

说明书

发明名称：配体药物偶联物及其应用

技术领域

[0001] 本公开涉及医药技术领域，具体涉及配体药物偶联物及其应用。

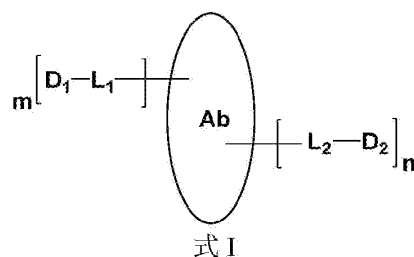
背景技术

[0002] 抗体药物偶联物 (Antibody-drug Conjugate, ADC) 是一种新型疗法的大分子，兼具小分子药物强大的杀伤力和抗体高度特异的靶向性，它可以借助抗体的特异性，将药物精确投放到肿瘤部位或/和肿瘤细胞内，避免对体内正常细胞的杀伤，从而减少治疗过程中的不良反应。ADC由三部分组成，分别是抗体 (antibody)、毒素 (drug) 与连接子 (linker)。当ADC的抗体部分特异性结合到肿瘤细胞表面的特异性抗原时，肿瘤细胞的细胞膜将会向内凹陷，形成内体囊泡 (endosome) 将ADC吞入，这个过程又称为内化 (internalization)；ADC的抗体部分或linker在细胞内会被一些酶降解，从而将毒素释放出来，释放出的毒素便开始发挥杀伤肿瘤细胞的作用。在ADC药物开发过程中，“linker+毒素” (payload) 是一种重要的中间原料，由linker和细胞毒性分子 (drug) 组成，现阶段 payload 中毒素分子主要包括微管蛋白抑制剂与拓扑异构酶抑制剂。

[0003] 发明内容

[0004] 为了改进配体药物偶联物 (如抗体药物偶联物ADC) 的治疗效果，提高治疗窗口，本公开提供了一种式 I 所示的配体药物偶联物或其立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物。该配体药物偶联物偶联两种不同毒素，分别为具有低毒性及低杀伤活性的修复抑制剂和高杀伤活性的损伤剂；配体 (如抗体) 同时偶联低毒性修复抑制剂和高毒性损伤剂，所得双毒ADC药物相比于配体 (如抗体) 偶联单一毒素的ADC具有更高的杀伤活性。本申请的配体药物偶联物 (如双毒ADC) 在细胞水平上具有显著更强的抑瘤作用。

[0005] 为此，在本公开的第一方面，本公开提供了式 I 所示的配体药物偶联物或其立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物，



[0006] 其中：

[0007] Ab为靶向部分，选自抗体、抗体片段、靶向蛋白或Fc-融合蛋白；

[0008] D₁为第一药物，所述第一药物与L₁相连接；

[0009] D₂为第二药物，所述第二药物选自DNA损伤修复抑制剂，所述第二药物与L₂相连接；

[0010] L₁为第一连接单元，所述第一连接单元连接所述第一药物与所述靶向部分；

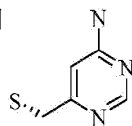
[0011] L₂为第二连接单元，所述第二连接单元连接所述第二药物与所述靶向部分；

[0012] m选自0-20的整数(例如0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20)；

[0013] n选自1-20的整数(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20)。

[0014] 在一些实施方案中，所述第二药物选自ATR抑制剂、ATM抑制剂、PARP抑制剂、WEE1抑制剂、CHK1抑制剂、DNA-PK抑制剂。

[0015] 在一些实施方案中，所述ATR抑制剂选自



[0016] 在一些实施方案中，R₁、R₂、R₃、R₄、R₅各自独立地选自氢、.

[0017] 在一些实施方案中，R₁、R₂、R₃、R₄、R₅中，任意一个为，其余为氢。

[0018] 在一些实施方案中，R₃为，R₁、R₂、R₄、R₅为氢。

[0019] 在一些实施方案中，R_c选自C1-C6烷基。

[0020] 在一些实施方案中，R_c为异丙基。

[0021] 在一些实施方案中, R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 为氢。

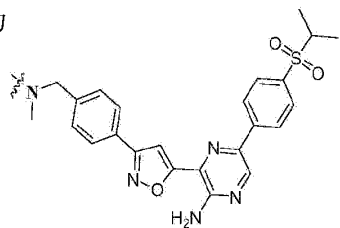
[0022] 在一些实施方案中, R_d 选自C1-C6烷基。

[0023] 在一些实施方案中, R_d 为甲基。

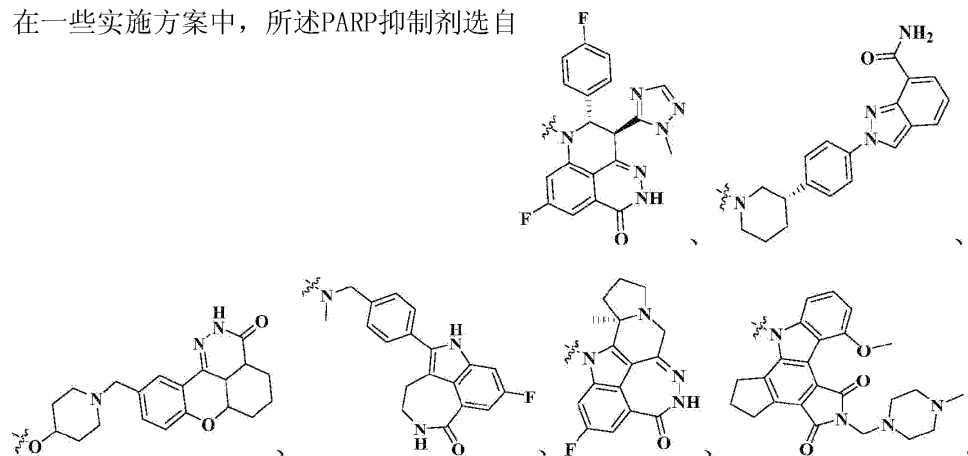
[0024] 在一些实施方案中, p 选自1、2、3。

[0025] 在一些实施方案中, p 为1。

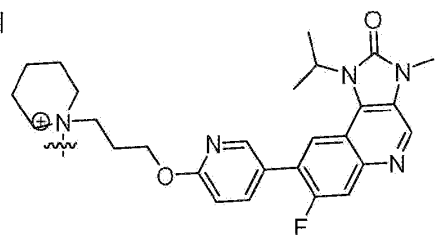
[0026] 在一些实施方案中, 式A所示的化合物为

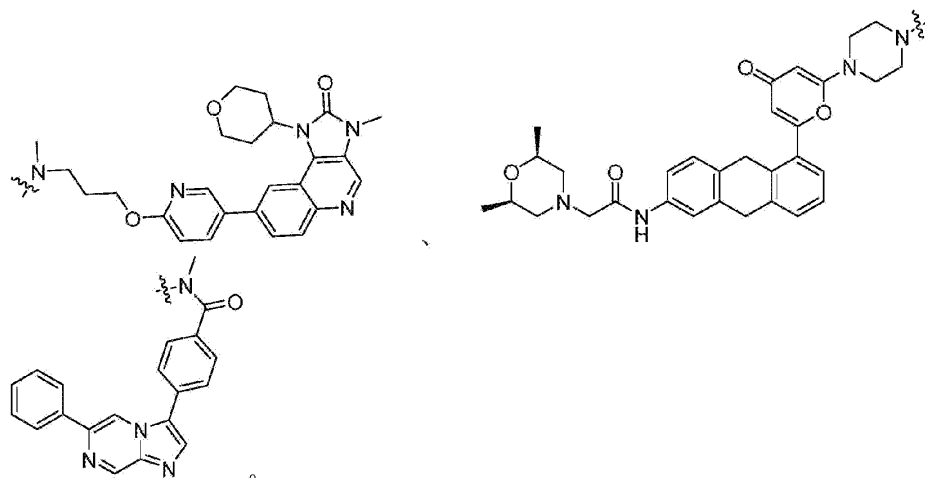


[0027] 在一些实施方案中, 所述PARP抑制剂选自

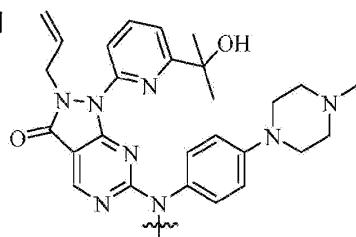


[0028] 在一些实施方案中, 所述ATM抑制剂选自

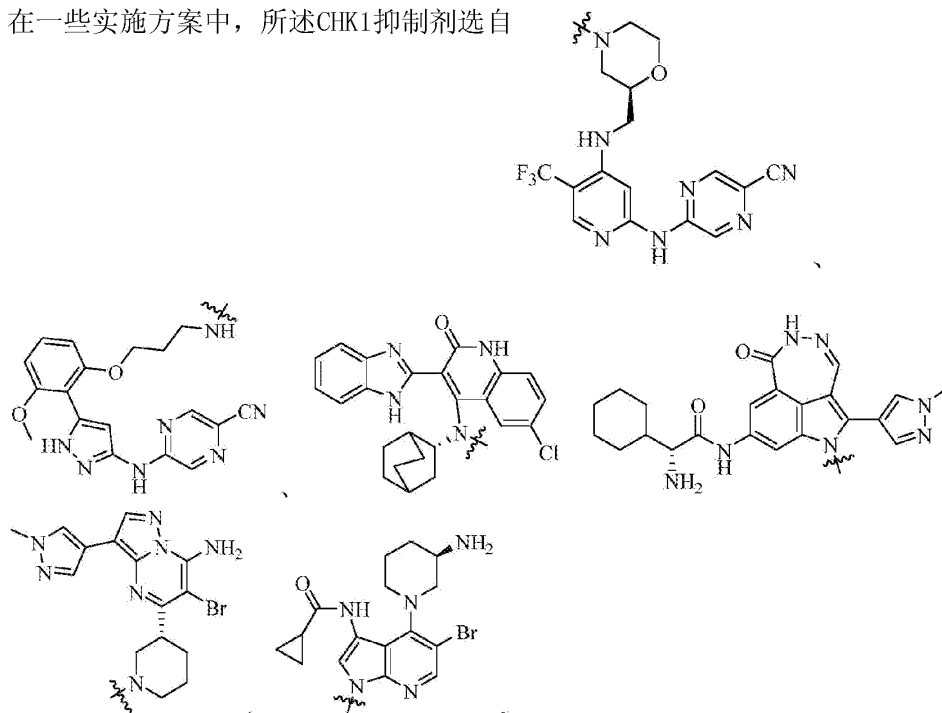




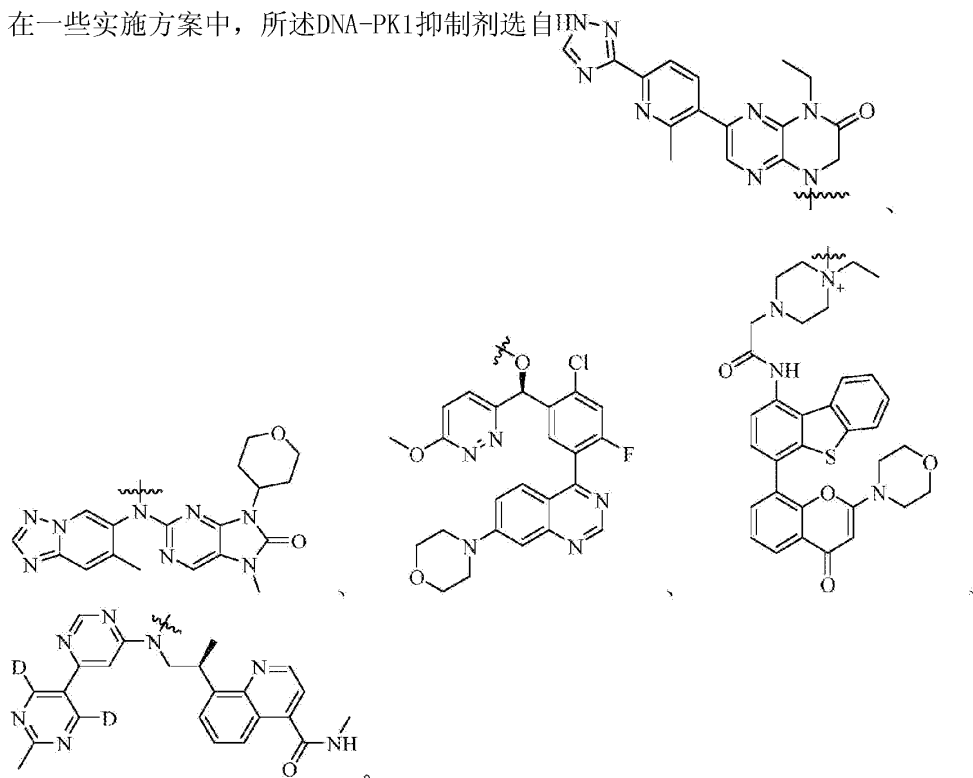
[0029] 在一些实施方案中，所述WEE1抑制剂选自



[0030] 在一些实施方案中，所述CHK1抑制剂选自



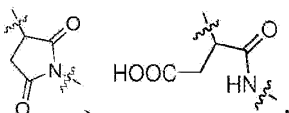
[0031] 在一些实施方案中, 所述DNA-PK1抑制剂选自



[0032] 在一些实施方案中, 所述第二连接单元为可断裂或不可断裂的连接单元。

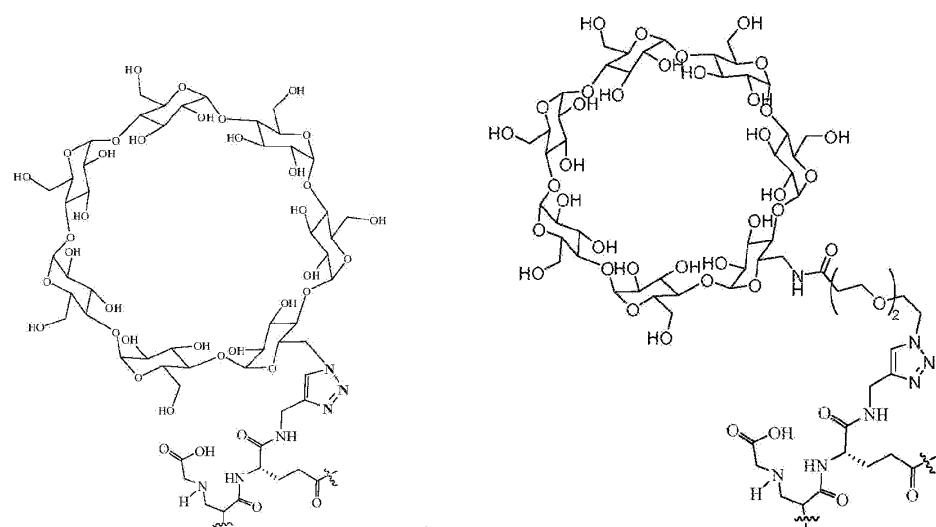
[0033] 在一些实施方案中, L_2 为 L_{21} - L_{22} - L_{23} - L_{24} , 且 L_{24} 与 D_2 相连接, L_{21} 与 Ab 相连接 (优选地, L_{21} 通过巯基偶联至 Ab 上),

[0034] L_{21} 选自

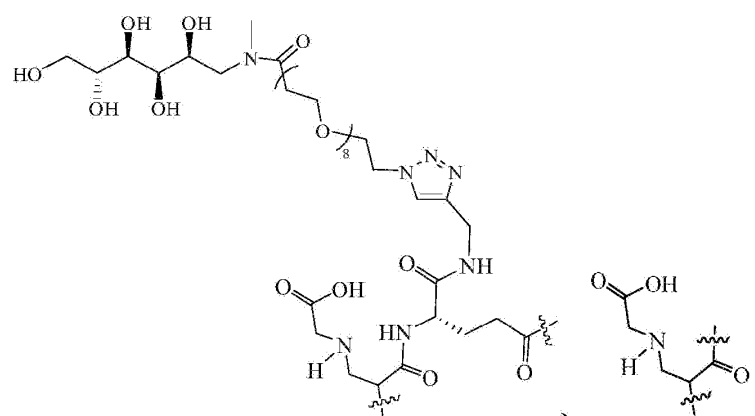


且 N 端与 L_{22} 相连接,

[0035] L_{22} 选自:

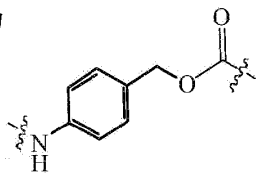
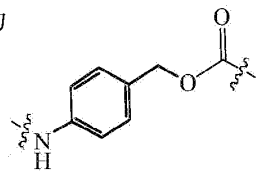


且羰基端与 L_{23} 相



连接；

[0036] L_{23} 选自氨基酸残基或由2-10个氨基酸残基组成的肽残基，且羰基端与 L_{24} 相连接；

[0037] L_{24} 为  或直接键，且 L_{24} 为  时，羰基端与

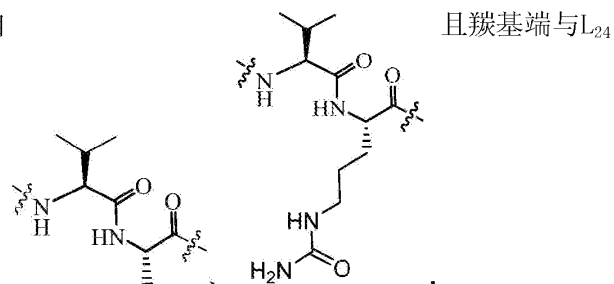
D_2 相连接。

[0038] 在一些实施方案中， L_{23} 为由2-4个(优选2个)氨基酸残基组成的肽残基，且羰基端与 L_{24} 相连接，优选地，所述氨基酸选自缬氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸

酸、赖氨酸、瓜氨酸、丝氨酸、谷氨酸、天冬氨酸，更优选地，所述氨基酸选自缬氨酸、丙氨酸、瓜氨酸。

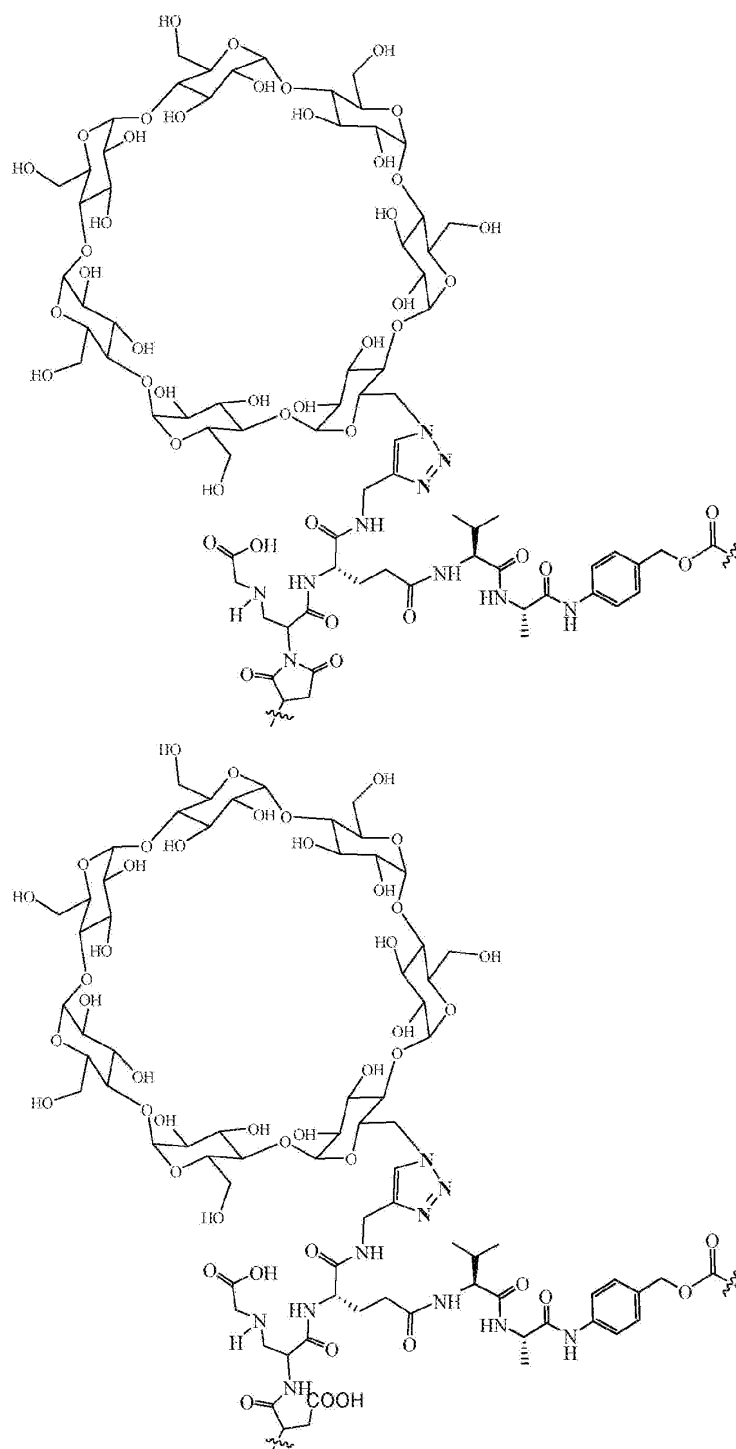
[0039] 在一些实施方案中， L_{23} 选自缬氨酸-丙氨酸(Val-Ala)、缬氨酸-瓜氨酸(Val-Cit)，且羰基端与 L_{24} 相连接。

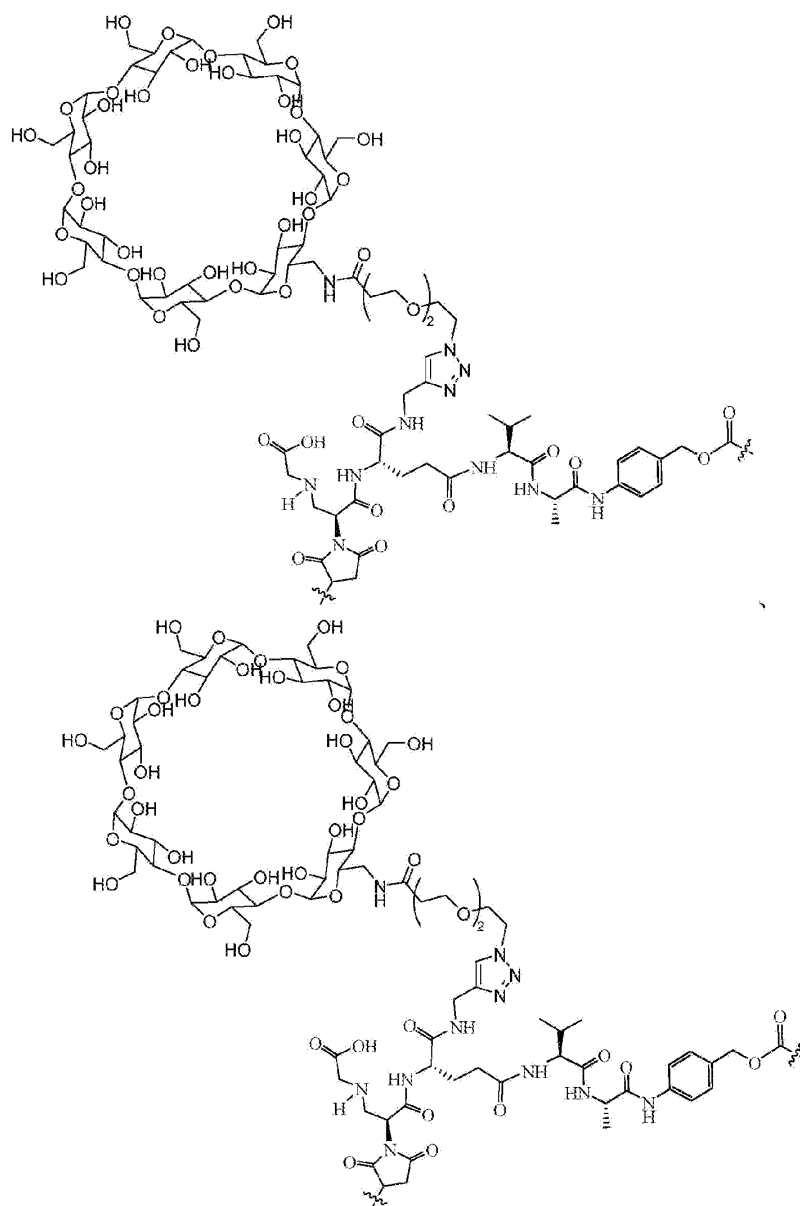
[0040] 在一些实施方案中， L_{23} 选自

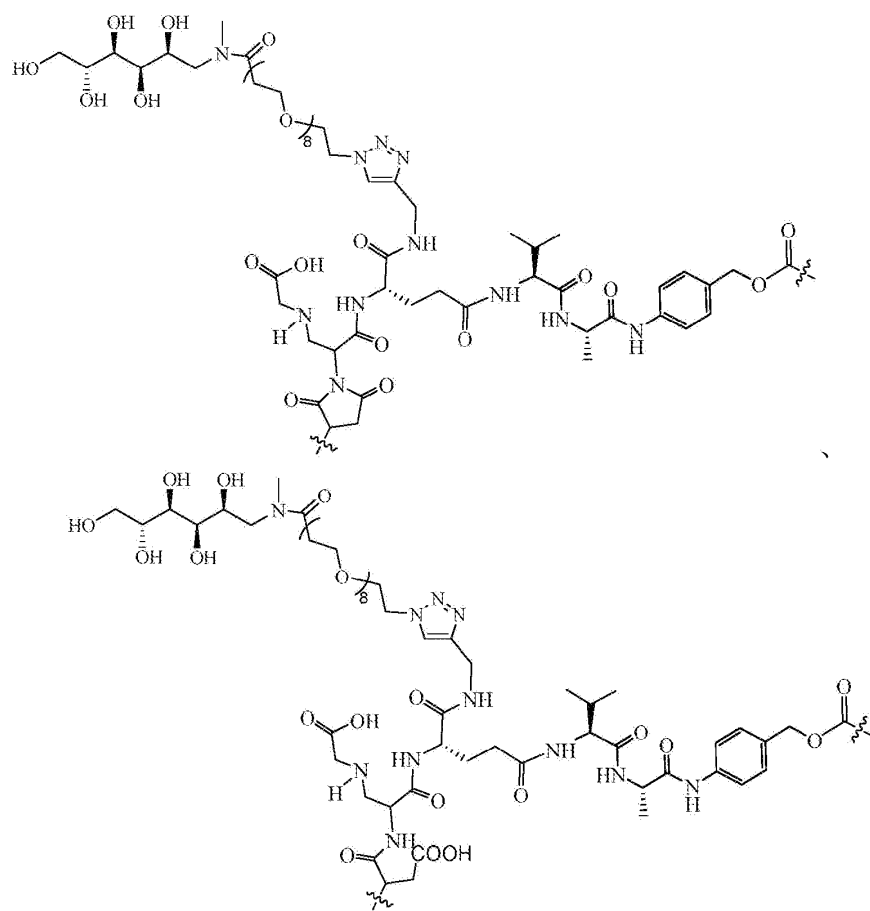


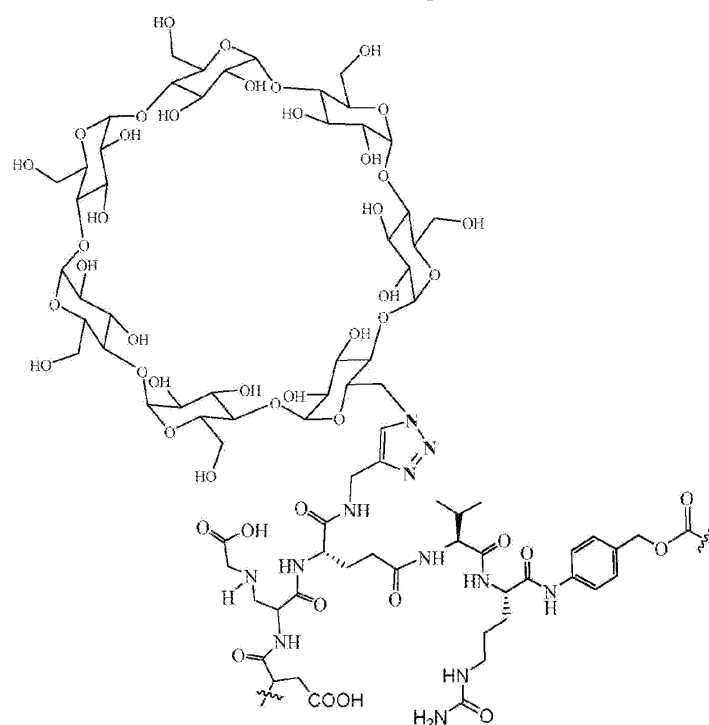
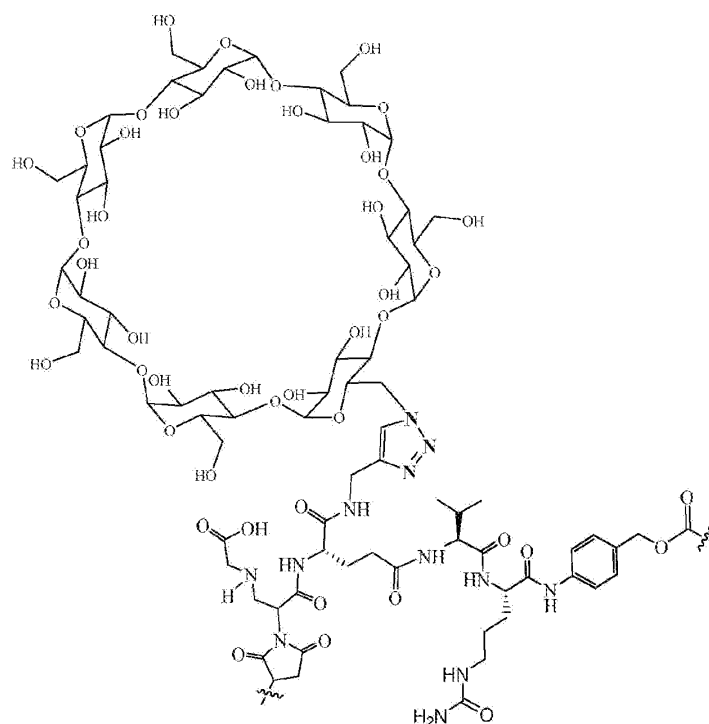
相连接。

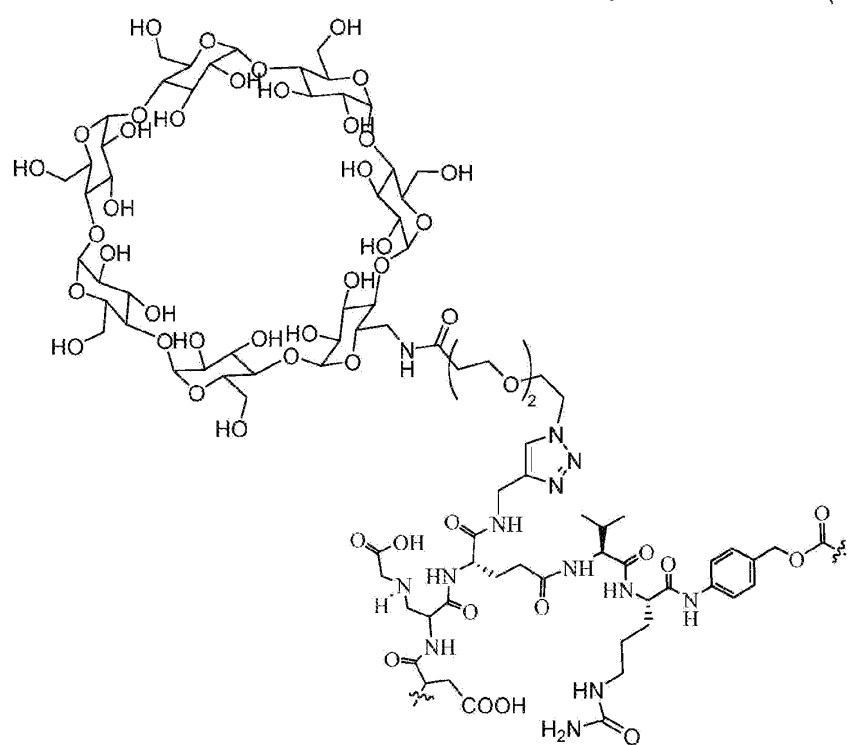
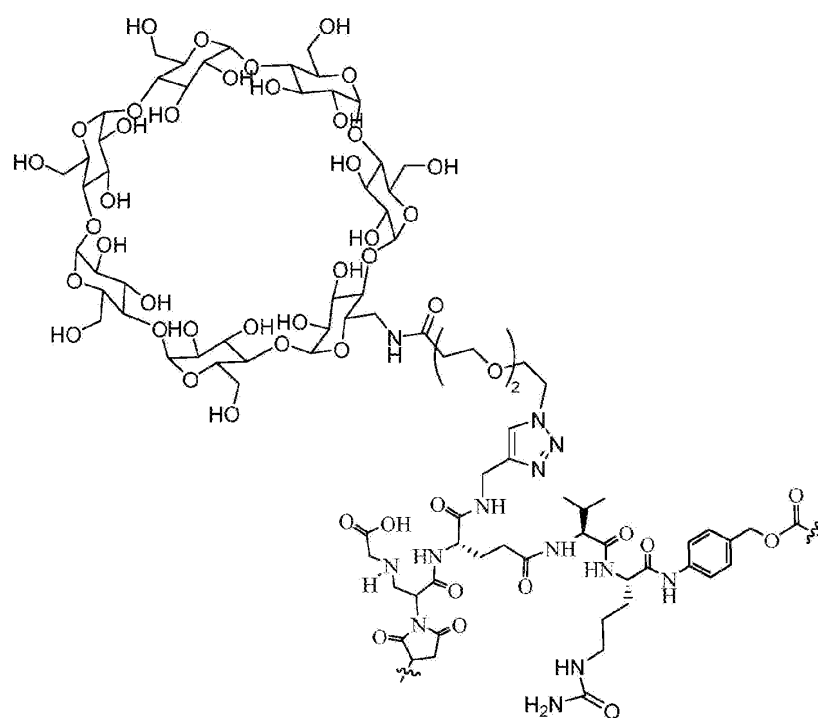
[0041] 在一些实施方案中， L_2 选自：

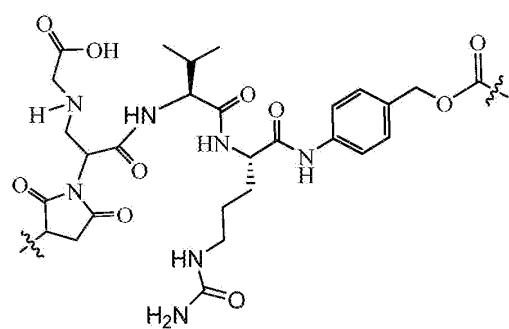
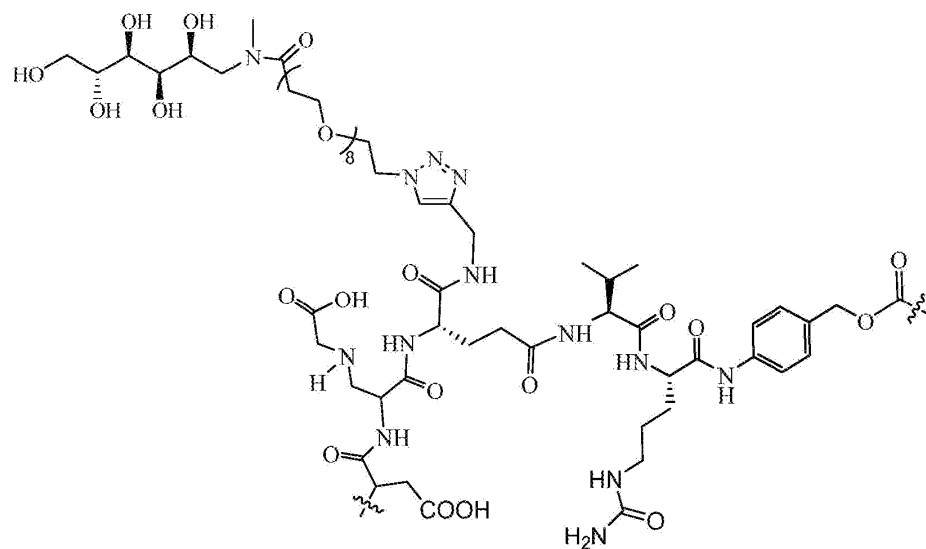
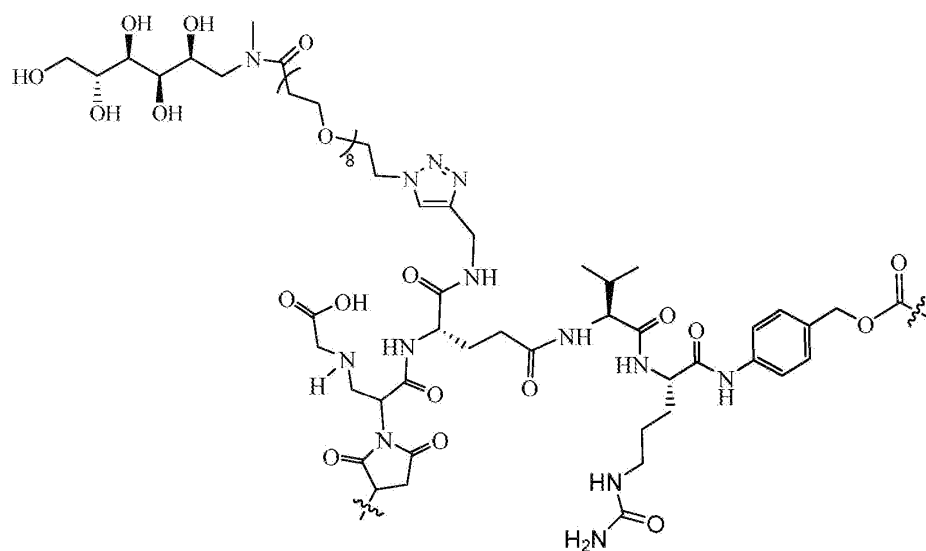


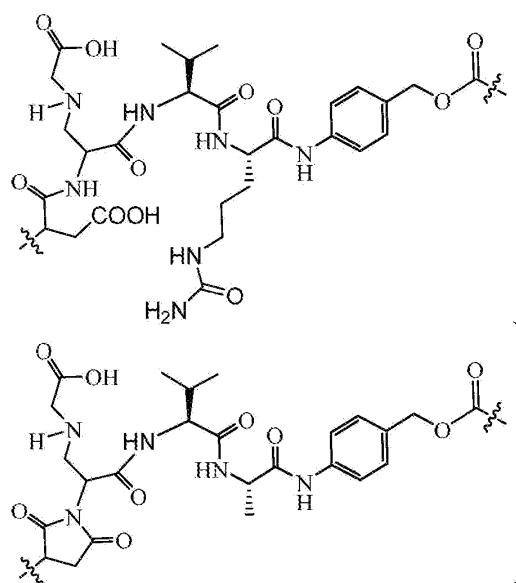






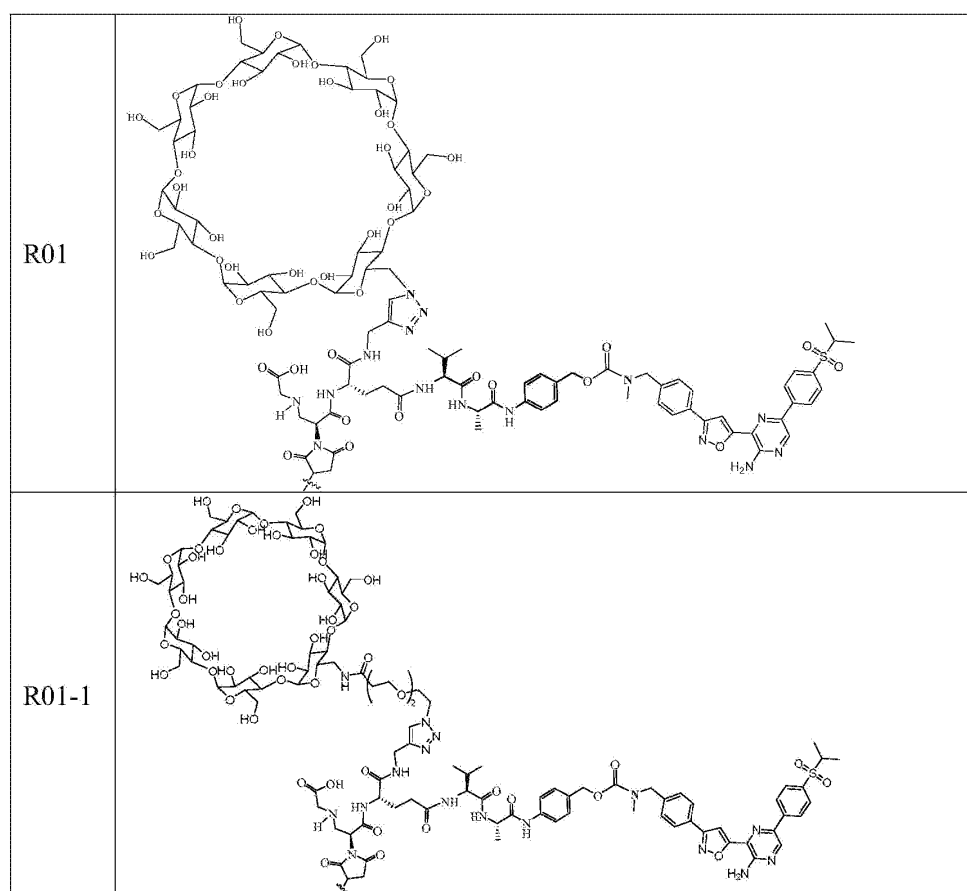


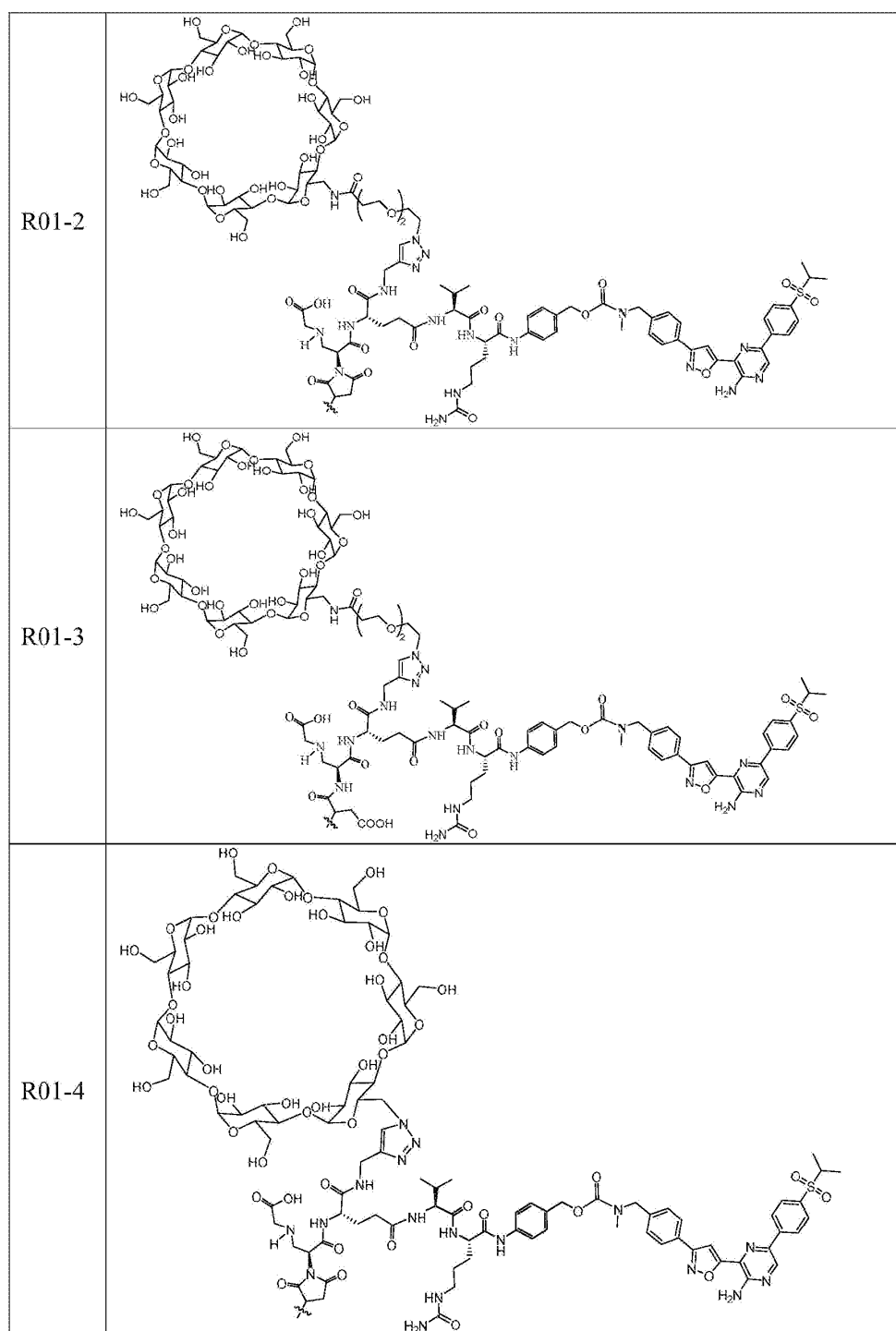


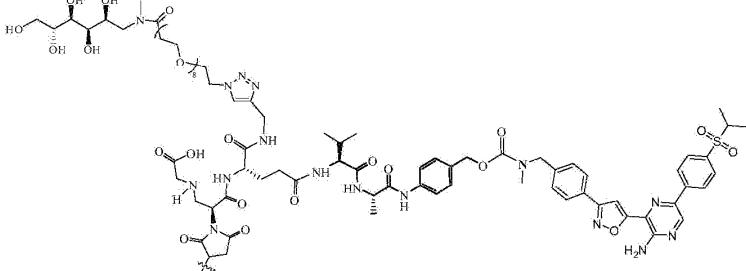
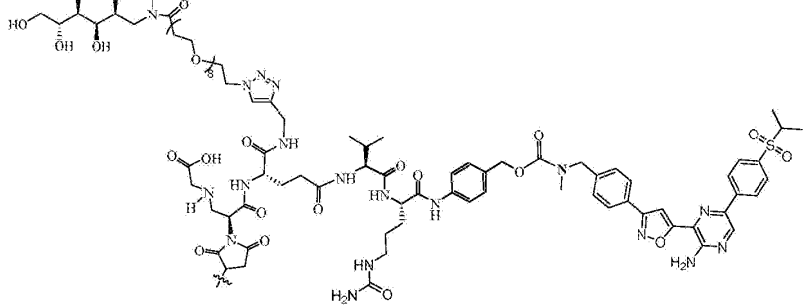
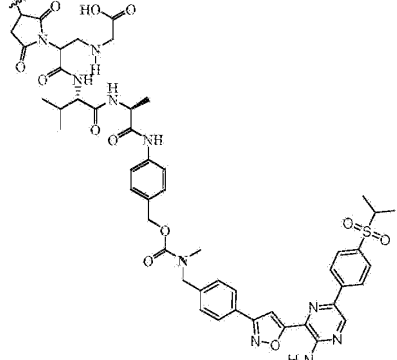
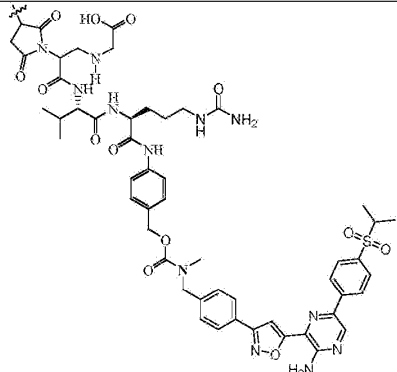


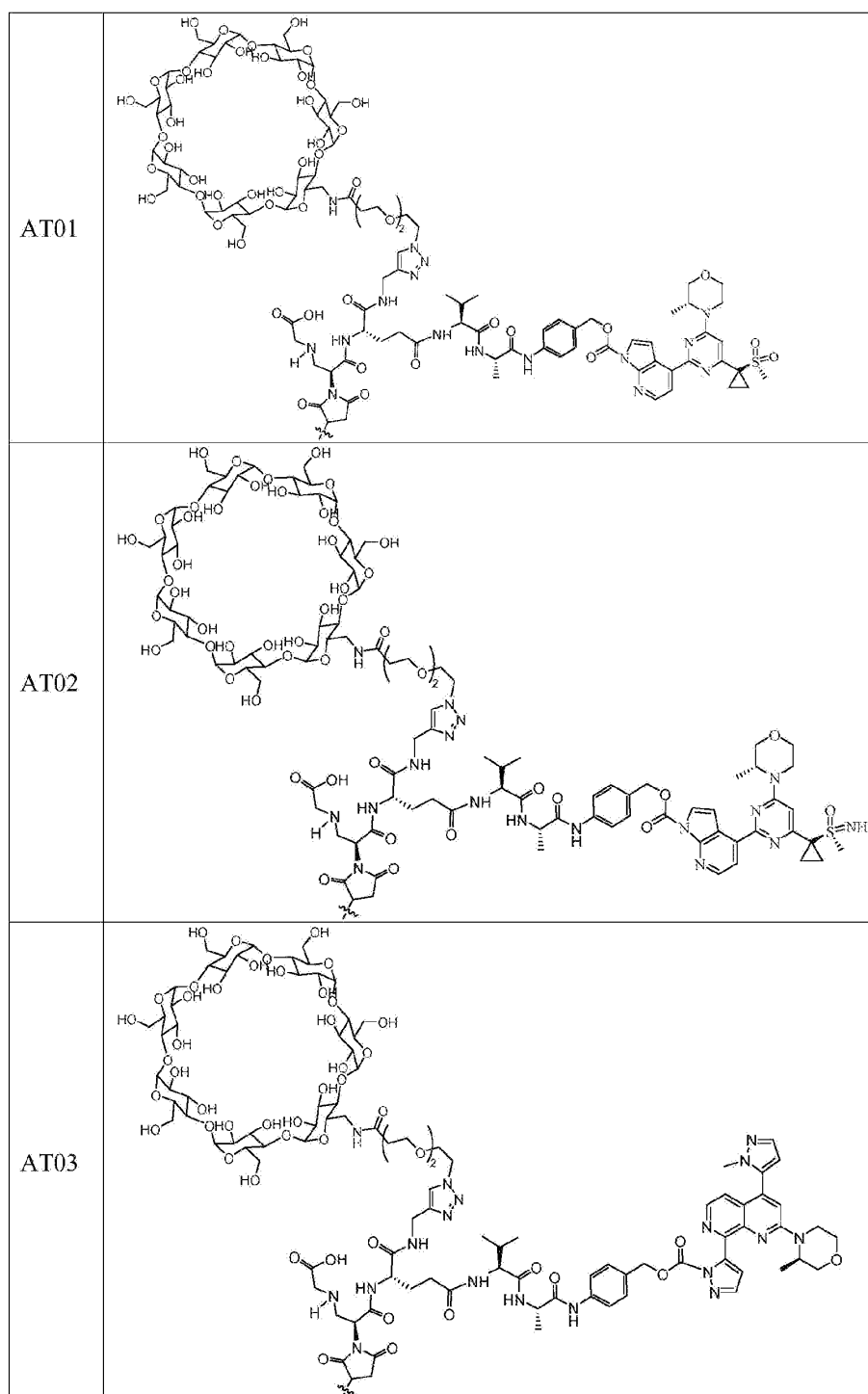
[0042] 且羰基端与D₂相连接。

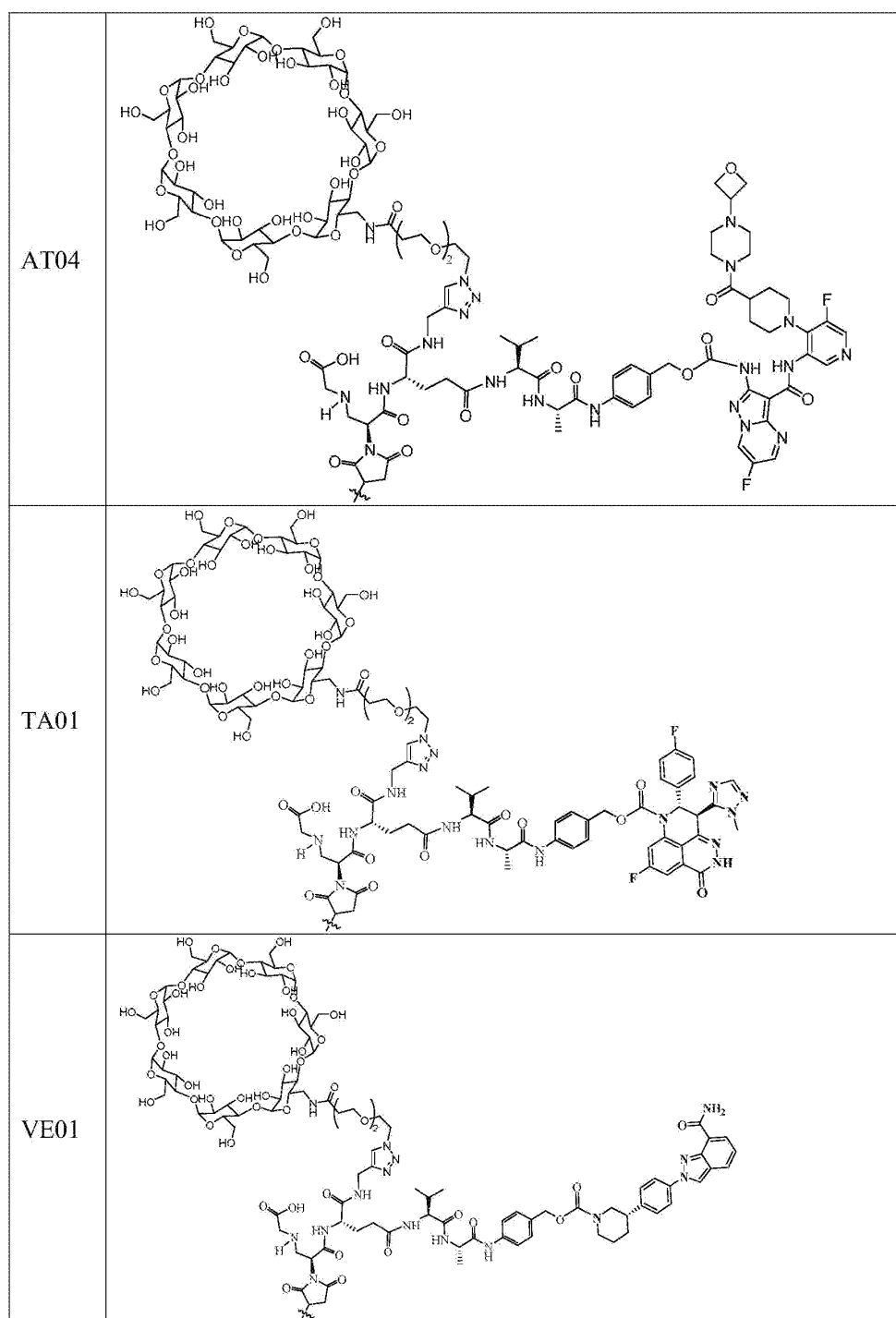
[0043] 在一些实施方案中，其中，D₂-L₂-选自：

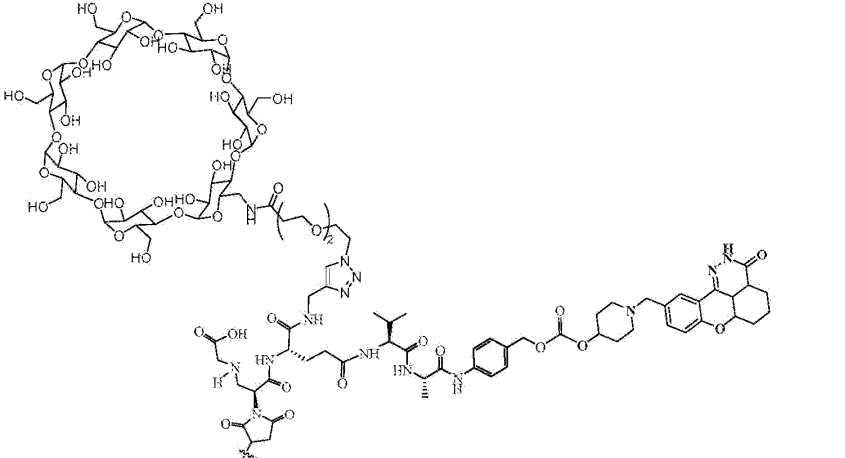
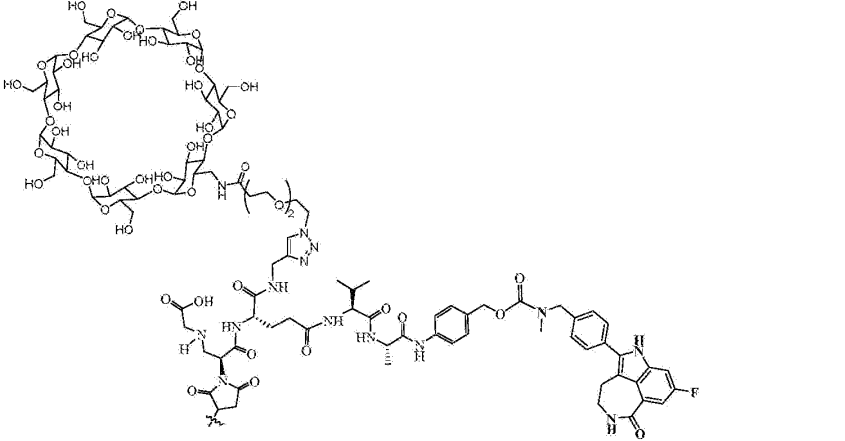
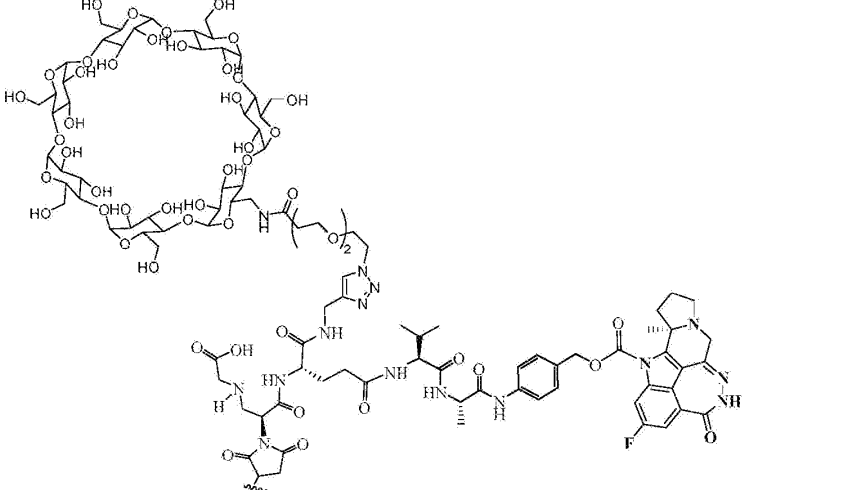


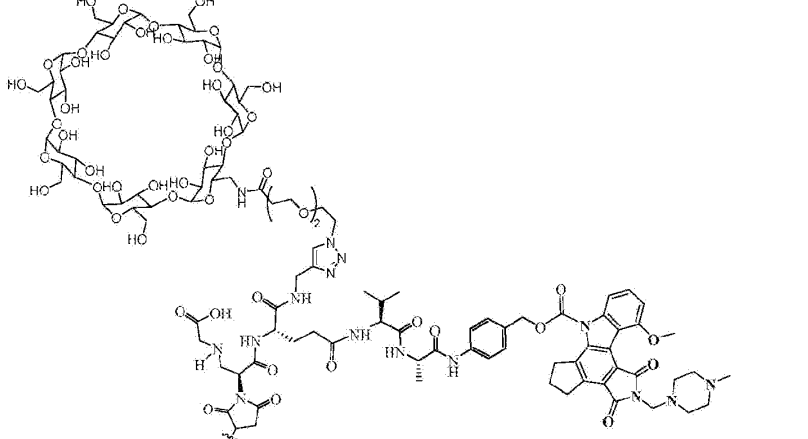
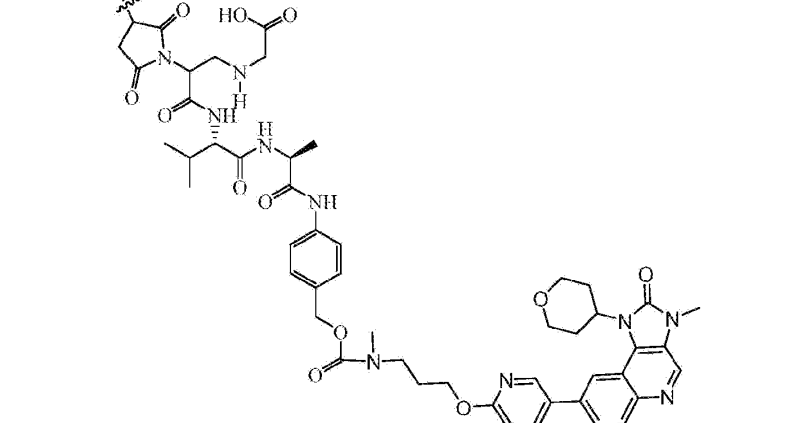
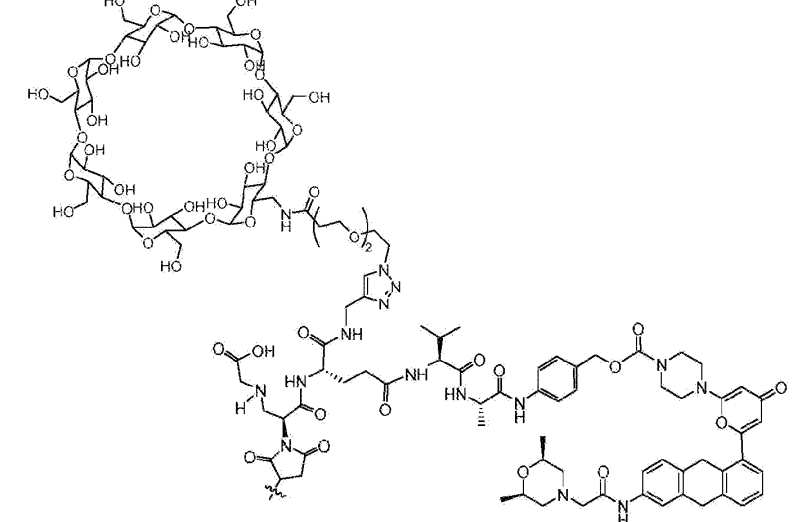


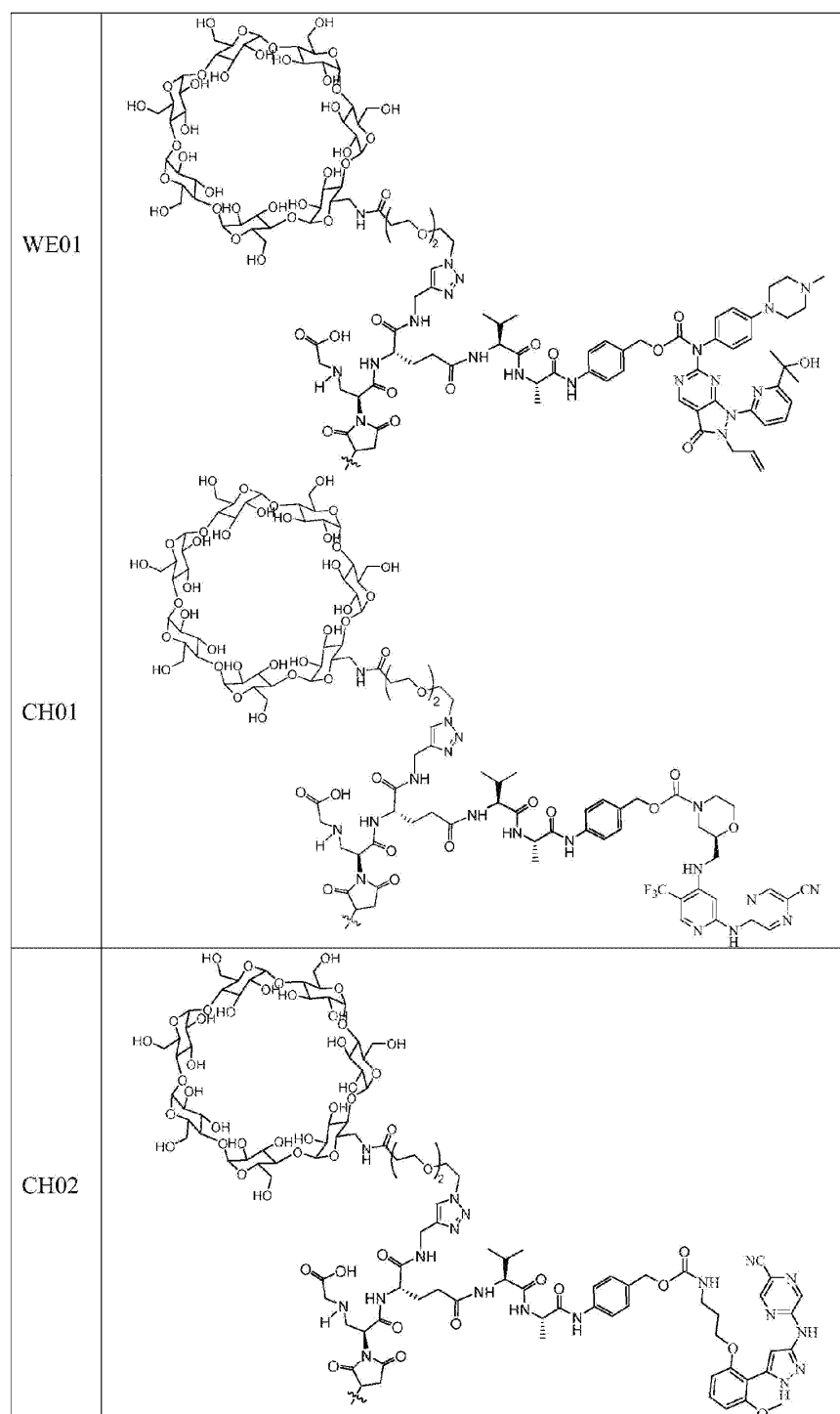
R02	
R02-1	
R03	
R03-1	

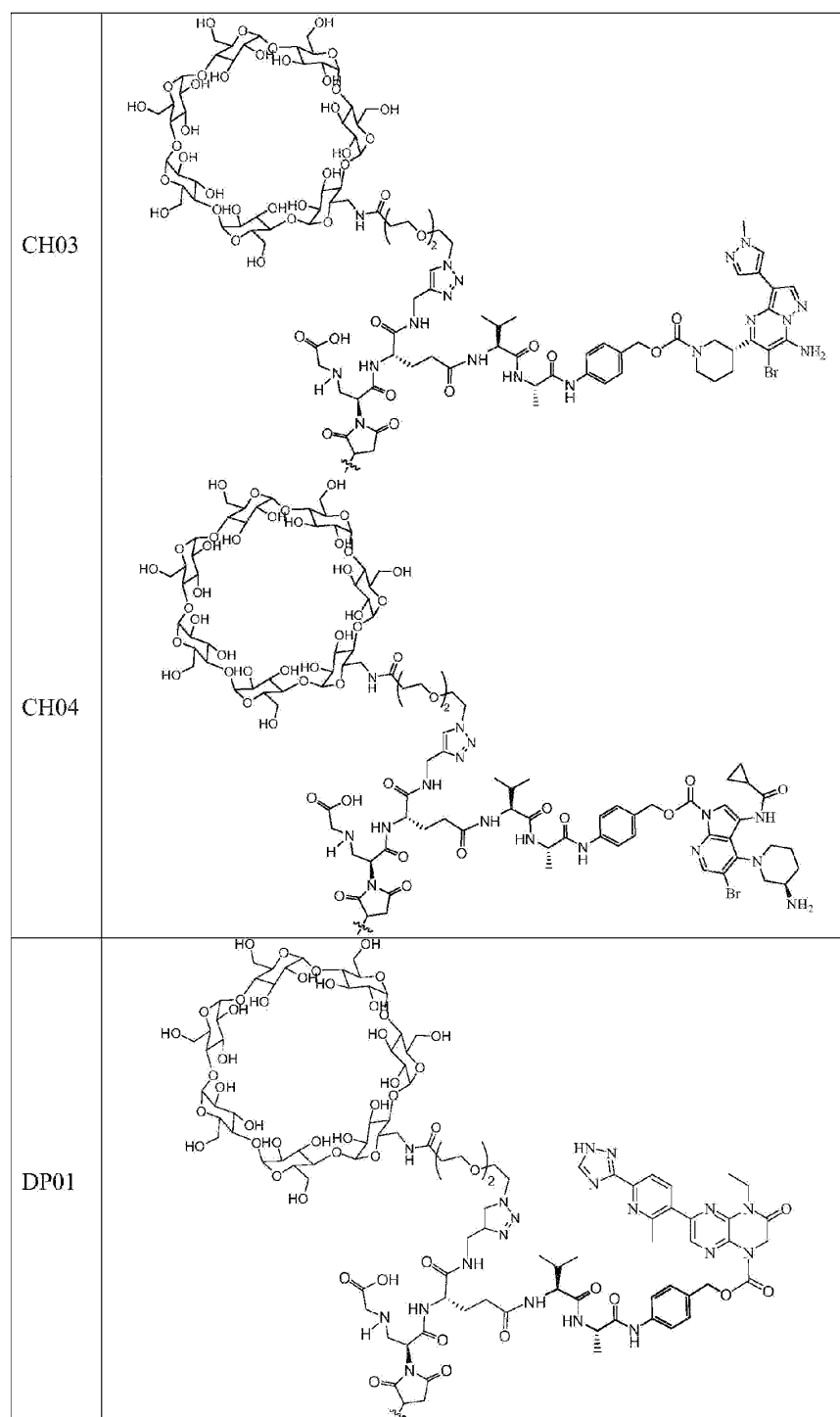


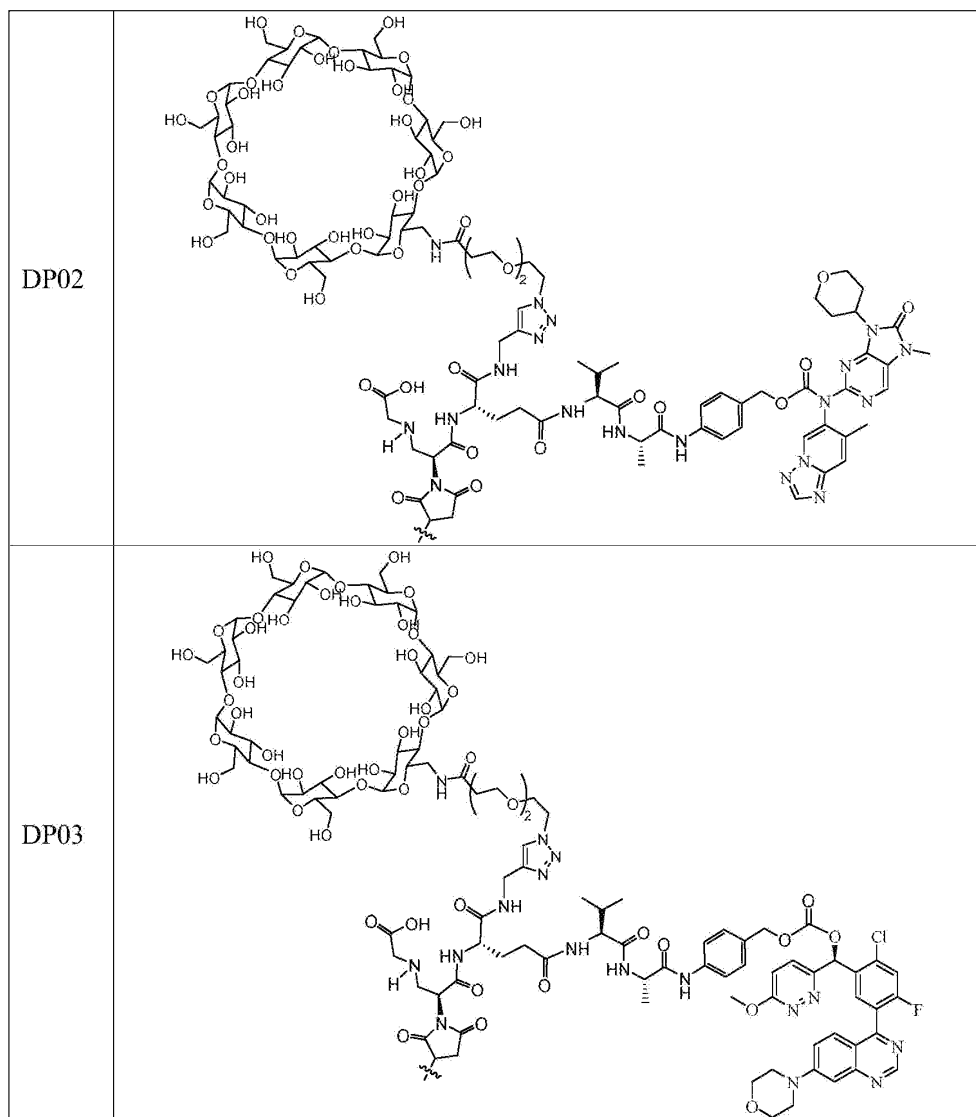


E01	
RU01	
PA01	

CEP01	 Chemical structure of CEP01, featuring a large cyclic sugar moiety (likely a cyclodextrin derivative) linked via an amide bond to a complex side chain. The side chain includes a triazole ring, a carboxylic acid group, a peptide-like backbone with various side chains (including a methyl group and a benzyl group), and a terminal moiety consisting of a benzyl group linked to a pyridine ring, which is further connected to a complex heterocyclic system (possibly a quinoline or indole derivative).
TM01	 Chemical structure of TM01, featuring a complex side chain. It includes a carboxylic acid group, a peptide-like backbone with various side chains (including a methyl group and a benzyl group), and a terminal moiety consisting of a benzyl group linked to a pyridine ring, which is further connected to a complex heterocyclic system (possibly a quinoline or indole derivative).
TM02	 Chemical structure of TM02, featuring a large cyclic sugar moiety (likely a cyclodextrin derivative) linked via an amide bond to a complex side chain. The side chain includes a triazole ring, a carboxylic acid group, a peptide-like backbone with various side chains (including a methyl group and a benzyl group), and a terminal moiety consisting of a benzyl group linked to a pyridine ring, which is further connected to a complex heterocyclic system (possibly a quinoline or indole derivative).







[0044] 在一些实施方案中，所述第一药物非限制性地选自微管蛋白结合剂、DNA损伤剂、酶抑制剂、免疫调控剂、肽或核苷酸。

[0045] 在一些实施方案中，所述第一药物选自：

[0046] a) 烷基化剂，PBD及其衍生物，氯苯那普，氯普那嗪，环磷酰胺，达卡巴嗪，雌二醇氮芥，异环磷酰胺，氮芥，盐酸二甲氧胺，氧化二氮芥，盐酸氨氯地平，麦考酚酸，卫矛醇，哌泊溴烷，新氮芥，苯芥胆留醇，松龙苯芥，噻替哌，曲磷胺对，尿嘧啶；CC-1065；多卡霉素；苯并二氮卓二聚体；亚硝基脲；

烷基磺酸盐；三氮烯；含铂化合物；吡丙啶类，如苯并二氢吡喃酮，卡洛酮，美妥替派和乌雷多巴；乙烯亚胺和甲基三聚氰胺，包括六甲蜜胺，三亚乙基三胺，三乙基磷酰胺，三亚乙基硫代磷酰胺和三羟甲基甲基胺及其衍生物和氘代物；

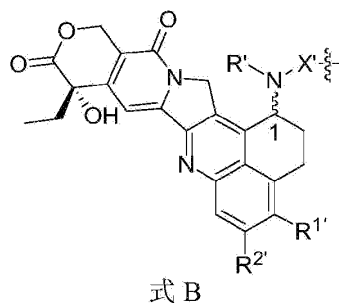
- [0047] b) 植物生物碱，长春花生物碱；类紫杉醇及其类似物；美登素生物碱及其类似物；cryptophycin；埃博霉素，软珊瑚醇，迪莫利德，草苔虫内酯，海兔毒素，奥瑞他汀类，tubulysin, cephalostatin, pancratistatin, sarcodictyin, 海绵抑制素, Monomethyl auristatin E (MMAE)、Monomethyl auristatin F (MMAF)、美登木素生物碱(例如Maytansine DM1、Maytansine DM4)，鹅膏毒肽及其衍生物和氘代物；
- [0048] c) DNA拓扑异构酶抑制剂，依托泊苷替尼，9-氨基喜树碱，喜树碱，克立那托，道诺霉素，依托泊苷，磷酸依托泊苷，伊立替康，米托蒽醌，诺消灵，视黄酸，替尼泊苷，拓扑替康，9-硝基喜树碱，SN38，丝裂霉素及其衍生物和氘代物；
- [0049] d) 抗代谢物，抗叶酸剂，DHFR抑制剂；MP脱氢酶抑制剂；核糖核苷酸还原酶抑制剂；嘧啶类似物，尿嘧啶类似物；胞嘧啶类似物；嘌呤类似物；叶酸补充剂；
- [0050] e) 激素疗法剂，受体拮抗剂，抗雌激素，LHRH兴奋剂；抗雄激素药；维甲类化合物，维生素D3类似物；光动力疗法剂；细胞因子，含TNF的人蛋白及其衍生物和氘代物；
- [0051] f) 激酶抑制剂，BIBW2992，伊马替尼，吉非替尼，厄加他尼，索拉非尼，达沙替尼，舒尼替尼，厄洛替尼，尼洛替尼，拉帕替尼，阿西替尼，帕唑帕尼，凡德他尼，E7080，mubritinib，普纳替尼，bafetinib，bosutinib，卡博替尼，维莫德吉，iniparib，鲁索利替尼，CYT387，阿西替尼，tivozanib，索拉非尼，贝伐单抗，西妥昔单抗，曲妥珠单抗，雷珠单抗，帕尼单抗，伊斯平斯及其衍生物和氘代物；
- [0052] g) 抗生素，稀二炔类抗生素，aclacinomysins，放线菌素，安曲霉素，重氮丝氨酸，博来霉素，卡诺霉素，卡拉霉素，洋红霉素，嗜癌素，阿霉素，吗啉代

阿霉素，2-吡咯啉阿霉素和脱氧柔红霉素，表柔比星，阿柔比星，伊达比星，马可霉素，霉素，霉酚酸，洛匹霉素，培洛霉素，嘌呤霉素，三铁阿霉素，链脲霉素，链脲佐菌素，杀结核菌素，乌苯美司，净司他丁，佐柔比星，PNU-159682及其衍生物和氘代物；

- [0053] h) 聚酮化合物，特别是bullatacin和bullatacinone；吉西他滨，环氧酶素，硼替佐米，沙利度胺，来那度胺，pomalidomide，tosedostat，zybrexat，PLX4032，STA-9090，Stimuva x，allovectin-7，Xegeva，Provence，Yervoy，异戊二稀化抑制剂，多巴胺能神经毒素，放线菌素，博来霉素，蒽环类抗生素，阿霉素，伊达比星，表柔比星，啦柔比星，佐柔比星，米托蒽醌，MDR抑制剂，Ca²⁺ATP酶抑制剂，组蛋白去乙酰酶抑制剂；塞来昔布，格列酮类，表没食子儿茶素没食子酸酯，双硫仑，Salinosporamide A；抗肾上腺药物，如氨鲁米特，米托坦，曲洛司坦，醋葡萄糖内酯，醛磷酸胺，氨基乙酰丙酸，安吡啶，阿拉伯糖苷，bestrabuci，比生群，edatraxate，defofamine，美可辛，地吡酮，依氟鸟氨酸，elfornithine，依利醋铵，乙基葡萄糖酸，硝酸镓，胞嘧啶，羟基脲，伊班膦酸盐，香菇多糖，氯尼达明，米托胍脲，米托蒽醌，莫派达醇，二胺硝吡啶，喷司他丁，蛋氨酸芥，吡柔比星，鬼臼酸，2-乙肼，甲基苄肼；PSK®；哌嗪二酮丙烷；根霉素；西佐；螺环锗；细格孢氮杂酸；三亚胺醌；三氯三乙胺；单端孢霉烯，聚氨酯，siRNA和反义药物及其衍生物和氘代物。

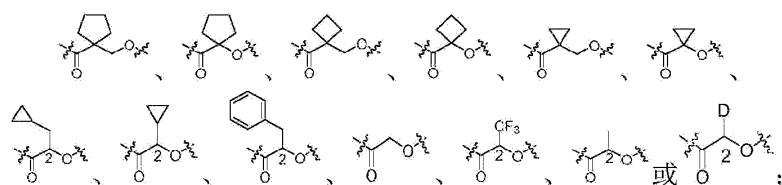
[0054] 在一些实施方案中，所述第一药物D1选自喜树碱结构类化合物或其氘代物。

[0055] 在一些实施方案中，所述喜树碱结构类化合物具有式B所示结构，

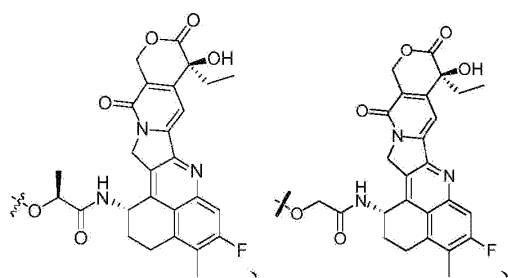


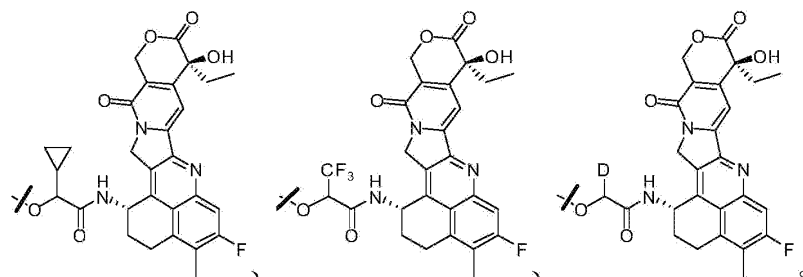
- [0056] 其中：
- [0057] 与N原子相连的1号手性碳原子具有R构型或者S构型的绝对手性；
- [0058] R'选自氢、氘、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、芳基、取代芳基或杂芳基；
- [0059] R^{1'}选自氢、氘、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、羧基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；
- [0060] R^{2'}选自氢、氘、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、羧基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；
- [0061] X'选自-C(O)-(CR^{3'}R^{4'})_t-CR^{a'}R^{b'}-O-、-C(O)-(CR^{3'}R^{4'})_t-CR^{a'}R^{b'}-NH-或-C(O)-(CR^{3'}R^{4'})_t-CR^{a'}R^{b'}-S-，优选地，羰基端与N原子相连；
- [0062] R^{a'}选自氢、氘、卤素、烷基、氘代烷基、卤代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；
- [0063] R^{b'}选自氢、氘、卤素、烷基、氘代烷基、卤代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基；
- [0064] 或者，R^{a'}、R^{b'}及其所连接碳原子构成C3-6环烷基、环烷基烷基或杂环基；
- [0065] R^{3'}、R^{4'}相同或者不同，且各自独立地选自氢、氘、卤素、烷基、卤代烷基、氘代烷基、烷氧基、羟基、氨基、氰基、硝基、羧基、环烷基或杂环基；
- [0066] 或者，R^{3'}、R^{4'}及其所连接碳原子构成C3-6环烷基、环烷基烷基或杂环基；
- [0067] 与X'相连的右侧的波浪线与L₁相连；
- [0068] t选自0-4的整数(例如0、1、2、3或4)。
- [0069] 在一些实施方案中，R'选自氢、C1-C6烷基。
- [0070] 在一些实施方案中，R'为氢。
- [0071] 在一些实施方案中，R^{1'}选自氢、C1-C6烷基。
- [0072] 在一些实施方案中，R^{1'}选自C1-C6烷基。
- [0073] 在一些实施方案中，R^{1'}为甲基。
- [0074] 在一些实施方案中，R^{2'}选自卤素。
- [0075] 在一些实施方案中，R^{2'}为氟。

- [0076] 在一些实施方案中, X' 选自 $-C(O)-(CR^{3'}R^{4'})_t-CR^{a'}R^{b'}-O-$, 优选地, 羰基端与N原子相连。
- [0077] 在一些实施方案中, X' 选自 $-C(O)-CR^{a'}R^{b'}-O-$, 优选地, 羰基端与N原子相连。
- [0078] 在一些实施方案中, $R^{a'}$ 选自氢、C1-C6烷基。
- [0079] 在一些实施方案中, $R^{a'}$ 为氢。
- [0080] 在一些实施方案中, $R^{b'}$ 选自氢、氘、C1-C6烷基、C3-C6环烷基、C1-C6卤代烷基。
- [0081] 在一些实施方案中, $R^{b'}$ 选自氢、氘、甲基、环丙基、三氟甲基。
- [0082] 在一些实施方案中, t 为0。
- [0083] 在一些实施方案中, X' 非限制性地选自以下结构:

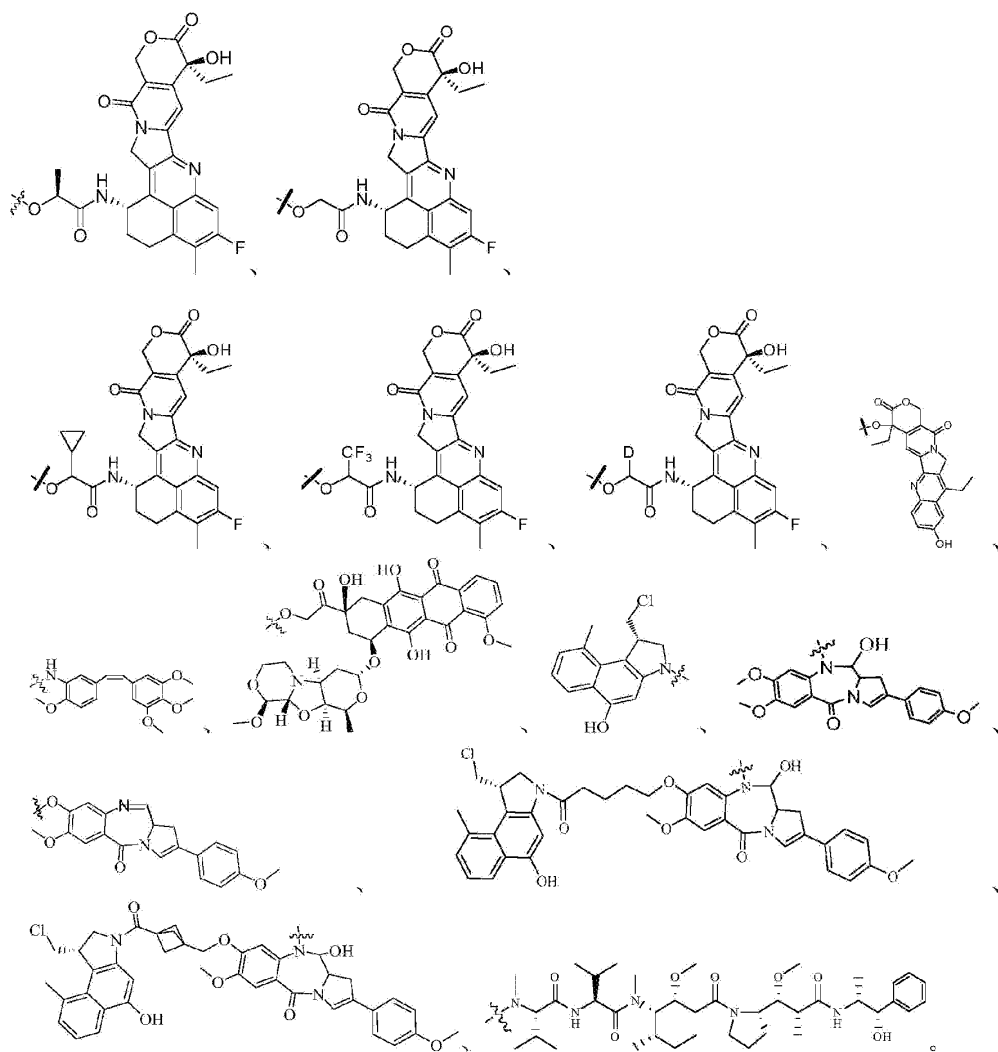


- [0084] 其中:
- [0085] 2号手性碳原子具有R构型或S构型的绝对手性;
- [0086] 左侧波浪线与式B所示化合物的N相连, 右侧波浪线与 L_1 相连。
- [0087] 在一些实施方案中, 式B所示化合物选自





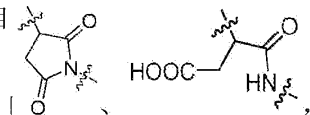
[0088] 在一些实施方案中, 所述第一药物选自



[0089] 在一些实施方案中, 所述第一连接单元为可断裂或不可断裂的连接单元。

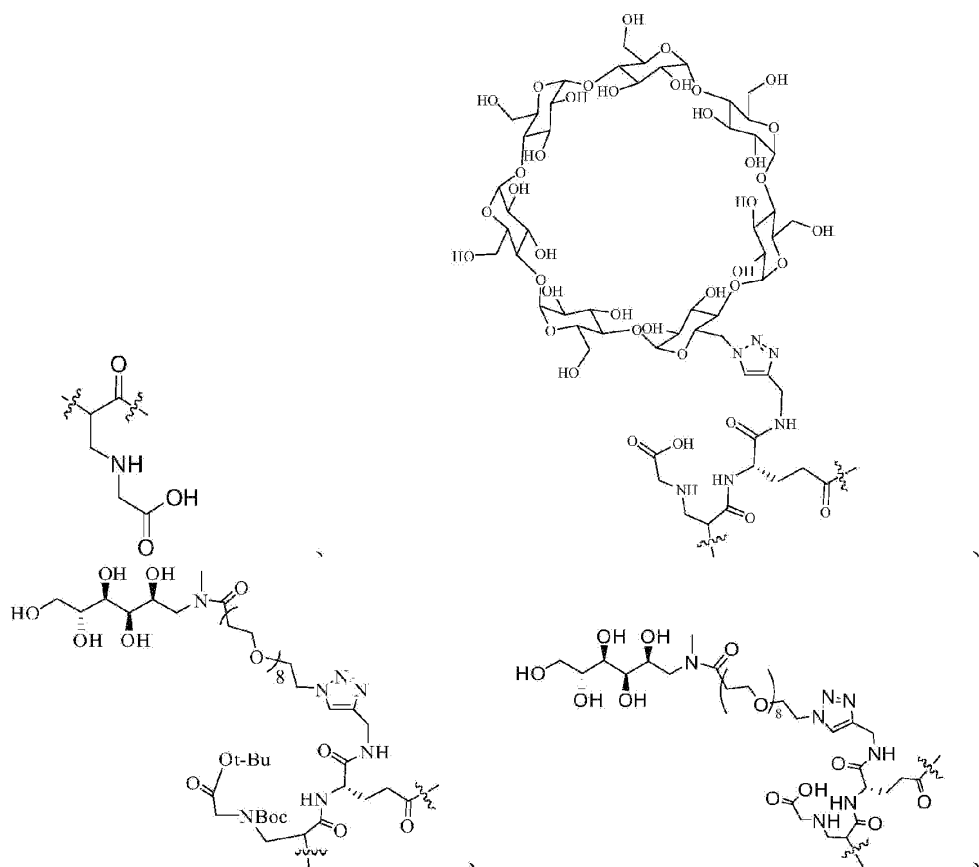
[0090] 在一些实施方案中, L_1 为 L_{11} - L_{12} - L_{13} - L_{14} , 且 L_{14} 与 D_1 相连接, L_{11} 与 Ab 相连接 (优选地, L_{11} 通过巯基偶联至 Ab 上),

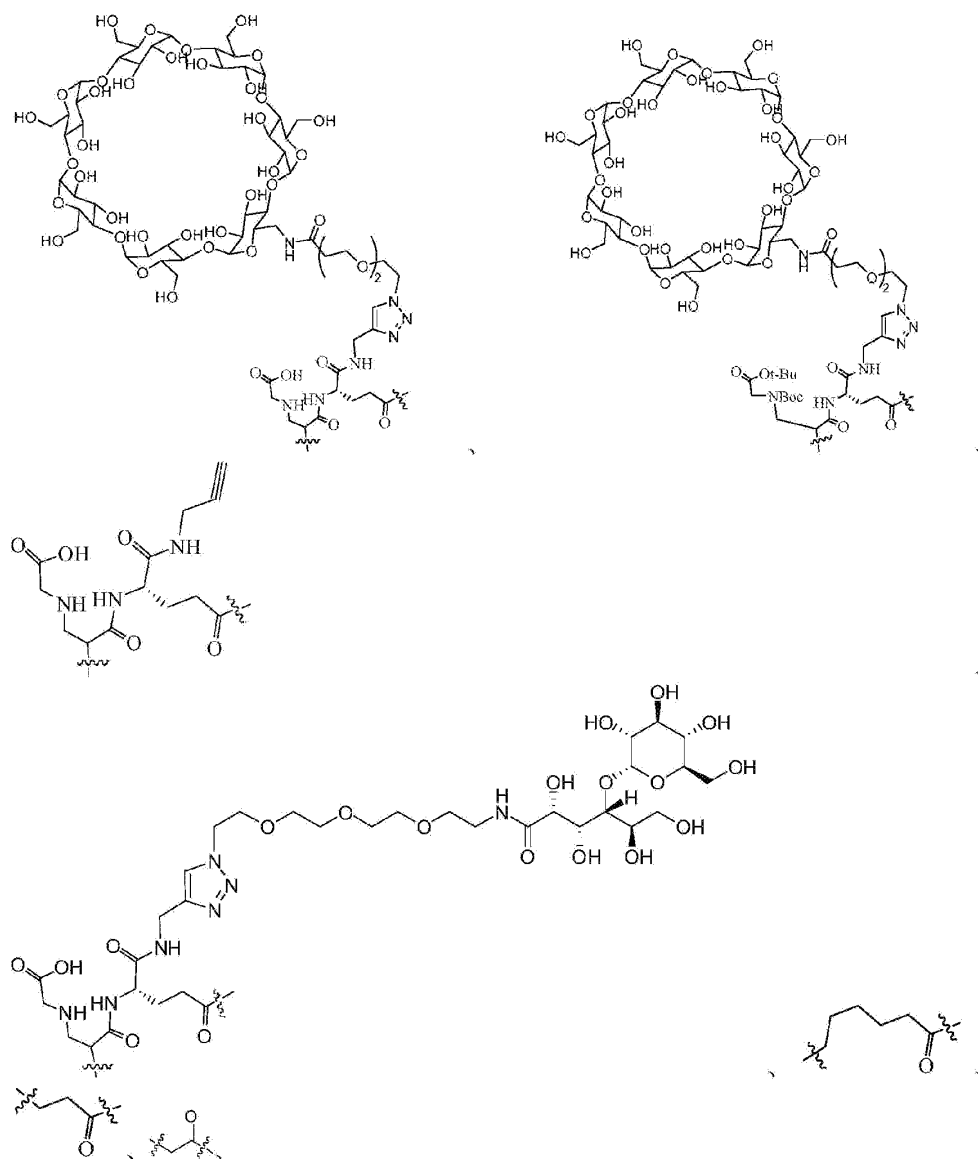
[0091] L_{11} 选自

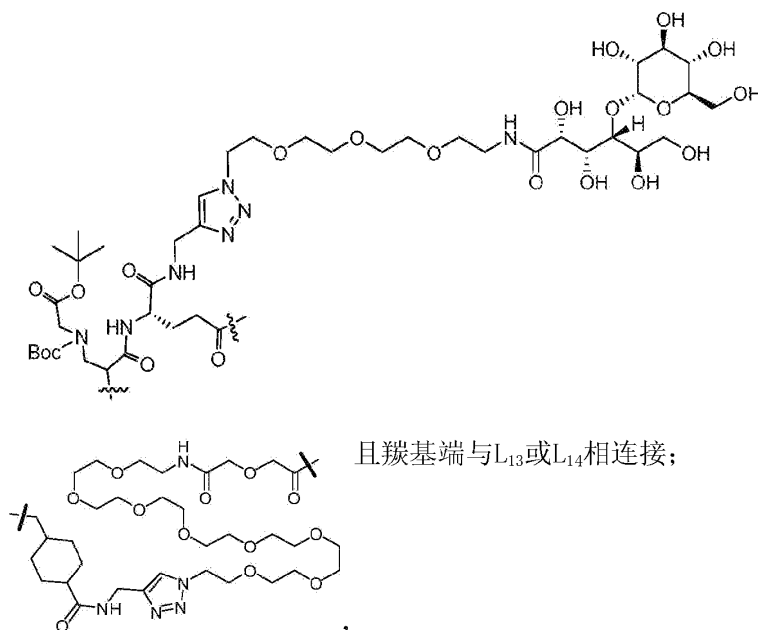


且 N 端与 L_{12} 相连接,

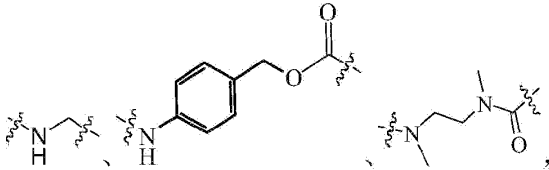
[0092] L_{12} 选自:







[0093] L₁₃选自直接键、氨基酸残基或由2-10个氨基酸残基组成的肽残基，且L₁₃选自氨基酸残基或由2-10个氨基酸残基组成的肽残基时，羰基端与L₁₄相连接；

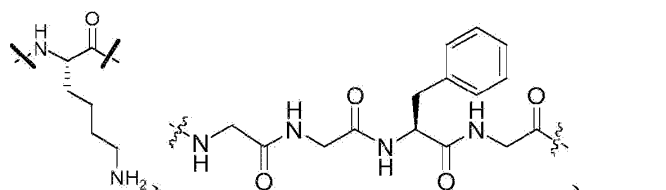
[0094] L₁₄选自  且氨基端与L₁₃或L₁₂相连

接，羰基端或碳端与D₁相连接。

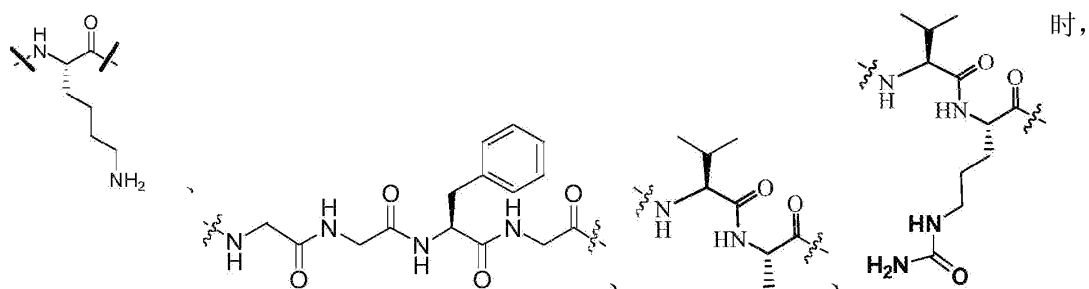
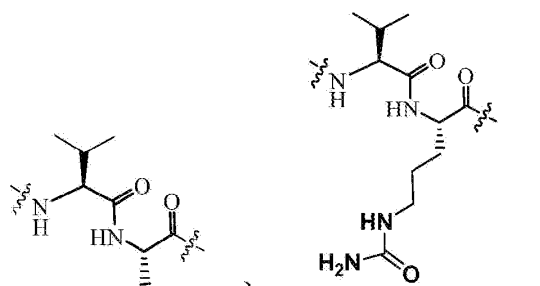
[0095] 在一些实施方案中，L₁₃选自直接键、氨基酸残基、由2-4个氨基酸残基组成的肽残基，且L₁₃选自氨基酸残基、由2-4个氨基酸残基组成的肽残基时，羰基端与L₁₄相连接，优选地，所述氨基酸选自缬氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、赖氨酸、瓜氨酸、丝氨酸、谷氨酸、天冬氨酸，更优选地，所述氨基酸选自缬氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、瓜氨酸、赖氨酸。

[0096] 在一些实施方案中，L₁₃选自直接键、赖氨酸、甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-甘氨酸(Gly-Gly-Phe-Gly)、缬氨酸-丙氨酸(Val-Ala)、缬氨酸-瓜氨酸(Val-Cit)，且L₁₃选自赖氨酸、甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-甘氨酸(Gly-Gly-Phe-Gly)、缬氨酸-丙氨酸(Val-Ala)、缬氨酸-瓜氨酸(Val-Cit)时，羰基端与L₁₄相连接。

[0097] 在一些实施方案中， L_{13} 选自直接键、

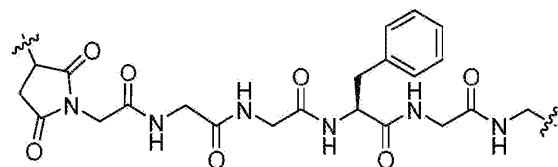
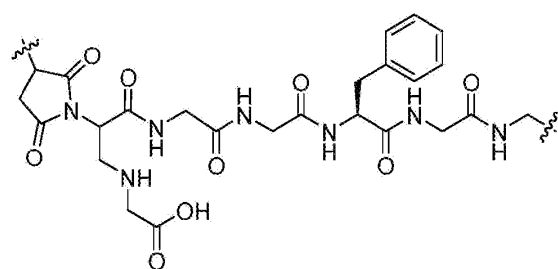


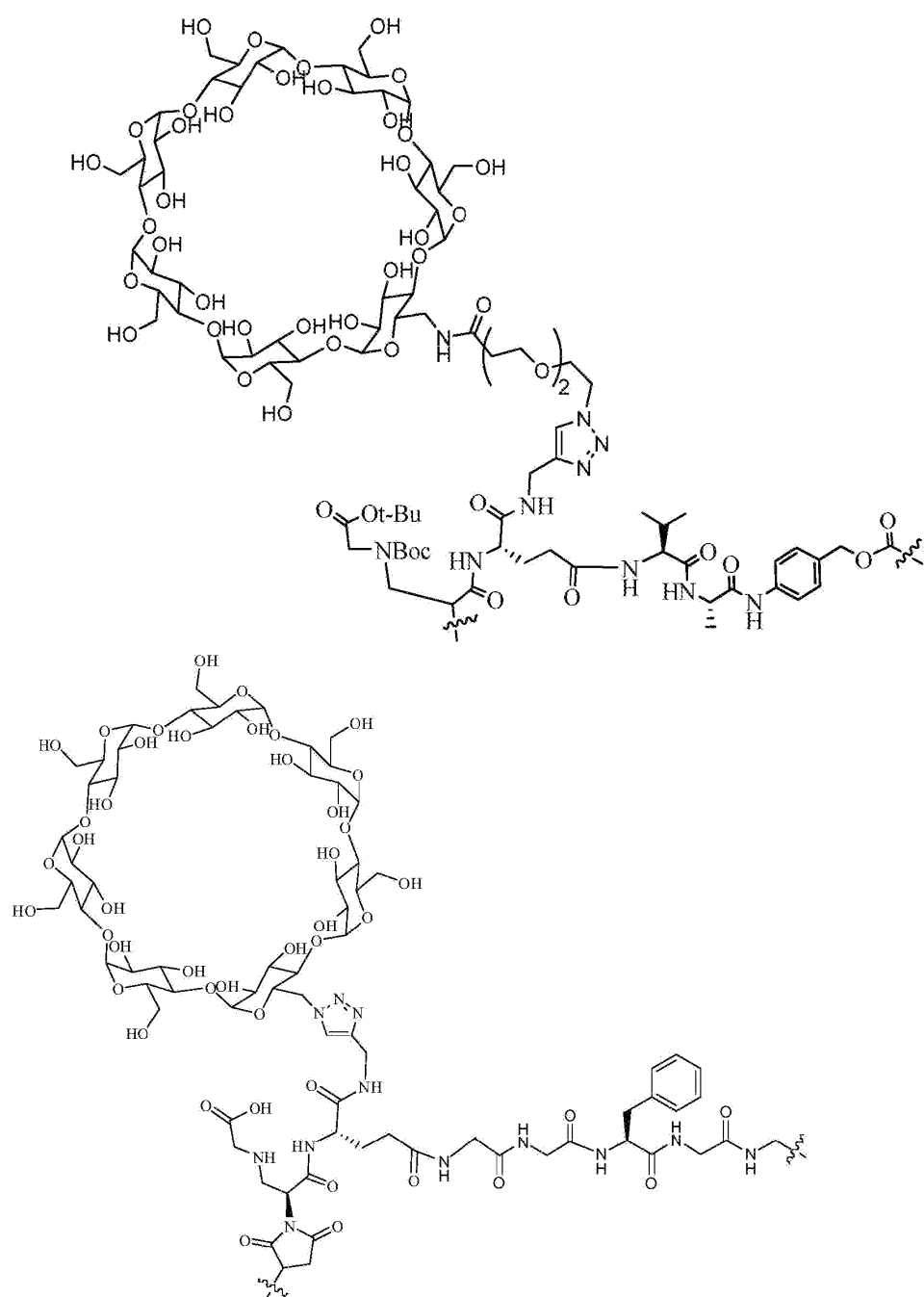
且 L_{13} 选自

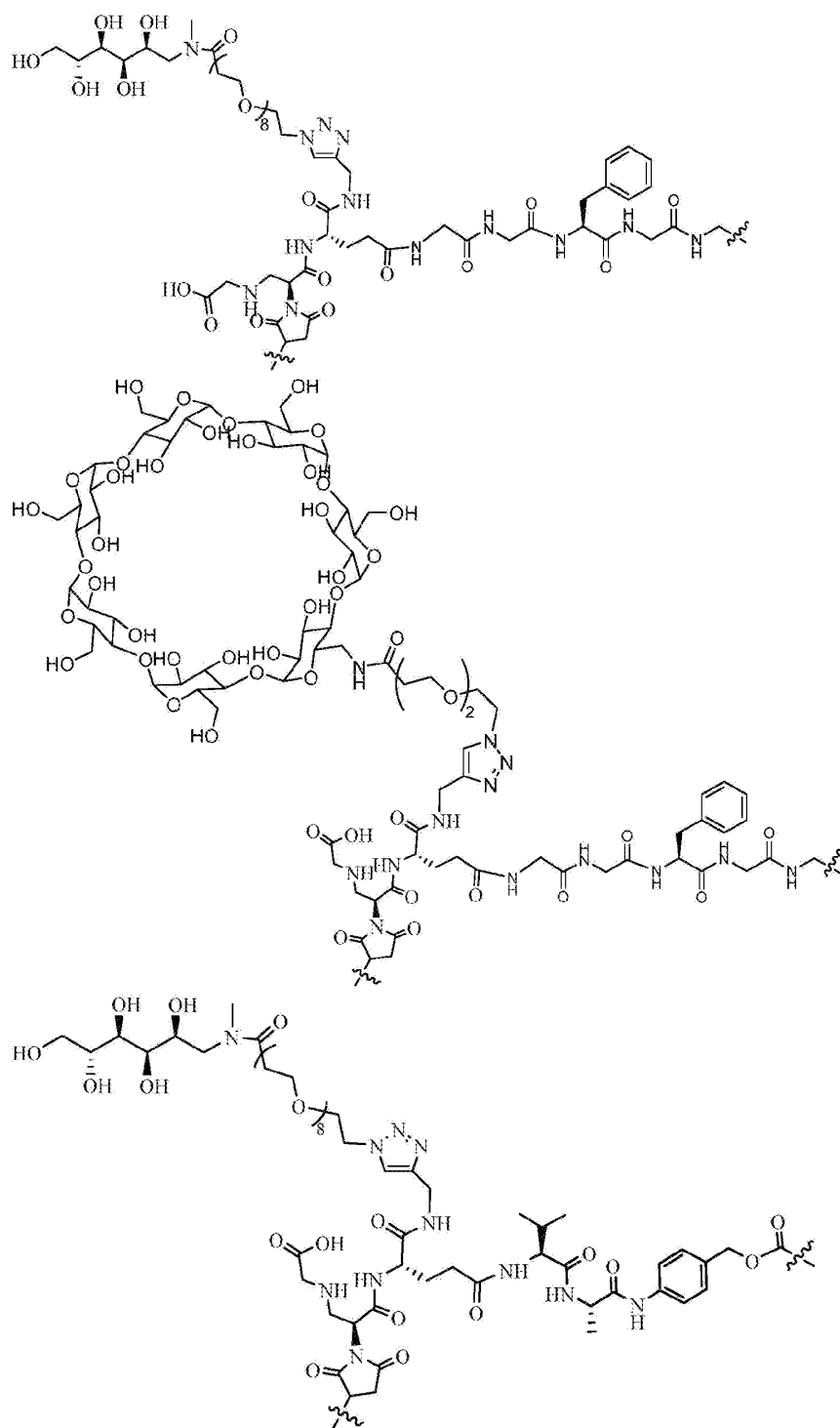


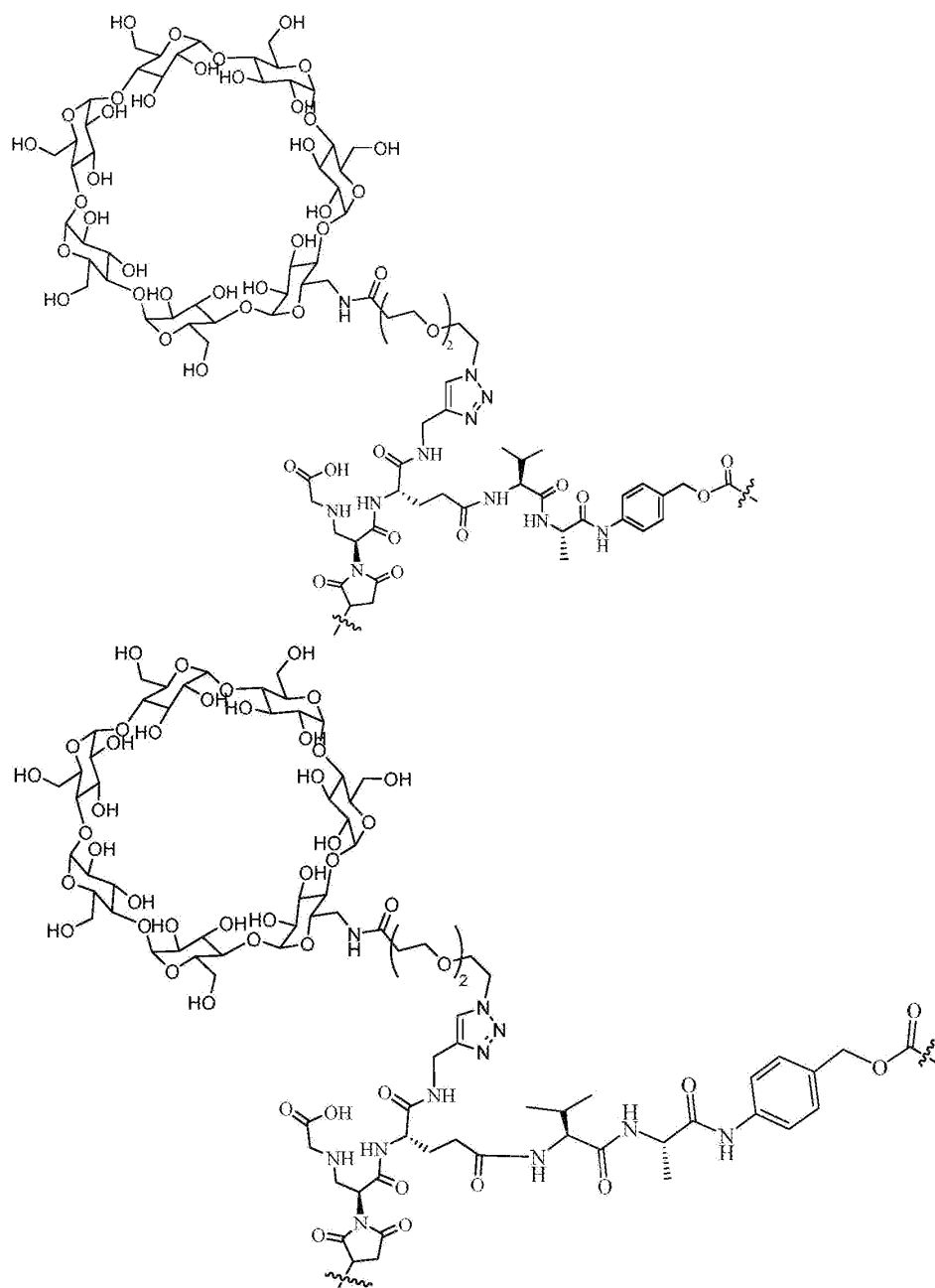
羰基端与 L_{14} 相连接。

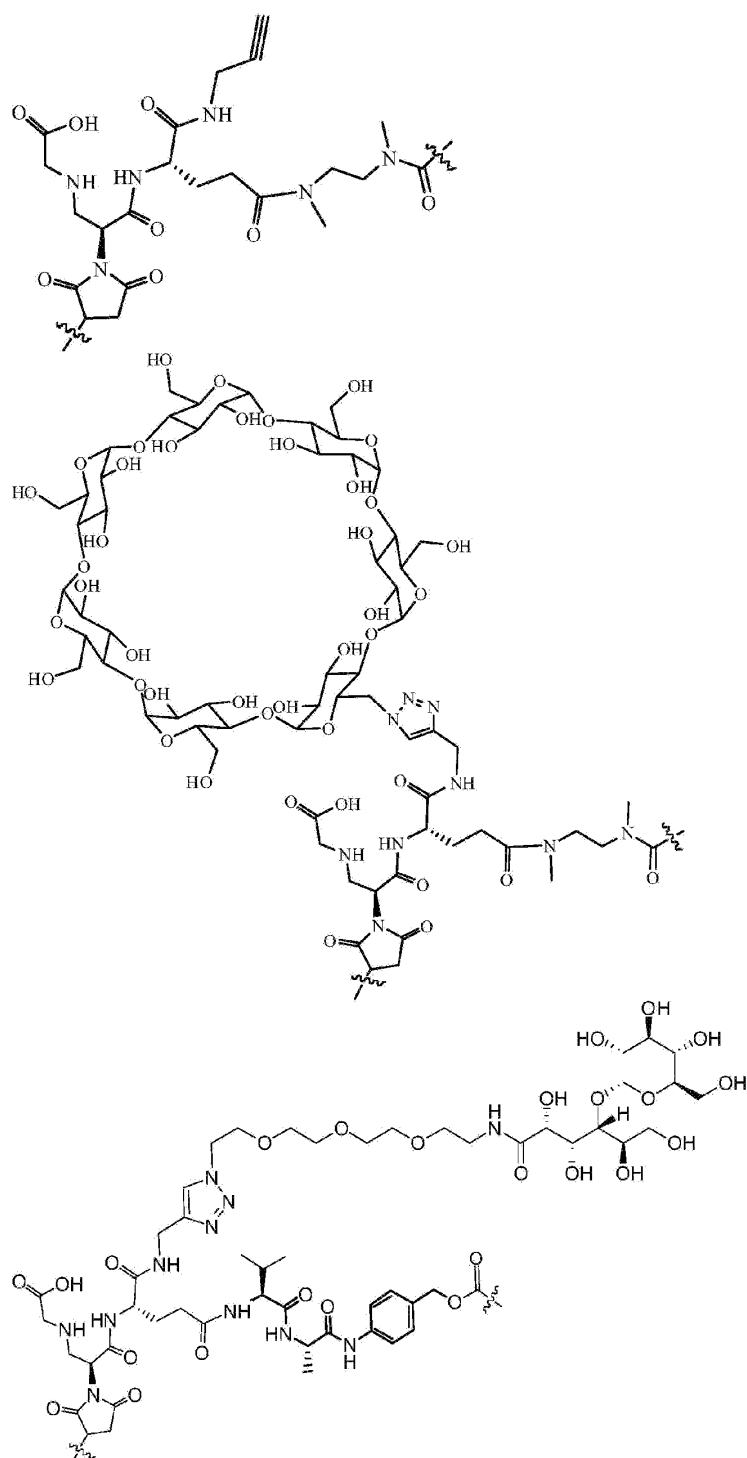
[0098] 在一些实施方案中， L_1 选自：

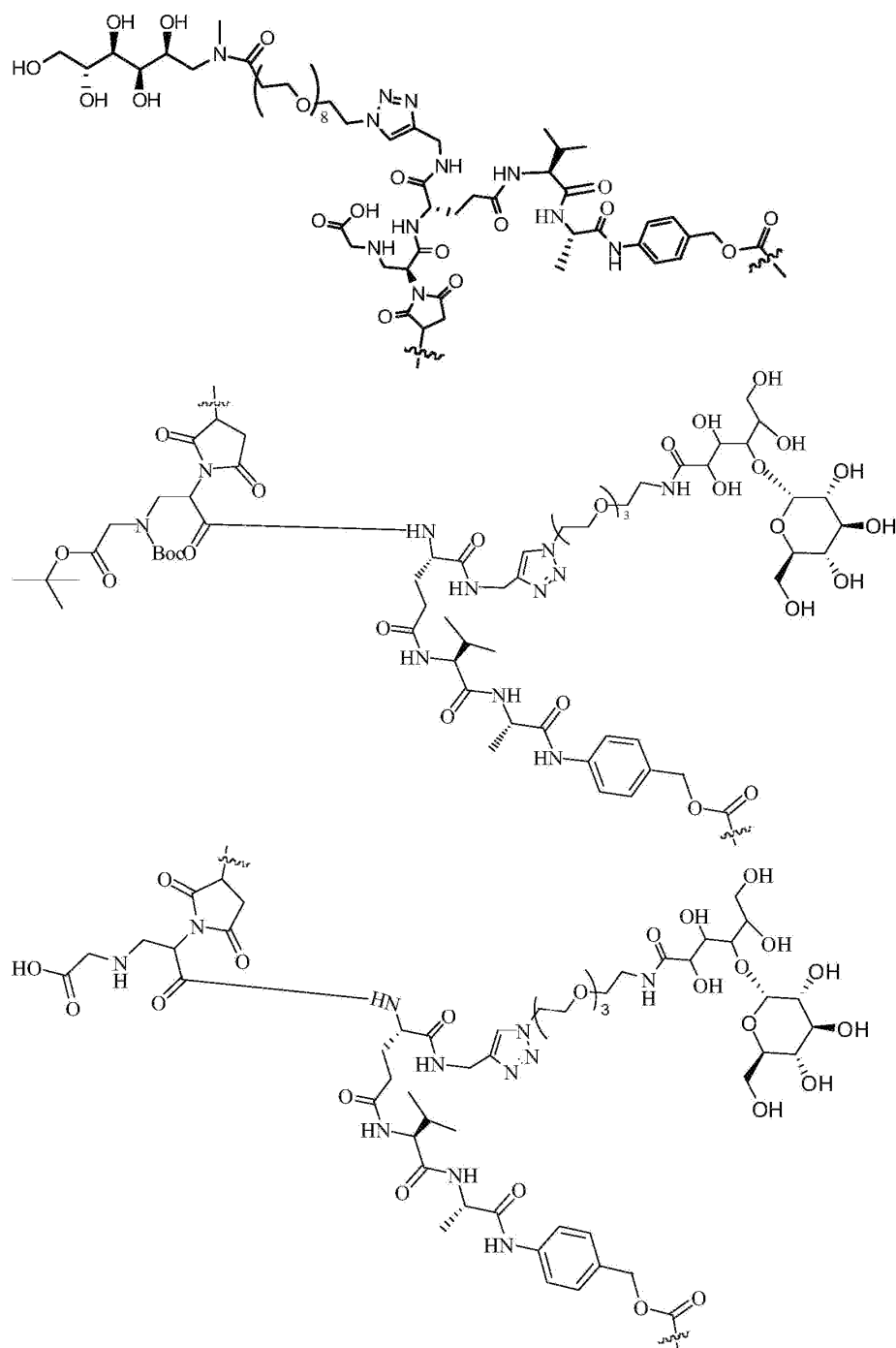


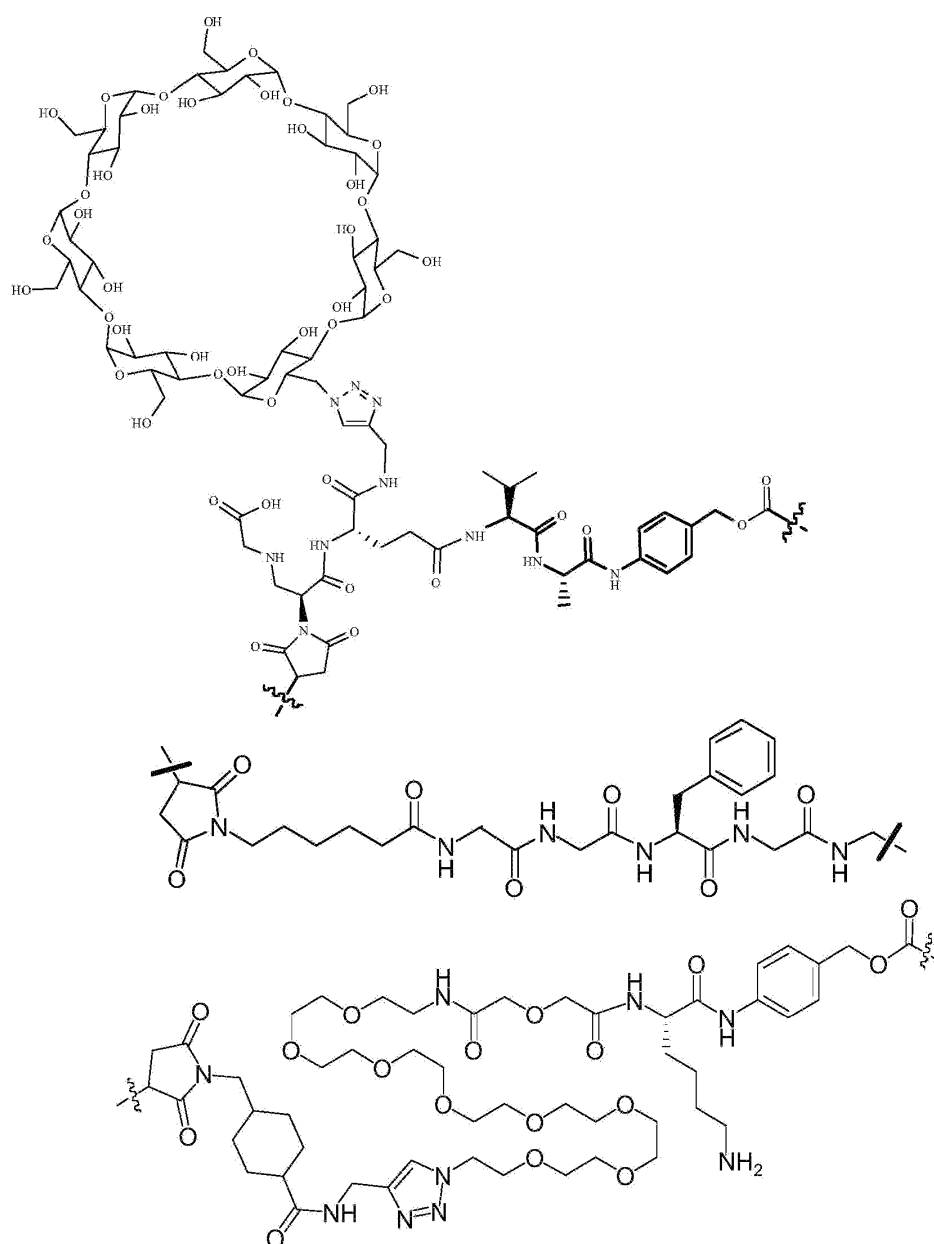






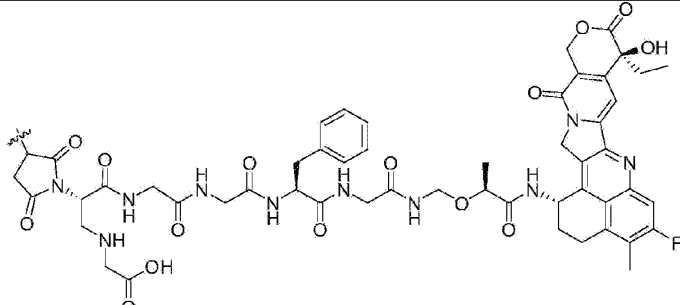
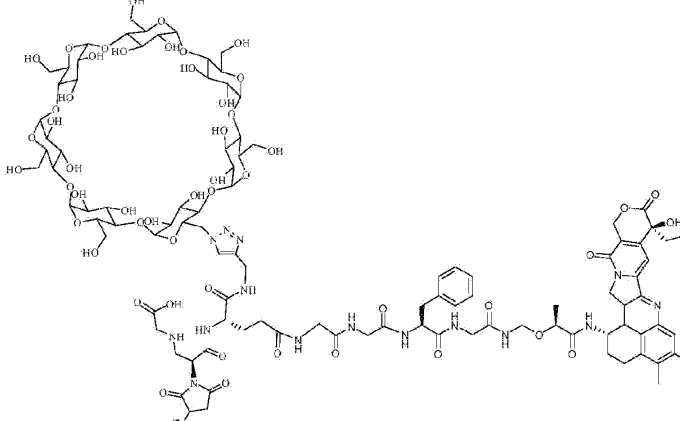
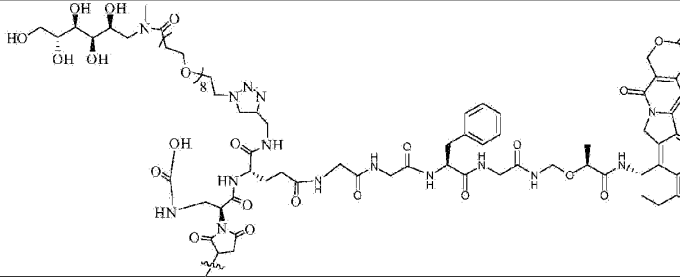
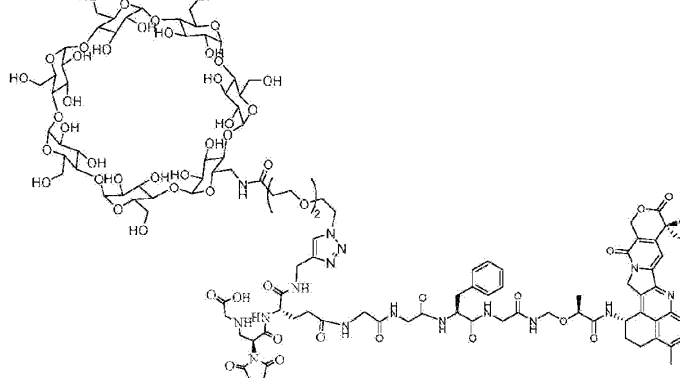


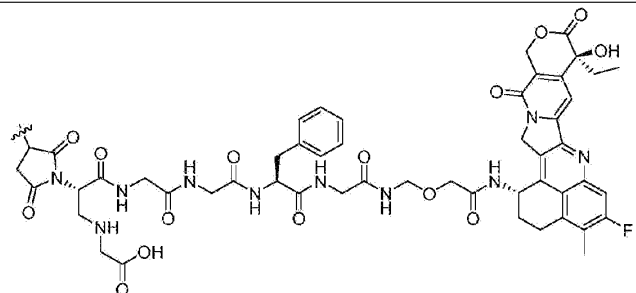
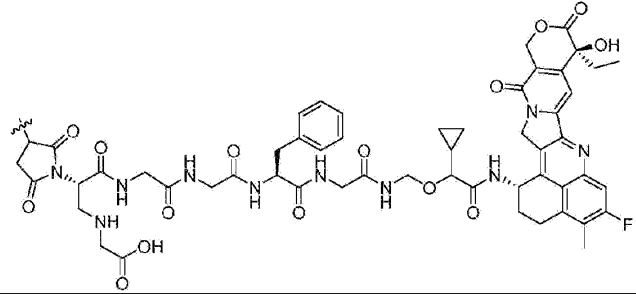
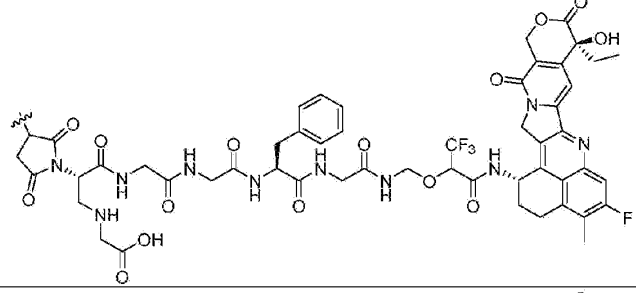
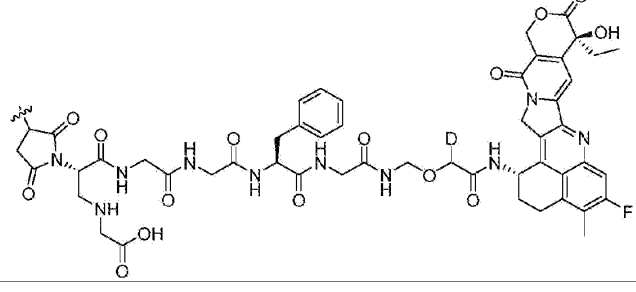
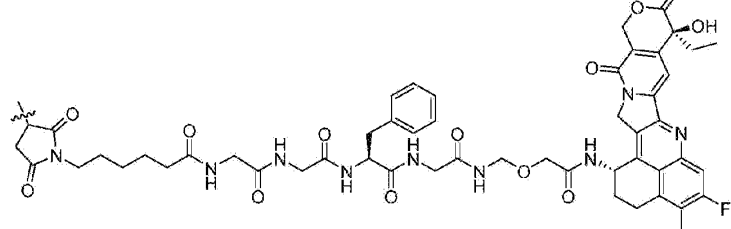


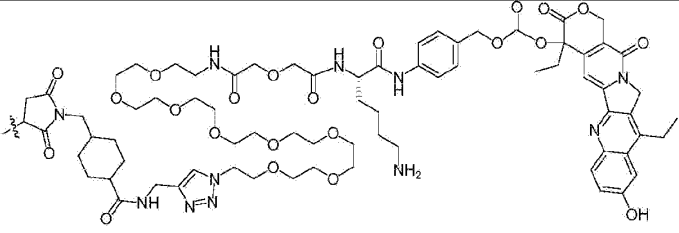
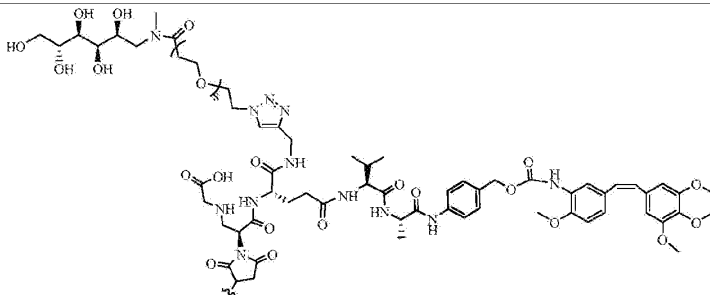
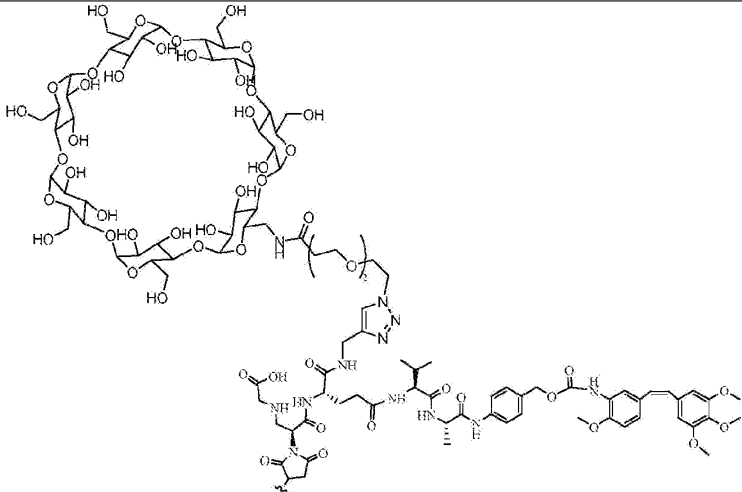
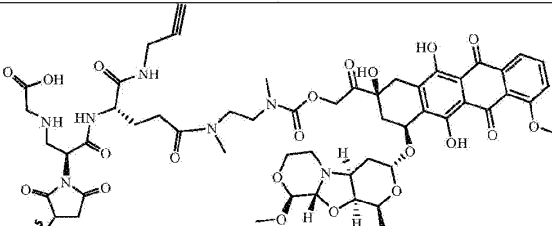


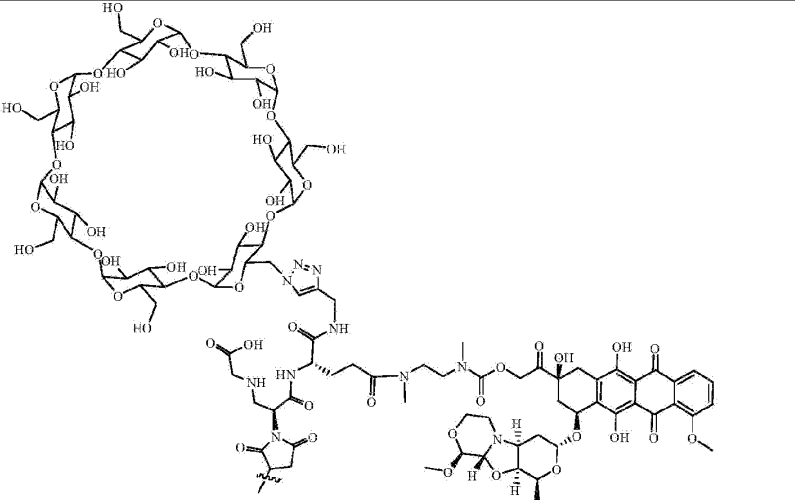
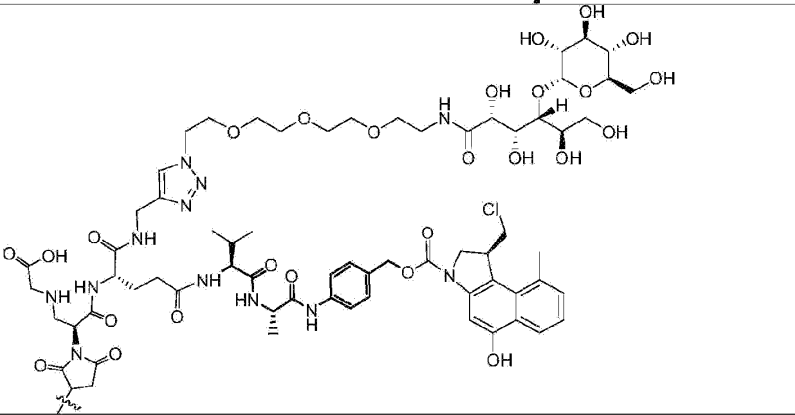
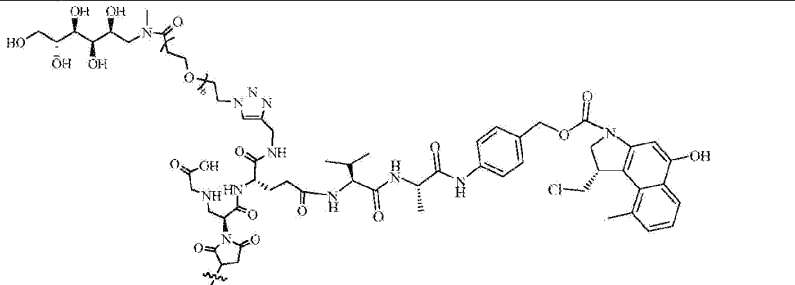
[0099] 且羰基端或含 N^{H} 一端的碳端与D₁相连接。

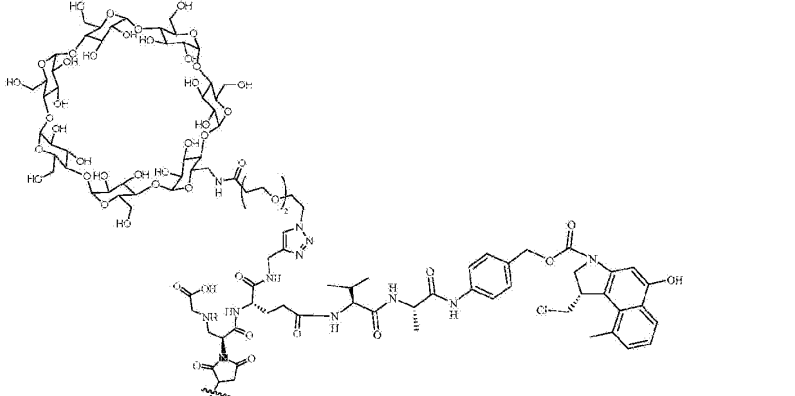
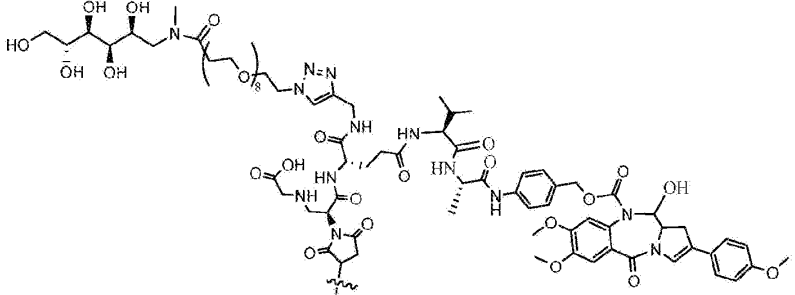
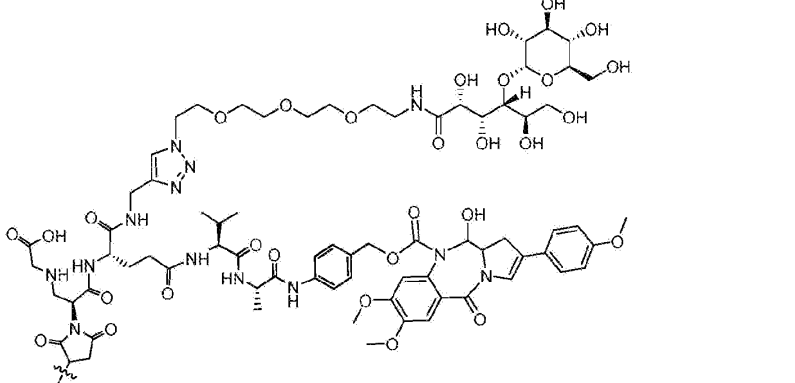
[0100] 在一些实施方案中，D₁-L₁选自：

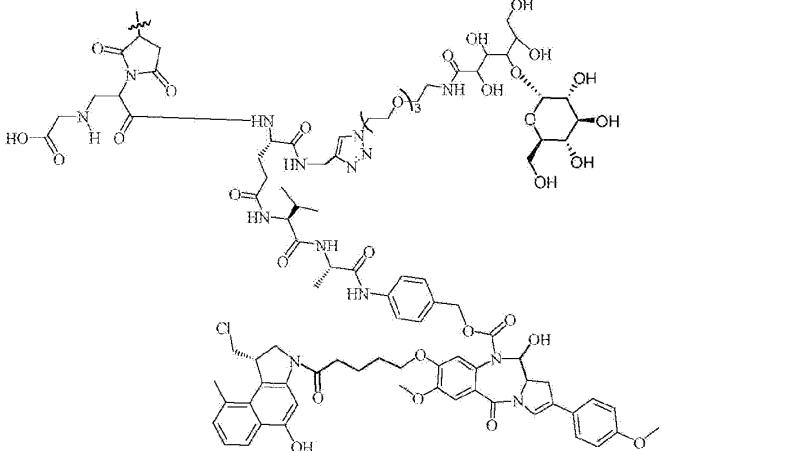
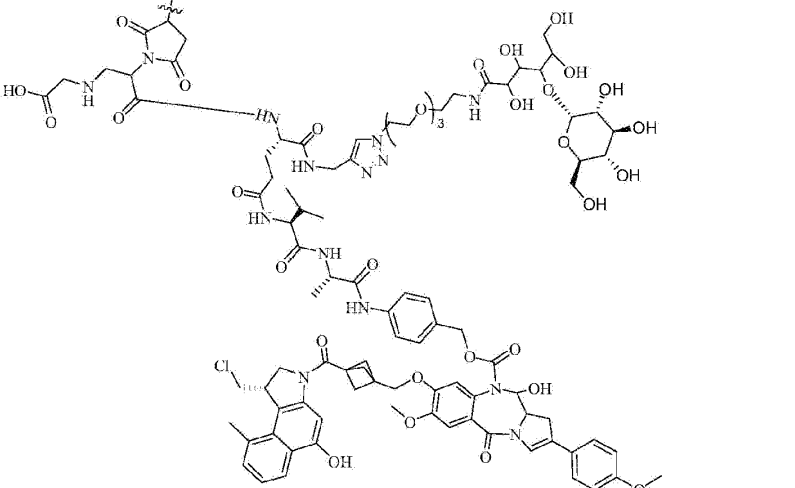
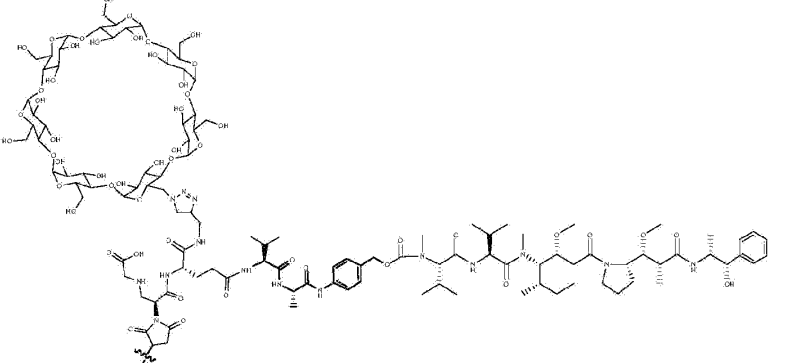
Ex01	
Ex02	
Ex03	
Ex04	

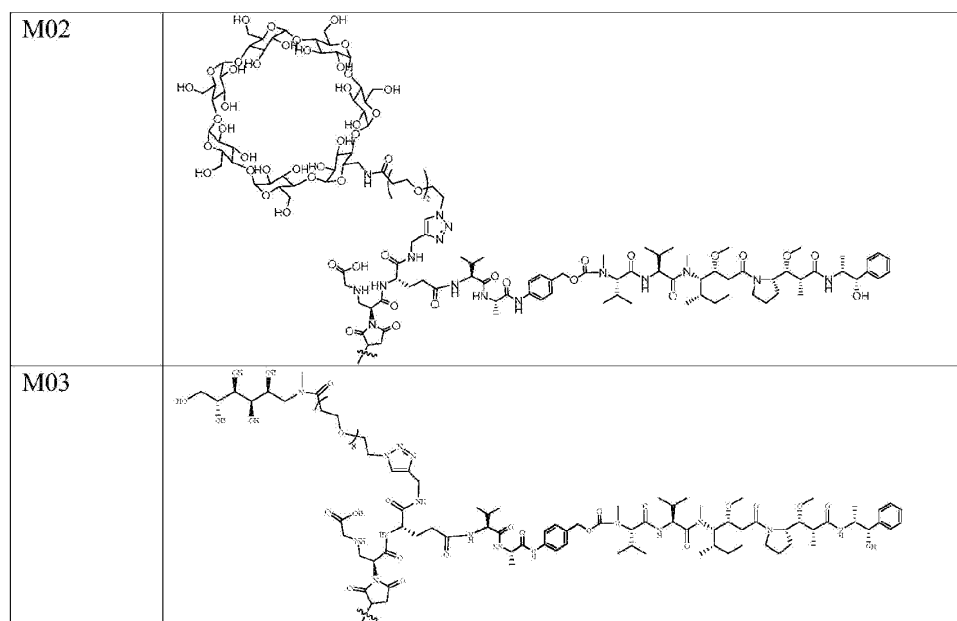
Ex05	
Ex06	
Ex07	
Ex08	
Ex09	

SN01	
PB01	
PB02	
PNU01	

PNU02	 Chemical structure of PNU02, featuring a large, complex molecule with multiple hydroxyl groups, a triazole ring, and a quinone moiety.
CBI01	 Chemical structure of CBI01, featuring a complex molecule with multiple hydroxyl groups, a triazole ring, and a quinone moiety.
CBI02	 Chemical structure of CBI02, featuring a complex molecule with multiple hydroxyl groups, a triazole ring, and a quinone moiety.

CBI03	 Chemical structure of CBI03, a complex molecule featuring a large, multi-hydroxylated cyclic sugar moiety (likely a cyclodextrin derivative) linked via an amide bond to a long, flexible polyether chain. This chain is further substituted with a triazole ring, a carboxylic acid group, and a complex aromatic system including a quinoline derivative and a phenyl ring with a methoxy group.
PBD01	 Chemical structure of PBD01, a complex molecule featuring a long, flexible polyether chain with multiple hydroxyl groups. This chain is linked via an amide bond to a complex aromatic system, including a quinoline derivative and a phenyl ring with a methoxy group. The structure also includes a triazole ring and a carboxylic acid group.
PBD02	 Chemical structure of PBD02, a complex molecule featuring a long, flexible polyether chain with multiple hydroxyl groups. This chain is linked via an amide bond to a complex aromatic system, including a quinoline derivative and a phenyl ring with a methoxy group. The structure also includes a triazole ring and a carboxylic acid group.

PBD-CBI01	 Chemical structure of PBD-CBI01, a complex molecule featuring a central core with multiple functional groups, including a carboxylic acid, a hydroxyl group, and a sugar moiety.
PBD-CBI02	 Chemical structure of PBD-CBI02, a complex molecule featuring a central core with multiple functional groups, including a carboxylic acid, a hydroxyl group, and a sugar moiety.
M01	 Chemical structure of M01, a complex molecule featuring a central core with multiple functional groups, including a carboxylic acid, a hydroxyl group, and a sugar moiety.



- [0101] 在一些实施方案中，m选自1-10的整数。
- [0102] 在一些实施方案中，m选自2-8的整数。
- [0103] 在一些实施方案中，m选自2、4、8。
- [0104] 在一些实施方案中，n选自1-10的整数。
- [0105] 在一些实施方案中，n选自2-8的整数。
- [0106] 在一些实施方案中，n选自2、4、8。
- [0107] 在一些实施方案中，Ab为选自鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体、全人源抗体、抗体片段、双特异性抗体及多特异性抗体。
- [0108] 在一些实施方案中，Ab通过其半胱氨酸巯基(-SH)与连接单元形成连接键。
- [0109] 在一些实施方案中，Ab为抗体，所述抗体为单克隆抗体，其选自：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 α V抗体、抗CAIX抗体、抗P-cadherin抗体、抗GD3抗体、抗Cadherin 6抗体、抗LAMP1抗体、抗FLT3抗体、抗BCMA抗体、抗CD79b抗体、抗CD19抗体、抗CD33抗体、抗CD56抗体、抗CD74抗体、抗CD22抗体、抗CD30抗体、抗CD37抗体、抗CD47抗体、抗CD138抗体、抗CD352抗体、抗CD25抗体或抗CD123抗体。

[0110] 在一些实施方案中，Ab为抗体，选自抗CD33抗体ANTI-CD33、抗Trop2抗体ANTI-Trop2-1、抗Trop2抗体ANTI-Trop2-2、抗HER2抗体Trastuzumab (Tras)、抗HER2抗体Tras-016，相关序列如下：

[0111] 抗CD33抗体ANTI-CD33的序列

[0112] >轻链-LC

```
DIQLTQSPSTLSASVGDRTITCRASESLDNYGIRFLTWFAQKPGKAPKLLMYAASNQGS
GVPSRFGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQQTKEVPWSFGQGTKVEVKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLS
SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVCTKSFNRGEC (SEQ ID NO:1)
```

[0113] >重链-HC

```
EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGYTITDSNIHWVRQAPGQSLEWIGYIYPYNGGTD
YNQKFKNRATLTVDNPTNTAYMELSSLRSEDTAFYYCVNGNPWLAYWGQGLTVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:2)
```

[0114] 抗Trop2抗体ANTI-Trop2-1的序列

[0115] >轻链-LC

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDINKYLAWYQQKPGKVPKLLIYSTSTLQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLQYDDLFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLS
KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:3)

[0116] >重链-HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTSFDINWVRQAPEQRLEWMGWIFPGDGNT
KYSQKFQGRATITRDTSASTAYMELSSLRSEDYAVYYCVRGEALYYFDYWGQGLTVTV
SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELL
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP
SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:4)

[0117] 抗Trop2抗体ANTI-Trop2-2的序列

[0118] >轻链-LC

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDINKYLAWYQQKPGKVPKLLIYSTSTLQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCLQYDDLFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLS
KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVCTKSFNREGC (SEQ ID NO:5)

[0119] >重链-HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTSFDINWVRQAPEQRLEWMGWIFPGDGNT
KYSQKFQGRATITRDTSASTAYMELSSLRSEDYAVYYCVRGEALYYFDYWGQGLTVTV
SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELL
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP
SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:6)

[0120] 抗HER2抗体Trastuzumab (Tras) 的序列

[0121] >轻链-LC

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVP
SRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:7)

[0122] >重链-HC

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYT
RYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV
YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:8)

[0123] 抗HER2抗体Tras-016的序列

[0124] >轻链-LC

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVP
SRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQGHYTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTL
TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVCTKSFNREGC (SEQ ID NO:9)

[0125] >重链-HC

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYT
RYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV
YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:10)

[0126] 在一些实施方案中，D₁-L₁-和D₂-L₂-均通过巯基偶联至Ab上。

[0127] 在一些实施方案中，所述巯基的来源选自：所述靶向部分原有的链间二硫键被还原后形成的半胱氨酸残基上的巯基、定点突变所述靶向部分上的部分原有氨基酸成为半胱氨酸后所述半胱氨酸上的巯基、向所述靶向部分定点插入半胱氨酸后所述半胱氨酸上的巯基、向所述靶向部分定点插入含半胱氨酸的多肽后所述半胱氨酸上的巯基。

[0128] 在一些实施方案中，D₁-L₁-和D₂-L₂-分别通过不同来源的巯基偶联至Ab上。

[0129] 在一些实施方案中，D₁-L₁-和D₂-L₂-中，任意一个通过所述靶向部分原有的链间二硫键被还原后形成的半胱氨酸残基上的巯基偶联至Ab上，另一个通过定点突

变所述靶向部分上的部分原有氨基酸成为半胱氨酸后所述半胱氨酸上的巯基、或向所述靶向部分定点插入半胱氨酸后所述半胱氨酸上的巯基、或向所述靶向部分定点插入含半胱氨酸的多肽后所述半胱氨酸上的巯基偶联至Ab上。

[0130] 在一些实施方案中，所述配体药物偶联物选自：

[0131] Ab-R01 (2)-Ex01 (8)、

[0132] Ab-R01 (8)-Ex01 (2)、

[0133] Ab-R01 (4)-Ex01 (4)、

[0134] Ab-R01 (4)-Ex01 (8)、

[0135] Ab-R01 (8)-Ex01 (4)、

[0136] Ab-R01 (2)-Ex02 (8)、

[0137] Ab-R01 (8)-Ex02 (2)、

[0138] Ab-R01 (4)-Ex02 (4)、

[0139] Ab-R01 (2)-Ex03 (8)、

[0140] Ab-R01 (8)-Ex03 (2)、

[0141] Ab-R01 (4)-Ex03 (4)、

[0142] Ab-R01 (2)-Ex04 (8)、

[0143] Ab-R01 (8)-Ex04 (2)、

[0144] Ab-R01 (4)-Ex04 (4)、

[0145] Ab-R01 (2)-Ex05 (8)、

[0146] Ab-R01 (8)-Ex05 (2)、

[0147] Ab-R01 (4)-Ex05 (4)、

[0148] Ab-R01 (2)-Ex06 (8)、

[0149] Ab-R01 (8)-Ex06 (2)、

[0150] Ab-R01 (4)-Ex06 (4)、

[0151] Ab-R01-1 (2)-Ex01 (8)、

[0152] Ab-R01-1 (8)-Ex01 (2)、

[0153] Ab-R01-1 (4)-Ex01 (4)、

[0154] Ab-R01-1 (8)-Ex01 (4)、

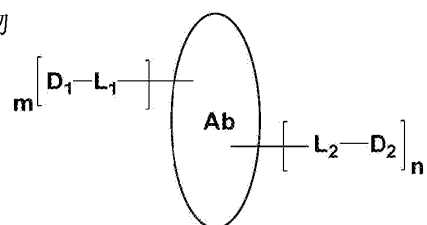
- [0155] Ab-R01-1 (4) -Ex01 (8) 、
- [0156] Ab-R01-1 (2) -Ex02 (8) 、
- [0157] Ab-R01-1 (8) -Ex02 (2) 、
- [0158] Ab-R01-1 (4) -Ex02 (4) 、
- [0159] Ab-R01-1 (2) -Ex03 (8) 、
- [0160] Ab-R01-1 (8) -Ex03 (2) 、
- [0161] Ab-R01-1 (4) -Ex03 (4) 、
- [0162] Ab-R01-1 (2) -Ex04 (8) 、
- [0163] Ab-R01-1 (8) -Ex04 (2) 、
- [0164] Ab-R01-1 (4) -Ex04 (4) 、
- [0165] Ab-R01-1 (2) -Ex05 (8) 、
- [0166] Ab-R01-1 (8) -Ex05 (2) 、
- [0167] Ab-R01-1 (4) -Ex05 (4) 、
- [0168] Ab-R01-1 (2) -Ex06 (8) 、
- [0169] Ab-R01-1 (8) -Ex06 (2) 、
- [0170] Ab-R01-1 (4) -Ex06 (4) 、
- [0171] Ab-R01-1 (2) -PB01 (8) 、
- [0172] Ab-R01-1 (2) -PB02 (8) 、
- [0173] Ab-R01-1 (8) -PNU01 (2) 、
- [0174] Ab-R01-1 (8) -PNU02 (2) 、
- [0175] Ab-R01-1 (2) -CBI01 (8) 、
- [0176] Ab-R01-1 (2) -CBI02 (8) 、
- [0177] Ab-R01-1 (2) -CBI03 (8) 、
- [0178] Ab-R01-1 (2) -PBD01 (8) 、
- [0179] Ab-R01-1 (2) -PBD02 (8) 、
- [0180] Ab-R01-1 (2) -PBD-CBI01 (8) 、
- [0181] Ab-R01-1 (2) -PBD-CBI02 (8) 、
- [0182] Ab-R01-1 (8) -M01 (2) 、

- [0183] Ab-R01-1 (8) -M02 (2) 、
 [0184] Ab-R01-1 (8) -M03 (2) 、
 [0185] Ab-AT01 (2) -Ex01 (8) 、
 [0186] Ab-AT02 (2) -Ex01 (8) 、
 [0187] Ab-AT03 (2) -Ex01 (8) 、
 [0188] Ab-AT04 (2) -Ex01 (8) 、
 [0189] Ab-TA01 (2) -Ex01 (8) 、
 [0190] Ab-VE01 (2) -Ex01 (8) 、
 [0191] Ab-E01 (2) -Ex01 (8) 、
 [0192] Ab-RU01 (2) -Ex01 (8) 、
 [0193] Ab-PA01 (2) -Ex01 (8) 、
 [0194] Ab-CEP01 (2) -Ex01 (8) 、
 [0195] Ab-TM01 (2) -Ex01 (8) 、
 [0196] Ab-TM02 (2) -Ex01 (8) 、
 [0197] Ab-WE01 (2) -Ex01 (8) 、
 [0198] Ab-CH01 (2) -Ex01 (8) 、
 [0199] Ab-CH02 (2) -Ex01 (8) 、
 [0200] Ab-CH03 (2) -Ex01 (8) 、
 [0201] Ab-CH04 (2) -Ex01 (8) 、
 [0202] Ab-DP01 (2) -Ex01 (8) 、
 [0203] Ab-DP02 (2) -Ex01 (8) 、
 [0204] Ab-DP03 (2) -Ex01 (8) 。

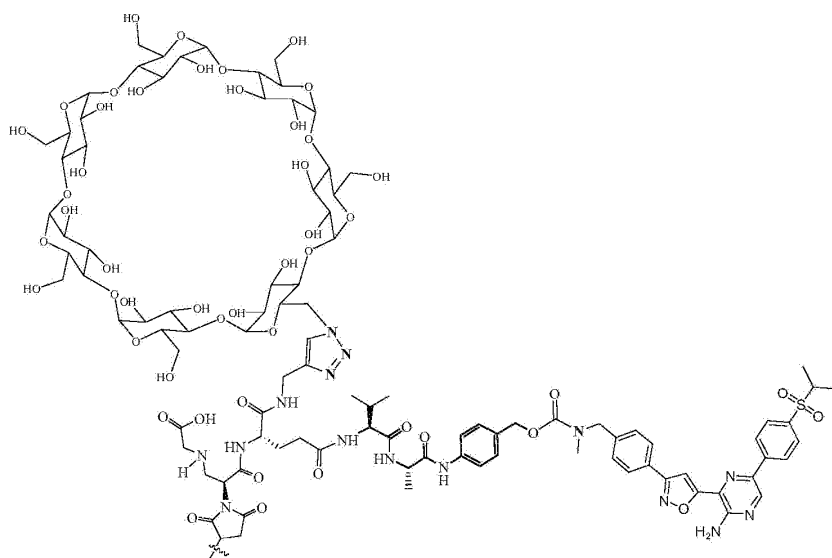
[0205] 对于以上配体药物偶联物的结构式的含义，例如Ab-R01 (2) -Ex01 (8)，其表

示，式I所示的配体药物偶联物

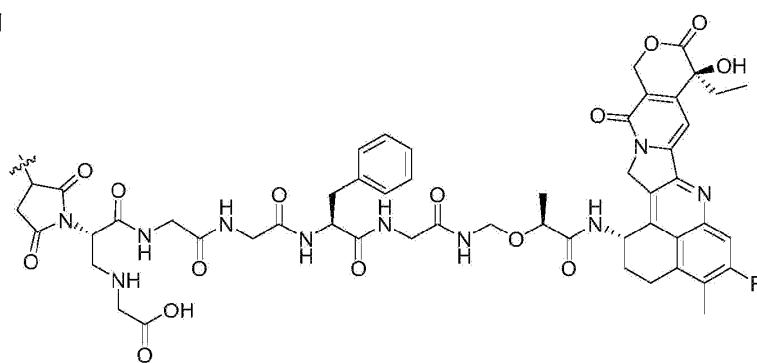
中，D₂-L₂-为



R01即

D₁-L₁-为Ex01即

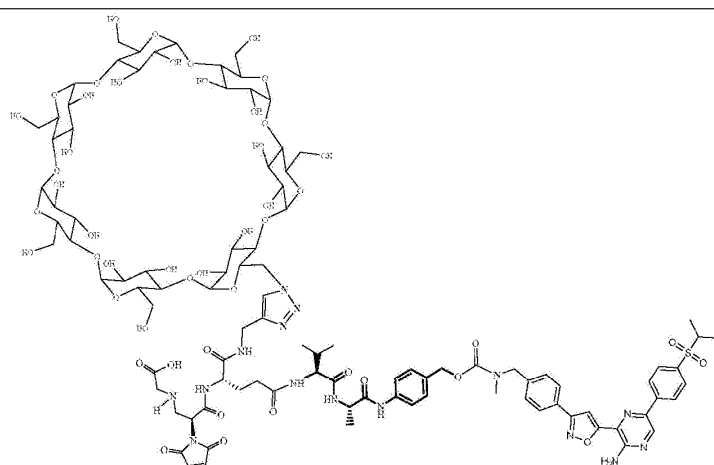
且偶



联至Ab上的D₁-L₁-的数量为8即m为8，偶联至Ab上D₂-L₂-的数量为2即n为2。其余配体药物偶联物的结构式的含义参照前述内容进行理解即可。

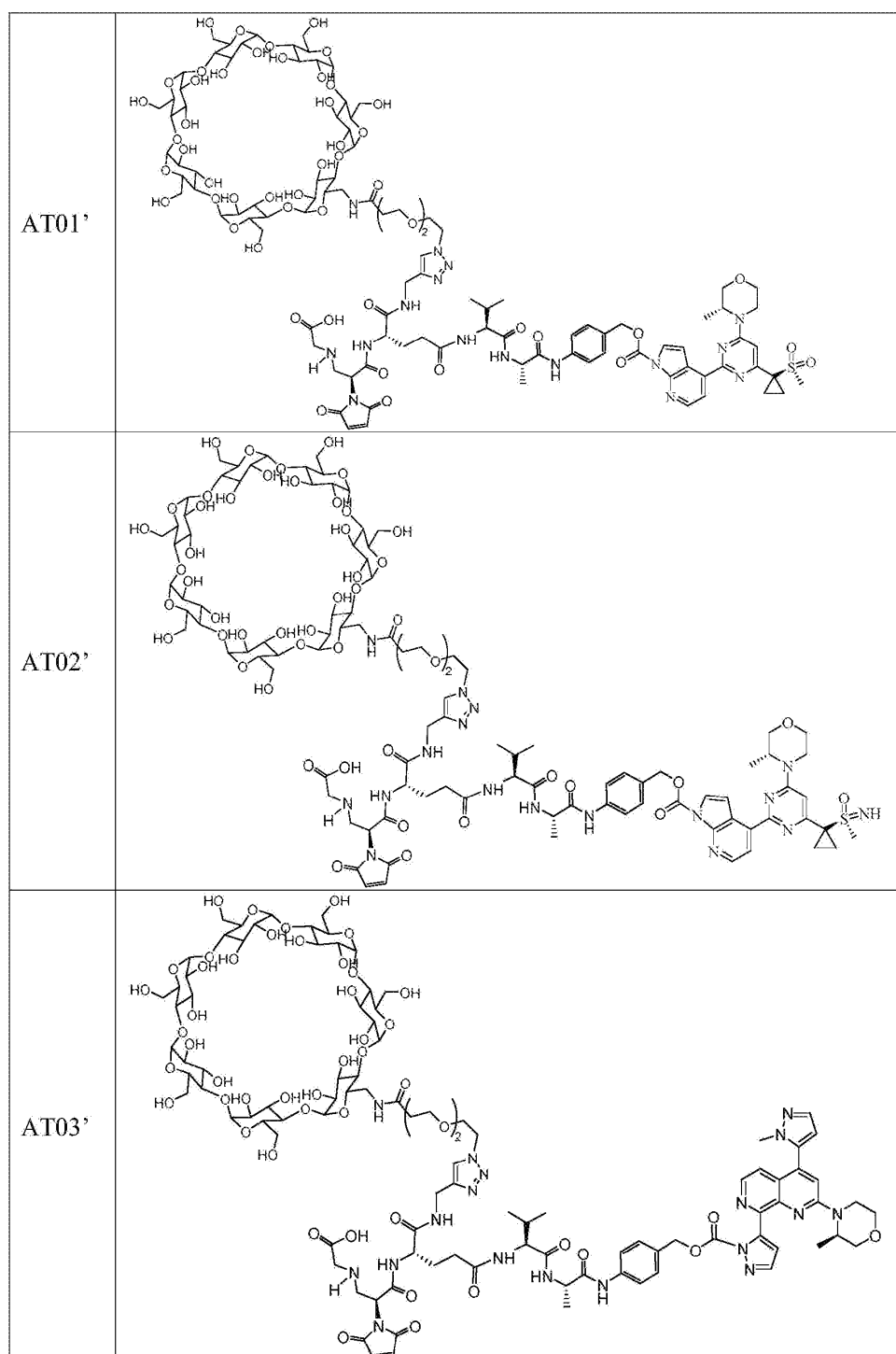
[0206] 在本公开的第二方面，本公开提供了药物-连接单元偶联物，或其立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物，其中，所述药物-连接单元偶联物选自以下：

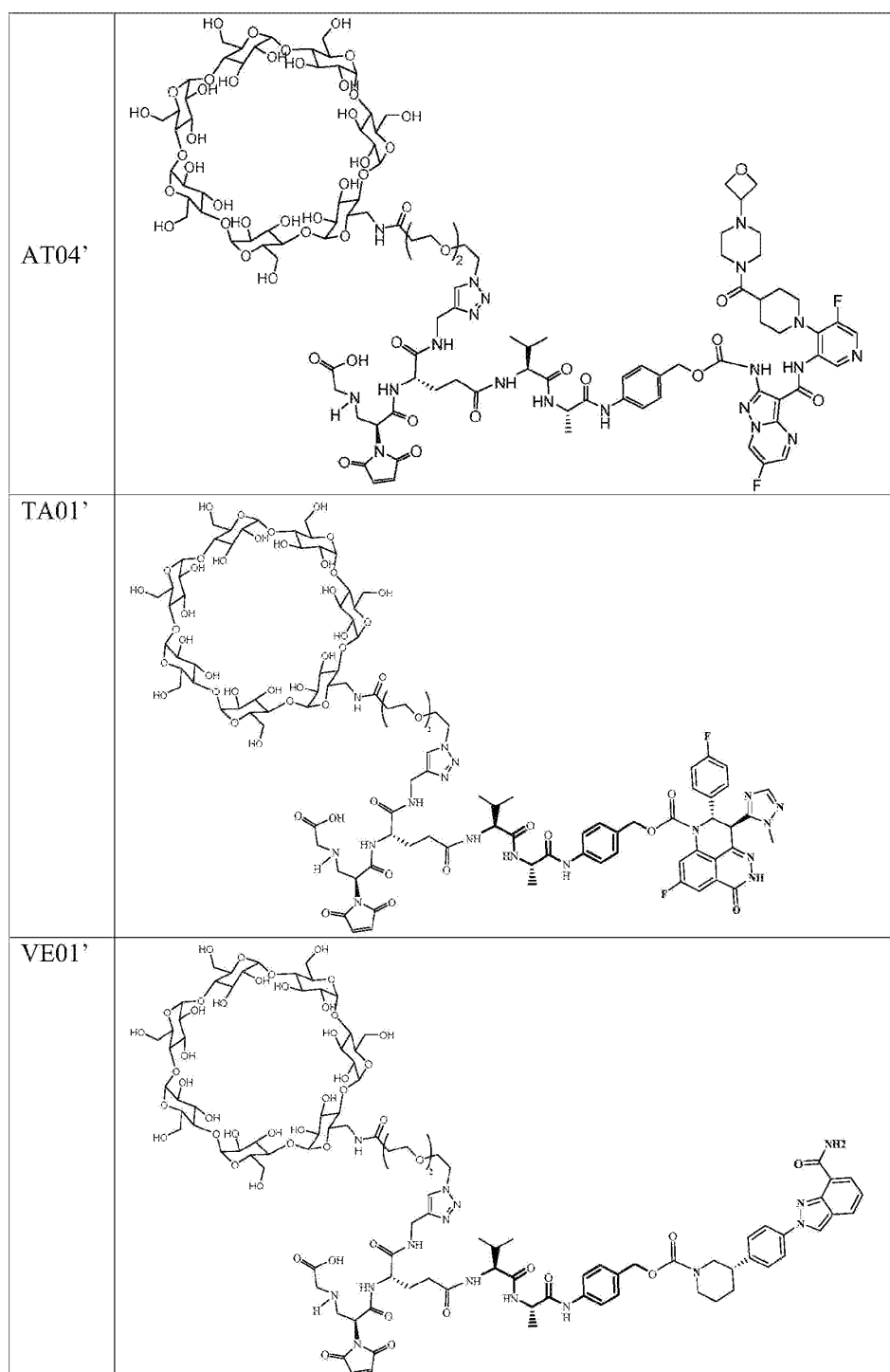
R01'

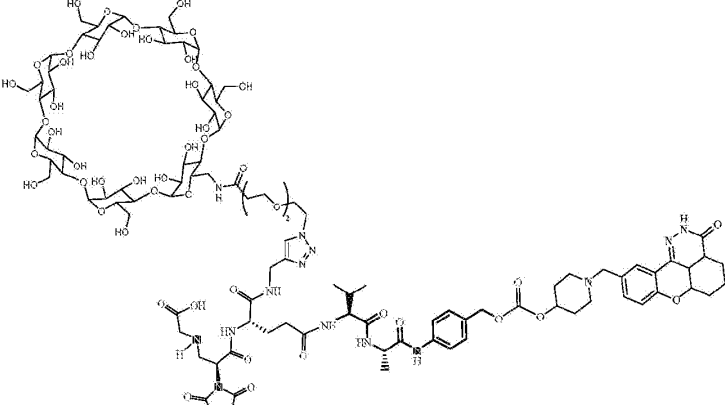
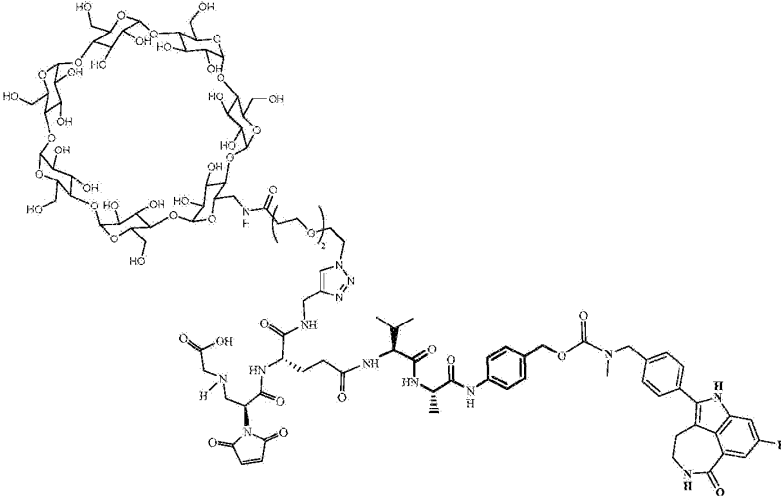
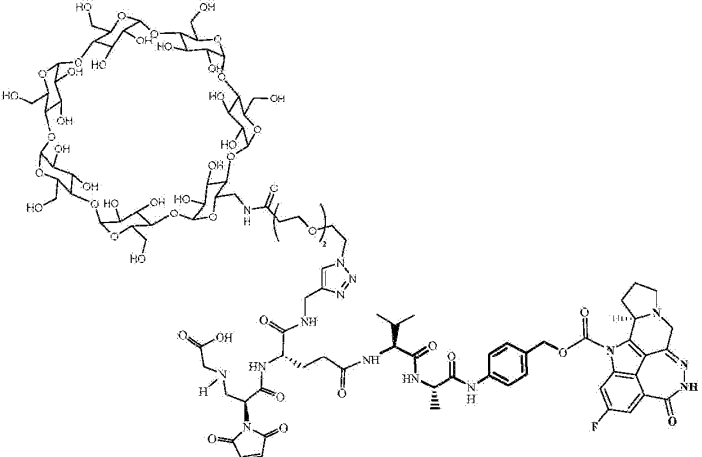


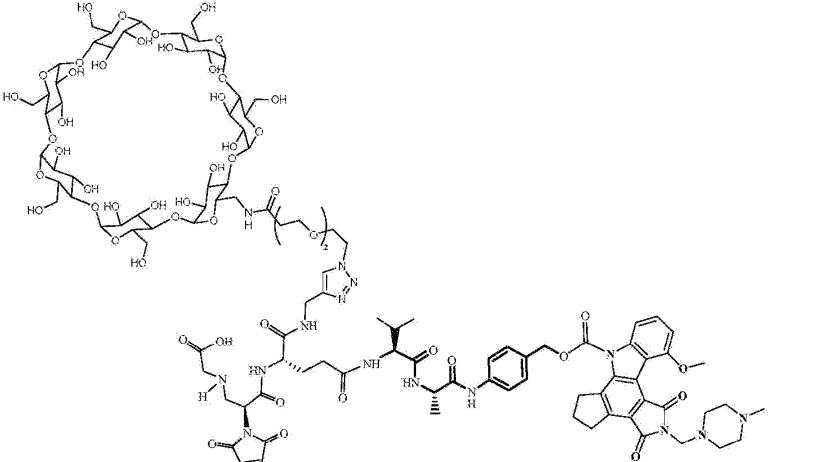
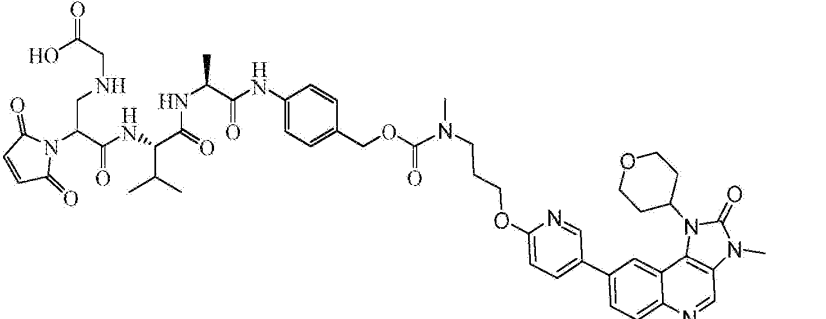
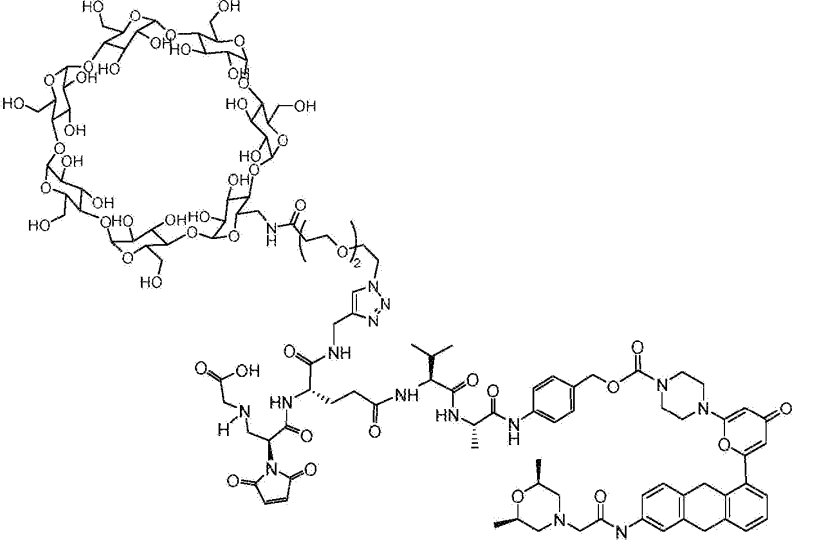
[illegible]

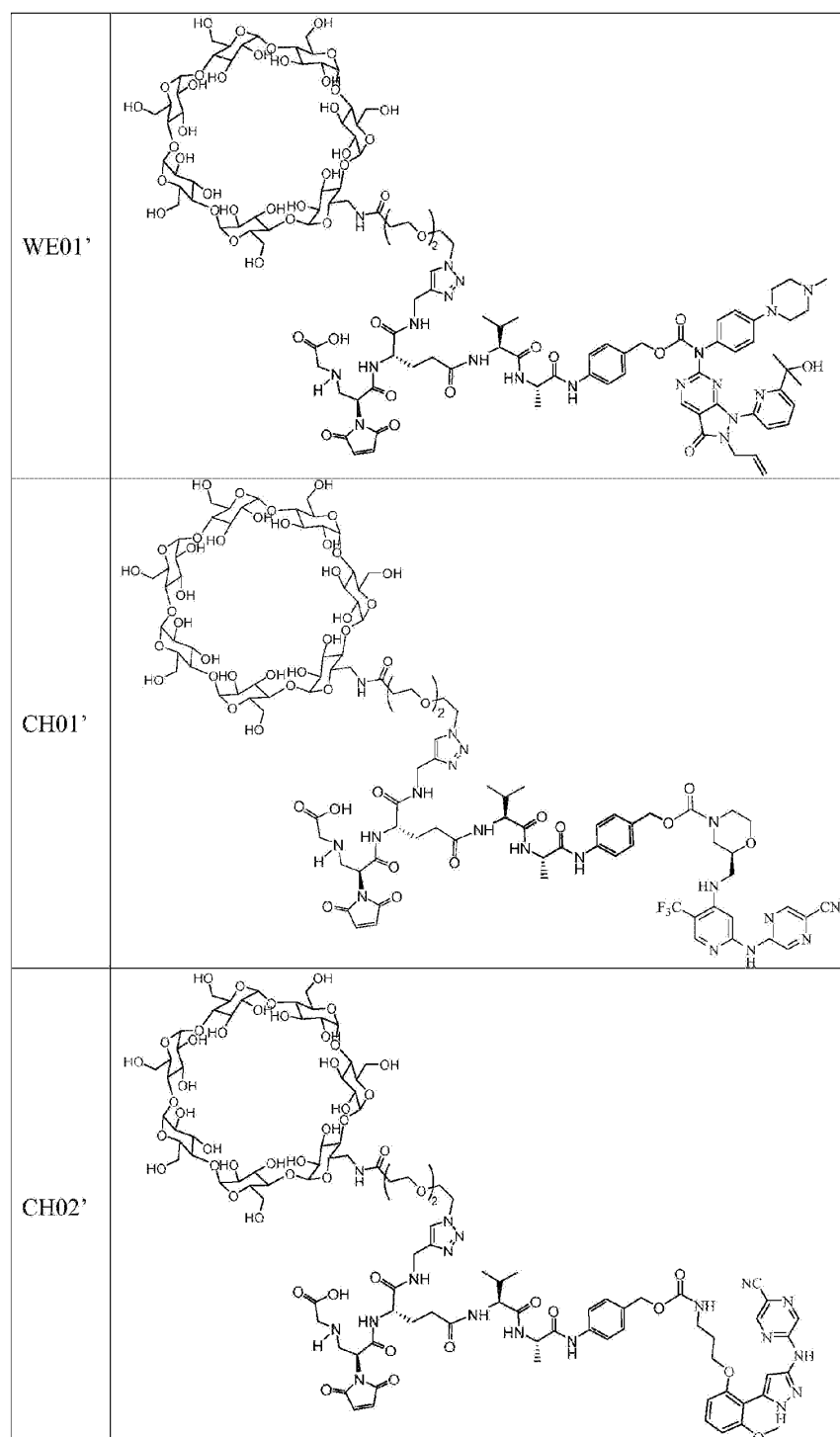
[illegible]

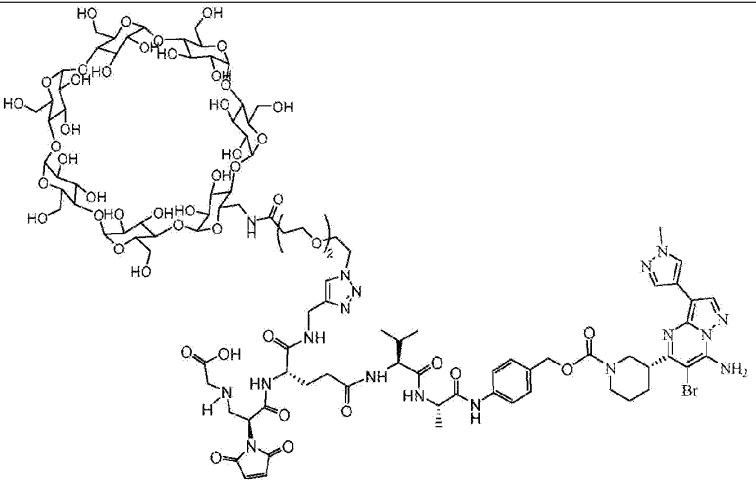
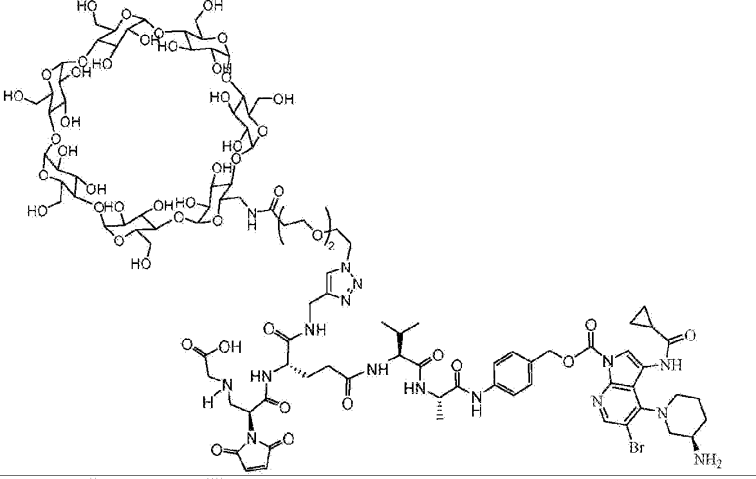
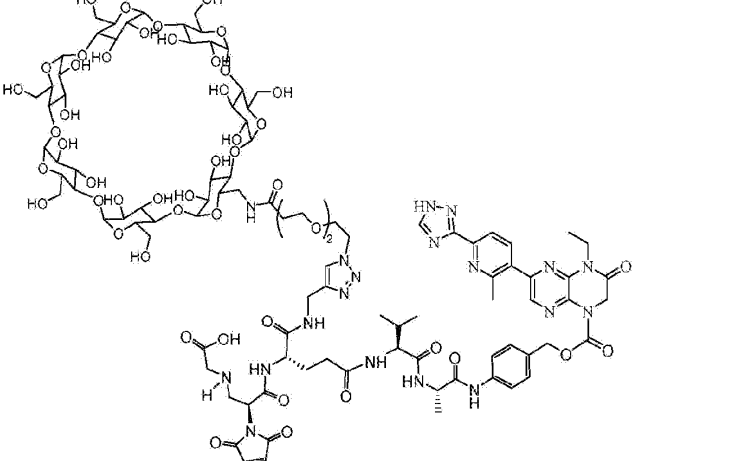


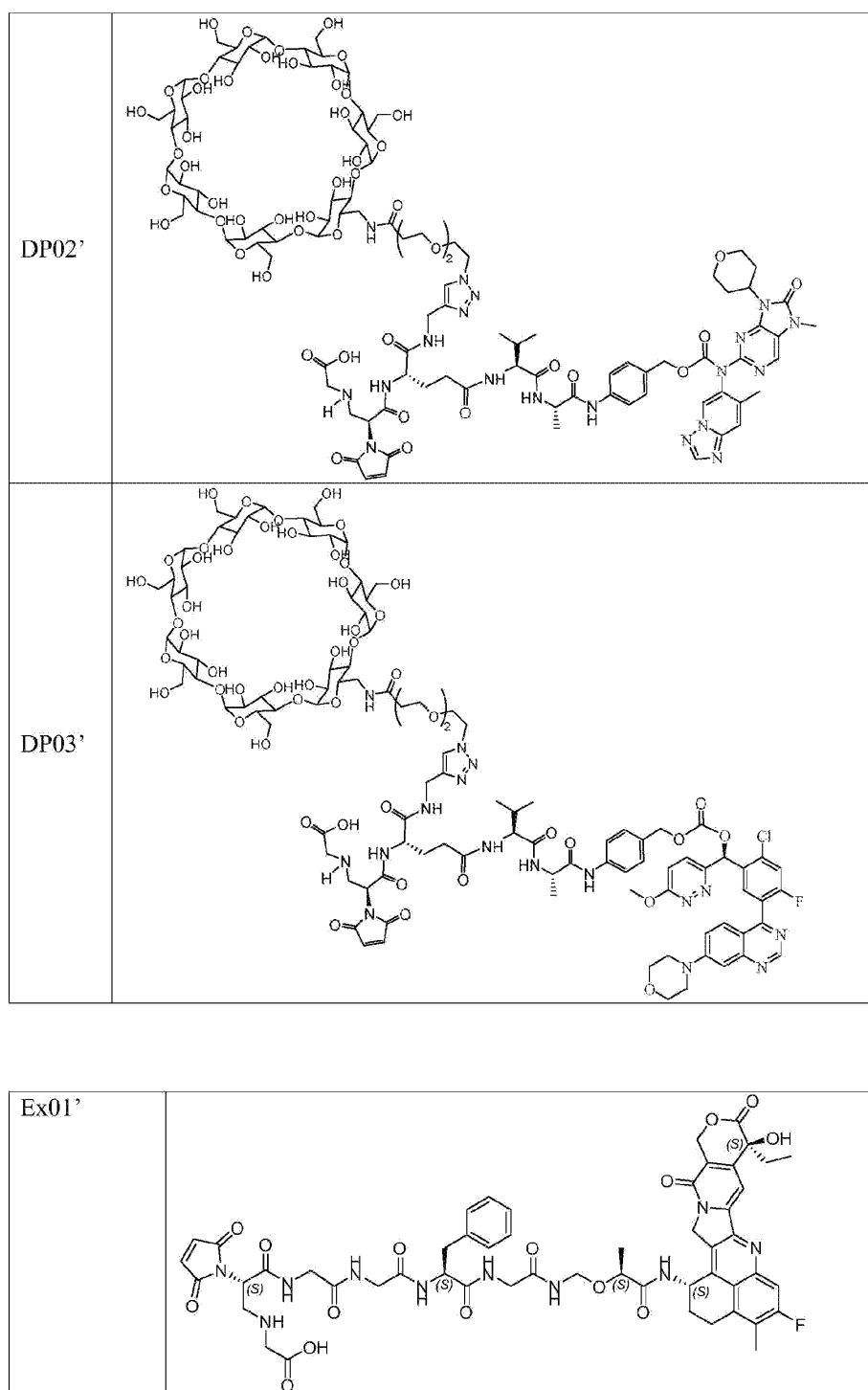


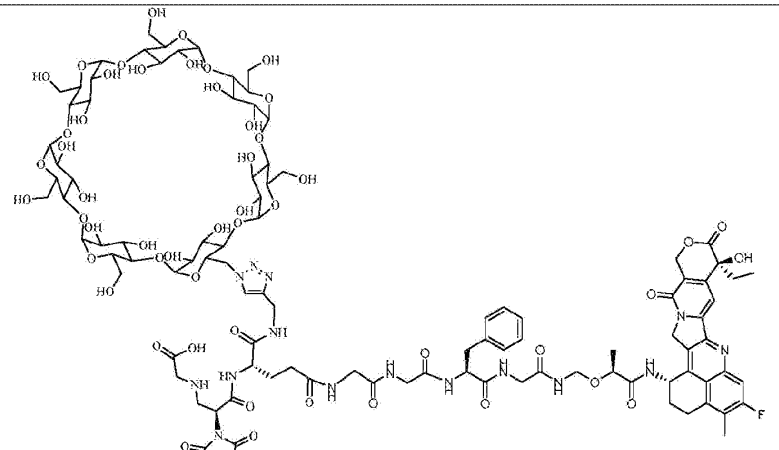
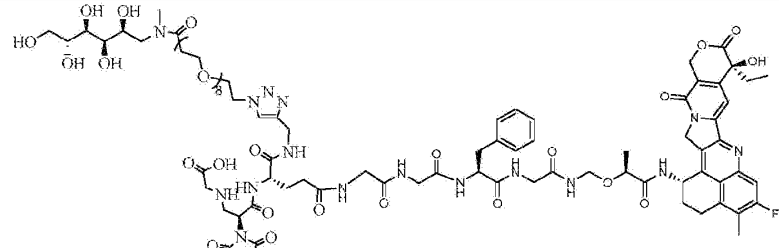
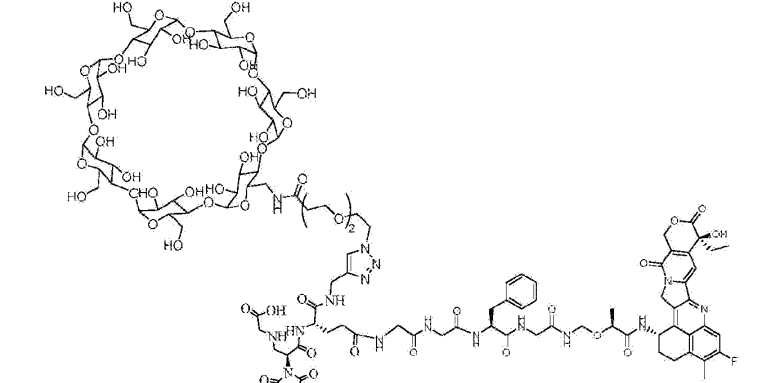
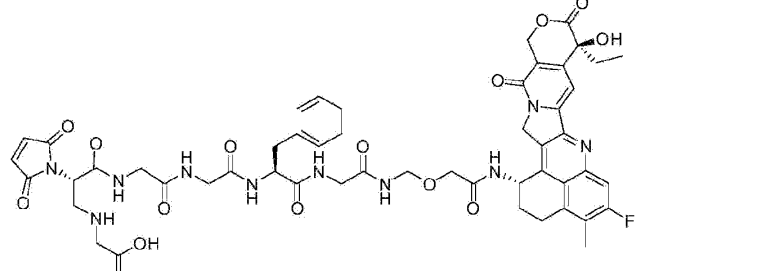
E01'	
RU01'	
PA01'	

CEP01'	 Chemical structure of CEP01' showing a large cyclodextrin moiety linked to a complex organic molecule.
TM01'	 Chemical structure of TM01' showing a complex organic molecule with a pyridine ring and a quinoline system.
TM02'	 Chemical structure of TM02' showing a large cyclodextrin moiety linked to a complex organic molecule.

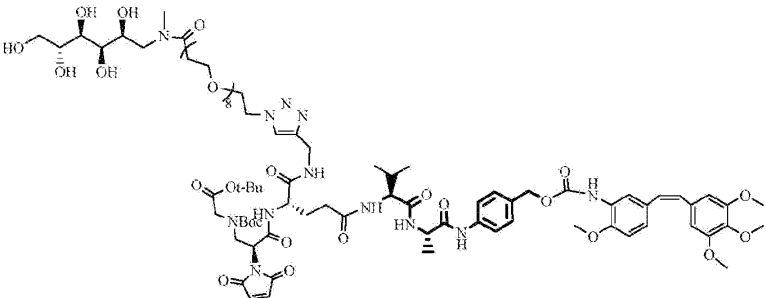
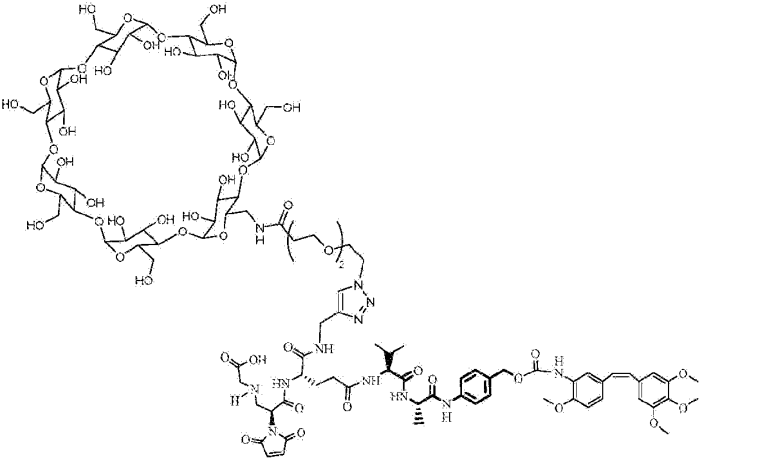
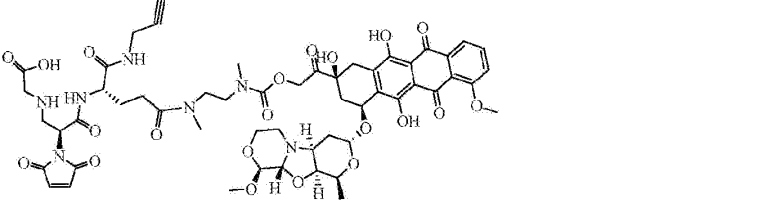
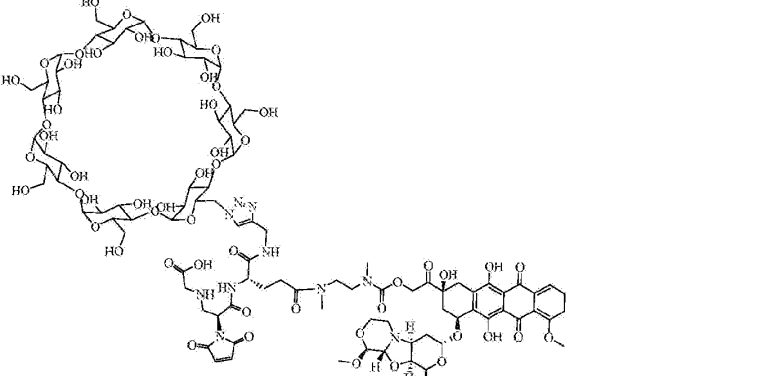


CH03'	
CH04'	
DP01'	



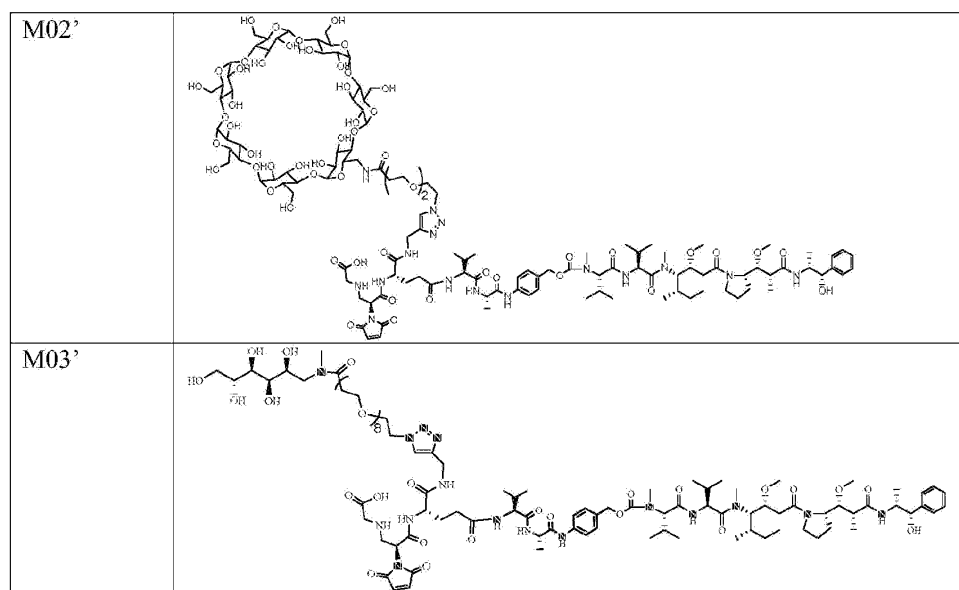
Ex02'	
Ex03'	
Ex04'	
Ex05'	

Ex06'	Chemical structure of Ex06' is a complex molecule. It features a central chain of amide bonds. On the left, there is a succinimide ring. The chain continues through several amide linkages, including one with a phenyl group. On the right, it connects to a fluorinated quinoline system. A side chain on the right includes a cyclopropyl group and a hydroxyl group.
Ex07'	Chemical structure of Ex07' is similar to Ex06', but it features a trifluoromethyl (CF ₃) group instead of the cyclopropyl group on the right side chain.
Ex08'	Chemical structure of Ex08' is similar to Ex06', but it features a deuterium (D) atom instead of the cyclopropyl group on the right side chain.
Ex09'	Chemical structure of Ex09' is similar to Ex06', but it features a different side chain on the right, including a hydroxyl group and a different amide linkage.
SN01'	Chemical structure of SN01' is a highly complex molecule. It features a central chain of amide bonds, including a long polyether chain. It also includes a succinimide ring, a phenyl group, and a fluorinated quinoline system. The structure is highly branched and contains multiple functional groups.

PB01'	
PB02'	
PNU01'	
PNU02'	

CBI01'	The chemical structure of CBI01' features a central peptide backbone with several modifications. It includes a triazole ring connected via a poly(ethylene glycol) (PEG) chain to a sugar moiety. The peptide chain contains a hydroxy acid, a proline derivative, and a side chain with a chlorine atom and a naphthalene ring system.
CBI02'	The chemical structure of CBI02' shows a peptide backbone with a triazole ring and a PEG chain. It also features a naphthalene ring system with a chlorine atom and a hydroxy acid moiety.
CBI03'	The chemical structure of CBI03' is a complex molecule featuring a large, multi-ring system, possibly a macrocycle or a large sugar derivative, connected to a peptide backbone. It includes a triazole ring, a PEG chain, and a naphthalene ring system with a chlorine atom.
PBD01'	The chemical structure of PBD01' shows a peptide backbone with a triazole ring and a PEG chain. It also features a naphthalene ring system with a chlorine atom and a hydroxy acid moiety.

PBD02'	The chemical structure of PBD02' is a complex molecule. It features a central pyrazole ring substituted with a long polyether chain (HO-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-NH-) and a side chain containing a carboxylic acid group, a pyrazole ring, and a 1,3-dioxolane ring. The molecule also includes a 1,3-dioxane ring and a 1,3-dioxolane ring.
PBD-CBI01'	The chemical structure of PBD-CBI01' is a complex molecule. It features a central pyrazole ring substituted with a long polyether chain (HO-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-NH-) and a side chain containing a carboxylic acid group, a pyrazole ring, and a 1,3-dioxolane ring. The molecule also includes a 1,3-dioxane ring and a 1,3-dioxolane ring.
PBD-CBI02'	The chemical structure of PBD-CBI02' is a complex molecule. It features a central pyrazole ring substituted with a long polyether chain (HO-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-NH-) and a side chain containing a carboxylic acid group, a pyrazole ring, and a 1,3-dioxolane ring. The molecule also includes a 1,3-dioxane ring and a 1,3-dioxolane ring.
M01'	The chemical structure of M01' is a complex molecule. It features a central pyrazole ring substituted with a long polyether chain (HO-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-NH-) and a side chain containing a carboxylic acid group, a pyrazole ring, and a 1,3-dioxolane ring. The molecule also includes a 1,3-dioxane ring and a 1,3-dioxolane ring.



[0207] 在本公开的第三方面，本公开提供了药物组合物，其包含前述的配体药物偶联物或其立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物，或者前述的药物-连接单元偶联物或其立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物，以及任选的一种或多种药用辅料。

[0208] 在本公开的第四方面，本公开提供了前述的配体药物偶联物或其立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物，或者前述的药物-连接单元偶联物或其立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物，或者前述的药物组合物在制备治疗和/或预防疾病的药物中的用途，所述疾病为癌症。

[0209] 在一些实施方案中，所述癌症选自皮肤癌、淋巴瘤、食管癌(例如食管腺癌和食管鳞状细胞癌)、脑瘤、肺癌(例如小细胞性肺癌和非小细胞性肺癌)、鳞状上皮细胞癌、膀胱癌、胃癌、卵巢癌、腹膜癌、胰腺癌、乳腺癌、头颈癌、子宫颈癌、子宫内膜癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、肝癌、肾癌、实体瘤、非霍奇金淋巴瘤、中枢神经系统肿瘤(例如神经胶质瘤、多形性胶质母细胞瘤、神经母细胞瘤、胶质瘤或肉瘤)、黑色素瘤、前列腺癌、甲状腺癌、骨癌、尿道癌、唾液腺癌、白血病(例如急性髓系白血病)、等实体瘤及血液瘤。

- [0210] 在一些实施方案中，所述癌症选自肺癌(例如小细胞性肺癌和非小细胞性肺癌)、鳞状上皮细胞癌、膀胱癌、胃癌、卵巢癌、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、肝癌、肾癌。
- [0211] 在本公开的第五方面，本公开提供了前述的配体药物偶联物或其立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物，或者前述的药物-连接单元偶联物或其立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物，或者前述的药物组合物，其用于治疗 and/或预防疾病，所述疾病为癌症。
- [0212] 在一些实施方案中，所述癌症选自皮肤癌、淋巴瘤、食管癌(例如食管腺癌和食管鳞状细胞癌)、脑瘤、肺癌(例如小细胞性肺癌和非小细胞性肺癌)、鳞状上皮细胞癌、膀胱癌、胃癌、卵巢癌、腹膜癌、胰腺癌、乳腺癌、头颈癌、子宫颈癌、子宫内膜癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、肝癌、肾癌、实体瘤、非霍奇金淋巴瘤、中枢神经系统肿瘤(例如神经胶质瘤、多形性胶质母细胞瘤、神经母细胞瘤、胶质瘤或肉瘤)、黑色素瘤、前列腺癌、甲状腺癌、骨癌、尿道癌、唾液腺癌、白血病(例如急性髓系白血病)、等实体瘤及血液瘤。
- [0213] 在一些实施方案中，所述癌症选自肺癌(例如小细胞性肺癌和非小细胞性肺癌)、鳞状上皮细胞癌、膀胱癌、胃癌、卵巢癌、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、肝癌、肾癌。
- [0214] 在本公开的第六方面，本公开提供了预防和/或治疗疾病的方法，所述疾病为癌症，所述方法包括：给予有需要的个体预防和/或治疗有效量的前述的配体药物偶联物或其立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物，或者前述的药物-连接单元偶联物或其立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物，或者前述的药物组合物。
- [0215] 在一些实施方案中，所述癌症选自皮肤癌、淋巴瘤、食管癌(例如食管腺癌和食管鳞状细胞癌)、脑瘤、肺癌(例如小细胞性肺癌和非小细胞性肺癌)、鳞状上皮细胞癌、膀胱癌、胃癌、卵巢癌、腹膜癌、胰腺癌、乳腺癌、头颈癌、子宫颈癌、子宫内膜癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、肝癌、肾癌、实体瘤、非霍奇金淋巴瘤、中枢神经系统肿瘤(例如神经胶质瘤、多形性胶质母细胞瘤、神经

母细胞瘤、胶质瘤或肉瘤)、黑色素瘤、前列腺癌、甲状腺癌、骨癌、尿道癌、唾液腺癌、白血病(例如急性髓系白血病)、等实体瘤及血液瘤。

[0216] 在一些实施方案中,所述癌症选自肺癌(例如小细胞性肺癌和非小细胞性肺癌)、鳞状上皮细胞癌、膀胱癌、胃癌、卵巢癌、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、肝癌、肾癌。

[0217] 术语定义

[0218] 在本公开中,除非另有说明,否则本文中使用的科学和技术名词具有本领域技术人员所通常理解的含义。并且,本文中所用的细胞培养、分子遗传学、核酸化学、免疫学实验室操作步骤均为相应领域内广泛使用的常规步骤。同时,为了更好地理解本公开,下面提供相关术语的定义和解释。

[0219] 本公开中,术语“药学上可接受的盐”的例子是由形成药学上可以接受的阴离子的有机酸形成的有机酸加合盐,包括但不限于甲酸盐、乙酸盐、丙酸盐、苯甲酸盐、马来酸盐、富马酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、抗坏血酸盐、 α -酮戊二酸盐、 α -甘油磷酸盐、烷基磺酸盐或芳基磺酸盐;优选地,所述烷基磺酸盐为甲基磺酸盐或乙基磺酸盐;所述芳基磺酸盐为苯磺酸盐或对甲苯磺酸盐。也可形成合适的无机盐,包括但不限于盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硝酸盐、碳酸氢盐和碳酸盐、硫酸盐或磷酸盐等。

[0220] 药学上可接受的盐可使用本领域熟知的标准程序获得,例如,通过将足量的碱性化合物和提供药学上可以接受的阴离子的合适的酸反应。

[0221] 本公开中,术语“前药”是指可以在生物学条件(体外或体内)下水解、氧化或进行其他反应以提供本发明的化合物的衍生物。前药仅在生物学条件下经过该反应成为活性化合物,或者它们在它们不反应的形式中不具有或仅具有较低活性。通常可以使用公知的方法制备前药,例如Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery(1995)172-178, 949-982(Manfred E. Wolff编,第5版)中描述的那些方法。

[0222] 本公开所述的化合物中的立体异构体,当以化学名称特别指定为(R)-或(S)-异构体时,应分别理解为主要构型为(R)-异构体或(S)-异构体。任何不对称碳原子可以存在于(R)-、(S)-或(R,S)-构型中,优选以(R)-或(S)-构型存在。

- [0223] 本公开中，“溶剂化物”或“溶剂合物”可以互换使用，指的是以与某种溶剂分子的组合存在的化合物。该组合可以包括化学计量的量的某种溶剂，例如一水合物或二水合物，或者可以包括任意量的水；又如，甲醇或乙醇可以形成“醇化物”，其也可以为化学计量的或非化学计量的。在本文中使用的术语“溶剂合物”指的是固体形式，即，在溶剂的溶液中的化合物虽然其可以为溶剂化的，但是它不是如本文中使用的术语的溶剂合物。
- [0224] 本公开中，“氘代物”指的是某个化合物中的一个或多个氢原子被氘原子替代而得到的物质。
- [0225] 本公开中，所述药用辅料是指生产药品和调配处方时，使用的赋形剂和附加剂，是指除活性成分外，在安全性方面已进行了合理的评估，并且包含在药物制剂中的物质。药用辅料除了赋型、充当载体、提高稳定性外，还具有增溶、助溶、缓控释等重要功能，是可能会影响到药品的质量、安全性和有效性的重要成分。根据其来源可分为天然物、半合成物和全合成物。根据其作用与用途可分为：溶剂、抛射剂、增溶剂、助溶剂、乳化剂、着色剂、黏合剂、崩解剂、填充剂、润滑剂、湿润剂、渗透压调节剂、稳定剂、助流剂、矫味剂、防腐剂、助悬剂、包衣材料、芳香剂、抗黏着剂、抗氧剂、螯合剂、渗透促进剂、pH调节剂、缓冲剂、增塑剂、表面活性剂、发泡剂、消泡剂、增稠剂、包合剂、保湿剂、吸收剂、稀释剂、絮凝剂与反絮凝剂、助滤剂、释放阻滞剂等；根据其给药途径可分为口服、注射、黏膜、经皮或局部给药、经鼻或口腔吸入给药和眼部给药等。同一药用辅料可用于不同给药途径的药物制剂，且有不同的作用和用途。
- [0226] 本公开中，所述药物组合物可根据给药途径制成各种适宜的剂型。例如片剂、胶囊剂、颗粒剂、口服溶液剂、口服混悬剂、口服乳剂、散剂、酏剂、糖浆剂、注射剂、栓剂、软膏剂、乳膏剂、糊剂、眼用制剂、丸剂、植入剂、气雾剂、粉雾剂、喷雾剂等。其中，所述的药物组合物或适宜的剂型可以含有0.01mg至1000mg的本公开的化合物或其药学上可接受的盐或偶联物，适宜含有0.1mg至800mg，优选含有0.5-500mg，优选含有0.5至350mg，特别优选1-250mg。

- [0227] 所述药物组合物可以注射剂形式用药，包括注射液、注射用无菌粉末与注射用浓溶液。其中，可使用的载体和溶剂包括水、林格氏溶液和等渗氯化钠溶液。
- 另外，灭菌的非挥发油也可用作溶剂或悬浮介质，如单甘油酯或二甘油酯。
- [0228] 本公开中，术语“治疗”一般是指获得需要的药理和/或生理效应。该效应根据完全或部分地预防疾病或其症状，可以是预防性的；和/或根据部分或完全稳定或治愈疾病和/或由于疾病产生的副作用，可以是治疗性的。本文使用的“治疗”涵盖了对患者疾病的任何治疗，包括：(a) 预防易感染疾病或症状但还没诊断出患病的患者所发生的疾病或症状；(b) 抑制疾病的症状，即阻止其发展；或(c) 缓解疾病的症状，即，导致疾病或症状退化。
- [0229] 本公开中，术语“个体”包括人或非人动物。示例性人个体包括患有疾病(例如本文所述的疾病)的人个体(称为患者)或正常个体。本公开中术语“非人动物”包括所有脊椎动物，例如非哺乳动物(例如鸟类、两栖动物、爬行动物)和哺乳动物，例如非人灵长类、家畜和/或驯化动物(例如绵羊、犬、猫、奶牛、猪等)。
- [0230] 本公开中，术语“有效量”指被给药后会在一定程度上缓解所治疗病症的一种或多种症状的化合物的量。
- [0231] 本公开中，术语“靶向部分”是指偶联物中能够与细胞表面的靶标(或靶标的部分)特异性结合的部分。通过靶向部分与靶标的相互作用，偶联物可以被递送至特定的细胞群。优选地，靶向部分为抗体。
- [0232] 本公开中，术语“抗体”取其最广义的解释，包括完整的单克隆抗体、多克隆抗体以及由至少两个完整抗体形成的多特异性抗体(例如双特异性抗体)，只要它们具有所需的生物学活性。在本公开中，“抗体”和“免疫球蛋白”可以互换使用。
- [0233] 本公开中，术语“单克隆抗体”指抗体来自一群基本均一的抗体，即构成该集群的各抗体完全相同，除了可能存在的少量天然突变。单克隆抗体具有针对抗原的一个决定簇(表位)的高特异性，而与其相对的多克隆抗体则包含针对不同决定簇(表位)的不同抗体。除了特异性之外，单克隆抗体的优点还在于合成时

可以不受其他抗体的污染。此处修饰语“单克隆”表示该抗体的特征在于来自一个基本均一的抗体群，而不应理解成需由特殊方法制得。

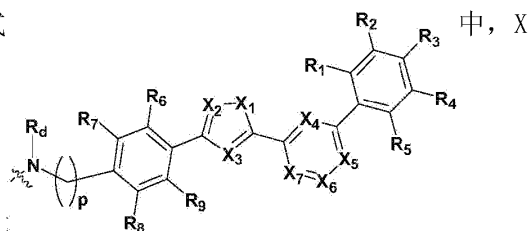
- [0234] 本公开的部分实施方案中，单克隆抗体还特别包括嵌合抗体，即重链和/或轻链的一部分与某种、某类或某亚类抗体相同或同源，其余部分则与另一种、另一类或另一亚类抗体相同或同源，只要它们具有所需的生物学活性(参见例如US 4,816,567; 和Morrison等人, 1984, PNAS, 81:6851-6855)。可用于本公开的嵌合抗体包括灵长类化(primatized)抗体，其包含来自非人灵长类(例如古猴、猩猩等)的可变区抗原结合序列和人恒定区序列。
- [0235] 本公开中，术语“抗体片段”是指抗体的一部分，优选是抗原结合区或可变区。抗体片段的实例包括Fab、Fab'、F(ab')₂、Fd、Fv、dAb和互补决定区片段，二抗体(diabody)，线性抗体和单链抗体分子。
- [0236] 本公开中，术语“双特异性抗体”亦称为“双功能抗体偶联物”，是指由第一抗体(片段)和第二抗体(片段)通过偶联臂所形成的偶联物，该偶联物保留了各自抗体的活性，故具有双功能和双特异性。
- [0237] 本公开中，术语“多特异性抗体”包括例如三特异性抗体和四特异性抗体，前者是具有三种不同抗原结合特异性的抗体，而后者是具有四种不同抗原结合特异性的抗体。
- [0238] 本公开中，术语“完整抗体”指包含抗原结合可变区和轻链恒定区(CL)、重链恒定区(CH1、CH2和CH3)的抗体。恒定区可以是天然序列(例如人天然恒定区序列)或其氨基酸序列变体。完整抗体优选是具有一种或多种效应功能的完整抗体。
- [0239] 本公开中，非人(例如鼠)抗体的“人源化”形式指包含最少量非人免疫球蛋白序列的嵌合抗体。大多数人源化抗体是人接受者免疫球蛋白的超变区残基被置换成具有所需特异性、亲和力和功能的非人(例如小鼠、大鼠、兔或非人灵长类)超变区残基(供者抗体)。在一些实施方案中，人免疫球蛋白的框架区(FR)残基也被置换成非人残基。而且，人源化抗体还可以包含受者抗体或供者抗体中没有的残基。这些修饰是为了进一步优化抗体的性能。人源化抗体一般包含至少一个，通常是两个可变区，其中所有或几乎所有超变环(hypervariable

loops)与非人免疫球蛋白的相对应,而FR则完全或几乎完全是人免疫球蛋白的序列。人源化抗体还可以包含免疫球蛋白恒定区(Fc,通常是人免疫球蛋白Fc)的至少一部分。有关细节参见例如Jones等人,1986, Nature, 321:522-525; Riechmann等人,1988, Nature, 332:323-329; 和Presta, 1992, Curr Op Struct Bwl 2:593-596。

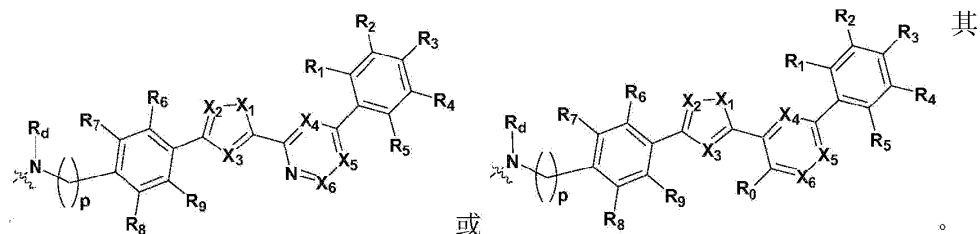
[0240] 本公开所用的单克隆抗体可以由许多方法生产。例如,用于本公开的单克隆抗体可以通过杂交瘤方法,使用许多物种(包括小鼠、仓鼠、大鼠和人的细胞)获得(参见例如Kohler等人,1975, Nature, 256:495),或者通过重组DNA技术制得(参见例如US 4,816,567),或者从噬菌体抗体库中分离得到(参见例如Clackson等人,1991, Nature, 352:624-628; 和Marks等人,1991, Journal of Molecular Biology, 222:581-597)。ANTI-CD33ANTI-CD33ANTI-CD33

[0241] 本公开中,除非以其他方式明确指出,在本文中通篇采用的描述方式“各…独立地选自”和“…各自独立地选自”可以互换,均应做广义理解,其既可以是指在不同基团中,相同或不同的符号之间所表达的具体选项之间互相不影响,也可以表示在相同的基团中,相同或不同的符号之间所表达的具体选项之间互相不影响。

[0242] 本公开中,式A所示的结构式



中, X₁选自N、C(R₀), 其表示, 式A所示的结构式为



余类似的定义可以参照前述内容进行理解。

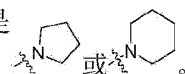
- [0243] 本公开中，术语“直接键”表示其两侧的基团直接相连，例如， L_1 为 $L_{11}-L_{12}-L_{13}-L_{14}$ ，若 L_{13} 为直接键，则 L_1 为 $L_{11}-L_{12}-L_{14}$ ，即 L_{12} 与 L_{14} 直接相连。其余类似的定义可参照前述内容进行理解。
- [0244] 在本公开的各部分，本公开化合物的取代基按照基团种类或范围公开。特别指出，本公开包括这些基团种类和范围的各个成员的每一个独立的次级组合。例如，术语“C1-C6烷基”特别指独立公开的甲基、乙基、C3烷基、C4烷基、C5烷基和C6烷基。
- [0245] 本公开中，术语“烷基”是指包括具有指定碳原子数的支链和直链饱和脂肪族烃基。例如，术语“C1-C6烷基”表示直链或支链的含有1-6个碳原子的烷基，包括例如“C1-C3烷基”或“C1-C4烷基”，甲基，乙基等，具体实例包括但不限于：甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、戊基、己基。
- [0246] 本公开中，术语“C1-C4烷基”表示直链或支链的含有1-4个碳原子的烷基，包括例如“C1-C3烷基”，甲基，乙基等，具体实例包括但不限于：甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基。
- [0247] 本公开中，术语“氘代烷基”指的是烷基中的一个或多个氢原子被氘原子替代后得到的基团。其中，烷基可以是C1-C6烷基、C1-C4烷基或C1-C3烷基。烷基、C1-C6烷基、C1-C4烷基或C1-C3烷基的定义如上所述。
- [0248] 本公开中，术语“卤代烷基”指的是烷基中的一个或多个氢原子被卤素替代后得到的基团。例如，可以是“C1-C6卤代烷基”，其指的是C1-C6烷基(例如C1-C4烷基、C1-C3烷基等)中的一个或多个氢原子被卤素(优选氟、氯)替代后得到的基团，例如，单氟甲基、二氟乙基、三氟甲基等。烷基、C1-C6烷基、C1-C4烷基或C1-C3烷基的定义如上所述。
- [0249] 本公开中，术语“羟烷基”指的是烷基中的一个或多个氢原子被羟基替代后得到的基团。例如，可以是“C1-C6羟烷基”，其指的是C1-C6烷基(例如C1-C4烷基、C1-C3烷基等)中的一个或多个氢原子被羟基替代后得到的基团，例如，羟甲基、2-羟基乙基等。烷基、C1-C6烷基、C1-C4烷基或C1-C3烷基的定义如上所述。

- [0250] 本公开中，术语“烷氧基”指的是任意上述烷基(例如C1-C6烷基、C1-C4烷基、C1-C3烷基等)，其通过氧原子(-O-)连接到分子的其余部分。
- [0251] 本公开中，术语“环烷基”是指具有饱和碳环的单环系统的烃基，例如可以为C3-C6环烷基，具体可以为环丙基、环丁基、环戊基、环己基等。
- [0252] 卤素指的是氟、氯、溴或碘。
- [0253] 本公开中，术语“芳基”是指被取代的和未被取代的芳香族6-元单环基团、10-元二环基团和10-元以上三环基团，且所有环中均不含有杂原子，均为环碳原子。具体地，芳基可以是苯基或萘基。
- [0254] 本公开中，术语“杂芳基”是指在至少一个环中具有至少一个杂原子(N、O或S)的被取代的和未被取代的芳香族5-元或6-元单环基团、8-元、9-元或10-元二环基团和11-元至14-元三环基团，该含杂原子环任选还具有1个、2个或3个选自N、O或S的杂原子。其中，在至少一个环中具有至少一个杂原子(N、O或S)的被取代的和未被取代的芳香族8-元、9-元或10-元二环基团和11-元至14-元三环基团即为“稠杂芳基”。为二环或三环的杂芳基，需要二环或三环整体结构形成芳香体系。杂芳基可在任一环的任一可用氮或碳原子上连接。且本领域技术人员可以理解，稠环中每两个环之间共用两个相邻的原子(优选碳原子)。
- [0255] 示例性单环杂芳基包括但不限于：吡咯基、吡唑基、咪唑基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、噻二唑基、异噻唑基、呋喃基、噻吩基、恶二唑基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、哒嗪基、三嗪基、三氮唑基等。
- [0256] 示例性二环杂芳基包括但不限于：吲哚基、5-氮杂吲哚基、吡咯并[2,3-d]嘧啶基、5,6-二氮杂吲哚基、6-氮杂吲哚基、7-氮杂吲哚基、吡唑并[3,4-b]吡啶基、吡咯并[2,3-c]哒嗪基、噻吩并[2,3-d]咪唑基、噻吩并[2,3-d]咪唑基、吡唑并[3,4-c]吡啶基、苯并噻唑基、苯并咪唑基、苯并噁唑基、苯并噻吩基、喹啉基、异喹啉基、苯并呋喃基、吲嗪基、喹喔啉基、吲唑基、吡咯并嘧啶基、呋喃并吡啶基、异吲哚基等。
- [0257] 本公开中，术语“杂环”、“杂环的”或“杂环基”可互换使用并且是指被取代的和未被取代的3-元至7-元(优选4-7元、更优选5-6元)单环基团、7-元至11-元二环基团和10-元至15-元三环基团，其中可以包含一个或多个双键，但不构

成芳香环；其中至少一个环具有至少一个杂原子(N、O或S)。完成二环和三环基团的稠环可仅含有碳原子且可为饱和或部分饱和，不构成芳香环。杂环基团可在任何可用氮或碳原子上连接。

[0258] 示例性单环杂环基包括氮杂环丁基、氧杂环丁基、吡咯烷基、咪唑啉基、噁唑烷基、异噁唑啉基、噻唑烷基、四氢呋喃基、哌啶基、哌嗪基、2-氧代哌嗪基、2-氧代哌啶基、2-氧代吡咯烷基、2-氧代氮杂环庚三烯基、1-吡啶酮基、4-哌啶酮基、四氢吡喃基、吗啉基、1,3-二氧杂环戊烷基等。

[0259] 其中，“饱和杂环”指的是上述定义的杂环中不含有不饱和键，如不含有双键，例如，“含氮饱和杂环基”可以是



[0260] 本公开中，术语“被取代的”或“取代的”或“取代”可以互换使用，是指指定原子或基团上的任一或多个氢被指定基团的选择替代，条件为不超过指定原子的正常价态。其中，取代基可以是一个或多个，每个取代基各自独立地选自氘、卤素、烷基、环烷基、烷氧基、芳基、杂芳基、杂环基，其中，卤素、烷基、环烷基、烷氧基、芳基、杂芳基、杂环基如上文所定义。

[0261] 从所有上述描述中，对本领域技术人员显而易见的是，其名称是复合名称的任意基团，例如“环烷基烷基”，应该指的是常规地从左向右从其衍生的部分例如从被“环烷基”取代的“烷基”来构建，其中环烷基、烷基如上文所定义。

附图说明

[0262] 图1表示A431细胞表面CD33靶点表达情况；

[0263] 图2表示HEL92.1.7细胞表面靶点CD33表达情况；

[0264] 图3表示CMK细胞表面靶点CD33表达情况；

[0265] 图4表示U937细胞表面靶点CD33表达情况；

[0266] 图5表示HL-60细胞表面靶点CD33表达情况；

[0267] 图6、图7、图8、图9、图10分别表示4个AML细胞株与A431作为CD33靶细胞的杀伤实验结果；

[0268] 图11表示N87细胞表面靶点Trop2表达情况；

[0269] 图12表示A431+SW620异质瘤细胞表面靶点Trop2表达情况；

- [0270] 图13、图14分别表示2个不同Trop2靶点表达的细胞杀伤实验结果；
- [0271] 图15、图16、图17、图18分别表示4个不同HER2靶点表达的细胞杀伤实验结果；
- [0272] 图19、图20分别表示抗CD33的抗体药物偶联物(单毒ADC、双毒ADC)与重组人CD33蛋白的结合情况。

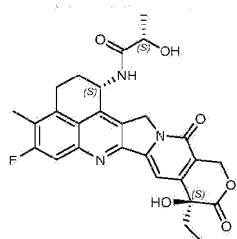
有益效果

- [0273] 1、在本公开的ADC药物中，利用毒素损伤癌细胞的同时抑制癌细胞损伤修复从而导致癌细胞死亡的合成致死概念，比联合用药使用细胞损伤修复抑制剂用量更少，进一步减少可能的正常细胞损伤。
- [0274] 2、本公开的具有损伤修复抑制剂的ADC中，可以使中等毒性的毒素药物增加敏感性(或可增加中等毒性类药物的利用度或者给药方式)。
- [0275] 3、本公开的具有损伤修复抑制剂的ADC中，使用毒素药物为高毒化合物时，可以扩大窗口。

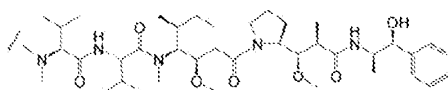
具体实施方式

- [0276] 以下通过具体实施方式的描述对本公开作进一步说明，但这并非是对本公开的限制。本领域技术人员根据本公开的教导，可以做出各种修改或改进，而不脱离本公开的基本思想和范围。所用试剂或仪器未注明生产厂商者，均为可以通过市购获得的常规产品。
- [0277] 本申请公开了一种靶向蛋白同时偶联DNA损伤修复抑制剂和其他药物的抗体药物偶联物。具体而言，在一些实施方案中，本申请将DNA损伤抑制剂和其他药物之一偶联到靶向蛋白原有的链间二硫键半胱氨酸(Cys)残基上；并将剩下的另一种药物以定点偶联的方式连接到该靶向蛋白的半胱氨酸(Cys)残基上，定点偶联的机制为定点突变靶向蛋白上的部分原有氨基酸成为半胱氨酸或定点插入半胱氨酸或一段含半胱氨酸的多肽。
- [0278] 本公开中，部分药物的缩写及其结构式对应关系如下所示：

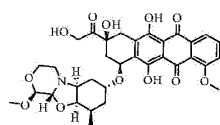
[0279] XD-01:



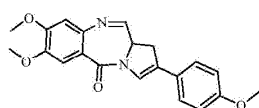
[0280] MMAE:



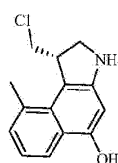
[0281] PNU159682:



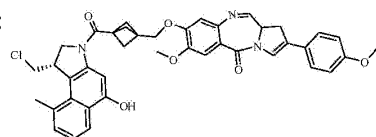
[0282] PBD:



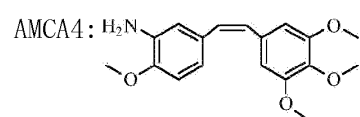
[0283] CBI:



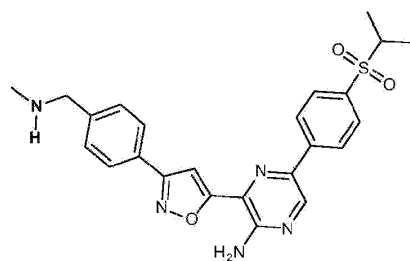
[0284] PBD-CBI:



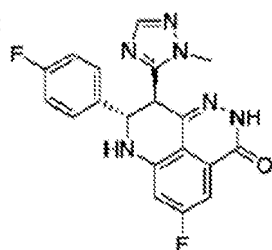
[0285]



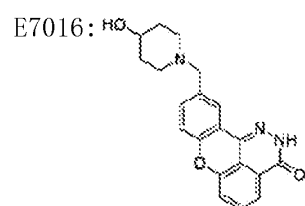
[0286] VE-822:



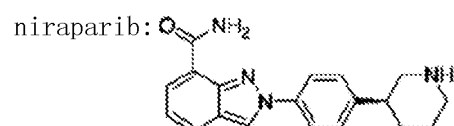
[0287] Talazoparib:



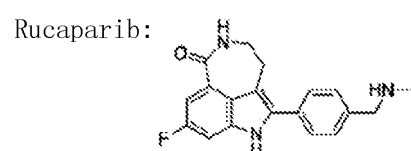
[0288]



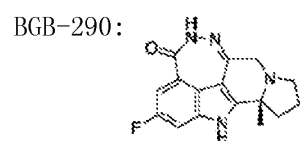
[0289]



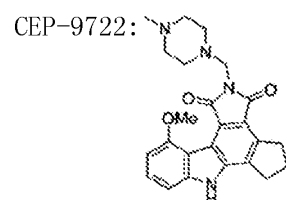
[0290]



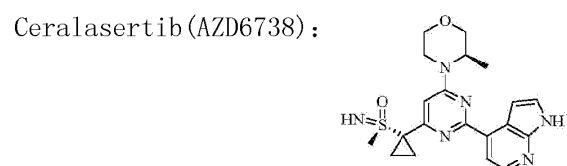
[0291]



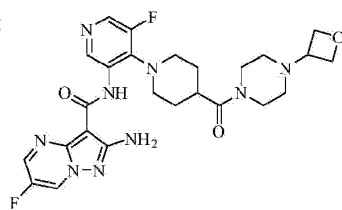
[0292]



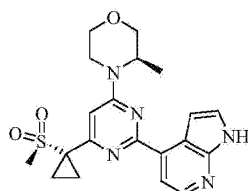
[0293]



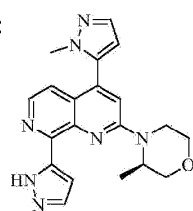
[0294] VX-803 (M4344) :



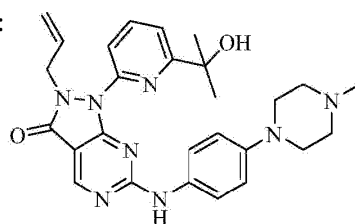
[0295] AZ20:



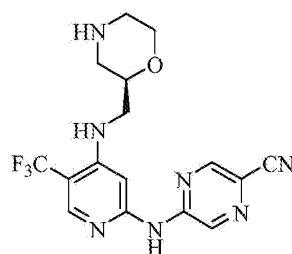
[0296] Elimusertib (BAY-1895344) :



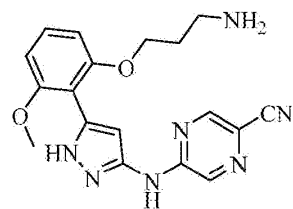
[0297] Adavosertib (MK-1775, AZD1775) :



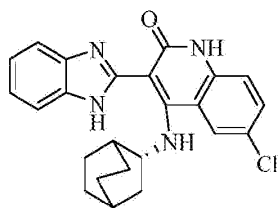
[0298] SRA737 (CCT245737, PNT-737) :



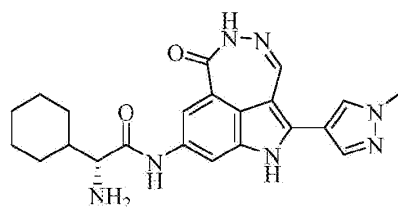
[0299] Prexasertib (LY2606368, ACR368) :



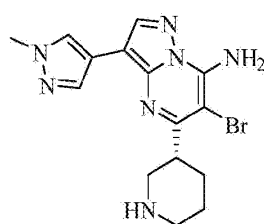
[0300] CHIR-124:



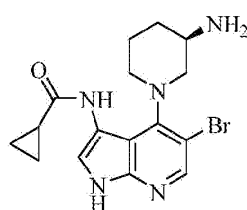
[0301] PF-477736 (PF-736):



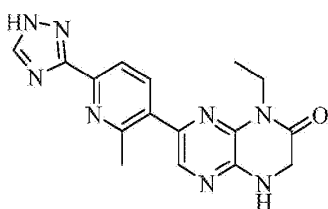
[0302] MK-8776 (SCH 900776):



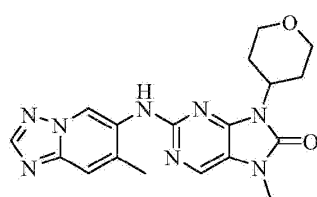
[0303] GDC-0575 (ARRY-575, RG7741):



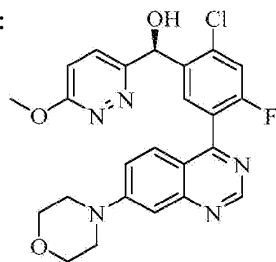
[0304] CC-115:



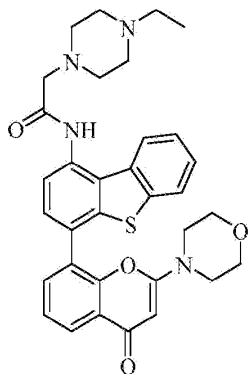
[0305] AZD7648:



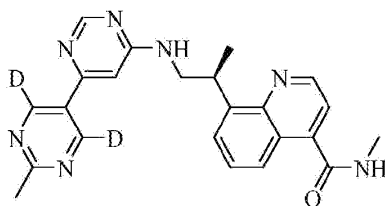
[0306] Nedisertib (M3814, Peposertib):



[0307] KU-0060648:



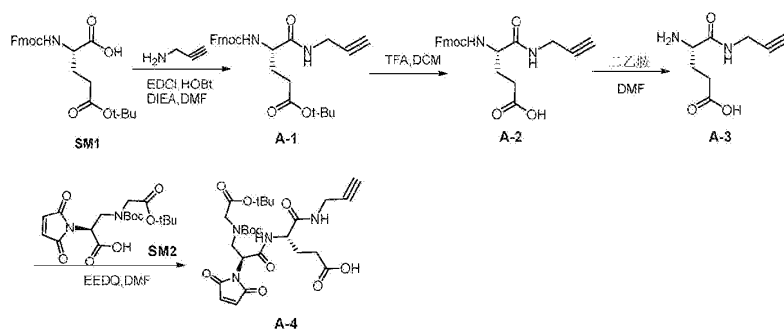
[0308] VX-984 (M9831):



[0309] 下面结合具体实施例对本发明进行进一步的解释说明。如无特别说明，反应原料均可以市购获得。

[0310] 实施例1

[0311] 化合物A-4的合成:



[0312] 第一步：化合物A-1的合成

[0313] 在2L单口瓶中加入Fmoc-L-谷氨酸-5-叔丁酯(SM1, 200g, 470mmol), 炔丙胺(28.5g, 517mmol), 400mL DMF, 溶清, 冰水浴降至0℃左右, 加入EDCI(108.2g, 564mmol), HOBt(76.2g, 564mmol)及DIEA(117mL, 705mmol), 升至室温反应2h, TLC监测反应终点。反应结束后, 将反应液倒入2L水中, 加入乙酸乙酯萃取三次(500mL*3), 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液洗涤两次, 再用无水硫酸钠干燥。过滤出去硫酸钠, 滤液浓缩得粗品。粗品经过石油醚/乙酸乙酯(2/1)精制, 得到化合物A-1(100.9g), 收率48%, LCMS: $[M+H]^+ = 463.2$ 。

[0314] 第二步：化合物A-2的合成

[0315] 于1L单口瓶中, 加入A-1(100.0g), 500mL二氯甲烷溶解, 再加入200mL三氟乙酸, 室温反应2h, TLC监测反应终点。反应结束后, 浓缩除去DCM及部分三氟乙酸, 得粗品。向粗品中加入甲叔醚, 析出白色固体, 过滤, 干燥, 得化合物A-2(77.5g), 收率87%, LCMS: $[M-H]^- = 405.1$ 。

[0316] 第三步：化合物A-3的合成

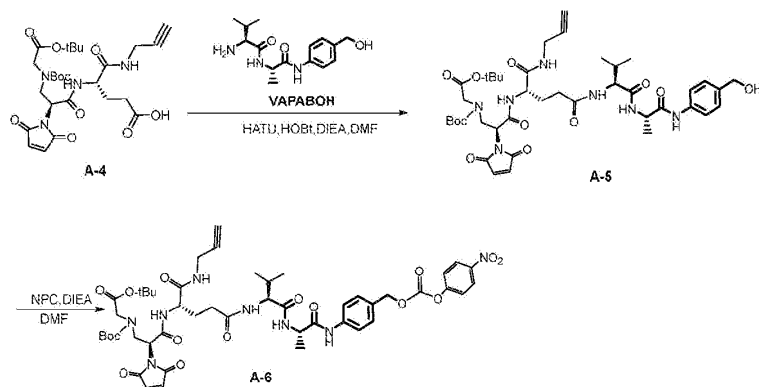
[0317] 于2L单口瓶中, 加入A-2(77.0g), 150mL DMF溶解, 再加入38mL二乙胺, 室温反应2h, TLC监测反应终点。反应结束后, 向反应液中加入800mL甲叔醚, 析出白色固体, 过滤, 干燥, 得化合物A-3(33.7g), 收率96.6%, LCMS: $[M-H]^- = 183.1$ 。

[0318] 第四步：化合物A-4的合成

[0319] 于100mL单口瓶中, 加入化合物A-3(10.02g, 54.4mmol), 化合物SM2(14.48g, 36.3mmol)[参照专利CN108452321的合成方法], 100mL DMF溶解, 再加入EEDQ(13.5g, 54.8mmol), 室温反应2h, HPLC监测反应终点。反应结束后, 反应液经过制备液相纯化, 得产品制备液, 制备液冻干, 得化合物A-4(9.94g), 收率48%, LCMS: $[M-H]^- = 563.2$ 。

[0320] 实施例2

[0321] 化合物A-6的合成:



[0322] 第一步：化合物A-5的合成

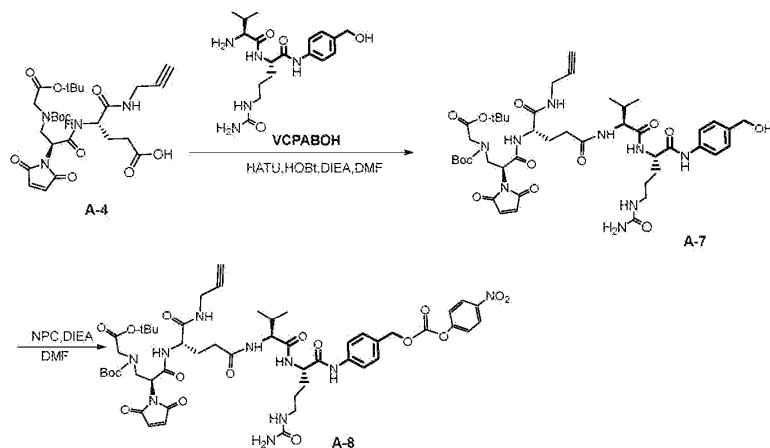
[0323] 于250mL单口瓶中，加入化合物A-4 (6.38g, 11.3mmol)，化合物VAPAB-OH (3.98g, 13.56mmol)，50mL DMF溶解，再加入EDCI (2.6g, 13.56mmol)，HOBT (1.83g, 13.56mmol) 及DIEA (2.8mL, 16.96mmol)，室温反应2h，HPLC监测反应终点。反应结束后，反应液经过制备液相纯化，得产品制备液，制备液冻干，得白色固体化合物A-5 (5.07g)，收率53%，LCMS: $[M+H]^+ = 840.4$ 。

[0324] 第二步：化合物A-6的合成

[0325] 于100mL单口瓶中，加入化合物A-5 (3.94g, 4.7mmol)，化合物二(对硝基苯)碳酸酯(NPCl₂, 8.56g, 28.14mmol)，40mL DMF溶解，再加入DIEA (2.32mL, 14.07mmol)，室温反应1.5h，TLC监测反应终点。反应结束后，反应液经过柱层析纯化，得化合物A-6 (3.9g)，收率83%，LCMS: $[M+H]^+ = 1005.4$ 。

[0326] 实施例3

[0327] 化合物A-8的合成：



[0328] 第一步：化合物A-7的合成

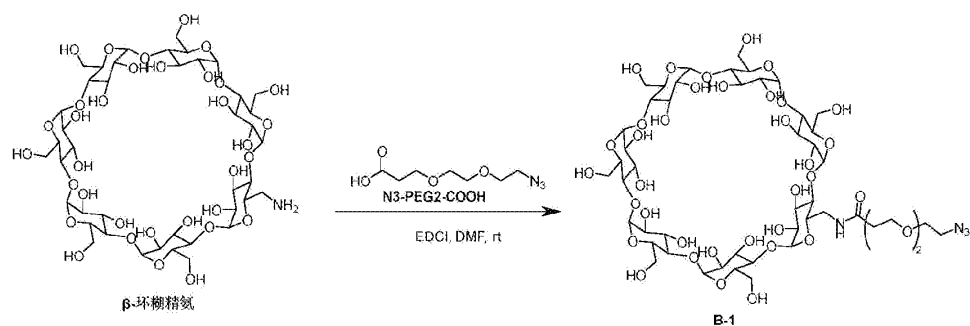
[0329] 于50mL单口瓶中，加入化合物A-4 (2.5g, 4.4mmol)，化合物VCPAB-OH (2.0g, 5.28mmol)，25mL DMF溶解，再加入EDCI (1.01g, 5.28mmol)，HOBT (0.72g, 5.28mmol) 及DIEA (1.1mL, 6.6mmol)，室温反应2h，HPLC监测反应终点。反应结束后，反应液经过制备液相纯化，得产品制备液，制备液冻干，得白色固体化合物A-7 (1.96g)，收率48%，LCMS: $[M+H]^+ = 926.4$ 。

[0330] 第二步：化合物A-8的合成

[0331] 于50mL单口瓶中，加入化合物A-7 (1.85g, 2.0mmol)，化合物二(对硝基苯)碳酸酯(NPCl₂, 3.65g, 12.0mmol)，15mL DMF溶解，再加入DIEA (1.05mL, 6.0mmol)，室温反应1.5h，TLC监测反应终点。反应结束后，反应液经过柱层析纯化，得化合物A-8 (1.77g)，收率81%，LCMS: $[M+H]^+ = 1091.5$ 。

[0332] 实施例4

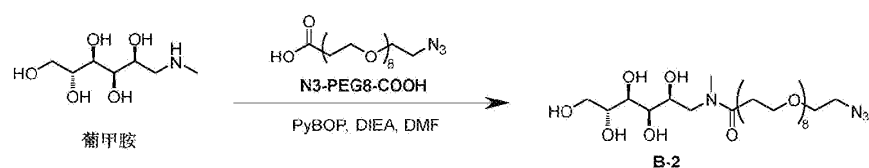
[0333] 化合物B-1的合成：



[0334] 于25mL单口瓶中, 加入β-环糊精氨(单(6-氨基-6-去氧)-β-环糊精, 购买, 2.0g, 1.76mmol), 化合物N3-PEG2-COOH(购买, 428.8mg, 2.11mmol), 7mL DMF溶解, 再加入EDCI(405mg, 2.11mmol), 室温反应2h体系由浑浊变澄清, 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, 得白色固体化合物B-1(1.68g), 收率72%, LCMS: $[M+H]^+ = 1319.5$ 。

[0335] 实施例5

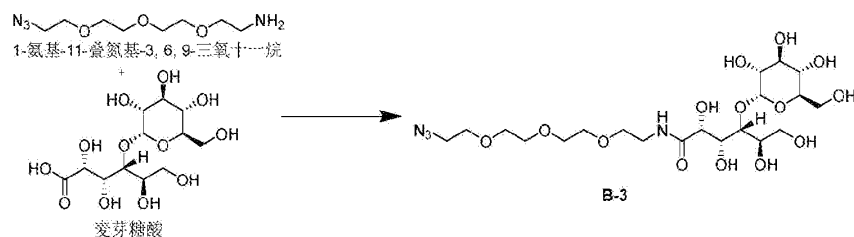
[0336] 化合物B-2的合成:



[0337] 于100mL单口瓶中, 加入葡甲胺(3.0g, 6.4mmol), 化合物N3-PEG8-COOH(购买, 1.5g, 7.68mmol), 24mL DMF溶解, 再加入PyBOP(4.0g, 7.68mmol), DIEA(1.58mL, 9.6mmol), 室温反应2h, HPLC监测反应, 待无明显进展, 结束反应, 反应液经过制备液相纯化, 得产品制备液, 制备液冻干, 得浅黄色油状物B-2(3.27g), 收率32%, LCMS: $[M+H]^+ = 645.3$ 。

[0338] 实施例6

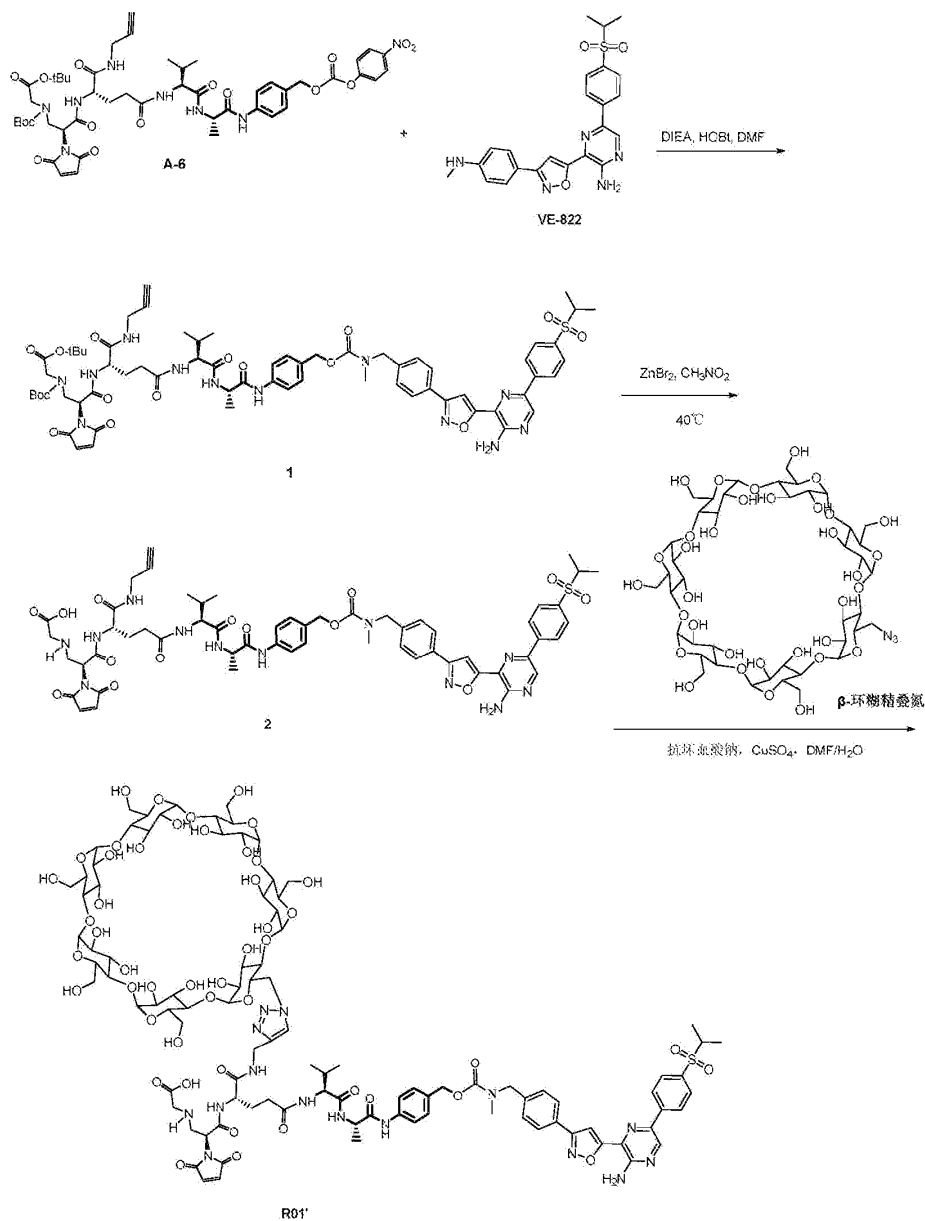
[0339] 化合物B-3的合成:



[0340] 室温下，将麦芽糖酸(7.0g, 19.5mmol)溶解于70mL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24h，直接将反应液减压浓缩，所得粗产品溶解于5mL甲醇中，随后依次加入30mL氯仿及100mL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30mL水中，冻干得到5.6g白色固体化合物B-3；LC-MS m/z (M+H)⁺:559.3.

[0341] 实施例7

[0342] 化合物R01'的合成：



[0343] 第一步：化合物1的合成

[0344] 于25mL单口瓶中，加入化合物VE-822(840.5mg, 1.81mmol)，

A-6(1.9231g, 1.90mmol), HOBt(369.0mg, 2.72mmol)，10mL DMF溶解，再加入DIEA(300uL, 1.81mmol)，室温反应1h，TLC监测反应。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，得到黄色固体化合物1(1.9270g)，收率80%，LCMS: $[\text{M}+\text{H}]^+=1329.6$ 。

[0345] 第二步：化合物2的合成

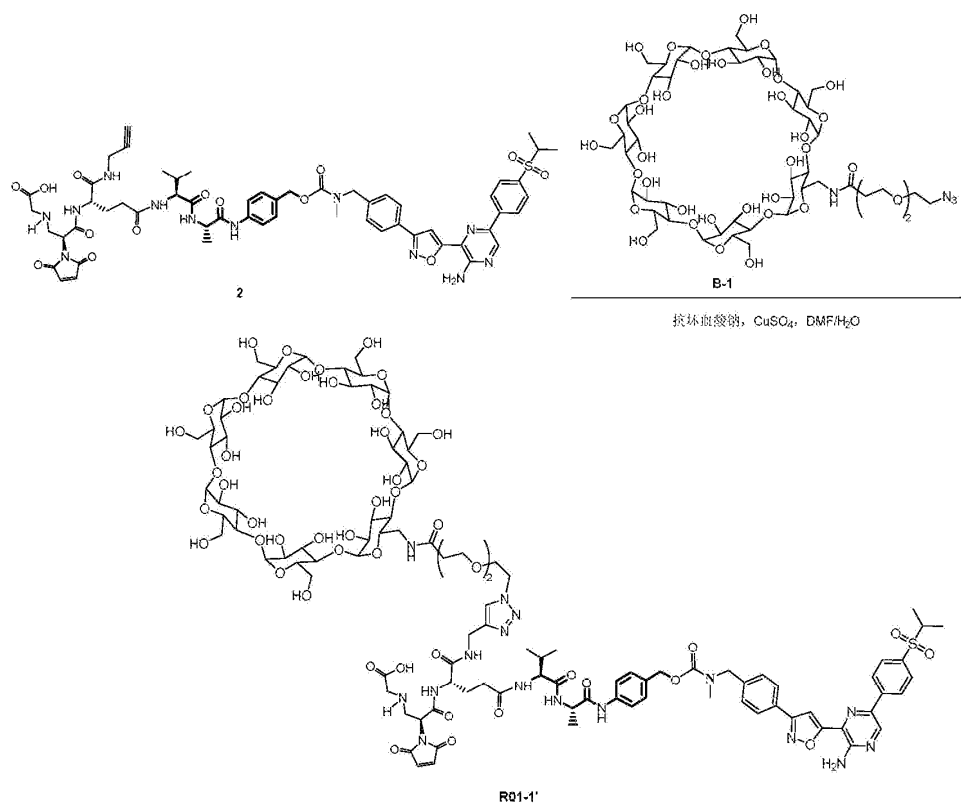
[0346] 于100mL单口瓶中，加入化合物1 (604.2mg, 0.45mmol)，溴化锌 (2017.6mg, 9.09mmol)，18mL CH_3NO_2 ，成为均匀黄色浑浊液，40℃反应0.5h，水泵减压45℃浓缩除去溶剂，HPLC监测反应终点。浓缩物经过高效液相制备纯化，得到产品制备液，制备液冻干，得到化合物2 (225.6mg)，收率42%，LCMS: $[\text{M}+\text{H}]^+=1173.4$ 。

[0347] 第三步：化合物R01'的合成

[0348] 于10mLPE管中，加入化合物2 (27.73mg, 0.02mmol)， β -环糊精叠氮 (购买，33.0mg, 0.026mmol)，2mLDMF及0.2mL水溶解，再加入 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (38.07mg, 0.075mmol)，抗坏血酸钠 (21.99mg, 0.075mmol)，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R01' (46.11mg)，收率83.6%，LC-MS: $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}=1167.4$ 。

[0349] 实施例8

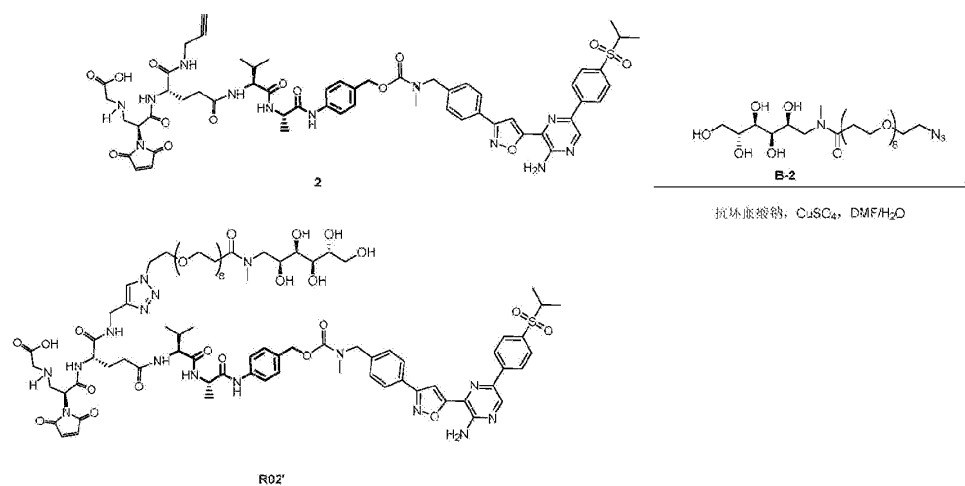
[0350] 化合物R01-1'的合成：



[0351] 于50mL圆底烧瓶中, 加入化合物2(379.8mg, 0.32mmol), B-1(480.65mg, 0.364mmol), 4mLDMF及0.4mL水溶解, 再加入 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (262.8mg, 1.1mmol), 抗坏血酸钠(206.1mg, 1.04mmol), 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R01-1' (386.4mg), 收率48%, LC-MS: $[\text{M}+2\text{H}]^{2+} = 1247.0$ 。

[0352] 实施例9

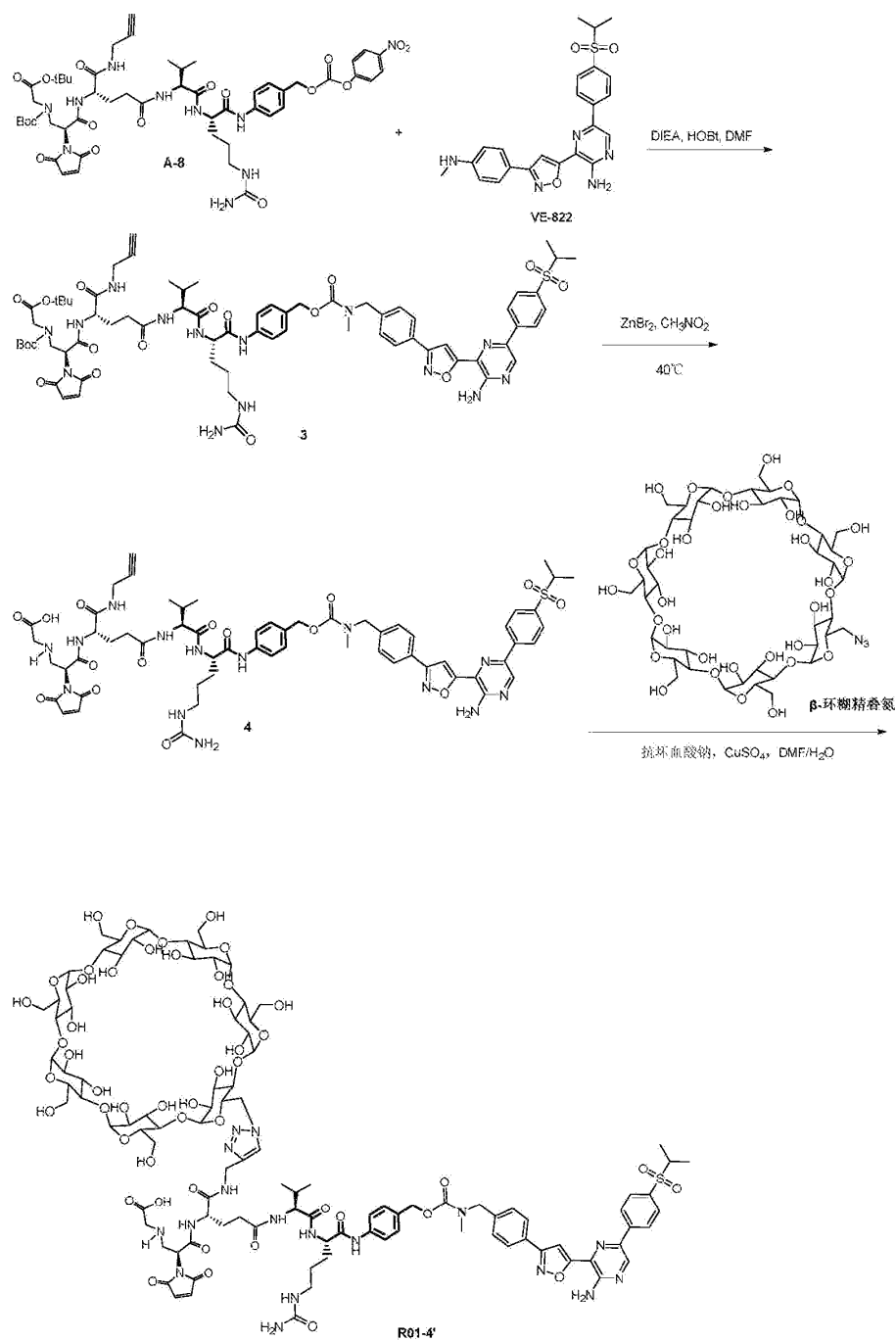
[0353] 化合物R02' 的合成:



[0354] 于50mL圆底烧瓶中, 加入化合物2 (105.2mg, 0.09mmol), B-2 (72.3mg, 0.112mmol), 4mLDMF及0.8mL水溶解, 再加入 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (69.9mg, 0.28mmol), 抗坏血酸钠 (59.46mg, 0.30mmol), 室温反应0.5h, 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R02' (120.8mg), 收率74%, LC-MS: $[\text{M}+2\text{H}]^{2+} = 909.4$ 。

[0355] 实施例10

[0356] 化合物R01-4' 的合成:



[0357] 第一步：化合物3的合成

[0358] 于10mLPE管中，加入化合物VE-822(28.77mg, 0.062mmol)

，A-8(70.77g, 0.065mmol), HOBt(13.62mg, 0.10mmol)，1mL DMF溶解，再加入

DIEA(10uL, 0.062mmol), 室温反应1h, TLC监测反应。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, 得到黄色固体化合物3(75.44mg), 收率86%, LCMS: $[M+H]^+ = 1415.6$ 。

[0359] 第二步: 化合物4的合成

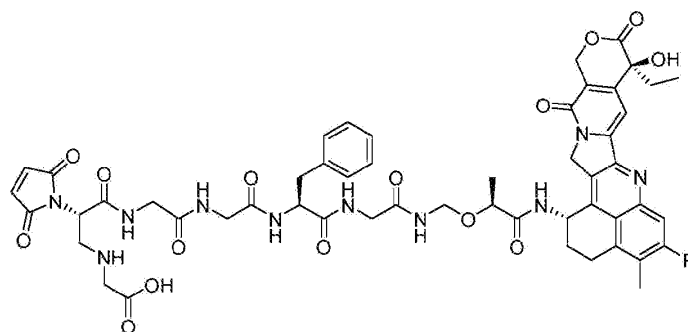
[0360] 于25mL圆底烧瓶中, 加入化合物3(75.0mg, 0.053mmol), 溴化锌(238.95mg, 1.07mmol), 7.5mL CH_3NO_2 , 40℃反应0.5h, 水泵减压45℃浓缩除去溶剂, HPLC监测反应终点。浓缩物经过高效液相制备纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干, 得到化合物4(18.82mg), 收率28%, LCMS: $[M+H]^+ = 1259.5$ 。

[0361] 第三步: 化合物R01-4' 的合成

[0362] 于10mLPE管中, 加入化合物4(18.5mg, 0.015mmol), β -环糊精叠氮(19.5mg, 0.017mmol), 1mLDMF及0.1mL水溶解, 再加入 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (5.12mg, 0.02mmol), 抗坏血酸钠(4.02mg, 0.02mmol), 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R01-4' (21.6mg), 收率60%, LC-MS: $[M+2H]^{2+} = 1210.3$ 。

[0363] 实施例11

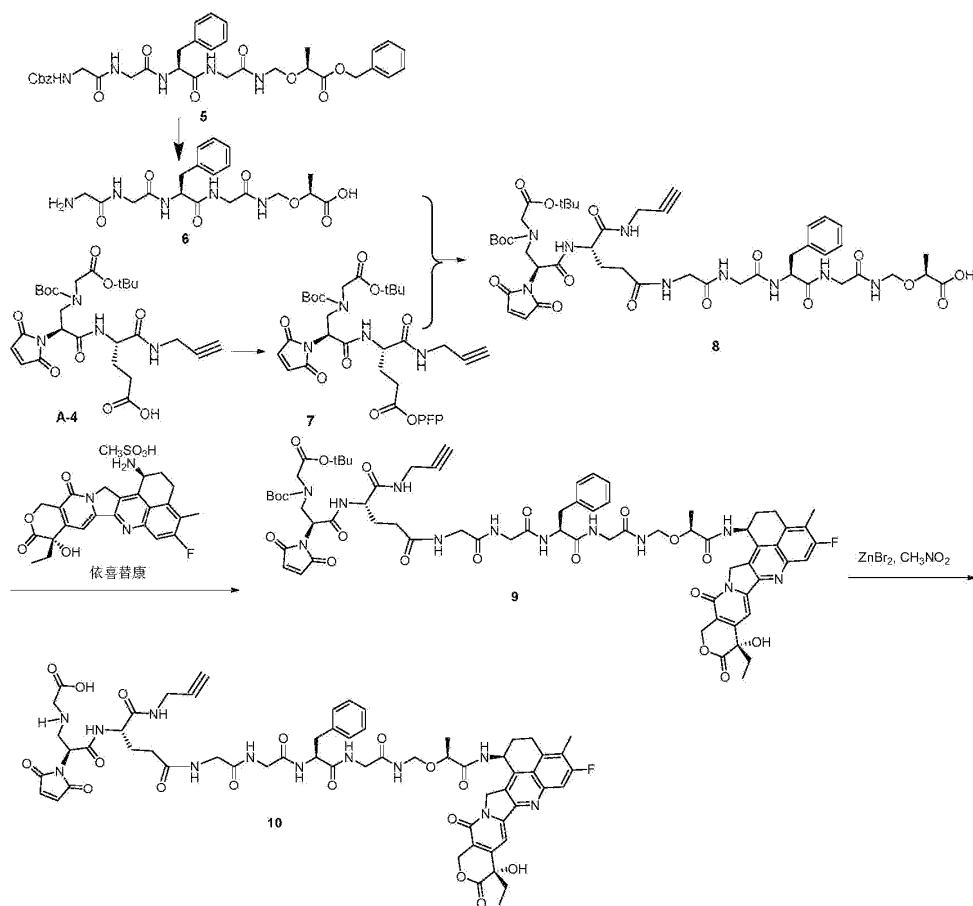
[0364] 化合物Ex01' 的合成:



[0365] 参照我公司专利CN113827736A合成化合物Ex01'。

[0366] 实施例12

[0367] 化合物10的合成:



[0368] 第一步：化合物6的合成

[0369] 于50mL单口瓶中加入化合物5(1.0g, 1.51mmol, 参考专利W02020

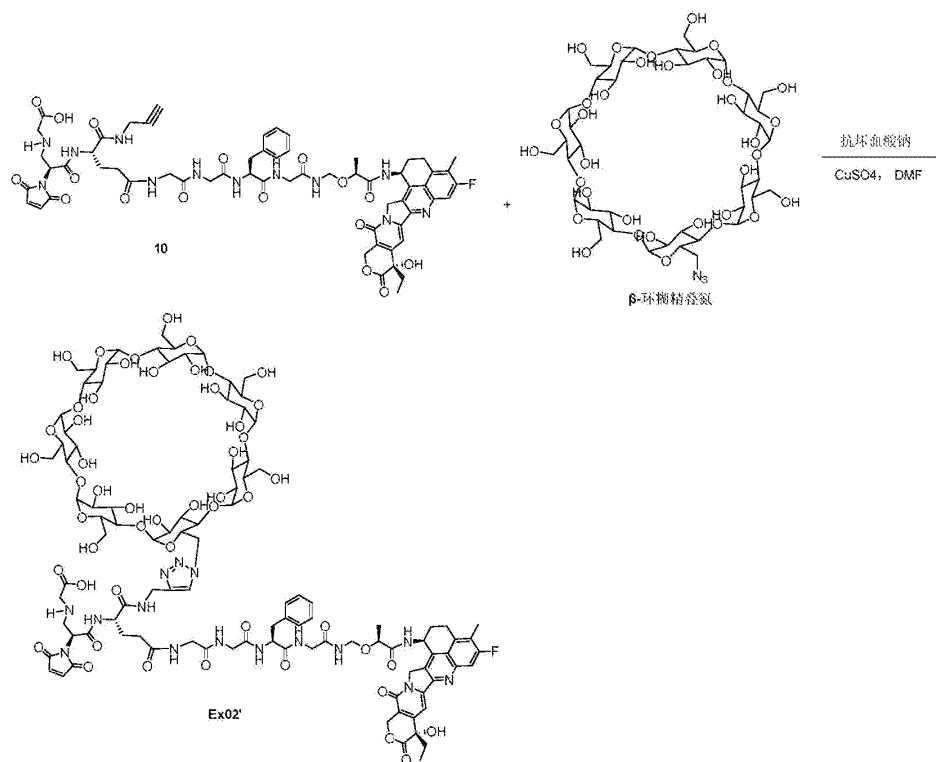
063676A1), 15mL DMF溶清, 加入5%Pd/C(1.0g), 室温氢化反应2h, HPLC监测反应终点。过滤, 滤液备用, 记为滤液1;

[0370] 第二步：化合物7的合成

[0371] 另取50mL单口瓶中加入化合物A-4(0.85g, 1.51mmol), 15mL DMF溶清, 冰水浴下加入DCC(1.55g, 7.56mmol), 五氟苯酚(0.31g, 1.66mmol), 升至室温反应2h, TLC监测反应终点。反应完毕, 过滤, 得滤液, 记为滤液2;

[0372] 第三步：化合物8的合成

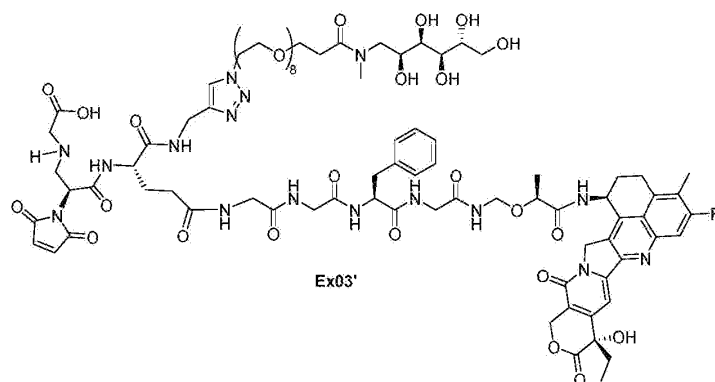
- [0373] 在冰水浴下，将滤液1加至滤液2中，升至室温反应1h，HPLC监测反应终点。
- 反应完毕，反应液经过高效液相制备纯化，得产品制备液，制备液冻干，得到805mg白色固体化合物8，收率54%，LC-MS m/z (M+H)⁺:985.2。
- [0374] 第四步：化合物9的合成
- [0375] 于50mL单口瓶中加入化合物8(500mg, 0.51mmol)，10mL DMF溶清，冰水浴下依次加入PyBOP(396mg, 0.76mmol)，HOBt(103mg, 0.76mmol)，依喜替康·甲磺酸盐(270mg, 0.51mmol)，再加入DIEA(252uL, 1.52mmol)，升至室温反应2h，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500mg白色固体化合物9，收率70%，LC-MS m/z (M+H)⁺:1402.2。
- [0376] 第五步：化合物10的合成
- [0377] 于100mL圆底烧瓶中，加入化合物9(450.1mg, 0.32mmol)，溴化锌(1448.2mg, 6.42mmol)，30mL CH₃NO₂，45℃反应0.5h，水泵减压45℃浓缩除去溶剂，HPLC监测反应终点。浓缩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10(203.9mg)，收率51%，LCMS: [M+H]⁺=1245.6。
- [0378] 实施例13
- [0379] 化合物Ex02'的合成：



[0380] 于10mLPE管中加入化合物10(100.1mg, 0.081mmol)、β-环糊精叠氮(100.5mg, 0.087mmol)，再加入2mLDMF溶清，0.2mL纯化水溶解，再加入CuSO₄·5H₂O(20.1mg, 0.081mmol)，抗坏血酸钠(16.0mg, 0.081mmol)，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Ex02' (91.6mg)，收率47%，LC-MS: [M+2H]²⁺=1203.0。

[0381] 实施例14

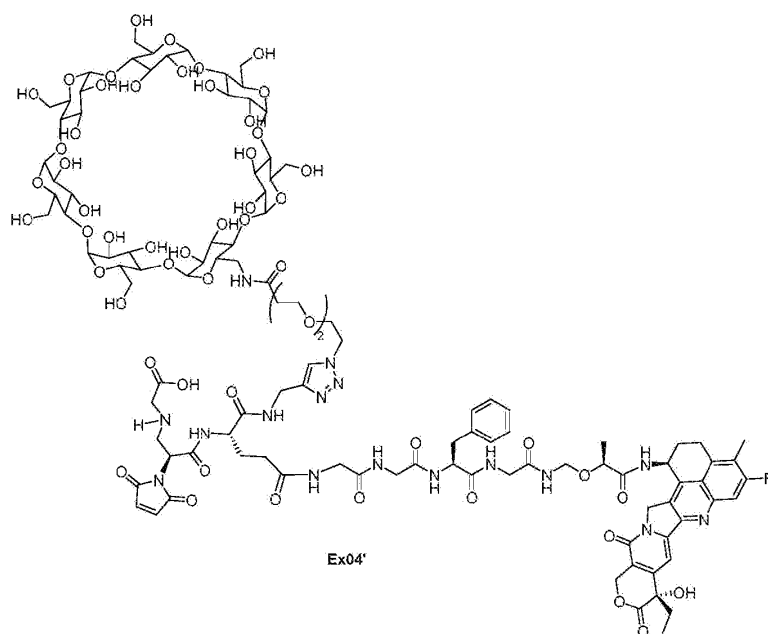
[0382] 化合物Ex03' 的合成



[0383] 参照实施例9的合成路线，以化合物10和化合物B-2得到化合物Ex03' (57.8 mg)；LC-MS m/z ($M+2H$)²⁺:1023.9。

[0384] 实施例15

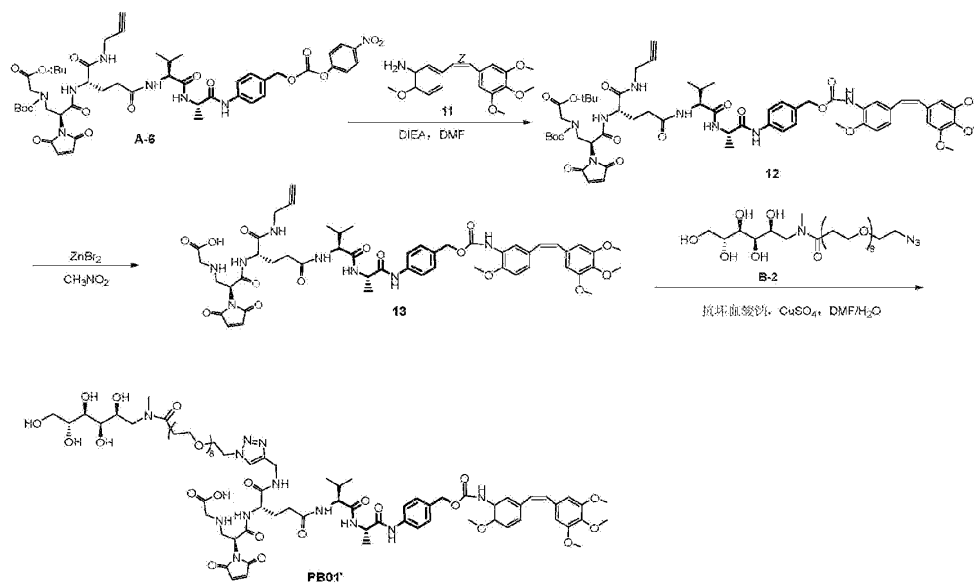
[0385] 化合物Ex04' 的合成



[0386] 参照实施例8的合成路线，以化合物10和化合物B-1合成化合物Ex04' (125.2mg)；LC-MS m/z ($M+2H$)²⁺:1282.8。

[0387] 实施例16

[0388] 化合物PB01' 的合成：



[0389] 第一步：化合物12的合成

[0390] 于25mL单口瓶中，加入化合物A-6 (100mg, 0.099mmol)，化合物11 (购买，31.3mg, 0.099mmol)，5mL DMF溶解，再加入DIEA (32.8μL, 0.199mmol)，室温反应2h，HPLC监测反应终点。反应结束后，反应液经过高效液相制备纯化，得到产品制备液，制备液冻干，得到化合物12 (75.8mg)，收率64.5%，LCMS: $[M+H]^+ = 1181.5$ 。

[0391] 第二步：化合物13的合成

[0392] 于25mL单口瓶中，加入化合物12 (75mg, 0.063mmol)，溴化锌 (285.7mg, 1.27mmol)，10mL CH₃NO₂溶解，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13 (49.6mg)，收率76.3%，LCMS: $[M+H]^+ = 1025.4$ 。

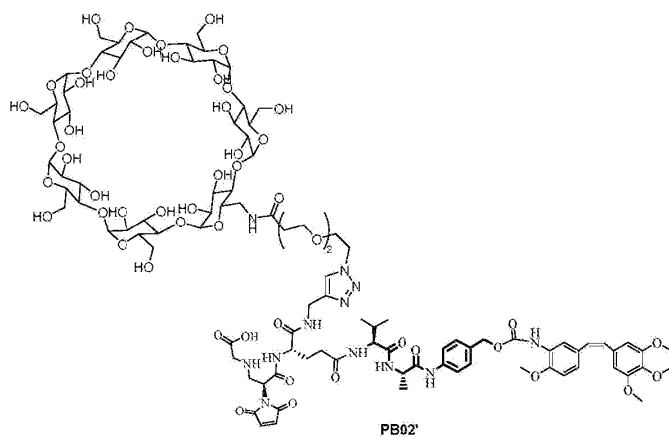
[0393] 第三步：化合物PB01'的合成

[0394] 于25mL单口瓶中，加入化合物13 (25mg, 0.024mmol)，化合物B-2 (15.8mg, 0.024mmol)，2mL DMF及1mL水溶解，再加入CuSO₄ · 5H₂O (6.7mg, 0.026mmol)，抗坏血酸钠 (5.3mg, 0.026mmol)，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PB01' (33.1mg)，收率82.5%，LC-MS: $[M+2H]^{2+}_{m/z} = 835.5$ 。

[0395] 实施例17

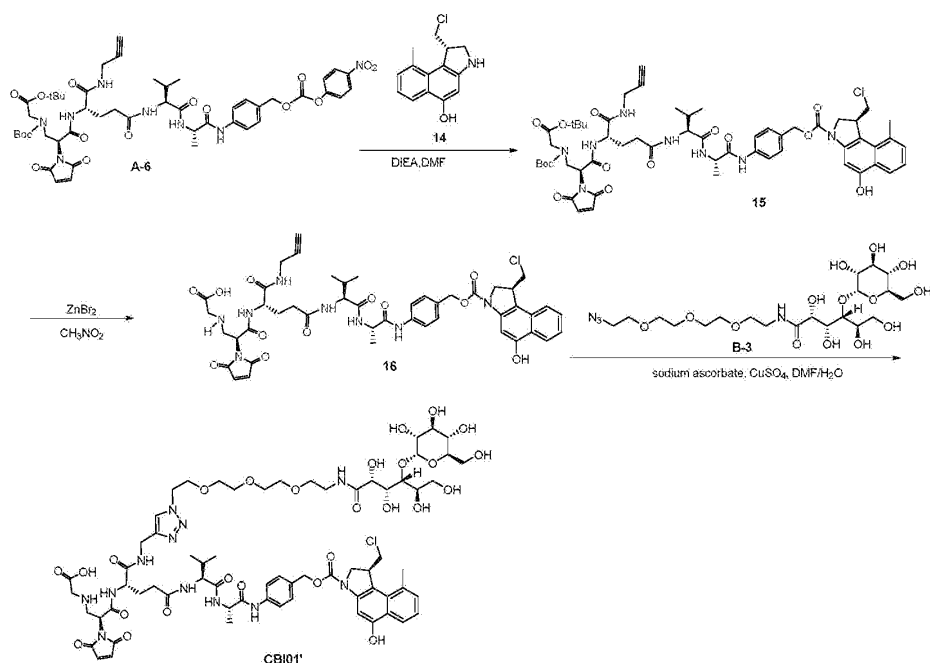
[0396] 化合物PB02' 的合成:



[0397] 参照实施例8的合成路线，以化合物13和化合物B-1合成化合物PB02' (43.6 mg)，收率77.5%，LC-MS: $[M+2H]^{2+}_{m/z} = 1173.1$ 。

[0398] 实施例18

[0399] 化合物CBI01' 的合成:



[0400] 第一步：化合物15的合成

[0401] 于25mL单口瓶中，加入化合物A-6 (231.6mg, 0.23mmol)，化合物14 (购买，50.0mg, 0.22mmol)，10mL DMF溶解，再加入DIEA (42μL, 0.25mmol)，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15 (190.9mg)，收率78%，LCMS: $[M+H]^+ = 1113.5$ 。

[0402] 第二步：化合物16的合成

[0403] 于50mL单口瓶中，加入化合物15 (180.5mg, 0.163mmol)，溴化锌 (740.8mg, 3.28mmol)，10mL CH₃NO₂溶解，室温反应0.5h，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16 (73.8mg)，收率48%，LCMS: $[M+H]^+ = 957.2$ 。

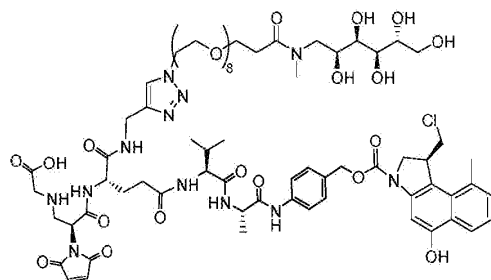
[0404] 第三步：化合物CBI01'的合成

[0405] 于25mL单口瓶中，加入化合物16 (30.5mg, 0.032mmol)，化合物B-3 (18.0mg, 0.035mmol)，2mL DMF及0.5mL水溶解，再加入CuSO₄ · 5H₂O (8.0mg, 0.032mmol)，抗坏血酸钠 (6.4mg, 0.032mmol)，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CBI01' (29.5mg)，收率62.5%，LC-MS: $[M+H]^+ m/z = 1515.6$ 。

[0406] 实施例19

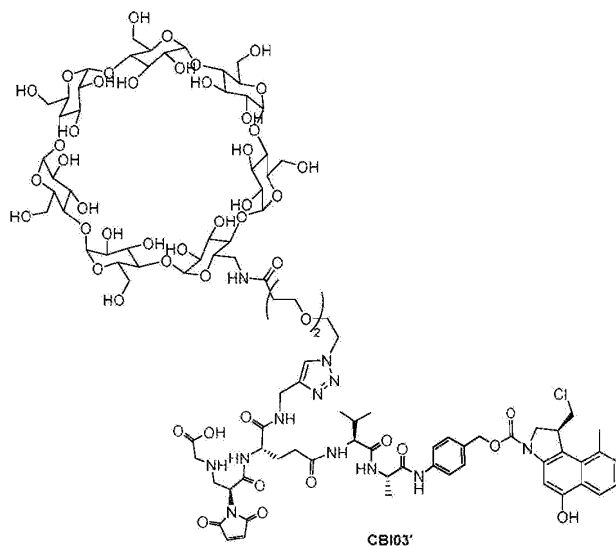
[0407] 化合物CBI02' 的合成



[0408] 参照实施例9的合成路线，以化合物16和化合物B-2得到化合物CBI02' (17.6mg)；LC-MS $m/z (M+2H)^{2+}$: 801.4。

[0409] 实施例20

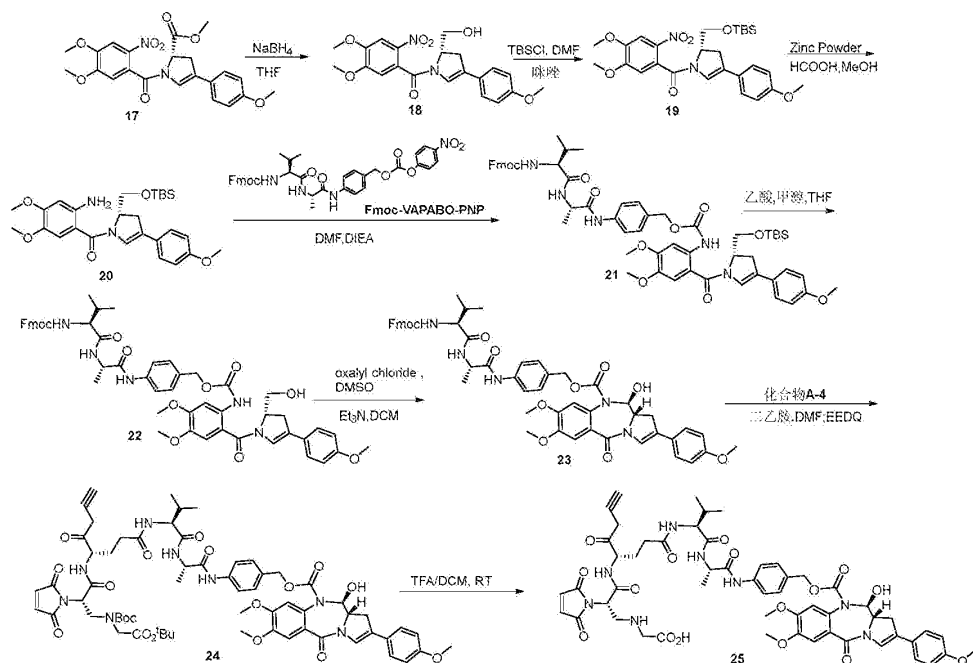
[0410] 化合物CBI03' 的合成



[0411] 参照实施例8的合成路线，以化合物16和化合物B-1合成化合物CBI03' (12.5mg)；LC-MS $m/z (M+2H)^{2+}$: 1138.9。

[0412] 实施例21

[0413] 化合物25的合成:



[0414] 第一步：化合物18的合成

[0415] 参照专利CN102933236A中“化合物26”的合成得到化合物18，在250mL三口瓶中，加入化合物17 (3g, 6.7mmol)，50mL无水THF，氮气保护下，冰水浴维持在0℃，加入硼氢化钠固体(384mg, 10.2mmol)，在0℃下反应30min，升至室温反应2h，TLC监测反应终点。反应结束后，将反应液至于冰水中，缓慢加入50mL水淬灭反应，再加入1N稀HCl直至不冒气泡为止，加入乙酸乙酯萃取(60mL*3)，合并有机相，用饱和氯化钠溶液洗涤两次，无水硫酸钠干燥，过滤，浓缩得粗品。粗品经过柱层析纯化(DCM/MeOH=20:1-5:1)，得到化合物18(2.08g, 黄色固体)，收率74.3%，LC-MS: $[M+H]^+ = 415.1$ 。

[0416] 第二步：化合物19的合成

[0417] 在100mL单口瓶中加入化合物18(2g, 4.8mmol)，TBSCl(1.32g, 8.8mmol)，咪唑(1.2g, 17.6mmol)，15mL无水DMF溶解，室温下反应3h，TLC监测反应终点。反应结束后将反应倒入30mL水中，用DCM萃取(25mL*3)，合并有机相，用水和盐

水洗涤、无水硫酸钠干燥并且减压蒸发，得到粗品。粗品通过柱层析(PE/EA=5:1-1:2)，得到化合物19(2.28g, 黄色固体)，收率89.3%，LC-MS: $[M+H]^+=529.2$ 。

[0418] 第三步：化合物20的合成

[0419] 在100mL单口瓶中加入化合物19(2.2g, 4.16mmol)，5%甲酸/甲醇溶液30mL，冰浴冷却至5℃以下，搅拌下缓慢加入锌粉(5.44g, 83.2mmol)，再升至室温反应1h，TLC监测反应终点。反应结束后趁热过滤，滤饼用少量甲醇洗涤，滤液以饱和碳酸氢钠溶液调pH至7，然后于45℃下减压浓缩，除去溶剂，得到棕黄色油状物，加入60mL DCM，分出有机层，用饱和食盐水洗一次，无水硫酸钠干燥，过滤，于45℃下减压浓缩，得到粗品。粗品经过柱层析纯化(PE: EA=1:1-1:3)，得到化合物20(1.87g, 淡黄色固体)，收率90.1%，LC-MS: $[M+H]^+=500.2$ 。

[0420] 第四步：化合物21的合成

[0421] 在50mL单口瓶中加入化合物20(1.8g, 3.6mmol)，Fmoc-VA-PABO-PNP(购买, 2.45g, 3.6mmol)，15mL DMF溶清，再加入DIEA(893μL, 5.4mmol)，室温反应2h，HPLC监测反应终点。反应结束后，反应液经过高效液相制备纯化，得到产品制备液，再冻干，得到化合物21(2.94g, 淡黄色固体)，收率78.3%，LC-MS: $[M+H]^+=1040.5$ 。

[0422] 第五步：化合物22的合成

[0423] 在50mL单口瓶中加入化合物21(2.9g, 2.78mmol)，8mL THF和8mL水溶解，再加入20mL冰乙酸，室温反应，HPLC监测反应终点。反应结束后，将反应液缓慢地滴入400mL饱和碳酸氢钠溶液中，用乙酸乙酯萃取(100mL*3)，合并有机相，用水和盐水洗涤、无水硫酸钠干燥并且减压蒸发，得到粗品。粗品通过柱层析(DCM/MeOH=10:1-5:1)，得到化合物22(1.94g, 淡黄色固体)，收率75%，LC-MS: $[M+H]^+=926.3$ 。

[0424] 第六步：化合物23的合成

[0425] 于100mL三口瓶中加入化合物22(1.9g, 2.0mmol)，40mL无水DCM溶解，氮气保护下，加入Dess-Martin高碘试剂(0.93g, 2.2mmol)，室温反应4h，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23(1.61g, 类白色固体)，收率85%，LC-MS: $[M+H]^+ = 924.4$ 。

[0426] 第七步：化合物24的合成

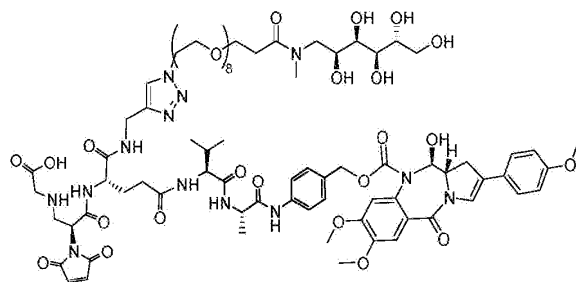
[0427] 于50mL单口瓶中加入化合物23(1.5g, 1.62mmol)，15mLDMF溶清，再加入3mL二乙胺，室温反应1h，TLC监测反应终点。反应结束后，将反应液倒入100mL甲叔醚中，析出固体，过滤，得到脱保护产品。将脱保护产品溶于15mL DMF中，加入化合物A-4(0.92g, 1.62mmol)，EEDQ(0.48g, 1.94mmol)，室温反应2h，HPLC监测反应终点。反应结束后，反应液经过高效液相制备纯化，得到产品制备液，冻干得到化合物24(1.30g, 类白色固体)，收率64.2%，LC-MS: $[M+H]^+ = 1248.5$ 。

[0428] 第八步：化合物25的合成

[0429] 于50mL单口瓶中加入化合物24(500mg, 0.4mmol)，5mLDCEM溶解，再加入三氟乙酸(5mL)，室温反应1h，HPLC监测反应终点。反应结束后，45℃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25(294mg)，收率67.4%，LC-MS: $[M+H]^+ = 1092.4$ 。

[0430] 实施例22

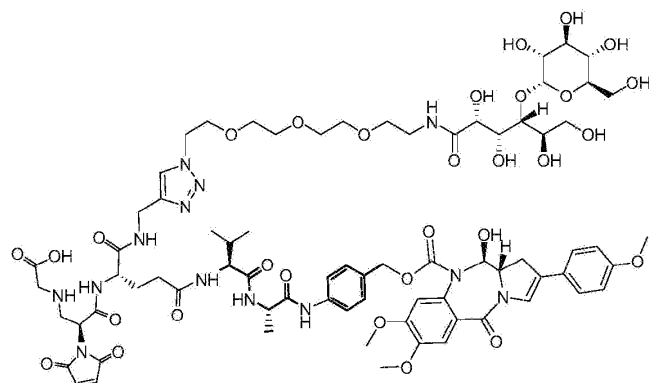
[0431] 化合物PBD01' 的合成



[0432] 参照实施例9的合成路线，以化合物25和化合物B-2得到化合物PBD01' (45.2mg)；LC-MS $m/z (M+2H)^{2+}$: 869.0。

[0433] 实施例23

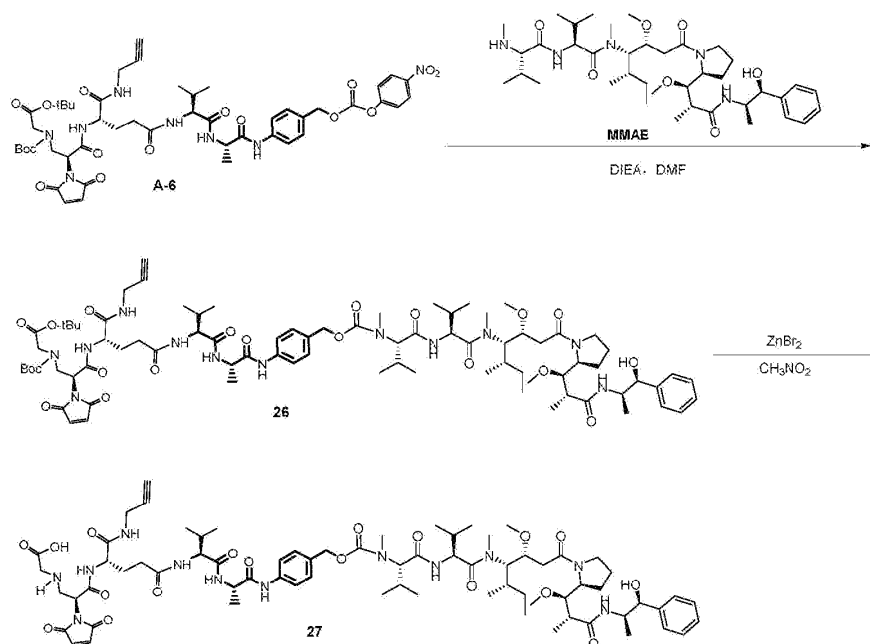
[0434] 化合物PBD02' 的合成



[0435] 参照实施例18的合成路线, 以化合物25和化合物B-3得到化合物PBD02' (31 . 6mg); LC-MS m/z ($M+2H$)²⁺:825. 8。

[0436] 实施例24

[0437] 化合物27的合成:



[0438] 第一步: 化合物26的合成

[0439] 于50mL单口瓶中, 加入化合物A-6 (2. 0012g, 1. 99mmol), 化合物MMAE (购买, 1. 36g, 1. 90mmol), 20mL DMF溶解, 再加入DIEA (0. 48mL, 2. 80mmol), 室温反

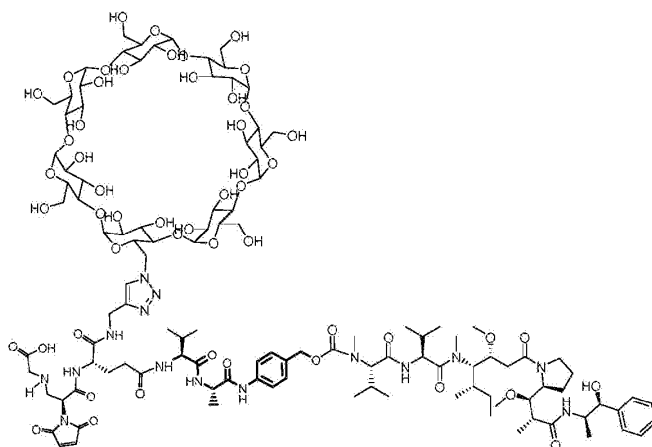
应2h, HPLC监测反应终点。反应结束后, 反应液经过高效液相制备纯化, 得到产品制备液, 制备液冻干, 得到化合物26 (2.21g), 收率73.5%, LCMS: $[M+H]^+ = 1584.0$ 。

[0440] 第二步: 化合物27的合成

[0441] 于100mL单口瓶中, 加入化合物26 (2.0g, 1.26mmol), 溴化锌 (5.69g, 25.25mmol), 40mL CH_3NO_2 溶解, 40°C 油浴反应0.5h, 水泵减压45°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27 (773.5mg), 收率43%, LCMS: $[M+H]^+ = 1427.8$ 。

[0442] 实施例25

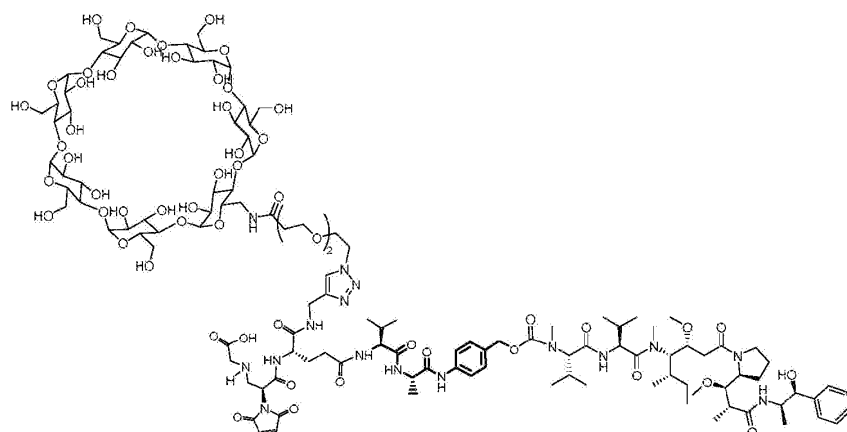
[0443] 化合物M01' 的合成:



[0444] 参照实施例13的合成路线, 以化合物27和 β -环糊精叠氮为原料合成化合物 M01' (85.5mg); LC-MS m/z ($M+2H$) $^{2+}$: 1294.5。

[0445] 实施例26

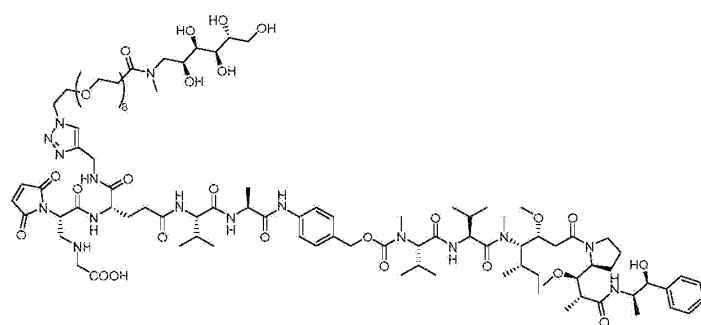
[0446] 化合物M02' 的合成:



[0447] 参照实施例8的合成路线，以化合物27和化合物B-1得到化合物M02' (293.2 mg)；LC-MS m/z ($M+2H$)²⁺:1374.0。

[0448] 实施例27

[0449] 化合物M03' 的合成：



[0450] 参照实施例9的合成路线，以化合物27和化合物B-2得到化合物M03' (98.2 mg)；LC-MS m/z ($M+2H$)²⁺:1037.1。

[0451] 实施例28

[0452] 使用抗体序列：

[0453] 抗CD33抗体ANTI-CD33的序列

[0454] >轻链-LC

DIQLTQSPSTLSASVGDRVITITCRASESLDNYGIRFLTWFQQKPGKAPKLLMYAASNQGS
GVPSRFGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQQTKEVPWSFGQGTKVEVKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLS
SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVCTKSFNRGEC

[0455] >重链-HC

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTITDSNIHWVRQAPGQSLEWIGYIYPYNGGTD
YNQKFKNRATLTVDNPTNTAYMELSSLRSEDTAFYYCVNGNPWLAYWGQGLTVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0456] 抗Trop2抗体ANTI-Trop2-1的序列

[0457] >轻链-LC

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDINKYLAWYQQKPGKVPKLLIYSTSTLQSGVPS
RFGSGSGTDFLTISLQPEDVATYYCLQYDDLFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLS
KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0458] >重链-HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTSFDINWVRQAPQRLEWMGWIFPGDGNT
KYSQKFQGRATITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCVRGEALYFDDYWGQGLTVTV
SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP
SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0459] 抗Trop2抗体ANTI-Trop2-2的序列

[0460] >轻链-LC

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDINKYLAWYQQKPGKVPKLLIYSTSTLQSGVPS
RFGSGSGTDFLTISLQPEDVATYYCLQYDDLFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLS
KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVCTKSFNRGEC

[0461] >重链-HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTSFDINWVRQAPEQRLEWMGWIFPGDGNT
KYSQKFQGRATITRDTASTAYMELSSLRSEDVAVYYCVRGEALYYFDYWGQGLVTV
SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP
SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0462] 抗HER2抗体Trastuzumab (Tras) 的序列

[0463] >轻链-LC

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVP
SRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYYTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTL
TLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0464] >重链-HC

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYT
RYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV
YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0465] 抗HER2抗体Tras-016的序列

[0466] >轻链-LC

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVP
SRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYYTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTL
TLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVCTKSFNREGC

[0467] >重链-HC

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYT
RYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPPCPA
PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV
YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0468] 实施例29

[0469] 单毒ADC (DAR=8) 的制备 (通法)

[0470] 通过偶联抗体A与L1-D1或L2-D2制备抗体-药物偶联物样品:

[0471] 在经过细胞表达并通过Protein A亲和层析与分子筛层析纯化之后, 抗体A被置换于20mM NaAc-HAc, pH6.0的缓冲液中, 浓缩或者稀释抗体A至蛋白浓度为5mg/mL。使用N, N-二甲基乙酰胺(DMA)将L1-D1或L2-D2溶解至10mg/mL备用。

[0472] 为了打开抗体A的链间二硫键, 先按照分子比加入15至25倍的三(2-羧乙基)膦(TCEP), 并在室温下反应2h。按照分子比加入15-25倍的L1-D1或L2-D2溶液, 在室温下反应2h。反应结束后, 使用30KDa超滤浓缩管换液, 将未偶联上的L1-D1或L2-D2去除, 即得到抗体A-D1 (DAR=8) 或抗体A-D2 (8) 样品。

[0473] 实施例30

[0474] 单毒ADC (DAR=10) 和双毒ADC (DAR=2+8) 的制备 (通法)

[0475] 通过偶联抗体B与L1-D1、L2-D2制备抗体B-D2 (2)-D1 (8)、抗体B-D1 (2)-D2 (8)、抗体B-D1 (10) 或抗体B-D2 (10) 偶联物样品:

[0476] 在经过细胞表达并通过Protein A亲和层析与分子筛层析纯化之后, 抗体B被置换于20mM NaAc-HAc, pH6.0的缓冲液中, 浓缩或者稀释抗体B至蛋白浓度为5mg/mL。使用DMA分别将L1-D1和L2-D2溶解至10mg/mL备用。

[0477] 首先按照分子比加入15-25倍的TCEP, 在室温下反应2-4h, 从而将抗体B链间二硫键和抗体上引入的半胱氨酸侧链还原成巯基, 反应结束后, 使用30KDa超滤浓缩管换液, 将反应液里的杂质去除, 即得到抗体B还原样品。

[0478] 按照分子比在抗体B还原样品溶液里加入15-25倍的脱氢抗坏血酸(dHA)溶液, 在室温下反应2-4h, 使抗体上被打开的巯基氧化成链间二硫键, 接着加入5-15倍的L2-D2或L1-D1溶液与抗体上引入的二硫键在室温下反应2h。反应结束后使

用30KDa超滤浓缩管换液，将未偶联上的L2-D2或者L1-D1去除，即得到抗体B-D2(2)或抗体B-D1(2)偶联物样品。

[0479] 按照分子比在抗体B-D2(2)或抗体B-D1(2)中加入15-25倍的TCEP，在室温下反应2h，从而打开抗体B-D2(2)或抗体B-D1(2)上抗体的链间二硫键，再加入15-25倍的L1-D1或L2-D2溶液与抗体链间二硫键在室温下反应2h。反应结束后，使用30KDa超滤浓缩管换液，将未反应的L1-D1或L2-D2去除，即得到抗体B-D2(2)-D1(8)、抗体B-D1(2)-D2(8)、抗体B-D1(10)或抗体B-D2(10)偶联物。

[0480] 参照上述方法，用抗体ANTI-CD33、ANTI-Trop2-1、ANTI-Tras-016分别制备合成下列ADC：

样品名称	DAR
ANTI-CD33-Ex01	10
ANTI-CD33-R01-1-Ex01	2 (R01-1) +8 (Ex01)
ANTI-CD33-Ex01-R01-1	2 (Ex01) +8 (R01-1)
ANTI-Trop2-1-Ex01	8
ANTI-Trop2-2-Ex01	10
ANTI-Trop2-2-R01-1-Ex01	2 (R01-1) +8 (Ex01)
ANTI-Trop2-2-R02-Ex01	2 (R02) +8 (Ex01)
Tras-Ex01	8
Tras-016-Ex01	10
Tras-016-R01-1-Ex01	2 (R01-1) +8 (Ex01)
Tras-016-R02-Ex01	2 (R02) +8 (Ex01)

[0481] 测试例1：以CD33、Trop2、HER2为靶点的双毒ADC细胞杀伤实验

[0482] 1、设备，耗材与试剂

[0483] 试剂

类别	名称	生产商	货号
MTS 检测	CellTiter 96 [®] One Solution Reagen	Promega	G3581
	0.25%Trypsin-EDTA (1×)	Gibco	25200
	0.4% Trypan Blue	Gibco	15250

[0484] 设备

仪器名称	型号
细胞离心机	EQ4044
HWS-24 电热恒温水浴锅	EQ4032
Airstream I 级 A2 型生物安全柜	EQ4007/EQ4008
CO ₂ 培养箱	EQ4025
倒置显微镜	EQ4055
Count Star 自动细胞计数仪	EQ4027
西门子冰箱	EQ4020
细胞培养箱	INS-Q-070
酶标仪	EQ4092

[0485] 细胞

类型	细胞系
人急性早幼粒细胞白血病细胞	HL-60

人组织细胞淋巴瘤	U937
人急性巨核细胞白血病细胞	CMK
人红白细胞白血病细胞	HEL92.1.7
人皮肤鳞癌细胞	A431
人胃癌细胞	N87
人结直肠腺癌细胞	SW620
人肺腺癌细胞	H1975
人乳腺癌细胞	MDA-MB-453
人乳腺腺癌细胞	SK-BR-3
人乳腺癌细胞	MDA-MB-468

[0486] 2、样品信息

样品名称	DAR	保存条件	样品描述
ANTI-CD33 mAb	/	4℃	抗 CD33 的裸抗
ANTI-CD33-Ex01	10	4℃	以 CD33 为靶点的单抗偶联单毒素 ADC
ANTI-CD33-R01-1-Ex01	2 (R01-1) +8 (Ex01)	4℃	以 CD33 为靶点的单抗偶联双毒素 ADC
ANTI-Trop2-1 mAb	/	4℃	抗 Trop2 的裸抗
ANTI-Trop2-2 mAb	/	4℃	抗 Trop2 的裸抗
ANTI-Trop2-1-Ex01	8	4℃	以 Trop2 为靶点的单抗偶联单毒素 ADC
ANTI-Trop2-2-Ex01	10	4℃	以 Trop2 为靶点的单抗偶联单毒素 ADC
ANTI-Trop2-2-R01-1-Ex01	2 (R01-1) +8 (Ex01)	4℃	以 Trop2 为靶点的单抗偶联双毒素 ADC
ANTI-Trop2-2-R02-Ex01	2 (R02) +8 (Ex01)	4℃	以 Trop2 为靶点的单抗偶联双毒素 ADC
Trastuzumab	/	4℃	抗 HER2 的裸抗
Tras-Ex01	8	4℃	以 HER2 为靶点的单抗偶联单毒素 ADC
Tras-016-Ex01	10	4℃	以 HER2 为靶点的

			单抗偶联单毒素 ADC
Tras-016-R01-1-Ex01	2 (R01-1) +8 (Ex01)	4℃	以 HER2 为靶点的单抗偶联双毒素 ADC
Tras-016-R02-Ex01	2 (R02) +8 (Ex01)	4℃	以 HER2 为靶点的单抗偶联双毒素 ADC

[0487] 3、原理与方法

[0488] 3.1. MTS法细胞杀伤实验原理

- [0489] 细胞水平药效测试，首先在96孔板中按照一定密度进行细胞铺板，待细胞贴壁后(通常需要至少4小时)，向各个孔板中加入系列倍比稀释的药物，作用一定的时间，对细胞进行杀伤。待药物作用时间结束后，加入一定量的MTS 37℃，5%CO₂下反应1-4小时，利用MTS试剂显色反应后，使用酶标仪检测OD 490nm吸光值，分析计算获得细胞杀伤的IC₅₀。
- [0490] 其中MTS[3-(4,5-diethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium, inner salt]为新一代四氮唑蓝盐化合物，其被还原形成的Formazan产物水溶性和稳定性更高，显色更快。它与MTT的应用原理相同，即被活细胞线粒体中的多种脱氢酶还原成各自有色的甲瓚产物，其颜色深浅与某些敏感细胞株的活细胞数在一定范围内高度相关。
- [0491] 3.2. 方法
- [0492] 3.2.1. 样品制备
- [0493] 加药前，根据各个受试样品的浓度，用预热的1%FBS的培养基按照起始浓度为5.0 μM配制药液(5×母液浓度)，然后10倍梯度浓度稀释，共计8各检测点，放置待用，配制过程中每一个浓度都要用振荡器混匀，一次2~3sec，间隔1sec，再振荡，重复2~3次。
- [0494] 抗体及抗体偶联药物的终浓度为0(Vehicle)、0.6pM、4.25pM、29.75pM、0.21nM、1.46nM、10.20nM、71.43nM、500nM；
- [0495] 3.2.2. 实验过程
- [0496] 1)细胞复苏:培养基于37℃水浴锅预热后，取9mL于离心管中备用；从液氮中取出细胞，即刻在37℃条件下快速晃动使其充分融解，随后转移至预先备好的离心管中，室温1000rpm离心3min；弃上清，用1mL完全培养基重悬沉淀，该过程要轻柔，避免吹出气泡，以减轻对细胞的损伤；将细胞转移至培养瓶中，在37℃，5%CO₂和相对湿度为95%的细胞培养箱中培养细胞，复苏24h后观察细胞状态，并及时更换新鲜培养基，进行传代培养和细胞计数。
- [0497] 2)细胞铺板：所有用于体外药效的细胞系复苏后，均需进行3代次传代培养。根据验证过的细胞铺板密度，将用含有1%FBS的细胞培养基稀释细胞悬液，

轻柔加入96孔板中，80 μ L/孔，最后向边缘未加入细胞悬液的96孔板中加入200 μ L灭菌PBS或灭菌ddH₂O进行封边，放置在CO₂培养箱中过夜培养。

- [0498] 3) 按照每种待测分子每个浓度3个复孔原则，依次按照20 μ L/孔将5倍的预期浓度的药物加入到孔板中(如：B2至B10、C2至C10、D2至D10或者E2至E10、F2至F10、G2至G10)，初始孔药物浓度为1000nM，一块96孔板可以加入两种待测药物。一般B11，C11，D11三个孔为含有细胞，仅补填20 μ L 1%FBS的培养基作为阴性对照。E11，F11，G11为不含有细胞，仅含有100 μ L 1%FBS的检测培养基的空白对照。
- [0499] 4) 通常，ADC药物处理时间为5天，期间在加药后的24h、48h和72h用倒置显微镜观察药物作用的情况。
- [0500] 5) 从-20℃取出CellTiter96®One Solution Reagen MTS试剂，常温避光解冻后，充分涡旋混匀后，在生物安全柜中，沿孔侧壁按每100 μ L细胞培养体积加入20 μ L CellTiter96®One Solution Reagen MTS试剂，不同细胞培养体积等比例加入MTS试剂，轻轻拍动板面，使MTS溶液混合均匀后，放于细胞培养箱中避光静置孵育2h-4h。
- [0501] 6) 反应结束后，取出96孔板，于酶标仪中检测OD490nm吸光值，并进行数据记录、整理、存储。
- [0502] 7) 按照以下公式进行数据处理及分析，计算各个不同药物浓度下的细胞存活率。

$$\text{细胞存活率} = \frac{\text{OD}_{490\text{nm}}(\text{药物}) - \text{OD}_{490\text{nm}}(\text{空白对照})}{\text{OD}_{490\text{nm}}(\text{阴性对照}) - \text{OD}_{490\text{nm}}(\text{空白对照})} \times 100\%$$

OD_{490nm}(药物)：小分子药物处理细胞后的OD_{490nm}读值；
 OD_{490nm}(阴性对照)：含0.1%DMSO的完全培养基处理细胞后的OD_{490nm}读值；
 OD_{490nm}(空白对照)：含0.1%DMSO的完全培养基的OD_{490nm}读值。

- [0503] 8) 采用Graphpad Prism 9.0数据处理软件四参数逻辑拟合模块进行处理曲线拟合，获得IC₅₀。
- [0504] 得IC₅₀。
- [0505] 4、结果与分析
- [0506] 4.1. CD33细胞杀伤实验：

[0507] 分别以CD33高表达急性髓系白血病细胞系HEL92.1.7，CD33中表达急性髓系白血病细胞系CMK、U937和HL-60，以及不表达CD33的皮肤鳞癌细胞A431为靶细胞，首先通过流式分析确定靶细胞CD33表达水平，随后利用MTS法评价CD33双毒ADC的细胞杀伤活性。见图1-10及表1和表2。

[0508] 表1受试细胞CD 33表达情况

细胞株名称	CD33 Ratio	CD33 Status
HEL92.1.7	20.88	高表达
CMK	15.65	中表达
U937	8.79	
HL-60	8.42	
A431	0.98	阴性

[0509] 表2受试物在细胞水平上的IC₅₀

受试药品 IC ₅₀ (nM)			
细胞	ANTI-CD33 mAb	ANTI-CD33- Ex01 (10)	ANTI-CD33-R01-1 (2) - Ex01 (8)
HEL92.1.7	>500	10.089	2.136
CMK	>500	11.462	2.525
U937	>500	31.642	6.627
HL-60	>500	5.387	2.22
A431	>500	87.217	14.671

[0510] 结论：

[0511] 本实验条件下，在4个AML细胞株和1个上皮鳞癌细胞模型的杀伤实验中，

[0512] 1、CD33的裸抗ANTI-CD33-mAb对多株AML细胞无显著杀伤活性；

[0513] 2、在CD33高表达、中表达及CD33阴性细胞系中，抗CD33抗体同时偶联了低毒性的修复抑制剂和高毒性的损伤剂所得的双毒ADC：ANTI-CD33-R01-1 (2) - Ex01 (8) 对多株AML肿瘤细胞的体外敏感性显著优于只偶联了高毒性损伤剂所得的单毒素ADC：ANTI-CD33-Ex01 (10)。

[0514] 4.2. Trop2细胞杀伤实验：

[0515] 分别以Trop2高表达细胞系N87，以及异质瘤癌细胞A431+SW620为靶细胞，首先通过流式分析确定靶细胞Trop2表达水平，随后利用MTS法评价Trop2双毒ADC的细胞杀伤活性。见图11-14及表3和表4。

[0516] 表3受试细胞Trop2表达情况

细胞株名称	Trop2 Ratio	Trop2 Status
N87	298.50	高表达
A431+SW620	0.92	阴性

[0517] 表4受试物在细胞水平上的IC50

细胞	受试药品 IC ₅₀ (nM)					
	ANTI-Trop2-1 mAb	ANTI-Trop2-2 mAb	ANTI-Trop2-1-Ex01(8)	ANTI-Trop2-2-Ex01(10)	ANTI-Trop2-2-R01-1(2)-Ex01(8)	ANTI-Trop2-2-R02(2)-Ex01(8)
N87	>500	>500	336.49	64.10	24.99	26.55
A431+SW620	>500	>500	>500	635.30	185.36	161.17

[0518] 结论：

[0519] 本实验条件下，在2个细胞模型的杀伤实验中，

[0520] 1、Trop2的裸抗ANTI-Trop2-1-mAb和ANTI-Trop2-2-mAb对2个细胞系无显著杀伤活性；

[0521] 2、在Trop2高表达的细胞系中及阴性细胞系中，抗Trop2抗体在偶联高杀伤活性损伤剂的同时偶联了低毒性低活性修复抑制剂所得的双毒ADC：ANTI-Trop2-2-R01-1(2)-Ex01(8)和ANTI-Trop2-2-R02(2)-Ex01(8)对肿瘤细胞的体外敏感性显著优于只偶联高杀伤活性损伤剂的单毒素ADC：ANTI-Trop2-1-Ex01(8)，且显著优于单毒ADC：ANTI-Trop2-2-Ex01(10)。

[0522] 4.3. HER2细胞杀伤实验：

[0523] 分别以不同程度HER2表达的细胞系SK-BR-3、H1975、MDA-MB-453和MDA-MB-468为靶细胞，首先通过流式分析确定靶细胞HER2表达水平，随后利用MTS法评价HER2双毒ADC的细胞杀伤活性。见图15-18及表5和表6。

[0524] 表5受试细胞HER2表达情况

细胞株名称	HER2 抗原数 (HER2/Cell)	HER2 Status
SK-BR-3	822,659	高表达
MDA-MB-453	158,428	中表达
H1975	6,697	低表达
MDA-MB-468	Undetectable	阴性

[0525] 表6受试物在细胞水平上的IC50

细胞	IC50 (nM)			
	Tras-Ex01 (DAR8)	Tras-016- Ex01	Tras-016-R01- 1(2)-Ex01(8)	Tras-016- R02(2)-

		(DAR10)		Ex01(8)
SK-BR-3	>500	>500	343.44	178.42
MDA-MB-453	>500	>500	119.76	123.88
H1975	365.85	162.92	36.46	21.72
MDA-MB-468	99.20	22.06	5.11	3.92

[0526] 结论:

[0527] 本实验条件下, 在4个细胞模型的杀伤实验中,

[0528] 1、抗HER2抗体偶联高杀伤活性的损伤剂所得的单毒ADC: Tras-Ex01 (DAR8) 和 Tras-016-Ex01 (DAR10) 对肿瘤细胞的杀伤活性有显著差异, DAR为10时活性明显高于8时;

[0529] 2、在HER2不同表达的细胞系中, 抗HER2抗体在偶联高杀伤活性损伤剂的同时偶联了低毒性低活性修复抑制剂所得的双毒ADC: Tras-016-R01-1(2)-Ex01(8) 和Tras-016-R02(2)-Ex01(8) 对肿瘤细胞的体外敏感性显著优于只偶联高杀伤活性损伤剂的单毒素ADC Tras-Ex01 (DAR8), 且活性显著优于单毒ADC Tras-016-Ex01 (DAR10)。

[0530] 测试例2: ELISA检测抗CD33的抗体药物偶联物与重组人CD33蛋白的结合:

- [0531] 抗体和抗原的结合能力可用ELISA来初步判断。这里我们将重组人CD33蛋白固定在酶条上，加入一系列浓度梯度的CD33抗体进行检测。
- [0532] 1. 包被：用1×PBS稀释CD33至0.5 μg/mL，每孔100 μL，4℃包被过夜。
- [0533] 2. 洗板：用洗板缓冲液(1×PBS+0.05%Tween20)洗板3次，每孔200 μL，每次静置1min。
- [0534] 3. 封闭：第3次拍干洗板液后，加入封闭缓冲液(1×PBS+0.05%Tween20+1%BSA)，每孔200 μL，37℃封闭1小时。
- [0535] 4. 洗板：洗板缓冲液洗板3次，每孔200 μL，每次静置1min。
- [0536] 5. 一抗上样：用样品稀释液(1×PBS+0.05%Tween20+1%BSA)将抗体药物偶联物(同测试例1)从2 μg/mL 3倍梯度稀释；用洗板缓冲液洗板3次，每孔200 μL，每次静置1min。
- [0537] 6. 二抗上样：用分析缓冲液(1×PBS+0.05%Tween20+1%BSA)将Solarbio兔抗人1:10000稀释至每孔100 μL，37℃静置1小时。
- [0538] 7. 洗板：洗板缓冲液洗板3次，每孔200 μL，每次静置1min。
- [0539] 8. 读数：加入TMB显色液(每孔50 μL)，显色7min后加入的2M H₂SO₄(每孔50 μL)终止。酶标仪450nm读板。
- [0540] 实验结果如图19、20所示。
- [0541] 结论：抗CD33的抗体药物偶联物单毒ADC：ANTI-CD33-Ex01(10)，双毒ADC：ANTI-CD33-R01-1(2)-Ex01(8)、ANTI-CD33-Ex01(2)-R01-1(8)与重组人CD33蛋白的结合能力相比于裸抗ANTI-CD33与重组人CD33蛋白的结合能力基本一致，无显著差异。
- [0542] 测试例3抗CD33的抗体及抗体药物偶联物血浆稳定性测试
- [0543] 配置ANTI-CD-33裸抗和ADC(ANTI-CD33-R01-1(2)-Ex01(8))与去IgG的人血浆混合液，使裸抗和ADC的终浓度为0.6mg/ml，放置于37℃恒温箱中的水浴盒中孵育，孵育时间设置为0天，3天，7天，同时设置未孵育未提取对照和未孵育提取对照。孵育后的样品使用SEC-HPLC方法测定。结果如表7所示。
- [0544] 表7. 血浆稳定性数据

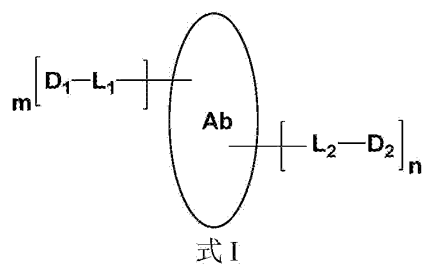
名称			ANTI-CD33 裸抗	ANTI-CD33-R01-1 (2) -Ex01 (8)
血浆稳定性 SEC	血浆未孵育提取	聚集%	5.82	7.88
		单体%	94.19	92.13
		降解%	0.00	0.00
	血浆孵育 0 天	聚集%	8.48	9.11
		单体%	91.52	90.89
		降解%	0.00	0.00
	血浆孵育 3 天	聚集%	14.65	11.04
		单体%	85.35	88.96
		降解%	0.00	0.00
	血浆孵育 7 天	聚集%	15.18	19.00
		单体%	84.82	81.00
		降解%	0.00	0.00

[0545] 结论：本发明公开的ADC血浆稳定性较好，具有低降解率，低聚集率的特点，具有单体率高的优异性质。

[0546] 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。

权利要求书

[权利要求 1] 式 I 所示的配体药物偶联物或其立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物，



其中：

Ab为靶向部分，选自抗体、抗体片段、靶向蛋白或Fc-融合蛋白；

D₁为第一药物，所述第一药物与L₁相连接；

D₂为第二药物，所述第二药物选自DNA损伤修复抑制剂，所述第二药物与L₂相连接；

L₁为第一连接单元，所述第一连接单元连接所述第一药物与所述靶向部分；

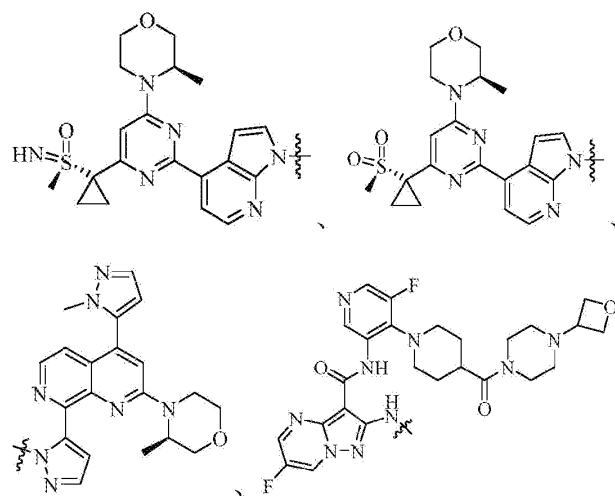
L₂为第二连接单元，所述第二连接单元连接所述第二药物与所述靶向部分；

m选自0-20的整数；

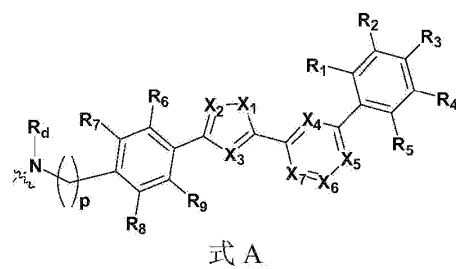
n选自1-20的整数。

[权利要求 2] 根据权利要求1所述的配体药物偶联物或其立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物，其中，所述第二药物选自ATR抑制剂、ATM抑制剂、PARP抑制剂、WEE1抑制剂、CHK1抑制剂、DNA-PK抑制剂；

优选地，所述ATR抑制剂选自



或式A所示的化合物或其氘代物：



其中，

X_1 选自O、S、NH、 CH_2 ；

优选地， X_1 选自O、S；

更优选地， X_1 为O；

X_2 、 X_3 各自独立地选自N、CH；

优选地， X_2 为N， X_3 为CH；

X_4 、 X_5 、 X_6 各自独立地选自N、CH；

优选地， X_4 、 X_6 为N， X_5 为CH；

X_7 选自N、C(R_0)；

优选地, X_7 为 $C(R_0)$;

R_0 选自氢、C1-C6烷基、 $R_bR_aN^-$;

优选地, R_0 为 $R_bR_aN^-$;

R_a 、 R_b 各自独立地选自氢、C1-C6烷基;

优选地, R_a 、 R_b 均为氢;

R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 各自独立地选自氢、C1-C6烷基、;

优选地, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 各自独立地选自氢、;

更优选地, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 中, 任意一个为  其余为氢;

最优选地, R_3 为  R_1 、 R_2 、 R_4 、 R_5 为氢;

R_c 选自氢、C1-C6烷基;

优选地, R_c 选自 C1-C6烷基;

更优选地, R_c 为异丙基;

R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 各自独立地选自氢、C1-C6烷基;

优选地, R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 为氢;

R_d 选自氢、C1-C6烷基;

优选地, R_d 选自 C1-C6烷基;

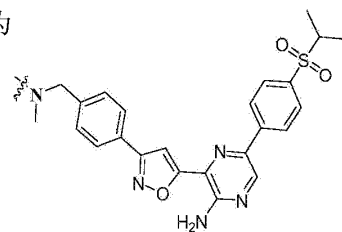
更优选地, R_d 为甲基;

p 选自 1、2、3、4、5、6;

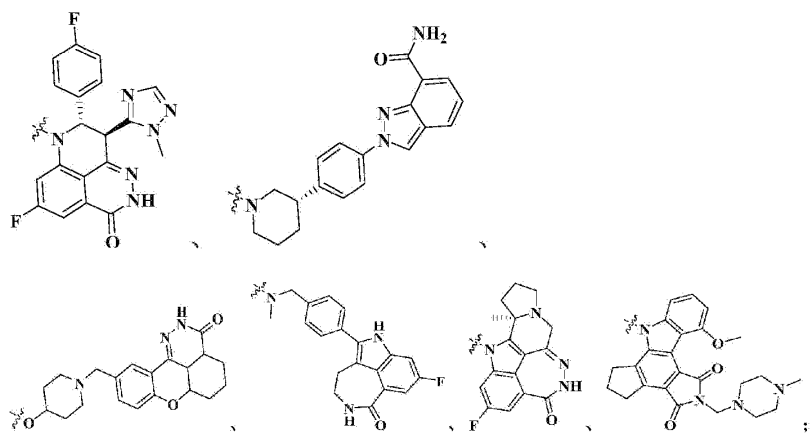
优选地, p 选自 1、2、3;

更优选地, p 为 1;

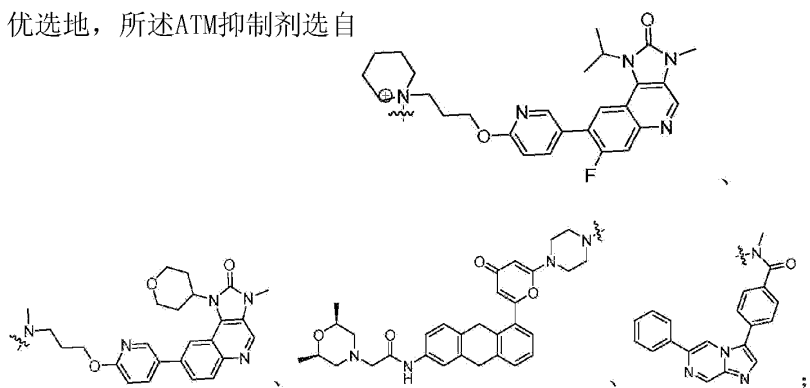
更优选地, 式A所示的化合物为



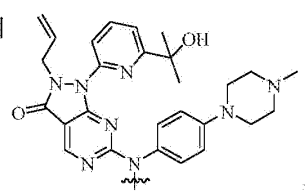
优选地，所述PARP抑制剂选自



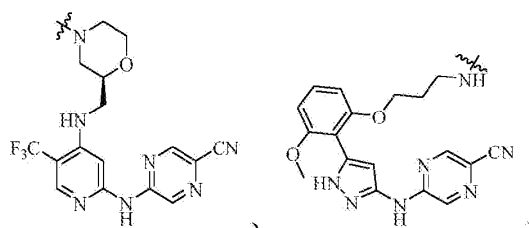
优选地，所述ATM抑制剂选自

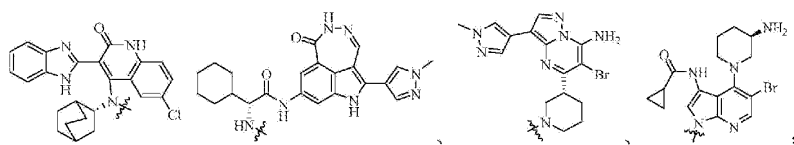


优选地，所述WEE1抑制剂选自

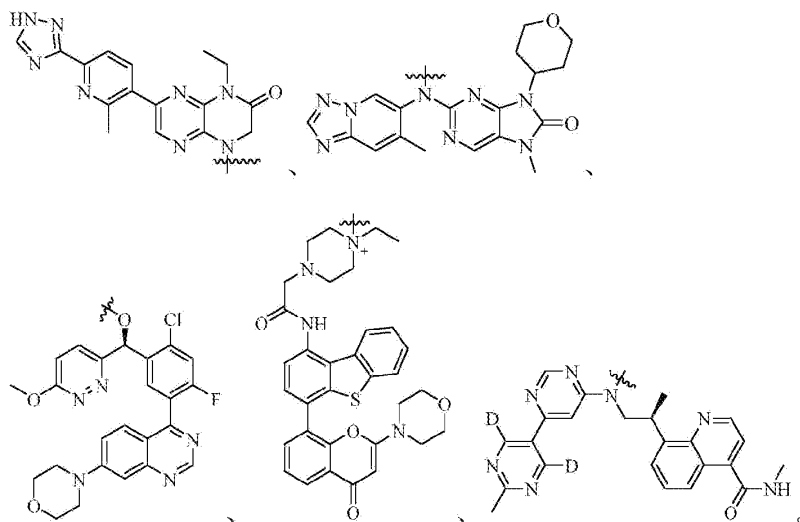


优选地，所述CHK1抑制剂选自





优选地，所述DNA-PK1抑制剂选自

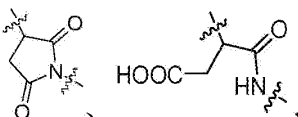


[权利要求 3]

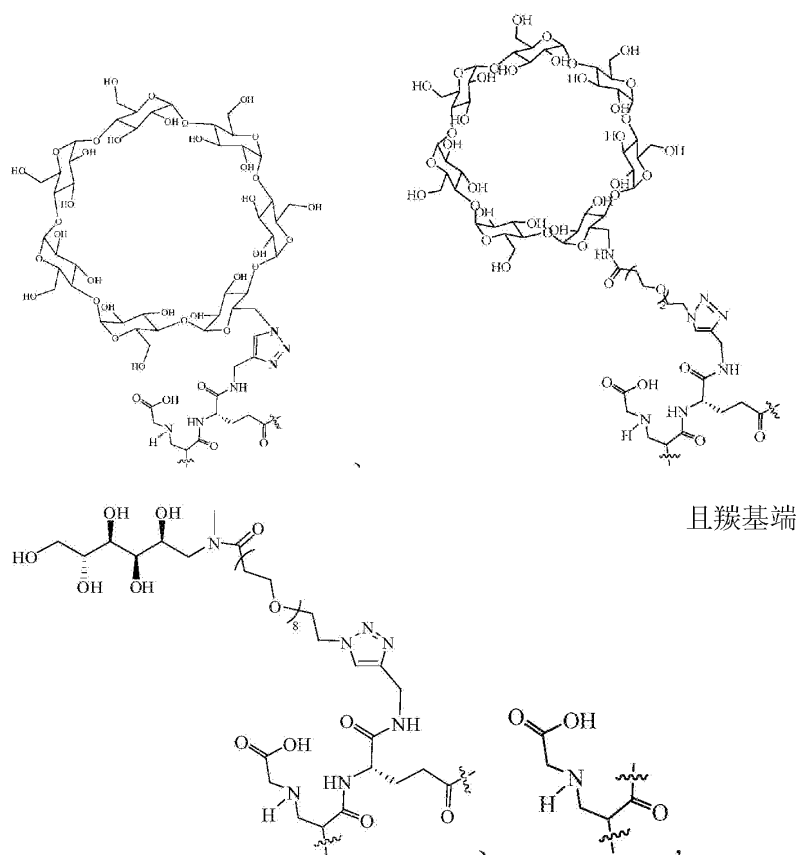
根据权利要求1-2任一项所述的配体药物偶联物或其立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物，其中，所述第二连接单元为可断裂或不可断裂的连接单元；

优选地， L_2 为 L_{21} - L_{22} - L_{23} - L_{24} ，且 L_{24} 与 D_2 相连接， L_{21} 与Ab相连接(优选地， L_{21} 通过巯基偶联至Ab上)，

L_{21} 选自



L_{22} 选自：



与L₂₃相连接；

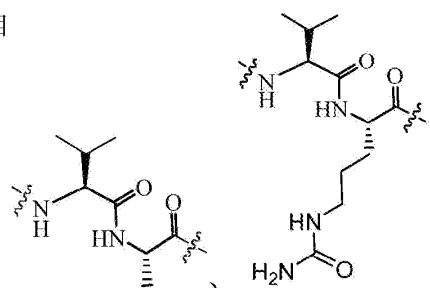
L₂₃选自氨基酸残基或由2-10个氨基酸残基组成的肽残基，且羰基端与L₂₄相连接；

优选地，L₂₃为由2-4个(优选2个)氨基酸残基组成的肽残基，且羰基端与L₂₄相连接，优选地，所述氨基酸选自缬氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、赖氨酸、瓜氨酸、丝氨酸、谷氨酸、天冬氨酸，更优选地，所述氨基酸选自缬氨酸、丙氨酸、瓜氨酸；

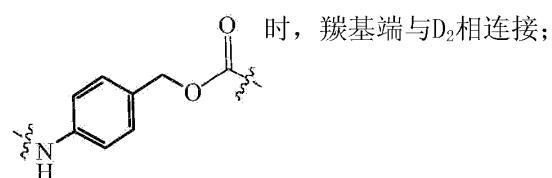
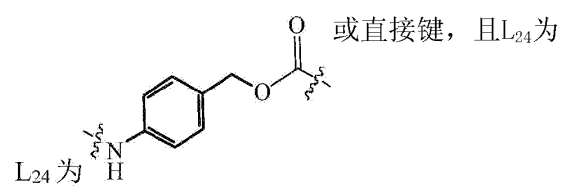
更优选地，L₂₃选自缬氨酸-丙氨酸(Val-Ala)、缬氨酸-瓜氨酸(Val-Cit)，且羰基端与L₂₄相连接；

最优选地， L_{23} 选自

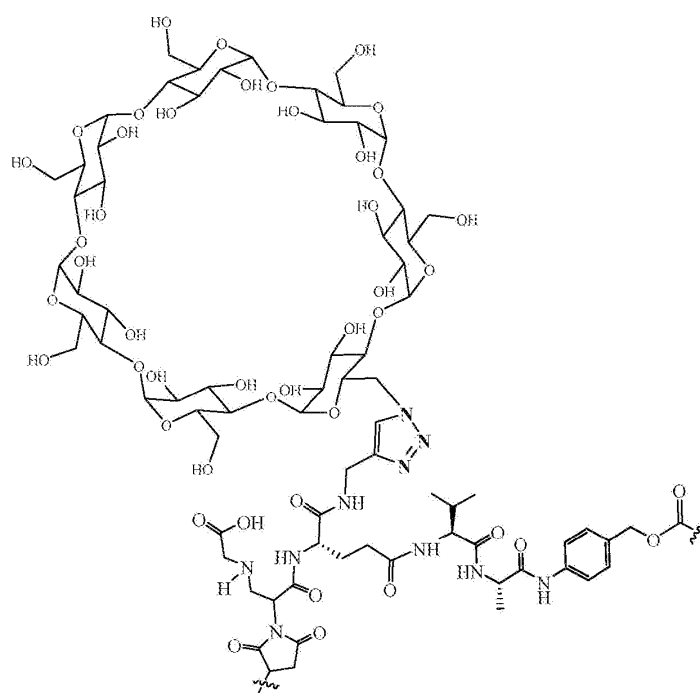
且羰基端与L

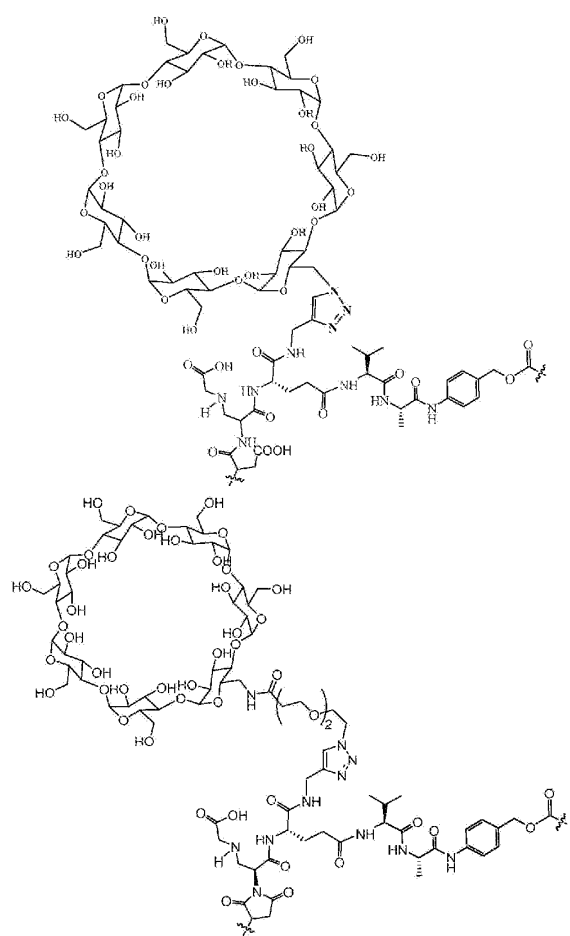


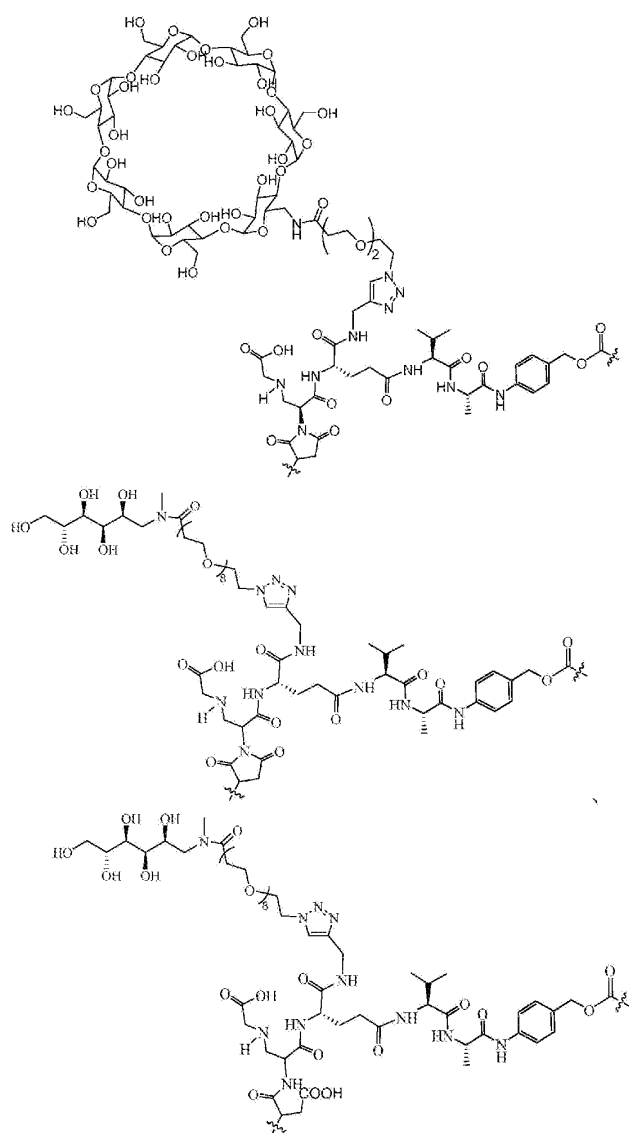
L_{24} 相连接；

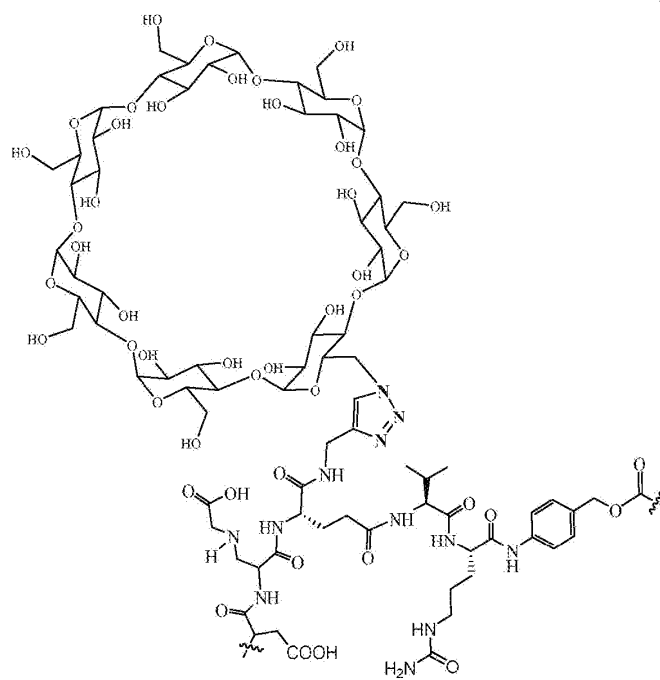
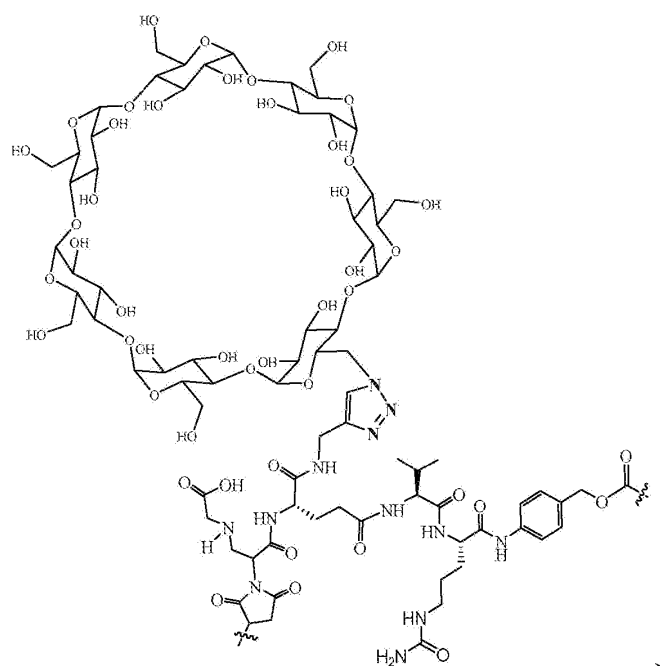


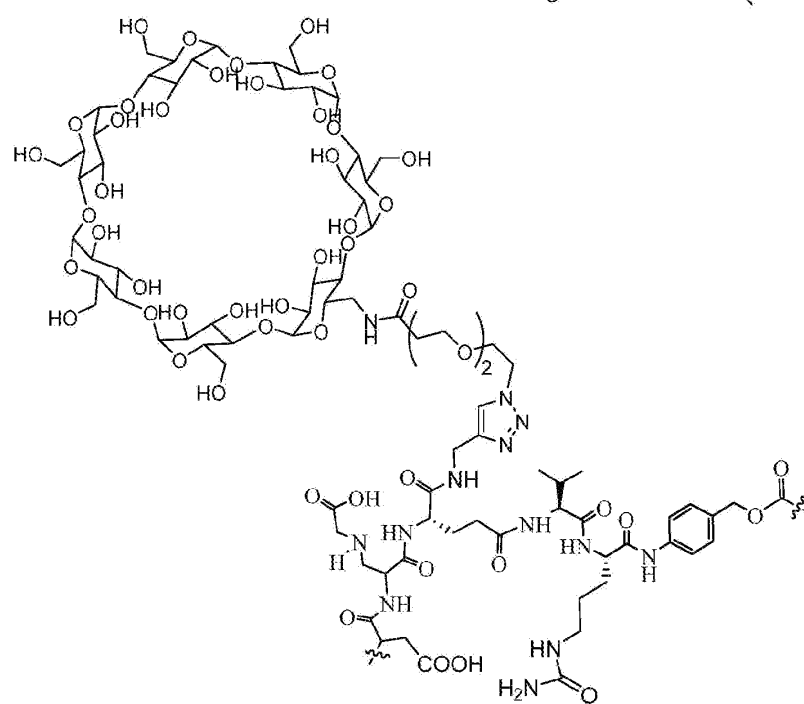
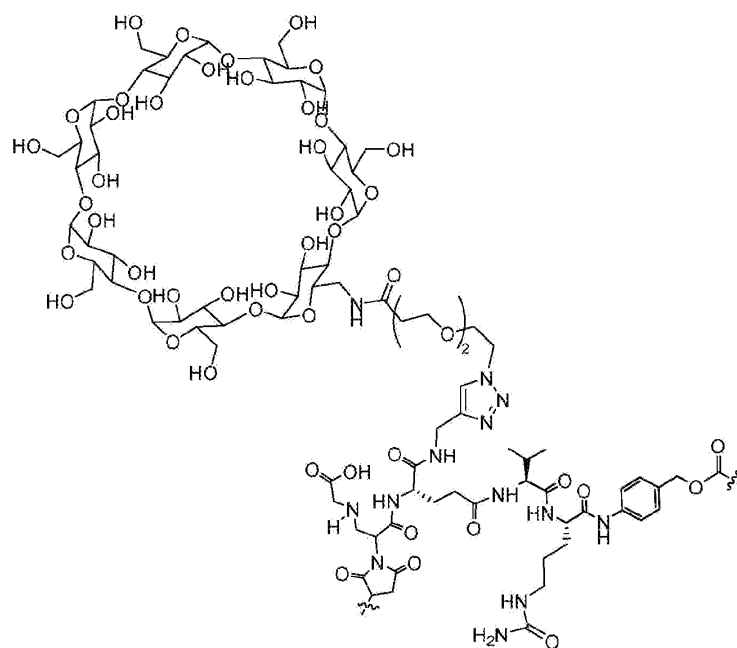
优选地， L_2 选自：

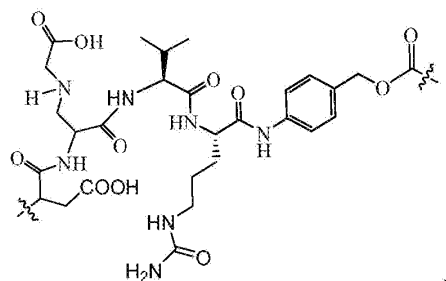
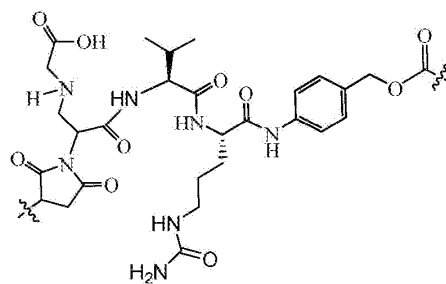
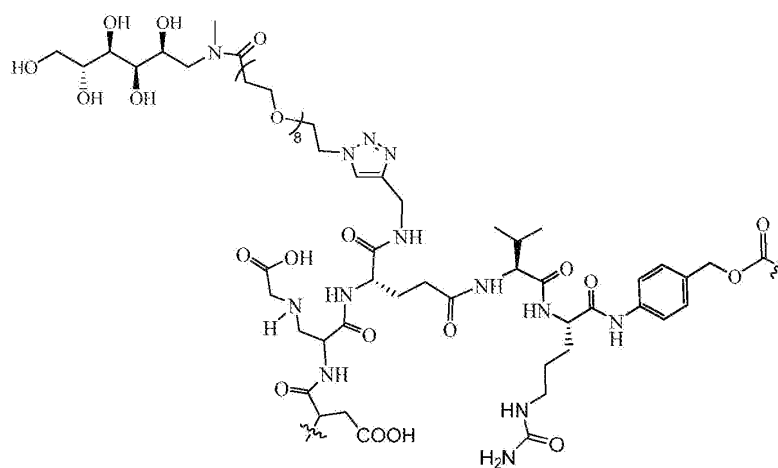
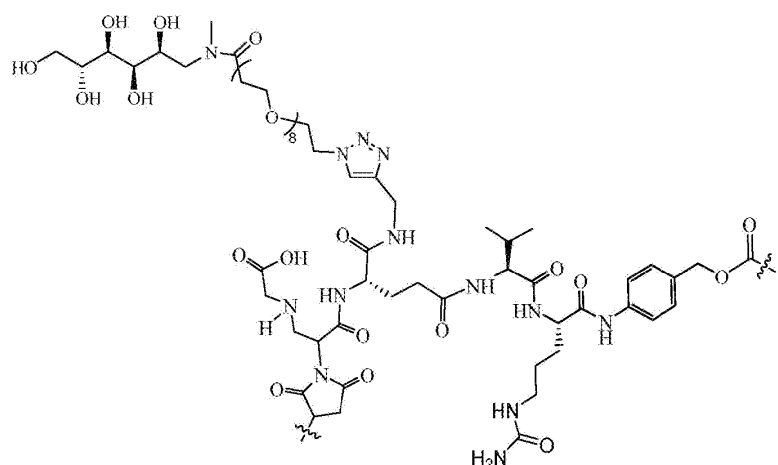


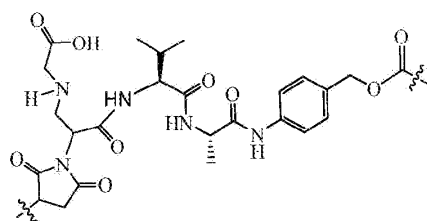








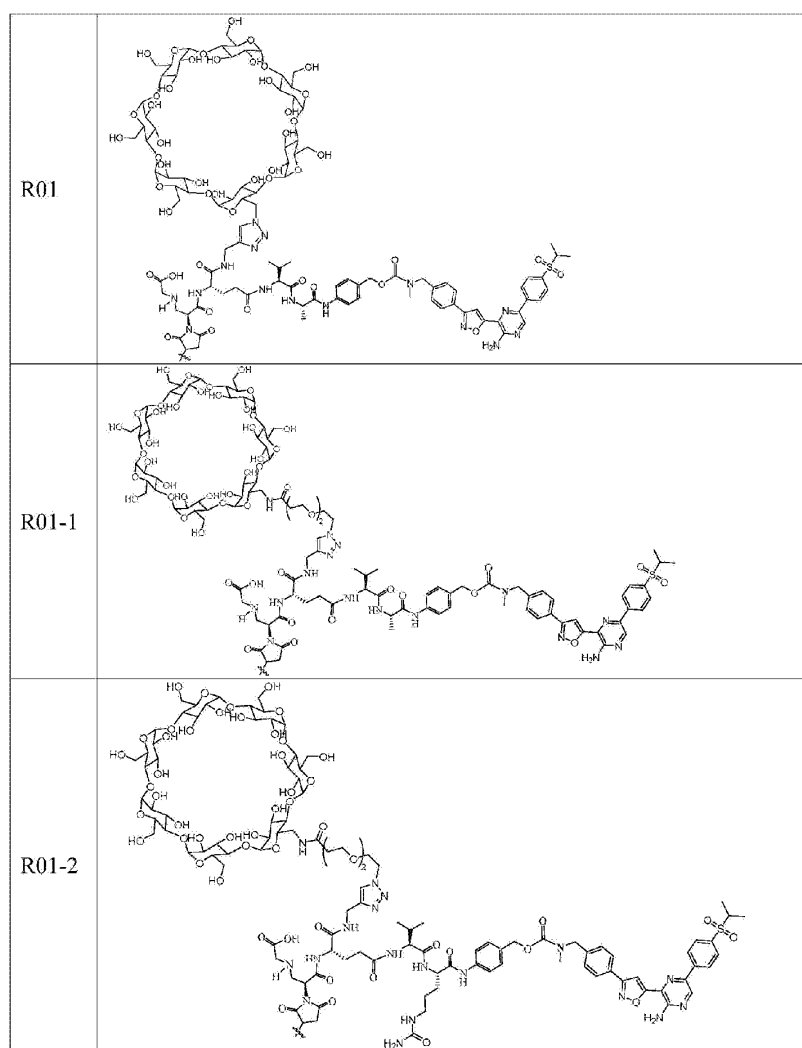


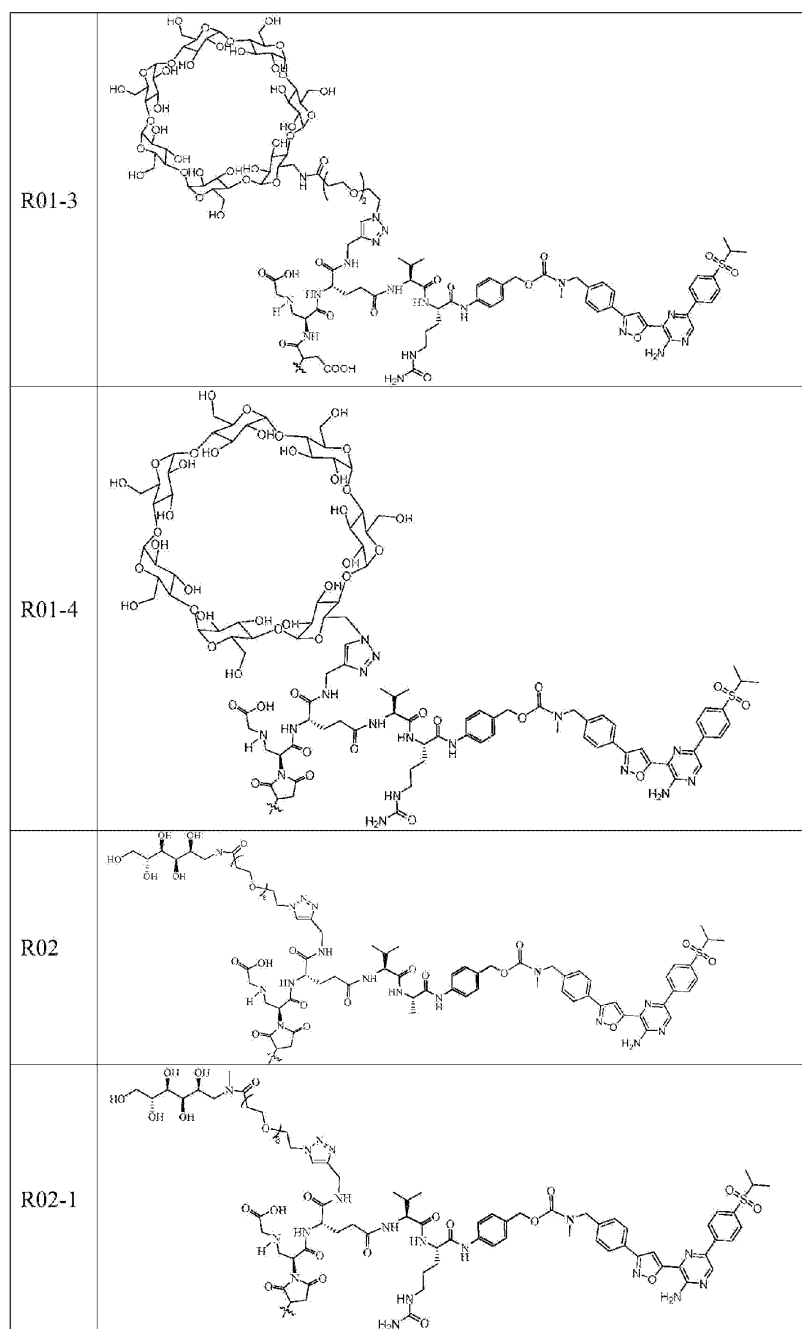


且羰基端与 D_2 相连接。

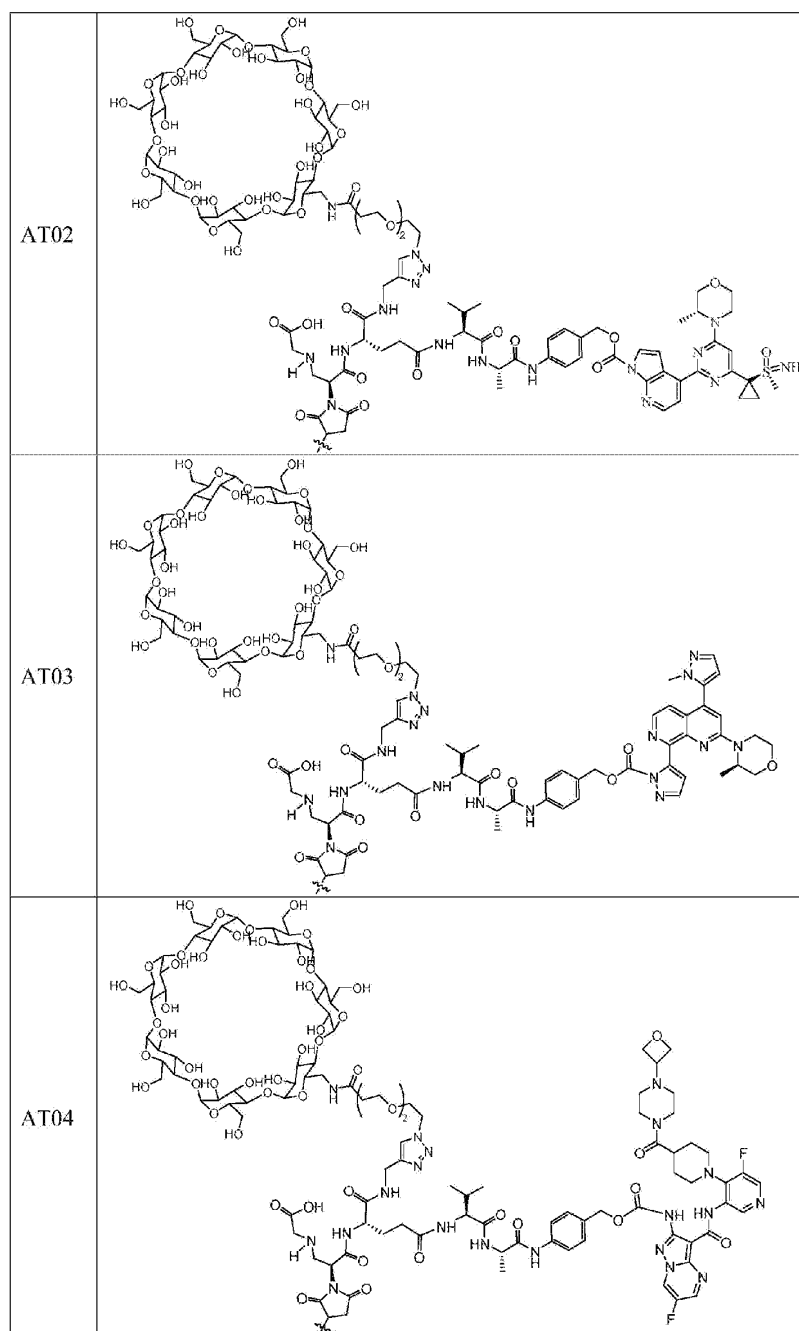
[权利要求 4]

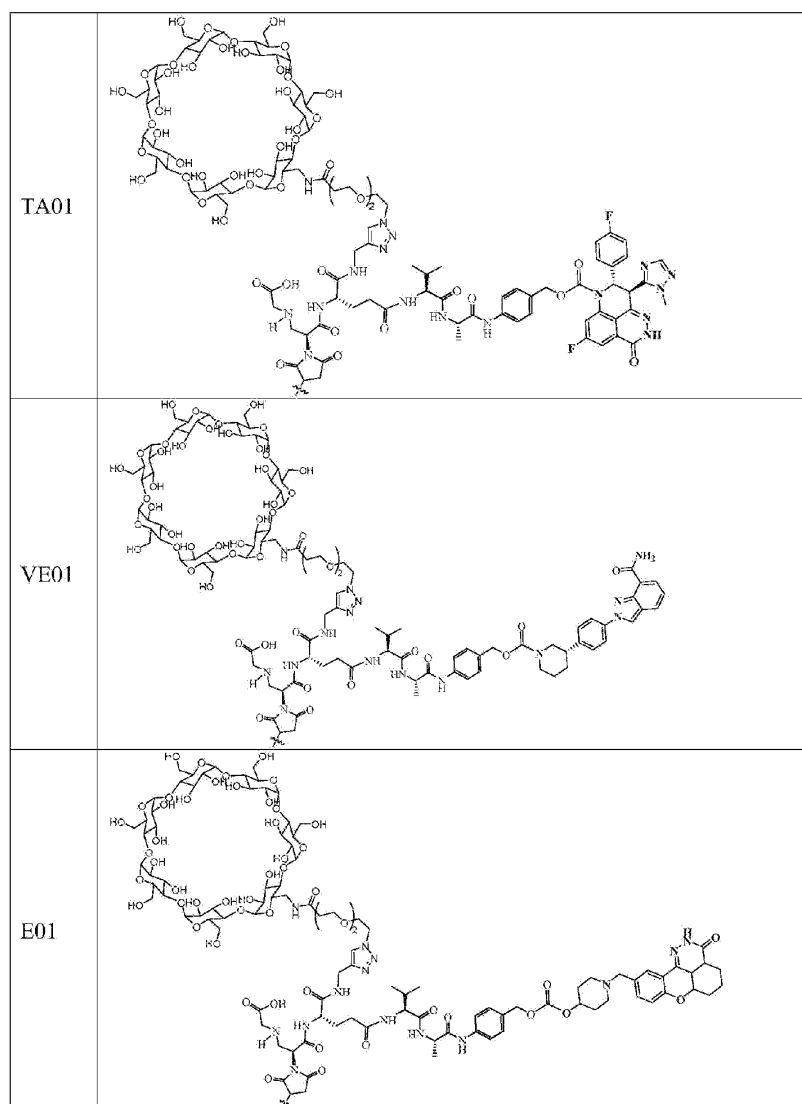
根据权利要求1-3任一项所述的配体药物偶联物或其立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物，其中， D_2-L_2 -选自：

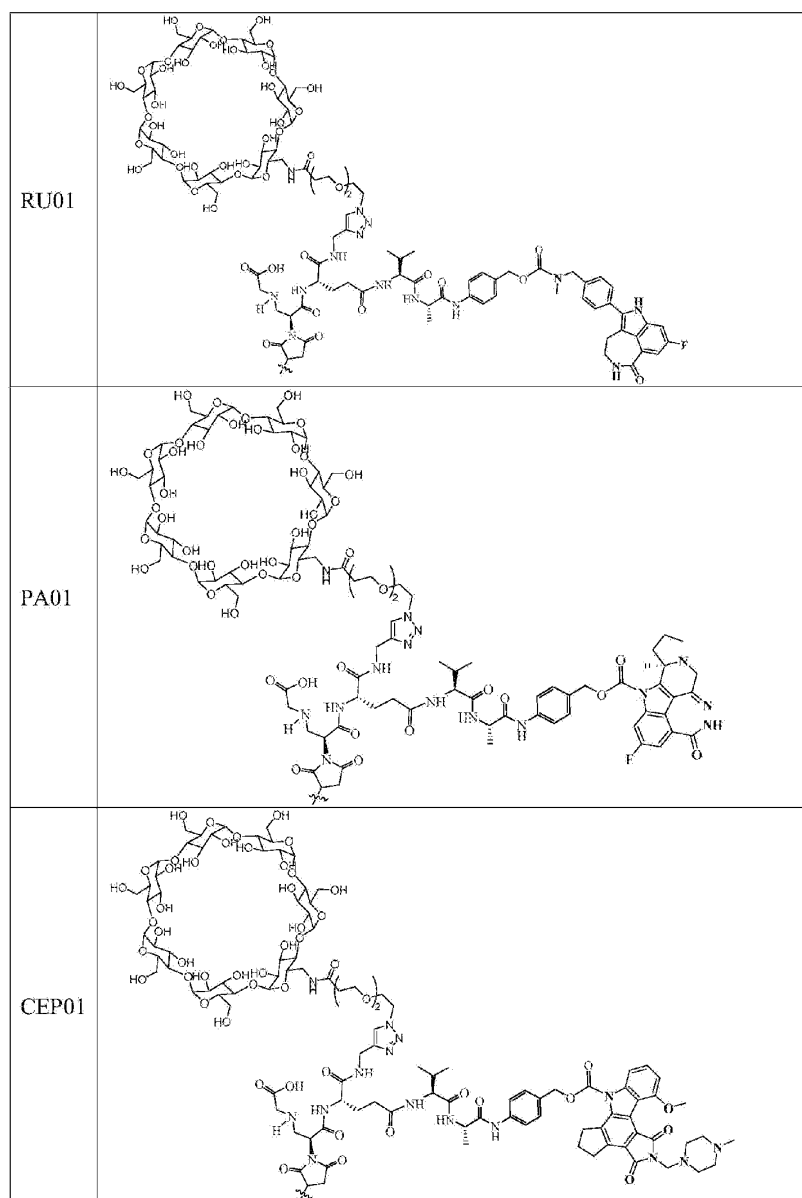


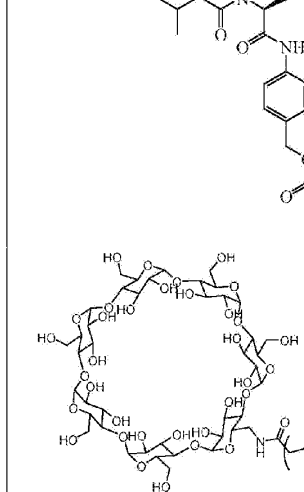
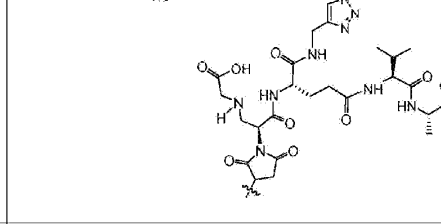
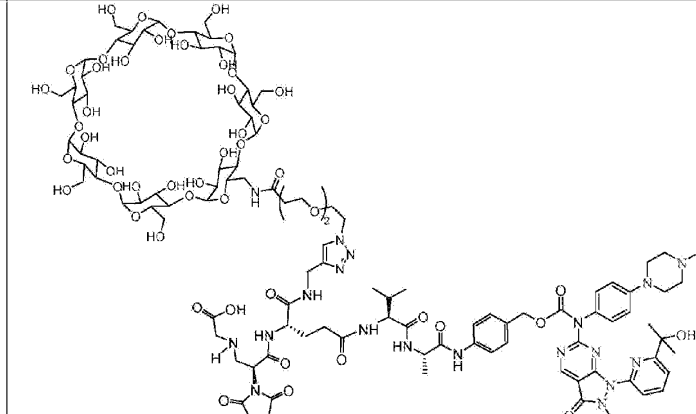


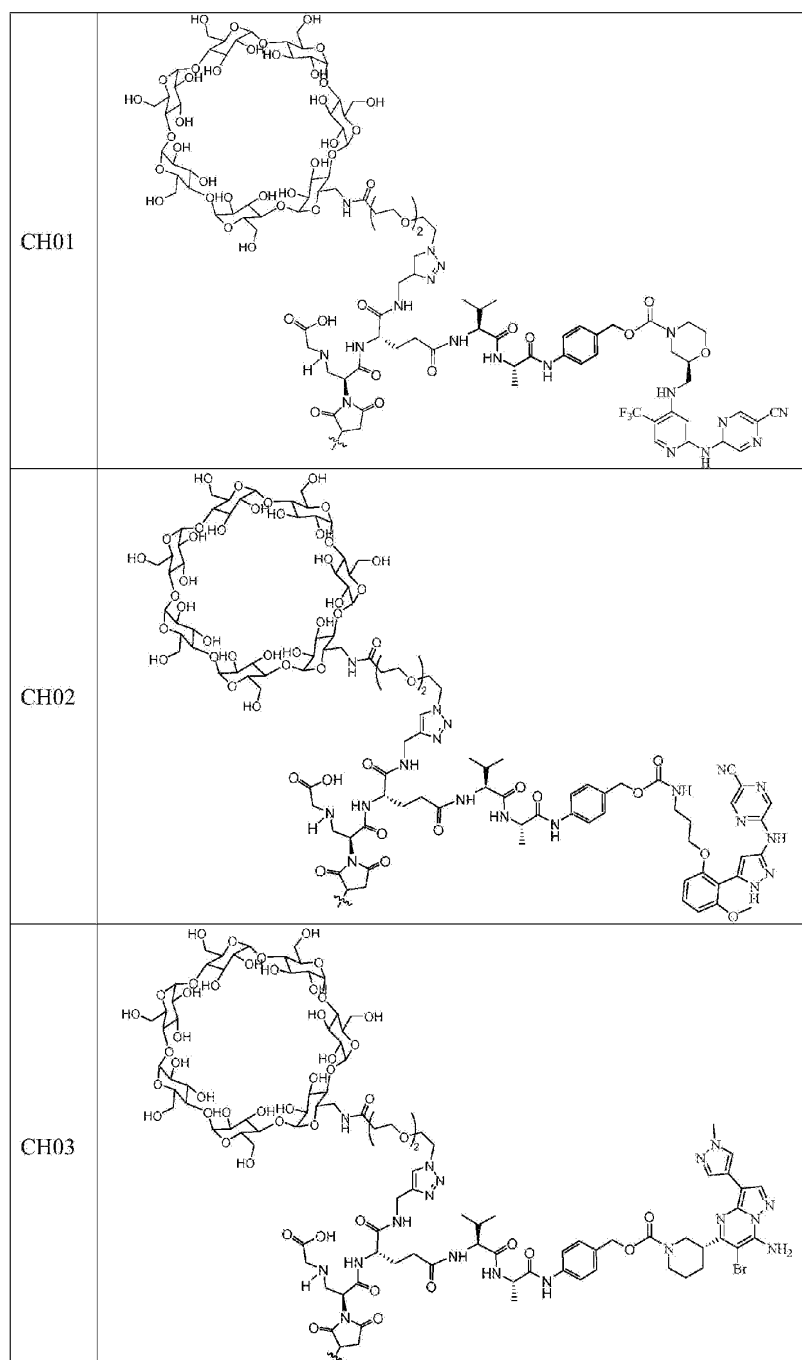
R03	
R03-1	
AT01	

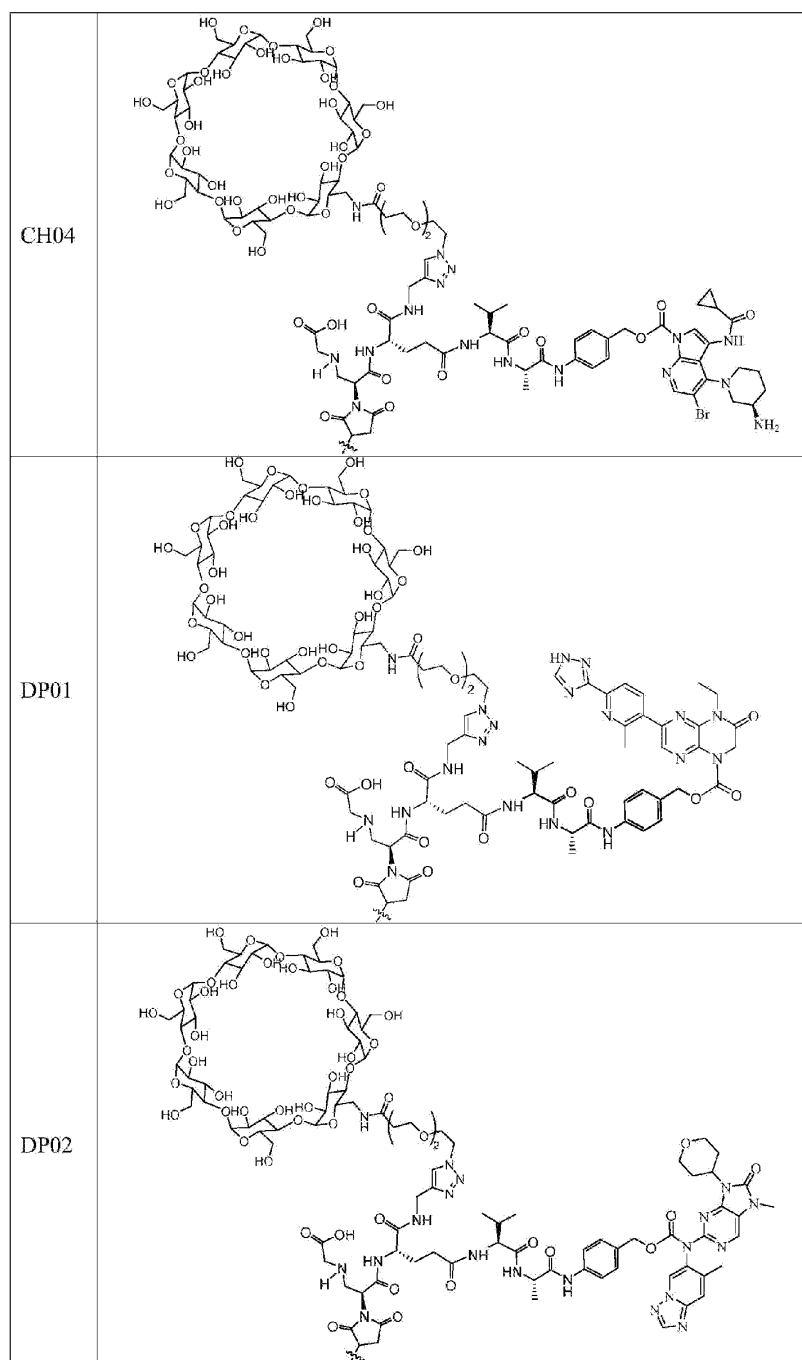


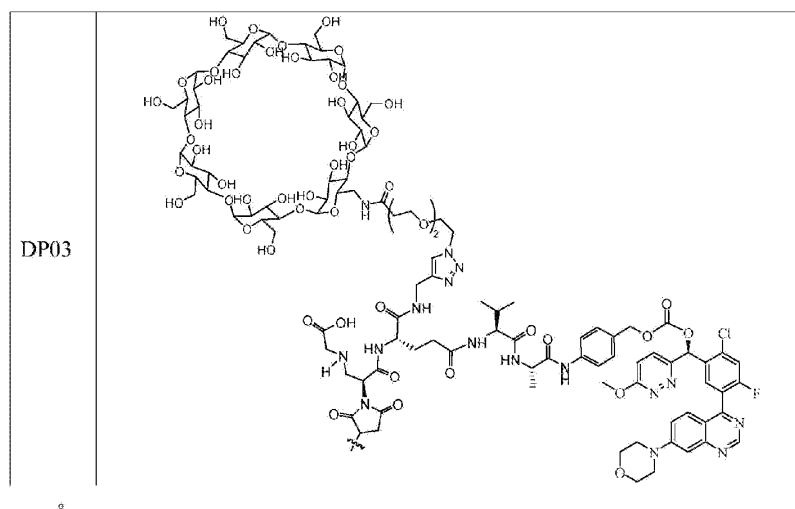




TM01	
TM02	
WE01	







[权利要求 5]

根据权利要求1-4任一项所述的配体药物偶联物或其立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物，其中，所述第一药物非限制性地选自微管蛋白结合剂、DNA损伤剂、酶抑制剂、免疫调控剂、肽或核苷酸；

优选地，所述第一药物选自：

a) 烷基化剂，PBD及其衍生物，氯苯那普，氯普那嗪，环磷酰胺，达卡巴嗪，雌二醇氮芥，异环磷酰胺，氮芥，盐酸二甲氧胺，氧化二氮芥，盐酸氨氯地平，麦考酚酸，卫矛醇，哌泊溴烷，新氮芥，苯芥胆留醇，松龙苯芥，噻替哌，曲磷胺对，尿嘧啶；CC-1065；多卡霉素；苯并二氮卓二聚体；亚硝基脲；烷基磺酸盐；三氮烯；含铂化合物；吡丙啶类，如苯并二氢吡喃酮，卡洛酮，美妥替派和乌雷多巴；乙烯亚胺和甲基三聚氰胺，包括六甲蜜胺，三亚乙基三胺，三乙基磷酰胺，三亚乙基硫代磷酰胺和三羟甲基甲基胺及其衍生物和氘代物；

b) 植物生物碱，长春花生物碱；类紫杉醇及其类似物；美登素生物碱及其类似物；cryptophycin；埃博霉素，软珊瑚醇，迪莫利德，草苔虫内酯，海兔毒素，奥瑞他汀类，tubulysin, cephalos tatin, pancratistatin, sarcodictyin, 海绵抑制素，Monomethyl auristatin E (MMAE)、Monomethyl auristatin

F(MMAF)、美登木素生物碱(例如Maytansine DM1、Maytansine DM4)，鹅膏毒肽及其衍生物和氘代物；

c)DNA拓扑异构酶抑制剂，依托泊苷替尼，9-氨基喜树碱，喜树碱，克立那托，道诺霉素，依托泊苷，磷酸依托泊苷，伊立替康，米托蒽醌，诺消灵，视黄酸，替尼泊苷，拓扑替康，9-硝基喜树碱，SN38，丝裂霉素及其衍生物和氘代物；

d)抗代谢物，抗叶酸剂，DHFR抑制剂；MP脱氢酶抑制剂；核糖核苷酸还原酶抑制剂；嘧啶类似物，尿嘧啶类似物；胞嘧啶类似物；嘌呤类似物；叶酸补充剂；

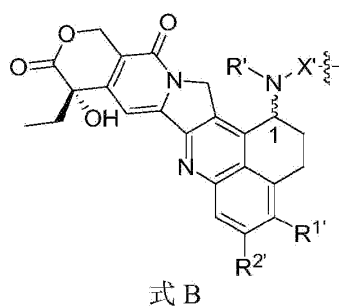
e)激素疗法剂，受体拮抗剂，抗雌激素，LHRH兴奋剂；抗雄激素药；维甲类化合物，维生素D3类似物；光动力疗法剂；细胞因子，含TNF的人蛋白及其衍生物和氘代物；

f)激酶抑制剂，BIBW2992，伊马替尼，吉非替尼，厄加他尼，索拉非尼，达沙替尼，舒尼替尼，厄洛替尼，尼洛替尼，拉帕替尼，阿西替尼，帕唑帕尼，凡德他尼，E7080，mubritinib，普纳替尼，bafetinib，bosutinib，卡博替尼，维莫德吉，iniparib，鲁索利替尼，CYT387，阿西替尼，tivozanib，索拉非尼，贝伐单抗，西妥昔单抗，曲妥珠单抗，雷珠单抗，帕尼单抗，伊斯平斯及其衍生物和氘代物；

g)抗生素，稀二炔类抗生素，aclacinomysins，放线菌素，安曲霉素，重氮丝氨酸，博来霉素，卡诺霉素，卡拉霉素，洋红霉素，嗜癌素，阿霉素，吗啉代阿霉素，2-吡咯啉阿霉素和脱氧柔红霉素，表柔比星，阿柔比星，伊达比星，马可霉素，霉素，霉酚酸，洛匹霉素，培洛霉素，嘌呤霉素，三铁阿霉素，链脲霉素，链脲佐菌素，杀结核菌素，乌苯美司，净司他丁，佐柔比星，PNU-159682及其衍生物和氘代物；

h)聚酮化合物，特别是bullatacin和bullatacinone；吉西他滨，环氧酶素，硼替佐米，沙利度胺，来那度胺，pomal

idomide, tosedostat, zybrestat, PLX4032, STA-9090, Stimuva x, allovectin-7, Xegeva, Provenge, Yervoy, 异戊二稀化抑制剂, 多巴胺能神经毒素, 放线菌素, 博莱霉素, 蒽环类抗生素, 阿霉素, 伊达比星, 表柔比星, 啦柔比星, 佐柔比星, 米托蒽醌, MDR抑制剂, Ca^{2+} /ATP酶抑制剂, 组蛋白去乙酰酶抑制剂; 塞来昔布, 格列酮类, 表没食子儿茶素没食子酸酯, 双硫仑, Salinosporamide A; 抗肾上腺药物, 如氨鲁米特, 米托坦, 曲洛司坦, 醋葡萄糖内酯, 醛磷酰胺, 氨基乙酰丙酸, 安吡啶, 阿拉伯糖苷, bestrAbuci, 比生群, edatraxate, defofamine, 美可辛, 地吡醌, 依氟鸟氨酸, elfornithine, 依利醋铵, 乙基葡萄糖酸, 硝酸镓, 胞嘧啶, 羟基脲, 伊班膦酸盐, 香菇多糖, 氯尼达明, 米托胍脲, 米托蒽醌, 莫哌达醇, 二胺硝吡啶, 喷司他丁, 蛋氨酸芥, 吡柔比星, 鬼臼酸, 2-乙肼, 甲基苄肼; PSK®; 哌嗪二酮丙烷; 根霉素; 西佐; 螺环锗; 细格孢氮杂酸; 三亚胺醌; 三氯三乙胺; 单端孢霉烯, 聚氨酯, siRNA和反义药物及其衍生物和氘代物; 更优选地, 所述第一药物D1选自喜树碱结构类化合物或其氘代物; 优选地, 所述喜树碱结构类化合物具有式B所示结构,



其中:

与N原子相连的1号手性碳原子具有R构型或者S构型的绝对手性;
 R' 选自氢、氘、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、芳基、取代芳基或杂芳基;

优选地, R' 选自氢、C1-C6烷基;

更优选地, R' 为氢;

R^{1'} 选自氢、氘、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、羧基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基;

优选地, R^{1'} 选自氢、C1-C6烷基;

更优选地, R^{1'} 选自C1-C6烷基;

最优选地, R^{1'} 为甲基;

R^{2'} 选自氢、氘、卤素、烷基、取代烷基、氘代烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、羧基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基;

优选地, R^{2'} 选自卤素;

更优选地, R^{2'} 为氟;

X' 选自 -C(O)-(CR^{3'}R^{4'})_t-CR^{a'}R^{b'}-O-, -C(O)-(CR^{3'}R^{4'})_t-CR^{a'}R^{b'}-NH- 或 -C(O)-(CR^{3'}R^{4'})_t-CR^{a'}R^{b'}-S-, 优选地, 羰基端与N原子相连;

优选地, X' 选自 -C(O)-(CR^{3'}R^{4'})_t-CR^{a'}R^{b'}-O-, 优选地, 羰基端与N原子相连;

更优选地, X' 选自 -C(O)-CR^{a'}R^{b'}-O-, 优选地, 羰基端与N原子相连;

R^{a'} 选自氢、氘、卤素、烷基、氘代烷基、卤代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基;

优选地, R^{a'} 选自氢、C1-C6烷基;

更优选地, R^{a'} 为氢;

R^{b'} 选自氢、氘、卤素、烷基、氘代烷基、卤代烷基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、芳基、取代芳基或杂芳基;

优选地, R^{b'} 选自氢、氘、C1-C6烷基、C3-C6环烷基、C1-C6卤代烷基;

更优选地, R^{b'} 选自氢、氘、甲基、环丙基、三氟甲基;

或者, $R^{a'}$ 、 $R^{b'}$ 及其所连接碳原子构成C3-6环烷基、环烷基烷基或杂环基;

$R^{3'}$ 、 $R^{4'}$ 相同或者不同, 且各自独立地选自氢、氘、卤素、烷基、卤代烷基、氘代烷基、烷氧基、羟基、氨基、氰基、硝基、羟烷基、环烷基或杂环基;

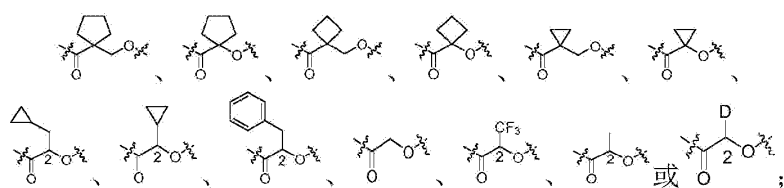
或者, $R^{3'}$ 、 $R^{4'}$ 及其所连接碳原子构成C3-6环烷基、环烷基烷基或杂环基;

与 X' 相连的右侧的波浪线与 L_1 相连;

t 选自0-4的整数;

优选地, t 为0;

优选地, X' 非限制性地选自以下结构:

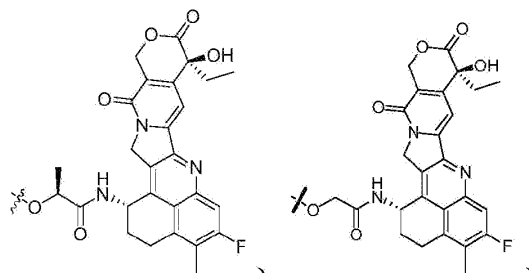


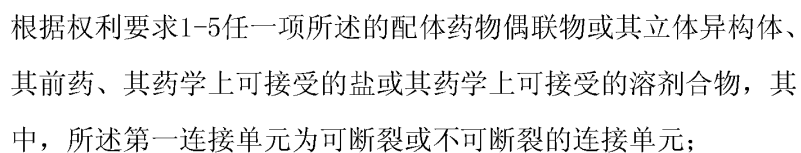
其中:

2号手性碳原子具有R构型或S构型的绝对手性;

左侧波浪线与式B所示化合物的N相连, 右侧波浪线与 L_1 相连;

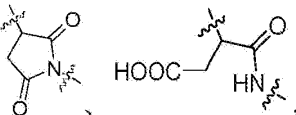
优选地, 式B所示化合物选自





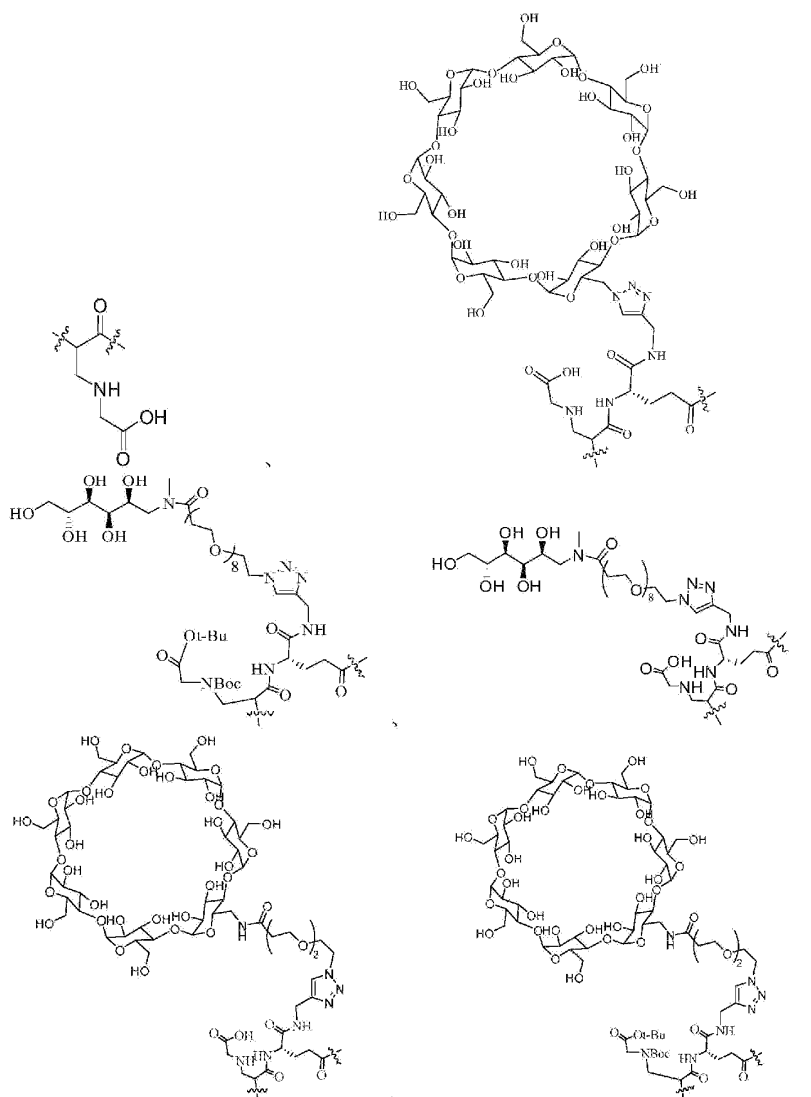
优选地, L_1 为 L_{11} - L_{12} - L_{13} - L_{14} , 且 L_{14} 与 D_1 相连接, L_{11} 与 Ab 相连接 (优选地, L_{11} 通过巯基偶联至 Ab 上),

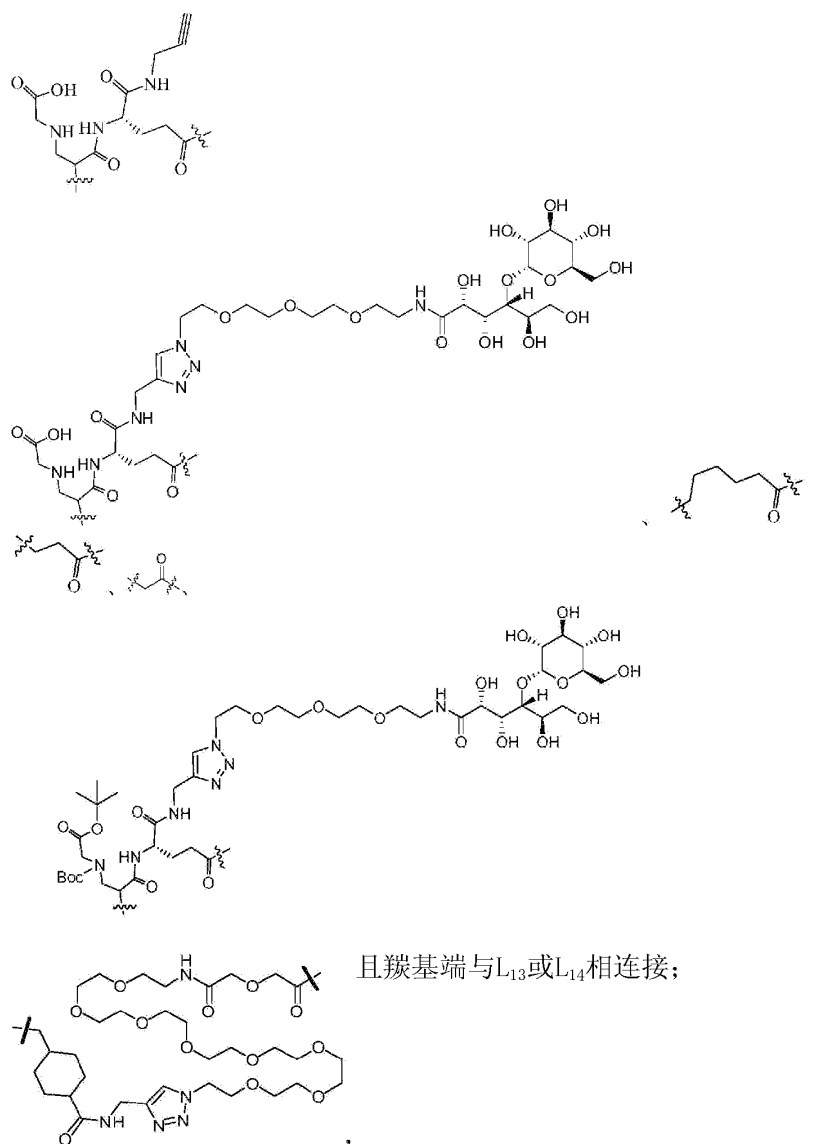
L_{11} 选自



且 N 端与 L_{12} 相连接,

L_{12} 选自:





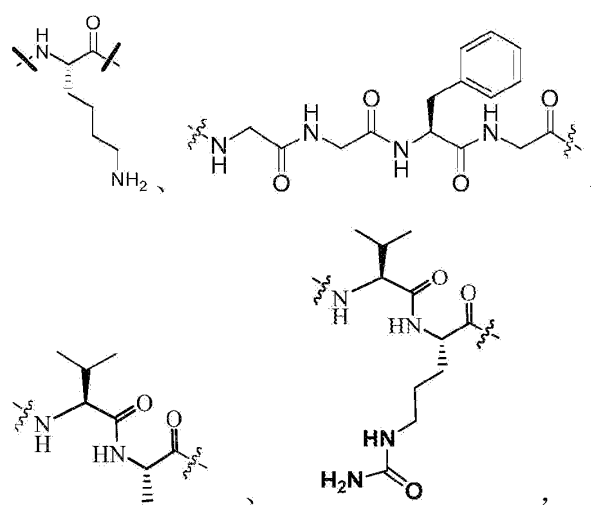
L₁₃选自直接键、氨基酸残基或由2-10个氨基酸残基组成的肽残基，且L₁₃选自氨基酸残基或由2-10个氨基酸残基组成的肽残基时，羰基端与L₁₄相连接；

优选地，L₁₃选自直接键、氨基酸残基、由2-4个氨基酸残基组成的肽残基，且L₁₃选自氨基酸残基、由2-4个氨基酸残基组成的肽残基时，羰基端与L₁₄相连接，优选地，所述氨基酸选自缬氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、赖氨酸、瓜氨酸、丝氨酸、谷氨酸、天冬

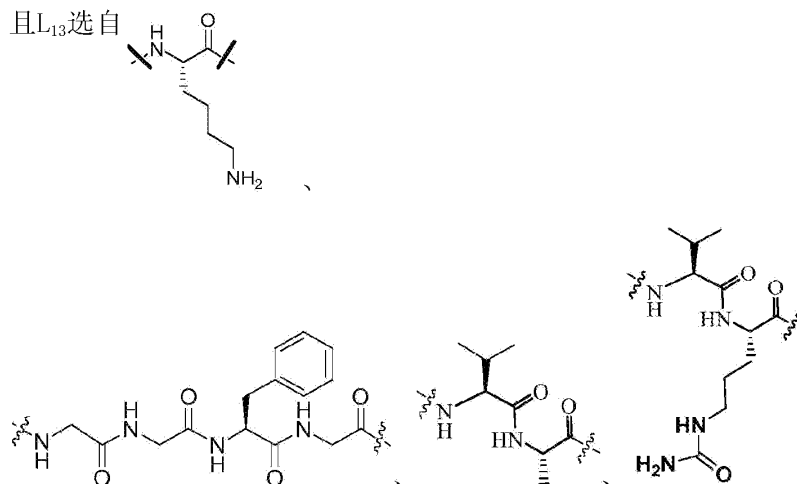
氨酸，更优选地，所述氨基酸选自缬氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、瓜氨酸、赖氨酸；

更优选地， L_{13} 选自直接键、赖氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-甘氨酸(Gly-Gly-Phe-Gly)、缬氨酸-丙氨酸(Val-Ala)、缬氨酸-瓜氨酸(Val-Cit)，且 L_{13} 选自赖氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-甘氨酸(Gly-Gly-Phe-Gly)、缬氨酸-丙氨酸(Val-Ala)、缬氨酸-瓜氨酸(Val-Cit)时，羰基端与 L_{14} 相连接；

最优选地， L_{13} 选自直接键、



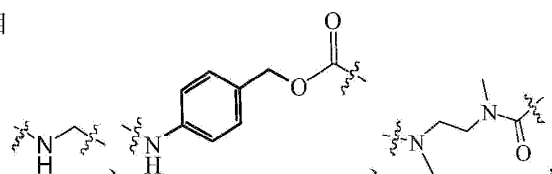
且 L_{13} 选自



时，羰基端与 L_{14} 相连接；

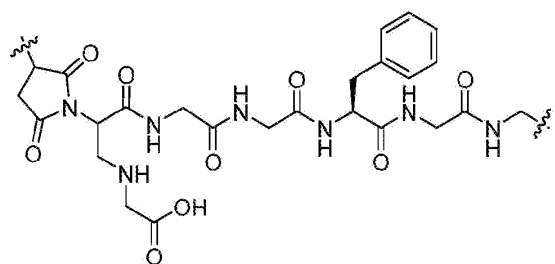
L₁₄选自

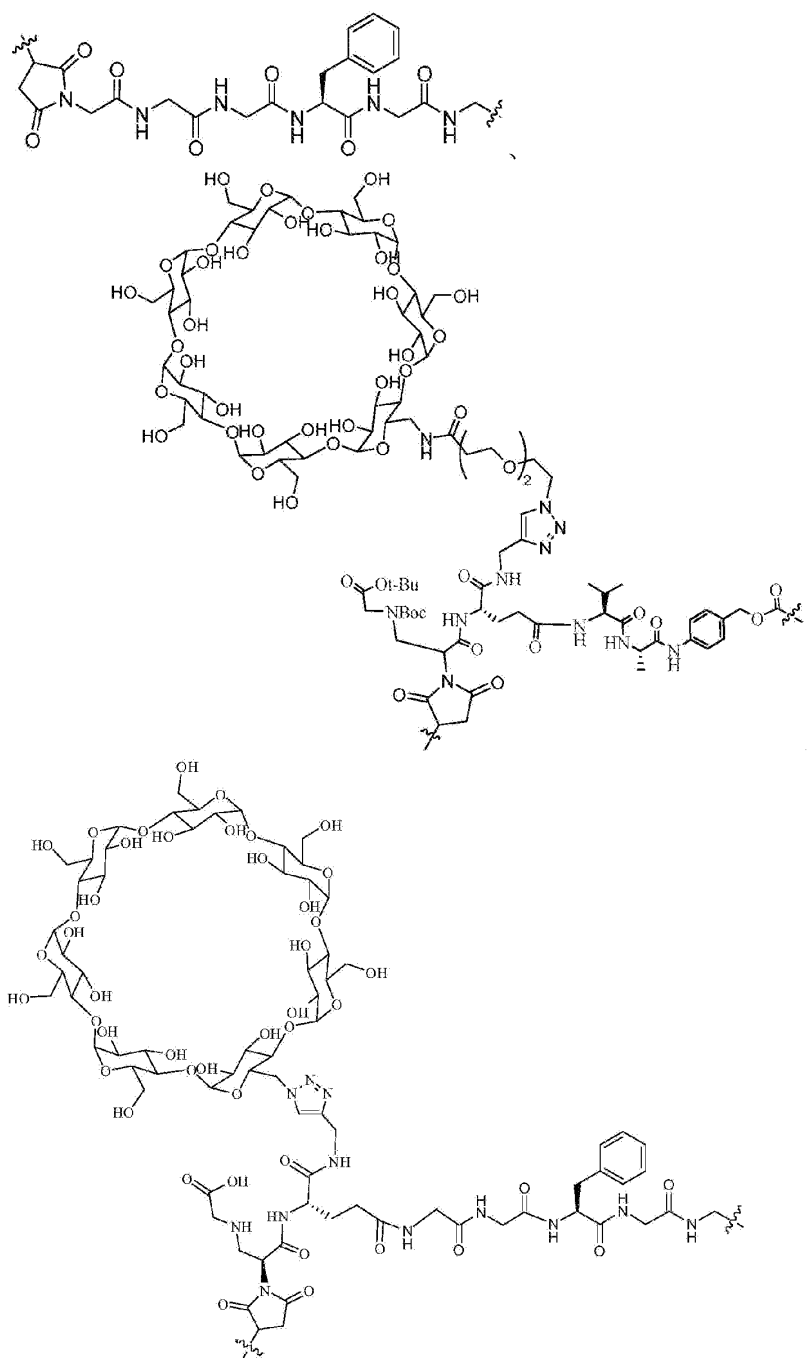
且氨基端与L₁₃

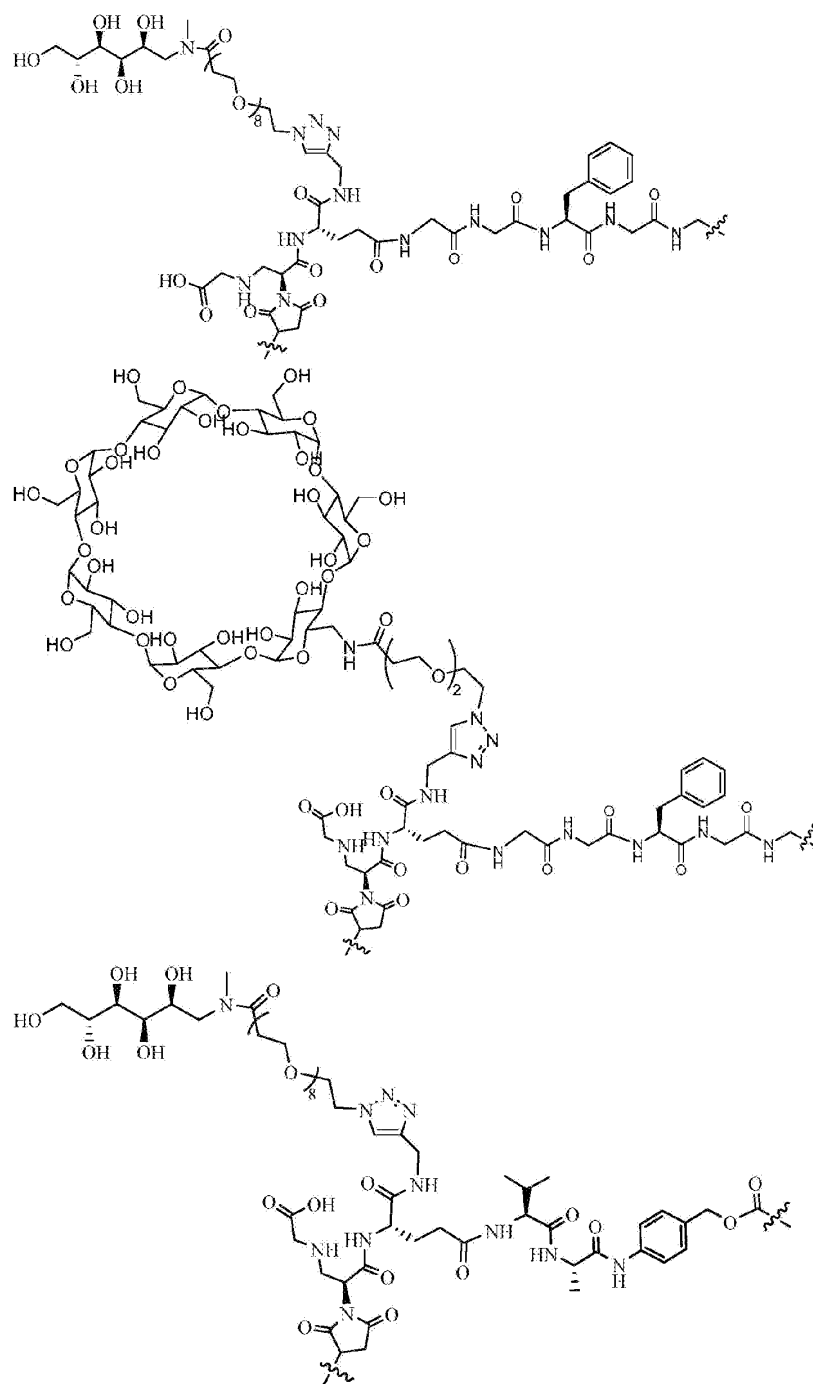


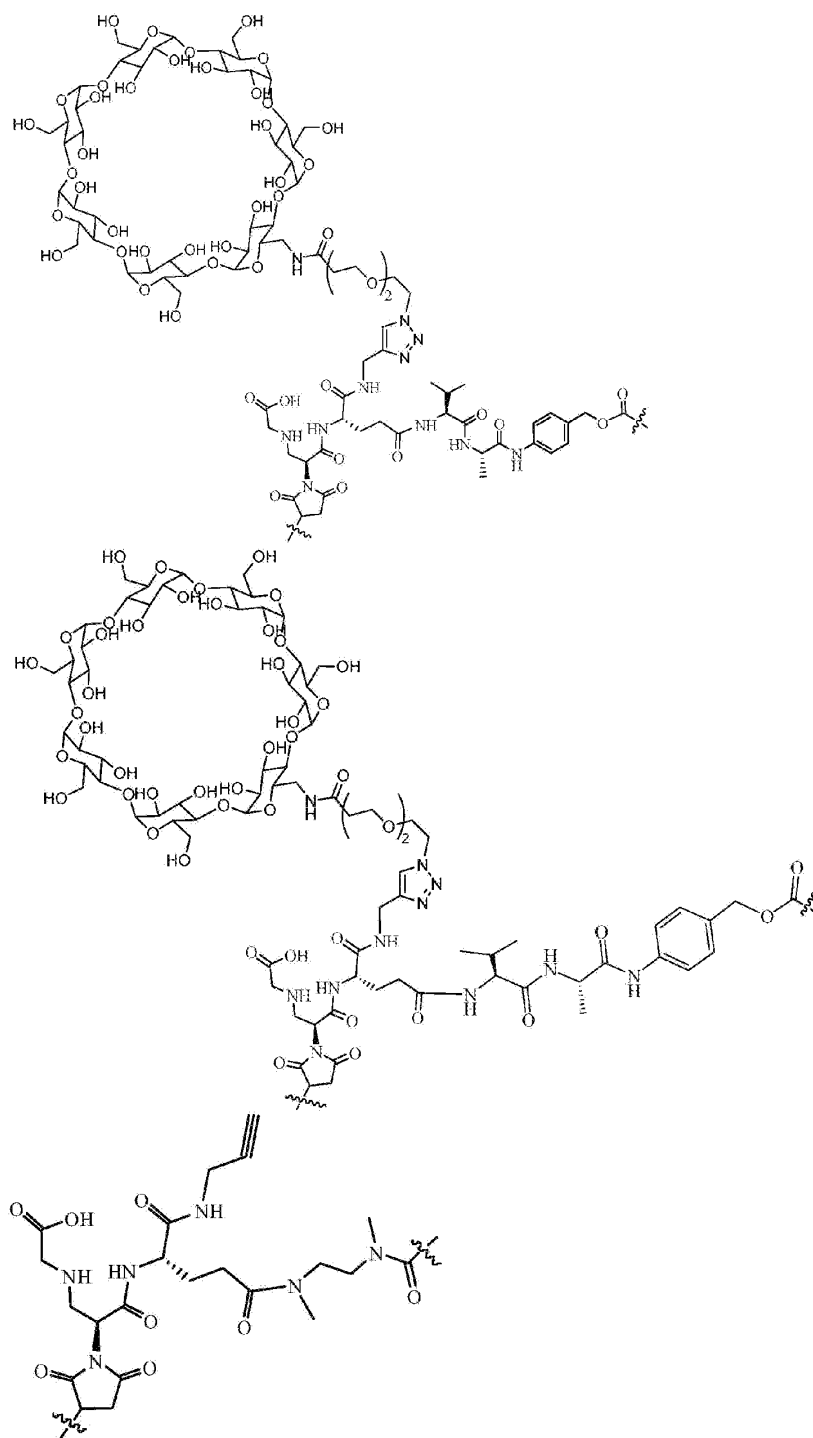
或L₁₂相连接，羰基端或碳端与D₁相连接；

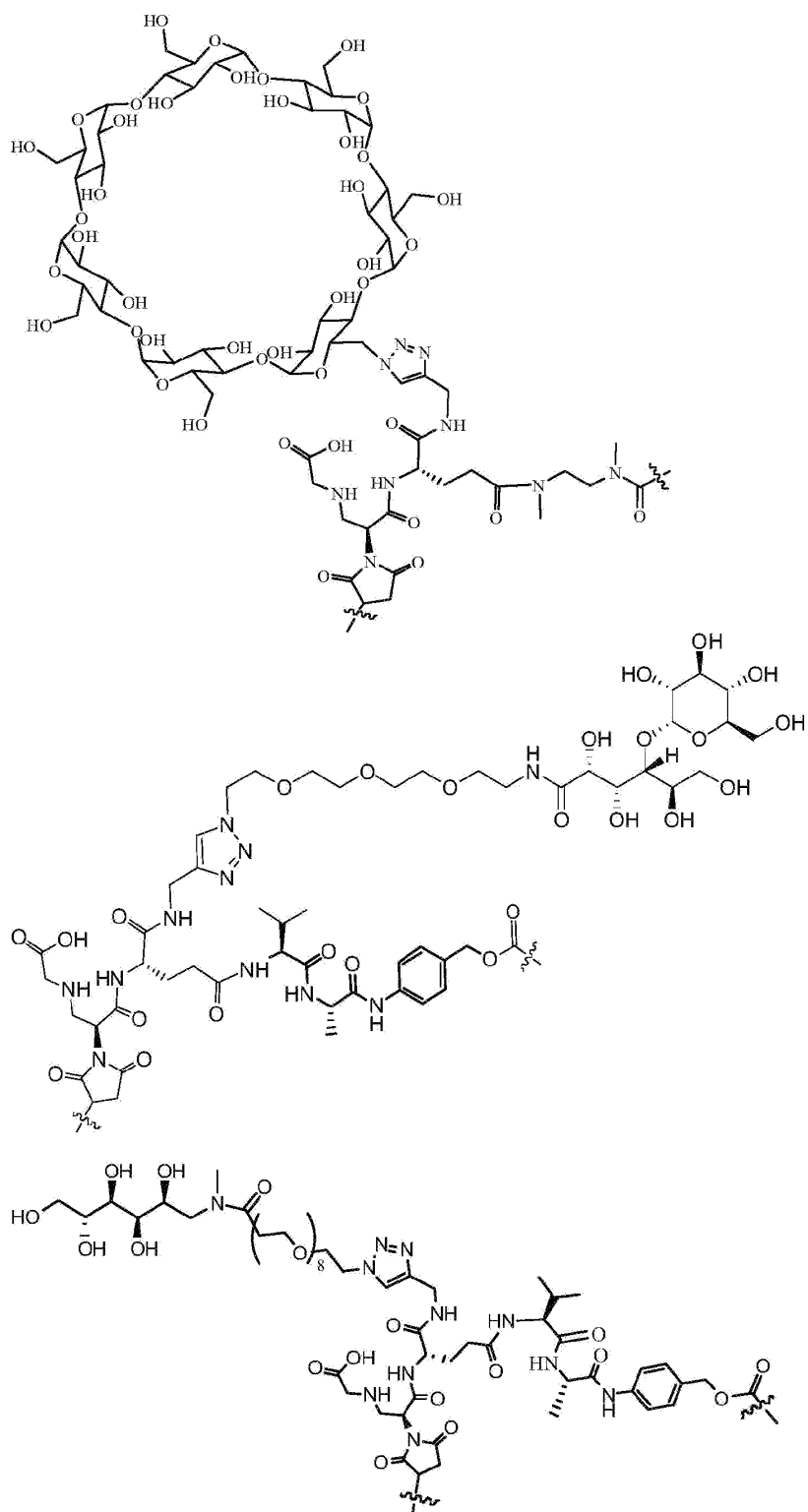
优选地，L₁选自：

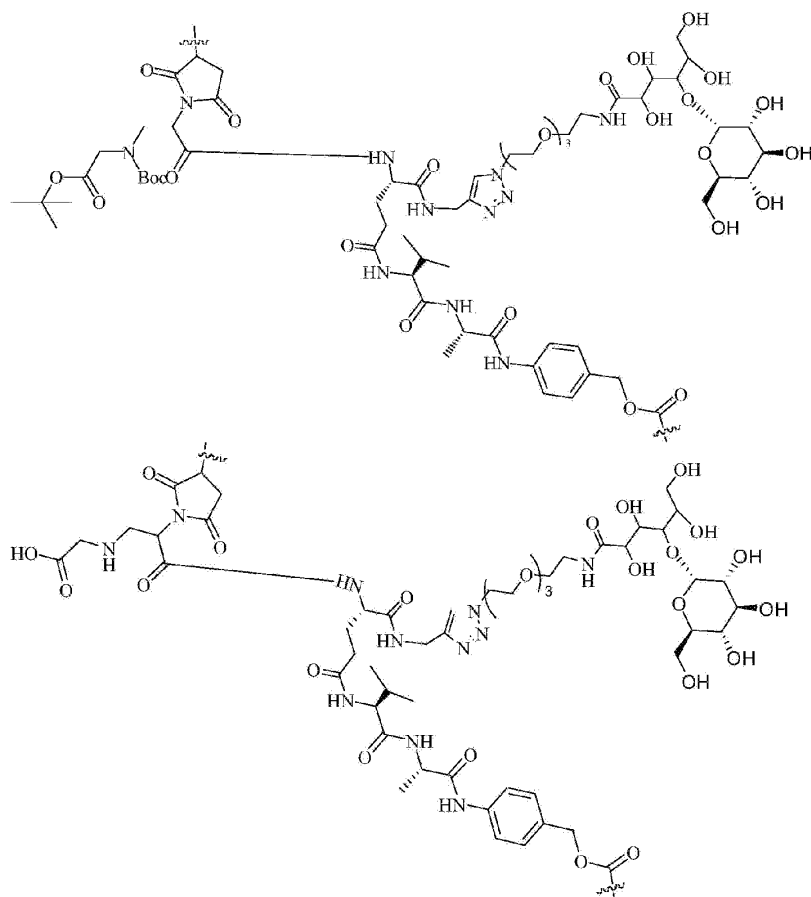


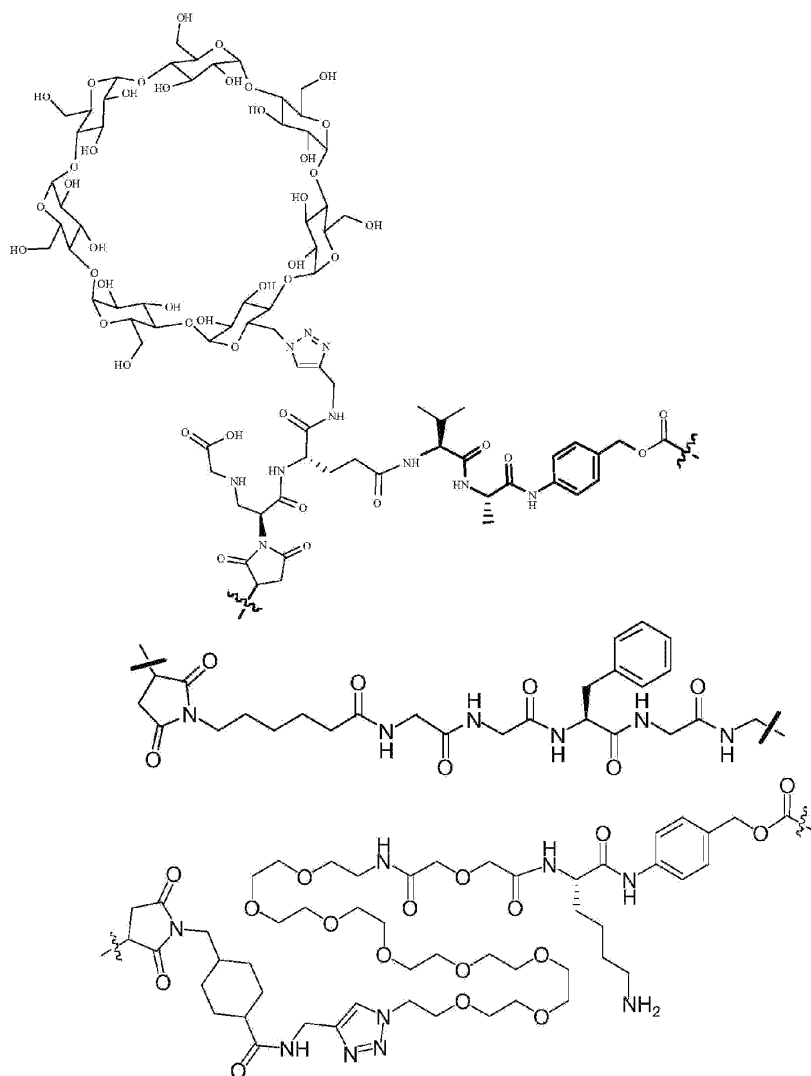








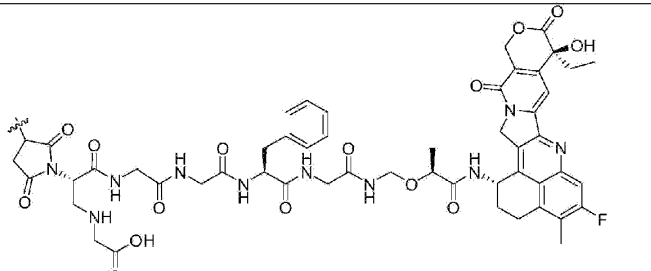
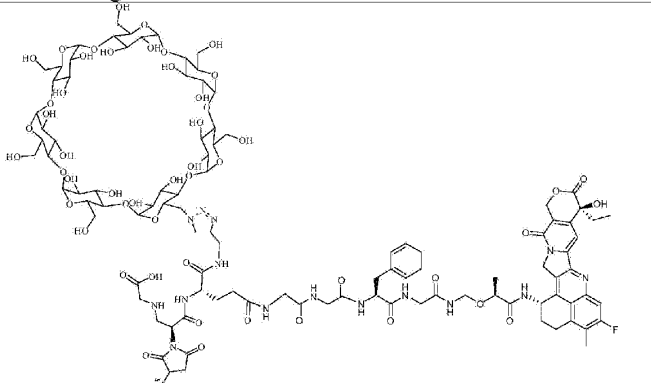
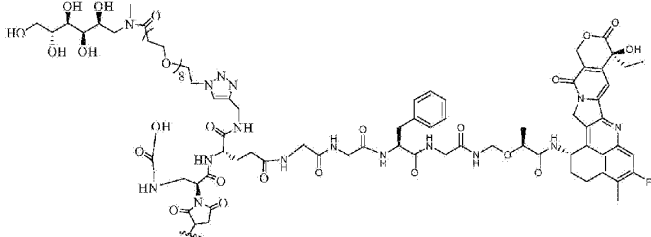
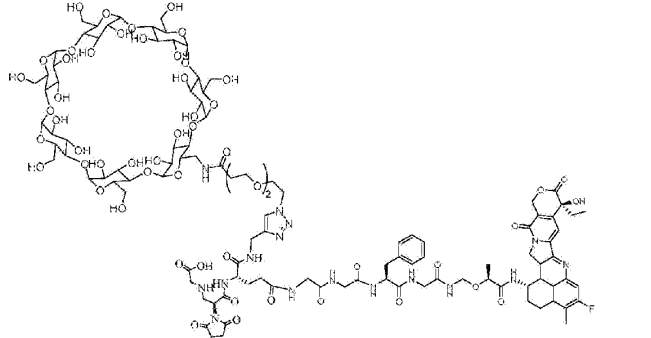


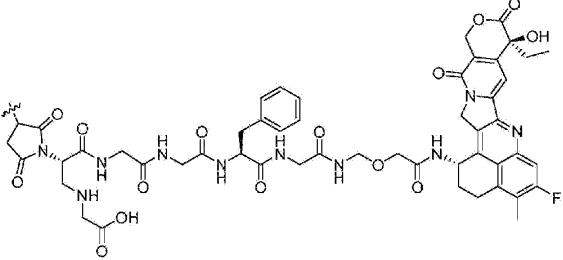
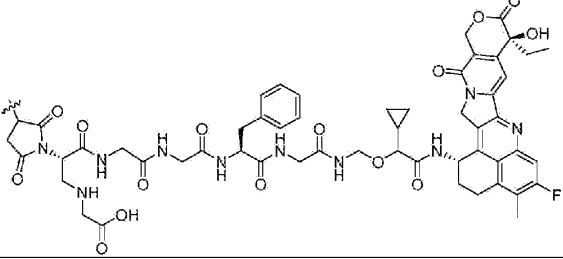
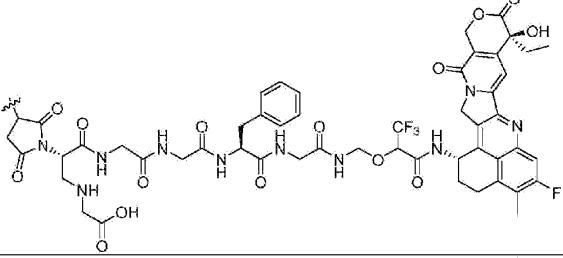
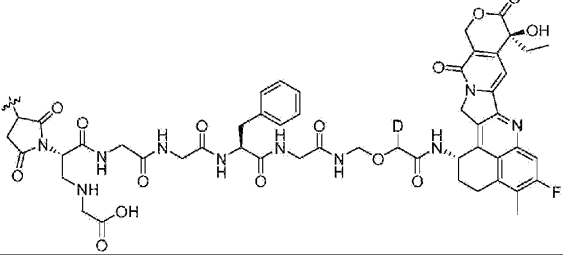
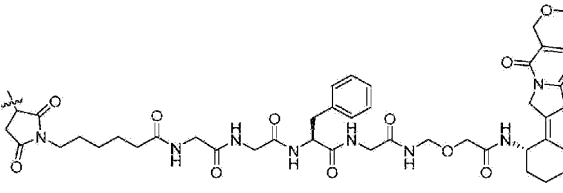


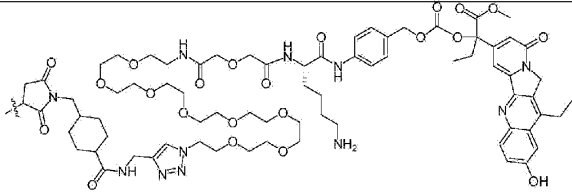
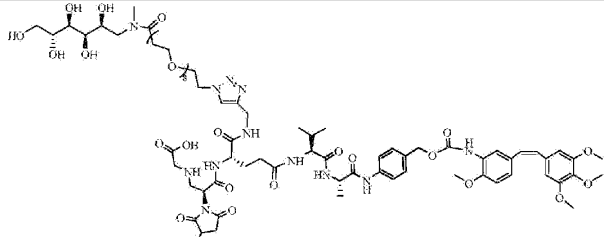
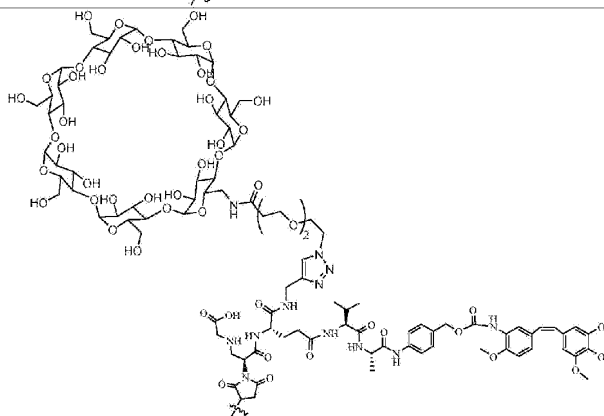
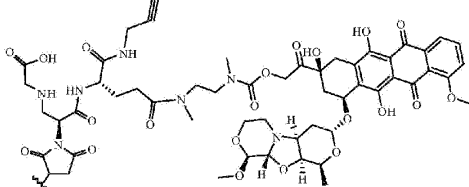
且羰基端或含 N^{H} 一端的碳端与 D_1 相连接。

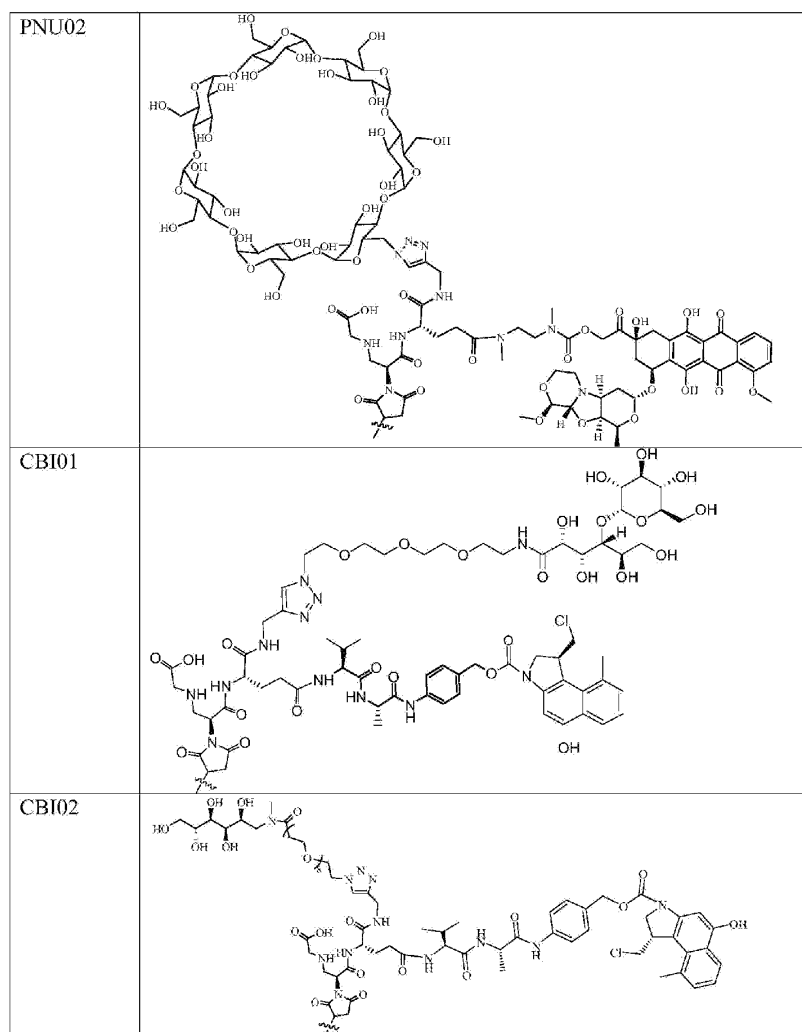
[权利要求 7]

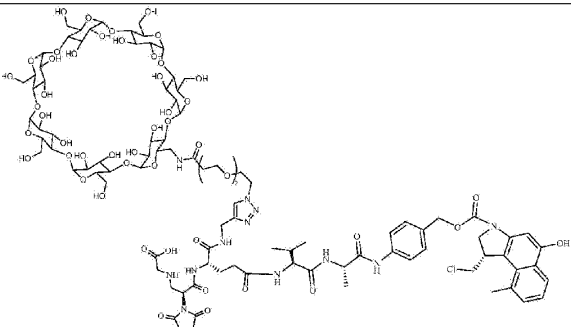
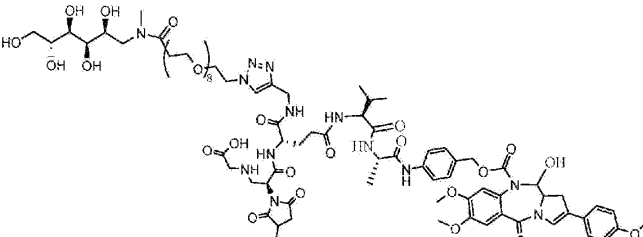
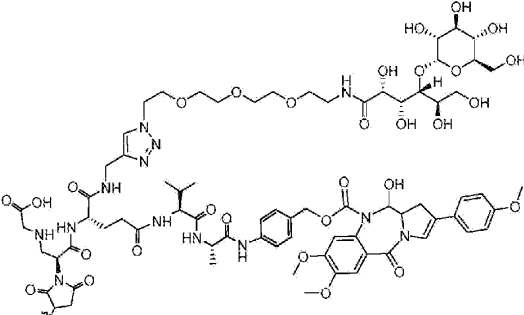
根据权利要求1-6任一项所述的配体药物偶联物或其立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物，其中， D_1 - L_1 -选自：

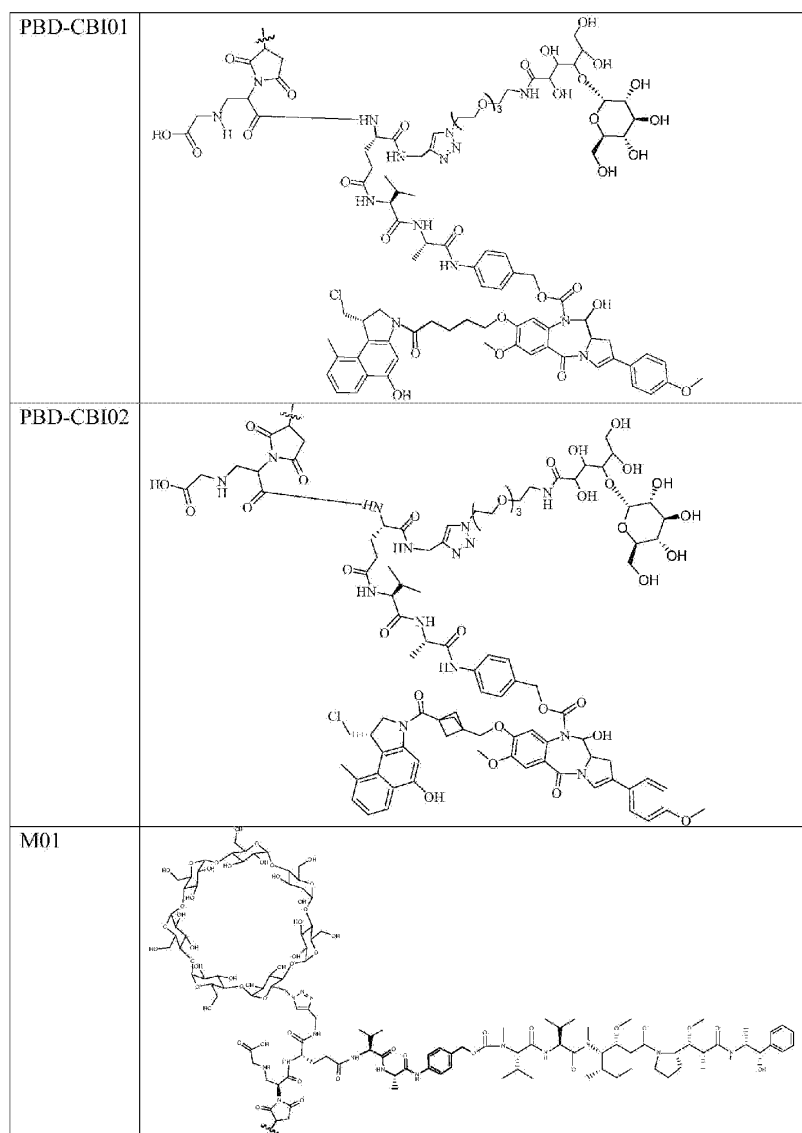
Ex01	
Ex02	
Ex03	
Ex04	

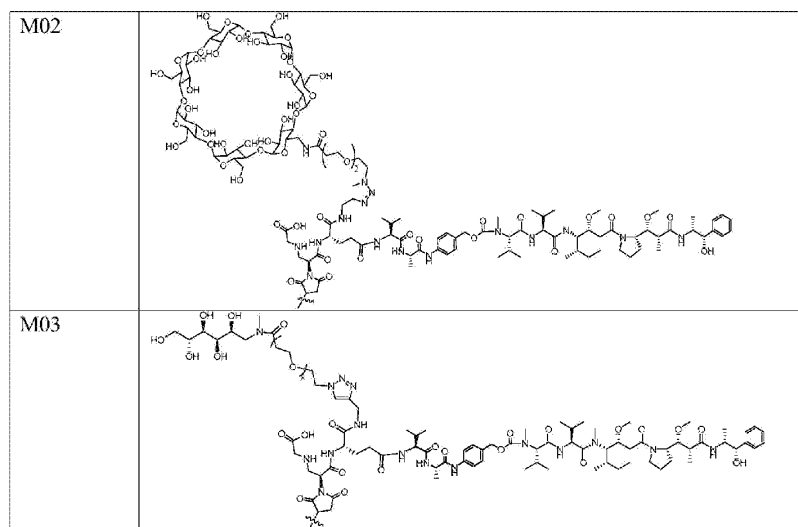
Ex05	
Ex06	
Ex07	
Ex08	
Ex09	

SN01	
PB01	
PB02	
PNU01	



CBI03	 Chemical structure of CBI03, featuring a large, complex molecule with a central core and multiple side chains, including a long, branched chain with a terminal hydroxyl group and a side chain with a terminal hydroxyl group.
PBD01	 Chemical structure of PBD01, featuring a complex molecule with a central core and multiple side chains, including a long, branched chain with a terminal hydroxyl group and a side chain with a terminal hydroxyl group.
PBD02	 Chemical structure of PBD02, featuring a complex molecule with a central core and multiple side chains, including a long, branched chain with a terminal hydroxyl group and a side chain with a terminal hydroxyl group.





[权利要求 8]

根据权利要求1-7任一项所述的配体药物偶联物或其立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物，其中，m选自1-10的整数；

优选地，m选自2-8的整数；

更优选地，m选自2、4、8；

或者，n选自1-10的整数；

或者优选地，n选自2-8的整数；

或者更优选地，n选自2、4、8。

[权利要求 9]

根据权利要求1-8任一项所述的配体药物偶联物或其立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物，其中，Ab为选自鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体、全人源抗体、抗体片段、双特异性抗体及多特异性抗体，优选地，Ab通过其半胱氨酸巯基(-SH)与连接单元形成连接键；

优选地，Ab为抗体，所述抗体为单克隆抗体，其选自：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LRRRC15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 α v抗体、抗CAIX抗体、抗P-cadherin抗体、抗GD3抗体、抗Cadherin 6抗体、抗LAMP1抗体、抗FLT3抗体、抗BCMA抗体、抗CD79b抗体、抗CD19抗体、抗CD33抗体、抗CD56抗体、抗CD74抗体、抗CD22 抗体、抗CD30抗体、抗CD37抗体、抗CD47抗体、抗CD138抗体、抗CD352抗体、抗CD25抗体或抗CD123抗体。

[权利要求 10]

根据权利要求1-9任一项所述的配体药物偶联物或其立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物，其中，D₁-L₁-和D₂-L₂-均通过巯基偶联至Ab上；

优选地，所述巯基的来源选自：所述靶向部分原有的链间二硫键被还原后形成的半胱氨酸残基上的巯基、定点突变所述靶向部分上的部分原有氨基酸成为半胱氨酸后所述半胱氨酸上的巯基、向所述靶向部分定点插入半胱氨酸后所述半胱氨酸上的巯基、向所述靶向部分定点插入含半胱氨酸的多肽后所述半胱氨酸上的巯基；

优选地，D₁-L₁-和D₂-L₂-分别通过不同来源的巯基偶联至Ab上；

优选地，D₁-L₁-和D₂-L₂-中，任意一个通过所述靶向部分原有的链间二硫键被还原后形成的半胱氨酸残基上的巯基偶联至Ab上，另一个通过定点突变所述靶向部分上的部分原有氨基酸成为半胱氨酸后所述半胱氨酸上的巯基、或向所述靶向部分定点插入半胱氨酸后所述半胱氨酸上的巯基、或向所述靶向部分定点插入含半胱氨酸的多肽后所述半胱氨酸上的巯基偶联至Ab上。

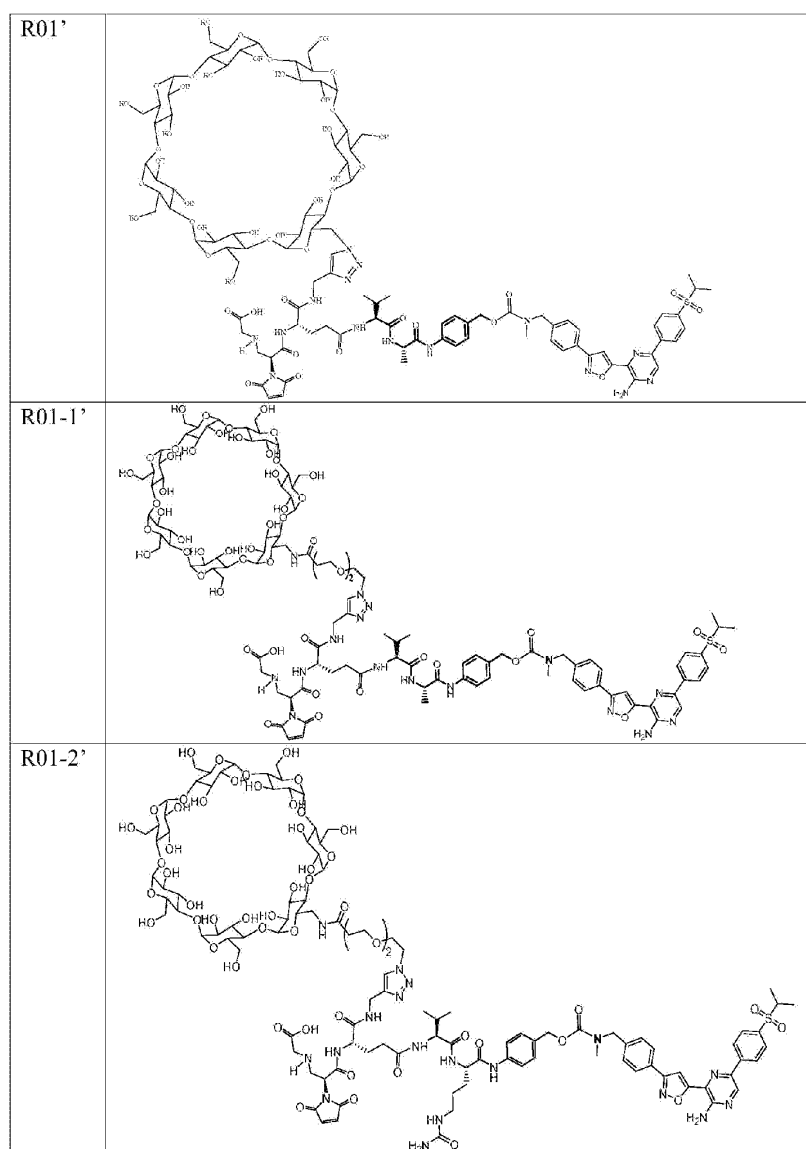
[权利要求 11] 根据权利要求1-10任一项所述的配体药物偶联物或其立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物，其中，所述配体药物偶联物选自：

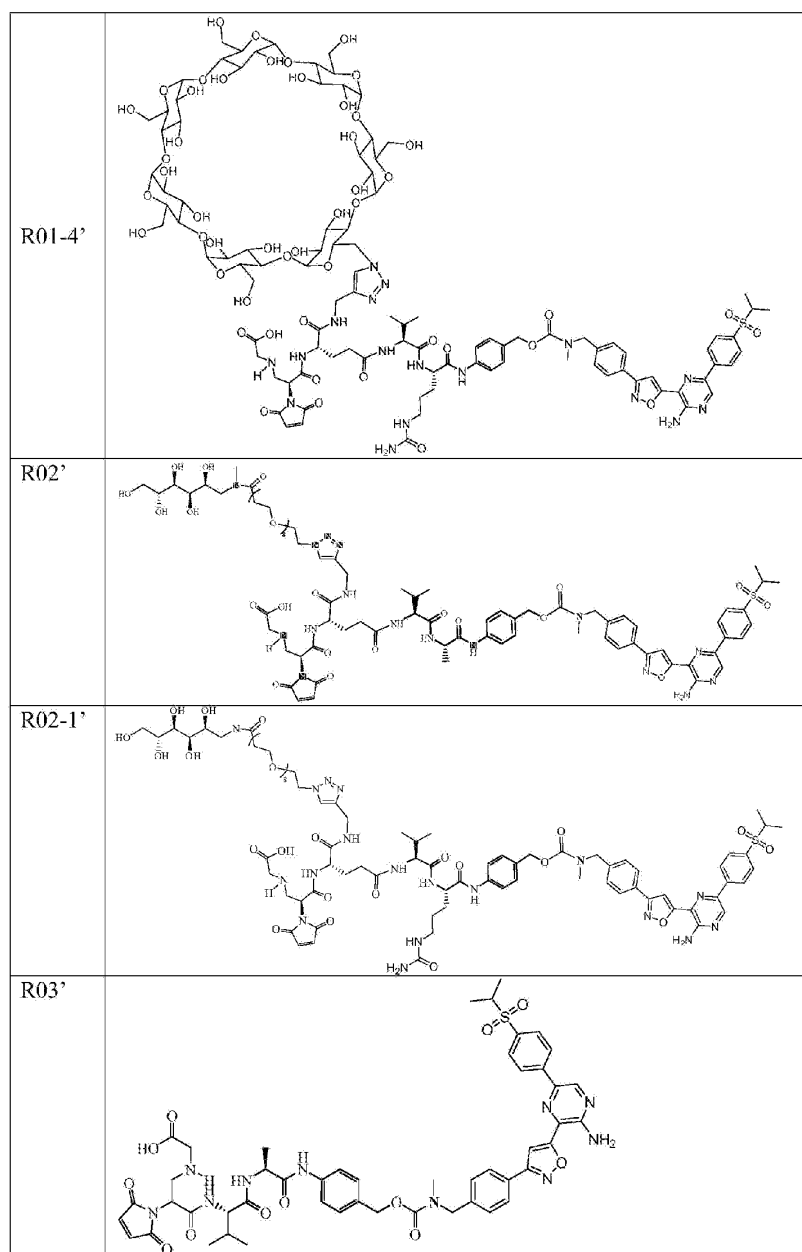
Ab-R01 (2) -Ex01 (8)、
Ab-R01 (8) -Ex01 (2)、
Ab-R01 (4) -Ex01 (4)、
Ab-R01 (4) -Ex01 (8)、
Ab-R01 (8) -Ex01 (4)、
Ab-R01 (2) -Ex02 (8)、
Ab-R01 (8) -Ex02 (2)、
Ab-R01 (4) -Ex02 (4)、
Ab-R01 (2) -Ex03 (8)、
Ab-R01 (8) -Ex03 (2)、
Ab-R01 (4) -Ex03 (4)、
Ab-R01 (2) -Ex04 (8)、
Ab-R01 (8) -Ex04 (2)、
Ab-R01 (4) -Ex04 (4)、
Ab-R01 (2) -Ex05 (8)、
Ab-R01 (8) -Ex05 (2)、
Ab-R01 (4) -Ex05 (4)、
Ab-R01 (2) -Ex06 (8)、
Ab-R01 (8) -Ex06 (2)、
Ab-R01 (4) -Ex06 (4)、
Ab-R01-1 (2) -Ex01 (8)、
Ab-R01-1 (8) -Ex01 (2)、
Ab-R01-1 (4) -Ex01 (4)、
Ab-R01-1 (8) -Ex01 (4)、
Ab-R01-1 (4) -Ex01 (8)、

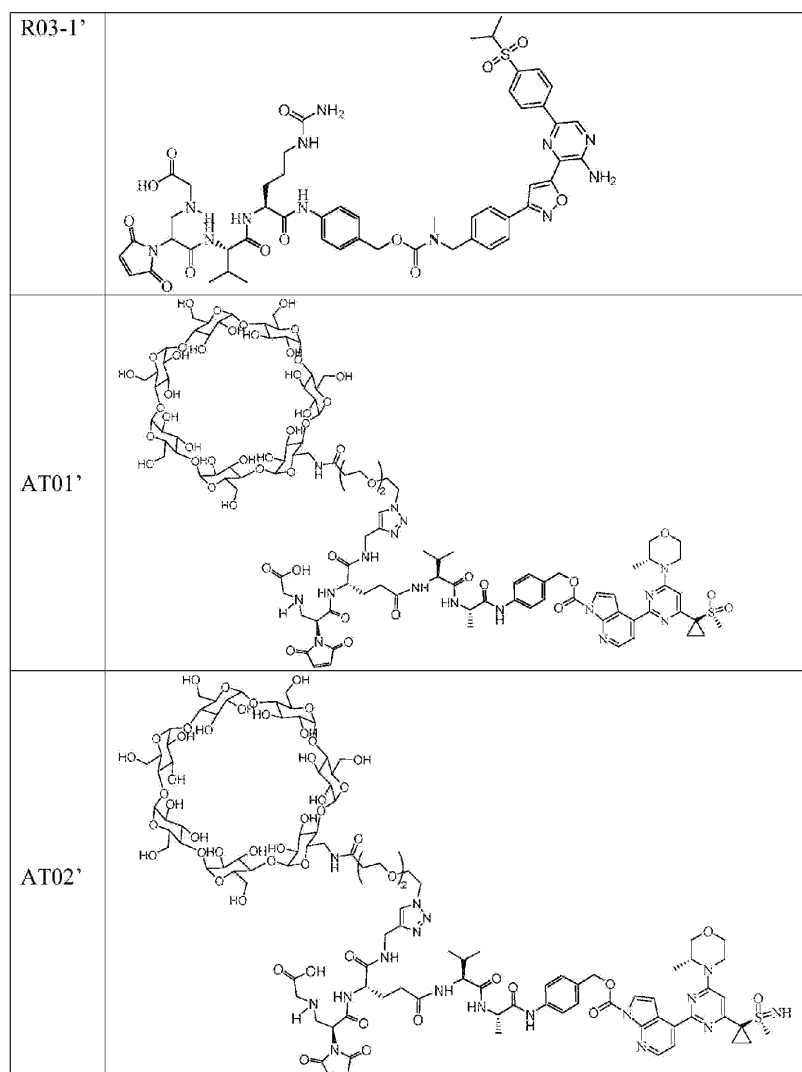
Ab-R01-1 (2) -Ex02 (8) 、
Ab-R01-1 (8) -Ex02 (2) 、
Ab-R01-1 (4) -Ex02 (4) 、
Ab-R01-1 (2) -Ex03 (8) 、
Ab-R01-1 (8) -Ex03 (2) 、
Ab-R01-1 (4) -Ex03 (4) 、
Ab-R01-1 (2) -Ex04 (8) 、
Ab-R01-1 (8) -Ex04 (2) 、
Ab-R01-1 (4) -Ex04 (4) 、
Ab-R01-1 (2) -Ex05 (8) 、
Ab-R01-1 (8) -Ex05 (2) 、
Ab-R01-1 (4) -Ex05 (4) 、
Ab-R01-1 (2) -Ex06 (8) 、
Ab-R01-1 (8) -Ex06 (2) 、
Ab-R01-1 (4) -Ex06 (4) 、
Ab-R01-1 (2) -PB01 (8) 、
Ab-R01-1 (2) -PB02 (8) 、
Ab-R01-1 (8) -PNU01 (2) 、
Ab-R01-1 (8) -PNU02 (2) 、
Ab-R01-1 (2) -CBI01 (8) 、
Ab-R01-1 (2) -CBI02 (8) 、
Ab-R01-1 (2) -CBI03 (8) 、
Ab-R01-1 (2) -PBD01 (8) 、
Ab-R01-1 (2) -PBD02 (8) 、
Ab-R01-1 (2) -PBD-CBI01 (8) 、
Ab-R01-1 (2) -PBD-CBI02 (8) 、
Ab-R01-1 (8) -M01 (2) 、
Ab-R01-1 (8) -M02 (2) 、

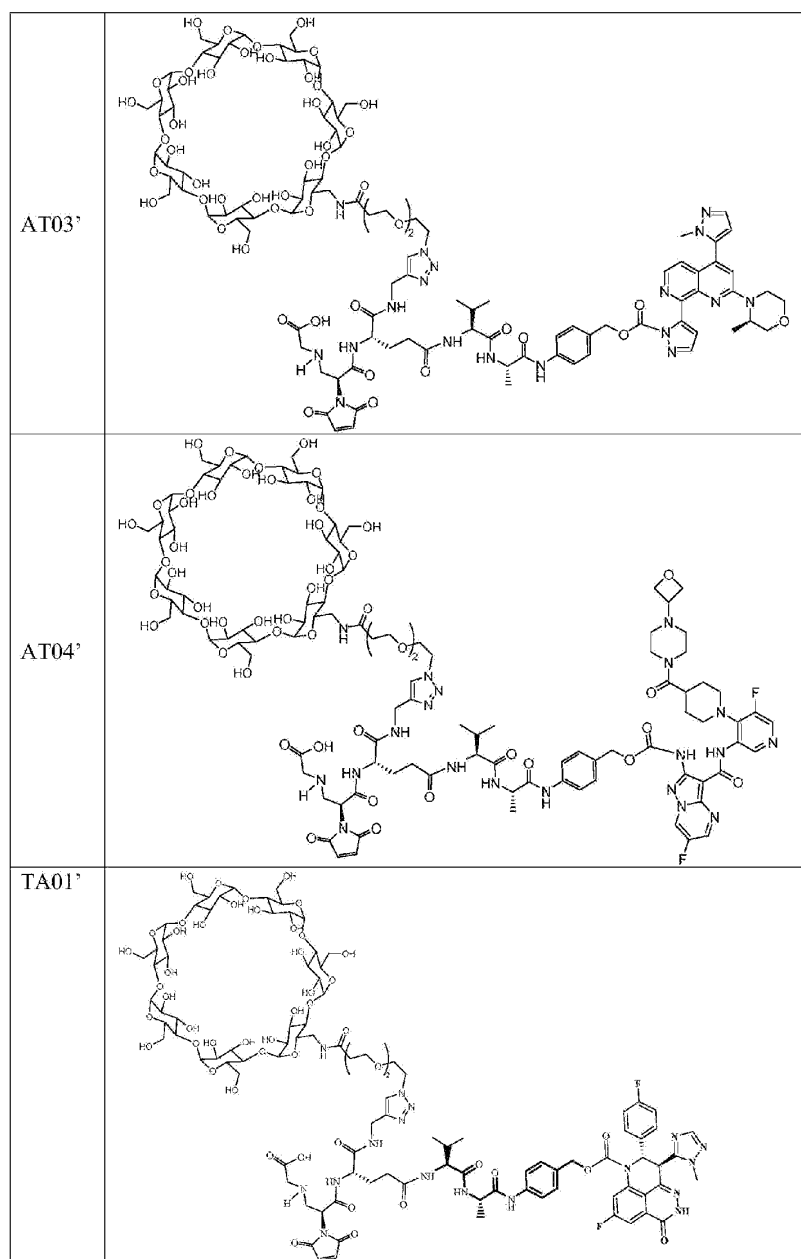
Ab-R01-1 (8) -M03 (2) 、
Ab-AT01 (2) -Ex01 (8) 、
Ab-AT02 (2) -Ex01 (8) 、
Ab-AT03 (2) -Ex01 (8) 、
Ab-AT04 (2) -Ex01 (8) 、
Ab-TA01 (2) -Ex01 (8) 、
Ab-VE01 (2) -Ex01 (8) 、
Ab-E01 (2) -Ex01 (8) 、
Ab-RU01 (2) -Ex01 (8) 、
Ab-PA01 (2) -Ex01 (8) 、
Ab-CEP01 (2) -Ex01 (8) 、
Ab-TM01 (2) -Ex01 (8) 、
Ab-TM02 (2) -Ex01 (8) 、
Ab-WE01 (2) -Ex01 (8) 、
Ab-CH01 (2) -Ex01 (8) 、
Ab-CH02 (2) -Ex01 (8) 、
Ab-CH03 (2) -Ex01 (8) 、
Ab-CH04 (2) -Ex01 (8) 、
Ab-DP01 (2) -Ex01 (8) 、
Ab-DP02 (2) -Ex01 (8) 、
Ab-DP03 (2) -Ex01 (8) 。

[权利要求 12] 药物-连接单元偶联物，或其立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物，其中，所述药物-连接单元偶联物选自以下：

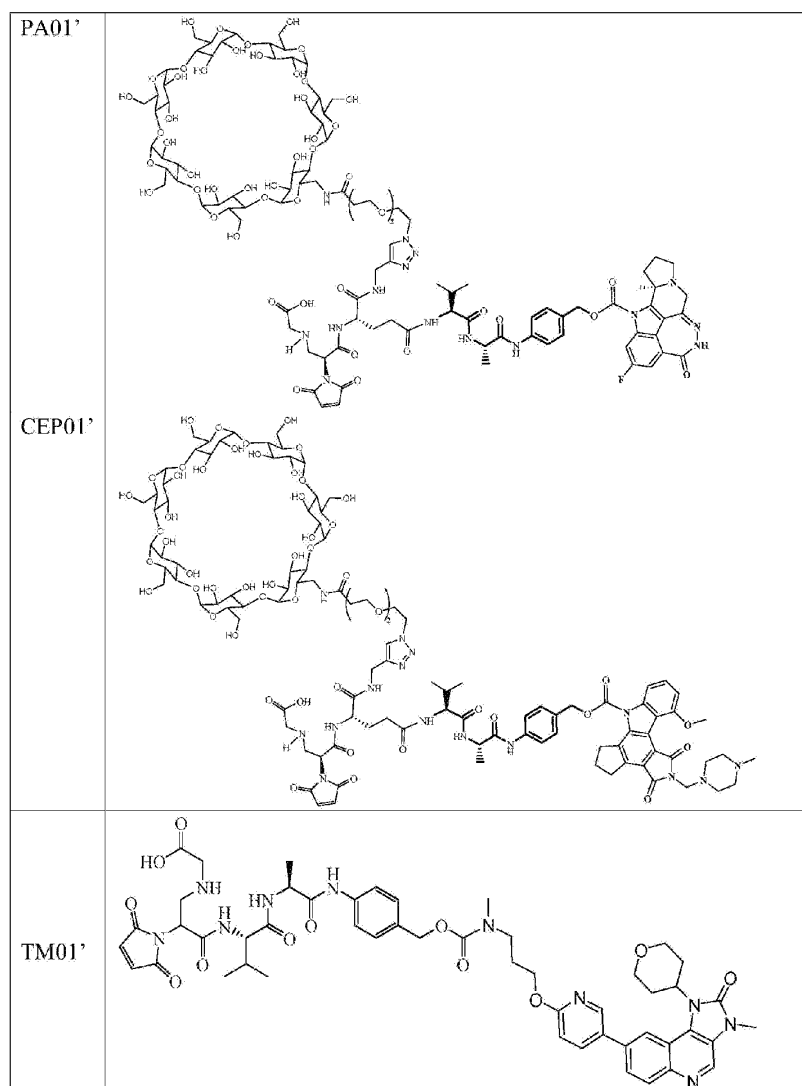


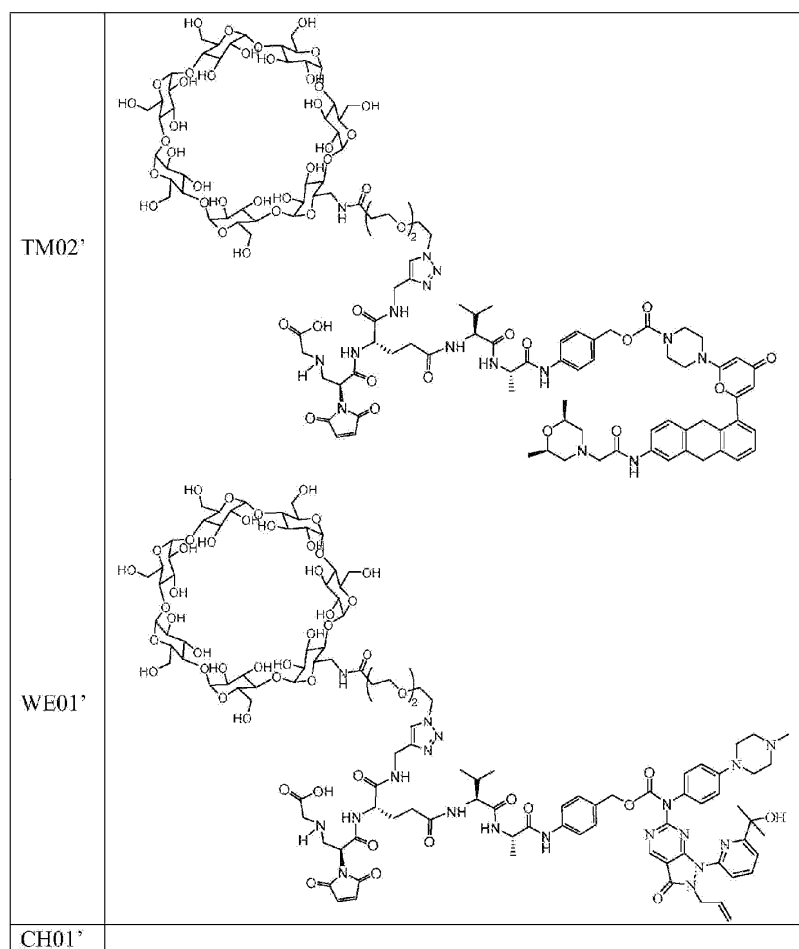


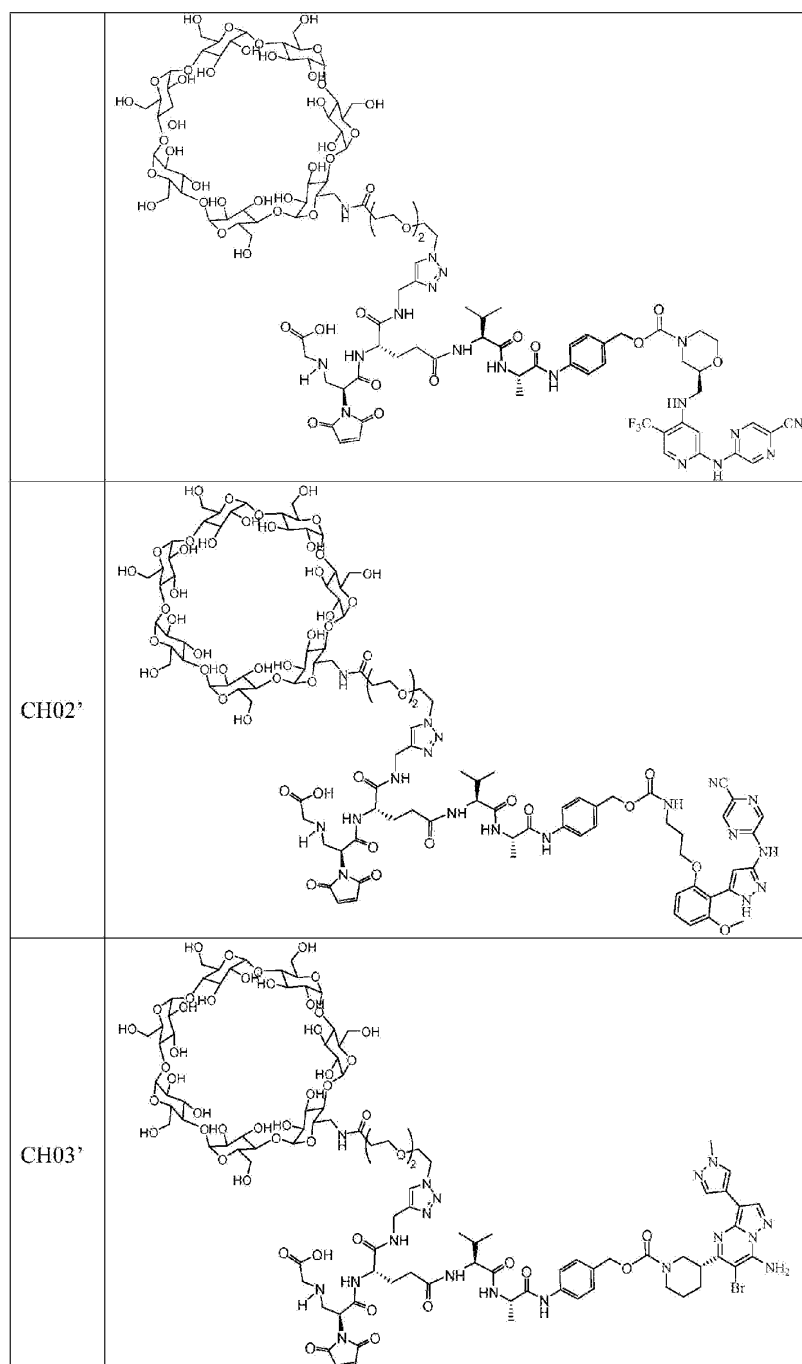


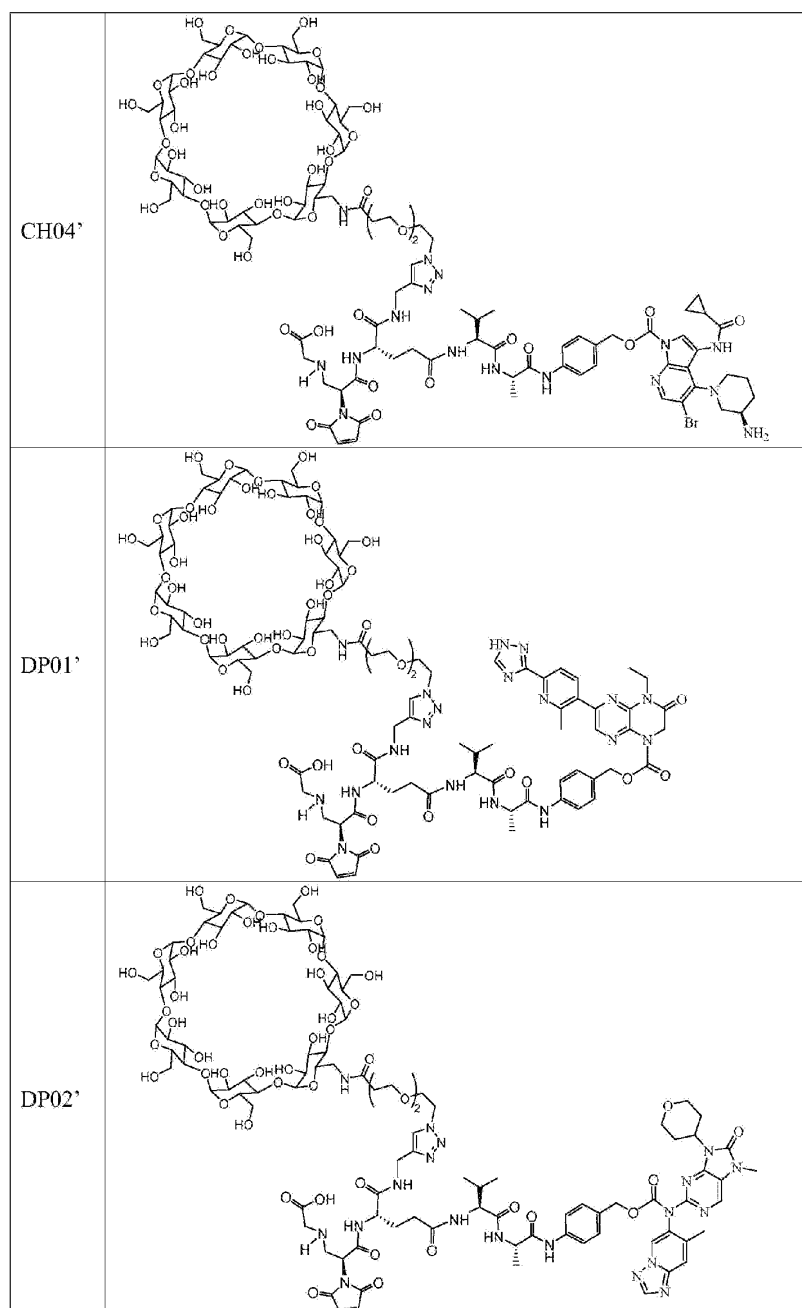


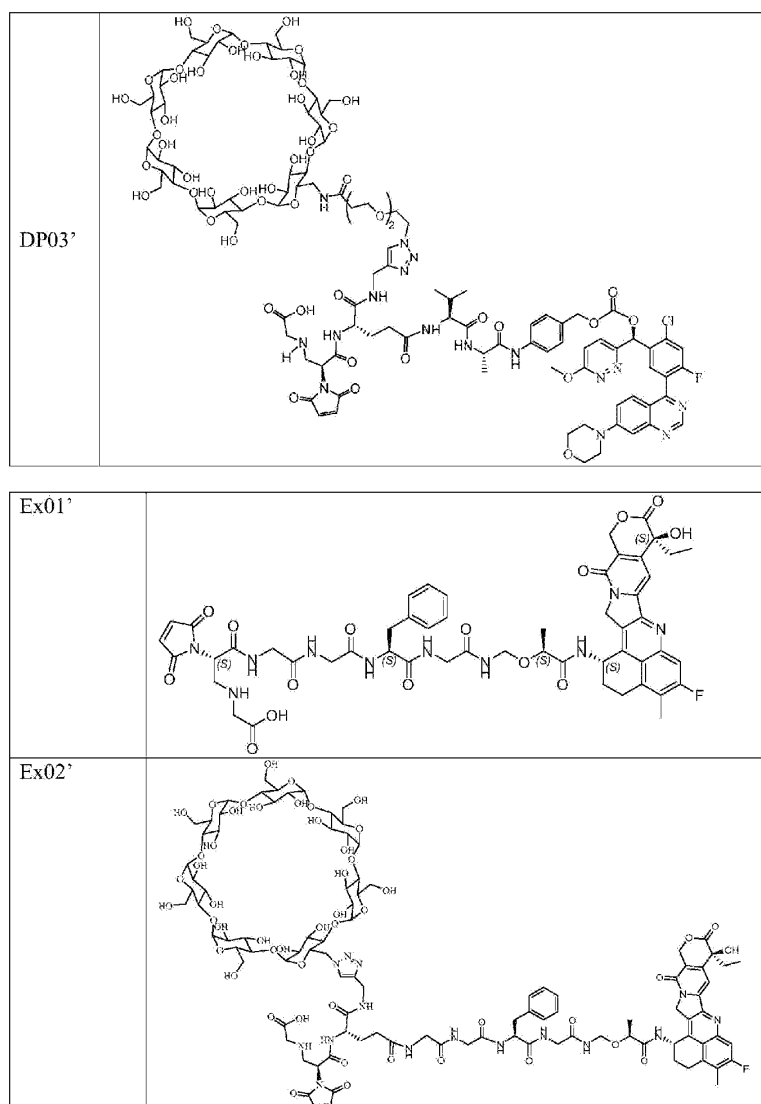
VE01'	
E01'	
RU01'	



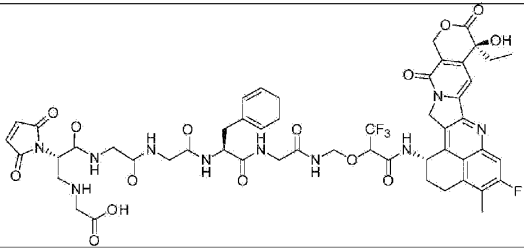
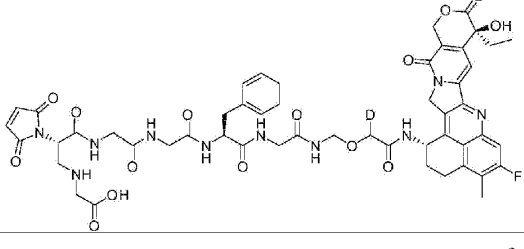
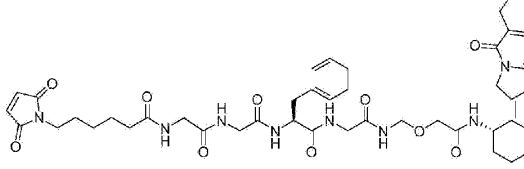
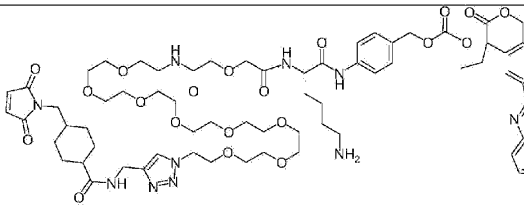
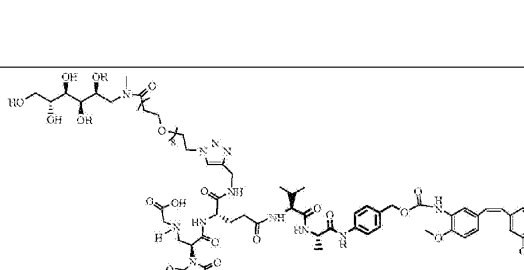


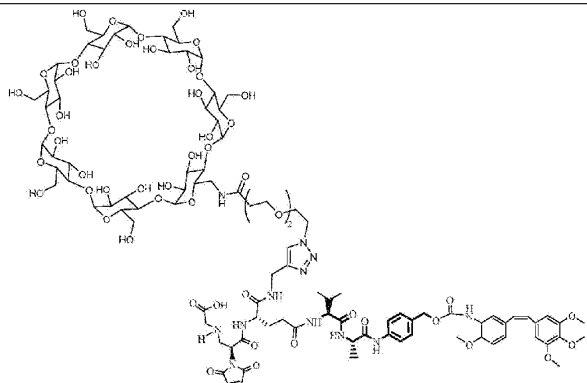
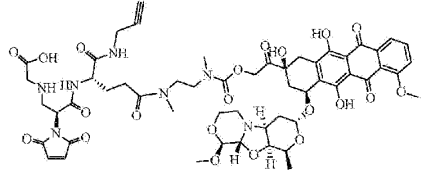
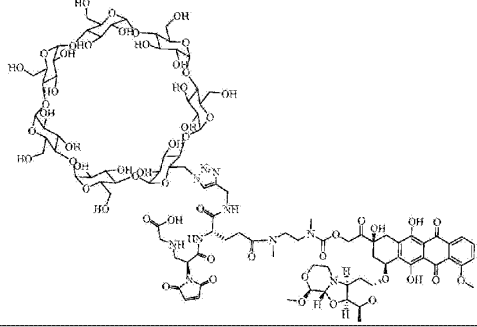
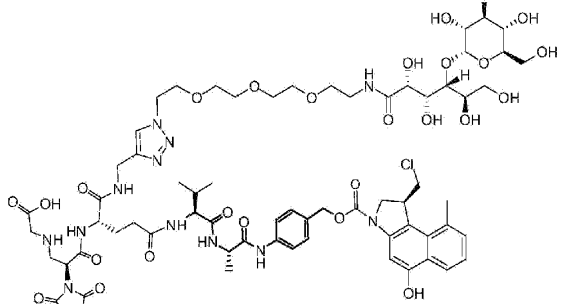


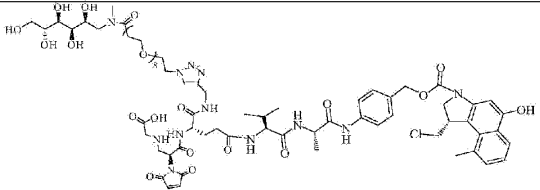
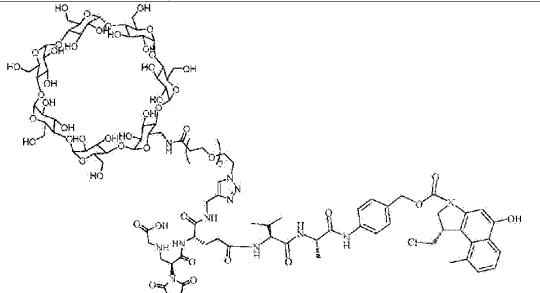
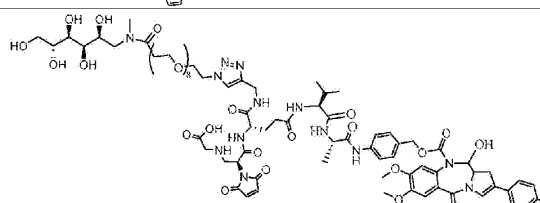
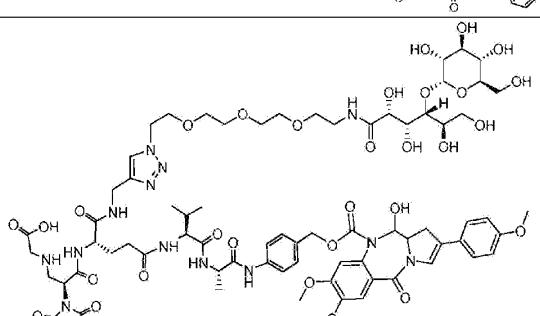


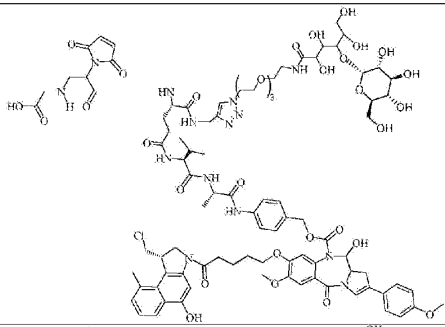
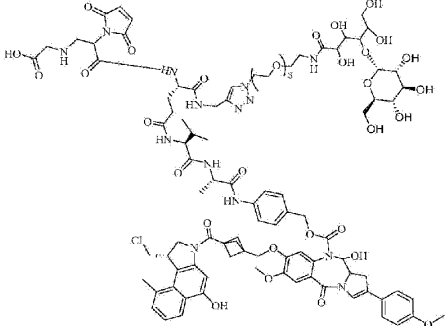
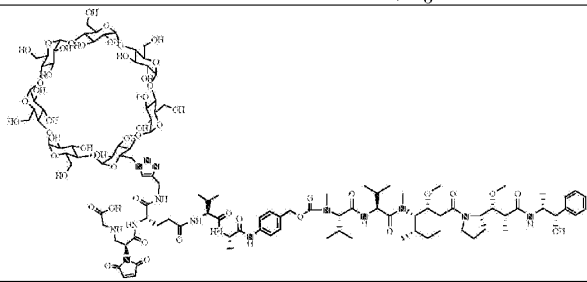
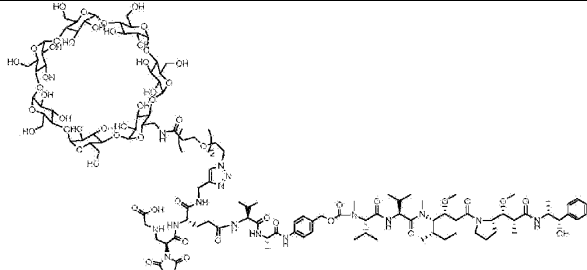


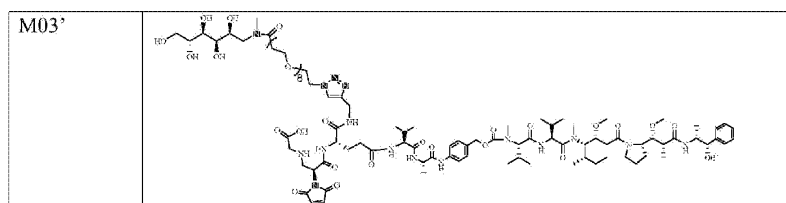
Ex03*	Chemical structure of Ex03* is a complex molecule. It features a long chain of amide linkages. On the left, there is a side chain with multiple hydroxyl groups and a terminal amide. The main chain includes a benzamide moiety and a 6-fluoro-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-5-carboxamide moiety. A pyrazole ring is also present, connected to the chain via a methylene group.
Ex04*	Chemical structure of Ex04* is a complex molecule. It features a long chain of amide linkages. On the left, there is a side chain with multiple hydroxyl groups and a terminal amide. The main chain includes a benzamide moiety and a 6-fluoro-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-5-carboxamide moiety. A pyrazole ring is also present, connected to the chain via a methylene group.
Ex05*	Chemical structure of Ex05* is a complex molecule. It features a long chain of amide linkages. On the left, there is a side chain with multiple hydroxyl groups and a terminal amide. The main chain includes a benzamide moiety and a 6-fluoro-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-5-carboxamide moiety. A pyrazole ring is also present, connected to the chain via a methylene group.
Ex06*	Chemical structure of Ex06* is a complex molecule. It features a long chain of amide linkages. On the left, there is a side chain with multiple hydroxyl groups and a terminal amide. The main chain includes a benzamide moiety and a 6-fluoro-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-5-carboxamide moiety. A pyrazole ring is also present, connected to the chain via a methylene group.

Ex07 [*]	
Ex08 [*]	
Ex09 [*]	
SN01 [*]	
PB01 [*]	

PB02'	
PNU01'	
PNU02'	
CBI01'	

CBI02 ³	 Chemical structure of CBI02³, featuring a complex molecule with a long chain containing multiple amide bonds, a terminal hydroxyl group, and a substituted benzimidazole moiety.
CBI03 ³	 Chemical structure of CBI03³, featuring a complex molecule with a long chain containing multiple amide bonds, a terminal hydroxyl group, and a substituted benzimidazole moiety.
PBD01 ³	 Chemical structure of PBD01³, featuring a complex molecule with a long chain containing multiple amide bonds, a terminal hydroxyl group, and a substituted benzimidazole moiety.
PBD02 ³	 Chemical structure of PBD02³, featuring a complex molecule with a long chain containing multiple amide bonds, a terminal hydroxyl group, and a substituted benzimidazole moiety.

PBD-CBI01'	
PBD-CBI02'	
M01'	
M02'	



[权利要求 13]

药物组合物，其包含权利要求1-11任一项所述的配体药物偶联物或其立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物，或者权利要求12所述的药物-连接单元偶联物或其立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物，以及任选的一种或多种药用辅料。

[权利要求 14]

权利要求1-11任一项所述的配体药物偶联物或其立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物，或者权利要求12所述的药物-连接单元偶联物或其立体异构体、其前药、其药学上可接受的盐或其药学上可接受的溶剂合物，或者权利要求13所述的药物组合物在制备治疗和/或预防疾病的药物中的用途，所述疾病为癌症；

优选地，所述癌症选自皮肤癌、淋巴瘤、食管癌(例如食管腺癌和食管鳞状细胞癌)、脑瘤、肺癌(例如小细胞性肺癌和非小细胞性肺癌)、鳞状上皮细胞癌、膀胱癌、胃癌、卵巢癌、腹膜癌、胰腺癌、乳腺癌、头颈癌、子宫颈癌、子宫内膜癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、肝癌、肾癌、实体瘤、非霍奇金淋巴瘤、中枢神经系统肿瘤(例如神经胶质瘤、多形性胶质母细胞瘤、神经母细胞瘤、胶质瘤或肉瘤)、黑色素瘤、前列腺癌、甲状腺癌、骨癌、尿道癌、唾液腺癌、白血病(例如急性髓系白血病)、等实体瘤及血液瘤；
更优选地，所述癌症选自肺癌、鳞状上皮细胞癌、膀胱癌、胃癌、卵巢癌、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、肝癌、肾癌。