

## 一种艾日布林类药物的偶联物

本申请是以 CN 申请号为 202310082754.5，申请日为 2023 年 1 月 17 日的申请，CN 申请号为 202310563948.7，申请日为 2023 年 5 月 18 日的申请，以及申请号为 2024100454262，申请日为 2024 年 1 月 11 日的申请为基础，并主张其优先权，所有申请的内容在此作为整体引入本申请中。

### 技术领域

本发明涉及医药技术领域，特别涉及配体-药物偶联物、连接子-药物化合物、及其制备方法和用途。

### 背景技术

作为一种可以靶向癌细胞的特异性治疗方法，ADC（抗体偶联药物）的发展自 2000 年以来取得了重大进步。目前全球已有 15 款上市的 ADC 药物，分别是 Mylotarg、Besponsa、Kadcyla、Polivy、Lumoxiti、Enhertu、Adcetris、Padcev、Tivdak、Blenrep、Trodelvy、Akalux、Zynlonta、爱地希以及 Elahere，治疗领域主要集中在血液瘤和实体瘤方面。ADC 由三个关键部分组成：选择性结合肿瘤细胞表面抗原的单克隆抗体或抗体片段、可裂解和不可裂解的连接子以及小分子细胞毒物，其充分利用了抗体与肿瘤细胞抗原结合的特异性以及小分子药物的高效性。

微管是由  $\alpha$ -微管蛋白和  $\beta$ -微管蛋白组成的中空纤维丝，是细胞骨架的组成成分之一，在细胞信号传导、细胞内迁移转运和细胞的形状维持上发挥着重要作用。同时，在细胞有丝分裂中，微管重新排列形成纺锤体，对姐妹染色单体的移动和分离至关重要。细胞中微管的生物功能大部分由聚合动力学调节，干扰微管的动力学行为会对纺锤体的形成和细胞分裂过程产生显著影响。由于癌细胞具备快速分裂的特点，所以它对影响微管蛋白正常功能的药物比正常细胞更为敏感。目前，用作 ADC 有效载荷的重要微管抑制剂有源自海洋物种的奥瑞他汀（Auristatin）、艾日布林（Eribulin）和源自植物的美登素（Maytansinoids）。

艾日布林为大环化合物软海绵素 B (Halichondrin B) 的简化人工合成衍生物。2010 年 11 月，艾日布林（甲磺酸盐）被美国 FDA 首次批准用于临床治疗至少接受过 2 种化疗方案（含蒽环类和紫杉类化疗药物）的转移性乳腺癌患者，商品名为 Halaven<sup>TM</sup>，由 Eisai 公司开发上市。艾日布林可选择性地与  $\beta$ -微管蛋白(+)端结合，抑制微管的伸长，除了直接杀伤癌细胞之外还能对肿瘤微环境进行改造，作为小分子毒素增强 ADC 的“旁杀效应”。艾日布林最常见的不良反应为疲劳、中性粒细胞减少、脱发、周围神经病变和恶心便秘等。目前关于以艾日布林为弹头的 ADC 研究较少，且均是从艾日布林 C35 位的氨基上引入 linker，没有从 C34 位羟基引入 linker 的实例，同时暂未有以艾日布

林的前体双羟基化合物作为弹头的研究。

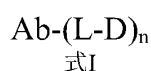
综上所述, 尽管艾日布林可作为单药进行临床使用, 但设计一种稳定的含艾日布林或其衍生物的 ADC 分子使其靶向递送到肿瘤细胞, 可以使治疗更为安全有效, 更好地满足临床需求。

5

## 发明内容

本发明人在对 ADC 类药物综合理解的基础上, 创造性地设计并合成出一系列含艾日布林或其衍生物的 ADC 分子, 通过实验发现, 所设计 ADC 分子表现出很好的抗肿瘤活性。

10 在第一方面, 本申请涉及一种配体-药物偶联物, 其具有式I所示结构, 或其药学上可接受的盐或溶剂化物,



其中,

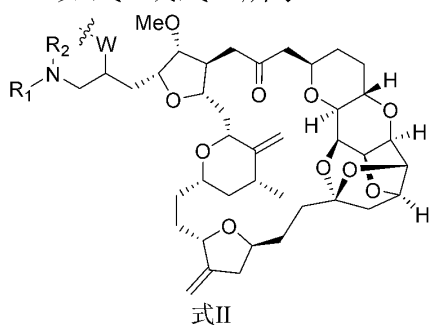
15

Ab 为配体单元;

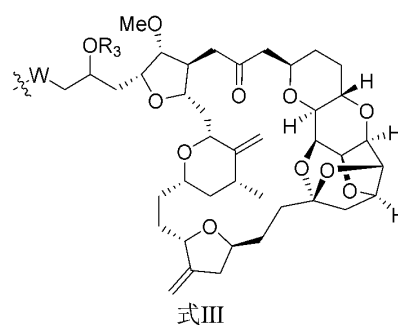
L 为将 Ab 共价连接于 D 的连接子;

n 为选自 1 到 40 的整数或小数;

-D 如式II或式III所示:



20



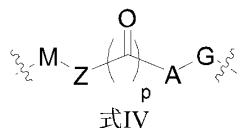
其中, W 选自氧原子或硫原子,

R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub> 相同或不同, 各自独立地选自: 氢原子、烷基、烷氧基、烯基、环烷基、芳基、杂芳基、杂环基、-C(O)-Q<sub>1</sub>-Q<sub>2</sub> 和 -SO<sub>2</sub>-Q<sub>1</sub>-Q<sub>2</sub>, 其中, Q<sub>1</sub> 选自 O、N、S 原子或化学键, Q<sub>2</sub> 选自烷基、环烷基、杂环基、螺环基、桥环基、烯基、芳基和杂芳基, 任选地, 所述的烷基、烷氧基、烯基、环烷基、杂环基、螺环基、桥环基、芳基和杂芳基各自独立地被选自氢原子、烷基、烷氧基、卤素、氘、氨基、氰基、羟基、巯基、叠氮基、硝基、羧基、酰基、羰基、羟烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基取代; 或者 R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub> 和与其相连接的氮原子一起形成 3 至 8 元杂环基, 任选地, 所述杂环基被选自氢原子、烷基、烷氧基、卤素、氘、氨基、氰基、羟基、巯基、叠氮基、硝基、羧基、酰基、羰基、羟烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基取代; R<sub>3</sub> 选自氢原子、烷基、酰基、磺酰基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基, 任选地, 所述的烷基、酰基、磺酰基、环烷基、杂环基、芳基和杂

30

芳基各自独立地被选自氢原子、烷基、烷氧基、卤素、氘、氨基、氰基、羟基、巯基、叠氮基、硝基、羧基、酰基、羰基、羟烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基取代。

在某些实施方案中，L 具有如式IV所示的结构：

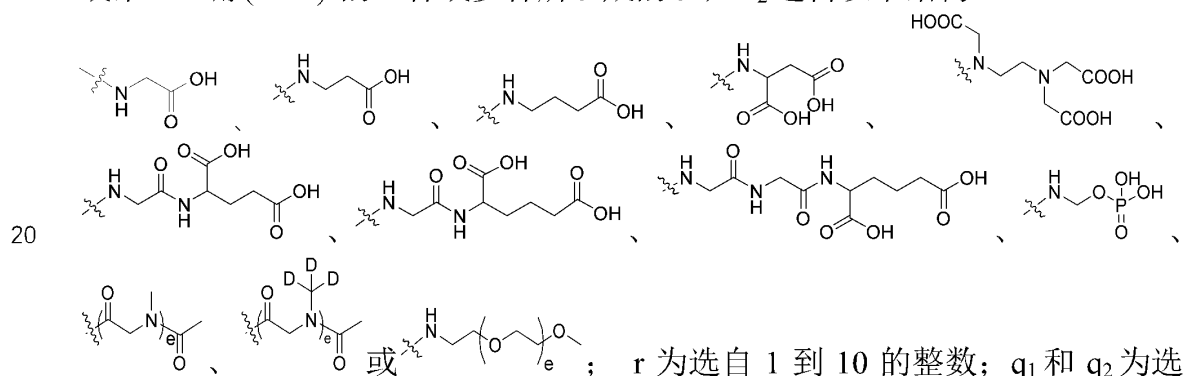


其中，

M 为与 Ab 共价连接的连接单元；

Z 选自 -C1-C10 亚烷基-、-C3-C8 碳环-、-亚芳基-、-3-8 元杂环-、

10      -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>r</sub>-、磺酰基-、酰胺、化学键、  
 一个或多个的组合，其中 X<sub>1</sub> 和 X<sub>2</sub> 选自 -C1-C10 亚烷基-、-C3-C8 碳环-、-亚芳基-、-3-8 元杂环-、-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>r</sub>-、-NR<sub>4</sub>-或羰基的一个或多个的组合，其中 R<sub>4</sub> 选自氢原子、氘原子、烷基和取代烷基；任选地，所述 -C1-C10 亚烷基-、-C3-C8 碳环-、-3-8 元杂环-各自独立地被一个或者多个取代基所取代，所述取代基选自  
 15      氢原子、氘原子、卤素、羟基、氰基、硝基、氨基、烷基、杂烷基、取代烷基、烷氧基、羧基或环烷基；所述杂环各自独立地包含选自 N、O、S 的 1-3 个原子；Y<sub>1</sub> 为亲水结构，选自羧基、磷酸、聚磷酸、亚磷酸、磺酸、亚磺酸或聚乙二醇(PEG) 的一种或多种所组成的组；Y<sub>2</sub> 选自以下结构：

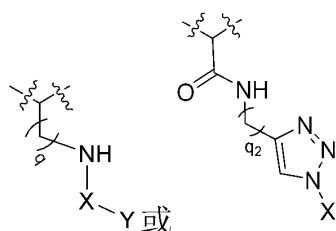


自 1 到 8 的整数；e 为选自 1 到 20 的整数；

A 为 2 至 7 个氨基酸构成的肽残基；

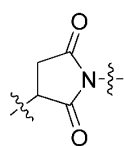
G 为连接于 D 的间隔单元；

25      p 为 0 或 1。

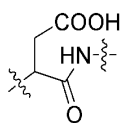


在某些实施方案中，  
连接位点相连，右侧波浪线表示与羰基相连。

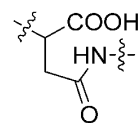
在某些实施方案中，连接单元 M 具有如下式 a 所示的丁二酰亚胺或式 b、式 c 所示的开环丁二酰亚胺结构：



式 a



式 b

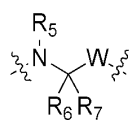


式 c

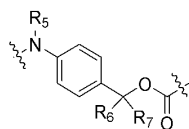
在式 a、式 b 或式 c 中，左侧波浪线表示与 Ab 连接位点相连，右侧波浪线表示与 Z 连接位点相连。

在某些实施方案中，A 为选自苯丙氨酸、甘氨酸、缬氨酸、赖氨酸、瓜氨酸、丝氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、磺基丙氨酸中的 2-7 个氨基酸构成的多肽残基。

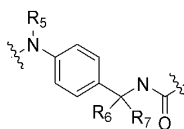
在某些实施方案中，所述间隔单元 G 为式 Va、Vb、Vc 或 Vd 所示结构中的一个或多个的组合：



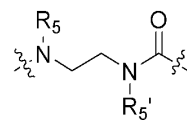
式 Va



式 Vb



式 Vc



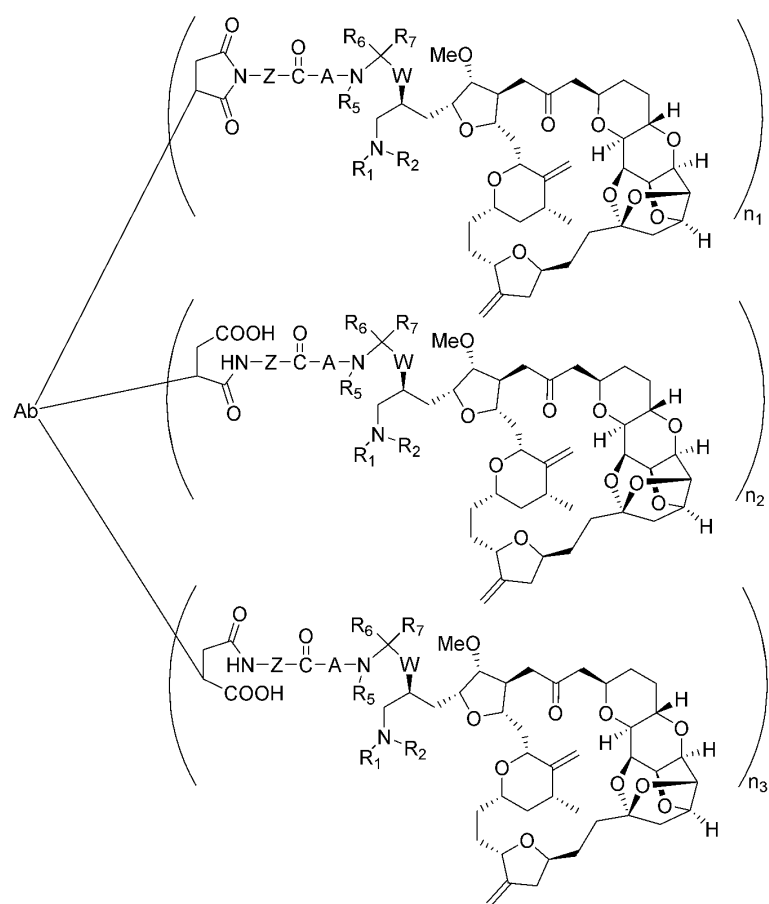
式 Vd

其中，左侧波浪线表示氮原子与肽残基 A 的连接位点，右侧波浪线表示氧原子与药物 D 的连接位点，W 选自氧原子或硫原子，为药物 D 与间隔单元 G 的共用基团；

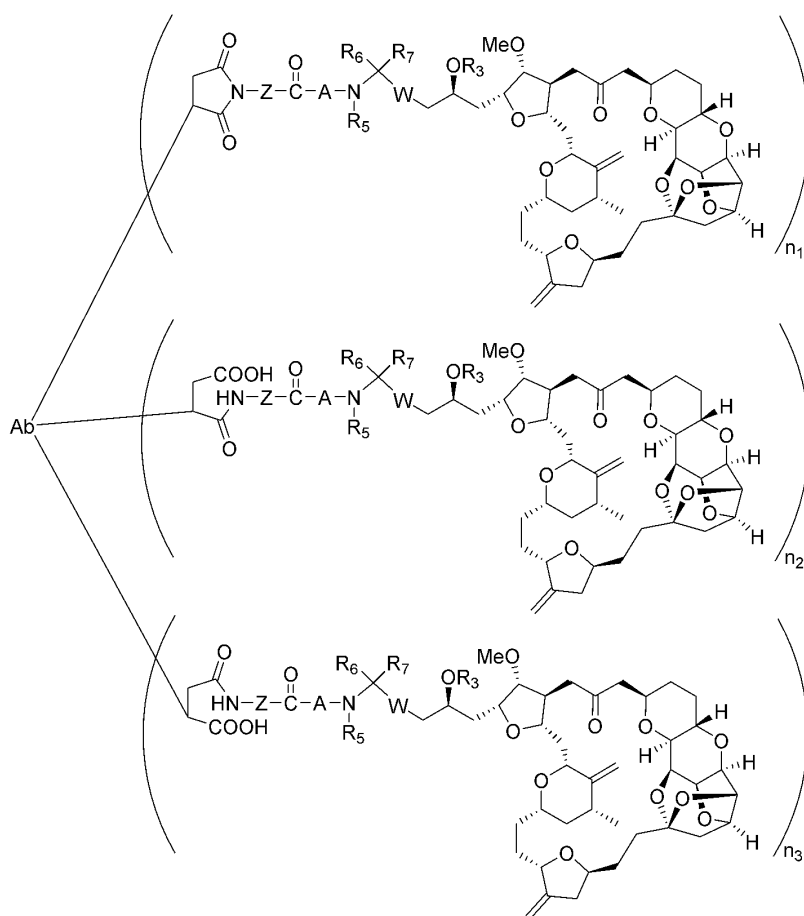
$R_5$ 、 $R_5'$ 、 $R_6$  和  $R_7$  各自独立地选自氢原子、氘原子、烷基和取代烷基。

在某些实施方案中，本申请的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物具有式 VI 或式 VII 所示的结构：





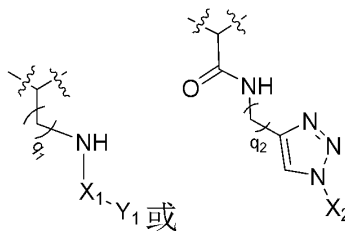
式VI



式VII

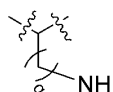
5 其中, Ab、Z、A、R<sub>5</sub>、R<sub>6</sub>、R<sub>7</sub>、R<sub>3</sub>、W 如上文所定义; n<sub>1</sub>、n<sub>2</sub>、n<sub>3</sub> 独立地选自 0 到 40 (例如 0-5、5-10、10-15、15-20、20-25、25-30、30-35 或 35-40) 之间的整数或小数, n<sub>1</sub>、n<sub>2</sub>、n<sub>3</sub> 不同时为 0, 且 n<sub>1</sub>+n<sub>2</sub>+n<sub>3</sub>≤40。

在某些实施方案中，Z 选自 -C1-C10 亚烷基-、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_r-$ 、酰胺、



$\lambda_1 - Y_1$  或  $\lambda_2 - Y_2$  中的一个或多个的组合；。

在某些实施方案中，Z 为-C2-亚烷基或-C5-亚烷基；

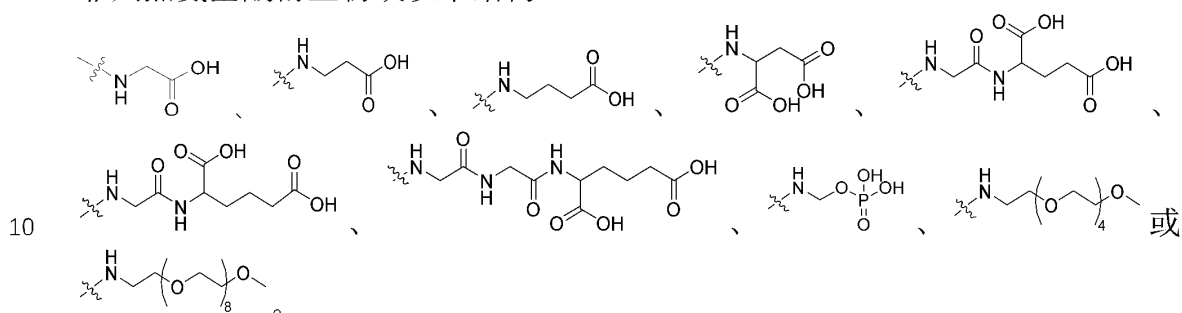


在某些实施方案中，Z 为  $X_{-Y}$ ，其中， $q_1$  选自 1-8 的整数（例如 1、

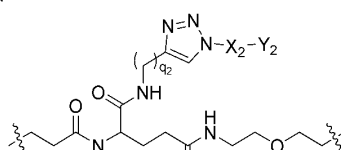
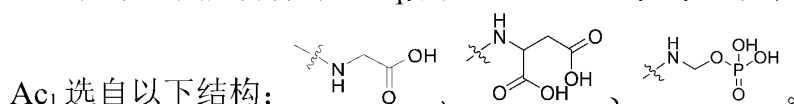
2、3、4、5、6、7、8)。

在某些实施方案中， $q_1$  为 1。

在某些实施方案中， $q_1$  为 1，且  $-NH-X_1-Y_1$  组成亲水结构单元  $Ac_1$ ，所述  $Ac_1$  非限制性地选自 (D/L) 丙氨酸、(D/L) 亮氨酸、(D/L) 异亮氨酸、(D/L) 缬氨酸、(D/L) 苯丙氨酸、(D/L) 脯氨酸、(D/L) 色氨酸、(D/L) 丝氨酸、(D/L) 酪氨酸、(D/L) 半胱氨酸、(D/L) 胱氨酸、(D/L) 精氨酸、(D/L) 组氨酸、(D/L) 蛋氨酸、(D/L) 天冬酰胺、(D/L) 谷氨酰胺、(D/L) 苏氨酸、(D/L) 天冬氨酸、(D/L) 谷氨酸、天然或非天然氨基酸衍生物或以下结构：

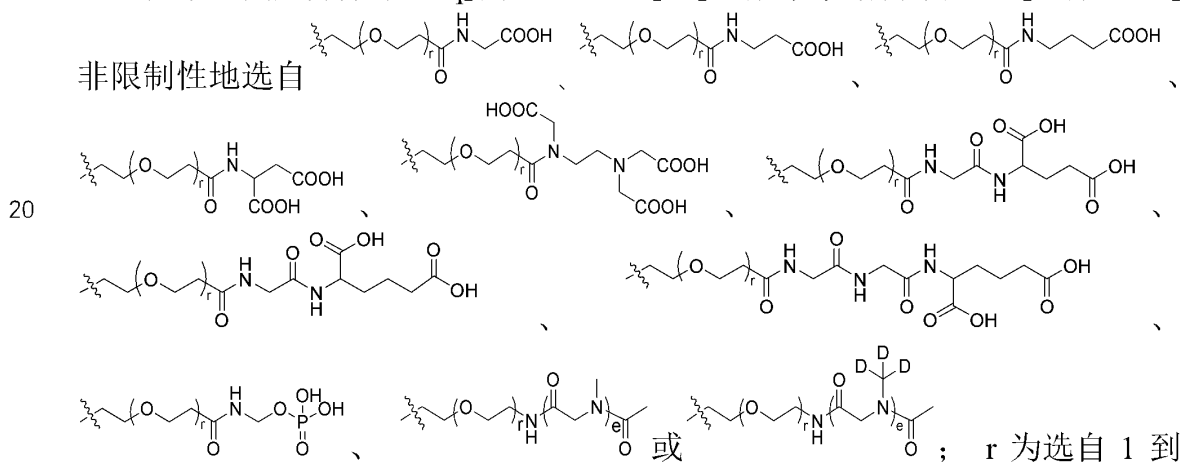


在某些实施方案中， $q_1$  为 1，且  $-\text{NH}-\text{X}_1-\text{Y}_1$  组成亲水结构单元  $\text{Ac}_1$ ，所述



在某些实施方案中，Z为, 其中,q<sub>2</sub>选自1-8的  
整数(例如1、2、3、4、5、6、7、8);优选地,q<sub>2</sub>为1;优选地,X<sub>2</sub>为-(C1-C10  
亚烷基)-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>r</sub>-(C=O)-或-(C1-C10亚烷基)-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>r</sub>-NR<sub>4</sub>-。

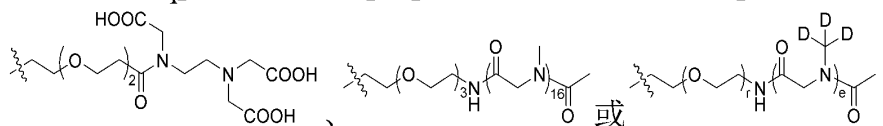
在某些实施方案中， $q_2$  为 1，且  $-X_2-Y_2$  组成亲水结构单元  $Ac_2$ ，所述  $Ac_2$



10 的整数 (例如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10); e 为选自 1 到 20 的整数 (例如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20)。

在某些实施方案中,  $q_2$  为 1, 且  $-X_2-Y_2$  组成亲水结构单元  $Ac_2$ , 所述  $Ac_2$

5 选自以下结构:



在某些实施方案中, A 为选自苯丙氨酸、甘氨酸、缬氨酸、赖氨酸、瓜氨酸、丝氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、磺基丙氨酸中的 2-5 个氨基酸构成的多肽残基。

在某些实施方案中, A 为 2-4 个选自苯丙氨酸和甘氨酸的氨基酸形成的肽残基。

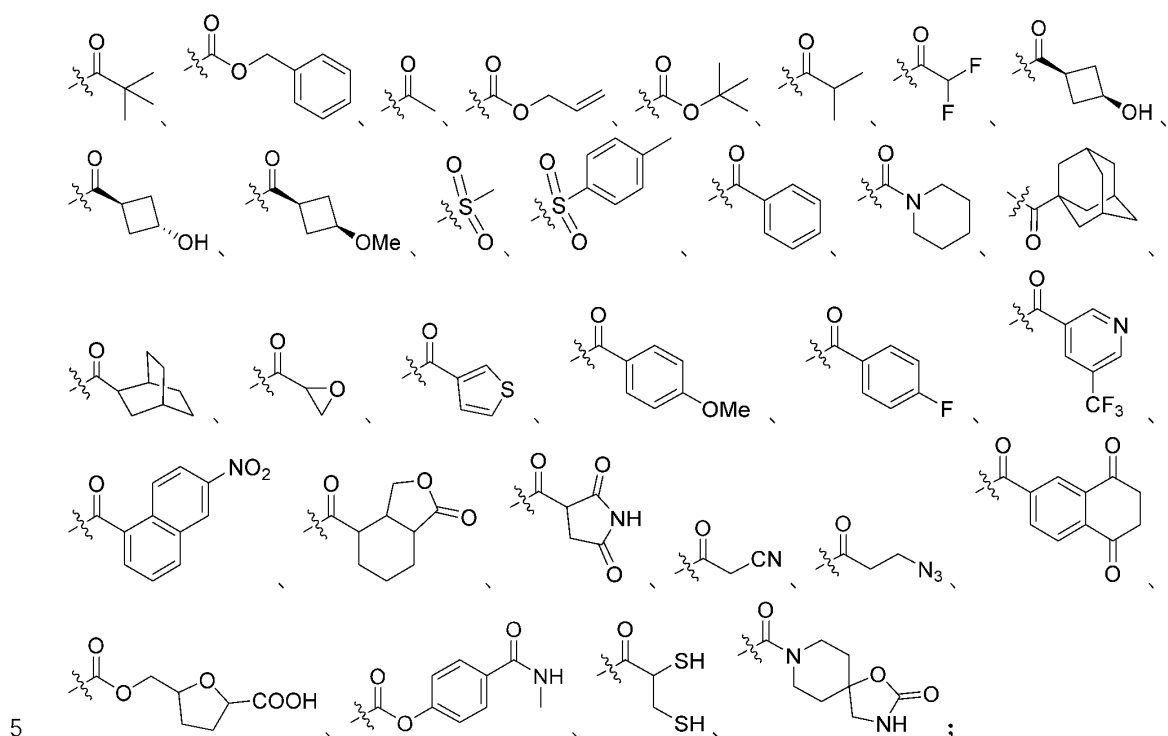
在某些实施方案中, A 为甘氨酸 (G)、甘氨酸 (G)、苯丙氨酸 (F)、甘氨酸 (G) 组成的四肽残基。

在某些实施方案中, A 为 -GGFG-。

在某些实施方案中, W 选自氧原子或硫原子,  $R_1$ 、 $R_2$  相同或不同, 各自独立地选自: 氢原子、烷基、烷氧基、烯基、环烷基、 $-C(O)-Q_1-Q_2$  和  $-SO_2-Q_1-Q_2$ , 其中,  $Q_1$  选自 O 或化学键,  $Q_2$  选自烷基、杂环基、烯基、芳基、杂芳基和环烷基, 任选地, 所述的烷基、杂环基、烯基、芳基、杂芳基和环烷基各自独立地被选自氢原子、烷基、羟烷基、卤素、氘、巯基、氨基、羟基、环烷基和杂环基中的一个或多个取代基取代; 或者  $R_1$ 、 $R_2$  和与其相连接的氮原子一起形成 3 至 6 元杂环基, 任选地, 所述杂环基被选自氢原子、烷基、烷氧基、卤素、氘、氨基、芳基、羟基中的一个或多个取代基取代;  $R_3$  选自氢原子和烷基, 任选地, 所述的烷基被选自氢原子、烷基、烷氧基、卤素、氘、氨基、羟基、环烷基和杂环基中的一个或多个取代基取代。

在某些实施方案中, W 为氧原子,  $R_1$ 、 $R_2$  相同或不同, 各自独立地选自: 氢原子、烷基、烯基、卤代烷基、 $-C(O)-Q_1-Q_2$  和  $-SO_2-Q_1-Q_2$ , 其中,  $Q_1$  选自 O 或化学键,  $Q_2$  选自烷基、烯基、芳基和 3-8 元环烷基, 任选地, 所述的烷基、烯基、芳基和环烷基各自独立地被选自氢原子、烷基、羟烷基、卤素、芳基、羟基中的一个或多个取代基取代; 或者  $R_1$ 、 $R_2$  和与其相连接的氮原子一起形成 3-6 元杂环基, 所述 3-6 元杂环基含有 1-2 个氮原子, 任选地还含有 1 个氧原子; 任选地, 所述 3-6 元杂环基被氢原子、烷基、卤代烷基中的一个或多个取代基取代;  $R_3$  选自氢原子和烷基, 所述的烷基被选自氢原子、烷基、卤素、氘、氨基和羟基中的一个或多个取代基取代。

在某些实施方案中, W 为氧原子,  $R_1$ 、 $R_2$  相同或不同, 各自独立地选自: 氢原子、 $C_1-C_4$  烷基 (例如甲基、乙基)、 $C_2-C_4$  烯基 (例如烯丙基)、 $C_1-C_4$  卤代烷基 (例如二氟代乙基) 和或以下结构:

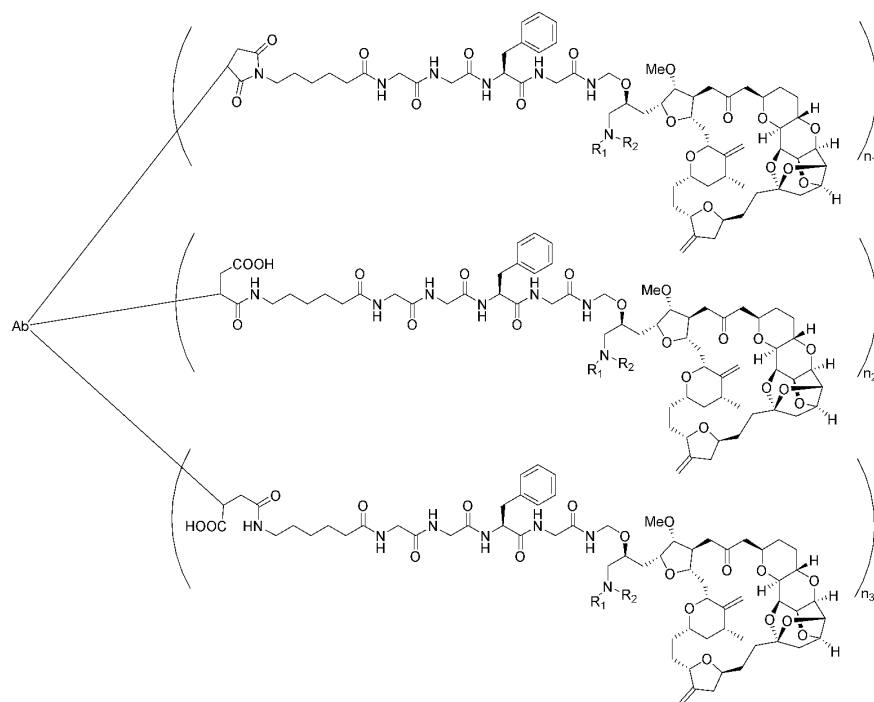


或者  $R_1$ 、 $R_2$  和与其相连接的氮原子一起形成 3-6 元杂环基，所述 3-6 元杂环基含有 1-2 个氮原子，任选地还含有 1 个氧原子（例如氮杂环丙基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基）；任选地，所述 3-6 元杂环基被氢原子、 $C_1$ - $C_4$  烷基（例如甲基）、 $C_1$ - $C_4$  卤代烷基（例如三氟甲基）中的一个或多个取代基取代； $R_3$  选自氢原子和甲基。

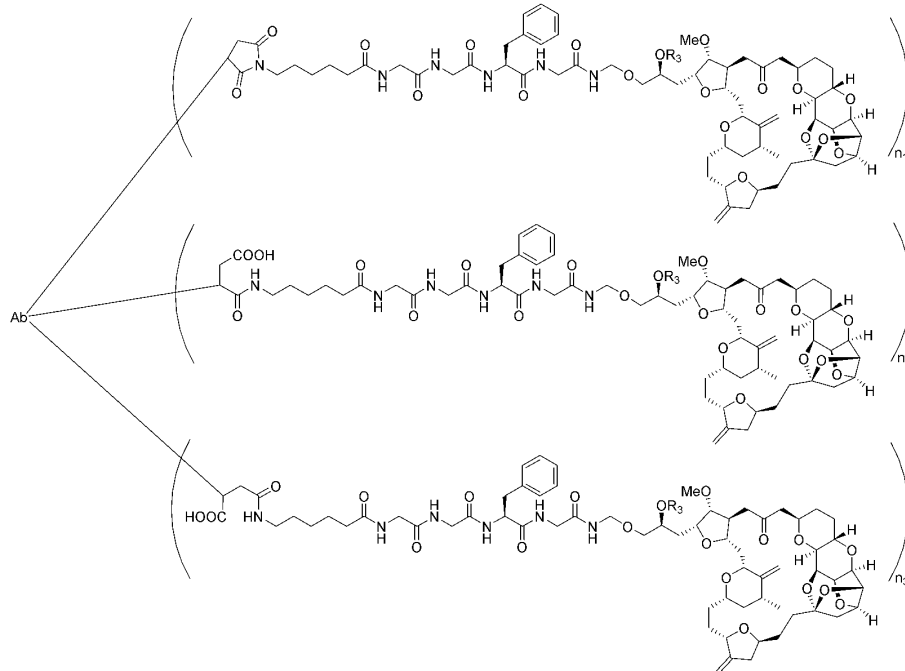
在某些实施方案中， $R_5$ 、 $R_6$  和  $R_7$  各自独立地选自氢原子、氘原子、烷基、卤代烷基、氘代烷基和羟烷基。

在某些实施方案中， $R_5$ 、 $R_6$  和  $R_7$  同时为氢原子。

在某些实施方案中，本申请的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其具有式 VIa 或式 VIIa 所示的结构：



式VIa

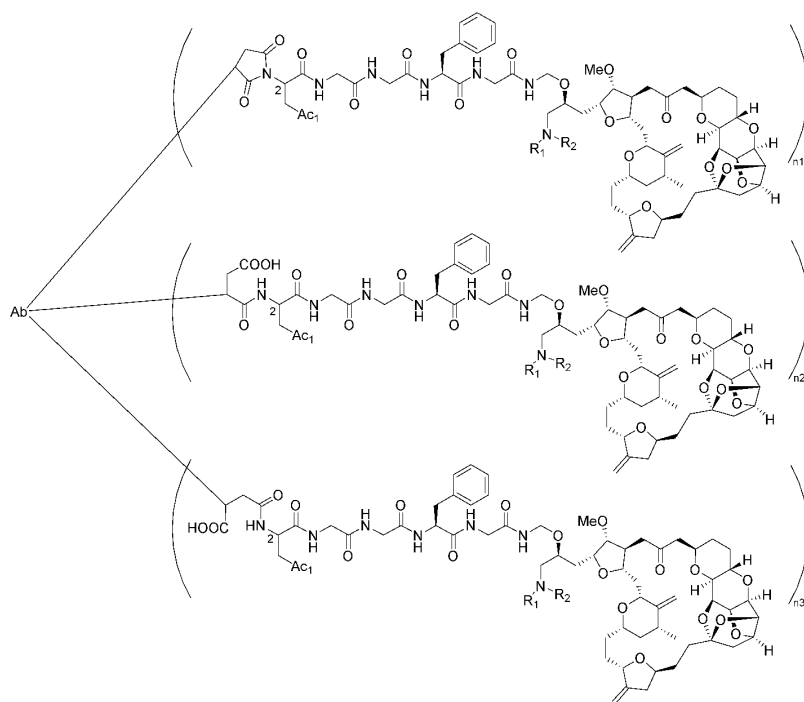


式VIIa

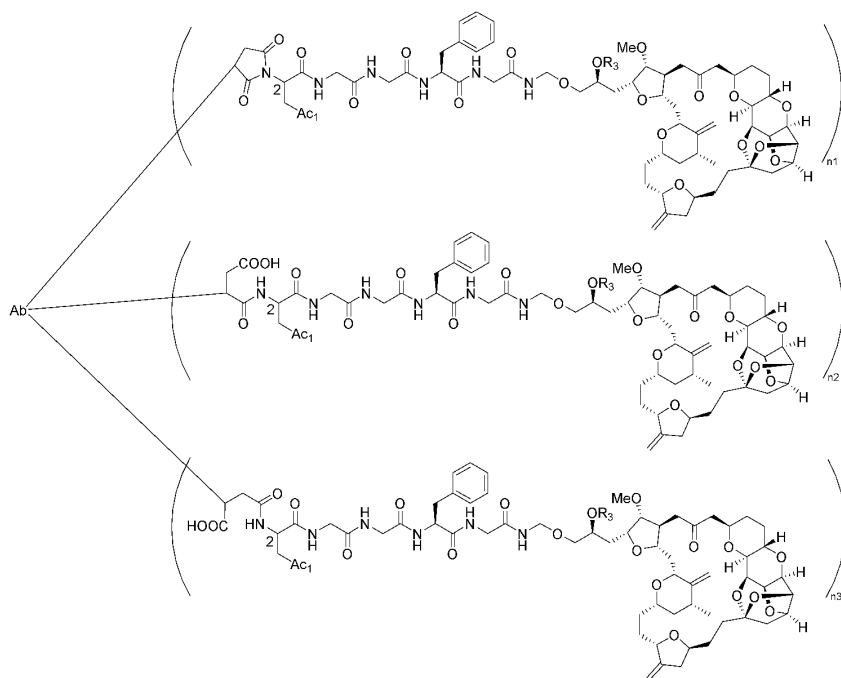
5

其中,  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 、 $n_1$ 、 $n_2$ 、 $n_3$  如上文所定义。

在某些实施方案中, 本申请的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其具有式VIb 或式VIIb 所示的结构:

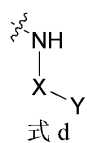


式VIb



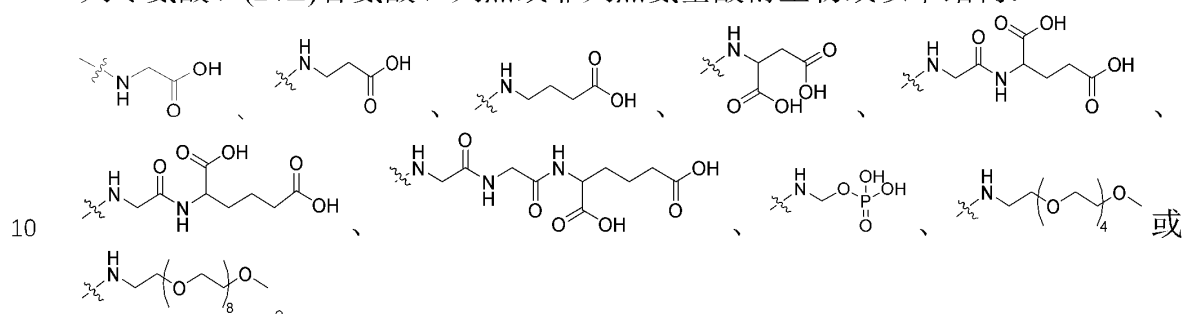
式VIIb

其中,  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 、 $n_1$ 、 $n_2$ 、 $n_3$  如文所定义;  
 $Ac_1$  为具有式 d 所示结构的亲水结构单元:



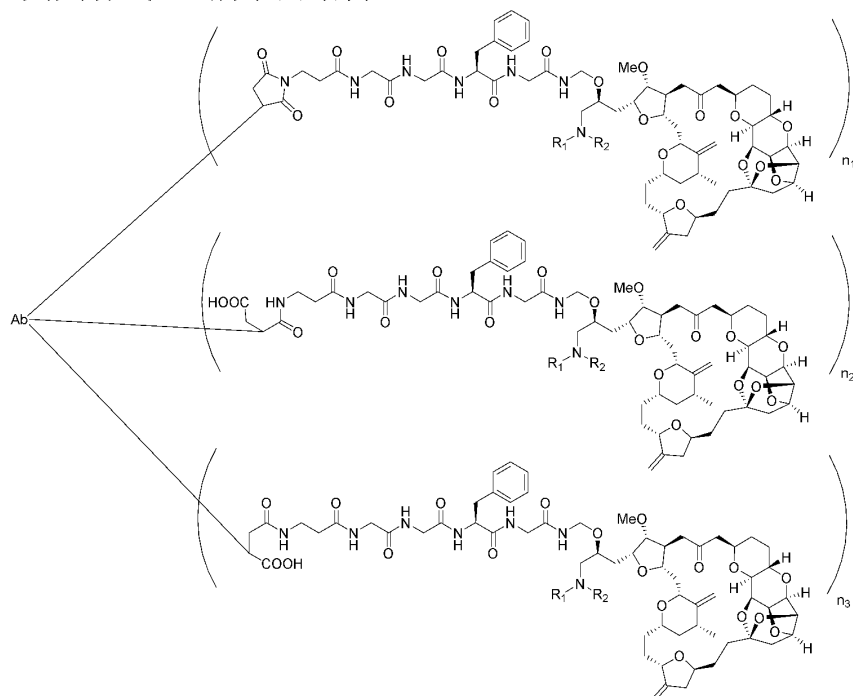
$X_1$ 、 $Y_1$  如上文所定义。

在某些实施方案中，所述 Ac<sub>1</sub> 非限制性地选自 (D/L) 丙氨酸、(D/L) 亮氨酸、(D/L) 异亮氨酸、(D/L) 缬氨酸、(D/L) 苯丙氨酸、(D/L) 脯氨酸、(D/L) 色氨酸、(D/L) 丝氨酸、(D/L) 酪氨酸、(D/L) 半胱氨酸、(D/L) 胱氨酸、(D/L) 精氨酸、(D/L) 组氨酸、(D/L) 蛋氨酸、(D/L) 天冬酰胺、(D/L) 谷氨酰胺、(D/L) 苏氨酸、(D/L) 天冬氨酸、(D/L) 谷氨酸、天然或非天然氨基酸衍生物或以下结构：



在某些实施方案中,  $\text{Ac}_1$  选自以下结构:

在某些实施方案中，本申请的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其具有式VIc所示的结构：

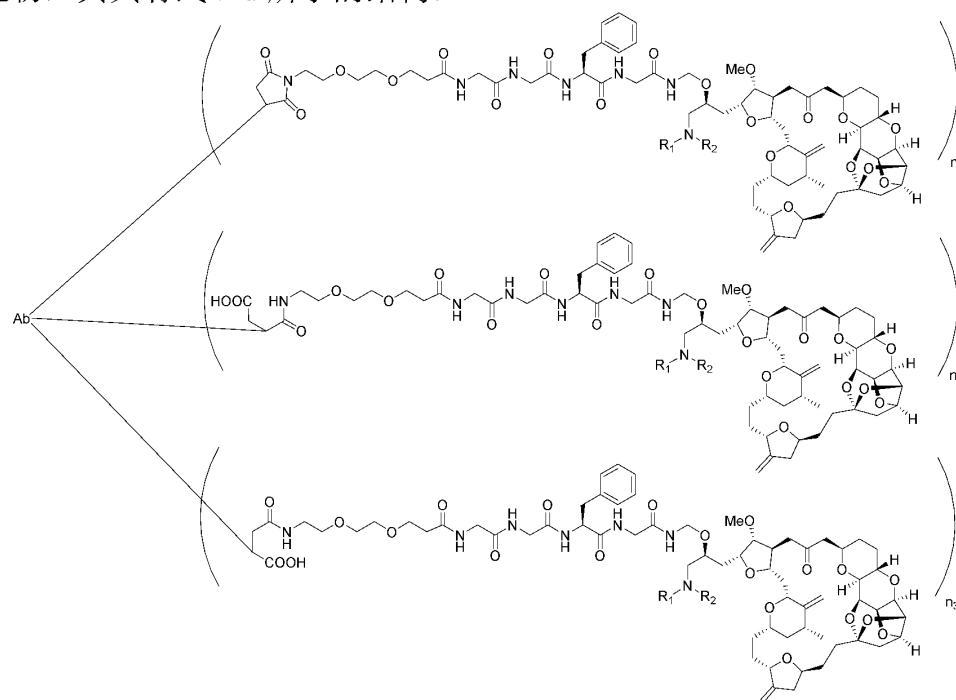




式VIc

其中,  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $n_1$ 、 $n_2$ 、 $n_3$  如上文所定义。

在某些实施方案中, 本申请的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其具有式VIId所示的结构:

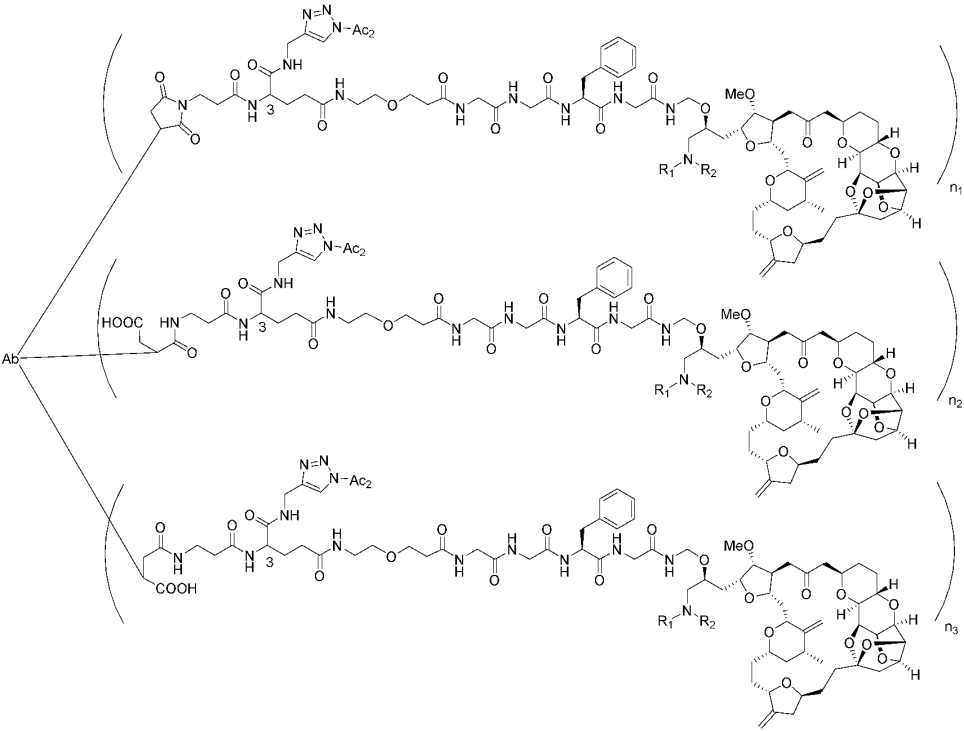


5

式VIId

其中,  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $n_1$ 、 $n_2$ 、 $n_3$  如上文所定义。

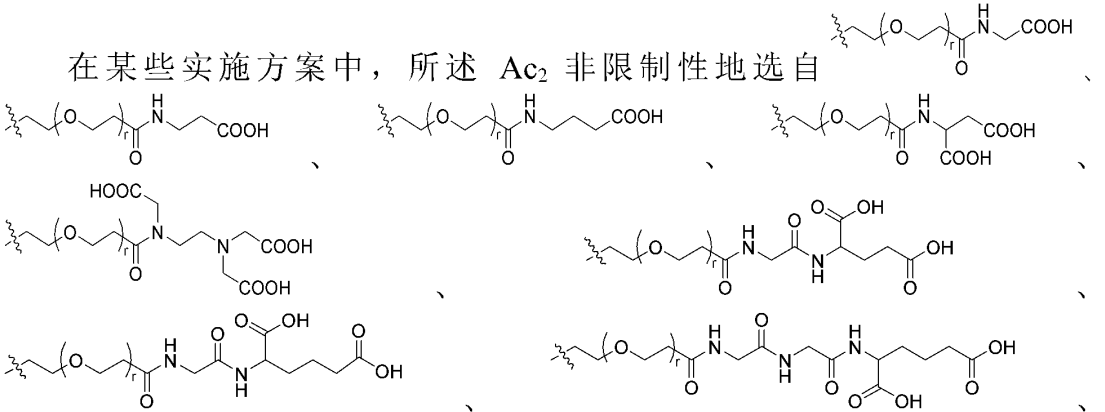
在某些实施方案中, 本申请的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其具有式VIe所示的结构:



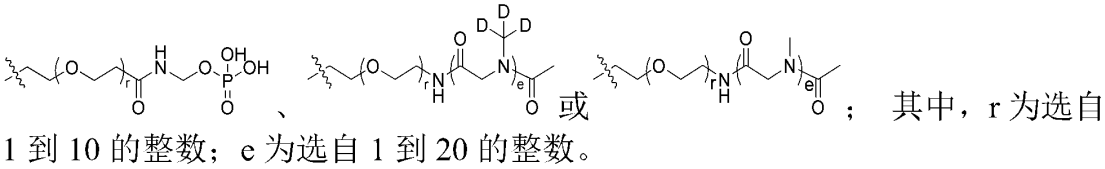
式VIe

其中， $R_1$ 、 $R_2$ 、 $n_1$ 、 $n_2$ 、 $n_3$  如上文所定义；  
 $Ac_2$  为 $-X_2-Y_2$  组成亲水结构单元， $X_2$ 、 $Y_2$  如上文所定义。

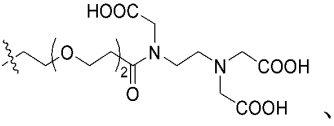
5

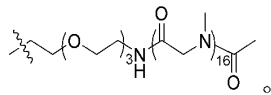


10



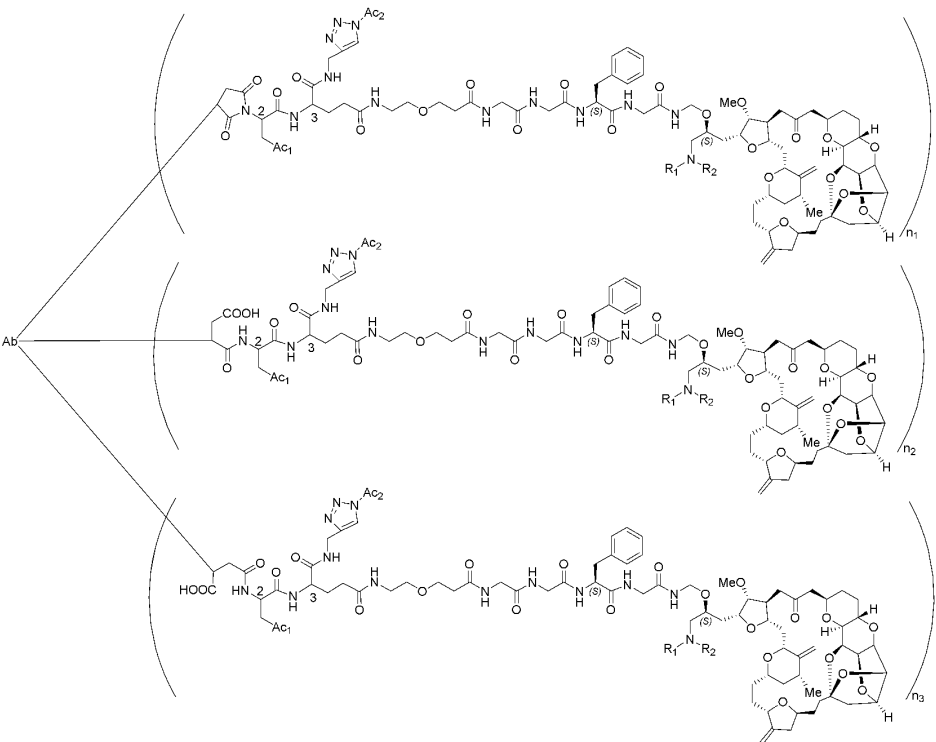
在某些实施方案中， $Ac_2$  选自以下结构：





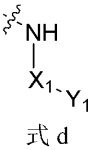
在某些实施方案中，本申请的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其具有式VI f所示的结构：

5



式VI f

其中，R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、n<sub>1</sub>、n<sub>2</sub>、n<sub>3</sub> 如上文所定义；  
Ac<sub>1</sub> 为具有式 d 所示结构的亲水结构单元：



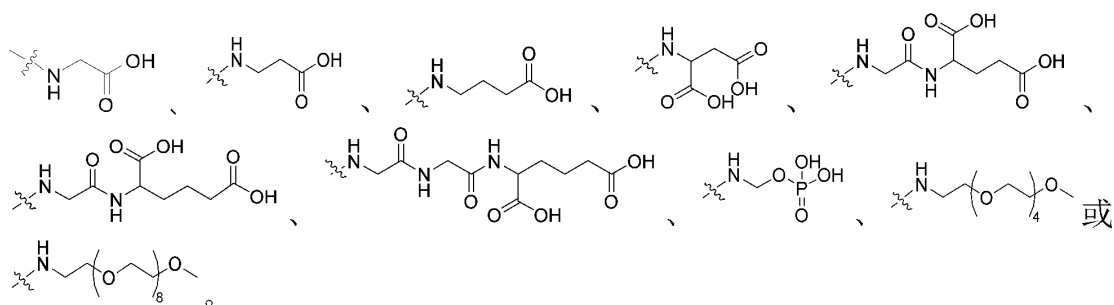
10

式 d

X<sub>1</sub>、Y<sub>1</sub> 如上文所定义；

在某些实施方案中，Ac<sub>1</sub> 非限制性地选自(D/L)丙氨酸、(D/L)亮氨酸、(D/L)异亮氨酸、(D/L)缬氨酸、(D/L)苯丙氨酸、(D/L)脯氨酸、(D/L)色氨酸、(D/L)丝氨酸、(D/L)酪氨酸、(D/L)半胱氨酸、(D/L)胱氨酸、(D/L)精氨酸、(D/L)组氨酸、(D/L)蛋氨酸、(D/L)天冬酰胺、(D/L)谷氨酰胺、(D/L)苏氨酸、(D/L)天冬氨酸、(D/L)谷氨酸、天然或非天然氨基酸衍生物或以下结构：

15



在某些实施方案中,  $Ac_1$  选自以下结构:

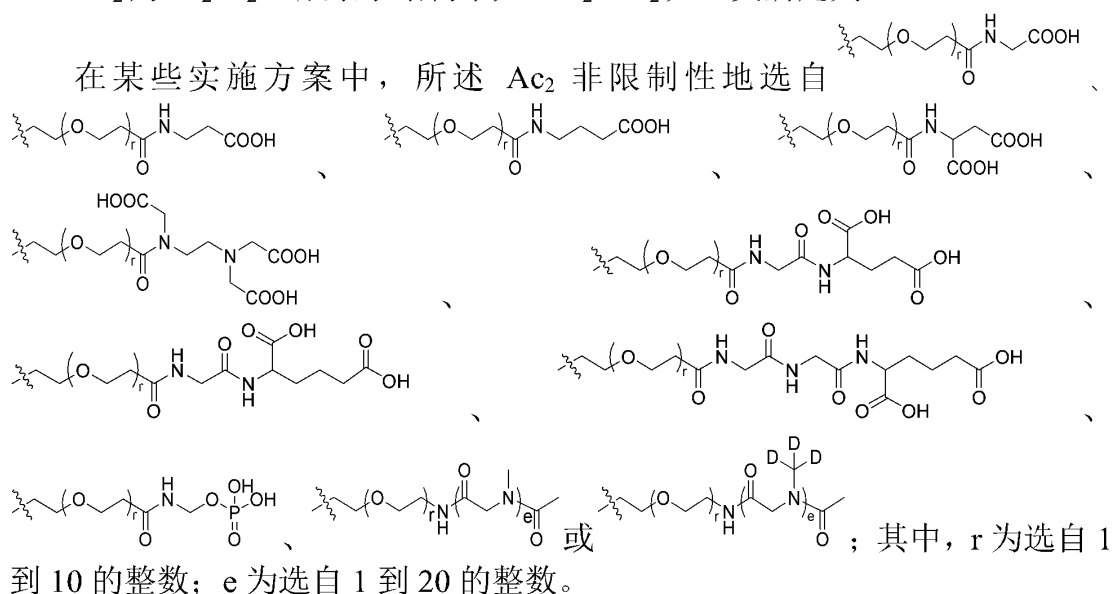
5

在某些实施方案中,  $Ac_1$  为:

$Ac_2$  为  $-X_2-Y_2$  组成亲水结构单元,  $X_2$ 、 $Y_2$  如上文所定义。

在某些实施方案中, 所述  $Ac_2$  非限制性地选自

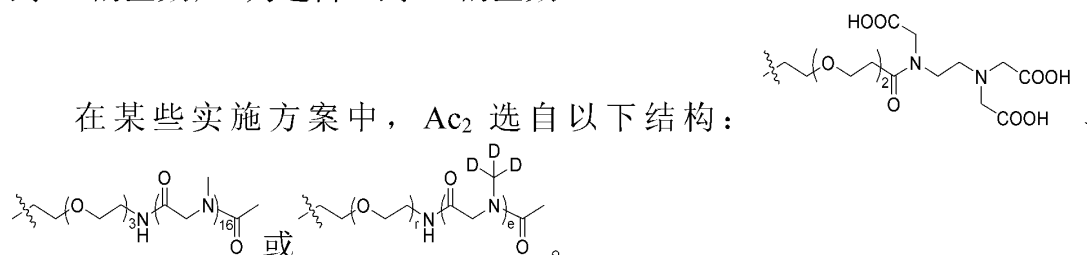
10



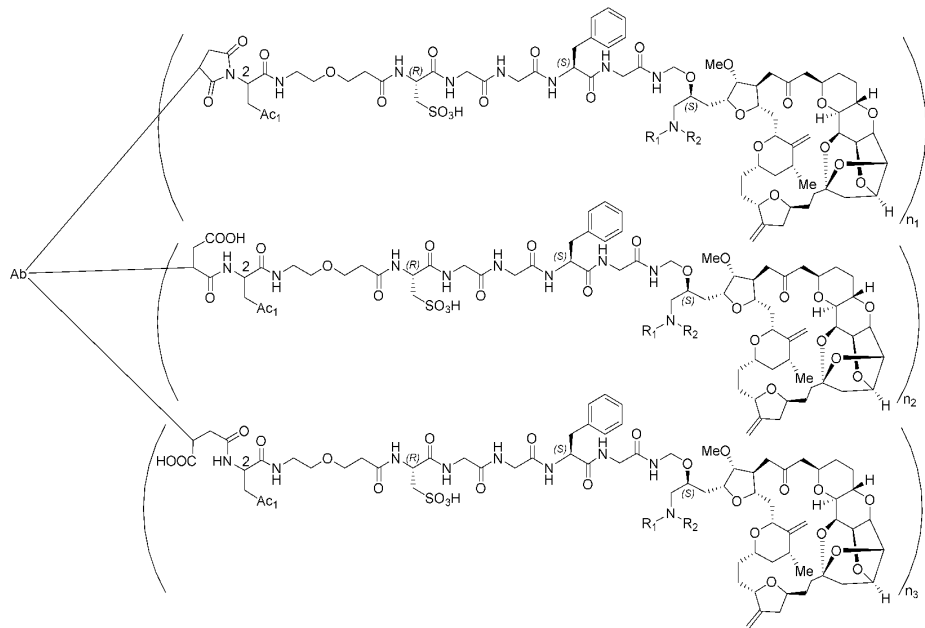
到 10 的整数;  $e$  为选自 1 到 20 的整数。

在某些实施方案中,  $Ac_2$  选自以下结构:

15

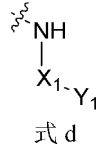


在某些实施方案中, 本申请的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其具有式 VIg 所示的结构:



式VIg

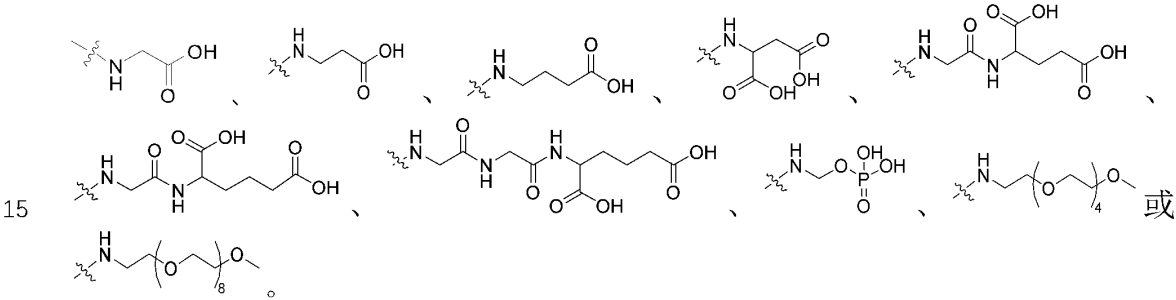
其中， $R_1$ 、 $R_2$ 、 $n_1$ 、 $n_2$ 、 $n_3$  如上文所定义；  
 $Ac_1$  为具有式 d 所示结构的亲水结构单元：



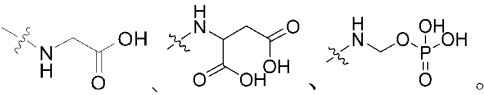
5

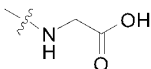
$X_1$ 、 $Y_1$  如上文所定义；

在某些实施方案中， $Ac_1$  非限制性地选自(D/L)丙氨酸、(D/L)亮氨酸、(D/L)异亮氨酸、(D/L)缬氨酸、(D/L)苯丙氨酸、(D/L)脯氨酸、(D/L)色氨酸、(D/L)丝氨酸、(D/L)酪氨酸、(D/L)半胱氨酸、(D/L)胱氨酸、(D/L)精氨酸、(D/L)组氨酸、(D/L)蛋氨酸、(D/L)天冬酰胺、(D/L)谷氨酰胺、(D/L)苏氨酸、(D/L)天冬氨酸、(D/L)谷氨酸、天然或非天然氨基酸衍生物或以下结构：



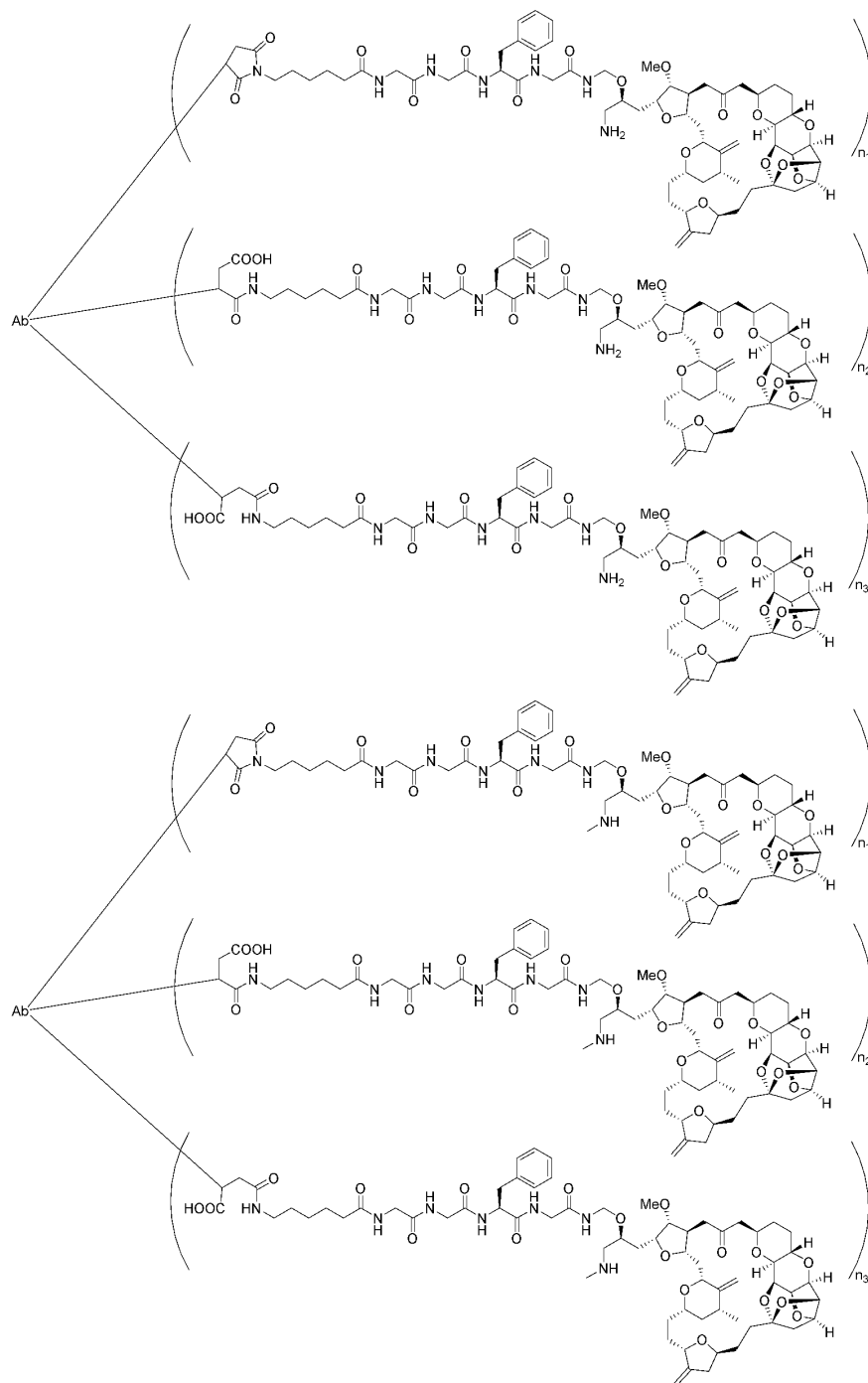
在某些实施方案中， $Ac_1$  选自以下结构：

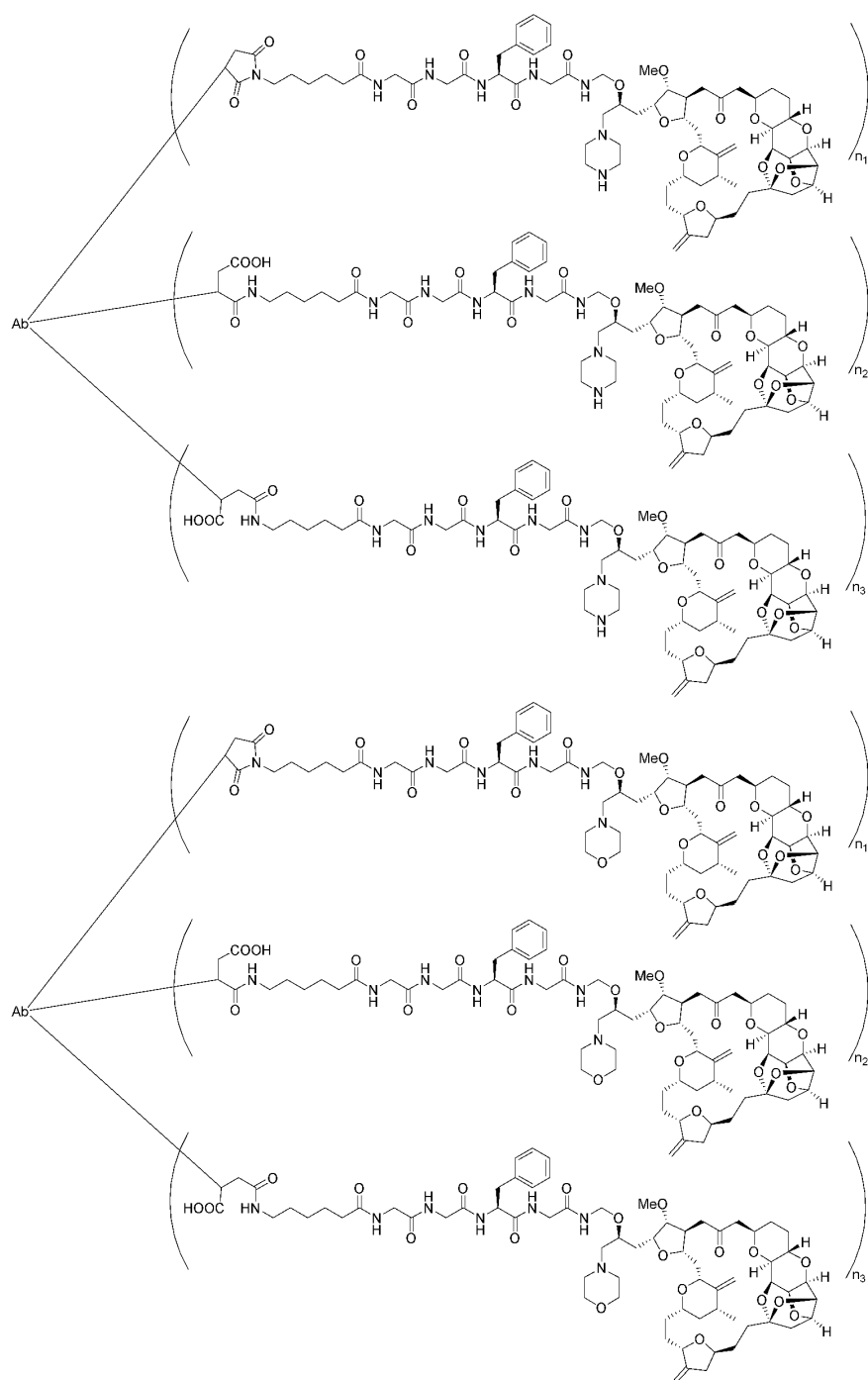


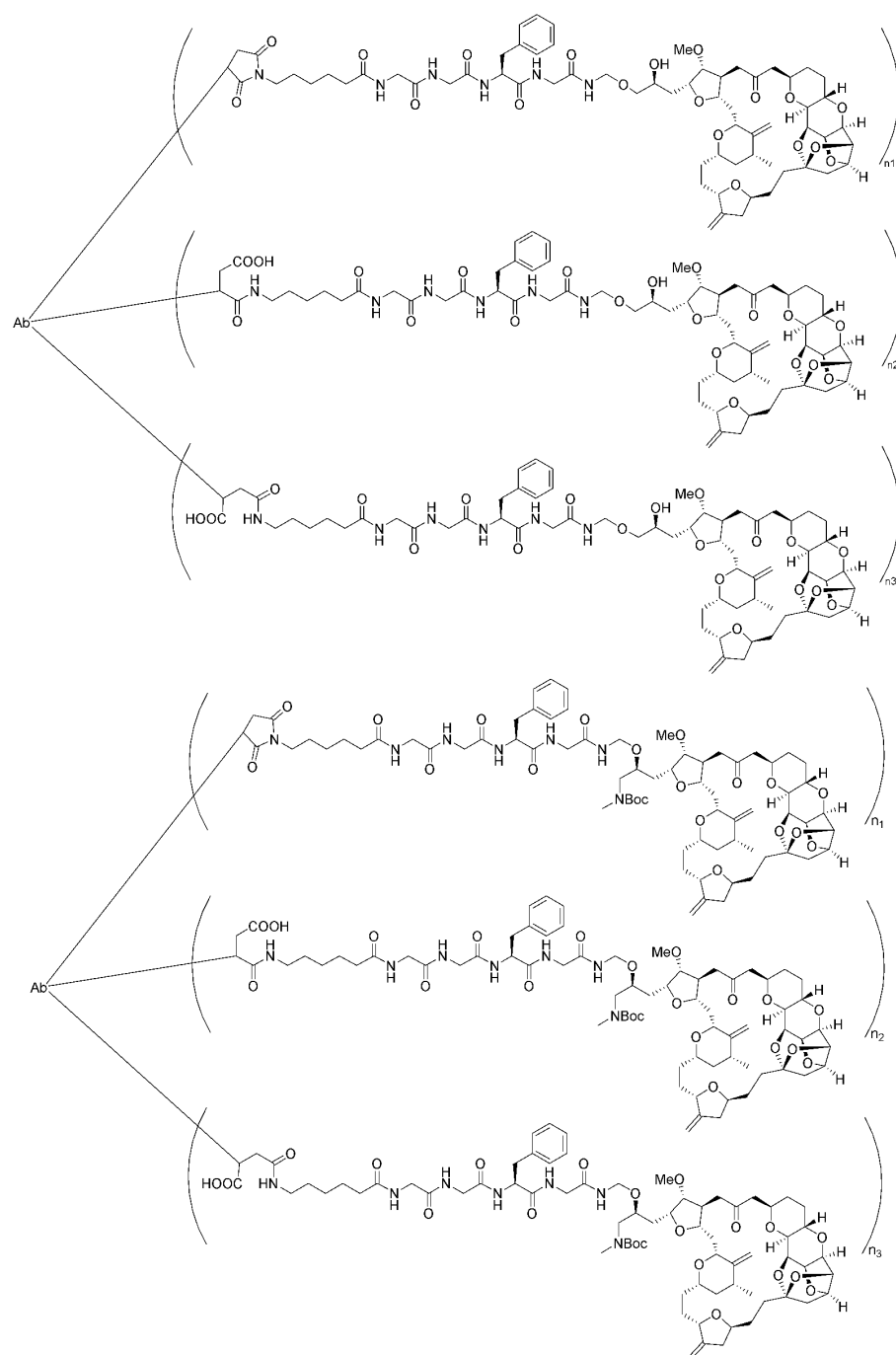
在某些实施方案中，Ac<sub>1</sub>为：。

在某些实施方案中，本申请的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其选自以下结构：

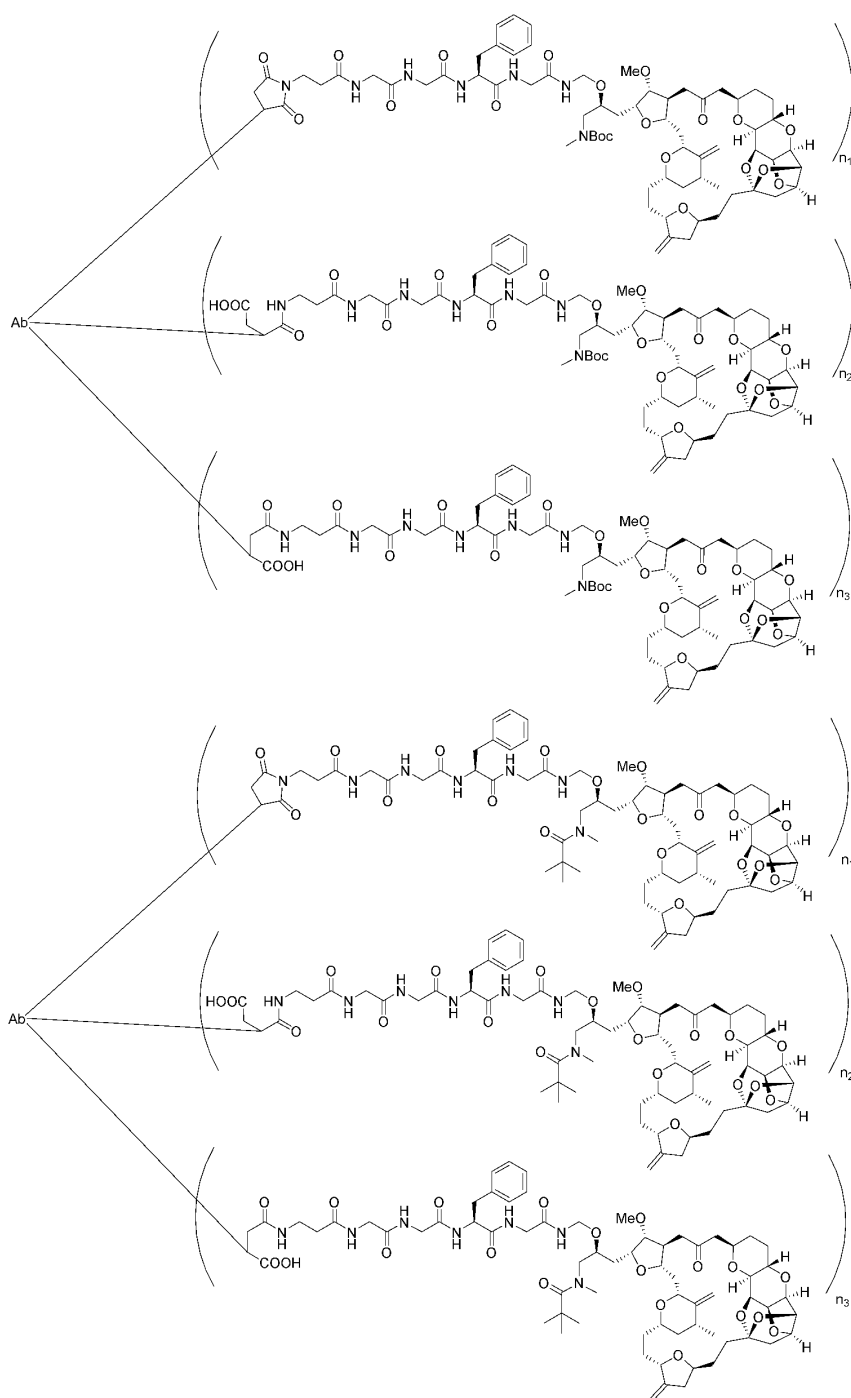
5

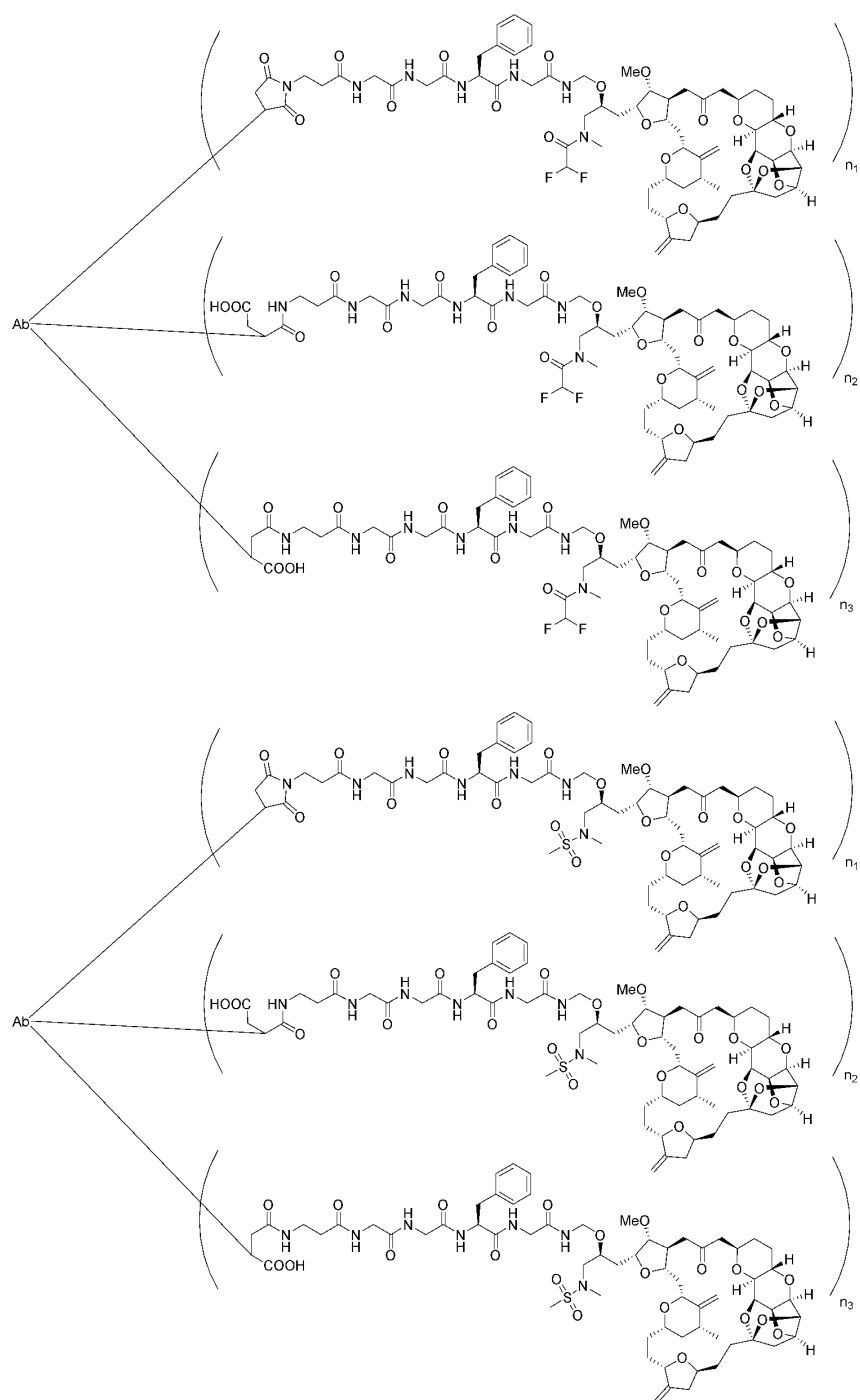


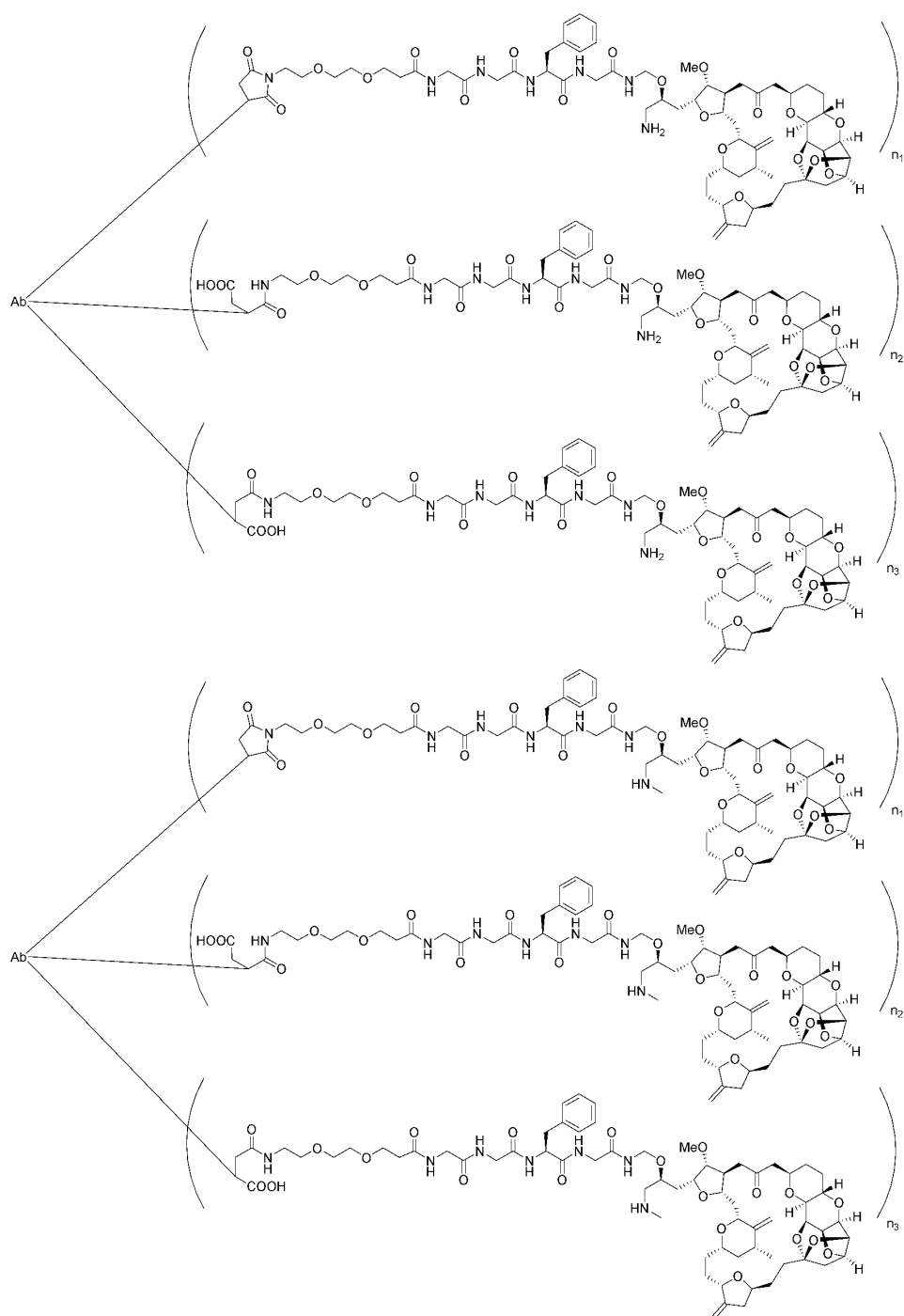


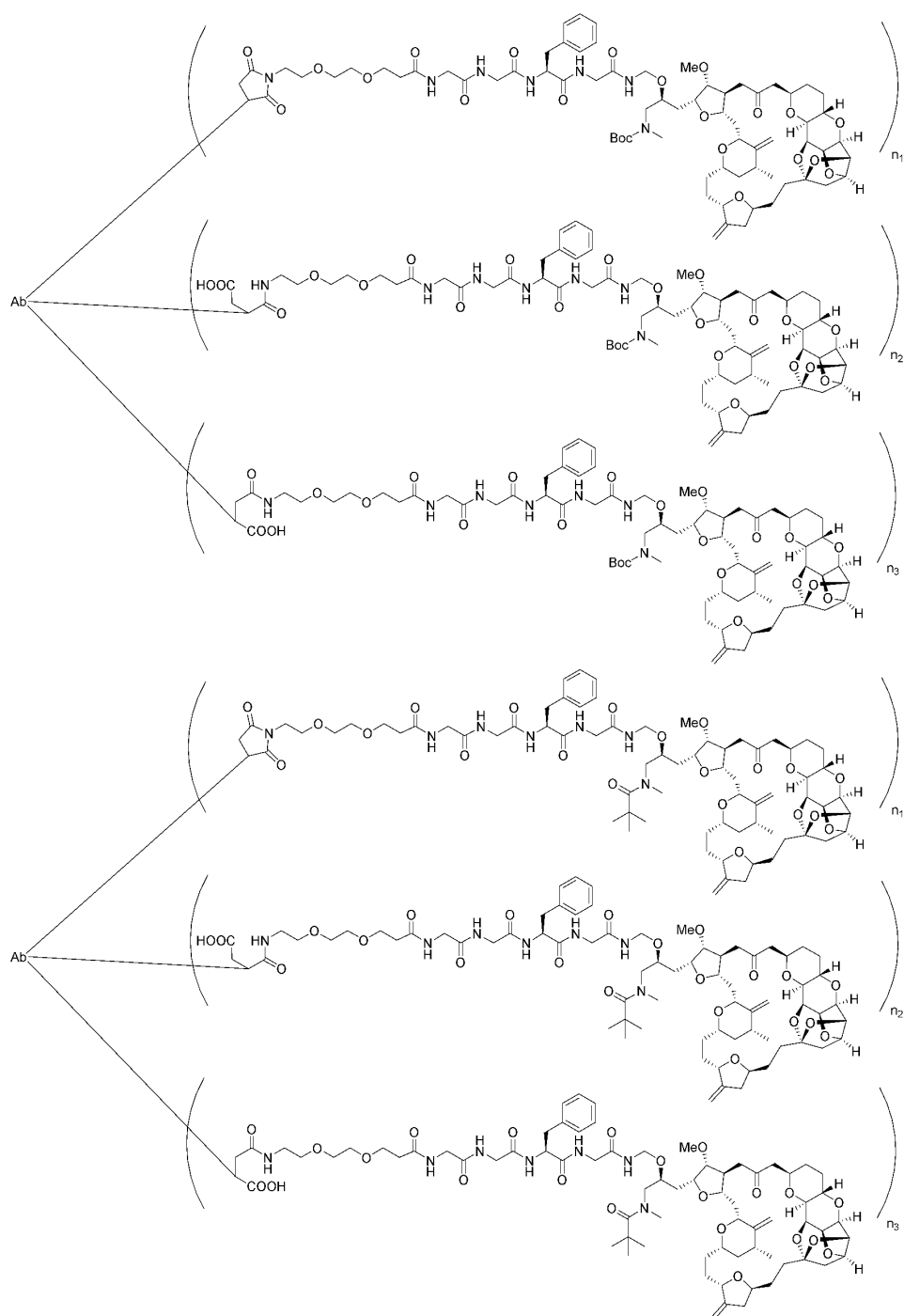


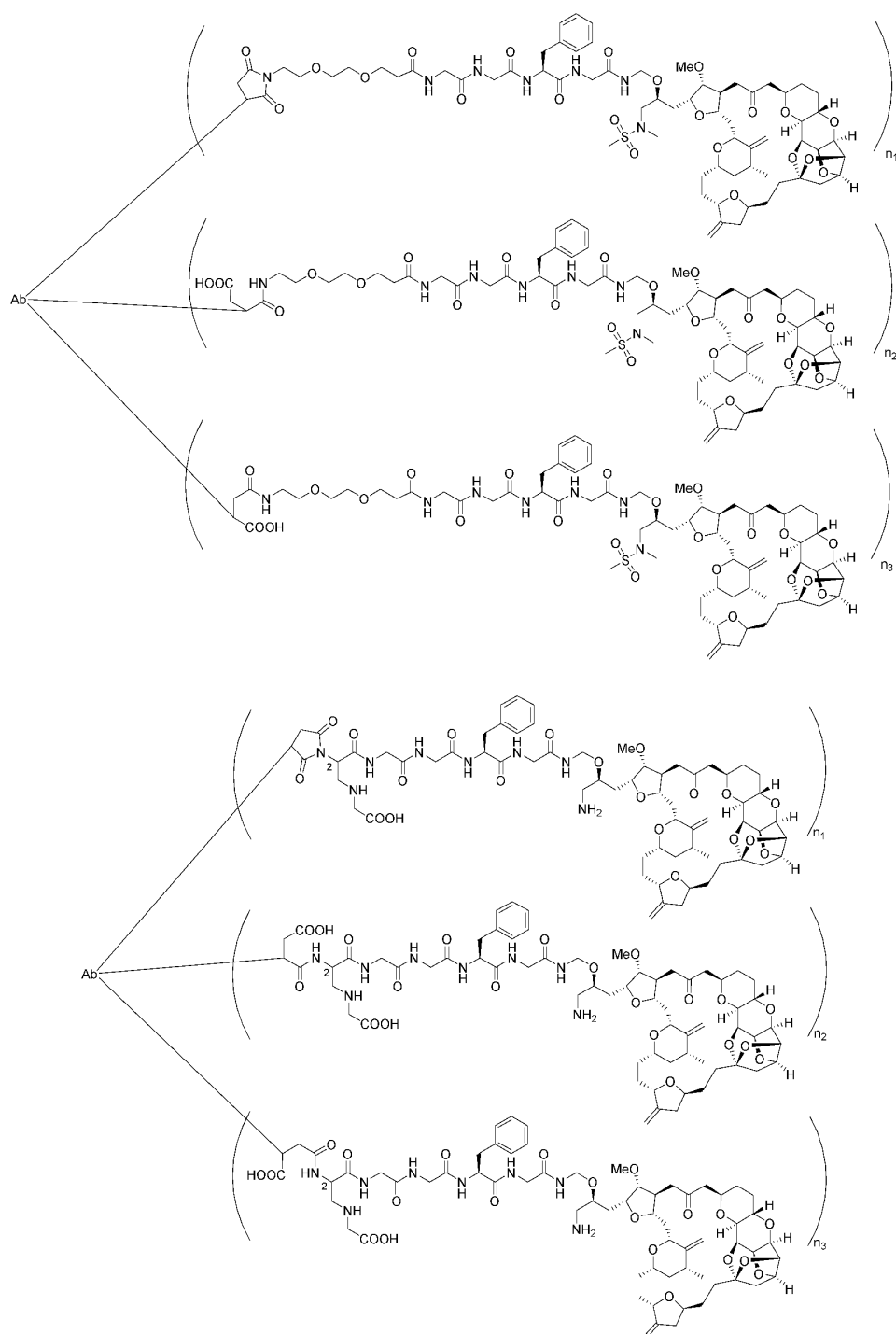


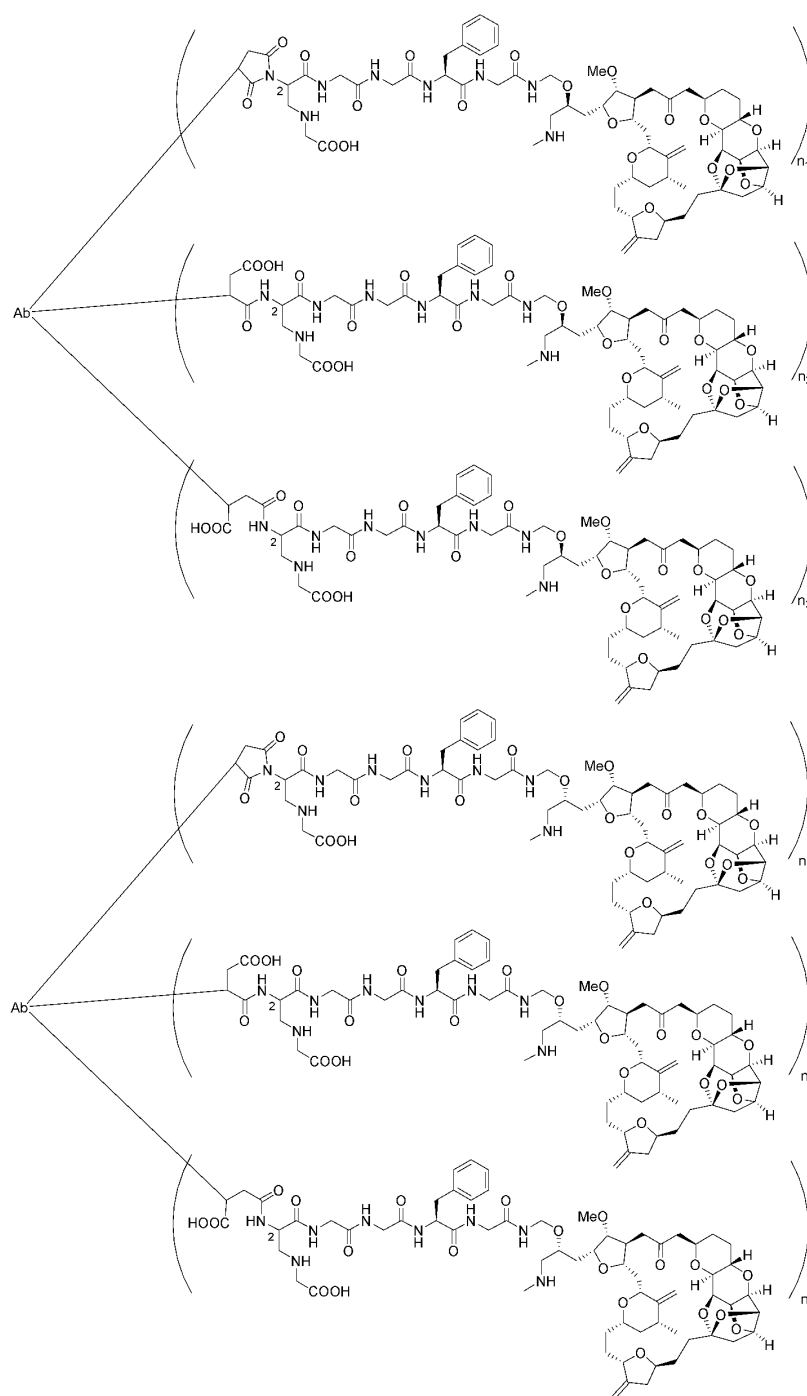


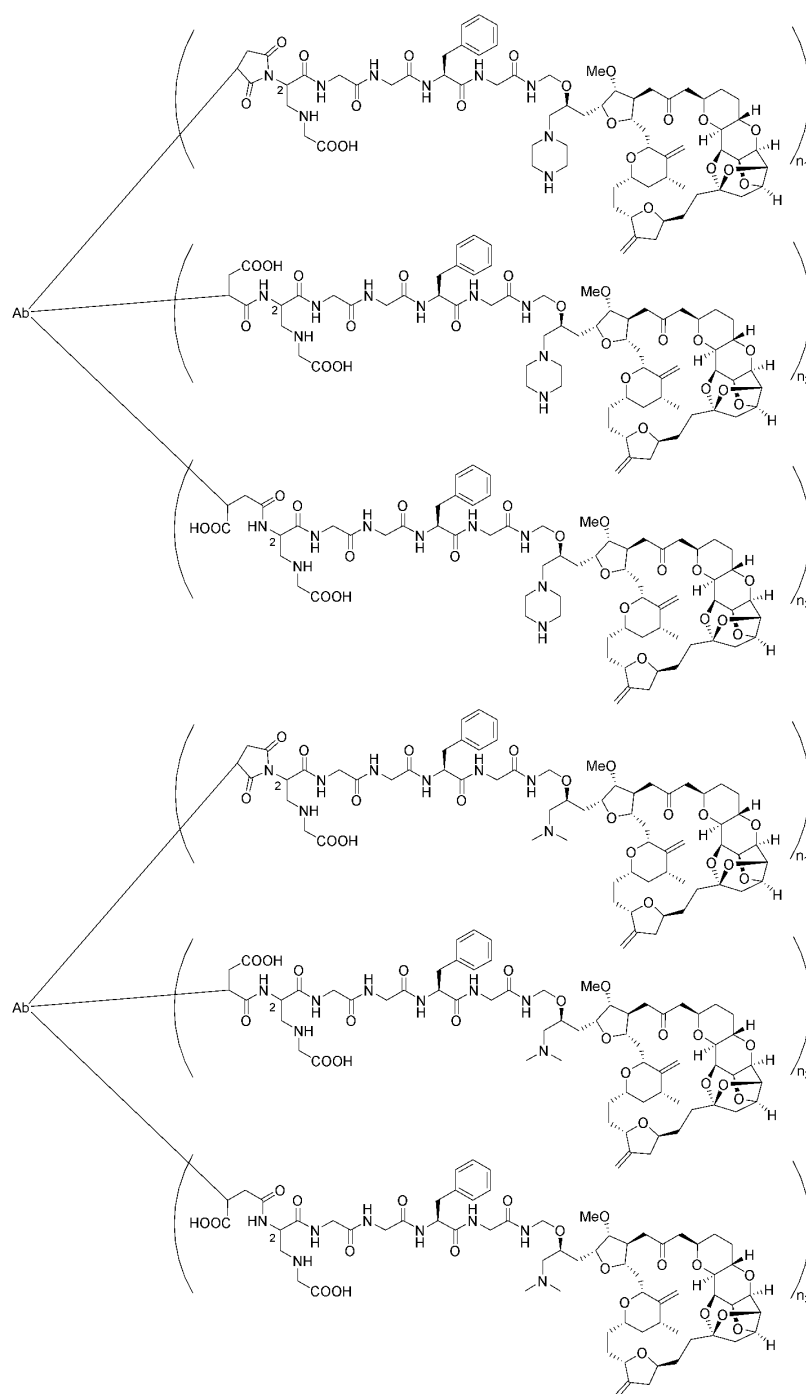


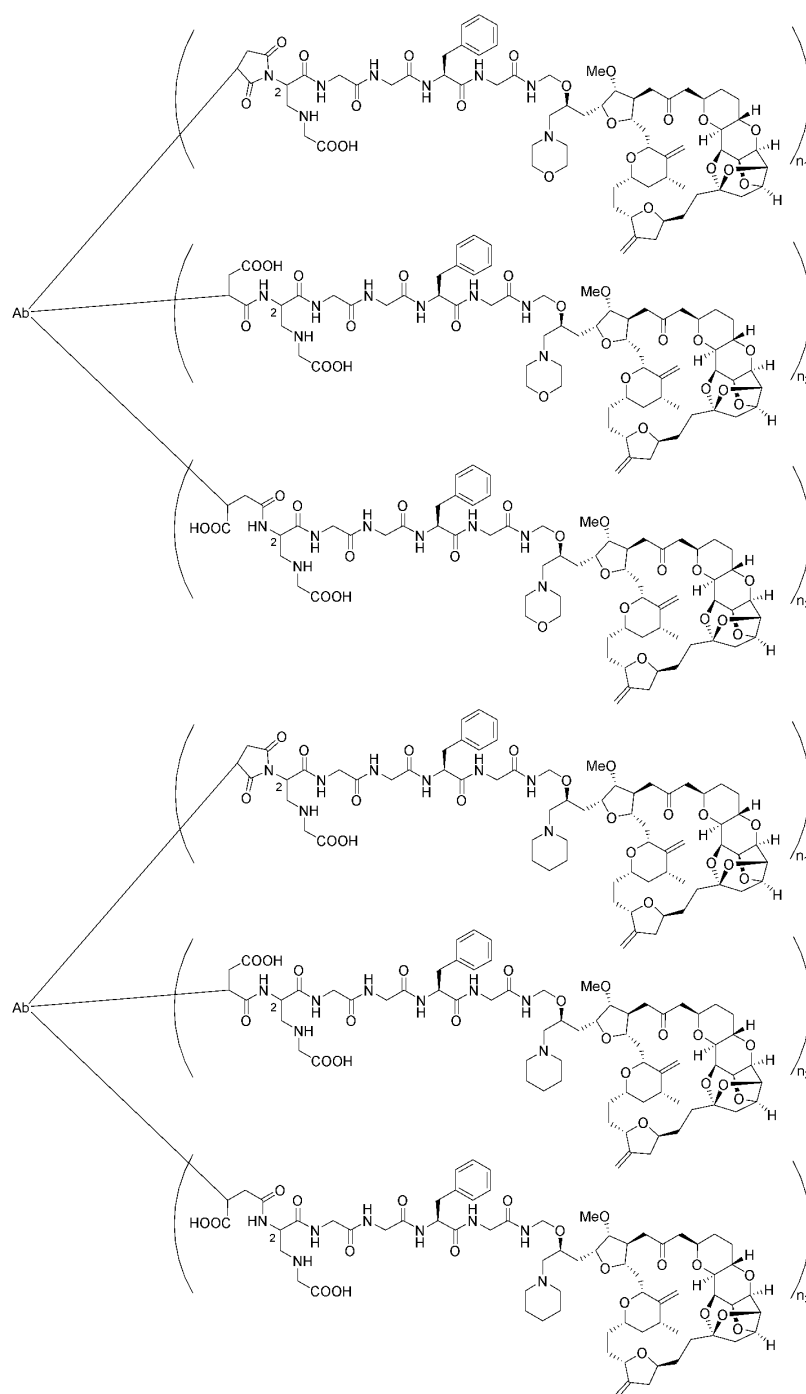




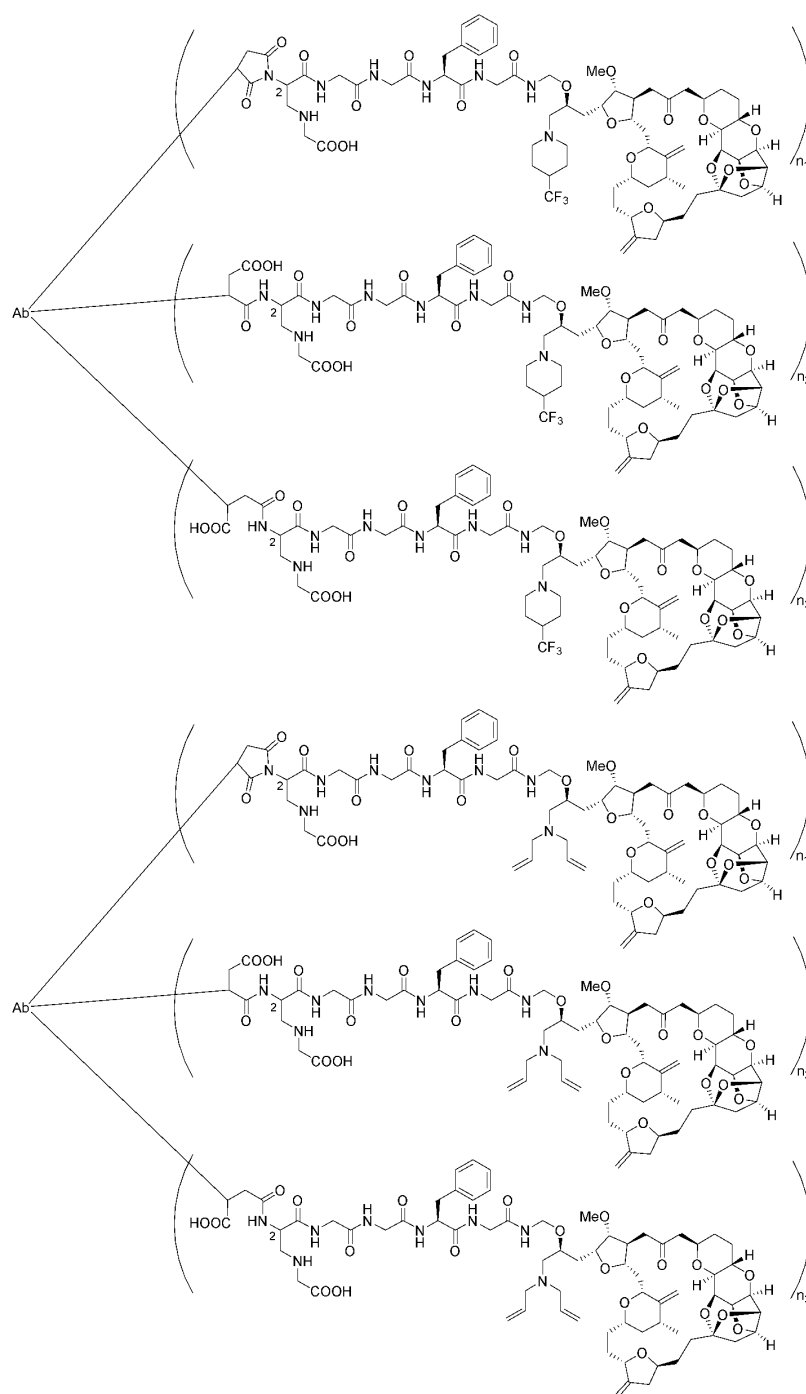


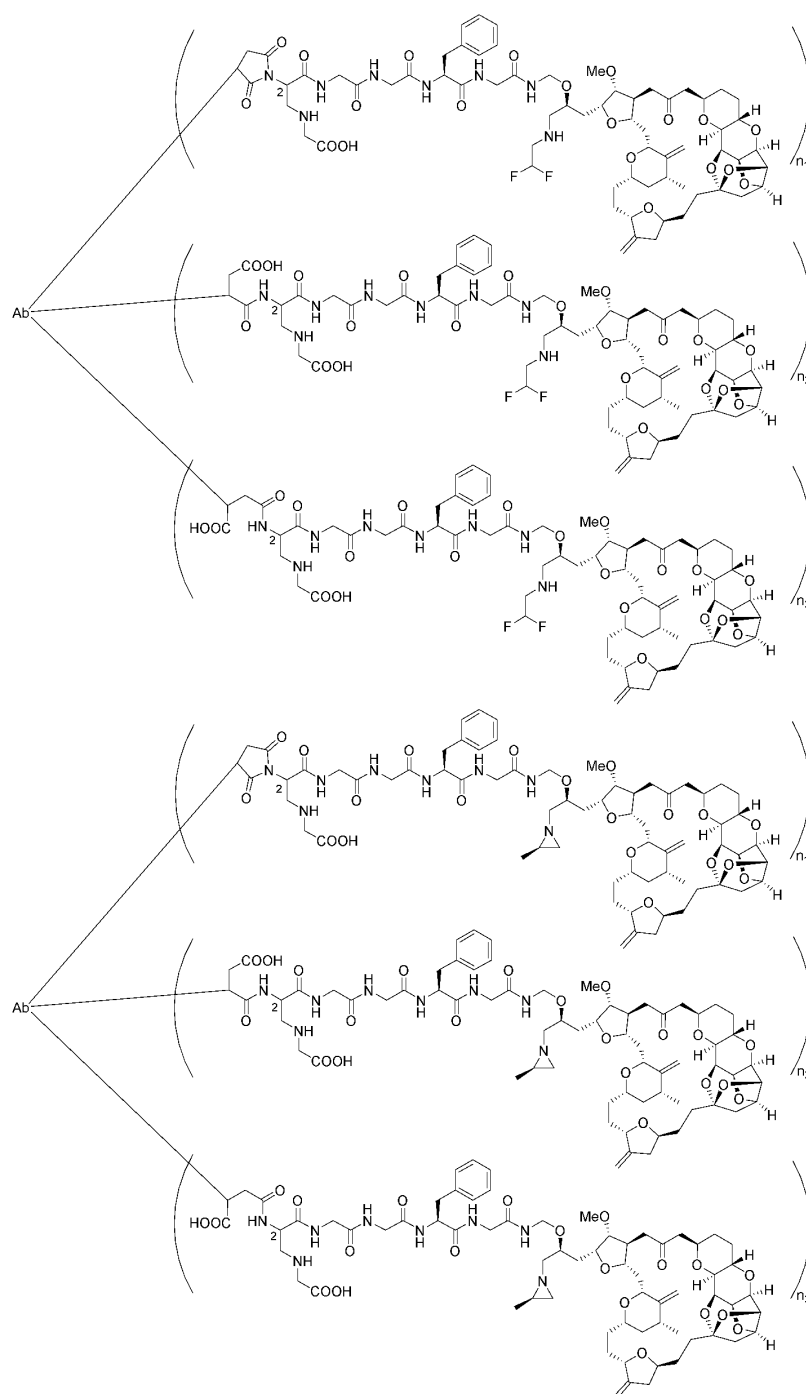


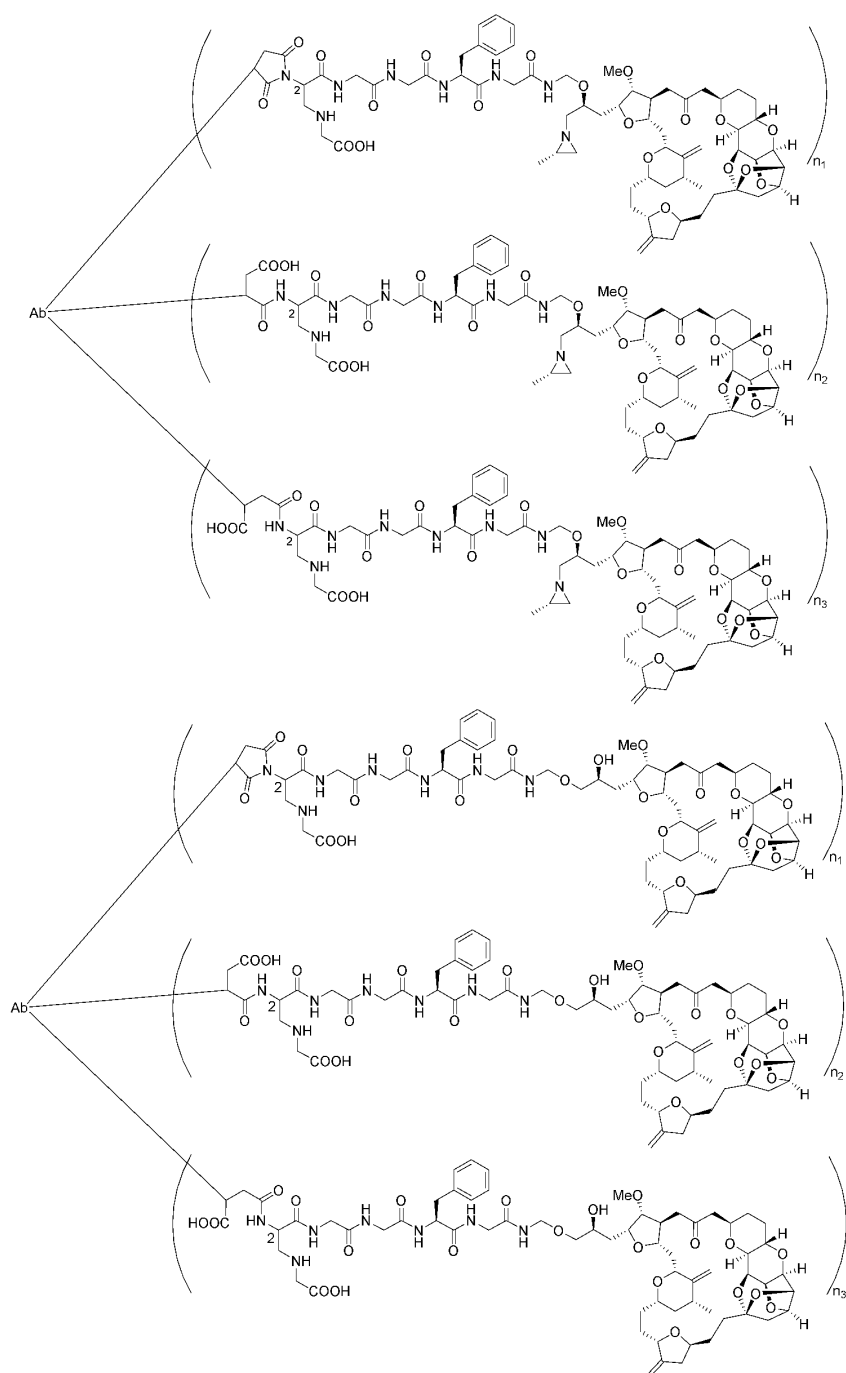




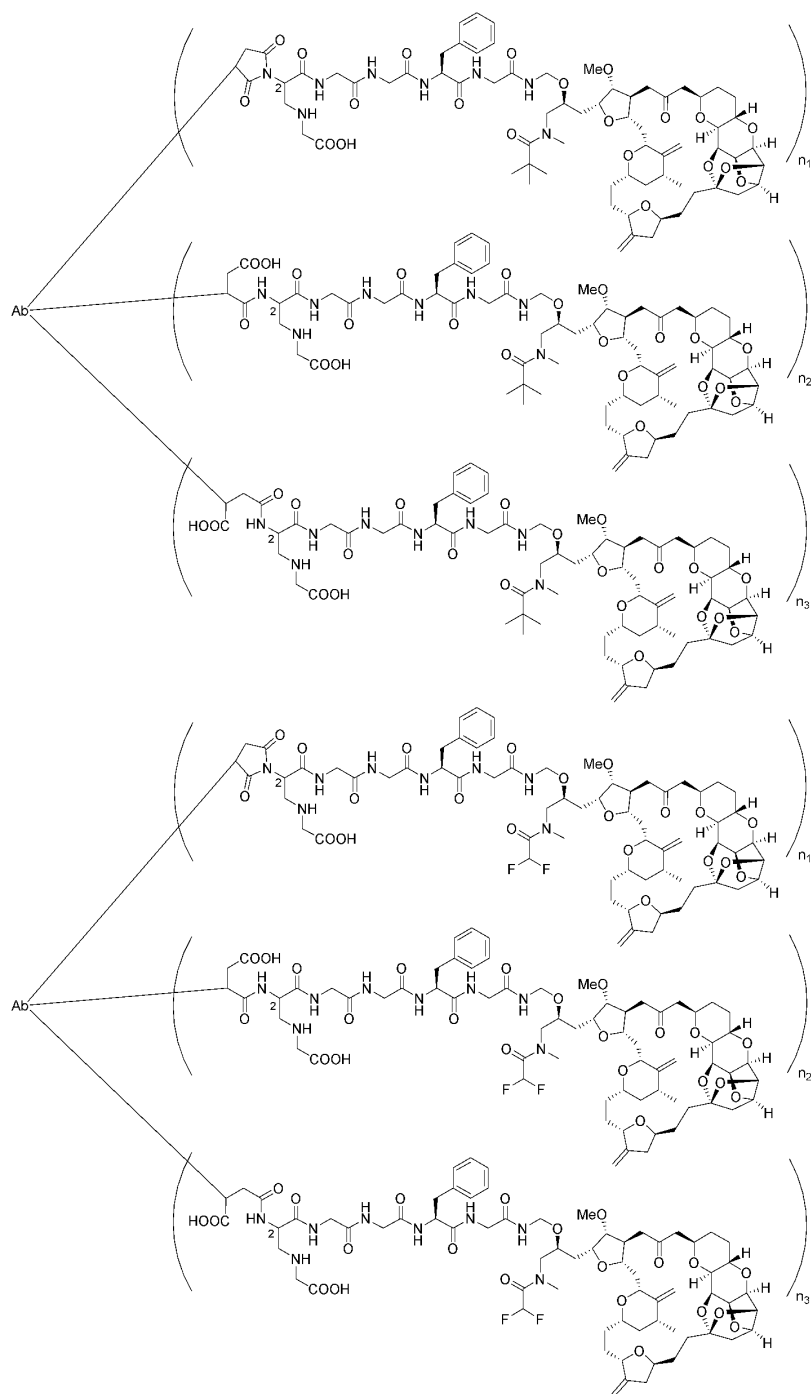


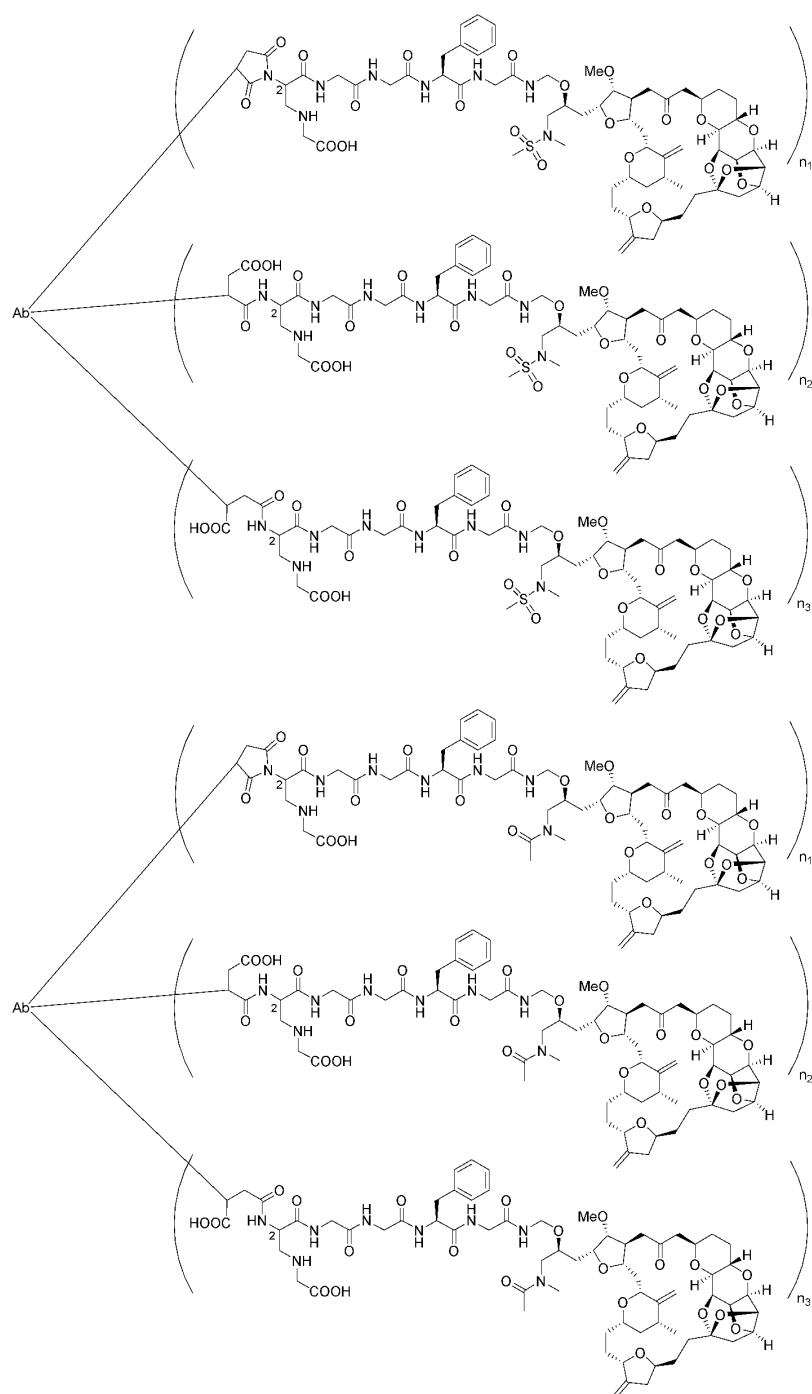


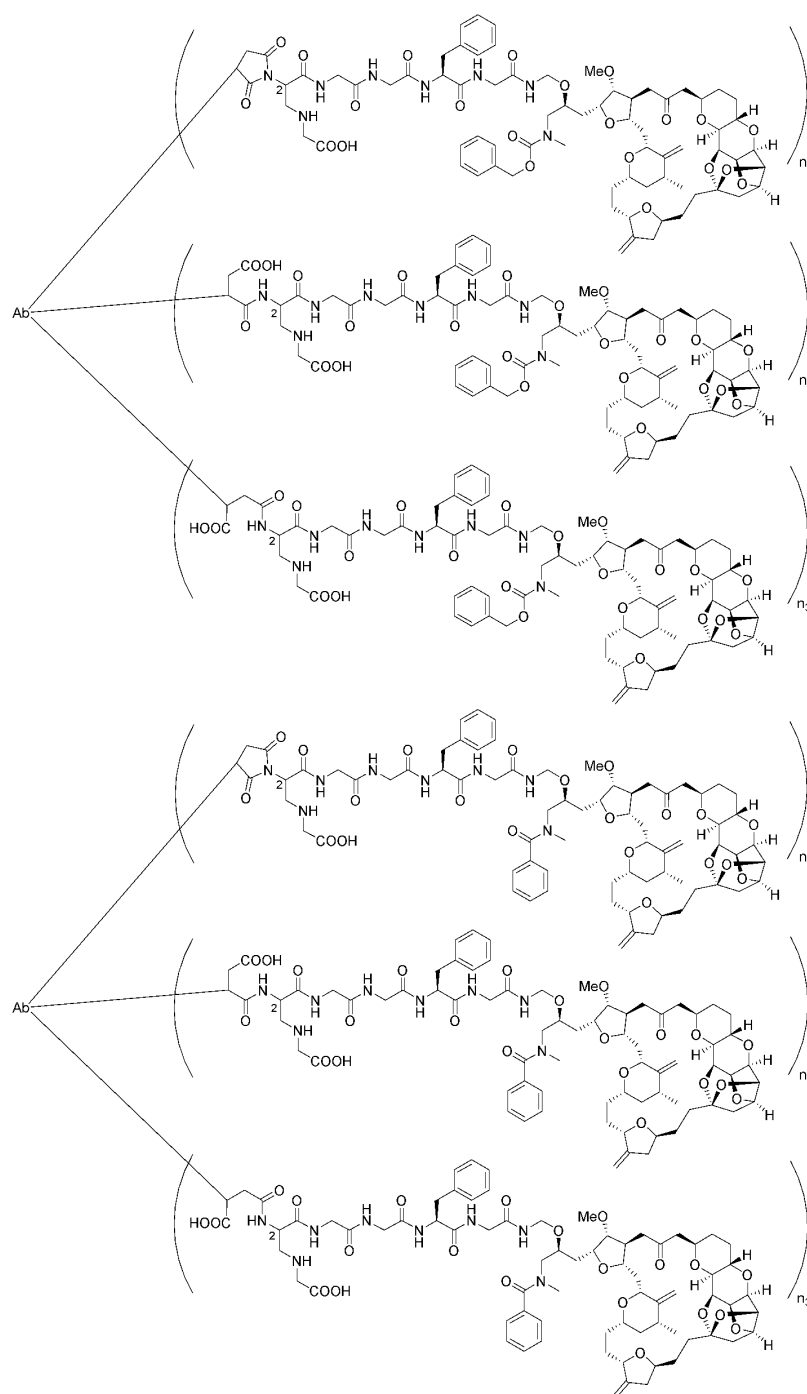


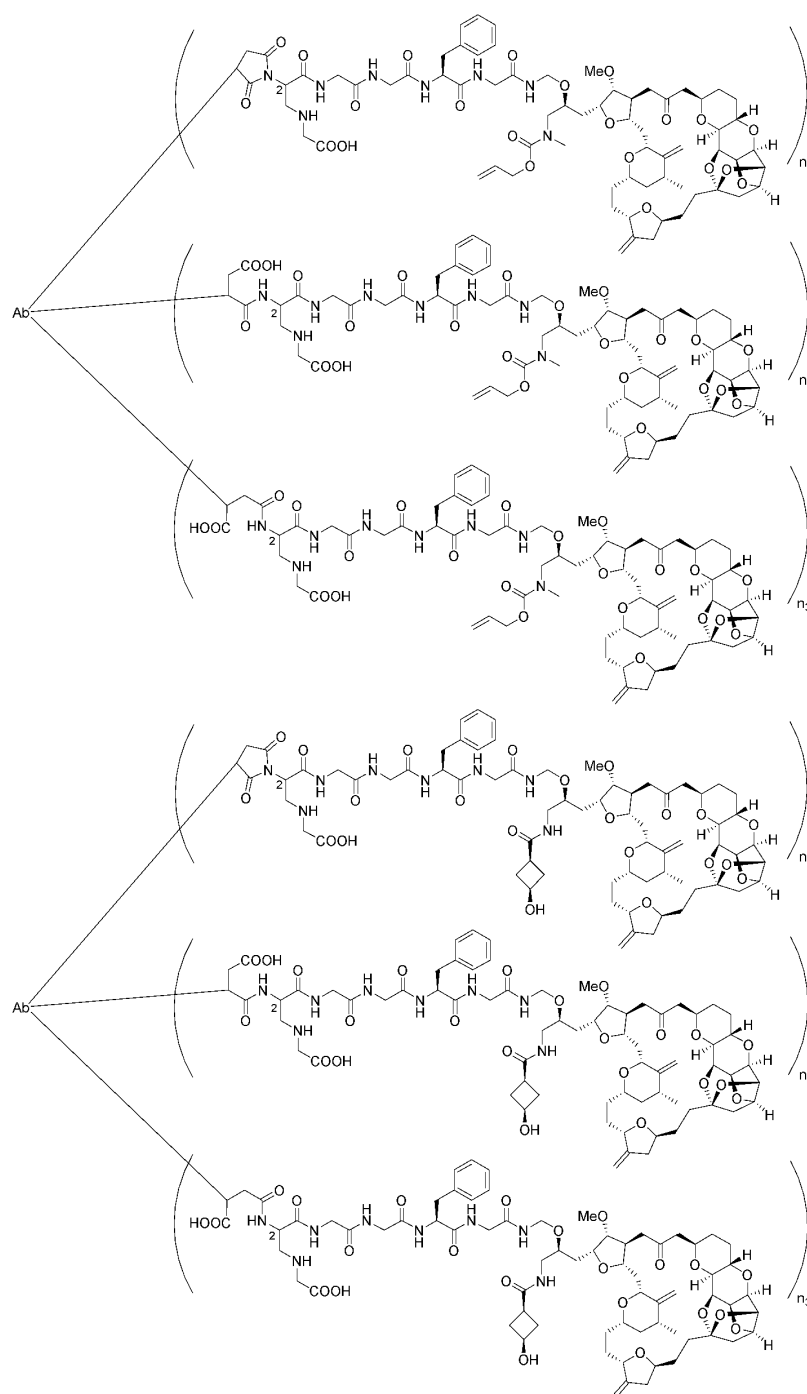




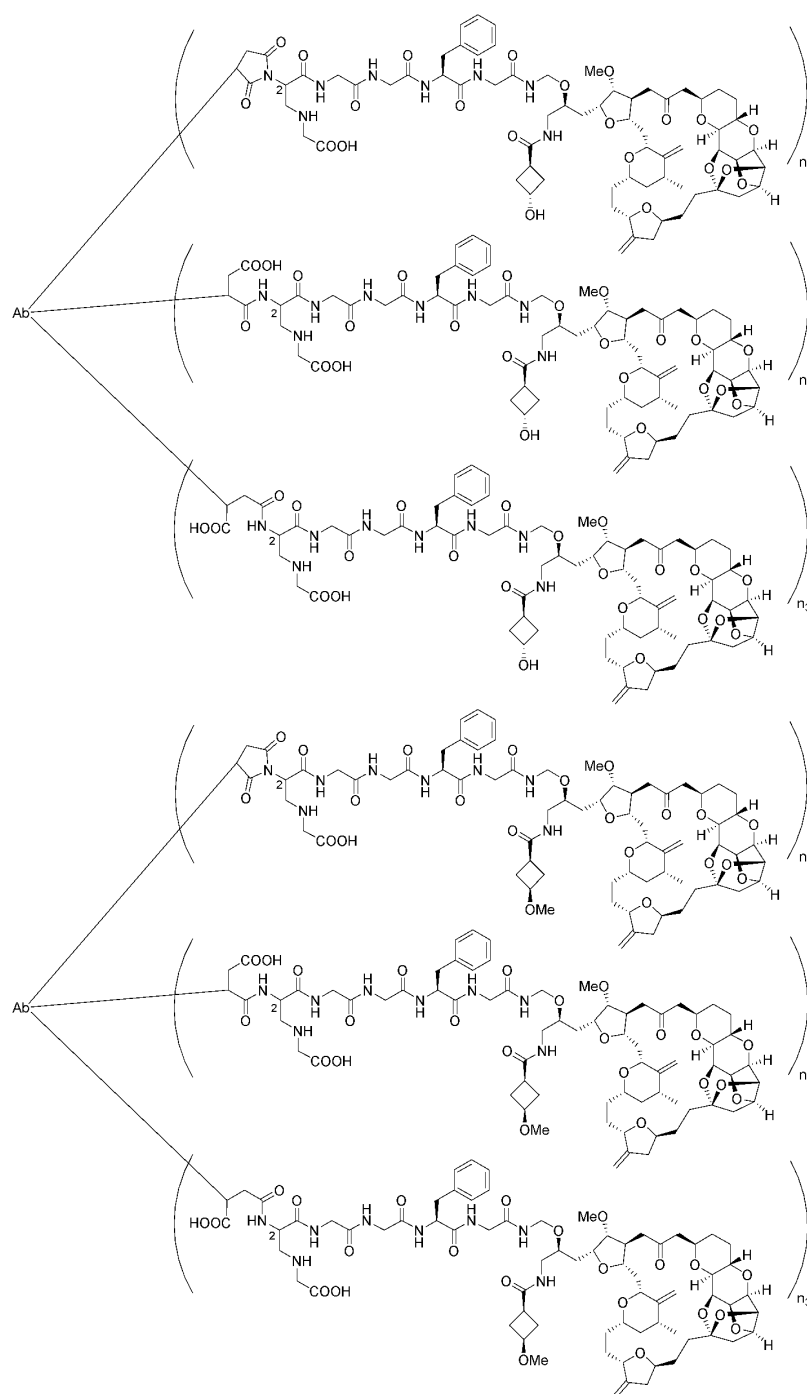


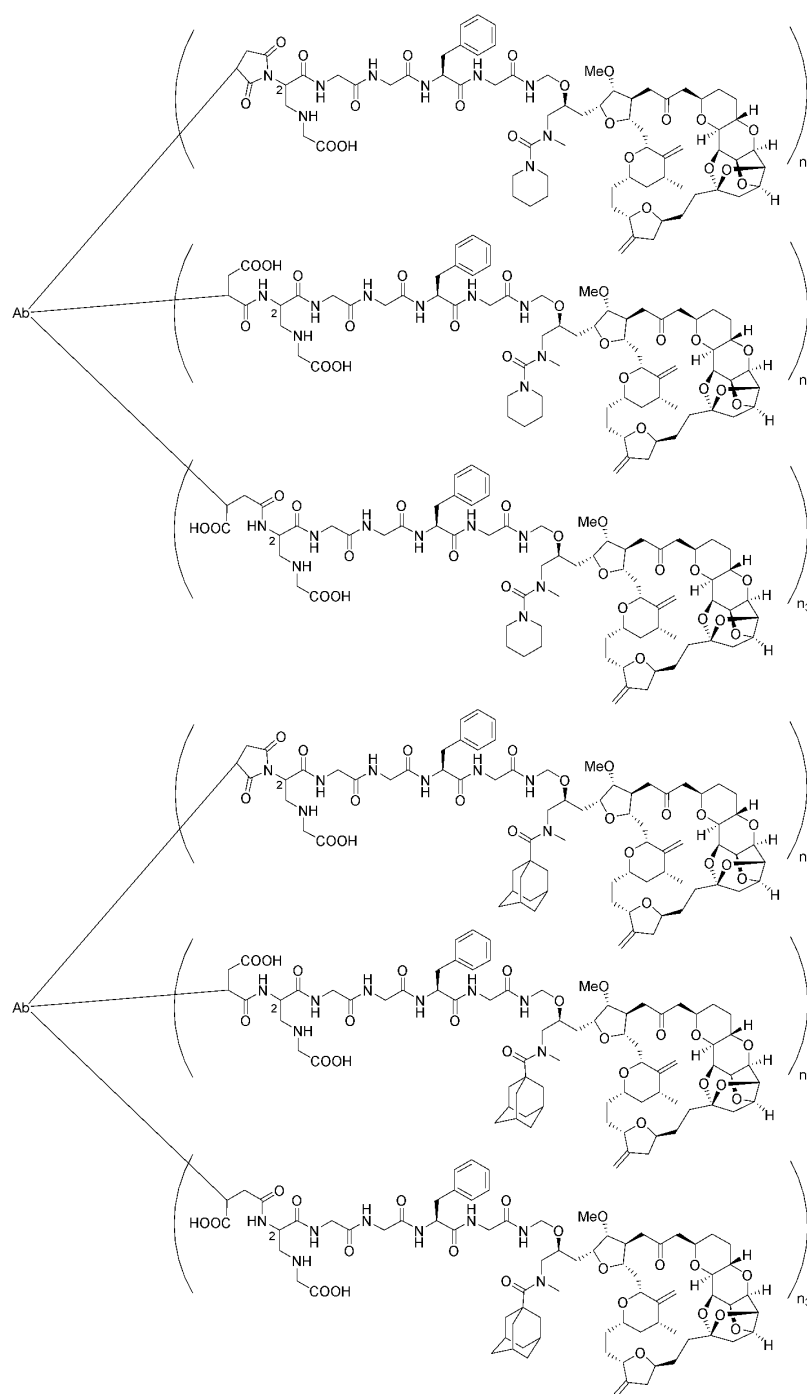


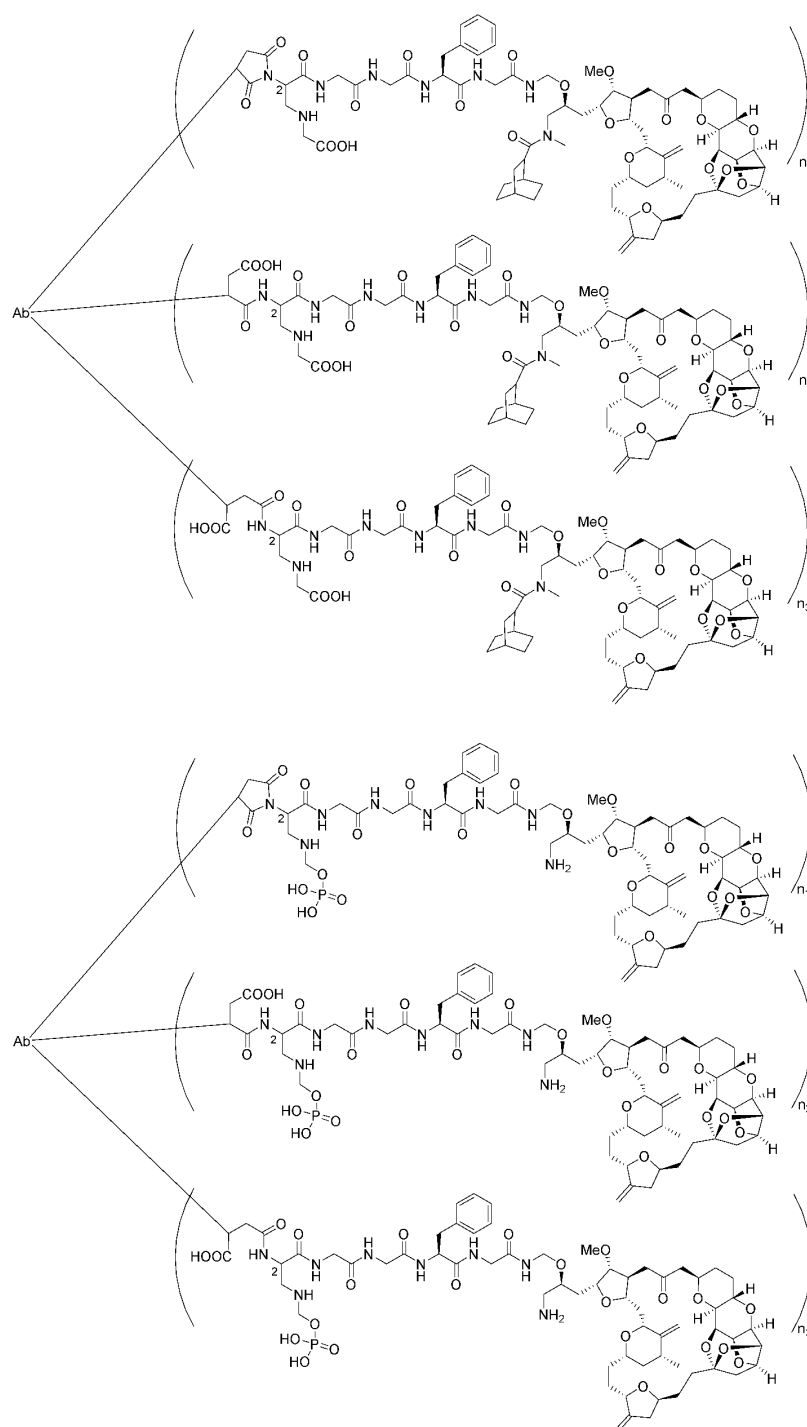


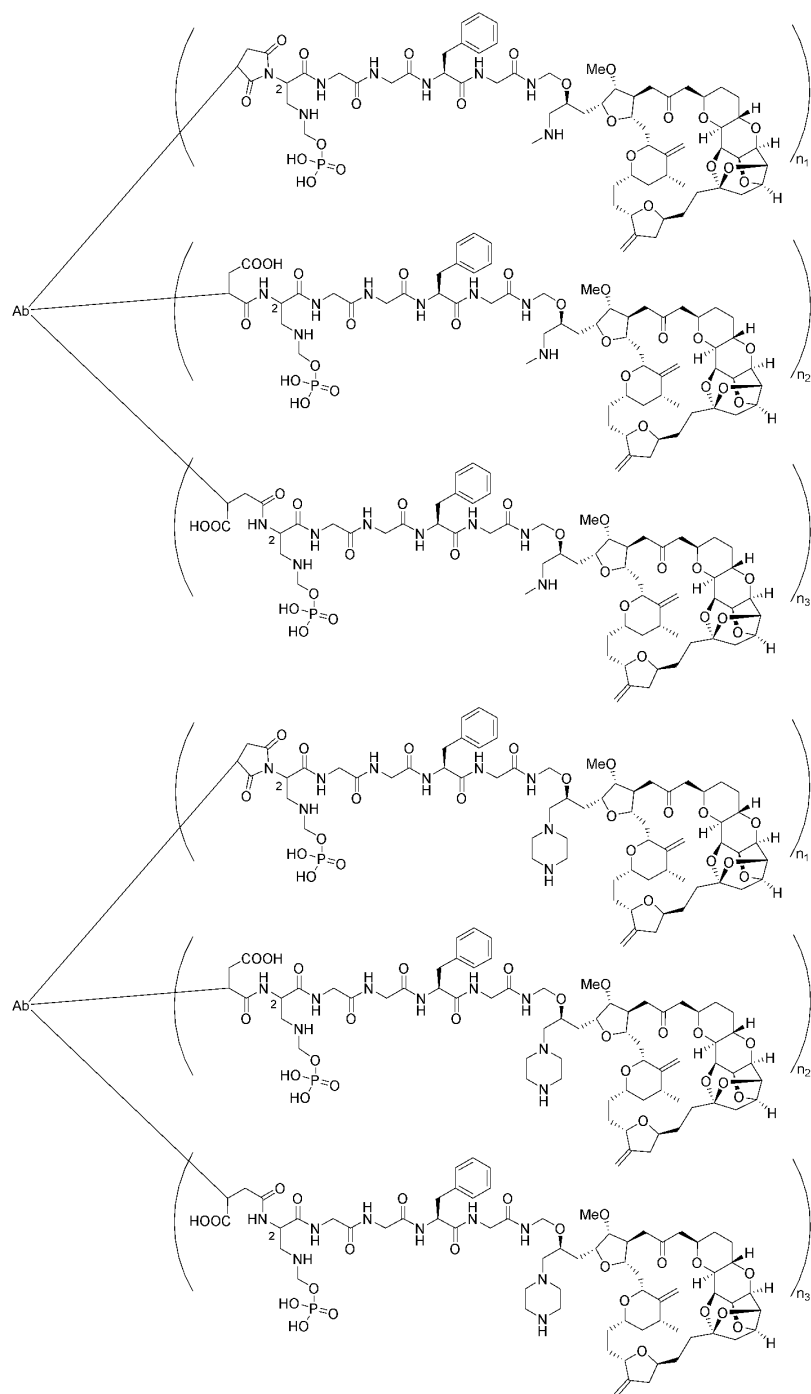


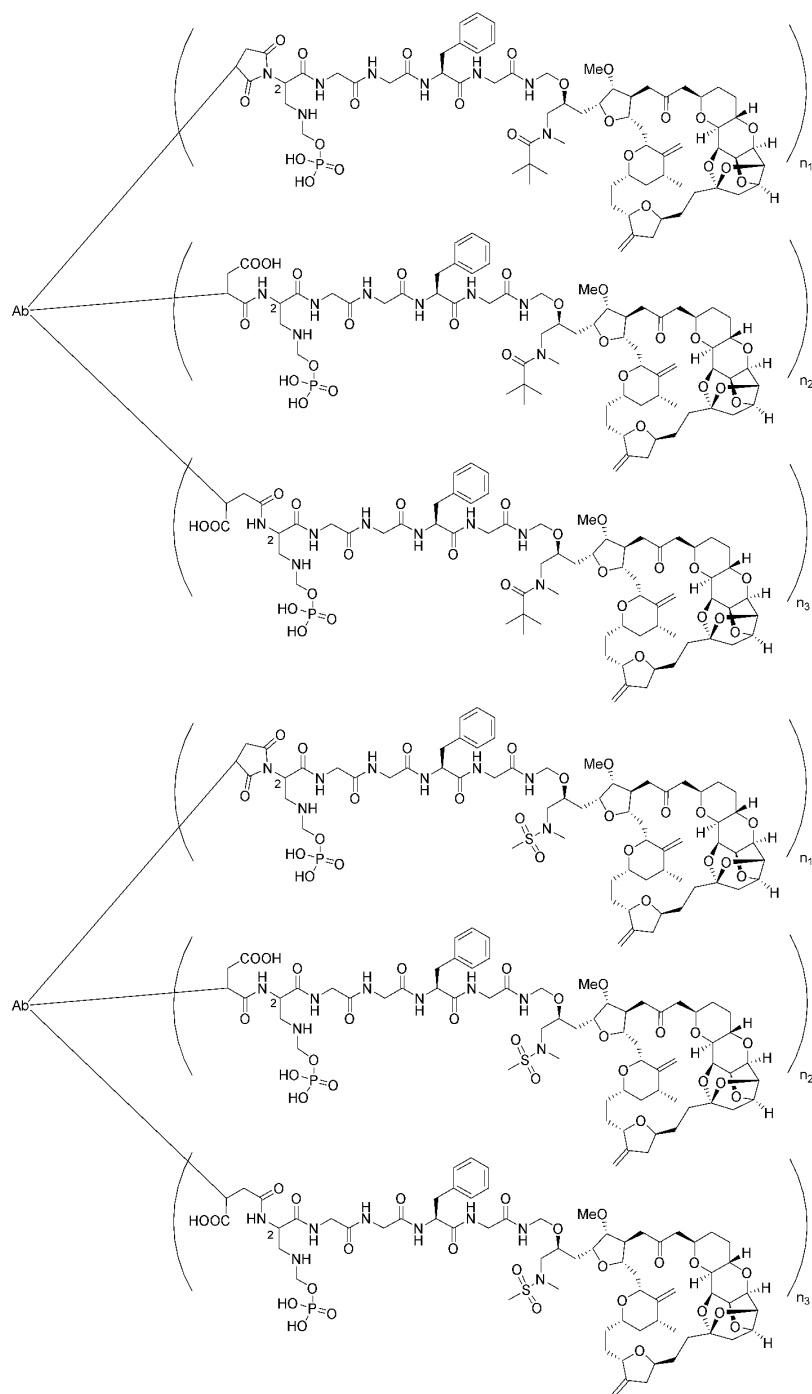


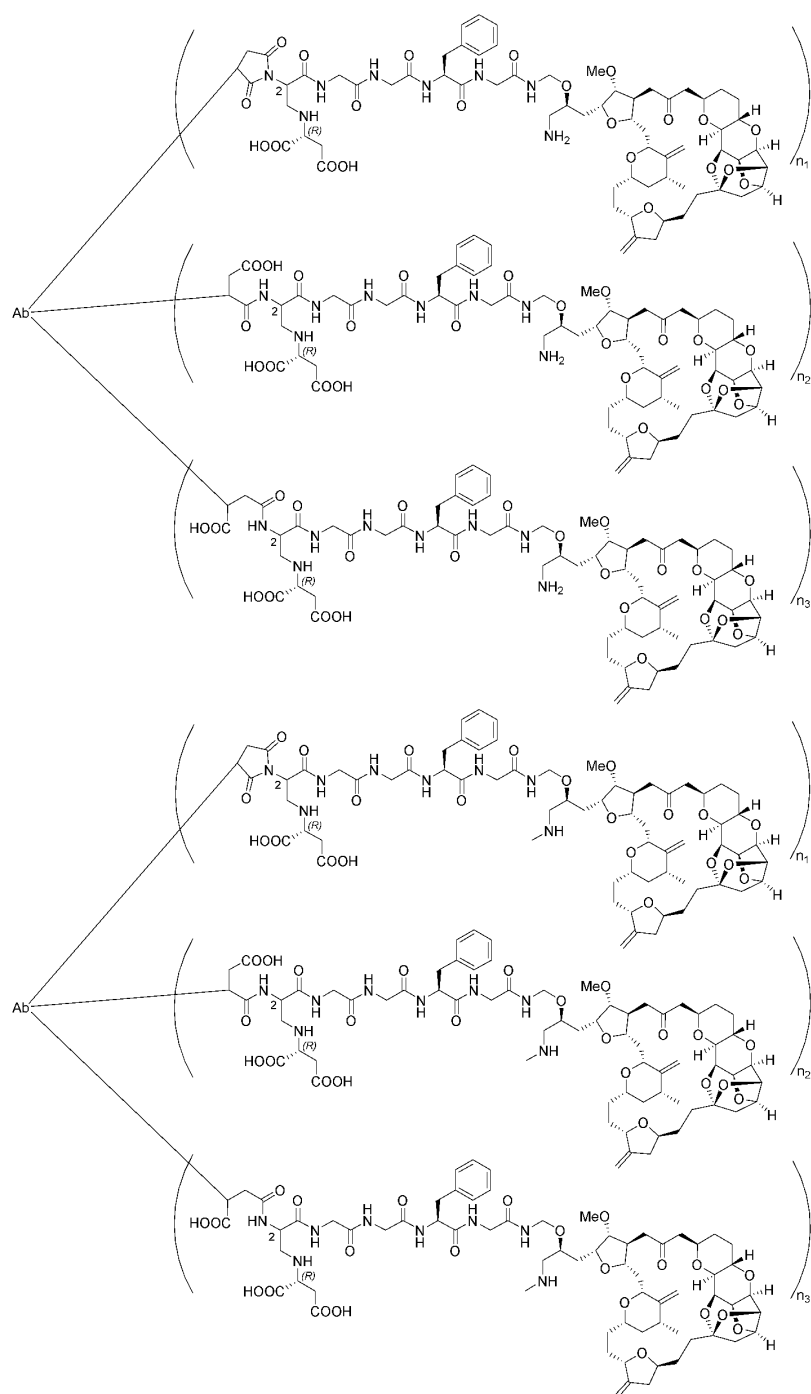


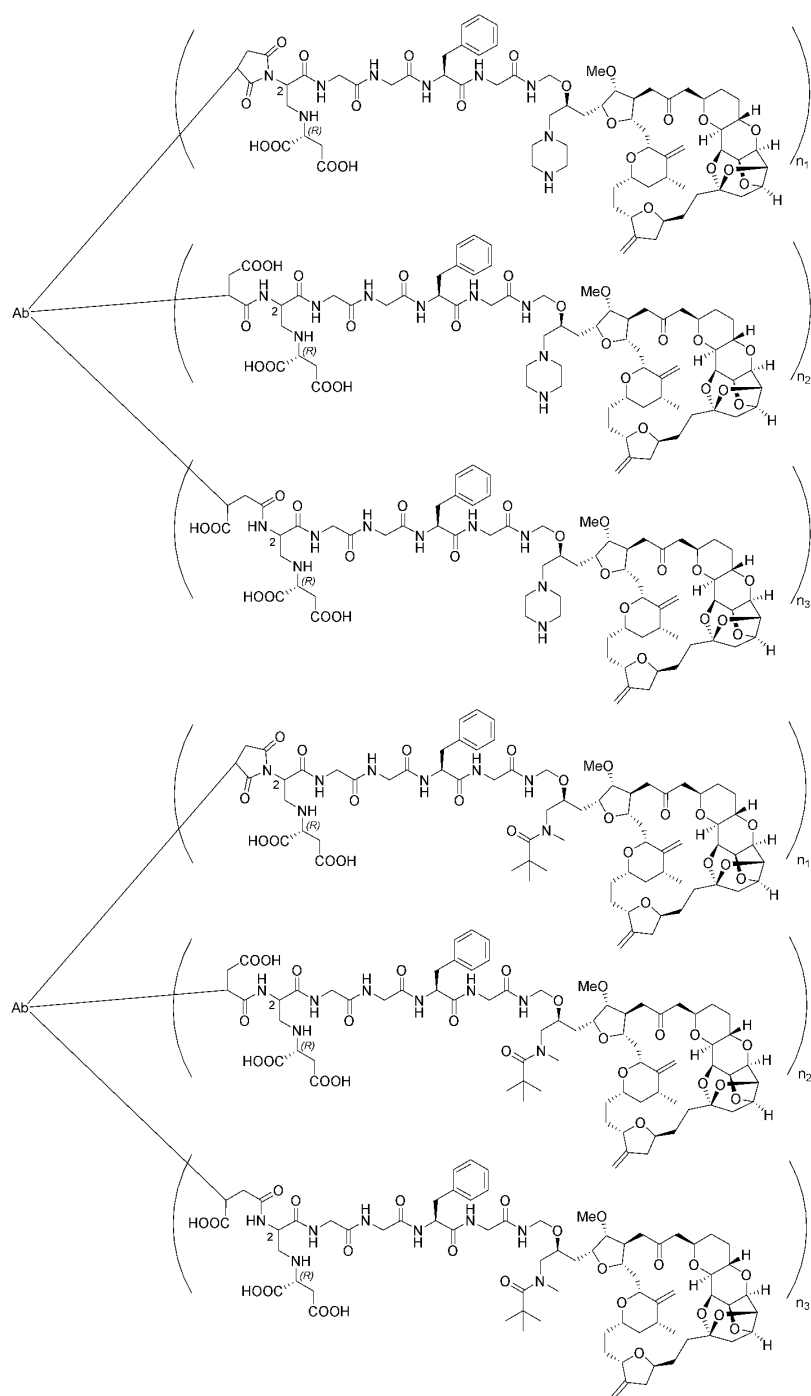


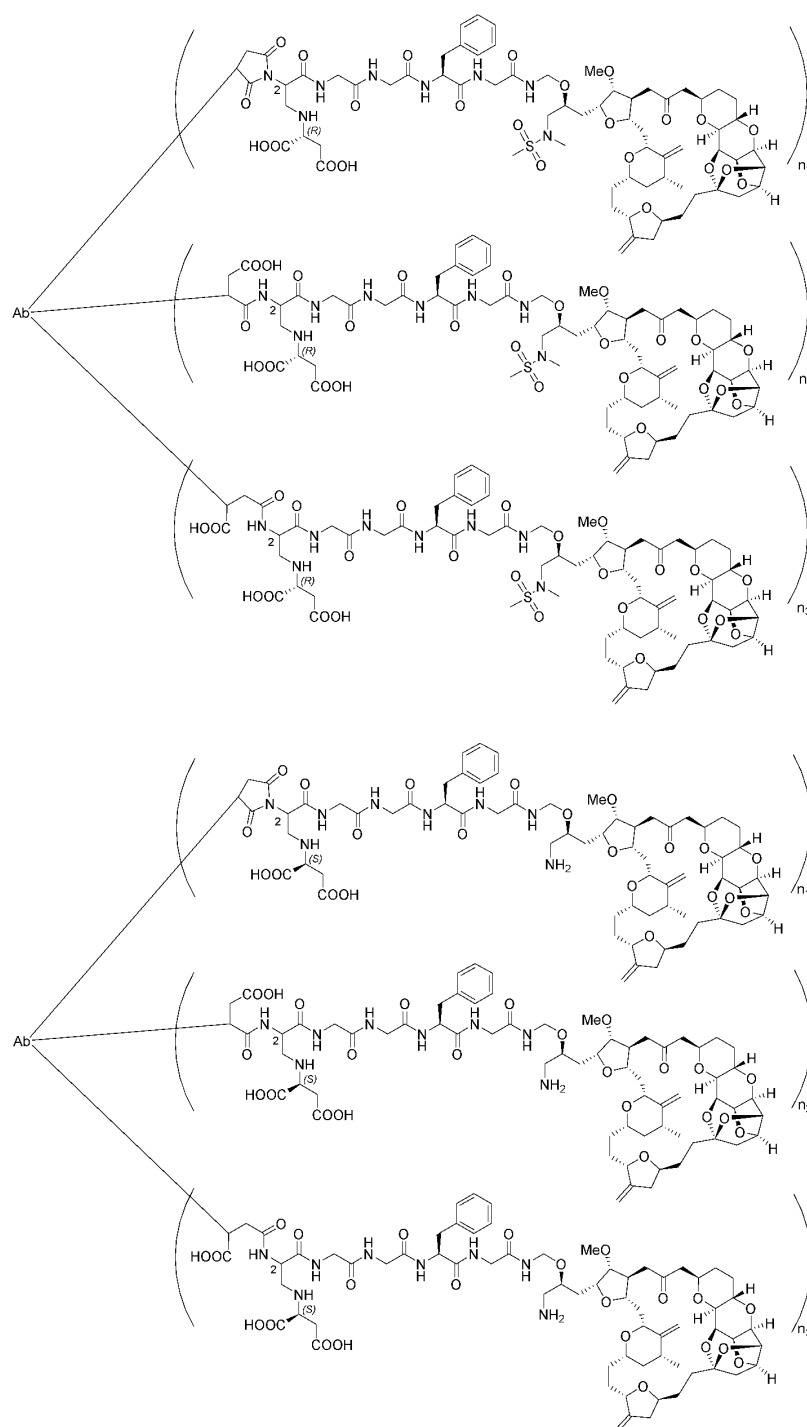




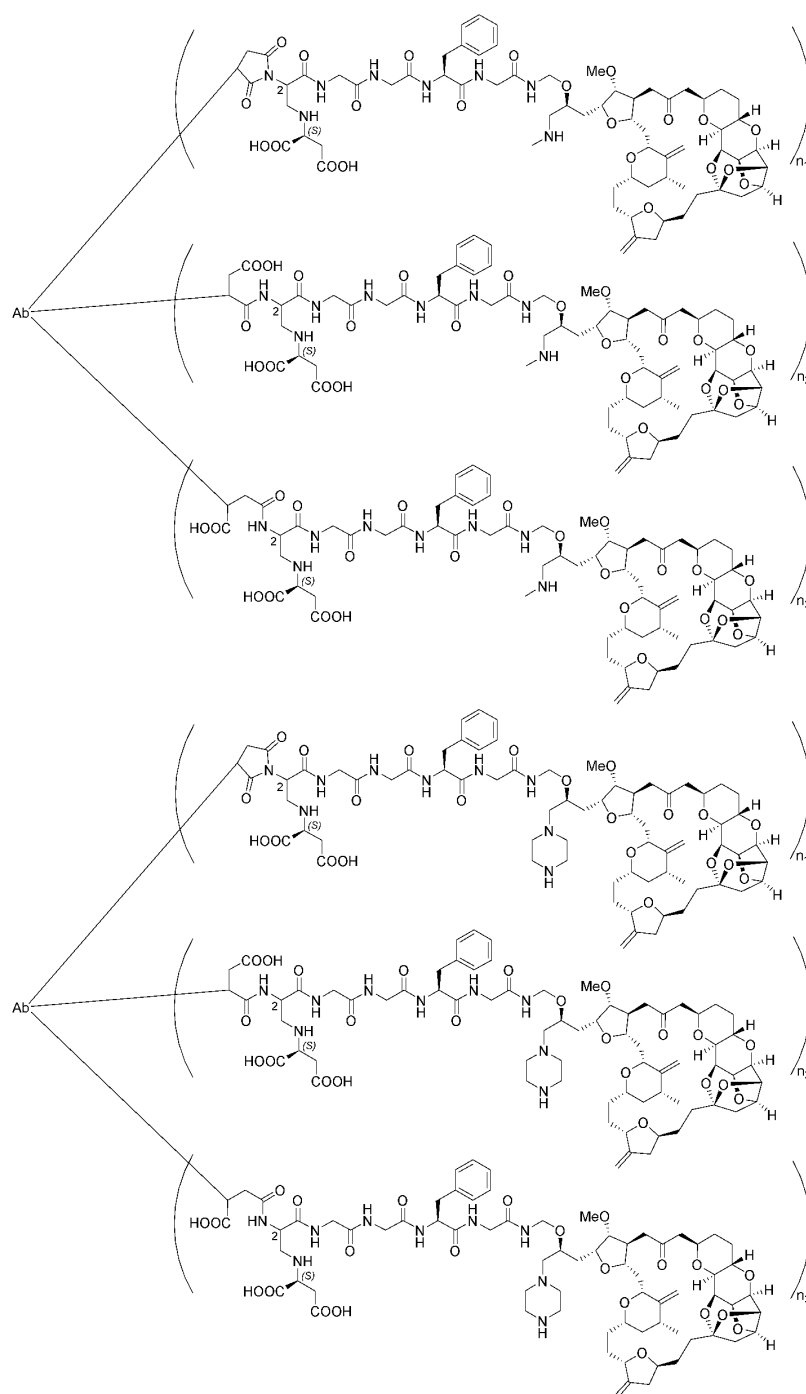


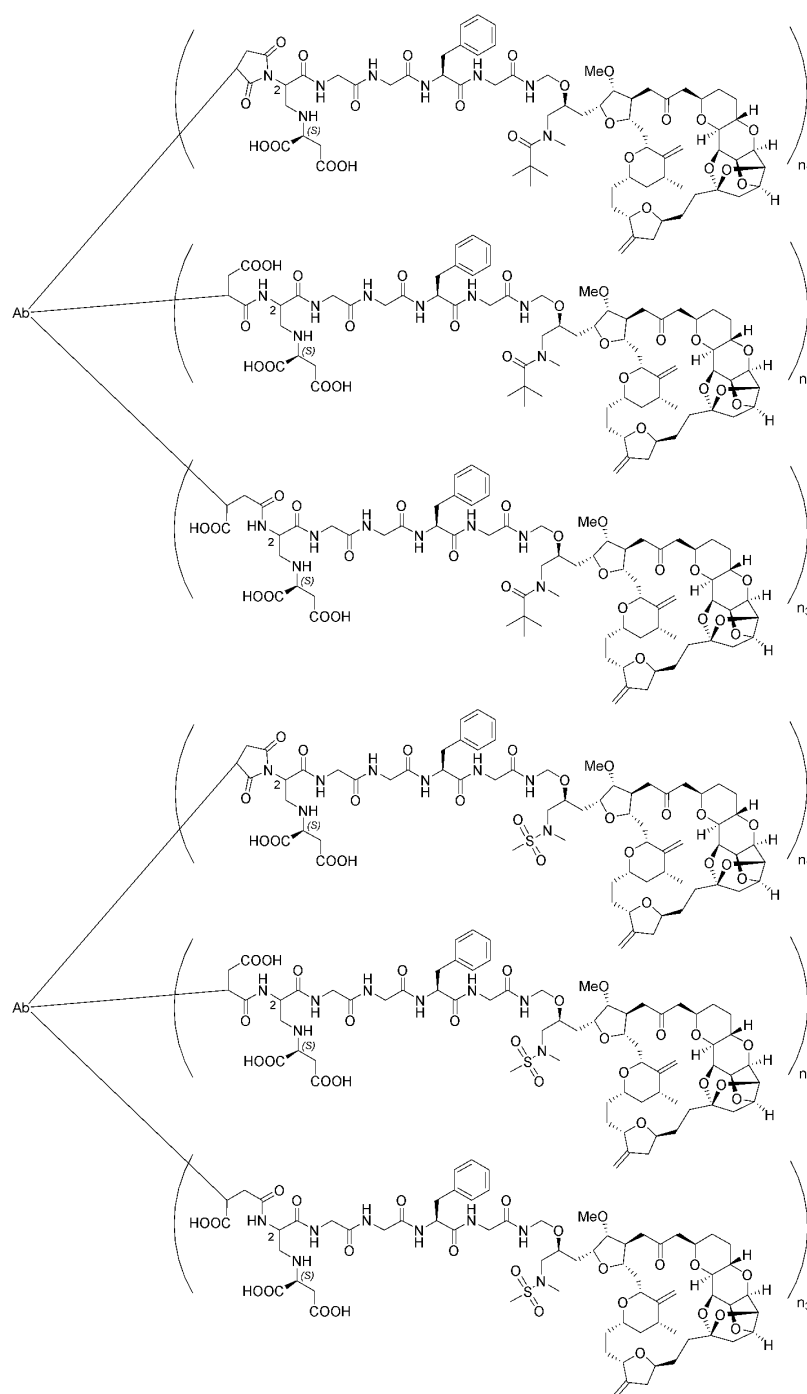


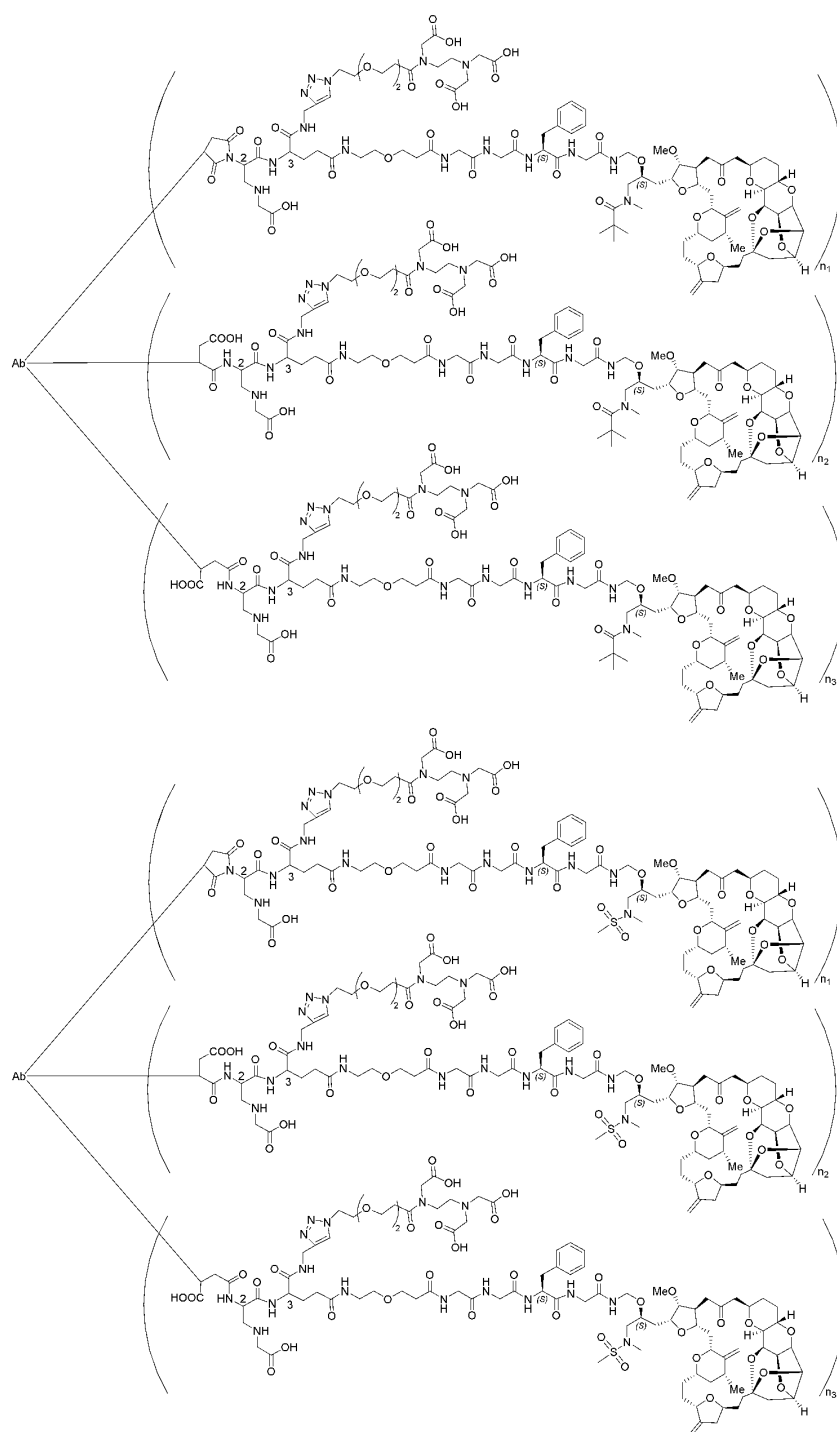


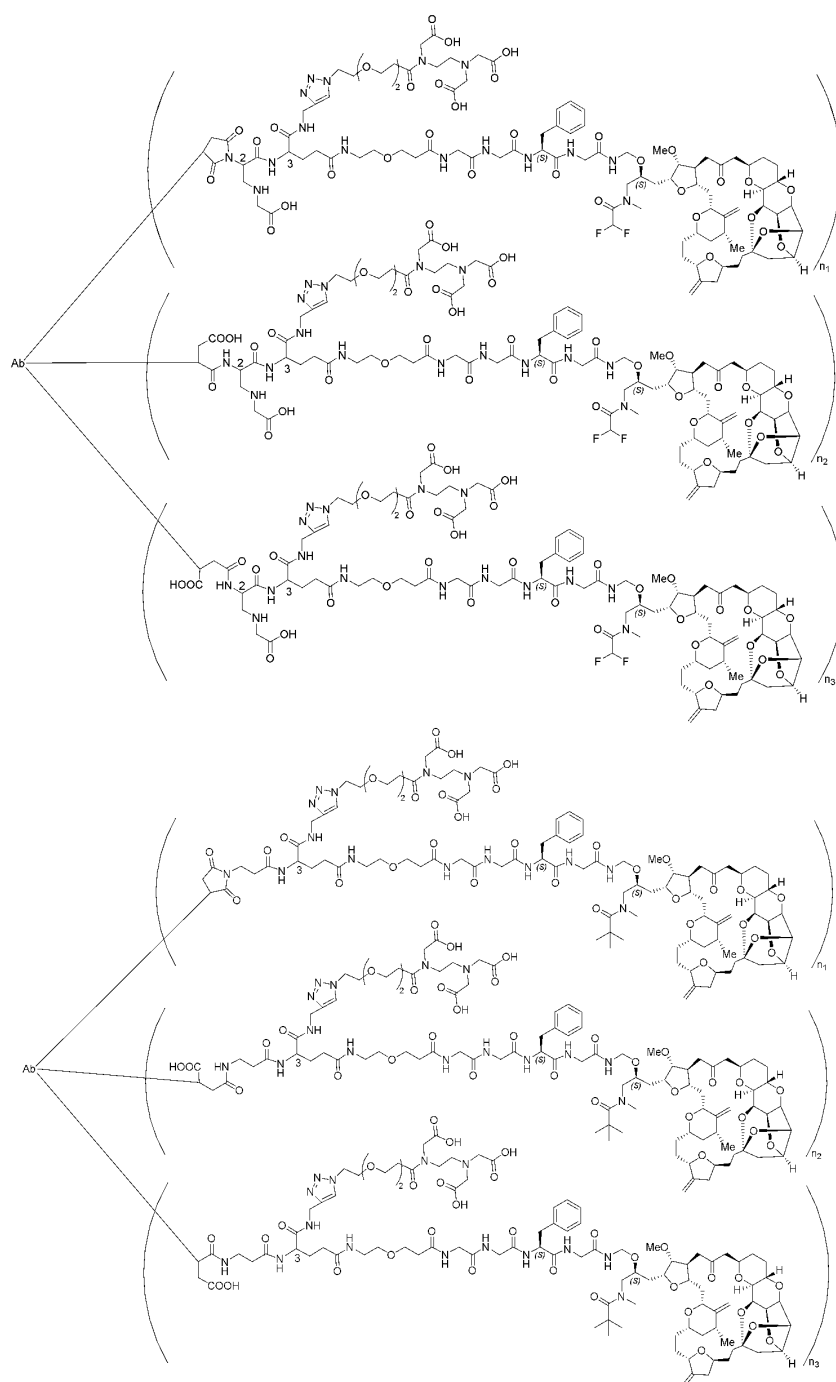


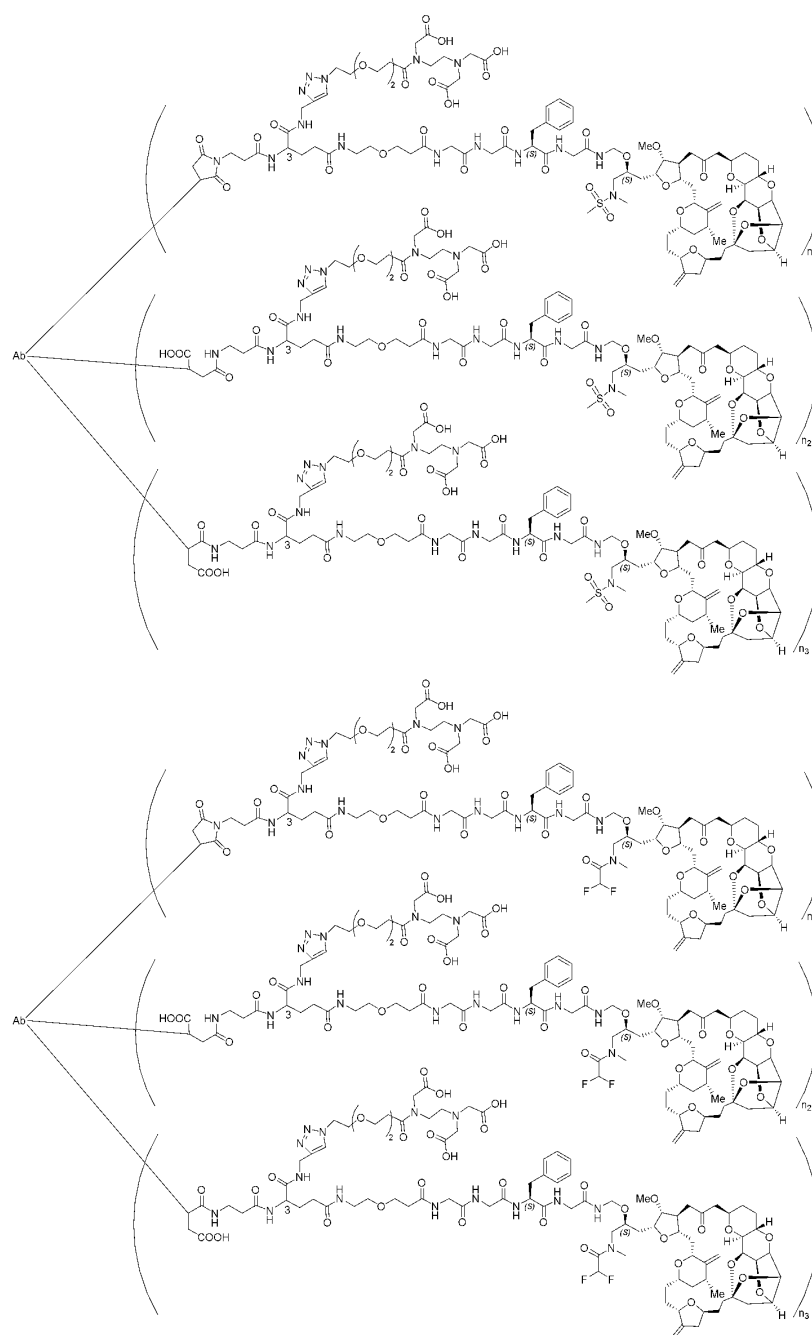


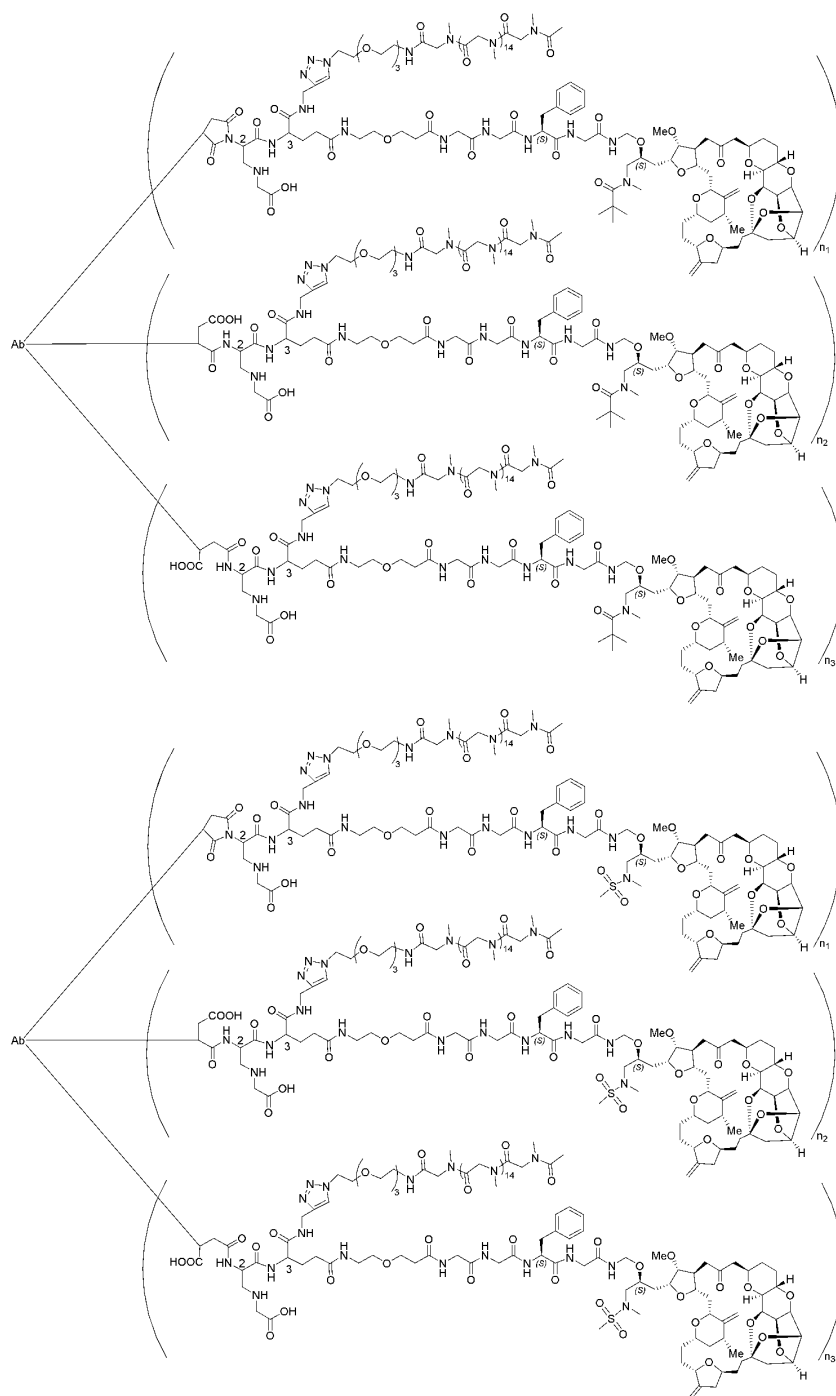


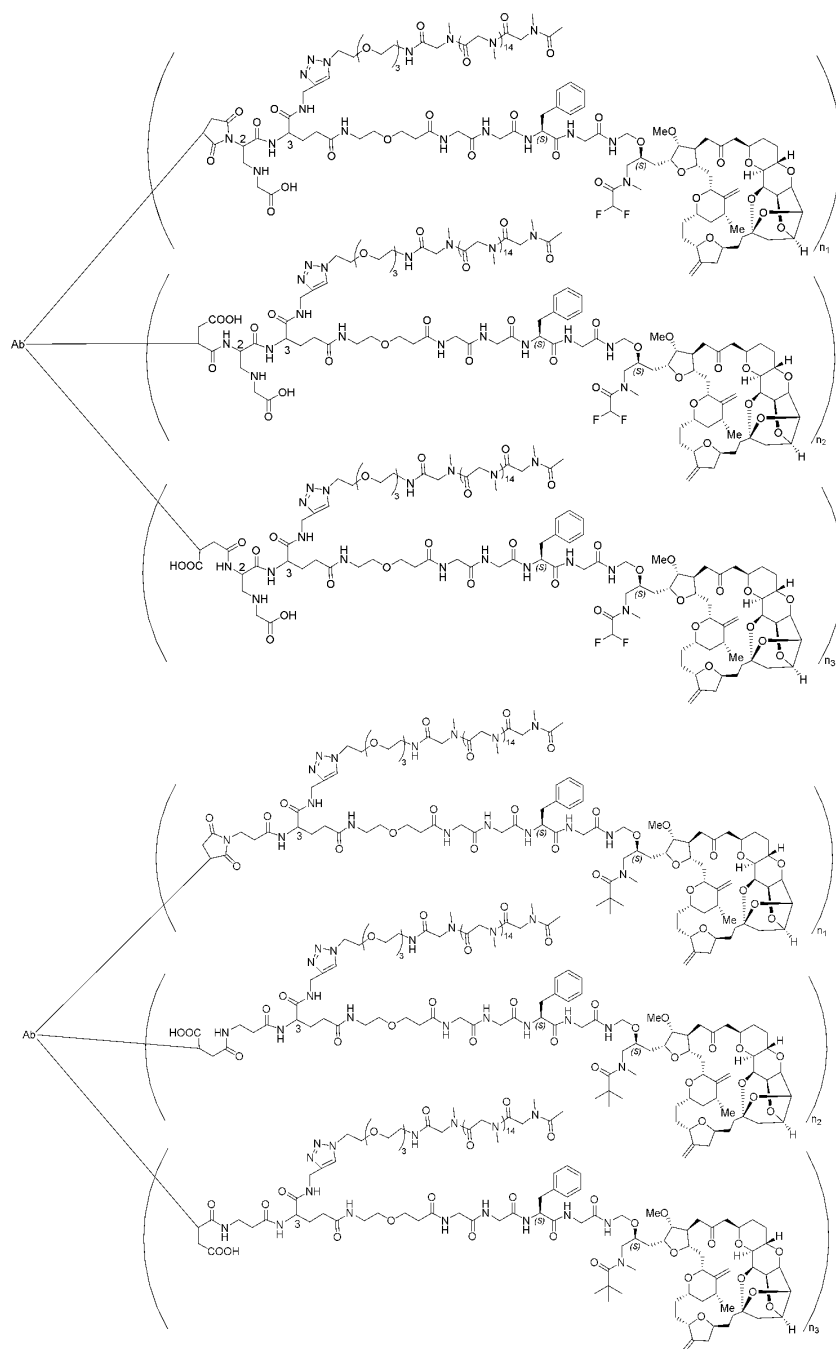






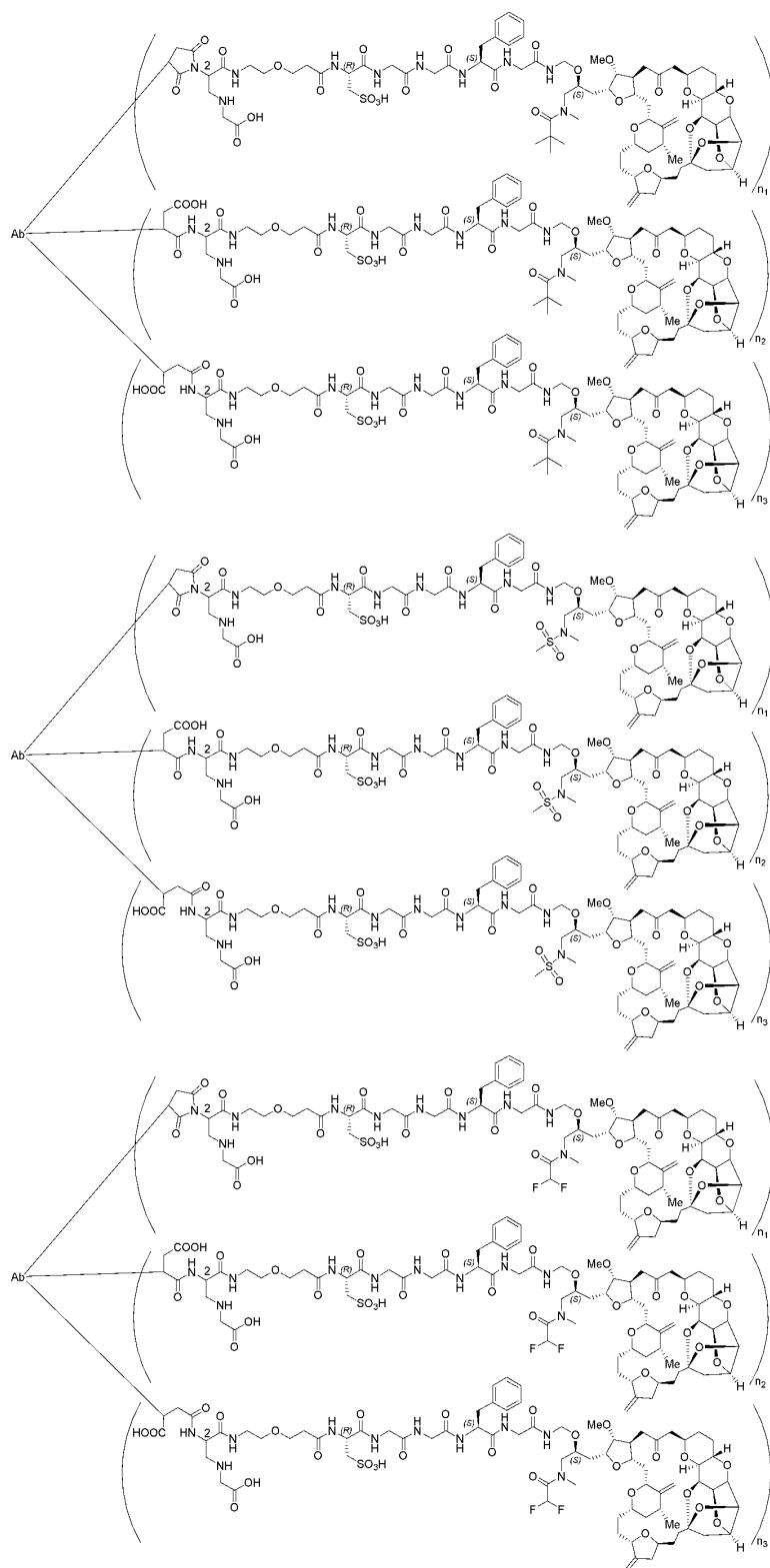












其中，2 位、3 位手性碳的构型独立地为 R 型或 S 型。在某些实施方案中，2 位手性碳的构型为 S 构型，3 位手性碳的构型为 S 构型。

本申请中，配体单元 Ab 可以选自抗体、抗体片段或蛋白；所述抗体优选地选自鼠源抗体、兔源抗体、噬菌体展示来源抗体、酵母展示来源抗体、嵌合抗体、人源化抗体、全人源抗体、抗体片段、双特异性抗体及多特异性抗体。

在某些实施方案中，所述抗体为单克隆抗体，非限制性地选自：抗 EGFRvIII 抗体、抗 PD-1 抗体、抗 PD-L1 抗体、抗 DLL-3 抗体、抗 PSMA 抗体、抗 CD70 抗体、抗 MUC16 抗体、抗 ENPP3 抗体、抗 TDGF1 抗体、抗 ETBR 抗体、抗 MSLN 抗体、抗 TIM-1 抗体、抗 LRRC15 抗体、抗 LIV-1 抗体、抗 CanAg/AFP 抗体、抗 claudin 18.2 抗体、抗 Mesothelin 抗体、抗 HER2(ErbB2) 抗体、抗 EGFR 抗体、抗 c-MET 抗体、抗 SLITRK6 抗体、抗 KIT/CD117 抗体、抗 STEAP1 抗体、抗 SLAMF7/CS1 抗体、抗 NaPi2B/SLC34A2 抗体、抗 GPNMB 抗体、抗 HER3(ErbB3)抗体、抗 MUC1/CD227 抗体、抗 AXL 抗体、抗 CD166 抗体、抗 B7-H3(CD276)抗体、抗 PTK7/CCK4 抗体、抗 PRLR 抗体、抗 EFNA4 抗体、抗 5T4 抗体、抗 NOTCH3 抗体、抗 Nectin 4 抗体、抗 TROP-2 抗体、抗 CD142 抗体、抗 CA6 抗体、抗 GPR20 抗体、抗 CD174 抗体、抗 CD71 抗体、抗 EphA2 抗体、抗 LYPD3 抗体、抗 FGFR2 抗体、抗 FGFR3 抗体、抗 FR $\alpha$  抗体、抗 CEACAMs 抗体、抗 GCC 抗体、抗 Integrin Av 抗体、抗 CAIX 抗体、抗 P-cadherin 抗体、抗 GD3 抗体、抗 Cadherin 6 抗体、抗 LAMP1 抗体、抗 FLT3 抗体、抗 BCMA 抗体、抗 CD79b 抗体、抗 CD19 抗体、抗 CD33 抗体、抗 CD56 抗体、抗 CD74 抗体、抗 CD22 抗体、抗 CD30 抗体、抗 CD37 抗体、抗 CD47 抗体、抗 CD138 抗体、抗 CD352 抗体、抗 CD25 抗体或抗 CD123 抗体。

在某些实施方案中，所述抗体为抗 TROP-2 抗体。在某些实施方案中，所述抗体由轻链和重链组成，所述轻链包含 CDR-L1、CDR-L2 和 CDR-L3，其氨基酸序列分别如 SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3 所示。在某些实施方案中，所述重链包含 CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3，其氨基酸序列分别如 SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6 所示。

在某些实施方案中，所述轻链包含氨基酸序列为 SEQ ID NO: 7 的轻链可变区。在某些实施方案中，所述轻链还包含氨基酸序列为 SEQ ID NO: 8 的轻链恒定区。在某些实施方案中，所述轻链的氨基酸序列为 SEQ ID NO: 9。

在某些实施方案中，所述轻链包含氨基酸序列为 SEQ ID NO: 10 的轻链可变区。在某些实施方案中，所述轻链还包含氨基酸序列为 SEQ ID NO: 11 的轻链恒定区。在某些实施方案中，所述轻链的氨基酸序列为 SEQ ID NO: 12。

在某些实施方案中，所述重链包含氨基酸序列为 SEQ ID NO: 13 的重链可变区。在某些实施方案中，所述重链还包含氨基酸序列为 SEQ ID NO: 14 的重链恒定区。在某些实施方案中，所述重链的氨基酸序列为 SEQ ID NO:

15。

在某些实施方案中，所述抗体为抗 TROP-2 抗体。在某些实施方案中，所述抗体由轻链和重链组成，所述轻链包含 CDR-L1、CDR-L2 和 CDR-L3，其核酸编码序列分别如 SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18 所示。在某些实施方案中，所述重链包含 CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3，其核酸编码序列分别如 SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 21 所示。

在某些实施方案中，所述轻链包含核酸编码序列为 SEQ ID NO: 22 的轻链可变区。在某些实施方案中，所述轻链还包含核酸编码序列为 SEQ ID NO: 23 的轻链恒定区。在某些实施方案中，所述轻链的核酸编码序列为 SEQ ID NO: 24。

在某些实施方案中，所述轻链包含核酸编码序列为 SEQ ID NO: 25 的轻链可变区。在某些实施方案中，所述轻链还包含核酸编码序列为 SEQ ID NO: 26 的轻链恒定区。在某些实施方案中，所述轻链的核酸编码序列为 SEQ ID NO: 27。

在某些实施方案中，所述重链包含核酸编码序列为 SEQ ID NO: 28 的重链可变区。在某些实施方案中，所述重链还包含核酸编码序列为 SEQ ID NO: 29 的重链恒定区。在某些实施方案中，所述重链的核酸编码序列为 SEQ ID NO: 30。

本发明涉及的部分序列的信息提供于表 1 中。

表 1：序列的描述

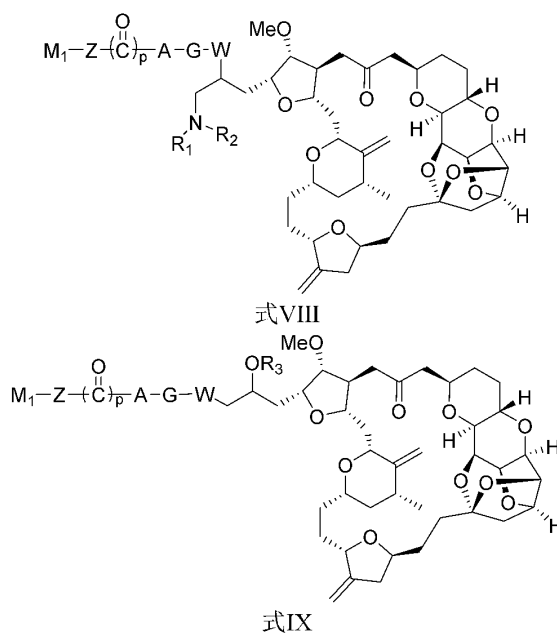
| SEQ ID NO: | 描述                 | 序列                                                                                                                                                                                                               |
|------------|--------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1          | CDR-L1 的氨基酸序列      | RASQDINKYLA                                                                                                                                                                                                      |
| 2          | CDR-L2 的氨基酸序列      | STSTLQS                                                                                                                                                                                                          |
| 3          | CDR-L3 的氨基酸序列      | LQYDDLFT                                                                                                                                                                                                         |
| 4          | CDR-H1 的氨基酸序列      | SFDIN                                                                                                                                                                                                            |
| 5          | CDR-H2 的氨基酸序列      | WIFPGDGNTKYSQKFQG                                                                                                                                                                                                |
| 6          | CDR-H3 的氨基酸序列      | GEALYYFDY                                                                                                                                                                                                        |
| 7          | TR001 的轻链可变区的氨基酸序列 | DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDINKYLAWYQQKPGKVPKLLIYSTSTLQSGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLQYDDLFTFGQGTKLEIK                                                                                                         |
| 8          | TR001 的轻链恒定区的氨基酸序列 | RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC                                                                                                         |
| 9          | TR001 的轻链的氨基酸序列    | DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDINKYLAWYQQKPGKVPKLLIYSTSTLQSGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLQYDDLFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC |

|    |                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|----|----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 10 | TR002 的轻链可变区的氨基酸序列         | DIQMTQSPSSLSASVGDRTTTCRASQDINKYLAWYQQKPGKVPKLLIYSTSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCLQYDDLFTFGQGTKLEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 11 | TR002 的轻链恒定区的氨基酸序列         | RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVCTKSFNRGEC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 12 | TR002 的轻链的氨基酸序列            | DIQMTQSPSSLSASVGDRTTTCRASQDINKYLAWYQQKPGKVPKLLIYSTSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCLQYDDLFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVCTKSFNRGEC                                                                                                                                                                                                                                             |
| 13 | TR001 和 TR002 的重链可变区的氨基酸序列 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTSFNINWVRQAPEQRLEWMGWIFPGDGNTKYSQKFQGRATITRDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCVRGEALYYFDYWGQGLTVTVSS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 14 | TR001 和 TR002 的重链恒定区的氨基酸序列 | ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG                                                                                                                       |
| 15 | TR001 和 TR002 的重链的氨基酸序列    | QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTSFNINWVRQAPEQRLEWMGWIFPGDGNTKYSQKFQGRATITRDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCVRGEALYYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG |
| 16 | CDR-L1 的核酸编码序列             | AGAGCTTCTCAGGATATCAATAAGTATCTGGCT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 17 | CDR-L2 的核酸编码序列             | TCTACATCTACCCTGCAGTCT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 18 | CDR-L3 的核酸编码序列             | CTGCAGTATGATGATCTGTTCACC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 19 | CDR-H1 的核酸编码序列             | TCCTTCGACATTAAC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 20 | CDR-H2 的核酸编码序列             | TGGATCTTCCCCGGCGACGGCAACACCAAGTACTCCCAGAAAGTTCCAGGGA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 21 | CDR-H3 的核酸编码序列             | GGAGAGGCTCTGTACTATTTTGATTAT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 22 | TR001 的轻链可变区的核酸编码序列        | GATATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTAGCCTGTCCGCTTCTGTGGGCGATAGAGTGACCATCACATGCAGAGCTTCTCAGGATATCAATAAGTATCTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGAAAGGTGCCTAAGTCTTGATCTACTCTACATCTACCCTGCAGTCTGGAGTGCCTTCTAGATTTCTGGATCTGGCTCTGGCACCGATTTTTACACTGACAATCTCTTCTCTGCAGCCTGAGGATGTGGCTACATATTATTGTCTGCAGTATGATGATCTGTTACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAG                                                                                                                                   |
| 23 | TR001 的轻链恒定区的核酸编码序列        | CGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCC TCCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCAAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT                                                                                                                                |

|    |                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|----|-----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    |                             | GTTAG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 24 | TR001 的轻链的核酸编码序列            | GATATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTAGCCTGTCCGCTTCTGTGGG<br>CGATAGAGTGACCATCACATGCAGAGCTTCTCAGGATATCAATAAGT<br>ATCTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGAAAGGTGCCTAAGCTGCT<br>GATCTACTCTACATCTACCCTGCAGTCTGGAGTGCCTTCTAGATTTTC<br>TGGATCTGGCTCTGGCACCGATTTTACACTGACAATCTCTTCTCTGC<br>AGCCTGAGGATGTGGCTACATATTATTGTCTGCAGTATGATGATCTGT<br>TCACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGCGTACGGTGG<br>CTGCACCATCTGTCTTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAA<br>TCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAG<br>AGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGG<br>TAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCAC<br>CTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGA<br>GAAACACAAAGTCTACGCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAG<br>CTCGCCCGTACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG     |
| 25 | TR002 的轻链可变区的核酸编码序列         | GATATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTAGCCTGTCCGCTTCTGTGGG<br>CGATAGAGTGACCATCACATGCAGAGCTTCTCAGGATATCAATAAGT<br>ATCTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGAAAGGTGCCTAAGCTGCT<br>GATCTACTCTACATCTACCCTGCAGTCTGGAGTGCCTTCTAGATTTTC<br>TGGATCTGGCTCTGGCACCGATTTTACACTGACAATCTCTTCTCTGC<br>AGCCTGAGGATGTGGCTACATATTATTGTCTGCAGTATGATGATCTGT<br>TCACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 26 | TR002 的轻链恒定区的核酸编码序列         | CGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTTCATCTTCCCGCCATCTGATGA<br>GCAGTTGAAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC<br>TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCC<br>TCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA<br>AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAG<br>CAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCTGCGAAGTCACCCATC<br>AGGGCCTGAGCTCGCCCGTCTGTACAAAGAGCTTCAACAGGGGAG<br>AGTGTTAG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 27 | TR002 的轻链的核酸编码序列            | GATATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTAGCCTGTCCGCTTCTGTGGG<br>CGATAGAGTGACCATCACATGCAGAGCTTCTCAGGATATCAATAAGT<br>ATCTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGAAAGGTGCCTAAGCTGCT<br>GATCTACTCTACATCTACCCTGCAGTCTGGAGTGCCTTCTAGATTTTC<br>TGGATCTGGCTCTGGCACCGATTTTACACTGACAATCTCTTCTCTGC<br>AGCCTGAGGATGTGGCTACATATTATTGTCTGCAGTATGATGATCTGT<br>TCACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGCGTACGGTGG<br>CTGCACCATCTGTCTTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAA<br>TCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAG<br>AGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGG<br>TAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCAC<br>CTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGA<br>GAAACACAAAGTCTACGCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAG<br>CTCGCCCGTCTGTACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG |
| 28 | TR001 和 TR002 的重链可变区的核酸编码序列 | CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGCGCGCGAGGTGAAGAAGCCCCGGC<br>GCCTCCGTGAAGCTGAGCTGTAAGGCCTCCGGCTACACCTTCACCT<br>CCTTCGACATTAAGTGGGTGCGGCAGGCCCCGAGCAGCGCCTGG<br>AGTGGATGGGCTGGATCTTCCCCGGCGACGGCAACACCAAGTACTC<br>CCAGAAGTTCAGGGAAGAGCTACCATCACCAGAGATACATCCGCT<br>TCTACAGCTTACATGGAGCTGTCTAGCCTGAGATCTGAGGATACAGC<br>TGTGTATTACTGTGTGAGAGGAGAGGCTCTGTACTATTTTGATTATT<br>GGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACAGTGTCTTCT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 29 | TR001 和 TR002 的重链恒定区的核酸编码序列 | GCTAGCACCAAGGGCCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCA<br>AGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGG<br>ACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCT<br>GACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGA<br>CTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGG<br>GCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACA<br>CCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTC<br>ACACATGCCCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGT                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |

|    |                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|----|----------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    |                                  | CAGTCTTCCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTC<br>CCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGA<br>AGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGT<br>GCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAC<br>GTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCCTCCTGCACCAGGACTGGCTG<br>AATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCA<br>GCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA<br>GAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCA<br>AGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCA<br>CGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAA<br>CTACAAGACCACGCCTCCCGTGTCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTC<br>CTCTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG<br>AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACT<br>ACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 30 | TR001 和 TR002 的<br>重链的核酸编码序<br>列 | CAGGTGCAGTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCCGC<br>GCCTCCGTGAAGCTGAGCTGTAAGGCCTCCGGCTACACCTTCACT<br>CCTTCGACATTAAGTGGGTGCGGCAGGCCCCGAGCAGCGCCTGG<br>AGTGGATGGGCTGGATCTTCCCCGGCGACGGCAACACCAAGTACTC<br>CCAGAAGTTCCAGGGAAGAGCTACCATCACCAGAGATACATCCGCT<br>TCTACAGCTTACATGGAGCTGTCTAGCCTGAGATCTGAGGATACAGC<br>TGTGTATTACTGTGTGAGAGGAGAGGCTCTGTACTATTTTGATTATT<br>GGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACAGTGTCTTCTGCTAGCACCAAGG<br>GCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGG<br>GGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGA<br>ACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGT<br>GCACACCTTCCCGGTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTC<br>AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACC<br>TACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGAC<br>AAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCCA<br>CCGTGCCCAGCACCTGAAGTCTTGGGGGACCGTCAGTCTTCTCT<br>TCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGA<br>GGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGT<br>CAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG<br>ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTC<br>AGCGTCTCACCCTGCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAG<br>TACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAG<br>AAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTG<br>TACACCCTGCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCA<br>GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGT<br>GGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAATAACAAGACCA<br>CGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCAAG<br>CTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCA<br>TGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGA<br>GCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAA |

在第二方面，本申请提供了一种连接子-药物偶联物，其具有如式VIII或式IX所示结构，或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，

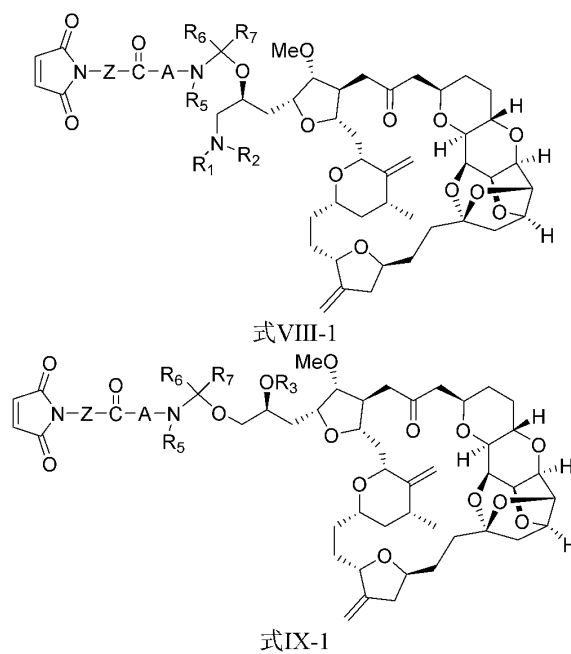


5 其中，

$M_1$  为接头单元，

Z、p、A、G、W、 $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$  如上文所定义。

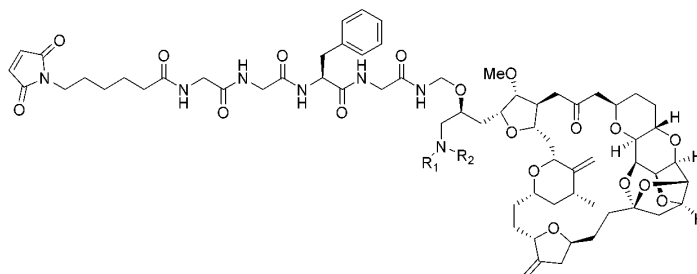
在某些实施方案中，本发明的连接子-药物偶联物，其具有如VIII-1 或式  
 10 IX-1 所示结构，或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物  
 形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，



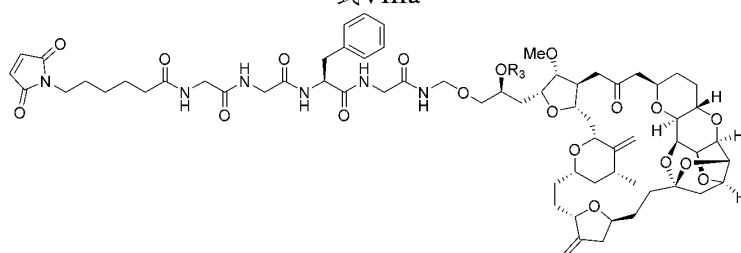
15 其中，

Z、A、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>5</sub>、R<sub>6</sub>、R<sub>7</sub>如上文所定义。

在某些实施方案中，本申请的连接子-药物偶联物或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其具有式VIIIa或式IXa所示的结构：



式VIIIa

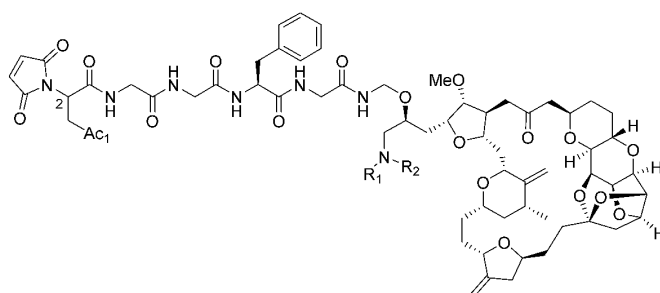


式IXa

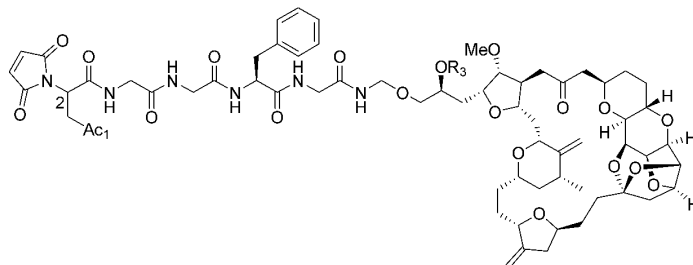
其中，

R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>如上文所定义。

在某些实施方案中，本申请的连接子-药物偶联物或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其具有式VIIIb或式IXb所示的结构：



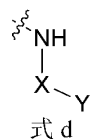
式VIIIb



式IXb

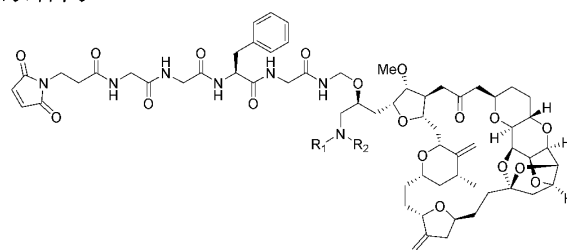


其中，Ac 为具有式 d 所示结构的亲水结构单元：



X、Y 如上文所定义。在某些实施方案中，Ac 如上文所定义。

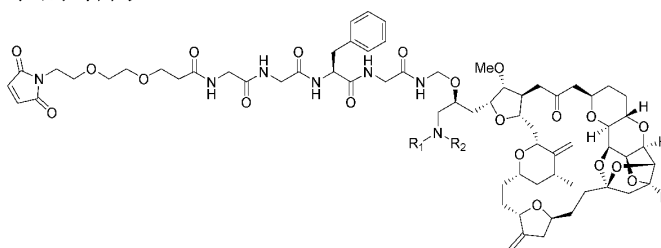
- 5 在某些实施方案中，本发明的连接子-药物偶联物或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其具有式VIIIc所示的结构：



VIIIc

- 10 其中，R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 如上文所定义。

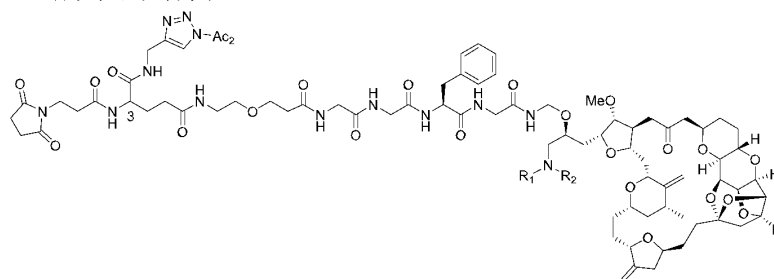
在某些实施方案中，本发明的连接子-药物偶联物或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其具有式VIIId所示的结构：



VIIIId

- 15 其中，R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 如上文所定义。

在某些实施方案中，本发明的连接子-药物偶联物或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其具有式VIIIe所示的结构：

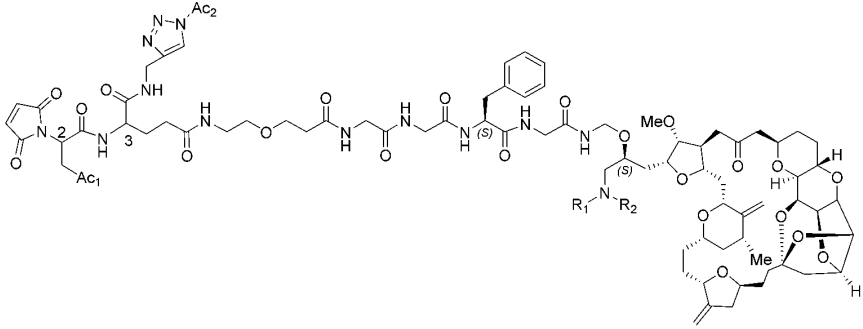


式VIIIe

其中，R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 如上文所定义；Ac<sub>2</sub> 为-X<sub>2</sub>-Y<sub>2</sub> 组成的亲水结构单元，Ac<sub>2</sub>、

X<sub>2</sub>、Y<sub>2</sub> 如上文所定义。

在某些实施方案中，本发明的连接子-药物偶联物或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其具有式VIIIf所示的结构：

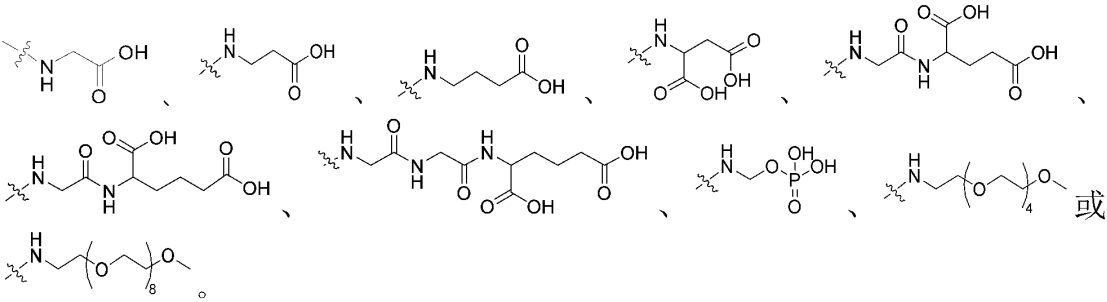


式VIIIf

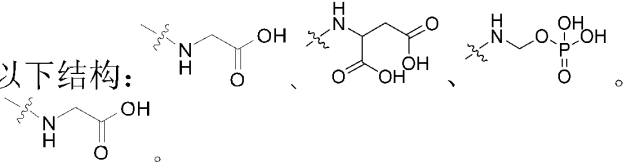
其中，R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>如上文所定义；

Ac<sub>1</sub>为-X<sub>1</sub>-Y<sub>1</sub>组成亲水结构单元，X<sub>1</sub>、Y<sub>1</sub>如上文所定义。

在某些实施方案中，Ac<sub>1</sub>非限制性地选自(D/L)丙氨酸、(D/L)亮氨酸、(D/L)异亮氨酸、(D/L)缬氨酸、(D/L)苯丙氨酸、(D/L)脯氨酸、(D/L)色氨酸、(D/L)丝氨酸、(D/L)酪氨酸、(D/L)半胱氨酸、(D/L)胱氨酸、(D/L)精氨酸、(D/L)组氨酸、(D/L)蛋氨酸、(D/L)天冬酰胺、(D/L)谷氨酰胺、(D/L)苏氨酸、(D/L)天冬氨酸、(D/L)谷氨酸、天然或非天然氨基酸衍生物或以下结构：



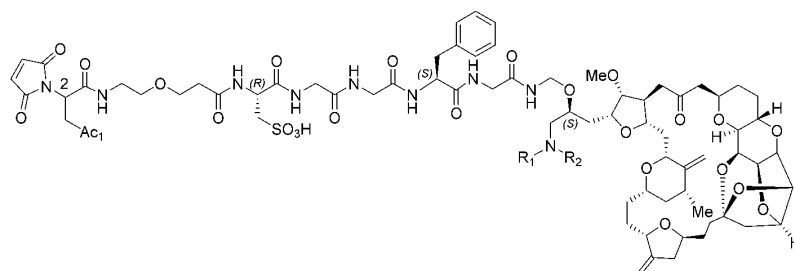
在某些实施方案中，Ac<sub>1</sub>选自以下结构：



在某些实施方案中，Ac<sub>1</sub>为：

Ac<sub>2</sub>为-X<sub>2</sub>-Y<sub>2</sub>组成的亲水结构单元，Ac<sub>2</sub>、X<sub>2</sub>、Y<sub>2</sub>如上文所定义。

在某些实施方案中，本发明的连接子-药物偶联物或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其具有式VIIIg所示的结构：

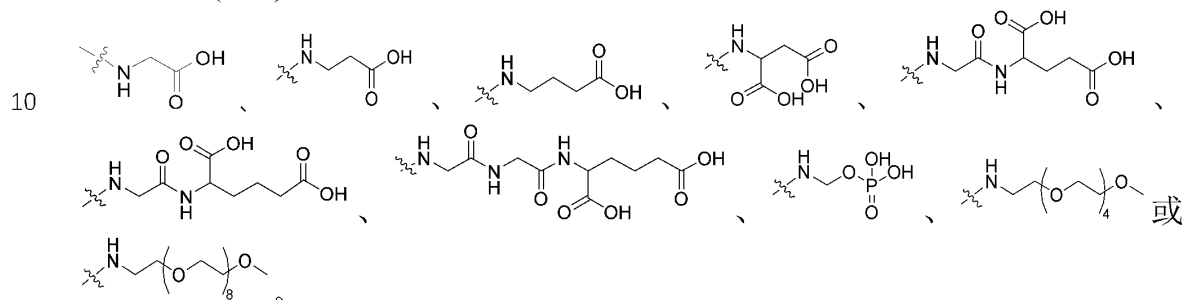


式VIIIg

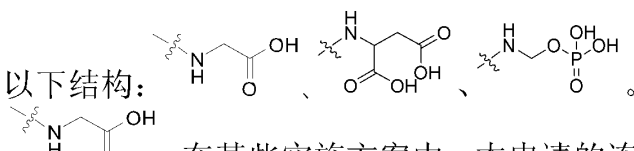
其中,  $R_1$  和  $R_2$  如上文所定义;

$Ac_1$  为  $-X_1-Y_1$  组成亲水结构单元,  $X_1$ 、 $Y_1$  如上文所定义。

- 5 在某些实施方案中,  $Ac_1$  非限制性地选自(D/L)丙氨酸、(D/L)亮氨酸、(D/L)异亮氨酸、(D/L)缬氨酸、(D/L)苯丙氨酸、(D/L)脯氨酸、(D/L)色氨酸、(D/L)丝氨酸、(D/L)酪氨酸、(D/L)半胱氨酸、(D/L)胱氨酸、(D/L)精氨酸、(D/L)组氨酸、(D/L)蛋氨酸、(D/L)天冬酰胺、(D/L)谷氨酰胺、(D/L)苏氨酸、(D/L)天冬氨酸、(D/L)谷氨酸、天然或非天然氨基酸衍生物或以下结构:

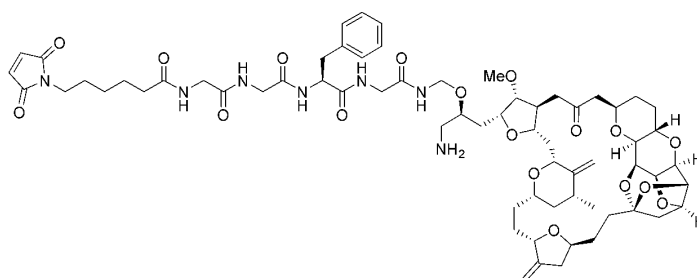


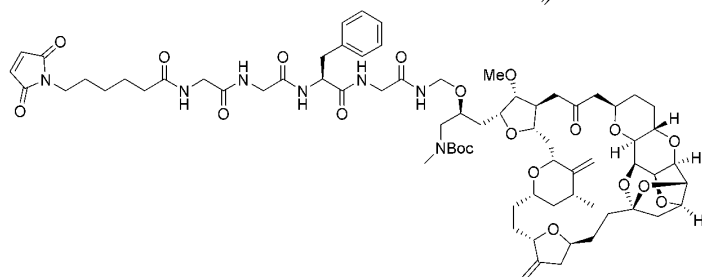
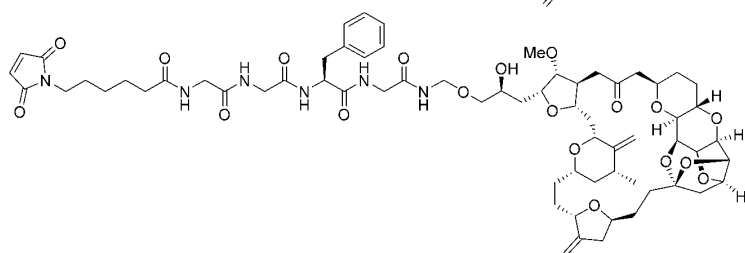
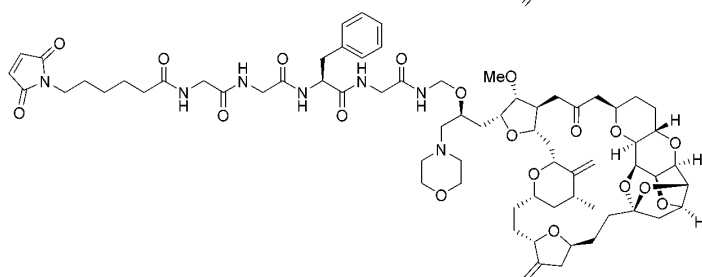
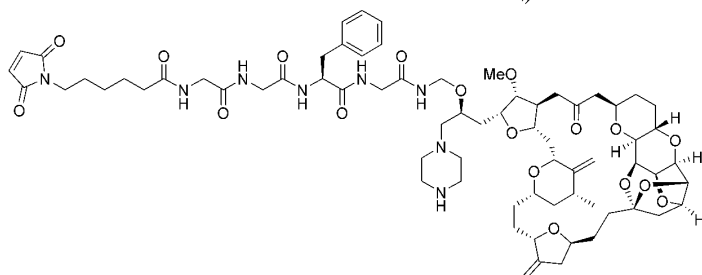
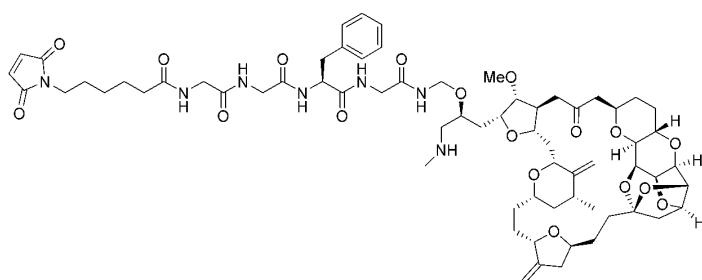
在某些实施方案中,  $Ac_1$  选自以下结构:



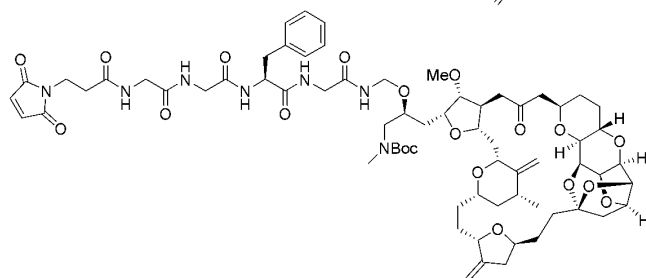
在某些实施方案中,  $Ac_1$  为:

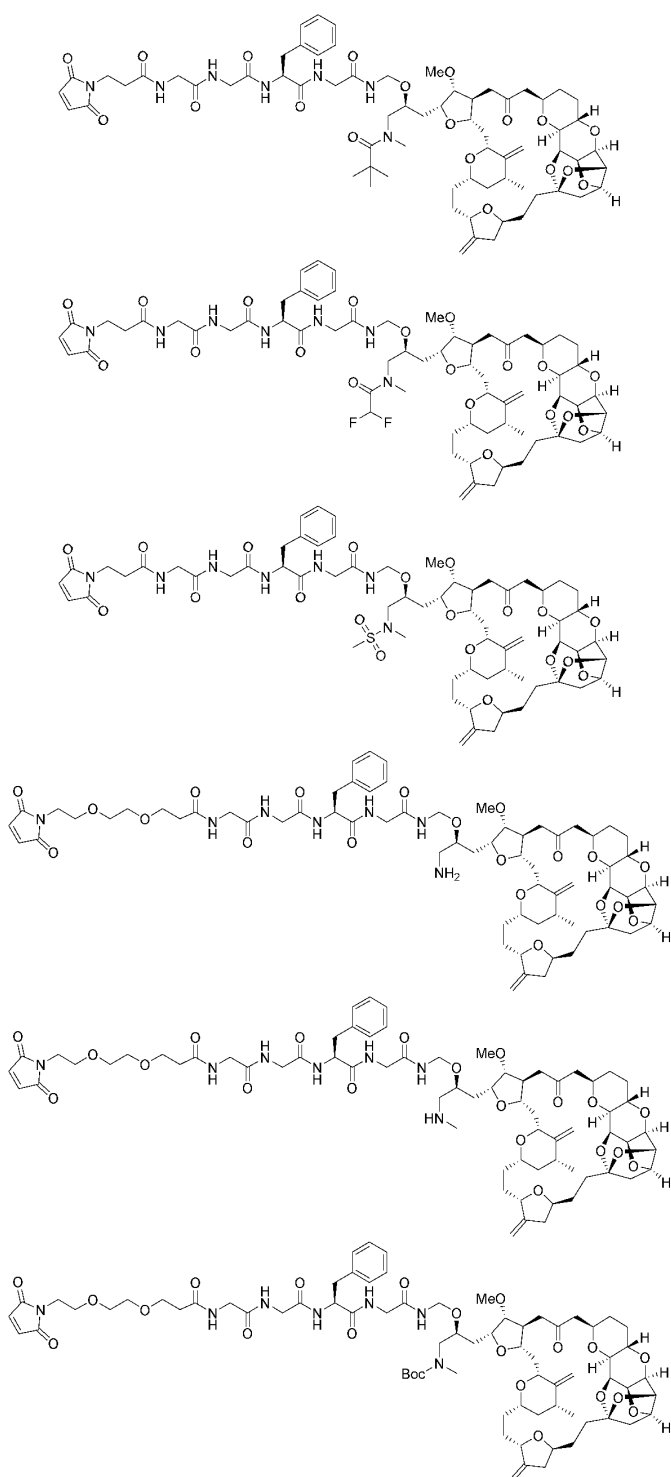
- 15 在某些实施方案中, 本申请的连接子-药物偶联物或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其选自以下结构:

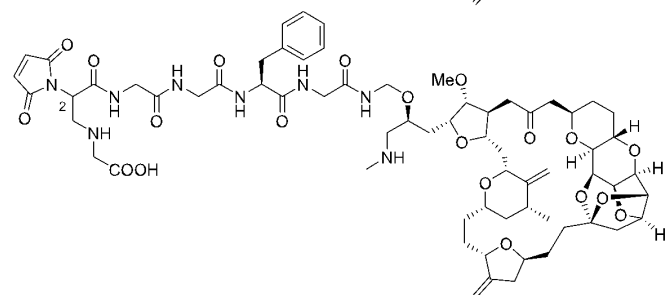
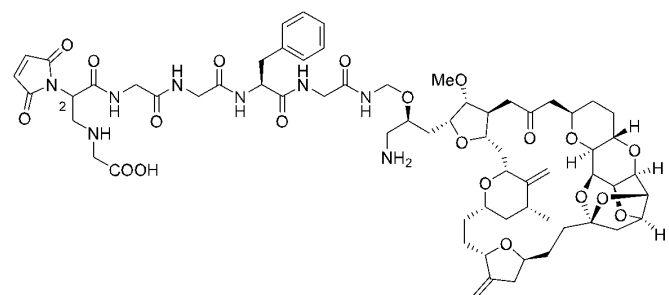
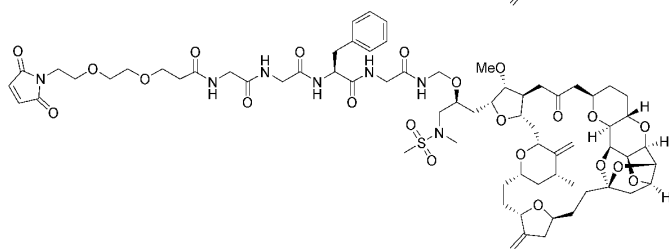
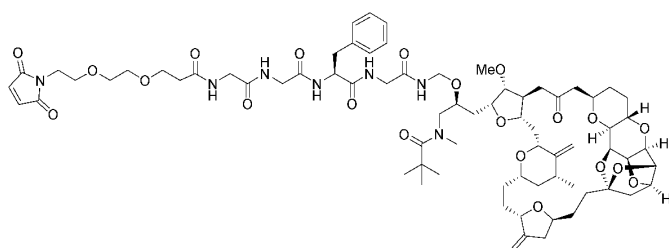




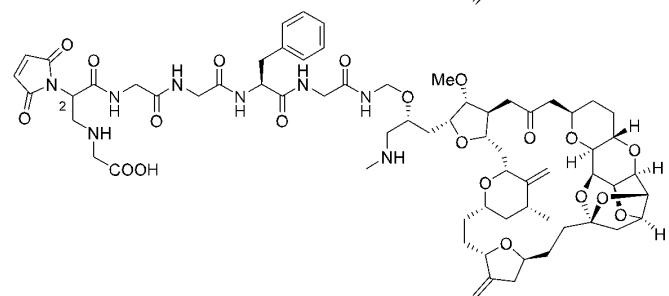
5

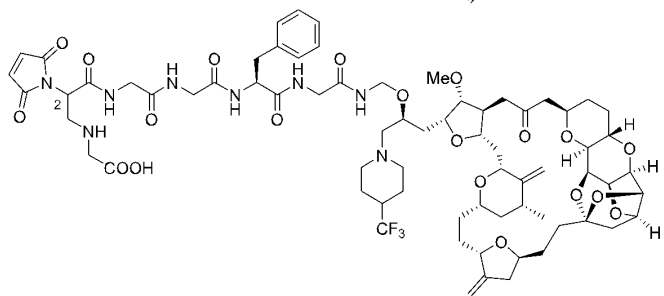
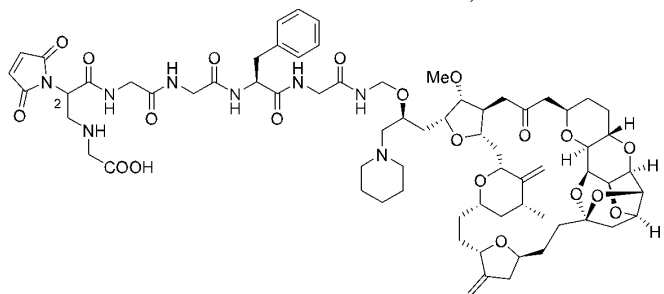
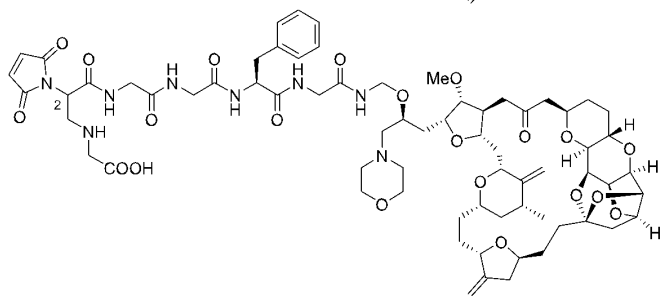
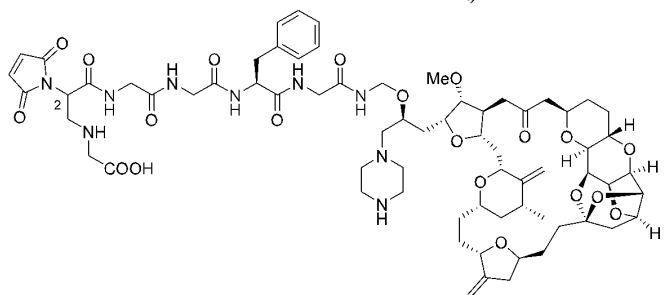
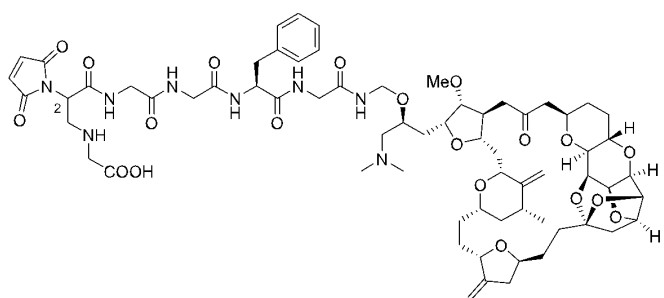


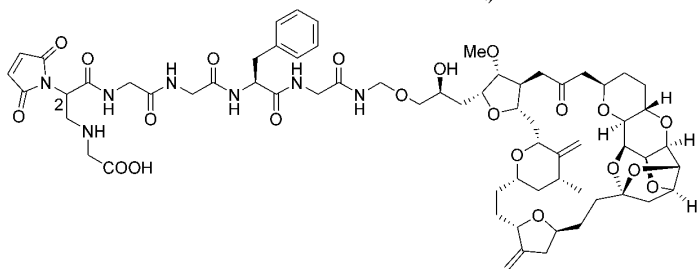
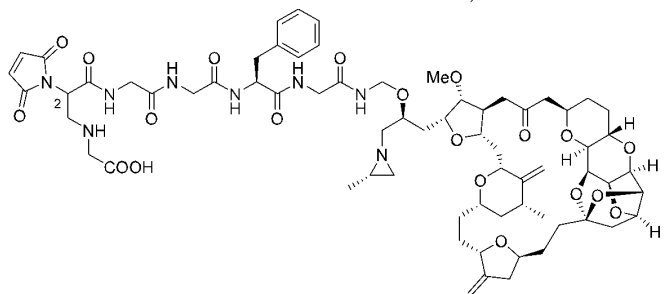
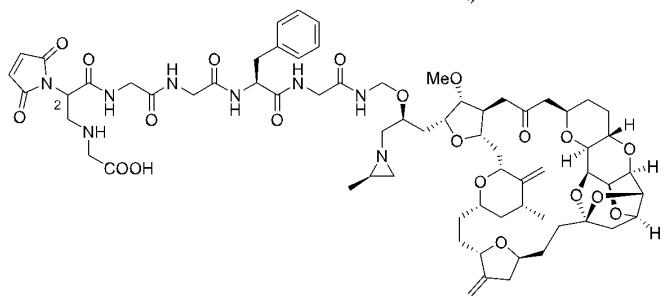
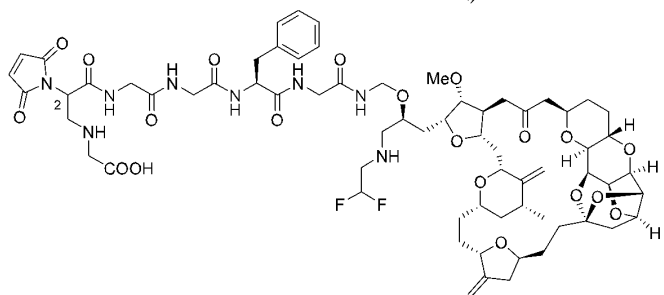
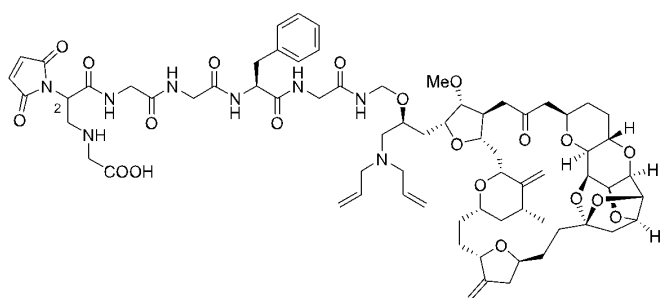




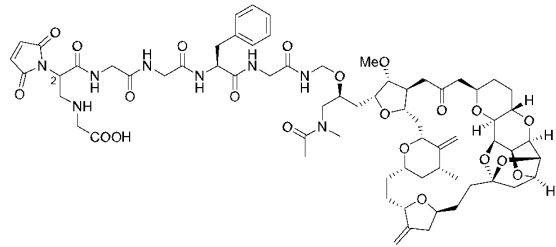
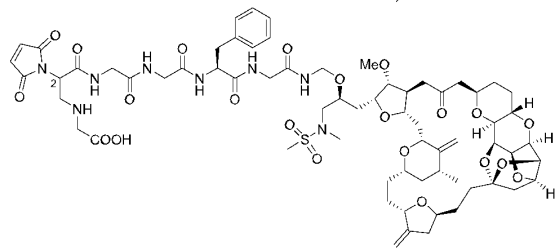
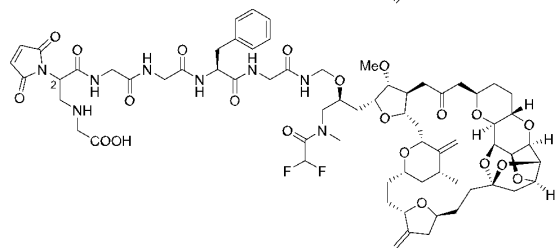
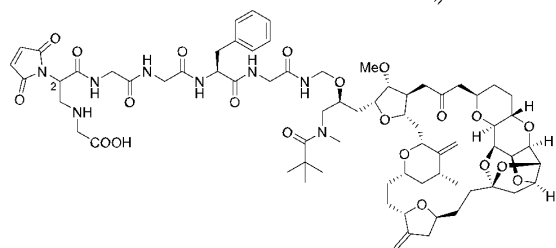
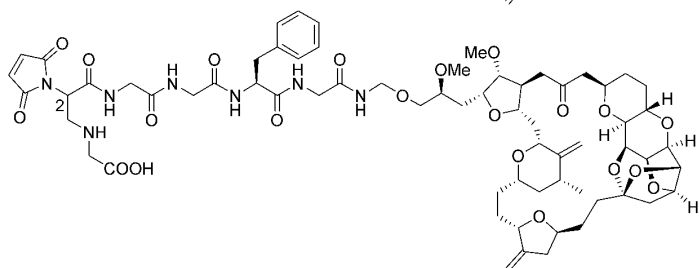
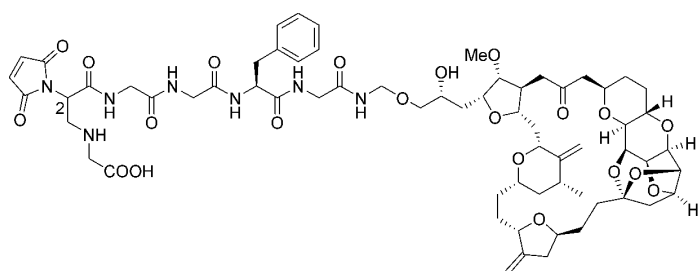
5

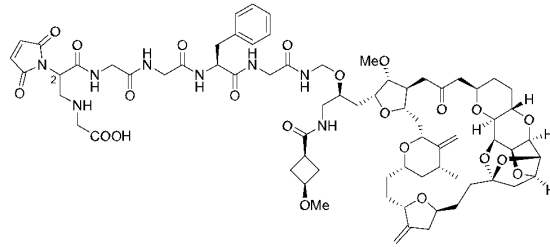
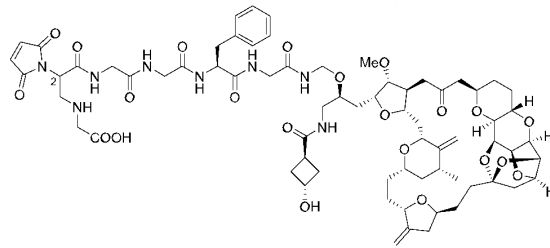
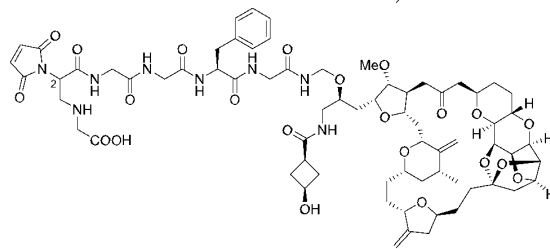
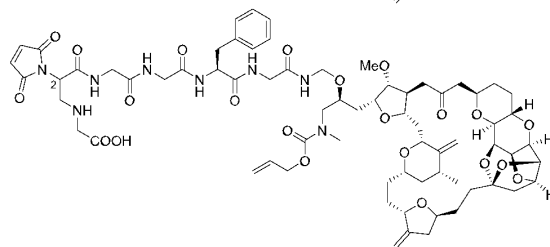
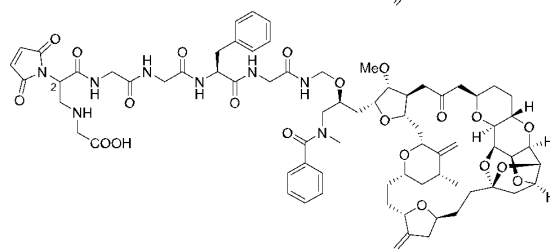
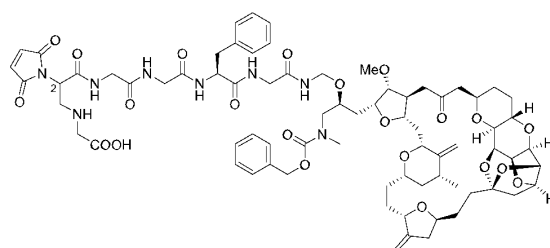


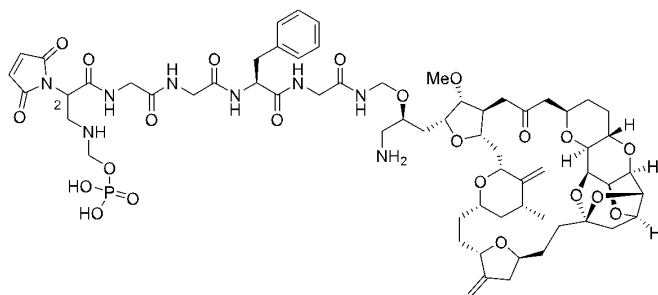
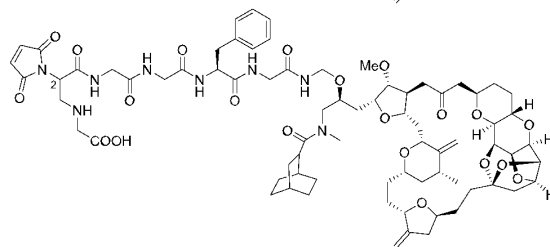
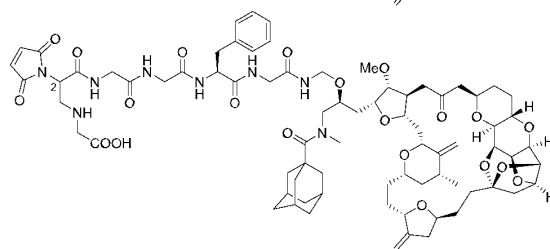
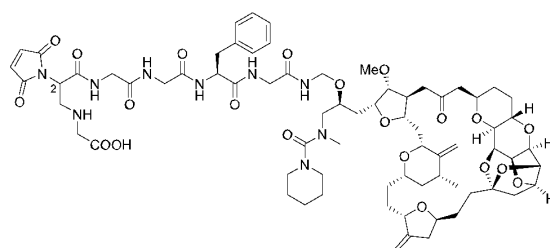




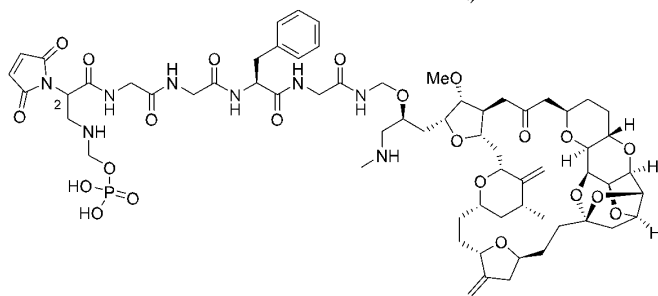


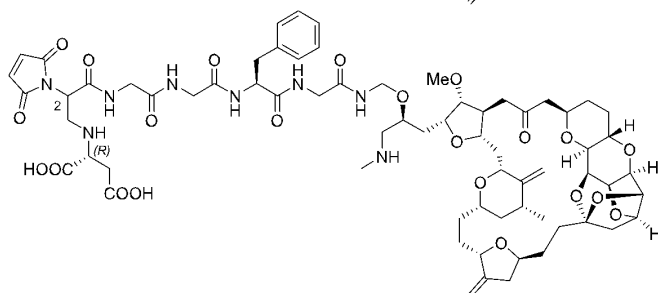
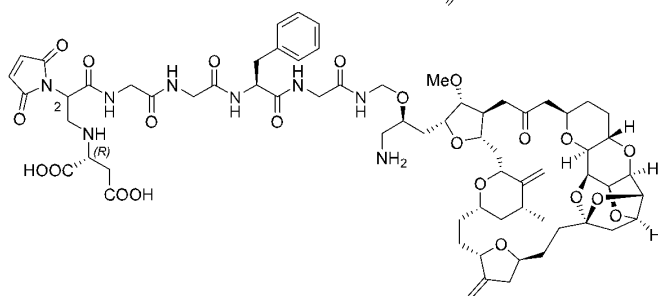
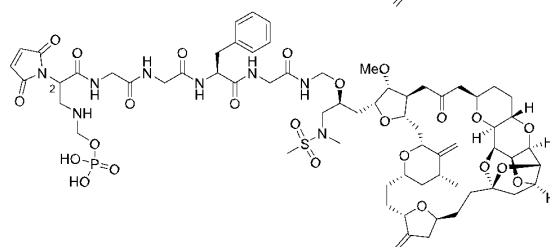
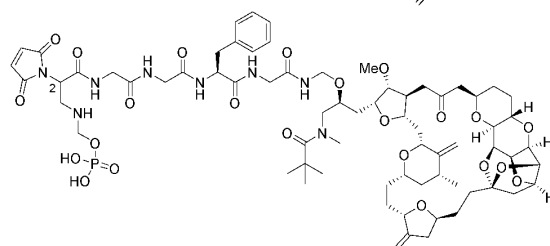
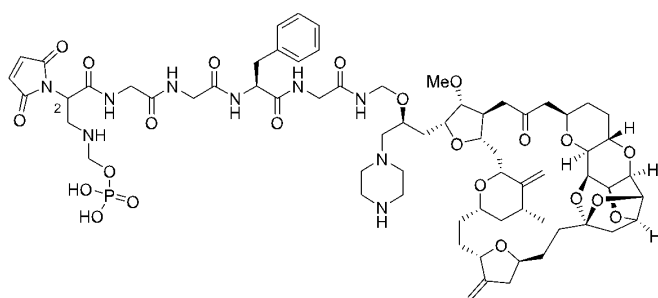


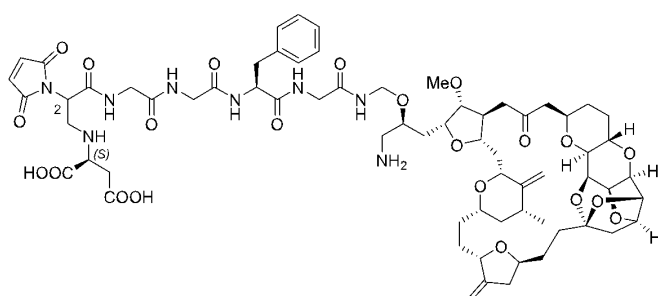
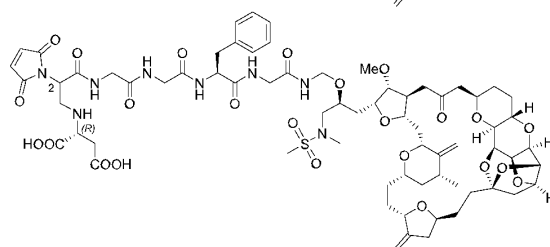
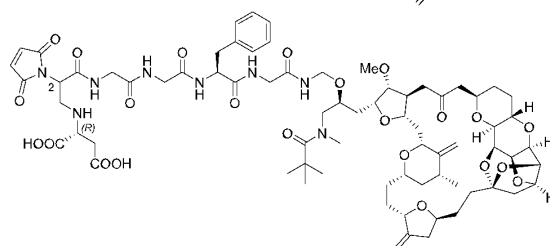
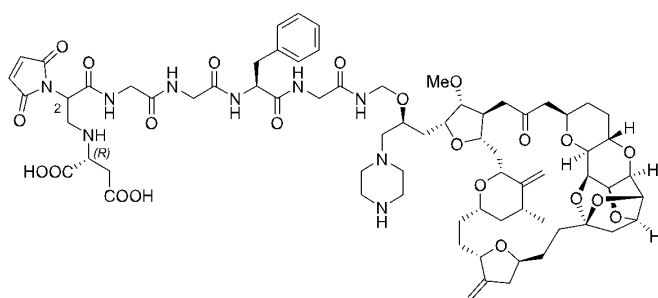




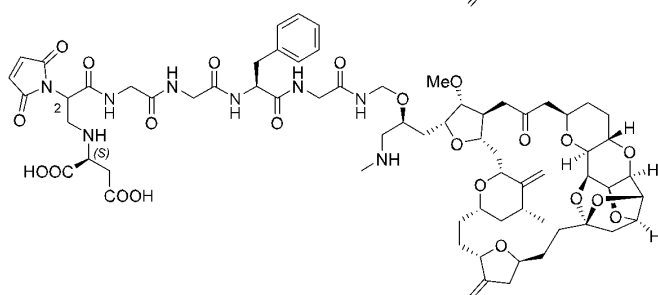
5

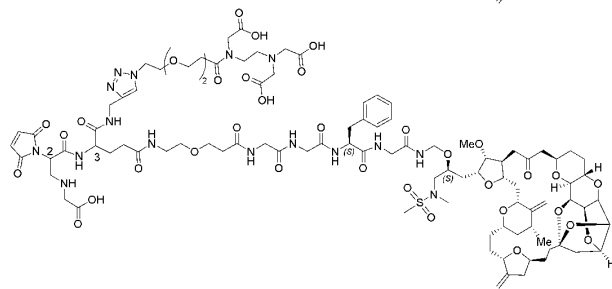
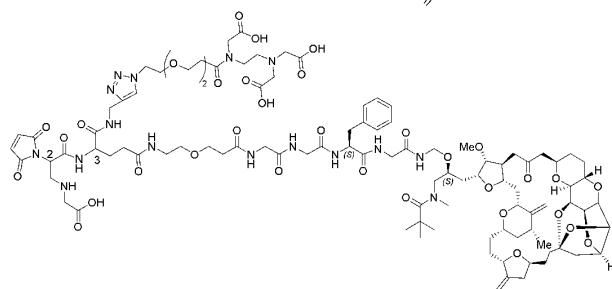
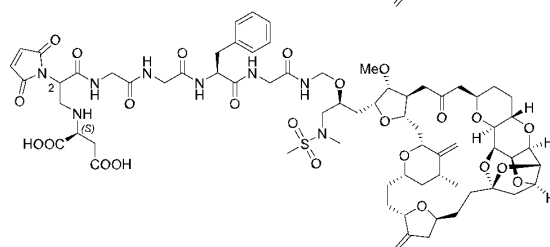
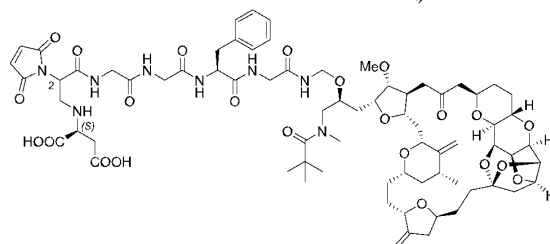
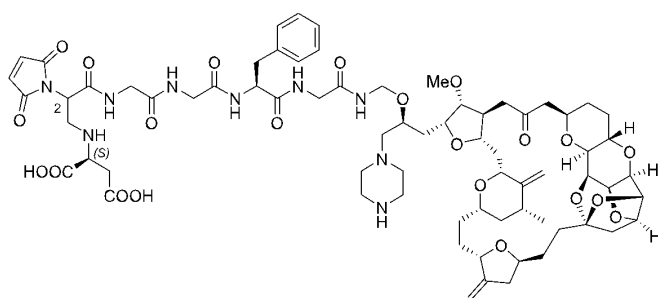


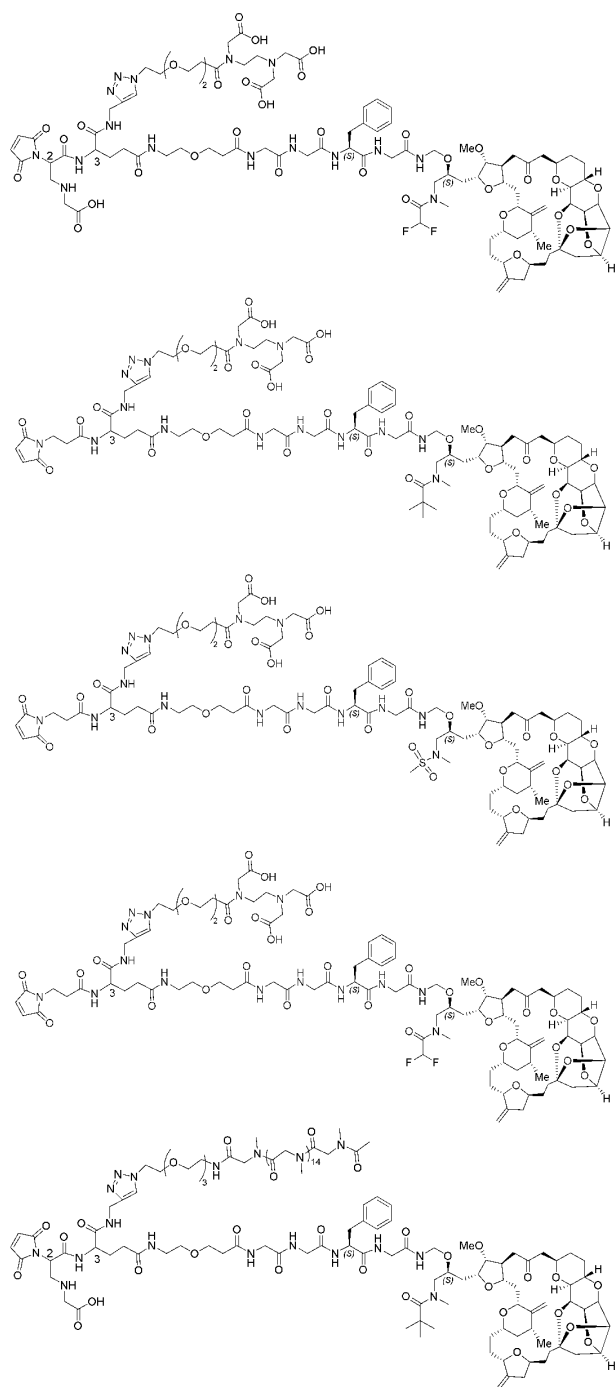


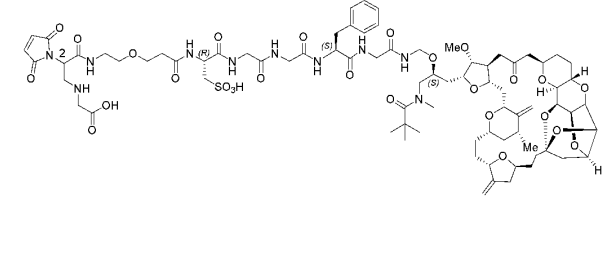
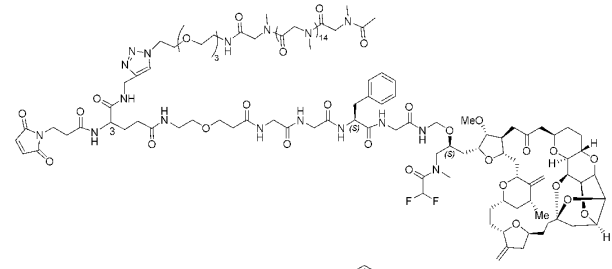
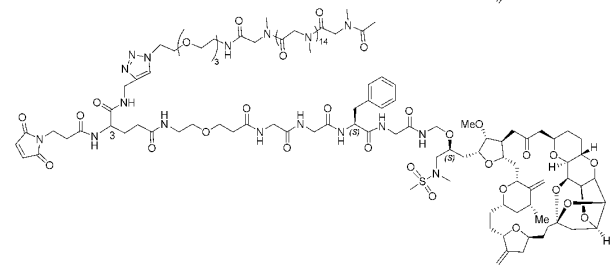
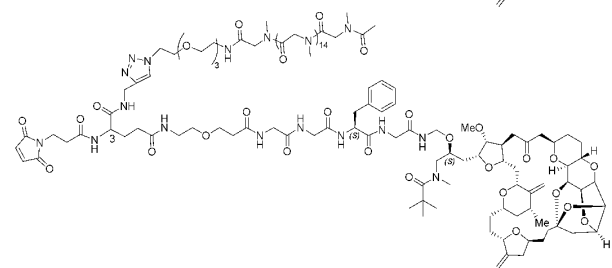
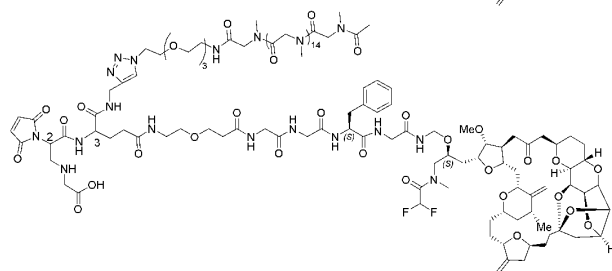
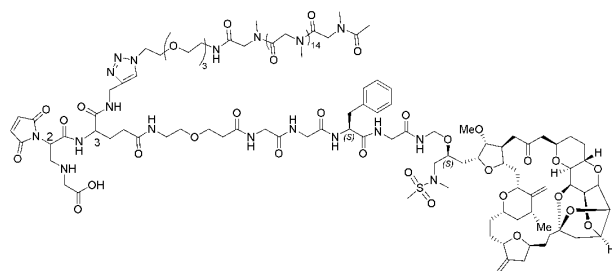


5

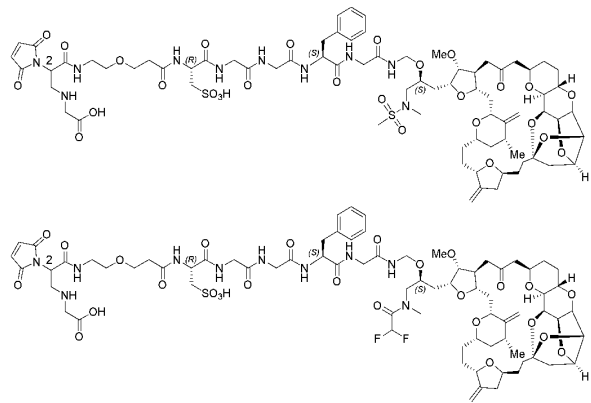






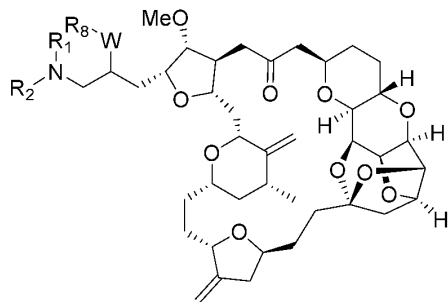






其中，2 位、3 位手性碳的构型独立地为 R 型或 S 型。在某些实施方案中，  
5 2 位手性碳的构型为 S 构型，3 位手性碳的构型为 S 构型。

在第三方面，本申请还提供了具有如式 X 所示结构的化合物，或其异构体、  
内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或  
溶剂化物，



式 X

10

其中，W 选自氧原子或硫原子，优选地，W 为氧原子；  
R<sub>1</sub>、R<sub>8</sub> 各自独立地选自：氢原子、烷基、酰基、磺酰基、环烷基、杂环  
基、芳基和杂芳基，且不同时为氢，任选地，所述的烷基、酰基、磺酰基、环  
15 烷基、芳基和杂芳基各自独立地被选自氢原子、烷基、烷氧基、卤素、氘、氨基、  
氰基、羟基、巯基、叠氮基、硝基、羧基、酰基、羰基、羟烷基、环烷基、  
杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基取代；优选地，R<sub>1</sub> 为烷基，R<sub>8</sub>  
为氢；

R<sub>2</sub> 选自 -C(O)-Q<sub>1</sub>-Q<sub>2</sub> 或 -SO<sub>2</sub>-Q<sub>1</sub>-Q<sub>2</sub>，其中，Q<sub>1</sub> 选自 O、N、S 原子或化学键，  
20 当 Q<sub>1</sub> 选自 O、N、S 原子时，Q<sub>2</sub> 选自烷基、环烷基、杂环基、螺环基、  
桥环基、烯基、芳基和杂芳基，任选地，所述的烷基、环烷基、杂环基、螺环  
基、桥环基、烯基、芳基和杂芳基各自独立地被选自氢原子、烷基、烷氧基、  
卤素、氘、氨基、氰基、羟基、巯基、叠氮基、硝基、羧基、酰基、羰基、羟  
烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基取代，

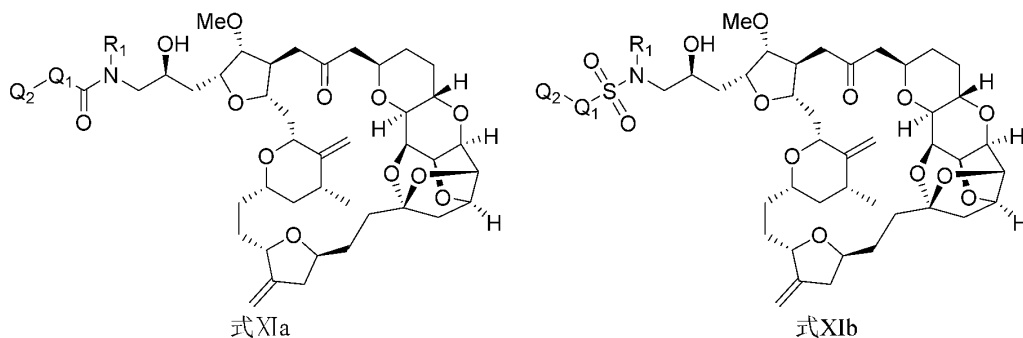
25 当 Q<sub>1</sub> 为化学键时，Q<sub>2</sub> 选自烷基、苄基、环烷基、杂环基、螺环基、桥环

基、烯基、芳基和杂芳基，

当  $Q_2$  选自烷基时，所述烷基被选自氢原子、烷基、烷氧基、卤素、氘、氰基、叠氮基、硝基、羧基、酰基、羰基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基取代，

5 当  $Q_2$  选自环烷基、杂环基、螺环基、桥环基、烯基、芳基和杂芳基时，所述的环烷基、杂环基、螺环基、桥环基、烯基、芳基和杂芳基各自独立地被选自氢原子、烷基、烷氧基、卤素、氘、氨基、氰基、羟基、巯基、叠氮基、硝基、羧基、酰基、羰基、羟烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基取代，且当  $Q_2$  为环烷基，其上取代基为羟基、氨基或巯基时，  
10 取代基位置选自除与  $-C(O)-$  相连碳原子外的任意位置。

在某些实施方案中，式X所示的化合物，或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其为式XIa或式XIb所示的化合物，或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，



其中， $R_1$  选自烷基，优选地， $R_1$  为甲基，

$Q_1$  选自 O 原子或化学键，

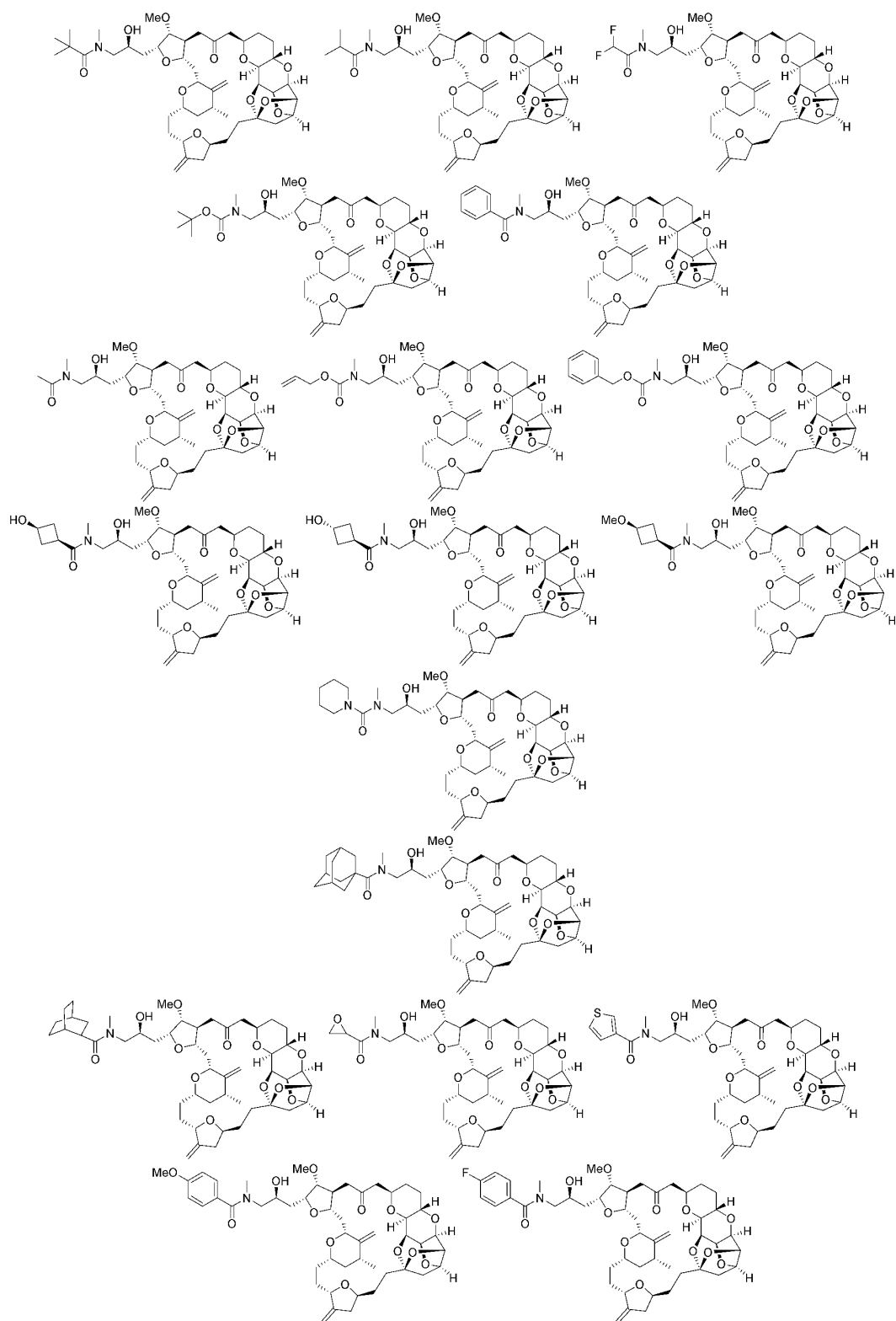
20 当  $Q_1$  选自 O 原子时， $Q_2$  选自烷基、环烷基、烯基和芳基，任选地，所述的烷基、环烷基、烯基和芳基各自独立地被选自氢原子、烷基、卤素、羟基、羟烷基和芳基中的一个或多个取代基取代；

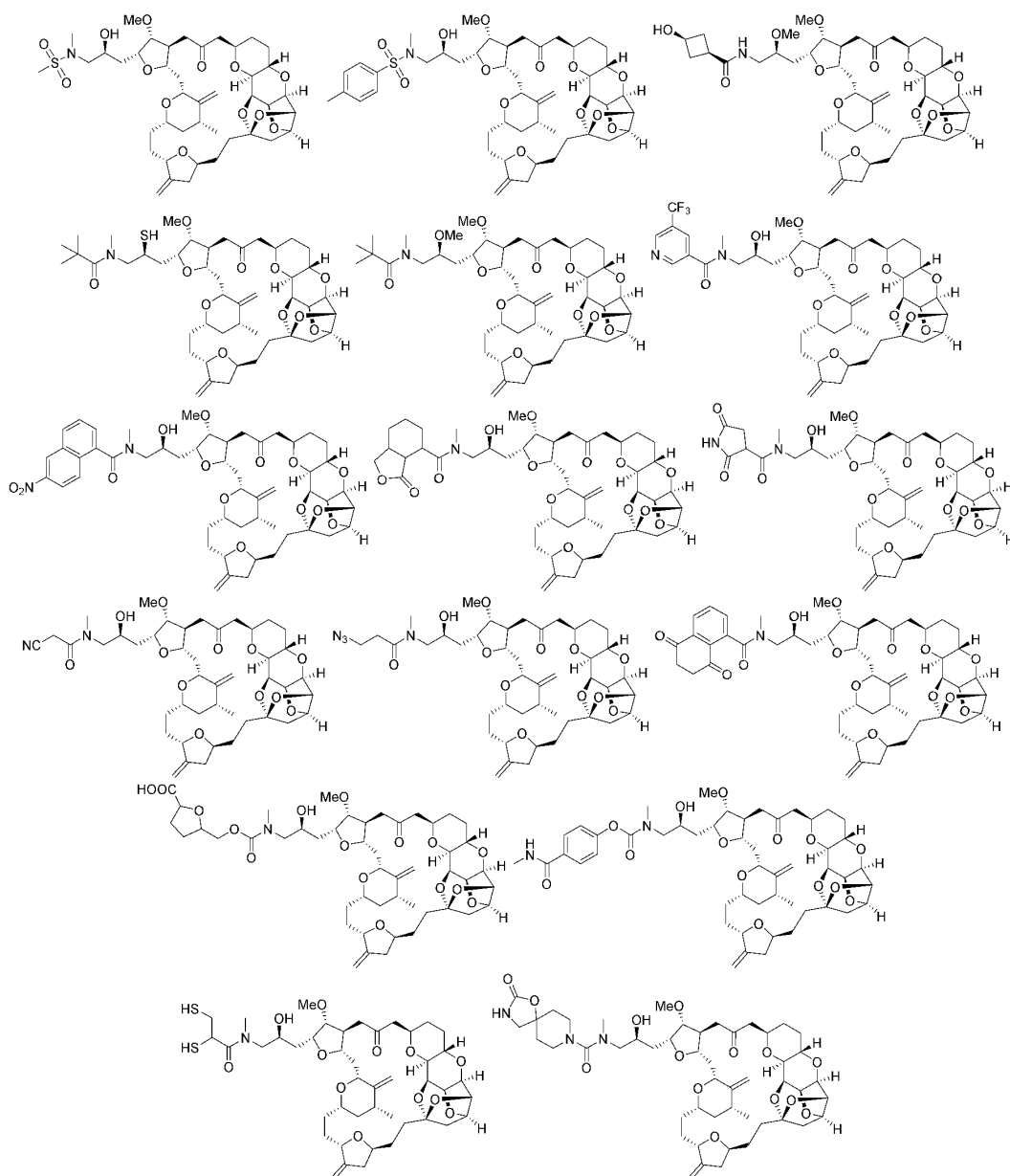
当  $Q_1$  选自化学键时， $Q_2$  选自烷基、苄基、环烷基、烯基和芳基；

当  $Q_2$  选自烷基时，所述烷基被选自氢原子、烷基、卤素、氘、叠氮基、硝基和芳基中的一个或多个取代基取代；

25 当  $Q_2$  选自环烷基、烯基和芳基时，所述的环烷基、烯基和芳基各自独立地被选自氢原子、烷基、卤素、羟基、羟烷基和芳基中的一个或多个取代基取代，且当  $Q_2$  为环烷基，其上取代基为羟基、氨基或巯基时，取代基位置选自除与  $-C(O)-$  相连碳原子外的任意位置。

在某些实施方案中，式X所示的化合物，或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其选自  
30 以下结构：





本申请的某些实施方案中，配体-药物偶联物，或连接子-药物偶联物或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或式X所示的化合物或异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式的药学上可接受的盐包括与结构式中酸性官能团形成的钠盐、钾盐、钙盐或镁盐以及与结构中碱性官能团形成的醋酸盐、三氟乙酸盐、柠檬酸盐、草酸盐、酒石酸盐、苹果酸盐、硝酸盐、氯化物、溴化物、碘化物、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、乳酸盐、油酸盐、抗坏血酸盐、水杨酸盐、甲酸盐、谷氨酸盐、甲磺酸盐、乙

磺酸盐、苯磺酸盐或对甲苯磺酸盐。

在第四方面，本申请提供了上文所述的任一连接子-药物偶联物或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，或式X所示的化合物、或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物作为中间体用于制备本申请的配体-药物偶联物的用途。

在第五方面，本申请提供了一种药物组合物，其包含本申请的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，或本申请的连接子-药物偶联物或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，或式X所示的化合物、或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，任选地还包含药学上可接受的载体。

在第六方面，本申请提供了一种药物制剂，其包含本申请的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，或本申请的连接子-药物偶联物或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，或式X所示的化合物、或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物。

在第七方面，本申请提供了上文所述的任一配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，或连接子-药物偶联物或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，或式X所示的化合物、或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物在制备用于治疗或预防癌症或者肿瘤的药物中的用途。

在第八方面，本申请提供了预防或治疗癌症或者肿瘤的方法，包括向有此需要的受试者施用预防或治疗有效量的本申请的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，或本申请的连接子-药物偶联物或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，或式X所示的化合物、或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物。

本申请中，所述癌症或者肿瘤可以为实体瘤或血液瘤，包括但不限于：腺癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫癌、前列腺癌、肾癌、尿道癌、膀胱癌、肝癌、胃癌、子宫内膜癌、唾液腺癌、食道癌、肺癌（例如肺腺癌）、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、骨癌、皮肤癌（例如表皮癌）、甲状腺癌、胰腺癌（例如胰腺腺癌）、黑色素瘤、神经胶质瘤、神经母细胞瘤、多形性胶质细胞瘤、肉瘤、淋巴瘤、白血病、下咽癌（例如下咽鳞癌）。

#### 术语定义

除非另有限定，本文所用的所有技术和科学术语均与本发明所属领域普通技术人员的通常理解一致。虽然也可采用与本发明所述相似或等同的任何方法

和材料实施或测试本发明，但本发明描述了优选的方法的材料。描述和要求保护本发明时，依据以下定义使用下列术语。

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

5 除非有相反陈述，在说明书和权利要求书中使用的术语具有下述含义。

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

术语“药物”是指细胞毒性药物，即，能在肿瘤或癌症细胞内具有较强破坏其正常生长的能力的分子。细胞毒性药物原则上在足够高的浓度下都可以杀死肿瘤细胞，但是由于缺乏特异性，在杀伤肿瘤或癌症细胞的同时，也会导致正常细胞的凋亡，容易导致严重的副作用。

术语“配体-药物偶联物”，指配体通过稳定的连接单元与药物相连形成的分子。在本发明中“配体-药物偶联物”优选为抗体-药物偶联物(Antibody drug conjugate, ADC)，指把单克隆抗体或者功能性的抗体片段或者具有靶向性的蛋白等通过稳定的连接单元与细胞毒性药物相连。

术语“抗体”或“功能性的抗体片段”在其所属的范围内，包括抗体结构的任何部分。这一单元可以结合、反应性关联或者络合一个受体、抗原或者靶向细胞群体具有的其它受体单元。抗体可以是任何蛋白或蛋白类分子，它可以结合、络合或者与待治疗或生物改造的细胞群体的一部分发生反应。

本发明的抗体包括但不限于鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体和全人源抗体，优选人源化抗体和全人源抗体。

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

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

术语“非天然氨基酸”指只能通过人工方法合成的氨基酸。

术语“烷基”指饱和脂肪族烃基团，其为包含 1 至 20 个碳原子的直链或支

链基团, 优选含有 1 至 12 个碳原子的烷基, 更优选含有 1 至 10 个碳原子的烷基, 最优选含有 1 至 6 个或 1 至 4 个碳原子的烷基。非限制性实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1, 1-二甲基丙基、1, 2-二甲基丙基、2, 2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1, 1, 2-三甲基丙基、1, 1-二甲基丁基、1, 2-二甲基丁基、2, 2-二甲基丁基、1, 3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2, 3-二甲基丁基、正庚基、2-甲基己基、3-甲基己基、4-甲基己基、5-甲基己基、2, 3-二甲基戊基、2, 4-二甲基戊基、2, 2-二甲基戊基、3, 3-二甲基戊基、2-乙基戊基、3-乙基戊基、正辛基、2, 3-二甲基己基、2, 4-二甲基己基、2, 5-二甲基己基、2, 2-二甲基己基、3, 3-二甲基己基、4, 4-二甲基己基、2-乙基己基、3-乙基己基、4-乙基己基、2-甲基-2-乙基戊基、2-甲基-3-乙基戊基、正壬基、2-甲基-2-乙基己基、2-甲基-3-乙基己基、2, 2-二乙基戊基、正癸基、3, 3-二乙基己基、2, 2-二乙基己基, 及其各种支链异构体等。更优选的是含有 1 至 6 个 (例如 1 至 4 个) 碳原子的低级烷基, 非限制性实施例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1, 1-二甲基丙基、1, 2-二甲基丙基、2, 2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1, 1, 2-三甲基丙基、1, 1-二甲基丁基、1, 2-二甲基丁基、2, 2-二甲基丁基、1, 3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2, 3-二甲基丁基等。

烷基可以是取代的或非取代的, 当被取代时, 取代基可以在任何可使用的连接点上被取代, 所述取代基优选为一个或多个以下基团, 其独立地选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基、氧代基。

术语“取代烷基”指烷基中的氢被取代基团取代, 除非文中另有说明, 烷基的取代基可以是选自下组的一种或多种基团: -卤素、-OR'、-NR'R''、-SR'、-SiR'R''R'''、-OC(O)R'、-C(O)R'、-CO<sub>2</sub>R'、-CONR'R''、-OC(O)NR'R''、-NR''C(O)R'、-NR'-C(O)NR''R'''、-NR''C(O)<sub>2</sub>R'、-NH-C(NH<sub>2</sub>)=NH、-NR'C(NH<sub>2</sub>)=NH、-NH-C(NH<sub>2</sub>)=NR'、-S(O)R'、-S(O)<sub>2</sub>R'、-S(O)<sub>2</sub>NR'R''、-NR'S(O)<sub>2</sub>R''、-CN 和 -NO<sub>2</sub>, 取代基数量为 1 至 (2m'+1), 其中 m' 为该基团中碳原子的总数, 例如 1、2、3、4、5 或 6。R'、R'' 和 R''' 各自地指代氢、C<sub>1-8</sub> 烷基、芳基、由 1-3 个卤素取代的芳基、由 1-3 个卤素取代的 C<sub>1-8</sub> 烷基、C<sub>1-8</sub> 烷氧基或 C<sub>1-8</sub> 硫代烷氧基、或未取代的芳基-C<sub>1-4</sub> 烷基。R' 和 R'' 连接于同一个氮原子时, 它们可与该氮原子一起形成 3-, 4-, 5-, 6- 或 7-元环。例如, -NR'R'' 包括 1-吡咯烷基和 4-吗啉基。

术语“杂烷基”指烷基上的一个或多个碳被 N、O 或 S 取代形成的基团, 所述杂烷基优选含有 1 至 12 个碳原子, 更优选含有 1 至 10 个碳原子, 最优选含有 1 至 6 个或 1 至 4 个碳原子。

术语“环烷基”指饱和或部分不饱和的单环或多环环状烃基，环烷基的环包含 3 至 20 个碳原子，优选包含 3 至 12 个碳原子，更优选包含 3 至 10 个碳原子，最优选包含 3 至 8 个碳原子。单环环烷基的非限制性实例包括环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、环己二烯基、环庚基、环庚三烯基、环辛基等；多环环烷基包括螺环、稠环和桥环的环烷基，所述螺环、稠环和桥环优选地包含 5-12 个环原子。任选地，环烷基上的一个或多个碳原子可以被一个或多个羰基取代。

术语“烷氧基”指-O-(烷基)和-O-(环烷基)，其中烷基或环烷基的定义如上所述，所述烷基优选含有 1 至 12 个碳原子，更优选含有 1 至 10 个碳原子，最优选含有 1 至 6 个或 1 至 4 个碳原子；所述环烷基的环包含 3 至 20 个碳原子，优选包含 3 至 12 个碳原子，更优选包含 3 至 10 个碳原子，最优选包含 3 至 8 个碳原子。烷氧基的非限制性实例包括：甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、环丙氧基、环丁氧基、环戊氧基、环己氧基。烷氧基可以是任选取代的或非取代的，当被取代时，取代基优选为一个或多个以下基团，其独立地选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基。

术语“杂环”指饱和或部分不饱和的单环或多环环状烃，其包含 3 至 20 个环原子，其中一个或多个（例如 1、2、3 或 4 个）环原子为选自氮、氧或  $S(O)_m$ （其中  $m$  是 0、1 或 2）的杂原子，其余环原子为碳。优选包含 3 至 12 个环原子，其中 1~4 个是杂原子；更优选包含 3 至 10 个或 3 至 8 个环原子。单环杂环基的非限制性实例包括吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、硫代吗啉基、高哌嗪基等。多环杂环基包括螺环、稠环和桥环的杂环基，所述螺环、稠环和桥环优选地包含 5-12 个环原子。任选地，杂环上的一个或多个碳原子可以被一个或多个羰基取代。

术语“芳基”指具有共轭的  $\pi$  电子体系的 6 至 14 元全碳单环或稠合多环(即共享毗邻碳原子对的环)基团，优选为 6-10 元，例如苯基。芳基可以是取代的或非取代的，当被取代时，取代基可以为以下一个或多个基团，非限制性地选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、氘原子、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基或杂环烷硫基。

术语“杂芳基”包括 5-8 元单环杂芳基和 8-12 元稠杂芳基。

术语“5-8 元单环杂芳基”是指含有 5-8 个环原子(其中至少一个环原子为杂原子，例如氮原子、氧原子或硫原子)的具有芳香性的单环环状基团。任选地，环状结构中的环原子(例如碳原子、氮原子或硫原子)可以被氧代。“5-8 元单环杂芳基”包括例如“5-7 元单环杂芳基”、“5-6 元单环杂芳基”、“5-6 元单环含氮杂芳基”、“6 元单环含氮杂芳基”等，所述的“含氮杂芳基”中的杂原子至少含有一个氮原子，例如，仅包含 1 个或 2 个氮原子，或者，包含一个氮原子和其他



的 1 个或 2 个杂原子（例如氧原子和/或硫原子），或者，包含 2 个氮原子和其他的 1 个或 2 个杂原子（例如氧原子和/或硫原子）。“5-8 元单环杂芳基”的具体实例包括但不限于呋喃基、噻吩基、吡咯基、噻唑基、异噻唑基、噻二唑基、噁唑基、异噁唑基、噁二唑基、咪唑基、吡唑基、1,2,3-三唑基、1,2,4-三唑基、1,2,3-噁二唑基、1,2,4-噁二唑基、1,2,5-噁二唑基、1,3,4-噁二唑基、吡啶基、2-吡啶酮基、4-吡啶酮基、嘧啶基、哒嗪基、吡嗪基、1,2,3-三嗪基、1,3,5-三嗪基、1,2,4,5-四嗪基、氮杂环庚三烯基、1,3-二氮杂环庚三烯基、氮杂环辛四烯基等。

术语“8-12 元稠杂芳基”是指由两个或两个以上环状结构彼此共用两个相邻的原子所形成的、含有 8-12 个环原子(其中至少一个环原子为杂原子，例如氮原子、氧原子或硫原子)的、不饱和的具有芳香性的环状结构。任选地，环状结构中的环原子(例如碳原子、氮原子或硫原子)可以被氧代。“8-12 元稠杂芳基”包括“8-10 元稠杂芳基”，“8-9 元稠杂芳基”等；具体实例包括但不限于：吡咯并吡咯、吡咯并呋喃、吡唑并吡咯、吡唑并噻吩、呋喃并噻吩、吡唑并噻唑、苯并呋喃基、苯并异呋喃基、苯并噻吩基、吲哚基、异吲哚基、苯并噻唑基、苯并咪唑基、吲唑基、苯并三唑基、喹啉基、2-喹啉酮基、4-喹啉酮基、1-异喹啉酮基、异喹啉基、吡啶基、菲啶基、苯并哒嗪基、酞嗪基、喹唑啉基、喹喔啉基、嘌呤基、茶啶基等。

术语“卤代烷基”指被一个或多个卤素取代的烷基，其中烷基如上所定义。

术语“氘代烷基”指被一个或多个氘原子取代的烷基，其中烷基如上所定义。

术语“羟基”指-OH 基团。

术语“卤素”指氟、氯、溴或碘。

术语“氨基”指-NH<sub>2</sub>。

术语“硝基”指-NO<sub>2</sub>。

术语“酰基”指羰基与烷基、烷氧基或胺基形成的基团，包括烷基羰基、酯基和酰胺基。

术语“被取代”指基团中的氢被取代基取代，“被取代”包括隐含的条件，即这样的取代符合被取代原子和取代基的允许化合价，且该取代得到稳定的化合物。取代基可以参见上文所列举的基团。任选地，同一个被取代原子上的两个取代基可以形成环状基团，所述环状基团可以是环烷基或杂环基，例如内酰胺基团或内酯基团。

术语“衍生物”是指具有与化合物相似的化学结构但还含有至少一个化合物中不存在的化学基团和/或缺少至少一个化合物中存在的化学基团的物质。衍生物所比较的化合物被称为“母体”化合物。通常，“衍生物”可在一个或多个化学反应步骤中由母体化合物产生。

术语“药学上可接受的盐”指的是，化合物（例如，药物，连接子-药物化合物或配体-药物偶联物）的药学上可接受的有机或无机盐。该化合物或偶联

物可含有至少一个氨基或羧基，并且因此可与相应的酸或碱形成加成盐。示例性的盐包括但不限于：硫酸盐、三氟乙酸盐、柠檬酸盐、乙酸盐、草酸盐、氯化物、溴化物、碘化物、硝酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、酸性磷酸盐、异烟酸盐、乳酸盐、水杨酸盐、酸性柠檬酸盐、酒石酸盐、油酸盐、单宁酸盐、泛酸盐、  
5 酒石酸氢盐、抗坏血酸盐、水杨酸盐、甲酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐，钾盐、钠盐等。

术语“溶剂化物”指本发明中的连接子-药物化合物或配体-药物偶联物与一种或多种溶剂分子形成的，溶剂分子包括但不限于水、乙醇、乙腈、异丙醇、DMSO、乙酸乙酯等。

10 术语“药物组合物”是指含有一种或多种本发明所述化合物或其生理学上/可药用的盐或前体药物与其它化学组分的混合物，以及其它组分例如生理学上/可药用的载体和/或赋形剂。药物组合物的目的时促进对生物体的给药，有利于活性成分的吸收进而发挥生物活性。

15 术语“载体”是指能改变药物进入人体的方式和在体内的分布、控制药物的释放速度并将药物输送至靶点的体系。药物载体释放和靶向系统能够减少药物降解及损失，降低副作用，提高生物利用度。

20 术语“赋形剂”是指在药物制剂中除主药以外的附加物或辅料。如片剂中的粘合剂、填充剂、崩解剂、润滑剂；半固体制剂软膏剂、霜剂中的基质备份；液体制剂中的防腐剂、抗氧化剂、矫味剂、芳香剂、助溶剂、乳化剂、增透剂、渗透压调节剂、着色剂等均可称为赋形剂。

术语“稀释剂”或“填充剂”，主要用于增加制剂的重量和/或体积。稀释剂的加入不仅保证一定的体积大小，而且减少主要成分的剂量偏差，改善药物的压缩成型性等。

## 25 附图说明

图 1A、图 1B、图 1C、图 1D、图 1E、图 1F 分别显示了化合物在 BxPC-3、SW620、H1975、HCC827、FaDu、A431 细胞模型中的抗肿瘤效果。

图 2A、图 2B、图 2C、图 2D、图 2E 分别显示了 ADC 在 A431、HCC827、FaDu、N87、SW620 细胞模型中的抗肿瘤效果。

30 图 3 显示了 ADC 在异质瘤细胞株 A431+SW620 中的抗肿瘤效果。

## 具体实施方式

下面结合具体实施例，进一步阐述本发明，应理解，这些实施例只用于说明本发明，而不适用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的试验方法，通常按照常规条件或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明，否则  
35 所有的百分数、比例、比率、或份数按重量计。除非另行定义，文中所使用的所有专业和科学用于与本领域熟练人员所熟悉的意义相同。此外，任何与所记载内容相似或均等的方法及材料皆可应用于本发明方法中。文中所述的较佳实

施方法与材料仅作示范之用。

本发明下列实施例中采用的通用步骤是：

#### 通用步骤 A

##### 5 偶联制备 ADC

将通过初步的纯化后单体率大于 95% 的抗体分子，使用超滤离心管换液至含有 EDTA 的磷酸盐缓冲液中，浓度 10mg/mL。加入 10 倍于抗体摩尔分子数的 TCEP，室温下反应 6 小时。打开抗体链间二硫键，并用 Ellman 方法测定游离巯基数，判断二硫键是否全部打开。然后加入 10 倍于抗体摩尔分子数的 payload，室温下反应 6 小时。反应结束后，使用截留分子量为 30KDa 的超滤离心管换液至 PBS 中，并去除未偶联的 payload 得偶联 ADC (DAR=8)。

#### 通用步骤 B

##### 定点偶联制备 ADC

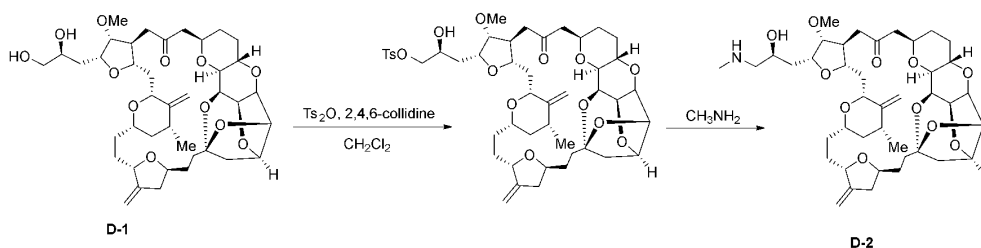
将通过初步的纯化后单体率大于 95% 的抗体分子，使用超滤离心管换液至含有 EDTA 的磷酸盐缓冲液中，浓度 10mg/mL。加入 8 倍于抗体摩尔分子数的 TCEP，室温下反应 3 小时。使用超滤离心管换液至 pH6.5 的磷酸缓冲液中，再加入 8 倍于抗体摩尔分子数的 DHAA (脱氢抗坏血酸)，室温下反应 3 小时。然后加入 5 倍于抗体摩尔分子数的 payload，室温下反应 3 小时。反应结束后，使用截留分子量为 30KDa 的超滤离心管换液至 PBS 中，并去除未偶联的 payload 得定点偶联 ADC (DAR=2)。

#### 通用步骤 C

##### 偶联制备 ADC

将通过初步的纯化后单体率大于 95% 的抗体分子，使用超滤离心管换液至 20mM/醋酸钠/pH6.0 缓冲液中，浓度 >5mg/mL。制备抗体药物偶联物时，取适量换液后的抗体于反应管中，根据抗体质量加入 3.6 倍摩尔量 TCEP (0.1 M)，放入 25°C 恒温培养箱里反应 2h 后取出反应管，加入 5 倍摩尔量 Linker-drug 混匀，置于 25°C 恒温培养箱里反应 2h。待反应结束后，取出样品溶液，使用截留分子量为 30KDa 的超滤离心管换液至 20mM/组氨酸/pH5.3 储存缓冲液中，并去除未偶联的 payload 得偶联 ADC (DAR=4)。

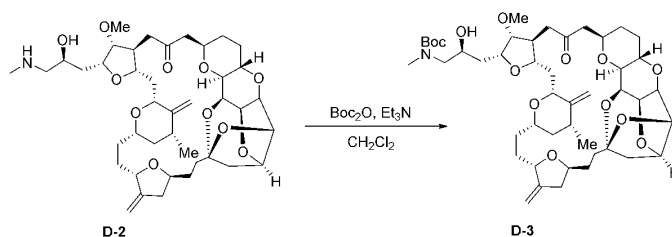
##### 30 实施例 1 化合物 D-2 的合成



于 25 mL 单口瓶中加入化合物 D-1 (80 mg, 0.109 mmol, 1.0 eq)，以干燥二

氯甲烷(4 mL)溶解,依次加入 2,4,6-三甲基吡啶(58  $\mu\text{L}$ , 0.438 mmol, 4.0 eq)和吡啶(0.44  $\mu\text{L}$ , 0.005 mmol, 0.05 eq),将反应液降至-10  $^{\circ}\text{C}$ ,于氮气保护下加入对甲苯磺酸酐(89.3 mg, 0.274 mmol, 2.5 eq),-10  $^{\circ}\text{C}$ 继续反应 20 小时。然后向反应液中加入水(310  $\mu\text{L}$ ),升至室温搅拌 30 分钟后,向其中加入甲胺(甲醇溶液, 4 mL),在室温继续反应 46 小时,然后将反应液减压浓缩,反相制备柱纯化,制备液冻干得化合物 **D-2**(白色固体, 58 mg, 71%)。LC-MS  $m/z$  ( $\text{ES}^+$ ):  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 744.2。

#### 实施例 2 化合物 **D-3** 的合成

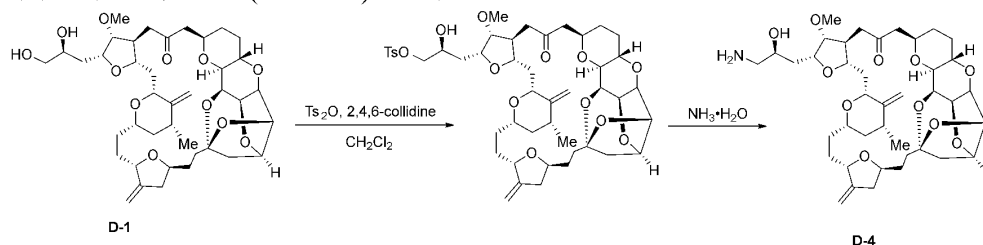


10

于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **D-2** (55 mg, 0.074 mmol, 1.0 eq),以干燥二氯甲烷(3 mL)溶解,再依次加入三乙胺(15.4  $\mu\text{L}$ , 0.111 mmol, 1.5 eq)和二碳酸二叔丁酯(20.4  $\mu\text{L}$ , 0.089 mmol, 1.2 eq),加毕于室温下反应 2 小时。TLC 监测反应完全后将反应液减压浓缩,反相制备柱纯化,制备液冻干得化合物 **D-3**(白色固体, 43 mg, 69%)。LC-MS  $m/z$  ( $\text{ES}^+$ ):  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 844.2。

15

#### 实施例 3 化合物 **D-4**(eribulin)的合成



D-1

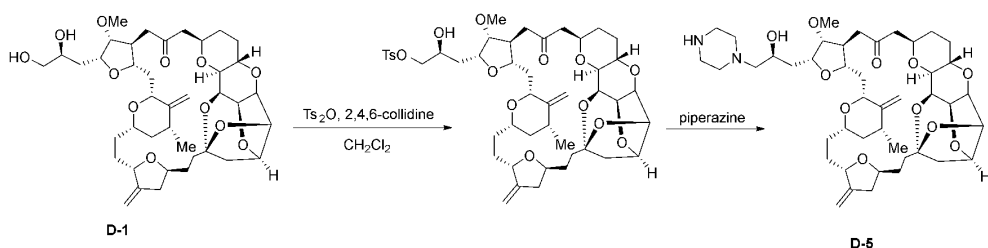
D-4

20

于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **D-1** (80 mg, 0.109 mmol, 1.0 eq),以干燥二氯甲烷(4 mL)溶解,依次加入 2,4,6-三甲基吡啶(58  $\mu\text{L}$ , 0.438 mmol, 4.0 eq)和吡啶(0.44  $\mu\text{L}$ , 0.005 mmol, 0.05 eq),将反应液降至-10  $^{\circ}\text{C}$ ,于氮气保护下加入对甲苯磺酸酐(89.3 mg, 0.274 mmol, 2.5 eq),-10  $^{\circ}\text{C}$ 继续反应 20 小时。然后向反应液中加入水(310  $\mu\text{L}$ ),升至室温搅拌 30 分钟后,向其中加入异丙醇(4 mL)和氨水(4 mL),在室温继续反应 3 天,然后将反应液减压浓缩,反相制备柱纯化,制备液冻干得化合物 **D-4**(白色固体, 56 mg, 70%)。LC-MS  $m/z$  ( $\text{ES}^+$ ):  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 730.2。

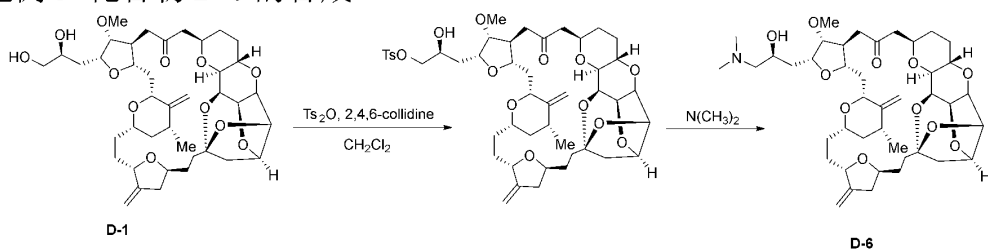
25

#### 实施例 4 化合物 **D-5** 的合成



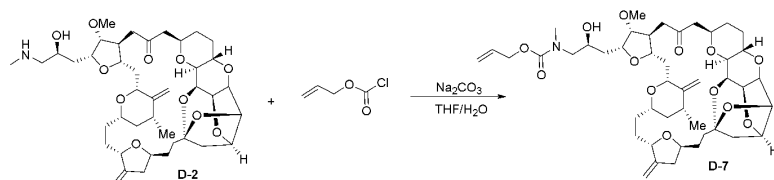
于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **D-1** (80 mg, 0.109 mmol, 1.0 eq), 以干燥二氯甲烷(4 mL)溶解, 依次加入 2,4,6-三甲基吡啶(58  $\mu$ L, 0.438 mmol, 4.0 eq)和吡啶(0.44  $\mu$ L, 0.005 mmol, 0.05 eq), 将反应液降至-10  $^{\circ}$ C, 于氮气保护下加入对甲苯磺酸酐(89.3 mg, 0.274 mmol, 2.5 eq), -10  $^{\circ}$ C继续反应 20 小时。然后向反应液中加入水(310  $\mu$ L), 升至室温搅拌 30 分钟后, 向其中加入甲醇(4 mL)和哌嗪 (943 mg, 10.9 mmol, 100.0 eq), 在室温继续反应 3 天, 然后将反应液减压浓缩, 反相制备柱纯化, 制备液冻干得化合物 **D-5** (白色固体, 66 mg, 75%)。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+H]^+$ : 799.2。

#### 10 实施例 5 化合物 **D-6** 的合成



于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **D-1** (80 mg, 0.109 mmol, 1.0 eq), 以干燥二氯甲烷(4 mL)溶解, 依次加入 2,4,6-三甲基吡啶(58  $\mu$ L, 0.438 mmol, 4.0 eq)和吡啶(0.44  $\mu$ L, 0.005 mmol, 0.05 eq), 将反应液降至-10  $^{\circ}$ C, 于氮气保护下加入对甲苯磺酸酐(89.3 mg, 0.274 mmol, 2.5 eq), -10  $^{\circ}$ C继续反应 20 小时。然后向反应液中加入水(310  $\mu$ L), 升至室温搅拌 30 分钟后, 向其中加入二甲胺 (甲醇溶液, 8 mL), 在室温继续反应 40 小时, 然后将反应液减压浓缩, 反相制备柱纯化, 制备液冻干得化合物 **D-6** (白色固体, 60 mg, 72%)。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+H]^+$ : 758.4。

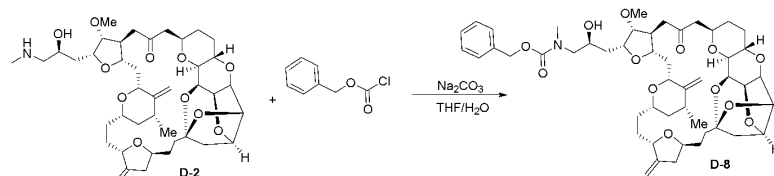
#### 20 实施例 6 化合物 **D-7** 的合成



于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **D-2** (20 mg, 0.027 mmol, 1.0 eq), 以四氢呋喃和水(2 mL)溶解, 再依次加入碳酸钠(28 mg, 0.269 mmol, 10 eq)和氯甲酸烯丙酯(5.7  $\mu$ L, 0.054 mmol, 2.0 eq), 加毕于室温下反应 2 小时。TLC 监测反应完全后, 反应液经反相制备柱纯化, 制备液冻干得化合物 **D-7** (白色固体, 17 mg,

76%)。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+H]^+$ : 828.4。

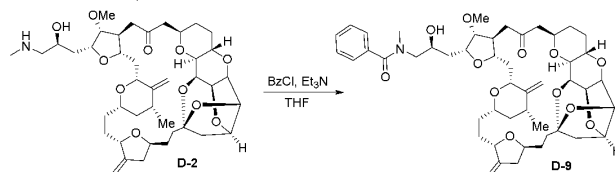
#### 实施例 7 化合物 **D-8** 的合成



参照实施例 6 的合成方法，以化合物 **D-2** 和氯甲酸苄酯合成化合物 **D-8**。

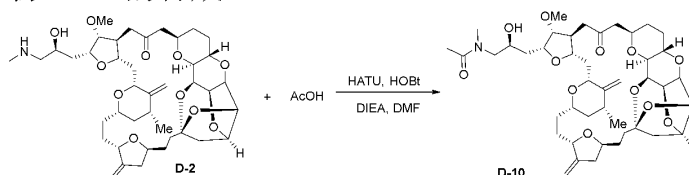
5 LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+H]^+$ : 878.3。

#### 实施例 8 化合物 **D-9** 的合成



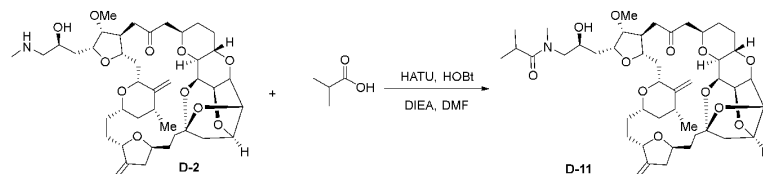
于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **D-2** (20 mg, 0.027 mmol, 1.0 eq)，以干燥四氢呋喃 (2 mL) 溶解，再依次加入三乙胺 (7.5  $\mu$ L, 0.054 mmol, 2.0 eq) 和苯甲酰氯 (6.2  $\mu$ L, 0.054 mmol, 2.0 eq)，加毕于室温下反应 2 小时。TLC 监测反应完全后，反应液经反相制备柱纯化，制备液冻干得化合物 **D-9** (白色固体, 18 mg, 79%)。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+H]^+$ : 848.4。

#### 实施例 9 化合物 **D-10** 的合成



25 mL 单口瓶中，加入化合物 **D-2** (20 mg, 0.027 mmol, 1.0 eq)、HATU (20 mg, 0.054 mmol, 2.0 eq)、HOBT (7.3 mg, 0.054 mmol, 2.0 eq) 和干燥 DMF (2 mL)，溶解均匀后于冰浴下滴加依次冰醋酸 (2.3  $\mu$ L, 0.040 mmol, 1.5 eq) 和 DIEA (9.4  $\mu$ L, 0.054 mmol, 2.0 eq)，加毕后升至室温反应。30 分钟后 HPLC 显示反应完全，反应液经反相制备柱纯化，制备液冻干得化合物 **D-10** (白色固体, 14 mg, 66%)。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+H]^+$ : 886.3。

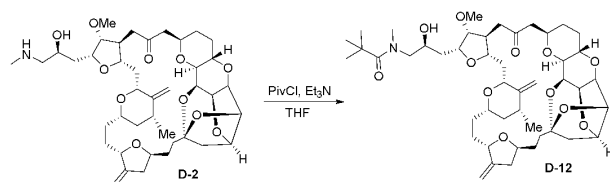
#### 实施例 10 化合物 **D-11** 的合成



参照实施例 9 的合成方法，以化合物 **D-2** 和异丁酸合成化合物 **D-11**。

LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+H]^+$ : 814.4。

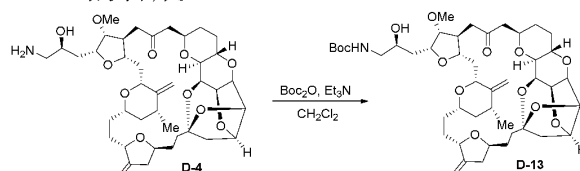
25 实施例 11 化合物 **D-12** 的合成



参照实施例 8 的合成方法, 以化合物 **D-2** 和特戊酰氯合成化合物 **D-12**。

LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+H]^+$ :828.3。

实施例 12 化合物 **D-13** 的合成

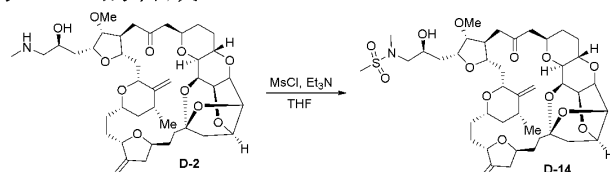


5

参照实施例 2 的合成方法, 以化合物 **D-4** 做原料合成化合物 **D-13**。LC-MS

$m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+H]^+$ :830.3。

实施例 13 化合物 **D-14** 的合成

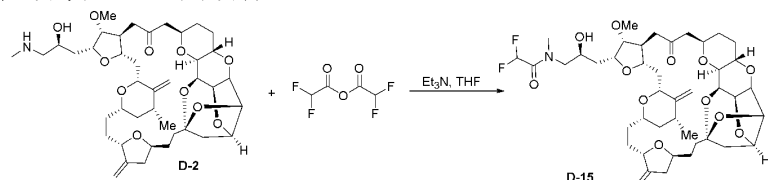


10

参照实施例 8 的合成方法, 以化合物 **D-2** 和甲磺酰氯合成化合物 **D-14**。

LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+H]^+$ :822.3。

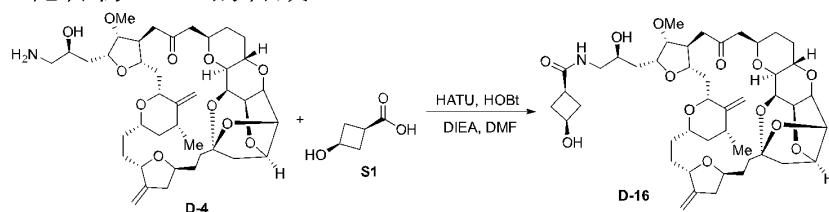
实施例 14 化合物 **D-15** 的合成



参照实施例 8 的合成方法, 以化合物 **D-2** 和二氟乙酸酐合成化合物 **D-15**。

15 LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+H]^+$ :822.3。

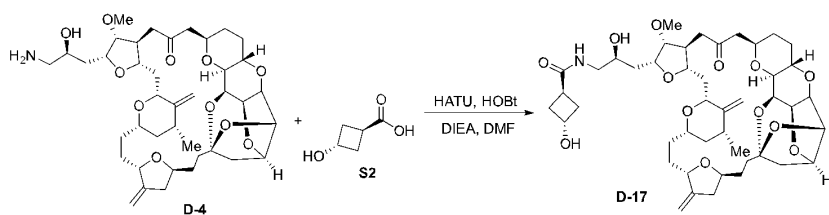
实施例 15 化合物 **D-16** 的合成



参照实施例 9 的合成方法, 以化合物 **D-4** 和顺式-3-羟基环丁基甲酸 **S1** 合

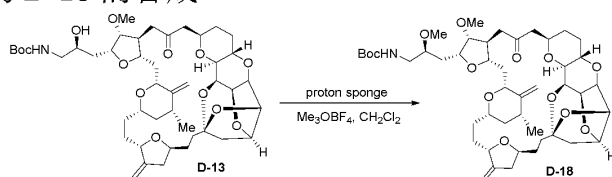
成化合物 **D-16**。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+H]^+$ :828.3。

20 实施例 16 化合物 **D-17** 的合成



参照实施例 9 的合成方法, 以化合物 **D-4** 和反式-3-羟基环丁基甲酸 **S2** 合成化合物 **D-17**。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+H]^+$ :828.3。

#### 实施例 17 化合物 **D-18** 的合成

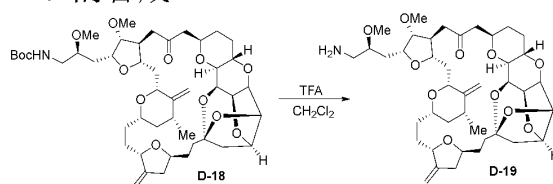


5

将化合物 **D-13** (61 mg, 0.074 mmol, 1.0 eq) 称入 25 mL 单口瓶, 以干燥二氯甲烷(6 mL)溶解, 依次加入 1,8-双二甲氨基萘(48 mg, 0.222 mmol, 3.0 eq)和三甲基氧鎓四氟硼酸(33 mg, 0.222 mmol, 3.0 eq), 加毕于室温下反应过夜。TLC 监测反应完全后将反应液过滤, 减压浓缩, TLC 制备纯化, 得化合物 **D-18** (白色泡状固体, 56 mg, 90%)。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+H]^+$ : 844.4。

10

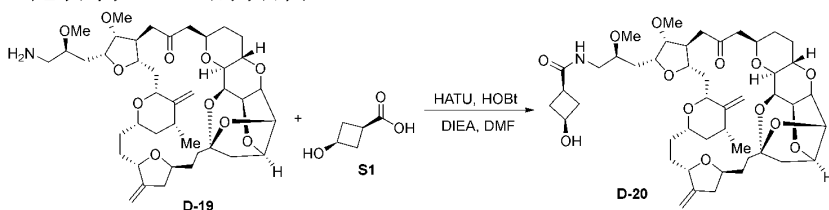
#### 实施例 18 化合物 **D-19** 的合成



15

将化合物 **D-18** (56 mg, 0.066 mmol, 1.0 eq) 以干燥二氯甲烷(4 mL)溶解, 加入三氟乙酸(200  $\mu$ L), 加毕于室温下反应 40 分钟。TLC 监测反应完全后将反应液以碳酸氢钠调 pH=8, 以二氯甲烷萃取, 干燥后过滤浓缩, 得化合物 **D-19** 粗品。

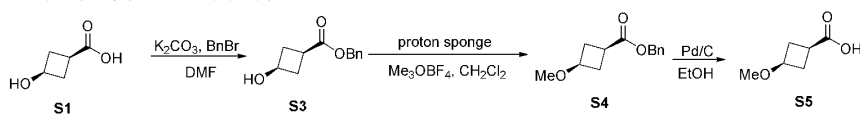
#### 实施例 19 化合物 **D-20** 的合成



20

参照实施例 9 的合成方法, 以化合物 **D-19** 和顺式-3-羟基环丁基甲酸 **S1** 合成化合物 **D-20**。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+H]^+$ :842.3。

#### 实施例 20 化合物 **S5** 的合成





### 第一步：化合物 S3

顺式-3-羟基环丁基甲酸 **S1** (150 mg, 1.29 mmol, 1.0 eq)、碳酸钾 (536 mg, 3.88 mmol, 3.0 eq) 称入 25 mL 单口瓶, 加入 DMF (3 mL) 和溴化苄 (230  $\mu$ L, 1.94 mmol, 1.5 eq), 室温反应 2 小时, TLC 监测反应完全后向反应液中加水, 以乙酸乙酯萃取, 干燥后过滤浓缩, 柱层析纯化 (二氯甲烷: 甲醇=30:1) 得化合物 **S3** (黄色油状物, 207 mg, 78%)。

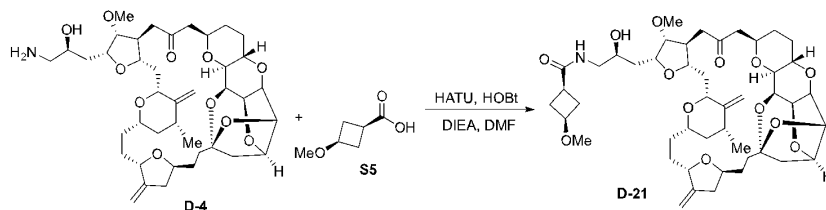
### 第二步：化合物 S4

将化合物 **S3** (173 mg, 0.839 mmol, 1.0 eq) 称入 25 mL 单口瓶, 以干燥二氯甲烷 (5 mL) 溶解, 依次加入 1,8-双二甲氨基萘 (539 mg, 2.52 mmol, 3.0 eq) 和三甲基氧鎓四氟硼酸 (372 mg, 2.52 mmol, 3.0 eq), 加毕于室温下反应过夜。TLC 监测反应完全后将反应液过滤, 减压浓缩, 柱层析纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=6:1) 得化合物 **S4** (无色油状物, 168 mg, 91%)。

### 第二步：化合物 S5

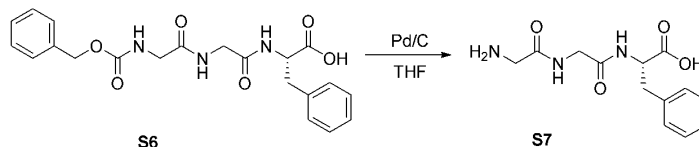
将化合物 **S4** (6 mg, 0.027 mmol, 1.0 eq) 称入 25 mL 单口瓶, 以无水乙醇 (1 mL) 溶解, 加入 5% 钯碳 (3 mg) 后于室温下反应 2 小时。TLC 监测反应完全后过滤, 浓缩得化合物 **S5** 粗品。

### 实施例 21 化合物 D-21 的合成



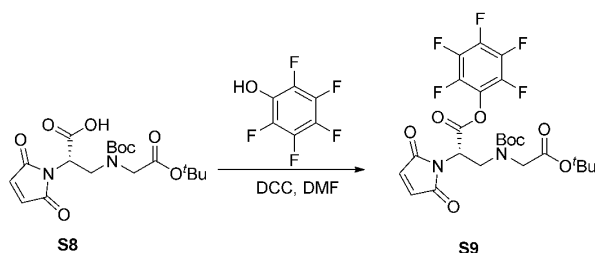
参照实施例 9 的合成方法, 以化合物 **D-4** 和顺式-3-甲氧基环丁基甲酸 **S5** 合成化合物 **D-21**。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+H]^+$ : 842.3。

### 实施例 22 化合物 S7 的合成



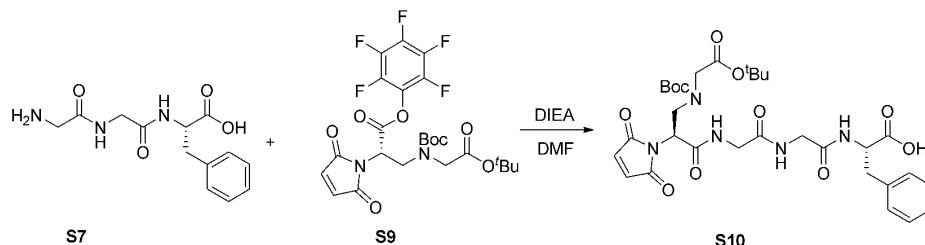
于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **S6** (2.0 g, 4.84 mmol, 1.0 eq, 合成方法参照专利 CN111051330 A) 和干燥四氢呋喃 (4 mL), 溶解澄清后加入 5% Pd/C (100 mg), 氢化反应过夜, 反应完毕, 过滤, 浓缩滤液得化合物 **S7** (白色固体, 1.17 g, 87%)。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+H]^+$ : 280.1。

### 实施例 23 化合物 S9 的合成



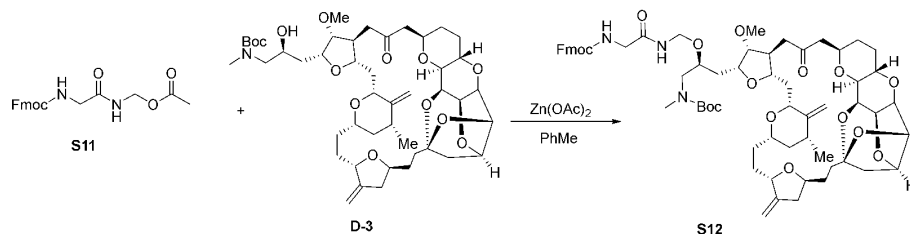
于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **S8**(1.0 g, 2.51 mmol, 1.0 eq, 合成方法参照 CN113827736 A 中化合物 **M2** 的合成)、五氟苯酚(508 mg, 2.76 mmol, 1.1 eq)、DCC(570 mg, 2.76 mmol, 1.1 eq)及 DMF(8 mL), 室温反应 2 小时, TLC 监测反应完全。将反应液过滤得化合物 **S9** 的粗品滤液备用。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+H]^+$ : 565.1。

#### 实施例 24 化合物 **S10** 的合成



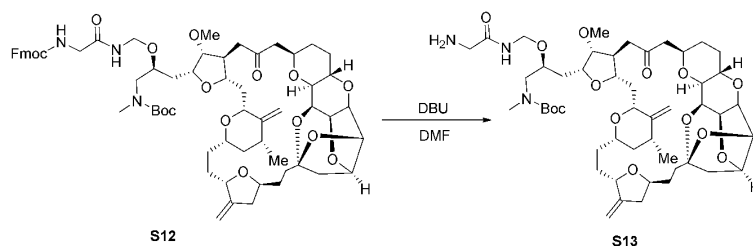
将化合物 **S7**(771 mg, 2.76 mmol, 1.1 eq)、DMF(8 mL)、DIEA(656  $\mu$ L, 3.76 mmol, 1.5 eq)加入 50 mL 单口瓶, 于冰浴下加入上述化合物 **S9** 的粗品滤液, 加毕升至室温反应过夜。将反应液以反相制备柱纯化, 制备液冻干得化合物 **S10** (白色固体, 778 mg, 47%)。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+H]^+$ : 660.2。

#### 实施例 25 化合物 **S12** 的合成



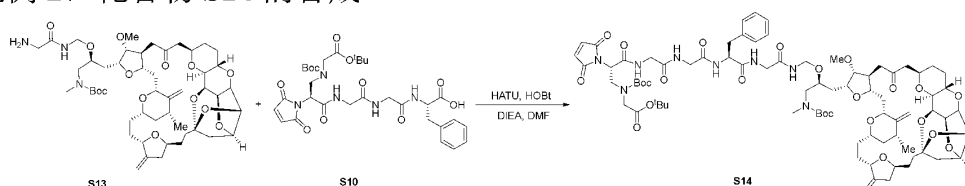
将化合物 **D-3** (40 mg, 0.047 mmol, 1.0 eq)、化合物 **S11** (52.4 mg, 0.142 mmol, 3.0 eq, 合成方法参照 CN111686259 A 中化合物 **1** 的合成)、醋酸锌(26.1 mg, 0.142 mmol, 3.0 eq)和 4Å 分子筛(60 mg)依次称入 25 mL 单口瓶, 加入干燥甲苯(4 mL), 置换氮气三次后于 100 °C 加热搅拌。2 小时后停止反应, 冷却至室温, 过滤, 滤液减压浓缩, 反相制备柱纯化, 制备液冻干得化合物 **S12** (白色固体, 37 mg, 68%)。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+Na]^+$ : 1174.2。

#### 实施例 26 化合物 **S13** 的合成



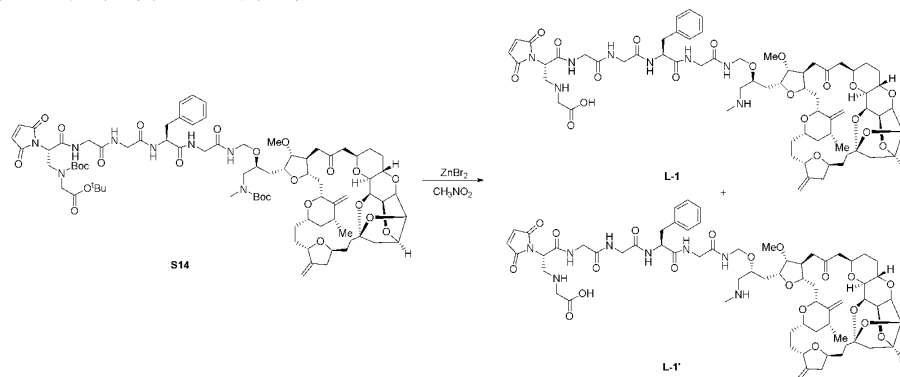
于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **S12** (30 mg, 0.026 mmol, 1.0 eq) 和干燥 DMF (1.5 mL), 溶解完全后加入 DBU (4.3  $\mu$ L, 0.029 mmol, 1.1 eq), 于室温下反应。TLC 监测化合物 **S12** 消耗完全后反应不需后处理, 以化合物 **S13** 的粗品溶液直接进行下一步反应。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+Na]^+$ : 953.3。

5 实施例 27 化合物 **S14** 的合成



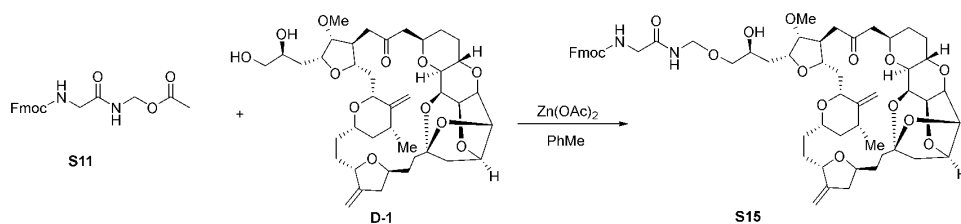
另取 25 mL 单口瓶, 依次加入化合物 **S10** (18.9 mg, 0.029 mmol, 1.1 eq)、HATU (11.9 mg, 0.031 mmol, 1.2 eq)、HOBt (4.2 mg, 0.031 mmol, 1.2 eq) 和干燥 DMF (1.5 mL), 溶解均匀后于冰浴下滴加上述化合物 **S13** 的粗品溶液和 DIEA (5.4  $\mu$ L, 0.031 mmol, 1.2 eq), 加毕后升至室温反应。30 分钟后 HPLC 显示反应完全, 反应液经反相制备柱纯化, 制备液冻干得化合物 **S14** (白色固体, 23 mg, 56%)。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M-99]^+$ : 1472.2 (为化合物 **S14** 掉 Boc 保护基后加氢离子的碎片离子)。

15 实施例 28 化合物 **L1** 的合成

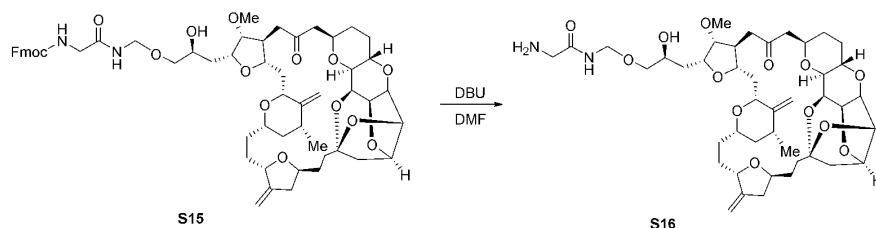


于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **S14** (20 mg, 0.013 mmol, 1.0 eq), 硝基甲烷 (2 mL) 溶清, 再加入溴化锌 (57 mg, 0.25 mmol, 20.0 eq), 室温反应 30 分钟, HPLC 监测反应进程。反应结束后, 反应液经水泵 45  $^{\circ}C$  减压浓缩, 得到粗品。反应液经反相制备柱纯化, 制备液冻干得化合物 **L-1** (白色固体, 9.2 mg, 55%) 和化合物 **L-1'** (白色固体, 5.2 mg, 31%)。 **L-1**: LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+Na]^+$ : 1337.3。 **L-1'**: LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+Na]^+$ : 1337.3。

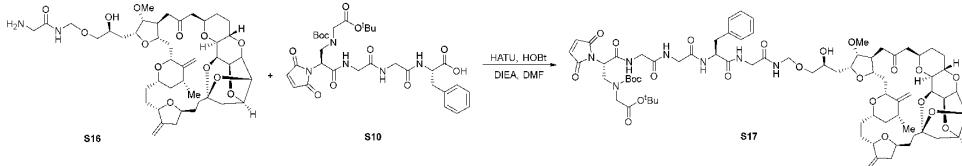
20

实施例 29 化合物 **S15** 的合成

将化合物 **D-1** (50 mg, 0.068 mmol, 1.0 eq)、化合物 **S11** (27.7 mg, 0.075 mmol, 1.1 eq)、醋酸锌(25.1 mg, 0.137 mmol, 2.0 eq)和 4Å 分子筛(100 mg)依次称入 25 mL 单口瓶, 加入干燥甲苯(5 mL), 置换氮气三次后于 100 °C 加热搅拌。3 小时后停止反应, 冷却至室温, 过滤, 滤液减压浓缩, 反相制备柱纯化, 制备液冻干得化合物 **S15** (白色固体, 42 mg, 59%)。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+Na]^+$ : 1061.3。

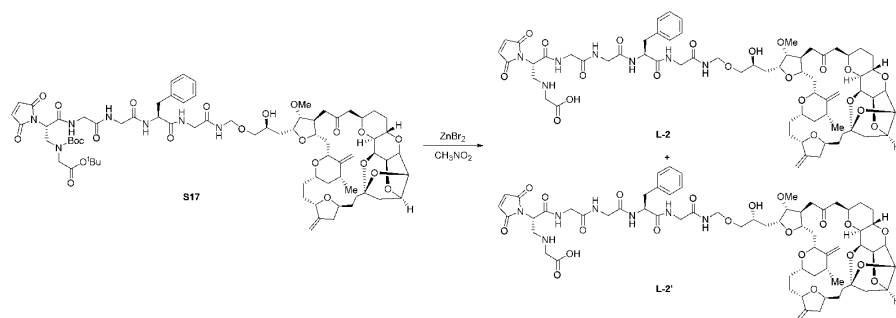
实施例 30 化合物 **S16** 的合成

于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **S15** (37 mg, 0.036 mmol, 1.0 eq) 和干燥 DMF (1.5 mL), 溶解完全后加入 DBU (5.9  $\mu$ L, 0.039 mmol, 1.1 eq), 于室温下反应。TLC 监测化合物 **S15** 消耗完全后反应不需后处理, 以化合物 **S16** 的粗品溶液直接进行下一步反应。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+Na]^+$ : 839.1。

实施例 31 化合物 **S17** 的合成

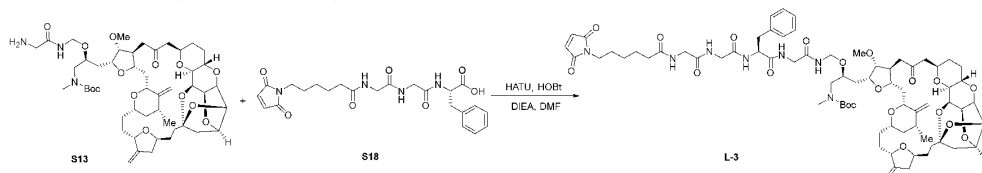
另取 25 mL 单口瓶, 依次加入化合物 **S10** (25.8 mg, 0.039 mmol, 1.1 eq)、HATU (16.2 mg, 0.043 mmol, 1.2 eq)、HOBt (5.8 mg, 0.043 mmol, 1.2 eq) 和干燥 DMF (1.5 mL), 溶解均匀后于冰浴下滴加上述化合物 **S16** 的粗品溶液和 DIEA (7.4  $\mu$ L, 0.043 mmol, 1.2 eq), 加毕后升至室温反应。30 分钟后 HPLC 显示反应完全, 反应液经反相制备柱纯化, 制备液冻干得化合物 **S17** (白色固体, 26 mg, 50%)。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+H]^+$ : 1459.2。

实施例 32 化合物 **L-2** 的合成



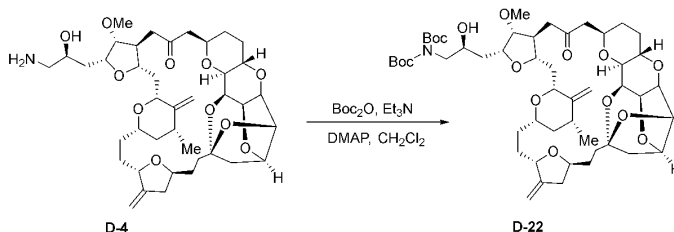
- 于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **S17** (21 mg, 0.014 mmol, 1.0 eq), 硝基甲烷 (2 mL) 溶清, 再加入溴化锌 (65 mg, 0.288 mmol, 20.0 eq), 室温反应 30 分钟, HPLC 监测反应进程。反应结束后, 反应液经水泵 45 °C 减压浓缩, 得到粗品。  
 反应液经反相制备柱纯化, 制备液冻干得化合物 **L-2** (白色固体, 10.7 mg, 57%) 和化合物 **L-2'** (白色固体, 5.4 mg, 29%)。 **L-2**: LC-MS  $m/z$  ( $\text{ES}^+$ ):  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : 1324.3。 **L-2'**: LC-MS  $m/z$  ( $\text{ES}^+$ ):  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : 1324.3。

#### 实施例 33 化合物 **L-3** 的合成



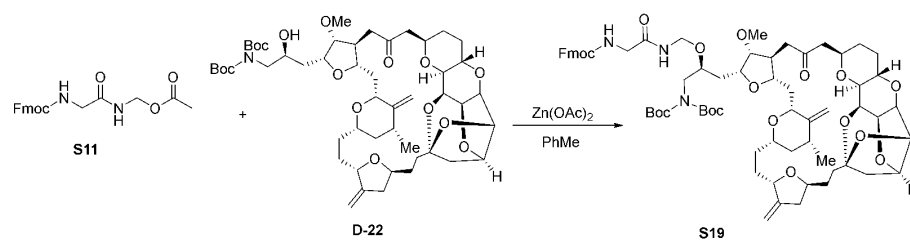
- 参照实施例 27 的合成方法, 以化合物 **S13** 和化合物 **S18** (合成方法参照专利 WO2022171101) 为原料合成化合物 **L-3**。LC-MS  $m/z$  ( $\text{ES}^+$ ):  $[\text{M}-99]^+$ : 1285.1 (为化合物 **L-3** 掉 Boc 保护基后加氢离子的碎片离子)。

#### 实施例 34 化合物 **D-22** 的合成



- 于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **D-4** (53 mg, 0.073 mmol, 1.0 eq), 以干燥二氯甲烷 (3 mL) 溶解, 再依次加入三乙胺 (30  $\mu\text{L}$ , 0.218 mmol, 3.0 eq)、DMAP (1.8 mg, 0.015 mmol, 0.2 eq) 和二碳酸二叔丁酯 (42  $\mu\text{L}$ , 0.182 mmol, 2.5 eq), 加毕于室温下反应 2 小时。TLC 监测反应完全后将反应液减压浓缩, 反相制备柱纯化, 制备液冻干得化合物 **D-22** (白色固体, 36 mg, 53%)。LC-MS  $m/z$  ( $\text{ES}^+$ ):  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 930.2。

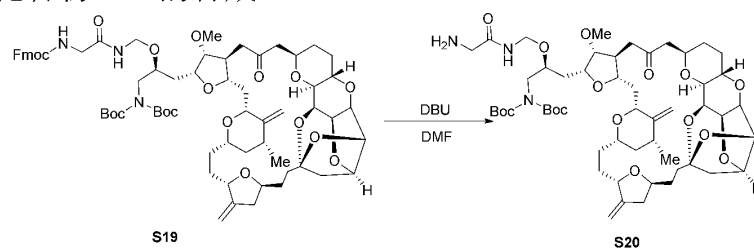
#### 实施例 35 化合物 **S19** 的合成



参照实施例 25 的合成方法,以化合物 **D-22** 和 **S11** 为原料合成化合物 **S19**。

LC-MS  $m/z$  ( $\text{ES}^+$ ):  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ :1260.2。

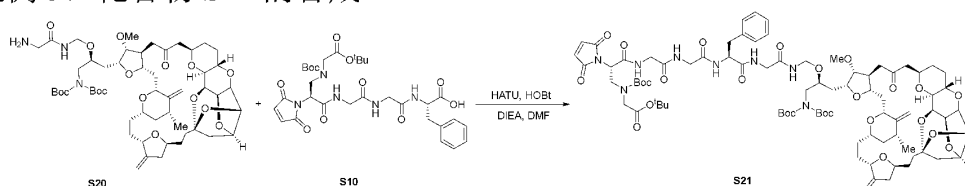
实施例 36 化合物 **S20** 的合成



5

参照实施例 26 的合成方法,以化合物 **S19** 为原料合成得到化合物 **S20** 的粗品溶液,不需后处理直接进行下一步反应。LC-MS  $m/z$  ( $\text{ES}^+$ ):  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ :1038.3。

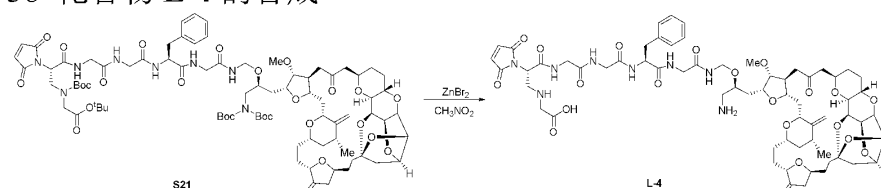
实施例 37 化合物 **S21** 的合成



10

参照实施例 27 的合成方法,以化合物 **S20** 和化合物 **S10** 为原料合成化合物 **S21**。TOF  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$ :1657.5。

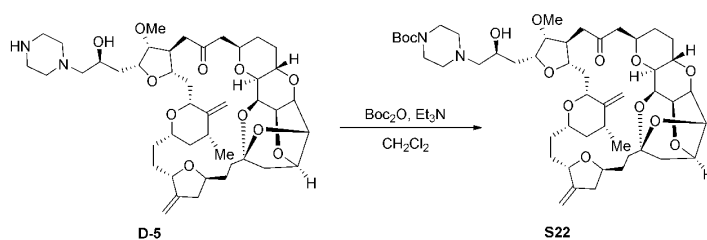
实施例 38 化合物 **L-4** 的合成



15

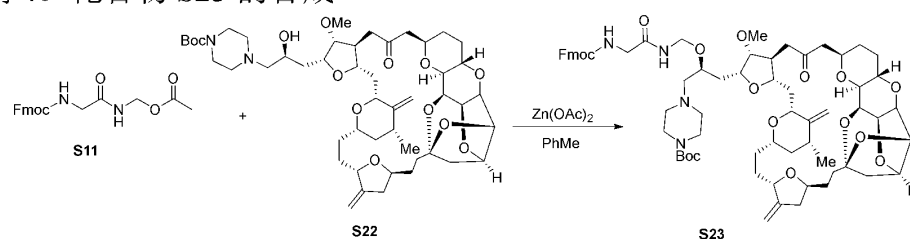
参照实施例 28 的合成方法,以化合物 **S21** 为原料合成化合物 **L-4**。LC-MS  $m/z$  ( $\text{ES}^+$ ):  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ :1323.3。

实施例 39 化合物 **S22** 的合成



参照实施例 2 的合成方法, 以化合物 **D-5** 为原料合成化合物 **S22**。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+H]^+$ :898.3。

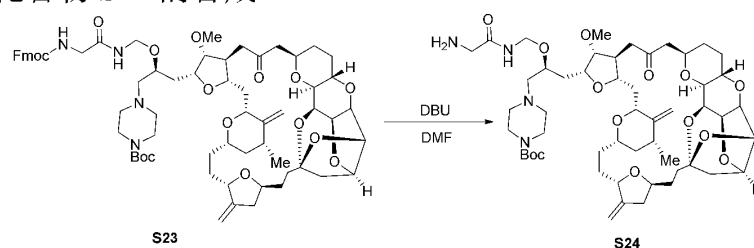
实施例 40 化合物 **S23** 的合成



5

参照实施例 25 的合成方法, 以化合物 **S22** 和 **S11** 为原料合成化合物 **S23**。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+Na]^+$ :1229.3。

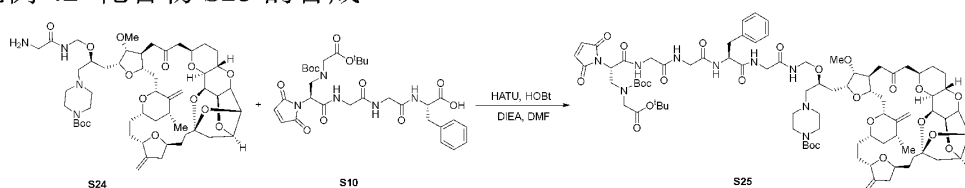
实施例 41 化合物 **S24** 的合成



10

参照实施例 26 的合成方法, 以化合物 **S23** 为原料合成得到化合物 **S24** 的粗品溶液, 不需后处理直接进行下一步反应。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+Na]^+$ :1007.3。

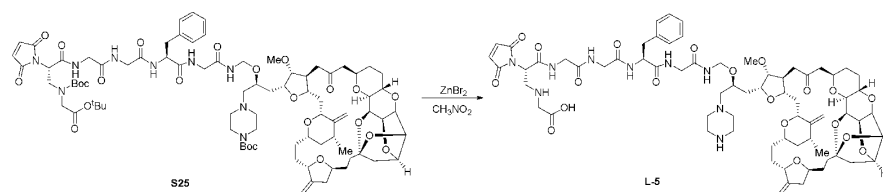
实施例 42 化合物 **S25** 的合成



15

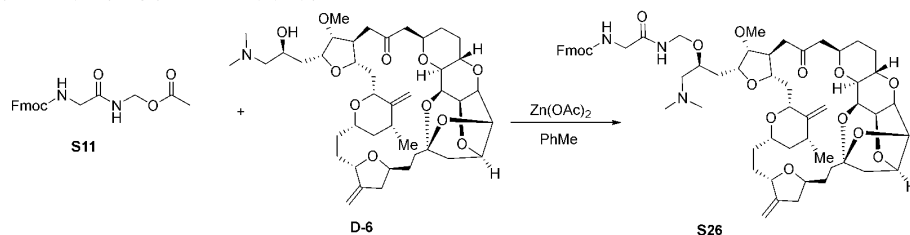
参照实施例 27 的合成方法, 以化合物 **S24** 和化合物 **S10** 为原料合成化合物 **S25**。TOF  $m/z$ :  $[M+H]^+$ :1626.5。

实施例 43 化合物 **L-5** 的合成



参照实施例 28 的合成方法, 以化合物 **S25** 为原料合成化合物 **L-5**。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+Na]^+$ :1392.4。

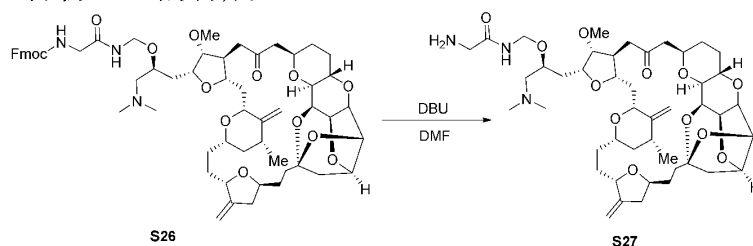
实施例 44 化合物 **S26** 的合成



5

参照实施例 25 的合成方法, 以化合物 **D-6** 和 **S11** 为原料合成化合物 **S26**。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+Na]^+$ :1088.3。

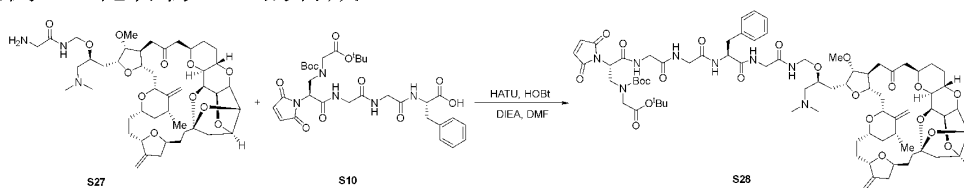
实施例 45 化合物 **S27** 的合成



10

参照实施例 26 的合成方法, 以化合物 **S26** 为原料合成得到化合物 **S27** 的粗品溶液, 不需后处理直接进行下一步反应。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+Na]^+$ :866.2。

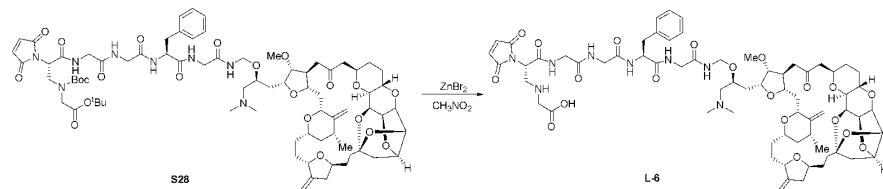
实施例 46 化合物 **S28** 的合成



15

参照实施例 27 的合成方法, 以化合物 **S27** 和化合物 **S10** 为原料合成化合物 **S28**。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+Na]^+$ :1485.5。

实施例 47 化合物 **L-6** 的合成

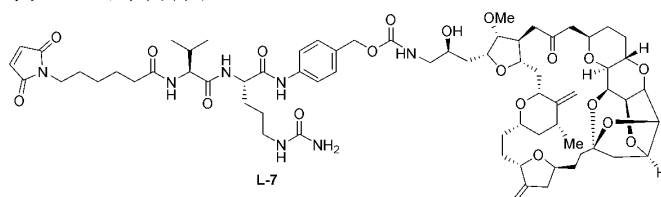


参照实施例 28 的合成方法, 以化合物 **S28** 为原料合成化合物 **L-6**。LC-MS



m/z (ES<sup>+</sup>): [M+Na]<sup>+</sup>:1351.3。

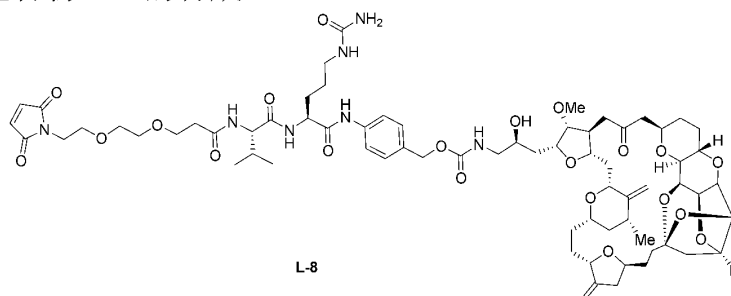
实施例 48 化合物 **L-7** 的合成



参照专利 CN108883198A 中化合物 ER-001235638 的合成方法合成化合物

5 **L-7**。

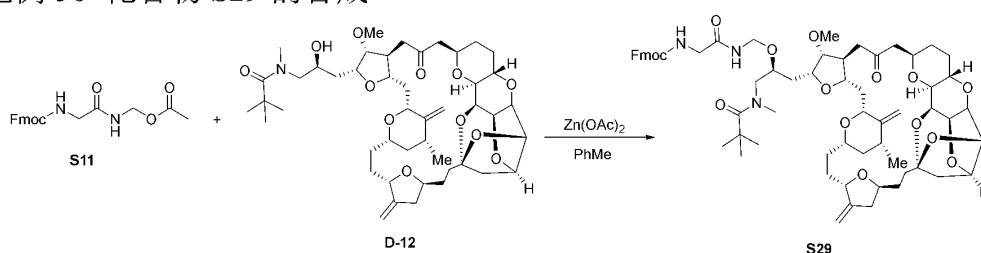
实施例 49 化合物 **L-8** 的合成



参照专利 CN108883198A 中化合物 ER-001159569 的合成方法合成化合物

**L-8**。

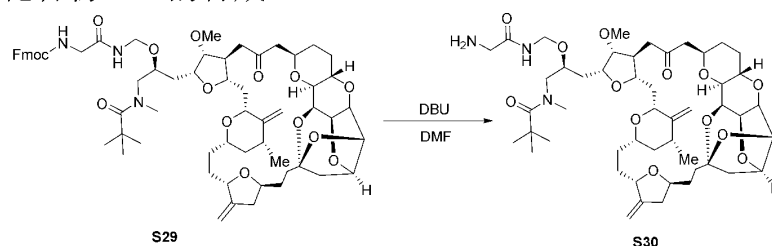
10 实施例 50 化合物 **S29** 的合成



参照实施例 25 的合成方法,以化合物 **D-12** 和 **S11** 为原料合成化合物 **S29**。

LC-MS m/z (ES<sup>+</sup>): [M+Na]<sup>+</sup>:1158.4。

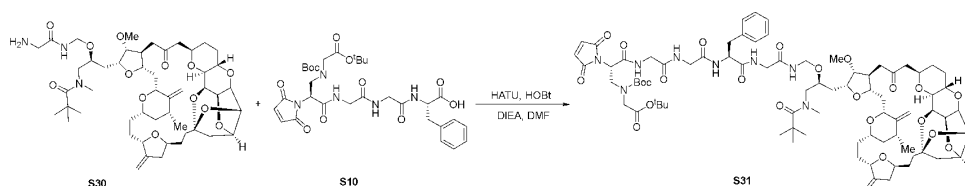
实施例 51 化合物 **S30** 的合成



15

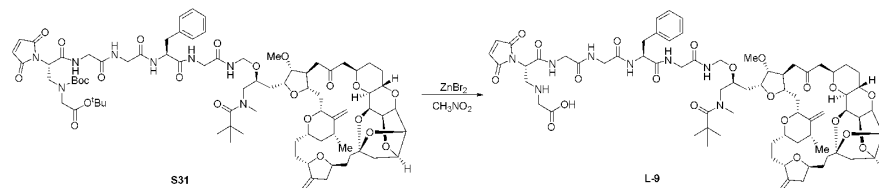
参照实施例 26 的合成方法,以化合物 **S29** 为原料合成得到化合物 **S30** 的粗品溶液,不需后处理直接进行下一步反应。LC-MS m/z (ES<sup>+</sup>): [M+Na]<sup>+</sup>:936.5。

实施例 52 化合物 **S31** 的合成



参照实施例 27 的合成方法, 以化合物 **S30** 和化合物 **S10** 为原料合成化合物 **S31**。TOF m/z:  $[M+H]^+$ :1555.7。

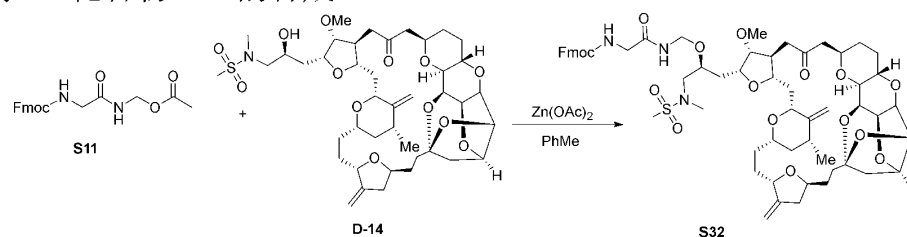
实施例 53 化合物 **L-9** 的合成



5

参照实施例 28 的合成方法, 以化合物 **S31** 为原料合成化合物 **L-9**。LC-MS m/z ( $ES^+$ ):  $[M+Na]^+$ :1421.7。

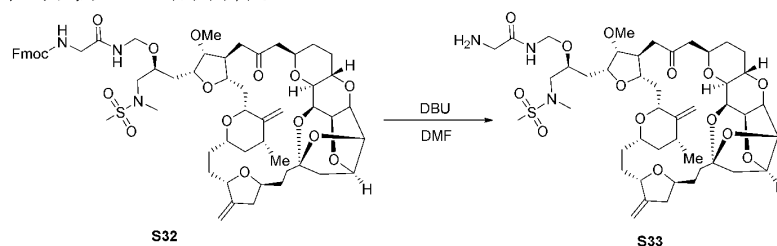
实施例 54 化合物 **S32** 的合成



10

参照实施例 25 的合成方法, 以化合物 **D-14** 和 **S11** 为原料合成化合物 **S32**。LC-MS m/z ( $ES^+$ ):  $[M+Na]^+$ :1152.5。

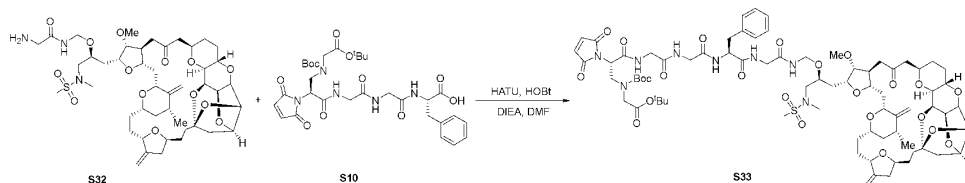
实施例 55 化合物 **S33** 的合成



15

参照实施例 26 的合成方法, 以化合物 **S32** 为原料合成得到化合物 **S33** 的粗品溶液, 不需后处理直接进行下一步反应。LC-MS m/z ( $ES^+$ ):  $[M+Na]^+$ :930.4。

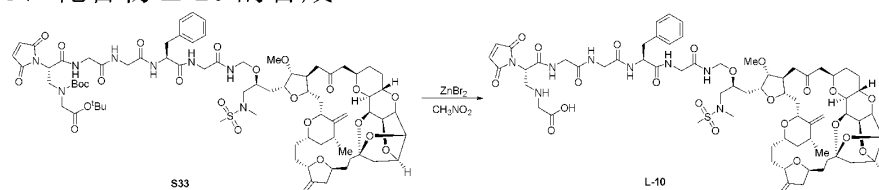
实施例 56 化合物 **S33** 的合成



参照实施例 27 的合成方法, 以化合物 **S32** 和化合物 **S10** 为原料合成化合

物 **S33**。TOF m/z:  $[M+H]^+$ :1549.7。

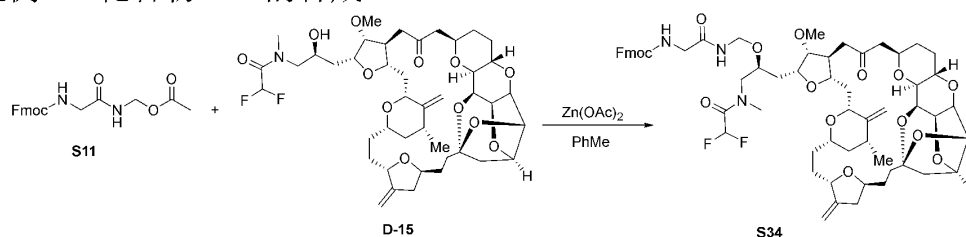
实施例 57 化合物 **L-10** 的合成



参照实施例 28 的合成方法,以化合物 **S33** 为原料合成化合物 **L-10**。LC-MS

5 m/z ( $ES^+$ ):  $[M+Na]^+$ :1415.6。

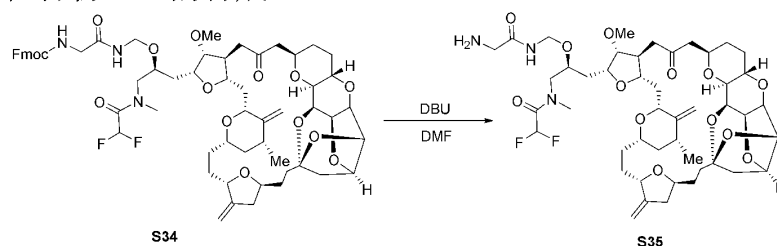
实施例 58 化合物 **S34** 的合成



参照实施例 25 的合成方法,以化合物 **D-15** 和 **S11** 为原料合成化合物 **S34**。

LC-MS m/z ( $ES^+$ ):  $[M+Na]^+$ :1152.4。

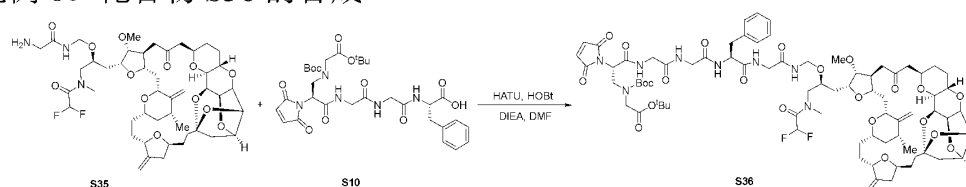
10 实施例 59 化合物 **S35** 的合成



参照实施例 26 的合成方法,以化合物 **S34** 为原料合成得到化合物 **S35** 的

粗品溶液,不需后处理直接进行下一步反应。LC-MS m/z ( $ES^+$ ):  $[M+Na]^+$ :930.3。

实施例 60 化合物 **S36** 的合成

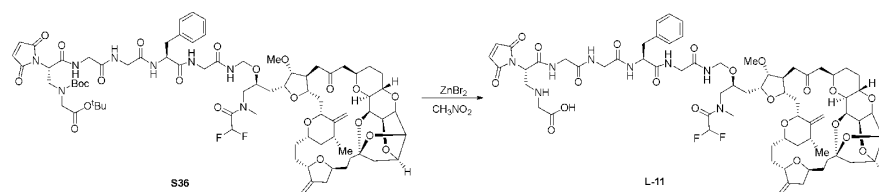


15

参照实施例 27 的合成方法,以化合物 **S35** 和化合物 **S10** 为原料合成化合物

物 **S36**。TOF m/z:  $[M+H]^+$ :1549.6。

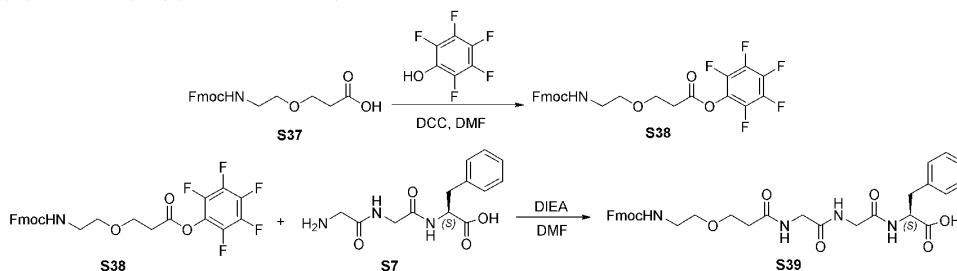
实施例 61 化合物 **L-11** 的合成



参照实施例 28 的合成方法,以化合物 **S36** 为原料合成化合物 **L-11**。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+Na]^+$ :1415.6。

#### 实施例 62 化合物 **S39** 的合成

5



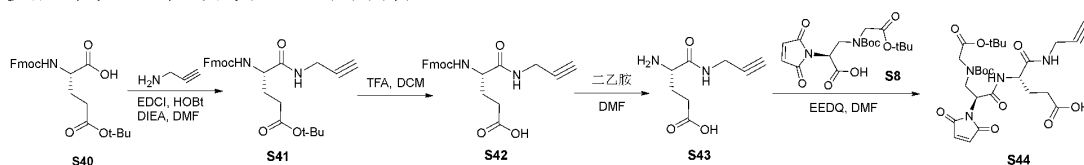
#### 第一步: 化合物 **S38** 的合成

于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **S37**(400 mg, 1.13 mmol, 1.0 eq)、五氟苯酚 (228 mg, 1.24 mmol, 1.1 eq)、DCC(255 mg, 1.24 mmol, 1.1 eq)及 DMF(4 mL), 室温反应过夜, TLC 监测反应完全。将反应液过滤得化合物 **S38** 的粗品滤液备用。

#### 第二步: 化合物 **S39** 的合成

将化合物 **S7**(377mg, 1.35 mmol, 1.2 eq)、DMF(4 mL)、DIEA(235  $\mu$ L, 1.35 mmol, 1.2 eq)加入 25 mL 单口瓶, 于冰浴下加入上述化合物 **S38** 的粗品滤液, 加毕升至室温反应过夜。将反应液以反相制备柱纯化, 制备液冻干得化合物 **S39** (白色固体, 543 mg, 78%)。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+H]^+$ : 617.1。

#### 实施例 63 化合物 **S44** 的合成



#### 第一步: 化合物 **S41** 的合成

在 2L 单口瓶中加入 Fmoc-L-谷氨酸-5-叔丁酯(**S40**, 200 g, 470 mmol, 1.0 eq), 炔丙胺(28.5 g, 517 mmol, 1.1 eq), 400 mL DMF, 溶清, 冰水浴降至 0℃ 左右, 加入 EDCI(108.2 g, 564 mmol, 1.2 eq), HOBT(76.2 g, 564 mmol)及 DIEA (117 mL, 705 mmol, 1.5 eq), 升至室温反应 2h, TLC 监测反应终点。反应结束后, 将反应液倒入 2L 水中, 加入乙酸乙酯萃取三次(500 mL $\times$ 3), 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液洗涤两次, 再用无水硫酸钠干燥。过滤出去硫酸钠, 滤液浓缩得粗品。粗品经过石油醚/乙酸乙酯(2/1)精制, 得到化合物 **S41**(100.9 g, 收率 48%), LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+H]^+$ : 463.2。

## 第二步：化合物 **S42** 的合成

于 1L 单口瓶中，加入 **S41**(100.0 g)，500 mL 二氯甲烷溶解，再加入 200 mL 三氟乙酸，室温反应 2h，TLC 监测反应终点。反应结束后，浓缩除去二氯甲烷及部分三氟乙酸，得粗品。向粗品中加入甲叔醚，析出白色固体，过滤，干燥，得化合物 **S42**(77.5 g，收率 87%)，LC-MS  $m/z$  ( $ES^-$ ):  $[M-H]^-$ : 405.1。

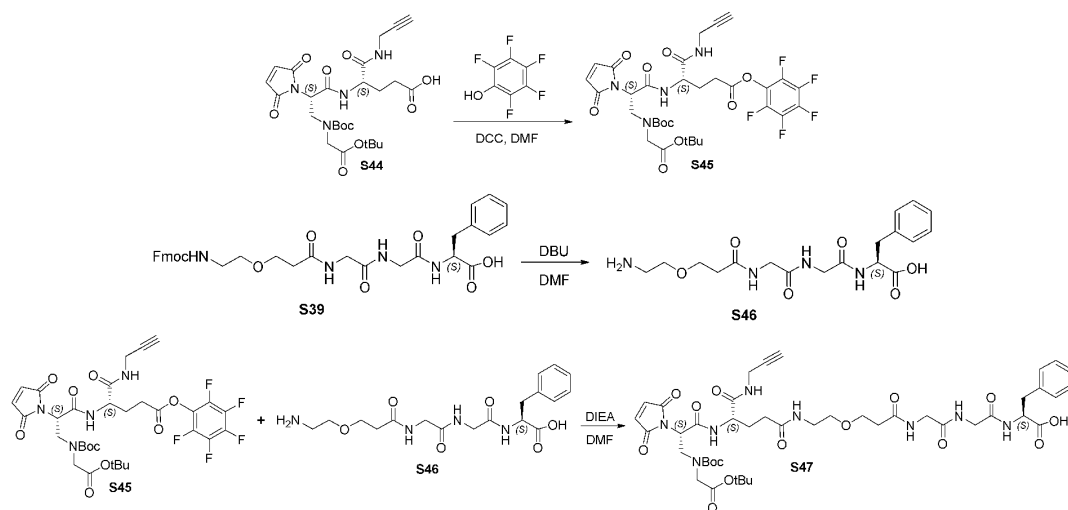
## 第三步：化合物 **S43** 的合成

于 2L 单口瓶中，加入 **S42** (77.0 g)，150 mL DMF 溶解，再加入 38 mL 二乙胺，室温反应 2h，TLC 监测反应终点。反应结束后，向反应液中加入 800 mL 甲叔醚，析出白色固体，过滤，干燥，得化合物 **S43**(33.7 g，收率 96.6%)，LC-MS  $m/z$  ( $ES^-$ ):  $[M-H]^-$ : 183.1。

## 第四步：化合物 **S44** 的合成

于 100 mL 单口瓶中，加入化合物 **S43**(10.02 g, 54.4 mmol, 1.5 eq)，化合物 **S8**(14.48 g, 36.3 mmol, 1.0 eq)，100 mL DMF 溶解，再加入 EEDQ(13.5 g, 54.8 mmol, 1.5 eq)，室温反应 2h，HPLC 监测反应终点。反应结束后，反应液经过制备液相纯化，得产品制备液，制备液冻干，得化合物 **S44**(9.94 g，收率 48%)，LC-MS  $m/z$  ( $ES^-$ ):  $[M-H]^-$ : 563.2。

## 实施例 64 化合物 **S47** 的合成



## 第一步：化合物 **S45** 的合成

于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **S44**(230 mg, 0.407 mmol, 1.0 eq)、五氟苯酚(83 mg, 0.448 mmol, 1.1 eq)、DCC(93 mg, 0.448 mmol, 1.1 eq)及 DMF(3.5 mL)，室温反应过夜，TLC 监测反应完全。将反应液过滤得化合物 **S45** 的粗品滤液备用。

## 第二步：化合物 **S46** 的合成

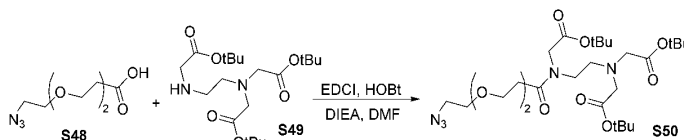
于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **S39** (301 mg, 0.489 mmol, 1.2 eq)和干燥 DMF(3 mL)，溶解完全后加入 DBU(79  $\mu$ L, 0.529 mmol, 1.3 eq)，于室温下反应。TLC 监测化合物 **S39** 消耗完全后反应不需后处理，以化合物 **S46** 的粗品溶液

直接进行下一步反应。

第三步：化合物 **S47** 的合成

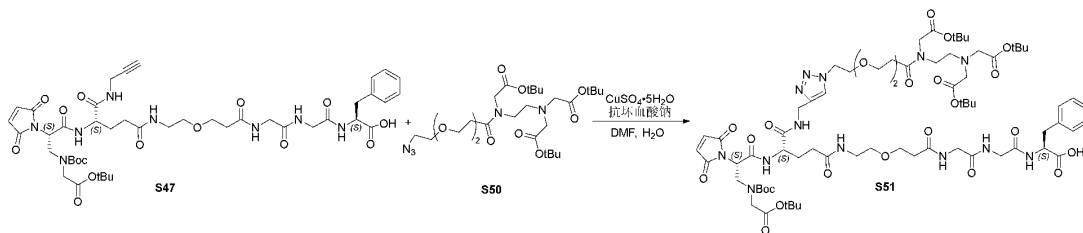
于冰浴下混合化合物 **S45** 的粗品滤液和 **S46** 的粗品溶液，缓慢滴加 DIEA(71  $\mu$ L, 0.407 mmol, 1.0 eq)，加毕升至室温反应 40 分钟。将反应液以反相制备柱纯化，制备液冻干得化合物 **S47** (白色固体, 258 mg, 67%)。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+H]^+$ : 941.3。

实施例 65 化合物 **S50** 的合成



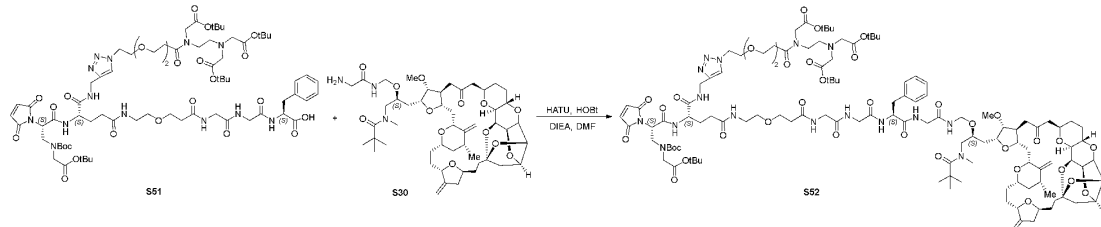
于 150 mL 单口瓶，依次加入化合物 **S48** (667 mg, 3.28 mmol, 1.0 eq)、**S49** (1.58 g, 3.94 mmol, 1.2 eq, 合成方法参照 WO 0152900 A2 中化合物 **11** 的合成)、EDCI (944 mg, 4.92 mmol, 1.5 eq)、HOBt (665 mg, 4.92 mmol, 1.5 eq) 和干燥二氯甲烷(60 mL)，混合均匀后于冰浴下滴加 DIEA (1.14 mL, 6.56 mmol, 2.0 eq)，加毕后升至室温反应。2 小时后 TLC 监测显示反应完全，向反应液中加入饱和氯化铵水溶液淬灭，以二氯甲烷萃取，干燥后过滤浓缩，柱层析纯化（石油醚：乙酸乙酯=30:1）得化合物 **S50** (黄色油状物, 1.3 g, 67%)。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+H]^+$ : 588.4。

实施例 66 化合物 **S51** 的合成



于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **S47** (58 mg, 0.061 mmol, 1.0 eq)、化合物 **S50** (36 mg, 0.061 mmol, 1.0 eq)、五水硫酸铜(31 mg, 0.123 mmol, 2.0 eq)、抗坏血酸钠(24 mg, 0.123 mmol, 2.0 eq)和 DMF(2 mL)，于冰浴下加入水(1 mL)，加毕后于室温下反应。30 分钟后 HPLC 显示反应完全，将反应液以反相制备柱纯化，制备液冻干得化合物 **S51** (白色固体, 85 mg, 91%)。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+2H]^{2+}$ : 764.7。

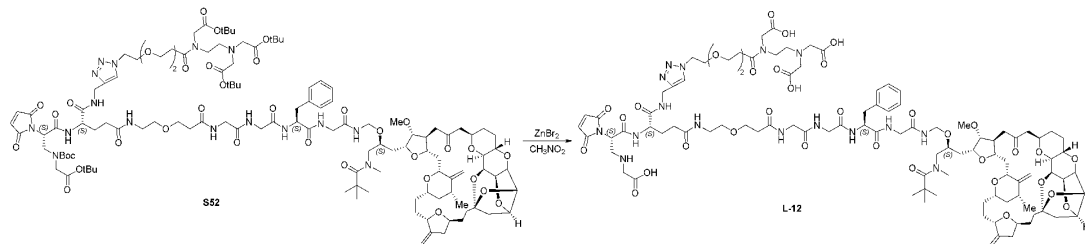
实施例 67 化合物 **S52** 的合成



参照实施例 27 的合成方法，以化合物 **S51** 和化合物 **S30** 为原料合成化合

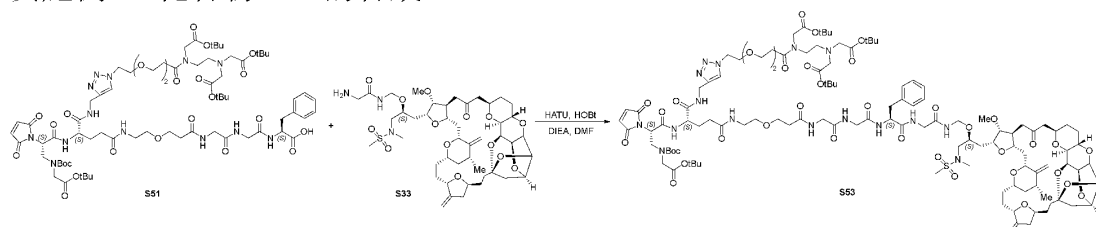
物 **S52**。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+H+Na]^{2+}$ : 1223.8。

实施例 68 化合物 **L-12** 的合成



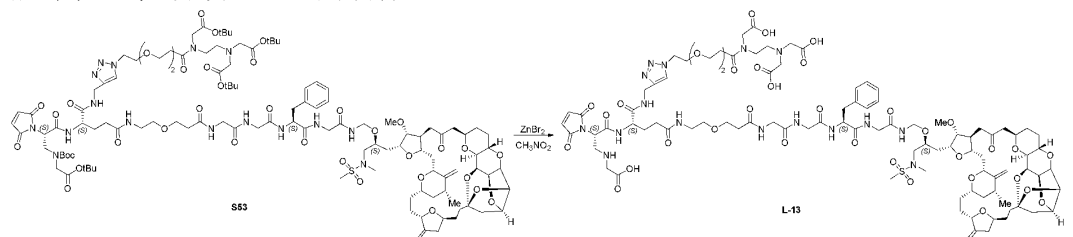
于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **S52** (19 mg, 0.0078 mmol, 1.0 eq), 硝基甲烷(2 mL)溶清, 再加入溴化锌(124 mg, 0.548 mmol, 70.0 eq), 室温反应 45 分钟, 反应液减压浓缩得到粗品。粗品经反相制备柱纯化, 制备液冻干得化合物 **L-12** (白色固体, 9.2 mg, 55%) **L-12**: LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+2H]^{2+}$ : 1050.3。

实施例 69 化合物 **S53** 的合成



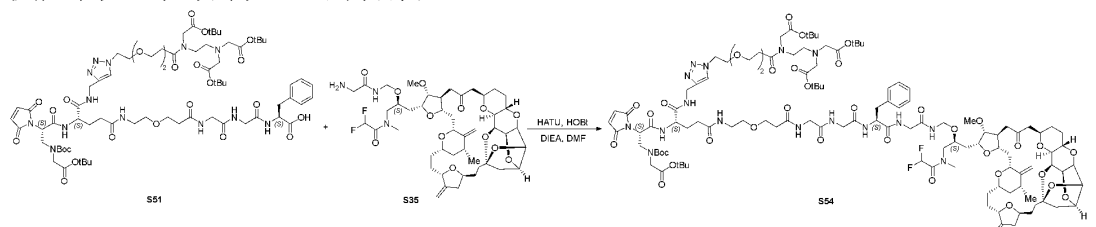
参照实施例 27 的合成方法, 以化合物 **S51** 和化合物 **S33** 为原料合成化合物 **S53**。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+2H]^{2+}$ : 1209.9。

实施例 70 化合物 **L-13** 的合成



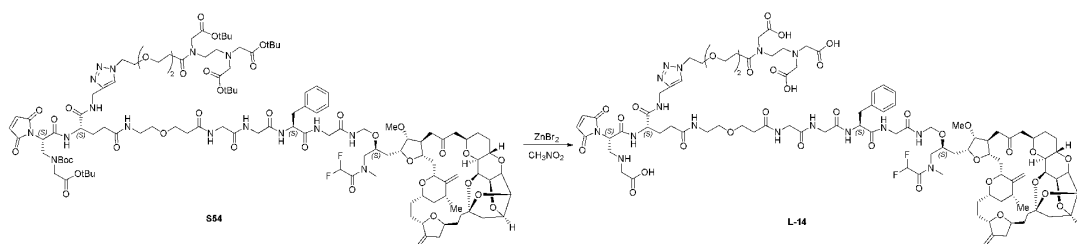
参照实施例 68 的合成方法, 以化合物 **S53** 为原料合成化合物 **L-13**。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+2H]^{2+}$ : 1047.4。

实施例 71 化合物 **S54** 的合成



参照实施例 27 的合成方法, 以化合物 **S51** 和化合物 **S35** 为原料合成化合物 **S54**。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+2H+Na]^{2+}$ : 1220.8。

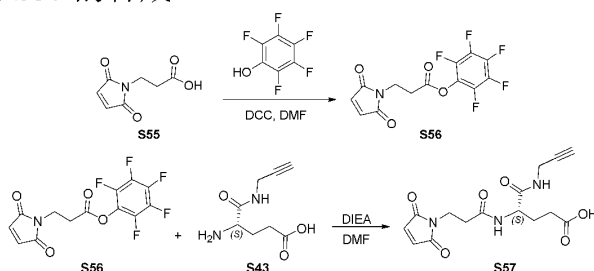
实施例 72 化合物 **L-14** 的合成



参照实施例 68 的合成方法,以化合物 **S54** 为原料合成化合物 **L-14**。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+2H]^{2+}$ : 1047.4。

实施例 73 化合物 **S57** 的合成

5



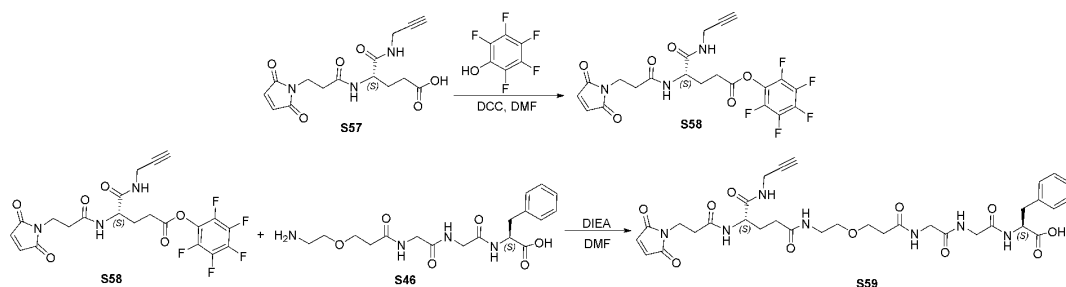
第一步: 化合物 **S56** 的合成

于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **S55**(400 mg, 2.36 mmol, 1.0 eq)、五氟苯酚 (479 mg, 2.60 mmol, 1.1 eq)、DCC(537 mg, 2.60 mmol, 1.1 eq)及 DMF(4 mL), 室温反应 4 小时, TLC 监测反应完全。将反应液过滤得化合物 **S56** 的粗品滤液备用。

第二步: 化合物 **S57** 的合成

将化合物 **S43**(436 mg, 2.36 mmol, 1.0 eq) 和 DMF(7 mL)加入上述化合物 **S56** 的粗品滤液,于冰浴下加入 DIEA(412  $\mu$ L, 2.36 mmol, 1.0 eq),加毕升至室温反应 2 小时。HPLC 监测反应完全,将反应液以反相制备柱纯化,制备液冻干得化合物 **S57**(白色固体, 649 mg, 82%)。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+Na]^+$ : 358.2。

实施例 74 化合物 **S59** 的合成

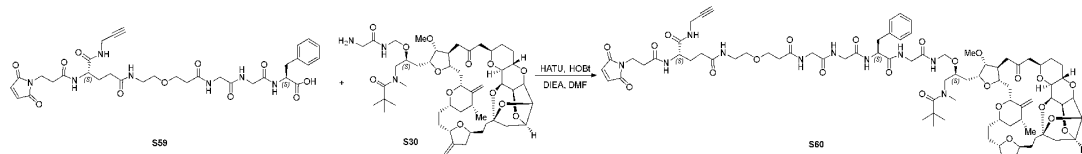


20

参照实施例 64 的合成方法,以化合物 **S57** 和化合物 **S46** 为原料合成化合物 **S59**。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+H]^+$ : 712.0。

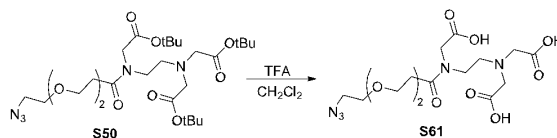
实施例 75 化合物 **S60** 的合成





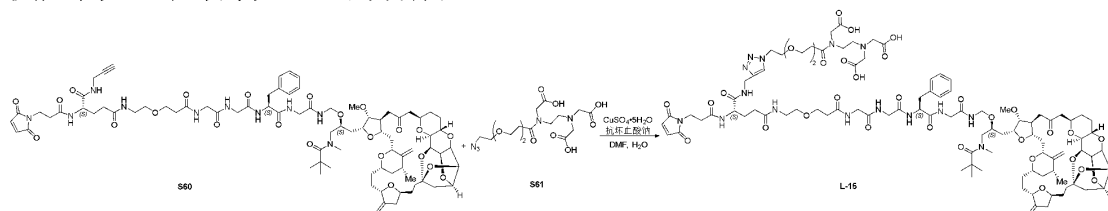
参照实施例 27 的合成方法, 以化合物 **S59** 和化合物 **S30** 为原料合成化合物 **S60**。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+2H]^{2+}$ : 804.4。

实施例 76 化合物 **S61** 的合成



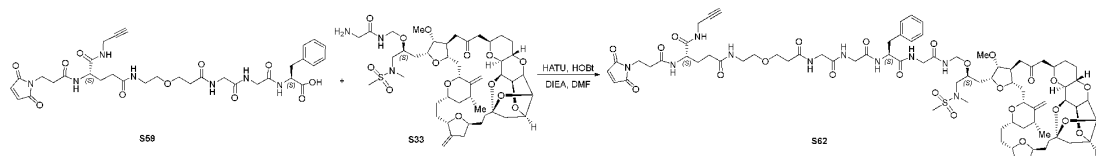
将化合物 **S50** (201 mg, 0.342 mmol, 1.0 eq) 以干燥二氯甲烷(4 mL)溶解, 加入三氟乙酸(800  $\mu$ L), 加毕于室温下反应。30 小时后反应液减压浓缩, 粗品经反相制备柱纯化, 制备液冻干得化合物 **S61** (白色固体, 98 mg, 69%)。LC-MS  $m/z$  ( $ES^-$ ):  $[M-H]^-$ : 418.2。

实施例 77 化合物 **L-15** 的合成



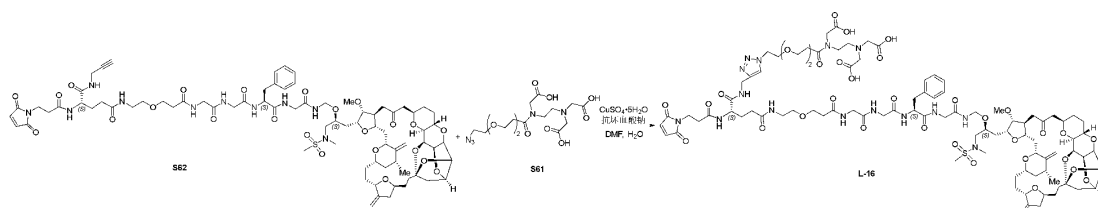
于 25 mL 单口瓶中加入化合物 **S60**(25 mg, 0.016 mmol, 1.0 eq)、化合物 **S61** (7.8 mg, 0.019 mmol, 1.2 eq)、五水硫酸铜(19 mg, 0.078 mmol, 5.0 eq)、抗坏血酸钠(15 mg, 0.078 mmol, 5.0 eq)和 DMF(2 mL), 于冰浴下加入水(1 mL), 加毕后于室温下反应。30 分钟后 HPLC 显示反应完全, 将反应液以反相制备柱纯化, 制备液冻干得化合物 **L-15** (白色固体, 21 mg, 66%)。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+H+Na]^{2+}$ : 1024.9。

实施例 78 化合物 **S62** 的合成



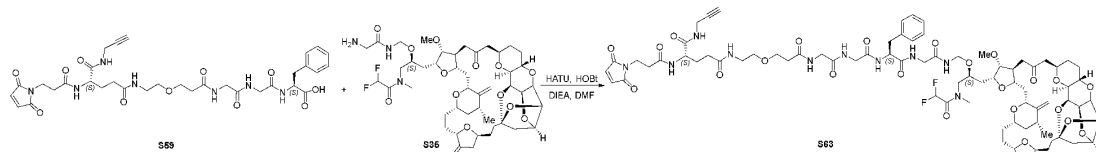
参照实施例 27 的合成方法, 以化合物 **S59** 和化合物 **S33** 为原料合成化合物 **S62**。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+2H]^{2+}$ : 801.3。

实施例 79 化合物 **L-16** 的合成



参照实施例 77 的合成方法, 以化合物 **S62** 和化合物 **S61** 为原料合成化合物 **L-16**。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+H+NH_4]^{2+}$ : 1019.5。

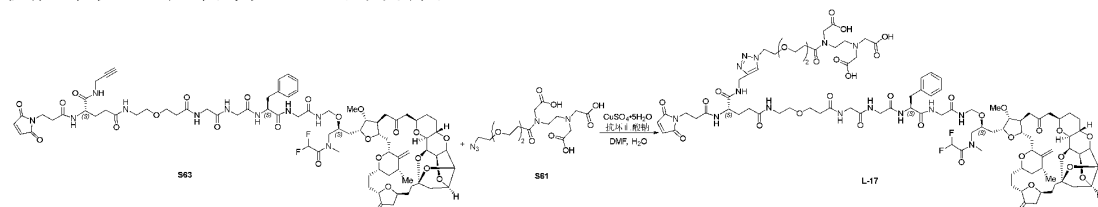
实施例 80 化合物 **S63** 的合成



5

参照实施例 27 的合成方法, 以化合物 **S59** 和化合物 **S35** 为原料合成化合物 **S63**。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+2H]^{2+}$ : 801.0。

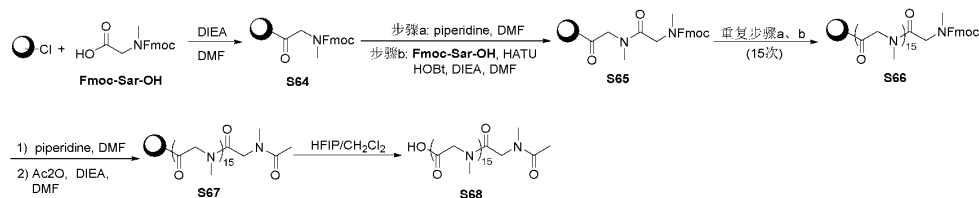
实施例 81 化合物 **L-17** 的合成



10

参照实施例 77 的合成方法, 以化合物 **S63** 和化合物 **S61** 为原料合成化合物 **L-17**。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+2H]^{2+}$ : 1010.9。

实施例 82 化合物 **S68** 的合成



15

第一步: 树脂负载将 4.6 g 2-氯三苯甲基氯树脂珠粒(1.05 mmol/g)称入树脂反应器, 于 DMF 中溶胀 1 小时。溶胀结束后滤掉溶剂, 向树脂中加入 Fmoc-肌氨酸(1.5 g, 4.8 mmol, 1.0 eq)和 DIEA(1.7 mL, 9.6 mmol, 2.0 eq)的 DMF 溶液 (30 mL), 将树脂反应器于室温下振荡 4 小时。滤干后以 MeOH/DIEA/DMF(5 mL/2.5 mL/25 mL)封闭树脂 30 分钟, 然后以 DMF 充分洗涤树脂 (8 次), 得到化合物 **S64**。

20

第二步: 聚肌氨酸化合物的延伸

步骤 a: 将树脂用哌啶/DMF (6 mL/24 mL)处理 2 次, 每次 20 分钟。然后用 DMF 洗涤树脂 (8 次)。

步骤 b: 向树脂中加入 Fmoc-肌氨酸(4.5 g, 14.4 mmol, 3.0 eq)、HATU(5.5 g,

14.4 mmol, 3.0 eq)、HOBt(1.9 g, 14.4 mmol, 3.0 eq)和 DIEA(4.2 mL, 24 mmol, 5.0 eq)的 DMF 溶液(30 mL), 将树脂反应器于室温下振荡 2 小时。然后用 DMF 洗涤树脂 (8 次)。

重复步骤 a、b 至树脂上聚肌氨酸化合物长度达到 16 肽, 得到化合物 **S66**。

### 5 第三步: 乙酰化

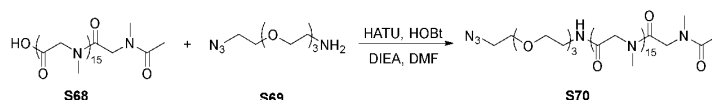
将树脂用哌啶/DMF (6 mL/24 mL)处理 2 次, 每次 20 分钟。然后用 DMF 洗涤树脂 (8 次)。

随后将树脂用乙酸酐/DIEA/DMF (5 mL/10 mL/15 mL)处理 2 次, 每次 1 小时。然后用 DMF 洗涤树脂 (8 次), 得到化合物 **S67**。

### 10 第四步: 树脂裂解

用 HFIP/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(6 mL/24 mL)溶液从树脂裂解聚肌氨酸低聚物, 进行 30 分钟。过滤树脂, 滤液减压浓缩后的粗品以反相制备柱纯化, 制备液冻干得化合物 **S68** (白色固体, 1.7 g, 30%)。LC-MS m/z (ES<sup>+</sup>): [M+2NH<sub>4</sub>]<sup>2+</sup>: 616.4。

实施例 83 化合物 **S70** 的合成

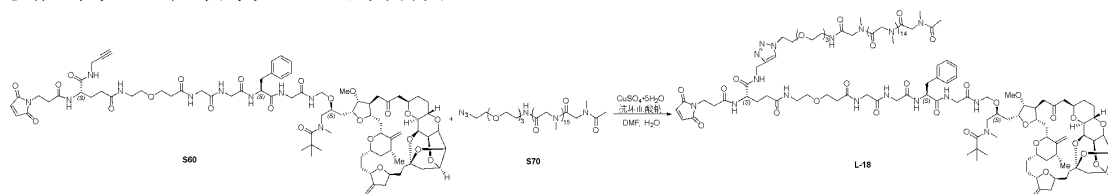


15

向 25 mL 单口瓶中依次加入化合物 **S68** (93 mg, 0.078 mmol, 1.0 eq)、**S69** (17 mg, 0.078 mmol, 1.0 eq)、HATU (45 mg, 0.117 mmol, 1.5 eq)、HOBt (16 mg, 0.117 mmol, 1.5 eq)和干燥 DMF (2.5 mL), 溶解均匀后于冰浴下滴加 DIEA (27 μL, 0.156 mmol, 2.0 eq), 加毕后升至室温反应。1 小时后 HPLC 显示反应完全, 反应液经反相制备柱纯化, 制备液冻干得化合物 **S70** (白色固体, 80 mg, 73%)。LC-MS m/z (ES<sup>+</sup>): [M+H]<sup>+</sup>: 1397.1。

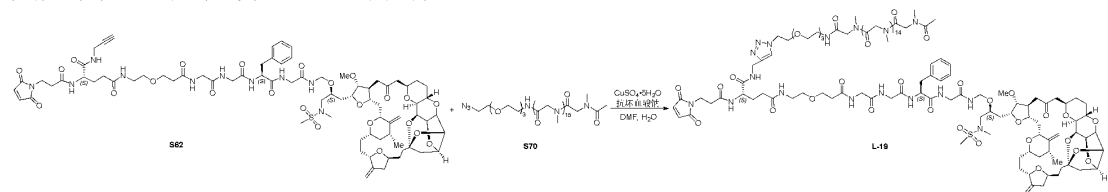
20

实施例 84 化合物 **L-18** 的合成

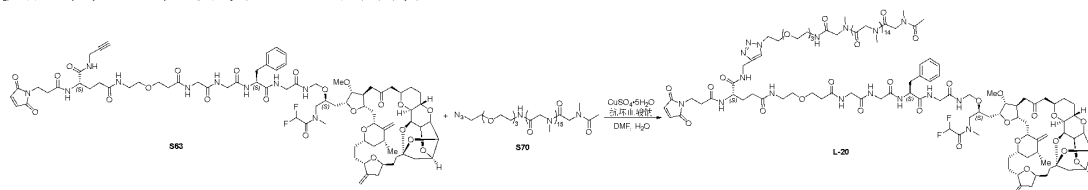


25 参照实施例 77 的合成方法, 以化合物 **S60** 和化合物 **S70** 为原料合成化合物 **L-18**。TOF m/z: [M+Na]<sup>+</sup>: 3026.5。

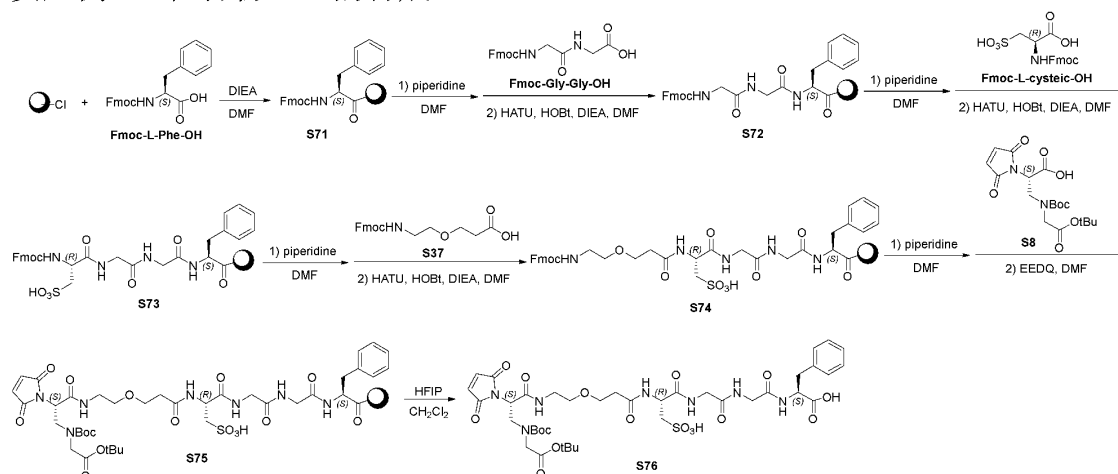
实施例 85 化合物 **L-19** 的合成



30 参照实施例 77 的合成方法, 以化合物 **S62** 和化合物 **S70** 为原料合成化合物 **L-19**。TOF m/z: [M+Na]<sup>+</sup>: 3020.4。

实施例 86 化合物 **L-20** 的合成

参照实施例 77 的合成方法, 以化合物 **S63** 和化合物 **S70** 为原料合成化合物 **L-20**。TOF  $m/z$ :  $[M+Na]^+$ : 3020.4。

5 实施例 87 化合物 **S76** 的合成

## 第一步: 树脂负载

将 3.7 g 2-氯三苯甲基氯树脂珠粒(1.05 mmol/g)称入树脂反应器, 于 DMF 中溶胀 1 小时。溶胀结束后滤掉溶剂, 向树脂中加入 Fmoc-L-苯丙氨酸(1.5 g, 3.9 mmol, 1.0 eq)和 DIEA(1.3 mL, 7.7 mmol, 2.0 eq)的 DMF 溶液(30 mL), 将树脂反应器于室温下振荡 4 小时。滤干后以 MeOH/DIEA/DMF(5 mL/2.5 mL/25 mL)封闭树脂 30 分钟, 然后以 DMF 充分洗涤树脂 (8 次), 得到化合物 **S71**。

## 第二步: 肽链的延伸

将树脂用哌啶/DMF (6 mL/24 mL)处理 2 次, 每次 20 分钟, 然后用 DMF 充分洗涤树脂 (8 次)。向树脂中加入 Fmoc-甘氨酸-甘氨酸(4.1 g, 11.6 mmol, 3.0 eq)、HATU(4.4 g, 11.6 mmol, 3.0 eq)、HOBt(1.6 g, 11.6 mmol, 3.0 eq)和 DIEA(3.4 mL, 19.4 mmol, 5.0 eq)的 DMF 溶液(30 mL), 将树脂反应器于室温下振荡 2 小时。然后用 DMF 洗涤树脂 (8 次), 得到化合物 **S72**。

将树脂用哌啶/DMF (6 mL/24 mL)处理 2 次, 每次 20 分钟, 然后用 DMF 充分洗涤树脂 (8 次)。向树脂中加入 Fmoc-磺基丙氨酸(4.5 g, 11.6 mmol, 3.0 eq)、HATU(4.4 g, 11.6 mmol, 3.0 eq)、HOBt(1.6 g, 11.6 mmol, 3.0 eq)和 DIEA(3.4 mL, 19.4 mmol, 5.0 eq)的 DMF 溶液(30 mL), 将树脂反应器于室温下振荡 4 小时。然后用 DMF 洗涤树脂 (8 次), 得到化合物 **S73**。

将树脂用哌啶/DMF (6 mL/24 mL)处理 2 次, 每次 20 分钟, 然后用 DMF 充分洗涤树脂 (8 次)。向树脂中加入化合物 **S37**(4.1 g, 11.6 mmol, 3.0 eq)、HATU(4.4 g, 11.6 mmol, 3.0 eq)、HOBT(1.6 g, 11.6 mmol, 3.0 eq)和 DIEA(3.4 mL, 19.4 mmol, 5.0 eq)的 DMF 溶液(30 mL), 将树脂反应器于室温下振荡 4 小时。

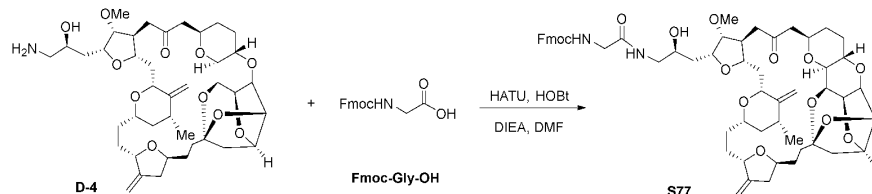
5 然后用 DMF 洗涤树脂 (8 次), 得到化合物 **S74**。

将树脂用哌啶/DMF (6 mL/24 mL)处理 2 次, 每次 20 分钟, 然后用 DMF 充分洗涤树脂 (8 次)。向树脂中加入化合物 **S8**(4.6 g, 11.6 mmol, 3.0 eq)和 EEDQ(2.9 g, 11.6 mmol, 3.0 eq)的 DMF 溶液(30 mL), 将树脂反应器于室温下振荡 4 小时。然后用 DMF 洗涤树脂 (8 次), 得到化合物 **S75**。

10 第三步: 树脂裂解

用 HFIP/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(6 mL/24 mL)处理树脂 30 分钟。过滤树脂, 滤液减压浓缩后的粗品以反相制备柱纯化, 制备液冻干得化合物 **S76** (白色固体, 836 mg, 23%)。LC-MS m/z (ES<sup>-</sup>): [M-H]<sup>-</sup>: 924.2。

实施例 88 化合物 **S77** 的合成

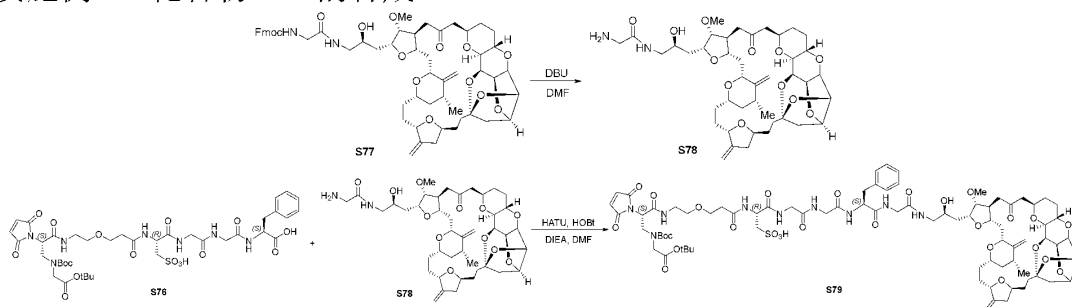


15

向 25 mL 单口瓶中依次加入化合物 **D-4** (50 mg, 0.069 mmol, 1.0 eq)、Fmoc-甘氨酸(31 mg, 0.103 mmol, 1.5 eq)、HATU (39 mg, 0.103 mmol, 1.5 eq)、HOBT (14 mg, 0.103 mmol, 1.5 eq)和干燥 DMF (3 mL), 溶解均匀后于冰浴下滴加 DIEA (24 μL, 0.137 mmol, 2.0 eq), 加毕后升至室温反应。1 小时后 HPLC 显示反应完全, 反应液经反相制备柱纯化, 制备液冻干得化合物 **S77** (白色固体, 58 mg, 84%)。LC-MS m/z (ES<sup>+</sup>): [M+H]<sup>+</sup>: 1009.2。

20

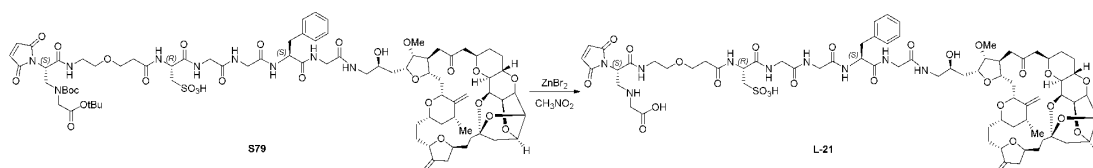
实施例 89 化合物 **S79** 的合成



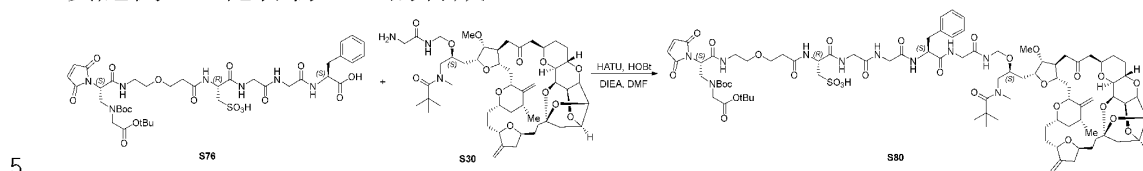
25

参照实施例 26、27 的合成方法, 以化合物 **S77** 和化合物 **S76** 为原料合成化合物 **S79**。LC-MS m/z (ES<sup>+</sup>): [M-100+2H]<sup>2+</sup>: 797.9 (为化合物 **S79** 掉 Boc 保护基后加氢离子的碎片离子响应)。

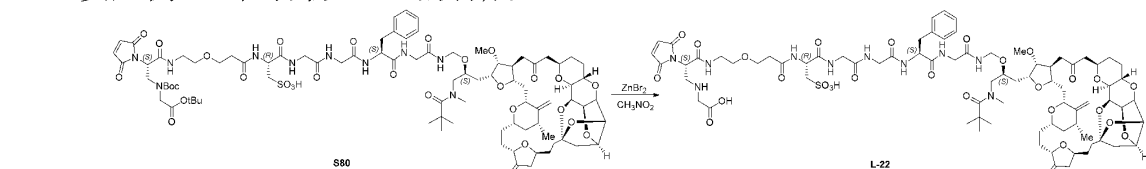
实施例 90 化合物 **L-21** 的合成



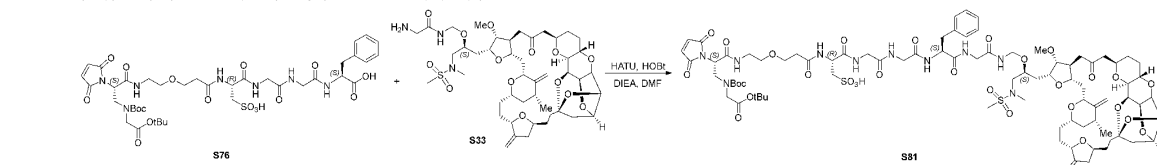
参照实施例 28 的合成方法, 以化合物 **S79** 为原料合成化合物 **L-21**。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+2H]^{2+}$ : 769.8  
 实施例 91 化合物 **S80** 的合成



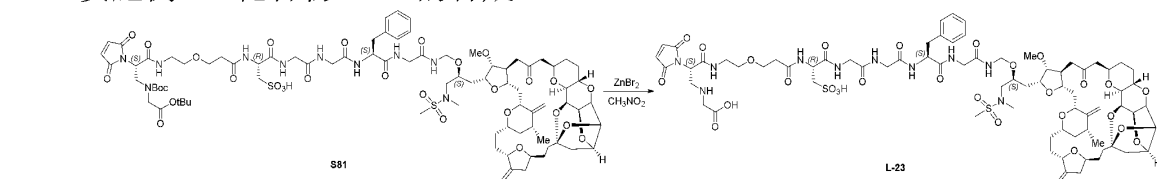
参照实施例 27 的合成方法, 以化合物 **S76** 和化合物 **S30** 为原料合成化合物 **S80**。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+2H]^{2+}$ : 911.5。  
 实施例 92 化合物 **L-22** 的合成



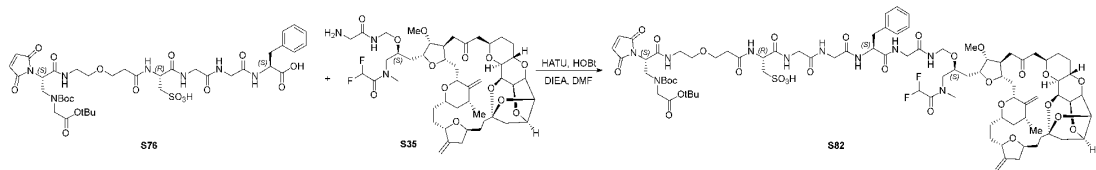
参照实施例 28 的合成方法, 以化合物 **S80** 为原料合成化合物 **L-22**。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+2H]^{2+}$ : 833.4。  
 实施例 93 化合物 **S81** 的合成



参照实施例 27 的合成方法, 以化合物 **S76** 和化合物 **S33** 为原料合成化合物 **S81**。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+2H]^{2+}$ : 908.4。  
 实施例 94 化合物 **L-23** 的合成

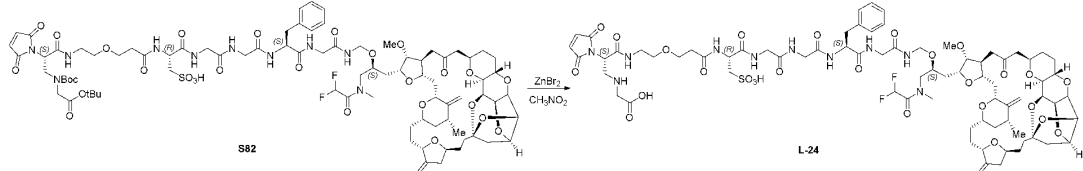


参照实施例 28 的合成方法, 以化合物 **S81** 为原料合成化合物 **L-23**。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+2H]^{2+}$ : 830.3。  
 实施例 95 化合物 **S82** 的合成



参照实施例 27 的合成方法，以化合物 **S76** 和化合物 **S35** 为原料合成化合物 **S82**。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+2H]^{2+}$ : 908.3。

实施例 96 化合物 **L-24** 的合成



5

参照实施例 28 的合成方法，以化合物 **S82** 为原料合成化合物 **L-24**。LC-MS  $m/z$  ( $ES^+$ ):  $[M+2H]^{2+}$ : 830.3。

实施例 97 抗体药物偶联物 **ADC-1** 的制备

10 抗体药物偶联物 **ADC-1** 的制备是化合物 **L-1** 按照通用步骤 A 的方法与抗 Trop2 抗体 TR001 制备得到，TR001 的序列信息见表 2。

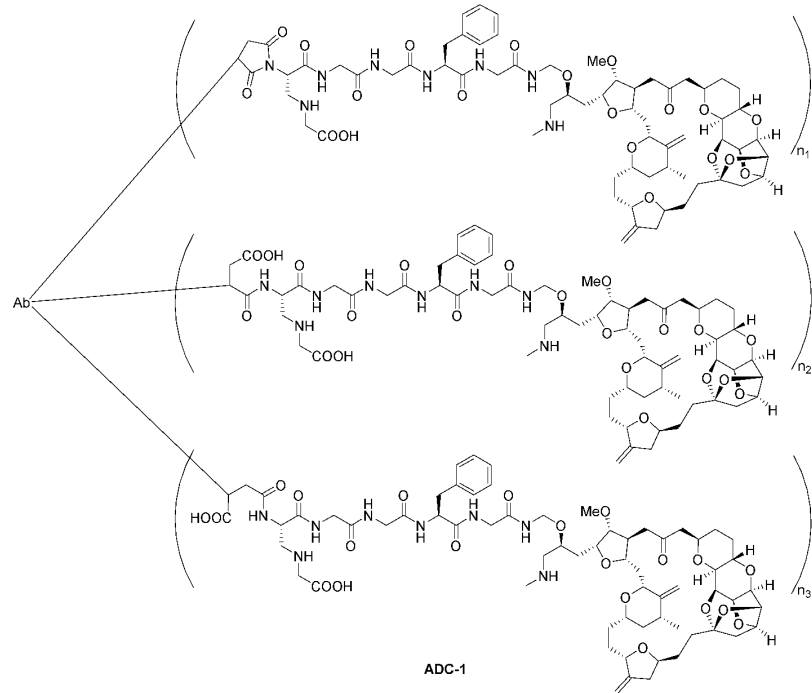


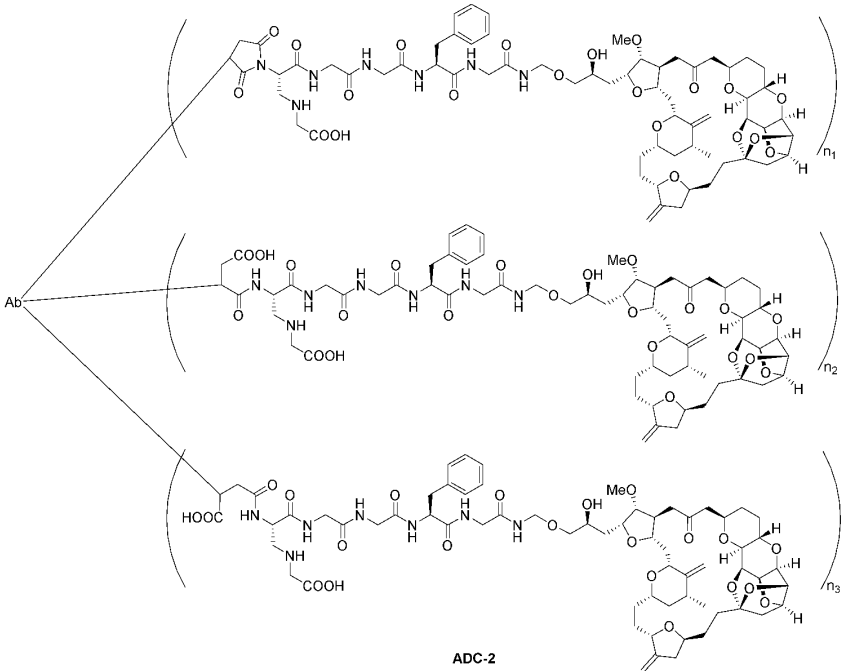
表 2: TR001 序列的描述

|                 |                                                                                                                                                                                                                                  |
|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| TR001 的轻链的氨基酸序列 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQDINKYLAWYQQKPGKVPKLLI<br>YSTSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLPEDVATYYCLQYDDLFTFG<br>QGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQ<br>WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYAC<br>EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| TR001 的重链的氨基酸序列 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTSFDINWVRQAPEQRLEW<br>MGWIFPGDGNKYQKFQGRATITRDTSASTAYMELSSLRSEDATVYY                                                                                                                                |

|  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|--|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | CVRGEALYYFDYWGGQTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL<br>GCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS<br>SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS<br>VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN<br>AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE<br>KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE<br>SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH<br>EALHNHYTQKSLSLSPG |
|--|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

实施例 98 抗体药物偶联物 **ADC-2** 的制备

抗体药物偶联物 **ADC-2** 的制备是化合物 **L-2** 按照通用步骤 A 的方法与抗 Trop2 抗体 TR001 制备得到。



5 实施例 99 抗体药物偶联物 **ADC-3** 的制备

抗体药物偶联物 **ADC-3** 的制备是化合物 **L-1** 按照通用步骤 B 的方法与抗 Trop2 抗体 TR002 制备得到，TR002 的序列信息见表 3。



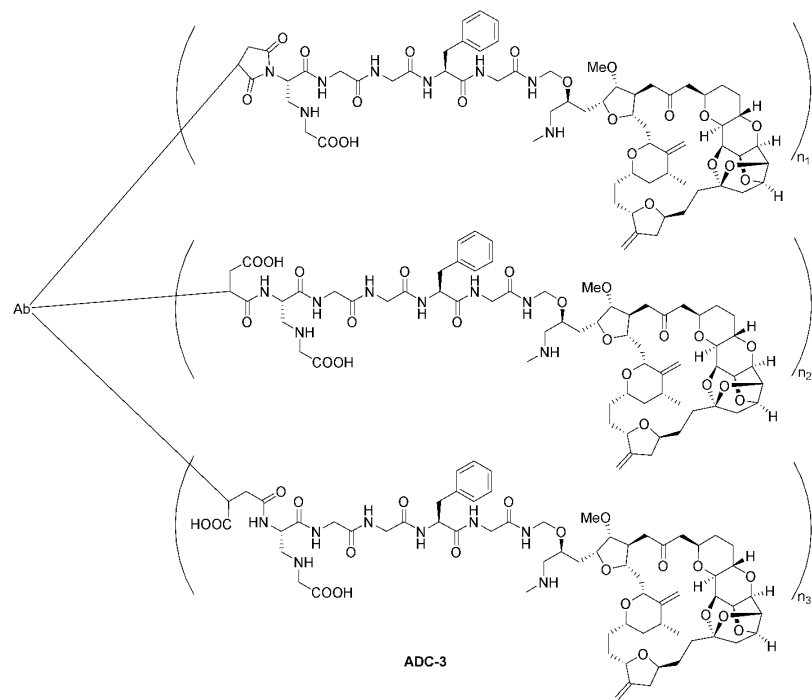
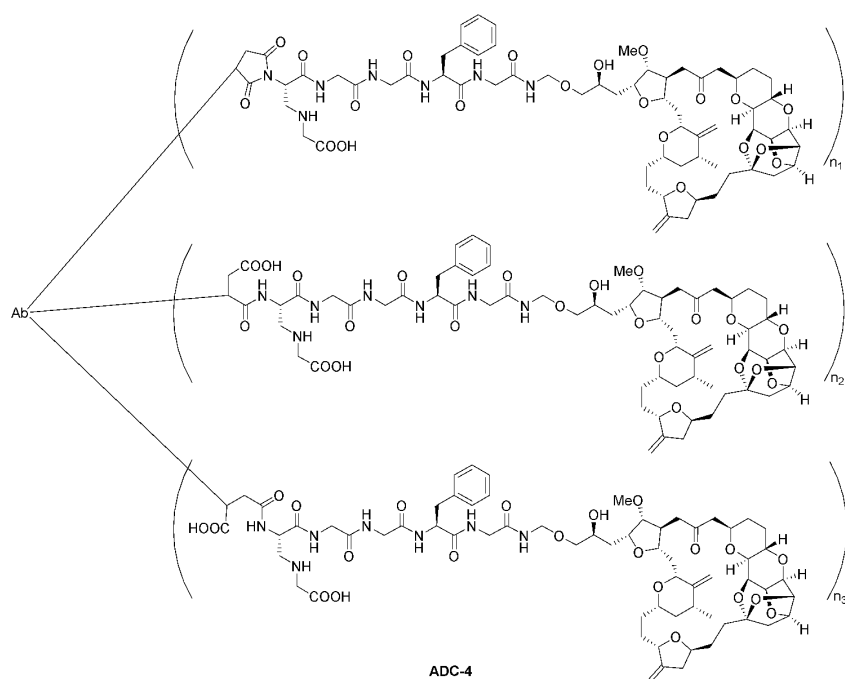


表 3: TR002 序列的描述

|                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| TR002 的轻链的氨基酸序列 | DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDINKYLAWYQQKPGKVPKLLI<br>YSTSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLQYDDLFTFG<br>QGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ<br>WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYAC<br>EVTHQGLSSPVCTKSFNREGC                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| TR002 的重链的氨基酸序列 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTSFDINWVRQAPEQRLEW<br>MGWIFPGDGNTKYSQKFQGRATITRDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYY<br>CVRGEALYYFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL<br>GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS<br>SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPS<br>VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN<br>AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE<br>KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE<br>SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH<br>EALHNHYTQKSLSLSPG |

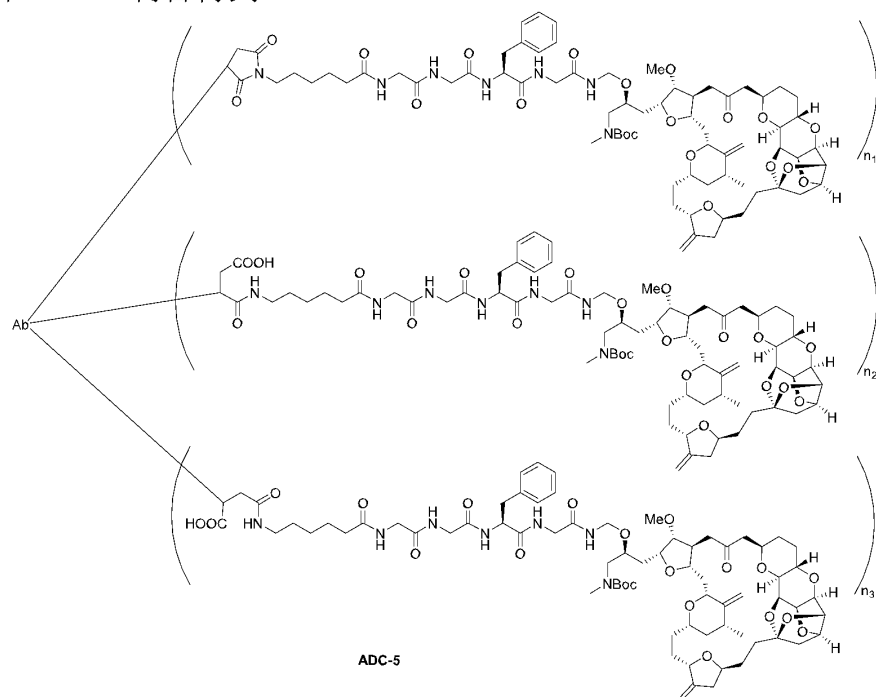
实施例 100 抗体药物偶联物 ADC-4 的制备

抗体药物偶联物 ADC-4 的制备是化合物 L-2 按照通用步骤 B 的方法与抗  
5 Trop2 抗体 TR002 制备得到。



### 实施例 101 抗体药物偶联物 ADC-5 的制备

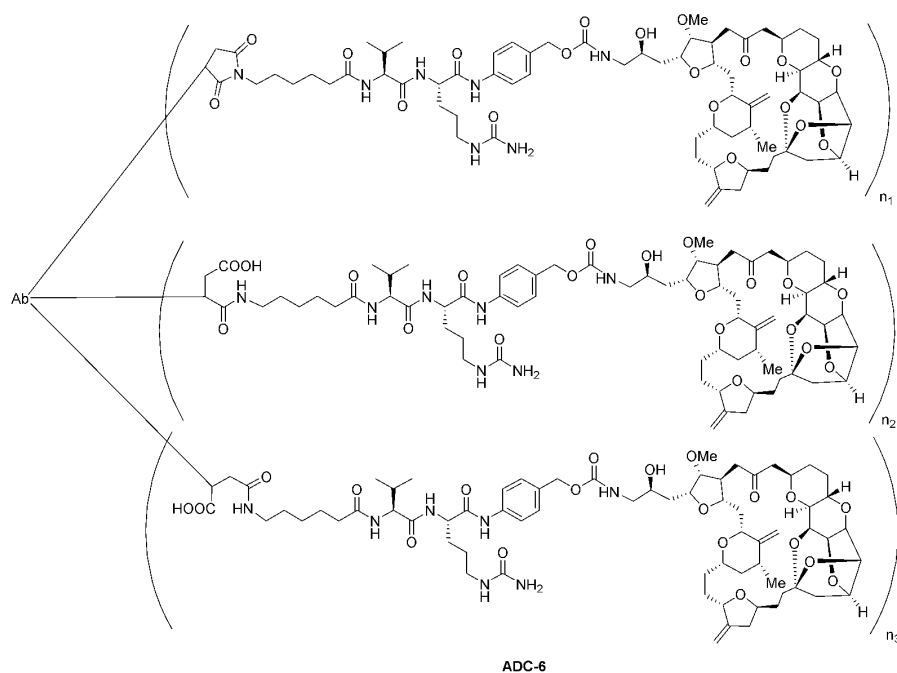
抗体药物偶联物 ADC-5 的制备是化合物 L-3 按照通用步骤 A 的方法与抗 Trop2 抗体 TR001 制备得到。



5

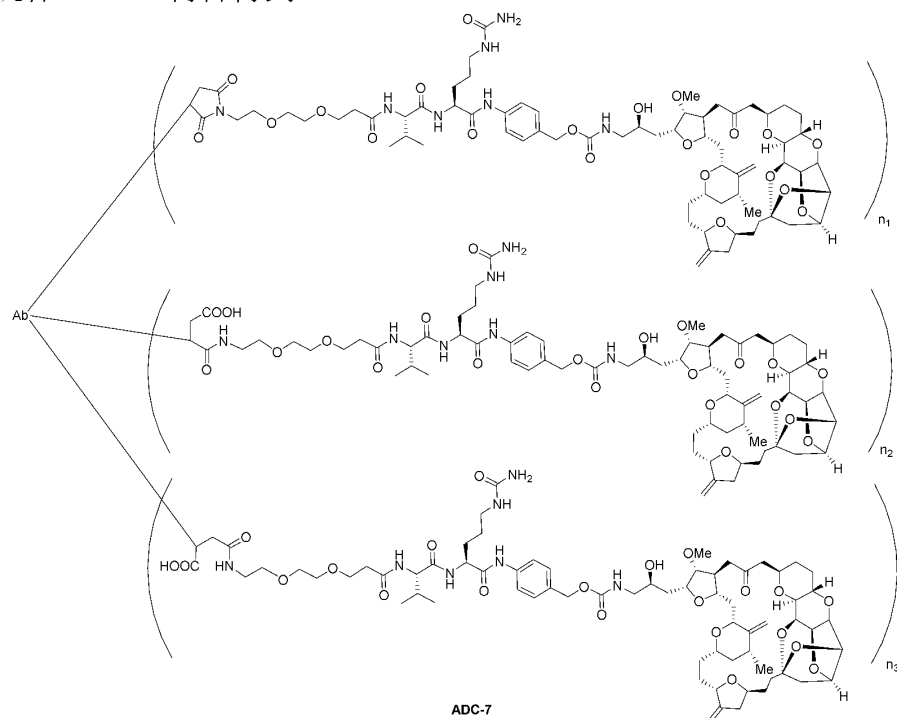
### 实施例 102 抗体药物偶联物 ADC-6 的制备

抗体药物偶联物 ADC-6 的制备是化合物 L-7 按照通用步骤 A 的方法与抗 Trop2 抗体 TR001 制备得到。



### 实施例 103 抗体药物偶联物 ADC-7 的制备

抗体药物偶联物 **ADC-7** 的制备是化合物 **L-8** 按照通用步骤 A 的方法与抗 Trop2 抗体 TR001 制备得到。

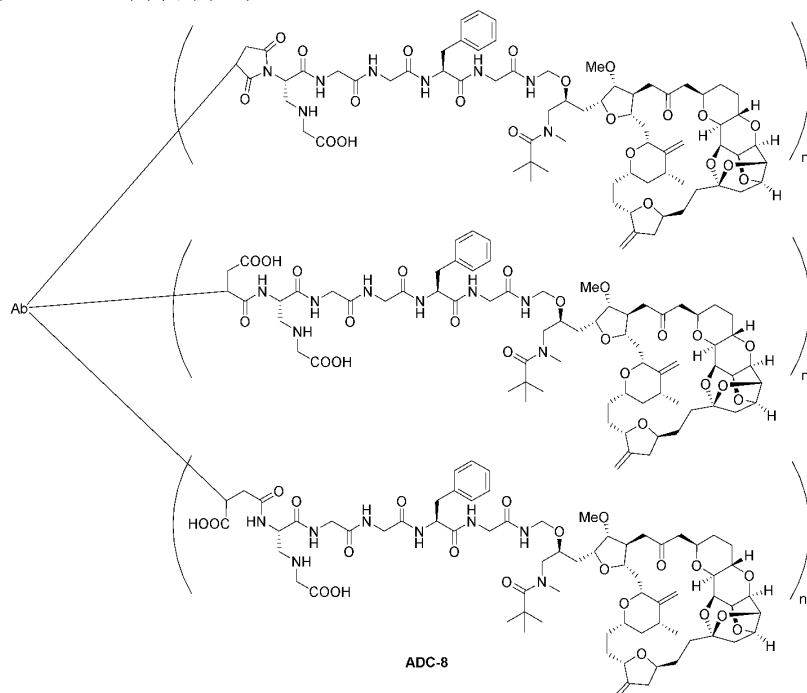


5

### 实施例 104 抗体药物偶联物 ADC-8 的制备

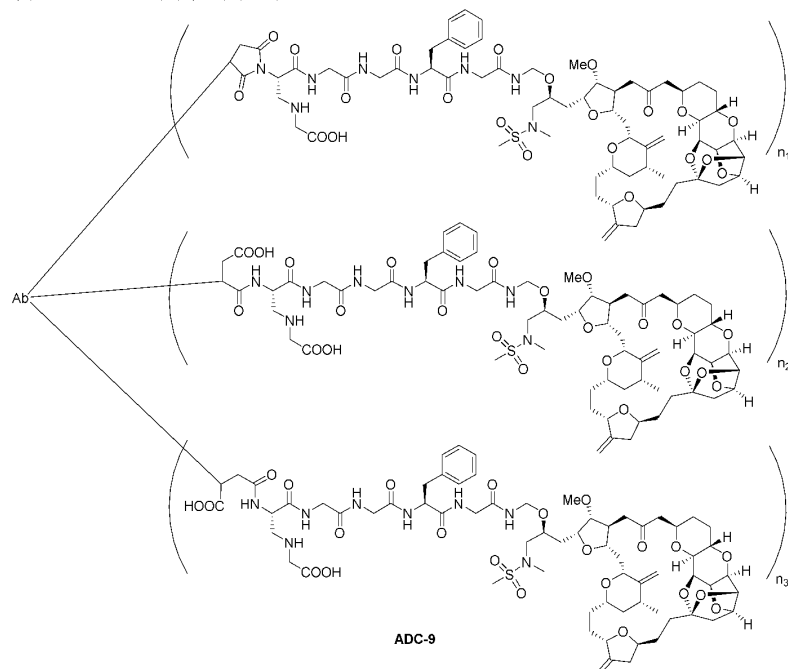
抗体药物偶联物 **ADC-8** 的制备是化合物 **L-9** 按照通用步骤 A 的方法与抗

Trop2 抗体 TR001 制备得到。



实施例 105 抗体药物偶联物 **ADC-9** 的制备

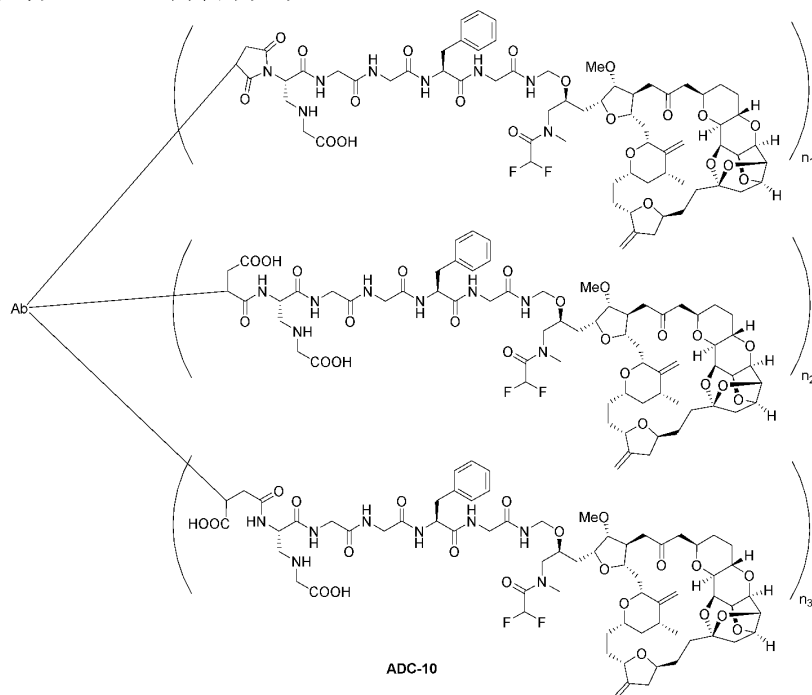
抗体药物偶联物 **ADC-9** 的制备是化合物 **L-10** 按照通用步骤 A 的方法与  
5 抗 Trop2 抗体 TR001 制备得到。



实施例 106 抗体药物偶联物 **ADC-10** 的制备

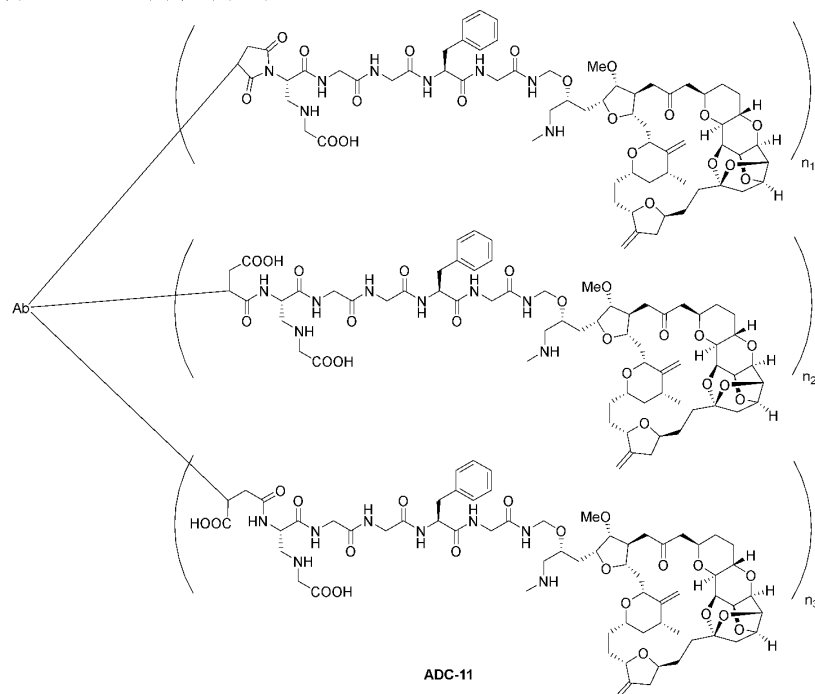
抗体药物偶联物 **ADC-10** 的制备是化合物 **L-11** 按照通用步骤 A 的方法与

抗 Trop2 抗体 TR001 制备得到。



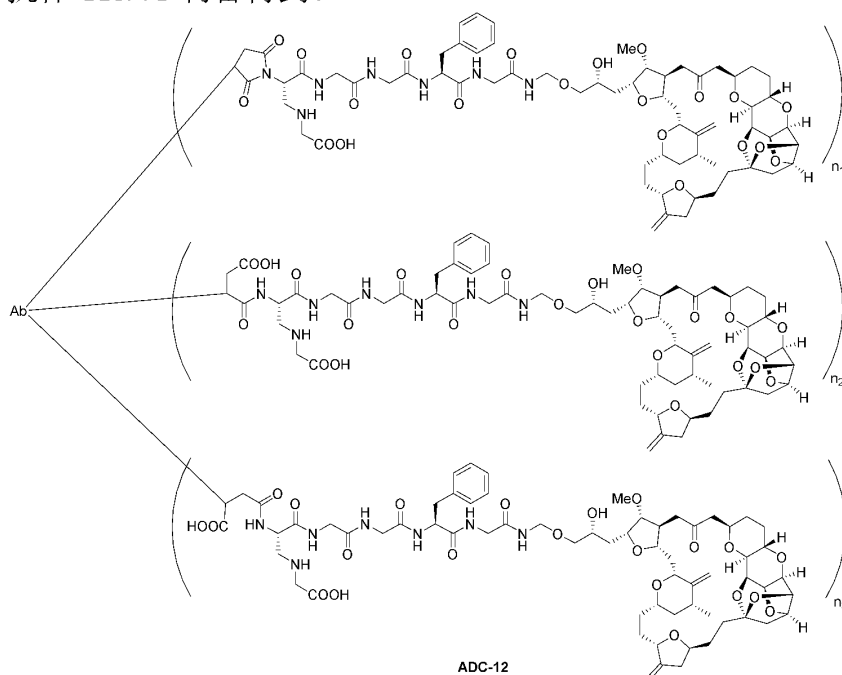
#### 实施例 107 抗体药物偶联物 ADC-11 的制备

抗体药物偶联物 ADC-11 的制备是化合物 L-1' 按照通用步骤 A 的方法与  
5 抗 Trop2 抗体 TR001 制备得到。



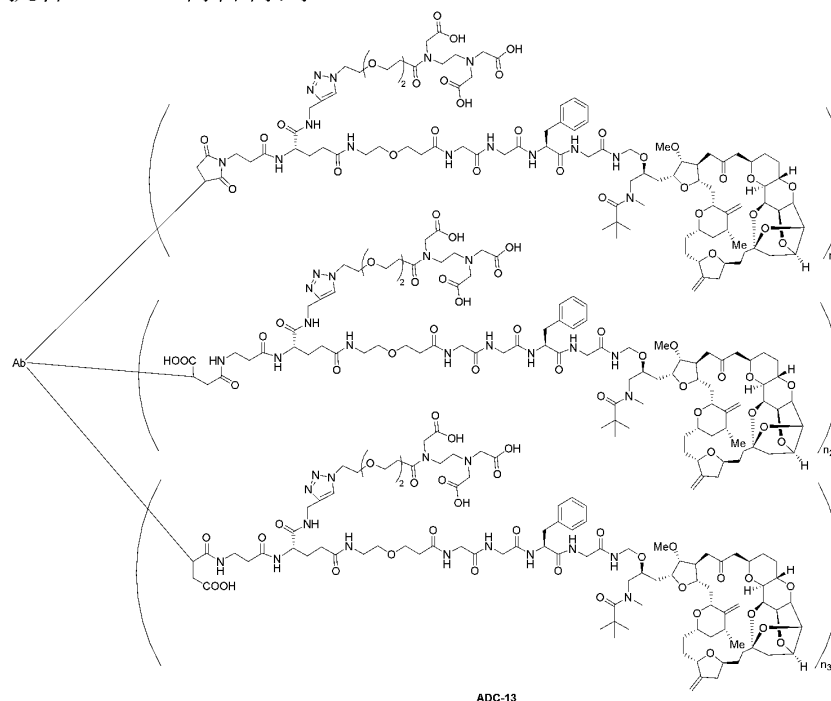
#### 实施例 108 抗体药物偶联物 ADC-12 的制备

抗体药物偶联物 **ADC-12** 的制备是化合物 **L-2'** 按照通用步骤 A 的方法与抗 Trop2 抗体 TR001 制备得到。



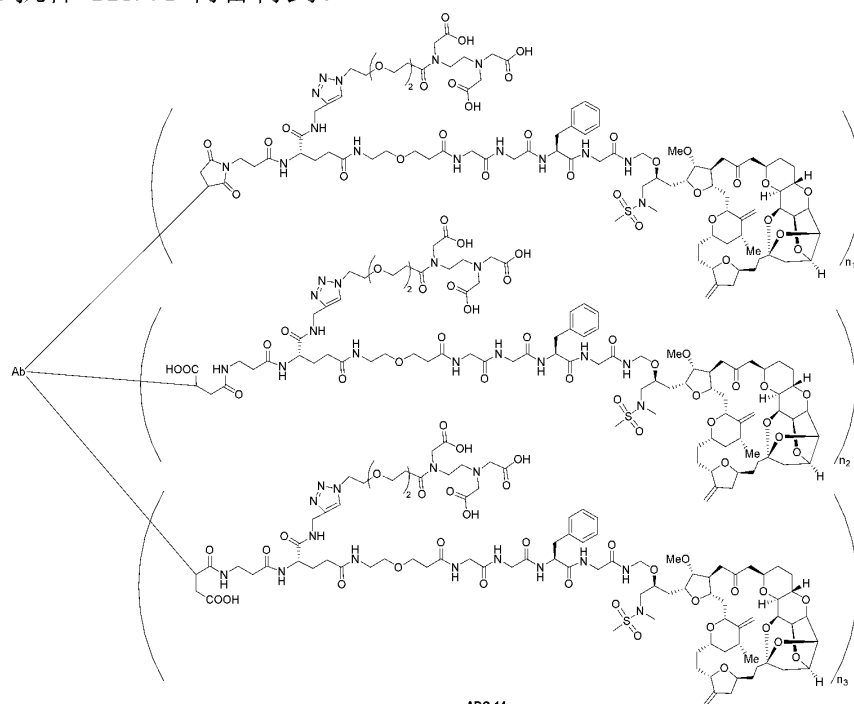
实施例 109 抗体药物偶联物 **ADC-13** 的制备

5 抗体药物偶联物 **ADC-13** 的制备是化合物 **L-15** 按照通用步骤 C 的方法与抗 Trop2 抗体 TR001 制备得到。



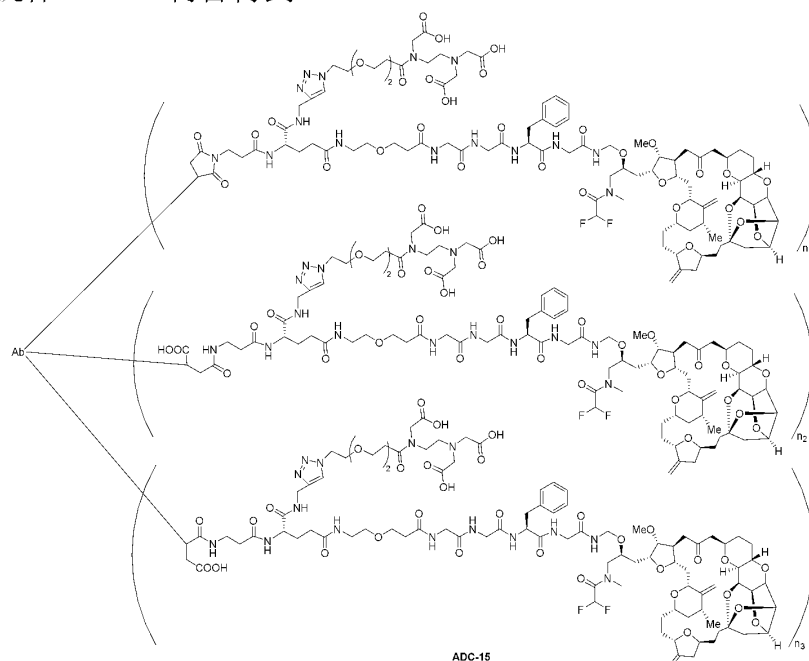
实施例 110 抗体药物偶联物 **ADC-14** 的制备

抗体药物偶联物 **ADC-14** 的制备是化合物 **L-16** 按照通用步骤 C 的方法与抗 Trop2 抗体 TR001 制备得到。



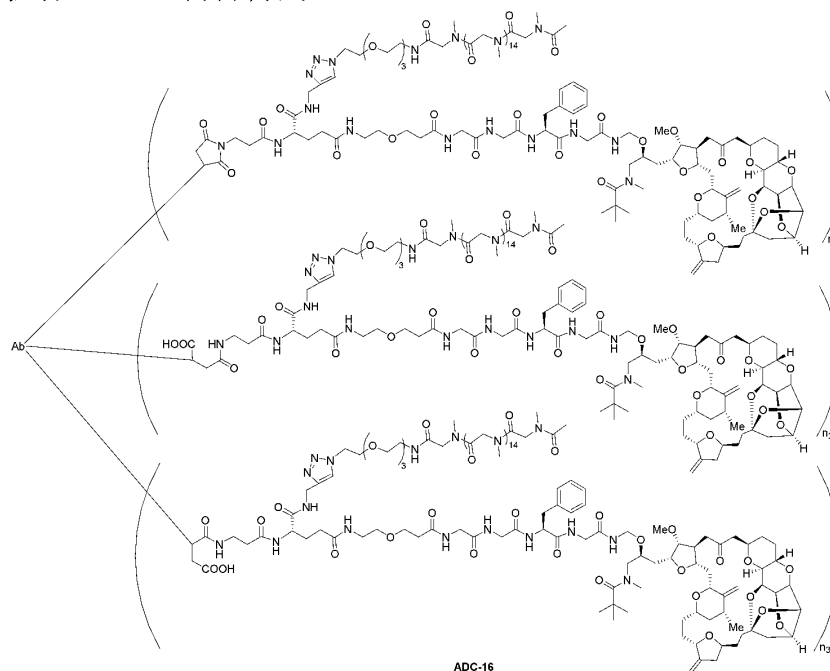
实施例 111 抗体药物偶联物 **ADC-15** 的制备

5 抗体药物偶联物 **ADC-15** 的制备是化合物 **L-17** 按照通用步骤 C 的方法与抗 Trop2 抗体 TR001 制备得到。



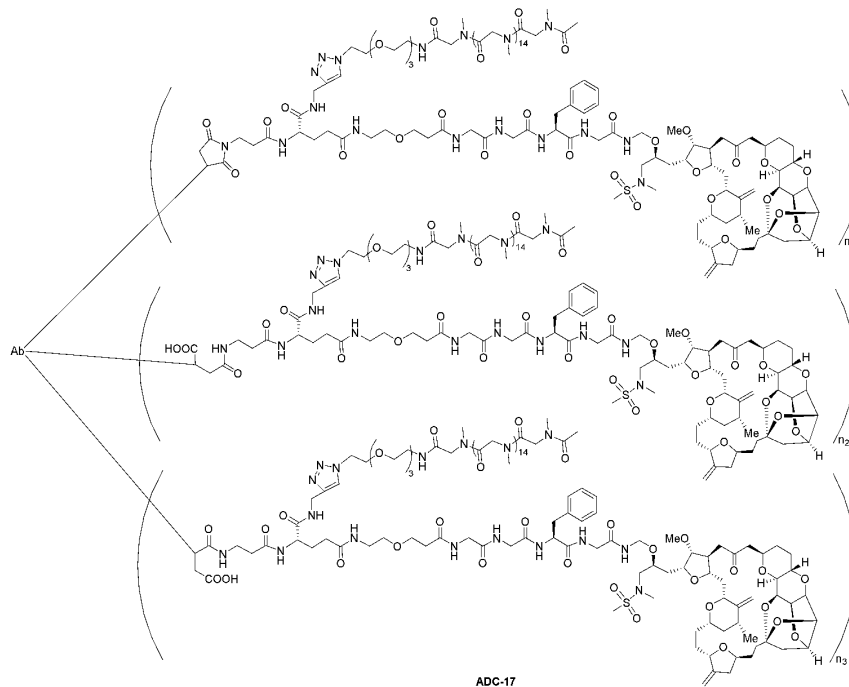
实施例 112 抗体药物偶联物 **ADC-16** 的制备

抗体药物偶联物 **ADC-16** 的制备是化合物 **L-18** 按照通用步骤 C 的方法与抗 Trop2 抗体 TR001 制备得到。



实施例 113 抗体药物偶联物 **ADC-17** 的制备

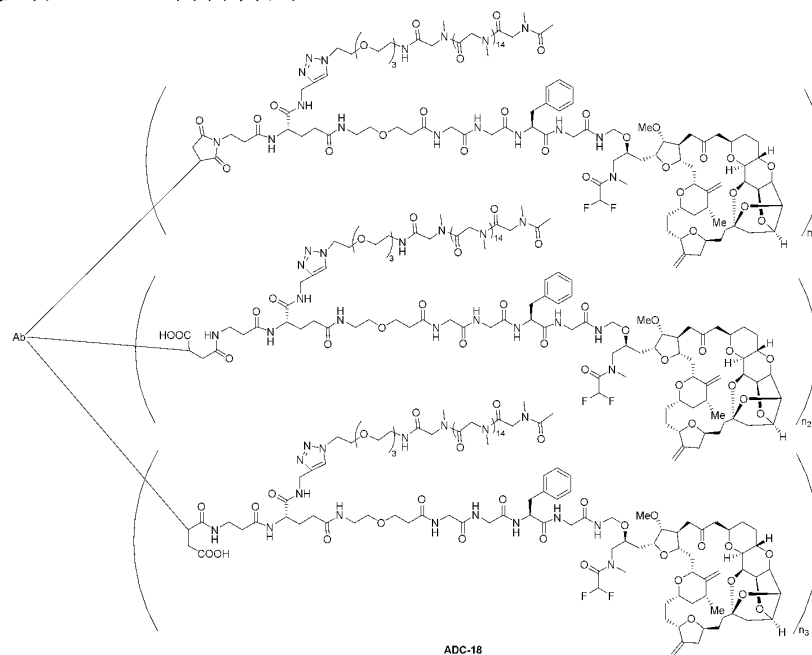
5 抗体药物偶联物 **ADC-17** 的制备是化合物 **L-19** 按照通用步骤 C 的方法与抗 Trop2 抗体 TR001 制备得到。



实施例 114 抗体药物偶联物 **ADC-18** 的制备

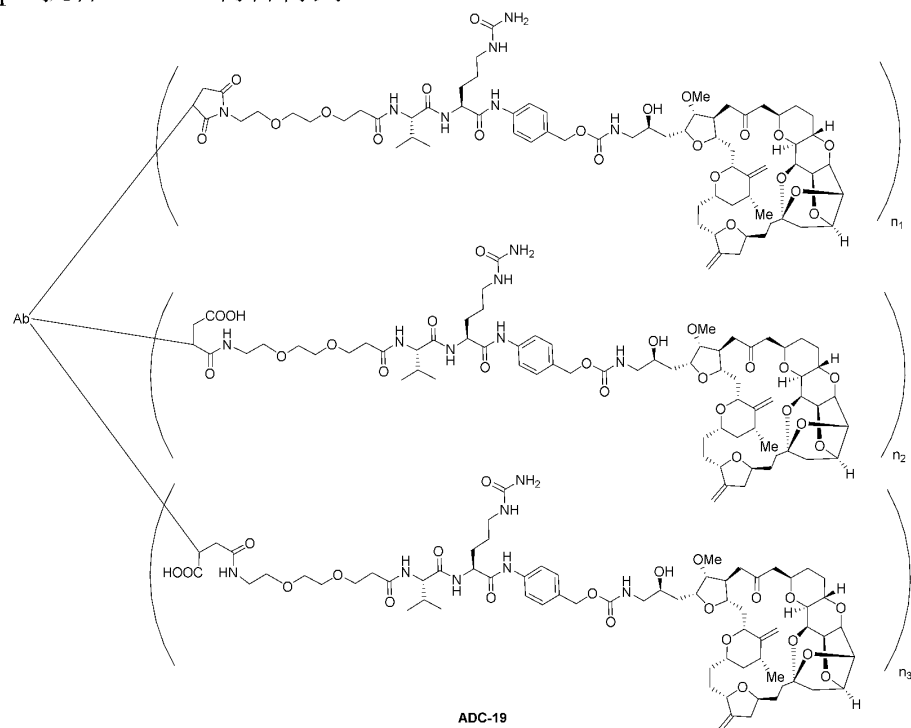


抗体药物偶联物 **ADC-18** 的制备是化合物 **L-20** 按照通用步骤 C 的方法与抗 Trop2 抗体 TR001 制备得到。



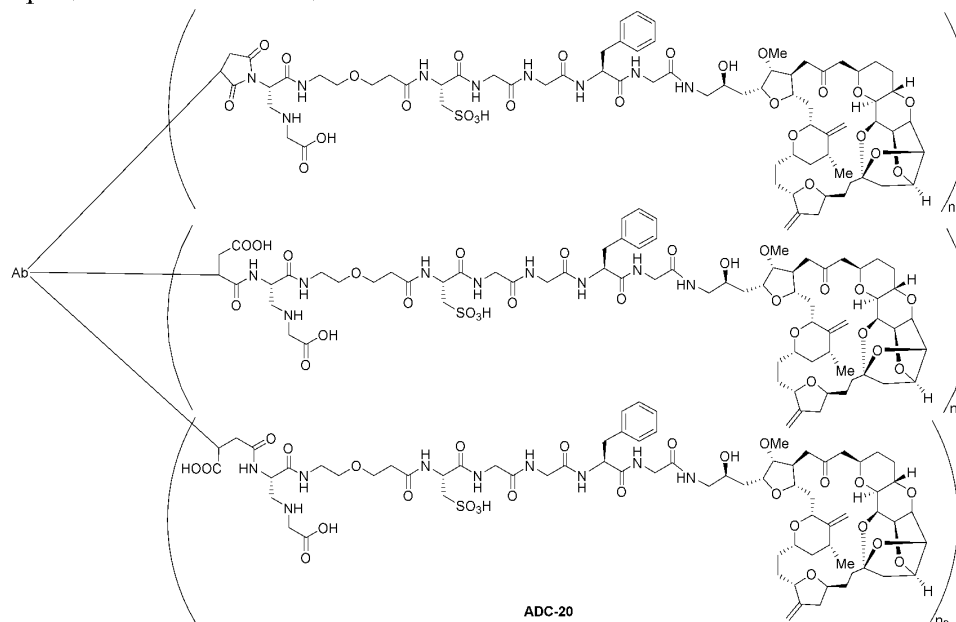
实施例 115 抗体药物偶联物 **ADC-19** 的制备

5 抗体药物偶联物 **ADC-19** 的制备是化合物 **L-8** 按照通用步骤 C 的方法与抗 Trop2 抗体 TR001 制备得到。



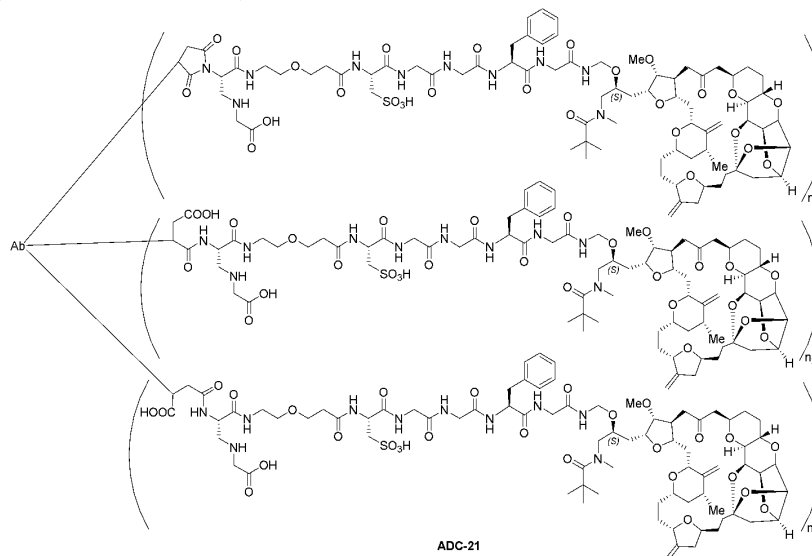
### 实施例 116 抗体药物偶联物 ADC-20 的制备

抗体药物偶联物 ADC-20 的制备是化合物 L-21 按照通用步骤 C 的方法与抗 Trop2 抗体 TR001 制备得到。



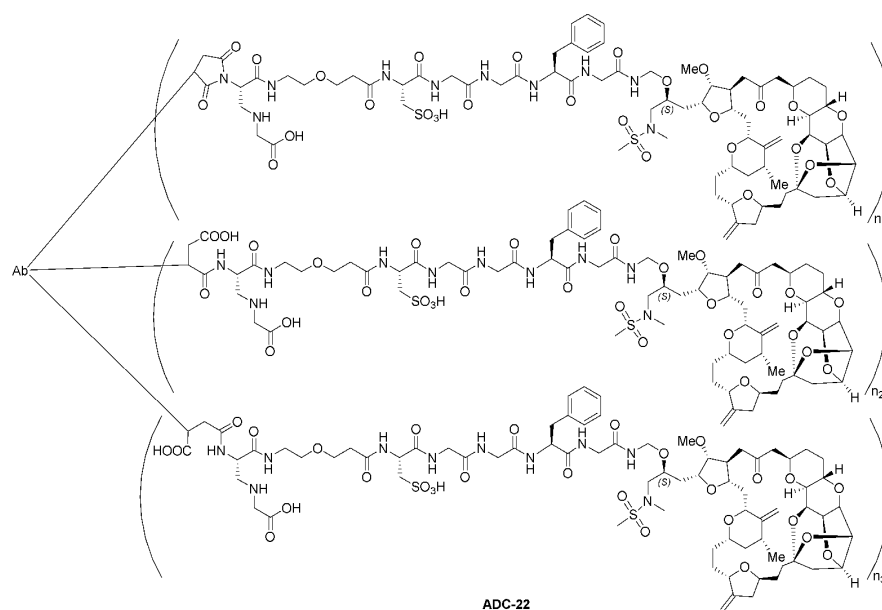
### 5 实施例 117 抗体药物偶联物 ADC-21 的制备

抗体药物偶联物 ADC-21 的制备是化合物 L-22 按照通用步骤 C 的方法与抗 Trop2 抗体 TR001 制备得到。



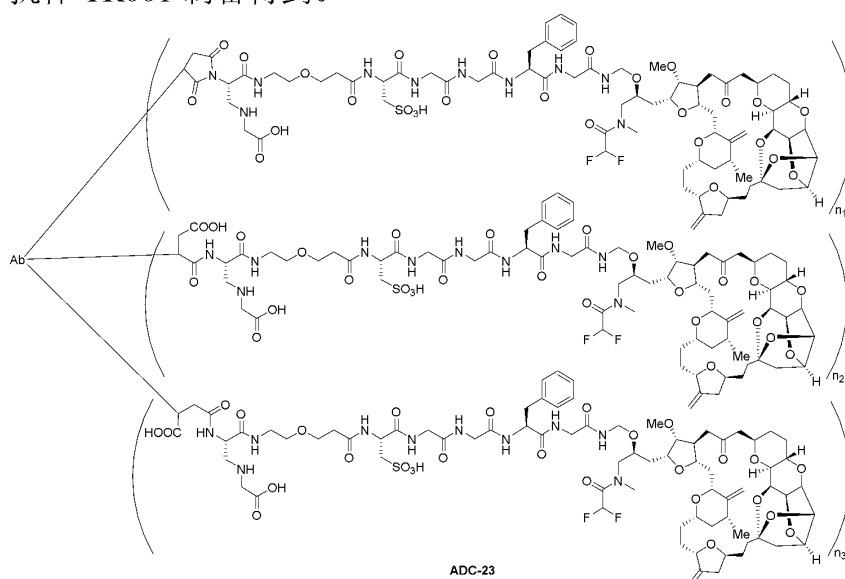
### 实施例 118 抗体药物偶联物 ADC-22 的制备

10 抗体药物偶联物 ADC-22 的制备是化合物 L-23 按照通用步骤 C 的方法与抗 Trop2 抗体 TR001 制备得到。



### 实施例 119 抗体药物偶联物 ADC-23 的制备

抗体药物偶联物 ADC-23 的制备是化合物 L-24 按照通用步骤 C 的方法与抗 Trop2 抗体 TR001 制备得到。



5

### 实施例 120 药物-抗体比例 (DAR) 的测定

#### 反相高效液相色谱 (RP-HPLC) 检测 DAR

配制 RP-HPLC 流动相:

RP 流动相 A: 0.1%TFA 水溶液, RP 流动相 B: 0.1%TFA 乙腈溶液。

10

用样品稀释液将待测样品及对应的抗体对照稀释到 1 mg/mL, 每 98  $\mu$ L 稀释好的样品中加入 2  $\mu$ L DTT 储液, 同时配制 98  $\mu$ L 样品稀释液加 2  $\mu$ L DTT 储液的空白对照, 各样品混匀后, 于 65°C 金属浴中加热 30 分钟。将处理后的

样品 14000 rpm 离心 5 分钟或者用 0.22 μm 滤器过滤以去除样品中大颗粒，并将内插管放于样品瓶中盖好盖子。

将装好样品的样品瓶放与样品板上，按照《UPLC 使用标准操作规程》设置各样品对应的位置、进样体积、进样针数和进样方法。色谱柱型号为 5 Proteomix RP-1000 (4.6\*100 mm, 5 μm)，Sepax。

检测波长为 214 nm 和 280 nm。跑样方法编辑如下：

| 时间 min | 流速 mL/min | RP 流动相 A 的体积百分含量 (%) | RP 流动相 B 的体积百分含量 (%) |
|--------|-----------|----------------------|----------------------|
| 0      | 0.5       | 75                   | 25                   |
| 3      | 0.5       | 75                   | 25                   |
| 28     | 0.5       | 50                   | 50                   |
| 30     | 0.5       | 5                    | 95                   |
| 32     | 0.5       | 5                    | 95                   |
| 33     | 0.5       | 75                   | 25                   |
| 40     | 0.5       | 75                   | 25                   |

表 4：发明公开配体-药物偶联物（ADC）偶联比（DAR）详细数据：

| 化合物编号 | 偶联所得 ADC 编号 | DAR  |
|-------|-------------|------|
| L-1   | ADC-1       | 6.82 |
| L-2   | ADC-2       | 6.08 |
| L-1   | ADC-3       | 1.87 |
| L-2   | ADC-4       | 1.72 |
| L-3   | ADC-5       | 7.20 |
| L-7   | ADC-6       | 6.81 |
| L-8   | ADC-7       | 7.63 |
| L-9   | ADC-8       | 6.97 |
| L-10  | ADC-9       | 7.15 |
| L-11  | ADC-10      | 7.86 |
| L-1'  | ADC-11      | 7.58 |
| L-2'  | ADC-12      | 7.30 |
| L-15  | ADC-13      | 4.07 |
| L-16  | ADC-14      | 4.35 |
| L-17  | ADC-15      | 4.12 |
| L-18  | ADC-16      | 3.94 |
| L-19  | ADC-17      | 3.88 |
| L-20  | ADC-18      | 3.74 |
| L-8   | ADC-19      | 3.75 |
| L-21  | ADC-20      | 3.63 |
| L-22  | ADC-21      | 3.71 |
| L-23  | ADC-22      | 3.84 |
| L-24  | ADC-23      | 3.96 |

实施例 121 化合物体外药效活性筛选

10 本发明中利用多种人源肿瘤细胞株（BxPC-3（人原位胰腺腺癌细胞），SW620（人结肠癌细胞），H1975（人肺腺癌细胞），HCC827（人肺腺癌细胞），FaDu(人咽鳞癌细胞)与 A431（人表皮癌细胞））作为实验模型，以评价化合物对肿瘤细胞系的杀伤活性。接种一定数目的肿瘤细胞于 96 孔板中，待细胞贴壁后，向受试细胞中加入梯度稀释的受试化合物，37℃，5%CO<sub>2</sub> 条件下孵育 5 15 天，利用 MTS 检测细胞活力，通过 IC<sub>50</sub> 评价对照化合物及受试化合物对肿瘤细胞系的抑制效果。化合物起始浓度为 4000 nM，稀释倍数为 7 倍，共 8 个检

测浓度点。最终按照存活率=(实验组-空白)/(对照组-空白组)×100%，随后利用 Graph Pad Prism9 四参数模型拟合曲线，计算半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)。

表 5: 对照化合物及受试化合物在人源肿瘤细胞株 BxPC-3, SW620 与 H1975 中的体外药效结果:

| 化合物           | BxPC-3 | SW620                 | H1975  |
|---------------|--------|-----------------------|--------|
|               |        | IC <sub>50</sub> (nM) |        |
| D-4(eribulin) | 0.06   | 2.56                  | 0.39   |
| D-2           | 0.03   | 1.25                  | 0.25   |
| D-3           | <0.005 | <0.005                | <0.005 |
| D-7           | <0.005 | <0.005                | 0.01   |
| D-8           | <0.005 | <0.005                | <0.005 |
| D-9           | <0.005 | <0.005                | <0.005 |
| D-10          | 0.02   | 0.2                   | 0.13   |
| D-11          | 0.01   | 0.15                  | 0.06   |
| D-12          | <0.005 | <0.005                | <0.005 |
| D-13          | <0.005 | <0.005                | <0.005 |
| D-14          | 0.01   | 0.19                  | 0.1    |
| D-15          | 0.03   | 0.69                  | 0.14   |
| D-21          | 0.05   | 0.24                  | 0.24   |

5

表 6: 对照化合物及受试化合物在人源肿瘤细胞株 HCC827, FaDu 与 A431 中的体外药效结果:

| 化合物           | HCC827                | FaDu   | A431   |
|---------------|-----------------------|--------|--------|
|               | IC <sub>50</sub> (nM) |        |        |
| D-4(eribulin) | 0.05                  | 0.73   | 0.03   |
| D-2           | 0.025                 | 0.37   | 0.02   |
| D-3           | <0.005                | <0.005 | <0.005 |
| D-7           | <0.005                | 0.01   | <0.005 |
| D-8           | <0.005                | <0.005 | <0.005 |
| D-9           | <0.005                | <0.005 | <0.005 |
| D-10          | 0.01                  | 0.16   | 0.03   |
| D-11          | 0.01                  | 0.08   | 0.02   |
| D-12          | <0.005                | <0.005 | <0.005 |
| D-13          | <0.005                | <0.005 | <0.005 |
| D-14          | 0.01                  | 0.16   | 0.01   |
| D-15          | 0.02                  | 0.33   | 0.02   |
| D-21          | 0.04                  | 0.39   | 0.12   |

结果如上表和图 1A-1F 所示。

10       结论: 在 BxPC-3, SW620, H1975, HCC827, FaDu 与 A431 细胞模型中, 本专利合成的多种化合物抗肿瘤效果明显, 其中化合物 D-3、D-7、D-8、D-9、D-12、D-13 效果最优。

实施例 122 抗体-药物偶联物稳定性评价

15       用无菌人血浆稀释 ADC 制备 0.6mg/ml 的药物浓度样品, 放于 37℃水浴孵育, 分别孵育时间为 0 天、3 天、7 天, 再将血浆中孵育 0 天、3 天、7 天样品及用 PBS 稀释的药物终浓度为 0.6mg/ml 样品作为对照分别进行纯化提取 ADC。最终将纯化提取的 ADC 进行相应检测, 以分析其在血浆中稳定性。

使用 SEC-HPLC 方法测定单体率方法：  
色谱柱：Biocore SEC-300 5μm，4.6×300 mm  
厂家：NanoChrom，货号：B213-050030-04630S  
流动相：50 mM PB+300 mM NaCl+200 mM Arg+5% IPA, pH=6.5

5 方法参数如下：

|       |                         |
|-------|-------------------------|
| 参数    | 设置                      |
| 流速    | 0.3 mL/min              |
| 波长    | 280 nm                  |
| 柱温    | 30 ℃                    |
| 样品盘温度 | 室温                      |
| 进样量   | 20 ug                   |
| 最大压力  | 150 bar/15 MPa/2175 PSI |
| 梯度    | 等度                      |
| 运行时间  | 20 分钟                   |

表 7：本发明受试 ADC 的血浆稳定性评价：

| 样品     | Day 0 |       |       |        | Day 1 |       |       |        | Day 5 |       |       |        |
|--------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|--------|
|        | 聚集 %  | 单体 %  | 降解率 % | RP-DAR | 聚集 %  | 单体 %  | 降解率 % | RP-DAR | 聚集 %  | 单体 %  | 降解率 % | RP-DAR |
| TR001  | 0.51  | 98.78 | 0.71  | N/A    | 0.45  | 99.29 | 0.26  | N/A    | 0.4   | 99.33 | 0.27  | N/A    |
| ADC-13 | 9.62  | 88.81 | 1.58  | 4.07   | 5.83  | 93.34 | 0.83  | 3.88   | 5.28  | 93.72 | 1.00  | 3.80   |
| ADC-14 | 4.78  | 93.91 | 1.31  | 4.35   | 4.78  | 94.54 | 0.69  | 4.19   | 4.28  | 94.89 | 0.83  | 4.02   |
| ADC-15 | 7.50  | 91.02 | 1.48  | 4.12   | 6.47  | 92.39 | 1.14  | 3.73   | 5.81  | 92.91 | 1.27  | 3.51   |
| ADC-16 | 4.94  | 94.56 | 0.50  | 3.94   | 4.79  | 94.45 | 0.76  | 4.15   | 4.61  | 94.52 | 0.87  | 4.06   |
| ADC-17 | 6.41  | 92.88 | 0.71  | 3.88   | 6.46  | 92.42 | 1.12  | 4.15   | 6.29  | 92.45 | 1.26  | 3.75   |
| ADC-18 | 4.44  | 95.23 | 0.33  | 3.74   | 4.21  | 95.27 | 0.52  | 3.88   | 4.07  | 95.33 | 0.59  | 3.73   |

10 结论：上述结果表明，本发明合成的抗体-药物偶联物在人血浆中稳定性较好。

实施例 123 抗体-药物偶联物体外药效检测-单瘤模型

15 本发明中利用多种人源肿瘤细胞株（A431，HCC827，N87（人胃癌细胞），SW620 与 FaDu）作为实验模型，以评价抗体偶联药物 ADC 的体外药效。接种一定数目的肿瘤细胞于 96 孔板中，向细胞中加入梯度稀释的受试抗体及对应的 ADC 药物，处理 5 天，利用 MTS 检测细胞活力，通过 IC<sub>50</sub> 评价受试抗体及 ADC 对肿瘤细胞系的抑制效果。抗体及 ADC 药物的起始浓度为 500 nM，稀释倍数为 7 倍，共 8 个浓度点，处理 5 天。最终算法按照存活率=(实验组-空白)/(对照组-空白组)×100%，随后利用 Graph Pad Prism 拟合曲线，计算半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)。

20 表 8：受试 ADC 在人源肿瘤细胞株 A431，HCC827 与 FaDu 中的体外药效结果：

| 编号 | A431                  | HCC827 | FaDu |
|----|-----------------------|--------|------|
|    | IC <sub>50</sub> (nM) |        |      |

|        |       |       |        |
|--------|-------|-------|--------|
| TR001  | >500  | >500  | >500   |
| ADC-1  | 0.013 | 0.004 | 0.091  |
| ADC-2  | 0.212 | 5.365 | -      |
| ADC-5  | 0.033 | 0.146 | 2.542  |
| ADC-13 | 0.142 | 0.230 | 4.012  |
| ADC-14 | 0.126 | 0.461 | 9.020  |
| ADC-15 | 0.125 | 0.657 | 11.342 |
| ADC-16 | 0.199 | 0.953 | 17.285 |
| ADC-17 | 0.257 | 2.205 | -      |
| ADC-18 | 0.194 | 3.000 | -      |

表 9：受试 ADC 在人源肿瘤细胞株 N87 与 SW620 中的体外药效结果：

| 编号    | N87                   | SW620  |
|-------|-----------------------|--------|
|       | IC <sub>50</sub> (nM) |        |
| TR001 | >500                  | >500   |
| ADC-1 | 0.093                 | 13.417 |
| ADC-5 | 1.421                 | 14.724 |

结果如上表和图 2A-2E 所示。

结论：在 A431, HCC827, N87, SW620 与 Fadu 细胞模型中，裸抗 TR001 未见肿瘤细胞杀伤活性，本发明合成的抗体-药物偶联物抗肿瘤效果明显。

实施例 124 抗体-药物偶联物体外药效检测-异质瘤模型

本发明中利用异质瘤细胞株（A431+SW620）作为实验模型，以评价抗体偶联药物 ADC 的体外药效。接种一定数目的肿瘤细胞于 96 孔板中，向细胞中加入梯度稀释的受试 ADC 药物，处理 5 天，利用 MTS 检测细胞活力，通过 IC<sub>50</sub> 评价受试抗体及 ADC 对肿瘤细胞系的抑制效果。抗体及 ADC 药物的起始浓度为 500 nM，稀释倍数为 7 倍，共 8 个浓度点，处理 5 天。最终算法按照存活率=(实验组-空白)/(对照组-空白组)×100%，随后利用 Graph Pad Prism 拟合曲线，计算半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)。

表 10：受试 ADC 在异质瘤细胞株 A431+SW620 中的体外药效结果：

| 编号         | A431+SW620            |
|------------|-----------------------|
|            | IC <sub>50</sub> (nM) |
| ADC-19（对照） | 39.908                |
| ADC-13     | 2.884                 |
| ADC-14     | 6.667                 |
| ADC-15     | 7.617                 |
| ADC-16     | 11.280                |

结果如上表和图 3 所示。

结论：在 A431+SW620 异质瘤细胞模型中，本发明合成的抗体-药物偶联物抗肿瘤效果显著，且优于对照抗体-药物偶联物 ADC-19。

实施例 125 抗体-药物偶联物体内药效检测

本发明中利用 BALB/c-nu 皮下接种人源肿瘤细胞株（A431）作为实验模

型，以评价 ADC 的体内药效。接种一定数目的肿瘤细胞悬液于 *BALB/c-nu* 皮下，当肿瘤体积长至 180 mm<sup>3</sup> 左右时，尾静脉注射溶媒和 ADC-5，每周一次，给药三次，持续观察，每周两次测瘤，称体重，评价 ADC 药物对肿瘤生长的抑制效果。

5            结果如下表所示。

表 11：受试 ADC 对 A431 小鼠移植瘤的疗效：

| 化合物            | 平均瘤体积（mm <sup>3</sup> ） |        |        |         |         |         | T/C % | TGI % |
|----------------|-------------------------|--------|--------|---------|---------|---------|-------|-------|
|                | D0                      | D3     | D7     | D10     | D14     | D17     |       |       |
| 空白             | 175.01                  | 456.78 | 828.16 | 1164.44 | 1438.74 | 1671.07 | 100   | 0     |
| ADC-5(3 mg/Kg) | 171.24                  | 283.15 | 199.84 | 198.75  | 178.75  | 158.06  | 9.67  | 90.33 |

$T/C \% = T_{RTV} / C_{RTV} \times 100\%$ ;  $TGI\% = (1-T/C) \times 100\%$

表 12：受试 ADC 对 A431 移植小鼠体重的影响：

| 化合物            | D0              | D3              |          | D7              |          | D10             |          | D14             |          | D17             |          |
|----------------|-----------------|-----------------|----------|-----------------|----------|-----------------|----------|-----------------|----------|-----------------|----------|
|                | 平均<br>体重<br>(g) | 平均<br>体重<br>(g) | BWC<br>% | 平均<br>体重<br>(g) | BWC<br>% | 平均<br>体重<br>(g) | BWC<br>% | 平均<br>体重<br>(g) | BWC<br>% | 平均<br>体重<br>(g) | BWC<br>% |
| 空白             | 20.45           | 22.09           | 8.06     | 23.11           | 13.05    | 23.28           | 13.86    | 24.40           | 19.35    | 24.19           | 18.33    |
| ADC-5(3 mg/Kg) | 19.85           | 21.47           | 8.17     | 22.24           | 12.13    | 21.78           | 9.86     | 22.44           | 13.14    | 21.98           | 10.93    |

10            结论：在 A431 单体瘤移植小鼠中，本发明合成的抗体-药物偶联物抗肿瘤效果显著。

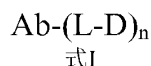
              以上实施例仅用以说明本发明的技术方案而非限制，对本发明的技术方案进行修改或者等同替换，而不脱离本发明技术方案的宗旨和范围的，其均应涵

15            盖在本发明的保护范围之内。



# 权 利 要 求

1、一种配体-药物偶联物，其具有式I所示结构，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，



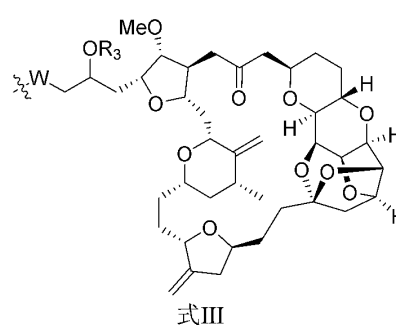
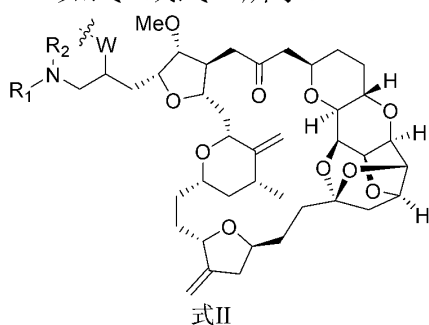
其中，

Ab 为配体单元；

L 为将 Ab 共价连接于 D 的连接子；

n 为选自 1 到 40 的整数或小数；

-D 如式II或式III所示：



其中，W 选自氧原子或硫原子，

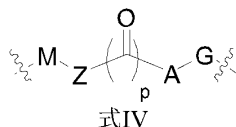
R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub> 相同或不同，各自独立地选自：氢原子、烷基、烷氧基、烯基、环烷基、芳基、杂芳基、杂环基、-C(O)-Q<sub>1</sub>-Q<sub>2</sub> 和 -SO<sub>2</sub>-Q<sub>1</sub>-Q<sub>2</sub>，其中，Q<sub>1</sub> 选自 O、N、S 原子或化学键，Q<sub>2</sub> 选自烷基、环烷基、杂环基、螺环基、桥环基、烯基、芳基和杂芳基，任选地，所述的烷基、烷氧基、烯基、环烷基、杂环基、螺环基、桥环基、芳基和杂芳基各自独立地被选自氢原子、烷基、烷氧基、卤素、氘、氨基、氰基、羟基、巯基、叠氮基、硝基、羧基、酰基、羰基、羟烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基取代；或者 R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub> 与其相连接的氮原子一起形成 3 至 8 元杂环基，任选地，所述杂环基被选自氢原子、烷基、烷氧基、卤素、氘、氨基、氰基、羟基、巯基、叠氮基、硝基、羧基、酰基、羰基、羟烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基取代；R<sub>3</sub> 选自氢原子、烷基、酰基、磺酰基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基，任选地，所述的烷基、酰基、磺酰基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地被选自氢原子、烷基、烷氧基、卤素、氘、氨基、氰基、羟基、巯基、叠氮基、硝基、羧基、酰基、羰基、羟烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基取代。

2、根据权利要求 1 所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其中配体单元 Ab 选自抗体、抗体片段或蛋白；所述抗体优选地选自鼠源抗体、兔源抗体、噬菌体展示来源抗体、酵母展示来源抗体、嵌合抗体、

人源化抗体、全人源抗体、抗体片段、双特异性抗体及多特异性抗体。

3、根据权利要求1或2所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物,其特征在于:所述抗体为单克隆抗体,非限制性地选自:抗EGFRvIII抗体、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、抗DLL-3抗体、抗PSMA抗体、抗CD70抗体、抗MUC16抗体、抗ENPP3抗体、抗TDGF1抗体、抗ETBR抗体、抗MSLN抗体、抗TIM-1抗体、抗LRRC15抗体、抗LIV-1抗体、抗CanAg/AFP抗体、抗claudin 18.2抗体、抗Mesothelin抗体、抗HER2(ErbB2)抗体、抗EGFR抗体、抗c-MET抗体、抗SLITRK6抗体、抗KIT/CD117抗体、抗STEAP1抗体、抗SLAMF7/CS1抗体、抗NaPi2B/SLC34A2抗体、抗GPNMB抗体、抗HER3(ErbB3)抗体、抗MUC1/CD227抗体、抗AXL抗体、抗CD166抗体、抗B7-H3(CD276)抗体、抗PTK7/CCK4抗体、抗PRLR抗体、抗EFNA4抗体、抗5T4抗体、抗NOTCH3抗体、抗Nectin 4抗体、抗TROP-2抗体、抗CD142抗体、抗CA6抗体、抗GPR20抗体、抗CD174抗体、抗CD71抗体、抗EphA2抗体、抗LYPD3抗体、抗FGFR2抗体、抗FGFR3抗体、抗FR $\alpha$ 抗体、抗CEACAMs抗体、抗GCC抗体、抗Integrin Av抗体、抗CAIX抗体、抗P-cadherin抗体、抗GD3抗体、抗Cadherin 6抗体、抗LAMP1抗体、抗FLT3抗体、抗BCMA抗体、抗CD79b抗体、抗CD19抗体、抗CD33抗体、抗CD56抗体、抗CD74抗体、抗CD22抗体、抗CD30抗体、抗CD37抗体、抗CD47抗体、抗CD138抗体、抗CD352抗体、抗CD25抗体或抗CD123抗体。

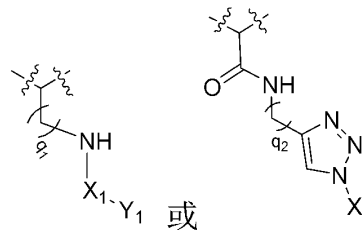
4、根据权利要求1所述配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物,其中L具有如式IV所示的结构:



其中,

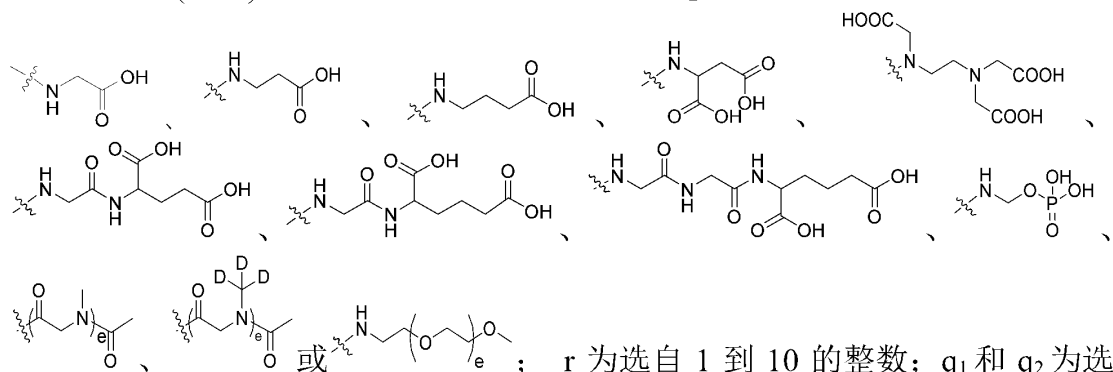
M 为与 Ab 共价连接的连接单元;

Z 选自-C1-C10 亚烷基-、-C3-C8 碳环-、-亚芳基-、-3-8 元杂环-、



-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>r</sub>-、磺酰基、酰胺、化学键、  
一个或多个的组合,其中 X<sub>1</sub> 和 X<sub>2</sub> 选自-C1-C10 亚烷基-、-C3-C8 碳环-、-亚芳基-、-3-8 元杂环-、-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>r</sub>-、-NR<sub>4</sub>-或羰基的一个或多个的组合,其中 R<sub>4</sub> 选自氢原子、氘原子、烷基和取代烷基;任选地,所述-C1-C10 亚烷基-、-C3-C8 碳环-、-3-8 元杂环-各自独立地被一个或者多个取代基所取代,所述取代基选自氢原子、氘原子、卤素、羟基、氰基、硝基、氨基、烷基、杂烷基、取代烷

基、烷氧基、羧基或环烷基；所述杂环各自独立地包含选自 N、O、S 的 1-3 个原子；Y<sub>1</sub> 为亲水结构，选自羧基、磷酸、聚磷酸、亚磷酸、磺酸、亚磺酸或聚乙二醇(PEG) 的一种或多种所组成的组；Y<sub>2</sub> 选自以下结构：



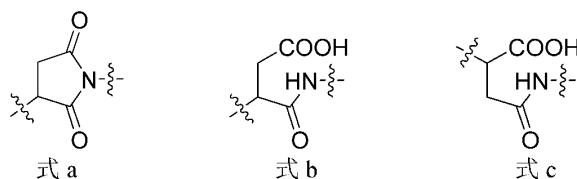
；r 为选自 1 到 10 的整数；q<sub>1</sub> 和 q<sub>2</sub> 为选自 1 到 8 的整数；e 为选自 1 到 20 的整数；

A 为 2 至 7 个氨基酸构成的肽残基；

G 为连接于 D 的间隔单元；

p 为 0 或 1。

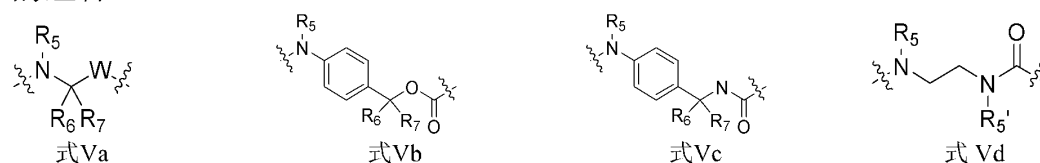
5、根据权利要求 4 所述配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其中连接单元 M 具有如下式 a 所示的丁二酰亚胺或式 b、式 c 所示的开环丁二酰亚胺结构：



在式 a、式 b 或式 c 中，左侧波浪线表示与 Ab 连接位点相连，右侧波浪线表示与 Z 连接位点相连。

6、根据权利要求 4 或 5 所述配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，所述 A 为选自苯丙氨酸、甘氨酸、缬氨酸、赖氨酸、瓜氨酸、丝氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、磺基丙氨酸中的 2-7 个氨基酸构成的多肽残基。

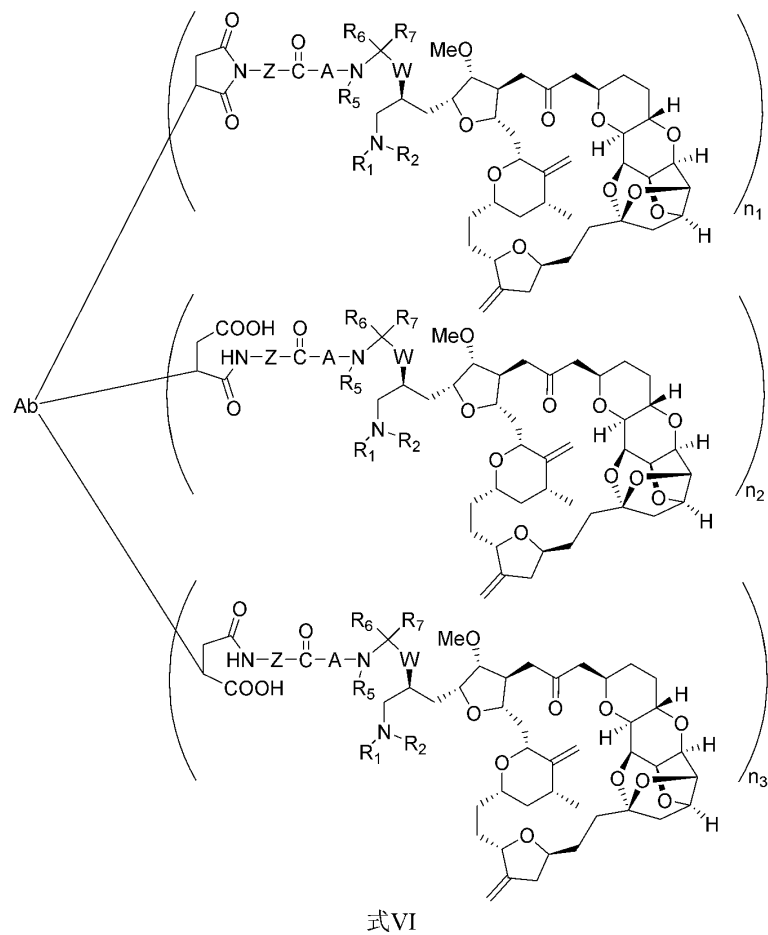
7、根据权利要求 4-6 任一项所述配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，所述间隔单元 G 为式 Va、Vb、Vc 或 Vd 所示结构中的一个或多个的组合：

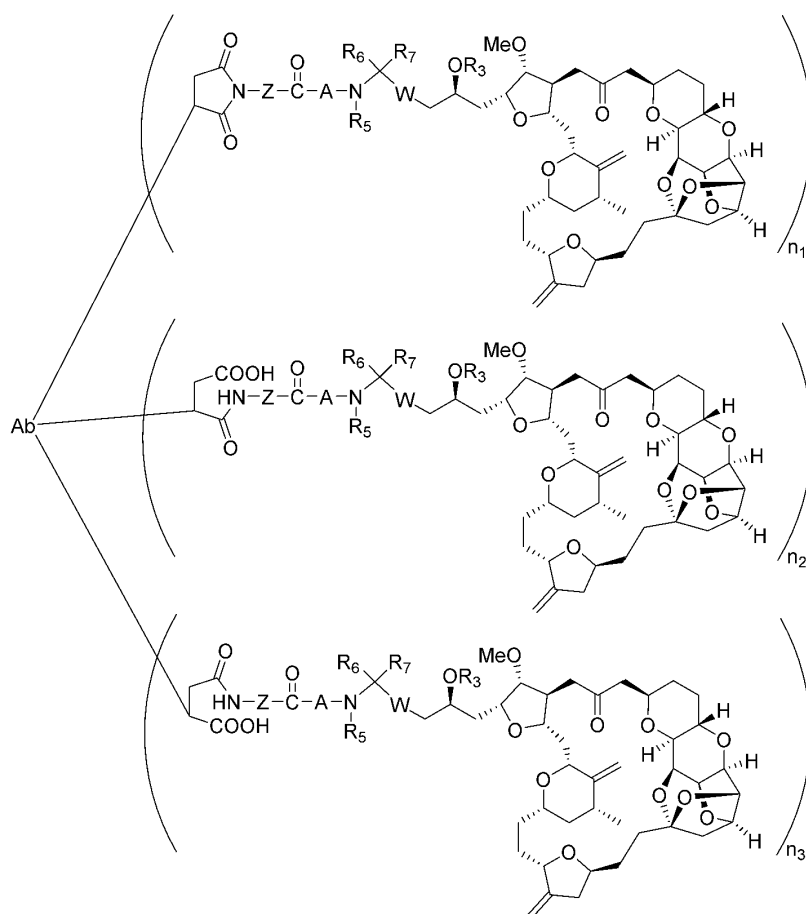


其中，左侧波浪线表示氮原子与肽残基 A 的连接位点，右侧波浪线表示氧原子与药物 D 的连接位点，W 选自氧原子或硫原子，为药物 D 与间隔单元 G 的共用基团；

$R_5$ 、 $R_5'$ 、 $R_6$  和  $R_7$  各自独立地选自氢原子、氘原子、烷基和取代烷基。

8、根据权利要求 1-7 任一项所述配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其具有式VI或式VII所示的结构：



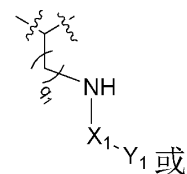


式VII

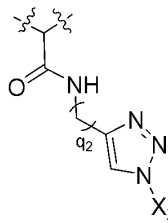
其中,

Ab、Z、A、R<sub>5</sub>、R<sub>6</sub>、R<sub>7</sub>、R<sub>3</sub>、W 如权利要求 1-7 任一项所定义；n<sub>1</sub>、n<sub>2</sub>、n<sub>3</sub> 独立地选自 0 到 40 之间的整数或小数，n<sub>1</sub>、n<sub>2</sub>、n<sub>3</sub> 不同时为 0，且 n<sub>1</sub>+n<sub>2</sub>+n<sub>3</sub>≤40。

9、根据权利要求 4-8 任一项所述配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐

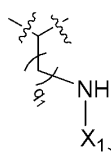


或溶剂化物，Z 选自-C1-C10 亚烷基-、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_r-$ 、酰胺、



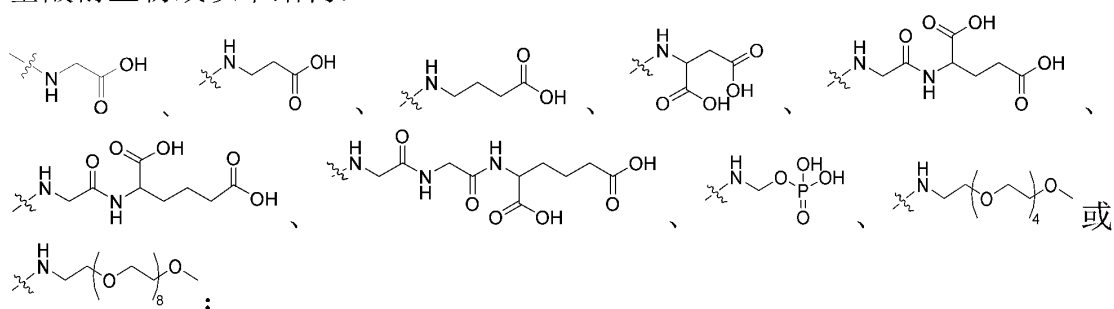
X<sub>2</sub>-Y<sub>2</sub> 中的一个或多个的组合;

优选地，Z 为-C2-亚烷基或-C5-亚烷基；

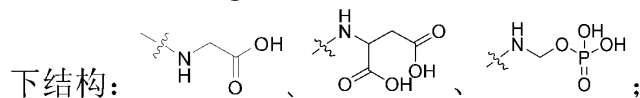


优选地, Z 为

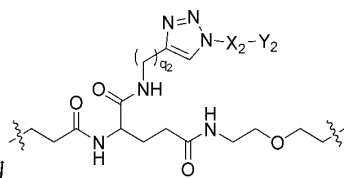
优选地,  $q_1$  为 1, 且  $-NH-X_1-Y_1$  组成亲水结构单元  $Ac_1$ , 所述  $Ac_1$  非限制性地选自(D/L)丙氨酸、(D/L)亮氨酸、(D/L)异亮氨酸、(D/L)缬氨酸、(D/L)苯丙氨酸、(D/L)脯氨酸、(D/L)色氨酸、(D/L)丝氨酸、(D/L)酪氨酸、(D/L)半胱氨酸、(D/L)胱氨酸、(D/L)精氨酸、(D/L)组氨酸、(D/L)蛋氨酸、(D/L)天冬酰胺、(D/L)谷氨酰胺、(D/L)苏氨酸、(D/L)天冬氨酸、(D/L)谷氨酸、天然或非天然氨基酸衍生物或以下结构:



优选地,  $q_1$  为 1, 且  $-NH-X_1-Y_1$  组成亲水结构单元  $Ac_1$ , 所述  $Ac_1$  选自以



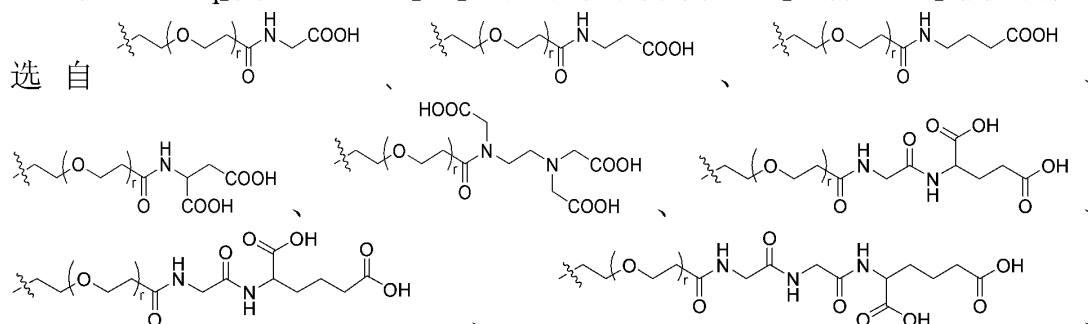
下结构:

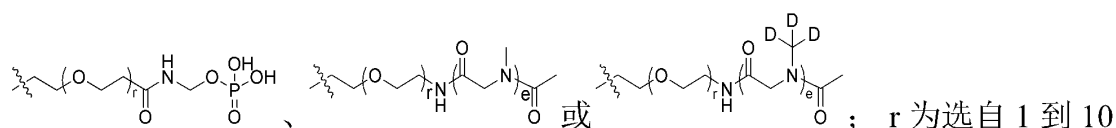


优选地, Z 为

优选地,  $q_2$  为 1; 优选地,  $X_2$  为-(C1-C10 亚烷基)-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>r</sub>-(C=O)-或-(C1-C10 亚烷基)-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>r</sub>-NR<sub>4</sub><sup>+</sup>;

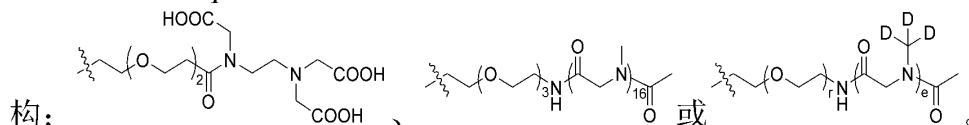
优选地,  $q_2$  为 1, 且  $-X_2-Y_2$  组成亲水结构单元  $Ac_2$ , 所述  $Ac_2$  非限制性地





的整数；e 为选自 1 到 20 的整数；

优选地， $q_2$  为 1，且  $-X_2-Y_2$  组成亲水结构单元  $Ac_2$ ，所述  $Ac_2$  选自以下结



10、根据权利要求 4-9 任一项所述配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，A 为选自苯丙氨酸、甘氨酸、缬氨酸、赖氨酸、瓜氨酸、丝氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、磺基丙氨酸中的 2-5 个氨基酸构成的多肽残基；

优选地，A 为 2-4 个选自苯丙氨酸和甘氨酸的氨基酸形成的肽残基；

更优选地，A 为甘氨酸 (G)、甘氨酸 (G)、苯丙氨酸 (F)、甘氨酸 (G) 组成的四肽残基；

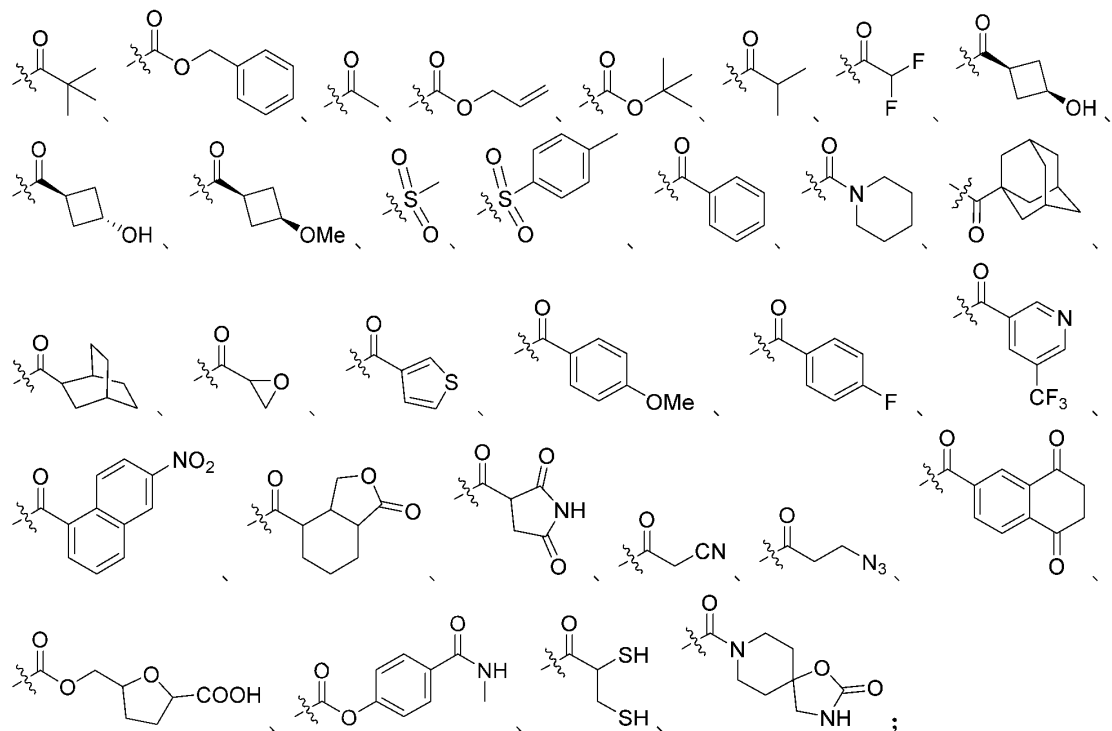
更优选地，A 为 -GGFG-。

11、根据权利要求 1-10 任一项所述配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其中，W 选自氧原子或硫原子， $R_1$ 、 $R_2$  相同或不同，各自独立地选自：氢原子、烷基、烷氧基、烯基、环烷基、 $-C(O)-Q_1-Q_2$  和  $-SO_2-Q_1-Q_2$ ，其中， $Q_1$  选自 O 或化学键， $Q_2$  选自烷基、杂环基、烯基、芳基、杂芳基和环烷基，任选地，所述的烷基、杂环基、烯基、芳基、杂芳基和环烷基各自独立地被选自氢原子、烷基、羟烷基卤素、氘、巯基、氨基、芳基、羟基中的一个或多个取代基取代；或者  $R_1$ 、 $R_2$  和与其相连接的氮原子一起形成 3 至 6 元杂环基，任选地，所述杂环基被选自氢原子、烷基、烷氧基、卤素、氘、氨基、羟基、环烷基和杂环基中的一个或多个取代基取代； $R_3$  选自氢原子和烷基，任选地，所述的烷基被选自氢原子、烷基、烷氧基、卤素、氘、氨基、羟基、环烷基和杂环基中的一个或多个取代基取代；

优选地，W 为氧原子， $R_1$ 、 $R_2$  相同或不同，各自独立地选自：氢原子、烷基、烯基、卤代烷基、 $-C(O)-Q_1-Q_2$  和  $-SO_2-Q_1-Q_2$ ，其中， $Q_1$  选自 O 或化学键， $Q_2$  选自烷基、烯基、芳基和 3-8 元环烷基，任选地，所述的烷基、烯基、芳基和环烷基各自独立地被选自氢原子、烷基、羟烷基、卤素、芳基、羟基中的一个或多个取代基取代；或者  $R_1$ 、 $R_2$  和与其相连接的氮原子一起形成 3-6 元杂环基，所述 3-6 元杂环基含有 1-2 个氮原子，任选地还含有 1 个氧原子；任选地，所述 3-6 元杂环基被氢原子、烷基、卤代烷基中的一个或多个取代基取代； $R_3$  选自氢原子和烷基，所述的烷基被选自氢原子、烷基、卤素、氘、氨基和羟基中的一个或多个取代基取代。

12、根据权利要求 1-11 任一项所述配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其中，W 为氧原子， $R_1$ 、 $R_2$  相同或不同，各自独立地选自：氢原子、 $C_1-C_4$  烷基（例如甲基、乙基）、 $C_2-C_4$  烯基（例如烯丙基）、 $C_1-C_4$  卤

代烷基（例如二氟代乙基）或以下结构：



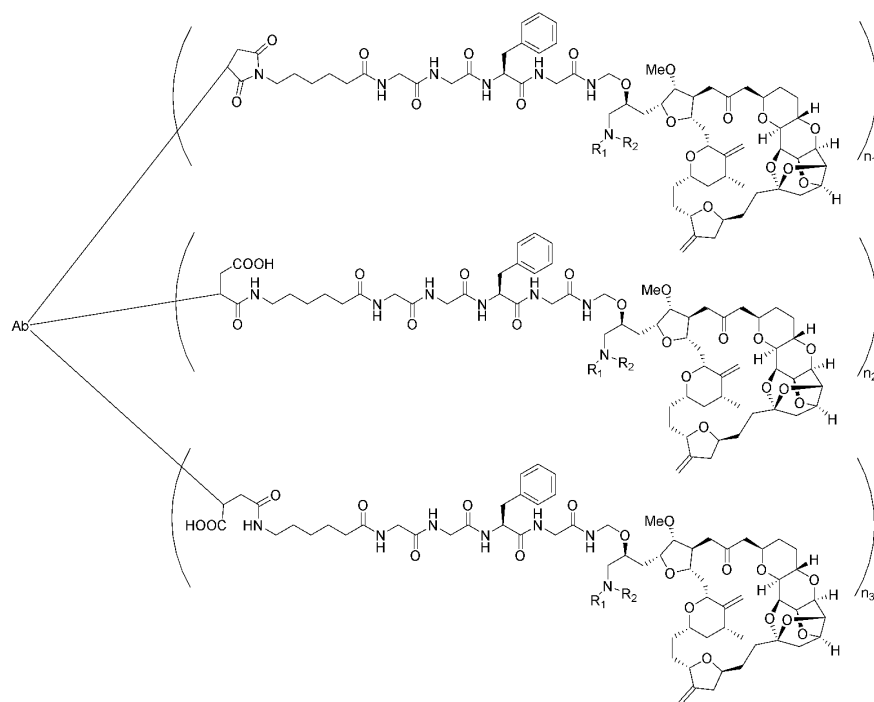
或者 R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub> 和与其相连接的氮原子一起形成 3-6 元杂环基, 所述 3-6 元杂环基含有 1-2 个氮原子, 任选地还含有 1 个氧原子 (例如氮杂环丙基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基); 任选地, 所述 3-6 元杂环基被氢原子、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 烷基 (例如甲基)、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 卤代烷基 (例如三氟甲基) 中的一个或多个取代基取代; R<sub>3</sub> 选自氢原子和甲基。

13、根据权利要求 7-12 任一项所述配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，R<sub>5</sub>、R<sub>6</sub> 和 R<sub>7</sub> 各自独立地选自氢原子、氘原子、烷基、卤代烷基、氘代烷基和羟烷基；

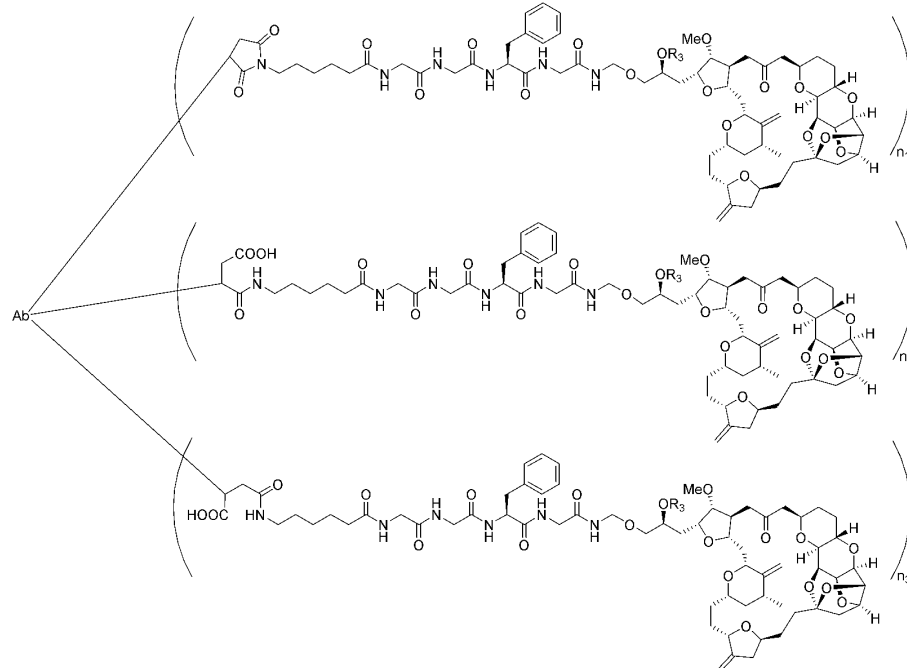
优选地,  $R_5$ 、 $R_6$  和  $R_7$  同时为氢原子。

14、根据权利要求 1-13 任一项所述配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其具有式VIa 或式VIIa 所示的结构：





式VIa

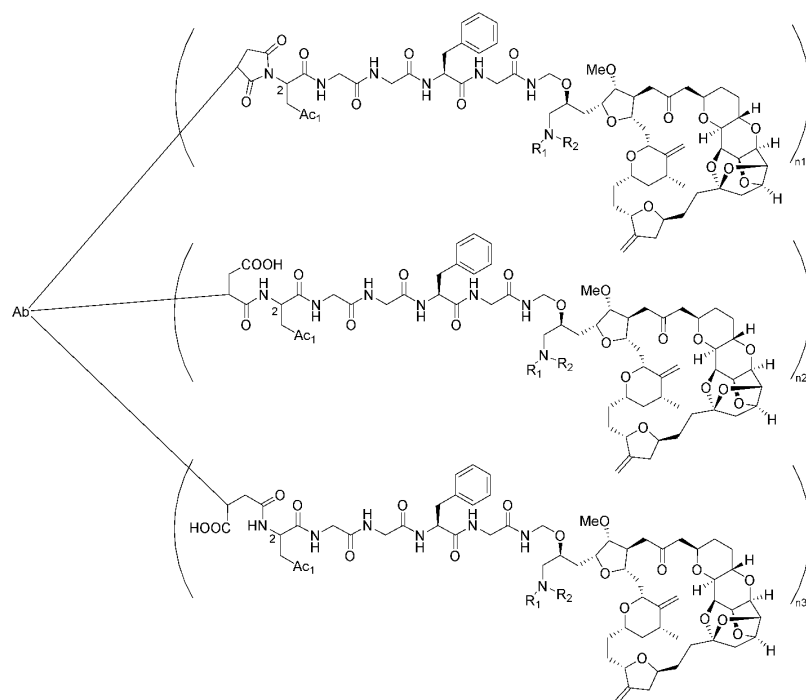


式VIIa

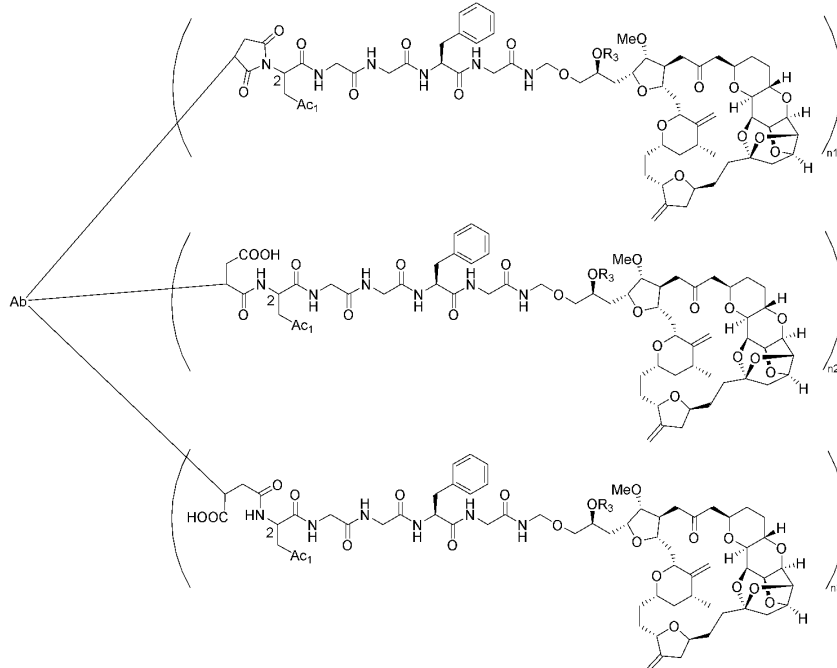
其中,

$R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 、 $n_1$ 、 $n_2$ 、 $n_3$  如权利要求 1-13 任一项所定义。

15、根据权利要求 1-13 任一项所述配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其具有式VIb 或式VIIb 所示的结构:



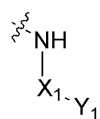
式VIb



式VIIb

其中,

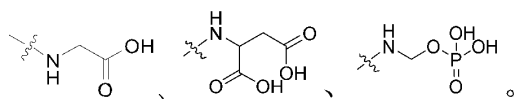
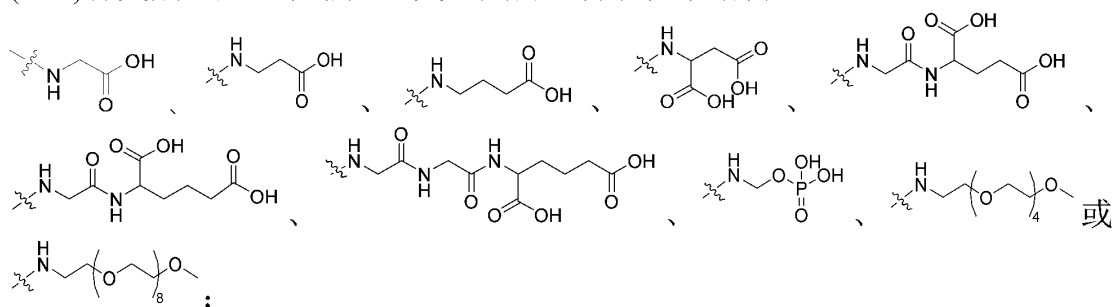
$R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 、 $n_1$ 、 $n_2$ 、 $n_3$  如权利要求 1-13 任一项所定义;  
 $Ac_1$  为具有式 d 所示结构的亲水结构单元:



式 d

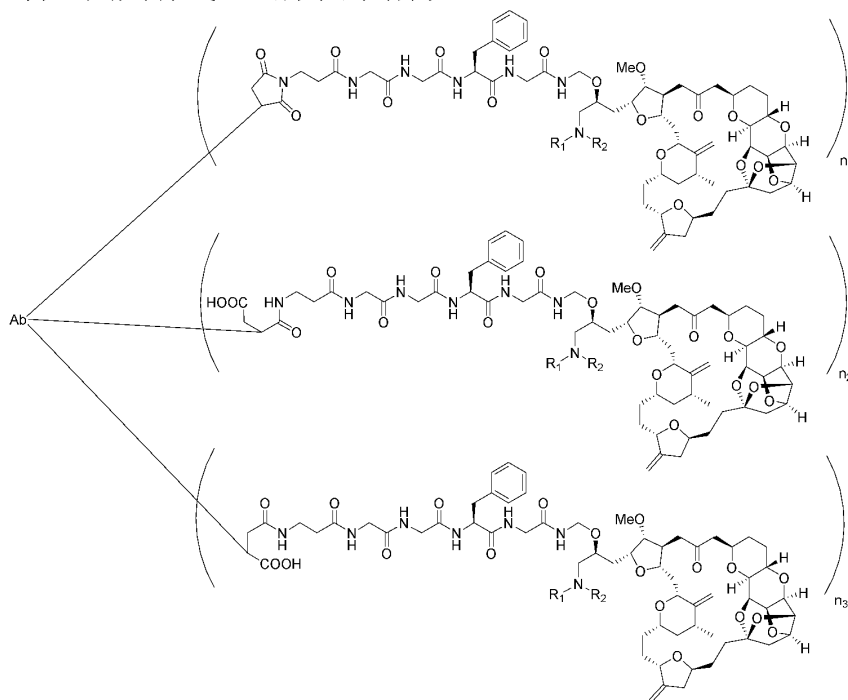
$X_1$ 、 $Y_1$  如权利要求 4 所定义:

优选地,所述 Ac<sub>1</sub> 非限制性地选自(D/L)丙氨酸、(D/L)亮氨酸、(D/L)异亮氨酸、(D/L)缬氨酸、(D/L)苯丙氨酸、(D/L)脯氨酸、(D/L)色氨酸、(D/L)丝氨酸、(D/L)酪氨酸、(D/L)半胱氨酸、(D/L)胱氨酸、(D/L)精氨酸、(D/L)组氨酸、(D/L)蛋氨酸、(D/L)天冬酰胺、(D/L)谷氨酰胺、(D/L)苏氨酸、(D/L)天冬氨酸、(D/L)谷氨酸、天然或非天然氨基酸衍生物或以下结构:



优选地,  $Ac_1$  选自以下结构:

16、根据权利要求 1-13 任一项所述配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其具有式VIc所示的结构：

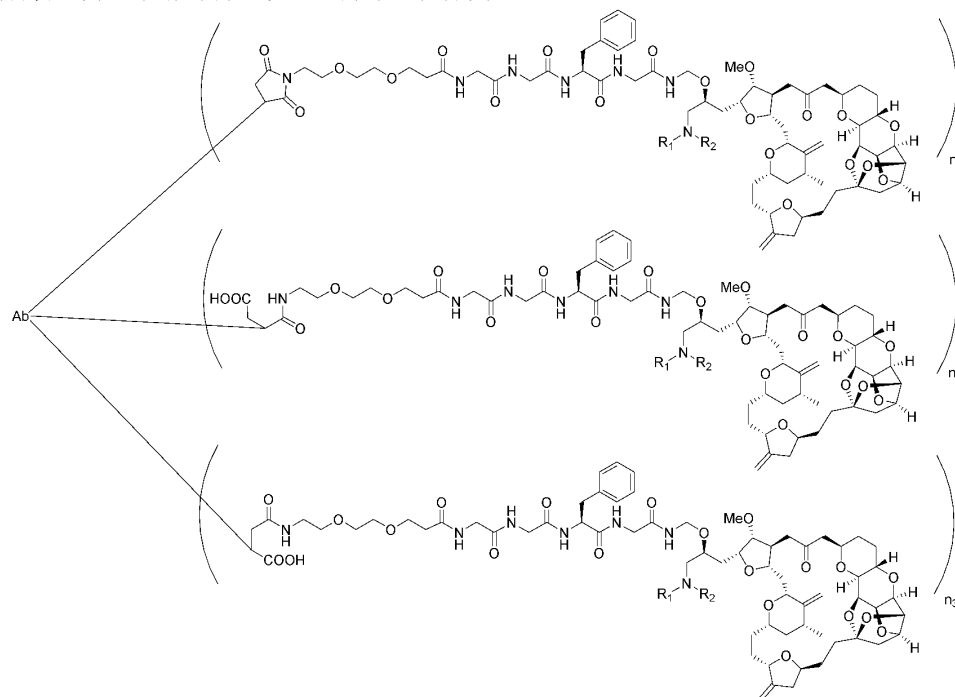


式VIc

其中，

$R_1$ 、 $R_2$ 、 $n_1$ 、 $n_2$ 、 $n_3$  如权利要求 1-13 任一项所定义。

17、根据权利要求 1-13 任一项所述配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其具有式VIId所示的结构：

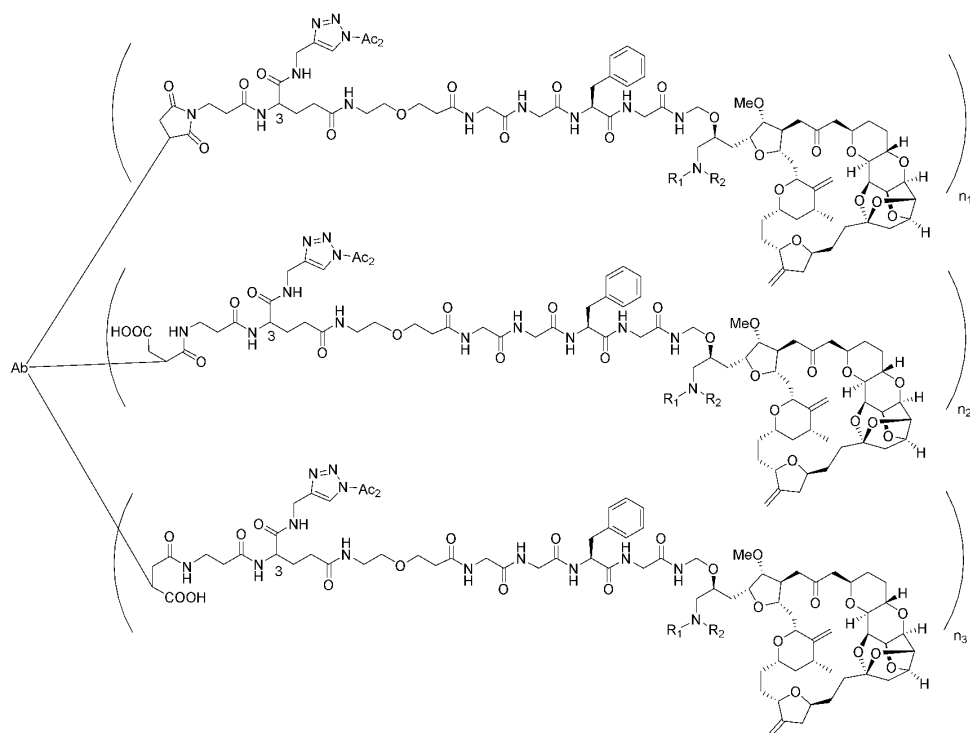


式VIId

其中，

$R_1$ 、 $R_2$ 、 $n_1$ 、 $n_2$ 、 $n_3$  如权利要求 1-13 任一项所定义。

18、根据权利要求 1-13 任一项所述配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其具有式VIe所示的结构：

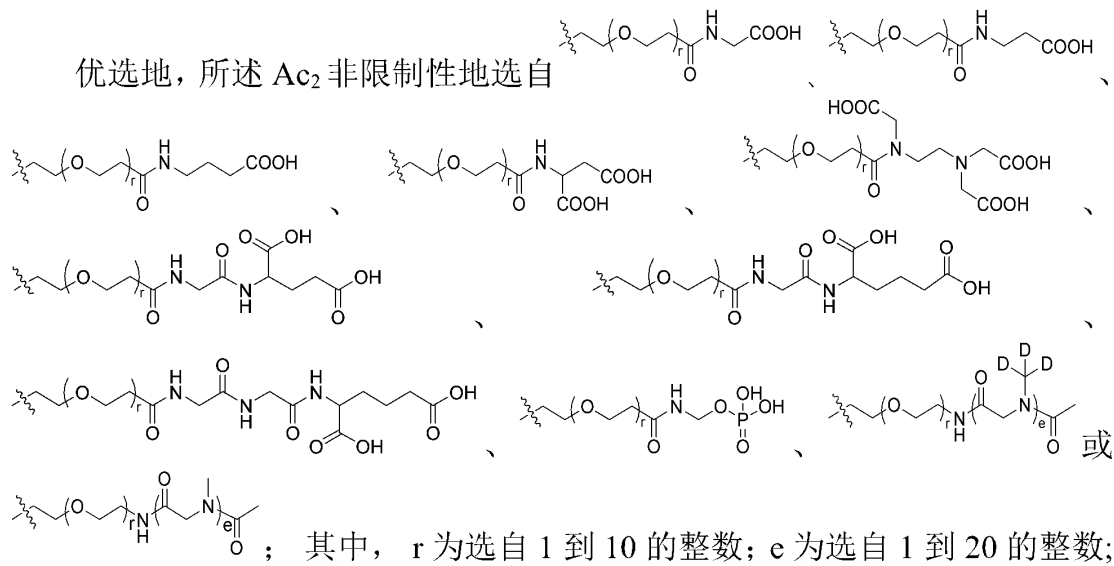


式VIe

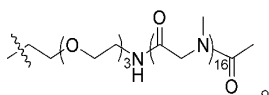
其中,  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $n_1$ 、 $n_2$ 、 $n_3$ 如权利要求 1-13 任一项所定义;

Ac<sub>2</sub> 为-X<sub>2</sub>-Y<sub>2</sub> 组成亲水结构单元, X<sub>2</sub>、Y<sub>2</sub> 如权利要求 4 所定义;

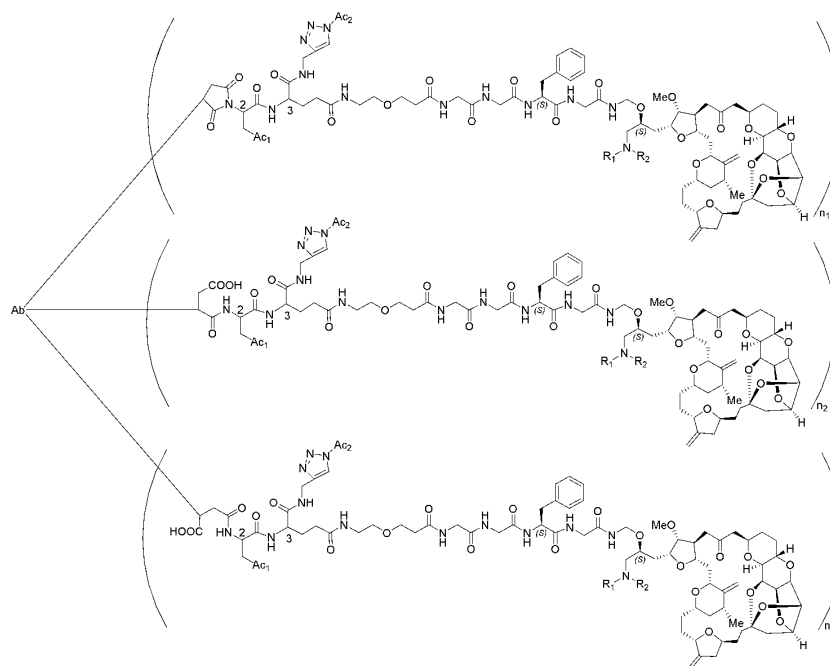
优选地, 所述  $\text{Ac}_2$  非限制性地选自



优选地，Ac<sub>2</sub>选自以下结构：

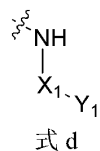


19、根据权利要求 1-13 任一项所述配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其具有式 VI f 所示的结构：



式 VI f

其中， $R_1$ 、 $R_2$ 、 $n_1$ 、 $n_2$ 、 $n_3$  如权利要求 1-13 任一项所定义；  
 $Ac_1$  为具有式 d 所示结构的亲水结构单元：

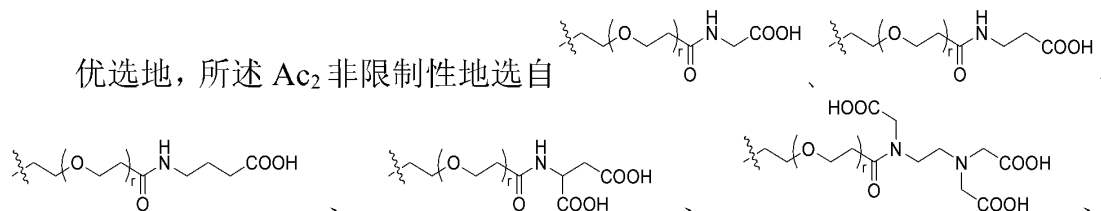


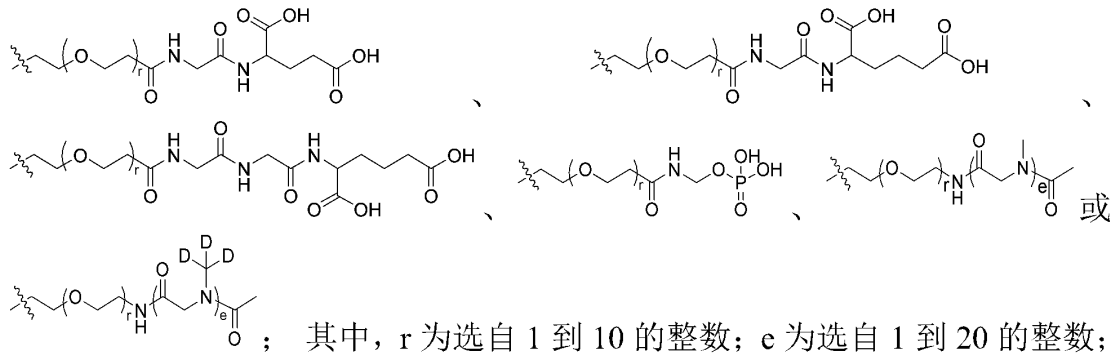
$X_1$ 、 $Y_1$  如权利要求 4 所定义；

优选地， $Ac_1$  如权利要求 15 所定义；

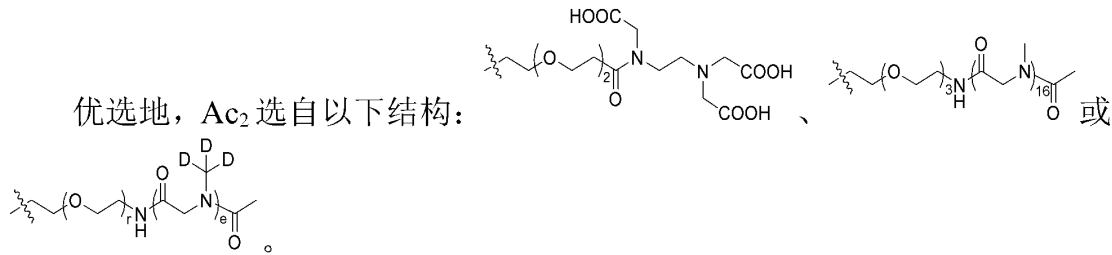
$Ac_2$  为  $-X_2-Y_2$  组成亲水结构单元， $X_2$ 、 $Y_2$  如权利要求 4 所定义；

优选地，所述  $Ac_2$  非限制性地选自

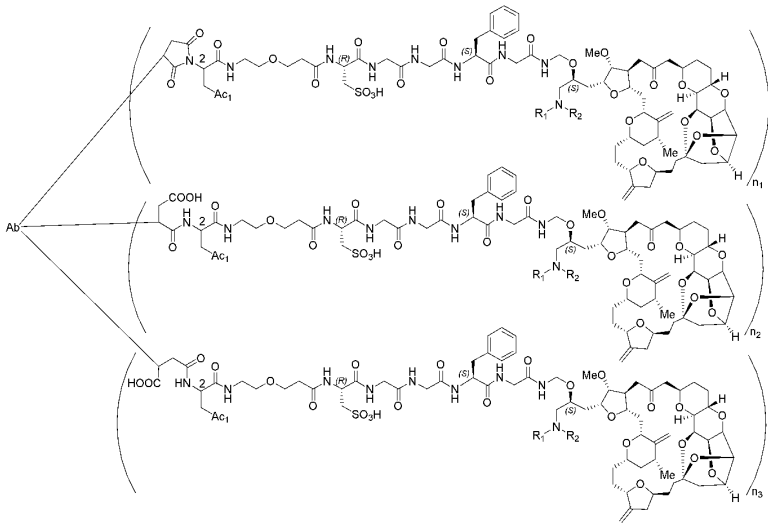




优选地，Ac<sub>2</sub> 选自以下结构：

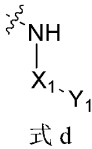


20、根据权利要求 1-13 任一项所述配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其具有式 VIg 所示的结构：



式 VIg

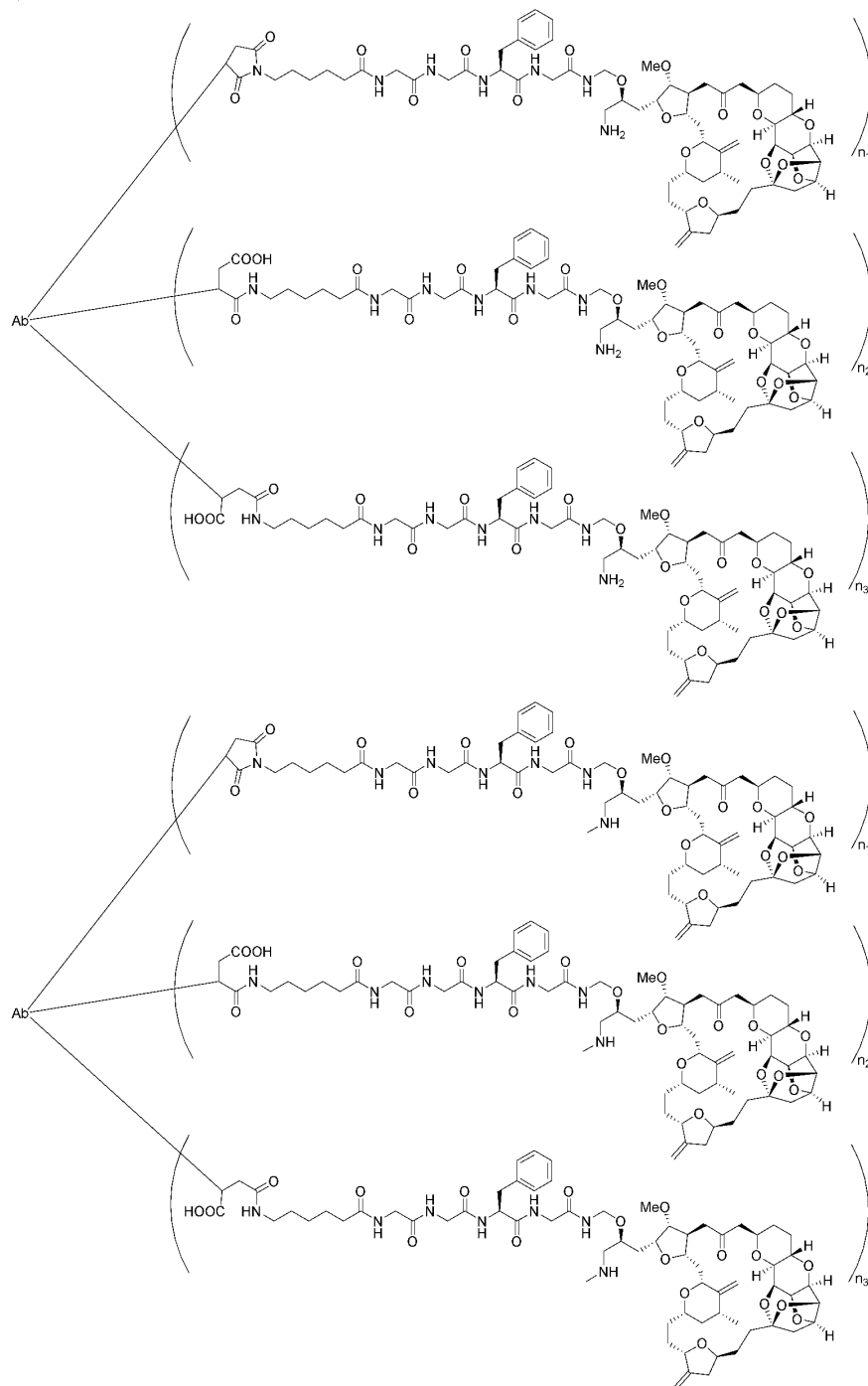
其中，R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、n<sub>1</sub>、n<sub>2</sub>、n<sub>3</sub> 权利要求 1-13 任一项所定义；  
Ac<sub>1</sub> 为具有式 d 所示结构的亲水结构单元：



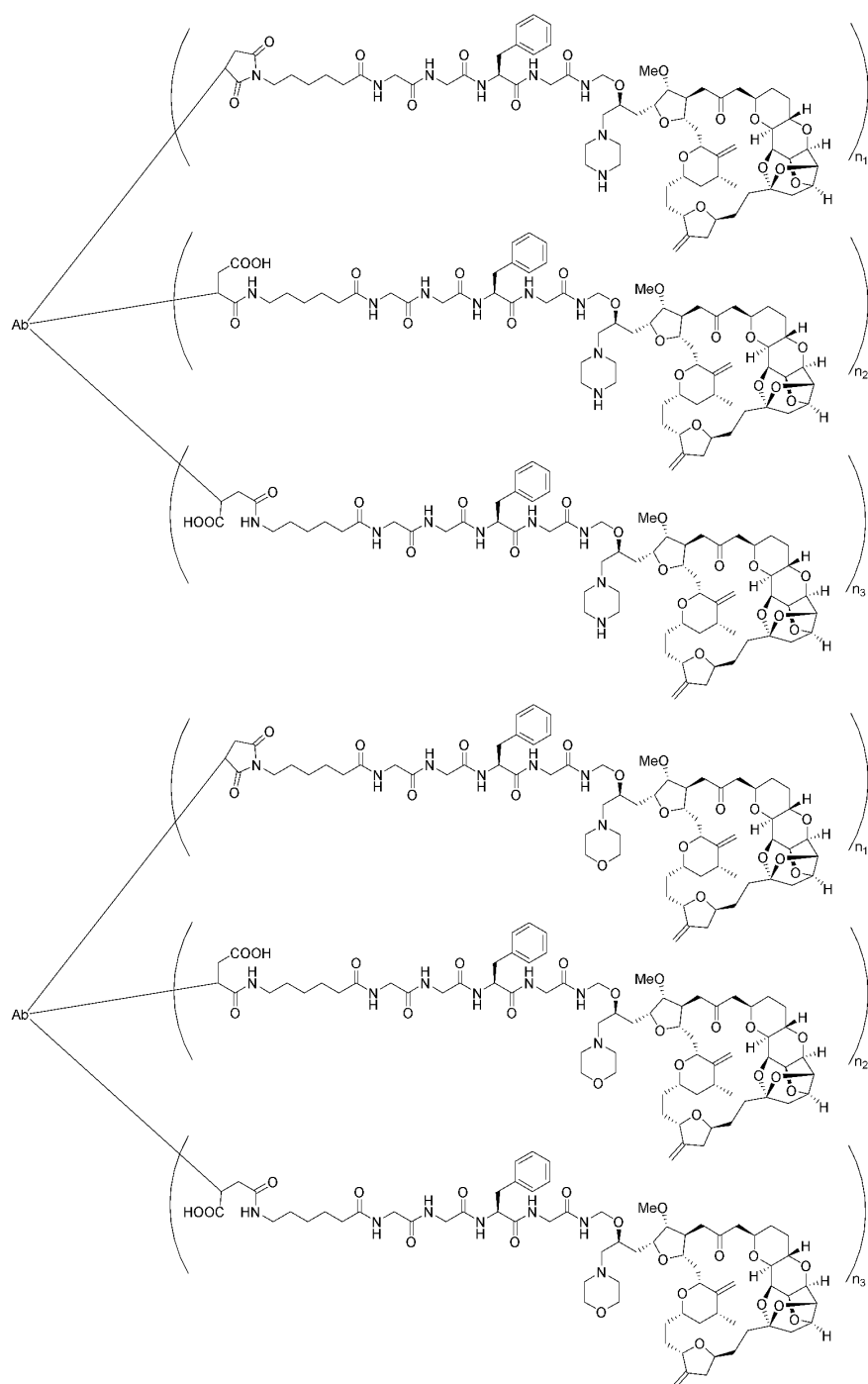
X<sub>1</sub>、Y<sub>1</sub> 如权利要求 4 所定义；

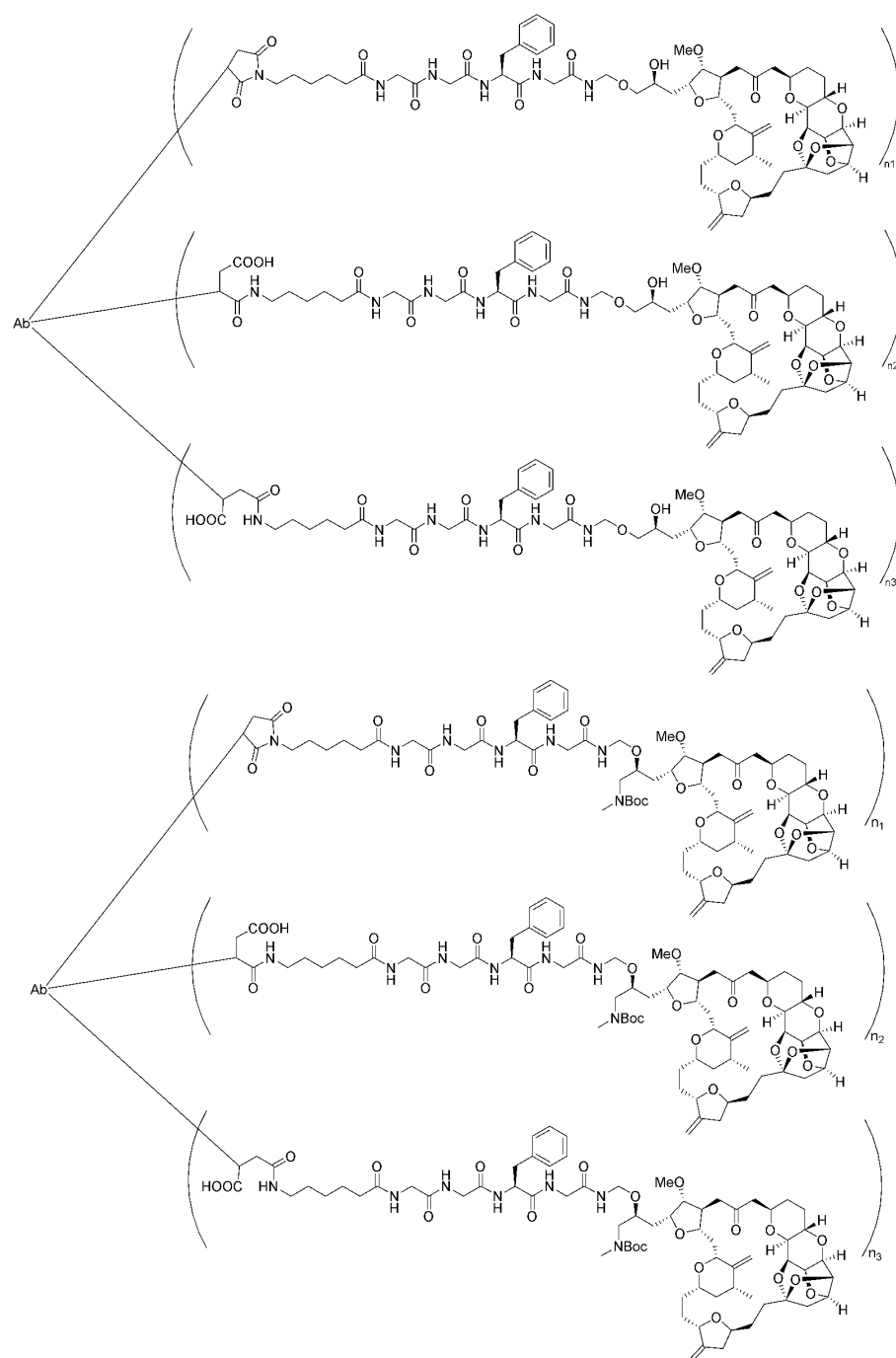
优选地，Ac<sub>1</sub> 如权利要求 15 所定义。

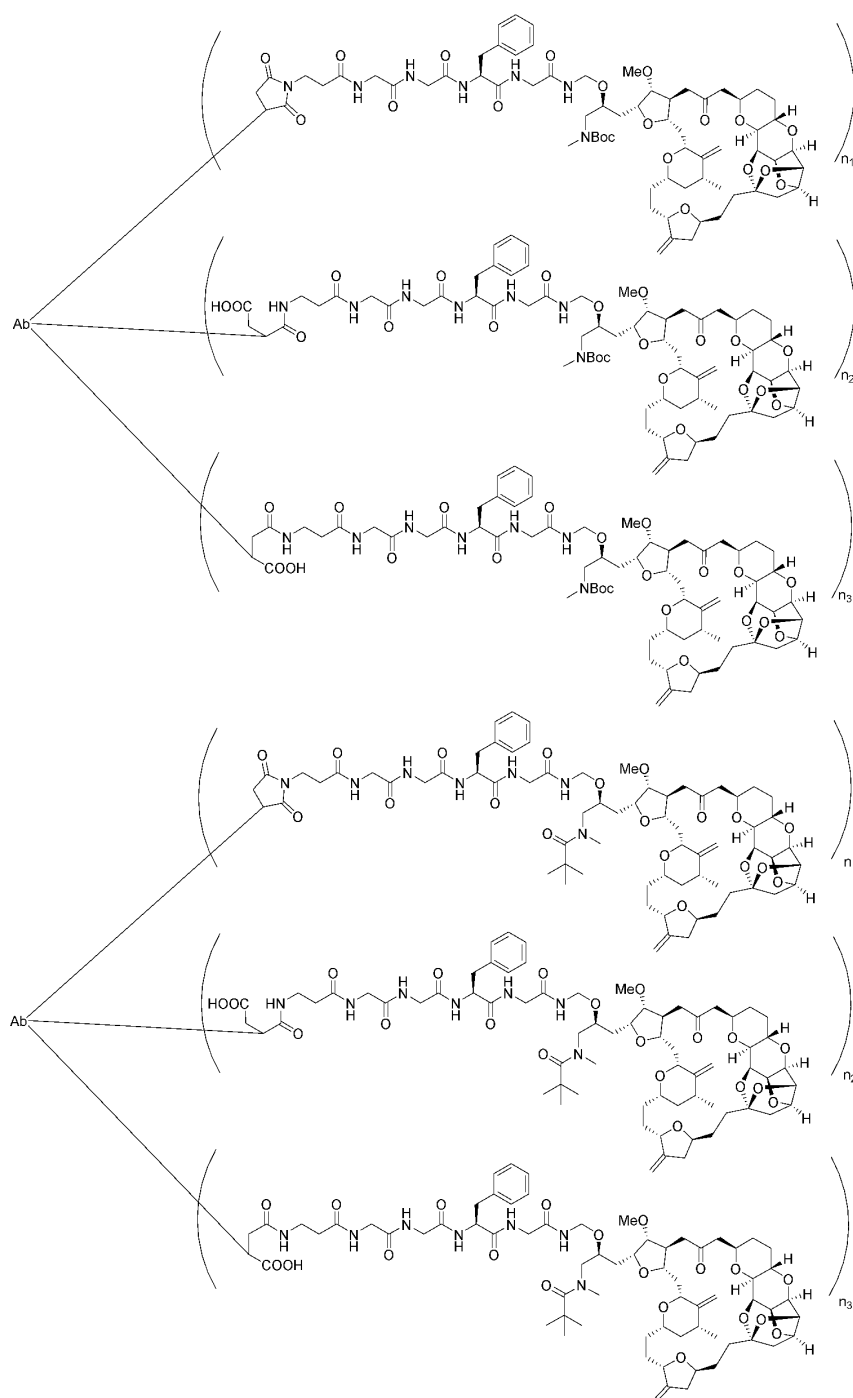
21、根据权利要求 1-20 任一项所述配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其选自以下结构：

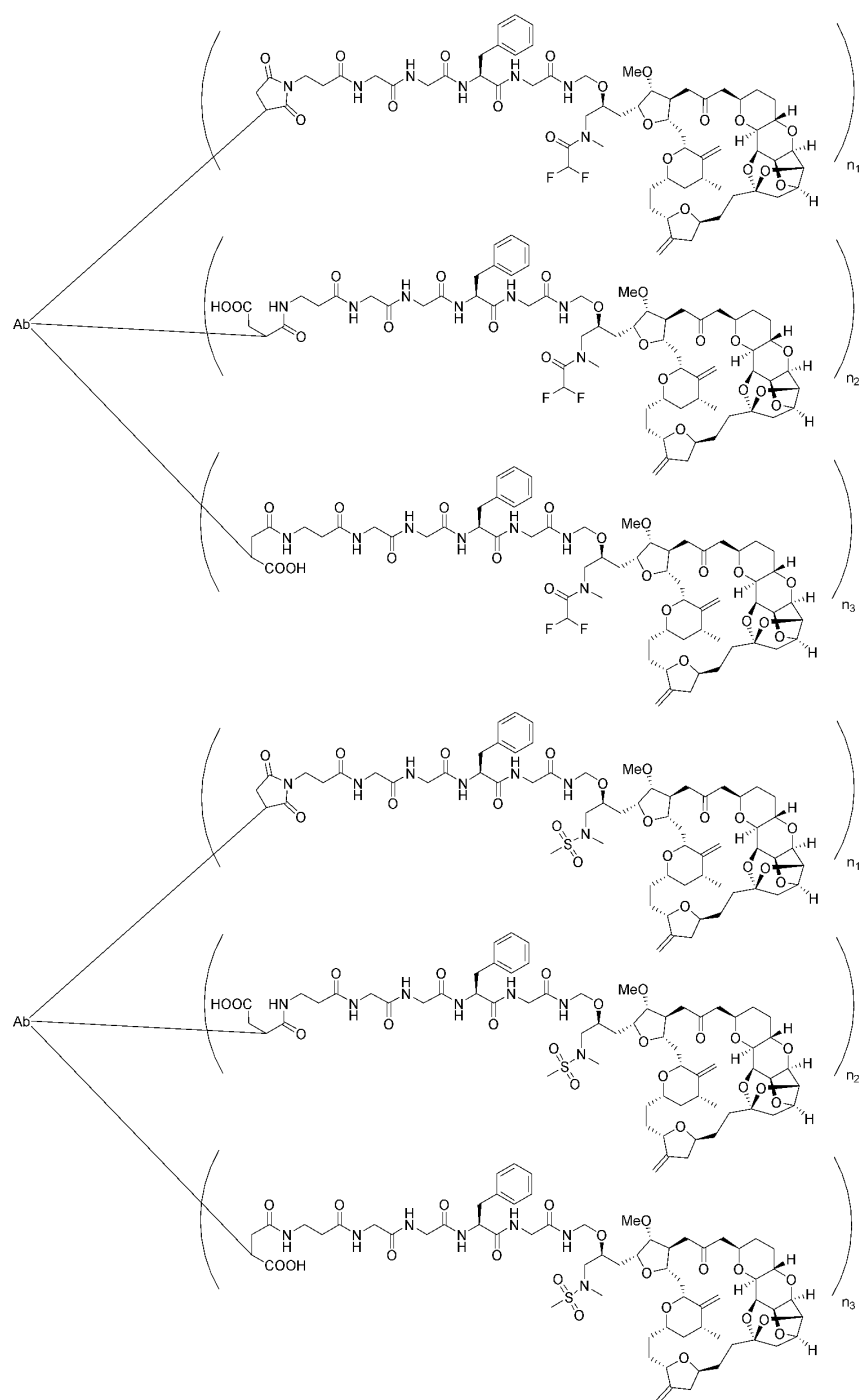


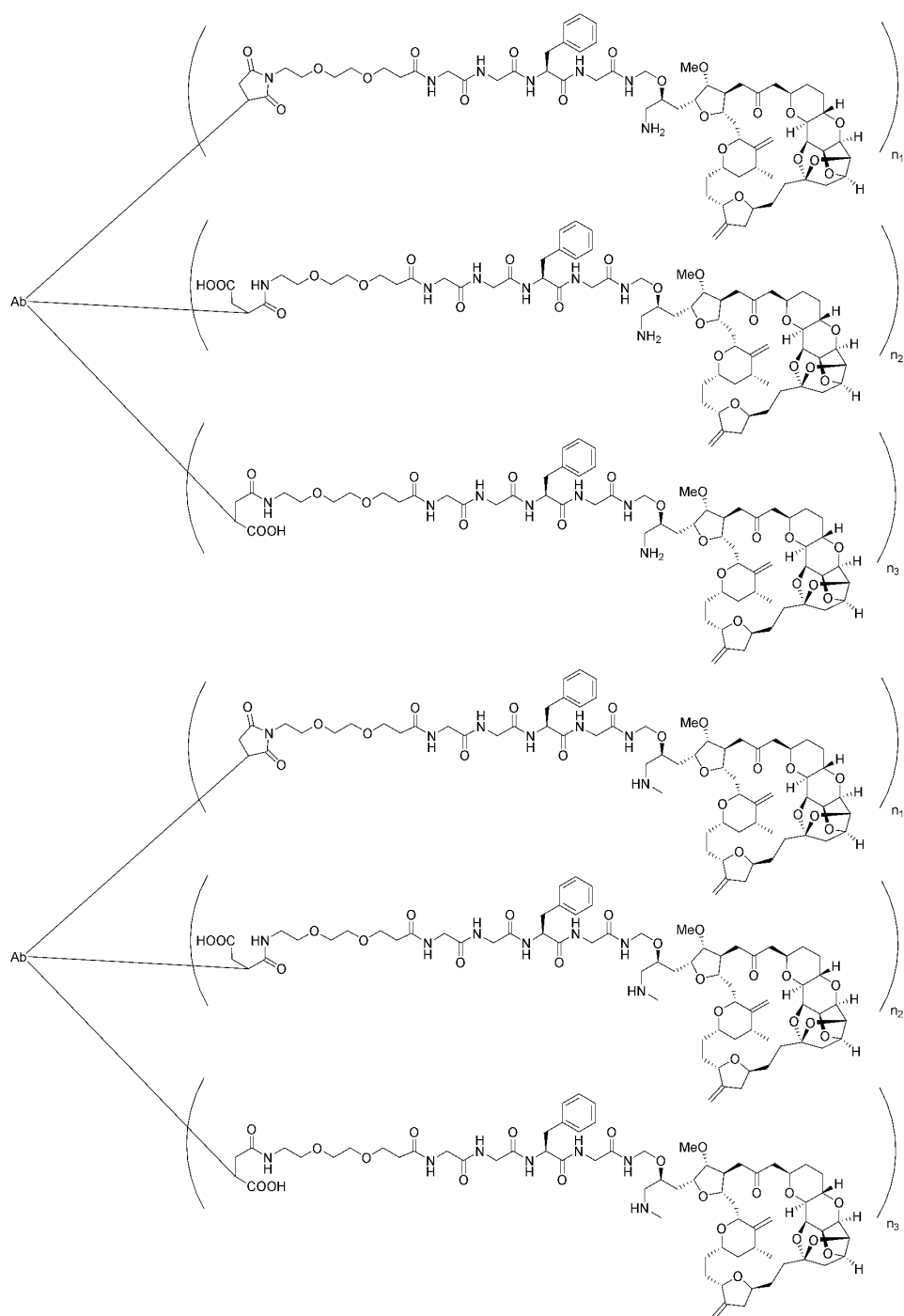


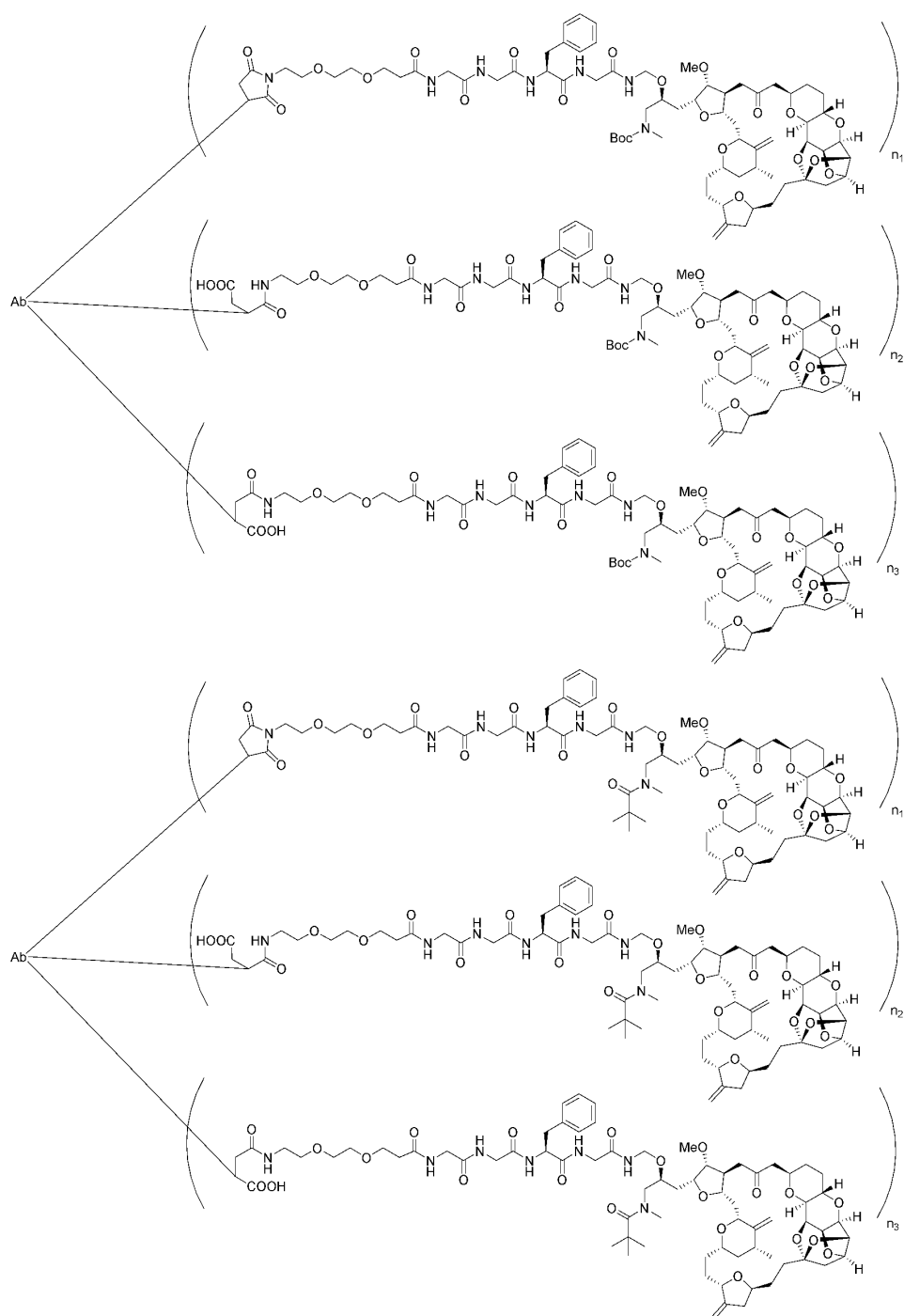


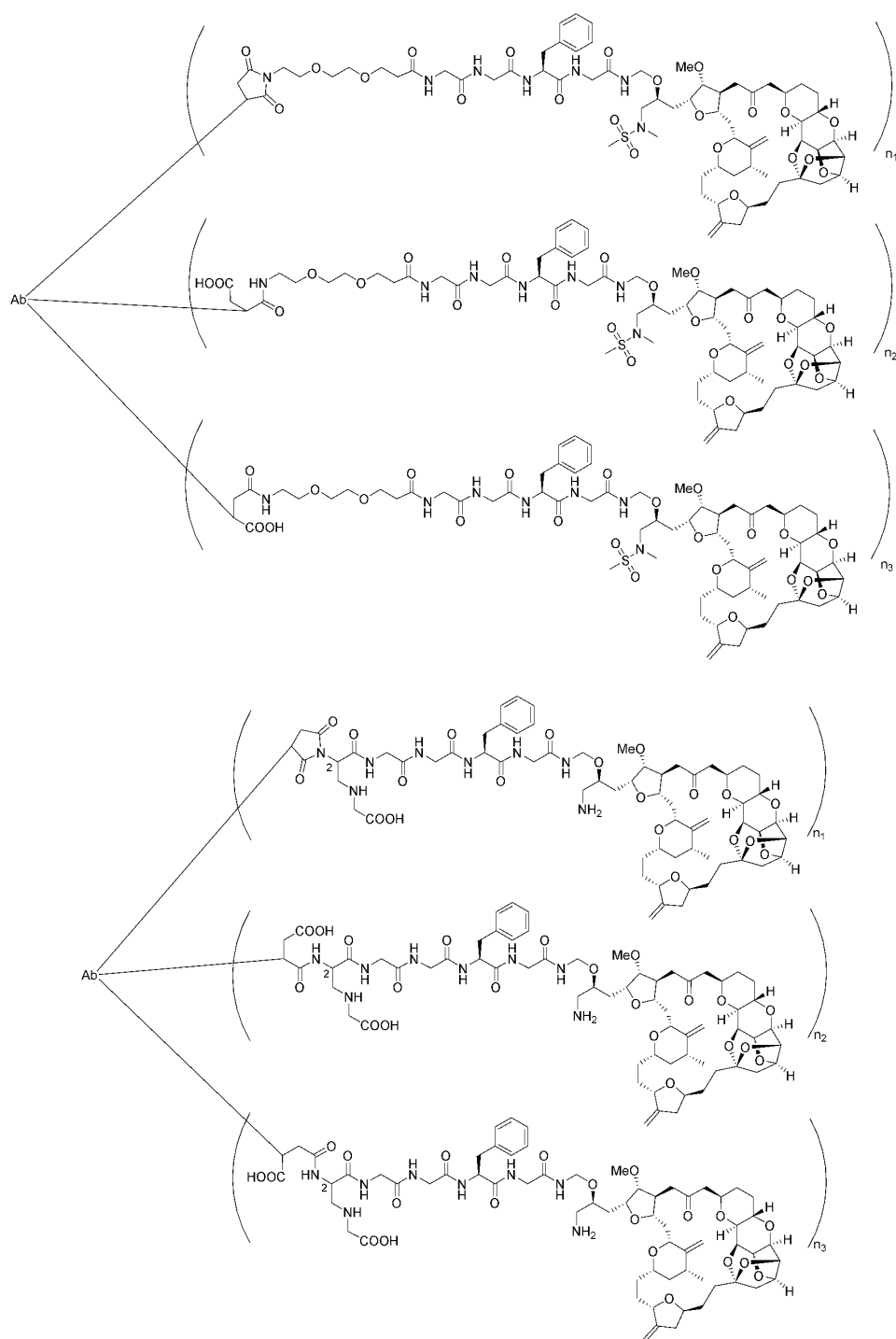


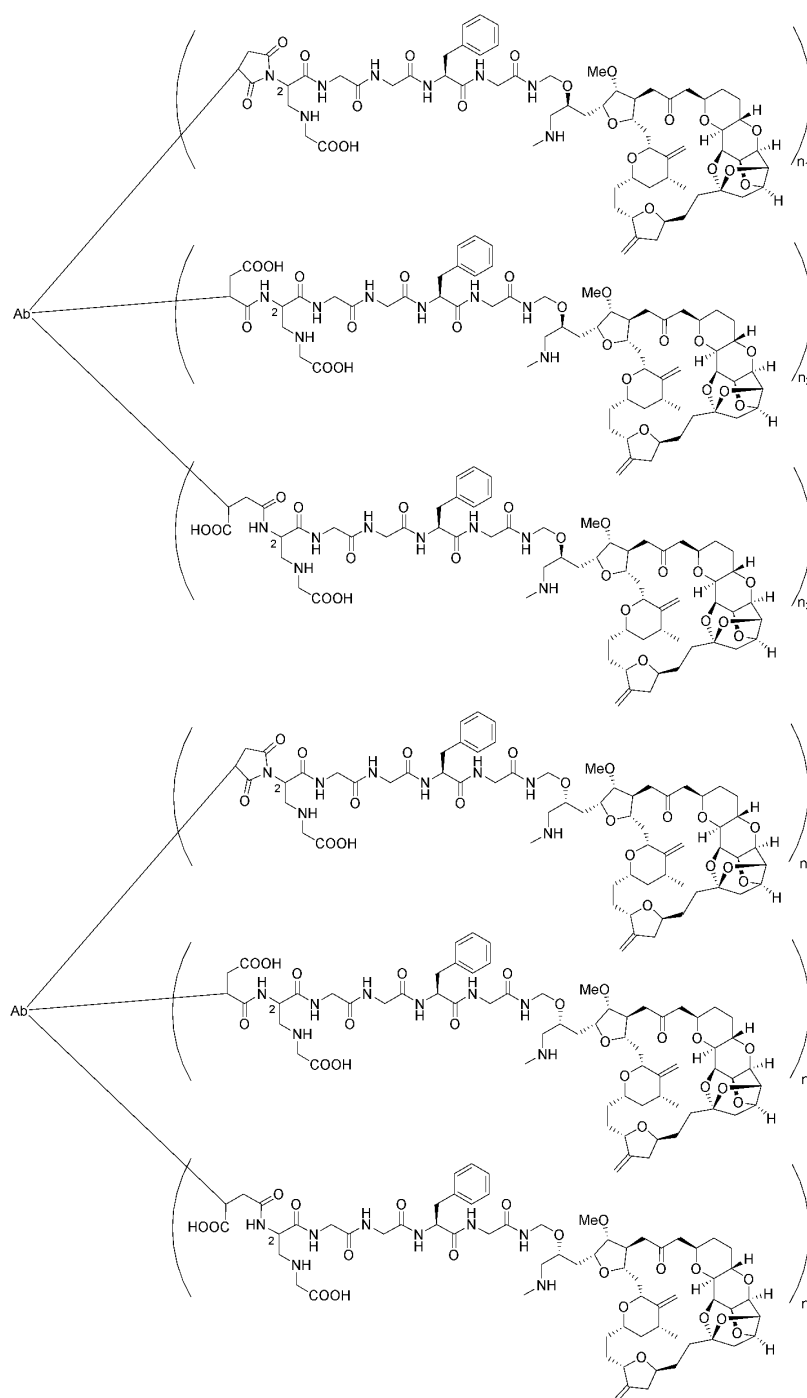




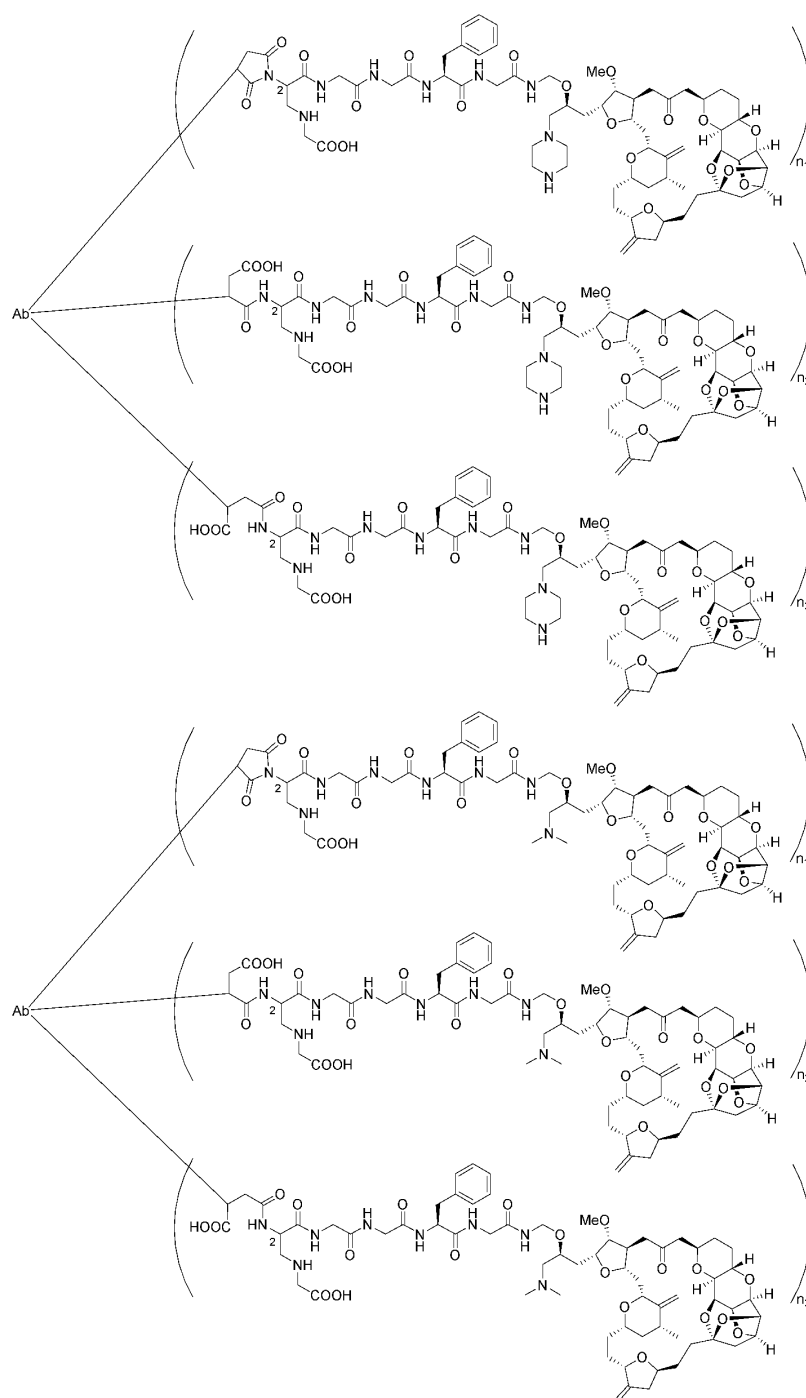


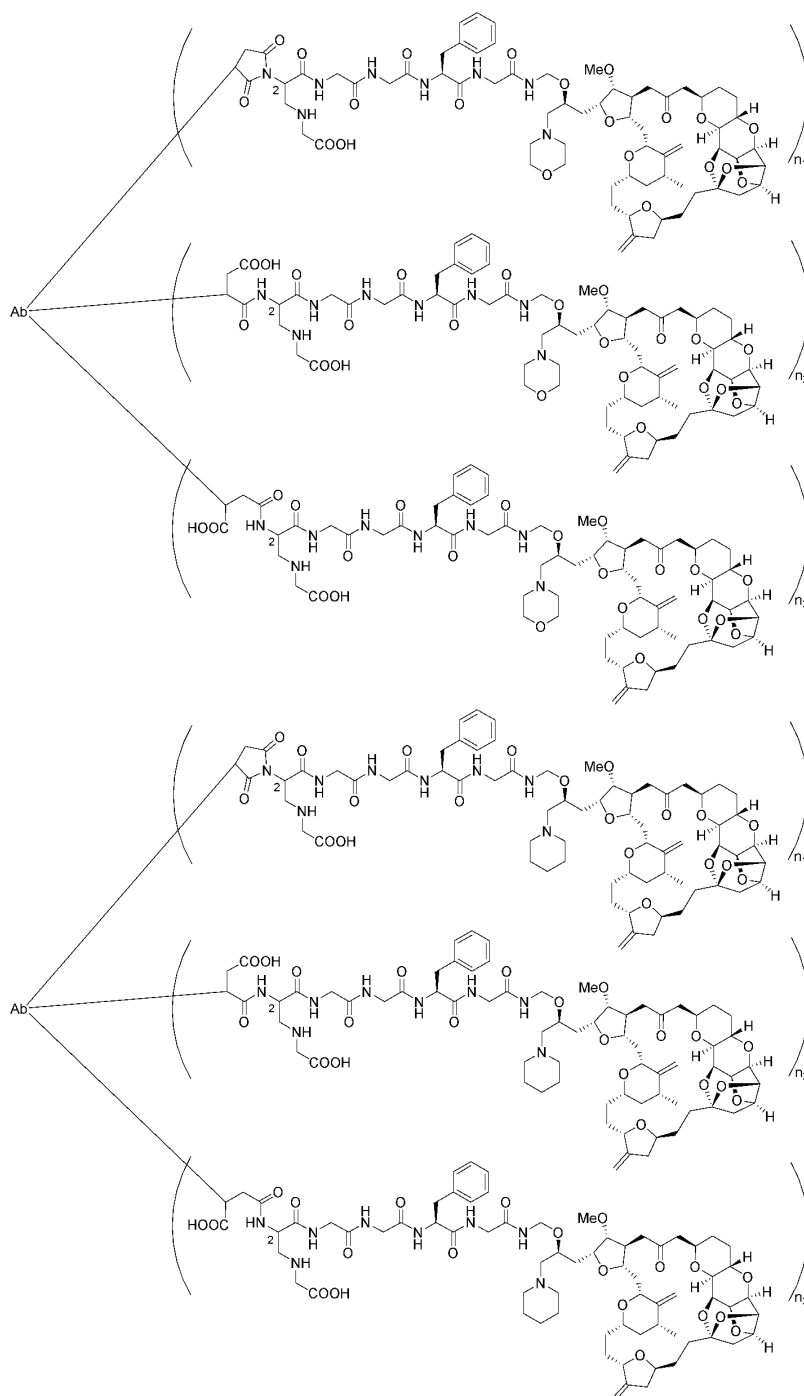


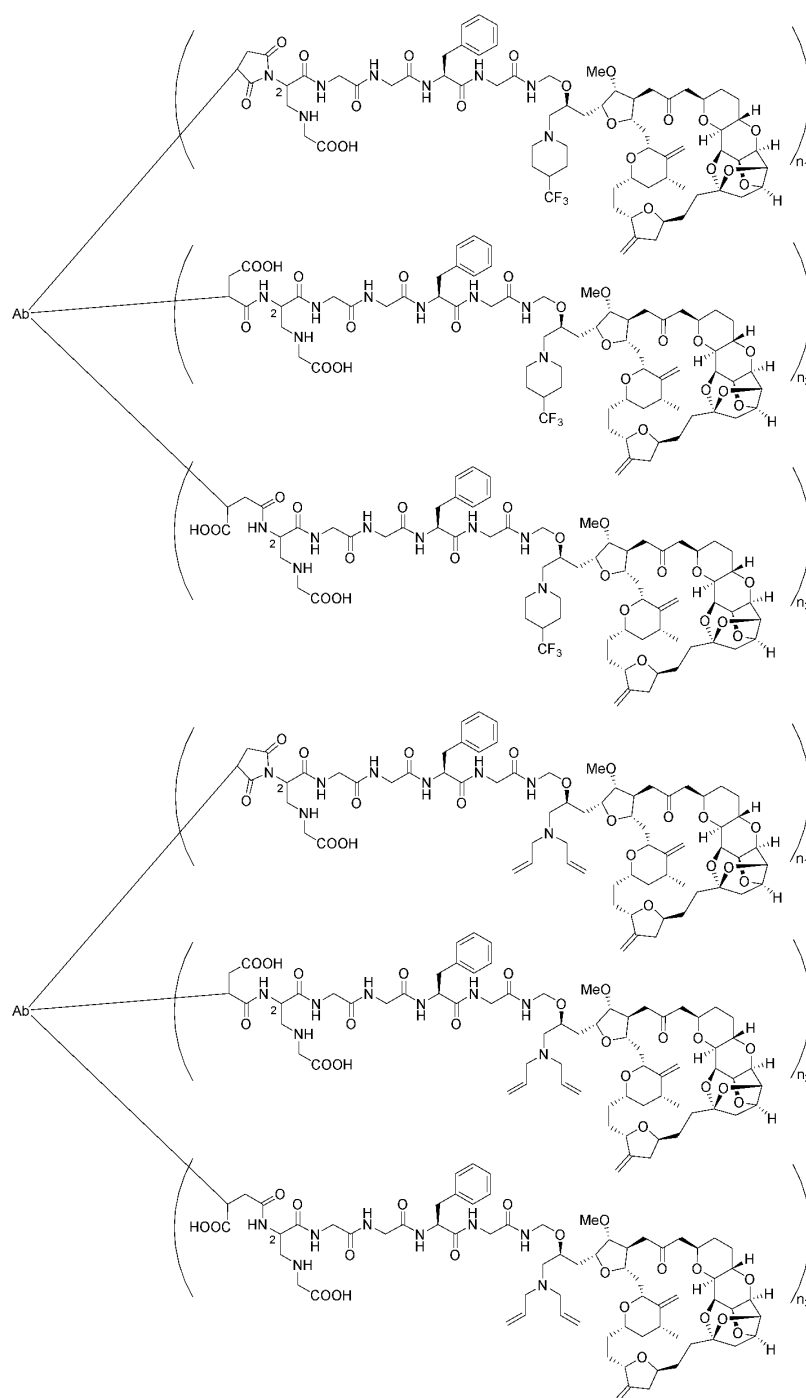


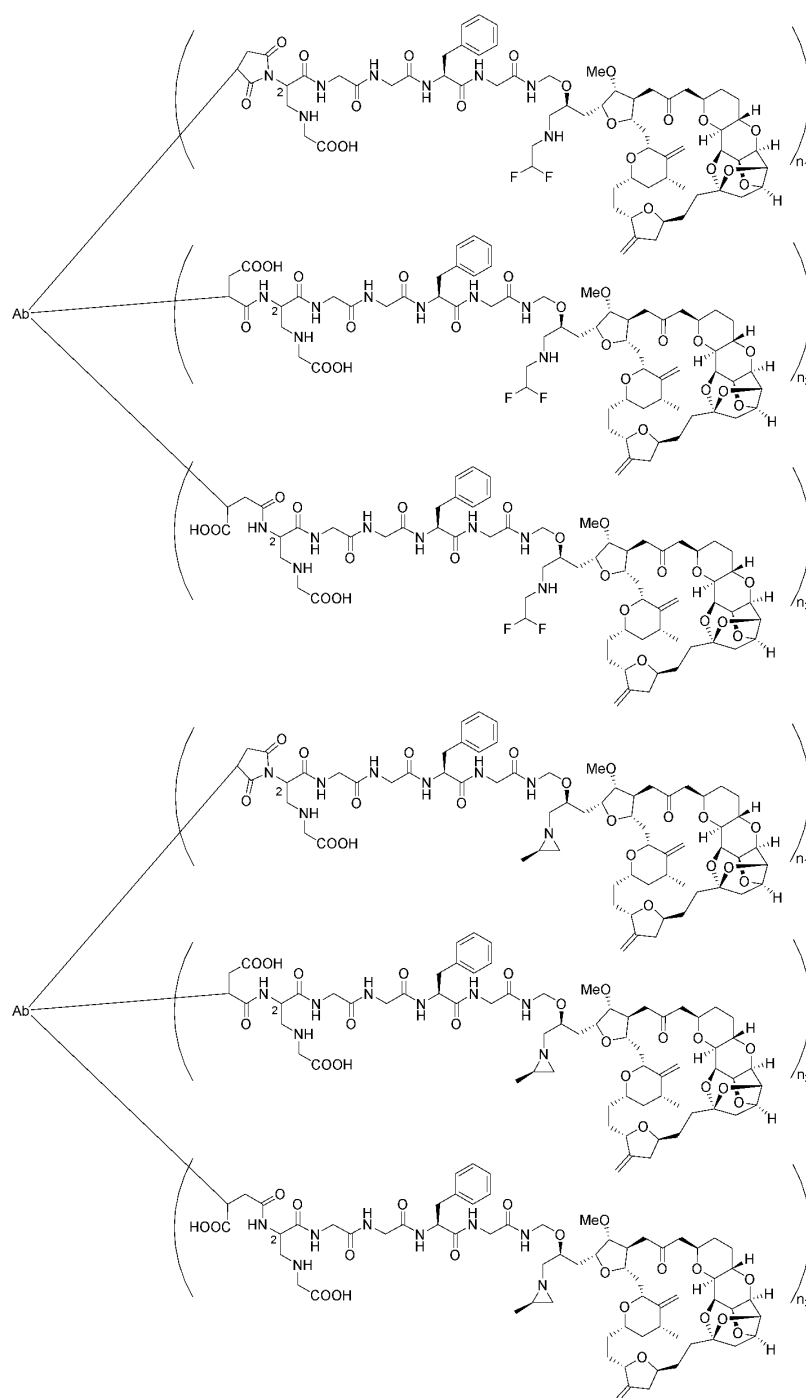


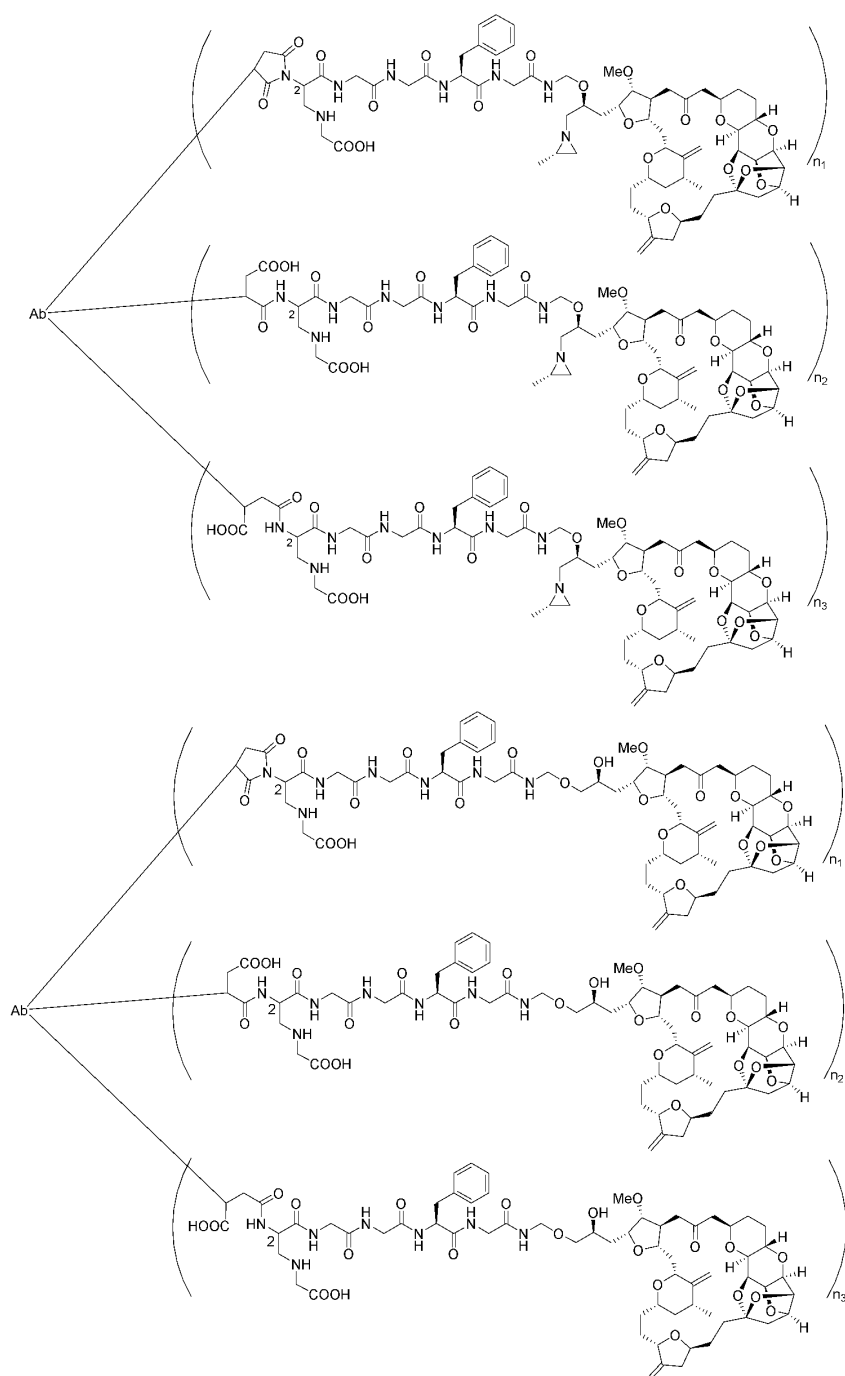


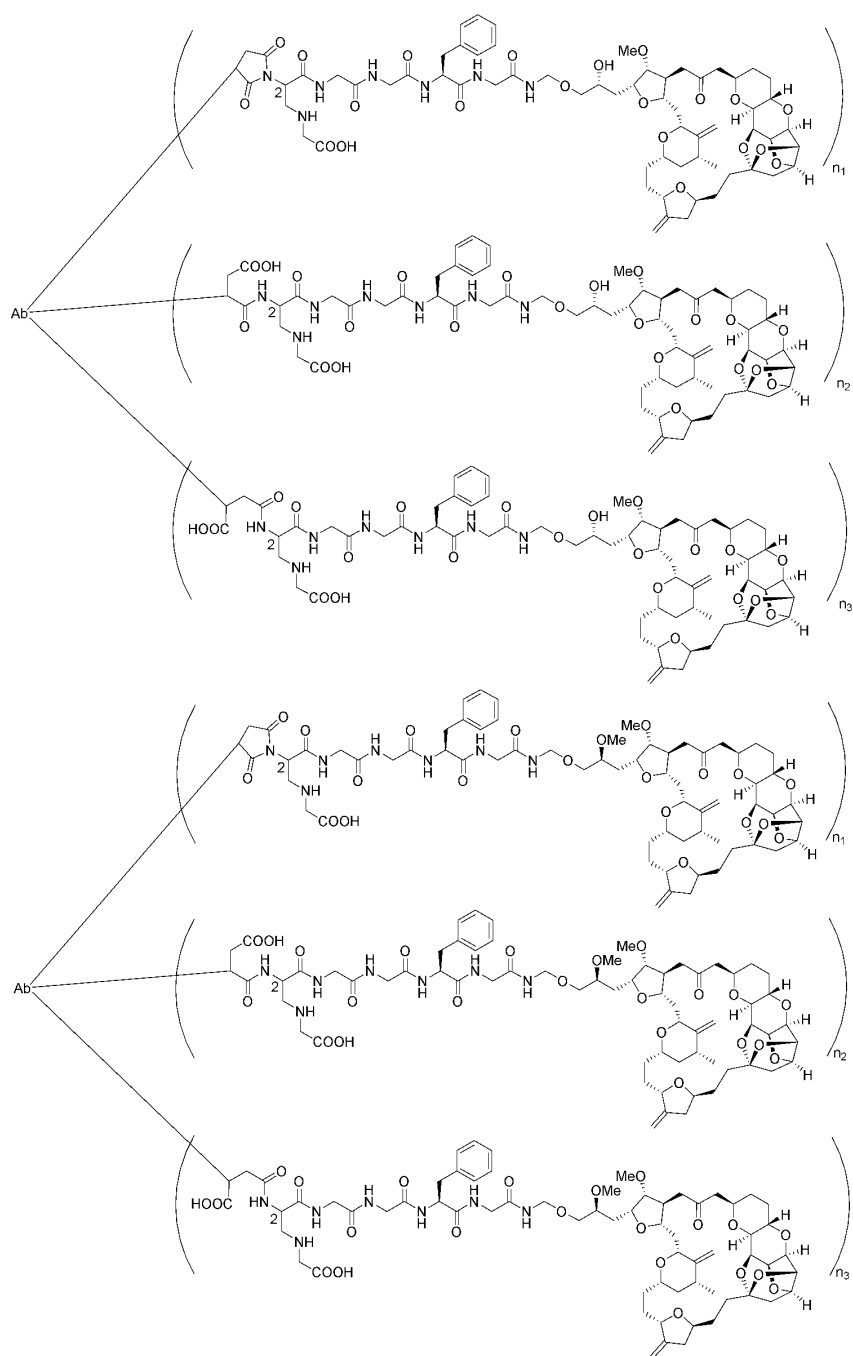


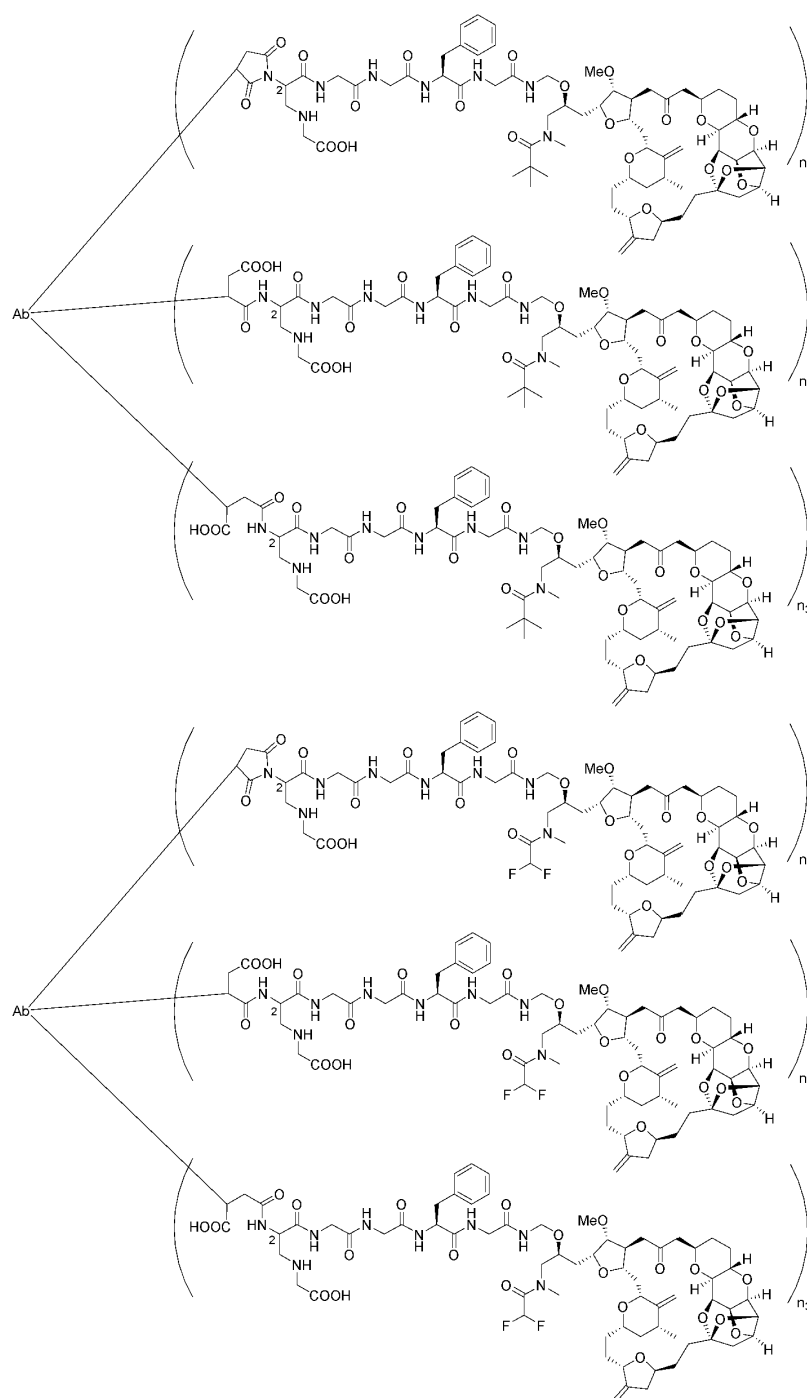


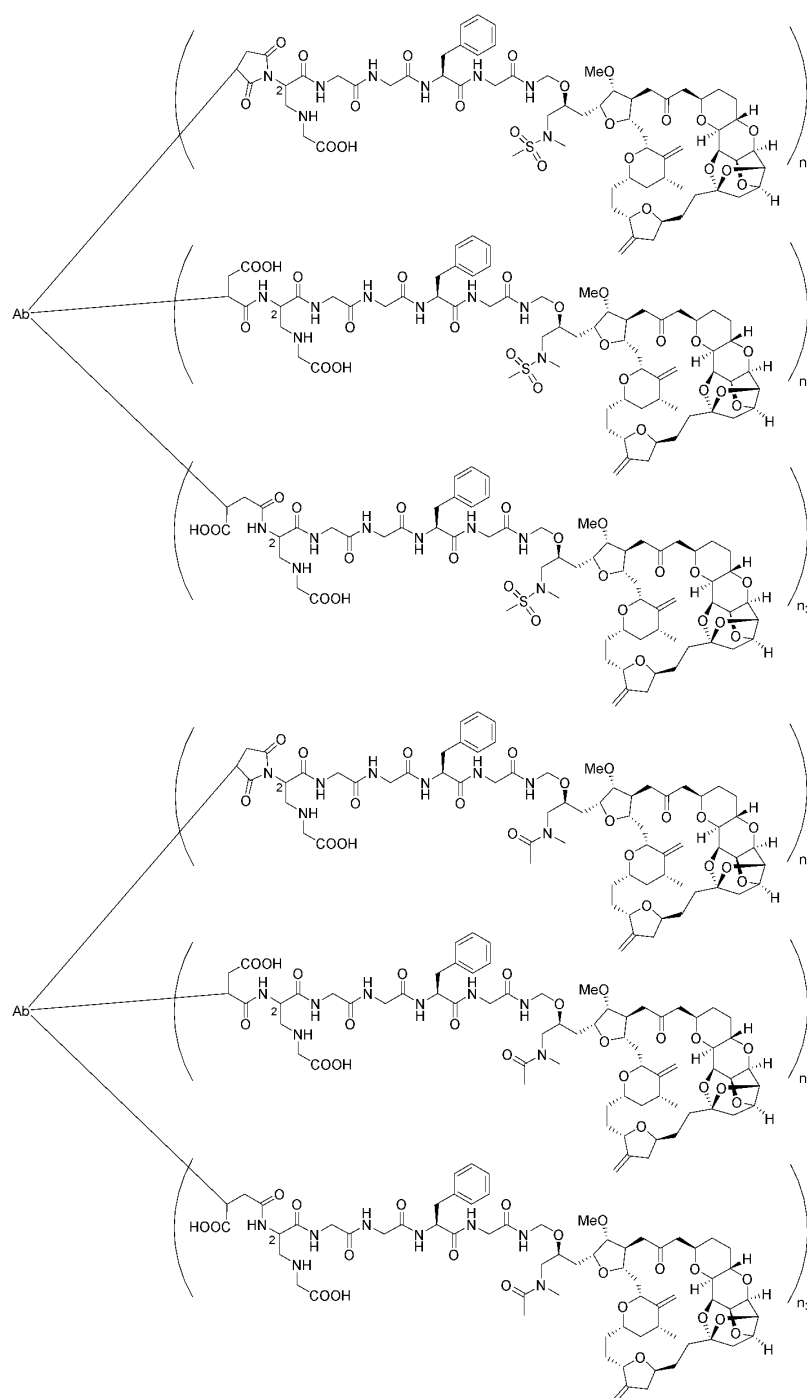




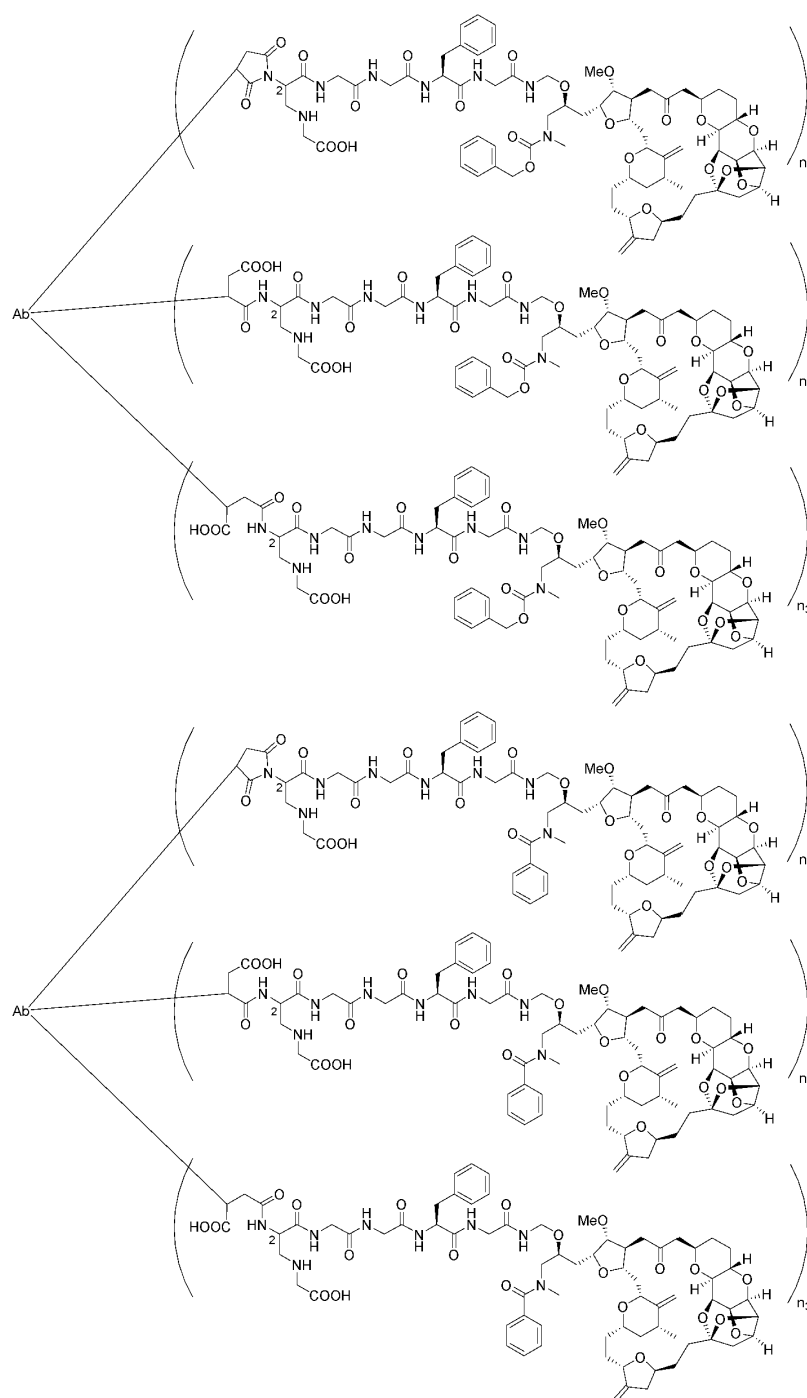


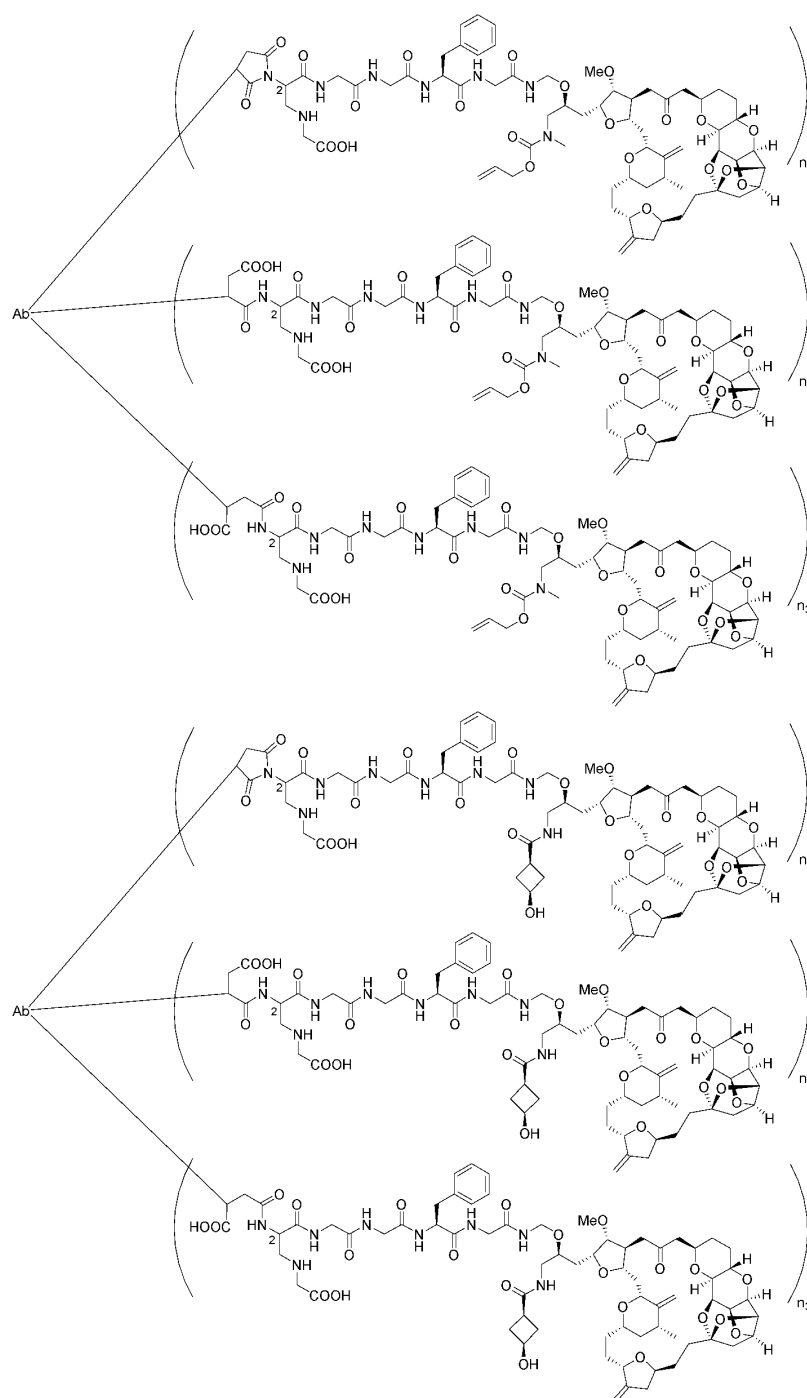


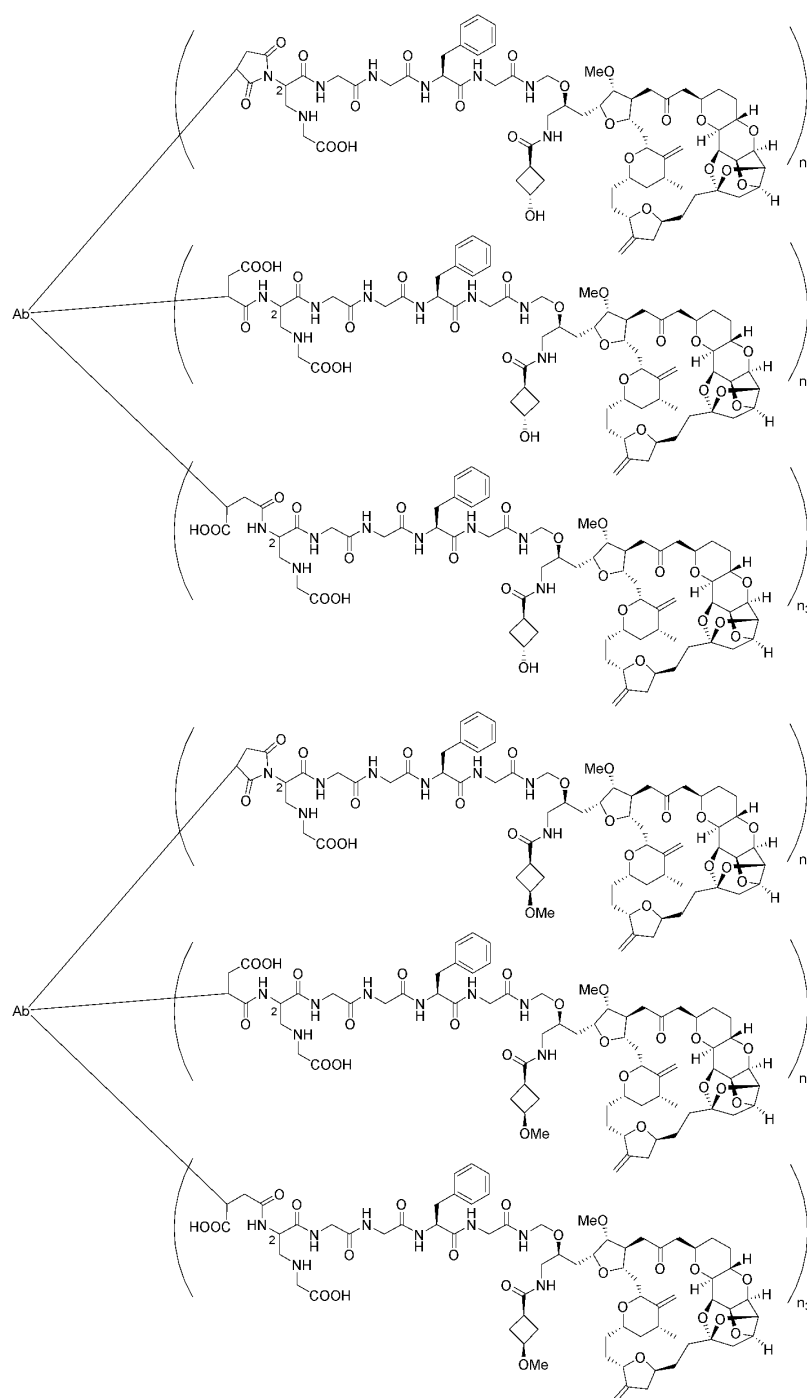


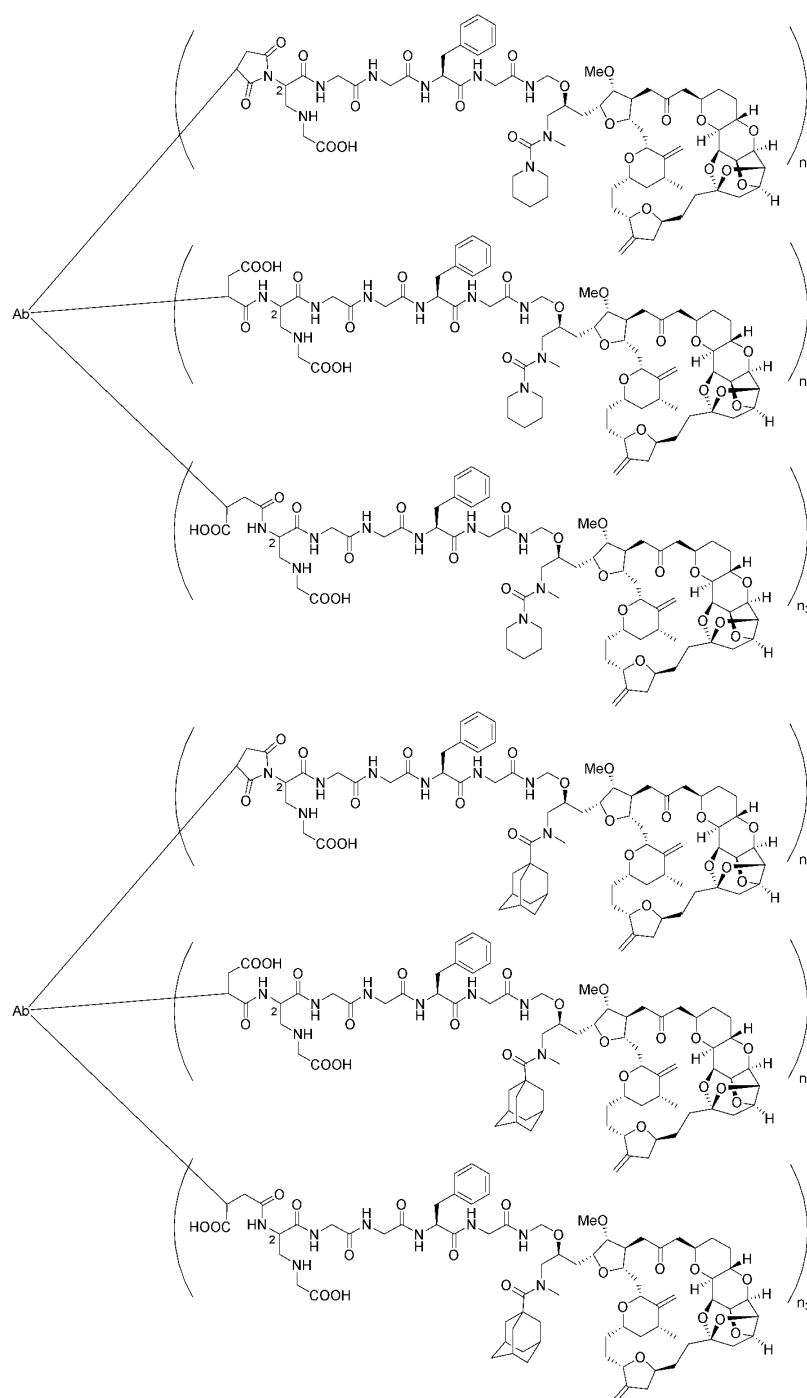


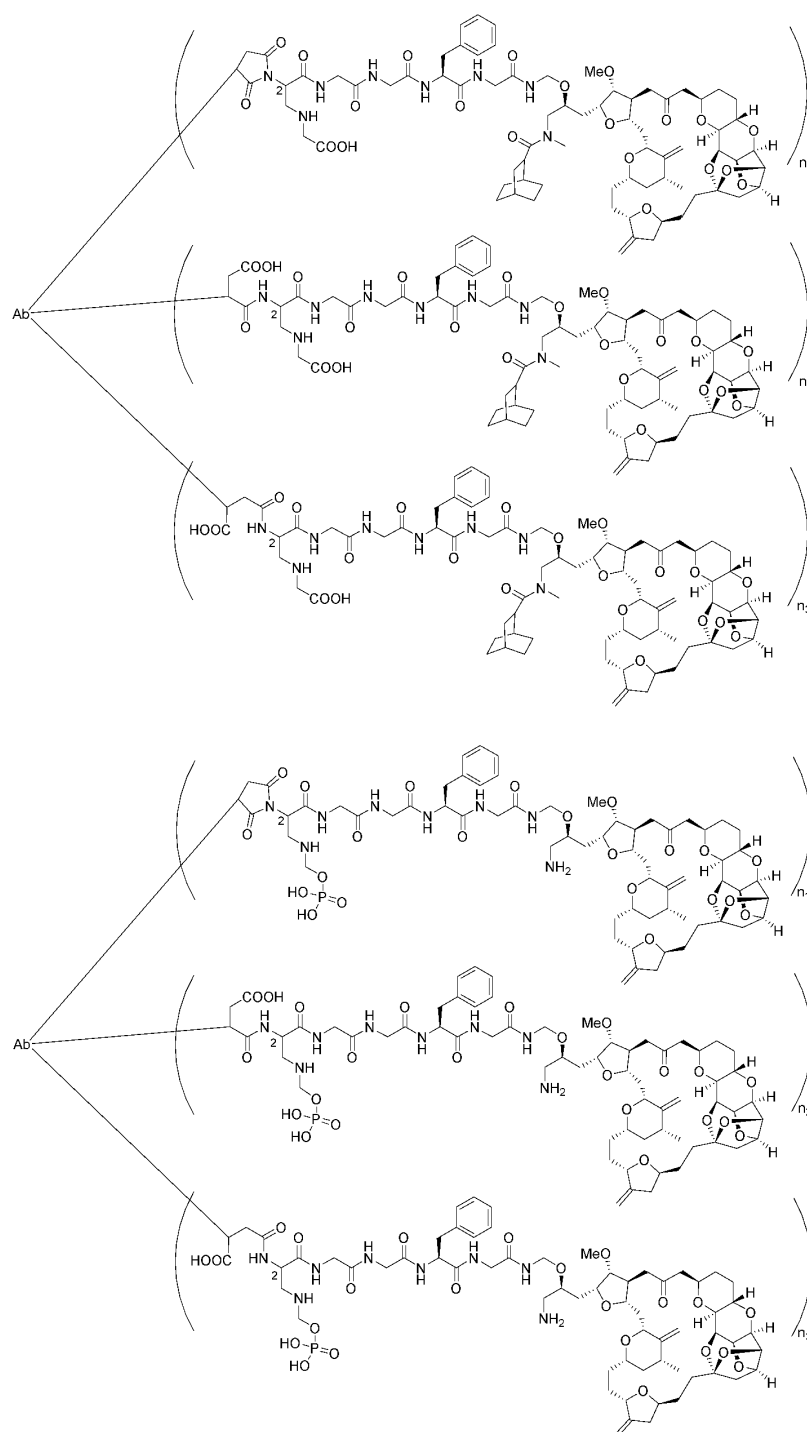


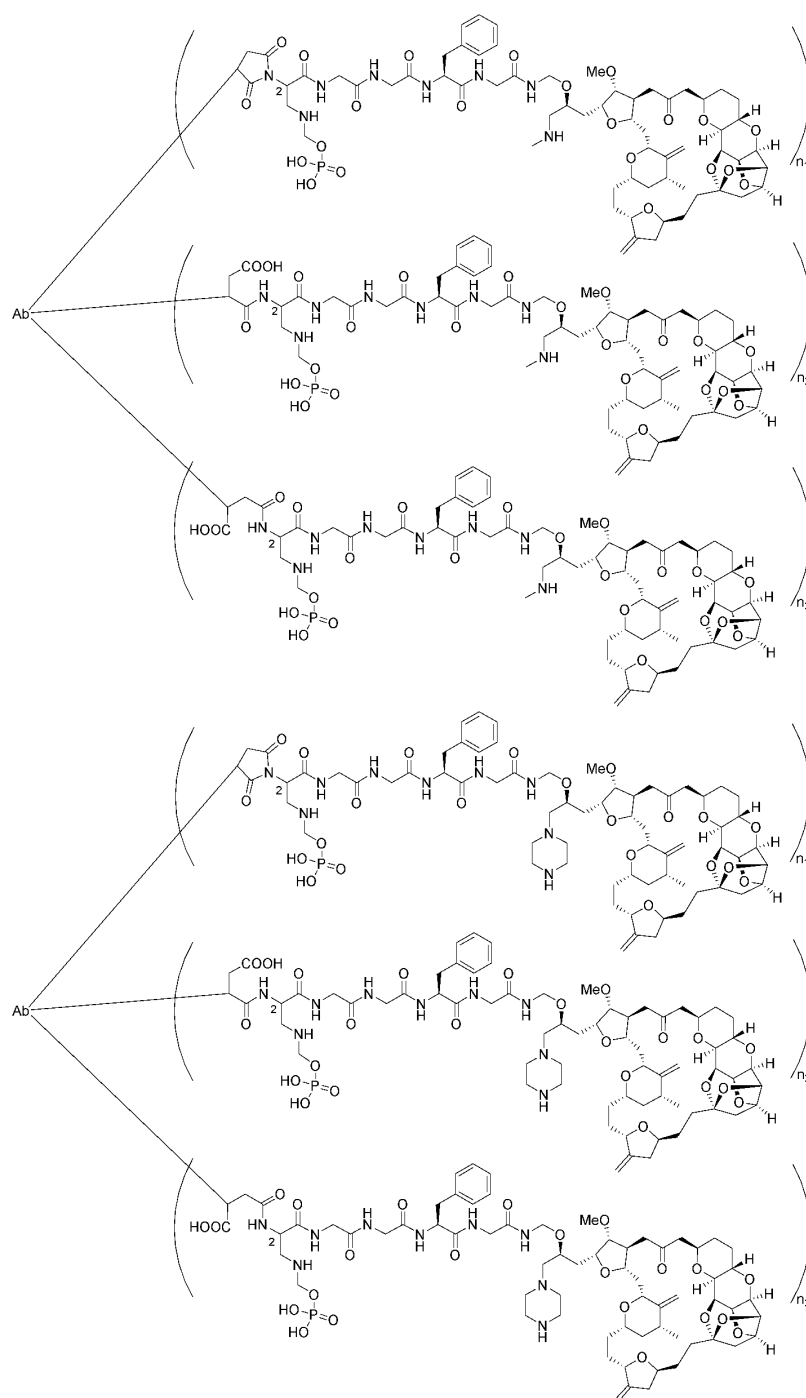


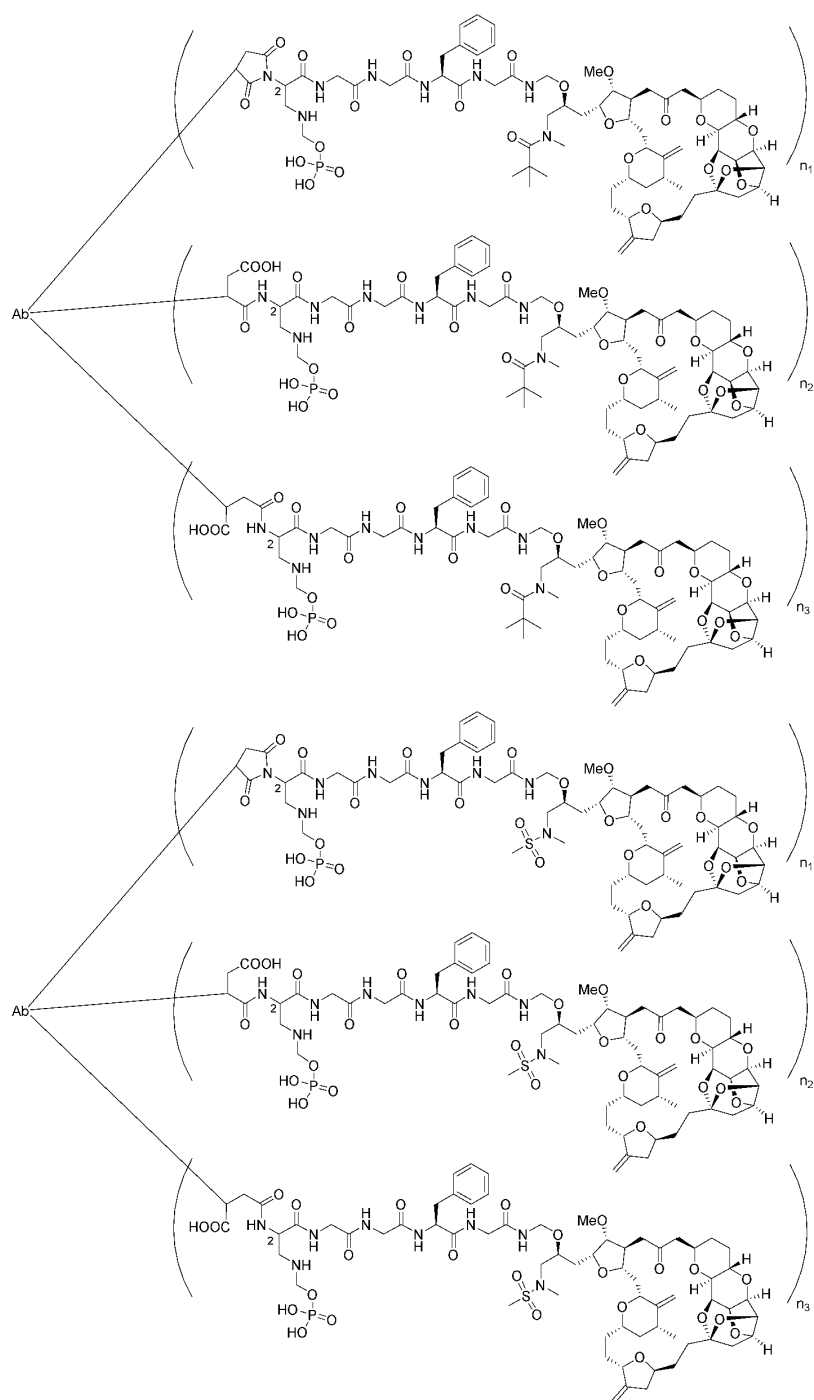


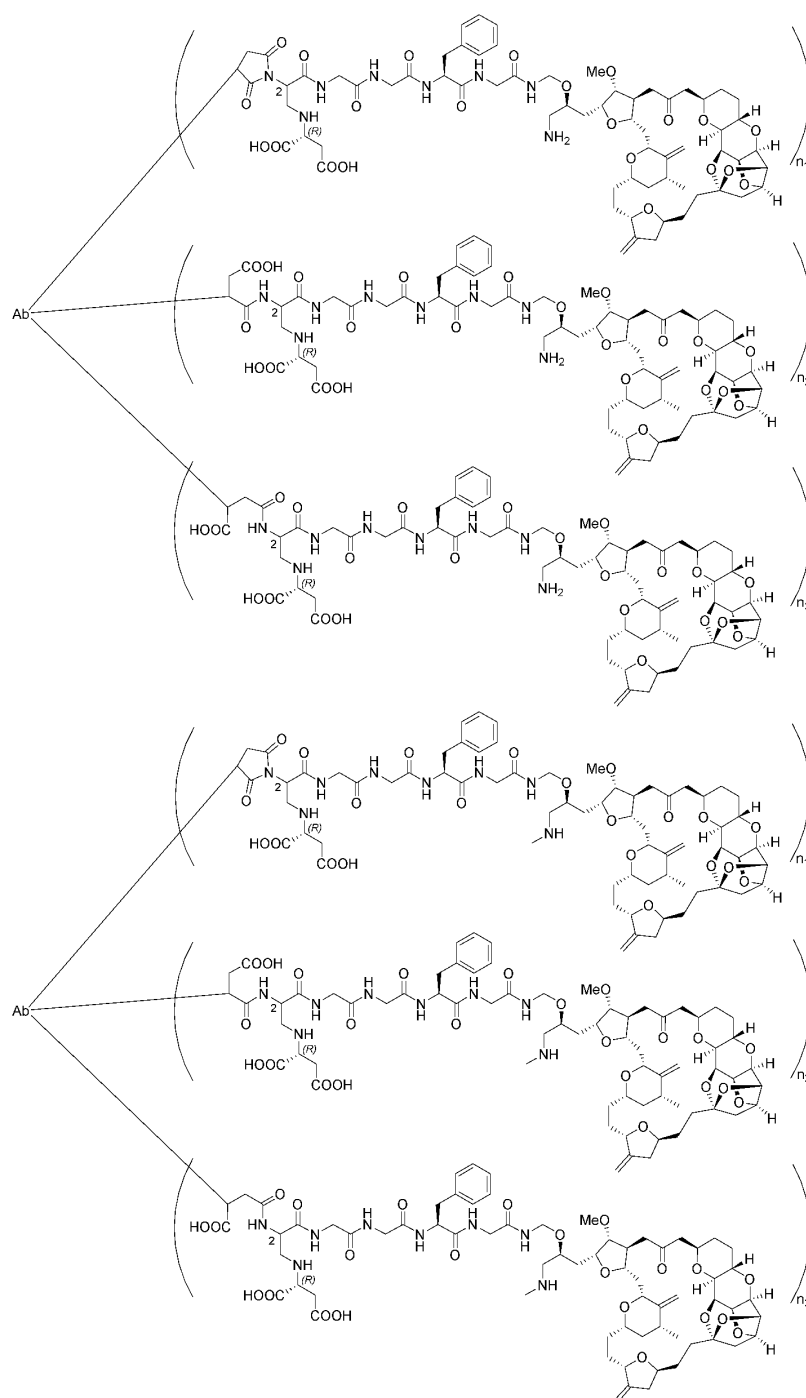




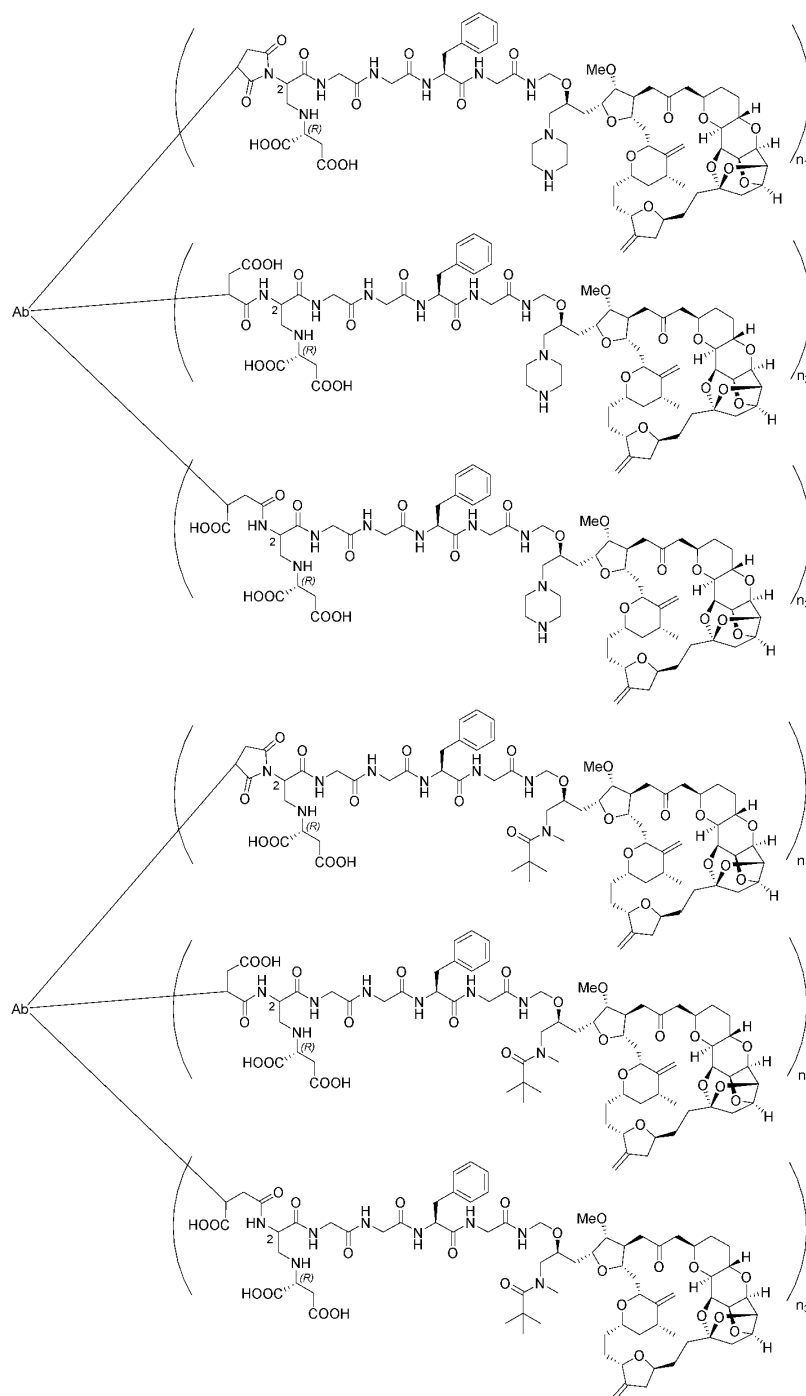


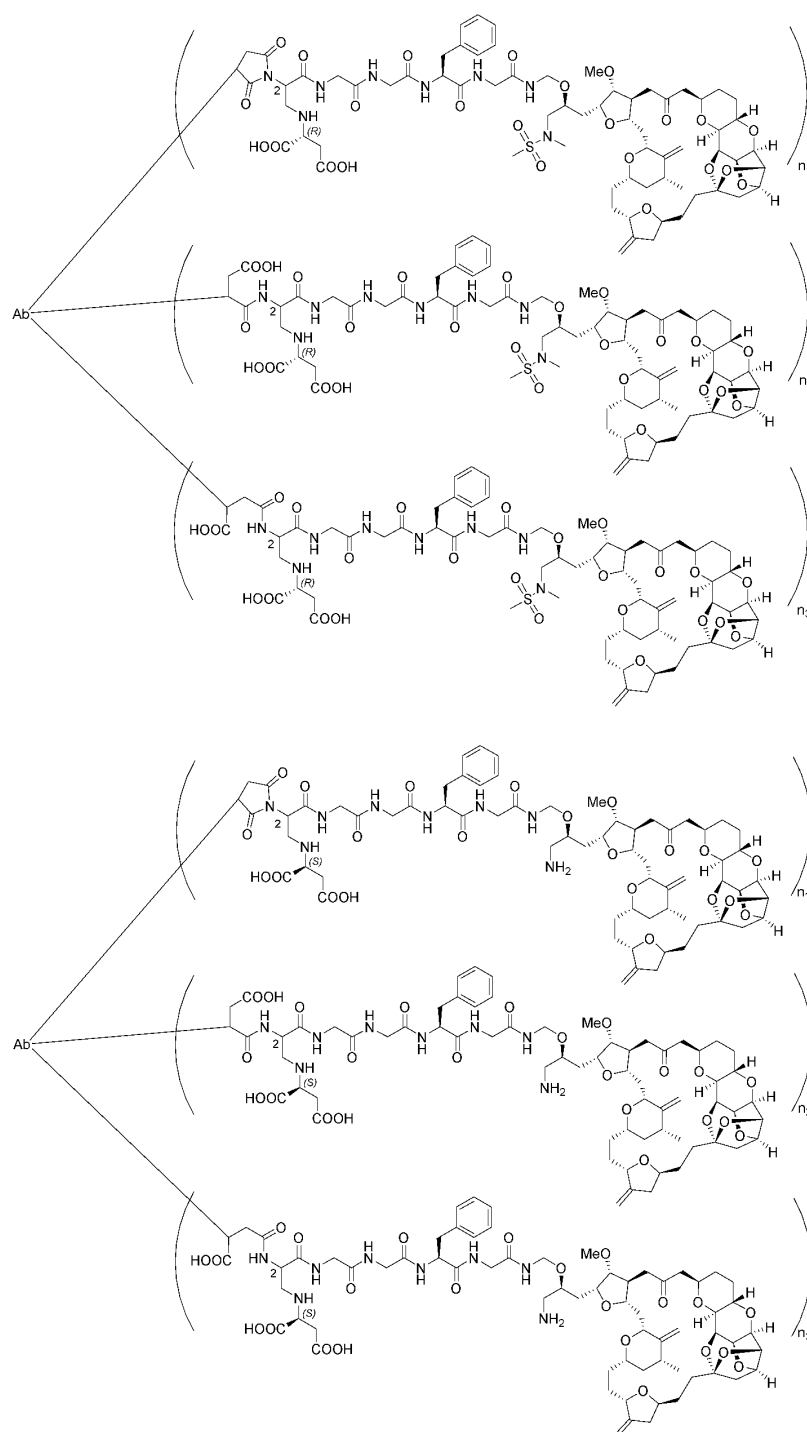


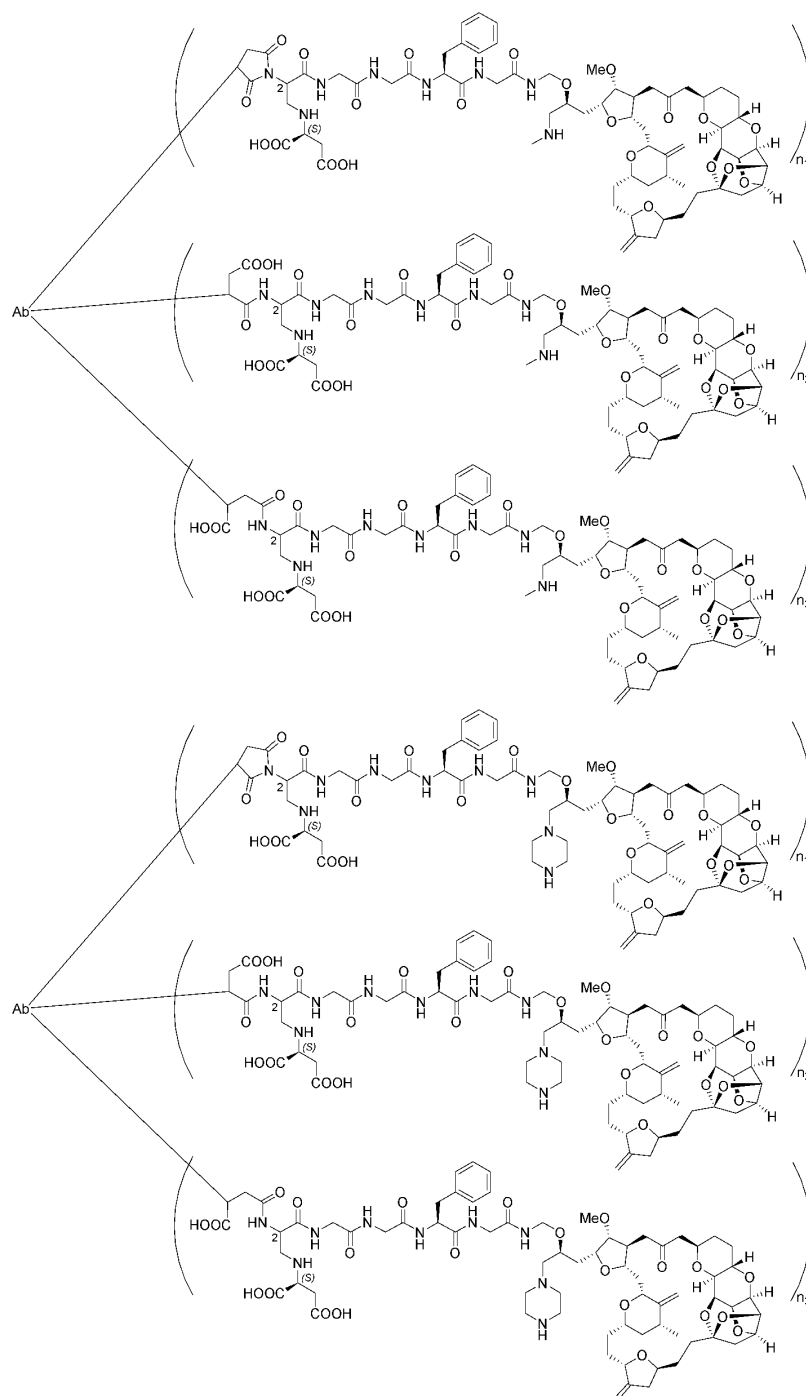


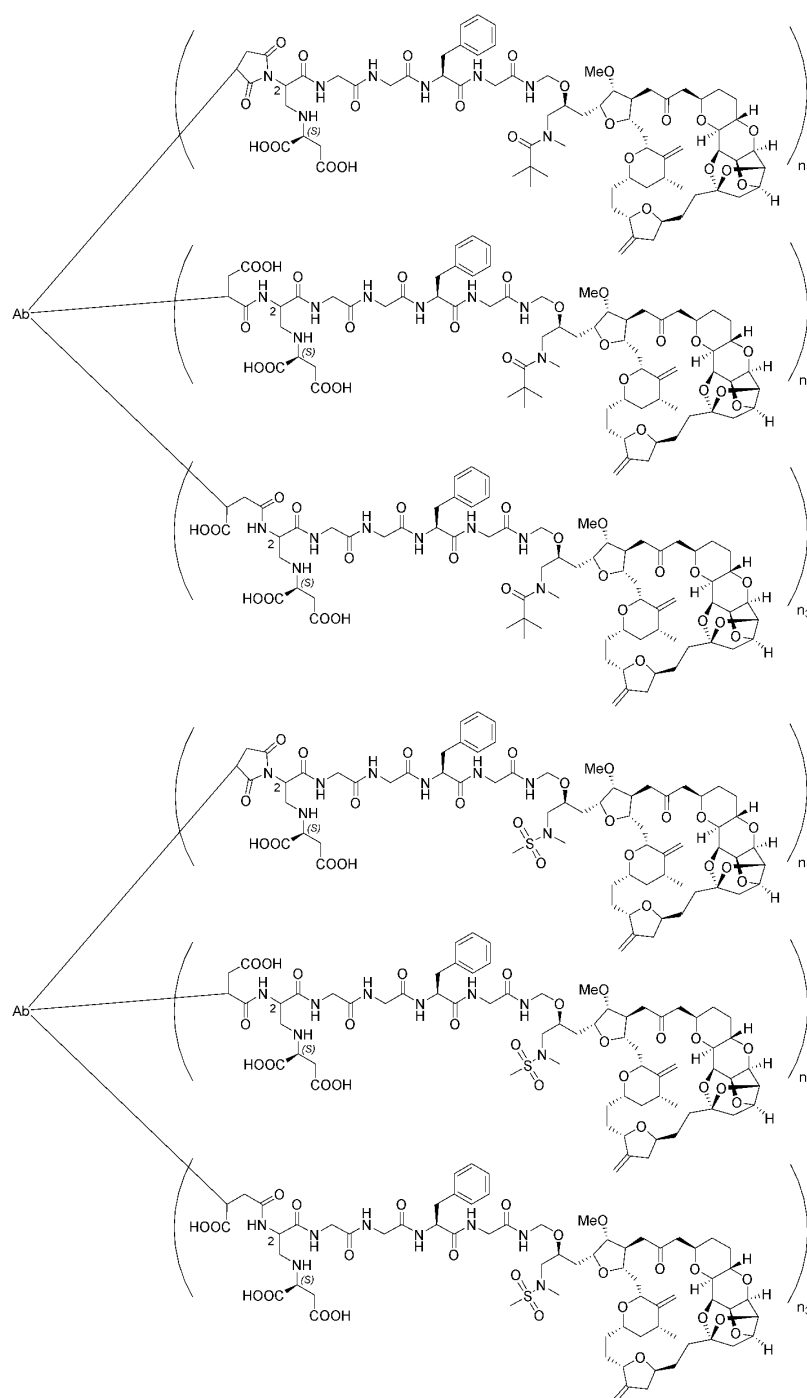


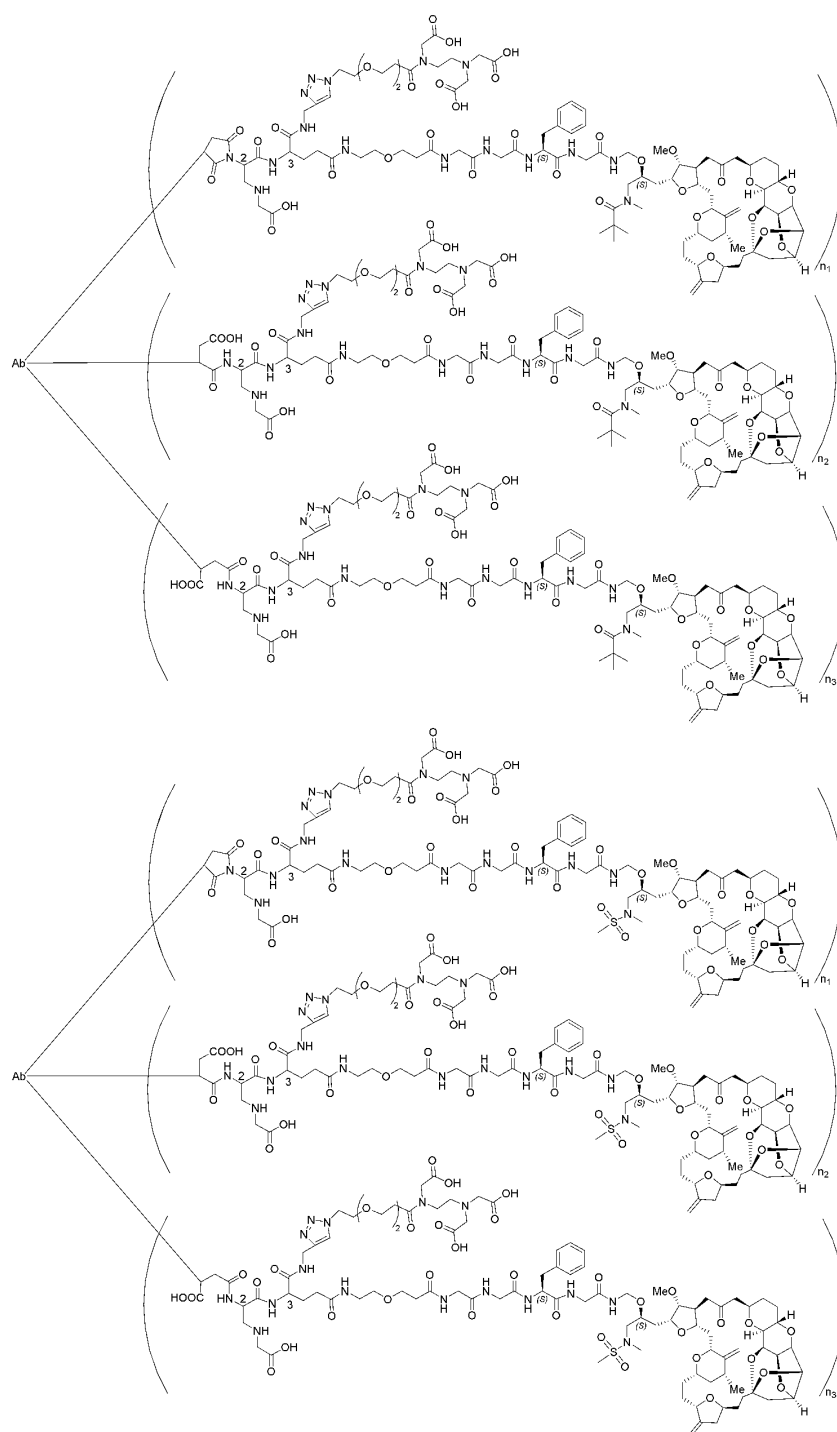


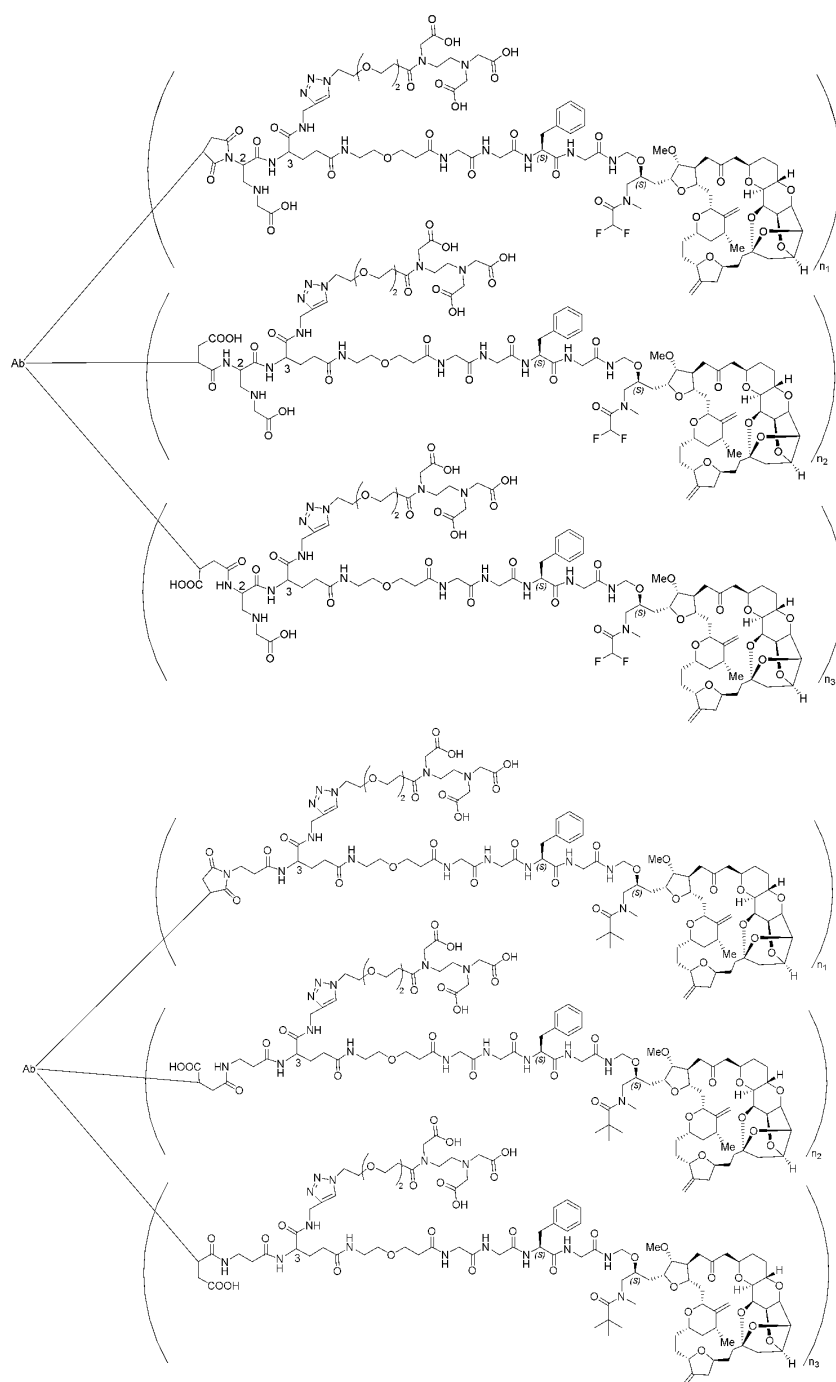


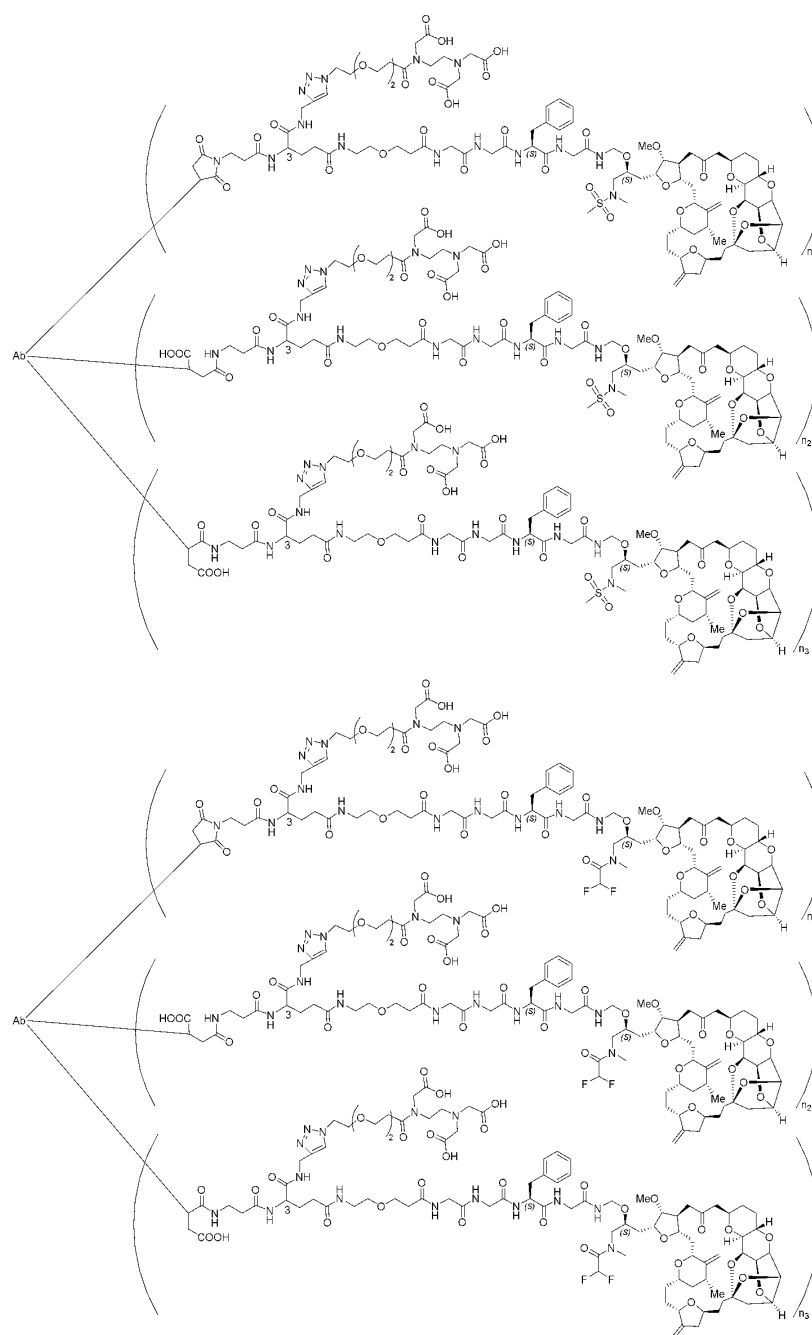


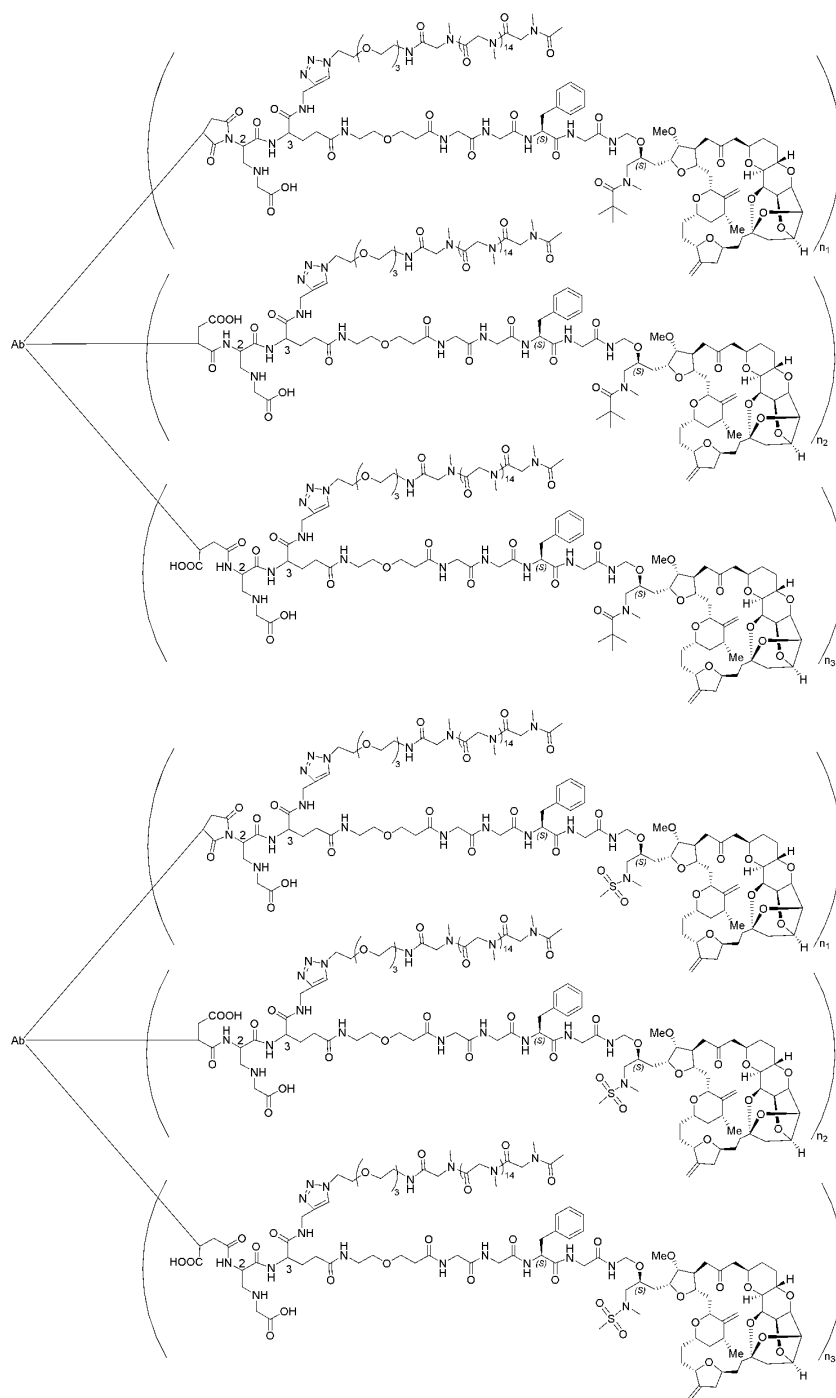




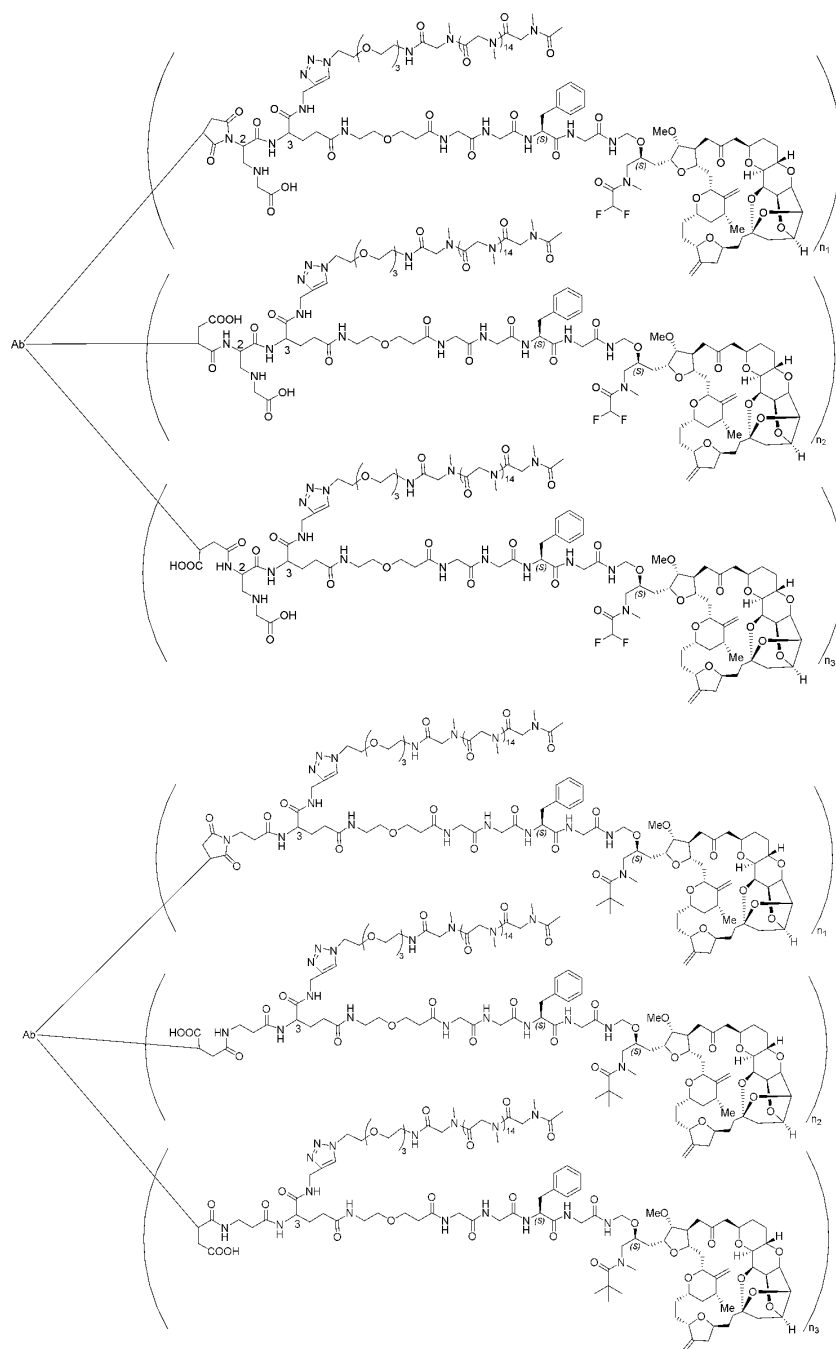


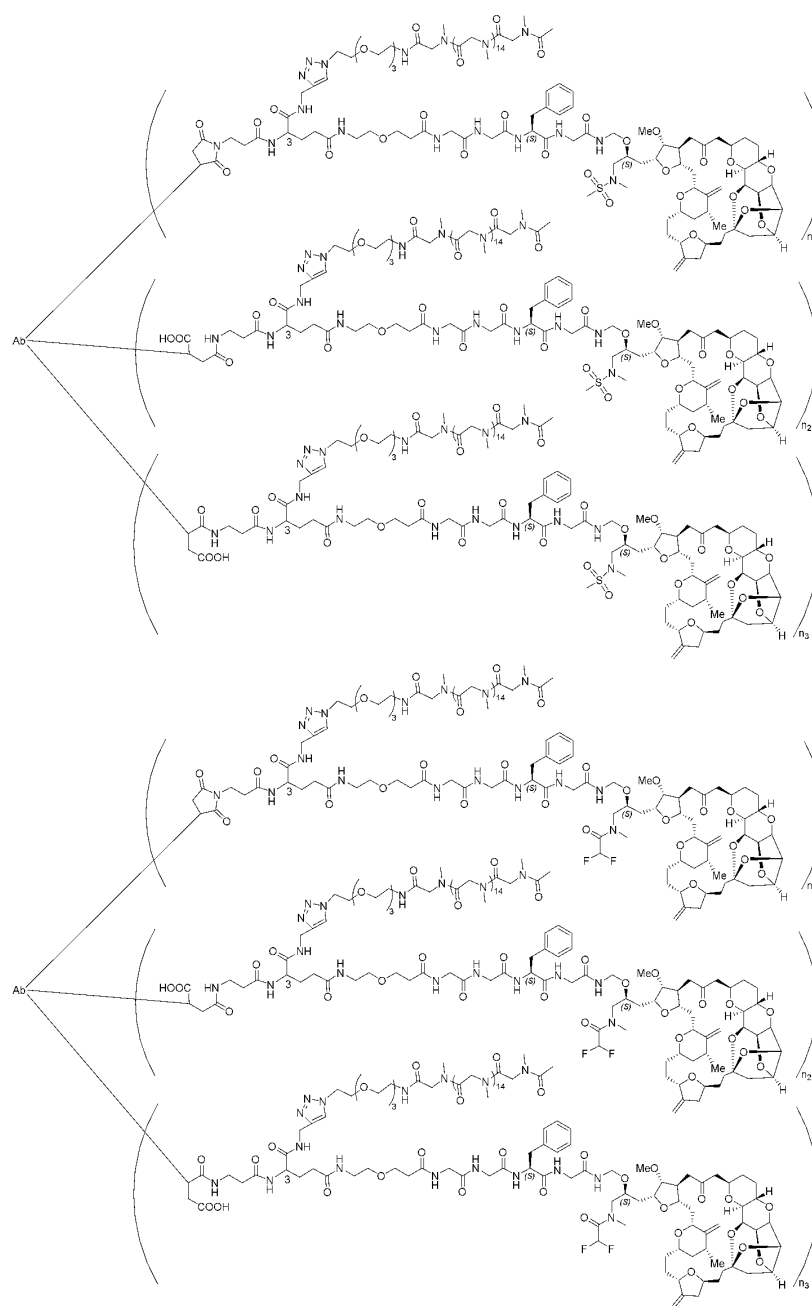


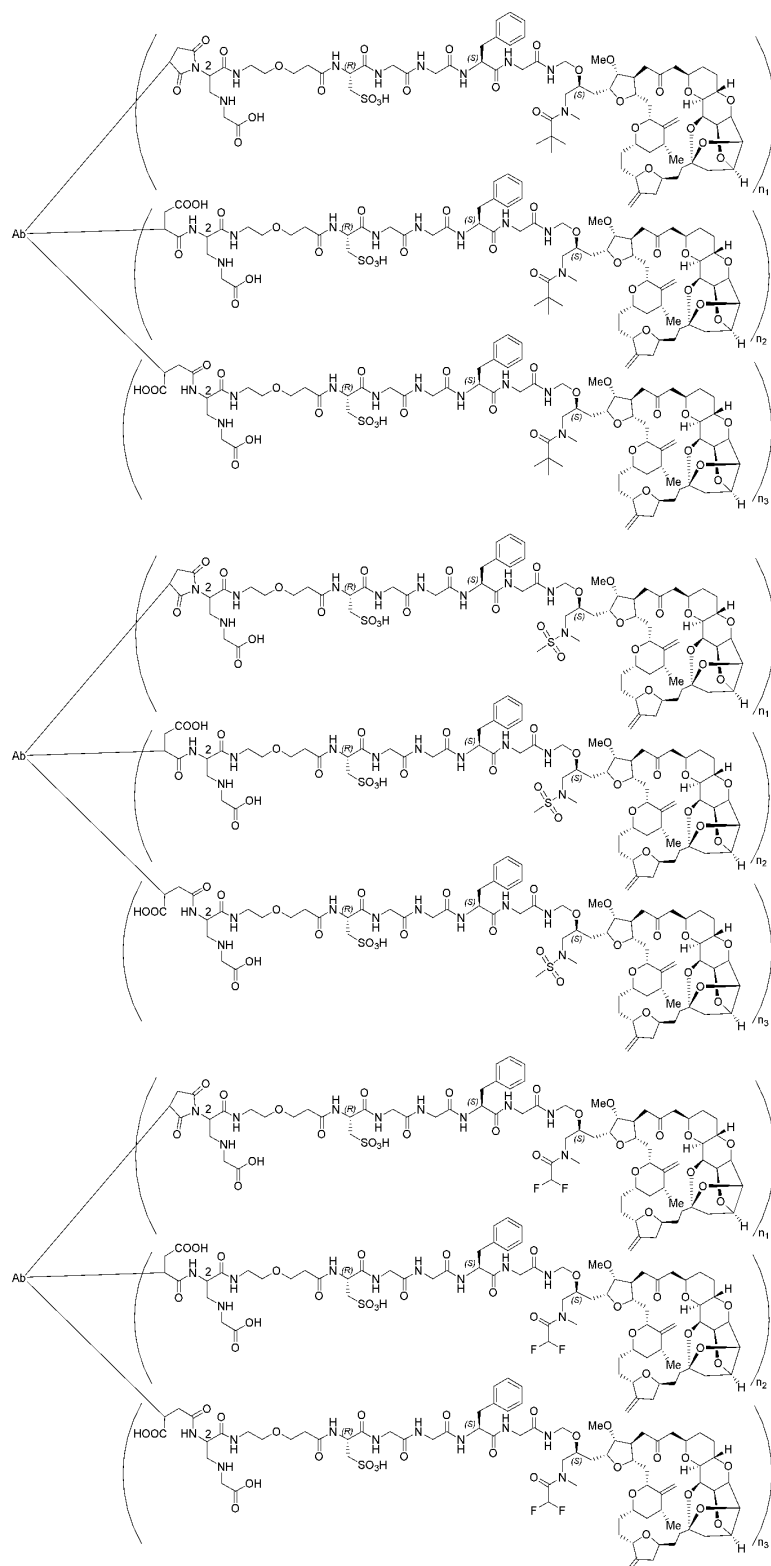












其中，2 位、3 位手性碳的构型独立地为 R 型或 S 型；优选地，2 位手性

碳的构型为 S 构型, 3 位手性碳的构型为 S 构型。

22、权利要求 1-21 任一项所述配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 所述配体单元 Ab 为抗体, 所述抗体为抗 TROP-2 抗体;

优选地, 所述抗体由轻链和重链组成, 所述轻链包含 CDR-L1、CDR-L2 和 CDR-L3, 其氨基酸序列分别如 SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3 所示;

优选地, 所述重链包含 CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3, 其氨基酸序列分别如 SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6 所示;

优选地, 所述轻链包含氨基酸序列为 SEQ ID NO: 7 的轻链可变区; 更优选地, 所述轻链还包含氨基酸序列为 SEQ ID NO: 8 的轻链恒定区;

优选地, 所述轻链的氨基酸序列为 SEQ ID NO: 9;

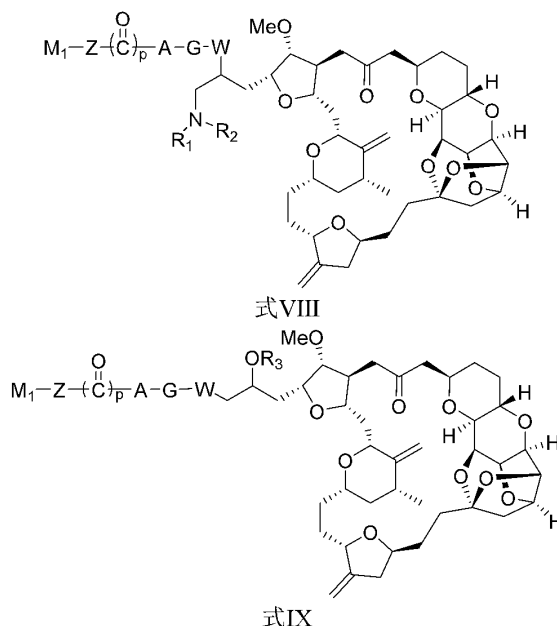
优选地, 所述轻链包含氨基酸序列为 SEQ ID NO: 10 的轻链可变区; 更优选地, 所述轻链还包含氨基酸序列为 SEQ ID NO: 11 的轻链恒定区;

优选地, 所述轻链的氨基酸序列为 SEQ ID NO: 12;

优选地, 所述重链包含氨基酸序列为 SEQ ID NO: 13 的重链可变区; 更优选地, 所述重链还包含氨基酸序列为 SEQ ID NO: 14 的重链恒定区;

优选地, 所述重链的氨基酸序列为 SEQ ID NO: 15。

23、一种连接子-药物偶联物, 其具有如式 VIII 或式 IX 所示结构, 或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐或溶剂化物,

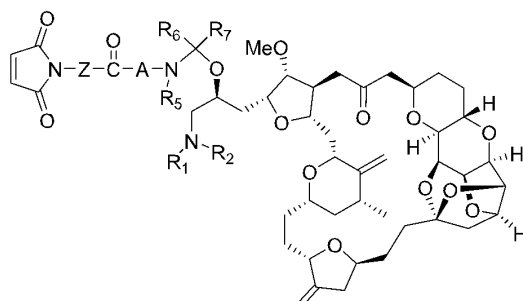


其中,

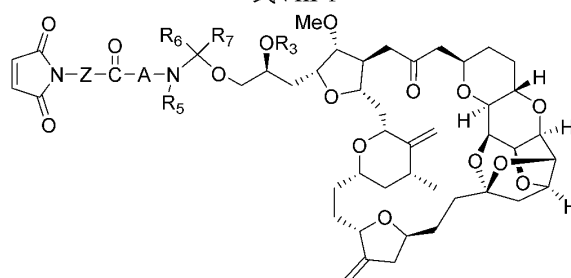
$M_1$  为接头单元,

Z、p、A、G、W、 $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$  如权利要求 1-13 任一项所定义。

24、根据权利要求 23 所述连接子-药物偶联物或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其具有式VIII-1 或式IX-1 所示的结构：



式VIII-1

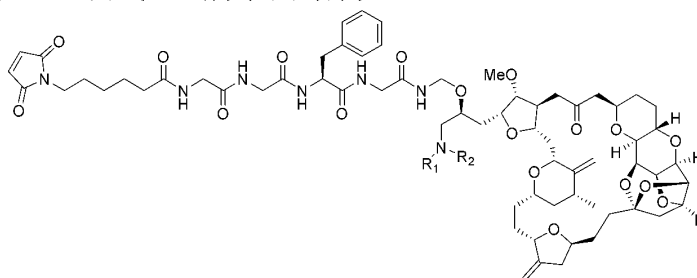


式IX-1

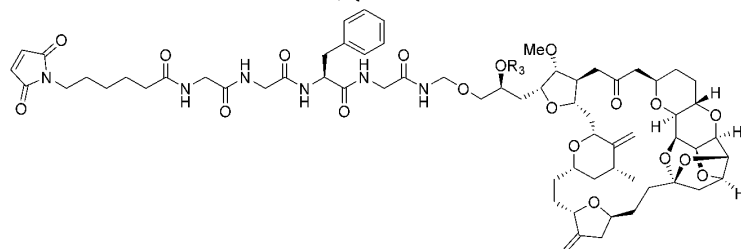
其中，

Z、A、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>5</sub>、R<sub>6</sub>、R<sub>7</sub>如权利要求 1-13 任一项所定义。

25、根据权利要求 23 或 24 所述连接子-药物偶联物或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其具有式VIIIa 或式IXa 所示的结构：



式VIIIa

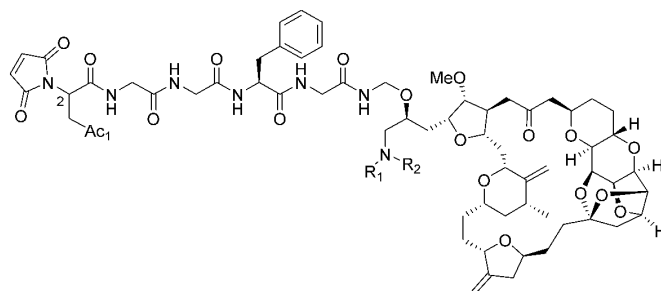


式IXa

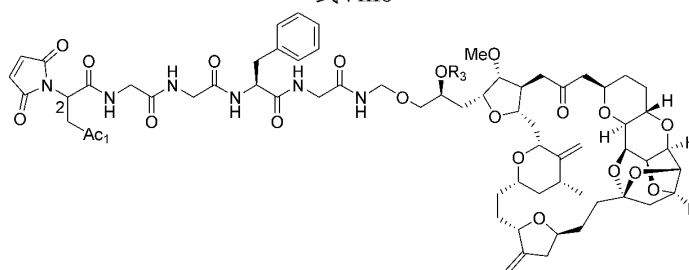
其中,

$R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$  如权利要求 1-13 任一项所定义。

26、根据权利要求 23 或 24 所述连接子-药物偶联物或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式,或其药学上可接受的盐或溶剂化物,其具有式VIIIb 或式IXb 所示的结构:



式VIIIb

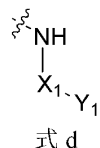


式IXb

其中,

$R_1$ 、 $R_2$  和  $R_3$  如权利要求 1-13 任一项所定义;

$Ac_1$  为具有式 d 所示结构的亲水结构单元:

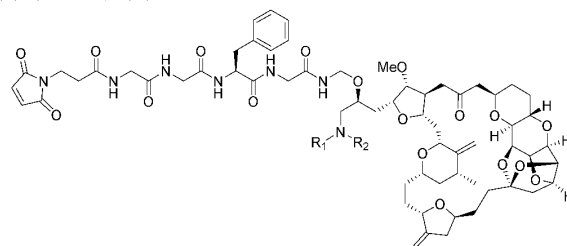


式 d

$X_1$ 、 $Y_1$  如权利要求 4 所定义;

优选地,  $Ac_1$  如权利要求 15 所定义。

27、根据权利要求 23 或 24 所述连接子-药物偶联物或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式,或其药学上可接受的盐或溶剂化物,其具有式VIIIc 所示的结构:

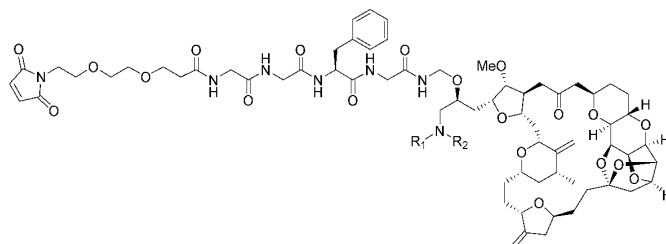


VIIIc

其中,

$R_1$  和  $R_2$  如权利要求 1-13 任一项所定义。

28、根据权利要求 23 或 24 所述连接子-药物偶联物或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式,或其药学上可接受的盐或溶剂化物,其具有式VIIId所示的结构:

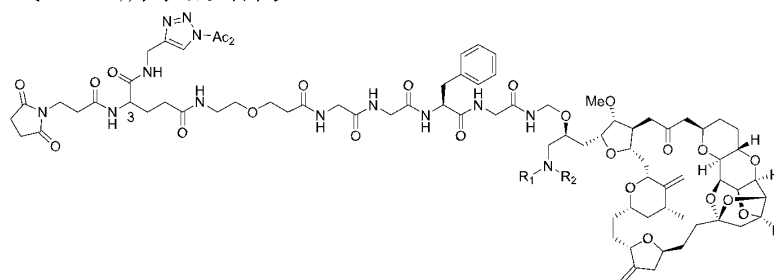


VIIId

其中,

$R_1$  和  $R_2$  如权利要求 1-13 任一项所定义。

29、根据权利要求 23 或 24 所述连接子-药物偶联物或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式,或其药学上可接受的盐或溶剂化物,其具有式VIIIe所示的结构:



式VIIIe

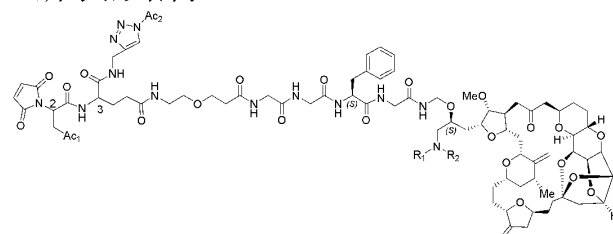
其中,

$R_1$  和  $R_2$  如权利要求 1-13 任一项所定义;

$Ac_2$  为 $-X_2-Y_2$ 组成亲水结构单元,  $X_2$ 、 $Y_2$  如权利要求 4 所定义;

优选地,  $Ac_2$  如权利要求 9 或 18 所定义。

30、根据权利要求 23 或 24 所述连接子-药物偶联物或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式,或其药学上可接受的盐或溶剂化物,其具有式VIIIf所示的结构:



式VIIIf

其中,  $R_1$  和  $R_2$  权利要求 1-13 任一项所定义;

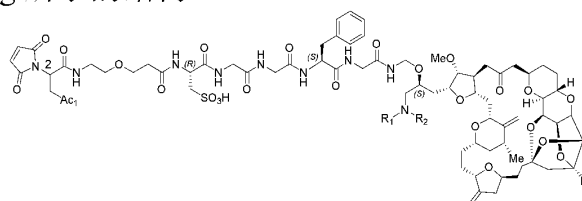
$Ac_1$  为  $-X_1-Y_1$  组成亲水结构单元,  $X_1$ 、 $Y_1$  如权利要求 4 所定义;

优选地,  $Ac_1$  如权利要求 15 所定义;

$Ac_2$  为  $-X_2-Y_2$  组成的亲水结构单元,  $X_2$ 、 $Y_2$  如权利要求 4 所定义;

优选地,  $Ac_2$  如权利要求 9 或 18 所定义。

31、根据权利要求 23 或 24 所述连接子-药物偶联物或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其具有式 VIIIg 所示的结构:



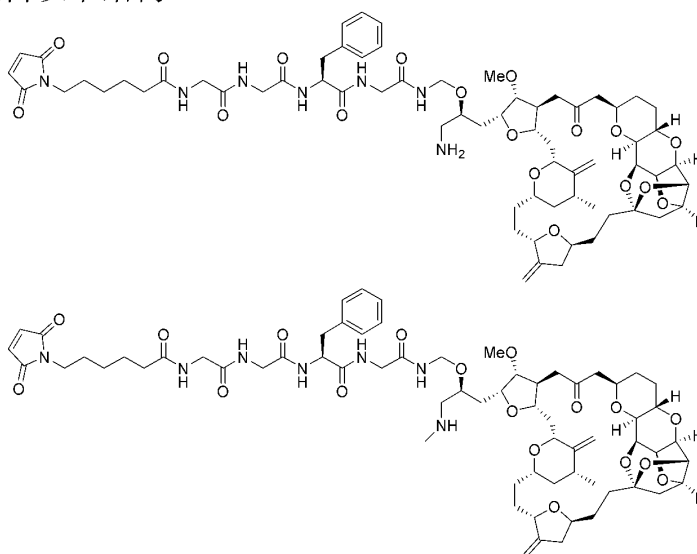
式 VIIIg

其中,  $R_1$  和  $R_2$  如权利要求 1-13 任一项所定义;

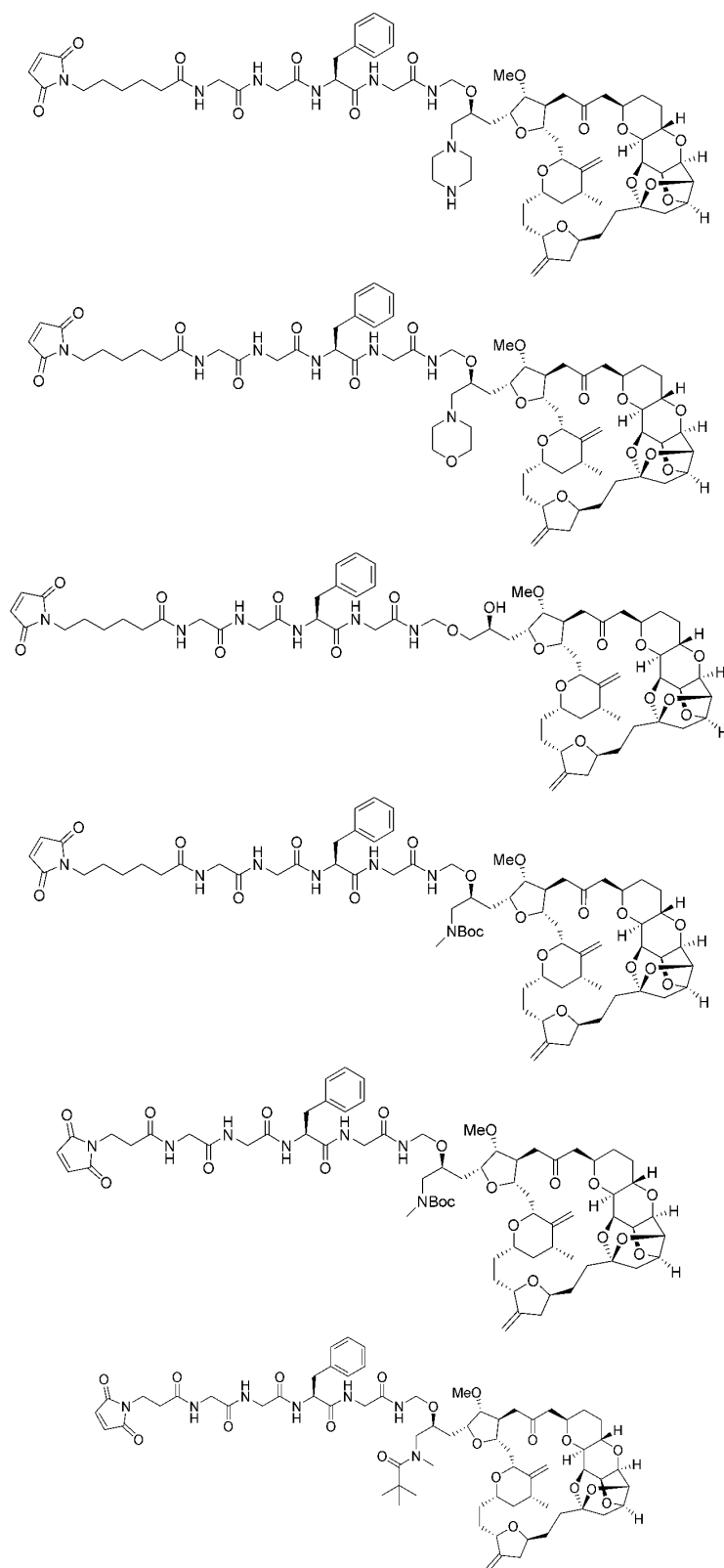
$Ac_1$  为  $-X_1-Y_1$  组成亲水结构单元,  $X_1$ 、 $Y_1$  如权利要求 4 所定义;

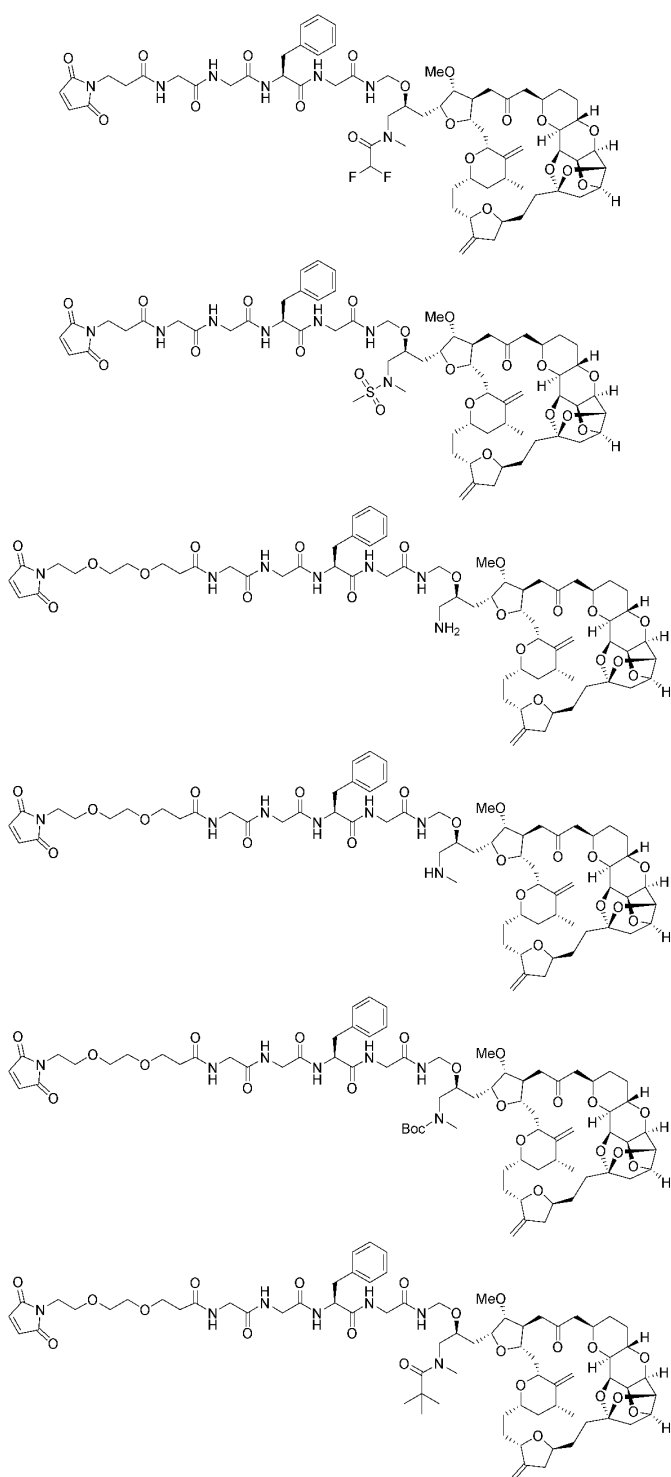
优选地,  $Ac_1$  如权利要求 15 所定义。

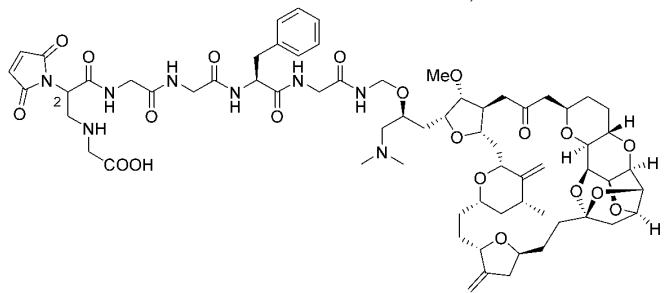
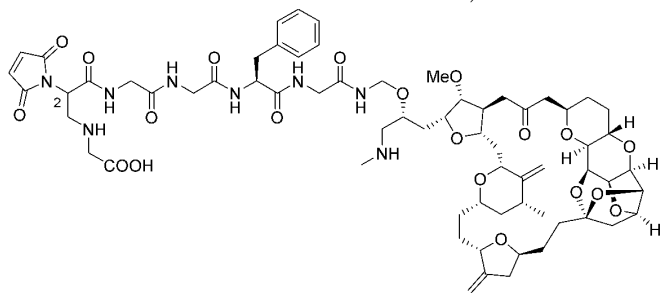
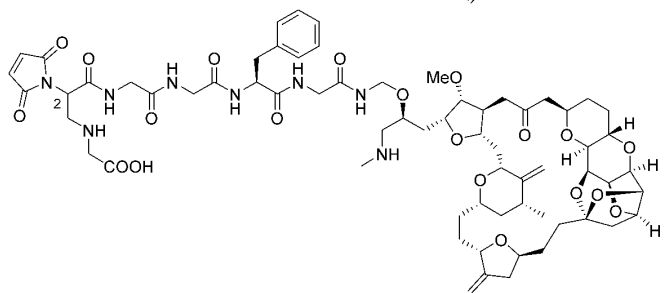
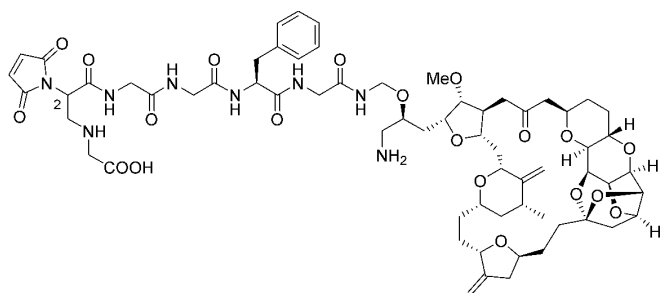
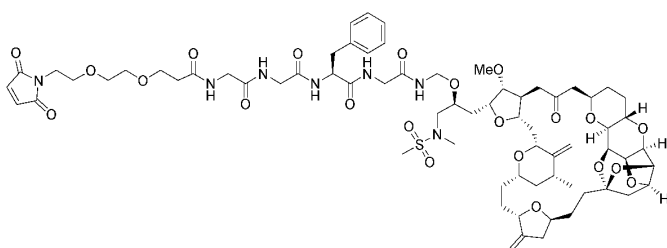
32、根据权利要求 23-31 任一项所述连接子-药物偶联物或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其选自以下结构:

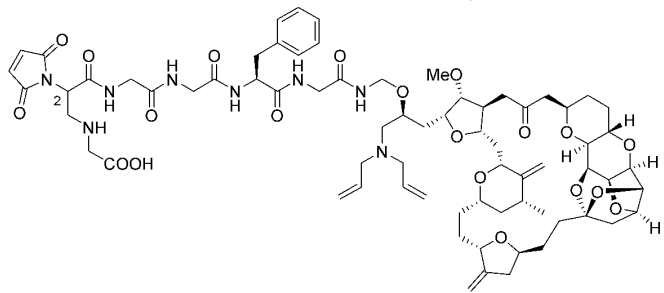
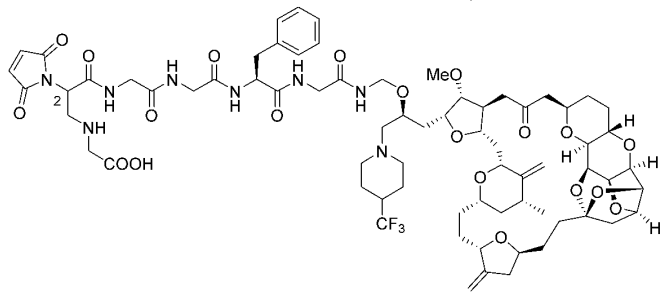
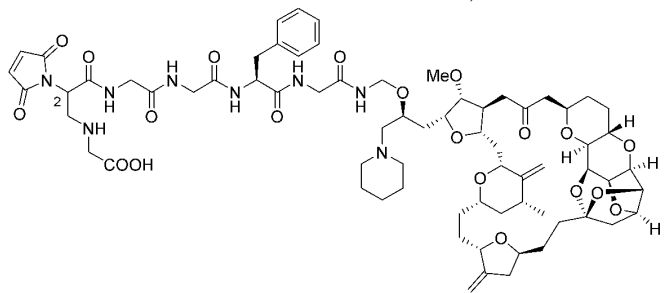
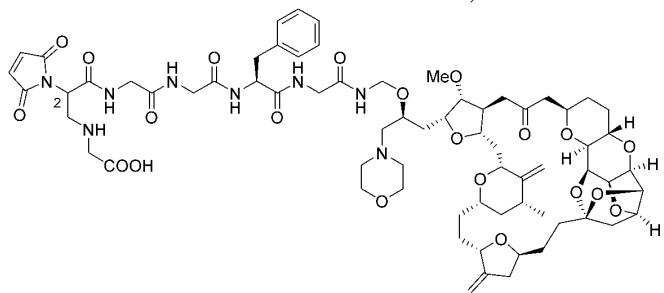
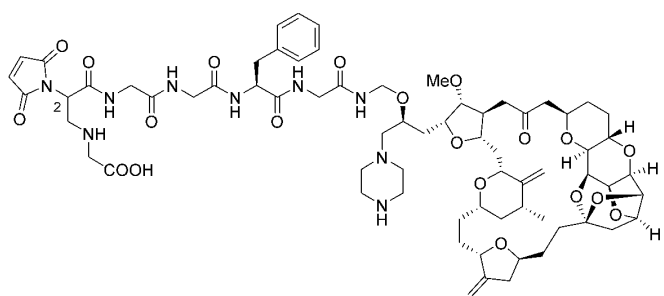


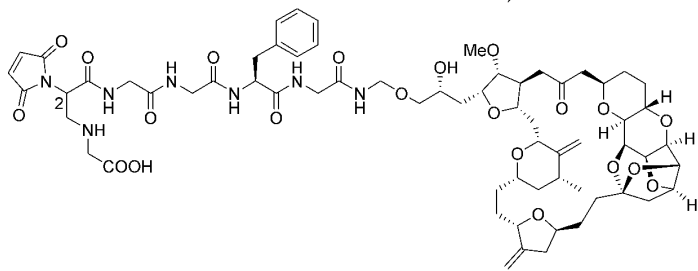
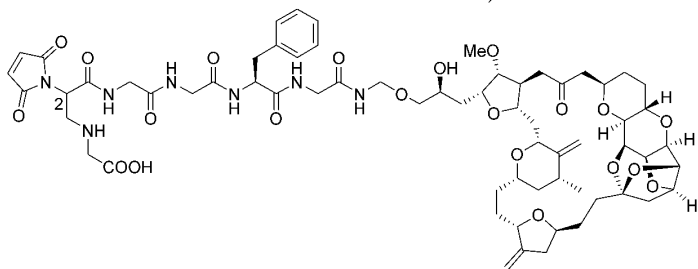
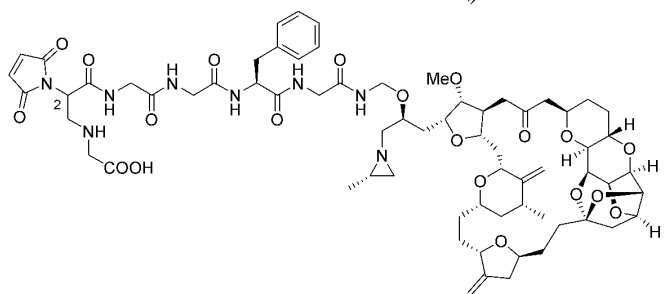
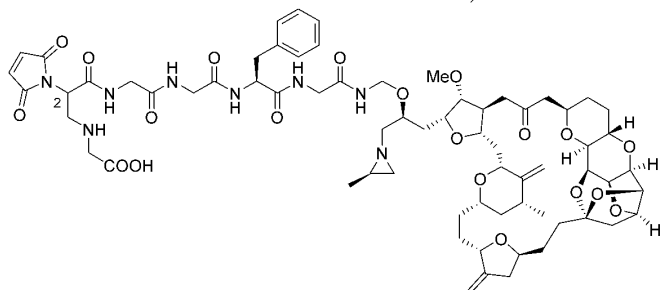
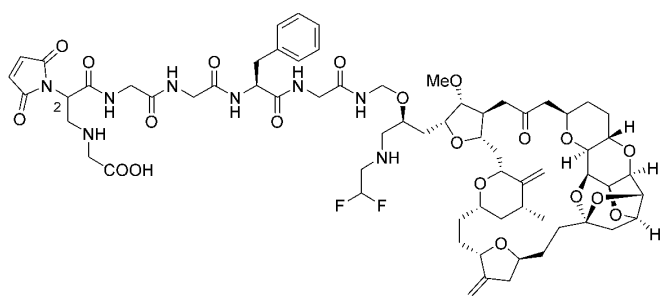


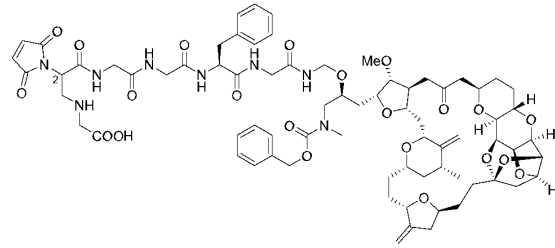
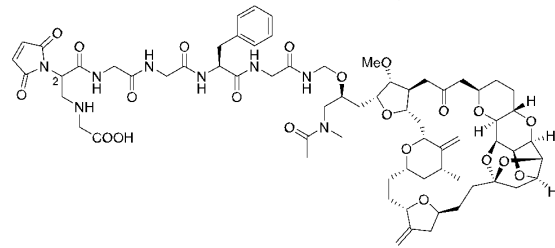
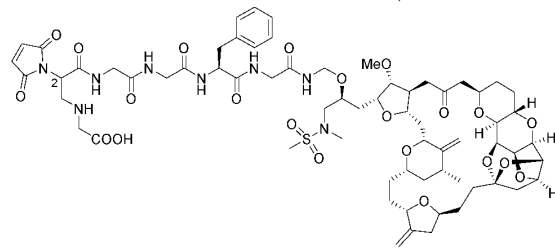
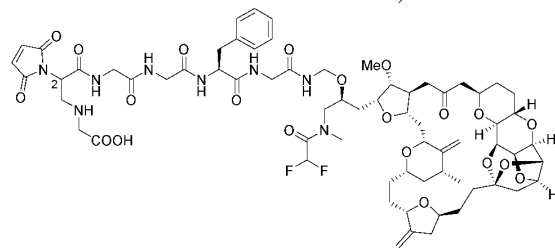
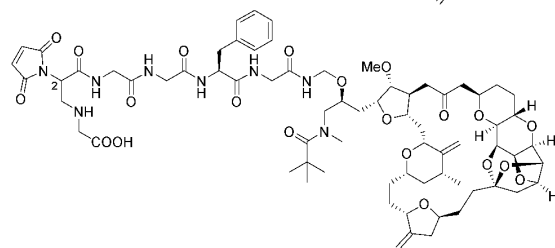
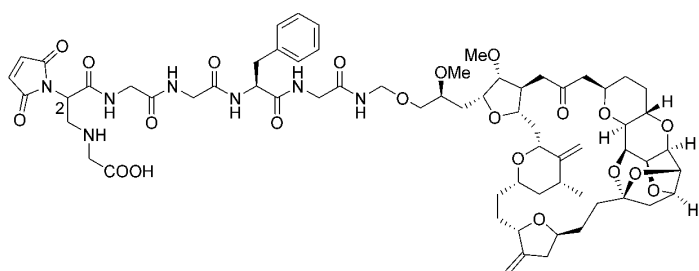


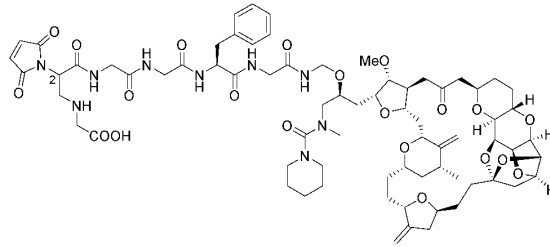
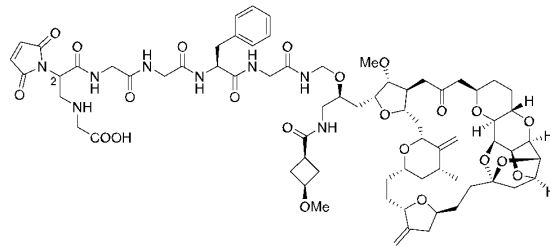
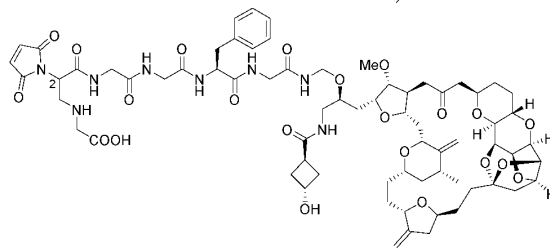
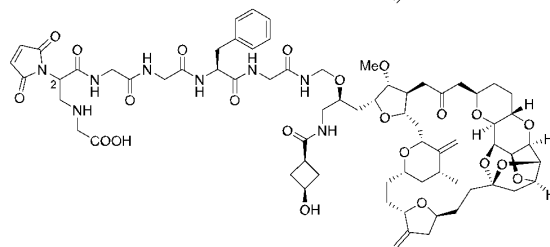
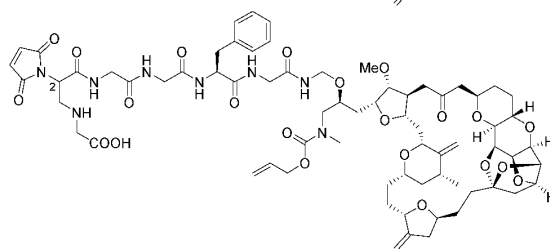
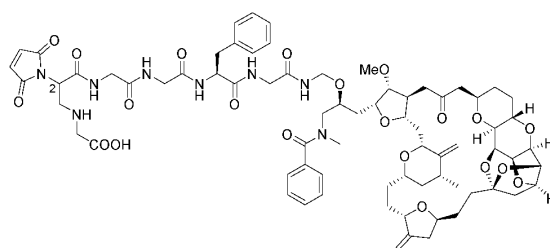


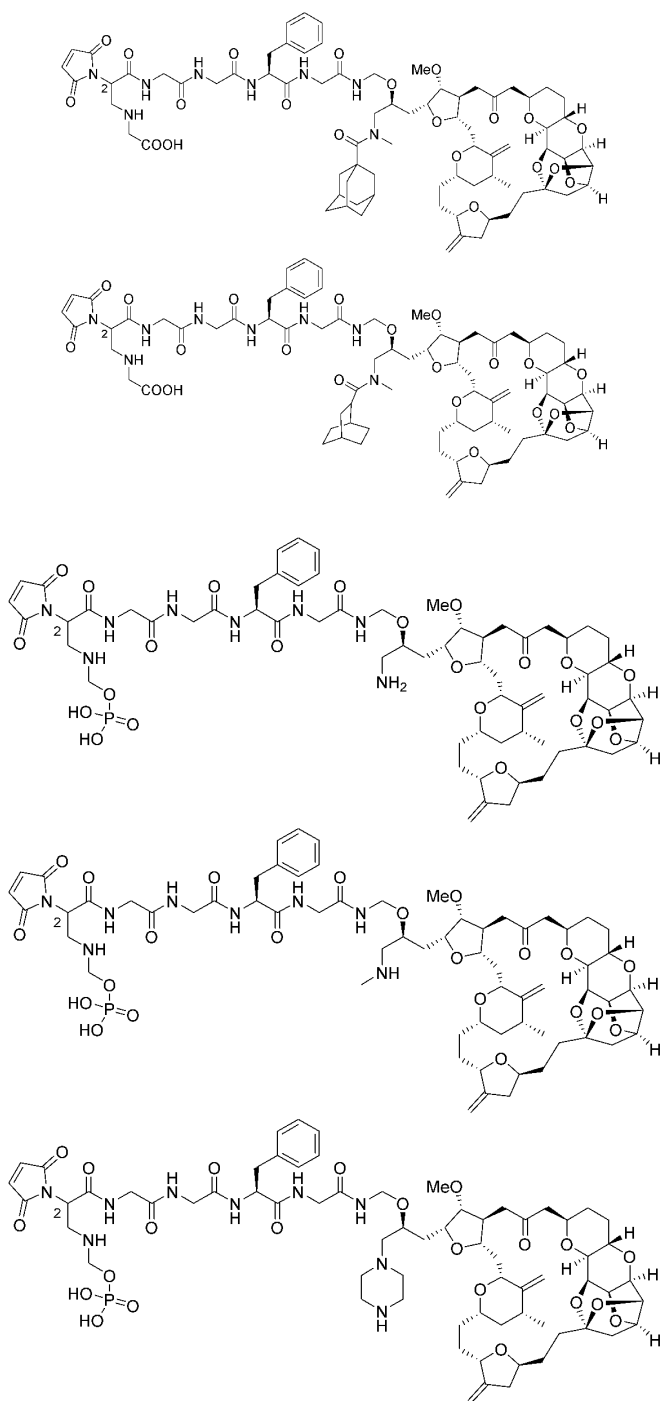




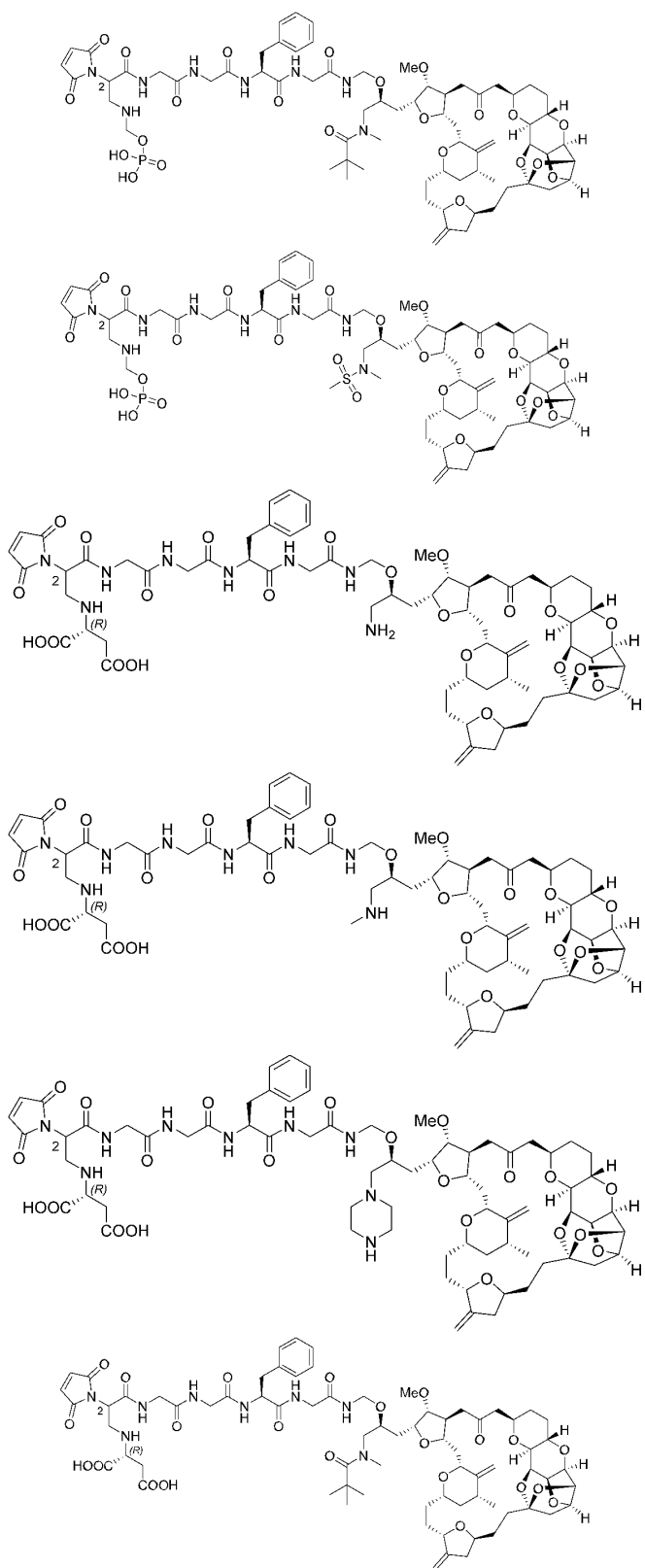


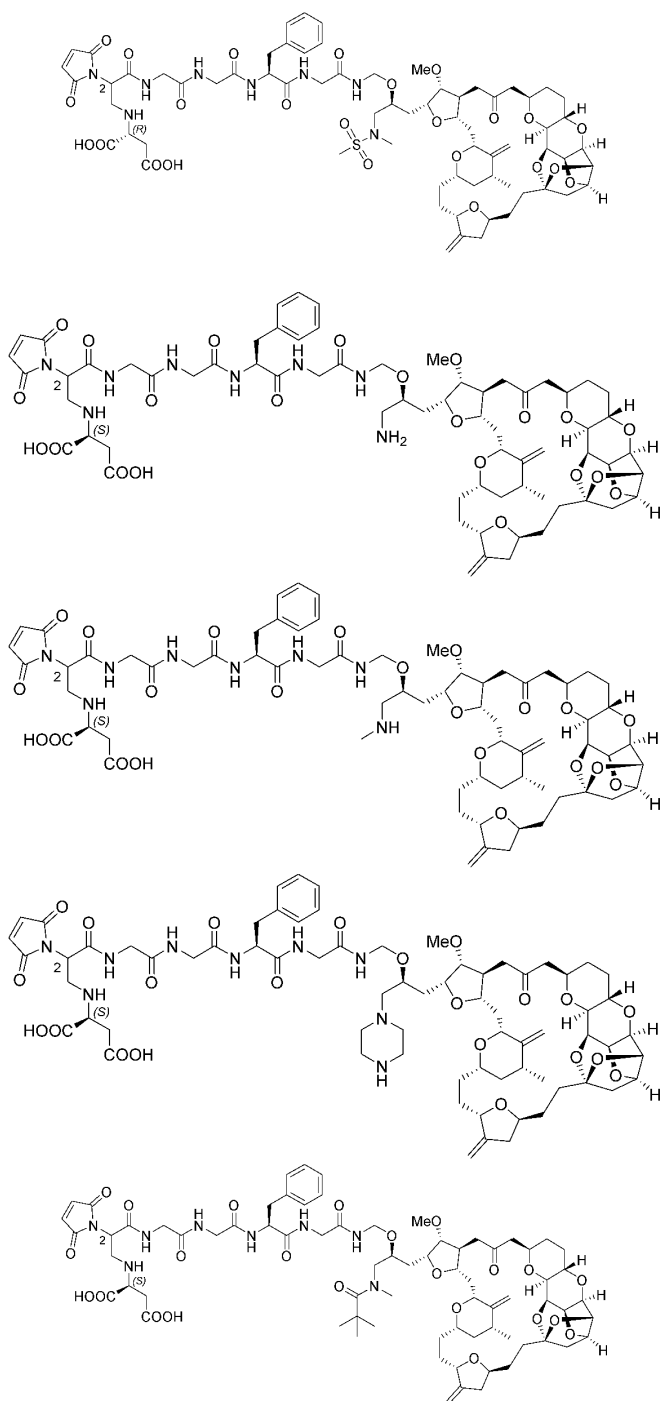


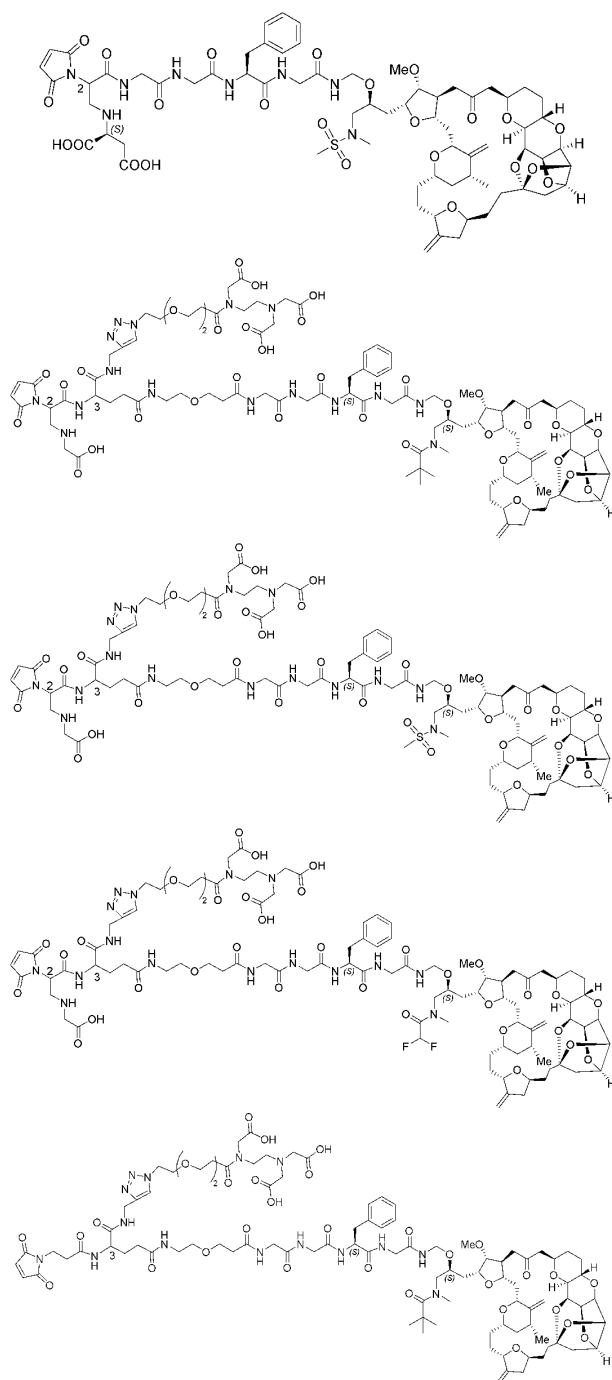


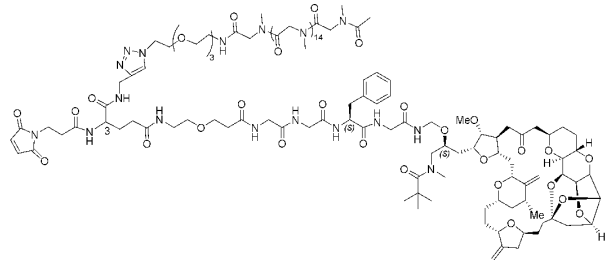
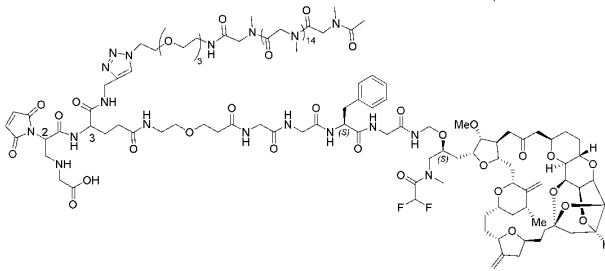
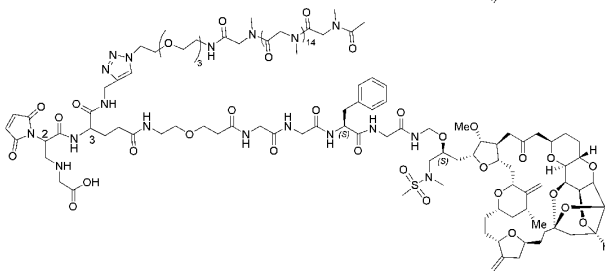
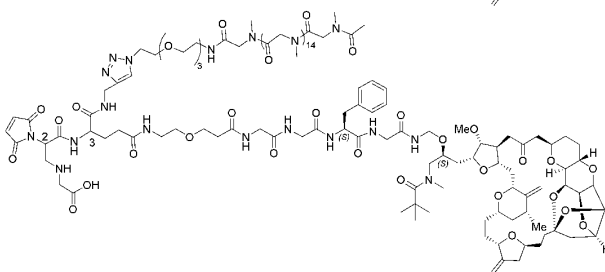
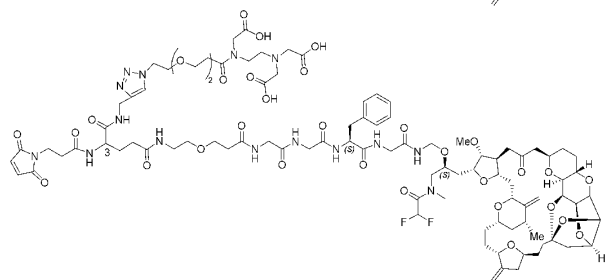
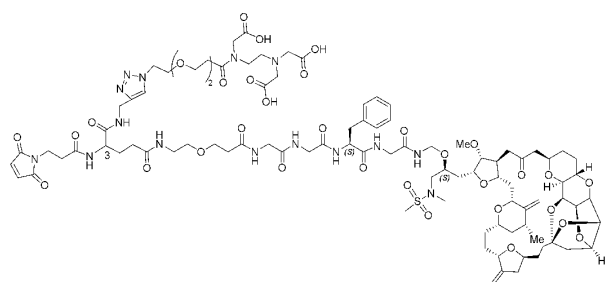


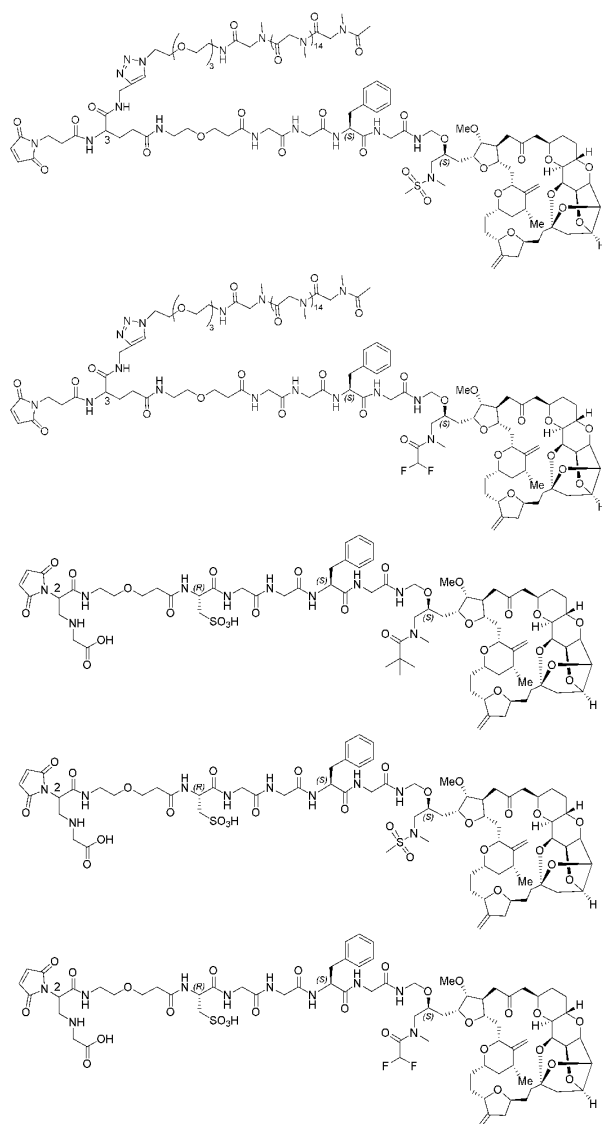






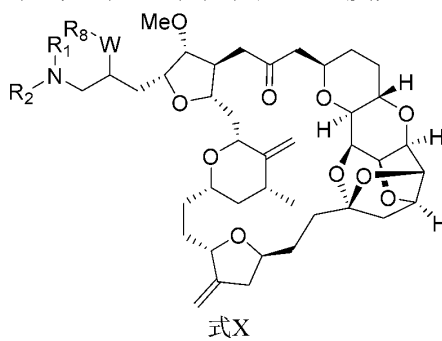






其中，2 位、3 位手性碳的构型独立地为 R 型或 S 型；优选地，2 位手性碳的构型为 S 构型，3 位手性碳的构型为 S 构型。

33、一种具有如式 X 所示结构的化合物，或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，



其中, W 选自氧原子或硫原子, 优选地, W 为氧原子;

$R_1$ 、 $R_8$  各自独立地选自: 氢原子、烷基、酰基、磺酰基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基, 且不同时为氢, 任选地, 所述的烷基、酰基、磺酰基、环烷基、芳基和杂芳基各自独立地被选自氢原子、烷基、烷氧基、卤素、氘、氨基、氰基、羟基、巯基、叠氮基、硝基、羧基、酰基、羰基、羟烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基取代; 优选地,  $R_1$  为烷基,  $R_8$  为氢;

$R_2$  选自  $-C(O)-Q_1-Q_2$  或  $-SO_2-Q_1-Q_2$ , 其中,  $Q_1$  选自 O、N、S 原子或化学键,

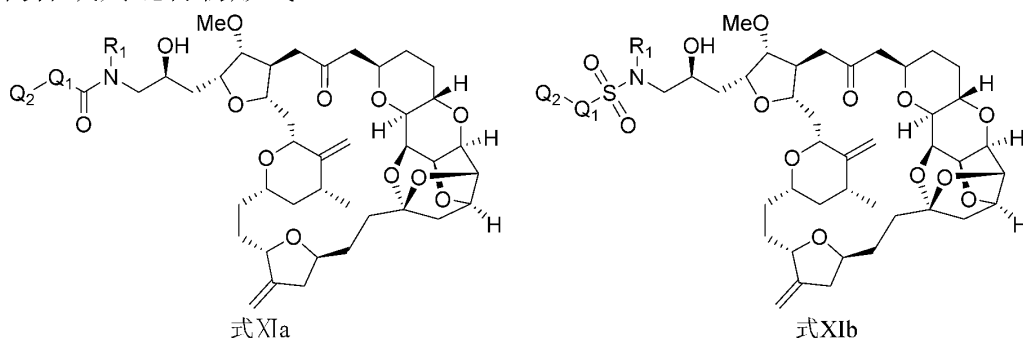
当  $Q_1$  选自 O、N、S 原子时,  $Q_2$  选自烷基、环烷基、杂环基、螺环基、桥环基、烯基、芳基和杂芳基, 任选地, 所述的烷基、环烷基、杂环基、螺环基、桥环基、烯基、芳基和杂芳基各自独立地被选自氢原子、烷基、烷氧基、卤素、氘、氨基、氰基、羟基、巯基、叠氮基、硝基、羧基、酰基、羰基、羟烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基取代,

当  $Q_1$  为化学键时,  $Q_2$  选自烷基、苄基、环烷基、杂环基、螺环基、桥环基、烯基、芳基和杂芳基,

当  $Q_2$  选自烷基时, 所述烷基被选自氢原子、烷基、烷氧基、卤素、氘、氨基、氰基、叠氮基、硝基、羧基、酰基、羰基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基取代,

当  $Q_2$  选自环烷基、杂环基、螺环基、桥环基、烯基、芳基和杂芳基时, 所述的环烷基、杂环基、螺环基、桥环基、烯基、芳基和杂芳基各自独立地被选自氢原子、烷基、烷氧基、卤素、氘、氨基、氰基、羟基、巯基、叠氮基、硝基、羧基、酰基、羰基、羟烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基取代, 且当  $Q_2$  为环烷基, 其上取代基为羟基、氨基或巯基时, 取代基位置选自除与  $-C(O)-$  相连碳原子外的任意位置。

34、根据权利要求 33 所述的式X所示的化合物, 或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其为式XIa 或式XIb 所示的化合物, 或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式,



其中,  $R_1$  选自烷基, 优选地,  $R_1$  为甲基,

$Q_1$  选自 O 原子或化学键,

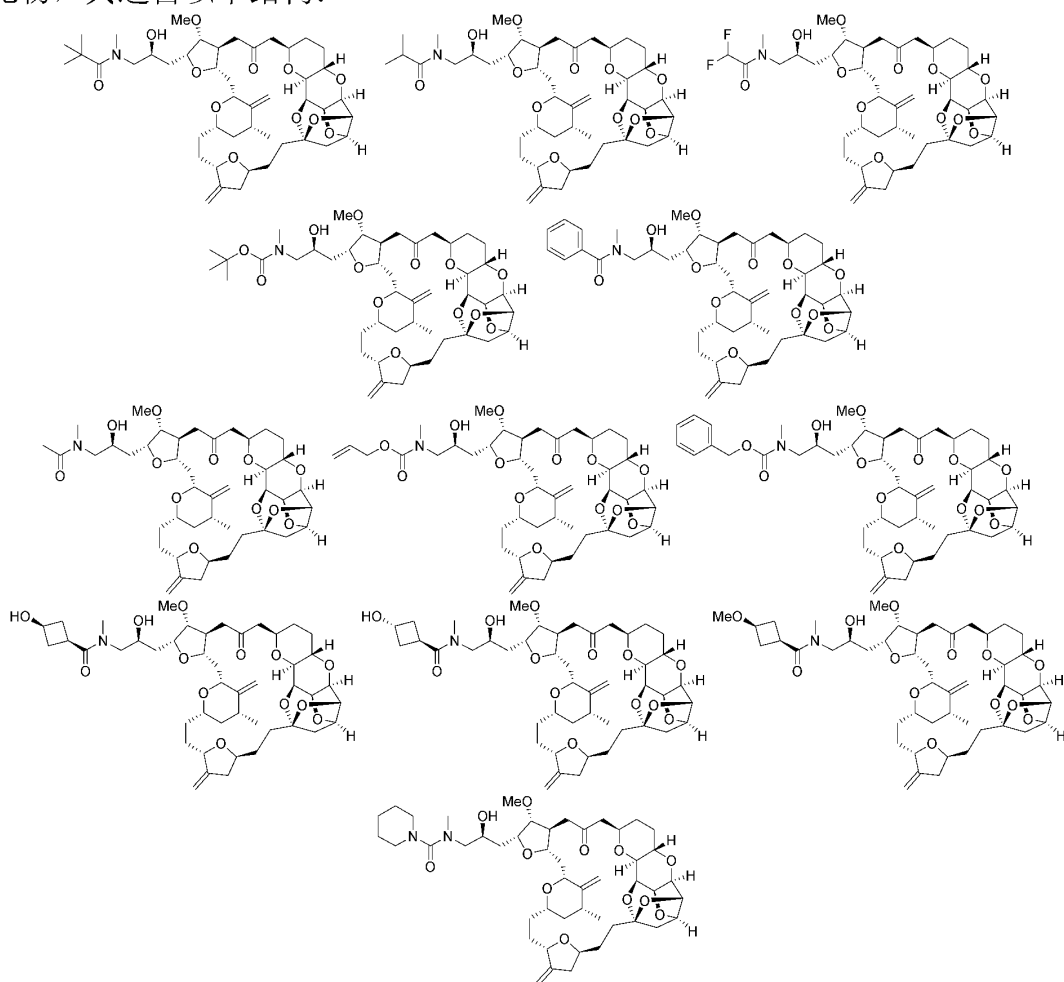
当  $Q_1$  选自 O 原子时,  $Q_2$  选自烷基、环烷基、烯基和芳基, 任选地, 所述的烷基、环烷基、烯基和芳基各自独立地被选自氢原子、烷基、卤素、羟基、羟烷基和芳基中的一个或多个取代基取代;

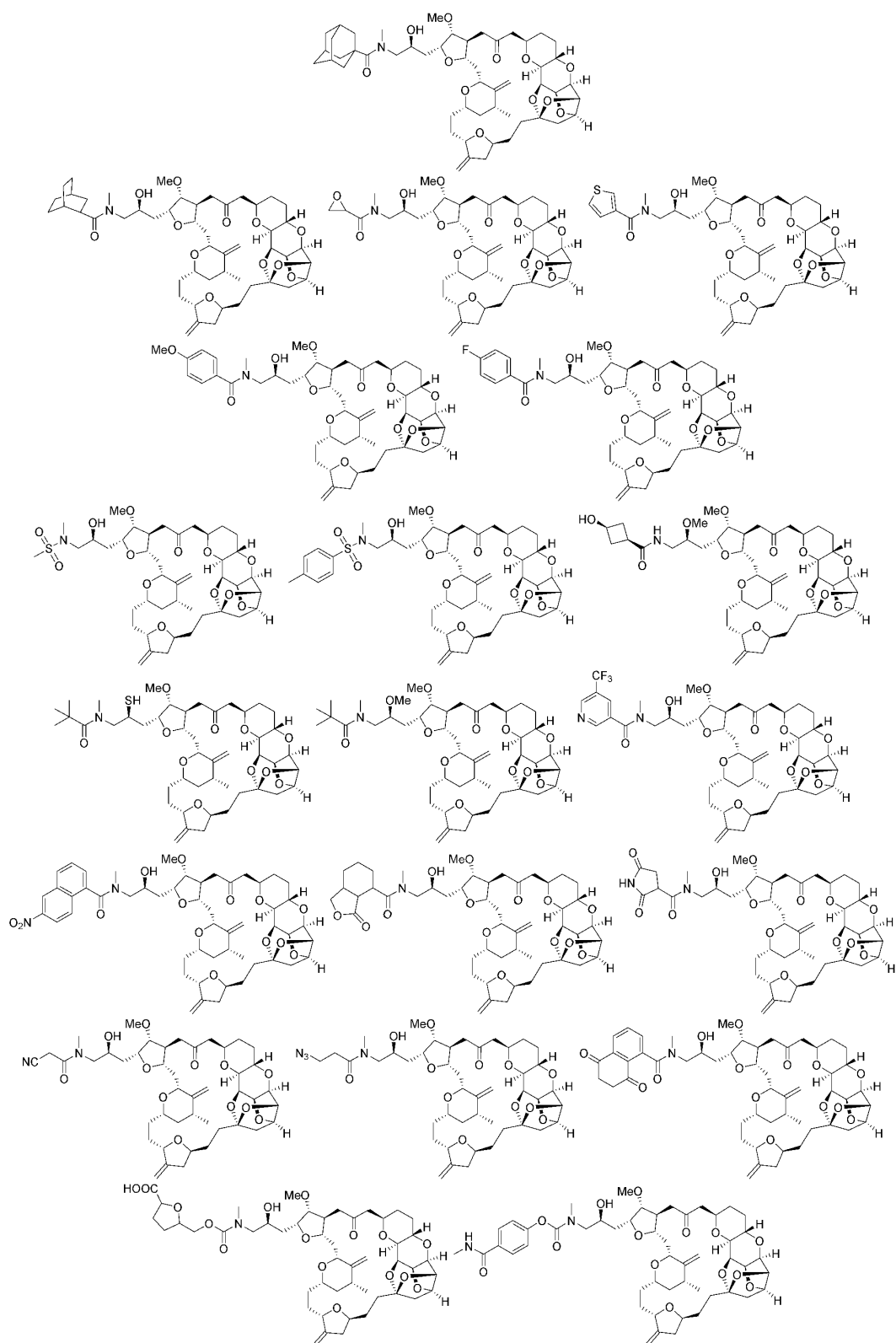
当  $Q_1$  选自化学键时,  $Q_2$  选自烷基、苄基、环烷基、烯基和芳基;

当  $Q_2$  选自烷基时, 所述烷基被选自氢原子、烷基、卤素、氘、叠氮基、硝基和芳基中的一个或多个取代基取代;

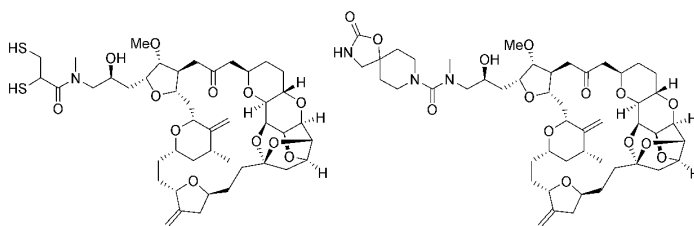
当  $Q_2$  选自环烷基、烯基和芳基时, 所述的环烷基、烯基和芳基各自独立地被选自氢原子、烷基、卤素、羟基、羟烷基和芳基中的一个或多个取代基取代, 且当  $Q_2$  为环烷基, 其上取代基为羟基、氨基或巯基时, 取代基位置选自除与-C(O)-相连碳原子外的任意位置。

35、根据权利要求 33 或 34 所述的式X所示的化合物, 或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式, 或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其选自以下结构:









36、根据权利要求 23-32 任一项所述的连接子-药物偶联物或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，或根据权利要求 33-35 任一项所述的化合物，或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物作为中间体用于制备配体-药物偶联物的用途，所述配体-药物偶联物如权利要求 1-22 任一项所述。

37、根据权利要求 1-22 任一项所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，或根据权利要求 23-32 任一项所述的连接子-药物偶联物或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，或根据权利要求 33-35 任一项所述的化合物，或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：所述药学上可接受的盐包括与结构式中酸性官能团形成的钠盐、钾盐、钙盐或镁盐以及与结构中碱性官能团形成的醋酸盐、三氟乙酸盐、柠檬酸盐、草酸盐、酒石酸盐、苹果酸盐、硝酸盐、氯化物、溴化物、碘化物、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、乳酸盐、油酸盐、抗坏血酸盐、水杨酸盐、甲酸盐、谷氨酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐或对甲苯磺酸盐。

38、一种药物组合物，其包含根据权利要求 1-22 任一项所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，或根据权利要求 23-32 任一项所述的连接子-药物偶联物或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，或根据权利要求 33-35 任一项所述的化合物，或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，任选地还包含药学上可接受的载体。

39、一种药物制剂，其包含根据权利要求 1-22 任一项所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，或根据权利要求 23-32 任一项所述的连接子-药物偶联物或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，或根据权利要求 33-35 任一项所述的化合物，或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物。

40、根据权利要求 1-22 任一项所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，或根据权利要求 23-32 任一项所述的连接子-药物偶联物或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，或根据权利要求 33-35 任一项所述的化合物，或其异构

体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物在制备用于治疗或预防癌症或者肿瘤的药物中的用途；

优选地，所述癌症或者肿瘤为实体瘤或血液瘤；

优选地，所述癌症或者肿瘤选自：腺癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫癌、前列腺癌、肾癌、尿道癌、膀胱癌、肝癌、胃癌、子宫内膜癌、唾液腺癌、食道癌、肺癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、骨癌、皮肤癌、甲状腺癌、胰腺癌、黑色素瘤、神经胶质瘤、神经母细胞瘤、多形性胶质细胞瘤、肉瘤、淋巴瘤、白血病、下咽癌。

41、一种预防或治疗癌症或者肿瘤的方法，包括向有此需要的受试者施用预防或治疗有效量的根据权利要求 1-22 任一项所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，或根据权利要求 23-32 任一项所述的连接子-药物偶联物或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物，或根据权利要求 33-35 任一项所述的化合物，或其异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体或其混合物形式，或其药学上可接受的盐或溶剂化物；

优选地，所述癌症或者肿瘤为实体瘤或血液瘤；

优选地，所述癌症或者肿瘤选自：腺癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫癌、前列腺癌、肾癌、尿道癌、膀胱癌、肝癌、胃癌、子宫内膜癌、唾液腺癌、食道癌、肺癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、骨癌、皮肤癌、甲状腺癌、胰腺癌、黑色素瘤、神经胶质瘤、神经母细胞瘤、多形性胶质细胞瘤、肉瘤、淋巴瘤、白血病、下咽癌。