

一种 DNA 毒性二聚体化合物及其偶联物

发明领域

本发明涉及新型细胞毒性化合物和包含这些细胞毒性化合物和细胞结合剂的药物。更具体地说，本发明涉及新型苯并二氮杂卓二聚体化合物、其衍生物、其中间体其药学上可接受的盐及其偶联物，它们可用作药物，尤其是用作抗肿瘤药物。

发明背景

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

苯并二氮杂卓类衍生物，具有识别并结合特定 DNA 序列的能力，是一种高度有效的链间交联剂，能与 DNA 小沟中的鸟嘌呤反应，形成 DNA 加合物，干扰 DNA 的加工，因此将它们作为抗肿瘤药物使用。(Rahman et al.(2009)Jour. Amer.Chem.Soc.131(38):13756-13766; Thurston et al.(1994)Chem.Rev.,94:433-465; Bose et al.(1992)J.Am.Chem.Soc.114:4939-4941; Gregson et al.(2004)Jour. Med. Chem.47(5):1161-1174)。

1-(氯甲基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吡啶(CBI)类的 DNA 小沟烷化剂是有力的细胞毒素(Atwell et al.(1999)J.Med.Chem.,42:3400)，而且已经作为效应器单元用于为癌症疗法设计的多类前体药物。已经通过烷基链将 CBI 和苯并二氮杂卓类衍生物连接到一起(CN105636612 A)。

咪唑并[1,2-a]吡啶类衍生物是一种强有力的 DNA 粘合单元，已经用于抗肿瘤抗生素倍癌霉素(duocarmycins)衍生物的合成，并表现出非常有效的细胞毒性(RonaldC.Elgersma et al.(2015)Mol.Pharmaceutics.12:1813-1835)。

现有技术公开的苯并二氮杂卓类衍生物毒性极大，在极低剂量时是有毒的，

因此,改进的较低毒性且仍有治疗活性的,高治疗窗的苯并二氮杂卓类衍生物显得非常必要。

发明内容

本发明旨在提供一种具有良好治疗窗的细胞毒性的苯并二氮杂卓二聚体衍生物及其抗体偶联物。全新设计的细胞毒性的苯并二氮杂卓二聚体衍生物的偶联物中小分子药物具有氯甲基(CBI)和亚胺(PBD)两个官能团。氯甲基是一个前体药物结构,进入体内可形成三元环结构,进一步可以发生 DNA 烷基化。这两个官能团的存在可增强 DNA 的交联。发明人意外发现,此类苯并二氮杂卓类 ADC 药物,具有良好的安全性和高效的抗肿瘤活性。

本发明公开了一种如式 I 所示的配体-药物偶联物,或其药学上可接受的盐、氘代物及溶剂化物:

Ab-L-D

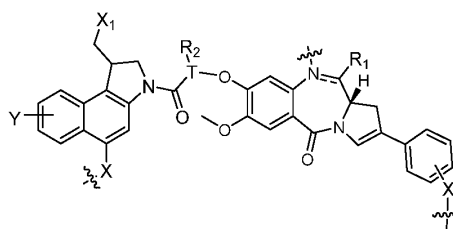
(I)

其中:

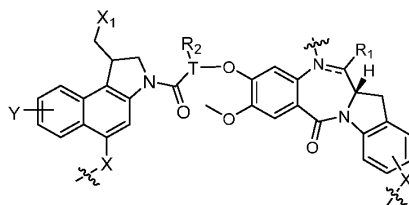
Ab 为配体单元,选自抗体、抗体片段、靶向蛋白或 Fc-融合蛋白;

L 为 D 与 Ab 的连接单元;

D 为药物单元,选自以下结构:



或



其中:

波浪线表示药物与 L 连接的位点,且只存在三个位点中的一个位点与 L 相

连;

R_1 为 H、氘、OH 或由 OR_3 表示的醚、亚硫酸根 SO_3^- 或 OSO_3^- , 其中 R_3 选自 C_1-C_{10} 的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基;

在 N 和 C 之间的双线 $\equiv$ 表示单键或双键, 条件是当其为双键时, N 处不与 L 相连且 R_1 是 H; 当其为单键时, N 处与 L 相连, R_1 选自 OH 或由 OR_3 表示的醚、亚硫酸根 SO_3^- 或 OSO_3^- , 其中 R_3 选自 C_1-C_{10} 的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基;

R_2 为 H 或烷基取代基;

T 选自于 C_2-C_{12} 烃基、Z、 $(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})-Z-(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})$ 、 $(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})-Z-(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})-Z-(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})$ 、 $(C_1-C_6 \text{ 亚烯基})-Z-(C_1-C_6 \text{ 亚烯基})$ 或 $(C_1-C_6 \text{ 亚炔基})-Z-(C_1-C_6 \text{ 亚炔基})$;

其中:

Z 独立选自 O、S、 NR_4 、芳基或杂芳基; 其中 R_4 选自于 H、 $P(O)_3H_2$ 或 $C(O)NR_5R_6$; 其中 R_5 和 R_6 选自 H、 C_1-C_6 烷基、一个或多个 F 取代的 C_1-C_6 烷基, 或者 R_5 和 R_6 形成五元或六元杂环基基团;

亚烷基, 亚烯基, 芳基和杂芳基是独立且任选用 F、OH、O(C_1-C_6 烷基)、 NH_2 、 $NHCH_3$ 、 $N(CH_3)_2$ 或 C_1-C_6 烷基取代的, 其中烷基任选是用一个或多个 F 取代的;

Y 选自于一个或多个 H 或 C_1-C_4 的烷基;

X 独立选自于 $-O-$ 、 $-N-$ 、 $-S-$ 、 $-OC(O)-CR_7R_8-(CR_9R_{10})_m-O-$ 、 $-OC(O)-CR_7R_8-(CR_9R_{10})_m-NH-$ 、 $-OC(O)-CR_7R_8-(CR_9R_{10})_m-S-$ 、 $-NHC(O)-CR_7R_8-(CR_9R_{10})_m-O-$ 、 $-NHC(O)-CR_7R_8-(CR_9R_{10})_m-NH-$ 或 $-NHC(O)-CR_7R_8-(CR_9R_{10})_m-S-$ 等;

其中:

R_7 、 R_8 分别独立地为氢原子、氘原子、卤素、烷基、氘代烷基、卤代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基; 或者, R_7 、 R_8 及其所连接碳原子构成 C_3-C_6 环烷基、环烷基烷基或杂环基;

R_9 、 R_{10} 相同或者不同, 且分别独立地为氢原子、氘原子、卤素、烷基、卤代烷基、氘代烷基、烷氧基、羟基、氨基、氰基、硝基、羧基、环烷基或杂环

基；或者， R_9 、 R_{10} 及其所连接碳原子构成 C_3 - C_6 环烷基、环烷基烷基或杂环基；

m 选自 0-4 的整数；

X_1 选自于卤素或 OSO_2R_{11} ，其中 R_{11} 可独立的选自于 H、 C_1 - C_4 的烃基、苯基或者取代苯基。

作为优选方式，Ab 为抗体，可通过其杂原子与连接单元形成连接键，所述抗体选自鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体、全人源抗体、抗体片段、双特异性抗体或多特异性抗体。

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

一种 DNA 毒性二聚体化合物及其偶联物或其药学上可接受的盐、氘代物及溶剂化物，作为优选：L 为可裂解型或不可裂解型。

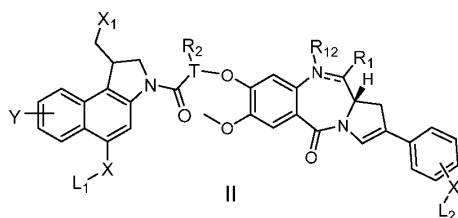
一种 DNA 毒性二聚体化合物及其偶联物或其药学上可接受的盐、氘代物及溶剂化物，所述药学上可接受的盐包括与结构式中酸性官能团形成的钠盐、钾盐、钙盐或镁盐；或与结构中碱性官能团形成的醋酸盐、三氟乙酸盐、柠檬酸盐、草

酸盐、酒石酸盐、苹果酸盐、硝酸盐、氯化物、溴化物、碘化物、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、乳酸盐、油酸盐、抗坏血酸盐、水杨酸盐、甲酸盐、谷氨酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐或对甲苯磺酸盐。

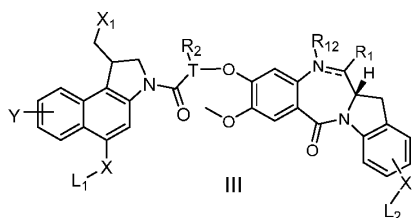
一种 DNA 毒性二聚体化合物及其偶联物或其药学上可接受的盐，其制备用于治疗或预防肿瘤药物的用途。

作为优选，肿瘤为乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫癌、前列腺癌、肾癌、尿道癌、膀胱癌、肝癌、胃癌、子宫内膜癌、唾液腺癌、食道癌、肺癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、骨癌、皮肤癌、甲状腺癌、胰腺癌、黑色素瘤、神经胶质瘤、神经母细胞瘤、多形性胶质细胞瘤、肉瘤、淋巴瘤和白血病等实体瘤或血液瘤。

本发明还公开了与 Ab 连接的通式为 II 或 III 的化合物，或其药学上可接受的盐或溶剂化物：



或



其中：

R_1 为 H、OH 或由 OR_3 表示的醚、亚硫酸根 SO_3^- 或 OSO_3^- ，其中 R_3 选自 C_1-C_{10} 的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；

在 N 和 C 之间的双线 $\equiv$ 表示单键或双键，条件是当其为双键时， R_{12} 不存在且 R_1 是 H；当其为单键时， R_{12} 为 $-C(O)O-L_3$ ，其中 L_3 为连接单元； R_1 选自 OH、由 OR_3 表示的醚、亚硫酸根 SO_3^- 或 OSO_3^- ，其中 R_3 选自 C_1-C_{10} 的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；

R_2 为 H 或烷基取代基；

T 选自于 C_2-C_{12} 烃基、Z、 $(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})-Z-(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})$ 、 $(C_1-C_6 \text{ 亚烷}$

基)-Z-(C₁-C₆ 亚烷基)-Z-(C₁-C₆ 亚烷基)、(C₁-C₆ 亚烯基)-Z-(C₁-C₆ 亚烯基)或(C₁-C₆ 亚炔基)-Z-(C₁-C₆ 亚炔基);

其中:

Z 独立选自 O, S, NR₄, 芳基和杂芳基; 其中 R₄ 选自于 H, P(O)₃H₂, C(O)NR₅R₆, 其中 R₅ 和 R₆ 选自 H, C₁-C₆ 烷基, 一个或多个 F 取代的 C₁-C₆ 烷基, 或者 R₅ 和 R₆ 形成五元或六元杂环基基团;

亚烷基, 亚烯基, 芳基和杂芳基是独立且任选用 F, OH, O(C₁-C₆ 烷基), NH₂, NHCH₃, N(CH₃)₂ 和 C₁-C₆ 烷基取代的, 其中烷基任选是用一个或多个 F 取代的;

Y 选自于一个或多个 H 或 C₁-C₄ 的烷基;

X 独立选自于 -O-、-N-、-S-、-OC(O)-CR₇R₈-(CR₉R₁₀)_m-O-、-OC(O)-CR₇R₈-(CR₉R₁₀)_m-NH-、-OC(O)-CR₇R₈-(CR₉R₁₀)_m-S-、-NHC(O)-CR₇R₈-(CR₉R₁₀)_m-O-、-NHC(O)-CR₇R₈-(CR₉R₁₀)_m-NH- 或 -NHC(O)-CR₇R₈-(CR₉R₁₀)_m-S-;

其中:

R₇、R₈ 分别独立地为氢原子、氘原子、卤素、烷基、氘代烷基、卤代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基; 或者, R₇、R₈ 及其所连接碳原子构成 C₃-C₆ 环烷基、环烷基烷基或杂环基;

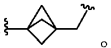
R₉、R₁₀ 相同或者不同, 且分别独立地为氢原子、氘原子、卤素、烷基、卤代烷基、氘代烷基、烷氧基、羟基、氨基、氰基、硝基、羟烷基、环烷基或杂环基; 或者, R₉、R₁₀ 及其所连接碳原子构成 C₃-C₆ 环烷基、环烷基烷基或杂环基;

m 选自 0-4 的整数;

X₁ 选自于卤素或 OSO₂R₁₁, 其中 R₁₁ 可独立的选自于 H, C₁-C₄ 的烃基, 苯基或者取代苯基;

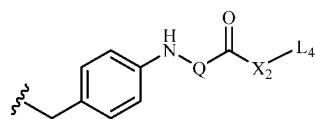
L₁, L₂ 为连接单元或取代基。

作为优选方式, T 选自 C₂-C₁₂ 的亚烷基。

进一步优选, T 为 .

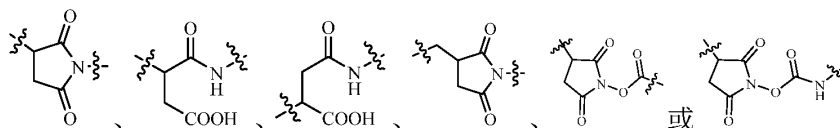
作为优选方式, X 为 -O-、-N-或-NHC(O)-CR₇R₈-(CR₉R₁₀)_m-O-。

作为优选方式, L₃ 为:



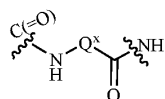
其中：波浪线处与-C(O)O-相连；L₄为连接单元，与配体单元相连。

作为优选方式，L₄非限制性地选自：



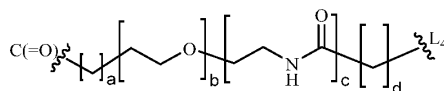
其中：波浪线处，左侧（碳端）与配体单元相连，右侧（氮端或酯羰基端）与X₂相连。

作为优选方式，Q为：



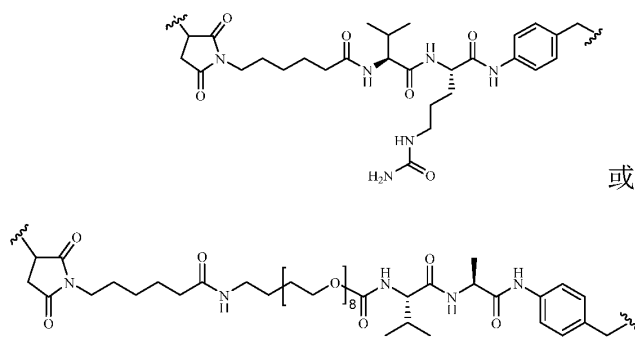
其中Q^x为氨基酸残基或由氨基酸构成的肽残基。

作为优选方式，X₂为：



其中a选自0-5的整数，b选自0-16的整数，c选自0-1的整数，d选自0-5的整数。

进一步优选，L₃非限制性地选自：



其中：波浪线处，左侧（丁二酰亚胺端）与配体单元相连，右侧与-C(O)O-相连。

作为优选方式，通式为II或III的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，

L₁ 和 L₂ 分别独立选自:

结构 A: 氢原子, C(O)NR'R'', 其中 R' 和 R'' 选自 H、C₁-C₆ 烷基一个或多个 F 取代的 C₁-C₆ 烷基, 或者 R' 和 R'' 形成五元或六元杂环基团;

结构 B: L₄-L₅-, L₄-L₆-或 L₄-L₇-L₈-L₉-, 其中 L₄、L₅、L₆、L₇、L₈ 和 L₉ 均为连接单元, L₄ 与配体单元连接, L₅、L₆、L₉ 与 X 相连。

进一步优选,

当 N 和 C 之间为单键即 R₁₂ 存在时, L₁、L₂ 分别独立选自于结构 A;

当 N 和 C 之间为双键即 R₁₂ 不存在时, L₁ 为结构 A 或 B, 则 L₂ 为结构 B 或 A。

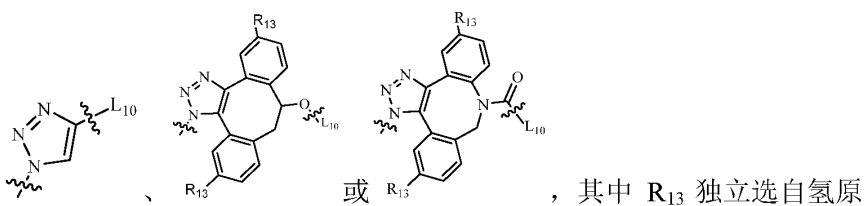
进一步优选, L₅ 为-((CH₂)_sO)r(CH₂)_sX₃L₁₀-或-((CH₂)_sO)r(CH₂)_sX₄L₁₀-;

L₆ 为-((CH₂)_sO)r(CH₂)_s-;

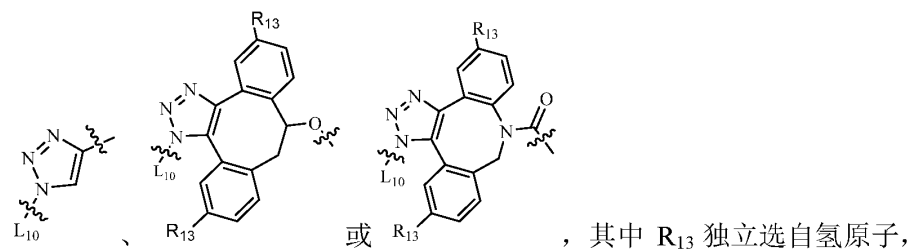
L₁₀ 为-(CH₂)_s-或-((CH₂)_sNHC(=O)X₅X₆C(=O))(CH₂)_s-;

其中:

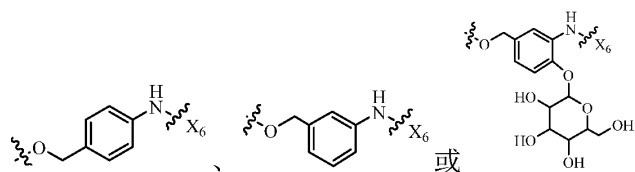
X₃ 非限制性地选自:



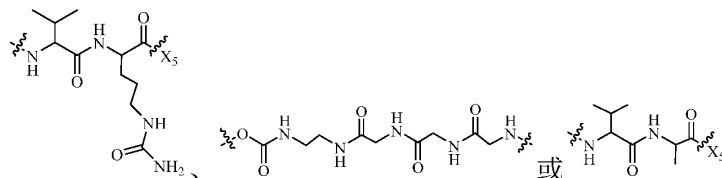
X₄ 非限制性地选自:



X₅ 非限制性地选自:



X_6 选自由氨基酸组成的肽残基, 非限制性地选自:



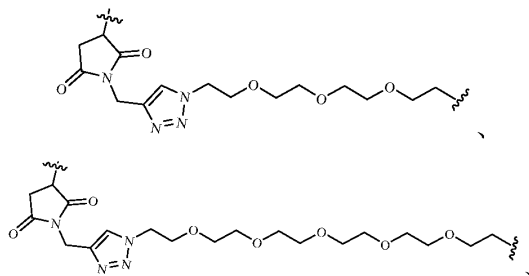
s 选自 1-10 的整数, r 选自 1-14 的整数。

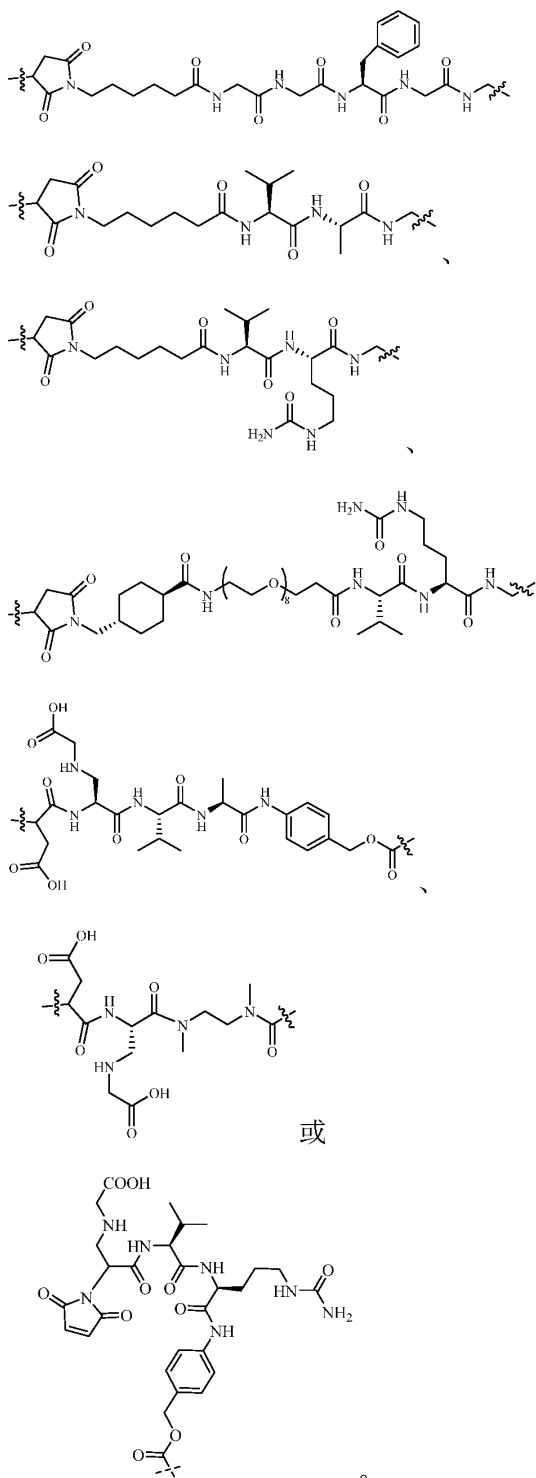
进一步优选, L_7 为 $-NC(R_{14}R_{15})C(O)-$ 、 $-NR_{16}(CH_2)_oC(O)-$ 、 $-NR_{16}(CH_2CH_2O)_oCH_2C(O)-$ 、 $-S(CH_2)_pC(O)-$ 或者化学键, 其中 o 选自 0-20 的整数; p 选自 0-20 的整数; R_{14} 与 R_{15} 相同或者不同, 且各自独立地选自氢原子、氘原子、烷基、取代烷基、氘代烷基、杂烷基、羧基、氨基、取代氨基; R_{16} 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、芳基、取代芳基或杂芳基;

L_8 选自由氨基酸构成的肽残基, 优选由一个、两个或者多个选自苯丙氨酸(F)、甘氨酸(G)、缬氨酸(V)、赖氨酸(K)、瓜氨酸、丝氨酸(S)、谷氨酸(E)或者天冬氨酸(D)中的氨基酸形成的肽残基;

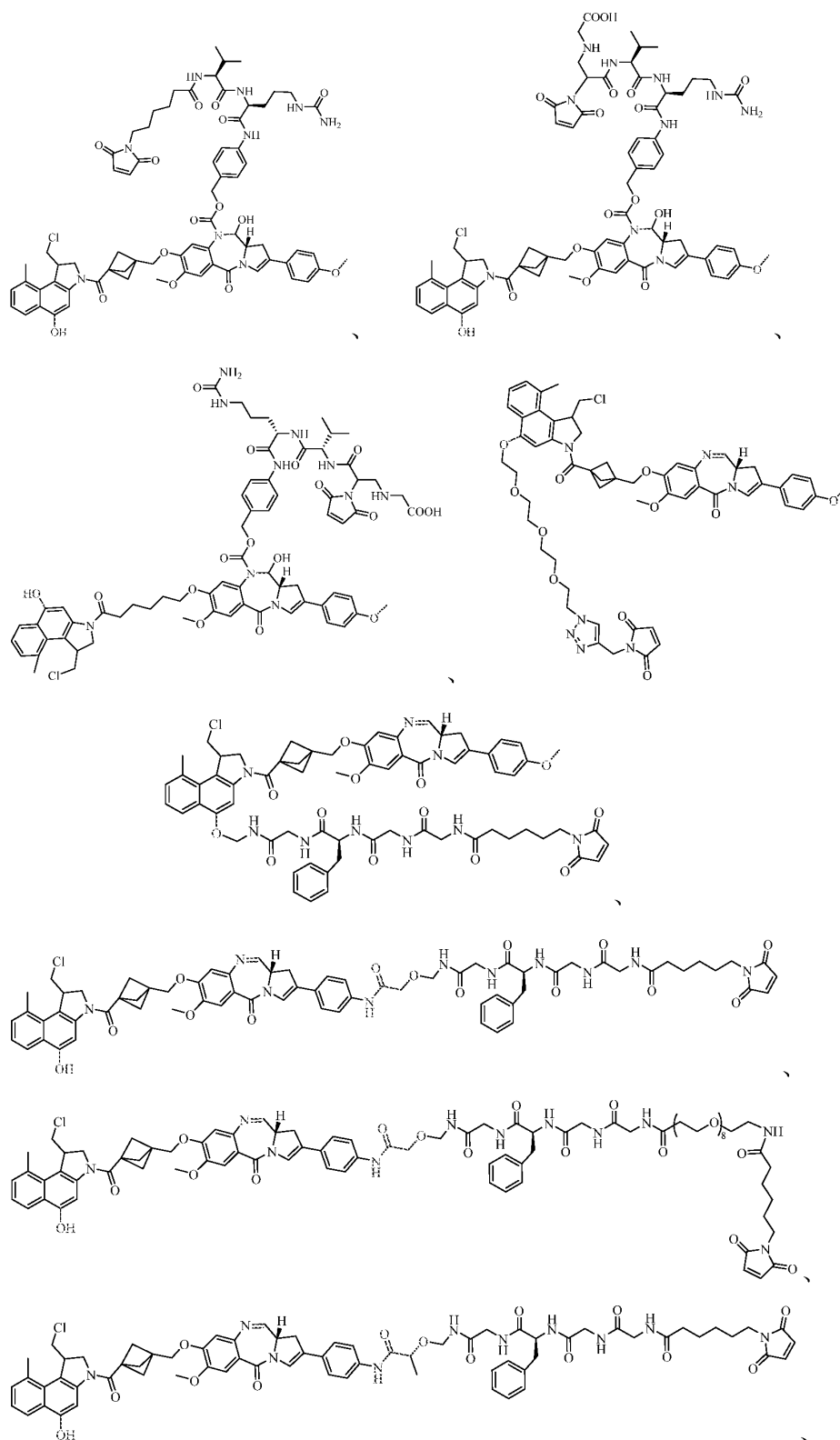
L_9 为 $-NR_{17}(CR_{18}R_{19})_q-$ 、 $-C(O)NR_{17}-$ 、 $-C(O)NR_{17}(CH_2)_q-$ 或者化学键, 其中 q 选自 0-6 的整数; R_{17} 、 R_{18} 和 R_{19} 相同或者不同, 且各自独立地选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基。

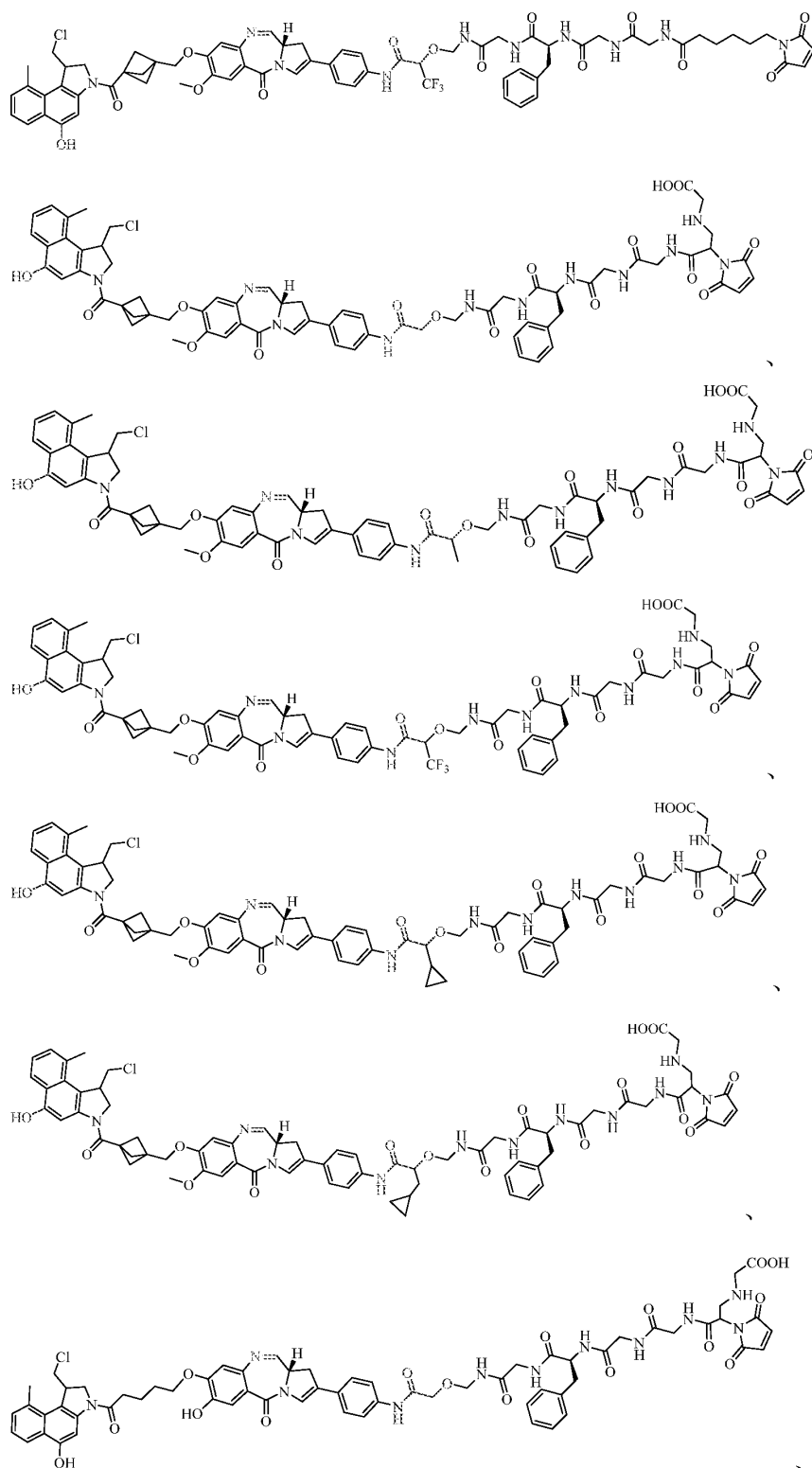
进一步优选, L_1 、 L_2 独立从结构 B 中非限制性地选自以下结构:

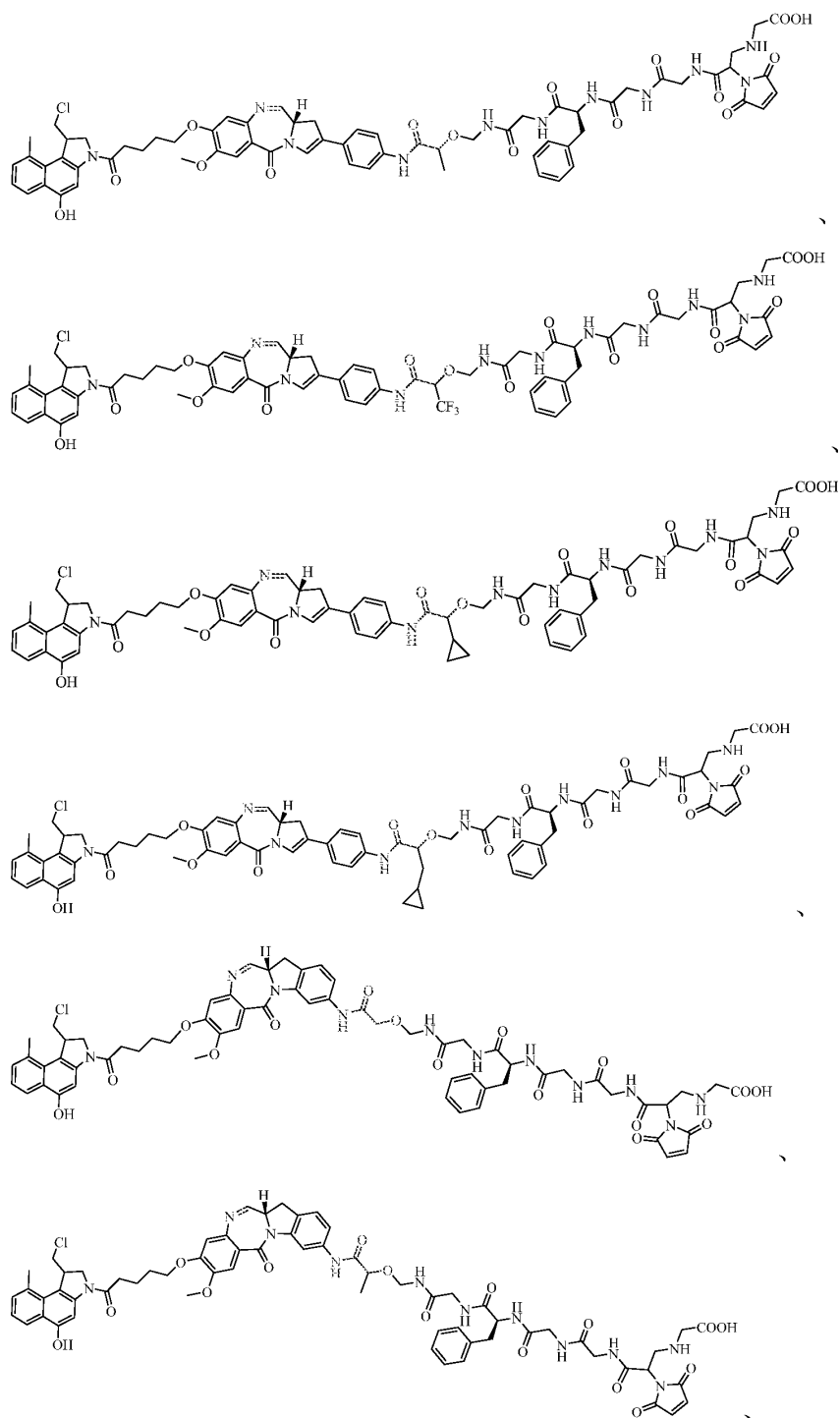


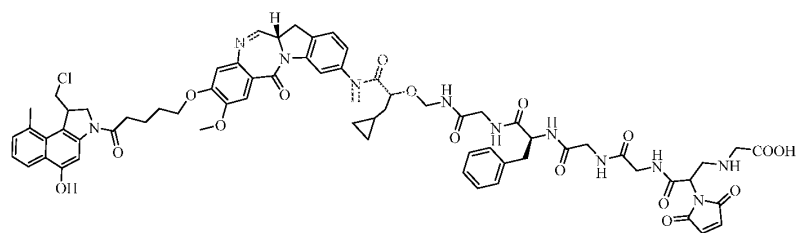
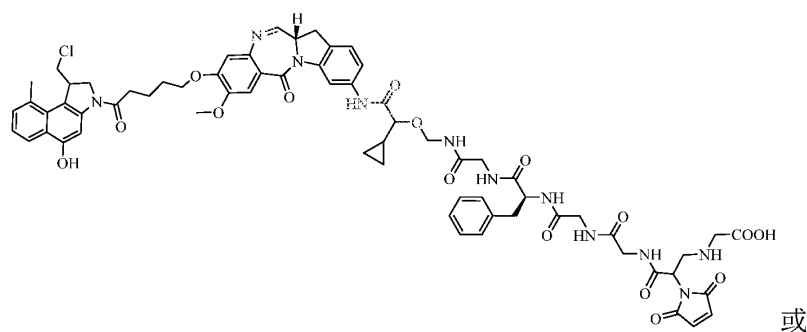
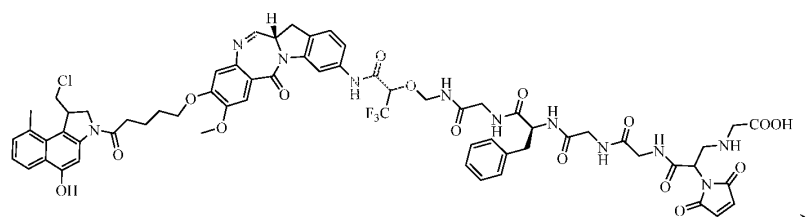


更进一步优选,通式为 II 或 III 的化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物,非限制性地选自以下结构:

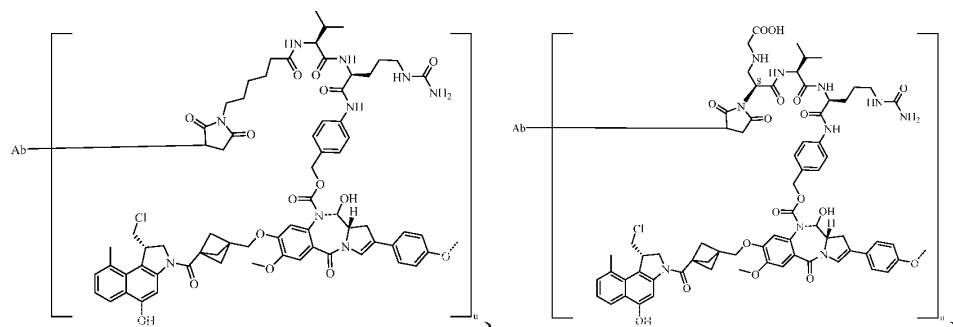


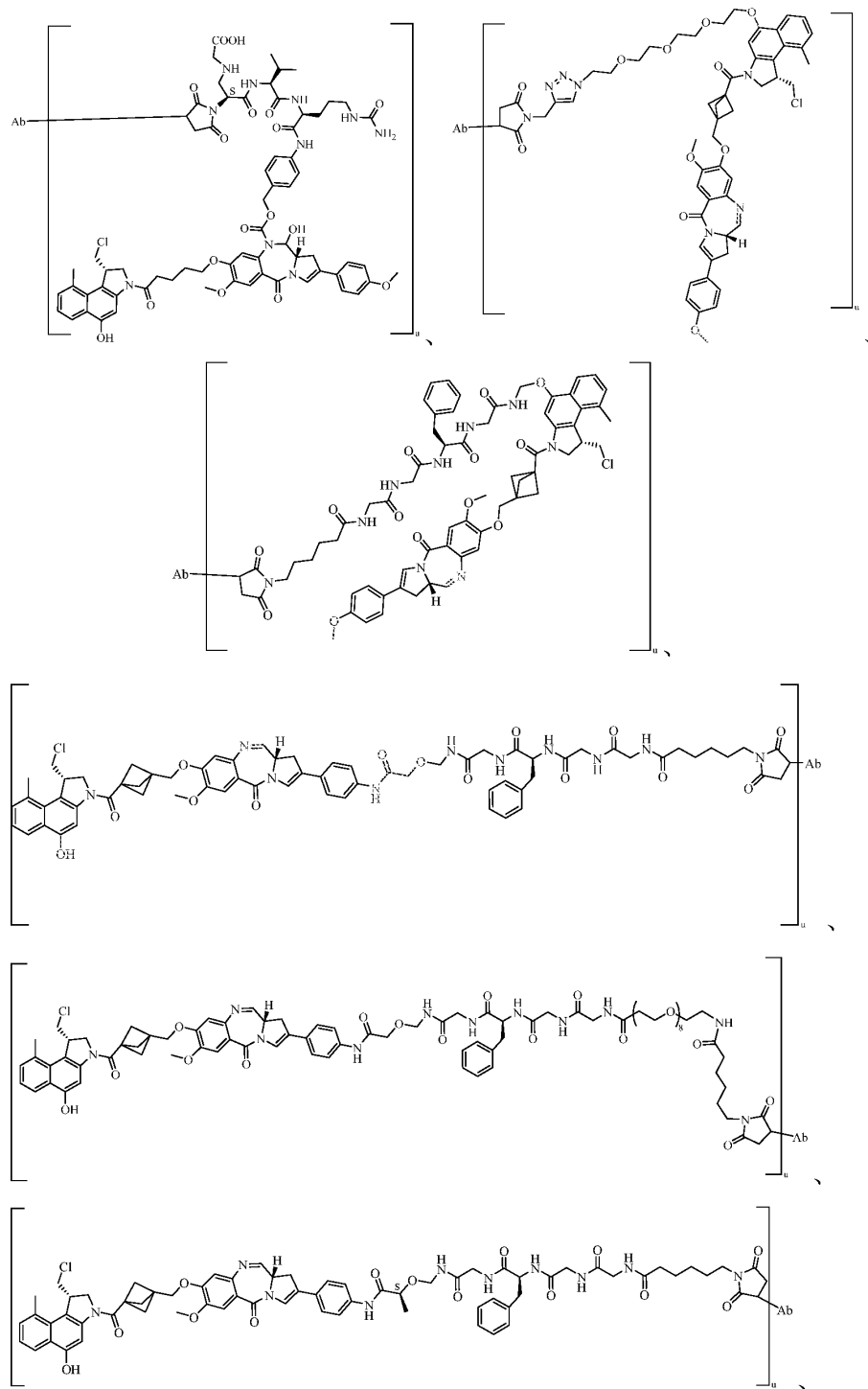


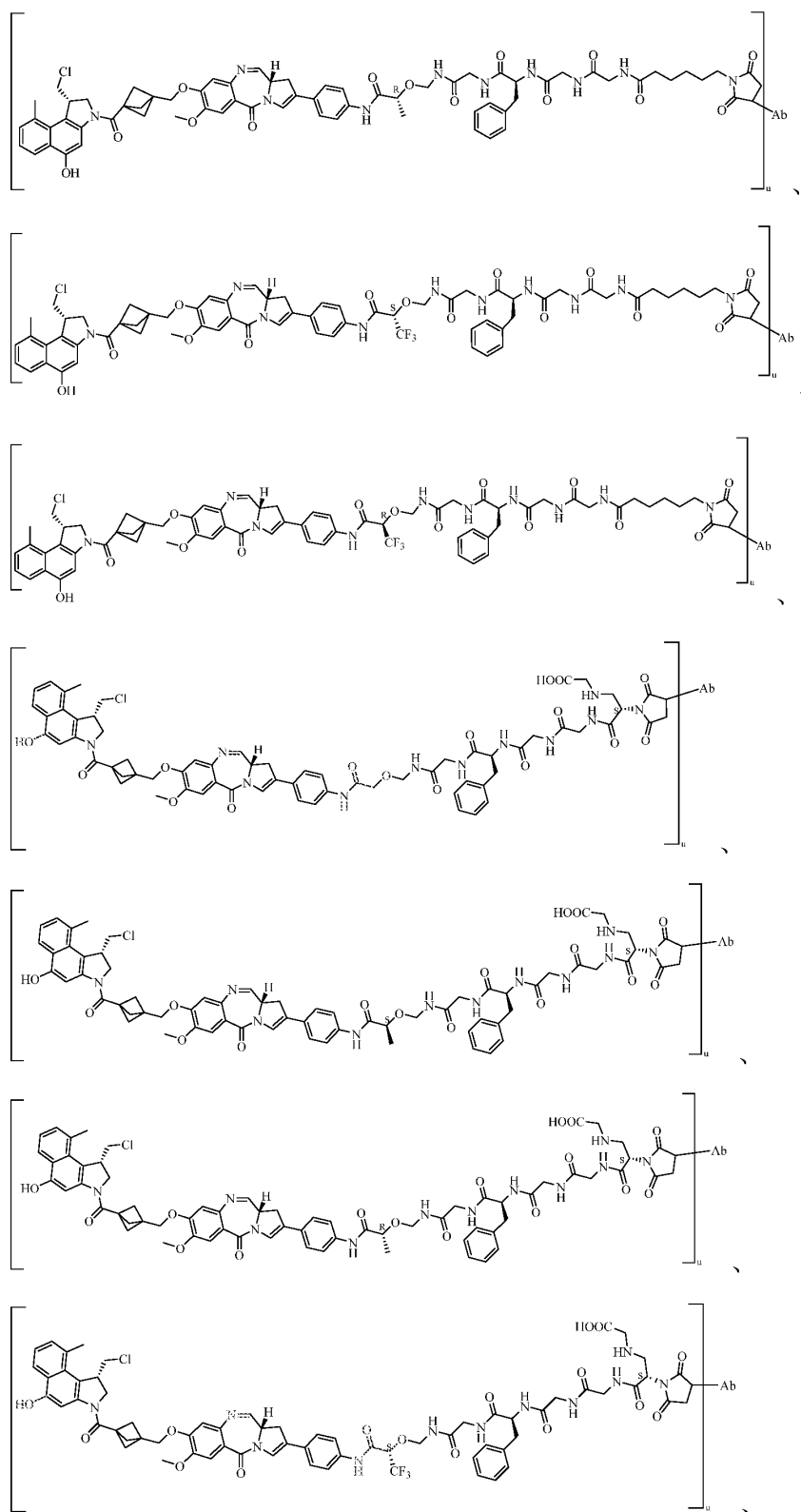


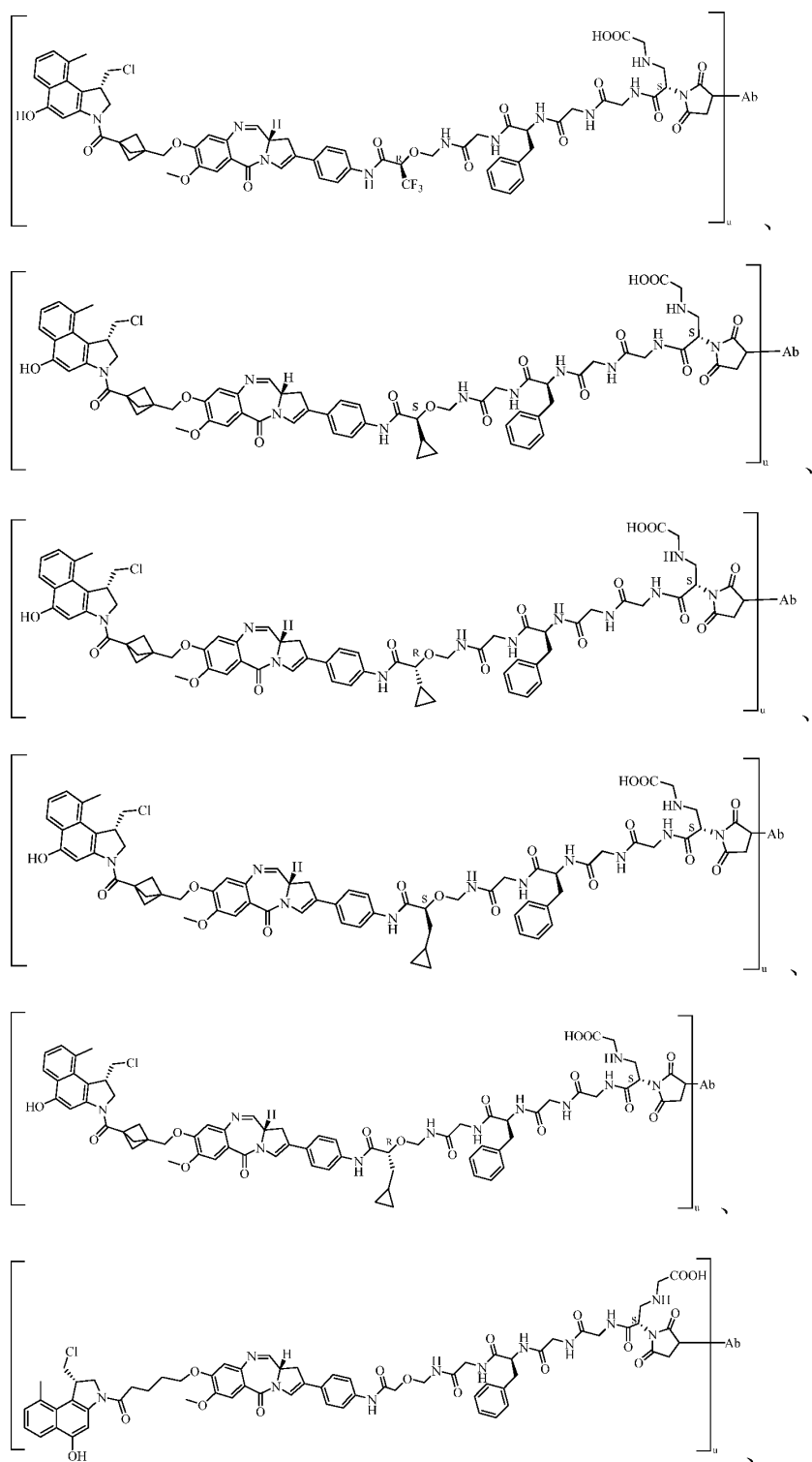


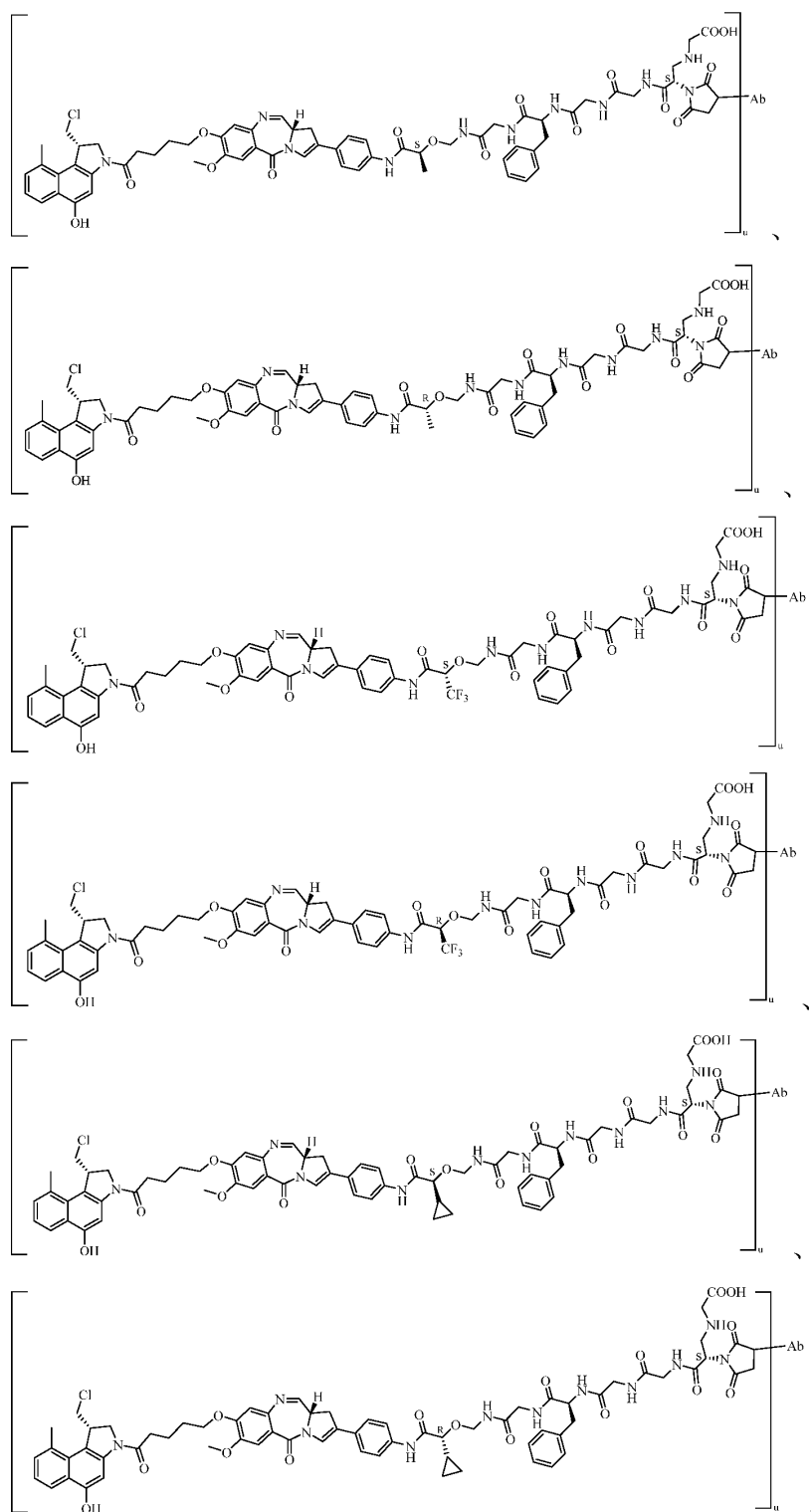
作为优选，抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐、氘代物及溶剂化物，
非限制性地选自以下结构：

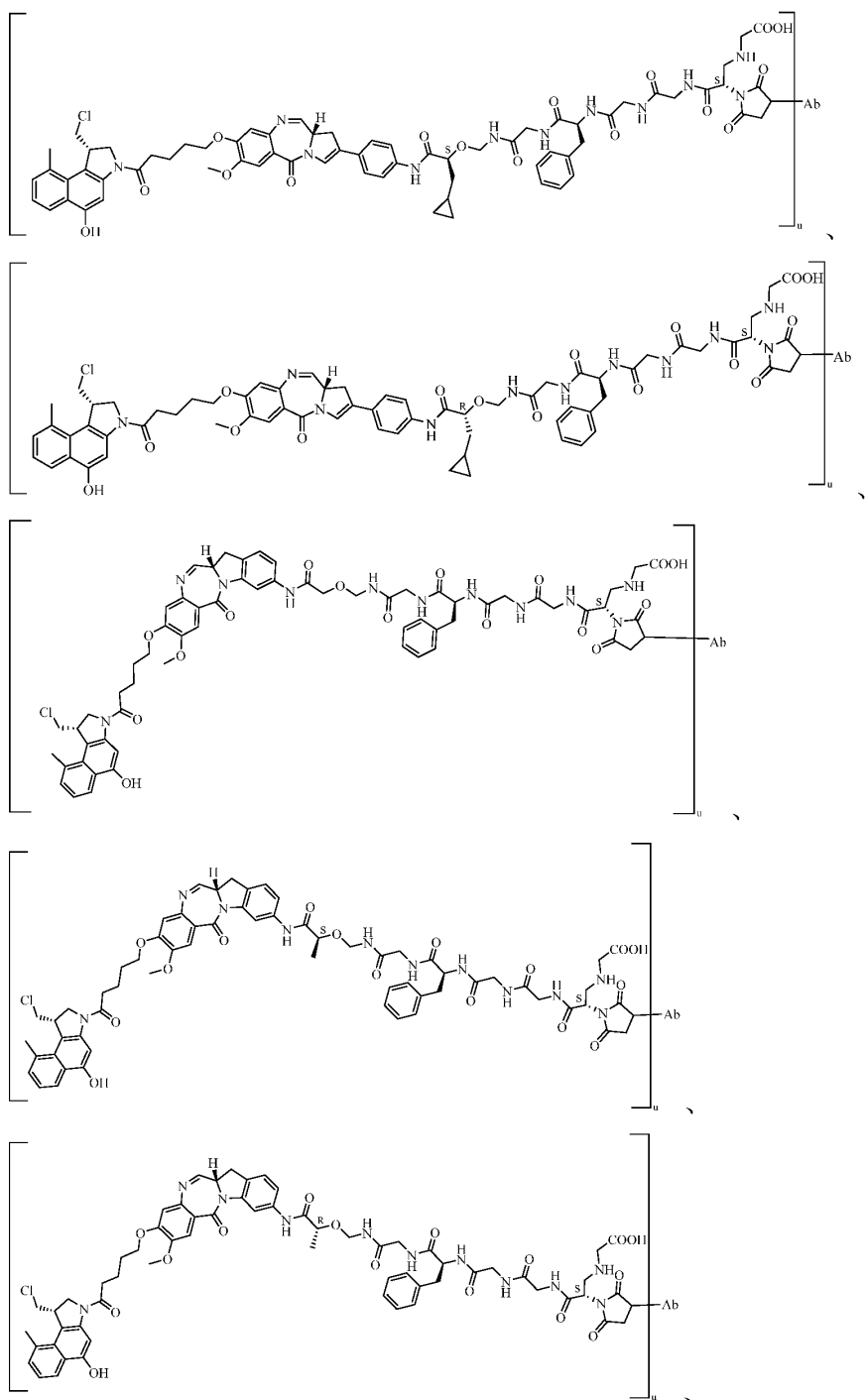


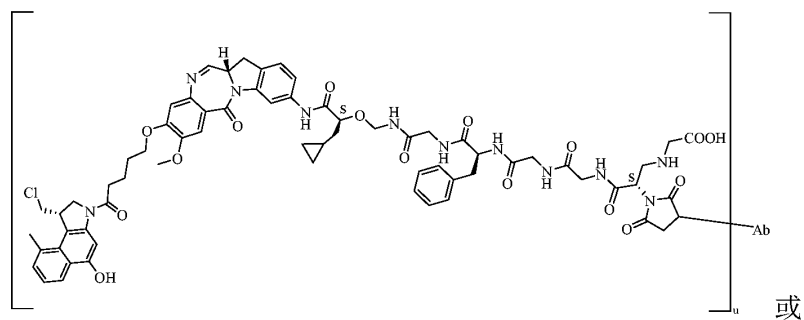
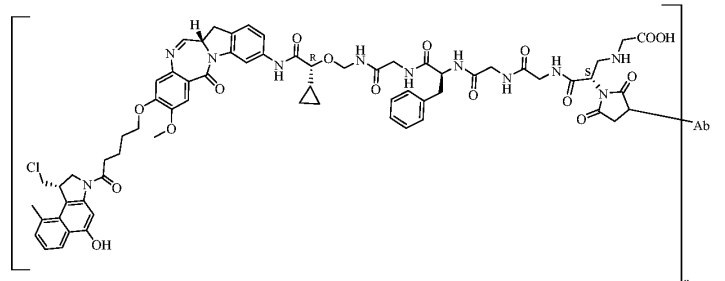
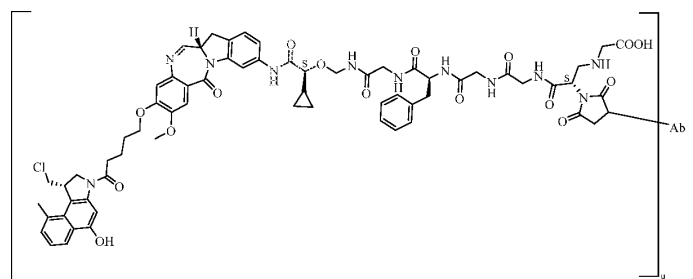
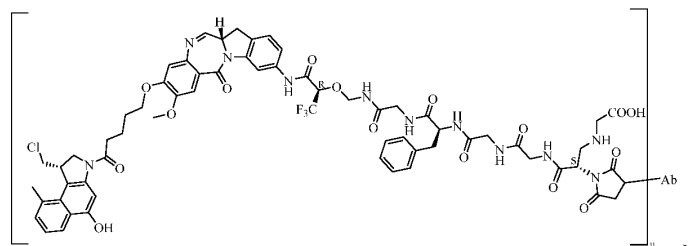
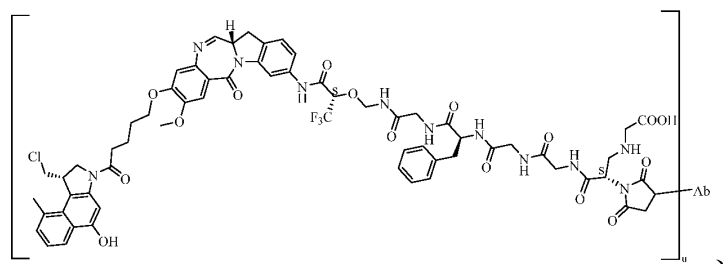


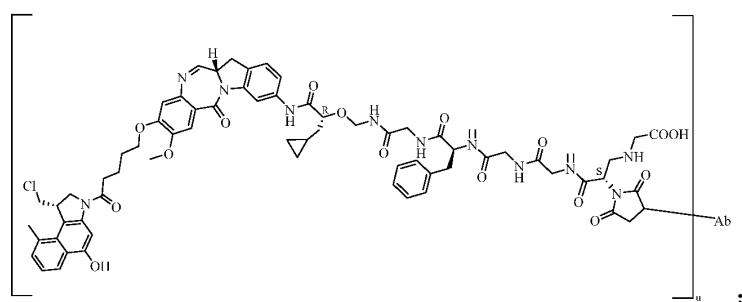












其中 u 选自 1-10 的整数。

具体实施方式

缩写和定义

除非另有说明，否则如本文所用的以下术语和短语旨在具有以下含义。当本文中使用的商标名称时，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、通用药物和活性成分。

除非有相反陈述，本文权利要求书和说明书中使用的术语具有下述含义。

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

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

入配体单元的半胱氨酸残基的硫原子，其形成抗体的链间二硫键。在另一方面中，硫原子是已经导入配体单元的半胱氨酸残基的硫原子（例如，通过定点诱变或化学反应）。在其他方面中，连接子结合的硫原子选自形成抗体的链间二硫键的半胱氨酸残基或已经引入配体单元的额半胱氨酸残基（例如，通过定点诱变或化学反应）。在一些实施方式中，按照 Kabat{[Kabat E.A 等, (1991)]《免疫学感兴趣的蛋白质序列》(Sequences of proteins of Immunological Interest), 第五版, NIH 出版物 91-3242}中的 EU 索引编号系统。

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

应用在抗体药物偶联物中的抗体包括，但不局限于，针对细胞表面受体和肿瘤相关抗原的抗体。这样的肿瘤相关抗原是业内所熟知的，可以通过业内熟知的抗体制备方法和信息来制备。为了开发可用于癌症诊断与治疗的有效的细胞水平目标物，研究人员力图找寻跨膜或其他肿瘤相关多肽。这些目标物能够特异性的表达在一种或多种癌细胞表面，而在一种或多种非癌细胞表面表达很少或不表达。通常，相对于非癌细胞表面而言，这样的肿瘤相关多肽在癌细胞表面更加过度表达。确认这样的肿瘤相关因子，可大大提高基于抗体治疗癌症的专一靶向特性。为方便起见，为业内所熟知的抗原相关信息标示如下，包括名称、其他名称、基因库登录号。与肿瘤相关抗原对应的核酸和蛋白序列可参见公开数据库，例如 Genbank。抗体靶向对应的肿瘤相关抗原包括所有的氨基酸序列变种和同种，与参考文献中确认的序列具有至少 70%, 80%, 85%, 90%或者 95%的同源性，或者

具备与引用文献中的肿瘤相关抗原序列具有完全一致的生物性质和特征。

术语“抑制”或“的抑制”指，减少了可检测的量，或完全阻止。

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

术语“自身免疫疾病”是源自针对个体自身的组织或蛋白质的疾病或紊乱。

术语“药物”是指细胞毒性药物，药物表示 d，能在肿瘤细胞内具有较强破坏其正常生长的化学分子。细胞毒性药物原则上在足够高的浓度下都可以杀死肿瘤细胞，但是由于缺乏特异性，在杀伤肿瘤细胞的同时，也会导致正常细胞的凋亡，导致严重的副作用。该术语包括毒素，如细菌、真菌、植物或动物来源的小分子毒素或酶活性毒素，放射性同位素（例如 At²¹¹、I¹³¹、I¹²⁵、Y⁹⁰、Re¹⁸⁶、Re¹⁸⁸、Sm¹⁵³、Bi²¹²、P³² 和 Lu¹⁷⁶ 的放射性同位素），毒性药物，化疗药物，抗生素和核溶酶，优选为毒性药物。

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

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

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

术语“抗体-药物偶联物”，指抗体通过稳定的连接单元与具有生物活性的药物相连。在本发明中“配体-药物偶联物”优选为抗体-药物偶联物(antibody drug

conjugate, ADC), 指把单克隆抗体或者抗体片段通过稳定的连接单元与具有生物活性的毒性药物相连。

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

术语“烷基”指饱和脂肪族烃基团, 其为包含 1 至 20 个碳原子的直链或支链基团, 优选含有 1 至 12 个碳原子的烷基, 更优选含有 1 至 10 个碳原子的烷基, 最优选含有 1 至 6 个碳原子的烷基。非限制性实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1, 1-二甲基丙基、1, 2-二甲基丙基、2, 2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1, 1, 2-三甲基丙基、1, 1-二甲基丁基、1, 2-二甲基丁基、2, 2-二甲基丁基、1, 3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2, 3-二甲基丁基、正庚基、2-甲基己基、3-甲基己基、4-甲基己基、5-甲基己基、2, 3-二甲基戊基、2, 4-二甲基戊基、2, 2-二甲基戊基、3, 3-二甲基戊基、2-乙基戊基、3-乙基戊基、正辛基、2, 3-二甲基己基、2, 4-二甲基己基、2, 5-二甲基己基、2, 2-二甲基己基、3, 3-二甲基己基、4, 4-二甲基己基、2-乙基己基、3-乙基己基、4-乙基己基、2-甲基-2-乙基戊基、2-甲基-3-乙基戊基、正壬基、2-甲基-2-乙基己基、2-甲基-3-乙基己基、2, 2-二乙基戊基、正癸基、3, 3-二乙基己基、2, 2-二乙基己基, 及其各种支链异构体等。更优选的是含有 1 至 6 个碳原子的低级烷基, 非限制性实施例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1, 1-二甲基丙基、1, 2-二甲基丙基、2, 2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1, 1, 2-三甲基丙基、1, 1-二甲基丁基、1, 2-二甲基丁基、2, 2-二甲基丁基、1, 3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2, 3-二甲基丁基等。烷基可以是取代的或非取代的, 当被取代时, 取代基可以在任何可使用的连接点上被取代, 所述取代基优选为一个或多个以下基团, 其独立地选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基、氧代基。

术语“取代烷基”指烷基中的氢被取代基团取代, 除非文中另有说明, 烷基的

取代基可以是选自下组的多种基团：-卤素、-OR'、-NR'R''、-SR'、-SiR'R''R'''、-OC(O)R'、-C(O)R'、-CO₂R'、-CONR'R''、-OC(O)NR'R''、-NR''C(O)R'、-NR'-C(O)NR''R'''、-NR''C(O)₂R'、-NH-C(NH₂)=NH、-NR'C(NH₂)=NH、-NH-C(NH₂)=NR'、-S(O)R'、-S(O)₂R'、-S(O)₂NR'R''、-NR'S(O)₂R''、-CN 和 -NO₂，取代基数量为 0 至(2m'+1)，其中 m' 为该基团中碳原子的总数。R'、R'' 和 R''' 各自独立的指代氢、未取代的 C₁₋₈ 烷基、未取代的芳基、由 1-3 个卤素取代的芳基、未取代的 C₁₋₈ 烷基、C₁₋₈ 烷氧基或 C₁₋₈ 硫代烷氧基、或未取代的芳基-C₁₋₄ 烷基。R' 和 R'' 连接于同一个氮原子时，它们可与该氮原子一起形成 3-、4-、5-、6-或 7-元环。例如，-NR'R'' 包括 1-吡咯烷基和 4-吗啉基。

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

术语“亚烷基”指饱和的直链或支链脂肪族烃基，其具有 2 个从母体烷的相同碳原子或两个不同的碳原子上除去两个氢原子所衍生的残基，其为包含 1 至 20 个碳原子的直链或支链基团，优选含有 1 至 12 个碳原子，更优选含有 1 至 6 个碳原子的亚烷基。亚烷基的非限制性实例包括但不限于亚甲基(-CH₂-)、1, 1-亚乙基(-CH(CH₃)-)、1, 2-亚乙基(-CH₂CH₂-)、1, 1-亚丙基(-CH(CH₂CH₃)-)、1, 2-亚丙基(-CH₂CH(CH₃)-)、1, 3-亚丙基(-CH₂CH₂CH₂-)、1, 4-亚丁基(-CH₂CH₂CH₂CH₂-)和 1, 5-亚丁基(-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-)等。亚烷基可以是取代的或非取代的，当被取代时，取代基可以在任何可使用的连接点上被取代，所述取代基优选独立地任选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基和氧代基中的一个或多个取代基所取代。

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

术语“环烷基”指饱和或部分不饱和单环或多环环状烃取代基，环烷基环包含

3 至 20 个碳原子，优选包含 3 至 12 个碳原子，更优选包含 3 至 10 个碳原子，最优选包含 3 至 8 个碳原子。单环环烷基的非限制性实例包括环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、环己二烯基、环庚基、环庚三烯基、环辛基等；多环环烷基包括螺环、稠环和桥环的环烷基。

术语“杂环基”指饱和或部分不饱和单环或多环环状烃取代基，其包含 3 至 20 个环原子，其中一个或多个环原子为选自氮、氧或 $S(O)_m$ （其中 m 是整数 0 至 2）的杂原子，但不包括 -O-O-、-O-S- 或 -S-S- 的环部分，其余环原子为碳。优选包含 3 至 12 个环原子，其中 1~4 个是杂原子；更优选环烷基环包含 3 至 10 个环原子。单环杂环基的非限制性实例包括吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、硫代吗啉基、高哌嗪基等。多环杂环基包括螺环、稠环和桥环的杂环基。

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

术语“卤代烷基”指烷基被一个或多个卤素取代，其中烷基如上所定义。

术语“氘代烷基”指烷基被一个或多个氘原子取代，其中烷基如上所定义。

术语“羟基”指 -OH 基团。

术语“卤素”指氟、氯、溴或碘。

术语“氨基”指 $-NH_2$ 。术语“硝基”指 $-NO_2$ 。

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

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

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

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

的差别，又可分为不同的亚类，如 IgG 可分为 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4。轻链通过恒定区的不同分为 κ 链或 λ 链。五类 Ig 中每类 Ig 都可以有 κ 链或 λ 链。本发明所述的抗体优选为针对靶细胞上细胞表面抗原的特异性抗体，非限制性实施例为以下抗体：抗 EGFRvIII 抗体、抗 DLL-3 抗体、抗 PSMA 抗体、抗 CD70 抗体、抗 MUC16 抗体、抗 ENPP3 抗体、抗 TDGF1 抗体、抗 ETBR 抗体、抗 MSLN 抗体、抗 TIM-1 抗体、抗 LRRC15 抗体、抗 LIV-1 抗体、抗 CanAg/AFP 抗体、抗 cladin 18.2 抗体、抗 Mesothelin 抗体、抗 HER2(ErbB2) 抗体、抗 EGFR 抗体、抗 c-MET 抗体、抗 SLITRK6 抗体、抗 KIT/CD117 抗体、抗 STEAP1 抗体、抗 SLAMF7/CS1 抗体、抗 NaPi2B/SLC34A2 抗体、抗 GPNMB 抗体、抗 HER3(ErbB3) 抗体、抗 MUC1/CD227 抗体、抗 AXL 抗体、抗 CD166 抗体、抗 B7-H3(CD276) 抗体、抗 PTK7/CCK4 抗体、抗 PRLR 抗体、抗 EFNA4 抗体、抗 5T4 抗体、抗 NOTCH3 抗体、抗 Nectin 4 抗体、抗 TROP-2 抗体、抗 CD142 抗体、抗 CA6 抗体、抗 GPR20 抗体、抗 CD174 抗体、抗 CD71 抗体、抗 EphA2 抗体、抗 LYPD3 抗体、抗 FGFR2 抗体、抗 FGFR3 抗体、抗 FR α 抗体、抗 CEACAMs 抗体、抗 GCC 抗体、抗 Integrin Av 抗体、抗 CAIX 抗体、抗 P-cadherin 抗体、抗 GD3 抗体、抗 Cadherin 6 抗体、抗 LAMP1 抗体、抗 FLT3 抗体、抗 BCMA 抗体、抗 CD79b 抗体、抗 CD19 抗体、抗 CD33 抗体、抗 CD56 抗体、抗 CD74 抗体、抗 CD22 抗体、抗 CD30 抗体、抗 CD37 抗体、抗 CD138 抗体、抗 CD352 抗体、抗 CD25 抗体或抗 CD123 抗体中一个或多个。

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

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

本发明的一个实施方式中，细胞毒性药物通过连接单元偶联在抗体链间打开

的半胱氨酸巯基-SH 和/或定点突变的半胱氨酸残基的巯基-SH 上，一般地，偶联反应中能与抗体偶联的药物分子数将小于或等于理论上的最大值。

可以用以下非限制性方法控制配体细胞毒性药物偶联物的载量，包括：

- (1) 控制连接试剂和单抗的摩尔比，
- (2) 控制反应时间和温度，
- (3) 选择不同的反应试剂。

常规的药物组合物的制备见中国药典。

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

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

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

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

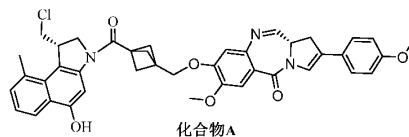
“非天然氨基酸”指通过合成手段所获得的氨基酸。

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

分数、比例、比率、或份数按重量计。

实施例 1:

化合物 **A** 的合成:

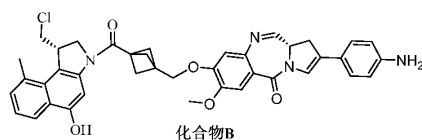


化合物 **A** 按照专利“CN109180681A”的实施例 14 化合物 012 的合成”提供的方法合成。

实施例 2:

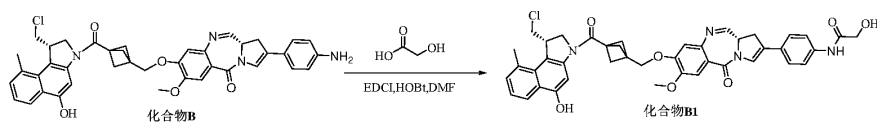
化合物 **B** 和化合物 **B1-9** 的合成:

1. 化合物 **B** 的制备



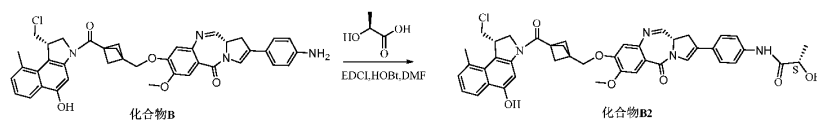
化合物 **B** 按照专利“CN109180681A”的“通用步骤 E: CBI-苯并二氮杂卓衍生物合成方法一”提供的方法合成。

2. 化合物 **B1** 的制备



于 25mL 单口瓶中加入化合物 **B**(50mg, 0.072mmol), 羟基乙酸(11mg, 0.14mmol)、EDCI(20mg, 0.10mmol)、HOBt(13.5mg, 0.10mmol)及 3mLDMF, 室温反应 2h, HPLC 监测反应。反应结束后, 反应液直接经过高效液相纯化, 得到化合物 **B1**(42mg), 收率 78 %, LC-MS: $[M+H]^+ = 747.2$ 。

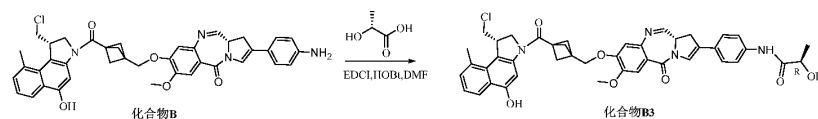
3. 化合物 **B2** 的制备



参照化合物 **B1** 的合成方法, 于 25mL 单口瓶中加入化合物

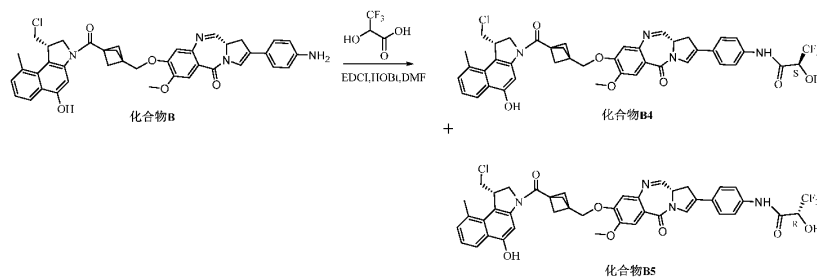
B(50mg,0.072mmol) , L- 乳酸 (12.6mg,0.14mmol) 、 EDCI(20mg,0.10mmol) 、 HOBt(13.5mg,0.10mmol)及 3mLDMF, 室温反应 2h, HPLC 监测反应。反应结束后, 反应液直接经过高效液相纯化, 得到化合物 **B2**(37mg), 收率 68%, LC-MS: $[M+H]^+ = 761.2$ 。

4. 化合物 **B3** 的制备



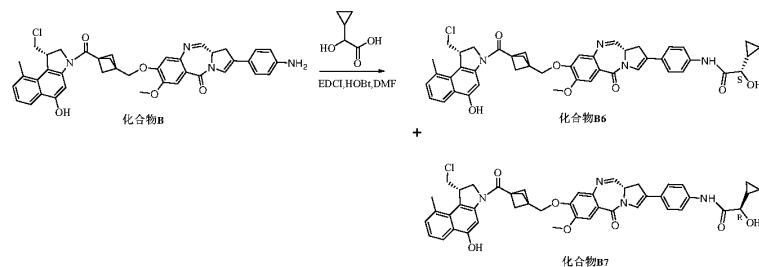
参照化合物 **B2** 的合成方法, 将 L-乳酸换成 D-乳酸, 即得化合物 **B3**, LC-MS: $[M+H]^+ = 761.2$ 。

5. 化合物 **B4** 及 **B5** 的制备



于 25mL 单口瓶中加入化合物 **B**(60mg, 0.087mmol), 3,3,3-三氟乳酸(25mg, 0.17mmol)、EDCI(25mg, 0.13mmol)、HOBt(17.6mg,0.13mmol)及 3mLDMF, 室温反应 1.5h, HPLC 监测反应。反应结束后, 反应液直接经过高效液相纯化, 产品制备液冻干分别得到化合物 **B4**(26mg), 化合物 **B5**(22mg) ,LC-MS: $[M+H]^+ = 815.2$ 。

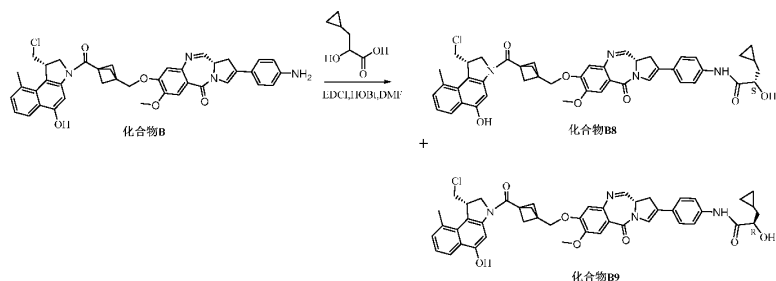
6. 化合物 **B6** 和 **B7** 的制备



参照化合物 **B4** 和 **B5** 的合成方法, 利用高效液相纯化, 即得化合物 **B6** 和

B7, LC-MS: $[M+H]^+=787.3$ 。

7. 化合物 **B8** 和 **B9** 的制备

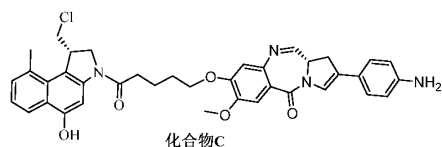


参照化合物 **B4** 和 **B5** 的合成方法, 利用高效液相纯化, 即得化合物 **B8** 和 **B9**, LC-MS: $[M+H]^+=801.3$ 。

实施例 3:

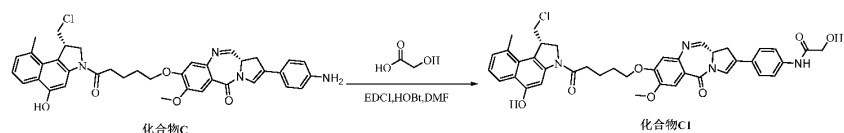
化合物 **C** 和 **C1-9** 的合成:

1. 化合物 **C** 的制备



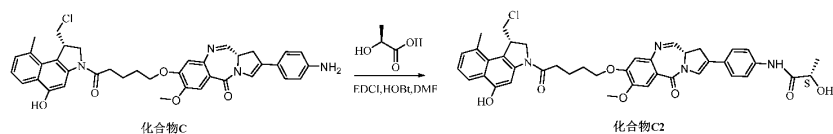
化合物 **C** 按照专利“CN109180681A”的“通用步骤 E: CBI-苯并二氮杂卓衍生物合成方法二”提供的方法合成。

2. 化合物 **C1** 的制备



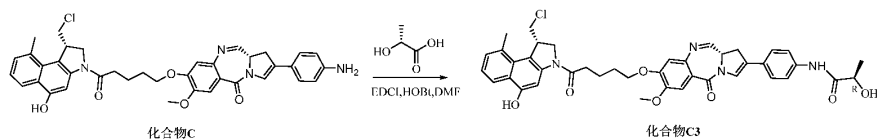
于 25mL 单口瓶中加入化合物 **C**(50mg, 0.075mmol), 羟基乙酸(11.4mg, 0.15mmol)、EDCI(21.6mg, 0.11mmol)、HOBT(15.2mg, 0.11mmol)及 3mLDMF, 室温反应 2h, HPLC 监测反应。反应结束后, 反应液直接经过高效液相纯化, 得到化合物 **C1**(35mg), 收率 65%, LC-MS: $[M+H]^+=723.2$ 。

3. 化合物 **C2** 的制备



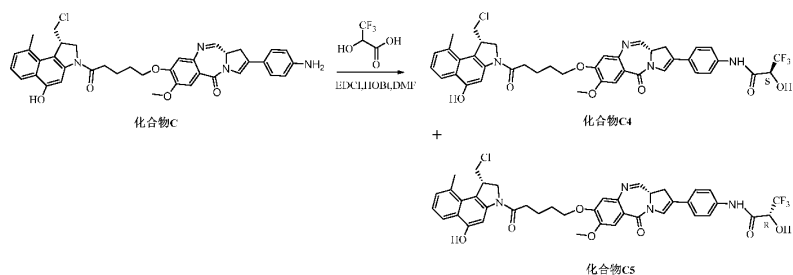
参照化合物 **C1** 的合成方法，于 25mL 单口瓶中加入化合物 **C**(50mg, 0.075mmol)，L-乳酸 (13mg, 0.15mmol)、EDCI(21.6mg, 0.11mmol)、HOBT(15.2mg, 0.11mmol)及 3mLDMF，室温反应 2h，HPLC 监测反应。反应结束后，反应液直接经过高效液相纯化，得到化合物 **C2**(33.5mg)，收率 63%，LC-MS: $[M+H]^+ = 737.2$ 。

4. 化合物 **C3** 的制备:



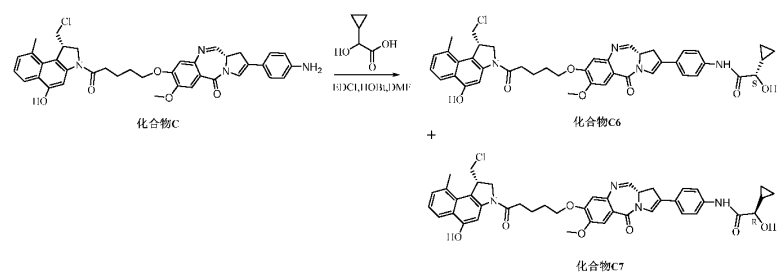
参照化合物 **C2** 的合成方法，将 L-乳酸换成 D-乳酸，即得化合物 **C3**，LC-MS: $[M+H]^+ = 737.2$ 。

5. 化合物 **C4** 及 **C5** 的制备:



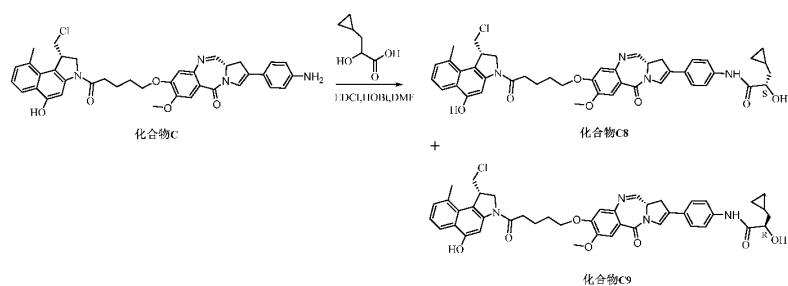
于 25mL 单口瓶中加入化合物 **C**(60mg, 0.09mmol)，3,3,3-三氟乳酸(26mg, 0.18mmol)、EDCI(25mg, 0.13mmol)、HOBT(17.6mg, 0.13mmol)及 3mLDMF，室温反应 1.5h，HPLC 监测反应。反应结束后，反应液直接经过高效液相纯化，产品制备液冻干分别得到化合物 **C4**(21mg)，化合物 **C5**(25mg)，LC-MS: $[M+H]^+ = 791.2$ 。

6. 化合物 **C6** 和 **C7** 的制备:



参照化合物 **C4** 和 **C5** 的合成方法，利用高效液相纯化，即得化合物 **C6** 和 **C7**，LC-MS: $[M+H]^+=763.3$ 。

7. 化合物 **C8** 和 **C9** 的制备：

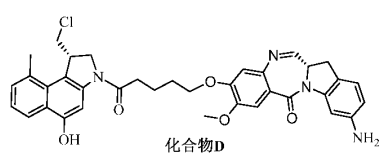


参照化合物 **C4** 和 **C5** 的合成方法，利用高效液相纯化，即得化合物 **C8** 和 **C9**，LC-MS: $[M+H]^+=777.3$ 。

实施例 4：

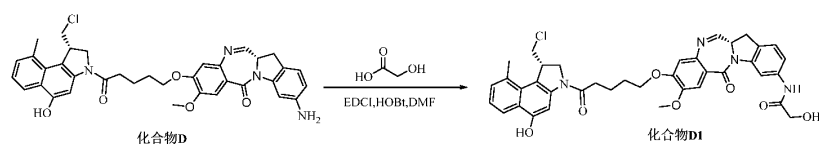
化合物 **D1** 和 **D1-9** 的合成：

1. 化合物 **D** 的制备



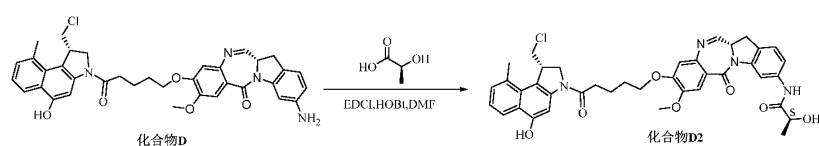
化合物 **D** 参照专利“CN109180681A”的“通用步骤 A：苯并二氮杂卓类衍生物的合成一及通用步骤通用步骤 E：CBI-苯并二氮杂卓衍生物合成方法二”提供的方法合成。

2. 化合物 **D1** 的制备



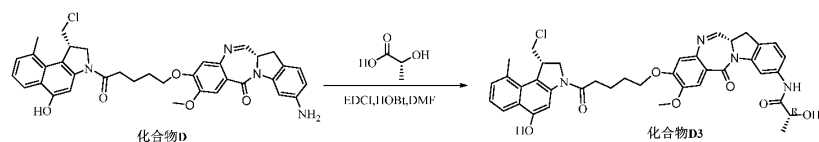
于 25mL 单口瓶中加入化合物 **D**(50mg, 0.078mmol), 羟基乙酸(12mg, 0.16mmol)、EDCI(22.4mg,0.12mmol)、HOBt(15.8mg,0.12mmol)及 3mLDMF, 室温反应 2h, HPLC 监测反应。反应结束后, 反应液直接经过高效液相纯化, 得到化合物 **D1**(34mg), 收率 62.5 %, LC-MS: $[M+H]^+ = 697.2$ 。

3.化合物 **D2** 的制备



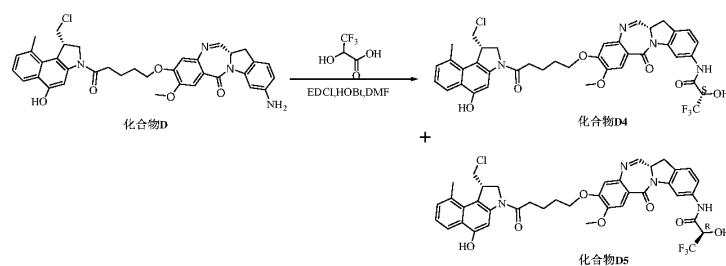
于 25mL 单口瓶中加入化合物 **D**(50mg, 0.078mmol), L-乳酸(14mg, 0.16mmol)、EDCI(22.4mg,0.12mmol)、HOBt(15.8mg,0.12mmol)及 3mLDMF, 室温反应 2h, HPLC 监测反应。反应结束后, 反应液直接经过高效液相纯化, 得到化合物 **D2**(33.8mg), 收率 71 %, LC-MS: $[M+H]^+ = 711.2$ 。

4.化合物 **D3** 的制备



参照化合物 **D2** 的合成方法, D-乳酸替代 L-乳酸, 即得化合物 **D3**, LC-MS: $[M+H]^+ = 711.2$ 。

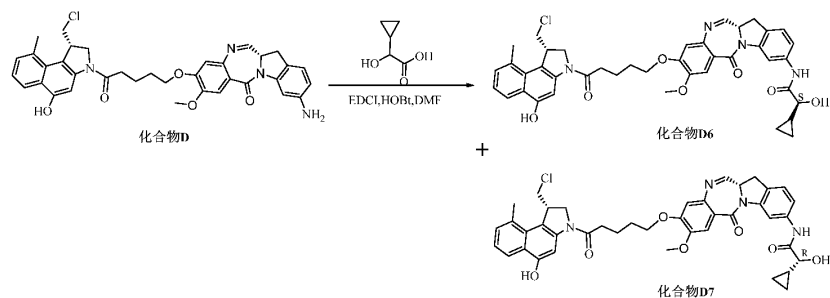
4.化合物 **D4** 和 **D5** 的制备



于 25mL 单口瓶中加入化合物 **D**(60mg, 0.094mmol), 3,3,3-三氟乳酸(27mg, 0.187mmol)、EDCI(27mg, 0.14mmol)、HOBt(19mg,0.14mmol)及 3mLDMF, 室温

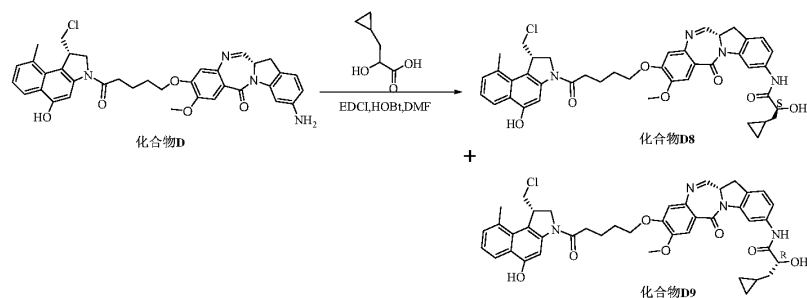
反应 1.5h, HPLC 监测反应。反应结束后, 反应液直接经过高效液相纯化, 产品制备液冻干分别得到化合物 **D4**(27mg), 化合物 **D5**(29mg), LC-MS: $[M+H]^+=765.2$ 。

6. 化合物 **D6** 和 **D7** 的制备



参照化合物 **D4** 和 **D5** 的合成方法, 利用高效液相纯化, 即得化合物 **D6** 和 **D7**, LC-MS: $[M+H]^+=737.3$ 。

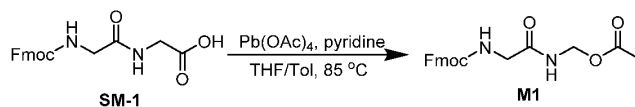
7. 化合物 **D8** 和 **D9** 的制备



参照化合物 **D4** 和 **D5** 的合成方法, 利用高效液相纯化, 即得化合物 **D8** 和 **D9**, LC-MS: $[M+H]^+=751.3$ 。

实施例 5:

化合物 **M1** 的合成:

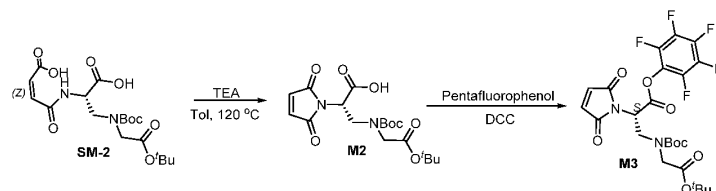


于 5L 单口瓶中加入 *N*-苄氧羰基-甘氨酸-甘氨酸(100g, 28 mmol, 1.0eq), 四乙酸铅(175 g, 395 mmol, 1.4 eq), 2L 四氢呋喃和 670 mL 甲苯, 搅拌均匀, 加热至 85°C 反应 2.5 h。TLC 监控, 原料反应完后, 冷却至室温, 过滤, 滤液减压浓

缩，残余物经柱色谱纯化(PE: EA=5:1-2:1)，得化合物 **M1** (87g)，收率 84.4%，LC-MS: $[M+NH_4]^+=386.0$ 。

实施例 6:

化合物 **M3** 的合成:

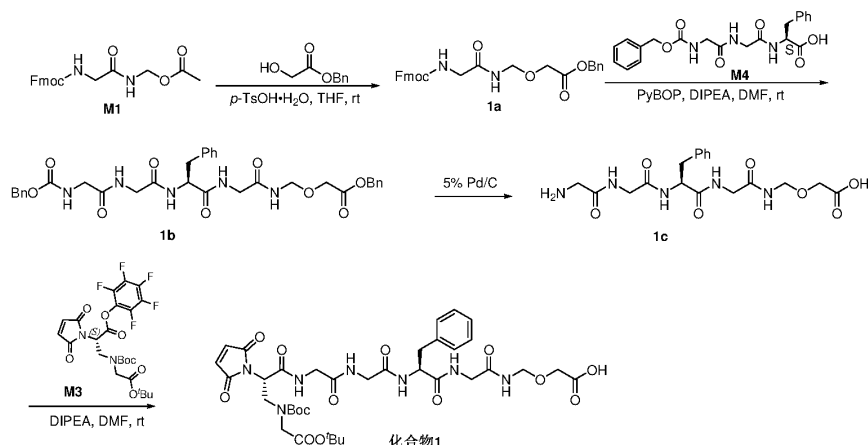


于 1000 mL 单口瓶中加入化合物 **SM-2**(按照专利 CN108452321A 公布的方法合成)(40 g, 96 mmol, 1.0 eq)，三乙胺(26.7 mL, 2.0 eq)，甲苯(400 mL)，升温至 120 °C 下回流反应 2h。TLC 监测基本完全反应，降温至 50 °C 下减压旋除溶剂。用乙酸乙酯(150 mL)，水(40 mL)溶解，冰浴搅拌下用 1M HCl 调 pH 至 2-3，分液。水层用乙酸乙酯再萃取一次，合并有机层，加入无水硫酸钠干燥。过滤后，浓缩得到淡黄色油状粗品，粗品经柱层析纯化(DCM:MeOH=40:1)，得到 26.6 g 化合物 **M2**；LC-MS: $[M+H]^+=399.3$ 。

于 1L 单口瓶，加入化合物 **M2**(26.5 g, 60.5 mmol, 1.0eq)、五氟苯酚(12.2 g, 66.5 mmol, 1.1 eq)、DCC(13.7 g, 66.5 mmol, 1.1 eq)及 THF(300 mL)，室温反应 30 min(采用 TLC 监测)，过滤滤去不溶物。反应液直接经制备纯化，制备液水泵减压水浴 35 °C 浓缩除去乙腈，冻干得到 31.5g 化合物 **M3**，收率 64%；LC-MS: $[M+H]^+=565.1$ 。

实施例 7:

化合物 **1** 的合成:



第一步：化合物 **1a** 的合成

于 250 mL 单口瓶中，加入 **M1** (6 g, 16.3 mmol)，100 mL THF，对甲苯磺酸一水合物(0.31 g, 1.63 mmol)，搅拌冷却至 0 °C，滴加羟乙酸苄酯 (5.4 g, 32.6 mmol)，滴毕自然升温至室温反应(反应约 2-4 h)，TLC 监控。反应结束，加入饱和 NaHCO₃ 溶液，用乙酸乙酯萃取，饱和氯化钠溶液洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，浓缩，残余物经硅胶柱纯化 (PE:EA=10:1-5:1-1:1) 得化合物 **1a**(4g)，收率 52%；LC-MS: [M+H]⁺=475.2。

第二步：化合物 **1b** 的合成

于 25 mL 单口瓶，加入化合物 **1a**(2 g, 4.2 mmol)，10 mL DMF，0 °C 搅拌，加入 DBU(766 mg, 5.04 mmol)，反应 1 h，TLC 监测 Fmoc 脱保护完成后，待用；

另取 25 mL 单口瓶中加入化合物 **M4**(参考专利 CN111051330 A 公布的方法制备)(1.73 g, 4.2 mmol)，PyBOP(2.61 g, 5.04 mmol)，HOBt(680 mg, 5.04 mmol)及 10 mL DMF，冰水浴下加入 DIPEA(830 uL, 5.04 mmol)，继续搅拌 30 min，将上述反应液加至反应瓶中，升至室温反应。HPLC 监测反应结束后，反应液经制备液相纯化，得到产品制备液，制备液经二氯甲烷萃取，饱和氯化钠溶液洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩，得到化合物 **1b**(1.7g)，收率 63%；LCMS: [M+H]⁺=648.3。

第三步：化合物 **1c** 的合成

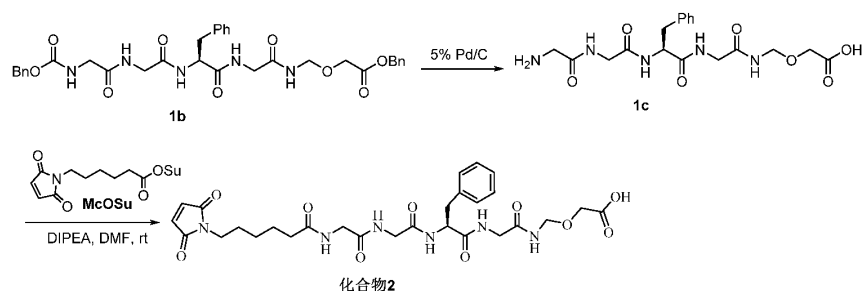
于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **1b**(900 mg, 1.39 mmol)，15 mL DMF 溶清后，加入 900 mg 5%Pd/C，氢化反应 2 h，反应完毕，过滤，得滤液，未经纯化直接用于下一步反应。

第四步：化合物 **1** 的合成

将上步所得的化合物 **1c** 的 DMF 溶液置于冰水浴中，加入 DIPEA(235 μ L, 1.39 mmol)，再加入化合物 **M3**(784 mg, 1.39 mmol)，加毕升至室温反应 1 h。HPLC 监测反应完毕，反应液经高效液相纯化，得制备液，制备液冻干得到化合物 **1** (604 mg)，收率 54%；LC-MS: $[M+H]^+ = 804.4$ 。

实施例 8：

化合物 **2** 的合成：



第一步：化合物 **1c** 的合成

于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **1b**(900 mg, 1.39 mmol)，15 mL DMF 溶清后，加入 900 mg 5%Pd/C，氢化反应 2 h，反应完毕，过滤，得滤液，未经纯化直接用于下一步反应。

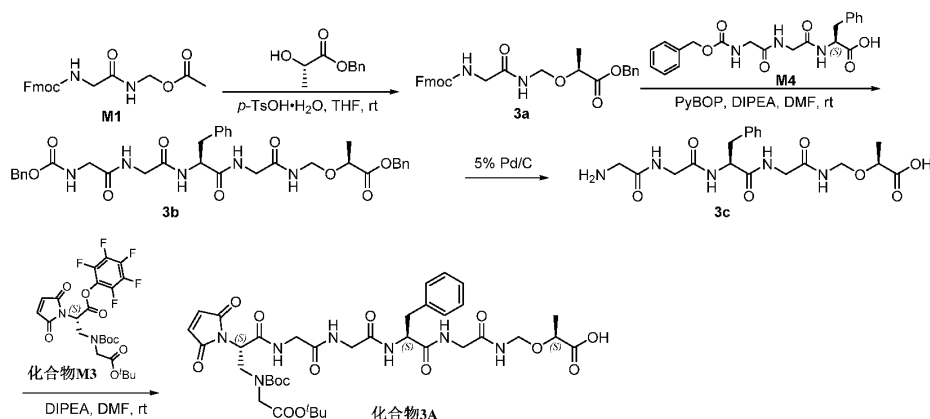
第二步：化合物 **2** 的合成

将上步所得的化合物 **1c** 的 DMF 溶液置于冰水浴中，加入 DIPEA(235 μ L, 1.39 mmol)，再加入 McOSu(428.5 mg, 1.39 mmol)，加毕升至室温反应 1 h。HPLC 监测反应完毕，反应液经高效液相纯化，得制备液，制备液冻干得到化合物 **2** (500 mg)，收率 58%；LC-MS: $[M+H]^+ = 617.3$ 。

实施例 9：

化合物 **3A** 和 **3B** 的合成：

1.化合物 **3A** 的制备



第一步：化合物 **3a** 的合成

于 25mL 单口瓶中加入 **M1**(1.5g, 4.0mmol, 1.0eq), 对甲苯磺酸一水合物 (77mg, 0.4mmol, 0.1eq)及 15 mL THF, 搅拌均匀后, 降至 0 °C, 再缓慢加入 *L*-乳酸苄酯(2.2 g, 12.0mmol, 3 eq), 加完后升至室温反应。TLC 监控, 反应结束后, 加入饱和 NaHCO₃ 溶液, 用乙酸乙酯萃取, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 残余物经反相柱纯化得化合物 **3a**(1.03g), 收率 52%, LC-MS: [M+NH₄]⁺=506.2。

第二步：化合物 **3b** 的合成

于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **3a**(1g, 2.04mmol)和 8 mL DMF, 搅拌均匀后, 降至 0 °C, 再缓慢加入 DBU(373mg, 2.45mmol), 加完后升至室温反应。TLC 监控, 反应结束, 记为反应液①;

另取 25 mL 单口瓶中加入 **M4**(846mg, 2.04mmol), PyBOP(1.27g, 2.45mmol)和 6 mL DMF, 室温搅拌 5min, 加入反应液①, 室温反应, HPLC 监测。反应完毕, 反应液经高效液相纯化, 冻干得化合物 **3b**(913mg), 收率 67.6%, LC-MS: [M+NH₄]⁺=679.2。

第三步：化合物 **3c** 的合成

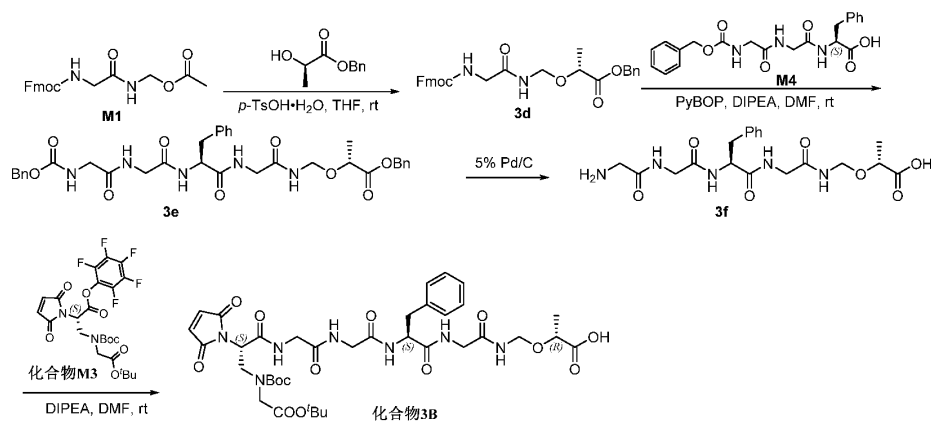
于 100mL 单口瓶中加入化合物 **3b** (800mg, 1.21 mmol, 1.0 eq), DMF(15 mL)溶解, 再加入 5%Pd/C(800mg), 室温氢化反应 2 h(采用 HPLC 监测反应进程)。过滤 Pd/C, 滤液未经浓缩, 直接用于下一步。

第四步：化合物 **3A** 的合成

将上步所得化合物 **3c** 的 DMF 溶液置于冰水浴中, 加入 DIPEA(219 uL, 1.21 mmol), 再加入化合物 **M3**(683mg, 1.21mmol), 加毕升至室温反应 1 h。HPLC 监

测反应完毕，反应液经高效液相纯化，得制备液，制备液冻干得到化合物 **3A** (524mg)，收率 53%，LC-MS: $[M-H]^- = 816.3$ 。

2. 化合物 **3B** 的制备

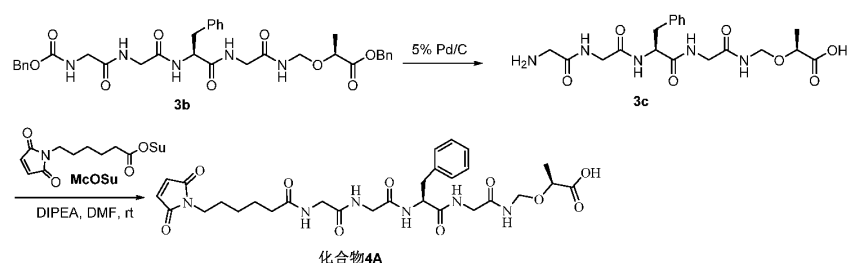


参照上述化合物 **3A** 的合成方法，将第一步中 L-乳酸苄酯改成 D-乳酸苄酯，即得化合物 **3B**，LC-MS: $[M-H]^- = 816.3$ 。

实施例 10:

化合物 **4A** 和 **4B** 的合成:

1. 化合物 **4A** 的制备



第一步：化合物 **3c** 的合成

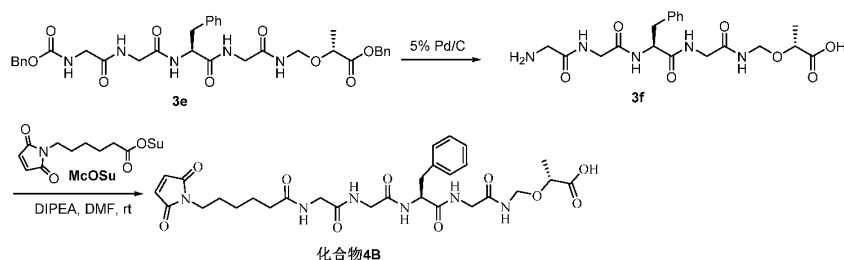
于 100mL 单口瓶中加入 **3b** (800mg, 1.21 mmol, 1.0 eq)，DMF(15 mL)溶解，再加入 5%Pd/C(800mg)，室温氢化反应 2 h(采用 HPLC 监测反应进程)。过滤 Pd/C，滤液未经浓缩，直接用于下一步。

第二步：化合物 **4A** 的合成

将上步所得的化合物 **3c** 的 DMF 溶液置于冰水浴中，加入 DIPEA(219 μ L, 1.21 mmol)，再加入 McOSu(373 mg, 1.21 mmol)，加毕升至室温反应 1 h。HPLC

监测反应完毕，反应液经高效液相纯化，得制备液，制备液冻干得到化合物 **4A** (450 mg)，收率 59%；LC-MS: $[M+H]^+=631.3$ 。

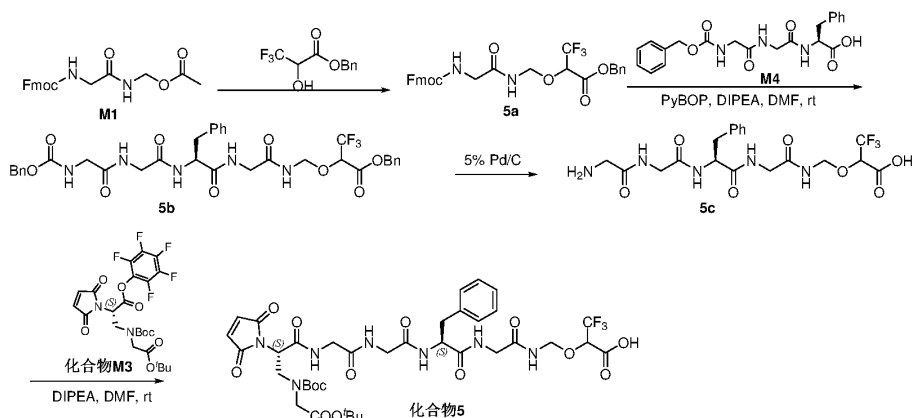
2. 化合物 **4B** 的合成



参照化合物 **4A** 的合成方法，得到化合物 **4B**，LC-MS: $[M+H]^+=631.3$ 。

实施例 11:

化合物 **5** 的合成:



第一步：化合物 **5a** 的合成

于 250 mL 单口瓶中加入 **M1**(10 g, 27.1 mmol), 3, 3, 3-三氟乳酸苄酯(参照专利 WO2020063673A1 公布的方法制备) (12.7 g, 54.3 mmol), 醋酸锌(9.96 g, 54.3 mmol)及 100 mL 甲苯，加热至 100 °C 反应 4 h。反应完毕，降至室温，过滤除去不溶物，滤液浓缩得粗品。粗品经硅胶柱层析纯化 (PE:EA=10:1-5:1-2:1) 得到化合物 **5a**(5.15g)，收率 35.1%；LC-MS: $[M+H]^+=543.2$ 。

第二步：化合物 **5b** 的合成

于 50 mL 单口瓶中加入化合物 **5a**(5 g, 9.2 mmol)及 15 mL DMF，溶清后，冰水浴下，加入 DBU(1.68 g, 11 mmol)，反应 1 h，记为反应液①；

另取 50 mL 单口瓶，加入 **M4**(3.8 g, 9.2 mmol)，PyBOP(5.75 g, 11 mmol)，

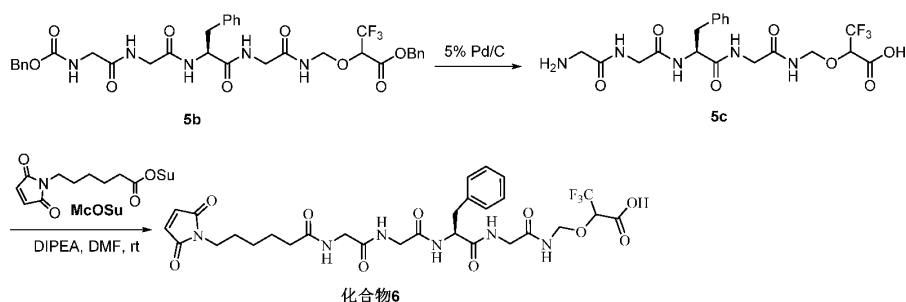
HOBt(1.49 g, 11 mmol)及 10 mL DMF, 溶清后, 冰水浴下, 加入 DIPEA(1.82 mL, 11 mmol), 继续反应 30 min, 加入反应液①, 升至室温反应 2 h。HPLC 监测反应进程, 反应完毕后, 反应液经高效液相纯化, 得制备液。制备液经二氯甲烷萃取、饱和氯化钠溶液洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩得到化合物 **5b**(4.1) g, 收率 62.3%; LC-MS: $[M+H]^+=716.3$ 。

第三步: 化合物 **5** 的合成

于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **5b**(900 mg, 1.26 mmol), 15 mL DMF 溶清后, 加入 900 mg 5%Pd/C, 氢化反应 2h, 反应完毕, 过滤, 将滤液置于冰水浴中, 加入 DIPEA(228 μ L, 1.38 mmol), 再加入化合物 **M3** (712 mg, 1.26 mmol), 加毕升至室温反应 1 h。HPLC 监测反应完毕, 反应液经高效液相纯化, 得制备液, 制备液冻干得到产品化合物 **5**(525)mg, 收率 47.9%; LC-MS: $[M-H]^-=870.3$ 。

实施例 12:

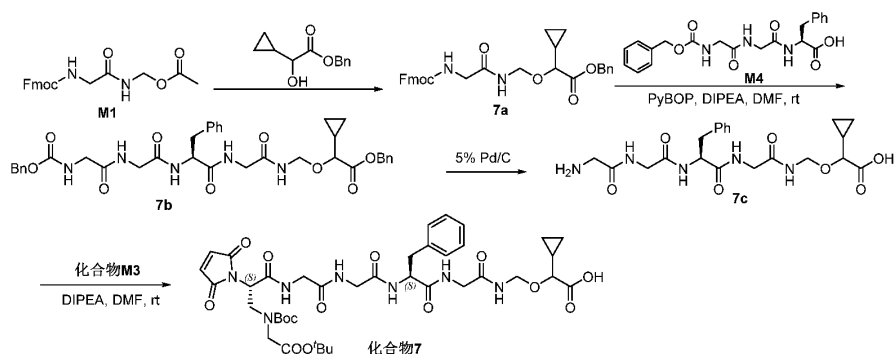
化合物 **6** 的合成:



于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **5b**(900 mg, 1.26 mmol), 15 mL DMF 溶清后, 加入 900 mg 5%Pd/C, 氢化反应 2h, 反应完毕, 过滤, 将滤液置于冰水浴中, 加入 DIPEA(228 μ L, 1.38 mmol), 再加入 McOSu (388 mg, 1.26 mmol), 加毕升至室温反应 1 h。HPLC 监测反应完毕, 反应液经高效液相纯化, 得制备液, 制备液冻干得到产品化合物 **6**(450)mg, 收率 52%; LC-MS: $[M-H]^-=683.3$ 。

实施例 13:

化合物 **7** 的合成:



第一步：化合物 **7a** 的合成

于 250 mL 单口瓶中加入 **M1**(10 g, 27.1 mmol), 2-环丙基-2-羟基乙酸苄酯(参照专利 WO2020244657A1 公布的方法制备)(11.2 g, 54.3 mmol), 醋酸锌(9.96 g, 54.3 mmol)及 100 mL 甲苯, 加热至 100 °C 反应 4 h。反应完毕, 降至室温, 过滤除去不溶物, 滤液浓缩得粗品。粗品经硅胶柱层析纯化(PE:EA=10:1-5:1-2:1)得到化合物 **7a**(4.97g), 收率 36%; LC-MS: $[M+H]^+=515.2$ 。

第二步：化合物 **7b** 的合成

于 50 mL 单口瓶中加入化合物 **7a**(4 g, 7.8 mmol)及 10 mL DMF, 溶清后, 冰水浴下, 加入 DBU(1.42 g, 9.3 mmol), 反应 1 h, 记为反应液①;

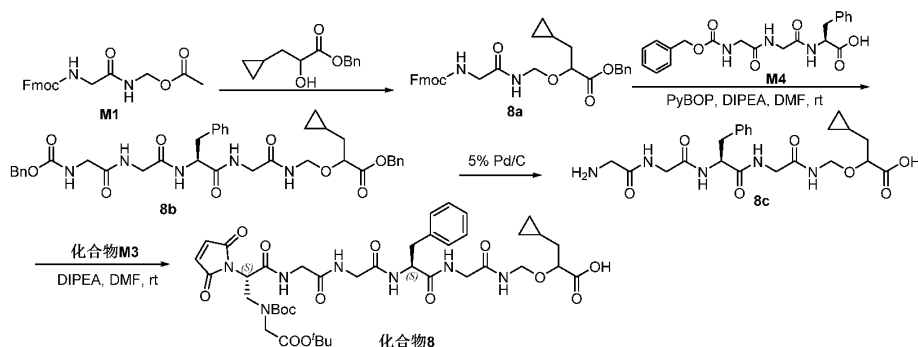
另取 50 mL 单口瓶, 加入 **M4**(3.2 g, 7.8 mmol), PyBOP(4.5 g, 8.6 mmol), HOBT(1.16 g, 8.6 mmol)及 10 mL DMF, 溶清后, 冰水浴下, 加入 DIPEA(1.65 mL, 10 mmol), 继续反应 30 min, 加入反应液①, 升至室温反应 2 h。HPLC 监测反应进程, 反应完毕后, 反应液经高效液相纯化, 得制备液。制备液经二氯甲烷萃取、饱和氯化钠溶液洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩得到化合物 **7b**(4.2g), 收率 78%; LC-MS: $[M+H]^+=688.3$ 。

第三步：化合物 **7** 的合成

于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **7b**(1000 mg, 1.45 mmol), 15 mL DMF 溶清后, 加入 1000 mg 5%Pd/C, 氢化反应 2 h, 反应完毕, 过滤, 将滤液置于冰水浴中, 加入 DIPEA(248 uL, 1.5 mmol), 再加入化合物 **M3**(720 mg, 1.45 mmol), 加毕升至室温反应 1 h。HPLC 监测反应完毕, 反应液经高效液相纯化, 得制备液, 制备液冻干得到产品化合物 **7**(503mg), 收率 41%; LC-MS: $[M-H]^-=842.3$ 。

实施例 14:

化合物 **8** 的合成:



第一步：化合物 **8a** 的合成

于 250 mL 单口瓶中加入 **M1**(10 g, 27.1 mmol), 2-羟基-3-环丙基丙酸苄酯(参照专利 WO2020063676A 公布的方法合成)(12.0 g, 54.3 mmol), 醋酸锌(9.96 g, 54.3 mmol)及 100 mL 甲苯, 加热至 100 °C 反应 4 h。反应完毕, 降至室温, 过滤除去不溶物, 滤液浓缩得粗品。粗品经硅胶柱层析纯化(PE:EA=10:1-5:1-2:1)得到目标物 **8a**(5.09g); LC-MS: $[M+H]^+=529.2$ 。

第二步：化合物 **8b** 的合成

于 50 mL 单口瓶中加入化合物 **8a**(4 g, 7.6 mmol)及 10 mL DMF, 溶清后, 冰水浴下, 加入 DBU(1.39 g, 9.1 mmol), 反应 1 h, 记为反应液①;

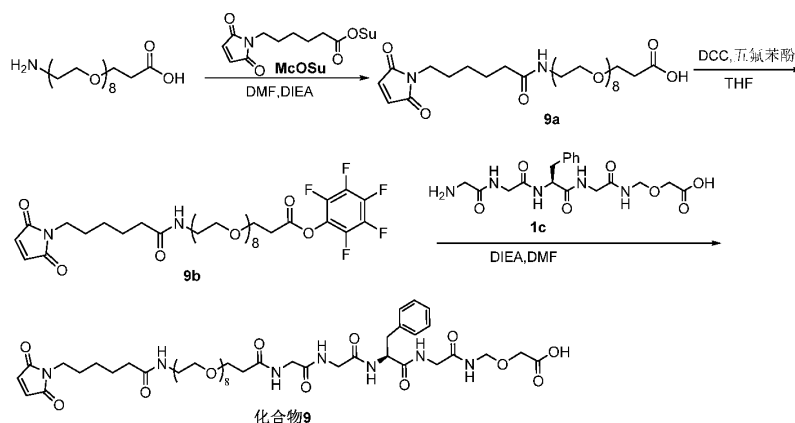
另取 50 mL 单口瓶, 加入 **M4**(3.12 g, 7.6 mmol), PyBOP(4.5 g, 8.6 mmol), HOBT(1.16 g, 8.6 mmol)及 10 mL DMF, 溶清后, 冰水浴下, 加入 DIPEA(1.65 mL, 10 mmol), 继续反应 30 min, 加入反应液①, 升至室温反应 2 h。HPLC 监测反应进程, 反应完毕后, 反应液经高效液相纯化, 得制备液。制备液经二氯甲烷萃取、饱和氯化钠溶液洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩得到化合物 **8b** (4.5g), 收率 84%; LC-MS: $[M+H]^+=702.3$ 。

第三步：化合物 **8** 的合成

于 25 mL 单口瓶中加入 **8b**(1000 mg, 1.42 mmol), 15 mL DMF 溶清后, 加入 1000 mg 5%Pd/C, 氢化反应 2 h, 反应完毕, 过滤, 将滤液置于冰水浴中, 加入 DIPEA(248 uL, 1.5 mmol), 再加入化合物 **M3** (708 mg, 1.42 mmol), 加毕升至室温反应 1 h。HPLC 监测反应完毕, 反应液经高效液相纯化, 得制备液, 制备液冻干得到产品化合物 **8** (443 mg), 收率 36%; LC-MS: $[M-H]^-=856.4$ 。

实施例 15:

化合物 **9** 的合成:



第一步：化合物 **9a** 的合成

于 500mL 单口瓶中加入氨基-八聚乙二醇-羧基(10g, 22.7mmol), 20mLDMF 溶清, 加入 McOSu(8.38g, 27.2mmol), DIEA(5.6mL, 3.4mmol), 室温反应 2h, TLC 监测。反应结束后, 将反应液倒入 100mL 水中, 用二氯甲烷萃取三次, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液洗涤两次, 无水硫酸钠干燥。过滤, 45℃减压浓缩得粗品。粗品经过硅胶柱层析纯化 (DCM: MeOH=30:1-10:1), 收集产品洗脱液, 浓缩得到化合物 **9a**(12.1g), 收率 84.5%, LCMS: $[M-H]^+ = 633.3$ 。

第二步：化合物 **9b** 的合成

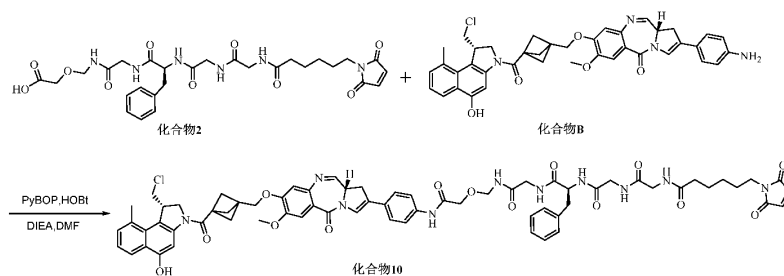
于 500 mL 单口瓶, 加入化合物 **9a**(12.0 g, 18.9 mmol)、五氟苯酚(3.83 g, 20.8 mmol)、DCC(4.28 g, 20.8 mmol)及 THF(50 mL), 室温反应 1h, TLC 监测。反应结束后, 过滤滤去不溶物。滤液水泵减压 45℃浓缩除去溶剂得残余物。残余物经过硅胶柱层析纯化 (PE: EA=5:1-2:1), 收集产品洗脱液, 浓缩得到化合物 **9b**(13.8g), 收率 91.5%, LCMS: $[M+H]^+ = 801.3$ 。

第三步：化合物 **9** 的合成

向化合物 **1c** (220 mg, 0.5mmol) 中加入 10 mL DMF, 冰水浴加入化合物 **9b** (500mg, 0.6 mmol) 冷却至 0℃, 加入化合物 DIPEA (124uL, 0.75mmol), 室温反应 1 h, HPLC 监测反应。反应完毕后, 反应液经制备级高效液相色谱法纯化得到产品制备液, 制备液减压除去乙腈以后, 冻干, 得到化合物 **9**(430mg), 收率 83%, LCMS: $[M-H]^+ = 1038.5$ 。

实施例 16:

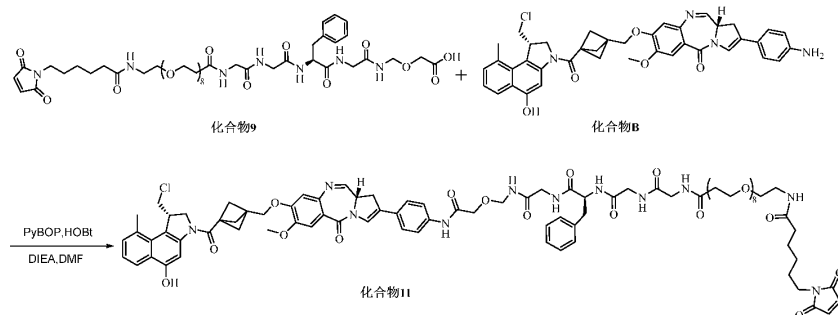
化合物 **10** 的合成:



于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **2**(50mg, 0.081 mmol), 化合物 **B** (55.8 mg, 0.081 mmol), PyBOP(50.4mg, 0.097mmol), HOBt(13.1 mg, 0.097 mmol)及 5 mL DMF, 冰水浴下加入 DIPEA(15.5mg, 0.12mmol), 升至室温反应 2 h。HPLC 监测反应完毕后, 反应液经高效液相纯化, 得制备液, 制备液冻干得到化合物 **10** (80mg), 收率 76.7%, LC-MS: $[M+H]^+=1287.5$ 。

实施例 17:

化合物 **11** 的合成:

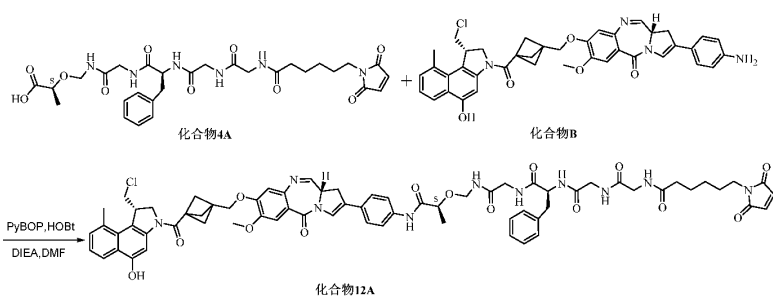


于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **9** (84.2mg, 0.081 mmol), 化合物 **B** (55.8 mg, 0.081 mmol), PyBOP(50.4mg, 0.097mmol), HOBt(13.1 mg, 0.097 mmol)及 5 mL DMF, 冰水浴下加入 DIPEA(15.5mg, 0.12mmol), 升至室温反应 2 h。HPLC 监测反应完毕后, 反应液经高效液相纯化, 得产品制备液, 制备液冻干, 得到化合物 **11** (100mg), 收率 70.9%, LC-MS: $[M/2+H]^+=855.86$ 。

实施例 18:

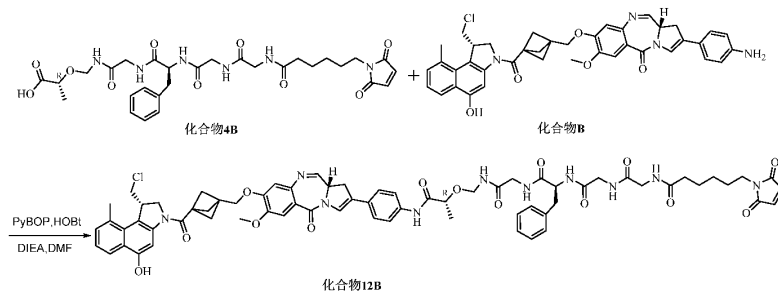
化合物 **12A** 和 **12B** 的合成:

1.化合物 **12A** 的制备



于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **4A** (51mg, 0.081 mmol), 化合物 **B** (55.8 mg, 0.081 mmol), PyBOP(50.4mg, 0.097mmol), HOBt(13.1 mg, 0.097 mmol)及 5 mL DMF, 冰水浴下加入 DIPEA(15.5mg, 0.12mmol), 升至室温反应 2 h。HPLC 监测反应完毕后, 反应液经高效液相纯化, 得制备液, 制备液冻干得到化合物 **12A** (80mg), 收率 76.2%, LC-MS: $[M+H]^+=1301.5$ 。

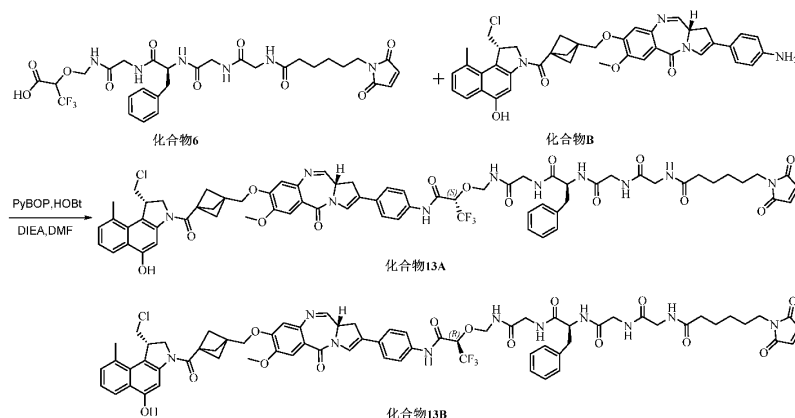
2. 化合物 **12B** 的制备



参照化合物 **12A** 的合成方法, 即得化合物 **12B**, LC-MS: $[M+H]^+=1301.5$ 。

实施例 19:

化合物 **13A** 和 **13B** 的合成:

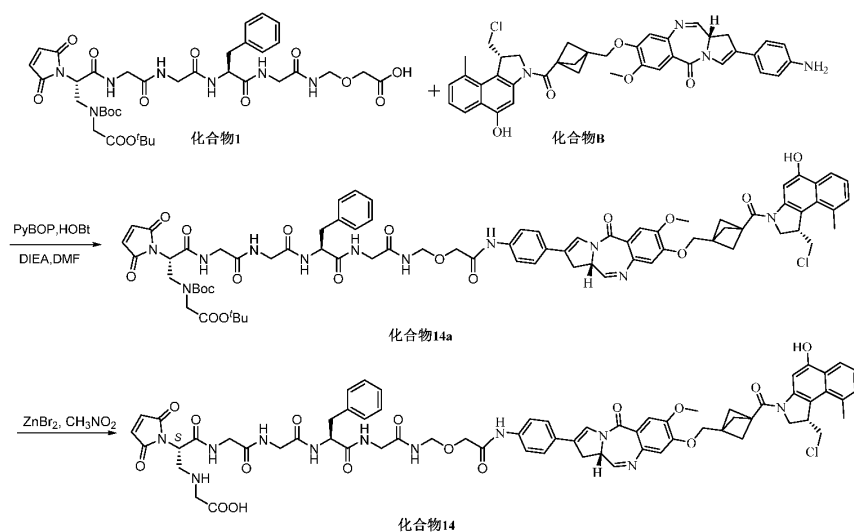


于 50 mL 单口瓶中加入化合物 **6** (99.3mg, 0.145 mmol), 化合物 **B** (100 mg, 0.145 mmol), PyBOP(90.5mg, 0.174mmol), HOBt(23.5mg, 0.174 mmol)及 10 mL

DMF, 冰水浴下加入 DIPEA(28.2mg, 0.218mmol), 升至室温反应 2 h。HPLC 监测反应完毕后, 反应液经高效液相纯化, 得化合物 **13A** 和化合物 **13B** 的制备液, 制备液分别冻干, 得到化合物 **13A**(90mg)、化合物 **13B**(80mg), LC-MS: $[M+H]^+=1355.5$ 。

实施例 20:

化合物 **14** 的合成:



第一步: 化合物 **14a** 的合成

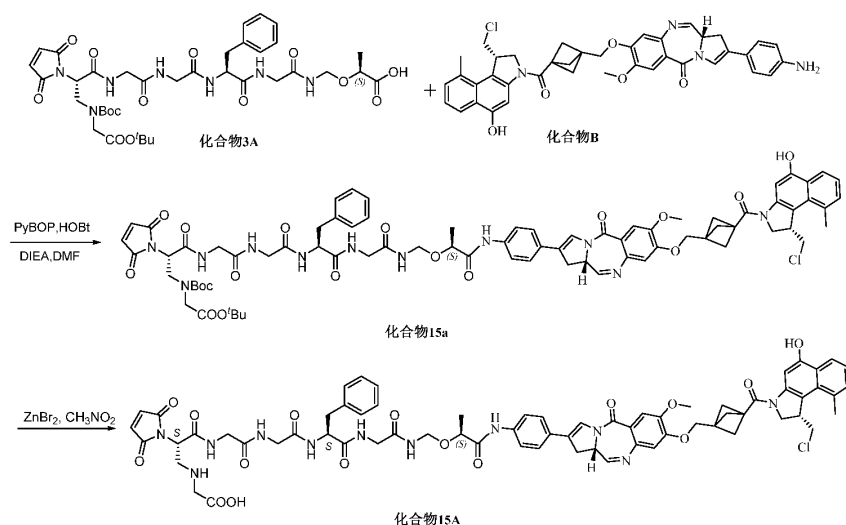
于 50 mL 单口瓶中加入化合物 **1** (500 mg, 0.62 mmol), 化合物 **B** (427.3mg, 0.62 mmol), PyBOP(385 mg, 0.74mmol), HOBt(100 mg, 0.74mmol)及 15 mL DMF, 冰水浴下加入 DIPEA(120mg, 0.93 mmol), 升至室温反应 2 h。HPLC 监测反应完毕后, 反应液经高效液相纯化, 得化合物 **14a** 的制备液, 制备液冻干得到固体化合物 **14a** (550mg), 收率 60%, LC-MS: $[M+H]^+=1474.6$ 。

第二步: 化合物 **14** 的合成

于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **14a** (200 mg, 0.136 mmol), 溴化锌(612 mg, 2.72 mmol)及 6 mL 硝基甲烷, 室温反应 1h。HPLC 监测反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂, 得粗品。粗品经高效液相纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干得到固体化合物 **14**(100 mg), 收率 56%, LC-MS: $[M+H]^+=1318.5$ 。

实施例 21:

化合物 **15A** 和 **15B** 的合成:

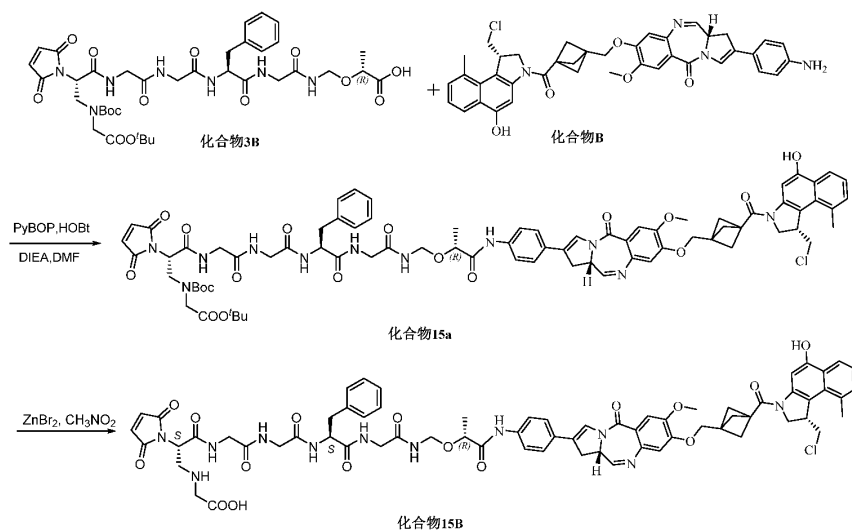
1. 化合物 **15A** 的制备第一步：化合物 **15a** 的合成

于 50 mL 单口瓶中加入化合物 **3A**(507 mg, 0.62 mmol), 化合物 **B** (427.3mg, 0.62 mmol), PyBOP(385 mg, 0.74mmol), HOBT(100 mg, 0.74mmol)及 15 mL DMF, 冰水浴下加入 DIPEA(120mg, 0.93 mmol), 升至室温反应 2 h。HPLC 监测反应完毕后, 反应液经高效液相纯化, 得化合物 **15a** 的制备液, 制备液冻干得到固体化合物 **15a** (650mg), 收率 70%, LC-MS: $[M+H]^+ = 1488.6$ 。

第二步：化合物 **15A** 的合成

于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **15a** (200 mg, 0.134 mmol), 溴化锌(603.5 mg, 2.68 mmol)及 6 mL 硝基甲烷, 室温反应 1h。HPLC 监测反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂, 得粗品。粗品经高效液相纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干得到固体化合物 **15A**(110 mg), 收率 62%, LC-MS: $[M+H]^+ = 1332.5$ 。

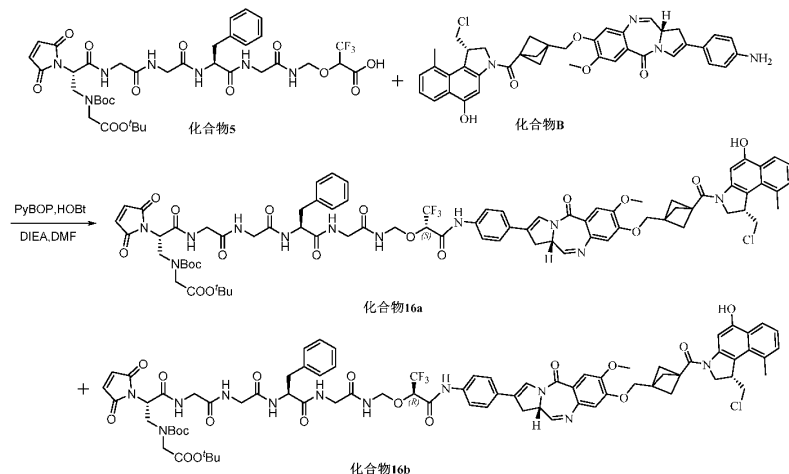
2. 化合物 **15B** 的制备



参照化合物 **15A** 的合成方法，即得化合物 **15B**，LC-MS: $[M+H]^+=1332.5$ 。

实施例 22:

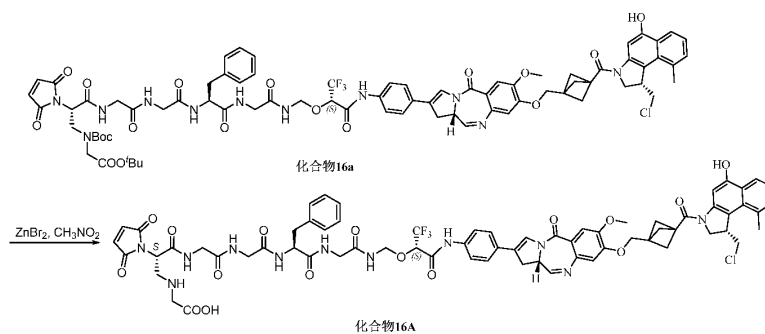
化合物 **16A** 和 **16B** 的合成:



第一步: 化合物 **16a** 和 **16b** 的合成

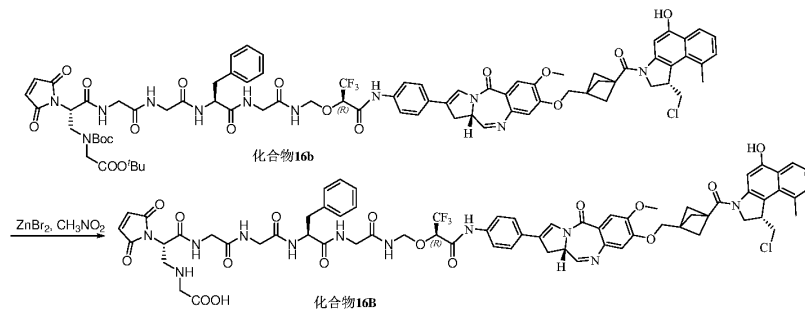
于 50 mL 单口瓶中加入化合物 **5** (540 mg, 0.62 mmol), 化合物 **B** (427.3mg, 0.62 mmol), PyBOP(385 mg, 0.74mmol), HOBT(100 mg, 0.74mmol)及 15 mL DMF, 冰水浴下加入 DIPEA(120mg, 0.93 mmol), 升至室温反应 2 h。HPLC 监测反应完毕后, 反应液经高效液相纯化, 得化合物 **16a** 和化合物 **16b** 的制备液, 制备液分别冻干得到化合物 **16a** (350mg)、化合物 **16b**(300mg), LC-MS: $[M/2+H]^+=771.8$ 。

第二步: 化合物 **16A** 的合成



于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **16a** (200 mg, 0.13 mmol), 溴化锌(585.5 mg, 2.6 mmol)及 6 mL 硝基甲烷, 室温反应 1h。HPLC 监测反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂, 得粗品。粗品经高效液相纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干得到固体化合物 **16A**(120 mg), 收率 66%, LC-MS: $[M+H]^+=1386.4$ 。

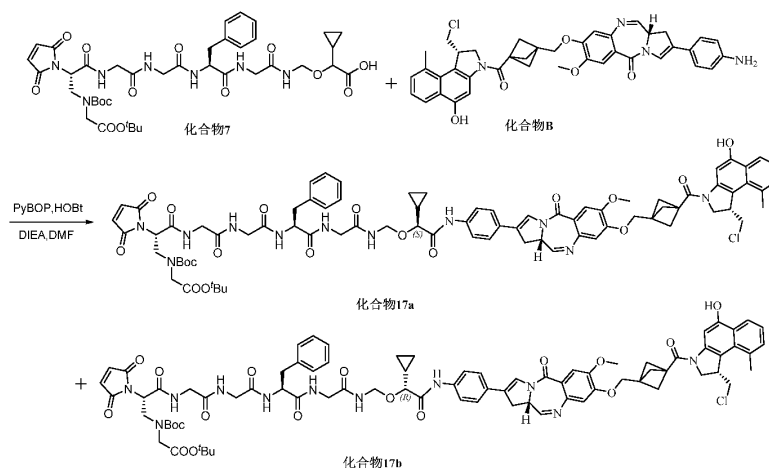
第三步: 化合物 **16B** 的合成



于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **16b** (200 mg, 0.13 mmol), 溴化锌(585.5 mg, 2.6 mmol)及 6 mL 硝基甲烷, 室温反应 1h。HPLC 监测反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂, 得粗品。粗品经高效液相纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干得到固体化合物 **16B**(115 mg), 收率 64%, LC-MS: $[M+H]^+=1386.4$ 。

实施例 23:

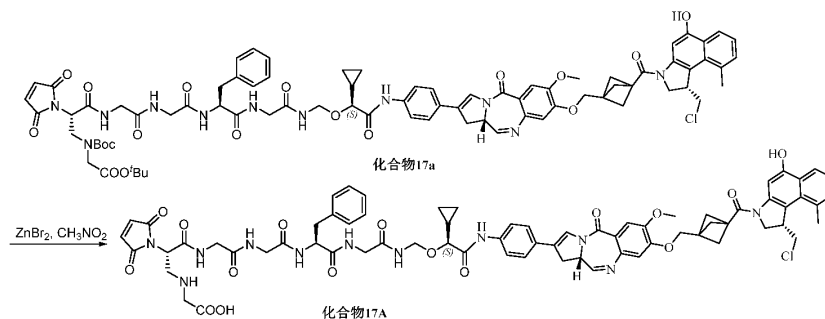
化合物 **17A** 和 **17B** 的合成:



第一步：化合物 **17a** 和 **17b** 的合成

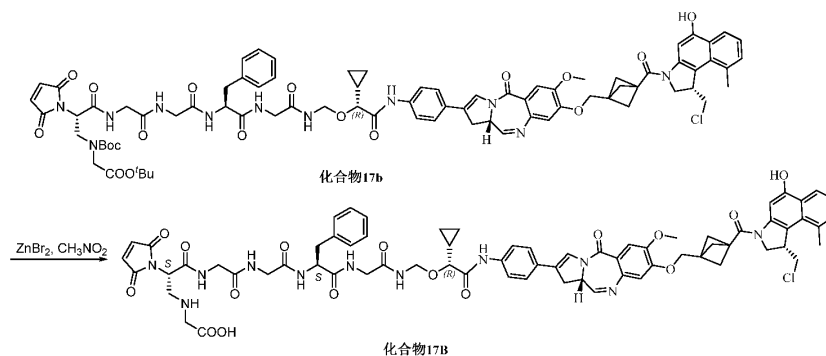
于 50 mL 单口瓶中加入化合物 **7** (523 mg, 0.62 mmol), 化合物 **B** (427.3mg, 0.62 mmol), PyBOP(385 mg, 0.74mmol), HOBT(100 mg, 0.74mmol)及 15 mL DMF, 冰水浴下加入 DIPEA(120mg, 0.93 mmol), 升至室温反应 2 h。HPLC 监测反应完毕后, 反应液经高效液相纯化, 得化合物 **17a** 和化合物 **17b** 的制备液, 制备液分别冻干得到化合物 **17a** (320mg)、化合物 **17b**(280mg), LC-MS: $[M/2+H]^+ = 757.8$ 。

第二步：化合物 **17A** 的合成



于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **17a** (200 mg, 0.132 mmol), 溴化锌(594.5 mg, 2.64 mmol)及 6 mL 硝基甲烷, 室温反应 1h。HPLC 监测反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂, 得粗品。粗品经高效液相纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干得到固体化合物 **17A**(120 mg), 收率 67%, LC-MS: $[M+H]^+ = 1358.5$ 。

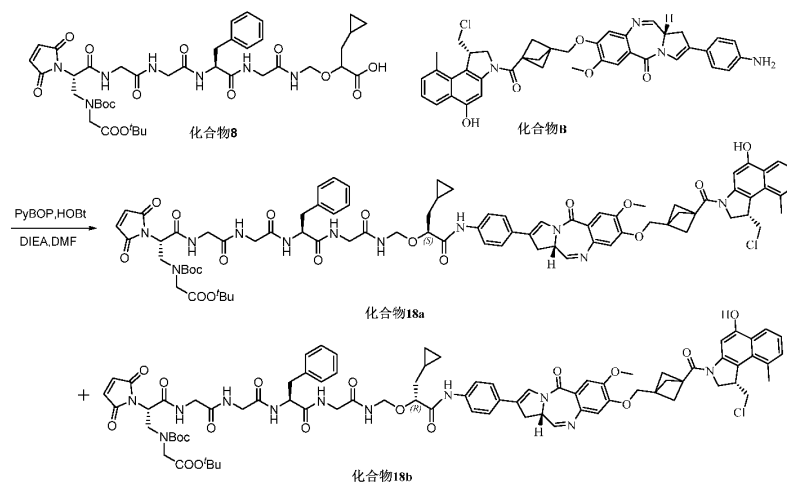
第三步：化合物 **17B** 的合成



于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **17b** (200 mg, 0.132 mmol), 溴化锌(594.5 mg, 2.64 mmol)及 6 mL 硝基甲烷, 室温反应 1h。HPLC 监测反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂, 得粗品。粗品经高效液相纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干得到固体化合物 **17B**(116 mg), 收率 65%, LC-MS: $[M+H]^+=1358.5$ 。

实施例 24:

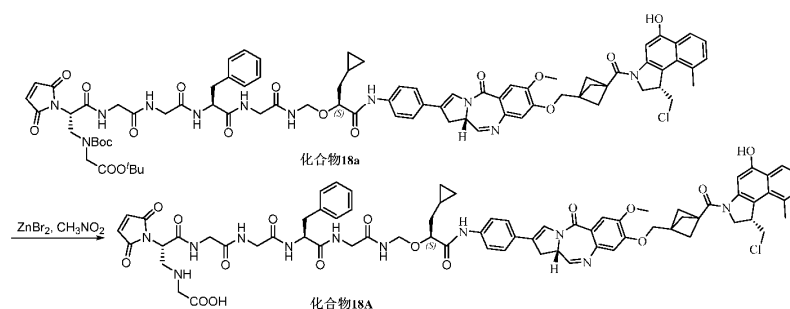
化合物 **18A** 和 **18B** 的合成:



第一步: 化合物 **18a** 和 **18b** 的合成

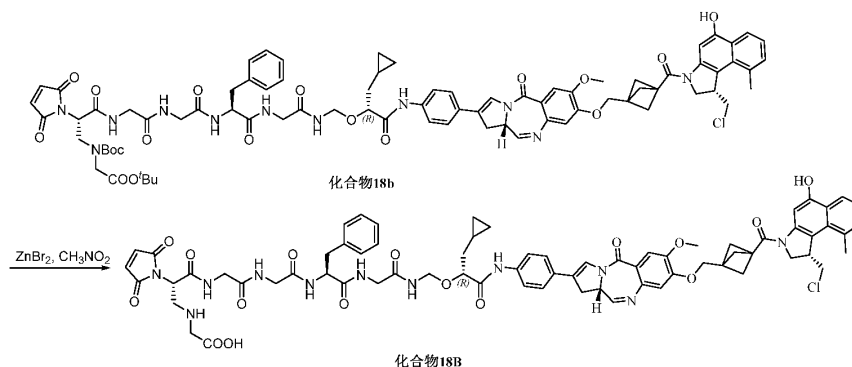
于 50 mL 单口瓶中加入化合物 **8** (532 mg, 0.62 mmol), 化合物 **B** (427.3mg, 0.62 mmol), PyBOP(385 mg, 0.74mmol), HOBT(100 mg, 0.74mmol)及 15 mL DMF, 冰水浴下加入 DIPEA(120mg, 0.93 mmol), 升至室温反应 2 h。HPLC 监测反应完毕后, 反应液经高效液相纯化, 得化合物 **18a** 和化合物 **18b** 的制备液, 制备液分别冻干得到化合物 **18a** (300mg)、化合物 **18b**(280mg), LC-MS: $[M/2+H]^+=764.8$ 。

第二步: 化合物 **18A** 的合成



于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **18a** (200 mg, 0.131 mmol), 溴化锌(590.0 mg, 2.62 mmol)及 6 mL 硝基甲烷, 室温反应 1h。HPLC 监测反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂, 得粗品。粗品经高效液相纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干得到固体化合物 **18A**(125 mg), 收率 70%, LC-MS: $[M+H]^+=1372.5$ 。

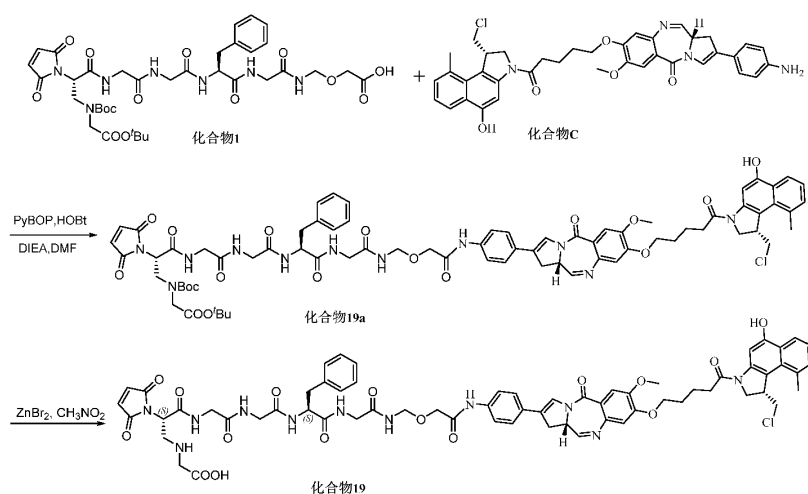
第三步: 化合物 **18B** 的合成



于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **18b** (200 mg, 0.131 mmol), 溴化锌(590.0 mg, 2.62 mmol)及 6 mL 硝基甲烷, 室温反应 1h。HPLC 监测反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂, 得粗品。粗品经高效液相纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干得到固体化合物 **18B**(120 mg), 收率 67%, LC-MS: $[M+H]^+=1372.5$ 。

实施例 25:

化合物 **19** 的合成:



第一步：化合物 **19a** 的合成

于 50 mL 单口瓶中加入化合物 **1** (500 mg, 0.62 mmol), 化合物 **C** (412.4mg, 0.62 mmol), PyBOP(385 mg, 0.74mmol), HOBT(100 mg, 0.74mmol)及 15 mL DMF, 冰水浴下加入 DIPEA(120mg, 0.93 mmol), 升至室温反应 2 h。HPLC 监测反应完毕后, 反应液经高效液相纯化, 得化合物 **19a** 的制备液, 制备液冻干得到固体化合物 **19a** (600mg), 收率 66%, LC-MS: $[M+H]^+=1450.6$ 。

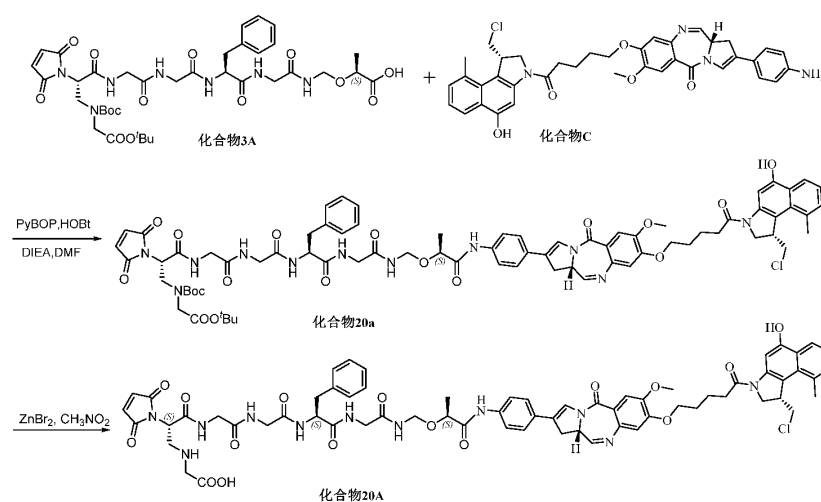
第二步：化合物 **19** 的合成

于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **19a** (200 mg, 0.138 mmol), 溴化锌(621 mg, 2.76 mmol)及 6 mL 硝基甲烷, 室温反应 1h。HPLC 监测反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂, 得粗品。粗品经高效液相纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干得到固体化合物 **19**(120 mg), 收率 67%, LC-MS: $[M+H]^+=1294.5$ 。

实施例 26:

化合物 **20A** 和化合物 **20B** 的合成:

1. 化合物 **20A** 的制备



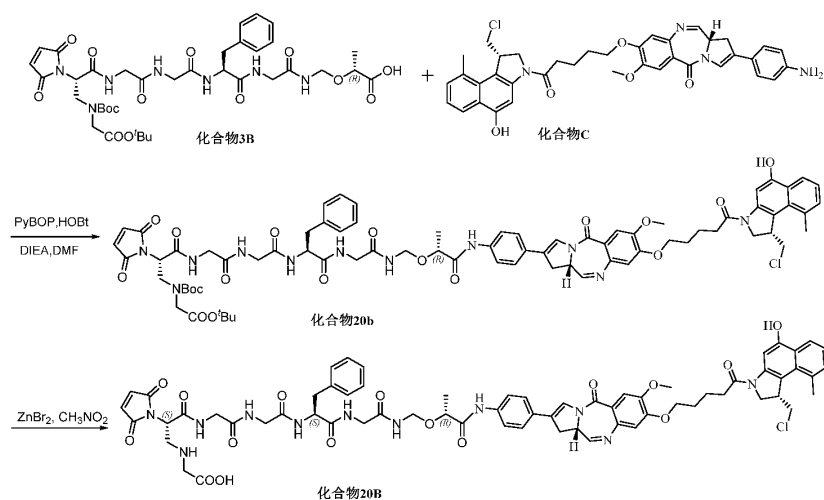
第一步：化合物 **20a** 的合成

于 50 mL 单口瓶中加入化合物 **3A** (507 mg, 0.62 mmol)，化合物 **C** (412.4 mg, 0.62 mmol)，PyBOP (385 mg, 0.74 mmol)，HOBt (100 mg, 0.74 mmol) 及 15 mL DMF，冰水浴下加入 DIPEA (120 mg, 0.93 mmol)，升至室温反应 2 h。HPLC 监测反应完毕后，反应液经高效液相纯化，得化合物 **20a** 的制备液，制备液冻干得到固体化合物 **20a** (560 mg)，收率 62%，LC-MS: $[\text{M}+\text{H}]^+=1464.6$ 。

第二步：化合物 **20A** 的合成

于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **20a** (200 mg, 0.136 mmol)，溴化锌 (614.8 mg, 2.73 mmol) 及 6 mL 硝基甲烷，室温反应 1 h。HPLC 监测反应完毕后，减压浓缩除去溶剂，得粗品。粗品经高效液相纯化，得到产品制备液，制备液冻干得到固体化合物 **20A** (120 mg)，收率 67%，LC-MS: $[\text{M}+\text{H}]^+=1308.5$ 。

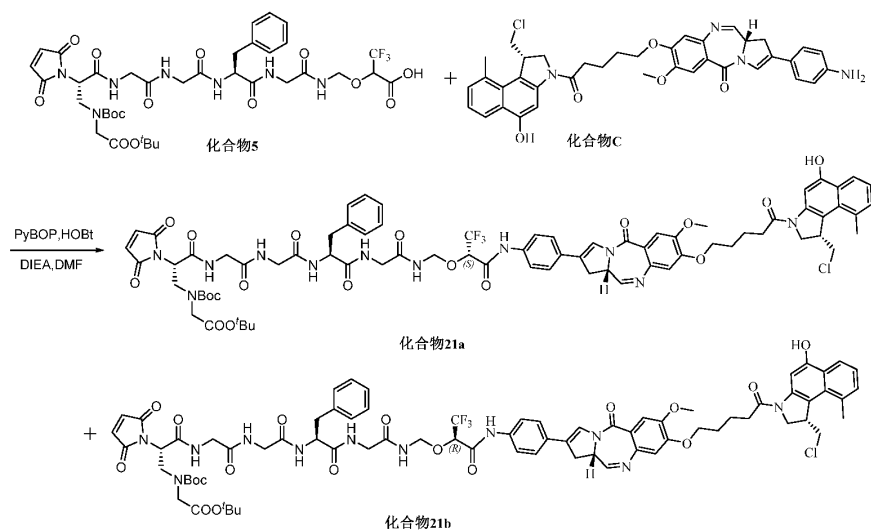
2. 化合物 **20B** 的制备



参照化合物 **20A** 的合成方法，即得化合物 **20B**，LC-MS: $[M+H]^+=1308.5$ 。

实施例 27:

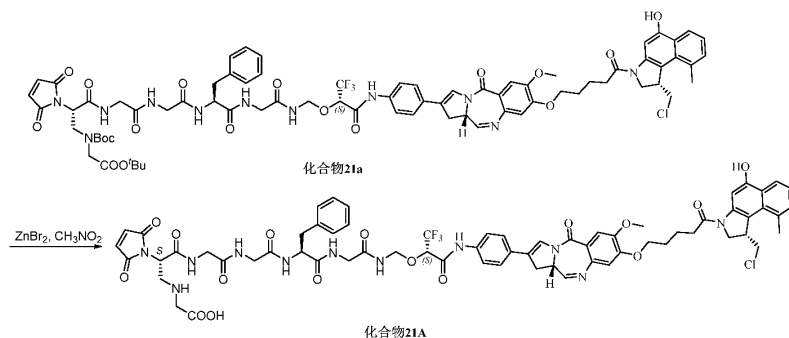
化合物 **21A** 和 **21B** 的合成:



第一步：化合物 **21a** 和 **21b** 的合成

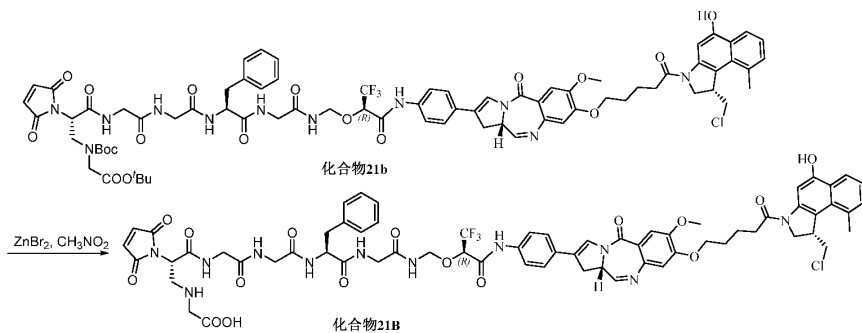
于 50 mL 单口瓶中加入化合物 **5** (540 mg, 0.62 mmol)，化合物 **C** (412.4mg, 0.62 mmol)，PyBOP(385 mg, 0.74mmol)，HOBT(100 mg, 0.74mmol)及 15 mL DMF，冰水浴下加入 DIPEA(120mg, 0.93 mmol)，升至室温反应 2 h。HPLC 监测反应完毕后，反应液经高效液相纯化，得化合物 **21a** 和化合物 **21b** 的制备液，制备液分别冻干得到化合物 **21a** (330mg)、化合物 **21b**(300mg)，LC-MS: $[M/2+H]^+=759.8$ 。

第二步：化合物 **21A** 的合成



于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **21a** (200 mg, 0.132 mmol), 溴化锌(594.5 mg, 2.64 mmol)及 6 mL 硝基甲烷, 室温反应 1h。HPLC 监测反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂, 得粗品。粗品经高效液相纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干得到固体化合物 **21A**(125 mg), 收率 69%, LC-MS: $[M+H]^+=1362.4$ 。

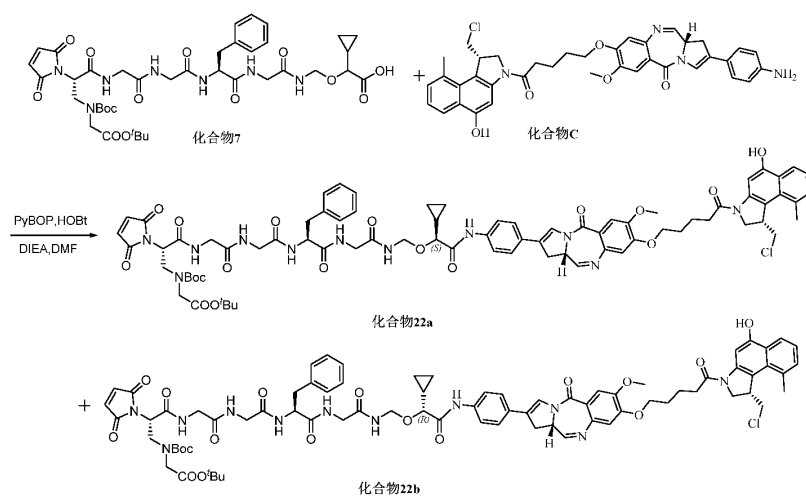
第三步: 化合物 **21B** 的合成



于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **21b** (200 mg, 0.132 mmol), 溴化锌(594.5 mg, 2.64 mmol)及 6 mL 硝基甲烷, 室温反应 1h。HPLC 监测反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂, 得粗品。粗品经高效液相纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干得到固体化合物 **21B**(112 mg), 收率 62%, LC-MS: $[M+H]^+=1362.4$ 。

实施例 28:

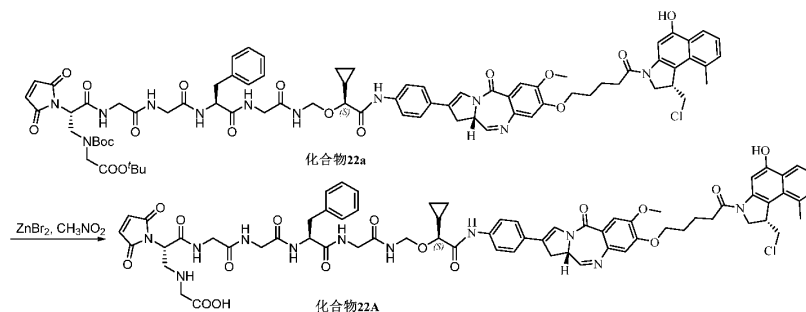
化合物 **22A** 和 **22B** 的合成:



第一步：化合物 **22a** 和 **22b** 的合成

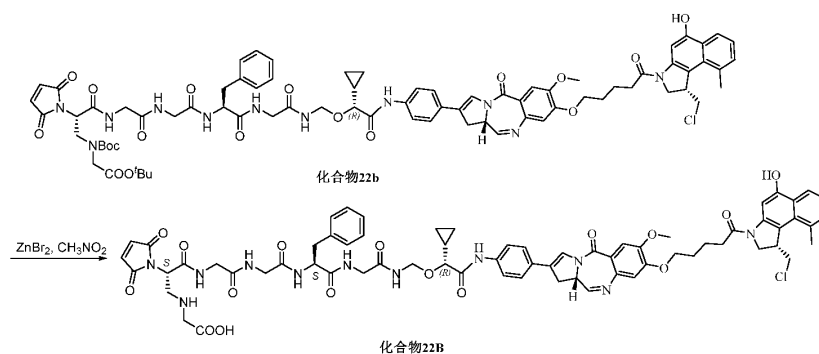
于 50 mL 单口瓶中加入化合物 **7** (523 mg, 0.62 mmol), 化合物 **C** (412.4mg, 0.62 mmol), PyBOP(385 mg, 0.74mmol), HOBT(100 mg, 0.74mmol)及 15 mL DMF, 冰水浴下加入 DIPEA(120mg, 0.93 mmol), 升至室温反应 2 h。HPLC 监测反应完毕后, 反应液经高效液相纯化, 得化合物 **22a** 和化合物 **22b** 的制备液, 制备液分别冻干得到化合物 **22a** (330mg)、化合物 **22b**(300mg), LC-MS: $[M+H]^+ = 1490.6$ 。

第二步：化合物 **22A** 的合成



于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **22a** (200 mg, 0.134 mmol), 溴化锌(603.5 mg, 2.68 mmol)及 6 mL 硝基甲烷, 室温反应 1h。HPLC 监测反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂, 得粗品。粗品经高效液相纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干得到固体化合物 **22A**(120 mg), 收率 67%, LC-MS: $[M+H]^+ = 1334.5$ 。

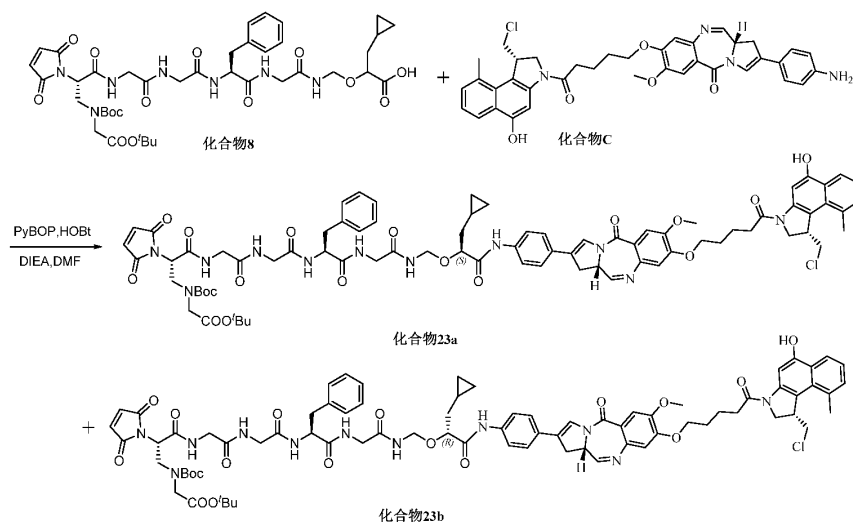
第三步：化合物 **22B** 的合成



于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **22b** (200 mg, 0.134 mmol), 溴化锌(603.5 mg, 2.68 mmol)及 6 mL 硝基甲烷, 室温反应 1h。HPLC 监测反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂, 得粗品。粗品经高效液相纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干得到固体化合物 **22B**(115 mg), 收率 65%, LC-MS: $[M+H]^+=1334.5$ 。

实施例 29:

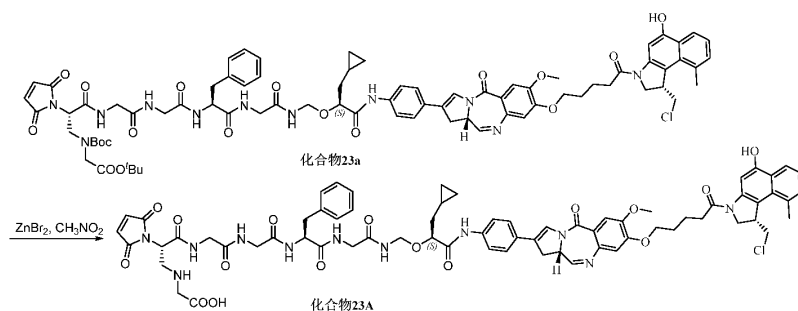
化合物 **23A** 和 **23B** 的合成:



第一步: 化合物 **23a** 和 **23b** 的合成

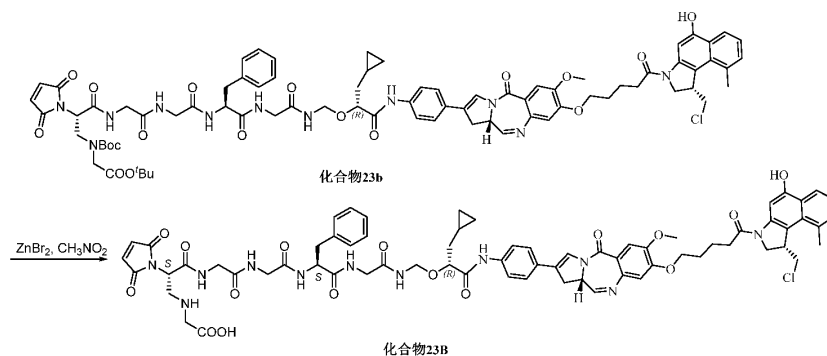
于 50 mL 单口瓶中加入化合物 **8** (532 mg, 0.62 mmol), 化合物 **C** (412.4mg, 0.62 mmol), PyBOP(385 mg, 0.74mmol), HOBT(100 mg, 0.74mmol)及 15 mL DMF, 冰水浴下加入 DIPEA(120mg, 0.93 mmol), 升至室温反应 2 h。HPLC 监测反应完毕后, 反应液经高效液相纯化, 得化合物 **23a** 和化合物 **23b** 的制备液, 制备液分别冻干得到化合物 **23a** (320mg)、化合物 **23b**(300mg), LC-MS: $[M/2+H]^+=752.8$ 。

第二步: 化合物 **23A** 的合成



于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **23a** (200 mg, 0.133 mmol), 溴化锌(598.5 mg, 2.66 mmol)及 6 mL 硝基甲烷, 室温反应 1h。HPLC 监测反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂, 得粗品。粗品经高效液相纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干得到固体化合物 **23A**(122 mg), 收率 68%, LC-MS: $[M+H]^+=1348.5$ 。

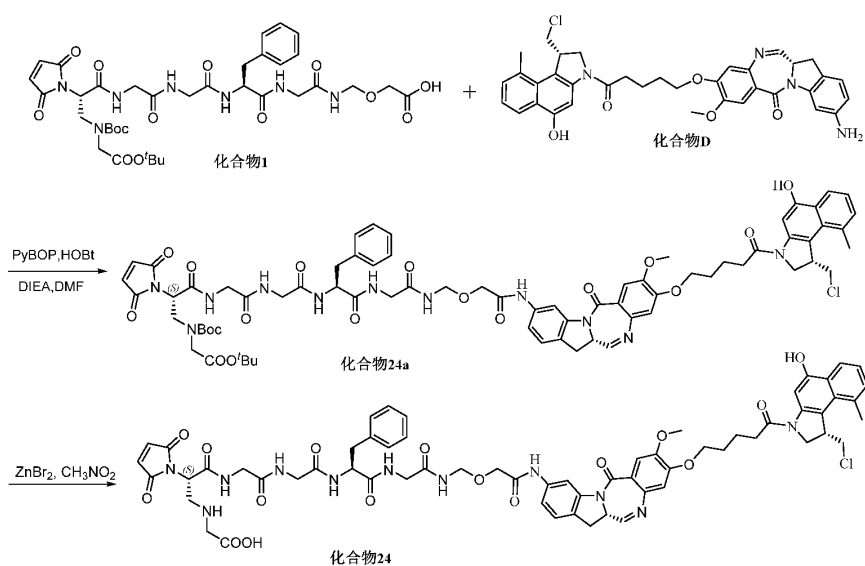
第三步: 化合物 **23B** 的合成



于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **23b** (200 mg, 0.133 mmol), 溴化锌(598.5 mg, 2.66 mmol)及 6 mL 硝基甲烷, 室温反应 1h。HPLC 监测反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂, 得粗品。粗品经高效液相纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干得到固体化合物 **23B**(115 mg), 收率 64%, LC-MS: $[M+H]^+=1348.5$ 。

实施例 30:

化合物 **24** 的合成:



第一步：化合物 **24a** 的合成

于 50 mL 单口瓶中加入化合物 **1** (500 mg, 0.62 mmol), 化合物 **D**(396.3mg, 0.62 mmol), PyBOP(385 mg, 0.74mmol), HOBT(100 mg, 0.74mmol)及 15 mL DMF, 冰水浴下加入 DIPEA(120mg, 0.93 mmol), 升至室温反应 2 h。HPLC 监测反应完毕后, 反应液经高效液相纯化, 得化合物 **24a** 的制备液, 制备液冻干得到固体化合物 **24a** (600mg), 收率 68%, LC-MS: $[M+H]^+=1424.6$ 。

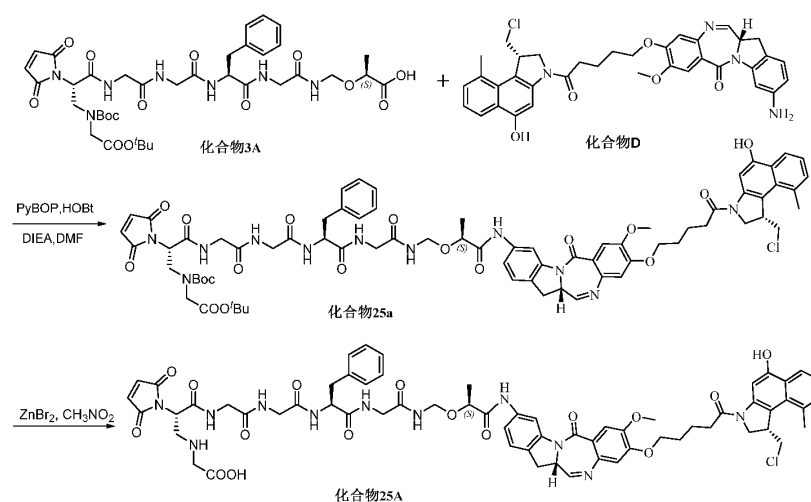
第二步：化合物 **24** 的合成

于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **24a** (200 mg, 0.14 mmol), 溴化锌(631 mg, 2.8 mmol)及 6 mL 硝基甲烷, 室温反应 1h。HPLC 监测反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂, 得粗品。粗品经高效液相纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干得到固体化合物 **24**(120 mg), 收率 68%, LC-MS: $[M+H]^+=1268.4$ 。

实施例 31:

化合物 **25A** 和化合物 **25B** 的合成:

1.化合物 **25A** 的制备



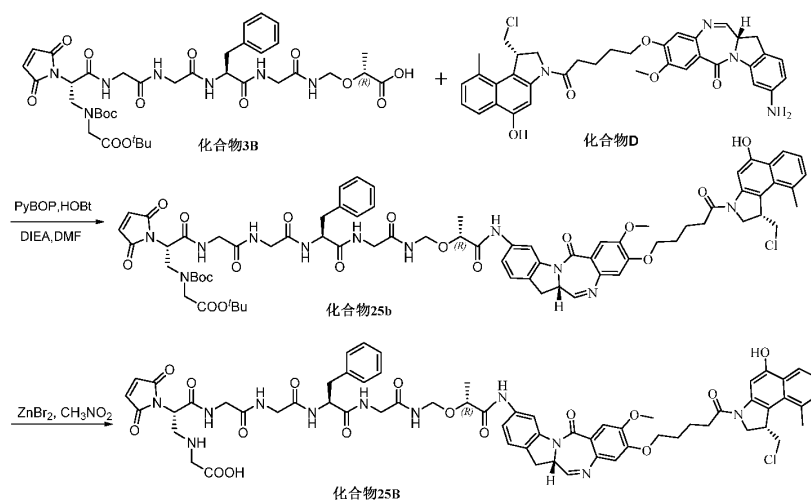
第一步：化合物 **25a** 的合成

于 50 mL 单口瓶中加入化合物 **3A** (507 mg, 0.62 mmol)，化合物 **D** (396.3mg, 0.62 mmol)，PyBOP (385 mg, 0.74 mmol)，HOBT (100 mg, 0.74 mmol) 及 15 mL DMF，冰水浴下加入 DIPEA (120 mg, 0.93 mmol)，升至室温反应 2 h。HPLC 监测反应完毕后，反应液经高效液相纯化，得化合物 **25a** 的制备液，制备液冻干得到固体化合物 **25a** (560 mg)，收率 63%，LC-MS: $[M+H]^+ = 1438.6$ 。

第二步：化合物 **25A** 的合成

于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **25a** (200 mg, 0.139 mmol)，溴化锌 (626 mg, 2.78 mmol) 及 6 mL 硝基甲烷，室温反应 1 h。HPLC 监测反应完毕后，减压浓缩除去溶剂，得粗品。粗品经高效液相纯化，得到产品制备液，制备液冻干得到固体化合物 **25A** (115 mg)，收率 65%，LC-MS: $[M+H]^+ = 1282.5$ 。

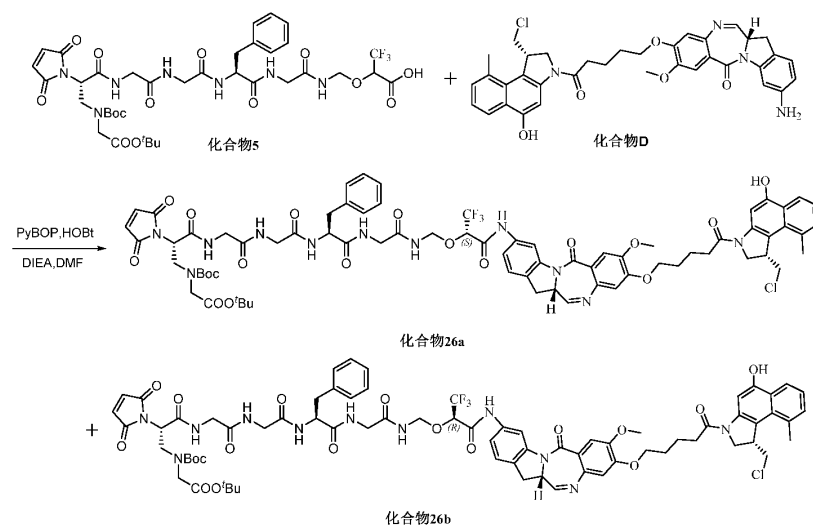
2. 化合物 **25B** 的制备



参照化合物 **25A** 的合成方法，即得化合物 **26B**，LC-MS: $[\text{M}+\text{H}]^+=1282.5$ 。

实施例 32:

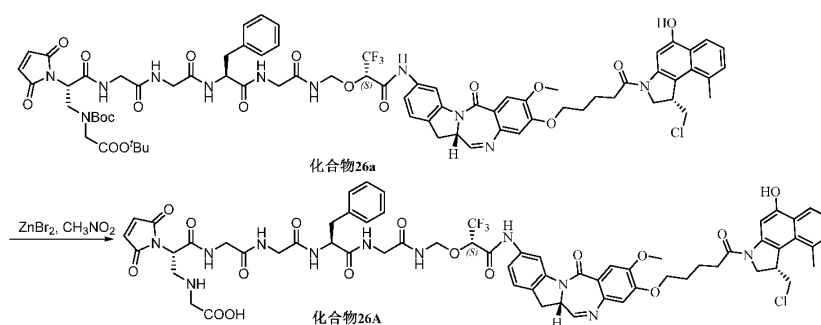
化合物 **26A** 和 **26B** 的合成:



第一步：化合物 **26a** 和 **26b** 的合成

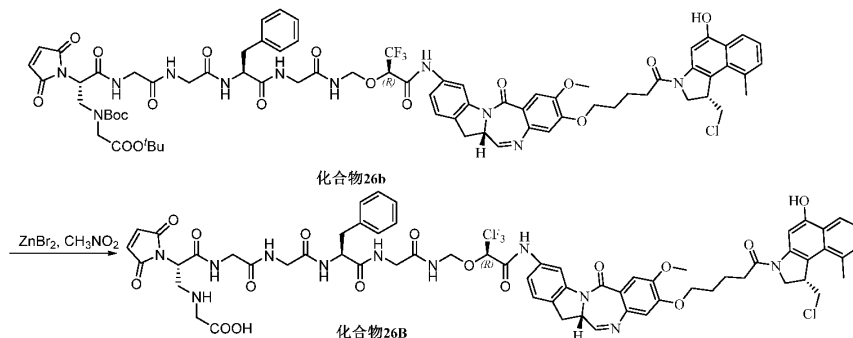
于 50 mL 单口瓶中加入化合物 **5** (540 mg, 0.62 mmol)，化合物 **D** (396.3mg, 0.62 mmol)，PyBOP (385 mg, 0.74mmol)，HOBT (100 mg, 0.74mmol) 及 15 mL DMF，冰水浴下加入 DIPEA (120mg, 0.93 mmol)，升至室温反应 2 h。HPLC 监测反应完毕后，反应液经高效液相纯化，得化合物 **26a** 和化合物 **26b** 的制备液，制备液分别冻干得到化合物 **26a** (330mg)、化合物 **26b** (300mg)，LC-MS: $[\text{M}+\text{H}]^+=1492.5$ 。

第二步：化合物 **26A** 的合成



于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **26a** (200 mg, 0.134 mmol), 溴化锌(603.5 mg, 2.68 mmol)及 6 mL 硝基甲烷, 室温反应 1h。HPLC 监测反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂, 得粗品。粗品经高效液相纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干得到固体化合物 **26A**(125 mg), 收率 70%, LC-MS: $[M+H]^+=1336.4$ 。

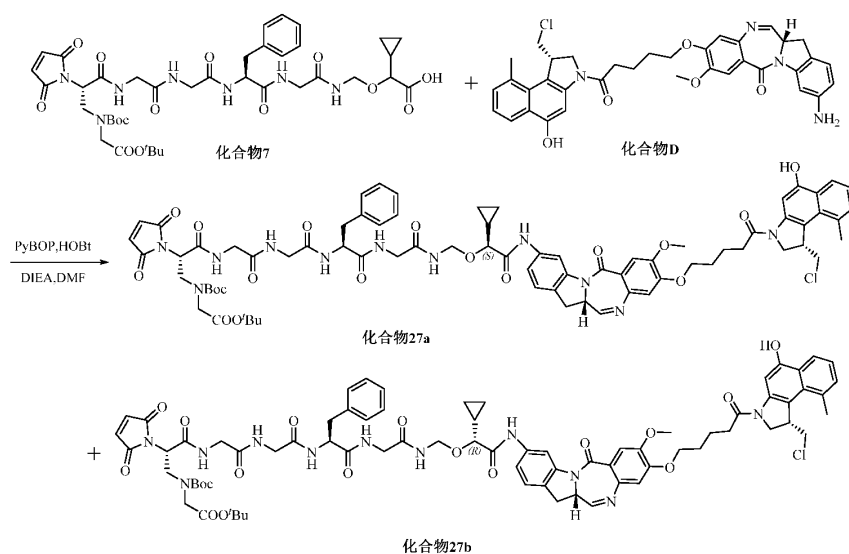
第三步: 化合物 **26B** 的合成



于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **26b** (200 mg, 0.134 mmol), 溴化锌(603.5 mg, 2.68 mmol)及 6 mL 硝基甲烷, 室温反应 1h。HPLC 监测反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂, 得粗品。粗品经高效液相纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干得到固体化合物 **26B**(112 mg), 收率 63%, LC-MS: $[M+H]^+=1336.4$ 。

实施例 33:

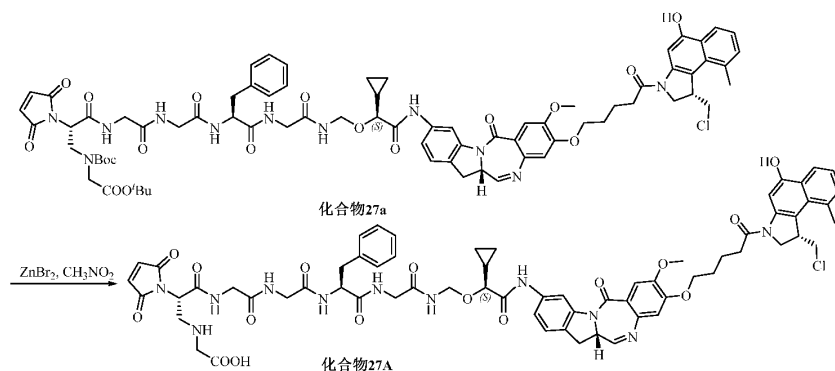
化合物 **27A** 和 **27B** 的合成:



第一步：化合物 27a 和 27b 的合成

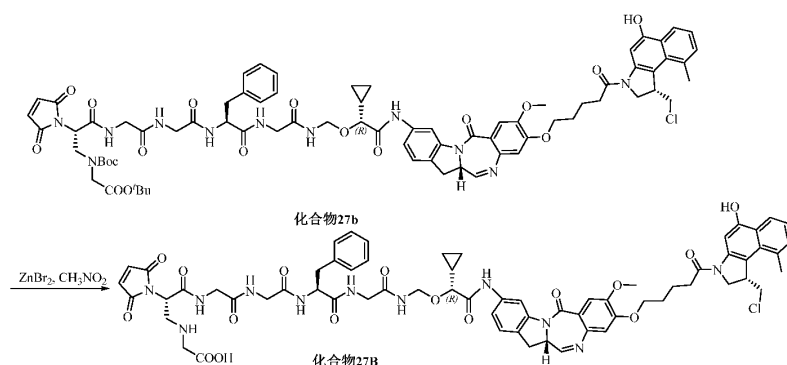
于 50 mL 单口瓶中加入化合物 7 (523 mg, 0.62 mmol), 化合物 D (396.3mg, 0.62 mmol), PyBOP(385 mg, 0.74mmol), HOBT(100 mg, 0.74mmol)及 15 mL DMF, 冰水浴下加入 DIPEA(120mg, 0.93 mmol), 升至室温反应 2 h。HPLC 监测反应完毕后, 反应液经高效液相纯化, 得化合物 27a 和化合物 27b 的制备液, 制备液分别冻干得到化合物 27a (330mg)、化合物 27b(300mg), LC-MS: $[M+H]^+ = 1464.6$ 。

第二步：化合物 27A 的合成



于 25 mL 单口瓶中加入化合物 27a (200 mg, 0.136 mmol), 溴化锌(614.8 mg, 2.73 mmol)及 6 mL 硝基甲烷, 室温反应 1h。HPLC 监测反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂, 得粗品。粗品经高效液相纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干得到固体化合物 27A(125 mg), 收率 70%, LC-MS: $[M+H]^+ = 1308.5$ 。

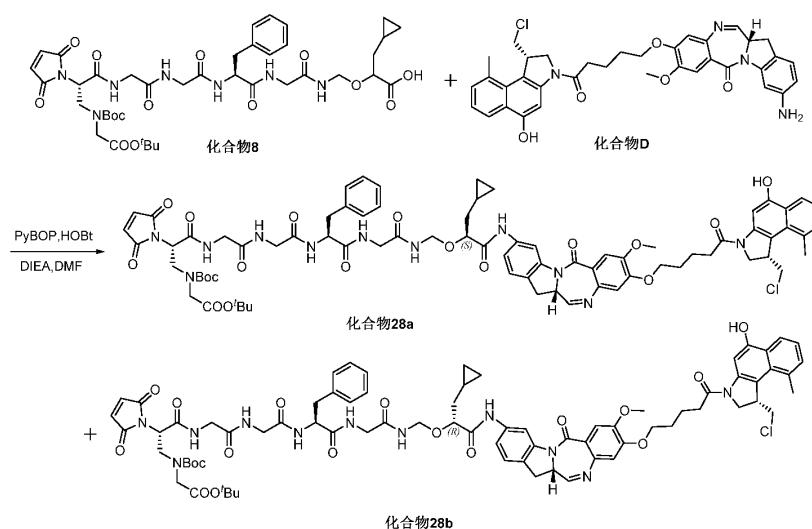
第三步：化合物 27B 的合成



于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **27b** (200 mg, 0.136 mmol), 溴化锌(614.8 mg, 2.73 mmol)及 6 mL 硝基甲烷, 室温反应 1h。HPLC 监测反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂, 得粗品。粗品经高效液相纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干得到固体化合物 **27B**(115 mg), 收率 64%, LC-MS: $[M+H]^+ = 1308.5$ 。

实施例 34:

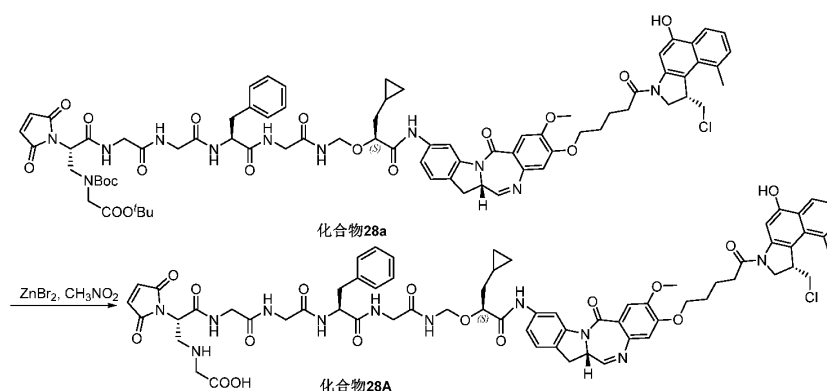
化合物 **28A** 和 **28B** 的合成:



第一步: 化合物 **28a** 和 **28b** 的合成

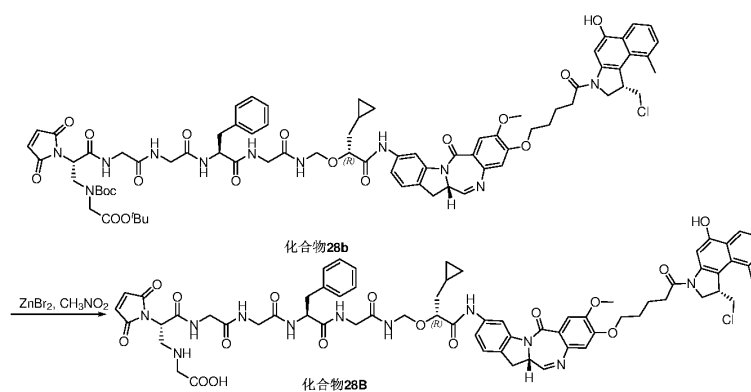
于 50 mL 单口瓶中加入化合物 **8** (532 mg, 0.62 mmol), 化合物 **D** (396.3mg, 0.62 mmol), PyBOP(385 mg, 0.74mmol), HOBT(100 mg, 0.74mmol)及 15 mL DMF, 冰水浴下加入 DIPEA(120mg, 0.93 mmol), 升至室温反应 2 h。HPLC 监测反应完毕后, 反应液经高效液相纯化, 得化合物 **28a** 和化合物 **28b** 的制备液, 制备液分别冻干得到化合物 **28a** (320mg)、化合物 **28b**(300mg), LC-MS: $[M+H]^+ = 1478.6$ 。

第二步: 化合物 **28A** 的合成



于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **28a** (200 mg, 0.135 mmol), 溴化锌(608 mg, 2.7 mmol)及 6 mL 硝基甲烷, 室温反应 1h。HPLC 监测反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂, 得粗品。粗品经高效液相纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干得到固体化合物 **28A**(121 mg), 收率 68%, LC-MS: $[M+H]^+=1322.5$ 。

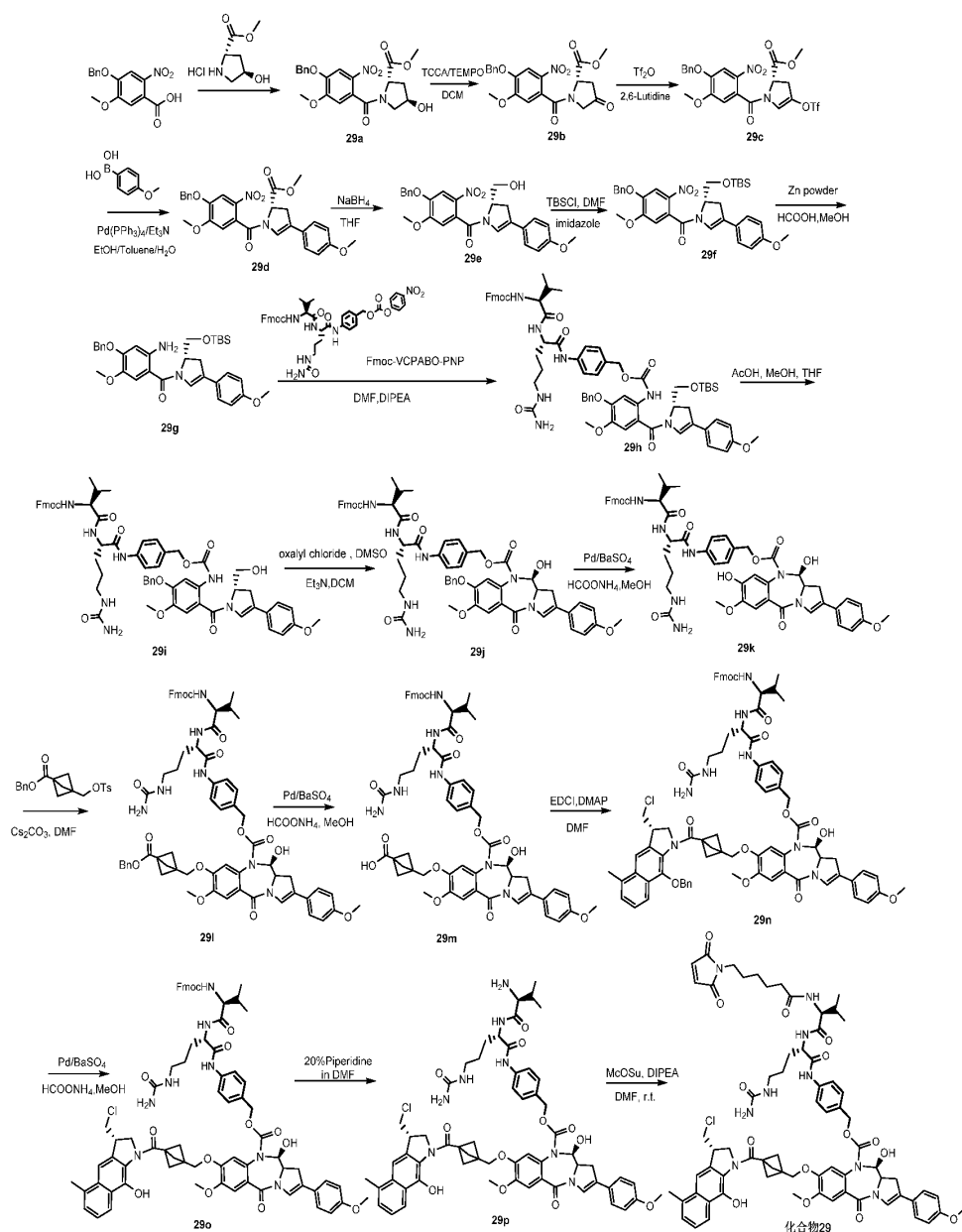
第三步: 化合物 **28B** 的合成



于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **28b** (200 mg, 0.135 mmol), 溴化锌(608 mg, 2.7 mmol)及 6 mL 硝基甲烷, 室温反应 1h。HPLC 监测反应完毕后, 减压浓缩除去溶剂, 得粗品。粗品经高效液相纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干得到固体化合物 **28B**(115 mg), 收率 64%, LC-MS: $[M+H]^+=1322.5$ 。

实施例 34:

化合物 **29** 合成:



第一步：化合物 **29a** 至化合物 **29d** 的合成

参照专利 CN102933236A 中“化合物 **26**”的合成得到化合物 **29d**。

第二步：化合物 **29e** 的合成

在 250mL 三口瓶中，加入化合物 **29d**(3.0g, 5.8mmol)，50mL 无水 THF，氮气保护下，冰水浴维持在 0℃，加入硼氢化钠固体(329mg, 8.7mmol)，在 0℃ 下反应 30min，升至室温反应 2h，TLC 监测反应终点。反应结束后，将反应液至于冰水中，缓慢加入 50mL 水淬灭反应，再加入 1N 稀 HCl 直至不冒气泡为止，加

入乙酸乙酯萃取(60mL*3),合并有机相,用饱和氯化钠溶液洗涤两次,无水硫酸钠干燥,过滤,浓缩得粗品。粗品经过柱层析纯化(DCM/MeOH=20:1-5:1),得到化合物 **29e**(2.1g,黄色固体),收率 73.8%, LCMS: $[M+H]^+=491.2$ 。

第三步: 化合物 **29f** 的合成

在 100mL 单口瓶中加入化合物 **29e**(2.1g, 4.3mmol), TBSCl(1.3g, 8.6mmol), 咪唑(580mg, 8.6mmol), 15mL 无水 DMF 溶解, 室温下反应 3h, TLC 监测反应终点。反应结束后将反应倒入 30mL 水中, 用 DCM 萃取(25mL*3), 合并有机相, 用水和盐水洗涤、无水硫酸钠干燥并且减压蒸发, 得到粗品。粗品通过柱层析(PE/EA=5:1-1:2), 得到化合物 **29f**(2.4g, 黄色固体), 收率 89.3%, LCMS: $[M+H]^+=605.3$ 。

第四步: 化合物 **29g** 的合成

在 100mL 单口瓶中加入化合物 **29f**(2.4g, 4.0mmol), 5%甲酸/甲醇溶液 30mL, 冰浴冷却至 5℃以下, 搅拌下缓慢加入锌粉(5.2g, 80.0mmol), 再升至室温反应 1h, TLC 监测反应终点。反应结束后趁热过滤, 滤饼用少量甲醇洗涤, 滤液以饱和碳酸氢钠溶液调 pH 至 7, 然后于 45℃下减压浓缩, 除去溶剂, 得到棕黄色油状物, 加入 60mL DCM, 分出有机层, 用饱和食盐水洗一次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 于 45℃下减压浓缩, 得到粗品。粗品经过柱层析纯化(PE: EA=1:1-1:3), 得到化合物 **29g**(1.9g, 淡黄色固体), 收率 82.5%, LCMS: $[M+H]^+=575.3$ 。

第五步: 化合物 **29h** 的合成

在 50mL 单口瓶中加入化合物 **29g**(1.9g, 3.3mmol), Fmoc-VCPABO-PNP(2.5g, 3.3mmol), 15mL DMF 溶清, 再加入 DIPEA(827uL, 5.0mmol), 室温反应 2h, HPLC 监测反应终点。反应结束后, 反应液经过高效液相制备纯化, 得到产品制备液, 再冻干, 得到化合物 **29h**(3.3g, 淡黄色固体), 收率 83.1%, LCMS: $[M+H]^+=1202.5$ 。

第六步: 化合物 **29i** 的合成

在 50mL 单口瓶中加入化合物 **29h**(3.3g, 2.7mmol), 8mL THF 和 8mL 水溶解, 再加入 20mL 冰乙酸, 室温反应, HPLC 监测反应终点。反应结束后, 将反应液缓慢地滴入 400mL 饱和碳酸氢钠溶液中, 用乙酸乙酯萃取(100mL*3), 合并有机相, 用水和盐水洗涤、无水硫酸钠干燥并且减压蒸发, 得到粗品。粗品通过柱层析(DCM/MeOH=10:1-5:1), 得到化合物 **29i**(2.1g, 淡黄色固体), 收率 71.1%,

LCMS: $[M+H]^+=1088.5$ 。

第七步：化合物 **29j** 的合成

于 100mL 三口瓶中加入化合物 **29i**(2.1g, 1.9mmol), 40mL 无水 DCM 溶解, 氮气保护下, 加入 Dess-Martin 高碘试剂(0.88g, 2.1mmol), 室温反应 4h, HPLC 监测反应终点。反应结束后, 过滤, 滤液经过饱和碳酸氢钠溶液、水、饱和氯化钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩得到粗品。粗品经过高效液相纯化, 产品制备液冻干得化合物 **29j**(1.6g, 白色固体), 收率 77.6%, LCMS: $[M+H]^+=1086.5$ 。

第八步：化合物 **29k** 的合成

于 50mL 三口瓶中加入化合物 **29j**(1.6g, 1.5mmol), 5%钡硫酸钡 (0.29g), 甲酸铵(1.9g, 30mmol), 20mL 甲醇溶解, 氮气保护下, 45℃反应 2h, HPLC 监测反应终点。反应结束后, 过滤, 滤液浓缩后, 加入 20mL DCM, 20mL 水搅拌均匀后分液, 水层用 DCM 再萃取一次, 合并有机层, 饱和氯化钠水溶液洗一次, 分液, 无水硫酸钠干燥, 浓缩得到粗品。粗品经过高效液相纯化, 得产品制备液, 冻干得化合物 **29k**(1.3g, 类白色固体), 收率 93.3%, LCMS: $[M+H]^+=996.4$ 。

第九步：化合物 **29l** 的合成

于 100mL 单口瓶中加入 3-((对甲苯磺酰氧基)甲基)二环[1.1.1]戊烷-1-甲酸苄酯 (0.61g, 1.2mmol)、化合物 **29k**(1.3g, 1.3mmol)和 20mL DMF, 搅拌溶解后加入碳酸铯 (0.78g, 2.4mmol), 加毕, 氮气保护下升温至 60℃反应 4h, TLC 监测反应终点。往反应液中加入水 40mL, 以 30mL EA 萃取 2 次, 合并有机层, 依次用水、饱和食盐水各洗一次, 分出有机层, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 于 45℃下减压浓缩, 得到粗品, 粗品经过高效液相纯化, 得产品制备液, 冻干得化合物 **29l** (1.2g, 类白色固体), 收率 84.0%, LCMS: $[M+H]^+=1210.5$ 。

第十步：化合物 **29m** 的合成

于 50mL 三口瓶中加入化合物 **29l**(1.2g, 1.0mmol), 5%钡硫酸钡 (0.24g), 甲酸铵(1.3g, 20mmol), 20mL 甲醇溶解, 氮气保护下, 45℃反应 2h, HPLC 监测反应终点。反应结束后, 过滤, 滤液浓缩后, 加入 20mL DCM, 20mL 水搅拌均匀后分液, 水层用 DCM 再萃取一次, 合并有机层, 饱和氯化钠水溶液洗一次, 分液, 无水硫酸钠干燥, 浓缩得到粗品。粗品经过高效液相纯化, 得产品制备液, 冻干得化合物 **29m**(0.92g, 类白色固体), 收率 82.5%, LCMS: $[M+H]^+=1120.5$ 。

第十一步：化合物 **29n** 的合成

于 100mL 单口瓶中加入化合物 **29m**(920mg, 0.82mmol) 和 15mL DMF，室温搅拌下依次加入 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐 (496mg, 2.6mmol) 和 DMAP (313mg, 2.6mmol)，N₂ 保护于室温下搅拌 1h，然后加入化合物 CBI (参照专利 CN109180681A) (376mg, 1.0mmol)，N₂ 保护于室温下反应过夜，HPLC 显示原料基本反应完全。往反应液中加入水 40mL，以 30mL DCM 萃取 2 次，合并有机层，依次用水、饱和食盐水各洗一次，分出有机层，无水硫酸钠干燥，过滤，于 40℃ 下减压浓缩，得到粗品。粗品经过高效液相纯化，得产品制备液，冻干得化合物 **29n**(874mg, 类白色固体)，收率 74.5%，LCMS: $[M+H]^+=1439.5$ 。

第十二步：化合物 **29o** 的合成

于 50mL 三口瓶中加入化合物 **29n**(874mg, 0.60mmol)，5% 钡硫酸钡(174mg)，甲酸铵(390mg, 6mmol)，20mL 甲醇溶解，氮气保护下，45℃ 反应 2h，HPLC 监测反应终点。反应结束后，过滤，滤液浓缩后，加入 20mL DCM，20mL 水搅拌均匀后分液，水层用 DCM 再萃取一次，合并有机层，饱和氯化钠水溶液洗一次，分液，无水硫酸钠干燥，浓缩得到粗品。粗品经过高效液相纯化，得产品制备液，冻干得化合物 **29o**(667mg, 类白色固体)，收率 82.4%，LCMS: $[M+H]^+=1349.5$ 。

第十三步：化合物 **29p** 的合成

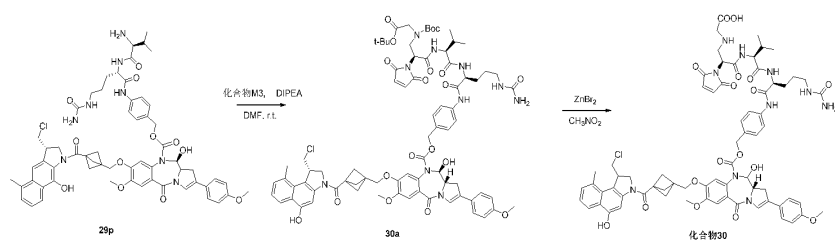
于 50mL 单口瓶中加入化合物 **29o**(667mg, 0.49mmol)，20% 的六氢吡啶 DMF 溶液 (15mL)，室温下反应 2h，HPLC 监测反应终点。反应结束后，过滤，滤液经过高效液相纯化，得产品制备液，冻干得化合物 **29p**(428mg, 类白色固体)，收率 77.5%，LCMS: $[M+H]^+=1127.5$ 。

第十四步：化合物 **29** 的合成

于 50mL 单口瓶中加入化合物 **29p**(428mg, 0.38mmol)，DIPEA(156uL, 0.95mmol)，McOSu(166mg, 0.57mmol)，20mL DMF 溶解，室温下反应 2h，HPLC 监测反应终点。反应结束后，反应液经过高效液相纯化，得产品制备液，冻干得化合物 **29**(386mg, 类白色固体)，收率 77.0%，LCMS: $[M+H]^+=1320.5$ 。

实施例 35:

化合物 **30** 合成:



第一步：化合物 30a 的合成

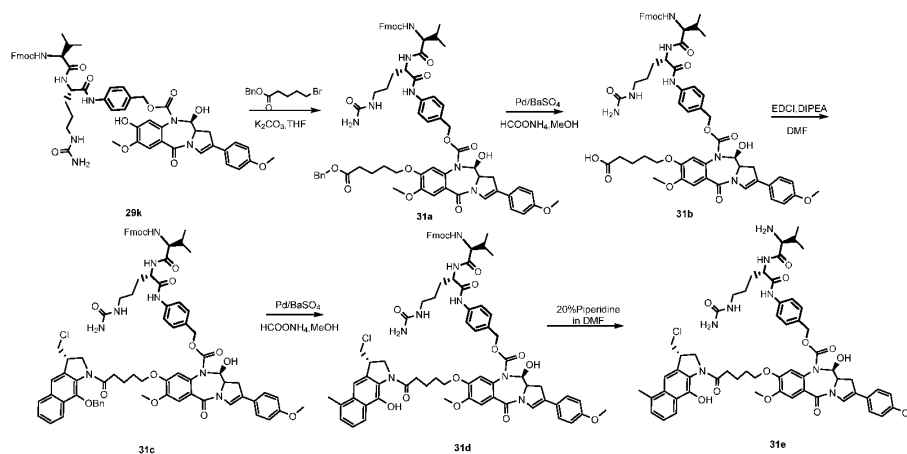
于 50mL 单口瓶中加入化合物 29p(560mg, 0.50mmol), DIPEA(161mg, 1.25mmol), 化合物 M3(423mg, 0.75mmol), 10mLDMF 溶解, 室温下反应 2h, HPLC 监测反应终点。反应结束后, 反应液经过高效液相纯化, 得产品制备液, 冻干得化合物 30a(622mg, 类白色固体), 收率 82.6%, LCMS: $[M+H]^+=1507.6$ 。

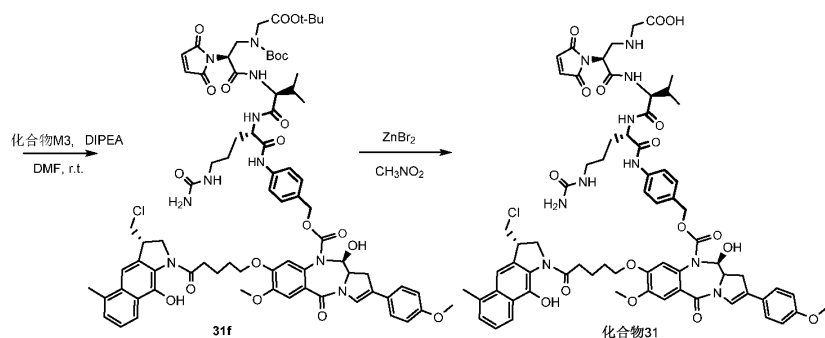
第二步：化合物 30 的合成

于 50mL 单口瓶中加入化合物 30a(622mg, 0.41mmol), 溴化锌(922mg, 4.1mmol), 10mL 硝基甲烷溶解, 25℃下反应 45min, HPLC 监测反应终点, 反应结束后, 40℃减压旋除溶剂得浓缩物, 经过高效液相纯化, 得产品制备液, 冻干得化合物 30(260mg, 类白色固体), 收率 48%, LCMS: $[M+H]^+=1322.5$ 。

实施例 36:

化合物 31 合成:





第一步：化合物 **31a** 的合成

于 100mL 单口瓶中加入 5-溴戊酸苄酯 (488mg, 1.8mmol)、化合物 **29k** (1.8g, 1.8mmol) 和 20mL DMF, 搅拌溶解后加入碳酸钾 (372mg, 2.7mmol), 加毕, 升温至 60℃ 反应 4h, HPLC 监测反应终点。往反应液中加入水 40mL, 以 30mL EA 萃取 2 次, 合并有机层, 依次用水、饱和食盐水各洗一次, 分出有机层, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 于 45℃ 下减压浓缩, 得到粗品, 粗品经过高效液相纯化, 得产品制备液, 冻干得化合物 **31a** (1.8g, 类白色固体), 收率 84.0%, LCMS: $[M+H]^+ = 1186.5$ 。

第二步：化合物 **31b** 的合成

于 50mL 三口瓶中加入化合物 **31a** (1.8g, 1.0mmol), 5% 钨硫酸钡 (0.36g), 甲酸铵 (0.95g, 15mmol), 20mL 甲醇溶解, 氮气保护下, 45℃ 反应 2h, HPLC 监测反应终点。反应结束后, 过滤, 滤液浓缩后, 加入 20mL DCM, 20mL 水搅拌均匀后分液, 水层用 DCM 再萃取一次, 合并有机层, 饱和氯化钠水溶液洗一次, 分液, 无水硫酸钠干燥, 浓缩得到粗品。粗品经过高效液相纯化, 得产品制备液, 冻干得化合物 **31b** (0.85g, 类白色固体), 收率 78%, LCMS: $[M+H]^+ = 1096.5$ 。

第四步：化合物 **31c** 的合成

于 100mL 单口瓶中加入化合物 **31b** (850mg, 0.85mmol) 和 15mL DMF, 室温搅拌下依次加入 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐 (514mg, 2.7mmol) 和 DMAP (324mg, 2.7mmol), N₂ 保护于室温下搅拌 1h, 然后加入化合物 CBI (参照专利 CN109180681A) (376mg, 1.0mmol), N₂ 保护于室温下反应过夜, HPLC 显示原料基本反应完全。往反应液中加入水 40mL, 以 30mL DCM 萃取 2 次, 合并有机层, 依次用水、饱和食盐水各洗一次, 分出有机层, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 于 40℃ 下减压浓缩, 得到粗品。粗品经过高效液相纯化, 得产品制备液, 冻干得化合物 **31c** (941mg, 类白色固体), 收率 78.2%, LCMS: $[M+H]^+ = 1415.6$ 。

第五步：化合物 **31d** 的合成

于 50mL 三口瓶中加入化合物 **31c**(941mg, 0.66mmol), 5%钡硫酸钡(188mg), 甲酸铵(415mg, 6.6mmol), 20mL 甲醇溶解, 氮气保护下, 45℃反应 2h, HPLC 监测反应终点。反应结束后, 过滤, 滤液浓缩后, 加入 20mL DCM, 20mL 水搅拌均匀后分液, 水层用 DCM 再萃取一次, 合并有机层, 饱和氯化钠水溶液洗一次, 分液, 无水硫酸钠干燥, 浓缩得到粗品。粗品经过高效液相纯化, 得产品制备液, 冻干得化合物 **31d**(735mg, 类白色固体), 收率 84.0%, LCMS: $[M+H]^+=1325.5$ 。

第六步：化合物 **31e** 的合成

于 50mL 单口瓶中加入化合物 **31d**(735mg, 0.55mmol), 20%的六氢吡啶 DMF 溶液 (15mL), 室温下反应 2h, HPLC 监测反应终点。反应结束后, 过滤, 滤液经过高效液相纯化, 得产品制备液, 冻干得化合物 **31e**(428mg, 类白色固体), 收率 86.5%, LCMS: $[M+H]^+=1103.5$ 。

第七步：化合物 **31f** 的合成

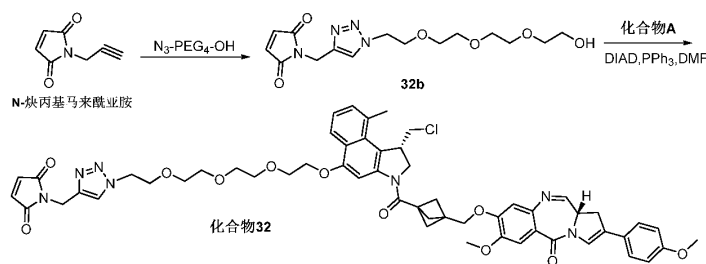
于 50mL 单口瓶中加入化合物 **31e**(524mg, 0.48mmol), DIPEA(168mg, 1.30mmol), 化合物 M3(441mg, 0.78mmol), 10mL DMF 溶解, 室温下反应 2h, HPLC 监测反应终点。反应结束后, 反应液经过高效液相纯化, 得产品制备液, 冻干得化合物 **31f**(549mg, 类白色固体), 收率 77.2%, LCMS: $[M+H]^+=1483.6$ 。

第八步：化合物 **31** 的合成

于 50mL 单口瓶中加入化合物 **31f**(549mg, 0.37mmol), 溴化锌(832mg, 3.7mmol), 10mL 硝基甲烷溶解, 25℃下反应 45min, HPLC 监测反应终点, 反应结束后, 40℃减压旋除溶剂得浓缩物, 经过高效液相纯化, 得产品制备液, 冻干得化合物 **31**(213mg, 类白色固体), 收率 43.5%, LCMS: $[M+H]^+=1326.5$ 。

实施例 37:

化合物 **32** 合成:



第一步：化合物 **32a** 的合成

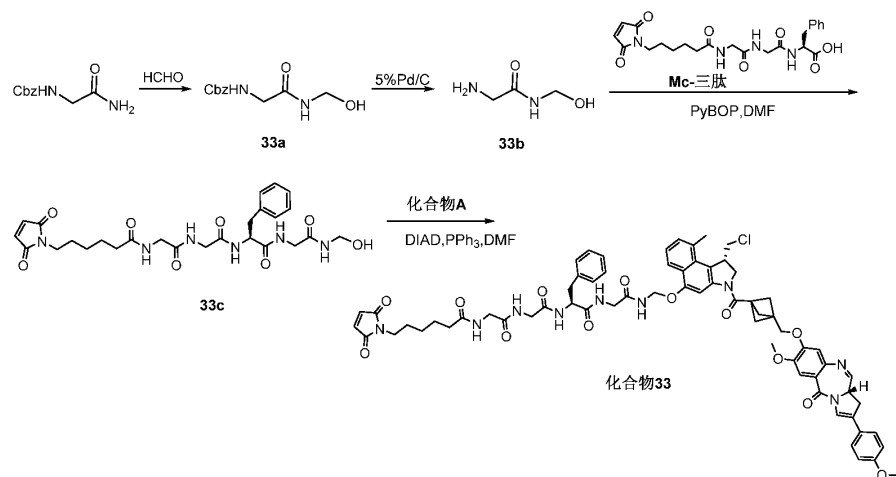
于 50mL 单口瓶中，加入化合物 N-炔丙基马来酰亚胺(500mg, 3.7mmol)， $\text{N}_3\text{-PEG}_4\text{-OH}$ (811mg, 3.7mmol)，10mL DMF 及 5mL 水溶解，再加入 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (1.01g, 4.1mmol)，抗坏血酸钠(806mg, 4.1mmol)，室温反应 1h，HPLC 监测反应终点。反应结束后，反应液经过高效液相制备纯化，得到产品制备液，制备液冻干，得到化合物 **32a** (1.06g)，收率 81%，LCMS: $[\text{M}+\text{H}]^+=355.1$ 。

第二步：化合物 **32** 的合成

于 50mL 三口瓶中加入化合物 **32a**(20mg, 0.056mmol)、化合物 **A**(19.8mg, 0.028mmol)、三苯基膦(29.6mg, 0.11mmol) 及 8mL DMF，氮气保护，冰水浴滴加偶氮二甲酸二异丙酯(28uL, 0.11mmol)，滴毕升至室温反应，HPLC 监测。反应结束后制备纯化，冻干得化合物 **32** (18mg)，收率 63%，LC-MS: $[\text{M}+\text{H}]^+=1040.4$ 。

实施例 38:

化合物 **33** 合成:



第一步：化合物 **33a** 的合成

按照专利 CN111686259A 中“化合物 22”的合成方法制备。

第二步：化合物 **33c** 的合成

于 50mL 单口瓶中加入化合物 **33a**(500mg, 2.0mmol)，溶于 8mL DMF 中，加入 300mg 5% Pd/C，氢化反应 2h，TLC 监测反应终点。反应结束后，过滤，得

化合物 **32b** 的 DMF 溶液，备用。

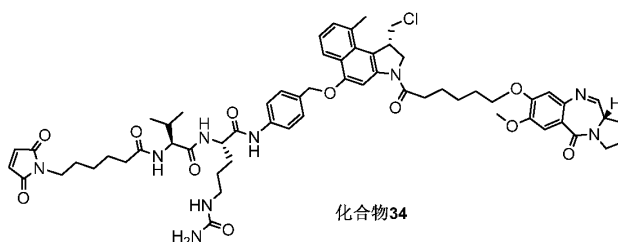
向上述 DMF 溶液中加入化合物 **Mc-三肽**(992mg, 2.0mmol), PyBop(1.3g, 2.5mmol)、HOBt(339mg, 2.5mmol)及 DIEA (415uL, 2.5mmol), 室温反应 2h, HPLC 监测反应终点。反应液经过高效液相制备纯化, 得产品制备液, 冻干得化合物 **33c**(580mg), 收率 52%, LC-MS: $[M+H]^+ = 559.2$ 。

第三步: 化合物 **33** 的合成

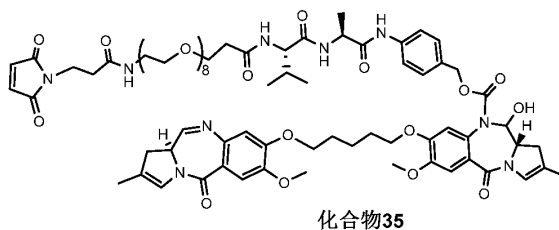
于 50mL 三口瓶中加入化合物 **33c**(20mg, 0.035mmol)、化合物 **A**(12.6mg, 0.018mmol)、三苯基膦(18.4mg, 0.07mmol)及 5mL DMF, 氮气保护, 冰水浴滴加偶氮二甲酸二异丙酯(14.2uL, 0.07mmol), 滴毕升至室温反应, HPLC 监测。反应结束后制备纯化, 冻干得化合物 **33** (15mg), 收率 68%, LC-MS: $[M+H]^+ = 1244.5$ 。

实施例 39(对照例):

化合物 **34** 和 **35** 的合成:



化合物 **34** 按照专利 CN105636612 A 中“化合物 56”的合成方法合成。



化合物 **35** 按照文献“ACS Med Chem Lett. 2016;7:983–987”中“SG3249, tesirine”的合成方法合成。

实施例 40:

以下为 Trastuzumab 的序列:

轻链

MDMRVPAQLLGLLLWLRGARC

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYS
ASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVE
IK

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS
GNSQESVTEQDSKDSSTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF
NRGEC*

重链

MDMRVPAQLLGLLLWLRGARC

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVA
RIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGG
DGFYAMDYWGQGLTVTVSS

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
KTHHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSSFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEA
LHNHYTQKSLSLSPG。

配体-药物偶联物的制备：

1) 通用偶联方法

将通过初步的纯化后单体率大于 95%的抗体分子，使用超滤离心管换液至磷酸盐缓冲液中，浓度 10 mg/mL。加入 20 倍于抗体摩尔分子数的 TCEP，室温下反应 4 h 以打开抗体链间二硫键。加入 20 倍于抗体摩尔分子数的连接子-药物化合物(payload)，室温下反应 2 h。反应结束后，使用截留分子量为 30 KDa 的超滤离心管换液至 PBS 中，并去除未偶联的 payload。换液后的 ADC 样品使用 0.22 微米除菌过滤器过滤后备用。

2) 配体-药物偶联物 DAR 值的测定

单体率检测条件:

样品 14000 rpm 离心 5 分钟, 取上清液进样分析;

仪器: Waters e2695(2489UV/Vis) ;

色谱柱: TSKgel G3000SWXL(7.8×300 mm, 5 μm);

流动相: A: 50 mM PB, 300 mM NaCl, 200 mM Arg, 5% IPA, pH 为 6.5;

流动相 A 等度洗脱 30 min, 流速: 0.714 mL/min, 柱温 25 °C, 检测波长:
280 nm。

DAR 检测条件:

样品 14000 rpm 离心 5 分钟, 取上清液进样分析;

仪器: Waters H-class(TUV) ;

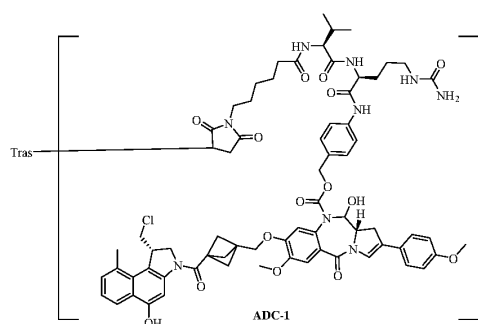
色谱柱: Proteomix HIC Butyl-NP5(4.6×35 mm, 5 μm);

流动相: A: 1.5 M 硫酸铵, 0.025 M 无水磷酸钠, pH 为 7.0, B: 0.025 M
无水磷酸钠, 25% IPA, pH 为 7.0;

流动相 A 平衡色谱柱, 流动相 A 和 B 梯度洗脱, 流速 0.8 mL/min; 柱温 25 °C,
检测波长: 214 nm。

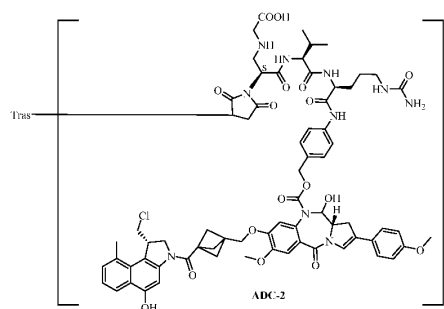
实施例 41:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-1**:



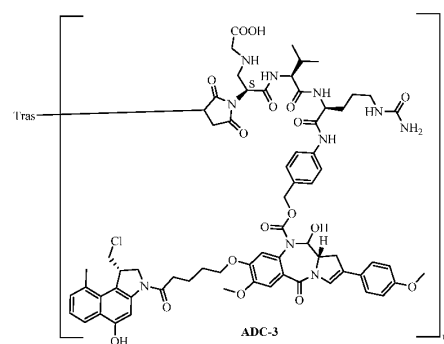
实施例 42:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-2**:



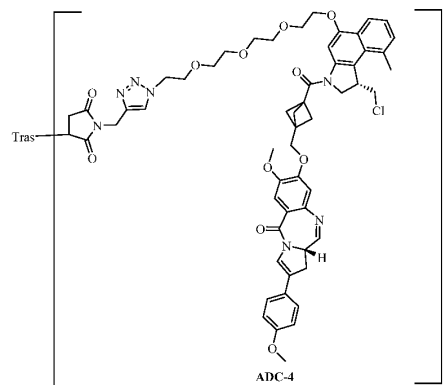
实施例 43:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-3**:



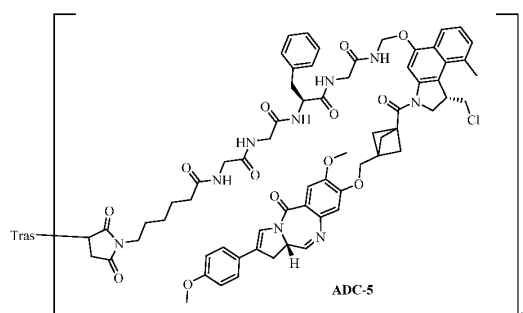
实施例 44:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-4**:



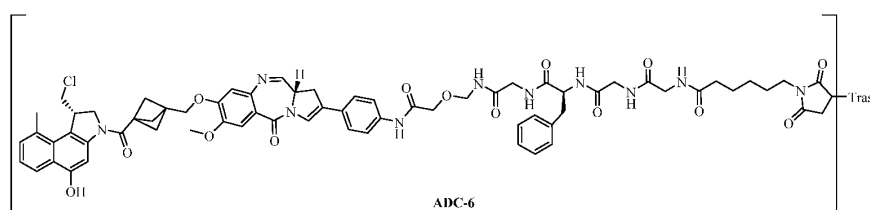
实施例 45:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-5**:



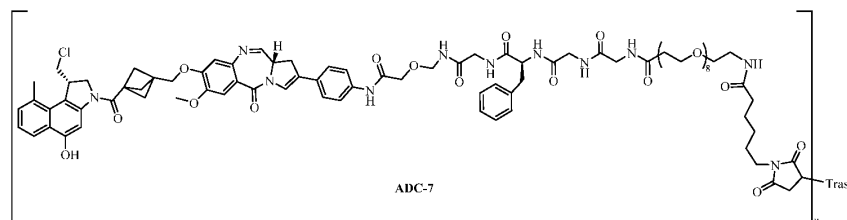
实施例 46:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 ADC-6:



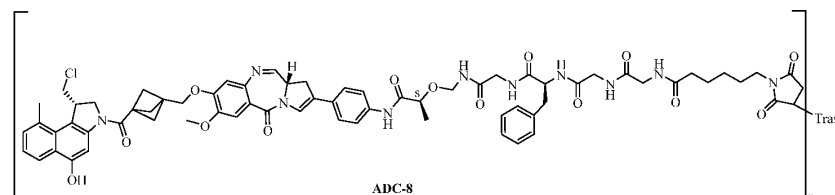
实施例 47:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 ADC-7:



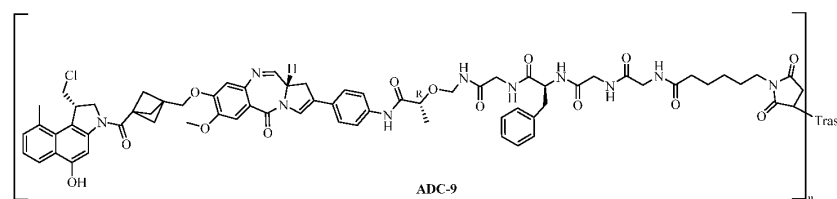
实施例 48:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 ADC-8:



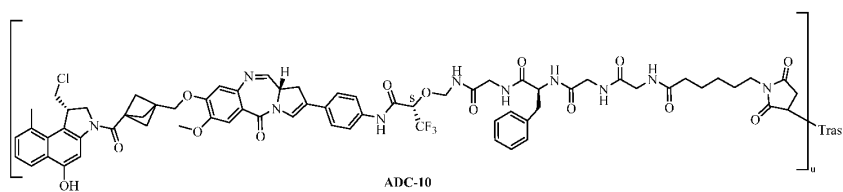
实施例 49:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 ADC-9:



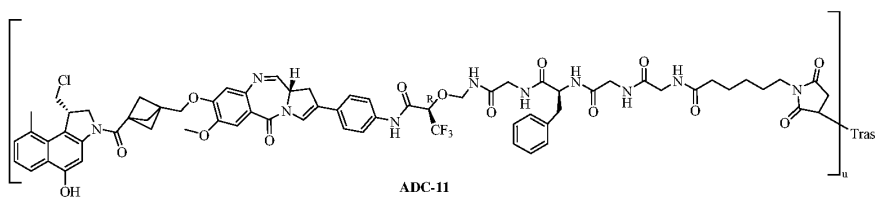
实施例 50:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-10**:



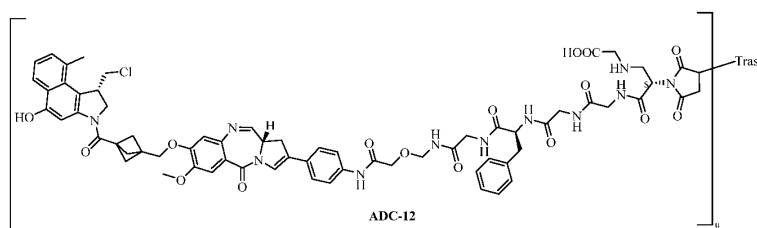
实施例 51:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-11**:



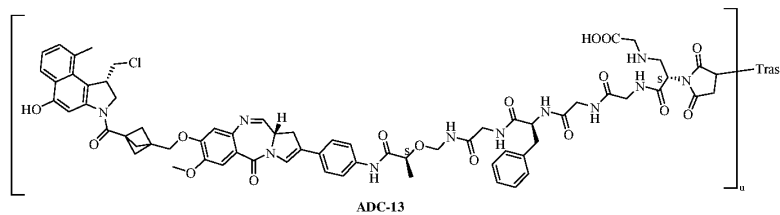
实施例 52:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-12**:



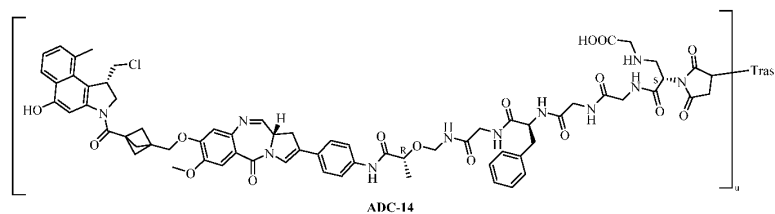
实施例 53:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-13**:



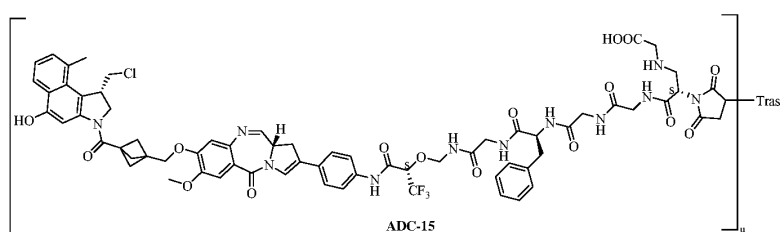
实施例 54:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-14**:



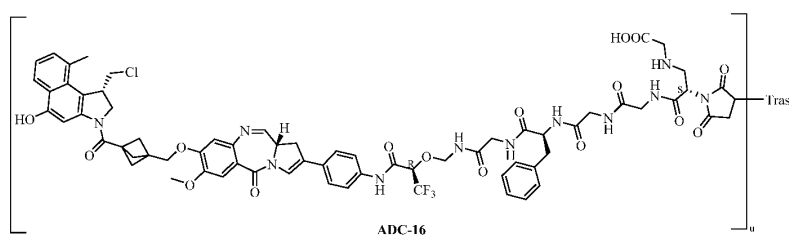
实施例 55:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-15**:



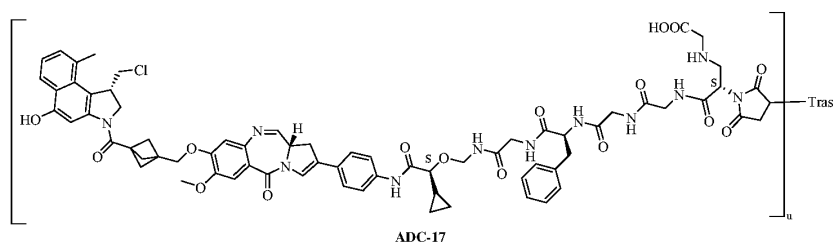
实施例 56:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-16**:



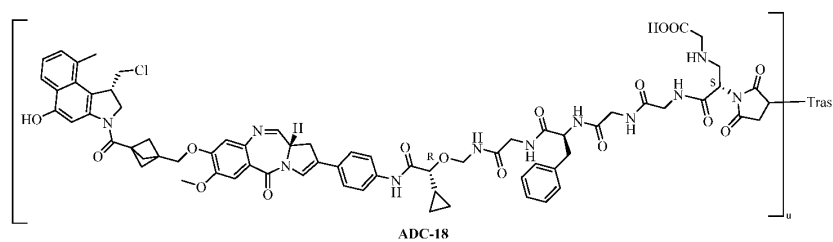
实施例 57:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-17**:



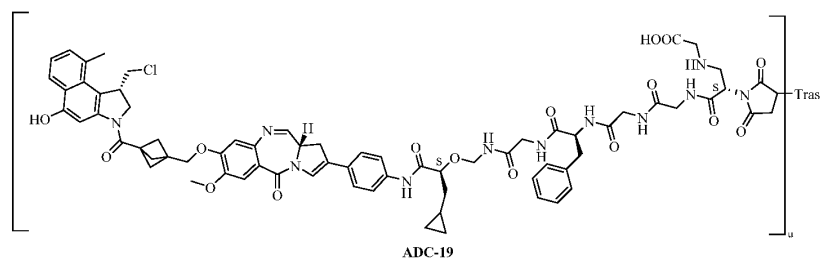
实施例 58:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-18**:



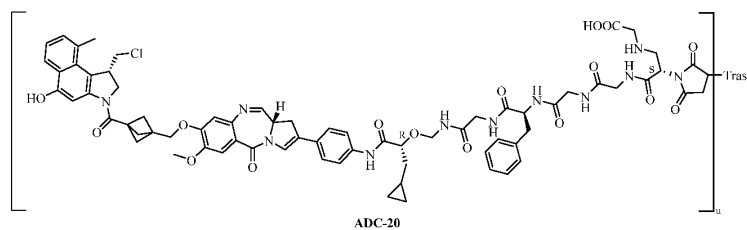
实施例 59:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-19**:



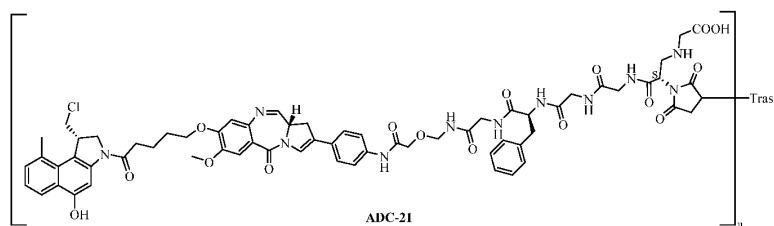
实施例 60:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-20**:



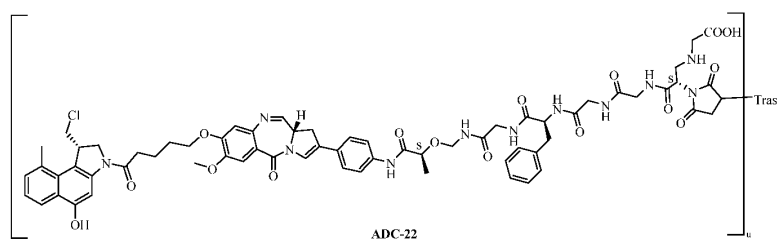
实施例 61:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-21**:



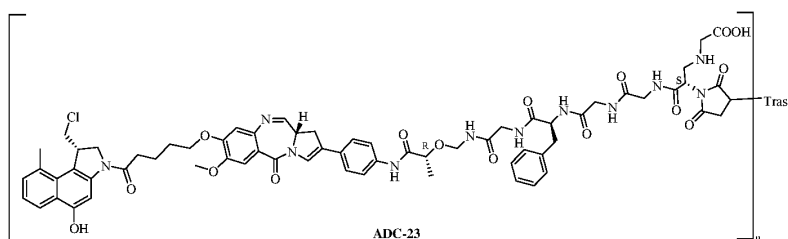
实施例 62:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-22**:



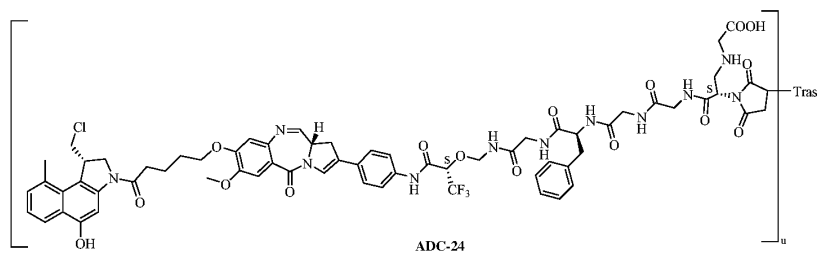
实施例 63:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-23**:



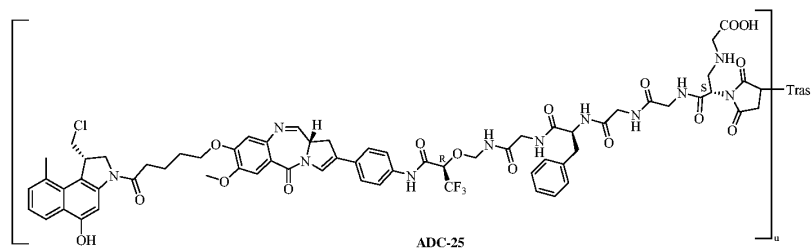
实施例 64:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-24**:



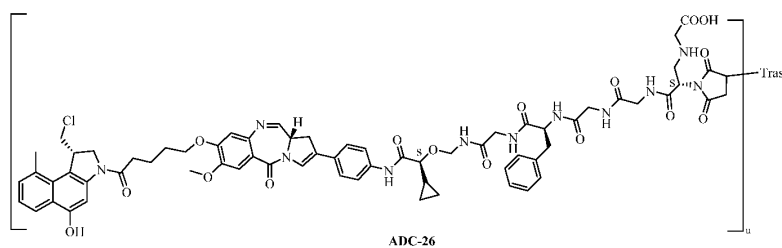
实施例 65:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-25**:



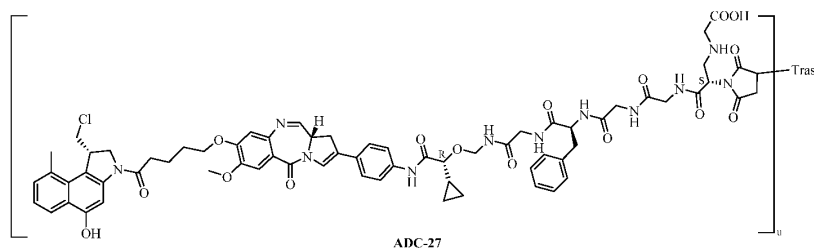
实施例 66:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-26**:



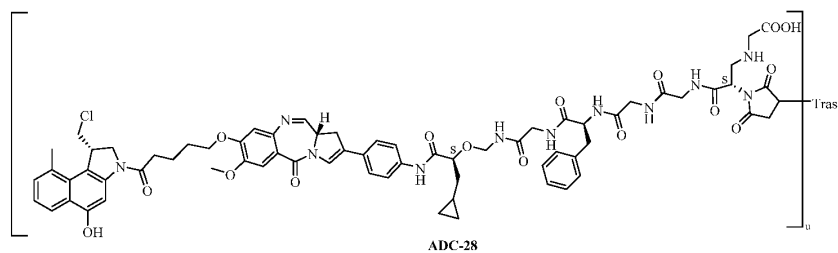
实施例 67:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-27**:



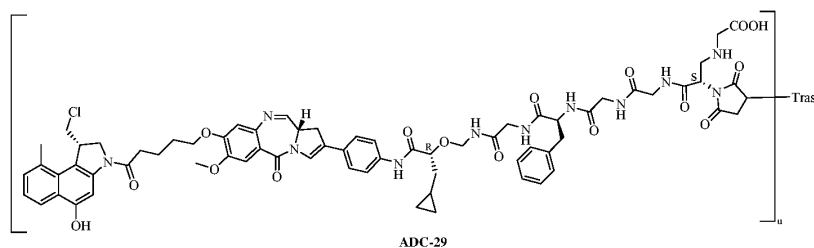
实施例 68:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-28**:



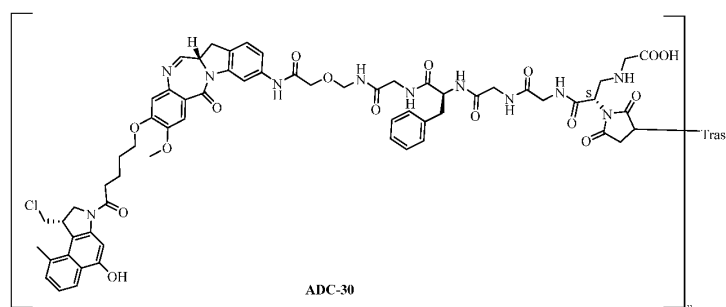
实施例 69:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-29**:



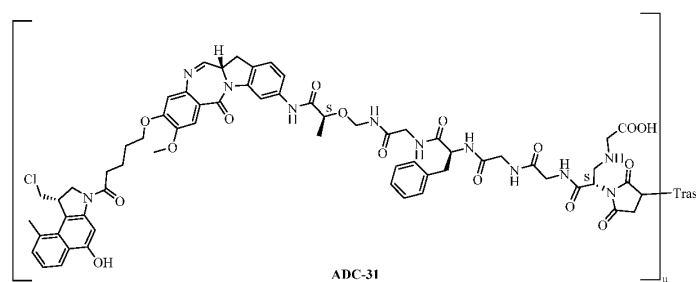
实施例 70:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-30**:



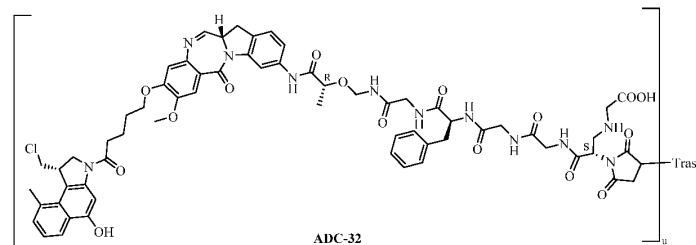
实施例 71:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-31**:



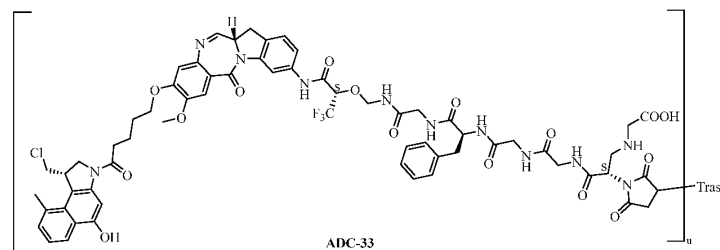
实施例 72:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-32**:



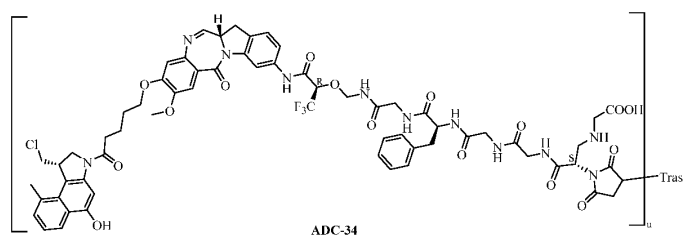
实施例 73:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-33**:



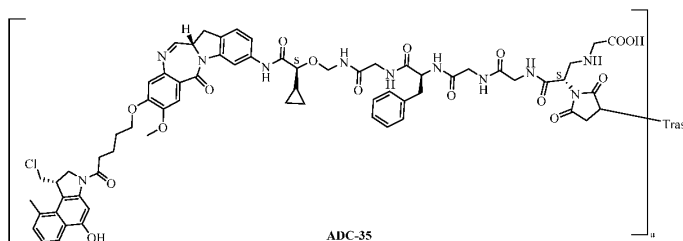
实施例 74:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-34**:



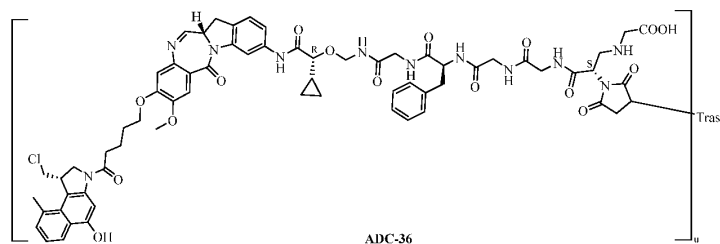
实施例 75:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-35**:



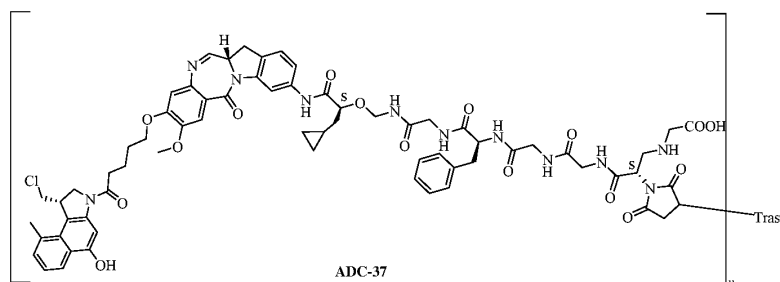
实施例 76:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-36**:



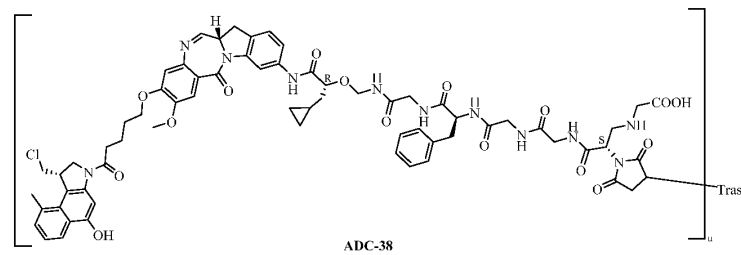
实施例 77:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-37**:



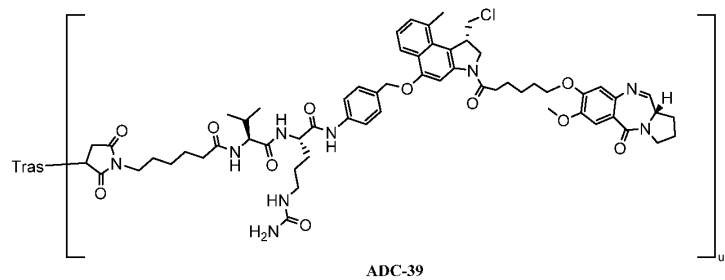
实施例 78:

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 **ADC-38**:



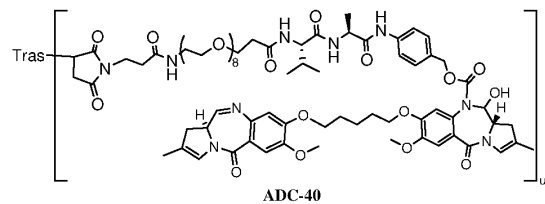
实施例 79 (对照):

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 ADC-39:



实施例 80 (对照):

按照实施例 40 的通用偶联方法制备得到 ADC-40:



实施例 81: 血浆稳定性实验

1.操作

取一定量的 ADC 样品, 加入到已去除人 IgG 的人血浆中, 每种 ADC 重复三管, 放置 37 °C 水浴中孵, 分别孵育 72 h、144 h 后, 取出 ADC 样品, 每管加入 ProteinA resin(MabSelect SuRe™ LX Lot:#10221479GE, 用取 PBS 洗涤过的)100 uL, 垂直混合仪晃动吸附 2 h, 经过洗涤洗脱步骤, 获得孵育后的 ADC。对孵育特定时间的 ADC 样品进行 RP-HPLC 检测。

2.结果

表 1. 本发明公开配体-药物偶联物(ADC)DAR 值及单体率数据。

分子名称	DAR	聚集体%	单体%
Trastuzumab	NA	1.61	98.39

ADC-3	7.87	1.43	98.57
ADC-5	7.65	1.71	98.29
ADC-7	7.56	1.31	98.69
ADC-12	7.54	1.81	98.19
ADC-21	7.60	1.42	98.58
ADC-30	7.64	1.46	98.54

表 2. 本发明公开配体-药物偶联物(ADC)血浆稳定性数据。

分子名称	DAR			
	未孵育	孵育 0 天	孵育 3 天	孵育 7 天
ADC-3	7.87	7.70	7.36	7.02
ADC-5	7.65	7.56	7.03	6.41
ADC-7	7.56	7.47	6.93	6.38
ADC-12	7.54	7.41	6.81	6.55
ADC-21	7.60	7.50	6.92	6.56
ADC-30	7.64	7.52	6.83	6.48

3) 结论

如表 1 所示，本发明公开的 ADC 具有 DAR 值(>7.5)及单体率(>97%)高的优异性质。

如表 2 所示，本发明公开的 ADC 血浆中孵育 7 天后 DAR 值仍可以保持较高水平，证明本发明的 ADC 在血浆中具有优异的稳定性。

实施例 82：体外活性测试

1)实验材料

细胞：来源于中国科学院细胞库；

肿瘤细胞培养基：Gibco；

FBS：BIOWEST；

2)培养基的配制

生长培养基(with 10%FBS，Penicillin/streptomycin(100 U/mL)；

检测培养基(with 1%FBS，Penicillin/streptomycin(100 U/mL)；

3)操作

提前 30 min 开启生物安全柜紫外灯照射，后通风 3 min。将生长培养基、检测培养基、D-PBS 和胰酶放入 37 ℃恒温水浴锅预热，之后用酒精对表面进行消毒，放入生物安全柜中。选择汇合度在~80%的细胞（对数生长期），放于生物安

全柜中，吸掉旧培养基，用 D-PBS 润洗，吸弃，用胰酶消化 2~3 min，后加入生长培养基终止胰酶，500×g 离心 5 min。吸去离心上清液，用 4 mL 检测培养基混匀，取 100 uL 计数(其中取出 50 uL 细胞液，加入 50 μL 0.4% Trypan Blue Stain 并混匀，混匀后计数)。按照之前设置好的细胞数铺板，80 uL/孔铺于 96 孔板中，孔 E11、F11、G11 只加 80 uL 检测培养基，边缘孔加入 200 uL 的 DPBS 封边。待铺板细胞完全贴壁后(通常至少需要 4 小时)，进行受试样品配置与稀释：用检测培养基配置 1.0mL, 2.5μM(5×Top Dose)的受试样品，分装于 V 型 96 孔板第一列，每孔 200μL；后面第 2 至 8 列分别加入 180 μL 的检测培养基，从第一列中取 30 μL 加入到第二列，用排枪上下混匀 10 次，弃枪头，剩余检测浓度点依次操作，进行 7 倍梯度浓度稀释。将梯度浓度的受试样品按照每孔 20 uL 的量加入细胞中，同时第 11 列只加入 20 uL 的检测培养基，每个浓度设置 3 个复孔，随后将 96 孔板放入 5%CO₂, 37 °C 细胞培养箱，培养 5 天。

4)检测

受试样品作用 5 天后取出 MTS 试剂，常温避光解冻后，充分涡旋混匀后，在生物安全柜中，沿孔侧壁按每 100 μL 细胞培养体积加入 20 μL Cell Titer One Solution Reagen MTS 试剂，轻轻拍动板面，使 MTS 溶液混合均匀，放于细胞培养箱中 5%CO₂, 37°C 避光静置孵育 2 h。反应结束后，取出 96 孔板，于酶标仪中检测 OD490 nm 吸光值，并进行数据记录、整理、存储。

5)结果

表 3：抗体药物偶联物及毒素对 N87 肿瘤细胞的体外增值抑制的 IC50 值。

Sample	IC50 (nM)
Trastuzumab	>500
化合物 A	0.82
化合物 B1	5.03
化合物 C1	9.68
化合物 D1	12.33

ADC-3	0.61
ADC-5	0.74
ADC-7	1.55
ADC-12	1.82
ADC-21	1.11
ADC-30	1.05
ADC-39 (对照)	22.86

表 4：抗体药物偶联物及毒素对 SK-BR-3 肿瘤细胞的体外增值抑制的 IC50 值。

Sample	IC50 (nM)
化合物 A	0.52
化合物 B1	4.23
化合物 C1	8.67
化合物 D1	10.33
ADC-3	0.45
ADC-5	0.60
ADC-7	4.55
ADC-12	5.82
ADC-21	6.11
ADC-30	9.05
ADC-39 (对照)	26.12

6)结论

如表 3 所示，本发明针对 HER2 靶标的配体-药物偶联物对 HER2 阳性细胞 N87 具有明显的体外增值抑制活性，明显优于裸抗(Trastuzumab)、对照组 ADC-39。

如表 4 所示，与裸抗(Trastuzumab)及对照组 ADC 对比，本发明公开的 ADC 及单药对 HER2 阳性的细胞 SK-BR-3 也具有明显的体外增值抑制活性。

实施例 83：体内安全性测试

1)实验材料

细胞：来源于中国科学院细胞库；

肿瘤细胞培养基：Gibco；

Balb/c-nu 裸鼠：雌性，5-7 周(肿瘤细胞接种时的小鼠周龄)，体重 18.0-24.0g，180 只（120 只加 60 只富余小鼠）。购自北京维通利华实验动物技术有限公司；

供试品和对照品：

供试品：ADC-3、ADC-40 由成都多特抗体药物有限责任公司提供。

Histidine 缓冲液，由成都多特抗体药物有限责任公司提供。

0.9%氯化钠注射液：科伦药业有限责任公司。

2)细胞培养

NCI-H1975(人非小细胞肺癌腺癌细胞)培养在 RPMI1640 培养基中。收集指数生长期的 NCI-H1975 细胞，RPMI1640 培养基重悬至适合浓度后用于小鼠皮下肿瘤接种。

3) 动物造模和随机分组

120 只雌性裸鼠右肩侧皮下接种 5×10^7 个 NCI-H1975 细胞。待肿瘤平均体积 170mm^3 左右时，根据肿瘤大小随机分组。选取 120 只肿瘤体积合适的荷瘤小鼠，随机分组并开始给药（尾静脉注射，给药体积按 $0.1\text{mL}/10\text{g}$ ）。分组当天定义为第 0 天。

4) 供试品和对照品的配制

表5. 在NCI-H1975(人非小细胞肺癌腺癌细胞)移植瘤模型中抗肿瘤作用研究的供试品和对照品溶液的配制。

供试品 /对照品	剂量 (mg/kg)	浓度 (mg/mL)	配制	配制后 状态	配制 频率	配制 后 储存
Vehicle	-	-	1200 微升 Histidine 缓冲液。	☒ 溶液 ☐ 悬浊液	每次 现用 现配	4℃

ADC-3	3.75	0.375	102 微升的 ADC 原液 中加入 2298 微升 Histidine 缓冲液，上下 颠倒混匀。	☒ 溶液 ☐ 悬浊液	每次 现用 现配	使用 后丢 弃
ADC-3	11.25	1.125	306 微升的 ADC 原液 中加入 2094 微升 Histidine 缓冲液，上下 颠倒混匀。	☒ 溶液 ☐ 悬浊液	每次 现用 现配	使用 后丢 弃
ADC-40（对 照）	3.75	0.375	92 微升的 ADC 原液中 加入 2308 微升 Histidine 缓冲液，上下 颠倒混匀。	☒ 溶液 ☐ 悬浊液	每次 现用 现配	使用 后丢 弃
ADC-40 （对照）	11.25	1.125	277 微升的 ADC 原液 中加入 2123 微升 Histidine 缓冲液，上下 颠倒混匀。	☒ 溶液 ☐ 悬浊液	每次 现用 现配	使用 后丢 弃
Trastuzumab	11.25	1.125	277 微升的 Trastuzumab 原液加入 2123 微升 Histidine 缓冲液，上下颠倒混 匀。	☒ 溶液 ☐ 悬浊液	每次 现用 现配	使用 后丢 弃

注：使用前混匀，确保制剂是均一的。

5) 实验观察和数据收集

本实验过程中，动物实验操作均根据抗肿瘤药物体内筛选试验标准操作规程的要求。肿瘤接种后，常规监测包括了肿瘤生长(肿瘤每周测量 2 次)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、被毛及其它异常情况。实验过程中观察到的临床症状均记录在原始数据中。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）。实验中采用人工记录数据，包括肿瘤的长短径的测量和动物体重的称量。

6) 结果

表 6：给药抗体药物偶联物(11.25mg/kg)对 NCI-H1975 移植瘤小鼠体重影响情况。

NCI-H1975\分组信息\平均体重(g)	D0	D3	D7	D10	D14	D17	D21	D24	D28	D31
Vehicle	19.80	20.62	20.13	19.89	20.12	19.73	19.67	20.65	18.61	19.49

ADC-3 (3.75mg/kg)	19.85	20.58	19.32	20.29	20.47	19.79	20.48	19.89	20.72	20.73
ADC-3 (11.25mg/kg)	19.85	20.50	19.71	20.50	20.35	19.88	20.25	19.99	20.12	20.61
ADC-40 (3.75mg/kg)对照	19.85	20.58	19.32	20.29	20.47	19.79	20.48	19.89	20.72*	20.73*
ADC-40 (11.25 mg/kg)对照	19.78	20.55	19.52	19.32	19.57*	19.78*	19.36*	19.59*	20.14*	18.99*

注：*标识组观察到小鼠死亡

7)结论

如表 6 所示，本发明公开 **ADC-3** 在低剂量及高剂量对 NCI-H1975 荷瘤小鼠的体重影响明显相比于 **ADC-40** 的影响小，即便在该高剂量组下，也未出现如对照组所示的小鼠死亡，证明本发明所述的 ADC 药物在安全性方面具有显著的优势。

1. 一种如式 I 所示的配体-药物偶联物，或其药学上可接受的盐、氘代物、溶剂化物：

Ab-L-D

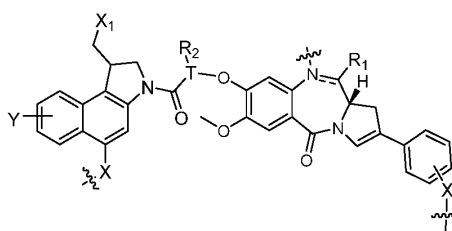
(I)

其中：

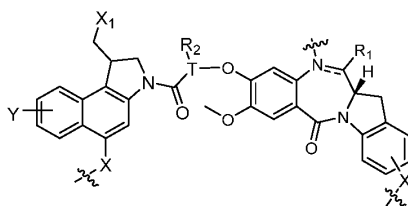
Ab 为配体单元，选自抗体、抗体片段、靶向蛋白或 Fc-融合蛋白；

L 为 D 与 Ab 的连接单元；

D 为药物单元，选自以下结构：



或



其中：

波浪线表示药物与 L 连接的位点，且只存在三个位点中的一个位点与 L 相连；

R₁ 为 H、氘、OH 或由 OR₃ 表示的醚、亚硫酸根 SO₃⁻ 或 OSO₃⁻，其中 R₃ 选自 C₁-C₁₀ 的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；

在 N 和 C 之间的双线 $\equiv$ 表示单键或双键，条件是，当其为双键时，N 处不与 L 相连且 R₁ 是 H；当其为单键时，N 处与 L 相连，R₁ 选自 OH 或由 OR₃ 表示的醚、亚硫酸根 SO₃⁻ 或 OSO₃⁻，其中 R₃ 选自 C₁-C₁₀ 的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；

R₂ 为 H 或烷基取代基；

T 选自于 C₂-C₁₂ 烷基、Z、(C₁-C₆ 亚烷基)-Z-(C₁-C₆ 亚烷基)、(C₁-C₆ 亚烷

基)-Z-(C₁-C₆ 亚烷基)-Z-(C₁-C₆ 亚烷基)、(C₁-C₆ 亚烯基)-Z-(C₁-C₆ 亚烯基)或
(C₁-C₆ 亚炔基)-Z-(C₁-C₆ 亚炔基);

其中:

Z 选自 O、S、NR₄、芳基或杂芳基; 其中 R₄ 选自于 H、P(O)₃H₂ 或 C(O)NR₅R₆;
其中 R₅ 和 R₆ 选自 H、C₁-C₆ 烷基、一个或多个 F 取代的 C₁-C₆ 烷基、或者 R₅ 和
R₆ 形成五元或六元杂环基基团;

亚烷基, 亚烯基, 芳基和杂芳基选自 F、OH、O(C₁-C₆ 烷基)、NH₂、NHCH₃、
N(CH₃)₂ 或 C₁-C₆ 烷基取代的, 其中烷基是用一个或多个 F 取代的;

Y 选自于一个或多个 H 或 C₁-C₄ 的烷基;

X 选自于 -O-、-N-、-S-、-OC(O)-CR₇R₈-(CR₉R₁₀)_m-O-、
-OC(O)-CR₇R₈-(CR₉R₁₀)_m-NH-、-OC(O)-CR₇R₈-(CR₉R₁₀)_m-S-、
-NHC(O)-CR₇R₈-(CR₉R₁₀)_m-O-、-NHC(O)-CR₇R₈-(CR₉R₁₀)_m-NH- 或
-NHC(O)-CR₇R₈-(CR₉R₁₀)_m-S-;

其中:

R₇、R₈ 分别独立地为氢原子、氘原子、卤素、烷基、氘代烷基、卤代烷基、
环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基; 或者,
R₇、R₈ 及其所连接碳原子构成 C₃-C₆ 环烷基、环烷基烷基或杂环基;

R₉、R₁₀ 相同或者不同, 且分别独立地为氢原子、氘原子、卤素、烷基、卤
代烷基、氘代烷基、烷氧基、羟基、氨基、氰基、硝基、羟烷基、环烷基或杂环
基; 或者, R₉、R₁₀ 及其所连接碳原子构成 C₃-C₆ 环烷基、环烷基烷基或杂环基;

m 选自 0-4 的整数;

X₁ 选自于卤素或 OSO₂R₁₁, 其中 R₁₁ 选自于 H、C₁-C₄ 的烃基、苯基或者取
代苯基。

2. 根据权利要求 1 所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐、氘代物、
溶剂化物, 其特征在于: Ab 为抗体, 可通过其杂原子与连接单元形成连接键,
所述抗体选自鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体、全人源抗体、抗体片段、双特
异性抗体或多特异性抗体。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐、氘
代物、溶剂化物, 其特征在于, 所述的抗体或其抗原结合片段, 非限制性地选自:

抗 EGFR VIII 抗体、抗 DLL-3 抗体、抗 PSMA 抗体、抗 CD70 抗体、抗 MUC16 抗体、抗 ENPP3 抗体、抗 TDGF1 抗体、抗 ETBR 抗体、抗 MSLN 抗体、抗 TIM-1 抗体、抗 LRRC15 抗体、抗 LIV-1 抗体、抗 CanAg/AFP 抗体、抗 cladin 18.2 抗体、抗 Mesothelin 抗体、抗 HER2(ErbB2) 抗体、抗 EGFR 抗体、抗 c-MET 抗体、抗 SLITRK6 抗体、抗 KIT/CD117 抗体、抗 STEAP1 抗体、抗 SLAMF7/CS1 抗体、抗 NaPi2B/SLC34A2 抗体、抗 GPNMB 抗体、抗 HER3(ErbB3)抗体、抗 MUC1/CD227 抗体、抗 AXL 抗体、抗 CD166 抗体、抗 B7-H3(CD276)抗体、抗 PTK7/CCK4 抗体、抗 PRLR 抗体、抗 EFNA4 抗体、抗 5T4 抗体、抗 NOTCH3 抗体、抗 Nectin 4 抗体、抗 TROP-2 抗体、抗 CD142 抗体、抗 CA6 抗体、抗 GPR20 抗体、抗 CD174 抗体、抗 CD71 抗体、抗 EphA2 抗体、抗 LYPD3 抗体、抗 FGFR2 抗体、抗 FGFR3 抗体、抗 FR α 抗体、抗 CEACAMs 抗体、抗 GCC 抗体、抗 Integrin Av 抗体、抗 CAIX 抗体、抗 P-cadherin 抗体、抗 GD3 抗体、抗 Cadherin 6 抗体、抗 LAMP1 抗体、抗 FLT3 抗体、抗 BCMA 抗体、抗 CD79b 抗体、抗 CD19 抗体、抗 CD33 抗体、抗 CD56 抗体、抗 CD74 抗体、抗 CD22 抗体、抗 CD30 抗体、抗 CD37 抗体、抗 CD47 抗体、抗 CD138 抗体、抗 CD352 抗体、抗 CD25 抗体或抗 CD123 抗体。

4. 根据权利要求 1 或 2 所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐、氘代物、溶剂化物，其特征在于：L 为可裂解型或不可裂解型。

5. 如权利要求 1 或 2 中所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐、氘代物、溶剂化物，其特征在于：所述药学上可接受的盐，包括与结构式中酸性官能团形成的钠盐、钾盐、钙盐或镁盐；或与结构中碱性官能团形成的醋酸盐、三氟乙酸盐、柠檬酸盐、草酸盐、酒石酸盐、苹果酸盐、硝酸盐、氯化物、溴化物、碘化物、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、乳酸盐、油酸盐、抗坏血酸盐、水杨酸盐、甲酸盐、谷氨酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐或对甲苯磺酸盐。

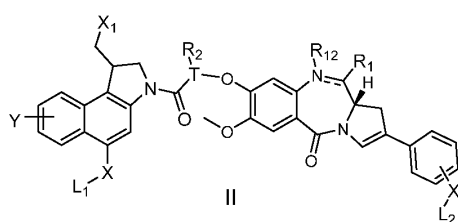
6. 一种如权利要求 1-5 任一所述的配体药物偶联物或其药学上可接受的盐、氘代物、溶剂化物，其制备用于治疗或预防肿瘤药物的用途。

7. 如权利要求 6 所述的用途，其特征在于：所述肿瘤为实体瘤或血液瘤。

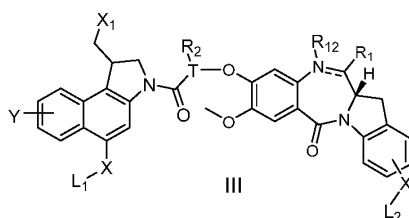
8. 如权利要求 7 所述的用途，其特征在于：所述肿瘤为乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫癌、前列腺癌、肾癌、尿道癌、膀胱癌、肝癌、胃癌、子宫内膜癌、

唾液腺癌、食道癌、肺癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、骨癌、皮肤癌、甲状腺癌、胰腺癌、黑色素瘤、神经胶质瘤、神经母细胞瘤、多形性胶质细胞瘤、肉瘤、淋巴瘤或白血病。

9. 一种用于与权利要求 1 中所述 Ab 连接的通式为 II 或 III 的化合物，或其药学上可接受的盐或溶剂化物：



或



其中：

R_1 为 H、OH 或由 OR_3 表示的醚、亚硫酸根 SO_3^- 或 OSO_3^- ，其中 R_3 选自 C_1-C_{10} 的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；

在 N 和 C 之间的双线 $\equiv$ 表示单键或双键，条件是，当其为双键时， R_{12} 不存在且 R_1 是 H；当其为单键时， R_{12} 为 $-C(O)O-L_3$ ，其中 L_3 为连接单元； R_1 选自 OH、由 OR_3 表示的醚、亚硫酸根 SO_3^- 或 OSO_3^- ，其中 R_3 选自 C_1-C_{10} 的直链、支链或环状烷基、烯基或炔基；

R_2 为 H 或烷基取代基；

T 选自于 C_2-C_{12} 烃基、Z、 $(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})-Z-(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})$ 、 $(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})-Z-(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})-Z-(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})$ 、 $(C_1-C_6 \text{ 亚烯基})-Z-(C_1-C_6 \text{ 亚烯基})$ 或 $(C_1-C_6 \text{ 亚炔基})-Z-(C_1-C_6 \text{ 亚炔基})$ ；

其中：

Z 选自 O, S, NR_4 ，芳基和杂芳基；其中 R_4 选自于 H, $P(O)_3H_2$, $C(O)NR_5R_6$ ，其中 R_5 和 R_6 选自 H, C_1-C_6 烷基，一个或多个 F 取代的 C_1-C_6 烷基，或者 R_5 和 R_6 形成五元或六元杂环基基团；

亚烷基, 亚烯基, 芳基和杂芳基选自 F, OH, O(C₁-C₆ 烷基), NH₂, NHCH₃, N(CH₃)₂ 和 C₁-C₆ 烷基取代的, 其中烷基是用一个或多个 F 取代的;

Y 选自于一个或多个 H 或 C₁-C₄ 的烷基;

X 选自于 -O-、-N-、-S-、-OC(O)-CR₇R₈-(CR₉R₁₀)_m-O-、
-OC(O)-CR₇R₈-(CR₉R₁₀)_m-NH-、-OC(O)-CR₇R₈-(CR₉R₁₀)_m-S-、
-NHC(O)-CR₇R₈-(CR₉R₁₀)_m-O-、-NHC(O)-CR₇R₈-(CR₉R₁₀)_m-NH- 或
-NHC(O)-CR₇R₈-(CR₉R₁₀)_m-S-;

其中:

R₇、R₈ 分别独立地为氢原子、氘原子、卤素、烷基、氘代烷基、卤代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基; 或者, R₇、R₈ 及其所连接碳原子构成 C₃-C₆ 环烷基、环烷基烷基或杂环基;

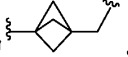
R₉、R₁₀ 相同或者不同, 且分别独立地为氢原子、氘原子、卤素、烷基、卤代烷基、氘代烷基、烷氧基、羟基、氨基、氰基、硝基、羟烷基、环烷基或杂环基; 或者, R₉、R₁₀ 及其所连接碳原子构成 C₃-C₆ 环烷基、环烷基烷基或杂环基;

m 选自 0-4 的整数;

X₁ 选自于卤素或 OSO₂R₁₁, 其中 R₁₁ 选自于 H, C₁-C₄ 的烃基, 苯基或者取代苯基;

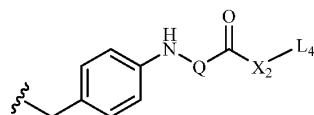
L₁, L₂ 为连接单元或取代基。

10. 根据权利要求 9 所述化合物 II、III 或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其特征在于: T 选自 C₂-C₁₂ 的亚烷基。

11. 根据权利要求 9 或 10 所述的化合物 II、III 或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其特征在于: T 为 。

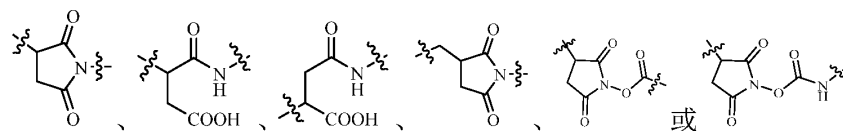
12. 根据权利要求 9 或 10 所述化合物 II、III 或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其特征在于: X 为 -O-、-N- 或 -NHC(O)-CR₇R₈-(CR₉R₁₀)_m-O-。

13. 根据权利要求 9 或 10 所述化合物 II、III 或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其特征在于, L₃ 为:



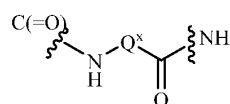
其中：波浪线处与-C(O)O-相连；L₄为连接单元，与配体单元相连。

14. 根据权利要求9或10所述化合物II、III，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于，L₄非限制性地选自：



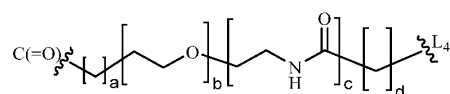
其中：波浪线处，左侧碳端与配体单元相连，右侧氮端或酯羰基端与X₂相连。

15. 根据权利要求9或10所述化合物II、III，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于，Q为：



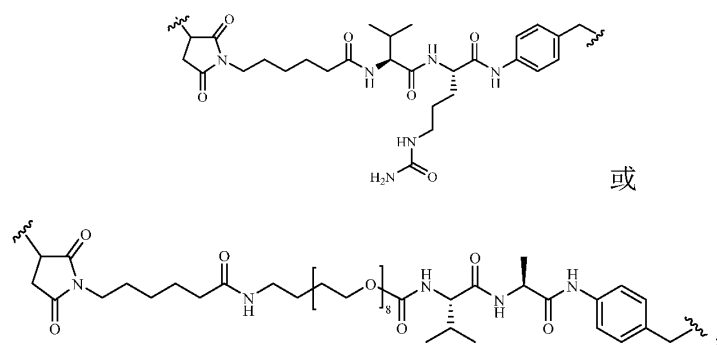
其中Q^x为氨基酸残基或由氨基酸构成的肽残基。

16. 根据权利要求9或10所述化合物II、III，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于X₂为：



其中a选自0-5的整数，b选自0-16的整数，c选自0-1的整数，d选自0-5的整数。

17. 根据权利要求9或10所述化合物II、III，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于，L₃非限制性地选自：



其中：波浪线处，左侧丁二酰亚胺端与配体单元相连，右侧与-C(O)O-相连。

18. 根据权利要求9或10所述化合物II、III，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，

剂化物，其特征在于 L_1 和 L_2 分别独立选自：

结构 A：氢原子、 $C(O)NR'R''$ ，其中 R' 和 R'' 分别选自 H、 C_1-C_6 烷基，一个或多个 F 取代的 C_1-C_6 烷基；或者 R' 和 R'' 形成五元或六元杂环基基团；

结构 B： L_4-L_5- 、 L_4-L_6- 或 $L_4-L_7-L_8-L_9-$ ，其中 L_4 、 L_5 、 L_6 、 L_7 、 L_8 和 L_9 均为连接单元， L_4 与配体单元连接， L_5 、 L_6 、 L_9 与 X 相连。

19. 根据权利要求 9 或 10 所述化合物 II、III，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：

当 N 和 C 之间为单键，即 R_{12} 存在时， L_1 、 L_2 分别独立选自于结构 A；

当 N 和 C 之间为双键，即 R_{12} 不存在时， L_1 为结构 A 或 B，则 L_2 为结构 B 或 A。

20 根据权利要求 18 所述化合物 II、III，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：

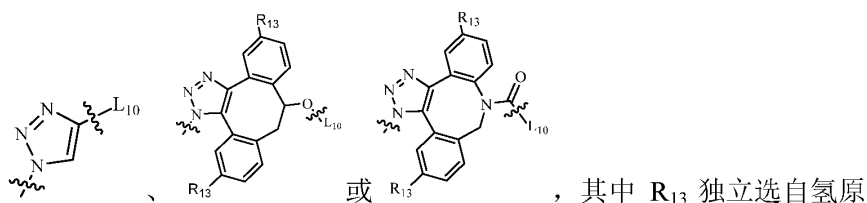
L_5 为 $-((CH_2)_sO)r(CH_2)_sX_3L_{10}-$ 或 $-((CH_2)_sO)r(CH_2)_sX_4L_{10}-$ ；

L_6 为 $-((CH_2)_sO)r(CH_2)_s-$ ；

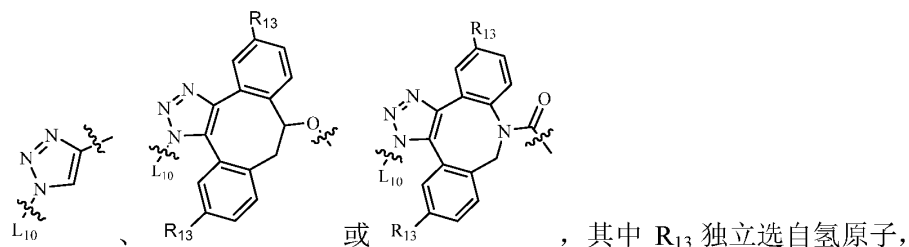
L_{10} 为 $-(CH_2)_s-$ 或 $-((CH_2)_sNHC(=O)X_5X_6C(=O)(CH_2)_s-$ ；

其中：

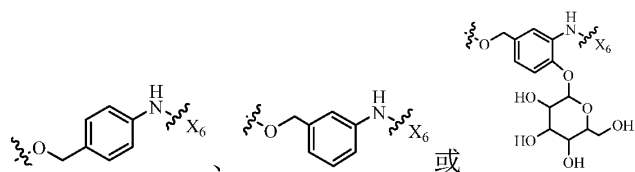
X_3 非限制性地选自：



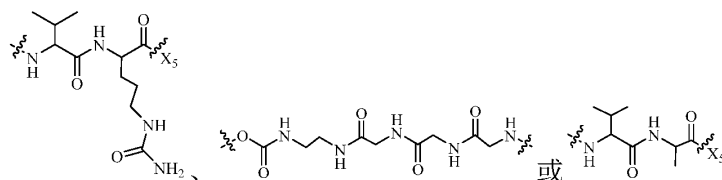
X_4 非限制性地选自：



X_5 非限制性地选自：



X_6 选自由氨基酸组成的肽残基, 非限制性地选自:



s 选自 1-10 的整数, r 选自 1-14 的整数。

21. 根据权利要求 18 所述化合物 II、III, 或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其特征在于:

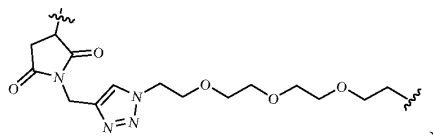
L_7 为 $-\text{NC}(\text{R}_{14}\text{R}_{15})\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{NR}_{16}(\text{CH}_2)_o\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{NR}_{16}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_o\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{S}(\text{CH}_2)_p\text{C}(\text{O})-$ 或者化学键, 其中 o 选自 0-20 的整数; p 选自 0-20 的整数; R_{14} 与 R_{15} 相同或者不同, 且各自独立地选自氢原子、氘原子、烷基、取代烷基、氘代烷基、杂烷基、羧基、氨基、取代氨基; R_{16} 选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、芳基、取代芳基或杂芳;

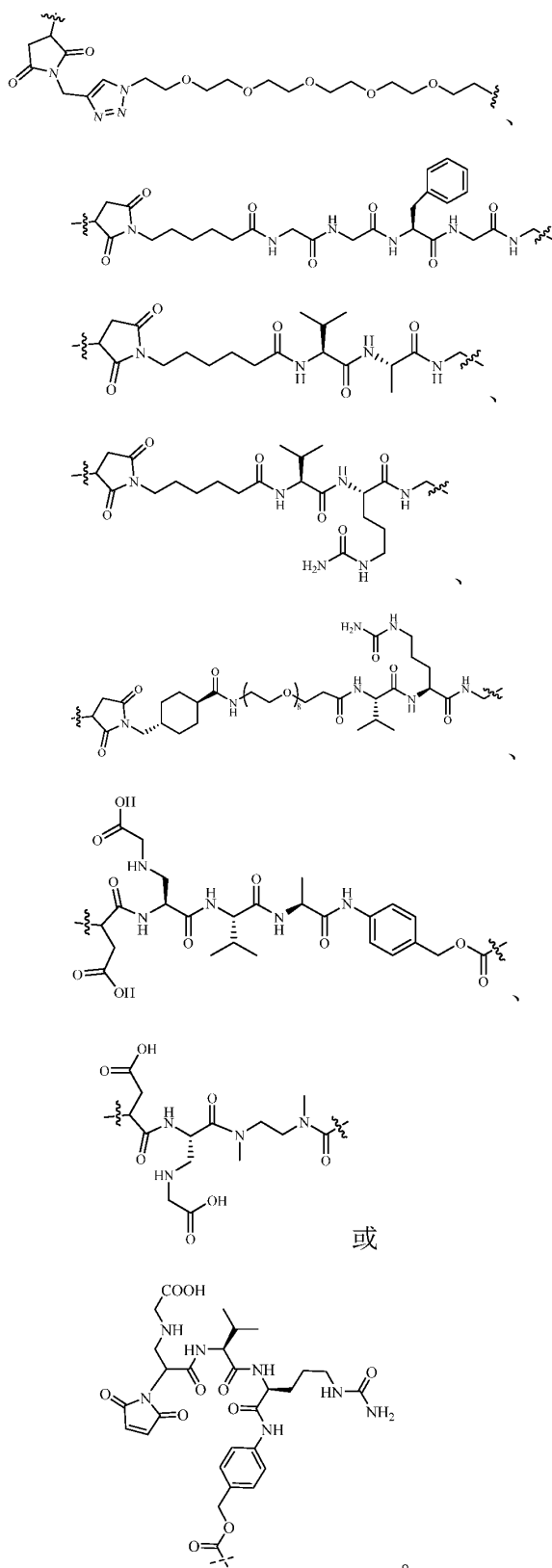
L_8 选自由氨基酸构成的肽残基;

L_9 为 $-\text{NR}_{17}(\text{CR}_{18}\text{R}_{19})_q-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}_{17}-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}_{17}(\text{CH}_2)_q-$ 或者化学键, 其中 q 选自 0-6 的整数; R_{17} 、 R_{18} 和 R_{19} 相同或者不同, 且各自独立地选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基。

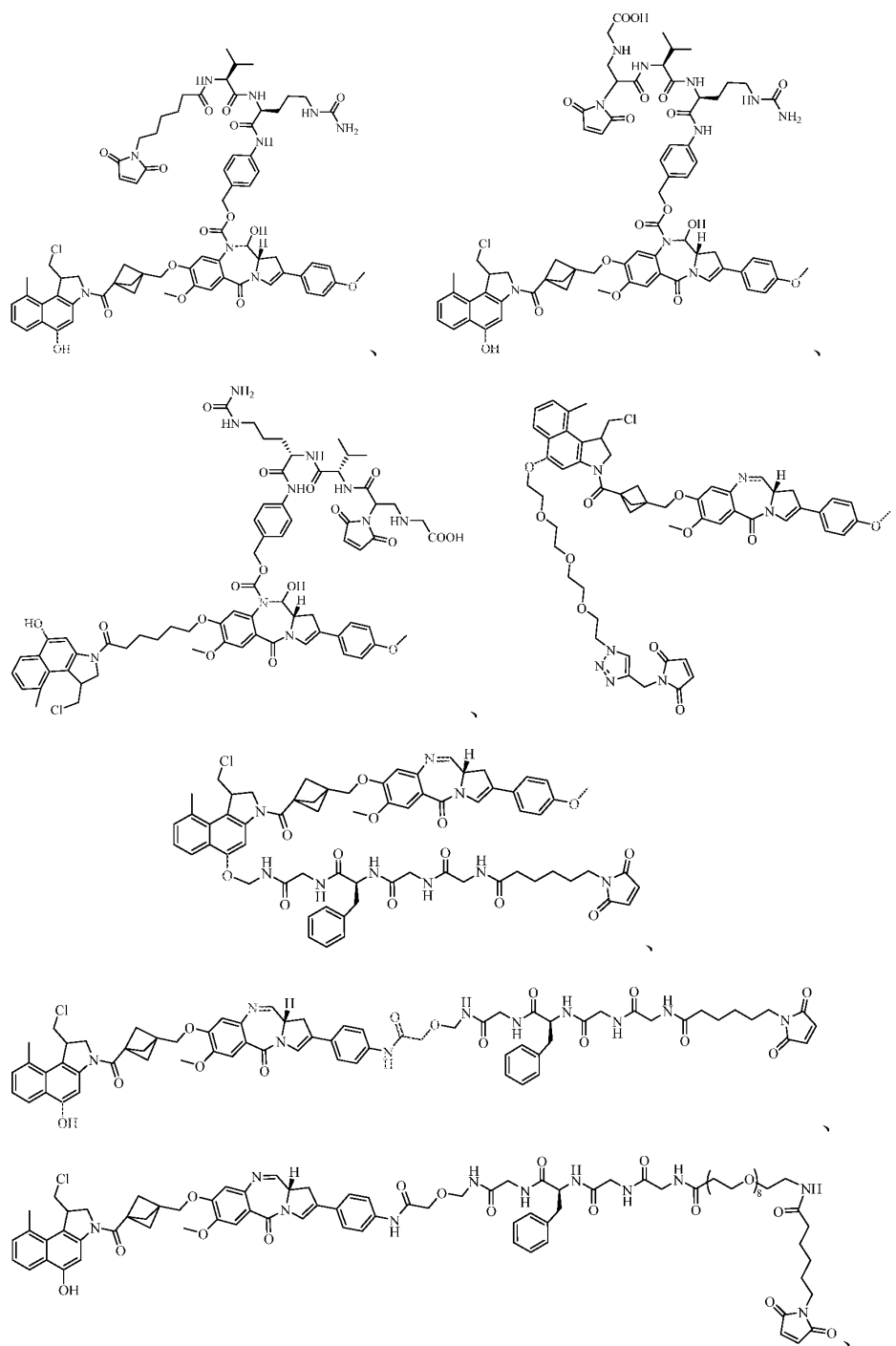
22. 根据权利要求 21 所述化合物 II、III, 或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其特征在于: 所述 L_8 为一个或多个选自苯丙氨酸、甘氨酸、缬氨酸、赖氨酸、瓜氨酸、丝氨酸、谷氨酸或者天冬氨酸中的氨基酸形成的肽残基。

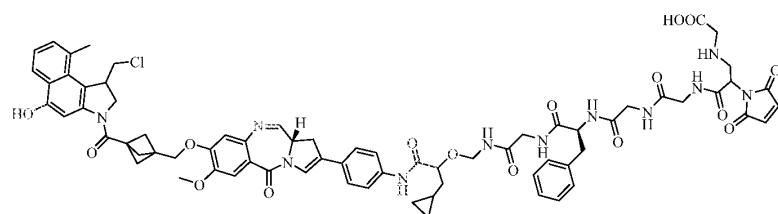
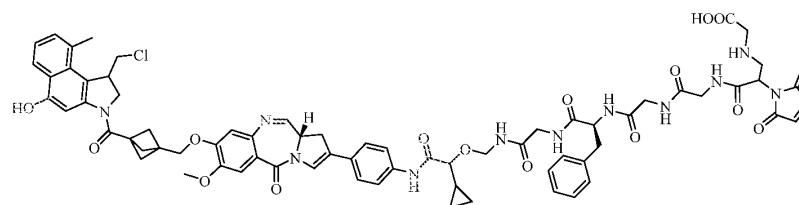
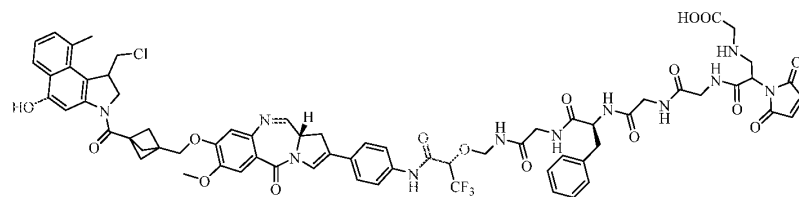
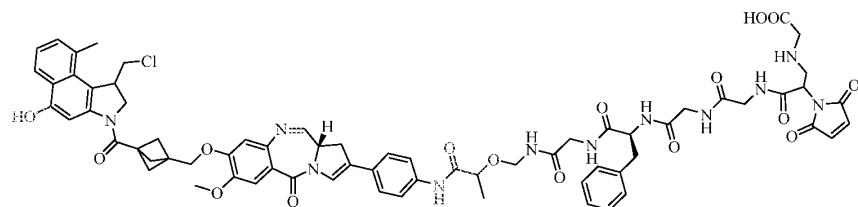
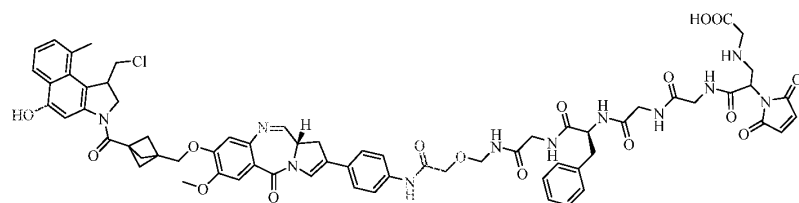
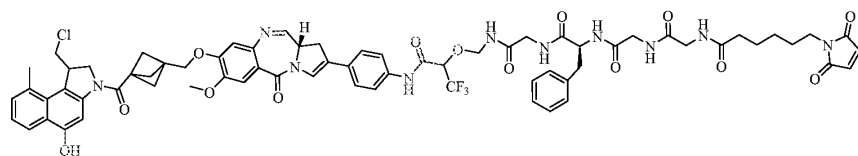
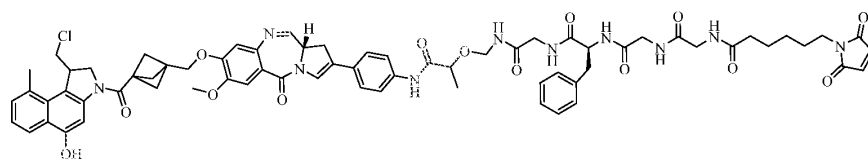
23. 根据权利要求 19 所述化合物 II、III, 或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其特征在于 L_1 、 L_2 独立从结构 B 中非限制性地选自:

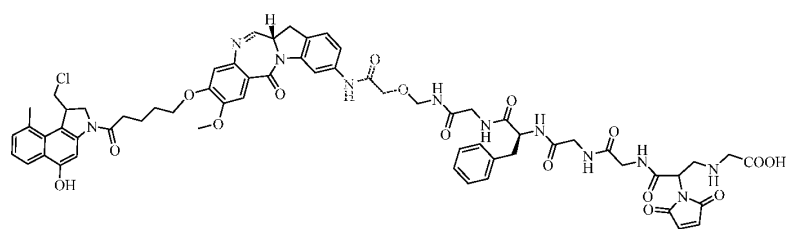
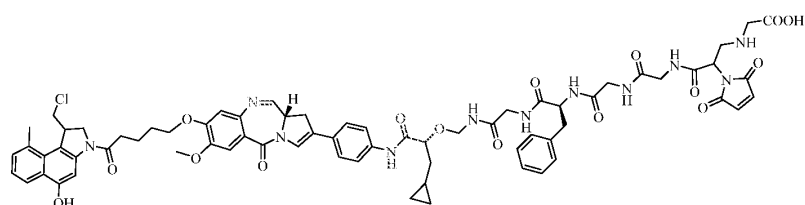
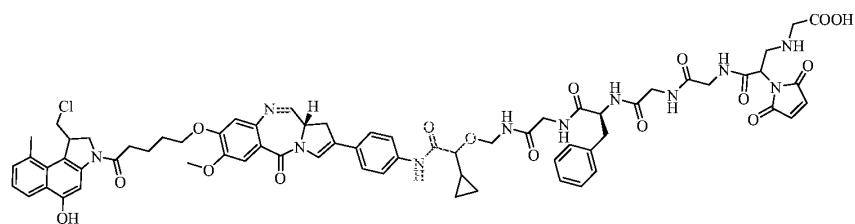
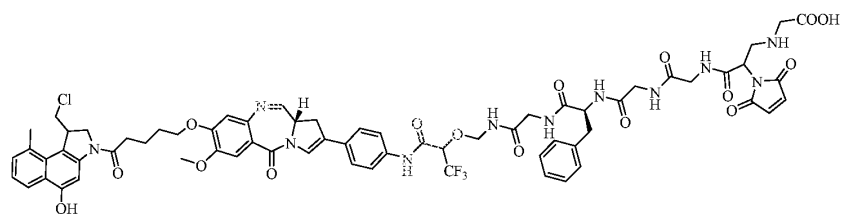
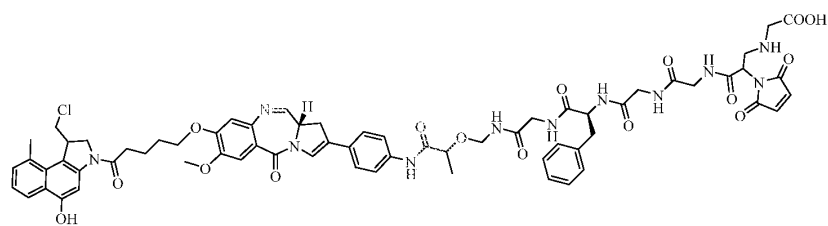
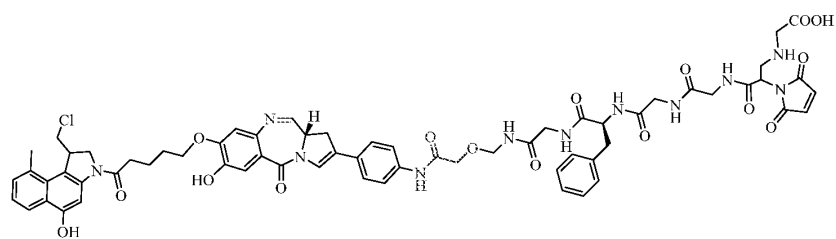


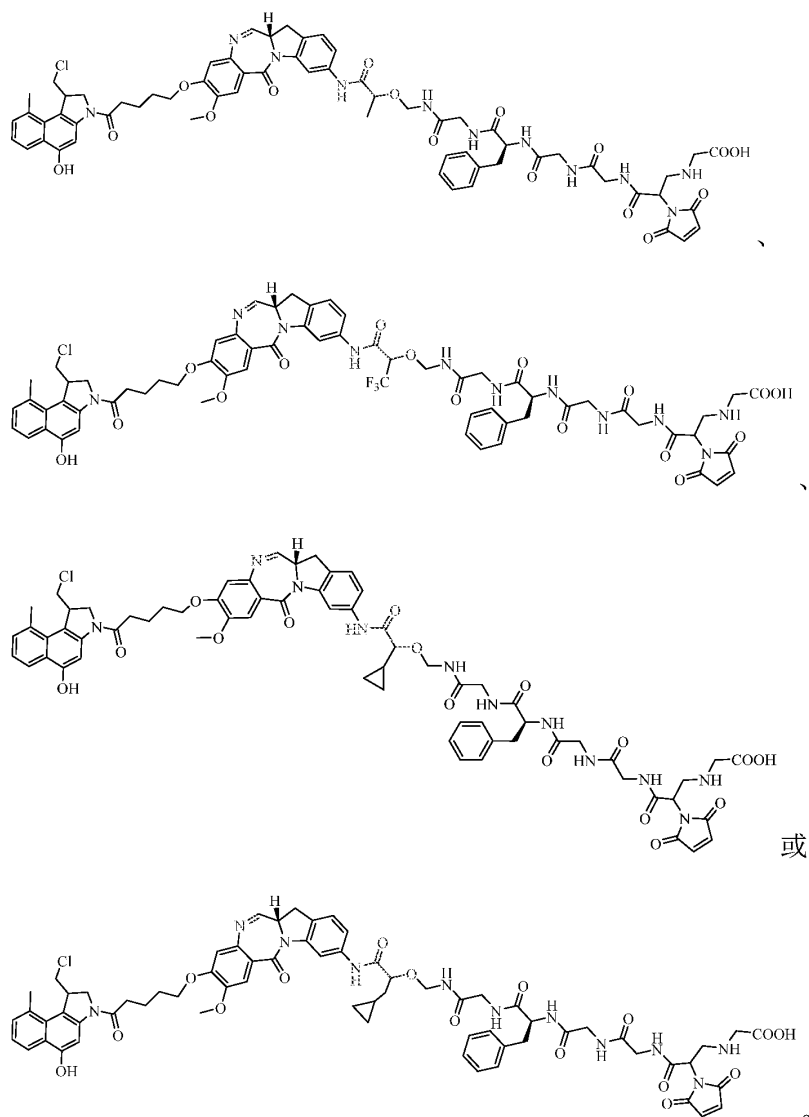


24. 根据权利要求 9 所述化合物 II、III 或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其特征在于, 非限制性地选自结构:

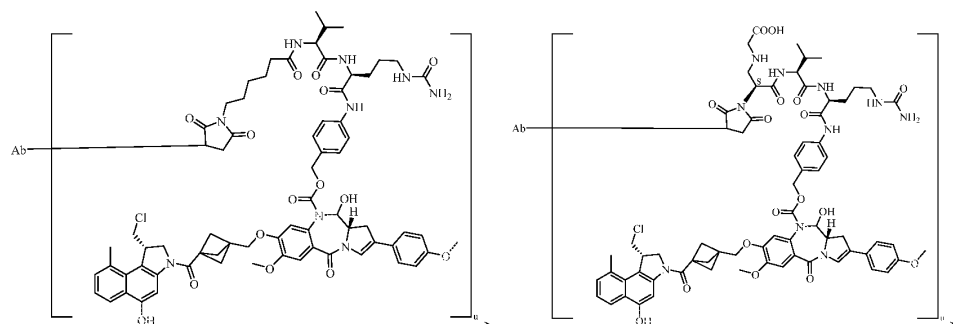


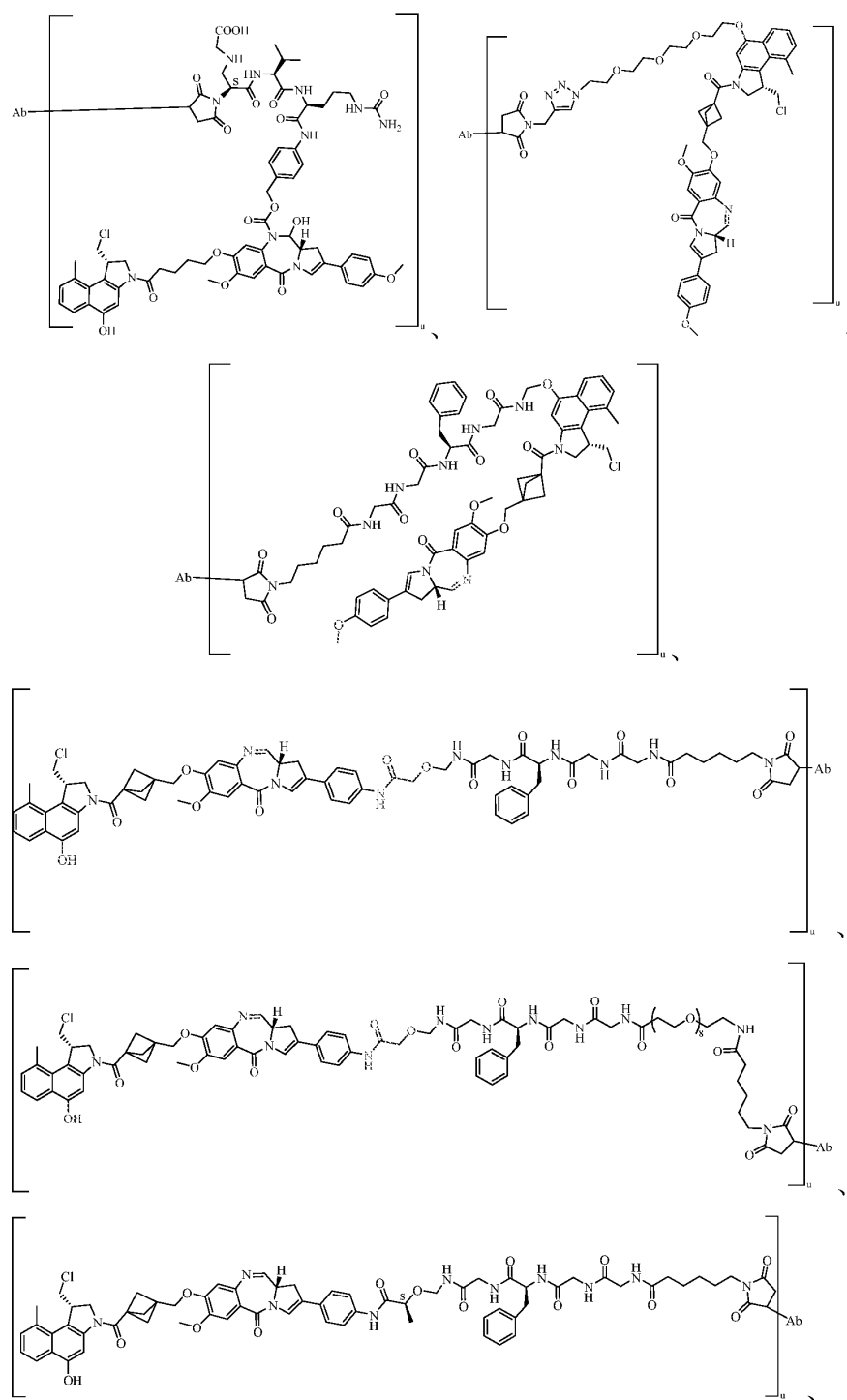


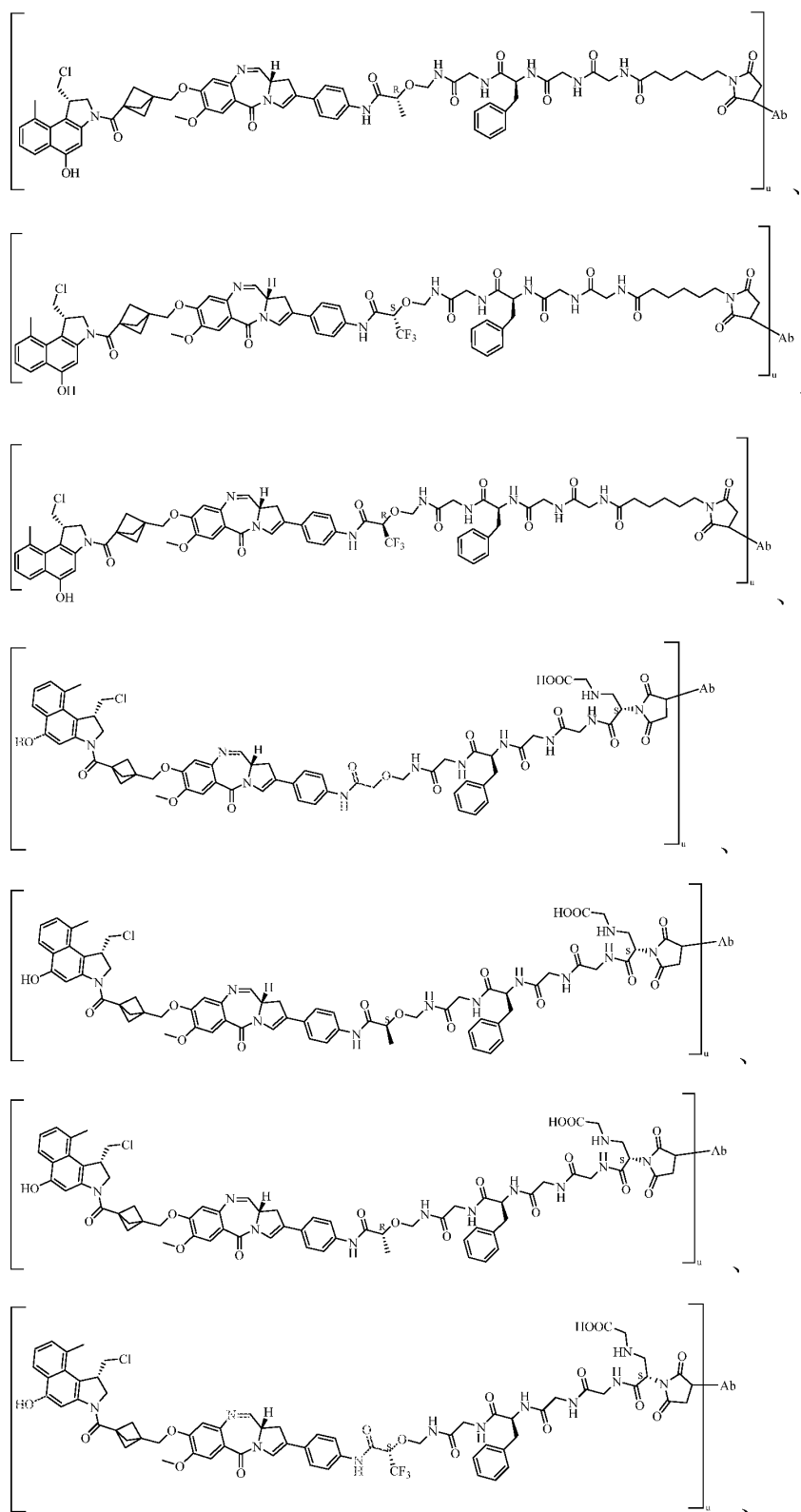


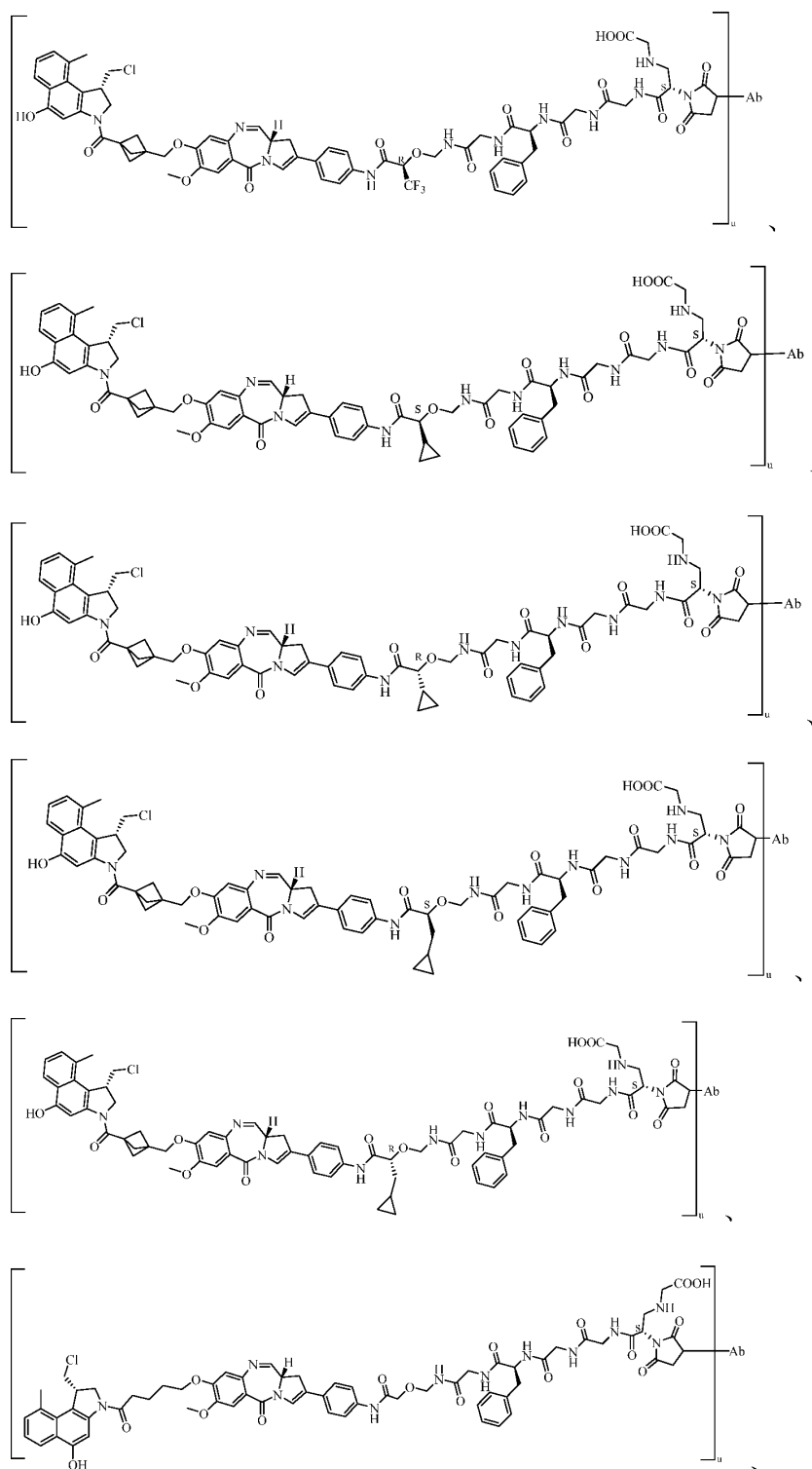


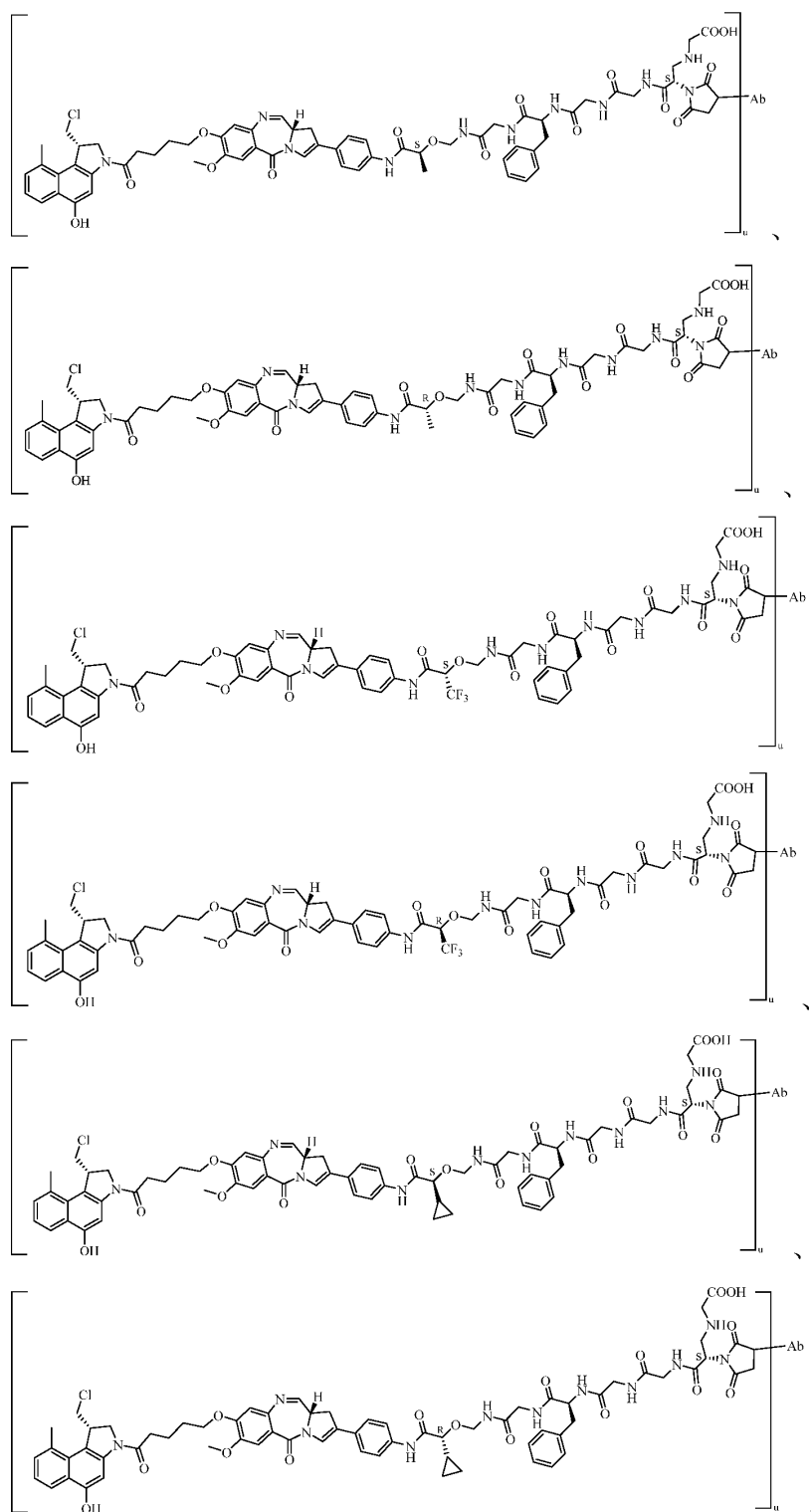
25. 根据权利要求1中所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐、氘代物、溶剂化物，其特征在于，非限制性地选自以下结构：

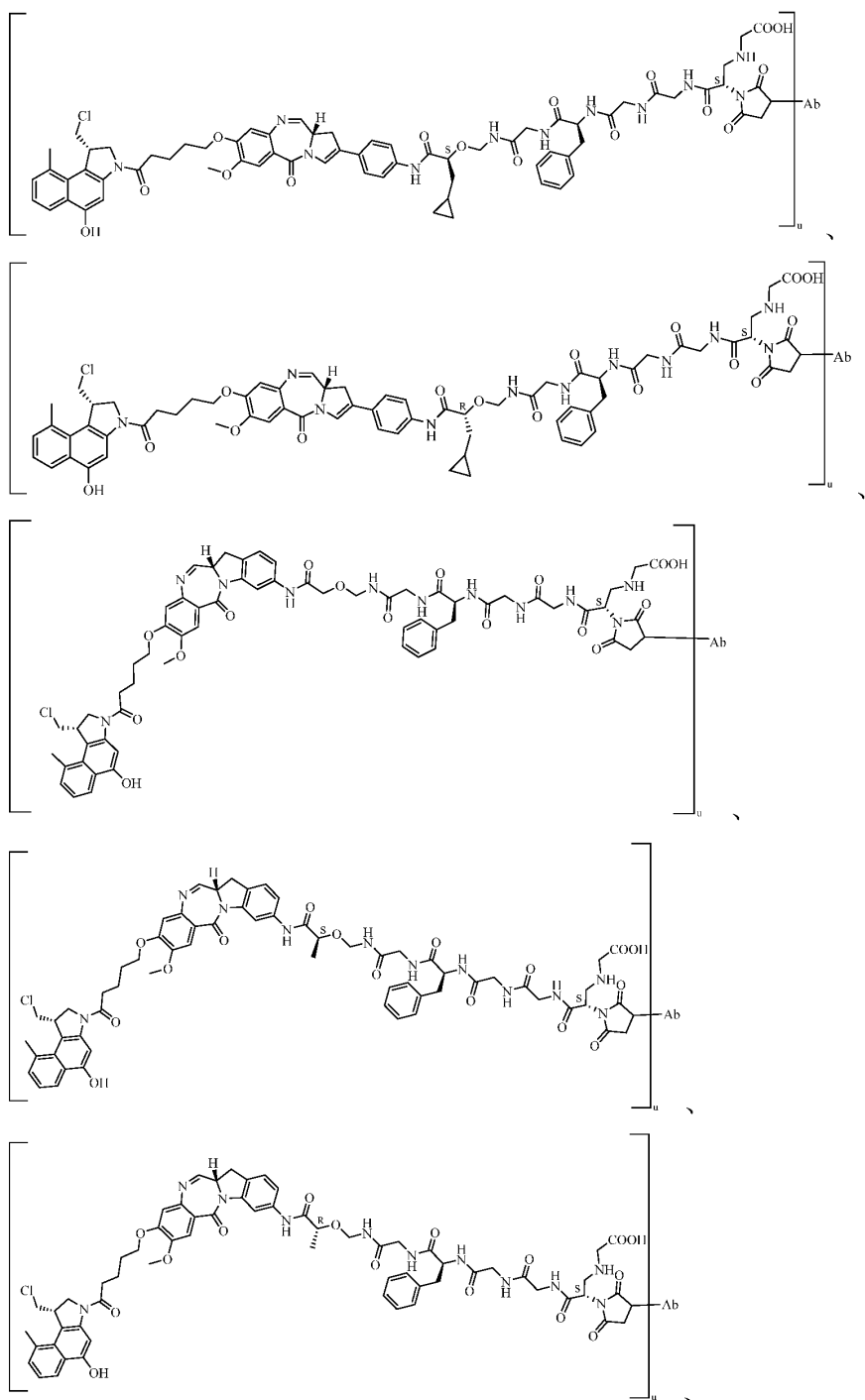


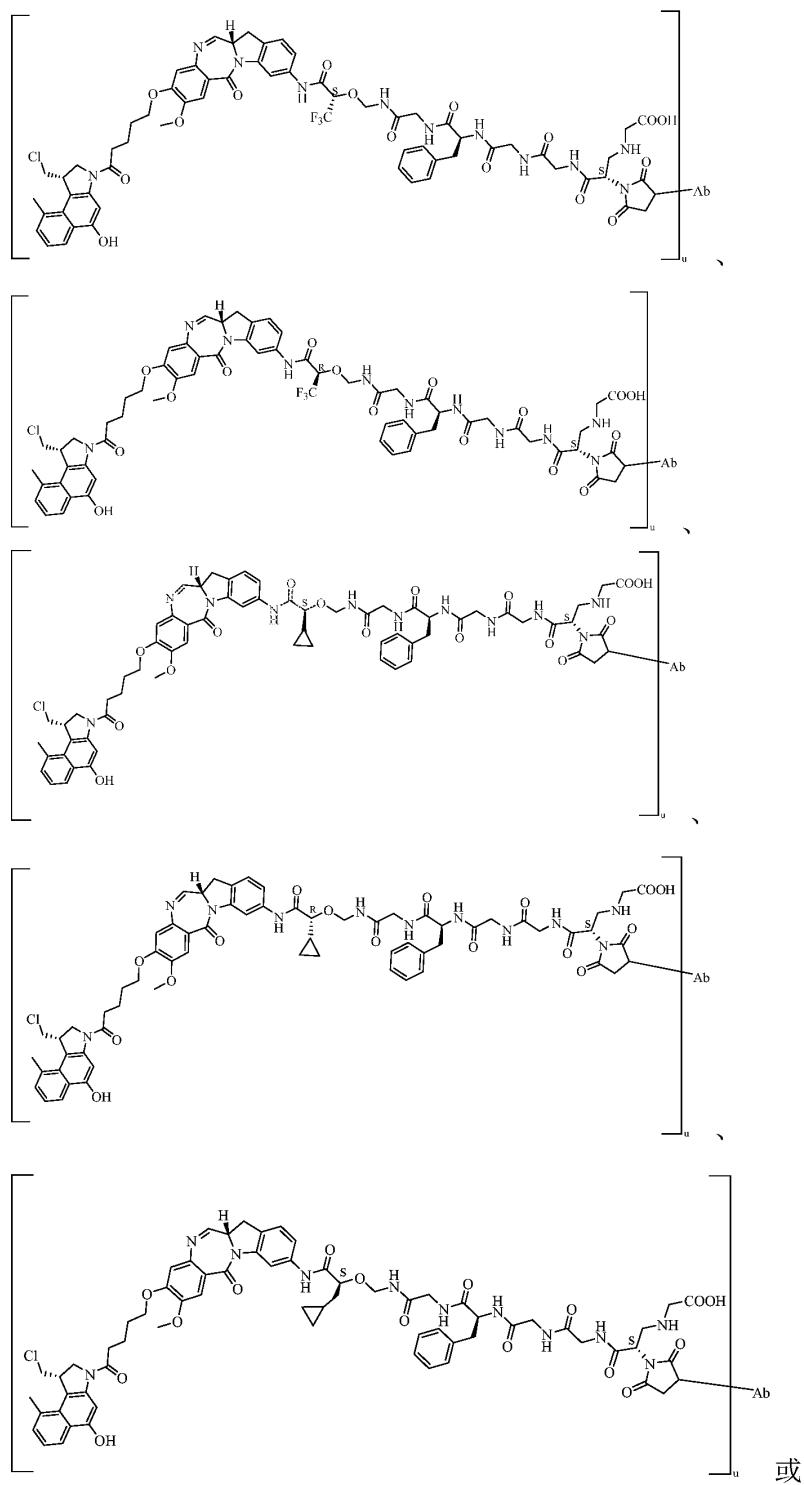


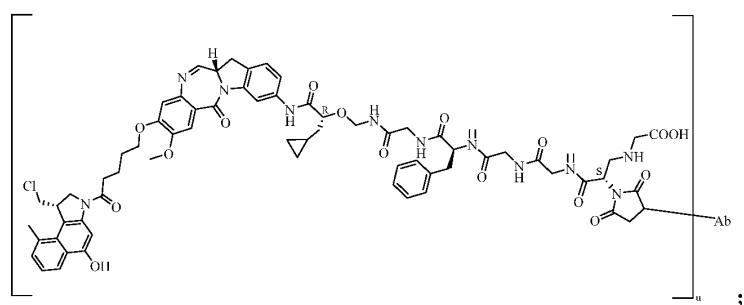












其中 u 选自 1-10 的整数。