

一种包含亲水性糖结构的配体-药物偶联物

技术领域

本发明公开一种改善亲水性的配体-药物偶联物、其制备方法以及应用。具体而言，本
5 发明公开了一种含有亲水糖结构(SU)的配体-药物偶联物、其制备方法及其在制备治疗疾病的
药物中的用途。

背景技术

配体-药物偶联物尤其是抗体-药物偶联物，由具有靶向性的配体与小分子药物（细胞
毒素）偶联而成，既具有细胞毒药物杀伤力强大的特点，又结合了配体高度的靶向性、稳
10 定性和有利的药代动力学特征，主要表现为：治疗效力强；特异性高；免疫原性弱，不容
易产生抗药性；血清中循环时间长；对非靶点毒性弱等。

目前有 100 多种抗体-药物偶联物正在进行临床试验，大多数已从 I 期进展到 II 期。
一些抗体-药物偶联物的 III 期试验显示积极结果。截止 2021 年 11 月，全球已有 14 款上
15 市的 ADC 药物，治疗领域主要集中在血液瘤和实体瘤方面，并且主要是用于患者的后线
治疗，包括晚期、复发/难治性以及转移性的肿瘤适应症。

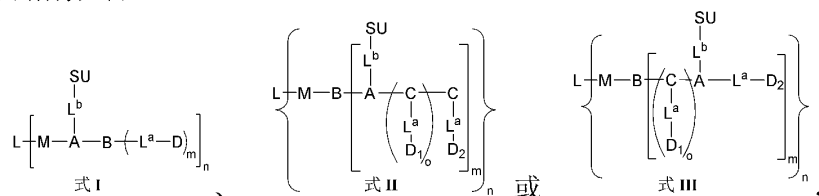
配体-药物偶联物设计中的一个常见挑战是有效载荷的疏水性，这可能会导致偶联物在
水溶性、聚集性和快速清除方面的问题。研究表明，癌细胞 MDR1 基因的扩增及其产物（一
种能量依赖性转运 P-蛋白）的过表达能够将肿瘤细胞内的抗癌药物泵出细胞外，降低细胞
20 内的药物浓度，使疏水性抗癌药物的细胞毒性作用减弱或丧失，是肿瘤细胞产生多药耐药
的主要原因。目前，克服这一问题的主要方法是使用聚乙二醇(PEG)连接物来改善配体-药
物偶联物在水中的溶解度（参考专利：WO2015057699A2）。已上市 Sacituzumab-
govitecan(IMMU-132)便是通过具有短聚乙二醇化单元的可裂解马来酰亚胺连接体与 SN-38
偶联，以解决疏水性问题。

发明内容

为了解决配体-药物偶联物中有效载荷的疏水性，本发明公开了一种包含亲水性糖结构
的配体-药物偶联物，本发明还进一步公开了一种包含亲水性糖结构的连接子-药物偶联物，
以及上述配体-药物偶联物或连接子-药物偶联物在制备用于治疗或预防疾病（例如肿瘤或
25 自身免疫疾病）的药物中的用途。

具体而言，通过将糖结构（例如单糖、二糖或多糖）连接至有效载荷，利用糖类亲水
30 性的特点降低有效载荷的疏水性，从而提高配体-药物偶联物的亲水性。与现有技术相比，
本发明涉及的亲水结构为更易获得的糖类；糖类中天然存在的反应位点在与有效载荷的连
接中更容易实现；此外，肿瘤细胞对于糖类的摄取能力远大于正常细胞，进一步避免了配
体-药物偶联物的非靶向性副作用。

在一个方面，本发明提供了如式 I、式 II 或式 III 所示的配体-药物偶联物或其药学上可
35 接受的盐或溶剂化物：



其中：

L 选自配体；

M 选自任意接头单元或键；

40 A 选自任意连接支架；

B 存在或不存在，当存在时，选自任意连接结构或键；

C 存在或不存在，当存在时，选自任意分支单元或键；

D、D₁、D₂ 相同或不同，且各自独立地选自药物；

SU 选自糖或其衍生物；

L^a、L^b 相同或不同，且各自独立地选自任意连接单元或键；

m 选自 1-5 的整数；

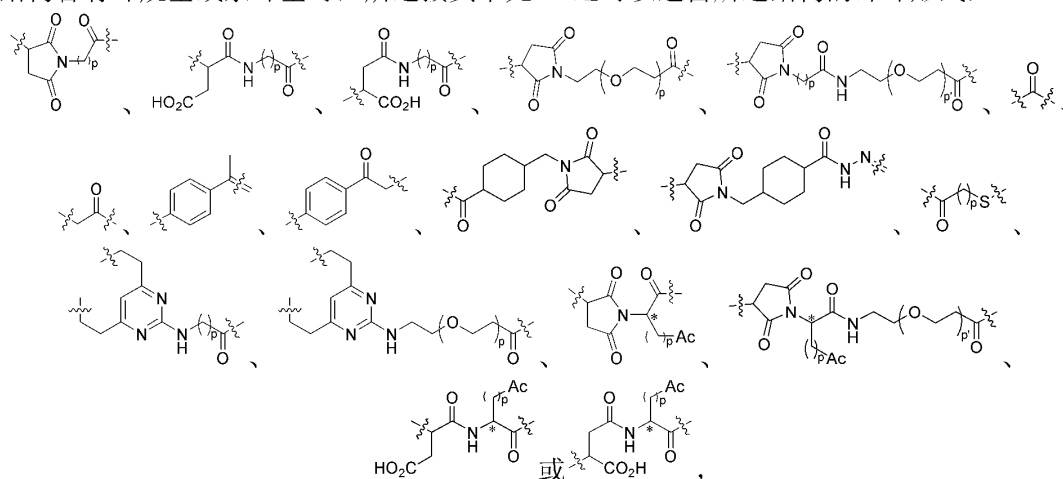
5 n 选自 1-10 的整数；

o 选自 1-10 的整数。

在一些实施方案中，所述配体 L 选自抗体、功能性的抗体片段或具有靶向作用的蛋白。

在一些实施方案中，所述配体 L 选自抗体，包括但不限于嵌合抗体、人源化抗体、全人源抗体或鼠源抗体。

10 在一些实施方案中，所述接头单元 M 非限制性地选自如下式所示的结构或键，当所述结构含有环烷基或杂环基时，所述接头单元 M 还可以选自所述结构的开环形式，



15

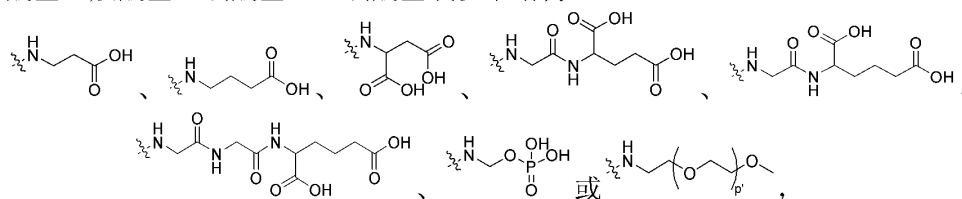
其中：

波浪线所示位置非限制性地与配体、连接支架 A、连接结构 B 或分支单元 C 相连；

*所示位置的碳为手性碳，其构型为 R 型或 S 型；

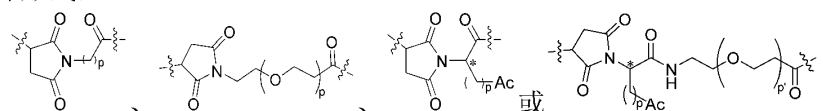
p、p' 各自独立地选自 1-10 的整数；

20 Ac 非限制性地选自天然或非天然氨基酸的残基、具有 1-20 个重复单元的聚乙二醇链段、磷酸基、羧酸基、磺酸基、亚磺酸基或以下结构，



其中，波浪线所示位置与*所示位置的碳原子相连。

25 在一些实施方案中，所述接头单元 M 非限制性地选自如下式所示的结构或其立体异构体或其开环形式，

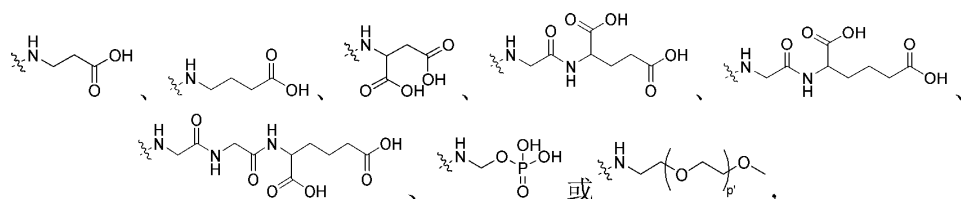


其中：

波浪线所示位置非限制性地与配体、连接支架 A、连接结构 B 或分支单元 C 相连；

30 *所示位置的碳为手性碳，其构型为 R 型或 S 型；p、p' 各自独立地选自 1-10 的整数；

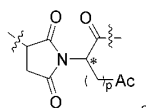
Ac 非限制性地选自天然或非天然氨基酸的残基、具有 1-20 个重复单元的聚乙二醇链段、磷酸基、羧酸基、磺酸基、亚磺酸基或以下结构，



其中, 波浪线所示位置与*所示位置的碳原子相连。

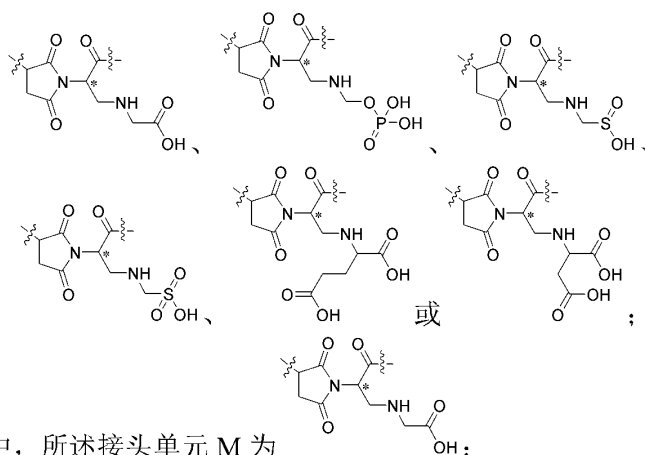
在一些实施方案中,所述接头单元 M 选自如下式所示的结构或其立体异构体或其开环

5 形式,



在一些实施方案中，p 为 1。在一些实施方案中，Ac 为甘氨酸残基。

在一些实施方案中,所述接头单元 M 非限制性地选自如下式所示的结构或其开环形



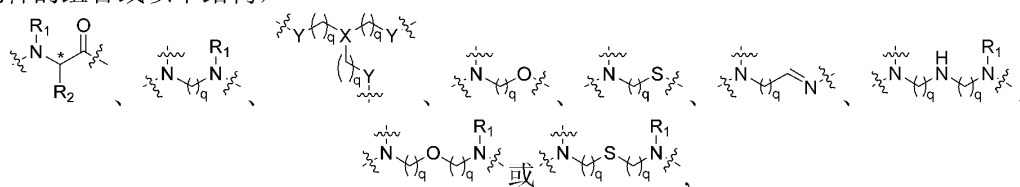
在一些实施方案中, 所述接头单元 M 为

其中:

*所示位置的碳为手性碳，其构型为 R 型或 S 型；

15 波浪线所示位置非限制性地与配体、连接支架 A、连接结构 B 或分支单元 C 相连。

在一些实施方案中,所述连接支架 A 非限制性地选自天然或非天然氨基酸中的一种或中的组合或以下结构,



20 其中:

X 选自 N、CH、C3-C8 环烷基、3-8 元杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基;

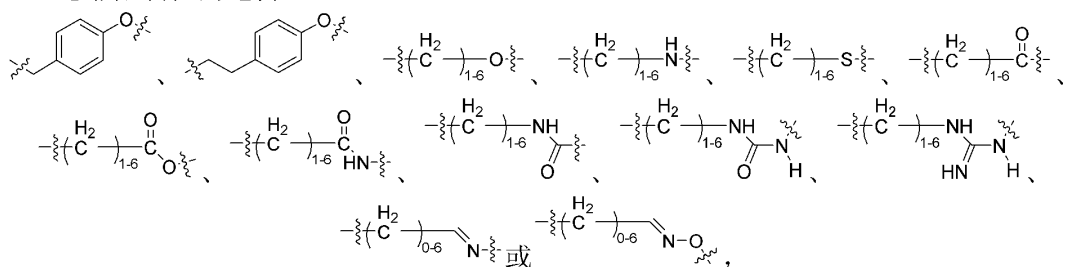
Y 选自-NH-、-O-、-S-、-CO-、-CO₂-、-CONH-、-NHCO-、-SO-、-SO₂-、-OSO₂-或-OP=O(OH)O-;

q 选自 1-10 的整数;

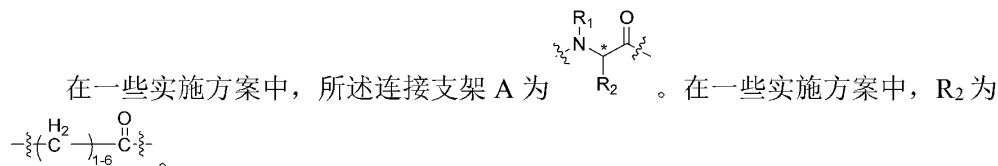
25 波浪线所示位置非限制性地与接头单元 M、连接单元 L^a、L^b、连接结构 B 或分支单元 C 相连；

R₁ 选自氢原子、氘原子、卤素、C1-C6 烷基、C1-C6 取代烷基、C3-C8 环烷基 C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基 C1-C6 烷基、羧基、3-8 元杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

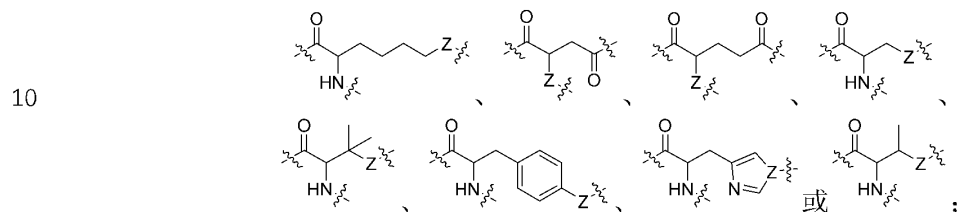
R₂ 非限制性的选自:



- 5 其中左侧波浪线表示 R₂ 连接至*所示的手性碳的位置, 右侧波浪线代表连接支架 A 的任意三个连接位点之一。



在一些实施方案中, 所述连接支架 A 非限制性地选自以下结构或其立体异构体,



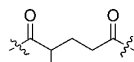
10

其中:

Z 选自 -NH-、-O- 或 -S-;

波浪线所示位置非限制性地与接头单元 M、连接单元 L^a、L^b、连接结构 B 或分支单元

- 15 C 相连;



在一些实施方案中, 所述连接支架 A 为 $-(CH_2)4-C(=O)-NH-Z-$ 。在一些实施方案中, Z 为 -NH-。

- 20 在一些实施方案中, 所述芳基为苯基。在一些实施方案中, 所述取代芳基为被一个或多个取代基取代的苯基, 所述取代基选自氖原子、卤素、C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基、C1-C6 卤代烷基。在一些实施方案中, 所述杂芳基为含有一个或多个选自氮、氧、硫的杂原子的 6 元单杂芳基。

在一些实施方案中, 所述 B 非限制性地选自任意连接结构或键。

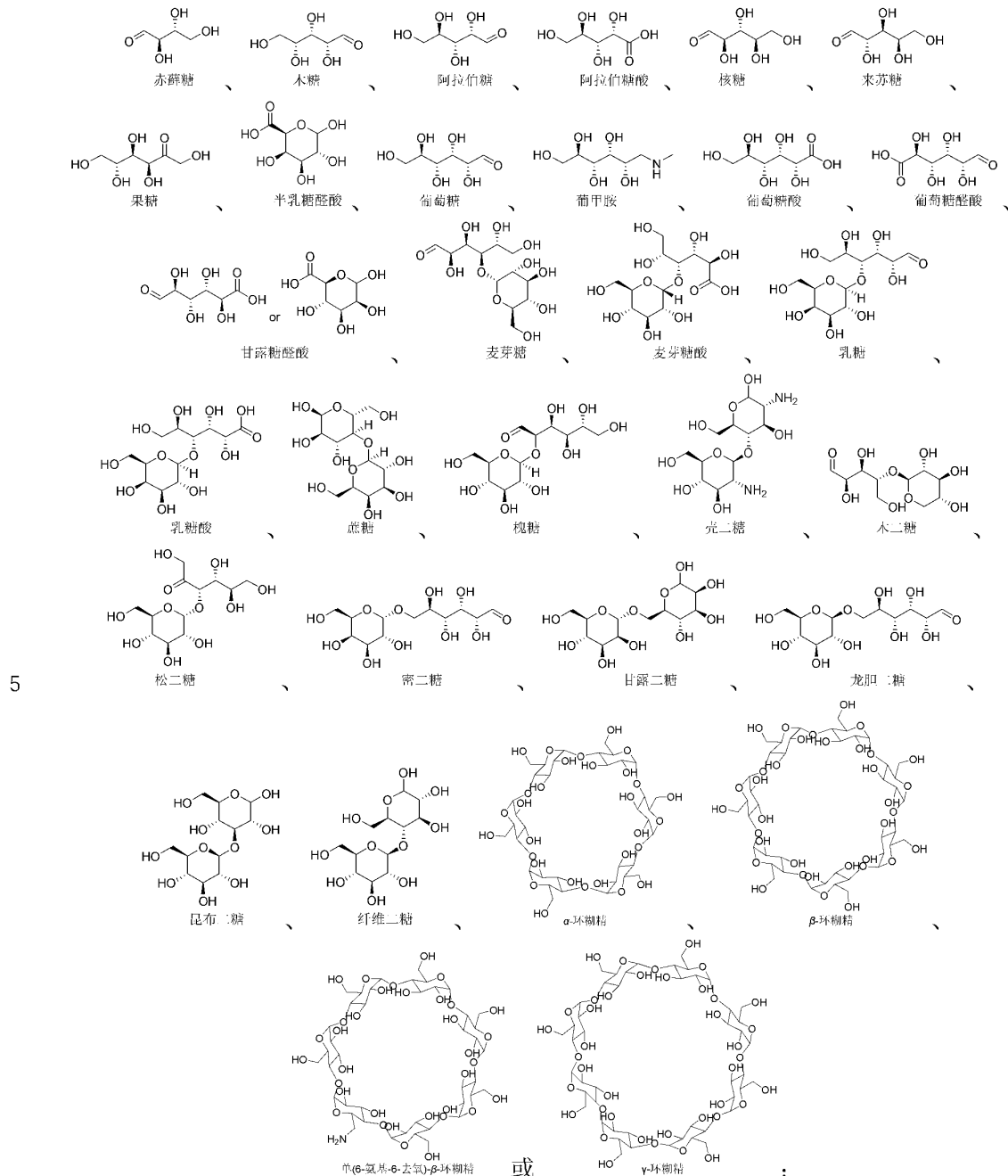
在一些实施方案中, 所述 C 存在或不存在, 当 C 存在时, 非限制性的选自天然或非天然氨基酸的一种或几种的组合。

- 25 在一些实施方案中, 所述药物 D、D₁、D₂ 相同或者不同, 各自独立地且非限制性地选自抗肿瘤药物、自身免疫疾病药物、抗感染性疾病药物(例如抗病毒药物)、放射性同位素、发色分子或上述药物药学上可接受的盐或溶剂化物。

在一些实施方案中, 所述药物 D、D₁、D₂ 相同或者不同, 各自独立地且非限制性地选自抗肿瘤药物, 包括但不限于 DNA 损伤剂、RNA 损伤剂、酶抑制剂或微管抑制剂。

- 30 在一些实施方案中, 所述 SU 非限制性地选自天然或非天然的单糖、二糖、多糖或其衍生物。

在一些实施方案中, 所述天然或非天然的单糖、二糖、多糖或其衍生物非限制性地选自以下结构,



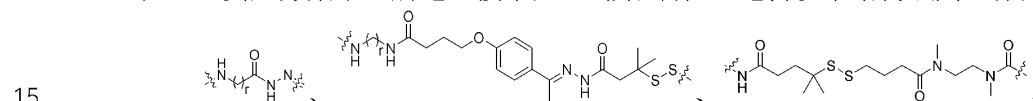
在一些实施方案中，所述 SU 选自葡甲胺、麦芽糖、麦芽糖酸、甘露糖醛酸、β-环糊精或单(6-氨基-6-去氧)-β-环糊精。

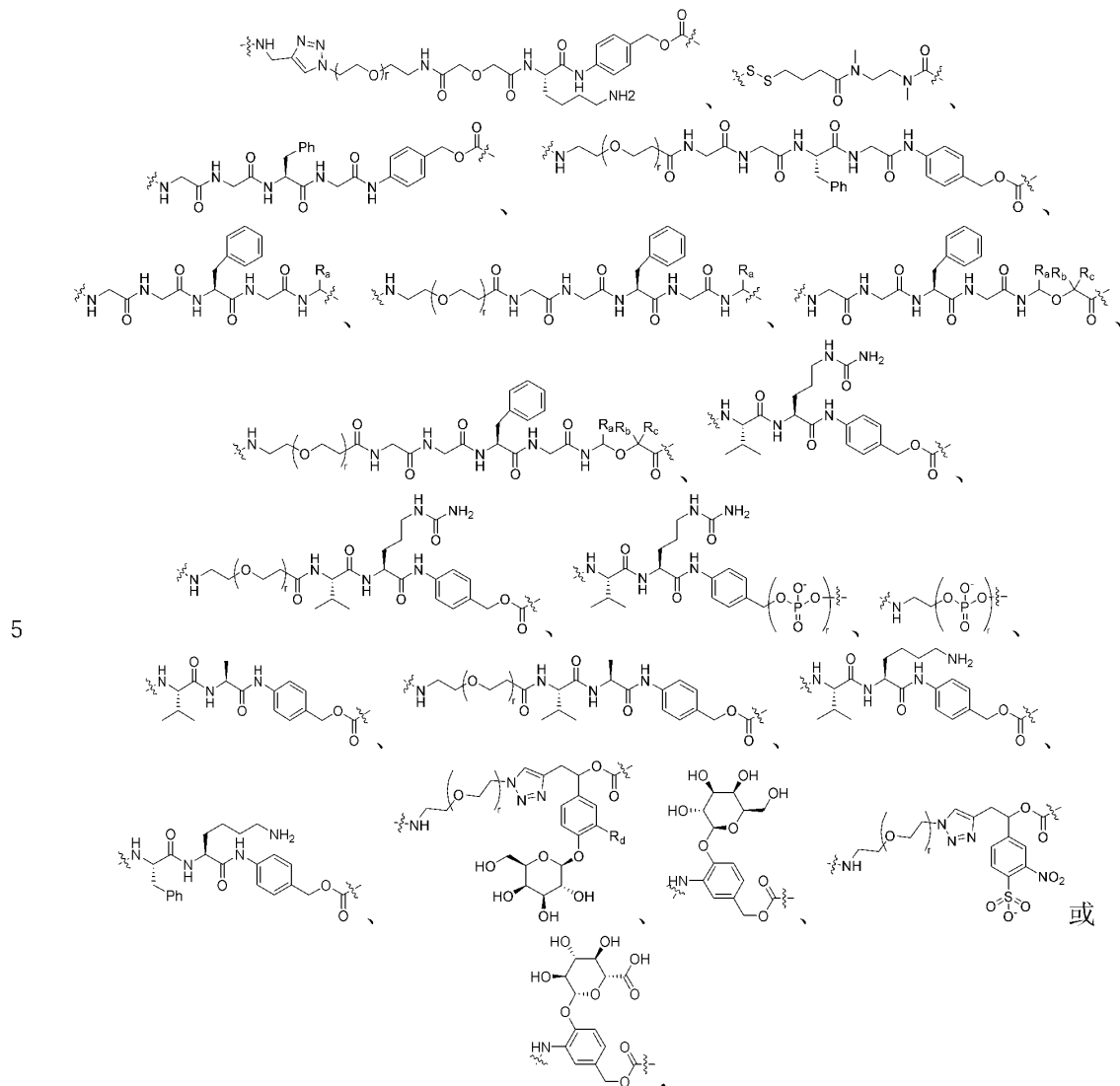
10 在一些实施方案中，所述 SU 非限制性地以共价形式连接至 L^b。

在一些实施方案中，所述连接单元 L^a、L^b 相同或者不同，各自独立地且非限制性地选自化学不稳定连接单元、酶催化裂解的连接单元或不可断裂连接单元的一种或几种组合。

在一些实施方案中，L^a 选自化学不稳定连接单元或酶催化裂解的连接单元。

在一些实施方案中，所述连接单元 L^a 非限制性地选自以下结构或其立体异构体：





其中:

- 10 R_a 、 R_b 、 R_c 相同或者不同, 且各自独立地选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基; 或者, R_b 、 R_c 和与二者相连的碳原子构成 C3-C8 环烷基或 3-8 元杂环基;

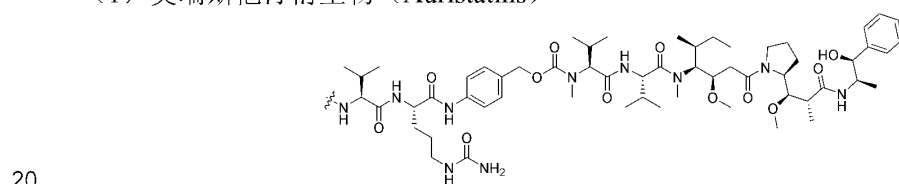
R_d 选自 H、 NO_2 、 $HO-SO_3$ -或- OSO_3 ;

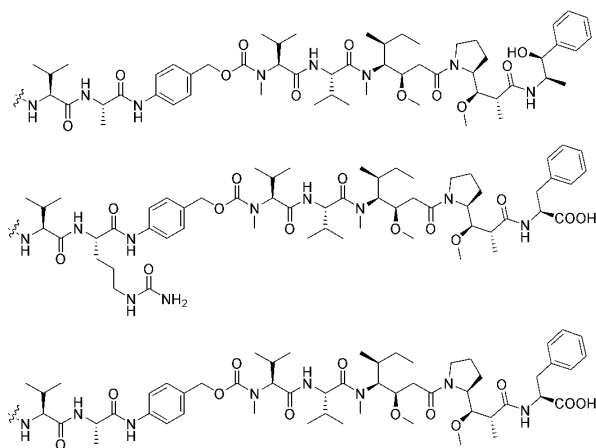
r 选自 1-10 的整数;

- 15 左侧波浪线所示位置与连接支架 A、连接结构 B 或分支单元 C 相连;
右侧波浪线所示位置与药物 D、 D_1 或 D_2 相连。

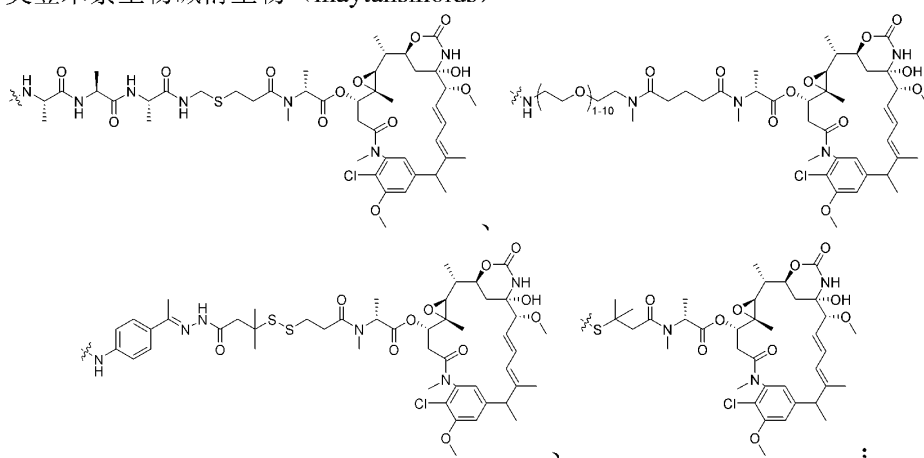
在一些实施方案中, 连接单元 L^a -D、 L^a - D_1 或 L^a - D_2 相同或不同, 并且非限制性地选自以下结构或其立体异构体,

(1) 奥瑞斯他汀衍生物 (Auristatins)

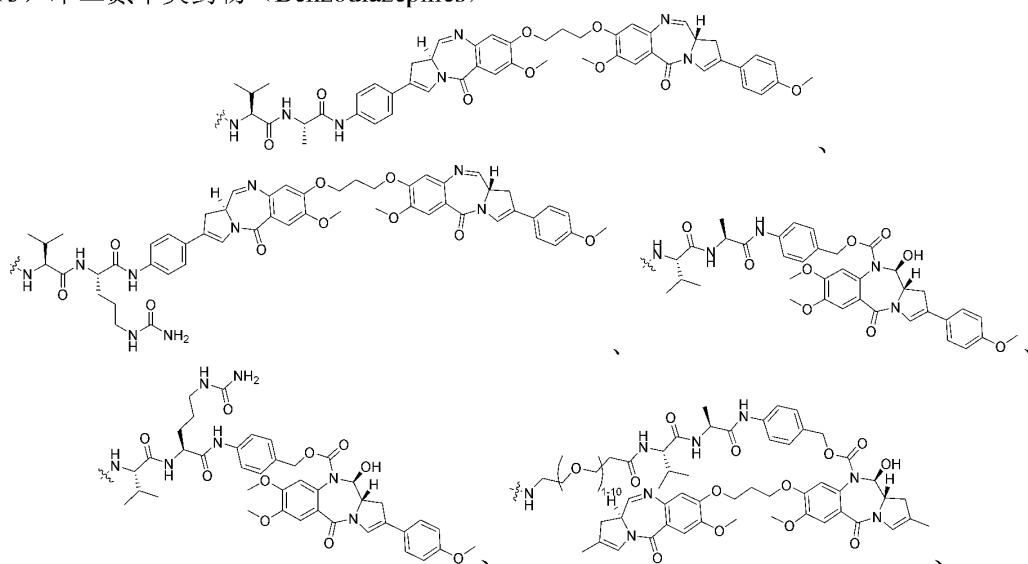


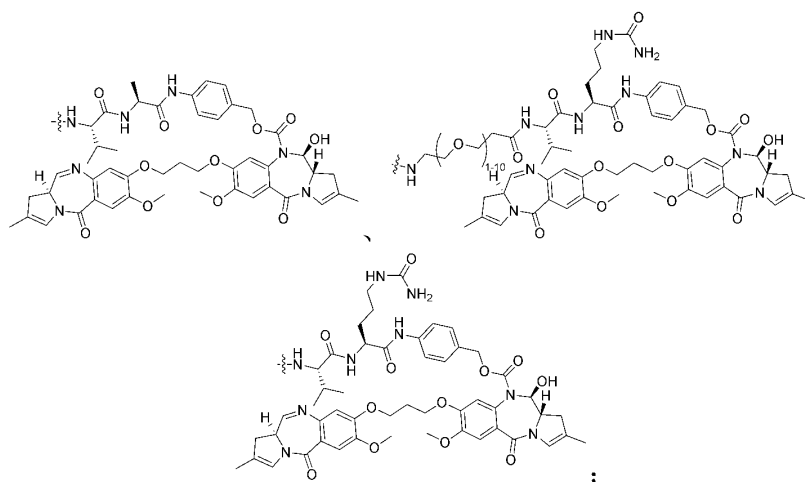


(2) 美登木素生物碱衍生物 (maytansinoids)

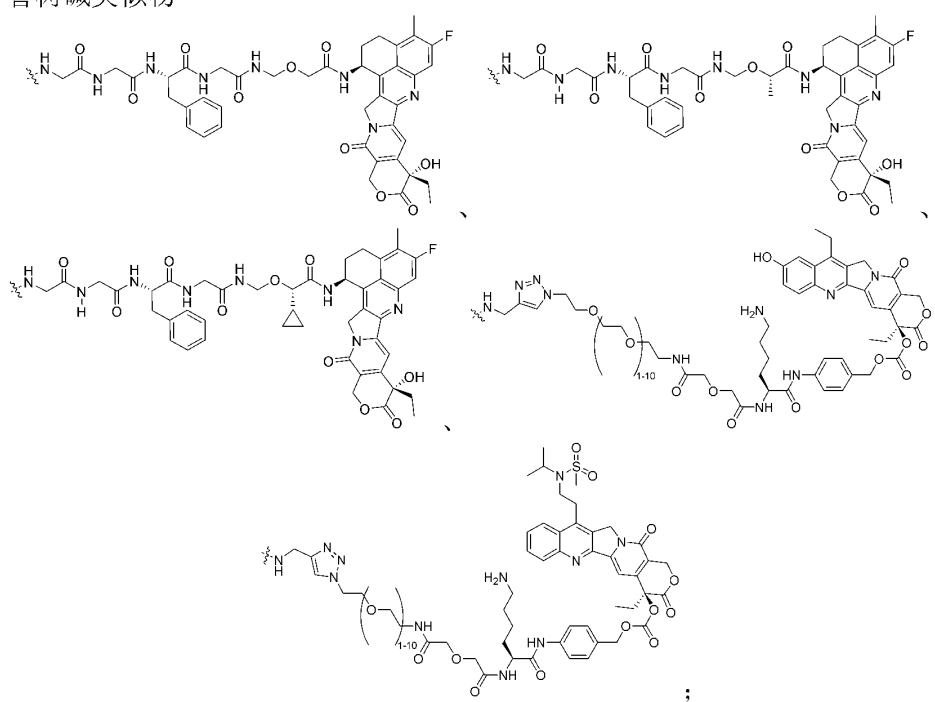


(3) 苯二氮草类药物 (Benzodiazepines)



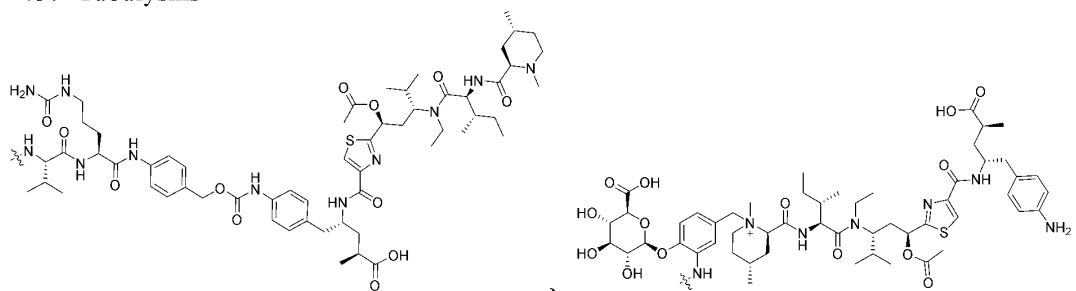


(4) 喜树碱类似物

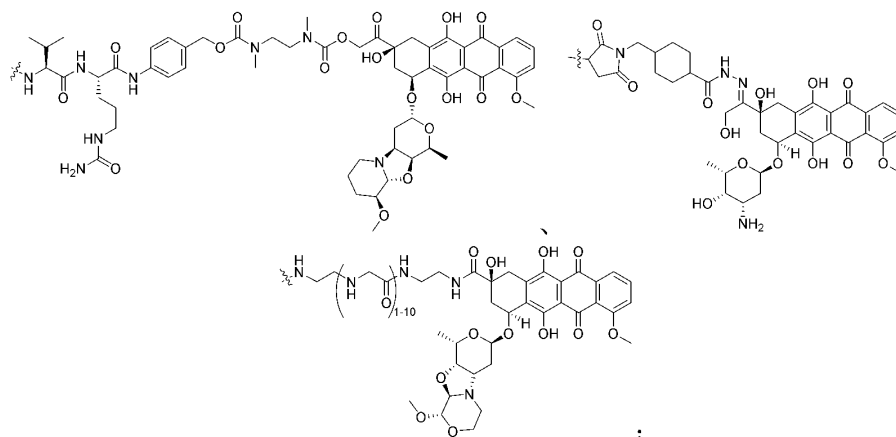


5

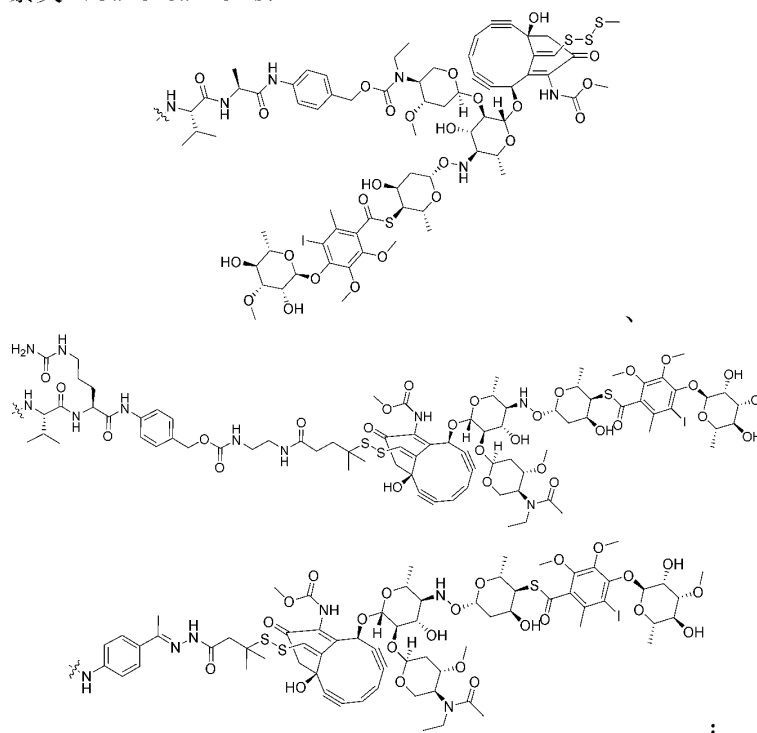
(5) Tubulysins



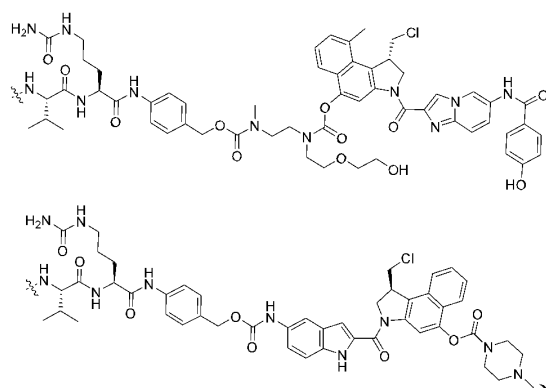
(6) 阿霉素类

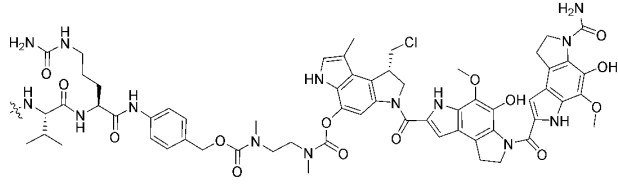


(7) 卡奇霉素类 (Calicheamicins)

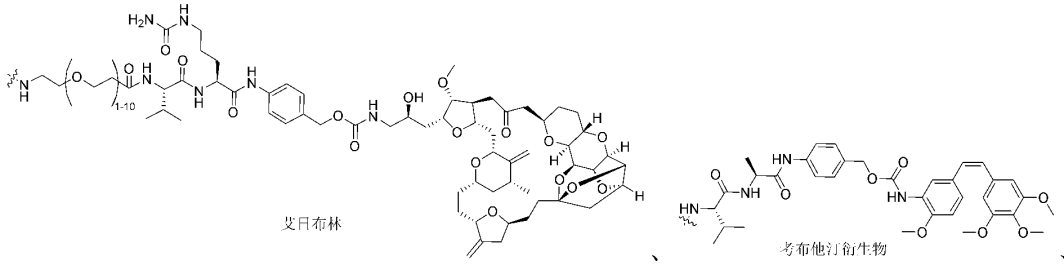
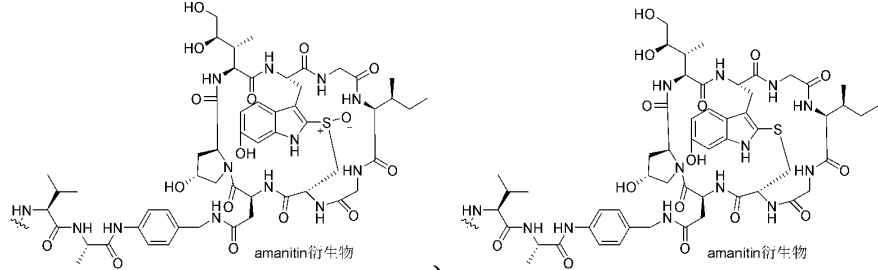


(8) Duocarmycins



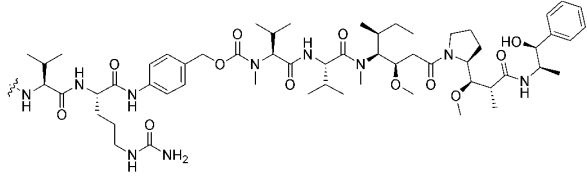


(9) 其它抗肿瘤药物



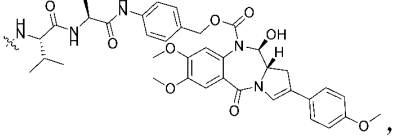
5

其中：
波浪线所示位置与连接支架 A、连接结构 B 或分支单元 C 相连；
在一些实施方案中，所述 L^a-D、L^a-D₁ 或 L^a-D₂ 选自：
奥瑞斯他汀衍生物，例如

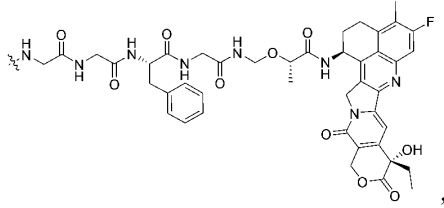


10

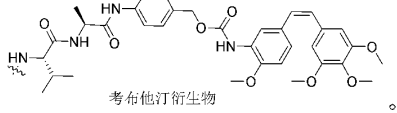
苯二氮草衍生物，例如



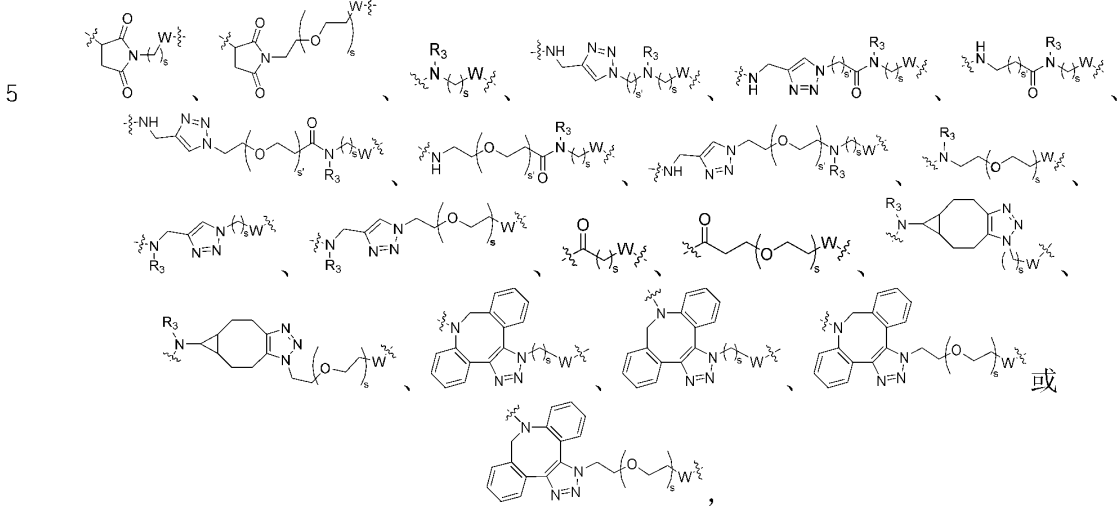
喜树碱类似物，例如



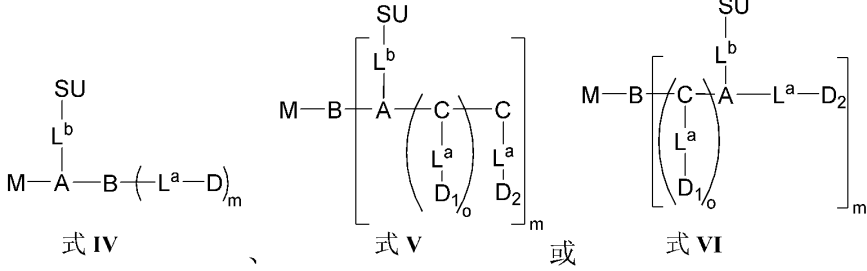
考布他汀衍生物, 例如



在一些实施方案中, 所述连接单元 L^b 非限制性地选自以下结构或其立体异构体,



- 10 其中:
- R_3 选自氢原子、氘原子、卤素、C1-C6 烷基、氘代 C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、C3-C8 环烷基 C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基 C1-C6 烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基;
- W 选自-NR₄-、-O-、-S-、-CO-或-CONR₅-;
- R_4 或 R_5 各自独立地选自氢原子、氘原子、卤素、C1-C6 烷基、氘代 C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、C3-C8 环烷基 C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基 C1-C6 烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基;
- 15 s 选自 1-10 的整数;
- s' 选自 1-10 的整数;
- 左侧波浪线与右侧波浪线所示位置非限制性地连接 SU 或连接支架 A。
- 20 本申请还提供了一种如式 IV、式 V 或式 VI 所示的连接子-药物化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物:



其中:

M 选自任意接头单元；

A 选自任意连接支架；

B 存在或不存在，当存在时，选自任意连接结构或键；

C 存在或不存在，当存在时，选自任意分支单元或键；

5 D、D₁、D₂ 相同或不同，且各自独立地选自药物；

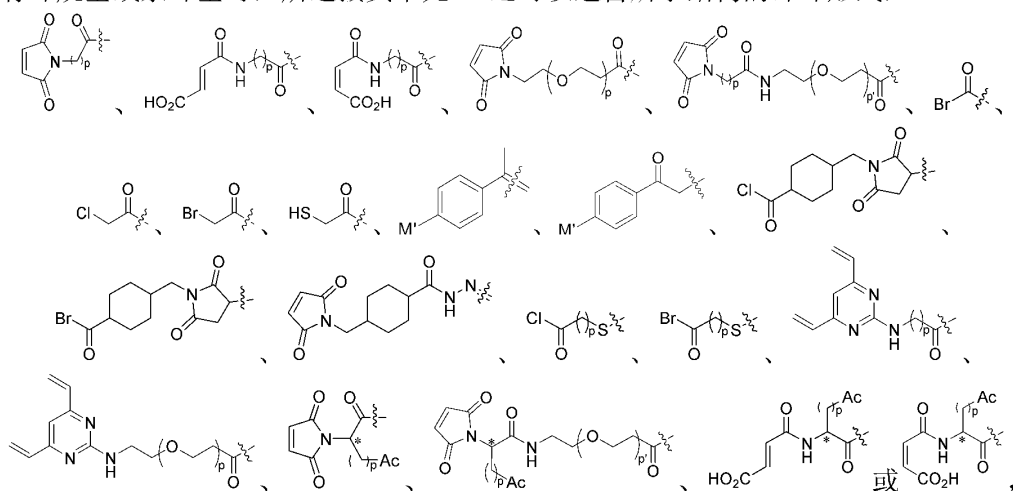
SU 选自糖或其衍生物；

L^a、L^b 相同或不同，且各自独立地选自任意连接单元或键；

m 选自 1-5 的整数；

o 选自 1-10 的整数。

10 在一些实施方案中，所述接头单元 M 非限制性地选自如下式所示的结构，当所述结构含有环烷基或杂环基时，所述接头单元 M 还可以选自所示结构的开环形式，



15

其中：

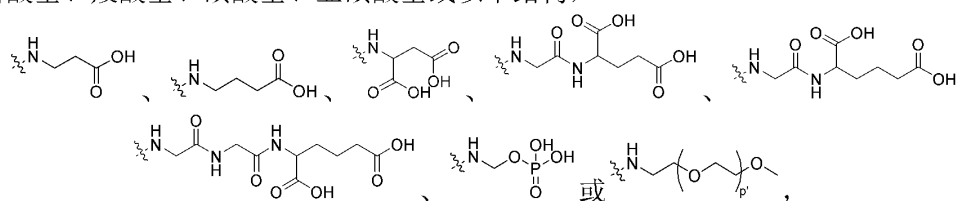
波浪线所示位置非限制性地与连接支架 A、连接结构 B 或分支单元 C 相连；

M' 非限制性地选自卤素、OTf 或 OTs；

*所示位置的碳为手性碳，其构型为 R 型或 S 型；

20 p、p' 各自独立地选自 1-10 的整数；

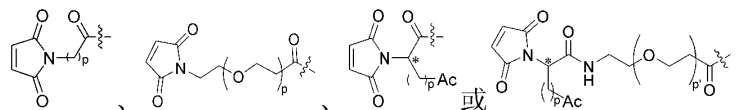
Ac 非限制性地选自天然或非天然氨基酸的残基、具有 1-20 个重复单元的聚乙二醇链段、磷酸基、羧酸基、磺酸基、亚磺酸基或以下结构，



25

其中，波浪线所示位置与*所示位置的碳原子相连。

在一些实施方案中，所述接头单元 M 非限制性地选自如下式所示的结构或其立体异构体或其开环形式，

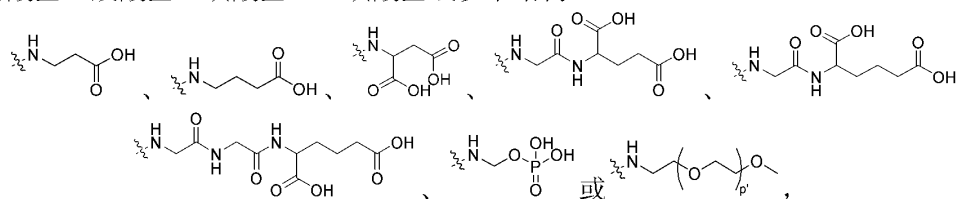


其中：

30 波浪线所示位置非限制性地与连接支架 A、连接结构 B 或分支单元 C 相连；

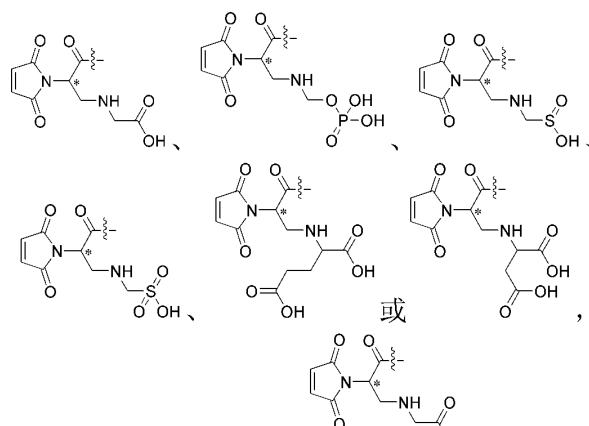
*所示位置的碳为手性碳，其构型为 R 型或 S 型；p、p' 各自独立地选自 1-10 地整数；

Ac 非限制性地选自天然或非天然氨基酸的残基、具有 1-20 个重复单元的聚乙二醇链段、磷酸基、羧酸基、磺酸基、亚磺酸基或以下结构，



5 其中，波浪线所示位置与*所示位置的碳原子相连。

在一些实施方案中，所述接头单元 M 非限制性地选自如下式所示的结构或其开环形式，

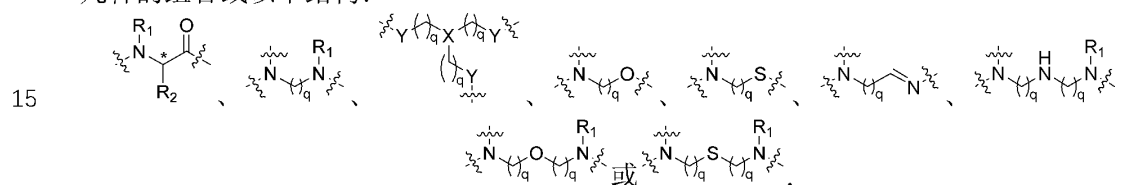


10 在一些实施方案中，所述接头单元 M 为

*所示位置的碳为手性碳，其构型为 R 型或 S 型；

波浪线所示位置非限制性地与连接支架 A、连接结构 B 或分支单元 C 相连。

在一些实施方案中，所述连接支架 A 非限制性地选自天然或非天然氨基酸中的一种或几种的组合或以下结构：



其中：

X 选自 N、CH、C3-C8 环烷基、3-8 元杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

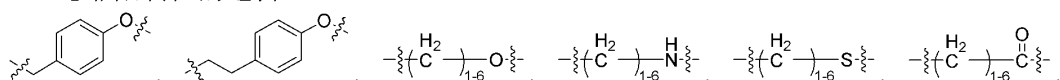
20 Y 选自 -NH-、-O-、-S-、-CO-、-CO₂-、-CONH-、-NHCO-、-SO-、-SO₂-、-OSO₂- 或 -OP=O(OH)O-；

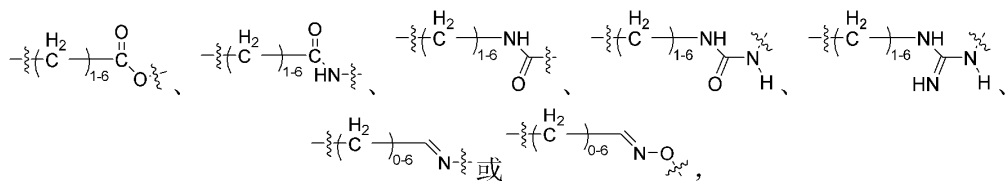
q 选自 1-10 的整数；

波浪线所示位置非限制性地与接头单元 M、连接单元 L^a、L^b、连接结构 B 或分支单元 C 相连；

25 R₁ 选自氢原子、氘原子、卤素、C1-C6 烷基、C1-C6 取代烷基、C3-C8 环烷基 C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基 C1-C6 烷基、羧基、3-8 元杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

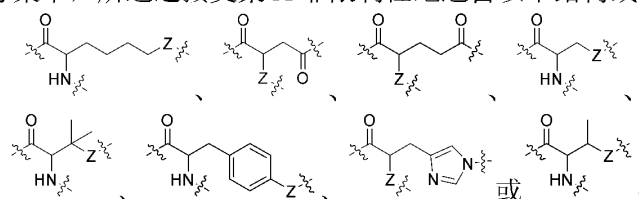
R₂ 非限制性的选自：





其中左侧波浪线所示位置表示 R_2 连接至*标记的手性碳位置，右侧波浪线所示位置代表连接支架 A 的任意三个连接位点之一。

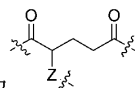
- 5 在一些实施方案中，所述连接支架 A 非限制性地选自以下结构或其立体异构体，



其中：

Z 选自 -NH-、-O- 或 -S-；

- 10 波浪线所示位置非限制性地与接头单元 M、连接单元 L^a 、 L^b 、连接结构 B 或分支单元 C 相连；



在一些实施方案中，所述连接支架 A 为 。在一些实施方案中，Z 为 -NH-。

在一些实施方案中，所述 B 非限制性地选自任意连接结构或键。

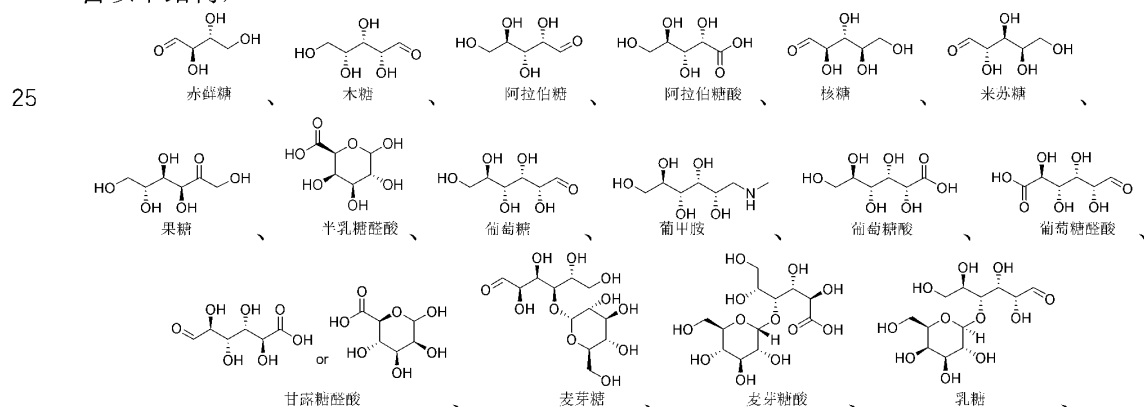
- 15 在一些实施方案中，所述 C 存在或不存在，当 C 存在时，非限制性的选自天然或非天然氨基酸的一种或几种的组合。

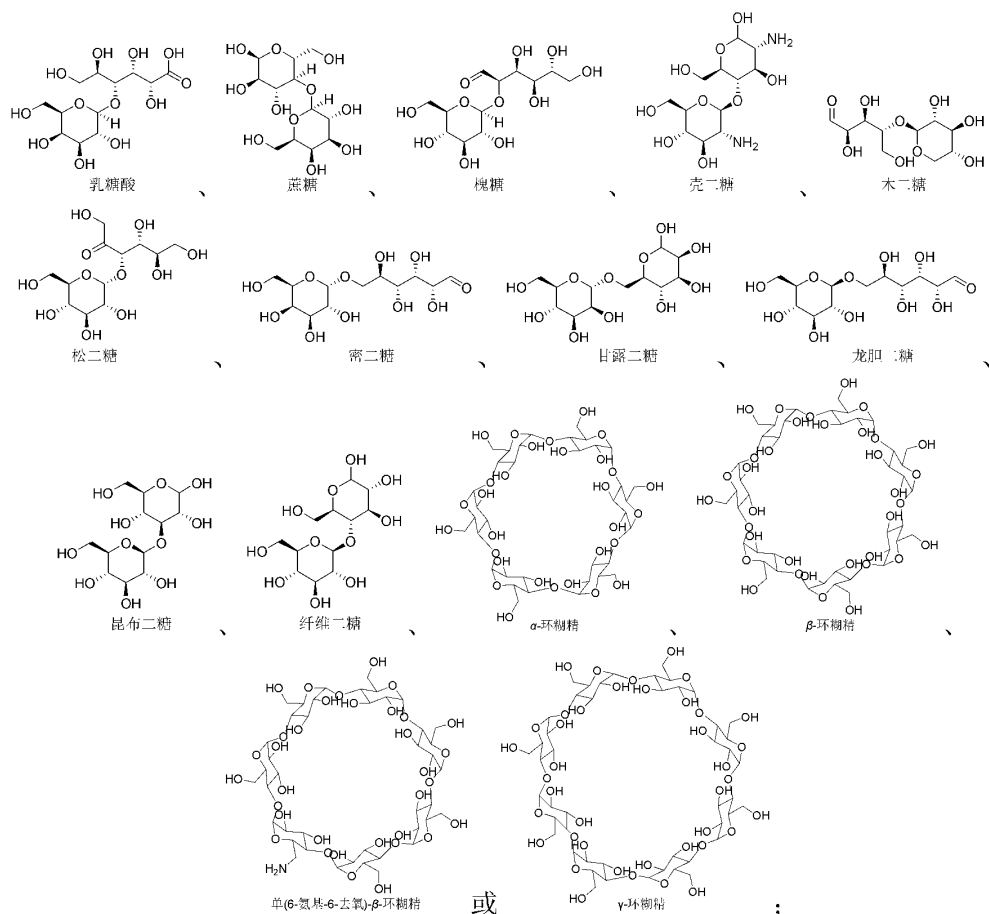
在一些实施方案中，所述药物 D、 D_1 、 D_2 相同或者不同，各自独立地且非限制性地选自抗肿瘤药物、自身免疫疾病药物、抗感染性疾病药物（例如抗病毒药物）、放射性同位素、发色分子或上述药物药学上可接受的盐或溶剂化物。

- 20 在一些实施方案中，所述药物 D、 D_1 、 D_2 相同或者不同，各自独立地且非限制性地选自抗肿瘤药物，包括但不限于 DNA 损伤剂、RNA 损伤剂、酶抑制剂或微管抑制剂。

在一些实施方案中，所述 SU 非限制性地选自天然或非天然的单糖、二糖、多糖或其衍生物。

在一些实施方案中，所述天然或非天然的单糖、二糖、多糖或其衍生物非限制性地选自以下结构，





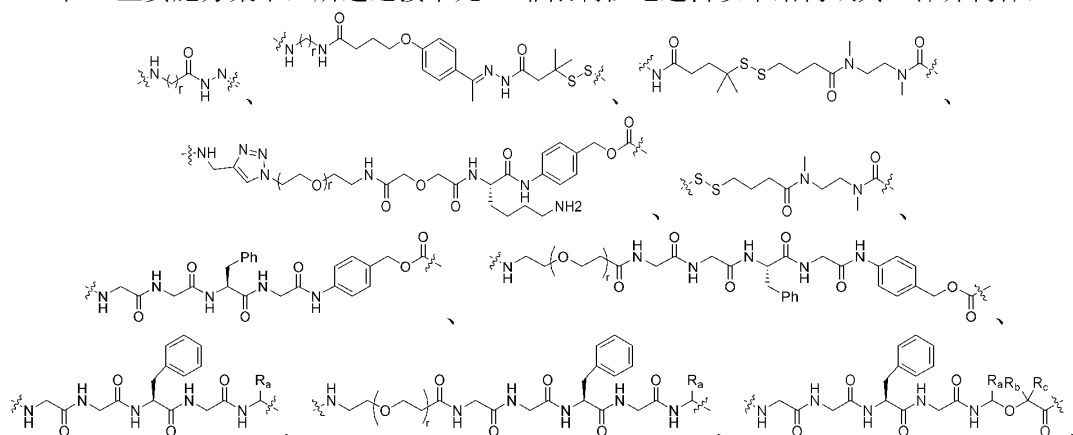
- 5 在一些实施方案中，所述 SU 选自葡甲胺、麦芽糖、麦芽糖酸、甘露糖醛酸、β-环糊精或单(6-氨基-6-去氧)-β-环糊精。

在一些实施方案中，所述 SU 非限制性地以共价形式连接至 L^b。

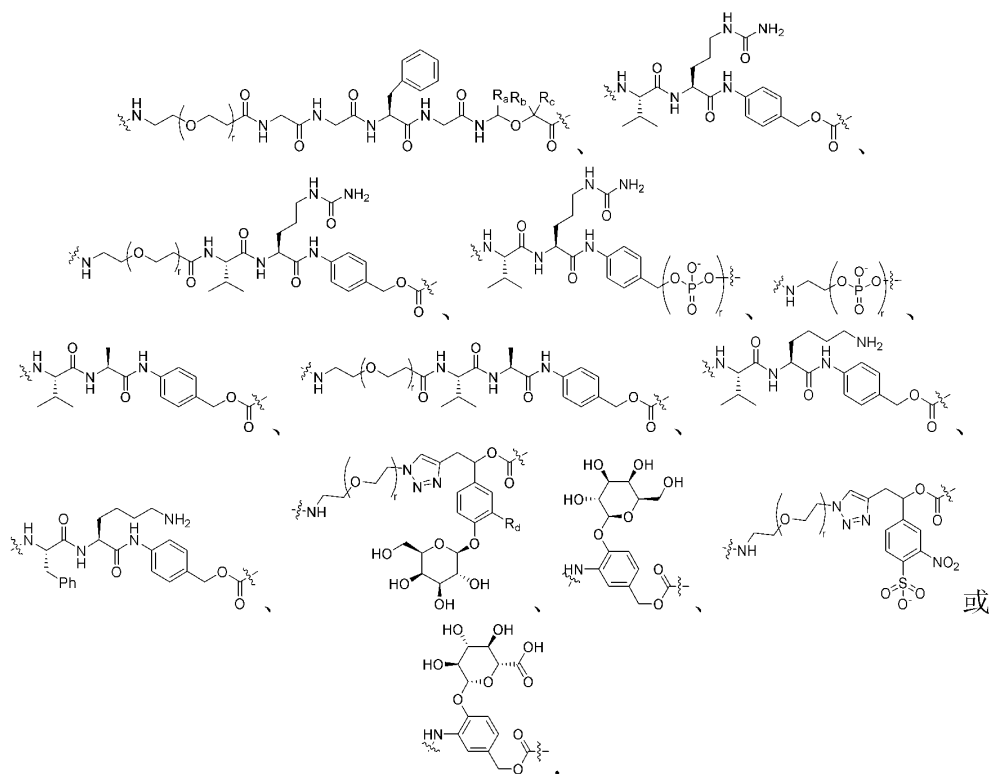
在一些实施方案中，所述连接单元 L^a、L^b 相同或者不同，各自独立地且非限制性地选自化学不稳定连接单元、酶催化裂解的连接单元或不可断裂连接单元的一种或几种组合。

- 10 在一些实施方案中，L^a 选自化学不稳定连接单元或酶催化裂解的连接单元。

在一些实施方案中，所述连接单元 L^a 非限制性地选自以下结构或其立体异构体，



15



其中:

R_a 、 R_b 、 R_c 相同或者不同, 且各自独立地选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基; 或者 R_b 与 R_c 和与二者相连的碳原子构成 C3-C8 环烷基或 3-8 元杂环基;

10 R_d 选自 H、 NO_2 或 $HO-SO_3$ 或 OSO_3 ;

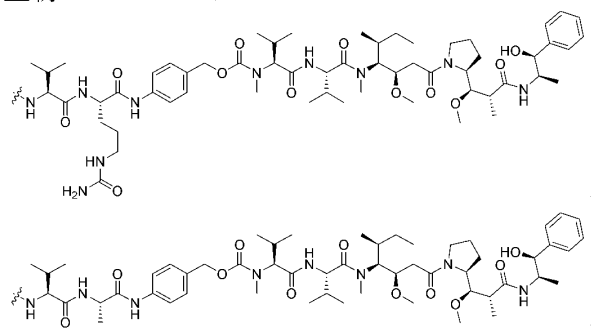
r 选自 1-10 的整数;

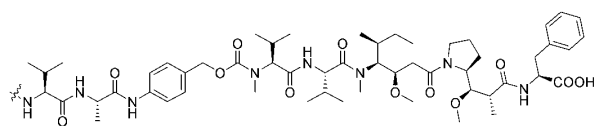
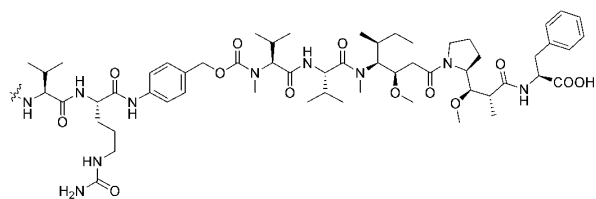
左侧波浪线所示位置与连接支架 A、连接结构 B 或分支单元 C 相连;

右侧波浪线所示位置与药物 D、 D_1 或 D_2 相连。

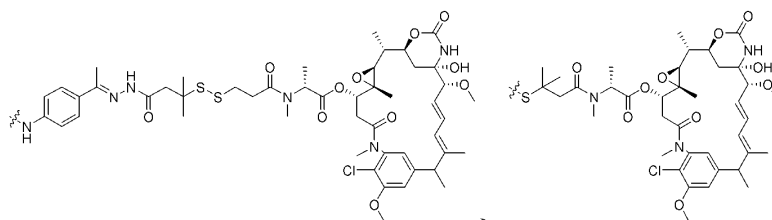
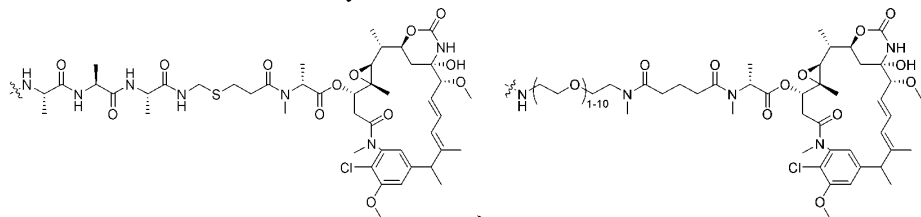
15 在一些实施方案中, 所述 L^a-D 、 L^a-D_1 或 L^a-D_2 相同或者不同, 并且非限制性地选自以下结构或其立体异构体,

(1) 奥瑞斯他汀衍生物 (Auristatins)



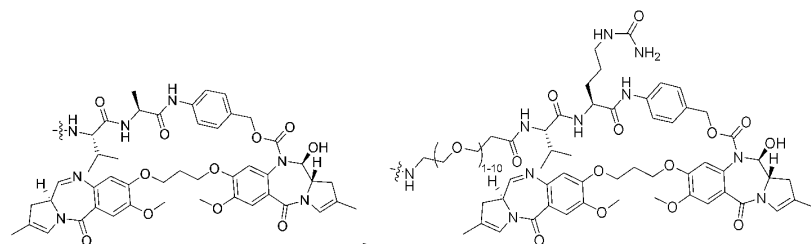
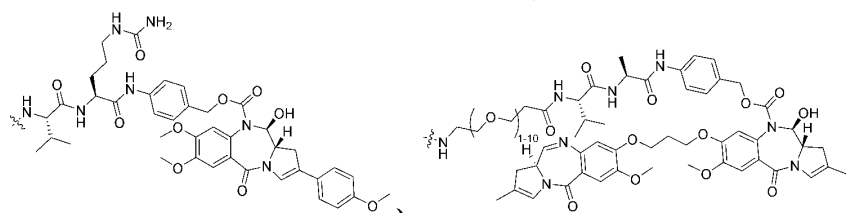
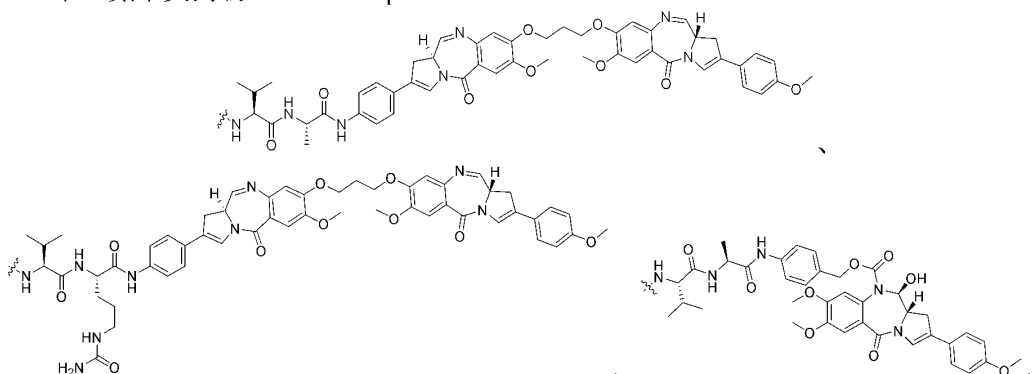


(2) 美登木素生物碱衍生物 (maytansinoids)



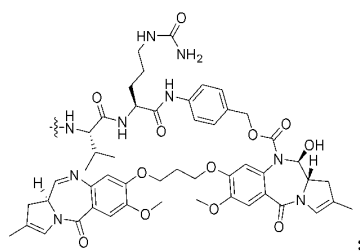
5

(3) 苯二氮草类药物 Benzodiazepines

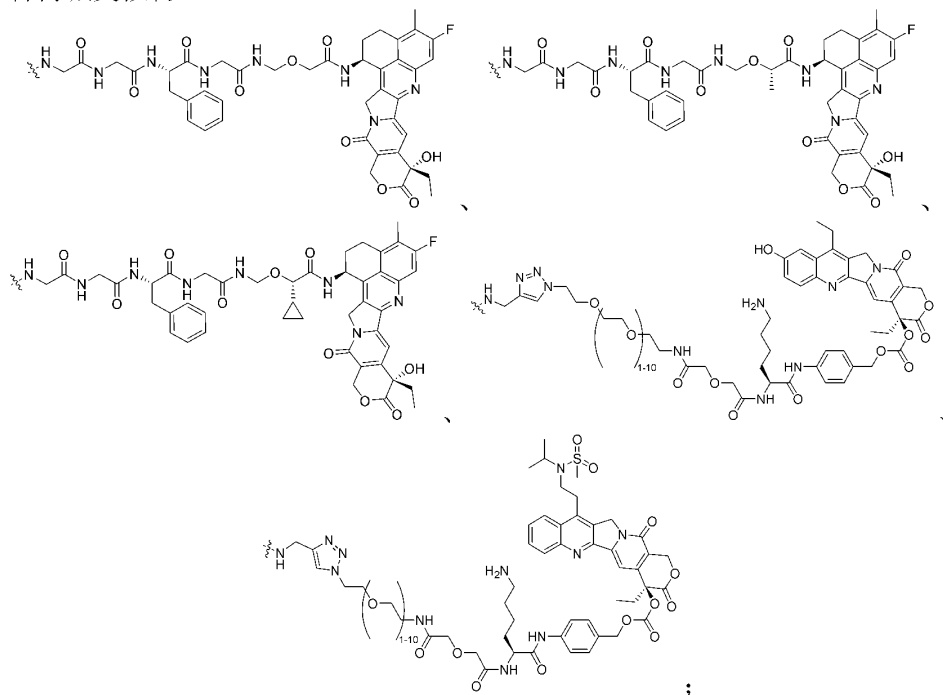


10

17

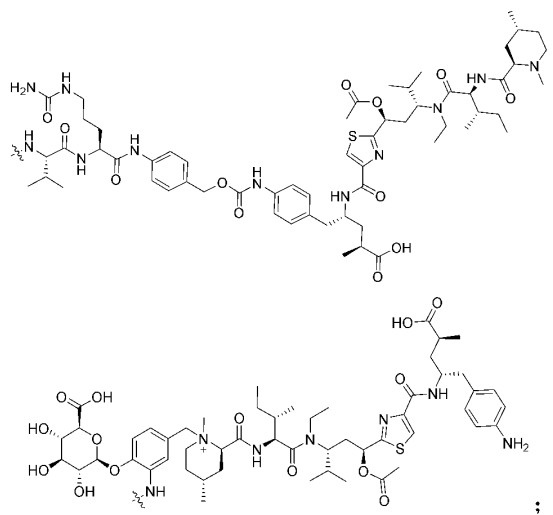


(4) 喜树碱类似物

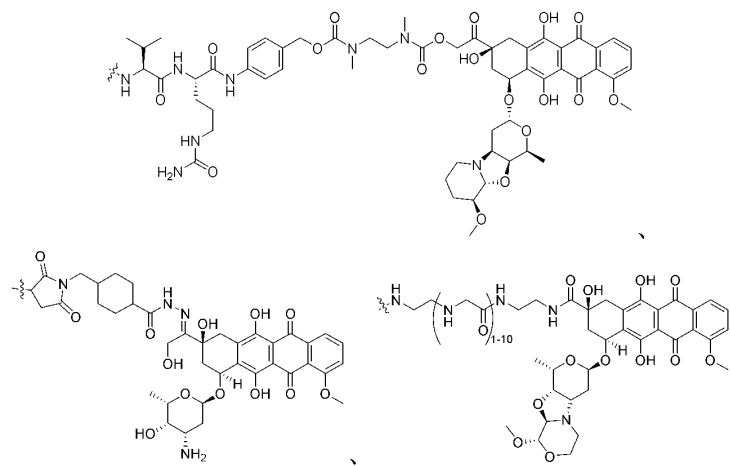


5

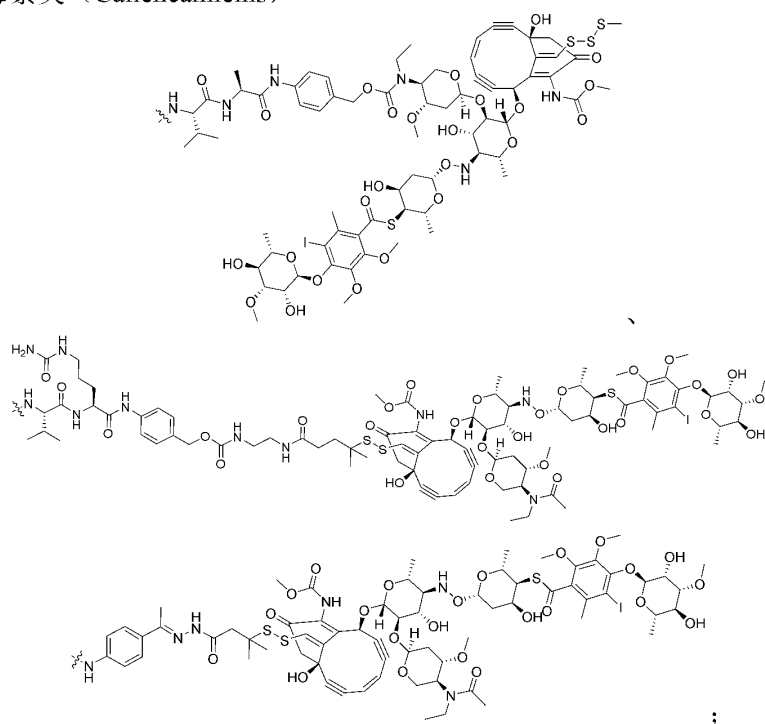
(5) Tubulysins



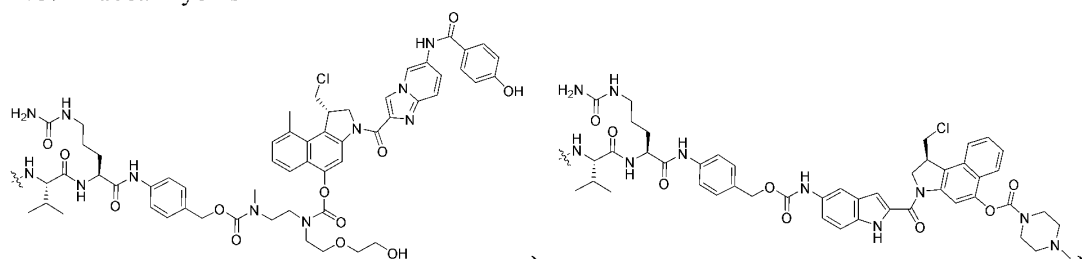
(6) 阿霉素类

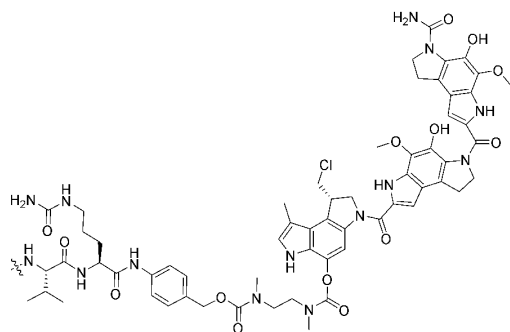


(7) 卡奇霉素类 (Calicheamicins)



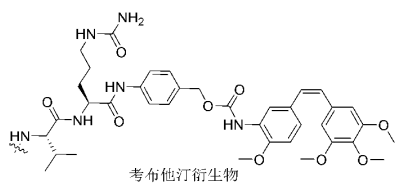
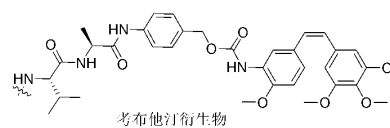
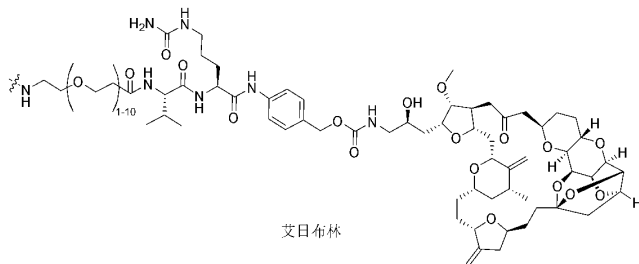
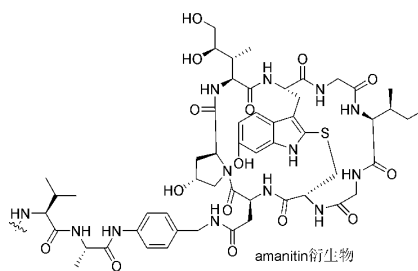
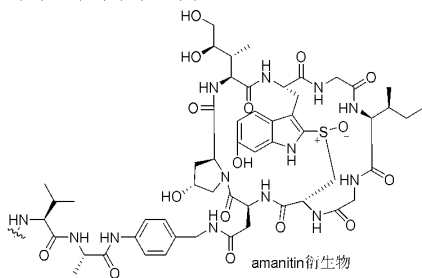
(8) Duocarmycins





;

(9) 其它抗肿瘤药物



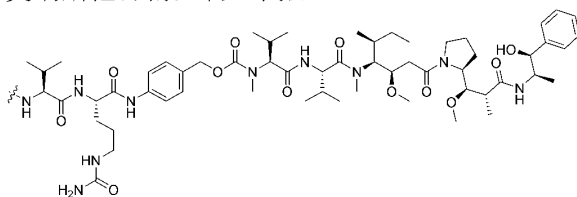
5

其中:

波浪线所示位置与连接支架 A、连接结构 B 或分支单元 C 相连。

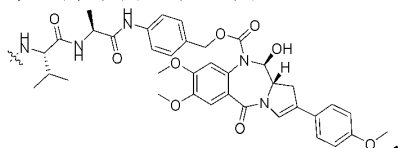
在一些实施方案中, 所述 L^a-D、L^a-D₁ 或 L^a-D₂ 选自:

奥瑞斯他汀衍生物, 例如

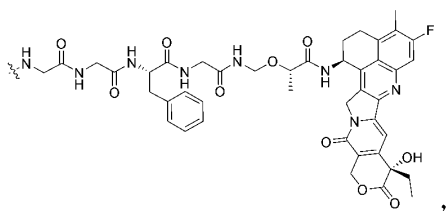


10

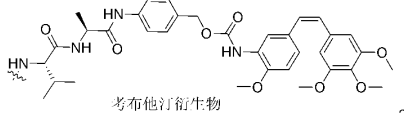
苯二氮草衍生物, 例如



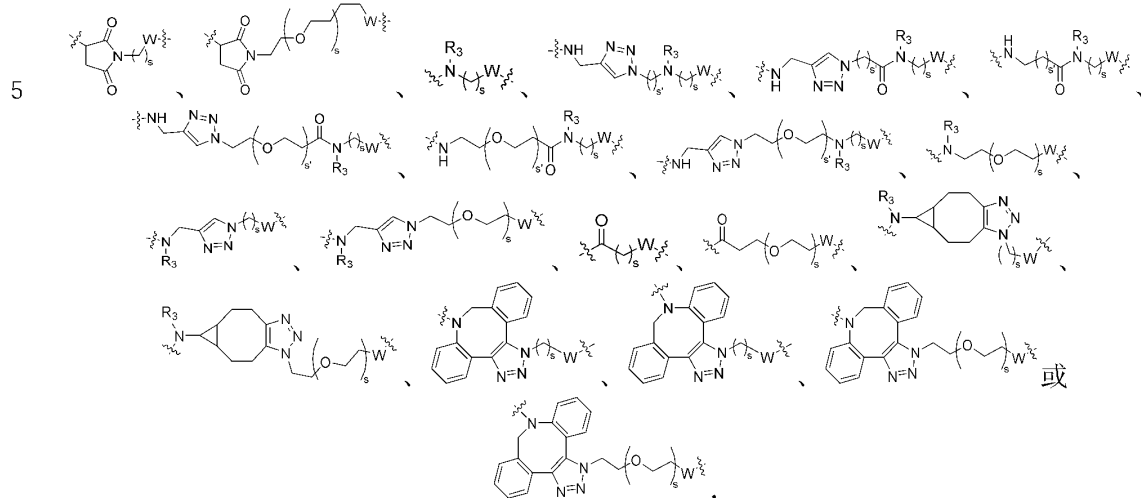
喜树碱类似物, 例如



考布他汀衍生物，例如



在一些实施方案中，所述连接单元 L^b 非限制性地选自以下结构或其立体异构体，



10 其中：

R_3 选自氢原子、氘原子、卤素、C1-C6 烷基、氘代 C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、C3-C8 环烷基 C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基 C1-C6 烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

W 选自 $-NR_4-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-CO-$ 或 $-CONR_5-$ ；

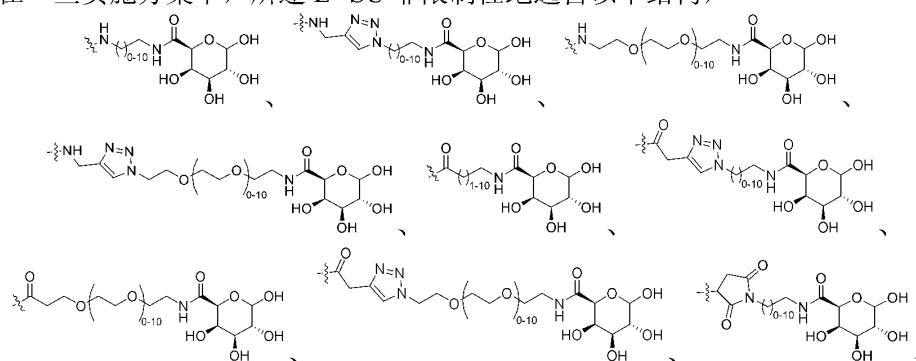
15 R_4 或 R_5 各自独立地选自氢原子、氘原子、卤素、C1-C6 烷基、氘代 C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、C3-C8 环烷基 C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基 C1-C6 烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

s 选自 1-10 的整数；

s' 选自 1-10 的整数；

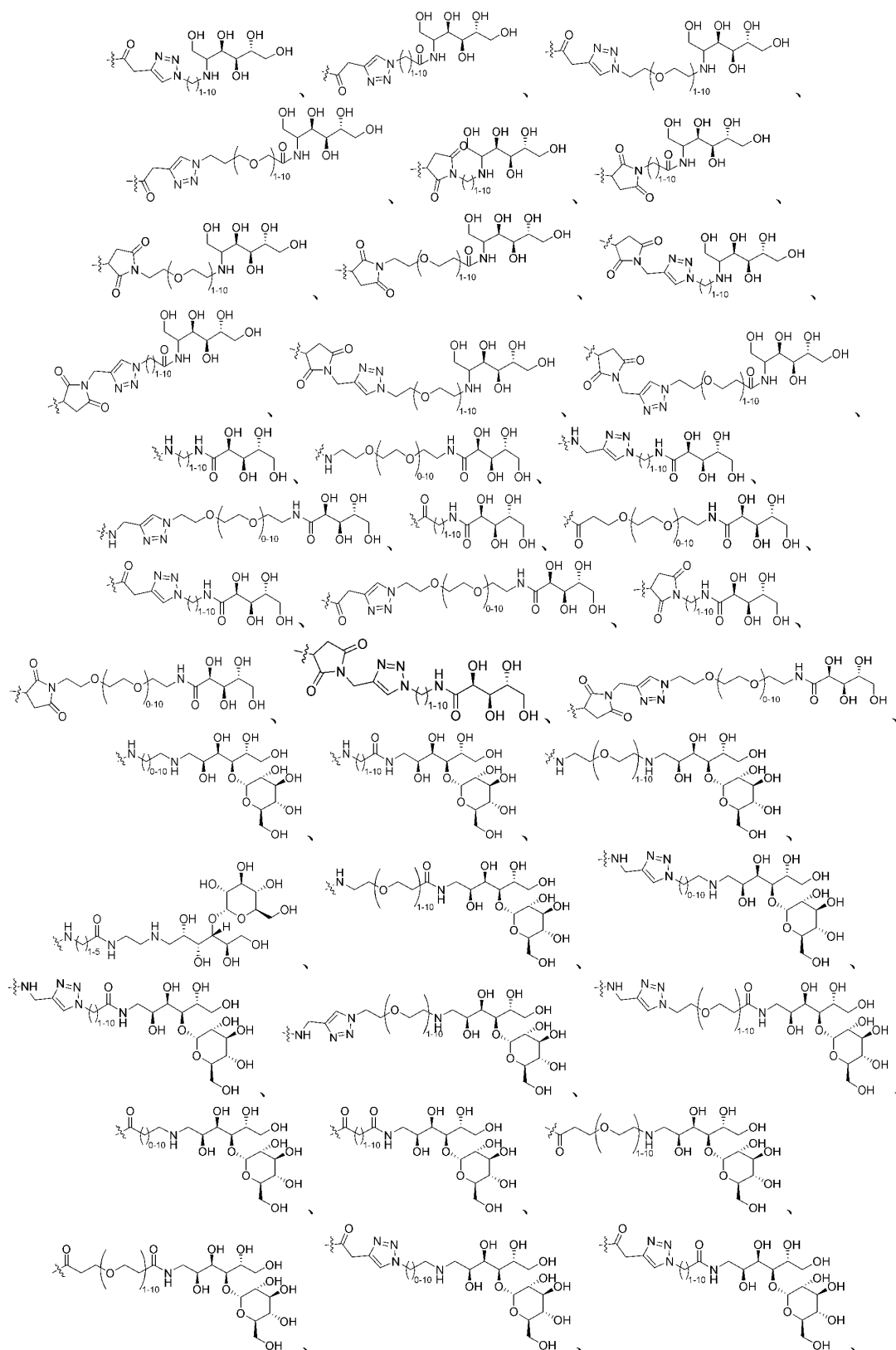
左侧波浪线与右侧波浪线所示位置非限制性地连接 SU 或连接支架 A。

20 在一些实施方案中，所述 L^b -SU 非限制性地选自以下结构，





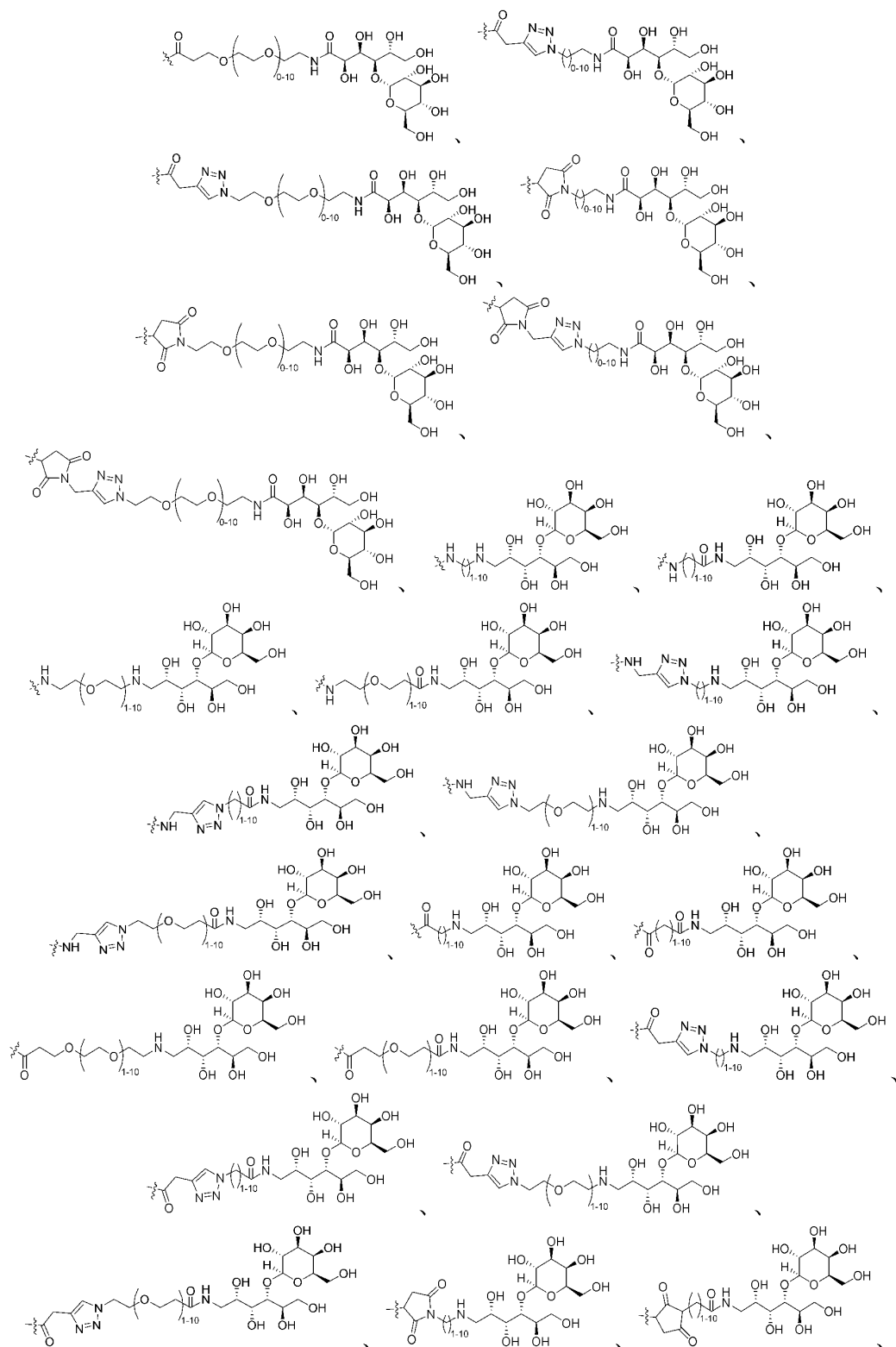
5



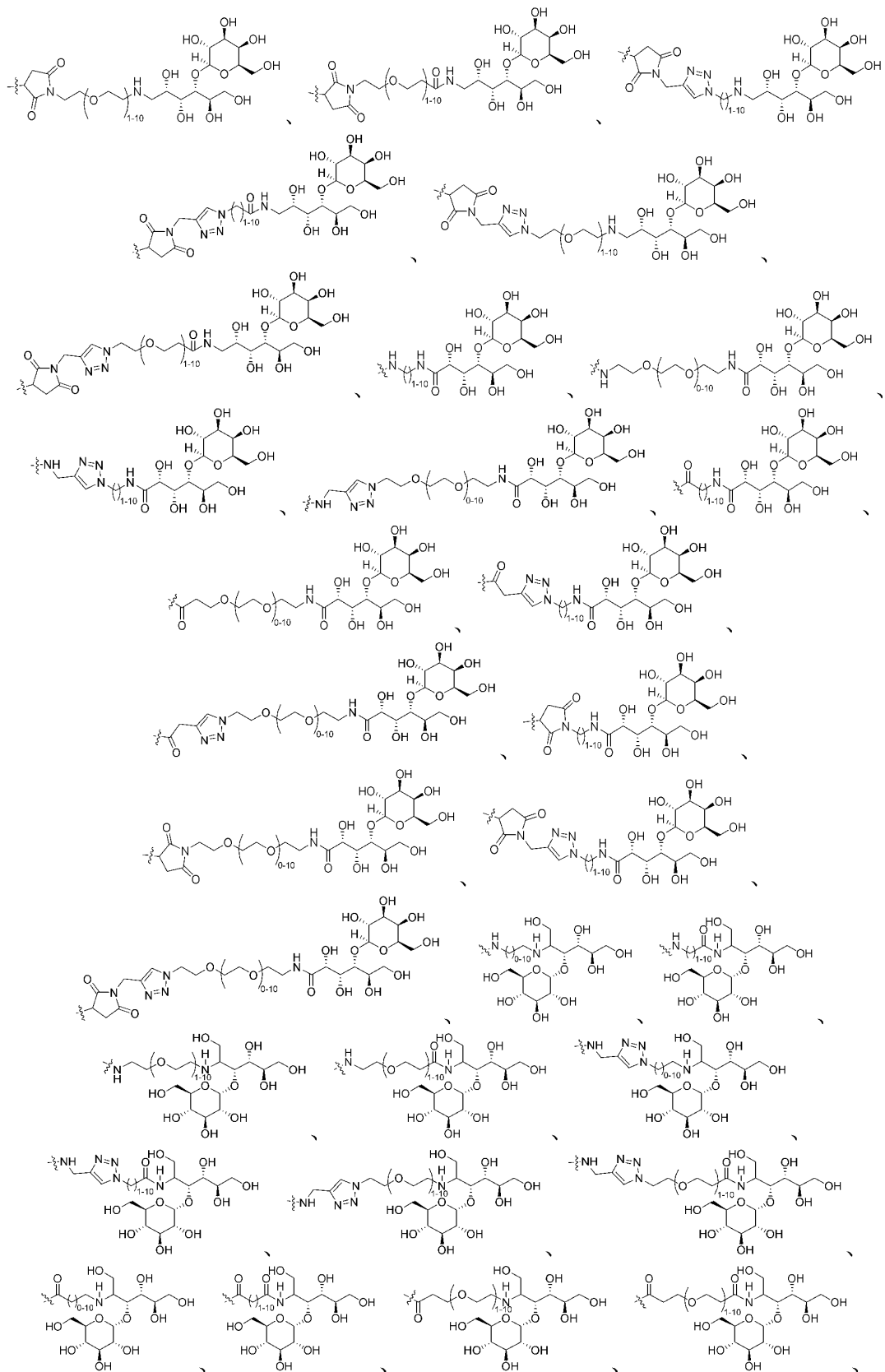
10

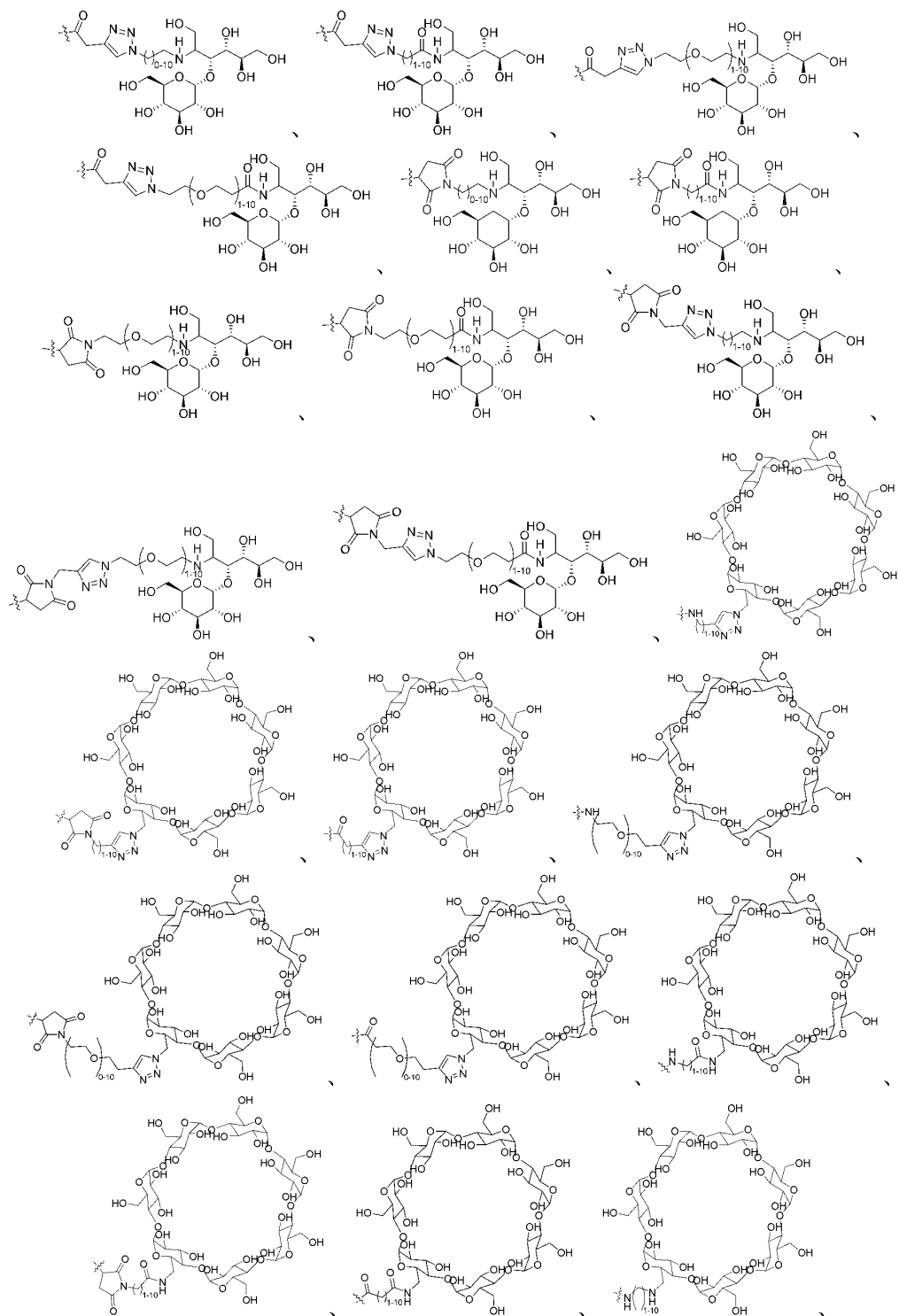


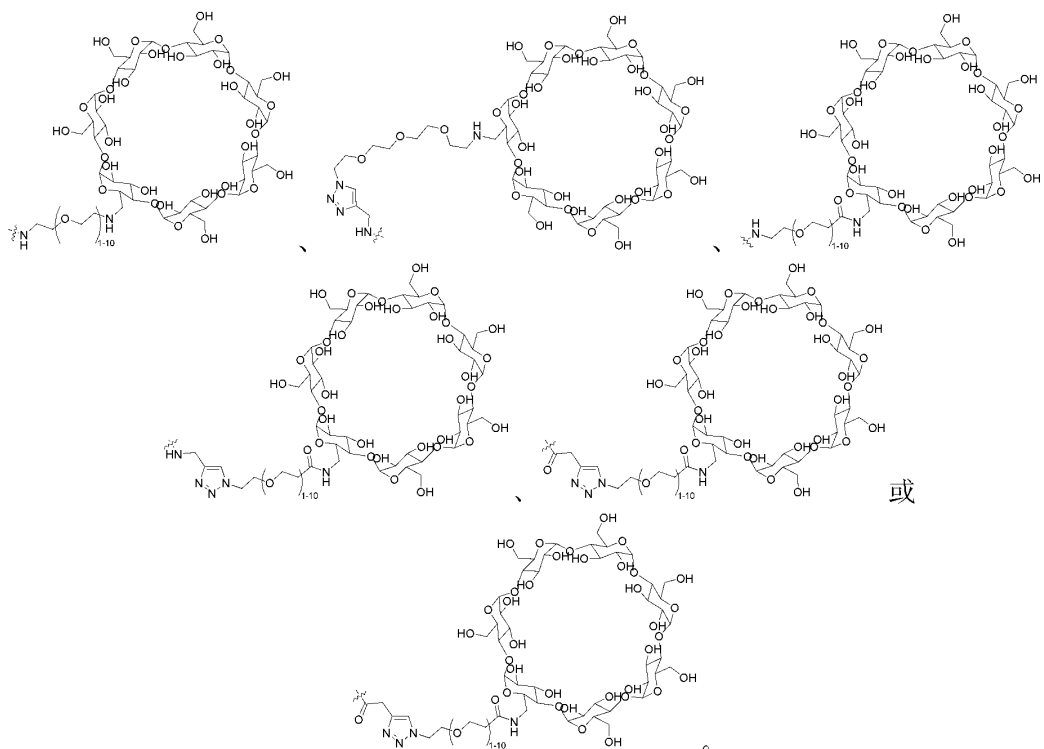
5



10



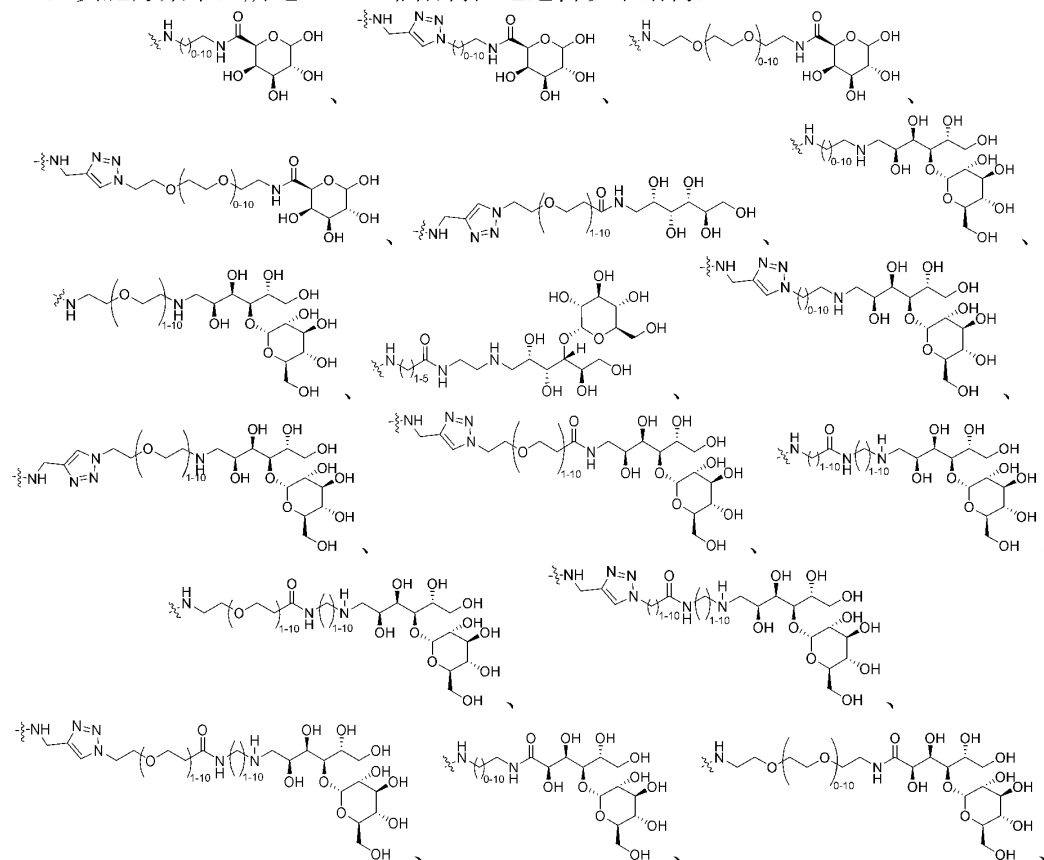




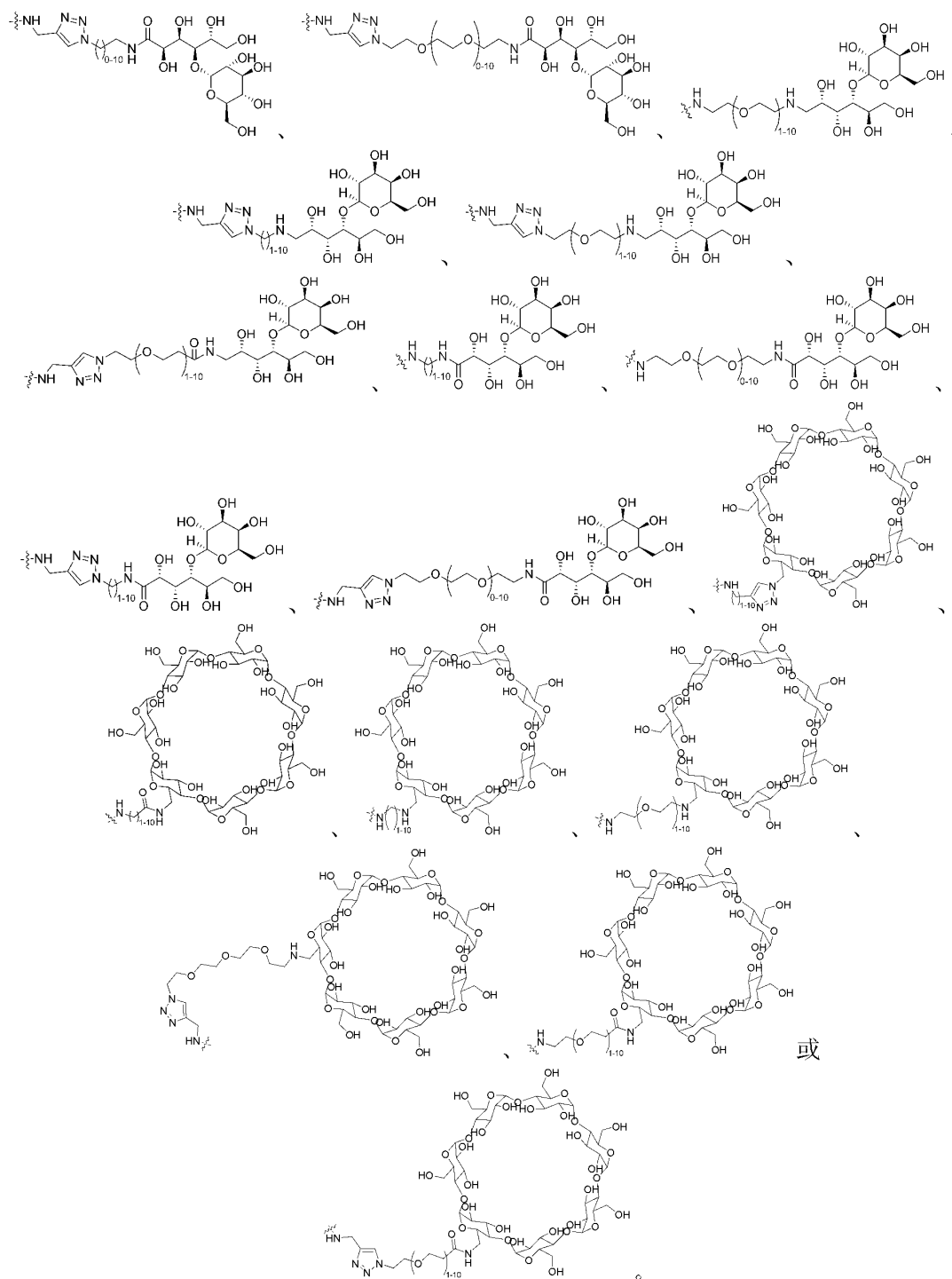
或

在一些实施方案中，所述 L^b-SU 非限制性地选自以下结构，

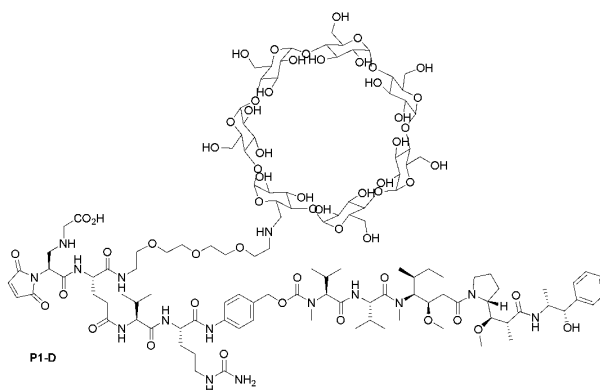
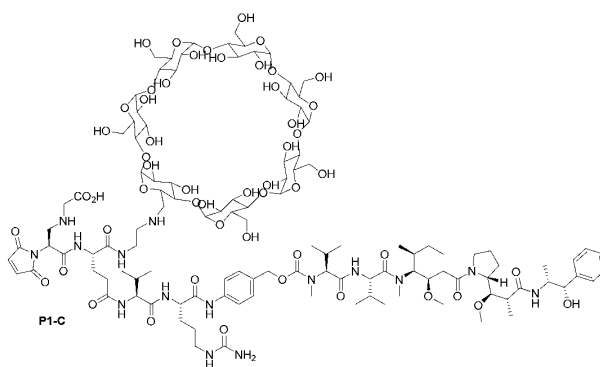
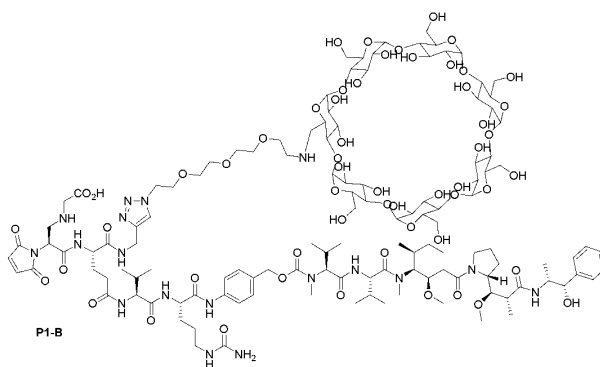
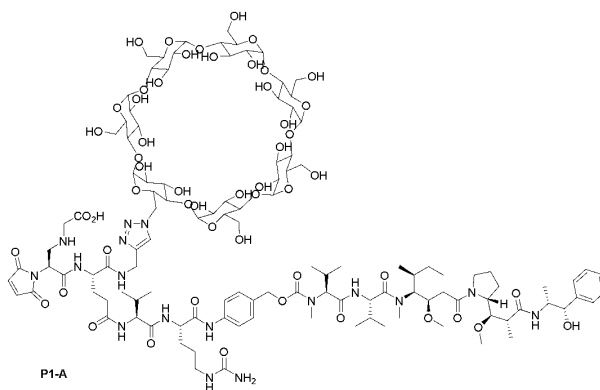
5

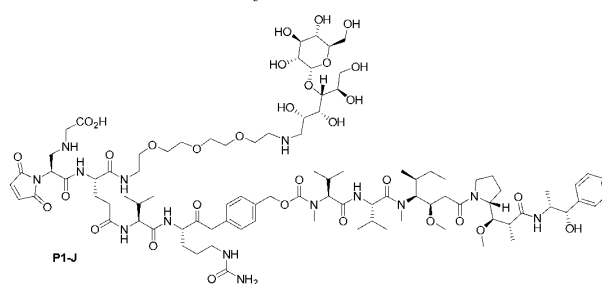
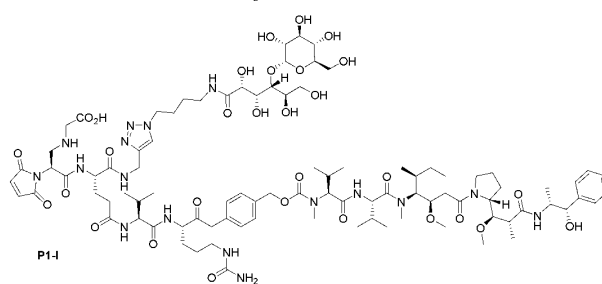
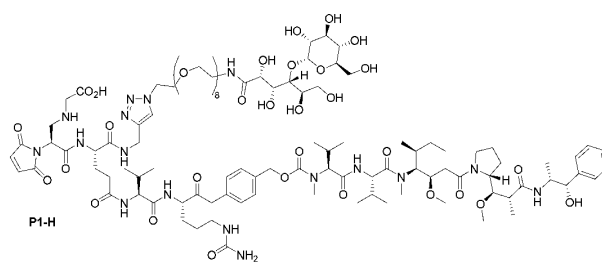
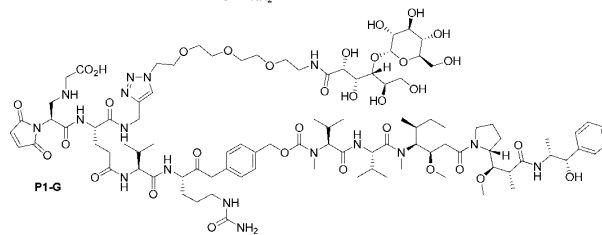
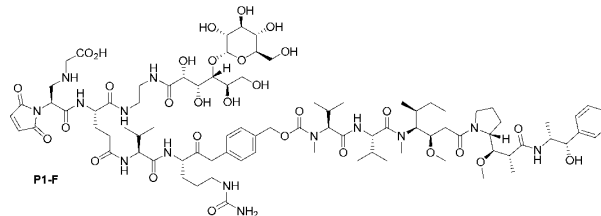
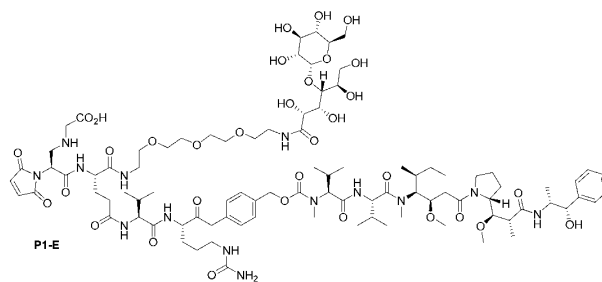


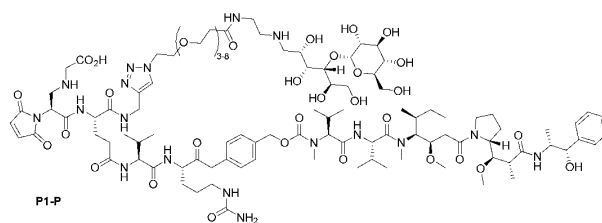
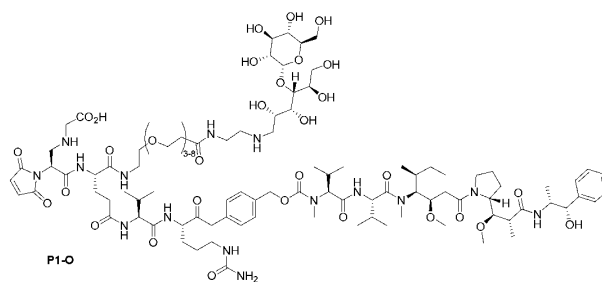
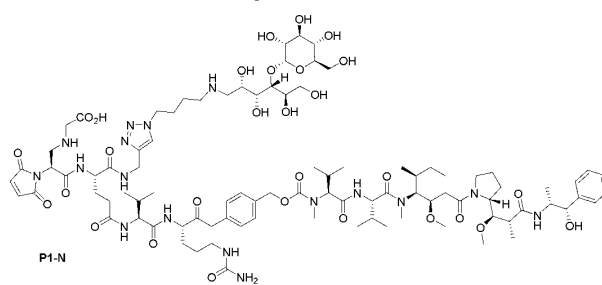
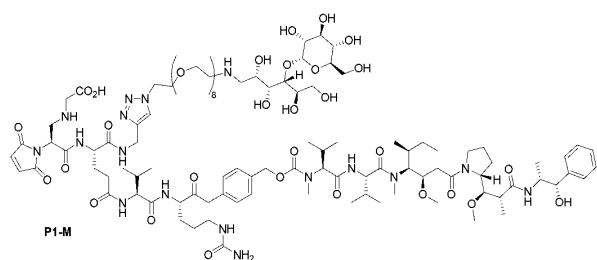
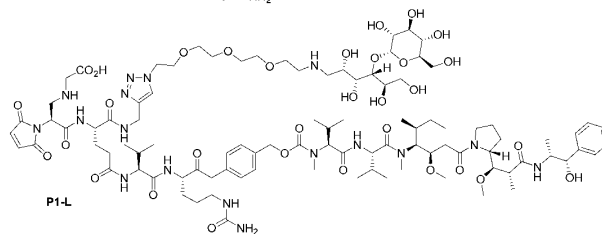
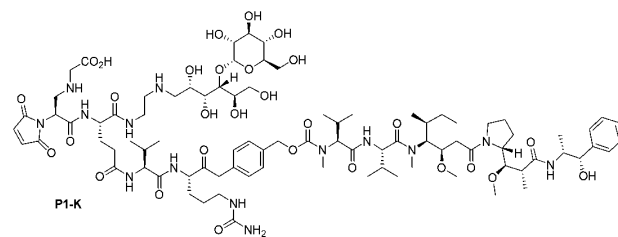
10

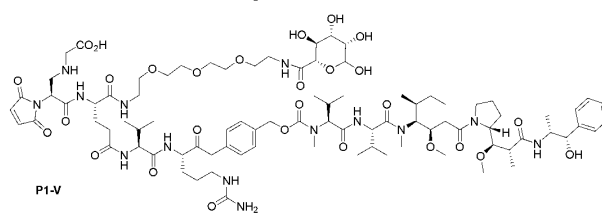
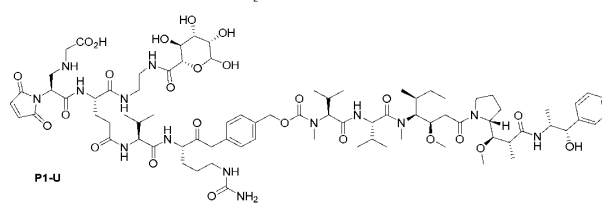
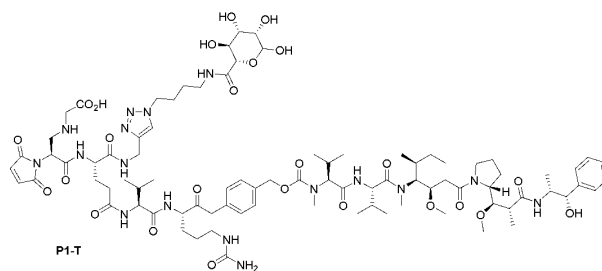
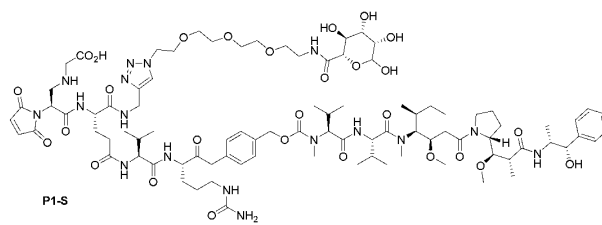
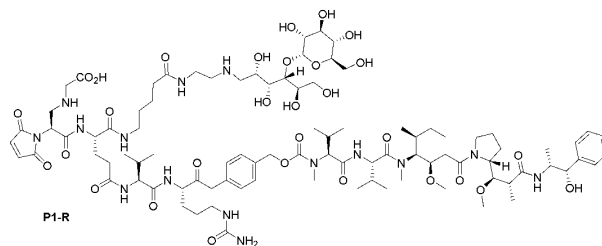
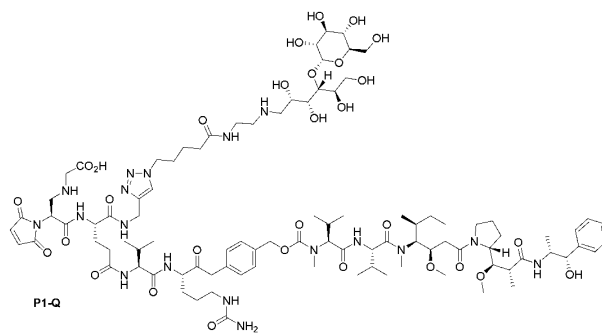


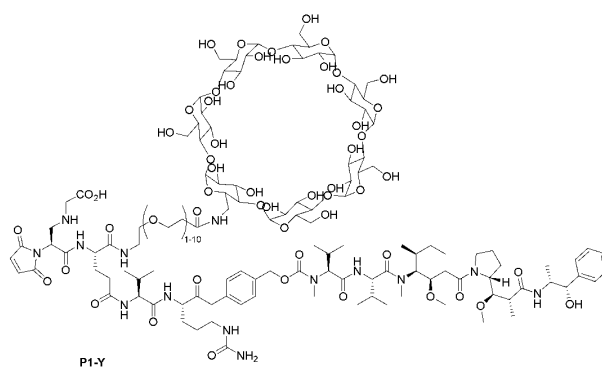
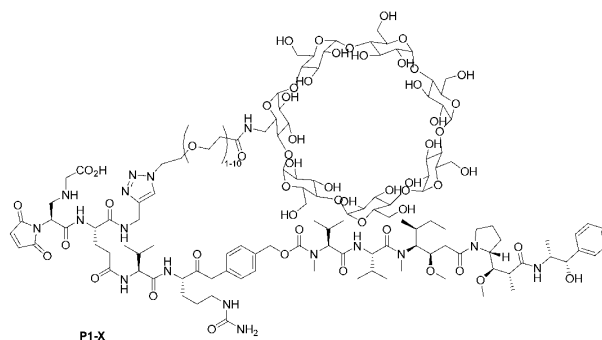
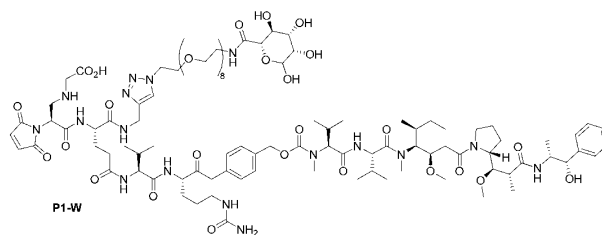
在一些实施方案中，所述的连接子-药物化合物非限制性的选自以下结构，



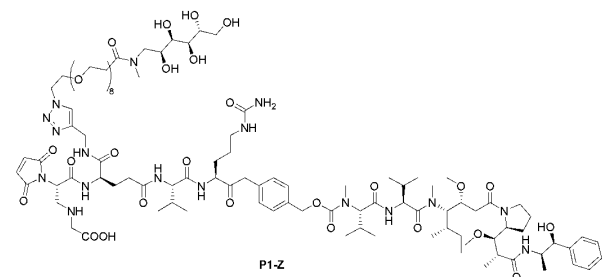




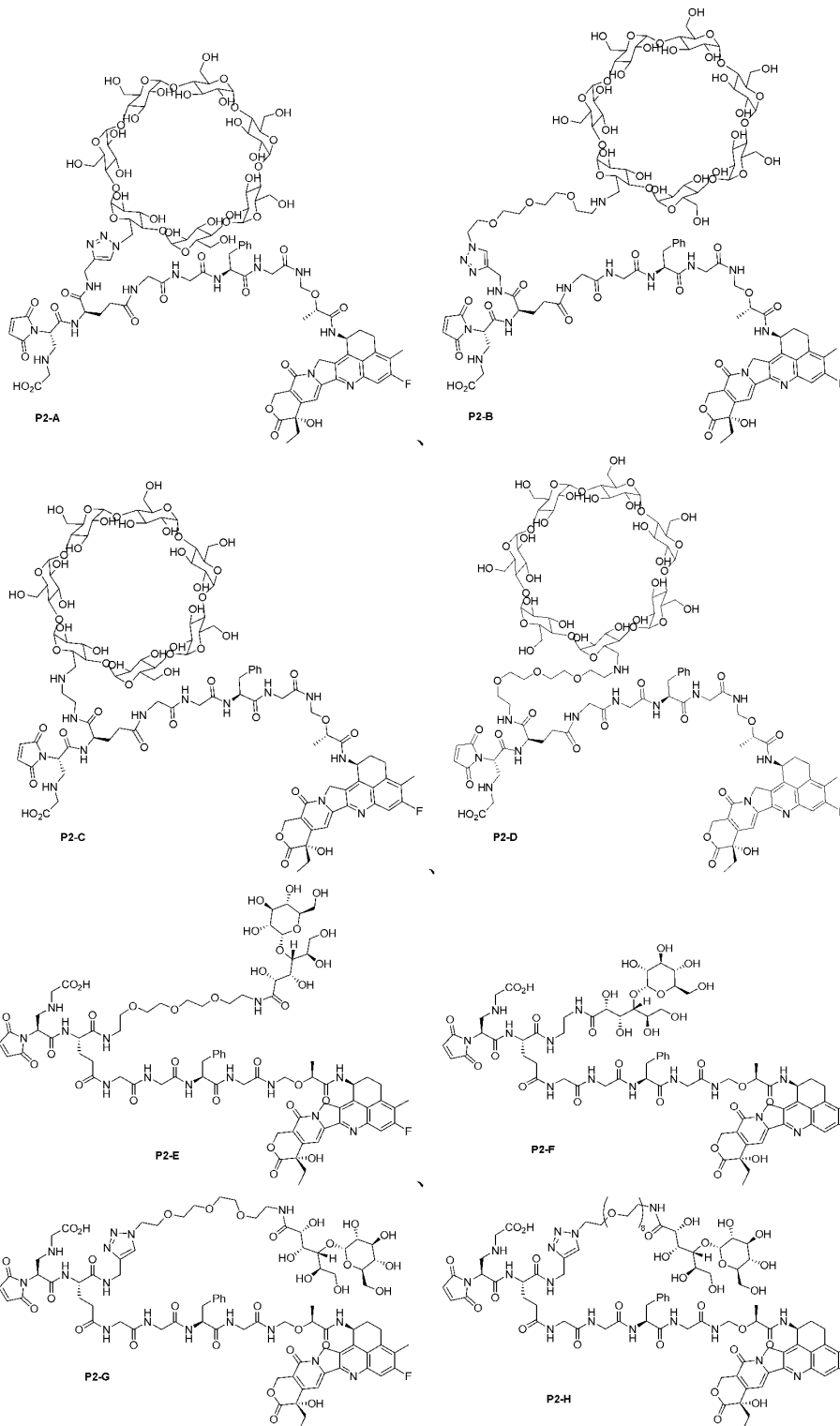


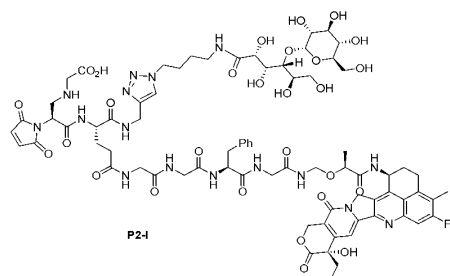


或

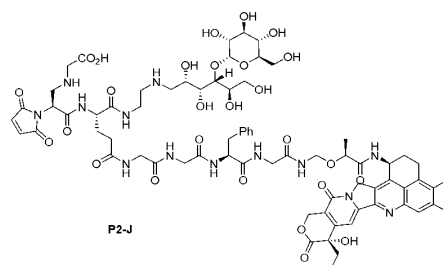


5 在一些实施方案中，所述的连接子-药物化合物非限制性的选自以下结构，

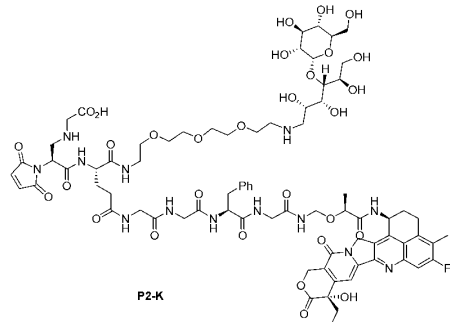




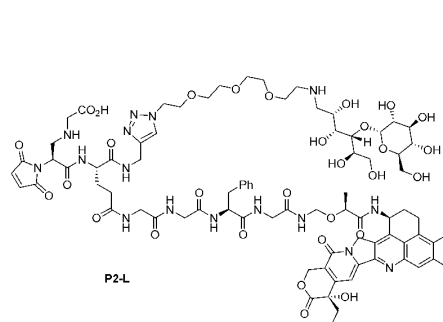
P2-I



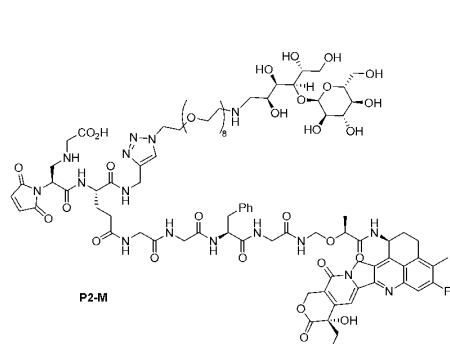
P2-J



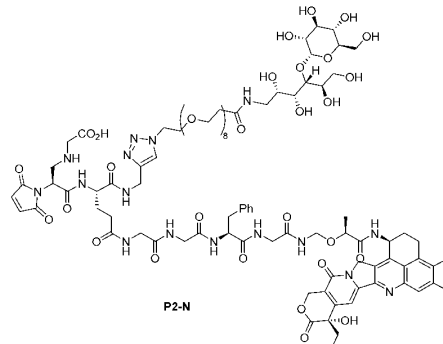
P2-K



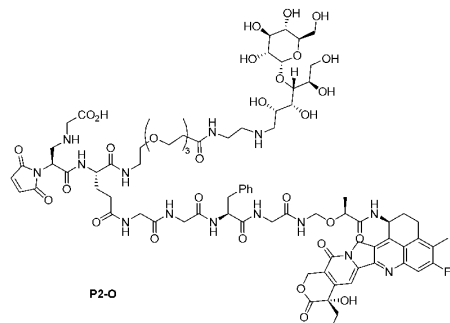
P2-L



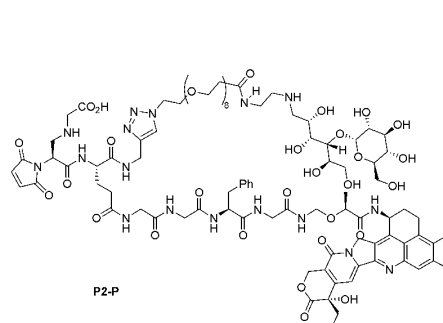
P2-M



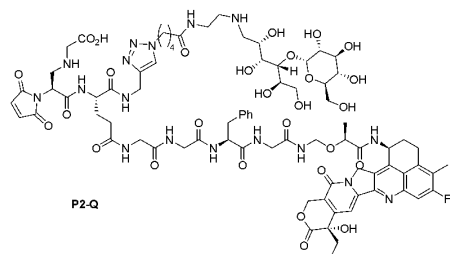
P2-N



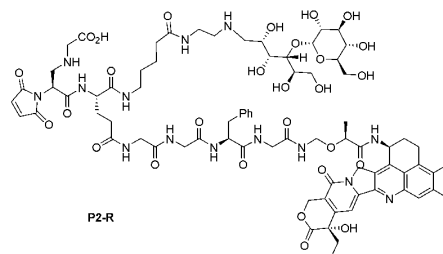
P2-O



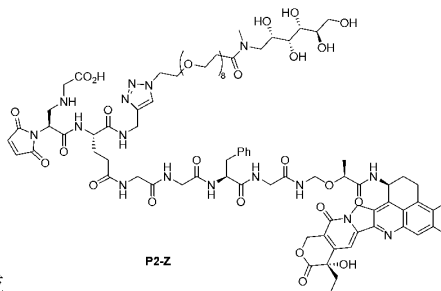
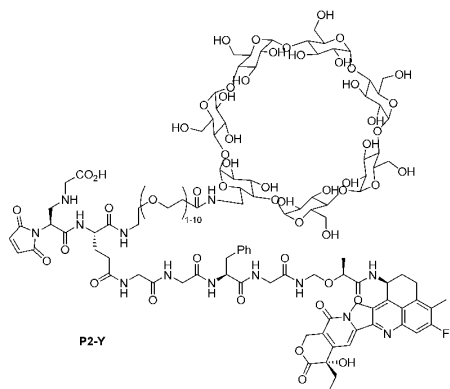
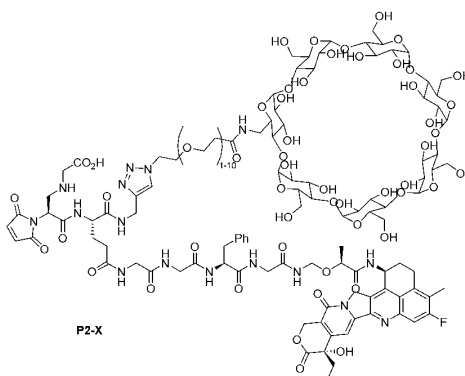
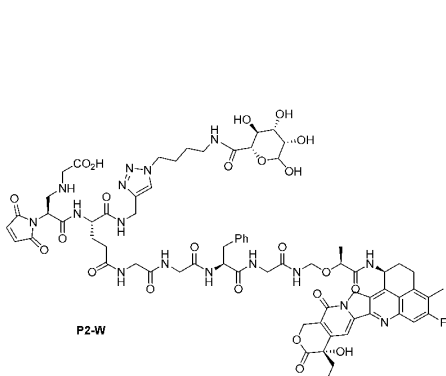
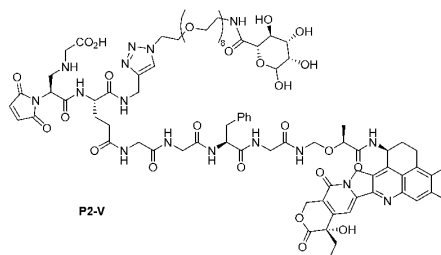
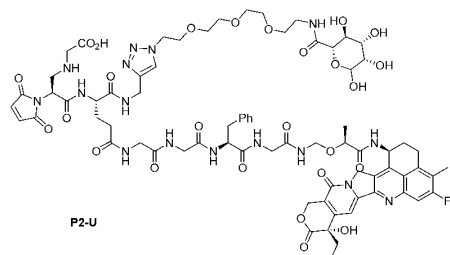
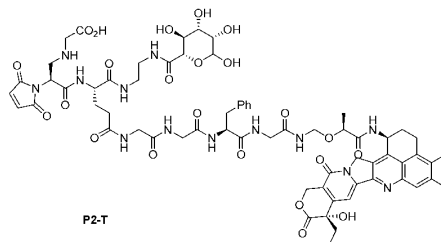
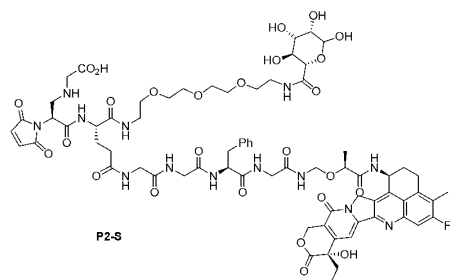
P2-P



P2-Q

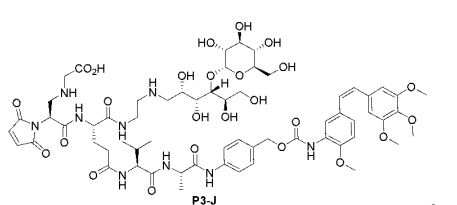
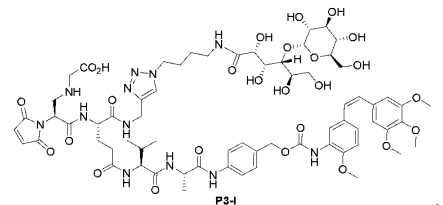
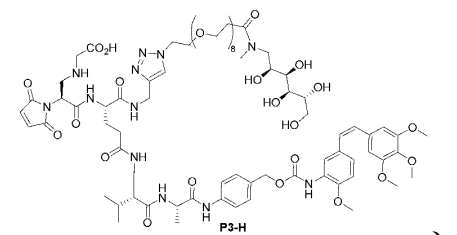
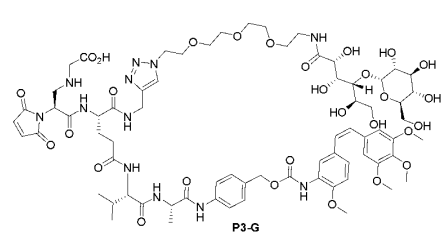
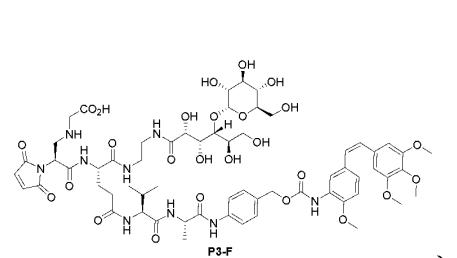
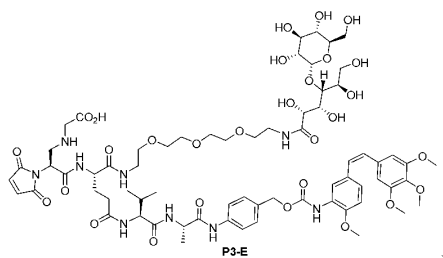
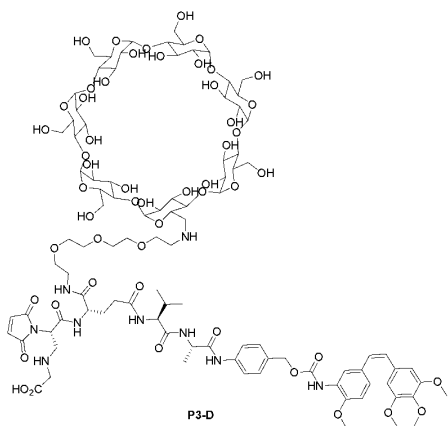
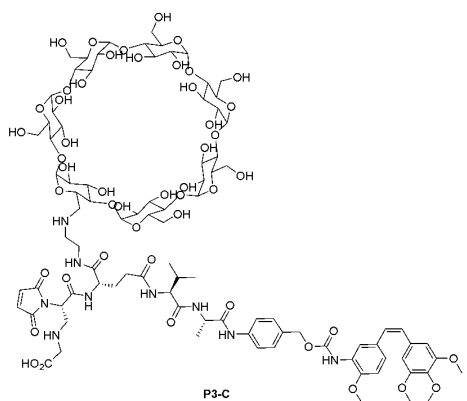
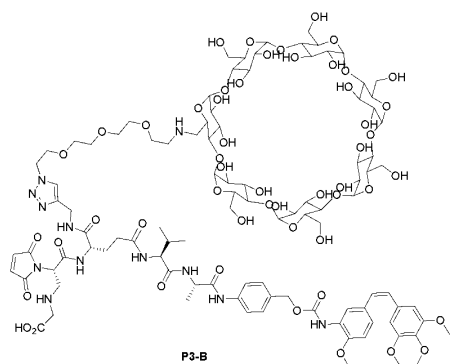
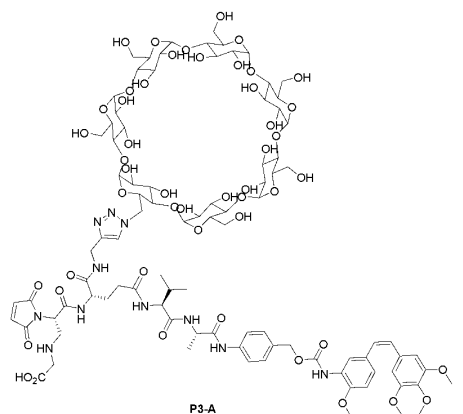


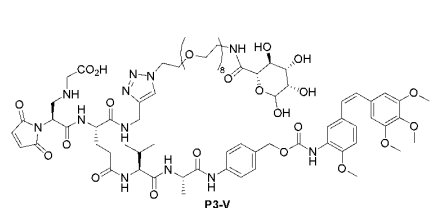
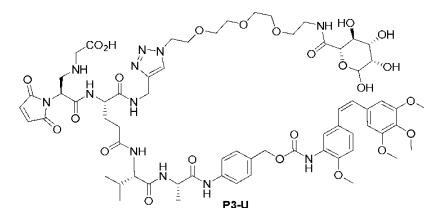
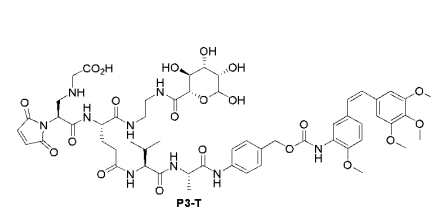
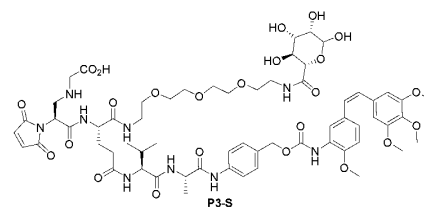
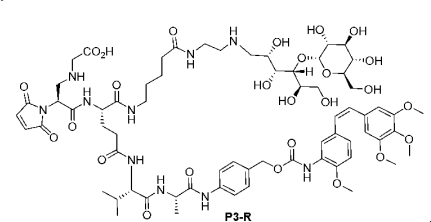
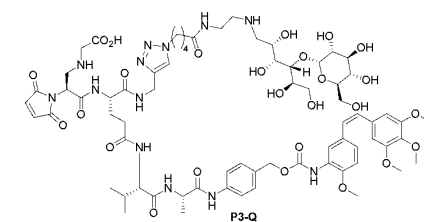
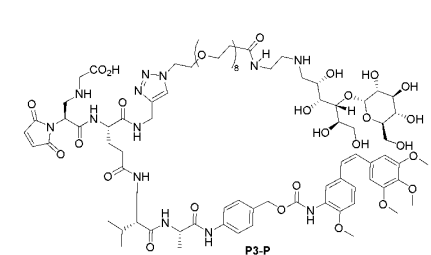
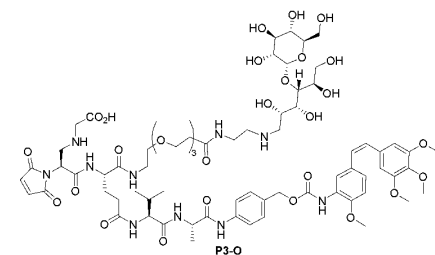
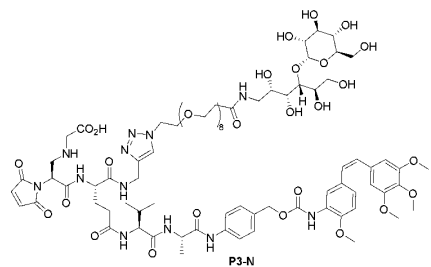
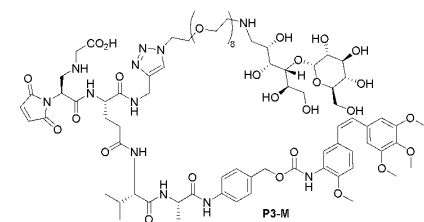
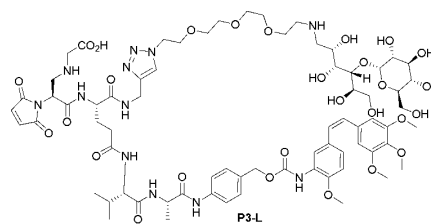
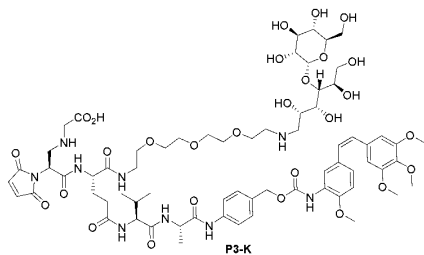
P2-R

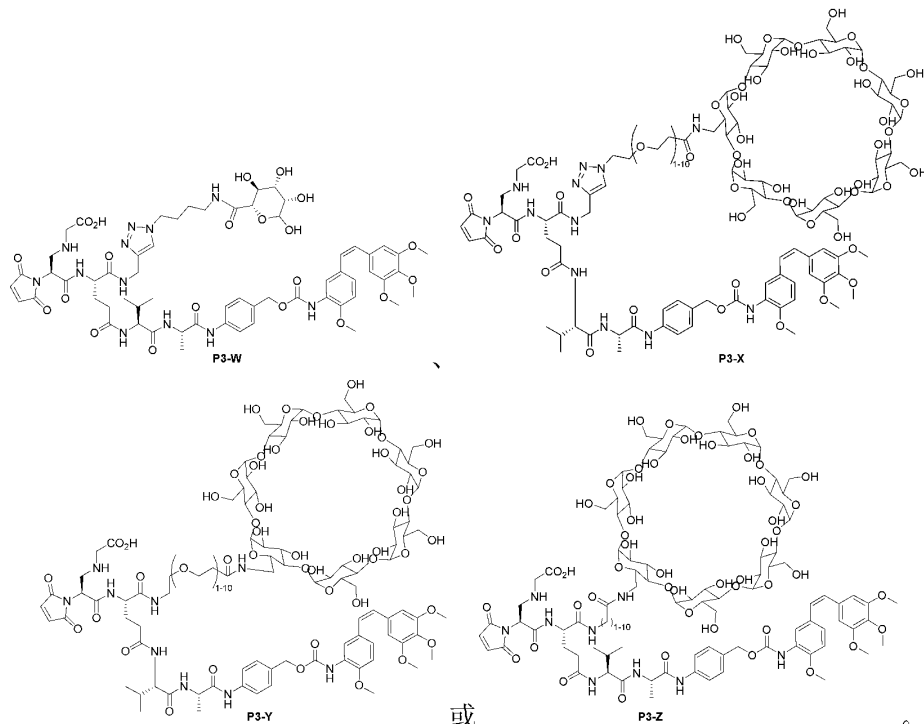


或

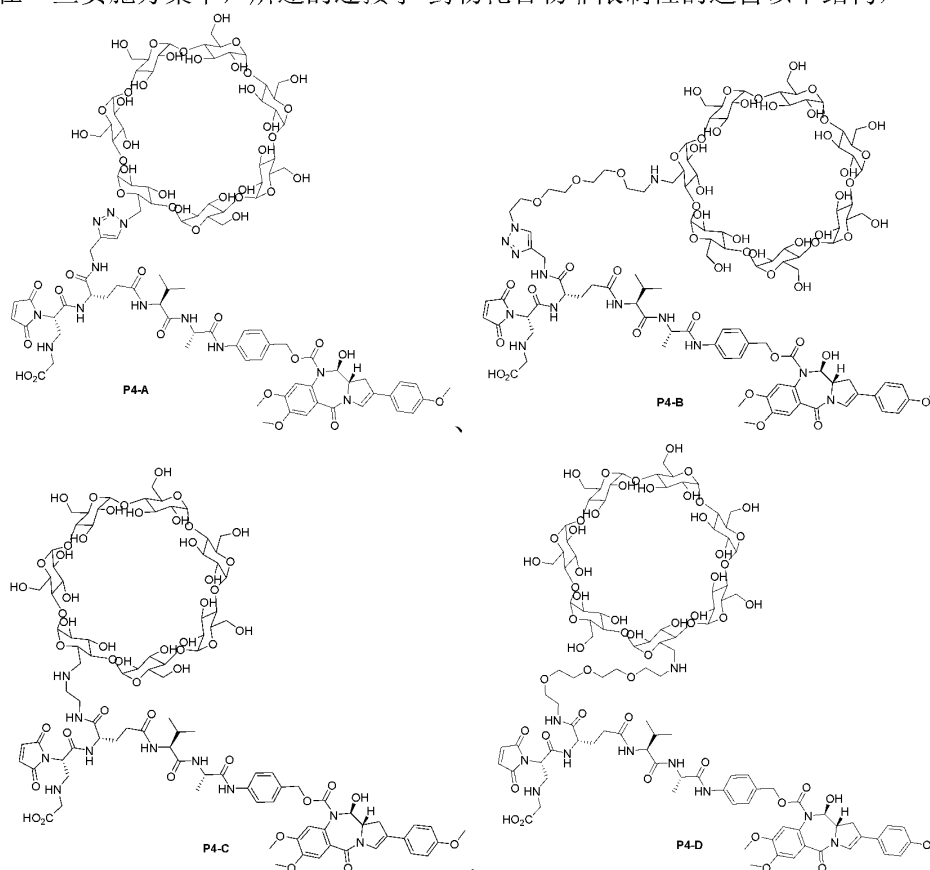
5 在一些实施方案中，所述的连接器-药物化合物非限制性的选自以下结构，

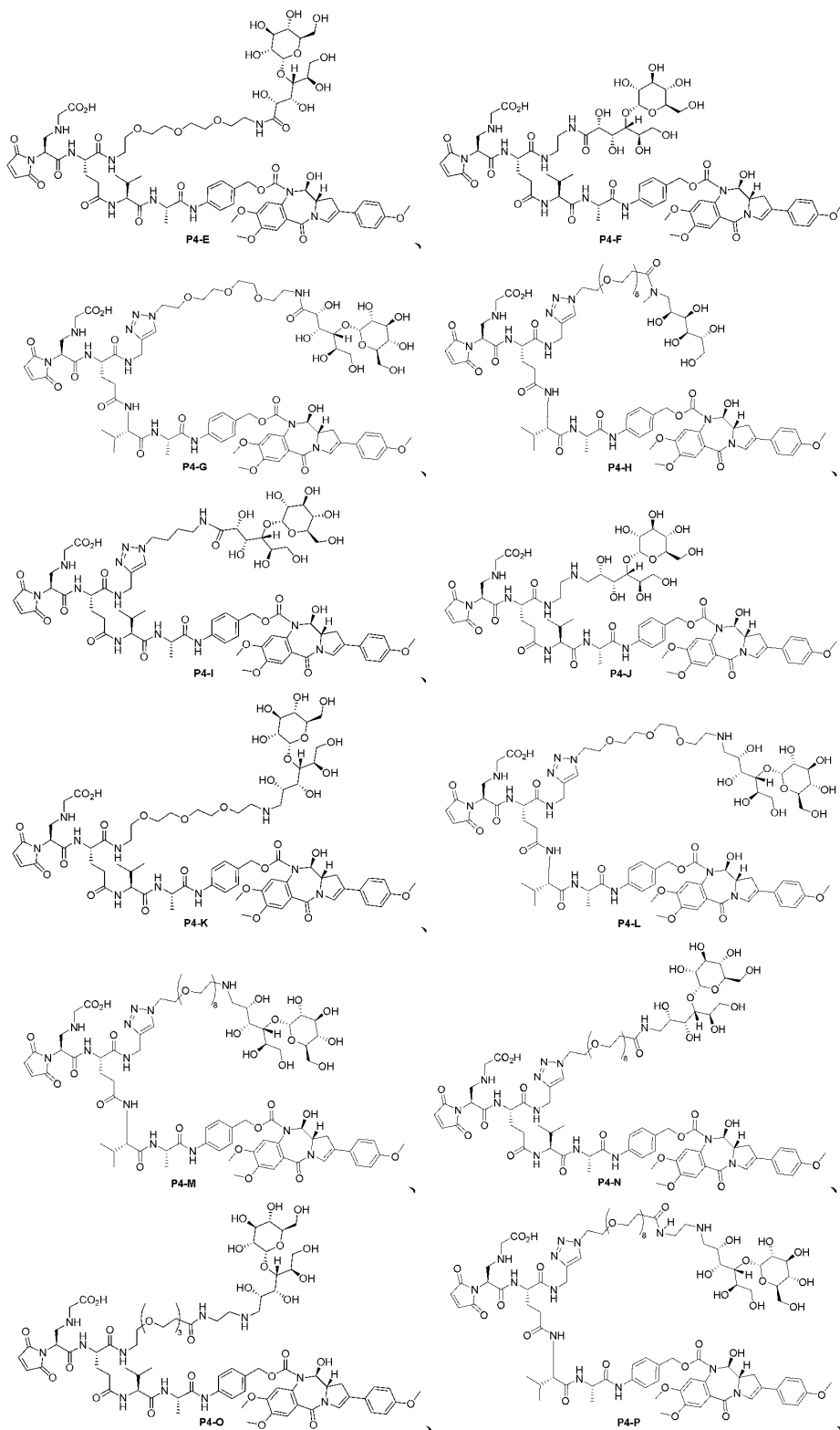


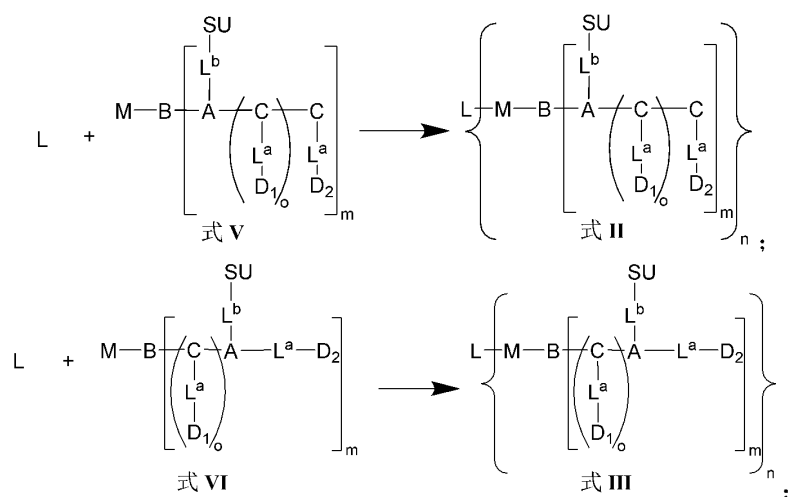




在一些实施方案中，所述的连接子-药物化合物非限制性的选自以下结构，







通过修饰后的配体与式IV、式V或式VI化合物反应，得到如式I、式II或式III所示的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，

5 其中：

L 选自配体；

M 选自任意接头单元；

A 选自任意连接支架；

B 存在或不存在，当存在时，选自任意连接结构或键；

10 C 存在或不存在，当存在时，选自任意分支单元或键；

D、D₁、D₂ 相同或不同，且各自独立地选自药物；

SU 选自糖或其衍生物；

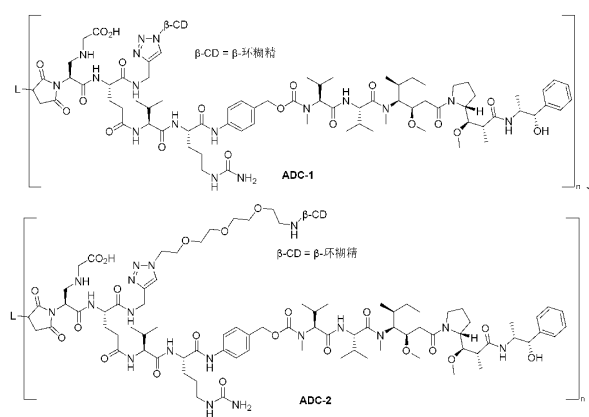
L^a、L^b 相同或不同，且各自独立地选自任意连接单元或键；

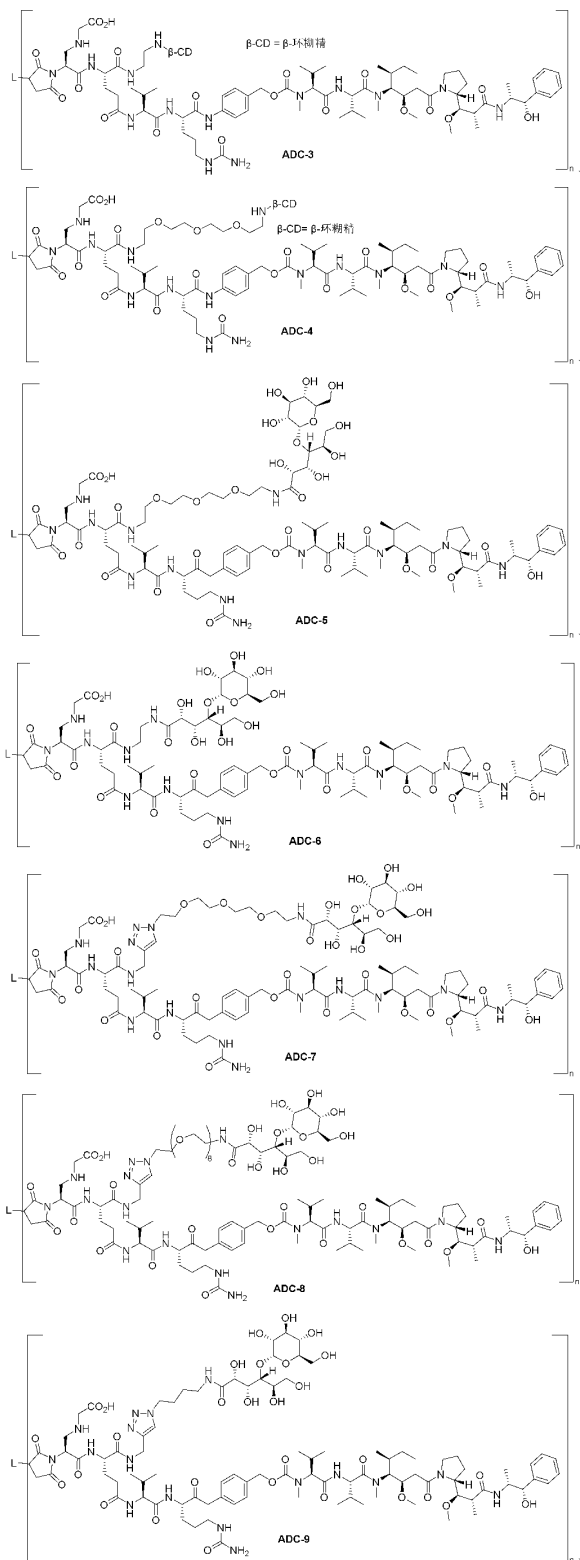
m 选自 1-5 的整数；

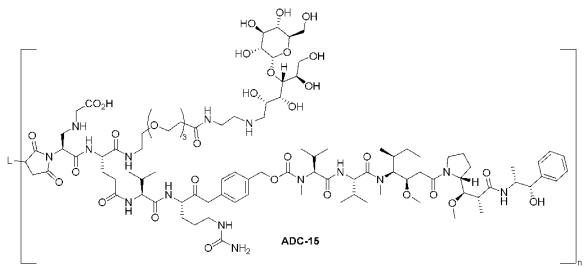
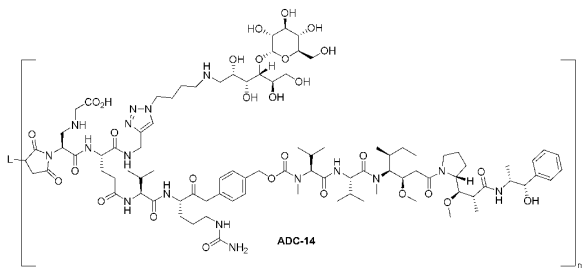
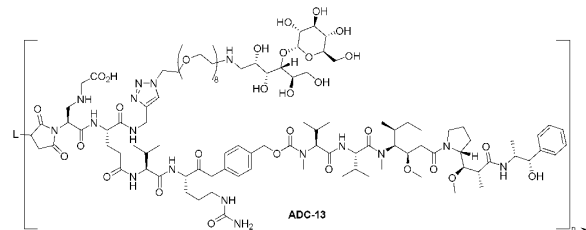
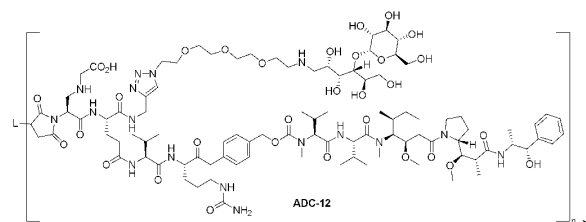
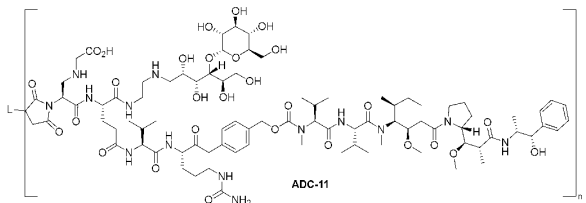
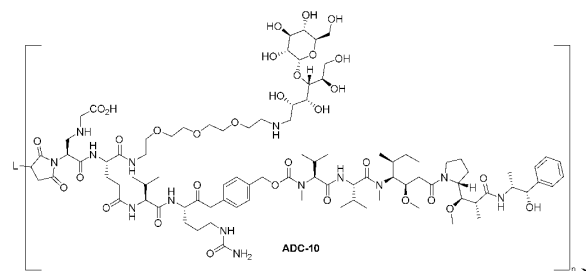
15 n 选自 1-10 的整数；

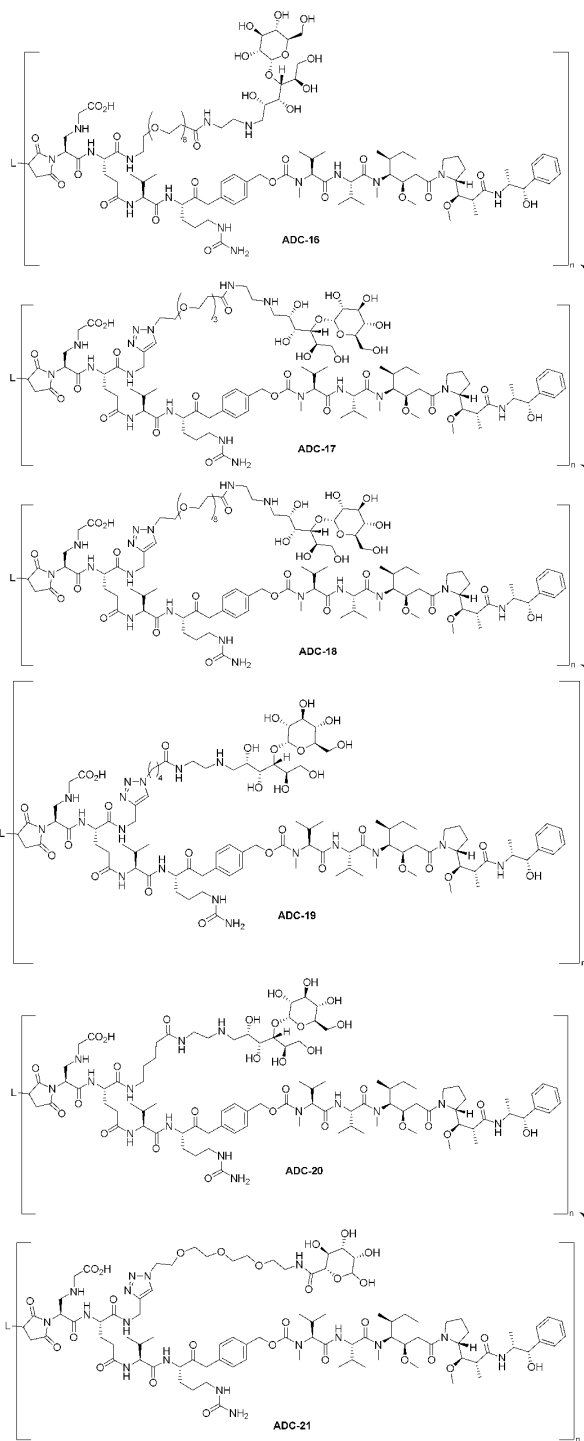
o 选自 1-10 的整数。

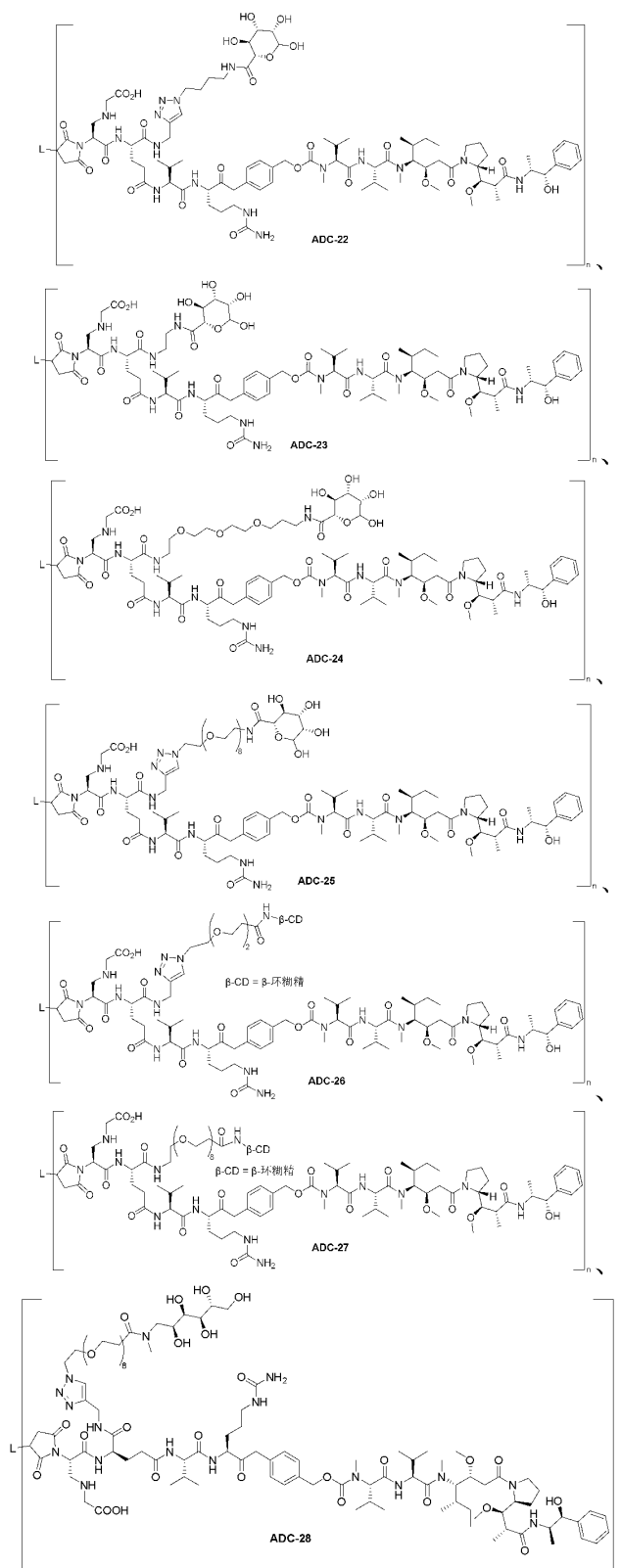
20 本发明的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，或含有本发明的连接子-药物化合物的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，在一些实施方案中，所述配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物非限制性地选自以下结构或其立体异构体，

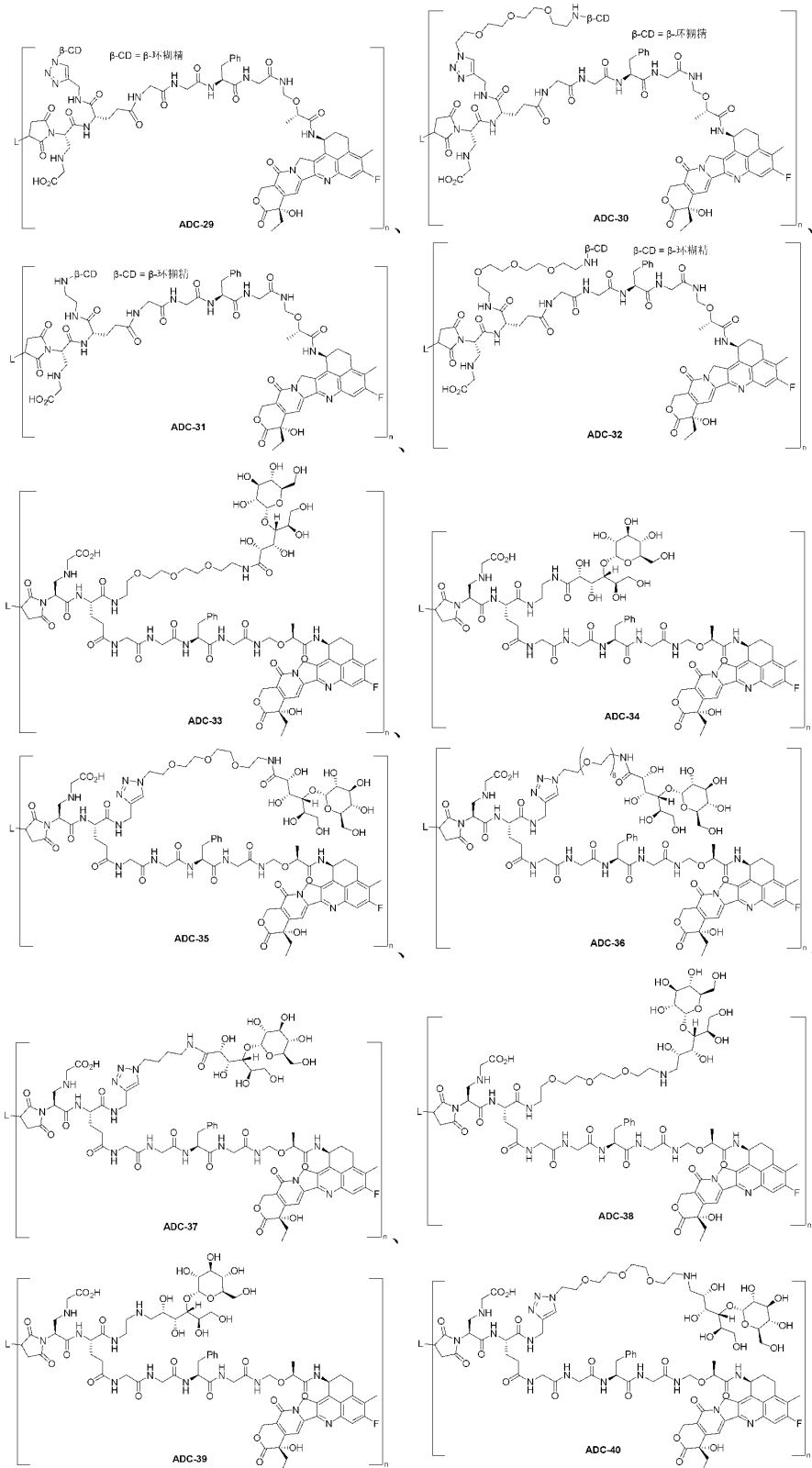


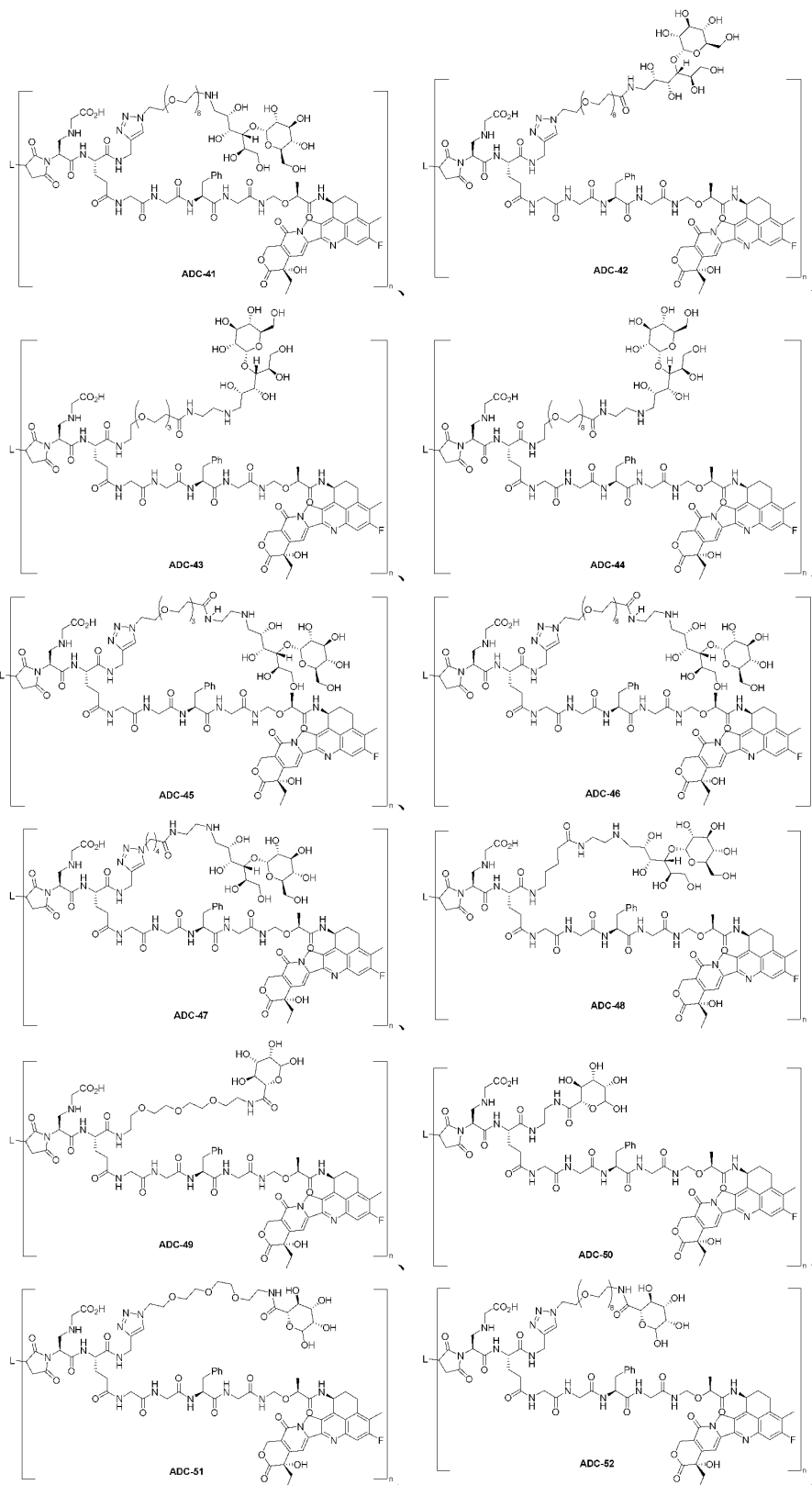


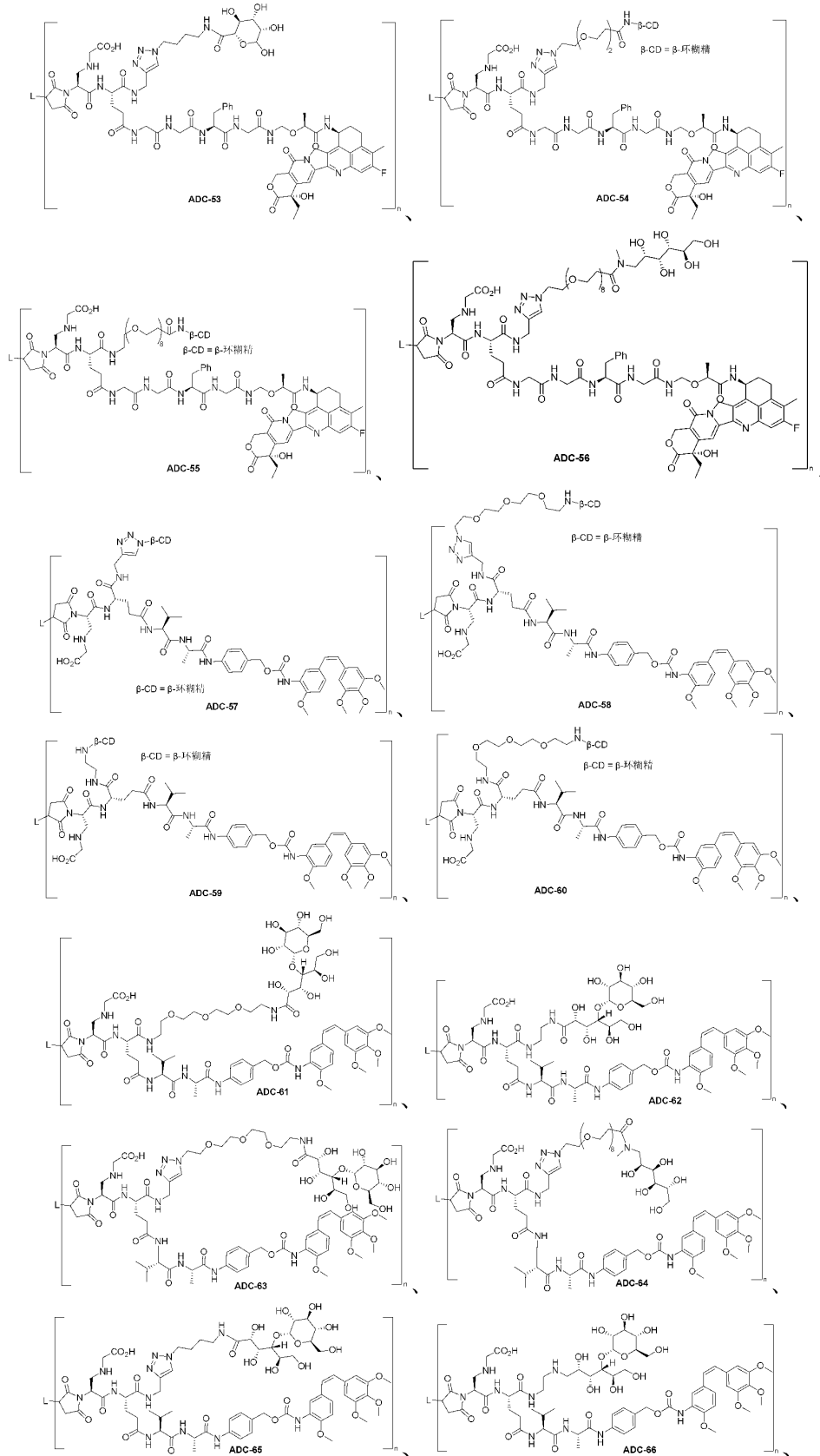


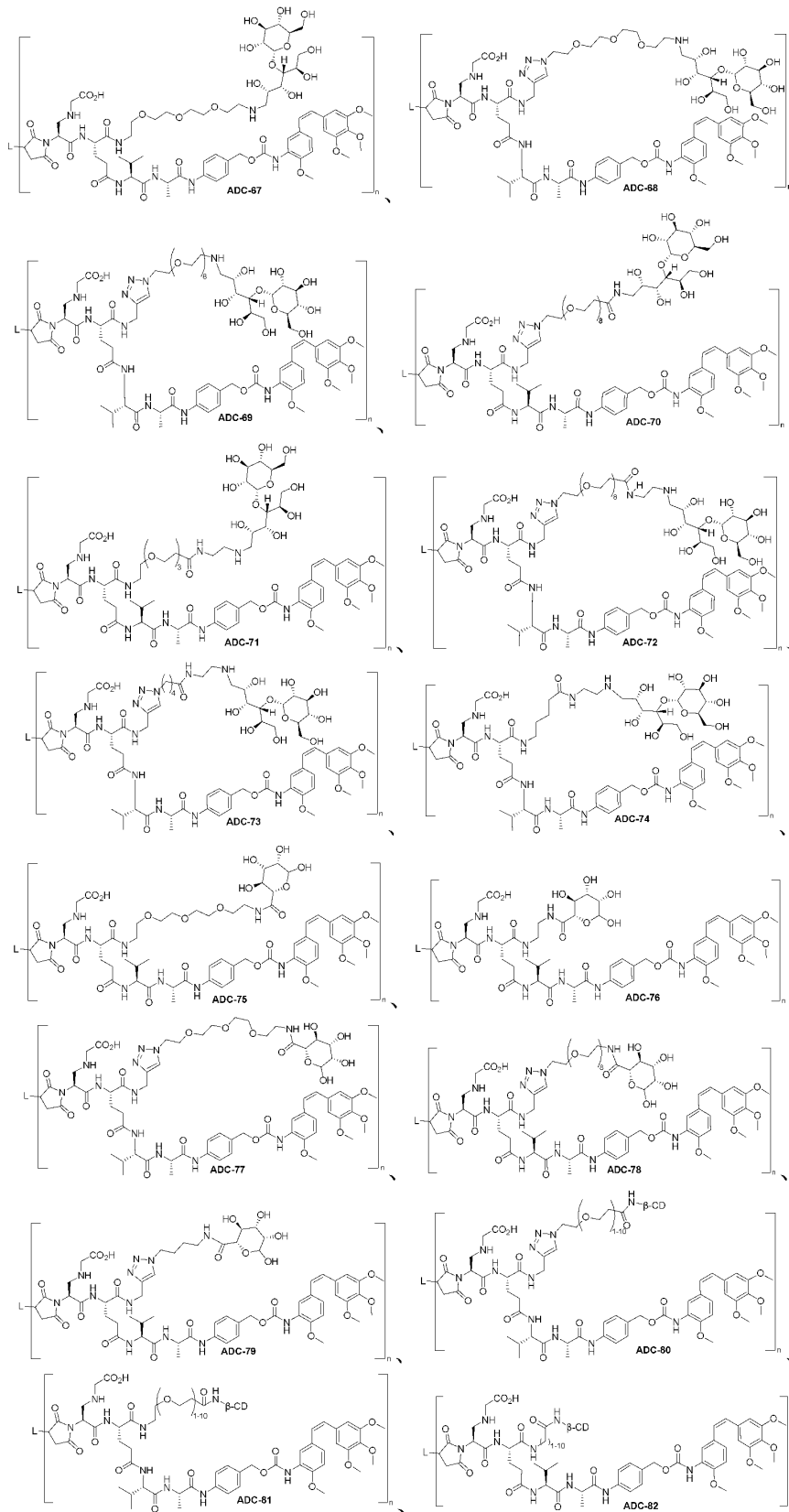


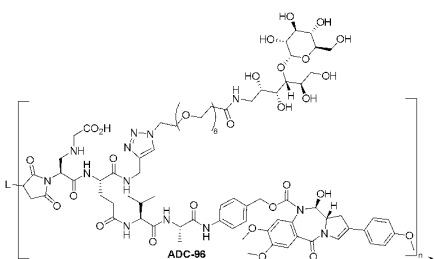
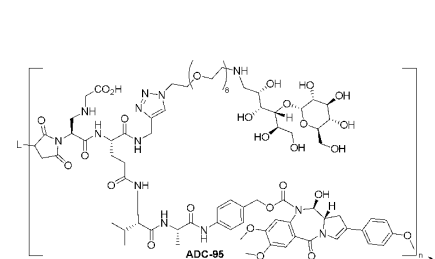
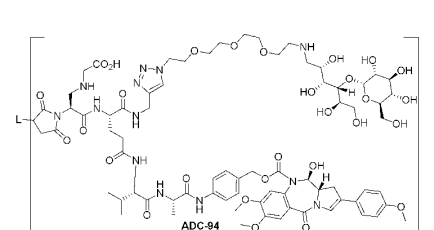
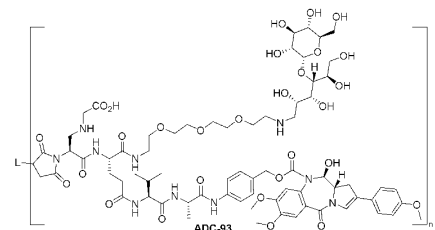
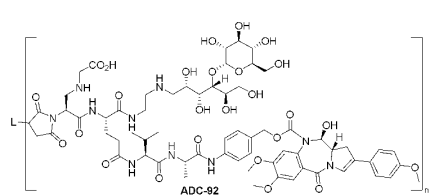
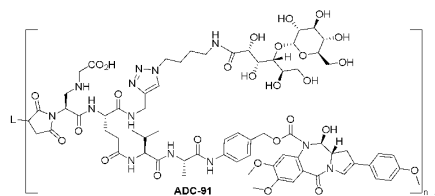
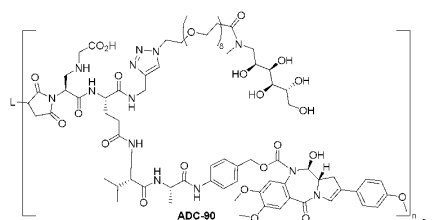
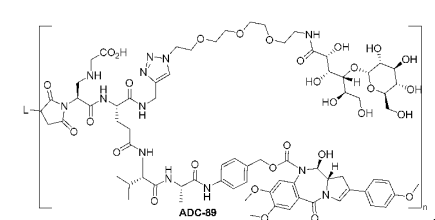
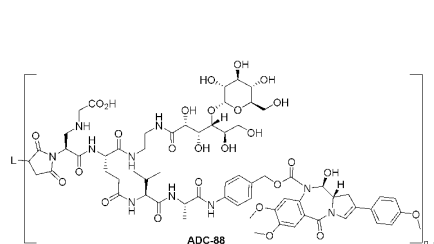
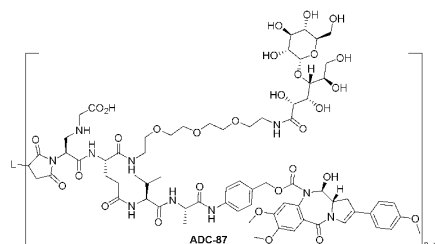
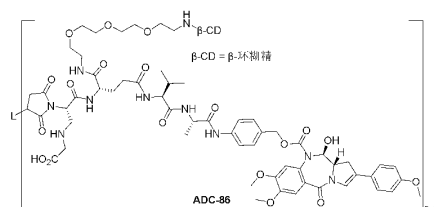
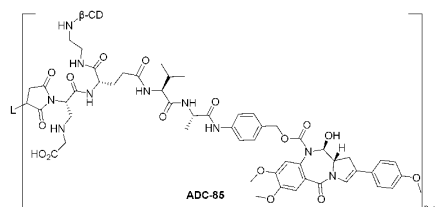
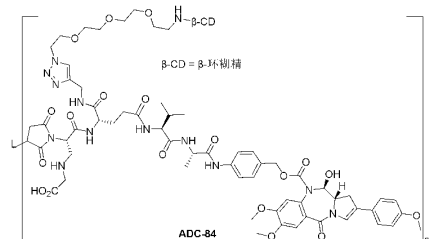
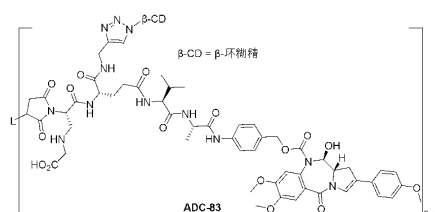


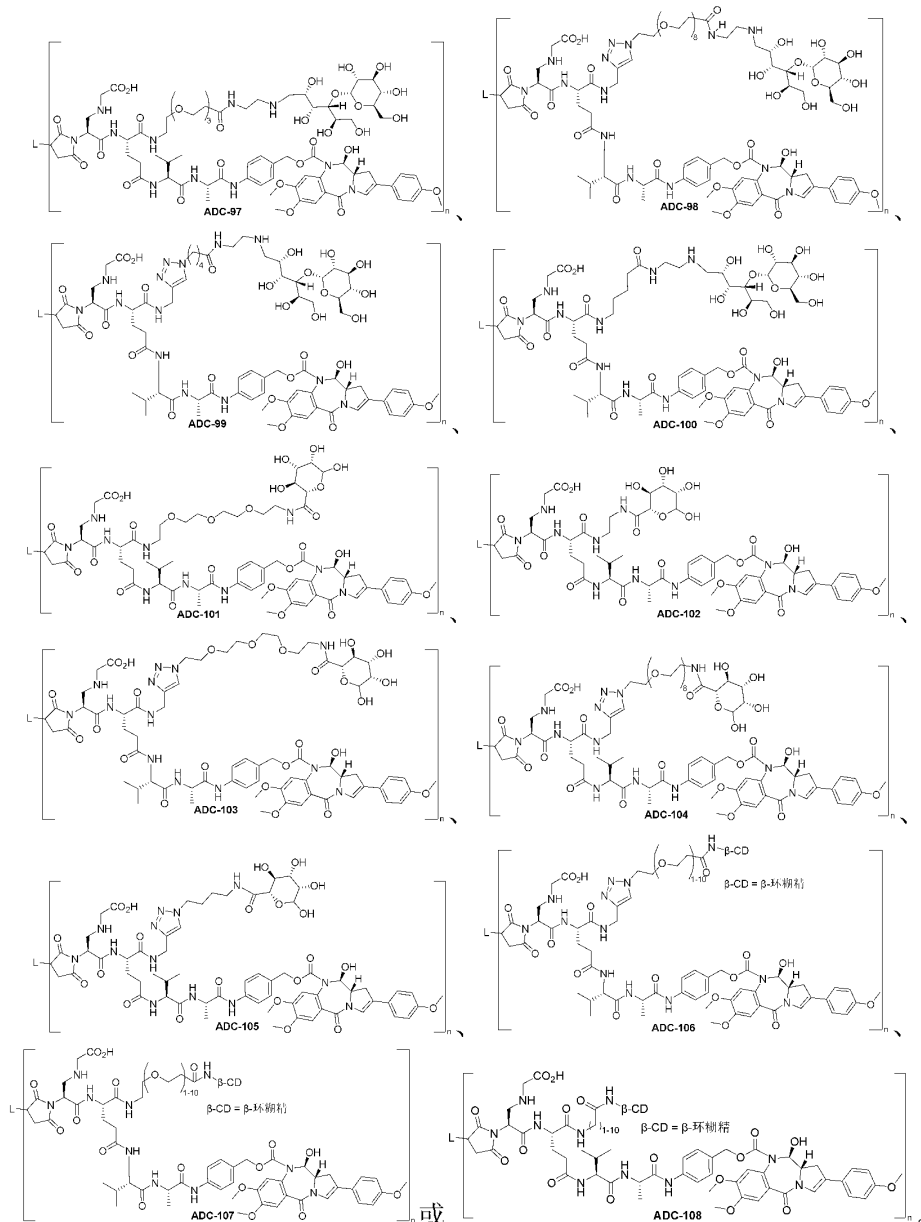












5

其中:

L 选自配体, 优选抗体;

n 选自 1-10 的整数, 优选 2-8。

10 在一些实施方案中, 所述药上可接受的盐选自:

结构式中酸性官能团与碱形成的钠盐、钾盐、钙盐或镁盐;

结构中碱性官能团与酸形成的醋酸盐、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、苯磺酸盐或对甲磺酸盐。

15

在一些实施方案中, 所述配体选自单克隆抗体, 非限制性地选自: 抗 EGFRvIII 抗体、抗 DLL-3 抗体、抗 PSMA 抗体、抗 CD70 抗体、抗 MUC16 抗体、抗 ENPP3 抗体、抗 TDGF1 抗体、抗 ETBR 抗体、抗 MSLN 抗体、抗 TIM-1 抗体、抗 LRRC15 抗体、抗 LIV-1 抗体、抗 CanAg/AFP 抗体、抗 cladin 18.2 抗体、抗 Mesothelin 抗体、抗 HER2(ErbB2)

抗体、抗 EGFR 抗体、抗 c-MET 抗体、抗 SLITRK6 抗体、抗 KIT/CD117 抗体、抗 STEAP1 抗体、抗 SLAMF7/CS1 抗体、抗 NaPi2B/SLC34A2 抗体、抗 GPNMB 抗体、抗 HER3(ErbB3) 抗体、抗 MUC1/CD227 抗体、抗 AXL 抗体、抗 CD166 抗体、抗 B7-H3(CD276)抗体、抗 PTK7/CCK4 抗体、抗 PRLR 抗体、抗 EFNA4 抗体、抗 5T4 抗体、抗 NOTCH3 抗体、抗 Nectin 4 抗体、抗 Trop-2 抗体、抗 CD142 抗体、抗 CA6 抗体、抗 GPR20 抗体、抗 CD174 抗体、抗 CD71 抗体、抗 EphA2 抗体、抗 LYPD3 抗体、抗 FGFR2 抗体、抗 FGFR3 抗体、抗 FR α 抗体、抗 CEACAMs 抗体、抗 GCC 抗体、抗 Integrin Av 抗体、抗 CAIX 抗体、抗 P-cadherin 抗体、抗 GD3 抗体、抗 Cadherin 6 抗体、抗 LAMP1 抗体、抗 FLT3 抗体、抗 BCMA 抗体、抗 CD79b 抗体、抗 CD19 抗体、抗 CD33 抗体、抗 CD56 抗体、抗 CD74 抗体、抗 CD22 抗体、抗 CD30 抗体、抗 CD37 抗体、抗 CD138 抗体、抗 CD352 抗体、抗 CD25 抗体或抗 CD123 抗体；

在一些实施方案中，所述配体为抗 Trop-2 抗体。示例性的抗 Trop-2 抗体的轻链和重链序列分别如 SEQ ID NO: 1 和 SEQ ID NO: 2 所示。

在一些实施方案中，所述配体为抗 CD33 抗体。示例性的抗 CD33 抗体的轻链和重链序列分别如 SEQ ID NO: 3 和 SEQ ID NO: 4 所示。

本申请还提供了一种药物组合物，其含有治疗有效量的本发明的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或连接子-药物化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，以及药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

本申请还提供了本发明的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或连接子-药物化合物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肿瘤或自身免疫疾病药物中的用途。

在一些实施方案中，所述肿瘤选自实体瘤或非实体瘤，例如乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫癌、前列腺癌、肾癌、尿道癌、膀胱癌、肝癌、胃癌、子宫内膜癌、唾液腺癌、食道癌、肺癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、骨癌、皮肤癌（例如皮肤表皮细胞癌（又被称为皮肤鳞状细胞癌））、甲状腺癌、胰腺癌、黑色素瘤、神经胶质瘤、神经母细胞瘤、多形性胶质细胞瘤、肉瘤、淋巴瘤和白血病（例如急性白血病、慢性白血病，例如急性淋巴细胞白血病(ALL)、急性髓系白血病(AML)、慢性髓系白血病(CML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、毛细胞白血病、幼淋巴细胞白血病）。

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。

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。

术语“接头单元”是指一端与配体连接而另一端与药物直接连接或连接至其它连接单元后再与药物连接的化学结构片段或键，在本申请的通式 I~VI 中，接头单元表示为 M。

术语“连接支架”是指能与接头单元、配体、药物或亲水单元等连接的具有分支结构的化学结构片段或者键，连接支架表示为 A。本发明中的连接方式优选为共价连接。

术语“连接单元”是指能连接分支单元、连接结构、药物或亲水单元等抗体-药物偶联物或连接子-药物化合物中不同组分的化学结构片段或键，按照在细胞内药物释放的机制，可被分为两类：不可断裂连接子和可断裂连接子，连接单元表示为 L、L^a、L^b。

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

可断裂连接子，顾名思义，可以在目标细胞内断裂并释放出活性药物（小分子药物本身）。可断裂连接子可分为两个主要的类别：化学不稳定连接子和酶不稳定连接子。

化学不稳定连接子可以由于血浆和细胞质性质的不同而选择性地断裂。这样的性质包括 pH 值，谷胱甘肽浓度等。

对 pH 值敏感的连接子，通常又称为酸断裂连接子。这样的连接子在血液的中性环境下相对稳定（pH 7.3-7.5），但是在弱酸性的内涵体（pH 5.0-6.5）和溶酶体（pH 4.5-5.0）内将会被水解。第一代的抗体药物偶联物大多应用这类连接子，例如脲、碳酸酯、缩醛、缩酮类。由于酸断裂连接子有限的血浆稳定性，基于此类连接子的抗体药物偶联物通常具有较短的半衰期（2-3 天）。这种较短的半衰期在一定程度上限制了 pH 敏感连接子在新一代抗体药物偶联物中的应用。

对于谷胱甘肽敏感的连接子，又称二硫键连接子。药物释放是基于细胞内谷胱甘肽的高浓度（毫摩尔范围）与血液中相对较低的谷胱甘肽浓度（微摩尔范围）差异引起的。对于肿瘤细胞而言尤其如此，其低含氧量导致还原酶的活性增强，因而导致更高的谷胱甘肽浓度。二硫键具有热力学稳定性，因此在血浆中具有较好的稳定性。

酶不稳定连接子，如肽连接子，能够更好地控制药物释放。肽连接子能够被溶酶体内蛋白酶，如组织蛋白酶（Cathepsin B）或纤溶酶（在一些肿瘤组织中此类酶含量增加），有效地切断。这种肽连接被认为在血浆循环中非常稳定，这是因为细胞外不合宜的 pH 值及血清蛋白酶抑制剂导致蛋白酶通常不具备活性。鉴于较高的血浆稳定性和良好的细胞内断

裂选择性和有效性，酶不稳定连接子被广泛用做抗体药物偶联物的可断裂连接子。典型的酶不稳定性连接子包括 Val-Cit (VC)，Phe-Lys 等。

在可断裂连接子与活性药物之间，还可以嵌合有自杀式连接子，或者自杀式连接子本身就是可断裂连接子的一部分。自杀式连接子的作用机制是：当可断裂连接子在合宜的条件下断裂后，自杀式连接子能够自发地进行结构重排，进而释放与之连接的活性药物。常见的自杀式连接子包括对氨基苄醇类 (PAB) 和 β -葡萄糖醛酸苷类 (β -Glucuronide) 等。

术语“分支单元”或“连接结构”是指连接配体-药物偶联物中不同组分的具有分支结构的化学结构片段或者键，本发明中的连接方式优选为共价连接。

术语“糖”是多羟基的醛类或酮类化合物，并且在水解后能变成以上两者之一，可分为单糖、二糖和多糖等。

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。

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'、-CO₂R'、-CONR'R''、-OC(O)NR'R''、-NR''C(O)R'、-NR'-C(O)NR''R'''、-NR''C(O)₂R'、-NH-C(NH₂)=NH、-NR'C(NH₂)=NH、-NH-C(NH₂)=NR'、-S(O)R'、-S(O)₂R'、-S(O)₂NR'R''、-NR'S(O)₂R''、-CN 和 -NO₂，取代基数量为 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、C₁₋₈ 烷基、芳基、由 1-3 个卤素取代的芳基、由 1-3 个卤素取代的 C₁₋₈ 烷基、C₁₋₈ 烷氧基或 C₁₋₈ 硫代烷氧基、或未取代的芳基-C₁₄ 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“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。

术语“环烷基烷基”指烷基被一个或多个环烷基取代，优选被一个环烷基取代，其中烷基如上所定义，其中环烷基如上所定义。其中，环烷基的环优选包含 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，烷基优选含有 1 至 6 个碳原子的低级烷基，更优选含有 1 至 4 个碳原子。

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

术语“杂环基”指饱和或部分不饱和的单环或多环环状烃基，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 个环原子。单环杂环基的非限制性实例包括吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、硫代吗啉基、高哌嗪基等。多环杂环基包括螺环、稠环和桥环的杂环基。

术语“芳基”指具有共轭的 π 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，取代基优选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、氖原子、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、吡唑并噁唑、苯并呋喃基、苯并异呋喃基、苯并噻吩基、吲哚基、异吲哚基、苯并噁唑基、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、蔡啶基等。

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-NH₂。

5 术语“硝基”指-NO₂。

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。

10 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、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。

15 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。

20 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。

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。

25 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、霜剂中的基质成份；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。

30 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。

本发明的一个实施方式中，连接子-药物化合物通过打开的链间二硫键产生的巯基或者与基因工程定点引入的半胱氨酸巯基连接至配体，一般地，偶联反应中能与配体相连的药物分子数将小于或等于理论上的最大值。

可以通过以下非限制性地方法控制配体-药物偶联物的载药量，包括：

35 1) 控制连接试剂和配体的摩尔比，

2) 控制反应时间和温度，

3) 选择不同的反应试剂。

40 下面结合附图和具体实施例，进一步阐述本发明，应理解，这些实施例只用于说明本发明，而不适用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的试验方法，通常按照常规条件或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明，否则所有的百分数、比例、比率、或份数按重量计。

附图说明

图 1A 为 ADC-29 的 SEC-HPLC 谱图，显示了 ADC-29 的聚集情况。

图 1B 为 ADC-56 的 SEC-HPLC 谱图，显示了 ADC-56 的聚集情况。

45 图 1C 为 ADC-111 的 SEC-HPLC 谱图，显示了 ADC-111 的聚集情况。

图 2A 为 ADC-29 的 RP-HPLC 谱图，显示了 ADC-29 的药物-抗体偶联比（DAR）。

图 2B 为 ADC-56 的 RP-HPLC 谱图, 显示了 ADC-56 的药物-抗体偶联比 (DAR)。

图 2C 为 ADC-111 的 RP-HPLC 谱图, 显示了 ADC-111 的药物-抗体偶联比 (DAR)。

图 3A 显示了 ADC-1、ADC-28、ADC-29、ADC-42、ADC-56、ADC-109、ADC-111 在 A431 细胞系中的体外药效。

5 图 3B 显示了 ADC-1、ADC-28、ADC-29、ADC-42、ADC-56、ADC-109、ADC-111 在 HL-60 细胞系中的体外药效。

图 3C 显示了 ADC-1、ADC-28、ADC-29、ADC-42、ADC-56、ADC-109、ADC-111 在 TF-1 细胞系中的体外药效。

10 图 3D 显示了 ADC-1、ADC-28、ADC-29、ADC-42、ADC-56、ADC-109、ADC-111 在 HEL92.1.7 细胞系中的体外药效。

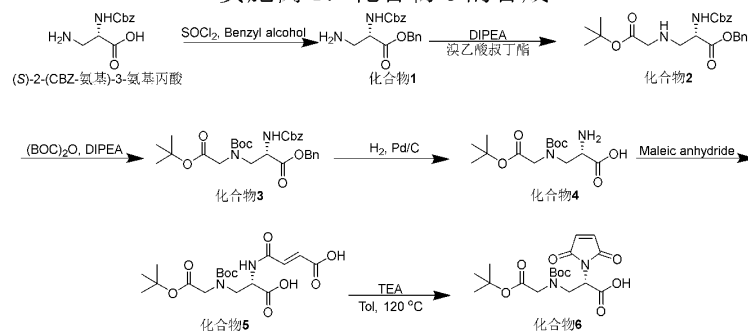
图 3E 显示了 ADC-1、ADC-28、ADC-29、ADC-42、ADC-56、ADC-109、ADC-111 在 MV4-11 细胞系中的体外药效。

图 3F 显示了 ADC-1、ADC-28、ADC-29、ADC-42、ADC-56、ADC-109、ADC-111 在 MOLM-13 细胞系中的体外药效。

15

具体实施方式

实施例 1: 化合物 6 的合成



20 将 400 mL 苯甲醇加入 1 L 单口瓶中, 水浴冷却下缓慢滴加 SOCl_2 (13.38 mL, 184.8 mmol), 完成滴加后维持水浴温度反应 1 h, 分三批次加入化合物 (S)-2-(CBZ-氨基)-3-氨基丙酸 (40 g, 168 mmol), 加完室温反应过夜。反应结束后, 油泵减压蒸馏除去未反应的苯甲醇, 所得褐色残余物用硅胶柱层析色谱纯化分离 (DCM: MeOH=150:1) 得到 44 g 化合物 1。LC-MS $m/z(\text{M}+\text{H})^+$: 329.1。

25 将化合物 1 (40 g, 121.6 mmol) 溶解于 600 mL 乙腈中, 冰水浴冷却下加入 DIPEA (18.88 mL, 146.32 mmol), 维持低温下滴加溴乙酸叔丁酯 (23.9 g, 120 mmol), 滴毕, 维持低温下搅拌 30 min 后移至室温下反应, TLC (DCM: MeOH=10:1) 监测反应完全, 水浴加压浓缩, 所得残余物用硅胶柱层析色谱纯化分离 (二氯甲烷: 甲醇=100:1) 得到 45.5 g 化合物 2。LC-MS $m/z(\text{M}+\text{H})^+$: 443.3。

30 将化合物 2 (45 g, 25.2 mmol)、100 mL 1,4-二氧六环、100 mL 水加入 500 mL 单口反应瓶中, 再加入 DIPEA (25.2 mL, 152.5 mmol), 室温下滴入 Boc 酸酐 (110.6 g, 508.7 mmol), 反应液呈黄色, 滴完室温反应约 3-4 h, TLC (DCM: MeOH=30:1) 监测反应完全。水浴减压浓缩除去二氧六环, 加入 DCM (100 mL $\times$ 3) 萃取, 所得有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤、减压浓缩得黄色油状物粗品, 经硅胶柱层析色谱 (DCM: MeOH=300:1) 分离得 50.3 g 化合物 3。LC-MS $m/z(\text{M}+\text{H})^+$: 543.2。

35 将 50 g 化合物 3 溶于 250 mL 甲醇中, 加入 10 g 5% Pd/C, 氢气置换体系内细分 2-3 次, 维持室温反应, TLC (DCM: MeOH=5:1) 监测反应。反应完全后, 垫双层滤纸过滤, 滤饼用甲醇淋洗三次, 所得滤液于 40 $^\circ\text{C}$ 下减压浓缩得化合物 4, 未经纯化直接用于下一步反应。

将粗品化合物 4 溶于 250 mL 冰乙酸中, 加入马来酸酐 (18.2 g, 184.4 mmol), 室温搅

柱: YMC-C18, 100mm*450mm, 10 μ m, 采用乙腈/水(0.2%TFA), 流速 200 mL/min, 于 λ =215 nm 检测;

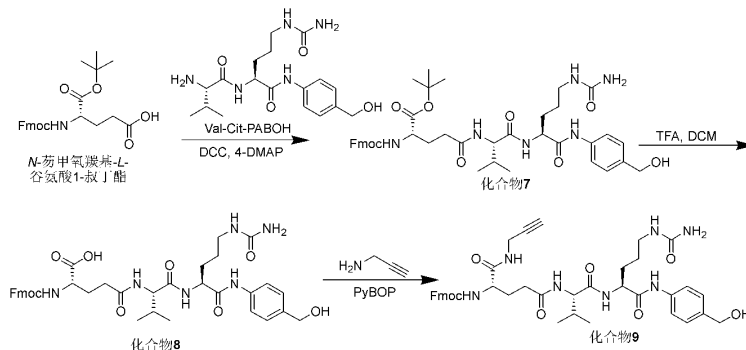
溶剂 B: 乙腈;

梯度: 0-10min 90%A, 10-25min, 90%A~45%A, 25-55min, 45%A~40%A;

收集具 43 min 保留时间的馏分并冻干,得白色固体 41 g 化合物 5。LC-MS m/z ($M+H$)⁺:417.9.

于 1 L 单口瓶中加入化合物 5 (40 g, 96 mmol, 1.0 eq), 三乙胺(26.7 mL, 2.0 eq), 甲苯
10 (400 mL), 升温至 120 °C 下回流反应 2h。TLC 监测基本完全反应, 降温至 50 °C 下减压旋
除溶剂。用乙酸乙酯(150 mL), 水(40 mL)溶解, 冰浴搅拌下用 1M HCl 调 pH 至 2-3, 分液,
水层用乙酸乙酯再萃取一次, 合并有机层, 加入无水硫酸钠干燥。过滤后, 浓缩得到淡黄
色油状粗品, 粗品经柱层析纯化(DCM:MeOH=40:1), 得到 26.6 g 化合物 6; LC-MS m/z
(M+H)⁺:399.3.

15 实施例 2: 化合物 9 的合成

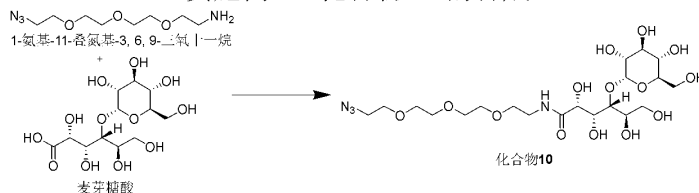


于 1 L 单口瓶中加入 *N*-苄氧羰基-*L*-谷氨酸 1-叔丁酯 (21 g, 48.9 mmol), DCC(20.6 g, 97.8 mmol), Val-Cit-PABOH(18.5 g, 48.9 mmol), 二氯甲烷(400 mL), 冰水浴冷却降温至 0 °C, 称取 4-DMAP(610 mg, 4.89 mmol)一次性加入反应瓶中, 缓慢升温至室温反应 3 h, TLC 监测基本完全反应, 过滤除去不溶的固体杂质, 滤饼用二氯甲烷淋洗三次, 减压旋除溶剂, 浓缩得到淡黄色油状粗品, 粗品经柱层析纯化(DCM:MeOH=100:1-50:1), 得到 33.2 g 化合物 7; LC-MS m/z (M+H)⁺:787.5.

将上述化合物 7 溶于 300 mL 二氯甲烷中，冰水浴降温至 0 °C，缓慢滴加 TFA(150 mL)，缓慢升温至室温下反应 5 h，TLC(DCM:MeOH=10:1)监测反应。反应完全后，反应液于 45 °C 下减压浓缩得黄色油状粗品化合物 8，未经纯化直接用于下一步反应。

于 1 L 单口瓶中加入上述粗品化合物 8 (按起始物料投料量 48.9 mmol), PyBOP(38.56 g, 73.4 mmol), 炔丙胺(3.3 g, 58.7 mmol), 二氯甲烷(400 mL), 冰水浴冷却降温至 0 °C, 滴加 DIPEA(2.6 mL, 14.7 mmol)至反应瓶中, 缓慢升温至室温反应过夜, TLC(20:1)监测基本完全反应, 加入饱和氯化钠水溶液(100 mL)稀释, 二氯甲烷(100 mL)萃取两次, 合并有机相, 加入无水硫酸钠干燥, 抽滤, 减压旋除溶剂, 浓缩得到淡黄色油状粗品, 粗品经柱层析纯化(DCM:MeOH=50:1), 得到 25.4 g 化合物 9; LC-MS m/z (M+H)⁺:768.4.

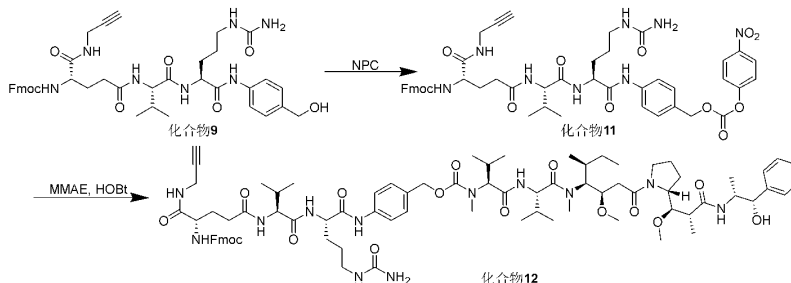
实施例 3: 化合物 10 的合成



室温下，将麦芽糖酸(7.0 g, 19.5 mmol)溶解于 70 mL 无水甲醇中，氮气置换体系内气

氛三次,加入 4Å 分子筛后加热回流过夜,冷却至室温条件,加入 1-氨基-11-叠氮基-3,6,9-三氧十一烷,维持室温搅拌 24 h,直接将反应液减压浓缩,所得粗产品溶解于 5 mL 甲醇中,随后依次加入 30 mL 氯仿及 100 mL 四氢呋喃,搅拌后静置,得到白色固体,过滤,滤饼用四氢呋喃淋洗两次,将所得到的白色固体溶解于 30 mL 水中,冻干得到 5.6 g 白色固体化合物 10; LC-MS m/z (M+H)⁺:559.3.

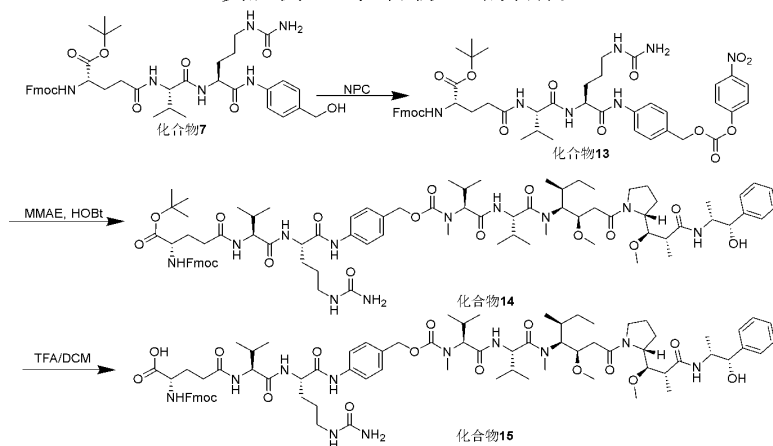
实施例 4: 化合物 12 的合成



室温下于 250 mL 单口瓶中加入化合物 9 (5.0 g, 6.5 mmol), 二氯甲烷(100 mL), 随后依次加入 NPC(10.1 g, 32.6 mmol), DIPEA(5.7 mL, 32.6 mmol), 维持室温反应过夜, TLC 监测基本完全反应, 加入饱和氯化钠水溶液(50 mL)稀释, 二氯甲烷(100 mL)萃取两次, 合并有机相, 加入无水硫酸钠干燥, 抽滤, 减压旋除溶剂, 浓缩得到淡黄色油状粗品, 粗品经柱层析纯化(DCM:MeOH=100:1-50:1), 得到 5.3 g 化合物 11; LC-MS m/z (M+H)⁺:933.5.

室温下于 50 mL 单口瓶中加入化合物 11 (1.0 g, 1.1 mmol), DMF(15 mL), 随后依次加入 MMAE(723 mg, 1 mmol), HOBt(304 mg, 2.2 mmol), DIPEA(390 μ L, 2.2 mmol), 维持室温反应过夜, 反应完全后直接油泵减压浓缩, 残余物用制备级高效液相色谱纯化, 得到 1.09 g 白色固体化合物 12; TOF-MS m/z (M+Na)⁺:1534.0.

实施例 5: 化合物 15 的合成



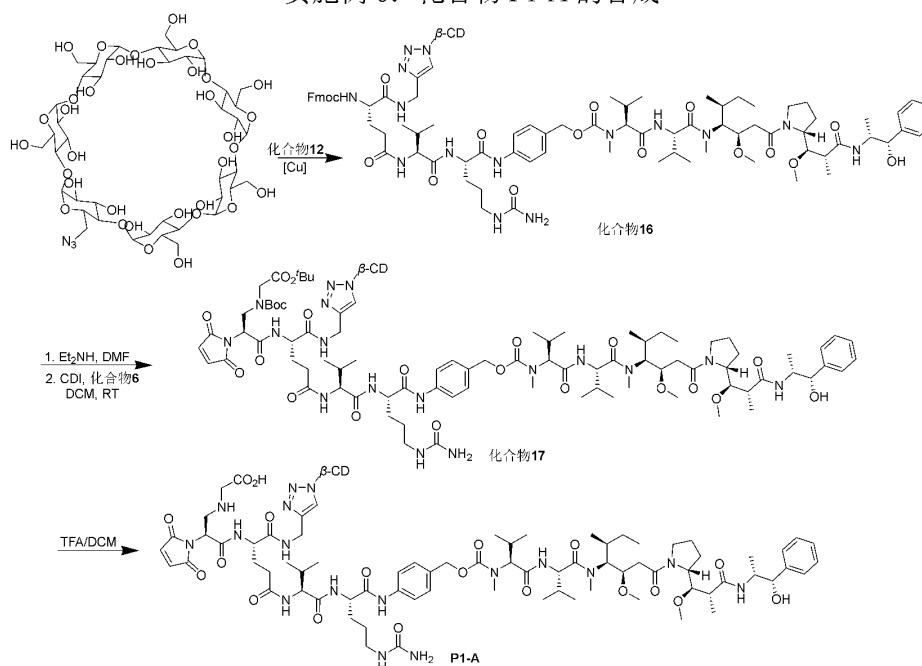
室温下于 250 mL 单口瓶中加入化合物 7 (10.0 g, 12.7 mmol), 二氯甲烷(130 mL), 随后依次加入 NPC(19.7 g, 63.5 mmol), DIPEA(11.1 mL, 63.5 mmol), 维持室温反应过夜, TLC 监测基本完全反应, 加入饱和氯化钠水溶液(100 mL)稀释, 二氯甲烷(100 mL)萃取三次, 合并有机相, 加入无水硫酸钠干燥, 抽滤, 减压旋除溶剂, 浓缩得到淡黄色油状粗品, 粗品经柱层析纯化(DCM:MeOH=100:1-50:1), 得到 10.5 g 化合物 11; LC-MS m/z (M+H)⁺:952.3.

室温下于 50 mL 单口瓶中加入化合物 13 (1.0 g, 1.05 mmol), DMF(15 mL), 随后依次加入 MMAE(759 mg, 1.05 mmol), HOBt(319 mg, 2.3 mmol), DIPEA(408 μ L, 2.3 mmol), 维持室温反应过夜, 反应完全后直接油泵减压浓缩, 残余物用制备级高效液相色谱纯化, 得到 1.22 g 白色固体化合物 14; TOF-MS m/z (M+H)⁺:1530.9.

室温下于 25 mL 单口瓶中加入化合物 14 (1 g, 0.653 mmol), 二氯甲烷(5 mL), 随后加

入三氟乙酸(2.5 mL), 维持室温反应 6 h, 反应完全后直接水浴减压浓缩, 残余物用制备级高效液相色谱纯化, 得到 0.76 g 白色固体化合物 15; TOF-MS m/z ($M+Na$)⁺:1496.8.

实施例 6: 化合物 P1-A 的合成



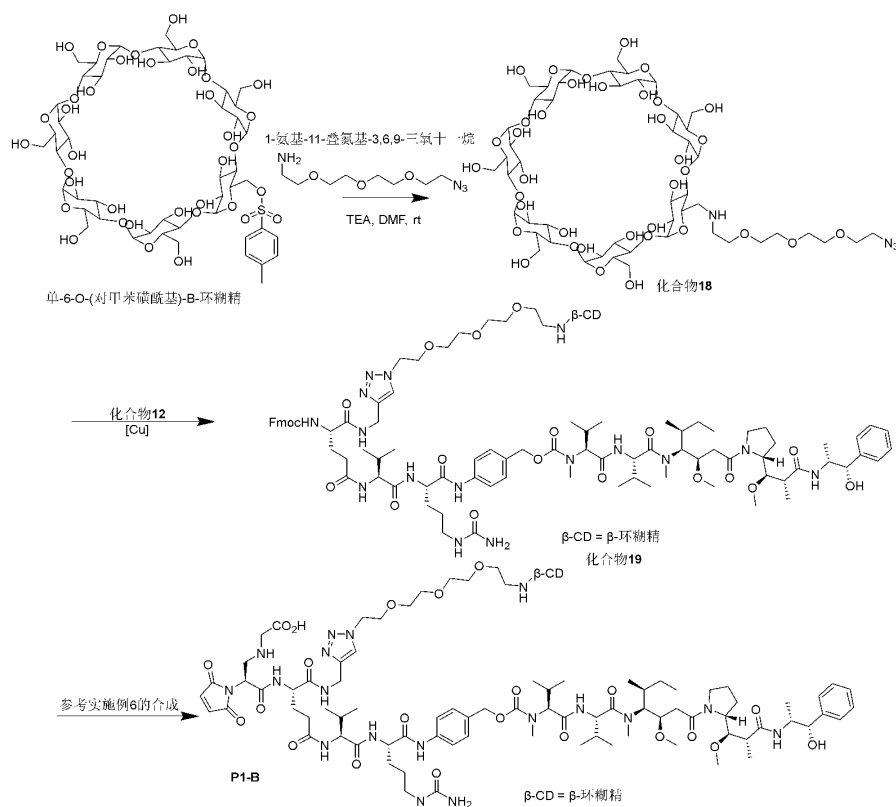
- 5 室温下于 25 mL 单口瓶中加入化合物 12 (30 mg, 0.02 mmol), 四氢呋喃(5 mL), 随后依次加入叠氮-β-环糊精(24.2 mg, 0.02 mmol), 碘化亚铜(2.0 mg, 0.1 mmol), TEA(4 uL, 0.029 mmol), 升温至 50 °C 反应 10 h, 反应完全后加入 10 mL 乙酸乙酯稀释, 10 mL 饱和氯化铵水溶液洗涤有机相两次, 水相用 10 mL 乙酸乙酯萃取三次, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 残余物用制备级高效液相色谱纯化, 得 32 mg 白色固体化合物 16; TOF-MS m/z ($M+H$)⁺:2671.4.

- 10 室温下于 5 mL 单口瓶中加入化合物 16 (30 mg, 11.2 umol), DMF(1 mL), 随后加入二乙基胺(12 uL, 0.12 mmol), 维持室温下反应 12 h, 油泵减压除去 DMF 溶剂, 所得黄色粗品油状物未经进一步纯化, 直接用于下一步反应。

- 15 室温下于上述 5 mL 单口瓶中加入二氯甲烷(1 mL), 随后依次加入化合物 6(45 mg, 112 umol), 羰基二咪唑 CDI(19.9 mg, 0.12 mmol), 维持室温下反应 10 h, 所得黄色反应液直接经制备级高效液相色谱纯化, 得 28 mg 微黄色固体化合物 17; TOF-MS m/z ($M+H$)⁺:2829.3.

- 20 室温下于 5 mL 单口瓶中加入化合物 17 (25 mg, 8.84 umol), 二氯甲烷(4 mL), 随后加入三氟乙酸(2 mL), 维持室温反应 2 h, 反应完全后直接水浴减压浓缩, 残余物用制备级高效液相色谱纯化, 得到 13 mg 白色固体化合物 P1-A; TOF-MS m/z ($M+Na$)⁺:2695.3.

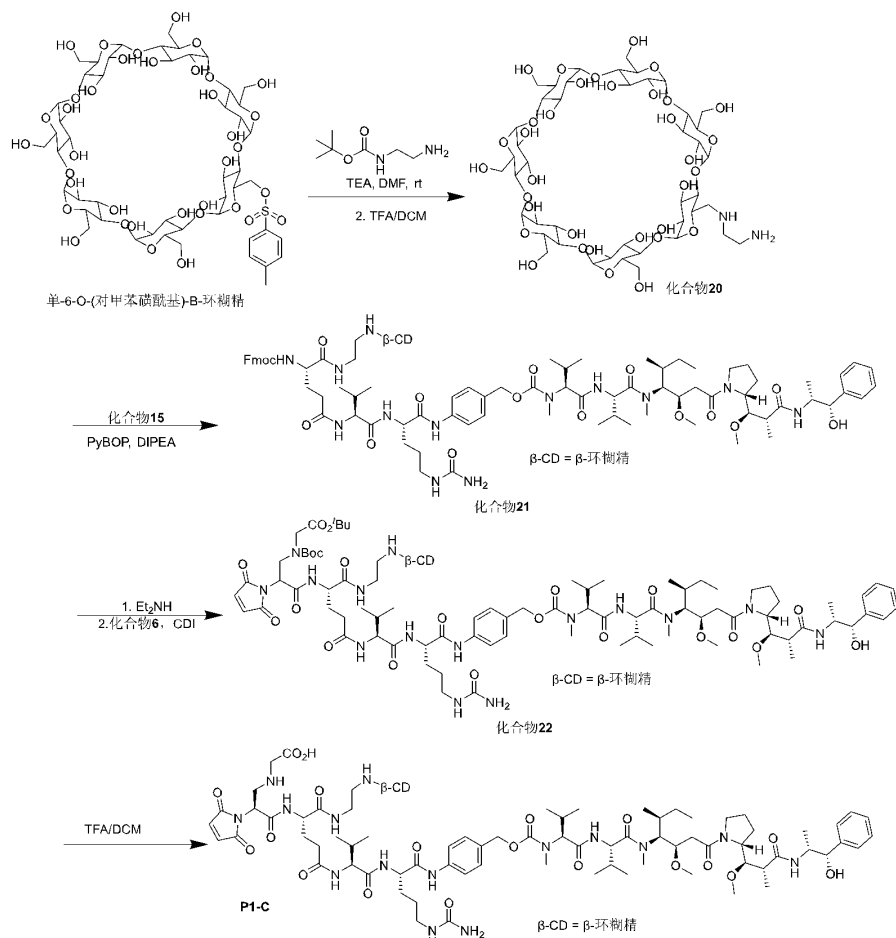
实施例 7: 化合物 P1-B 的合成



将化合物单-6-O-(对甲苯磺酰基)-β-环糊精(45 mg, 0.035 mmol)、1-氨基-11-叠氮基-3,6,9-三氧十一烷(9.0 mg, 0.04 mmol)以及 5 mL DMF 加入 25 mL 单口反应瓶中, 再加入 DIPEA (13 uL, 0.07 mmol), 反应液呈黄色, 室温反应约 3-4 h, 所得反应液直接经过制备级高效液相色谱纯化, 得到白色固体 42.3 mg 化合物 18。LC-MS $m/z(M+H)^+$:1335.6.

后续反应参考实施例 6 的合成路线, 制备 9 mg 化合物 P1-B; TOF-MS $m/z(M+Na)^+$:2870.5.

实施例 8: 化合物 P1-C 的合成



将化合物单-6-O-(对甲苯磺酰基)-β-环糊精(90 mg, 0.07 mmol)、N-叔丁氧羰基-L-赖氨酸(13.2 mg, 0.08 mmol)以及 5 mL DMF 加入 25 mL 单口反应瓶中,再加入 DIPEA(26 uL, 0.14 mmol), 反应液呈黄色, 室温反应约 4 h, 所得反应液直接经过制备级高效液相色谱纯化, 得到白色固体 77 mg 化合物 20; LC-MS $m/z(M+H)^+$:1177.5.

室温下于 5 mL 单口瓶中加入化合物 20 (70 mg, 0.06 mmol), 二氯甲烷(4 mL), 随后加入三氟乙酸(2 mL), 维持室温反应 4 h, 反应完全后减压旋蒸除去三氟乙酸及二氯甲烷, 直接用于下一步反应。

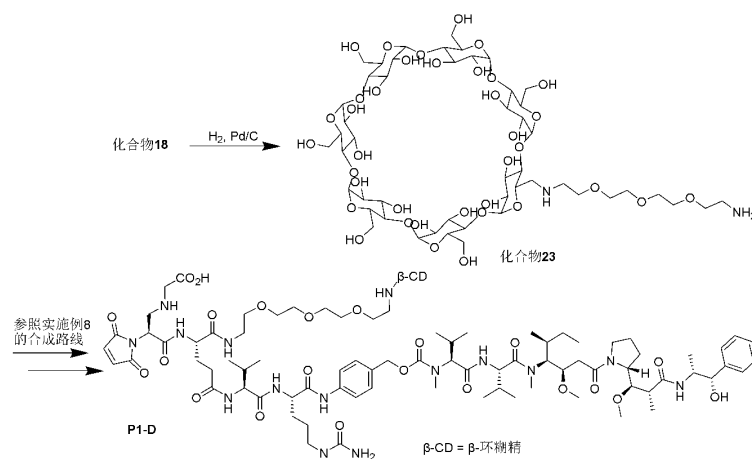
于 25 mL 单口瓶中加入上述粗品化合物(按起始物料投料量 0.06 mmol), PyBOP(63.7 mg, 0.12 mmol), 化合物 15 (88 mg, 0.06 mmol) DMF(5 mL), 冰水浴冷却降温至 0 °C, 滴加 DIPEA(22 uL, 0.12 mmol)至反应瓶中, 缓慢升温至室温反应过夜, 所得黄色反应液直接经制备级高效液相色谱纯化, 得到 55 mg 化合物 21; TOF-MS $m/z(M+Na)^+$:2655.2.

室温下于 5 mL 单口瓶中加入化合物 21 (50 mg, 19 umol), DMF(1 mL), 随后加入二乙基胺(35 uL, 0.19 mmol), 维持室温下反应过夜, 油泵减压除去 DMF 溶剂, 所得黄色粗品油状物未经进一步纯化, 直接用于下一步反应。

室温下于上述 5 mL 单口瓶中加入二氯甲烷(1 mL), 随后依次加入化合物 6(77 mg, 190 umol), 羰基二咪唑 CDI(32 mg, 0.19 mmol), 维持室温下反应 10 h, 所得黄色反应液直接经制备级高效液相色谱纯化, 得 46 mg 微黄色固体化合物 22; TOF-MS $m/z(M+H)^+$:2813.5.

室温下于 5 mL 单口瓶中加入化合物 22 (45 mg), 二氯甲烷(4 mL), 随后加入三氟乙酸(2 mL), 维持室温反应 2 h, 反应完全后直接水浴减压浓缩, 残余物用制备级高效液相色谱纯化, 得到 20 mg 白色固体化合物 P1-C; TOF-MS $m/z(M+Na)^+$:2657.2.

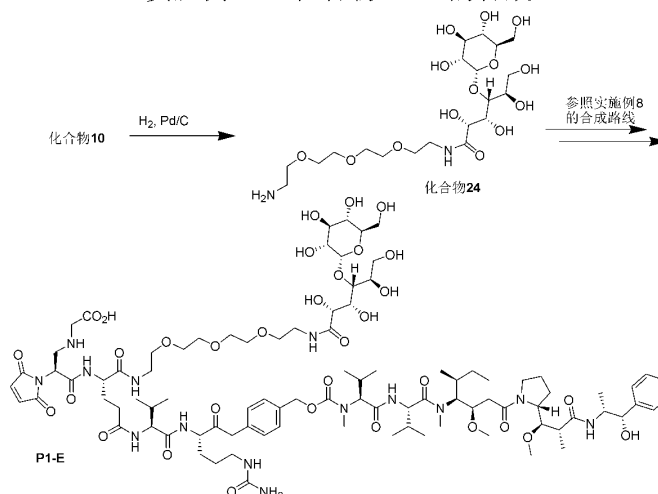
实施例 9: 化合物 P1-D 的合成



室温下于 25 mL 单口瓶中加入化合物 18 (40 mg), DMF (5 mL), 随后加入 Pd/C (40 mg), 氢气置换体系内的气氛三次, 维持室温下反应 1 h, 过滤, 除去催化剂, 油泵减压除去 DMF 溶剂, 所得黄色粗品油状物 23 未经进一步纯化, 直接用于下一步反应。

5 参照实施例 8 的合成路线, 制备 9.9 mg 微黄色固体化合物 P1-D; TOF-MS m/z ($M+\text{Na}$) $^+$: 2789.4.

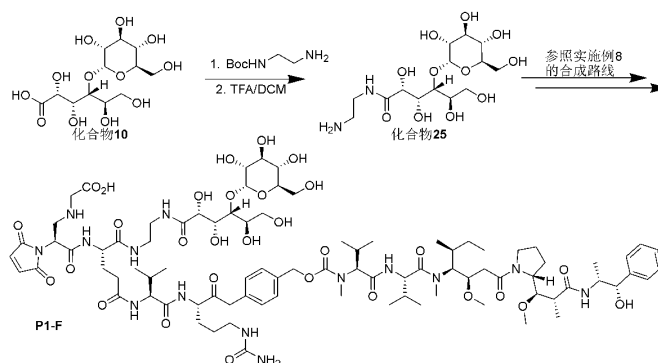
实施例 10: 化合物 P1-E 的合成



10 室温下于 25 mL 单口瓶中加入化合物 10 (100 mg), DMF (10 mL), 随后加入 Pd/C (100 mg), 氢气置换体系内的气氛三次, 维持室温下反应 3 h, 过滤, 除去催化剂, 油泵减压除去 DMF 溶剂, 所得黄色粗品油状物 24 未经进一步纯化, 直接用于下一步反应。

参照实施例 8 的合成路线, 制备 23 mg 微黄色固体化合物 P1-E; TOF-MS m/z ($M+\text{Na}$) $^+$: 2012.5.

实施例 11: 化合物 P1-F 的合成

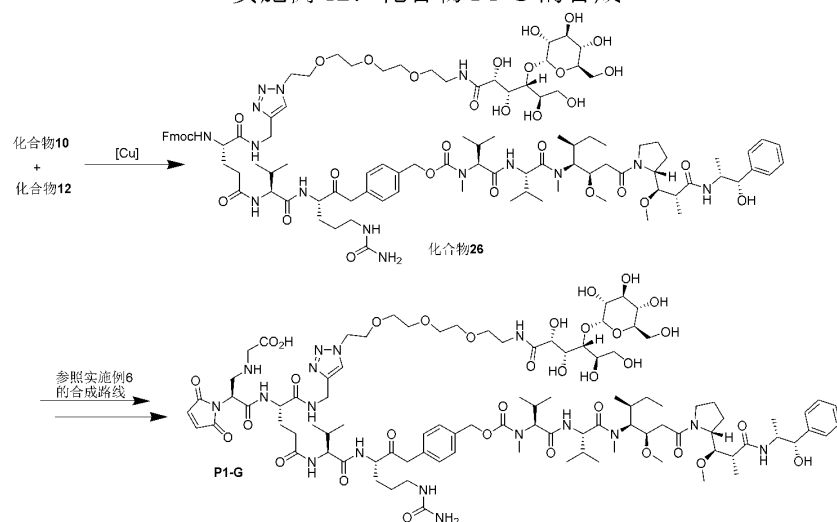


将化合物麦芽糖酸(200 mg, 0.56 mmol)、N-叔丁氧羰基-1,2-乙二醇胺(196 mg, 1.2 mmol)以及 10 mL DMF 加入 25 mL 单口反应瓶中, 再加入 DIPEA (0.22 mL, 1.2 mmol), 反应液呈黄色, 室温反应约 4 h, 所得反应液直接经过制备级高效液相色谱纯化, 得到白色固体化合物。室温下于 25 mL 单口瓶中加入上述化合物二氯甲烷(6 mL), 随后加入三氟乙酸(3 mL), 维持室温反应 2 h, 反应完全后减压旋蒸除去三氟乙酸及二氯甲烷, 直接用于下一步反应; LC-MS $m/z(M+H)^+$:401.1.

参照实施例 8 的合成路线, 制备 23 mg 微黄色固体化合物 P1-F; TOF-MS $m/z(M+H)^+$:1858.1.

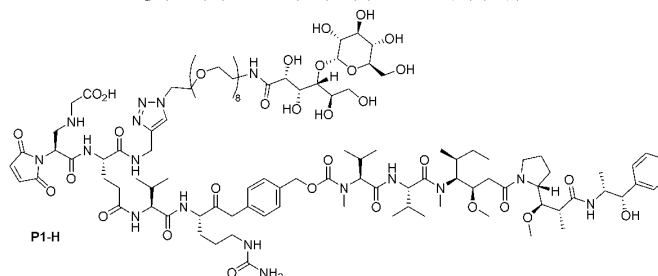
10

实施例 12: 化合物 P1-G 的合成



化合物 10 与化合物 12 参照实施例 6 的合成路线, 制备 15 mg 白色固体化合物 P1-G; TOF-MS $m/z(M+H)^+$:2071.4.

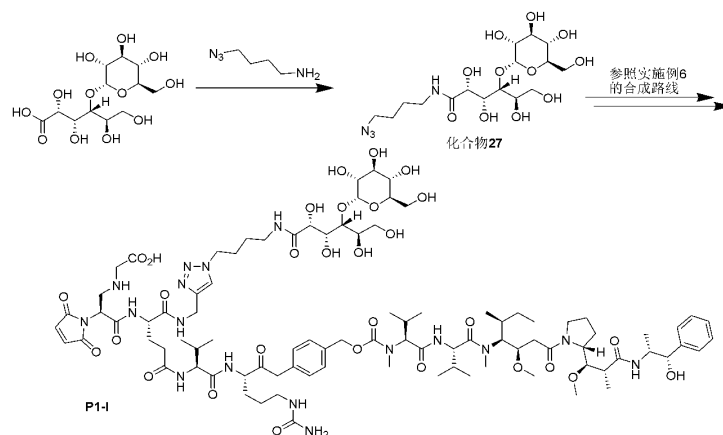
实施例 13: 化合物 P1-H 的合成



15

参照实施例 6 的合成路线, 制备 12 mg 白色固体化合物 P1-H; TOF-MS $m/z(M+H)^+$:2291.6.

实施例 14: 化合物 P1-I 的合成

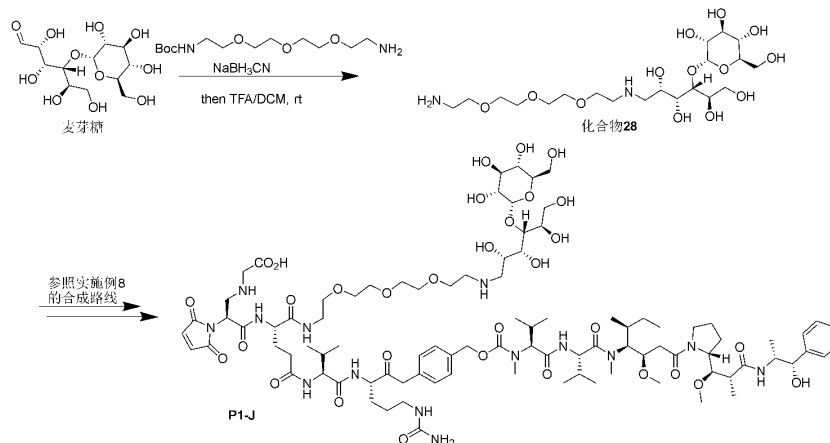


化合物 27 的合成参照实施例 3 的合成路线; LC-MS m/z ($\text{M}+\text{H}$) $^+$:455.4.

参照实施例 6 的合成路线, 制备 11 mg 白色固体化合物 P1-I; TOF-MS m/z ($\text{M}+\text{H}$) $^+$:1989.2.

5

实施例 15: 化合物 P1-J 的合成

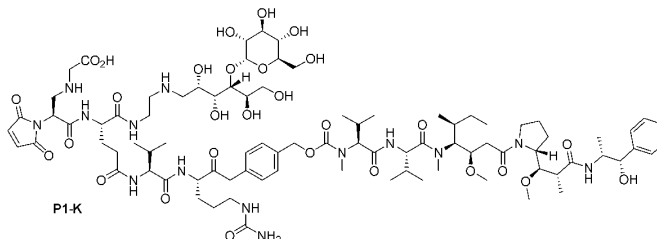


将麦芽糖 (500 mg, 1.46mmol)、13-氨基-5,8,11-三氧杂-2-氮杂十三烷酸 1,1-二甲基酯 (436 mg, 1.46 mmol)以及 15 mL 无水乙醇加入 25 mL 单口反应瓶中, 维持室温下反应约 4 h, 将反应瓶用冰水浴冷却, 分两批次加入氰基硼氢化钠(186 mg, 2.92 mmol), 维持该温度继续反应 1 h 后, 所得反应液直接经过制备级高效液相色谱纯化, 冻干, 得到白色固体化合物。室温下于 25 mL 单口瓶中加入上述化合物二氯甲烷(10 mL), 随后加入三氟乙酸 (5 mL), 维持室温反应 3 h, 反应完全后减压旋蒸除去三氟乙酸及二氯甲烷, 直接用于下一步反应; LC-MS m/z ($\text{M}+\text{H}$) $^+$:519.3.

参照实施例 8 的合成路线, 制备 8 mg 白色固体化合物 P1-J; TOF-MS m/z ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$:1998.2.

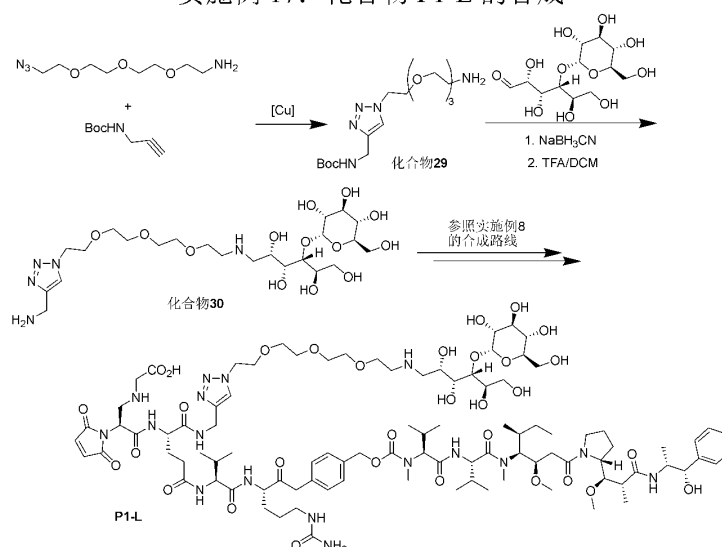
15

实施例 16: 化合物 P1-K 的合成



参照实施例 8 及实施例 14 的合成路线, 制备 21 mg 白色固体化合物 P1-K; TOF-MS m/z ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$:1866.0.

实施例 17: 化合物 P1-L 的合成



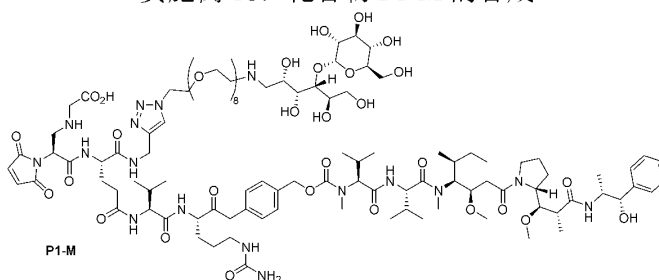
室温下于 25 mL 单口瓶中加入 1-氨基-11-叠氮-3,6,9-三氧杂十一烷 (60 mg, 0.27 mmol), 四氢呋喃(5 mL), 随后依次加入 N-Boc-氨基丙炔(44 mg, 0.27 mmol), 碘化亚铜(2.0 mg, 0.1 mmol), TEA(40 μ L, 0.29 mmol), 升温至 50 $^{\circ}$ C 反应 10 h, 过滤, 残余物用制备级高效液相色谱纯化, 得 82 mg 白色固体化合物 29; LC-MS m/z (M+H)⁺:374.3.

参照实施例 14 的合成路线, 制备化合物 30; LC-MS m/z (M+H)⁺:600.5.

参照实施例 8 的合成路线, 制备 17 mg 白色固体化合物 P1-L; TOF-MS m/z (M+Na)⁺:2079.1.

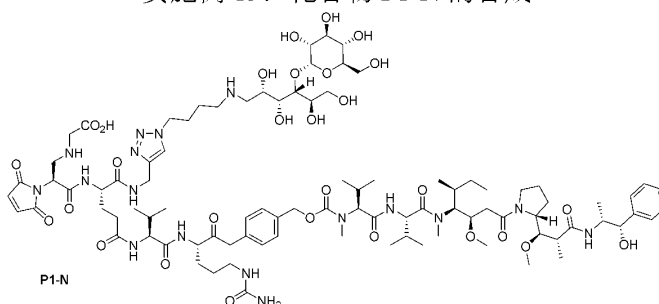
10

实施例 18: 化合物 P1-M 的合成



参照实施例 16 的合成路线, 制备 21 mg 白色固体化合物 P1-M; TOF-MS m/z (M+Na)⁺:2299.1.

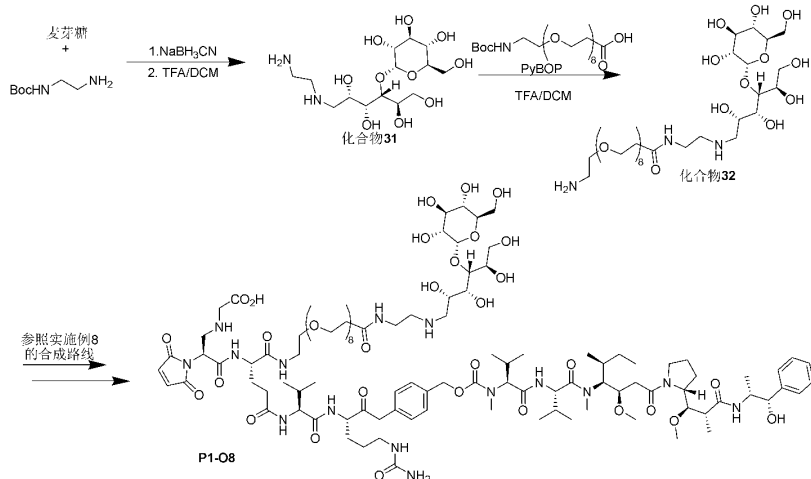
实施例 19: 化合物 P1-N 的合成



15

参照实施例 16 的合成路线, 制备 13 mg 固体化合物 P1-N; TOF-MS m/z (M+H)⁺:1953.2.

实施例 20: 化合物 P1-O8 的合成

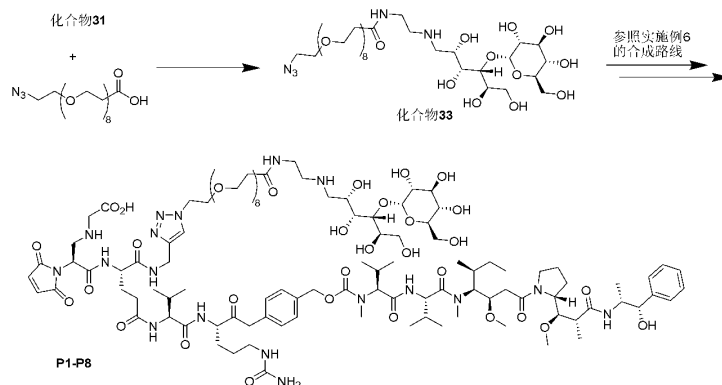


将麦芽糖 (50 mg, 0.146 mmol)、N-Boc-乙二胺 (24 mg, 0.146 mmol)以及 5 mL 无水乙醇加入 25 mL 单口反应瓶中, 维持室温下反应约 4 h, 将反应瓶用冰水浴冷却, 分两批次加入氰基硼氢化钠(18.6 mg, 0.292 mmol), 维持该温度继续反应 1 h 后, 所得反应液直接经过制备级高效液相色谱纯化, 冻干, 得到固体化合物。室温下于 25 mL 单口瓶中加入上述化合物二氯甲烷(4 mL), 随后加入三氟乙酸(2 mL), 维持室温反应 3 h, 反应完全后减压旋蒸除去三氟乙酸及二氯甲烷, 得到粗品化合物 31, 未经纯化直接用于下一步反应; LC-MS $m/z(M+H)^+$:387.2.

于 25 mL 单口瓶中加入上述粗品化合物(按起始物料投料量 0.146 mmol), N-叔丁氧羰基-七聚乙二醇-羧酸(81 mg, 0.146 mmol)、PyBOP(116 mg, 0.219 mmol), DMF(5 mL), 冰水浴冷却降温至 0 °C, 滴加 DIPEA(40 uL, 0.219 mmol)至反应瓶中, 缓慢升温至室温反应过夜, 所得黄色反应液直接油泵减压浓缩, 得到黄色油状物; 室温下于上述油状物的 25 mL 单口瓶中加入二氯甲烷(4 mL), 随后加入三氟乙酸(2 mL), 维持室温反应 2 h, 反应完全后减压旋蒸除去三氟乙酸及二氯甲烷, 得到粗品, 经制备级高效液相色谱柱纯化, 冻干, 得到 66 mg 白色固体化合物 32; LC-MS $m/z(M+H)^+$:810.9.

参照实施例 8 的合成路线, 制备 15 mg 固体化合物 P1-O8; TOF-MS $m/z(M+Na)^+$:2289.2.

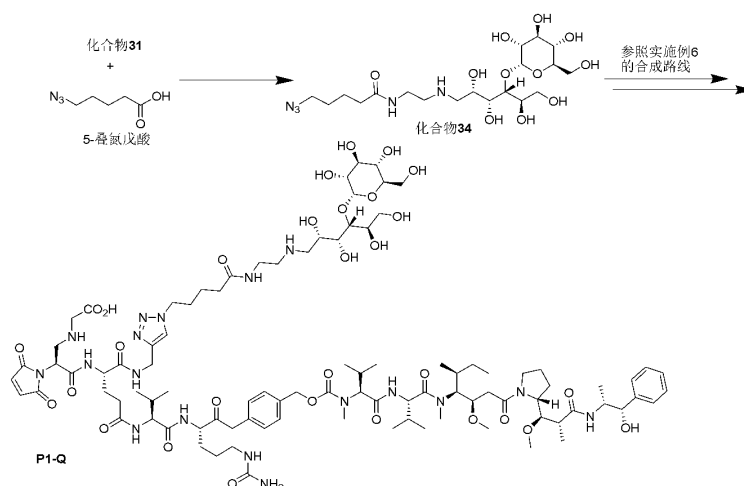
实施例 21: 化合物 P1-P8 的合成



参照实施例 19 的合成路线, 制备化合物 33; LC-MS $m/z(M+H)^+$:836.9.

参照实施例 6 的合成路线, 制备 23 mg 固体化合物 P1-P8; TOF-MS $m/z(M+Na)^+$:2289.2.

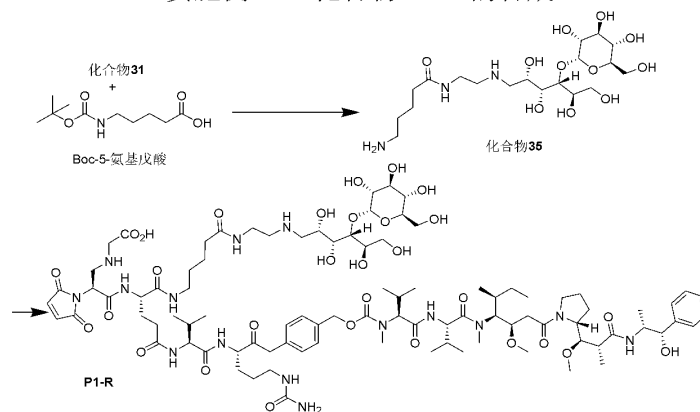
实施例 22: 化合物 P1-Q 的合成



参照实施例 19 的合成路线, 制备化合物 34; LC-MS m/z (M+H)⁺:512.5

参照实施例 6 的合成路线, 制备 9 mg 固体化合物 P1-Q; TOF-MS m/z (M+H)⁺:2024.1.

实施例 23: 化合物 P1-R 的合成

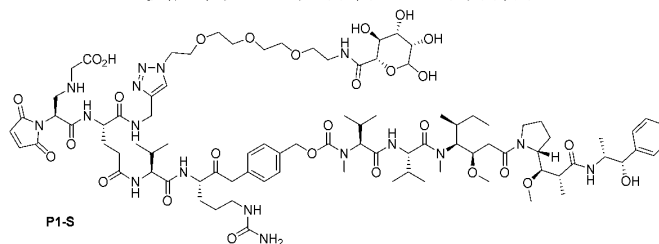


5

参照实施例 19 的合成路线, 制备化合物 35; LC-MS m/z (M+H)⁺:486.5

参照实施例 8 的合成路线, 制备 14 mg 固体化合物 P1-R; TOF-MS m/z (M+H)⁺:1943.2.

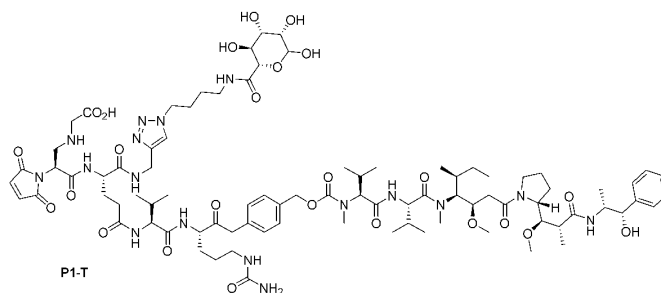
实施例 24: 化合物 P1-S 的合成



10

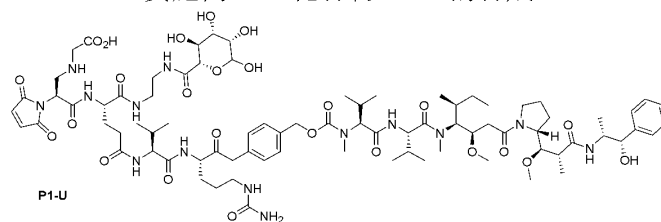
参照实施例 6 的合成路线, 制备 24 mg 固体化合物 P1-S; TOF-MS m/z (M+Na)⁺:1929.1.

实施例 25: 化合物 P1-T 的合成



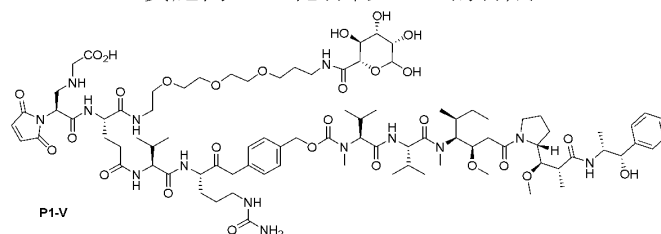
参照实施例 6 的合成路线, 制备 16 mg 固体化合物 P1-T; TOF-MS m/z (M+H)⁺:1803.5.

实施例 26: 化合物 P1-U 的合成



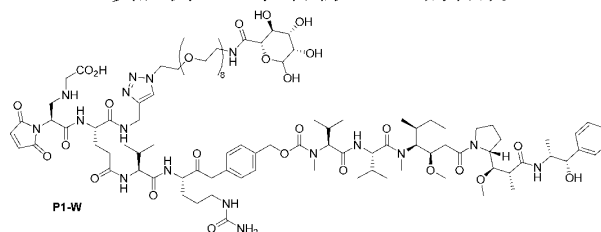
5 参照实施例 8 的合成路线, 制备 12 mg 固体化合物 P1-U; TOF-MS m/z (M+H)⁺:1693.9.

实施例 27: 化合物 P1-V 的合成



参照实施例 8 的合成路线, 制备 19 mg 固体化合物 P1-V; TOF-MS m/z (M+H)⁺:1840.1.

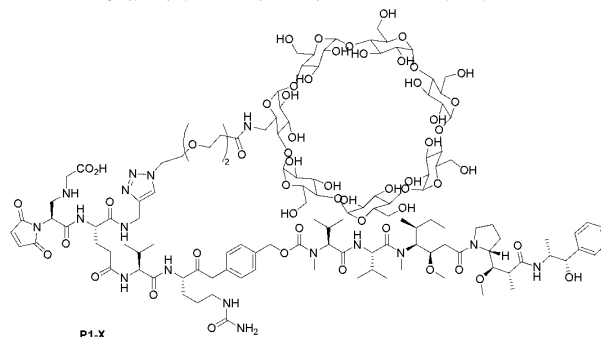
实施例 28: 化合物 P1-W 的合成



10

参照实施例 6 的合成路线, 制备 32 mg 固体化合物 P1-W; TOF-MS m/z (M+H)⁺:2127.1291.

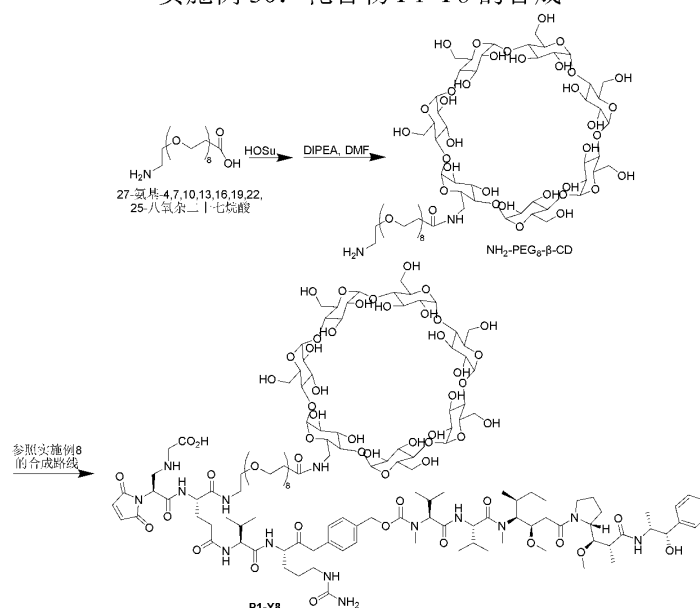
实施例 29: 化合物 P1-X2 的合成



15

参照实施例 6 的合成路线, 制备 27 mg 固体化合物 P1-W; TOF-MS m/z (M+Na)⁺:2853.2939.

实施例 30: 化合物 P1-Y8 的合成

第一步: 化合物 $\text{NH}_2\text{-PEG}_8\text{-}\beta\text{-CD}$ 的合成

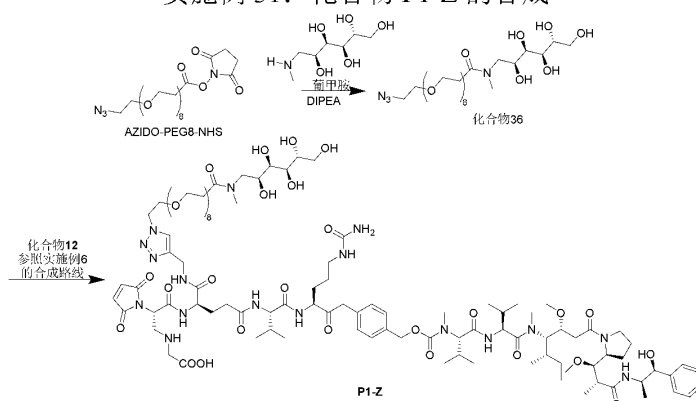
室温下于 25 mL 单口瓶中加入化合物 27-氨基-4,7,10,13,16,19,22,25-八氧杂二十七烷酸 (100 mg, 0.22 mmol), DMF (5 mL), 随后加入 HOSu (28 mg, 0.23 mmol), DCC (48 mg, 0.23 mmol), 维持室温下反应 3 h, 油泵减压除去 DMF 溶剂, 所得黄色粗品油状物中加入 10 mL DCM 溶解, 过滤除去不溶性固体, 滤饼用 DCM 洗涤三次, 合并有机相水泵 45 °C 水浴旋干, 直接用于下一步反应。

室温下于 25 mL 单口瓶中加入上述粗品化合物 (0.22 mmol), DMF (5 mL), 随后加入单 (6-氨基-6-去氧)-β-环糊精 (275 mg, 0.23 mmol), DIPEA (74 μL, 0.44 mmol), 维持室温下反应 2 h, HPLC 检测反应结束。反应液经过制备级高效液相色谱纯化, 得到纯化液, 冻干得到化合物 $\text{NH}_2\text{-PEG}_8\text{-}\beta\text{-CD}$ (145 mg); LC-MS m/z ($M+H$)⁺: 1157.7。

第二步: 化合物 P1-Y8 的合成

以化合物 15 及 $\text{NH}_2\text{-PEG}_8\text{-}\beta\text{-CD}$ 为原料, 参照实施例 8 的合成路线, 制备 13 mg 固体化合物 P1-Y8; TOF-MS m/z ($M+H$)⁺: 3014.4188。

实施例 31: 化合物 P1-Z 的合成



第一步: 化合物 36 的合成

室温下于 25 mL 单口瓶中加入 AZIDO-PEG8-NHS (100 mg, 0.17 mmol), DMF (5 mL), 随后加入胍甲胺 (34 mg, 0.17 mmol), DIPEA (66 μL, 0.4 mmol), 维持室温下反应 2 h, HPLC 检测反应结束。反应液经过制备级高效液相色谱纯化, 得到纯化液, 冻干得到化合物 36 (120

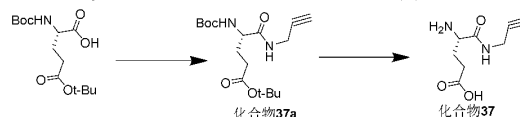
mg); LC-MS m/z (M+H)⁺:645.7。

第二步: 化合物 P1-Z 的合成

以化合物 12 及化合物 36 为原料, 参照实施例 6 的合成路线, 制备 18 mg 固体化合物 P1-Z; TOF-MS m/z (M+H)⁺:2157.1796。

5

实施例 32: 化合物 37 的制备

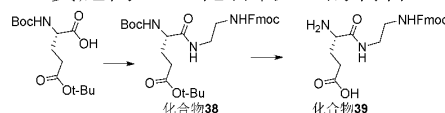


于 1 L 单口瓶中加入 Boc-L-谷氨酸 5-叔丁酯(50 g, 164.8 mmol, 1.0 eq), 250 mL THF 溶清, 冰水浴下依次加入炔丙胺(9.97 g, 181.3 mmol, 1.1 eq), HOBt(22.25 g, 164.8 mmol, 1.0 eq), DIEA(54.3 mL, 329.6 mmol, 2.0 eq), EDCI(37.7 g, 197.7 mmol, 1.2 eq), 升至室温反应 2 h, TLC 监测反应终点。反应完毕后, 将反应液倒入 600 mL 冰水中, 加入乙酸乙酯萃取三次 (200 mL×3), 合并有机相, 经过饱和食盐水洗涤两次 (300 mL×2)、无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 得到粗品。粗品经过石油醚/乙酸乙酯 (2/1) 精制, 得到 35.5 g 化合物 37a; LC-MS m/z (M+H)⁺: 341.2。

于 1L 单口瓶中加入化合物 37a(20 g), 150 mL 二氯甲烷溶清, 加入 150 mL 三氟乙酸, 室温反应 1 h, TLC 监测反应终点。反应完毕后, 将反应液在水泵 45 °C 浓缩, 得到粗品油状物。粗品加入甲叔醚析晶过夜, 过滤, 滤饼经过鼓风 45 °C 干燥 4 h, 称重, 得产品 7.68 g; LC-MS m/z (M+H)⁺:184.2。

15

实施例 33: 化合物 39 的制备



于 1 L 单口瓶中加入 Boc-L-谷氨酸 5-叔丁酯(50 g, 164.8 mmol, 1.0 eq), 300 mL THF 溶清, 冰水浴下依次加入 FmocNH-(CH₂)₂-NH₂ (51.1 g, 181.3 mmol, 1.1 eq), HOBt(22.25 g, 164.8 mmol, 1.0 eq), DIEA(54.3 mL, 329.6 mmol, 2.0 eq), EDCI(37.7 g, 197.7 mmol, 1.2 eq), 升至室温反应 2 h, TLC 监测反应终点。反应完毕后, 将反应液倒入 600 mL 冰水中, 加入乙酸乙酯萃取三次 (300mL×3), 合并有机相, 经过饱和食盐水洗涤两次 (300 mL×2)、无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 得到粗品。粗品经过石油醚/乙酸乙酯 (2/1) 精制, 得到纯品 57.5g; LC-MS m/z (M+H)⁺:567.2。

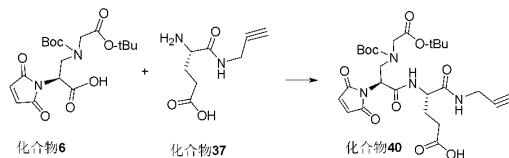
20

于 1L 单口瓶中加入化合物 38(20 g), 150 mL 二氯甲烷溶清, 加入 150 mL 三氟乙酸, 室温反应 1 h, TLC 监测反应终点。反应完毕后, 将反应液在水泵 45 °C 浓缩, 得到粗品油状物。粗品加入甲叔醚析晶过夜, 过滤, 滤饼经过鼓风 45 °C 干燥 4 h, 称重, 得产品 11.7 g; LC-MS m/z (M+H)⁺:412.2。

25

30

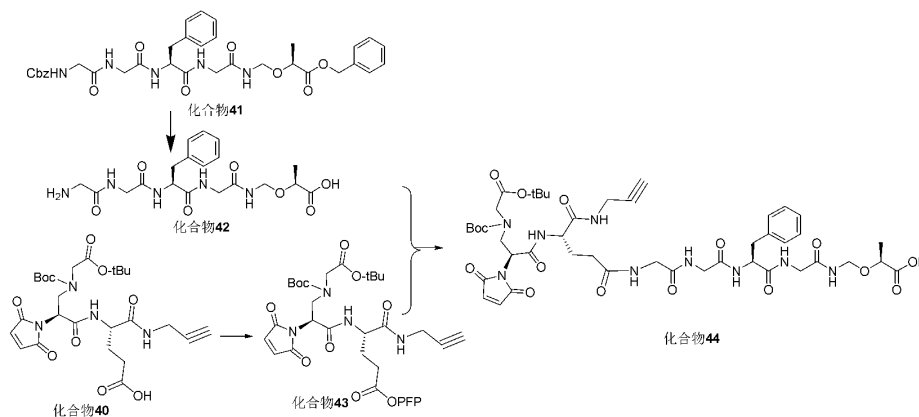
实施例 34: 化合物 40 的制备



于 50mL 单口瓶中加入化合物 37(5.0 g, 27.1 mmol)、化合物 6 (10.8 g, 27.1 mmol), 20 mL DMF 溶清, 冰水浴下加入 EEDQ(13.4 g, 54.2 mmol), 加毕, 升至室温反应 2 h, HPLC 监测反应终点。反应液经过高效液相制备纯化, 冻干, 得到产品 7.84 g; LC-MS m/z (M+H)⁺:465.2。

35

实施例 35: 化合物 44 的制备

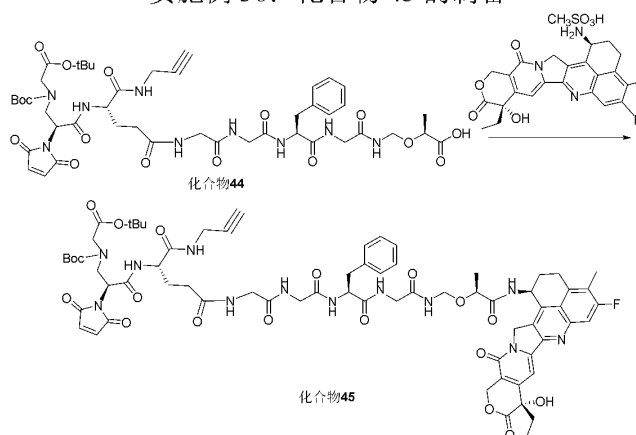


于 50 mL 单口瓶中加入化合物 41(1.0 g, 1.51mmol,参考专利 WO2020063676A1), 15 mLDMF 溶清, 加入 5%Pd/C(1.0 g), 室温氢化反应 2 h, HPLC 监测反应终点。过滤, 滤液备用, 记为滤液 1;

- 5 另取 25 mL 单口瓶中加入化合物 40(0.85 g, 1.51 mmol), 15 mLDMF 溶清, 冰水浴下加入 DCC(1.55 g, 7.56mmol), 五氟苯酚(0.31 g, 1.66 mmol), 升至室温反应 2 h, TLC 监测反应终点。反应完毕, 过滤, 得滤液, 记为滤液 2;

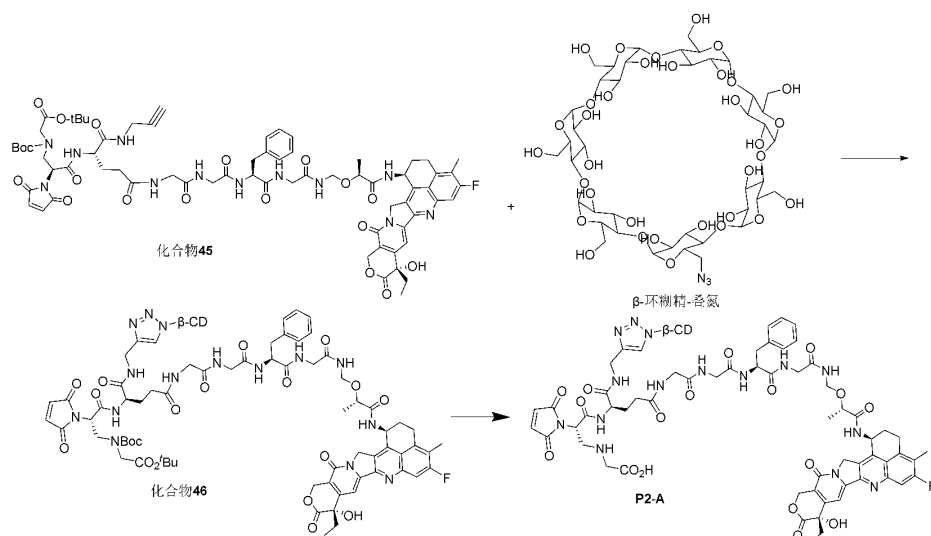
- 在冰水浴下, 将 DIEA(0.37 mL, 2.26 mmol)加至滤液 1 中, 再将滤液 2 加入, 升至室温反应 1 h, HPLC 监测反应终点。反应完毕, 反应液经过高效液相制备纯化, 得产品制备液, 制备液冻干, 得到 502 mg 白色固体化合物 44; LC-MS m/z (M+H)⁺:985.2.

实施例 36: 化合物 45 的制备



- 于 50 mL 单口瓶中加入化合物 44(500 mg, 0.51 mmol), 10 mLDMF 溶清, 冰水浴下依次加入 PyBOP(396 mg, 0.76mmol), HOBt(103 mg, 0.76 mmol), 依喜替康·甲磺酸盐(270 mg, 0.51 mmol), 再加入 DIEA(252 uL, 1.52 mmol), 升至室温反应 2 h, HPLC 监测反应终点。反应完毕, 反应液经过高效液相制备纯化, 得产品制备液, 制备液冻干, 得到 500 mg 白色固体化合物 45; LC-MS m/z (M+H)⁺:1402.2.

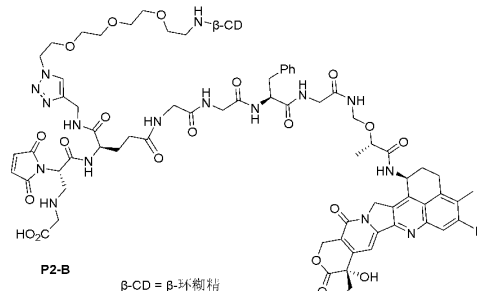
实施例 37: 化合物 P2-A 的合成



于 25mL 单口瓶中加入化合物 45(50 mg, 0.035 mmol)、 β -环糊精-N₃(41 mg, 0.035 mmol), 5mLDMF 溶清, 再加入碘化亚铜(2 mg, 0.007mmol), TEA(10 uL, 0.07 mmol), 升温至 50 °C 反应 10 h, HPLC 监测反应进程。反应结束后, 反应液经高效制备液相纯化, 得产品制备液, 制备液经冻干, 得到 59mg 化合物 46; TOF-MS $m/z(M+Na)^+$:2583.0.

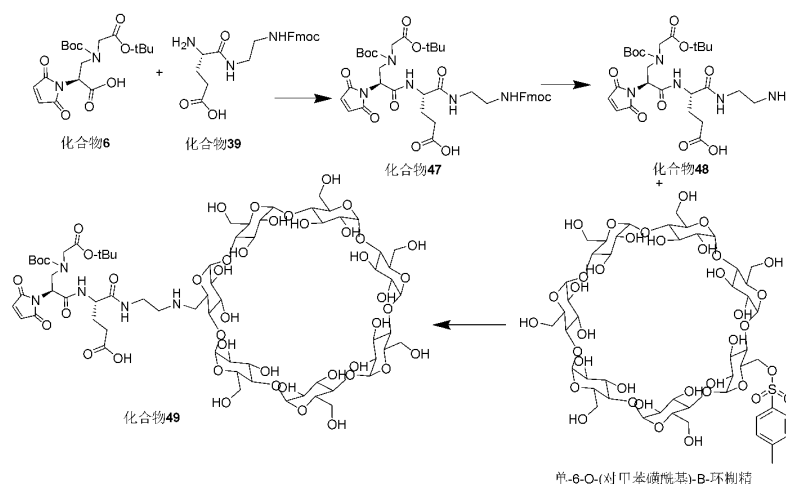
于 25 mL 单口瓶中加入化合物 46(50 mg, 0.019 mmol), 5 mL 硝基甲烷溶清, 再加入溴化锌(88 mg, 0.39 mmol), 室温反应 1h, HPLC 监测反应进程。反应结束后, 反应液经水泵 45 °C 减压浓缩, 得到粗品。粗品经高效制备液相纯化, 得产品制备液, 制备液经冻干, 称量, 得到 30 mg 化合物 P2-A; TOF-MS $m/z(M+H)^+$:2404.9.

10 实施例 38: 化合物 P2-B 的合成



参照实施例 37 的合成路线, 得到 24 mg 化合物 P2-B; TOF-MS $m/z(M+H)^+$:2580.0.

实施例 39: 化合物 49 的合成

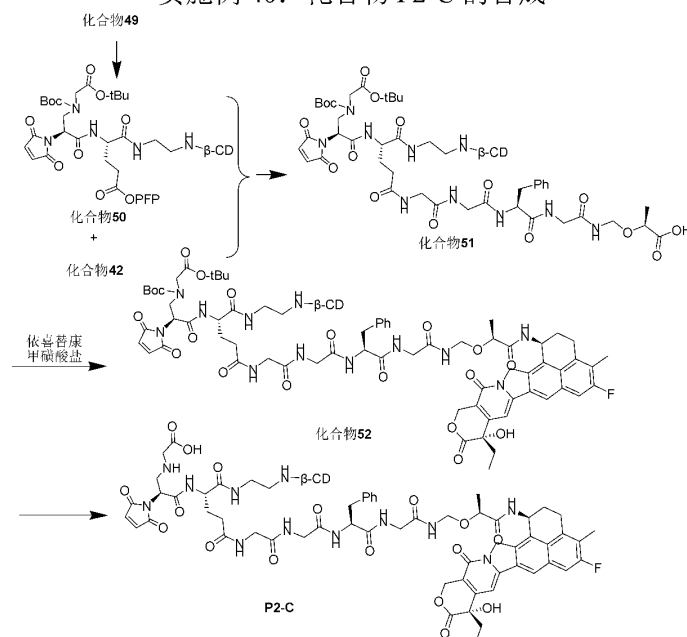


于 50 mL 单口瓶中加入化合物 39(5.0 g, 12.1 mmol)、化合物 6 (4.83 g, 12.1 mmol), 25 mL DMF 溶清, 冰水浴下加入 EEDQ(6.0 g, 24.3 mmol), 加毕, 升至室温反应 2 h, HPLC 监测反应终点。反应液经过高效液相制备纯化, 冻干, 得到产品 5.1 g; LC-MS m/z (M+H)⁺:792.3.

5 于 50 mL 单口瓶中加入化合物 47(0.3 g, 0.378 mmol), 5 mL DMF 溶清, 再加入 0.3 mL 二乙胺, 室温搅拌 1 h, TLC 监测反应终点。反应结束后, 将反应液减压浓缩除去 DMF 及二乙胺, 得粗品, 直接用于下一步。

粗品用 5 mL DMF 溶解, 加入单-6-O-(对甲苯磺酰基)-β-环糊精(488 mg, 0.378 mmol), 氮气保护下室温反应 2 h, HPLC 监测反应终点。反应结束后, 经高效液相制备纯化, 冻干, 得到 601 mg 化合物 49; TOF-MS m/z (M+H)⁺:1686.9.

实施例 40: 化合物 P2-C 的合成



15 于 25 mL 单口瓶中加入化合物 49(1.05 g, 0.62 mmol), 10 mL DMF 溶清, 冰水浴下加入 DCC(653 mg, 3.1 mmol), 五氟苯酚(119 mg, 0.63 mmol), 升至室温反应 2 h, TLC 监测反应终点。反应完毕, 过滤, 得滤液;

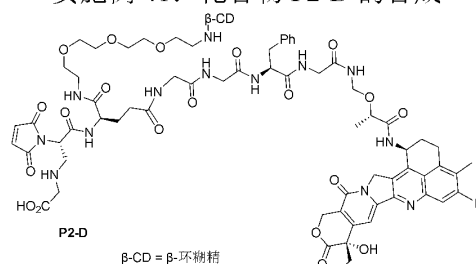
在冰水浴下, 将 DIEA(0.22 mL, 1.24 mmol)加至上述滤液中, 再将化合物 42(272 mg, 0.62 mmol)加入, 升至室温反应 1 h, HPLC 监测反应终点。反应完毕, 反应液经过高效液相制备纯化, 得产品制备液, 制备液冻干, 得到 588 mg 白色固体化合物 51; TOF-MS m/z

(M+H)⁺:2105.8.

于 50 mL 单口瓶中加入化合物 51(500 mg, 0.24 mmol), 10 mL DMF 溶清, 冰水浴下依次加入 PyBOP(188 mg, 0.36 mmol), HOBt(49 mg, 0.36 mmol), 依喜替康·甲磺酸盐(140 mg, 0.26 mmol), 再加入 DIEA(86 μ L, 0.48 mmol), 升至室温反应 2 h, HPLC 监测反应终点。反应完毕, 反应液经过高效液相制备纯化, 得产品制备液, 制备液冻干, 得到 403 mg 固体化合物 52; TOF-MS m/z (M+Na)⁺:2544.0.

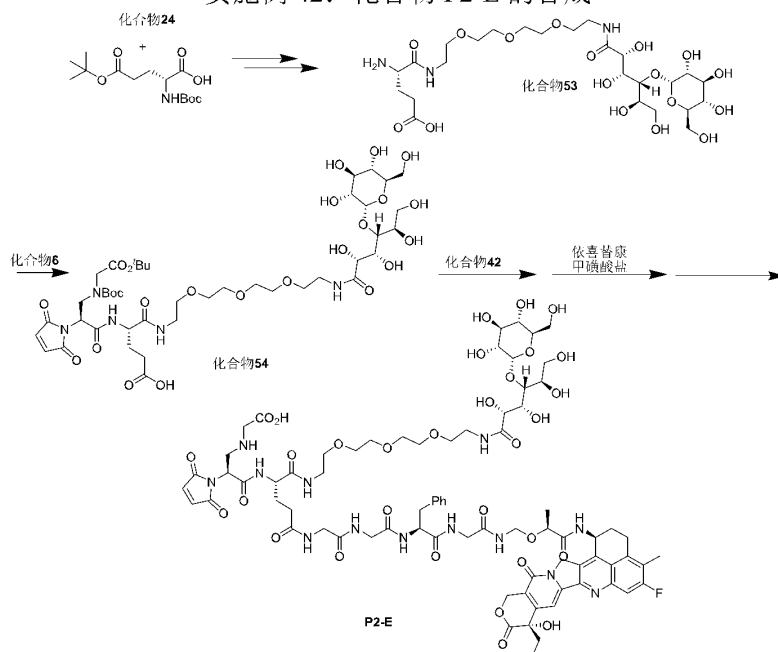
于 25 mL 单口瓶中加入化合物 52(60 mg, 0.024 mmol), 5 mL 硝基甲烷溶清, 再加入溴化锌(109 mg, 0.48 mmol), 室温反应 1h, HPLC 监测反应进程。反应结束后, 反应液经水泵 45 °C 减压浓缩, 得到粗品。粗品经高效制备液相纯化, 得产品制备液, 制备液经冻干, 称量, 得到 29 mg 化合物 P2-C; TOF-MS m/z(M+H)⁺:2365.9.

实施例 41: 化合物 P2-D 的合成



参照实施例 39 及 40 的合成路线, 得到 24 mg 化合物 P2-D; TOF-MS m/z(M+H)⁺:2500.3.

实施例 42: 化合物 P2-E 的合成

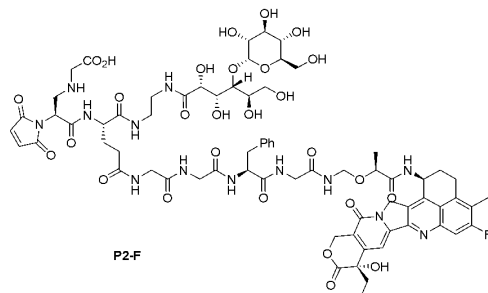


参照实施例 29 的合成路线, 得到化合物 53;

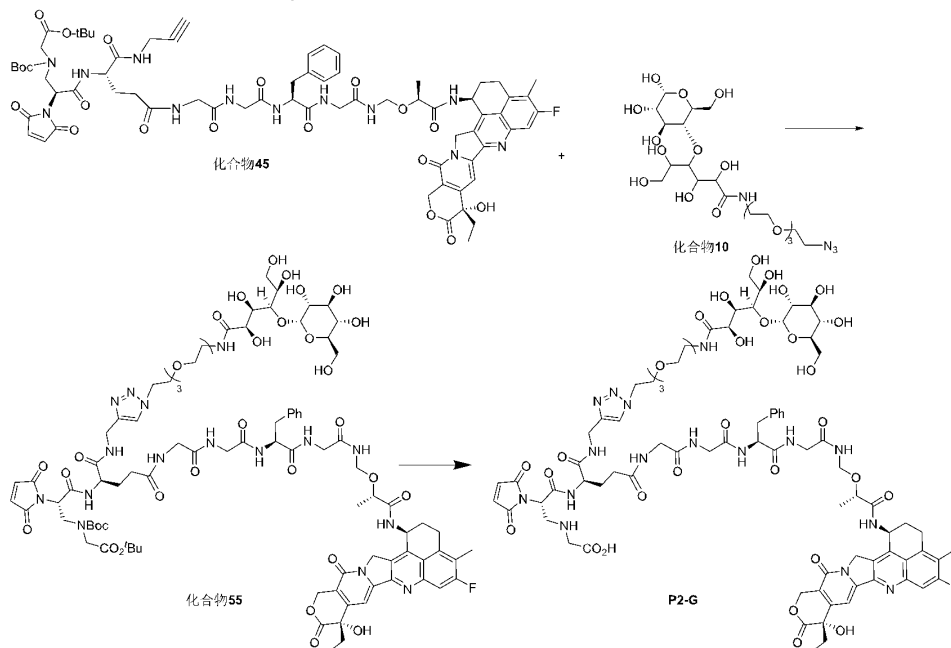
参照实施例 31 的合成路线, 得到化合物 54;

参照实施例 40 的合成路线, 得到 33 mg 化合物 P2-E; TOF-MS m/z(M+Na)⁺:1244.8.

实施例 43: 化合物 P2-F 的合成



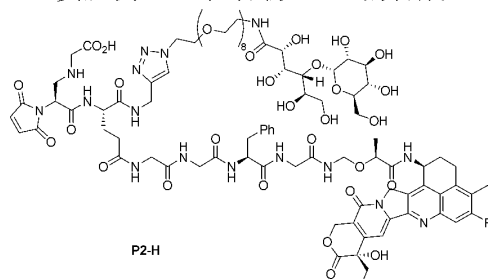
参照实施例 39 及 40 的合成路线,得到 16 mg 化合物 P2-F; TOF-MS $m/z(M+H)^+$:1590.7.
 实施例 44: 化合物 P2-G 的合成



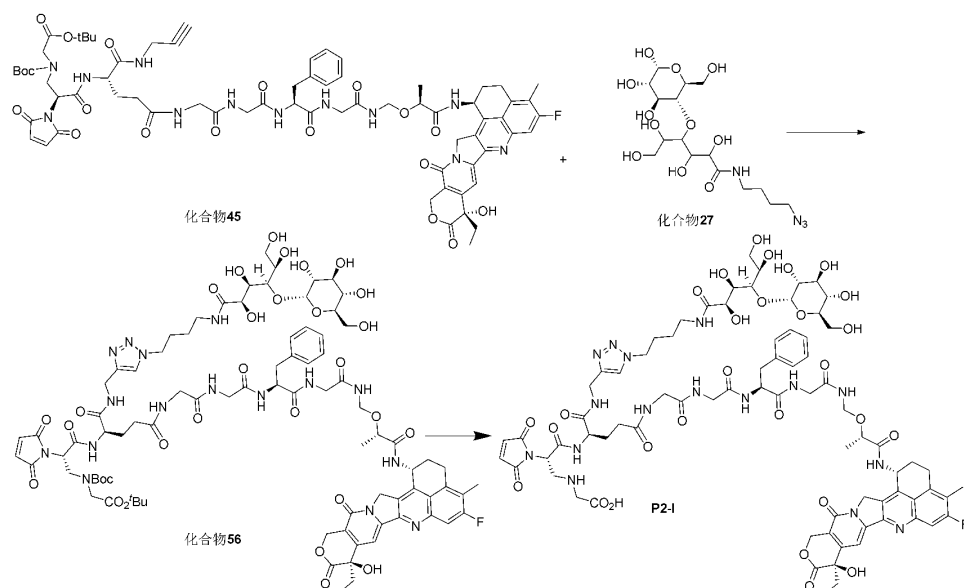
5 于 25mL 单口瓶中加入化合物 45(50 mg, 0.035 mmol)、化合物 10(20 mg, 0.035mmol), 5 mLDMF 溶清, 再加入碘化亚铜(2 mg, 0.007mmol), TEA(10 uL, 0.07 mmol), 升温至 50 °C 反应 10 h, HPLC 监测反应进程。反应结束后, 反应液经高效制备液相纯化, 得产品制备液, 制备液经冻干, 称量, 得到产品 43 mg; TOF-MS $m/z(M+Na)^+$:1981.9.

10 于 25mL 单口瓶中加入化合物 55(40 mg, 0.02 mmol), 3 mL 硝基甲烷溶清, 再加入溴化锌(92 mg, 0.4 mmol, 20 eq), 室温反应 1 h, 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。粗品经高效制备液相纯化, 得产品制备液, 制备液经冻干, 称量, 得到 25 mg 产品 P2-G; TOF-MS $m/z(M+H)^+$:1803.7.

实施例 45: 化合物 P2-H 的合成



15 参照实施例 44 的合成路线, 得到 16 mg 化合物 P2-H; TOF-MS $m/z(M+H)^+$:2023.9.
 实施例 46: 化合物 P2-I 的合成

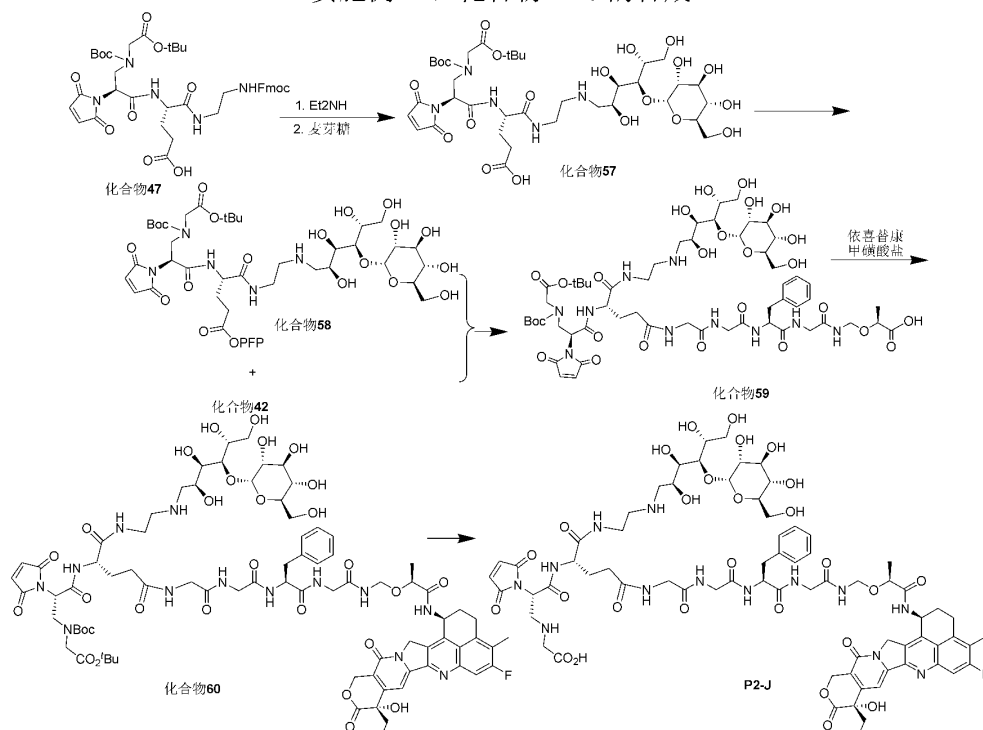


于 25mL 单口瓶中加入化合物 45(50 mg, 0.035 mmol)、化合物 27(16 mg, 0.035 mmol), 5 mLDMF 溶清, 再加入碘化亚铜(2 mg, 0.007mmol), TEA(10 uL, 0.07 mmol), 升温至 50 °C 反应 10 h, HPLC 监测反应进程。反应结束后, 反应液经高效制备液相纯化, 得产品制备液, 制备液冻干, 称量, 得到产品 43mg; TOF-MS $m/z(M+H)^+$: 1955.9.

于 25mL 单口瓶中加入化合物 56(40 mg, 0.021 mmol), 5mL 硝基甲烷溶清, 再加入溴化锌(97 mg, 0.42 mmol), 室温反应 1 h, 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。粗品经高效制备液相纯化, 得产品制备液, 制备液经冻干, 称量, 得到 25 mg 化合物 P2-I; TOF-MS $m/z(M+H)^+$: 1699.7.

10

实施例 47: 化合物 P2-J 的合成



于 50 mL 单口瓶中加入化合物 47(3.0 g, 3.78 mmol), 15 mLDMF 溶清, 再加入 3 mL 二

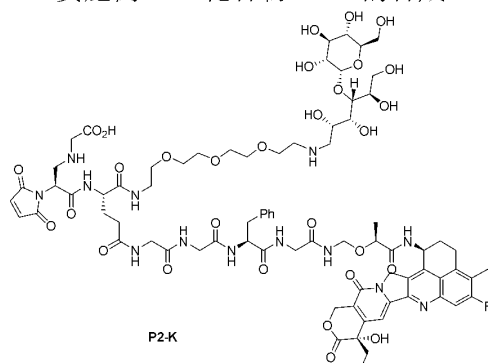
乙胺, 室温搅拌 1 h, TLC 监测反应终点。反应结束后, 将反应液减压浓缩除去 DMF 及二乙胺, 得粗品。粗品用 20 mL 甲醇溶解, 加入麦芽糖(1.29 g, 3.78 mmol), 氮气保护下室温反应 2h, 冰水浴下分批加入 NaBH_4 (285 mg, 7.56 mmol), 反应 30 min, TLC 监测反应终点。反应结束后, 加入 20 mL 水, 用乙酸乙酯萃取三次 (30mL×3), 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液洗涤三次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得粗品。粗品经高效液相制备纯化, 冻干, 称量, 得固体 1.4 g; LC-MS m/z ($M+H$)⁺:896.3.

取 25 mL 单口瓶中加入化合物 57(677 mg, 0.75 mmol), 15 mL DMF 溶清, 冰水浴下加入 DCC(780 mg, 3.78 mmol), 五氟苯酚(153 mg, 0.83 mmol), 升至室温反应 2 h, TLC 监测反应终点。反应完毕, 过滤, 得滤液; 在冰水浴下, 将 DIEA(187 uL, 1.13 mmol)加至上述滤液中, 再将化合物 42 (0.75 mmol) 加入, 升至室温反应 1 h, HPLC 监测反应终点。反应完毕, 反应液经过高效液相制备纯化, 得产品制备液, 制备液冻干, 得到 350 mg 白色固体化合物 59; LC-MS m/z ($M+H$)⁺:1315.6.

于 50mL 单口瓶中加入 59 (200 mg, 0.15 mmol), 10 mL DMF 溶清, 冰水浴下依次加入 PyBOP(118 mg, 0.22 mmol), HOBT (31 mg, 0.22 mmol), 依喜替康甲磺酸盐(80 mg, 0.15 mmol), 再加入 DIEA(75 uL, 0.45 mmol), 升至室温反应 2 h, HPLC 监测反应终点。反应完毕, 反应液经过高效液相制备纯化, 得产品制备液, 制备液冻干, 得到 150 mg 白色固体化合物 60; TOF-MS m/z ($M+H$)⁺: 1732.7.

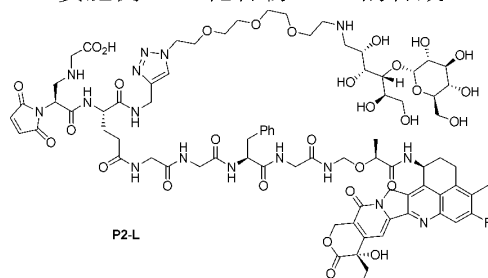
于 25mL 单口瓶中加入化合物 60(50 mg, 0.028 mmol), 5 mL 硝基甲烷溶清, 再加入溴化锌(130 mg, 0.57 mmol), 室温反应 1 h, HPLC 监测反应进程。反应结束后, 反应液经水泵 45 °C 减压浓缩, 得到粗品。粗品经高效制备液相纯化, 得产品制备液, 制备液经冻干, 称量, 得到 30 mg 产品; TOF-MS m/z ($M+H$)⁺: 1576.6.

实施例 48: 化合物 P2-K 的合成



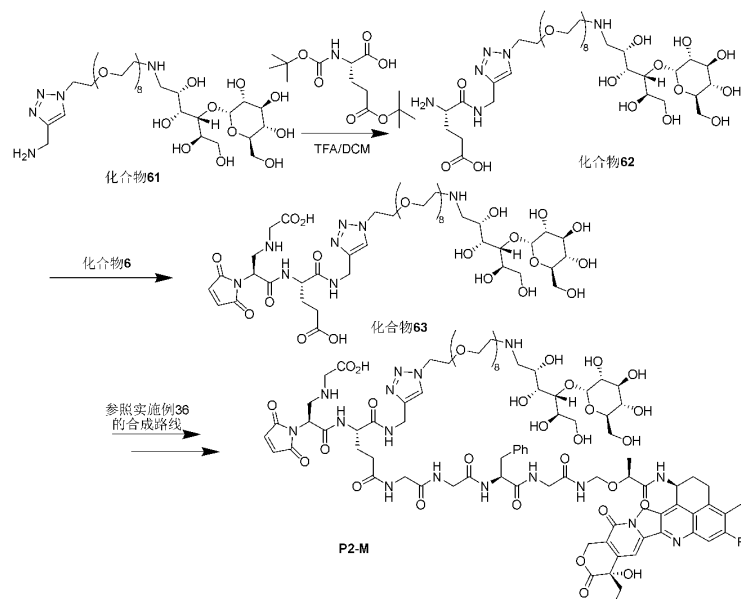
参照实施例 47 的合成路线, 得到 28 mg 化合物 P2-K; TOF-MS m/z ($M+H$)⁺:1708.7.

实施例 49: 化合物 P2-L 的合成



参照实施例 47 的合成路线, 得到 33 mg 化合物 P2-L; TOF-MS m/z ($M+H$)⁺:1789.8.

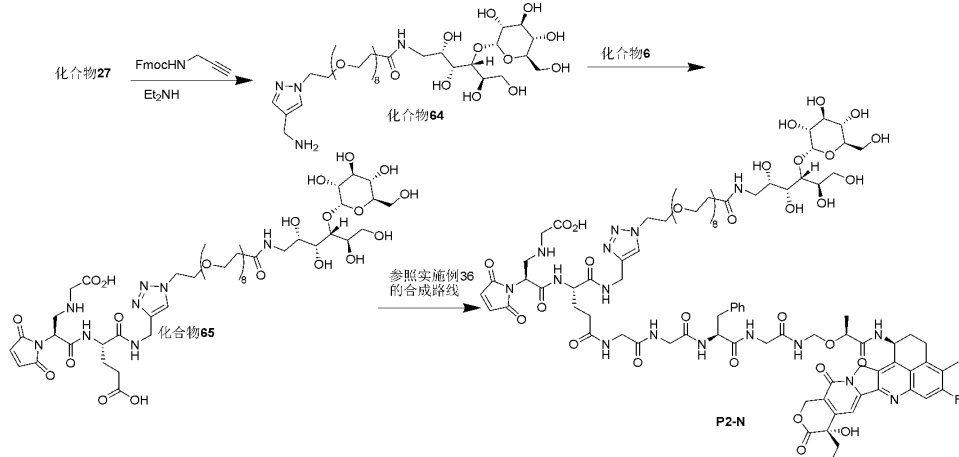
实施例 50: 化合物 P2-M 的合成



参照化合物 30 的合成路线制备 77 mg 化合物 61; LC-MS m/z (M+H)⁺:820.9.

参照实施例 40 的合成路线制备 15 mg 化合物 P2-M; TOF-MS m/z (M+H)⁺:2010.0.

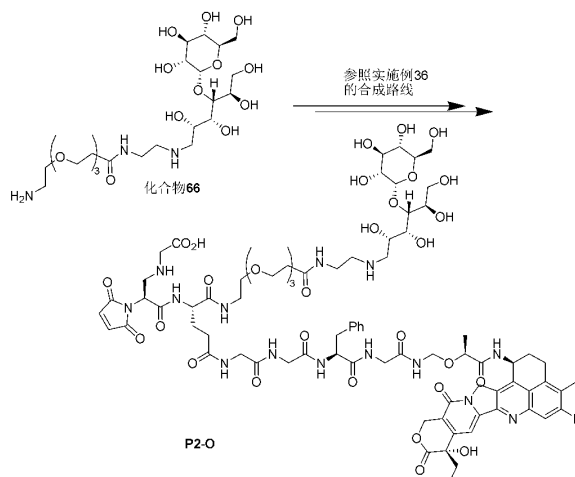
实施例 51: 化合物 P2-N 的合成



参照化合物 30 的合成路线制备 62 mg 化合物 64; LC-MS m/z (M+H)⁺:496.5.

参照实施例 40 的合成路线制备 23 mg 化合物 P2-N; TOF-MS m/z (M+Na)⁺:1707.7.

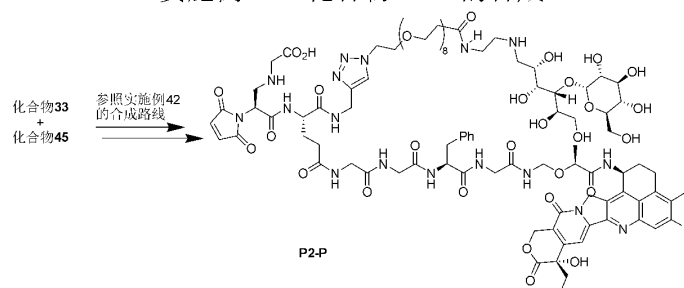
实施例 52: 化合物 P2-O 的合成



参照化合物 32 的合成路线制备 71 mg 化合物 66; LC-MS m/z (M+H)⁺:590.6.

参照实施例 40 的合成路线制备 34 mg 化合物 P2-O; TOF-MS m/z (M+Na)⁺:1801.9.

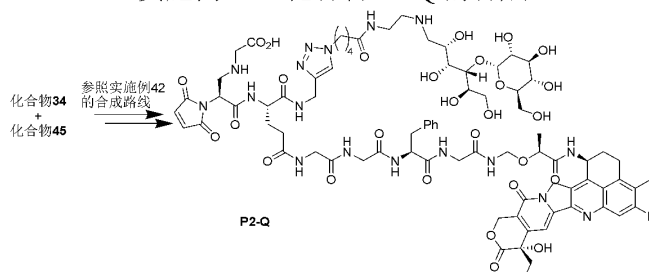
实施例 53: 化合物 P2-P 的合成



5

参照实施例 46 的合成路线制备 20 mg 化合物 P2-P; TOF-MS m/z (M+H)⁺:2081.1.

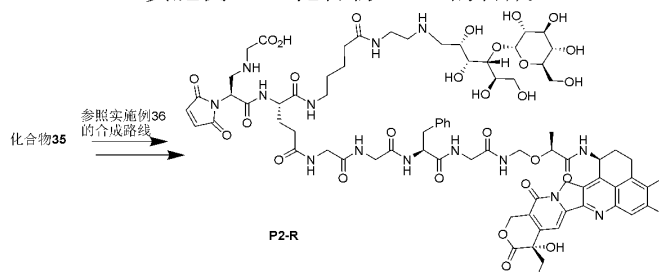
实施例 54: 化合物 P2-Q 的合成



参照实施例 46 的合成路线制备 29 mg 化合物 P2-Q; TOF-MS m/z (M+H)⁺:1756.7.

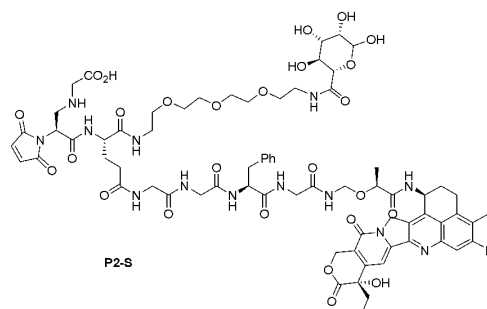
10

实施例 55: 化合物 P2-R 的合成



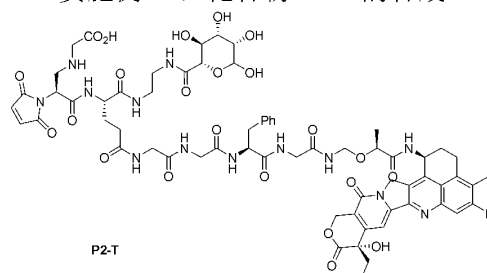
参照实施例 40 的合成路线制备 18 mg 化合物 P2-R; TOF-MS m/z (M+H)⁺:1675.9.

实施例 56: 化合物 P2-S 的合成



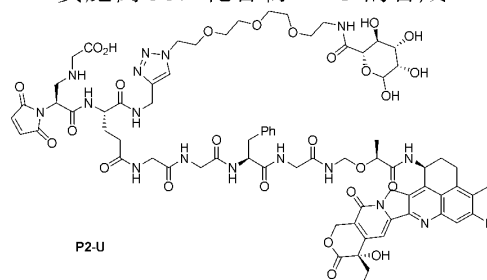
参照实施例 40 的合成路线制备 33 mg 化合物 P2-S; TOF-MS m/z (M+H)⁺:1558.9。

实施例 57: 化合物 P2-T 的合成



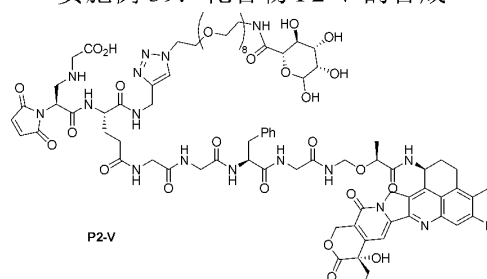
5 参照实施例 40 的合成路线制备 42 mg 化合物 P2-T; TOF-MS m/z (M+H)⁺:1426.8。

实施例 58: 化合物 P2-U 的合成



参照实施例 46 的合成路线制备 30 mg 化合物 P2-U; TOF-MS m/z (M+H)⁺:1640.1。

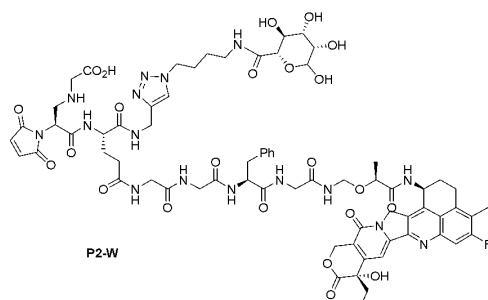
实施例 59: 化合物 P2-V 的合成



10

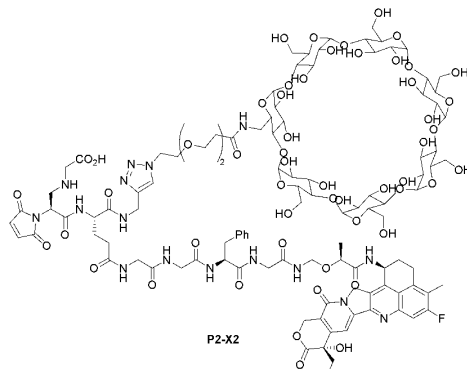
参照实施例 46 的合成路线制备 18 mg 化合物 P2-V; TOF-MS m/z (M+H)⁺:1860.0。

实施例 60: 化合物 P2-W 的合成



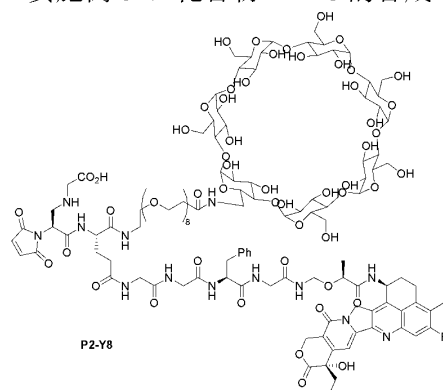
参照实施例 46 的合成路线制备 21 mg 化合物 P2-W; TOF-MS m/z ($M+H$)⁺:1535.8。

实施例 61: 化合物 P2-X2 的合成



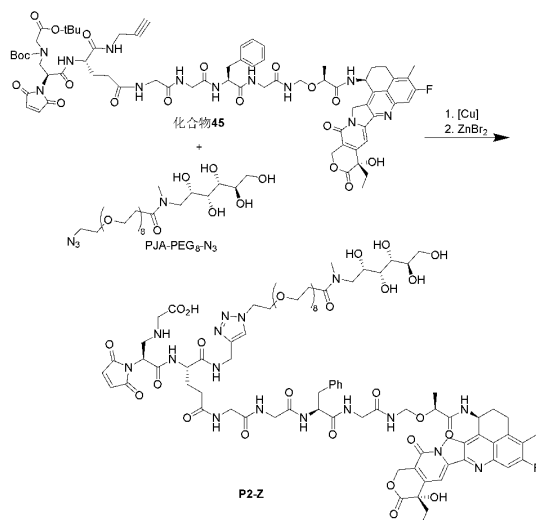
5 参照实施例 37 的合成路线制备 11 mg 化合物 P2-X2; TOF-MS m/z ($M+H$)⁺:2563.9238。

实施例 62: 化合物 P2-Y8 的合成



参照实施例 40 的合成路线制备 12 mg 化合物 P2-Y8; TOF-MS m/z ($M+H$)⁺:2747.0488。

实施例 63: 化合物 P2-Z 的合成

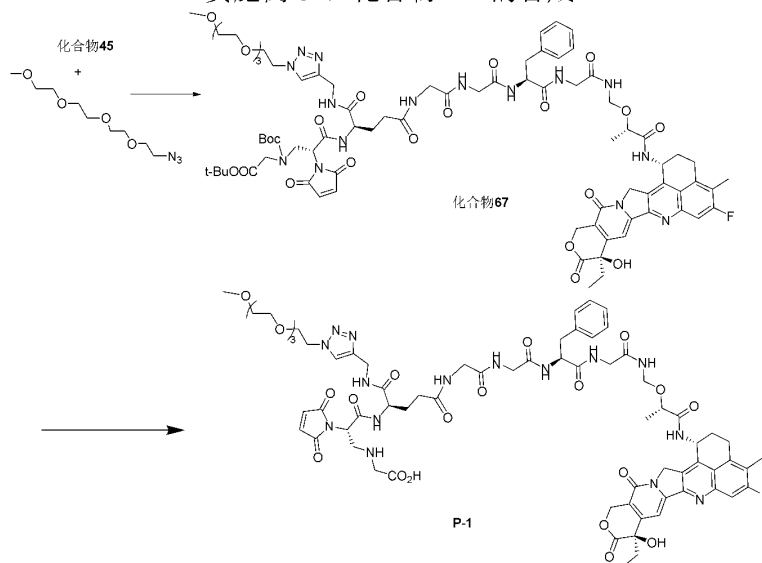


化合物 45(70 mg, 0.05 mmol)、PJA-PEG8-N3(32 mg, 0.05 mmol), 5 mLDMF 溶清, 再加入碘化亚铜(1 mg, 0.005mmol), 三乙胺(14 uL, 0.1 mmol), 升温至 50 °C 反应过夜, HPLC 监测反应进程。反应结束后, 反应液经高效制备液相纯化, 得产品制备液, 制备液冻干, 得到 69 mg 产品。

于 25 mL 单口瓶中加入上述化合物 (69 mg), 5 mL 硝基甲烷溶清, 再加入溴化锌(230 mg, 1 mmol), 室温反应 1 h, 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。粗品经高效制备液相纯化, 得产品制备液, 制备液经冻干, 得到 44 mg 化合物 P2-Z; TOF-MS m/z ($M+H$)⁺:1889.8077。

10

实施例 64: 化合物 P-1 的合成

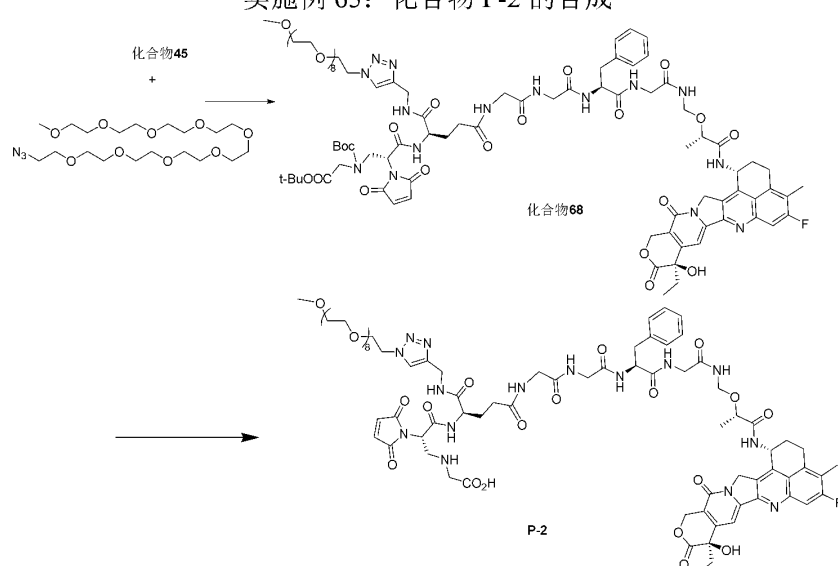


化合物 45(50 mg, 0.035 mmol)、1-甲氧基-11-叠氮-3,6,9-三氧杂烷(8.3 mg, 0.035 mmol), 5 mLDMF 溶清, 再加入碘化亚铜(1.4 mg, 0.007mmol), 三乙胺(10 uL, 0.07 mmol), 升温至 50 °C 反应 10 h, HPLC 监测反应进程。反应结束后, 反应液经高效制备液相纯化, 得产品制备液, 制备液冻干, 得到 41 mg 产品; TOF-MS m/z ($M+H$)⁺:1634.7。

15

于 25 mL 单口瓶中加入化合物 67(40 mg, 0.024 mmol), 5 mL 硝基甲烷溶清, 再加入溴化锌(110 mg, 0.48 mmol), 室温反应 1 h, 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。粗品经高效制备液相纯化, 得产品制备液, 制备液经冻干, 得到 25 mg 化合物 P-1; TOF-MS m/z ($M+H$)⁺:1478.6。

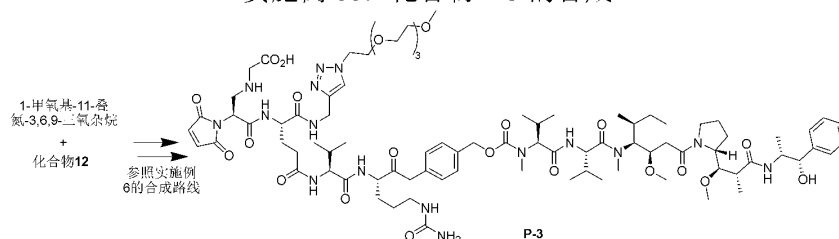
实施例 65: 化合物 P-2 的合成



化合物 45(50 mg, 0.035 mmol)、28-叠氮基-2,5,8,11,14,17,20,23,26-九氧杂二十八烷(16.1 mg, 0.035 mmol), 5 mL DMF 溶清, 再加入碘化亚铜(1.4 mg, 0.007 mmol), 三乙胺(10 μ L, 0.07 mmol), 升温至 50 $^{\circ}$ C 反应 10 h, HPLC 监测反应进程。反应结束后, 反应液经高效制备液相纯化, 得产品制备液, 制备液冻干, 得到 45 mg 产品; TOF-MS m/z (M+H) $^{+}$:1853.8.

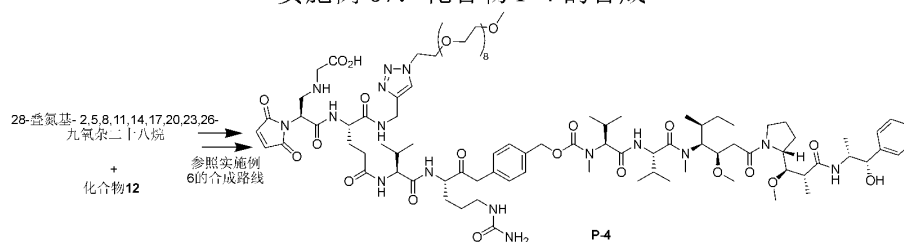
于 25 mL 单口瓶中加入化合物 68(40 mg, 0.021 mmol), 5 mL 硝基甲烷溶清, 再加入溴化锌(97 mg, 0.43 mmol), 室温反应 1 h, HPLC 监测反应进程。反应结束后, 反应液经水泵 45 $^{\circ}$ C 减压浓缩, 得到粗品。粗品经高效制备液相纯化, 得产品制备液, 制备液经冻干得到 24 mg 化合物 P-2; TOF-MS m/z (M+H) $^{+}$:1698.7.

实施例 66: 化合物 P-3 的合成



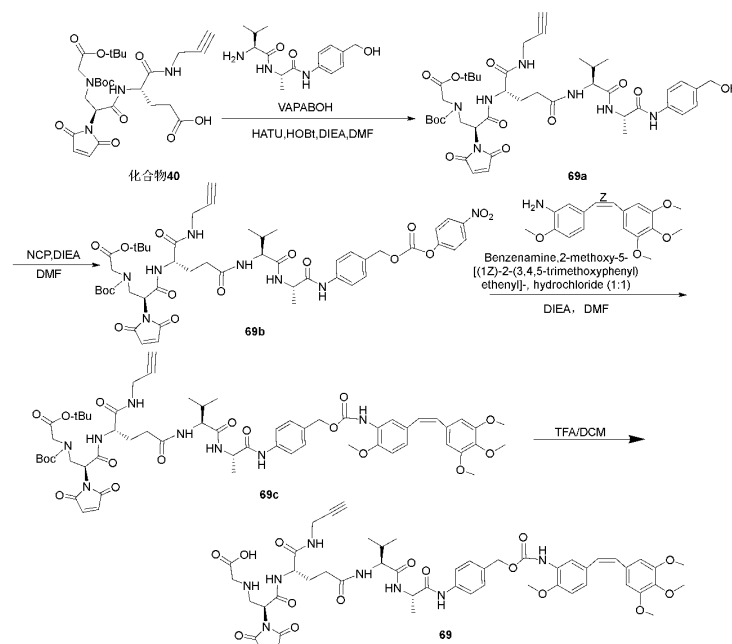
参照实施例 6 的合成路线制备 21 mg 化合物 P-3; TOF-MS m/z (M+H) $^{+}$:1746.1。

实施例 67: 化合物 P-4 的合成



参照实施例 6 的合成路线制备 26 mg 化合物 P-4; TOF-MS m/z (M+H) $^{+}$:1966.3。

实施例 68: 化合物 69 的合成



第一步：化合物 69a 的合成

于 100 mL 单口瓶中，加入化合物 40(10 g, 17.7 mmol)，化合物 VAPAB-OH (5.19 g, 17.7 mmol)，30 mL DMF 溶解，再加入 HATU(8.08 g, 21.2 mmol)，HOBT(2.87 g, 21.2 mmol)及
 5 DIEA(4.38 mL, 26.5 mmol)，室温反应 2 h，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 69a(9.3g)，收率 62.6%，LCMS: $[M+H]^+=840.4$ 。

第二步：化合物 69b 的合成

于 100 mL 单口瓶中，加入化合物 69a(9 g, 10.7 mmol)，化合物 NPC(16.2 g, 53.5 mmol)，
 10 30 mL DMF 溶解，再加入 DIEA(3.24 mL, 32.1 mmol)，室温反应 3 h，TLC 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 69b (8.23g)，收率 76.5%，LCMS: $[M+H]^+=1005.4$ 。

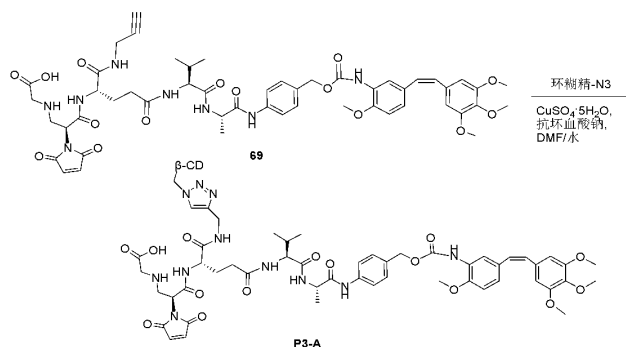
第三步：化合物 69c 的合成

于 25mL 单口瓶中，加入化合物 69b(100 mg, 0.099 mmol)，Benzenamine, 2-methoxy-5-
 15 [(1Z)-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethenyl]-, hydrochloride (1:1) (31.3 mg, 0.099 mmol)，5 mL DMF 溶解，再加入 DIEA(32.8 uL, 0.199 mmol)，室温反应 2 h，HPLC 监测反应终点。反应结束后，反应液经过高效液相制备纯化，得到产品制备液，制备液冻干，得到化合物 69c(75.8 mg)，收率 64.5%，LCMS: $[M+H]^+=1181.5$ 。

第四步：化合物 69 的合成

于 25mL 单口瓶中，加入化合物 69c(75 mg, 0.063 mmol)，2 mL DCM 溶解，加入 4 mL
 20 TFA，室温反应 2h，HPLC 监测反应终点。反应结束后，水泵减压 45℃浓缩除去溶剂，得残余物。残余物经过高效液相制备纯化，得到产品制备液，制备液冻干，得到化合物 69(49.6mg)，收率 76.3%，LCMS: $[M+H]^+=1025.4$ 。

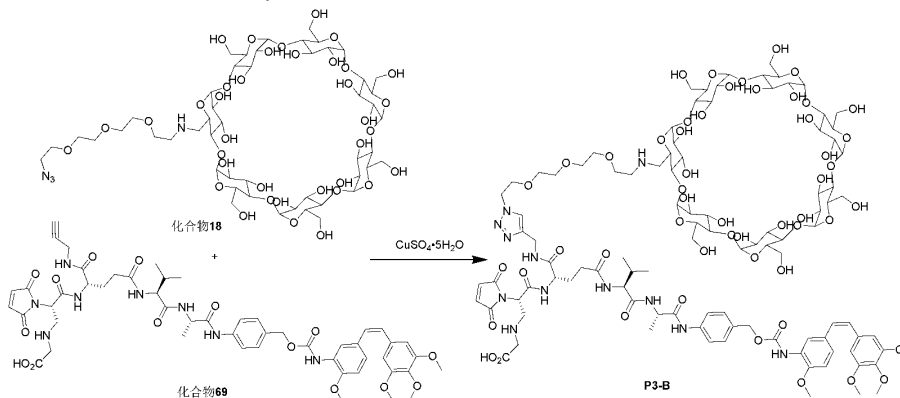
实施例 69：化合物 P3-A 的合成



第一步：化合物 P3-A 的合成

于 25mL 单口瓶中, 加入化合物 69(25 mg, 0.024 mmol), 环糊精-N₃(28.2 mg, 0.024 mmol), 5 mL DMF 及 2.5 mL 水溶解, 再加入 CuSO₄·5H₂O(6.7 mg, 0.026 mmol), 抗坏血酸钠(5.3 mg, 0.026 mmol), 室温反应 1h, HPLC 监测反应终点。反应结束后, 反应液经过高效液相制备纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干, 得到化合物 P3-A (40.6mg), TOF: [M+Na]⁺=2206.7。

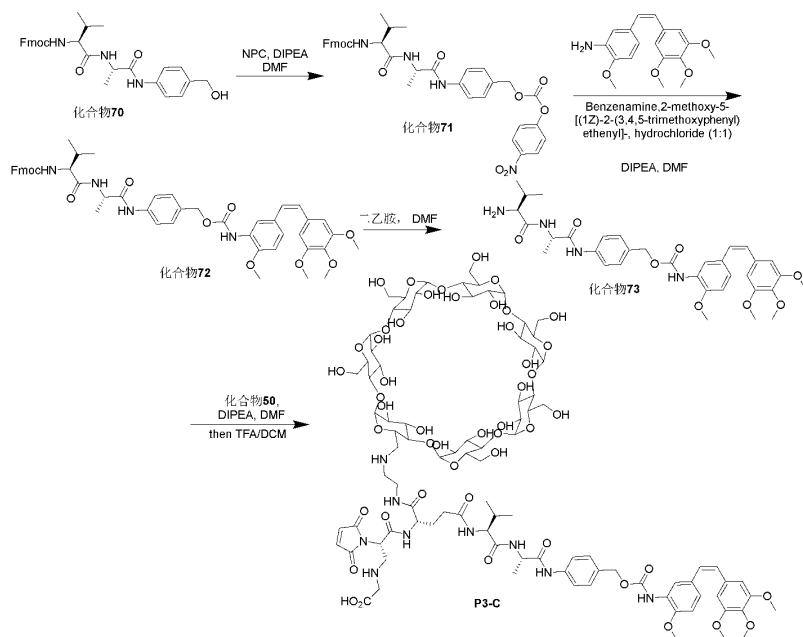
实施例 70：化合物 P3-B 的合成



第一步：化合物 P3-B 的合成

于 25mL 单口瓶中, 加入化合物 69(25 mg, 0.024 mmol), 化合物 18(27.2 mg, 0.024 mmol), 5 mL DMF 及 2.5 mL 水溶解, 再加入 CuSO₄·5H₂O(6.7 mg, 0.026 mmol), 抗坏血酸钠(5.3 mg, 0.026 mmol), 室温反应 1h, HPLC 监测反应终点。反应结束后, 反应液经过高效液相制备纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干, 得到化合物 P3-B (34.5 mg), TOF: [M+H]⁺=2360.1。

实施例 71：化合物 P3-C 的合成



第一步：化合物 71 的合成

于 100mL 单口瓶中，加入化合物 70(5 g, 9.7 mmol)，化合物 NPCl₂(14.7 g, 48.5 mmol)，30 mL DMF 溶解，再加入 DIEA(4.9 mL, 48.5 mmol)，室温反应 3 h，TLC 监测反应终点。
 5 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 71 (7.66g)，LCMS: [M+H]⁺=516.3。

第二步：化合物 72 的合成

于 25mL 单口瓶中，加入化合物 71(4 g, 7.76 mmol)，Benzenamine, 2-methoxy-5-[(1Z)-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethenyl]-, hydrochloride (1:1) (2.45 g, 7.76 mmol)，15 mL DMF 溶解，
 10 再加入 DIEA(2.56 mL, 15.5 mmol)，室温反应 2 h，HPLC 监测反应终点。反应结束后，反应液经过高效液相制备纯化，得到产品制备液，制备液冻干，得到化合物 72(4.1 g)，LCMS: [M+H]⁺=857.5。

第三步：化合物 73 的合成

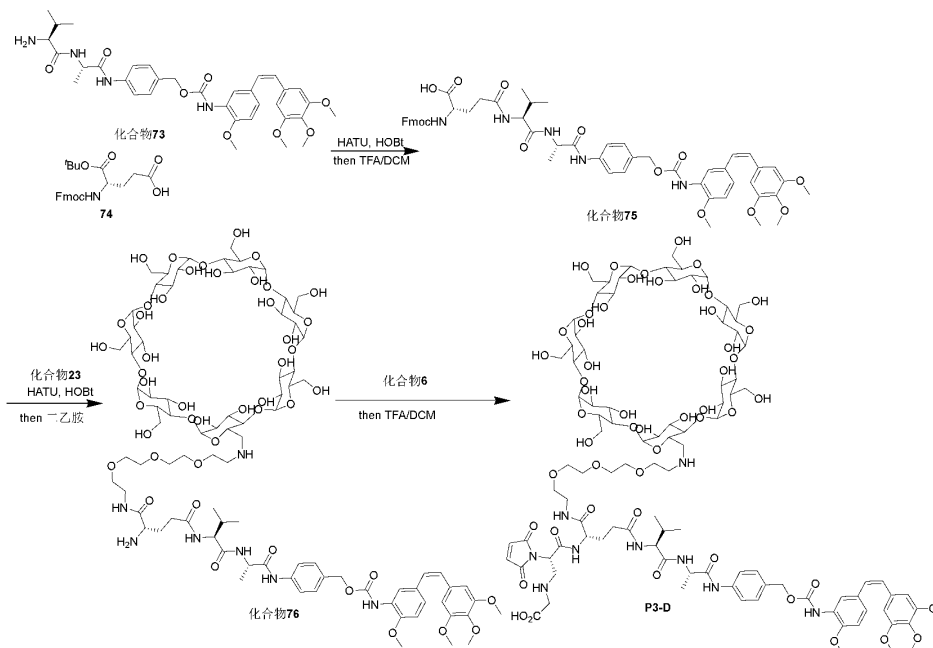
于 50 mL 单口瓶中，加入化合物 72(4 g)，27 mL DMF 溶解，再加入二乙胺(3 mL)，
 15 室温反应 4 h，HPLC 监测反应终点。反应结束后，油泵减压浓缩反应液，所得黄色油状物经过高效液相制备纯化，得到产品制备液，制备液冻干，得到化合物 73(2.8 g)，LCMS: [M+H]⁺=635.5。

第四步：化合物 P3-C 的合成

于 25mL 单口瓶中，加入化合物 73(80 mg, 0.126 mmol)，5 mL DMF 溶解，加入 DIPEA(42
 20 uL, 0.252 mmol)、化合物 50 (0.126 mmol)，室温反应 1 h，HPLC 监测反应终点。反应结束后，水泵减压 45℃浓缩除去溶剂，得残余物直接用于下一步反应。

于 25mL 单口瓶中，加入上述粗品化合物，2 mL DCM 溶解，加入 4 mL TFA，室温反
 25 应 0.5 h，HPLC 监测反应终点。反应结束后，水泵减压 45℃浓缩除去溶剂，得残余物。残余物经过高效液相制备纯化，得到产品制备液，制备液冻干，得到化合物 P3-C(37.7 mg)，TOF: [M+H]⁺= 2146.8。

实施例 72：化合物 P3-D 的合成



第一步：化合物 75 的合成

于 25 mL 单口瓶中加入化合物 73 (200 mg, 0.315 mmol), 10 mL DMF, 室温下加入化合物 74 (134 mg, 0.315 mmol), 冰水浴冷却下依次加入 HATU (240 mg, 0.62 mmol), HOBT (84 mg, 0.62 mmol), DIPEA (0.12 mL), 缓慢升温至室温反应 3 h, TLC 监测基本完全反应, 减压旋除溶剂, 浓缩得到淡黄色油状粗品, 粗品未经纯化直接用于下一步反应。

将上述化合物溶于 3 mL 二氯甲烷中, 冰水浴降温至 0 °C, 缓慢滴加 TFA (1.5 mL), 缓慢升温至室温下反应 5 h, HPLC 监测反应。反应完全后, 反应液于 45 °C 下减压浓缩得黄色油状粗品化合物, 残余物经过高效液相制备纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干, 得到化合物 75 (162.0 mg), LC-MS: $[M+H]^+ = 986.6$ 。

第二步：化合物 76 的合成

于 25 mL 单口瓶中加入化合物 75 (80 mg, 0.081 mmol), 10 mL DMF, 室温下加入化合物 23 (106 mg, 0.081 mmol), 冰水浴冷却下依次加入 HATU (94 mg, 0.243 mmol), HOBT (16.5 mg, 0.122 mmol), DIPEA (14 μ L), 反应 2 h, HPLC 监测完全反应, 经过高效液相制备纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干, 得到中间体化合物直接用于下一步。

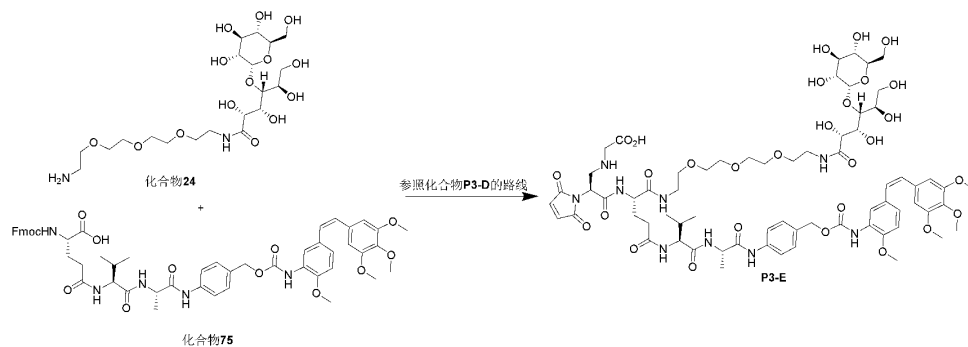
将上述中间体溶于 3 mL DMF 中, 室温下滴加二乙胺 (0.3 mL), 室温下反应 6 h, HPLC 监测反应。反应完全后, 经过高效液相制备纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干, 得到化合物 76 (123.0 mg), TOF: $[M+H]^+ = 2055.1$ 。

第三步：化合物 P3-D 的合成

于 10 mL PE 管中加入化合物 76 (100 mg, 0.042 mmol), 3 mL DMF, 室温下加入化合物 6 (17 mg, 0.042 mmol), 冰水浴冷却下依次加入 HATU (34 mg, 0.084 mmol), HOBT (12.5 mg, 0.084 mmol), DIPEA (22 μ L), 维持室温反应 1 h, HPLC 监测完全反应, 油泵减压旋除溶剂, 浓缩得到淡黄色油状粗品, 粗品未经纯化直接用于下一步反应。

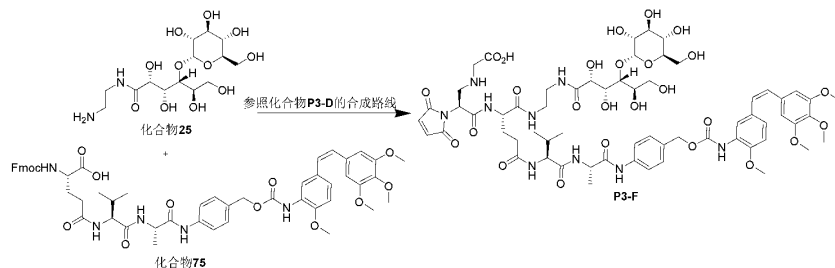
将上述化合物溶于 2 mL 二氯甲烷中, 冰水浴降温至 0 °C, 缓慢滴加 TFA (2 mL), 缓慢升温至室温下反应 2 h, HPLC 监测反应。反应完全后, 反应液于 45 °C 下减压浓缩得黄色油状粗品化合物, 残余物经过高效液相制备纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干, 得到化合物 P3-D (52.0 mg), TOF: $[M+Na]^+ = 2301.1$ 。

实施例 73：化合物 P3-E 的合成



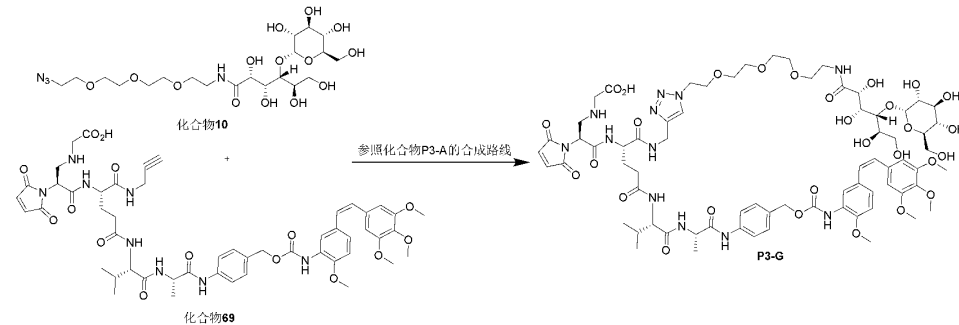
以化合物 75 与化合物 24 为原料, 参照化合物 P3-D 的合成路线, 制备化合物 P3-E(44 mg), LC-MS: $[M+H]^+ = 1502.8$ 。

实施例 74: 化合物 P3-F 的合成



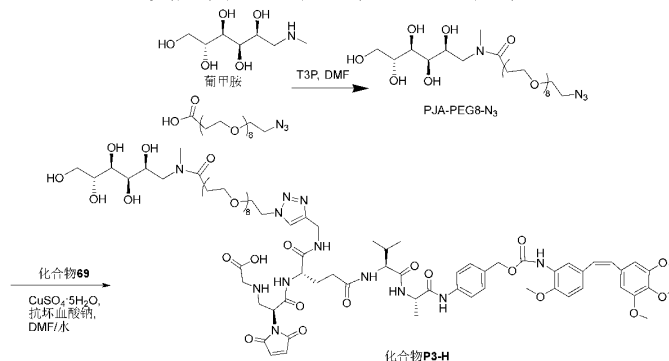
以化合物 75 与化合物 25 为原料, 参照化合物 P3-D 的合成路线, 制备化合物 P3-F(26 mg), LC-MS: $[M+H]^+ = 1370.5$ 。

实施例 75: 化合物 P3-G 的合成



以化合物 69 与化合物 10 为原料, 参照化合物 P3-A 的合成路线, 制备化合物 P3-G(71 mg), TOF: $[M+H]^+ = 1583.6$ 。

实施例 76: 化合物 P3-H 的合成



第一步: 化合物 PJA-PEG8-N3 的合成

于 25mL 单口瓶中, 加入葡甲胺(50 mg, 0.256 mmol), COOH-PEG-8-N3(150 mg, 0.256

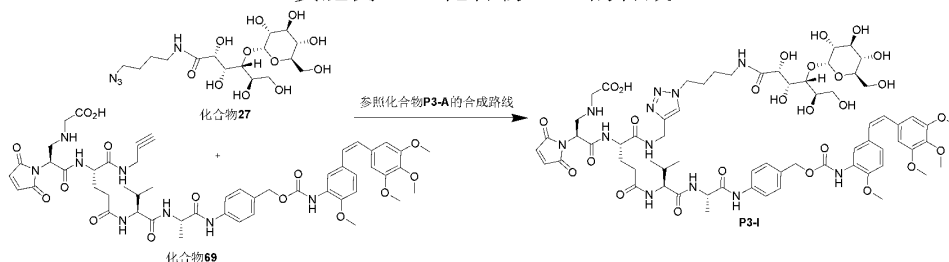
mmol), 5 mLDMF, 室温下加入 T3P(244 mg, 0.384 mmol, 50% in tol), 维持室温下反应 5 h, HPLC 监测反应结束, 反应液经过高效液相制备纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干, 得到化合物 PJA-PEG8-N3 (35mg), LC-MS: $[M+H]^+=645.7$ 。

第二步: 化合物 P3-H 的合成

- 5 于 25mL 单口瓶中, 加入化合物 69(25 mg, 0.024 mmol), PJA-PEG₈-N₃(15.7 mg, 0.024 mmol), 5 mLDMF 及 2.5 mL 水溶解, 再加入 CuSO₄·5H₂O(6.7 mg, 0.026 mmol), 抗坏血酸钠(5.3 mg, 0.026 mmol), 室温反应 1h, HPLC 监测反应终点。反应结束后, 反应液经过高效液相制备纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干, 得到化合物 2 (35mg), 收率 78.6%, TOF: $[M+H]^+=1669.7$ 。

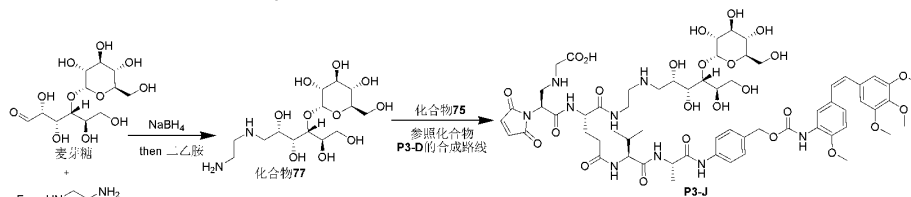
10

实施例 77: 化合物 P3-I 的合成



以化合物 69 与化合物 27 为原料, 参照化合物 P3-A 的合成路线, 制备化合物 P3-I(28 mg), LC-MS: $[M+H]^+=1479.8$ 。

实施例 78: 化合物 P3-J 的合成



15

第一步: 化合物 77 的合成

于 25mL 单口瓶中, 加入麦芽糖(2 g, 5.85 mmol), Fmoc 乙二胺(1.7 g, 6 mmol), 10 mL 无水四氢呋喃溶解, 冰水浴冷却至 0 °C, 再加入硼氢化钠(240 mg, 6 mmol), 缓慢升温至室温反应 1h, HPLC 监测反应终点。反应结束后, 冰水浴冷却下加入丙酮 10 mL 淬灭反应,

20

垫硅藻土过滤, 滤饼用甲醇 200 mL 淋洗, 反应液经过减压浓缩后直接用于下一步;

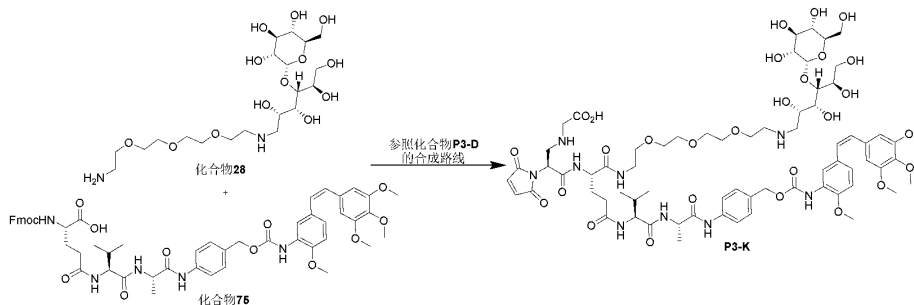
于 25mL 单口瓶中, 加入上述粗品化合物, 加入 8 mLDMF 溶解, 室温下滴加二乙胺 (2 mL), 维持室温下反应 5 h, HPLC 监测反应终点, 反应液经过高效液相制备纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干, 得到化合物 77 (1.1 g), LC-MS: $[M+H]^+=387.4$ 。

第二步: 化合物 P3-J 的合成

25

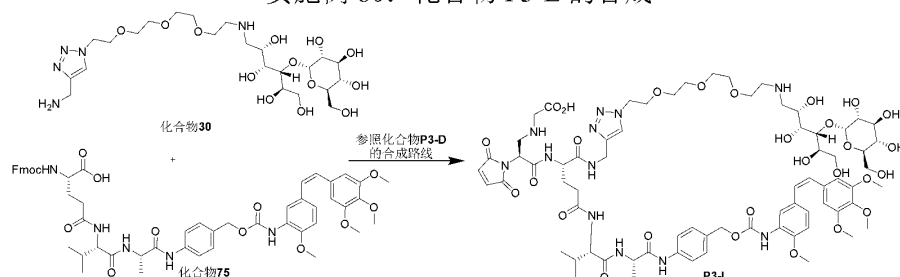
以化合物 75 与化合物 77 为原料, 参照化合物 P3-D 的合成路线, 制备化合物 P3-J(45 mg), LC-MS: $[M+H]^+=1356.9$ 。

实施例 79: 化合物 P3-K 的合成



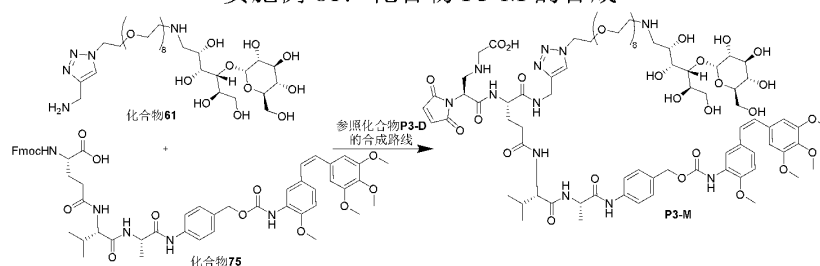
以化合物 75 与化合物 28 为原料, 参照化合物 P3-D 的合成路线, 制备化合物 P3-K(39 mg), LC-MS: $[M+H]^+ = 1488.4$ 。

实施例 80: 化合物 P3-L 的合成



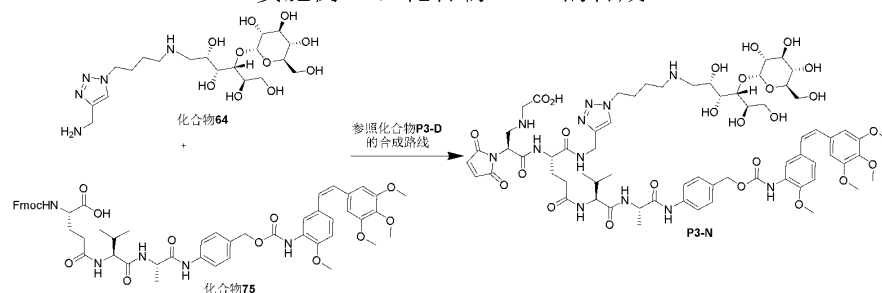
5 以化合物 75 与化合物 30-PEG3 为原料, 参照化合物 P3-D 的合成路线, 制备化合物 P3-L(22 mg), LC-MS: $[M+H]^+ = 1569.6$ 。

实施例 81: 化合物 P3-M 的合成



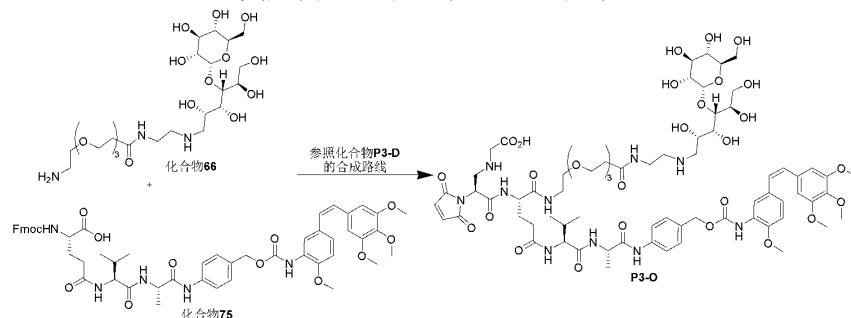
10 以化合物 75 与化合物 61 为原料, 参照化合物 P3-D 的合成路线, 制备化合物 P3-M(29 mg), TOF: $[M+H]^+ = 1790.1$ 。

实施例 82: 化合物 P3-N 的合成



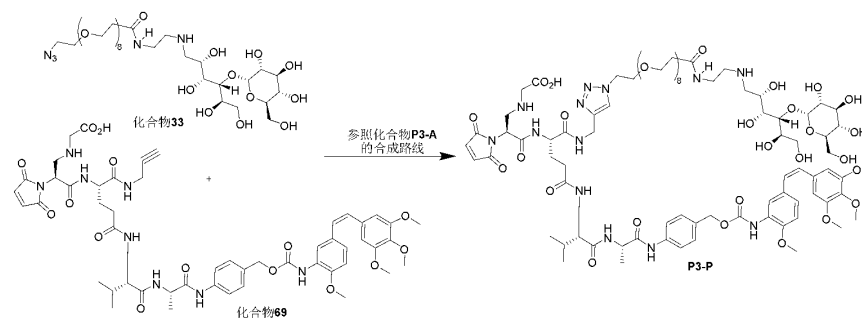
以化合物 75 与化合物 64 为原料, 参照化合物 P3-D 的合成路线, 制备化合物 P3-N(24 mg), TOF: $[M+H]^+ = 1465.7$ 。

15 实施例 83: 化合物 P3-O 的合成



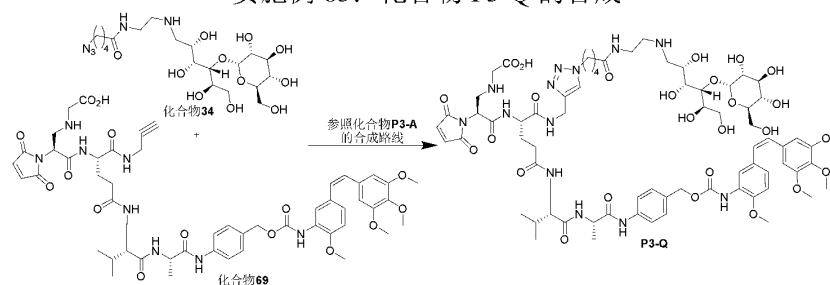
以化合物 75 与化合物 66 为原料, 参照化合物 P3-D 的合成路线, 制备化合物 P3-O(31 mg), TOF: $[M+H]^+ = 1759.6$ 。

实施例 84: 化合物 P3-P 的合成



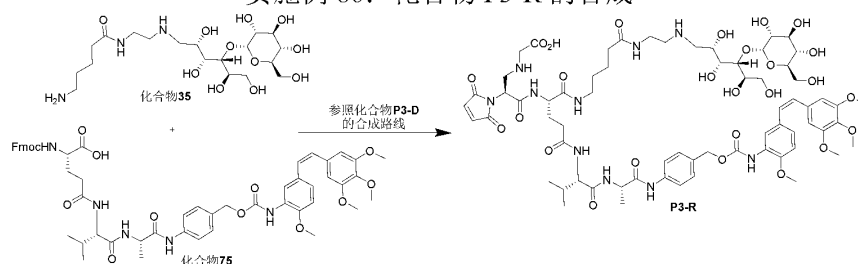
以化合物 69 与化合物 33 为原料，参照化合物 P3-A 的合成路线，制备化合物 P3-P(41 mg)，TOF: $[M+H]^+ = 1861.1$ 。

实施例 85: 化合物 P3-Q 的合成



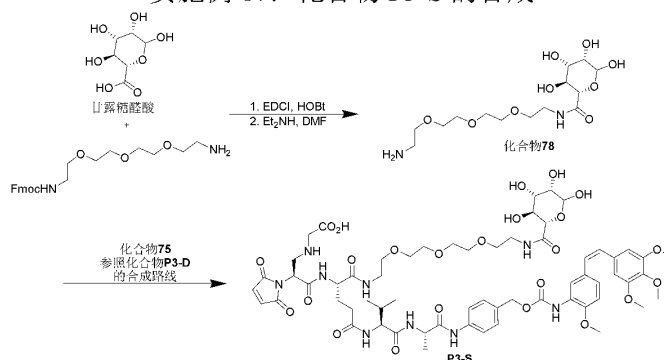
以化合物 69 与化合物 34 为原料，参照化合物 P3-A 的合成路线，制备化合物 P3-Q(36 mg)，TOF: $[M+H]^+ = 1861.1$ 。

实施例 86: 化合物 P3-R 的合成



以化合物 75 与化合物 35 为原料，参照化合物 P3-D 的合成路线，制备化合物 P3-R(18 mg)，TOF: $[M+H]^+ = 1455.9$ 。

实施例 87: 化合物 P3-S 的合成



第一步: 化合物 78 的合成

在 100 mL 单口瓶中加入甘露糖醛酸(5 g, 25.8 mmol)，炔丙胺(11.1 g, 25.8 mmol)，50 mL DMF，溶清，冰水浴降至 0℃ 左右，加入 EDCI(9.9 g, 51.6 mmol)，HOBt(7 g, 51.6 mmol) 及 DIEA(12.7 mL, 77.4 mmol)，升至室温反应 2h，TLC 监测反应终点。反应结束后，将反应

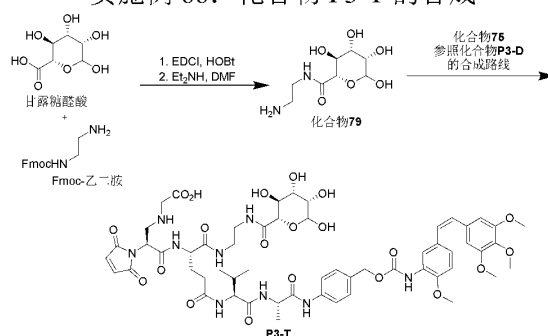
液倒入 100 mL 水中, 加入乙酸乙酯萃取三次(100 mL*3), 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液洗涤两次, 再用无水硫酸钠干燥, 得到粗品化合物直接用于下一步。

于 250 mL 单口瓶中, 加入上述粗品化合物, 50 mL DMF 溶解, 再加入 10 mL 二乙胺, 室温反应 2 h, TLC 监测反应终点。反应结束后, 向反应液中加入 500 mL 甲叔醚, 析出白色固体, 过滤, 干燥, 得化合物 78(3.96 g), LC-MS: $[M-H]^+ = 369.5$ 。

第二步: 化合物 P3-S 的合成

以化合物 75 与化合物 78 为原料, 参照化合物 P3-D 的合成路线, 制备化合物 P3-S(24 mg), TOF: $[M+H]^+ = 1338.4$ 。

实施例 88: 化合物 P3-T 的合成



10

第一步: 化合物 79 的合成

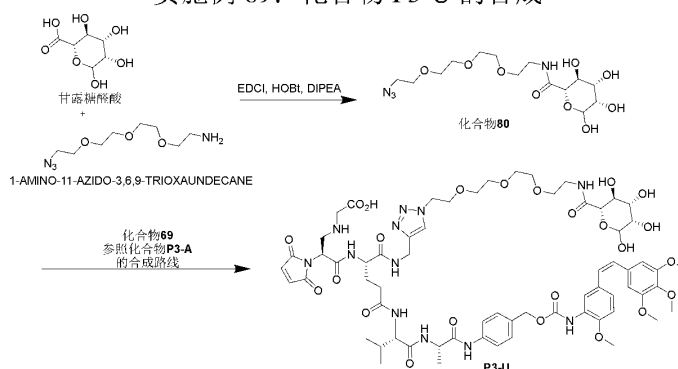
参照化合物 78 的合成路线, 制备 13.2 g 化合物 79, LC-MS: $[M-H]^+ = 237.5$ 。

第二步: 化合物 P3-T 的合成

以化合物 75 与化合物 79 为原料, 参照化合物 P3-D 的合成路线, 制备化合物 P3-T(44 mg), TOF: $[M+H]^+ = 1206.6$ 。

15

实施例 89: 化合物 P3-U 的合成



第一步: 化合物 80 的合成

在 50 mL 单口瓶中加入甘露糖醛酸(1 g, 5.2 mmol), 炔丙胺(2.2 g, 5.2 mmol), 10 mL DMF, 溶清, 冰水浴降至 0°C 左右, 加入 EDCI(2.0 g, 10.3 mmol), HOBt(1.4 g, 10.3 mmol) 及 DIEA(2.6 mL, 15.5 mmol), 升至室温反应 2 h, HPLC 监测反应终点, 反应液经过高效液相制备纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干, 得到化合物 80 (0.97 g), LC-MS: $[M+H]^+ = 395.6$ 。

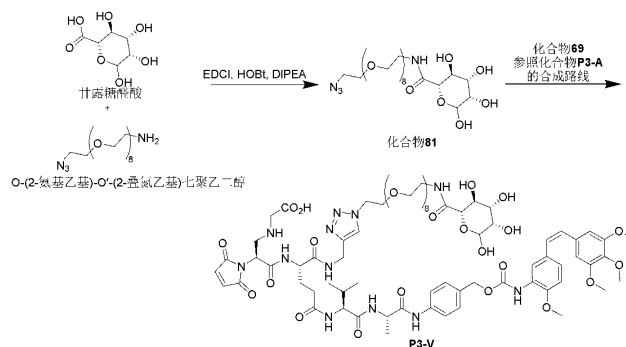
20

第二步: 化合物 P3-U 的合成

以化合物 69 与化合物 80 为原料, 参照化合物 P3-A 的合成路线, 制备化合物 P3-U(16 mg), TOF: $[M+H]^+ = 1419.8$ 。

25

实施例 90: 化合物 P3-V 的合成



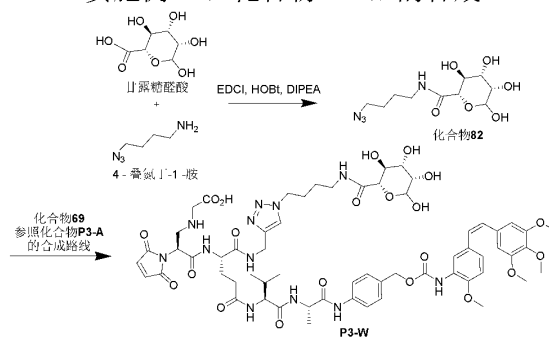
第一步：化合物 81 的合成

参照化合物 80 的合成得到化合物 81 (0.49 g), LC-MS: $[M+H]^+=615.4$ 。

第二步：化合物 P3-V 的合成

- 5 以化合物 69 与化合物 81 为原料, 参照化合物 P3-A 的合成路线, 制备化合物 P3-V(30 mg), TOF: $[M+H]^+=1639.9$ 。

实施例 91: 化合物 P3-W 的合成



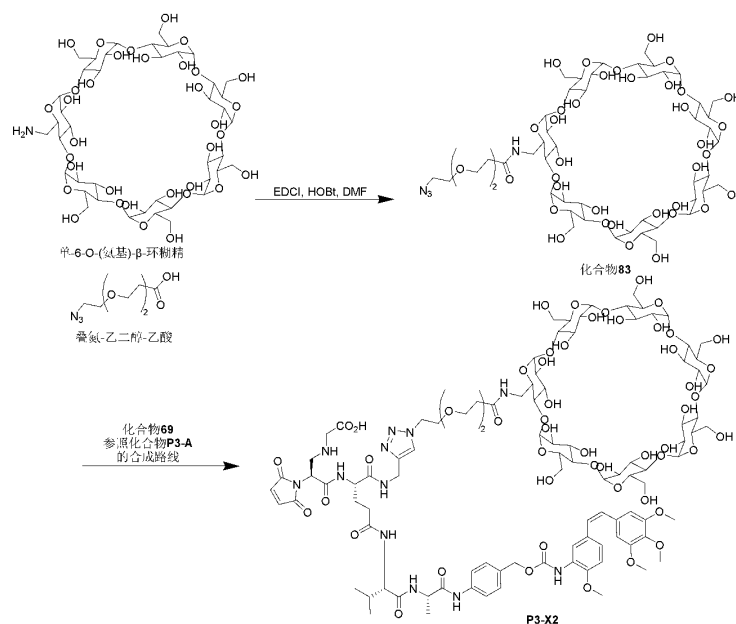
第一步：化合物 82 的合成

- 10 参照化合物 80 的合成得到化合物 82(2.17 g), LC-MS: $[M+H]^+=291.1$ 。

第二步：化合物 P3-W 的合成

以化合物 69 与化合物 82 为原料, 参照化合物 P3-A 的合成路线, 制备化合物 P3-W(35 mg), TOF: $[M+H]^+=1315.8$ 。

实施例 92: 化合物 P3-X2 的合成



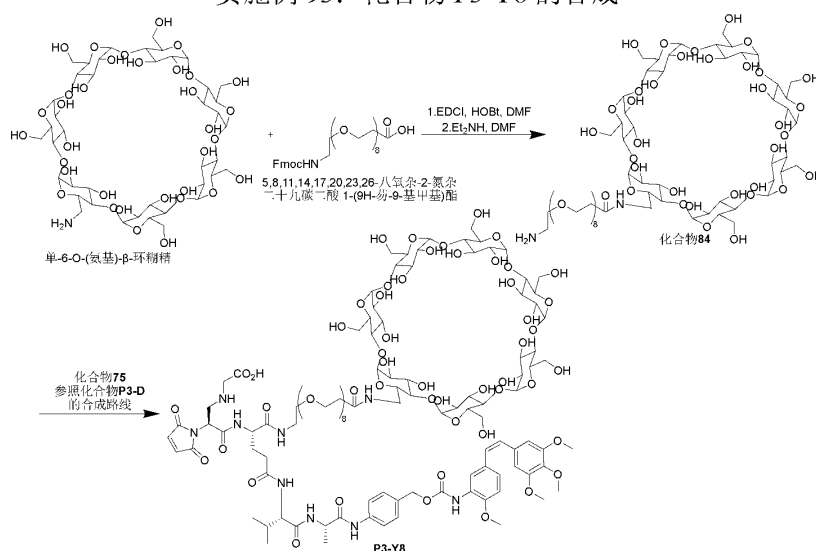
第一步：化合物 83 的合成

在 25 mL 单口瓶中加入单-6-O-(氨基)-β-环糊精(1 g, 0.88 mmol)，叠氮-乙二醇-乙酸(180 mg, 0.88 mmol)，5 mL DMF，溶清，冰水浴降至 0 °C 左右，加入 EDCI(386 mg, 2 mmol)，HOBT(276 mg, 2 mmol)及 DIEA(0.66 mL, 4 mmol)，升至室温反应 2 h，HPLC 监测反应终点，反应液经过高效液相制备纯化，得到产品制备液，制备液冻干，得到化合物 83 (0.66 g)，LC-MS: $[M+H]^+=1319.6$ 。

第二步：化合物 P3-X2 的合成

以化合物 69 与化合物 83 为原料，参照化合物 P3-A 的合成路线，制备化合物 P3-X2(17 mg)，TOF: $[M+Na]^+=2365.9$ 。

实施例 93：化合物 P3-Y8 的合成



第一步：化合物 84 的合成

在 25 mL 单口瓶中加入单-6-O-(氨基)-β-环糊精(1 g, 0.88 mmol)，5,8,11,14,17,20,23,26-八氮杂-2-氮杂二十九碳二酸 1-(9H-芴-9-基甲基)酯(585.1 mg, 0.88 mmol)，5 mL DMF，溶清，冰水浴降至 0 °C 左右，加入 EDCI(388 mg, 2 mmol)，HOBT(275 mg, 2 mmol)及 DIEA(0.66

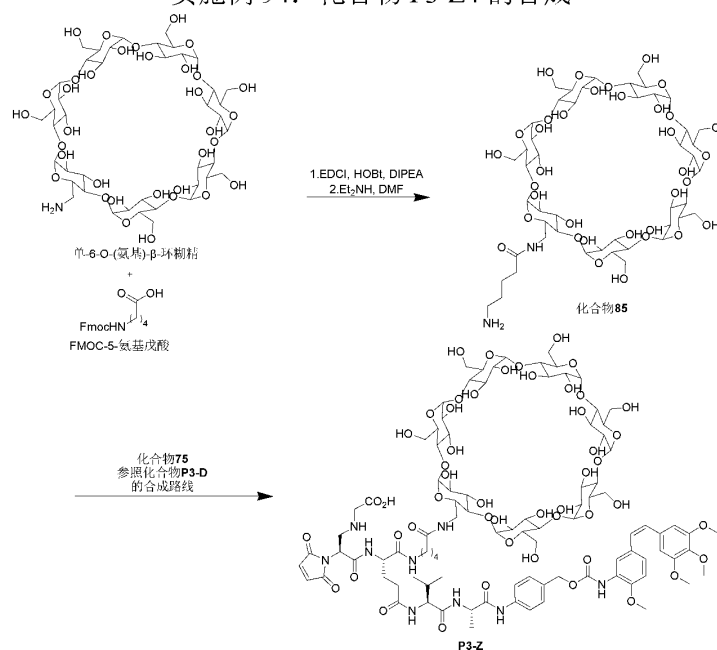
mL, 4 mmol), 升至室温反应 2 h, HPLC 监测反应终点, 反应液经过油泵减压浓缩后直接用于下一步反应。

于 25 mL 单口瓶中, 加入上述粗品化合物, 10 mL DMF 溶解, 再加入 2 mL 二乙胺, 室温反应 2 h, HPLC 监测反应终点。反应结束后, 反应液经过高效液相制备纯化, 得到产
5 品制备液, 制备液冻干, 得到化合物 84 (0.87 g), TOF: $[M+H]^+=1557.5$ 。

第二步: 化合物 P3-Y8 的合成

以化合物 75 与化合物 84 为原料, 参照化合物 P3-D 的合成路线, 制备化合物 P3-Y8(21 mg), TOF: $[M+Na]^+=2549.1$ 。

实施例 94: 化合物 P3-Z4 的合成



10

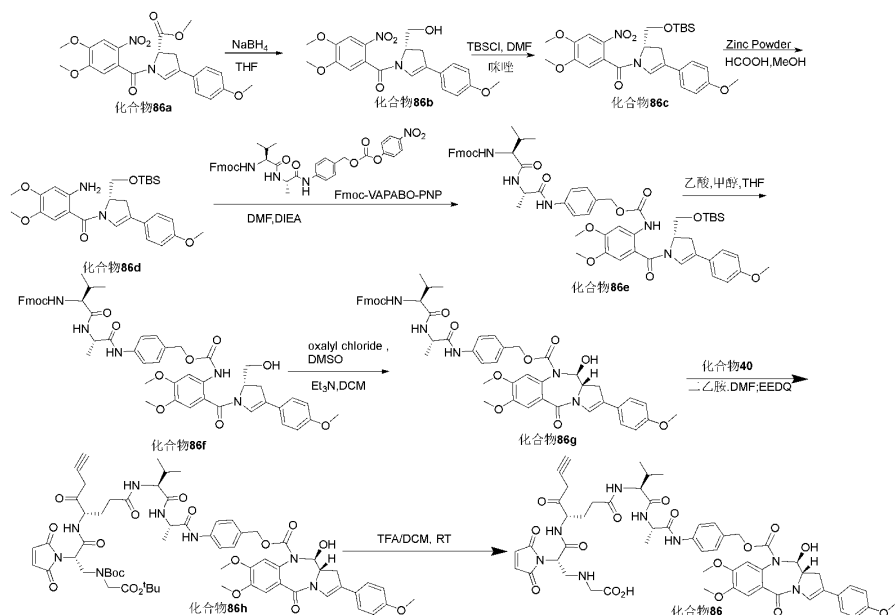
第一步: 化合物 85 的合成

参照化合物 84 的合成得到化合物 85(0.91 g), LC-MS: $[M+H]^+=1233.3$ 。

第二步: 化合物 P3-Y8 的合成

以化合物 75 与化合物 85 为原料, 参照化合物 P3-D 的合成路线, 制备化合物 P3-Z4(33
15 mg), TOF: $[M+H]^+=2203.1$ 。

实施例 95: 化合物 86 的合成



第一步：化合物 86b 的合成

参照专利 CN102933236A 中“化合物 26”的合成得到化合物 86a，在 250mL 三口瓶中，加入化合物 86a(3 g, 6.7 mmol)，50 mL 无水 THF，氮气保护下，冰水浴维持在 0 °C，加入
5 硼氢化钠固体(384 mg, 10.2 mmol)，在 0 °C 下反应 30 min，升至室温反应 2 h，TLC 监测反应终点。反应结束后，将反应液至于冰水中，缓慢加入 50 mL 水淬灭反应，再加入 1N 稀 HCl 直至不冒气泡为止，加入乙酸乙酯萃取 (60 mL*3)，合并有机相，用饱和氯化钠溶液洗涤两次，无水硫酸钠干燥，过滤，浓缩得粗品。粗品经过柱层析纯化 (DCM/MeOH=20:1-5:1)，得到化合物 86b(2.08g,黄色固体)，收率 74.3%，LC-MS: [M+H]⁺=415.1。

第二步：化合物 86c 的合成

在 100mL 单口瓶中加入化合物 86b(2 g, 4.8 mmol)，TBSCl(1.32 g, 8.8 mmol)，咪唑(1.2 g, 17.6 mmol)，15 mL 无水 DMF 溶解，室温下反应 3 h，TLC 监测反应终点。反应结束后将反应倒入 30 mL 水中，用 DCM 萃取(25 mL*3)，合并有机相，用水和盐水洗涤、无水硫酸钠干燥并且减压蒸发，得到粗品。粗品通过柱层析 (PE/EA=5:1-1:2)，得到化合物 86c(2.28 g,黄色固体)，收率 89.3%，LC-MS: [M+H]⁺=529.2。

第三步：化合物 86d 的合成

在 100 mL 单口瓶中加入化合物 3f(2.2 g, 4.16 mmol)，5%甲酸/甲醇溶液 30 mL，冰浴冷却至 5 °C 以下，搅拌下缓慢加入锌粉(5.44 g, 83.2 mmol)，再升至室温反应 1 h，TLC 监测反应终点。反应结束后趁热过滤，滤饼用少量甲醇洗涤，滤液以饱和碳酸氢钠溶液调 pH
20 至 7，然后于 45 °C 下减压浓缩，除去溶剂，得到棕黄色油状物，加入 60 mL DCM，分出有机层，用饱和食盐水洗一次，无水硫酸钠干燥，过滤，于 45 °C 下减压浓缩，得到粗品。粗品经过柱层析纯化 (PE: EA=1:1-1:3)，得到化合物 86d(1.87 g,淡黄色固体)，收率 90.1%，LC-MS: [M+H]⁺=500.2。

第四步：化合物 86e 的合成

在 50 mL 单口瓶中加入化合物 3g(1.8 g, 3.6 mmol)，Fmoc-VA-PABO-PNP(2.45g, 3.6mmol),15 mL DMF 溶清，再加入 DIEA(893 uL, 5.4 mmol),室温反应 2 h，HPLC 监测反应终点。反应结束后，反应液经过高效液相制备纯化，得到产品制备液，再冻干，得到化合物 86e(2.94 g，淡黄色固体)，收率 78.3%，LC-MS: [M+H]⁺=1040.5。

第五步：化合物 86f 的合成

在 50 mL 单口瓶中加入化合物 86e(2.9 g, 2.78 mmol)，8 mL THF 和 8 mL 水溶解，再加入 20 mL 冰乙酸，室温反应，HPLC 监测反应终点。反应结束后，将反应液缓慢地滴入 400

mL 饱和碳酸氢钠溶液中，用乙酸乙酯萃取(100 mL*3)，合并有机相，用水和盐水洗涤、无水硫酸钠干燥并且减压蒸发，得到粗品。粗品通过柱层析 (DCM/MeOH=10:1-5:1)，得到化合物 86f(1.94 g, 淡黄色固体)，收率 75%，LC-MS: $[M+H]^+=926.3$ 。

第六步：化合物 86g 的合成

- 5 于 100mL 三口瓶中加入化合物 86f(1.9 g, 2.0 mmol)，40 mL 无水 DCM 溶解，氮气保护下，加入 Dess-Martin 高碘试剂(0.93 g, 2.2 mmol)，室温反应 4 h，TLC 监测反应终点。反应结束后，过滤，滤液经过饱和碳酸氢钠溶液、水、饱和氯化钠溶液洗涤，无水硫酸钠干燥，浓缩得到粗品。粗品经过高效液相纯化，得产品制备液，冻干得化合物 86g(1.61 g, 类白色固体)，收率 85%，LC-MS: $[M+H]^+=924.4$ 。

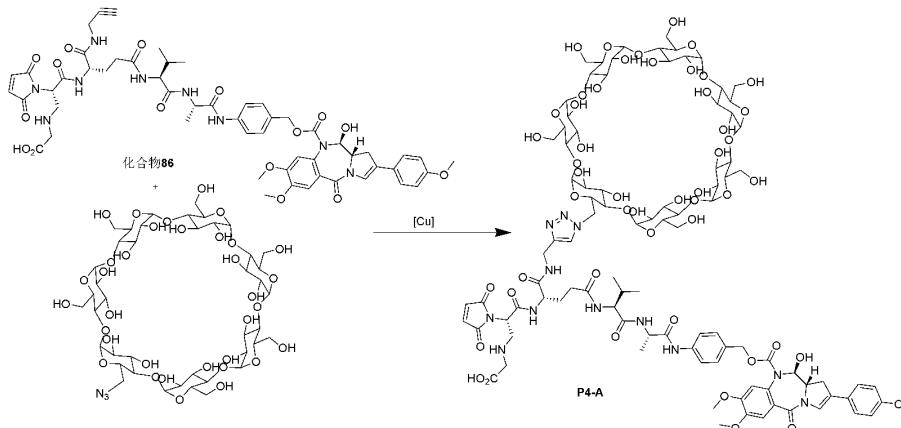
- 10 第七步：化合物 86h 的合成

- 于 50 mL 单口瓶中加入化合物 86g(1.5 g, 1.62 mmol)，15 mL DMF 溶解，再加入 3 mL 二乙胺，室温反应 1 h，TLC 监测反应终点。反应结束后，将反应液倒入 100 mL 甲叔醚中，析出固体，过滤，得到脱保护产品。将脱保护产品溶于 15 mL DMF 中，加入化合物 40(0.92 g, 1.62 mmol)，EEDQ(0.48 g, 1.94 mmol)，室温反应 2 h，HPLC 监测反应终点。反应结束后，反应液经过高效液相制备纯化，得到产品制备液，冻干得到化合物 86h(1.30 g, 类白色固体)，收率 64.2%，LC-MS: $[M+H]^+=1248.5$ 。

第八步：化合物 86 的合成

- 于 50 mL 单口瓶中加入化合物 86h(500 mg, 0.4 mmol)，5 mL DCM 溶解，再加入三氟乙酸(5 mL)，室温反应 1 h，HPLC 监测反应终点。反应结束后，45°C 减压浓缩除去溶剂，得残余物。残余物经过高效液相制备纯化，得产品制备液，冻干得化合物 86(294 mg)，收率 67.4%，LC-MS: $[M+H]^+=1092.4$ 。

实施例 96：化合物 P4-A 的合成

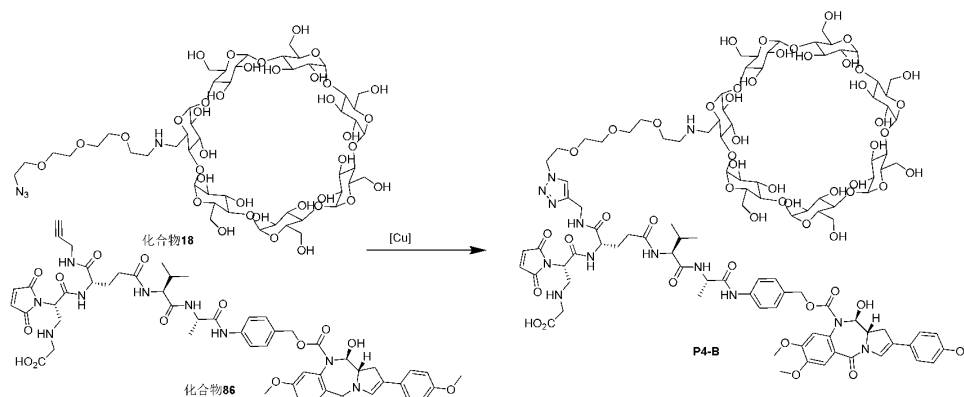


第一步：化合物 P4-A 的合成

- 25 于 25 mL 单口瓶中加入化合物 86(25 mg, 0.023 mmol)，环糊精-N₃(26.5 mg, 0.023 mmol)，5 mL DMF 及 2.5 mL 水溶解，再加入 CuSO₄·5H₂O(6.7 mg, 0.026 mmol)，抗坏血酸钠(5.3 mg, 0.026 mmol)，室温反应 1 h，HPLC 监测反应终点。反应结束后，反应液经过高效液相制备纯化，得到产品制备液，制备液冻干，得到化合物 P4-A (36.9 mg)，收率 71.6%，TOF: $[M+H]^+=2251.8$ 。

- 30

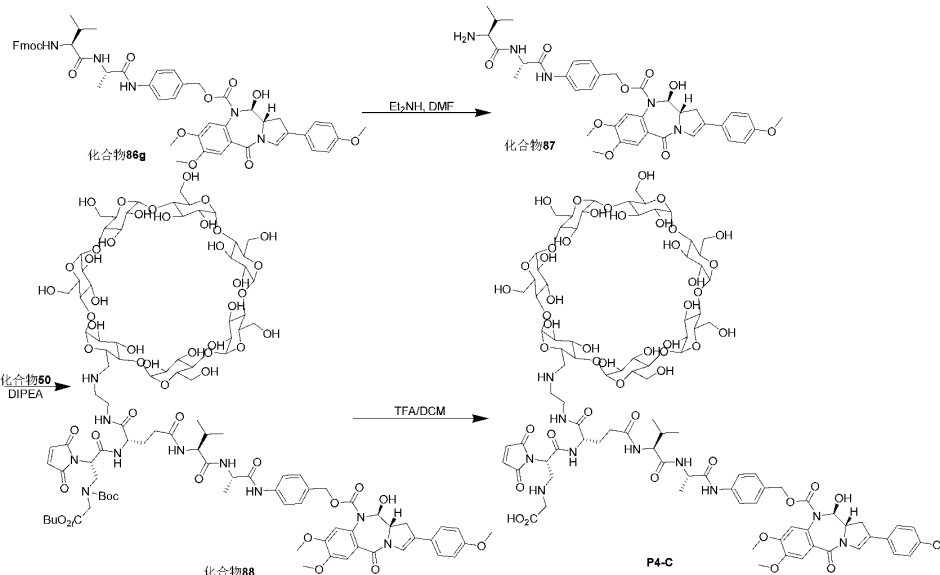
实施例 97：化合物 P4-B 的合成



第一步：化合物 P4-B 的合成

于 25 mL 单口瓶中加入化合物 86(25 mg, 0.023 mmol), 化合物 18(30.7 mg, 0.023mmol), 5 mLDMF 及 2.5 mL 水溶解, 再加入 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (6.6 mg, 0.026 mmol), 抗坏血酸钠(5.3 mg, 0.026 mmol), 室温反应 1 h, HPLC 监测反应终点。反应结束后, 反应液经过高效液相制备纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干, 得到化合物 P4-B (37.2mg), 收率 66.6%, TOF: $[\text{M}+\text{H}]^+=2427.2$ 。

实施例 98：化合物 P4-C 的合成



第一步：化合物 88 的合成

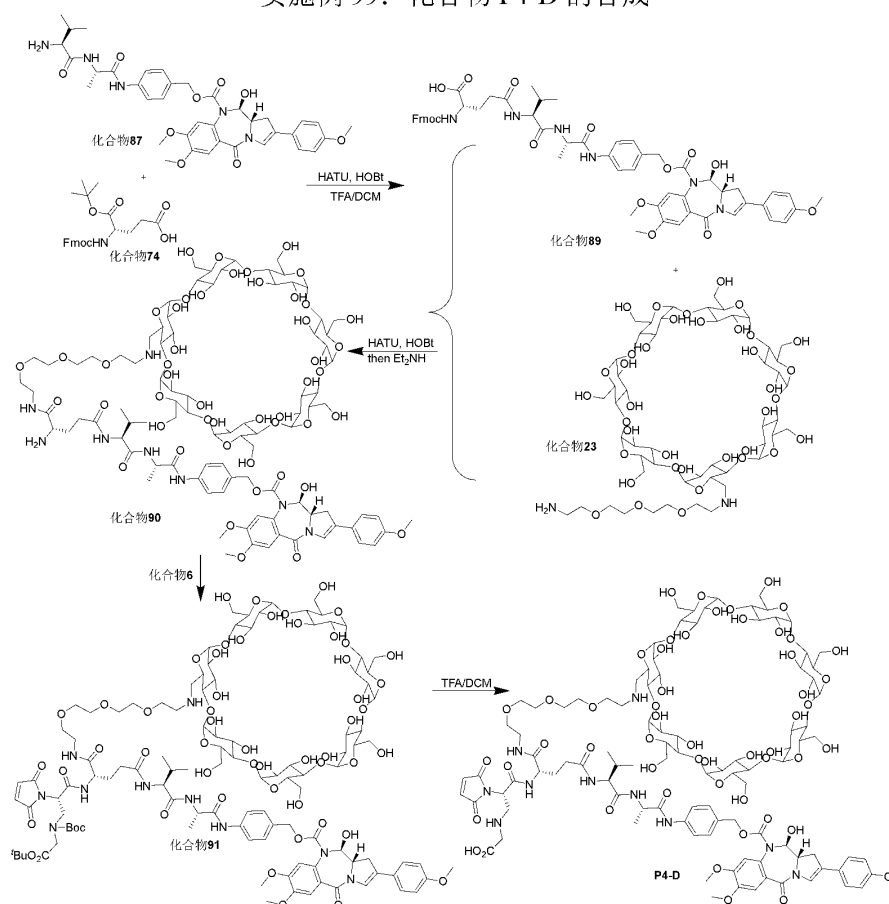
于 50 mL 单口瓶中, 加入化合物 86g(2 g, 2.16 mmol), 16 mL DMF 溶解, 再加入二乙胺(4 mL), 室温反应 8 h, HPLC 监测反应终点。反应结束后, 油泵减压浓缩反应液, 所得黄色油状物经过油泵旋除溶剂得到化合物 88, 直接用于下一步。

将上述粗品化合物溶于 10 mLDMF 中, 加入 DIPEA (714 μL , 4.32 mmol), 室温下加入化合物 50 (4 g, 2.16 mmol), 室温反应 3 h, HPLC 监测反应终点。反应液经过高效液相制备纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干, 得到化合物 88(3.9 g), TOF: $[\text{M}+\text{H}]^+=2370.3$ 。

第二步：化合物 P4-C 的合成

于 25 mL 单口瓶中, 加入化合物 88 (1 g, 0.42 mmol), 4 mL DCM 溶解, 加入 4 mL TFA, 室温反应 0.5 h, HPLC 监测反应终点。反应结束后, 水泵减压 45 $^{\circ}\text{C}$ 浓缩除去溶剂, 得残余物。残余物经过高效液相制备纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干, 得到化合物 P4-C(577 mg), TOF: $[\text{M}+\text{H}]^+=2214.0$ 。

实施例 99: 化合物 P4-D 的合成



第一步: 化合物 89 的合成

于 25 mL 单口瓶中加入化合物 87 (300 mg, 0.43 mmol), 10 mL DMF, 室温下加入化合物 74 (183 mg, 0.43 mmol), 冰水浴冷却下依次加入 HATU (333 mg, 0.86 mmol), HOBT (118 mg, 0.86 mmol), DIPEA (0.22 mL), 缓慢升温至室温反应 5 h, TLC 监测基本完全反应, 减压旋除溶剂, 浓缩得到淡黄色油状粗品, 粗品未经纯化直接用于下一步反应。

将上述化合物溶于 3 mL 二氯甲烷中, 冰水浴降温至 0 °C, 缓慢滴加 TFA (3 mL), 缓慢升温至室温下反应 0.5 h, HPLC 监测反应。反应完全后, 反应液于 45 °C 下减压浓缩得黄色油状粗品化合物, 残余物经过高效液相制备纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干, 得到化合物 89 (266 mg), LC-MS: $[M+H]^+ = 1053.5$ 。

第二步: 化合物 90 的合成

于 25 mL 单口瓶中加入化合物 89 (200 mg, 0.19 mmol), 10 mL DMF, 室温下加入化合物 23 (484 mg, 0.19 mmol), 冰水浴冷却下依次加入 HATU (156 mg, 0.4 mmol), HOBT (82 mg, 0.6 mmol), DIPEA (100 μ L), 反应 3 h, HPLC 监测完全反应, 经过高效液相制备纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干, 得到中间体化合物直接用于下一步。

将上述中间体溶于 3 mL DMF 中, 室温下滴加二乙胺 (0.6 mL), 室温下反应 5 h, HPLC 监测反应。反应完全后, 经过高效液相制备纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干, 得到化合物 90 (301 mg), TOF: $[M+H]^+ = 2122.1$ 。

第三步: 化合物 91 的合成

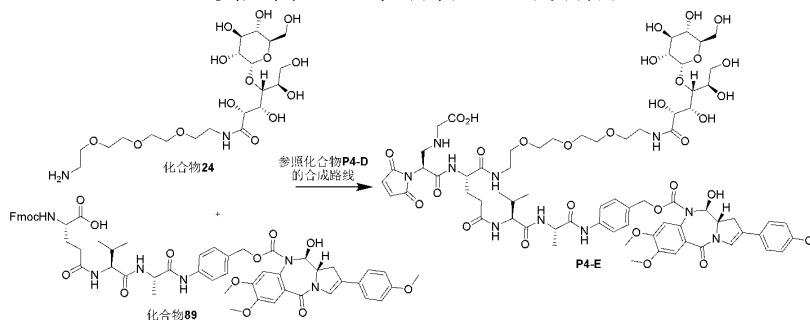
于 25 mL 单口瓶中加入化合物 90 (200 mg, 0.094 mmol), 5 mL DMF, 室温下加入化合物 6 (38 mg, 0.042 mmol), 冰水浴冷却下依次加入 HATU (76 mg, 0.188 mmol), HOBT (29 mg, 0.188 mmol), DIPEA (64 μ L), 维持室温反应 2 h, HPLC 监测完全反应, 经过高效液相制备

纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干, 得到化合物 91(198 mg), TOF: $[M+H]^+=2502.2$ 。

第四步: 化合物 P4-D 的合成

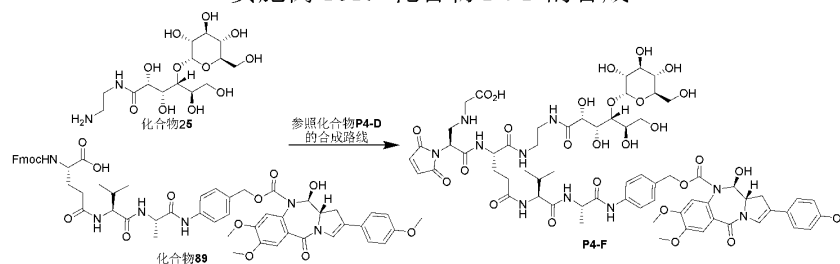
- 将化合物 91(100 mg, 0.04 mmol)溶于 2 mL 二氯甲烷中, 冰水浴降温至 0 °C, 缓慢滴加 TFA(2 mL), 缓慢升温至室温下反应 0.5 h, HPLC 监测反应。反应完全后, 反应液于 45 °C 下减压浓缩得黄色油状粗品化合物, 残余物经过高效液相制备纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干, 得到化合物 P4-D(62.0 mg), TOF: $[M+Na]^+=2368.0$ 。

实施例 100: 化合物 P4-E 的合成



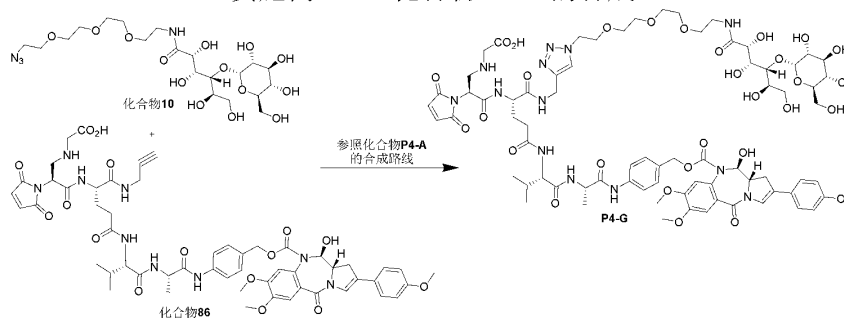
- 以化合物 89 和化合物 24 为原料, 参照化合物 P4-D 的合成路线, 制备化合物 P4-E(37 mg), LC-MS: $[M+H]^+=1569.6$ 。

实施例 101: 化合物 P4-F 的合成



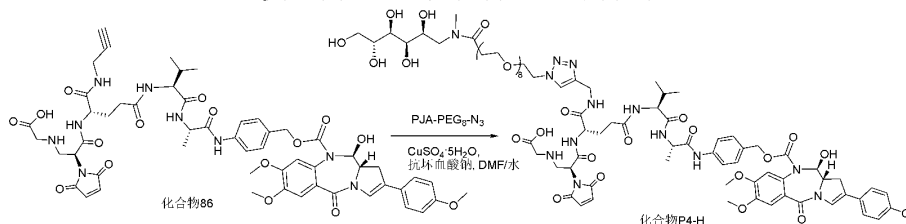
- 以化合物 89 和化合物 25 为原料, 参照化合物 P4-D 的合成路线, 制备化合物 P4-F(41 mg), LC-MS: $[M+H]^+=1437.5$ 。

实施例 102: 化合物 P4-G 的合成



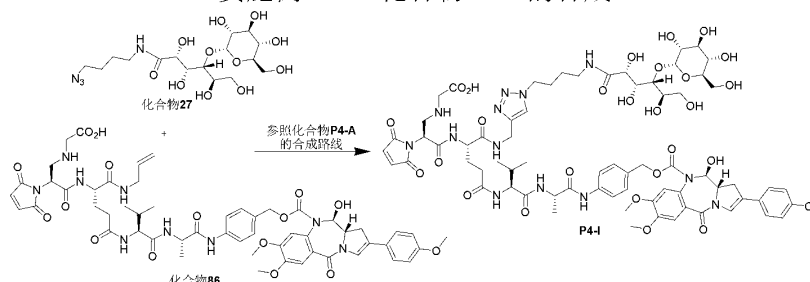
- 以化合物 86 和化合物 10 为原料, 参照化合物 P4-A 的合成路线, 制备化合物 P4-G(25 mg), LC-MS: $[M+H]^+=1650.6$ 。

实施例 103: 化合物 P4-H 的合成



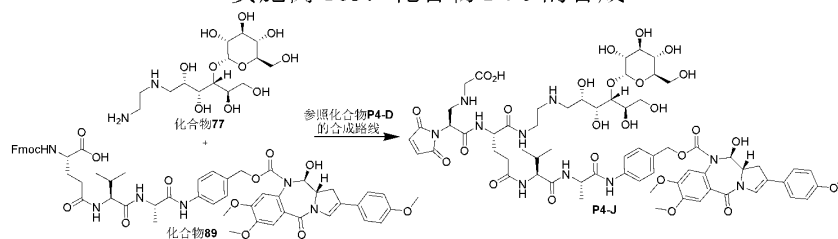
以化合物 86 和化合物 PJA-PEG8-N3 为原料, 参照化合物 P4-A 的合成路线, 制备化合物 P4-H(34 mg), LC-MS: $[M+H]^+ = 1736.8$ 。

实施例 104: 化合物 P4-I 的合成



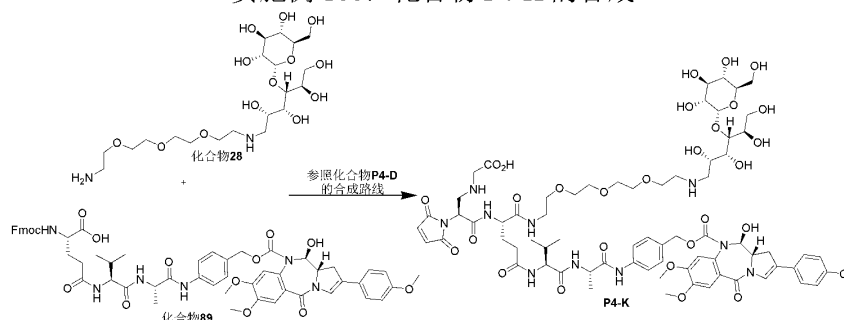
- 5 以化合物 86 和化合物 27 为原料, 参照化合物 P4-A 的合成路线, 制备化合物 P4-I(55 mg), LC-MS: $[M+H]^+ = 1546.9$ 。

实施例 105: 化合物 P4-J 的合成



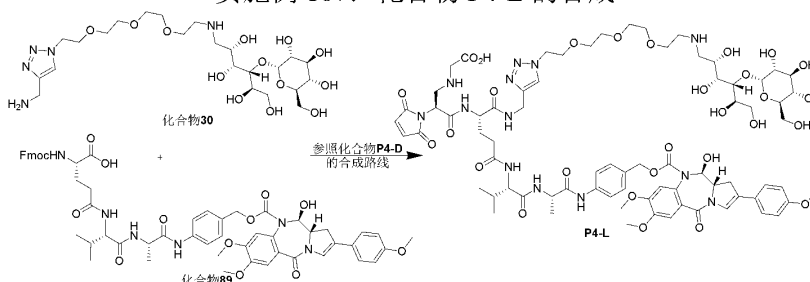
- 10 以化合物 89 和化合物 77 为原料, 参照化合物 P4-D 的合成路线, 制备化合物 P4-J(31 mg), LC-MS: $[M+H]^+ = 1423.7$ 。

实施例 106: 化合物 P4-K 的合成



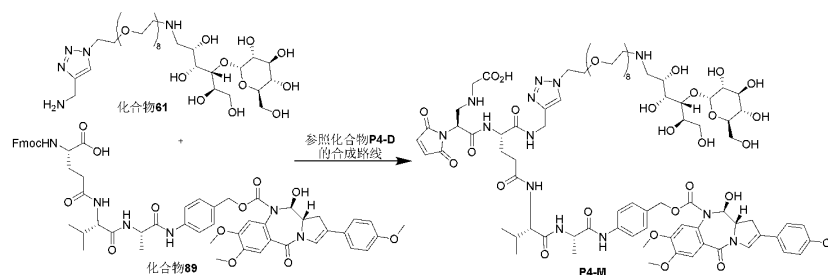
- 15 以化合物 89 和化合物 28 为原料, 参照化合物 P4-D 的合成路线, 制备化合物 P4-K(24 mg), LC-MS: $[M+H]^+ = 1555.7$ 。

实施例 107: 化合物 P4-L 的合成



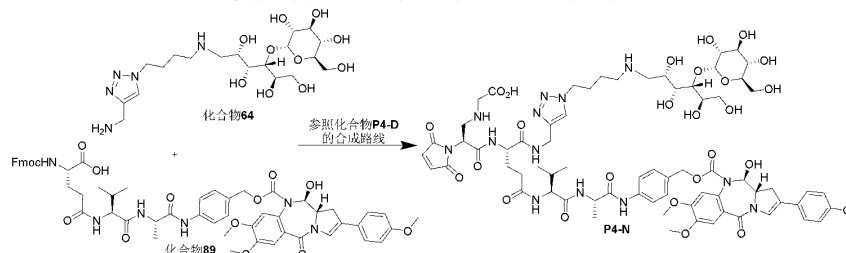
以化合物 89 和化合物 30 为原料, 参照化合物 P4-D 的合成路线, 制备化合物 P4-L(24 mg), LC-MS: $[M+H]^+ = 1636.6$ 。

实施例 108: 化合物 P4-M 的合成



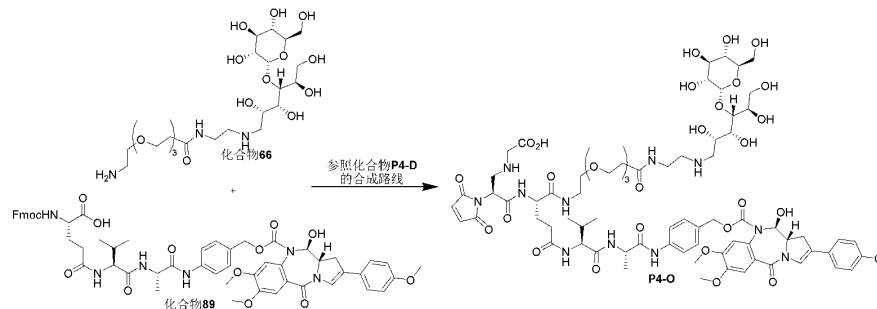
以化合物 89 和化合物 61 为原料, 参照化合物 P4-D 的合成路线, 制备化合物 P4-M(20 mg), LC-MS: $[M+H]^+ = 1857.0$ 。

实施例 109: 化合物 P4-N 的合成



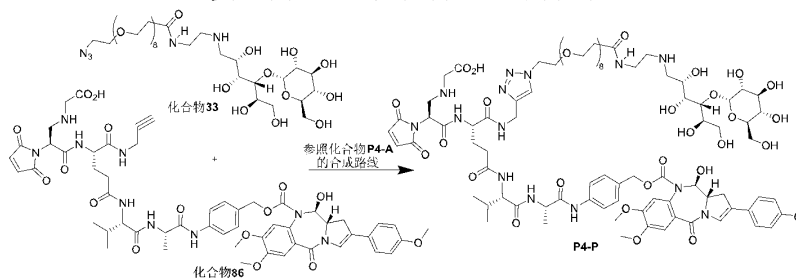
以化合物 89 和化合物 64 为原料, 参照化合物 P4-D 的合成路线, 制备化合物 P4-N(17 mg), LC-MS: $[M+H]^+ = 1532.7$ 。

实施例 110: 化合物 P4-O 的合成



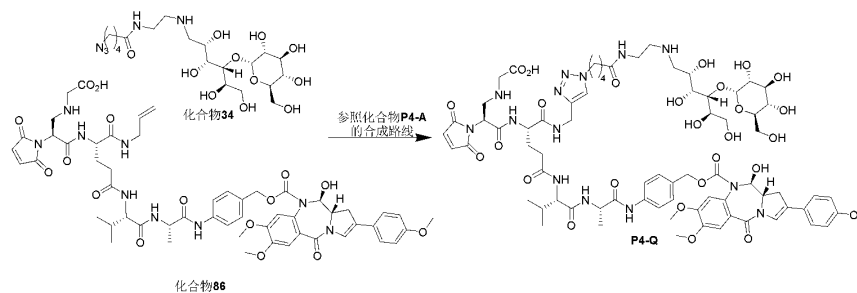
以化合物 89 和化合物 66 为原料, 参照化合物 P4-D 的合成路线, 制备化合物 P4-O(32 mg), LC-MS: $[M+H]^+ = 1626.8$ 。

实施例 111: 化合物 P4-P 的合成



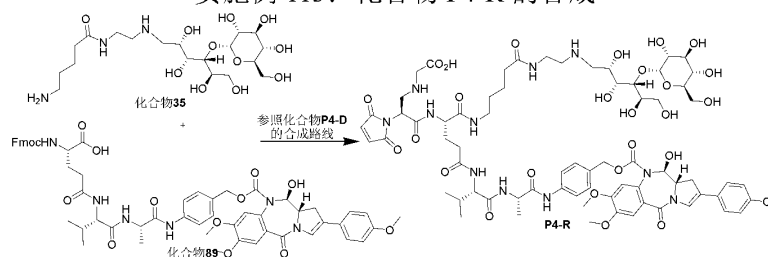
以化合物 86 和化合物 33 为原料, 参照化合物 P4-A 的合成路线, 制备化合物 P4-P(42 mg), LC-MS: $[M+H]^+ = 1928.0$ 。

实施例 112: 化合物 P4-Q 的合成



以化合物 86 和化合物 34 为原料, 参照化合物 P4-A 的合成路线, 制备化合物 P4-Q(35 mg), LC-MS: $[M+H]^+ = 1603.6$ 。

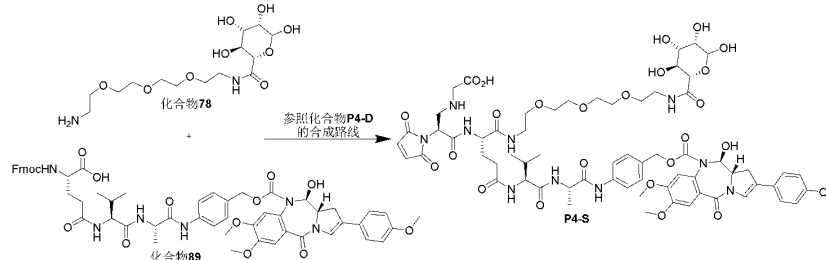
实施例 113: 化合物 P4-R 的合成



5

以化合物 89 和化合物 35 为原料, 参照化合物 P4-D 的合成路线, 制备化合物 P4-R(31 mg), LC-MS: $[M+H]^+ = 1522.8$ 。

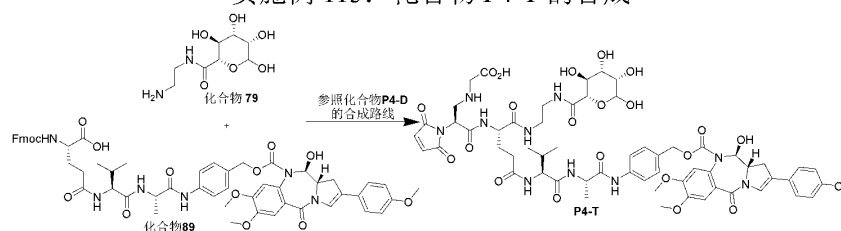
实施例 114: 化合物 P4-S 的合成



10

以化合物 89 和化合物 78 为原料, 参照化合物 P4-D 的合成路线, 制备化合物 P4-S(21 mg), LC-MS: $[M+H]^+ = 1405.5$ 。

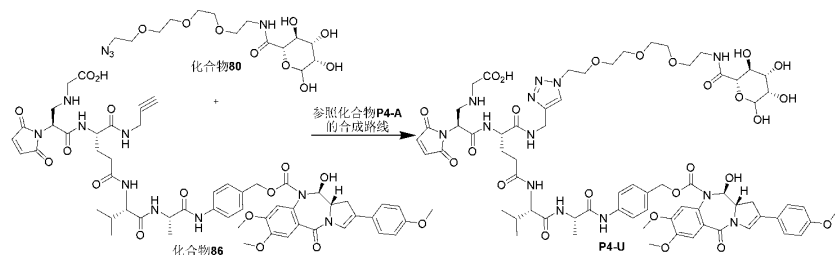
实施例 115: 化合物 P4-T 的合成



15

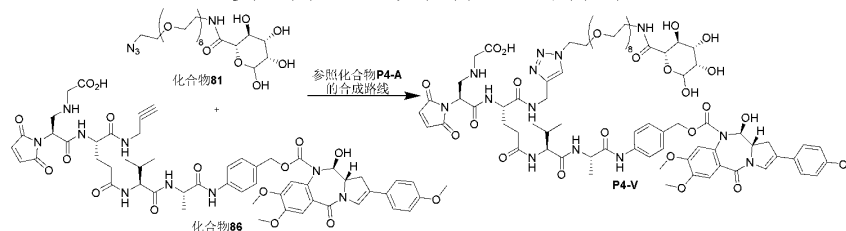
以化合物 89 和化合物 79 为原料, 参照化合物 P4-D 的合成路线, 制备化合物 P4-T(31 mg), LC-MS: $[M+H]^+ = 1273.4$ 。

实施例 116: 化合物 P4-U 的合成



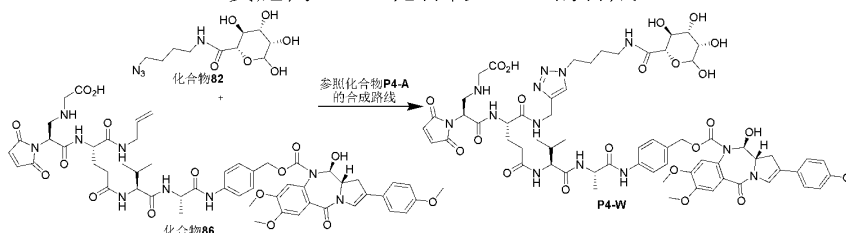
以化合物 86 和化合物 80 为原料, 参照化合物 P4-A 的合成路线, 制备化合物 P4-U(47 mg), LC-MS: $[M+H]^+ = 1486.7$ 。

实施例 117: 化合物 P4-V 的合成



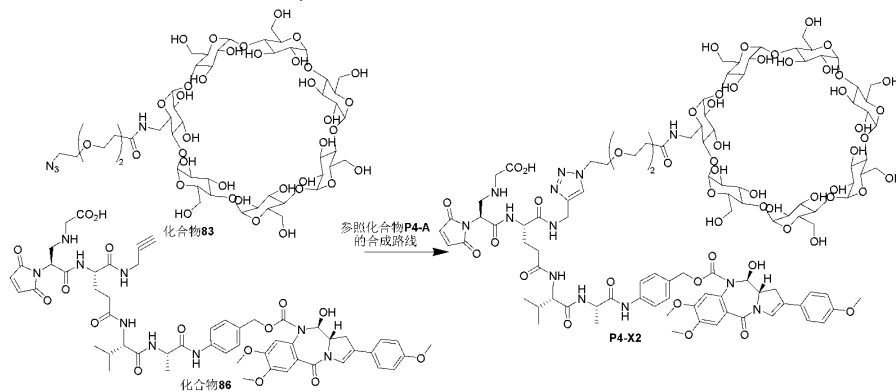
以化合物 86 和化合物 81 为原料, 参照化合物 P4-A 的合成路线, 制备化合物 P4-V(40 mg), LC-MS: $[M+H]^+ = 1706.7$ 。

实施例 118: 化合物 P4-W 的合成



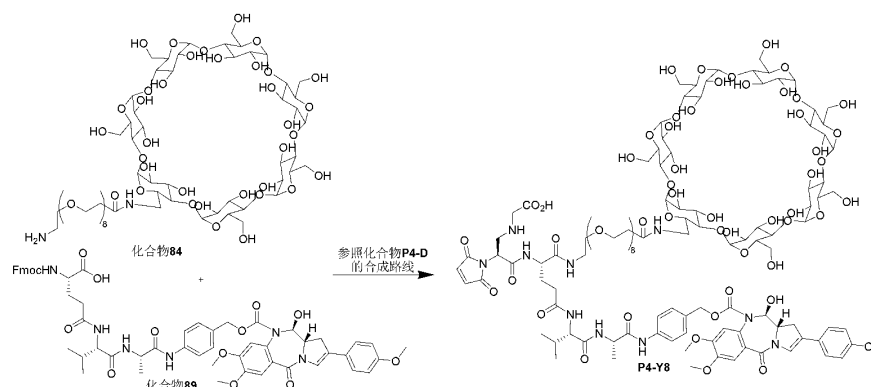
以化合物 86 和化合物 82 为原料, 参照化合物 P4-A 的合成路线, 制备化合物 P4-W(37 mg), LC-MS: $[M+H]^+ = 1382.9$ 。

实施例 119: 化合物 P4-X2 的合成



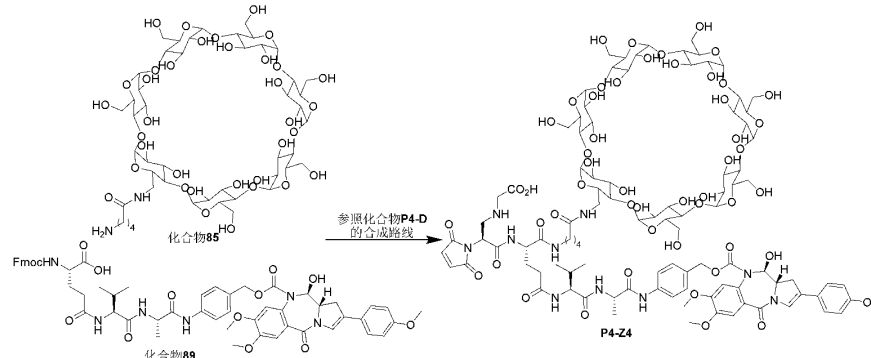
以化合物 86 和化合物 83 为原料, 参照化合物 P4-A 的合成路线, 制备化合物 P4-X2(22 mg), TOF: $[M+H]^+ = 2411.2$ 。

实施例 120: 化合物 P4-Y8 的合成



以化合物 89 和化合物 84 为原料, 参照化合物 P4-D 的合成路线, 制备化合物 P4-Y8(29 mg), TOF: $[M+H]^+ = 2594.5$ 。

实施例 121: 化合物 P4-Z4 的合成



以化合物 89 和化合物 85 为原料, 参照化合物 P4-D 的合成路线, 制备化合物 P4-Z4(28 mg), TOF: $[M+Na]^+ = 2292.1$ 。

抗体按照抗体常规方法进行制备, 例如可进行载体构建后, 转染真核细胞纯化表达。
以下为抗 Trop-2 抗体的序列:

轻链 (SEQ ID NO: 1)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDINKYLAWYQQKPGKVPKLLIYSTSTLQSG
VPSRFGSGSGTDFTLTISSLPEDVATYYCLQYDDLTFTFGQGTKLEIKRTVAAPS VFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

重链 (SEQ ID NO: 2)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTSFSDINWVRQAPQRLEWMGWIFPGD
GNTKYSQKFQGRATITRDTASTAYMELSSLRSEDVAVYYCVRGEALYYFDYWGQGTLLV
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSQGVHTFPAVL
QSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP
SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

以下为抗 CD33 抗体的序列:

轻链 (SEQ ID NO: 3)

DIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASESLDNYGIRFLTWFQQKPGKAPKLLMYAASN
QGSGVPSRFGSGSGTFTLTISLQPDFFATYYCQQTKVPWSFGQGTKVEVKRTVAAP
SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
T YLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVCTKSFNREGC

重链 (SEQ ID NO: 4)

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTITDSNIHWVRQAPGQSLEWIGYIYPYNG
 GTDYNQKFKNRATLTVDNPTNTAYMELSSLRSEDTAFYYCVNGNPWLAYWGQGTLLTV
 SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
 SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG
 5 GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
 YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKISKAKGQPREPQVYTLPPS
 RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
 SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

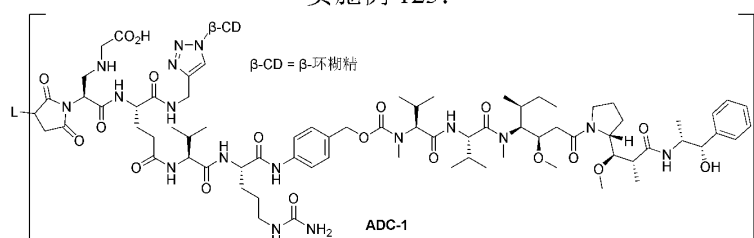
以下实施例中，使用抗 CD33 抗体进行配体-药物偶联物的制备。可参考这些实施例中
 10 的制备方法制备含抗 TROP-2 抗体的配体-药物偶联物。

实施例 122：配体-药物偶联物的制备：

通用偶联方法

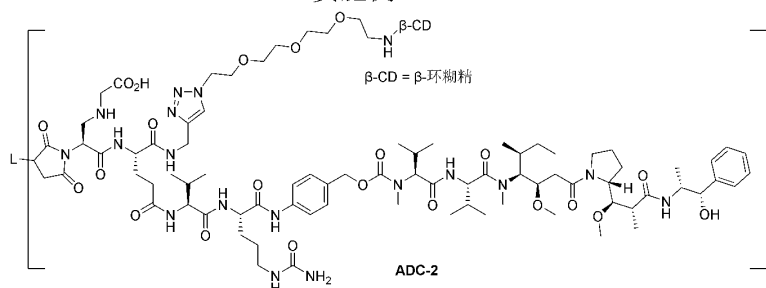
将通过初步的纯化后单体率大于 95% 的抗体分子 L，使用超滤离心管换液至磷酸盐
 缓冲液中，浓度 10 mg/mL。加入 20 倍于抗体摩尔分子数的 TCEP，室温下反应 4 h 以打开
 15 抗体链间二硫键。加入 20 倍于抗体摩尔分子数的连接子-药物化合物(payload)，室温下反
 应 2 h。反应结束后，使用截留分子量为 30 KDa 的超滤离心管换液至 PBS 中，并去除未偶
 联的 payload。换液后的 ADC 样品使用 0.22 微米除菌过滤器过滤后备用。

实施例 123：



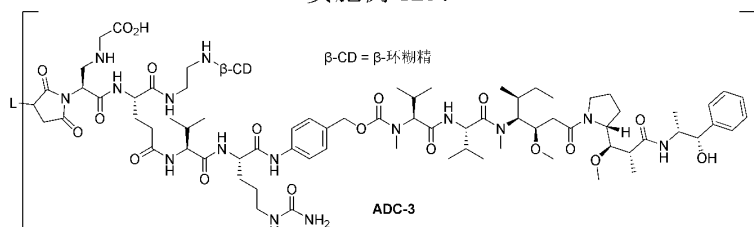
20 按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-1。

实施例 124：



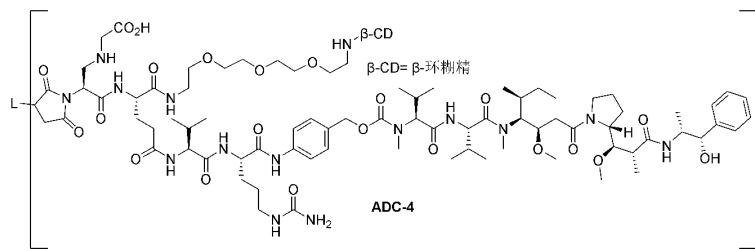
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-2。

实施例 125：



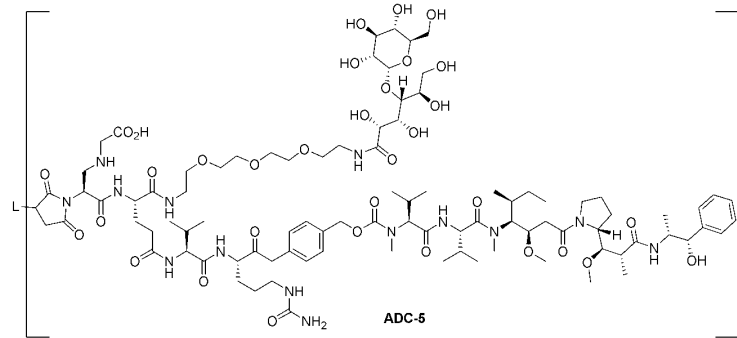
25 按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-3。

实施例 126：



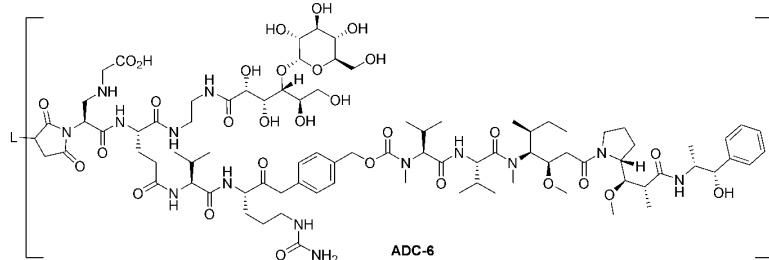
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-4。

实施例 127:



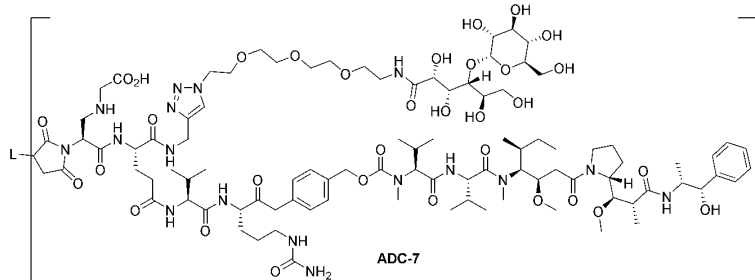
5 按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-5。

实施例 128:



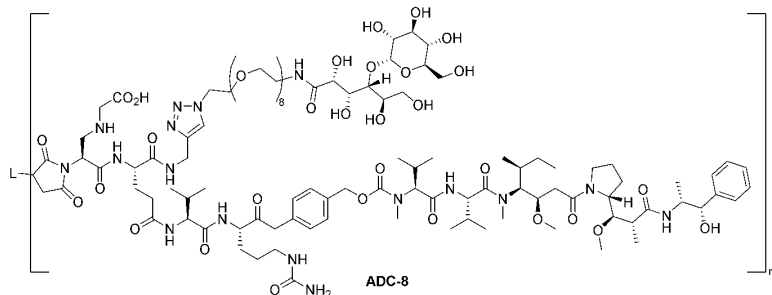
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-6。

实施例 129:



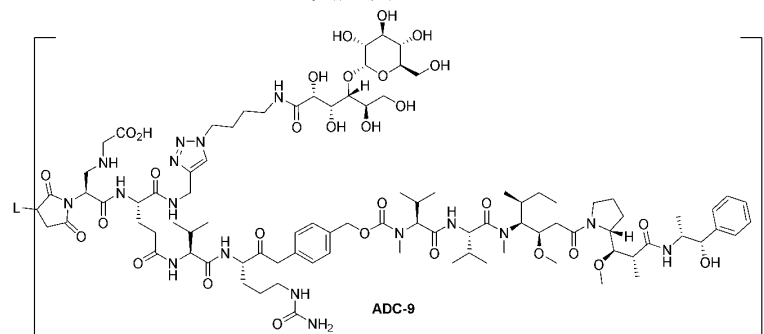
10 按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-7。

实施例 130:



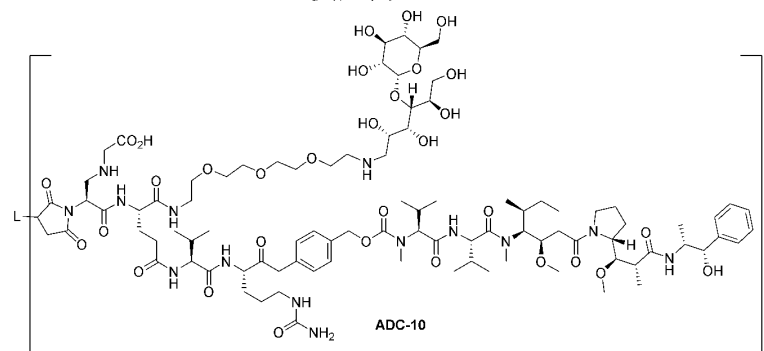
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-8。

实施例 131:



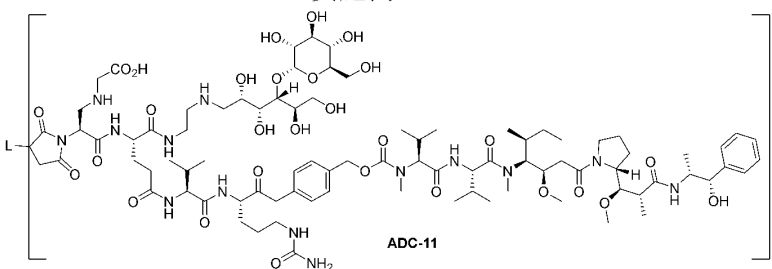
5 按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-9。

实施例 132:



按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-10。

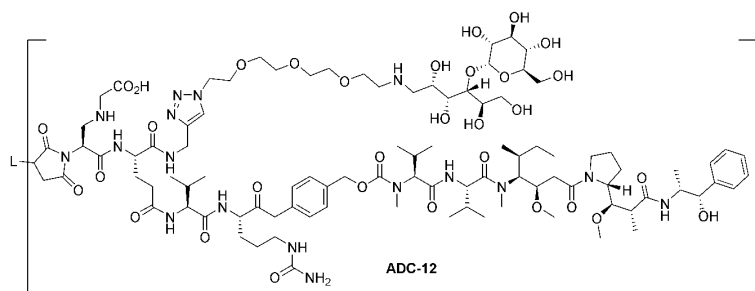
实施例 133:



10

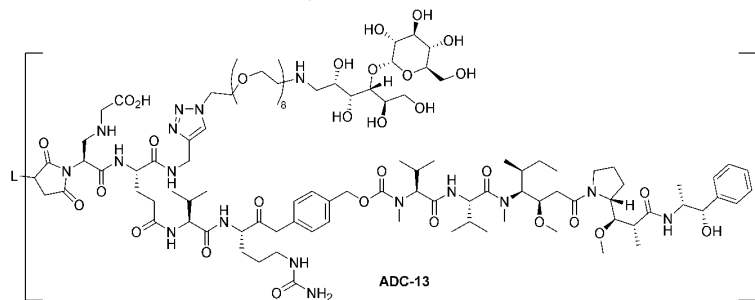
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-11。

实施例 134:



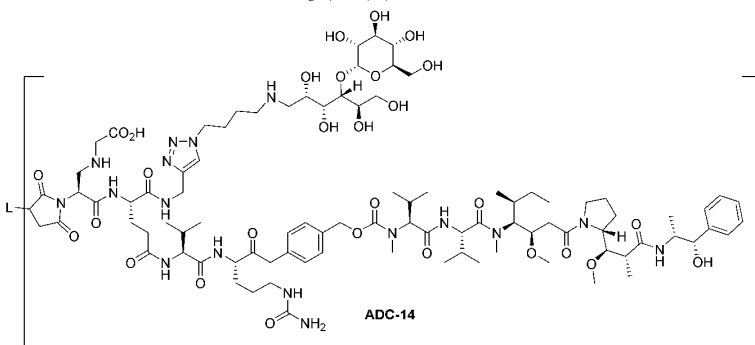
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-12。

实施例 135:



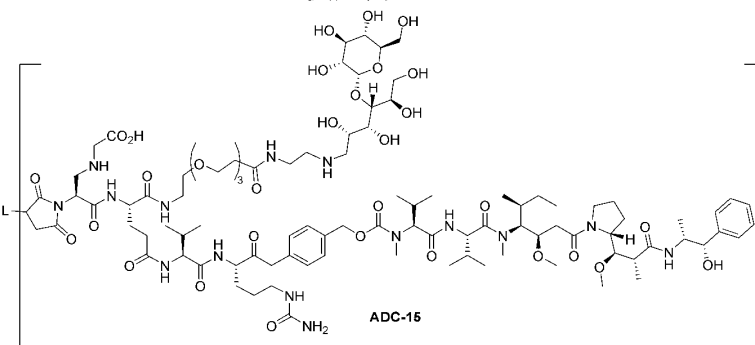
5 按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-13。

实施例 136:



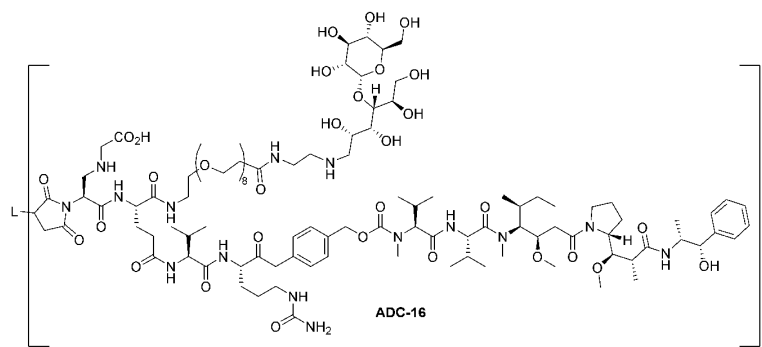
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-14。

实施例 137:



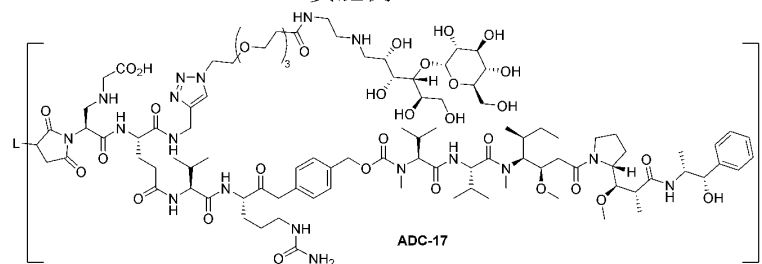
10 按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-15。

实施例 138:



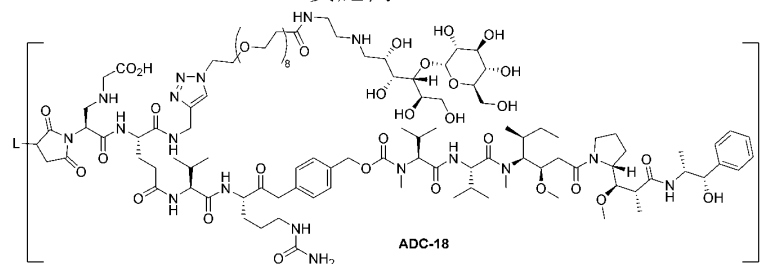
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-16。

实施例 139:



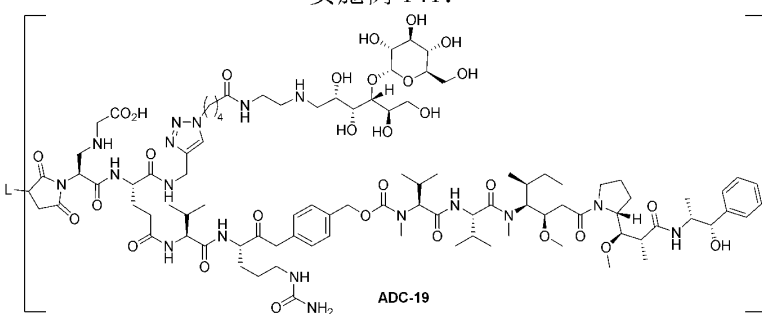
5 按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-17。

实施例 140:



按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-18。

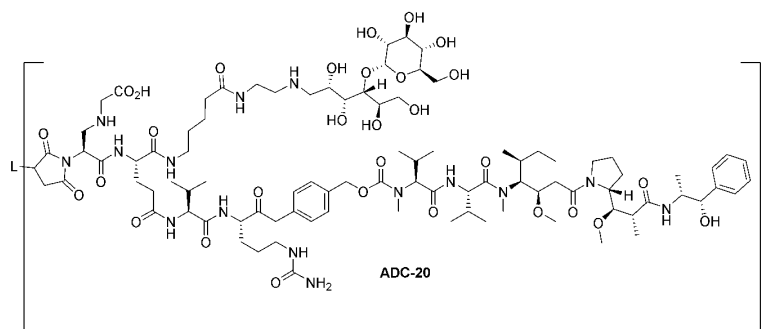
实施例 141:



10

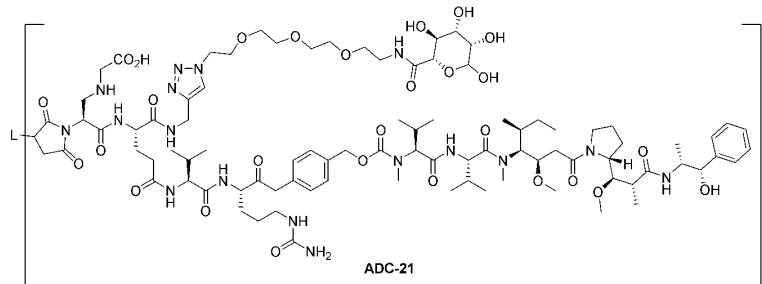
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-19。

实施例 142:



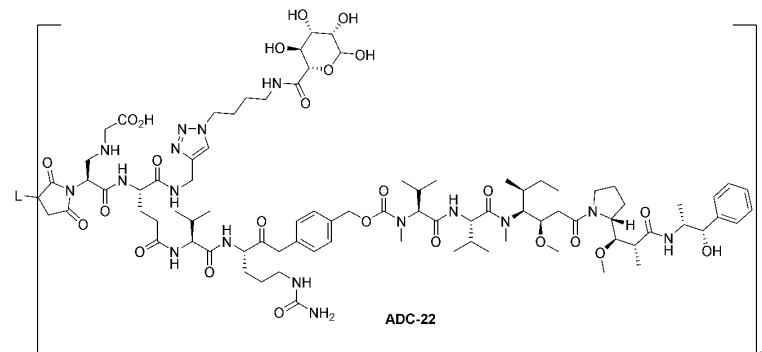
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-20。

实施例 143:



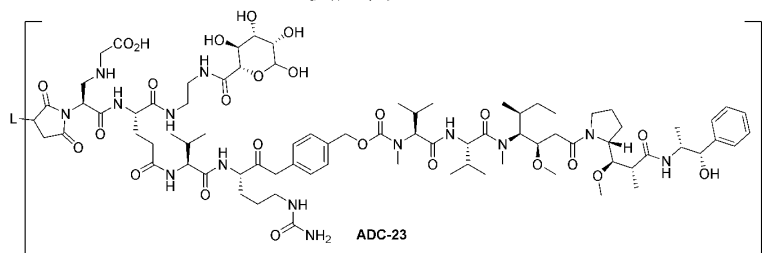
5 按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-21。

实施例 144:



按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-22。

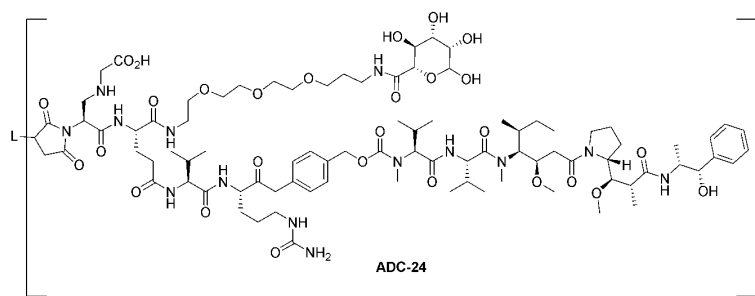
实施例 145:



10

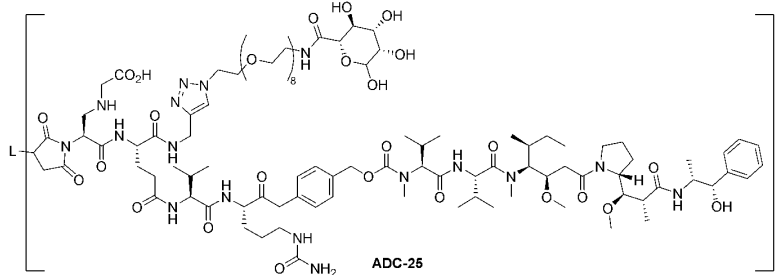
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-23。

实施例 146:



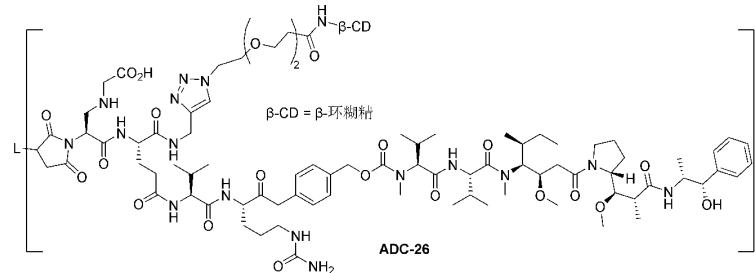
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-24。

实施例 147:



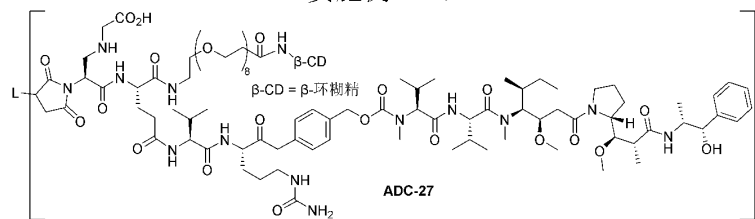
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-25。

实施例 148:



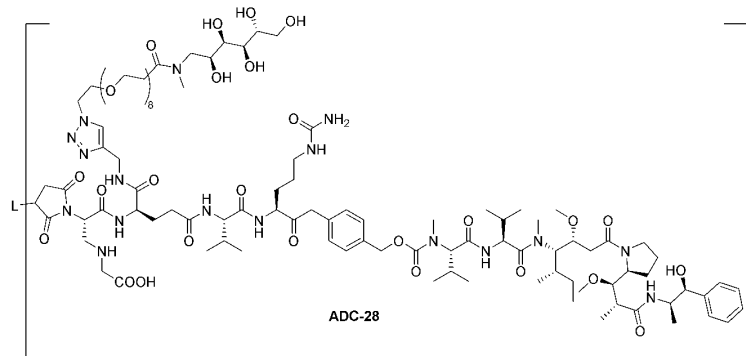
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-26。

实施例 149:



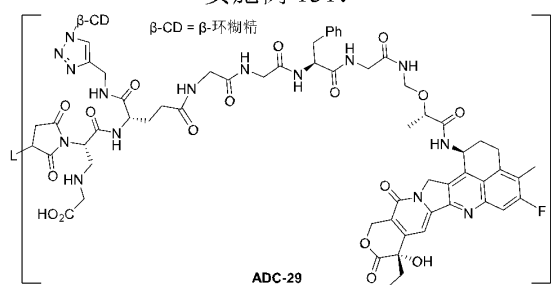
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-27。

实施例 150:



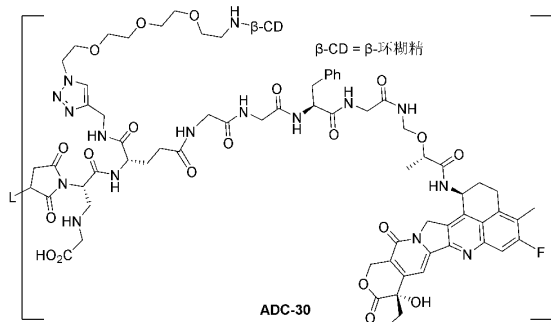
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-28。

实施例 151:



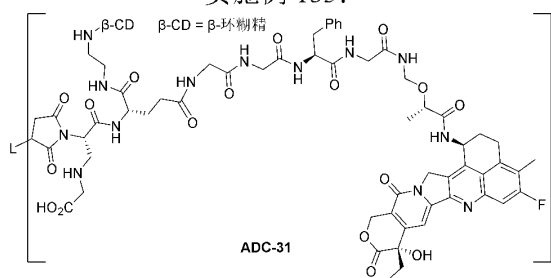
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-29。

实施例 152:



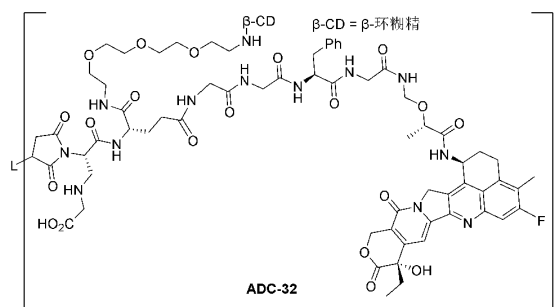
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-30。

实施例 153:



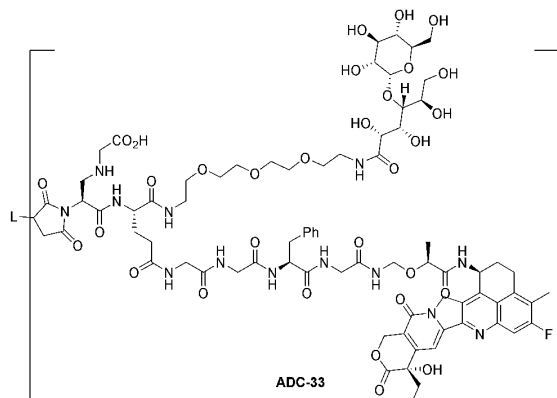
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-31。

实施例 154:



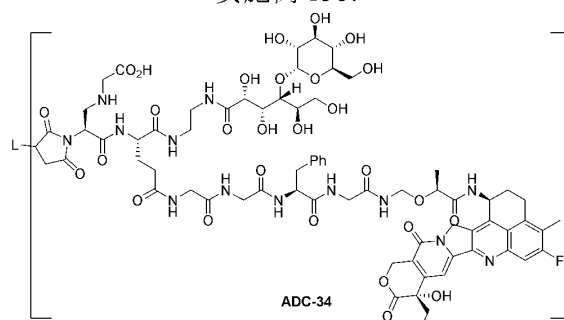
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-32。

实施例 155:



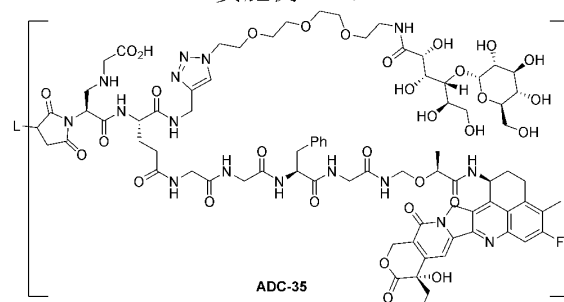
5 按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-33。

实施例 156:



按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-34。

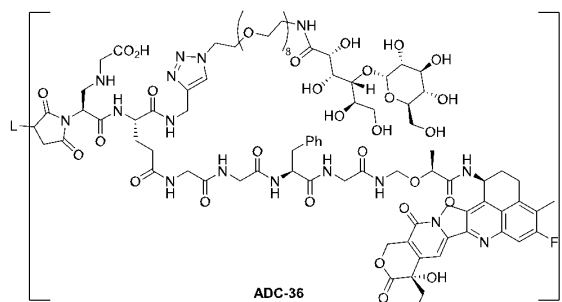
实施例 157:



10

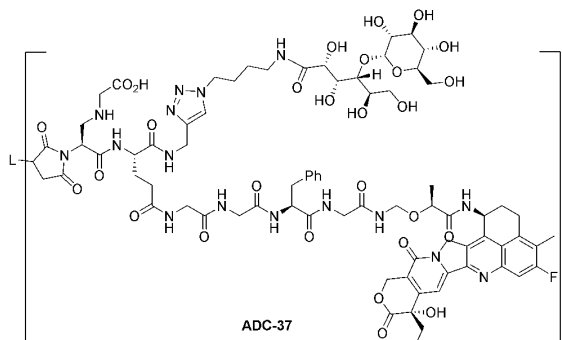
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-35。

实施例 158:



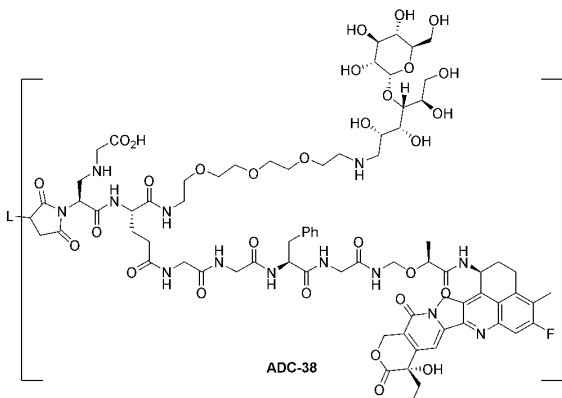
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-36。

实施例 159:



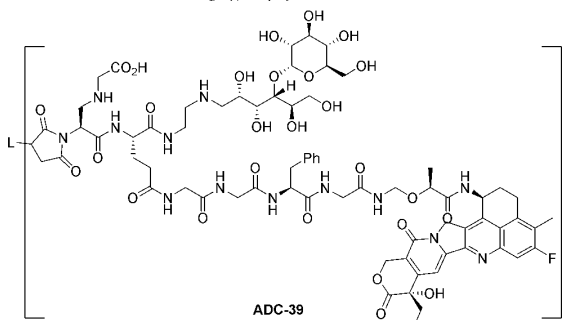
5 按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-37。

实施例 160:



按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-38。

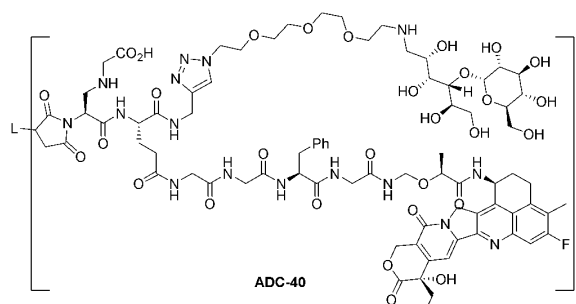
实施例 161:



10

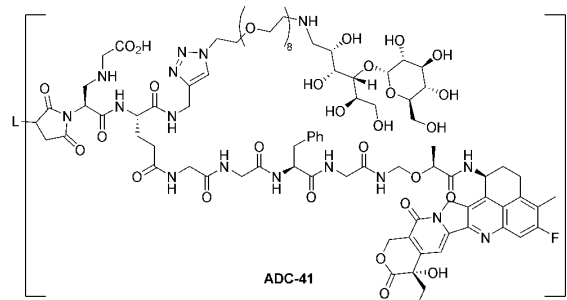
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-39。

实施例 162:



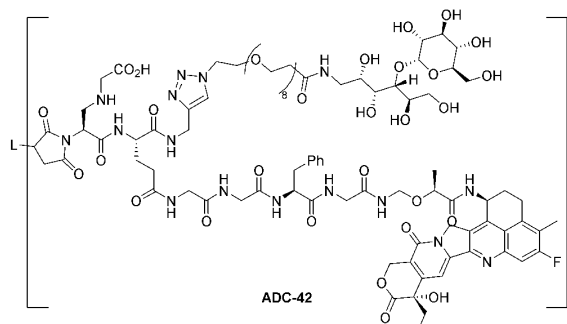
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-40。

实施例 163:



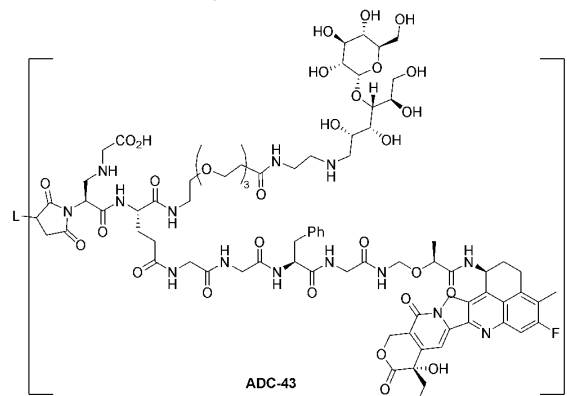
5 按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-41。

实施例 164:



按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-42。

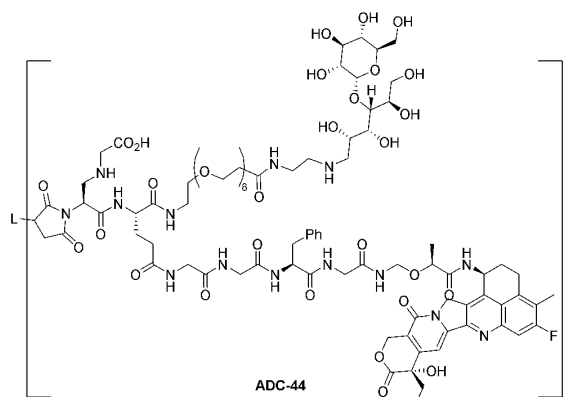
实施例 165:



10

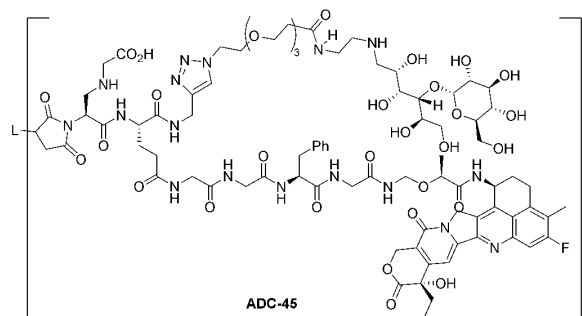
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-43。

实施例 166:



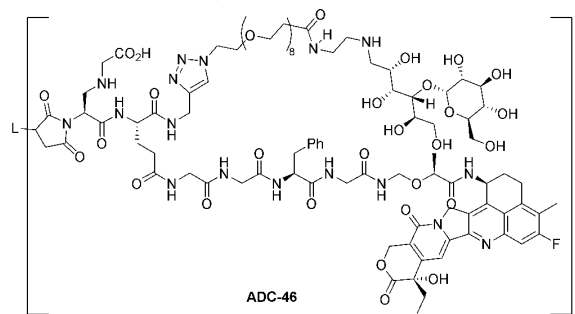
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-44。

实施例 167:



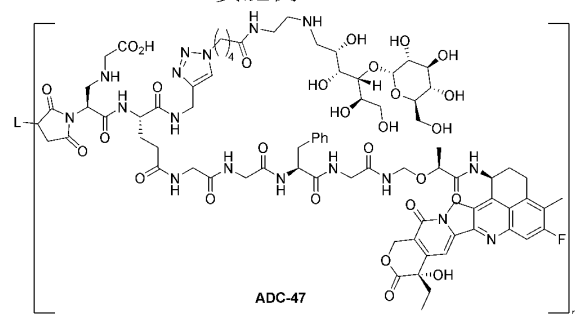
5 按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-45。

实施例 168:



按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-46。

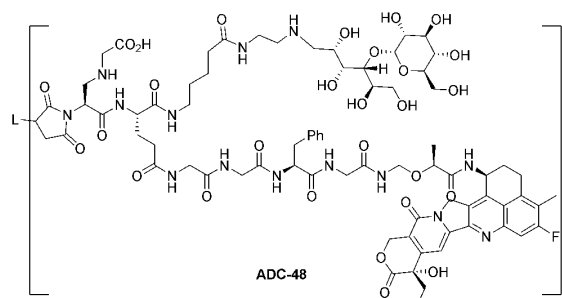
实施例 169:



10

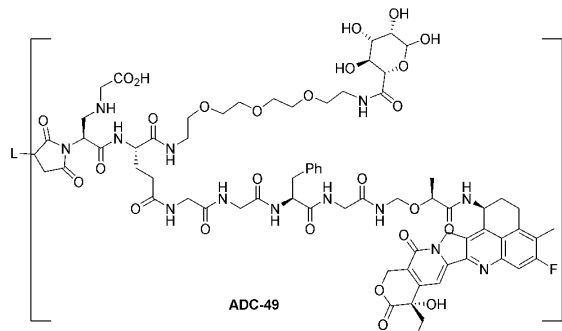
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-47。

实施例 170:



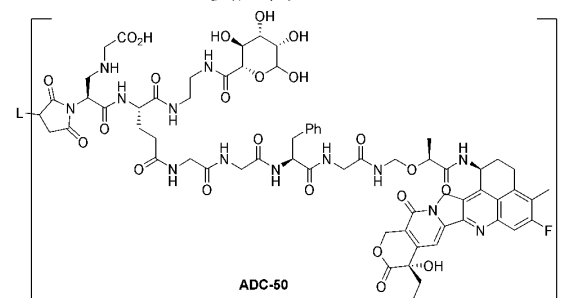
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-48。

实施例 171:



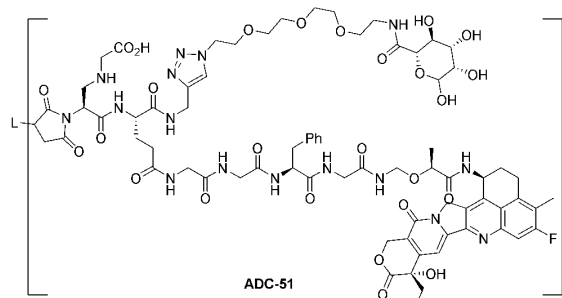
5 按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-49。

实施例 172:



按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-50。

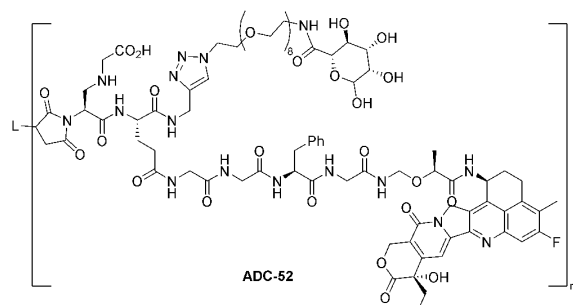
实施例 173:



10

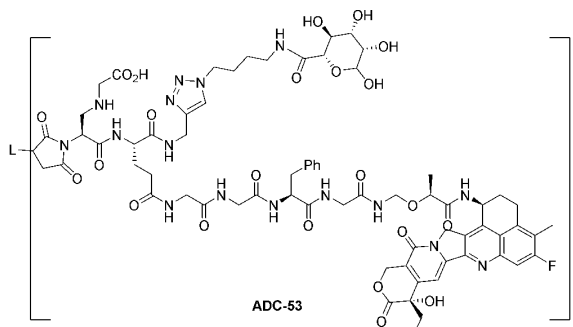
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-51。

实施例 174:



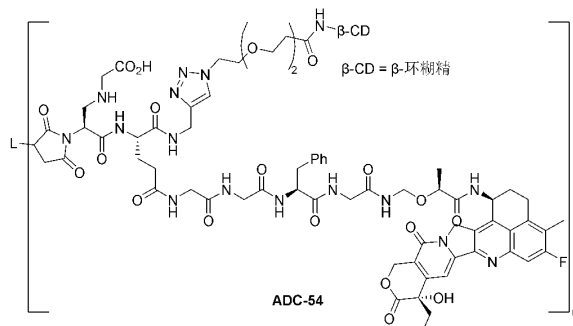
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-52。

实施例 175:



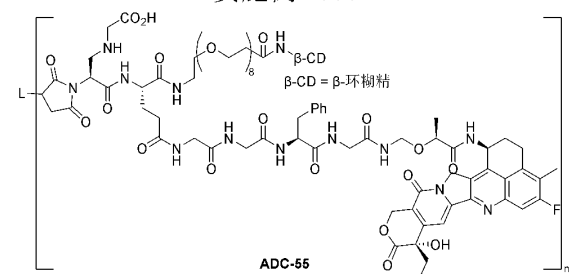
5 按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-53。

实施例 176:



按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-54。

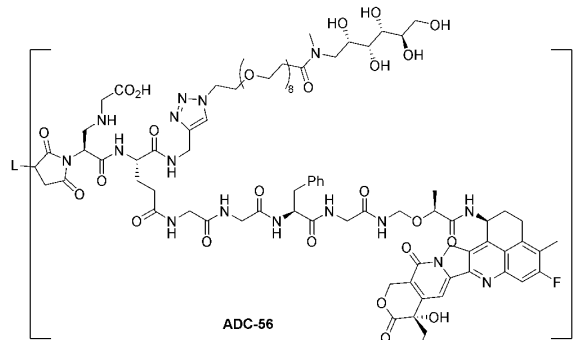
实施例 177:



10

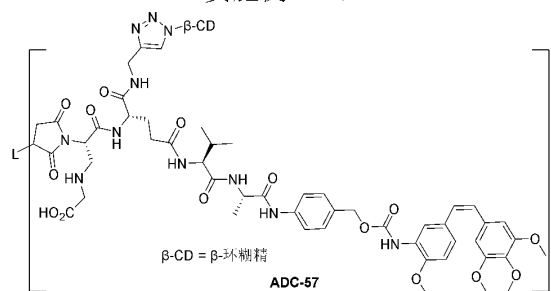
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-55。

实施例 178:



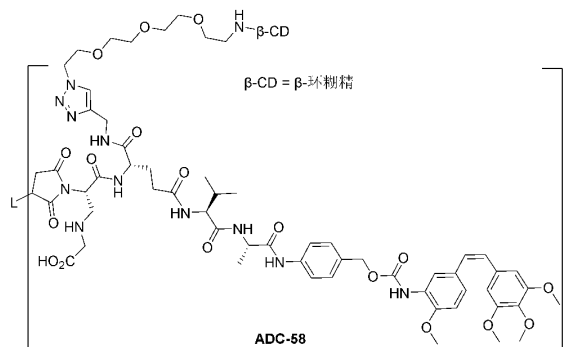
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-56。

实施例 179:



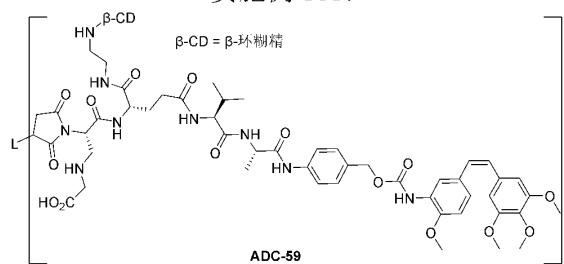
5 按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-57。

实施例 180:



按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-58。

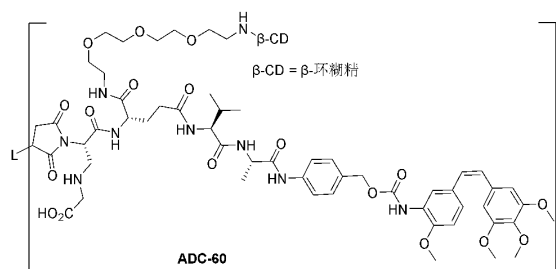
实施例 181:



10

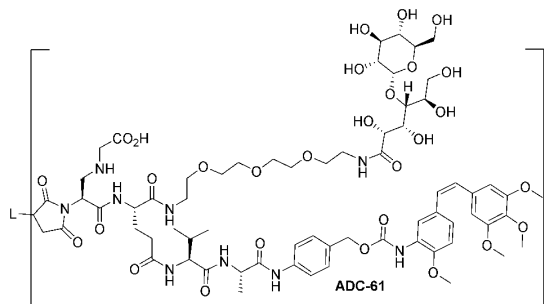
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-59。

实施例 182:



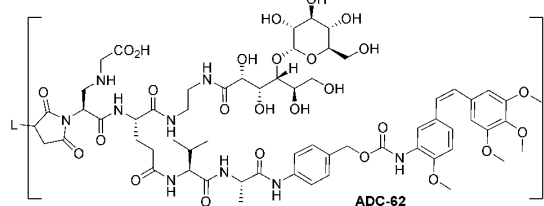
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-60。

实施例 183:



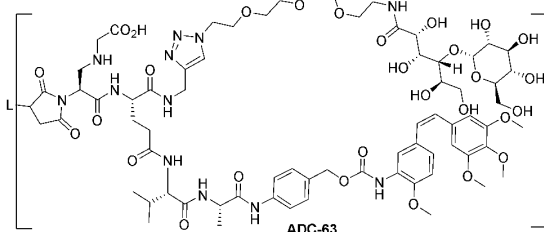
5 按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-61。

实施例 184:



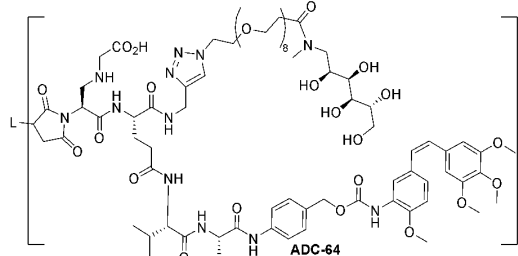
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-62。

实施例 185:



10 按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-63。

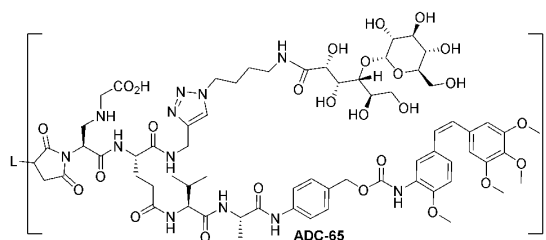
实施例 186:



按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-64。

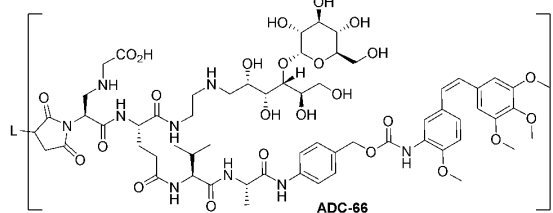
实施例 187:

15



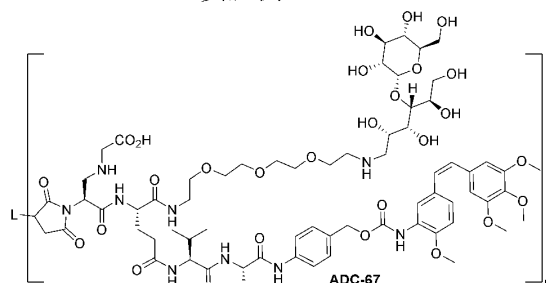
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-65。

实施例 188:



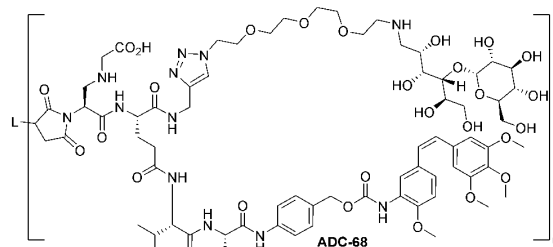
5 按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-66。

实施例 189:



按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-68。

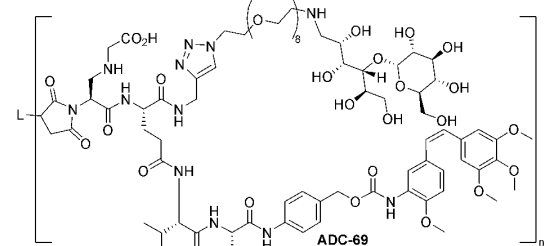
实施例 190:



10

按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-68。

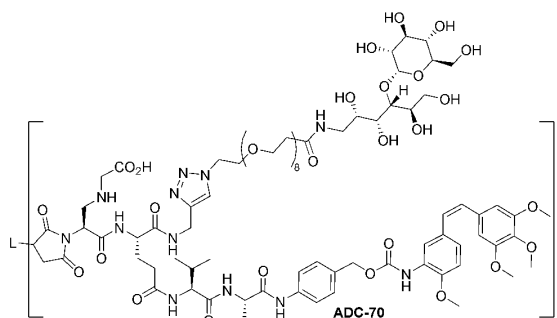
实施例 191:



按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-69。

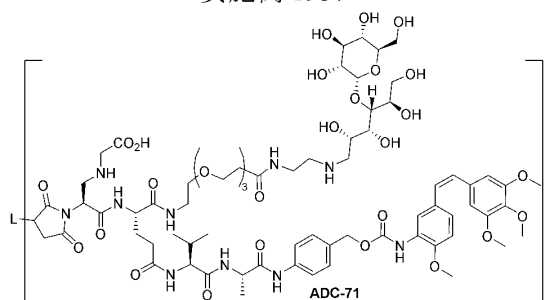
实施例 192:

15



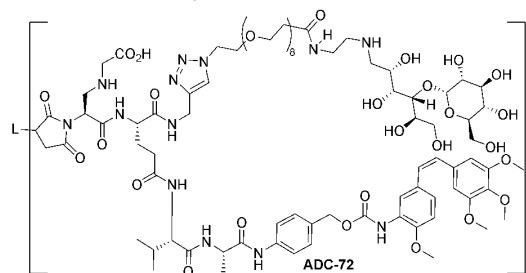
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-70。

实施例 193:



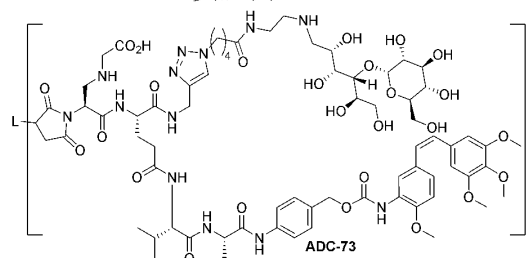
5 按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-71。

实施例 194:



按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-72。

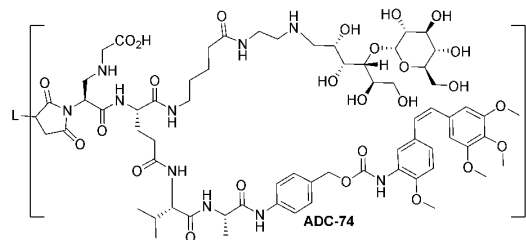
实施例 195:



10

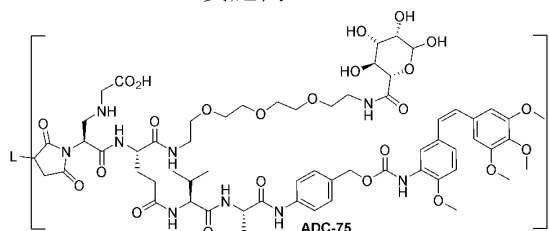
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-73。

实施例 196:



按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-74。

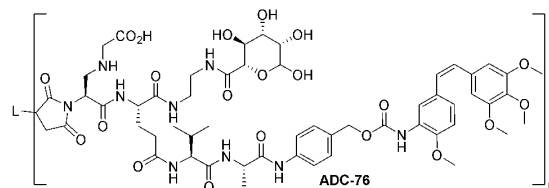
实施例 197:



按照配体-药物偶联物的通用制备方法, 得到 ADC-75。

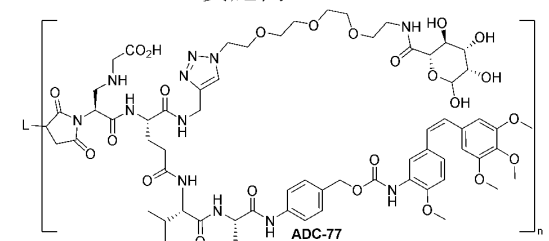
5

实施例 198:



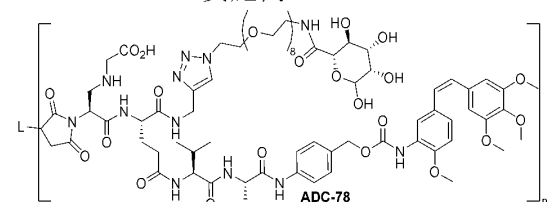
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-76。

实施例 199:



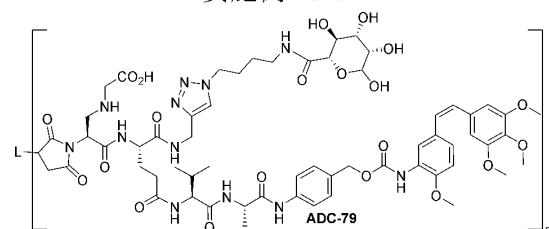
10 按照配体-药物偶联物的通用制备方法, 得到 ADC-77。

实施例 200:



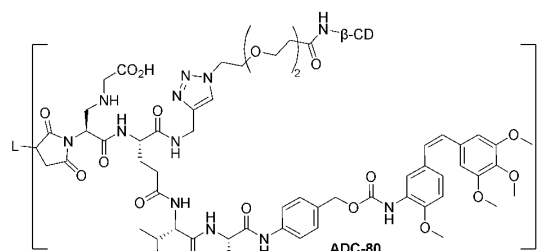
按照配体-药物偶联物的通用制备方法, 得到 ADC-78。

实施例 201:



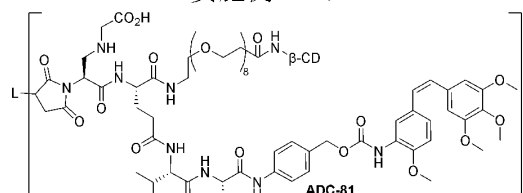
15 按照配体-药物偶联物的通用制备方法, 得到 ADC-79。

实施例 202:



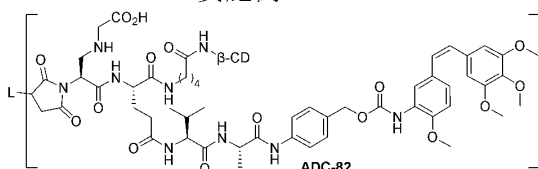
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-80。

实施例 203:



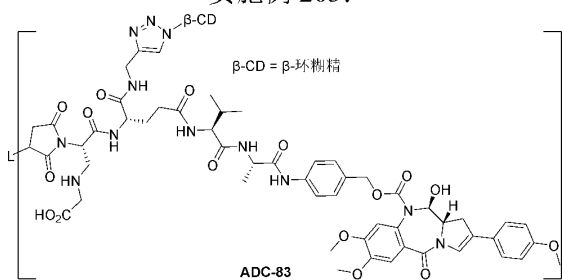
5 按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-81。

实施例 204:



按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-82。

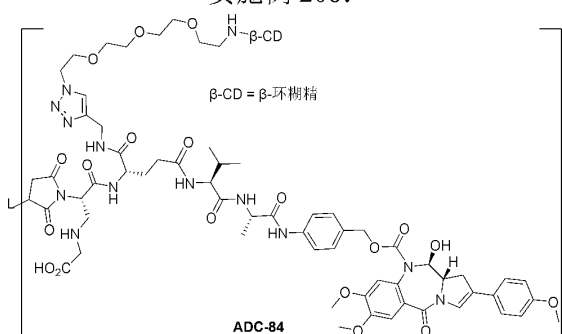
实施例 205:



10

按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-83。

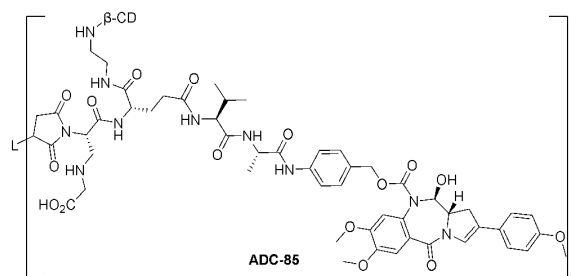
实施例 206:



按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-84。

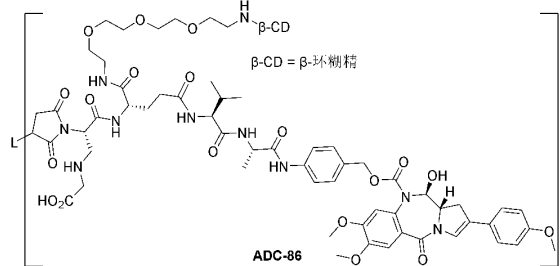
15

实施例 207:



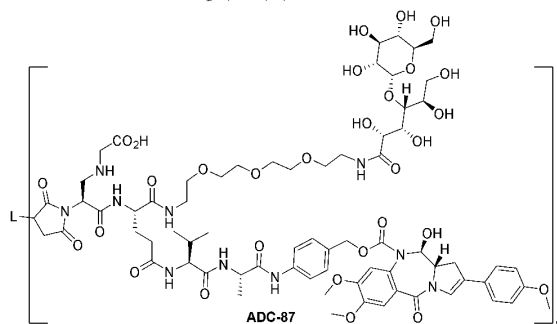
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-85。

实施例 208:



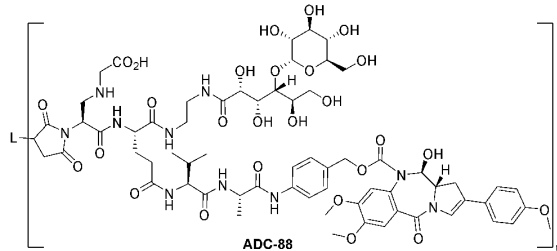
5 按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-86。

实施例 209:



按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-87。

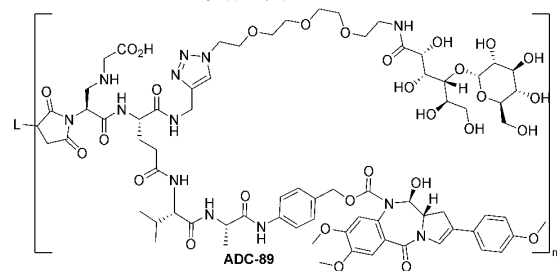
实施例 210:



10

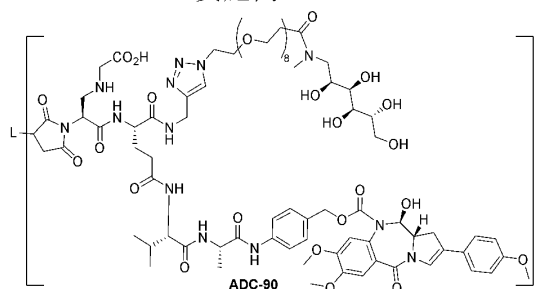
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-88。

实施例 211:



按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-89。

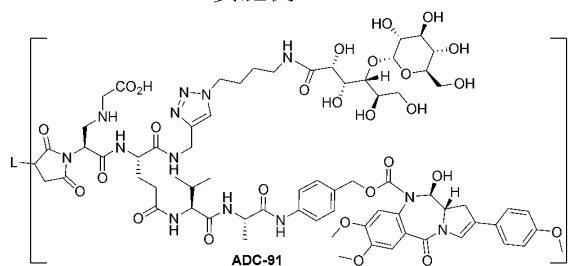
实施例 212:



按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-90。

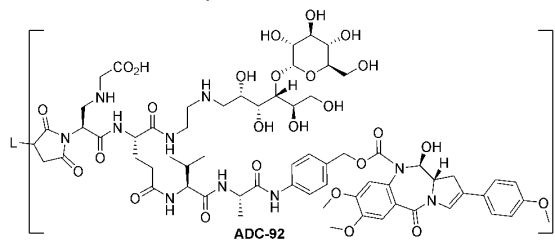
5

实施例 213:



按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-91。

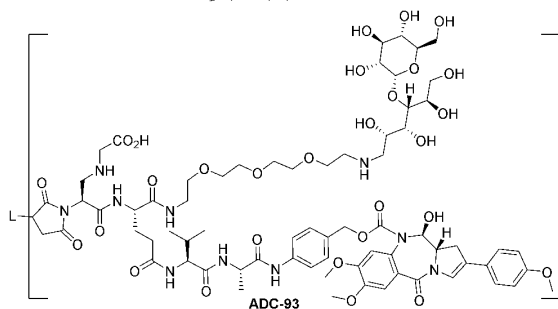
实施例 214:



10

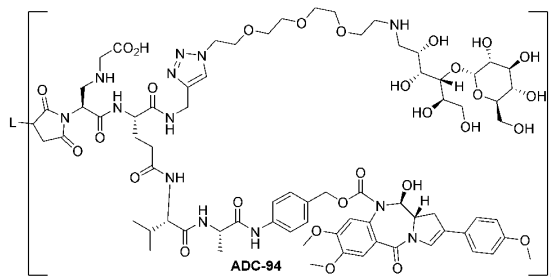
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-92。

实施例 215:



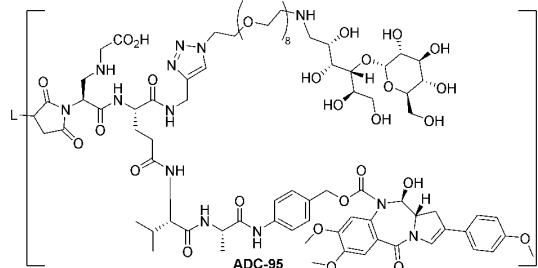
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-93。

实施例 216:



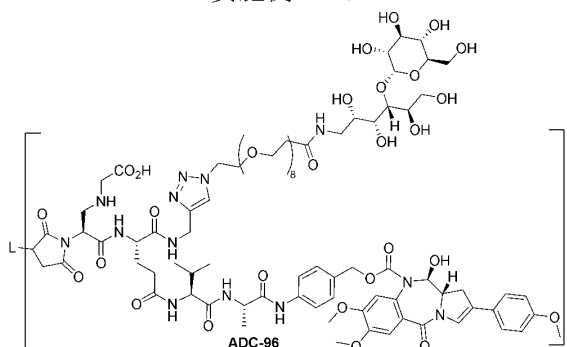
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-94。

实施例 217:



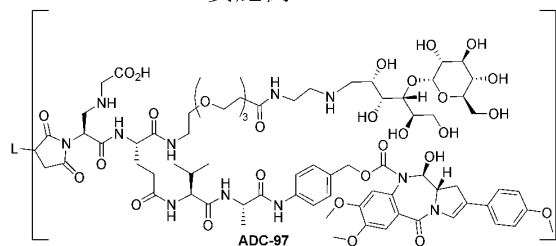
5 按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-95。

实施例 218:



按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-96。

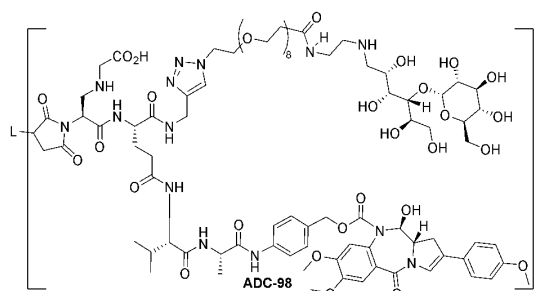
实施例 219:



10

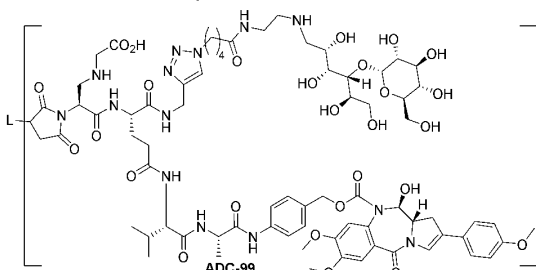
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-97。

实施例 220:



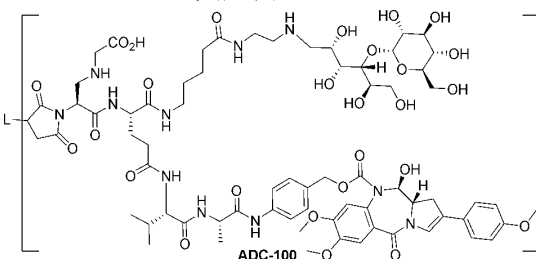
按照配体-药物偶联物的通用制备方法, 得到 ADC-98。

实施例 221:



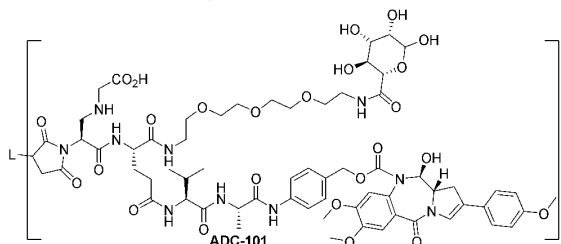
5 按照配体-药物偶联物的通用制备方法, 得到 ADC-99。

实施例 222:



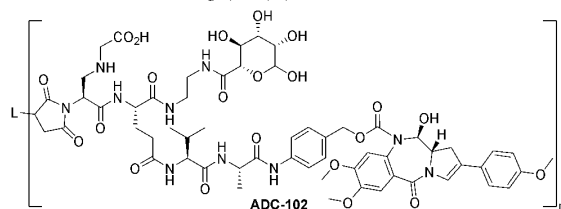
按照配体-药物偶联物的通用制备方法, 得到 ADC-100。

实施例 223:



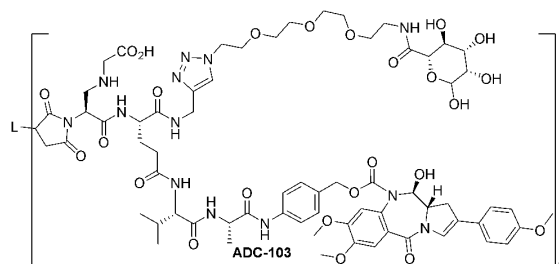
按照配体-药物偶联物的通用制备方法, 得到 ADC-101。

实施例 224:



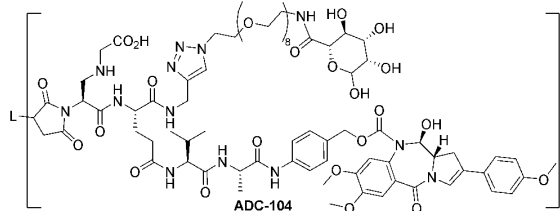
按照配体-药物偶联物的通用制备方法, 得到 ADC-102。

实施例 225:



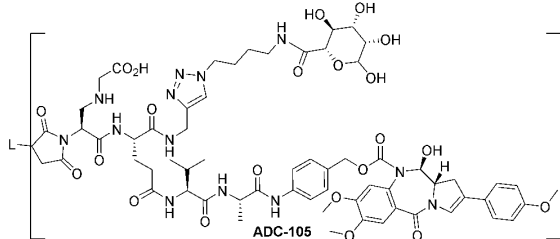
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-103。

实施例 226:



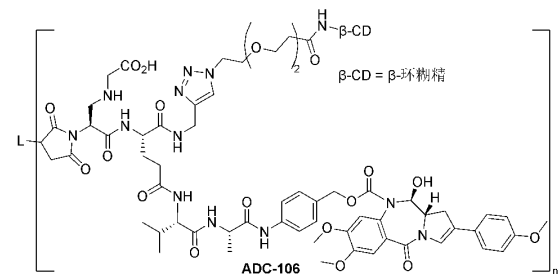
5 按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-104。

实施例 227:



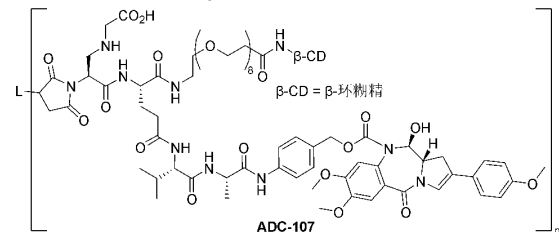
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-105。

实施例 228:



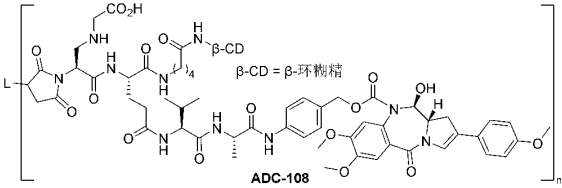
10 按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-106。

实施例 229:



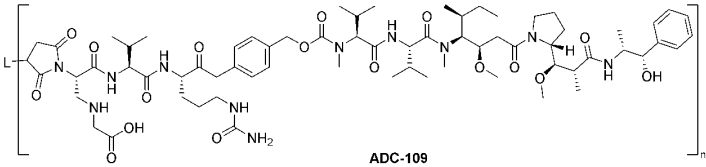
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-107。

15 实施例 230:



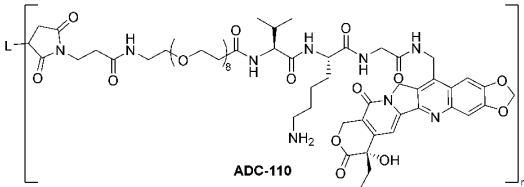
按照配体-药物偶联物的通用制备方法，得到 ADC-108。

实施例 231：对照组 ADC-109



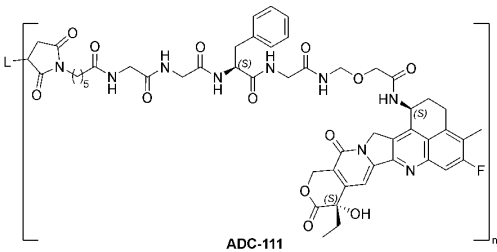
ADC-109 的 payload 参照专利“WO2018233571A1”实施例 11 的合成路线制备，配体-药物偶联物按照本发明通用方法制备。

实施例 232：对照组 ADC-110



ADC-110 的 payload 参照专利“WO2019195665A1”第 148 页 Example 4-3 的合成路线制备，配体-药物偶联物按照本发明通用方法制备。

实施例 233：对照组 ADC-111



ADC-111 的 payload 参照专利“WO2019044946 A1”式（14）表示的化合物的合成路线制备，配体-药物偶联物按照本发明通用方法制备。

实施例 235：ADC 单体率的测定

1) 使用 SEC-HPLC 方法测定单体率方法：

色谱柱：Biocore SEC-300 5 μm , 4.6 $\times$ 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

表 1 方法参数

参数	设置	参数	设置
流速	0.3 mL/min	进样量	20 ug
波长	214 nm 和 280 nm	最大压力	150 bar/15 MPa/2175 PSI
柱温	30 $^{\circ}\text{C}$	梯度	等度
样品盘温度	室温	运行时间	20 分钟

2) 结果：

表 2 部分实施例合成的配体-药物偶联物(ADC)单体率

名称	降解%	聚集体%	单体率%
----	-----	------	------

ADC-29	0.000	8.448	91.552
ADC-56	0.000	5.215	94.785
ADC-111	0.000	0.793	99.207

图 1A-图 1C 分别为 ADC-29、ADC-56、ADC-111 的 SEC-HPLC 谱图，显示了各 ADC 的聚集情况。

3) 结论:

本发明的 ADC 具有低降解率，低聚集率的特点，具有单体率高的优异性质。

5

实施例 235: DAR 值的测定

1) 方法: 使用 RP-HPLC 方法测定药物抗体比例 DAR:

色谱柱名称: Proteomix RP-1000 4.6×100mm 5μm 1000A ; 厂家: Sepax 货号: 465950-

4610

表 3 方法参数

参数	设置			
流动相	A :0.1%TFA 水溶液; B: 0.1%TFA 乙腈溶液			
流速	0.5 mL/min			
波长	214 nm 和 280 nm			
柱温	65 °C			
样品盘温度	室温			
进样量	25 ug			
最大压力	100bar/10MPa/1450PSI			
梯度	时间 (min)	流速 (mL/min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0.0	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

10

2) 结果:

表 4 部分实施例合成的配体-药物偶联物 (ADC) 偶联比 (DAR)

样品名	RP-DAR
ADC-29	8.32
ADC-56	8.01
ADC-111	8.66

图 2A-图 2C 分别为 ADC-29、ADC-56、ADC111 的 RP-HPLC 谱图，显示了各 ADC 的药物-抗体偶联比 (DAR)。

15

3) 结论:

本发明的 ADC 具有 DAR 值高的优异性质，在相同剂量 ADC 药物的给药剂量下，可以显著提高靶点位置的药物浓度。

20

实施例 236: 血浆稳定性

1) 操作

取一定量的 ADC 样品，加入到已去除人 IgG 的人血浆中，每种 ADC 重复三管，放置 37 °C 水浴中孵，分别孵育 7 天、14 天、21 天后，取出 ADC 样品，每管加入 ProteinA

resin(MabSelect SuRe™ LX Lot:#10221479GE, 用取 PBS 洗涤过的)100 uL, 垂直混合仪晃动吸附 2 h,经过洗涤洗脱步骤, 获得孵育后的 ADC。对孵育特定时间的 ADC 样品进行 RP-HPLC 检测。

2) 结果

5 表 5 部分实施例合成的配体-药物偶联物（ADC）的血浆稳定性数据

名称	37℃ SEC（聚集%/单体%/降解%）								
	7 天			14 天			21 天		
CD33-mAb	0.452	99.326	0.222	0.431	99.158	0.411	0.405	98.841	0.754
ADC-1	7.608	91.994	0.398	7.913	91.201	0.886	7.866	91.395	0.739
ADC-28	9.796	90.100	0.104	10.902	88.188	0.910	11.437	88.032	0.531
ADC-109	38.204	61.591	0.205	40.880	58.939	0.181	44.817	55.008	0.175

3) 结论

10 与对照组 ADC-109 相比, 本发明的增强亲水性的 ADC 药物如 ADC-1、ADC-28 经过 21 天 37 ℃的血浆孵育后, 单体率更高, 血浆中的聚集更少, 证明本发明的 ADC 药物具备更优异的亲水性及稳定性。

实施例 237: 抗体-药物偶联物体外药效检测

1) 方法:

15 本实施例中利用多种人源肿瘤细胞株（A431（人表皮癌细胞）, HL-60（人早幼粒急性白血病细胞）, TF-1（人血液白血病细胞）, HEL92.1.7（人红白细胞白血病细胞）, MV4-11（人髓性单核细胞白血病细胞）与 MOLM-13（人急性髓系白血病细胞））作为实验模型, 以评价 ADC 偶联药物的体外药效。接种一定数目的肿瘤细胞系于 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 Alamar Blue 或 MTS 检测细胞活力, 通过计算 IC₅₀ 评价受试抗体及 ADC 对肿瘤细胞系的抑制效果。抗体药物起始浓度为 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)×100%, 随后利用 Graph Pad Prism 拟合曲线, 计算半数抑制浓度 (IC₅₀)。

2) 结果:

25 表 6 受试 ADC 药物的体外药效结果:

Groups	IC ₅₀ (nM)					
	A431	HL60	TF-1	HEL92.1.7	MV4-11	MOLM-13
ADC-1	134.5	0.442	0.02	>500	104	1.564
ADC-28	87.26	0.003	0.006	83.9	56.51	0.005
ADC-109 对照组	316.1	0.006	0.022	104.1	187.4	0.005
ADC-29	74.12	17.58	0.029	19.19	1.945	0.023
ADC-42	51.83	9.108	3.427	18.5	0.996	0.035

ADC-56	150.5	32.98	4.321	26.09	19.95	0.007
ADC-111 对照组	302.2	137.75	0.054	162.64	12.73	0.266

3) 结论:

结果如上表 6 及图 3A-图 3F 所示, 在多种人源肿瘤细胞株 (A431, HL-60, TF-1, HEL92.1.7, MV4-11 与 MOLM-13) 的体外药效试验中, 本发明的 ADC 药物具有优异的活

5

实施例 238: 抗体-药物偶联物体内药效检测

本发明建立了人红白细胞白血病细胞 HEL92.1.7 BALB/c Nude 皮下移植瘤模型, 以评价 ADC 偶联药物的体内药效。

10

1) 方法:

以 5×10^6 个 HEL92.1.7 细胞 (0.1 mL/只) 通过皮下注射到 5~6 周鼠龄的 BALB/c Nude 右侧肩胛部, 待小鼠肿瘤平均大小生长至 $230 \sim 270 \text{ mm}^3$ 左右, 随机分为溶媒对照组 (Vehicle)、单抗 (CD33-mAb) 治疗组 (10 mg/kg)、ADC 治疗组 (5 mg/kg、10 mg/kg), 每组 5 只, 并开始给药 (D0)。各组均按 10 mL/kg 体重尾静脉注射给药。

15

2) 结果:

表 7 在人红白细胞白血病细胞 HEL92.1.7 BALB/c-Nude 小鼠皮下移植瘤模型中各组药效分析表

分组信息		瘤体积(mm^3)*				
		Day 0	Day 3	Day 7	Day 10	Day 14
1	Vehicle; 1 dosage/周	269.92	449.01	755.49	1222.66	1544.77
2	单抗 mAb(1 dosage/周;10mg/kg)	242.24	381.55	552.42	934.47	1152.12
3	ADC-29(1 dosage/周 5mg/kg)	232.44	79.09	77.51	35.77	15.71
4	ADC-29(1 dosage/周 10mg/kg)	246.19	53.37	23.70	0.00	0.00
5	ADC-56(1 dosage/周 5mg/kg)	233.57	75.19	27.80	8.82	0.00
6	ADC-56(1 dosage/周 10mg/kg)	235.81	41.11	16.64	3.14	0.00

*每个受试组中小鼠移植瘤体积的平均值。

表 8 在人红白细胞白血病细胞 HEL92.1.7 BALB/c-Nude 小鼠皮下移植瘤模型中小鼠体重分析表

分组信息		体重 (g)*				
		Day 0	Day 3	Day 7	Day 10	Day 14
1	Vehicle; 1 dosage/周	22.12	23.52	23.71	24.60	25.17
2	单抗 mAb(1 dosage/周;10mg/kg)	22.08	22.05	22.36	23.54	23.76
3	ADC-29(1 dosage/周 5mg/kg)	22.27	22.44	21.81	22.67	23.39
4	ADC-29(1 dosage/周 10mg/kg)	22.36	22.78	22.74	23.27	22.84
5	ADC-56(1 dosage/周 5mg/kg)	22.22	22.08	22.65	23.30	23.66
6	ADC-56(1 dosage/周 10mg/kg)	22.13	21.96	21.67	22.06	22.78

*每个受试组中小鼠体重的平均值。

20

3) 结论:

如上表 7 所示，相比于空白对照及单抗治疗组，本发明的 ADC 药物在不同剂量下均可显著抑制肿瘤的生长，并且在一定程度上呈现出剂量依赖性。

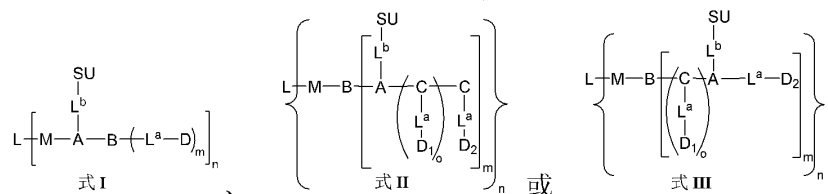
如上表 8 所示，不同剂量下给药过程中，受试各组动物体重正常，无明显变化，说明本发明的 ADC 药物无明显毒副作用。

5

尽管本发明的具体实施方式已经得到详细的描述，但本领域技术人员将理解：根据已经公开的所有教导，可以对细节进行各种修改和变动，并且这些改变均在本发明的保护范围之内。本发明的全部范围由所附权利要求及其任何等同物给出。

权 利 要 求

1. 一种如式 I、式 II 或式 III 所示的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物：



其中：

L 选自配体；

M 选自任意接头单元或键；

A 选自任意连接支架；

B 存在或不存在，当存在时，选自任意连接结构或键；

C 存在或不存在，当存在时，选自任意分支单元或键；

D、D₁、D₂ 相同或不同，且各自独立地选自药物；

SU 选自糖或其衍生物；

L^a、L^b 相同或不同，且各自独立地选自任意连接单元或键；

m 选自 1-5 的整数；

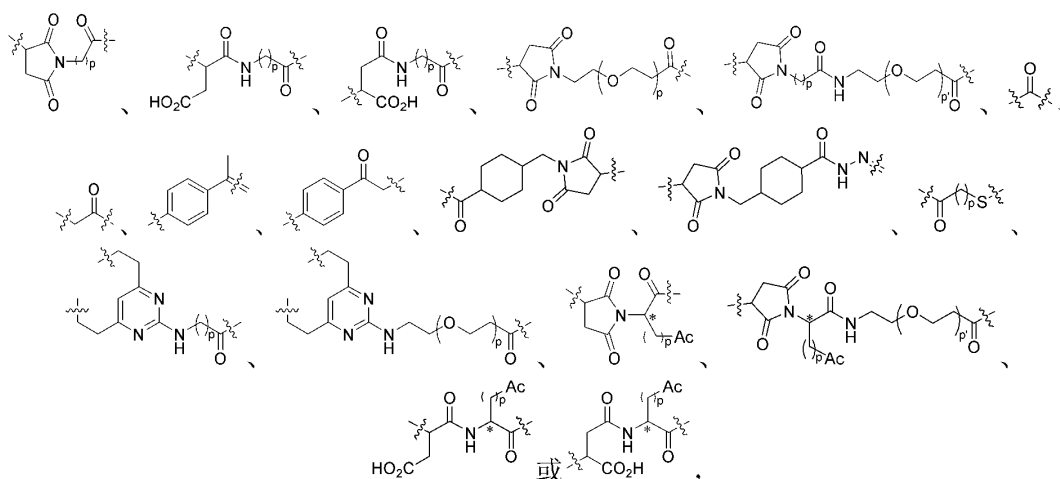
n 选自 1-10 的整数；

o 选自 1-10 的整数。

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，其特征在于：所述配体 L 选自抗体、功能性的抗体片段或具有靶向作用的蛋白。

3. 根据权利要求 1 或 2 中任一项所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：所述配体 L 选自抗体，包括但不限于嵌合抗体、人源化抗体、全人源抗体或鼠源抗体。

4. 根据权利要求 1-3 中任一项所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：所述接头单元 M 非限制性地选自如下式所示的结构或键，当所述结构含有环烷基或杂环基时，所述接头单元 M 还可以选自所述结构的开环形式，



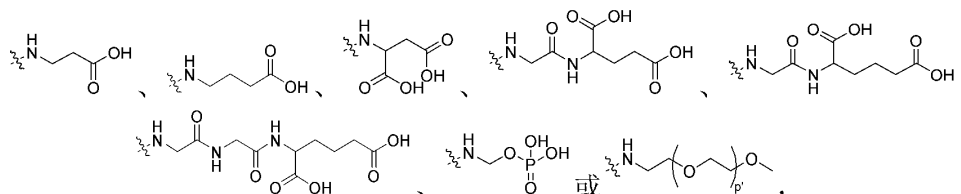
其中：

波浪线所示位置非限制性地与配体、连接支架 A、连接结构 B 或分支单元 C 相连；

*所示位置的碳为手性碳，其构型为R型或S型；

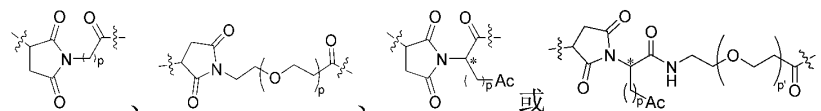
p 、 p' 各自独立地选自 1-10 的整数;

Ac 非限制性地选自天然或非天然氨基酸的残基、具有 1-20 个重复单元的聚乙二醇链段、磷酸基、羧酸基、磺酸基、亚磺酸基或以下结构,



其中，波浪线所示位置与*所示位置的碳原子相连。

5. 根据权利要求 1-4 中任一项所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其特征在于: 所述接头单元 M 非限制性地选自如下式所示的结构或其立体异构体或其开环形式,

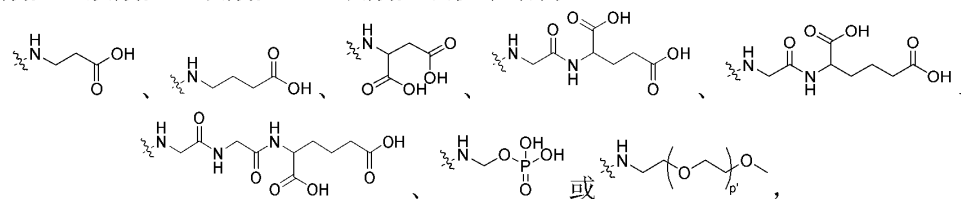


其中:

波浪线所示位置非限制性地与配体、连接支架 A、连接结构 B 或分支单元 C 相连:

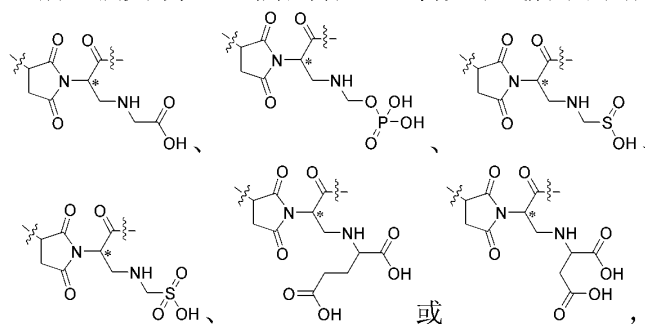
*所示位置的碳为手性碳, 其构型为 R 型或 S 型; p、p'各自独立地选自 1-10 的整数;

Ac 非限制性地选自天然或非天然氨基酸的残基、具有 1-20 个重复单元的聚乙二醇链段、磷酸基、羧酸基、磺酸基、亚磺酸基或以下结构,



其中，波浪线所示位置与*所示位置的碳原子相连。

6. 根据权利要求 1-5 中任一项所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其特征在于: 所述接头单元 M 非限制性地选自如下式所示的结构或其开环形式,



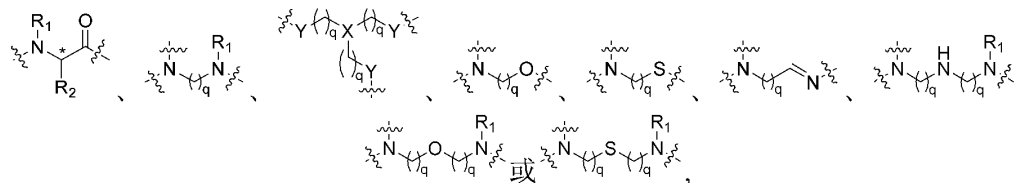
优选地为

其中:

*所示位置的碳为手性碳，其构型为 R 型或 S 型；

波浪线所示位置非限制性地与配体、连接支架 A、连接结构 B 或分支单元 C 相连。

7. 根据权利要求 1-6 中任一项所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其特征在于: 所述连接支架 A 非限制性地选自天然或非天然氨基酸中的一种或几种的组合或以下结构,



其中:

X 选自 N、CH、C3-C8 环烷基、3-8 元杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基;

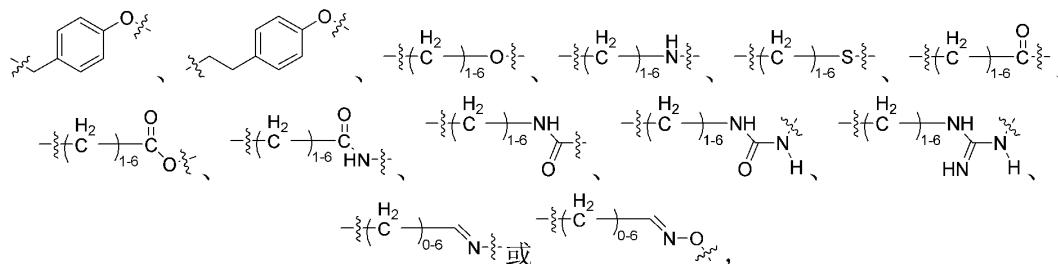
Y 选自-NH-、-O-、-S-、-CO-、-CO₂-、-CONH-、-NHCO-、-SO-、-SO₂-、-OSO₂-或-OP=O(OH)O-;

q 选自 1-10 的整数;

波浪线所示位置非限制性地与接头单元 M、连接单元 L^a、L^b、连接结构 B 或分支单元 C 相连；

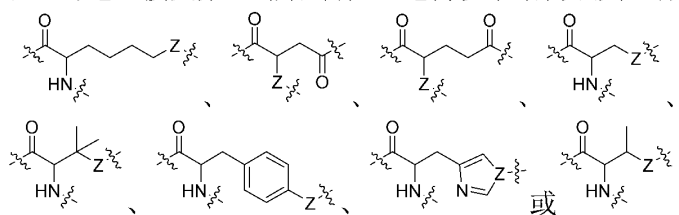
R₁ 选自氢原子、氘原子、卤素、C1-C6 烷基、C1-C6 取代烷基、C3-C8 环烷基 C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基 C1-C6 烷基、羧基、3-8 元杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

R₂ 非限制性的选自:



其中左侧波浪线表示 R_2 连接至*所示的手性碳的位置，右侧波浪线代表连接支架 A 的任意三个连接位点之一。

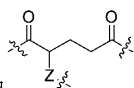
8. 根据权利要求 1-6 中任一项所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其特征在于: 所述连接支架 A 非限制性地选自以下结构或其立体异构体,



其中:

Z 选自-NH-、-O-或-S-;

波浪线所示位置非限制性地与接头单元 M、连接单元 L^a、L^b、连接结构 B 或分支单元 C 相连；



优选地，所述连接支架 A 为 ，其中，Z 为 -NH-。

9. 根据权利要求 1-8 中任一项所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其特征在于: 所述 B 非限制性地选自任意连接结构或键。

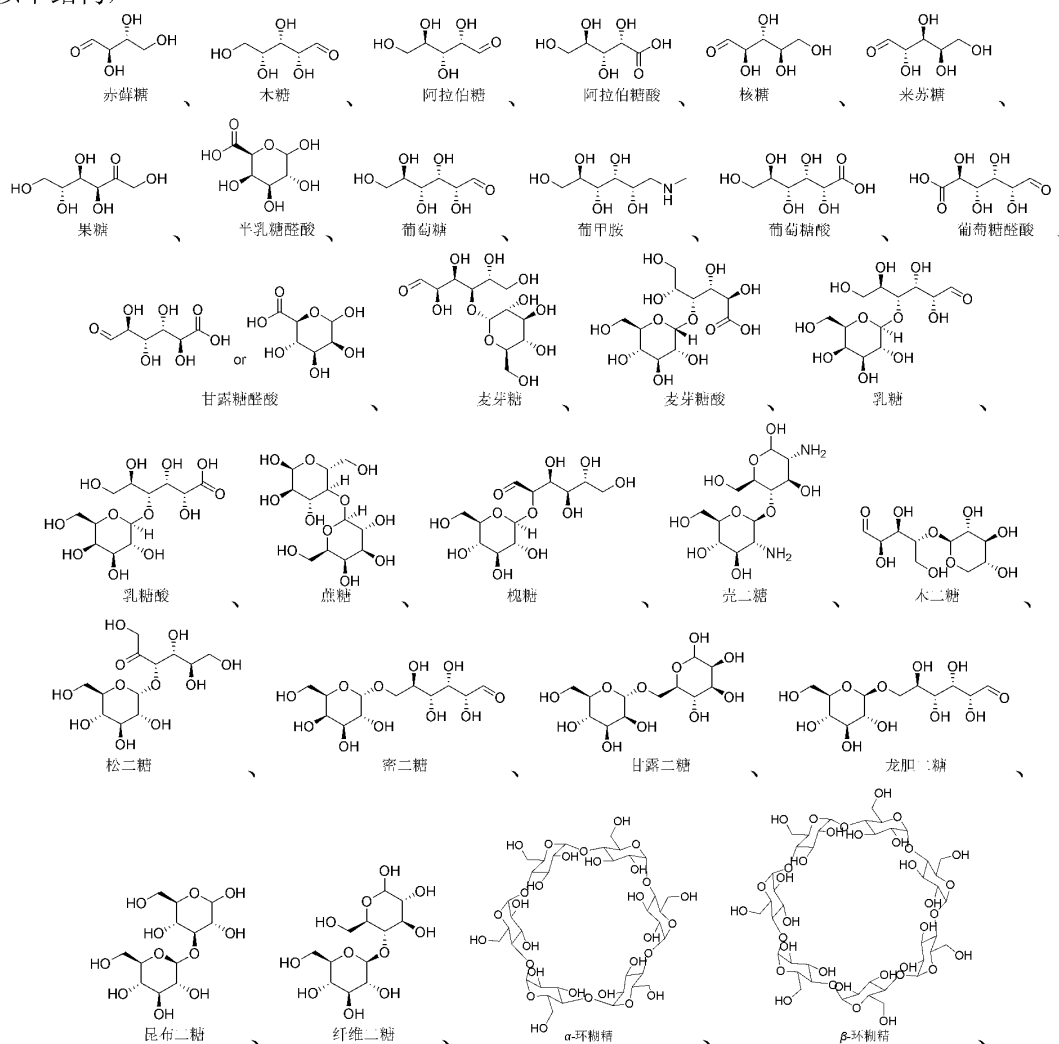
10. 根据权利要求 1-9 中任一项所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其特征在于: 所述 C 存在或不存在, 当 C 存在时, 非限制性的选自天然或非天然氨基酸的一种或几种的组合。

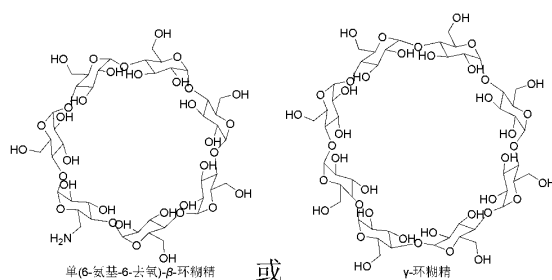
11. 根据权利要求 1-10 中任一项所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其特征在于: 所述药物 D、D₁、D₂ 相同或者不同, 各自独立地且非限制性地选自抗肿瘤药物、自身免疫疾病药物、抗感染性疾病药物(例如抗病毒药物)、放射性同位素、发色分子或上述药物药学上可接受的盐或溶剂化物。

12. 根据权利要求 1-11 中任一项所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其特征在于: 所述药物 D、D₁、D₂ 相同或者不同, 各自独立地且非限制性地选自抗肿瘤药物, 包括但不限于 DNA 损伤剂、RNA 损伤剂、酶抑制剂或微管抑制剂。

13. 根据权利要求 1-12 中任一项所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其特征在于: 所述 SU 非限制性地选自天然或非天然的单糖、二糖、多糖或其衍生物。

14. 根据权利要求 1-13 中任一项所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其特征在于: 所述天然或非天然的单糖、二糖、多糖或其衍生物非限制性地选自以下结构,





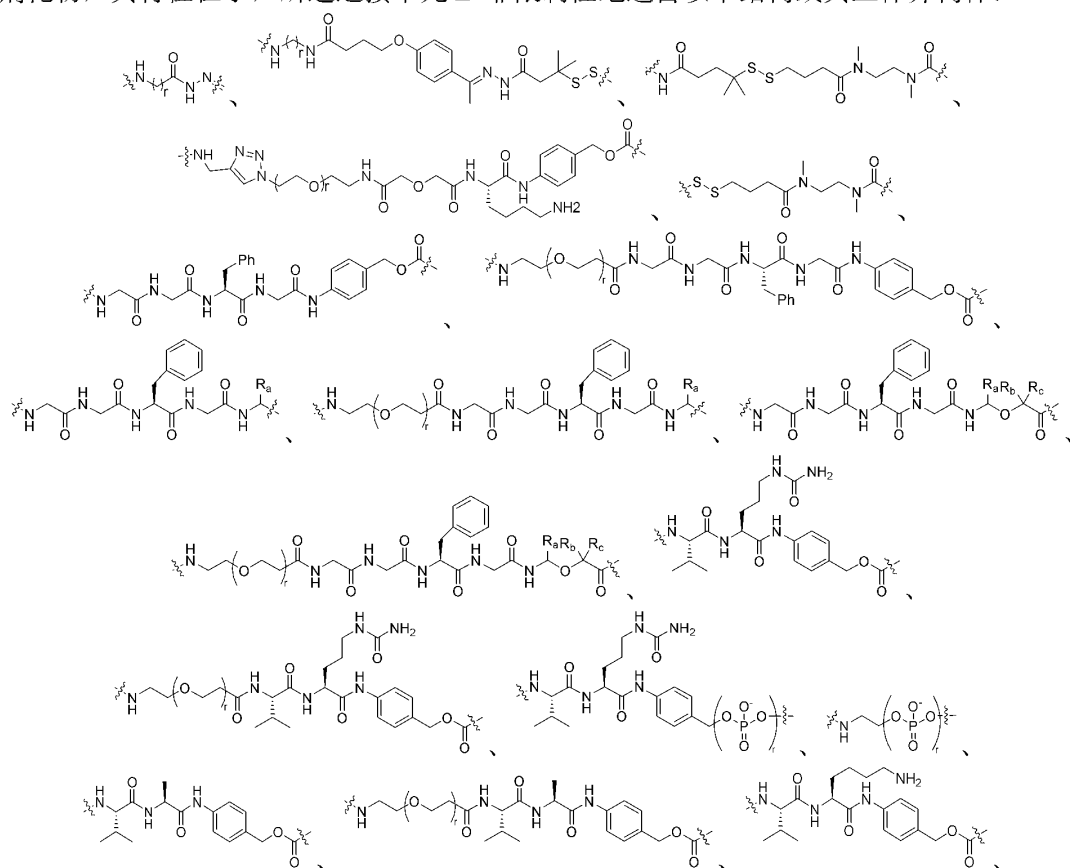
优选地, 所述 SU 选自葡甲胺、麦芽糖、麦芽糖酸、甘露糖醛酸、β-环糊精或单(6-氨基-6-去氧)-β-环糊精。

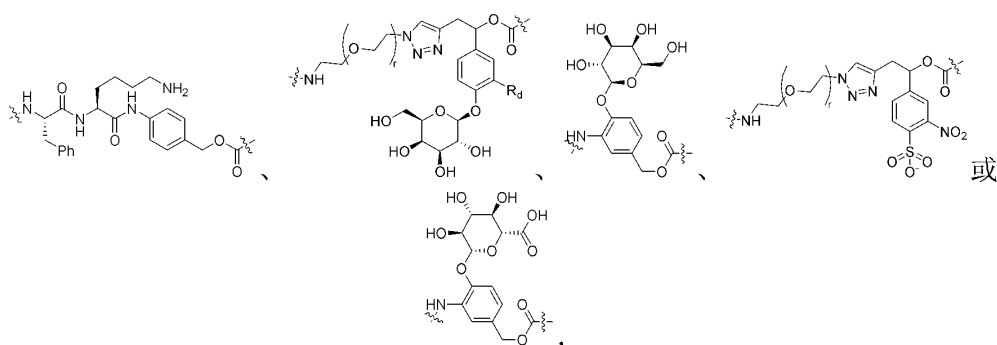
15. 根据权利要求 1-14 中任一项所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其特征在于: 所述 SU 非限制性地以共价形式连接至 L^b。

16. 根据权利要求 1-15 中任一项所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其特征在于: 所述连接单元 L^a、L^b 相同或者不同, 各自独立地且非限制性地选自化学不稳定连接单元、酶催化裂解的连接单元或不可断裂连接单元的一种或几种组合。

17. 根据权利要求 1-16 中任一项所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其特征在于: L^a 选自化学不稳定连接单元或酶催化裂解的连接单元。

18. 根据权利要求 1-17 中任一项所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其特征在于, 所述连接单元 L^a 非限制性地选自以下结构或其立体异构体:





其中：

R_a 、 R_b 、 R_c 相同或者不同，且各自独立地选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷基基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

或者， R_b 、 R_c 和与二者相连的碳原子构成 C3-C8 环烷基或 3-8 元杂环基；

R_d 选自 H、 NO_2 、 $HO-SO_3$ -或- OSO_3 ；

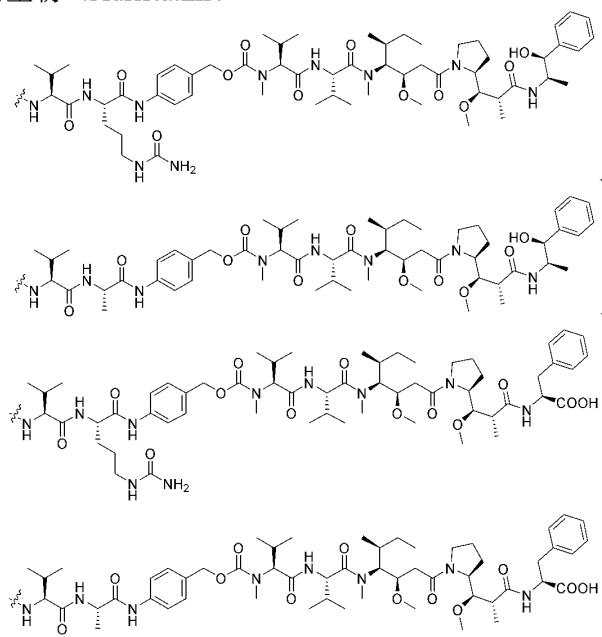
r 选自 1-10 的整数；

左侧波浪线所示位置与连接支架 A、连接结构 B 或分支单元 C 相连；

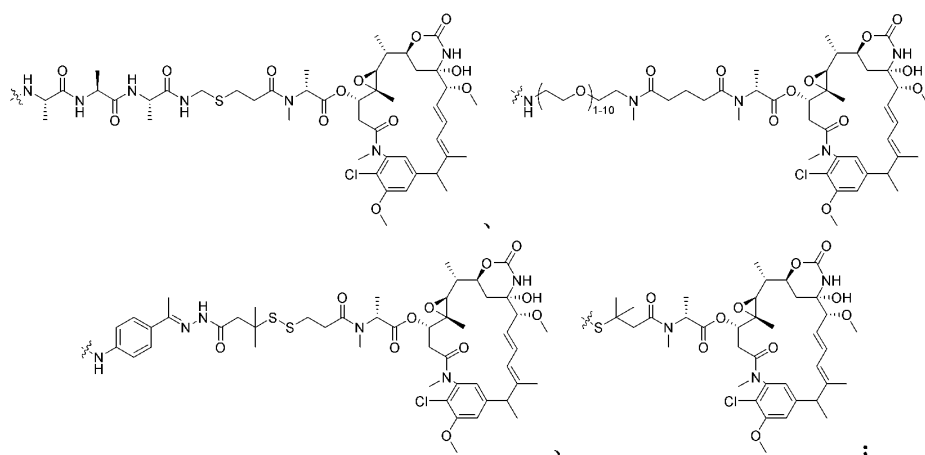
右侧波浪线所示位置与药物 D、 D_1 或 D_2 相连。

19. 根据权利要求 1-18 中任一项所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：连接单元 L^a -D、 L^a - D_1 或 L^a - D_2 相同或不同，并且非限制性地选自以下结构或其立体异构体，

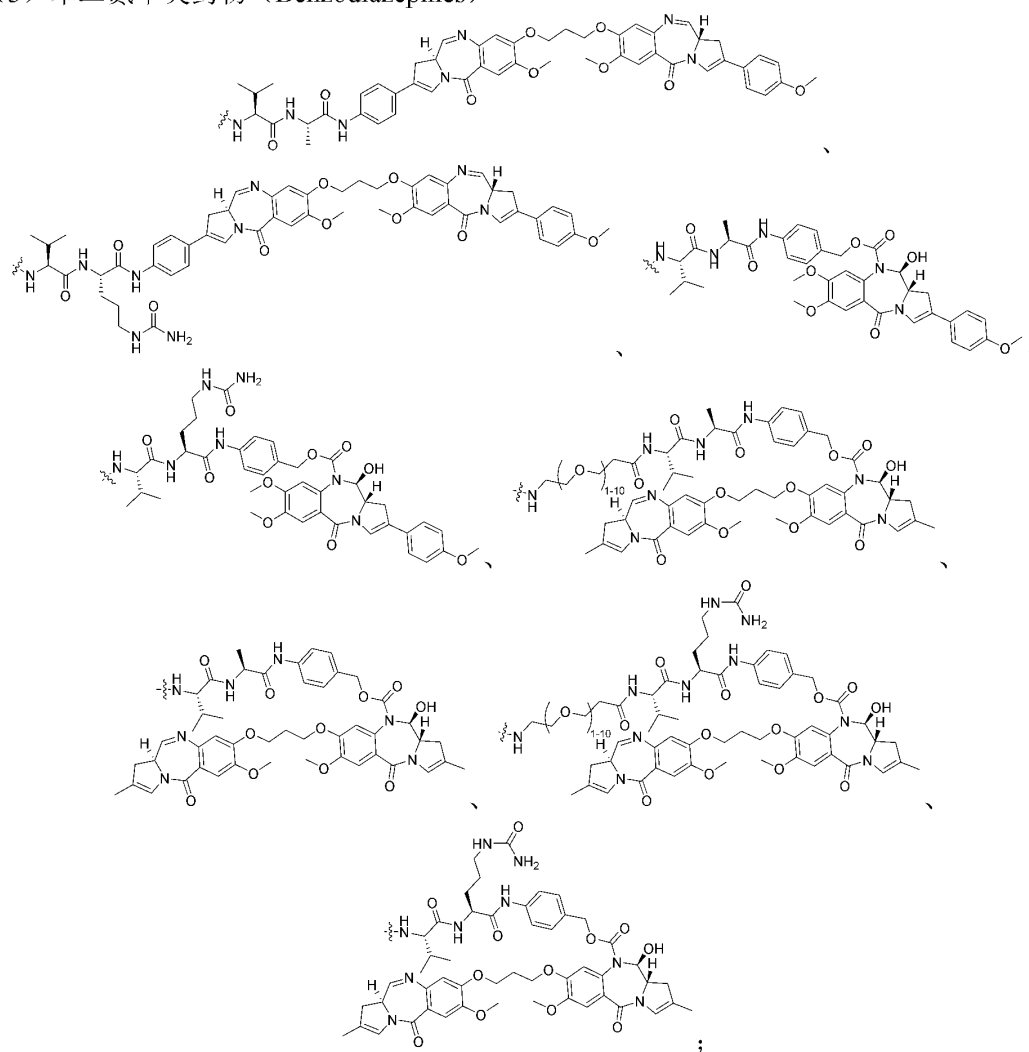
(1) 奥瑞斯他汀衍生物 (Auristatins)



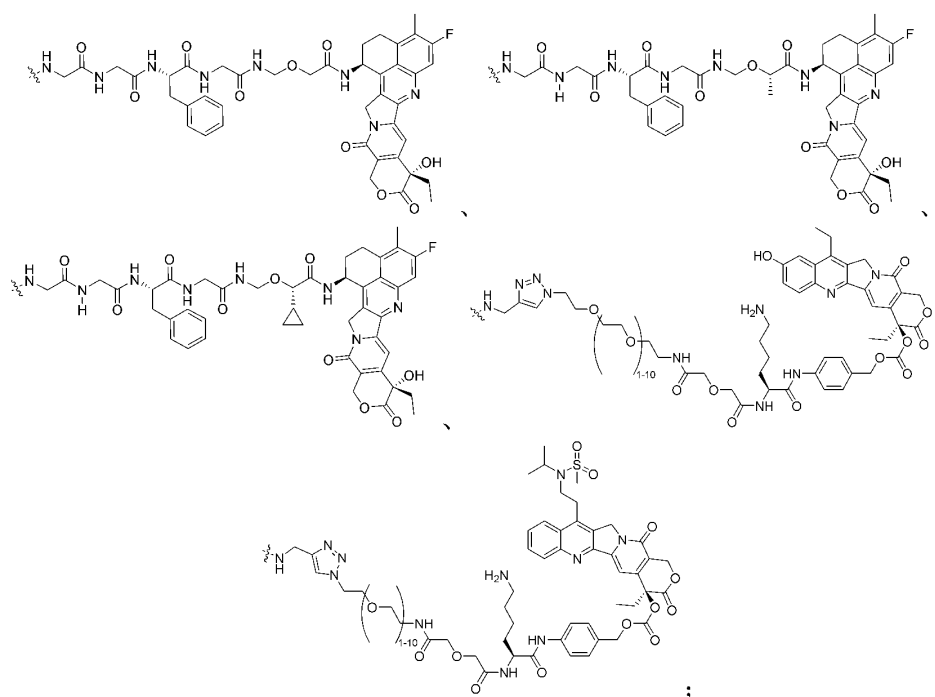
(2) 美登木素生物碱衍生物 (maytansinoids)



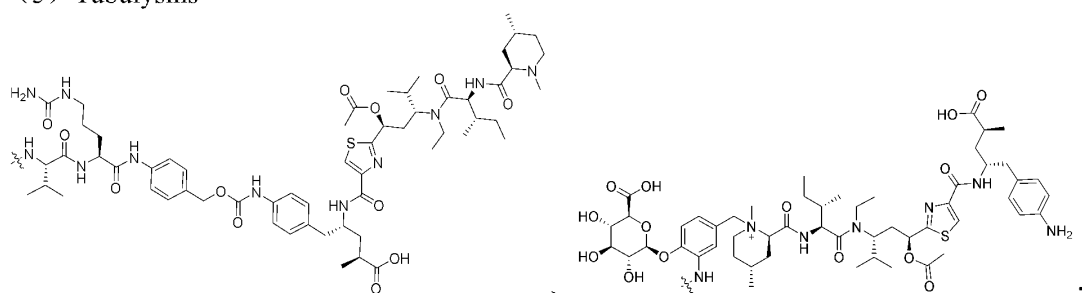
(3) 苯二氮草类药物 (Benzodiazepines)



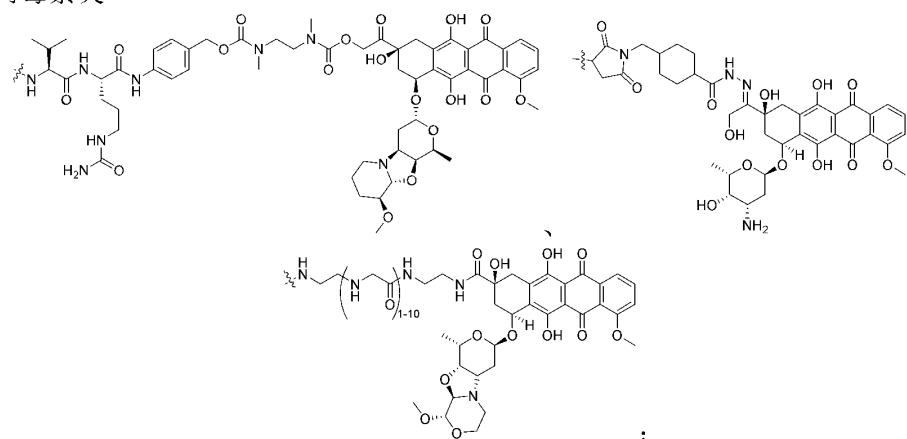
(4) 喜树碱类似物



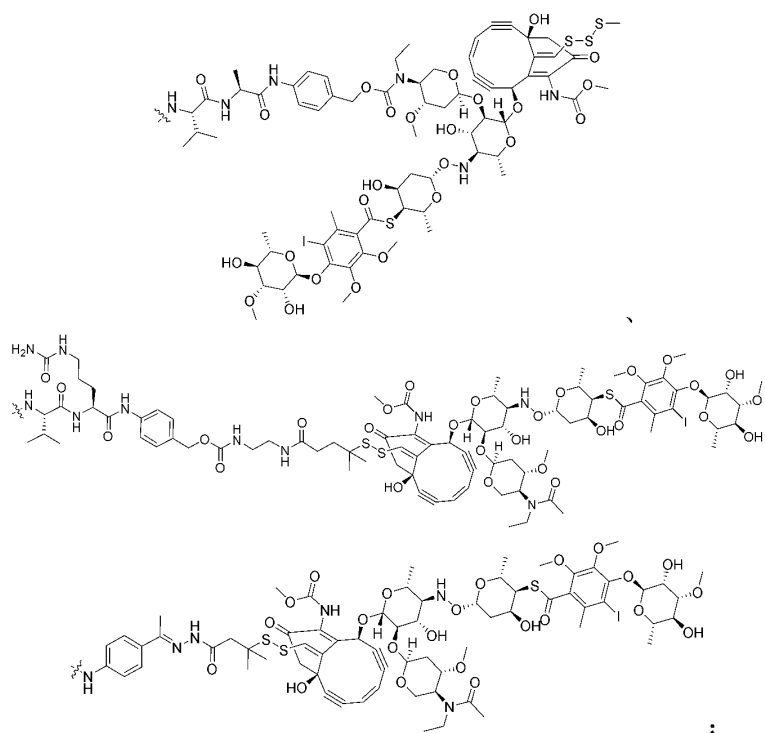
(5) Tubulysins



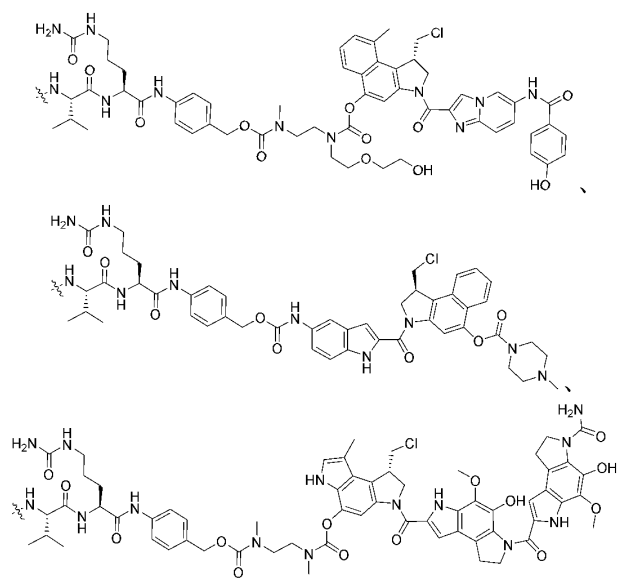
(6) 阿霉素类



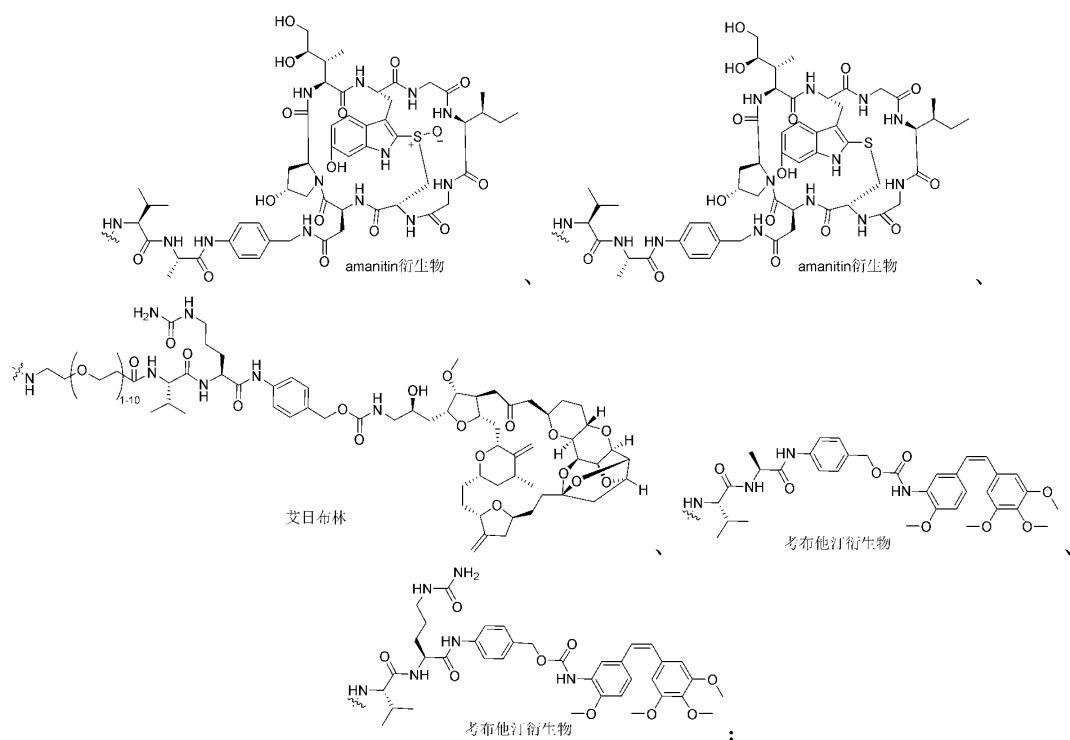
(7) 卡奇霉素类 (Calicheamicins)



(8) Duocarmycins



(9) 其它抗肿瘤药物

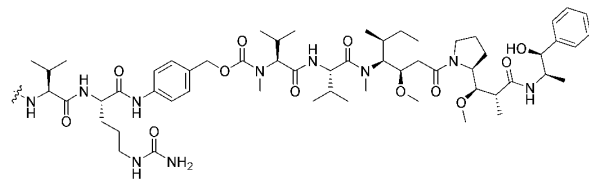


其中：

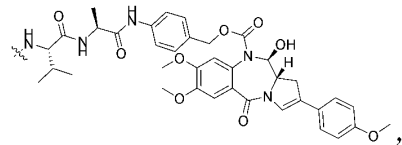
波浪线所示位置与连接支架 A、连接结构 B 或分支单元 C 相连；

优选地，所述 L^a-D、L^a-D₁ 或 L^a-D₂ 选自：

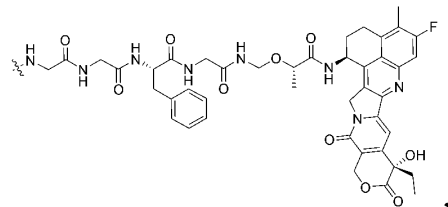
奥瑞斯他汀衍生物，例如



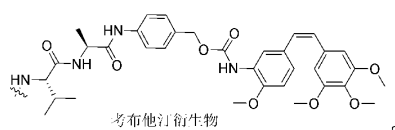
苯二氮草衍生物，例如



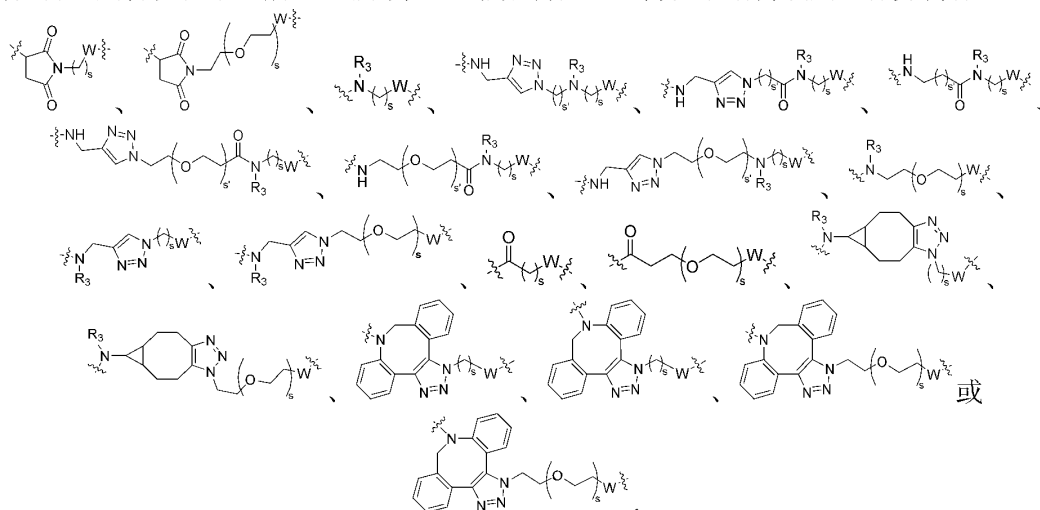
喜树碱类似物，例如



考布他汀衍生物，例如



20. 根据权利要求 1-19 中任一项所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：所述连接单元 L^b 非限制性地选自以下结构或其立体异构体，



其中：

R_3 选自氢原子、氘原子、卤素、C1-C6 烷基、氘代 C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、C3-C8 环烷基 C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基 C1-C6 烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

W 选自 $-NR_4-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-CO-$ 或 $-CONR_5-$ ；

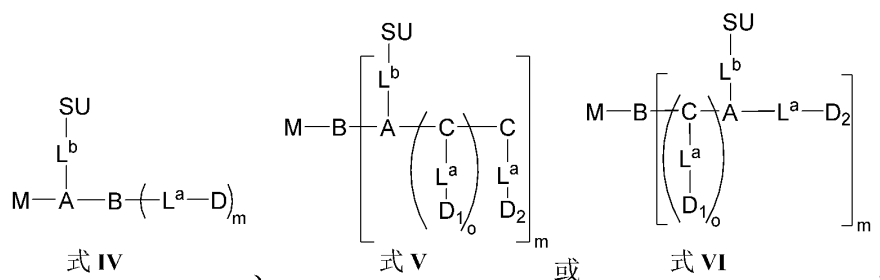
R_4 或 R_5 各自独立地选自氢原子、氘原子、卤素、C1-C6 烷基、氘代 C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、C3-C8 环烷基 C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基 C1-C6 烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

s 选自 1-10 的整数；

s' 选自 1-10 的整数；

左侧波浪线与右侧波浪线所示位置非限制性地连接 SU 或连接支架 A。

21. 一种如式 IV、式 V 或式 VI 所示的连接子-药物化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物：



其中：

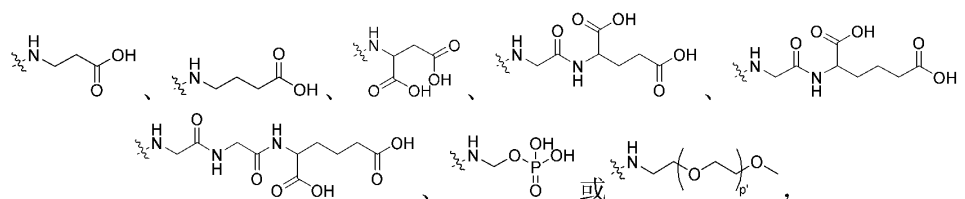
M 选自任意接头单元；

A 选自任意连接支架；

B 存在或不存在，当存在时，选自任意连接结构或键；

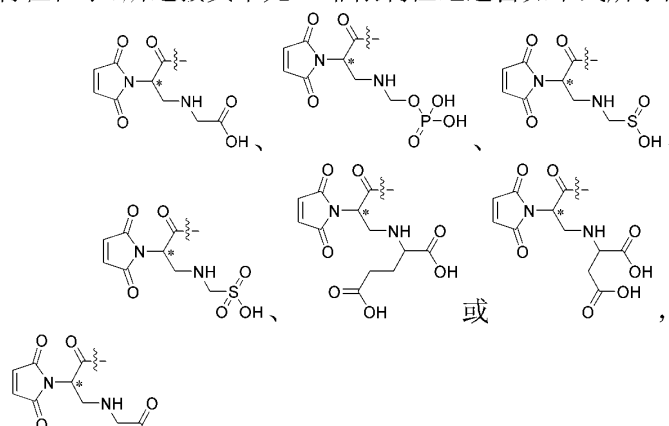
C 存在或不存在，当存在时，选自任意分支单元或键；

D、 D_1 、 D_2 相同或不同，且各自独立地选自药物；



其中，波浪线所示位置与*所示位置的碳原子相连。

24. 根据权利要求 21-23 中任一项所述的连接子-药物化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：所述接头单元 M 非限制性地选自如下式所示的结构或其开环形式，

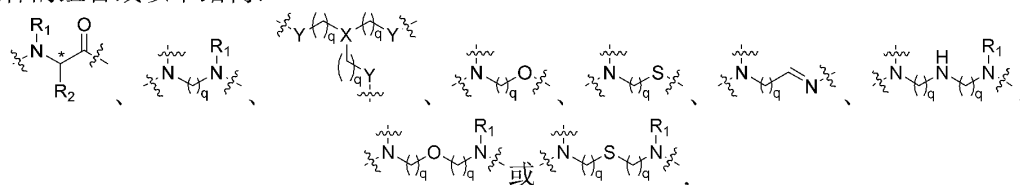


优选地为

*所示位置的碳为手性碳，其构型为 R 型或 S 型；

波浪线所示位置非限制性地与连接支架 A、连接结构 B 或分支单元 C 相连。

25. 根据权利要求 21-24 中任一项所述的连接子-药物化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于，所述连接支架 A 非限制性地选自天然或非天然氨基酸中的一种或几种的组合或以下结构：



其中：

X 选自 N、CH、C3-C8 环烷基、3-8 元杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

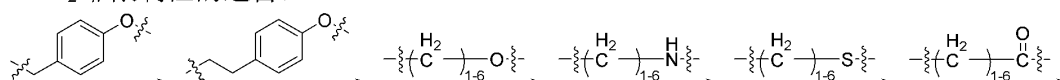
Y 选自 -NH-、-O-、-S-、-CO-、-CO₂-、-CONH-、-NHCO-、-SO-、-SO₂-、-OSO₂-或-OP=O (OH)O-；

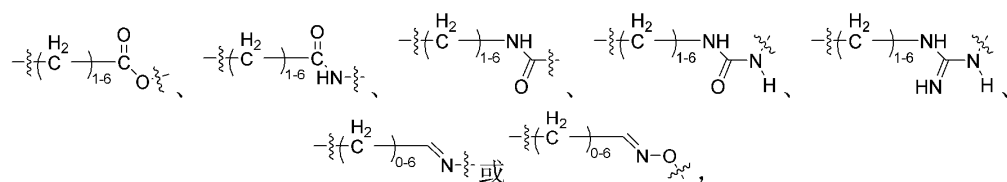
q 选自 1-10 的整数；

波浪线所示位置非限制性地与接头单元 M、连接单元 L^a、L^b、连接结构 B 或分支单元 C 相连；

R₁ 选自氢原子、氘原子、卤素、C1-C6 烷基、C1-C6 取代烷基、C3-C8 环烷基 C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基 C1-C6 烷基、羧基、3-8 元杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

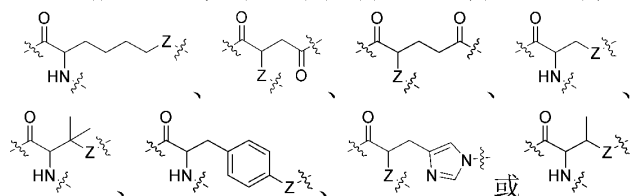
R₂ 非限制性的选自：





其中左侧波浪线所示位置表示 R_2 连接至*标记的手性碳位置，右侧波浪线所示位置代表连接支架 A 的任意三个连接位点之一。

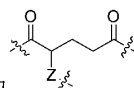
26. 根据权利要求 21-25 中任一项所述的连接子-药物化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：所述连接支架 A 非限制性地选自以下结构或其立体异构体，

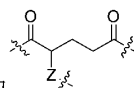


其中：

Z 选自 -NH-、-O- 或 -S-；

波浪线所示位置非限制性地与接头单元 M、连接单元 L^a 、 L^b 、连接结构 B 或分支单元 C 相连；



优选地，所述连接支架 A 为 ，其中，Z 为 -NH-。

27. 根据权利要求 21-26 中任一项所述的连接子-药物化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于，所述 B 非限制性地选自任意连接结构或键。

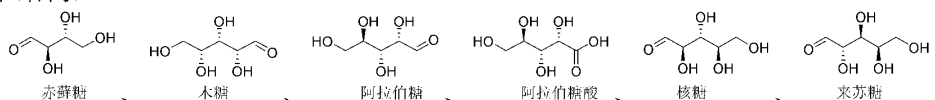
28. 根据权利要求 21-27 中任一项所述的连接子-药物化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于，所述 C 存在或不存在，当 C 存在时，非限制性的选自天然或非天然氨基酸的一种或几种的组合。

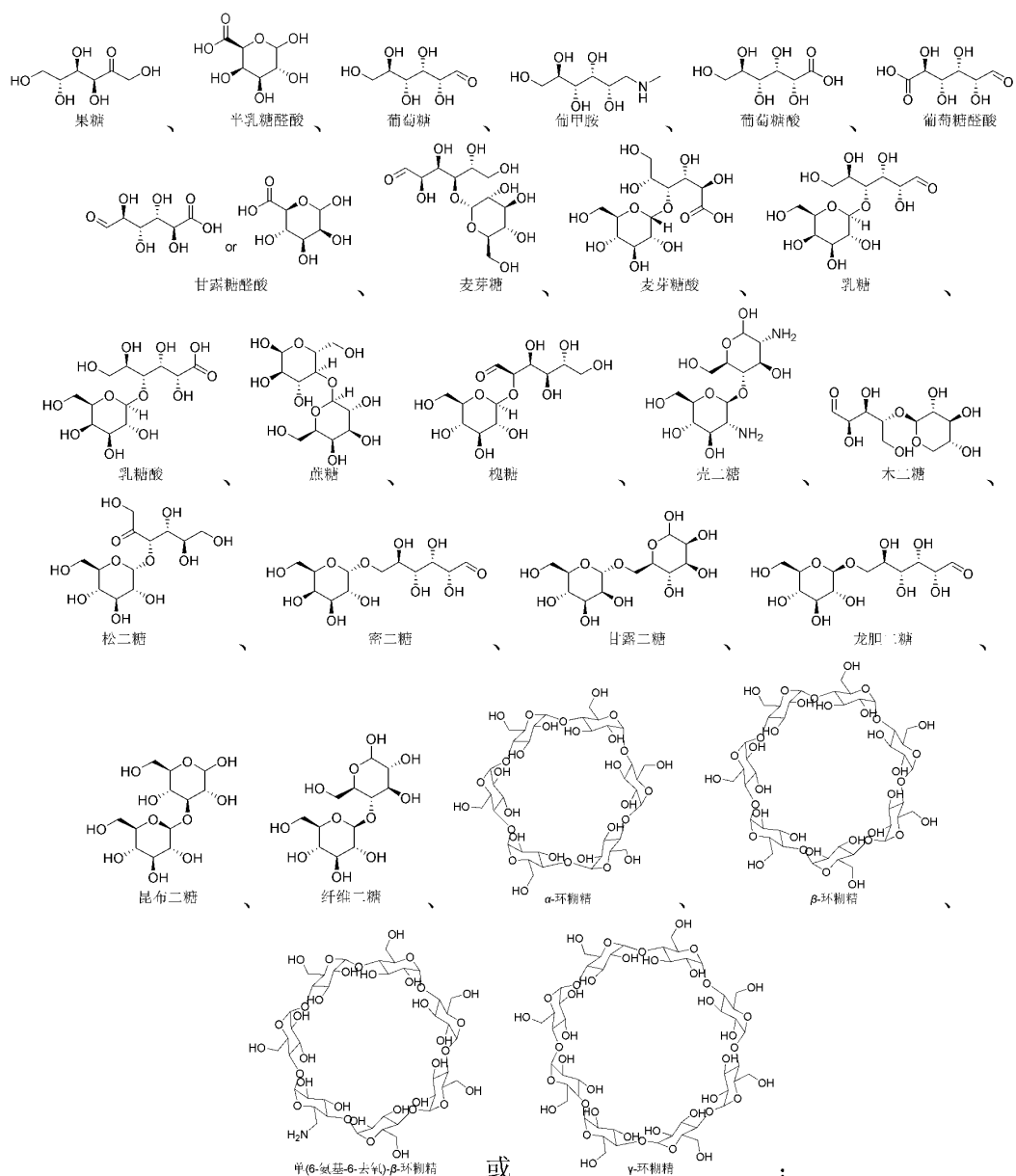
29. 根据权利要求 21-28 中任一项所述的连接子-药物化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：所述药物 D、 D_1 、 D_2 相同或者不同，各自独立地且非限制性地选自抗肿瘤药物、自身免疫疾病药物、抗感染性疾病药物（例如抗病毒药物）、放射性同位素、发色分子或上述药物药学上可接受的盐或溶剂化物。

30. 根据权利要求 21-29 中任一项所述的连接子-药物化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：所述药物 D、 D_1 、 D_2 相同或者不同，各自独立地且非限制性地选自抗肿瘤药物，包括但不限于 DNA 损伤剂、RNA 损伤剂、酶抑制剂或微管抑制剂。

31. 根据权利要求 21-30 中任一项所述的连接子-药物化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：所述 SU 非限制性地选自天然或非天然的单糖、二糖、多糖或其衍生物。

32. 根据权利要求 21-31 中任一项所述的连接子-药物化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：所述天然或非天然的单糖、二糖、多糖或其衍生物非限制性地选自以下结构，





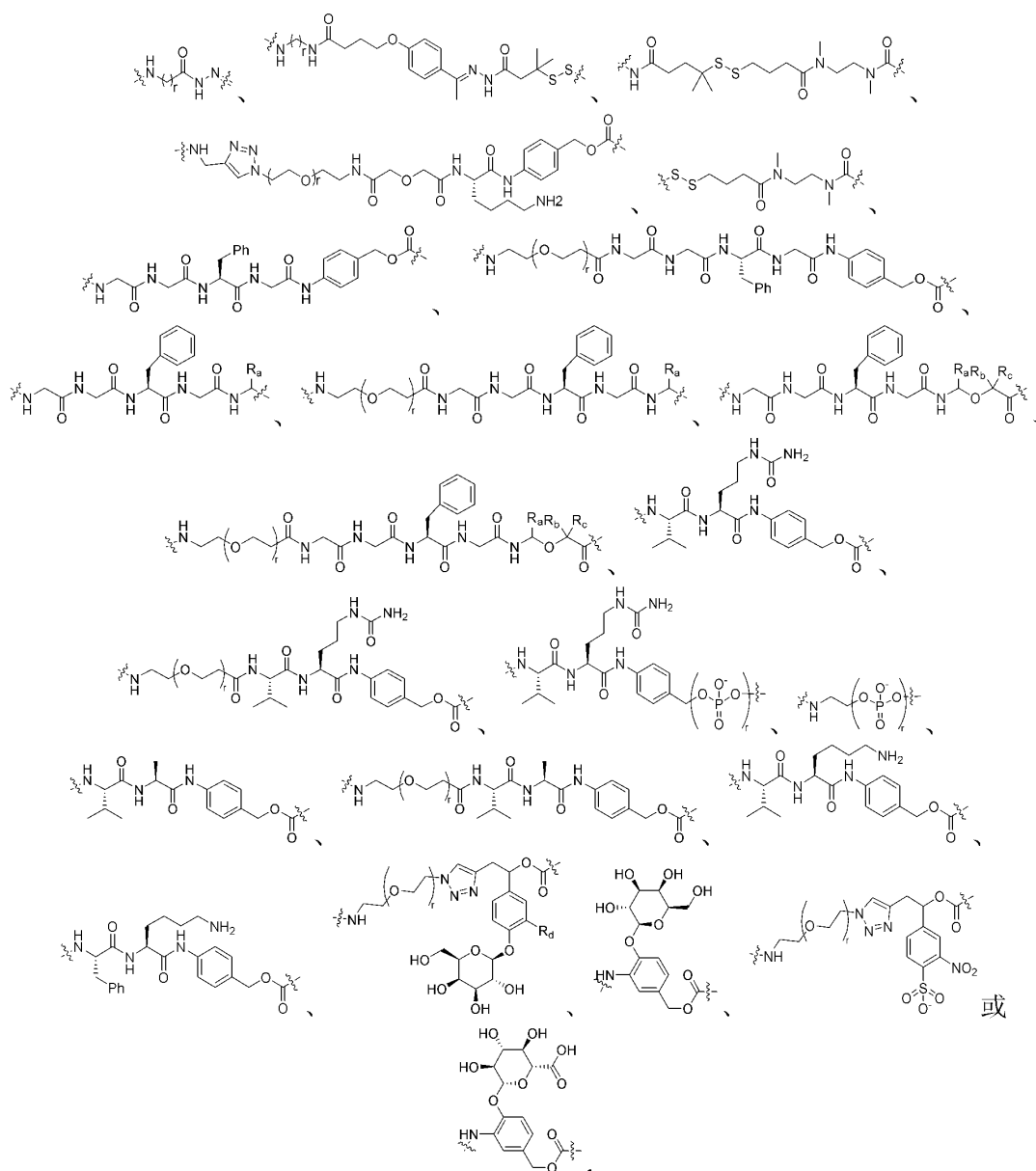
优选的, 所述 SU 选自葡甲胺、麦芽糖、麦芽糖酸、甘露糖醛酸、 β -环糊精或单(6-氨基-6-去氧)- β -环糊精。

33. 根据权利要求 21-32 中任一项所述的连接子-药物化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其特征在于: 所述 SU 非限制性地以共价形式连接至 L^b 。

34. 根据权利要求 21-33 中任一项所述的连接子-药物化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其特征在于: 所述连接单元 L^a 、 L^b 相同或者不同, 各自独立地且非限制性地选自化学不稳定连接单元、酶催化裂解的连接单元或不可断裂连接单元的一种或几种组合。

35. 根据权利要求 21-34 中任一项所述的连接子-药物化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其特征在于: L^a 选自化学不稳定连接单元或酶催化裂解的连接单元。

36. 根据权利要求 21-35 中任一项所述的连接子-药物化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其特征在于: 所述连接单元 L^a 非限制性地选自以下结构或其立体异构体,



其中:

R_a 、 R_b 、 R_c 相同或者不同, 且各自独立地选自氢原子、氘原子、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基; 或者 R_b 、 R_c 和与二者相连的碳原子构成 C3-C8 环烷基或 3-8 元杂环基;

R_d 选自 H、 NO_2 或 $HO-SO_3$ 或 OSO_3 ;

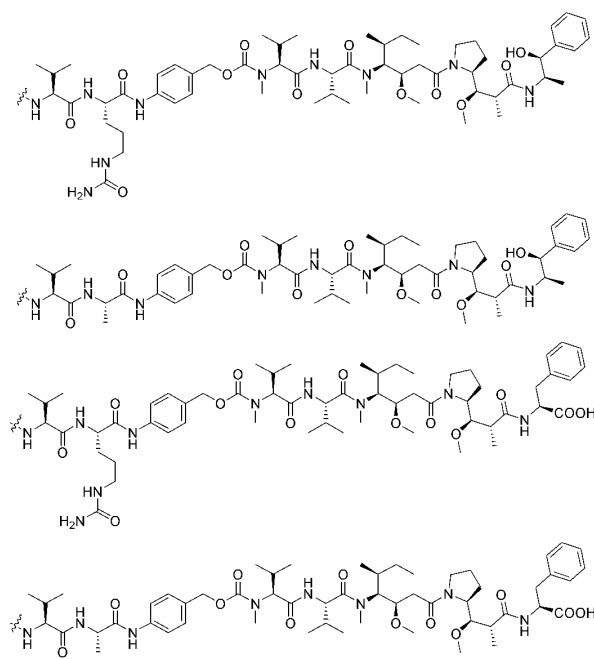
r 选自 1-10 的整数;

左侧波浪线所示位置与连接支架 A、连接结构 B 或分支单元 C 相连;

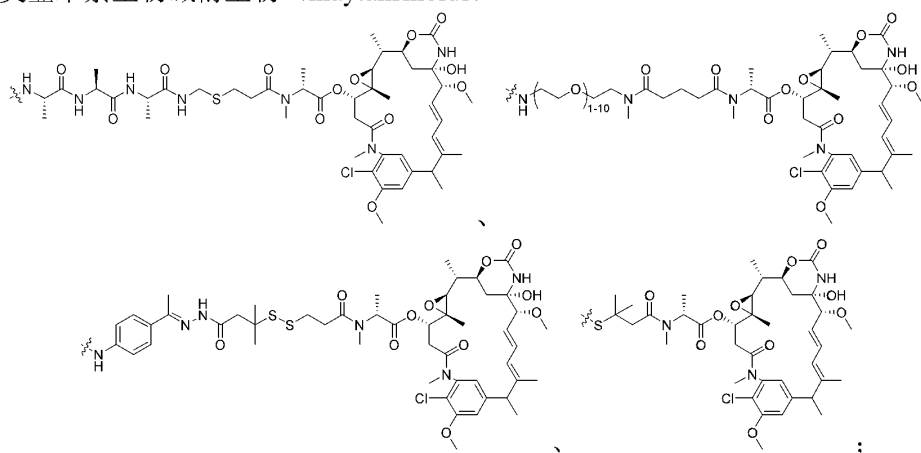
右侧波浪线所示位置与药物 D、 D_1 或 D_2 相连。

37. 根据权利要求 21-36 中任一项所述的连接子-药物化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其特征在于: 所述 L^a -D、 L^a - D_1 或 L^a - D_2 相同或者不同, 并且非限制性地选自以下结构或其立体异构体,

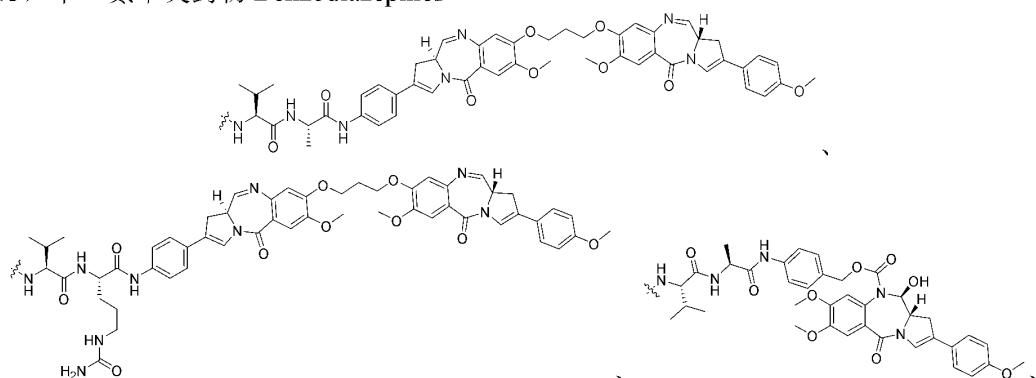
(1) 奥瑞斯他汀衍生物 (Auristatins)

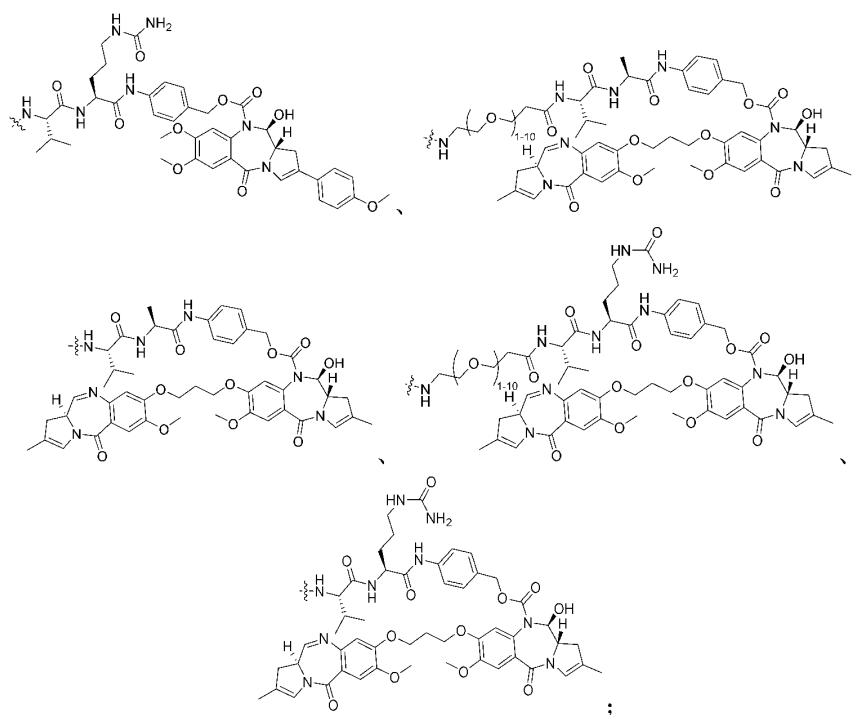


(2) 美登木素生物碱衍生物 (maytansinoids)

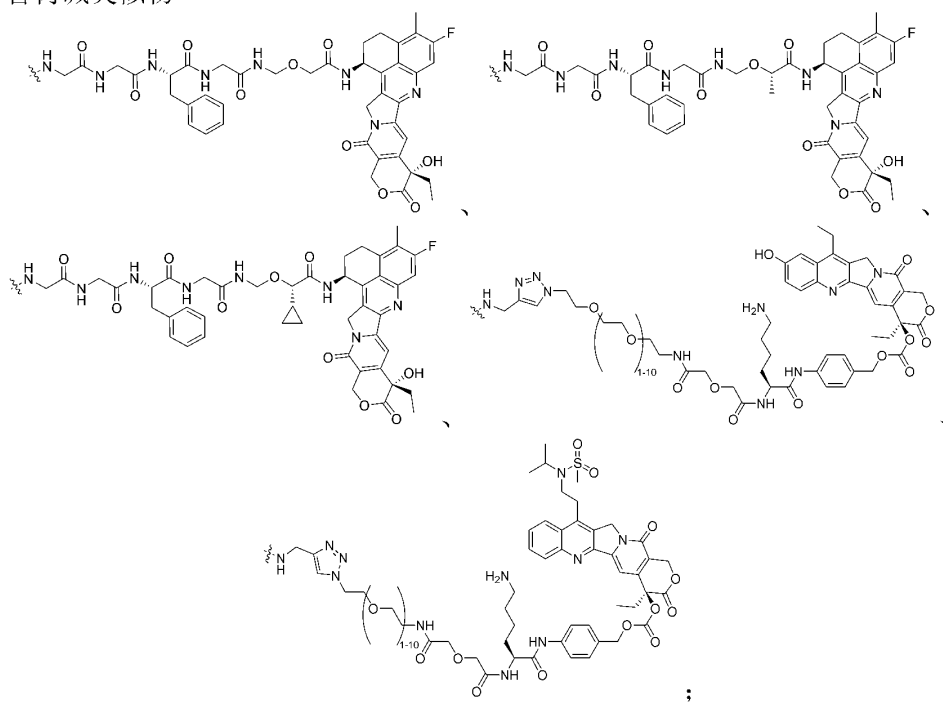


(3) 苯二氮䓬类药物 Benzodiazepines

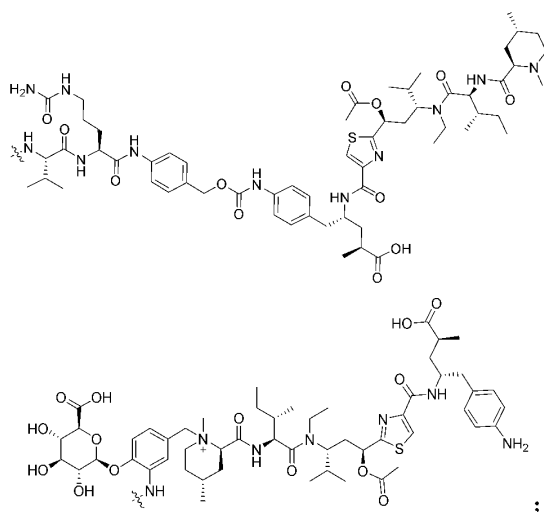




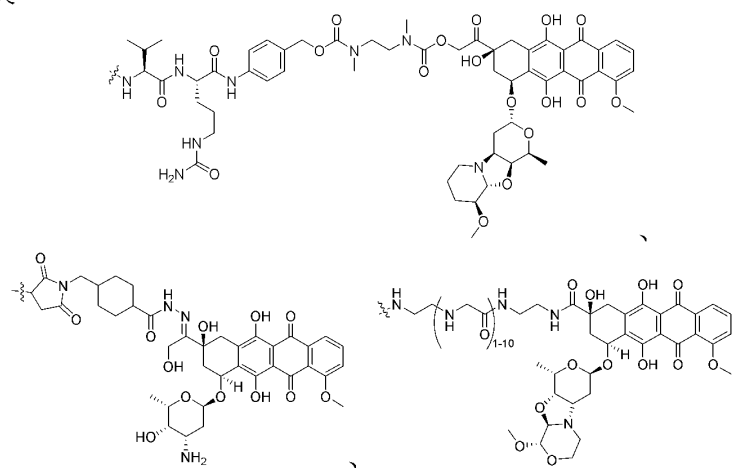
(4) 喜树碱类似物



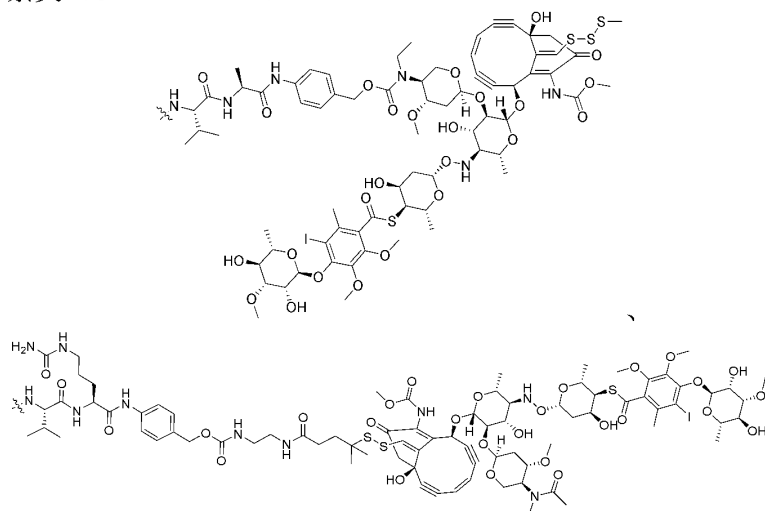
(5) Tubulysins

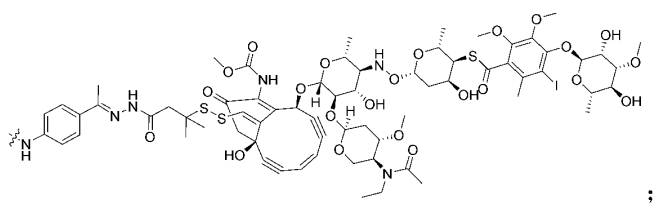


(6) 阿霉素类

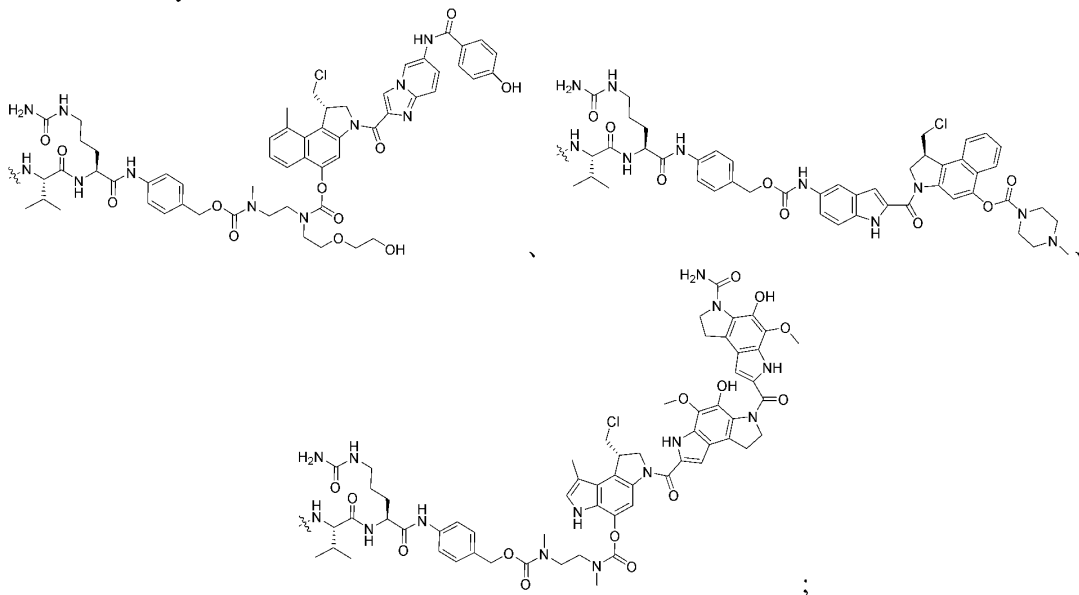


(7) 卡奇霉素类 (Calicheamicins)

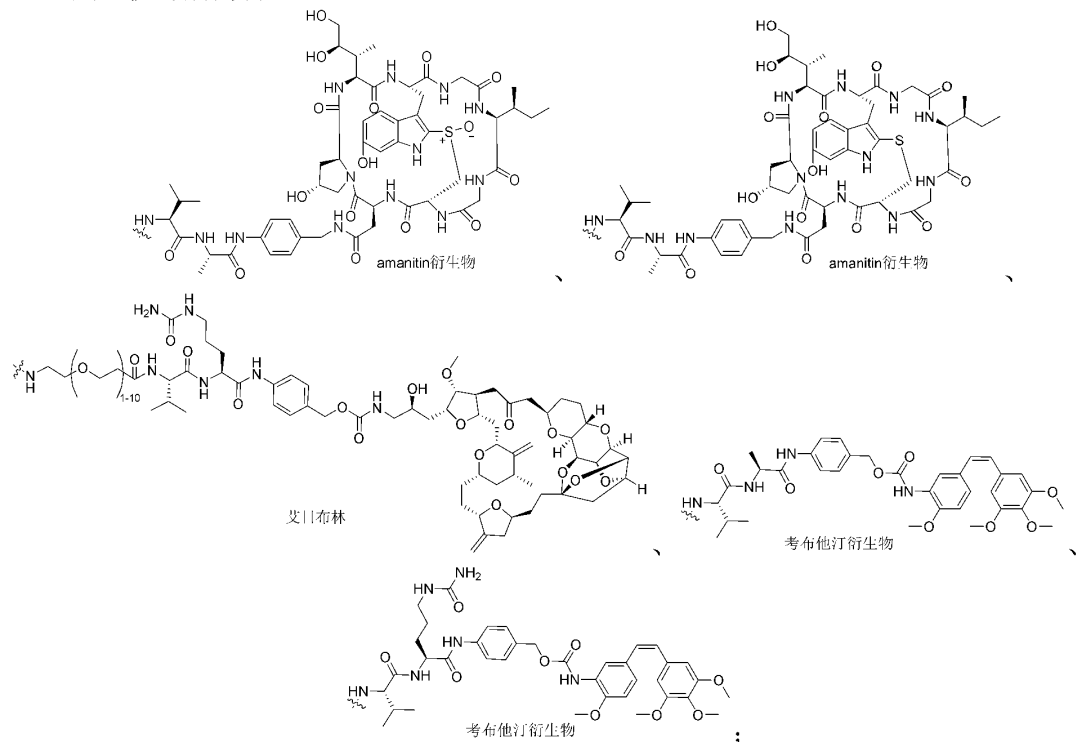




(8) Duocarmycins



(9) 其它抗肿瘤药物

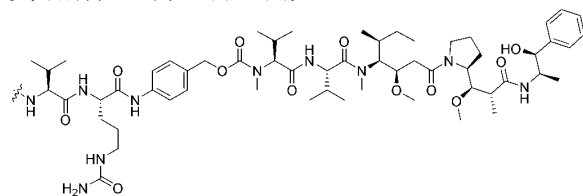


其中:

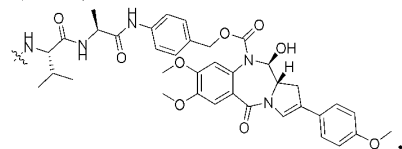
波浪线所示位置与连接支架 A、连接结构 B 或分支单元 C 相连；

优选地，所述 L^a-D、L^a-D₁ 或 L^a-D₂ 选自：

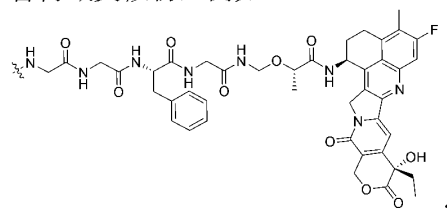
奥瑞斯他汀衍生物，例如



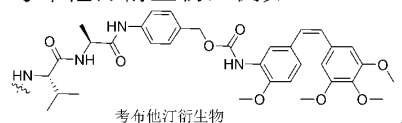
苯二氮草衍生物，例如



喜树碱类似物，例如

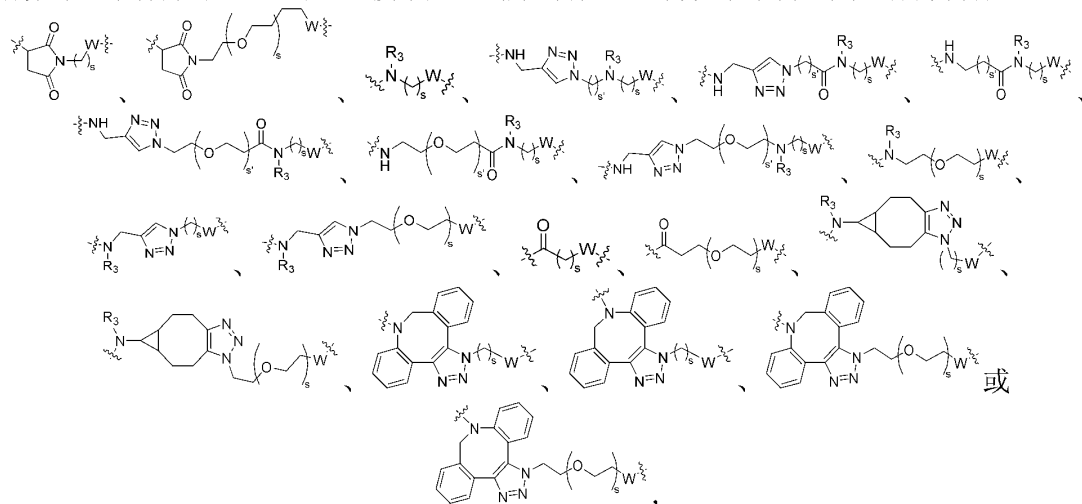


考布他汀衍生物，例如



考布他汀衍生物

38. 根据权利要求 21-37 中任一项所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：所述连接单元 L^b 非限制性地选自以下结构或其立体异构体，



其中：

R₃ 选自氢原子、氘原子、卤素、C1-C6 烷基、氘代 C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、C3-C8 环烷基 C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基 C1-C6 烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

W 选自-NR₄-、-O-、-S-、-CO-或-CONR₅-；

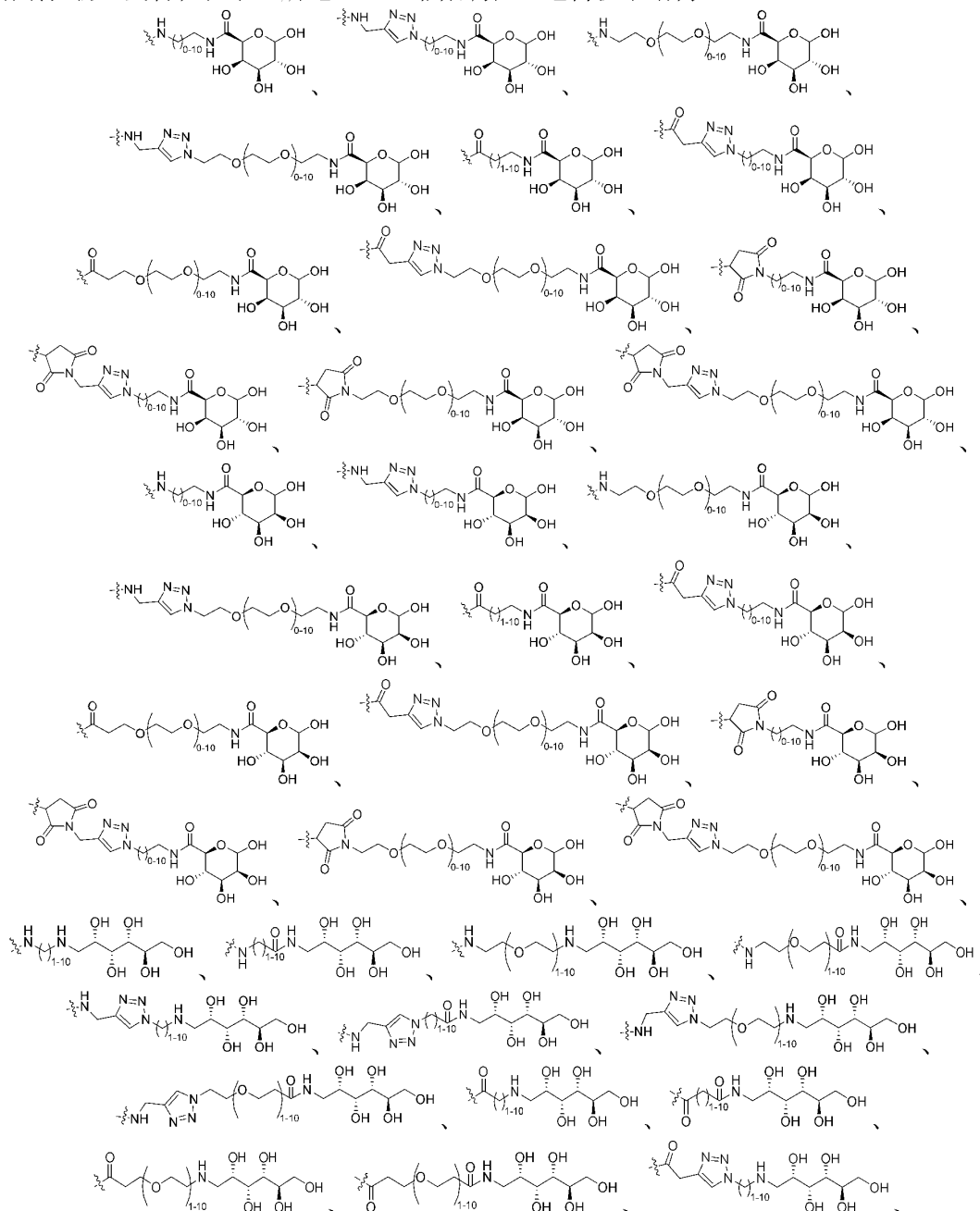
R₄ 或 R₅ 各自独立地选自氢原子、氘原子、卤素、C1-C6 烷基、氘代 C1-C6 烷基、卤代 C1-C6 烷基、C3-C8 环烷基 C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基 C1-C6 烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；

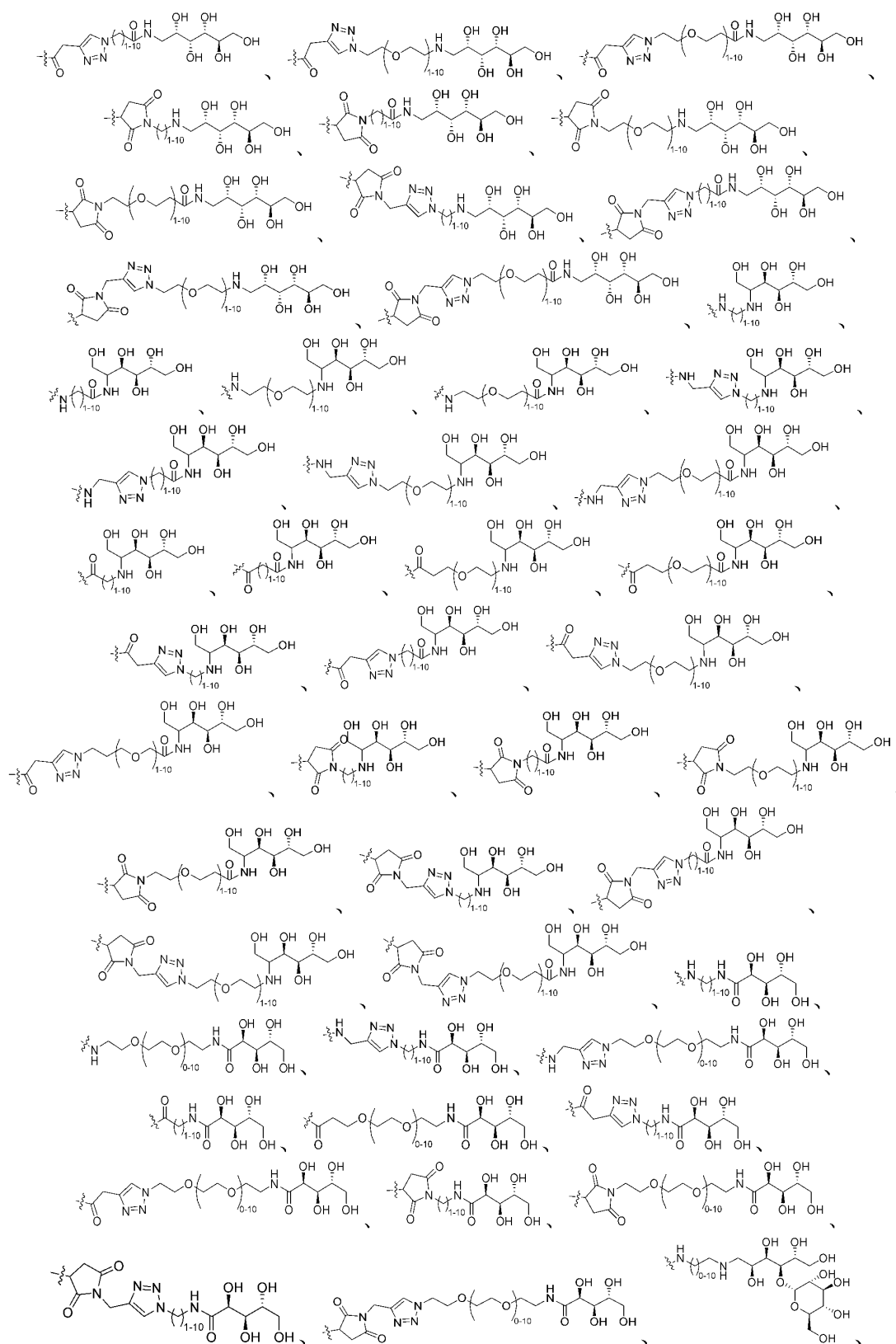
s 选自 1-10 的整数；

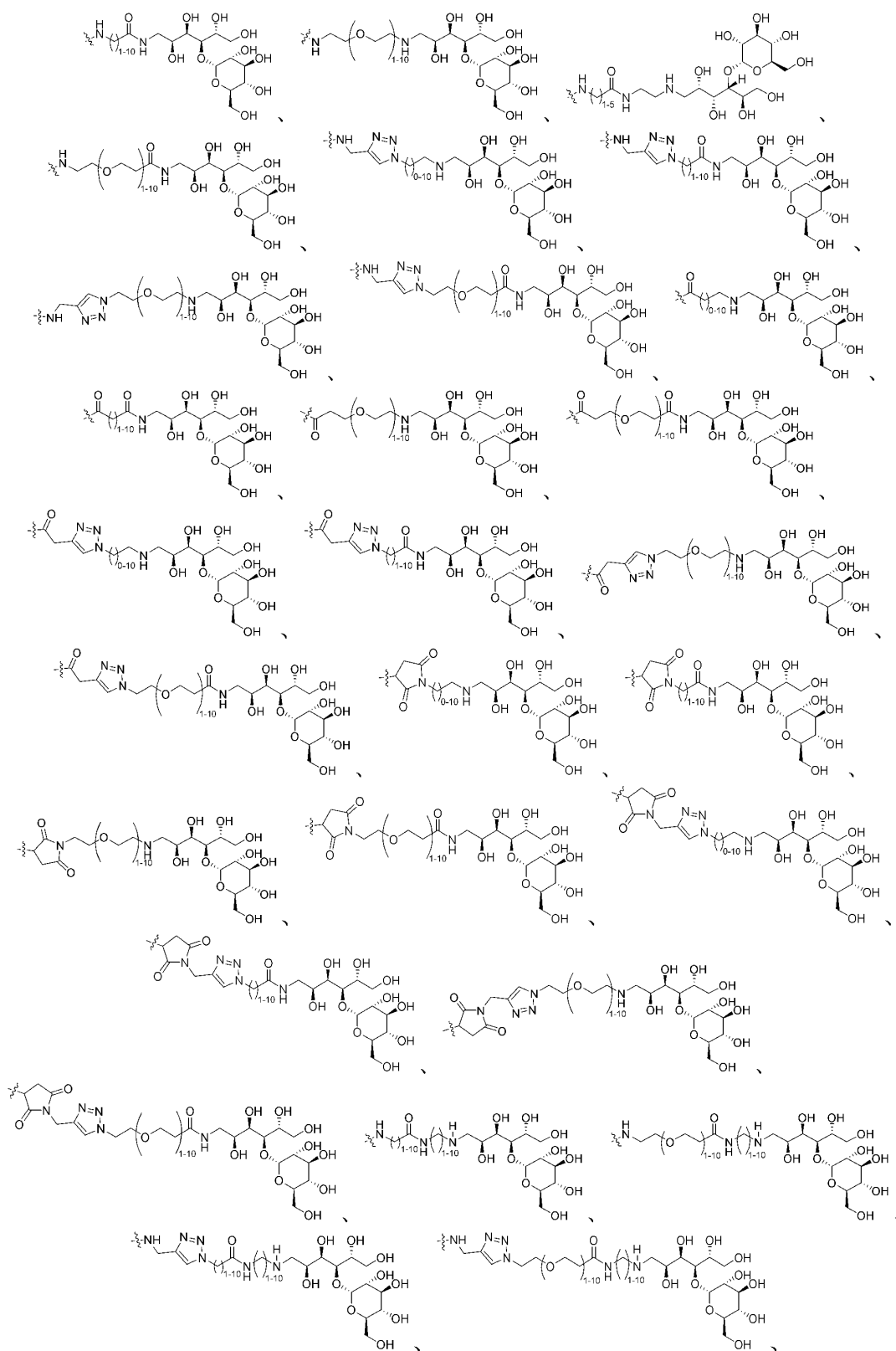
s' 选自 1-10 的整数；

左侧波浪线与右侧波浪线所示位置非限制性地连接 SU 或连接支架 A。

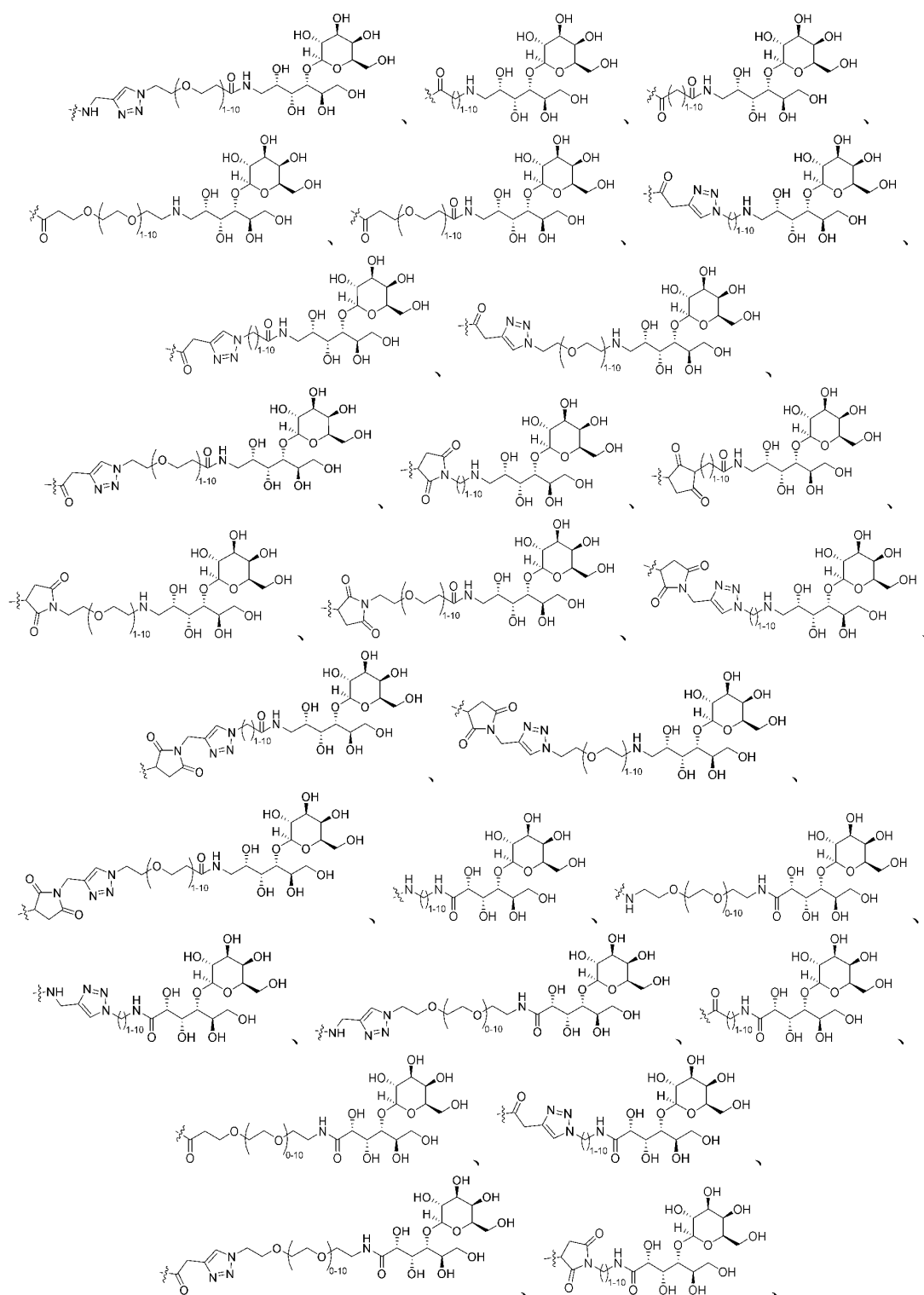
39. 根据权利要求 21-38 中任一项所述的连接子-药物化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：所述 L^b-SU 非限制性地选自以下结构，

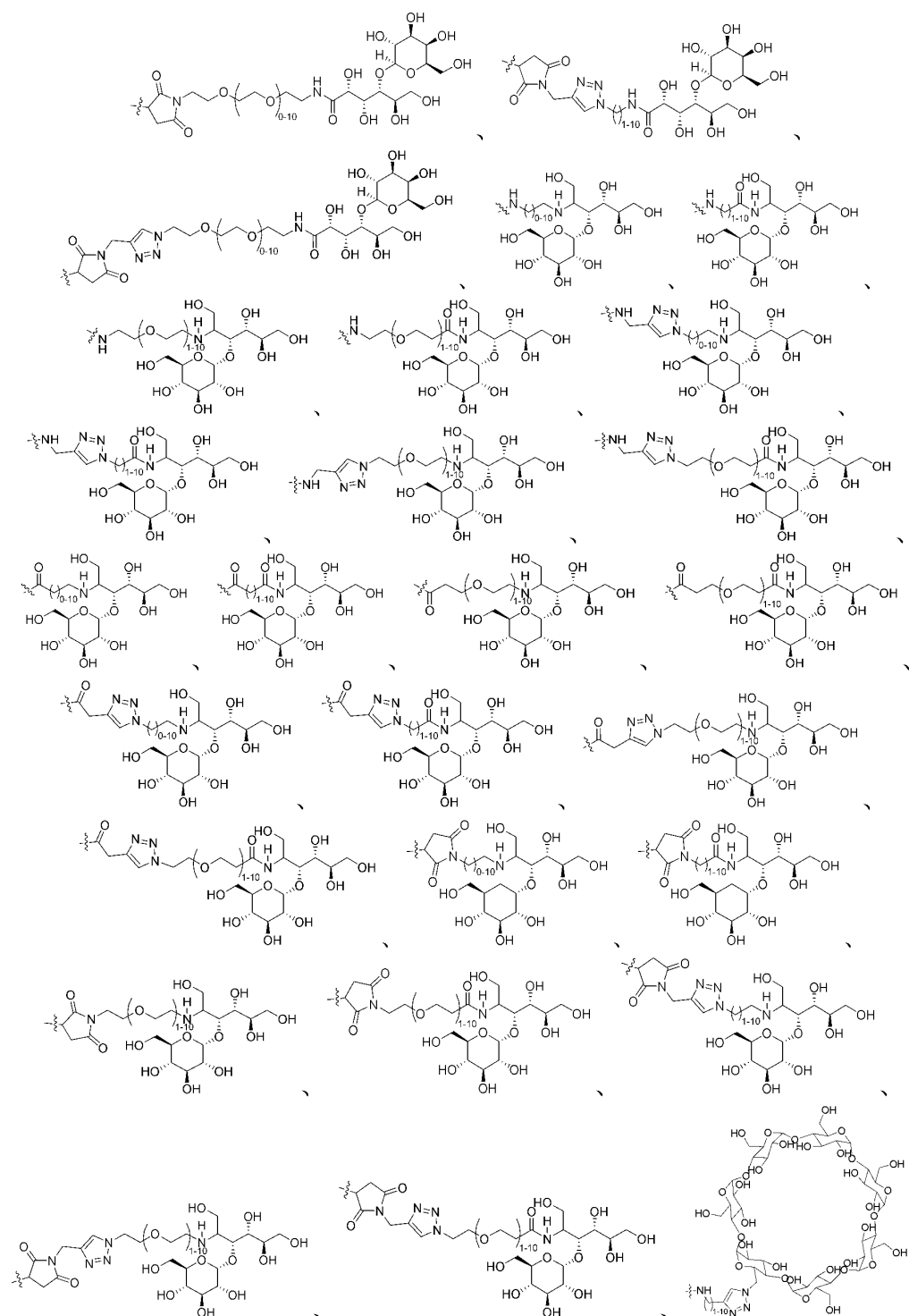


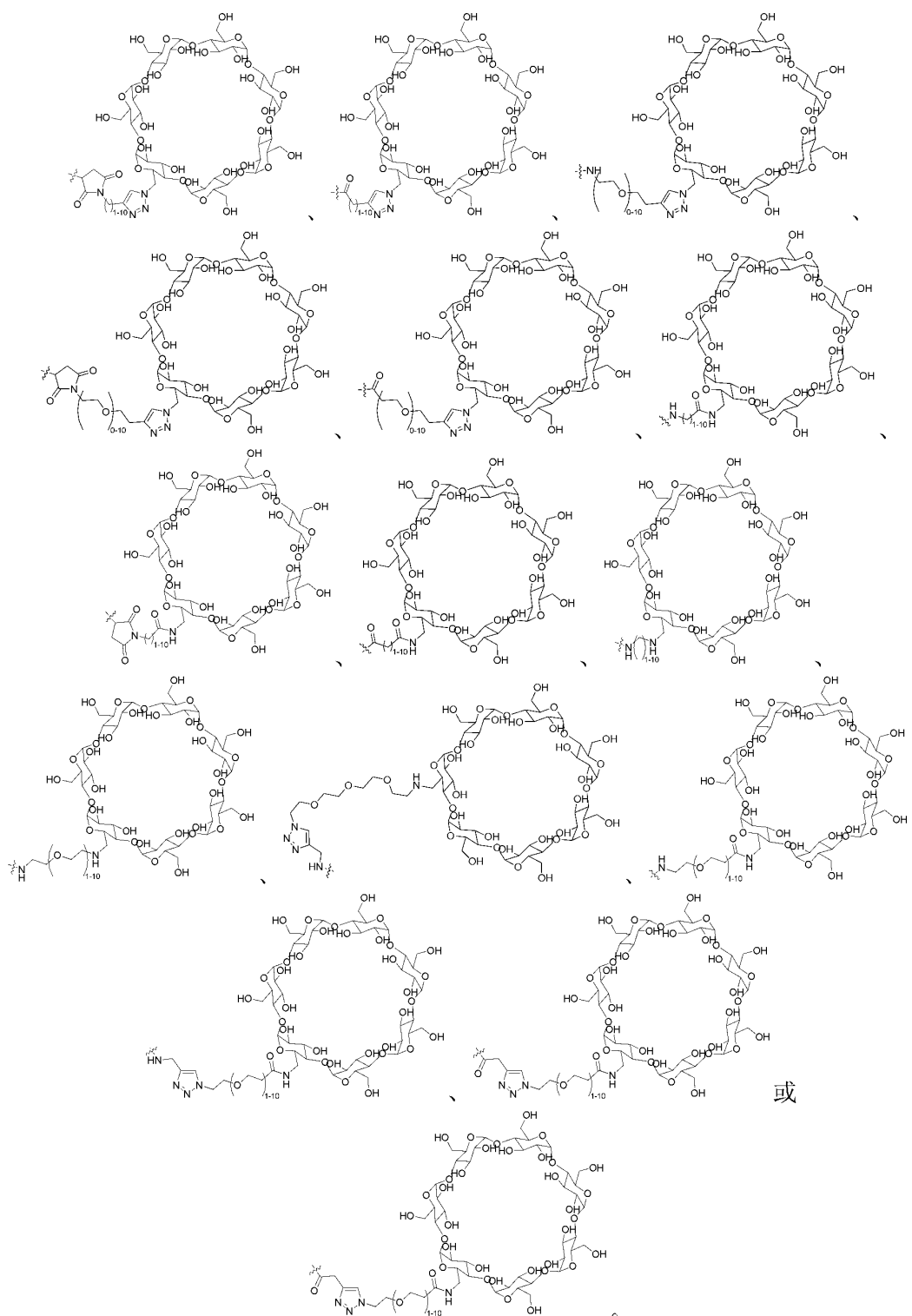




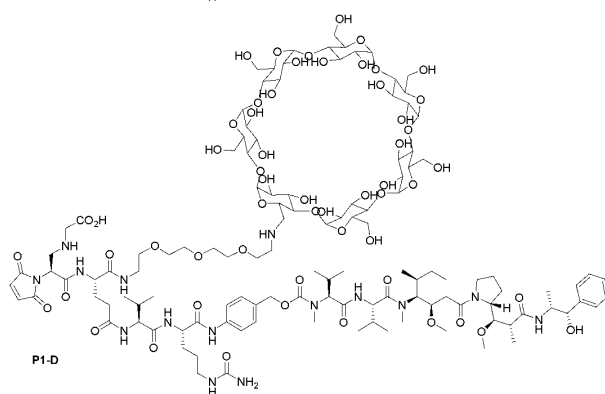
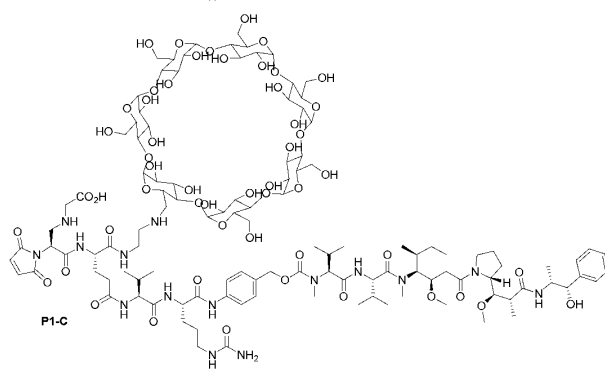
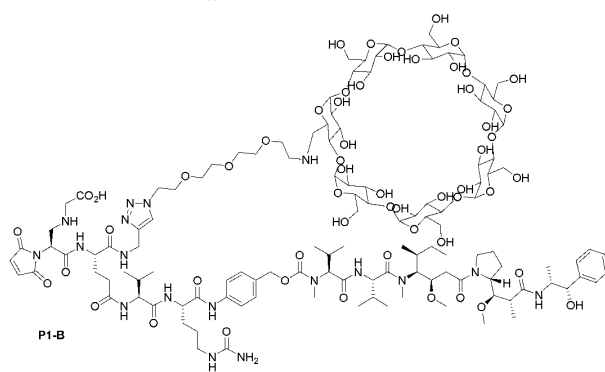
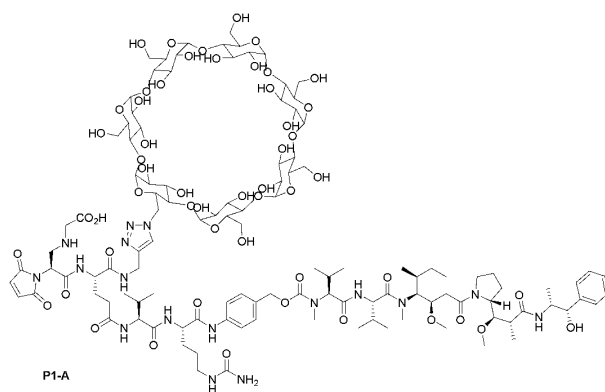


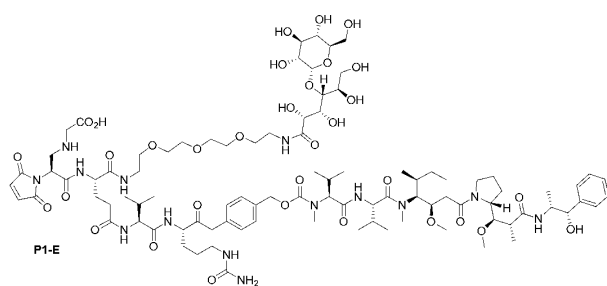




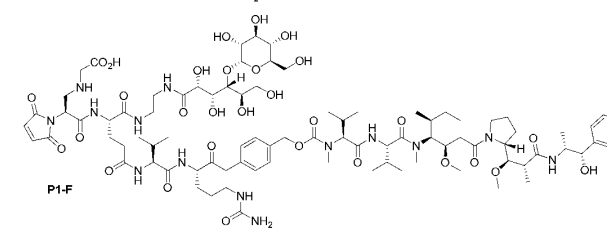


40. 根据权利要求 21-39 中任一项所述的连接子-药物化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：所述的连接子-药物化合物非限制性的选自以下结构，

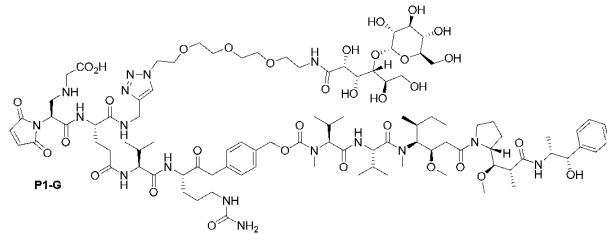




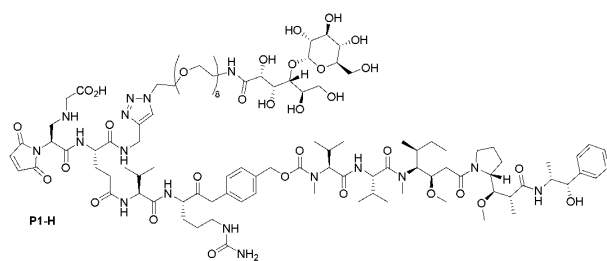
P1-E



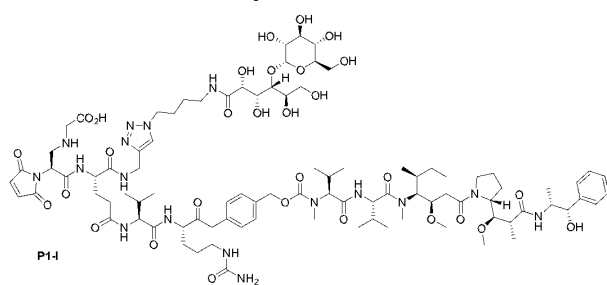
P1-F



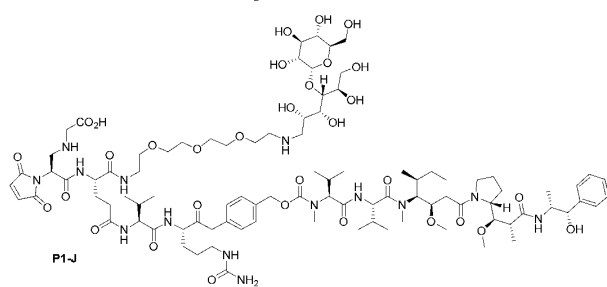
P1-G



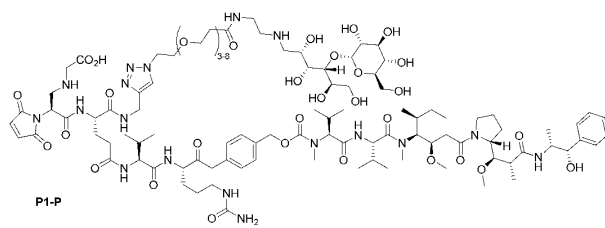
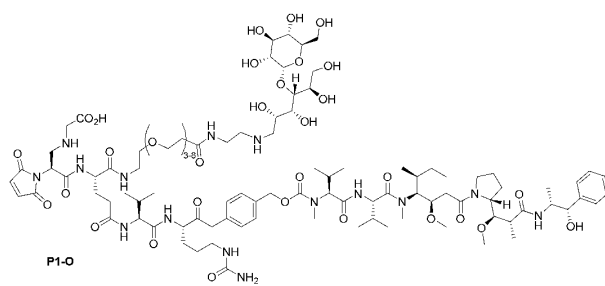
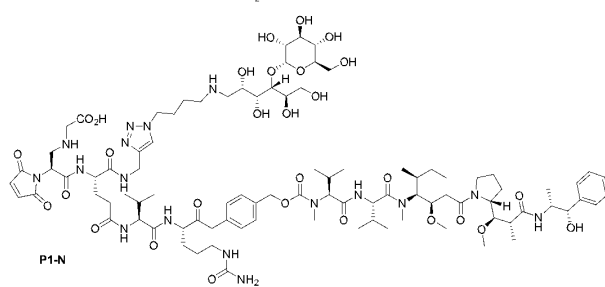
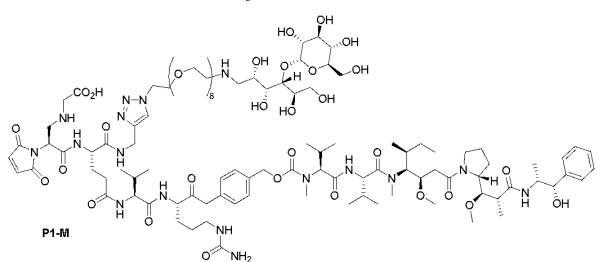
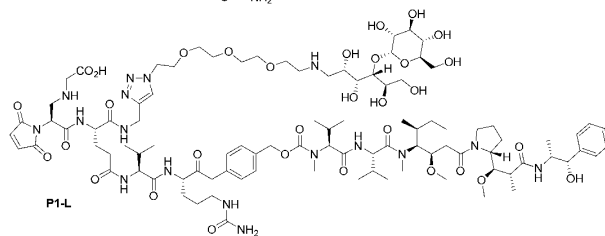
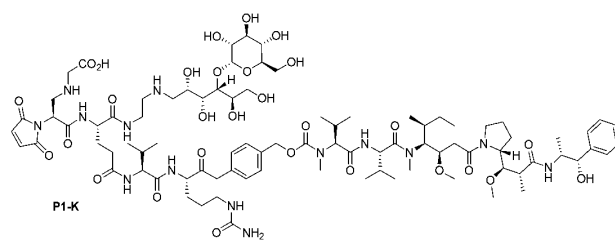
P1-H

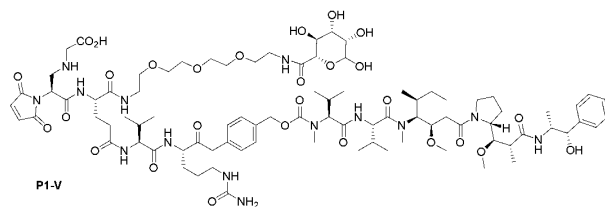
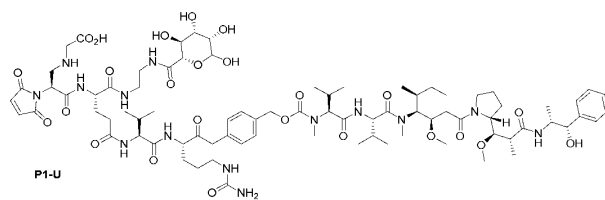
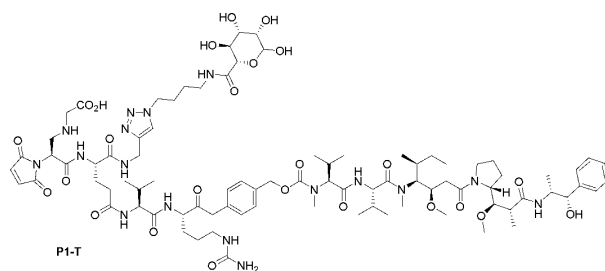
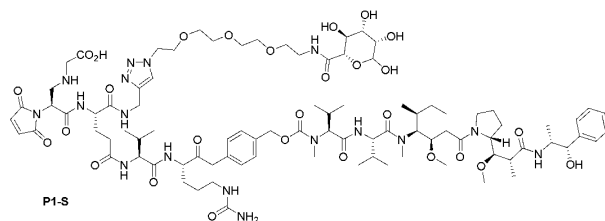
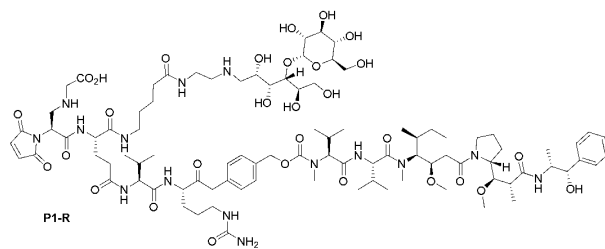
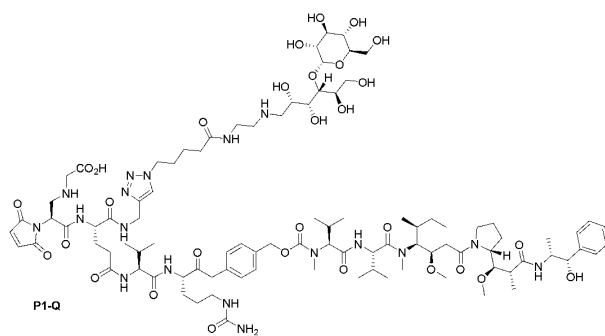


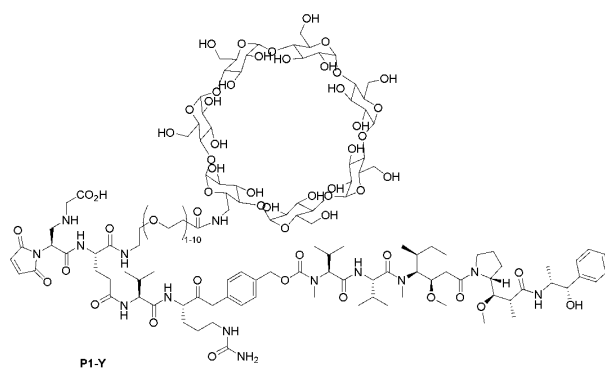
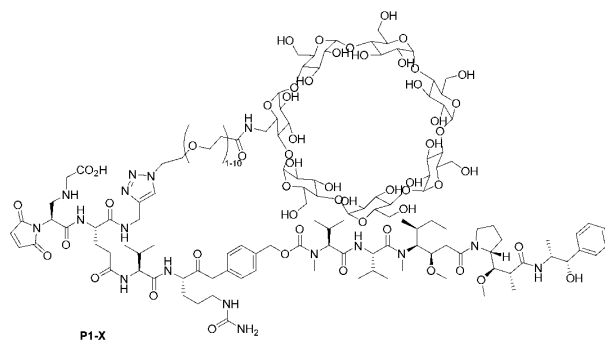
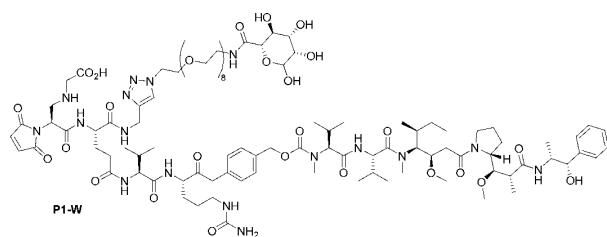
P1-I



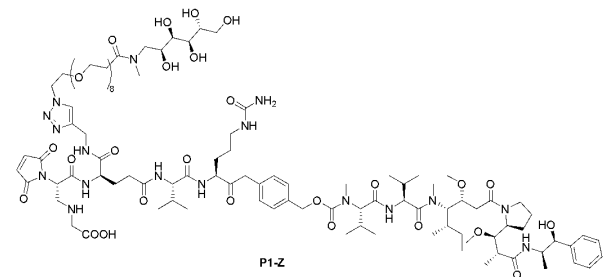
P1-J



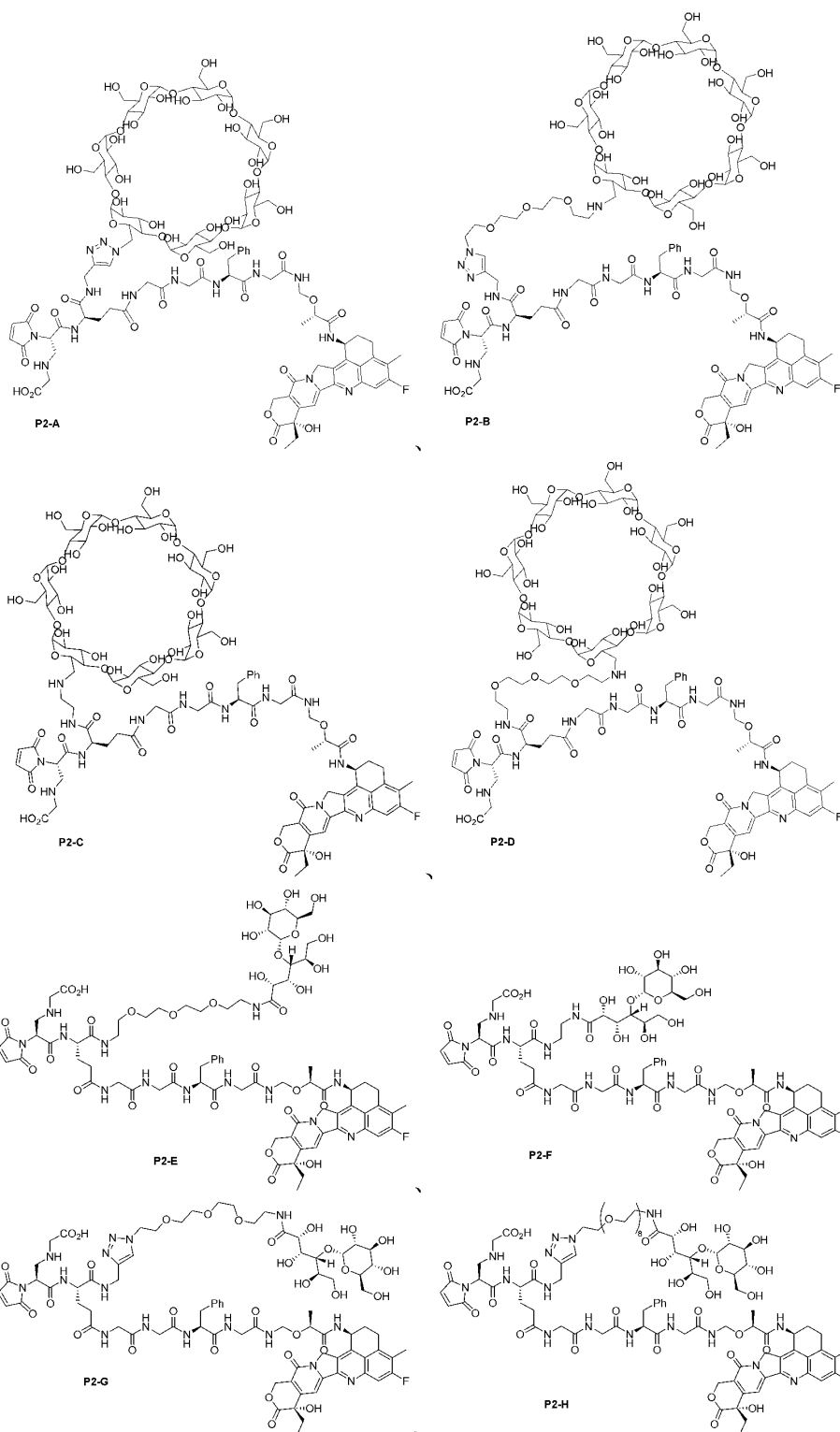


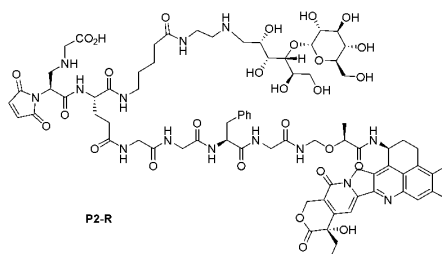
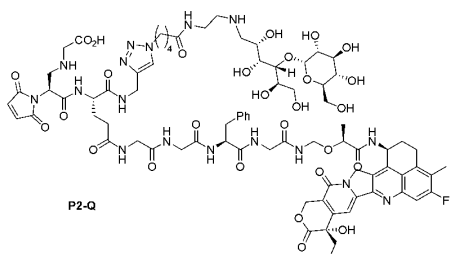
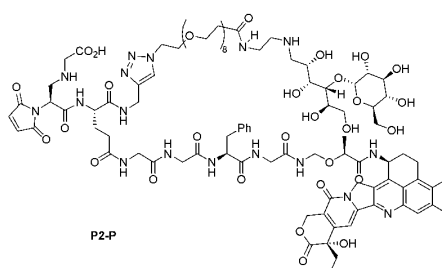
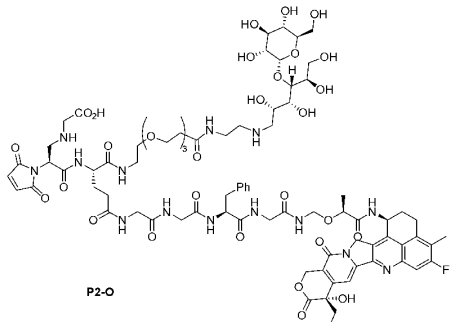
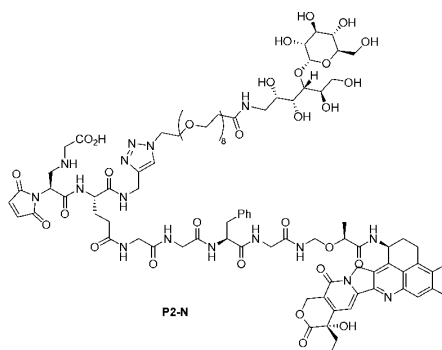
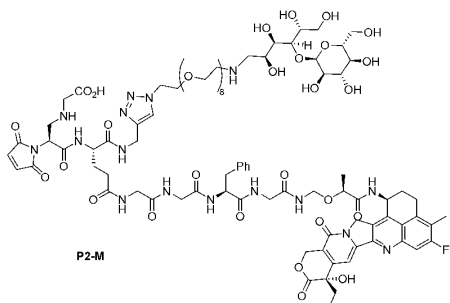
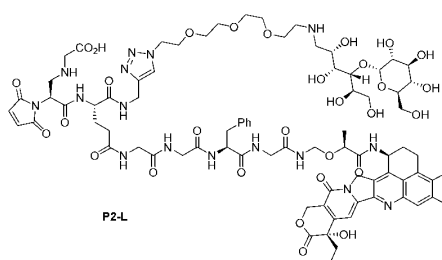
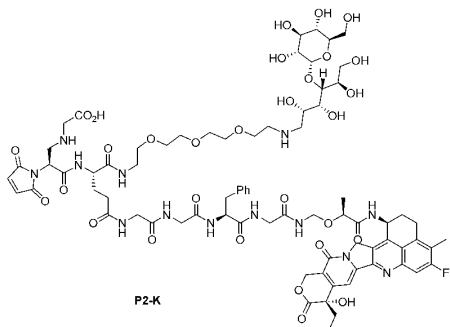
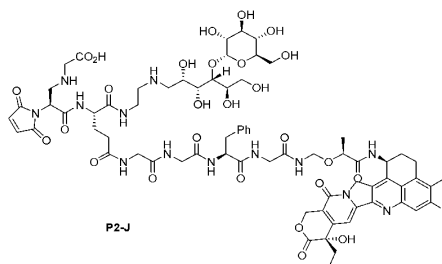
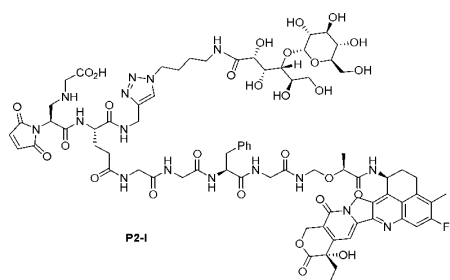


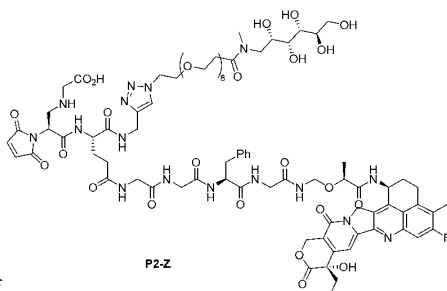
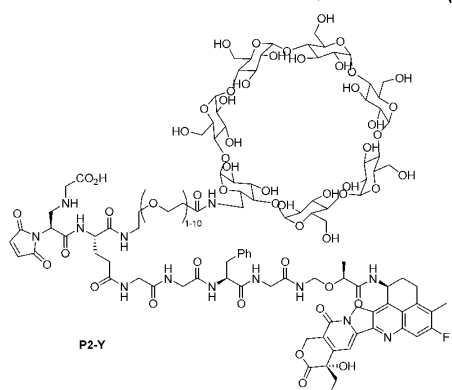
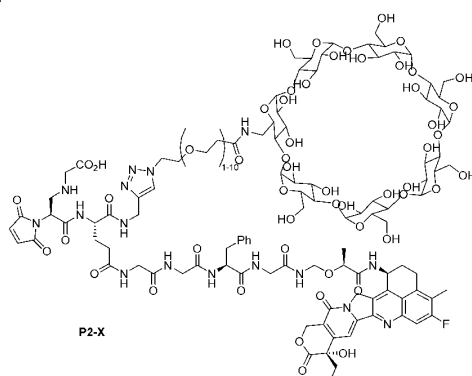
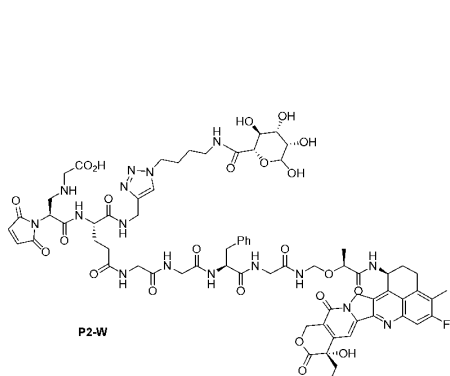
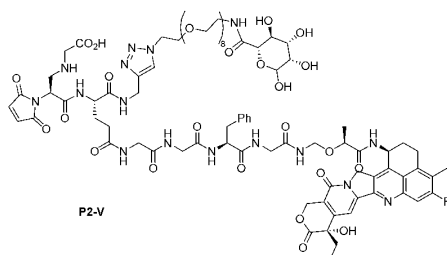
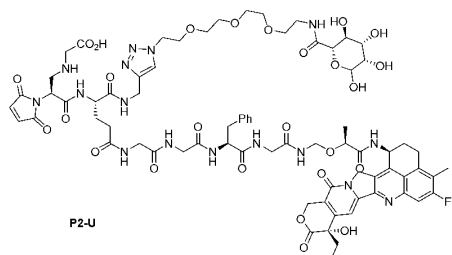
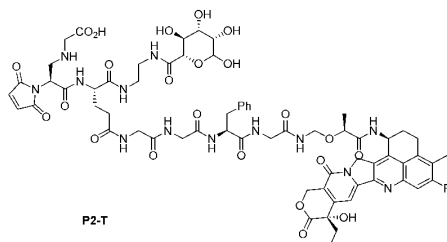
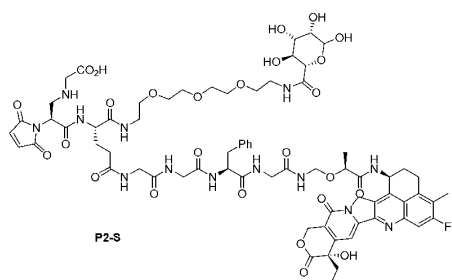
或



41. 根据权利要求 21-39 中任一项所述的连接子-药物化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：所述的连接子-药物化合物非限制性的选自以下结构，

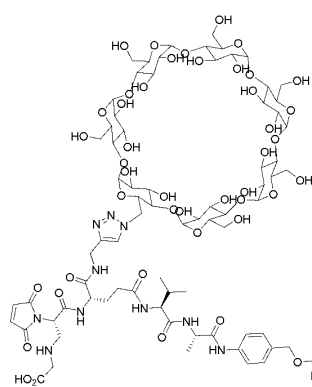




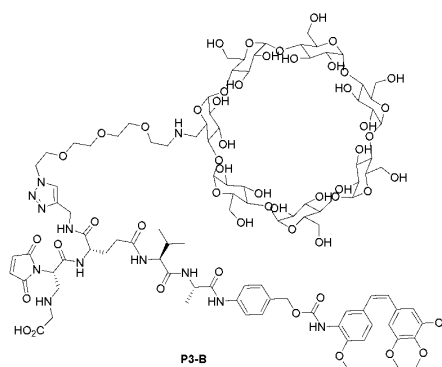


或

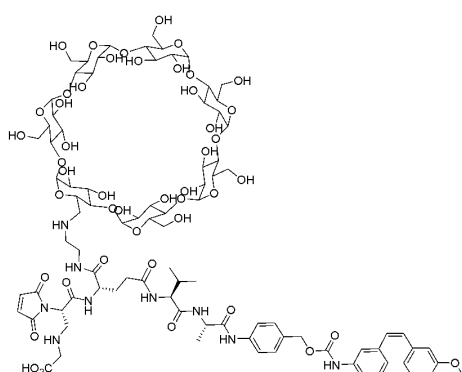
42. 根据权利要求 21-39 中任一项所述的连接子-药物化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：所述的连接子-药物化合物非限制性的选自以下结构，



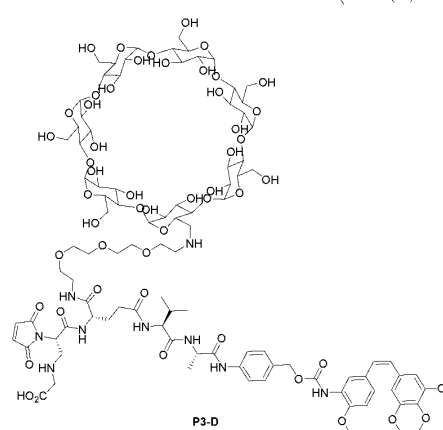
P3-A



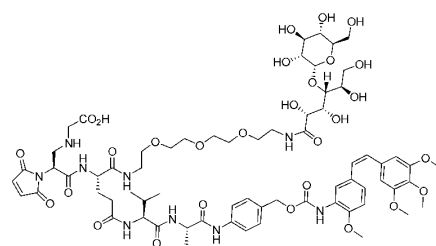
P3-B



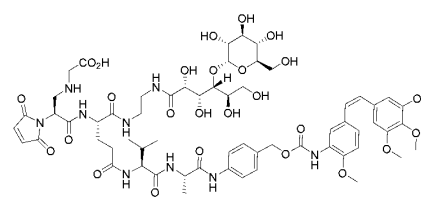
P3-C



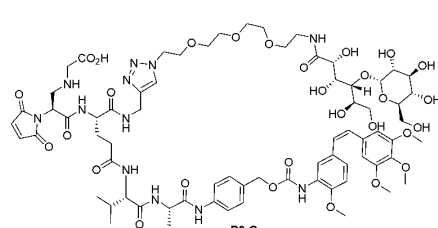
P3-D



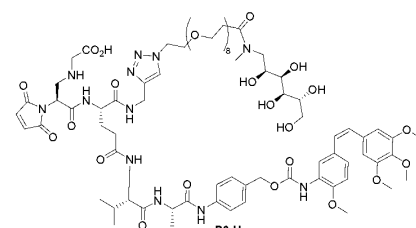
P3-E



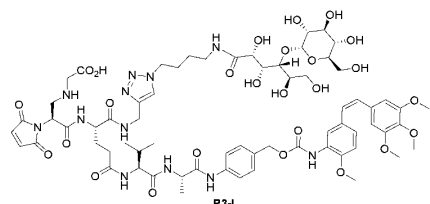
P3-F



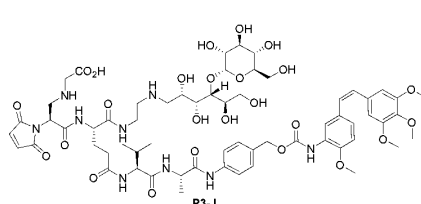
P3-G



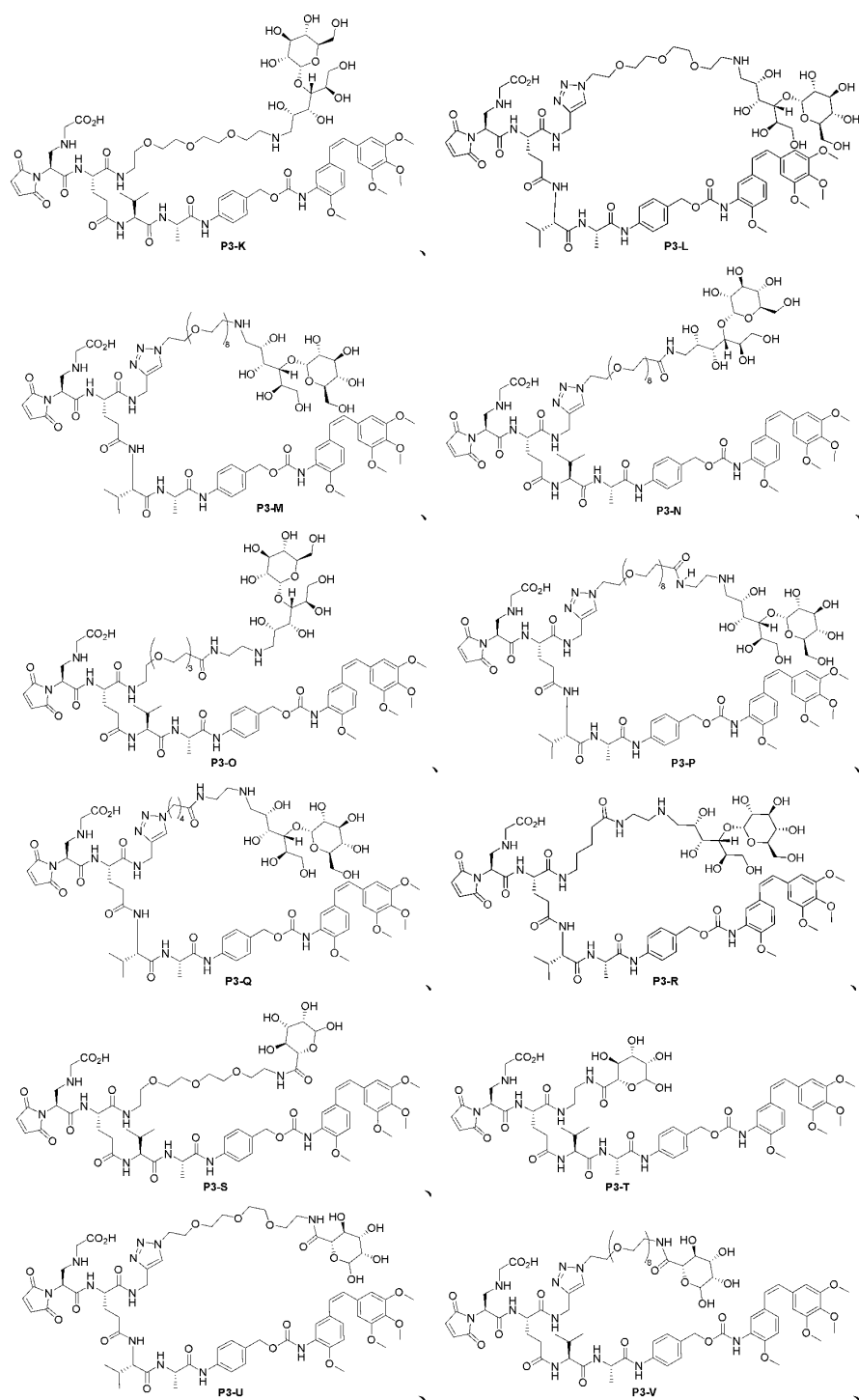
P3-H

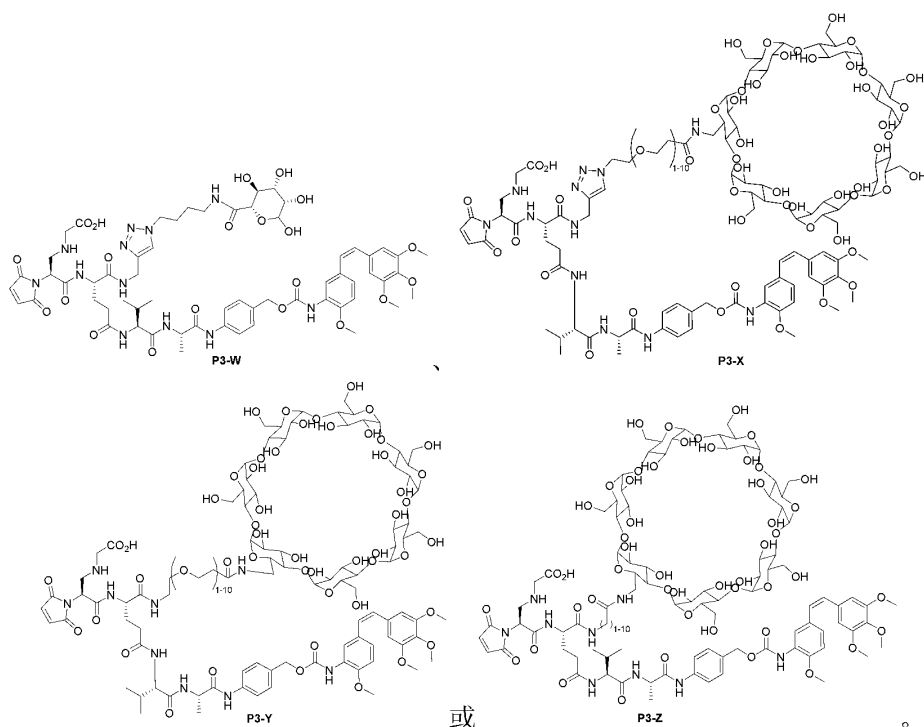


P3-I

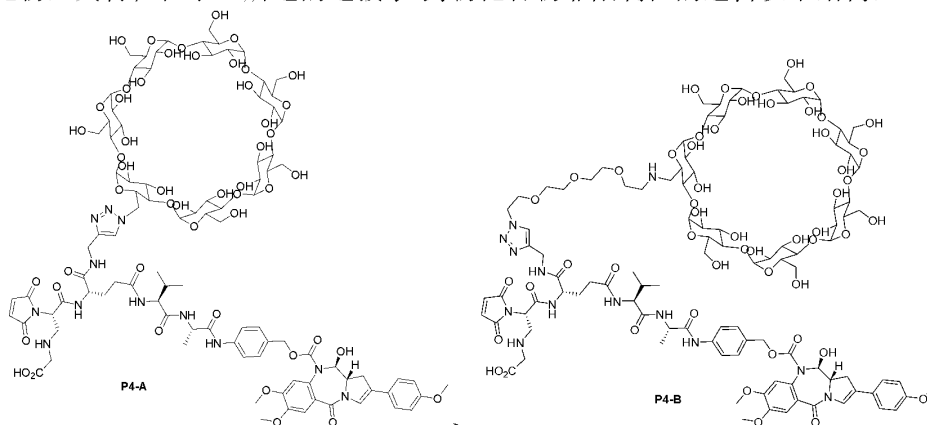


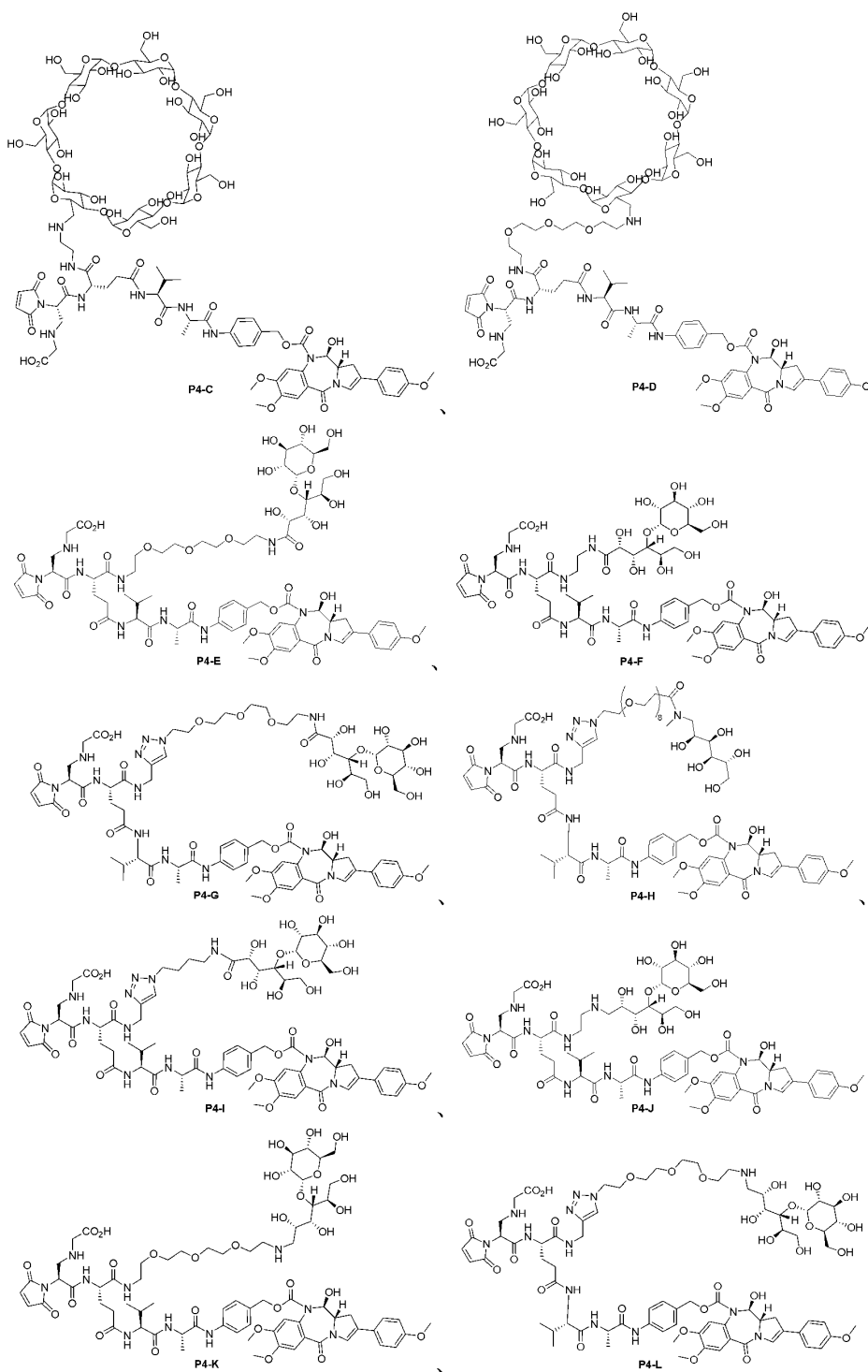
P3-J

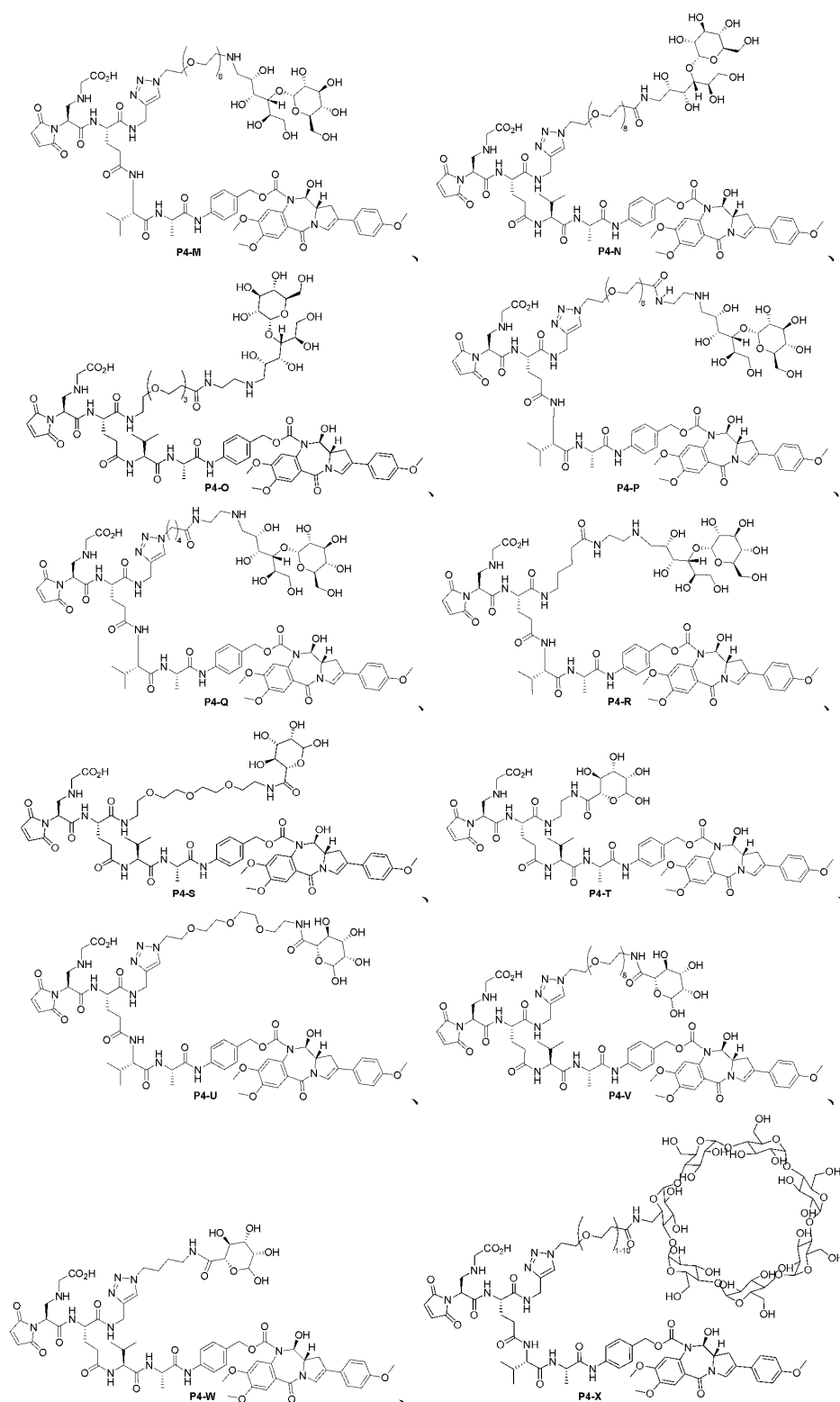


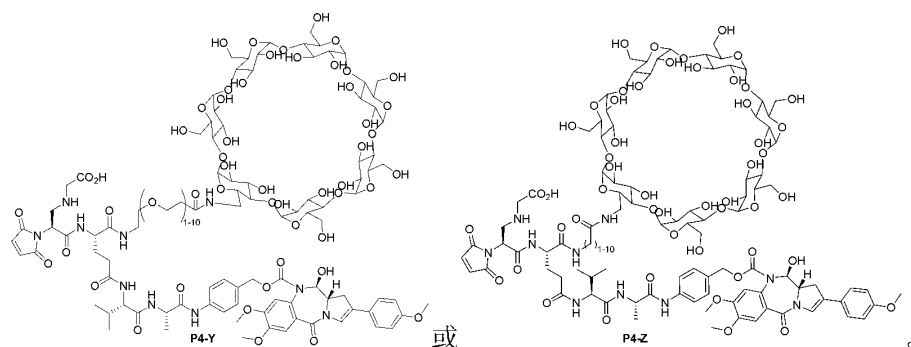


43. 根据权利要求 21-39 中任一项所述的连接子-药物化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其特征在于：所述的连接子-药物化合物非限制性的选自以下结构，

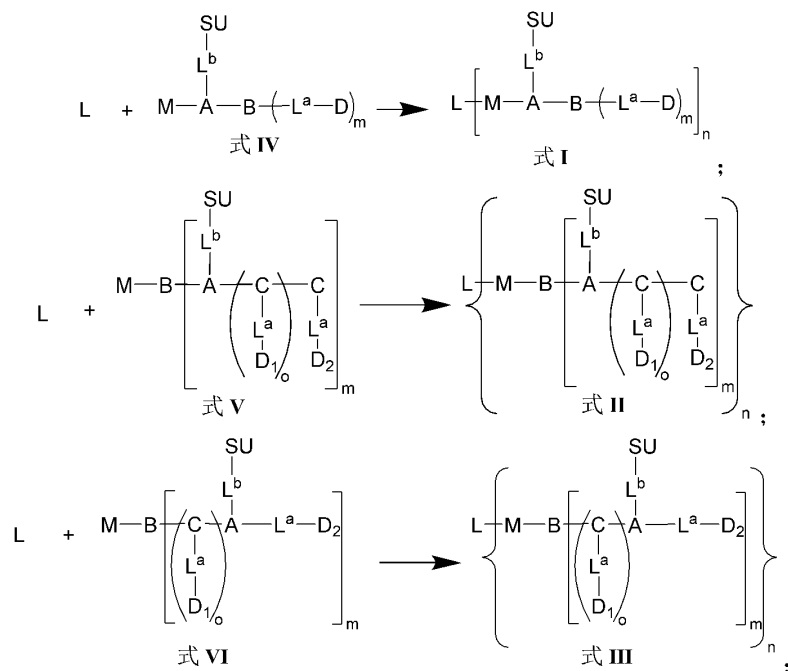








44. 一种制备如权利要求 1-20 任一项所述的如式 I、式 II 或式 III 所示的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物的方法，其特征在于：包括如下步骤，



通过修饰后的配体与式 IV、式 V 或式 VI 化合物反应，得到如式 I、式 II 或式 III 所示的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，

其中：

L 选自配体；

M 选自任意接头单元；

A 选自任意连接支架；

B 存在或不存在，当存在时，选自任意连接结构或键；

C 存在或不存在，当存在时，选自任意分支单元或键；

D、D₁、D₂ 相同或不同，且各自独立地选自药物；

SU 选自糖或其衍生物；

L^a、L^b 相同或不同，且各自独立地选自任意连接单元或键；

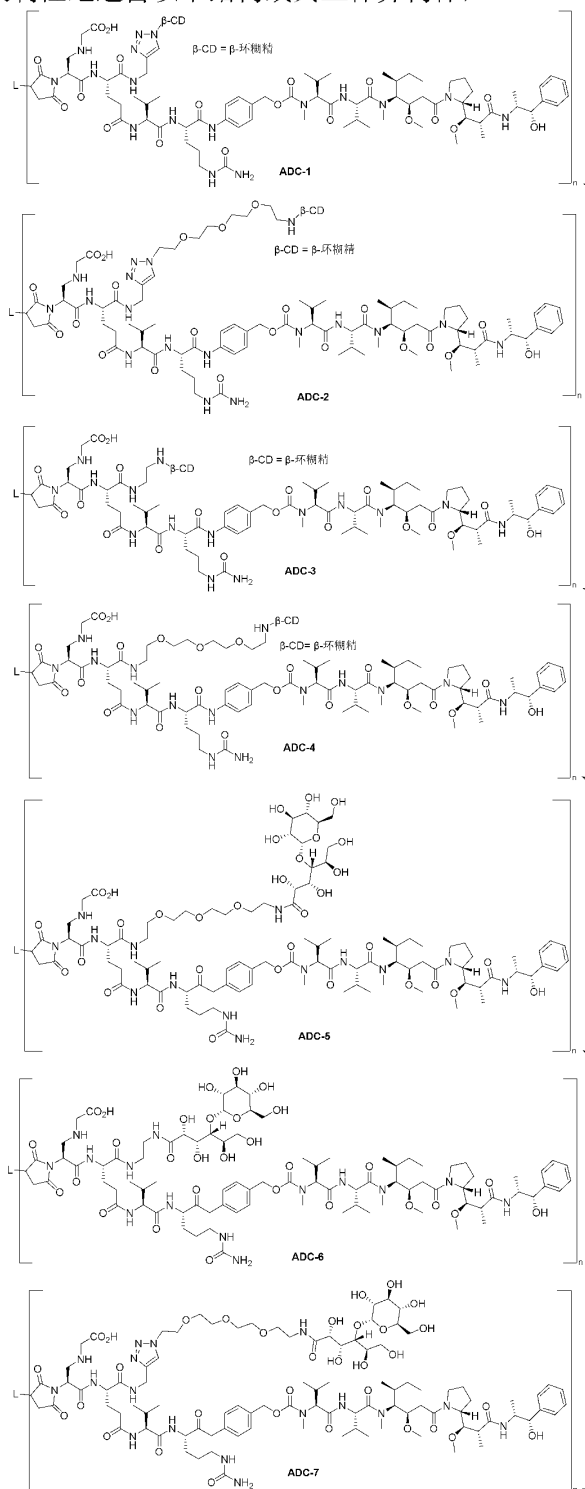
m 选自 1-5 的整数；

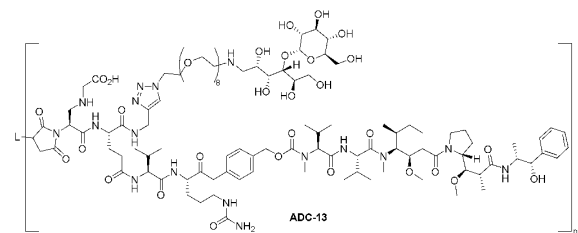
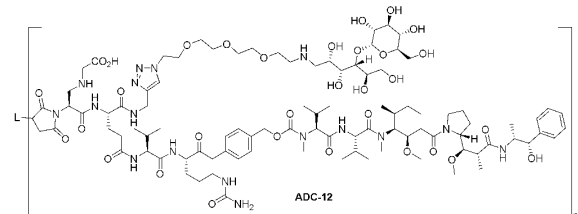
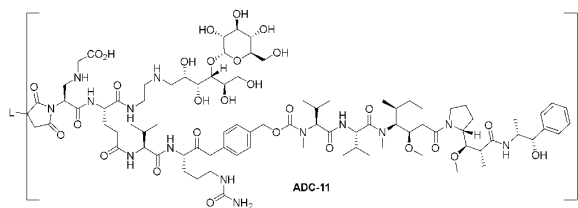
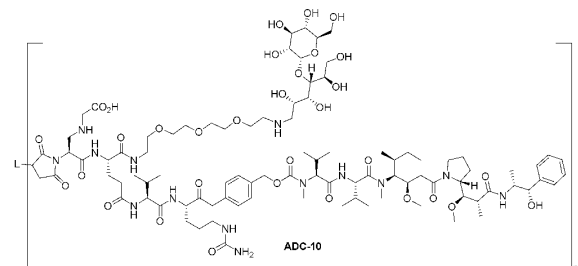
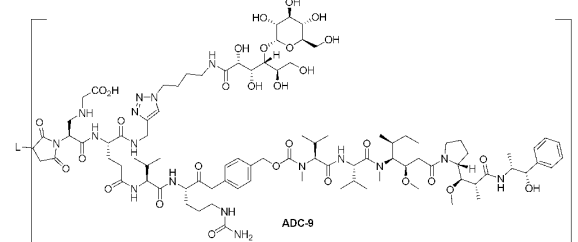
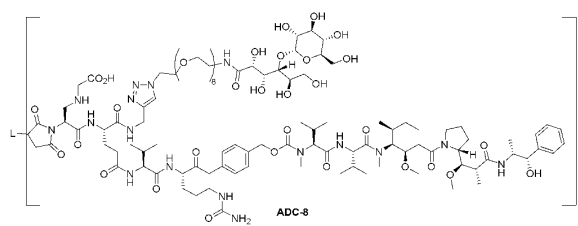
n 选自 1-10 的整数；

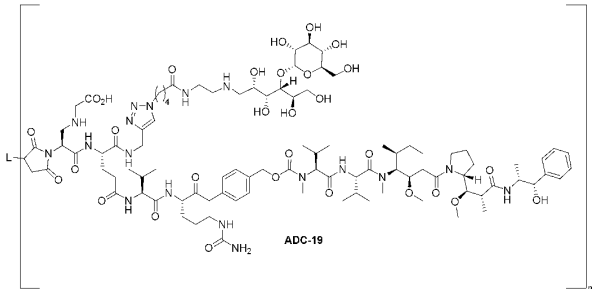
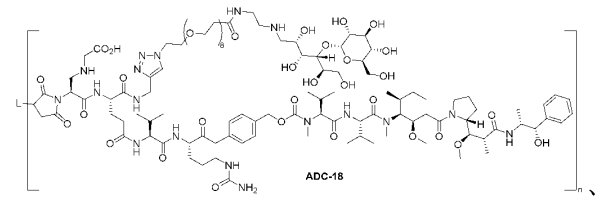
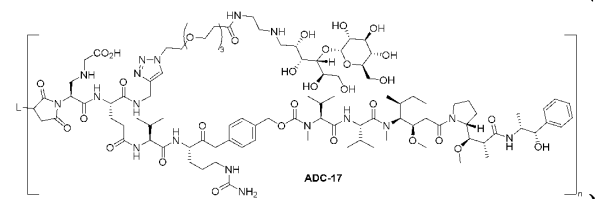
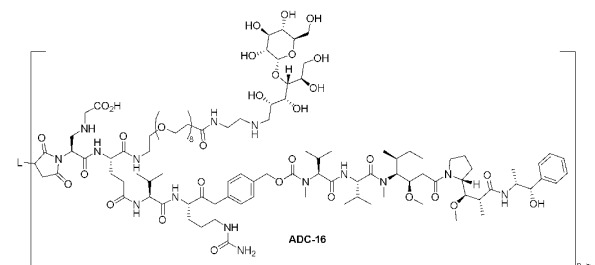
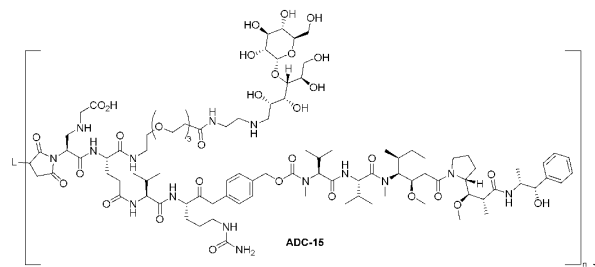
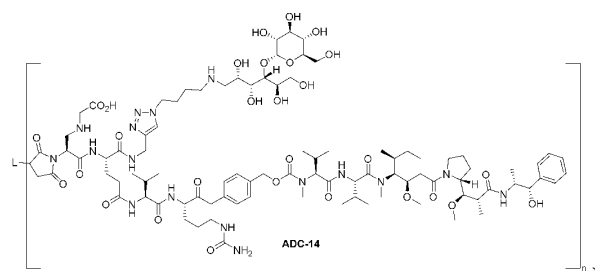
o 选自 1-10 的整数。

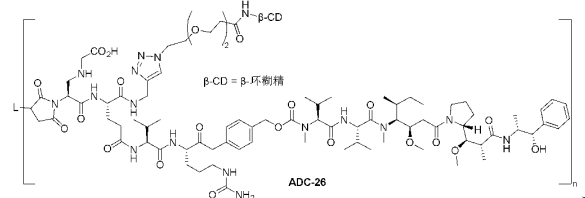
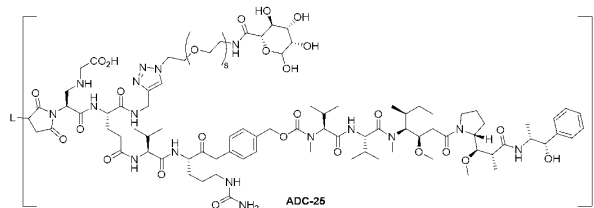
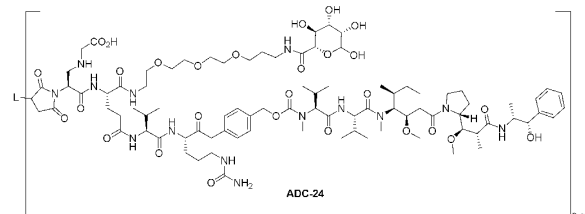
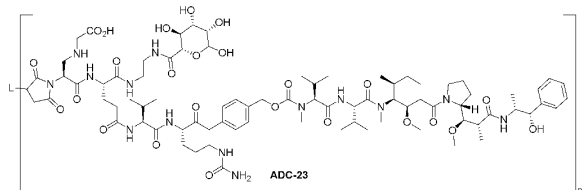
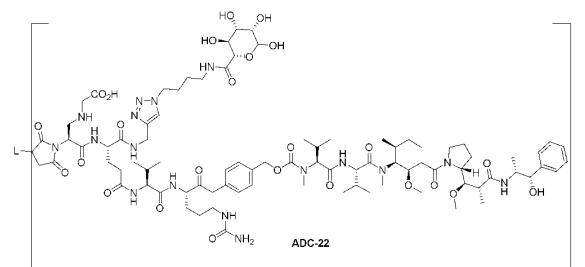
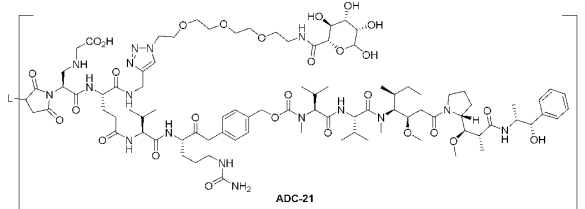
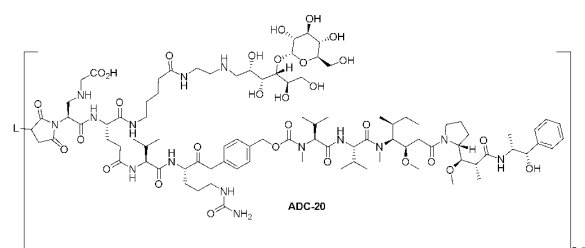
45. 根据权利要求 1-20 中任一项所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶

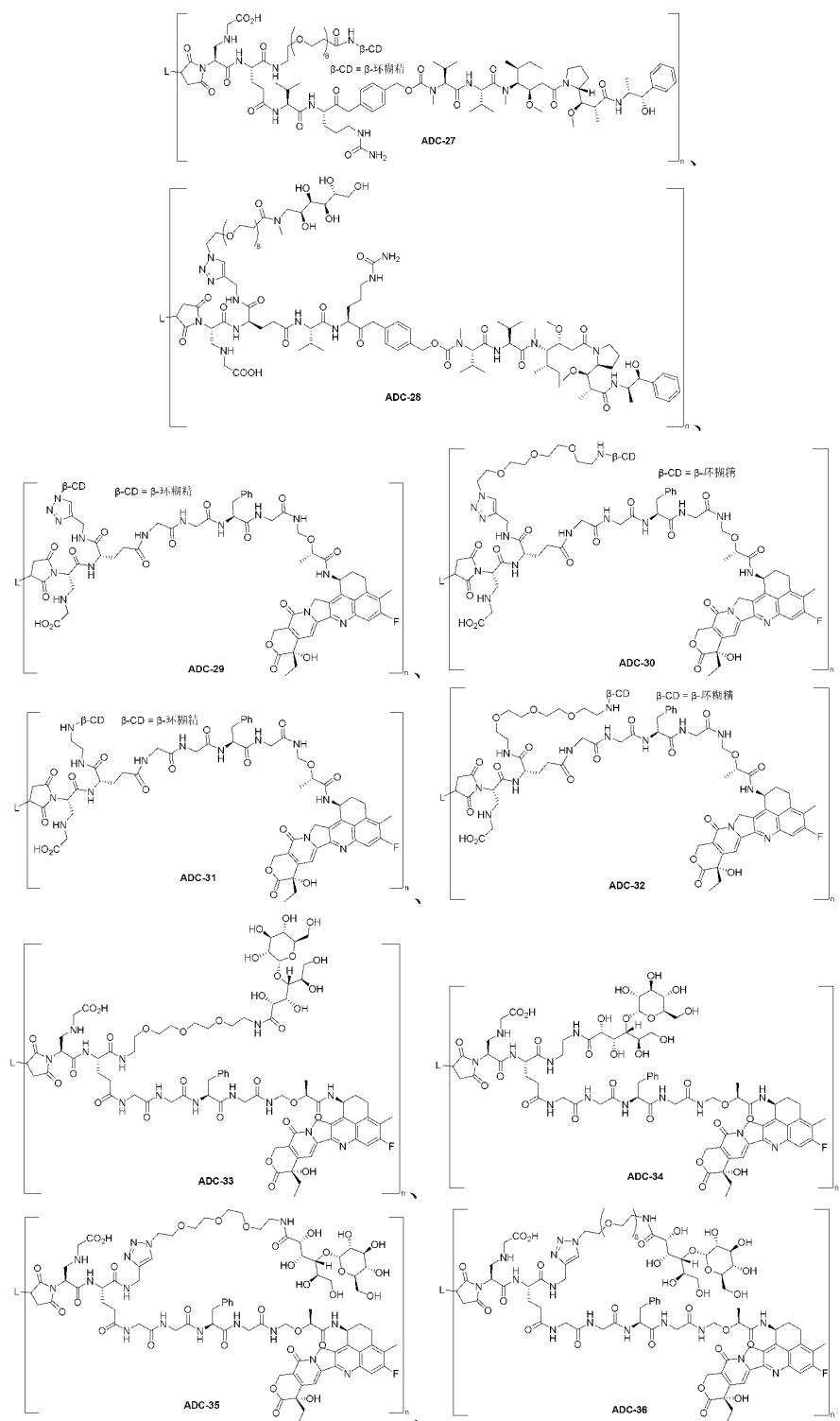
剂化物,或含有根据权利要求 21-43 中任一项所述的连接子-药物化合物的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物,其特征在于:所述配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物非限制性地选自以下结构或其立体异构体,

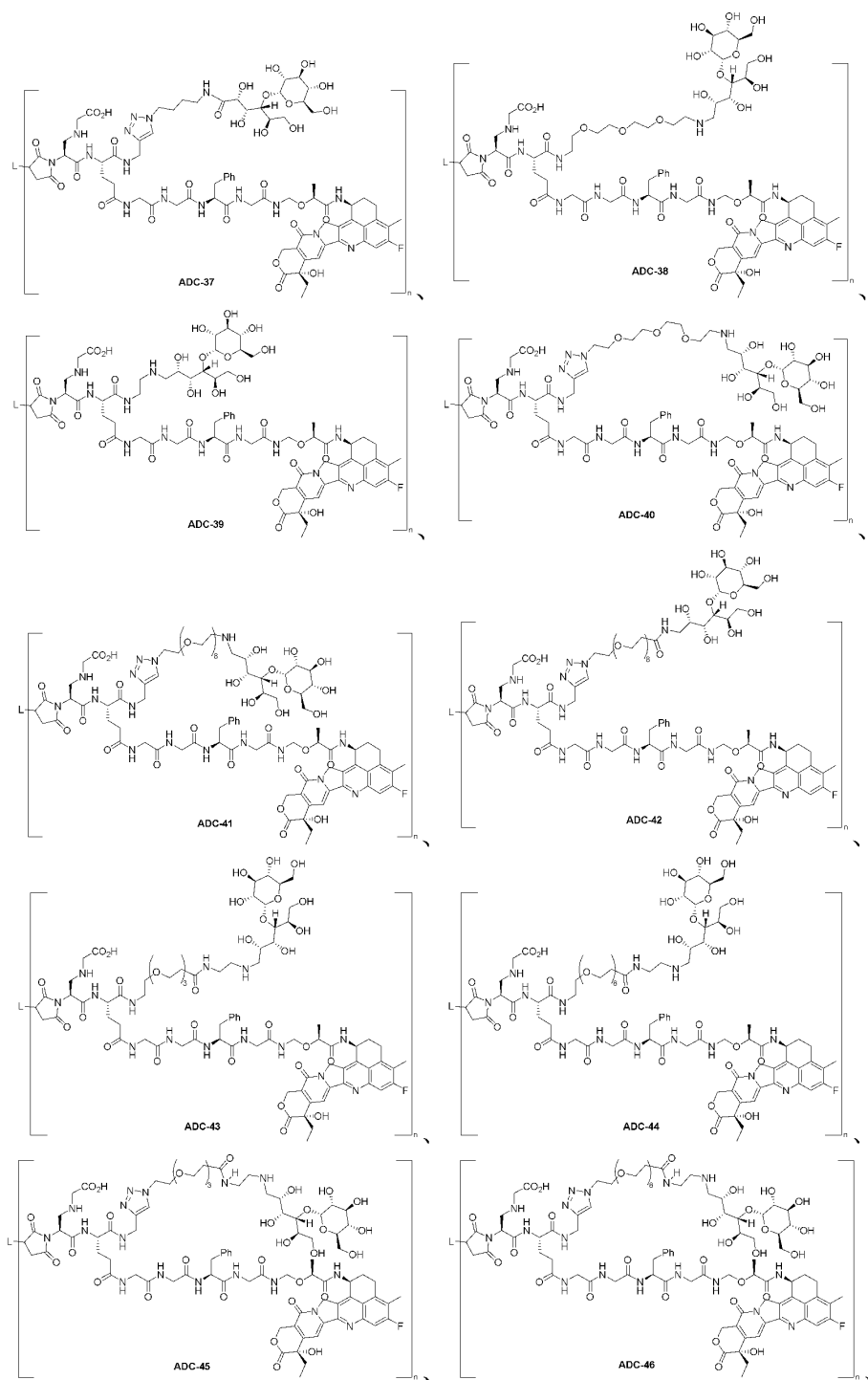


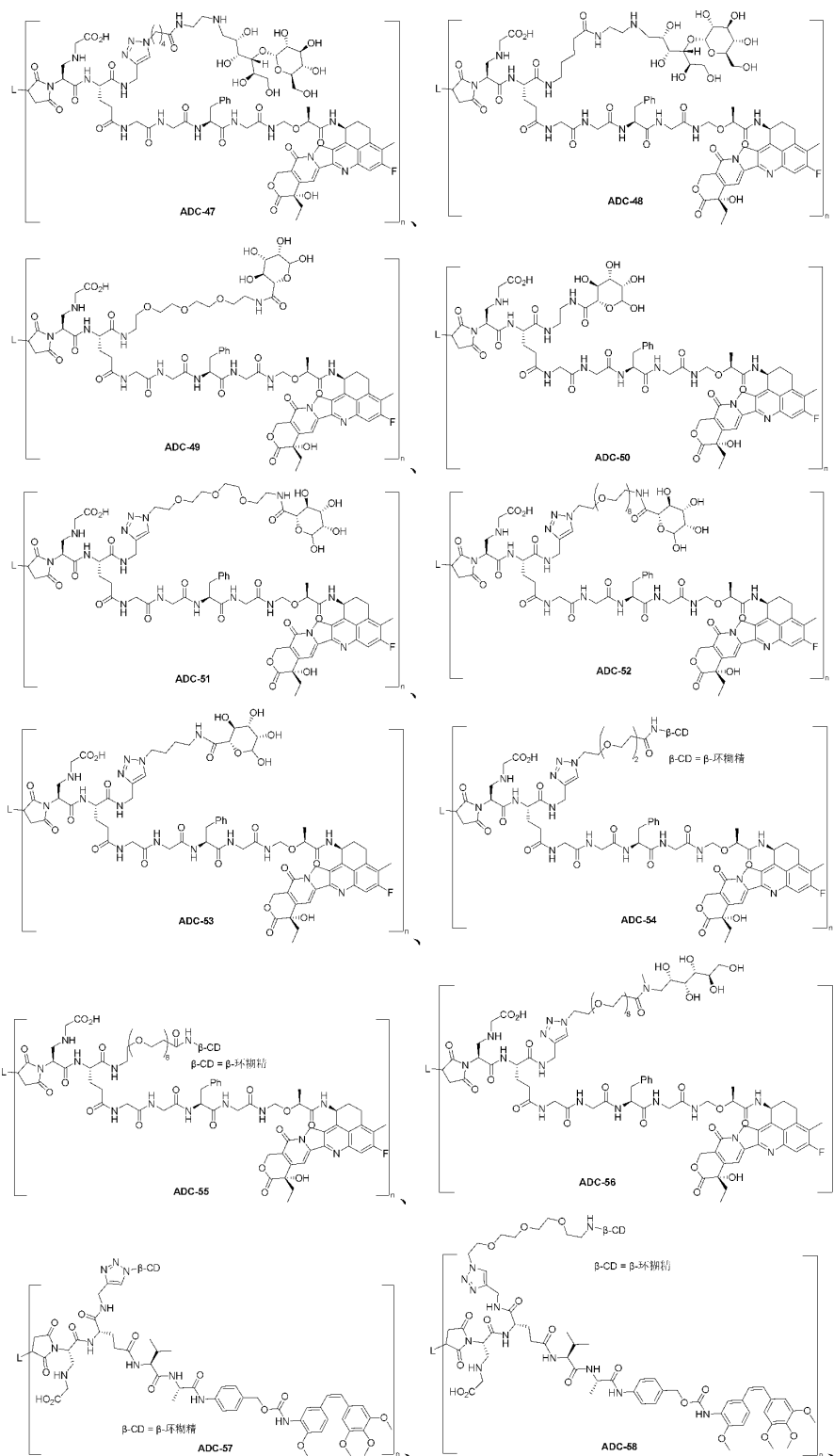


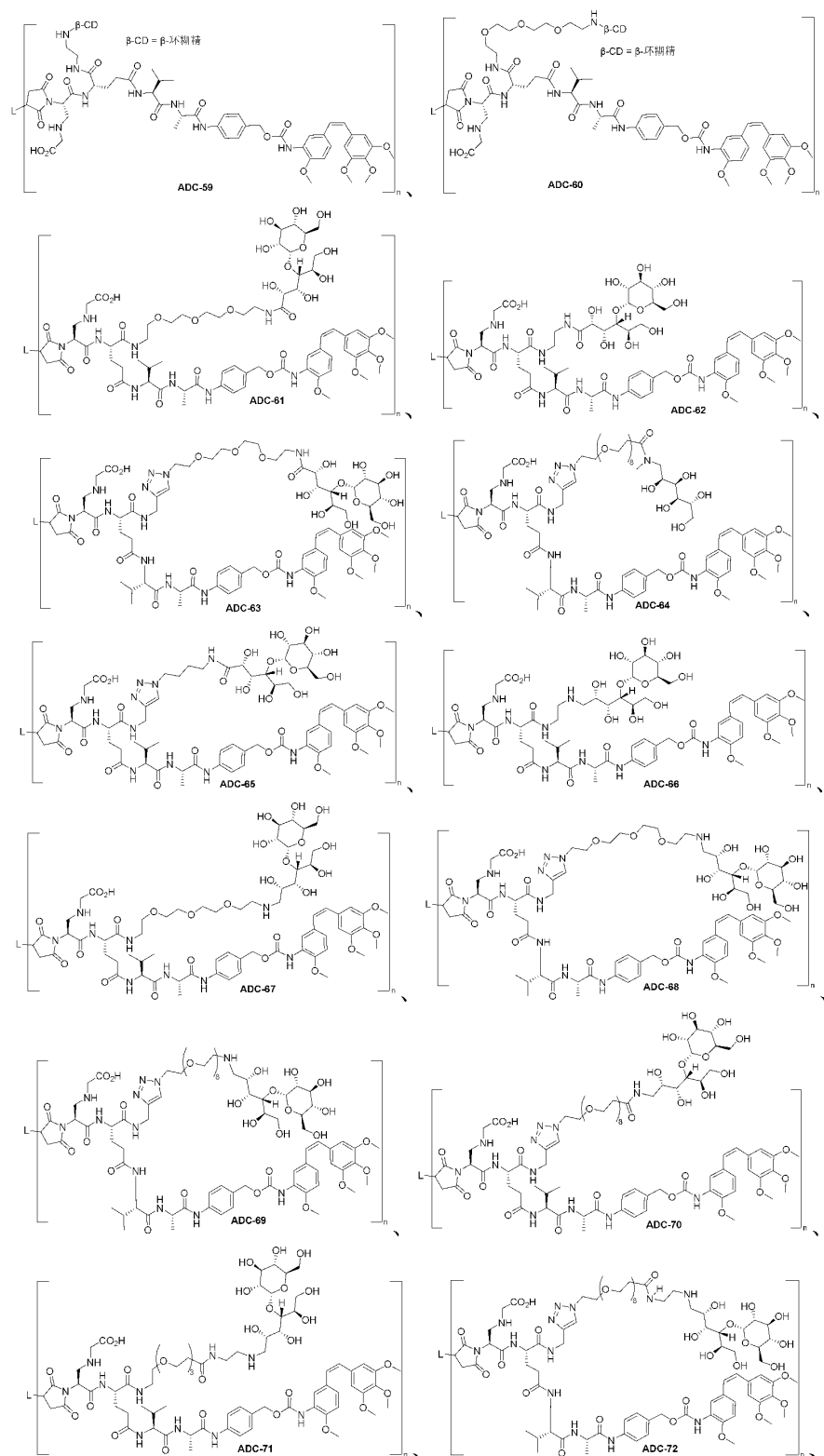


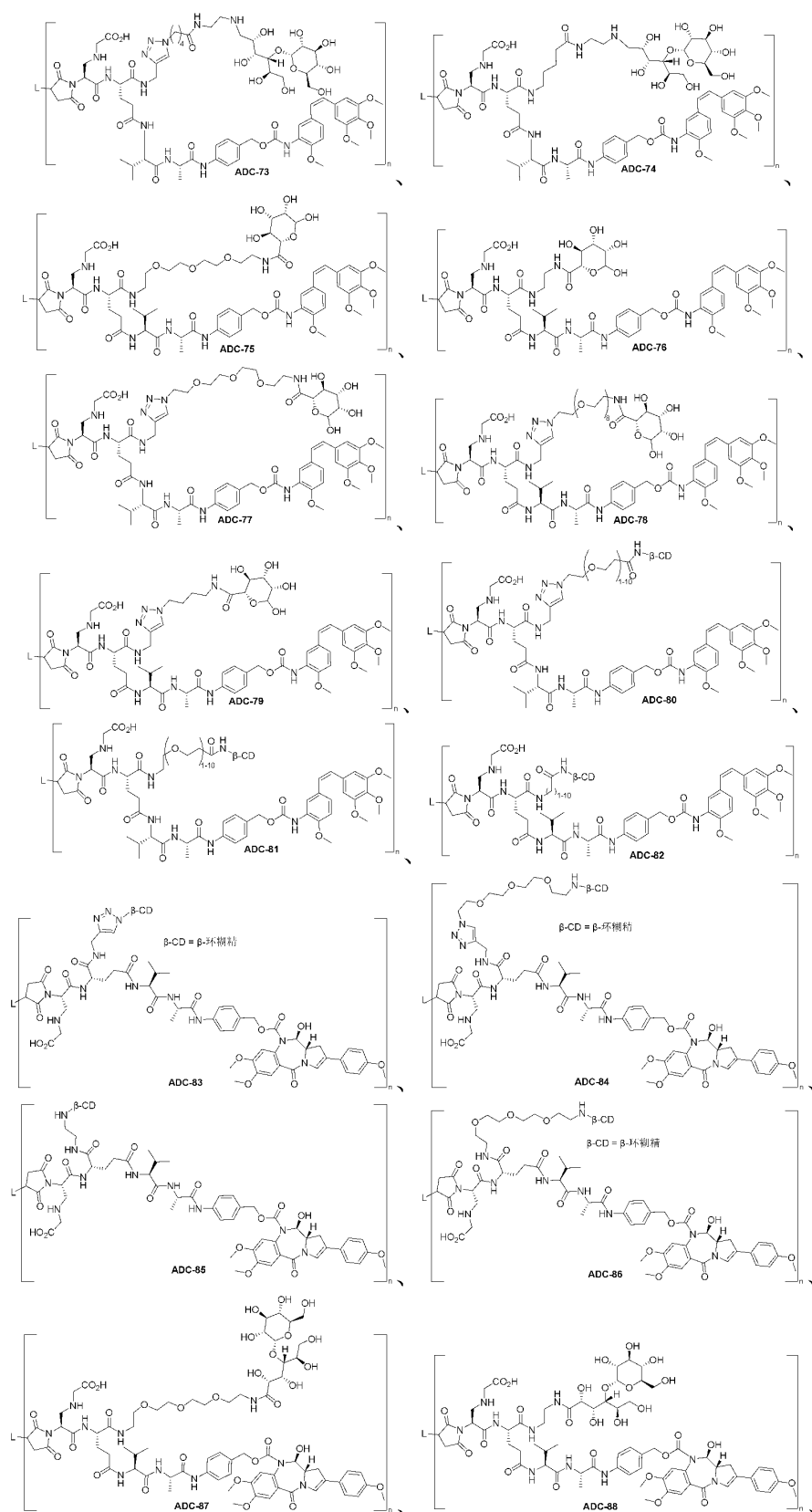


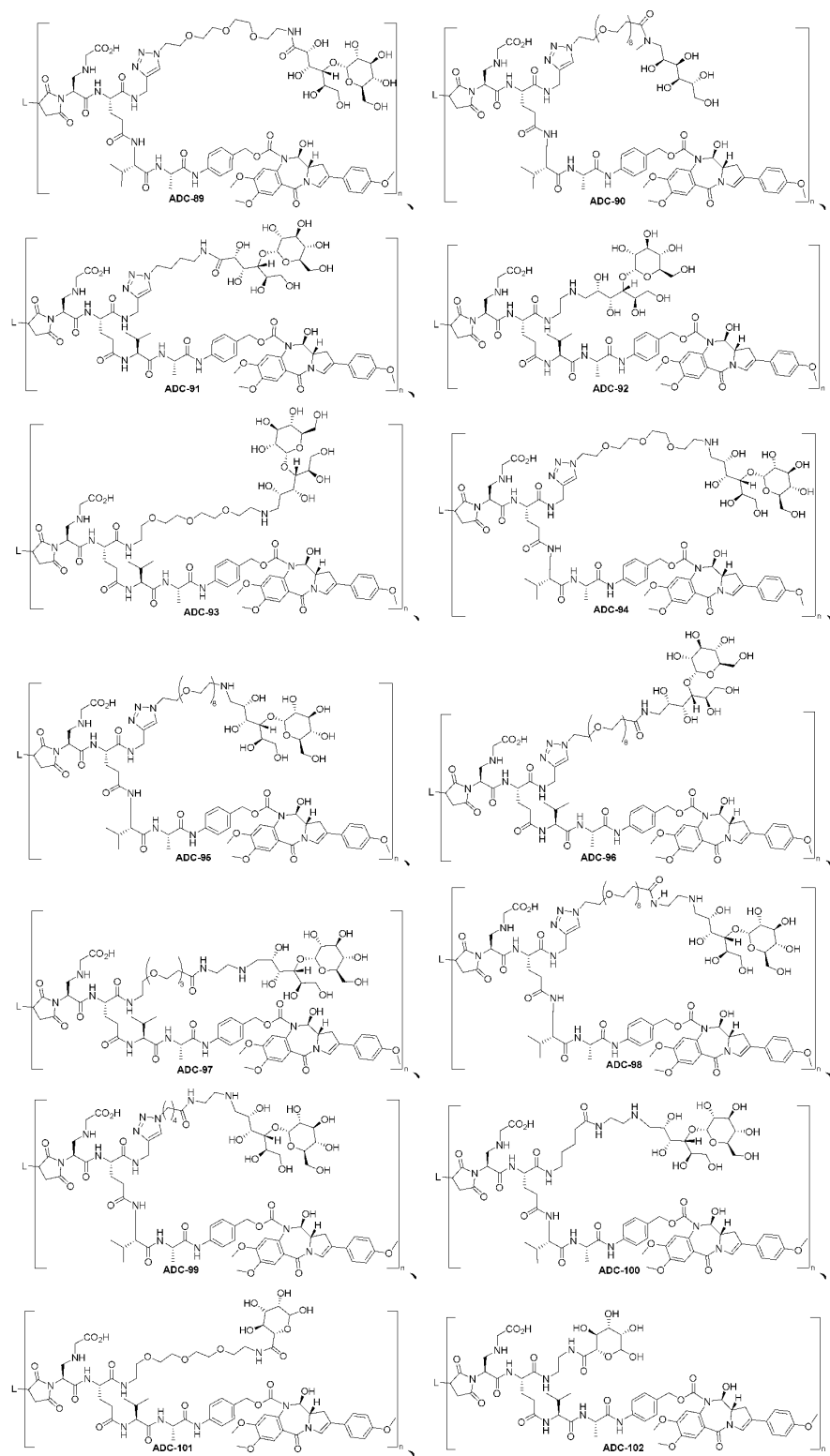


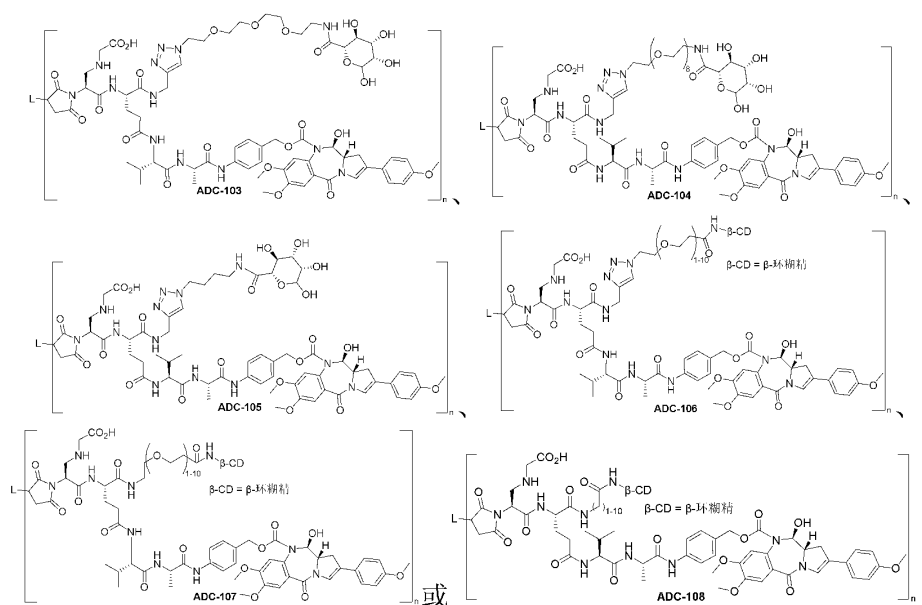












其中：

L 选自配体，优选抗体；

n 选自 1-10 的整数，优选 2-8。

46. 根据权利要求 1-20、44 中任一项所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，或根据权利要求 21-43 中任一项所述的连接器-药物化合物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选自：

结构式中酸性官能团与碱形成的钠盐、钾盐、钙盐或镁盐；

结构中碱性官能团与酸形成的醋酸盐、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。

47. 根据权利要求 1-20、44 中任一项所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其特征在于：所述配体选自单克隆抗体，非限制性地选自：抗 EGFRvIII 抗体、抗 DLL-3 抗体、抗 PSMA 抗体、抗 CD70 抗体、抗 MUC16 抗体、抗 ENPP3 抗体、抗 TDGF1 抗体、抗 ETBR 抗体、抗 MSLN 抗体、抗 TIM-1 抗体、抗 LRRC15 抗体、抗 LIV-1 抗体、抗 CanAg/AFP 抗体、抗 cladin 18.2 抗体、抗 Mesothelin 抗体、抗 HER2(ErbB2) 抗体、抗 EGFR 抗体、抗 c-MET 抗体、抗 SLITRK6 抗体、抗 KIT/CD117 抗体、抗 STEAP1 抗体、抗 SLAMF7/CS1 抗体、抗 NaPi2B/SLC34A2 抗体、抗 GPNMB 抗体、抗 HER3(ErbB3) 抗体、抗 MUC1/CD227 抗体、抗 AXL 抗体、抗 CD166 抗体、抗 B7-H3(CD276) 抗体、抗 PTK7/CKK4 抗体、抗 PRLR 抗体、抗 EFNA4 抗体、抗 5T4 抗体、抗 NOTCH3 抗体、抗 Nectin 4 抗体、抗 Trop-2 抗体、抗 CD142 抗体、抗 CA6 抗体、抗 GPR20 抗体、抗 CD174 抗体、抗 CD71 抗体、抗 EphA2 抗体、抗 LYPD3 抗体、抗 FGFR2 抗体、抗 FGFR3 抗体、抗 FR α 抗体、抗 CEACAMs 抗体、抗 GCC 抗体、抗 Integrin Av 抗体、抗 CAIX 抗体、抗 P-cadherin 抗体、抗 GD3 抗体、抗 Cadherin 6 抗体、抗 LAMP1 抗体、抗 FLT3 抗体、抗 BCMA 抗体、抗 CD79b 抗体、抗 CD19 抗体、抗 CD33 抗体、抗 CD56 抗体、抗 CD74 抗体、抗 CD22 抗体、抗 CD30 抗体、抗 CD37 抗体、抗 CD138 抗体、抗 CD352 抗体、抗 CD25 抗体或抗 CD123 抗体；

优选为抗 Trop-2 抗体或抗 CD33 抗体。

48. 一种药物组合物，其含有治疗有效量的根据权利要求 1-47 中任一项所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或连接子-药物化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，以及药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

49. 权利要求 1-48 中任一项所述的配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或连接子-药物化合物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肿瘤或自身免疫疾病药物中的用途。

50. 根据权利要求 1-49 所述的用途，其中所述肿瘤选自实体瘤或非实体瘤，例如乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫癌、前列腺癌、肾癌、尿道癌、膀胱癌、肝癌、胃癌、子宫内膜癌、唾液腺癌、食道癌、肺癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、骨癌、皮肤癌、甲状腺癌、胰腺癌、黑色素瘤、神经胶质瘤、神经母细胞瘤、多形性胶质细胞瘤、肉瘤、淋巴瘤和白血病。