

说明书

发明名称: 一种氘代喜树碱化合物及其制备和应用

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2023年11月16日向中国国家知识产权局提交的第202311545719.9号专利申请以及2024年11月01日向中国国家知识产权局提交的第202411561506.X号专利申请的权益和优先权, 在此将它们的全部内容以援引的方式整体并入本文中。

技术领域

[0003] 本公开属于药物化学领域, 具体涉及一类氘代喜树碱化合物及其药学上可接受的盐、其制备方法、含有所述氘代喜树碱化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物、以及所述氘代喜树碱化合物或其药学上可接受的盐或所述药物组合物在治疗肿瘤相关疾病中的用途。

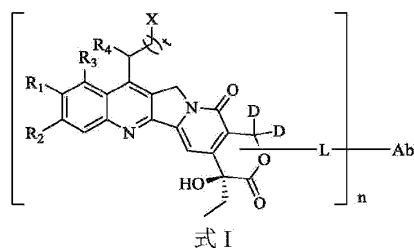
背景技术

[0004] 喜树碱(Camptothecin, CPT)为一种吡咯喹啉细胞毒性生物碱, 是除紫杉醇之外研究最多的天然抗肿瘤药物之一, 主要存在于在我国特有的珙桐科植物喜树的果实或根皮中。1985年, Hsiang等人发现喜树碱及其衍生物是以拓扑异构酶(Topoisomerase I, Topo I)为作用靶点抑制DNA的合成而发挥抗癌作用的机理后, 才又一次引起人们的广泛关注, 许多衍生物应运而生, 成为抗癌领域研究的新热点。此后, 10-羟基喜树碱(HCPT)、伊立替康、拓扑替康、SN-38、贝洛替康等新一代喜树碱类药物陆续获批上市, 用于结直肠癌、小细胞肺癌、卵巢癌等肿瘤疾病的治疗, 并且其适应症和剂型的研究也取得了可喜的成果。

[0005] 随着药物传递系统的发展, 使以前不能成药和副作用大的一系列喜树碱类药物重新得到了应用, 但是仍没有完全避免喜树碱类药物的体内毒性的问题。如何进一步降低该类药物的毒性仍然是目前需要关注的问题。

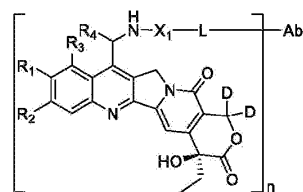
[0006] 发明内容

[0007] 一方面, 本公开提供式I所示化合物或其药学上可接受的盐或其立体异构体:



- [0008] 其中，Ab表示抗体或者抗原结合片段；L表示连接Ab和弹头药物分子连接子；n选自1-12；
- [0009] R_1 选自H、卤素、OH、SH、 NH_2 、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 卤代烷基或 C_{1-4} 烷氧基；
- [0010] R_2 选自H、卤素、 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 烷氧基；
- [0011] 或者 R_1 与 R_2 环化为 $-O-(CH_2)_m-O-$ ，其中m选自1、2、3；
- [0012] R_3 和 R_4 各自独立地选自H、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、 C_{1-4} 卤代烷基或 C_{1-4} 卤代烷氧基；
- [0013] 或者 R_3 与 R_4 环化为 $-(CH_2)_k-$ ，其中k选自1、2、3、4；
- [0014] X选自H、OH、 $HO-CH(R_5)-(CH_2)_p-CO-NH-$ 或 $-N(R_6)(R_7)$ ，其中p选自0、1、2；
- [0015] R_5 选自H、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 卤代烷基、3-6元环烷基或3-6元杂环烷基；
- [0016] R_6 选自H、 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 卤代烷基；
- [0017] R_7 选自H或 $R_8-S(O)_2-$ ；
- [0018] R_8 选自 C_{1-4} 烷基；以及
- [0019] t选自0、1、2、3、4、5。
- [0020] 在本公开中，表述“ R_1 与 R_2 环化为 $-O-(CH_2)_m-O-$ ”是指 R_1 与 R_2 连接以形成 $-O-(CH_2)_m-O-$ 。表述“ R_3 与 R_4 环化为 $-(CH_2)_k-$ ”是指 R_3 与 R_4 连接以形成 $-(CH_2)_k-$ 。
- [0021] 在本公开的式I化合物的任一实施方案中， R_1 为 C_{1-4} 烷基，并且 R_2 为卤素。
- [0022] 在本公开的式I化合物的任一实施方案中， R_1 为甲基，并且 R_2 为F。
- [0023] 在本公开的式I化合物的任一实施方案中， R_1 为H，并且 R_2 为H。
- [0024] 在本公开的式I化合物的任一实施方案中， R_1 与 R_2 环化为 $-O-CH_2-O-$ 。
- [0025] 在本公开的式I化合物的任一实施方案中， R_1 为 NH_2 ，并且 R_2 为H或卤素。

- [0026] 在本公开的式I化合物的任一实施方案中， R_1 为 NH_2 ，并且 R_2 为H或F。
- [0027] 在本公开的式I化合物的任一实施方案中， R_3 为H，并且 R_4 为H。
- [0028] 在本公开的式I化合物的任一实施方案中， R_3 为H，并且 R_4 为 C_{1-4} 烷基。
- [0029] 在本公开的式I化合物的任一实施方案中， R_3 为H，并且 R_4 为甲基。
- [0030] 在本公开的式I化合物的任一实施方案中， R_3 与 R_4 环化为 $-CH_2-CH_2-$ 。
- [0031] 在本公开的式I化合物的任一实施方案中，X为 $HO-CH(R_5)-(CH_2)_p-CO-NH-$ ，其中p选自0、1、2。
- [0032] 在本公开的式I化合物的任一实施方案中，X选自OH或 NH_2 。
- [0033] 在本公开的式I化合物的任一实施方案中，X为H，并且t为0。
- [0034] 在本公开的式I化合物的任一实施方案中，X为 $-N(R_6)(R_7)$ 。
- [0035] 在本公开的式I化合物的任一实施方案中，n选自4-9，或者6-8，或者7-8，或者7.4-8.0，或者7.5-8.5；或者n选自6、7、8。在本公开的式I化合物的任一实施方案中，n选自7-8，或者7.3-7.9，或者7.4-7.8，或者7.5-7.7，或者7.5-7.6，或者7.5-7.8、或者7.4-7.7。
- [0036] 在本公开的式I化合物的一个实施方案中，其为式Ia化合物或其药学上可接受的盐或其立体异构体；



式 Ia

- [0037] 其中， R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 如式I化合物的任一实施方案中所定义； X_1 选自化学键、 $-O-CH(R_5)-(CH_2)_p-CO-$ ，其中 $-CO-$ 端与 $-NH-$ 相连接；p选自0、1、2； R_5 选自H、 C_{1-4} 烷基、3-6元环烷基或3-6元杂环烷基。
- [0038] 在本公开的式Ia化合物的任一实施方案中， R_1 选自甲基或甲氧基；或者 R_1 为甲基。
- [0039] 在本公开的式Ia化合物的任一实施方案中， R_2 选自F或Cl；或者 R_2 为F。
- [0040] 在本公开的式Ia化合物的任一实施方案中， R_1 为甲基，并且 R_2 为F。

[0041] 在本公开的式Ia化合物的任一实施方案中， R_3 与 R_4 环化为 $-(CH_2)_k-$ ，其中k为2。

[0042] 在本公开的式Ia化合物的任一实施方案中， R_3 为H；并且 R_4 为H。

[0043] 在本公开的式Ia化合物的任一实施方案中， X_1 为 $-O-CH(R_5)-(CH_2)_p-CO-$ ，其中 $-CO-$ 端与 $-NH-$ 相连接；其中p选自0或者1， R_5 选自H、 C_{1-4} 烷基或3-6元环烷基。

[0044] 在本公开的式Ia化合物的任一实施方案中， X_1 为 $-O-CH(R_5)-(CH_2)_p-CO-$ ，其中 $-CO-$ 端与 $-NH-$ 相连接；其中p选自0或者1， R_5 选自H、甲基或环丙基。

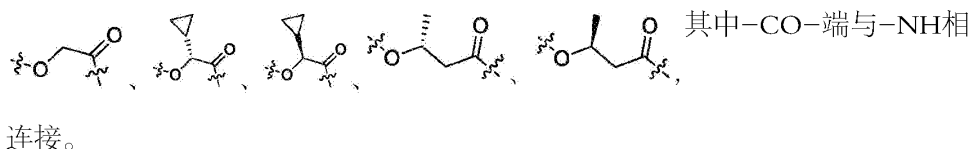
[0045] 在本公开的式Ia化合物的任一实施方案中， X_1 为 $-O-CH(R_5)-CO-$ ，其中 $-CO-$ 端与 $-NH-$ 相连接；并且 R_5 选自H或3-6元环烷基。

[0046] 在本公开的式Ia化合物的任一实施方案中， X_1 为 $-O-CH(R_5)-CO-$ ，其中 $-CO-$ 端与 $-NH-$ 相连接；并且 R_5 选自H或环丙基。

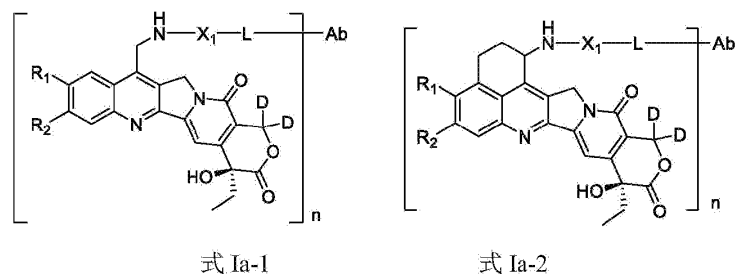
[0047] 在本公开的式Ia化合物的任一实施方案中， X_1 为 $-O-CH(R_5)-CH_2-CO-$ ，其中 $-CO-$ 端与 $-NH-$ 相连接；并且 R_5 为 C_{1-4} 烷基。

[0048] 在本公开的式Ia化合物的任一实施方案中， X_1 为 $-O-CH(R_5)-CH_2-CO-$ ，其中 $-CO-$ 端与 $-NH-$ 相连接；并且 R_5 为甲基。

[0049] 在本公开的式Ia化合物的任一实施方案中， X_1 选自下列基团：

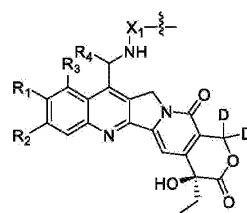


[0050] 在本公开的式Ia化合物的一些实施方案中，式Ia化合物选自下列式Ia-1或式Ia-2的化合物或其药学上可接受的盐或其立体异构体；



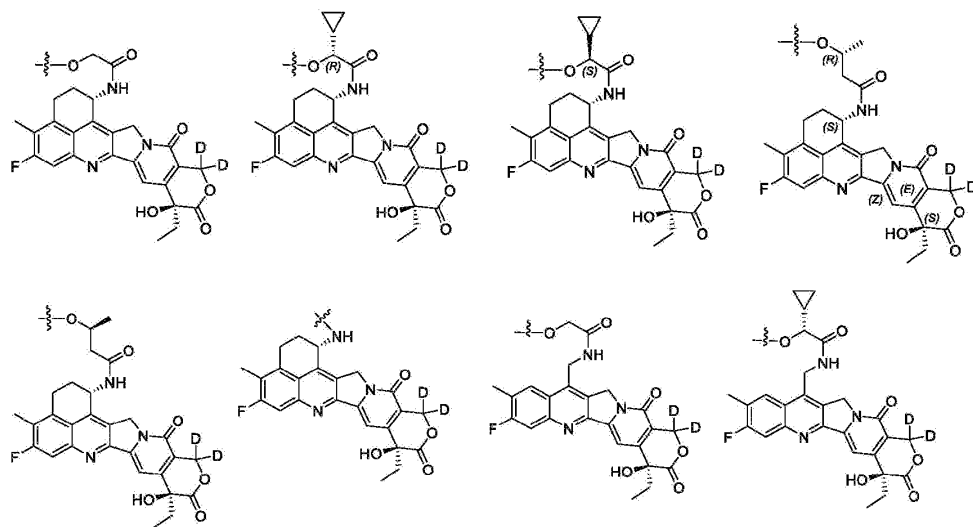
[0051] 其中, Ab、L、R₁、R₂、X₁、n如式Ia化合物的任一实施方案中所定义。

[0052] 在本公开的式Ia化合物的任一实施方案中,

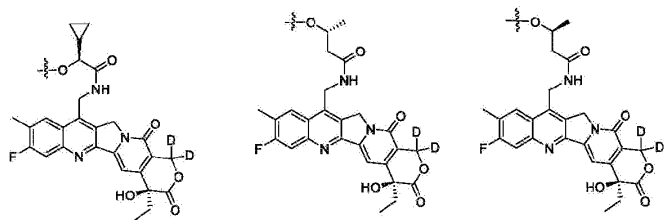


选自下列化合物片段:

物片段:



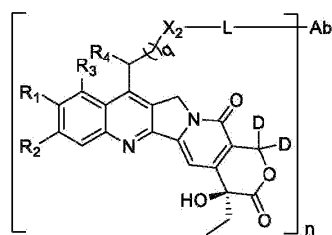
[0053]



其中“~”表示该位置通

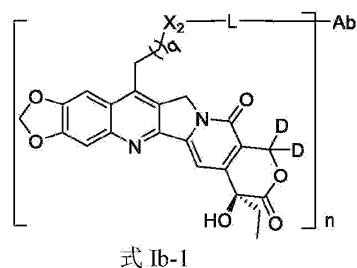
过化学键与连接器L相连接。

[0054] 在本公开的式I化合物的一个实施方案中, 式I化合物为式Ib化合物或其药学上可接受的盐或其立体异构体;

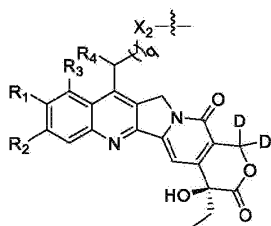


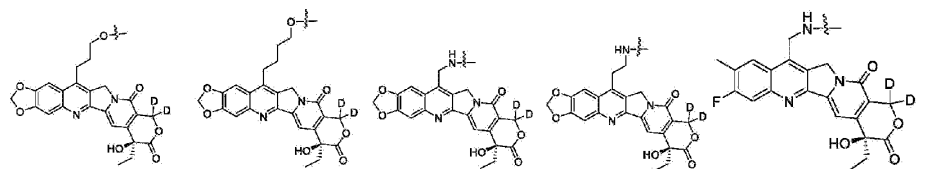
式 Ib

- [0055] 其中, Ab、L、n如式I化合物的任一实施方案中所定义;
- [0056] R_1 选自H、OH、卤素、 NH_2 、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 卤代烷基或 C_{1-4} 烷氧基;
- [0057] R_2 选自H、卤素、 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 烷氧基;
- [0058] 或者 R_1 与 R_2 环化为 $-O-(CH_2)_m-O-$, 其中m选自1, 2, 3;
- [0059] R_3 和 R_4 各自独立地选自H、 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 烷氧基;
- [0060] 或者 R_3 与 R_4 环化为 $-(CH_2)_k-$, 其中k选自1, 2, 3;
- [0061] X_2 选自O或 $-N(R_6)-$;
- [0062] R_6 选自H或 C_{1-4} 烷基;
- [0063] q选自0, 1, 2, 3、4。
- [0064] 在本公开的式Ib化合物的任一实施方案中, R_1 选自甲基, 并且 R_2 选自H、Cl、F。
- [0065] 在本公开的式Ib化合物的任一实施方案中, R_1 与 R_2 环化为 $-O-(CH_2)_m-O-$, 其中m选自1或2。
- [0066] 在本公开的式Ib化合物的任一实施方案中, R_3 与 R_4 均为H。
- [0067] 在本公开的式Ib化合物的任一实施方案中, R_3 为H, 并且 R_4 为甲基。
- [0068] 在本公开的式Ib化合物的任一实施方案中, X_2 选自 $-O-$ 或 $-NH-$ 。
- [0069] 在本公开的式Ib化合物的任一实施方案中, X_2 选自 $-O-$ 或 $-NH-$, 且q为0, 1, 2, 3或4。
- [0070] 在本公开的式Ib化合物的任一实施方案中, X_2 选自 $-O-$ 或 $-NH-$, q为1, 2, 3或4; R_3 与 R_4 均为H; R_1 选自甲基且 R_2 选自H、Cl或F, 或 R_1 与 R_2 环化为 $-O-(CH_2)_m-O-$, 其中m选自1或2。
- [0071] 在本公开的式Ib化合物的一些实施方案中, 所述式Ib化合物为式Ib-1化合物。



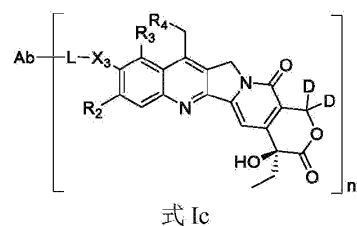
[0072] 在式Ib-1化合物中，Ab、L、n、X₂、q如式Ib化合物中的任一实施方案中所定义。

[0073] 在式Ib的任一实施方案中， 选自下列化合物片段；



[0074] 其中“~”表示该位置通过化学键与连接子L相连接。

[0075] 在本公开式I化合物的一个实施方案中，式I化合物为式Ic的化合物或其药学上可接受的盐：



[0076] 其中，X₃选自NH、O、S；Ab、L、n、R₂、R₃、R₄如本公开式I化合物中的任一实施方案所定义。

[0077] 在本公开的式Ic化合物的任一实施方案中，R₂选自H或卤素，或者R₂选自H或F。

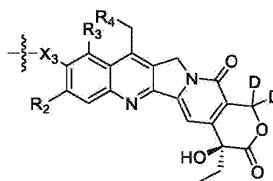
[0078] 在本公开的式Ic化合物的任一实施方案中， R_3 为H，并且 R_4 为 C_{1-4} 烷基；或者， R_3 选自H，并且 R_4 选自甲基。

[0079] 在本公开的式Ic化合物的任一实施方案中， R_3 与 R_4 环化为 $-(CH_2)_k-$ ， k 选自1，2，3。

[0080] 在本公开的式Ic化合物的任一实施方案中， R_3 与 R_4 环化为 $-(CH_2)_2-$ 。

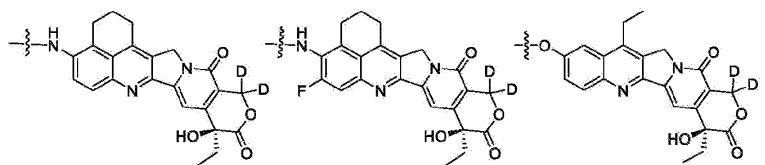
[0081] 在本公开的式Ic化合物的任一实施方案中， X_3 选自NH或O；或者 X_3 选自NH，或者 X_3 选自O；

[0082] 在本公开的式Ic化合物的任一实施方案中，

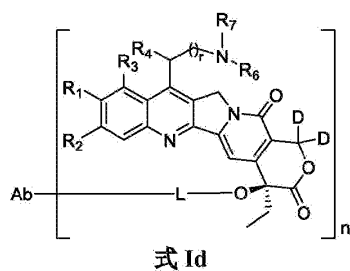


选自下列化

合物片段：



[0083] 在本公开的式I化合物的一个实施方案中，式I化合物为式Id的化合物或其药学上可接受的盐：



[0084] 其中， R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_6 、 R_7 如本公开的式I化合物的任一实施方案所定义， Ab 、 L 、 n 如本公开的式I化合物的任一实施方案所定义； r 选自0、1、2、3。

[0085] 在本公开的式Id化合物的任一实施方案中， R_1 和 R_2 均为H。

[0086] 在本公开的式Id化合物的任一实施方案中， R_3 和 R_4 均为H。

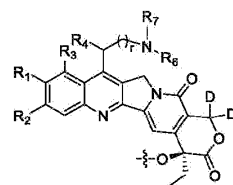
[0087] 在本公开的式Id化合物的任一实施方案中， r 为1。

[0088] 在本公开的式Id化合物的任一实施方案中， R_6 选自甲基、乙基、异丙基；或者， R_6 为异丙基。

[0089] 在本公开的式Id化合物的任一实施方案中， R_7 选自H。

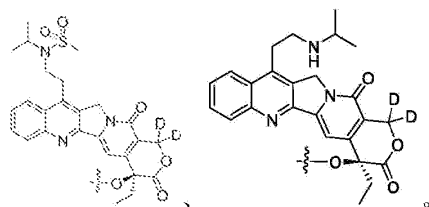
[0090] 在本公开的式Id化合物的任一实施方案中， R_7 选自 $R_8-S(O)_2-$ ，其中 R_8 选自甲基、乙基；或者， R_8 选自甲基。

[0091] 在本公开的式Id化合物的任一实施方案中，



选自下列化合物

片段：



[0092] 在本公开的式I、式Ia、式Ia-1、式Ia-2、式Ib、式Ib-1、式Ic或式Id化合物的一个实施方案中，Ab选自抗Her2抗体、抗Trop2抗体、抗Claudin18.2抗体。

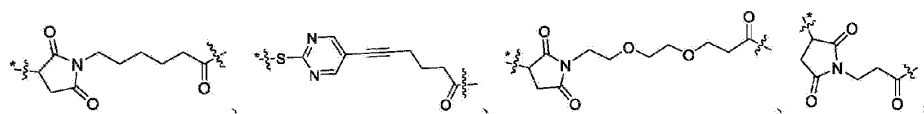
[0093] 在本公开的式I、式Ia、式Ia-1、式Ia-2、式Ib、式Ib-1、式Ic或式Id化合物的任一实施方案中，所述Ab为抗Her2抗体，具有分别如SEQ ID NO：1、SEQ ID NO：2、SEQ ID NO：3所示的HCDR1、HCDR2、HCDR3。

[0094] 在本公开的式I、式Ia、式Ia-1、式Ia-2、式Ib、式Ib-1、式Ic或式Id化合物的任一实施方案中，所述Ab为抗Her2抗体，具有分别如SEQ ID NO：6、SEQ ID NO：7、SEQ ID NO：8所示的LCDR1、LCDR2、LCDR3。

[0095] 在本公开的式I、式Ia、式Ia-1、式Ia-2、式Ib、式Ib-1、式Ic或式Id化合物的任一实施方案中，所述Ab为抗Her2抗体，具有分别如SEQ ID NO：1、SEQ ID NO：2、SEQ ID NO：3所示的HCDR1、HCDR2、HCDR3以及分别如SEQ ID NO：6、SEQ ID NO：7、SEQ ID NO：8所示的LCDR1、LCDR2、LCDR3。

[0096] 在本公开的式I、式Ia、式Ia-1、式Ia-2、式Ib、式Ib-1、式Ic或式Id化合物的任一实施方案中，所述Ab为抗Her2抗体，具有SEQ ID NO：4所示的重链可变区。

- [0097] 在本公开的式I、式Ia、式Ia-1、式Ia-2、式Ib、式Ib-1、式Ic或式Id化合物的任一实施方案中,所述Ab为抗Her2抗体,具有SEQ ID NO: 9所示的轻链可变区。
- [0098] 在本公开的式I、式Ia、式Ia-1、式Ia-2、式Ib、式Ib-1、式Ic或式Id化合物的任一实施方案中,所述Ab为抗Her2抗体,具有SEQ ID NO: 4所示的重链可变区以及SEQ ID NO: 9所示的轻链可变区。
- [0099] 在本公开的式I、式Ia、式Ia-1、式Ia-2、式Ib、式Ib-1、式Ic或式Id化合物的任一实施方案中,所述Ab为抗Her2抗体,具有SEQ ID NO: 5所示的重链。
- [0100] 在本公开的式I、式Ia、式Ia-1、式Ia-2、式Ib、式Ib-1、式Ic或式Id化合物的任一实施方案中,所述Ab为抗Her2抗体,具有SEQ ID NO: 10所示的轻链。
- [0101] 在本公开的式I、式Ia、式Ia-1、式Ia-2、式Ib、式Ib-1、式Ic或式Id化合物的任一实施方案中,所述Ab为抗Her2抗体,具有SEQ ID NO: 5所示的重链以及SEQ ID NO: 10所示的轻链。
- [0102] 在本公开的式I、式Ia、式Ia-1、式Ia-2、式Ib、式Ib-1、式Ic或式Id化合物的任一实施方案中,所述Ab为Trastuzumab。
- [0103] 在本公开的式I、式Ia、式Ia-1、式Ia-2、式Ib、式Ib-1、式Ic或式Id化合物的一个实施方案中,Ab选自Pertuzumab、Sacituzumab、zolbetuximab。
- [0104] 在本公开的式I、式Ia、式Ia-1、式Ia-2、式Ib、式Ib-1、式Ic或式Id化合物的一个实施方案中,L为 $L_1-L_2-L_3-L_4$,其中, L_1 一端与Ab相连, L_4 一端与弹头药物分子D相连;
- [0105] L_1 选自下列基团,且 L_1 的标有星号*的一端与Ab相连接:



- [0106] L_2 选自化学键、 $-N(R_{10})-CH_2-CO-$ 、 $-NH-(CH_2)_8-CO-$ 且 L_2 的CO一端与 L_3 连接,另一端与 L_1 相连接; R_{10} 选自 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 卤代烷基;
- [0107] L_3 选自2-6个氨基酸组成的多肽残基,且所述多肽残基的C端与 L_4 相连接;

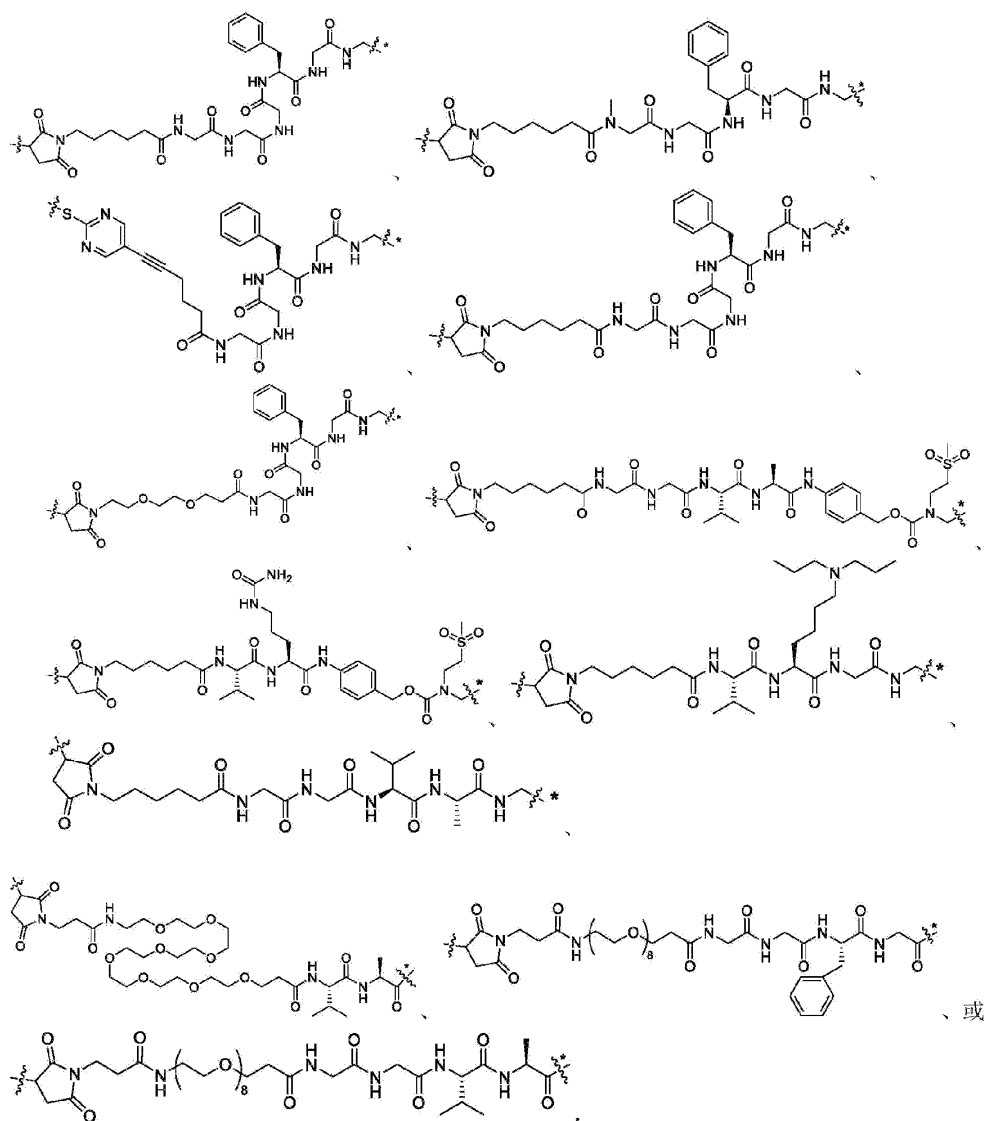
*Nc1ccc(COC(=O)NCC(S)(=O)=O)cc1CC(C)[C@H](NC(=O)NCCCNC(=O)CCN(CC)CC)C(=O)N VA₀





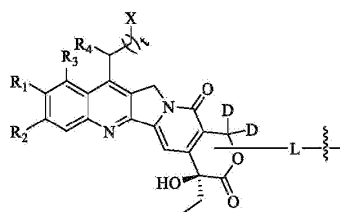
L₂选自化学键或者-N

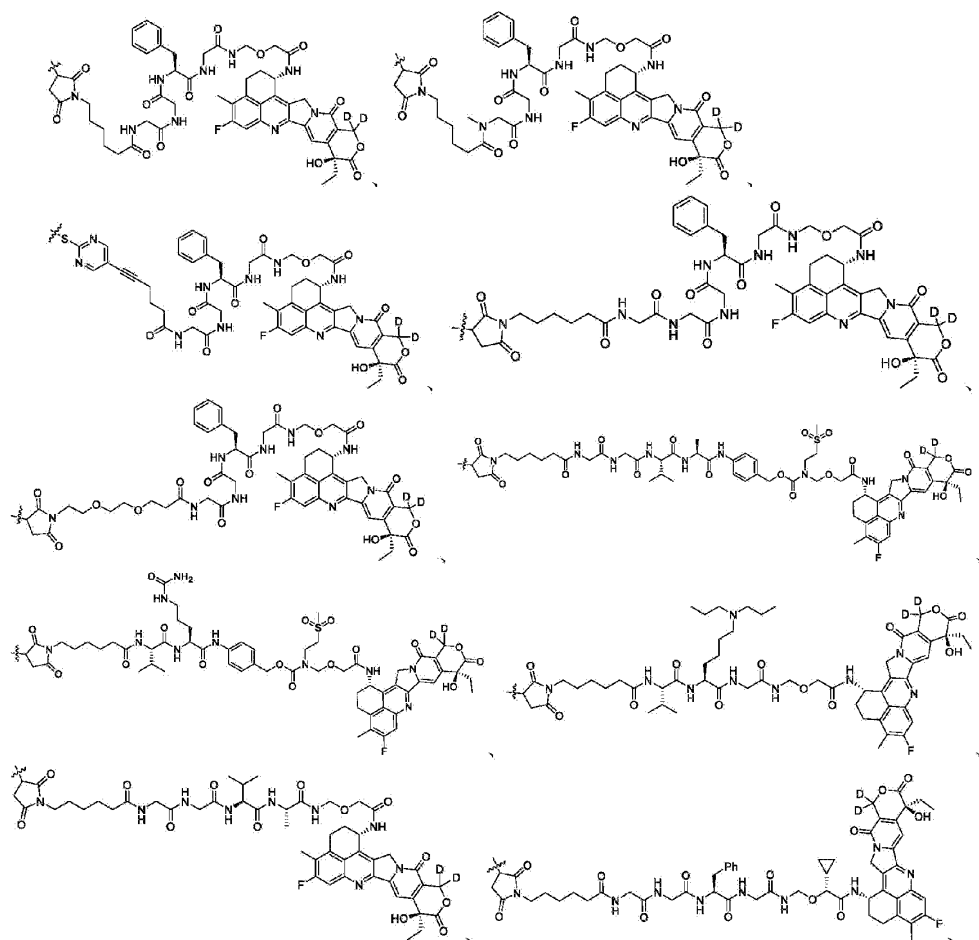
[0113] 在本公开的式I、式Ia、式Ia-1、式Ia-2、式Ib、式Ib-1、式Ic或式Id化合物的任一实施方案中，L选自如下片段：

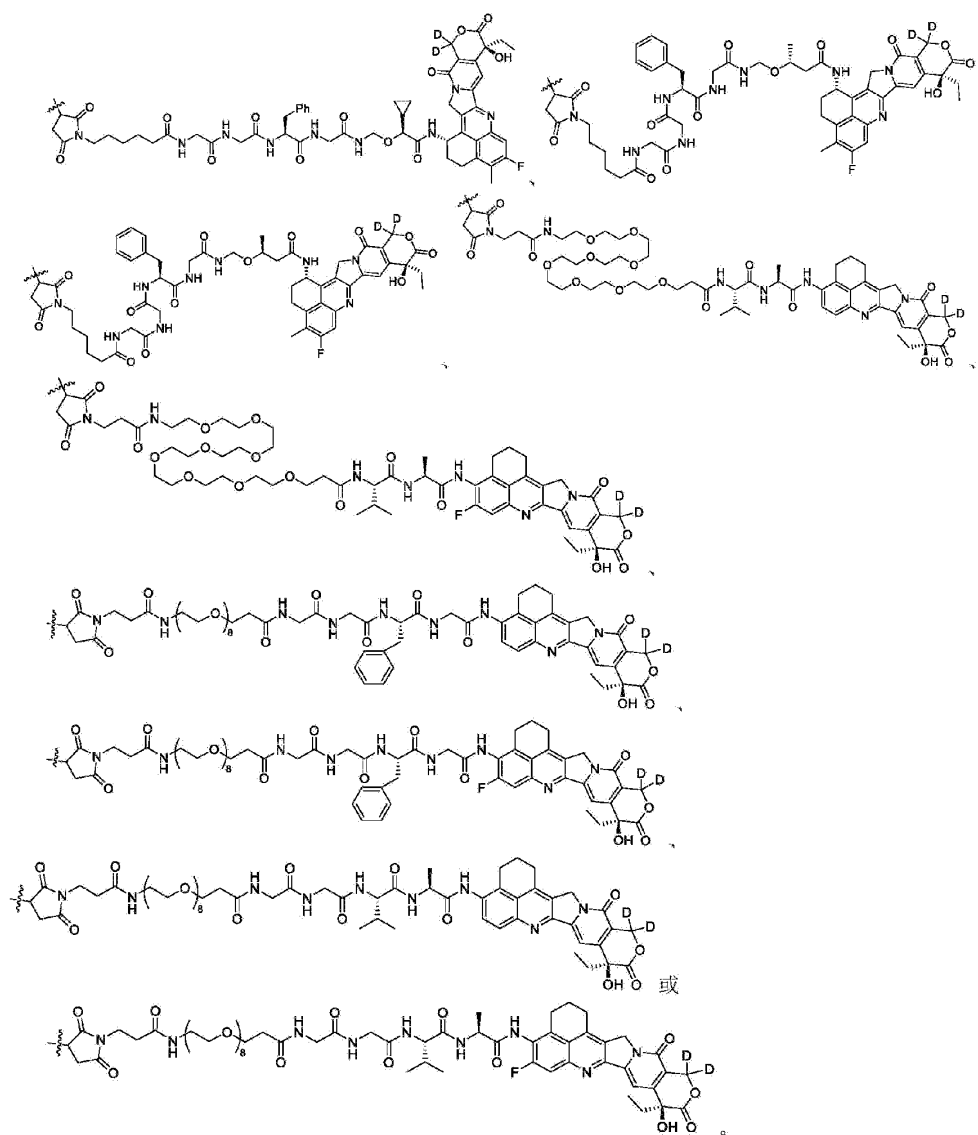


[0114] 其中，“★”表示连接子与弹头药物分子相连接的位置，则另一端表示连接子与Ab相连接的位置。在本公开的式I化合物的任一实施方案中，

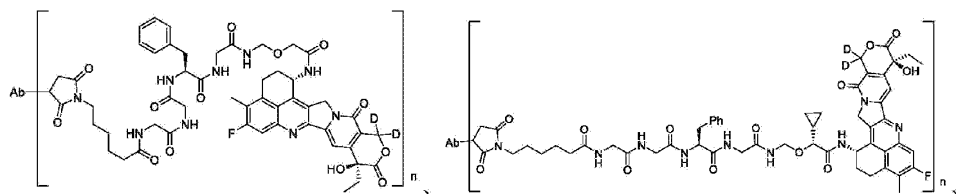
选自如下结构片段：

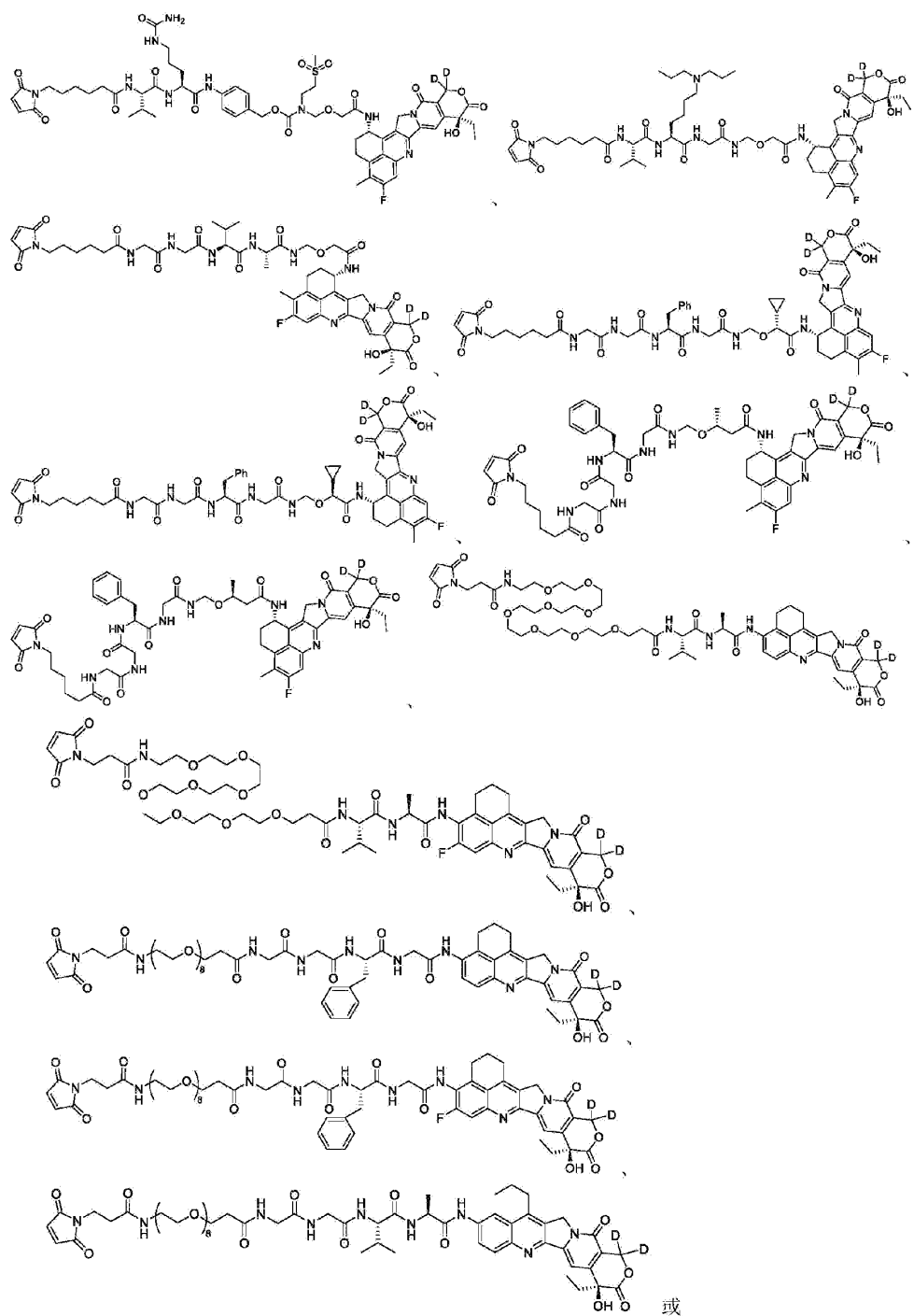


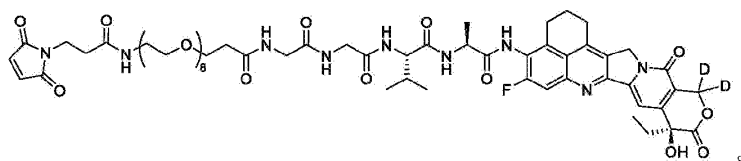




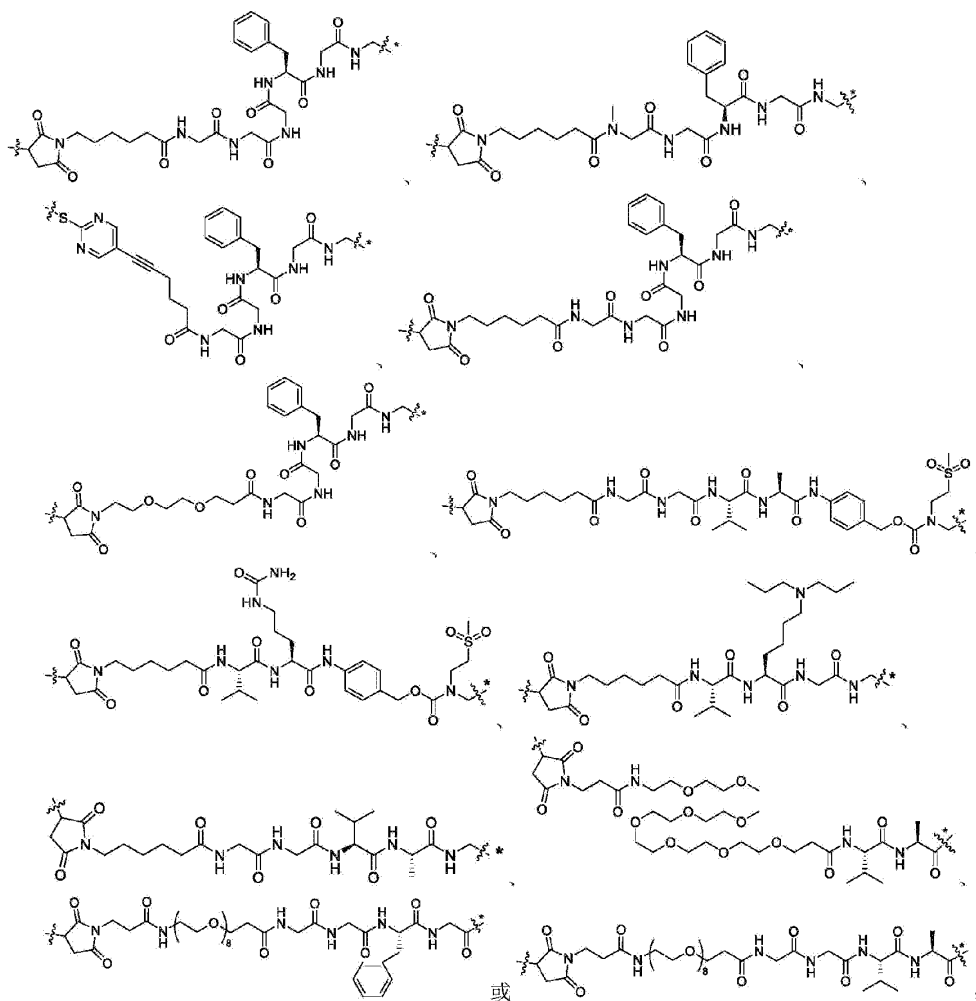
[0115] 在本公开的式I化合物的一个实施方案中，式I化合物为选自下列的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体：







[0118] 第三方面，本公开提供如下结构片段：



[0119] 其中星号*端表示与弹头药物分子相连接的位置，则另一端表示连接子与Ab相连接的位置。

[0120] 另一方面，本公开提供了药物组合物，其包含所述式I、式Ia、式Ib、式Ic、式Id、式Ia-1、式Ia-2、式Ib-1化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的赋形剂。

- [0121] 再一方面，本公开提供了所述式I、式Ia、式Ib、式Ic、式Id、式Ia-1、式Ia-2、式Ib-1化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐或所述药物组合物在制备用于治疗肿瘤的药物中的用途。
- [0122] 还一方面，本公开提供了治疗肿瘤的方法，其包括向有需要的患者施用有效量的所述式I、式Ia、式Ib、式Ic、式Id、式Ia-1、式Ia-2、式Ib-1化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐或所述药物组合物。
- [0123] 还一方面，本公开提供了用于治疗肿瘤的所述式I、式Ia、式Ib、式Ic、式Id、式Ia-1、式Ia-2、式Ib-1化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐或所述药物组合物。
- [0124] 还一方面，本公开提供了所述式I、式Ia、式Ib、式Ic、式Id、式Ia-1、式Ia-2、式Ib-1化合物、其立体异构体或其药学上可接受的盐或所述药物组合物在治疗肿瘤中的用途。
- [0125] 本公开的式I、式Ia、式Ib、式Ic、式Id、式Ia-1、式Ia-2、式Ib-1化合物中的载荷化合物(即，弹头药物分子)在血浆中具有更好的稳定性，在体内具有更短的半衰期和更低的体内暴露量，因此本公开的化合物的载荷在体内出现脱落后更容易被消除，产生的毒性更低。另外，本公开的毒性试验已经证明，本公开的化合物具有更低的体内毒性和血液毒性，展现出更好的安全性。
- [0126] 术语与说明
- [0127] 除非另有说明，本文所用术语具有本技术领域的通用含义。一个特定的术语或短语在没有特别定义的情况下不应该被认为是不确定的或不清楚的，而应该按照普通的含义去理解。当本文中出现商品名时，意在指代其对应的商品或其活性成分。
- [0128] 在本公开中，所述抗体Trastuzumab具有如下表S1所示的序列。
- [0129] 表S1抗体Trastuzumab的序列

重链可变区	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYP TNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFY AMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 4)
HCDR1	DTYIH (SEQ ID NO: 1)
HCDR2	RIYPTNGYTRYADSVKG (SEQ ID NO: 2)
HCDR3	WGGDGFYAMDY (SEQ ID NO: 3)
轻链可变区	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFL YSGVPSRFSGRSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 9)
LCDR1	RASQDVNTAVA (SEQ ID NO: 6)
LCDR2	SASFLYS (SEQ ID NO: 7)
LCDR3	QQHYTTPPT (SEQ ID NO: 8)

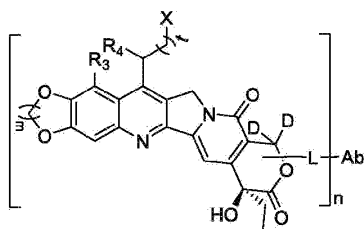
[0130] 更为具体地, 所述抗体Trastuzumab具有如SEQ ID NO: 5所示的重链和如SEQ ID NO: 10所示的轻链:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPCPAPELLGGPSVLEFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 5);

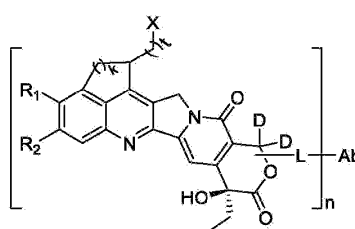
DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVEIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKIDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 10)。

[0131] 在本公开中, 所述HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、LCDR3均以Kabat方案进行编码; 所述Kabat编码方案是指基于序列可变性(variability)的编码方案。

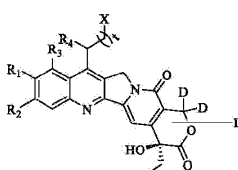
[0132] 在本公开的式I化合物的任一实施方案中, 当 R_1 与 R_2 环化为 $-O-(CH_2)_m-O-$ 时, 式I化合物为如下式I-1化合物。在本公开的式I化合物或其任一实施方案中, 当 R_3 、 R_4 环化为 $-(CH_2)_k-$ 时, 即是呈现为如下式I-2形式。



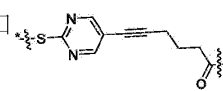
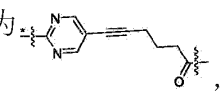
式 I-1



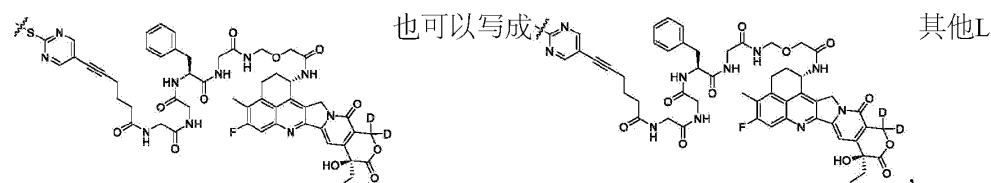
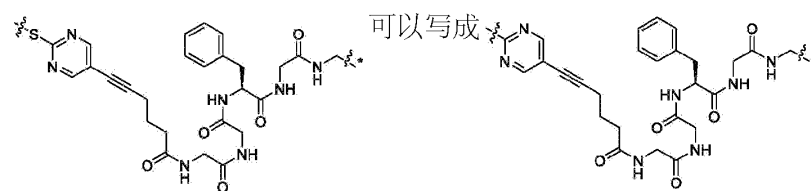
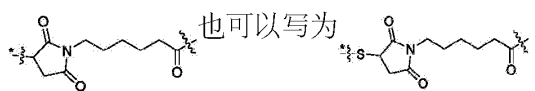
式 I-2

[0133] 在本公开的式I化合物中，表示连接子L可与式I中的弹头药

物分子D的任何可连接的位点以化学键连接，只要其在化学上是可行的，并能获得稳健的药物即可。

[0134] 本领域技术人员应当公知，在本公开的式I、式Ia、式Ib、式Ic、式Id、式Ia-1、式Ia-2、式Ib-1、或其具体化合物中，连接子L或其相应的具体结构通过来自Ab的硫原子与Ab相连接，该硫原子S可以体现在L或L1结构式或化学式中，也可以省略隐藏或不体现。例如，也可写为，

者表示相同的结构和含义；



1片段可做相同的理解。

[0135] 术语“弹头药物分子”也称为“载荷”、“载荷药物”、或“payload”，指具有预防、治疗疾病功效的物质。在抗体药物偶联物中的药物通常是指细胞毒性药物，能在肿瘤细胞内具有较强破坏其正常生长的化学分子。

[0136] 术语“连接子”是指一端与配体连接而另一端与药物相连的化学结构片段或键，也可以连接其他接头后再与药物相连。

[0137] 术语“药物-连接子偶联物”也称为载荷-连接子偶联物、连接子-载荷偶联物，其在本公开中具有相同的含义。

- [0138] 术语“任选”或“任选地”是指随后描述的事件或情况可以发生或不发生，该描述包括发生所述事件或情况和不发生所述事件或情况。例如，术语“任选地”“被取代是指基团可以是未取代的或者被指定的取代基取代；无论是否被取代，均在“任选地”所涵盖的范围内。
- [0139] 术语“独立地选自”或者“各自独立地选自”是指该术语前述的取代基中的每个取代基均可以从指定的选择范围内选择不同的可选变量，且不受其他取代基选择结果的影响。当某一可“独立地选自”的取代基在化学通式中存在多个同样的取代基时，其仍然可以选择相同或不同的可选变量。
- [0140] 术语“卤素”或“卤原子”是指氟、氯、溴、碘。
- [0141] 术语“卤代”是指取代基中的1个或多个氢原子被卤原子取代后所形成的基团。
- [0142] 术语“烷基”是指碳原子与碳原子之间以单键相连的直链或支链的烃基。烷基优选 C_{1-4} 或者 C_{1-6} 的烷基。 C_{1-4} 烷基”表示具有1、2、3或4个碳原子的直链或支链的烷基。 C_{1-4} 烷基的实例包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基。 C_{1-6} 烷基”表示具有1、2、3、4、5或6个碳原子的直链或支链的烷基。 C_{1-6} 烷基的实例包括但不限于：甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、正己基。
- [0143] 术语“卤代烷基”是指其中一个或多个氢原子被卤原子取代的烷基。 C_{1-4} 卤代烷基的实例包括但不限于三氟甲基、三氯甲基、2,2,2-三氟乙基、2,2,2-三氯乙基。
- [0144] 术语“烷氧基”是指烷基-O-，其中烷基如前文所定义，其包括 C_{1-4} 烷氧基或者 C_{1-6} 烷氧基。 C_{1-4} 烷氧基可理解为“ C_{1-4} 烷基-O-”，其实例包括但不限于甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基。 C_{1-6} 烷氧基可理解为“ C_{1-6} 烷基-O-”，其实例除了前述 C_{1-4} 烷氧基的具体实例以外，还包括但不限于正戊氧基、新戊氧基、正己基氧基等。
- [0145] 术语“卤代烷氧基”是指其中一个或多个氢原子被卤原子取代的烷氧基。 C_{1-4} 卤代烷氧基的实例包括但不限于三氟甲氧基、三氯甲氧基、2,2,2-三氟乙氧基、2,2,2-三氯乙氧基。

- [0146] 术语“环烷基”是指碳原子与碳原子之间以单键相连而形成的环状饱和的单环或多环烷基。其环C原子的H任选被氧代，即环中的“-CH₂-”任选地被氧代以形成“-C(O)-”。3-6元环烷基是指3、4、5或6元的环烷基，其具体实例包括但不限于：环丙基、环丁基、环戊基、环己基。
- [0147] 术语“杂环烷基”是指其中1个或多个(例如2、3或4个)环碳原子被杂原子或杂原子团(即含有杂原子的原子团)取代的环烷基。所述环碳原子是指组成环状骨架结构的碳原子；所述杂原子是指有机化合物中除C、H以外的原子，例如氮原子(N)、氧原子(O)、硫原子(S)、磷原子(P)或硼原子(B)，所述杂原子如氮原子和硫原子可以被氧化，以及所述氮原子可以被季铵化；所述杂原子团的实例包括但不限于-S(=O)₂-、-S(=O)-以及任选被取代的-NH-、-S(=O)(=NH)-、-C(=O)NH-、-C(=NH)-、-S(=O)₂NH-、S(=O)NH-或-NHC(=O)NH-等。3-6元杂环烷基是指3、4、5或6元的杂环烷基，其具体实例包括但不限于氮杂环丙烷基、氧杂环丙烷基、硫杂环丙烷基、氮杂环丁基、氧杂环丁基、硫杂环丁基、氮杂环戊烷基、氧杂环戊烷基、硫杂环戊烷基、哌嗪基、哌啶基、氧杂环己基、吗啉基、1,4-二氧六环基。
- [0148] 在本发明中用以表示氨基酸或氨基酸残基的字母G表示甘氨酸(Gly)，F表示苯丙氨酸(Phe)，V表示缬氨酸(Val)，A表示丙氨酸(Ala)、Cit表示瓜氨酸。
- [0149] 术语“组合物”意指包括包含指定量的各指定成分的产品，以及直接或间接从指定量的各指定成分的组合产生的任何产品。本领域技术人员可以通过改变本公开的药物组合物中各活性成分的实际剂量水平，以便所得的活性化合物量能有效针对具体患者、组合物和给药方式并得到所需的治疗反应。
- [0150] 术语“药学上可接受的”，是针对那些化合物、材料、组合物和/或剂型而言，它们在可靠的医学判断的范围之内，适用于与人类和动物的组织接触使用，而没有过多的毒性、刺激性、过敏性反应或其它问题或并发症，与合理的利益/风险比相称。
- [0151] 术语“药学上可接受的盐”是指药学上可接受的酸或碱的盐，包括化合物与无机酸或有机酸形成的盐，以及化合物与无机碱或有机碱形成的盐。

- [0152] 术语“赋形剂”通常是指配制有效的药物组合物所需要的载体、稀释剂和/或介质。
- [0153] 术语“有效量”是指本公开的化合物或其药学上可接受的盐的以适用于任何医学治疗的合理效果/风险比治疗疾病或病症的量。构成“有效量”的本公开化合物的量取决于该化合物、疾病状态及其严重性、给药方式以及待被治疗的哺乳动物的年龄而改变，但可例行性地由本领域技术人员根据其自身的知识及本公开内容而确定。
- [0154] 本公开中，取代基中的“”表示该取代基与母体结构或其他片段的连接位置。取代基结构中出现破折号“-”用于指示取代基的连接点，例如-CH₃表示该基团通过C原子与母体结构或其他片段连接。“”和“”表示一个立体中心的绝对构型，即R或S构型。
- [0155] 在本公开中，由实线和虚线描绘的化学键“”表示单键或双键，可根据该化学键两端的原子的化合价在本领域技术人员公知的范围内进行判断。
- [0156] 在本公开中，所述的“异构体”包括几何异构体以及立体异构体，例如阻转异构体、顺反异构体、对映异构体、非对映异构体、互变异构体、及其外消旋混合物和其他混合物，所有这些混合物都属于本公开的范围之内。术语“对映异构体”是指互为镜像关系的立体异构体。术语“互变异构体”是指官能团异构体的一种，其通过一个或多个双键位移而具有不同的氢的连接点，例如，酮和它的烯醇形式是酮-烯醇互变异构体。术语“非对映异构体”是指分子具有两个或多个手性中心，并且分子间为非镜像的关系的立体异构体。术语“顺反异构体”是指分子中双键或者成环碳原子单键不能自由旋转而存在的不同空间构型。术语“阻转异构体”由于单键旋转受到阻碍或旋转非常缓慢从而能够分离出来的立体异构体。
- [0157] 本公开化合物的立体异构体可以通过手性合成或手性试剂或者其他常规技术制备。例如本公开某化合物的一种对映体，可以通过不对称催化技术或者手性助剂衍生技术制备得到。或者通过手性拆分技术，从混合物中得到单一立体构型的化合物。或者用手性起始原料，直接制备得到。本公开中的光学纯化合物的

分离通常是使用制备色谱法完成的，采用手性色谱柱，达到分离手性化合物的目的。

- [0158] 在本公开中，溶液浓度单位M表示mol/L，mM表示mmol/L，nM表示nmol/L。溶液浓度单位N表示当量浓度，即1升溶液中所含溶质的克当量数来表示的叫当量浓度，用符号N表示。例如，1升浓盐酸中含12.0克当量的盐酸(HCl)，则浓度为12.0N。当量浓度=溶质的克当量数/溶液体积(升)。
- [0159] 在本公开中使用的曲妥珠单抗(Trastuzumab)购买自三优生物医药(上海)有限公司。本领域技术人员也可参考已公开的文献制备得到。
- [0160] 在本公开中使用的化学缩写形式及其指代的化学名称如下：

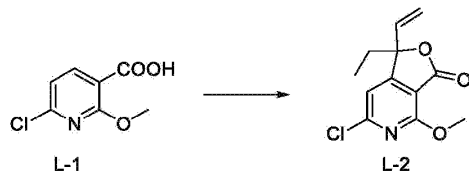
化学缩写	化学名称
DBU	1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一碳-7-烯
HOBt	1-羟基苯并三唑
EDCI	碳二亚胺
DIPEA	二异丙基乙胺
TCEP	三(2-羧乙基)膦盐酸盐
DME	乙二醇二甲醚
DMTMM	4-(4,6-二甲氧基三嗪)-4-甲基吗啉盐酸盐
MTBE	甲基叔丁基醚

实施例

- [0161] 下面通过具体的制备实施例和生物学实验进一步详细说明本公开，但是，应当理解，这些实施例和生物学实验仅仅是用于具体地说明之用，而不应将其理解为用于以任何形式限制本公开。本领域技术人员清楚，在下文中，如果未特别说明，所用的材料是本领域公知的，可以通过市场购买得到或者本领域技术人员根据已经公开文献或常规方法即可获得。除非另外说明，本公开的所有反应均在连续的磁力搅拌下，在干燥氮气或氩气气氛下进行，溶剂为干燥溶剂，其中：(i)温度以摄氏度(℃)表示，操作在室温下进行，所述室温一般指15–35℃，优选20–30℃，更优选20–25℃；(ii)溶剂的去除采用旋转蒸发仪减压蒸发，浴温不高于60℃；(iii)反应过程用薄层色谱法(TLC)跟踪；(iv)终产物具有满意的氢核磁共振光谱(¹H-NMR)和/或质谱(MS)数据。

[0162] 实施例1化合物1的制备

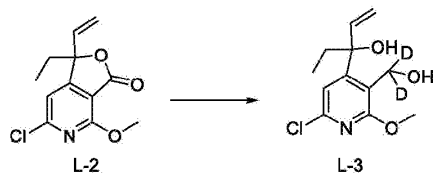
[0163] 步骤1:



[0164] 将86.4mL 2,2,6,6-四甲基哌啶加入到3L三口瓶中,加入1L无水四氢呋喃,体系降温至 -78°C ,反应15分钟。加入272mL的2.5M正丁基锂的石油醚溶液,反应30分钟。将32g化合物L-1用200mL无水四氢呋喃溶解后,加入体系,反应1小时。将50mL 1-戊烯-3-酮用200mL无水四氢呋喃溶解后,加入体系,反应1小时。TLC监测反应完全后,加入640mL 4N盐酸,用乙酸乙酯萃取。合并有机相,饱和碳酸氢钠水溶液洗涤,饱和食盐水洗,无水硫酸钠干燥。体系真空浓缩后,经柱层析纯化得到21g化合物L-2,收率: 49%。ESI-MS m/z : 253.68, $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ 。

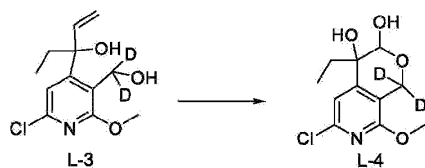
[0165] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 6.99(s, 1H), 6.13(dd, $J=17.3, 10.6\text{Hz}$, 1H), 5.29(d, $J=7.0\text{Hz}$, 1H), 5.26(s, 1H), 3.99(s, 3H), 2.73(s, 2H), 2.04(dt, $J=14.8, 7.3\text{Hz}$, 1H), 1.98 - 1.87(m, 1H), 0.91(t, $J=7.3\text{Hz}$, 3H)。

[0166] 步骤2



[0167] 将21g化合物L-2加入到1L三口瓶中,加入400mL无水乙醇,体系降温至 0°C 后,加入14.21g硼氘化钠,搅拌15分钟,再升至室温反应12小时。TLC监测反应完全,加入30mL 1N盐酸,二氯甲烷萃取,合并有机相,依次使用饱和碳酸氢钠水溶液洗,饱和食盐水洗,无水硫酸钠干燥。体系真空浓缩后,经柱层析纯化得到17g化合物L-3为透明粘稠状液体,收率: 80%。ESI-MS m/z : 259.73, $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ 。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 6.99(s, 1H), 6.13(dd, $J=17.3, 10.6\text{Hz}$, 1H), 5.29(d, $J=7.0\text{Hz}$, 1H), 5.26(s, 1H), 3.99(s, 3H), 2.73(s, 2H), 2.04(dt, $J=14.8, 7.3\text{Hz}$, 1H), 1.98 - 1.87(m, 1H), 0.91(t, $J=7.3\text{Hz}$, 3H)。

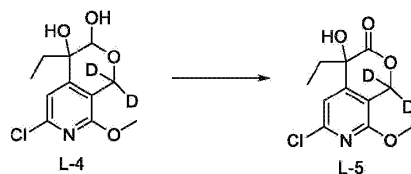
[0168] 步骤3:



[0169] 将2g化合物L-3加入到250mL圆底烧瓶中，加入100mL二氯甲烷，体系降温至 -78°C ，在此条件下通入臭氧；TLC监测反应完全后，加入0.5mL二甲硫醚，升至室温搅拌30分钟。体系真空浓缩后经柱层析纯化得到1.9g化合物L-4，收率：95%。产物无需进一步分离纯化直接用于下一步反应。ESI-MS m/z :261.70, $[\text{M}+\text{H}]^{+}$.

[0170] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.15(s,1H), 5.19(d, $J=4.8\text{Hz}$, 1H), 3.96(s, 3H), 3.21(d, $J=4.8\text{Hz}$, 1H), 2.64(s, 1H), 1.80(q, $J=7.5\text{Hz}$, 2H), 0.92(t, $J=7.5\text{Hz}$, 3H)。

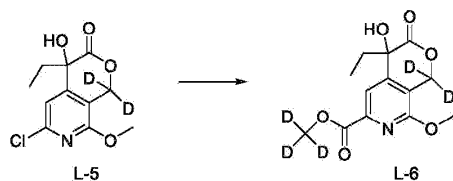
[0171] 步骤4:



[0172] 将12g化合物L-4加入到1L单口瓶中，加入240mL二氯甲烷，搅拌30分钟，体系降温至 0°C 。加入286mg 2,2,6,6-四甲基哌啶氧化物，616mg碳酸氢钠，654mg溴化钾，18mL水，搅拌15分钟。加入120mL次氯酸钠水溶液($>7.5\text{wt}\%$)，反应30分钟。TLC监测反应完全，加入12g亚硫酸氢钠，二氯甲烷萃取；合并有机相，水洗，饱和食盐水洗，无水硫酸钠干燥。体系真空浓缩后，经柱层析纯化得到6.6g化合物L-5，收率：55%。ESI-MS m/z :259.68, $[\text{M}+\text{H}]^{+}$.

[0173] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.20(s,1H), 4.00(s,3H), 3.64(s,1H), 1.79(q, $J=7.4\text{Hz}$, 2H), 0.97(t, $J=7.4\text{Hz}$, 3H)。

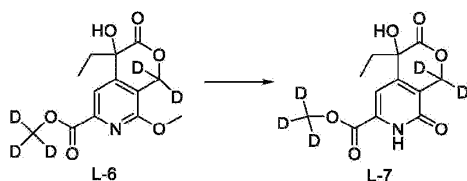
[0174] 步骤5:



[0175] 一氧化碳氛围下，将3g化合物L-5加入到100mL三口瓶中，加入286mg 1,3-双(二苯基膦)丙烷、2.4g碳酸钾、129mg醋酸钨、15mL N,N-二甲基甲酰胺、30mL 氘代甲醇，体系升温至65℃反应12小时。TLC监测反应完全，加入20mL 1N盐酸，乙酸乙酯萃取，合并有机相，依次用饱和碳酸氢钠水溶液、饱和食盐水洗涤，无水硫酸钠干燥。体系真空浓缩后，经柱层析纯化得到1.33g化合物L-6，收率：40%。ESI-MS m/z : 286.29, $[M+H]^+$.

[0176] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.98(d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 4.09(d, $J=2.0\text{Hz}$, 3H), 3.71(d, $J=2.6\text{Hz}$, 1H), 1.88 - 1.75(m, 2H), 0.96(td, $J=7.3, 1.9\text{Hz}$, 3H)。

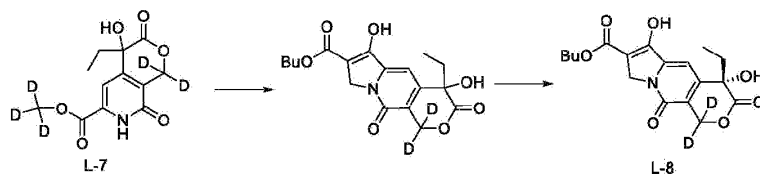
[0177] 步骤6:



[0178] 将1g化合物L-6加入到50mL双口瓶中，加入1.05g碘化钠、10mL乙腈，体系降温至0℃，搅拌30分钟。加入0.89mL三甲基氯硅烷，体系升温至室温反应12小时；TLC监测反应完全，加入40mL水，1mL饱和亚硫酸氢钠水溶液，搅拌1小时，二氯甲烷萃取，无水硫酸钠干燥。体系真空浓缩后，经柱层析纯化得到800mg化合物L-7，收率：84%。ESI-MS m/z : 272.27, $[M+H]^+$.

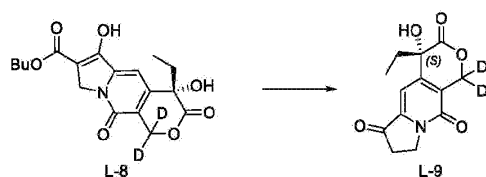
[0179] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 10.03(s, 1H), 7.32(s, 1H), 3.90(s, 1H), 1.81(dd, $J=14.5, 7.2\text{Hz}$, 2H), 0.99(t, $J=7.4\text{Hz}$, 3H)。

[0180] 步骤7:



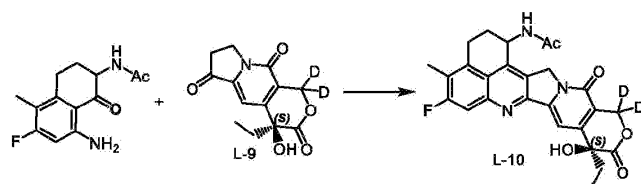
[0181] 将620mg化合物L-7加入到25mL双口瓶中,加入1.48g碳酸铯、8mL二甲亚砜、1.67mL丙烯酸叔丁酯,体系升温至50℃反应12小时;TLC监测反应完全,加入1mL浓盐酸,加入40mL水,二氯甲烷萃取,无水硫酸钠干燥。体系真空浓缩后,经制备SPC手性分离(仪器型号:SFC-350(Waters),色谱柱:AS 25*250mm,10um,流动相:CO₂/MEOH=65/35,流速:200ml/min)得到468mg化合物L-8,收率:55%。ESI-MS m/z:365.38,[M+H]⁺。

[0182] 步骤8:



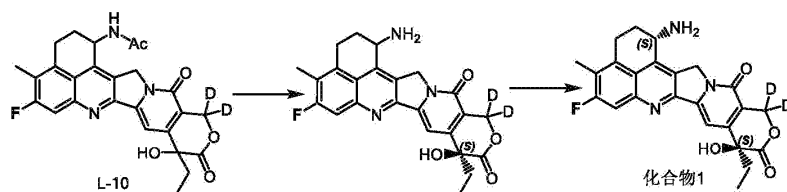
[0183] 将200mg化合物L-8加入到10mL单口瓶中,加入5mL甲苯、0.5mL三氟醋酸,体系升温至110℃反应2小时;TLC监测反应完全,体系真空浓缩后,经柱层析纯化得到140mg化合物L-9,收率:98%。ESI-MS m/z:265.26,[M+H]⁺。

[0184] 步骤9:



[0185] 将300mg化合物L-9加入到25mL单口瓶中,加入266mg N-(5-甲基-6-氟-8-氨基-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)乙酰胺、9mL甲苯、770mL邻甲酚、133mg对甲苯磺酸吡啶盐。体系升温至110℃反应18小时;TLC监测反应完全,体系真空浓缩后,经柱层析纯化(二氯甲烷:甲醇=10:1)得到443mg化合物L-10,收率:81%。

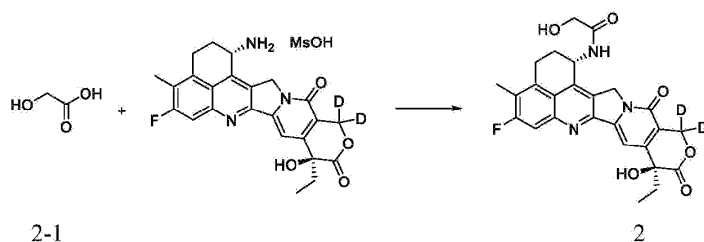
[0186] 步骤10:



[0187] 将443mg中间体化合物L-10加入到25mL单口瓶中，加入7mL纯净水、2.2mL甲磺酸，置换体系为氮气氛围。体系升温至85℃反应10小时；TLC监测反应完全，体系真空浓缩后，经柱层析纯化(二氯甲烷：甲醇)得到141mg化合物1或其甲磺酸盐，收率：35%。ESI-MS m/z : 437.47, $[M+H]^+$ 。

[0188] ^1H NMR (400MHz, D_2O) δ 7.20 - 7.06(m, 2H), 5.42 - 5.14(m, 5H), 3.30(dd, $J=18.1, 4.0$ Hz, 1H), 3.06 - 2.91(m, 1H), 2.69(s, 2H), 2.62 - 2.47(m, 1H), 2.18(s, 3H), 1.80(q, $J=7.3$ Hz, 2H), 0.79(t, $J=7.4$ Hz, 3H)。

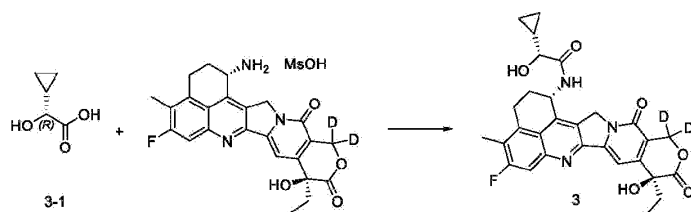
[0189] 实施例2化合物2的制备



[0190] 向无水硫酸钠(2.25eq)、2-肟乙酸乙酯(2.25eq)，2-羟基乙酸(1.45eq)，化合物1的甲磺酸盐(100mg)的混合物中加入水2.4mL和四氢呋喃3.0mL，室温搅拌15分钟后，加入N-甲基吗啉(1.10eq)，室温搅拌15分钟后，加入EDCI(2eq)，室温搅拌3小时。HPLC监测化合物1反应完全，过滤，滤饼晾干后，使用硅胶柱层析分离纯化(DCM:MeOH)，得到标题化合物。

[0191] ^1H NMR (400MHz, DMSO) δ 8.41(d, $J=8.9$ Hz, 1H), 7.77(d, $J=11.0$ Hz, 1H), 7.30(s, 1H), 6.52(s, 1H), 5.58(d, $J=5.4$ Hz, 1H), 5.49(t, $J=5.7$ Hz, 1H), 5.20(t, $J=13.9$ Hz, 2H), 3.96(d, $J=5.5$ Hz, 2H), 3.28 - 3.05(m, 2H), 2.39(s, 3H), 2.29 - 2.11(m, 2H), 1.96 - 1.78(m, 2H), 0.87(t, $J=7.2$ Hz, 3H). MS(ESI) m/z : 496.1。

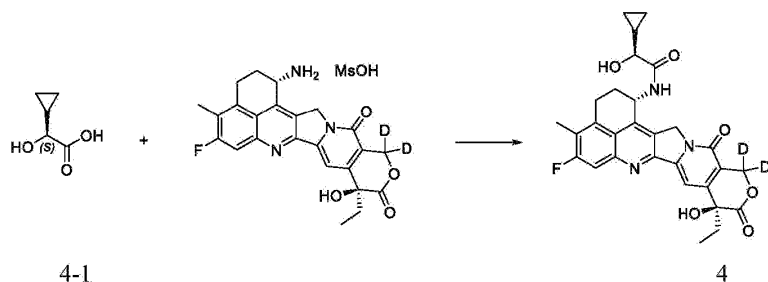
[0192] 实施例3化合物3的制备



[0193] 参照实施例2的制备方法，以(R)-2-环丙基-2-羟基乙酸为原料，制备得到52 mg化合物3，收率52%。

[0194] ^1H NMR(400MHz,DMSO- d_6) δ 8.36(dJ=8.4Hz,1H),7.78(dJ=10.9Hz,1H),7.31(s,1H),6.52(s,0H),5.58 - 5.48(m,1H),5.38(dJ=5.3Hz,1H),5.21(qJ=19.0Hz,2H),3.62(d,J=5.2Hz,1H),3.16(dd,J=11.2,5.7Hz,3H),2.39(s,4H),2.22 - 2.12(m,3H),1.86(dtJ=14.3,7.1Hz,2H),1.14(qJ=7.3Hz,2H),0.87(tJ=7.2Hz,3H),0.38(ddJ=20.9,5.6Hz,4H).MS (ESI)m/z[M+H] $^+$:536.2。

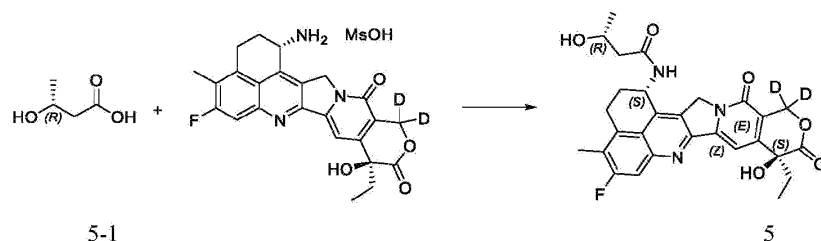
[0195] 实施例4化合物4的制备



[0196] 参照实施例2的制备方法，以(S)-2-环丙基-2-羟基乙酸为原料，制备得到54mg化合物4，收率54%。

[0197] ^1H NMR(400MHz,DMSO- d_6) δ 8.37(dJ=9.0Hz,1H),7.77(dJ=11.0Hz,1H),7.30(s,1H),6.51(s,1H),5.58(qJ=6.7Hz,1H),5.49(dJ=5.2Hz,1H),5.35 - 5.06(m,2H),3.60(tJ=5.7Hz,1H),3.17(qJ=17.2Hz,2H),2.39(s,3H),2.16(dJ=6.1Hz,2H),1.85(dqJ=14.2,7.1Hz,2H),1.24(qJ=8.1Hz,1H),0.87(tJ=7.3Hz,3H),0.59 - 0.32(m,4H).MS(ESI)m/z[M+H] $^+$:536.2。

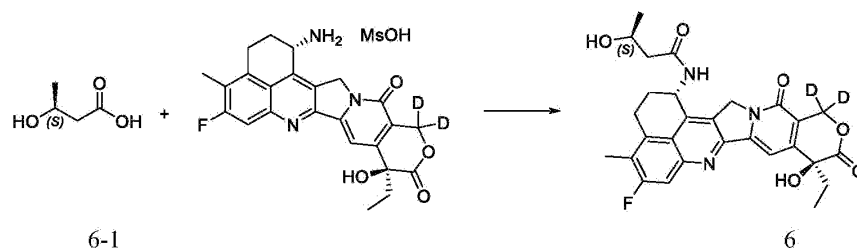
[0198] 实施例5化合物5的制备



[0199] 参照实施例2的制备方法，以(R)-3-羟基丁酸为原料，制备得到55mg化合物5，收率56%。

[0200] ^1H NMR(400MHz,DMSO- d_6) δ 8.42(d,J=8.7Hz,1H),7.78(d,J=11.0Hz,1H),7.30(s,1H),6.52(s,1H),5.55(dt,J=9.3,5.0Hz,1H),5.29 - 5.12(m,2H),4.66(d,J=4.7Hz,1H),4.05(dt,J=12.1,6.0Hz,1H),3.25 - 3.09(m,2H),2.39(s,3H),2.33 - 2.17(m,2H),2.13(dd,J=10.7,5.4Hz,2H),1.86(hept,J=7.1Hz,2H),1.09(d,J=6.2Hz,3H),0.87(t,J=7.3Hz,3H).MS(ESI)m/z[M+H] $^+$:524.2。

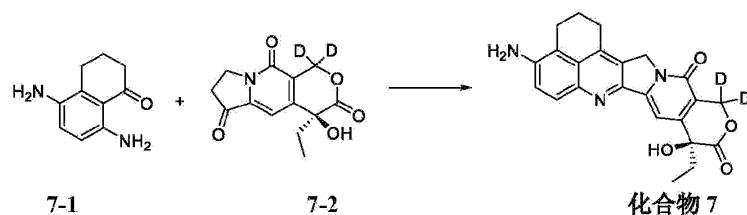
[0201] 实施例6化合物6的制备



[0202] 参照实施例2的制备方法，以(S)-3-羟基丁酸为原料，制备得到51mg化合物6，收率52%。

[0203] ^1H NMR(400MHz,DMSO- d_6) δ 8.41(d,J=8.7Hz,1H),7.78(d,J=11.0Hz,1H),7.30(s,1H),6.53(s,1H),5.57(dt,J=8.8,4.5Hz,1H),5.22(d,J=2.7Hz,2H),4.64(d,J=4.5Hz,1H),4.05(dt,J=11.9,6.1Hz,1H),3.16(t,J=5.7Hz,2H),2.39(s,3H),2.32 - 2.17(m,2H),2.17 - 2.04(m,2H),1.86(hept,J=7.1Hz,2H),1.08(d,J=6.1Hz,3H),0.87(t,J=7.3Hz,3H).MS(ESI)m/z[M+H] $^+$:524.2。

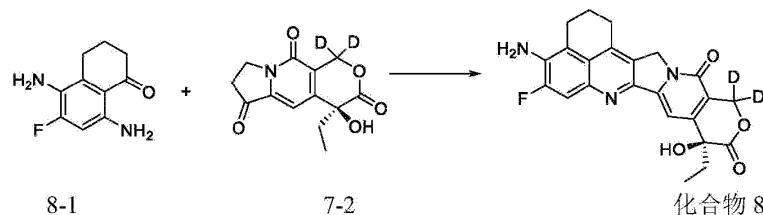
[0204] 实施例7化合物7的制备



[0205] 将化合物7-1(87mg,1eq)、化合物7-2(144mg,1.1.eq)、对甲苯磺酸吡啶盐(50mg,0.4eq), 乙酸(2.6mL,30V), 甲苯(2.6mL,30V), 投入反应瓶中, 110℃反应18小时, TLC监测反应完全, 旋除溶剂, 使用硅胶柱层析分离纯化(二氯甲烷: 甲醇), 得到123mg化合物7, 收率61%。

[0206] ^1H NMR(400MHz,DMSO- d_6) δ 7.72(d,J=9.0Hz,1H),7.29(d,J=9.0Hz,1H),7.17(s,1H),6.45(s,1H),5.65(s,2H),5.16(s,2H),3.04(t,J=6.1Hz,2H),2.75(t,J=6.1Hz,2H),2.08 - 1.95(m,2H),1.85(hept,J=7.1Hz,2H),0.88(t,J=7.2Hz,3H).MS(ESI)m/z[M+H] $^+$:406.1。

[0207] 实施例8化合物8的制备

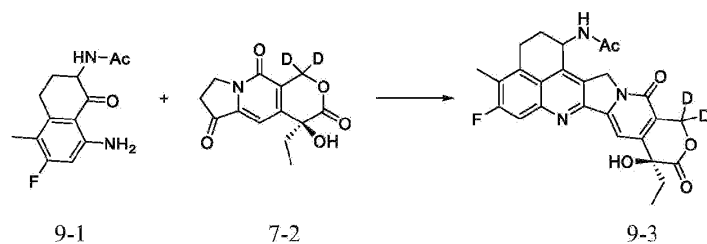


[0208] 参照实施例7的制备方法, 以化合物8-1、7-2为起始原料制备得到127mg化合物8, 收率60%。

[0209] ^1H NMR(400MHz,DMSO- d_6) δ 8.41(d,J=8.7Hz,1H),7.78(d,J=11.0Hz,1H),7.30(s,1H),6.53(s,1H),5.57(dt,J=8.8,4.5Hz,1H),5.22(d,J=2.7Hz,2H),4.64(d,J=4.5Hz,1H),4.05(dt,J=11.9,6.1Hz,1H),3.16(t,J=5.7Hz,2H),2.39(s,3H),2.32 - 2.17(m,2H),2.17 - 2.04(m,2H),1.86(hept,J=7.1Hz,2H),1.08(d,J=6.1Hz,3H),0.87(t,J=7.3Hz,3H).MS(ESI)m/z[M+H] $^+$:424.1。

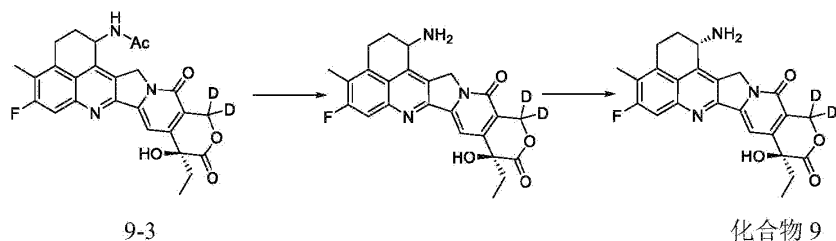
[0210] 实施例9化合物9的制备

[0211] 步骤1:



[0212] 将250mg化合物9-1、300mg化合物7-2，7.5mL乙酸，7.5mL甲苯，68mg对甲苯磺酸吡啶盐加入到50mL单口瓶中，110℃反应18小时。TLC监测反应完全，减压蒸出溶剂，使用硅胶柱层析分离纯化(DCM:MeOH)，得到386mg化合物9-3，收率：81%。MS(ESI)m/z[M+H]⁺:480.2。

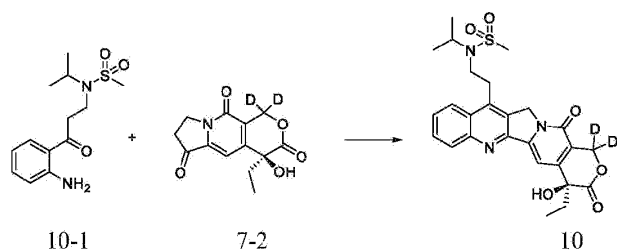
[0213] 步骤2:



[0214] 将380mg化合物9-3加入到100mL单口瓶中，加入7.6mL纯净水、3.8mL甲磺酸，氮气保护下，85℃反应10小时。TLC监测反应完全，降至室温，加入甲醇2.8mL，室温搅拌2小时，过滤，得粗品，使用硅胶柱层析分离纯化(二氯甲烷:甲醇)，得到148mg化合物9，收率：35%。

[0215] ¹H NMR(400MHz,D₂O) δ 7.20 - 7.06(m,2H),5.42 - 5.14(m,5H),3.30(dd,J=18.1,4.0Hz,1H),3.06 - 2.91(m,1H),2.69(s,2H),2.62 - 2.47(m,1H),2.18(s,3H),1.80(q,J=7.3Hz,2H),0.79(t,J=7.4Hz,3H)。MS(ESI)m/z[M+H]⁺:438.2。

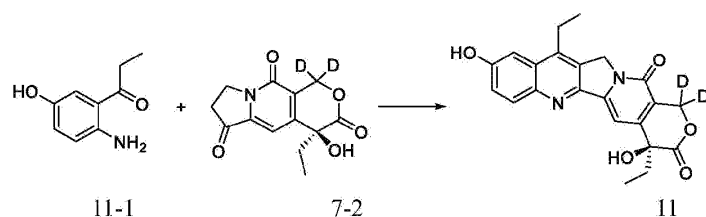
[0216] 实施例10化合物10的制备



[0217] 参加实施例9的制备方法，以化合物10-1、化合物7-2为原料，制备得到70mg化合物10，收率34%。

[0218] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 8.32(d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 8.20(dd, $J=8.4, 1.2\text{Hz}$, 1H), 7.93-7.84(m, 1H), 7.79(t, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.35(s, 1H), 6.56(s, 1H), 5.42(s, 2H), 3.98(p, $J=6.7\text{Hz}$, 1H), 3.50(t, $J=8.0\text{Hz}$, 2H), 3.42-3.35(m, 2H), 3.00(s, 3H), 1.88(hept, $J=7.3\text{Hz}$, 2H), 1.15(d, $J=6.7\text{Hz}$, 6H), 0.88(t, $J=7.3\text{Hz}$, 3H). MS(ESI) m/z [M+H] $^+$: 514.2。

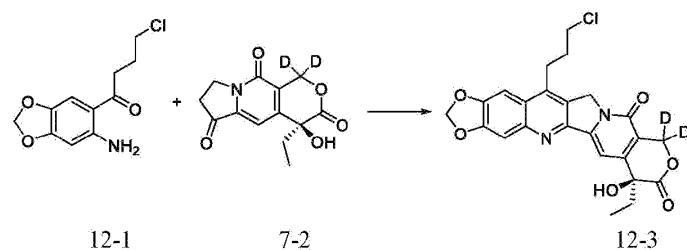
[0219] 实施例11化合物11的制备



[0220] 参加实施例9的制备方法，以化合物11-1、化合物7-2为原料，制备得到80mg化合物11，收率37%。

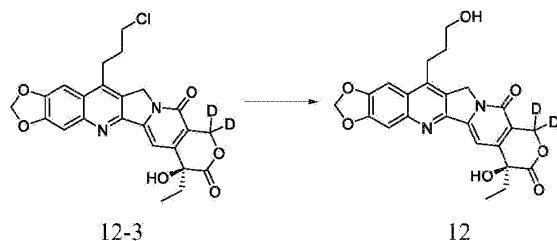
[0221] ^1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ 0.88(t, $J=7.25\text{Hz}$, 3H), 1.32(t, $J=7.5\text{Hz}$, 3H), 1.85(m, 2H), 3.11(q, $J=7.5\text{Hz}$, 2H), 5.26(s, 2H), 6.48(s, 1H), 7.23(s, 1H), 7.41(d, $J=10.0\text{Hz}$, 2H), 8.01(d, $J=10.0\text{Hz}$, 1H), 10.3(s, 1H)。MS(ESI) m/z [M+H] $^+$: 395.1。

[0222] 实施例12化合物12的制备



[0223] 将255mg化合物12-1、300mg化合物7-2、7.5mL乙酸、7.5mL甲苯、68mg对甲苯磺酸吡啶盐加入到50mL单口瓶中，110℃反应18小时。TLC监测反应完全，减压蒸出溶剂，使用硅胶柱层析分离纯化(DCM: MeOH)，得到330mg化合物12-3，收率：70%。

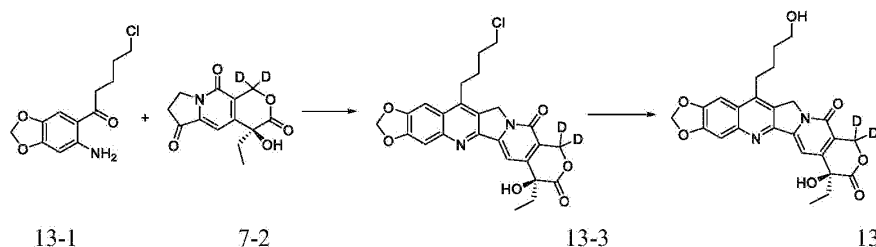
[0224] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 7.63(s, 1H), 7.51(s, 1H), 7.24(s, 1H), 6.50(s, 1H), 6.30(s, 2H), 5.26(s, 2H), 3.81(d, J = 5.9Hz, 2H), 3.22(s, 2H), 1.98(d, J = 6.7Hz, 4H), 0.88(t, J = 7.2Hz, 3H). MS(ESI) m/z [M+H] $^+$: 471.1。



[0225] 将中间体化合物12-3 300mg, 溶于10%硫酸15mL, 110℃反应48小时。TLC监测反应完全, 加入饱和碳酸钠水溶液调至中性, 二氯甲烷萃取, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得粗产品, 使用硅胶柱层析分离纯化(DCM:MeOH), 得到89mg化合物12, 收率: 31%。

[0226] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 7.63(s, 1H), 7.50(s, 1H), 7.24(s, 1H), 6.48(s, 1H), 6.28(s, 2H), 5.32–5.19(m, 2H), 3.51–3.46(m, 2H), 3.17–3.13(m, 2H), 1.92 – 1.76(m, 4H), 0.88(t, J = 7.2Hz, 3H). MS(ESI) m/z [M+H] $^+$: 453.2。

[0227] 实施例13化合物13的制备

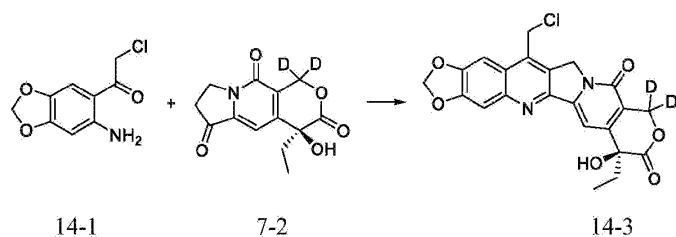


[0228] 参照实施例12的制备方法, 以化合物13-1、化合物7-2为原料, 制备得到74mg化合物13, 两步收率: 16%。

[0229] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 7.63(s, 1H), 7.50(s, 1H), 7.24(s, 1H), 6.48(s, 1H), 6.28(s, 2H), 5.32–5.19(m, 2H), 3.51–3.46(m, 2H), 3.17–3.13(m, 2H), 1.94 – 1.76(m, 6H), 0.88(t, J = 7.2Hz, 3H). MS(ESI) m/z [M+H] $^+$: 467.2。

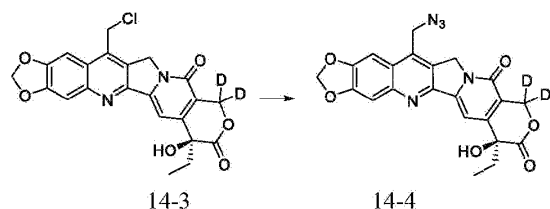
[0230] 实施例14化合物14的制备

[0231] 步骤1:



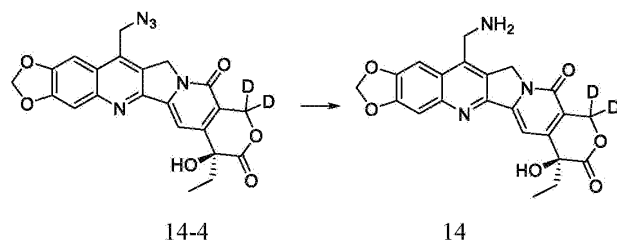
[0232] 将213mg化合物14-1、300mg化合物7-2、7.5mL乙酸、7.5mL甲苯、68mg对甲苯磺酸吡啶盐加入到50mL单口瓶中，110℃反应18小时。TLC监测反应完全，旋除溶剂，使用硅胶柱层析分离纯化(DCM:MeOH)，得到300mg化合物14-3，收率：68%。MS(ESI)m/z[M+H]⁺:443.1。

[0233] 步骤2:



[0234] 将300mg化合物14-3溶于N,N-二甲基甲酰胺3mL，加入叠氮化钠(48mg, 1.1eq)，80℃反应16小时，TLC监测反应完全，降至室温，加水18mL，乙酸乙酯萃取，合并有机相，水洗，有机相经无水硫酸钠干燥后，过滤，旋干，得到186mg化合物14-4粗品，收率63%。MS(ESI)m/z[M+H]⁺:436.1。

[0235] 步骤3:

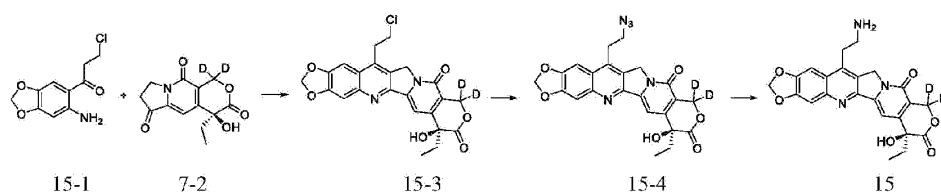


[0236] 将186mg化合物14-4溶于4mL四氢呋喃中，加入三苯基膦(134mg, 1.2eq)，室温搅拌4小时，TLC监测反应完全，向反应体系中加入盐酸(4M, 1mL)，55℃反应16小时，减压浓缩，使用反相柱(SEPA FLASH SW025, Spherical C18, 20-45 μm，

100Å,流动相A: 0.05% 甲酸/水, 流动相B: 乙腈; 流动相A: 流动相B=40: 60, 流速20mL/min)分离纯化, 得到63mg化合物14, 收率: 35%。

[0237] ^1H NMR(400MHz,DMSO- d_6) δ 8.62(s,2H),8.45(s,1H),7.50(s,1H),7.25(s,1H),6.48(s,1H),6.28(s,2H),5.41(s,2H),5.20(s,2H),4.70(d,J=6.0Hz,2H),1.86(tt,J=14.2,6.1Hz,2H),0.88(t,J=7.2Hz,3H).MS(ESI)m/z[M+H] $^+$:424.1。

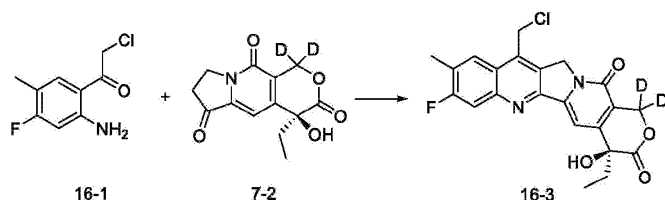
[0238] 实施例15化合物15的制备



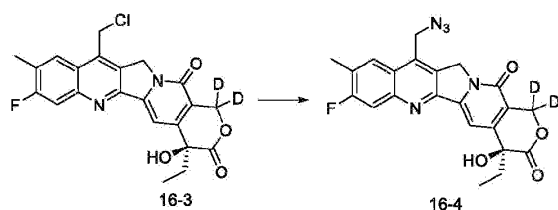
[0239] 参照实施例14的制备方法, 以化合物15-1、7-2为起始原料, 制备得到50mg化合物15, 三步收率11%。

[0240] ^1H NMR(400MHz,DMSO- d_6) δ 8.62(s,2H),8.45(s,1H),7.50(s,1H),7.25(s,1H),6.48(s,1H),6.28(s,2H),5.41(s,2H),5.20(s,2H),3.51-3.46(m,2H),3.17-3.13(m,2H),1.86(tt,J=14.2,6.1Hz,2H),0.88(t,J=7.2Hz,3H).MS(ESI)m/z[M+H] $^+$:438.2。

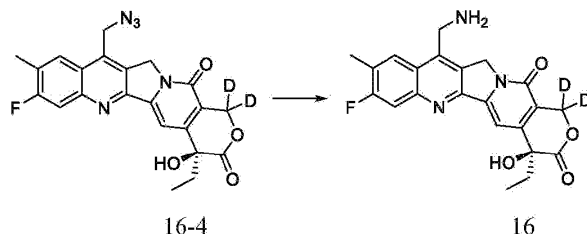
[0241] 实施例16化合物16的制备



[0242] 将1g化合物16-1、1.5g化合物7-2、30mL乙酸, 30mL甲苯, 340mg对甲苯磺酸吡啶盐加入到250mL单口瓶中, 110℃反应18小时。TLC监测反应完全, 旋除溶剂, 使用硅胶柱层析分离纯化(二氯甲烷: 甲醇), 得目标中间体化合物16-3 1.6g, 收率: 75%。MS(ESI)m/z[M+H] $^+$:431.1。



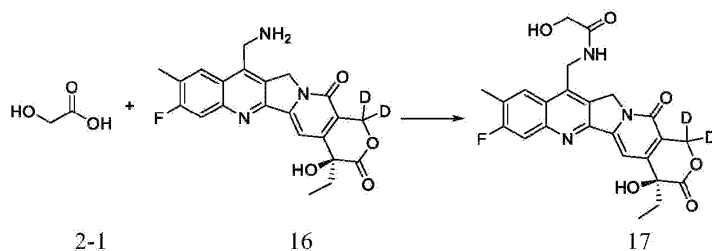
[0243] 将化合物16-3 1.6g溶于N,N-二甲基甲酰胺16mL, 加入叠氮化钠(256mg, 1.1 eq), 80℃反应16小时, TLC监测反应完全, 降至室温,加水96mL, 乙酸乙酯萃取, 合并有机相, 水洗, 有机相经无水硫酸钠干燥后, 过滤, 旋干, 得到化合物16-4粗品1.1g, 收率68%。MS(ESI)m/z[M+H]⁺:438.2。



[0244] 将化合物16-4 1.1g溶于四氢呋喃22mL, 加入三苯基膦(0.79g,1.2eq), 室温搅拌4小时,TLC监测反应完全, 向反应体系中加入盐酸(4M,5mL), 55℃反应16小时, 减压浓缩, 使用反相柱分离纯化(仪器型号SEPA FLASH SW025,色谱柱: Spherical C18,20-45 μm, 100Å,流动相A: 0.05%甲酸/水, 流动相B:乙腈; 流动相A: 流动相B=45: 55, 流速20mL/min), 得到0.58g化合物16, 收率: 56%。

[0245] ¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ 8.62(s,3H),8.43(dJ=8.0Hz,1H),7.99(dJ=10.7Hz,1H),7.35(s,1H),5.59(s,2H),4.70(dJ=6.0Hz,2H),2.55(s,3H),1.88(heptJ=7.1Hz,2H),0.88(tJ=7.3Hz,3H).MS(ESI)m/z[M+H]⁺:412.2。

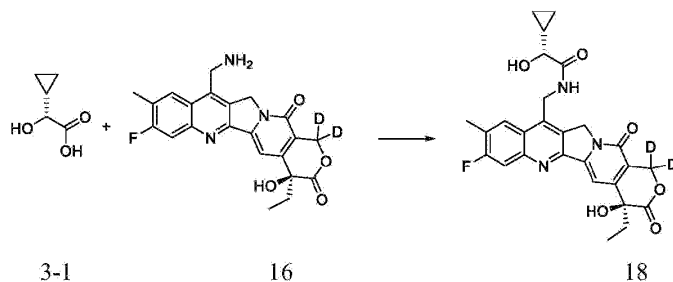
[0246] 实施例17化合物17的制备



[0247] 向无水硫酸钠(2.25eq)、2-羟基乙酸(1.45eq)和化合物16(100mg)的混合物中加入水2.4mL和四氢呋喃3.0mL, 室温搅拌15分钟后, 加入N-甲基吗啉(1.10eq), 室温搅拌15分钟后, 加入EDCI(2eq), 室温搅拌3小时。HPLC监测化合物16反应完全, 二氯甲烷萃取, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋除溶剂, 使用硅胶柱层析分离纯化(DCM:MeOH), 得到82mg化合物17, 收率72%。

[0248] ^1H NMR (400MHz, DMSO) δ 8.41(d, $J=8.9\text{Hz}$, 1H), 7.77(d, $J=11.0\text{Hz}$, 1H), 7.30(s, 1H), 6.52(s, 1H), 5.58(d, $J=5.4\text{Hz}$, 1H), 5.49(t, $J=5.7\text{Hz}$, 1H), 5.20(t, $J=13.9\text{Hz}$, 2H), 3.96(d, $J=5.5\text{Hz}$, 2H), 2.55(s, 3H), 1.96 - 1.78(m, 2H), 0.87(t, $J=7.2\text{Hz}$, 3H). MS(ESI) m/z [M+H] $^+$: 470.2。

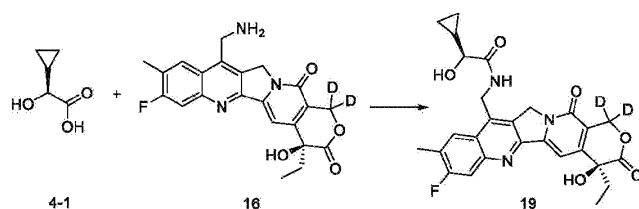
[0249] 实施例18化合物18的制备



[0250] 参照实施例17的制备方法，以化合物3-1、化合物16为起始原料，制备得到78 mg化合物18，收率63%。

[0251] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 8.36(d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 7.78(d, $J=10.9\text{Hz}$, 1H), 7.31(s, 1H), 6.52(s, 0H), 5.58 - 5.48(m, 1H), 5.38(d, $J=5.3\text{Hz}$, 1H), 5.21(q, $J=19.0\text{Hz}$, 2H), 3.62(d, $J=5.2\text{Hz}$, 1H), 2.39(s, 4H), 1.86(dt, $J=14.3, 7.1\text{Hz}$, 2H), 1.14(q, $J=7.3\text{Hz}$, 2H), 0.87(t, $J=7.2\text{Hz}$, 3H), 0.38(dd, $J=20.9, 5.6\text{Hz}$, 4H). MS(ESI) m/z [M+H] $^+$: 510.2。

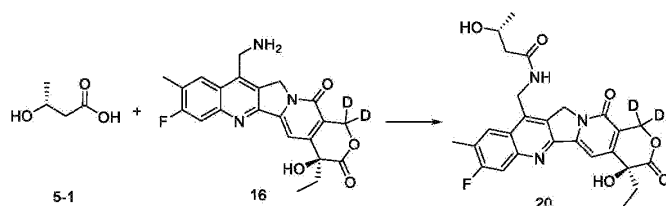
[0252] 实施例19化合物19的制备



[0253] 参照实施例17的制备方法，以化合物4-1、化合物16为起始原料，制备得到74 mg化合物19，收率60%。

[0254] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 8.37(d, $J=9.0\text{Hz}$, 1H), 7.77(d, $J=11.0\text{Hz}$, 1H), 7.30(s, 1H), 6.51(s, 1H), 5.58(q, $J=6.7\text{Hz}$, 1H), 5.49(d, $J=5.2\text{Hz}$, 1H), 5.35 - 5.06(m, 2H), 3.60(t, $J=5.7\text{Hz}$, 1H), 2.39(s, 3H), 1.85(dq, $J=14.2, 7.1\text{Hz}$, 2H), 1.24(q, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 0.87(t, $J=7.3\text{Hz}$, 3H), 0.59-0.32(m, 4H). MS(ESI) m/z [M+H] $^+$: 510.2。

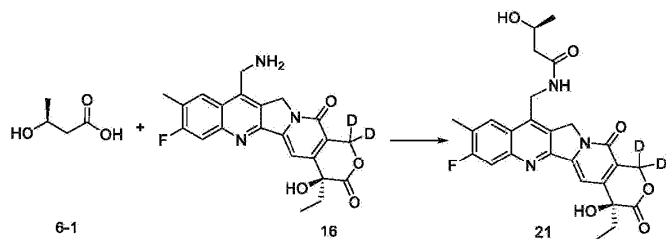
[0255] 实施例20化合物20的制备



[0256] 参照实施例17的制备方法，以化合物5-1、化合物16为起始原料，制备得到70 mg化合物20，收率58%。

[0257] ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.42 (d, $J=8.7$ Hz, 1H), 7.78 (d, $J=11.0$ Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 5.55 (dt, $J=9.3, 5.0$ Hz, 1H), 5.29 - 5.12 (m, 2H), 4.66 (d, $J=4.7$ Hz, 1H), 4.05 (dt, $J=12.1, 6.0$ Hz, 1H), 2.39 (s, 3H), 2.13 (dd, $J=10.7, 5.4$ Hz, 2H), 1.86 (hept, $J=7.1$ Hz, 2H), 1.09 (d, $J=6.2$ Hz, 3H), 0.87 (t, $J=7.3$ Hz, 3H). MS (ESI) m/z [M+H] $^+$: 498.2。

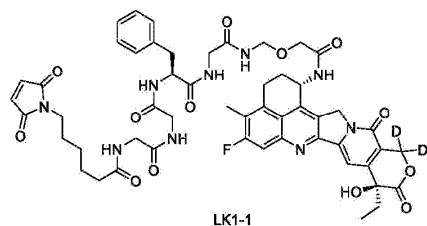
[0258] 实施例21化合物21的制备



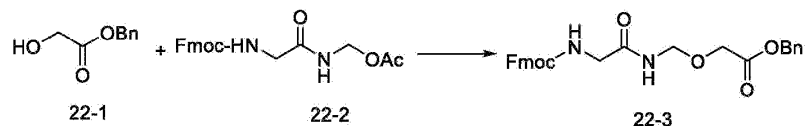
[0259] 参照实施例17的制备方法，以化合物6-1、化合物16为起始原料，制备得到75 mg化合物21，收率62%。

[0260] ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.41 (d, $J=8.7$ Hz, 1H), 7.78 (d, $J=11.0$ Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.53 (s, 1H), 5.57 (dt, $J=8.8, 4.5$ Hz, 1H), 5.22 (d, $J=2.7$ Hz, 2H), 4.64 (d, $J=4.5$ Hz, 1H), 4.05 (dt, $J=11.9, 6.1$ Hz, 1H), 2.39 (s, 3H), 2.17 - 2.04 (m, 2H), 1.86 (hept, $J=7.1$ Hz, 2H), 1.08 (d, $J=6.1$ Hz, 3H), 0.87 (t, $J=7.3$ Hz, 3H). MS (ESI) m/z [M+H] $^+$: 498.2。

[0261] 实施例22化合物LK1-1的制备

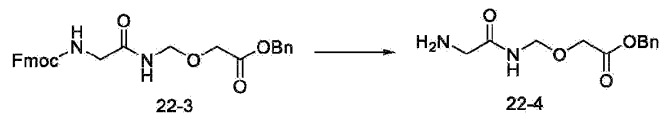


[0262] 步骤1:



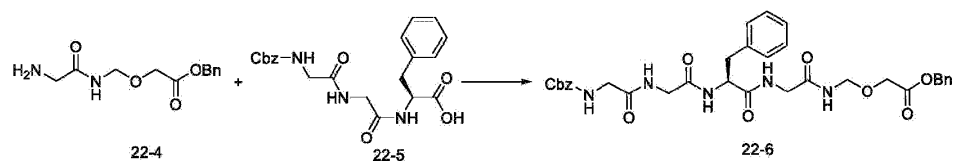
[0263] 在10L四口瓶中加入化合物22-2(160g,1.0eq),加入2.4L乙二醇二甲醚,机械搅拌,加入化合物22-1(123.37mL,2.0eq),0℃搅拌,用恒压滴液漏斗滴加10mol/L氢氧化钠(43.43mL,1.0eq),搅拌1h。TLC监测,反应完全后添加乙酸(12.42mL),搅拌1h,添加水(660mL),搅拌1h,添加纯净水(1.54L),搅拌1h,过滤,将滤饼以50%(v/v)乙二醇二甲醚水溶液(640mL)洗净,烘箱40℃干燥,得到204.3g化合物22-3,收率99%。MS(ESI)m/z:475.2[M+H]⁺。

[0264] 步骤2:



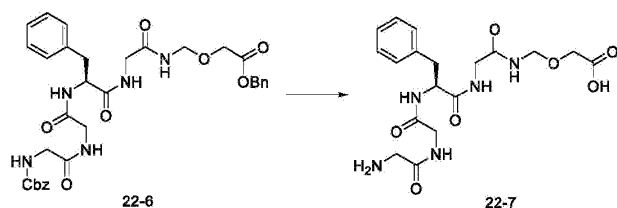
[0265] 10L四口瓶中加化合物22-3(180g, 90%,1.0eq),加入5.4L乙腈,机械搅拌,加入DBU(25.5mL,0.5eq),室温搅拌4h,加入HOBT(101.5g,2.2eq),室温搅拌0.5h,降至0℃,搅拌过夜,过滤,滤饼用乙腈(800mL)洗涤,烘箱40℃干燥,得到119.0g化合物22-4,产率81%。¹H NMR(400MHz,MeOD) δ 7.69(dd,J=12.9,8.6Hz,2H),7.40 - 7.24(m,7H),5.19(s,2H),4.80(s,2H),4.21(s,2H),3.66(s,2H)。

[0266] 步骤3:



[0267] 5L三口瓶加入化合物22-5(55g,1.0eq),加入600mL乙腈、100mL水溶解,加入化合物22-4(50g,1.0eq),0℃搅拌下加入EDCI(24g,1.0eq),搅拌4h; TLC监测反应完全后,加入500mL乙醇、750mL水,室温搅拌过夜,随后再加入1450mL水,搅拌2h,过滤,滤饼在烘箱40℃干燥,得到80.0g化合物22-6,产率96%。MS(ESI)m/z:648.3[M+H]⁺。

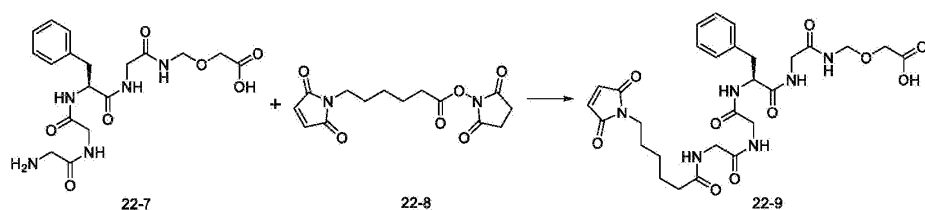
[0268] 步骤4:



[0269] 在氮气保护下,向化合物22-6(40.0g,1.0eq)中加入840mL四氢呋喃、540mL水,加入Pd(5%)/C(8.8g,0.07eq),置换氢气,室温搅拌过夜; HPLC监测反应完全后,硅藻土过滤出Pd/C,将Pd/C以300mL水洗净,合并滤液,将滤液减压浓缩,加400mL乙醇减压浓缩,重复3次,随后加800mL乙醇磁力搅拌,过滤,滤饼在烘箱40℃干燥,得到19.6g化合物22-7,产率75%。MS(ESI)m/z:424.2[M+H]⁺。

[0270] ¹H NMR(400MHz,D₂O) δ 7.31(ddd,J=22.4,14.6,7.3Hz,5H),4.72 - 4.56(m,3H),3.94(s,2H),3.93 - 3.73(m,6H),3.08(ddd,J=22.1,13.7,7.7Hz,2H)。

[0271] 步骤5:

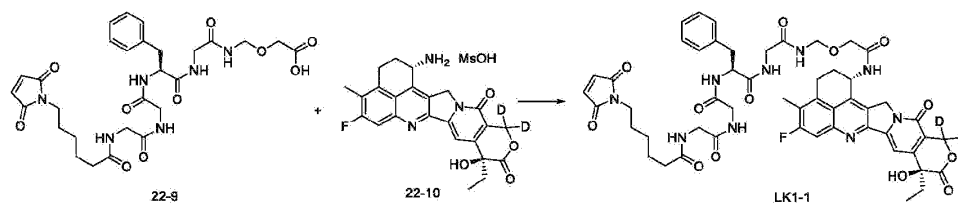


[0272] 250mL单口瓶中加入6-(马来酰亚胺基)己酸琥珀酰亚胺酯(5.4g,1.5eq),加入45mL乙腈溶解,加入化合物22-7(5.0g,1.0eq)、105mL水、DIPEA(1.56mL,0.8eq),室温搅拌过夜。HPLC监测反应完全后,向反应液中加入50mL乙酸异丙酯、10g无水磷酸二氢钠、0.65g磷酸氢二钠,搅拌0.5h,分液除去有机相;添加50mL乙酸异丙酯,分液除去有机相。水相中添加25mL乙二醇二甲醚、25mL乙酸乙酯、

2.5mL乙腈、40g无水磷酸二氢钠，搅拌1h后分离出水相。重复2次有机相中添加75mL乙腈、11.3mL水，3g氯化钠，750mg无水磷酸二氢钠，搅拌后分液除去水相。有机相减压浓缩至50mL，添加75mL乙二醇二甲醚浓缩至50mL，再添加1mL水、100mL乙二醇二甲醚，室温搅拌过夜。随后过滤，滤饼加入200mL乙二醇二甲醚、6.5mL水，45℃搅拌0.5h，用15mL的乙二醇二甲醚和水混合液(v/v: 97/3)冲洗，合并滤液浓缩至100mL。添加25mL乙二醇二甲醚，室温搅拌过夜，析出固体以25mL乙二醇二甲醚冲洗，25℃减压干燥，得到化合物22-9，产率58%。
MS(ESI)m/z: 617.3[M+H]⁺.

[0273] ¹H NMR(400MHz,DMSO) δ 12.59(s,1H),8.56(tJ=6.5Hz,1H),8.31(tJ=5.5Hz,1H),8.13(dJ=8.0Hz,1H),8.08(tJ=5.2Hz,1H),8.01(tJ=5.4Hz,1H),7.21(dtJ=23.3,6.0Hz,5H),7.00(s,2H),4.61(dJ=6.6Hz,2H),4.49(ddJ=12.4,8.7Hz,1H),3.98(s,2H),3.78 - 3.69(m,3H),3.66(dJ=5.4Hz,2H),3.59(ddJ=16.8,5.3Hz,1H),3.42(s,4H),3.36(tJ=7.2Hz,3H),3.23(s,6H),3.08 - 3.02(m,1H),2.84 - 2.76(m,1H),2.10(tJ=7.4Hz,2H),1.51 - 1.42(m,4H),1.20(ddJ=15.1,7.7Hz,2H).

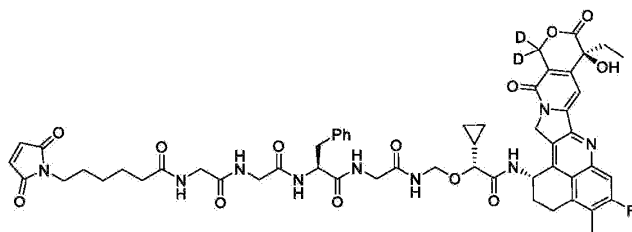
[0274] 步骤6:



[0275] 在10mL单口瓶中，加入无水硫酸钠(60mg, 2.25eq)、2-脞氰乙酸乙酯(60mg, 2.25eq)、化合物22-9(20mg, 1.45eq)、0.8mL水、0.6mL四氢呋喃，室温搅拌30min，加入化合物22-10(100mg, 1.0eq)、0.3mL水、0.5mL四氢呋喃，搅拌15分钟后，加入N-甲基吗啉(23uL, 1.1eq)、0.3mL四氢呋喃，搅拌15分钟后，加入EDCI(72mg, 2.0eq)、0.5mL水、0.5mL四氢呋喃。室温搅拌3小时，HPLC监测反应完全。二氯甲烷萃取，干燥，有机相合并旋干后，使用反相制备分离(三泰C18柱(20g), 35-40%乙腈/水)，得到99mg化合物LK1-1，收率51%。MS(ESI)m/z: 1036.4[M+H]⁺.

[0276] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 8.62(t, $J=6.5\text{Hz}$, 1H), 8.50(d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 8.29(t, $J=5.7\text{Hz}$, 1H), 8.12(d, $J=7.9\text{Hz}$, 1H), 8.06(t, $J=5.6\text{Hz}$, 1H), 8.00(t, $J=5.5\text{Hz}$, 1H), 7.75(d, $J=10.9\text{Hz}$, 1H), 7.30(s, 1H), 7.20(dp, $J=20.5, 7.2, 6.7\text{Hz}$, 5H), 6.99(s, 2H), 6.51(s, 1H), 5.59(q, $J=6.6, 6.1\text{Hz}$, 1H), 5.27 - 5.08(m, 2H), 4.64(d, $J=6.5\text{Hz}$, 2H), 4.53 - 4.42(m, 1H), 4.02(s, 2H), 3.79 - 3.53(m, 6H), 3.35(q, $J=6.3\text{Hz}$, 2H), 3.17(q, $J=17.5\text{Hz}$, 2H), 3.02(dd, $J=13.7, 4.3\text{Hz}$, 1H), 2.77(dd, $J=13.7, 9.7\text{Hz}$, 1H), 2.37(s, 3H), 2.18(dt, $J=12.0, 6.9\text{Hz}$, 2H), 2.13 - 2.02(m, 2H), 1.85(hept, $J=7.1\text{Hz}$, 2H), 1.42(tt, $J=14.3, 7.4\text{Hz}$, 4H), 1.17(m, 2H), 0.85(dt, $J=14.7, 7.3\text{Hz}$, 3H).

[0277] 实施例23化合物LK1-2的制备

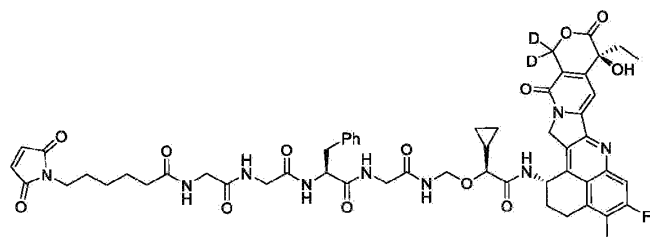


LK1-2

[0278] 参照实施例22的制备方法，以(R)-2-环丙基-2-羟基乙酸苄酯替换化合物22-1 (即乙醇酸苄酯)，制备得到化合物LK1-2。MS(ESI) m/z : 1076.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0279] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 8.62(t, $J=6.5\text{Hz}$, 1H), 8.50(d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 8.29(t, $J=5.7\text{Hz}$, 1H), 8.12(d, $J=7.9\text{Hz}$, 1H), 8.06(t, $J=5.6\text{Hz}$, 1H), 8.00(t, $J=5.5\text{Hz}$, 1H), 7.75(d, $J=10.9\text{Hz}$, 1H), 7.30(s, 1H), 7.20(dp, $J=20.5, 7.2, 6.7\text{Hz}$, 5H), 6.99(s, 2H), 6.51(s, 1H), 5.59(q, $J=6.6, 6.1\text{Hz}$, 1H), 5.27 - 5.08(m, 2H), 4.64(d, $J=6.5\text{Hz}$, 2H), 4.53 - 4.42(m, 1H), 3.79 - 3.53(m, 7H), 3.35(q, $J=6.3\text{Hz}$, 2H), 3.17(q, $J=17.5\text{Hz}$, 2H), 3.02(dd, $J=13.7, 4.3\text{Hz}$, 1H), 2.77(dd, $J=13.7, 9.7\text{Hz}$, 1H), 2.37(s, 3H), 2.18(dt, $J=12.0, 6.9\text{Hz}$, 2H), 2.13 - 2.02(m, 2H), 1.85(hept, $J=7.1\text{Hz}$, 2H), 1.42(tt, $J=14.3, 7.4\text{Hz}$, 4H), 1.17(m, 3H), 0.85(dt, $J=14.7, 7.3\text{Hz}$, 3H), 0.38(dd, $J=20.9, 5.6\text{Hz}$, 4H).

[0280] 实施例24化合物LK1-3的制备

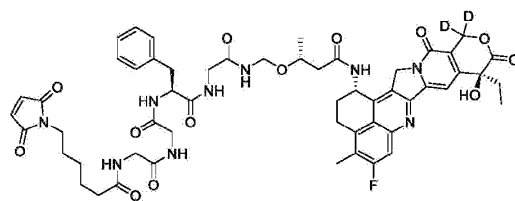


LK1-3

[0281] 参照实施例22的制备方法,以(S)-2-环丙基-2-羟基乙酸苄酯替换化合物22-1(即乙醇酸苄酯),制备得到化合物LK1-3。MS(ESI)m/z:1076.4[M+H]⁺。

[0282] ¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ 8.62(t,J=6.5Hz,1H),8.50(d,J=8.8Hz,1H),8.29(t,J=5.7Hz,1H),8.12(d,J=7.9Hz,1H),8.06(t,J=5.6Hz,1H),8.00(t,J=5.5Hz,1H),7.75(d,J=10.9Hz,1H),7.30(s,1H),7.20(dp,J=20.5,7.2,6.7Hz,5H),6.99(s,2H),6.51(s,1H),5.59(q,J=6.6,6.1Hz,1H),5.27 - 5.08(m,2H),4.64(d,J=6.5Hz,2H),4.53 - 4.42(m,1H),3.79 - 3.53(m,7H),3.35(q,J=6.3Hz,2H),3.17(q,J=17.5Hz,2H),3.02(dd,J=13.7,4.3Hz,1H),2.77(dd,J=13.7,9.7Hz,1H),2.37(s,3H),2.18(dt,J=12.0,6.9Hz,2H),2.13 - 2.02(m,2H),1.85(h ept,J=7.1Hz,2H),1.42(tt,J=14.3,7.4Hz,4H),1.24(q,J=8.1Hz,1H),1.17(m,2H),0.85(dt,J=14.7,7.3Hz,3H),0.59 - 0.32(m,4H)。

[0283] 实施例25化合物LK1-4的制备



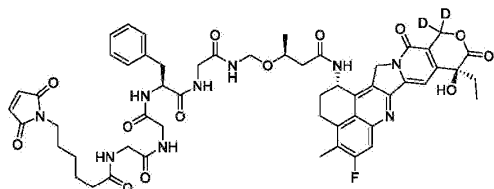
LK1-4

[0284] 参照实施例22的制备方法,以(R)-3-羟基丁酸苄酯替换化合物22-1(即乙醇酸苄酯),制备得到化合物LK1-4。MS(ESI)m/z:1064.4[M+H]⁺。

[0285] ¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ 8.62(t,J=6.5Hz,1H),8.50(d,J=8.8Hz,1H),8.29(t,J=5.7Hz,1H),8.12(d,J=7.9Hz,1H),8.06(t,J=5.6Hz,1H),8.00(t,J=5.5Hz,1H),7.75(d,J=10.9Hz,1H),7.30(s,1H),7.20(dp,J=20.5,7.2,6.7Hz,5H),6.99(s,2H),6.51(s,1H),5.59(q,J=6.6,6.1Hz,1H),5.27 - 5.08(m,2H),4.64(d,J=6.5Hz,2H),4.53 - 4.42(m,1H),4.05(dt,J=12.1,6.0Hz,1H),3.79 - 3.53(m,6H),3.35(q,J=6.3Hz,2H),3.17(q,J=17.5Hz,2H),3.02

(dd, $J=13.7, 4.3\text{Hz}$, 1H), 2.77(dd, $J=13.7, 9.7\text{Hz}$, 1H), 2.37(s, 3H), 2.18(dt, $J=12.0, 6.9\text{Hz}$, 2H), 2.13 - 2.02(m, 4H), 1.85(hept, $J=7.1\text{Hz}$, 2H), 1.42(tt, $J=14.3, 7.4\text{Hz}$, 4H), 1.17(m, 2H), 1.09(d, $J=6.2\text{Hz}$, 3H), 0.85(dt, $J=14.7, 7.3\text{Hz}$, 3H).

[0286] 实施例26化合物LK1-5的制备

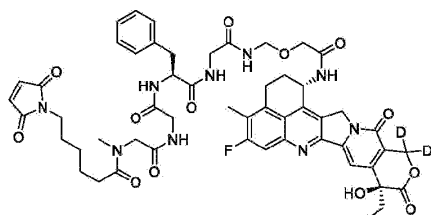


LK1-5

[0287] 参照实施例22的制备方法，以(S)-3-羟基丁酸苄酯替换化合物22-1(即乙醇酸苄酯)，制备得到化合物LK1-5。MS(ESI) m/z :1064.4[M+H]⁺.

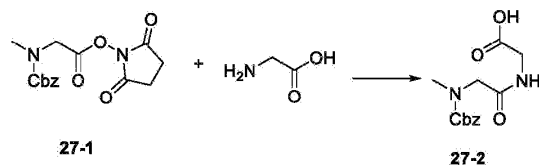
[0288] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 8.62(t, $J=6.5\text{Hz}$, 1H), 8.50(d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 8.29(t, $J=5.7\text{Hz}$, 1H), 8.12(d, $J=7.9\text{Hz}$, 1H), 8.06(t, $J=5.6\text{Hz}$, 1H), 8.00(t, $J=5.5\text{Hz}$, 1H), 7.75(d, $J=10.9\text{Hz}$, 1H), 7.30(s, 1H), 7.20(dp, $J=20.5, 7.2, 6.7\text{Hz}$, 5H), 6.99(s, 2H), 6.51(s, 1H), 5.59(q, $J=6.6, 6.1\text{Hz}$, 1H), 5.27 - 5.08(m, 2H), 4.64(d, $J=6.5\text{Hz}$, 2H), 4.53 - 4.42(m, 1H), 4.05(dt, $J=11.9, 6.0\text{Hz}$, 1H), 3.79 - 3.53(m, 6H), 3.35(q, $J=6.3\text{Hz}$, 2H), 3.17(q, $J=17.5\text{Hz}$, 2H), 3.02(dd, $J=13.7, 4.3\text{Hz}$, 1H), 2.77(dd, $J=13.7, 9.7\text{Hz}$, 1H), 2.37(s, 3H), 2.18(dt, $J=12.0, 6.9\text{Hz}$, 2H), 2.13 - 2.02(m, 4H), 1.85(hept, $J=7.1\text{Hz}$, 2H), 1.42(tt, $J=14.3, 7.4\text{Hz}$, 4H), 1.17(m, 2H), 1.08(d, $J=6.1\text{Hz}$, 3H), 0.85(dt, $J=14.7, 7.3\text{Hz}$, 3H).

[0289] 实施例27化合物LK1a-1的制备



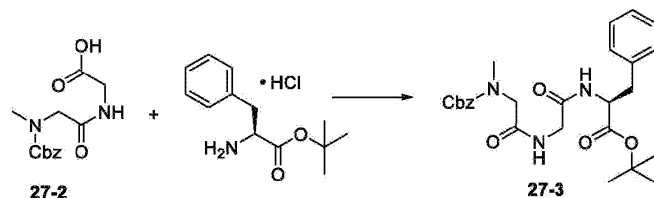
LK1a-1

[0290] 步骤1:



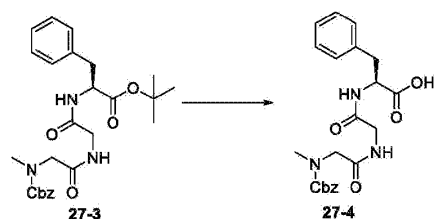
[0291] 250mL四口瓶中加入甘氨酸(3g,1.00eq),加入90mL四氢呋喃和30mL纯净水,加入碳酸氢钠(3.70g,1.10eq),机械搅拌至溶液澄清。用DME(30mL)溶解化合物27-1(12.8g,1.00eq),用恒压滴液漏斗缓慢加入,随后室温搅拌过夜。加入100mL饱和碳酸氢钠和100mL纯净水,用100mL乙酸乙酯洗3次,慢慢滴加12M盐酸调pH至4,过滤,滤饼用水冲洗,干燥,得到10.1g化合物27-2,产率98%。MS(ESI) m/z :281.1[M+H]⁺。

[0292] 步骤2:



[0293] 500mL四口瓶中加入L-苯丙氨酸叔丁酯盐酸盐(6.5g,1.00eq),化合物27-2(7.8g,1.1eq)加入200mL N,N-二甲基甲酰胺,加入三乙胺(3.5mL,1.00eq)和DMTMM(8.9g,1.20eq),室温搅拌2小时。反应液加入1L纯净水中,过滤,滤饼用水冲洗,得到11g化合物27-3,产率90%。MS(ESI) m/z :484.2[M+H]⁺。

[0294] 步骤3:



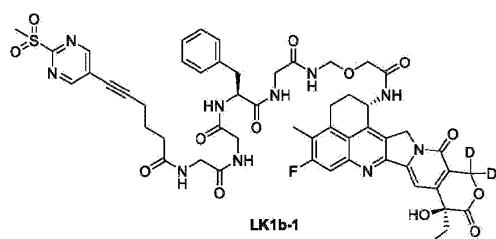
[0295] 250mL四口瓶中加入化合物27-3(10g,1.0eq)、100mL二氯甲烷、三氟乙酸(50mL,30.00eq),室温搅拌2小时。反应液浓缩,用MTBE打浆,过滤,滤饼用水冲洗,得8.5g化合物27-4,产率96%。MS(ESI) m/z :428.2[M+H]⁺。

[0296] 步骤4:

[0297] 参照实施例22的制备方法, 使用N-(苄氧基)羰基-N-甲基甘氨酸甘氨酸-L-苯丙氨酸(即化合物27-4)替换N-(苄氧基)羰基甘氨酸甘氨酸-L-苯丙氨酸(即化合物22-5), 制备得到LK1a-1。MS(ESI)m/z:1050.4[M+H]⁺。

[0298] ¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ 8.62(t,J=6.5Hz,1H),8.50(d,J=8.8Hz,1H),8.29(t,J=5.7Hz,1H),8.12(d,J=7.9Hz,1H),8.06(t,J=5.6Hz,1H),7.75(d,J=10.9Hz,1H),7.30(s,1H),7.20(dp,J=20.5,7.2,6.7Hz,5H),6.99(s,2H),6.51(s,1H),5.59(q,J=6.6,6.1Hz,1H),5.27-5.08(m,2H),4.64(d,J=6.5Hz,2H),4.53-4.42(m,1H),4.02(s,2H),3.79-3.53(m,6H),3.35(q,J=6.3Hz,2H),3.17(q,J=17.5Hz,2H),3.02(dd,J=13.7,4.3Hz,1H),2.97(s,3H),2.77(dd,J=13.7,9.7Hz,1H),2.37(s,3H),2.18(dt,J=12.0,6.9Hz,2H),2.13-2.02(m,2H),1.85(h ept,J=7.1Hz,2H),1.42(tt,J=14.3,7.4Hz,4H),1.17(m,2H),0.85(dt,J=14.7,7.3Hz,3H)。

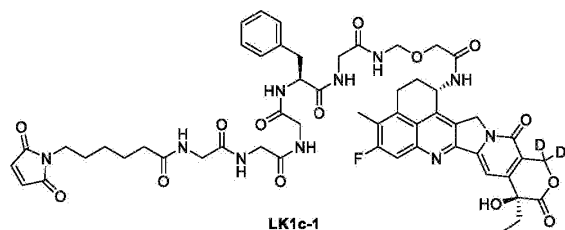
[0299] 实施例28化合物LK1b-1的制备



[0300] 参照实施例22的制备方法, 使用2,5-二氧代吡咯烷-1-基6-(2-(甲基磺酰基)嘧啶-5-基)己-5-炔酸酯(CAS号: 2813270-39-0)替换化合物22-8, 制备得到LK1b-1。MS(ESI)m/z:1093.4[M+H]⁺。

[0301] ¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ 9.10(s,2H),8.64(t,J=6.6Hz,1H),8.51(d,J=8.8Hz,1H),8.31(t,J=5.7Hz,1H),8.26-8.00(m,3H),7.77(d,J=10.9Hz,1H),7.36-7.10(m,6H),6.52(s,1H),5.67-5.52(m,1H),5.19(s,2H),4.64(d,J=6.5Hz,2H),4.47(dt,J=12.9,6.7Hz,1H),4.02(s,2H),3.77-3.68(m,4H),3.63-3.57(m,1H),3.40(s,3H),3.17(td,J=12.8,11.5,6.7Hz,2H),3.02(dd,J=13.7,4.2Hz,1H),2.77(dd,J=13.7,9.7Hz,1H),2.38(s,3H),2.32(t,J=7.3Hz,2H),2.17(dd,J=13.4,6.8Hz,2H),2.08(s,1H),1.84(dq,J=18.9,7.0Hz,4H),1.28-1.22(m,2H),0.87(t,J=7.2Hz,3H)。

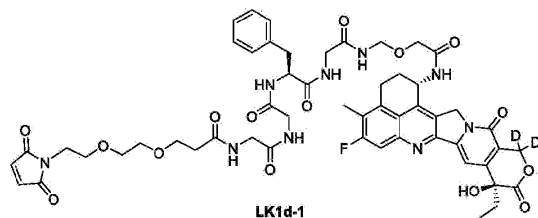
[0302] 实施例29化合物LK1c-1的制备



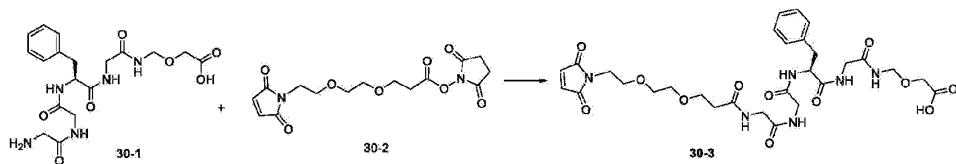
[0303] 参照实施例22的制备方法，使用2,5-二氧代吡咯烷-1-基(6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰基)甘氨酸酯(CAS号：1956326-21-8)替换化合物22-8，制备得到LK1c-1。MS(ESI) m/z :1093.4[M+H]⁺。

[0304] ¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ 8.62(t,J=6.5Hz,1H),8.50(d,J=8.8Hz,1H),8.29(t,J=5.7Hz,1H),8.12(d,J=7.9Hz,1H),8.06(t,J=5.6Hz,1H),8.00(t,J=5.5Hz,1H),7.96(t,J=5.5Hz,1H),7.75(d,J=10.9Hz,1H),7.30(s,1H),7.20(dp,J=20.5,7.2,6.7Hz,5H),6.99(s,2H),6.51(s,1H),5.59(q,J=6.6,6.1Hz,1H),5.27 - 5.08(m,2H),4.64(d,J=6.5Hz,2H),4.53 - 4.42(m,1H),4.02(s,2H),3.80 - 3.53(m,8H),3.35(q,J=6.3Hz,2H),3.17(q,J=17.5Hz,2H),3.02(dd,J=13.7,4.3Hz,1H),2.77(dd,J=13.7,9.7Hz,1H),2.37(s,3H),2.18(dt,J=12.0,6.9Hz,2H),2.13 - 2.02(m,2H),1.85(hept,J=7.1Hz,2H),1.42(tt,J=14.3,7.4Hz,4H),1.17(m,2H),0.85(dt,J=14.7,7.3Hz,3H)。

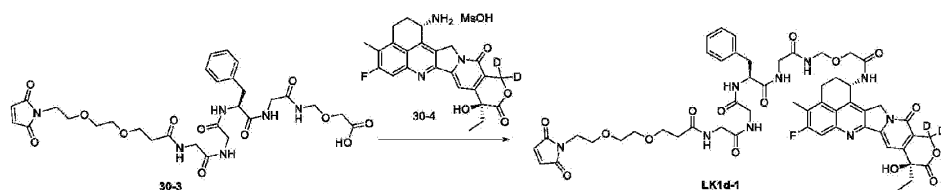
[0305] 实施例30化合物LK1d-1的制备



[0306] 步骤1;



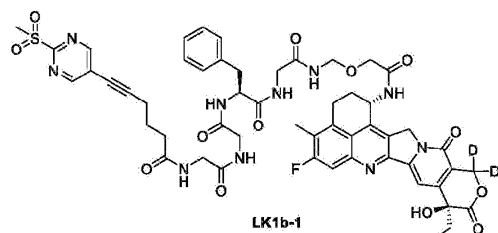
[0307] 步骤2:



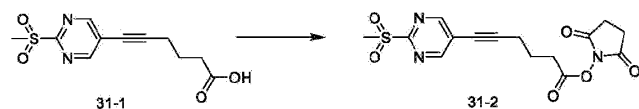
[0308] 参照实施例22的制备方法，使用2,5-二氧代-1-吡咯烷基3-[2-[2-(2,5-二氢-2,5-二氧代-1H-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基]丙酸酯(CAS: 1433997-01-3)替换化合物22-8，制备得到LK1d-1。MS(ESI) m/z :1082.4[M+H]⁺。

[0309] ¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ 8.62(t,J=6.5Hz,1H),8.50(d,J=8.8Hz,1H),8.29(t,J=5.7Hz,1H),8.12(d,J=7.9Hz,1H),8.06(t,J=5.6Hz,1H),8.00(t,J=5.5Hz,1H),7.75(d,J=10.9Hz,1H),7.30(s,1H),7.20(dp,J=20.5,7.2,6.7Hz,5H),6.99(s,2H),6.51(s,1H),5.59(q,J=6.6,6.1Hz,1H),5.27 - 5.08(m,2H),4.64(d,J=6.5Hz,2H),4.53 - 4.42(m,1H),4.02(s,2H),3.79 - 3.53(m,16H),3.17(q,J=17.5Hz,2H),3.02(dd,J=13.7,4.3Hz,1H),2.77(dd,J=13.7,9.7Hz,1H),2.37(s,3H),2.28(dt,J=12.0,6.9Hz,2H),2.13 - 2.02(m,2H),1.85(hept,J=7.1Hz,2H),0.85(dt,J=14.7,7.3Hz,3H)。

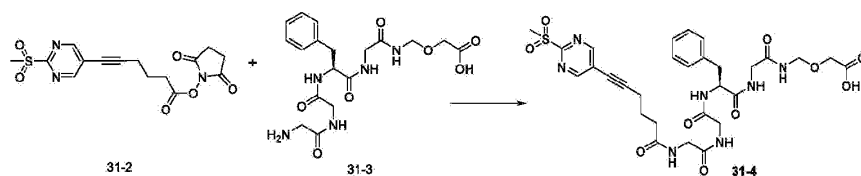
[0310] 实施例31化合物LK1b-1的制备



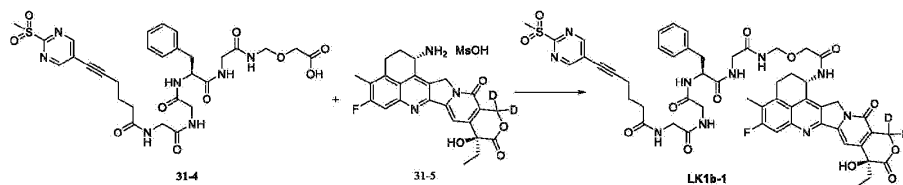
[0311] 步骤1:



[0312] 250mL单口瓶中加入6-(2-(甲基磺酰基)嘧啶-5-基)己-5-炔酸(10.0g,1.0eq)和N-羟基琥珀酰亚胺(5.15g,1.2eq)加入100mL二氯甲烷溶解，加入N,N'-二环己基碳二亚胺(10.0g,1.3eq)，室温搅拌过夜。TLC监测反应完全后，过滤，滤液减压浓缩，得到14.0g化合物31-2。无需进一步分离纯化直接用于下一步反应。MS(ESI) m/z :366.36[M+H]⁺。



[0313] 250mL单口瓶中加入31-2(13.6g,1.0eq), 加入135mL乙腈溶解, 加入化合物31-3(18.9g,1.2eq)、270mL水、DIPEA(5.3mL,0.8eq), 室温搅拌过夜。HPLC监测反应完全后, 反应液用300mL乙酸乙酯萃取三次, 向水相中加入10g无水磷酸二氢钠、水相用300mL乙二醇二甲醚萃取3次。合并乙二醇二甲醚, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到初产物。粗产物使用反相制备分离(乙腈/水), 得到18.6g化合物31-4, 收率74%。



[0314] 在250mL单口瓶中, 加入化合物31-4(8.3g, 1.4eq)、化合物31-5(4.9g, 1.0eq)、175mL DMF, 室温搅拌, 加入三乙胺(1.9mL, 1.6eq)、DMTMM(3.87g, 1.5eq)。室温搅拌1小时, HPLC监测反应完全。反应液中加入到500mL水中, 过滤, 干燥得粗产品12g。粗产品经柱层析纯化得到8.9g化合物LK1b-1, 收率: 85%。

[0315] MS(ESI)m/z:1093.4[M+H]⁺.

[0316] ¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ 9.10(s,2H),8.64(t,J=6.6Hz,1H),8.51(d,J=8.8Hz,1H),8.31(t,J=5.7Hz,1H),8.26-8.00(m,3H),7.77(d,J=10.9Hz,1H),7.36-7.10(m,6H),6.52(s,1H),5.67-5.52(m,1H),5.19(s,2H),4.64(d,J=6.5Hz,2H),4.47(dt,J=12.9,6.7Hz,1H),4.02(s,2H),3.77-3.68(m,4H),3.63-3.57(m,1H),3.40(s,3H),3.17(td,J=12.8,11.5,6.7Hz,2H),3.02(dd,J=13.7,4.2Hz,1H),2.77(dd,J=13.7,9.7Hz,1H),2.38(s,3H),2.32(t,J=7.3Hz,2H),2.17(dd,J=13.4,6.8Hz,2H),2.08(s,1H),1.84(dq,J=18.9,7.0Hz,4H),1.28-1.22(m,2H),0.87(t,J=7.2Hz,3H).

[0317] 实施例32抗体药物偶联物的通用制备方法

[0318] 将抗体通过脱盐层析或者超滤换液置换至pH7.0的10mM的磷酸盐缓冲液中, 使用UV方法, 测定抗体浓度。向抗体溶液中加入10mM TCEP溶液(6-10当量), 混

匀后于37℃还原3小时。随后将反应液用水浴降温至15–25℃，加入10mM药物–连接子偶联物的二甲基亚砷溶液(10–20当量)，混匀后反应1.5–2小时。偶联反应完成后，按照20:1(淬灭剂：抗体)的淬灭比，添加100mM N–乙酰–半胱氨酸溶液，摇匀后于室温淬灭20min以终止偶联反应。使用脱盐层析或者超滤换液将ADC换液为pH5.5的20mM His–HAc缓冲液，再通过孔径为0.22 μ m的PES过滤器过滤获得ADC原液，并按照试验需求进行分装，于–20℃或–40℃冻存。根据ADC具体性质，选择使用UV或Lowry方法，测定抗体浓度。使用UV法分别在280nm和370nm下测定其吸光度值，计算DAR值n，制备得到的化合物及其DAR结果见下表。

ADC 分子	载荷-连接子	抗体	DAR 值 n
ADC1-LK1-Dxd	LK1-Dxd	Trastuzumab	7.71
ADC1-LK1-1	LK1-1	Trastuzumab	7.55
ADC1-LK1a-1	LK1a-1	Trastuzumab	7.73
ADC1-LK1b-1	LK1b-1	Trastuzumab	7.54
ADC1-LK1c-1	LK1c-1	Trastuzumab	7.75
ADC1-LK1d-1	LK1d-1	Trastuzumab	7.78
ADC1-LK1-2	LK1-2	Trastuzumab	7.65
ADC1-LK1-3	LK1-3	Trastuzumab	7.43
ADC1-LK1-4	LK1-4	Trastuzumab	7.39
ADC1-LK1-5	LK1-5	Trastuzumab	7.75

- [0319] 本公开提供的抗体药物偶联物以及载荷–连接子偶联物可以在本公开记载的相关化合物制备方法的基础上参照WO2014057687A、WO2020063676A、WO2022068878等文献记载的相关制备方法制备得到。
- [0320] 生物活性试验
- [0321] 1、本公开的化合物的体外抗肿瘤活性检测
- [0322] (1)本公开的载荷化合物的体外抗肿瘤活性检测
- [0323] 试验目的：为了检测本公开中的载荷化合物对NCI–N87(人胃癌细胞)、Calu–3(人肺腺癌细胞)、MDA–MB–453(人乳腺癌细胞)、KPL–4(人乳腺癌细胞)、或MDA–MB–468(人乳腺癌细胞)的体外抑制活性。

[0324] 取对数生长期的肿瘤细胞NCI-N87(来源: ATCC, 货号: CRL-5822)、Calu-3(来源: ATCC, 货号: HTB-55)、MDA-MB-453(来源: ATCC, 货号: HTB-131)、KPL-4(来源: 南京科佰生物, 货号: CBP60379)或MDA-MB-468(来源: ATCC, 货号: HTB-132), 按照5000细胞/孔的数量加入细胞板中, 将细胞板放于37℃, 5% CO₂细胞培养箱中孵育12-16h。每孔加入100 μl样品(以10 μM起始, 4倍稀释, 10个浓度), 轻轻摇匀后放入培养箱中孵育。孵育48h后加入70 μL CellTiter-Glo™(Promega, 货号: G7572)工作液, 轻轻摇晃以裂解细胞, 于酶标仪上读板。细胞增殖抑制率计算公式: 细胞增殖抑制率=(1-样品孔/对照孔) × 100%。使用GraphPad Prism 8.0软件, 以样品浓度的Log值为横坐标, 以Cytotoxicity%为纵坐标作图, 并对数据进行Nonlinear regression(curve fit)分析, 获得各样品的IC₅₀值, 具体结果见表1-1和表1-2。

[0325] 表1-1本公开的载荷化合物的体外活性测试结果

载荷化合物	NCI-N87	Calu-3	MDA-MB-453	MDA-MB-468
	IC ₅₀ (nM)	IC ₅₀ (nM)	IC ₅₀ (nM)	IC ₅₀ (nM)
2	7.17	27.15	114.5	0.98
3	4.37	17.13	40.27	0.97
4	4.06	19.32	55.34	0.88
5	9.18	32.9	94.6	1.3
6	13.35	46.63	121.1	3.11

[0326] 表1-2本公开的载荷化合物的体外活性测试结果

载荷化合物	NCI-N87	KPL-4	MDA-MB-468
	IC ₅₀ (nM)	IC ₅₀ (nM)	IC ₅₀ (nM)
12	7.29	7.05	1.7

[0327] 实验结果表明, 本公开的载荷化合物对NCI-N87、Calu-3、MDA-MB-453、KPL-4或MDA-MB-468具有明显的增殖抑制活性。

[0328] (2)本公开的ADC化合物的体外抗肿瘤活性检测

[0329] 实验目的: 为了检测本公开的ADC化合物对NCI-N87(人胃癌细胞)、KPL-4(人乳腺癌细胞)或MDA-MB-468(人乳腺癌细胞)的体外抑制活性。

[0330] 取对数生长期的肿瘤细胞NCI-N87、KPL-4(来源: ATCC, 货号: ATCC-477)或MDA-MB-468, 按照2000细胞/孔的数量加入细胞板中, 将细胞板放于37

℃，5% CO₂细胞培养箱中孵育12–16小时。每孔加入100ul样品(以100 μg/ml起
始，5倍稀释，9个浓度)，轻轻摇匀后放入培养箱中孵育。孵育144小时后加入70
μL CellTiter–Glo™(Promega,货号：G7572)工作液，轻轻摇晃以裂解细胞，于酶
标仪上读板。细胞增殖抑制率计算公式：细胞增殖抑制率=(1–样品孔/对照孔)
×100%。使用GraphPad Prism 8.0软件，以样品浓度的Log值为横坐标，以Cytoto
xicity%为纵坐标作图，并对数据进行Nonlinear regression(curve fit)分析，获得各
供试品的IC₅₀值。具体结果见表1–3

[0331] 表1–3本公开的ADC化合物的体外抗肿瘤活性检测

ADC 化合物	KPL-4 (HER2+++)		NCI-N87 (HER2+++)		MDA-MB-468 (HER2-)	
	IC ₅₀ (μg/ml)	Max inhibition	IC ₅₀ (μg/ml)	Max inhibition	IC ₅₀ (μg/ml)	Max inhibition
ADC1-LK1-1	0.096	90.39%	0.104	90.88%	10.71	101%
ADC1-LK1a-1	0.0921	98.30%	0.0282	91.70%	2.78	95.90%
ADC1-LK1b-1	0.0794	95.90%	0.0218	85.70%	22	83.10%
ADC1-LK1-2	0.0951	99.40%	0.04522	97.70%	5.722	97.03%
ADC1-LK1-3	0.0898	98.40%	0.1126	93.49%	10.58	90.84%
ADC1-LK1-4	0.1487	96.06%	0.0409	93.21%	10.26	95.74%
ADC1-LK1-5	0.0788	96.52%	0.02541	93.88%	9.79	96.20%

[0332] 结论：本公开的ADC药物对HER2阳性细胞KPL–4和NCI–N87具有明显的增殖
抑制活性；同时它们对Her2阴性细胞MDA–MB–468增殖抑制活性弱，展现出良
好的选择性。

[0333] 2、本公开的载荷化合物在小鼠中的药物代谢动力学

[0334] 实验目的：为了评估本公开中的载荷化合物在小鼠中的代谢动力学特征。

[0335] 取Balb/c小鼠，以12只/组，雌雄各半，随机分组，单次注射样品(制剂A为：
5%DMSO+95%(15%碘丁基–β–环糊精–生理盐水)，制剂B为：5%DMSO–1
0%Solutol HS15–85%生理盐水，根据剂量稀释)，交叉采点，分别于给药前和给
药后5min，30min，1h，2h，4h，6h，8h，10h，24h采集血浆，用LC–MS方法
检测血浆中样品浓度，计算药物代谢动力学参数见表2–1。

[0336] 表2–1本公开的载荷化合物在小鼠中的PK参数

载荷化合物	小鼠 PK (IV, 3 mpk)		
	T _{1/2} (h)	C _{max} (ng/ml)	制剂
Dxd	1.17	521	A
2	0.455	449	A
3	0.607	4305	B
5	0.674	3515	B
6	0.679	2582.5	B

[0337] 实验结果说明本公开的载荷化合物在小鼠中具有较短的体内半衰期，当其作为ADC的载荷化合物时，所述ADC在体内出现载荷脱落时能够被较快地清除，具有更好的体内安全性。

[0338] 3、药物代谢动力学实验-大鼠

[0339] (1)本公开的载荷化合物在大鼠中的药物代谢动力学

[0340] 实验目的：评估本公开中的载荷化合物在大鼠中的代谢动力学特征。

[0341] 取SD大鼠(北京维通利华实验动物技术有限公司)，以6只/组，雌雄各半，随机分组，单次注射样品(制剂A为：5%DMSO+95%(15%磺丁基-β-环糊精-生理盐水)，根据剂量稀释)，交叉采点，分别于给药前和给药后5min，30min，1h，2h，4h，6h，8h，10h，24h采集血浆，用LC-MS方法检测血浆中样品浓度，计算药物代谢动力学参数，结果见表3-1。

[0342] 表3-1本公开的载荷化合物在大鼠中的PK参数

载荷化合物	大鼠 PK (IV, 3 mpk)				
	T _{1/2} (h)	C _{max} (ng/ml)	AUC _{inf} (h*ng/ml)	Cl (ml/h/kg)	制剂
Dxd	1.172	621.2	352.1	8629.5	A
2	0.661	406.2	217.7	14072.1	A

[0343] 实验结果表明，本公开的载荷化合物在大鼠中也具有较短的体内半衰期和较快的体内清除率。

[0344] (2)本公开的ADC药物在大鼠中的药代动力学研究

[0345] 实验目的是为了检测本公开中的ADC药物在SD大鼠中的药物代谢动力学特征。

[0346] 取SD大鼠(北京维通利华实验动物技术有限公司),以4只/组,雌雄各半,随机分组,单次注射样品(用适量体积的生理盐水配制给药试液)。分别于给药前、给药后5分钟、1小时、4小时、8小时、24小时、48小时、72小时、120小时、168小时、336小时、504小时、672小时采集血样。用ELISA方法检测血浆样品中的总抗和偶联模式的浓度;用LC-MS/MS方法检测血浆样品中的游离毒素的浓度。使用WinNonlin软件计算不同检测形式的药代参数。具体结果参见表3-2、表3-3、表3-4。

[0347] 表3-2本公开的ADC化合物在大鼠中的药代动力学性质

ADC 化合物	Rat PK (IV, 30 mpk)			
	T _{1/2} (h)	C _{max} (ug/ml)	AUC _{last} (h*ug/ml)	Cl (ml/h/kg)
ADC1-LK1-Dxd	158.1	598.6	34615.7	0.789
ADC1-LK1-1	146.8	698.6	40413.6	0.683

[0348] 表3-3本公开的ADC化合物在大鼠中的药代动力学性质

ADC 化合物	Rat PK (IV, 20 mpk)			
	T _{1/2} (h)	C _{max} (ug/ml)	AUC _{last} (h*ug/ml)	Cl (ml/h/kg)
ADC1-LK1-Dxd	224.4	401.4	25737.2	0.648
ADC1-LK1-2	204.9	504.2	28633.5	0.608
ADC1-LK1-4	234.1	595.2	36566.2	0.455
ADC1-LK1-5	204	553.1	32529.6	0.528

[0349] 表3-4本公开的ADC化合物在大鼠中的药代动力学性质

ADC 化合物	Rat PK (IV, 30 mpk)			
	T _{1/2} (h)	C _{max} (ug/ml)	AUC _{last} (h*ug/ml)	Cl (ml/h/kg)
ADC1-LK1-Dxd	167.1	687.8	39066.6	0.693
ADC1-LK1a-1	140.3	749.1	42117.7	0.661
ADC1-LK1b-1	281.6	591.9	58148.5	0.382
ADC1-LK1-2	173.8	722.8	43748.3	0.609
ADC1-LK1-4	286.6	709.5	46148.8	0.495

[0350] 实验结果表明,本公开的ADC化合物在大鼠体内具有较高暴露量以及较低的体内清除率。

[0351] 4、体外血浆稳定性

[0352] (1)本公开的载荷化合物的体外血浆稳定性

[0353] 取398 μ L血浆，预热至37℃共孵育15分钟。2 μ L样品溶液加入血浆中配置样品终浓度为5 μ M。上述溶液于37℃共孵育，分别于0、15、30、60和120分钟取50 μ L溶液加入450 μ L冰的乙腈(含内标品)。溶液涡旋10分钟后，离心，通过LC-MS/MS方法检测底物原形的剩余含量。具体结果参见表4-1。

[0354] 表4-1本公开的载荷化合物的血浆稳定性

载荷化合物	120 分钟时毒素原形剩余含量 (相对于 0 分钟)	
	人血浆	CD1 小鼠血浆
Dxd	87.57%	95.42%
2	111.04%	102.54%
3	105.54%	104.97%
5	107.73%	96.02%
6	94.89%	105.93%

[0355] 实验结果表明，本公开的载荷化合物具有良好的血浆稳定性。

[0356] (2)本公开的ADC药物的人血浆稳定性

[0357] 实验目的是为了检测本公开的ADC药物在人血浆中的稳定性。

[0358] 将ADC样品、健康人血浆、1%BSA(实验室自制，使用BSA粉末配制，粉末购于上海生工生物技术有限公司)别用0.22 μ m的过滤器过滤除菌。将ADC样品以终浓度100ug/ml加入上述无菌血浆中，置于37℃细胞培养箱中孵育，将孵育当天记为第0天，随后在第21天取出样品，进行游离毒素。

[0359] 游离毒素检测方法：在离心管中加入15 μ L样品和60 μ L乙腈，涡旋混匀，13000rpm离心15分钟；在新的离心管中加入30 μ L上清和30 μ L去离子水，涡旋混匀，2 μ L进行LC-MS/MS分析(Shimadzu LC-MS 8050三重四极杆液质联用仪)。具体实验结果见表4-2。

[0360] 表4-2本公开的ADC化合物在人血浆第21天的游离毒素释放率

ADC 化合物	游离毒素释放率 (%)
	人血浆
ADC1-LK1-Dxd	0.98%
ADC1-LK1-2	0.25%
ADC1-LK1-4	0.18%
ADC1-LK1-5	0.24%
ADC1-LK1b-1	0.18%

- [0361] 结果显示：本公开的ADC药物在人血浆中的稳定性均较好。
- [0362] 5、本公开的ADC化合物的NCI-N87荷瘤小鼠药效评价
- [0363] 以BALB/c Nude小鼠(购自北京维通利华)为受试动物，评价抗Her2-ADC尾静脉注射给药后，对人胃癌细胞NCI-N87移植瘤裸小鼠的疗效。
- [0364] 小鼠右肋部皮下接种NCI-N87细胞(来源：ATCC，货号：CRL-5822)(5×10^6 /只，具有50%人工基底膜)，肿瘤生长11天，长至 $160.1 \pm 24.7\text{mm}^3$ 后将动物随机分组(dl)，5只/组。
- [0365] 采用尾静脉注射单次给药，每周测量2次瘤体积和体重，记录数据。抑瘤率(%)
= $(\text{Crtv}-\text{Trtv})/\text{Crtv}(\%)$ ，Crtv，Trtv分别为实验结束时的空白对照组(Vehicle，PB S)及实验组的相对肿瘤体积。第28天时结束实验时的具体实验结果见5-1；
- [0366] 表5-1本公开的ADC化合物的体内药效评价

ADC 化合物	给药剂量	抑瘤率
ADC1-LK1-1	1 mpk	56.2%
ADC1-LK1-2	1 mpk	55.6%
ADC1-LK1b-1	1 mpk	78.0%
ADC1-LK1-Dxd	1 mpk	37.3%

- [0367] 6、大鼠中的重复给药毒性实验
- [0368] (1)本公开的载荷化合物在大鼠中的重复给药毒性实验
- [0369] 供试品配制：按照预定重量称取供试样品于玻璃瓶中；先加入1mL DMSO混匀，待供试样品溶解后加入1mL Solutol HS-15，混匀后加入8mL氯化钠注射液涡旋混匀，得到澄清透明溶液。
- [0370] 以SD大鼠(购自北京维通利华)为受试动物，连续7天尾静脉注射给予化合物2和阳性对照Dxd，化合物2和阳性对照Dxd均设置0.3mg/kg、1.0mg/kg两个剂量。适

应期每天进行1次笼旁观察；给药期，所有动物上下午各进行1次临床观察。记录皮肤、被毛、眼(巩膜、)耳、鼻、口腔、胸部、腹部、泌尿生殖部、四肢等部位，以及呼吸、运动、泌尿、排便(尿液及粪便颜色等)和行为改变等各方面的反应情况，记录主试验组动物每日称重数据；计划解剖的动物，解剖前测量临终体重(禁食)。并记录受试动物的摄食量情况。具体结果见表6-1。

[0371] 表6-1本公开的载荷化合物在大鼠中的重复给药毒性实验结果

观察指标	试验结果	
	对照 Dxd 组	化合物 2 组
临床观察	主试验组+TK 组： Dxd: 0.3 mpk 剂量组 31%(5/16)动物给药后立即共济失调，其中 40%(2/5)恢复过程中死亡，其他大鼠逐渐恢复； Dxd: 1 mpk 剂量组 31%(5/16)动物给药后立即共济失调，其中 40%(2/5)恢复过程中死亡，其他大鼠逐渐恢复；	主试验组+TK 组： 化合物 2: 0.3 mpk 剂量组 13%(2/16)动物给药后立即共济失调，后逐渐恢复； 化合物 2: 1 mpk 剂量组 25%(4/16)动物给药后立即共济失调，后逐渐恢复；
体重、摄食	体重增长缓慢/降低； 摄食量降低	同剂量下，化合物 2 和 Dxd 对大鼠体重及摄食量影响基本相当； 对于 9 大鼠而言，同剂量下，化合物 2 组平均摄食量均高于对照组；

[0372] 其中，♂ 表示雄性，♀ 表示雌性；

[0373] 给药结束，于药后D8进行大体解剖，发现Dxd对照组死亡大鼠中部分动物肺脏局灶性/点状暗红色变色，而载荷化合物2剂量组均未发现该病状。

[0374] 上述实验数据说明，本公开的载荷化合物2相对于阳性对照Dxd具有更低的体内毒性和更优的体内安全性。

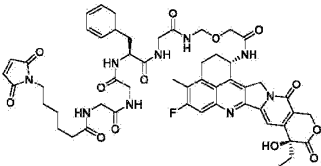
[0375] (2)ADC化合物在大鼠中的重复给药毒性实验

[0376] 以SD大鼠为受试动物，研究本公开的ADC化合物对SD大鼠(5雌5雄/组)重复给药后的毒性反应，给药方案；静脉注射，剂量200mg/kg，每三周注射一次，共给药三次。给药日观察动物的状态，包括是否死亡、濒死、粪便、外观、呼吸、被毛、活动状况等。给药后每周两次进行体重和摄食量检测。动物于分别于给药后第7天、第16天、第28天、第50天颈静脉窦采血约0.2mL至含有抗凝剂(EDTA-K2)的抗凝管中、所有计划解剖动物于第50天解剖前夜禁食，禁食时间约12小时。濒死动物进行安乐死，解剖时腹主动脉采血约2mL至含有抗凝剂(EDTA

[0377] 表6-2第7天的血液学指标的变化情况;

血液学指标	动物组别	ADC1-LK1b-1	ADC1-LK1-Dxd
WBC	雄性	43% ↓	59% ↓
WBC	雌性	31% ↓	45% ↓
#LYMPH	雄性	47% ↓	63% ↓
#LYMPH	雌性	32% ↓	48% ↓
#MONO	雄性	24% ↓	37% ↓
#MONO	雌性	/	33% ↓
#NEUT	雄性	/	37% ↓
#EO	雄性	46% ↓	60% ↓

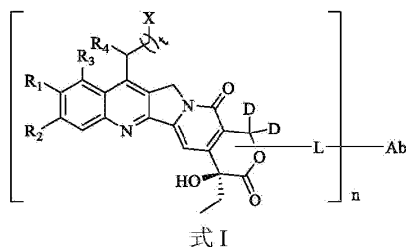
[0380] 在本公开中,对比化合物LK1-Dxd是指如下化合物,其可以根据已公开的文献WO2014057687A制备:



权利要求书

[权利要求 1]

式I所示化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体：



其中，Ab表示抗体或者抗原结合片段；L表示连接Ab和弹头药物分子的连接子；n选自1-12；

R₁选自H、卤素、OH、SH、NH₂、C₁₋₄烷基、C₁₋₄卤代烷基或C₁₋₄烷氧基；

R₂选自H、卤素、C₁₋₄烷基或C₁₋₄烷氧基；

或者R₁与R₂环化为-O-(CH₂)_m-O-，其中m选自1、2、3；

R₃和R₄各自独立地选自H、C₁₋₄烷基、C₁₋₄烷氧基、C₁₋₄卤代烷基或C₁₋₄卤代烷氧基；

或者R₃与R₄环化为-(CH₂)_k-，其中k选自1、2、3、4；

X选自H、OH、HO-CH(R₅)-(CH₂)_p-CO-NH-或-N(R₆)(R₇)，其中p选自0、1、2；

R₅选自H、C₁₋₄烷基、C₁₋₄卤代烷基、3-6元环烷基或3-6元杂环烷基；

R₆选自H、C₁₋₄烷基或C₁₋₄卤代烷基；

R₇选自H或R₈-S(O)₂-；

R₈选自C₁₋₄烷基；以及

t选自0、1、2、3、4、5。

[权利要求 2]

根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体，其中R₁为C₁₋₄烷基，并且R₂为卤素；或者R₁为甲基，并且R₂为

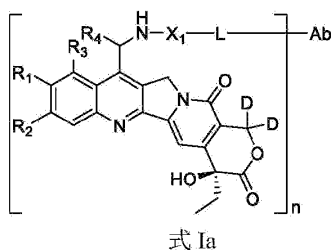
F; 或者 R_1 为H, R_2 为H; 或者 R_1 与 R_2 环化为 $-O-CH_2-O-$; 或者 R_1 为 NH_2 , 并且 R_2 为H或卤素; 或者 R_1 为 NH_2 , 并且 R_2 为H或F。

[权利要求 3] 根据权利要求1或2所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体, 其中 R_3 为H, 并且 R_4 为H; 或者 R_3 为H, 并且 R_4 为 C_{1-4} 烷基; R_3 为H, R_4 为甲基; 或者 R_3 与 R_4 环化为 $-CH_2-CH_2-$ 。

[权利要求 4] 根据权利要求1-3任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体, 其中X为 $HO-CH(R_5)-(CH_2)_p-CO-NH-$, 其中p选自0、1、2; 或者X选自OH或 NH_2 ; 或者X为H, 并且t为0; 或者X为 $-N(R_6)(R_7)$ 。

[权利要求 5] 根据权利要求1-4任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体, 其中n选自4-9; 或者, n选自6-8, 或者7-8, 或者7.4-8.0, 或者7.5-8.5; 或者n选自6、7、8; 或者, n选自7-8, 或者7.3-7.9, 或者7.4-7.8, 或者7.5-7.7, 或者7.5-7.6, 或者7.5-7.8、或者7.4-7.7。

[权利要求 6] 根据权利要求1-5中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体, 其为式Ia化合物或其药学上可接受的盐或其立体异构体;



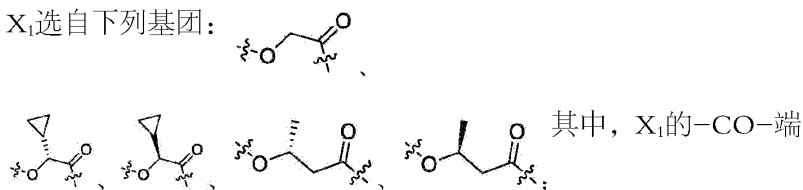
其中, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 如权利要求1-3中任一项所定义; X_1 选自化学键、 $-O-CH(R_5)-(CH_2)_p-CO-$, 其中 $-CO-$ 端与 $-NH-$ 相连接; p选自0、1、2; R_5 选自H、 C_{1-4} 烷基、3-6元环烷基或3-6元杂环烷基。

[权利要求 7] 根据权利要求6所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体, 其中 R_1 选自甲基或甲氧基; 或者, R_2 选自F或Cl; 或者, R_1 为

甲基, 并且 R_2 为F; 或者, R_3 与 R_4 环化为 $-(CH_2)_k-$, 其中 k 为2; 或者, R_3 为H; 并且 R_4 为H。

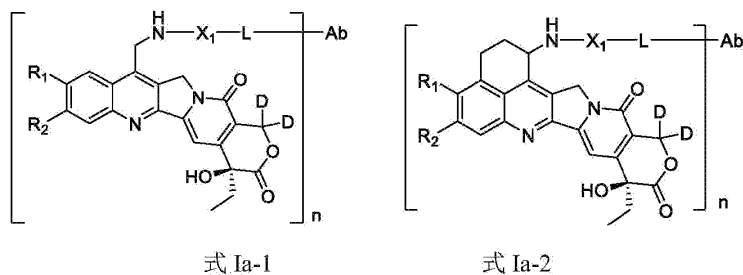
[权利要求 8]

根据权利要求6-7中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体, 其中 X_1 为 $-O-CH(R_5)-(CH_2)_p-CO-$, p 选自0或者1, R_5 选自H、 C_{1-4} 烷基或3-6元环烷基; 或者, X_1 为 $-O-CH(R_5)-CO-$, R_5 选自H或3-6元环烷基; 或者, X_1 为 $-O-CH(R_5)-CO-$, R_5 选自H或环丙基; 或者, X_1 为 $-O-CH(R_5)-CH_2-CO-$; R_5 为 C_{1-4} 烷基, 或者, X_1 为 $-O-CH(R_5)-CH_2-CO-$, R_5 为甲基; 或者, X_1 选自下列基团:



[权利要求 9]

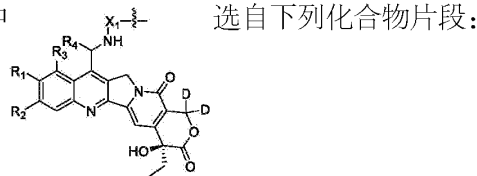
根据权利要求1-8中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体, 其为式Ia-1或式Ia-2的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体;

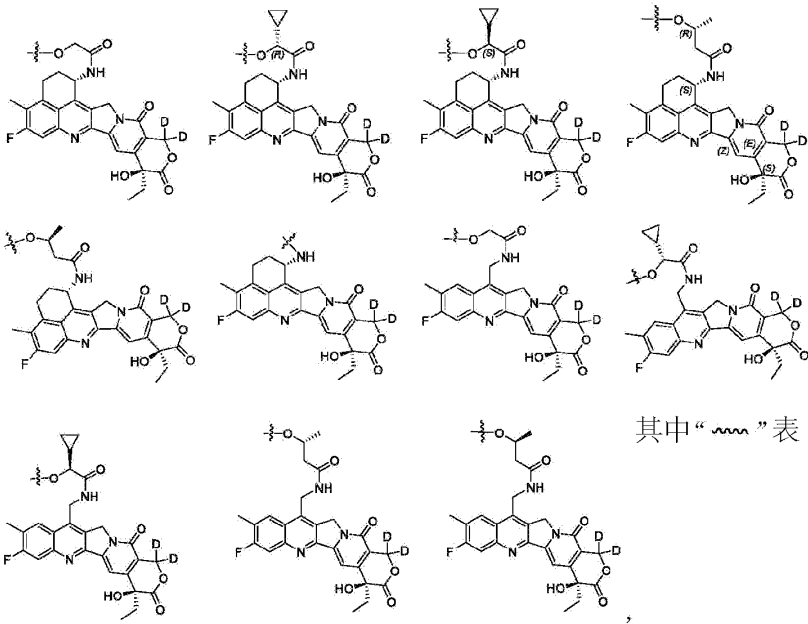


其中, Ab 、 L 、 R_1 、 R_2 、 X_1 、 n 如权利要求1-8中任一项所定义。

[权利要求 10]

根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体, 其中

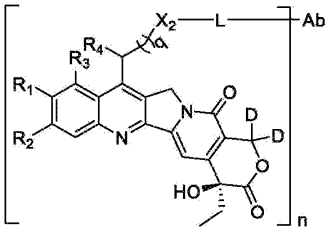




示通过化学键与连接子L相连接的位置。

[权利要求 11]

根据权利要求1-5中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体，其为式Ib化合物或其药学上可接受的盐或其立体异构体；



式 Ib

其中，Ab、L、n如权利要求1中所定义；

R₁选自H、OH、卤素、NH₂、C₁₋₄烷基、C₁₋₄卤代烷基或C₁₋₄烷氧基；

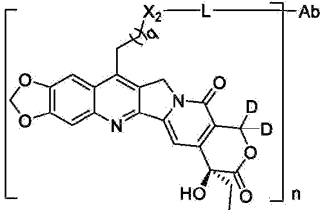
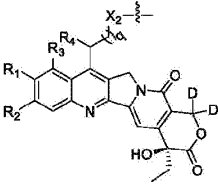
R₂选自H、卤素、C₁₋₄烷基或C₁₋₄烷氧基；

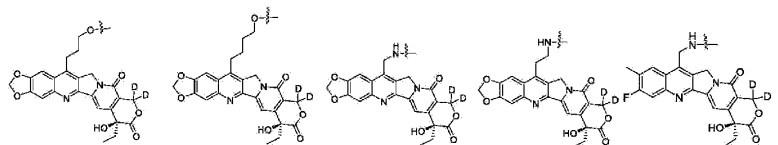
或者R₁与R₂环化为-O-(CH₂)_m-O-，其中m选自1，2，3；

R₃和R₄各自独立地选自H、C₁₋₄烷基或C₁₋₄烷氧基；

或者R₃与R₄环化为-(CH₂)_k-，其中k选自1，2，3；

X₂选自O或-N(R₆)-；

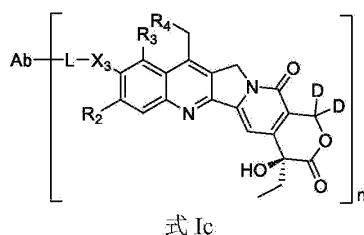
	R₆选自H或C₁₋₄烷基； q选自0, 1, 2, 3、4。	
[权利要求 12]	根据权利要求11所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体，其中R₁选自甲基，并且R₂选自H、Cl、F；或者，R₁与R₂环化为-O-(CH₂)_m-O-，其中m选自1或2。	细则 91, 10.01.2025
[权利要求 13]	根据权利要求11或12所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体，其中R₃与R₄均为H；或者，R₃为H，并且R₄为甲基。	细则 91, 10.01.2025
[权利要求 14]	根据权利要求11-13中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体，其中X₂选自-O-、-NH-；或者，X₂选自-O-、-NH-，且q为0, 1, 2, 3或4；或者，X₂选自-O-、-NH-，且q为1, 2, 3, 4。	细则 91, 10.01.2025
[权利要求 15]	根据权利要求11-14中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体，其中所述式Ib化合物为式Ib-1化合物：  式 Ib-1 其中，Ab、L、n如权利要求1中所定义，以及X₂和q如权利要求12-15中任一项所定义。	细则 91, 10.01.2025
[权利要求 16]	根据权利要求11-15中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体，其中，  选自下列化合物片段；	细则 91, 10.01.2025



其中“”表示通过化学键与连接子L相连接的位置。

[权利要求 17]

根据权利要求1-5中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体，其为式Ic化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体：



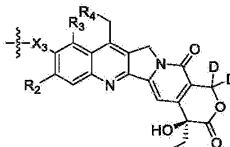
其中， X_3 选自NH、O、S，或者 X_3 选自NH、O； R_2 、 R_3 、 R_4 如权利要求1-3中任一项所定义；以及Ab、L、n如权利要求1中所定义。

[权利要求 18]

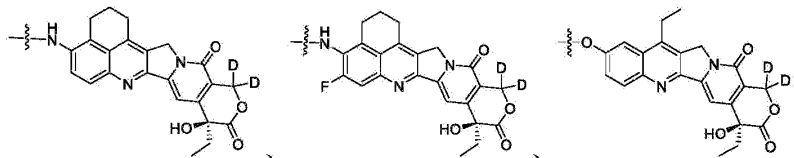
根据权利要求17所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体，其中 R_2 选自H或F；或者， R_3 选自H，并且 R_4 选自甲基；或者， R_3 与 R_4 环化为 $-(CH_2)_k-$ ，k选自1，2，3；或者， R_3 与 R_4 环化为 $-(CH_2)_2-$ ；或者， X_3 选自NH，或者， X_3 选自O。

细则 91,
10.01.2025

[权利要求 19]

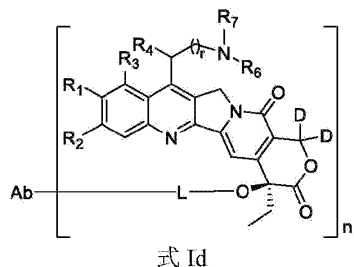
根据权利要求17所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体，其中，选自下列化合物片段：

细则 91,
10.01.2025



[权利要求 20]

根据权利要求1-5中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体，其中为式Id化合物或其药学上可接受的盐：



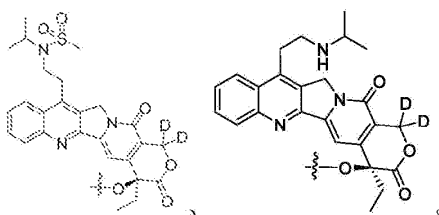
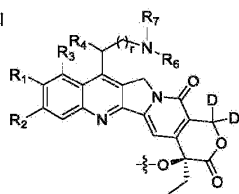
其中，Ab、L、n、R₆和R₇如权利要求1中所定义；R₁、R₂、R₃、R₄如权利要求1-3中任一项所定义，以及r选自0、1、2、3。

[权利要求 21]

根据权利要求20所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体，其中R₁、R₂均为H；或者，R₃、R₄均为H；或者，r为1；或者，R₆选自甲基、乙基、异丙基；或者，R₆为异丙基；或者，R₇选自H；或者，R₇选自R₈-S(O)₂-，其中R₈选自甲基、乙基，或者，R₈选自甲基。

[权利要求 22]

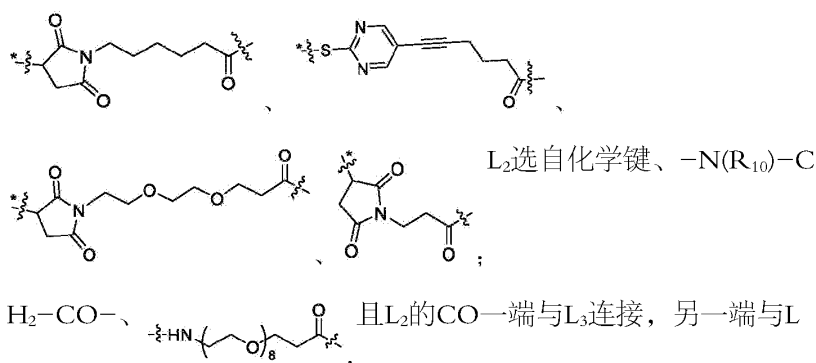
根据权利要求20所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体，其中

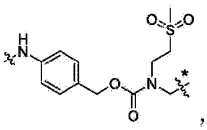


[权利要求 23]

根据权利要求1-22中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体，其中所述Ab选自抗Her2抗体、抗Trop2抗体、抗Claudin18.2抗体。

- [权利要求 24] 根据权利要求1-22中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体，其中所述Ab为抗Her2抗体，其具有分别如SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3所示的HCDR1、HCDR2、HCDR3以及分别如SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8所示的LCDR1、LCDR2、LCDR3。
- [权利要求 25] 根据权利要求1-24中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体，其中所述Ab为抗Her2抗体，其具有SEQ ID NO: 4所示的重链可变区以及SEQ ID NO: 9所示的轻链可变区。
- [权利要求 26] 根据权利要求1-25中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体，其中所述Ab为抗Her2抗体，其具有SEQ ID NO: 5所示的重链以及SEQ ID NO: 10所示的轻链；
- [权利要求 27] 根据权利要求1-22中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体，其中所述Ab选自Trastuzumab、Pertuzumab、Sacituzumab、zolbetuximab。
- [权利要求 28] 根据权利要求1-27中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体，其中所述L为 $-L_1-L_2-L_3-L_4-$ ，其中， L_1 一端与所述Ab相连， L_4 一端与所述弹头药物分子相连； L_1 选自下列基团，并且 L_1 的标有星号*的一端与所述Ab相连接：

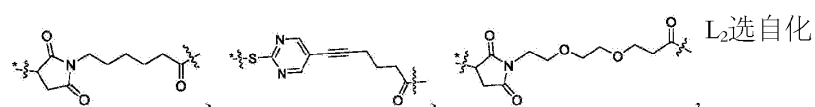
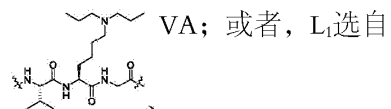


学键、 $-\text{NH}-\text{CH}-$ 、 其中CH一端与所述弹头药

物分子相连接，并且 $-\text{NH}-$ 一端与 L_3 相连接。

[权利要求 29]

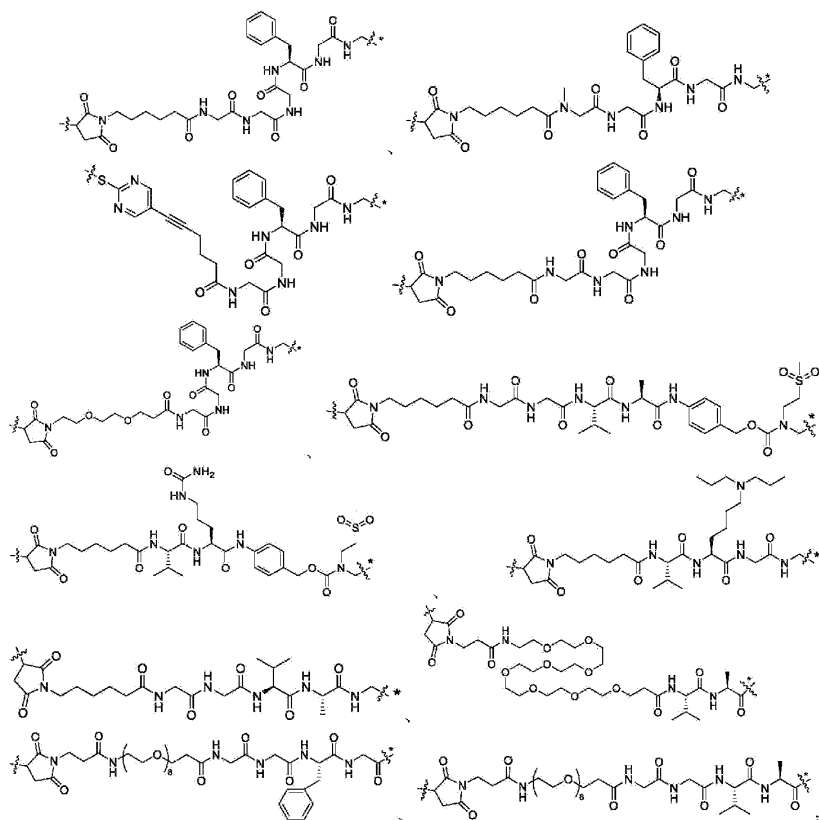
根据权利要求28所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体，其中 L_2 为化学键；或者， L_2 为 $-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CO}-$ ；或/和 L_3 选自下列多肽残基：GFG、GGFG、GGGFG、GGVA，V-Cit、



学键或者 $-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CO}-$ ，并且 L_3 选自GFG、GGFG、GGGF
G， L_4 为 $-\text{NH}-\text{CH}-$ 。

[权利要求 30]

根据权利要求1-27中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体，其中 L 选自如下片段：

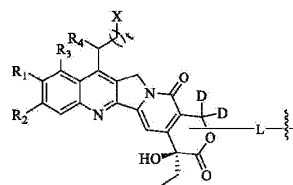


其中，“★”表示所述连接子与所述弹头药物分子相连接的位置，
则另一端表示所述连接子与所述Ab相连接的位置。

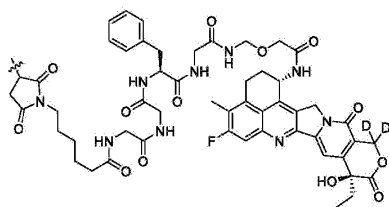
[权利要求 31]

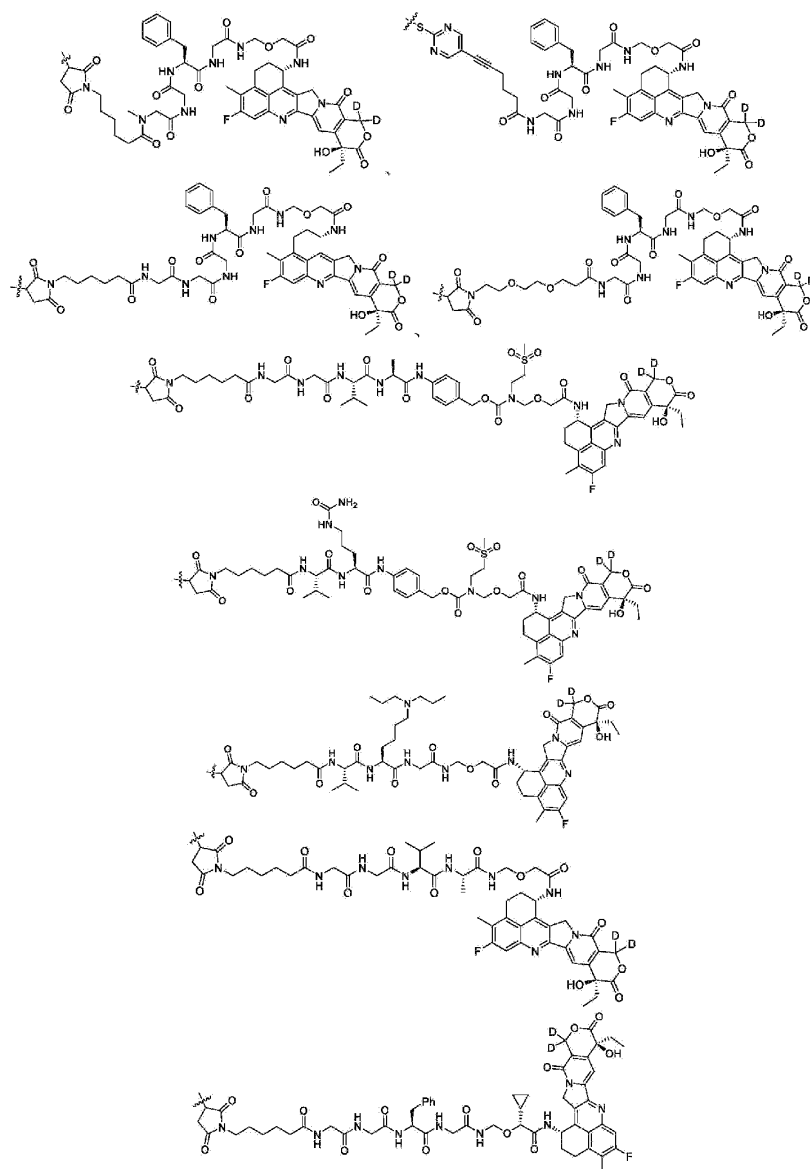
根据权利要求1或23-27中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体，其中，

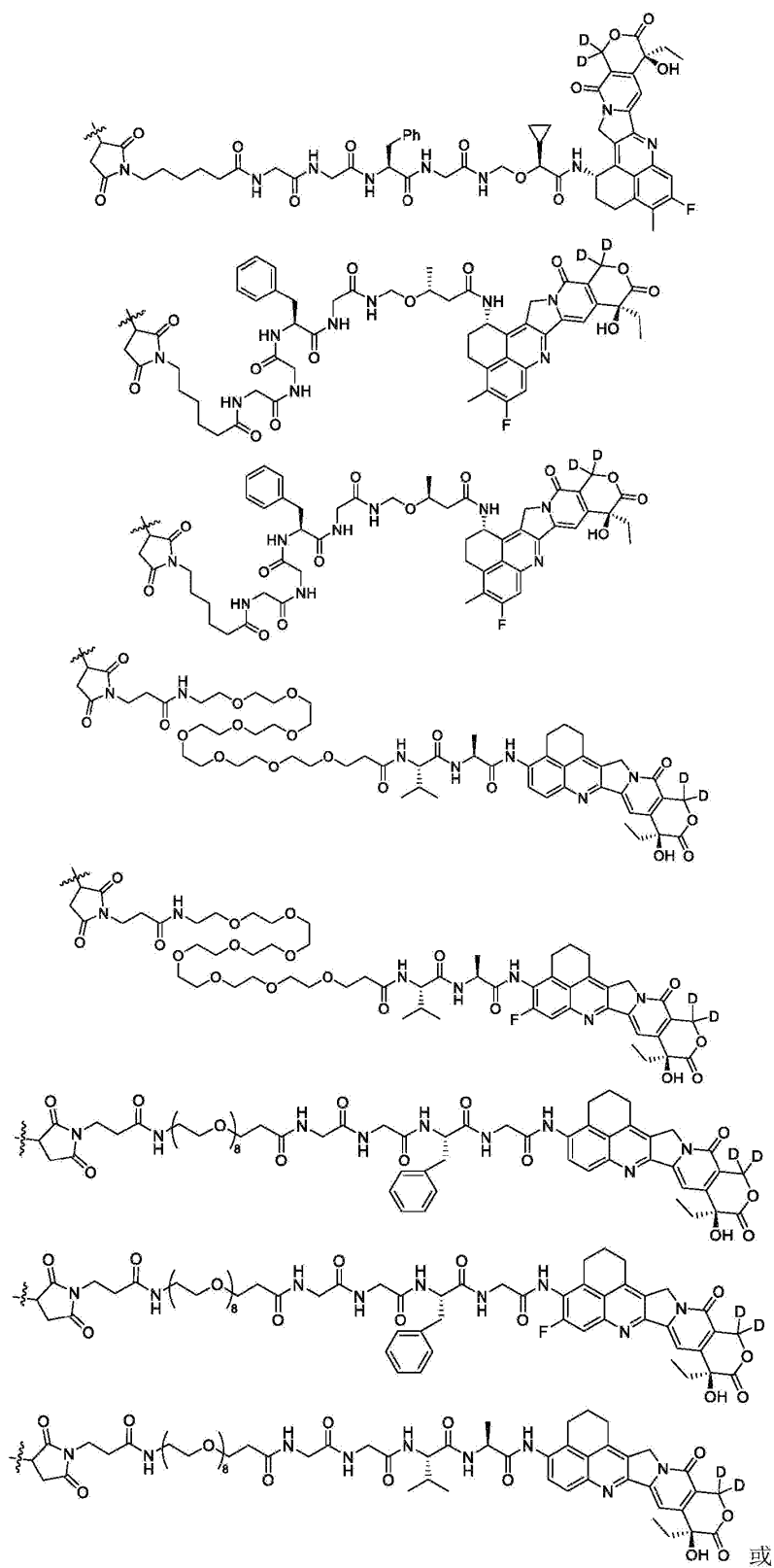
选自如下结

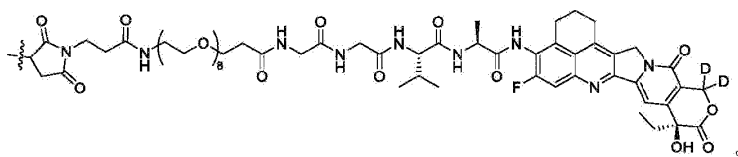


构片段：



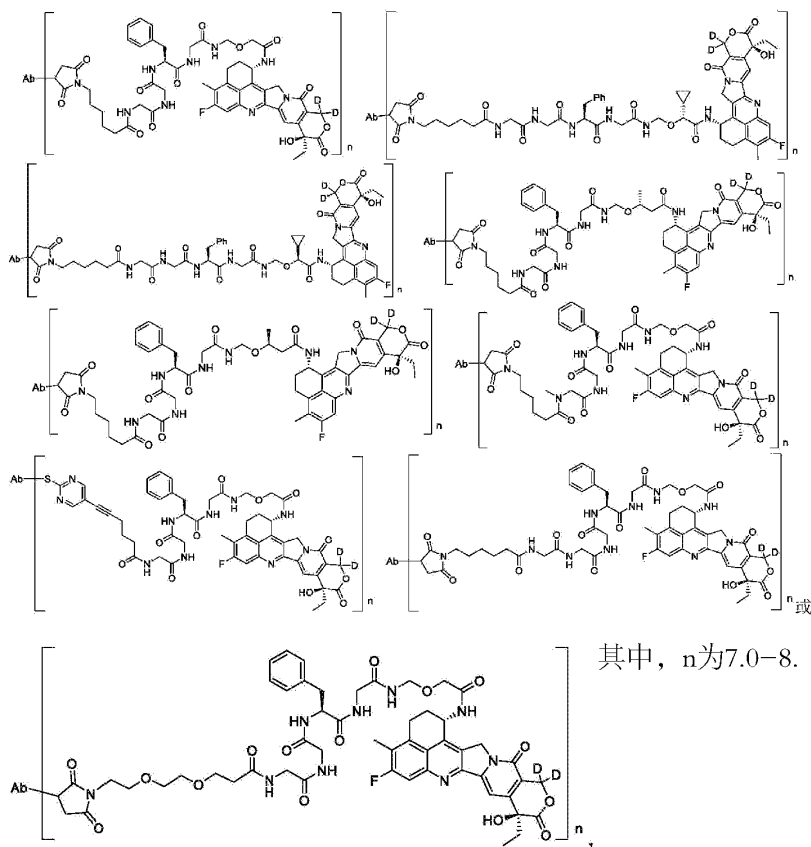






[权利要求 32]

根据权利要求1或23-27中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体，其为选自下列的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体：

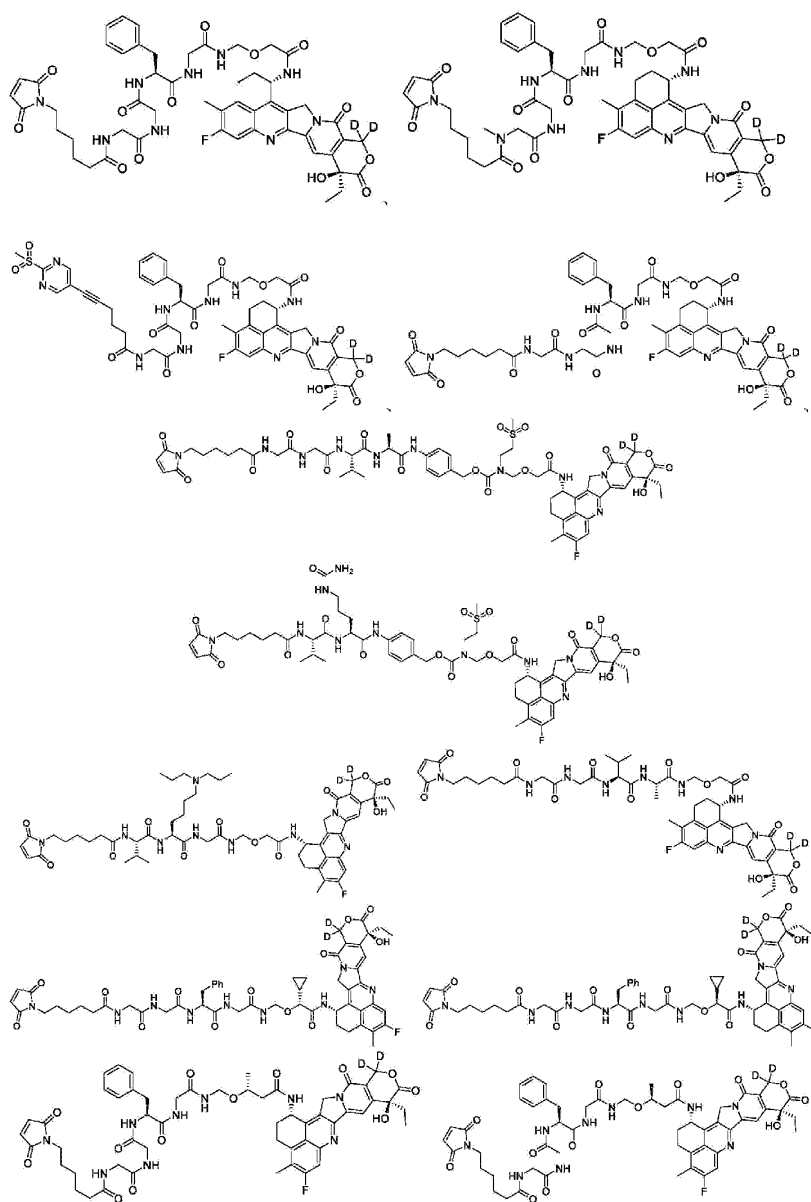


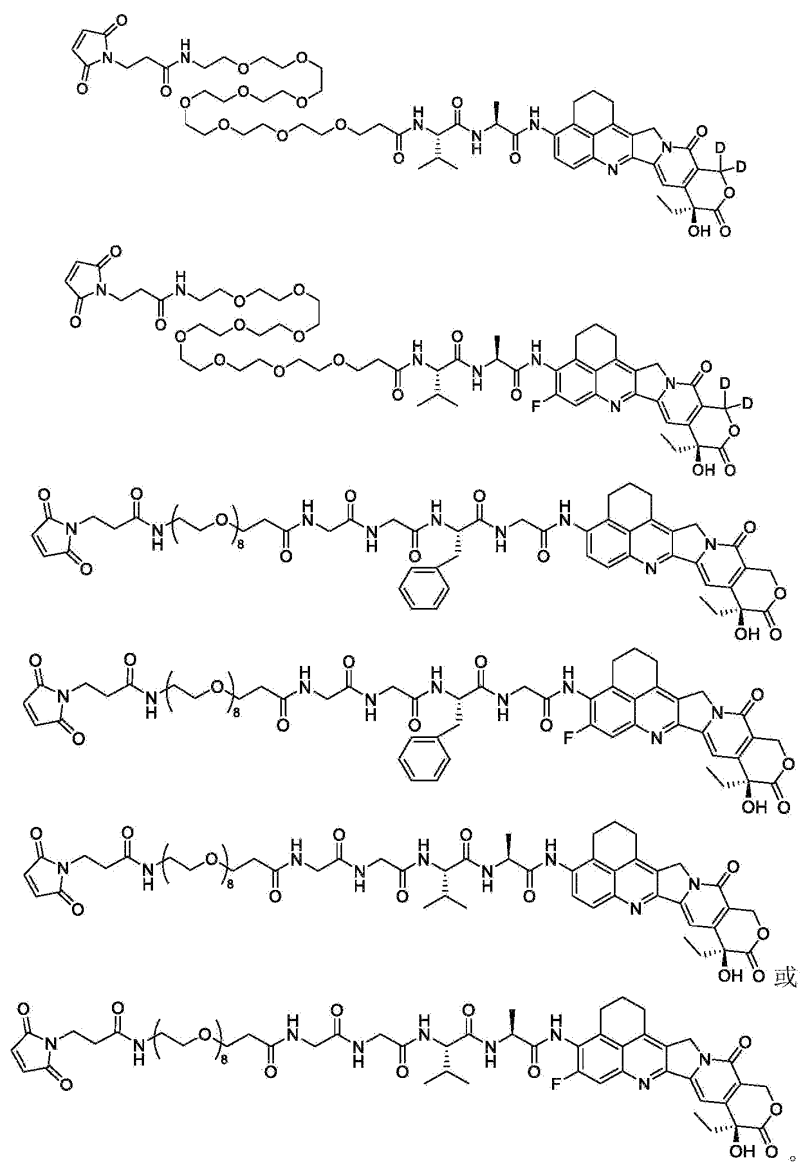
其中，n为7.0-8.

0，或者n为7.4-7.8，或者n为7.4-8.0，或者n为7.5-8.5。

[权利要求 33]

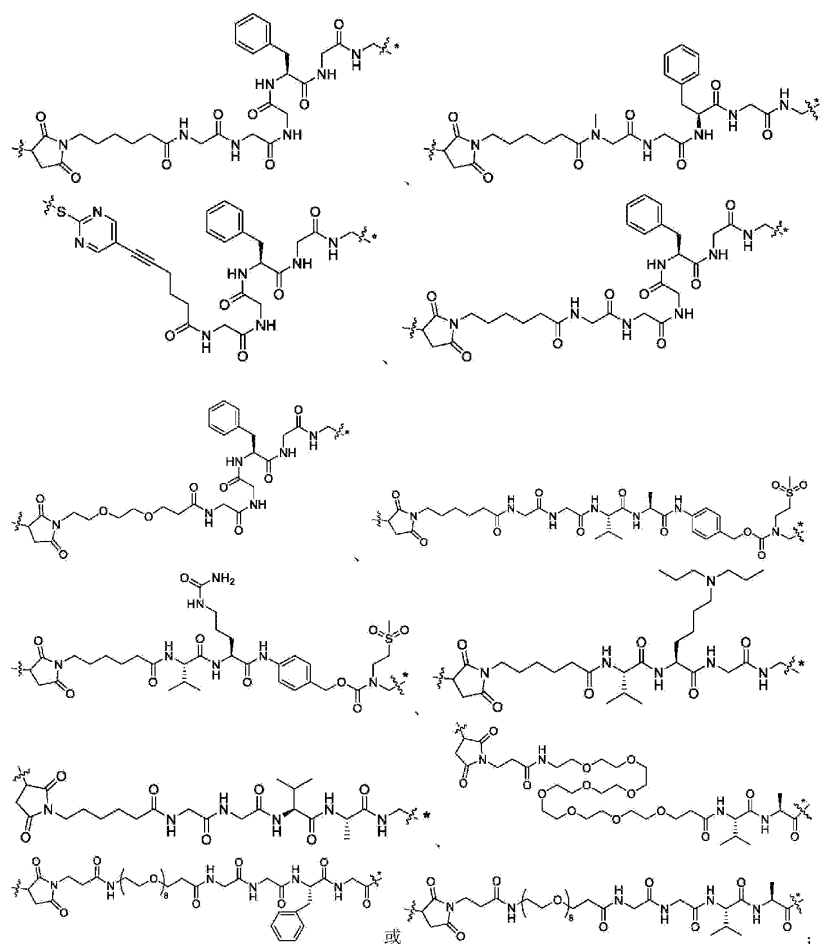
化合物，其选自如下化合物之一或其药学上可接受的盐、其立体异构体：





[权利要求 34]

选自如下的结构片段：



[权利要求 35] 药物组合物，其包含权利要求1-32中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体以及药学上可接受的赋形剂。

[权利要求 36] 权利要求1-32中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体，以及权利要求35所述的药物组合物在制备用于治疗肿瘤的药物中的用途。

[权利要求 37] 治疗肿瘤的方法，其包括向有需要的患者施用有效量的权利要求1-32中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体或权利要求35所述的药物组合物。

[权利要求 38] 用于治疗肿瘤的权利要求1-32中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、其立体异构体或权利要求35所述的药物组合物。