

一种连接子-药物分子及抗体药物偶联物、其制备方法和应用

技术领域

本申请涉及生物医药领域，具体涉及一种连接子-药物分子及抗体药物偶联物、其制备方法和应用。

交叉引用

本申请要求于2023年7月7日提交的PCT国际申请号PCT/CN2023/106385的权益，其内容以其整体并入本文。

同时提交的序列表文件

下列XML文件的全部内容通过整体引用并入本文：计算机可读格式(CRF)的序列表(名称：TFH01015PCT-序列表.xml，日期：2024.7.2，大小：6KB)。

背景技术

通过将具有生物学活性的药物化合物偶联至具有肿瘤靶向作用的抗体，蛋白或者多肽，能够增加药物化合物的癌症治疗窗口。这主要是通过两方面实现的，首先是药物偶联物在到达癌症靶病灶之前因为活性药物无法顺利脱落而不能产生毒副作用，其次，活性药物通过偶联的靶向抗体，蛋白或者多肽能够增加药物化合物在癌症靶病灶处的浓度，而特殊设计的连接子能够被癌症靶病灶的特殊环境激发断裂释放活性药物化合物。

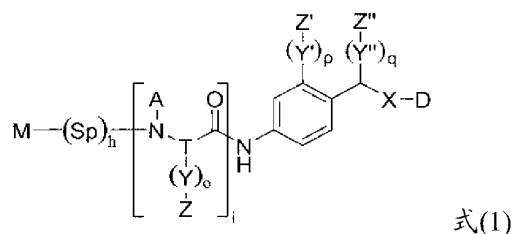
连接子中的特殊设计的组织蛋白酶敏感的氨基酸肽段，能够被癌细胞溶酶体中的组织蛋白酶高效切割。药物化合物通过化学自毁基团连接到连接子的氨基酸肽段上，在组织蛋白酶切割多肽后，化学自毁基团通过“自毁效应”释放游离的药物化合物，从而产生肿瘤杀伤效应。这其中，以多肽(VC, VA, AAA等)-PAB(自毁基团)形式的连接子的抗体或多肽药物偶联物获得的临床验证数据和获批药物最多。然而，由于药物化合物，特别是具有对肿瘤杀伤作用重要的“旁杀效应”的化合物，都具有较强的亲脂性特征，从而使得抗体，蛋白或者多肽药物偶联物，特别在药物比值(DAR)较高时，成药性较差，表现为低亲水性，形成聚体，体内清除加快。通过在连接子上增加亲水性基团，比如聚乙二醇(PEG)(Mol Cancer Ther, 2017, 16(1): 116~123; Nat. Biotech. 2015, 33:733 - 735, Toxicol. App. Pharmacol., 2020, 392: 114932; WO2023280227)聚肌氨酸(PSAR)(Chem. Sci, 2019, 10(14): 4048-4053; WO 2022228493)糖醇(Cancer Res (2018) 78 (13_Supplement): 755; US 9907854)等来遮蔽药物化合物，能够在一定程度上改善抗体，蛋白或者多肽药物偶联物的成药性。但是采用PEG多聚物修饰蛋白在临床上暴露出了较多缺点，比如患者出现较高比例的抗PEG免疫原性及由其引起的相关毒副作用，过度修饰导致蛋白功能降低等问题。

发明内容

基于此, 本申请通过在连接子的多肽(VC, VA, AAA 等)-PAB(自毁基团)位置处引入强亲水性磷酸内盐和/或磷酸内盐侧链(下文有时也称为本申请的连接子或者内盐连接子, 即下文所述的式(1)表示的化合物), 由于磺酸基团或者磷酸基团同时具有氢键供体和氢键受体, 属于强亲水性基团, 而且磺酸内盐或者磷酸内盐同时具有正电荷和负电荷, 可以进一步增加了亲水性特征。同时, 内盐形式的水溶性基团还具有增强抗体药物偶联物的肿瘤靶向性和减少非特异性结合的潜力, 因此极大的增强了测试抗体药物偶联物的成药性(包括亲水性, 稳定性), 降低了体内药物清除作用, 并提高了肿瘤治疗效果。

本申请的技术方案如下:

1、一种式(1)表示的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 式(1)的结构如下所示,



M 为连接基团; Sp 为-L_a-Q_a-; A 选自不存在、氢、烷基; T 表示直链的或具有支链的(C₁-C₈) 三价烷基基团; Y、Y'、Y''分别为-L_b-Q_b-; L_a、L_b分别选自不存在、亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基或聚乙二醇基, 其中所述亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基、聚乙二醇基任选被取代基取代;

Q_a、Q_b分别选自不存在、-C(=O)NR-、-C(=O)O-、-OC(=O)NR-、-S(=O)₂NR-、-NRC(=O)-、-OC(=O)-、-NRC(=O)O-、-NRS(=O)₂-、-NRC(=O)NR-、-NHC(=NH)NH-、-C(=O)-、-OC(=O)O-、-O-、-NR-、-S-、S(=O)₂-、S(=O)-、或-Se-, 其中 R 选自氢或任选取代的烷基;

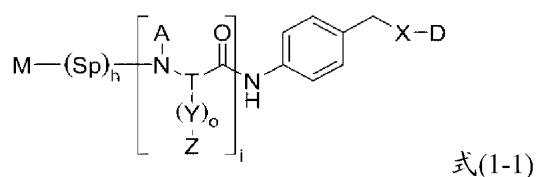
Z 选自不存在、氢、任选取代的烷基或磺酸内盐;

Z'、Z'' 选自不存在、氢、任选取代的烷基、磺酸内盐或磷酸内盐;

Z、Z'、Z'' 中的至少一个为磺酸内盐或磷酸内盐;

X 包含自毁单元或不存在; D 包括药物分子; i 为大于等于 1 的整数; h 为 1-6 的整数; o、p、q 分别为 0-5 的整数。

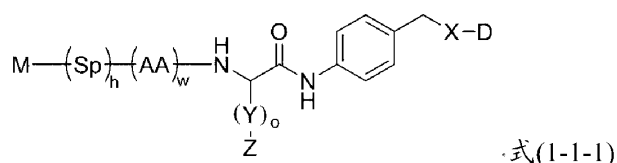
2、根据项 1 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 所述式(1)为式(1-1):



其中, M、Sp、A、T、Y、h、o、i、X、D、Z 的定义如项 1 中所述;

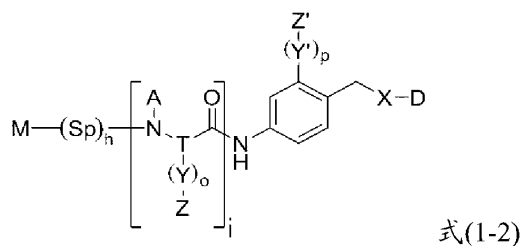
i 个 Z 中至少一个为磷酸内盐。

3、根据项 2 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 所述式(1-1)为式(1-1-1):



其中, AA 为氨基酸的残基, W 为大于等于 1 的整数。

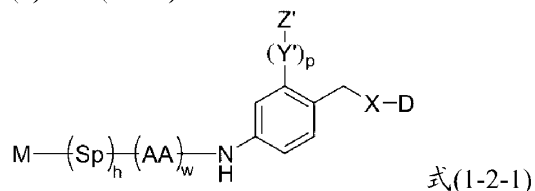
4、根据项 1 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 所述式(1)为式(1-2):



其中, M、Sp、A、T、Y、Z、o、p、i、h、X、Y'、D 的定义如项 1 中所述;

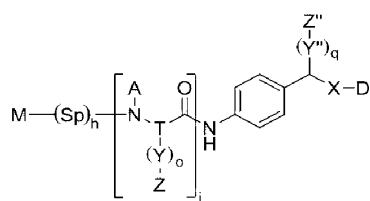
Z' 为磷酸内盐或磷酸内盐。

5、根据项 4 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 所述式(1)为式(1-2-1):



其中, 其中, AA 为氨基酸的残基, W 为大于等于 1 的整数。

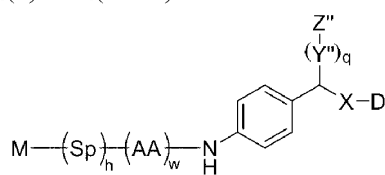
6、根据项 1 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 所述式(1)为式(1-3):



式(1-3)

其中，M、Sp、A、Y、T、Z、o、i、h、q、X、Y''、D的定义如项1中所述；Z''为磺酸内盐或磷酸内盐。

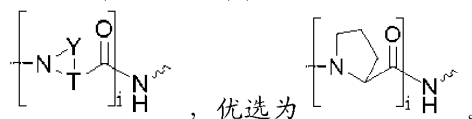
7、根据项6所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述式(1)为式(1-3-1)：



式(1-3-1)

其中，其中，AA为氨基酸的残基，W为大于等于1的整数。

8、根据项1-7任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，当A和Z都不存在时，N、Y、T成环，即为



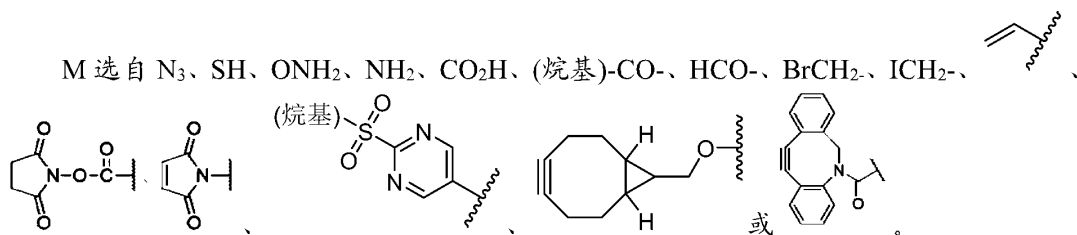
9、根据项3、5或7任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述氨基酸选自丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、γ-羧基谷氨酸、瓜氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、正亮氨酸、正缬氨酸、鸟氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、和缬氨酸中的一种或两种以上。

10、根据项3、5或7任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述氨基酸选自缬氨酸、谷氨酸、瓜氨酸、赖氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸、精氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺和甘氨酸中的一种或两种以上。

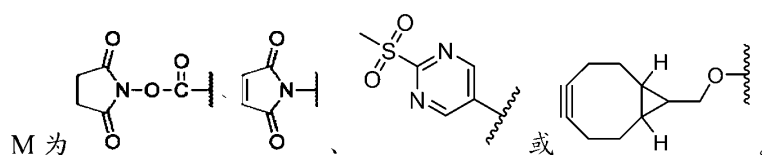
11、根据项3、5或7任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述氨基酸选自缬氨酸、瓜氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸、谷氨酰胺和甘氨酸中的一种或两种以上。

12、根据项1-11任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对

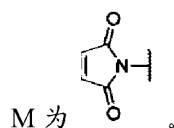
映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，



13、根据项 1-12 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，



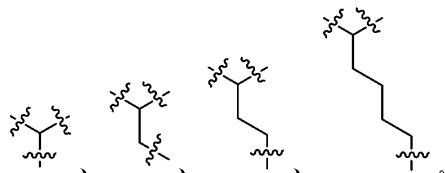
14、根据项 1-13 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，



15、根据项 1-14 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，A 为氢、甲基、乙基或丙基。

16、根据项 1-15 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，A 为氢。

17、根据项 1-16 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述 T 为如下结构中的一种：



18、根据项 1-17 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，



19、根据项 1-18 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_a 选自亚烷基、亚烯基、亚炔基、环碳原子数为 3-10 的饱和或不饱和的亚脂环基、环碳原子数为 3-10 的饱和或不饱和且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂脂环基、呈一或多个环的具有 6 至 18 个碳原子的亚芳基、或呈一或多个环的具有 6 至 18 个碳原子且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂芳基、或聚乙二醇基中的一种、两种或三种以上，所述亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基任选被取代基取代，所述杂原子选自氮、氧或硫。

20、根据项 1-19 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_a 选自 C_1 - C_{10} 直链或支链亚烷基、 C_2 - C_{12} 直链或支链亚烯基、 C_2 - C_{12} 直链或支链亚炔基、环碳原子数为 3-6 的饱和或不饱和的亚脂环基、含有杂原子的环碳原子数为 3-6 的饱和或不饱和且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂脂环基、或呈一或多个环的具有 6 至 10 个碳原子的亚芳基、呈一或多个环的具有 6 至 10 个碳原子且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂芳基、或聚乙二醇基中的一种、两种或三种以上，所述亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基任选被取代基取代，所述杂原子选自氮、氧或硫。

21、根据项 1-20 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_a 选自 C_1 - C_6 直链或支链亚烷基、 C_2 - C_6 直链或支链亚烯基、或 C_2 - C_6 直链或支链亚炔基、或聚乙二醇基中的一种、两种或三种以上，所述亚烷基、亚烯基、亚炔基任选被取代基取代。

22、根据项 1-21 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_a 为 C_1 - C_6 直链或支链亚烷基、或聚乙二醇基中的一种、两种或三种以上，

所述聚乙二醇基为 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2-$ 、 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_n-$ 、或 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ ， n 为大于等于 1 的整数。

23、根据项 1-22 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_a 为亚乙基、直链亚丙基、直链亚丁基、直链亚戊基、或 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2-$ 中的一种、两种或三种以上，其中 n 为 2、3、4、5、6、7 或 8。

24、根据项 1-23 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_a 为亚乙基和/或 $-(CH_2CH_2O)_4CH_2CH_2-$ 或亚戊基。

25、根据项 1-24 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对

映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_b 选自亚烷基、亚烯基、亚炔基、环碳原子数为3-10的饱和或不饱和的亚脂环基、环碳原子数为3-10的饱和或不饱和且杂原子的数量为1至4个的亚杂脂环基、呈一或多个环的具有6至18个碳原子的亚芳基、或呈一或多个环的具有6至18个碳原子且杂原子的数量为1至4个的亚杂芳基、或聚乙二醇中的一种或两种或三种以上，所述亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基任选被取代基取代，所述杂原子选自氮、氧或硫。

26、根据项1-25任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_b 选自 C_1 - C_{10} 直链或支链亚烷基、 C_2 - C_{12} 直链或支链亚烯基、 C_2 - C_{12} 直链或支链亚炔基、环碳原子数为3-6的饱和或不饱和的亚脂环基、含有杂原子的环碳原子数为3-6的饱和或不饱和且杂原子的数量为1至4个的亚杂脂环基、或呈一或多个环的具有6至10个碳原子的亚芳基、呈一或多个环的具有6至10个碳原子，且杂原子的数量为1至4个的亚杂芳基、或聚乙二醇中的一种或两种或三种以上，所述亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基任选被取代基取代，所述杂原子选自氮、氧或硫。

27、根据项1-26任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_b 选自 C_1 - C_6 直链或支链亚烷基、 C_2 - C_6 直链或支链亚烯基、或 C_2 - C_6 直链或支链亚炔基、或聚乙二醇基，

所述聚乙二醇基为 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2-$ 、 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_n-$ 、或 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ 中的一种或两种或三种以上， n 为大于等于1的整数，所述亚烷基、亚烯基、亚炔基任选被取代基取代。

28、根据项1-27任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_b 为 C_1 - C_6 直链或支链亚烷基、或 C_6 - C_{10} 的亚芳基中的一种或两种或三种以上。

29、根据项1-28任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_b 为亚甲基、亚乙基、亚正丙基、亚异丙基、亚正丁基、亚异丁基、亚仲丁基、亚叔丁基、或亚苯甲基中的一种或两种或三种以上。

30、根据项1-29任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， Q_a 选自 $-C(=O)NR-$ 、 $-NR-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-OC(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-NRC(=O)O-$ 、 $-NRC(=O)NR-$ 、 $NHC(=NH)NH-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-OC(=O)O-$ 中的一种、两种或三种以上，其中， R 选自氢、任选取代的 C_1 - C_6 直链或支链烷基。

31、根据项30所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、

非对映异构体、或其混合物形式,或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物,其中, Q_a 为 $-C(=O)-$ 、 $-NR-$ 、 $-C(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)NR-$ 、 $-OC(=O)O-$ 、 $-OC(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 或 $-OC(=O)-$ 中的一种或两种或三种以上,其中, R 选自氢或任选取代的 C_1-C_6 直链或支链烷基。

32、根据项 30 所述的化合物,或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式,或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物,其中, Q_a 为 $-C(=O)-$ 、 $-NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 和 $-(C=O)NR-$ 中的一种或两种或三种以上,其中, R 选自氢或任选取代的 C_1-C_6 直链或支链烷基。

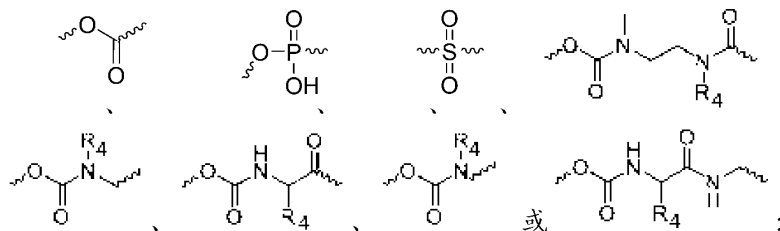
33、根据项 30 所述的化合物,或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式,或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物,其中, Q_a 为 $-C(=O)-$ 、 $-N(CH_3)-$ 、 $-NHC(=O)-$ 、 $-C(=O)-NH-$ 或 $-C(=O)-N(CH_3)-$ 。

34、根据项 1-33 任一项所述的化合物,或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式,或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物,其中, Q_b 选自不存在、 $-C(=O)NR-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-OC(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-NRC(=O)O-$ 、 $-NRC(=O)NR-$ 、 $NHC(=NH)NH-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-OC(=O)O-$ 中的一种、两种或三种以上,其中, R 选自氢、任选取代的 C_1-C_6 直链或支链烷基。

35、根据项 34 所述的化合物,或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式,或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物,其中, Q_b 为不存在、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=O)NR-$ 、 $-OC(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-NRC(=O)O-$ 、或 $-NRC(=O)NR-$ 中的一种或两种或三种以上, R 选自氢、任选取代的 C_1-C_6 直链或支链烷基。

36、根据项 34 所述的化合物,或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式,或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物,其中, Q_b 为不存在、 $-C(=O)-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-NRC(=O)NR-$ 或 $-C(=O)NR-$ 的一种或两种或三种以上, R 为氢或甲基。

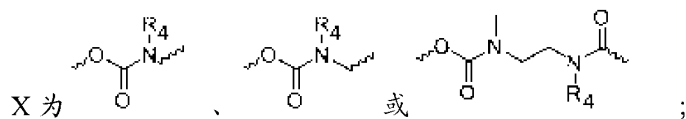
37、根据项 1-36 任一项所述的化合物,或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式,或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物,其中, X 选自:



X 中的右侧波浪线连接 D; R_4 选自氢、 C_1-C_6 直链或支链烷基, $-(CH_2CH_2O)_mR_2$ 、 $-CH_2CH_2NR_2R_3$ 、 $-CH_2CH_2SO_2R_2$, R_2 , R_3 分别选自氢、 C_1-C_6 直链或支链烷基, m 为大于 1 的整数。

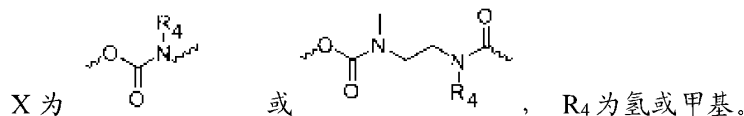
38、根据项 37 所述的化合物,或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、

非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，

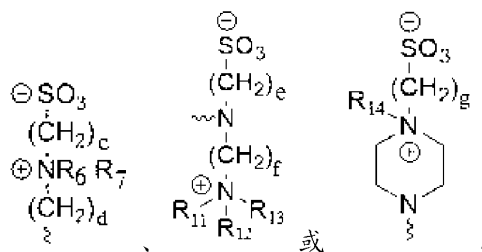


R_4 为氢，甲基， $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NMe}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SO}_2\text{Me}$ 。

39、根据项 37 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，



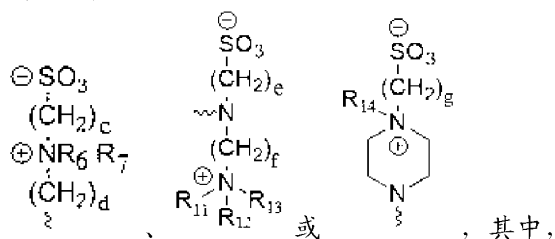
40、根据项 1-39 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述磺酸内盐为



波浪线连接 Y、Y' 或 Y''；其中 c、d、e、f、g 均为 1、2、3、4、5 或 6 的整数；

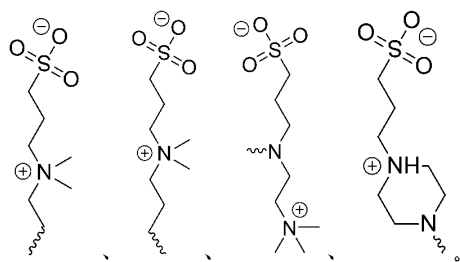
R_6 、 R_7 、 R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} 、 R_{14} 分别选自不存在、氢、 C_1 - C_6 直链或支链烷基。

41、根据项 40 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述磺酸内盐为

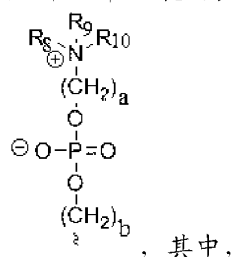


R_6 、 R_7 、 R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} 以及 R_{14} 分别选自不存在、甲基或乙基，c、d、e、f、g 分别为 1 或 2 或 3。

42、根据项 40 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述磺酸内盐为如下结构中的一种：



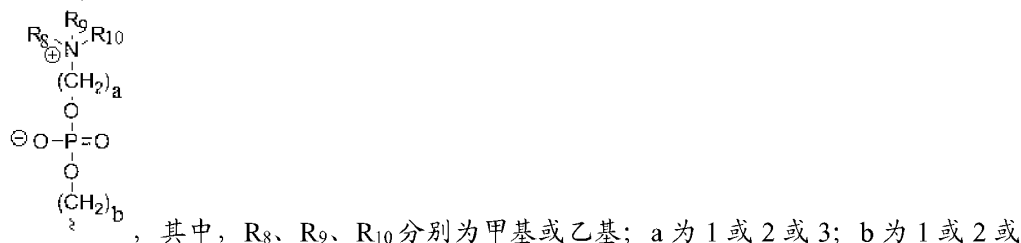
43、根据项 1-42 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述磷酸内盐为



a 和 b 均为 1、2、3、4、5 或 6 的整数；R₈、R₉ 和 R₁₀ 分别选自氢、C₁-C₆ 直链或支链烷基。

44、根据项 43 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，

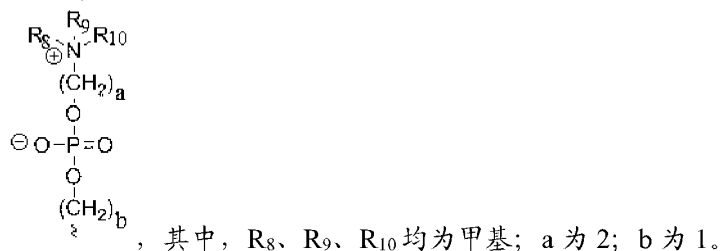
所述磷酸内盐为



3。

45、根据项 43 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，

所述磷酸内盐为



46、根据项 1-45 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，

其中, 所述 D 包括细胞毒素或免疫激动剂。

47、根据项 46 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 所述细胞毒素选自微管蛋白抑制剂、DNA 合成抑制剂、拓扑异构酶抑制剂或 RNA 聚合酶 2 抑制剂中的一种或两种。

48、根据项 46 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中,

所述细胞毒素选自奥利斯他汀类、和美登素生物碱类 DMs、卡奇霉素 calicheamicin、多米卡星 duocarmycin、吡咯并苯二氮䓬类、喜树碱衍生物以及 α -鹅膏蕈碱中的一种或两种以上。

49、根据项 46 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中,

所述免疫激动剂选自 TLR7/8 激动剂或 STING 激动剂。

50、根据项 1-49 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, i 为 2、3、4、5、6、7 或 8。

51、根据项 1-50 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, h 为 1、2、3 或 4。

52、根据项 1-51 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, o、p、q 分别为 0、1、2 或 3。

53、根据项 1-52 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, L_a 为 C_1 - C_6 直链或支链亚烷基、或聚乙二醇基中的一种、两种或三种以上, 所述聚乙二醇基为 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2-$ 、 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_n-$ 、或 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_nCH_2-$, n 为大于等于 1 的整数; Q_a 为 $-C(=O)-$ 、 $-NR-$ 、 $-NR(C=O)-$ 和 $-(C=O)NR-$ 中的一种或两种或三种以上, 其中, R 选自氢、 C_1 - C_6 直链或支链烷基。

54、根据项 53 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, L_a 为亚乙基、直链亚丙基、直链亚丁基、直链亚戊基、或 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2-$ 中的一种、两种或三种以上, 其中 n 为 2、3、4、5、6、7 或 8; Q_a 为 $-C(=O)-$ 、 $-NR-$ 、 $-NR(C=O)-$ 和 $-(C=O)NR-$ 中的一种或两种或三种以上, 其中, R 为甲基和/或氢。

55、根据项 53 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中,

L_a 为亚乙基和/或 $-(CH_2CH_2O)_4CH_2CH_2-$ 或亚戊基; Q_a 为 $-C(=O)-$ 、 $-N(CH_3)-$ 、 $-NH(C=O)-$ 、 $-C(=O)NH-$ 或 $-C(=O)-N(CH_3)-$ 。

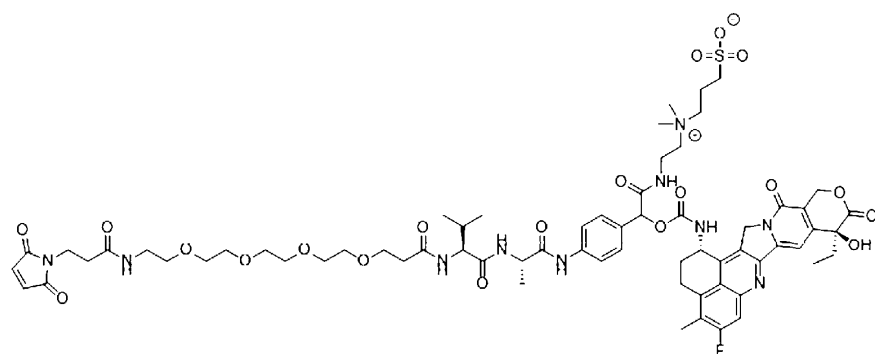
56、根据项 1-55 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, L_b 选自 C_1-C_6 直链或支链亚烷基、 C_2-C_6 直链或支链亚烯基、或 C_2-C_6 直链或支链亚炔基、呈一或多个环的具有 6 至 10 个碳原子的亚芳基、或聚乙二醇基, 所述聚乙二醇基为 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2-$ 、 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_n-$ 、或 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ 中的一种或两种或三种以上, n 为大于等于 1 的整数, 所述亚烷基、亚烯基、亚炔基任选被取代基取代; Q_b 选自不存在、 $-C(=O)NR-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-OC(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-NRC(=O)O-$ 、 $-NRS(=O)_2-$ 、 $-NRC(=O)NR-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-OC(=O)O-$ 中的一种、两种或三种以上, R 选自氢、任选取代的 C_1-C_6 直链或支链烷基。

57、根据项 56 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, L_b 为 C_1-C_6 直链或支链亚烷基、或 C_6-C_{10} 的亚芳基中的一种或两种或三种以上; Q_b 为不存在、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=O)NR-$ 、 $-OC(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-NRC(=O)O-$ 、或 $-NRC(=O)NR-$ 中的一种或两种或三种以上, R 选自氢、 C_1-C_6 直链或支链烷基。

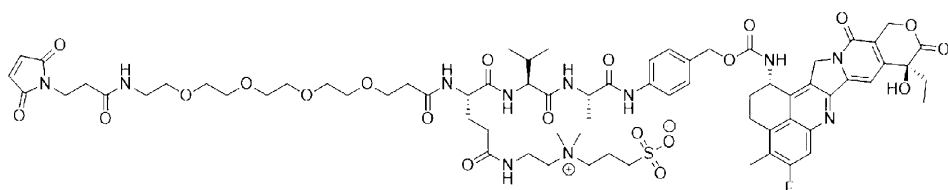
58、根据项 56 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, L_b 为亚甲基、亚乙基、亚正丙基、亚异丙基、亚正丁基、亚异丁基、亚仲丁基、亚叔丁基或亚苯甲基中的一种或两种或三种以上; Q_b 为不存在、 $-C(=O)-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-NRC(=O)NR-$ 或 $-C(=O)NR-$ 的一种或两种或三种以上, R 为氢或甲基。

59、根据项 1-58 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 所述取代基选自氘、氟、卤素原子、氨基、羟基、氰基、硝基、任选取代的烷基、烯基、炔基团、任选取代的杂环基团、酰基、任选取代的氨基、任选取代的氨基甲酰基、任选取代的硫代氨基甲酰基、任选取代的氨磺酰基、任选取代的羧基、任选取代的硫烷基(SH)和任选取代的甲硅烷基。

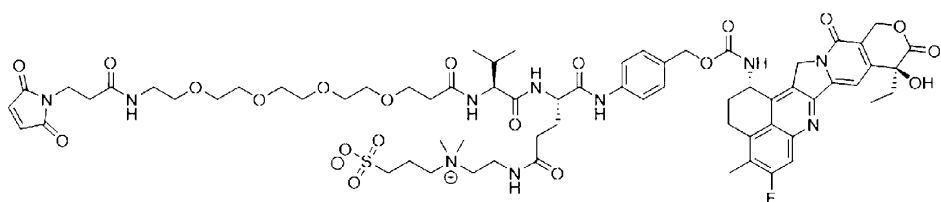
60、根据项 1-59 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 所述化合物选自如下结构:



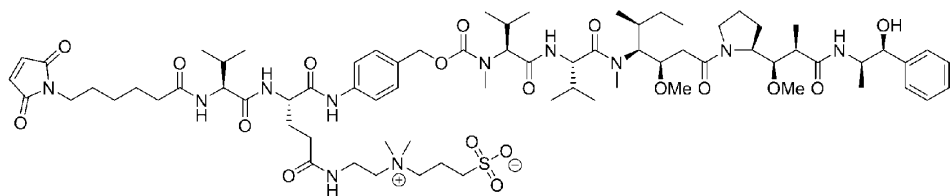
LD-31、



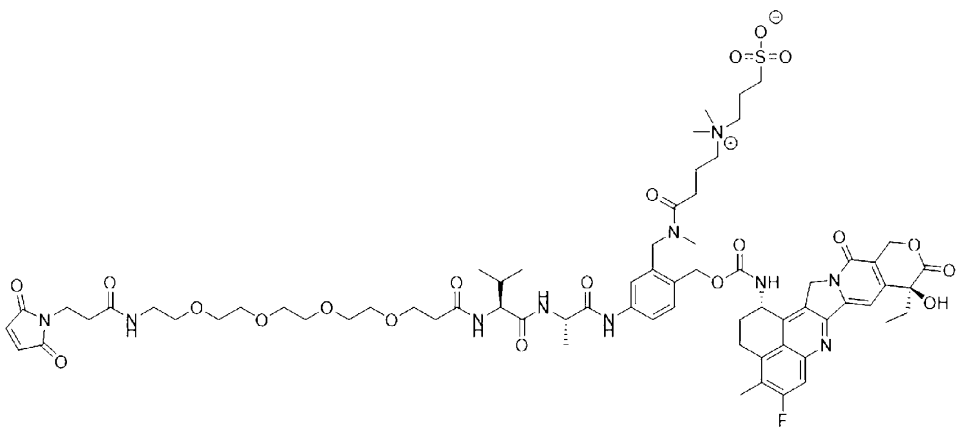
LD-37、



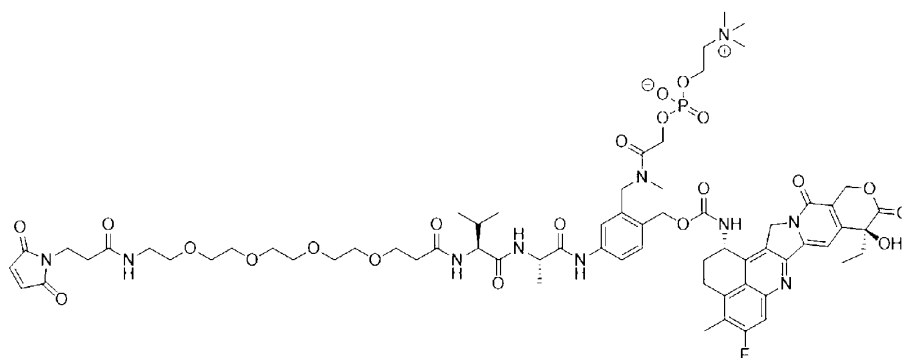
LD-38、



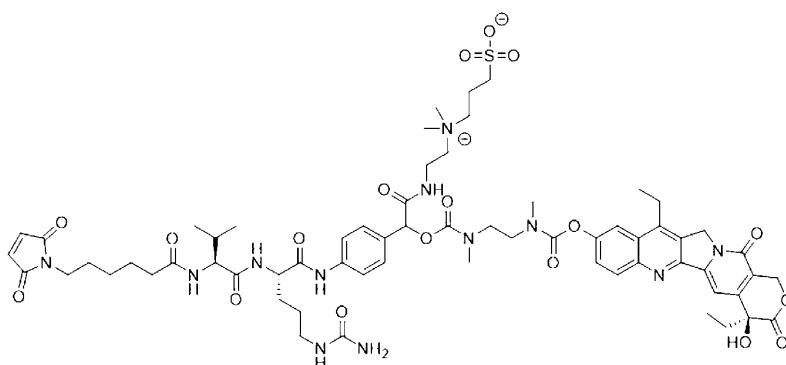
LD-57、



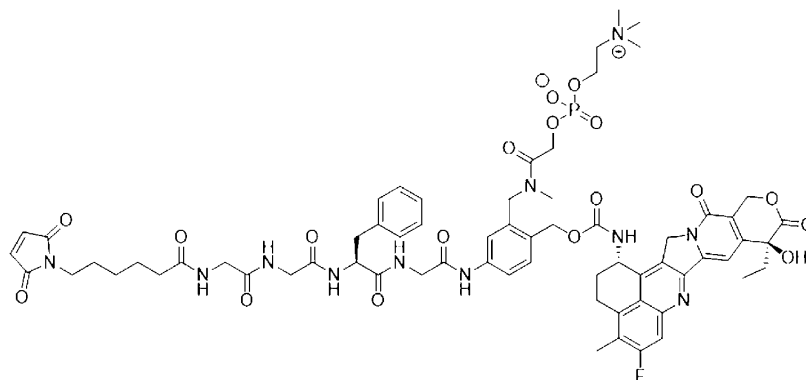
LD-65、



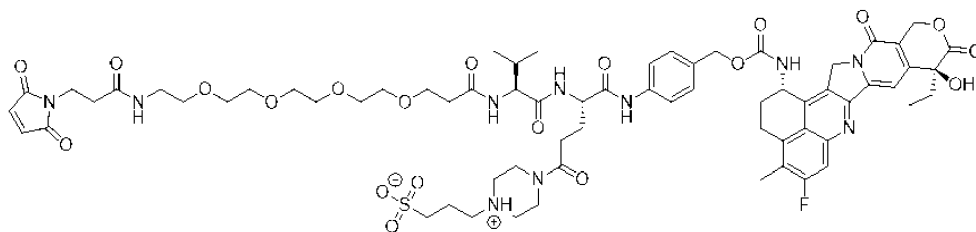
LD-66、



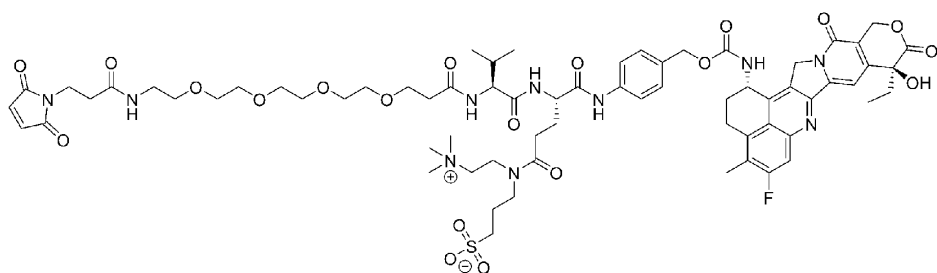
LD-71、



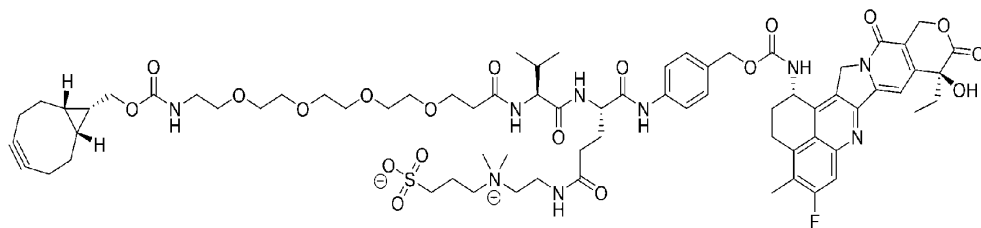
LD-72、



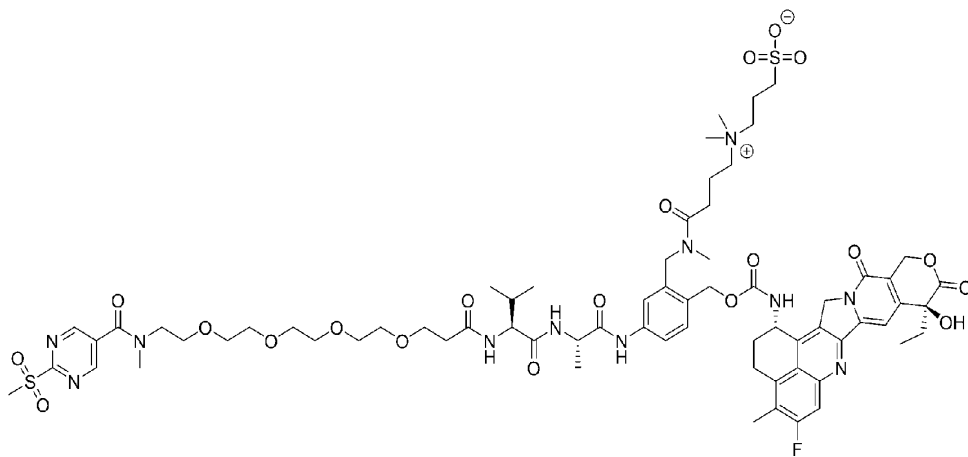
LD-88、



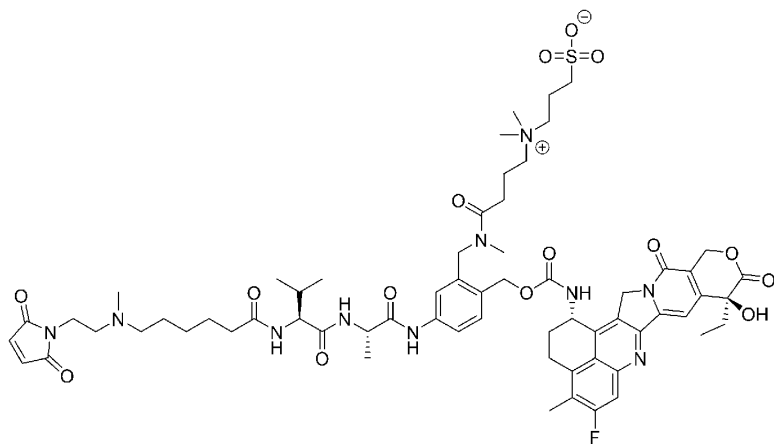
LD-89、



LD-94、

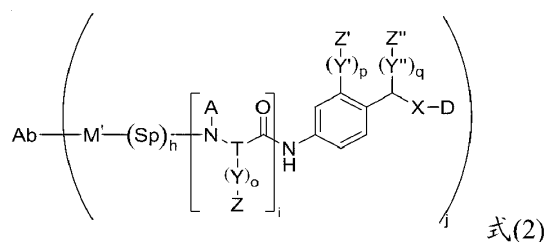


LD-98、



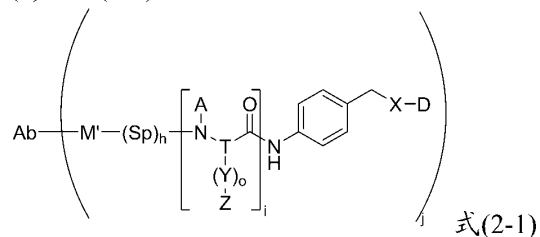
LD-99。

61、一种由式(2)表示的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，式(2)的结构如下表示：



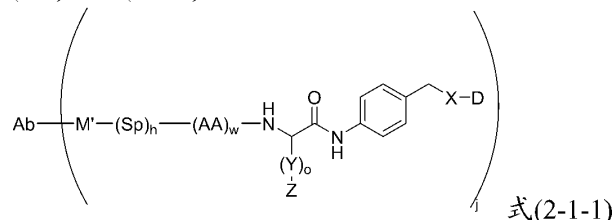
Ab 包含抗体或其抗原结合片段；M' 为连接基团；Sp 为 -L_a-Q_a-；A 选自不存在、氢、烷基；T 表示直链的或具有支链的 (C₁-C₈) 三价烷基基团；Y、Y'、Y'' 分别为 -L_b-Q_b-；L_a、L_b 分别选自不存在、亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基或聚乙二醇基，其中所述亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基、聚乙二醇基任选被取代基取代；Q_a、Q_b 分别选自不存在、-C(=O)NR-、-C(=O)O-、-OC(=O)NR-、-S(=O)₂NR-、-NRC(=O)-、-OC(=O)-、-NRC(=O)O-、-NRS(=O)₂-、-NRC(=O)NR-、-NHC(=NH)NH-、-C(=O)-、-OC(=O)O-、-O-、-NR-、-S-、S(=O)₂-、S(=O)-、或 -Se-，其中 R 选氢或任选取代的烷基；Z 选自不存在、氢、任选取代的烷基或磺酸内盐；Z'、Z'' 选自不存在、氢、任选取代的烷基、磺酸内盐或磷酸内盐；Z、Z'、Z'' 中的至少一个为磺酸内盐或磷酸内盐；X 包含自毁单元或不存在；D 包括药物分子；i 为大于等于 1 的整数；h 为 1-6 的整数；o、p、q 分别为 0-5 的整数；j 为大于等于 1 的整数。

62、根据项 61 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述式(2)为式(2-1)：



其中，Ab、M'、Sp、A、T、Y、h、o、i、j、X、D、Z 的定义如项 61 中所述；i 个 Z 中至少一个为磺酸内盐。

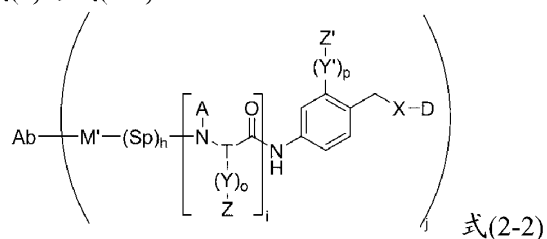
63、根据项 62 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述式(2-1)为式(2-1-1)：



其中，AA 为氨基酸的残基，W 为大于等于 1 的整数。

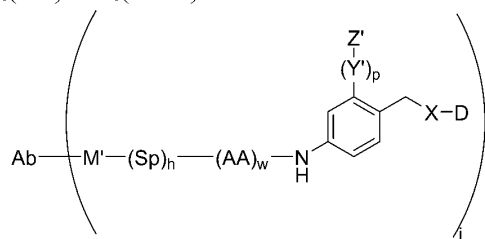
64、根据项 61 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、

非对映异构体、或其混合物形式,或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物,其中,所述式(2)为式(2-2):



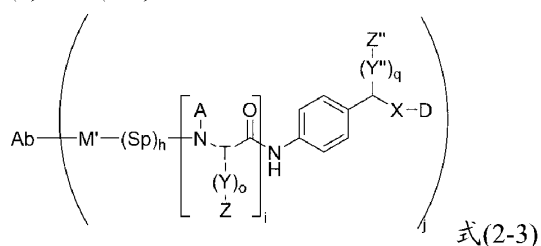
其中, Ab、M'、Sp、A、T、Y、Z、o、p、i、h、j、X、Y'、D 的定义如项 61 中所述; Z' 为磺酸内盐或磷酸内盐。

65、根据项 64 所述的化合物,或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式,或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物,其中,所述式(2-2)为式(2-2-1):



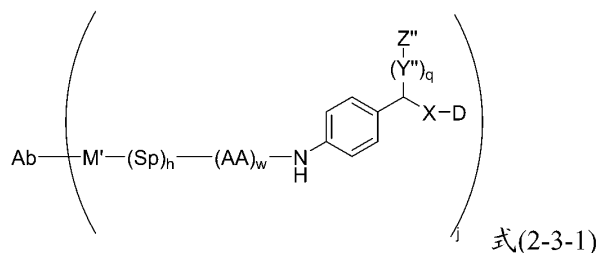
其中,其中, AA 为氨基酸的残基, W 为大于等于 1 的整数。

66、根据项 61 所述的化合物,或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式,或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物,其中,所述式(2)为式(2-3):



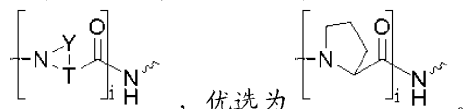
其中, Ab、M'、Sp、A、Y、T、Z、o、i、h、j、q、X、Y''、D 的定义如项 61 中所述; Z'' 为磺酸内盐或磷酸内盐。

67、根据项 66 所述的化合物,或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式,或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物,其中,所述式(2-3)为式(2-3-1):



其中，其中，AA 为氨基酸的残基，W 为大于等于 1 的整数。

68、根据项 61-67 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，当 A 和 Z 都不存在时，N，Y，T 成环，即为

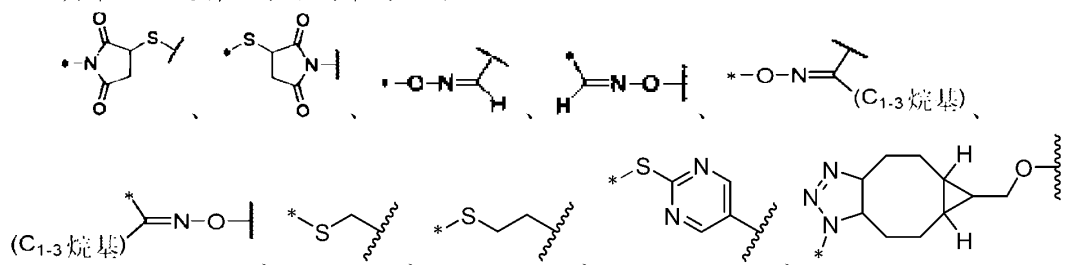


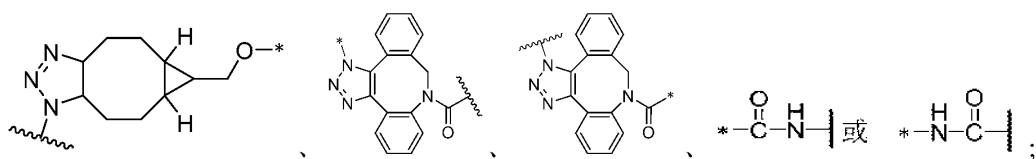
69、根据项 63、65 或 67 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述氨基酸选自丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、 γ -羧基谷氨酸、瓜氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、正亮氨酸、正缬氨酸、鸟氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、和缬氨酸中的一种或两种以上。

70、根据项 63、65 或 67 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述氨基酸选自缬氨酸、谷氨酸、瓜氨酸、赖氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸、精氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺和甘氨酸中的一种或两种以上。

71、根据项 63、65 或 67 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述氨基酸选自为缬氨酸、瓜氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸、谷氨酰胺和甘氨酸中的一种或两种以上。

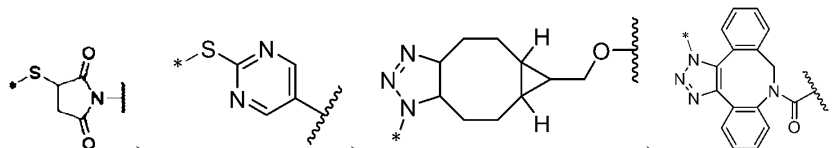
72、根据项 61-71 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，M'选自如下结构中的一种：



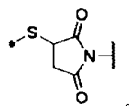


*连接 Ab。

73、根据项 61-72 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，M'选自如下结构中的一种：



74、根据项 61-73 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，

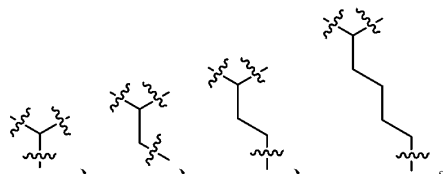


M'为

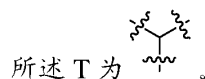
75、根据项 61-74 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，A 为氢、甲基、乙基或丙基。

76、根据项 61-75 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，A 为氢。

77、根据项 61-76 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述 T 为如下结构中的一种：



78、根据项 61-77 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，



所述 T 为

79、根据项 61-78 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，

物, 其中, L_a 选自亚烷基、亚烯基、亚炔基、环碳原子数为 3-10 的饱和或不饱和的亚脂环基、环碳原子数为 3-10 的饱和或不饱和且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂脂环基、一或多个环的具有 6 至 18 个碳原子的亚芳基、或呈一或多个环的具有 6 至 18 个碳原子且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂芳基、或聚乙二醇基中的一种、两种或三种以上, 所述亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基任选被取代基取代, 所述杂原子选自氮、氧或硫。

80、根据项 61-79 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, L_a 选自 C_1 - C_{10} 直链或支链亚烷基、 C_2 - C_{12} 直链或支链亚烯基、 C_2 - C_{12} 直链或支链亚炔基、环碳原子数为 3-6 的饱和或不饱和的亚脂环基、含有杂原子的环碳原子数为 3-6 的饱和或不饱和且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂脂环基、或呈一或多个环的具有 6 至 10 个碳原子的亚芳基、呈一或多个环的具有 6 至 10 个碳原子且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂芳基、或聚乙二醇基中的一种、两种或三种以上, 所述亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基任选被取代基取代, 所述杂原子选自氮、氧或硫。

81、根据项 61-80 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, L_a 选自 C_1 - C_6 直链或支链亚烷基、 C_2 - C_6 直链或支链亚烯基、或 C_2 - C_6 直链或支链亚炔基、或聚乙二醇基中的一种、两种或三种以上, 所述亚烷基、亚烯基、亚炔基任选被取代基取代。

82、根据项 61-81 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, L_a 为 C_1 - C_6 直链或支链亚烷基、或聚乙二醇基中的一种、两种或三种以上,

所述聚乙二醇基为 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2-$ 、 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_n-$ 、或 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_nCH_2-$, n 为大于等于 1 的整数。

83、根据项 61-82 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, L_a 为亚乙基、直链亚丙基、直链亚丁基、直链亚戊基、或 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2-$ 中的一种、两种或三种以上, 其中 n 为 2、3、4、5、6、7 或 8。

84、根据项 61-83 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, L_a 为亚乙基和/或 $-(CH_2CH_2O)_4CH_2CH_2-$ 或亚戊基。

85、根据项 61-84 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, L_b 选自亚烷基、亚烯基、亚炔基、环碳原子数为 3-10 的饱和或不饱和的亚脂

环基、环碳原子数为 3-10 的饱和或不饱和且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂脂环基、呈一或多个环的具有 6 至 18 个碳原子的亚芳基、或呈一或多个环的具有 6 至 18 个碳原子且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂芳基、或聚乙二醇中的一种或两种或三种以上，所述亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基任选被取代基取代，所述杂原子选自氮、氧或硫。

86、根据项 61-85 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_b 选自 C_1 - C_{10} 直链或支链亚烷基、 C_2 - C_{12} 直链或支链亚烯基、 C_2 - C_{12} 直链或支链亚炔基、环碳原子数为 3-6 的饱和或不饱和的亚脂环基、含有杂原子的环碳原子数为 3-6 的饱和或不饱和且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂脂环基、或呈一或多个环的具有 6 至 10 个碳原子的亚芳基、呈一或多个环的具有 6 至 10 个碳原子，且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂芳基、或聚乙二醇中的一种或两种或三种以上，所述亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基任选被取代基取代，所述杂原子选自氮、氧或硫。

87、根据项 61-86 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_b 选自 C_1 - C_6 直链或支链亚烷基、 C_2 - C_6 直链或支链亚烯基、或 C_2 - C_6 直链或支链亚炔基、或聚乙二醇基，所述聚乙二醇基为 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2-$ 、 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_n-$ 、或 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ 中的一种或两种或三种以上， n 为大于等于 1 的整数，所述亚烷基、亚烯基、亚炔基任选被取代基取代。

88、根据项 61-87 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_b 为 C_1 - C_6 直链或支链亚烷基、或 C_6 - C_{10} 的亚芳基中的一种或两种或三种以上。

89、根据项 61-88 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_b 为亚甲基、亚乙基、亚正丙基、亚异丙基、亚正丁基、亚异丁基、亚仲丁基、亚叔丁基、或亚苯甲基中的一种或两种或三种以上。

90、根据项 61-89 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， Q_a 选自 $-C(=O)NR-$ 、 $-NR-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-OC(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-NRC(=O)O-$ 、 $-NRC(=O)NR-$ 、 $NHC(=NH)NH-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-OC(=O)O-$ 中的一种、两种或三种以上，其中， R 选自氢任选取代的 C_1 - C_6 直链或支链烷基。

91、根据项 90 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，

Q_a 为 $-C(=O)-$ 、 $-NR-$ 、 $-C(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)NR-$ 、 $-OC(=O)O-$ 、 $-OC(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 或 $-OC(=O)-$ 中的一种或两种或三种以上, 其中, R 选自氢或任选取代的 C_1-C_6 直链或支链烷基。

92、根据项 90 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, Q_a 为 $-C(=O)-$ 、 $-NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 和 $-(C=O)NR-$ 中的一种或两种或三种以上, 其中, R 选自氢或任选取代的 C_1-C_6 直链或支链烷基。

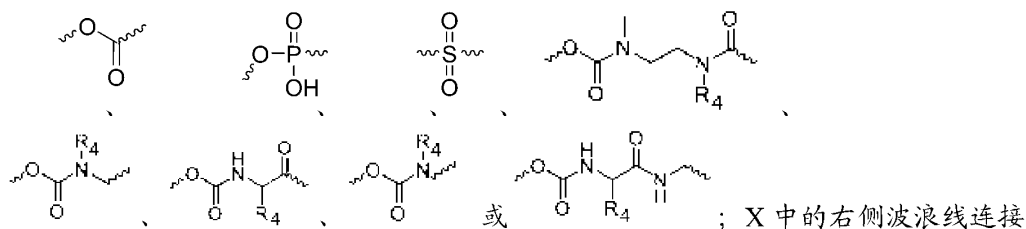
93、根据项 90 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, Q_a 为 $-C(=O)-$ 、 $-N(CH_3)-$ 、 $-NHC(=O)-$ 、 $-C(=O)-NH-$ 或 $-C(=O)-N(CH_3)-$ 。

94、根据项 61-93 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, Q_b 选自不存在、 $-C(=O)NR-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-OC(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-NRC(=O)O-$ 、 $-NRC(=O)NR-$ 、 $NHC(=NH)NH-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-OC(=O)O-$ 中的一种、两种或三种以上, 其中, R 选自氢或任选取代的 C_1-C_6 直链或支链烷基。

95、根据项 94 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, Q_b 为不存在、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=O)NR-$ 、 $-OC(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-NRC(=O)O-$ 或 $-NRC(=O)NR-$ 中的一种或两种或三种以上, R 选自氢或任选取代的 C_1-C_6 直链或支链烷基。

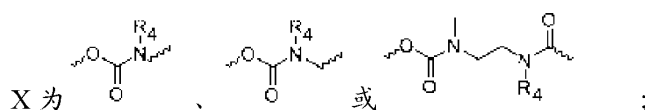
96、根据项 94 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, Q_b 为不存在、 $-C(=O)-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-NRC(=O)NR-$ 或 $-C(=O)NR-$ 的一种或两种或三种以上, R 为氢或甲基。

97、根据项 61-96 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, X 选自:



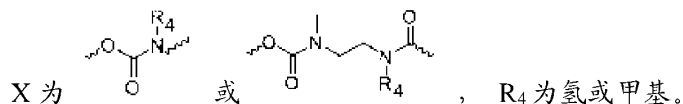
D ; R_4 选自氢、 C_1-C_6 直链或支链烷基, $-(CH_2CH_2O)_mR_2$ 、 $-CH_2CH_2NR_2R_3$ 、 $-CH_2CH_2SO_2R_2-$, R_2 , R_3 分别选自氢、 C_1-C_6 直链或支链烷基, m 为大于 1 的整数。

98、根据项 97 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中,

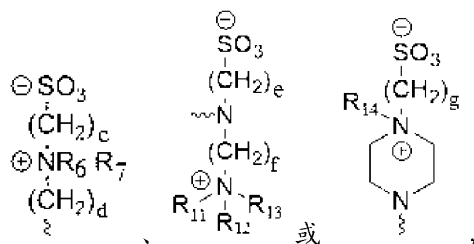


R₄ 为氢, 甲基, -CH₂CH₂OCH₂CH₂OH、-CH₂CH₂NMe₂、-CH₂CH₂SO₂Me。

99、根据项 97 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中,



100、根据项 61-99 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 所述磺酸内盐为

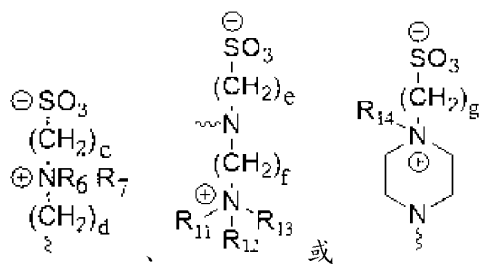


波浪线连接 Y, Y' 或 Y'';

其中 c、d、e、f、g 均为 1、2、3、4、5 或 6 的整数;

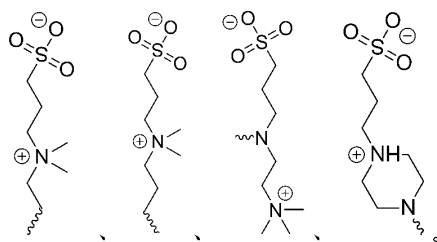
R₆、R₇、R₁₁、R₁₂、R₁₃、R₁₄ 分别选自不存在、氢、C₁-C₆ 直链或支链烷基。

101、根据项 100 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 所述磺酸内盐为

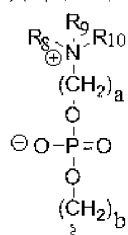


其中, R₆、R₇、R₁₁、R₁₂、R₁₃ 以及 R₁₄ 分别选自不存在、甲基或乙基, c、d、e、f、g 分别为 1 或 2 或 3。

102、根据项 100 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 所述磺酸内盐为如下结构中的一种:

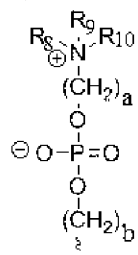


103、根据项 61-102 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述磷酸内盐为



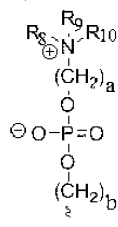
，其中，a 和 b 均为 1、2、3、4、5 或 6 的整数， R_8 、 R_9 和 R_{10} 分别选自氢、 C_1 - C_6 直链或支链烷基。

104、根据项 103 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述磷酸内盐为



，其中， R_8 、 R_9 、 R_{10} 分别为甲基或乙基；a 为 1 或 2 或 3；b 为 1 或 2 或 3。

105、根据项 103 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述磷酸内盐为



，其中， R_8 、 R_9 、 R_{10} 均为甲基；a 为 2；b 为 1。

106、根据项 61-105 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述 D 包括细胞毒素或免疫激动剂。

107、根据项 106 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构

体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述细胞毒素选自微管蛋白抑制剂、DNA 合成抑制剂、拓扑异构酶抑制剂或 RNA 聚合酶 2 抑制剂中的一种或两种。

108、根据项 106 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述细胞毒素选自奥利斯他汀类、和美登素生物碱类 DMs、卡奇霉素 calicheamicin、多米卡星 duocarmycin、吡咯并苯二氮草类、喜树碱衍生物以及 α -鹅膏蕈碱中的一种或两种以上。

109、根据项 106 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述免疫激动剂选自 TLR7/8 激动剂或 STING 激动剂。

110、根据项 61-109 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，i 为 2、3、4、5、6、7 或 8。

111、根据项 61-110 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，h 为 1、2、3 或 4。

112、根据项 61-111 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，o、p、q 分别为 0、1、2 或 3。

113、根据项 61-112 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_a 为 C_1 - C_6 直链或支链亚烷基、或聚乙二醇基中的一种、两种或三种以上，所述聚乙二醇基为 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2-$ 、 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_n-$ 、或 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ ，n 为大于等于 1 的整数； Q_a 为 $-C(=O)-$ 、 $-NR(C=O)-$ 和 $-(C=O)NR-$ 中的一种或两种或三种以上，其中，R 选自氢、 C_1 - C_6 直链或支链烷基。

114、根据项 61-113 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_a 为亚乙基、直链亚丙基、直链亚丁基、直链亚戊基、或 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2-$ 中的一种、两种或三种以上，其中 n 为 2、3、4、5、6、7 或 8； Q_a 为 $-C(=O)-$ 、 $-NR-$ 、 $-NR(C=O)-$ 和 $-(C=O)NR-$ 中的一种或两种或三种以上，其中，R 为甲基和/或氢。

115、根据项 114 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，

L_a 为亚乙基和/或 $-(CH_2CH_2O)_4CH_2CH_2-$ 或亚戊基； Q_a 为 $-C(=O)-$ 、 $-N(CH_3)-$ 、 $-NH(C=O)-$ 、 $-C(=O)NH-$ 或 $-C(=O)-N(CH_3)-$ 。

116、根据项 61-115 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_b 选自 C_1 - C_6 直链或支链亚烷基、 C_2 - C_6 直链或支链亚烯基、或 C_2 - C_6 直链或支链亚炔基、呈一或多个环的具有 6 至 10 个碳原子的亚芳基、或聚乙二醇基，所述聚乙二醇基为 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2-$ 、 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_n-$ 、或 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ 中的一种或两种或三种以上， n 为大于等于 1 的整数，所述亚烷基、亚烯基、亚炔基任选被取代基取代； Q_b 选自不存在、 $-C(=O)NR-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-OC(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-NRC(=O)O-$ 、 $-NRS(=O)_2-$ 、 $-NRC(=O)NR-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-OC(=O)O-$ 中的一种、两种或三种以上， R 选自氢、任选取代的 C_1 - C_6 直链或支链烷基。

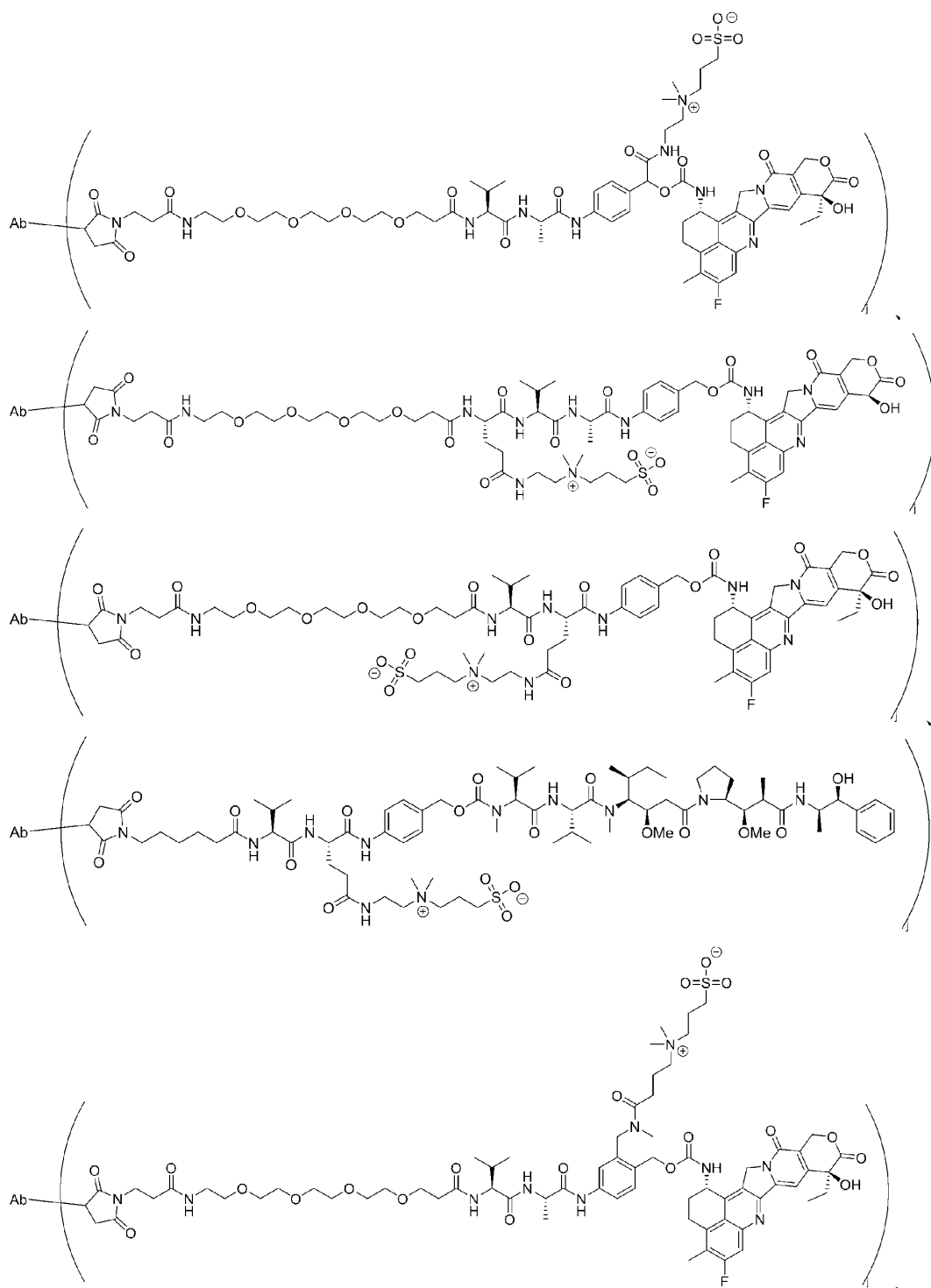
117、根据项 116 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_b 为 C_1 - C_6 直链或支链亚烷基、或 C_6 - C_{10} 的亚芳基中的一种或两种或三种以上； Q_b 为不存在、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=O)NR-$ 、 $-OC(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-NRC(=O)O-$ 、或 $-NRC(=O)NR-$ 中的一种或两种或三种以上， R 选自氢、任选取代的 C_1 - C_6 直链或支链烷基。

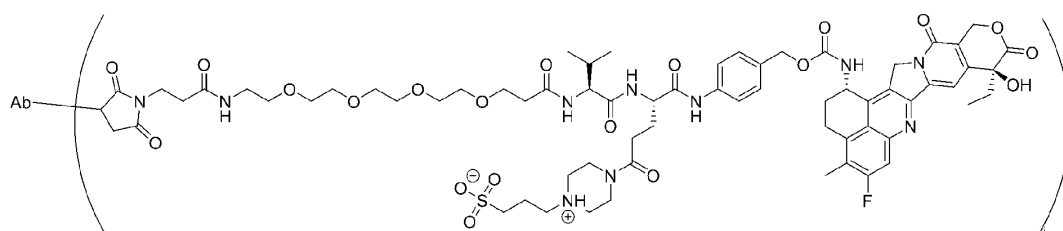
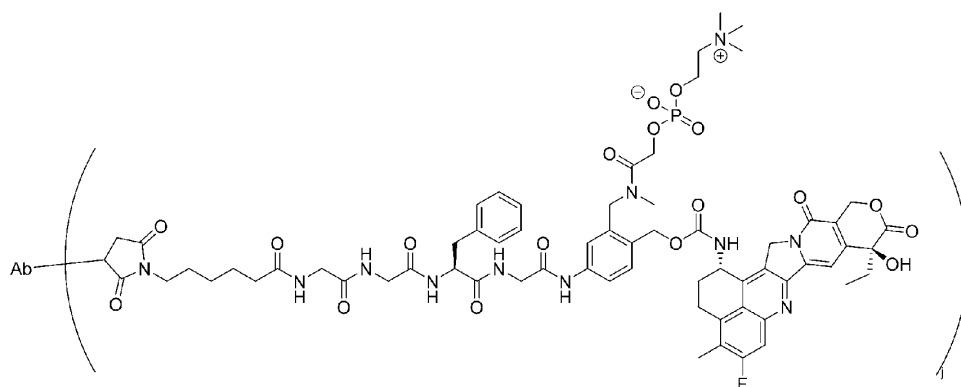
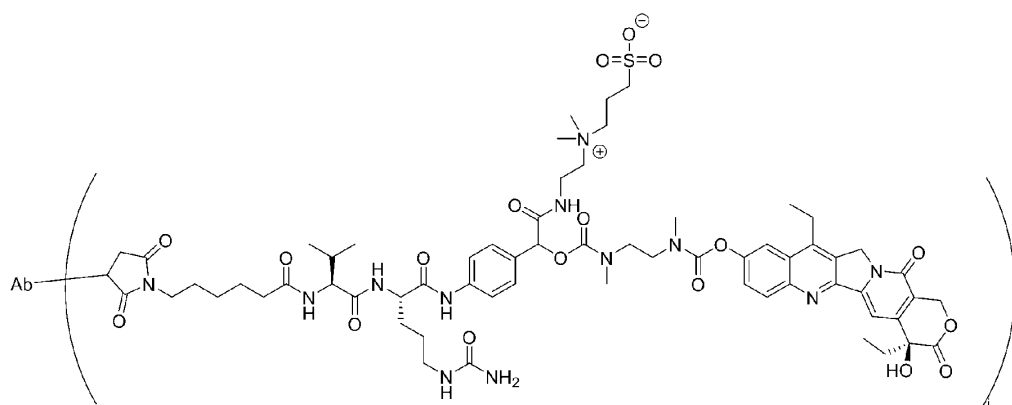
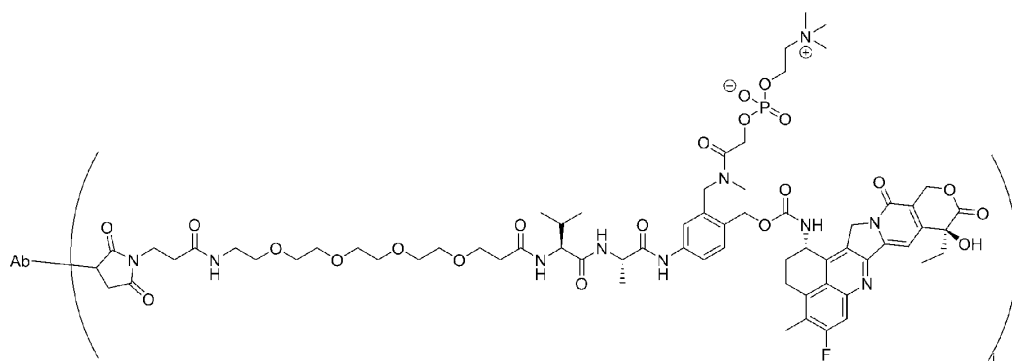
118、根据项 116 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_b 为亚甲基、亚乙基、亚正丙基、亚异丙基、亚正丁基、亚异丁基、亚仲丁基、亚叔丁基或亚苯甲基中的一种或两种或三种以上； Q_b 为不存在、 $-C(=O)-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-NRC(=O)NR-$ 或 $-C(=O)NR-$ 的一种或两种或三种以上， R 为氢或甲基。

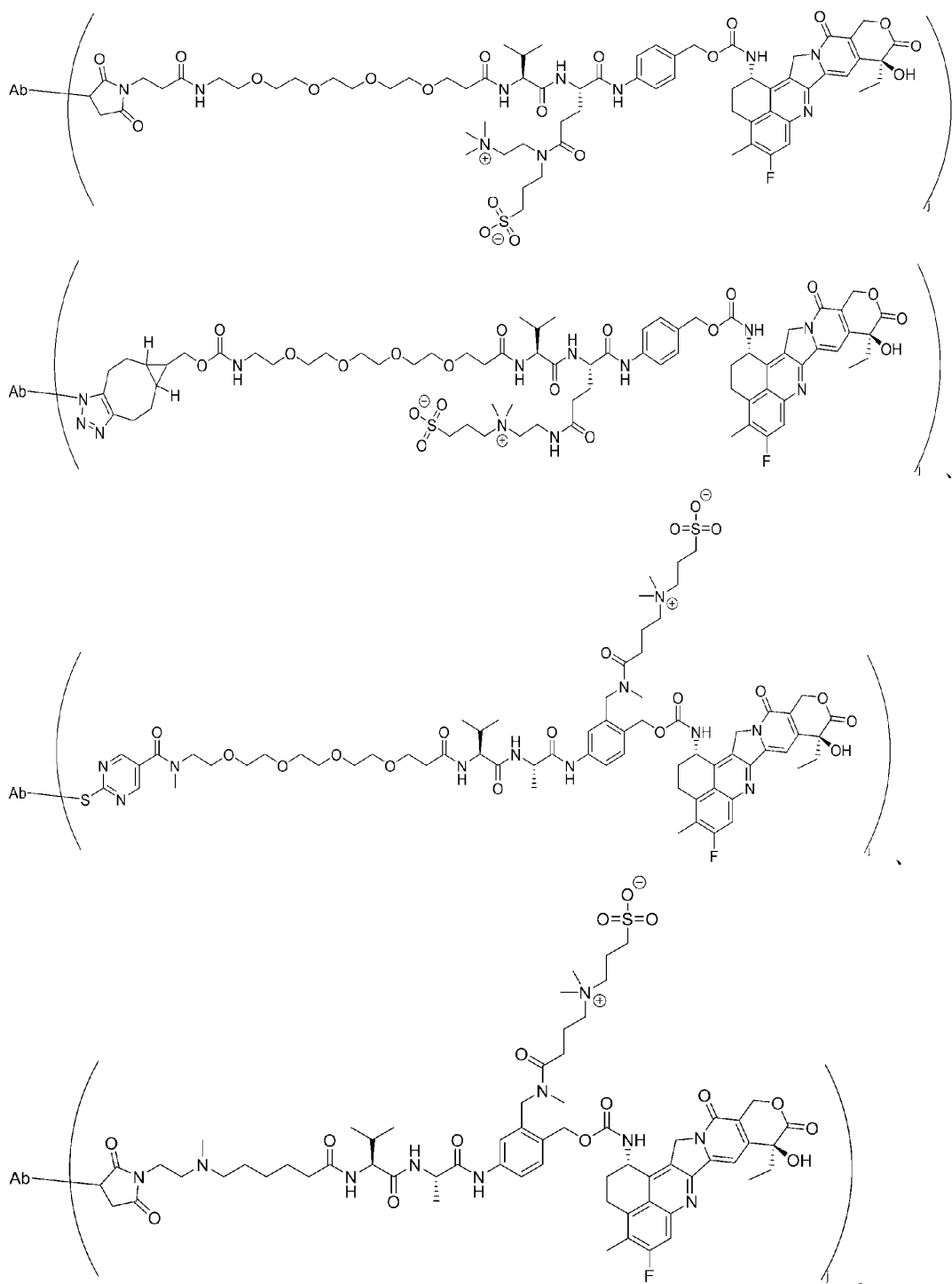
119、根据项 61-118 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述取代基选自氖、氩、卤素原子、氨基、羟基、氰基、硝基、任选取代的烷基、烯基、炔基团、任选取代的杂环基团、酰基、任选取代的氨基、任选取代的氨基甲酰基、任选取代的硫代氨基甲酰基、任选取代的氨磺酰基、任选取代的羟基、任选取代的硫烷基(SH)和任选取代的甲硅烷基。

120、根据项 61-119 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， j 为 1-20 的整数。

121、根据项 61-120 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述化合物选自如下结构：







122、根据项 61-121 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述抗体选自以下组：鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体和全人源抗体。

123、根据项 61-122 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合

物，其中，所述抗体包含单克隆抗体。

124、根据项 61-123 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述抗体包含双特异性抗体。

125、根据项 61-124 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述抗原结合片段选自以下组：Fab、Fab'、Fv 片段、F(ab')₂、F(ab)₂、scFv、di-scFv 和 VHH。

126、根据项 61-125 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述 Ab 选自以下组：抗密蛋白 18.2 抗体、抗人叶酸受体抗体、抗 HER2 抗体、抗 HER3 抗体、抗 TROP2 抗体、抗 B7-H3 抗体、抗 GPC20 抗体、抗 CDH6 抗体、抗 EGFR 抗体、抗 EGFRvIII 抗体、抗 AXL 抗体、抗 Nectin-4 抗体、抗 Tissue factor 抗体、抗 TIM-1 抗体、抗 PSMA 抗体、抗 EpCAM 抗体、抗 MUC1 抗体、抗 STEAP1 抗体、抗 GPNMB 抗体、抗 FGF2 抗体、抗 FOLR1 抗体、抗 c-MET 抗体、抗 GFR 抗体、抗 AGS-16、抗 Guanylyl cyclase C 抗体、抗 Mesothelin 抗体、抗 SLC44A4 抗体、抗 EphA2 抗体、抗 AGS-5 抗体、抗 GPC-3 抗体、抗 c-KIT 抗体、抗 ROR1 抗体、抗 PD-L1 抗体、抗 CD27L 抗体、抗 5T4 抗体、抗 Mucin 16 抗体、抗 NaPi2b 抗体、抗 STEAP 抗体、抗 SLITRK6 抗体、抗 ETBR 抗体、抗 BCMA 抗体、抗 CEACAM5 抗体、抗 SC-16 抗体、抗 SLC39A6 抗体、抗 Delta-like protein3 抗体、抗 Claudin18.2 抗体、抗 CD19 抗体、抗 CD20 抗体、抗 CD22 抗体、抗 CD30 抗体、抗 CD33 抗体、抗 CD37 抗体、抗 CD45 抗体、抗 CD56 抗体、抗 CD66e 抗体、抗 CD70 抗体、抗 CD73 抗体、抗 CD74 抗体、抗 CD79b 抗体、抗 CD138 抗体、抗 CD147 抗体、抗 CD166 抗体、抗 CD223 抗体、抗 MUC16 抗体、抗 MSLN 抗体、抗 ENPP3 抗体、抗 SLTRK6 抗体、抗 FGFR 抗体、抗 LIV-1 抗体、抗 Lewis Y 抗体、抗 αv-integrin 抗体、抗 ASCT2 抗体、抗 C4.4a 抗体、抗 CA-IX 抗体、抗 CD324 抗体、抗 CD352 抗体、抗 CD44v6 抗体、抗 CD48a 抗体、抗 CLL-1 抗体、抗 Cripto 抗体、抗 CS1 抗体、抗 DPEP3 抗体、抗 Ephrin-A2 抗体、抗 Ephrin-A4 抗体、抗 ETBR 抗体、抗 FGFR2 抗体、抗 FGFR3 抗体、抗 FLT3 抗体、抗 GD3 抗体、抗 GloboH 抗体、抗 GPC3 抗体、抗 LAMP-1 抗体、抗 LRRC15 抗体、抗 Ly6E 抗体、抗 MFI2 抗体、抗 NOTCH3 抗体、抗 p-cadherin 抗体、抗 PRLR 抗体和抗 RNF43 抗体，以及上述抗体的抗原结合片段。

127、根据项 61-126 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，Ab 的重链 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 和轻链 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含抗体的重链 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 和轻链 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

128、根据项 61-127 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、

对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述 Ab 的重链可变区 VH 和轻链可变区 VL 分别包含抗体的重链可变区 VH 和轻链可变区 VL。

129、根据项 61-128 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述 Ab 的重链和轻链分别包含抗体的重链和轻链。

130、根据项 61-129 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述 Ab 为抗密蛋白 18.2 抗体或其抗原结合片段。

131、根据项 61-130 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，其中所述 Ab 为抗人叶酸受体抗体或其抗原结合片段。

132、一种药物组合物，其中，其包括项 1-131 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物。

133、一种含有项 1-132 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物在制备用于治疗 and/or 预防肿瘤的药物中的用途。

134、根据项 133 所述的用途，其中，所述肿瘤选自与以下组靶点表达相关的肿瘤：密蛋白 18.2、人叶酸受体、HER2、HER3、TROP2、B7-H3、GPC20、CDH6、EGFR、EGFRvIII、AXL、Nectin-4、Tissue factor、TIM-1、PSMA、EpCAM、MUC1、STEAP1、GPNMB、FGF2、FOLR1、c-MET、GFR、AGS-16、Guanylyl cyclase C、Mesothelin、SLC44A4、EphA2、AGS-5、GPC-3、c-KIT、ROR1、PD-L1、CD27L、5T4、Mucin 16、NaPi2b、STEAP、SLITRK6、ETBR、BCMA、CEACAM5、SC-16、SLC39A6、Delta-like protein3、Claudin18.2、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD37、CD45、CD56、CD66e、CD70、CD73、CD74、CD79b、CD138、CD147、CD166、CD223、MUC16、MSLN、ENPP3、SLITRK6、FGFR、LIV-1、Lewis Y、av-integrin、ASCT2、C4.4a、CA-IX、CD324、CD352、CD44v6、CD48a、CLL-1、Cripto、CS1、DPEP3、Ephrin-A2、Ephrin-A4、ETBR、FGFR2、FGFR3、FLT3、GD3、Globo H、GPC3、LAMP-1、LRRC15、Ly6E、MFI2、NOTCH3、p-cadherin、PRLR 和 RNF43。

135、根据项 133 所述的用途，其中，与所述靶点表达相关的肿瘤包括所述靶点高表达的肿瘤和/或靶点阳性的肿瘤。

136、根据项 133 所述的用途，其中，所述肿瘤选自实体肿瘤、血液肿瘤和癌症的转移性、难治性或复发性病灶。

137、根据项 133 所述的用途，其中，所述肿瘤选自以下组：食管癌、胃肠癌、胰腺癌、甲状腺癌、结直肠癌、肾癌、肺癌(例如非小细胞肺癌)、肝癌、胃癌、胃腺癌、胃食

管交界处(GEJ)腺癌、头颈癌、膀胱癌、乳腺癌、子宫癌、宫颈癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、生殖细胞癌、骨癌、皮肤癌、胸腺癌、胆管癌、胆囊癌、黑素瘤、间皮瘤、淋巴瘤、骨髓瘤(例如多发性骨髓瘤)、肉瘤、神经胶质母细胞瘤和白血病。

本申请提供的抗体药物偶联物,相比于 PEG 的阴离子及阳离子亲水性基团,磺酸内盐形式的水溶性基团修饰的荧光团-抗体药物偶联物极大的增加了在肿瘤部位的特异性累积。本申请的抗偶联药物通过在连接子的多肽(VC, VA, AAA 等)-PAB(自毁基团)位置处引入强亲水性磺酸内盐和/或磷酸内盐侧链,由于磺酸基团或者磷酸基团同时具有氢键供体和氢键受体,属于强亲水性基团,而且磺酸内盐或者磷酸内盐同时具有正电荷和负电荷,可以进一步增加了亲水性特征。同时,内盐形式的水溶性基团还具有增强抗体药物偶联物的肿瘤靶向性和减少非特异性结合的潜力,因此极大的增强了测试抗体药物偶联物的成药性(包括亲水性,稳定性),降低了体内药物清除作用,并提高了肿瘤治疗效果。

附图说明

附图用于更好地理解本申请,不构成对本申请的不当限定。其中:

图 1 为本申请提供的对比例 2 和试验例 6 的抗体药物偶联物的分子筛排阻色谱(SEC)分析图。

图 2 为本申请提供的对比例 3 和试验例 9 的抗体药物偶联物的分子筛排阻色谱(SEC)分析图。

图 3 为本申请提供的对比例 1 和试验例 1、试验例 5a、试验例 7、试验例 9 以及试验例 11 的抗体药物偶联物的分子筛排阻色谱(SEC)分析图。

图 4 为本申请提供的对比例 2 和试验例 6 的抗体药物偶联物的疏水作用色谱(HIC)分析图。

图 5 为本申请提供的对比例 3 和试验例 9 的抗体药物偶联物的疏水作用色谱(HIC)分析图。

图 6 为本申请提供的对比例 1、试验例 1、试验例 5a、试验例 7、试验例 9 以及试验例 11 的抗体药物偶联物的疏水作用色谱(HIC)分析图。

图 7 为本申请提供的试验例 5a 的轻链去卷积质谱图。

图 8 为本申请提供的试验例 5a 的重链去卷积质谱图。

图 9 为本申请提供的试验例 5a 的反向色谱图。

图 10 为本申请提供的 9D1 抗体药物偶联物以及对比照样品在 MC38-18.2 细胞上的体外细胞杀伤曲线。

图 11 为本申请提供的 9D1 抗体药物偶联物在 MC38-hClaudin18.2 小鼠皮下瘤模型上的肿瘤治疗作用曲线。

图 12 为本申请提供的 9D1 抗体药物偶联物在 NUGC4-hClaudin18.2 小鼠皮下瘤模型上的肿瘤治疗作用曲线。

图 13 为本申请提供的 Farletuzumab-LD-38 抗体药物偶联物在 OVCAR-3 小鼠皮下瘤模型上的肿瘤治疗作用曲线。

图 14 为本申请提供的 Farletuzumab-LD-38 抗体药物偶联物在 IGROV1 小鼠皮下瘤模型上的肿瘤治疗作用曲线。

图 15 为本申请提供的 9D1-LD-38 和 9D1-GGFG-Exatecan 在大鼠体内的药代动力学曲线。

图 16 为 9D1-LD-38、9D1-LD-82、9D1-LD-88 和 9D1-LD-89 对 MC38-hClaudin18.2 细胞的杀伤活性。

图 17 为 9D1-LD-38 和 9D1-GGFG-Dxd 诱导 B16F10-hClaudin18.2 细胞产生免疫原性细胞死亡结果。

图 18 为 9D1-LD-38 和 9D1-GGFG-Dxd 在 HEK293-hClaudin18.2/HEK293 细胞上的旁杀效应。

图 19 为 9D1-LD-38 酶切后释放游离毒素 Exatecan 结果。

图 20 为 9D1-LD-38、9D1-LD-65、9D1-LD-73、9D1-LD-74 和 9D1-Deruxtecan (9D1-GGFG-Dxd) 的体外血清孵育稳定性结果。

图 21 为 9D1-LD-38、9D1-LD-65、9D1-Deruxtecan (9D1-GGFG-Dxd) 的体内 DAR 值变化结果。

图 22 为 9D1-LD-38、9D1-LD-65、9D1-Deruxtecan (9D1-GGFG-Dxd) 给药荷瘤小鼠血浆中总毒素(结合毒素+游离毒素)以及游离毒素的含量。

图 23 为 9D1-LD-38、9D1-LD-65、9D1-Deruxtecan (9D1-GGFG-Dxd) 给药荷瘤小鼠组织中总毒素(结合毒素+游离毒素)以及游离毒素的含量。

图 24 为 9D1-LD-38、9D1-Deruxtecan (9D1-GGFG-Dxd) 和 9D1-vc-PAB-MMAE 在 p-gp 介导的耐药荷瘤小鼠模型上的药效学结果。

图 25 为 9D1-LD-38 联合 ICI 给药在免疫健全荷瘤小鼠模型上的药效学结果。

图 26 为 9D1-LD-38 在荷瘤小鼠上的旁杀作用结果。

具体实施方式

以下对本申请的示范性实施例做出说明，其中包括本申请实施例的各种细节以助于理解，应当将它们认为仅仅是示范性的。因此，本领域普通技术人员应当认识到，可以对这里描述的实施例做出各种改变和修改，而不会背离本申请的范围和精神。同样，为了清楚和简明，以下的描述中省略了对公知功能和结构的描述。

除非有相反陈述，否则本申请在说明书和权利要求书中所使用的部分术语定义如下：

“烷基”为可支化或未支化，且优选具有 1 至约 12 个碳原子。更优选的一类烷基具有 1 至约 6 个碳原子。甚至更优选具有 1 个、2 个、3 个或 4 个碳原子的烷基。烷基基团包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、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。烷基可以是取代或未取代的。

“烯基”为可支化或未支化，具有一或多个双键及2个至约12个碳原子。更优选的一类烯基具有2个至约6个碳原子。甚至更优选为具有2、3或4个碳原子的烯基。烯基基团包括但不限于乙烯基、1-丙烯基、2-丙烯基、1-甲基乙烯基、1-丁烯基、2-丁烯基及3-丁烯基等，烯基可以是取代或未取代的。

“炔基”为可支化或未支化，具有一或多个三键及2个至约12个碳原子。更优选的一类炔基具有2至约6个碳原子，甚至更优选具有2、3或4个碳原子的炔基，炔基基团包括但不限于乙炔、丙炔、1-丁炔等。

“脂环基”指不具备芳香性的环状取代基，可以是饱和的烃取代基或不饱和的烃取代基，例如可以为环烷基、环烯基等。

“杂脂环基”指的是环骨架上含有至少一个杂原子且不具备芳香性的杂环化合物形成的取代基团。杂原子可以为氧、氮、硫原子等，包括单环、多环、稠环、桥环和螺环。例如具有5至7元单环或7至10元双环或三环，其可以包含1、2或3个选自氮、氧和/或硫中的原子。杂脂环基包括但不限于吗啉基、氧杂环丁烷基、硫代吗啉基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、1,1-二氧化-硫代吗啉基、哌啶基、2-氧代-哌啶基、吡咯烷基、2-氧代-吡咯烷基、哌嗪-2-酮、8-氧杂-3-氮杂-双环[3.2.1]辛基、哌嗪基、六氢嘧啶。杂环基可以是取代或未取代的。

“芳基”是指含有一个或者两个环的碳环芳香系统，其中所述环可以以稠合的方式连接在一起。术语“芳基”包括单环或双环的芳基，比如苯基、萘基、四氢萘基的芳香基团。优选芳基为C₆-C₁₀芳基，更优选芳基为苯基和萘基，最优选为萘基。芳基可以是取代或未取代的。

“杂芳基”是指芳香族5至6元单环或8至10元双环，其可以包含1至4个选自氮、氧和/或硫中的原子。“杂芳基”的实施例包括但不限于呋喃基，吡啶基，2-氧代-1,2-二氢吡啶基，哒嗪基，嘧啶基，吡嗪基，噻吩基，异噻唑基，噻唑基，噻二唑基，咪唑基，吡咯基，吡唑基，三唑基，四氮唑基，噻唑基，异噻唑基，1,2,3-噻二唑基，苯并间二氧杂环戊烯基，苯并噻吩基、苯并咪唑基，吲哚基，异吲哚基，1,3-二氧化-异吲哚基，喹啉基，吲唑基，苯并异噻唑基，苯并噻唑基、苯并异噻唑基。杂芳基可以是取代或未取代的。

“取代的”指基团中的一个或多个氢原子，优选为最多5个，更优选为1~3个氢原子彼此独立地被相应数目的取代基取代。不言而喻，取代基仅处在它们的可能的化学位置，本领域技术人员能够在不付出过多努力的情况下确定(通过实验或理论)可能或不可能的取代。例如，具有游离氢的氨基或羟基与具有不饱和(如烯属)键的碳原子结合时可能是不稳定的。

本说明书所述的“取代”或“取代的”，如无特别指出，均是指基团可被一个或多个

个选自以下的基团取代：烷基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、硫基、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、氨基、卤代烷基、羟烷基的取代基所取代；

无论何时基团被描述为“任选被取代基取代”，那么该基团可以为未取代的或被一个或多个所示取代基所取代。同样地，当基团被描述为“未取代或取代的”时，如果被取代，那么取代基可以选自一个或多个所示取代基。如果未指明取代基，意味着所示“任选被取代基取代”或“取代的”基团可以被一种或多种基团所取代，该基团单独地或独立地选自烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基、杂脂环基、芳烷基、杂芳烷基、(杂脂环基)烷基、羟基、保护的羟基、烷氧基、芳氧基、酰基、巯基、烷硫基、芳硫基、氰基、卤素、硫代羰基、O-氨基甲酰、N-氨基甲酰、O-硫代氨基甲酰、N-硫代氨基甲酰、C-酰胺基、N-酰胺基、S-磺酰胺基、N-磺酰胺基、C-羧基、保护的C-羧基、O-羧基、异氰酸基、硫氰酸盐、异硫氰酸基、硝基、甲硅烷基、硫基、亚磺酰基、磺酰基、卤代烷基、卤代烷氧基、三卤代甲烷磺酰基、三卤代甲烷磺酰胺基、氨基、单取代的氨基和二取代的氨基及其被保护的衍生物。

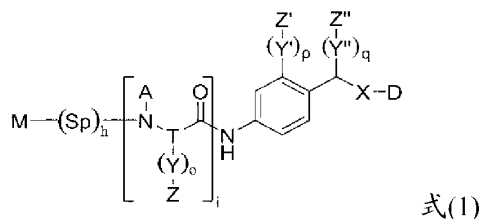
卤素取代基包括F、Cl、Br及I。“羟基”指-OH基团。“卤素”是指氟、氯、溴和碘。

“氨基”指-NH₂。“氰基”指-CN。“硝基”指-NO₂。“羧基”指-C(O)OH。“酰基”指-C(O)R。

本文所用的化学结构中的术语“氢”或“H”，除非另有说明外，应当被理解为不仅包括¹H，还包括氘(²H, D)、氚(³H, T)或其混合。“氘代同位素衍生物”，是指化合物中一个或多个H原子被D原子取代后得到的相应化合物。

“药物组合物”表示含有一种或多种本文所述化合物或其生理学上可药用的盐或前体药物与其他化学组分的混合物，以及其他组分例如生理学可药用的载体和赋形剂。药物组合物的目的是促进对生物体的给药，利于活性成分的吸收进而发挥生物活性。

本申请提出了一种式(1)表示的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，式(1)的结构如下所示，



M为连接基团；Sp为-L_a-Q_a-；A选自不存在、氢、烷基；T表示直链的或具有支链的(C₁-C₈)三价烷基基团；Y、Y'、Y''分别为-L_b-Q_b-；L_a、L_b分别选自不存在、亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基或聚乙二醇基，其中所述亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基、聚乙二醇基任选被取代基取代；Q_a、Q_b分别选自不存在、-C(=O)NR-、-C(=O)O-、-OC(=O)NR-、-S(=O)₂NR-、-NRC(=O)-、-OC(=O)-、-NRC(=O)O-、-NRS(=O)₂-、-NRC(=O)NR-、-NHC(=NH)NH-、

-C(=O)-、-OC(=O)O-、-O-、-NR-、-S-、S(=O)₂-、S(=O)-、或-Se-，其中 R 选自氢或任选取代的烷基；Z 选自不存在、氢、任选取代的烷基或磺酸内盐；Z'、Z'' 选自不存在、氢、任选取代的烷基、磺酸内盐或磷酸内盐；Z、Z'、Z'' 中的至少一个为磺酸内盐或磷酸内盐；X 包含自毁单元或不存在；D 包括药物分子；i 为大于等于 1 的整数，例如可以为 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15 等。h 为 1-6 的整数，例如可以为 1、2、3、4、5、6 等。o、p、q 分别为 0-5 的整数，例如可以为 0、1、2、3、4、5 等。

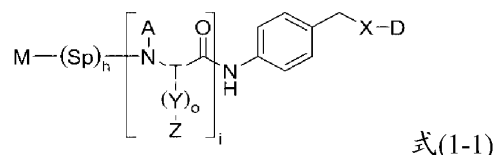
当 h 大于 1 时，多个 Sp 可以不同的结构，也可以为相同的结构，即多个 L_a 可以为不同的结构，也可以为相同的结构；多个 Q_a 可以为不同的结构，也可以为相同的结构。L_a 和 Q_a 的数量可以相同也可以不同。

当 i 大于 1 时，多个 A 可以不同也可以相同，多个 T 可以不同也可以相同，多个 Y 可以不同也可以相同，多个 Z 可以不同也可以相同。

当 p 大于 1 时，多个 Y' 可以为不同的结构，也可以为相同的结构。

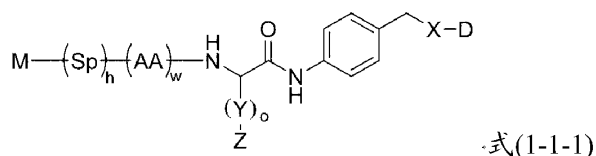
当 q 大于 1 时，多个 Y'' 可以为不同的结构，也可以为相同的结构。

在本申请中，所述式(1)为式(1-1)：



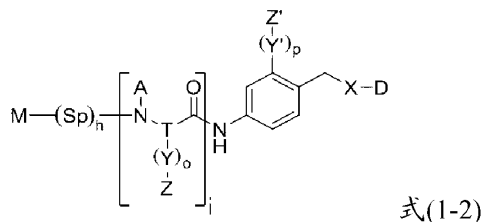
其中，M、Sp、A、T、Y、h、o、i、X、D、Z 的定义如前述；i 个 Z 中至少一个为磺酸内盐。

在本申请中，所述式(1-1)为式(1-1-1)：



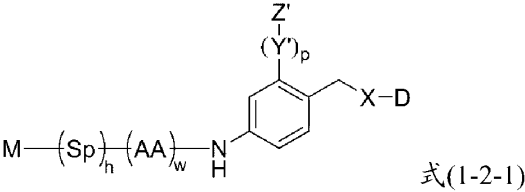
其中，AA 为氨基酸的残基，w 为大于等于 1 的整数，例如可以为 1、2、3、4、5、6 等。当 w 大于 1 时，多个 AA 可以为相同的氨基酸的残基也可以为不同的氨基酸的残基。

在本申请中，所述式(1)为式(1-2)：



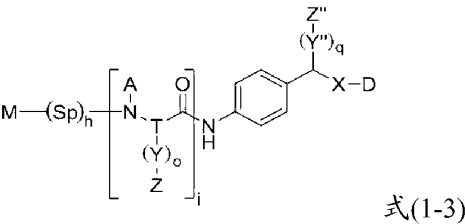
其中，M、Sp、A、T、Y、Z、o、p、i、h、X、Y'、D 的定义如前述；Z' 为磺酸内盐或磷酸内盐。

在本申请中，所述式(1)为式(1-2-1)：



其中，其中，AA 为氨基酸的残基，w 为大于等于 1 的整数，例如可以为 1、2、3、4、5、6 等。当 w 大于 1 时，多个 AA 可以为相同的氨基酸的残基也可以为不同的氨基酸的残基。

在本申请中，所述式(1)为式(1-3)：



其中，M、Sp、A、Y、T、Z、o、i、h、q、X、Y''、D 的定义如前述；Z'' 为磺酸内盐或磷酸内盐。

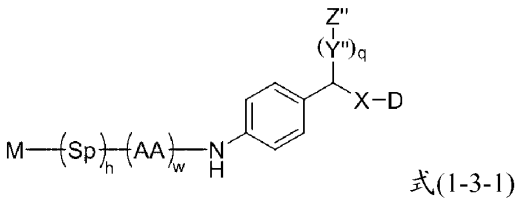
在本申请中，Z 为氢或任选取代的烷基时， $\left[\begin{array}{c} \text{A} \\ | \\ \text{N} \text{---} \text{C} \text{---} \text{O} \\ | \quad | \\ (\text{Y})_o \quad \text{Z} \end{array} \right]_i$ 为氨基酸的残基，也称 AA。

在本申请中，Z 为磺酸内盐时， $\left[\begin{array}{c} \text{A} \\ | \\ \text{N} \text{---} \text{C} \text{---} \text{O} \\ | \quad | \\ (\text{Y})_o \quad \text{Z} \end{array} \right]_i$ 为磺酸内盐。

在本申请中，当 A 和 Z 都不存在时，N、Y、T 成环， $\left[\begin{array}{c} \text{A} \\ | \\ \text{N} \text{---} \text{C} \text{---} \text{O} \\ | \quad | \\ (\text{Y})_o \quad \text{Z} \end{array} \right]_i$ 为

$$\left[\begin{array}{c} \text{Y} \\ | \\ \text{N} \text{---} \text{C} \text{---} \text{O} \\ | \quad | \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array} \right]_i, \text{ 优选为 } \left[\begin{array}{c} \text{N} \\ | \\ \text{C} \text{---} \text{O} \\ | \quad | \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array} \right]_i$$

在本申请中，Z 选自氢或任选取代的烷基时，所述式(1)为式(1-3-1)：



其中，其中，AA 为氨基酸的残基，w 为大于等于 1 的整数，例如可以为 1、2、3、4、5、6 等。当 w 大于 1 时，多个 AA 可以为相同的氨基酸的残基也可以为不同的氨基

酸的残基。

在本申请中，所述氨基酸选自丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、 γ -羧基谷氨酸、瓜氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、正亮氨酸、正缬氨酸、鸟氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、和缬氨酸中的一种或两种以上。

在本申请中，所述氨基酸选自缬氨酸、谷氨酸、瓜氨酸、赖氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸、精氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺和甘氨酸中的一种或两种以上。

在本申请中，所述氨基酸选自为缬氨酸、瓜氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸、谷氨酰胺和甘氨酸中的一种或两种以上。

当 w 大于 1 时，多个 AA 可以相同或不同，具体如下：

在一些实施方式中， w 为 2 时，2 个 AA 可以分别独立地为缬氨酸的残基和瓜氨酸的残基。

在一些实施方式中， w 大于 2 时， w 个 AA 可以分别独立地为缬氨酸的残基和瓜氨酸的残基，其中缬氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上或者瓜氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，例如 w 为 3 时，3 个 AA 分别为两个缬氨酸的残基和 1 个瓜氨酸的残基。再例如 w 为 3 时，3 个 AA 分别为 1 个缬氨酸的残基和 2 个瓜氨酸的残基。

在一些实施方式中， w 为 2 时，2 个 AA 可以分别独立地为缬氨酸的残基和丙氨酸的残基。

在一些实施方式中， w 大于 2 时， w 个 AA 可以分别独立地为缬氨酸的残基和丙氨酸的残基，其中缬氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上或者丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，例如 w 为 3 时，3 个 AA 分别为两个缬氨酸的残基和 1 个丙氨酸的残基。再例如 w 为 3 时，3 个 AA 分别为 1 个缬氨酸的残基和 2 个丙氨酸的残基。

在一些实施方式中， w 为 2 时，2 个 AA 可以分别独立地为缬氨酸的残基和苯丙氨酸的残基。

在一些实施方式中， w 大于 2 时， w 个 AA 可以分别独立地为缬氨酸的残基和苯丙氨酸的残基，其中缬氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上或者苯丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，例如 w 为 3 时，3 个 AA 分别为两个缬氨酸的残基和 1 个苯丙氨酸的残基。再例如 w 为 3 时，3 个 AA 分别为 1 个缬氨酸的残基和 2 个苯丙氨酸的残基。

在一些实施方式中， w 为 2 时，2 个 AA 可以分别独立地为缬氨酸的残基和谷氨酰胺的残基。

在一些实施方式中， w 大于 2 时， w 个 AA 可以分别独立地为缬氨酸的残基和谷氨酰胺的残基，其中缬氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上或者谷氨酰胺的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，例如 w 为 3 时，3 个 AA 分别为两个缬氨酸的残基和 1 个谷氨酰胺的残基。再例如 w 为 3 时，3 个 AA 分别为 1 个缬氨酸的残基和 2 个谷氨酰胺的残基。

在一些实施方式中， w 为 2 时，2 个 AA 可以分别独立地为缬氨酸的残基和甘氨酸的残基。

在一些实施方式中， w 大于 2 时， w 个 AA 可以分别独立地为缬氨酸的残基和甘氨酸的残基，其中缬氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上或者甘氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，例如 w 为 3 时，3 个 AA 分别为两个缬氨酸的残基和 1 个甘氨酸的残基。再例如 w 为 3 时，3 个 AA 分别为 1 个缬氨酸的残基和 2 个甘氨酸的残基。

在一些实施方式中， w 为 2 时，2 个 AA 可以分别独立地为瓜氨酸的残基和丙氨酸的残基。

在一些实施方式中， w 大于 2 时， w 个 AA 可以分别独立地为瓜氨酸的残基和丙氨酸的残基，其中瓜氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上或者丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，例如 w 为 3 时，3 个 AA 分别为两个瓜氨酸的残基和 1 个丙氨酸的残基。再例如 w 为 3 时，3 个 AA 分别为 1 个瓜氨酸的残基和 2 个丙氨酸的残基。

在一些实施方式中， w 大于 1 时， w 个 AA 可以分别独立地为瓜氨酸的残基和苯丙氨酸的残基，其中瓜氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上或者苯丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上。

在一些实施方式中， w 大于 1 时， w 个 AA 可以分别独立地为瓜氨酸的残基和谷氨酰胺的残基，其中瓜氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上或者谷氨酰胺的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上。

在一些实施方式中， w 大于 1 时， w 个 AA 可以分别独立地为瓜氨酸的残基和甘氨酸的残基，其中瓜氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上或者甘氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上。

在一些实施方式中， w 大于 1 时， w 个 AA 可以分别独立地为丙氨酸的残基和苯丙氨酸的残基，其中丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上或者苯丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上。

在一些实施方式中， w 大于 1 时， w 个 AA 可以分别独立地为丙氨酸的残基和谷氨酰胺的残基，其中丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上或者谷氨酰胺的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上。

在一些实施方式中， w 大于 1 时， w 个 AA 可以分别独立地为丙氨酸的残基和甘氨酸的残基，其中丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上或者甘氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上。

在一些实施方式中， w 大于 1 时， w 个 AA 可以分别独立地为苯丙氨酸的残基和谷氨酰胺的残基，其中苯丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上或者谷氨酰胺的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上。

在一些实施方式中， w 大于 1 时， w 个 AA 可以分别独立地为苯丙氨酸的残基和甘氨酸的残基，其中苯丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上或者甘氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上。

在一些实施方式中， w 大于 1 时， w 个 AA 可以分别独立地为谷氨酰胺的残基和甘氨酸的残基，其中谷氨酰胺的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上或者甘氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上。

在一些实施方式中， w 大于 1 时， w 个 AA 可以分别独立地为缬氨酸的残基、瓜氨酸的残基以及丙氨酸的残基，其中缬氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，瓜氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，或者丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上。

在一些实施方式中， w 大于 1 时， w 个 AA 可以分别独立地为缬氨酸的残基、瓜氨酸的残基以及苯丙氨酸的残基，其中缬氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，瓜氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，或者苯丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上。

在一些实施方式中， w 大于 1 时， w 个 AA 可以分别独立地为缬氨酸的残基、瓜氨酸的残基以及谷氨酰胺的残基，其中缬氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，瓜氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，或者谷氨酰胺的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上。

在一些实施方式中， w 大于 1 时， w 个 AA 可以分别独立地为缬氨酸的残基、瓜氨酸的残基以及甘氨酸的残基，其中缬氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，瓜氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，或者甘氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上。

在一些实施方式中， w 大于 1 时， w 个 AA 可以分别独立地为缬氨酸的残基、丙氨酸的残基以及苯丙氨酸的残基，其中缬氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，或者苯丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上。

在一些实施方式中， w 大于 1 时， w 个 AA 可以分别独立地为缬氨酸的残基、丙氨酸的残基以及谷氨酰胺的残基，其中缬氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，或者谷氨酰胺的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上。

在一些实施方式中， w 大于 1 时， w 个 AA 可以分别独立地为缬氨酸的残基、丙氨酸的残基以及甘氨酸的残基，其中缬氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，或者甘氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上。

在一些实施方式中， w 大于 1 时， w 个 AA 可以分别独立地为缬氨酸的残基、苯丙氨酸的残基以及谷氨酰胺的残基，其中缬氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，苯丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，或者谷氨酰胺的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上。

在一些实施方式中， w 大于 1 时， w 个 AA 可以分别独立地为缬氨酸的残基、苯丙氨酸的残基以及甘氨酸的残基，其中缬氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，苯丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，或者甘氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上。

在一些实施方式中， w 大于 1 时， w 个 AA 可以分别独立地为缬氨酸的残基、谷氨酰胺的残基和甘氨酸的残基，其中缬氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，谷氨酰胺的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，或者甘氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上。

在一些实施方式中， w 大于 1 时， w 个 AA 可以分别独立地为瓜氨酸的残基、丙氨酸的残基以及苯丙氨酸的残基，其中瓜氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，或者苯丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上。

在一些实施方式中， w 大于 1 时， w 个 AA 可以分别独立地为瓜氨酸的残基、丙氨酸的残基以及谷氨酰胺的残基，其中瓜氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，或者谷氨酰胺的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上。

在一些实施方式中， w 大于 1 时， w 个 AA 可以分别独立地为瓜氨酸的残基、丙氨酸的残基以及甘氨酸的残基，其中瓜氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，或者甘氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上。

在一些实施方式中， w 大于 1 时， w 个 AA 可以分别独立地为丙氨酸的残基、苯丙氨酸的残基以及谷氨酰胺的残基，其中丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，苯丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，或者谷氨酰胺的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上。

在一些实施方式中， w 大于 1 时， w 个 AA 可以分别独立地为丙氨酸的残基、苯丙氨酸的残基以及甘氨酸的残基，其中丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，苯丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，或者甘氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上。

在一些实施方式中， w 大于 1 时， w 个 AA 可以分别独立地为苯丙氨酸的残基、谷氨酰胺的残基以及甘氨酸的残基，其中苯丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，谷氨酰胺的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，或者甘氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上。

在一些实施方式中， w 大于 1 时， w 个 AA 可以分别独立地为缬氨酸的残基、瓜氨酸的残基、丙氨酸的残基以及苯丙氨酸的残基，其中缬氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，瓜氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，或者苯丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上。

在一些实施方式中， w 大于 1 时， w 个 AA 可以分别独立地为缬氨酸的残基、瓜氨酸的残基、丙氨酸的残基以及谷氨酰胺的残基，其中缬氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，瓜氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，丙氨酸的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上，或者谷氨酰胺的残基的数量可以为 1 个或 2 个以上。

在一些实施方式中， w 大于 1 时， w 个 AA 可以分别独立地为缬氨酸的残基、瓜氨酸

酸的残基、丙氨酸的残基以及甘氨酸的残基，其中缬氨酸的残基的数量可以为1个或2个以上，瓜氨酸的残基的数量可以为1个或2个以上，丙氨酸的残基的数量可以为1个或2个以上，或者甘氨酸的残基的数量可以为1个或2个以上。

在一些实施方式中，w大于1时，w个AA可以分别独立地为瓜氨酸的残基、丙氨酸的残基、苯丙氨酸的残基以及谷氨酰胺的残基，其中瓜氨酸的残基的数量可以为1个或2个以上，丙氨酸的残基的数量可以为1个或2个以上，苯丙氨酸的残基的数量可以为1个或2个以上，或者谷氨酰胺的残基的数量可以为1个或2个以上。

在一些实施方式中，w大于1时，w个AA可以分别独立地为瓜氨酸的残基、丙氨酸的残基、苯丙氨酸的残基以及甘氨酸的残基，其中瓜氨酸的残基的数量可以为1个或2个以上，丙氨酸的残基的数量可以为1个或2个以上，苯丙氨酸的残基的数量可以为1个或2个以上，或者甘氨酸的残基的数量可以为1个或2个以上。

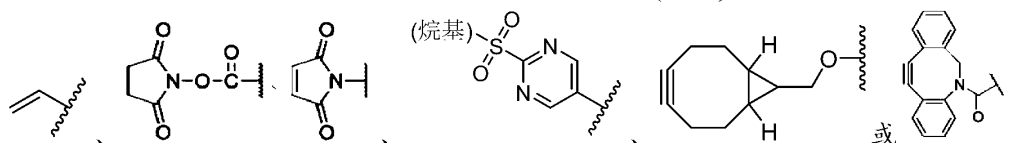
在一些实施方式中，w大于1时，w个AA可以分别独立地为丙氨酸的残基、苯丙氨酸的残基、谷氨酰胺的残基以及甘氨酸的残基，其中丙氨酸的残基的数量可以为1个或2个以上，苯丙氨酸的残基的数量可以为1个或2个以上，谷氨酰胺的残基的数量可以为1个或2个以上，或者甘氨酸的残基的数量可以为1个或2个以上。

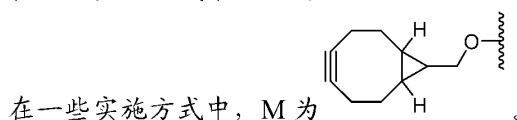
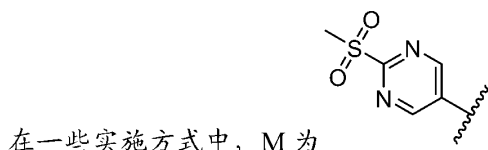
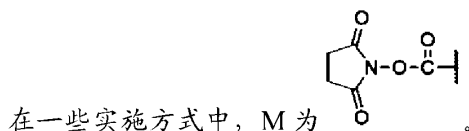
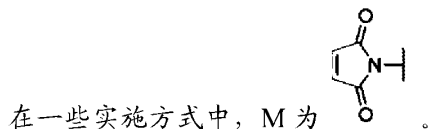
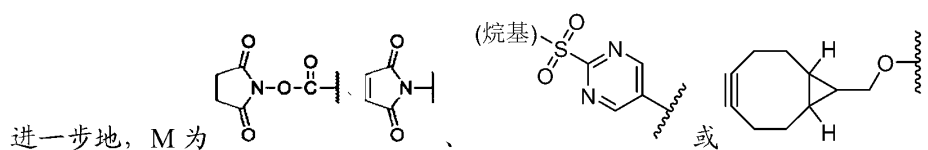
在一些实施方式中，w大于1时，w个AA可以分别独立地为缬氨酸的残基、瓜氨酸的残基、丙氨酸的残基、苯丙氨酸的残基以及谷氨酰胺的残基，其中缬氨酸的残基的数量可以为1个或2个以上，瓜氨酸的残基的数量可以为1个或2个以上，丙氨酸的残基的数量可以为1个或2个以上，苯丙氨酸的残基的数量可以为1个或2个以上，或者谷氨酰胺的残基的数量可以为1个或2个以上。

在一些实施方式中，w大于1时，w个AA可以分别独立地为缬氨酸的残基、瓜氨酸的残基、丙氨酸的残基、苯丙氨酸的残基以及甘氨酸的残基，其中缬氨酸的残基的数量可以为1个或2个以上，瓜氨酸的残基的数量可以为1个或2个以上，丙氨酸的残基的数量可以为1个或2个以上，苯丙氨酸的残基的数量可以为1个或2个以上，或者甘氨酸的残基的数量可以为1个或2个以上。

在一些实施方式中，w大于1时，w个AA可以分别独立地为瓜氨酸的残基、丙氨酸的残基、苯丙氨酸的残基、谷氨酰胺的残基和甘氨酸的残基，其中瓜氨酸的残基的数量可以为1个或2个以上，丙氨酸的残基的数量可以为1个或2个以上，苯丙氨酸的残基的数量可以为1个或2个以上，谷氨酰胺的残基的数量可以为1个或2个以上，或者甘氨酸的残基的数量可以为1个或2个以上。

在本申请中，M为 N_3 、SH、 ONH_2 、 NH_2 、 CO_2H 、(烷基)-CO-、HCO-、 $BrCH_2$ -、 ICH_2 -、

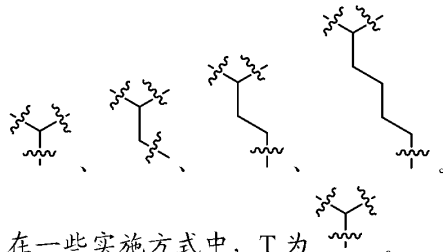




在本申请中, A 为氢、甲基、乙基或丙基。

在一些实施方式中, A 为氢。在一些实施方式中, A 为甲基。在一些实施方式中, A 为乙基。在一些实施方式中, A 为丙基。

在本申请中, 所述 T 为如下结构中的一种:



在一些实施方式中, T 为 。

在本申请中, L_a 选自亚烷基、亚烯基、亚炔基、环碳原子数为 3-10 的饱和或不饱和的亚脂环基、环碳原子数为 3-10 的饱和或不饱和且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂脂环基、呈一或多个环的具有 6 至 18 个碳原子的亚芳基、或呈一或多个环的具有 6 至 18 个碳原子且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂芳基、或聚乙二醇基中的一种、两种或三种以上, 所述亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基任选被取代基取代, 所述杂原子选自氮、氧或硫。

进一步地, L_a 选自 C_1 - C_{10} 直链或支链亚烷基、 C_2 - C_{12} 直链或支链亚烯基、 C_2 - C_{12} 直链或支链亚炔基、环碳原子数为 3-6 的饱和或不饱和的亚脂环基、含有杂原子的环碳原子数为 3-6 的饱和或不饱和且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂脂环基、或呈一或多个环的具有 6 至 10 个碳原子的亚芳基、呈一或多个环的具有 6 至 10 个碳原子且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂芳基、或聚乙二醇基中的一种、两种或三种以上, 所述亚烷基、亚烯

基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基任选被取代基取代，所述杂原子选自氮、氧或硫。进一步地， L_a 选自 C_1 - C_6 直链或支链亚烷基、 C_2 - C_6 直链或支链亚烯基、或 C_2 - C_6 直链或支链亚炔基、或聚乙二醇基中的一种、两种或三种以上，所述亚烷基、亚烯基、亚炔基任选被取代基取代。

进一步地， L_a 为 C_1 - C_6 直链或支链亚烷基、或聚乙二醇基中的一种、两种或三种以上，所述聚乙二醇基为 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2-$ 、 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_n-$ 、或 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ ， n 为大于等于 1 的整数。

进一步地， L_a 为亚乙基、直链亚丙基、直链亚丁基、直链亚戊基、或 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2-$ 中的一种、两种或三种以上，其中 n 为 2、3、4、5、6、7 或 8。

进一步地， L_a 为亚乙基和/或 $-(CH_2CH_2O)_4CH_2CH_2-$ 或亚戊基。

在一些实施方式中， L_a 的数量为 2 个，其中一个为亚乙基，另一个为 $-(CH_2CH_2O)_4CH_2CH_2-$ 。

在一些实施方式中， L_a 的数量为 1 个时，其为亚乙基。在一些实施方式中， L_a 的数量为 1 个时，其为亚戊基。在一些实施方式中， L_a 的数量为 1 个时，其为 $-(CH_2CH_2O)_4CH_2CH_2-$ 。

在本申请中， L_b 选自亚烷基、亚烯基、亚炔基、环碳原子数为 3-10 的饱和或不饱和的亚脂环基、环碳原子数为 3-10 的饱和或不饱和且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂脂环基、呈一或多个环的具有 6 至 18 个碳原子的亚芳基、或呈一或多个环的具有 6 至 18 个碳原子且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂芳基、或聚乙二醇中的一种或两种或三种以上，

所述亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基任选被取代基取代，所述杂原子选自氮、氧或硫。

进一步地， L_b 选自 C_1 - C_{10} 直链或支链亚烷基、 C_2 - C_{12} 直链或支链亚烯基、 C_2 - C_{12} 直链或支链亚炔基、环碳原子数为 3-6 的饱和或不饱和的亚脂环基、含有杂原子的环碳原子数为 3-6 的饱和或不饱和且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂脂环基、或呈一或多个环的具有 6 至 10 个碳原子的亚芳基、呈一或多个环的具有 6 至 10 个碳原子，且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂芳基、或聚乙二醇中的一种或两种或三种以上，

所述亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基任选被取代基取代，所述杂原子选自氮、氧或硫。

进一步地， L_b 选自 C_1 - C_6 直链或支链亚烷基、 C_2 - C_6 直链或支链亚烯基、或 C_2 - C_6 直链或支链亚炔基、或聚乙二醇基，

所述聚乙二醇基为 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2-$ 、 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_n-$ 、或 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ 中的一种或两种或三种以上， n 为大于等于 1 的整数，所述亚烷基、亚烯基、亚炔基任选被取代基取代。

进一步地， L_b 为 C_1 - C_6 直链或支链亚烷基、或 C_6 - C_{10} 的亚芳基中的一种或两种或三种以上。

进一步地， L_b 为亚甲基、亚乙基、亚正丙基、亚异丙基、亚正丁基、亚异丁基、亚仲丁基、亚叔丁基、或亚苯甲基中的一种或两种或三种以上。

当 L_b 的数量为多个时，多个 L_b 可以为相同的结构也可以为不同的结构，具体如下所示：

在一些实施方式中， L_b 的数量为1个或多个时， L_b 均为亚甲基。在一些实施方式中， L_b 的数量为1个或多个时， L_b 均为亚乙基。在一些实施方式中， L_b 的数量为1个或多个时， L_b 均为亚正丙基。在一些实施方式中， L_b 的数量为1个或多个时， L_b 均为亚异丙基。在一些实施方式中， L_b 的数量为1个或多个时， L_b 均为亚正丁基。在一些实施方式中， L_b 的数量为1个或多个时， L_b 均为亚异丁基。在一些实施方式中， L_b 的数量为1个或多个时， L_b 均为亚仲丁基。在一些实施方式中， L_b 的数量为1个或多个时， L_b 均为亚叔丁基。在一些实施方式中， L_b 的数量为1个或多个时， L_b 均为亚苯甲基。

在一些实施方式中， L_b 的数量为多个时，多个 L_b 独立的为亚甲基和亚乙基，其中，亚甲基的数量可以为1个或两个以上，亚乙基数量可以为1个或两个以上，例如 L_b 的数量为3个时，3个 L_b 分别为两个亚甲基，一个亚乙基。再例如 L_b 的数量为3个时，3个 L_b 分别为1个亚甲基，两个亚乙基。

在一些实施方式中， L_b 的数量为多个时，多个 L_b 独立的为亚甲基和亚正丙基，其中，亚甲基的数量可以为1个或两个以上，亚正丙基数量可以为1个或两个以上，例如 L_b 的数量为3个时，3个 L_b 分别为两个亚甲基，一个亚正丙基。再例如 L_b 的数量为3个时，3个 L_b 分别为1个亚甲基，两个亚正丙基。

在一些实施方式中， L_b 的数量为大于1时，多个 L_b 独立的为亚甲基和亚异丙基，其中，亚甲基的数量可以为1个或两个以上，亚异丙基数量可以为1个或两个以上。

在一些实施方式中， L_b 的数量为大于1时，多个 L_b 独立的为亚甲基和亚正丁基，其中，亚甲基的数量可以为1个或两个以上，亚正丁基数量可以为1个或两个以上。

在一些实施方式中， L_b 的数量为大于1时，多个 L_b 独立的为亚甲基和亚异丁基，其中，亚甲基的数量可以为1个或两个以上，亚异丁基数量可以为1个或两个以上。

在一些实施方式中， L_b 的数量为大于1时，多个 L_b 独立的为亚甲基和亚仲丁基，其中，亚甲基的数量可以为1个或两个以上，亚仲丁基数量可以为1个或两个以上。

在一些实施方式中， L_b 的数量为大于1时，多个 L_b 独立的为亚甲基和亚叔丁基，其中，亚甲基的数量可以为1个或两个以上，亚叔丁基数量可以为1个或两个以上。

在一些实施方式中， L_b 的数量为大于1时，多个 L_b 独立的为亚甲基和亚苯甲基，其中，亚甲基的数量可以为1个或两个以上，亚苯甲基数量可以为1个或两个以上。

在一些实施方式中， L_b 的数量为大于1时，多个 L_b 独立的为亚乙基和亚正丙基，其中，亚乙基的数量可以为1个或两个以上，亚正丙基数量可以为1个或两个以上。

在一些实施方式中， L_b 的数量为大于1时，多个 L_b 独立的为亚乙基和亚异丙基，其中，亚乙基的数量可以为1个或两个以上，亚异丙基数量可以为1个或两个以上。

在一些实施方式中， L_b 的数量为大于1时，多个 L_b 独立的为亚乙基和亚正丁基，其

中，亚乙基的数量可以为1个或两个以上，亚正丁基数量可以为1个或两个以上。

在一些实施方式中， L_b 的数量为大于1时，多个 L_b 独立的为亚乙基和亚异丁基，其中，亚乙基的数量可以为1个或两个以上，亚异丁基数量可以为1个或两个以上。

在一些实施方式中， L_b 的数量为大于1时，多个 L_b 独立的为亚乙基和亚仲丁基，其中，亚乙基的数量可以为1个或两个以上，亚仲丁基数量可以为1个或两个以上。

在一些实施方式中， L_b 的数量为大于1时，多个 L_b 独立的为亚乙基和亚叔丁基，其中，亚乙基的数量可以为1个或两个以上，亚叔丁基数量可以为1个或两个以上。

在一些实施方式中， L_b 的数量为大于1时，多个 L_b 独立的为亚乙基和亚苯甲基，其中，亚乙基的数量可以为1个或两个以上，亚苯甲基数量可以为1个或两个以上。

在一些实施方式中， L_b 的数量为大于1时，多个 L_b 独立的为亚正丙基和亚异丙基，其中，亚正丙基的数量可以为1个或两个以上，亚异丙基数量可以为1个或两个以上。

在一些实施方式中， L_b 的数量为大于1时，多个 L_b 独立的为亚正丙基和亚正丁基，其中，亚正丙基的数量可以为1个或两个以上，亚正丁基数量可以为1个或两个以上。

在一些实施方式中， L_b 的数量为大于1时，多个 L_b 独立的为亚正丙基和亚异丁基，其中，亚正丙基的数量可以为1个或两个以上，亚异丁基数量可以为1个或两个以上。

在一些实施方式中， L_b 的数量为大于1时，多个 L_b 独立的为亚正丙基和亚仲丁基，其中，亚正丙基的数量可以为1个或两个以上，亚仲丁基数量可以为1个或两个以上。

在一些实施方式中， L_b 的数量为大于1时，多个 L_b 独立的为亚正丙基和亚叔丁基，其中，亚正丙基的数量可以为1个或两个以上，亚叔丁基数量可以为1个或两个以上。

在一些实施方式中， L_b 的数量为大于1时，多个 L_b 独立的为亚正丙基和亚苯甲基，其中，亚正丙基的数量可以为1个或两个以上，亚苯甲基数量可以为1个或两个以上。

在一些实施方式中， L_b 的数量为大于1时，多个 L_b 独立的为亚异丙基和亚正丁基，其中，亚异丙基的数量可以为1个或两个以上，亚正丁基数量可以为1个或两个以上。

在一些实施方式中， L_b 的数量为大于1时，多个 L_b 独立的为亚异丙基和亚异丁基，其中，亚异丙基的数量可以为1个或两个以上，亚异丁基数量可以为1个或两个以上。

在一些实施方式中， L_b 的数量为大于1时，多个 L_b 独立的为亚异丙基和亚仲丁基，其中，亚异丙基的数量可以为1个或两个以上，亚仲丁基数量可以为1个或两个以上。

在一些实施方式中， L_b 的数量为大于1时，多个 L_b 独立的为亚异丙基和亚叔丁基，其中，亚异丙基的数量可以为1个或两个以上，亚叔丁基数量可以为1个或两个以上。

在一些实施方式中， L_b 的数量为大于1时，多个 L_b 独立的为亚异丙基和亚苯甲基，其中，亚异丙基的数量可以为1个或两个以上，亚苯甲基数量可以为1个或两个以上。

在一些实施方式中， L_b 的数量为大于1时，多个 L_b 独立的为亚甲基、亚乙基以及亚正丙基，其中，亚甲基的数量可以为1个或两个以上，亚乙基数量可以为1个或两个以上，亚正丙基的数量可以为1个或两个以上。

在一些实施方式中， L_b 的数量为大于1时，多个 L_b 独立的为亚甲基、亚乙基以及亚异丙基，其中，亚甲基的数量可以为1个或两个以上，亚乙基数量可以为1个或两个以

上, 亚异丙基的数量可以为 1 个或两个以上。

在一些实施方式中, L_b 的数量为大于 1 时, 多个 L_b 独立的为亚甲基、亚乙基、亚正丙基、亚异丙基, 其中, 亚甲基的数量可以为 1 个或两个以上, 亚乙基的数量可以为 1 个或两个以上, 亚正丙基的数量可以为 1 个或两个以上, 亚异丙基的数量可以为 1 个或两个以上。

在一些实施方式中, L_b 的数量为大于 1 时, 多个 L_b 独立的为亚甲基、亚乙基、亚正丙基、亚异丙基、亚正丁基, 其中, 亚甲基的数量可以为 1 个或两个以上, 亚乙基的数量可以为 1 个或两个以上, 亚正丙基的数量可以为 1 个或两个以上, 亚异丙基的数量可以为 1 个或两个以上, 亚正丁基的数量可以为 1 个或两个以上。

在本申请中, Q_a 选自 $-C(=O)NR-$ 、 $-NR-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-OC(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-NRC(=O)O-$ 、 $-NRC(=O)NR-$ 、 $NHC(=NH)NH-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-OC(=O)O-$ 中的一种、两种或三种以上, 其中, R 选自氢、任选取代的 C_1-C_6 直链或支链烷基。

进一步地, Q_a 为 $-C(=O)-$ 、 $-NR-$ 、 $-C(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)NR-$ 、 $-OC(=O)O-$ 、 $-OC(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 或 $-OC(=O)-$ 中的一种或两种或三种以上, 其中, R 选自氢或任选取代的 C_1-C_6 直链或支链烷基。

进一步地, Q_a 为 $-C(=O)-$ 、 $-NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 和 $-C(=O)NR-$ 中的一种或两种或三种以上, 其中, R 选自氢或任选取代的 C_1-C_6 直链或支链烷基。

进一步地, Q_a 为 $-C(=O)-$ 、 $-N(CH_3)-$ 、 $-NHC(=O)-$ 、 $-C(=O)-NH-$ 、 $-C(=O)-N(CH_3)-$ 。

在一些实施方式中, Q_a 的数量为 1 个时, 其为 $-C(=O)-$ 。

在一些实施方式中, Q_a 的数量为 2 个时, 一个为 $-C(=O)-$, 另一个为 $-C(=O)NH-$ 。

在一些实施方式中, Q_a 的数量为 2 个时, 一个为 $-C(=O)-$, 另一个为 $-C(=O)-NR-$, R 为甲基。

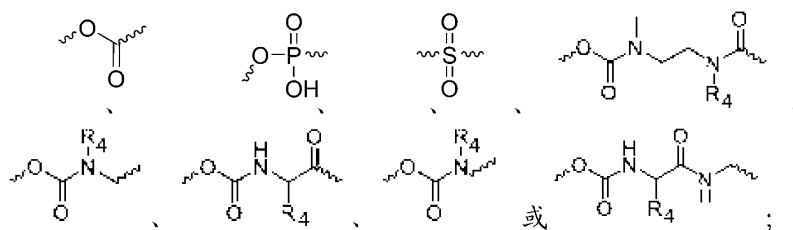
在一些实施方式中, Q_a 的数量为 2 个时, 一个为 $-C(=O)-$, 另一个为 $-NR-$, R 为甲基。

在本申请中, Q_b 选自不存在、 $-C(=O)NR-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-OC(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-NRC(=O)O-$ 、 $-NRC(=O)NR-$ 、 $NHC(=NH)NH-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-OC(=O)O-$ 中的一种、两种或三种以上, 其中, R 选自氢、任选取代的 C_1-C_6 直链或支链烷基。

进一步地, Q_b 为不存在、 $-C(=O)NR-$ 、 $-OC(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-NRC(=O)O-$ 、或 $-NRC(=O)NR-$ 中的一种或两种或三种以上, R 选自氢、任选取代的 C_1-C_6 直链或支链烷基。

进一步地, Q_b 为不存在、 $-C(=O)-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-NRC(=O)NR-$ 或 $-C(=O)NR-$ 的一种或两种或三种以上, R 为氢或甲基。

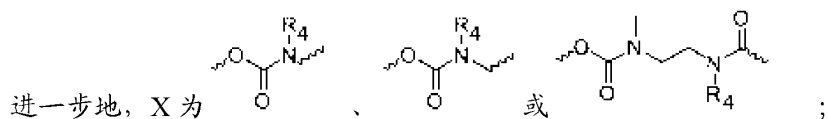
在一些实施方式中, Q_b 为不存在。在一些实施方式中, Q_b 为 $-C(=O)-$ 。在一些实施方式中, Q_b 为 $-NRC(=O)-$, R 为氢。在一些实施方式中, Q_b 为 $-NRC(=O)-$, R 为甲基。在一些实施方式中, Q_b 为 $-NRC(=O)NR-$, R 为氢。在一些实施方式中, Q_b 为 $-NRC(=O)NR-$, R 为甲基。在一些实施方式中, Q_b 为 $-C(=O)NR-$, R 为氢。在一些实施方式中, Q_b 为 $-C(=O)NR-$, R 为甲基。在本申请中, X 选自:



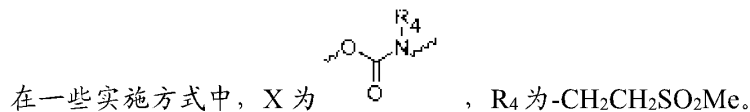
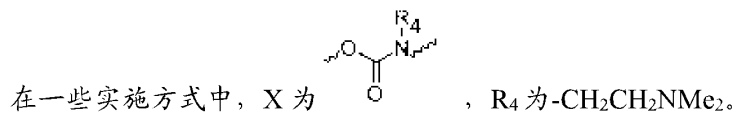
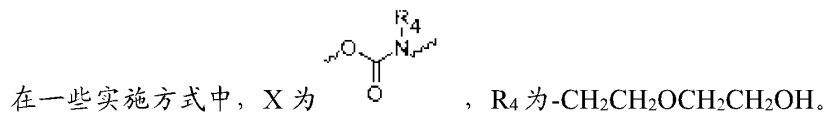
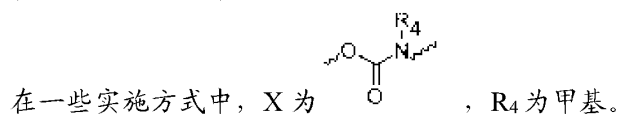
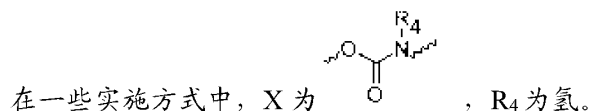
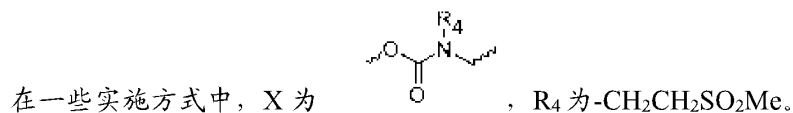
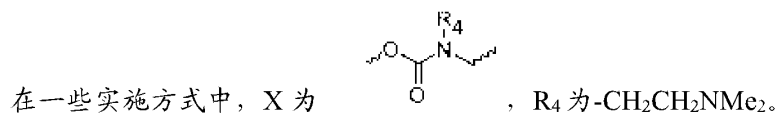
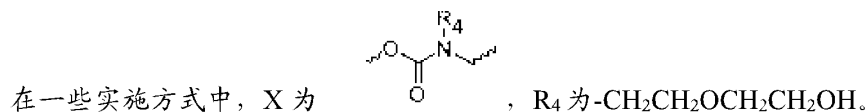
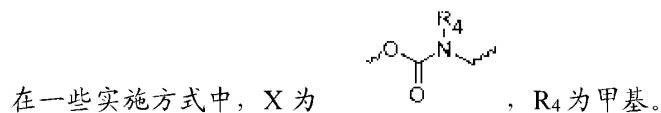
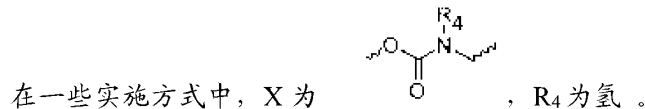
X 中的右侧波浪线连接 D;

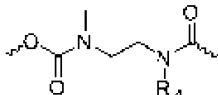
R_4 选自氢、 C_1 - C_6 直链或支链烷基, $-(CH_2CH_2O)_mR_2$ 、 $-CH_2CH_2NR_2R_3$ 、 $-CH_2CH_2SO_2R_2$,

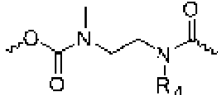
R_2 , R_3 分别选自氢、 C_1 - C_6 直链或支链烷基, m 为大于 1 的整数。

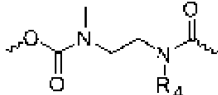


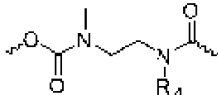
R_4 为氢、甲基、 $-CH_2CH_2OCH_2CH_2OH$ 、 $-CH_2CH_2NMe_2$ 、 $-CH_2CH_2SO_2Me$ 。

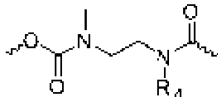


在一些实施方式中，X 为 ，R₄ 为氢。

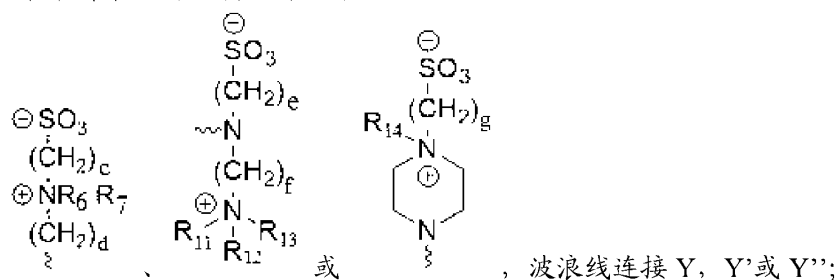
在一些实施方式中，X 为 ，R₄ 为甲基。

在一些实施方式中，X 为 ，R₄ 为 -CH₂CH₂OCH₂CH₂OH。

在一些实施方式中，X 为 ，R₄ 为 -CH₂CH₂NMe₂。

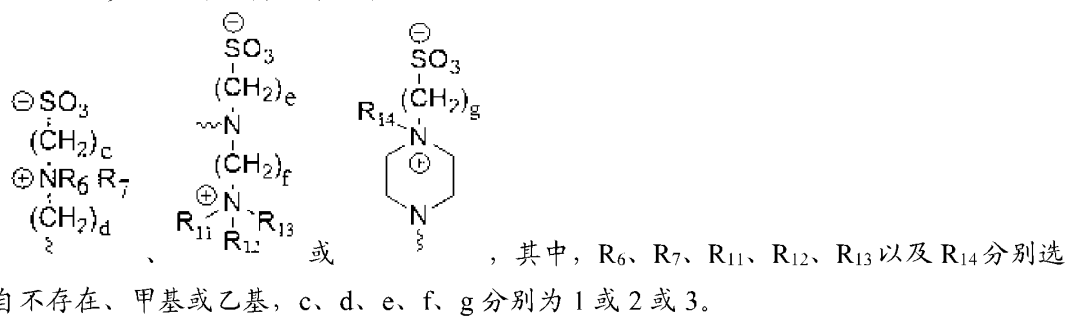
在一些实施方式中，X 为 ，R₄ 为 -CH₂CH₂SO₂Me。

在本申请中，所述磺酸内盐为

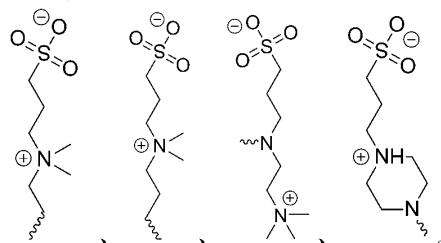


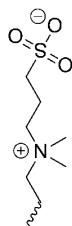
其中 c、d、e、f、g 均为 1、2、3、4、5 或 6 的整数；R₆、R₇、R₁₁、R₁₂、R₁₃、R₁₄ 分别选自不存在、氢、C₁-C₆ 直链或支链烷基。

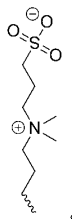
进一步地，所述磺酸内盐为

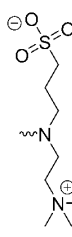


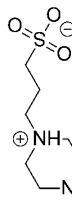
进一步地，所述磺酸内盐为如下结构中的一种：



在一些实施方式中，所述磺酸内盐为 。

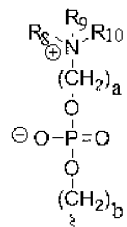
在一些实施方式中，所述磺酸内盐为 。

在一些实施方式中，所述磺酸内盐为 。

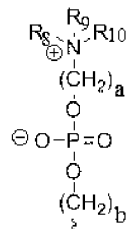
在一些实施方式中，所述磺酸内盐为 。

在一些实施方式中，所述磺酸内盐为

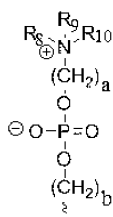
在本申请中，所述磷酸内盐为

，其中，a 和 b 均为 1、2、3、4、5 或 6 的整数；R₈、R₉ 和 R₁₀ 分别选自氢、C₁-C₆ 直链或支链烷基。

进一步地，所述磷酸内盐为

，其中，R₈、R₉、R₁₀ 分别为甲基或乙基；a 为 1 或 2 或 3；b 为 1 或 2 或 3。

进一步地，所述磷酸内盐为



, 其中, R_8 、 R_9 、 R_{10} 均为甲基; a 为 2; b 为 1。

在本申请中, 所述 D 包括细胞毒素或免疫激动剂。

在本申请中, 所述细胞毒素选自微管蛋白抑制剂、DNA 合成抑制剂、拓扑异构酶抑制剂或 RNA 聚合酶 2 抑制剂中的一种或两种。

在本申请中, 所述细胞毒素选自奥利斯他汀类、和美登素生物碱类 DMs、卡奇霉素 calicheamicin、多米卡星 duocarmycin、吡咯并苯二氮草类、喜树碱衍生物以及 α -鹅膏蕈碱中的一种或两种以上。

在本申请中, 所述免疫激动剂选自 TLR7/8 激动剂或 STING 激动剂。

在本申请中, i 为 2-8 的整数, 例如可以为 2、3、4、5、6、7 或 8。

在本申请中, h 为 1-4 的整数, 例如可以为 1、2、3 或 4。

在本申请中, o 、 p 、 q 分别为 0-3 的整数, 例如可以为 0、1、2 或 3。

在本申请中, L_a 为 C_1 - C_6 直链或支链亚烷基、或聚乙二醇基中的一种、两种或三种以上, 所述聚乙二醇基为 $-(CH_2CH_2O)_n$ -、 $-O(CH_2CH_2O)_n$ -、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2$ -、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2$ -、 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_n$ -、或 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_nCH_2$ -、 n 为大于等于 1 的整数; Q_a 为 $-C(=O)-$ 、 $-NR(C=O)-$ 和 $-(C=O)NR-$ 中的一种或两种或三种以上, 其中, R 选自氢、 C_1 - C_6 直链或支链烷基。

进一步地, L_a 为亚乙基、直链亚丙基、直链亚丁基、直链亚戊基、或 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2$ - 中的一种、两种或三种以上, 其中 n 为 2、3、4、5、6、7 或 8; Q_a 为 $-C(=O)-$ 、 $-NR(C=O)-$ 和 $-(C=O)NR-$ 中的一种或两种或三种以上, 其中, R 为甲基和/或氢。

进一步地, L_a 为亚乙基和/或 $-(CH_2CH_2O)_4CH_2CH_2$ - 或亚戊基; Q_a 为 $-C(=O)-$ 、 $-NR-$ 、 $-NH(C=O)-$ 和/或 $-C(=O)NH-$ 。

在一些实施方式中, L_a 的数量为 2 个, 其中一个为亚乙基, 另一个为 $-(CH_2CH_2O)_4CH_2CH_2$ -。 Q_a 的数量为 2 个, 其中一个为 $-C(=O)-$, 另一个为 $-C(=O)NH-$ 。

在一些实施方式中, L_a 的数量为 1 个, 其为亚戊基, Q_a 的数量为 1 个, 其为 $-C(=O)-$ 。

在一些实施方式中, L_a 的数量为 1 个, 其为 $-(CH_2CH_2O)_4CH_2CH_2$ -、 Q_a 的数量为 2 个, 一个为 $-C(=O)-$, 另一个为 $-C(=O)NH-$ 。

在一些实施方式中, L_a 的数量为 1 个, 其为 $-(CH_2CH_2O)_4CH_2CH_2$ -、 Q_a 的数量为 2 个, 一个为 $-C(=O)-$, 另一个为 $-C(=O)N(CH_3)-$ 。

在一些实施方式中, L_a 的数量为 2 个, 其分别为亚乙基以及亚戊基, Q_a 的数量为 2 个, 一个为 $-C(=O)-$, 另一个为 $-N(CH_3)-$ 。

在本申请中, L_b 选自 C_1 - C_6 直链或支链亚烷基、 C_2 - C_6 直链或支链亚烯基、或 C_2 - C_6

直链或支链亚炔基、呈一或多个环的具有 6 至 10 个碳原子的亚芳基、或聚乙二醇基，

所述聚乙二醇基为 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-$ 、 $-\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-$ 、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2-$ 、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-$ 、或 $-\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2-$ 中的一种或两种或三种以上， n 为大于等于 1 的整数，所述亚烷基、亚烯基、亚炔基任选被取代基取代；

Q_b 选自不存在、 $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}-$ 、 $-\text{NRC}(=\text{O})-$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})-$ 、 $-\text{NRC}(=\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{NRS}(=\text{O})_2-$ 、 $-\text{NRC}(=\text{O})\text{NR}-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$ 中的一种、两种或三种以上， R 选自氢、任选取代的 C_1 - C_6 直链或支链烷基。

进一步地， L_b 为 C_1 - C_6 直链或支链亚烷基、或 C_6 - C_{10} 的亚芳基中的一种或两种或三种以上； Q_b 为不存在、 $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}-$ 、 $-\text{NRC}(=\text{O})-$ 、 $-\text{NRC}(=\text{O})\text{O}-$ 、或 $-\text{NRC}(=\text{O})\text{NR}-$ 中的一种或两种或三种以上， R 选自氢、 C_1 - C_6 直链或支链烷基。

进一步地， L_b 为亚甲基、亚乙基、亚正丙基、亚异丙基、亚正丁基、亚异丁基、亚仲丁基、亚叔丁基或亚苯甲基中的一种或两种或三种以上；

Q_b 为不存在、 $-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{NRC}(=\text{O})-$ 、 $-\text{NRC}(=\text{O})\text{NR}-$ 或 $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}-$ 的一种或两种或三种以上， R 为氢或甲基。

在一些实施方式中，在 Y 中， L_b 的数量为两个时，其中一个为亚甲基，另一个为亚异丙基； Q_b 为不存在。

在一些实施方式中，在 Y 中， L_b 的数量为三个时，其分别为亚甲基、亚异丙基以及亚乙基； Q_b 的数量为 1 个，其为 $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}-$ ，且 R 为氢。

在一些实施方式中，在 Y 中， L_b 的数量为两个时，其中一个为亚乙基，另一个为亚异丙基； Q_b 的数量为 1 个，其为 $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}-$ ，且 R 为氢。

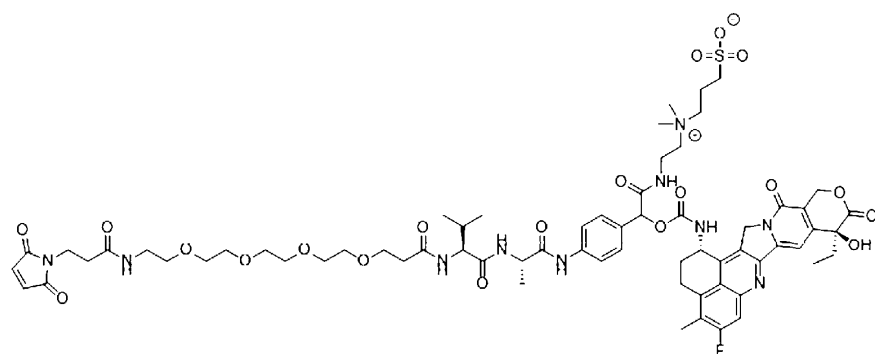
在一些实施方式中，在 Y 中， L_b 的数量为两个时，其中一个为亚正丙基，另一个为亚异丙基； Q_b 的数量为 1 个，其为 $-\text{NRC}(=\text{O})\text{NR}-$ ，且 R 为氢。

在一些实施方式中，在 Y 中， L_b 的数量为 1 个时，其为亚苯甲基， Q_b 为不存在。

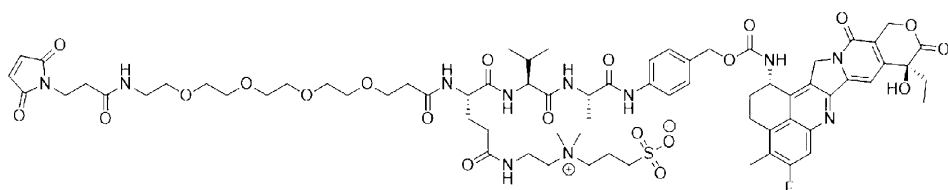
在一些实施方式中，在 Y 中， L_b 的数量为 2 个时，其分别为亚乙基和亚异丙基； Q_b 的数量为 1 个，其为 $-\text{C}(=\text{O})-$ 。

在本申请中，所述取代基选自氘、氚、卤素原子、氨基、羟基、氰基、硝基、任选取代的烷基、烯基、炔基团、任选取代的杂环基团、酰基、任选取代的氨基、任选取代的氨基甲酰基、任选取代的硫代氨基甲酰基、任选取代的氨磺酰基、任选取代的羟基、任选取代的硫烷基(SH)和任选取代的甲硅烷基。

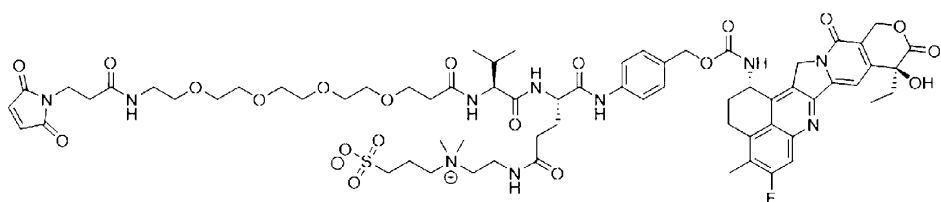
在本申请中，所述化合物选自如下结构：



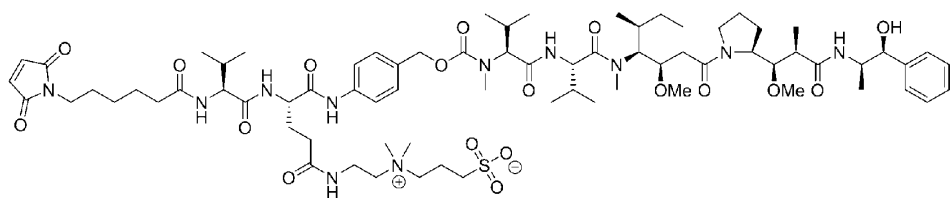
LD-31、



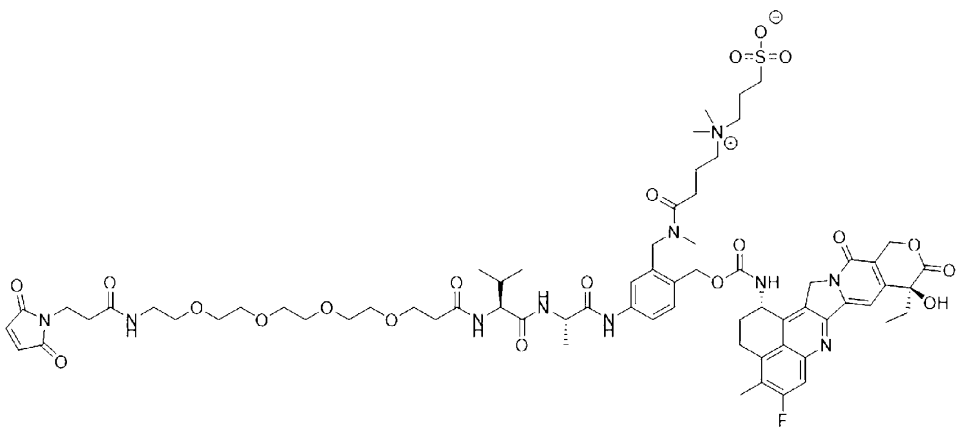
LD-37、



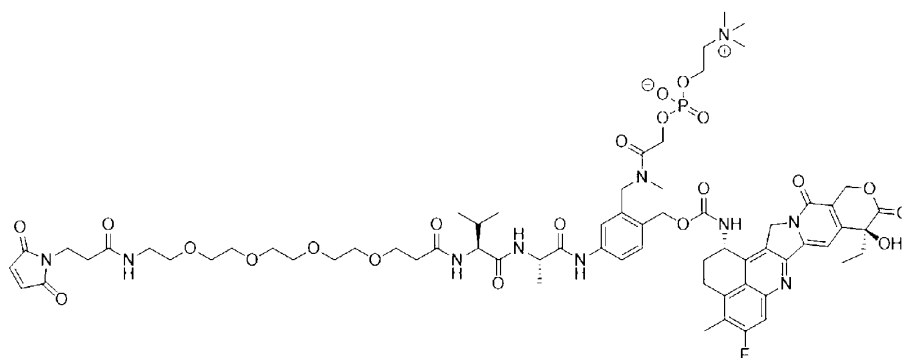
LD-38、



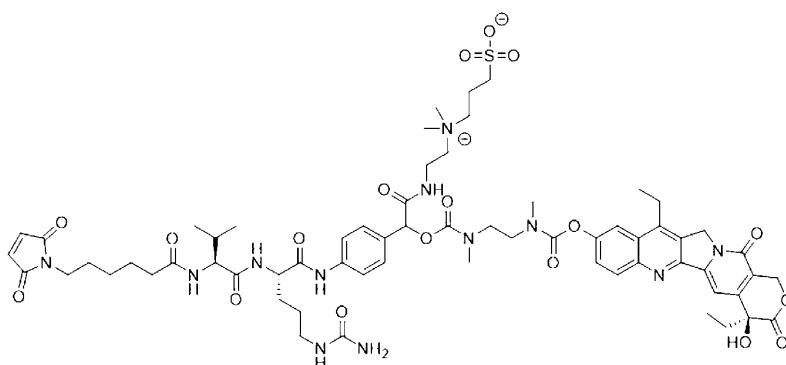
LD-57、



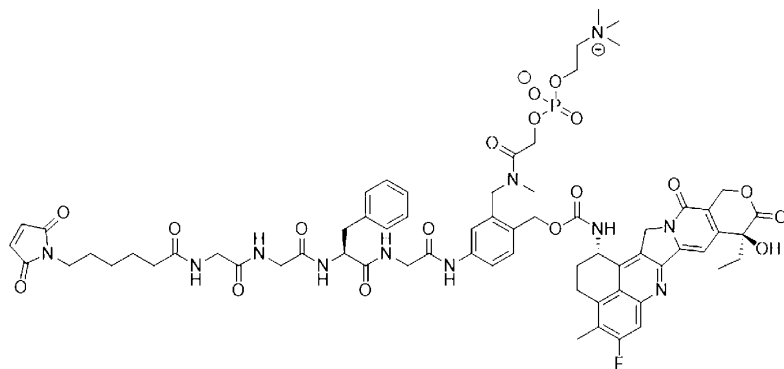
LD-65、



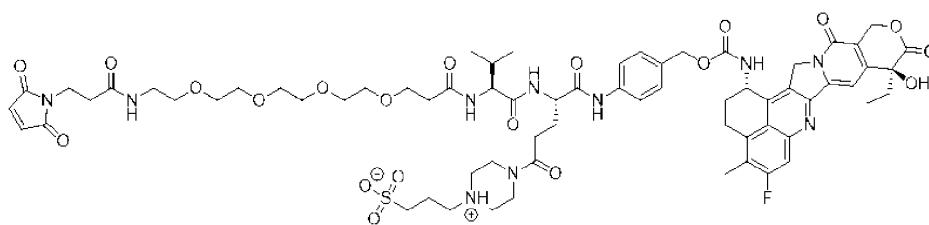
LD-66、



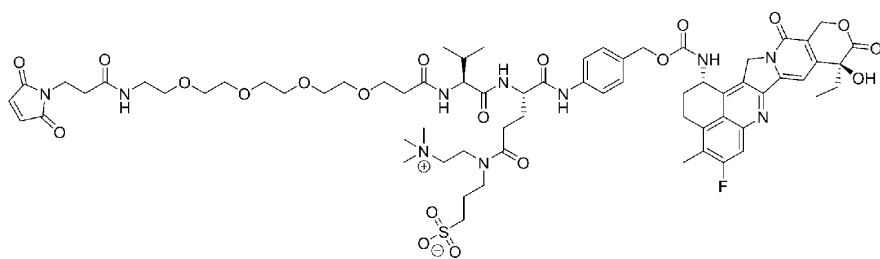
LD-71、



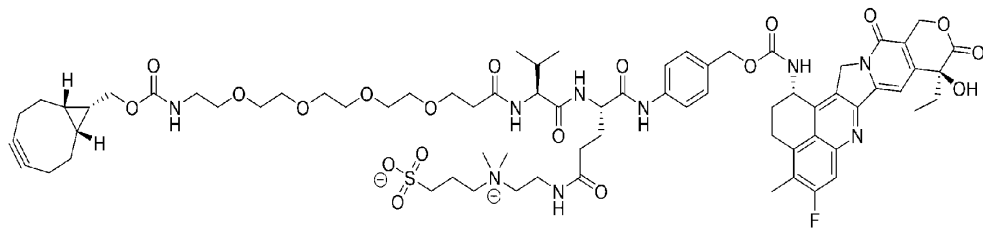
LD-72、



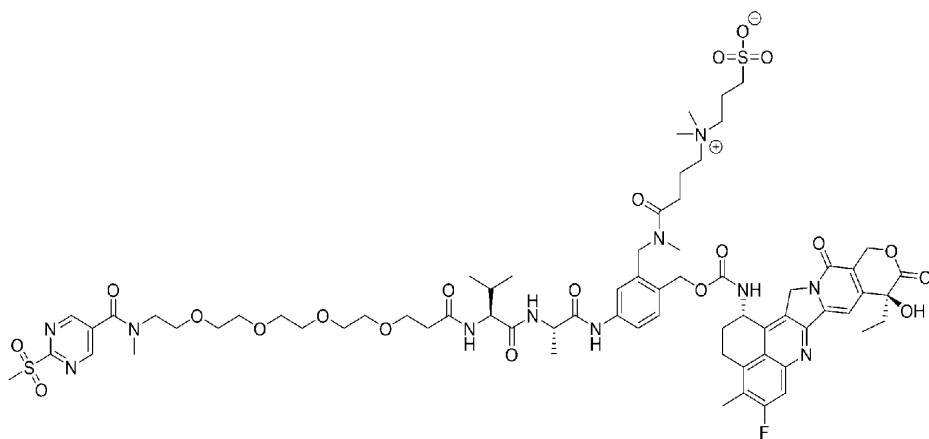
LD-88、



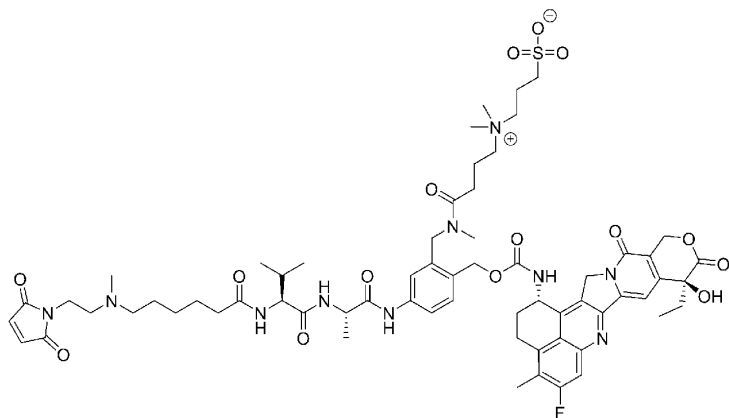
LD-89、



LD-94、

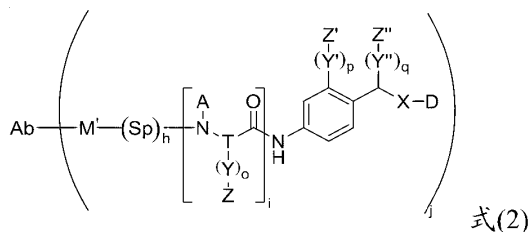


LD-98、



LD-99。

本申请还提供一种由式(2)表示的化合物,或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式,或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物,其中,式(2)的结构如下表示:



Ab 包含抗体或其抗原结合片段; M' 为连接基团; Sp 为 -L_a-Q_a-; A 选自不存在、氢、烷基; T 表示直链的或具有支链的(C₁-C₈) 三价烷基基团; Y、Y'、Y'' 分别为 -L_b-Q_b-; L_a、L_b 分别选自不存在、亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基或聚乙二醇基, 其中所述亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基、聚乙二醇基任选被取代基取代; Q_a、Q_b 分别选自不存在、-C(=O)NR-、-C(=O)O-、-OC(=O)NR-、-S(=O)₂NR-、-NRC(=O)-、-OC(=O)-、-NRC(=O)O-、-NRS(=O)₂-、-NRC(=O)NR-、-NHC(=NH)NH-、-C(=O)-、-OC(=O)O-、-O-、-NR-、-S-、S(=O)₂-、S(=O)-、或-Se-, 其中 R 选氢或任选取代的烷基; Z 选自不存在、氢、任选取代的烷基或磺酸内盐; Z'、Z'' 选自不存在、氢、任选取代的烷基、磺酸内盐或磷酸内盐; Z、Z'、Z'' 中的至少一个为磺酸内盐或磷酸内盐; X 包含自毁单元或不存在; D 包括药物分子; i 为大于等于 1 的整数, 例如可以为 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15 等。

h 为 1-6 的整数, 例如可以为 1、2、3、4、5、6 等。o、p、q 分别为 0-5 的整数, 例如可以为 0、1、2、3、4、5 等。j 为大于等于 1 的整数, 例如可以为 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12 等。

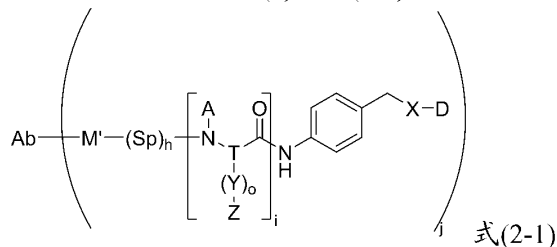
当 h 大于 1 时, 多个 Sp 可以不同的结构, 也可以为相同的结构, 即多个 L_a 可以为不同的结构, 也可以为相同的结构; 多个 Q_a 可以为不同的结构, 也可以为相同的结构。L_a 和 Q_a 的数量可以相同也可以不同。

当 i 大于 1 时, 多个 A 可以不同也可以相同, 多个 T 可以不同也可以相同, 多个 Y 可以不同也可以相同、多个 o 可以不同也可以相同, 多个 Z 可以不同也可以相同。

当 p 大于 1 时, 多个 Y' 可以为不同的结构, 也可以为相同的结构。

当 j 大于 1 时, 括号内的部分可以相同结构也可以不同结构。

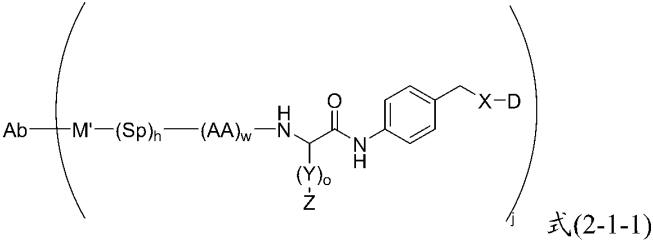
在本申请中, 所述式(2)为式(2-1):



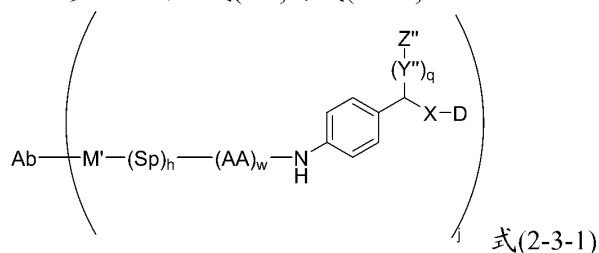
其中, Ab、M'、Sp、A、T、Y、h、o、i、j、X、D、Z 的定义如前述中式(1)中的描述。

i 个 Z 中至少一个为磺酸内盐。

进一步地，所述式(2-1)为式(2-1-1)：



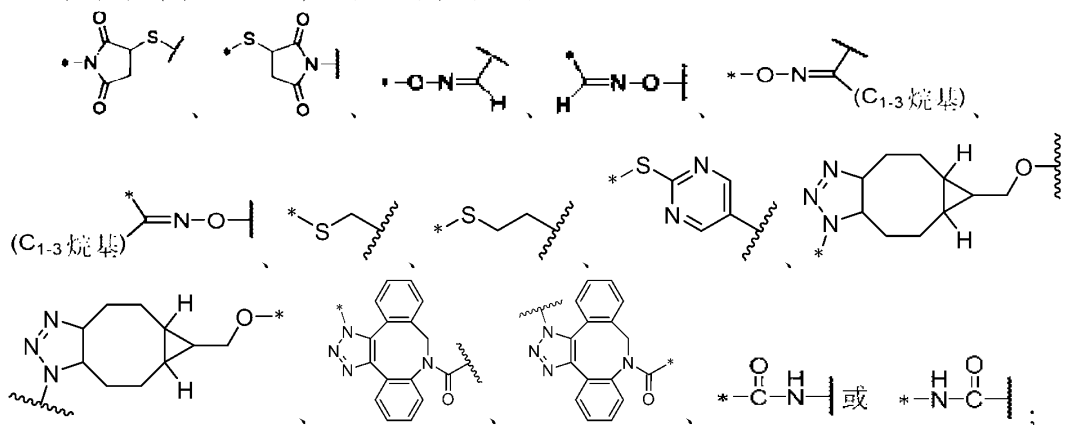
进一步地, 所述式(2-3)为式(2-3-1):



其中，其中，AA 为氨基酸的残基，w 为大于等于 1 的整数，例如可以为 1、2、3、4、5、6 等。当 w 大于 1 时，多个 AA 可以为相同的氨基酸的残基也可以为不同的氨基酸的残基。

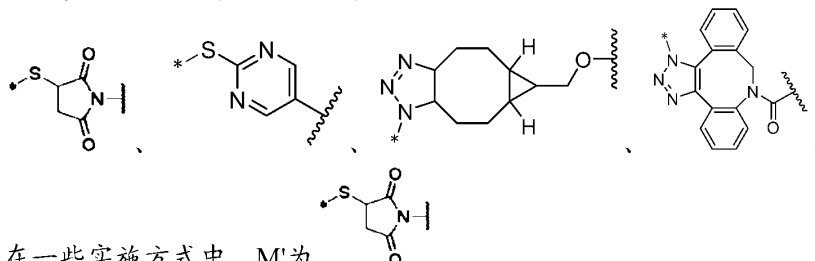
在本文中,关于式(1)中描述的定义全部适用于式(2),针对式(1-1)中描述的定义全部适用于式(2-1)、式(1-1-1)中描述的定义全部适用于式(2-1-1)、式(1-2)中描述的定义全部适用于式(2-2)、式(1-2-1)中描述的定义全部适用于式(2-2-1)、式(1-3)中描述的定义全部适用于式(2-3)、式(1-3-1)中描述的定义全部适用于式(2-3-1)、因此对于式(2)、式(2-1)、式(2-1-1)、式(2-2)、式(2-2-1)、式(2-3)、式(2-3-1)、中的 Sp 、 A 、 Y 、 T 、 Z 、 o 、 i 、 h 、 j 、 q 、 X 、 Y' 、 Z' 、 Y'' 、 Z'' 、 D 可以参考式(1)中描述,此处不在做进一步限定。

在本申请中，M'选自如下结构中的一种：



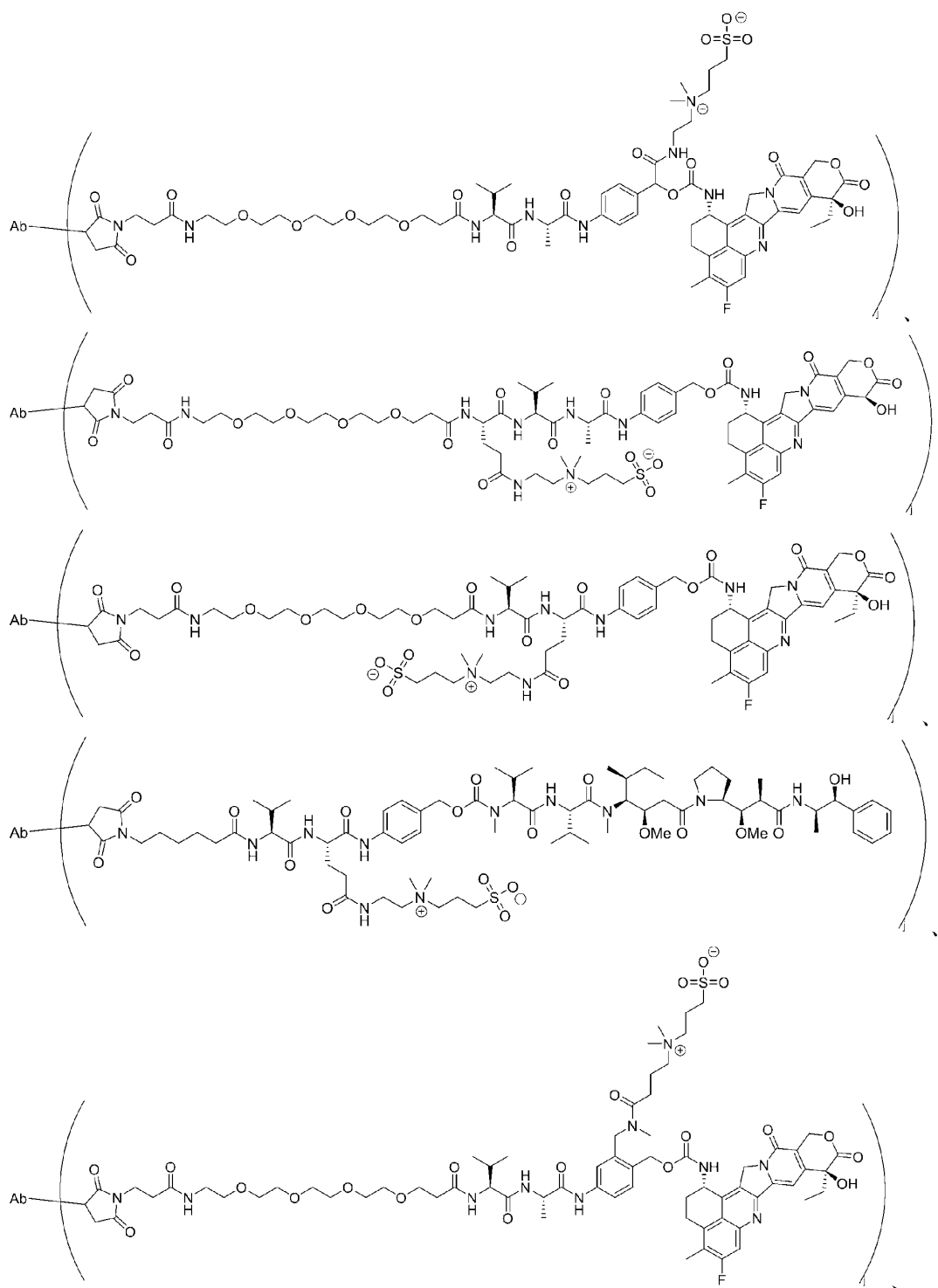
*连接 Ab。

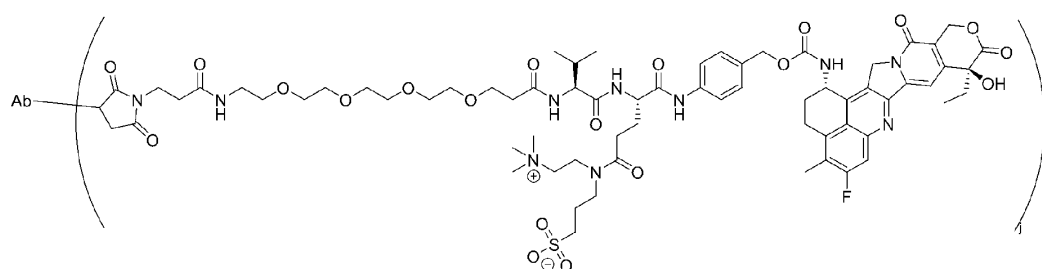
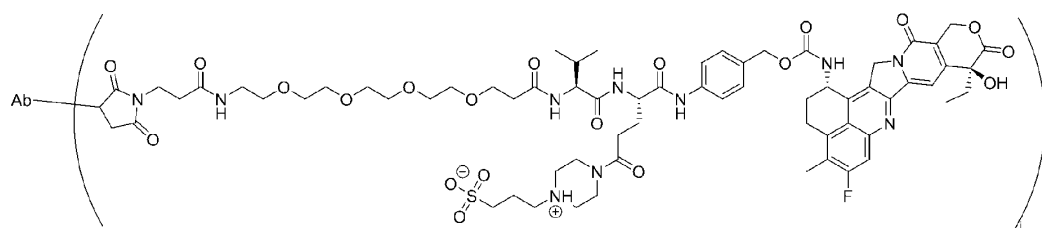
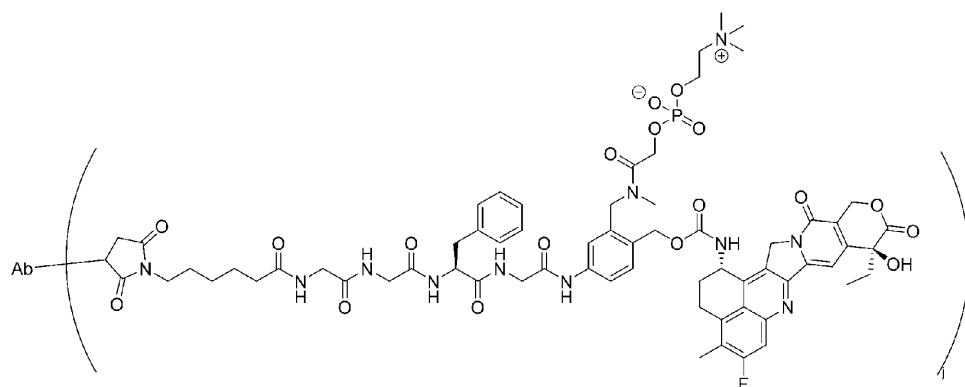
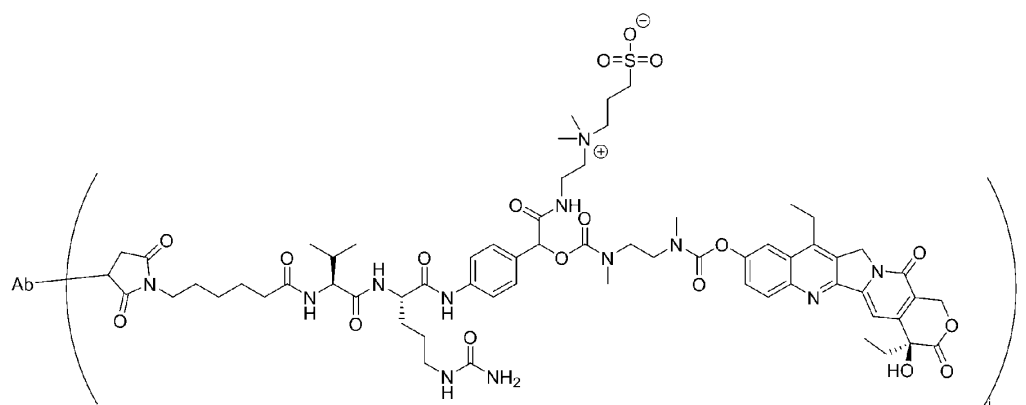
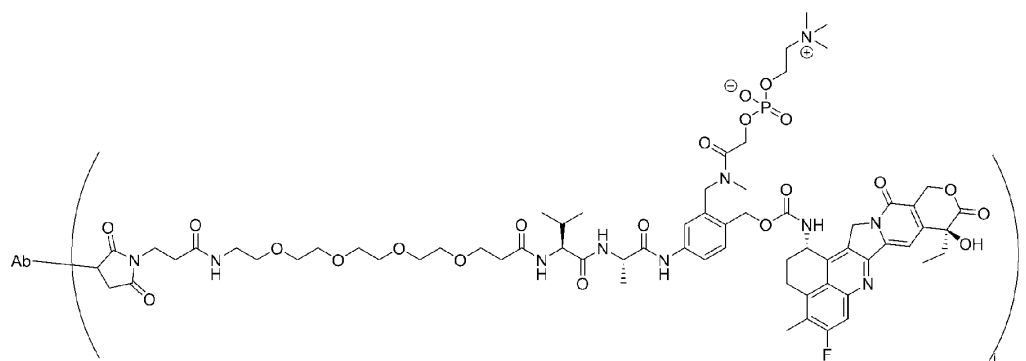
进一步地, M' 选自如下结构中的一种:

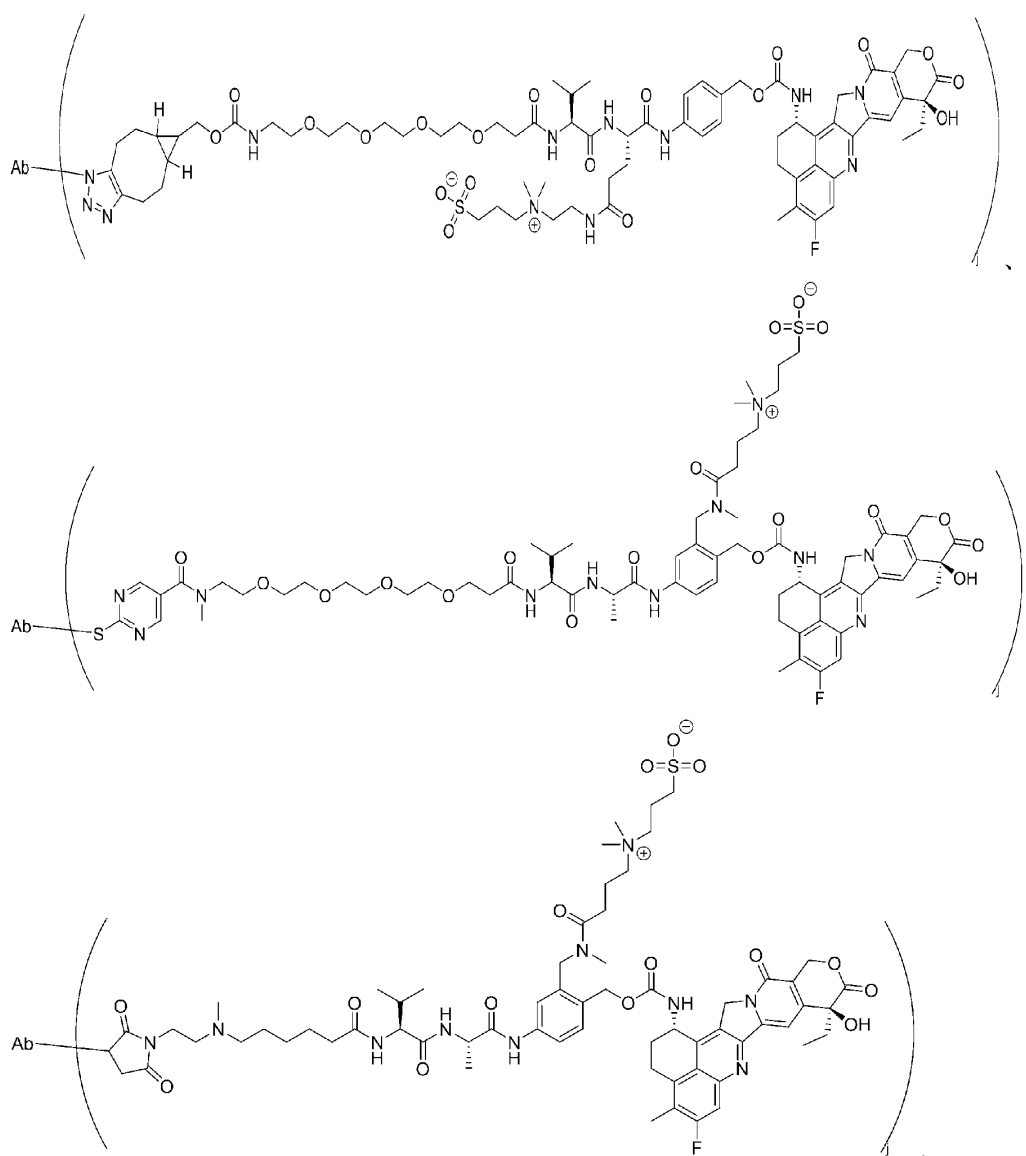


在一些实施方式中，M'为

在本申请中，所述化合物选自如下结构：







在本申请中，所述抗体选自以下组：鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体和全人源抗体。在本申请中，所述抗体包含单克隆抗体。在本申请中，所述抗体包含双特异性抗体。在本申请中，所述抗原结合片段选自以下组：Fab、Fab'、Fv 片段、F(ab')₂、F(ab)₂、scFv、di-scFv 和 VHH。

在本申请中，所述 Ab 选自以下组：抗密蛋白 18.2 抗体、抗人叶酸受体抗体、抗 HER2 抗体、抗 HER3 抗体、抗 TROP2 抗体、抗 B7-H3 抗体、抗 GPC20 抗体、抗 CDH6 抗体、抗 EGFR 抗体、抗 EGFRvIII 抗体、抗 AXL 抗体、抗 Nectin-4 抗体、抗 Tissue factor 抗体、抗 TIM-1 抗体、抗 PSMA 抗体、抗 EpCAM 抗体、抗 MUC1 抗体、抗 STEAP1 抗体、抗 GPNMB 抗体、抗 FGF2 抗体、抗 FOLR1 抗体、抗 c-MET 抗体、抗 GFR 抗体、抗 AGS-16、抗 Guanylyl cyclase C 抗体、抗 Mesothelin 抗体、抗 SLC44A4 抗体、抗 EphA2 抗体、抗 AGS-5 抗体、抗 GPC-3 抗体、抗 c-KIT 抗体、抗 ROR1 抗体、抗 PD-L1 抗体、抗 CD27L

抗体、抗 5T4 抗体、抗 Mucin 16 抗体、抗 NaPi2b 抗体、抗 STEAP 抗体、抗 SLITRK6 抗体、抗 ETBR 抗体、抗 BCMA 抗体、抗 CEACAM5 抗体、抗 SC-16 抗体、抗 SLC39A6 抗体、抗 Delta-like protein3 抗体、抗 Claudin18.2 抗体、抗 CD19 抗体、抗 CD20 抗体、抗 CD22 抗体、抗 CD30 抗体、抗 CD33 抗体、抗 CD37 抗体、抗 CD45 抗体、抗 CD56 抗体、抗 CD66c 抗体、抗 CD70 抗体、抗 CD73 抗体、抗 CD74 抗体、抗 CD79b 抗体、抗 CD138 抗体、抗 CD147 抗体、抗 CD166 抗体、抗 CD223 抗体、抗 MUC16 抗体、抗 MSLN 抗体、抗 ENPP3 抗体、抗 SLTRK6 抗体、抗 FGFR 抗体、抗 LIV-1 抗体、抗 Lewis Y 抗体、抗 α -integrin 抗体、抗 ASCT2 抗体、抗 C4.4a 抗体、抗 CA-IX 抗体、抗 CD324 抗体、抗 CD352 抗体、抗 CD44v6 抗体、抗 CD48a 抗体、抗 CLL-1 抗体、抗 Cripto 抗体、抗 CS1 抗体、抗 DPEP3 抗体、抗 Ephrin-A2 抗体、抗 Ephrin-A4 抗体、抗 ETBR 抗体、抗 FGFR2 抗体、抗 FGFR3 抗体、抗 FLT3 抗体、抗 GD3 抗体、抗 GloboH 抗体、抗 GPC3 抗体、抗 LAMP-1 抗体、抗 LRRC15 抗体、抗 Ly6E 抗体、抗 MFI2 抗体、抗 NOTCH3 抗体、抗 p-cadherin 抗体、抗 PRLR 抗体和抗 RNF43 抗体，以及上述抗体的抗原结合片段。

在本申请中，Ab 的重链 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 和轻链 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含抗体的重链 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 和轻链 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

在本申请中，所述 Ab 的重链可变区 VH 和轻链可变区 VL 分别包含抗体的重链可变区 VH 和轻链可变区 VL。在本申请中，所述 Ab 的重链和轻链分别包含抗体的重链和轻链。在本申请中，所述 Ab 为抗密蛋白 18.2 抗体或其抗原结合片段。在本申请中，其中所述 Ab 为抗人叶酸受体抗体或其抗原结合片段。

本申请还提供一种药物组合物，其中，其包括前述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物。

本申请还提供前述化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物在制备用于治疗 and/或预防肿瘤的药物中的用途。

在本申请中，所述肿瘤选自与以下组靶点表达相关的肿瘤：密蛋白 18.2、人叶酸受体、HER2、HER3、TROP2、B7-H3、GPC20、CDH6、EGFR、EGFRvIII、AXL、Nectin-4、Tissue factor、TIM-1、PSMA、EpCAM、MUC1、STEAP1、GPNMB、FGF2、FOLR1、c-MET、GFR、AGS-16、Guanylyl cyclase C、Mesothelin、SLC44A4、EphA2、AGS-5、GPC-3、c-KIT、ROR1、PD-L1、CD27L、5T4、Mucin 16、NaPi2b、STEAP、SLITRK6、ETBR、BCMA、CEACAM5、SC-16、SLC39A6、Delta-like protein3、Claudin18.2、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD37、CD45、CD56、CD66e、CD70、CD73、CD74、CD79b、CD138、CD147、CD166、CD223、MUC16、MSLN、ENPP3、SLTRK6、FGFR、LIV-1、Lewis Y、 α -integrin、ASCT2、C4.4a、CA-IX、CD324、CD352、CD44v6、CD48a、CLL-1、Cripto、CS1、DPEP3、Ephrin-A2、Ephrin-A4、ETBR、FGFR2、FGFR3、FLT3、

GD3、Globo H、GPC3、LAMP-1、LRRC15、Ly6E、MFI2、NOTCH3、p-cadherin、PRLR 和 RNF43。

在本申请中，与所述靶点表达相关的肿瘤包括所述靶点高表达的肿瘤和/或靶点阳性的肿瘤。

在本申请中，所述肿瘤选自实体肿瘤、血液肿瘤和癌症的转移性、难治性或复发性病灶。

在本申请中，所述肿瘤选自以下组：食管癌、胃肠癌、胰腺癌、甲状腺癌、结直肠癌、肾癌、肺癌(例如非小细胞肺癌)、肝癌、胃癌、胃腺癌、胃食管交界处(GEJ)腺癌、头颈癌、膀胱癌、乳腺癌、子宫癌、宫颈癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、生殖细胞癌、骨癌、皮肤癌、胸腺癌、胆管癌、胆囊癌、黑素瘤、间皮瘤、淋巴瘤、骨髓瘤(例如多发性骨髓瘤)、肉瘤、神经胶质母细胞瘤和白血病。

实施例

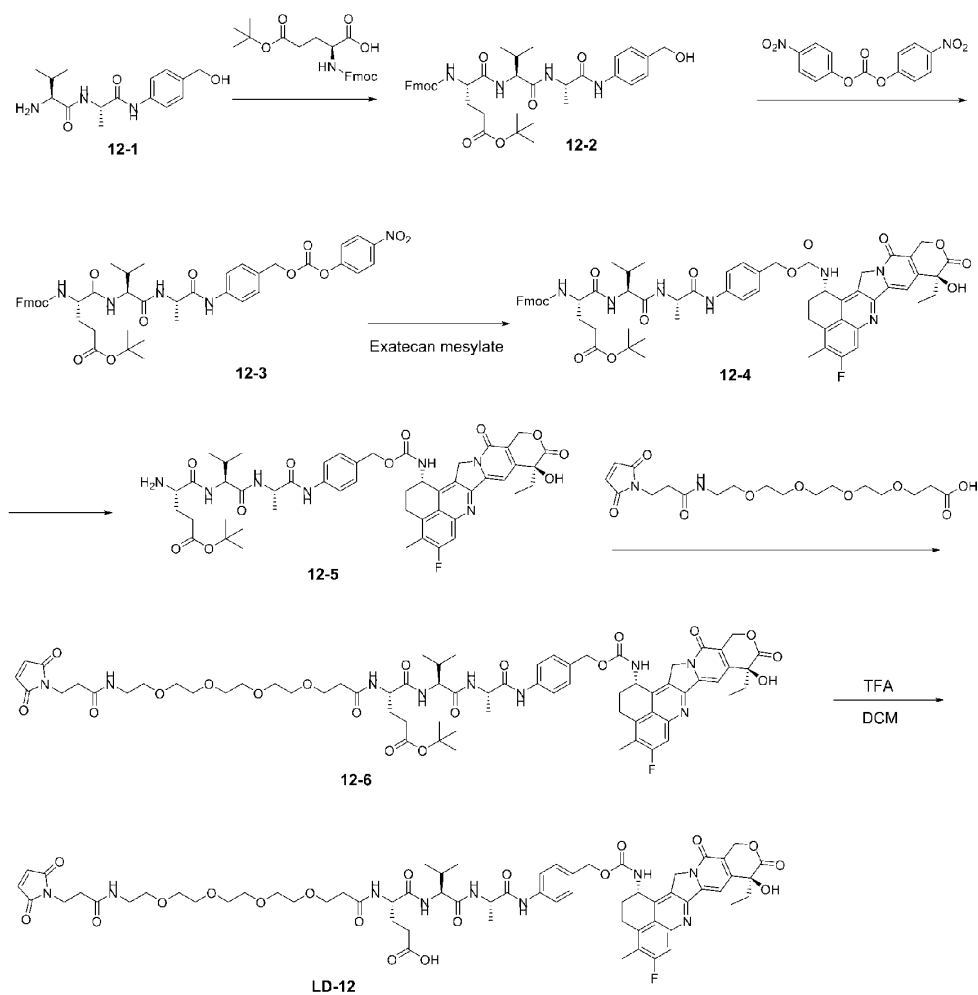
下述实施例中所使用的实验方法如无特殊要求，均为常规方法。

下述实施例中所使用的材料、试剂等，如无特殊说明，均可从商业途径得到。

下述实施例中的 Fmoc-L-谷氨酸-5-叔丁酯、化合物 12-1、HATU(中文名称为 2-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯)、DIEA(中文名称为 N,N-二异丙基乙胺)、二(对硝基苯)碳酸酯、依喜替康甲磺酸盐、Mal-amido-PEG4-acid(中文名称为马来酰亚胺-酰胺-PEG4-丙酸)、DCM(中文名称为二氯甲烷)、TFA(中文名称为三氟乙酸)、6-马来酰亚胺基己酸、Fmoc-L-缬氨酸-L-丙氨酸、二(对硝基苯)碳酸酯、Fmoc-L-谷氨酸-5-叔丁酯、4-氨基苄醇、Fmoc-L-缬氨酸、MMAE(中文名称为单甲基溴瑞他汀 E)、HOBT(中文名称为 1-羟基苯并三氮唑)、甲叔醚、化合物 65-1、BH₃-Me₂S、DMAP(中文名称为 4-二甲氨基吡啶)、(BOC)₂O、EA(中文名称为丙烯酸乙酯)、TBAF(中文名称为四正丁基氟化铵)、EEDQ(中文名称为 2-乙氧基-1-乙氧羰基-1,2-二氢喹啉)、化合物 71-1、6-(马来酰亚胺基)己酸琥珀酰亚胺酯、化合物 72-1、HOSu(中文名称为 N-羟基丁二酰亚胺)、EDCI(中文名称为碳二亚胺)、Fmoc-甘氨酸、硝基苯基氯甲酸酯、化合物 73-1、BCN-PEG4-acid(中文名称为 rel-1-((1R,8S,9s)-双环[6.1.0]壬-4-炔-9-基)-3-氧代-2,7,10,13,16-五氧杂-4-氮杂十九烷-19-酸)、Fmoc-NMe-PEG4-C2-Acid、N,N-二异丙基乙基胺、4-甲氧基苯甲酸、DIPEA(中文名称为 N,N-二异丙基乙胺)、外-3,6-环氧-1,2,3,6-四氢邻苯二甲酸酐、N-Boc-N-甲基乙二胺均可商购。

实施例 1(LD-12 的制备)

LD-12 的合成路线如下：



12-2 的合成

将 Fmoc-L-谷氨酸-5-叔丁酯(600 mg, 1.41 mmol)和化合物 12-1 (414 mg, 1.41 mmol)溶于 18 mL 无水 DMF 中, 加入 HATU (644 mg, 1.69 mmol), DIEA (365 mg, 2.82 mmol), 室温继续搅拌 18 小时, LCMS 显示反应完全。加入水, 乙酸乙酯萃取三次后、有机相合并并用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩后得粗品 0.9g。

12-3 的合成

将化合物 12-2 (300 mg, 0.43 mmol)、二(对硝基苯)碳酸酯 (261 mg, 0.86 mmol)和 DIEA (166 mg, 1.28 mmol)溶于 4mL 无水 DMF 中, 室温搅拌 18 小时。LCMS 显示反应完全。加入水, 乙酸乙酯萃取三次后、有机相合并并用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩后得粗品。用薄层 TLC 板(MeOH/DCM, 0%到 3%)进行纯化, 得 0.3g。MS+Na(+)889.4。

12-4 的合成

将化合物 12-3(350 mg, 0.425 mmol), DIEA(207 mg, 1.61 mmol) 和依喜替康甲磺酸盐(600 mg, 0.69 mmol)溶于 2mL 无水 DMF 中, 室温反应 6 小时后, 加入水, 乙酸乙酯萃取三次后、有机相合并并用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩后得粗品。

用正相硅胶柱(MeOH/DCM, 0%到 10%)进行纯化, 得 470mg。MS (+)1162.4。

12-5 的合成

将化合物 12-4 (100 mg, 0.086 mmol) 溶于 2mL 无水 DMF 中, 室温加入哌啶(0.05mL) 并搅拌 2 小时。减压浓缩后, 甲叔醚打浆过滤得 80mg 粗品, 直接用于下一步反应。MS (+)940.4。

12-6 的合成

将化合物 12-5(46 mg, 0.11 mmol)溶于 2mL 无水 DMF 中, 加入 HATU (48.5 mg, 0.13 mmol), 室温搅拌五分钟。依次加入 Mal-amido-PEG4-acid (80 mg, 0.085 mmol)和 DIEA (33 mg, 0.26 mmol), 室温继续搅拌 2 小时, LCMS 显示反应完全。加入水, 乙酸乙酯萃取三次后、有机相合并用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩后得粗品。用薄层 TLC 板(MeOH/DCM,0%到 3%)进行纯化, 得 30mg。MS (+)1339.2。

LD-12 的合成

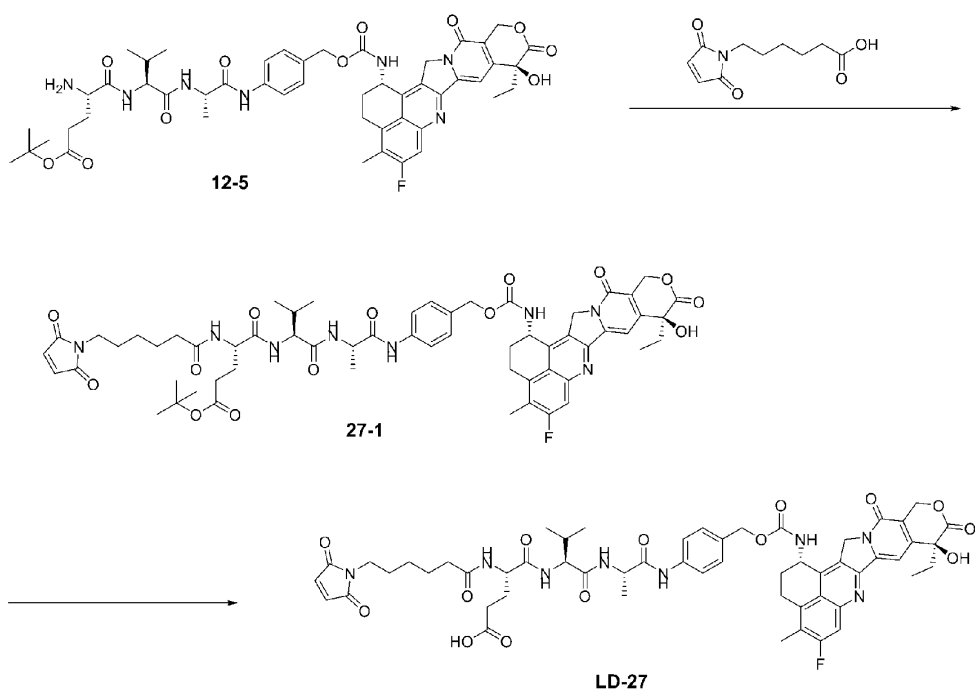
将化合物 12-6 (30 mg, 0.022 mmol) 溶于 2mLDCM 中, 室温加入 0.3mL TFA 并搅拌 2 小时, LCMS 显示反应完全, 减压浓缩后反相制备(流动相含 0.1%甲酸)得 7.7 mg。

LCMS:m/z(ES+)(M+H)+=1282.4, Rt=1.385 min

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10.00 (s, 1H), 8.23 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 8.11-8.03 (m, 3H), 7.79 (d, J = 10.8 Hz, 1H), 7.72 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.60 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.38 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.33 (s, 1H), 7.00 (s, 2H), 6.55 (s, 1H), 5.46 (s, 2H), 5.36-5.25 (m, 3H), 5.09 (s, 2H), 4.41-4.32 (m, 2H), 4.23-4.17 (m, 1H), 3.60 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.50-3.49 (m, 16H), 3.37-3.33 (m, 2H), 3.16-3.14 (m, 2H), 2.45-2.32 (m, 7H), 2.27-2.10 (m, 4H), 2.01-1.96 (m, 1H), 1.96-1.81 (m, 3H), 1.74 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 1.31 (d, J = 7.2 Hz, 3H), 0.91-0.83 (m, 9H)。

实施例 2(LD-27 的制备)

LD-27 的工艺流程如下:



27-1 的合成

将化合物 12-5 (127.34 mg, 0.306 mmol, 化合物 12-5 的合成可参考实施例 1) 和 6-马来酰亚胺基己酸 (80 mg, 0.085 mmol) 溶于 4 mL 无水 DMF 中, 加入 HATU (49 mg, 0.128 mmol) 和 DIEA (22 mg, 0.170 mmol), 室温继续搅拌 3 小时, LCMS 显示反应完全。加入水, 乙酸乙酯萃取三次后、有机相合并用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩后得 80 mg 粗品。MS(+) = 1133.4。

LD-27 的合成

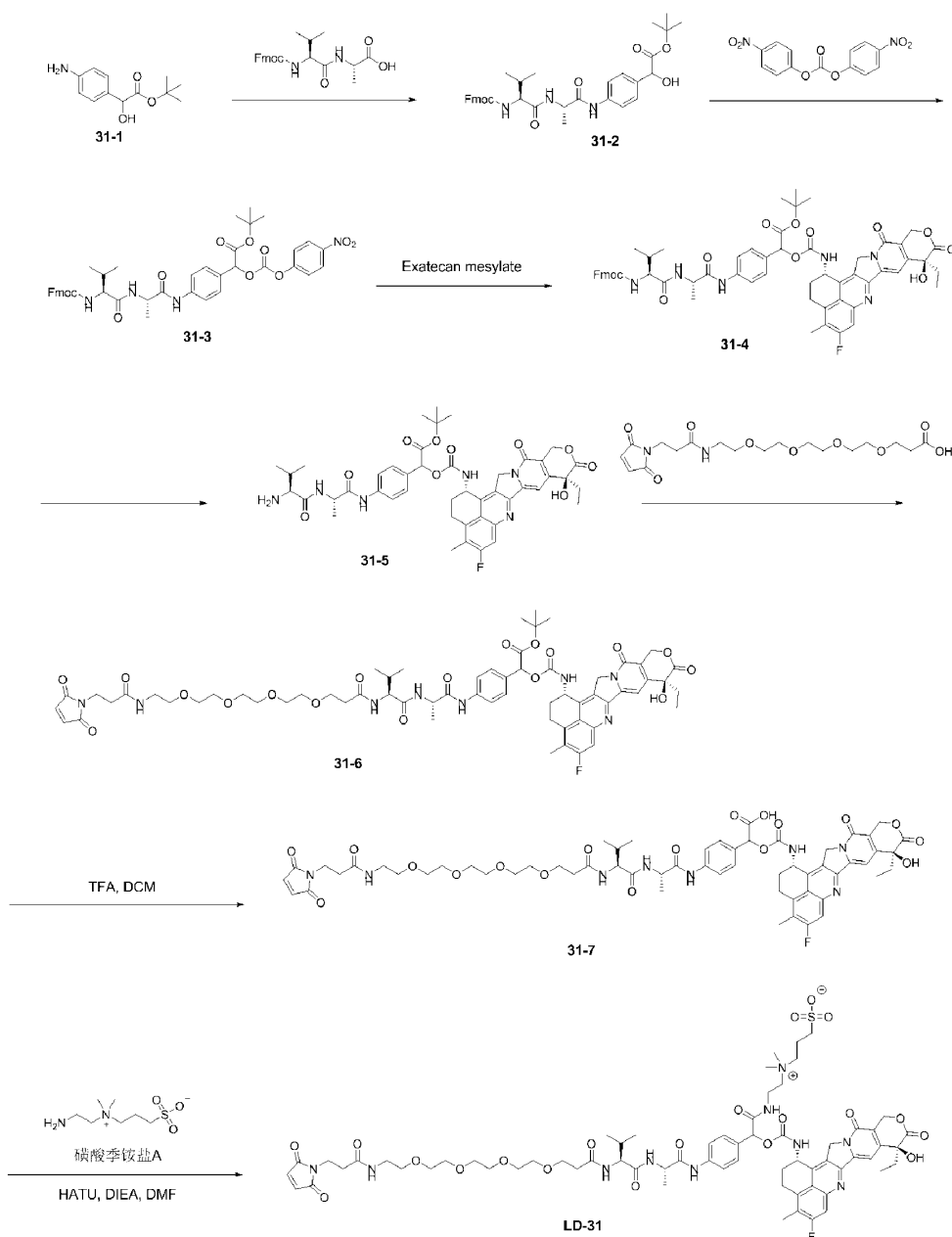
将化合物 27-1 (70 mg, 0.062 mmol) 溶于 5 mL DCM 中, 室温加入 0.8 mL TFA 并搅拌 2 小时, LCMS 显示反应完全, 减压浓缩后反相制备 (流动相含 0.1% 甲酸) 得 22.8 mg。

LCMS: m/z (ES⁺) (M+H)⁺ = 1077.4, R_t = 1.454 min

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12.08 (s, 1H), 9.97 (s, 1H), 8.21 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 8.06-7.98 (m, 2H), 7.77 (d, J = 10.8 Hz, 1H), 7.65-7.57 (m, 3H), 7.44 – 7.26 (m, 3H), 6.99 (s, 2H), 6.51 (s, 1H), 5.45 (s, 2H), 5.28 (d, J = 4.4 Hz, 3H), 5.08 (s, 2H), 4.42 – 4.15 (m, 3H), 3.26-3.08 (m, 2H), 2.37 (s, 3H), 2.29 – 1.63 (m, 12H), 1.51-1.42 (m, 4H), 1.36 – 1.12 (m, 6H), 0.89-0.81 (m, 9H)。

实施例 3 (LD-31 的制备)

LD-31 的合成路线如下:



31-2 的合成

将 Fmoc-L-缬氨酰-L-丙氨酸(220 mg, 0.54 mmol)溶于 5 mL 无水 DMF 加入 HATU (244.5 mg, 0.643 mmol)和 DIEA (138.5 mg, 1.07 mmol)。室温搅拌 15 分钟后, 将化合物 31-1(119.67 mg, 0.536 mmol, 上海皓元医药股份有限公司提供, 合成方法参考 WO2022058548A1)加入反应液。室温搅拌 2 个小时后, LCMS 监测反应完全。浓缩后得粗品。用正相硅胶柱(MeOH/DCM, 0%到 10%)进行纯化。得 320mg, MS+Na (+)=638.4。

31-3 的合成

将化合物 31-2(320 mg, 0.520 mmol)溶于 5 mL DCM 中, 依次加入二(对硝基苯)碳酸酯(474.30 mg, 1.559 mmol)和 DIEA (0.344 mL, 2.079 mmol), 室温搅拌 2 小时。LCMS

监测反应完全，加入饱和食盐水，用乙酸乙酯萃取。有机相用无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩后得粗品。正相硅胶柱(MeOH/DCM, 0%到 10%)进行纯化。得 340mg, MS+Na(+)=803.2。

31-4 的合成

将化合物 31-3 (340 mg, 0.462 mmol)溶于 2mL 无水 DMF 中,依次加入依喜替康甲磺酸盐 (245.61 mg, 0.666 mmol), DIEA (119.43 mg, 0.924 mmol)和 DMAP (5.65 mg, 122.17 μmol)。室温搅拌 1 小时后, LCMS 监测反应完全。加入饱和食盐水,析出固体粗品。粗品用甲叔醚打浆得 157mg 化合物 31-4, MS(+)=1078.2。

31-5 的合成

将化合物 31-4 (440 mg, 0.408 mmol)溶于 4 mL 无水 DMF 中, 哌啶(69.56mg)加入反应液, 室温搅拌一小时。浓缩得 292 mg 粗品, 直接用于下一步反应, MS(+)= 855.2。

31-6 的合成

将化合物 31-5(142.23 mg, 0.342 mmol)和 Mal-amido-PEG4-acid (292 mg, 0.342 mmol)溶于 4 mL 无水 DMF 中, 加入 DIEA(88.28 mg, 0.683 mmol)和 HATU(155.84 mg, 0.410 mmol), 室温搅拌 2 小时, LCMS 显示反应完全。加入饱和食盐水,析出固体粗品。粗品用甲叔醚打浆得 350mg 粗品, MS (+)=1254.4。

31-7 的合成

将化合物 31-6 (90mg 粗品)溶于 2.5 mL 无水 DCM 中, TFA (0.5mL)加入反应液, 室温搅拌 1 小时。浓缩得 80mg 粗品, 直接用于下一步反应, MS(+)=1198.4。

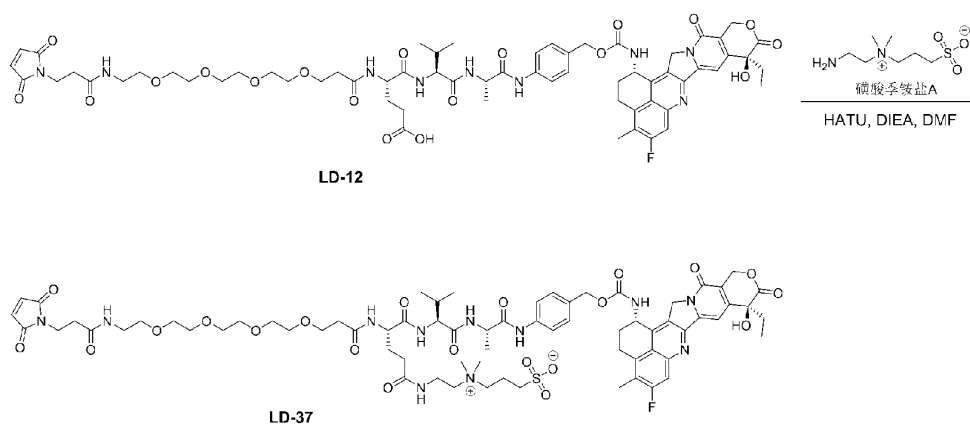
LD-31 的合成

将化合物 31-7(76.62 mg, 0.064 mmol)溶于 2 mL 无水 DMF 中,加入 DIEA (16.54 mg, 0.128 mmol)和 HATU (29.20 mg, 0.077 mmol), 室温搅拌 15 分钟。加入磺酸季铵盐 A (14.81 mg, 0.070 mmol, CAS 号: 78276-19-4, 上海皓元医药股份有限公司提供, 合成方法参考 WO2011146595A2), 室温搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完全。加入水, 乙酸乙酯萃取三次后、有机相合并用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩后得粗品。反相制备(甲酸)进行纯化, 得白色固体 LD-31 (P1:12.5 mg, P2:11.3 mg)。

LCMS: m/z (ES+) (M+H)⁺ = 1390.6, Rt = 1.242 min (P1), 1.279 min (P2)。

实施例 4(LD-37 的制备)

LD-37 的合成路线如下:



LD-37 的合成

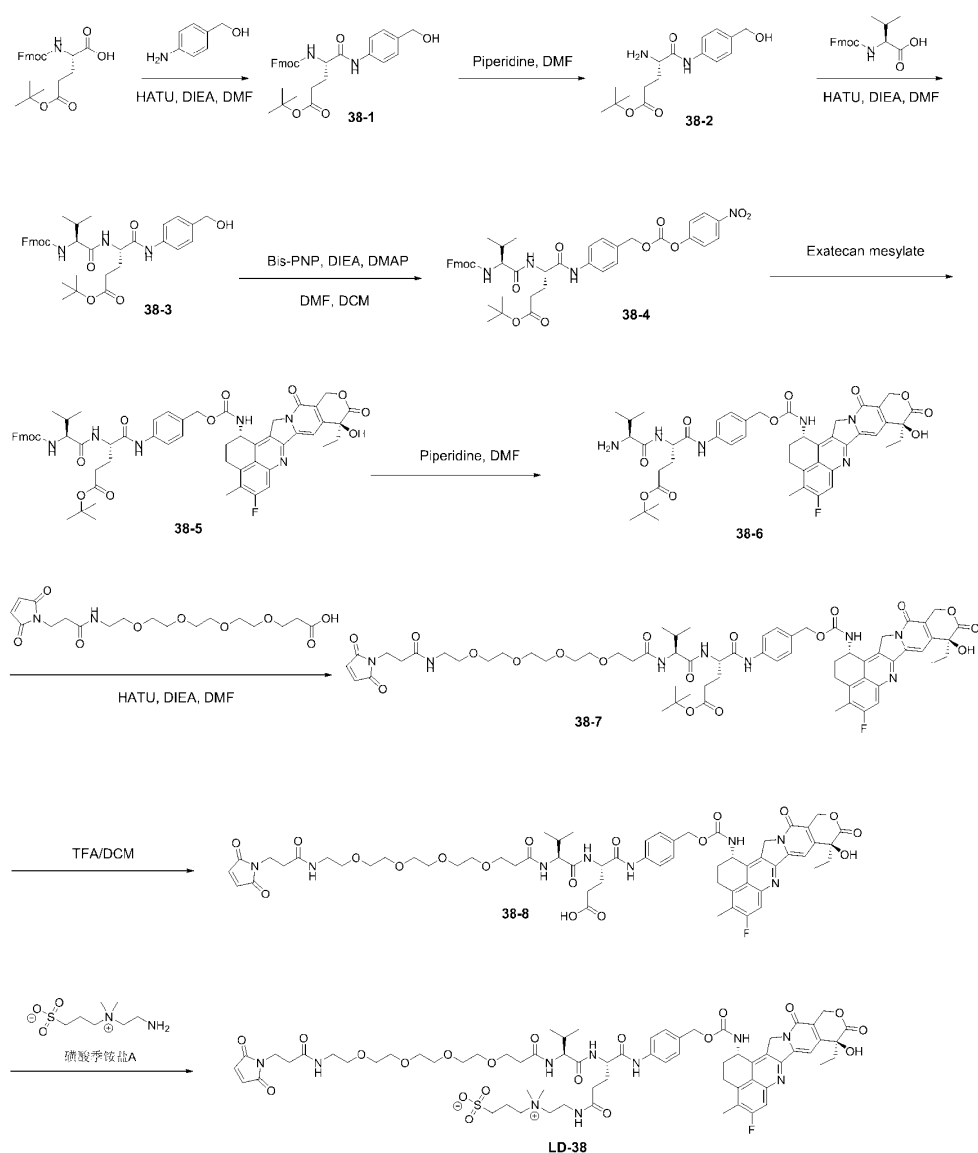
将化合物 LD-12(49 mg, 0.038 mmol, LD-12 的合成可参考实施例 1)溶于 2 mL 无水 DMF 中, 加入 DIEA (9.88 mg, 0.076 mmol)和 HATU (17.43 mg, 0.046 mmol), 室温搅拌 15 分钟。加入磺胺季铵盐 A (8.04 mg, 0.038 mmol, CAS 号: 78276-19-4, 上海皓元医药股份有限公司提供, 合成方法参考 WO2011146595A2), 室温搅拌 2 小时。LCMS 显示反应完全。加入水, 乙酸乙酯萃取三次后、有机相合并用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩后得粗品。反相制备(流动相含 0.1%甲酸)进行纯化, 得白色固体 LD-37 (7.35 mg 13.04% yield)。

LCMS: m/z (ES⁺) (M+H)⁺ = 1475.6, R_t = 1.344 min

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.03 (s, 1H), 8.24 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 8.16 – 8.07 (m, 3H), 8.03 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 7.80 (d, J = 10.8 Hz, 1H), 7.71 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 7.62 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.38 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.33 (s, 1H), 7.02 (s, 2H), 6.53 (s, 1H), 5.47 (s, 2H), 5.31 (s, 3H), 5.10 (s, 2H), 4.41 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 4.31 (s, 1H), 4.24 – 4.20 (m, 1H), 3.61 (t, J = 7.2 Hz, 5H), 3.46-3.51 (m, 16H), 3.16 (dd, J = 11.2, 5.6 Hz, 4H), 3.05 (s, 6H), 2.69 (s, 3H), 2.40 (s, 4H), 2.35 (s, 6H), 2.18 (s, 4H), 2.01 (s, 2H), 1.90 (d, J = 9.2 Hz, 2H), 1.79 – 1.69 (m, 1H), 1.32 (d, J = 7.2 Hz, 3H), 0.89 (d, J = 6.8 Hz, 6H), 0.84 (d, J = 6.8 Hz, 3H)。

实施例 5: (LD-38 的制备)

LD-38 的合成路线如下:



38-1 的合成

将 Fmoc-L-谷氨酸-5-叔丁酯(144.7mg, 1.175 mmol)和 4-氨基苄醇 (500mg, 1.175 mmol) 溶于 3 mL 无水 DMF 中, 加入 DIEA(303.7mg, 2.350 mmol)和 HATU(536.19mg, 1.410 mmol), 室温搅拌 16 小时, LCMS 显示反应完全。加入水, 乙酸乙酯萃取三次后、有机相合并用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩后得粗品。用正相硅胶柱 (EA/PE, 0%到 45%)进行纯化, 得 530mg。MS(+)=475.2。

38-2 的合成

将化合物 38-1 (530mg, 0.999 mmol)溶于 3mL 无水 DMF 中, 哌啶(0.2mL)加入反应液, 室温搅拌一小时。浓缩得 600mg 粗品, 直接用于下一步反应, MS(+)=309.2。

38-3 的合成

将化合物 38-2(600mg 粗品)和 Fmoc-L-缬氨酸 (500mg, 1.175 mmol)溶于 3 mL 无水

DMF 中, 加入 DIEA((334.13 mg, 2.585 mmol)和 HATU(589.82 mg, 1.551 mmol), 室温搅拌 16 小时, LCMS 显示反应完全。加入水, 乙酸乙酯萃取三次后、有机相合并用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩后得粗品。用正相硅胶柱(EA/PE,40%到 60%)进行纯化, 得 450mg, 6.MS(+)=630.4。

38-4 的合成

将化合物 38-3(450mg, 0.715 mmol)溶于 1mL 无水 DCM 与 4mL 无水 DMF 中, 依次加入二(对硝基苯)碳酸酯 (869.5mg, 2.858 mmol)与 0.354mL DIEA。室温反应 12 小时后, 反应液加入水, 乙酸乙酯萃取三次后、有机相合并用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩后得粗品。用正相硅胶柱(EA/PE,30%到 70%)进行纯化, 得 200mg。MS(+)=543.2。

38-5 的合成

将化合物 38-4(100mg, 0.126 mmol)和依喜替康甲磺酸盐(54.78mg, 0.126 mmol)溶于 2mL 无水 DMF 中, 依次加入 DMAP(0.15mg, 0.0001 mmol)和 DIEA(32.52mg, 0.252 mmol)。室温反应 1 小时后, 反应液加入水, 乙酸乙酯萃取三次后、有机相合并用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩后得粗品。用正相硅胶柱(EA/PE,30%到 70%)进行纯化, 得 100mg。MS(+)=1091.4。

38-6 的合成

将化合物 38-5 (100mg, 0.073 mmol)溶于 3 mL 无水 DMF 中, 哌啶(0.3 mL)加入反应液, 室温搅拌一小时。浓缩得 110mg 粗品, 直接用于下一步反应。MS(+)=870.8。

38-7 的合成

将化合物 38-6(110mg 粗品)和 Mal-amido-PEG4-acid (30.19mg, 0.073 mmol)溶于 2 mL 无水 DMF 中, 加入 DIEA(18.74 mg, 0.145 mmol)和 HATU(33.08 mg, 0.087 mmol), 室温搅拌 2 小时, LCMS 显示反应完全。加入水, 乙酸乙酯萃取三次后、有机相合并用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩后得粗品。用正相硅胶柱(MeOH/DCM,5%到 20%)进行纯化, 得 90mg。MS(+)=1267.6。

38-8 的合成

将化合物 38-7 (90mg, 0.071 mmol)溶于 3mL 无水 DCM 中, 加入 0.3 mL TFA 反, 室温搅拌 2 小时。浓缩得 80mg 粗品, 直接用于下一步反应。MS(+)=2111.4。

LD-38 的合成

将化合物 38-8(80mg, 粗品)和磺酸季铵盐 A (13.89mg, 0.066mmol, CAS 号: 78276-19-4, 上海皓元医药股份有限公司提供, 合成方法参考 WO2011146595A2)溶于 2 mL 无水 DMF 中, 加入 DIEA(17.07 mg, 0.132 mmol)和 HATU(30.14 mg, 0.079 mmol), 室温搅拌 1 小时, LCMS 显示反应完全。反相制备(流动相含 0.1%甲酸)进行纯化, 得白色固体 13.5 mg。

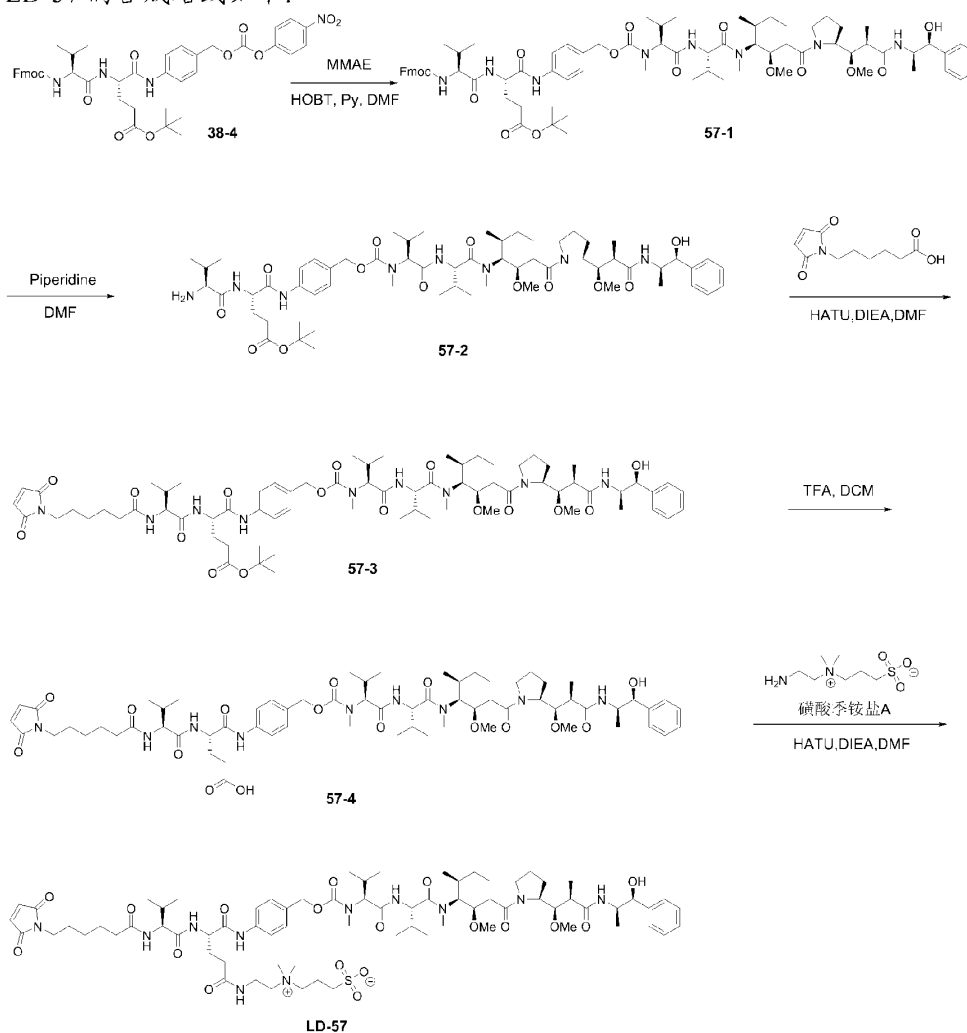
LCMS: m/z (ES+) (M+H)+ = 1404.6, Rt = 1.314 min

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.89 (s, 1H), 8.18 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 8.10 – 7.93 (m, 3H), 7.78 (d, J = 10.8 Hz, 1H), 7.63 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.37 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.32 (s, 1H), 6.99

(s, 2H), 6.53 (s, 1H), 5.45 (s, 2H), 5.29 (d, J = 4.4 Hz, 3H), 5.08 (s, 2H), 4.32 (dd, J = 13.2, 7.6 Hz, 1H), 4.20 – 4.14 (m, 1H), 3.59 (dd, J = 14.8, 7.6 Hz, 6H), 3.40-3.51 (m, 18H), 3.14-3.20 (m, 4H), 3.03 (s, 7H), 2.42 – 2.30 (m, 7H), 2.20-2.31 (m, 4H), 2.03 – 1.82 (m, 8H), 0.87-0.91 (m, 9H)。

实施例 6(LD-57 的制备)

LD-57 的合成路线如下:



57-1 的合成

将化合物 **38-4** (288mg, 0.363 mmol, 其合成方法可以参考实施例 5) 和 **MMAE** (200mg, 0.279 mmol) 溶于 5mL 无水 **DMF** 中, 依次加入吡啶 (1 mL) 和 **HOBT** (59mg, 0.279 mmol)。室温反应 18 小时后, 浓缩后得粗品。用正相硅胶柱 (**MeOH/DCM**, 0% 到 10%) 进行纯化, 得 320 mg。MS(+)=1374.2。

57-2 的合成

将化合物 **57-1** (260mg, 0.189 mmol) 溶于 3mL 无水 **DMF** 中, 哌啶 (0.05mL) 加入反应液, 室温搅拌一小时。浓缩并用甲叔醚打浆得 215mg 粗品, 直接用于下一步反应。

MS(+)=1152.5。

57-3 的合成

将化合物 57-2(215mg 粗品)和 6-马来酰亚胺基己酸(47.3mg, 0.224mmol)溶于 3 mL 无水 DMF 中，加入 DIEA(0.092 mL, 0.559 mmol)和 HATU(142 mg, 0.374 mmol)，室温搅拌 2 小时，LCMS 显示反应完全。加入水，乙酸乙酯萃取三次后、有机相合并用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩后得粗品。用正相硅胶柱(MeOH/DCM,0%到 10%)进行纯化，得 170mg。MS(+)=1345.7。

57-4 的合成

将化合物 57-3 (150 mg, 0.112 mmol)溶于 3mL 无水 DCM 中，TFA (0.6mL)加入反应液，室温搅拌 2 小时。浓缩得 150mg 粗品，直接用于下一步反应。MS(+)=1289.5。

LD-57 的合成

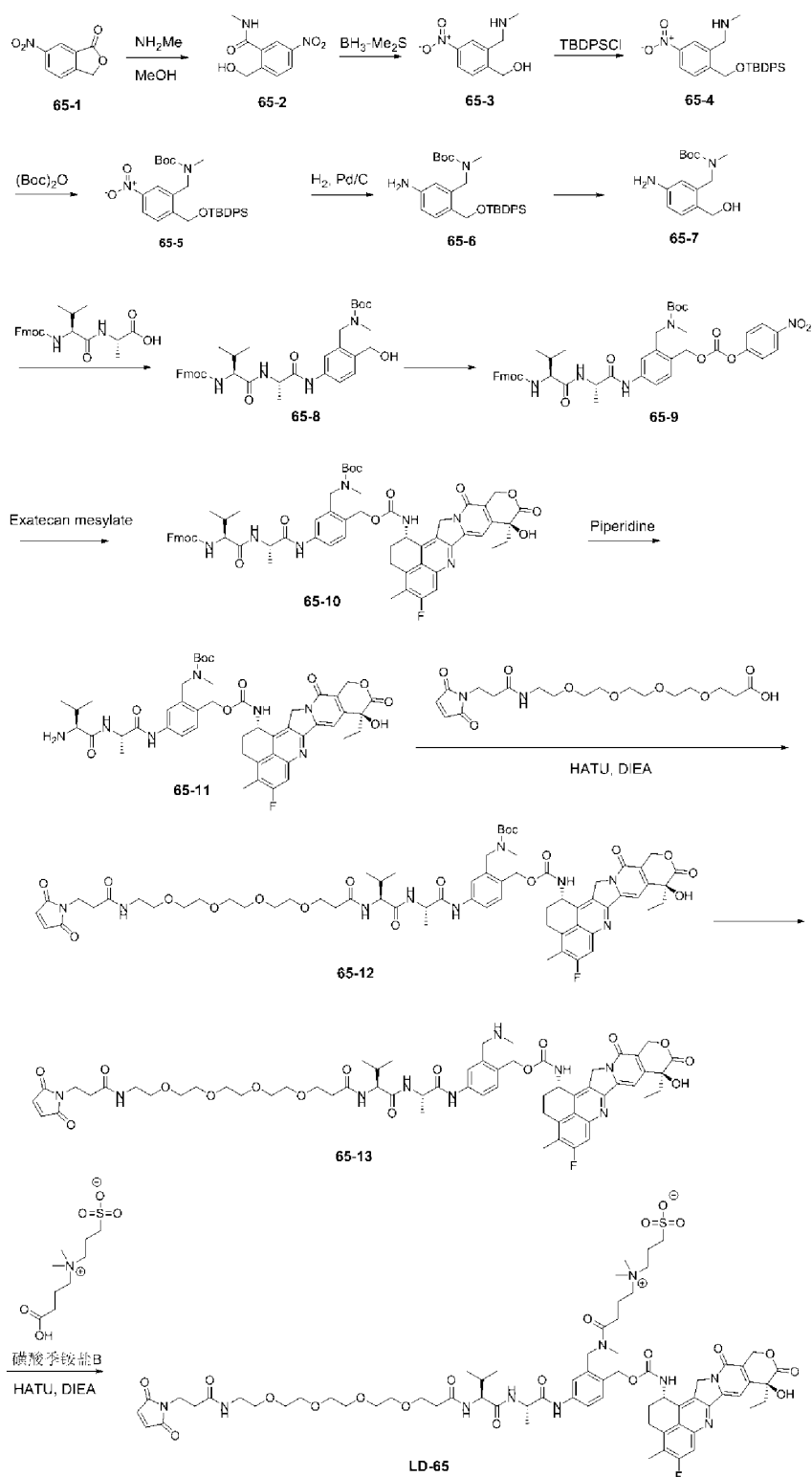
将化合物 57-4(143 mg, 0.111 mmol)和磺酸季铵盐 A (70 mg, 0.333mmol, CAS 号: 78276-19-4, 上海皓元医药股份有限公司提供，合成方法参考 WO2011146595A2) 溶于 2 mL 无水 DMF 中，加入 DIEA(0.092 mL, 0.554 mmol)和 HATU(126.5 mg, 0.333 mmol)，室温搅拌 3 小时，LCMS 显示反应完全。反相制备(流动相含 0.1%甲酸)进行纯化，得白色固体 30 mg。

LCMS:m/z(ES+)(M+H)+=1481.2, Rt=1.475 min

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.89 (s, 1H), 8.40 – 8.03 (m, 3H), 7.92 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.63 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 7.34 – 7.13 (m, 8H), 7.02 (s, 2H), 5.06-5.10 (m, 3H), 4.85 – 3.92 (m, 10H), 3.63 – 3.43 (m, 9H), 3.30 – 2.97 (m, 18H), 2.89 (d, J = 14.4 Hz, 3H), 2.37 – 1.68 (m, 17H), 1.61 – 1.45 (m, 6H), 1.40 – 0.70 (m, 36H)。

实施例 7(LD-65 的制备)

LD-67 的合成路线如下：



65-2 的合成

将化合物 65-1 (500 mg, 2.791 mmol)溶于 5mL 甲醇,加入甲胺甲醇溶液(1.73g, 55.825 mmol)。室温反应 1 小时后,过滤后得粗品。用水洗涤两次,减压干燥得 550mg。MS(+)211.2。

65-3 的合成

将化合物 65-2 (500 mg, 2.379 mmol)溶于 50mL 无水 THF 中, 冰浴下缓慢滴加 $\text{BH}_3\text{-Me}_2\text{S}$ (457mg, 5.947 mmol) (10.0 M in THF) 。回流 5 小时后, LCMS 显示反应完全, 4M HCl (12 mL) 甲醇溶液冰浴下加入反应液, 65 度加热继续反应 8 小时。过滤减压干燥得 350mg。MS(+)=197.08。

65-4 的合成

将化合物 65-3(350mg 粗品)和咪唑(485.77mg, 7.135 mmol)溶于 5 mL 无水 DCM 中, 0 度下加入 TBDPS-Cl (735.44mg, 2.676 mmol) , 搅拌 2 小时, LCMS 显示反应完全。加入水, 乙酸乙酯萃取三次后、有机相合并用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩后得粗品。用正相硅胶柱(EA/PE,10%到 50%)进行纯化, 得 710 mg。MS(+)=435.20。

65-5 的合成

将化合物 64-4 (1.5 g, 3.451 mmol)和 DMAP (0.21 g, 1.726 mmol)溶于 DCM (20 mL), 加入 $(\text{BOC})_2\text{O}$ (1.51 g, 6.903 mmol)并搅拌 2 小时。加入水, 乙酸乙酯萃取三次后、有机相合并用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩后得粗品。用正相硅胶柱(EA/PE,10%到 50%)进行纯化, 得 1.87g。MS+Na(+)=557.3。

65-6 的合成

将化合物 65-5 (1.7 g, 3.179 mmol)和 Pd/C 5% (0.15 g, 1.410 mmol)溶于 EA (30 mL), 反应液在氢气气氛下搅拌 16 小时, 过滤旋干得 1.7g。MS+Na(+)=527.6。

65-7 的合成

将化合物 65-6 (350 mg, 0.693 mmol)溶于无水 THF (4 mL), 加入 TBAF(1.387 mL, 1.387 mmol)并在室温下搅拌 4 小时。反应液旋干并正相硅胶柱(MeOH/DCM, 0%到 10%)纯化得 170mg。MS+Na(+)=289.2。

65-8 的合成

将化合物 65-7 (170 mg, 0.638 mmol)、Fmoc-L-缬氨酰-L-丙氨酸 (392.99 mg, 0.957 mmol)和 EEDQ (236.48 mg, 0.957mmol)溶于 2mLDCM 和 1mL 甲醇中, 室温搅拌 16 小时。反应液旋干并正相硅胶柱(MeOH/DCM,0%到 10%)纯化得 367mg。MS(+)+Na(+)=681.4。

65-9 的合成

将化合物 65-9 (367 mg, 0.557 mmol)、二(对硝基苯)碳酸酯(224.57 mg, 1.114 mmol)和吡啶 (0.090 mL, 1.114 mmol)溶于 5mLTHF 中, 室温搅拌 16 小时。LCMS 显示反应完全。加入水, 乙酸乙酯萃取三次后、有机相合并用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩后得粗品。用正相硅胶柱(MeOH/DCM,0%到 10%)进行纯化, 得 380 mg。MS(+)+Na(+)=846.4。

65-10 的合成

将化合物 65-9(350 mg, 0.425 mmol), DMAP (5.19 mg, 0.043 mmol)和依喜替康甲磺酸盐(248.50 mg, 0.468 mmol)溶于 2mL 无水 DMF 中, 室温反应 2 小时后, 加入水, 乙酸乙酯萃取三次后、有机相合并用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩后得粗

品。用正相硅胶柱(MeOH/DCM,0%到 10%)进行纯化,得 350 mg。MS(+)=1120.6。

65-11 的合成

将化合物 65-10 (350 mg, 0.312 mmol)溶于 2mL 无水 DMF 中,室温加入吡啶(0.05mL)并搅拌 2 小时。减压浓缩后 380mg 粗品,直接用于下一步反应。MS(+)=898.41。

65-12 的合成

将化合物 65-11(127.34 mg, 0.306 mmol)溶于 3 mL 无水 DMF 中,加入 HATU (116.28 mg, 0.306 mmol), 室温搅拌五分钟。依次加入 Mal-amido-PEG4-acid (250 mg, 0.278 mmol)和 DIEA (3 mL), 室温继续搅拌 2 小时, LCMS 显示反应完全。加入水, 乙酸乙酯萃取三次后、有机相合并用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩后得粗品。用正相硅胶柱(MeOH/DCM,0%到 10%)进行纯化,得 185mg。MS (+)=1296.6。

65-13 的合成

将化合物 65-12 (40 mg, 0.031 mmol)溶于 3mL DCM 中, 室温加入 0.6mL TFA 并搅拌 2 小时, LCMS 显示反应完全, 减压浓缩后得 37 mg。MS+Na(+)=1218.6。

LD-65 的合成

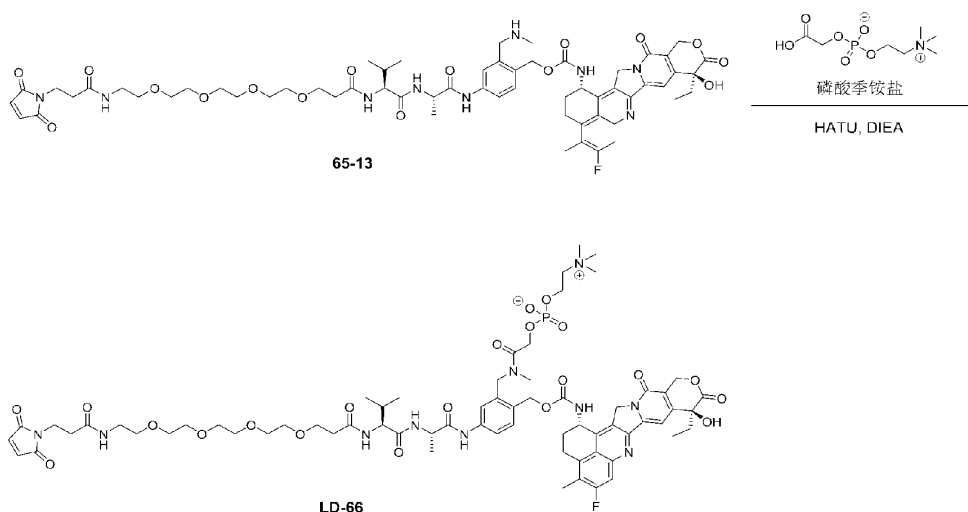
将磺酸季铵盐 B (37 mg, 0.031 mmol, CAS 号: 1349808-80-5, 上海皓元医药股份有限公司提供, 合成方法参考 WO2011146595A2)溶于 2 mL 无水 DMF 中, 加入 HATU (12.94 mg, 0.034 mmol), 室温搅拌五分钟。依次加入化合物 65-13 (11.75 mg, 0.046 mmol)和 DIEA (0.008 mL, 0.046 mmol), 室温继续搅拌 2 小时, LCMS 显示反应完全。用反相制备(流动相含 10 mM NH₄OAc)得白色固体 5.2mg。

LCMS: m/z (ES+) (M+H)⁺ = 1432.6, Rt = 1.285 min

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.2-9.9 (m, 1H), 8.19 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 8.12 – 8.00 (m, 2H), 7.90 – 7.85 (m, 1H), 7.78 (d, J = 10.8 Hz, 1H), 7.39 – 7.30 (m, 3H), 7.00 (s, 2H), 6.52 (s, 1H), 5.44 (d, J = 4.0 Hz, 2H), 5.29 (s, 4H), 5.12 (d, J = 10.8 Hz, 2H), 4.64-4.70 (m, 2H), 4.39 – 4.34 (m, 1H), 4.22 – 4.17 (m, 1H), 3.48-3.47 (m, 16H), 3.04-2.86 (m, 14H), 2.39 – 2.30 (m, 11H), 2.03 – 1.85 (m, 10H), 1.29-1.30 (m, 3H), 0.897-0.817 (m, 9H)。

实施例 8(LD-66 的制备)

LD-66 的合成路线如下:



LD-66 的合成

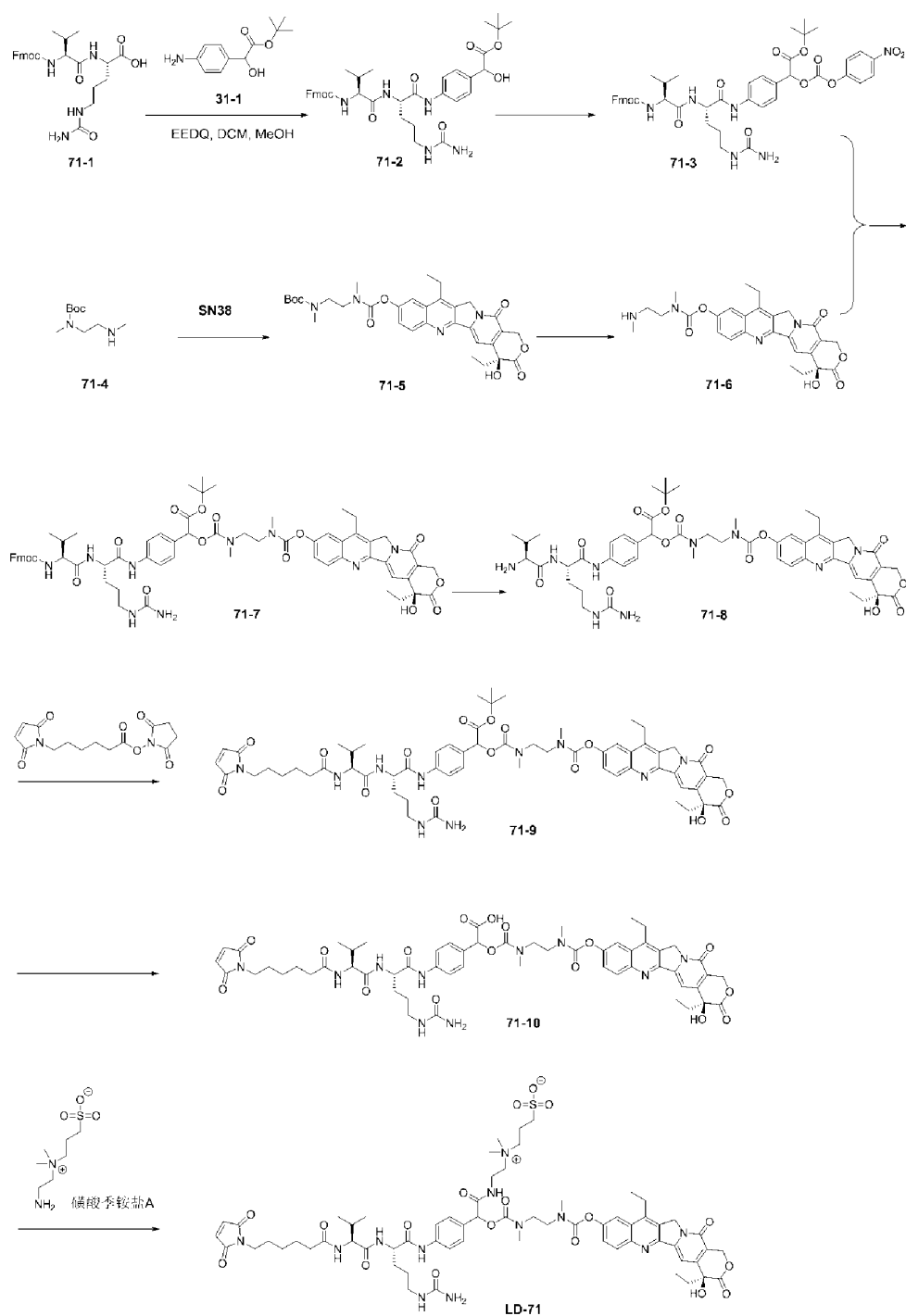
将磷酸季铵盐(8.93 mg, 0.046 mmol, Cas 号: 853798-56-8, 上海皓元医药股份有限公司提供, 合成方法参考 WO2005114193)溶于 2 mL 无水 DMF 中, 加入 DIEA(0.008 mL, 0.046 mmol)和 HATU(12.94 mg, 0.034 mmol), 室温搅拌 5 分钟。加入化合物 65-13 (37 mg, 0.031 mmol)并搅拌 2 小时, LCMS 显示反应完全。反相制备(甲酸)进行纯化, 得白色固体 11.5 mg。

LCMS: m/z (ES⁺) (M+H)⁺ = 1420.6, R_t = 1.246 min

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.11 (s, 1H), 8.23-8.17 (m, 1H), 8.07 – 7.87 (m, 2H), 7.79 – 7.69 (m, 2H), 7.45 – 7.13 (m, 4H), 7.00 (s, 2H), 6.51 (s, 1H), 5.47 – 5.06 (m, 8H), 4.83 (dd, J = 45.6, 17.8 Hz, 1H), 4.59 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 4.48 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 4.37 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 4.21 – 4.09 (m, 4H), 3.49-3.48 (m, 16H), 3.19 – 3.10 (m, 12H), 2.96 (s, 5H), 2.39 – 2.32 (m, 8H), 1.99 – 1.83 (m, 4H), 1.30 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 0.90-0.82 (m, 9H)。

实施例 9(LD-71 的制备)

LD-71 的合成路线如下:



71-2 的合成

将化合物 31-1 (240mg, 1.075 mmol, 其合成可以参考实施例 1) 和化合物 71-1 (267mg, 0.538 mmol, 上海皓元医药股份有限公司提供, 合成方法参考 WO2022058548A1) 溶于 3mL 无水 DCM 和 1.5mL 甲醇中, 加入 EEDQ (266mg, 1.075 mmol)。室温搅拌 3 小时, 固体析出, LCMS 监测反应完全。过滤, 滤饼用 DCM 洗涤三次并减压干燥得 260mg。

MS(+)=702.4。

71-3 的合成

将化合物 71-2(240mg, 0.342 mmol)、二(对硝基苯)碳酸酯 (312.09 mg, 1.026mmol)和 DIEA (0.170 mL, 1.026 mmol) 溶于 5 mL DMF 中, 室温搅拌 16 小时, LCMS 监测反应完全。加入水, 乙酸乙酯萃取三次后、有机相合并用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩后得粗品。用正相硅胶柱(MeOH/DCM,5%到 10%)进行纯化, 得 220mg。MS(+)=867.4。

71-5 的合成

室温氮气保护下, 三光气 (136.1mg, 0.459 mmol)溶于 4mL 无水 DCM, 冰浴下滴加三乙胺(0.128mL, 0.917mol)和 71-4 (172.6mg, 0.917mol)。室温搅拌反应 3 小时后加入吡啶(2mL)、SN38 (120mg, 0.306 mmol)和 DMAP (7.47mg, 0.061mol)。50°C 反应 16 小时, LCMS 监测反应完全。浓缩旋干后用甲叔醚打浆, 过滤得 127mg。MS(+)=607.4。

71-6 的合成

将化合物 71-5 (140 mg, 0.231 mmol)溶于 3mL 无水 DCM 中, 室温加入 0.6mL TFA 并搅拌 2 小时, LCMS 显示反应完全, 减压浓缩后得 116.9mg。MS(+)=507.2。

71-7 的合成

将化合物 71-6(116.9 mg, 0.231 mmol)和化合物 71-3(200 mg, 0.231mmol)溶于 2mL DMSO 和 1mL DMF 中, 依次加入 HOBT(31.17 mg, 0.231 mmol)和 DIEA(59.64mg, 0.461 mmol)。加热 40°C 搅拌 3 小时后, 反应液加入饱和食盐水后得粗品。用正相硅胶柱 (MeOH,0%到 10%)进行纯化, 得 200mg。MS(+)=1234.6。

71-8 的合成

将 100mg 粗品化合物 71-7 溶于 2mL 无水 DMF 中, 室温加入吡啶(0.05mL)并搅拌 2 小时。减压浓缩后, 甲叔醚打浆过滤得 100mg 粗品, 直接用于下一步反应。MS (+)1012.6。

71-9 的合成

将 100mg 粗品化合物 71-8 和 6-(马来酰亚胺基)己酸琥珀酰亚胺酯(43.9mg, 0.142 mmol)溶于 2mL 无水 DMF 中, 加入 DIEA 并室温搅拌 2 小时。反应液加入水, 乙酸乙酯萃取三次后、有机相合并用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩后得粗品。用薄层硅胶板(MeOH/DCM,0%到 10%)进行纯化, 得 60mg。MS(+)=1205.6。

71-10 的合成

将化合物 71-9 (60 mg, 0.05 mmol)溶于 3mL DCM 中, 室温加入 0.3mL TFA 并搅拌 2 小时, LCMS 显示反应完全, 减压浓缩后得 57mg。MS(+)=1149.6。

LD-71 的合成

将化合物 71-10 (57 mg, 0.050 mmol)溶于 2 mL 无水 DMF 中, 加入 HATU (20.76 mg, 0.055 mmol), 室温搅拌五分钟。依次加入磺酸季铵盐 A (15.64 mg, 0.074 mmol, CAS 号: 78276-19-4, 上海皓元医药股份有限公司提供, 合成方法参考 WO2011146595A2)和 DIEA (0.025 mL, 0.149 mmol), 室温继续搅拌 2 小时, LCMS 显示反应完全。用反相制备(流动

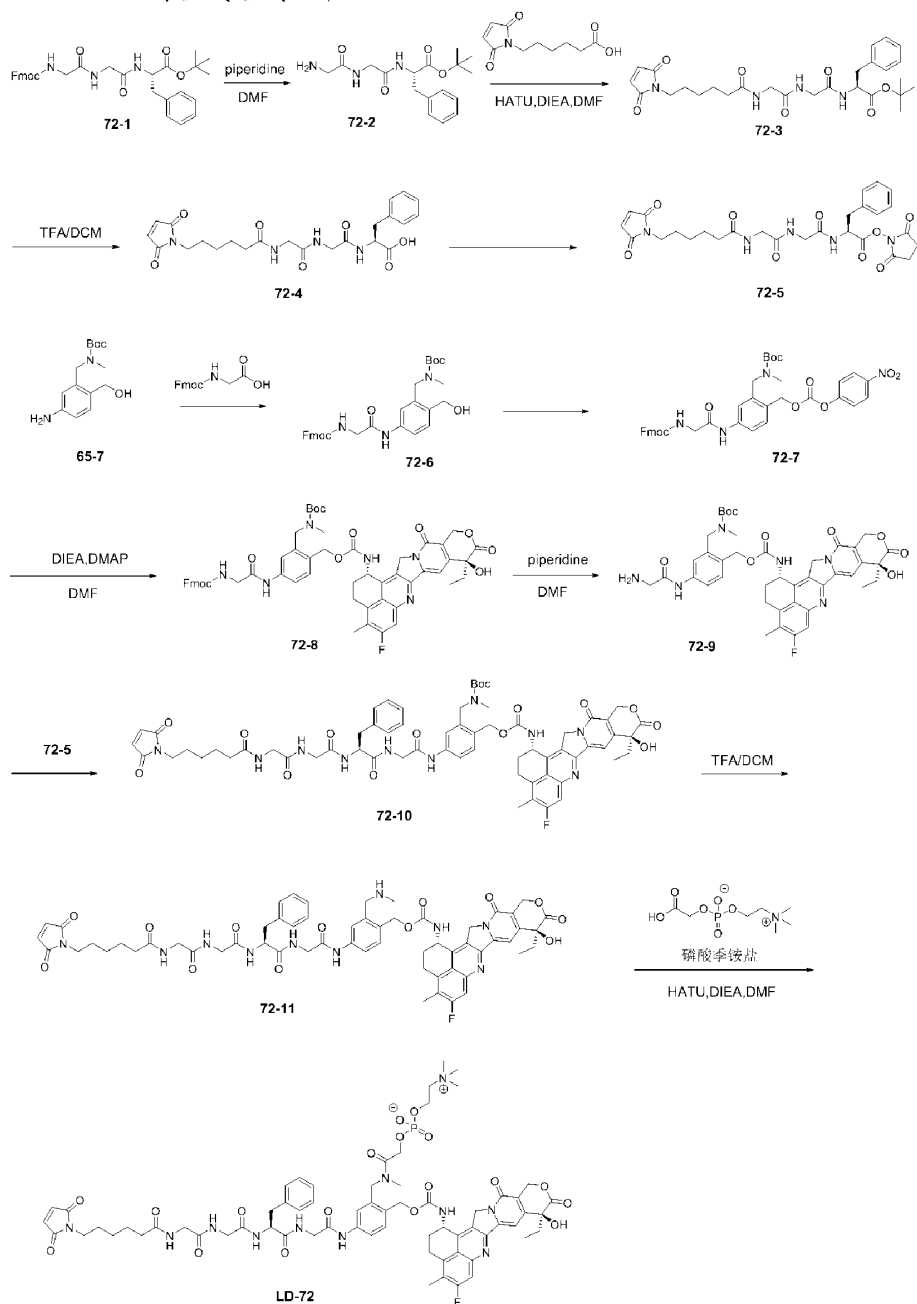
相含 0.1% 甲酸) 得白色固体 24.0 mg。

LCMS: m/z (ES+)(M+H)+=1341.6 ,Rt=1.210 min

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.04-9.96 (m, 1H), 8.45 (s, 1H), 8.185-8.085 (m, 2H), 7.968-7.782 (m, 3H), 7.63 – 7.32 (m, 9H), 6.99 (s, 2H), 6.53 (s, 1H), 5.99 (s, 1H), 5.70 (d, J = 20.6 Hz, 1H), 5.43-5.41 (m, 5H), 5.35 (s, 3H), 4.35-4.25 (m, 1H), 4.19-4.17 (m, 1H), 3.07-2.91 (m, 20H), 1.97 – 1.83 (m, 8H), 1.52 – 1.42 (m, 6H), 1.32 – 1.15 (m, 9H), 0.90-0.82 (m, 9H).

实施例 10(LD-72 的制备)

LD-72 的合成路线如下:



72-2 的合成

将化合物 72-1 (600 mg, 1.076 mmol)溶于 4mL 无水 DMF 中, 加入 0.1mL 哌啶。室温搅拌一个小时, 减压蒸馏并用石油醚打浆得 350mg 粗品。MS+Na(+)=357.9。

72-3 的合成

将化合物 72-2 (360 mg, 1.073 mmol)和 6-马来酰亚胺基己酸 (340 mg, 1.610 mmol)溶于 10 mL 无水 DMF 中, 加入 DIEA (0.532 mL, 3.219 mmol)和 HATU (817 mg, 2.150 mmol), 室温搅拌 2 小时, LCMS 显示反应完全。加入水, 乙酸乙酯萃取三次后、有机相合并用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩后得粗品。用正相硅胶柱 (MeOH/DCM, 0%到 5%)进行纯化, 得 400mg。MS(+)=529.6。

72-4 的合成

将化合物 72-3 (90mg, 0.071 mmol)溶于 3mL 无水 DCM 中, TFA (0.8mL)加入反应液, 室温搅拌 18 小时。浓缩得 80mg 粗品, 直接用于下一步反应。MS(+)=473.5。

72-5 的合成

将化合物 72-4(150 mg, 0.317 mmol)溶于 2mL 加入 HOSu (40.2 mg, 0.349 mmol) 和 EDCI (67.2 mg, 0.351 mmol), 室温搅拌 2 个小时, 减压蒸馏得 160mg 粗品, 直接用于下一步反应。MS(+)=569.8。

72-6 的合成

将化合物 65-7(700 mg, 2.628 mmol)和 Fmoc-甘氨酸 (1.56 g, 5.25mmol)溶于 20mL 无水 THF 中, 加入 EEDQ(780 mg, 3.158 mmol), 室温搅拌 18 小时, LCMS 显示反应完全。加入水, 乙酸乙酯萃取三次后、有机相合并用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩后得粗品。用正相硅胶柱 (MeOH/DCM, 0%到 5%)进行纯化, 得 1000mg。MS+Na(+)=567.8。

72-7 的合成

将化合物 72-6(290 mg, 0.531 mmol)溶于 6mL 无水 THF 中, 依次加入对硝基苯基氯甲酸酯(129 mg, 0.640 mmol)与吡啶(63 mg, 0.797mmol)。室温反应 3 小时后, 反应液加入水, 乙酸乙酯萃取三次后、有机相合并用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩后得粗品。用正相硅胶柱 (MeOH/DCM, 0%到 5%)进行纯化, 得 300mg。MS+Na(+)=732.7。

72-8 的合成

将化合物 72-7(340 mg, 0.478 mmol)和依喜替康甲磺酸盐(254 mg, 0.478mmol)溶于 8mL 无水 DMF 中, 依次加入 DMAP (8mg, 0.025 mmol)与 DIEA (0.237 mL, 1.434 mmol)。室温反应 12 小时后, 反应液加入水, 乙酸乙酯萃取三次后、有机相合并用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩后得粗品。用正相硅胶柱 (MeOH/DCM, 0%到 10%)进行纯化, 得 380mg。MS(+)=1006.7。

72-9 的合成

将化合物 72-8 (300 mg, 0.298 mmol)溶于 3mL 无水 DMF 中, 加入 0.06mL 哌啶。室

温搅拌一个小时，减压蒸馏并用石油醚打浆得 230mg 粗品。MS(+)=785.8。

72-10 的合成

将化合物 72-9 (180 mg, 0.316 mmol) 和化合物 72-5 (207 mg, 0.264 mmol) 溶于 3 mL 无水 DMF 中，加入 DIEA 并室温搅拌 2 小时。反应液加入水，乙酸乙酯萃取三次后、有机相合并用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩后得粗品。用薄层硅胶板 (MeOH/DCM, 0% 到 10%) 进行纯化，得 100mg。MS(+)=1240.8。

72-11 的合成

将化合物 71-10 (90mg, 0.071 mmol) 溶于 3 mL 无水 DCM 中，TFA (0.3 mL) 加入反应液，室温搅拌 1 小时。浓缩得 36mg 粗品，直接用于下一步反应。MS(+)=1138.6。

LD-72 的合成

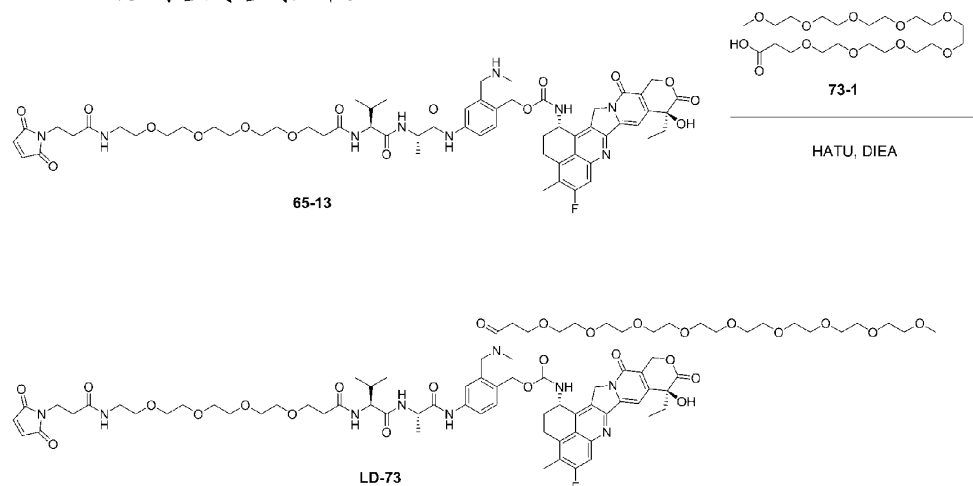
将化合物 71-11 (36mg, 粗品) 和磷酸季铵盐 (11.4 mg, 0.047 mmol, Cas 号: 853798-56-8, 上海皓元医药股份有限公司提供，合成方法参考 WO2005114193) 溶于 3 mL 无水 DMF 中，加入 DIEA (0.015 mL, 0.093 mmol) 和 HATU (24 mg, 0.032 mmol)，室温搅拌 3 小时，LCMS 显示反应完全。反相制备 (流动相含 10 mM NH₄OAc) 进行纯化，得白色固体 15 mg。

LCMS: m/z (ES⁺) (M+H)⁺ = 1361.5, Rt = 1.114 min

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.01 (d, J = 12 Hz, 1H), 9.04 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.40 (s, 2H), 8.27 – 8.07 (m, 3H), 7.79 – 7.60 (m, 2H), 7.48 – 7.11 (m, 9H), 6.99 (s, 2H), 6.52 (s, 1H), 5.57 – 5.00 (m, 8H), 4.94 – 4.37 (m, 5H), 4.25 – 4.09 (m, 2H), 3.99 – 3.48 (m, 10H), 3.08 (d, J = 13.6 Hz, 7H), 2.94 (d, J = 13.2 Hz, 9H), 2.40 – 2.33 (m, 3H), 2.19 – 2.07 (m, 4H), 1.91 – 1.81 (m, 2H), 1.52 – 1.41 (m, 4H), 1.33 – 1.00 (m, 3H), 0.88 (t, J = 7.2 Hz, 3H)。

实施例 11 (LD-73 的制备)

LD-73 的合成路线如下：



LD-73 的合成

将化合物 73-1 (25.19 mg, 0.055 mmol) 和 HATU (20.98 mg, 0.055 mmol) 溶于 2 mL 无水

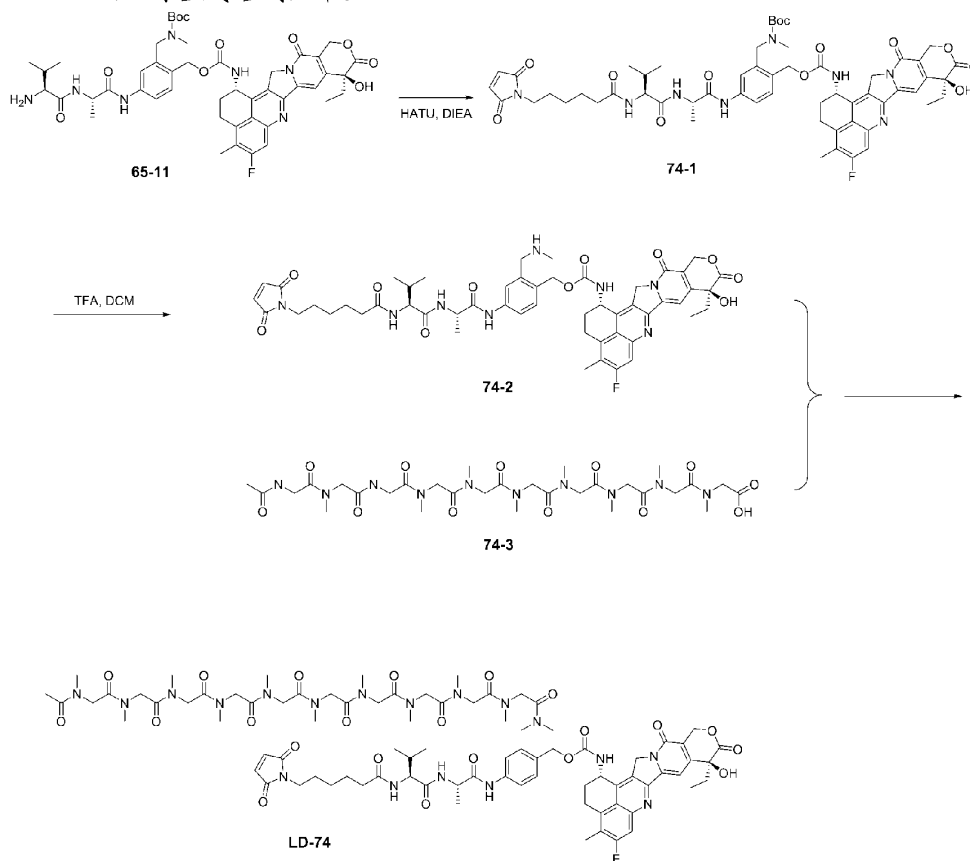
DMF 中。室温搅拌 5 分钟后,依次加入化合物 65-13 (60 mg, 0.050 mmol)和 DIEA(0.008 mL, 0.075 mmol)。两个小时后 LCMS 监测反应完全,反应体系直接进行反相制备(流动相含 0.1% 甲酸)得白色固体 19 mg。

LCMS: m/z (ES⁺) (M+H)⁺ = 1634.8, R_t = 1.392 min

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.96 (d, J = 40.0 Hz, 1H), 8.17 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.78 (d, J = 10.8 Hz, 2H), 7.62 (s, 1H), 7.38 – 7.26 (m, 4H), 6.99 (s, 2H), 6.52 (s, 1H), 5.44 (s, 3H), 5.29 (s, 5H), 5.13-5.10 (m, 3H), 4.67 (s, 1H), 4.58 (s, 1H), 4.36 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 4.22-4.19 (m, 1H), 3.66 – 3.55 (m, 10H), 3.52-3.40 (m, 50H), 3.23 (s, 6H), 3.18-3.10 (m, 5H), 1.24 (s, 3H), 0.89-0.81 (m, 9H)。

实施例 12(LD-74 的制备)

LD-74 的合成路线如下:



74-1 的合成

将 6-马来酰亚胺基己酸(18.59 mg, 0.088 mmol)溶于 1 mL 无水 DMF 中,加入 HATU ((33.46 mg, 0.088 mmol), 室温搅拌五分钟。依次加入化合物 65-11 (72.11 mg, 0.080 mmol) 和 DIEA (0.020 mL), 室温继续搅拌 2 小时, LCMS 显示反应完全。加入水, 乙酸乙酯萃取三次后、有机相合并用饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩后得粗品。用正相硅胶柱(MeOH/DCM, 0%到 10%)进行纯化, 得 80mg。MS (+)1091.6。

74-2 的合成

将化合物 74-1 (65 mg, 0.073 mmol) 溶于 3 mL DCM 中, 室温加入 0.6 mL TFA 并搅拌 2 小时, LCMS 显示反应完全, 减压浓缩后得 65 mg。MS (+)=991.4。

LD-74 的合成

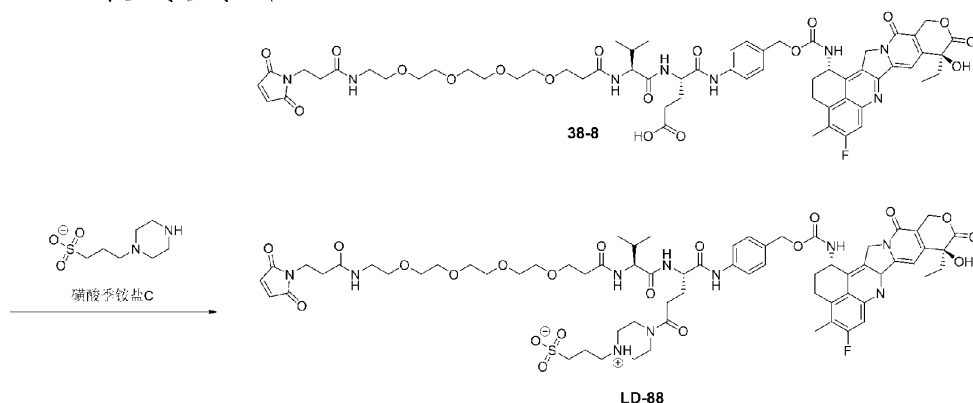
将化合物 74-3 (20.00 mg, 0.026 mmol, 购于上海皓元医药股份有限公司, 合成方法参考 WO2022228493) 溶于 1 mL 无水 DMF 中, 加入 HATU (10.85 mg, 0.029 mmol), 室温搅拌五分钟。依次加入化合物 74-2 (25.71 mg, 0.026 mmol) 和 DIEA (0.008 mL, 0.046 mmol), 室温继续搅拌 2 小时, LCMS 显示反应完全。反应液用反相制备(流动相含 10 mM NH₄OAc)得白色固体 9.5 mg。

LCMS: m/z (ES+) (M+H)⁺ = 1743.9, Rt = 1.325 min

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.79 (d, J = 10.9 Hz, 2H), 7.31 (s, 1H), 6.99 (s, 2H), 6.52 (s, 1H), 5.45 (s, 2H), 5.28 (s, 3H), 5.12 (s, 2H), 4.33-4.04 (m, 26H), 2.98 – 2.66 (m, 45H), 1.90 (m, 7H), 1.49-1.47 (m, 5H), 1.31 – 1.15 (m, 7H), 0.89-0.81 (m, 9H)。

实施例 13(LD-88 的制备)

LD-88 的合成路线如下:



LD-88 的合成

将化合物 38-8 (50 mg, 0.041 mmol, 其合成方法可参考实施例 3) 和磷酸季铵盐 C (16.34 mg, 0.078 mmol, CN115521998, 上海皓元医药股份有限公司) 溶于 2 mL 无水 DMF 中, 加入 DIEA (0.010 mL, 0.062 mmol) 和 HATU (17.27 mg, 0.045 mmol), 室温搅拌 2 小时, LCMS 显示反应完全。反应液直接进行反相制备(三氟乙酸)进行纯化, 得淡黄色固体 LD-88 (10.0 mg, 17.28% yield)。

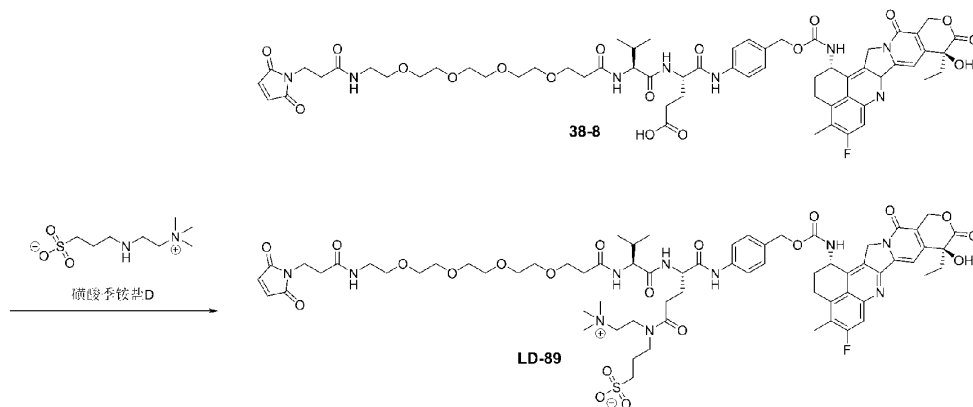
LCMS: m/z (ES+) (M+H)⁺ = 1402.6, Rt = 1.303 min

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.06 (s, 1H), 9.95 (s, 1H), 8.19 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 8.10-8.00 (m, 2H), 7.91 (d, J = 8 Hz, 1H), 7.79 (d, J = 10.8 Hz, 1H), 7.61 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.38 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.32 (s, 1H), 7.00 (s, 2H), 6.53 (s, 1H), 5.45 (s, 2H), 5.29 (s, 3H), 5.09 (s, 2H), 4.45-4.41 (m, 2H), 4.20-3.99 (m, 2H), 3.62-3.57 (m, 4H), 3.51-3.47 (m, 14H), 3.19-3.13 (m, 5H), 2.67 (dt, J = 9.2, 4.4 Hz, 4H), 2.39 (s, 5H), 2.36-2.31 (m, 5H), 2.19 (s, 3H),

2.06-1.82 (m, 10H), 0.90-0.84 (m, 9H)。

实施例 14(LD-89 的制备)

LD-89 的合成路线如下:



LD-89 的合成

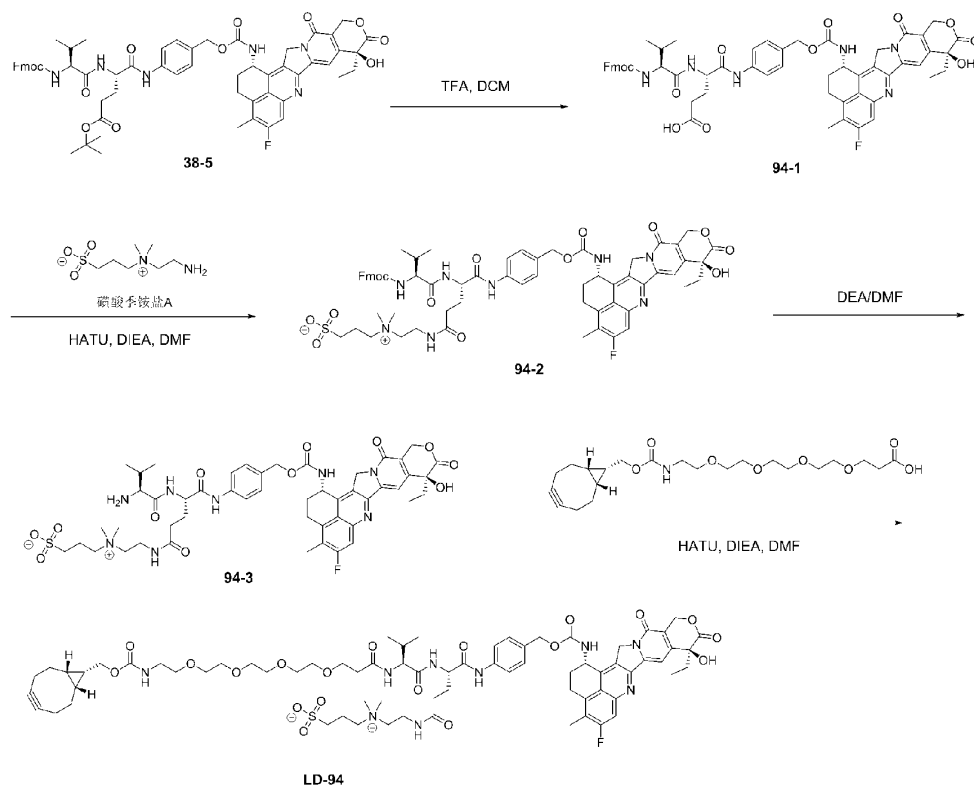
将化合物 38-8(50mg, 0.041mmol, 其合成方法可参考实施例 3)和磺酸季铵盐 D (17.58mg, 0.078mmol, Bioconjugate Chem. 2022, 33,718-725, 上海皓元医药股份有限公司) 溶于 2mL 无水 DMF 中, 加入 DIEA(0.010 mL, 0.062 mmol)和 HATU(17.27mg, 0.045mmol), 室温搅拌 2 小时, LCMS 显示反应完全。反应液直接进行反相制备(甲酸)进行纯化, 得白色固体 LD-89 (5.4 mg, 10.06% yield)。

LCMS: m/z (ES⁺) (M+H)⁺ = 1418.6, R_t = 1.288 min

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.86 (s, 1H), 8.11 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 8.01 – 7.89 (m, 3H), 7.71 (d, J = 10.8 Hz, 1H), 7.55 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.30 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.24 (s, 1H), 6.93 (s, 2H), 6.45 (s, 1H), 5.38 (s, 2H), 5.22 (d, J = 4.0 Hz, 3H), 5.01 (s, 2H), 4.35 – 4.30 (m, 1H), 4.15-4.12 (m, 1H), 3.52 (s, 8H), 3.42 (d, J = 3.6 Hz, 17H), 3.25 (s, 5H), 3.09 – 2.99 (m, 14H), 2.31 (s, 4H), 2.26 (d, J = 7.2 Hz, 3H), 2.16-2.07 (m, 2H), 1.88-1.82 (m, 8H), 0.82-0.76 (m, 9H)。

实施例 15(LD-94 的制备)

LD-94 的合成路线如下:



化合物 94-1 的合成

化合物 38-5 (450 mg, 0.412 mmol, 其合成方法可实施例 3) 加入到二氯甲烷(5 mL)中后向体系内滴加三氟乙酸(1 mL), 混合体系在室温下搅拌 2 小时, 体系直接浓缩拉干后粗品用于下一步, m/z (ES+) (M+1)=1035.4

化合物 94-2 的合成

化合物 94-1 (400 mg, 0.386 mmol), 磺酸季铵盐 A (121.90 mg, 0.580 mmol) 和 DIEA (74.91 mg, 0.580 mmol) 溶解于 DMF (4 mL) 中, 混合体系在室温下搅拌 5 分钟后加入 HATU (161.63 mg, 0.425 mmol), 反应体系在室温下搅拌 4 小时后通过反相柱纯化(水: 乙腈从 0% 到 70%) 得 170 mg, m/z (ES+) (M+1)=1227.6。

化合物 94-3 的合成

化合物 94-2 (70 mg, 0.057 mmol) 溶解于 DMF (1 mL) 中, 向体系滴加二乙胺(14.30 mg, 0.196 mmol), 混合体系在室温下搅拌 2 小时后将体系浓缩拉干, 用石油醚打浆后过滤, 滤饼干燥后直接用于下一步, m/z (ES+) (M+1)=1005.6。

LD-94 的合成

化合物 94 (55 mg, 0.055 mmol), BCN-PEG4-acid (cas 号: 1881221-47-1, 24.16 mg, 0.055 mmol) 和 DIEA (0.011 mL, 0.067 mmol) 溶解于 DMF (2 mL) 中, 室温搅拌 5 分钟后加入 HATU (18.73 mg, 0.049 mmol), 混合体系在室温下反应 2 小时后, 产物通过 Prep-HPLC

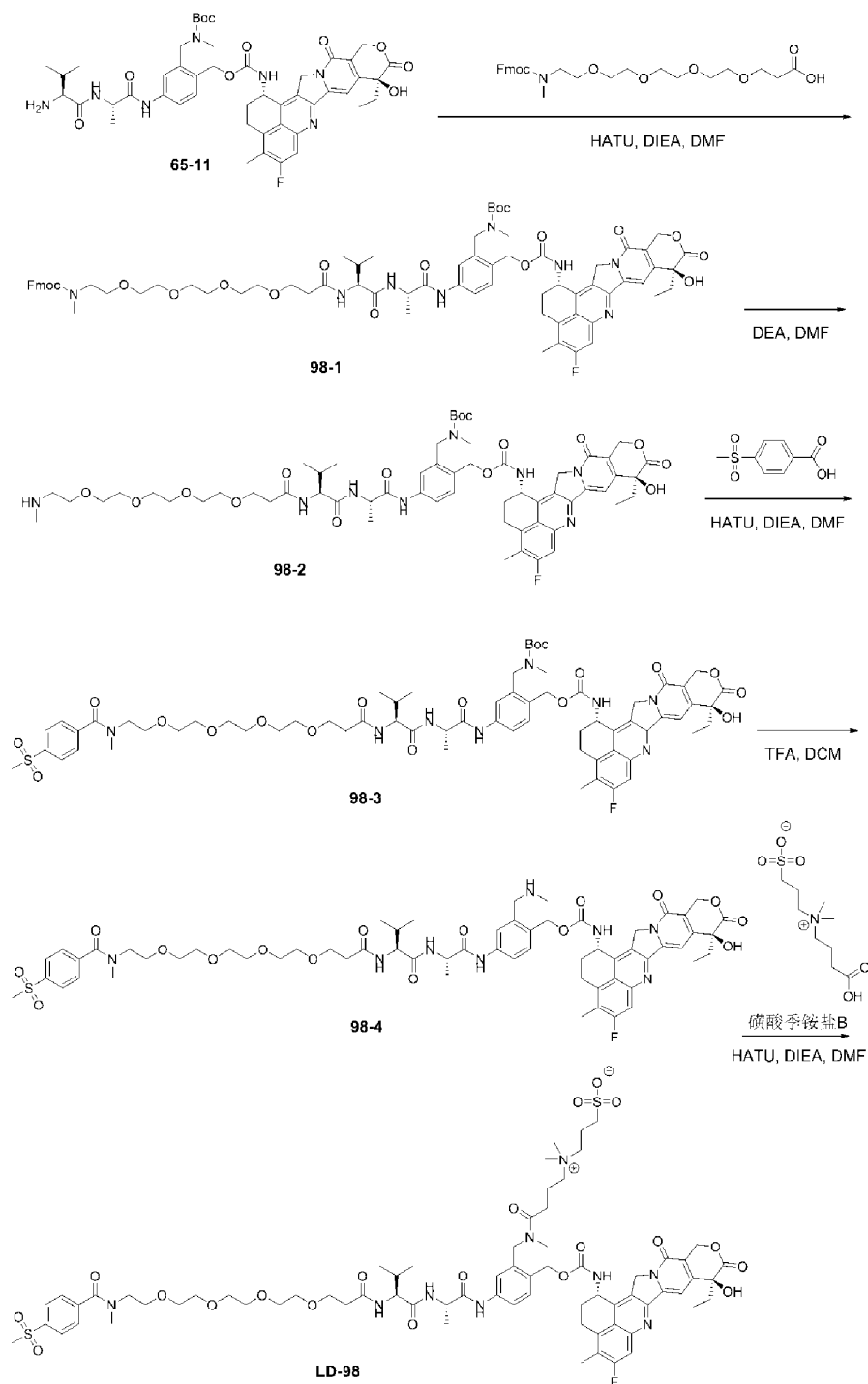
(NH_4HCO_3 体系)得到 LD-94 (6 mg, 收率: 7.68%)。

LCMS: m/z (ES+) $(\text{M}+\text{H})^+ = 1427.6$, $R_t = 1.721$ min.

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.90 (s, 1H), 8.19 (s, 2H), 8.09 – 8.05 (m, 1H), 8.00 – 7.96 (m, 1H), 7.79 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 7.63 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.37 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.31 (s, 1H), 6.53 (s, 1H), 5.45 (s, 1H), 5.29 (s, 3H), 5.08 (s, 2H), 4.19 – 4.15 (m, 1H), 4.02 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 3.62 – 3.58 (m, 2H), 3.50 – 3.47 (m, 16H), 3.10 (s, 2H), 3.04 – 3.02 (m, 7H), 2.69 – 2.66 (m, 4H), 2.40 – 2.36 (m, 5H), 2.34 – 2.32 (m, 4H), 2.22 – 2.15 (m, 9H), 1.99 (s, 4H), 1.92 – 1.86 (m, 3H), 1.55 – 1.46 (m, 2H), 1.23 (s, 2H), 0.90 – 0.83 (m, 14H).

实施例 16(LD-98 的制备)

LD-98 的合成路线如下:



化合物 98-1 的合成

将化合物 65-11 (120 mg, 0.134 mmol, 其合成方法可参考实施例 5) 和 Fmoc-NMe-PEG4-C2-Acid (cas 号: 2170240-98-7, 67.0 mg, 0.134 mmol) 溶于 DMF (2 mL) 依次加入 HATU (55.9 mg, 0.147 mmol, 1.1 eq) 和 N,N-二异丙基乙基胺 (26 mg, 0.200

mmol, 1.5 eq), 室温搅拌 2 小时。将反应液减压浓缩, 残留物通过硅胶柱层析 (DCM: MeOH, MeOH 为 0 至 10%) 纯化, 得 100 mg, m/z (ES+) (M+1)=1381.6。

化合物 98-2 的合成

将化合物 98-1 (100 mg, 0.072 mmol) 溶于 DMF (2 mL) 中, 加入二乙胺 (15.88 mg, 0.217 mmol), 在室温下搅拌 2 小时。将混合物在减压浓缩, 得到粗品 100 mg, m/z (ES+) (M+1)=1159.6。

化合物 98-3 的合成

将化合物 98-2 (80 mg, 0.069 mmol) 和 4-甲磺基苯甲酸 (13.95 mg, 0.069 mmol) 溶于 DMF (2 mL) 依次加入 HATU (28.86 mg, 0.076 mmol) 和 DIPEA (13.38 mg, 0.104 mmol), 室温搅拌 2 小时。将混合物减压浓缩, 残余物用反相色谱柱 (C18, 20-60% 乙腈-H₂O 溶液) 纯化, 得 26 mg 黄色固体, m/z (ES+) (M+1)=1343.49。

化合物 98-4 的合成

将化合物 98-3 (25 mg, 0.019 mmol) 溶于 DCM (2 mL) 加入 TFA (0.4 mL), 反应液在室温下搅拌 2 小时。将混合物减压浓缩以获得粗品化合物 18 (23 mg), 直接用于下一步反应, m/z (ES+) (M+1)=1243.4。

LD-98 的合成

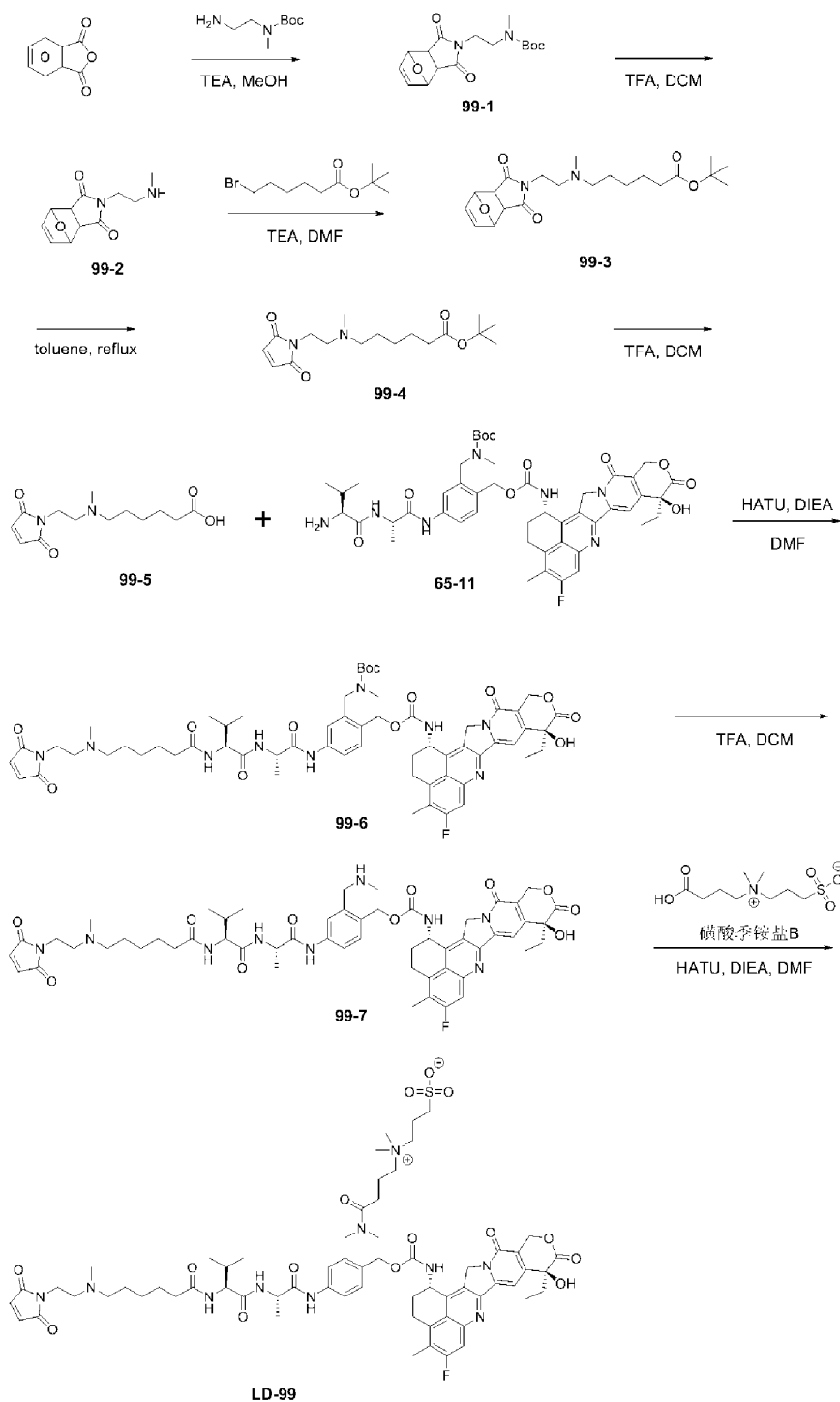
将化合物 98-4 (23 mg, 0.018 mmol) 和磺酸季铵盐 B (7.03 mg, 0.028 mmol) 溶于 DMF (1 mL) 依次加入 HATU (7.74 mg, 0.020 mmol) 和 DIPEA (3.59 mg, 0.028 mmol), 反应液在室温下搅拌 2 小时。将反应体系用 pre-HPLC (TFA) 得到 LD-98 (6 mg, 收率: 22.2%)。

LCMS: m/z (ES+) (M+H)⁺ = 1479.6, Rt = 1.340 min.

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.97 (d, J = 40.2 Hz, 1H), 9.14 (d, J = 12.0 Hz, 2H), 8.19 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 8.06 (d, J = 9.4 Hz, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.78 (d, J = 11.2 Hz, 1H), 7.64 (dd, J = 49.2, 8.4 Hz, 1H), 7.33 (d, J = 12.4 Hz, 2H), 6.52 (s, 1H), 5.44 (d, J = 4.0 Hz, 2H), 5.30 (s, 3H), 5.12 (d, J = 10.8 Hz, 2H), 4.64 (d, J = 26.4 Hz, 2H), 4.36 (dd, J = 13.6, 6.8 Hz, 1H), 4.23 – 4.14 (m, 1H), 3.65 (s, 1H), 3.59 – 3.54 (m, 3H), 3.51 – 3.46 (m, 15H), 3.43 (s, 4H), 3.03 (d, J = 9.2 Hz, 7H), 2.98 (s, 3H), 2.92 (s, 2H), 2.86 (s, 1H), 2.68 – 2.67 (m, 1H), 2.38 (s, 5H), 2.33 (dd, J = 3.6, 1.8 Hz, 2H), 2.20 (s, 2H), 1.98 – 1.83 (m, 8H), 1.31 – 1.23 (m, 4H), 0.89 – 0.81 (m, 10H).

实施例 17(LD-99 的制备)

LD-99 的合成路线如下:



化合物99-1的合成

外-3,6-环氧-1,2,3,6-四氢邻苯二甲酸酐 (CAS号: 6118-51-0, 2g, 12.04 mmol, 1.0 eq) 和N-Boc-N-甲基乙二胺 (CAS号: 121492-06-6, 2.52 g, 14.46 mmol, 1.2 eq) 溶于甲醇 (60 mL), 室温加入三乙胺 (2.43 g, 24.1 mmol, 2.0 eq), 反应液加热至 65°C 反应 48 h。把

反应液浓缩后用乙酸乙酯 (60 mL) 稀释, 用饱和食盐水, 无水硫酸钠干燥, 过滤后浓缩, 柱纯化(石油醚: 乙酸乙酯=1:1)得到3 g白色固体, $m/z(ES^+)(M+H)^+=323.3$ 。

化合物99-2的合成

化合物 99-1 (2.3 g, 7.135 mmol) 溶于二氯甲烷 (20 mL), 冰水浴加入三氟乙酸 (4 mL), 反应液升至室温反应 1 小时。反应液浓缩后得到粗品产物 1.5 g, $m/z(ES^+)(M+H)^+=223.2$ 。

化合物99-3的合成

把化合物 99-2 (1.58 g, 7.11 mmol, 1.0 eq) 和 6-溴己酸叔丁酯 (2.14 g, 8.52 mmol, 1.2 eq) 溶于 DMF (10 mL), 室温反应 72 小时。反应液浓缩后柱纯化(石油醚: 乙酸乙酯=3:1)得到目标产物 2.5 g, $m/z(ES^+)(M+Na)^+=393.2$ 。

化合物99-4的合成

化合物 99-3 (1.5 g, 3.822 mmol) 溶于甲苯(15 mL), 加热至 110°C 反应 18 小时。反应液浓缩得到目标产物 1 g 黄色油状物, $m/z(ES^+)(M+H)^+=325.2$ 。

化合物99-5的合成

化合物 99-4 (100 mg, 0.308 mmol) 溶于二氯甲烷(2 mL), 加入三氟乙酸(0.7 mL), 室温搅拌 1 小时。反应液浓缩后得到粗品产物 82 mg 为黄色油状物, $m/z(ES^+)(M+H)^+=269.2$ 。

化合物99-6的合成

化合物 65-11 (88 mg, 0.098 mmol, 1.0 eq) 和化合物 99-5 (78.8 mg, 0.294 mmol, 3.0 eq)溶于 DMF (3 mL), 依次加入 HATU (112 mg, 0.294 mmol, 3.0 eq) 和二异丙基乙基胺 (0.081 mL, 0.489 mmol, 5.0 eq), 室温反应 2 小时。反应液过滤后用反向柱纯化得到 80 mg 黄色固体, $m/z(ES^+)(M+H)^+=1147.7$ 。

化合物99-7的合成

化合物 99-6 (80 mg, 0.070 mmol)溶于二氯甲烷(3 mL), 滴加三氟乙酸(0.3 mL), 室温搅拌 1 小时。反应液浓缩后得粗品 73 mg 为黄色油状物, $m/z(ES^+)(M+H)^+=1047.6$ 。

LD-99的合成

把化合物 99-7 (73 mg, 0.070 mmol, 1.0 eq) 和磺酸季铵盐 B (35 mg, 0.14 mmol, 2.0 eq) 溶于 DMF (2 mL), 依次加入 HATU (53 mg, 0.14 mmol, 2.0 eq) 和 N,N-二异丙基乙基胺 (0.058 mL, 0.35 mmol, 5.0 eq), 反应液室温搅拌 1 小时。把反应液过滤后制备纯化后得 9.2 mg 白色固体。

LCMS: $m/z(ES^+)(M+H)^+=1284.6$, $R_t=1.217$ min

1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.01 (d, $J=38.5$ Hz, 1H), 9.24 (s, 1H), 8.26 – 8.16 (m, 1H), 8.13 – 8.01 (m, 1H), 7.80 (t, $J=9.2$ Hz, 2H), 7.64 (dd, $J=47.3, 8.1$ Hz, 1H), 7.41 – 7.31 (m, 3H), 7.17 (s, 1H), 7.10 (d, $J=4.1$ Hz, 2H), 6.54 (s, 1H), 5.44 (d, $J=4.0$ Hz, 2H), 5.29 (s, 3H), 5.13 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 4.64 (d, $J=27.5$ Hz, 2H), 4.36 (d, $J=7.5$ Hz, 1H), 4.22 – 4.16 (m, 1H), 3.77 (s, 2H), 3.22 (s, 2H), 3.05 (s, 5H), 2.99 (d, $J=3.8$ Hz, 4H), 2.94 (s, 2H), 2.87 (s, 2H), 2.81 (s, 4H), 2.36 (d, $J=18.7$ Hz, 5H), 2.19 (dd, $J=13.7, 7.2$ Hz, 5H), 2.06 – 1.84 (m,

9H), 1.53 (s, 5H), 1.34 – 1.21 (m, 7H), 0.89 – 0.83 (m, 9H)。

试验例 18(式(2)化合物的制备)

偶联方法 1(全还原, 药物抗体比为 8)

使用超滤离心管将抗体换液至 pH 7.4 磷酸缓冲液中, 加入 10-15 倍于抗体摩尔分子数的 TCEP, 37℃ 反应 2h 以打开抗体链间二硫键。还原结束后, 使用超滤离心管将抗体换液至 pH 7.4 磷酸缓冲液中以去除过量的 TCEP, 分别加入 12-20 倍于抗体摩尔分子数的 Linker-Drug(实施例 1-实施例 5、实施例 7-实施例 17 制备的的式(1)化合物、化合物 MC-GGFG-Exatecan, 化合物 MC-GGFG-Dxd 以及化合物 ELC122)中, 室温下反应 1h。反应结束后, 加入 2 倍于 Linker-Drug 的摩尔分子数的半胱氨酸淬灭反应, 使用超滤离心管换液至 pH 5.5 醋酸缓冲液中。换液后的抗体药物偶联物样品使用 0.22 微米除菌过滤器过滤后备用。

偶联方法 2(部分还原, 药物抗体比为 4)

使用超滤离心管将抗体换液至 pH 7.4 磷酸缓冲液中, 加入 2.2-2.3 倍于抗体摩尔分子数的 TCEP, 37℃ 反应 2h 以打开抗体链间二硫键。还原结束后, 加入 6-8 倍于抗体摩尔分子数的 Linker-Drug(实施例 6 制备的式(1)化合物以及化合物 MC-VC-PAB-MMAE)中, 室温下反应 1h。反应结束后, 加入 2 倍于 Linker-Drug 的摩尔分子数的半胱氨酸淬灭反应, 使用超滤离心管换液至 pH 5.5 醋酸缓冲液中。换液后的抗体药物偶联物样品使用 0.22 微米除菌过滤器过滤后备用。

偶联抗体序列

抗密蛋白 18.2(Claudin18.2) 人源化单克隆抗体 9D1 重链氨基酸序列 SEQ ID NO:1 如下:

QIQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSFTDYHMNWVRQAPGKGLEWIGNIDPYYGSPTYNHKFKGRVTLTVD
TSTSTAYMELSSLRSEDYAVYYCANYGRGNSFPYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

抗密蛋白 18.2(Claudin18.2) 人源化单克隆抗体 9D1 轻链氨基酸序列 SEQ ID NO:2 如下:

DIVMTQSPSSSLAVSLGERATINCKSSQSLNSGNQRNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGT
DFTLTISSLQAEDVAVYYCQNDYSFPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

抗人叶酸受体(FRa)人源化单克隆抗体 Farletuzumab 抗体重链氨基酸序列 SEQ ID NO:3 如下:

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFTFSGYGLSWVRQAPGKGLEWVAMISSGGSYTYADSVKGRFAISRDN
AKNTLFLQMDSLRPEDTGVYFCARHGDDPAWFAYWGQGPVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD
YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

抗人叶酸受体(FRa)人源化单克隆抗体 Farletuzumab 抗体轻链氨基酸序列 SEQ ID NO:4 如下:

DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCSVSSISSNNLHWYQQKPGKAPKRWIYGTSLASGVPSRFSGSGSGTDYFTISLQPEDATYYCQQWS
SYPYMYTFGQGTKEVIEKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS

KDSTYLSSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

抗体药物偶联物色谱分析

分子筛排阻色谱(SEC)分析色谱柱为 Tskgel G3000SWXL(TOSOH, 0008541), 流动相为 0.1 M PB pH7.0, 0.1M NaCl。等度洗脱, 流速 1 mL/min, 柱温 25℃。检测波长为 280 nm 和 366 nm。疏水作用色谱(HIC)分析色谱柱为 Butyl-NPR 4.6 × 100 mm(TOSOH, 0042168), 流动相 A 为 50 mM PB pH7.0, 1.5 M (NH₄)₂SO₄, 流动相 B 为 50 mM PB pH7.0, 20%乙腈。分离梯度为 2-20 分钟由 0%B 变化至 100%B, 柱温 30℃, 流速 0.6 mL/min。检测波长为 280 nm 和 366 nm, 结果如表 1 以及图 1-图 6 所示(图 1 包括图 1A 和图 1B, 图 2 包括图 2A 和图 2B, 图 3 包括图 3A、图 3B、图 3C、图 3D、图 3E、图 3F、图 3G 以及图 3H, 图 4 包括图 4A 和图 4B, 图 5 包括图 5A 和图 5B, 图 6 包括图 6A、图 6B、图 6C、图 6D、图 6E、图 6F、图 6G 以及图 6H)。

表 1 为各试验例以及对比例的分子筛排阻色谱(SEC)和疏水作用色谱(HIC)

试验例	式 1 化合物	抗体	偶联方法	DAR	偶联药物	SEC%	HIC 保留时间 min
1	LD-12	9D1	1	8	Exatecan	98.40	15.489
2	LD-27	9D1	1	8	Exatecan	89.22	15.107
3a	LD-31-P1	9D1	1	8	Exatecan	99.07	13.290
3b	LD-31-P2	9D1	1	8	Exatecan	99.13	13.404
4	LD-37	9D1	1	8	Exatecan	97.50	14.069
5a	LD-38	9D1	1	8	Exatecan	98.02	13.574
5b	LD-38	Farletuzumab	1	8	Exatecan	96.84	13.359
5c	LD-38	IgG1-ISO	1	8	Exatecan	98.24	13.457
6	LD-57	9D1	2	4	MMAE	99.34	16.066
7	LD-65	9D1	1	8	Exatecan	99.28	13.455
8	LD-66	9D1	1	8	Exatecan	99.43	13.167
9	LD-71	9D1	1	8	SN38	99.39	12.928
10	LD-72	9D1	1	8	Exatecan	98.90	13.126
11	LD-73	9D1	1	8	Exatecan	99.53	16.002
12	LD-74	9D1	1	8	Exatecan	99.53	13.583
13	LD-88	9D1	1	1	Exatecan	100.00	14.166
14	LD-89	9D1	1	1	Exatecan	98.00	13.392
15	LD-98	9D1	1	8	Exatecan	98.49	13.228
16	LD-99	9D1	1	8	Exatecan	98.79	13.121
对比例 1	MC-GGFG-Exatecan	9D1	1	8	Exatecan	98.72	15.435
对比例 2	MC-VC-PAB-MMAE	9D1	2	4	MMAE	99.55	16.992
对比例 3	ELC122	9D1	1	8	SN38	100	16.742
对比例 4	MC-GGFG-Dxd (Deruxtecan)	9D1	1	8	Dxd	99.23	15.120

小结: 由表 1 以及图 1-图 6 可知, 采用抗密蛋白 18.2(Claudin18.2)人源化单克隆抗体 9D1(WO2021160155)作为模式抗体与所设计的连接子药物化合物和对照连接子药物化合物进行偶联制备抗体药物偶联物。连接子药物化合物 MC-GGFG-Exatecan(上海皓元生物, 货号 HY-114233)、MC-VC-PAB-MMAE(上海皓元生物, 货号 646502-53-6)和 MC-GGFG-Dxd (Deruxtecan)(上海皓元生物, 货号 HY-13631E)采购获得; LD-74 采用 WO2022228493 合成方法合成获得; ELC122 采用 WO2021225892 合成方法合成获得。

所得 9D1 抗体药物偶联物的分子筛排阻色谱(SEC)分析结果表明抗体药物偶联物 SEC 纯度均大于 97%，无论偶联药物是 Exatecan，SN38 还是 MMAE。对照连接子 LD-27 的抗体药物偶联物纯度仅为 89.22%(表 1)。

9D1 抗体药物偶联物的疏水作用色谱(HIC)分析结果显示，针对毒素 MMAE，SN38 和 Exatecan 设计发明的内盐连接子相对于对照连接子(不包括 LD-74)9D1 抗体药物偶联物的 HIC 保留时间显著缩短。内盐连接子-MMAE 的抗体药物偶联物(此处指的是 LD-57 的抗体药物偶联物)比对照连接子-MMAE(MC-VC-PAB-MMAE)抗体药物偶联物(此处指的是对比例 2 的抗体药物偶联物)主峰(抗体药物偶联比为 4)的保留时间缩短约 1 分钟(16.07 vs 16.99)，且对于抗体药物偶联比升高的组分，保留时间缩短更加明显(表 1，图 4)；内盐连接子-SN38 抗体药物偶联物(LD-71 的抗体药物偶联物)比对照连接子-SN38(ELC122，WO2021225892)抗体药物偶联物(此处指的是对比例 3 的抗体药物偶联物)的保留时间缩短约 4 分钟(12.93 vs 16.74 表 1，图 5)。本申请的内盐连接子-Exatecan 抗体药物偶联物(LD-31、LD-37、LD-38、LD-65、LD-66、LD-72、LD-88、LD-89、LD-98 以及 LD-99 的抗体药物偶联物)的 HIC 保留时间在 13.12~14.17 min 之间，比不含亲水侧链的对照连接子-Exatecan(LD-12, LD-27, MC-GGFG-Exatecan)和 MC-GGFG-Dxd 抗体药物偶联物的保留时间显著缩短，比含聚乙二醇(PEG 9)亲水侧链的 LD-73 抗体药物偶联物的保留时间(16.00 min)也明显缩短，与含聚肌氨酸亲水侧链的 LD-74 抗体药物偶联物的保留时间(13.58 min)相当(表 1，图 6)。有趣的发现是，对于内盐连接子-Exatecan，同一结构内盐在连接子上距离 Exatecan 毒素越近，所对应的抗体药物偶联物 HIC 保留时间越短。譬如对于磺酸内盐连接子-Exatecan，LD-37(磺酸内盐在式(1-1)Z 位置，距离 Exatecan 较远)，对应抗体药物偶联物 HIC 保留时间为 14.07 min，LD-38(磺酸内盐在式(1-1-1)Z 位置)、LD-65(磺酸内盐在式 Z' 位置)和 LD-31(P2)(磺酸内盐在式 Z'' 位置)对应的抗体药物偶联物保留时间分别为 13.57, 13.46 和 13.40 min 明显短于 LD-37 对应的抗体药物偶联物的 14.07 min(表 1，图 6)。

疏水作用色谱显示了抗体药物偶联物的疏水性特征，这种疏水性主要由于偶联药物化合物的疏水性导致，抗体药物疏水性强，在疏水作用色谱上的保留时间延长，抗体药物偶联物的水溶性和稳定性差，在体内也容易被清除。通过内盐连接子的超强的水溶性，能够极大的遮蔽药物化合物的疏水性特征，增强抗体药物偶联物的水溶性和稳定性，缩短在疏水作用色谱上的保留时间。

此外，内盐连接子-Exatecan (LD-38)与抗人叶酸受体(FRa)人源化单克隆抗体 Farletuzumab 和 IgG1 同型对照(上海百英生物，货号 B117901)单克隆抗体的偶联物制备，SEC 纯度>96%，HIC 保留时间约 13 min(表 1)，与对应的 9D1 抗体药物偶联物的保留时间相当。

下述试验例中的 9D1 抗体药物偶联物(即式(2)表示的化合物)都是由试验例 18 制备得到。

试验例 19(药物抗体比值(DAR))

样品处理:

将试验例 5a 制备的 9D1-LD-38 用 0.1M Tris-HCl 将稀释至 1mg/mL，每 100μg 9D1-LD-38 加入 5μL 0.5M DTT，37℃水浴 30min，后加入 1%(v/v)10%TFA 终止反应。

LC-MS 参数:

流动相 A 为 0.10%TFA 和 0.02% FA 水溶液，流动相 B 为 0.08%FA 和 0.02%TFA 乙腈溶液。分离梯度为 2-4 分钟流动相 B 由 20%变化至 32%，4-12 分钟由 32%变化至 45%。流速 0.4mL/min。色谱柱为 BioResolve™ RP mAb Polyphenyl Column (2.7 μm, 2.1 × 150 mm)，柱温 70℃。

质谱为 Thermo Q Exactive Plus，采用正离子模式 Full Scan，喷雾电压 3.8 kV，扫描范围 500-3500 m/z。

RP-HPLC 参数:

流动相 A 为 0.1% TFA 水溶液，流动相 B 为 0.1%TFA 乙腈溶液。分离梯度为 5-25 分钟流动相 B 由 30%变化至 50%。流速 0.6 mL/min。色谱柱为 Proteomix RP-1000 (5 μm, 4.6 × 100 mm)，柱温 60℃。

结果如表 2 以及图 7-9 所示。

表 2 为 9D1-LD-38 LC/MS 的主要组分的理论分子量和检测分子量

组分	理论分子量 (Da)	实测分子量(Da)
LC+1*LD-38	25617.9	25617.6
HC+3*LD-38(G0F)	54610.6	54614.1
	50418.6	
HC+3*LD-38(G1F)	54772.8	54776.3
HC+3*LD-38(G2F)	54934.9	54939.3
HC+3*LD-38(G0)	54464.5	54466.2
HC+3*LD-38(Man5)	54382.4	54385.1

小结：由表 2 以及图 7-9 可知，由于 9D1-LD-38 采用了半胱氨酸偶联，因此对其进行还原态保留糖基化的前处理。结果显示出轻链和重链各有一个主要成分，经质谱分子量鉴定，轻链的主要偶联形式为 1 个 LD-38 分子，重链的主要偶联形式为 3 个 LD-38 分子。分子量去卷积结果见图 7 和图 8 所示，结果显示与理论分子量一致。另外还发现了 LD-38 分子的部分开环以及重链不同偶联数量的异质体存在，通过液相图谱的面积(图 9)图归一化法计算出 9D1-LD-38 的 DAR 值为 7.8，与理论偶联药物抗体比 8 相当。

试验例 20(体外肿瘤细胞杀伤活性)

1、人密蛋白 18.2 阳性 MC38-hClaudin18.2 细胞系

采用前述试验例以及对比比例制备的 9D1 抗体药物偶联物，在稳定表达人密蛋白 18.2 的 MC38 细胞株上进行体外杀伤。MC38-hClaudin18.2 细胞按 3000 个/孔接种 96 孔细胞培养板并培养过夜，次日加入梯度稀释的各 9D1 ADC 继续培养 48~72 小时，利用 AlamarBlue 试剂(ThermoFisher，货号 DAL1100)检测各实验孔的荧光值并计算细胞活力。

MC38-hClaudin18.2 细胞采用含 10%的 FBS 的 RPMI 1640 培养基，并添加 1 μg/mL

嘌呤霉素，在 37℃、5%CO₂ 的培养箱中进行贴壁培养，当细胞汇合度大于 80%时按 1: 10~1: 20 传代，每 3 天传代一次。

采用重组酶消化液(TrypLETM Express Enzyme)消化 MC38-hClaudin18.2 细胞，计数后取适量的细胞用 RPMI 1640+10%FBS 重悬，调整细胞密度为 3 × 10⁴ 个/mL，按 100 μL/孔接种至 96 孔细胞培养板中，置 37℃、5% CO₂ 的培养箱中培养过夜。次日，将测试药物进行 10 倍系列稀释，共稀释 7~8 个浓度点；同时设置样品浓度为 0 的空白对照。稀释后的样品按 100 μL/孔加入含细胞的 96 孔细胞培养板中，置 37℃、5% CO₂ 培养箱中孵育 48~72 小时。每孔加入 20 μL AlamarBlue 检测试剂，37℃孵育 4~6 小时，在多功能酶标仪上以激发波长 560 nm，发射波长 590 nm 检测的荧光信号强度。

设定空白对照的细胞活率为 100%，按下述公式计算实验孔的细胞活率(%)

细胞活率(%)=(实验孔荧光值/空白对照孔荧光值) × 100%

以测得的细胞活率的平均值为纵坐标，选用 Sigmoidal dose-response(Variable Slope) 方式(GraphPad Prism 软件，GraphPad Software, San Diego, California)进行非线性回归，得到细胞增殖的抑制作用曲线，并计算相应的 IC₅₀(Half Maximal Inhibitory Concentration, 半数有效浓度)值。结果见表 3 以及图 10(图 10A、图 10B、图 10C、图 10D、图 10E)。

表 3 为 9D1 抗体药物偶联物及对照抗体药物偶联物在 MC38-hClaudin18.2 细胞上的体外细胞杀伤的半数有效浓度(IC₅₀)

测试样品	IC ₅₀ 值 (nM)
9D1-GGFG-Exatecan	11.03
9D1-LD-12	0.7993
9D1-LD-31-P1	4.353
9D1-LD-31-P2	2.909
9D1-LD-37	0.802
9D1-LD-38	1.362
9D1-LD-65	1.610
9D1-LD-66	1.094
9D1-LD-72	1.085
9D1-LD-73	1.402
9D1-LD-74	2.222
Isotype IgG1-LD-12	NA
Isotype IgG1-LD-38	NA
Exatecan	4.101
9D1-vc-PAB-MMAE	0.407
9D1-LD-57	0.530
MMAE	2.039
Isotype IgG1-vc-PAB-MMAE	41.36

小结：由表 3 以及图 10 可知，针对 Exatecan 毒素，相对于 IgG1 同型对照抗体的药物偶联物(Isotype IgG1-LD-12、Isotype IgG1-LD-38)，9D1 抗体药物偶联物均表现出对 MC38-hClaudin18.2 的特异性杀伤，IC₅₀ 值 0.7~11.03 nM，其中 9D1-GGFG-Exatecan 药效活性最差，IC₅₀ 为 11.03 nM。含有内盐亲水侧链的 9D1 抗体药物偶联物 IC₅₀ 值在 0.8~4.4 nM,除 9D1-LD-31-P1 外,活性均明显强于 Exatecan 小分子毒素(IC₅₀ 值 4.10 nM)。

针对 MMAE 毒素，IgG1 同型对照抗体的药物偶联物(Isotype IgG1-VC-PAB-MMAE)

在 MC38-hClaudin18.2 的 IC50 值为 41.3 nM，9D1 抗体药物偶联物(9D1-vc-PAB-MMAE 和 9D1-LD-57)表现出特异性杀伤，IC50 值分别为 0.41nM 和 0.53 nM。

2、人密蛋白 18.2 阳性 NUGC4-hClaudin18.2 细胞系

稳定表达人密蛋白 18.2 的人胃癌细胞株 NUGC4(NUGC4-hClaudin18.2)细胞采用含 10%的 FBS 的 RPMI 1640 培养基，并添加 1 μg/mL 嘌呤霉素，在 37℃、5%CO₂ 的培养箱中进行贴壁培养，当细胞汇合度大于 80%时按 1:3~1:10 传代，每 3~4 天传代一次。

采用重组酶消化液(TrypLETM Express Enzyme)消化 NUGC4-hClaudin18.2 细胞，计数后取适量的细胞用 RPMI 1640+10%FBS 重悬，调整细胞密度为 3×10⁴ 个/mL，按 100 μL/孔接种至 96 孔细胞培养板中，置于 37℃、5% CO₂ 的培养箱中培养过夜。次日，将 9D1 ADC 和小分子毒素从 1000 nM(终浓度为 500 nM)起进行 5 倍系列稀释，共稀释 7~8 个浓度点；同时设置样品浓度为 0 的阴性对照，和无细胞仅有培养基的空白对照。稀释后的样品按 100 μL/孔(双复孔)加入含细胞的 96 孔细胞培养板中，置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中孵育 120 小时。每孔加入 20 μL CCK-8 检测试剂(东仁化学，货号 CK04)，37℃孵育 3~4 小时，在多功能酶标仪上以测定波长 450 nm，参比波长 630 nm 测定酶标板中各孔的 OD 值，每孔 OD 值 = OD_{450 nm}-OD_{630 nm}。设定阴性对照的细胞活率为 100%，按下述公式计算实验孔的细胞活率(%)。

细胞活率(%)=(实验孔 OD 值-空白孔 OD 值)/(阴性对照孔 OD 值-空白对照孔 OD 值)×100%

选用 Sigmoidal dose-response(Variable Slope)方式(GraphPad Prism 软件，GraphPad Software, San Diego, California)进行非线性回归，计算相应的 IC50(Half Maximal Inhibitory Concentration，半数有效浓度)。结果如表 4 所示。

表 4 为 9D1 抗体药物偶联物及对照抗体药物偶联物在 NUGC4-hClaudin18.2 细胞上的体外细胞杀伤的半数有效浓度(IC50)

测试样品	IC50 值(nM)
9D1-GGFG-Exatecan	0.184
9D1-LD-12	0.580
9D1-LD-38	0.728
9D1-LD-65	0.701
9D1-LD-66	0.996
9D1-LD-72	0.553
9D1-LD-73	1.273
9D1-LD-74	1.155
Isotype IgG1-LD-38	141.3
Exatecan	2.013
9D1-vc-PAB-MMAE	0.064
9D1-LD-57	0.053
MMAE	0.0019

小结：由表 4 可知，针对 Exatecan 毒素，相对于 IgG1 同型对照抗体的药物偶联物(Isotype IgG1-LD-38, IC50 141.3 nM)，9D1 抗体药物偶联物均表现出对 NUGC4-hClaudin18.2 的特异性杀伤，IC50 值 0.18~1.27 nM。含有内盐亲水侧链的 9D1

抗体药物偶联物 IC50 值(0.55~1.00 nM)，均优于含聚乙二醇(PEG, 9D1-LD-73, IC50 1.27 nM)和聚肌氨酸(PSAR, 9D1-LD-74, IC50 1.16 nM)亲水侧链的抗体药物偶联物。

针对 MMAE 毒素，含有内盐亲水侧链的 9D1-LD-57 抗体药物偶联物 and 对照抗体药物偶联物 9D1-vc-PAB-MMAE 的 IC50 相当，分别为 0.05 nM 和 0.06 nM。

3、人密蛋白 18.2 阳性 HEK293-hClaudin18.2 细胞系

HEK293-hClaudin18.2 细胞采用含 10%的 FBS 的 DMEM 培养基，并添加 250 µg/mL G418，在 37℃、5% CO₂ 的培养箱中进行贴壁培养，当细胞汇合度大于 80%时按 1: 20 ~ 1: 40 传代，每 3 天传代一次。

采用重组酶消化液(TrypLETM Express Enzyme)消化 HEK293-hClaudin18.2 细胞，计数后取适量的细胞用 DMEM+10%FBS 重悬，调整细胞密度为 2 × 10⁴ 个/mL，按 100 µL/孔接种至 96 孔细胞培养板中，置 37℃、5% CO₂ 的培养箱中培养过夜。次日，将 9D1 ADC 和小分子毒素从 1000 nM(终浓度为 500 nM)起进行 10 倍系列稀释，共稀释 7~8 个浓度点；同时设置样品浓度为 0 的阴性对照，和无细胞仅加同体积(200 µL/孔)培养基的空白对照。稀释后的样品按 100 µL/孔(双复孔)加入含细胞的 96 孔细胞培养板中，置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中孵育 72 小时。采用前述 AlamarBlue 检测方法进行细胞活性检测以及数据处理，计算 IC50 值。结果如表 5 所示。

表 5 为 9D1 抗体药物偶联物及对照抗体药物偶联物在 HEK293-hClaudin18.2 细胞上的体外细胞杀伤的半数有效浓度(IC50)

测试样品	IC50 值 (nM)
9D1-LD-38	0.090
9D1-LD-65	0.086
9D1-LD-66	0.996
Isotype IgG1-LD-38	688.2
Exatecan	0.508
9D1-LD-71	0.397
9D1-ELC122	0.628
Isotype IgG1-ELC122	NA

注：NA 表示不适用

小结：由表 5 可知，针对 Exatecan 毒素，相对于 IgG1 同型对照抗体的药物偶联物(Isotype IgG1-LD-38, IC50 688.2 nM)，含内盐亲水侧链的 9D1 抗体药物偶联物均表现出对 HEK293-hClaudin18.2 的特异性杀伤，IC50 值 0.09~1.00 nM，小分子 Exatecan 的 IC50 (0.51 nM)。

针对 SN38 毒素，相对于 IgG1 同型对照抗体的药物偶联物(Isotype IgG1-ELC122，无杀伤)，9D1 抗体药物偶联物表现出对 HEK293-hClaudin18.2 的特异性杀伤。含内盐亲水侧链的 9D1 抗体药物偶联物(9D1-LD-57)的杀伤稍强于对照(9D1-ELC122)，IC50 值分别为 0.40 和 0.63 nM。

试验例 21(体内肿瘤治疗作用)

1、人密蛋白 18.2 阳性 MC38-hClaudin18.2 细胞系小鼠移植瘤模型

C57BL/6 小鼠，雌性，5-6 周龄，购自上海灵畅。动物饲养于 SPF 动物房层流架内，每笼 5 只，12 小时交替光照，动物自由饮水和摄食。稳定表达人密蛋白 18.2 的小鼠结肠癌细胞系 MC38-Claudin18.2 采用含 10% FBS(Fetal Bovine Serum，胎牛血清)的 RPMI 1640 培养基，于 T75 方瓶中贴壁培养，置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中，每三天左右进行一次传代。收集对数生长期的 MC38 h Claudin18.2 细胞，于 1000 rpm，离心 5 分钟，采用 PBS 重悬。以 2 × 10⁶ 个细胞，与基质胶按 1: 1 体积混匀后接种于 C57BL/6 小鼠皮下。待肿瘤体积长至 100~150 mm³ 时，分组给药(5~6 只/组)。每周测量肿瘤大小两次，计算肿瘤体积(TV，mm³)，绘制肿瘤生长曲线。

$$TV(mm^3)=(L \times W^2)/2$$
，L 表示肿瘤长度，W 表示肿瘤宽度

$$肿瘤抑制率(\%)=(TV \text{ 对照组}-TV \text{ 给药组}) \times 100/TV \text{ 对照组}$$

以首次给药后的天数为横坐标，肿瘤体积为纵坐标，采用 GraphPad Prism 软件(GraphPad Software, San Diego, California)，选用 XY 模式绘制小鼠肿瘤曲线。采用 Two way ANOVA 分析各组与溶媒对照 PBS 组是否有统计学差异，*p<0.05，**p<0.01，***p<0.001，****p<0.0001。

偶联 Exatecan 的 9D1 抗体药物偶联物在 MC38-hClaudin18.2 小鼠皮下瘤模型上的治疗方案见表 6，肿瘤治疗作用和对应的肿瘤生长曲线见表 6 和图 11(图 11 包括图 11A、图 11B 以及图 11C)。

表 6 为 MC38-hClaudin18.2 小鼠皮下瘤模型分组、给药方案和药物治疗后的肿瘤抑制率

分组	给药途径	给药剂量(mg/kg)	给药次数	肿瘤抑制率(%)
PBS 对照	i.p.	/	1	NA
9D1-ELC122	i.p.	10	1	39.82
9D1-GGFG-Exatecan	i.p.	10	1	48.34
9D1-LD12	i.p.	10	1	48.63
PBS 对照	i.p.	/	1	NA
9D1-LD-31-P1	i.p.	10	1	27.8%
9D1-LD-31-P2	i.p.	10	1	80.0%
9D1-LD-37	i.p.	10	1	37.4%
9D1-LD-38	i.p.	10	1	80.6%
PBS 对照	i.p.	10	Qw x 2	NA
9D1-GGFG-Dxd	i.p.	10	Qw x 2	50.0%
9D1-LD-38	i.p.	10	Qw x 2	98.0%
IgG1 Isotype-LD-38	i.p.	10	Qw x 2	27.2%
PBS 对照	i.p.	/	1	NA
9D1-LD-65	i.p.	5	1	71.7%
9D1-LD-66	i.p.	5	1	48.0%
9D1-LD-72	i.p.	5	1	42.3%
9D1-LD-73	i.p.	5	1	47.0%
9D1-LD-74	i.p.	5	1	56.5%
9D1-LD-38	i.p.	5	1	39.2%
IgG1 Isotype-LD-38	i.p.	5	1	5.5%

备注: i.p.: Intraperitoneal injection, 腹腔给药; NA: 不适用。

小结: 由表 6 以及图 11 可知, 在 10 mg/kg 单次给药剂量条件下, 对照抗体药物偶联物(9D1-ELC122, 9D1-GGFG-Exatecan, 9D1-LD-12)肿瘤生长减缓(图 11A), 实验结束时的肿瘤抑制率(TGI)分别为 39.82%, 48.34%和 48.63%。连接子含有内盐基团的抗体药物偶联物(9D1-LD-31-P2 和 9D1-LD-38)显示出更优的肿瘤治疗作用(图 11B), TGI 分别为 80.0%和 80.6%。

在 10 mg/kg, 每周给药一次, 共给药 2 次条件下, 实验结束时对照抗体药物偶联物 9D1-GGFG-Dxd 的肿瘤抑制率为 50.0%, 而 9D1-LD-38 的肿瘤几乎完全消除(肿瘤抑制率 98.0%)。同型对照抗体药物偶联物(IgG1 Isotype-LD-38)只表现出轻微肿瘤抑制作用(表 6)。

为了进一步对比区分其它含有内盐基团的 9D1 抗体药物偶联物的肿瘤治疗效果, 选择低剂量(5mg/kg)给药进行药效实验, 同时设定 9D1-LD-38 为内部参照。低剂量(5mg/kg)给药条件下, 同型对照抗体药物偶联物(IgG1 Isotype-LD-38)未表现出明显肿瘤治疗作用。9D1-LD-38 的肿瘤肿瘤治疗作用明显, TGI 为 39.2%。其它连接子含有内盐基团的 9D1 抗体药物偶联物(9D1-LD-65, 9D1-LD-66 和 9D1-LD-72)的肿瘤治疗效果更佳(图 11 C), TGI 分别达到 71.7%, 48.0%和 42.3%。特别是对于 9D1-LD-65, 抑制肿瘤效果最优, 肿瘤抑制生长曲线(图 11 C)和 TGI 甚至明显优于已报道的连接子上含有其它水溶性基团的 9D1 抗体药物偶联物, 如含聚乙二醇(PEG)水溶性基团的 9D1-LD-73(TGI 47.0%)对照和含聚肌氨酸(PSAR)水溶性基团的 9D1-LD-74(TGI 56.5%)对照。

综上所述, 连接子上含有内盐水溶性基团的 9D1 抗体药物偶联物(9D1-LD-31-P2、9D1-LD-38、9D1-LD-65、9D1-LD-66 和 9D1-LD-72)药效显著优于经典的不含促进水溶性基团的连接子抗体药物偶联物, 如 9D1-ELC122、9D1-GGFG-Exatecan 和 9D1-LD12。特别是对于 9D1-LD-65、9D1-LD-66 和 9D1-LD-72, 肿瘤治疗效果与连接子上含有其它类型水溶性基团的 9D1 抗体药物偶联物(含 PEG 的 9D1-LD-73, 含 PSAR 的 9D1-LD-74)效果相当, 或者更好, 比如 9D1-LD-65。

2、人密蛋白 18.2 阳性 NUGC4-hClaudin18.2 细胞系小鼠移植瘤模型

稳定表达人密蛋白 18.2 阳性胃癌细胞株 NUGC4-hClaudin18.2, 使用含有 10%胎牛血清, 100 U/ml 的青霉素、100μg/mL 的链霉素的 RPMI-1640 培养基在 37℃、5% CO₂ 的培养箱中培养, 每隔 4 至 5 天待细胞长满后分瓶传代, 将处于对数生长期的肿瘤细胞用于体内肿瘤的接种。

将 NUGC4-hClaudin18.2 肿瘤细胞用 PBS: Matrigel(体积比 1: 1 混合)调整至浓度为 5×10^7 /mL, 接种于 BALB/c nu/nu 小鼠(雌性, 6-7 周龄)右侧胁肋部皮下, 100μL/小鼠, 肿瘤细胞接种量为 5×10^6 /小鼠。待肿瘤体积长至约 150 mm³ 时, 分组给药, 分组和给药方案见表 7。每周测量肿瘤大小两次, 计算肿瘤体积(TV, mm³), 绘制肿瘤生长曲线。

$TV(mm^3) = (L \times W^2)/2$, L 表示肿瘤长度, W 表示肿瘤宽度

以首次给药后的天数为横坐标, 肿瘤体积为纵坐标, 采用 GraphPad Prism 软件(GraphPad Software, San Diego, California), 选用 XY 模式绘制小鼠肿瘤曲线, 结果如图

12 所示。

表 7 为 NUGC4-hClaudin18.2 小鼠皮下瘤模型分组、给药方案

组别	受试药物	动物数(只)	剂量(mg/kg)	给药途径	给药频率
1	9D1-LD38	6	5	i.p	QW x 3
2	9D1 裸抗	6	5	i.p	QW x 3
3	9D1-ELC-122	6	5	i.p	QW x 3
4	9D1-GGFG-Exatecan	6	5	i.p	QW x 3
5	Isotype-LD-38	6	5	i.p	QW x 3
6	PBS	6	5	i.p	QW x 3

注：i.p: 腹腔注射；QW X 3:每周给药一次，给药 3 次。

小结：由表 7 以及图 12 可知，5 mg/kg，每周给药一次，给药 3 次条件下，连接子含有内盐促水溶性基团的 9D1-LD-38 表现出最优的治疗效果，显著优于 9D1-ECL122 和 9D1-GGFG-Exatecan。9D1-LD-38 在治疗 24 天时肿瘤基本消失，而 9D1-GGFG-Exatecan 治疗组肿瘤生长受到抑制，但是未见肿瘤缩小，9D1-ECL122 仅出现微弱的肿瘤抑制作用，这可能是由于 9D1-ECL122 的毒素为毒性更弱的 SN38。

3、叶酸受体阳性 OVCAR-3 细胞小鼠移植瘤模型

表达叶酸受体的(FRa)的 OVCAR-3(OVCAR3)人卵巢癌肿瘤细胞用含有灭活的 20% 胎牛血清，100 U/ml 的青霉素、100μg/mL 的链霉素的 RPMI-1640 培养基在 37℃、5% CO₂ 的培养箱中培养肿瘤细胞，每隔 4 至 5 天待细胞长满后分瓶传代，将处于对数生长期的肿瘤细胞用于体内肿瘤的接种。

将 OVCAR3 肿瘤细胞用 PBS: Matrigel(体积比 1: 1 混合)调整至浓度为 1×10⁸/mL，接种于 M-NSG 实验小鼠右侧肋骨部皮下，100uL/小鼠，肿瘤细胞接种量为 1×10⁷/小鼠。

待肿瘤体积长至约 150 mm³ 时，分组给药(5 只/组)，对照组(Control)给予 PBS，处理组给予抗人叶酸受体(FRa)人源化单克隆抗体 Farletuzumab-LD-38 抗体药物偶联物。给药剂量 5 mg/kg，单剂量给药。每周测量肿瘤大小两次，计算肿瘤体积(TV，mm³)，绘制肿瘤生长曲线。

$$TV(mm^3)=(L \times W^2)/2$$
，L 表示肿瘤长度，W 表示肿瘤宽度

$$肿瘤抑制率(\%)=(TV_{对照组}-TV_{给药组}) \times 100 / TV_{对照组}$$

以首次给药后的天数为横坐标，肿瘤体积为纵坐标，采用 GraphPad Prism 软件(GraphPad Software, San Diego, California)，选用 XY 模式绘制小鼠肿瘤曲线。采用 Two way ANOVA 分析各组与溶媒对照 PBS 组是否有统计学差异，*p<0.05，**p<0.01，***p<0.001，****p<0.0001。结果如图 13 所示。

小结：由图 13 可知，5mg/kg 单次给药 1 周后，Farletuzumab-LD-38 抗体药物偶联物相对于对照组表现出肿瘤生长抑制作用，并在之后出现肿瘤缩小，在第 24 天时肿瘤抑制率(TGI)达到 93.5%，和对照组相比出现极显著差异。

4、叶酸受体阳性 IGROV1 细胞小鼠移植瘤模型

表达叶酸受体(FRa)的 IGROV1 人卵巢癌肿瘤细胞用含有灭活的 10%胎牛血清，100

U/ml 青霉素和 100 µg/ml 链霉素的 DMEM 培养基在 37℃、5% CO₂ 的培养箱中培养，每隔 3 至 4 天待细胞长满后分瓶传代，将处于对数生长期的肿瘤细胞用于体内肿瘤的接种。

将 IGROV1 肿瘤细胞用 PBS 调整至浓度为 1×10^8 /ml，接种于 BALB/c nude 实验小鼠右侧肋部皮下，100 µL/小鼠，肿瘤细胞接种量为 1×10^7 /小鼠。

当平均肿瘤体积达到 150 mm³ 左右时分组给药(分组当天记为 D0)，每个模型均分为 2 组，每组 5 只动物，对照组(Control)给予 PBS，处理组给予抗人叶酸受体(FRa)人源化单克隆抗体 Farletuzumab-LD-38 抗体药物偶联物。给药剂量 5 mg/kg，每周给药一次，给药 2 次。每周测量肿瘤大小两次，计算肿瘤体积(TV，mm³)，绘制肿瘤生长曲线。

$TV(mm^3) = (L \times W^2)/2$ ，L 表示肿瘤长度，W 表示肿瘤宽度

肿瘤抑制率(%) = $(TV_{\text{对照组}} - TV_{\text{给药组}}) \times 100 / TV_{\text{对照组}}$

以首次给药后的天数为横坐标，肿瘤体积为纵坐标，采用 GraphPad Prism 软件(GraphPad Software, San Diego, California)，选用 XY 模式绘制小鼠肿瘤曲线。采用 Two way ANOVA 分析各组与溶媒对照 PBS 组是否有统计学差异，*p<0.05，**p<0.01，***p<0.001，****p<0.0001。

结果如图 14 所示，5mg/kg，每周给药一次，给药 2 次后，Farletuzumab-LD-38 抗体药物偶联物相对于对照组肿瘤出现快速缩小，在第 30 天时肿瘤抑制率(TGI)达到 100%，并且在给药后 50 天时仍保持药效。

试验例 22 大鼠体内药代动力学

试验选用 SD 大鼠 3 只，雄性，随机分成 3 组，分别单次静脉推注给予试供品试验例制备的 9D1-LD-38 和对比例制备的 9D1-GGFG-Exatecan，剂量均为 10 mg/kg。各供试品组动物于给药前，给药开始后 5 min、1 h、5 h、24 h(D2)、48 h(D3)、120 h(D6)、168 h(D8)、240 h(D11)、336 h(D15)、504 h(D22)采集全血，分离血清和血浆。采用 ELISA 法分析血清样品中各供试品的 Total Ab(总抗体)和 ADC(结合抗体)的浓度。采用 PK Solver 非房室模型(NCA)计算各动物的药代动力学参数。

总抗和结合抗的测定方法：采用 ELISA 法测定总抗和结合抗的血药浓度，具体方法如下：

a)用 PBS 将 anti-human IgG (Fab)2 稀释至 1 µg/mL，100 µL/孔包被 96 孔酶标板，4 度放置过夜。

b)洗板 3 次，用 3%BSA-PBST，300 µL/孔室温封闭 2h。

c)洗板 3 次，用大鼠空白血清以 2 倍比稀释 9D1-LD-38/9D1-GGFG-Exatecan，起始浓度为 1 µg/mL，共 7 个浓度，另设定“0”点为小鼠空白血清，同时用小鼠空白血清对药后不同时间点样品分别进行适当倍数稀释。将上述所有样品用 1%BSA-PBST 再稀释 50 倍(9D1-GGFG-Dxd)和 100 倍(9D1-LD-38)，100µL/孔加入酶标板，室温孵育 2 h。

d)洗板 6 次。

测总抗：用 1%BSA-PBST 以 1: 20000 稀释 HRP-羊抗人 IgGFC，100 µL/孔加入酶标板，室温孵育 1h。

测 ADC: 用 1%BSA-PBST 稀释 anti-exatecan 抗体为 0.5 µg/mL, 100 µL/孔加入酶标板, 室温孵育 1 h。洗板 6 次, 用 1%BSA-PBST 以 1: 20000 稀释 HRP-羊抗鼠 IgG(H+L), 100 µL/孔加入酶标板, 室温孵育 1h。

洗板 6 次, 取 TMB 加入酶标板, 100 µL/孔。室温避光显色约 10min。

加入终止液 50 µL/孔。在酶标仪上(波长为 450/630 nm)进行检测, 结果如表 8 以及图 15。

表 8 为 9D1-LD-38 和 9D1-GGFG-Exatecan 在大鼠体内的药代动力学参数

PK 参数	单位	9D1-LD-38		9D1-GGFG-Exatecan	
		Total Ab	ADC	Total Ab	ADC
t1/2	h	145.4	119.8	65.1	57.8
Cmax	µ g/mL	482.51	428.64	613.84	533.28
AUC	µ g/mL*h	37883.16	29359.05	34804.63	23434.00
Cl_obs	mL/kg/h	0.26	0.34	0.29	0.43
Vss_obs	(mL/kg)	40.3	39.2	23.8	29.7

小结: 由表 8 以及图 15 可知, 在 10 mg/kg 剂量下单次静脉推注给予大鼠, 9D1-GGFG-Exatecan 的总抗和结合抗(ADC)的血清药物浓度下降趋势较快(图 15), 半衰期较短, 分别为 65.1h 和 57.8h。结合抗与总抗的 AUC 之比为 0.67,

9D1-LD-38 总抗和结合抗的血清药物浓度下降趋势相对缓慢(图 15), 半衰期分别为 145.4h 和 119.8h, 结合抗与总抗 AUC 之比分别为 0.78。

9D1-LD-38 结合抗的半衰期为 9D1-GGFG-Exatecan 的 2 倍; 9D1-LD-38 结合抗的 AUC 为 9D1-GGFG-Exatecan 的 1.3 倍; 9D1-LD-38 结合抗与总抗的 AUC 之比大于 9D1-GGFG-Exatecan(0.78 vs 0.67), 说明 9D1-LD-38 更稳定, 小分子不容易脱落。

综上所述, 连接子含有内盐促水溶性基团的 9D1-LD-38 在大鼠体内药物清除显著弱于连接子上不含有促水溶性基团的 9D1-GGFG-Exatecan, 且体内稳定性更优, 表现为 9D1-LD-38 的半衰期显著延长, 药物暴露明显增加和结合抗与总抗的 AUC 比值更高。

试验例 23 (9D1-LD-38、9D1-LD-82、9D1-LD-88 和 9D1-LD-89 的体外细胞杀伤作用)

MC38-hClaudin18.2 细胞采用含 10%的 FBS (Thermo, Cat: 10099-141C) 的 RPMI 1640 (Thermo, Cat: 11875-085) 培养基, 并添加 1 µg/mL 嘌呤霉素(Thermo, Cat: A11138-03), 在 37℃、5%CO₂ 的培养箱中进行贴壁培养, 当细胞汇合度大于 80%时按 1: 10~1: 20 传代, 每 3 天传代一次。采用重组酶消化液(TrypLETM Express Enzyme(中文名称为胰蛋白酶), Themo, Cat:12605028)消化 MC38-hClaudin18.2 细胞, 计数后取适量的细胞用 RPMI 1640+10%FBS 重悬, 调整细胞密度为 1.5×10⁴ 个/mL, 按 100 µL/孔接种至 96 孔细胞培养板中, 置 37℃、5% CO₂ 的培养箱中培养过夜。次日, 将 9D1-LD-38、9D1-LD-82、9D1-LD-88 和 9D1-LD-89 从 500 nM 摩尔浓度起进行 10 倍系列稀释, 共稀释 8 个浓度点; 同时设置样品浓度为 0 的阴性对照, 和无细胞仅加同体积(200 µL/孔)培养基的空白对照。稀释后的样品按 100µL/孔(双复孔)加入含细胞的 96 孔细胞培养板中, 置 37℃、5% CO₂ 培养箱中孵育 72 小时。每孔加入 20 µL AlamarBlue (Thermo, Cat:DAL1100) 检测试剂,

37℃孵育 6 小时，在多功能酶标仪(Molecular Devices, M5)上以激发波长 560nm，发射波长 590 nm 检测的荧光信号强度。设定阴性对照的细胞活率为 100%，按下述公式计算实验孔的细胞活率(%)；

细胞活率(%)=(实验孔 OD 值-空白孔 OD 值)/(阴性对照孔 OD 值-空白对照孔 OD 值)×100%

以 ADC 浓度取对数后作为横坐标，以细胞活率为纵坐标，选用 Sigmoidal dose-response(Variable Slope)方式(GraphPad Prism 软件，GraphPad Software, San Diego, California)进行非线性回归，得到细胞增殖的抑制作用曲线图，如图 16。

小结：由图 16 可知，9D1-LD-38、9D1-LD-82、9D1-LD-88 和 9D1-LD-89 均可呈剂量依赖性地抑制 MC38-hClaudin18.2 细胞的增殖，9D1-LD-38、9D1-LD-88 和 9D1-LD-89 抑制效果相当(IC₅₀ 值分别为 0.632、1.458 和 0.757 nM)，9D1-LD-82 稍弱(IC₅₀ 值为 8.013 nM)。

试验例 24 (诱导 B16F10-hClaudin18.2 细胞产生免疫原性细胞死亡)

复苏 B16F10-hClaudin18.2 细胞，采用 DMEM (Thermo, cat: 10569044) +10%FBS (Thermo, Cat: 10099-141C) +0.5μg/mL Puromycin 的培养基，在 37℃、5%CO₂ 的培养箱中进行贴壁培养，当细胞汇合度大于 80%时按 1: 10~1: 20 传代，每 3~4 天传代一次。

细胞长至汇合度为 80%左右时，采用重组酶消化液(TrypLETM Express Enzyme, Thermo, cat: 12605028)消化细胞后，用 DMEM+10%FBS 重悬细胞并取适量体积进行计数，调整细胞密度至 1×10⁴ 个/mL，以 100μL/孔接种至 96 孔细胞板中，37℃，5%CO₂ 培养箱培养过夜。次日，将 ADC 药物用 DMEM+10%FBS 培养基稀释至终浓度为 750nM，小分子毒素 Exatecan 稀释至终浓度为 10nM，并设置样品浓度为 0 的空白对照。稀释后的样品按 100μL/孔加入至含细胞的 96 孔细胞培养板中，置 37℃、5%CO₂ 培养箱中孵育 48 小时。从培养箱中取出 96 孔细胞培养板，Accutase (Thermo, cat: 00-4555-56) 消化后，用 1%FBS PBS 洗涤 1 次，以 100μl/孔加入 Anti-Calreticulin-Alexa Fluor 647 抗体(Abcam, cat: AB196159，用 1%FBS PBS 按照 1: 100 稀释)，室温避光孵育 30min。用 1%FBS PBS 洗涤 2 次后，每个样品加入 2μl PI 染料 (Thermo, cat: 00-4555-56)，室温避光孵育 10min，上机进行 FACS (Bechman, CytoFLEX) 检测。根据 Calreticulin(+)/PI(-)细胞的比例进行作图 17。

小结：由图 17 可知，当 ADC 浓度为 750nM 时，与对照 ADC 相比，9D1-LD-38/9D1-GGFG-Dxd 处理组 Calreticulin(+)/PI(-) 的细胞比例明显升高，且 9D1-LD-38 组高于 9D1-GGFG-Dxd 组；当小分子药物载荷 Dxd，浓度为 10nM 时，Calreticulin(+)/PI(-)的细胞比例明显升高，且 Exatecan (MCE, cat: HY-13631A) >Dxd (MCE, cat: HY-13631D)。结果表明，相比于 9D1-GGFG-Dxd，9D1-LD-38 能够诱导更强的免疫原性细胞死亡，为其与免疫检查点抑制剂联用提供了理论基础。

试验例 25 (在 HEK293-hClaudin18.2/HEK293 细胞上的旁杀作用)

AlarmaBlue 检测方法：复苏 hClaudin18.2 阳性细胞 HEK293-hClaudin18.2 和阴性细

胞 HEK293, 分别采用 DMEM+10%FBS+250 μ g/mL G418 和 DMEM+10%FBS 的培养基, 在 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 的培养箱中进行贴壁培养, 当细胞汇合度大于 80%时按 1: 10~1: 20 传代, 每 3~4 天传代一次。

细胞长至汇合度为 80%左右时, 采用重组酶消化液(TrypLETM Express Enzyme)消化阴性细胞和阳性细胞, 分别计数后取适量的细胞悬液离心并用 DMEM+10%FBS 重悬, 调整细胞密度为 5 $\times$ 10³ 个/mL, 阳性细胞和阴性细胞组均以 100 μ L/孔接种至 96 孔细胞培养板中, 阳性细胞和阴性细胞混合组按照 1: 1 等体积混匀后, 以 200 μ L/孔接种至 96 孔细胞培养板中, 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 培养箱培养过夜。次日, 将 ADC 药物用 DMEM+10%FBS 培养基稀释至终浓度为 0.5nM, 并设置样品浓度为 0 的空白对照。阳性和阴性细胞混合组每孔弃掉 100 μ L 培养基, 稀释后的 ADC 药物按 100 μ L/孔加入至含细胞的 96 孔细胞培养板中, 置 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 培养箱中孵育 120 小时。从培养箱中取出 96 孔细胞培养板, 每孔加入 20 μ L AlamarBlue (Thermo, cat: DAL1100) 检测试剂, 37 $^{\circ}$ C 孵育 4 小时, 在多功能酶标仪上以激发波长 560nm, 发射波长 590nm 检测荧光信号强度。

设定空白对照的细胞活率为 100%, 按下述公式计算实验孔的细胞活率(%)

$$\text{细胞活率}(\%) = (\text{实验孔荧光值} / \text{空白对照孔荧光值}) \times 100\%$$

FACS 检测方法: HEK293 细胞的标记, 取对数生长期的 HEK293 细胞计数后, 取适量的细胞悬液离心, 并用 PBS 洗涤两次, 然后将密度调整为 5 $\times$ 10⁶ 个/mL, 加入适量体积的 CFSE (eBioscience, 65-0850-84), 使终浓度为 0.5nM, 立即混匀, 室温避光孵育 10 分钟后, 加入 4~5 倍体积预冷的 DMEM+10%FBS, 冰上孵育 5 分钟终止反应。用预冷的 DMEM+10%FBS 洗涤两次后, 用 DMEM+10%FBS 培养基调整细胞密度至 2 $\times$ 10⁴ 个/mL。

共孵育及检测, 采用重组酶消化液 (TrypLETM Express Enzyme) 消化 HEK293-hClaudin18.2 阳性细胞, 计数后取适量的细胞悬液离心并用 DMEM+10%FBS 重悬, 调整细胞密度为 2 $\times$ 10⁴ 个/mL, 将 CFSE 标记的 HEK293 细胞和 HEK293-hClaudin18.2 细胞等体积混匀, 以 100 μ L/孔接种至 96 孔细胞培养板中, 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 培养箱培养过夜。次日, 将 ADC 药物用 DMEM+10%FBS 培养基稀释至终浓度为 0.5nM, 并设置样品浓度为 0 的空白对照。稀释后的样品按 100 μ L/孔加入含细胞的 96 孔细胞培养板中, 置 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 培养箱中孵育 72 小时。弃掉 96 孔细胞培养板的上清, 用重组酶消化液消化细胞后, 用 1%FBS PBS 洗涤 1 次, 每个样品均用 250 μ L 1%FBS PBS 重悬并计数, 计算出每个样品的总细胞数; 每个样品取 100 μ L 进行 FACS 检测, 测定 hClaudin18.2 阳性和阴性的细胞比例, 根据细胞总数, 计算出每个样品中 hClaudin18.2 阳性和阴性的细胞数。

小结: 分别将 ADC 药物与 HEK293, HEK293-hClaudin18.2 及 HEK293+HEK293-hClaudin18.2 混合培养细胞共培养 5 天后, 通过 AlarmaBlue 方法检测细胞的活率, 结果如图 18, 图 18 包括图 18A 和图 18B, 其中图 18A 为 Alarma Blue 方法, 图 18B 为流式细胞术方法。由图 18A 所示, 4 个 ADC 药物对阴性细胞 HEK293 均无杀伤作用; 与对照(Isotype IgG1)ADC 相比, 9D1-LD-38、9D1-GGFG-Dxd 对阳性细胞

HEK293-hClaudin18.2 均有杀伤作用，且两者杀伤作用相当；与对照(Isotype IgG1)ADC 相比，9D1-LD-38、9D1-GGFG-Dxd 对阳性和阴性混合细胞均有杀伤作用，且 9D1-LD38 杀伤作用强于 9D1-GGFG-Dxd。以上结果表明，9D1-LD-38 比 9D1-GGFG-Dxd 产生更强的旁观者效应 (bystander killing)。

将 ADC 药物与 HEK293(CFSE 标记)+HEK293-hClaudin18.2 混合培养细胞共培养 3 天,通过细胞计数器和流式细胞仪分别测定阳性和阴性细胞的总量和比率。结果如图 18 B 所示,同型对照(Isotype IgG1)ADC 对阳性细胞 HEK293-hClaudin18.2 和阴性细胞 HEK293 均无杀伤作用，而 9D1-LD-38、9D1-GGFG-Dxd 对 HEK293-hClaudin18.2 和阴性细胞 HEK293 均有杀伤作用，且 9D1-LD38 对阴性细胞 HEK293 的杀伤作用强于 9D1-GGFG-Dxd。以上结果表明，9D1-LD38 比 9D1-GGFG-Dxd 产生更强的旁观者效应 (bystander killing)。

试验例 26 (游离毒素分子的体外酶促释放)

活化缓冲溶液(10 mM L-半胱氨酸(ACRO, cat: 173600250)， 15 mM EDTA， 0.1M His-HCl, pH 5.5)配制：称取半胱氨酸固体 3.63g，加入 3 mL 0.1M His-HCl, pH 5.5 溶液进行溶解，再加入 90 μ L 0.5M EDTA 溶液，混匀。

样品制备: 1) 取活化缓冲溶液 30 μ L,加入 5 μ L Cathepsin B 酶溶液(0.15mg/mL, Sino Biological, cat: 10483-H08H),混匀后置于 37 $^{\circ}$ C 水浴中 15 分钟。加入 300 μ L 0.1M His-HCl, pH 5.5 溶液和 36 μ L 9D1-LD-38(375 μ g)，37 $^{\circ}$ C 水浴过夜；用于酶切游离小分子确认。2) 用 DMSO 将 LD-38、LD-65 和 Deruxtecan (MC-GGFG-Dxd) 稀释至 14 mg/mL；取上述稀释好的 linker-toxin 10 μ L,各加入 20 μ L 活化 buffer,再加入 250 μ L(LD-38),244.5 μ L(LD-65),344.8 μ L(MC-GGFG-Dxd),活化 buffer,混匀后 37 $^{\circ}$ C 水浴 15min；取 0.4mg/mL 的 Cathepsin B 酶 (Sino Biological, cat: 10483-H08H) 2.3 μ L，加入 950 μ L 活化 buffer, 37 $^{\circ}$ C 水浴 15min；各取 230 μ L 活化好的 linker-toxin 溶液，加入 230 μ L 活化好的酶溶液(linker-toxin 与 Cathepsin B 的摩尔比约为 1200:1)，37 $^{\circ}$ C 水浴 0.5h, 2h, 4h, 20h。各考察时间点时取酶切溶液 50 μ L，加入 2.5 μ L 10%TFA 溶液终止反应；用于酶切动力学检测，结果如图 19。

阴性对照制备:取活化buffer 30 μ L置于 37 $^{\circ}$ C 水浴中 15 分钟。加入 300 μ L 0.1M His-HCl, pH 5.5 溶液和 36 μ L 9D1-LD-38(375 μ g)，37 $^{\circ}$ C 水浴过夜。RP-HPLC (Proteomix RP-1000) 参数如表 A:

表 A

进样体积	20 μ L/5 μ L(样品制备 1); 10 μ L(样品制备 2)		柱温	40 $^{\circ}$ C (样品制备 1) 60 $^{\circ}$ C(样品制备 2)	
样品室温度	10 $^{\circ}$ C		检测波长	280/366 nm	
梯度					
时间(min)	流速(mL/min)	流动相 A(0.1%TFA)	流动相 B(0.1%TFA/ACN)	Curve	
0	0.6	90%	10%	/	
2.5	0.6	90%	10%	6	
12.5(样品制备 1)/17.5(样品制备 2)	0.6	50%(样品制备 1)/20%(样品制备 2)	50%(样品制备 1)/80%(样品制备 2)	6	
15(样品制备 1)/20(样品制备 2)	0.6	5%	95%	1	

20(样品制备1)/25(样品制备2)	0.6	90%	10%	1
---------------------	-----	-----	-----	---

小结：由图 19 可知，9D1-LD-38 经 CathepsinB 酶切后的释放毒素分子与标准品 Exatecan 出峰时间一致，且在不添加 CathepsinB 酶的对照组(Contral)中无干扰峰出现，因此确定 CathepsinB 酶可以对 9D1-LD-38 的 linker 进行有效的酶切，酶切释放产物为游离的 Exatecan。

LD-38、LD-65 和 Deruxtecane (MC-GGFG-Dxd) 的酶切动力学如下表 9 所示，LD-38 经 CathepsinB 酶切后可有效的释放毒素分子，在 4h 后几乎酶切完全(95%)；LD-65 和 MC-GGFG-Dxd 对 CathepsinB 酶不敏感,经 20h 的酶切后 LD-65 只有微少的毒素释放(4%)，MC-GGFG-Dxd 无酶切产物释放。

表 9 LD-38、LD-65 和 Deruxtecane (MC-GGFG-Dxd)的 Cathepsin B 酶切动力学

连接子 \ 时长	0	1h	2h	4h	20h
LD-38	0%	20%	77%	95%	100%
LD-65	0%	0%	1%	1%	4%
Deruxtecane (MC-GGFG-Dxd)	0%	0%	0%	0%	0%

试验例 27 (体外血清稳定性)

样品孵育：由前述试验例制备的 9D1-LD-38、9D1-LD-65、9D1-LD-73、9D1-LD-74 和 9D1-Deruxtecane (9D1-GGFG-Dxd)，DAR 值分别为 8，分别用人、食蟹猴、大鼠血清配制(9D1-LD-38 和 9D1-LD-65 增加了小鼠血清配置)，终浓度为 300 μg/mL，200 μL/管，三复孔，同时设定阴性对照(0.5%BSA-PBS)和标准品。所有样品放入 37℃培养箱孵育 0，1d，3d，7d，14d 和 21d，然后进行游离毒素 Exatecan 测定。

样品处理：取标准曲线样品、质控样品、待测样品、双空白样品(10.0μL 基质样品)和零浓度样品(10.0 μL 基质样品)10.0μL 加入连排管，加入 25.0μL 内标工作溶液 (Exatecan-D5 浓度为 3.00ng/mL，双空白样品加入 25.0μL 内标稀释液)；每孔加入 90.0 μL 甲醇：乙腈(1: 1, v/v)，2500 rpm 振荡 5min；在 4℃，3800 g 条件下离心 5 min；取 80.0μL 上清，40℃氮气吹干；每孔加入 100 μL 0.1% FA in 15% MeOH，混合均匀，LC-MS 进样分析。

样品分析：液相色谱(Nexera, 岛津)条件，流动相 A: 0.1%的甲酸的水溶液；流动相 B: 0.1%的乙腈溶液；色谱柱，ACE Excel 3μm 300-Å, 50 x 2.1 mm；流速：0.6 mL/min；柱温：40℃；质谱分析(Triple Quad 7500, AB / Sciex)；数据采集 (Analyst, Version 1.6.2, Applied Biosystems / Sciex)。

数据处理：通过公式 $C_{毒素} = (毒素分子量 * DAR) / ADC 分子量 * 300 \mu g/mL$ 计算 ADC 中毒素含量，血清中毒素释放率=血清中毒素含量/ $C_{毒素}$ 。以孵育时间为横坐标，释放率为纵坐标用 Graph pad Prism9 作曲线图。

小结：体外血清稳定性研究中毒素 Exatecan 释放率-时间变化曲线见图 20，ADC 的毒素释放随孵育时间延长而增多，图 20 包括图 20A、图 20B、图 20C、图 20D、图 20E

以及图 20F。9D1-LD-38 (图 20A)在人、食蟹猴和大鼠血清中 37℃孵育 21 天时的毒素释放率仅分别为 2.8%和 0.9%，和 3.3%(在大鼠血清中的释放峰值约在孵育后 7 天)。9D1-Deruxtecán (9D1-GGFG-Dxd)(图 20B) 在相同条件下孵育 21 天的 Dxd 释放率分别为 8.5%(人血清)、4.6%(食蟹猴血清)和 5.3%(大鼠血清)，相当于 9D1-LD-38 在相应种属血清中毒素释放量的 3 倍、5 倍和 1.5 倍。9D1-LD-65 (图 20C)、9D1-LD-73 (图 20D)以及 9D1-LD74 (图 20E) 在人、食蟹猴及大鼠中的血清稳定性与 9D1-LD-38 基本接近，在人血清中的释放率最高在 3%左右，在食蟹猴和大鼠血清中的毒素释放率最高均低于 1.5%。9D1-LD-38 在小鼠血清中的毒素释放略高于 9D1-LD-65 (图 20F)，但差别不大，两者 21 天的最大释放率均不超过 2%。

试验例 28 (大鼠体内 ADC DAR 值动力学变化)

选用 SD 大鼠 3 只，雄性，随机分成 3 组，分别单次静脉推注给予供试品，即前述试验例制备的 9D1-LD-38、9D1-LD-65 和 9D1-Deruxtecán (9D1-GGFG-Dxd) (DAR 值分别为 8)，剂量均为 10 mg/kg。各供试品组动物于给药前，给药开始后 5 min、1 h、5 h、24 h(D2)、48 h(D3)、120 h(D6)、168 h(D8)、240 h(D11)、336 h(D15)、504 h(D22)采集全血，分 2 份，分别采集血清和血浆，-60℃冻存。

血清总抗测定方法：取标准曲线样品、质控样品、待测样品、双空白样品(10.0 μL 基质样品)和零浓度样品(10.0 μL 基质样品)10.0 μL 加入连排管；每孔加入 100 μL 沉淀剂(1% 三氯乙酸的异丙醇溶液)，2000 rpm 振荡 5 min，10 °C，500 g 离心 5 min，去除上清；每孔加入 100 μL 碳酸氢铵溶液(100mM，pH= 8.0)，涡旋混匀，让沉淀重新悬浮，在 10 °C，1000 g 离心 5 min，去除上清；每孔加入 50.0 μL 碳酸氢铵溶液(100mM，PH= 8.0)，涡旋混匀；每孔加入 10.0 μL sigma 胰蛋白酶溶液(Sigma, cat:Y0002311)(5 mg/mL)，3500 rpm 离心 30 s，1000 rpm 涡旋 3 min，置于震荡孵育箱，60 °C，550 rpm，孵育 1.5 小时；孵育结束后，每管加入 20.0 μL 10%FA in ACN(终止剂)；对于零浓度样品、标曲样品、质控样品、待测样品、加入 10.0 μL 内标工作溶液 (TTPP-IS，人源 Fc 通用肽段，5000ng/ml)，对于双空白样品，加入 10.0 μL 内标配制溶剂(碳酸氢铵溶液(100mM，pH= 8.0))，将上述样品在 3800 g 离心 10 秒，1200 rpm 涡旋 2 min；3800g 离心 5 min，取上清 50.0 μL，每孔加入 50.0 μL 水，混合均匀，LC-MS 进样分析。

血清结合毒素测定方法：取标准曲线样品、质控样品、待测样品、双空白样品(10.0 μL 基质样品)和零浓度样品(10.0 μL 基质样品)10.0 μL 加入连排管；每孔加入 90 μL 沉淀剂(1% 三氯乙酸的异丙醇溶液)，2000 rpm 振荡 5 min，10 °C，500 g 离心 5 min，去除上清；每孔加入 60 μL 碳酸氢铵溶液(100mM，pH= 6.0)，涡旋混匀，让沉淀重新悬浮，在 10 °C，1000 g 离心 5 min，去除上清；每孔加入 60.0 μL 碳酸氢铵溶液(100mM，PH= 8.0)，涡旋混匀；每孔加入 60.0 μL 木瓜蛋白酶(Adamas life, cat: 88915D, 5 mg/mL)，3500 rpm 离心 30 s，1000 rpm 涡旋 3 min，置于震荡孵育箱，40 °C，550 rpm，孵育 2 小时；每孔加入 10 μL 1%甲酸的水溶液，3500 rpm 离心 30 s，40 °C，550 rpm，继续孵育 0.5 小时；对于零浓度样品、标曲样品、质控样品、待测样品、加入 25.0 μL 内

标工作溶液 ((Exatecan-D5, 1000ng/ml)), 对于双空白样品, 加入 25.0 μL 内标配制溶剂, 将上述样品在 3800 g 离心 10 秒, 1200 rpm 涡旋 2 min; 每孔加入 200 μL 预冷乙腈, 2500 rpm 振荡 5 min, 3800g 离心 5 min, 取上清 50.0 μL , 每孔加入 150 μL 0.5% 甲酸的水溶液, 混合均匀, LC-MS 进样分析。

采用 LC/MS 法分析血清样品中各供试品的 Total Ab(总抗体)和结合毒素的浓度, 采用 $\text{DAR} = \text{结合毒素浓度}(\text{mmol/L}) / \text{总抗浓度}(\text{mmol/L})$ 计算动物各时间点的结合抗 DAR 值。

小结: 各供试品组动物血清中 ADC 的 DAR 值-时间曲线如图 21 所示: 10 mg/kg 剂量下单次静脉推注给予大鼠, 9D1-LD-38、9D1-LD-65 和 9D1-Deruxtecan (9D1-GGFG-Dxd) DAR 值随时间延长而逐渐降低。其中 9D1-LD-65 和 9D1-LD-38 的 DAR 值曲线几近一致且可维持在较高 DAR 值水平, 其在给药后 48h 时 DAR 值维持在 7 左右, 至 21 天时 DAR 至仍在 3-4 左右。9D1-Deruxtecan (9D1-GGFG-Dxd) 的 DAR 值下降趋势较快, 药后 48h 时 DAR 值从给药初期的 7.5 左右下降到 5.5, 21 天时下降至 1.6 左右。上述结果说明体内给药后, 相较于 9D1-Deruxtecan (9D1-GGFG-Dxd), 9D1-LD-38 和 9D1-LD-65 更稳定, 表现为 DAR 更高。

试验例 29 (荷瘤小鼠中体内组织分布)

荷瘤小鼠建模给药: 雄性 C57BL/6 小鼠(6 周龄)腹侧部皮下接种 MC38-hClaudin18.2 细胞(1×10^6 cell in 100 μL PBS), 在小鼠肿瘤体积生长至 $\sim 300 \text{ mm}^3$ 时进性分组给药, 尾静脉注射给药前述试验例制备的 9D1-LD-38、9D1-LD-65、9D1-Deruxtecan (9D1-GGFG-Dxd) 和 PBS, DAR 值分别为 8, 剂量为 10mg/kg。

样本采集: 血液和肿瘤组织采集时间点为药后 24h、72h、168 h, 每个时间点 3 只小鼠采样。荷瘤小鼠于眼眶采集全血, 置于含 EDTA-K2 抗凝剂的抗凝管中, 30 分钟内离心得血浆。通过 CO_2 窒息法处死小鼠, 然后采集肿瘤。血浆和肿瘤组织储存于 -80°C 保存。

血浆中游离毒素测定: 取标准曲线样品、质控样品、待测样品、双空白样品(10.0 μL 基质样品)和零浓度样品(10.0 μL 基质样品)10.0 μL 加入连排管, 加入 25.0 μL 内标工作溶液(Exatecan-D5 浓度为 3.00 ng/mL, 双空白样品加入 25.0 μL 内标稀释液); 每孔加入 90.0 μL 甲醇: 乙腈(1: 1, v/v), 2500 rpm 振荡 5min; 在 4°C , 3800 g 条件下离心 5 min; 取 80.0 μL 上清, 40°C 氮气吹干; 每孔加入 100 μL 0.1% FA in 15% MeOH, 混合均匀, LC-MS 进样分析。

血液中总毒素(结合毒素+游离毒素)测定: 取标准曲线样品、质控样品、待测样品、双空白样品(10.0 μL 基质样品)和零浓度样品(10.0 μL 基质样品)10.0 μL 加入连排管, 每孔加入 10.0 μL 木瓜蛋白酶(Adamas life, cat: 88915D, 5 mg/ml), 3500 rpm 离心 1min; 样品置于震荡培养箱中, 40°C , 550rpm, 孵育 6~8 小时; 每孔加入 1.00 μL 1% FA in H_2O , 3500 rpm 离心 1 min, 40°C , 550 rpm, 继续孵育 30min; 对于零浓度样品、标曲样品、质控样品、待测样品、加入 10.0 μL 内标工作溶液 (Exatecan-D5, 1000ng/ml), 对于双空白样品加入 10.0 μL 内标配制溶剂; 将上述样品在 3800 g 离心 10 秒, 1200 rpm 涡旋 2 min;

每孔加入 100 μL 预冷 ACN, 2500 rpm 振荡 5 min, 3500 g 离心 5 min; 取上清 30.0 μL , 每孔加入 90.0 μL 0.5% FA in H₂O, 混涡旋 3 min, LCMS 进样分析。

肿瘤组织中游离毒素测定: 肿瘤组织(给药和空白 PBS 组)匀浆处理: 称取肿瘤组织重量, 加入 10 倍体积的 50% 甲醇水, 进行匀浆处理, 空白 PBS 组的匀浆作为基质进性标准曲线和质控样品配置。取标准曲线样品、质控样品、待测样品、双空白样品(10.0 μL 基质样品)和零浓度样品(10.0 μL 基质样品)10.0 μL 加入连排管, 加入 25.0 μL 内标工作溶液(Exatecan-D5 浓度为 3.00 ng/mL, 双空白样品加入 25.0 μL 内标稀释液); 每孔加入 90.0 μL 甲醇: 乙腈(1: 1, v/v), 2500 rpm 振荡 5min; 在 4 $^{\circ}\text{C}$, 3800 g 条件下离心 5 min; 取 80.0 μL 上清, 40 $^{\circ}\text{C}$ 氮气吹干; 每孔加入 100 μL 0.1% FA in 15% MeOH, 涡旋 3 min, LCMS 进样分析。

肿瘤组织中总毒素(结合毒素+游离毒素)测定: 取标准曲线样品、质控样品、待测样品、双空白样品(10.0 μL 基质样品)和零浓度样品(10.0 μL 基质样品)10.0 μL 加入连排管; 每孔加入 10.0 μL 木瓜蛋白酶(Adamas life, cat: 88915D 5 mg/ml), 3500 rpm 离心 1min; 置于震荡培养箱中, 40 $^{\circ}\text{C}$, 550rpm, 孵育 6~8 小时; 每孔加入 1.00 μL 1% FA in H₂O, 3500 rpm 离心 1 min, 40 $^{\circ}\text{C}$, 550 rpm, 继续孵育 30min; 5. 对于零浓度样品、标曲样品、质控样品、待测样品, 加入 10.0 μL 内标工作溶液 (Exatecan-D5, 1000ng/ml), 对于双空白样品, 加入 10.0 μL 内标配制溶剂; 将上述样品在 3800 g 离心 10 秒, 1200 rpm 涡旋 2 min; 每孔加入 100 μL 预冷 ACN, 2500 rpm 振荡 5 min; 3500 g 离心 5 min; 取上清 30.0 μL , 每孔加入 90.0 μL 0.5% FA in H₂O, 混涡旋 3 min, LCMS 进样分析。

样品分析: 液相色谱(Nexera, 岛津)条件, 流动相 A: 0.1% 的甲酸的水溶液; 流动相 B: 0.1% 的乙腈溶液; 色谱柱, ACE Excel 3 μm 300- $\text{\AA}$, 50 x 2.1 mm; 流速: 0.6 mL/min; 柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$; 质谱分析(Triple Quad 7500, AB / Sciex); 数据采集 (Analyst, Version 1.6.2, Applied Biosystems / Sciex)。使用 GraphPad Prism9 软件输入样品采集的时间点和对应的毒素含量做血浆和肿瘤组织中的毒素含量曲线图, 结果如图 22 和图 23, 图 22 包括图 22A 和图 22B, 其中图 22A 为荷瘤小鼠血浆中总毒素(结合毒素+游离毒素), 图 22B 为荷瘤小鼠血浆中游离毒素的含量。图 23 包括图 23A 和图 23B, 其中图 23A 为荷瘤小鼠组织中总毒素(结合毒素+游离毒素), 图 23B 为荷瘤小鼠组织中游离毒素的含量。

小结: 由图 22 可知, 各供试品组动物血浆中的游离和总毒素变化趋势基本一致, 24h 时最高, 之后缓慢下降。其中 9D1-LD-38 和 9D1-LD-65 组的总毒素 (图 22A) 含量基本一致, 在 24h 时的含量为 3000-4000 ng/mL, 7 天后大概下降 70%-80%。9D1-Deruxtecane (9D1-GGFG-Dxd)在各时间点的血浆中总毒素含量仅为 9D1-LD-38 和 9D1-LD-65 的约一半(1/2); 9D1-LD-38、9D1-LD-65 和 9D1-Deruxtecane (9D1-GGFG-Dxd)组动物血浆中游离毒素含量和变化趋势也基本一致 (图 22 B), 24h 时最高, 之后缓慢下降。相对于血浆总毒素含量, 游离毒素含量极低, 24h 的含量均低于 0.4 ng/mL, 占总毒素含量的 0.01%-0.02%, 也远低于体外靶细胞杀伤的 IC₅₀ 值(3 ng/mL)。说明三个 ADC 药物在血浆中毒素不易脱落, 比较稳定。

由图 23 可知，在药后 24h，各给药组肿瘤组织总毒素水平最高(图 23 A)，之后快速下降，至 168h 后下降至 24h 含量的约 1/3，其中 9D1-LD38 和 9D1-LD-65 在肿瘤组织中的富集水平要明显高于 9D1-Deruxtecan (9D1-GGFG-Dxd)。在药后 24h，各给药组肿瘤组织游离毒素水平最高 (图 23B)，至 72h 逐渐降低，之后基本维持至 168h，9D1-LD-38 和 9D1-LD-65 在整个时间段内肿瘤组织游离毒素水平维持要明显高于 9D1-Deruxtecan (9D1-GGFG-Dxd)(2~5 倍)，其中 9D1-LD-38 最优。上述荷瘤小鼠肿瘤组织中总毒素(结合毒素+游离毒素)和游离毒素的含量结果说明 9D1-LD-38 和 9D1-LD-65 在肿瘤组织中具有更好的渗透富集，释放的游离毒素水平也更高，从而相较于 9D1-Deruxtecan (9D1-GGFG-Dxd)能够产生更好的肿瘤治疗效果。

试验例 30 (p-gp 介导的耐药荷瘤小鼠模型上的药效)

荷瘤小鼠建模及给药：BALB/c Nude 小鼠(雌性，5-6 周龄)腹侧皮下接种 MC38 hClaudin18.2 细胞(1×10^6 cell in 100 PBS)待肿瘤体积长至约 120 mm³ 时，按表 10 随机分组给药。每周测量肿瘤和体重两次，计算肿瘤体积(TV，mm³)，绘制肿瘤生长曲线。 $TV(mm^3)=(L \times W^2)/2$ ，L 表示肿瘤长度，W 表示肿瘤宽度。采用 GraphPad Prism 软件(GraphPad Software，San Diego，California)，选用 XY 模式绘制小鼠肿瘤生长曲线和体重曲线，肿瘤体积和体重表示为平均值±标准误。结果如图 24，图 24 包括图 24A 和图 24B，其中图 24A 为小鼠肿瘤生长曲线，图 24B 为小鼠体重曲线。

表 10 p-gp 介导的耐药荷瘤小鼠模型的分组、给药方案

组别	动物数	给予药物	剂量 (mg/kg)	给药途径	给药周期
1	5	9D1-LD-38	10	i.p.	QW×2 doses
2	5	9D1-Deruxtecan (9D1-GGFG-Dxd)	10	i.p.	QW×2 doses
3	5	Tariquidar	10	p.o.	QD×10 doses (5on+2off/cycle,×2)
4	5	9D1-VC-MMAE	10+15	i.p.	QW×2 doses
5	5	9D1-LD-38 + Tariquidar	10+15	i.p.+p.o.	QW×2 doses + QD×10 doses (5on+2off/cycle, ×2)
6	5	9D1-Deruxtecan (9D1-GGFG-Dxd) +Tariquidar	10+15	i.p.+ p.o.	QW×2 doses + QD×10 doses (5on+2off/cycle, ×2)
7	5	9D1-vc-PAB-MMAE+ Tariquidar	10+15	i.p.+ p.o.	QW×2 doses + QD×10 doses (5on+2off/cycle, ×2)
8	5	PBS	--	i.p.+ p.o.	QW×2 doses + QD×10 doses (5on+2off/cycle, ×2)

备注：i.p., Intraperitoneal injection, 腹腔给药；p.o., Peros, 口服给药；QW, 每周一次；QD, 每日一次；5on+2off/cycle，7 天一个周期，5 天给药 2 天休息；9D1-LD-38 和 9D1-Deruxtecan (9D1-GGFG-Dxd)，DAR=8；9D1-vc-PAB-MMAE，DAR=4；Tariquidar, p-gp 抑制剂(Cat: HY-10550/CS-0722 Lot: 242595)。

小结：P-糖蛋白(P-gp)跨膜转运蛋白通过主动药物外排导致化疗耐药，是化疗耐药是治疗失败的主要原因之一。小鼠 MC38 直肠癌模型 p-gp 高表达，对于许多化疗药物不敏感。ADC 药物单药或者联合 p-gp 抑制剂 Tariquidar 给药在 MC38-hClaudin18.2 荷

瘤小鼠模型上的肿瘤治疗作用如图 24 A 所示, Tariquidar 单药给药相比于 PBS 对照组无肿瘤抑制作用; 9D1-vc-PAB-MMAE 组肿瘤生长迅速, 肿瘤生长曲线相比于 PBS 对照组表现出弱的抑制作用(在给药后第 17 天时肿瘤体积分别约为 2600 mm³和 1900 mm³), 9D1-vc-PAB-MMAE+ Tariquidar 能够极大的抑制肿瘤生长, 导致肿瘤缩小至近乎消失; 9D1-Deruxtecan (9D1-GGFG-Dxd) 能够显著抑制肿瘤生长, 9D1-Deruxtecan (9D1-GGFG-Dxd)+Tariquidar 的肿瘤抑制作用相比于 9D1-Deruxtecan (9D1-GGFG-Dxd) 单药稍微增强, 但均不能导致肿瘤缩小(在给药后第 17 天时肿瘤体积分别约为 1000 mm³和 660 mm³); 9D1-LD-38 单药和 9D1-LD-38 + Tariquidar 均能够强烈的抑制肿瘤生长, 并导致肿瘤缩小至近乎消失。小鼠体重在给药后均维持正常波动范围, 未见治疗引起的体重减轻 (图 24B)。上述结果说明相比于 9D1-vc-PAB-MMAE 和 9D1-Deruxtecan (9D1-GGFG-Dxd), 9D1-LD-38 能够抵抗 p-gp 导致的肿瘤耐药, 单药给药即可产生很好的肿瘤治疗效果。

试验例 31 (ICI 联合给药在荷瘤小鼠上的抗肿瘤作用)

荷瘤小鼠建模及给药: 4T1-hClaudin18.2 细胞采用 1640 完全培养基(添加 10% FBS, 2 μg/mL puromycin 中文名称为嘌呤霉素, Gibco, Cat: A1113803), 于方瓶中贴壁培养, 置于 37℃、5% CO₂培养箱。待细胞汇合度约 80%时用 TRYPLE EXPRESS 胰酶(Gibco, Cat: 12605028)消化后离心收集 2.5 × 10⁷ 个细胞, 并用 PBS 洗涤一次, 弃上清后用含 50% Matrigel (中文名为基质胶, Corning, Cat: 326234) 的 PBS 重悬, 总体积 5 ml。100 μL 细胞悬液/只接种到 BALB/c 雌性小鼠(雌性, 5-6 周龄)右侧腹部部皮。肿瘤体积长至约 150 mm³, 按照表 11 进性随机分组给药。用游标卡尺每周两次测量肿瘤大小。TV(mm³)=(L × W²)/2, L 表示肿瘤长度, W 表示肿瘤宽度。采用 GraphPad Prism 软件(GraphPad Software, San Diego, California), 选用 XY 模式绘制小鼠肿瘤生长曲线, 肿瘤体积表示为平均值 ± 标准误。

表 11 ICI 联合给药在荷瘤小鼠模型上的分组、给药方案

组别	动物数量	药物	给药剂量(mg/kg)	给药途径	给药频率	给药次数
G1	5	9D1-LD-38	3	i.p.	QW	2
G2	5	α PD-1	10	i.p.	BIW	4
G3	5	9D1-LD-38+ α PD-1	3+10	i.p.	QW+BIW	2+4
G4	5	PBS	-	i.p.	QW	2

备注: i.p., Intraperitoneal injection, 腹腔给药; QW, 每周给药一次; BIW, 每周给药 2 次; αPD-1, 抗小鼠 PD-1 抗体(InVivoMAb(anti-mouse PD-1, Cat: BE0146)。

小结: 免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors, ICI)药物已成为肿瘤治疗的基石之一。9D1-LD-38 在免疫健全小鼠 BALB/c 小鼠的 4T1-hClaudin18.2 荷瘤小鼠模型上与抗小鼠 PD1 药物αPD-1 的联合治疗作用见图 25, 相比于 PBS 对照组 9D1-LD38 单药治疗和αPD-1 单药治疗均能够产生部分肿瘤生长抑制作用(给药后第 14 天肿瘤体积分别约为 850 mm³、480 mm³、426 mm³), 9D1-LD38 + αPD-1 联合给药能够极大的抑制肿

瘤生长，甚至产生明显的肿瘤消退作用(给药后第 10 天肿瘤体积约为 70 mm³)。

试验例 32 (旁杀作用在荷瘤小鼠上的抗肿瘤作用)

荷瘤小鼠建模及给药: MC38-hClaudin18.2 细胞和 MC38-luc(luciferase)分别在含有灭活的 10%胎牛血清(Excell Bio, cat:12A222)、1 x 青霉素/链霉素(Solarbio, cat: 20221231)的 DMEM 培养基(Meilunbio, cat: MA0212-Nov-02H)中，在 37℃、5% CO₂ 的培养箱中培养，将处于对数生长期的肿瘤细胞用于体内肿瘤的接种。将 MC38-hClaudin18.2 细胞与 MC38-luc 细胞混合(数量比 1: 1)后用 PBS 重悬，调整细胞浓度为 5 × 10⁶/ml，接种于 BALB/c nude 小鼠的右侧腹部皮下，100 μL/鼠。在肿瘤生长至 120mm³ 左右时，分组给药(当天记为 PG-D0)，共 4 组，每组 5 只，具体给药方案见下表:

组别	动物数	治疗	剂量 (mg/kg)*	给药途径	给药频率
G1	5	9D1-LD-38	10	i.v.	QW × 2
G2	5	ISO-LD-38	10	i.v.	QW × 2
G3	5	9D1-Deruxtecan (9D1-GGFG-Dxd)	10	i.v.	QW × 2
G4	5	Control (PBS)	-	i.v.	QW × 2

表 12 旁杀作用在荷瘤小鼠模型上的分组、给药方案

注: *, 给药容积按 10μl/g 体重;

i.v.: 静脉注射; QW×2: 每周给药一次，共给药 2 次。

每周使用游标卡尺对肿瘤体积进行 2-3 次测量，测量肿瘤的长径和短径，其体积计算公式为: 体积(TV) = 0.5 × 长径 × 短径 × 短径。通过给予小鼠腹腔注射荧光素底物(15mg/ml, 10μl/g)，经异氟烷麻醉后，用小动物活体成像仪(IVIS Lumina Series III, PerkinElmer)采集发光信号。

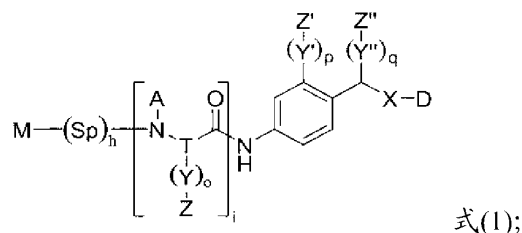
小结: 旁杀作用(bystander killing)是 ADC 药物通过靶点阳性肿瘤细胞内吞后释放毒素，毒素通过穿膜作用杀伤相邻靶点阴性肿瘤细胞的能力，被认为是 ADC 针对靶点表达异质性肿瘤能够产生良好药效的原因之一。本试验例通过在小鼠上进行靶点阳性(MC38-hClaudin18.2)细胞与靶点阴性(MC38-luc)细胞混合接种，从而产生靶点表达异质性的荷瘤小鼠模型，验证测试 ADC 药物的旁杀作用，结果如图 26，图 26 包括图 26A 和图 26B，图 26A 为给药后小鼠的肿瘤体积的变化，图 26B 为给药 3 天和 7 天的荷瘤小鼠靶点阴性肿瘤细胞的生物发光信号图。由图 26A 可知,相对于 PBS 对照组(Contral)，ISO(Isotype)-LD-38 生长较快，仅产生了较弱的肿瘤抑制作用(肿瘤接种后 16 天，肿瘤体积分别约为 2700 mm³ 和 1700 mm³)；9D1-Deruxtecan (9D1-GGFG-Dxd)能够部分抑制肿瘤生长(肿瘤接种后 16 天，肿瘤体积约 1000 mm³)，但是肿瘤体积仍旧持续增加；9D1-LD-38 能够极大的抑制肿瘤生长，至第 16 天时肿瘤几乎完全清除，说明 9D1-LD-38 不仅能够杀死靶点阳性的 MC38-hClaudin18.2 细胞，也能够杀死靶点阴性的 MC38-luc 细胞。分组后第 3 天(PG-3，接种后第 3 天)和第 7 天(PG-7，接种后第 12 天)采集的标记荷瘤小鼠靶点阴性肿瘤细胞的生物发光信号(图 26B)也清楚的表明，相比于对照组和

ISO-LD38、9D1-Deruxtecan (9D1-GGFG-Dxd)给药组，9D1-LD38 能够有效的杀死靶点阴性肿瘤细胞并导致生物发光信号极大减弱或消失。

尽管以上结合附图对本申请的实施方案进行了描述，但本申请并不局限于上述的具体实施方案和应用领域，上述的具体实施方案仅仅是示意性的、指导性的，而不是限制性的。本领域的普通技术人员在本说明书的启示下和在不脱离本申请权利要求所保护的范围的情况下，还可以做出很多种的形式，这些均属于本申请保护之列。

权利要求书

1、一种式(1)表示的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，式(1)的结构如下所示，



M 为连接基团；

Sp 为-L_a-Q_a-；

A 选自不存在、氢、烷基；

T 表示直链的或具有支链的(C₁-C₈) 三价烷基基团；

Y、Y'、Y''分别为-L_b-Q_b-；

L_a、L_b分别选自不存在、亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基或聚乙二醇基，其中所述亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基、聚乙二醇基任选被取代基取代；

Q_a、Q_b分别选自不存在、-C(=O)NR-、-C(=O)O-、-OC(=O)NR-、-S(=O)₂NR-、-NRC(=O)-、-OC(=O)-、-NRC(=O)O-、-NRS(=O)₂-、-NRC(=O)NR-、-NHC(=NH)NH-、-C(=O)-、-OC(=O)O-、-O-、-NR-、-S-、S(=O)₂-、S(=O)-、或-Se-，其中 R 选自氢或任选取代的烷基；

Z 选自不存在、氢、任选取代的烷基或磺酸内盐；

Z'、Z'' 选自不存在、氢、任选取代的烷基、磺酸内盐或磷酸内盐；

Z、Z'、Z'' 中的至少一个为磺酸内盐或磷酸内盐；

X 包含自毁单元或不存在；

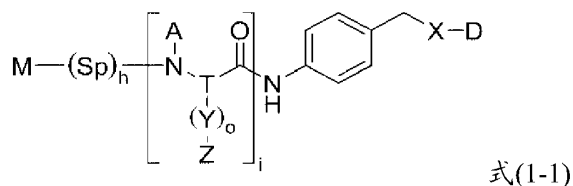
D 包括药物分子；

i 为大于等于 1 的整数；

h 为 1-6 的整数；

o、p、q 分别为 0-5 的整数。

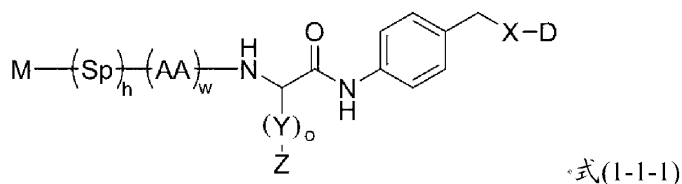
2、根据权利要求 1 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述式(1)为式(1-1)：



其中，M、Sp、A、T、Y、h、o、i、X、D、Z的定义如权利要求1中所述；

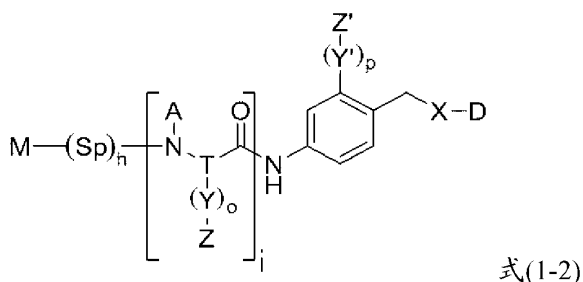
i 个 Z 中至少一个为磺酸内盐。

3、根据权利要求2所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述式(1-1)为式(1-1-1)：



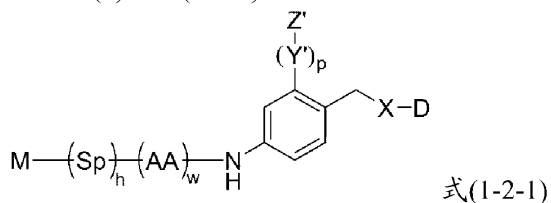
其中, AA 为氨基酸的残基, W 为大于等于 1 的整数。

4、根据权利要求1所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述式(1)为式(1-2):



其中, M、Sp、A、T、Y、Z、o、p、i、h、X、Y'、D 的定义如权利要求 1 中所述; Z' 为磷酸内盐或磷酸内盐。

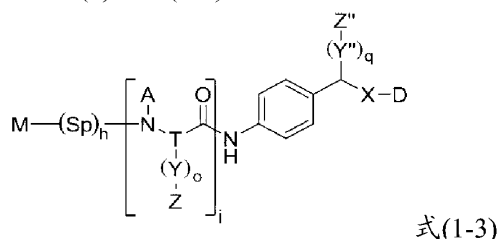
5、根据权利要求4所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述式(1)为式(1-2-1)：



其中, 其中, AA 为氨基酸的残基, W 为大于等于 1 的整数。

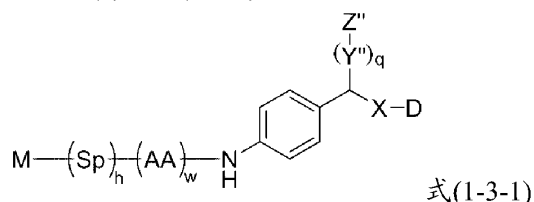
6、根据权利要求1所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其

中, 所述式(1)为式(1-3):



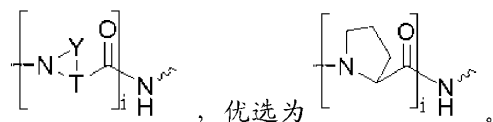
其中, M、Sp、A、Y、T、Z、o、i、h、q、X、Y''、D 的定义如权利要求 1 中所述; Z'' 为磺酸内盐或磷酸内盐。

7、根据权利要求 6 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 所述式(1)为式(1-3-1):



其中, 其中, AA 为氨基酸的残基, W 为大于等于 1 的整数。

8、根据权利要求 1-7 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 当 A 和 Z 都不存在时, N, Y, T 成环, 即为



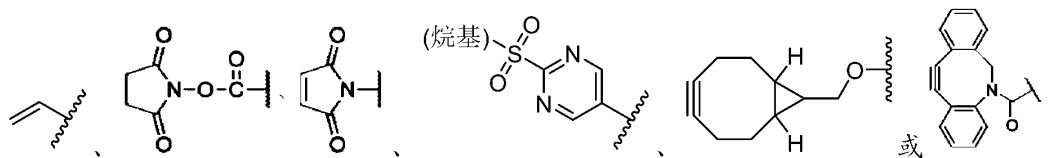
9、根据权利要求 3、5 或 7 中任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 所述氨基酸选自丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、γ-羧基谷氨酸、瓜氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、正亮氨酸、正缬氨酸、鸟氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、和缬氨酸中的一种或两种以上。

10、根据权利要求 3、5 或 7 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 所述氨基酸选自缬氨酸、谷氨酸、瓜氨酸、赖氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸、精氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺和甘氨酸中的一种或两种以上。

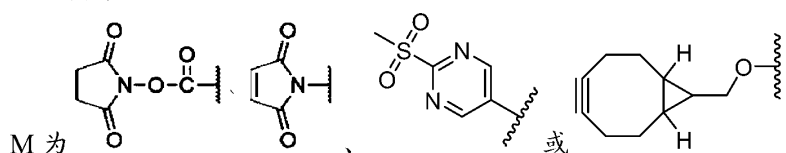
11、根据权利要求 3、5 或 7 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 所述氨基酸选自为缬氨酸、瓜氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸、谷氨酰胺

和甘氨酸中的一种或两种以上。

12、根据权利要求 1-11 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，M 选自 N_3 、SH、 ONH_2 、 NH_2 、 CO_2H 、(烷基)-CO-、HCO-、 $BrCH_2$ -、 ICH_2 -、

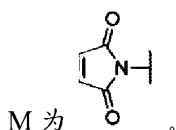


13、根据权利要求 1-12 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，



M 为

14、根据权利要求 1-13 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，

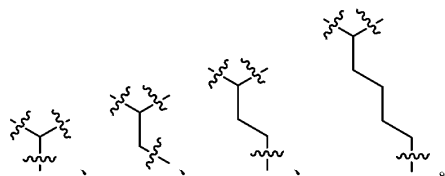


M 为

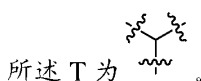
15、根据权利要求 1-14 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，A 为氢、甲基、乙基或丙基。

16、根据权利要求 1-15 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，A 为氢。

17、根据权利要求 1-16 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述 T 为如下结构中的一种：



18、根据权利要求 1-17 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，



19、根据权利要求 1-18 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_a 选自亚烷基、亚烯基、亚炔基、环碳原子数为 3-10 的饱和或不饱和的亚脂环基、环碳原子数为 3-10 的饱和或不饱和且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂脂环基、呈一或多个环的具有 6 至 18 个碳原子的亚芳基、或呈一或多个环的具有 6 至 18 个碳原子且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂芳基、或聚乙二醇基中的一种、两种或三种以上，所述亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基任选被取代基取代，所述杂原子选自氮、氧或硫。

20、根据权利要求 1-19 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_a 选自 C_1 - C_{10} 直链或支链亚烷基、 C_2 - C_{12} 直链或支链亚烯基、 C_2 - C_{12} 直链或支链亚炔基、环碳原子数为 3-6 的饱和或不饱和的亚脂环基、含有杂原子的环碳原子数为 3-6 的饱和或不饱和且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂脂环基、或呈一或多个环的具有 6 至 10 个碳原子的亚芳基、呈一或多个环的具有 6 至 10 个碳原子且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂芳基、或聚乙二醇基中的一种、两种或三种以上，所述亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基任选被取代基取代，所述杂原子选自氮、氧或硫。

21、根据权利要求 1-20 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_a 选自 C_1 - C_6 直链或支链亚烷基、 C_2 - C_6 直链或支链亚烯基、或 C_2 - C_6 直链或支链亚炔基、或聚乙二醇基中的一种、两种或三种以上，所述亚烷基、亚烯基、亚炔基任选被取代基取代。

22、根据权利要求 1-21 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_a 为 C_1 - C_6 直链或支链亚烷基、或聚乙二醇基中的一种、两种或三种以上，所述聚乙二醇基为 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2-$ 、 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_n-$ 、或 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ ， n 为大于等于 1 的整数。

23、根据权利要求 1-22 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_a 为亚乙基、直链亚丙基、直链亚丁基、直链亚戊基、或 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2-$ 中的一种、两种或三种以上，其中 n 为 2、3、4、5、6、7 或 8。

24、根据权利要求 1-23 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶

剂合物，其中， L_a 为亚乙基和/或 $-(CH_2CH_2O)_4CH_2CH_2-$ 或亚戊基。

25、根据权利要求1-24任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_b 选自亚烷基、亚烯基、亚炔基、环碳原子数为3-10的饱和或不饱和的亚脂环基、环碳原子数为3-10的饱和或不饱和且杂原子的数量为1至4个的亚杂脂环基、呈一或多个环的具有6至18个碳原子的亚芳基、或呈一或多个环的具有6至18个碳原子且杂原子的数量为1至4个的亚杂芳基、或聚乙二醇中的一种或两种或三种以上，所述亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基任选被取代基取代，所述杂原子选自氮、氧或硫。

26、根据权利要求1-25任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_b 选自 C_1-C_{10} 直链或支链亚烷基、 C_2-C_{12} 直链或支链亚烯基、 C_2-C_{12} 直链或支链亚炔基、环碳原子数为3-6的饱和或不饱和的亚脂环基、含有杂原子的环碳原子数为3-6的饱和或不饱和且杂原子的数量为1至4个的亚杂脂环基、或呈一或多个环的具有6至10个碳原子的亚芳基、呈一或多个环的具有6至10个碳原子，且杂原子的数量为1至4个的亚杂芳基、或聚乙二醇中的一种或两种或三种以上，所述亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基任选被取代基取代，所述杂原子选自氮、氧或硫。

27、根据权利要求1-26任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_b 选自 C_1-C_6 直链或支链亚烷基、 C_2-C_6 直链或支链亚烯基、或 C_2-C_6 直链或支链亚炔基、或聚乙二醇基，所述聚乙二醇基为 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2-$ 、 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_n-$ 、或 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ 中的一种或两种或三种以上， n 为大于等于1的整数，所述亚烷基、亚烯基、亚炔基任选被取代基取代。

28、根据权利要求1-27任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_b 为 C_1-C_6 直链或支链亚烷基、或 C_6-C_{10} 的亚芳基中的一种或两种或三种以上。

29、根据权利要求1-28任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_b 为亚甲基、亚乙基、亚正丙基、亚异丙基、亚正丁基、亚异丁基、亚仲丁基、亚叔丁基、或亚苯甲基中的一种或两种或三种以上。

30、根据权利要求1-29任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，

Q_a 选自 $-C(=O)NR-$ 、 $-NR-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-OC(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-NRC(=O)O-$ 、 $-NRC(=O)NR-$ 、 $NHC(=NH)NH-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-OC(=O)O-$ 中的一种、两种或三种以上, 其中, R 选自氢、任选取代的 C_1-C_6 直链或支链烷基。

31、根据权利要求 30 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, Q_a 为 $-C(=O)-$ 、 $-NR-$ 、 $-C(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)NR-$ 、 $-OC(=O)O-$ 、 $-OC(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 或 $-OC(=O)-$ 中的一种或两种或三种以上, 其中, R 选自氢或任选取代的 C_1-C_6 直链或支链烷基。

32、根据权利要求 30 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, Q_a 为 $-C(=O)-$ 、 $-NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 和 $-C(=O)NR-$ 中的一种或两种或三种以上, 其中, R 选自氢或任选取代的 C_1-C_6 直链或支链烷基。

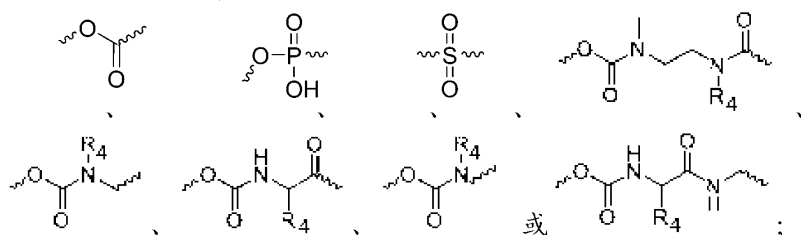
33、根据权利要求 30 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, Q_a 为 $-C(=O)-$ 、 $-N(CH_3)-$ 、 $-NHC(=O)-$ 、 $-C(=O)-NH-$ 或 $-C(=O)-N(CH_3)-$ 。

34、根据权利要求 1-33 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, Q_b 选自不存在、 $-C(=O)NR-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-OC(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-NRC(=O)O-$ 、 $-NRC(=O)NR-$ 、 $NHC(=NH)NH-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-OC(=O)O-$ 中的一种、两种或三种以上, 其中, R 选自氢、任选取代的 C_1-C_6 直链或支链烷基。

35、根据权利要求 34 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, Q_b 为不存在、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=O)NR-$ 、 $-OC(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-NRC(=O)O-$ 、或 $-NRC(=O)NR-$ 中的一种或两种或三种以上, R 选自氢、任选取代的 C_1-C_6 直链或支链烷基。

36、根据权利要求 34 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, Q_b 为不存在、 $-C(=O)-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-NRC(=O)NR-$ 或 $-C(=O)NR-$ 的一种或两种或三种以上, R 为氢或甲基。

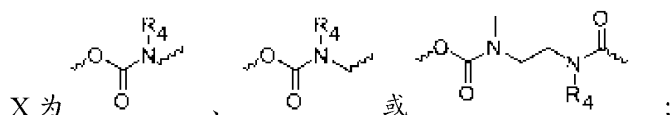
37、根据权利要求 1-36 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, X 选自:



X 中的右侧波浪线连接 D;

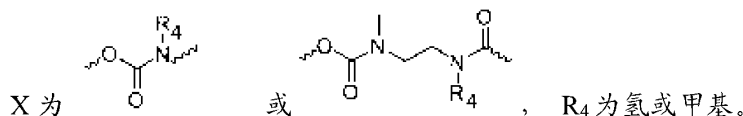
R₄选自氢、C₁-C₆直链或支链烷基, -(CH₂CH₂O)_mR₂、-CH₂CH₂NR₂R₃、-CH₂CH₂SO₂R₂,
R₂, R₃分别选自氢、C₁-C₆直链或支链烷基, m 为大于 1 的整数。

38、根据权利要求 37 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中,

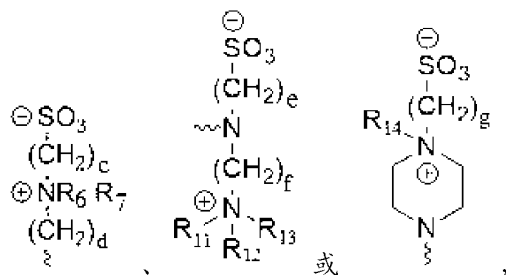


R₄为氢, 甲基, -CH₂CH₂OCH₂CH₂OH、-CH₂CH₂NMe₂、-CH₂CH₂SO₂Me。

39、根据权利要求 37 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中,



40、根据权利要求 1-39 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 所述磺酸内盐为

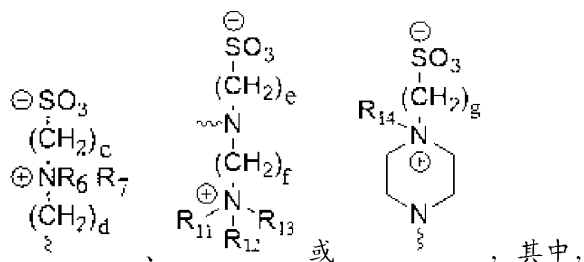


波浪线连接 Y, Y' 或 Y'';

其中 c、d、e、f、g 均为 1、2、3、4、5 或 6 的整数;

R₆、R₇、R₁₁、R₁₂、R₁₃、R₁₄ 分别选自不存在、氢、C₁-C₆直链或支链烷基。

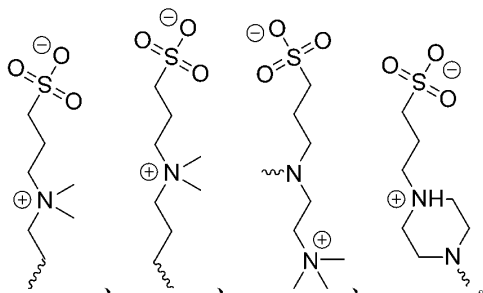
41、根据权利要求 40 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 所述磺酸内盐为



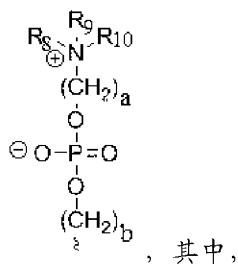
R₆、R₇、R₁₁、R₁₂、R₁₃以及R₁₄分别选自不存在、甲基或乙基，

c、d、e、f、g分别为1或2或3。

42、根据权利要求40所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述磷酸内盐为如下结构中的一种：

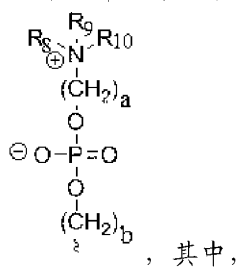


43、根据权利要求1-42任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述磷酸内盐为



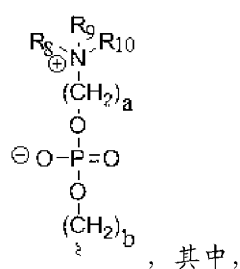
a和b均为1、2、3、4、5或6的整数；R₈、R₉和R₁₀分别选自氢、C₁-C₆直链或支链烷基。

44、根据权利要求43所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述磷酸内盐为



R₈、R₉、R₁₀分别为甲基或乙基；a为1或2或3；b为1或2或3。

45、根据权利要求43所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述磷酸内盐为



R_8 、 R_9 、 R_{10} 均为甲基; a 为 2; b 为 1。

46、根据权利要求 1-45 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 所述 D 包括细胞毒素或免疫激动剂。

47、根据权利要求 46 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 所述细胞毒素选自微管蛋白抑制剂、DNA 合成抑制剂、拓扑异构酶抑制剂或 RNA 聚合酶 2 抑制剂中的一种或两种。

48、根据权利要求 46 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 所述细胞毒素选自奥利斯他汀类、和美登素生物碱类 DMs、卡奇霉素 calicheamicin、多米卡星 duocarmycin、吡咯并苯二氮草类、喜树碱衍生物以及 α -鹅膏蕈碱中的一种或两种以上。

49、根据权利要求 46 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 所述免疫激动剂选自 TLR7/8 激动剂或 STING 激动剂。

50、根据权利要求 1-49 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, i 为 2、3、4、5、6、7 或 8。

51、根据权利要求 1-50 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, h 为 1、2、3 或 4。

52、根据权利要求 1-51 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, o 、 p 、 q 分别为 0、1、2 或 3。

53、根据权利要求 1-52 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, L_a 为 C_1 - C_6 直链或支链亚烷基、或聚乙二醇基中的一种、两种或三种以上,

所述聚乙二醇基为 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ 、

$-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-$ 、或 $-\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2-$ ， n 为大于等于1的整数；

Q_a 为 $-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{NR}-$ 、 $-\text{NR}(\text{C}=\text{O})-$ 和 $-(\text{C}=\text{O})\text{NR}-$ 中的一种或两种或三种以上，其中， R 选自氢、 C_1 - C_6 直链或支链烷基。

54、根据权利要求53所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_a 为亚乙基、直链亚丙基、直链亚丁基、直链亚戊基、或 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 中的一种、两种或三种以上，其中 n 为2、3、4、5、6、7或8； Q_a 为 $-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{NR}-$ 、 $-\text{NR}(\text{C}=\text{O})-$ 和 $-(\text{C}=\text{O})\text{NR}-$ 中的一种或两种或三种以上，其中， R 为甲基和/或氢。

55、根据权利要求53所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_a 为亚乙基和/或 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_4\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 或亚戊基；

Q_a 为 $-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{N}(\text{CH}_3)-$ 、 $-\text{NH}(\text{C}=\text{O})-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-$ 或 $-\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{CH}_3)-$ 。

56、根据权利要求1-55任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_b 选自 C_1 - C_6 直链或支链亚烷基、 C_2 - C_6 直链或支链亚烯基、或 C_2 - C_6 直链或支链亚炔基、呈一或多个环的具有6至10个碳原子的亚芳基、或聚乙二醇基，

所述聚乙二醇基为 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-$ 、 $-\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-$ 、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2-$ 、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-$ 、或 $-\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2-$ 中的一种或两种或三种以上， n 为大于等于1的整数，所述亚烷基、亚烯基、亚炔基任选被取代基取代；

Q_b 选自不存在、 $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}-$ 、 $-\text{NRC}(=\text{O})-$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})-$ 、 $-\text{NRC}(=\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{NRS}(=\text{O})_2-$ 、 $-\text{NRC}(=\text{O})\text{NR}-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$ 中的一种、两种或三种以上， R 选自氢、任选取代的 C_1 - C_6 直链或支链烷基。

57、根据权利要求56所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_b 为 C_1 - C_6 直链或支链亚烷基、或 C_6 - C_{10} 的亚芳基中的一种或两种或三种以上；

Q_b 为不存在、 $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}-$ 、 $-\text{NRC}(=\text{O})-$ 、 $-\text{NRC}(=\text{O})\text{O}-$ 、或 $-\text{NRC}(=\text{O})\text{NR}-$ 中的一种或两种或三种以上， R 选自氢、 C_1 - C_6 直链或支链烷基。

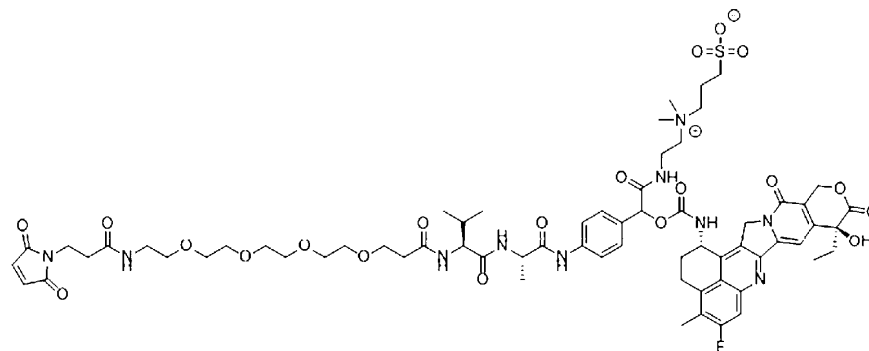
58、根据权利要求56所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_b 为亚甲基、亚乙基、亚正丙基、亚异丙基、亚正丁基、亚异丁基、亚仲丁基、亚叔丁基或亚苯甲基中的一种或两种或三种以上；

Q_b 为不存在、 $-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{NRC}(=\text{O})-$ 、 $-\text{NRC}(=\text{O})\text{NR}-$ 或 $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}-$ 的一种或两种或三种以上， R 为氢或甲基。

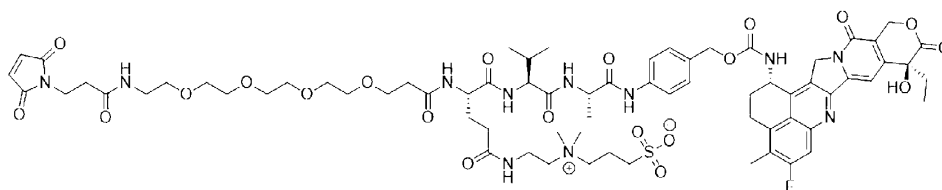
59、根据权利要求1-58任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶

剂合物, 其中, 所述取代基选自氘、氚、卤素原子、氨基、羟基、氰基、硝基、任选取代的烷基、烯基、炔基团、任选取代的杂环基团、酰基、任选取代的氨基、任选取代的氨基甲酰基、任选取代的硫代氨基甲酰基、任选取代的氨磺酰基、任选取代的羟基、任选取代的硫烷基(SH)和任选取代的甲硅烷基。

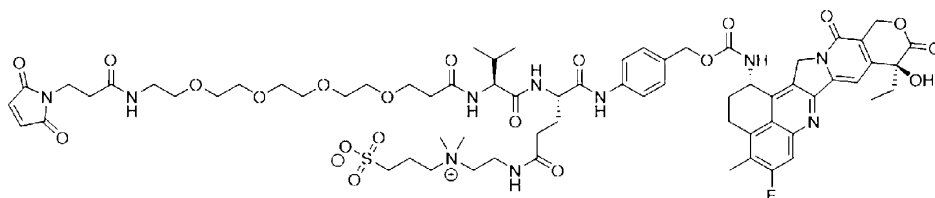
60、根据权利要求 1-59 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 所述化合物选自如下结构:



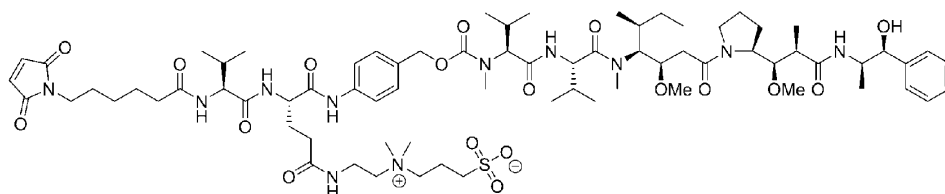
LD-31、



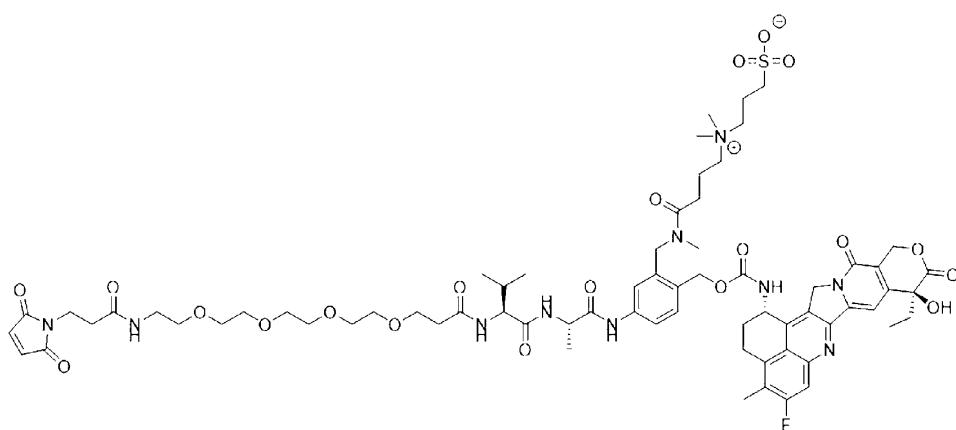
LD-37、



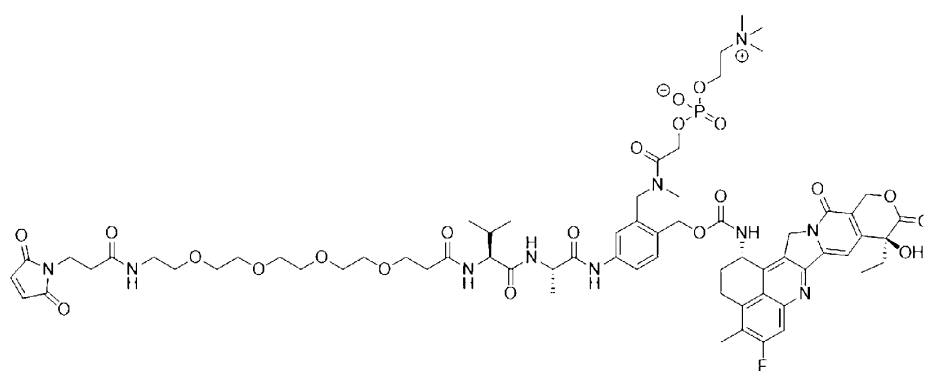
LD-38、



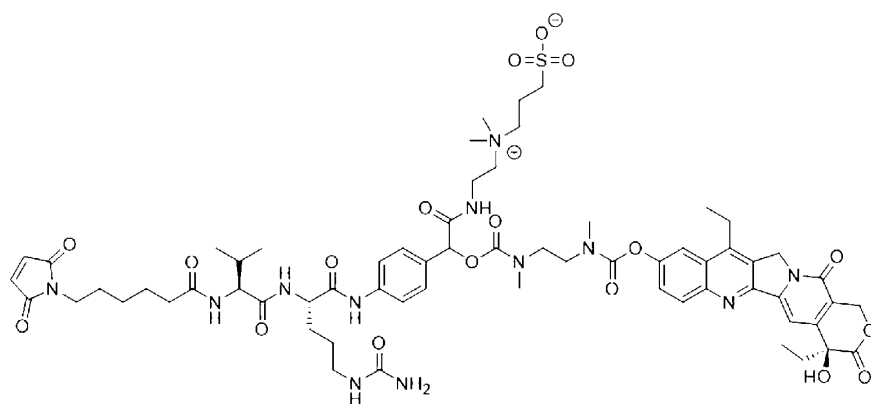
LD-57、



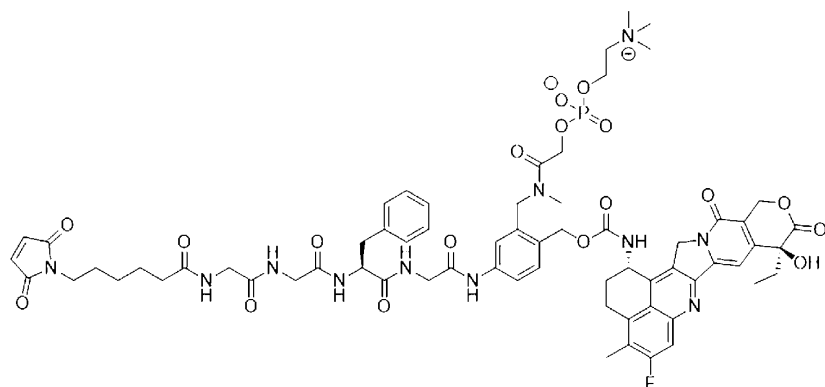
LD-65、



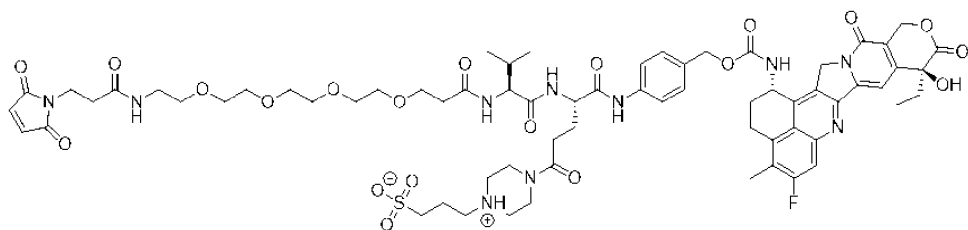
LD-66、



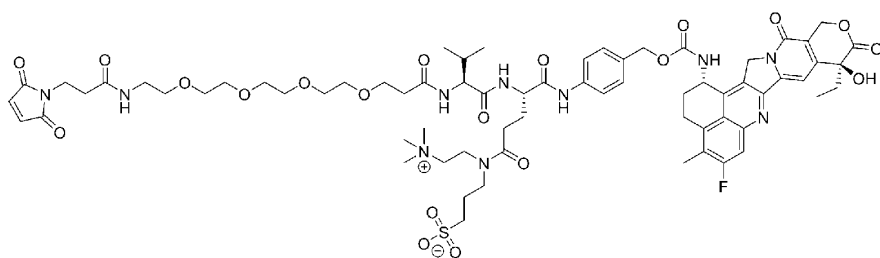
LD-71 、



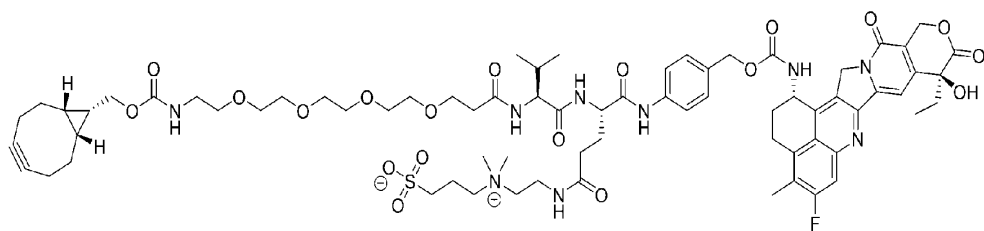
LD-72、



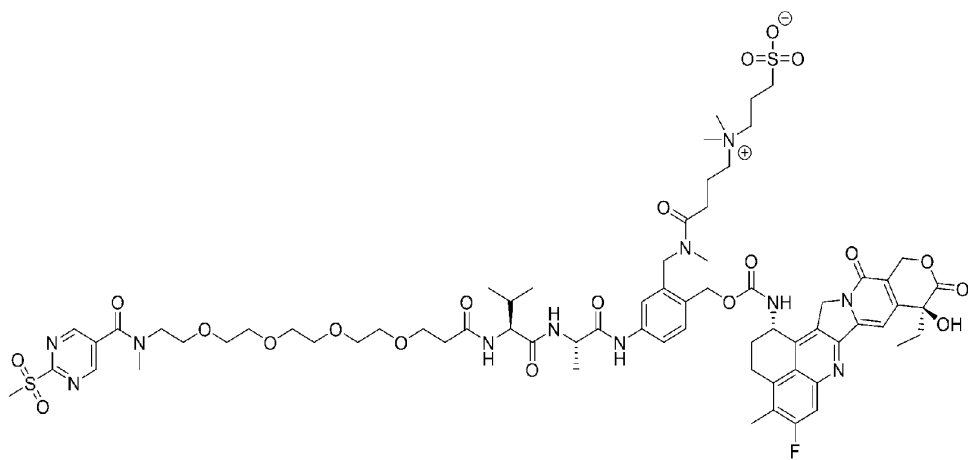
LD-88、



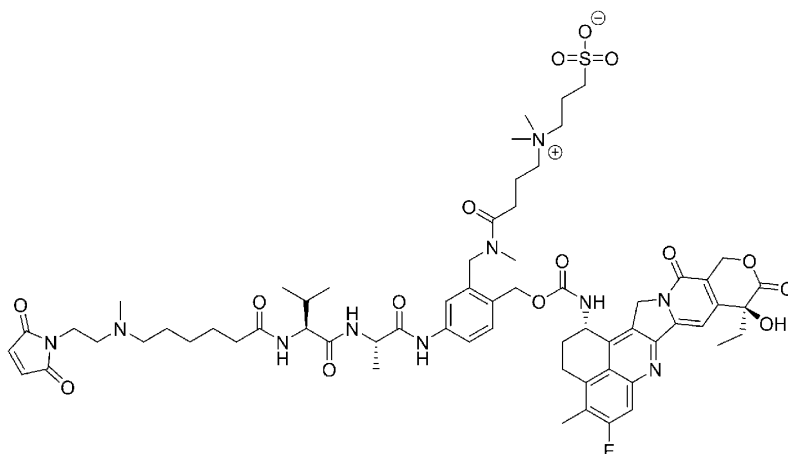
LD-89 、



LD-94、

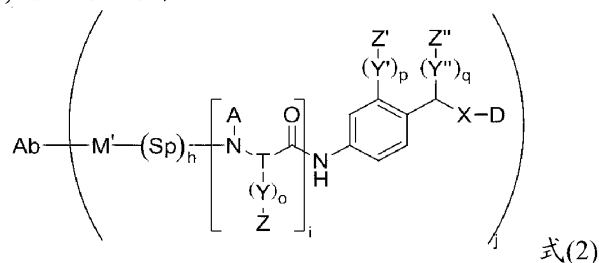


LD-98、



LD-99。

61、一种由式(2)表示的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，式(2)的结构如下表示：



Ab 包含抗体或其抗原结合片段；

M' 为连接基团；

Sp 为 -L_a-Q_a-；

A 选自不存在、氢、烷基；

T 表示直链的或具有支链的 (C₁-C₈) 三价烷基基团；

Y、Y'、Y'' 分别为 -L_b-Q_b-；

L_a、L_b 分别选自不存在、亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基或聚乙二醇基，其中所述亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基、聚乙二醇基任选被取代基取代；

Q_a、Q_b 分别选自不存在、-C(=O)NR-、-C(=O)O-、-OC(=O)NR-、-S(=O)₂NR-、-NRC(=O)-、-OC(=O)-、-NRC(=O)O-、-NRS(=O)₂-、-NRC(=O)NR-、-NHC(=NH)NH-、-C(=O)-、-OC(=O)O-、-O-、-NR-、-S-、S(=O)₂-、S(=O)-、或 -Se-，其中 R 选氢或任选取代的烷基；

Z 选自不存在、氢、任选取代的烷基或磺酸内盐；

Z'、Z'' 选自不存在、氢、任选取代的烷基、磺酸内盐或磷酸内盐；

Z、Z'、Z'' 中的至少一个为磺酸内盐或磷酸内盐；

X 包含自毁单元或不存在；

D 包括药物分子；

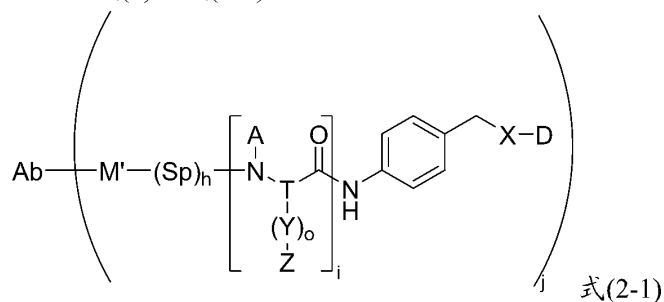
i 为大于等于 1 的整数;

h 为 1-6 的整数;

o、p、q 分别为 0-5 的整数;

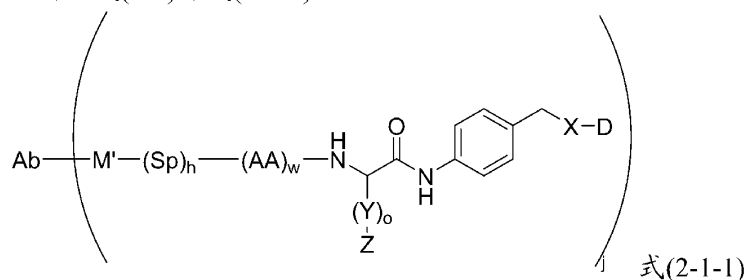
j 为大于等于 1 的整数。

62、根据权利要求 61 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 所述式(2)为式(2-1):



其中, Ab、M'、Sp、A、T、Y、h、o、i、j、X、D、Z 的定义如权利要求 61 中所述;
i 个 Z 中至少一个为磷酸内盐。

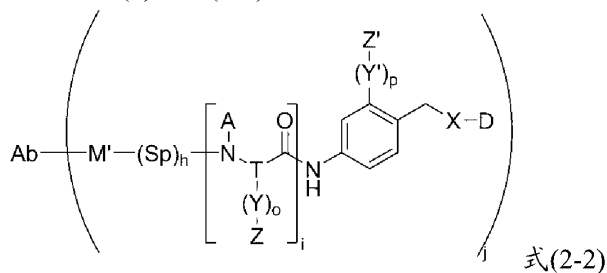
63、根据权利要求 62 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 所述式(2-1)为式(2-1-1):



其中, AA 为氨基酸的残基,

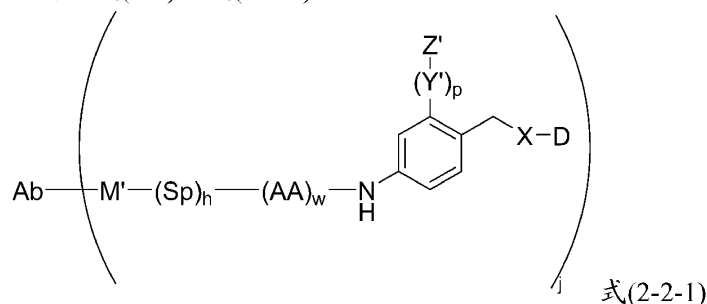
W 为大于等于 1 的整数。

64、根据权利要求 61 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 所述式(2)为式(2-2):



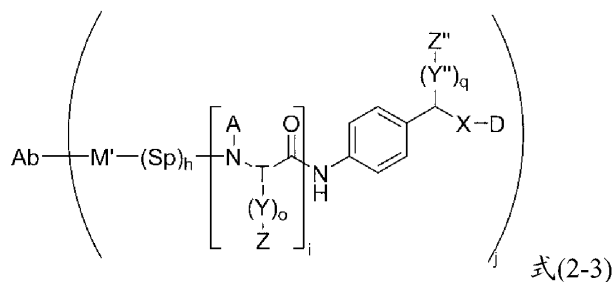
其中, Ab、M'、Sp、A、T、Y、Z、o、p、i、h、j、X、Y'、D 的定义如权利要求 61 中所述; Z' 为磺酸内盐或磷酸内盐。

65、根据权利要求 64 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 所述式(2-2)为式(2-2-1):



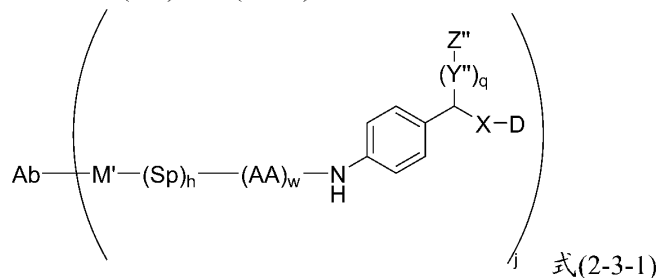
其中, 其中, AA 为氨基酸的残基, W 为大于等于 1 的整数。

66、根据权利要求 61 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 所述式(2)为式(2-3):



其中, Ab、M'、Sp、A、Y、T、Z、o、i、h、j、q、X、Y''、D 的定义如权利要求 61 中所述; Z'' 为磺酸内盐或磷酸内盐。

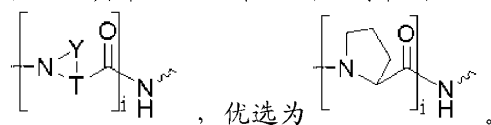
67、根据权利要求 66 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 所述式(2-3)为式(2-3-1):



其中, 其中, AA 为氨基酸的残基, W 为大于等于 1 的整数。

68、根据权利要求 61-67 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或

溶剂合物，其中，当 A 和 Z 都不存在时，N, Y, T 成环，即为

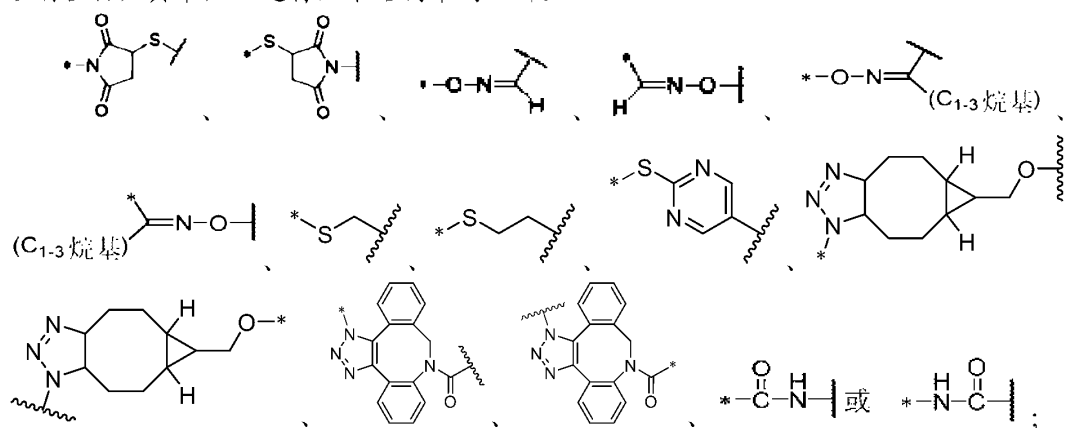


69、根据权利要求 63、65 或 67 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述氨基酸选自丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、 γ -羧基谷氨酸、瓜氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、正亮氨酸、正缬氨酸、鸟氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、和缬氨酸中的一种或两种以上。

70、根据权利要求 63、65 或 67 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述氨基酸选自缬氨酸、谷氨酸、瓜氨酸、赖氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸、精氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺和甘氨酸中的一种或两种以上。

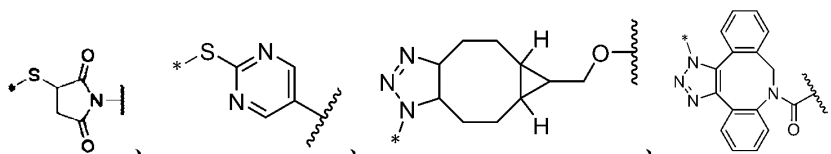
71、根据权利要求 63、65 或 67 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述氨基酸选自缬氨酸、瓜氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸、谷氨酰胺和甘氨酸中的一种或两种以上。

72、根据权利要求 61-71 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，M'选自如下结构中的一种：

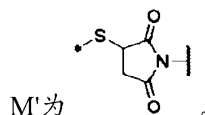


*连接 Ab。

73、根据权利要求 61-72 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，M'选自如下结构中的一种：



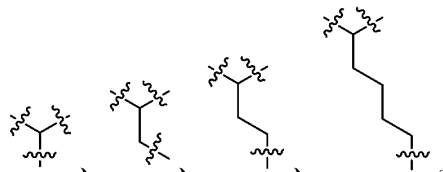
74、根据权利要求 61-73 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，



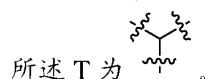
75、根据权利要求 61-74 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，A 为氢、甲基、乙基或丙基。

76、根据权利要求 61-75 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，A 为氢。

77、根据权利要求 61-76 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述 T 为如下结构中的一种：



78、根据权利要求 61-77 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，



79、根据权利要求 61-78 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_a 选自亚烷基、亚烯基、亚炔基、环碳原子数为 3-10 的饱和或不饱和的亚脂环基、环碳原子数为 3-10 的饱和或不饱和且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂脂环基、呈一或多个环的具有 6 至 18 个碳原子的亚芳基、或呈一或多个环的具有 6 至 18 个碳原子且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂芳基、或聚乙二醇基中的一种、两种或三种以上，所述亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基任选被取代基取代，所述杂原子选自氮、氧或硫。

80、根据权利要求 61-79 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消

旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_a 选自 C_1 - C_{10} 直链或支链亚烷基、 C_2 - C_{12} 直链或支链亚烯基、 C_2 - C_{12} 直链或支链亚炔基、环碳原子数为 3-6 的饱和或不饱和的亚脂环基、含有杂原子的环碳原子数为 3-6 的饱和或不饱和且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂脂环基、或呈一或多个环的具有 6 至 10 个碳原子的亚芳基、呈一或多个环的具有 6 至 10 个碳原子且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂芳基、或聚乙二醇基中的一种、两种或三种以上，所述亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基任选被取代基取代，所述杂原子选自氮、氧或硫。

81、根据权利要求 61-80 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_a 选自 C_1 - C_6 直链或支链亚烷基、 C_2 - C_6 直链或支链亚烯基、或 C_2 - C_6 直链或支链亚炔基、或聚乙二醇基中的一种、两种或三种以上，所述亚烷基、亚烯基、亚炔基任选被取代基取代。

82、根据权利要求 61-81 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_a 为 C_1 - C_6 直链或支链亚烷基、或聚乙二醇基中的一种、两种或三种以上，

所述聚乙二醇基为 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2-$ 、 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_n-$ 、或 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ ， n 为大于等于 1 的整数。

83、根据权利要求 61-82 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_a 为亚乙基、直链亚丙基、直链亚丁基、直链亚戊基、或 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2-$ 中的一种、两种或三种以上，其中 n 为 2、3、4、5、6、7 或 8。

84、根据权利要求 61-83 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_a 为亚乙基和/或 $-(CH_2CH_2O)_4CH_2CH_2-$ 或亚戊基。

85、根据权利要求 61-84 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_b 选自亚烷基、亚烯基、亚炔基、环碳原子数为 3-10 的饱和或不饱和的亚脂环基、环碳原子数为 3-10 的饱和或不饱和且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂脂环基、呈一或多个环的具有 6 至 18 个碳原子的亚芳基、或呈一或多个环的具有 6 至 18 个碳原子且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂芳基、或聚乙二醇中的一种或两种或三种以上，

所述亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基任选被取代基取代，所述杂原子选自氮、氧或硫。

86、根据权利要求 61-85 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消

旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_b 选自 C_1 - C_{10} 直链或支链亚烷基、 C_2 - C_{12} 直链或支链亚烯基、 C_2 - C_{12} 直链或支链亚炔基、环碳原子数为 3-6 的饱和或不饱和的亚脂环基、含有杂原子的环碳原子数为 3-6 的饱和或不饱和且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂脂环基、或呈一或多个环的具有 6 至 10 个碳原子的亚芳基、呈一或多个环的具有 6 至 10 个碳原子，且杂原子的数量为 1 至 4 个的亚杂芳基、或聚乙二醇中的一种或两种或三种以上，

所述亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚脂环基、亚杂脂环基、亚芳基、亚杂芳基任选被取代基取代，所述杂原子选自氮、氧或硫。

87、根据权利要求 61-86 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_b 选自 C_1 - C_6 直链或支链亚烷基、 C_2 - C_6 直链或支链亚烯基、或 C_2 - C_6 直链或支链亚炔基、或聚乙二醇基，

所述聚乙二醇基为 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2-$ 、 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_n-$ 、或 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ 中的一种或两种或三种以上， n 为大于等于 1 的整数，

所述亚烷基、亚烯基、亚炔基任选被取代基取代。

88、根据权利要求 61-87 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_b 为 C_1 - C_6 直链或支链亚烷基、或 C_6 - C_{10} 的亚芳基中的一种或两种或三种以上。

89、根据权利要求 61-88 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， L_b 为亚甲基、亚乙基、亚正丙基、亚异丙基、亚正丁基、亚异丁基、亚仲丁基、亚叔丁基、或亚苯甲基中的一种或两种或三种以上。

90、根据权利要求 61-89 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， Q_a 选自 $-C(=O)NR-$ 、 $-NR-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-OC(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-NRC(=O)O-$ 、 $-NRC(=O)NR-$ 、 $NHC(=NH)NH-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-OC(=O)O-$ 中的一种、两种或三种以上，其中， R 选自氢任选取代的 C_1 - C_6 直链或支链烷基。

91、根据权利要求 90 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中， Q_a 为 $-C(=O)-$ 、 $-NR-$ 、 $-C(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)NR-$ 、 $-OC(=O)O-$ 、 $-OC(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 或 $-OC(=O)-$ 中的一种或两种或三种以上，其中，

R 选自氢或任选取代的 C_1 - C_6 直链或支链烷基。

92、根据权利要求 90 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，

其中, Q_a 为 $-C(=O)-$ 、 $-NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 和 $-(C=O)NR-$ 中的一种或两种或三种以上, 其中, R 选自氢或任选取代的 C_1-C_6 直链或支链烷基。

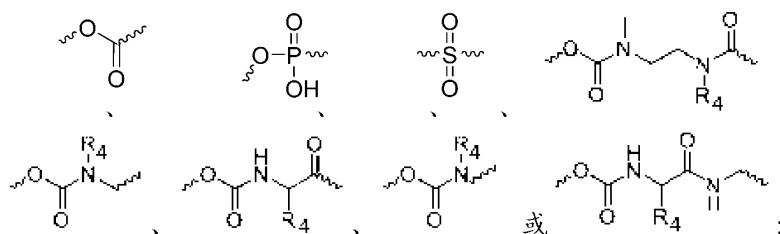
93、根据权利要求 90 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, Q_a 为 $-C(=O)-$ 、 $-N(CH_3)-$ 、 $-NHC(=O)-$ 、 $-C(=O)-NH-$ 或 $-C(=O)-N(CH_3)-$ 。

94、根据权利要求 61-93 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, Q_b 选自不存在、 $-C(=O)NR-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-OC(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-NRC(=O)O-$ 、 $-NRC(=O)NR-$ 、 $NHC(=NH)NH-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-OC(=O)O-$ 中的一种、两种或三种以上, 其中, R 选自氢或任选取代的 C_1-C_6 直链或支链烷基。

95、根据权利要求 94 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, Q_b 为不存在、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=O)NR-$ 、 $-OC(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-NRC(=O)O-$ 、或 $-NRC(=O)NR-$ 中的一种或两种或三种以上, R 选自氢或任选取代的 C_1-C_6 直链或支链烷基。

96、根据权利要求 94 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, Q_b 为不存在、 $-C(=O)-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-NRC(=O)NR-$ 或 $-C(=O)NR-$ 的一种或两种或三种以上, R 为氢或甲基。

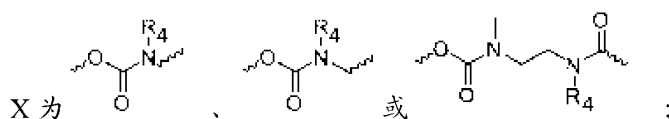
97、根据权利要求 61-96 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, X 选自:



X 中的右侧波浪线连接 D;

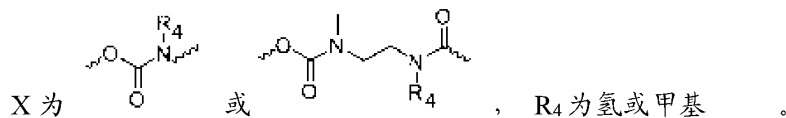
R_4 选自氢、 C_1-C_6 直链或支链烷基、 $-(CH_2CH_2O)_mR_2$ 、 $-CH_2CH_2NR_2R_3$ 、 $-CH_2CH_2SO_2R_2-$, R_2 , R_3 分别选自氢、 C_1-C_6 直链或支链烷基, m 为大于 1 的整数。

98、根据权利要求 97 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中,

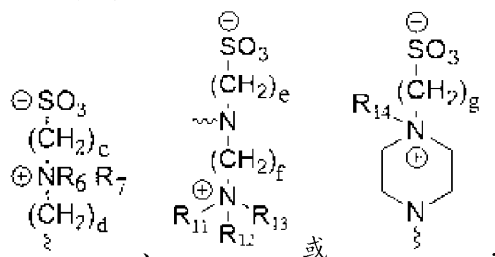


R_4 为氢, 甲基, $-CH_2CH_2OCH_2CH_2OH$ 、 $-CH_2CH_2NMe_2$ 、 $-CH_2CH_2SO_2Me$ 。

99、根据权利要求 97 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，



100、根据权利要求 61-99 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述磺酸内盐为

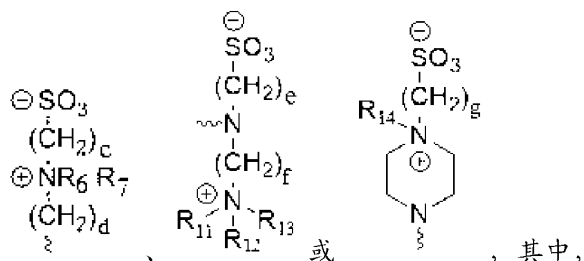


波浪线连接 Y，Y' 或 Y''；

其中 c、d、e、f、g 均为 1、2、3、4、5 或 6 的整数；

R₆、R₇、R₁₁、R₁₂、R₁₃、R₁₄ 分别选自不存在、氢、C₁-C₆ 直链或支链烷基。

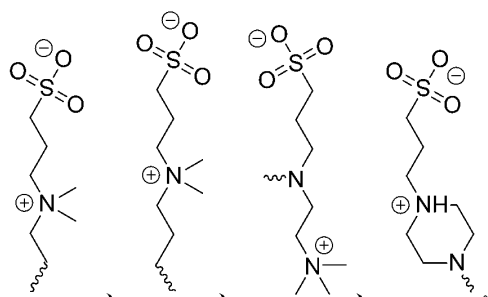
101、根据权利要求 100 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述磺酸内盐为



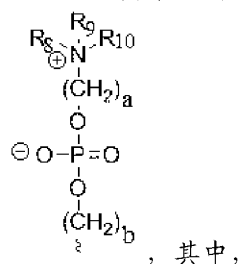
R₆、R₇、R₁₁、R₁₂、R₁₃ 以及 R₁₄ 分别选自不存在、甲基或乙基，

c、d、e、f、g 分别为 1 或 2 或 3。

102、根据权利要求 100 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述磺酸内盐为如下结构中的一种：

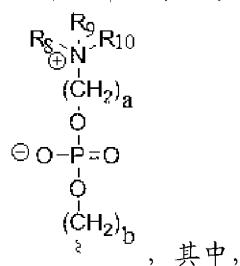


103、根据权利要求 61-102 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述磷酸内盐为



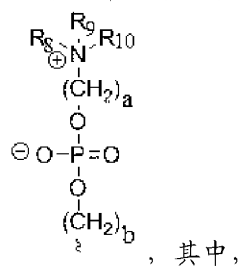
a 和 b 均为 1、2、3、4、5 或 6 的整数， R_8 、 R_9 和 R_{10} 分别选自氢、 C_1 - C_6 直链或支链烷基。

104、根据权利要求 103 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述磷酸内盐为



R_8 、 R_9 、 R_{10} 分别为甲基或乙基；a 为 1 或 2 或 3；b 为 1 或 2 或 3。

105、根据权利要求 103 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述磷酸内盐为



R₈、R₉、R₁₀均为甲基；a为2；b为1。

106、根据权利要求 61-105 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述 D 包括细胞毒素或免疫激动剂。

107、根据权利要求 106 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述细胞毒素选自微管蛋白抑制剂、DNA 合成抑制剂、拓扑异构酶抑制剂或 RNA 聚合酶 2 抑制剂中的一种或两种。

108、根据权利要求 106 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述细胞毒素选自奥利斯他汀类、和美登素生物碱类 DMs、卡奇霉素 calicheamicin、多米卡星 duocarmycin、吡咯并苯二氮草类、喜树碱衍生物以及 α -鹅膏蕈碱中的一种或两种以上。

109、根据权利要求 106 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述免疫激动剂选自 TLR7/8 激动剂或 STING 激动剂。

110、根据权利要求 61-109 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，i 为 2、3、4、5、6、7 或 8。

111、根据权利要求 61-110 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，h 为 1、2、3 或 4。

112、根据权利要求 61-111 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，o、p、q 分别为 0、1、2 或 3。

113、根据权利要求 61-112 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，L_a 为 C₁-C₆ 直链或支链亚烷基、或聚乙二醇基中的一种、两种或三种以上，

所述聚乙二醇基为 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2-$ 、 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_n-$ 、或 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ ，n 为大于等于 1 的整数；

Q_a 为 $-C(=O)-$ 、 $-NR(C=O)-$ 和 $-(C=O)NR-$ 中的一种或两种或三种以上，其中，

R 选自氢、C₁-C₆ 直链或支链烷基。

114、根据权利要求 61-113 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药

或溶剂合物, 其中, L_a 为亚乙基、直链亚丙基、直链亚丁基、直链亚戊基、或 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2-$ 中的一种、两种或三种以上, 其中 n 为 2、3、4、5、6、7 或 8;

Q_a 为 $-C(=O)-$ 、 $-NR-$ 、 $-NR(C=O)-$ 和 $-(C=O)NR-$ 中的一种或两种或三种以上, 其中, R 为甲基和/或氢。

115、根据权利要求 114 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, L_a 为亚乙基和/或 $-(CH_2CH_2O)_4CH_2CH_2-$ 或亚戊基;

Q_a 为 $-C(=O)-$ 、 $-N(CH_3)-$ 、 $-NH(C=O)-$ 、 $-C(=O)NH-$ 或 $-C(=O)-N(CH_3)-$ 。

116、根据权利要求 61-115 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, L_b 选自 C_1-C_6 直链或支链亚烷基、 C_2-C_6 直链或支链亚烯基、或 C_2-C_6 直链或支链亚炔基、呈一或多个环的具有 6 至 10 个碳原子的亚芳基、或聚乙二醇基,

所述聚乙二醇基为 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-O(CH_2CH_2O)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2-$ 、 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_n-$ 、或 $-CH_2O(CH_2CH_2O)_nCH_2-$ 中的一种或两种或三种以上, n 为大于等于 1 的整数, 所述亚烷基、亚烯基、亚炔基任选被取代基取代;

Q_b 选自不存在、 $-C(=O)NR-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-OC(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-NRC(=O)O-$ 、 $-NRS(=O)_2-$ 、 $-NRC(=O)NR-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-OC(=O)O-$ 中的一种、两种或三种以上, R 选自氢、任选取代的 C_1-C_6 直链或支链烷基。

117、根据权利要求 116 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, L_b 为 C_1-C_6 直链或支链亚烷基、或 C_6-C_{10} 的亚芳基中的一种或两种或三种以上;

Q_b 为不存在、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=O)NR-$ 、 $-OC(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-NRC(=O)O-$ 、或 $-NRC(=O)NR-$ 中的一种或两种或三种以上, R 选自氢、任选取代的 C_1-C_6 直链或支链烷基。

118、根据权利要求 116 所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, L_b 为亚甲基、亚乙基、亚正丙基、亚异丙基、亚正丁基、亚异丁基、亚仲丁基、亚叔丁基或亚苯甲基中的一种或两种或三种以上;

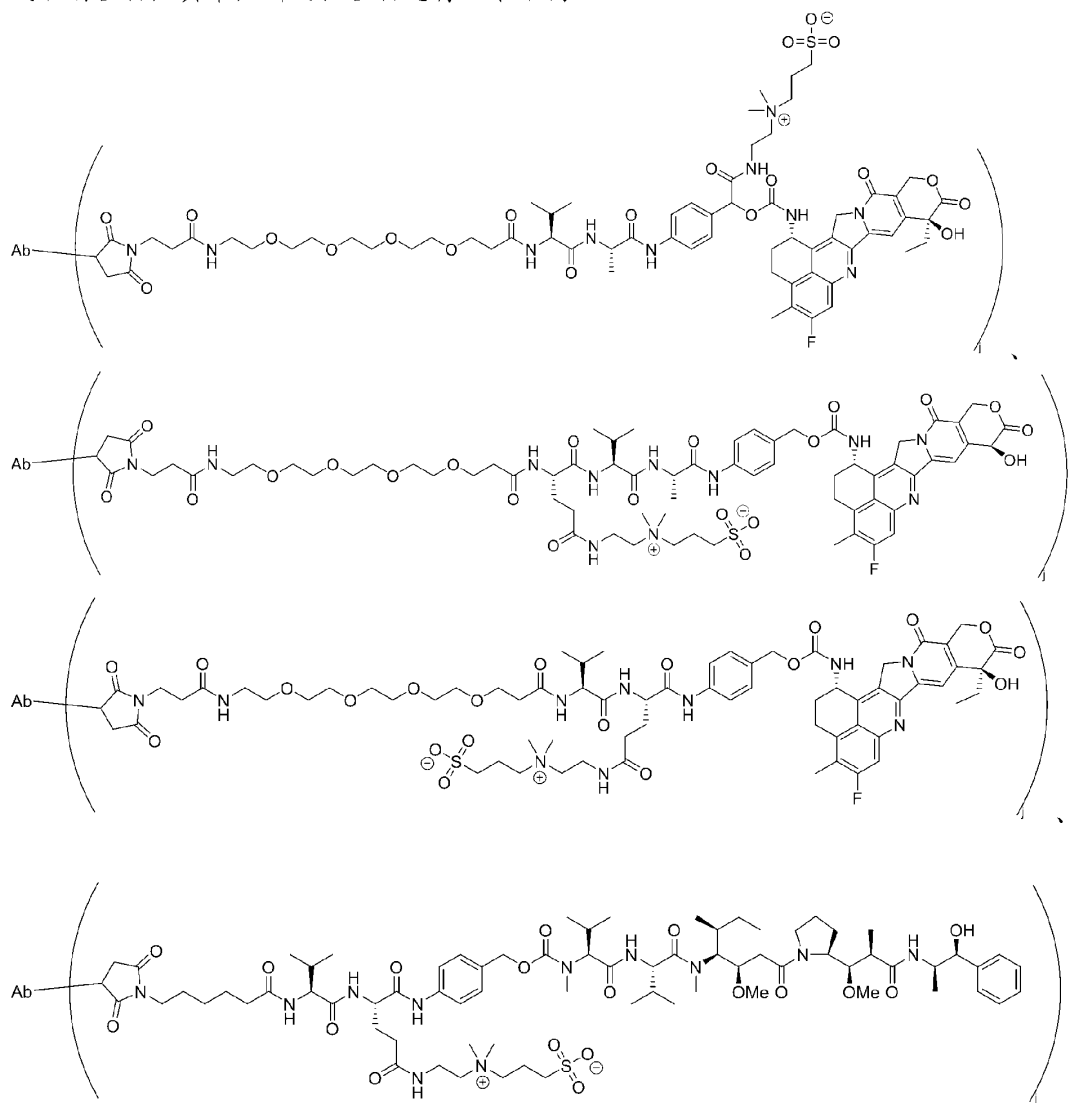
Q_b 为不存在、 $-C(=O)-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-NRC(=O)NR-$ 或 $-C(=O)NR-$ 的一种或两种或三种以上, R 为氢或甲基。

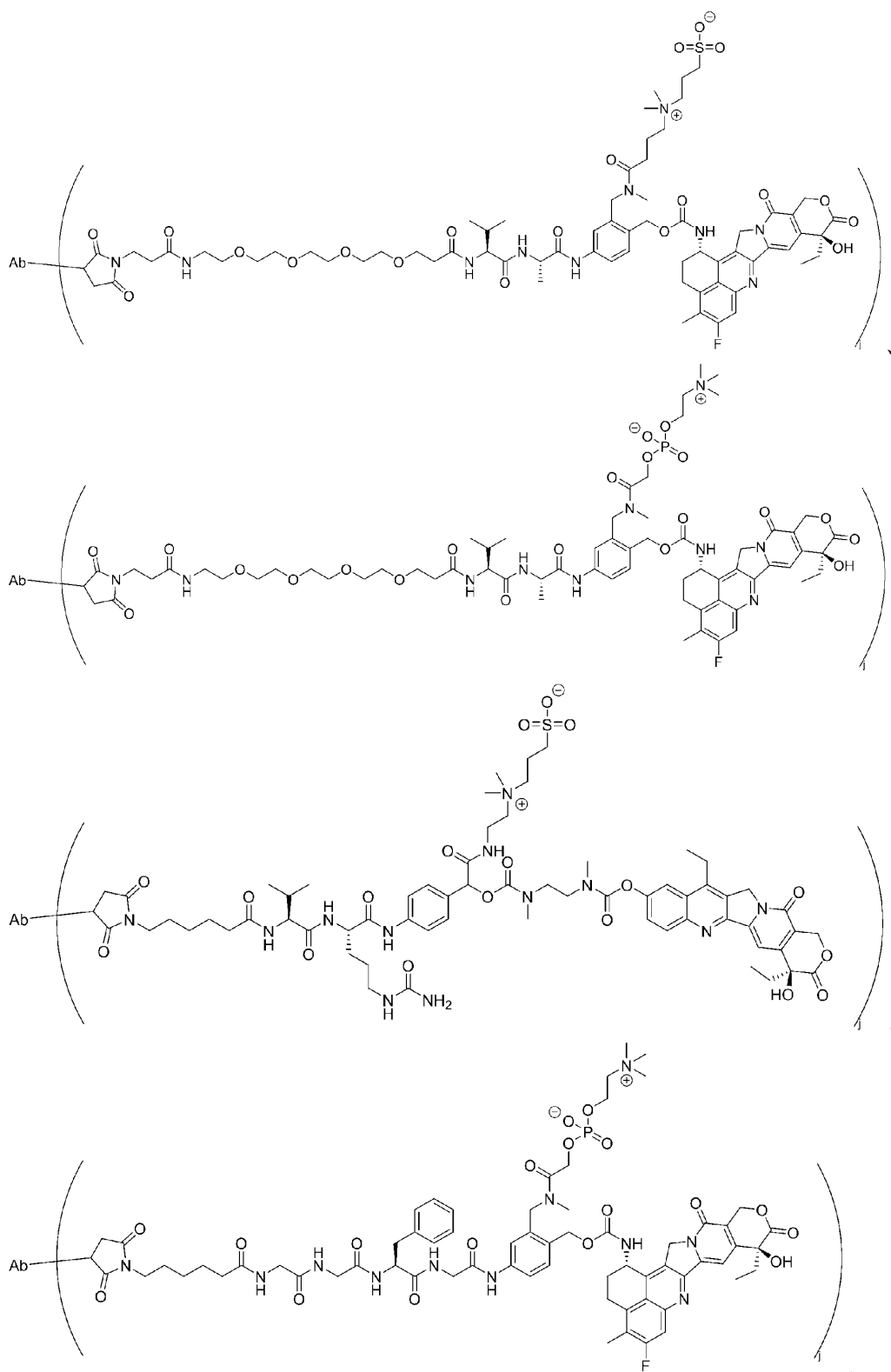
119、根据权利要求 61-118 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物, 其中, 所述取代基选自氘、氚、卤素原子、氨基、羟基、氰基、硝基、任选取代的烷基、烯基、炔基团、任选取代的杂环基团、酰基、任选取代的氨基、任选取代的氨基甲酰基、任选取代的硫代氨基甲酰基、任选取代的氨磺酰基、任选取代的羟基、任选取代的硫烷基(SH)和任选取代的甲硅烷基。

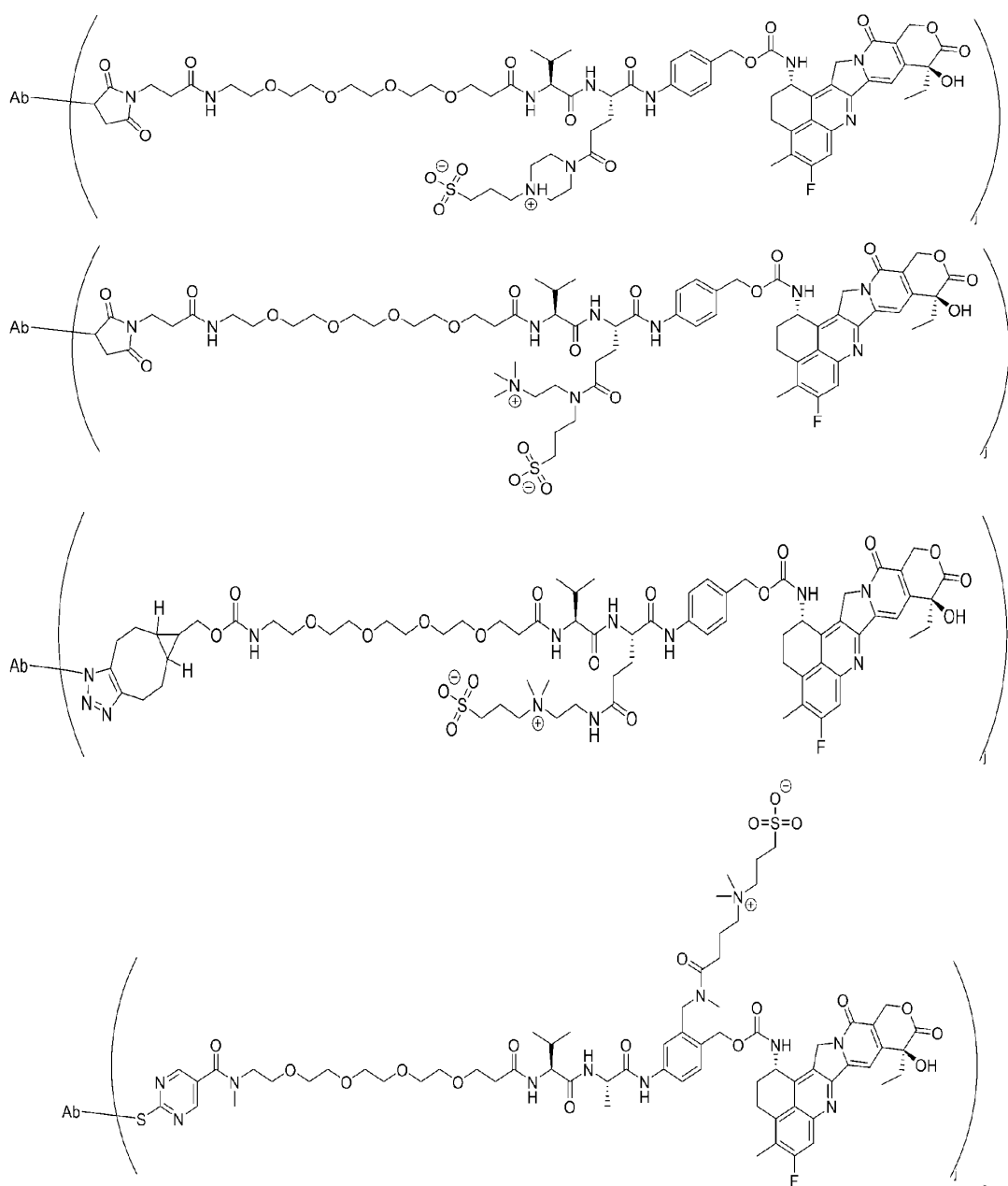
120、根据权利要求 61-119 任一项所述的化合物, 或其互变异构体、内消旋体、外

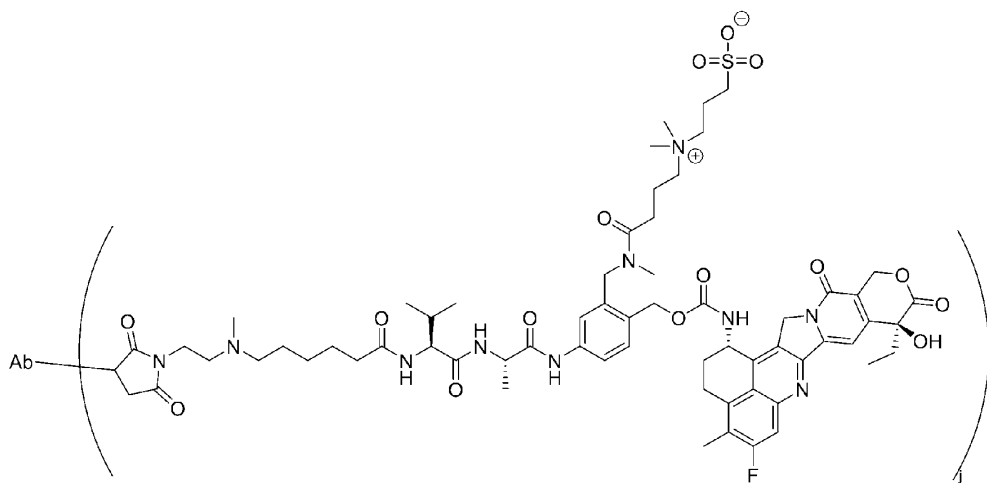
消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，j 为 1-20 的整数。

121、根据权利要求 61-120 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述化合物选自如下结构：









122、根据权利要求 61-121 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述抗体选自以下组：鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体和全人源抗体。

123、根据权利要求 61-122 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述抗体包含单克隆抗体。

124、根据权利要求 61-123 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述抗体包含双特异性抗体。

125、根据权利要求 61-124 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述抗原结合片段选自以下组：Fab、Fab'、Fv 片段、F(ab')₂、F(ab)₂、scFv、di-scFv 和 VHH。

126、根据权利要求 61-125 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述 Ab 选自以下组：抗密蛋白 18.2 抗体、抗人叶酸受体抗体、抗 HER2 抗体、抗 HER3 抗体、抗 TROP2 抗体、抗 B7-H3 抗体、抗 GPC20 抗体、抗 CDH6 抗体、抗 EGFR 抗体、抗 EGFRvIII 抗体、抗 AXL 抗体、抗 Nectin-4 抗体、抗 Tissue factor 抗体、抗 TIM-1 抗体、抗 PSMA 抗体、抗 EpCAM 抗体、抗 MUC1 抗体、抗 STEAP1 抗体、抗 GPNMB 抗体、抗 FGF2 抗体、抗 FOLR1 抗体、抗 c-MET 抗体、抗 GFR 抗体、抗 AGS-16、抗 Guanylyl cyclase C 抗体、抗 Mesothelin 抗体、抗 SLC44A4 抗体、抗 EphA2 抗体、抗 AGS-5 抗体、抗 GPC-3 抗体、抗 c-KIT 抗体、抗 ROR1 抗体、抗 PD-L1 抗体、抗 CD27L 抗体、抗 5T4 抗体、抗 Mucin 16 抗体、抗 NaPi2b 抗体、抗 STEAP 抗体、抗 SLITRK6 抗体、抗 ETBR 抗体、抗 BCMA 抗体、抗 CEACAM5 抗体、抗 SC-16 抗体、

抗 SLC39A6 抗体、抗 Delta-like protein3 抗体、抗 Claudin18.2 抗体、抗 CD19 抗体、抗 CD20 抗体、抗 CD22 抗体、抗 CD30 抗体、抗 CD33 抗体、抗 CD37 抗体、抗 CD45 抗体、抗 CD56 抗体、抗 CD66e 抗体、抗 CD70 抗体、抗 CD73 抗体、抗 CD74 抗体、抗 CD79b 抗体、抗 CD138 抗体、抗 CD147 抗体、抗 CD166 抗体、抗 CD223 抗体、抗 MUC16 抗体、抗 MSLN 抗体、抗 ENPP3 抗体、抗 SLTRK6 抗体、抗 FGFR 抗体、抗 LIV-1 抗体、抗 Lewis Y 抗体、抗 α -integrin 抗体、抗 ASCT2 抗体、抗 C4.4a 抗体、抗 CA-IX 抗体、抗 CD324 抗体、抗 CD352 抗体、抗 CD44v6 抗体、抗 CD48a 抗体、抗 CLL-1 抗体、抗 Cripto 抗体、抗 CS1 抗体、抗 DPEP3 抗体、抗 Ephrin-A2 抗体、抗 Ephrin-A4 抗体、抗 ETBR 抗体、抗 FGFR2 抗体、抗 FGFR3 抗体、抗 FLT3 抗体、抗 GD3 抗体、抗 GloboH 抗体、抗 GPC3 抗体、抗 LAMP-1 抗体、抗 LRRC15 抗体、抗 Ly6E 抗体、抗 MFI2 抗体、抗 NOTCH3 抗体、抗 p-cadherin 抗体、抗 PRLR 抗体和抗 RNF43 抗体，以及上述抗体的抗原结合片段。

127、根据权利要求 61-126 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，Ab 的重链 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 和轻链 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含抗体的重链 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 和轻链 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

128、根据权利要求 61-127 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述 Ab 的重链可变区 VH 和轻链可变区 VL 分别包含抗体的重链可变区 VH 和轻链可变区 VL。

129、根据权利要求 61-128 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述 Ab 的重链和轻链分别包含抗体的重链和轻链。

130、根据权利要求 61-129 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，所述 Ab 为抗密蛋白 18.2 抗体或其抗原结合片段。

131、根据权利要求 61-130 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中，其中所述 Ab 为抗人叶酸受体抗体或其抗原结合片段。

132、一种药物组合物，其中，其包括权利要求 1-131 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物。

133、权利要求 1-132 任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物在制备用于治疗 and/或预防肿瘤的药物中的用途。

134、根据权利要求 133 所述的用途，其中，所述肿瘤选自与以下组靶点表达相关的肿瘤：密蛋白 18.2、人叶酸受体、HER2、HER3、TROP2、B7-H3、GPC20、CDH6、EGFR、EGFRvIII、AXL、Nectin-4、Tissue factor、TIM-1、PSMA、EpCAM、MUC1、STEAP1、GPNMB、FGF2、FOLR1、c-MET、GFR、AGS-16、Guanylyl cyclase C、Mesothelin、SLC44A4、EphA2、AGS-5、GPC-3、c-KIT、ROR1、PD-L1、CD27L、5T4、Mucin 16、NaPi2b、STEAP、SLITRK6、ETBR、BCMA、CEACAM5、SC-16、SLC39A6、Delta-like protein3、Claudin18.2、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD37、CD45、CD56、CD66e、CD70、CD73、CD74、CD79b、CD138、CD147、CD166、CD223、MUC16、MSLN、ENPP3、SLTRK6、FGFR、LIV-1、Lewis Y、av-integrin、ASCT2、C4.4a、CA-IX、CD324、CD352、CD44v6、CD48a、CLL-1、Cripto、CS1、DPEP3、Ephrin-A2、Ephrin-A4、ETBR、FGFR2、FGFR3、FLT3、GD3、Globo H、GPC3、LAMP-1、LRRC15、Ly6E、MFI2、NOTCH3、p-cadherin、PRLR 和 RNF43。

135、根据权利要求 133 所述的用途，其中，与所述靶点表达相关的肿瘤包括所述靶点高表达的肿瘤和/或靶点阳性的肿瘤。

136、根据权利要求 133 所述的用途，其中，所述肿瘤选自实体肿瘤、血液肿瘤和癌症的转移性、难治性或复发性病灶。

137、根据权利要求 133 所述的用途，其中，所述肿瘤选自以下组：食管癌、胃肠癌、胰腺癌、甲状腺癌、结直肠癌、肾癌、肺癌(例如非小细胞肺癌)、肝癌、胃癌、胃腺癌、胃食管交界处(GEJ)腺癌、头颈癌、膀胱癌、乳腺癌、子宫癌、宫颈癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、生殖细胞癌、骨癌、皮肤癌、胸腺癌、胆管癌、胆囊癌、黑素瘤、间皮瘤、淋巴瘤、骨髓瘤(例如多发性骨髓瘤)、肉瘤、神经胶质母细胞瘤和白血病。