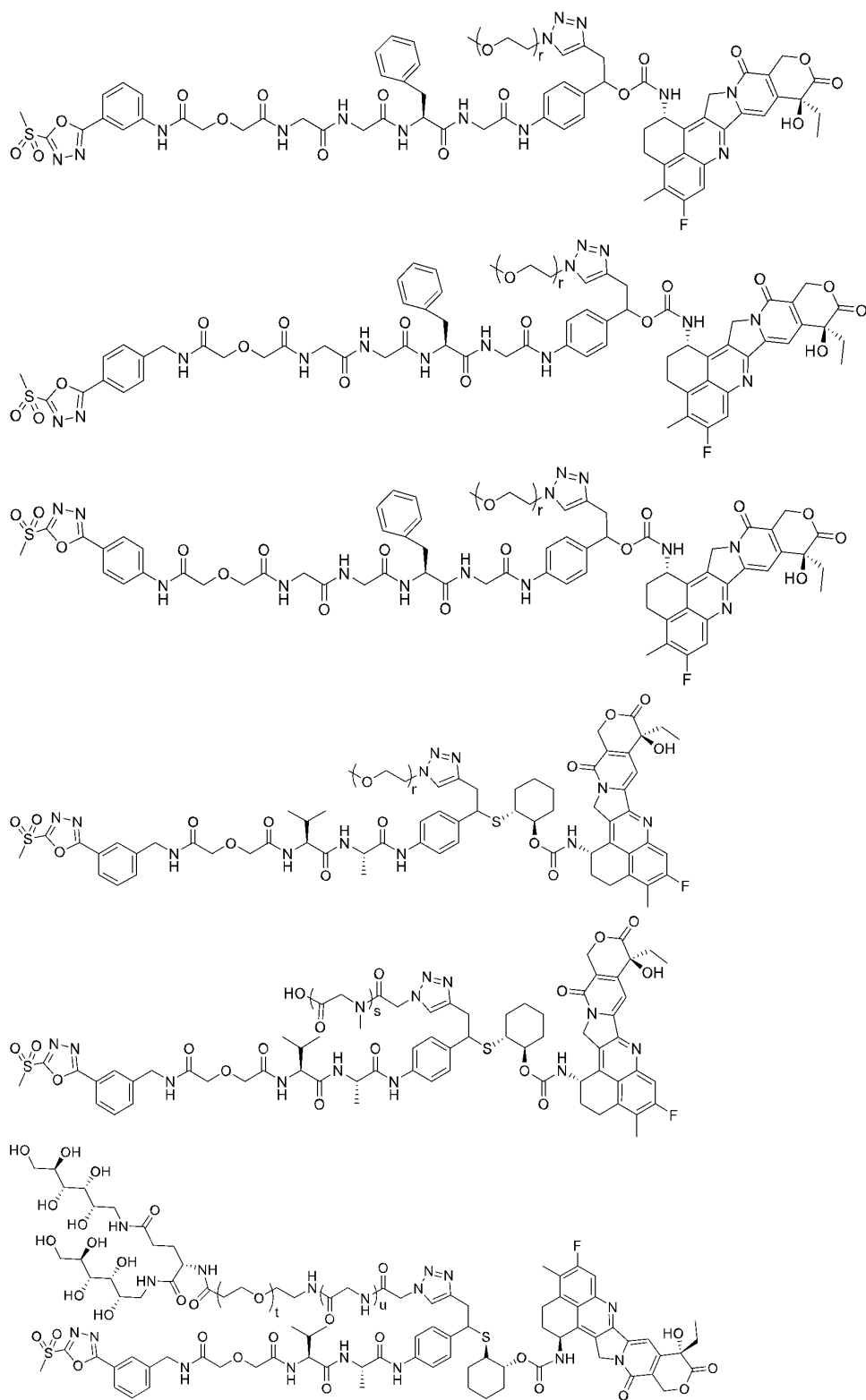


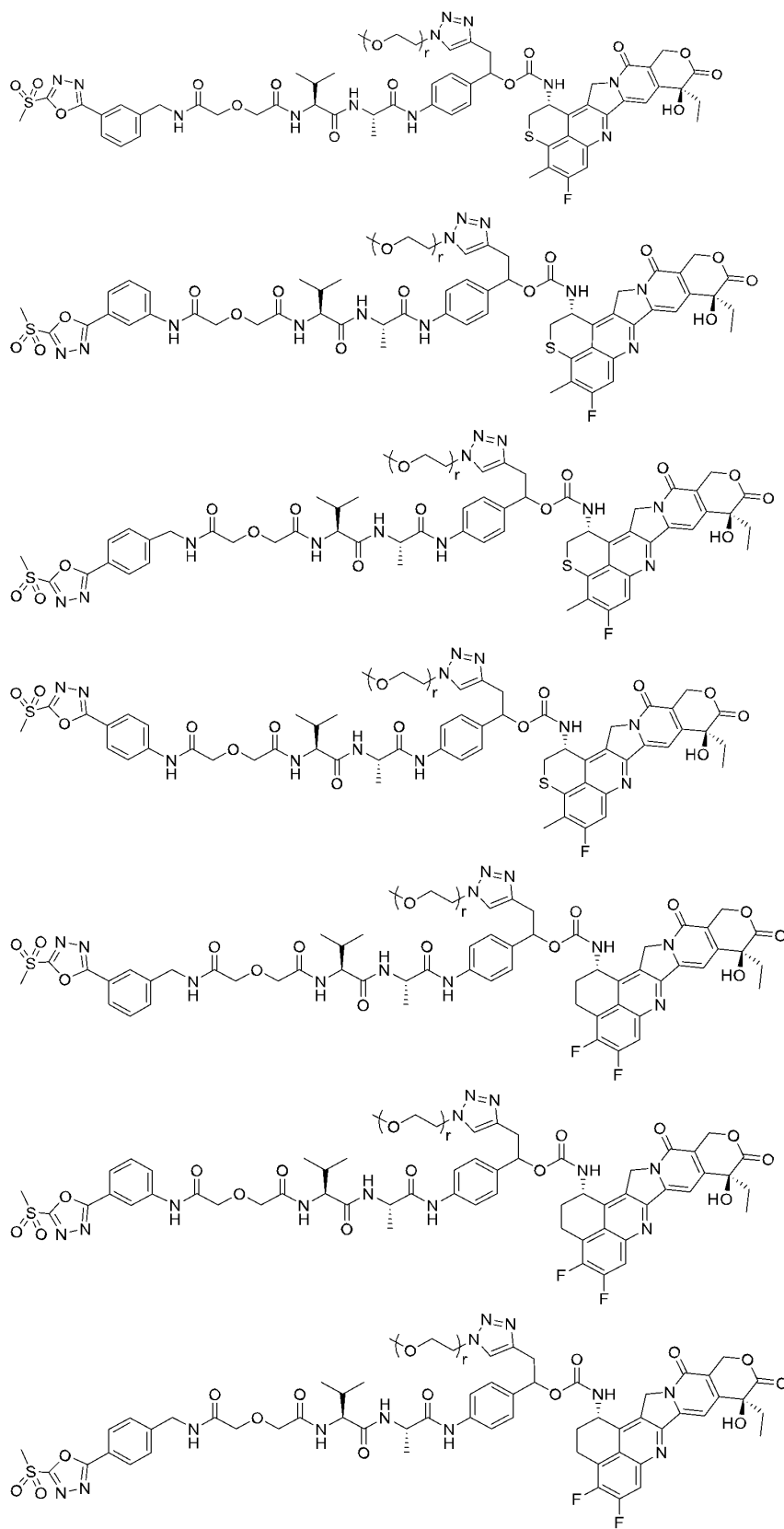


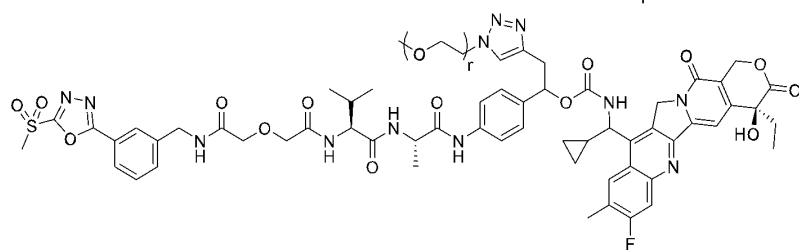
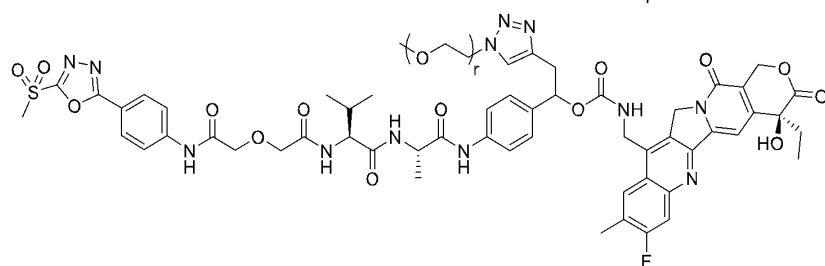
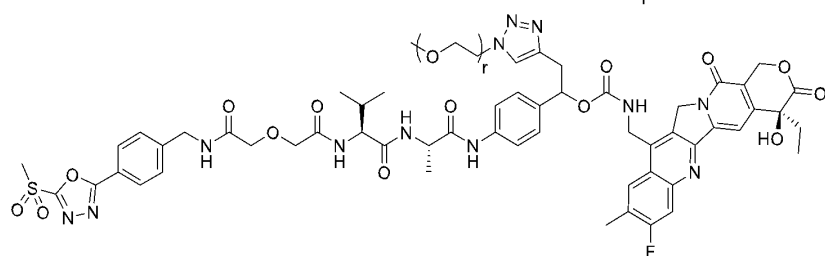
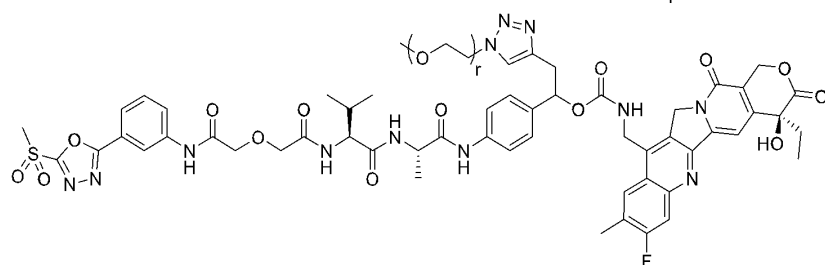
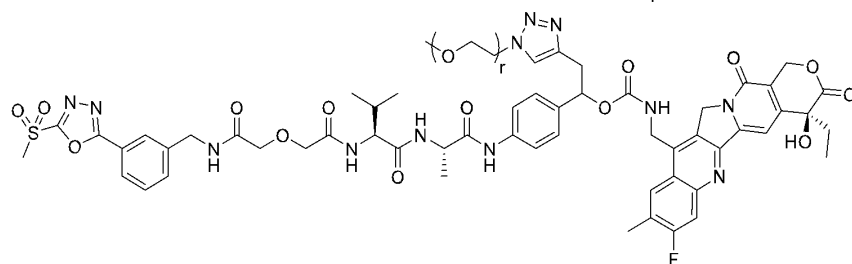
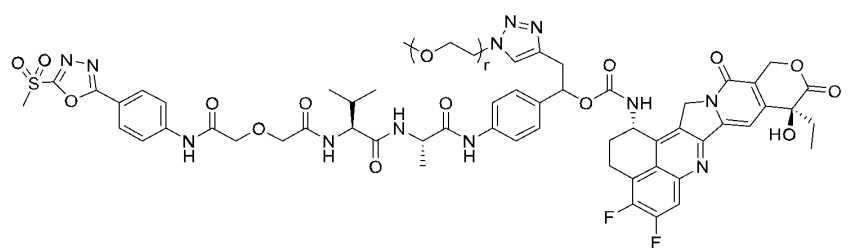


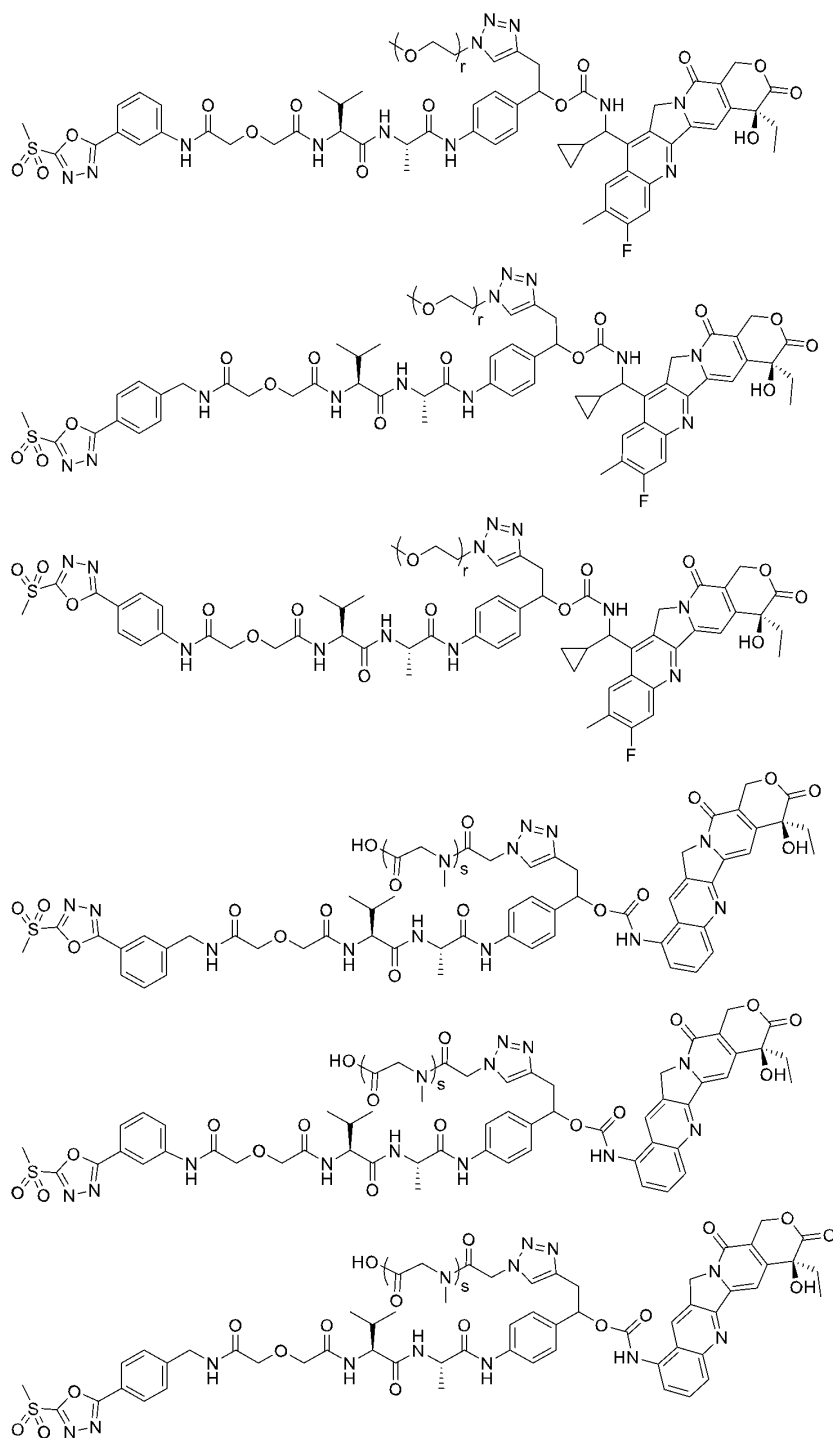


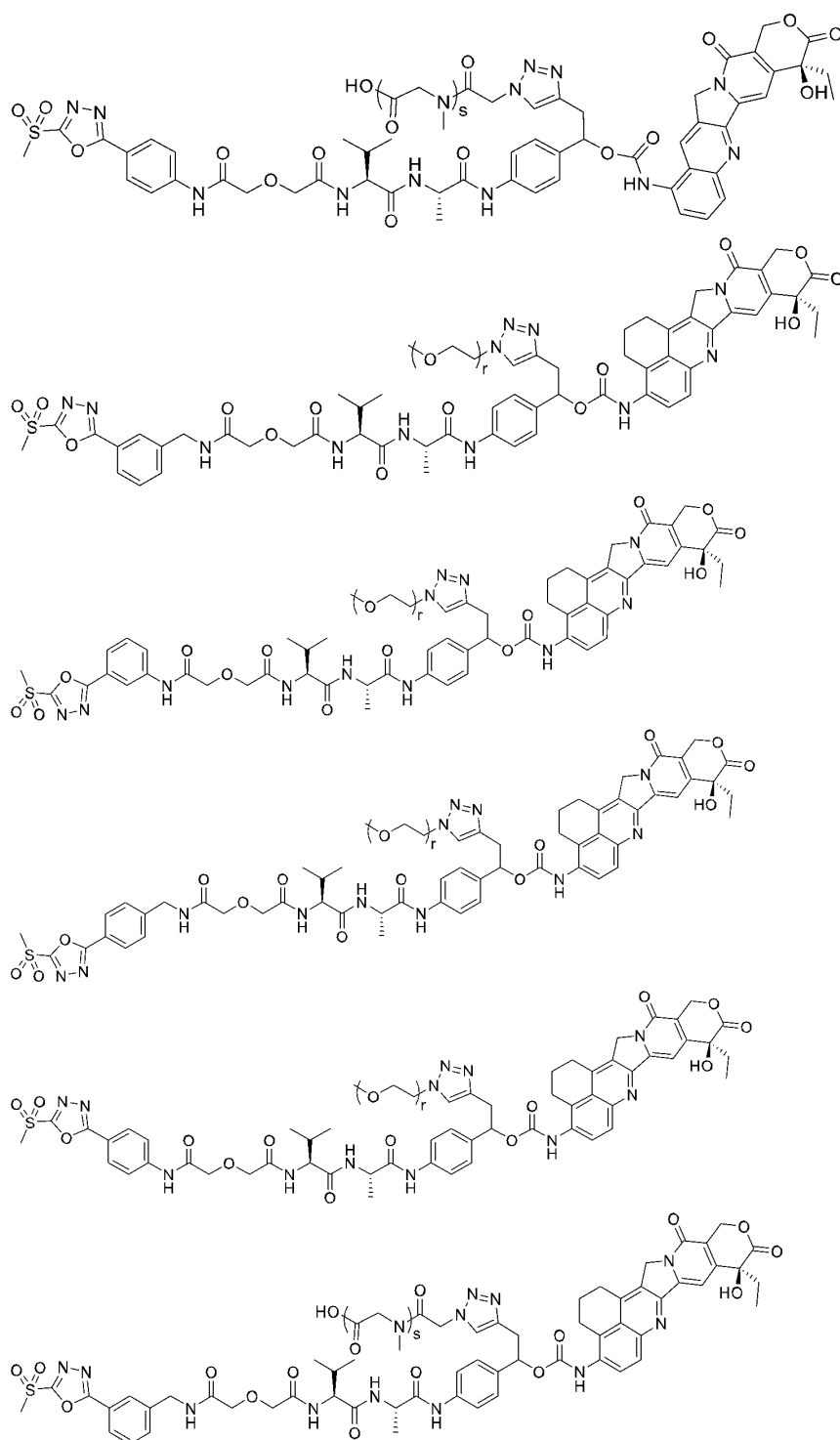




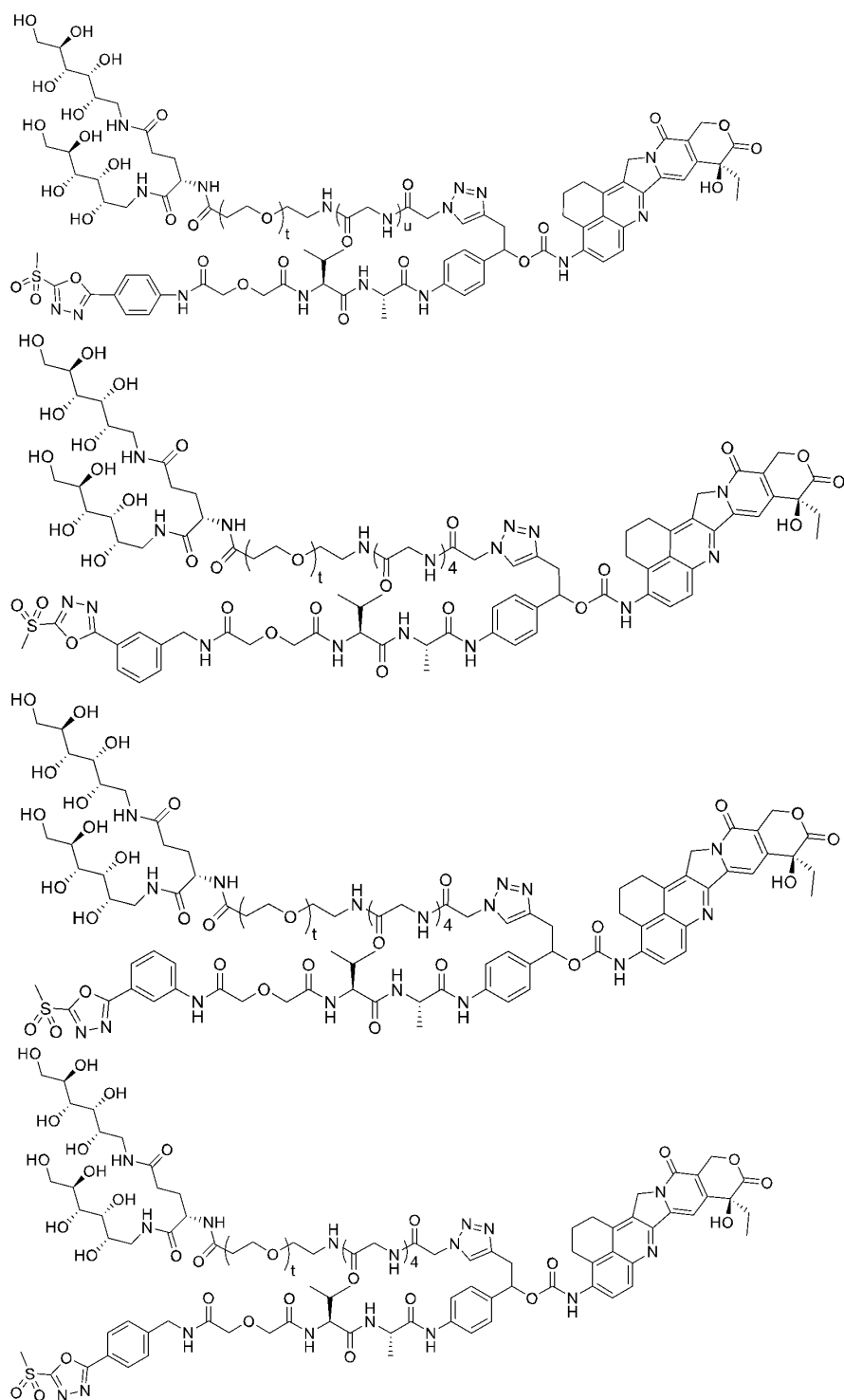


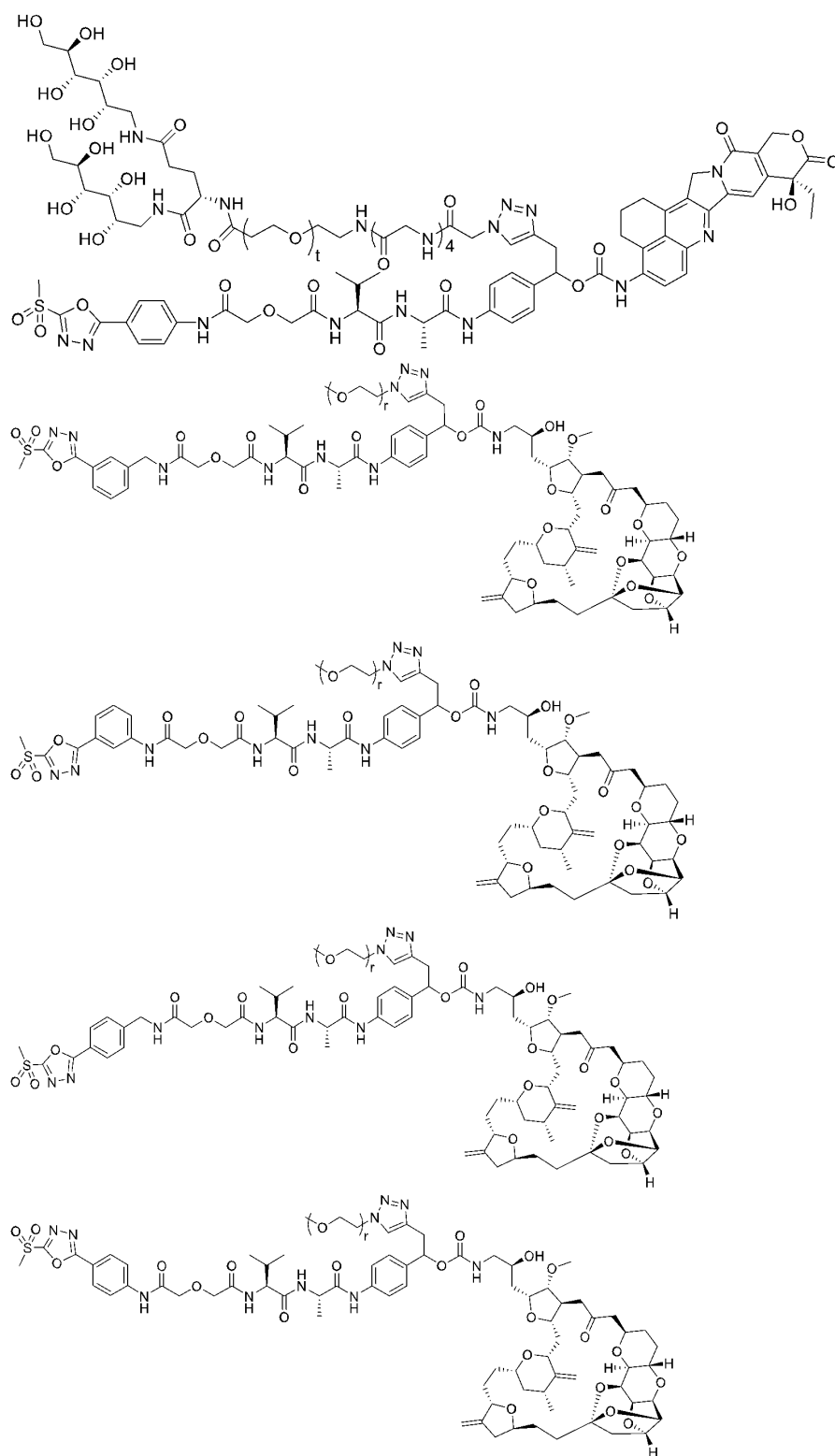


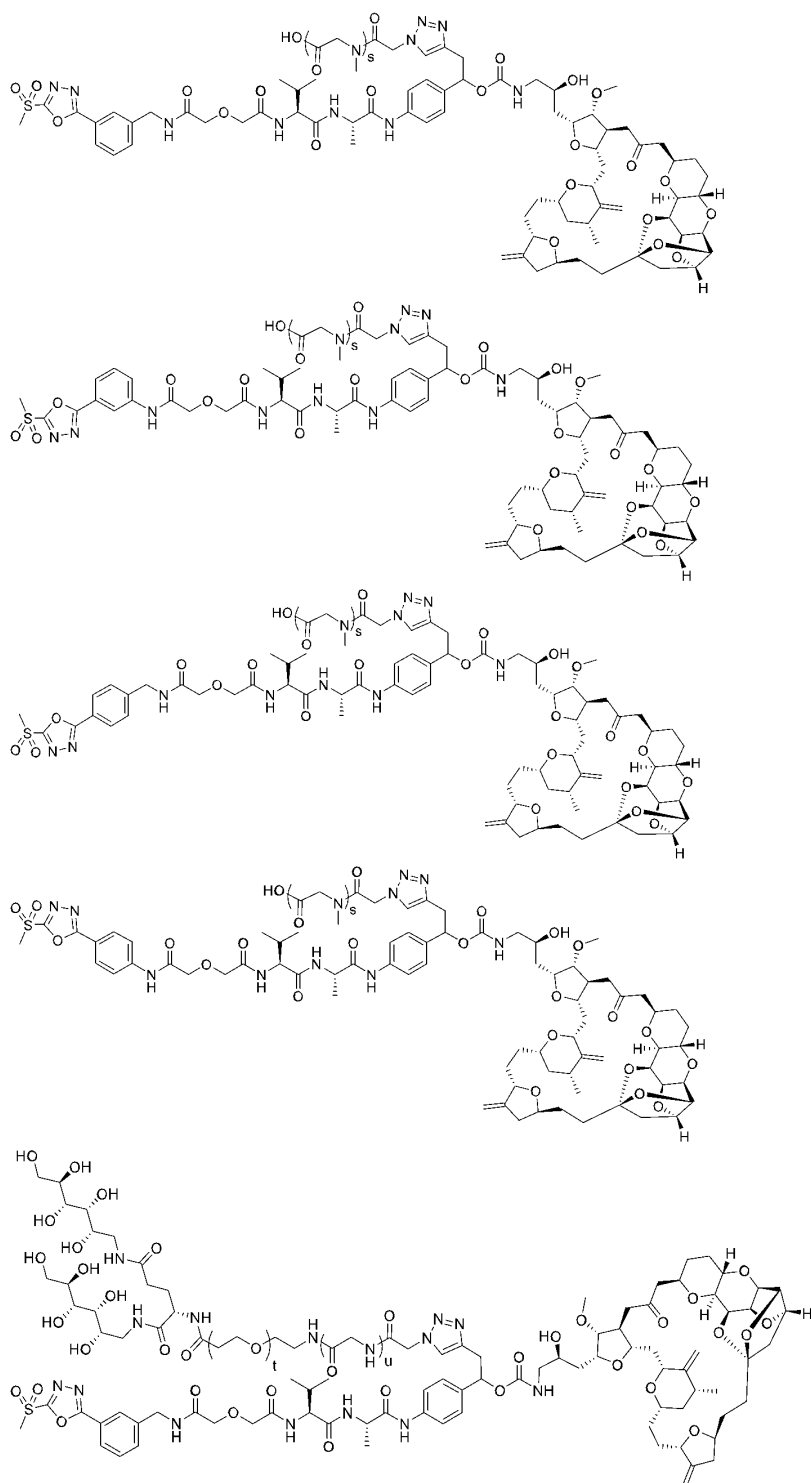


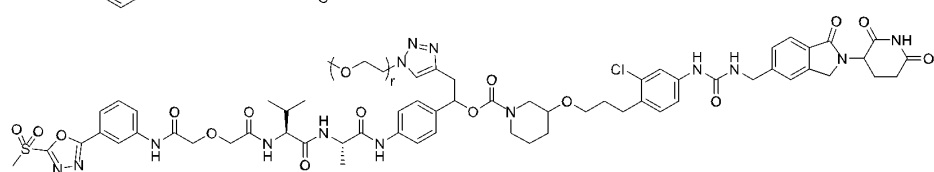
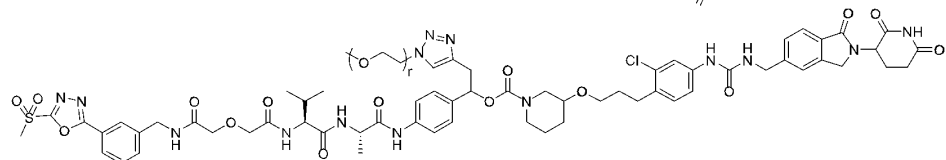
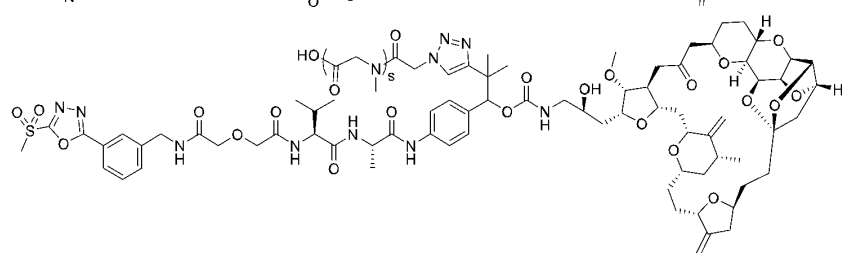
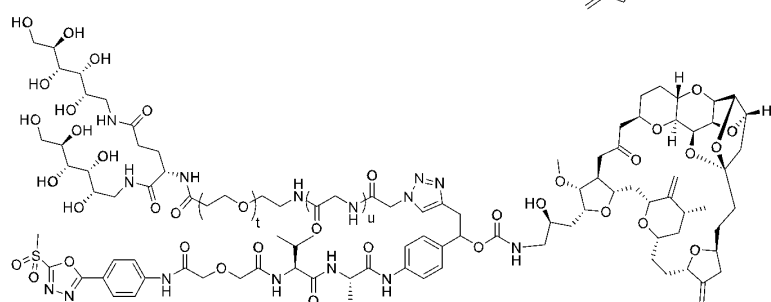
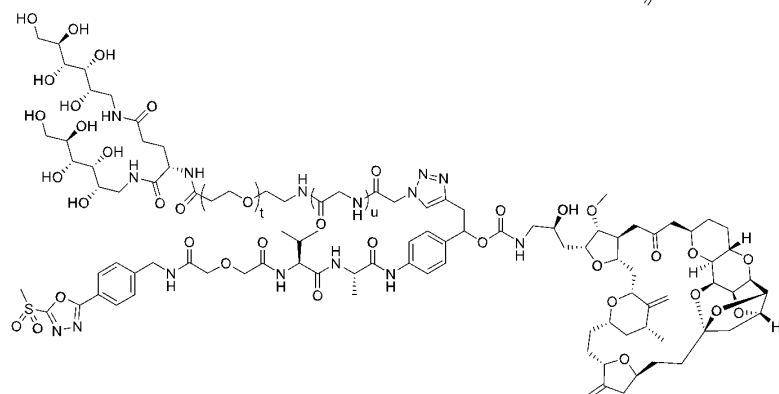
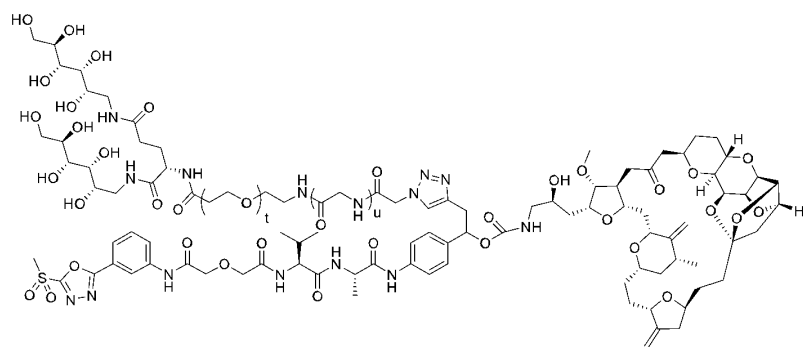


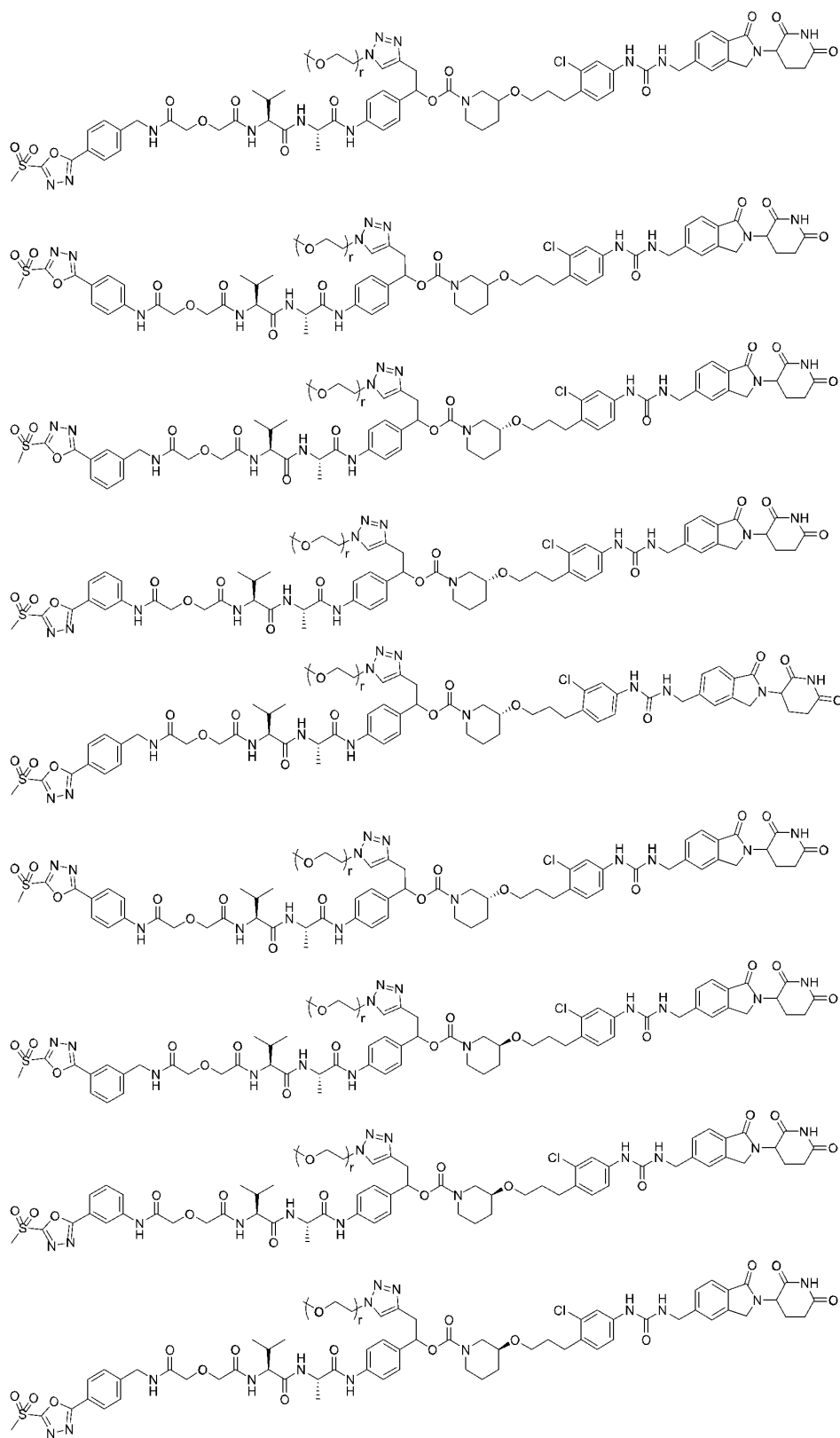


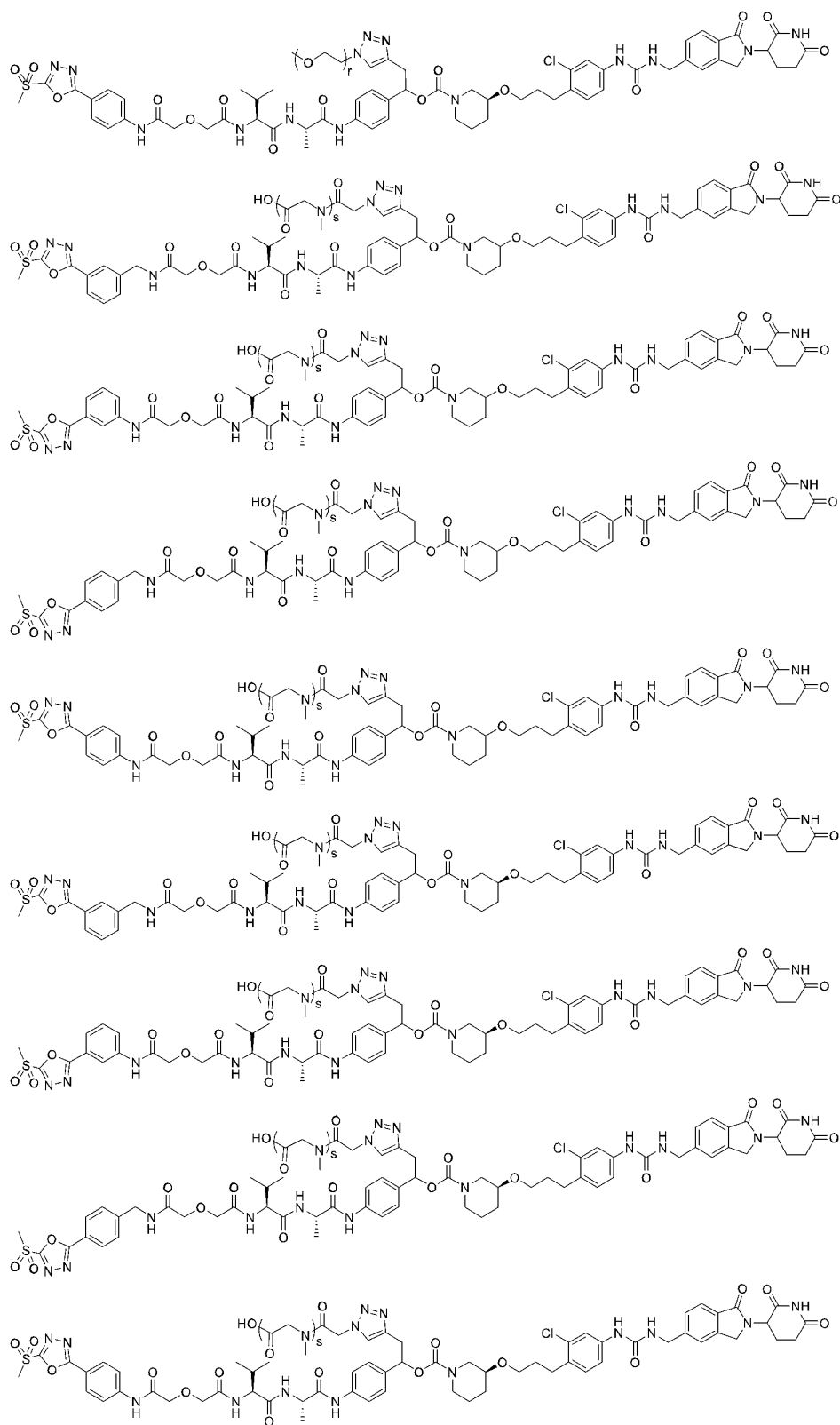


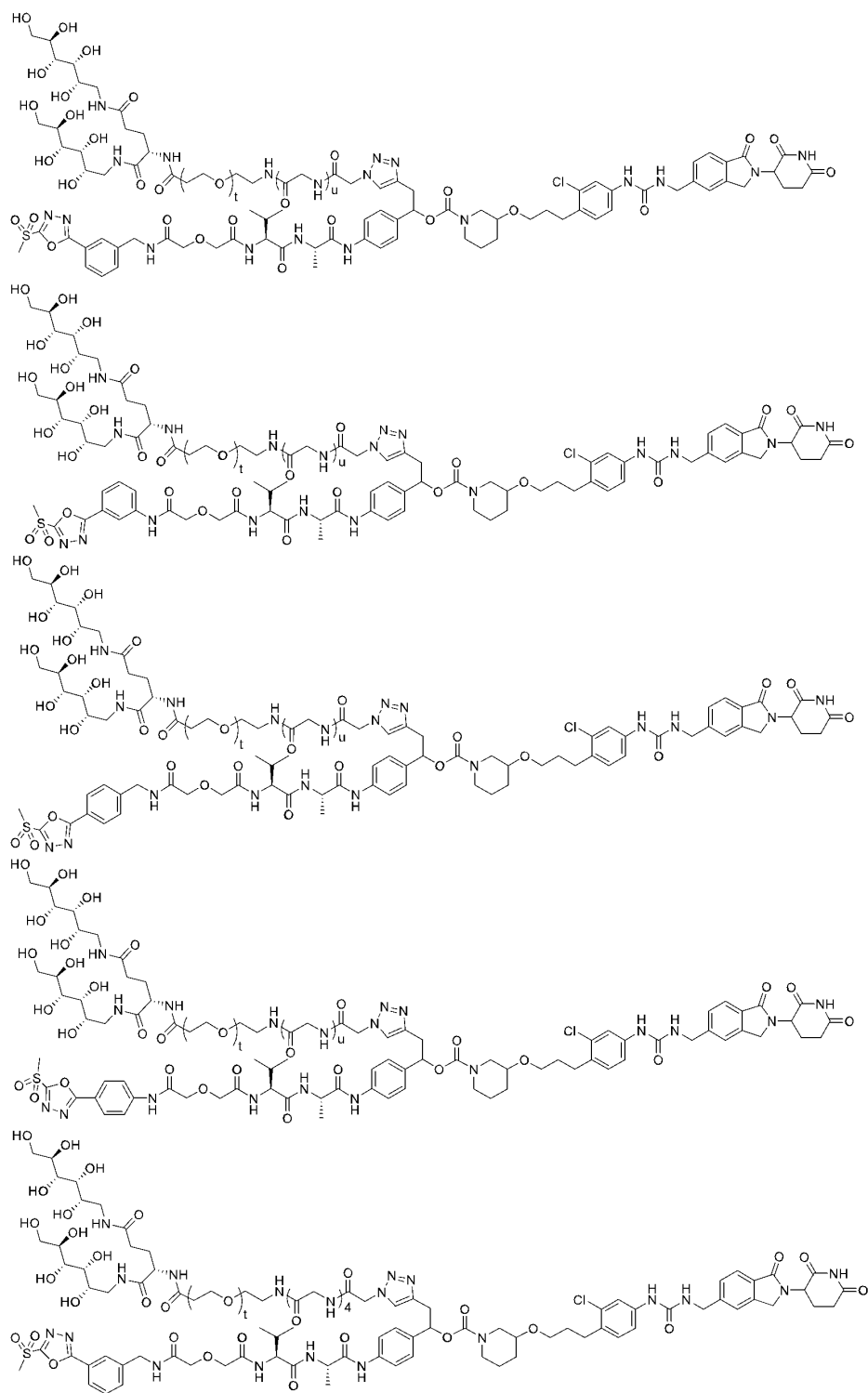


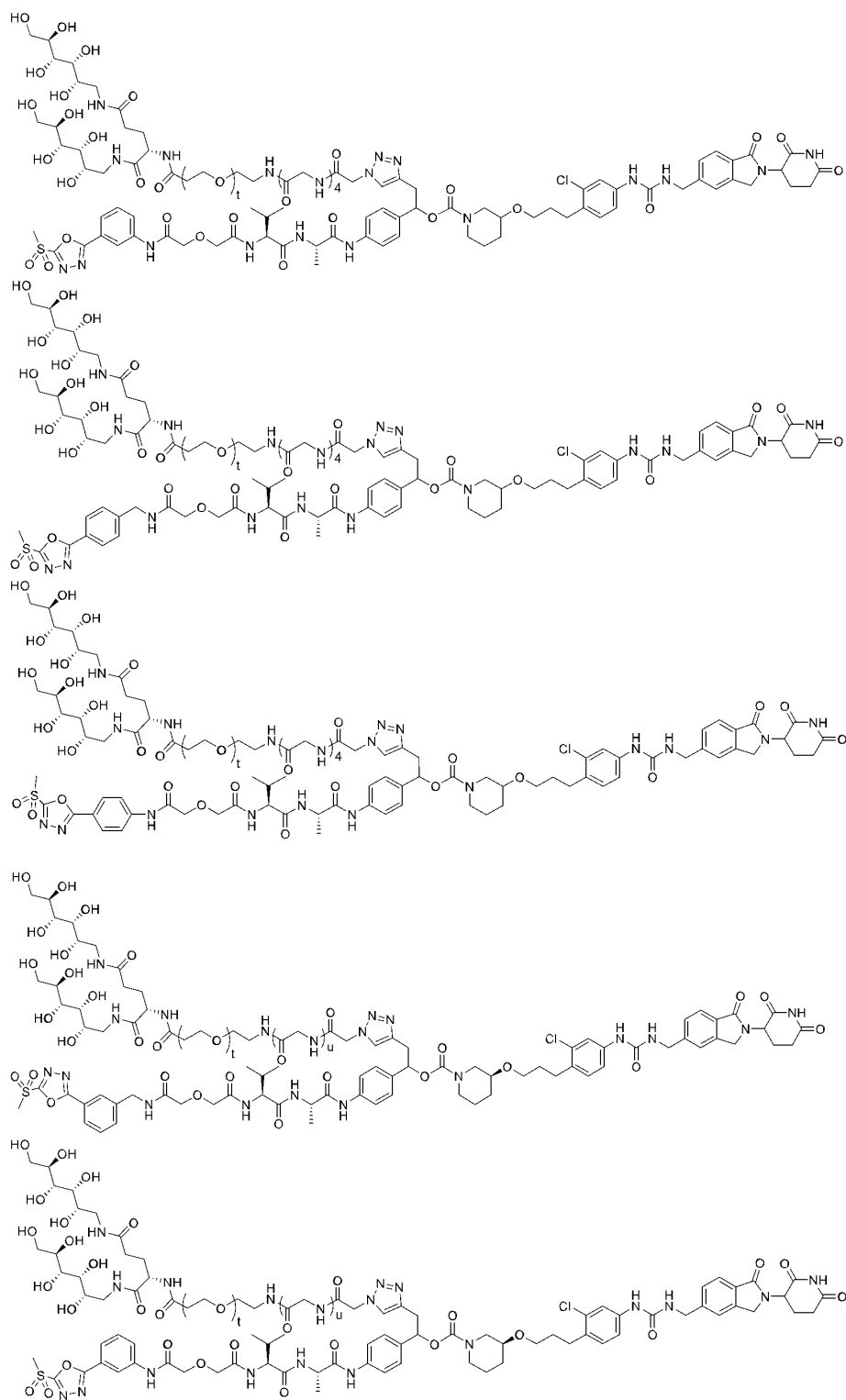


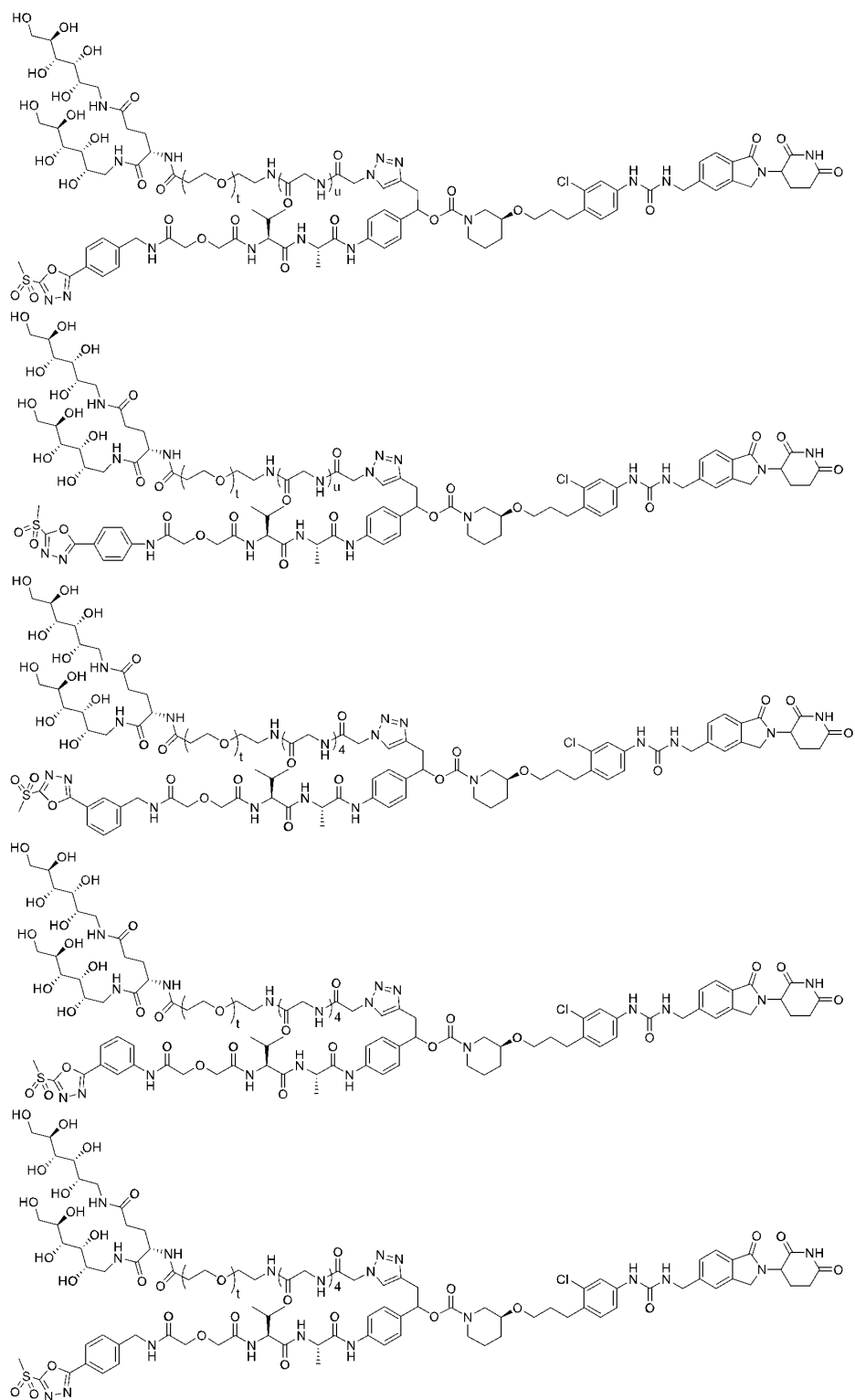


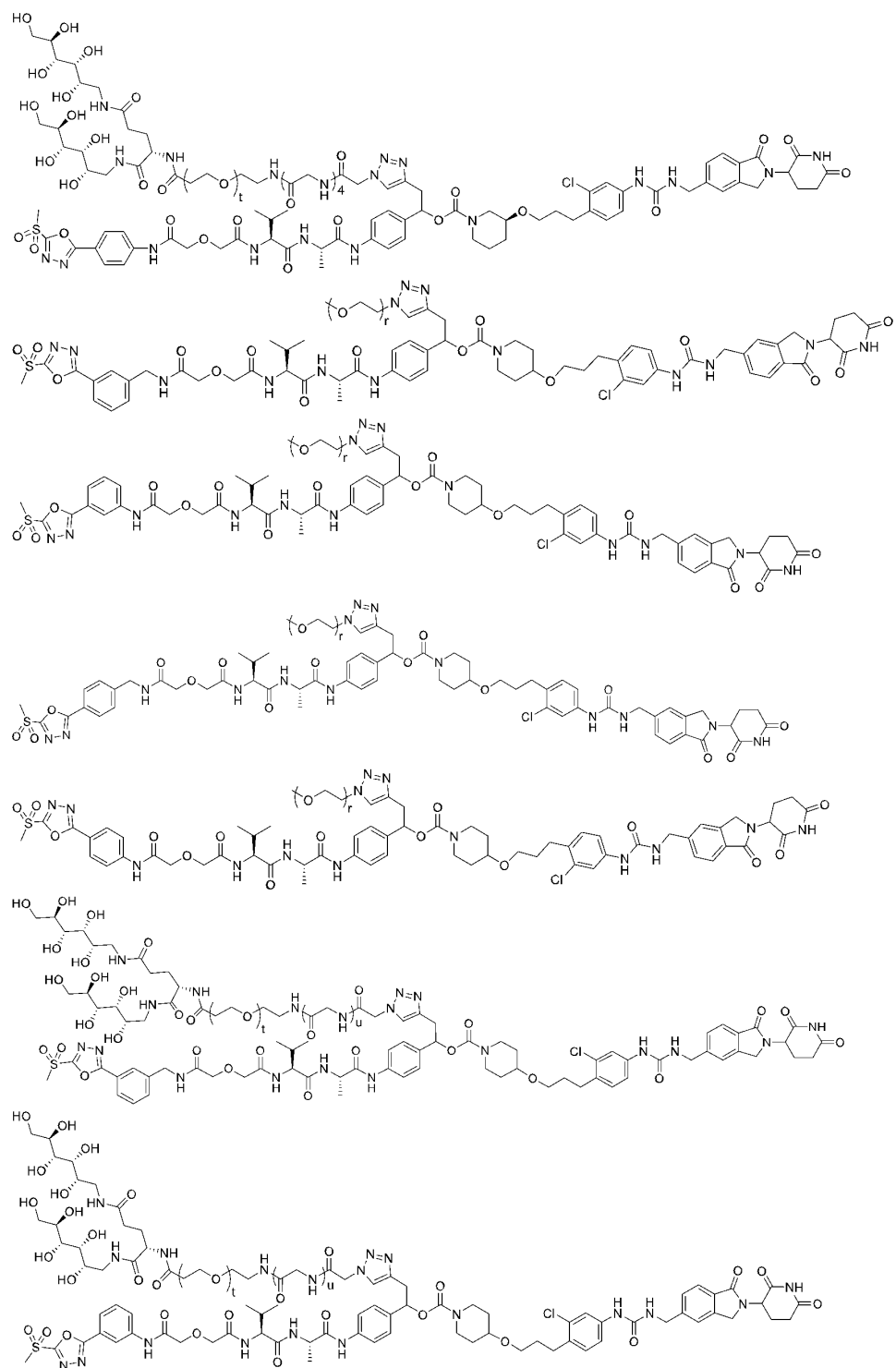


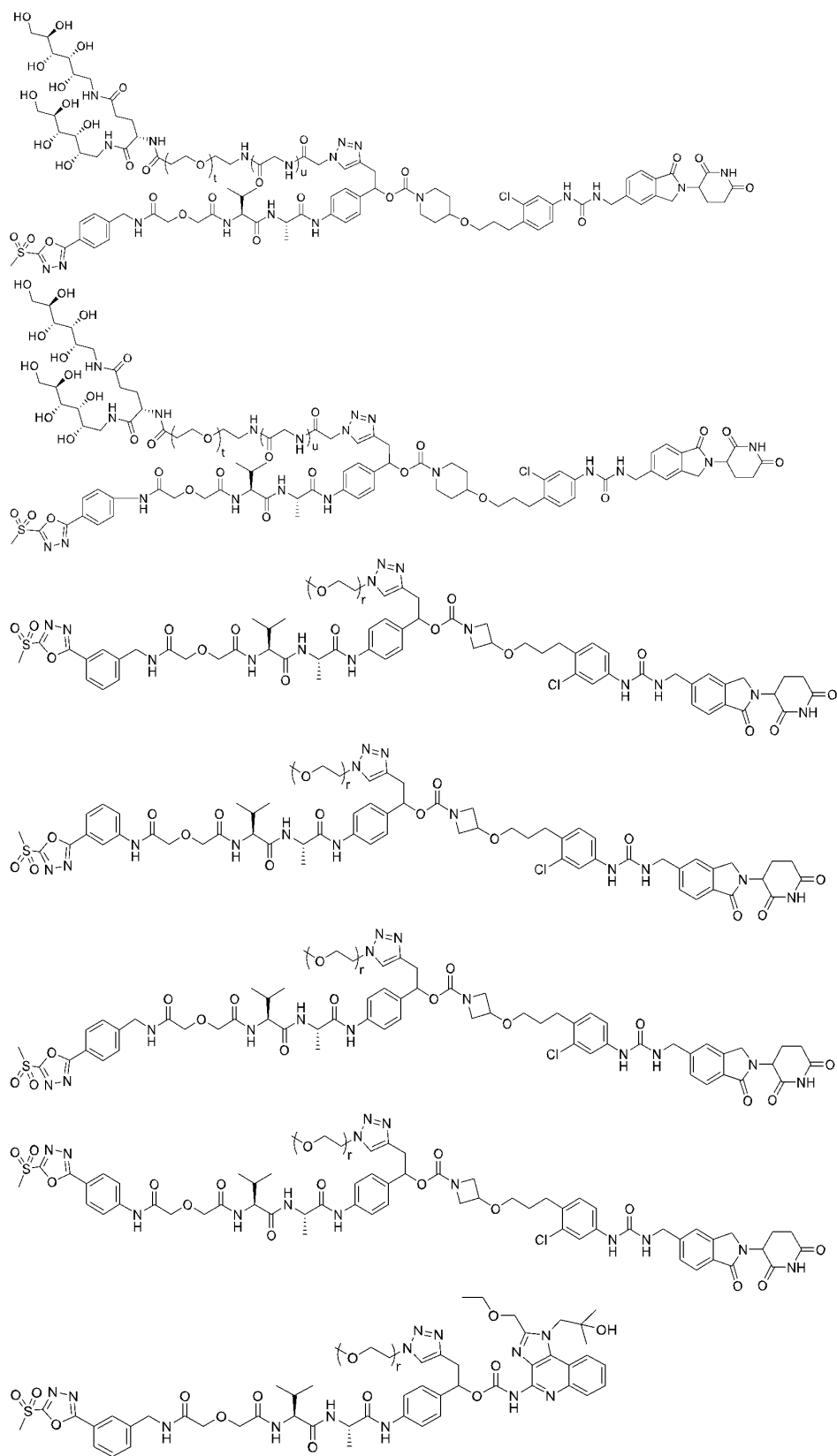


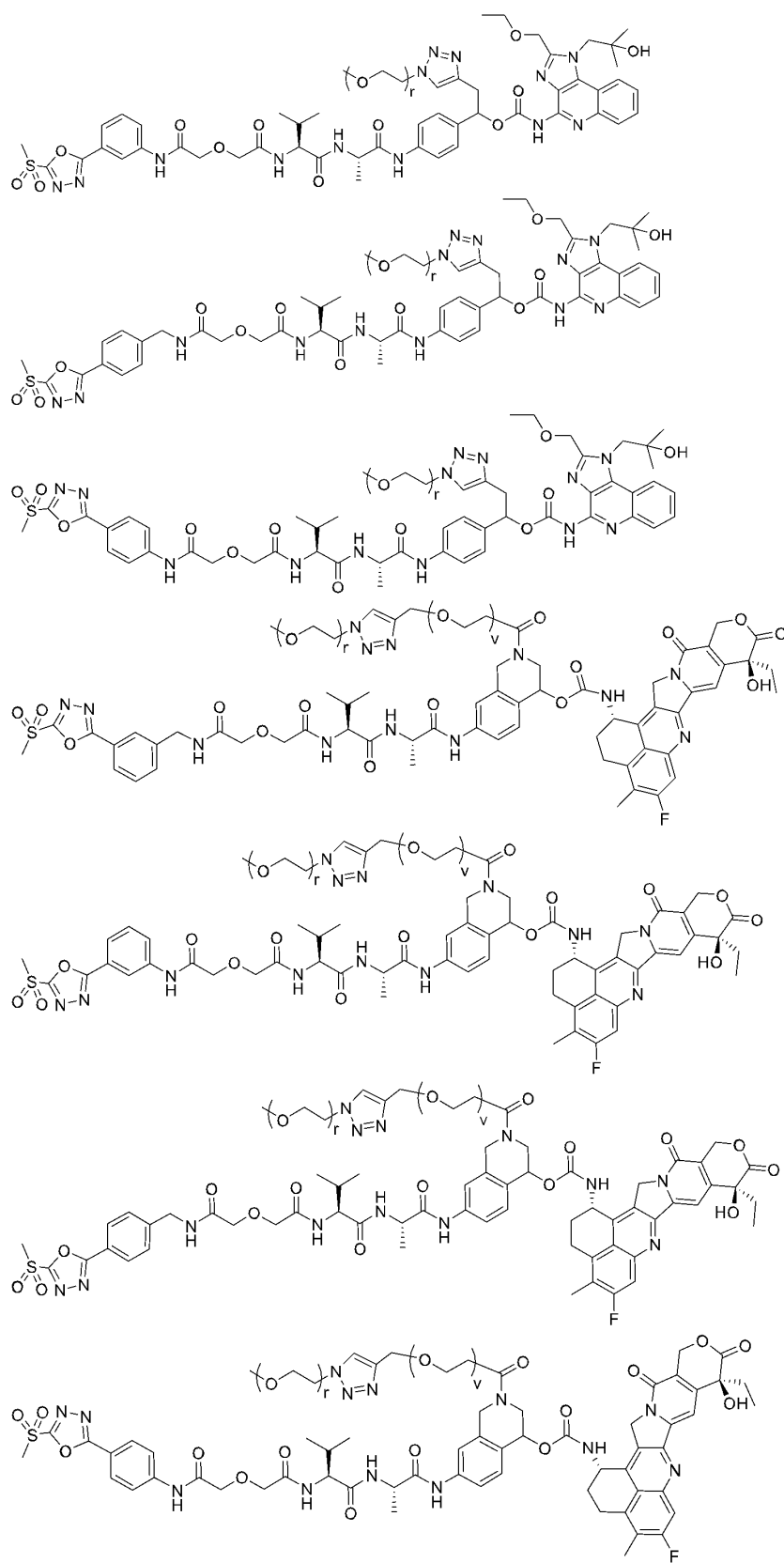


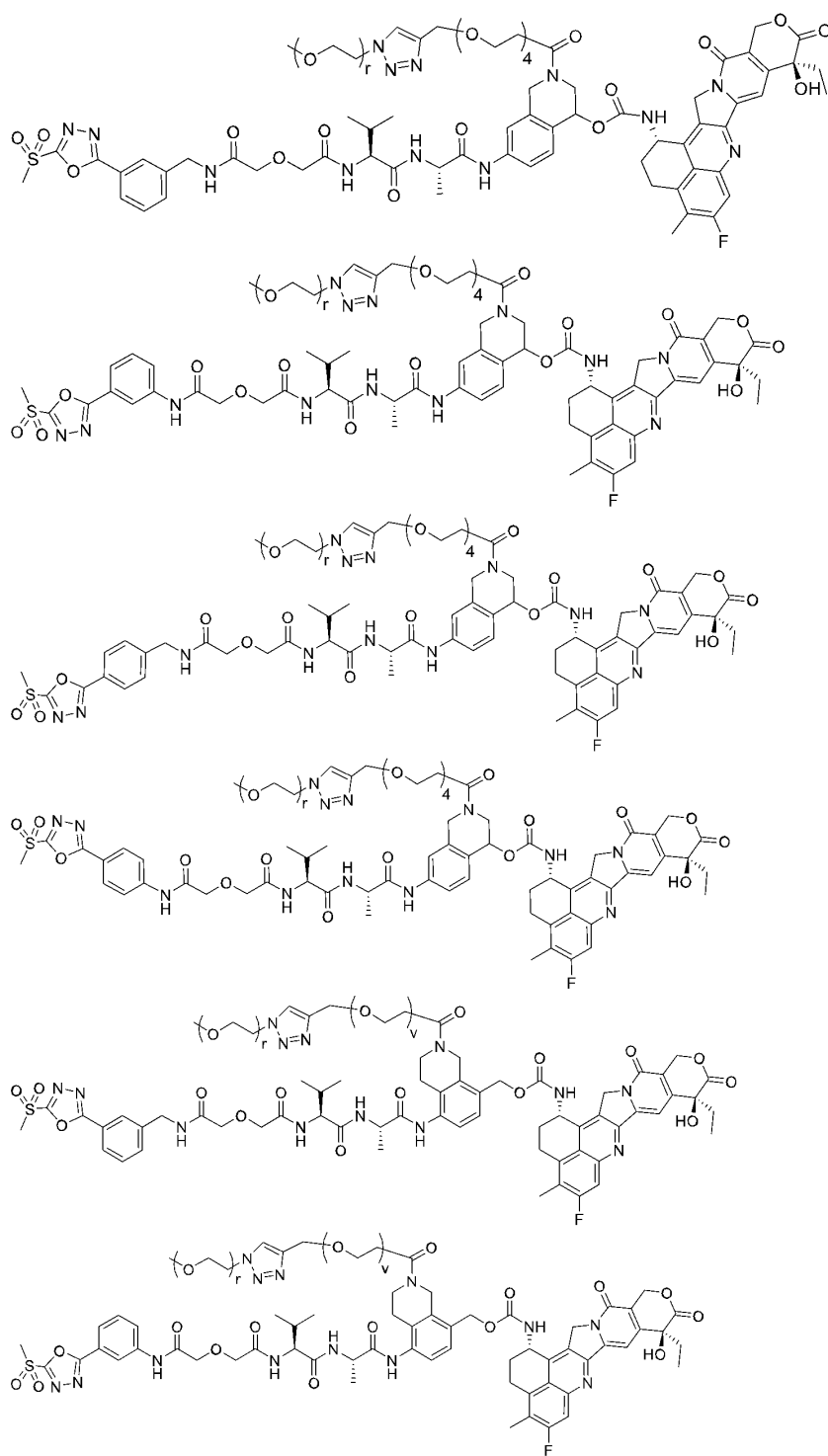


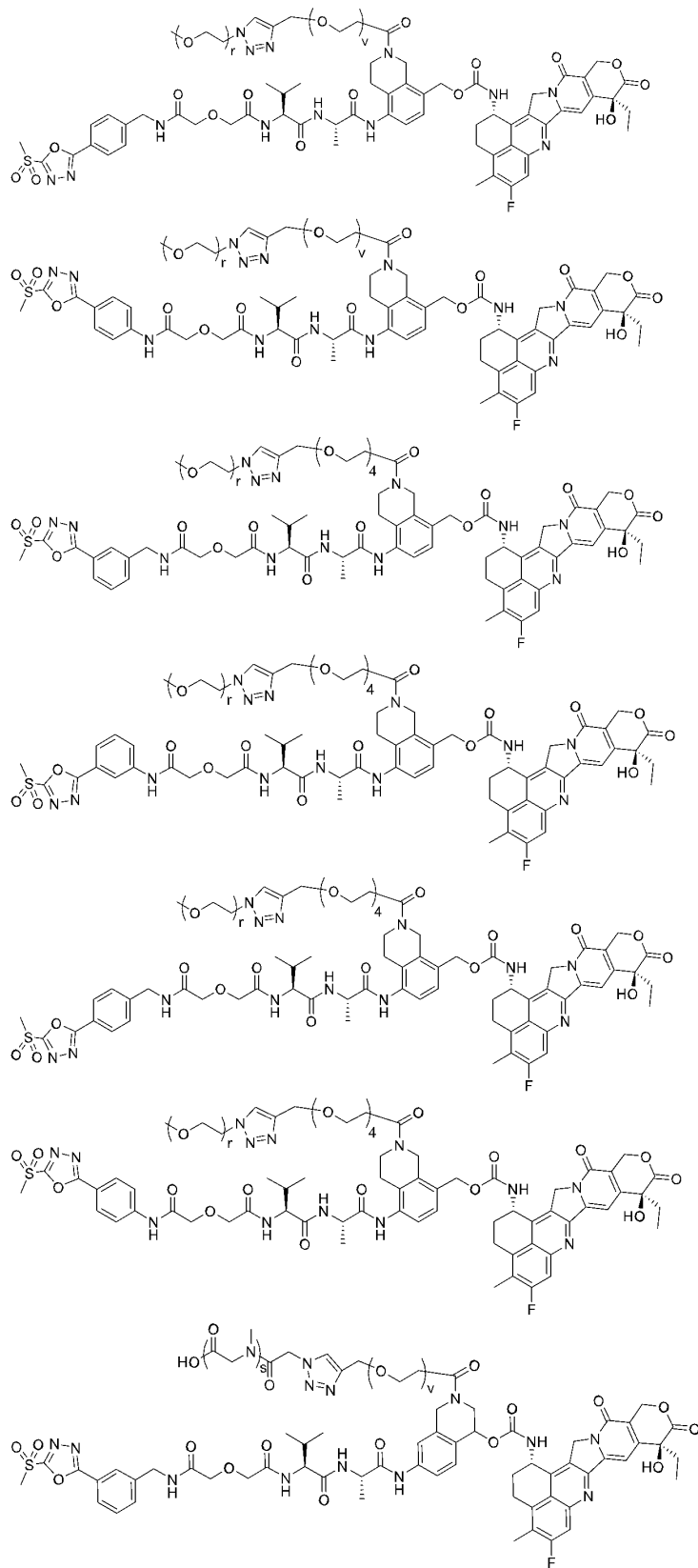


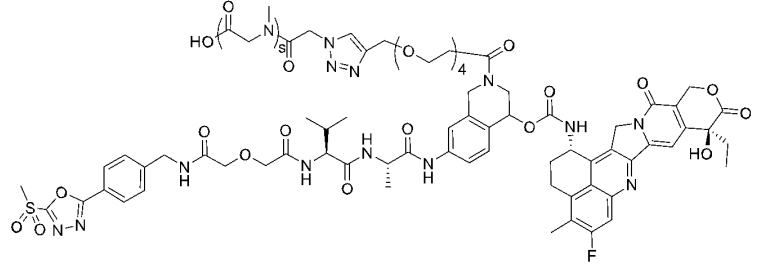
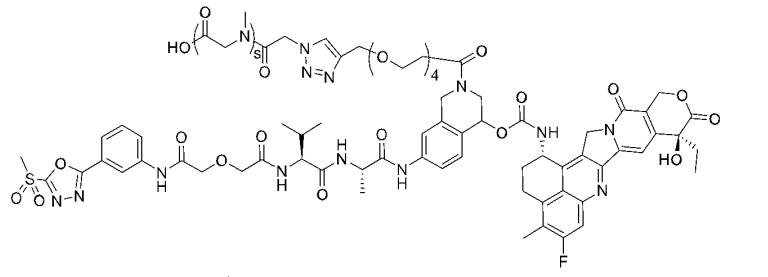
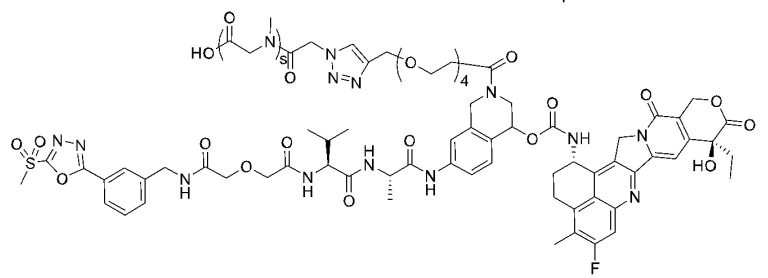
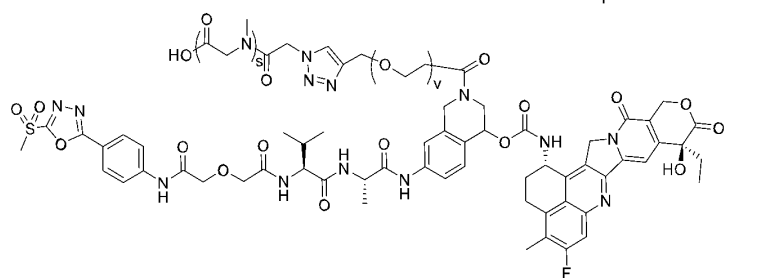
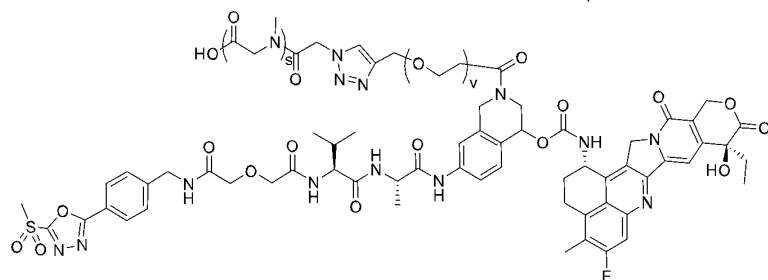
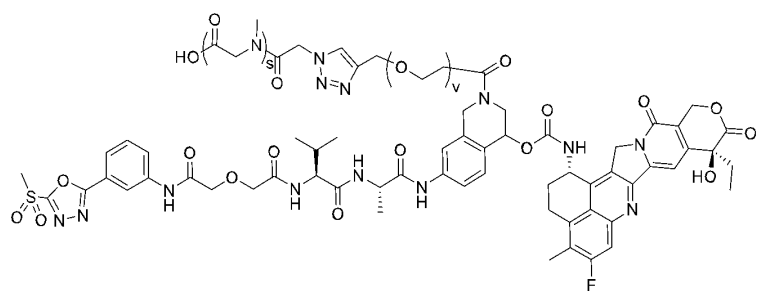


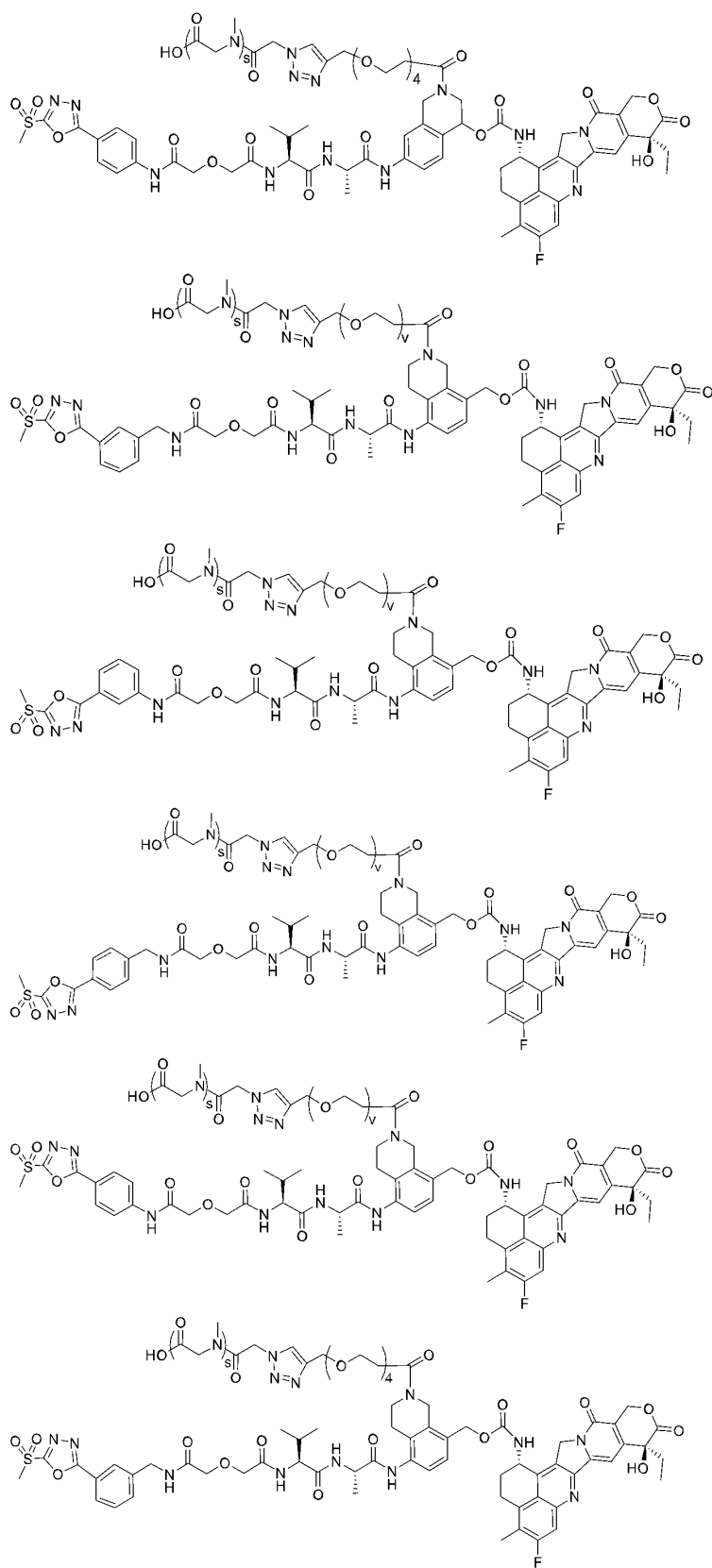


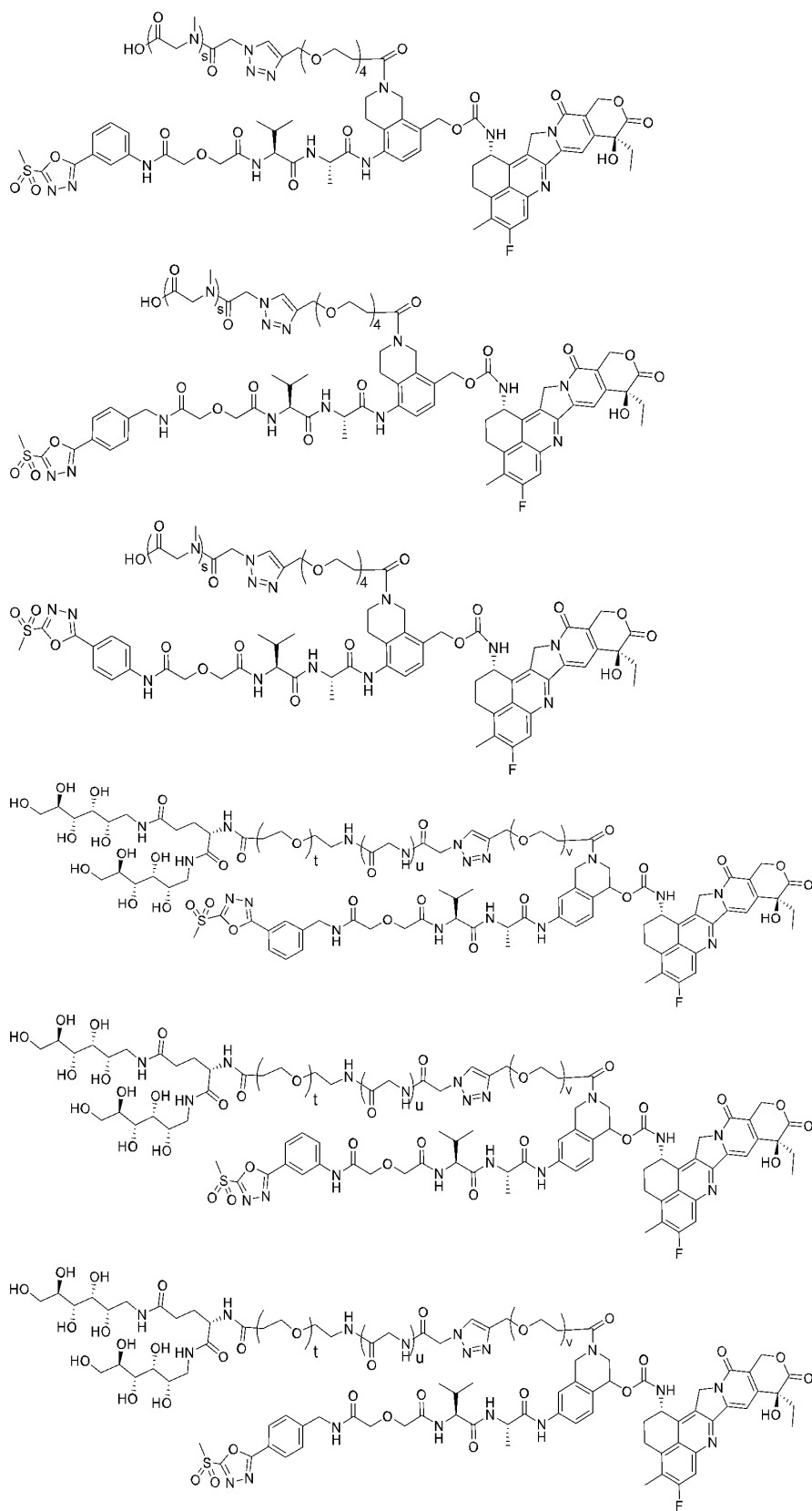


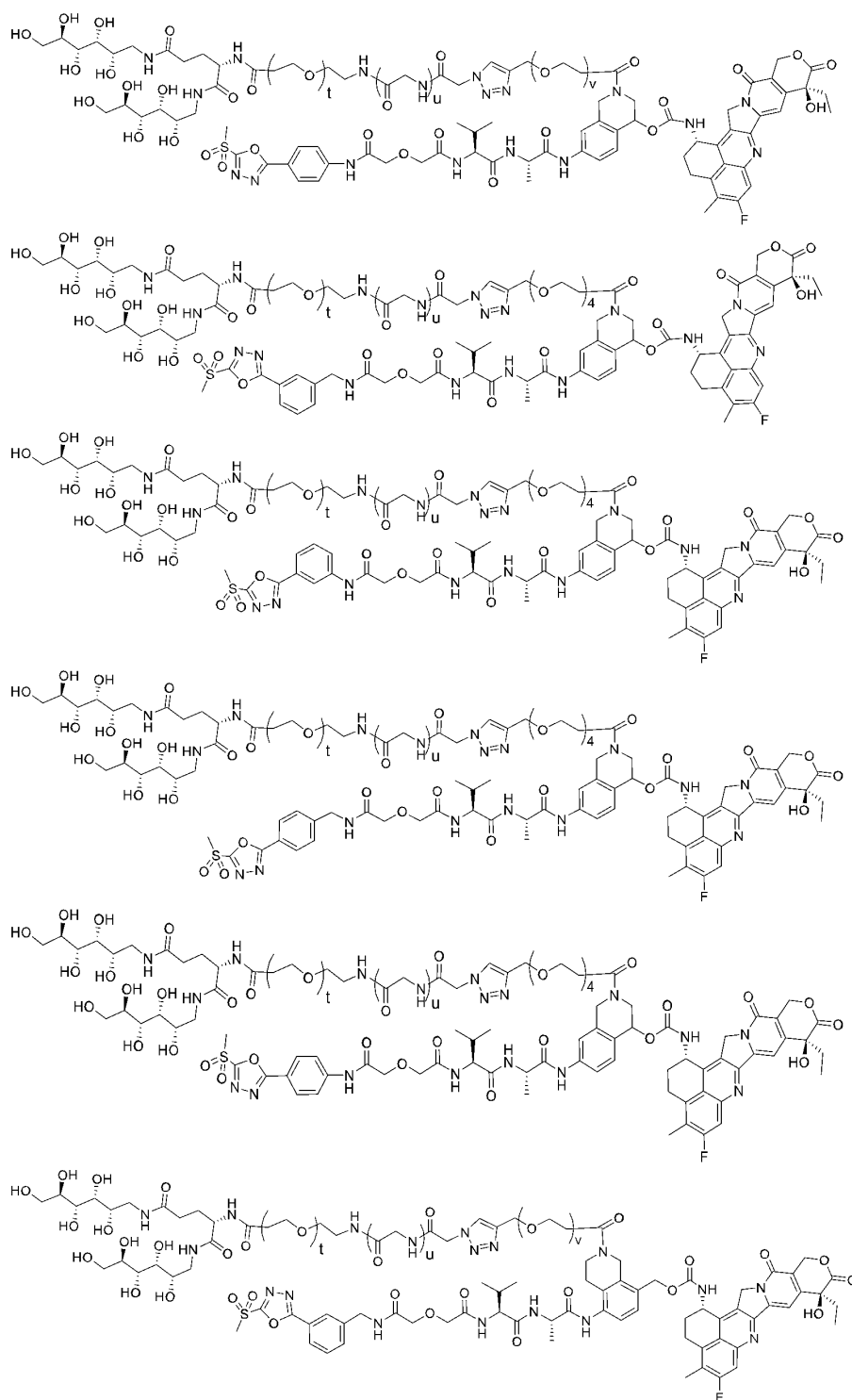


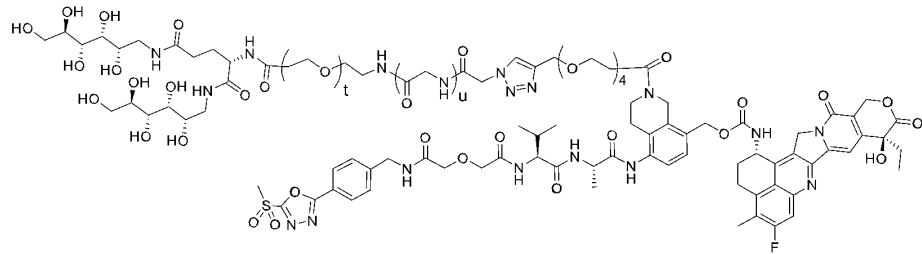
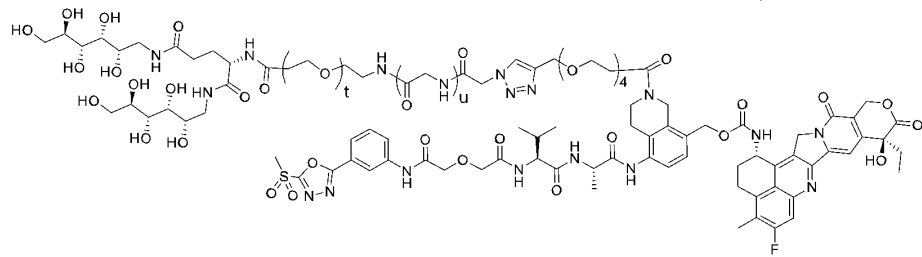
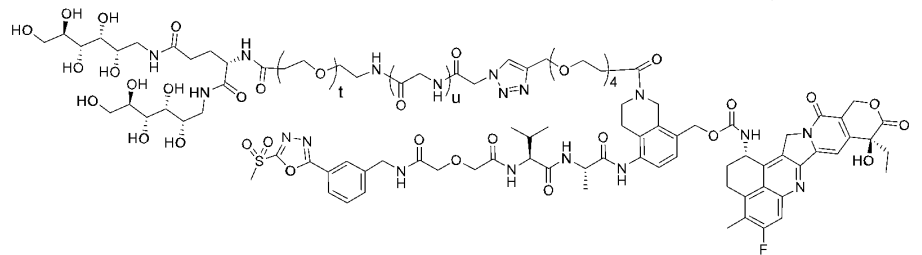
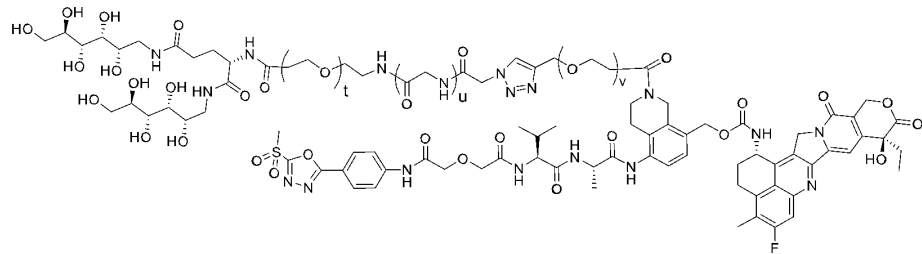
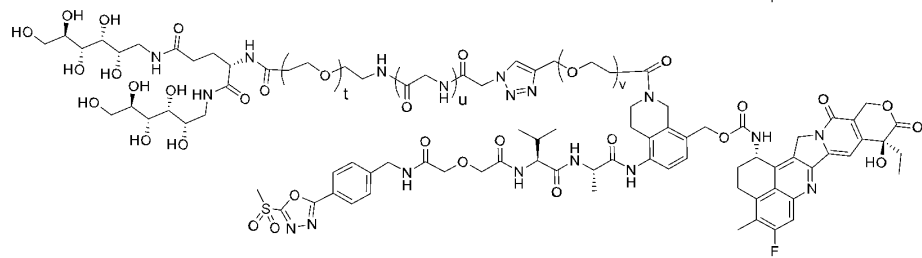
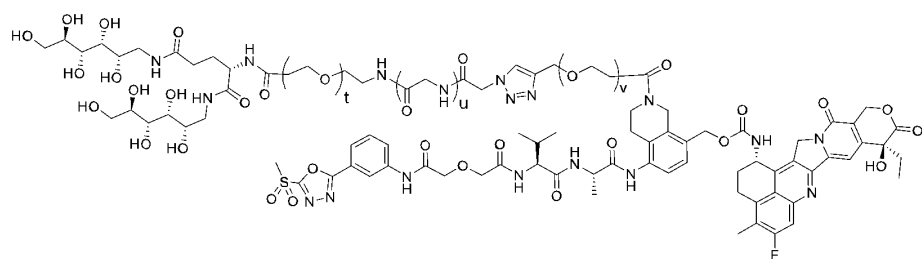


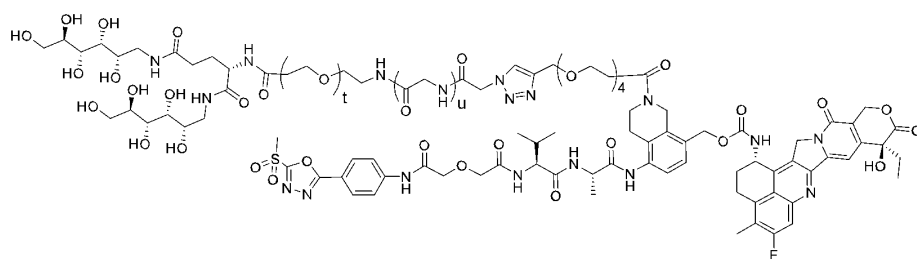








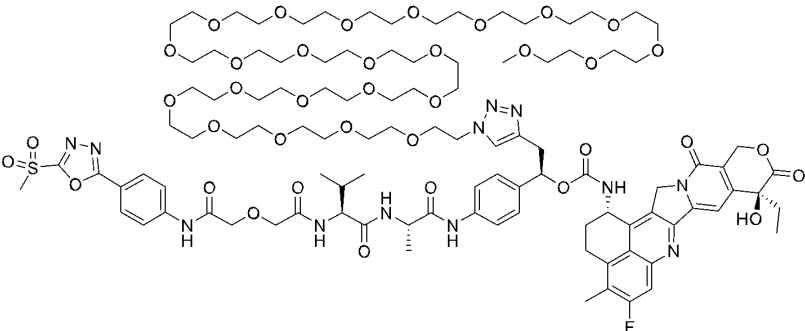
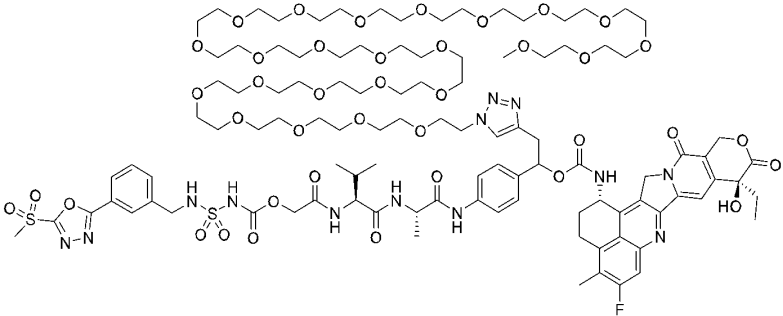
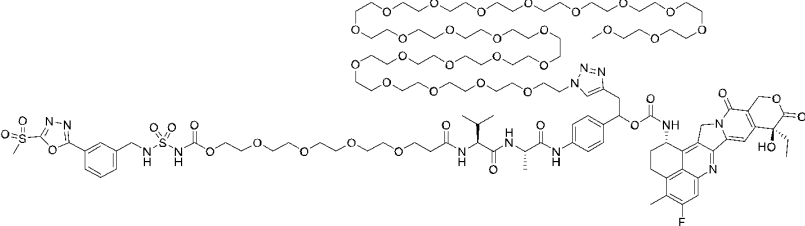
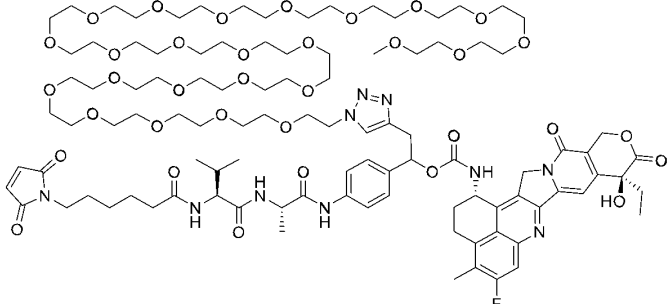
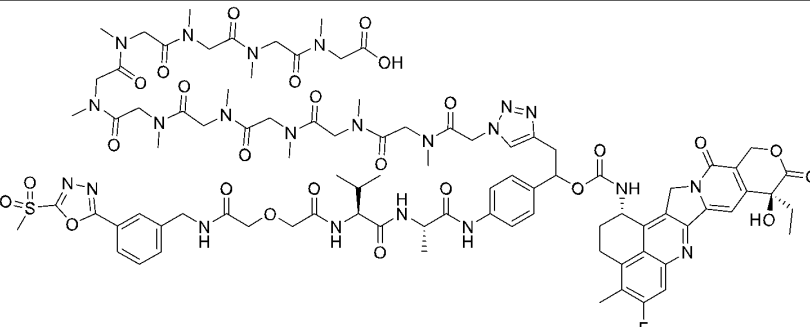


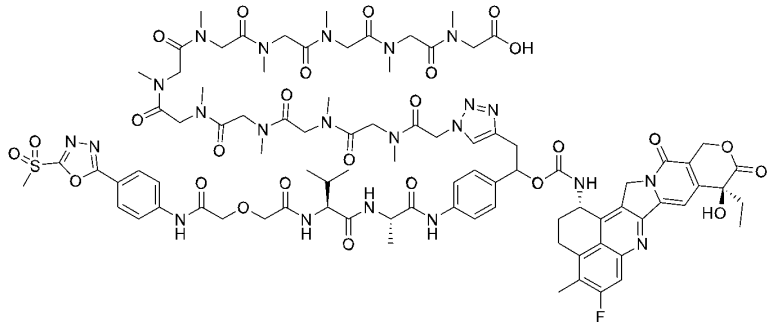
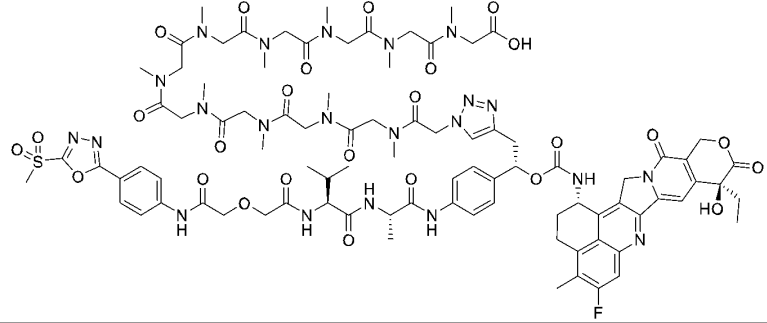
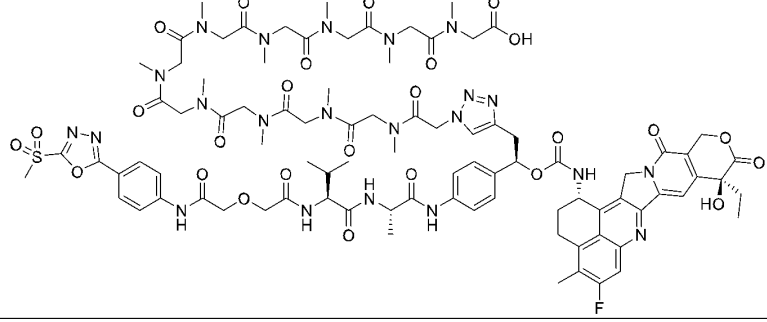
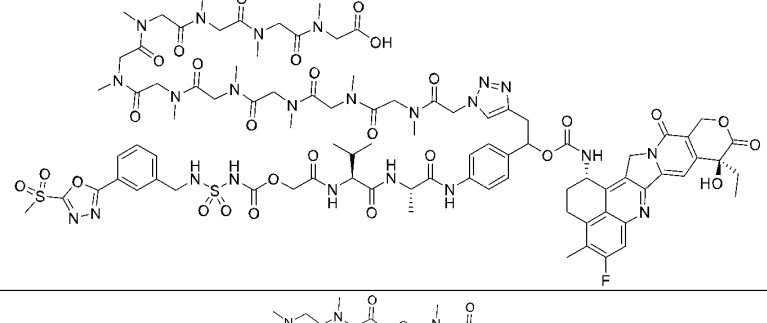
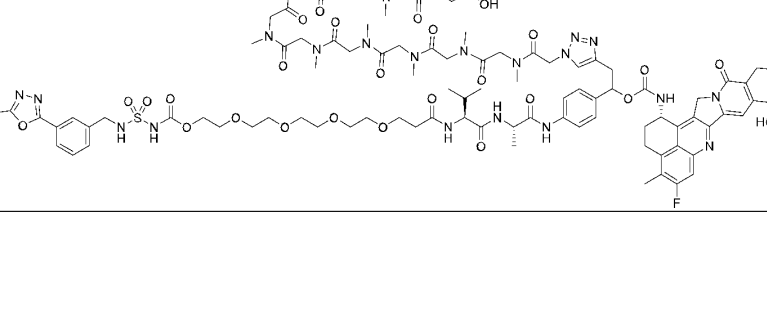


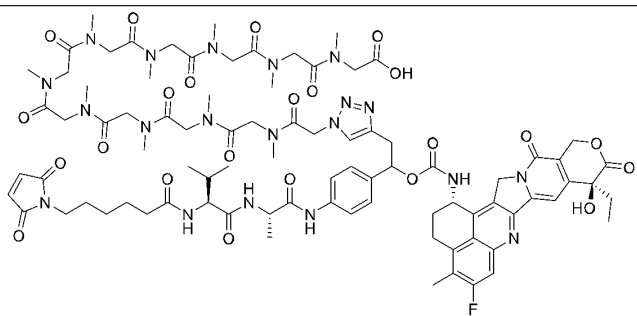
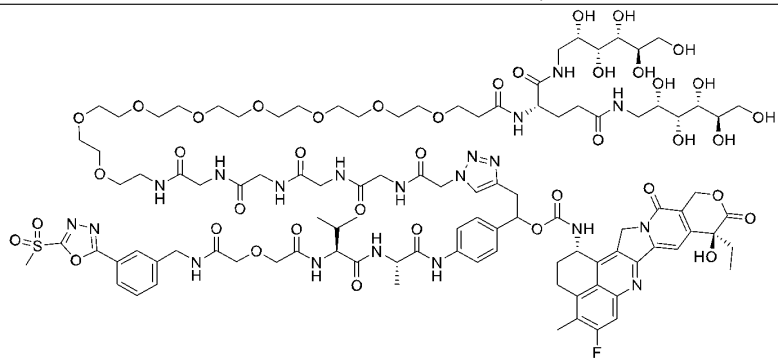
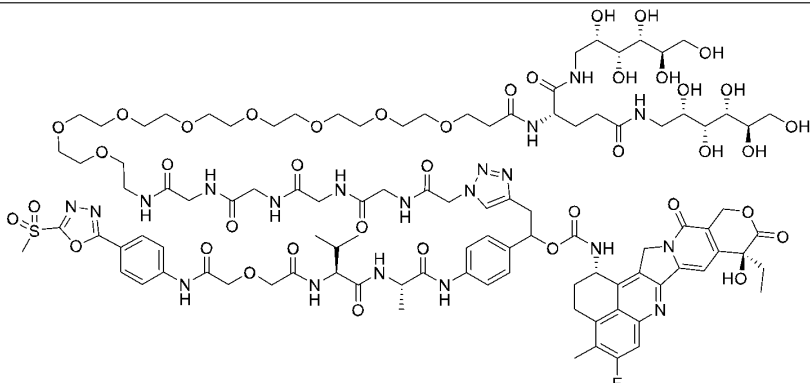
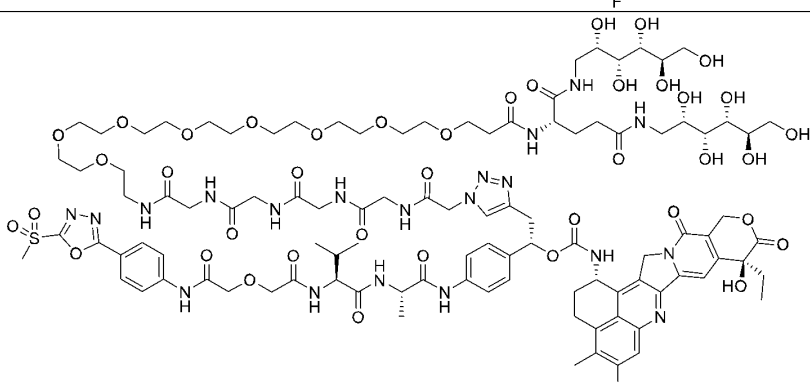
其中, r、s、t、u 各自独立的选自 1-50 的整数 (如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50), v 和 w 各自独立地选自 1-12 的整数 (如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12)。

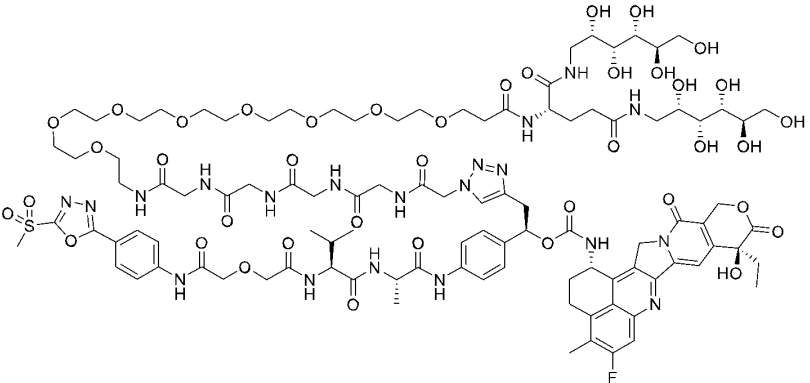
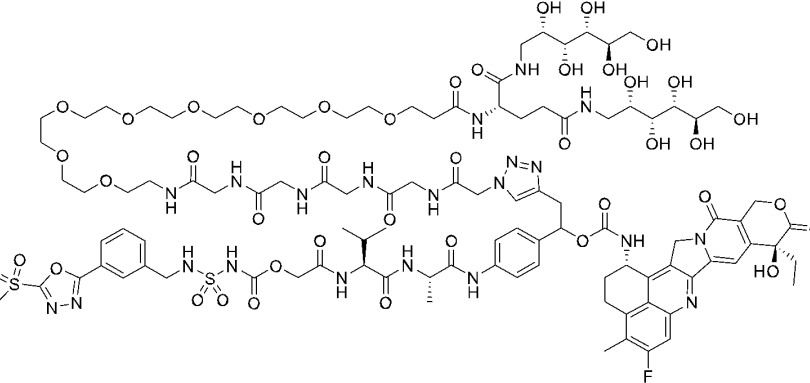
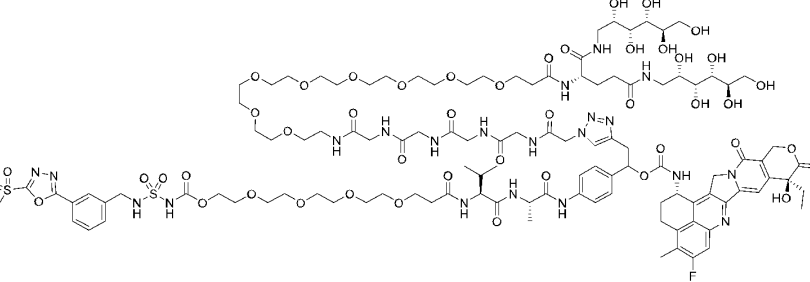
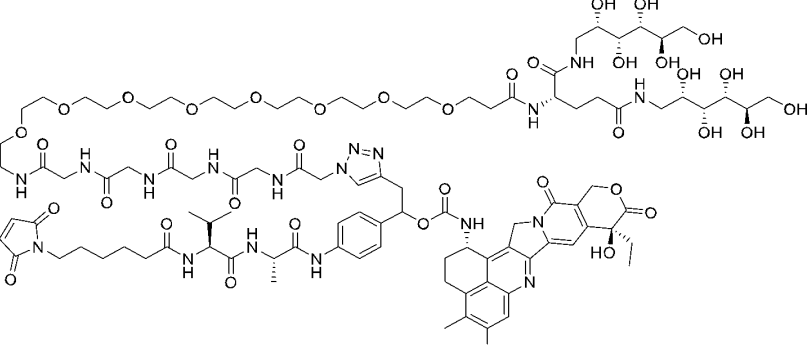
在一些实施方案中, 式(II)所示的连接子-药物化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、及其药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物, 结构如下列所示:

编号	结构
LD1	The structure of LD1 is a complex molecule featuring a polyol chain, a sulfonamide group, a triazole ring, and a fluorinated quinoline moiety. It includes a long aliphatic chain with multiple amide and ether linkages.
LD2	The structure of LD2 is a complex molecule featuring a polyol chain, a sulfonamide group, a triazole ring, and a fluorinated quinoline moiety. It includes a long aliphatic chain with multiple amide and ether linkages.
LD2-1	The structure of LD2-1 is a complex molecule featuring a polyol chain, a sulfonamide group, a triazole ring, and a fluorinated quinoline moiety. It includes a long aliphatic chain with multiple amide and ether linkages.

LD2-2	 Chemical structure of LD2-2: A complex molecule featuring a long polyether chain (poly(2-oxa-1,6-heptanediol)) linked via a triazole ring to a 4-phenyl-1,2,4-triazole-5-sulfonamide group. The triazole ring is also linked to a 4-phenyl-1,2,4-triazole-5-sulfonamide group. The molecule includes a 4-phenyl-1,2,4-triazole-5-sulfonamide group, a 4-phenyl-1,2,4-triazole-5-sulfonamide group, and a 4-phenyl-1,2,4-triazole-5-sulfonamide group.
LD3	 Chemical structure of LD3: A complex molecule featuring a long polyether chain (poly(2-oxa-1,6-heptanediol)) linked via a triazole ring to a 4-phenyl-1,2,4-triazole-5-sulfonamide group. The triazole ring is also linked to a 4-phenyl-1,2,4-triazole-5-sulfonamide group. The molecule includes a 4-phenyl-1,2,4-triazole-5-sulfonamide group, a 4-phenyl-1,2,4-triazole-5-sulfonamide group, and a 4-phenyl-1,2,4-triazole-5-sulfonamide group.
LD4	 Chemical structure of LD4: A complex molecule featuring a long polyether chain (poly(2-oxa-1,6-heptanediol)) linked via a triazole ring to a 4-phenyl-1,2,4-triazole-5-sulfonamide group. The triazole ring is also linked to a 4-phenyl-1,2,4-triazole-5-sulfonamide group. The molecule includes a 4-phenyl-1,2,4-triazole-5-sulfonamide group, a 4-phenyl-1,2,4-triazole-5-sulfonamide group, and a 4-phenyl-1,2,4-triazole-5-sulfonamide group.
LD5	 Chemical structure of LD5: A complex molecule featuring a long polyether chain (poly(2-oxa-1,6-heptanediol)) linked via a triazole ring to a 4-phenyl-1,2,4-triazole-5-sulfonamide group. The triazole ring is also linked to a 4-phenyl-1,2,4-triazole-5-sulfonamide group. The molecule includes a 4-phenyl-1,2,4-triazole-5-sulfonamide group, a 4-phenyl-1,2,4-triazole-5-sulfonamide group, and a 4-phenyl-1,2,4-triazole-5-sulfonamide group.
LD6	 Chemical structure of LD6: A complex molecule featuring a long polyether chain (poly(2-oxa-1,6-heptanediol)) linked via a triazole ring to a 4-phenyl-1,2,4-triazole-5-sulfonamide group. The triazole ring is also linked to a 4-phenyl-1,2,4-triazole-5-sulfonamide group. The molecule includes a 4-phenyl-1,2,4-triazole-5-sulfonamide group, a 4-phenyl-1,2,4-triazole-5-sulfonamide group, and a 4-phenyl-1,2,4-triazole-5-sulfonamide group.

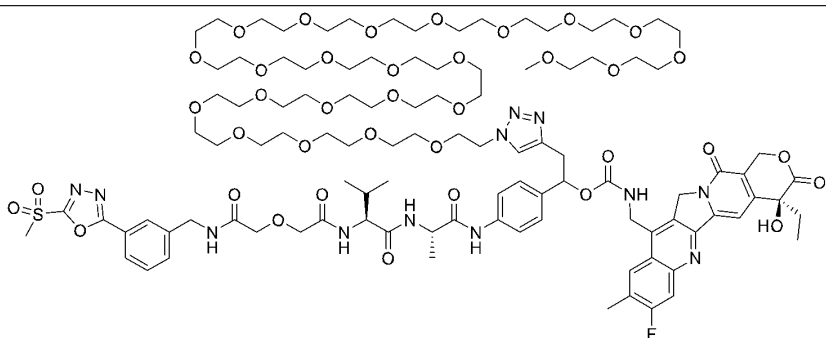
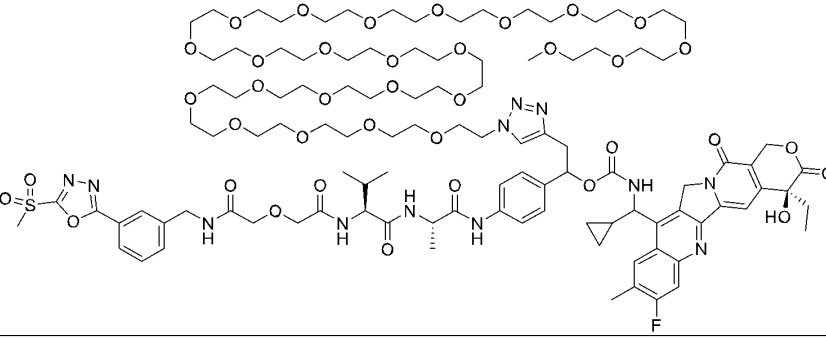
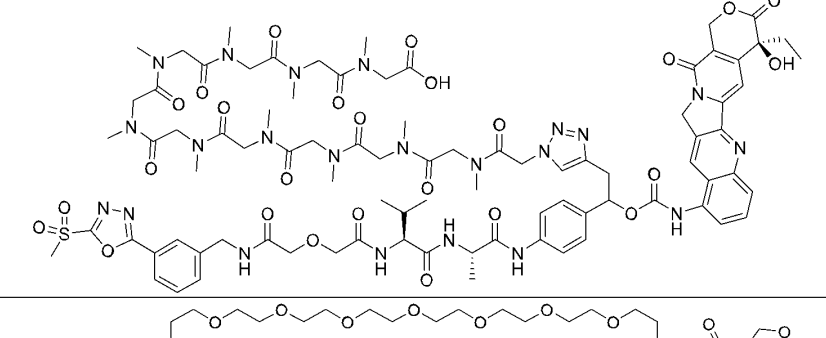
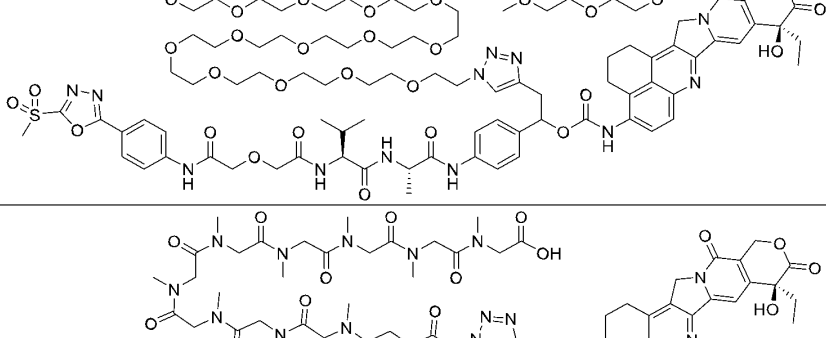
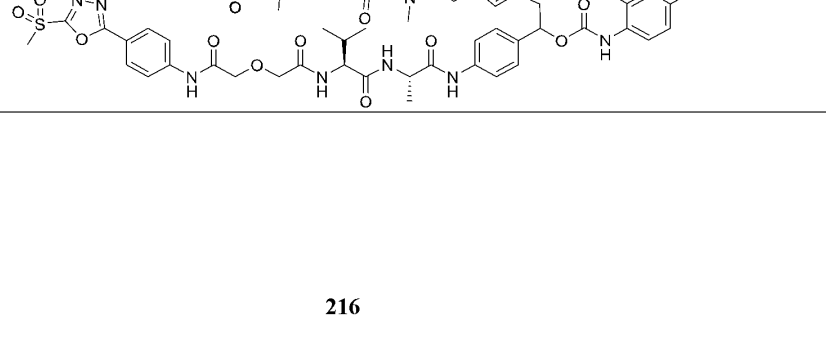
LD7	
LD7-1	
LD7-2	
LD8	
LD9	

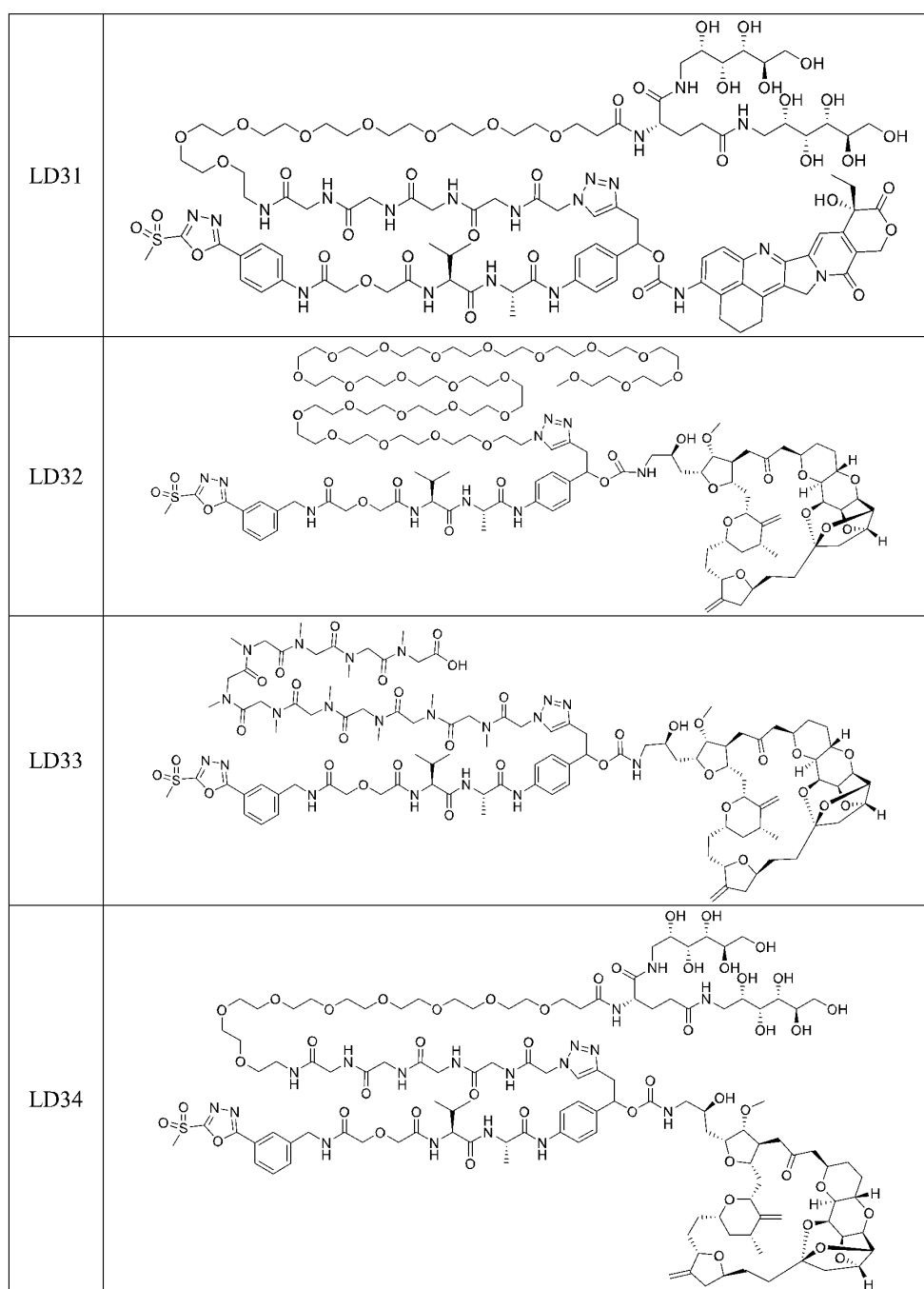
LD10	 Chemical structure of LD10, featuring a complex polypeptide chain with multiple amide bonds, a terminal carboxylic acid group, and a side chain containing a triazole ring and a fluorinated aromatic system.
LD11	 Chemical structure of LD11, featuring a complex polypeptide chain with multiple amide bonds, a terminal carboxylic acid group, and a side chain containing a triazole ring and a fluorinated aromatic system.
LD12	 Chemical structure of LD12, featuring a complex polypeptide chain with multiple amide bonds, a terminal carboxylic acid group, and a side chain containing a triazole ring and a fluorinated aromatic system.
LD12-1	 Chemical structure of LD12-1, featuring a complex polypeptide chain with multiple amide bonds, a terminal carboxylic acid group, and a side chain containing a triazole ring and a fluorinated aromatic system.

LD12-2	 Chemical structure of LD12-2, a complex molecule featuring a long polyether chain, a sulfonamide group, a triazole ring, and a fluorinated quinoline moiety.
LD13	 Chemical structure of LD13, a complex molecule featuring a long polyether chain, a sulfonamide group, a triazole ring, and a fluorinated quinoline moiety.
LD14	 Chemical structure of LD14, a complex molecule featuring a long polyether chain, a sulfonamide group, a triazole ring, and a fluorinated quinoline moiety.
LD15	 Chemical structure of LD15, a complex molecule featuring a long polyether chain, a sulfonamide group, a triazole ring, and a fluorinated quinoline moiety.

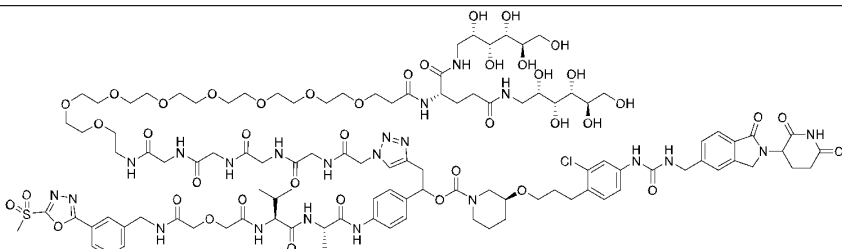
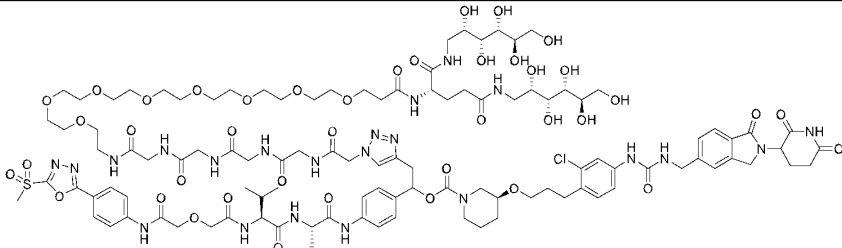
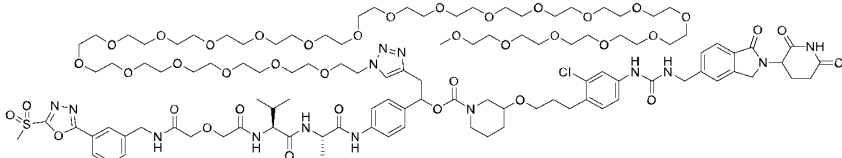
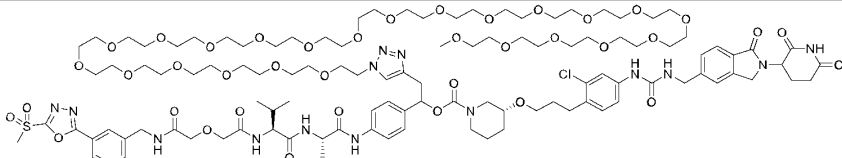
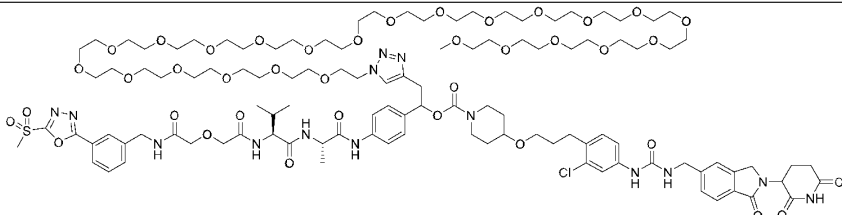
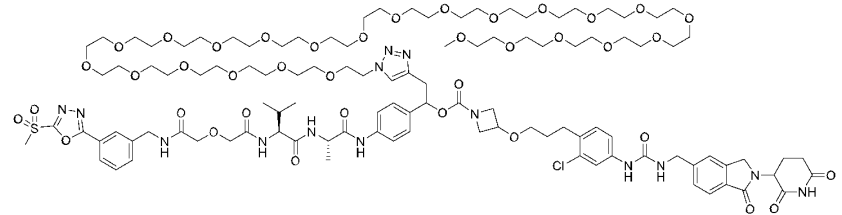
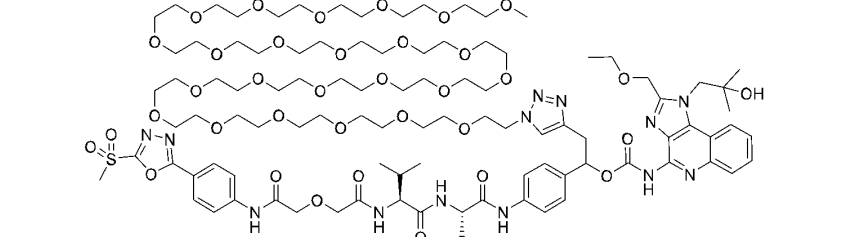
LD16	
LD17	
LD18	
LD19	
LD20	

LD21	
LD22	
LD23	
LD24	
LD25	

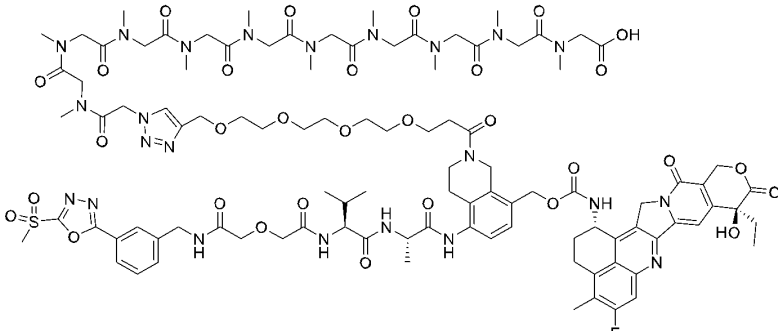
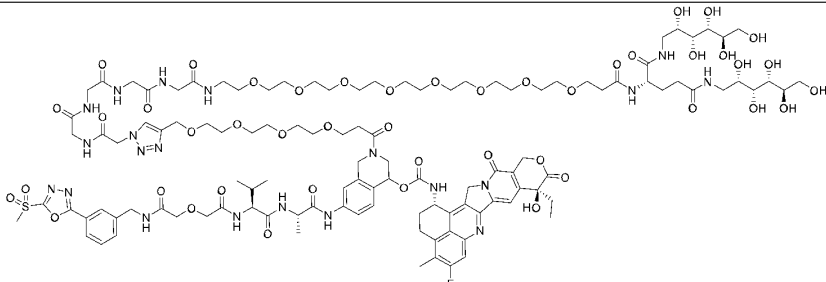
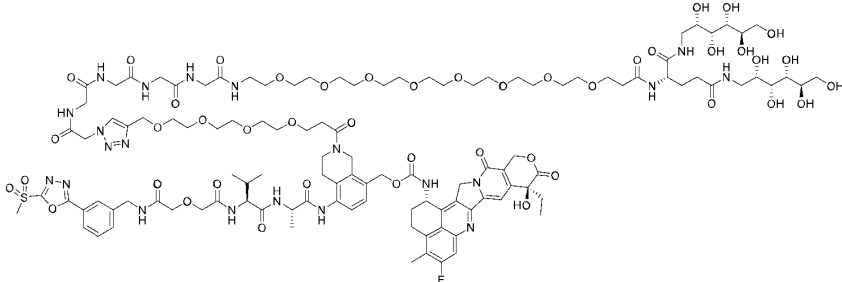
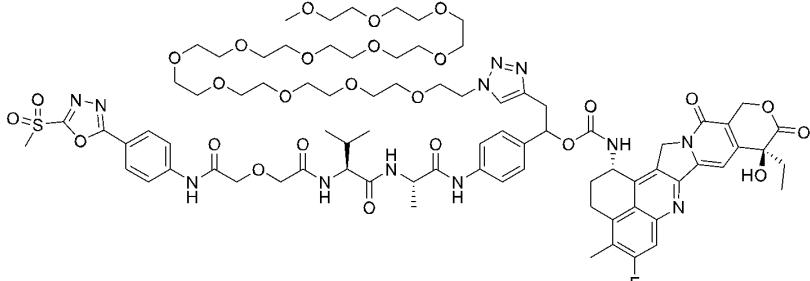
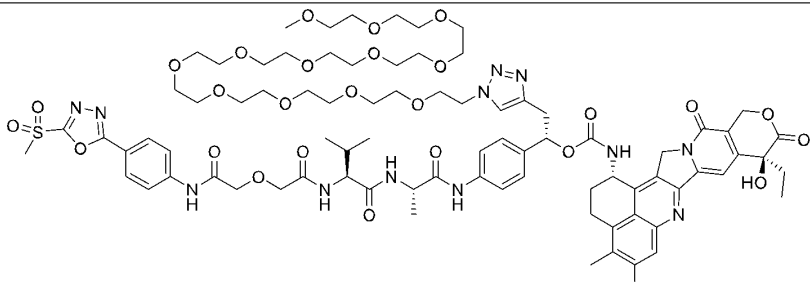
LD26	
LD27	
LD28	
LD29	
LD30	

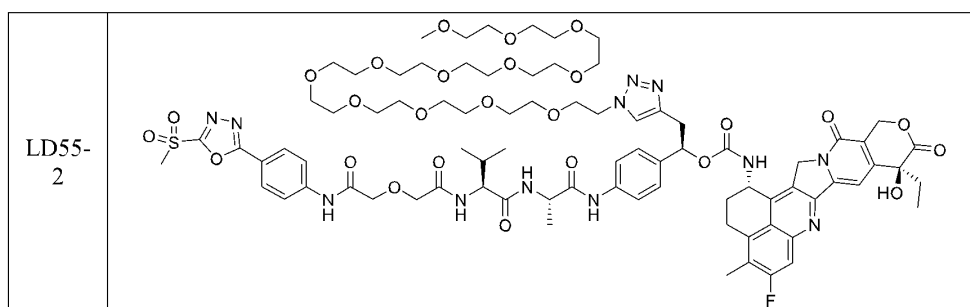


LD35	
LD36	
LD37	
LD38	
LD39	

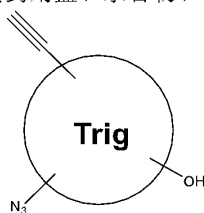
LD40	
LD41	
LD42	
LD43	
LD44	
LD45	
LD46	

LD47	
LD48	
LD49	
LD50	
LD51	

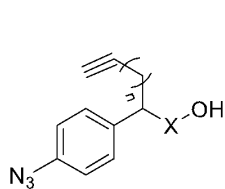
LD52	 Chemical structure of LD52, featuring a long poly(amide ether) chain with a terminal carboxylic acid group, a 1,2,3-triazole ring, a 4-methyl-5-(methylsulfonyl)phenyl group, a 4-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-6-carboxamide group, and a 4-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-6-carboxamide group.
LD53	 Chemical structure of LD53, featuring a long poly(amide ether) chain with a terminal carboxylic acid group, a 1,2,3-triazole ring, a 4-methyl-5-(methylsulfonyl)phenyl group, a 4-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-6-carboxamide group, and a 4-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-6-carboxamide group.
LD54	 Chemical structure of LD54, featuring a long poly(amide ether) chain with a terminal carboxylic acid group, a 1,2,3-triazole ring, a 4-methyl-5-(methylsulfonyl)phenyl group, a 4-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-6-carboxamide group, and a 4-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-6-carboxamide group.
LD55	 Chemical structure of LD55, featuring a long poly(amide ether) chain with a terminal carboxylic acid group, a 1,2,3-triazole ring, a 4-methyl-5-(methylsulfonyl)phenyl group, a 4-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-6-carboxamide group, and a 4-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-6-carboxamide group.
LD55-1	 Chemical structure of LD55-1, featuring a long poly(amide ether) chain with a terminal carboxylic acid group, a 1,2,3-triazole ring, a 4-methyl-5-(methylsulfonyl)phenyl group, a 4-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-6-carboxamide group, and a 4-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-6-carboxamide group.



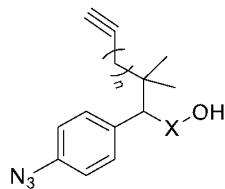
本发明还提供一种式(III)化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、及其药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物：



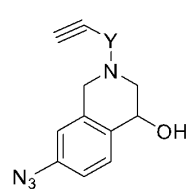
((III), 所述式(III)具有如下结构：



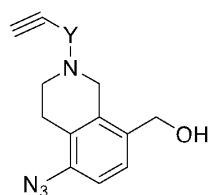
(III-1) 、



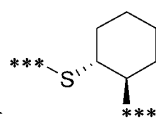
(III-2) 、



(III-3) 或者

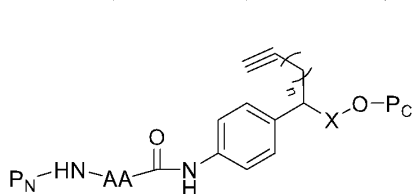


(III-4)；

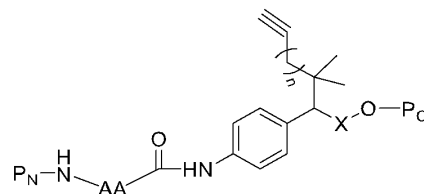


其中，X 为不存在或者 **** ，***表示与碳原子相连接，****表示与氧原子相连接；Y 为 C_1-C_6 亚烷基或者 $-R^3-C(O)-$ ，其中 R^3 为 C_1-C_6 亚烷基或者含 1-8 个 $-OCH_2CH_2-$ 结构单元的亚杂烷基，n 为 0 到 6 的整数。

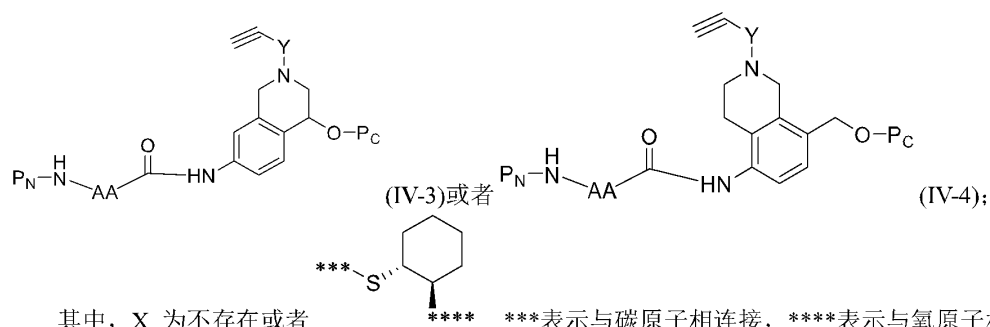
本发明还提供一种式(IV)化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、及其药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物：



(IV-1) 、

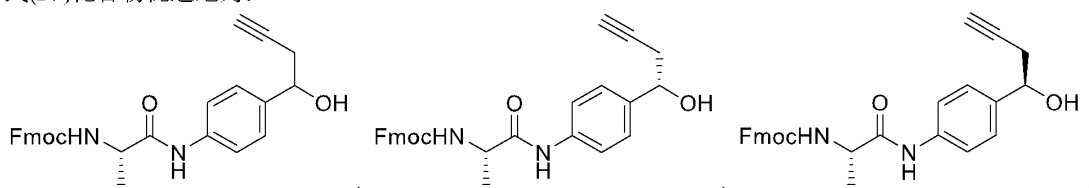


(IV-2) 、



其中 AA 为 L₃ 或为 L₃ 自 C 端起的第 1 个、2 个或更多个氨基酸组成的子片段, P_N 为 H 或氨基保护基如 Boc 或 Fmoc, P_C 为 H、羟基保护基或碳酸活性酯基团如对硝基苯酚碳酸酯;

式(IV)化合物优选地为:



缩写和定义

除非另有说明, 否则本申请中所用以下术语具有下列含义。

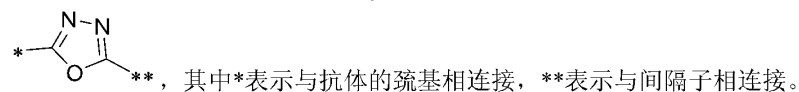
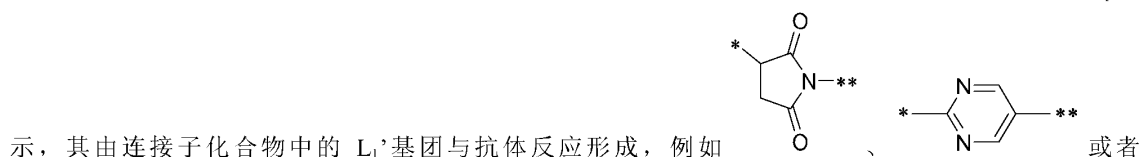
当本申请中使用商标名称时, 除非上下文中另有指明, 否则商标名称包括所述商标名称产品的产品配方、通用药物和活性药物成分。

术语“抗体药物偶联物”或“抗体偶联药物”(ADC)是指将靶向配体如抗体(如单克隆抗体)、抗体片段通过稳定的化学接头化合物与具有生物活性的生物活性分子相连。

术语“连接子-药物化合物”或“接头-药物化合物”(linker-drug)是指“抗体-药物偶联物”中由接头化合物和生物活性化合物组成的部分结构。

术语“连接子”是指一端与抗体连接而另一端与细胞毒性药物连接的化学结构片段, 用 L 表示, 其由“接头化合物”分别连接抗体和生物活性化合物形成, 在本发明的某些实施方式中, 接头化合物的一部分先与抗体连接, 另一部分与生物活性化合物连接后, 再通过连接子不同部分之间的化学反应形成“连接子”。本发明中的连接子包含与抗体的连接部分、间隔子、多肽序列以及自裂解片段。

本发明中所述连接子-药物化合物与所述抗体通过本领域常规的偶联方式进行连接, 包括: 赖氨酸偶联、轻重链间还原性二硫键偶联和定向偶联(Beck A, Reichert JM. Antibody-drug conjugates: Present and future; MAbs, 2014, 6:15-17; McCombs J R, Owen S C. Antibody drug conjugates: design and selection of linker, payload and conjugation chemistry. The AAPS journal, 2015, 17:339-351)。本发明优选通过轻重链间还原性二硫键偶联, 即轻重链间二硫键位点(重链之间的两个位点, 重点与轻链之间的两个位点)中的一个或多个被还原后形成的硫醇基(半胱氨酸残基的硫原子)反应进行连接。在本发明中, 连接子 L 与抗体的连接部分以 L₁ 表



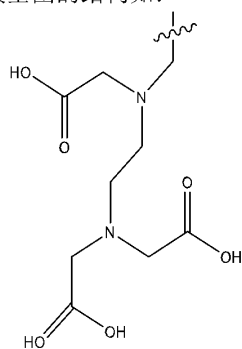
术语“间隔子”意指连接子 L 与抗体的连接部分和多肽序列之间的连接基团, 其可以为任意的二价有机基团, 如化学键、C₁₋₁₀ 亚烷基、C₂₋₁₀ 亚烯基、C₂₋₁₀ 亚炔基、C₃₋₁₀ 环烷基、C₆₋₁₂ 芳基、5-12 元杂芳基、5-12 元杂环基或它们中两种以上基团的组合; 所述 C₁₋₁₀ 亚烷基、C₂₋₁₀ 亚烯基、C₂₋₁₀ 亚炔基、C₃₋₁₀ 环烷基、C₆₋₁₂ 芳基、5-12 元杂芳基、5-12 元杂环基或它们中两种以上基团的组合并任选地被羰基、O、S、N 原子间隔;

所述 C_{1-10} 亚烷基、 C_{2-10} 亚烯基、 C_{2-10} 亚炔基、 C_{3-10} 环烷基、 C_{6-12} 芳基、5-12 元杂芳基、5-12 元杂环基可以任选被 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、卤素原子、卤代 C_{1-6} 烷基取代；优选地，如 L_2 所定义。

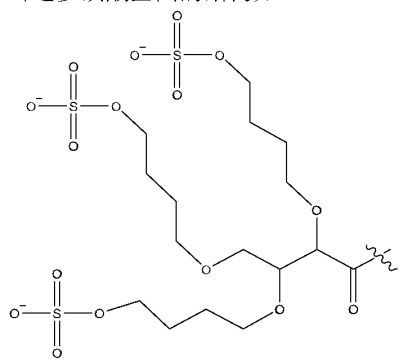
术语“多肽序列”是本领域公知的，选自包含 2 至 8 个任选取代的天然或非天然、L 型或 D 型氨基酸残基的二价肽基团，每一个所述氨基酸残基相同或不同，彼此独立地选自以下的氨基酸的残基：丙氨酸(Ala)、半胱氨酸(Cys)、天门冬氨酸(Asp)、谷氨酸(Glu)、苯丙氨酸(Phe)、甘氨酸(Gly)、组氨酸(His)、异亮氨酸(Ile)、赖氨酸(Lys)、亮氨酸(Leu)、甲硫氨酸(Met)、天冬酰胺(Asn)、脯氨酸(Pro)、谷氨酰胺(Gln)、精氨酸(Arg)、丝氨酸(Ser)、苏氨酸(Thr)、缬氨酸(Val)、色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)、瓜氨酸(Cit)、戊氨酸(Nva)、正亮氨酸(Nle)或上述氨基酸的类似物。

术语“自裂解片段”是本领域公知的，如本领域常规使用的对氨基苄醇碳酸酯片段，在本发明的具体实施方式中，本发明连接子的“自裂解片段”包含“亲水片段”的修饰。

术语“亲水片段”是本领域公知的，所述亲水片段可以包含聚乙二醇基团，如端基为甲氧基的聚乙二醇基团，或通过聚乙二醇基团进一步连接其他亲水片段。所述亲水片段还可以包括聚氨基酸片段，如聚甘氨酸或聚肌氨酸，所述聚氨基酸片段可以与聚乙二醇基团组合。所述亲水片段还可以是单糖、二糖或寡糖，所述单糖、二糖或寡糖可以为链状分子或环状分子的糖，并且可以包含糖胺、糖酸或磷酸糖。优选地，所述糖基团与聚乙二醇片段或聚氨基酸片段组合；还优选地，通过多价的连接基团引入至少两个糖基团，如基于天冬氨酸、谷氨酸或赖氨酸的连接基团。还可以包含多羧酸基团、多磺酸基团或螯合基团等；所述多羧酸基团的结构如：



所述多磺酸基团的结构如：



所述螯合基团例如可以为 DOTA 基团或 NOTA 基团。

术语“溶剂合物”、“溶剂化物”意指本发明化合物与一个或多个溶剂分子(无论有机的还是无机的)的物理缔合。该物理缔合包括氢键。在某些情形中，例如当一个或多个溶剂分子纳入结晶固体的晶格中时，溶剂化物将能够被分离。溶剂化物中的溶剂分子可按规则排列和/或无序排列存在。溶剂合物可包含化学计量或非化学计量的溶剂分子。“溶剂合物”涵盖溶液相和可分离的溶剂合物。示例性溶剂合物包括但不限于水合物、乙醇合物、甲醇合物和异丙醇合物。溶剂化方法是本领域公知的。

术语“立体异构体”是指具有相同化学构造，但原子或基团在空间上排列方式不同的化合物。立体异构体包括对映异构体、非对映异构体、构象异构体(旋转异构体)、几何异构体(顺/反)异构体、阻转异构体等。所得的任何立体异构体的混合物可以依据组物理化学性质上的差异被分离成纯的或基本纯的几何异构体，对映异构体，非对映异构体，例如，通过色谱法和/或分步结晶法。

术语“互变异构体”是指具有不同能量的、可通过低能垒互相转化的同分异构体。若互变异构是可能的

(如在溶液中),则可以达到互变异构体的化学平衡。例如,质子互变异构体(又称质子转移互变异构体)包括通过质子迁移来进行互相转化的互变异构体,如酮一烯醇异构化和亚胺一烯胺异构化。价键互变异构体包括通过成键电子的重组来进行互相转化的互变异构体。

术语“一个或多个”中的“多个”包括两个或两个以上(例如3个,4个,5个等);

术语“杂原子”即指氮、氧、硫、卤素原子。

术语“C_m-C_n”即指该部分具有m至n范围的整数个碳原子。例如“C₁-C₃”指该基团可具有1个碳原子、2个碳原子或3个碳原子。

术语“-(CH₂)_n”即指该部分有n个-CH₂-相连的基团,例如,当一个连接基团的数量为0时,比如“-(CH)₀”,表示该连接基团为共价键。

术语“烷基”指一价饱和脂肪族烃基团,包含1-20个碳原子的直链或支链基团,优选包含1-10个碳原子(即C₁₋₁₀烷基),进一步优选包含1-8个碳原子(C₁₋₈烷基),更优选包含1-6个碳原子(即C₁₋₆烷基)。例如“C₁₋₆烷基”指的是该基团为烷基,且碳链上的碳原子数量在1-6之间(具体地为1个、2个、3个、4个、5个或6个),实例包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、新戊基、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、正己基等。

术语“烷氧基”指-O-烷基,所述烷基的定义同上,即包含1-20个碳原子,优选地,包含1-10个碳原子,更佳地1-8个碳原子,更佳地1-6个碳原子(具体地为1个、2个、3个、4个、5个或6个)。代表的例子包括但不限于甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、丁氧基、1-甲基丙氧基、2-甲基丙氧基、叔丁氧基、戊氧基、1-甲基丁氧基、2-甲基丁氧基、3-甲基丁氧基、1,1-二甲基丙氧基、1,2-二甲基丙氧基、2,2-二甲基丙氧基、1-乙基丙氧基等。

术语“卤素”或“卤代”是指F、Cl、Br、I。

术语“卤代烷基”是指如上所定义的烷基中一个、两个或多个氢原子或全部氢原子被卤素取代。卤代烷基的代表性例子包括CCl₃、CHCl₂、CH₂Cl、CF₃、CHF₂、CH₂F、CBr₃、CHBr₂、CH₂Br、Cl₃、CHI₂、CH₂I、CH₂CF₃、CF₂CF₃等。

术语“芳基”表示含有6-16个碳原子,或6-14个碳原子,或6-12个碳原子,或6-10个碳原子的单环、双环和三环的芳香碳环体系,优选6-10个碳原子。芳基基团的实例可以包括但不限于苯基、萘基、蒽基、菲基或茚基等。术语“杂芳基”表示含有5-14元结构的芳香单环或者多环环状系统,或优选5-10元结构,或优选5-8元结构,更优选5-6元结构,其中1个、2个、3个或更多个环原子为杂原子且其余原子为碳,杂原子独立地选自O、N或S,杂原子数量优选为1个、2个或3个。杂芳基的实例包括但不限于呋喃基、噻吩基、噁唑基、噻唑基、异噻唑基、噁二唑基、噻二唑基、吡咯基、吡唑基、咪唑基、三唑基、四唑基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哒嗪基、硫代二唑基、三嗪基、酞嗪基、喹啉基、异喹啉基、喋啶基、嘌呤基、吲哚基、异吲哚基、吲唑基、苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并吡啶基、苯并嘧啶基、苯并吡嗪基、苯并咪唑基、苯并酞嗪基、吡咯并[2,3-b]吡啶基、咪唑并[1,2-a]吡啶基、吡唑并[1,5-a]吡啶基、吡唑并[1,5-a]噻唑基、咪唑并[1,2-b]噻唑基、[1,2,4]三唑并[4,3-b]噻唑基、[1,2,4]三唑并[1,5-a]嘧啶基、[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶基等。

术语“环烷基”即指完全饱和的并且可以以单环、桥环或螺环存在的碳环。优选地包含3-12个碳原子(即C₃₋₁₂环烷基),更优选包含3-10个碳原子(C₃₋₁₀环烷基),进一步优选3-7个碳原子(C₃₋₇环烷基)、4-6个碳原子(C₄₋₆环烷基)、5-6个碳原子(C₅₋₆环烷基)。环烷基的实例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、甲基环丙基、2-乙基-环戊基、二甲基环丁基、降冰片基(双环[2.2.1]庚基)、双环[2.2.2]辛基、金刚烷基等。

术语“-烷基-”或“亚烷基”是指饱和直链或支链二价烃基。例如,C₁-C₈亚烷基是指具有1-8数目的碳原子的直链或支链亚烷基。

术语“杂环基”即指完全饱和的或部分不饱和的(非完全不饱和的杂芳族)并且可以以单环、桥环或螺环存在的非芳族环。除非另有指示,该杂环通常为含有1至3个独立地选自硫、氧和/或氮的杂原子(优选1或2个杂原子,但不包括-O-O-、-O-S-或-S-S-部分)的3至7元环。杂环基的非限制性实例包括但不限于环氧乙烷基、四氢呋喃基、二氢呋喃基、吡咯烷基、N-甲基吡咯烷基、二氢吡咯基、哌啶基、哌嗪基、吡啶烷基、4H-吡喃基、吗啉基、硫代吗啉基、四氢噻吩基等。

术语“杂烷基”本身或者与另一术语联合表示稳定的直链的、支链的烷基原子团或其组合物,由一定数目的碳原子和至少一个杂原子组成。碳原子的数目可以为1-50(优选1-20,更优选1-12,最优选1-8),例如为1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42,43,44,45,46,47,48,49,50。所述杂烷基可以任选含有一个、两个或更多个(如3、4、5、6、7、8、9、10、11、12个)

选自 N, O, S 中的杂原子 (或解释为任选地杂原子插入至烷基中任选地 C-C 键和 C-H 键)。杂原子 O、N 和 S 可以位于杂烷基的任何内部位置或者该烷基附着于分子其余部分的位置。实例包括但不限于 -CH₂-CH₂-O-CH₃、-CH₂-CH₂-NH-CH₃、-CH₂-CH₂-N(CH₃)-CH₃、-CH₂-S-CH₂-CH₃、-CH₂-CH₂-S(O)-CH₃、-CH₂-CH₂-S(O)₂-CH₃。至多两个杂原子可以是连续的, 例如-CH₂-NH-OCH₃。

除非另有说明, 本文中术语的定义同样适用于包含该术语的基团, 例如 C1-6 烷基的定义也适用于 C1-6 烷基氧基。

在本发明的各部分, 描述了连接取代基。当该结构清楚地需要连接基团时, 针对该基团所列举的马库什变量应理解为连接基团。例如, 如果该结构需要连接基团并且针对该变量的马库什基团定义列举了“杂烷基”、“芳基”等, 则应该理解, 该“杂烷基”、“芳基”分别代表连接的亚杂烷基基团或亚芳基基团。且同样应当可以理解, 当基团所列举的马库什变量应理解为连接基团时, 无论其定义为“亚烷基”或“亚杂烷基”, 两者适用的定义范围是相同的。因此, 本文中例如术语“亚烷基”、“亚环烷基”、“亚芳基”、“亚杂烷基”、“亚杂芳基”、“亚杂环基”的定义等同或参照如前定义的“烷基”、“环烷基”、“芳基”、“杂烷基”、“杂芳基”、“杂环基”。

术语“衍生物”即指母体化合物分子中的原子或原子团被其他原子或原子团取代所形成的化合物, 称为该母体化合物的衍生物。

术语“药用盐”是指化合物 (例如, 药物, 药物-连接子或抗体-连接子-药物偶联物) 的药学上可接受的有机或无机盐。该化合物可含有至少一个氨基、亚氨基、羟基或羧基, 并且因此可与相应的酸或碱形成加成盐。示例性的盐包括但不限于: 硫酸盐、三氟乙酸盐、柠檬酸盐、乙酸盐、草酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硝酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、酸性磷酸 (-H₂PO₄) 盐、亚磷酸盐、异烟酸盐、乳酸盐、水杨酸盐、酸性柠檬酸盐、酒石酸盐、油酸盐、单宁酸盐、泛酸盐、酒石酸氢盐、抗坏血酸盐、甲酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐, 钾盐、钠盐、铵盐、钙盐等。另外, 药学上可接受的盐在结构中具有超过一个的带电原子。其中多个带电原子是药学上可接受的盐的一部分的示例能有多个抗衡例子。例如, 药学上可接受的盐具有一个或多个带电原子和/或一个或多个抗衡原子。

术语“氨基酸”是指天然存在的氨基酸或非天然存在的氨基酸, 用 NH₂-C(R'R'')-C(=O)OH 表示, 其中 R' 和 R'' 各自独立的是氢、任选地被取代的具有 1 至 10 个碳原子的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基, 芳基, 杂芳基或杂环基, 或者 R' 和 N 末端氮原子可合起来形成杂环, 例如, 脯氨酸。

术语“氨基酸残基”是指当一个氢原子从氨基酸的胺和/或一个羟基从羧基末端去除时的相应残基, 例如 -NH-C(R'R'')-C(O)-。

术语“肽”是指通过肽 (酰胺) 键连接的氨基酸单体的短链。

术语“肿瘤”是指机体在各种致癌因素作用下, 局部组织的某一个细胞在基因水平上失去对其生长的正常调控, 导致其克隆性异常增生而形成的新生物。

广义而言, 术语“抗体”是指免疫球蛋白分子, 其经由所述免疫球蛋白分子的可变区内的至少一个抗原识别位点识别并且特异性地结合于靶标, 例如蛋白质、多肽、肽、碳水化合物、多核苷酸、脂质或前述各物的组合, 用 A 表示。涵盖完整多克隆抗体、完整单克隆抗体、抗体片段 (例如 Fab、Fab'、F(ab')₂ 和 Fv 片段)、单链 Fv(scFv) 突变体、多特异性抗体 (例如双特异性抗体、双互补位抗体等)、多价抗体 (例如具有三个、四个或更多个抗原结合位点的三价、四价等抗体) 嵌合抗体、人源化抗体、人类抗体、包含抗体的抗原决定部分的融合蛋白和包含抗原识别位点的任何其他被修饰的免疫球蛋白分子, 只要所述抗体展现所需生物活性即可。当“抗体”和“抗原结合片段/抗原结合部分”出现在同一语境下时, “抗体”可以理解为相对于“抗原结合片段/抗原结合部分”的完整体, 二者共同对应于广义的抗体概念。

附图说明

图 1 为化合物 82 的单晶衍射图。

具体实施方式

接下来进一步用实施例来阐述本申请, 但这些实施例并不会限制本申请的范围。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。除非另从说明, 否则所有的百分数、比例、比率、或份数按重量计。

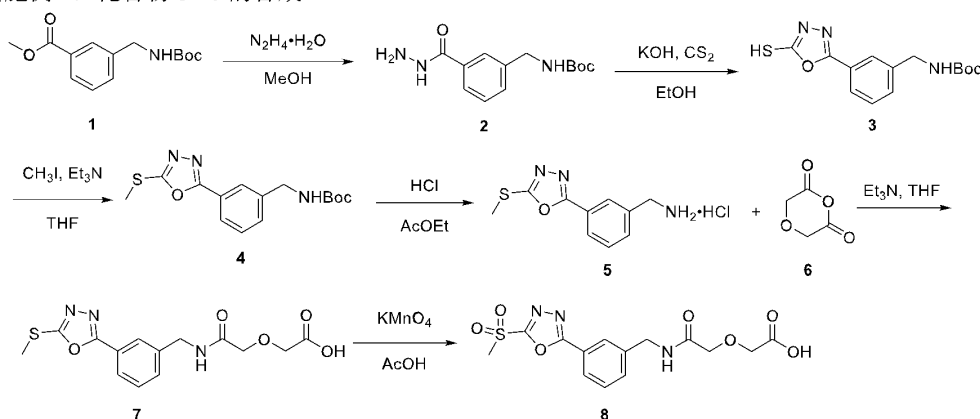
缩写词说明

表 1

DMF	N,N-二甲基甲酰胺	TBAF	四丁基氟化铵
TEA	三乙胺	DMSO	二甲亚砜

THF	四氢呋喃	DIBAL-H	二异丁基氢化铝
DIPEA	N,N-二异丙基乙胺	TFAA	三氟乙酸酐
DBU	1,8-二氮杂二环[5.4.0]十一碳-7-烯	Boc	叔丁氧羰基
EEDQ	2-乙氧基-1-乙氧碳酰基-1,2-二氢喹啉	Fmoc	9-芴甲氧羰基
PPTS	对甲基苯磺酸吡啶	TECP	三(2-羧乙基)膦
THPTA	三(3-羟丙基三唑甲基)胺	DCA	二氯乙酸
EA	乙酸乙酯	THF	四氢呋喃
EDCI	1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐	DMF	N,N-二甲基甲酰胺
9-BBN	9-硼双环[3.3.1]壬烷	Py	吡啶
tBuOH	叔丁醇	HOBT	1-羟基苯并三唑
NPCCl	对硝基苯甲酰氯	NH ₄ FA	甲酸铵
ACN	乙腈	DCM	二氯甲烷

实施例 1：化合物 8-10 的合成



将化合物 **1** (50 g, 189 mmol) 和甲醇(250 mL)加入反应瓶中, 室温下缓慢加入 80% 水合肼(35.4 g, 567 mmol), 升温至 70 °C 回流反应 6 小时结束。冷却后析出白色晶体, 抽滤, 甲醇(20 mL×3)洗涤剩余固体, 得白色固体 **2** (50 g, 产率 100%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 266.1, 实验值 266.2。

将化合物 **2** (50g, 189 mmol)、氢氧化钾(12.7 g, 227 mmol)和乙醇(400 mL)加入反应瓶中, 室温搅拌溶解。缓慢加入二硫化碳(17 g, 283 mmol) 后升温至 100 °C 回流反应 5 小时结束。减压移去溶剂后加入水(50 mL), 用稀盐酸调 pH 为 6, 用二氯甲烷萃取 (100 mL×3), 合并有机相, 用饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤后将滤液减压浓缩, 残余物通过硅胶色谱纯化, 得到化合物 **3** (54 g, 产率 93%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 308.1, 实验值 308.2。

在反应瓶中加入化合物 **3** (5g, 16.3 mmol)、三乙胺(2 g, 19.6 mmol)和四氢呋喃(30 mL), 向上述反应液中加入碘甲烷(2.5 g, 17.9 mmol)。在 25 °C 下搅拌反应 1.5 小时后反应结束, 减压移去溶剂, 残余物通过硅胶色谱纯化, 得到化合物 **4** (3.4 g, 产率 65%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 322.1, 实验值 322.2。

将化合物 **4** (3.4 g, 10.6 mmol)和乙酸乙酯(20 mL)加入反应瓶中, 在 25 °C 下滴加氯化氢乙酸乙酯溶液(2.7 mL, 4 M), 继续反应 6 小时, 减压移去溶剂后得到粗产物 **5**, 直接投下一步反应。

将粗产物 **5**、二甘醇酐 **6** (1.35 g, 11.7 mmol)、三乙胺(2.14 g, 21.2 mmol)和四氢呋喃(30 mL)加入反应瓶中, 25 °C 反应 1.5 小时, 减压移去溶剂, 残余物加入乙醚, 抽滤后用水和乙醚洗涤, 得化合物 **7** (3.5 g, 产率 99%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 338.0, 实验值 338.2。

将化合物 **7** (3.5 g, 10.5 mmol)和冰醋酸(20 mL)加入反应瓶中, 待溶解后, 在 0 °C 加入高锰酸钾(2.48 g, 15.7 mmol), 恢复至 25 °C 反应 1 小时, 加入饱和亚硫酸钠溶液至溶液变为无色, 用乙酸乙酯萃取 (100 mL×3), 合并有机相, 用饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤后将滤液减压浓缩, 残余物通过硅胶色谱纯化, 得到化合物 **8** (2.3 g, 产率 60%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 370.0, 实验值 370.1。

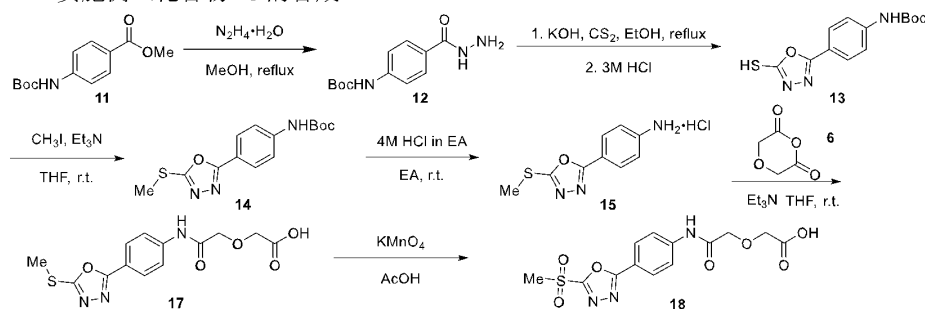
表 2

编号	结构式	MS(ESI): (M+H) ⁺	
		计算值	实验值

9		356.0	356.1
10		370.0	370.2

化合物 9-10 的合成参考化合物 8 的合成路线。

实施例 2. 化合物 18 的合成



将化合物 11 (47.5 g, 189 mmol) 和甲醇 (250 mL) 加入反应瓶中, 室温下缓慢加入 80% 水合肼 (35.4 g, 567 mmol), 升温至 70 °C 回流反应 6 小时结束。冷却后析出白色晶体, 抽滤, 甲醇 (20 mL×3) 洗涤剩余固体, 得白色固体 12 (47.47 g, 产率 100%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 252.1, 实验值 252.2。

将化合物 12 (47.4 g, 189 mmol)、氢氧化钾 (12.7 g, 227 mmol) 和乙醇 (400 mL) 加入反应瓶中, 室温搅拌溶解。缓慢加入二硫化碳 (17 g, 283 mmol) 后升温至 100 °C 回流反应 5 小时结束。减压移去溶剂后加入水 (50 mL), 用稀盐酸调 pH 为 6, 用二氯甲烷萃取 (100 mL×3), 合并有机相, 用饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤后将滤液减压浓缩, 残余物通过硅胶色谱纯化, 得到化合物 13 (49.9 g, 产率 90%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 294.1, 实验值 294.3。

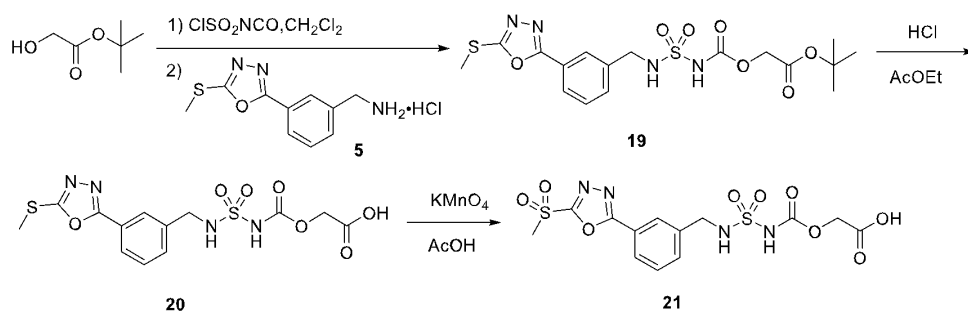
在反应瓶中加入化合物 13 (5.86 g, 20 mmol)、三乙胺 (2.42 g, 24 mmol) 和四氢呋喃 (36 mL), 向上述反应液中加入碘甲烷 (3.12 g, 22 mmol)。在 25 °C 下搅拌反应 1.5 小时后反应结束, 减压移去溶剂, 残余物通过硅胶色谱纯化, 得到化合物 14 (4.05 g, 产率 66%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 308.1, 实验值 308.2。

将化合物 14 (3.3 g, 10.6 mmol) 和乙酸乙酯 (20 mL) 加入反应瓶中, 在 25 °C 下滴加氯化氢乙酸乙酯溶液 (2.7 mL, 4 M), 继续反应 6 小时, 减压移去溶剂后得到粗产物 15, 直接投下一步反应。

将粗产物 15、二甘醇酐 6 (1.35 g, 11.7 mmol)、三乙胺 (2.14 g, 21.2 mmol) 和四氢呋喃 (30 mL) 加入反应瓶中, 25 °C 反应 1.5 小时, 减压移去溶剂, 残余物加入乙醚, 抽滤后用水和乙醚洗涤, 得化合物 17 (3.4 g, 产率 99%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 324.1, 实验值 324.2。

将化合物 17 (3.4 g, 10.5 mmol) 和冰醋酸 (20 mL) 加入反应瓶中, 待溶解后, 在 0 °C 加入高锰酸钾 (2.48 g, 15.7 mmol), 恢复至 25 °C 反应 1 小时, 加入饱和亚硫酸钠溶液至溶液变为无色, 用乙酸乙酯萃取 (100 mL×3), 合并有机相, 用饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤后将滤液减压浓缩, 残余物通过硅胶色谱纯化, 得到化合物 18 (2.4 g, 产率 65%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 356.0, 实验值 356.0。

实施例 3: 化合物 21 的合成



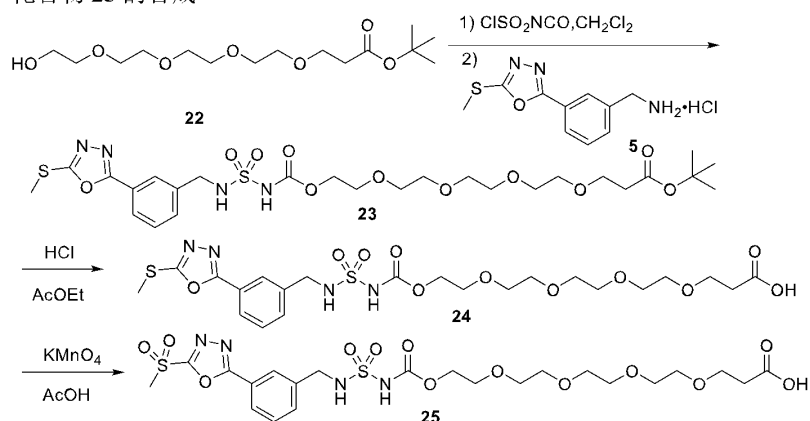
将乙醇酸叔丁酯 (2.57 g, 19.5 mmol) 在 0 °C 下缓慢滴加至氯磺酰异氰酸酯 (2.75 g, 19.5 mmol) 二氯甲烷 (40

mL)溶液中,恢复至 25 °C反应 1 小时,将化合物 **5** (5g, 19.5 mmol)的二氯甲烷(10 mL)溶液滴加至上述反应体系中,反应 6 小时后,加水(40 mL),用乙酸乙酯萃取 (100 mL×3),合并有机相,用饱和食盐水洗,无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩,残余物通过硅胶色谱纯化,得到化合物 **19** (7.68 g, 产率 86%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 459.1, 实验值 459.0。

将化合物 **19** (7.68 g, 16.8 mmol)和乙酸乙酯(20 mL)加入反应瓶中,在 25 °C 下滴加氯化氢乙酸乙酯溶液(4.2 mL, 4 M),继续反应 6 小时,减压移去溶剂后得到粗产物 **20**,直接投下一步反应。

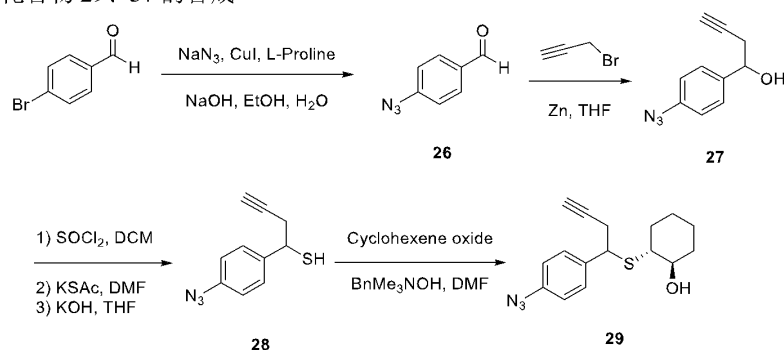
将粗产物 **20** 和冰醋酸(20 mL)加入反应瓶中,待溶解后,在 0 °C加入高锰酸钾(4 g, 25.2 mmol),恢复至 25 °C反应 1 小时,加入饱和亚硫酸钠溶液至溶液变为无色,用乙酸乙酯萃取 (100 mL×3),合并有机相,用饱和食盐水洗,无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩,残余物通过硅胶色谱纯化,得到化合物 **21** (3.28 g, 产率 45%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 435.0, 实验值 435.1。

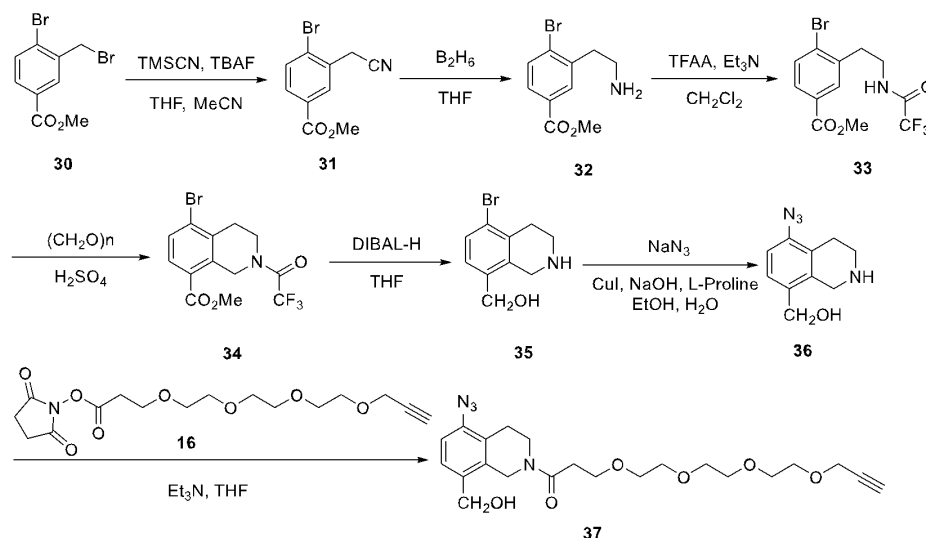
实施例 4: 化合物 **25** 的合成



化合物 **25** 的合成参考化合物 **21** 的合成方法。

实施例 5: 化合物 **29**、**37** 的合成





将对溴苯甲醛(7.97 g, 43 mmol)、叠氮化钠(5.57 g, 86 mmol)、碘化亚铜(817 mg, 4.3 mmol)、L-脯氨酸(1.48 g, 12.9 mmol)、氢氧化钠(515 mg, 12.9 mmol)、乙醇(70 mL)和水(20 mL)加入反应瓶中, 95 °C反应 24 小时, 反应结束后冷却, 加入水, 用乙酸乙酯(100 mL×3)萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤后将滤液减压浓缩, 残余物通过硅胶色谱纯化, 得到化合物 **26** (5.5 g, 产率 87%)。MS(ESI): $(\text{M}+\text{H})^+$ 计算值 148.0, 实验值 148.1。

将锌粉(7.3 g, 113 mmol)和四氢呋喃(50 mL)加入反应瓶中, 在 10 °C下滴入溴化丙炔(14.9 g, 125.5 mmol)四氢呋喃(30 mL)溶液。在 10 °C反应 2 小时, 缓慢滴加 **26** (2.75 g, 18.7 mmol)四氢呋喃(30 mL)溶液, 再搅拌 2 小时。将反应液在 0 °C下倒入 1N HCl 水溶液中, 用乙酸乙酯(100 mL×3)萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤后将滤液减压浓缩, 残余物通过硅胶色谱纯化, 得到化合物 **27** (3.15 g, 产率 90%)。MS(ESI): $(\text{M}+\text{H})^+$ 计算值 188.0, 实验值 188.1。

将化合物 **27** (1 g, 5.3 mmol)和二氯甲烷(5 mL)加入反应瓶中, 0 °C下滴加二氯亚砶(1.9 g, 16 mmol), 加完后恢复至 25 °C反应 2 小时, 减压移去溶剂和剩余二氯亚砶, 加入硫代乙酸钾(906 mg, 8 mmol)和 N,N -二甲基甲酰胺(10 mL), 25 °C反应 12 小时, 加入水, 用乙酸乙酯(100 mL×3)萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤后将滤液减压浓缩, 加入四氢呋喃(10 mL)和氢氧化钾(594 mg, 10.6 mmol)溶液, 25 °C反应 2 小时, 加入水, 用乙酸乙酯(20 mL×3)萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤后将滤液减压浓缩, 残余物通过硅胶色谱纯化, 得到化合物 **28** (612 mg, 产率 56%)。MS(ESI): $(\text{M}+\text{H})^+$ 计算值 204.0, 实验值 204.1。

将环氧环己烷(1.47 g, 15 mmol)和 40%氢氧化三甲基苯基铵(2.5 g, 6 mmol)加入反应瓶中, 将化合物 **28** (612 mg, 3 mmol)溶于 N,N -二甲基甲酰胺(6 mL)滴加入上述反应体系中, 25 °C反应 3 小时, 加入水, 用乙酸乙酯(20 mL×3)萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤后将滤液减压浓缩, 残余物通过硅胶色谱纯化, 得到化合物 **29** (813 mg, 产率 90%)。MS(ESI): $(\text{M}+\text{H})^+$ 计算值 302.1, 实验值 302.1。

将三甲基氧基硅烷(3.86 g, 39 mmol)加入四氢呋喃(20 mL)中, 在 0 °C下向其中滴加四丁基氟化铵(35.7 mL, 1M), 反应 1 小时后, 向其中加入化合物 **30** (10 g, 32.5 mmol)的乙腈(30 mL)溶液, 在 80 °C反应 1 小时, 冷却后移除溶剂, 残余物通过硅胶色谱纯化, 得到化合物 **31** (5.4 g, 产率 66%)。MS(ESI): $(\text{M}+\text{H})^+$ 计算值 254.0, 实验值 254.1。

将化合物 **31** (5.4 g, 21.5 mmol)加入四氢呋喃, 在 0 °C下向其中滴加硼烷四氢呋喃(21.5 mL, 1M)溶液, 然后在 25 °C下反应 16 小时, 加入甲醇淬灭反应, 减压移除溶剂, 残余物通过硅胶色谱纯化, 得到化合物 **32** (4.1 g, 产率 74%)。MS(ESI): $(\text{M}+\text{H})^+$ 计算值 258.0, 实验值 258.1。

将化合物 **32** (4.1 g, 15.9 mmol)和三乙胺(3.2 g, 31.8 mmol)加入二氯甲烷(30 mL)中, 在 0 °C下向其中滴加三氟乙酸酐(5 g, 23.8 mmol), 然后在 25 °C反应 1 小时, 加入水稀释, 用二氯甲烷(20 mL×3)萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤后将滤液减压浓缩, 残余物通过硅胶色谱纯化, 得到化合物 **33** (5.6 g, 产率 60%)。MS(ESI): $(\text{M}+\text{H})^+$ 计算值 354.0, 实验值 354.1。

将化合物 **33** (5.6 g, 9.5 mmol)和多聚甲醛(0.37 g, 12.4 mmol)加入硫酸中, 在 25 °C下反应 1 小时, 将反应液倒入冰水中, 用乙酸乙酯(20 mL×3)萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤后将滤液减压浓缩, 残余物通过硅胶色谱纯化, 得到化合物 **34** (2.77 g, 产率 80%)。MS(ESI): $(\text{M}+\text{H})^+$ 计算

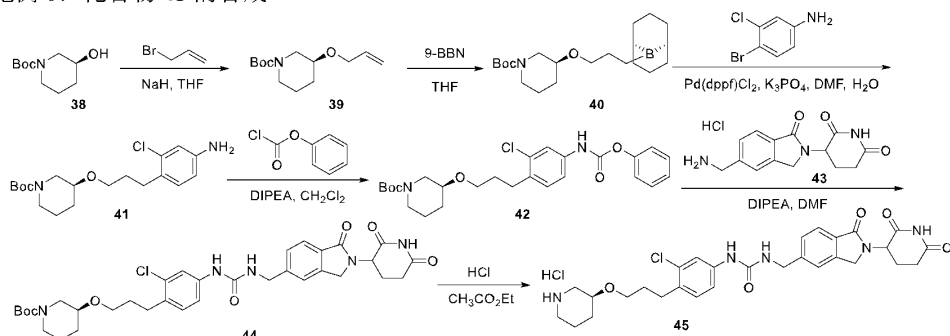
值 366.0, 实验值 366.1。

将化合物 **34** (2.77 g, 7.6 mmol) 加入四氢呋喃中, 在 0 °C 下向其中滴加二异丁基氢化铝, 然后在 25 °C 下反应 2 小时, 加入水淬灭反应, 过滤后将滤液减压浓缩, 残余物通过硅胶色谱纯化, 得到化合物 **35** (1.65 g, 产率 90%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 242.0, 实验值 242.1。

将化合物 **35** (1.65 g, 6.8 mmol)、叠氮化钠(3.5 g, 54.4 mmol)、碘化亚铜(130 mg, 0.68 mmol)、L-脯氨酸(0.4 g, 2 mmol)、氢氧化钠(80 mg, 2 mmol)加入乙醇(20 mL)和水(10 mL)中, 在 95 °C 反应 24 小时, 冷却后加入水, 用乙酸乙酯(20 mL×3)萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤后将滤液减压浓缩, 残余物通过硅胶色谱纯化, 得到化合物 **36** (0.97 g, 产率 70%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 205.1, 实验值 205.1。

将化合物 **36** (0.97 g, 4.8 mmol)、化合物 **16** (1.8 g, 5.04 mmol)和三乙胺(0.76 g, 7.2 mmol)加入四氢呋喃(10 mL)中, 在 25 °C 反应 12 小时, 减压移除溶剂, 残余物通过硅胶色谱纯化, 得到化合物 **37** (1.7 g, 产率 80%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 447.2, 实验值 447.1。

实施例 6: 化合物 **45** 的合成



将化合物 **38** (10 g, 50 mmol) 溶于四氢呋喃(120 mL), 在 0 °C 加入氢化钠(4 g, 100 mmol), 搅拌 0.5 小时。然后加入烯丙基溴(12.1 g, 100 mmol), 反应 2 小时, 加入饱和氯化铵溶液淬灭反应。用乙酸乙酯萃取 (10 mL X 3), 合并有机相, 无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液减压浓缩, 残留物通过硅胶柱纯化, 得到化合物 **39** (4.65 g, 产率 66 %)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 142.2, 实验值 142.3。

将化合物 **39** (4.65 g, 33 mmol) 加入四氢呋喃(100 mL)中加入 9-硼双环[3.3.1]壬烷(80 mL, 0.5M)的四氢呋喃溶液, 80 °C 反应 2 小时, 冷却至室温, 反应液直接用于下一步反应。

向化合物 **40** 的反应液加入 N,N-二甲基甲酰胺(100 mL), 磷酸钾(8.7 g, 41 mmol)水溶液, 搅拌 10 分钟, 加入 3-氯-4-溴苯胺 (6.8 g, 33 mmol)和[1,1'-双(二苯基膦)二茂铁]二氯化钯(2.4 g, 3.3 mmol), 90 °C 反应 3 小时, 冷却恢复至室温, 用乙酸乙酯萃取(10 mL X 3), 合并有机相, 无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液减压浓缩, 残留物通过硅胶柱纯化, 得化合物 **41** (3.7 g, 产率 42 %)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 269.1, 实验值 269.1。

将化合物 **41** (3.7 g, 13.8 mmol) 加入二氯甲烷 (90 mL), 向溶液中依次加入二异丙基乙胺(3.5 g, 27 mmol)和氯甲酸苄酯(2.5 g, 16 mmol), 25 °C 反应 0.5 小时, 将反应液减压浓缩, 残留物通过硅胶柱纯化, 得到化合物 **42** (4.66 g, 产率 89 %)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 389.2, 实际值 389.2。

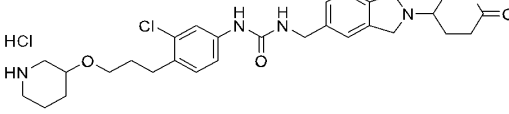
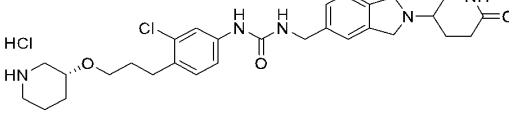
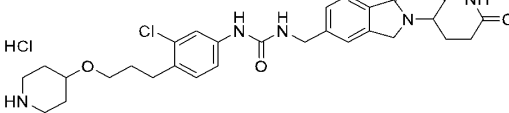
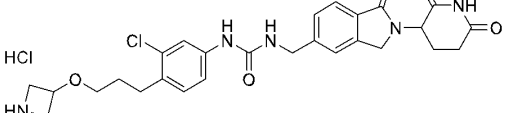
将化合物 **42** (4.66 g, 12 mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺(50 mL), 随后加入化合物 **43** (4.08 g, 13.2 mmol), 超声使固体在溶液中分散后, 加入二异丙基乙胺(48 mmol), 在 50 °C 反应 3 小时, 冷却恢复至室温, 加入水, 用乙酸乙酯萃取(20 mL X 3), 合并有机相, 无水硫酸钠干燥后过滤, 滤液减压浓缩, 残留物通过硅胶柱纯化, 得化合物 **44** (6.4 g, 收率 94 %)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 568.2, 实验值 568.4。

将化合物 **44** (1.6 g, 2.8 mmol) 加入二氯甲烷 (19 mL), 在 0 °C 下向其中滴加氯化氢乙酸乙酯溶液 (11 mL, 4 M), 继续反应 2 小时, 减压移除溶剂, 真空干燥得到化合物 **45** (1.6 g, 产率 94 %)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 568.2, 实验值 568.3。

实施例 7: 化合物 **46-49** 的合成

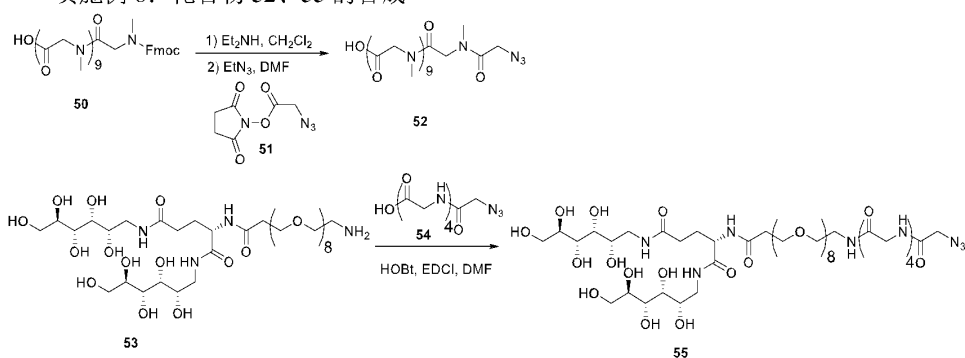
表 3

编号	结构式	MS(ESI): (M+H) ⁺	
		计算值	实验值

46		568.2	568.3
47		568.2	568.3
48		568.2	568.4
49		540.2	540.4

化合物 **46-49** 的合成参考化合物 **45** 的合成路线。

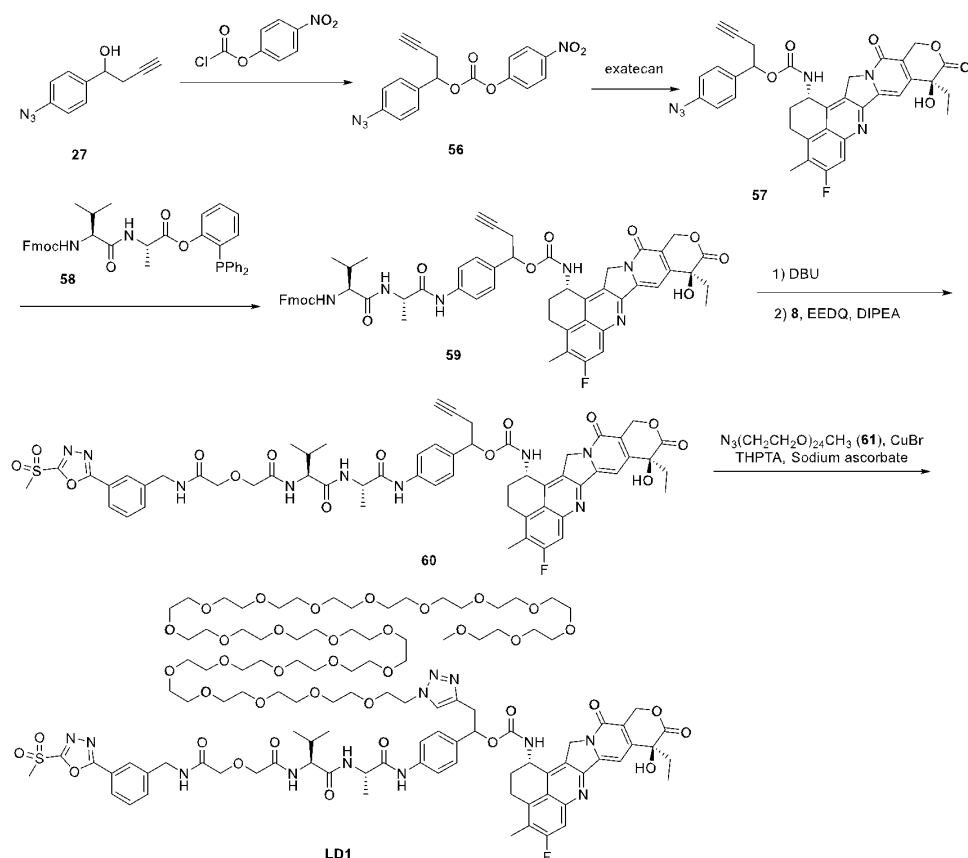
实施例 8: 化合物 **52**、**55** 的合成



将化合物 **50** (1.1 g, 1.06 mmol, 从固相肽合成中获得) 和二乙基胺 (3.89 g, 53.24 mmol) 溶于二氯甲烷 (5 mL) 中, 使用 N_2 吹扫反应液 3 次, 然后在 25°C 反应 1 小时, 原料完全转化后, 将反应液减压移除溶剂, 然后在高真空中抽走低沸点化合物, 接着加入化合物 **51** (3.15 g, 1.6 mmol) 和 *N,N*-二甲基甲酰胺 (4 mL), 然后搅拌, 在 25°C 下向其中滴加三乙胺 (3.23 g, 3.2 mmol), 反应 6 小时后经 LCMS 检测没有原料剩余, 减压移除过量的三乙胺, 残余物直接通过反相色谱分离得到化合物 **52** (810 mg, 产率 10%)。MS(ESI): $(M+H)^+$ 计算值 812.4, 实验值 812.3。

将化合物 **53** (1.2 g, 1.36 mmol, 参考专利 CN 111757757 A 已报道的合成路线进行合成) 和化合物 **54** (447 mg, 1.36 mmol, 从固相肽合成中获得) 加入 *N,N*-二甲基甲酰胺 (40 mL) 中, 然后继续加入 1-羟基苯并三唑 (40 mg, 0.26 mmol) 和 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (285 mg, 1.46 mmol), 在 25°C 下搅拌反应 16 小时, 停止反应后减压移除溶剂, 残余物通过反相色谱分离, 得到化合物 **55** (820 mg, 产率 50%)。MS(ESI): $(M+H)^+$ 计算值 1208.5, 实验值 1208.6。

实施例 9: 化合物 **LD1** 的合成



将化合物 **27** (2.15 g, 11.5 mmol)、氯甲酸对硝基苯酯(3 g, 15 mmol)和 N,N-二甲基甲酰胺(15 mL)加入反应瓶, 搅拌并缓慢滴加三乙胺(2.32 g, 23 mmol), 25 °C 反应 4 小时, 减压移去溶剂, 残余物通过硅胶色谱纯化, 得到化合物 **56** (4.05 g, 产率 100%)。

将化合物 **56** (176 mg, 0.5 mmol)、依喜替康甲磺酸盐(243 mg, 0.45 mmol)和 N,N-二甲基甲酰胺(2 mL)加入反应瓶, 搅拌并缓慢滴加三乙胺(101 mg, 1 mmol), 25 °C 反应 6 小时, 减压移去溶剂, 残余物通过硅胶色谱纯化, 得到化合物 **57** (259 mg, 产率 89%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 649.2, 实验值 649.1。

将化合物 **57** (259 mg, 0.4 mmol)和化合物 **58** (670 mg, 1 mmol, 参考专利 WO 2021252708 A1 已报道的反应路线进行合成)加入反应瓶, 换氮气三次, 加入四氢呋喃(10 mL)和水(4 mL), 25 °C 反应 24 小时, 加水(10 mL)稀释, 用乙酸乙酯(20 mL×3)萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤后将滤液减压浓缩, 残余物通过硅胶色谱纯化, 得到化合物 **59** (239 mg, 产率 59%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 1015.4, 实验值 1015.3。

将化合物 **59** (239 mg, 0.24 mmol)和 N,N-二甲基甲酰胺(2 mL)加入反应瓶, 滴加 1,8-二偶氮杂双螺环 [5.4.0]十一-7-烯(18 mg, 0.12 mmol), 25 °C 反应 0.5 小时, 向上述反应体系中加入化合物 **8** (107 mg, 0.29 mmol)、2-乙氧基-1-乙氧羰基-1,2-二氢喹啉(890 mg, 0.36 mmol)、二异丙基乙胺(48 mg, 0.48 mmol)和 N,N-二甲基甲酰胺(10 mL), 25 °C 反应 24 小时, 加水(20 mL)稀释, 用乙酸乙酯(20 mL×3)萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤后将滤液减压浓缩, 残余物通过硅胶色谱纯化, 得到化合物 **60** (192 mg, 产率 70%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 1144.4, 实验值 1144.3。

将化合物 **60** (192 mg, 0.168 mmol)、化合物 **61** (280 mg, 0.252 mmol) 抗坏血酸钠(7 mg, 0.034 mmol)、三(3-羟丙基三唑甲基)胺(15 mg, 0.034 mmol)和溴化亚铜(5 mg, 0.034 mmol)加入反应瓶, 换氮气三次, 加入叔丁醇(4 mL)和水(1 mL), 25 °C 反应 12 小时, 加水(10 mL)稀释, 用乙酸乙酯(20 mL×3)萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤后将滤液减压浓缩, 残余物通过硅胶色谱纯化, 得到化合物 **LD1** (220 mg, 产率 62%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 2258.0, 实验值 2258.2。

实施例 10: 化合物 **LD2-19**、**LD23-28**、**LD32-54** 的合成

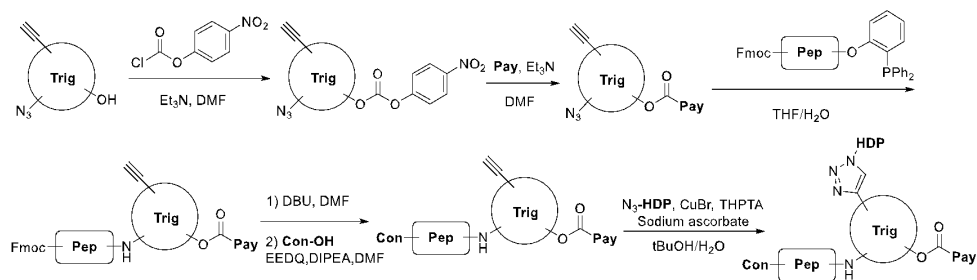


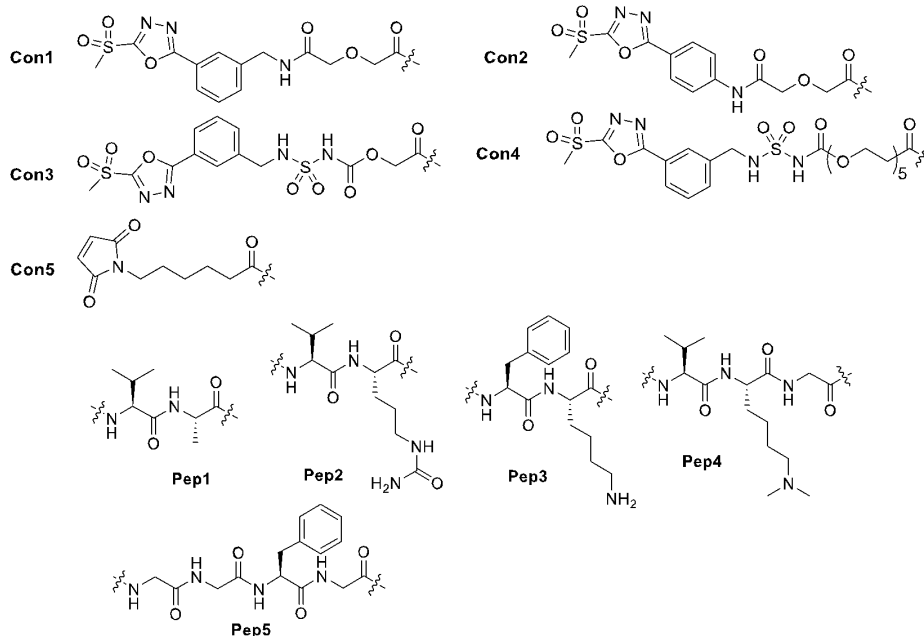
表 4

编号	Con	Pep	Trig	HDP	Pay	MS(ESI):(M+H) ⁺	
						计算值	实验值
LD2	Con2	Pep1	Trig1	HDP1	Pay1	2244.0	2244.1
LD3	Con3	Pep1	Trig1	HDP1	Pay1	2323.0	2323.1
LD4	Con4	Pep1	Trig1	HDP1	Pay1	2513.1	2513.0
LD5	Con5	Pep1	Trig1	HDP1	Pay1	2100.0	2100.2
LD6	Con1	Pep1	Trig1	HDP2	Pay1	1955.8	1955.9
LD7	Con2	Pep1	Trig1	HDP2	Pay1	1941.8	1941.8
LD8	Con3	Pep1	Trig1	HDP2	Pay1	2020.7	2020.6
LD9	Con4	Pep1	Trig1	HDP2	Pay1	2210.8	2210.9
LD10	Con5	Pep1	Trig1	HDP2	Pay1	1797.8	1797.8
LD11	Con1	Pep1	Trig1	HDP3	Pay1	2351.9	2352.0
LD12	Con2	Pep1	Trig1	HDP3	Pay1	2337.9	2338.0
LD13	Con3	Pep1	Trig1	HDP3	Pay1	2416.9	2416.9
LD14	Con4	Pep1	Trig1	HDP3	Pay1	2607.0	2607.1
LD15	Con5	Pep1	Trig1	HDP3	Pay1	2194.0	2194.1
LD16	Con1	Pep2	Trig1	HDP1	Pay1	2344.1	2344.1
LD17	Con1	Pep3	Trig1	HDP1	Pay1	2363.1	2363.2
LD18	Con1	Pep4	Trig1	HDP1	Pay1	2391.1	2391.2
LD19	Con1	Pep5	Trig1	HDP1	Pay1	2406.0	2406.1
LD23	Con1	Pep1	Trig1	HDP1	Pay2	2276.0	2276.0
LD24	Con2	Pep1	Trig1	HDP1	Pay2	2262.0	2262.1
LD25	Con1	Pep1	Trig1	HDP1	Pay3	2262.0	2262.1
LD26	Con1	Pep1	Trig1	HDP1	Pay4	2232.0	2232.1
LD27	Con1	Pep1	Trig1	HDP1	Pay5	2272.0	2272.0
LD28	Con1	Pep1	Trig1	HDP2	Pay6	1883.7	1883.6
LD32	Con1	Pep1	Trig1	HDP1	Pay7	2552.3	2552.4
LD33	Con1	Pep1	Trig1	HDP2	Pay7	2250.0	2250.0
LD34	Con1	Pep1	Trig1	HDP3	Pay7	2646.2	2646.3
LD35	Con2	Pep1	Trig1	HDP1	Pay7	2538.3	2538.5
LD36	Con2	Pep1	Trig1	HDP2	Pay7	2236.0	2236.1
LD37	Con2	Pep1	Trig1	HDP3	Pay7	2632.2	2632.1
LD38	Con1	Pep1	Trig1	HDP1	Pay8	2390.1	2390.1
LD39	Con2	Pep1	Trig1	HDP1	Pay8	2376.1	2376.1
LD40	Con1	Pep1	Trig1	HDP3	Pay8	2484.0	2484.0
LD41	Con2	Pep1	Trig1	HDP3	Pay8	2470.0	2470.1
LD42	Con1	Pep1	Trig1	HDP1	Pay9	2390.1	2390.1
LD43	Con1	Pep1	Trig1	HDP1	Pay10	2390.1	2390.1
LD44	Con1	Pep1	Trig1	HDP1	Pay11	2390.1	2390.2
LD45	Con1	Pep1	Trig1	HDP1	Pay12	2362.0	2362.2
LD46	Con2	Pep1	Trig1	HDP1	Pay13	2123.0	2123.1
LD47	Con2	Pep1	Trig1	HDP2	Pay13	1820.8	1820.9
LD48	Con2	Pep1	Trig1	HDP3	Pay13	2216.9	2216.8
LD49	Con1	Pep1	Trig2	HDP1	Pay1	2503.2	2503.1
LD50	Con1	Pep1	Trig3	HDP1	Pay1	2517.2	2517.3

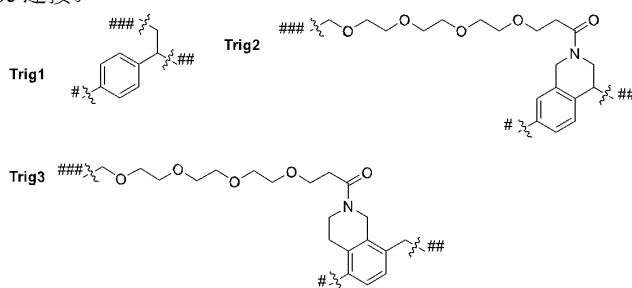
LD51	Con1	Pep1	Trig2	HDP2	Pay1	2200.9	2201.0
LD52	Con1	Pep1	Trig3	HDP2	Pay1	2214.9	2214.9
LD53	Con1	Pep1	Trig2	HDP3	Pay1	2597.0	2597.1
LD54	Con1	Pep1	Trig3	HDP3	Pay1	2611.1	2611.0

化合物 LD2-19、LD23-28、LD32-54 的合成路线参考化合物 LD1 的合成。

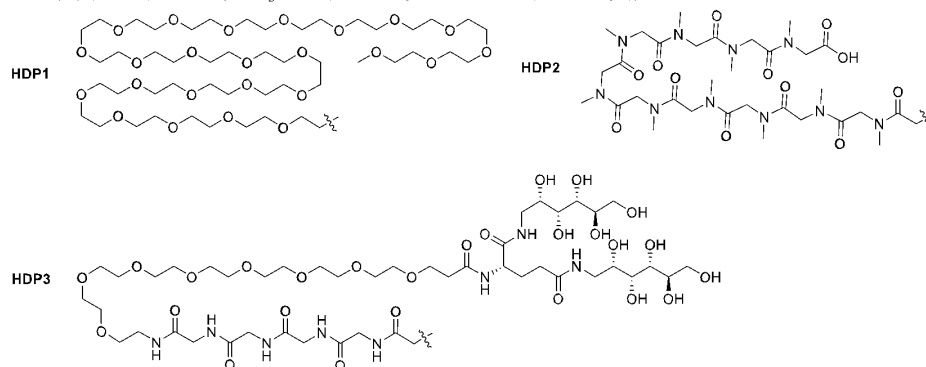
Con1-5、Pep1-5、Trig1-3、HDP1-3、Pay1-13 结构如下所示：

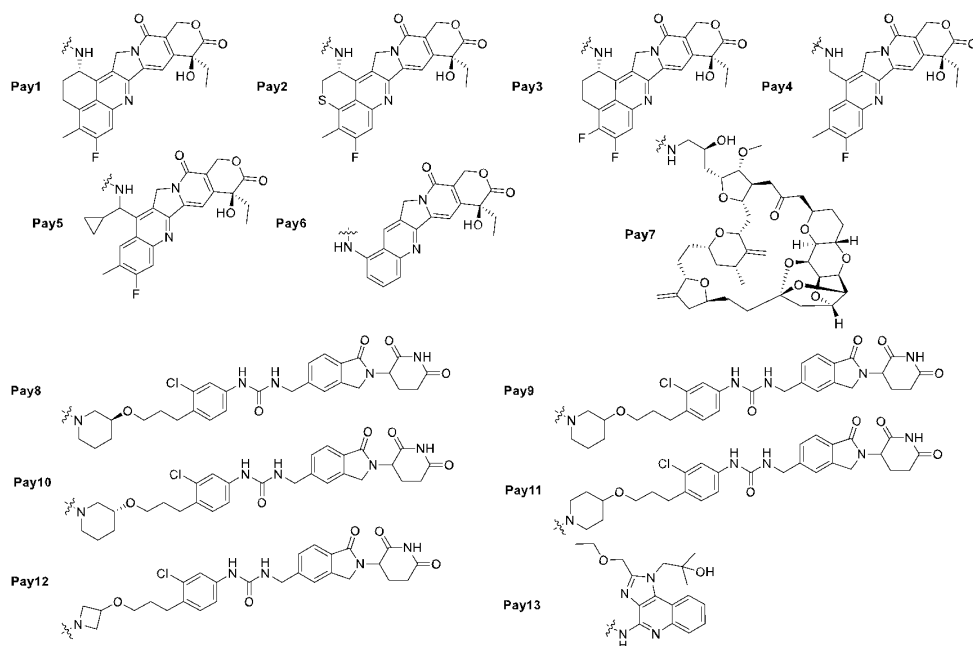


其中，氮端与 Fmoc 连接。



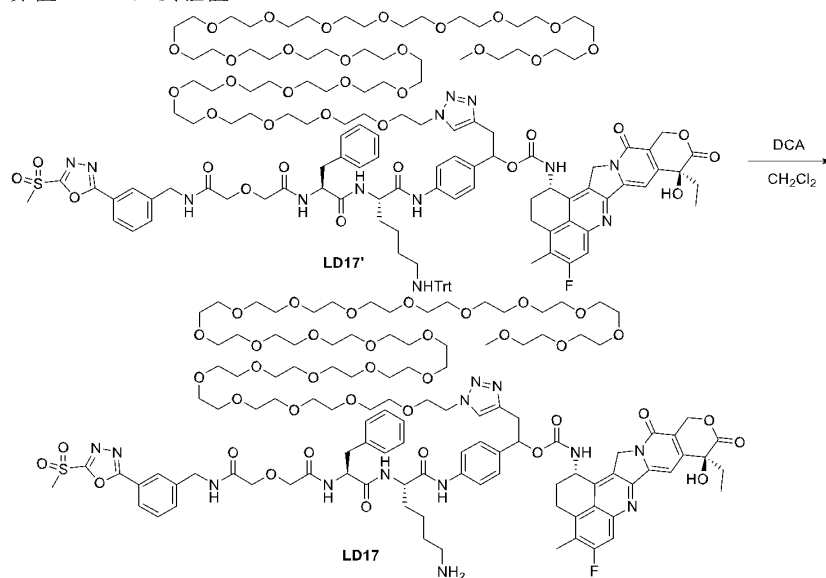
其中，#位置连接-N₃，##位置连接-OH，###位置连接炔基。





化合物 **LD17** 的合成

参考化合物 **LD1** 的合成路线, 合成化合物 **LD17'**。将化合物 **LD17'** (130 mg, 0.05 mmol) 溶于二氯甲烷 (2 mL) 中, 在 0°C 下向上述反应体系中加入二氯乙酸 (2 mL) 和少量三乙基硅烷, 反应 3 小时后结束, 减压移除溶剂, 残余物通过硅胶色谱纯化, 得到化合物 **LD17** (70 mg, 产率 60%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 2363.1, 实验值 2363.2。



实施例 11: 化合物 **LD20-22** 的合成

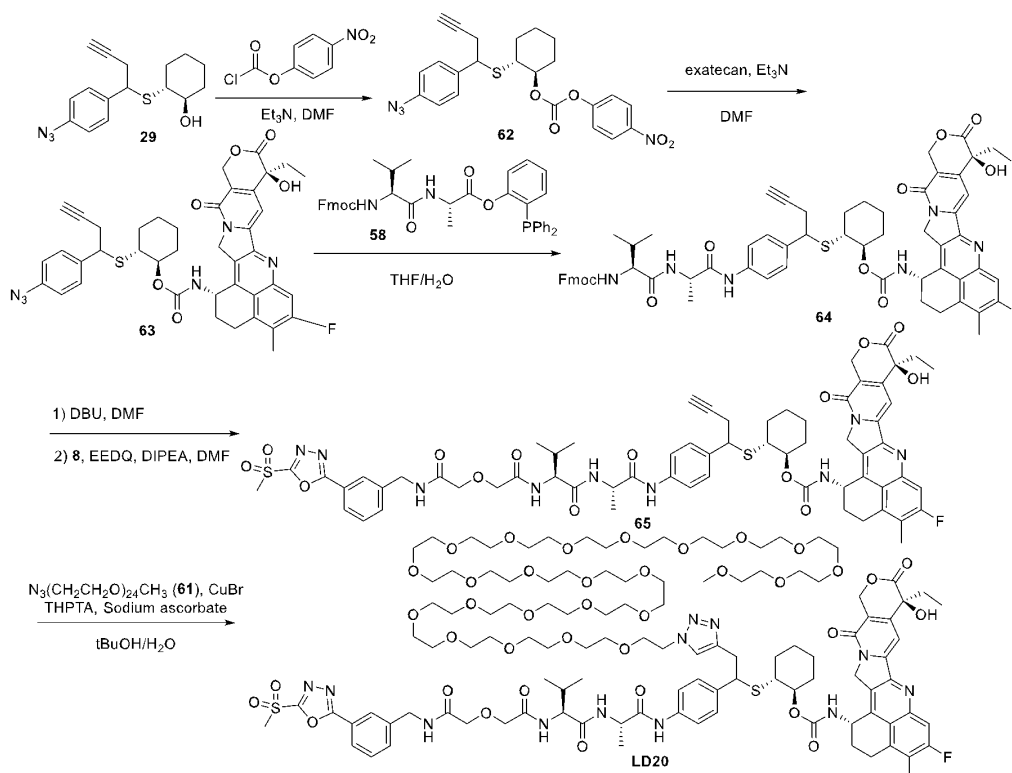
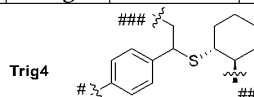


表 5

编号	Con	Pep	Trig	HDP	Pay	MS(ESI): (M+H) ⁺	
						计算值	实验值
LD20	Con1	Pep1	Trig4	HDP1	Pay1	2372.1	2372.2
LD21	Con1	Pep1	Trig4	HDP2	Pay1	2069.8	2069.9
LD22	Con1	Pep1	Trig4	HDP3	Pay1	2466.0	2466.0



其中, #位置连接-N₃, ##位置连接-OH, ###位置连接炔基。

将化合物 **29** (3 g, 10 mmol)、氯甲酸对硝基苯酯(3 g, 15 mmol)和 N,N-二甲基甲酰胺(12 mL)加入反应瓶, 搅拌并缓慢滴加三乙胺(2 g, 20 mmol), 25 °C 反应 4 小时, 减压移去溶剂, 残余物通过硅胶色谱纯化, 得到化合物 **62** (4.5 g, 产率 96%)。

将化合物 **62** (233 mg, 0.5 mmol)、依喜替康甲磺酸盐(243 mg, 0.45 mmol)和 N,N-二甲基甲酰胺(2 mL)加入反应瓶, 搅拌并缓慢滴加三乙胺(101 mg, 1 mmol), 25 °C 反应 6 小时, 减压移去溶剂, 残余物通过硅胶色谱纯化, 得到化合物 **63** (343 mg, 产率 90%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 763.2, 实验值 763.3。

将化合物 **63** (343 mg, 0.45 mmol)和化合物 **58** (670 mg, 1 mmol, 参考专利 WO 2021252708 A1 已报道的反应路线进行合成)加入反应瓶, 换氮气三次, 加入四氢呋喃(10 mL)和水(4 mL), 25 °C 反应 24 小时, 加水(10 mL)稀释, 用乙酸乙酯(20 mL×3)萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤后将滤液减压浓缩, 残余物通过硅胶色谱纯化, 得到化合物 **64** (304 mg, 产率 60%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 1129.4, 实验值 1129.3。

将化合物 **64** (304 mg, 0.27 mmol)和 N,N-二甲基甲酰胺(2 mL)加入反应瓶, 滴加 1,8-二偶氮杂双螺环 [5.4.0]十一-7-烯(18 mg, 0.13 mmol), 25 °C 反应 0.5 小时, 向上述反应体系中加入化合物 **8** (107 mg, 0.3 mmol)、2-乙氧基-1-乙氧羰酰基-1,2-二氢喹啉(890 mg, 0.36 mmol)、二异丙基乙胺(54 mg, 0.54 mmol)和 N,N-二甲基甲酰胺(10 mL), 25 °C 反应 24 小时, 加水(20 mL)稀释, 用乙酸乙酯(20 mL×3)萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤后将滤液减压浓缩, 残余物通过硅胶色谱纯化, 得到化合物 **65** (170 mg, 产率 50%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 1258.4, 实验值 1258.3。

将化合物 **65** (170 mg, 0.135 mmol)、化合物 **61** (235 mg, 0.21 mmol) 抗坏血酸钠(6 mg, 0.027 mmol)、三(3-羟丙基三唑甲基)胺(11 mg, 0.027 mmol)和溴化亚铜(4 mg, 0.027 mmol)加入反应瓶, 换氮气三次, 加入叔丁醇(4 mL)和水(1 mL), 25 °C反应 12 小时, 加水(10 mL)稀释, 用乙酸乙酯(20 mL×3)萃取, 合并有机相, 用饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤后将滤液减压浓缩, 残余物通过硅胶色谱纯化, 得到化合物 **LD20** (180 mg, 产率 56%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 2372.1, 实验值 2372.2。

化合物 **LD21-22** 的合成路线参考化合物 **LD20** 的合成。

实施例 12: 化合物 **LD29-31** 的合成

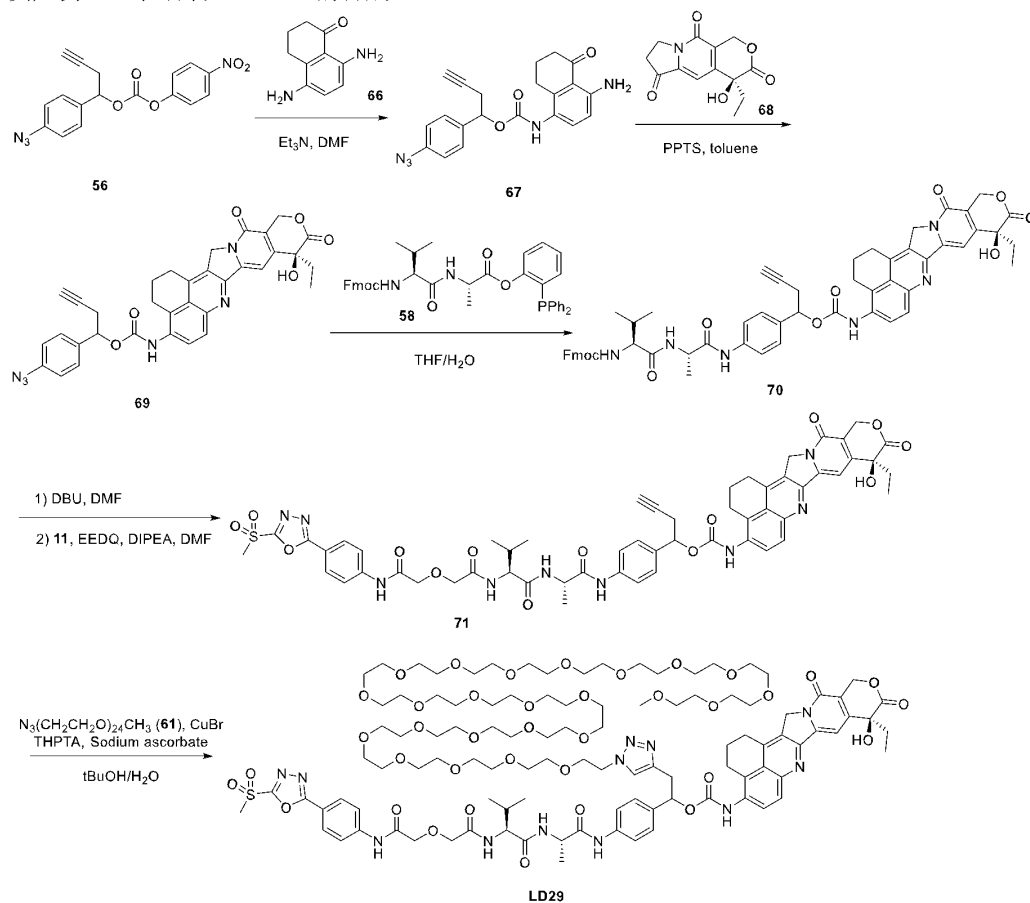
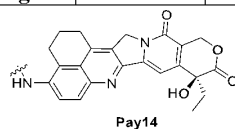


表 6

编号	Con	Pep	Trig	HDP	Pay	MS(ESI): (M+H) ⁺	
						计算值	实验值
LD29	Con2	Pep1	Trig1	HDP1	Pay14	2212.0	2212.2
LD30	Con2	Pep1	Trig1	HDP2	Pay14	1909.7	1909.8
LD31	Con2	Pep1	Trig1	HDP3	Pay14	2305.9	2306.0



将化合物 **56** (176 mg, 0.5 mmol)、化合物 **66** (88 mg, 0.5 mmol)和 N,N-二甲基甲酰胺(2 mL)加入反应瓶, 搅拌并缓慢滴加三乙胺(101 mg, 1 mmol), 25 °C反应 12 小时, 减压移去溶剂, 残余物通过硅胶色谱纯化, 得到化合物 **67** (128 mg, 产率 66%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 390.1, 实验值 390.1。

将化合物 **67** (128 mg, 0.33 mmol)、化合物 **68** (95 mg, 0.36 mmol)、对甲苯磺酸吡啶(8 mg, 0.03 mmol)和甲苯(5 mL)加入反应瓶, 100 °C反应 12 小时, 然后冷却至室温。将所述混合物过滤, 固体用甲苯(5 mL)洗涤, 得到化合物 **69** (185 mg, 产率 90%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 617.2, 实验值 617.3。

将化合物 **69** (185 mg, 0.3 mmol)和化合物 **58** (503 mg, 0.75 mmol, 参考专利 WO 2021252708 A1 已报道

的反应路线进行合成)加入反应瓶,换氮气三次,加入四氢呋喃(10 mL)和水(4 mL), 25 °C反应 24 小时,加水(10 mL)稀释,用乙酸乙酯(20 mL×3)萃取,合并有机相,用饱和食盐水洗,无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩,残余物通过硅胶色谱纯化,得到化合物 **70** (177 mg, 产率 60%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 983.4, 实验值 983.3。

将化合物 **70** (177 mg, 0.18 mmol)和 N,N-二甲基甲酰胺(2 mL)加入反应瓶,滴加 1,8-二偶氮杂双螺环[5.4.0]十一-7-烯(14 mg, 0.09 mmol), 25 °C反应 0.5 小时,向上述反应体系中加入化合物 **11** (82 mg, 0.22 mmol)、2-乙氧基-1-乙氧碳酸基-1,2-二氢喹啉(666 mg, 0.27 mmol)、二异丙基乙胺(36 mg, 0.36 mmol)和 N,N-二甲基甲酰胺(10 mL), 25 °C反应 24 小时,加水(20 mL)稀释,用乙酸乙酯(20 mL×3)萃取,合并有机相,用饱和食盐水洗,无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩,残余物通过硅胶色谱纯化,得到化合物 **71** (150 mg, 产率 75%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 1112.4, 实验值 1112.3。

将化合物 **71** (150 mg, 0.135 mmol)、化合物 **61** (224 mg, 0.202 mmol)、抗坏血酸钠(5 mg, 0.027 mmol)、三(3-羟丙基三唑甲基)胺(12 mg, 0.027 mmol)和溴化亚铜(4 mg, 0.027 mmol)加入反应瓶,换氮气三次,加入叔丁醇(4 mL)和水(1 mL), 25 °C反应 12 小时,加水(10 mL)稀释,用乙酸乙酯(20 mL×3)萃取,合并有机相,用饱和食盐水洗,无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩,残余物通过硅胶色谱纯化,得到化合物 **LD29** (155 mg, 产率 60%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 2212.0, 实验值 2212.2。

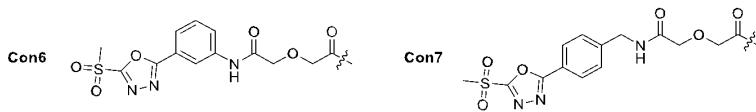
化合物 **LD30-31** 的合成路线参考化合物 **LD29** 的合成。

参考前述实施例还可以合成表 7 所示的化合物 (其中含有 **Pep3** 结构的终产物参考 **LD17** 进行酸处理获得)。

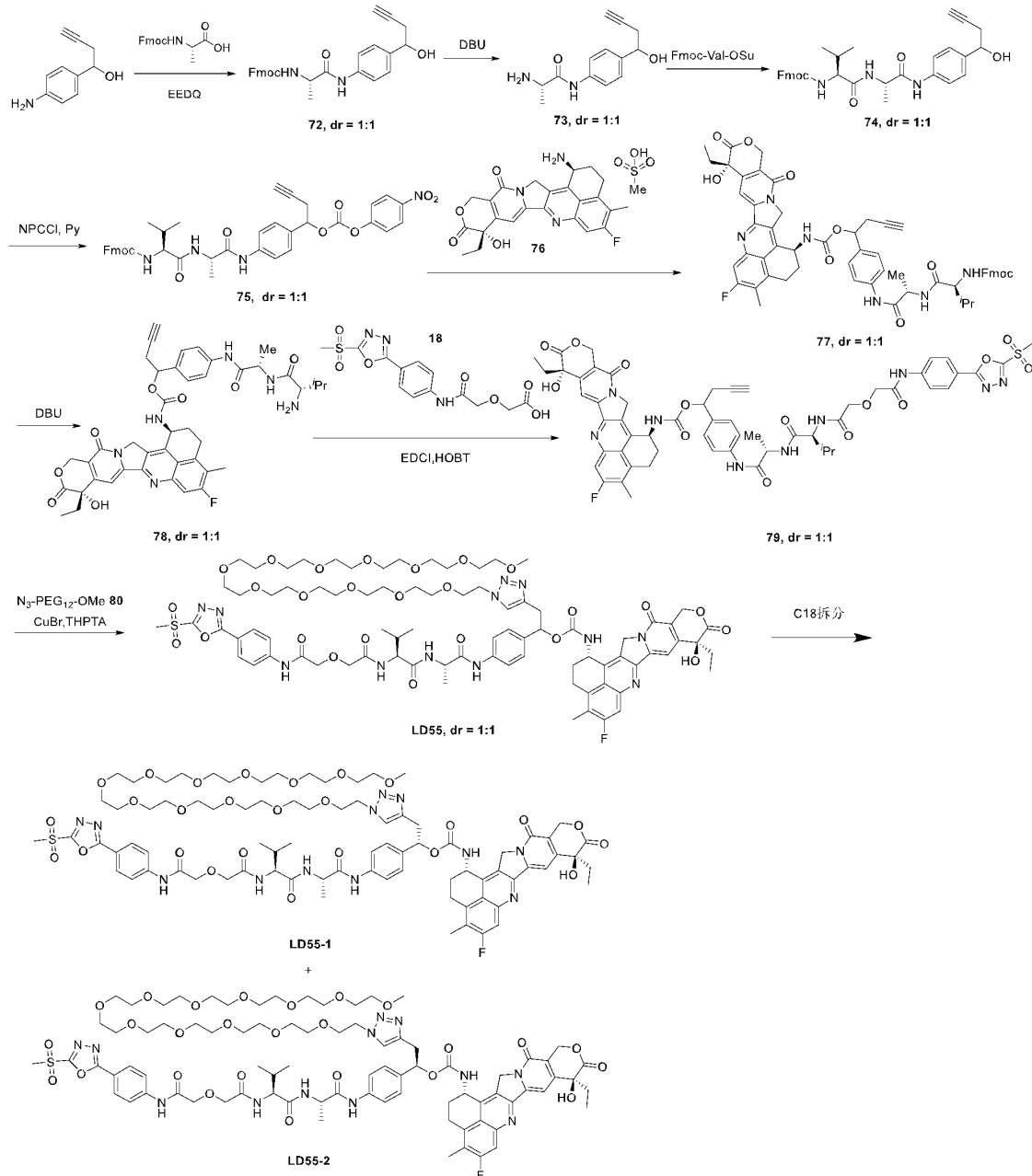
表 7

编号	Con	Pep	Trig	HDP	Pay
LD56	Con5	Pep1	Trig1	HDP3	Pay1
LD57	Con6	Pep1	Trig1	HDP3	Pay1
LD58	Con5	Pep2	Trig1	HDP3	Pay1
LD59	Con6	Pep2	Trig1	HDP3	Pay1
LD60	Con5	Pep3	Trig1	HDP3	Pay1
LD61	Con6	Pep3	Trig1	HDP3	Pay1
LD62	Con5	Pep4	Trig1	HDP3	Pay1
LD63	Con6	Pep4	Trig1	HDP3	Pay1
LD64	Con5	Pep5	Trig1	HDP3	Pay1
LD65	Con6	Pep5	Trig1	HDP3	Pay1
LD66	Con5	Pep1	Trig2	HDP3	Pay1
LD67	Con6	Pep1	Trig2	HDP3	Pay1
LD68	Con5	Pep2	Trig2	HDP3	Pay1
LD69	Con6	Pep2	Trig2	HDP3	Pay1
LD70	Con5	Pep3	Trig2	HDP3	Pay1
LD71	Con6	Pep3	Trig2	HDP3	Pay1
LD72	Con5	Pep4	Trig2	HDP3	Pay1
LD73	Con6	Pep4	Trig2	HDP3	Pay1
LD74	Con5	Pep5	Trig2	HDP3	Pay1
LD75	Con6	Pep5	Trig2	HDP3	Pay1
LD76	Con5	Pep1	Trig3	HDP3	Pay1
LD77	Con6	Pep1	Trig3	HDP3	Pay1
LD78	Con5	Pep2	Trig3	HDP3	Pay1
LD79	Con6	Pep2	Trig3	HDP3	Pay1
LD80	Con5	Pep3	Trig3	HDP3	Pay1
LD81	Con6	Pep3	Trig3	HDP3	Pay1
LD82	Con5	Pep4	Trig3	HDP3	Pay1
LD83	Con6	Pep4	Trig3	HDP3	Pay1
LD84	Con5	Pep5	Trig3	HDP3	Pay1
LD85	Con6	Pep5	Trig3	HDP3	Pay1
LD86	Con5	Pep1	Trig1	HDP3	Pay2
LD87	Con6	Pep1	Trig1	HDP3	Pay2
LD88	Con5	Pep2	Trig1	HDP3	Pay2
LD89	Con6	Pep2	Trig1	HDP3	Pay2

LD90	Con5	Pep3	Trig1	HDP3	Pay2
LD91	Con6	Pep3	Trig1	HDP3	Pay2
LD92	Con5	Pep4	Trig1	HDP3	Pay2
LD93	Con6	Pep4	Trig1	HDP3	Pay2
LD94	Con5	Pep5	Trig1	HDP3	Pay2
LD95	Con6	Pep5	Trig1	HDP3	Pay2
LD96	Con5	Pep1	Trig2	HDP3	Pay2
LD97	Con6	Pep1	Trig2	HDP3	Pay2
LD98	Con5	Pep2	Trig2	HDP3	Pay2
LD99	Con6	Pep2	Trig2	HDP3	Pay2
LD100	Con5	Pep3	Trig2	HDP3	Pay2
LD101	Con6	Pep3	Trig2	HDP3	Pay2
LD102	Con5	Pep4	Trig2	HDP3	Pay2
LD103	Con6	Pep4	Trig2	HDP3	Pay2
LD104	Con5	Pep5	Trig2	HDP3	Pay2
LD105	Con6	Pep5	Trig2	HDP3	Pay2
LD106	Con5	Pep1	Trig3	HDP3	Pay2
LD107	Con6	Pep1	Trig3	HDP3	Pay2
LD108	Con5	Pep2	Trig3	HDP3	Pay2
LD109	Con6	Pep2	Trig3	HDP3	Pay2
LD110	Con5	Pep3	Trig3	HDP3	Pay2
LD111	Con6	Pep3	Trig3	HDP3	Pay2
LD112	Con5	Pep4	Trig3	HDP3	Pay2
LD113	Con6	Pep4	Trig3	HDP3	Pay2
LD114	Con5	Pep5	Trig3	HDP3	Pay2
LD115	Con6	Pep5	Trig3	HDP3	Pay2
LD116	Con5	Pep1	Trig1	HDP3	Pay7
LD117	Con6	Pep1	Trig1	HDP3	Pay7
LD118	Con5	Pep2	Trig1	HDP3	Pay7
LD119	Con6	Pep2	Trig1	HDP3	Pay7
LD120	Con5	Pep3	Trig1	HDP3	Pay7
LD121	Con6	Pep3	Trig1	HDP3	Pay7
LD122	Con5	Pep4	Trig1	HDP3	Pay7
LD123	Con6	Pep4	Trig1	HDP3	Pay7
LD124	Con5	Pep5	Trig1	HDP3	Pay7
LD125	Con6	Pep5	Trig1	HDP3	Pay7
LD126	Con5	Pep1	Trig2	HDP3	Pay7
LD127	Con6	Pep1	Trig2	HDP3	Pay7
LD128	Con5	Pep2	Trig2	HDP3	Pay7
LD129	Con6	Pep2	Trig2	HDP3	Pay7
LD130	Con5	Pep3	Trig2	HDP3	Pay7
LD131	Con6	Pep3	Trig2	HDP3	Pay7
LD132	Con5	Pep4	Trig2	HDP3	Pay7
LD133	Con6	Pep4	Trig2	HDP3	Pay7
LD134	Con5	Pep5	Trig2	HDP3	Pay7
LD135	Con6	Pep5	Trig2	HDP3	Pay7
LD136	Con5	Pep1	Trig3	HDP3	Pay7
LD137	Con6	Pep1	Trig3	HDP3	Pay7
LD138	Con5	Pep2	Trig3	HDP3	Pay7
LD139	Con6	Pep2	Trig3	HDP3	Pay7
LD140	Con5	Pep3	Trig3	HDP3	Pay7
LD141	Con6	Pep3	Trig3	HDP3	Pay7
LD142	Con5	Pep4	Trig3	HDP3	Pay7
LD143	Con6	Pep4	Trig3	HDP3	Pay7
LD144	Con5	Pep5	Trig3	HDP3	Pay7
LD145	Con6	Pep5	Trig3	HDP3	Pay7



实施例 13: 化合物 LD55 合成以及 LD55-1、LD55-2 的拆分



0 摄氏度下, 将 1-(4-氨基苯基)-3-丁炔-1-醇(4997 mg, 31 mmol)、N-苄氧羰基-L-丙氨酸(9651 mg, 31 mmol)、EEDQ(11498 mg, 46.5 mmol)和超干 DCM (90 mL)加入反应瓶。反应 3h 后, 减压移去溶剂, 残余物中加入 500 mL MTBE 打浆, 得到化合物 **72** (9007 mg, 产率 64%, *dr* = 1:1)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 455.2, 实验值 455.2。

0 摄氏度下, 将 **72**(4000 mg, 8.8 mmol, *dr* = 1:1), 100 mL THF (市售)加入反应瓶。搅拌并缓慢加入 DBU (1337 mg, 8.8 mmol), 反应半小时后移至室温。TLC 监测原料消失后, 减压移去溶剂, 残余物通过硅胶色

谱纯化(DCM/MeOH 95:5),得到化合物 **73** (1776 mg, 产率 87%, $dr=1:1$)。MS(ESI): $(M+H)^+$ 计算值 233.1, 实验值 233.2。

将化合物 **73** (1624 mg, 7 mmol, $dr=1:1$)、Fmoc-Val-OSu(362 mg, 8.4 mmol, CASRN: 688585-20-8)和 N,N-二甲基甲酰胺(150 mL)加入反应瓶, 搅拌并缓慢滴加 DIEA (1158 μ L, 7 mmol), 25 °C 反应 12 小时, 减压移去溶剂, 加入 50 mL EA 和 50 mL PE 打浆, 析出白色固体, 重复三次, 得到化合物 **74** ($dr=1:1$)。MS(ESI): $(M+H)^+$ 计算值 554.3, 实验值 554.4。

将化合物 **74** (1303 mg, 2.4 mmol, $dr=1:1$)、氯甲酸对硝基苯酯(964.8 mg, 4.8 mmol)和 THF(120 mL)加入反应瓶, 搅拌并滴加 Py (382.8 μ L, 4.8 mmol), 65 °C 反应 1 小时, 减压移去溶剂, 残余物通过硅胶色谱纯化(DCM/MeOH 98:2), 得到化合物 **75** (1430 mg, 产率 83%, $dr=1:1$)。MS(ESI): $(M+Na)^+$ 计算值 741.3, 实验值 741.5。

将化合物 **75**(1554 mg, 2.2 mmol, $dr=1:1$)、依喜替康甲磺酸盐 **76** (520 mg, 1.8 mmol)和 N,N-二甲基甲酰胺(80 mL)加入反应瓶, 搅拌并缓慢滴加 DIEA (740 μ L, 4.5 mmol), 25 °C 反应 20 小时, 减压移去溶剂, 残余物通过硅胶色谱纯化(DCM/MeOH 95:5), 得到化合物 **77**(1442 mg, 产率 79%, $dr=1:1$)。MS(ESI): $(M+H)^+$ 计算值 1015.4, 实验值 1015.1。

0 摄氏度下, 将 **77** (1400 mg, 1.37 mmol, $dr=1:1$), 35 mL THF (市售)加入反应瓶。搅拌并缓慢加入 DBU (209 mg, 1.37 mmol), 反应半小时后移至室温继续反应 40 分钟, 直至 TLC 原料消失。将反应液真空浓缩除去 THF, 向残留物中加入 DCM/PE (20 mL/200 mL)打浆。经抽滤漏斗过滤得到 **78**(1032 mg, 产率 95%, $dr=1:1$)。MS(ESI): $(M+H)^+$ 计算值 793.3, 实验值 793.6。

将化合物 **78** (793 mg, 1 mmol, $dr=1:1$)、**18** (426 mg, 1.2 mmol)、EDCI (382 mg, 2 mmol)、HOBT (202 mg, 1.5 mmol)和 N,N-二甲基甲酰胺(10 mL)加入反应瓶, 25 °C 反应 1 小时, 减压移去溶剂, 残余物通过 C18 纯化(60% ACN/0.05% 甲酸 in H_2O), 冻干得到化合物 **79** (960 mg, 产率 85%, $dr=1:1$)。MS(ESI): $(M+H)^+$ 计算值 1130.4, 实验值 1130.7。

将化合物 **79** (903 mg, 0.8 mmol)、化合物 **80** (702 mg, 1.2 mmol)、三(3-羟丙基三唑甲基)胺(34.7 mg, 0.08 mmol)和溴化亚铜(11.4 mg, 0.08 mmol)加入反应瓶, 换氮气三次, 加入 THF/DMF/ H_2O (3.5 mL: 0.6 mL: 0.4 mL), 25 °C 反应 0.5 小时, 残余物通过 C18 制备纯化(62% ACN/0.05% 甲酸 in H_2O), 得到化合物 **LD55** (1180 mg, 产率 86%, $dr=1:1$)。MS(ESI): $(M+H)^+$ 计算值 1715.7, 实验值 1716.2。

LD55 (1180 mg, $dr=1:1$) 在制备柱(月旭 Xtimate C18 30 $\times$ 250 mm $\times$ 10 μ m)上使用 ACN/ H_2O (0.05%甲酸)制备分离得到 **LD55-1**(550mg, HPLC 保留时间 18.397 min)和 **LD55-2**(520mg, HPLC 保留时间 18.163min)。

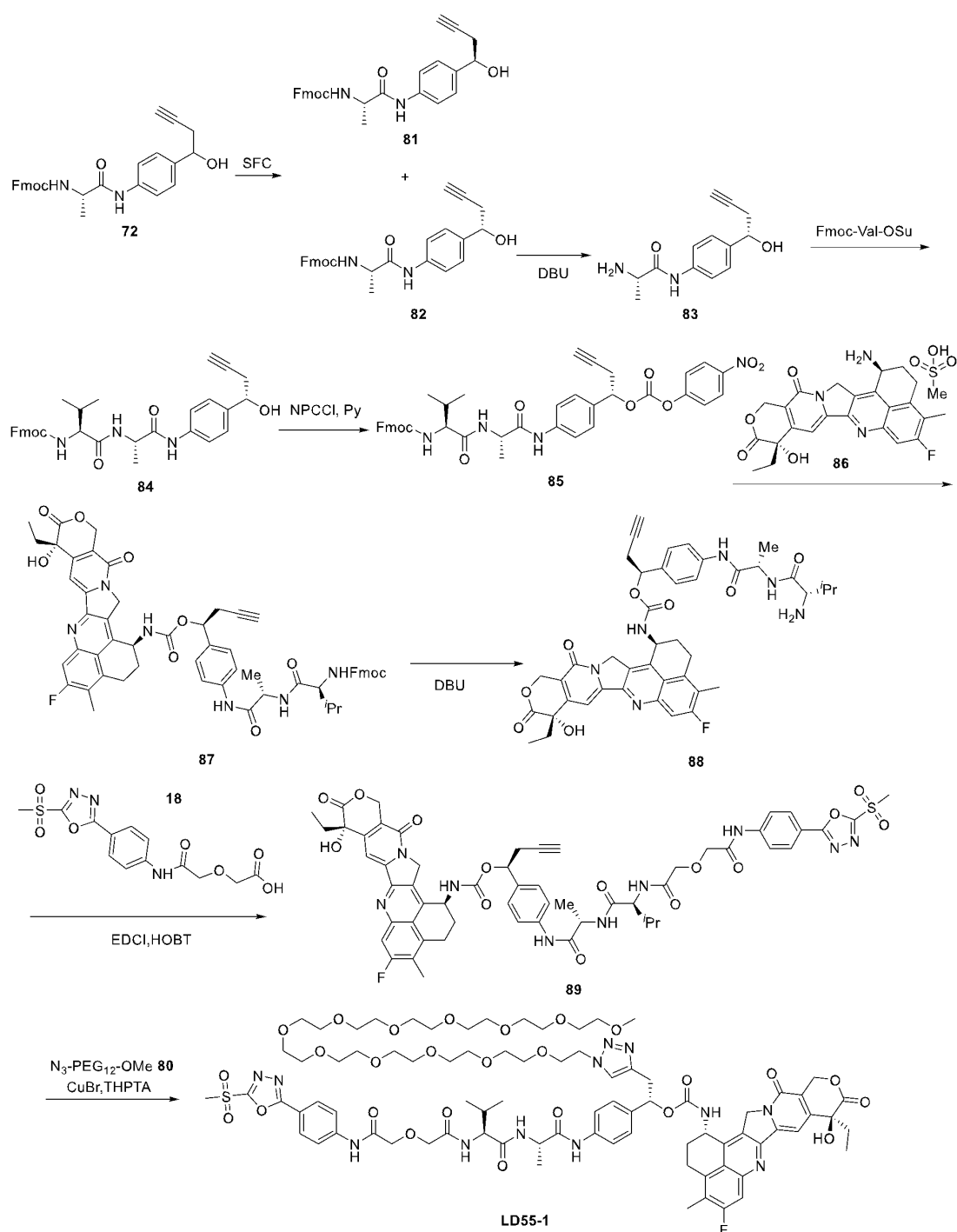
注: HPLC 仪器信息: Thermo 液相色谱仪(ADC-U3000-01); 色谱柱: Hypersil GOLD™ (4.6 $\times$ 250 mm, 5 μ m); 柱温: 30°C; 进样盘温度: 10°C; 流动相: A: Water+0.05%TFA; B: ACN; 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 254 nm; 进样体积: 10 μ L;

梯度条件:

Time(min)	A%	B%
0.000	95.0	5.0
2.000	95.0	5.0
5.000	70.0	30.0
9.000	70.0	30.0
14.000	50.0	50.0
18.000	40.0	60.0
20.000	5.0	95.0
22.000	5.0	95.0
22.100	95.0	5.0
25.000	95.0	5.0

化合物 **LD1**~**LD54**、**LD56**-**LD144**、**LD2-1**、**LD2-2**、**LD7-1**、**LD7-2**、**LD12-1** 和 **LD12-2** 也可参考相同方法合成。

实施例 14: 从消旋原料 **72** 拆分得到的手性原料 **82** 出发合成 **LD55-1**



中间体 **72** 的手性拆分：将化合物 **72** (50 g) 经 SFC 拆分得到 **81** (19 g, 保留时间 13.55 min) 和 **82** (20 g, 保留时间 16.29 min)。SFC 拆分方法：柱型号：DAICEL CHIRALCEL OD (250mm-50mm, 10μm)；流动相：A: CO₂, B: CO₂-ACN/i-PrOH (0.1% NH₃H₂O)；等度洗脱：B in A for 50%；流速：200 mL/min；检测仪：PDA；柱温：25℃；背压：100 Bar；

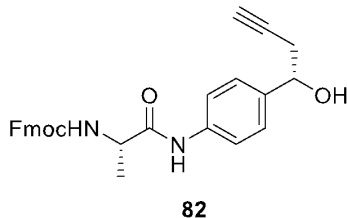
HPLC 方法：仪器信息：Thermo 液相色谱仪 (ADC-U3000-01)；色谱柱：CHIRALPAK®ID (4.6*150 mm, 5 μm)；柱温：25℃；进样盘温度：25℃；流动相：A: 10 mM NH₄FA; B: ACN；流速：0.8 mL/min；

检测波长: 254 nm; 进样体积: 2 μ l;

梯度条件:

Time(min)	A%	B%
0	40.0	60.0
30.000	40.0	60.0

经 X-RAY 确认, 化合物 **82** 的结构及构型如下: 其单晶衍射图参见图 1:



0 摄氏度下, 将 **82** (3632 mg, 8 mmol), 90 mL THF (市售)加入反应瓶。搅拌并缓慢加入 DBU (1215 mg, 8 mmol), 反应半小时后移至室温。TLC 监测原料消失后, 减压移去溶剂, 残余物通过硅胶色谱纯化 (DCM/MeOH 95:5), 得到化合物 **83** (1707 mg, 产率 92%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 233.1, 实验值 233.2。

将化合物 **83** (1624 mg, 7 mmol)、Fmoc-Val-OSu(362 mg, 8.4 mmol)和 N,N-二甲基甲酰胺(150 mL)加入反应瓶, 搅拌并缓慢滴加 DIEA (1158 μ L, 7 mmol), 25 $^{\circ}$ C反应 12 小时, 减压移去溶剂, 加入 50 mL EA 和 50 mL PE 打浆, 析出白色固体, 重复三次, 得到化合物 **84**。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 554.3, 实验值 554.4。

将化合物 **84**(1661 mg, 3 mmol)、氯甲酸对硝基苯酯(1206 mg, 6 mmol)和 THF(150 mL)加入反应瓶, 搅拌并滴加 Py (474 μ L, 6 mmol), 65 $^{\circ}$ C反应 1 小时, 减压移去溶剂, 残余物通过硅胶色谱纯化 (DCM/MeOH 98:2), 得到化合物 **85** (1831 mg, 产率 85%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 719.8, 实验值 719.9。

将化合物 **85** (1436 mg, 2 mmol)、依喜替康甲磺酸盐 **86** (1168.2 mg, 2.2 mmol)和 N,N-二甲基甲酰胺(100 mL)加入反应瓶, 搅拌并缓慢滴加 DIEA (695 μ L, 4 mmol), 25 $^{\circ}$ C反应 20 小时, 减压移去溶剂, 残余物通过硅胶色谱纯化 (DCM/MeOH 95:5), 得到化合物 **87** (1664 mg, 产率 82%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 1015.4, 实验值 1015.1。

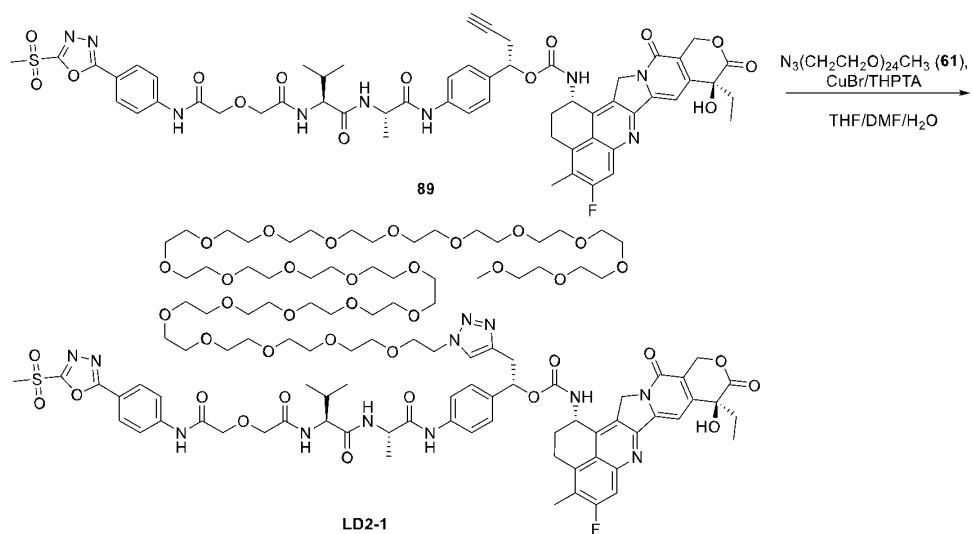
0 摄氏度下, 将 **87** (1522 mg, 1.5 mmol), 40 mL THF (市售)加入反应瓶。搅拌并缓慢加入 DBU (228 mg, 1.5 mmol), 反应半小时后移至室温继续反应 40 分钟, 直至 TLC 原料消失。将反应液真空浓缩除去 THF, 加入 15 mL DCM 和 300 mL PE, 产生大量黄绿色固体, 布氏漏斗滤出固体 **88** (1177 mg, 产率 99%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 793.3, 实验值 793.6。

将化合物 **88** (1031 mg, 1.3 mmol)、**18** (554 mg, 1.56 mmol)、EDCI (498 mg, 2.6 mmol)、HOBT (263 mg, 1.95 mmol)和 N,N-二甲基甲酰胺(20 mL)加入反应瓶, 25 $^{\circ}$ C反应 1 小时, 减压移去溶剂, 残余物通过 C18 纯化 (60% ACN/0.05% 甲酸 in H₂O), 冻干得到化合物 **89** (1322mg, 产率 90%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 1130.4, 实验值 1130.7。

将化合物 **89** (903 mg, 0.8 mmol)、化合物 **80** (702 mg, 1.2 mmol)、三(3-羟丙基三唑甲基)胺(34.7 mg, 0.08 mmol)和溴化亚铜(11.4 mg, 0.08 mmol)加入反应瓶, 换氮气三次, 加入 THF/DMF/H₂O(3.5 mL: 0.6 mL: 0.4 mL), 25 $^{\circ}$ C反应 0.5 小时, 残余物通过 C18 制备纯化 (62% ACN/0.05% 甲酸 in H₂O), 得到化合物 **LD55-1** (1276 mg, 产率 93%)。MS(ESI): (M+H)⁺ 计算值 1715.7, 实验值 1716.2。¹H NMR (600 MHz, DMSO) δ 10.71 (s, 1H), 10.08 (s, 1H), 8.48 (d, J = 6.7 Hz, 1H), 8.17 (d, J = 8.6 Hz, 3H), 8.09 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 8.03 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.89 (s, 1H), 7.81 (d, J = 10.8 Hz, 1H), 7.66 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.42 – 7.36 (m, 3H), 6.61 (s, 1H), 6.02 (t, J = 6.8 Hz, 1H), 5.55 (s, 2H), 5.38 – 5.26 (m, 3H), 4.55 – 4.47 (m, 3H), 4.46 – 4.41 (m, 1H), 4.36 (q, J = 15.6 Hz, 2H), 4.28 (s, 2H), 3.80 (s, 5H), 3.62 – 3.55 (m, 36H), 3.52 – 3.47 (m, 9H), 3.44 – 3.36 (m, 2H), 3.30 – 2.29 (m, 1H), 3.19 – 3.09 (m, 1H), 2.42 (s, 3H), 2.28 – 2.19 (m, 1H), 2.17 (s, 3H), 2.17 – 2.10 (m, 1H), 2.04 – 1.89 (m, 2H), 1.42 (d, J = 7.0 Hz, 3H), 1.02 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 0.98 (t, J = 7.2 Hz, 6H)。

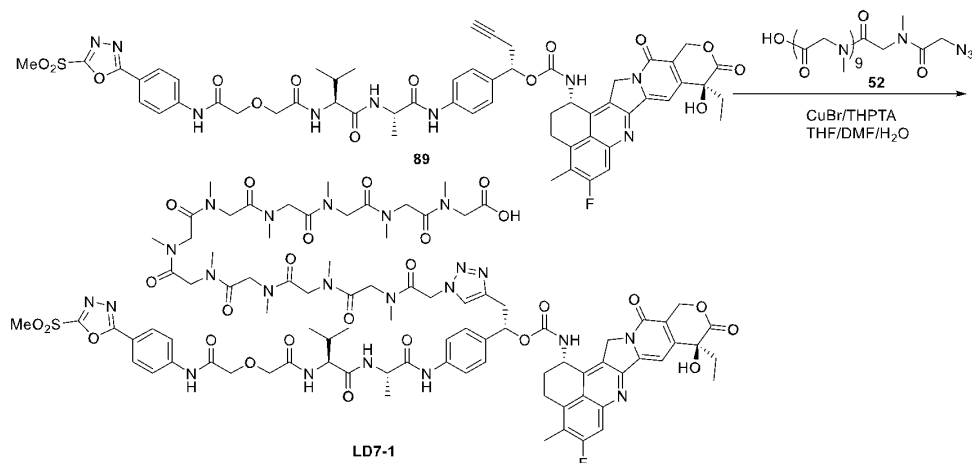
经与实施例 13 中 **LD55-1** 的 HPLC 方法比对, 本步骤分离产物 **LD55-1** 与实施例 13 中 **LD55-1** 保留时间一致。

实施例 15: **LD2-1** 的合成



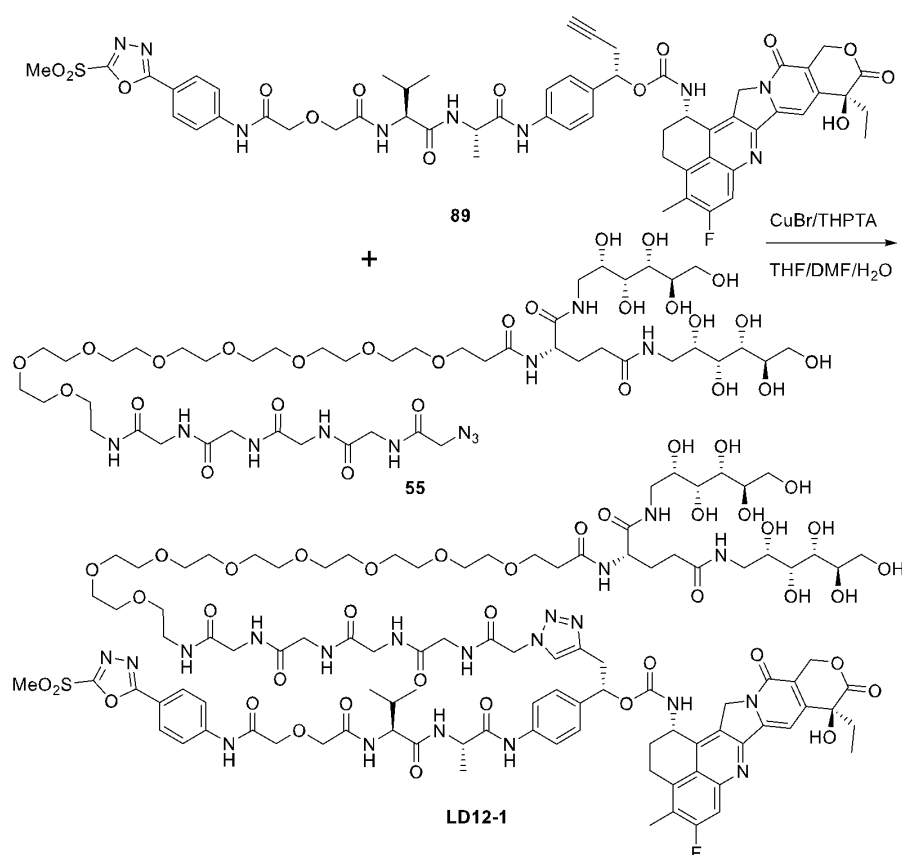
将化合物 **89** (113 mg, 0.1 mmol)、化合物 **61** (134 mg, 0.12 mmol)、三(3-羟丙基三唑甲基)胺(4.3 mg, 0.01 mmol)和溴化亚铜(14 mg, 0.01 mmol)加入反应瓶, 换氮气三次, 加入 THF/DMF/H₂O(1 mL: 0.2 mL: 0.2 mL), 25 °C 反应 0.5 小时, 残余物通过 C18 制备纯化 (60% ACN/0.05% 甲酸 in H₂O), 得到化合物 **LD2-1** (199.7 mg, 产率 89%)。MS(ESI): (1/2 M+H)⁺ 计算值 1123.0, 实验值 1123.0。

实施例 16: **LD7-1** 的合成



将化合物 **89** (113 mg, 0.1 mmol)、化合物 **52** (99.3 mg, 0.12 mmol)、三(3-羟丙基三唑甲基)胺(4.3 mg, 0.01 mmol)和溴化亚铜(14 mg, 0.01 mmol)加入反应瓶, 换氮气三次, 加入 THF/DMF/H₂O(1 mL: 0.2 mL: 0.2 mL), 25 °C 反应 0.5 小时, 残余物通过 C18 制备纯化 (55% ACN/0.05% 甲酸 in H₂O), 得到化合物 **LD7-1** (180 mg, 产率 93%)。(1/2 M+H)⁺ 计算值 971.4, 实验值 971.5。

实施例 17: **LD12-1** 的合成



将化合物 **89** (113 mg, 0.1 mmol)、化合物 **55** (147 mg, 0.12 mmol)、三(3-羟丙基三唑甲基)胺(4.3 mg, 0.01 mmol)和溴化亚铜(14 mg, 0.01 mmol)加入反应瓶, 换氮气三次, 加入 THF/DMF/H₂O(1 mL: 0.2 mL: 0.2 mL), 25 °C 反应 0.5 小时, 残余物通过 C18 制备纯化 (55% ACN/0.05% 甲酸 in H₂O), 得到化合物 **LD12-1** (229 mg, 产率 98%)。MS(ESI): (1/2 M+H)⁺ 计算值 1170.0, 实验值 1170.0。

实施例 18: ADC 样品制备与 DAR 测定通用方法

已知序列的抗体可以通过本领域技术人员已经熟知的蛋白表达方法获得发酵液后经过亲和层析, 离子层析等步骤获得较高纯度的样品。

将抗体样品用合适的缓冲液(与样品缓冲液保持一致)稀释到 10 mg/mL 左右, 加入适量的还原剂 TCEP, 其当量数根据目标 DAR 进行调节, 目标 DAR 为 8 则加入 8-10 当量, 然后用 Tris 缓冲液调节 pH 至 7-7.4, 室温下还原 1-1.5 小时。抗体还原中间态可以通过 CE-SDS 进行监测, 待抗体还原充分后, 先加入适量饱和柠檬酸溶液调节 pH 至 6.5 左右, 然后加入过量的 linker-drug 的 DMSO 溶液, 使 linker-drug 当量为抗体当量的 15-20 倍, 偶联反应室温进行 30 min 左右。偶联完毕, 反应液先过滤, 然后用离心浓缩管进行超滤换液以去除多余的 linker-drug 和其他小分子杂质。纯化完毕, 所得样品用反相色谱法进行 DAR 测定。

T-ADC 的制备方法

使用磷酸盐缓冲溶液(pH 7.0)将抗体曲妥单抗浓度调整为 10g/L, 将换液后抗体溶液放入离心管, 加入 8.0 当量 5 mM TCEP (Adamas-beta, Ltd.), 在室温下反应 1 小时, 使抗体链间二硫键被还原成巯基。随后, 加入 20mM 溶于 DMSO 的 linker-drug 溶液(每个抗体对应毒素 15 当量)。在 10 °C 下反应 1 小时。偶联完溶液经由超滤膜包(Cobetter, Ltd.)移除残留连接子毒素, 储存至 PBS 溶液 pH 7.4。通过反向色谱测得每个抗体平均载药量。

F-ADC 和 FS-ADC 的制备方法

使用磷酸盐缓冲溶液 (pH7.0) 将抗体 farletuzumab 或 farletuzumabFcS 浓度调整为 10g/L, 将换液后抗体溶液置于离心管, 加入 7.0 当量 5mM TCEP(Adamas-beta, Ltd.), 在 37 °C 下反应 1 小时, 使抗体链间二硫键被还原成巯基。随后, 加入 20mM 溶于 DMSO 的 linker-drug(每个抗体对应毒素 10 当量)。在 10 °C 下反应 1 小时。偶联完溶液经由超滤管移除残留连接子毒素, 储存至 PBS 溶液 pH 7.4。通过反向色谱测得每个抗体平均载药量。

D-ADC 的制备方法

使用磷酸盐缓冲溶液(pH 7.0)将抗体 33B 浓度调整为 10 g/L, 将换液后抗体溶液放入离心管, 加入 10.0 当量 5 mM TCEP (Adamas-beta, Ltd.), 在 37℃ 下反应 1 小时, 使抗体链间二硫键被还原成巯基。随后, 加入 20mM 溶于 DMSO 的 linker-drug 溶液(每个抗体对应毒素 12 当量)。在 25℃ 下反应 1 小时。偶联完溶液经由超滤膜包 (Cobetter, Ltd.) 移除残留连接子毒素, 储存至 PBS 溶液 pH 7.4。通过反向色谱测得每个抗体平均载药量。

实施例 B-ADC 的制备方法

使用磷酸盐缓冲溶液(pH 7.0)将抗体 43B 浓度调整为 10 g/L, 将换液后抗体溶液放入双层玻璃反应釜, 加入 12.0 当量 100 mM TCEP (Adamas-beta, Ltd.), 在 37℃ 下反应 3 小时, 使抗体链间二硫键被还原成巯基。随后, 在室温下加入 10 mM 溶于 DMSO 的 linker-drug 溶液(每个抗体对应毒素 10 当量)。在 25℃ 下反应 30 分钟。偶联完溶液经由 protein A 移除残留连接子毒素, 储存至 PBS 溶液 pH 7.4。通过反向色谱测得每个抗体平均载药量。

调整 TCEP 和 linker-drug 的用量, 可获得不同 Dar 值的 ADC。

所有 ADC 样品数据统计如下表所示。

表 8

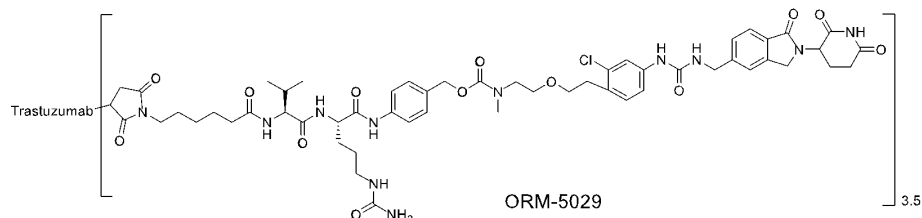
ADC 药物编号	linker-drug 编号	抗体 A (靶点)	DAR
ADC01	LD1	Trastuzumab (her2)	7.7
ADC02	LD2	Trastuzumab (her2)	7.8
ADC03	LD3	Trastuzumab (her2)	7.6
ADC04	LD4	Trastuzumab (her2)	7.9
ADC05	LD5	Trastuzumab (her2)	7.8
ADC06	LD6	Trastuzumab (her2)	7.8
ADC07	LD7	Trastuzumab (her2)	7.9
ADC08	LD8	Trastuzumab (her2)	7.6
ADC09	LD9	Trastuzumab (her2)	7.7
ADC10	LD10	Trastuzumab (her2)	7.6
ADC11	LD11	Trastuzumab (her2)	7.8
ADC12	LD12	Trastuzumab (her2)	7.6
ADC13	LD13	Trastuzumab (her2)	7.9
ADC14	LD14	Trastuzumab (her2)	7.5
ADC15	LD15	Trastuzumab (her2)	7.8
ADC16	LD16	Trastuzumab (her2)	7.7
ADC17	LD17	Trastuzumab (her2)	7.9
ADC18	LD18	Trastuzumab (her2)	7.9
ADC19	LD19	Trastuzumab (her2)	7.6
ADC20	LD20	Trastuzumab (her2)	7.8
ADC21	LD21	Trastuzumab (her2)	7.8

ADC22	LD22	Trastuzumab (her2)	7.6
ADC23	LD23	Trastuzumab (her2)	7.7
ADC24	LD24	Trastuzumab (her2)	7.8
ADC25	LD25	Trastuzumab (her2)	7.6
ADC26	LD26	Trastuzumab (her2)	7.9
ADC27	LD27	Trastuzumab (her2)	7.6
ADC28	LD28	Trastuzumab (her2)	7.6
ADC29	LD29	Trastuzumab (her2)	7.8
ADC30	LD30	Trastuzumab (her2)	7.7
ADC31	LD31	Trastuzumab (her2)	7.9
ADC32	LD32	Trastuzumab (her2)	7.5
ADC33	LD33	Trastuzumab (her2)	7.7
ADC34	LD34	Trastuzumab (her2)	7.6
ADC35	LD35	Trastuzumab (her2)	7.8
ADC36	LD36	Trastuzumab (her2)	7.9
ADC37	LD37	Trastuzumab (her2)	7.7
ADC38	LD38	Trastuzumab (her2)	7.6
ADC39	LD39	Trastuzumab (her2)	7.8
ADC40	LD40	Trastuzumab (her2)	7.7
ADC41	LD41	Trastuzumab (her2)	7.9
ADC42	LD42	Trastuzumab (her2)	7.6
ADC43	LD43	Trastuzumab (her2)	7.5
ADC44	LD44	Trastuzumab (her2)	7.8
ADC45	LD45	Trastuzumab (her2)	7.9
ADC46	LD46	Trastuzumab (her2)	7.7
ADC47	LD47	Trastuzumab (her2)	7.6
ADC48	LD48	Trastuzumab (her2)	7.7
ADC49	LD49	Trastuzumab (her2)	7.9
ADC50	LD50	Trastuzumab (her2)	7.5
ADC51	LD51	Trastuzumab (her2)	7.8
ADC52	LD52	Trastuzumab (her2)	7.9
ADC53	LD53	Trastuzumab (her2)	7.9

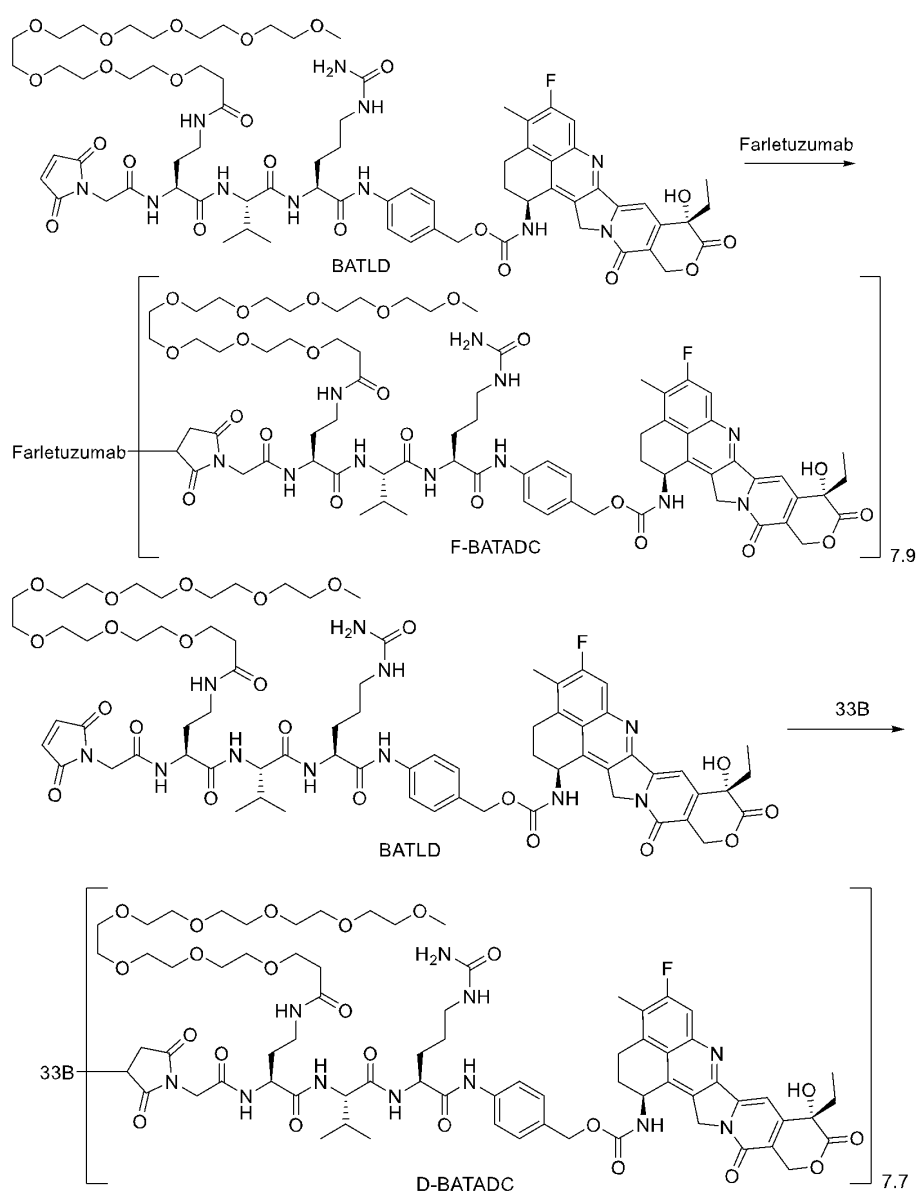
ADC54	LD54	Trastuzumab (her2)	7.7
T-ADC2-1-8	LD2-1	Trastuzumab (her2)	7.8
T-ADC7-1-8	LD7-1	Trastuzumab (her2)	7.9
T-ADC12-1-8	LD12-1	Trastuzumab (her2)	7.6
F-ADC55-1-8	LD55-1	Farletuzumab (FR α)	7.6
F-ADC55-2-8	LD55-2	Farletuzumab (FR α)	7.8
F-ADC2-1-8	LD2-1	Farletuzumab (FR α)	7.7
F-ADC2-2-8	LD2-2	Farletuzumab (FR α)	7.8
F-ADC12-1-8	LD12-1	Farletuzumab (FR α)	7.7
F-ADC12-2-8	LD12-2	Farletuzumab (FR α)	7.6
F-ADC7-1-8	LD7-1	Farletuzumab (FR α)	7.5
F-ADC7-2-8	LD7-2	Farletuzumab (FR α)	7.7
FS-ADC55-1-8	LD55-1	Farletuzumab-FcS (FR α)	7.9
D-ADC55-1-8	LD55-1	33B(DLL3)	8.0
D-ADC55-2-8	LD55-2	33B(DLL3)	7.7
D-ADC2-1-8	LD2-1	33B(DLL3)	8.0
D-ADC2-2-8	LD2-2	33B(DLL3)	7.9
D-ADC12-1-8	LD12-1	33B(DLL3)	8.0
D-ADC12-2-8	LD12-2	33B(DLL3)	8.0
D-ADC7-1-8	LD7-1	33B(DLL3)	7.9
D-ADC7-2-8	LD7-2	33B(DLL3)	8.0
B-ADC55-1-6	LD55-1	43B(B7H3)	5.7
B-ADC55-2-6	LD55-2	43B(B7H3)	5.8
B-ADC2-1-6	LD2-1	43B(B7H3)	5.6
B-ADC2-2-6	LD2-2	43B(B7H3)	6.0
B-ADC12-1-6	LD12-1	43B(B7H3)	6.0
B-ADC12-2-6	LD12-2	43B(B7H3)	5.9
B-ADC7-1-6	LD7-1	43B(B7H3)	5.8
B-ADC7-2-6	LD7-2	43B(B7H3)	5.7
B-ADC-55-1-4	LD55-1	43B(B7H3)	4.0

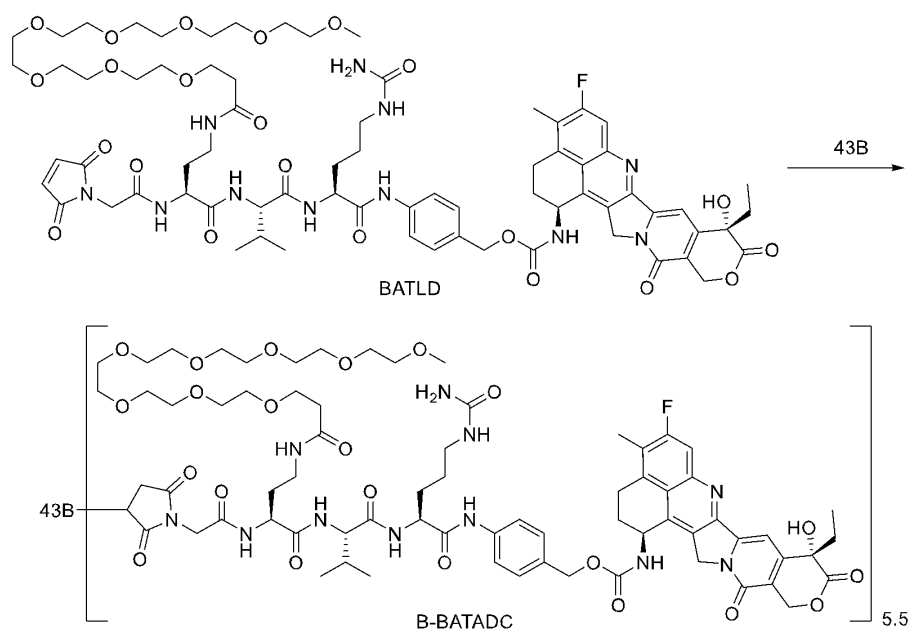
实施例 19：对照 ADC 样品的制备

参照文献 WO 2021/198965 A1 的方法获得 ORM-5029 作为 HER-2ADC 的对照例,反相色谱法测定 DAR 为 3.5。并且以同样的偶联条件获得 ADC38-ADC44 的低 DAR 样品,分别记为 ADC38-4 至 ADC44-4,LC-MS 测定 DAR 也均为 3.5 ± 0.1 。特别地,当采用 ORM-5029 所用的 linker-drug 与抗体偶联时,由于聚体比例较高,因此无法成功获得高 Dar 值 (>7) 的合格 ADC 样品。Enhertu 为购买获得的商品。

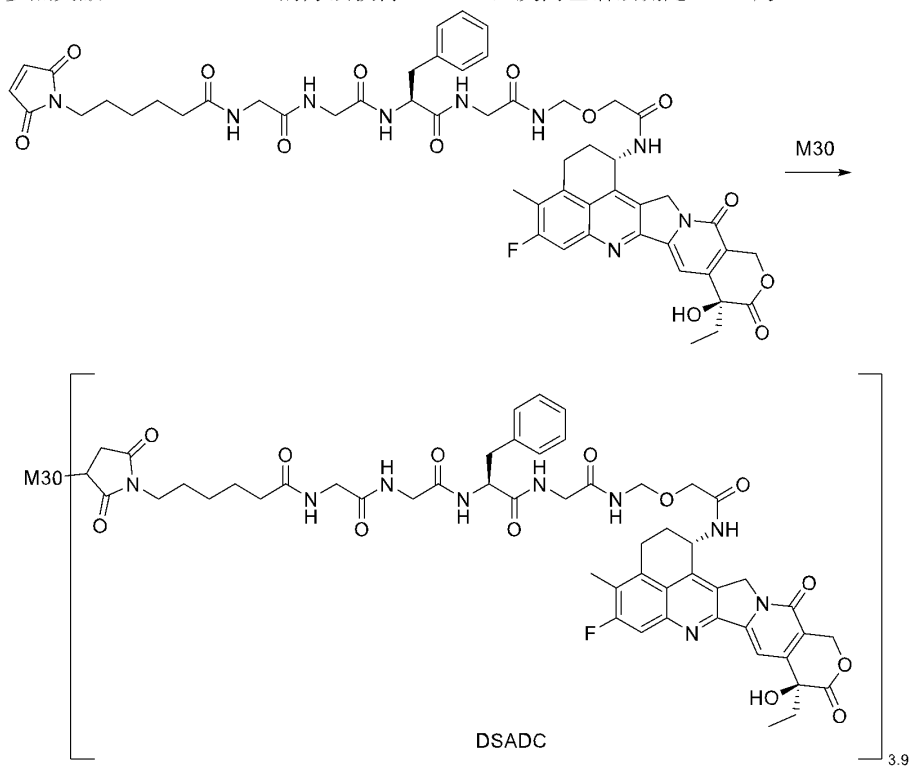


参照文献 CN116333135A 的方法合成 BATLD, 并参照前述 ADC 制备方法,以 BATLD 为 linker-drug, Farletuzumab、33B 和 43B 为抗体合成 F-BATADC、D-BATADC 和 B-BATADC,反相色谱法测定 DAR 值分别 7.9、7.7 和 5.5。





参照文献 CN104755494A 的方法获得 DSADC，反向色谱法测定 DAR 为 3.9。



M30 抗体序列如下：

>M30-H1 (SEQ ID NO:43)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYVMHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDDVKYNEKFKG
 RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARWGYGSPLYYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS
 KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVN
 HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVK
 FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ

PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
>M30-L4 (SEQ ID NO:44)
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSRLIYMHWYQQKPGQAPRPLIYATSNLASGIPARFSGSGSGTDFTLT
SSLEPEDFAVYYCQQWNSNPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV
QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

效果实施例 1：ADC 样品体外活性测试

选择 her2 高表达的 SK-BR-3 细胞作为测试细胞。按照一般方法将细胞培养然后按照合适的密度种至 96 孔板中，观察细胞状态正常后加入待测样品，设置浓度梯度为 0-100 nM，培养 144 h 后用 CTG 法测定细胞活力，从而计算 IC50 值。

表 9

ADC 样品编号	IC50 (pM)
Enhertu	C
ORM-5029	C
ADC38	A
ADC38-4	B
ADC39	A
ADC39-4	B
ADC40	A
ADC40-4	B
ADC41	A
ADC41-4	B
ADC42	A
ADC42-4	B
ADC43	A
ADC43-4	B
ADC44	A
ADC44-4	B

注：表中 A 表示 IC₅₀ 值<15pM，B 表示 IC₅₀ 值在 15pM 至 25pM 之间，C 表示 IC₅₀ >25pM；Enhertu 为购买获得的商品。

从活性测试结果可以看到，本发明中的 ADC 与同类型 ADC ORM-5029 相比具有显著的活性提升，与同靶点的 Enhertu 相比也具有显著的活性提升。

效果实施例 2：ADC 样品体内活性测试

选择 her2 中低表达的 JIMT-1 细胞接种到 NUNU 小鼠上，待成瘤后选择肿瘤体积约 150 立方毫米的小鼠，分成不同组，每组 5 只。将不同的药物以按照预先设置的剂量通过尾静脉注射给药，给药后定期观察并测量肿瘤大小以及小鼠体重，酌情增加给药频次。符合一定条件后终止实验，并测量最终肿瘤大小和小鼠体重，计算肿瘤抑制率。测试结果见下表：

表 10：非亲水性 linker ADC 体内药效

组别	给药剂量 (mg/kg)	给药频次	TGI%							
			D0	D4	D7	D11	D14	D18	D21	D26
Vehicle	-	D0, D11, D18								
Enhertu	3			44.8	71.9	81.4	95.6	96.0	86.0	74.5
ORM-5029	3			86.8	47.8	24.6	30.8	27.9	23.7	22.4
T-ADC	3			119.8	97.3	61.3	79.3	75.6	69.0	65.0

其中，T-ADC 参照文献 WO 2021/198965 A1 的方法制备，先制备如下连接子药物化合物：

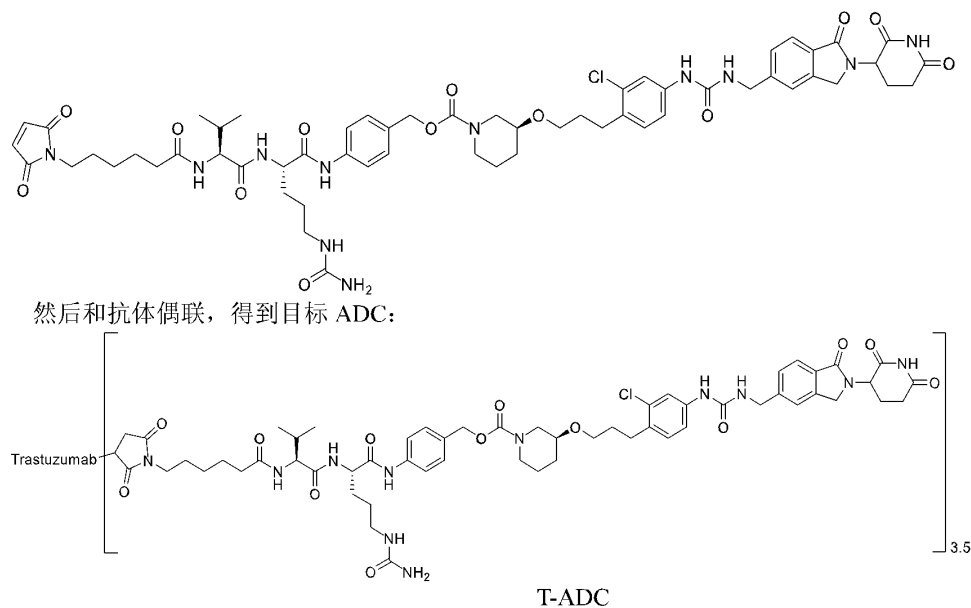


表 11：亲水性 linker ADC 体内药效

组别	给药剂量 (mg/kg)	给药频次	(1-T/C)% (D13)
Vehicle	-	单次	-
Enhertu	5		76.5
ADC38	5		95
ADC40	5		90.1

从表 10 的体内药效结果可以看出，采用非亲水性 linker 的 ADC，在 linker 相同的情况下，T-ADC 效果显著优于 ORM-5029，略低于 Enhertu。从表 11 的体内药效结果可以看出，采用亲水性 linker 的 ADC，效果优于 Enhertu。综合表 10 和表 11 的结果，可以得出如下结论，采用亲水性 linker 的 ADC 效果显著优于采用非亲水性 linker 的 ADC。

效果实施例 3：Her2 -ADC 体外细胞毒性

以 HER2 阳性细胞株 SK-BR-3 评价 HER2-ADC 介导的体外细胞毒性。通过胰蛋白酶收获细胞，用梯度稀释的 HER2-ADC 培养，然后在 37℃孵育。使用 CTL Plus 在 6 天后测定生存能力。在 EnVision 2105（PerkinElmer）上读取和分析，以确定 IC₅₀（半最大抑制浓度）值。SK-BR-3 细胞用 McCoy's 5A+15%FBS 调整细胞密度为 4 万个细胞/ mL，以每孔 75uL 接种到 96 孔板（厂家：Corning，货号：3599）中，放在 Forma™ Steri-Cycle™ i160 CO₂ 培养箱中 37℃，5% CO₂ 条件下静置过夜。用对应细胞的培养基稀释 HER2-ADC，从 100nM 开始 5 倍稀释，共 9 个浓度梯度，再以每孔 75uL 加入到细胞中。空白对照为对应细胞的培养基。每个浓度设置 2 个复孔。SK-BR-3 细胞放在 Forma™ Steri-Cycle™ i160 CO₂ 培养箱中 37℃，5% CO₂ 条件下培养 6 天。6 天后，加入 50uL CTL Plus（厂家：碧云天，货号：C0068XL）发光试剂，在室温下避光孵育 10min。在酶标仪 EnVision 2105 进行化学发光检测。数据分析整理：以空白对照为零杀伤对照，计算抑制率公式如下：抑制率（%）=（1-实验组/空白对照组）x 100。用 GraphPad Prism 处理和分析数据。结果如表所示。结果表明，HER2-ADC 对 HER2 阳性细胞株具有很高的体外细胞毒性。

表 12：HER2-ADC 体外细胞毒性

SK-BR-3	IC ₅₀ （nM）
T-ADC2-1-8	0.08855
T-ADC7-1-8	0.0079
T-ADC12-1-8	0.1177

效果实施例 4：疏水相互作用色谱(HIC)测定 ADC 亲水性

HIC-HPLC 条件：①柱型号：TSKgel Butyl-NPR，2.5μm，4.6*100mm，PN:0042168；②柱温：30℃；③UV：280 nm；④流动相：A:1.5M (NH₄)₂SO₄，25mM NaPi，pH 6.73；B:12.5mM NaPi(pH7.28):20% IPA=80:20（v:v）；⑤流速：0.7mL/min；⑥洗脱梯度：0min→1.01min(0% B→20%B)，1.01min→10min(20%B→100% B)，10min→11min(100%B→100%B)，11min→11.01min(100%B→0%B)，11.01min→17min（0% B）

表 13: ADC 亲水性

Entry	farletuzumab	F-ADC55-1-8	F-ADC2-1-8	F-ADC12-1-8	F-ADC7-1-8	F-BATADC
保留时间(min)	4.673	6.123	6.060	4.848	5.087	7.055

高亲水性的 linker 不但可以克服很多毒素因为水溶性差，偶联困难的问题，也可以减少偶联过程中聚合体的生成，并且能保证 ADC 具有更低的清除率和更好的 PK。表中数据表明不同亲水侧链可不同程度提高 ADC 的亲水性，其中裸抗 farletuzumab 亲水性最好，本发明的 ADC 亲水性均优于对照 F-BATADC。

效果实施例 5：酶联免疫吸附法测定 ADC 的结合活性实验过程

1. **抗原包被**: 用包被液(0.05 mol/L 碳酸盐缓冲液, pH9.6)将 FOLR1(厂家: 义翘神州, 货号: 11241-H08H) 抗原进行稀释至 0.1ug/ml, 按照每孔体积为 100 ul 的体积加入 ELISA 专用聚苯乙烯微孔板 (厂家 Corning, 货号: 3590), 4°C, 过夜进行抗原包被;
2. **封闭**: 弃去微孔板中的包被液, 并用洗涤液 PBST(含 0.05% Tween-20 10mM, pH 7.4 的 PBS) 洗涤 3 次,并在每孔加入 300ul 2% BSA 在 37°C条件下进行封闭 1h;
3. **洗涤**: 用洗涤液洗涤微孔板 3 次, 按照每个样品进行两个复孔, 并加入 F-ADC55-1-8 最高浓度为 1000 nM 体积均为 100 uL, 并用 2% BSA 进行 11 次梯度稀释的 ADC 样品, 37°C孵育 2h;
4. **二抗**: 弃去微孔板中的 FRα 一抗稀释液, 并用洗涤液洗涤 3 次, 按照每孔加入二抗 (Goat anti-human IgG (L&H) secondary, HRP) 并在 37°C孵育 1h;
5. **显色**: 弃去二抗稀释液, 并用洗涤液洗涤 6 次后加入 100ul TMB 显色液, 显色时间约为 6-8min, 后加入 100ul 2M 稀盐酸终止反应;
6. **读板**: 待终止反应后在酶标仪 (厂家: BioTek 型号: Synergy LX) 上读取 OD450 的吸光度;
7. **计算 EC50**

表 14: ADC 结合活性

样品编号	EC50(nM)
Farletuzumab-FS	0.01987
Farletuzumab	0.02606
F-ADC55-1-8	0.03688

效果实施例 6：人口腔癌 KB 异种移植瘤小鼠模型中药效学评价

从 FRα-阳性细胞株 KB 取 10⁷ 个细胞分别接种于 nu/nu 裸鼠的右前肢腋下(每组 6 只)。当小鼠平均肿瘤体积到达 100 mm³(1~6 组)和 145 mm³ (7~8 组)左右, 将小鼠分别随机分组给药, 给药方式是单次静脉注射。分组当天设定为第 0 天, 给药开始于第 0 天。肿瘤接种后, 常规监测包括了肿瘤生长及治疗对动物正常行为的影响, 具体内容有实验动物的活动性, 摄食和饮水情况, 体重增加或降低(体重每周测量 2 次)情况, 眼睛、皮毛及其它异常情况。肿瘤体积计算公式: 肿瘤体积(mm³)=1/2×(a×b²)(其中 a 表示长径,b 表示短径)。试验药物药效学评价如下表。

表 15: KB 异种移植瘤模型中 1-6 组药效

组别	给药组	剂 量 (mg/kg)	平均肿瘤体 积(Day 0) ^a	平均肿瘤体 积(Day 30) ^a	TGI(%) ^b	P value vs 对照组 ^c	CR
1	溶媒对照(生 理盐水)	-	98.2±13.4	2,117.3±257 .6	-	-	0
2	F-ADC55-1-8	3	98.6±10.6	4.4±7.4	104.7	< 0.0001	4
3	F-BATADC	3	98.4±10.1	259.4±259. 2	92.0	< 0.0001	0
4	F-ADC2-1-8	3	98.0±11.0	3.9±7.2	104.7	< 0.0001	4
5	F-ADC12-2-8	3	98.2±10.2	5.4±6.6	104.6	< 0.0001	3
6	F-ADC12-1-8	3	98.0±10.0	5.7±6.6	104.6	< 0.0001	3

注:a.数据以“平均值±标准误差”表示; b. TGI % = [1-(Ti -T0)/(Ci-C0)]×100%, 其中 T0 及 C0 分别是给药组及溶媒对照组分组当天(Day 0)平均肿瘤体积, Ti 及 Ci 分别是给药组及溶媒对照组 Day 30 时的平均肿瘤体积; c.与溶媒对照组肿瘤体积相比。

表 16: KB 异种移植瘤模型中 7-8 组药效

组别	给药组	剂 量 (mg/kg)	平均肿瘤体 积(Day 0) ^a	平均肿瘤体积 (Day 20) ^a	TGI(%) ^b	P value vs 对照组 ^c
7	溶媒对照(生 理盐水)	-	145.4±27.2	1,275.0±228.7	-	-
8	F-ADC55-1-8	1.5	145.4±25.9	82.1±85.8	105.6	< 0.0001

注:a.数据以“平均值±标准误差”表示; b. $TGI\% = [1 - (Ti - T0) / (Ci - C0)] \times 100\%$, 其中 T0 及 C0 分别是给药组及溶媒对照组分组当天(Day 0)平均肿瘤体积, Ti 及 Ci 分别是给药组及溶媒对照组 Day 20 时的平均肿瘤体积; c.与溶媒对照组肿瘤体积相比。

本发明 3 mg/kg 试验组 ADC 药效上明显优于对照组 F-BATADC (TGI 92.0%), 各组肿瘤抑制率(TGI)分别为 104.7 %、104.7%、104.6%和 104.6%。其中, 试验组中分别有 4、4、3、3 只老鼠获得 CR。此外, 不同手性构型 linker 的 ADC 在药效上没有明显差异。当 F-ADC55-1-8 给药剂量降低至 1.5 mg/kg 时, 肿瘤抑制率(TGI)仍可达到 105.6%。各治疗组无动物死亡及显著动物体重降低, 未见明显的药物毒性反应, 治疗期间小鼠对本发明 ADC 耐受性良好, 具体结果见表。

效果实施例 7: 试验药物在人肺腺癌 NCI-H441 异种移植瘤小鼠模型中药效学评价

从 FR α -阳性细胞株 NCI-H441 取 10⁷ 个细胞分别接种于 nu/nu 裸鼠的右前肢腋下(每组 6 只)。当小鼠平均肿瘤体积到达 100mm³(1~6 组)左右, 将小鼠分别随机分组给药, 给药方式是单次静脉注射。分组当天设定为第 0 天, 给药开始于第 0 天。肿瘤接种后, 常规监测包括了肿瘤生长及治疗对动物正常行为的影响, 具体内容有实验动物的活动性, 摄食和饮水情况, 体重增加或降低(体重每周测量 2 次)情况, 眼睛、皮毛及其它异常情况。肿瘤体积计算公式:肿瘤体积(mm³)=1/2×(a×b)²(其中 a 表示长径,b 表示短径)。试验药物药效学评价如下表。

表 17: NCI-H441 异种移植瘤模型中各组药效

组别	给药组	剂 量 (mg/kg)	平均肿瘤体 积(Day 0) ^a	平均肿瘤体积 (Day 32) ^a	TGI(%) ^b	P value vs 对照组 ^c
1	溶媒对照(生理 盐水)	-	107.4±19.8	524.9±172.4	-	-
2	F-ADC55-1-8	1	107.1±19.5	33.9±13.0	117.5	< 0.0001
3	F-BATADC	1	107.3±15.2	109.6±20.9	99.5	< 0.0001
4	F-ADC2-1-8	1	107.4±17.9	34.6±20.8	117.4	< 0.0001
5	F-ADC12-1-8	1	107.4±16.4	61.9±33.9	110.9	< 0.0001
6	F-ADC12-2-8	1	107.3±15.5	35.0±21.8	117.3	< 0.0001

注:a.数据以“平均值±标准误差”表示; b. $TGI\% = [1 - (Ti - T0) / (Ci - C0)] \times 100\%$, 其中 T0 及 C0 分别是给药组及溶媒对照组分组当天(Day 0)平均肿瘤体积, Ti 及 Ci 分别是给药组及溶媒对照组 Day 32 时的平均肿瘤体积; c.与溶媒对照组肿瘤体积相比。

与溶媒对照组相比, 本发明 1 mg/kg 试验组 ADC 显著抑制 NCI-H441 模型的肿瘤生长, 抑瘤效果显著优于对照组 F-BATADC。各治疗组无动物死亡及显著动物体重降低, 未见明显的药物毒性反应, 治疗期间小鼠对本发明 ADC 耐受性良好, 具体结果见表。

效果实施例 8: 试验药物在人结肠癌 SW620 异种移植瘤小鼠模型中药效学评价

从 FR α -阳性细胞株 SW620 取 10⁷ 个细胞分别接种于 nu/nu 裸鼠的右前肢腋下(每组 6 只)。当小鼠平均肿瘤体积到达 130mm³(1~2 组)左右, 将小鼠分别随机分组给药, 给药方式是单次静脉注射。分组当天设定为第 0 天, 给药开始于第 0 天。肿瘤接种后, 常规监测包括了肿瘤生长及治疗对动物正常行为的影响, 具体内容有实验动物的活动性, 摄食和饮水情况, 体重增加或降低(体重每周测量 2 次)情况, 眼睛、皮毛及其它异常情况。肿瘤体积计算公式: 肿瘤体积(mm³)=1/2×(a×b²)(其中 a 表示长径,b 表示短径)。试验药物药效学评价如下表。

表 18: SW620 异种移植瘤模型中各组药效

组别	给药组	剂 量 (mg/kg)	平均肿瘤体积 (Day 0) ^a	平均肿瘤体积 (Day 14) ^a	TGI(%) ^b	P value vs 对 照 组 ^c
1	溶媒对照(生 理盐水)	-	129.5±19.6	847.0±212.3	-	-

2	F-ADC55-1-8	1.5	130.3±5.3	35.0±8.1	113.3	< 0.0001
---	-------------	-----	-----------	----------	-------	----------

与溶媒对照组相比，本发明 1.5 mg/kg 试验组 ADC 显著抑制 SW620 模型的肿瘤生长，各治疗组无动物死亡及显著动物体重降低，未见明显的药物毒性反应，治疗期间小鼠对本发明 ADC 耐受性良好，具体结果见表。

效果实施例 9：试验药物在人卵巢癌 OV-90 异种移植瘤小鼠模型中药效学评价

从 FR α -阳性细胞株 OV-90 取 10⁷ 个细胞分别接种于接种在 4-6 周龄 NCG 和 NOD SCID 免疫缺陷鼠的右前肢腋下(每组 3 只)。当小鼠平均肿瘤体积到达约 180 mm³(1~3 组)和 145 mm³(4~5 组)时，将小鼠随机分组给药。分组当天设定为第 0 天，给药开始于第 0 天。肿瘤接种后，常规监测包括了肿瘤生长及治疗对动物正常行为的影响，具体内容有实验动物的活动性，摄食和饮水情况，体重增加或降低(体重每周测量 2 次)情况，眼睛、皮毛及其它异常情况。肿瘤体积计算公式：肿瘤体积(mm³)=1/2×(a×b²) (其中 a 表示长径,b 表示短径)。试验药物药效学评价如下表。

表 19：OV-90 异种移植瘤模型中各组药效

组别	给药组	剂量 (mg/kg)	平均肿瘤体积 (Day 0) ^a	平均肿瘤体积 (Day 11) ^a	TGI(%) ^b	P value vs 对照组 ^c
1 ^d	溶媒对照(生理盐水)	-	182.0±1.8	877.0±47.5	-	-
2 ^d	F-ADC55-1-8	1	180.7±33.8	104.9±30.0	110.9	< 0.0001
3 ^d	F-ADC55-1-8	5	181.4±37.7	37.5±1.3	120.7	< 0.0001
4 ^e	溶媒对照(生理盐水)	-	142.3±39.9	587.2±217.8	-	-
5 ^e	F-ADC55-1-8	3	145.2±0.7	29.2±8.4	126.1	< 0.0001

注:a.数据以“平均值±标准误差”表示；b. TGI % = $[1-(T_i-T_0)/(C_i-C_0)] \times 100\%$ ，其中 T₀ 及 C₀ 分别是给药组及溶媒对照组分组当天(Day 0)平均肿瘤体积，T_i 及 C_i 分别是给药组及溶媒对照组 Day 11 时的平均肿瘤体积；c.与溶媒对照组肿瘤体积相比；d. NCG 免疫缺陷鼠 e. NOD SCID 免疫缺陷鼠

与溶媒对照组相比，本发明的 ADC 在 1/3/5 mg/kg 组均显著抑制 OV-90 模型的肿瘤生长，肿瘤生长抑制率(TGI)分别为 110.9%、126.1%和 120.7%；各治疗组无动物死亡及显著动物体重降低，未见明显的药物毒性反应，治疗期间小鼠对本发明 ADC 耐受性良好。具体结果见表。

效果实施例 10：流式细胞数测定 DLL3 表达细胞阳性率

通过流式细胞术测定 DLL3 抗体与 NCI-H209、SHP77、NCI-H526、NCI-H82 和 NCI-H69 细胞表面 DLL3 的结合。

实验过程：收集 NCI-H209、SHP77、NCI-H526、NCI-H82 和 NCI-H69 细胞，用 FACS 缓冲液(pH7.4 PBS+2%FBS)制备成 5×10⁵/mL 的细胞悬液，并以每孔 100 μ L 加到 96 孔圆底板(厂家：Corning，货号：3795)中。离心去除上清液后加入 100 μ L/孔用 FACS 缓冲液稀释的不同浓度 D-ADC55-1-8(终浓度 15 μ g/ml)，置于 4℃冰箱中避光孵育 2h。以 FACS 缓冲液离心洗涤 3 次后，加入工作浓度的 Goat anti-Human IgG (H+L) Cross-Adsorbed Secondary Antibody, Alexa Fluor™ 488 (厂家：Invitrogen，货号：A11013)，置于 4℃冰箱中避光孵育 1h。在 CytoFLEX 流式细胞仪上检测几何平均数荧光强度，计算 DLL3⁺%。

表 20：流式细胞数测定 DLL3 表达细胞阳性率

Cell line	DLL3+ %	实验孔：阴性对照比值
NCI-H209	44.42%	7.73
SHP77	35.75%	3.23
NCI-H526	29.15%	3.73
NCI-H82	11.25%	5.02
NCI-H69	5.29%	3.03

效果实施例 11：酶联免疫吸附法测定 DLL3-ADC 的结合活性实验

采用 ELISA 方法测定抗体与重组人 DLL3 蛋白的亲合力，将人 DLL3 蛋白(恺伟生物，货号：DLL-HM103)稀释至终浓度为 0.1 μ g/ml，分别铺到 96 孔酶标板 4℃过夜，次日弃上清，封闭完成后加入 4 倍梯度稀释的抗体(0-100 nM)，经过二抗孵育后通过 TMB 显色液显色 10 min，加入 2 M 的 HCl 终止反应后，酶标仪读取 450 nm 的吸光度值，计算 EC₅₀。结果如表所示，ADC 与人 DLL3 蛋白的亲合力与未偶联前抗体的结合能力基本相当。

表：21：酶联免疫吸附法测定 DLL3 ADC 的结合活性实验

编号	EC50(nM)	E _{max}
33B	0.001873	2.5
D-ADC55-1-8	0.006276	2.5
D-ADC2-1-8	0.004644	2.5
D-ADC12-1-8	0.005843	2.6
D-BATADC	0.005266	2.6

效果实施例 12：DLL3-ADC 体外细胞毒性

以 DLL3 阳性细胞株 NCI-H82、SHP77、NCI-H526、NCI-H209 和 DLL3 阴性细胞株 A431 、NCI-H69 评价 D-ADC55-1-8 介导的体外细胞毒性。收获细胞，用梯度稀释的 D-ADC55-1-8 培养，然后在 37℃ 孵育。使用 CTL Plus 在 6 天后测定生存能力。在 EnVision 2105（PerkinElmer）上读取和分析，以确定 IC₅₀（半最大抑制浓度）值。

实验过程：将检测细胞调整细胞密度为 6.7×10⁴/mL，并以每孔 75μL 接种到 96 孔板中，置 37℃，5% CO₂ 培养箱中培养过夜。加入 5 倍梯度稀释的 D-ADC55-1-8（0-100 nM）共 9 个浓度梯度，每孔 75μL 加入到细胞中。空白对照为对应细胞的培养基。每个浓度设置 2 个复孔。细胞放在 37℃，5% CO₂ 培养箱中培养 6 天后，加入 50μL CTL Plus（厂家：碧云天，货号：C0068XL）发光试剂，在室温下避光孵育 10 min。在酶标仪 EnVision 2105 进行化学发光检测。数据分析整理：以空白对照为零杀伤对照，计算抑制率公式如下：抑制率（%）=（1-试验组/空白对照组）×100%。用 GraphPad Prism 处理和分析数据计算 IC₅₀。结果如表所示。结果表明，D-ADC55-1-8 对 DLL3 阳性细胞株具有良好的体外细胞毒。

表 22：DLL3 -ADC 体外细胞毒性

细胞系	IC ₅₀ (nM)
NCI-H82	4.4
SHP77	36.56
NCI-H526	16.71
NCI-H209	1.07
NCI-69	>100
A431	>100

效果实施例 13：试验药物在人小细胞肺癌 SHP77 异种移植瘤小鼠模型中药效学评价

从 DLL3-阳性细胞株 SHP77 取 10⁷ 个细胞分别接种于 nu/nu 裸鼠的右前肢腋下(每组 7 只)。当小鼠平均肿瘤体积到达 100mm³(1~6 组)左右，将小鼠分别随机分组给药，给药方式是单次静脉注射。分组当天设定为第 0 天，给药开始于第 0 天。肿瘤接种后，常规监测包括了肿瘤生长及治疗对动物正常行为的影响，具体内容有实验动物的活动性，摄食和饮水情况，体重增加或降低(体重每周测量 2 次)情况，眼睛、皮毛及其它异常情况。肿瘤体积计算公式：肿瘤体积(mm³)=1/2×(a×b²)(其中 a 表示长径,b 表示短径)。试验药物药效学评价如下表。

表 23：试验药物在人小细胞肺癌移植异种移植 SHP-77 小鼠模型中药效学评价

组别	给药组	剂 量 (mg/kg)	平均肿瘤体积 (Day 0) ^a	平均肿瘤体积 (Day 22) ^a	TGI(%) ^b	P value vs 对照组 ^c
1	溶媒对照(生理盐水)	-	104.1±5.0	2932.5±443.9	-	-
2	D-ADC55-1-8	1	104.1±4.5	158.3±82.4	98.1	< 0.0001
3	D-ADC2-1-8	1	104.1±5.6	199.2±66.9	96.6	< 0.0001
4	D-ADC12-1-8	1	104.3±4.7	187.7±63.9	97.1	< 0.0001
5	D-ADC12-2-8	1	104.0±5.2	181.8±52.5	97.3	< 0.0001
6	D-BATADC	1	104.0±3.9	672.8±261.2	79.9	< 0.0001

注:a.数据以“平均值±标准误差”表示; b. TGI % = [1 - (Ti - T0) / (Ci - C0)] ×100%其中 T0 及 C0 分别是给药组及溶媒对照组分组当天(Day 0)平均肿瘤体积, Ti 及 Ci 分别是给药组及溶媒对照组 Day 22 时的平均肿瘤体积; c.与溶媒对照组肿瘤体积相比。

与溶媒对照组相比，本发明的 ADC 在 1 mg/kg 剂量下均显著抑制 SHP-77 模型的肿瘤生长，肿瘤生长

抑制率(TGI)分别为 98.1%、96.6%、97.1%、97.3%，显著优于对照组 D-BATADC (TGI 79.9%)；各治疗组无动物死亡及显著动物体重降低，未见明显的药物毒性反应，治疗期间小鼠对本发明 ADC 耐受性良好。具体结果见表。

效果实施例 14：试验药物在人小细胞肺癌 NCI-H526 异种移植瘤小鼠模型中药效学评价

从 DLL3-阳性细胞株 NCI-H526 取 10^7 个细胞分别接种于 nu/nu 裸鼠的右前肢腋下(每组 3 只)。当小鼠平均肿瘤体积到达 160 mm^3 (1~2 组)左右，将小鼠分别随机分组给药，给药方式是单次静脉注射。分组当天设定为第 0 天，给药开始于第 0 天。肿瘤接种后，常规监测包括了肿瘤生长及治疗对动物正常行为的影响，具体内容有实验动物的活动性，摄食和饮水情况，体重增加或降低(体重每周测量 2 次)情况，眼睛、皮毛及其它异常情况。肿瘤体积计算公式： $\text{肿瘤体积}(\text{mm}^3)=1/2\times(a\times b^2)$ (其中 a 表示长径,b 表示短径)。试验药物药效学评价如下表。

表 24：试验药物在人小细胞肺癌移植异种移植 NCI-H526 小鼠模型中药效学评价

组别	给药组	剂 量 (mg/kg)	平均肿瘤体积 (Day 0) ^a	平均肿瘤体积 (Day 21) ^a	TGI(%) ^b
1	溶媒对照(生理盐水)	-	160.4±40.5	970.0±589.8	-
2	D-ADC55-1-8	3	162.7±21.1	57.3±49.7	113.0

注:a.数据以“平均值±标准误差”表示；b. $TGI\% = [1 - (Ti - T0) / (Ci - C0)] \times 100\%$ ，其中 T0 及 C0 分别是给药组及溶媒对照组分组当天(Day 0)平均肿瘤体积，Ti 及 Ci 分别是给药组及溶媒对照组 Day 21 时的平均肿瘤体积

效果实施例 15：试验药物在人小细胞肺癌 NCI-H69 异种移植瘤小鼠模型中药效学评价

从 DLL3-阳性细胞株 NCI-H69 取 10^7 个细胞分别接种于 nu/nu 裸鼠的右前肢腋下(每组 3 只)。当小鼠平均肿瘤体积到达 140 mm^3 左右，将小鼠分别随机分组给药，给药方式是单次静脉注射。分组当天设定为第 0 天，给药开始于第 0 天。肿瘤接种后，常规监测包括了肿瘤生长及治疗对动物正常行为的影响，具体内容有实验动物的活动性，摄食和饮水情况，体重增加或降低(体重每周测量 2 次)情况，眼睛、皮毛及其它异常情况。肿瘤体积计算公式： $\text{肿瘤体积}(\text{mm}^3)=1/2\times(a\times b^2)$ (其中 a 表示长径,b 表示短径)。试验药物药效学评价如下表。

表 25：试验药物在人小细胞肺癌移植异种移植 NCI-H69 小鼠模型中药效学评价

组别	给药组	剂 量 (mg/kg)	平均肿瘤体积 (Day 0) ^a	平均肿瘤体积 (Day 14) ^a	TGI(%) ^b
1	溶媒对照(生理盐水)	-	137.1±59.1	908.4±54.3	-
2	D-ADC55-1-8	3	142.7±53.2	323.7±244.6	76.5

注:a.数据以“平均值±标准误差”表示；b. $TGI\% = [1 - (Ti - T0) / (Ci - C0)] \times 100\%$ ，其中 T0 及 C0 分别是给药组及溶媒对照组分组当天(Day 0)平均肿瘤体积，Ti 及 Ci 分别是给药组及溶媒对照组 Day 21 时的平均肿瘤体积

在 NCI-H526 和 NCI-H69 模型中，与溶媒对照组相比，本发明的 ADC 在 3mg/kg 剂量下显著抑制 NCI-H526 和 NCI-H69 模型的肿瘤生长，肿瘤生长抑制率(TGI)分别为 113.0%、76.5%；各治疗组无动物死亡及显著动物体重降低，未见明显的药物毒性反应，治疗期间小鼠对本发明 ADC 耐受性良好，具体结果见表。

效果实施例 16：FACS 测定 ADC 亲和力

使用 B7H3 阳性人黑色素瘤细胞株 A375 检测 B-ADC55-1-6、B-ADC2-1-6、B-ADC12-1-6 和 DSADC 的亲和力。将样品用含 2 % BSA 的 PBS 溶液稀释至 15000 ng/mL，然后倍比稀释 11 个梯度，使得样品浓度为 0.014 ~ 15000 ng/mL。取 A375 细胞，500×g 离心 5 min，使用含 2 % BSA 的 PBS 溶液洗涤 3 次，与不同稀释浓度的样品在 4 °C 孵育 2 h，洗涤后与羊抗人 Alexa Fluor 488 荧光染料在 4 °C 避光孵育 1 h。洗涤后重悬，使用流式细胞仪 Attune NxT flow cytometer (Thermo Fisher Scientific, inc) 检测细胞平均荧光强度 (MFI)。

表 26：通过流式方法检测 ADC 对 A375 表面 B7H3 抗原亲和力

ADC 编号	EC50 (ng/mL)
DSADC	92.52
B-ADC55-1-6	37.78

B-ADC2-1-6	41.61
B-ADC12-1-6	40.01

从上述数据可知，本发明的 ADC 对 A375 表面 B7H3 抗原亲和力明显优于对照组 DSADC。

效果实施例 17：试验药物在人肝癌 Hep3B 异种移植瘤小鼠模型中药效学评价

从 B7H3-阳性细胞株 Hep3B 取 10^7 个细胞分别接种在 4-6 周龄 nu/nu 裸鼠的右前肢腋下(每组 6 只)。当小鼠平均肿瘤体积到达约 150 mm^3 ，将小鼠随机分组，单针注射给药。分组当天设定为第 0 天，给药开始于第 0 天。肿瘤接种后，常规监测包括了肿瘤生长及治疗对动物正常行为的影响，具体内容有实验动物的活动性，摄食和饮水情况，体重增加或降低(体重每周测量 2 次)情况，眼睛、皮毛及其它异常情况。肿瘤体积计算公式:肿瘤体积(mm^3)= $1/2 \times (a \times b^2)$ (其中 a 表示长径,b 表示短径)。

表 27：试验药物在肝癌移植异种移植 Hep3B 小鼠模型中药效学评价

组别	给药组	剂 量 (mg/kg)	平均肿瘤体 积(Day 0) ^a	平均肿瘤体 积 (Day 22) ^a	TGI(%) ^b	P value vs 对照组 ^c
1	溶媒对照(生理 盐水)	-	152.9±46.8	2434.6±529.4	-	-
2	B-ADC55-1-6	2	153.0±57.1	917.5±405.8	66.5	< 0.001
3	B-ADC2-1-6	2	152.5±52.7	1138.2±856.6	56.8	< 0.05
4	B-ADC12-1-6	2	153.0±58.6	847.7±384.0	69.6	< 0.01
5	B-BATADC	2	152.7±54.9	1386.2±869.9	45.9	< 0.05

注:a.数据以“平均值±标准误差”表示；b. $TGI\% = [1 - (Ti - T0) / (Ci - C0)] \times 100$ 其中 T0 及 C0 分别是给药组及溶媒对照组分组当天(Day 0)平均肿瘤体积，Ti 及 Ci 分别是给药组及溶媒对照组 Day 22 时的平均肿瘤体积；c.与溶媒对照组肿瘤体积相比。

与溶媒对照组相比，本发明的 ADC 2 mg/kg 组均显著抑制 Hep3B 模型的肿瘤生长；其中，实验组显著优于对照组。各治疗组无动物死亡及显著动物体重降低，未见明显的药物毒性反应，治疗期间小鼠对本发明 ADC 耐受性良好。具体结果见表。

效果实施例 18：试验药物在人恶性黑色素瘤细胞 A375 异种移植瘤小鼠模型中药效学评价

从 B7H3-阳性细胞株 A375 取 10^7 个细胞分别接种在 4-6 周龄 nu/nu 裸鼠的右前肢腋下(每组 7 只)。当小鼠平均肿瘤体积到达约 130 mm^3 ，将小鼠随机分组给药。分组当天设定为第 0 天，给药开始于第 0 天。肿瘤接种后，常规监测包括了肿瘤生长及治疗对动物正常行为的影响，具体内容有实验动物的活动性，摄食和饮水情况，体重增加或降低(体重每周测量 2 次)情况，眼睛、皮毛及其它异常情况。肿瘤体积计算公式: 肿瘤体积(mm^3)= $1/2 \times (a \times b^2)$ (其中 a 表示长径,b 表示短径)。

表 28：分组及给药方案

组别	动物数	给药组	剂量(mg/kg)	给药方式	给药周期
1	7	溶媒对照(生理 盐水)	-	i.v.	单次给药
2	7	DSADC	2	i.v.	单次给药
3	7	B-ADC55-1-6	2	i.v.	单次给药
4	7	B-ADC2-1-6	2	i.v.	单次给药
5	7	B-ADC12-1-6	2	i.v.	单次给药
6	7	B-BATADC	2	i.v.	单次给药

表 29：试验药物在人恶性黑色素瘤细胞异种移植 A375 小鼠模型中药效学评价

组别	试验 ADC	平均肿瘤体 积 (Day 0) ^a	平均肿瘤体 积 (Day 26) ^a	P value vs 对照组 ^c
1	溶媒对照(生理 盐水)	128.7±32.9	-	-
2	DSADC	129.7±35.9	2164.1±851.7	< 0.001
3	B-ADC55-1-6	128.9±39.0	144.6±90.1	< 0.001

4	B-ADC2-1-6	129.8±38.3	346.4±44.3	< 0.001
5	B-ADC12-1-6	128.3±29.1	177.1±32.2	< 0.001
6	B-BATADC	129.9±40.1	1026.8±580.7	< 0.001

注:a.数据以“平均值±标准误差”表示；b.与溶媒对照组肿瘤体积相比。

表中数据表明，在第 22 天，溶媒对照组瘤体均值达 3000 mm³，根据动物福利进行安乐死处理。在第 26 天，对照组药效显著劣于等剂量试验组。与溶媒组对照相比，试验组均显示了显著的肿瘤抑制效果。

效果实施例 19：抗体-药物偶联物对人肺癌 Calu-6 小鼠移植瘤的抗肿瘤实验

本实验选用适龄 NOD/SCID 小鼠接种人肺癌细胞 Calu-6，待肿瘤体积长至约 100~200 mm³ 时，挑选肿瘤生长良好的动物，将动物按肿瘤体积均衡分组，动物分组及剂量方案如下表所示。

表 30 动物分组及剂量方案

组别	动物数量（只）	剂量（mg/kg）	给药途径/频次
溶媒组	6	0	静脉给药/两周一次
B-ADC55-1-4	6	3.0	静脉给药/两周一次

分组完成后进行给药并称重小鼠体重，记录数据，通过测量给药后不同时间的肿瘤瘤径，动态观察肿瘤的生长情况，计算肿瘤体积，公式如下：

肿瘤体积（mm³）=1/2×长径（mm）×[短径（mm）]²

实验终点，与溶媒组相比，供试品组能显著抑制肿瘤的生长。

表 31 ADC 对荷瘤小鼠 Calu-6 移植瘤的药效

组别	D0 平均肿瘤体积（mm ³ ）	D28 平均肿瘤体积（mm ³ ）	抑瘤率 TGI（%）
溶媒组	157.7±51.2	3041.5±1395.0	N/A
B-ADC55-1-4	158.5±55.3	276.2±23.7	95.9

效果实施例 20：酶切速率测定

1.CTB 活化：

Cathepsin B 冻干粉（10 units）以相应储存液（pH=5.0，25 mM 醋酸缓冲液+1.0 mM EDTA）稀释至 10 UN/mL 溶液，总体积是 1 mL，并将之分装为 50 uL/支，于-80℃条件下保存。进行酶切反应时，取用一支 50 uL CTB (10 UN/mL)母液，加入 860 μL pH=5.0 的缓冲液，再加入 100 uL Cys(200 mM)活化液，活化 15min，总体积为 1.0mL，得到最终浓度为 0.5UN/mL 的 CTB 活化溶液。

2.底物母液的封闭：

量取 5μL 10 mM LD55-1、LD55-2、LD2-1、LD2-2 的 DMSO 溶液，加入 5μL 100 mM (5.0 equiv) 半胱氨酸 (Cys) 水溶液，混合均匀，进行 5-10 min 封闭反应，得到封闭后的底物母液 Cys-LD55-1、Cys-LD55-2、Cys-LD2-1、Cys-LD2-2，其底物浓度为 10μL 5 mM。

3.进行酶切反应：

底物最终浓度为 40uM：量取 2.0 μL 5mM 的底物封闭液，加入 250 μL 浓度为 0.5 UN/mL 的 CTB 溶液，总体积为 0.25 mL，在 37℃ 进行孵育，间隔 30min 进行取样检测,直至 24h。

4. 检测样品：

到反应时间点后，取适量样品，加入等体积冰冷的 MeOH (HPLC 级)进行稀释沉淀，然后在离心机 10000 rpm 以上，4℃ 离心 10min，取上清液进行检测。

5.数据结果

以 Drug 不加酶检测的 drug 峰面积为 1，对应时间点取样检测到的 drug 峰面积与之对比所获得的百分比为该点的 drug 释放比例。表 28 记录了 Cys-LD55-1、Cys-LD55-2、Cys-LD2-1、Cys-LD2-2 酶切后 Cys-Linker-drug 剩余量。

表 32：酶切释放实验

保留(%)	0 min	30min	60 min	24h
Cys-LD55-1	100%	1.31%	-	-

Cys-LD55-2	100%	89.47%	-	3.32%
Cys-LD2-1	100%	12.2%	3.20%	-
Cys-LD2-2	100%	93.05%	-	4.89%

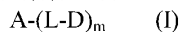
从酶切曲线可以看出 Cys-LD55-1、Cys-55-2、Cys-LD2-1、Cys-LD2-2 构型均能被酶切完全，Cys-LD55-1 和 Cys-LD2-1 在 30-60 分钟左右酶切完全，Cys-LD55-2 和 Cys-LD2-2 在 24 小时左右酶切完全。

效果实施例 21：评估 ADC 在食蟹猴体内的毒代动力学和耐受性

选择食蟹猴(雌，2 只)，每 2-3 周间隔（总共 3 次剂量）以 10-50 mg/kg 的剂量水平静脉内给予 ADC（5 mg/mL，30 分钟注射完成）。研究期间评估的参数包括一般观察、体重、摄食量、体温、心电图（II 导联）、临床病理（血液学、血生化、凝血）以及大量组织的宏观和微观检查。毒代动力学样品分别在每次给药完成后的 0、24、72、120、336 和 504 小时收集。采用 MesoScale Discovery (MSD)电化学发光平台(总单抗、总 ADC)和 LC-MS/MS(游离依喜替康)对 TK 样品进行分析。实验表明，本发明的 ADC 耐受性良好。在剂量考察中，注射 ADC 后，食蟹猴一般观察未见异常，体重、体温、凝血、尿液分析中未观察到任何毒理学异常。本发明的 ADC 在食蟹猴中耐受性良好，表现出稳定的药代动力学特征。

权 利 要 求 书

1、一种具有式(I)结构的抗体药物偶联物及其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物：



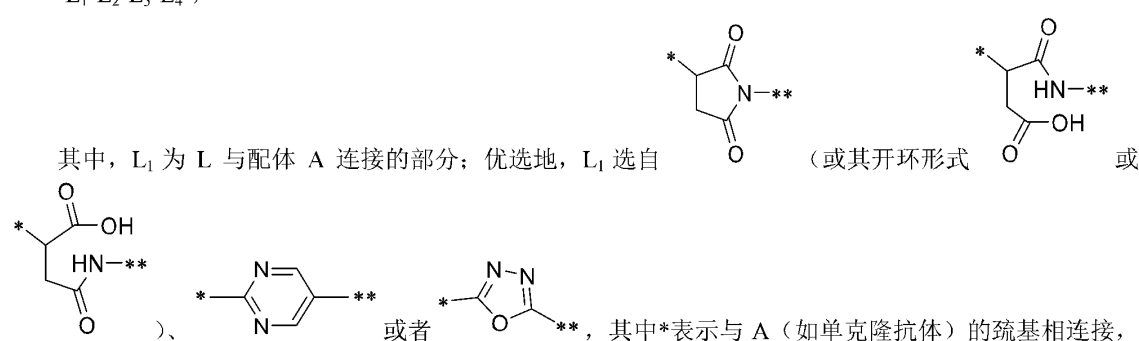
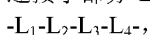
其中 A 为一种靶向配体，其选自抗体（如单克隆抗体）或抗原结合片段，小分子配体，多肽；

L 为连接子部分，一端与配体 A 连接，一端与生物活性分子 D 连接；

D 为含氨基的生物活性分子或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、同位素标记物，通过其分子结构中的氨基与连接子部分 L 共价连接；

m 为 1 到 12 的整数或小数；

连接子部分-L-由下式表示：



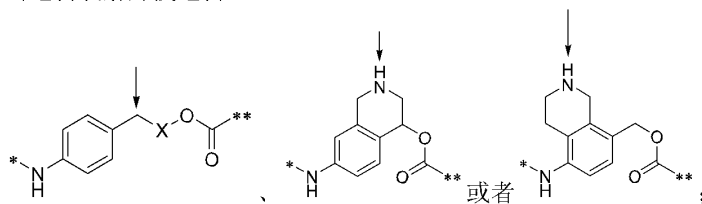
**表示与 L_2 相连接；

L_2 为间隔子；优选地，选自 $-L_{2a}-C(O)-$ 、 $-L_{2a}-L_{2b}-C(O)-$ 、 $-L_{2a}-NH-C(O)-$ 、 $-L_{2a}-C(O)-NH-$ 、 $-L_{2a}-L_{2b}-NH-C(O)-$ 、 $-L_{2a}-L_{2b}-C(O)-NH-$ 、 $-L_{2a}-C(O)-NH-L_{2b}-C(O)-$ 、 $-L_{2a}-NH-C(O)-L_{2b}-C(O)-$ 、 $-L_{2a}-NH-C(O)-L_{2b}-NH-C(O)-$ 、 $-L_{2a}-NR^1-SO_2-NH-C(O)-O-L_{2b}-C(O)-$ 或者 $-L_{2a}-NR^1-SO_2-NH-C(O)-O-L_{2b}-NH-C(O)-$ ，其中 L_{2a} 选自 $-C_1-C_8$ 亚烷基-、 $-C_1-C_8$ 亚烷基- C_3-C_8 亚环烷基-、 $-C_6-C_{14}$ 亚芳基-、 $-C_6-C_{14}$ 亚芳基- C_1-C_8 亚烷基-、5-6 元亚杂芳基-、5-6 元亚杂芳基- C_1-C_8 亚烷基-、1-50 个原子的直链或支链亚杂烷基-、1-50 个原子的直链或支链亚杂烷基-3-8 元亚杂环基，所述亚烷基、亚环烷基、亚芳基、亚杂烷基、亚杂芳基、亚杂环基各自任选地被独立地选自 C_1-C_6 烷基、1-6 个原子的杂烷基、 C_1-C_6 烷氧基、羟基、氨基、羧基或 C_3-C_8 环烷基中的一个或者多个取代基所取代，所述亚杂烷基、亚杂环基、杂烷基含有 1-12 个杂原子，所述亚杂烷基、亚杂环基、亚杂芳基、杂烷基的杂原子选自 N、O 或 S 中的一个或多个； L_{2b} 选自 $-C_1-C_8$ 亚烷基-、1-50 个原子的直链或支链亚杂烷基， R^1 选自氢、 C_1-C_6 烷基、 C_3-C_8 环烷基、3-8 元杂环基、 C_1-C_6 卤代烷基、2-8 个原子的杂烷基、 C_6-C_{14} 芳基、5-6 元杂芳基，所述烷基、杂烷基、芳基、杂芳基各自任选地被独立地选自 C_1-C_6 烷基、2-6 个原子的杂烷基、 C_1-C_6 烷氧基、氨基或羧基中的一个或者多个取代基所取代，所述杂烷基、亚杂烷基含有 1-12 个杂原子，所述杂烷基、杂环基、杂芳基、亚杂烷基、亚杂芳基的杂原子选自 N、O 或 S 中的一个或多个；

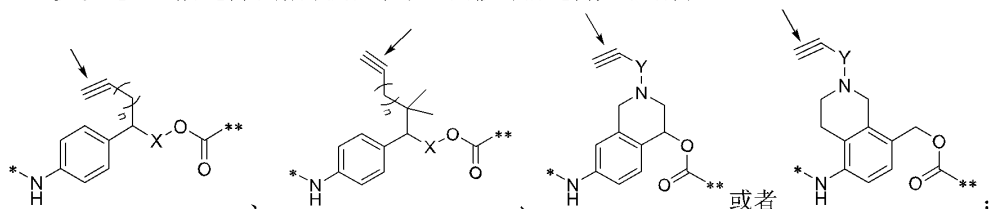
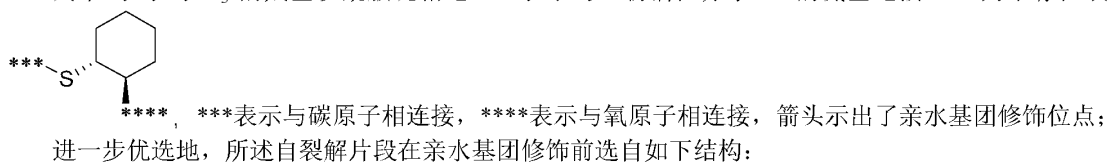
L_3 为多肽序列；优选地，选自由 2-8 个天然或非天然氨基酸构成的肽残基，其中任选氨基酸进一步被选自 C_1-C_6 烷基、2-6 个原子的杂烷基、 C_1-C_6 烷氧基、羟基、氨基、羧基或 C_3-C_8 环烷基中的一个或者多个取代基所取代；

L_4 为亲水基团修饰的自裂解片段，

所述自裂解片段选自：



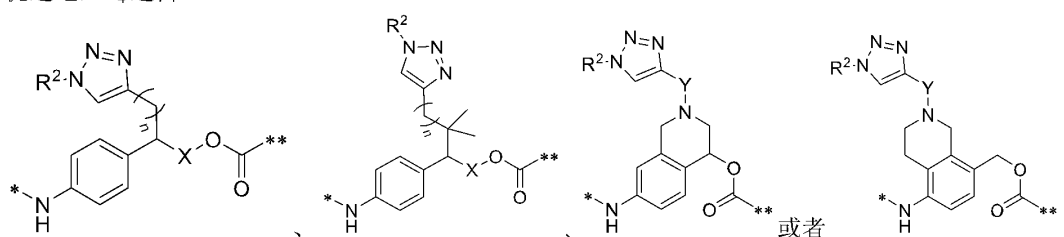
其中*表示与 L_3 的羧基以酰胺键相连，**表示与生物活性分子 D 的氨基连接，X 为不存在或者



其中 Y 为 C_1-C_6 亚烷基或者 $-R^3-C(O)-$, 其中 R^3 为 C_1-C_6 亚烷基或者含 1-8 个 $-OCH_2CH_2-$ 结构单元的亚杂烷基, n 为 0 到 6 的整数;

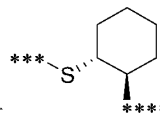
所述亲水基团具有至少一个叠氮基团并包含聚乙二醇基团、聚天然氨基酸或非天然氨基酸基团、单糖、低聚糖或者多糖或上述基团的组合;

优选地, L_4 选自:



其中*表示与 L_3 的羧基以酰胺键相连, **表示与生物活性分子 D 的氨基连接;

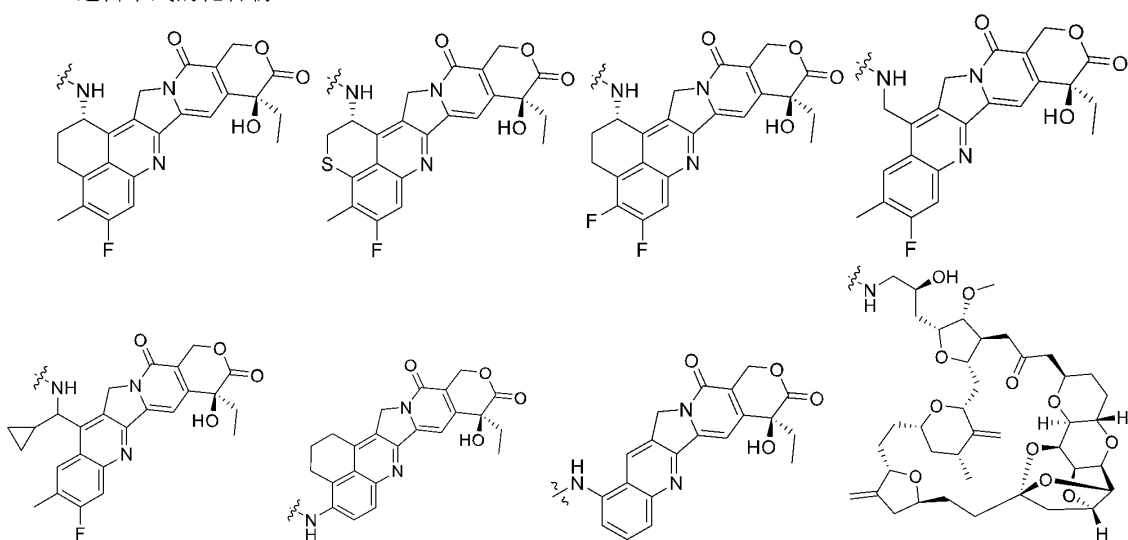
R^2 为亲水片段, 优选地, 选自包含 4-50 个 (OCH_2CH_2) 结构单元的直接或支链杂烷基、包含 4-50 个蛋白氨基酸 (如甘氨酸) 或非蛋白氨基酸 (如肌氨酸) 肽链、包含单糖、低聚糖或者多糖的直接或支链杂烷

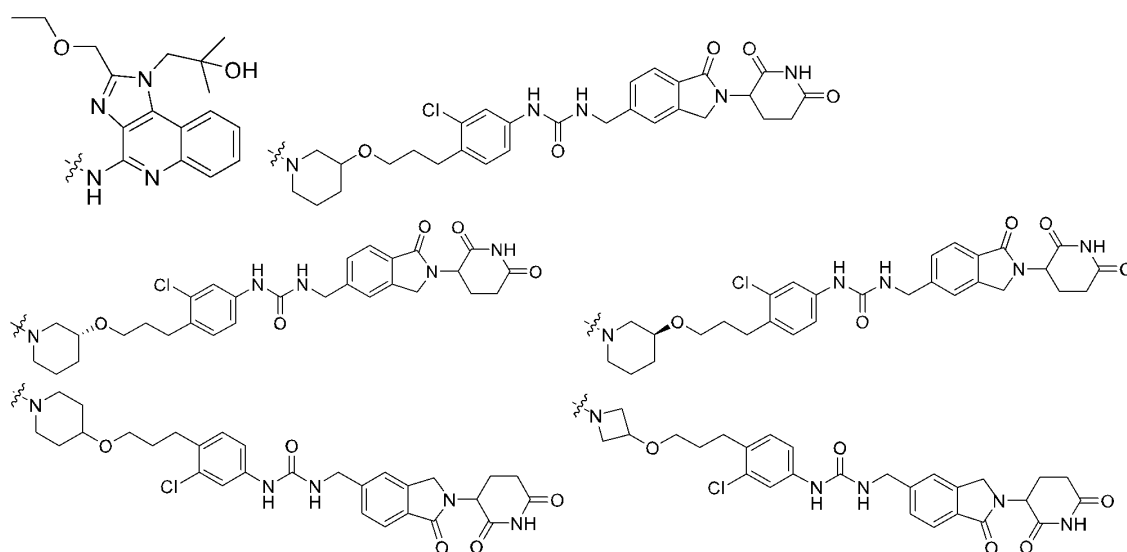


基; X 为不存在或者

****, ****表示与碳原子相连接, ****表示与氧原子相连接; Y 为 C_1-C_6 亚烷基或者 $-R^3-C(O)-$, 其中 R^3 为 C_1-C_6 亚烷基或者含 1-8 个 $-OCH_2CH_2-$ 结构单元的亚杂烷基, n 为 0 到 6 的整数;

D 选自下式的化合物:





2、权利要求 1 所述的一种具有式(I)结构的抗体药物偶联物及其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物，其中 A 选自靶向 HER2(ErbB2)、HER3(ErbB3)、HER4(ErbB4)、EGFR、DLL3、TROP2、B7-H3、c-Met、CD20、CD22、CD30、CD33、CD44、CD47、CD56、CD70、CD73、CD79b、CD105、CEA、A33、Cripto、EphA2、G250、MUC1、Lewis Y、VEGFR、VEDF、PD-L1、PD-L1、MET、RET、GPNMB、Integrin、PSMA、Tenascin-C、SLC44A4、FR α 或 Mesothelin 的抗体或其抗原结合片段。

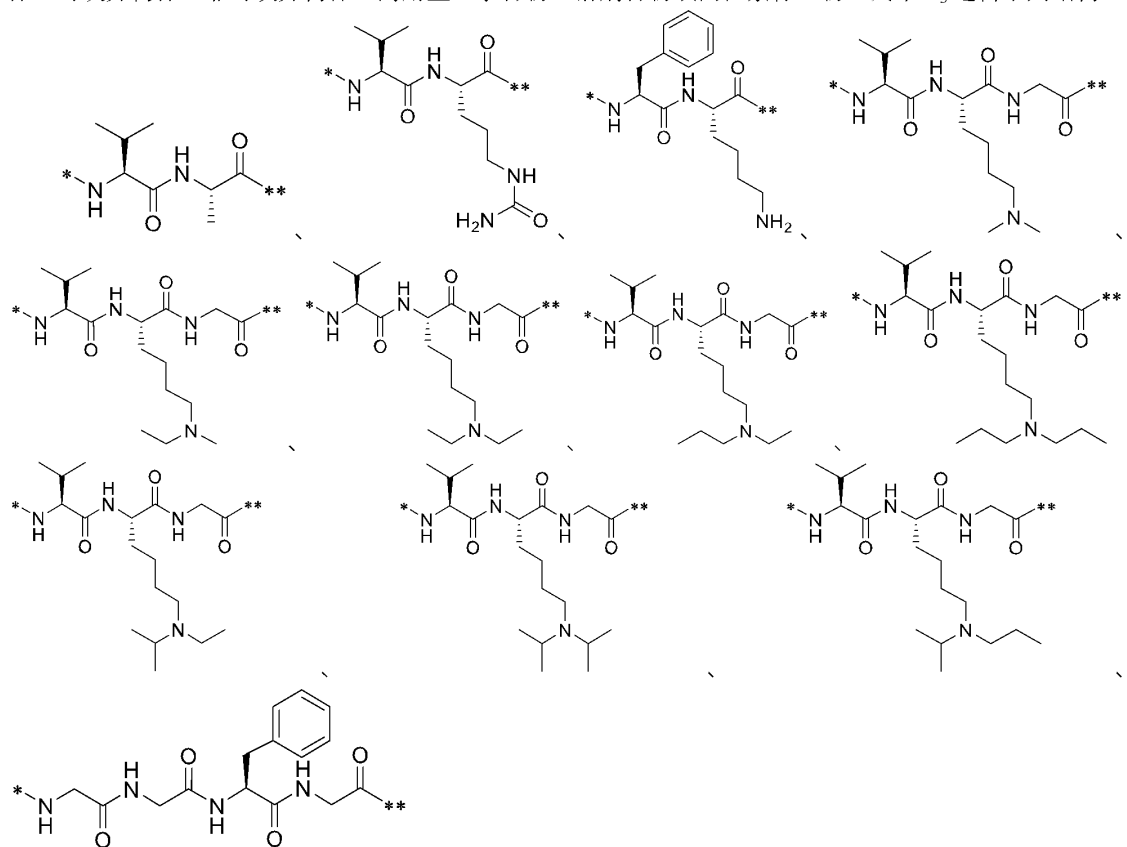
3、权利要求 1-2 任一所述的一种具有式(I)结构的抗体药物偶联物及其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物，其中 L₂ 选自下列结构：

(1)	(7)
(2)	(8)
(3)	(9)
(4)	(10)
(5)	(11)
(6)	(12)

其中，w 选自 1-12 的整数，*表示与 L₁ 相连接，**表示与 L₃ 相连接。

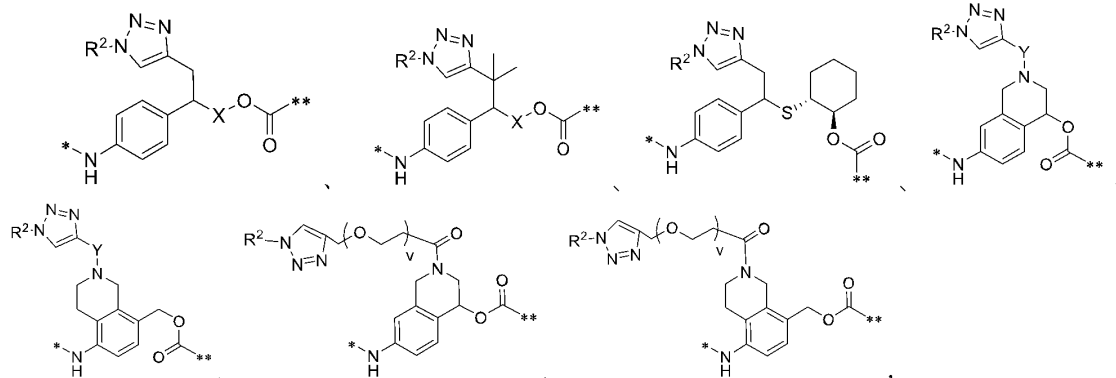
4、权利要求 1-3 任一所述的一种具有式(I)结构的抗体药物偶联物及其互变异构体、内消旋体、外消旋

体、对映异构体、非对映异构体、药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物，其中 L₃ 选自下列结构：



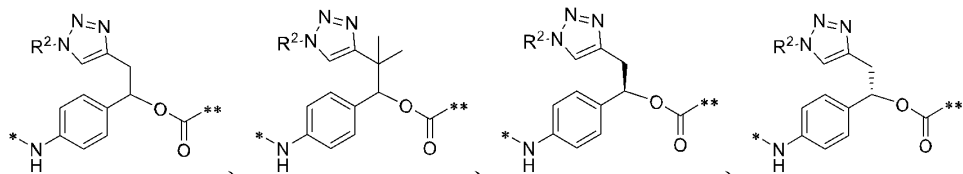
其中*表示与 L₂ 相连接，**表示与 L₄ 相连接。

5、权利要求 1-4 任一所述的一种具有式(I)结构的抗体药物偶联物及其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物，其中 L₄ 选自下列结构：

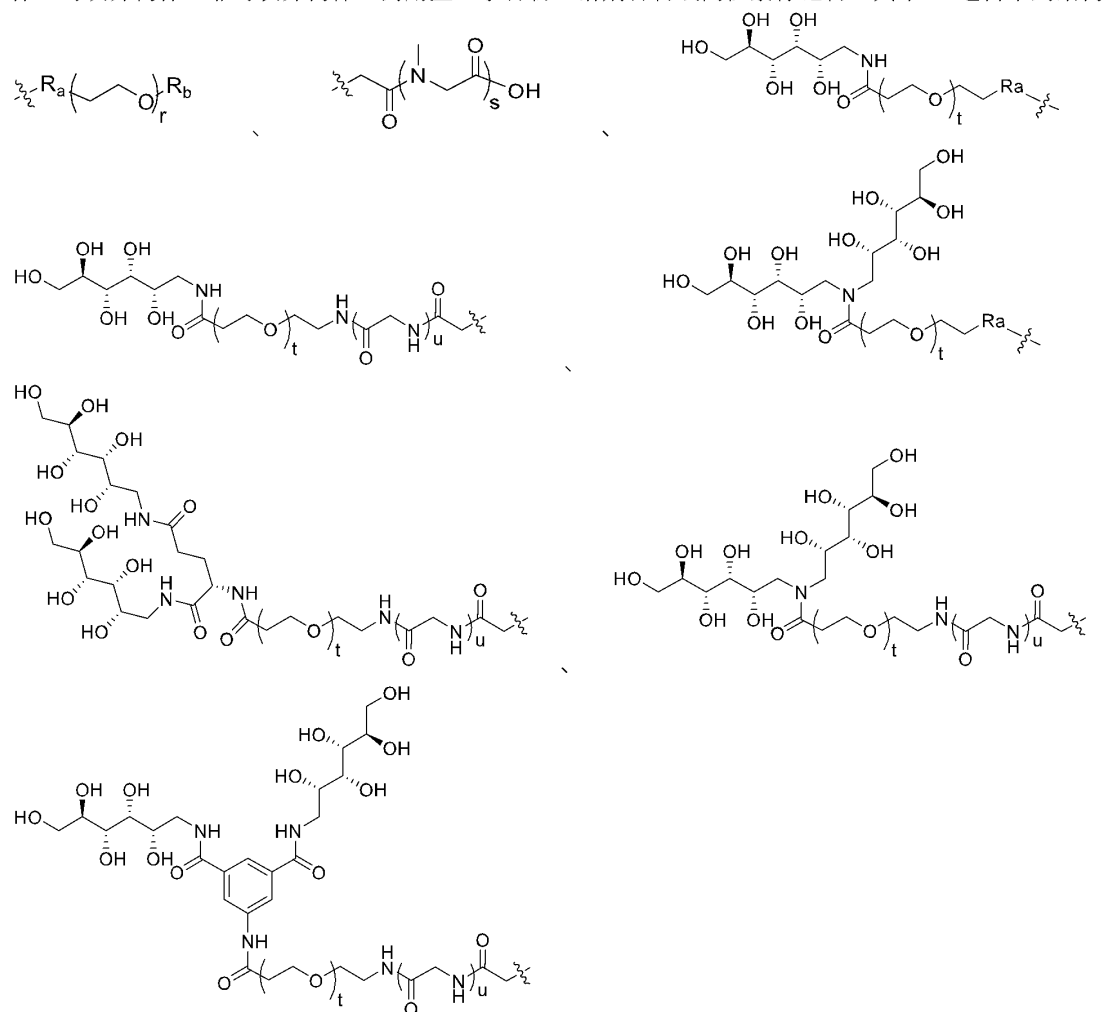


其中，v 选自 1-12 的整数，*表示与 L₃ 的羧基以酰胺键相连，**表示与生物活性分子 D 的氨基连接。

6、权利要求 1-5 任一所述的一种具有式(I)结构的抗体药物偶联物及其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物，其中 L₄ 选自下列结构：

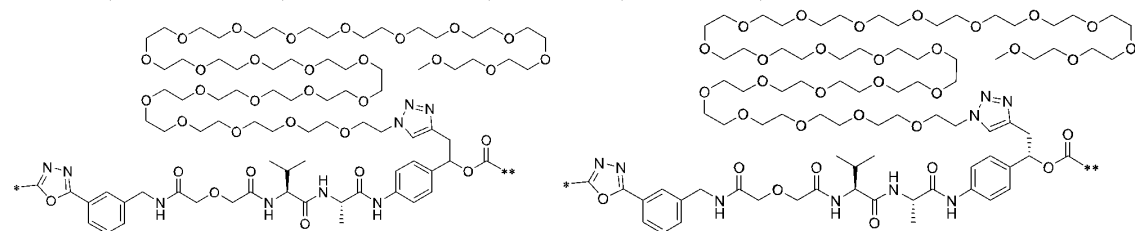


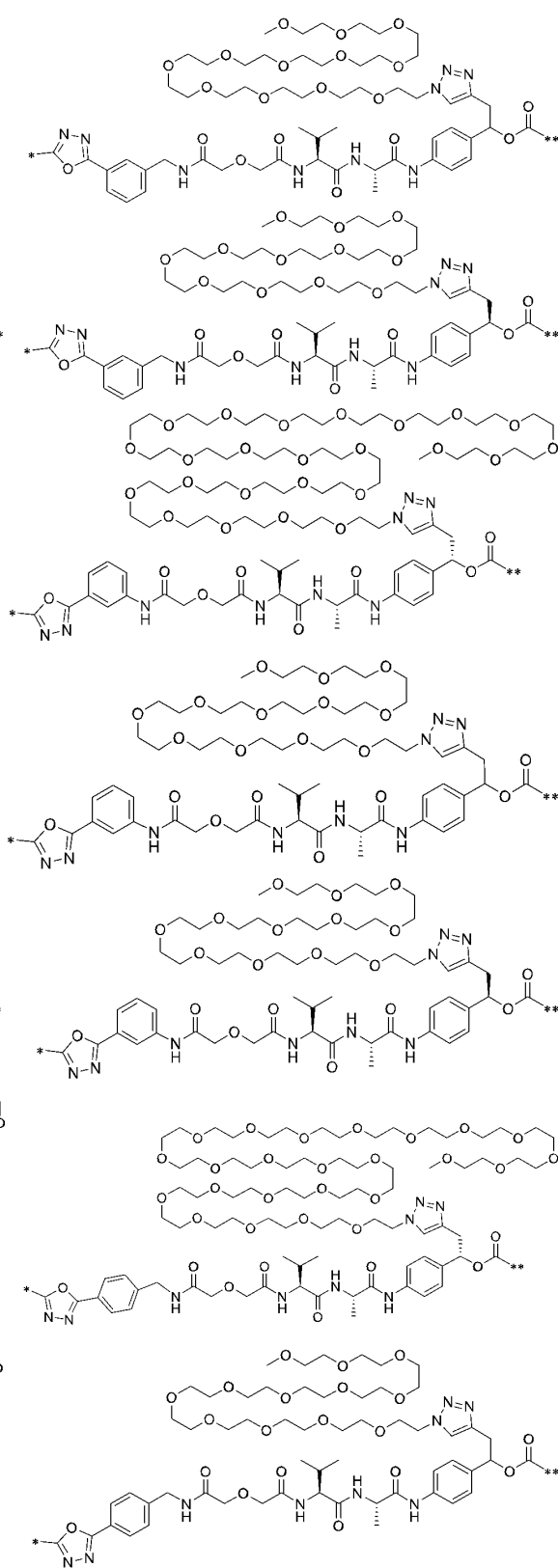
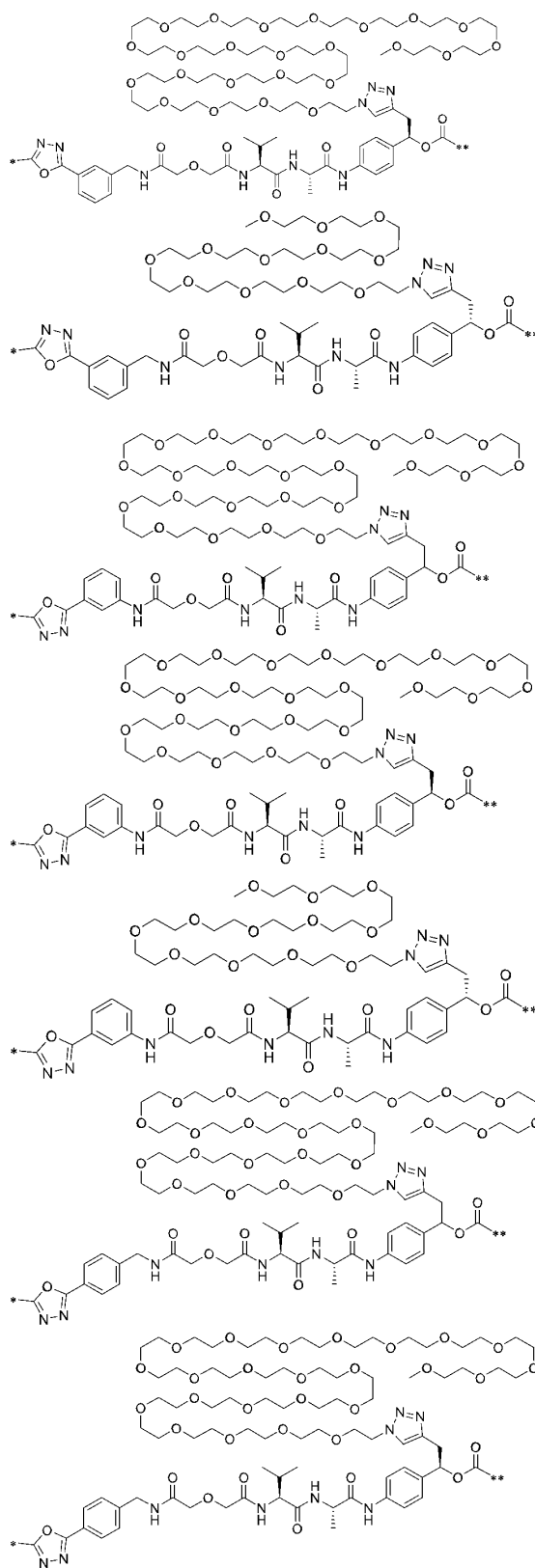
7、权利要求 1-6 任一所述的一种具有式(I)结构的抗体药物偶联物及其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物，其中 R^2 选自下列结构：

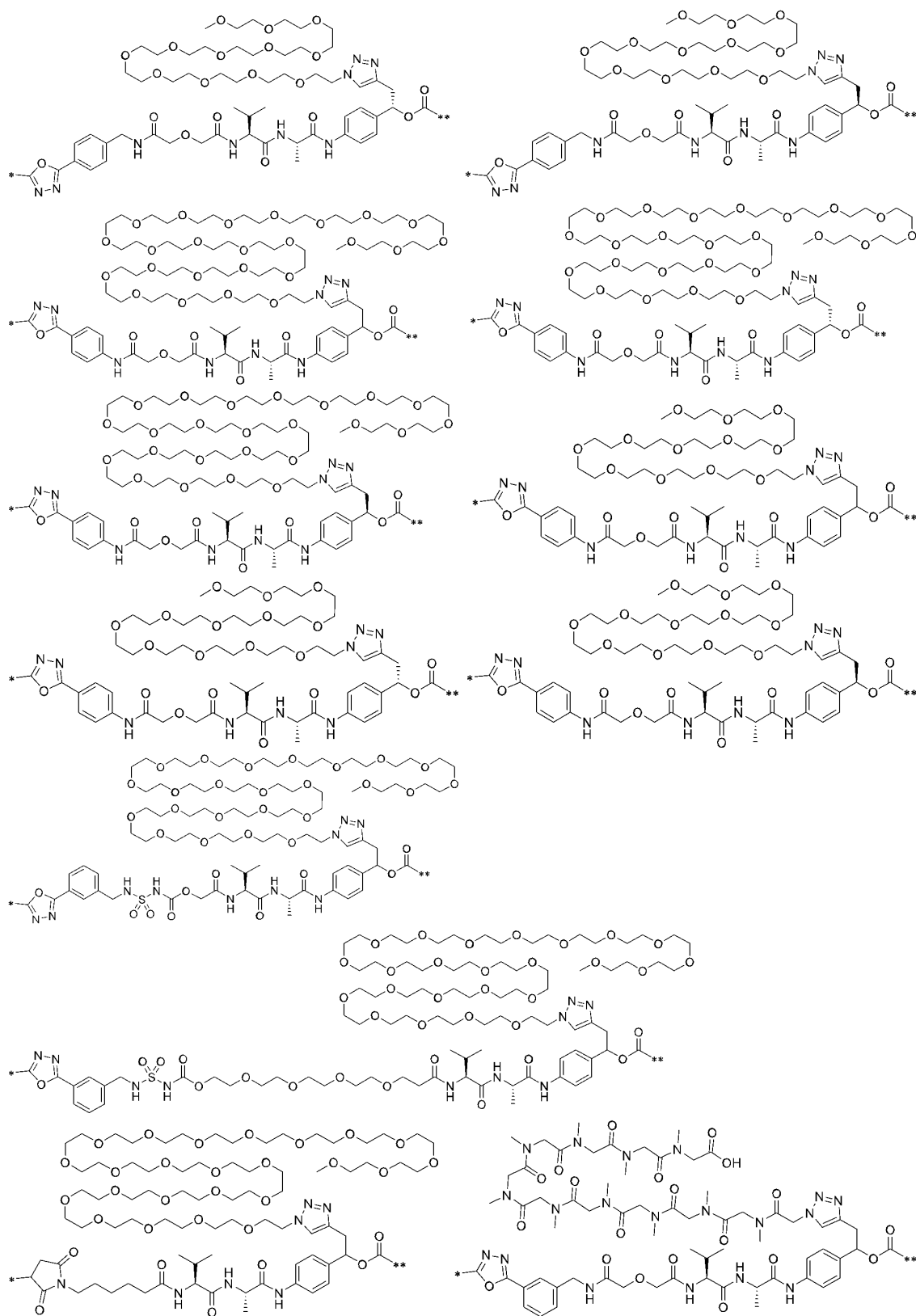


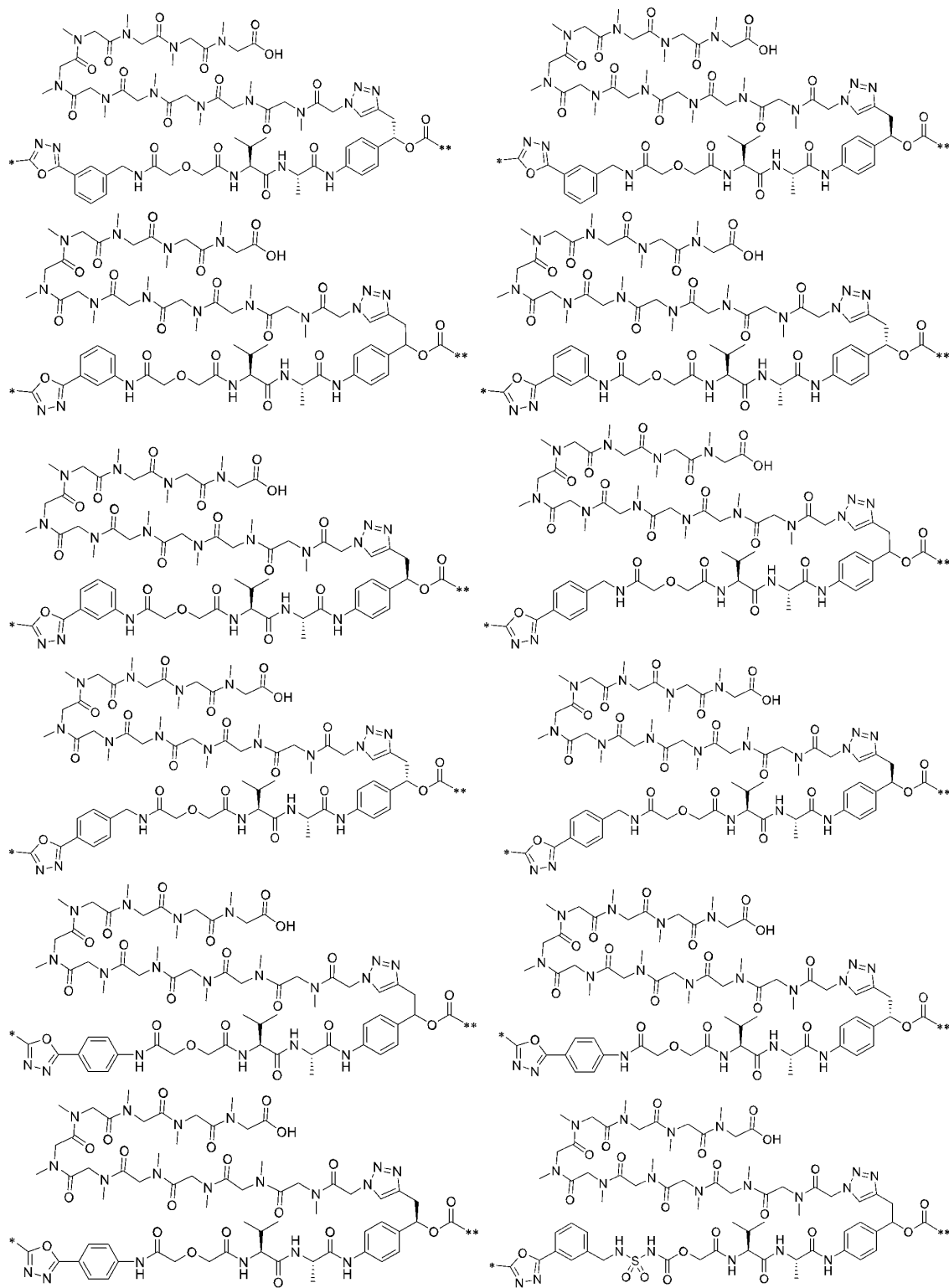
其中， r 、 s 、 t 、 u 各自独立的选自 1-50 的整数（如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50）； R_a 选自键、 C_1 - C_3 亚烷基，如亚甲基、亚乙基、亚正丙基、亚异丙基； R_b 选自 C_1 - C_3 烷基，如甲基、乙基、正丙基、异丙基。

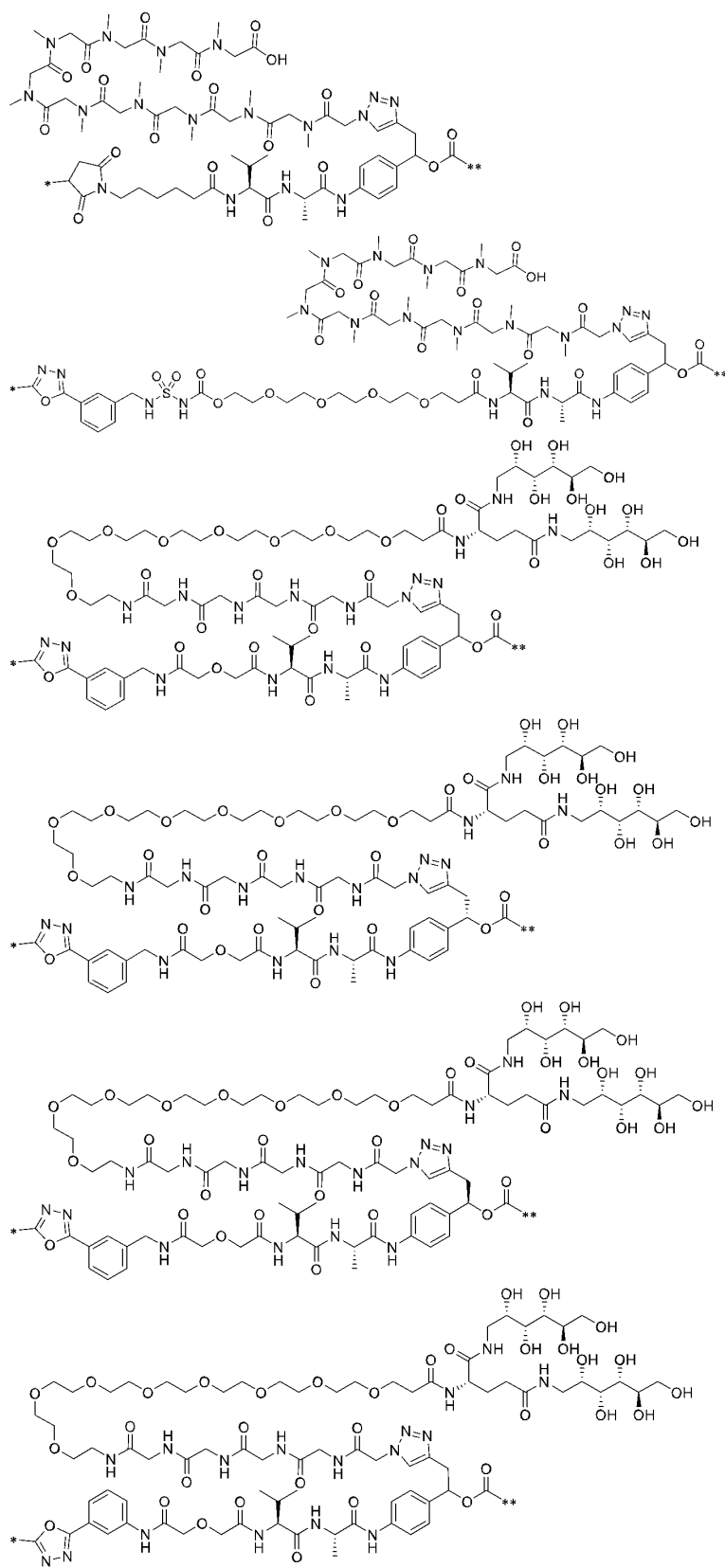
8、权利要求 1-7 任一所述的一种具有式(I)结构的抗体药物偶联物及其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物，其中 L 选自下述结构：

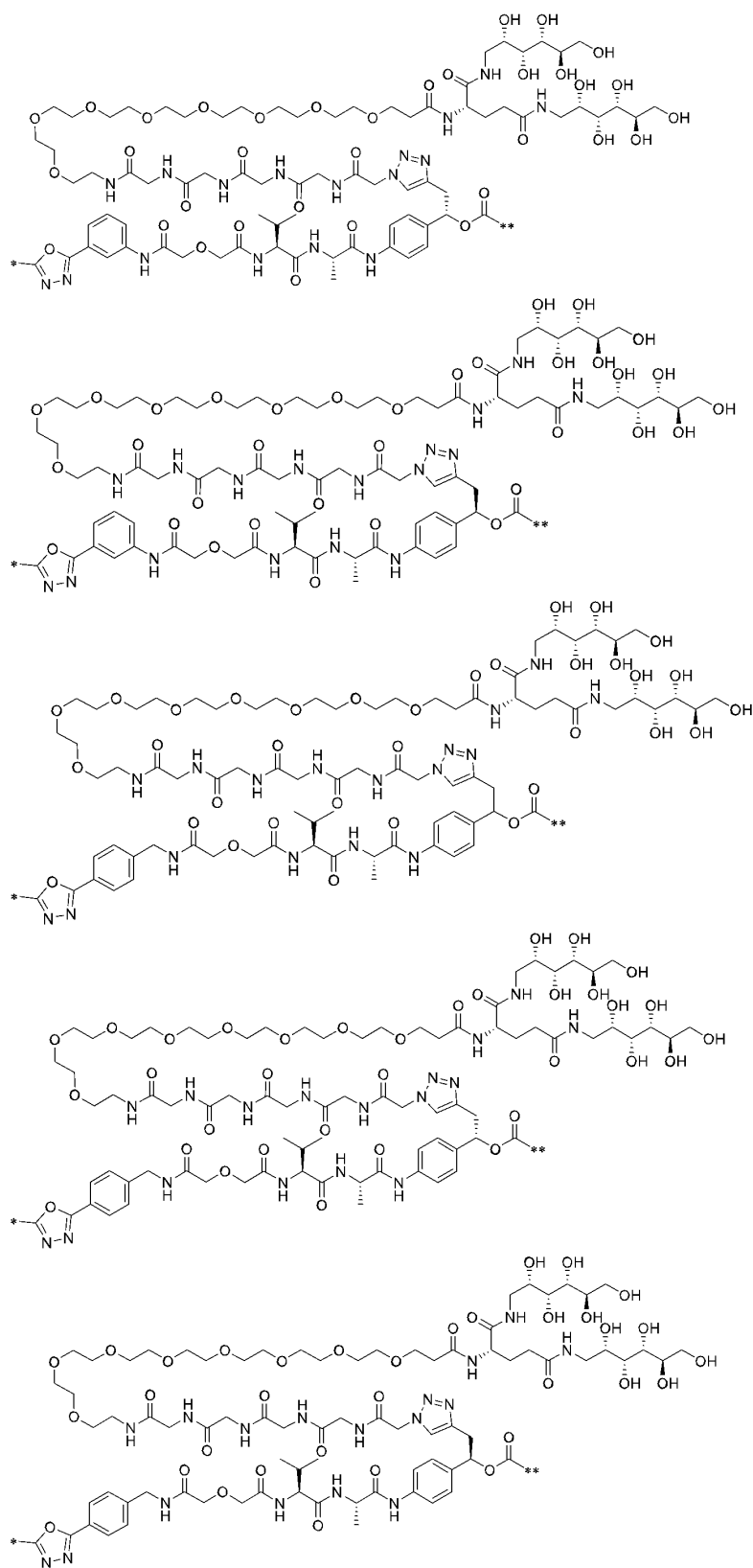


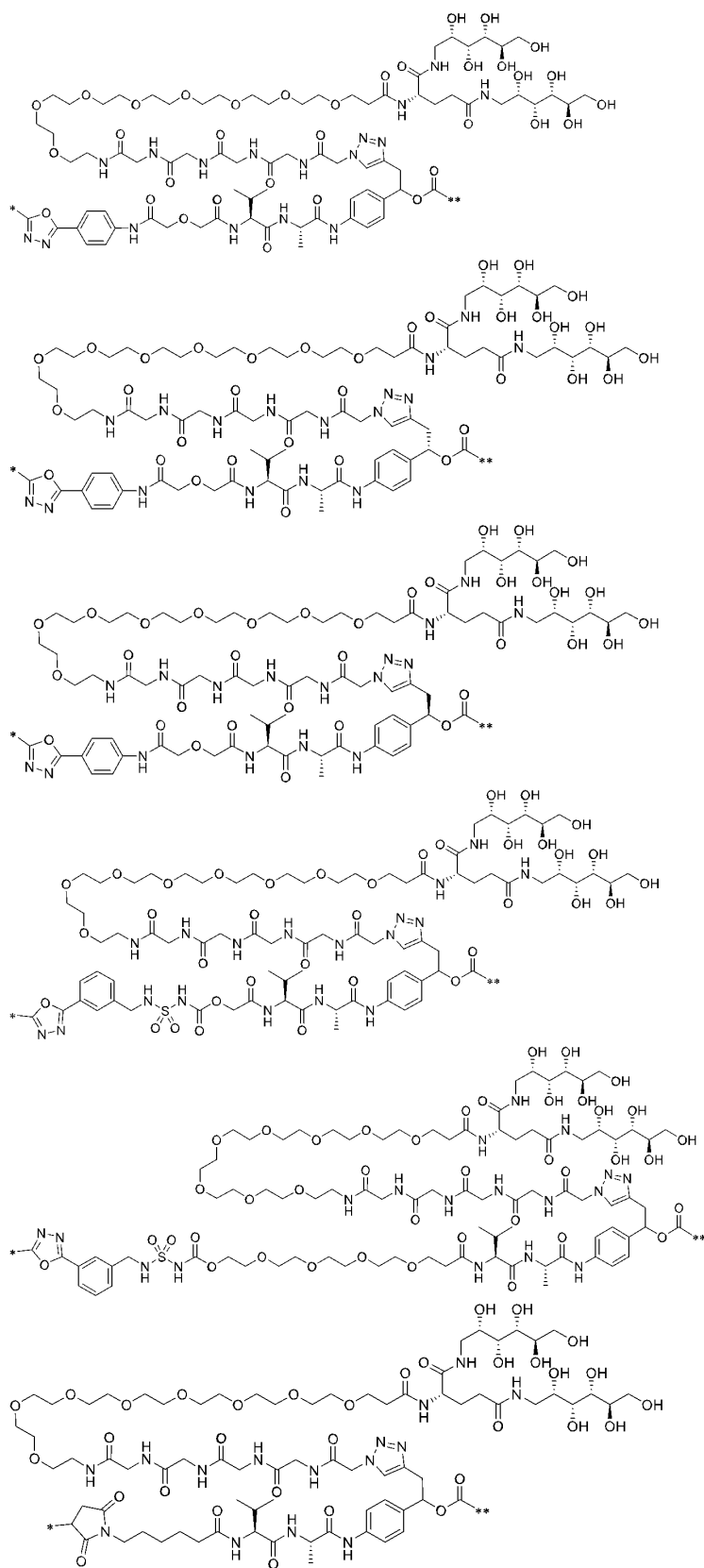


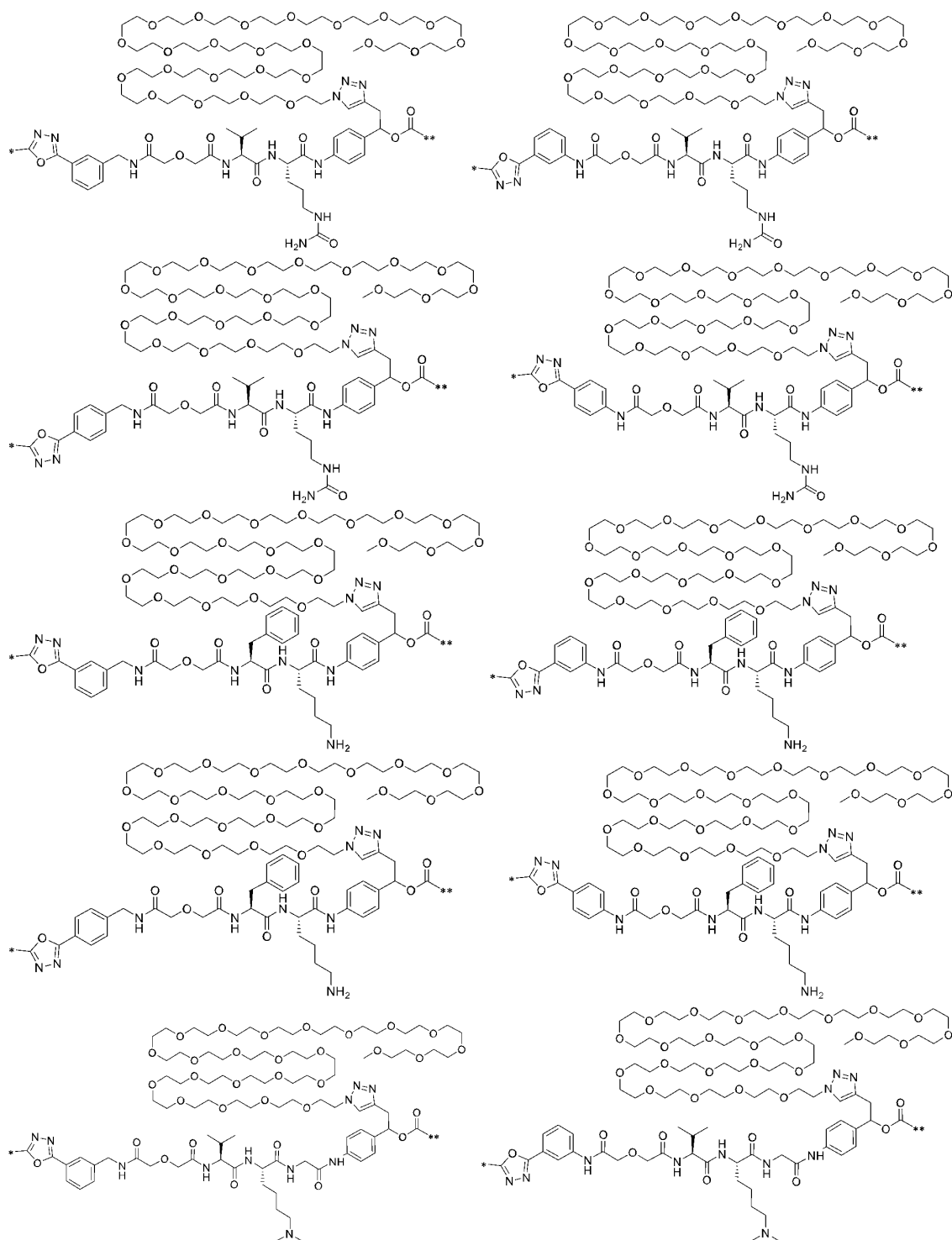


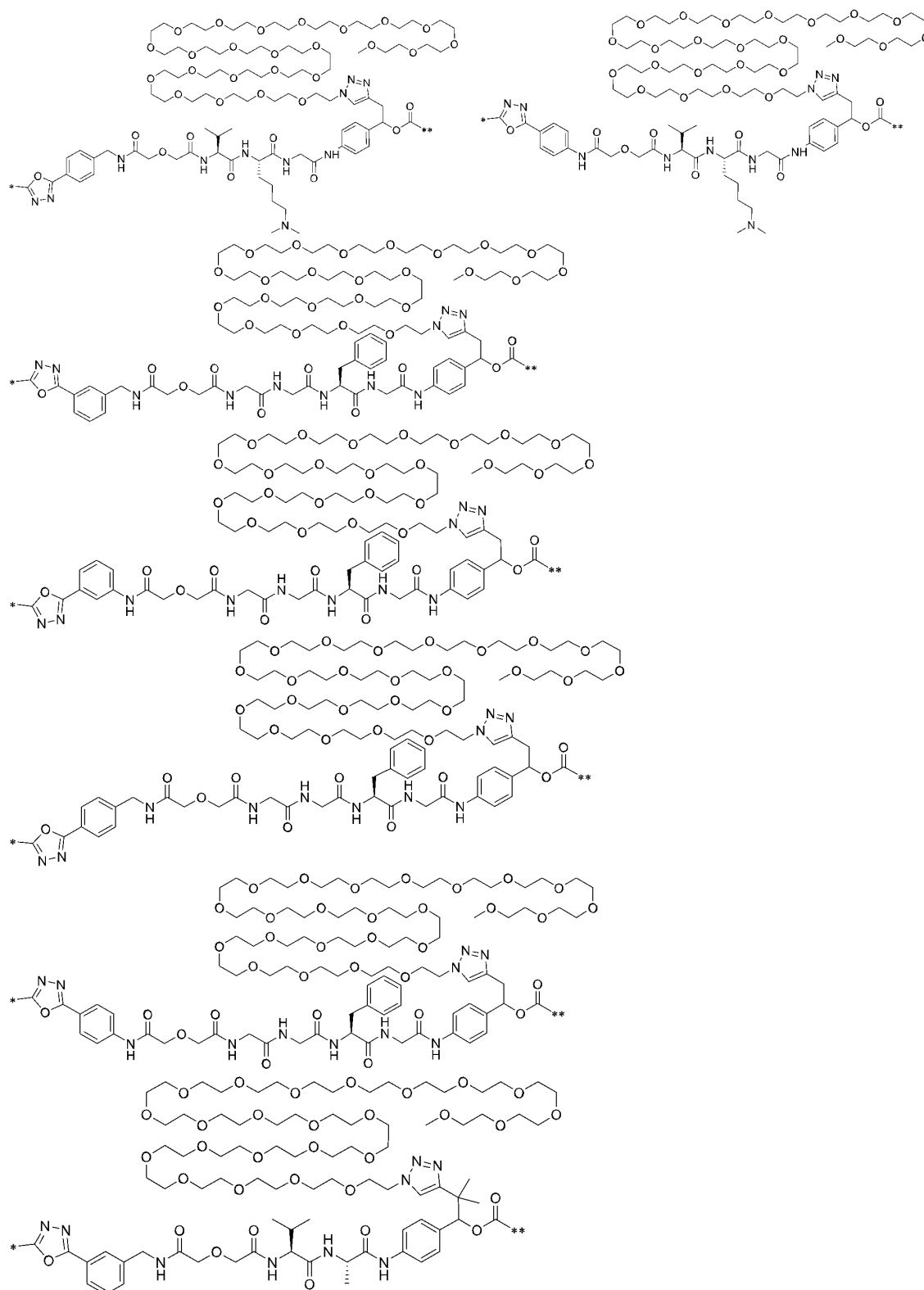


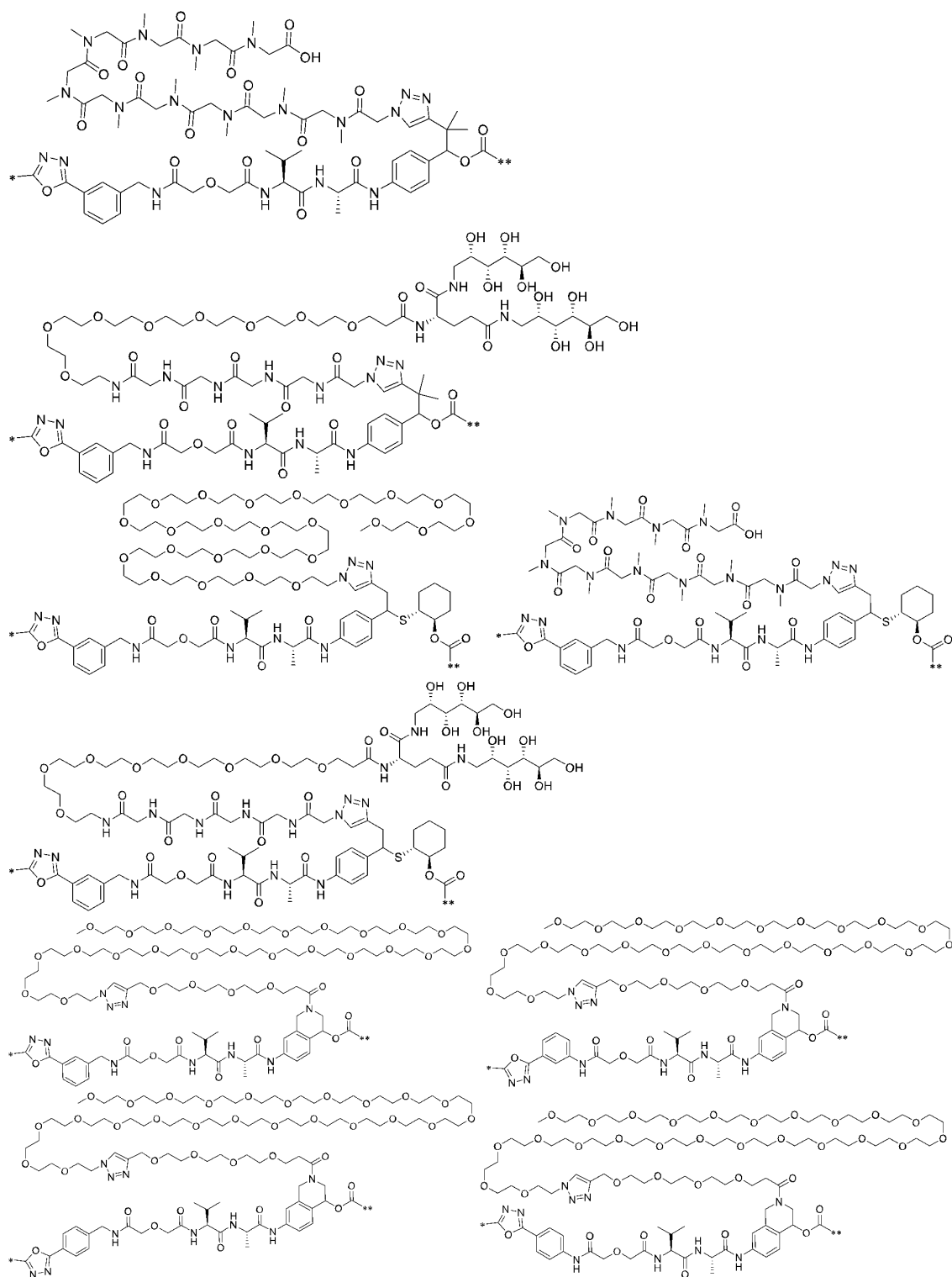


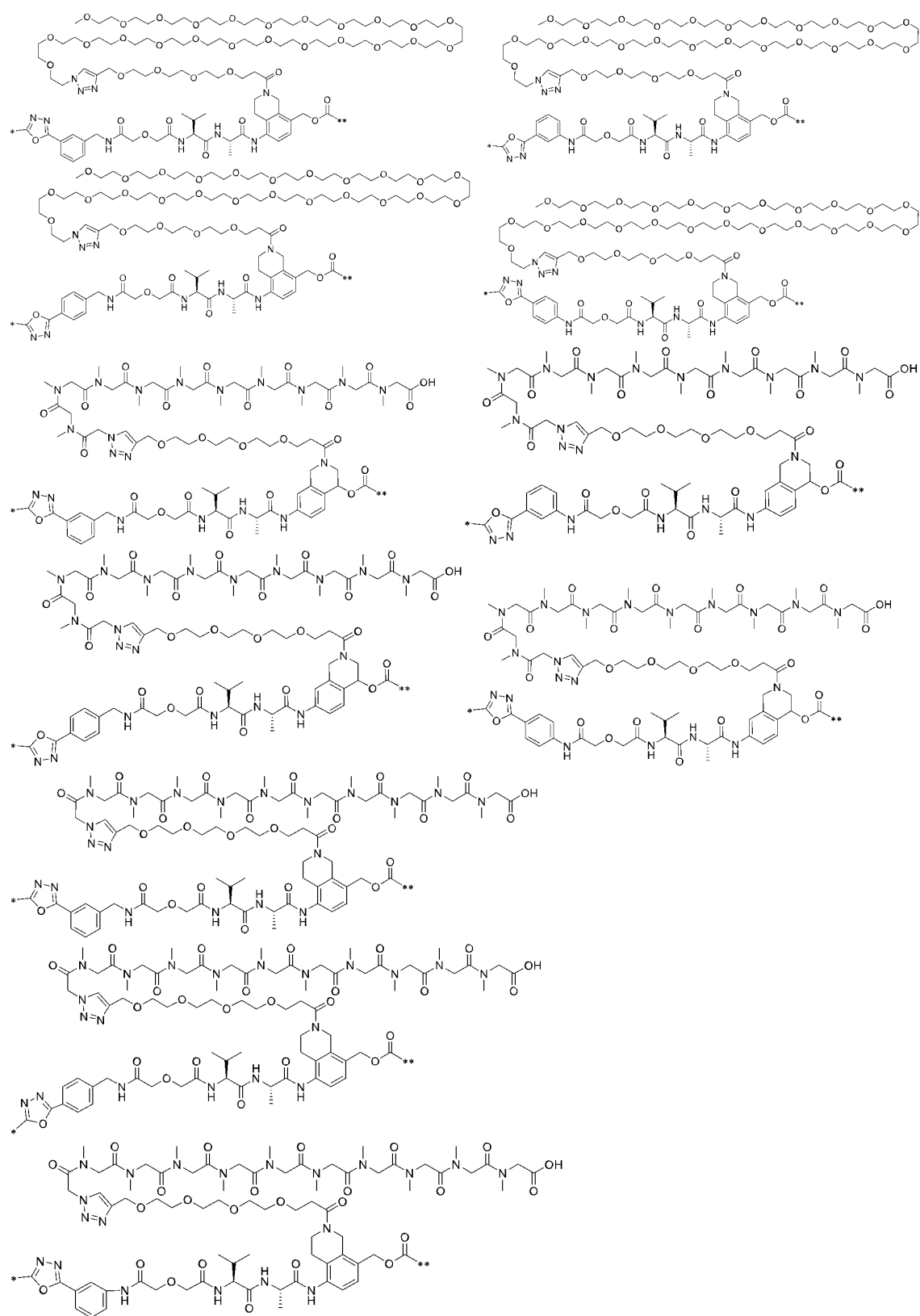


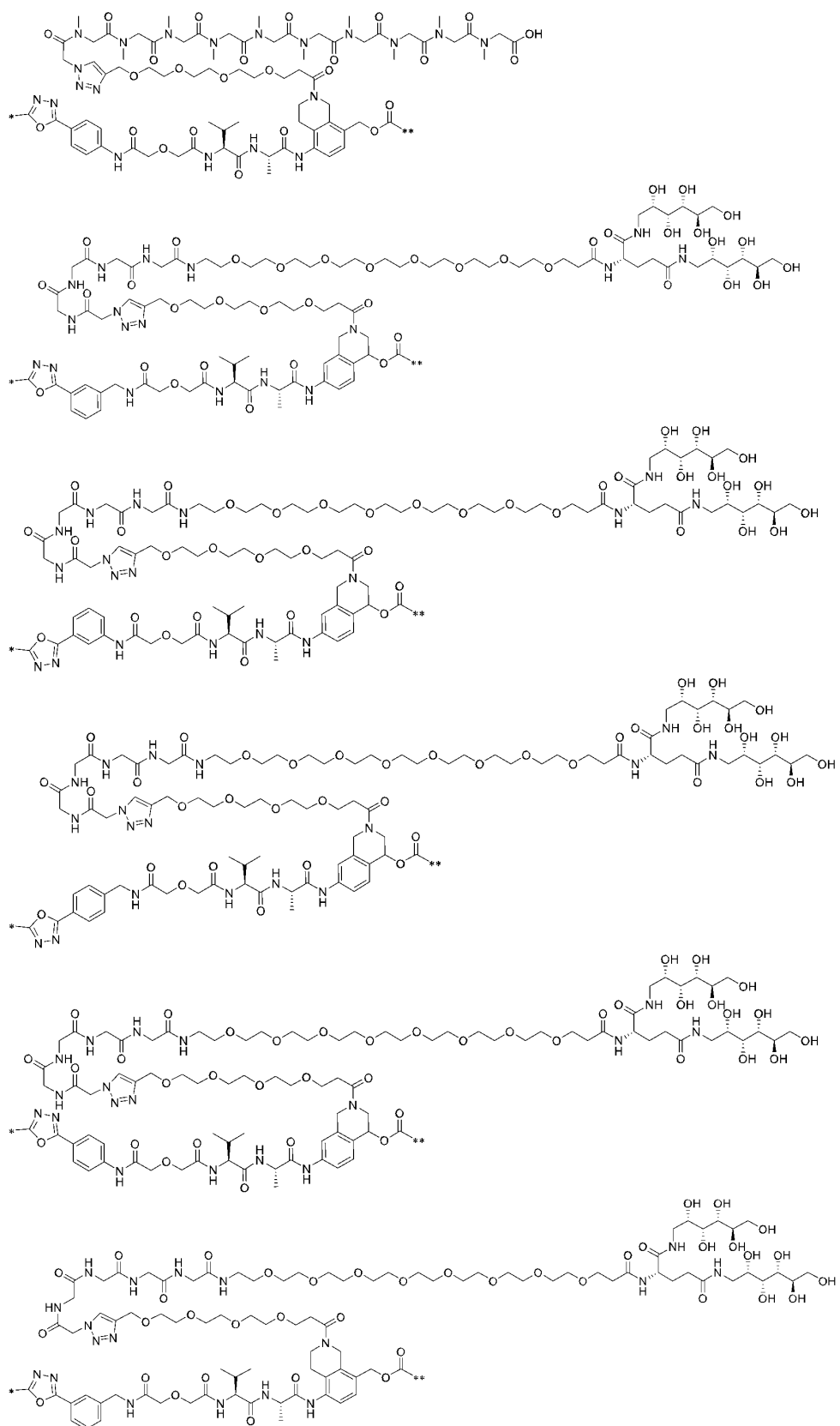


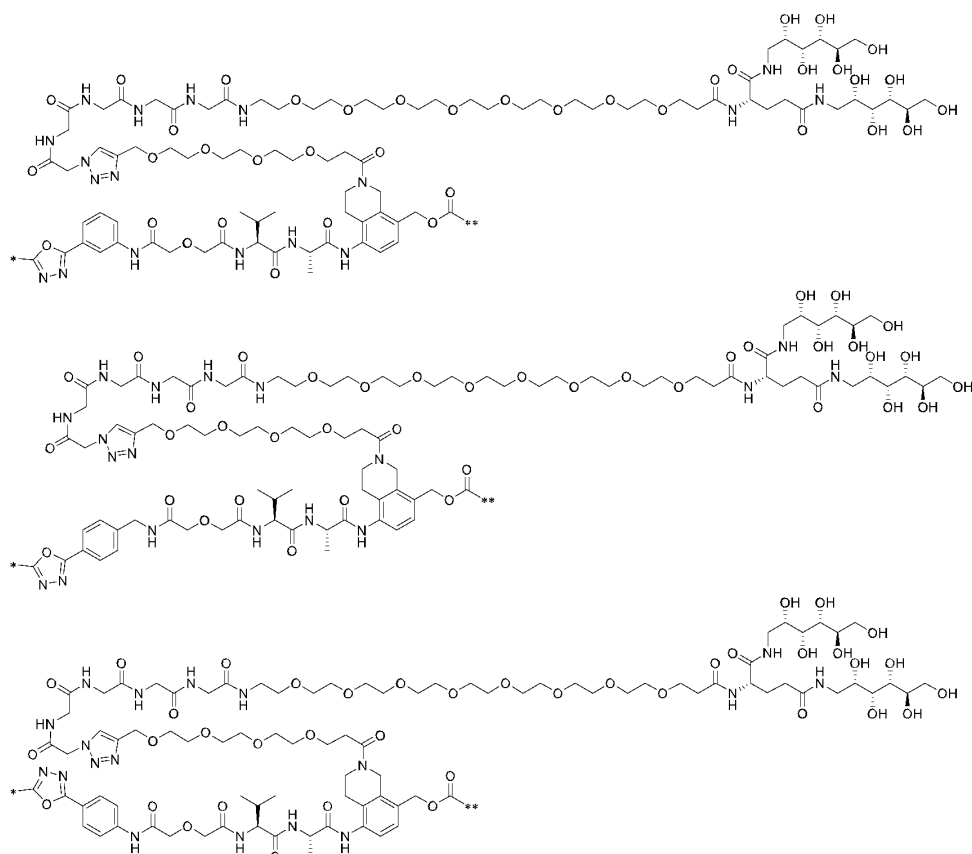












其中*表示与抗体 A 巯基相连接，**表示与生物活性分子 D 氨基相连接。

9、权利要求 1-8 任一所述的一种具有式(I)结构的抗体药物偶联物及其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物，其中 A 为靶向 FR α 、DLL3、B7H3、HER2 的抗体或其抗原结合片段。

10、权利要求 1-9 任一所述的一种具有式(I)结构的抗体药物偶联物及其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物，其中

A 为靶向 FR α 的抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包括重链和/或轻链，所述重链包括 3 个互补决定区 (CDR)，其中重链互补决定区 1 (HCDR1) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:22 所示，重链互补决定区 2 (HCDR2) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:23 所示，重链互补决定区 3 (HCDR3) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:24 所示；所述轻链包括 3 个互补决定区 (CDR)，其中轻链互补决定区 1 (LCDR1) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:25 所示，轻链互补决定区 2 (LCDR2) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:26 所示，轻链互补决定区 3 (LCDR3) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:27 所示，其中 CDR 按照 Kabat 编号规则确定；或

A 为靶向 DLL3 的抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包括重链和/或轻链，所述重链包括 3 个互补决定区 (CDR)，其中重链互补决定区 1 (HCDR1) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:12 所示，重链互补决定区 2 (HCDR2) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:13 所示，重链互补决定区 3 (HCDR3) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:14 所示；所述轻链包括轻链 3 个互补决定区 (CDR)，其中轻链互补决定区 1 (LCDR1) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:15 所示，轻链互补决定区 2 (LCDR2) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:16 所示，轻链互补决定区 3 (LCDR3) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:17 所示，其中 CDR 按照 Kabat 编号规则确定；或

A 为靶向 B7H3 的抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包括重链和/或轻链，所述重链包括 3 个互补决定区 (CDR)，其中重链互补决定区 1 (HCDR1) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:1 所示，重链互补决定区 2 (HCDR2) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:2 所示，重链互补决定区 3 (HCDR3) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:3 所示；所述轻链包括轻链 3 个互补决定区 (CDR)，其中轻链互补决定区 1 (LCDR1) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:4 所示，轻链互补决定区 2 (LCDR2) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:5 所示，轻链互补决定区 3 (LCDR3) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:6 所示，其中 CDR 按照 Kabat 编号规则确定；或

A 为靶向 HER2 的抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包括重链和/或轻链，所述重链

包括 3 个互补决定区 (CDR)，其中重链互补决定区 1 (HCDR1) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:37 所示，重链互补决定区 2 (HCDR2) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:38 所示，重链互补决定区 3 (HCDR3) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:39 所示；所述轻链包括轻链 3 个互补决定区 (CDR)，其中轻链互补决定区 1 (LCDR1) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:40 所示，轻链互补决定区 2 (LCDR2) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:41 所示，轻链互补决定区 3 (LCDR3) 氨基酸序列如 SEQ ID NO:42 所示，其中 CDR 按照 Kabat 编号规则确定。

11、权利要求 1-10 任一所述的一种具有式(I)结构的抗体药物偶联物及其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物，其中

A 为靶向 FR α 的抗体或其抗原结合片段，所述抗 FR α 抗体或其抗原结合片段包括重链和/或轻链，所述重链的可变区 (HV) 序列如 SEQ ID NO:28 所示，所述轻链的可变区 (LV) 序列如 SEQ ID NO:29 所示；或

A 为靶向 DLL3 的抗体或其抗原结合片段，所述抗 DLL3 抗体或其抗原结合片段包括重链和/或轻链，所述重链的可变区 (HV) 序列如 SEQ ID NO:18 所示，所述轻链的可变区 (LV) 序列如 SEQ ID NO:19 所示；或

A 为靶向 B7H3 的抗体或其抗原结合片段，所述抗 B7H3 抗体或其抗原结合片段包括重链和/或轻链，所述重链的可变区 (HV) 序列如 SEQ ID NO:7 所示，所述轻链的可变区 (LV) 序列如 SEQ ID NO:8 所示；或

A 为靶向 HER2 的抗体或其抗原结合片段，所述抗 HER2 抗体或其抗原结合片段包括重链和/或轻链，所述重链的可变区 (HV) 序列如 SEQ ID NO:35 所示，所述轻链的可变区 (LV) 序列如 SEQ ID NO:36 所示。

12、权利要求 1-11 任一所述的一种具有式(I)结构的抗体药物偶联物及其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物，其中

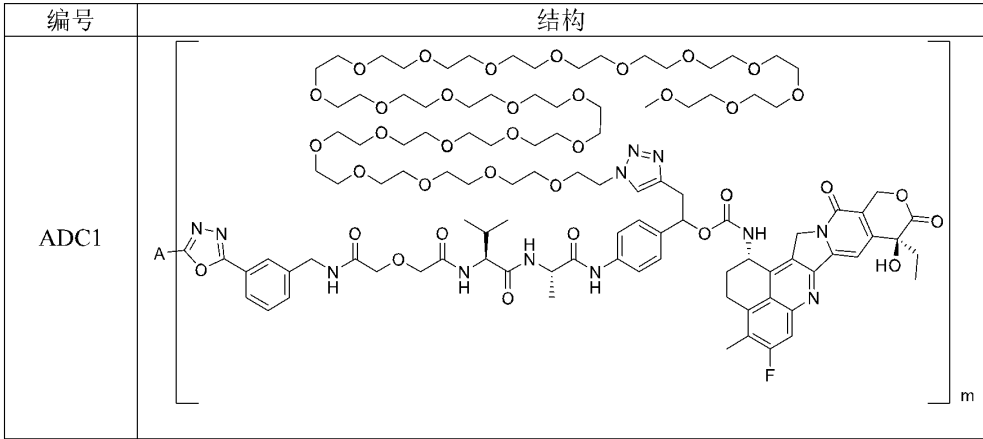
A 为靶向 FR α 的抗体或其抗原结合片段，所述抗 FR α 抗体包括重链和/或轻链，所述重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO:30 或 SEQ ID NO:32 所示，所述轻链的氨基酸序列如 SEQ ID NO:31 所示；或

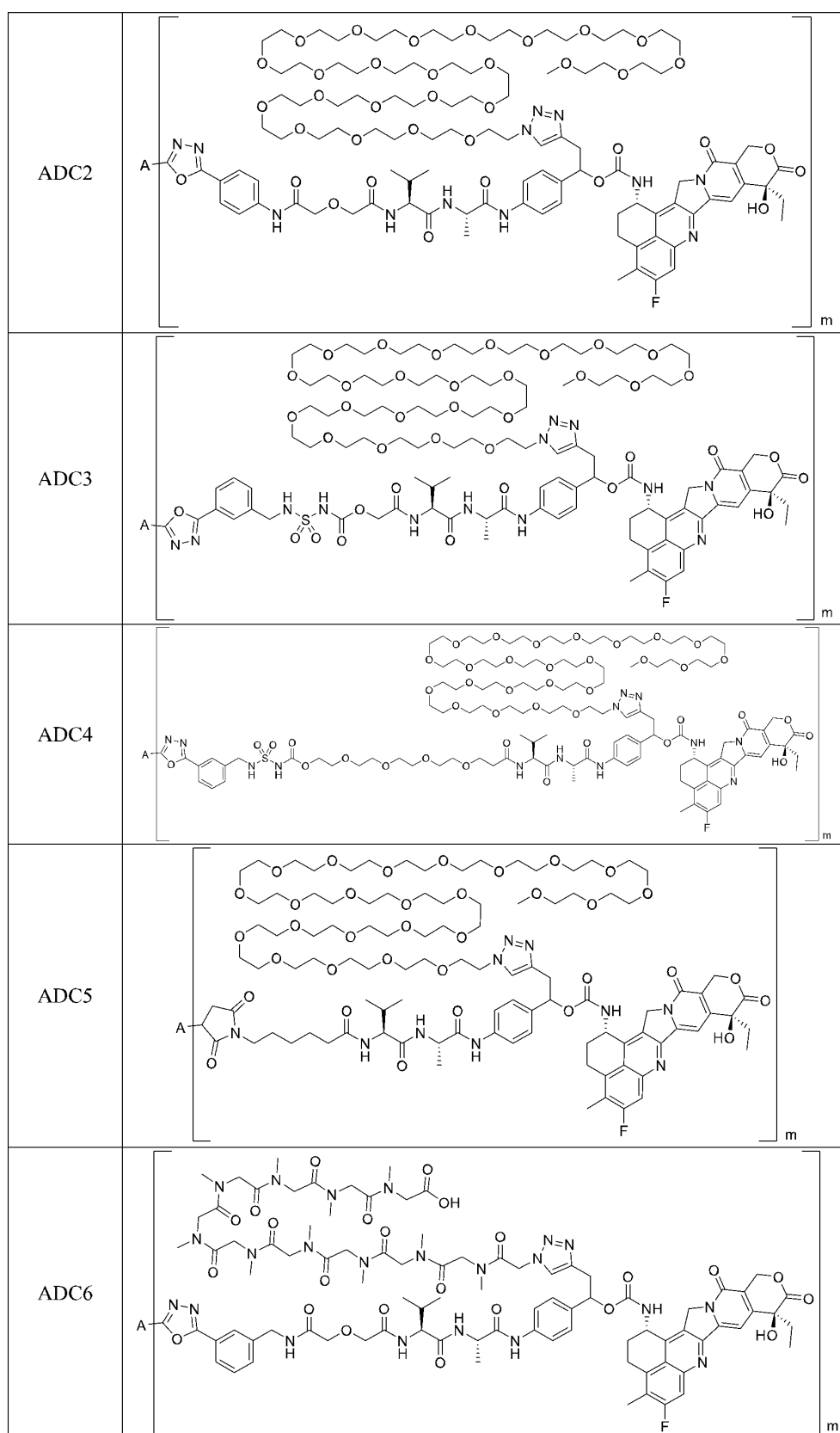
A 为靶向 DLL3 的抗体或其抗原结合片段，所述抗 DLL3 抗体包括重链和/或轻链，所述重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO:20 所示，所述轻链的氨基酸序列如 SEQ ID NO:21 所示；或

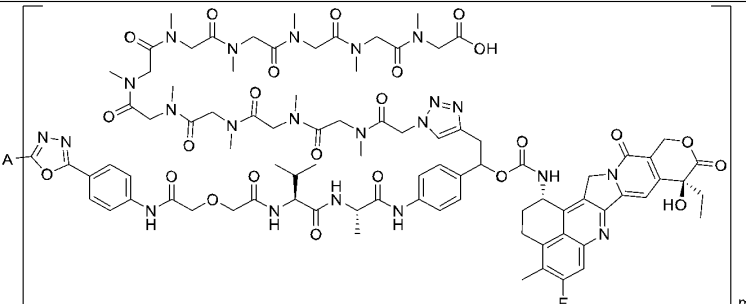
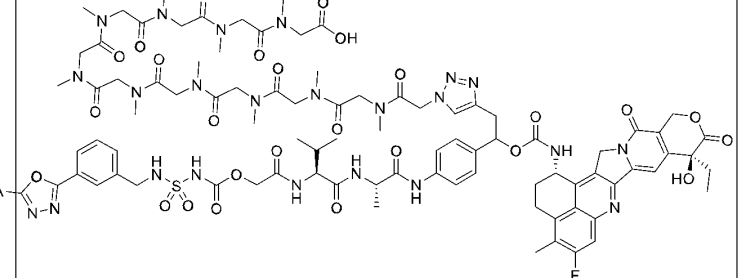
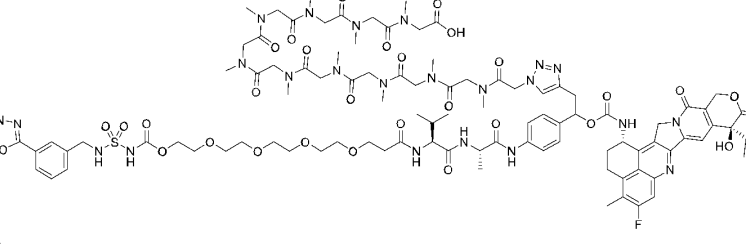
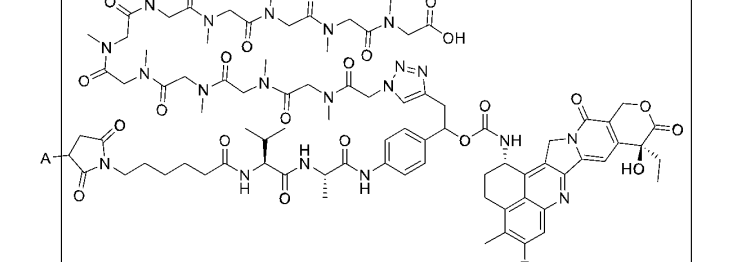
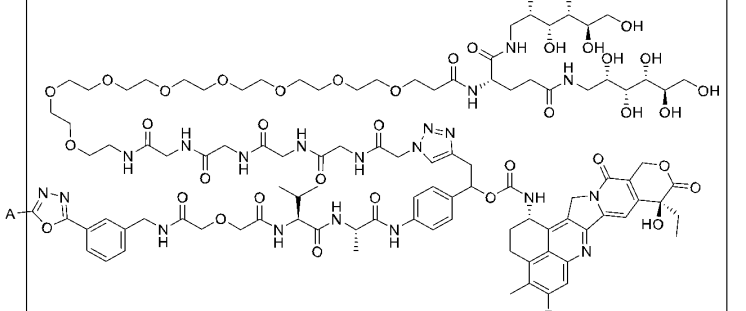
A 为靶向 B7H3 的抗体或其抗原结合片段，所述抗 B7H3 抗体包括重链和/或轻链，所述重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO:9 或 SEQ ID NO:10 所示，所述轻链的氨基酸序列如 SEQ ID NO:11 所示；或

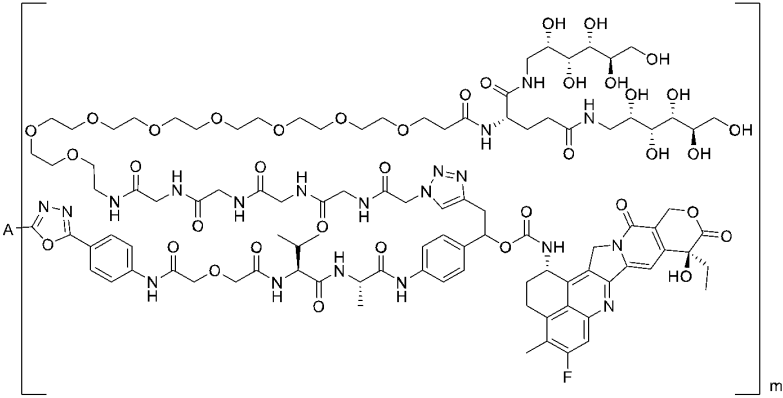
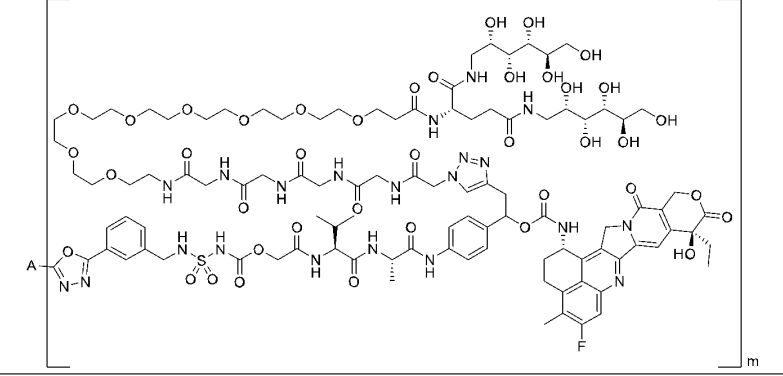
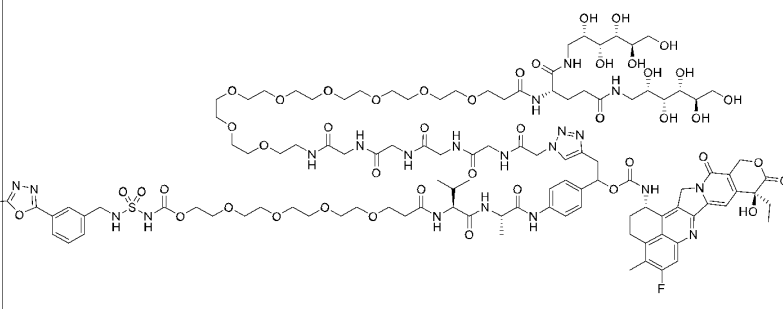
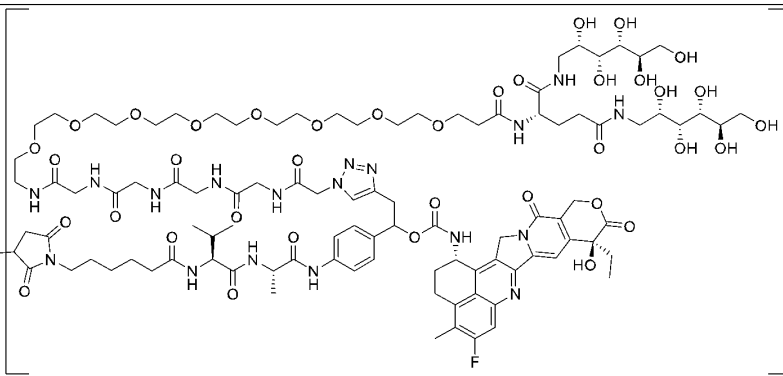
A 为靶向 HER2 的抗体或其抗原结合片段，所述抗 HER2 抗体包括重链和/或轻链，所述重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO:33 所示，所述轻链的氨基酸序列如 SEQ ID NO:34 所示。

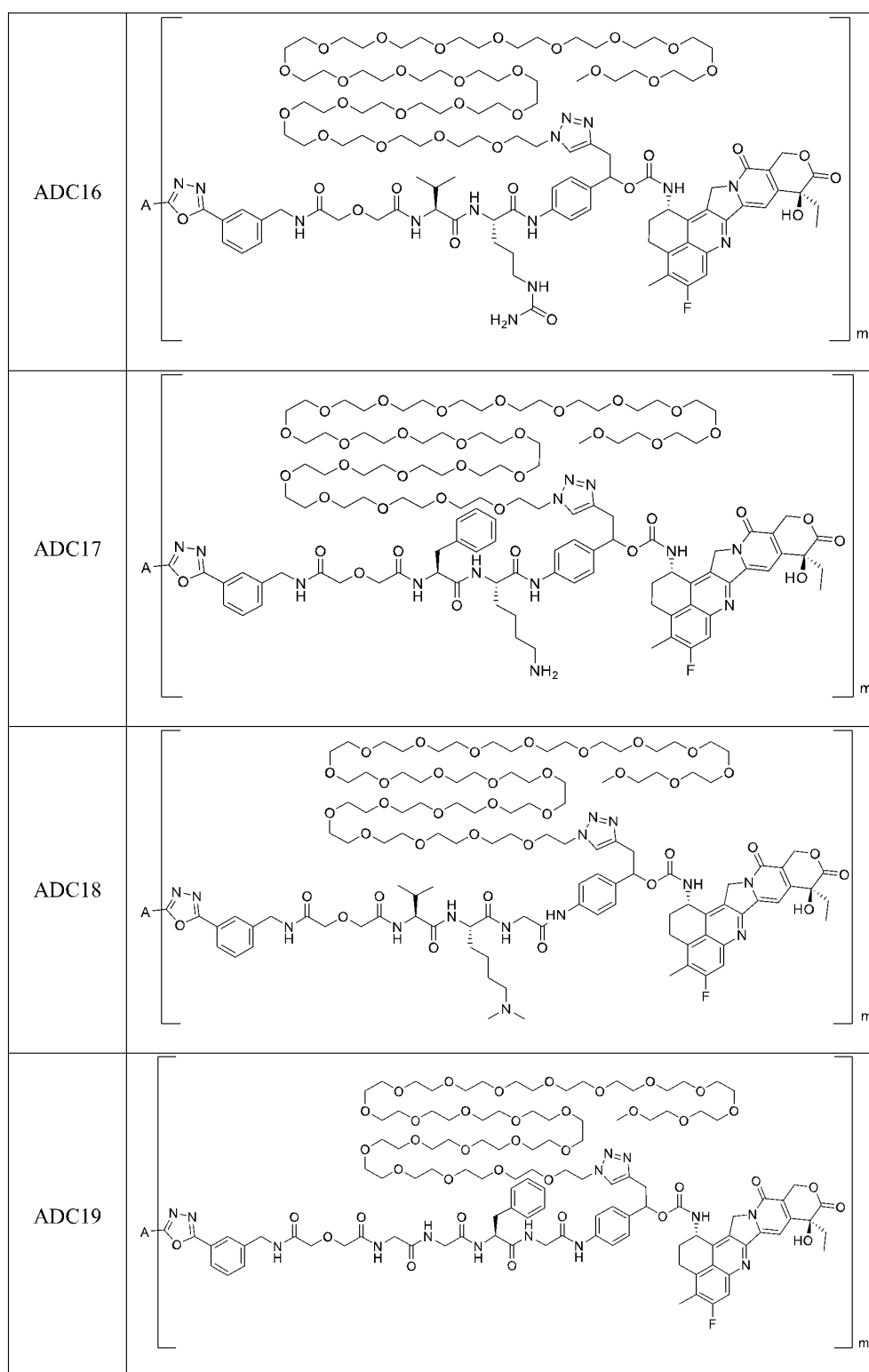
13、权利要求 1-12 任一所述的一种具有式(I)结构的抗体药物偶联物及其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物，其选自如下结构：



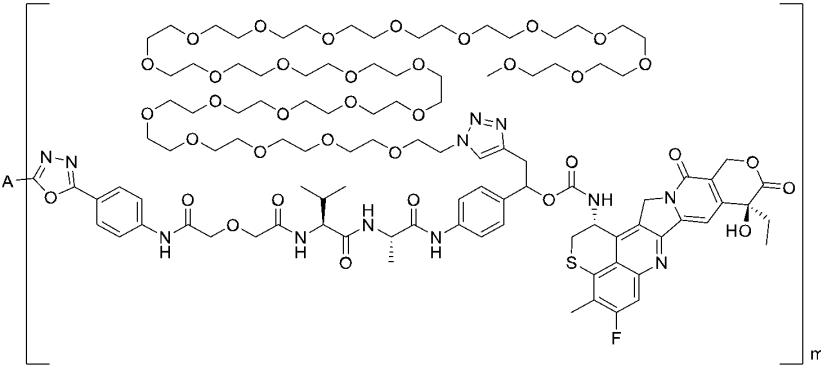
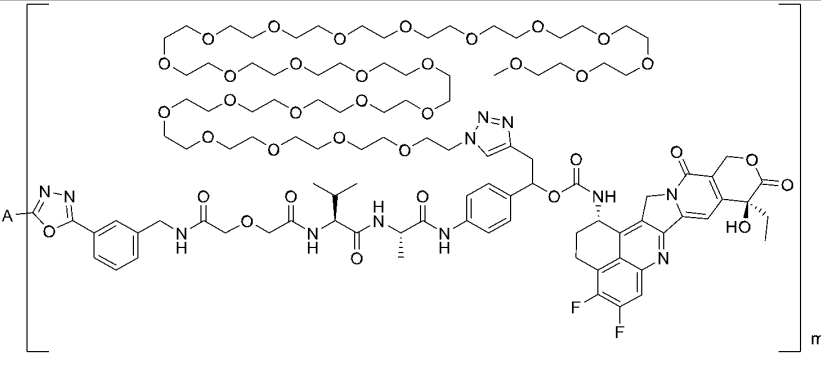
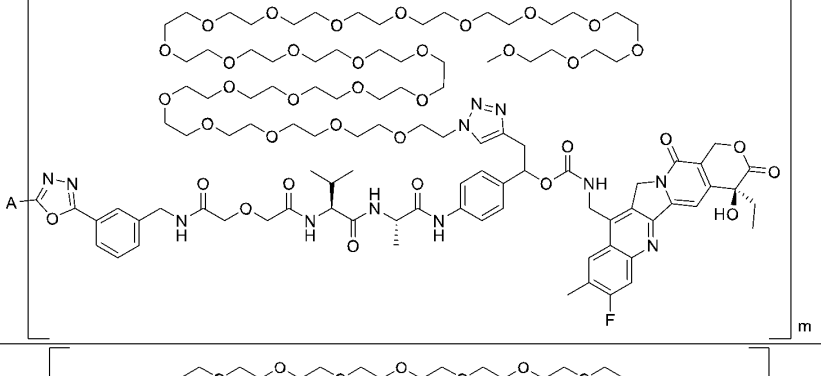
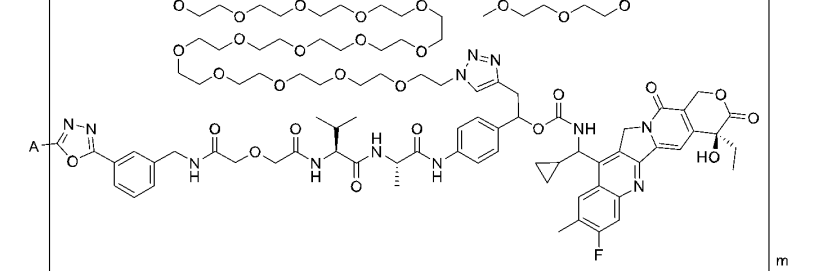


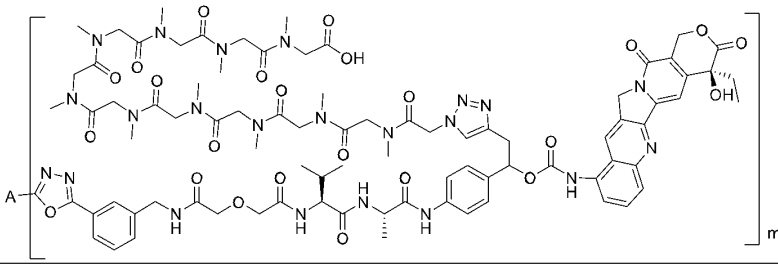
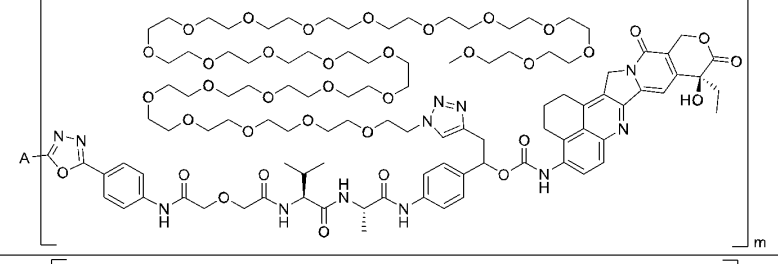
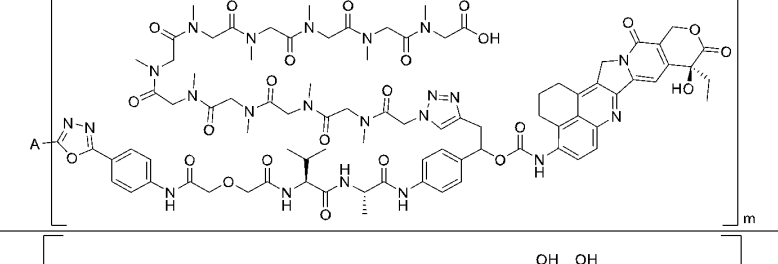
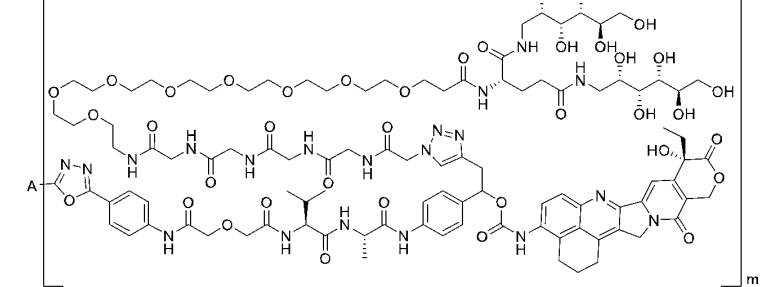
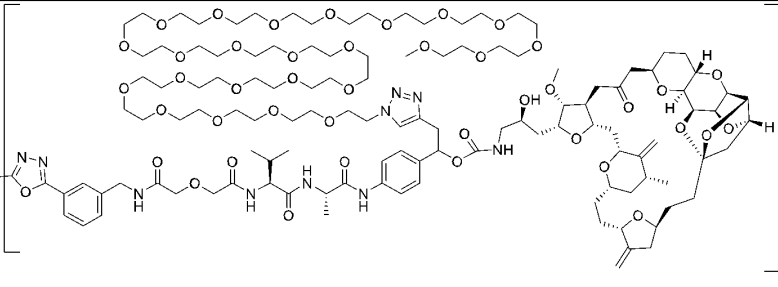
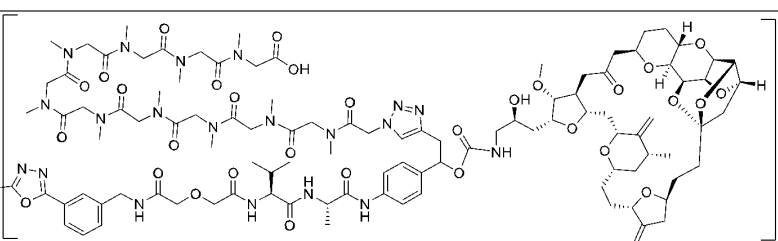
ADC7	
ADC8	
ADC9	
ADC10	
ADC11	

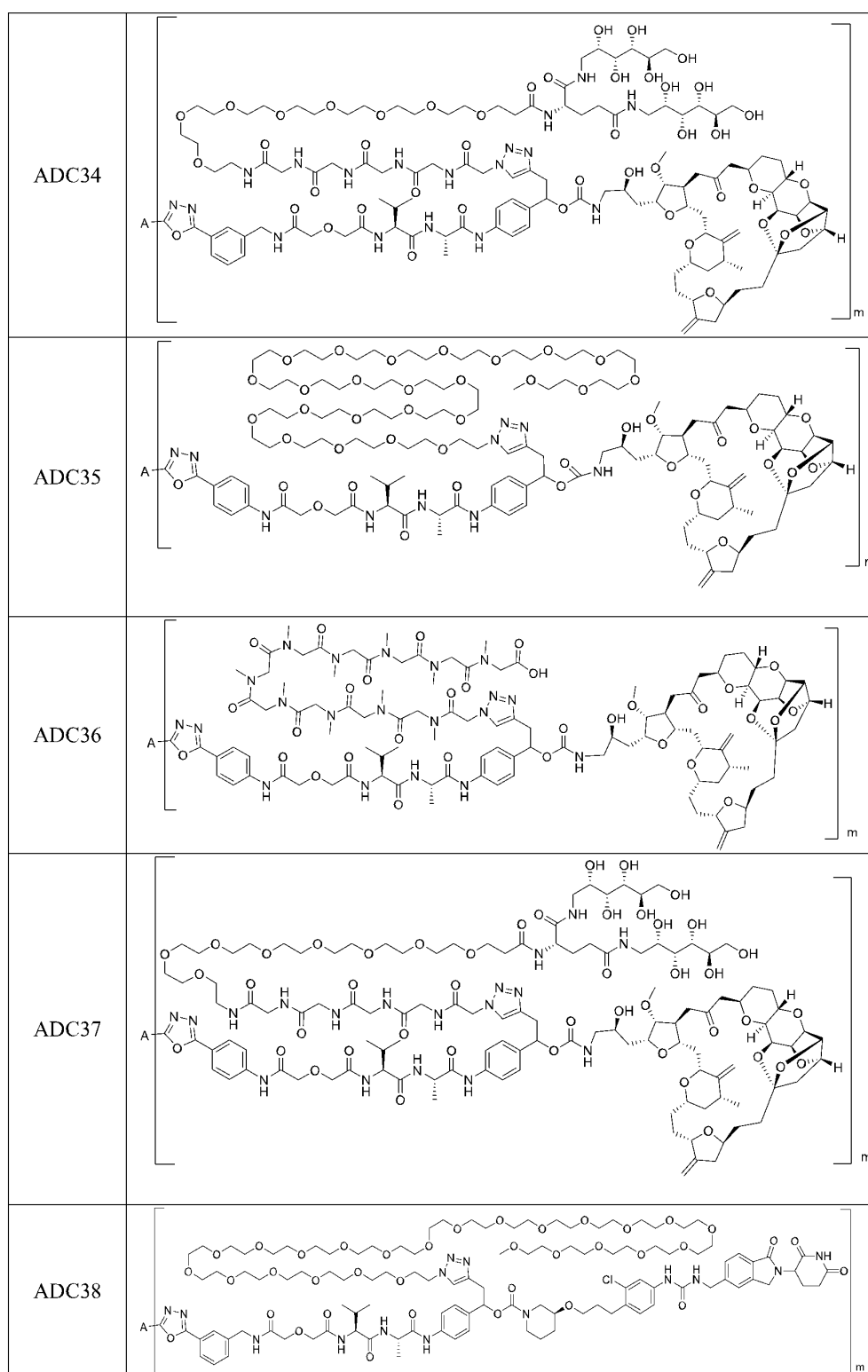
ADC12	
ADC13	
ADC14	
ADC15	



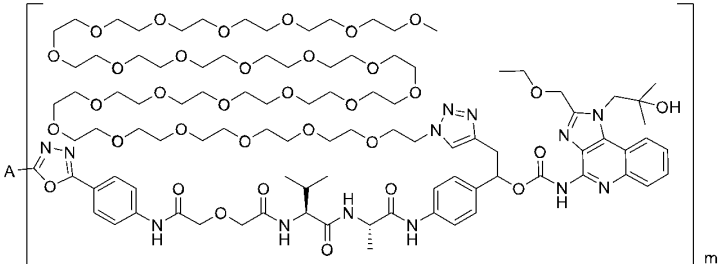
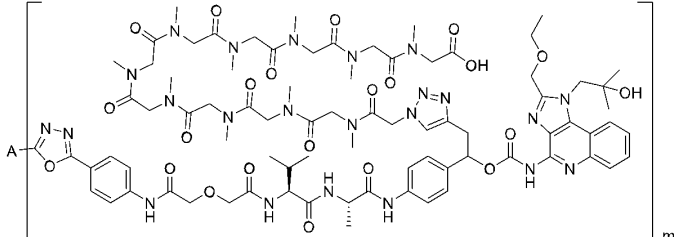
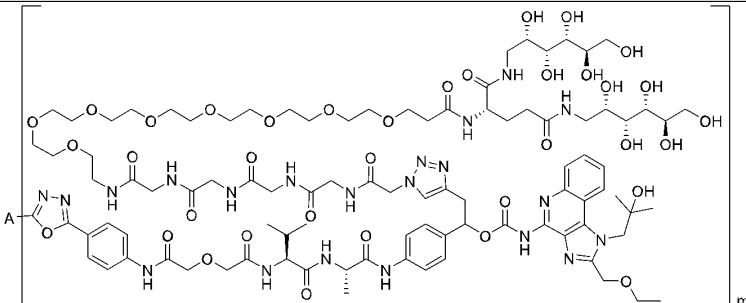
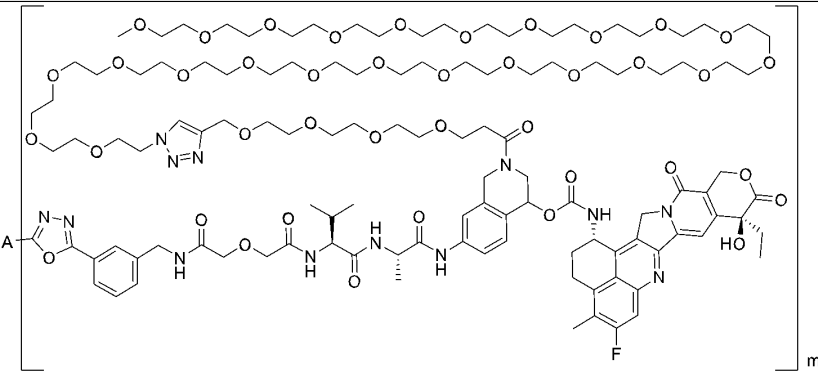
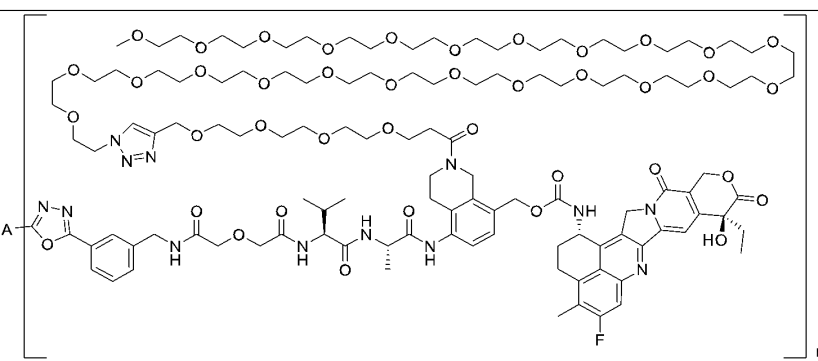
ADC20	
ADC21	
ADC22	
ADC23	

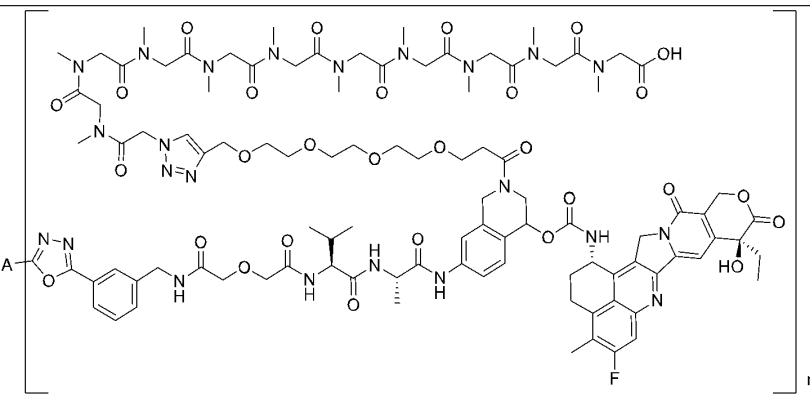
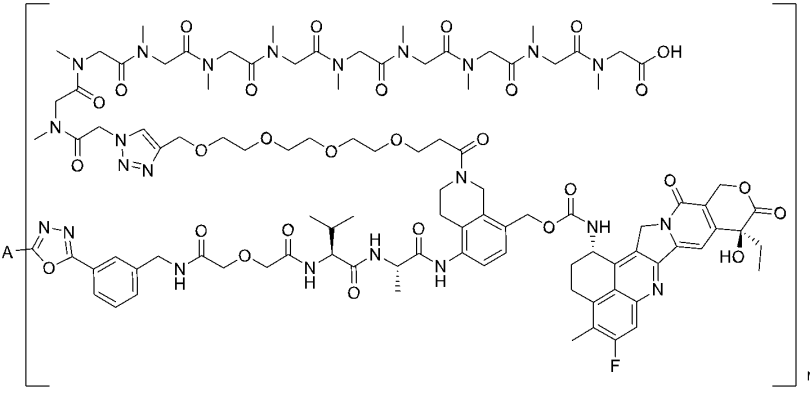
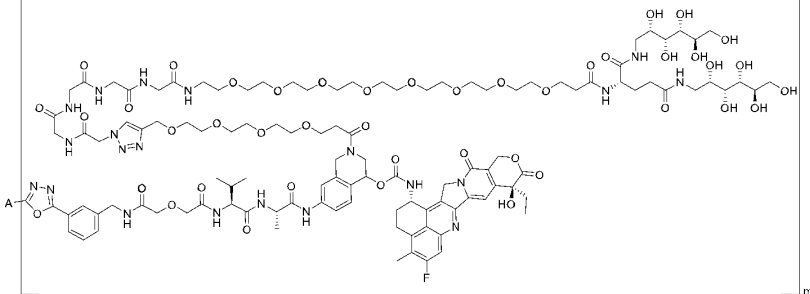
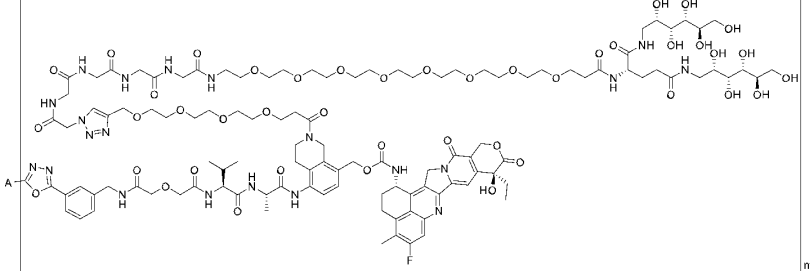
ADC24	
ADC25	
ADC26	
ADC27	

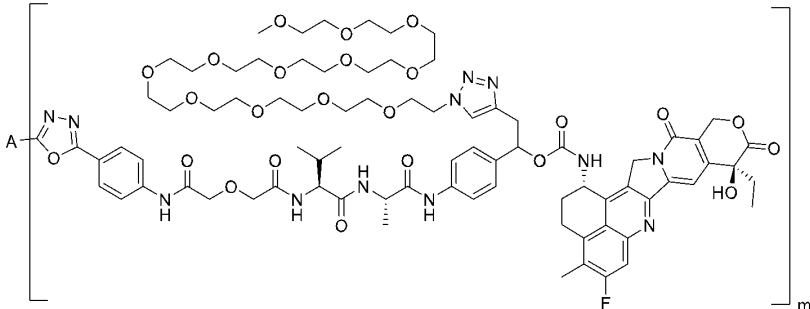
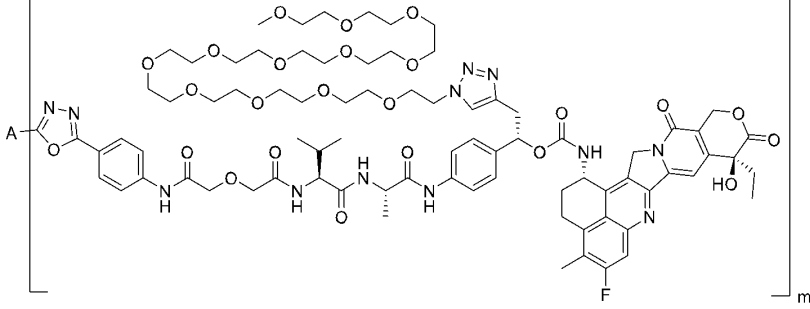
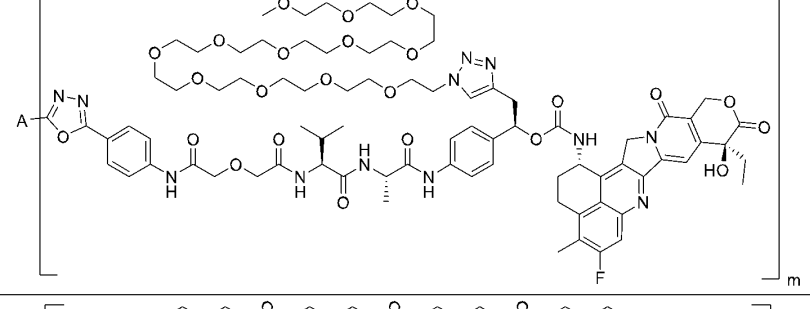
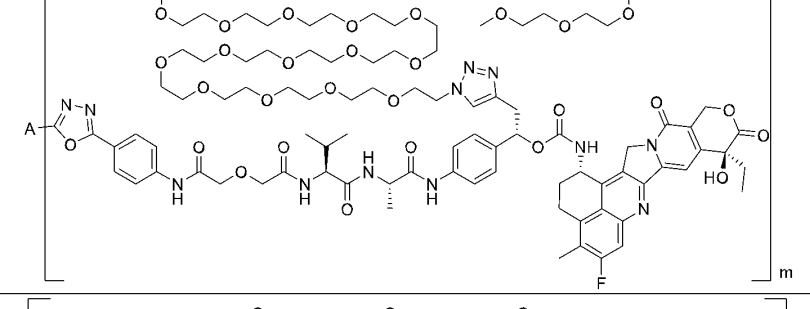
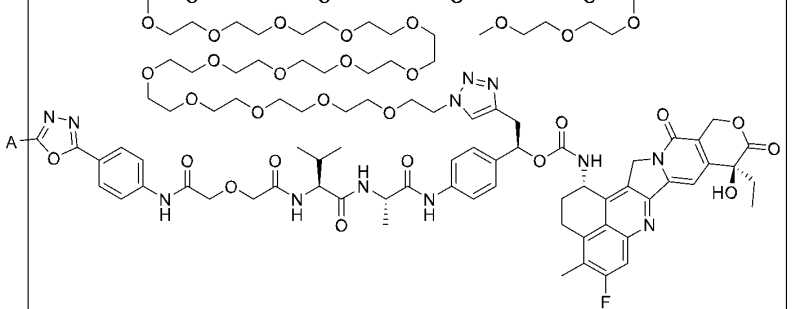
ADC28	
ADC29	
ADC30	
ADC31	
ADC32	
ADC33	

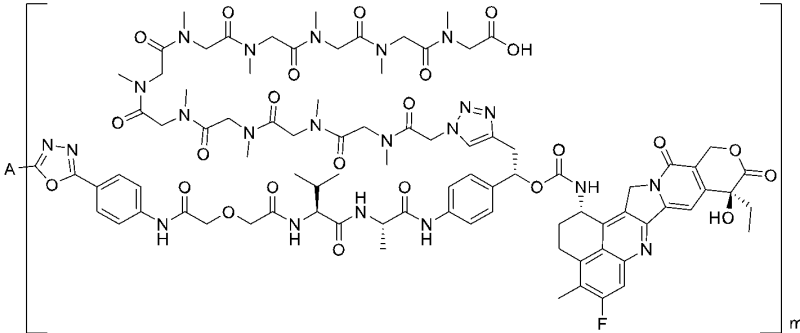
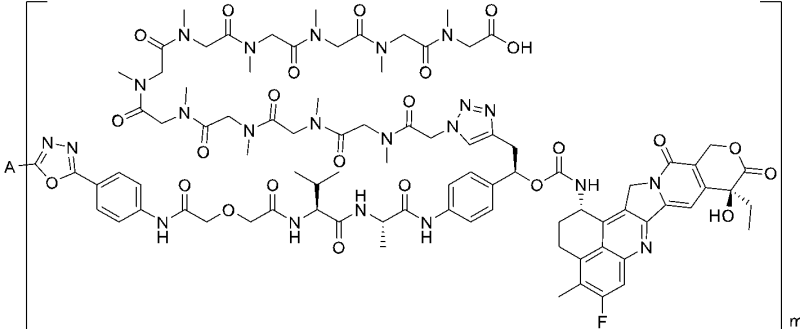
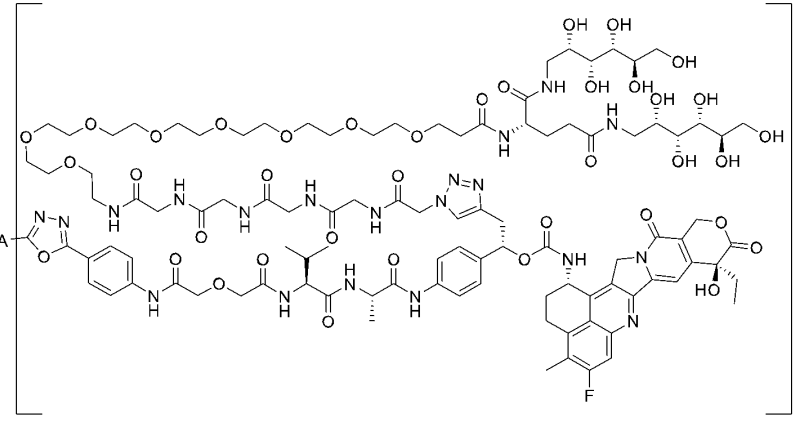
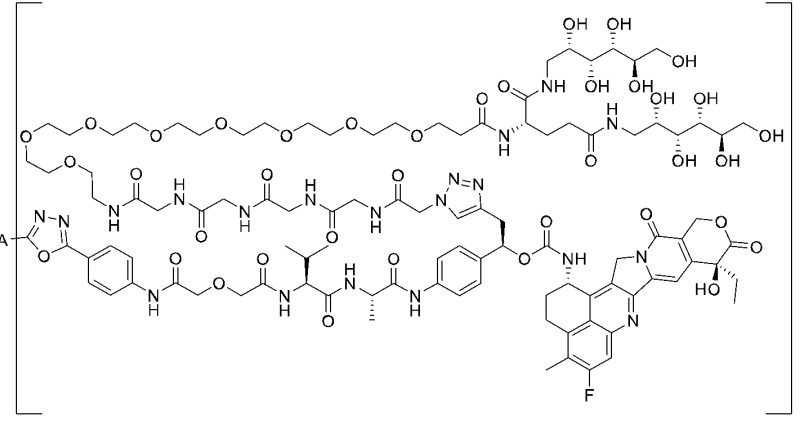


ADC39	
ADC40	
ADC41	
ADC42	
ADC43	
ADC44	
ADC45	

ADC46	
ADC47	
ADC48	
ADC49	
ADC50	

ADC51	
ADC52	
ADC53	
ADC54	

ADC55	
ADC55-1	
ADC55-2	
ADC2-1	
ADC2-2	

ADC7-1	
ADC7-2	
ADC12-1	
ADC12-2	

其中, m 为 1 到 12 的整数或小数, 优选 2-8 的整数或小数, 进一步优选 2、4、6、8。

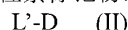
14、一种药物组合物, 其包含权利要求 1-13 任一所述的一种具有式(I)结构的抗体药物偶联物及其互变

异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物，和药学上可接受的一种或多种辅料。

15、权利要求 1-13 任一所述的一种具有式(I)结构的抗体药物偶联物及其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物，或权利要求 14 所述的药物组合物在制备治疗癌症的药物中的用途。

16、权利要求 15 所述的用途，所述癌症包括肝癌、肾癌、肺癌（例如小细胞肺癌和非小细胞肺癌）、胃癌、食道癌、口腔癌、尿道癌、膀胱癌、结肠癌、直肠癌、前列腺癌、乳腺癌、卵巢癌、胰腺癌、黑色素瘤、血液肿瘤或多形性胶质细胞瘤、淋巴瘤（例如霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤或复发性间变性大细胞淋巴瘤）、宫颈癌、子宫癌、子宫内膜癌、唾液腺癌、神经胶质瘤、神经母细胞瘤、肉瘤、结直肠癌、白血病（例如急性淋巴细胞白血病、急性髓细胞白血病、急性早幼粒细胞白血病、慢性髓细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病）骨癌、皮肤癌、甲状腺癌等。

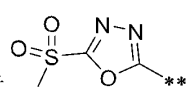
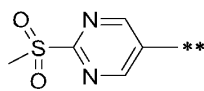
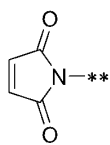
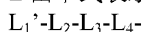
17、一种式(II)所示的连接子-药物化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、及其药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物：



其中 L' 为连接子部分：

D 为含氨基的生物活性分子或其药学上可接受的盐，通过其分子结构中的胺基与连接子部分 L' 共价连接；

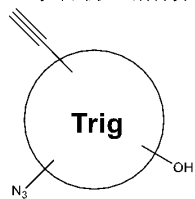
L' 由下式表示：



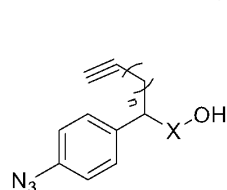
其中，L₁' 选自 、 或者 ，其中**表示与 L₂ 相连接；

L₂、L₃、L₄、D 的定义同权利要求 1-8。

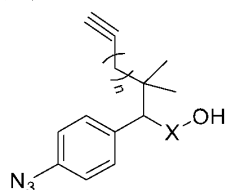
18、一种式(III)化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、及其药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物：



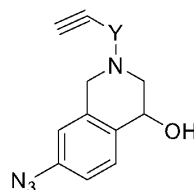
((III)，所述式(III)具有如下结构：



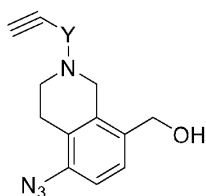
(III-1)、



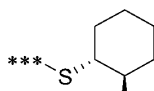
(III-2)、



(III-3) 或者



(III-4)；



其中，X 为不存在或者 ，****表示与碳原子相连接，****表示与氧原子相连接；Y 为 C₁-C₆ 亚烷基或者 -R³-C(O)-，其中 R³ 为 C₁-C₆ 亚烷基或者含 1-8 个 -OCH₂CH₂- 结构单元的亚杂烷基，n 为 0 到 6 的整数。

19、一种式(IV)化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、及其药用盐、水合物、溶剂合物或同位素标记物：

