(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国 际 局

(43) 国际公布日
2022 年 11 月 3 日 (03.11.2022)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号
WO 2022/228495 A1

(51) 国际专利分类号:
A61K 47/68 (2017.01) *C07K 5/062* (2006.01)
A61K 47/54 (2017.01) *A61P 35/00* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2022/089726

(22) 国际申请日: 2022 年 4 月 28 日 (28.04.2022)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202110475315.1 2021年4月29日 (29.04.2021) CN

(71) 申请人: 上海汇连生物医药有限公司(SHANGHAI HUILIAN BIO-PHARM CO., LTD) [CN/CN]; 中国上海市浦东新区中国（上海）自由贸易试验区芳春路400号1幢3层, Shanghai 201203 (CN)。

(72) 发明人: 张惠(ZHANG, Hui); 中国上海市浦东新区中国（上海）自由贸易试验区芳春路400号1幢3层, Shanghai 201203 (CN)。 孟逊(MENG, Xun); 中国上海市浦东新区中国（上海）自由贸易试验区芳春路400号1幢3层, Shanghai 201203 (CN)。

(74) 代理人: 上海巅石知识产权代理事务所（普通合伙）(SHANGHAI DIANSHI PARTNERS, P.C.); 中国上海市浦东新区盛夏路608号2号103室/张琤, Shanghai 201210 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明，要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明，要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

根据细则4.17的声明:
— 关于申请人有权要求在先申请的优先权(细则4.17(iii))

本国际公布:
— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。
— 包括说明书序列表部分(细则5.2(a))。

WO 2022/228495 A1

(54) **Title:** PREPARATION METHOD FOR ANTIBODY-DRUG CONJUGATE, AND APPLICATION

(54) 发明名称: 抗体偶联药物的制备方法及应用

(57) **Abstract:** The present application relates to a preparation method for an antibody-drug conjugate and an application, and in particular, to a compound, or a tautomer, mesomer, racemate, enantiomer, diastereomer, or mixture thereof, or a pharmaceutically acceptable salt, prodrug or solvate thereof, a preparation method for the compound and related antibody-drug conjugates, and a use of same in the preparation of drugs for treating cancer.

(57) 摘要: 一种抗体偶联药物的制备方法及应用。具体涉及一种化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，以及所述化合物及相关的抗体偶联药物的制备方法和在制备治疗癌症的药物中的用途。

抗体偶联药物的制备方法及应用

技术领域

本申请涉及生物医药领域，具体的涉及一种抗体偶联药物的制备方法及应用。

背景技术

作为新型的靶向治疗药物，抗体药物偶联物（Antibody Drug Conjugate, ADC）通过适当的载体将药物靶向输送到疾患部位。然而，受制于抗体及高活性细胞毒性药物技术的制约，有限数量的抗体药物偶联物获得批准上市，抗体药物偶联物在肿瘤治疗领域的应用急需快速发展。

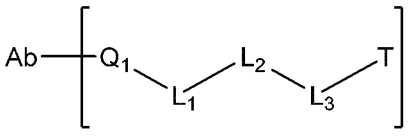
细胞毒物对 ADC 药物发挥作用是必不可少的，喜树碱类药物应用前景巨大，上市 ADC 药物 Trodelvy 和 Enhertu 即为分别采用喜树碱类药物 SN38 和 DX-8951f 作为弹头分子。然而通过喜树碱类药物最终制备得到的 ADC 都极大改变了单抗的属性，稳定性和半衰期都有较大程度衰减。虽然在 DESTINY-Breast03 临床研究中，Enhertu 确认的客观缓解率（ORR）达到 79.7%，然而根据 DS8201-A-J101 临床研究显示对于 HER2 低表达乳腺癌，Enhertu 确认的客观缓解率（ORR）为 37.0%，治疗有效率明显低于高表达或中表达的乳腺癌。此外，ADC 药物在毒副作用上出现了新的症状，如药物 Enhertu 出现了肺炎和间质性肺病等副作用。WO 2020233174 A1 公开了一类含有缬氨酸-瓜氨酸（Val-Cit）-PAB 连接子的喜树碱类化合物，然而该分子无法与抗体偶联后获得质量合格的 ADC 分子（合格的 ADC 产品中聚体含量需要小于 5%）。因此，本领域迫切需要提供更为合适的基于喜树碱类药物（如依沙替康、贝洛替康等）的抗体偶联药物，实现高效、简单、实用的化学制备与偶联，并且改善现有抗体偶联药物的药学性质、代谢性质、药效及安全性等，如提高 ADC 分子稳定性、提高治疗窗口等。

发明内容

本申请提供了一种抗体偶联药物、其中间体、制备方法及应用。本申请的抗体偶联药物，可以实现细胞毒性药物在 ADC 领域的广泛应用，治疗肿瘤疾病。本申请的主要技术效果在于：提供的新型连接子，可通过特定的化学方法将疏水性极强的抗肿瘤药物，如拓扑异构酶抑制剂依沙替康、贝洛替康等与抗体进行偶联，所获得的偶联物具有高亲水性和稳定性，相较于传统的 ADC 连接子，本申请提供的连接子在较高载药量时抗体偶联物不易产生聚体；相较于同类 ADC 药物，本申请释放后的毒素分子为拓扑异构酶抑制剂依沙替康、贝洛替康原型分子，通过测试表明该药物分子较同类 ADC 药物所释放的药物衍生物具有更好的生物

活性、安全性以及其它药物相关性质。因此，本申请可以提高药物体内半衰期以及药物在肿瘤组织的浓度，从而提到药物的抗肿瘤活性和/或提高整体药物治疗窗口。

44. 一方面，本申请提供了一种化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中所述化合物包含式（C-Trop-2）所示的结构：



（C-Trop-2）

其中，Q_1 包含连接体，

L_1 包含-L_{1a}-C(=O)-，

其中，L_{1a} 选自以下组：任选取代的亚烷基、任选取代的聚乙二醇基、任选取代的亚烯基、任选取代的亚炔基、任选取代的亚脂环基、任选取代的亚脂杂环基、任选取代的亚芳基和任选取代的亚杂芳基；

L_2 包含任选取代的多肽残基，

L_3 包含任选取代的间隔基团，

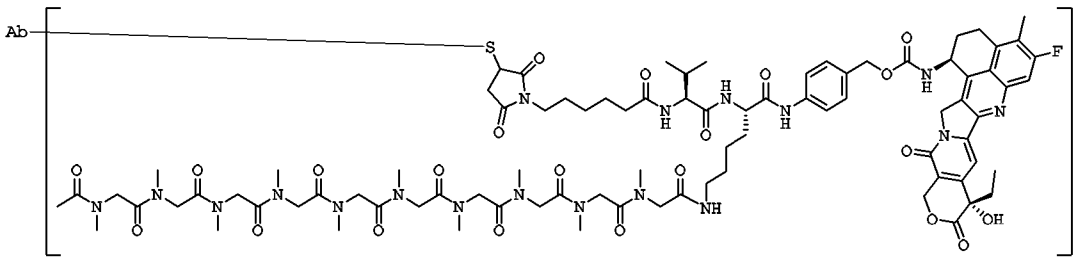
其中，L_2 和/或 L_3 包含任选取代的聚肌氨酸残基，

T 包含药物单元，

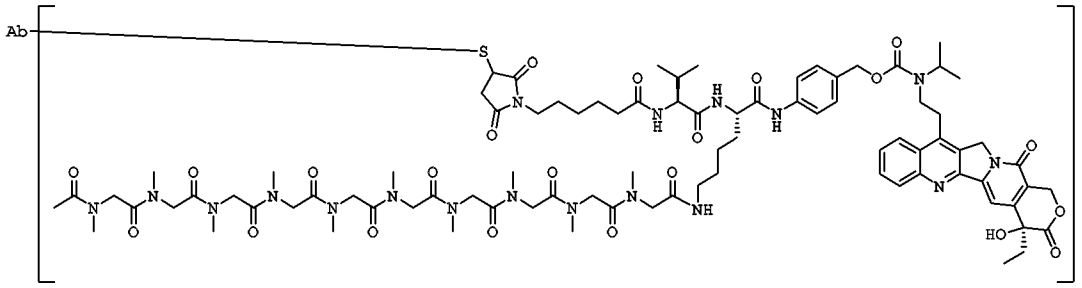
Ab 为能够结合 Trop-2 的配体，m 为 1-8 的数。

另一方面，本申请提供了一种化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，

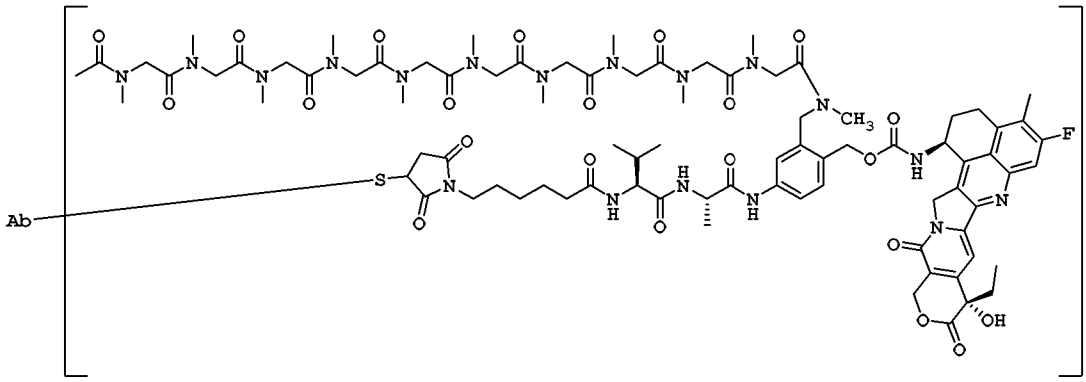
其中，所述化合物包含选自以下组的结构：



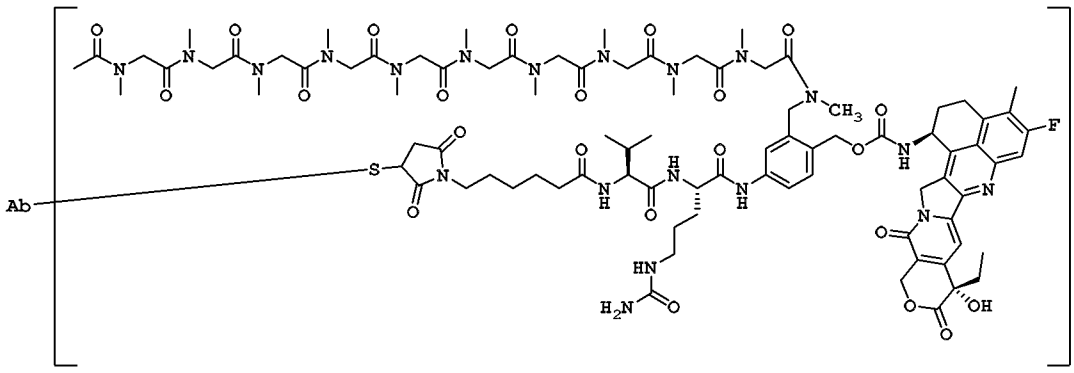
（C-Trop-2-1），



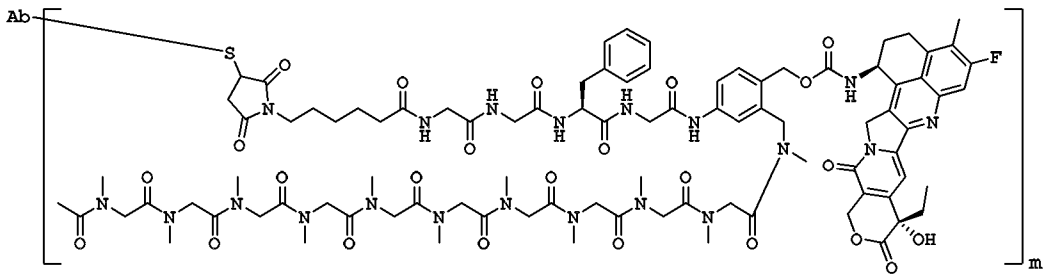
（C-Trop-2-2），



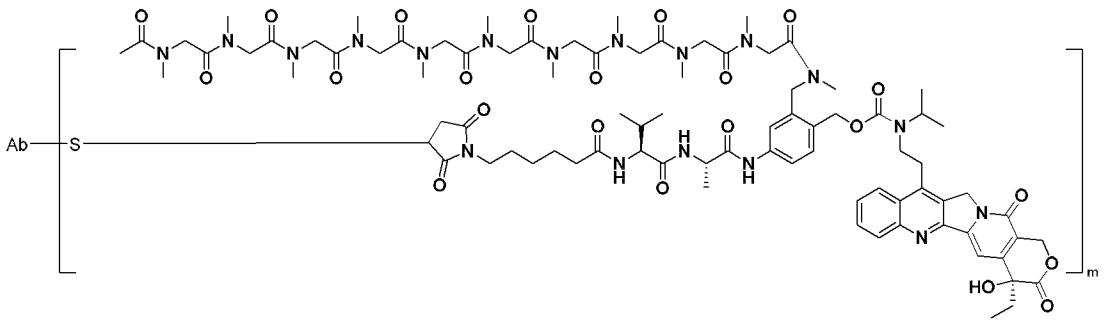
（C-Trop-2-3），



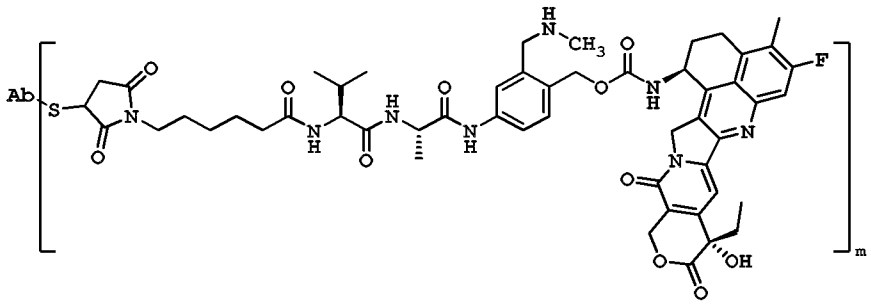
（C-Trop-2-4），



（C-Trop-2-5），

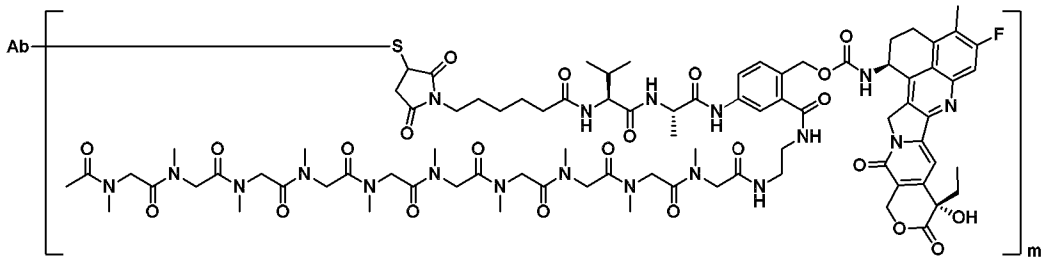


（C-Trop-2-6），



（C-Trop-2-7），

和



（C-Trop-2-8），

Ab 为能够结合 Trop-2 的配体，m 为 1-8 的数。

另一方面，本申请提供了一种药物组合物，其含有本申请任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，以及任选地药学上可接受的载体。

另一方面，本申请提供了含有本申请任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，和/或本申请所述的药物组合物在制备用于治疗和/或预防肿瘤的药物中的用途。

另一方面，本申请提供了一种抗体-药物偶联物，所述的抗体-药物偶联物通过本申请的化合物与抗体进行偶联形成的。

在一种实施方式中，本申请的偶联物共价连接有一个或多个药物组分。

在一种实施方式中，本申请的抗体和药物是通过共价方式(例如，可以通过分别共价连接于连接子上)进行偶联。

另一方面，本申请提供一种抗体-药物偶联物的制备方法，通过所述抗体或抗体片断铰

链区的二硫链还原生成一对半胱氨酸残基，并通过所述半胱氨酸残基中巯基与本申请中化合物的连接基团，例如马来酰亚胺基发生取代反应，进而将本申请的化合物连接于所述抗体或抗体片段的半胱氨酸巯基上，获得抗体-药物偶联物，药物抗体偶联率 DAR(例如本申请中的 m)根据反应条件进行控制，例如常见为 2~8 之间。

另一方面，本申请中 m 表示细胞毒性药物分子与 Ab 的摩尔比(又称 DAR，即药物抗体偶联比率)，m 可为整数或小数，可以理解为是：单个单克隆抗体分子与细胞毒性药物偶联后得到的抗体偶联药物中的药物分子与单克隆抗体分子的摩尔比的平均值，一般可以采用疏水层析(Hydrophobic-Interaction Chromatography，HIC)，反相高效液相色谱(Reverse phase HPLC, RP-HPLC)、聚丙烯酰胺-SDS 凝胶电泳(SDS PAGE，electrophoresis)，液相质谱(liquid chromatograph-mass spectrometer，LC-MS)、紫外/可见光谱法（UV/Vis）等方式测定得到。

另一方面，本申请提供一种制备本申请的化合物的方法，其包含以下步骤：

使带有氨基保护基团 N1 的氨基酸活性酯与氨基酸接触，获得中间体 M1；在缩合剂如 EEDQ(2-乙氧基-1-乙氧碳酰基-1,2-二氢喹啉)存在下，使所述中间体 M1 与取代/非取代对氨基苄醇接触，获得中间体 M2；脱除所述中间体 M2 的所述 N1，获得中间体 M3；使所述中间体 M3 与含有马亚酰亚胺基团的化合物接触，获得中间体 M4；使所述中间体 M4 与双(4-硝基苯基)碳酸酯接触，获得中间体 M5；使所述中间体 M5 与药物单元接触。

在一种实施方式中，所述 N1 包含芴基甲氧基羰基。

在一种实施方式中，当制备所述 L_2 被包含聚肌氨酸残基的结构取代的所述化合物时，使包含氨基保护基团 N2 的中间体与三氟乙酸接触后，再与乙酰化的多聚肌氨酸接触。

在一种实施方式中，所述 N2 包含叔丁氧羰基。

另一方面，本申请提供一种制备本申请的化合物的方法，其包含以下步骤：在适于在配体和化合物之间形成键的条件下，使所述配体与本申请的化合物接触。

在一种实施方式中，所述配体与本申请的化合物在缓冲液与有机溶剂混合液中接触。

在一种实施方式中，所述配体与本申请的化合物在约 0 至约 37°C下接触。

在一种实施方式中，在使所述配体与本申请的化合物接触之前包含以下步骤：将所述配体与还原试剂在缓冲液中反应，得到经还原后的所述配体。

在一种实施方式中，在得到经还原后的所述配体之后，且在使所述配体与本申请的化合物接触之前包含以下步骤：去除所述还原试剂。

在一种实施方式中，所述去除所述还原试剂包含将反应产物进行过脱盐柱和/或超滤。

在一种实施方式中，所述还原试剂选自以下组：三(2-羧乙基)膦盐酸盐(TCEP)、beta-巯

基乙醇、beta-巯基乙胺盐酸盐和二硫苏糖醇(DTT)。

在一种实施方式中，所述缓冲液选自以下组：磷酸二氢钾-氢氧化钠(KH_2PO_4-NaOH)/氯化钠(NaCl)/二乙基三胺五乙酸(DTPA)缓冲液、磷酸氢二钠-柠檬酸/氯化钠(NaCl)/二乙基三胺五乙酸(DTPA)、硼酸-硼砂/氯化钠(NaCl)/二乙基三胺五乙酸(DTPA)、组氨酸-氢氧化钠/氯化钠(NaCl)/二乙基三胺五乙酸(DTPA)和 PBS/二乙基三胺五乙酸(DTPA)。

在一种实施方式中，所述有机溶剂选自以下组：乙腈(ACN)、二甲基甲酰胺(DMF)、二甲基乙酰胺(DMA)和二甲基亚砜(DMSO)。

在一种实施方式中，所述有机溶剂在所述缓冲液与有机溶剂混合液中的体积占比不超过30%。

本申请发现本申请中的抗体-药物偶联物，与传统抗体-药物偶联物相比，由于依沙替康、贝洛替康类药物疏水性过大，而聚肌氨酸的引入可以大大增加偶联物的亲水性，从而从整体上使得所获得抗体-药物偶联物更加稳定性，不易聚合。此外，本申请提供了氨基甲酸酯，且能在酶切后发生快速的 1,6-消除从而释放药物，具有更好的体外与体内的稳定性与生物活性。基于上述发现，完成了本申请。

本领域技术人员能够从下文的详细描述中容易地洞察到本申请的其它方面和优势。下文的详细描述中仅显示和描述了本申请的示例性实施方式。如本领域技术人员将认识到的，本申请的内容使得本领域技术人员能够对所公开的具体实施方式进行改动而不脱离本申请所涉及发明的精神和范围。相应地，本申请的附图和说明书中的描述仅仅是示例性的，而非为限制性的。

附图说明

本申请所涉及的发明的具体特征如所附权利要求书所显示。通过参考下文中详细描述的示例性实施方式和附图能够更好地理解本申请所涉及发明的特点和优势。对附图简要说明如下：

图 1 显示的是本申请抗体偶联物 1 的尺寸排阻层析（SEC-HPLC）色谱图；

图 2 显示的是本申请抗体偶联物 2 的尺寸排阻层析（SEC-HPLC）色谱图；

图 3 显示的是本申请抗体偶联物 2 的疏水作用高效液相色谱图（HIC-HPLC）；

图 4 显示的是本申请抗体偶联物 3 的尺寸排阻层析（SEC-HPLC）色谱图；

图 5 显示的是本申请抗体偶联物 4 的尺寸排阻层析（SEC-HPLC）色谱图；

图 6 显示的是本申请抗体偶联物 4 的疏水作用高效液相色谱图（HIC-HPLC）；

图 7 显示的是本申请抗体偶联物 5 的尺寸排阻层析（SEC-HPLC）色谱图；

图 8 显示的是本申请抗体偶联物 5 的疏水作用高效液相色谱图（HIC-HPLC）；

图 9 显示的是本申请抗体偶联物 6 的尺寸排阻层析（SEC-HPLC）色谱图；

图 10 显示的是本申请抗体偶联物 6 的疏水作用高效液相色谱图（HIC-HPLC）；

图 11 显示的是本申请抗体偶联物 7 的尺寸排阻层析（SEC-HPLC）色谱图；

图 12 显示的是本申请抗体偶联物 7 的疏水作用高效液相色谱图（HIC-HPLC）；

图 13 显示的是本申请抗体偶联物 8 的尺寸排阻层析（SEC-HPLC）色谱图；

图 14 显示的是本申请抗体偶联物 8 的疏水作用高效液相色谱图（HIC-HPLC）；

图 15 显示的是本申请抗体偶联物 9 的尺寸排阻层析（SEC-HPLC）色谱图；

图 16 显示的是本申请抗体偶联物 9 的疏水作用高效液相色谱图（HIC-HPLC）；

图 17 显示的是本申请抗体偶联物 10 的尺寸排阻层析（SEC-HPLC）色谱图；

图 18 显示的是本申请抗体偶联物 10 的疏水作用高效液相色谱图（HIC-HPLC）；

图 19 显示的是本申请抗体偶联物 11 的尺寸排阻层析（SEC-HPLC）色谱图；

图 20 显示的是本申请抗体偶联物 11 的疏水作用高效液相色谱图（HIC-HPLC）；

图 21 显示的是本申请抗体偶联物 12 的尺寸排阻层析（SEC-HPLC）色谱图；

图 22 显示的是本申请抗体偶联物 12 的疏水作用高效液相色谱图（HIC-HPLC）；

图 23 显示的是本申请部分抗体偶联物的加速稳定性实验浓度变化图；

图 24 显示的是本申请部分抗体偶联物的加速稳定性实验聚体增加变化图；

图 25 显示的是本申请抗体偶联物 13 的尺寸排阻层析（SEC-HPLC）色谱图；

图 26 显示的是本申请抗体偶联物 14 的尺寸排阻层析（SEC-HPLC）色谱图；

图 27 显示的是本申请抗体偶联物 15 的尺寸排阻层析（SEC-HPLC）色谱图；

图 28 显示的是本申请部分抗体偶联物在人肺鳞癌细胞 NCI-H2170 体内药效结果对比图；

图 29 显示的是本申请部分抗体偶联物在人肺鳞癌细胞 NCI-H2170 体内药效实验中小鼠体重变化图。

具体实施方式

以下由特定的具体实施例说明本申请发明的实施方式，熟悉此技术的人士可由本说明书所公开的内容容易地了解本申请发明的其他优点及效果。

术语定义

在本申请中，术语“配体”通常指能识别和结合目标细胞相关的抗原或受体的大分子化合物。配体的作用可以是将药物呈递给与配体结合的目标细胞群，这些配体包括但不限于蛋白

类激素、凝集素、生长因子、抗体或其他能与细胞、受体和/或抗原结合的分子。在本申请中，配体可以表示为 Ab，配体抗原通过配体上的杂原子与连接单元形成连接键，可以为抗体或其抗原结合片段，所述抗体可以选自嵌合抗体、人源化抗体、全人抗体或鼠源抗体；所述抗体可以是单克隆抗体。例如所述抗体可以是，靶向选自以下组的靶点的抗体或其抗原结合片段：HER2。

在本申请中，术语“烷基”通常是指烷除去氢原子所衍生的残基。烷基可以是取代的或非取代的，替代或者非替代的。术语“烷基”通常指饱和的直链或支链脂肪族烃基，其具有从母体烷的相同碳原子或两个不同的碳原子上除去氢原子所衍生的残基，其可以为包含 1 至 20 个碳原子的直链或支链基团，例如含有 1 至 12 个碳原子，例如含有 1 至 6 个碳原子的链烷基。烷基的非限制性实例包括但不限于甲基、乙基、丙基、丙基、丁基等。烷基可以是取代的或非取代的，替代或者非替代的，例如当被取代时，取代基可以在任何可使用的连接点上被取代，所述取代基可以独立地任选选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基和氧代基中的一个或多个取代基所取代，例如可以是氢、氘、氚、氟、卤素、$-NO_2$、-CN、-OH、-SH、$-NH_2$、-C(O)H、$-CO_2H$、-C(O)C(O)H、$-C(O)CH_2C(O)H$、$-S(O)H$、$-S(O)_2H$、$-C(O)NH_2$、$-SO_2NH_2$、-OC(O)H、$-N(H)SO_2H$ 或 C_{1-6} 脂肪族基团。

在本申请中，术语“亚烷基”通常指饱和的直链或支链脂肪族烃基，其具有 2 个从母体烷的相同碳原子或两个不同的碳原子上除去两个氢原子所衍生的残基，其可以为包含 1 至 20 个碳原子的直链或支链基团，例如，术语“亚甲基”可以是指 1 个碳原子的基团除去两个氢原子所衍生的残基。亚甲基可以是取代的或非取代的，替代或者非替代的；例如含有 1 至 12 个碳原子，例如含有 1 至 6 个碳原子的亚烷基。亚烷基的非限制性实例包括但不限于亚甲基(-CH_2-)、1,1-亚乙基(-$CH(CH_3)$-)、1,2-亚乙基(-CH_2CH_2)-、1,1-亚丙基(-$CH(CH_2CH_3)$-)、1,2-亚丙基(-$CH_2CH(CH_3)$-)、1,3-亚丙基(-$CH_2CH_2CH_2$-)、1,4-亚丁基(-$CH_2CH_2CH_2CH_2$-)和 1,5-亚丁基(-$CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2$-)等。亚烷基可以是取代的或非取代的，替代或者非替代的，例如当被取代时，取代基可以在任何可使用的连接点上被取代，所述取代基可以独立地任选选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基和氧代基中的一个或多个取代基所取代，例如可以是氢、氘、氚、氟、卤素、$-NO_2$、-CN、-OH、-SH、$-NH_2$、-C(O)H、-CO2H、-C(O)C(O)H、$-C(O)CH_2C(O)H$、-S(O)H、$-S(O)_2H$、$-C(O)NH_2$、$-SO_2NH_2$、-OC(O)H、$-N(H)SO_2H$ 或 C_{1-6} 脂肪族基团。亚甲基或亚烷基可以是取代的或非取代的。

在本申请中，术语“烯基”通常是指含有一个或多个双键的直链或支链烃基。烯基的示例性实例包括烯丙基、高烯丙基、乙烯基、巴豆基、丁烯基、戊烯基和己烯基等。具有一个以上双键的 C_{2-6} 链烯基的示例性实例包括丁二烯基、戊二烯基、己二烯基和己三烯基以及它们的支化形式。不饱和键(双键)的位置可以是在碳链的任何一个位置。烯基可以是取代的或非取代的。

在本申请中，术语“亚烯基”通常是指具有从烯烃的碳原子上除去两个氢原子所衍生的残基。例如，可以是亚烯丙基、亚乙烯基、亚丁烯基、亚戊烯基和亚己烯基等。亚烯基可以是取代的或非取代的。

在本申请中，术语“炔基”通常是指不饱和直链或支链炔基，例如乙炔基、1-丙炔基、炔丙基、丁炔基等。炔基可以是取代的或非取代的。

在本申请中，术语“亚炔基”通常是指具有从炔烃的碳原子上除去两个氢原子所衍生的残基。例如，可以是亚乙炔基、亚丙炔基、亚炔丙基、亚丁炔基等。亚炔基可以是取代的或非取代的。

在本申请中，术语“芳基”通常是指具有芳环上除去一个氢原子所衍生的残基。术语“芳环”可以指具有共轭的π电子体系的 6 至 14 元全碳单环或稠合多环(也就是共享毗邻碳原子对的环)，可以为 6 至 10 元，例如苯和萘。所述芳环可以稠合于杂芳基、杂环基或环烷基环上，其中与母体结构连接在一起的环为芳基环。芳基可以是取代的或非取代的，当被取代时，取代基可以为一个或多个以下基团，其独立地选自以下组：烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、和杂环烷硫基。芳基可以是取代的或非取代的。

在本申请中，术语“亚芳基”通常是指具有从芳环的碳原子上除去两个氢原子所衍生的残基。例如，可以是亚苯基和亚萘基。亚芳基可以是取代的或非取代的。

在本申请中，术语“杂芳基”通常是指具有从杂芳环的碳原子上除去一个氢原子所衍生的残基。术语“杂芳环”指包含 1 至 4 个杂原子、5 至 14 个环原子的杂芳族体系，其中杂原子可以选自以下组：氧、硫和氮。杂芳基可以为 5 至 10 元，可以为 5 元或 6 元，例如呋喃基、噻吩基、吡啶基、吡咯基、N-烷基吡咯基、嘧啶基、吡嗪基、咪唑基、四唑基等。所述杂芳基环可以稠合于芳基、杂环基或环烷基环上，其中与母体结构连接在一起的环为杂芳基环。杂芳基可以是任选取代的或非取代的，当被取代时，取代基可以为一个或多个以下基团，其独立地选自以下组：烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、和杂环

烷硫基。杂芳基可以是取代的或非取代的。

在本申请中，术语“亚杂芳基”通常是指具有从杂芳环的碳原子上除去两个氢原子所衍生的残基。例如，可以是亚呋喃基、亚噻吩基、亚吡啶基、亚吡咯基、亚嘧啶基、亚吡嗪基、亚咪唑基、亚四唑基等。亚杂芳基可以是取代的或非取代的。

在本申请中，术语“脂环基”通常是指具有从脂肪环的相同碳原子或多个不同的碳原子上除去氢原子所衍生的残基。术语“环烷”通常指饱和或部分不饱和单环或多环环状烃，碳环包含 3 至 20 个碳原子，可以包含 3 至 12 个碳原子，可以包含 3 至 10 个碳原子，可以包含 3 至 8 个碳原子。脂环基的非限制性实例包括环丙烷基、环丁烷基、环戊烷基、环戊烯基、环己烷基、环己烯基、环己二烯基、环庚烷基、环庚三烯基、环辛烷基等；多环碳环可以包括螺环、稠环和桥环的碳环。脂环基可以是取代的或非取代的。在本申请中，术语“碳环基”通常是指具有碳环的碳原子上除去一个氢原子所衍生的残基。术语“碳环”通常指饱和或部分不饱和单环或多环环状烃，碳环包含 3 至 20 个碳原子，可以包含 3 至 12 个碳原子，可以包含 3 至 10 个碳原子，可以包含 3 至 8 个碳原子。单环碳环的非限制性实例包括环丙烷、环丁烷、环戊烷、环戊烯、环己烷、环己烯、环己二烯、环庚烷、环庚三烯、环辛烷等；多环碳环可以包括螺环、稠环和桥环的碳环。碳环基可以是取代的或非取代的。在某些情形下，脂环和碳环可以相互替代使用。

在本申请中，术语“部分不饱和的”通常是指环状结构中环分子间至少含一个双键或三键。术语“部分不饱和”涵盖带有多处不饱和的环状结构，但并非意在包括本申请所定义的芳环或杂芳环。术语"不饱和的"表示部分具有一个或多个不饱和度。

在本申请中，术语“亚脂环基”通常是指具有从脂环的碳原子上除去两个氢原子所衍生的残基。例如，可以是亚环丙烷基、亚环丁烷基、亚环戊烷基、亚环戊烯基、亚环己烷基、亚环己烯基、亚环己二烯基、亚环庚烷基、亚环庚三烯基、亚环辛烷基等；多环碳环可以包括螺环、稠环和桥环的碳环。亚脂环基可以是取代的或非取代的。

在本申请中，术语“脂杂环基”通常是指稳定的不具有芳香性的 3 元-7 元单环碳环结构，融合的 7 元-10 元双环杂环结构或桥联的 6 元-10 元双环杂环结构，这些环状结构即可以是饱和的，也可以是部分饱和的，除碳原子外，这些环状结构中还含有一个或多个杂原子，其中杂原子可以选自以下组：氧、硫和氮。例如是含有 1-4 个上述定义的杂原子。当用来表示脂杂环环状结构上的原子时，术语“氮”可以包括发生过取代反应的氮。例如，脂杂环基可以包含“杂环烷基”，杂环烷基可以指稳定的不具有芳香性的 3 元-7 元单环烷结构，融合的 7 元-10 元双环杂环结构或桥联的 6 元-10 元双环杂环结构，除碳原子外，这些环状结构中还含有一

个或多个杂原子，其中杂原子可以选自以下组：氧、硫和氮。例如是含有 1-4 个上述定义的杂原子。杂环烷基可以是取代的或非取代的。脂杂环基可以是取代的或非取代的。

在本申请中，术语“亚脂杂环基”通常是指具有从脂杂环的碳原子上除去两个氢原子所衍生的残基。亚脂杂环基可以是取代的或非取代的。

在本申请中，术语“任选”或“任选地”通常是指随后所描述的事件或环境可以但不必发生，该说明包括该事件或环境发生或不发生地场合。例如，“任选被烷基取代的杂环基团”意味着烷基可以但不必须存在，该说明可以包括杂环基团被烷基取代的情形和杂环基团不被烷基取代的情形。

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

在本申请中，如本领域技术人员可知的，“烷基”、“烯基”、“环烷基”等之类的术语可以在名称前加一个标识表示在特定情况下基团中存在的原子数，例如，C_1-C_4 烷基，C_3-C_7 环烷氧基，C_1-C_4 烷基羰基氨基等，“C”后所跟下标数字表示在基团中存在的碳原子数。例如，C_3 烷基是指具有三个碳原子的烷基（例如，正丙基，异丙基）；$C_{1\text{-}10}$ 中，基团的成员可具有落入 1-10 范围内的任何数目的碳原子。

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

在本申请中，术语“化合物”通常指具有两种或两种以上不同元素的物质。例如，本申请的化合物可以是有机化合物，例如本申请的化合物可以是分子量 500 以下的化合物，可以是分子量 1000 以下的化合物，也可以是分子量 1000 以上的化合物，也可以是 10000 以上、100000 以上的化合物。在本申请中，化合物还可以是指通过化学键相连的化合物，例如可以是一个或多个分子量 1000 以下的分子通过化学键与生物大分子相连的化合物，所述生物大分子可以是高聚糖、蛋白、核酸、多肽等。例如本申请的化合物可以包括蛋白质与一个或多个分子量 1000 以下的分子相连的化合物，可以是包括蛋白质与一个或多个分子量 10000 以下的分子相连的化合物，可以是包括蛋白质与一个或多个分子量 100000 以下的分子相连的

化合物。

在本申请中，术语“包含”通常是指包括明确指定的特征，但不排除其他要素。术语“以上”、“以下”通常是指包含本数的情况。

在本申请中，术语“约”通常是指在指定数值以上或以下 0.5%-10%的范围内变动，例如在指定数值以上或以下 0.5%、1%、1.5%、2%、2.5%、3%、3.5%、4%、4.5%、5%、5.5%、6%、6.5%、7%、7.5%、8%、8.5%、9%、9.5%、或 10%的范围内变动。

在本申请中，本申请的化合物包含化合物的其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、和/或非对映异构体。在本申请中，术语“非对映异构体”通常是指具有两个或更多个手性中心并且其分子不是彼此的镜像的立体异构体。非对映异构体可以具有不同的物理性质，例如、熔点、沸点、波谱性质和反应性。在本申请中，术语“互变异构体”或“互变异构形式”可互换使用，通常是指可通过低能垒(low energy barrier)互相转化的不同能量的结构异构体。例如，质子互变异构体(protontautomer)(也称为质子移变互变异构体(prototropic tautomer))包括通过质子迁移进行的互相转化，诸如酮-烯醇异构化和亚胺-烯胺异构化。价键互变异构体(valence tautomer)包括通过一些成键电子的重组进行的互相转化。在本申请中，术语“内消旋体”通常是指分子内含有不对称性的原子，但具有对称因素而使分子内总旋光度为零。术语"外消旋体"或"外消旋混合物"是指由等摩尔量的两种对映异构体物质构成的组合物。

在本申请中，本申请的化合物的某些原子可能以一种以上的同位素形式出现。例如，氢可能以氕（^{1}H）、氘（^{2}H）和氚（^{3}H）的形式存在，碳可能以三种不同的同位素（^{12}C、^{13}C和 ^{14}C）自然存在。可并入本申请化合物中的同位素示例还包括但不限于 ^{15}N、^{18}O、^{17}O、^{18}F、^{32}P、^{33}P、^{129}I、^{131}I、^{123}I、^{124}I、^{125}I，或者类似的同位素。因此，相对于这些同位素的自然丰度，本申请的化合物可富集在一种或多种这些同位素中。如本领域技术人员所知，此类同位素富集化合物可用于多种用途。例如，用重同位素如氘（^{2}H）替代可能会提供某些治疗优势，这可以是由于更高的代谢稳定性。例如，氘（^{2}H）的自然丰度约为 0.015%。因此，自然界中大约每 6500 个氢原子，就有一个氘原子。因此，本申请的含氘化合物在一个或多个位置（视情况而定）的氘丰度大于 0.015%。除非另有指明，否则本申请所述的结构还可以包括仅在是否存在一个或多个同位素富集原子方面存在差别的化合物。举例而言，除了氢原子被氘或氚所取代，或碳原子被碳 13 或碳 14 所取代之外，其余部分均与本申请结构一致的化合物均在本申请的范围之内。

在本申请中，术语“药物组合物”通常是指含有一种或多种本申请所述化合物或其生理学

上/可药用的盐或前体药物与其他化学组分的混合物，以及其他组分例如生理学/可药用的载体和赋形剂。药物组合物可以是促进对生物体的给药，利于活性成分的吸收进而发挥生物活性。常规的药物组合物的制备可以见本领域常用技术。

在本申请中，术语“药学上可接受的盐”或“可药用的盐”通常是指本申请化合物或配体-药物偶联物的盐，或本申请中所述的化合物的盐，这类盐用于哺乳动物体内时可以具有安全性和/或有效性，且可以具有应有的生物活性，本申请抗体-抗体药物偶联化合物可以与酸形成盐，药学上可接受的盐的非限制性实例包括：盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、柠檬酸盐、乙酸盐、琥珀酸盐、抗坏血酸盐、草酸盐、硝酸盐、梨酸盐、磷酸氢盐、磷酸二氢盐、水杨酸盐、柠檬酸氢盐、酒石酸盐、马来酸盐、富马酸盐、甲酸盐、苯甲酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、或对甲苯磺酸盐。

在本申请中，术语“偶联物”通常是指本申请的化合物通过一个或多个化学反应而制备的化合物，或者通过诸如桥接(bridge)，间隔物(spacer)，或连接部分等的一个或多个连接结构彼此连接。

在本申请中，术语“药学上可接受的载体”通常是指给予治疗剂，例如抗体或多肽、基因和其它治疗剂的载体。该术语指本身不诱导对接受组合物的个体有害的抗体产生并且可以给予而不产生过度毒性的任何药物载体。例如，药学上可接受的载体（carrier）可以与基因工程中用于包含目标基因的核酸载体（vector）相区分。合适的载体可以是大的、代谢缓慢的大分子，例如蛋白质、多糖、聚乳酸、聚乙醇酸、多聚氨基酸、氨基酸共聚物、脂质聚集物和灭活的病毒颗粒。本领域技术人员熟知这些载体。治疗组合物中药学上可接受的载体可包括液体，例如水、盐水、甘油和乙醇。这些载体中也可存在辅助物质，例如润湿剂或乳化剂、pH 缓冲物质等。

在本申请中，术语“Trop2”、“TROP2”通常是指单程跨膜 I 型细胞膜蛋白。在本申请中，术语“Trop2”还可涵盖 Trop 2 的同源物、变体和同工型，包括剪接同工型。术语“Trop”还包括具有 Trop 2 同源物、变体和同工型中的一个或多个序列的蛋白，以及该序列的片段，只要是该变体蛋白（包括同工型）。Trop2 可以是人 Trop2。例如，Uniprot 登录号 P09758 提供了 Trop2 和序列的描述。

在本申请中，术语“HER2”通常是指人表皮生长因子受体 2(HER2)。例如，术语“HER2”指来自任何人来源的任何天然 HER2。该术语还涵盖“全长”和未加工的 HER2 以及源自细胞中加工的任何形式的 HER2(例如成熟蛋白)。该术语还涵盖 HER2 的天然发生变体和同等型，例如剪接变体或等位变体。例如，Uniprot 登录号 P04626 提供了 HER2 和序列的描述。

在本申请中，术语“Nectin-4”通常是指粘附分子 4。例如，术语“Nectin-4”指来自任何人来源的任何天然 Nectin-4。该术语还涵盖“全长”和未加工的 Nectin-4 以及源自细胞中加工的任何形式的 Nectin-4 (例如成熟蛋白)。该术语还涵盖 Nectin-4 的天然发生变体和同等型，例如剪接变体或等位变体。例如，Uniprot 登录号 Q96NY8 提供了 Nectin-4 和序列的描述。

在本申请中，术语“嵌合抗体(chimeric antibody)” 通常是指鼠源性抗体的可变区与人抗体的恒定区融合而成的抗体，可以减轻鼠源性抗体诱发的免疫应答反应。建立嵌合抗体，可以建立分泌鼠源性特异性单抗的杂交瘤，然后从鼠杂交瘤细胞中克隆可变区基因，可以根据需要克隆人抗体的恒定区基因，将鼠可变区基因与人恒定区基因连接成嵌合基因后插入表达载体中，可以在真核系统或原核系统中表达嵌合抗体分子。

在本申请中，术语“人源化抗体(humanized antibody)”，也称为 CDR 移植抗体(CDR-grafted antibody)，通常是指将鼠的 CDR 序列移植到人的抗体可变区框架，即不同类型的人种系抗体框架序列中产生的抗体。可以克服嵌合抗体由于携带大量鼠蛋白成分，从而诱导的异源性反应。此类构架序列可以从包括种系抗体基因序列的公共 DNA 数据库或公开的参考文献获得。如人重链和轻链可变区基因的种系 DNA 序列可以在“VBase”人种系序列数据库。

在本申请中，术语“全人源抗体”、“全人抗体”或“完全人源抗体”，也称“全人源单克隆抗体”，其抗体的可变区和恒定区可以都是人源的，去除免疫原性和毒副作用。单克隆抗体的发展经历了四个阶段，分别为：鼠源性单克隆抗体、嵌合性单克隆抗体、人源化单克隆抗体和全人源单克隆抗体。本申请所述抗体或配体可以为全人源单克隆抗体。全人抗体制备的相关技术可以为：人杂交瘤技术、EBV 转化 B 淋巴细胞技术、噬菌体显示技术(phage display)、转基因小鼠抗体制备技术(transgenic mouse)和单个 B 细胞抗体制备技术等。

在本申请中，术语“CDR”通常是指抗体的可变结构域内主要促成抗原结合的 6 个高变区之一。所述 6 个 CDR 的最常用的定义之一由 Kabat E.A.等人，Chothia 等人和 MacCallum 等人提供。如本申请中使用的，CDR 的 Kabat 定义可以应用于轻链可变结构域的 CDR1、CDR2 和 CDR3(CDR L1、CDR L2、CDR L3 或 L1、L2、L3)，以及重链可变结构域的 CDR1、CDR2 和 CDR3(CDR H1、CDR H2、CDR H3 或 H1、H2、H3)。

在本申请中，术语“能够与巯基偶联的基团”通常是指所述化合物 A 具有巯基，所述化合物 B 具有能够与巯基偶联的基团，化合物 B 通过能够与巯基偶联的基团与化合物 A 的巯基反应，可以以此实现化合物 A 与化合物 B 的连接。

在本申请中，术语“连接体”通常是指一端与一个基团连接而另一端与另一个基团相连的化学结构片段或键，也可以连接其他连接体后再与药物和/或配体相连。所述直接或间接连

接配体可以是指所述基团通过共价键直接连接配体，也可以是通过连接体连接配体。例如，连接体可以是本申请所述的 Q_1 所示的结构。例如，可以使用包含酸不稳定接头结构(例如腙)、蛋白酶敏感(例如肽酶敏感) 接头结构、光不稳定接头结构、二甲基接头结构、或含二硫化物接头结构的化学结构片段或键作为连接体。

在本申请中，术语“连接基团”通常是指具有与另一个基团相连的能力的基团。例如，具有连接基团的化合物，可以通过该连接基团与另一个基团的偶联反应，实现该化合物与另一个基团的连接。例如，马来酰亚胺基团可以作为连接基团。

在本申请中，术语“药物单元”通常是指直接或间接缀合抗体或抗原结合片段以形成免疫缀合物的化学部分。例如，“药物单元”包括但不限于文中描述的抗肿瘤活性的化合物。例如药物单元包括拓扑异构酶抑制剂。

在本申请中，术语“抗肿瘤活性的化合物”通常是指具有使肿瘤细胞的增殖速率、存活力或转移活性的降低的能力的化合物。例如，抗肿瘤活性可以由治疗期间出现的异常细胞的生长速率减少或肿瘤尺寸稳定或缩减显示的，或与在无治疗情况下对照相比因治疗所致的存活期更长显示的。抗肿瘤活性可使用公认的体外或体内肿瘤模型评估，例如异种移植模型。

在本发明的部分实施方案中，偶联物中的生物活性分子为具体有抗肿瘤活性的化合物，具体例如：放射性同位素，例如 At^{211}、I^{131}、I^{125}、Y^{90}、Re^{186}、Re^{188}、Sm^{153}、Bi^{212}、P^{32}、Pb^{212} 或 Lu 的放射性同位素；金属配合物，例如金属铂配合物（如奥沙利铂）或金属金配合物；糖肽类抗生素，例如博来霉素或平阳霉素；拓扑异构酶抑制剂；干扰 DNA 合成的药物，例如甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶、阿糖胞苷、吉西他滨、巯嘌呤、喷司他丁、氟达拉滨、克拉屈滨或奈拉滨等；作用于结构蛋白的药物，例如微管蛋白抑制剂（诸如长春花生物碱类、长春新碱、长春碱、紫杉醇类、美登素类、澳瑞他汀类、Tubulysin B 或艾瑞布林等）；肿瘤信号通路抑制剂，例如丝氨酸/苏氨酸激酶抑制剂、酪氨酸激酶抑制剂、天冬氨酸激酶抑制剂或组氨酸激酶抑制剂等；蛋白酶体抑制剂；表观遗传相关靶点抑制剂；肿瘤新生血管生成抑制剂；细胞周期蛋白抑制剂；

在本申请中，术语“拓扑异构酶抑制剂”通常是指包括拓扑异构酶 I 抑制剂和拓扑异构酶 II 抑制剂的化合物或其衍生物。拓扑异构酶 I 抑制剂的实例包括但不限于喜树碱及其类似物；拓扑异构酶 II 抑制剂(诸如放线菌素 D、阿霉素、多柔比星、多卡米星、柔红霉素、米托蒽醌、鬼臼毒素或依托泊苷等)。拓扑异构酶（topoisomerase）可以是指通过切断 DNA 的一条或两条链中的磷酸二酯键，然后重新缠绕和封口来更正 DNA 连环数的酶。

在本申请中，术语“喜树碱类似物”通常是指与喜树碱结构类似或衍生自喜树碱的化合物。例如，喜树碱的结构可以在 CAS 登录号 7689-03-4 中记载。例如，喜树碱类似物可以是指伊沙替康（Exatecan，CAS 登录号 171335-80-1）或贝洛替康（Belotecan，CAS 登录号 256411-32-2）。术语“非喜树碱类拓扑异构酶 I 抑制剂”通常是指吲哚咔唑类、茚并异喹啉酮类、苯并菲啶类以及二苯并萘啶酮类具有拓扑异构酶 I 抑制活性的杂环分子，主要指 Genz-644282(CAS 登录号 529488-28-6)。

在本申请中，术语与某靶点“表达相关”的疾病通常是指该疾病的发生和/或进展与该靶点的表达水平有关联。例如，相对于来自组织或器官的正常细胞的表达水平，来自疾病区如患者的特定组织或器官内的细胞中某个靶点的表达水平提高，即高表达的。或者例如，相对于来自组织或器官的正常细胞的表达水平，来自疾病区如患者的特定组织或器官内的细胞中某个靶点的表达水平降低，即低表达的。或者例如，来自疾病区如患者的特定组织或器官内的细胞表达某个靶点，即阳性的。或者例如，来自疾病区如患者的特定组织或器官内的细胞不表达某个靶点，即阴性的。例如，靶点表达的特征可以由本领域已知的标准测定确定。

在本申请中，术语“有效量”通常是指治疗剂治疗、缓解或预防目标疾病或状况的量，或是表现出可检测的治疗或预防效果的量。对于某一对象的精确有效量取决于该对象的体型和健康状况、病症的性质和程度、以及选择给予的治疗剂和/或治疗剂的组合。因此，预先指定准确的有效量是没用的。然而，对于某给定的状况而言，可以用常规实验来确定该有效量，临床医师是能够判断出来的。

除非特别说明，本申请中，所有出现的化合物均意在包括所有可能的光学异构体，如单一手性的化合物，或各种不同手性化合物的混合物(即外消旋体)。本申请的所有化合物之中，各手性碳原子可以任选地为 R 构型或 S 构型，或 R 构型和 S 构型的混合物。

如本文所用，术语“本申请化合物”指本申请的化合物。该术语还包括本申请化合物的各种晶型形式、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物。

当本文中使用商品名时，该商品名意在包括商品名产品制剂、其相应的仿制药，以及商品名产品的活性药物组分。

如本文所用，“抗体”以其最广泛的含义使用并且特别覆盖单克隆抗体、多克隆抗体、二聚体、多聚体、多特异性抗体(例如双特异性抗体)和抗体片段，只要它们表现出所需的生物活性。抗体可以为鼠、人、人源化、嵌合的抗体或来源于其它物种。抗体为由能够识别和结合特异性抗原的免疫系统产生的蛋白质。靶抗原一般具有由多种抗体的 CDRs 识别的大量结合位点，也称作表位。特异性结合不同表位的各抗体具有不同的结构。因此，一种抗原可以

具有一种以上相应的抗体。抗体包括全-长免疫球蛋白分子或全-长免疫球蛋白分子的免疫活性部分，即含有特异性结合所关注靶标的抗原或其部分的分子，这类靶标包括，但不限于癌细胞或产生与自身免疫性疾病相关的自身免疫抗体的细胞。本申请描述的免疫球蛋白可以具有免疫球蛋白分子的任意类型(例如 IgG、IgE、IgM、IgD 和 IgA)、类别(例如 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1 和 IgA2)或亚类。免疫球蛋白可以来源于任意的物种。然而，在一个方面中，免疫球蛋白来源于人、鼠或兔。“抗体片段”可以包含全长抗体的一部分，一般为其抗原结合区或可变区。抗体片段的实例包括：Fab、Fab’、F(ab’)2 和 Fv 片段；双抗体；线性抗体；微抗体(minibody)；Fab 表达文库制备的片段；抗-独特型(抗-Id)抗体；CDR(互补决定区)；和以免疫特异性方式结合癌细胞抗原、病毒抗原或微生物抗原的上述任意的表位-结合片段；单链抗体分子；和由抗体片段形成的多特异性抗体。本申请中组成抗体药物偶联物的抗体可以保持其原有野生状态时的抗原结合能力。因此，本申请中的抗体可以，例如可以专一性地，与抗原结合。涉及的抗原包括，例如，肿瘤相关抗原(TAA)，细胞表面受体蛋白和其他细胞表面分子，细胞存活调节因子，细胞增殖调节因子，与组织生长与分化相关的分子(如已知或预知的具有功能性的)，淋巴因子，细胞因子，参与细胞循环调节的分子，参与血管生成的分子，以及与血管生成有关的分子(如已知抗体结合的抗原可以是上述分类中一个或一个子集，而其它的子集则包含其它的具有特殊性质的分子/抗原(与目标抗原相比)。应用在抗体药物偶联物中的抗体包括，但不局限于，针对细胞表面受体和肿瘤相关抗原的抗体。这样的肿瘤相关抗原是业内所熟知的，可以通过业内熟知的抗体制备方法和信息来制备。这些目标物能够特异性地表达在一种或多种癌症细胞表面，而在一种或多种非癌细胞表面表达很少或不表达。通常，相对于非癌细胞表面而言,这样的肿瘤相关多肽在癌细胞表面可以更加过度表达。

在本申请中，术语“恩诺单抗”通常是指一种靶向 Nectin-4 的抗体。例如，恩诺单抗（Enfortumab）可以记载在 WO2017042210A1 中。在本申请中，恩诺单抗可以是指任何一种包含恩诺单抗的重链可变区 CDR1-3 和轻链可变区 CDR1-3 的抗体或抗原结合片段。在本申请中，恩诺单抗可以是指任何一种包含恩诺单抗的重链可变区和轻链可变区的抗体或抗原结合片段。

在本申请中，术语“帕妥珠单抗”通常是指一种靶向 HER2 的抗体。例如，帕妥珠单抗（Pertuzumab）可以记载在 WO2014172371A2 中。在本申请中，帕妥珠单抗可以是指任何一种包含帕妥珠单抗的重链可变区 CDR1-3 和轻链可变区 CDR1-3 的抗体或抗原结合片段。在

本申请中，帕妥珠单抗可以是指任何一种包含帕妥珠单抗的重链可变区和轻链可变区的抗体或抗原结合片段。

在本申请中，术语“曲妥珠单抗”通常是指一种靶向 HER2 的抗体。例如，曲妥珠单抗（Trastuzumab）可以记载在 US20060275305A1 中。在本申请中，曲妥珠单抗可以是指任何一种包含曲妥珠单抗的重链可变区 CDR1-3 和轻链可变区 CDR1-3 的抗体或抗原结合片段。在本申请中，曲妥珠单抗可以是指任何一种包含曲妥珠单抗的重链可变区和轻链可变区的抗体或抗原结合片段。

在本申请中，术语“赛妥珠单抗”通常是指一种靶向 TROP2 的抗体。例如，赛妥珠单抗（Sacituzumab，hRS7）可以记载在 WO2003074566 中。在本申请中，赛妥珠单抗可以是指任何一种包含赛妥珠单抗的重链可变区 CDR1-3 和轻链可变区 CDR1-3 的抗体或抗原结合片段。在本申请中，赛妥珠单抗可以是指任何一种包含赛妥珠单抗的重链可变区和轻链可变区的抗体或抗原结合片段。

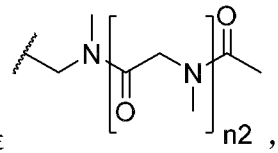
在本申请中，术语“Patritumab”通常是指一种靶向 HER3 的抗体。例如，Patritumab 可以记载在 CN102174105B 中。在本申请中，Patritumab 单抗可以是指任何一种包含 Patritumab 的重链可变区 CDR1-3 和轻链可变区 CDR1-3 的抗体或抗原结合片段。在本申请中，Patritumab 可以是指任何一种包含 Patritumab 的重链可变区和轻链可变区的抗体或抗原结合片段。

在本申请中，术语“抗体 H01L02”通常是指一种靶向 CDH6 的抗体。例如，单克隆抗体 H01L02 可以记载在 WO2018212136、US20200171163A1 中。例如，H01L02 单抗可以是药物 DS6000 所采用的单抗。在本申请中，H01L02 单抗可以是指任何一种包含 H01L02 单抗的重链可变区 CDR1-3 和轻链可变区 CDR1-3 的抗体或抗原结合片段。在本申请中，H01L02 单抗可以是指任何一种包含 H01L02 单抗的重链可变区和轻链可变区的抗体或抗原结合片段。

在本申请中，术语“多肽残基”通常是指包含一个或多个氨基酸残基连接而成的残基。例如，多肽残基中的一个或多个氨基酸可以是任选取代的。例如，本申请的多肽残基可以选自以下组：苯丙氨酸-赖氨酸（Phe-Lys）、缬氨酸-丙氨酸（Val-Ala）、缬氨酸-瓜氨酸（Val-Cit）、谷氨酸-缬氨酸-丙氨酸（Glu- Val-Ala）、谷氨酸-缬氨酸-瓜氨酸（Glu-Val-Cit）、缬氨酸-赖氨酸（Val-Lys）、丙氨酸-丙氨酸-丙氨酸（Ala-Ala-Ala）、丙氨酸-丙氨酸-天冬酰胺（Ala-Ala-Asn）和甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-甘氨酸（Gly-Gly-Phe-Gly）。

在本申请中，术语“聚乙二醇基”通常是指包含一个或多个乙二醇残基连接而成的残基。例如，聚乙二醇基可以包含-$(CH_2CH_2O)_p$-，其中 p 为至少为 1 的数。例如本申请中的聚乙二醇基可以是任选取代的。

在本申请中，术语“甘醇基”通常是指聚乙二醇基。例如本申请中的甘醇基可以是任选取代的。例如，甘醇基之前的数字可以表示甘醇基的乙二醇单元的数量，例如二甘醇基可以是指两个乙二醇聚合的残基。

在本申请中，术语“聚肌氨酸残基”通常是指包含一个或多个肌氨酸残基连接而成的残基。例如，聚肌氨酸残基可以包含-$(COCH_2N(CH_3))_q$-，其中 q 为至少为 1 的数。例如本申请中的聚肌氨酸残基可以是任选取代的。例如，包含聚肌氨酸残基的结构可以是，其中 n2 为 4 至 18 的数。

在本申请中，术语“十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳”通常是指一种物质分析表征技术。例如十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳（SDS-PAGE）可以检测物质分子量的大小。

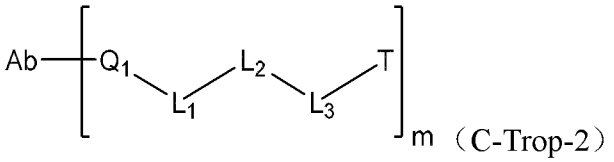
在本申请中，术语“疏水层析”通常是指一种基于的是物质疏水差异的分析技术。

在本申请中，术语“液相质谱”通常是指一种鉴定物质组分的分析方法。例如液相质谱可以通过液相色谱-质谱联用分析待测物质的分子量。

在本申请中，术语“肿瘤”通常是指任何新的病理性的组织增生。对于本申请来说，血管生成是肿瘤特征的一部分。肿瘤可能是良性的，也可能是恶性的。术语“肿瘤”一般用于指良性或恶性的肿瘤，而术语“癌”一般用于指恶性肿瘤，可以是转移癌，也可以是非转移癌。可用本申请的方法诊断的肿瘤选自以下组：乳腺癌、卵巢癌、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、急性淋巴细胞性白血病、间变性大细胞淋巴瘤、多发性骨髓瘤、前列腺癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、恶性黑色素瘤、鳞状细胞癌、胶质母细胞瘤、肾细胞癌、胃肠道肿瘤、胰腺癌、前列腺癌、直结肠、胃癌、神经胶质瘤和间皮瘤。用于研究时，可通过本领域技术人员熟知的方法从易于获得的资源中将这些组织分离出来。

发明详述

一方面，本申请提供一种化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中所述化合物可以包含式（C-Trop-2）所示的结构：



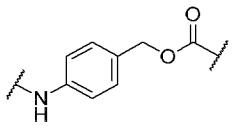
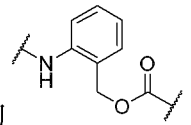
（C-Trop-2）

其中，Q_1 可以包含连接体，

L_1可以包含-L_{1a}-C(=O)-，

其中，L_{1a}可以选自以下组：任选取代的亚烷基、任选取代的聚乙二醇基、任选取代的亚烯基、任选取代的亚炔基、任选取代的亚脂环基、任选取代的亚脂杂环基、任选取代的亚芳基和任选取代的亚杂芳基；

L_2可以包含任选取代的多肽残基，

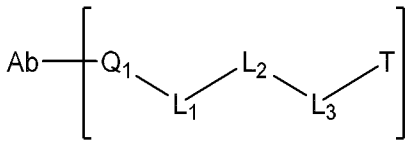
L_3可以包含任选取代的间隔基团，例如，本申请的间隔基团可以是具有自降解能力。例如本申请的间隔基团可以包含任选取代的，或任选取代的。

其中，L_2和/或L_3可以包含任选取代的聚肌氨酸残基，

T 可以包含药物单元，

Ab 可以为能够结合 Trop-2 的配体，m 可以为 1-8 的数。

另一方面，本申请还提供一种化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中所述化合物可以包含式（C-Trop-2-M）所示的结构：



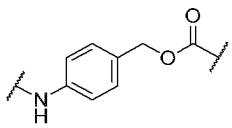
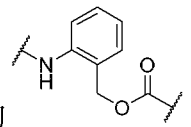
（C-Trop-2-M）

其中，Q_1可以包含连接体，

L_1可以包含-L_{1a}-C(=O)-，

其中，L_{1a}可以选自以下组：任选取代的亚烷基、任选取代的聚乙二醇基、任选取代的亚烯基、任选取代的亚炔基、任选取代的亚脂环基、任选取代的亚脂杂环基、任选取代的亚芳基和任选取代的亚杂芳基；

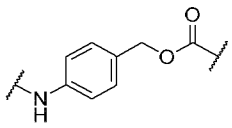
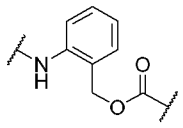
L_2可以包含任选取代的多肽残基，

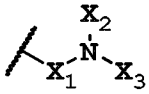
L_3可以包含任选取代的间隔基团，例如，本申请的间隔基团可以是具有自降解能力。例如本申请的间隔基团可以包含任选取代的，或任选取代的。

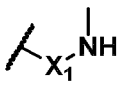
其中，L_2和/或L_3可以包含任选取代的结构单元-X，

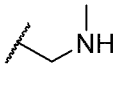
T 可以包含药物单元，

Ab 可以为能够结合 Trop-2 的配体，m 可以为 1-8 的数。

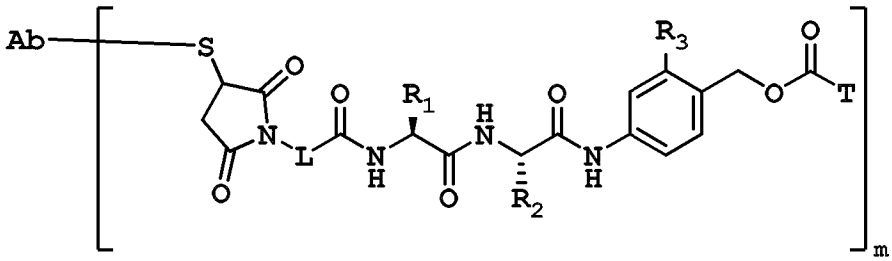
例如，其中，L_3选自以下组：任选取代的，和任选取代的。

例如，其中，L_3的苯环可以被任选取代的结构单元-X取代。例如，该结构单元-X可以选自以下组：任选取代的，其中X_1选自以下组：羰基、C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧基、C_1-C_6环烷基、包含1-8个原子的直链杂烷基、和包含1-8个原子的直链-环状杂烷基，所述杂烷基包含选自N、O或者S的1-3个原子；其中X_2选自以下组：氢、C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧基、C_1-C_6环烷基、包含1-8个原子的直链杂烷基、和包含1-8个原子的直链-环状杂烷基，所述杂烷基包含选自N、O或者S的1-3个原子；其中X_3选自以下组：氢、C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧基、C_1-C_6环烷基、包含1-8个原子的直链杂烷基、和包含1-8个原子的直链-环状杂烷基，所述杂烷基包含选自N、O或者S的1-3个原子；所述的C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧基、C_1-C_6环烷基、包含1-8个原子的直链杂烷基、和包含1-8个原子的直链-环状杂烷基各自独立地任选地被选自氘代、卤素、氰基、硝基、氨基、烷基、羧基、烷氧基或环烷基的一个或者多个取代基取代。

例如，其中，L_3的苯环可以被任选取代的结构单元-X取代。例如，该结构单元-X可以包含任选取代的，其中X_1选自以下组：C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧基、C_1-C_6环烷基、包含1-8个原子的直链杂烷基、和包含1-8个原子的直链-环状杂烷基，所述杂烷基包含选自N、O或者S的1-3个原子，所述的C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧基、C_1-C_6环烷基、包含1-8个原子的直链杂烷基、和包含1-8个原子的直链-环状杂烷基各自独立地任选地选自氘代、卤素、氰基、硝基、氨基、烷基、羧基、烷氧基或环烷基的一个或者多个取代基取代。

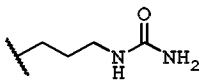
例如，其中，结构单元-X为任选取代的。

例如，本申请提供一种化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中所述化合物可以包含式（C-Trop-2-M2）所示的结构：

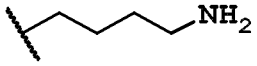


（C-Trop-2-M2），

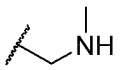
其中，L 可以含任选取代的亚烷基、任选取代的聚乙二醇基和任选取代的亚脂环基；R_1 可以为任选取代的异丙基或任选取代的苄基；R_2 可以为任选取代的甲基、任选取代的



或任选取代的



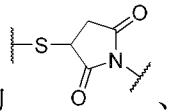
；R_3 可以为氢或 R_5；其中，R_5 可以为任选取代的



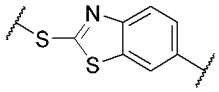
，T 可以包含伊沙替康（Exatecan，CAS 登录号 171335-80-1）和/或贝洛替康（Belotecan，CAS 登录号 256411-32-2）和/或 Genz-644282(CAS 登录号 529488-28-6）。

例如，其中，Q_1 可以包含与巯基偶联后的连接体。

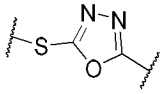
例如，其中，Q_1 可以选自以下组：任选取代的



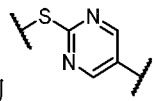
、任选取代的



、任选取代的



、和任选取代的



。

例如，其中，L_{1a} 可以选自以下组：任选取代的 C_1-C_7 的亚烷基、任选取代的二甘醇基至八甘醇基、任选取代的 C_3-C_6 亚脂环基、任选取代的亚芳基和任选取代的亚杂芳基。

例如，其中，L_{1a} 可以选自以下组：任选取代的亚甲基、任选取代的亚乙基、任选取代的亚丙基、任选取代的亚丁基、任选取代的亚戊基、任选取代的二甘醇基、任选取代的四甘醇基、任选取代的六甘醇基、任选取代的八甘醇基和任选取代的亚环己基。

例如，其中，L_{1a} 可以选自以下组：任选取代的亚甲基、任选取代的亚乙基、任选取代的亚丙基、任选取代的亚丁基、和任选取代的亚戊基。

例如，其中，L_{1a} 可以选自以下组：任选取代的二甘醇基、任选取代的三甘醇基、任选取代的四甘醇基、任选取代的五甘醇基、任选取代的六甘醇基、任选取代的七甘醇基、和任选取代的八甘醇基。

例如，其中，L_{1a} 可以选自以下组：任选取代的亚环丙基、任选取代的亚环丁基和任选取代的亚环己基。

例如，其中，L_2 可以包含任选取代的选自以下组的氨基酸构成的多肽残基：苯丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、色氨酸、缬氨酸、甲硫氨酸、酪氨酸、丙氨酸、苏氨酸、组氨酸、丝氨

酸、谷氨酰胺、精氨酸、赖氨酸、天冬酰胺、谷氨酸、脯氨酸、瓜氨酸、天冬氨酸和甘氨酸。

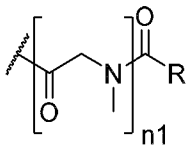
例如，其中，L_2可以包含任选取代的选自以下组的氨基酸构成的多肽残基：甘氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸、丙氨酸、精氨酸、瓜氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺和赖氨酸。

例如，其中，L_2可以包含任选取代的选自以下组的多肽残基：苯丙氨酸-赖氨酸（Phe-Lys）、缬氨酸-丙氨酸（Val-Ala）、缬氨酸-瓜氨酸（Val-Cit）、谷氨酸-缬氨酸-丙氨酸（Glu-Val-Ala）、谷氨酸-缬氨酸-瓜氨酸（Glu-Val-Cit）、缬氨酸-赖氨酸（Val-Lys）、丙氨酸-丙氨酸-丙氨酸（Ala-Ala-Ala）、丙氨酸-丙氨酸-天冬酰胺（Ala-Ala-Asn）和甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-甘氨酸（Gly-Gly-Phe-Gly）。

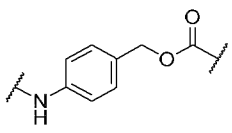
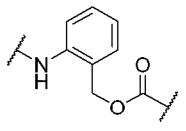
例如，其中，L_2可以包含任选取代的选自以下组的多肽残基：苯丙氨酸-赖氨酸（Phe-Lys）、缬氨酸-丙氨酸（Val-Ala）、缬氨酸-瓜氨酸（Val-Cit）和缬氨酸-赖氨酸（Val-Lys）。

例如，其中，当L_2包含赖氨酸残基时，所述赖氨酸残基可以被包含聚肌氨酸残基的结构R_1取代。

例如，L_2包含的任意的 H 可以被R_1取代。

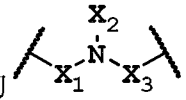
例如，其中，所述R_1可以为任选取代的，其中 n1 为 4 至 18 的数，R 选自以下组：C_1-C_6烷基、C_1-C_6环烷基、和C_1-C_6烷氧基。

例如，其中，n1 可以为 4 至 18、8 至 18、4 至 12 或 8 至 12。例如，其中，n1 可以为 4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17 或 18。

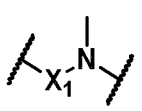
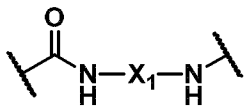
例如，其中，L_3选自以下组：任选取代的，和任选取代的。

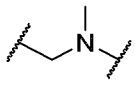
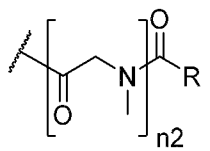
例如，其中，L_3的苯环可以被包含聚肌氨酸残基的结构R_2取代。

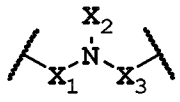
例如，L_3的苯环包含的任意的 H 可以被R_2取代。

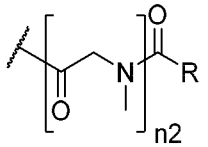
例如，其中，L_3的苯环与任选取代的聚肌氨酸残基通过结构单元-X-连接，结构单元-X-选自以下组：任选取代的，其中X_1选自以下组：羰基、C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧

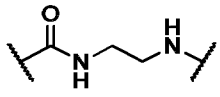
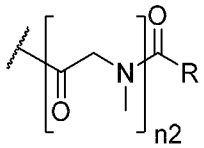
基、C_1-C_6环烷基、包含 1-8 个原子的直链杂烷基、和包含 1-8 个原子的直链-环状杂烷基，所述杂烷基包含选自 N、O 或者 S 的 1-3 个原子；其中 X_2 选自以下组：氢、C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧基、C_1-C_6环烷基、包含 1-8 个原子的直链杂烷基、和包含 1-8 个原子的直链-环状杂烷基，所述杂烷基包含选自 N、O 或者 S 的 1-3 个原子；其中 X_3 为共价键或选自以下组：氢、C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧基、C_1-C_6环烷基、包含 1-8 个原子的直链杂烷基、和包含 1-8 个原子的直链-环状杂烷基，所述杂烷基包含选自 N、O 或者 S 的 1-3 个原子；所述的 C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧基、C_1-C_6环烷基、包含 1-8 个原子的直链杂烷基、和包含 1-8 个原子的直链-环状杂烷基各自独立地任选地被选自氘代、卤素、氰基、硝基、氨基、烷基、羧基、烷氧基或环烷基的一个或者多个取代基取代。

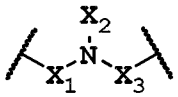
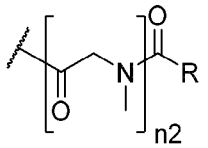
例如，L_3 的苯环与任选取代的聚肌氨酸残基通过结构单元-X-连接，结构单元-X-选自，但不局限于：、，其中 X_1 选自以下组：C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧基、C_1-C_6环烷基、包含 1-8 个原子的直链杂烷基、和包含 1-8 个原子的直链-环状杂烷基，所述杂烷基包含选自 N、O 或者 S 的 1-3 个原子，所述的 C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧基、C_1-C_6环烷基、包含 1-8 个原子的直链杂烷基、和包含 1-8 个原子的直链-环状杂烷基各自独立地任选地选自氘代、卤素、氰基、硝基、氨基、烷基、羧基、烷氧基或环烷基的一个或者多个取代基取代。

例如，其中，结构单元-X-为任选取代的，所述任选取代的聚肌氨酸残基包含，其中 n2 为 4 至 18 的数，R 选自以下组：C_1-C_6烷基、C_1-C_6环烷基、和 C_1-C_6烷氧基。

例如，其中，结构单元-X-选自以下组：任选取代的，其中 X_1 选自以下组：羰基、C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧基、C_1-C_6环烷基、包含 1-8 个原子的直链杂烷基、和包含 1-8 个原子的直链-环状杂烷基，所述杂烷基包含选自 N、O 或者 S 的 1-3 个原子；其中 X_2 选自以下组：氢、C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧基、C_1-C_6环烷基、包含 1-8 个原子的直链杂烷基、和包含 1-8 个原子的直链-环状杂烷基，所述杂烷基包含选自 N、O 或者 S 的 1-3 个原子；其中 X_3 为共价键或选自以下组：氢、C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧基、C_1-C_6环烷基、包含 1-8 个原子的直链杂烷基、和包含 1-8 个原子的直链-环状杂烷基，所述杂烷基包含选自 N、O

或者 S 的 1-3 个原子；所述的 C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧基、C_1-C_6环烷基、包含 1-8 个原子的直链杂烷基、和包含 1-8 个原子的直链-环状杂烷基各自独立地任选地被选自氘代、卤素、氰基、硝基、氨基、烷基、羧基、烷氧基或环烷基的一个或者多个取代基取代，所述任选取代的聚肌氨酸残基包含，其中 n2 为 4 至 18 的数，R 选自以下组：C_1-C_6烷基、C_1-C_6环烷基、和 C_1-C_6烷氧基。

例如，其中，结构单元-X-为任选取代的，所述任选取代的聚肌氨酸残基包含，其中 n2 为 4 至 18 的数，R 选自以下组：C_1-C_6烷基、C_1-C_6环烷基、和 C_1-C_6烷氧基。

例如，其中，结构单元-X-选自以下组：任选取代的，其中 X_1 选自以下组：羰基、C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧基、C_1-C_6环烷基、包含 1-8 个原子的直链杂烷基、和包含 1-8 个原子的直链-环状杂烷基，所述杂烷基包含选自 N、O 或者 S 的 1-3 个原子；其中 X_2 选自以下组：氢、C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧基、C_1-C_6环烷基、包含 1-8 个原子的直链杂烷基、和包含 1-8 个原子的直链-环状杂烷基，所述杂烷基包含选自 N、O 或者 S 的 1-3 个原子；其中 X_3 为共价键或选自以下组：氢、C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧基、C_1-C_6环烷基、包含 1-8 个原子的直链杂烷基、和包含 1-8 个原子的直链-环状杂烷基，所述杂烷基包含选自 N、O 或者 S 的 1-3 个原子；所述的 C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧基、C_1-C_6环烷基、包含 1-8 个原子的直链杂烷基、和包含 1-8 个原子的直链-环状杂烷基各自独立地任选地被选自氘代、卤素、氰基、硝基、氨基、烷基、羧基、烷氧基或环烷基的一个或者多个取代基取代，所述任选取代的聚肌氨酸残基包含，其中 n2 为 4 至 18 的数，R 选自以下组：C_1-C_6烷基、C_1-C_6环烷基、和 C_1-C_6烷氧基。

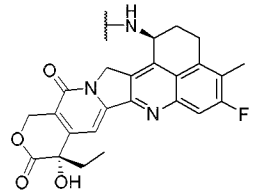
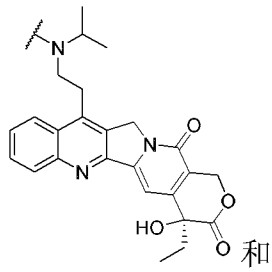
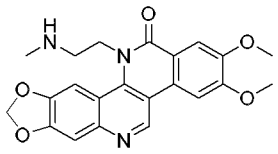
例如，其中，n2 可以为 4 至 18、8 至 18、4 至 12 或 8 至 12。例如，其中，n2 可以为 4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17 或 18。

例如，其中，T 可以包含具有抗肿瘤活性的化合物。

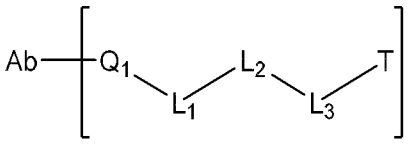
例如，其中，T 可以包含拓扑异构酶抑制剂。

例如，其中，T 可以包含喜树碱类及非喜树碱类拓扑异构酶 I 抑制剂。

例如，其中，T 可以包含伊沙替康（Exatecan，CAS 登录号 171335-80-1）和/或贝洛替康（Belotecan，CAS 登录号 256411-32-2）和/或 Genz-644282(CAS 登录号 529488-28-6)。

例如，其中，T 可以选自以下组的结构：，和。

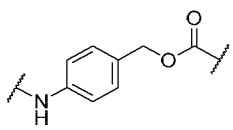
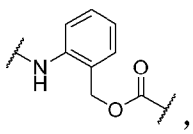
例如，本申请提供一种化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中所述化合物可以包含式（C-Trop-2）所示的结构：

（C-Trop-2）

其中，Q_1 可以包含与巯基偶联后的连接体，

L_1 可以包含-L_{1a}-C(=O)-，其中，L_{1a} 可以选自以下组：任选取代的 C_1-C_7 的亚烷基、任选取代的二甘醇基至八甘醇基、任选取代的 C_3-C_6 亚脂环基、任选取代的亚芳基和任选取代的亚杂芳基；

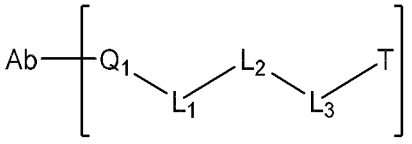
L_2 可以包含任选取代的选自以下组的氨基酸构成的多肽残基：甘氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸、丙氨酸、精氨酸、瓜氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺和赖氨酸，

L_3 可以包含任选取代的，，

其中，L_2 可以包含聚肌氨酸残基，

T 可以包含拓扑异构酶抑制剂。

例如，本申请提供一种化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中所述化合物可以包含式（C-Trop-2）所示的结构：

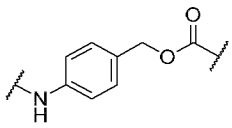
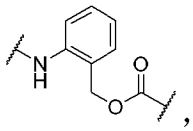


（C-Trop-2）

其中，Q_1可以包含与巯基偶联后的连接体，

L_1可以包含-L_{1a}-C(=O)-，其中，L_{1a}可以选自以下组：任选取代的C_1-C_7的亚烷基、任选取代的二甘醇基至八甘醇基、任选取代的C_3-C_6亚脂环基、任选取代的亚芳基和任选取代的亚杂芳基；

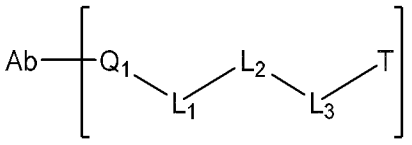
L_2可以包含任选取代的选自以下组的氨基酸构成的多肽残基：甘氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸、丙氨酸、精氨酸、瓜氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺和赖氨酸，

L_3可以包含任选取代的，，

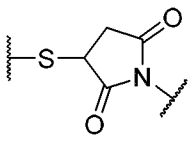
其中，L_3可以包含聚肌氨酸残基，

T 可以包含拓扑异构酶抑制剂。

例如，本申请提供一种化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中所述化合物可以包含式（C-Trop-2）所示的结构：

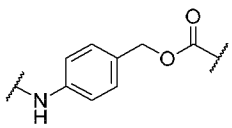
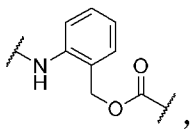


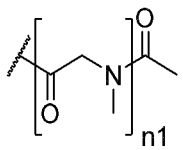
（C-Trop-2）

其中，Q_1可以包含任选取代的，

L_1可以包含-L_{1a}-C(=O)-，其中，L_{1a}可以包含任选取代的C_1-C_7的亚烷基；

L_2可以包含选自以下组的结构：苯丙氨酸-赖氨酸（Phe-Lys）、缬氨酸-丙氨酸（Val-Ala）、缬氨酸-瓜氨酸（Val-Cit）和缬氨酸-赖氨酸（Val-Lys），

L_3可以包含任选取代的，，

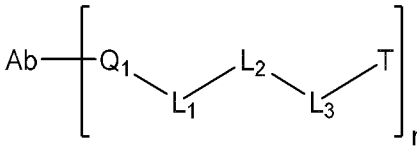
其中，L_2可以包含赖氨酸残基，且所述赖氨酸残基可以被任选取代的

取

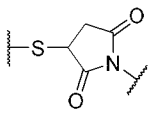
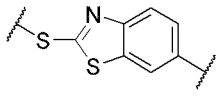
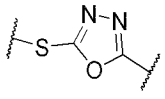
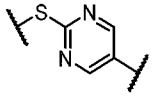
代，其中 n1 为 4 至 18 的数，

T 可以包含伊沙替康（Exatecan，CAS 登录号 171335-80-1）和/或贝洛替康（Belotecan，CAS 登录号 256411-32-2）和/或 Genz-644282(CAS 登录号 529488-28-6)。

例如，本申请提供一种化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中所述化合物可以包含式（C-Trop-2）所示的结构：

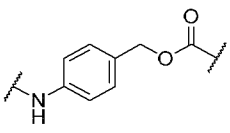
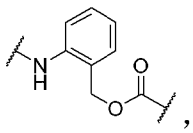


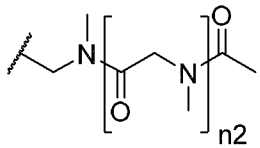
（C-Trop-2）

其中，Q_1 可以选自以下组：任选取代的 、任选取代的 、任选取代的 、和任选取代的 ，

L_1 可以包含-L_{1a}-C(=O)-，其中，L_{1a} 可以包含任选取代的 C_1-C_7 的亚烷基；

L_2 可以包含选自以下组的结构：苯丙氨酸-赖氨酸（Phe-Lys）、缬氨酸-丙氨酸（Val-Ala）、缬氨酸-瓜氨酸（Val-Cit）和缬氨酸-赖氨酸（Val-Lys），

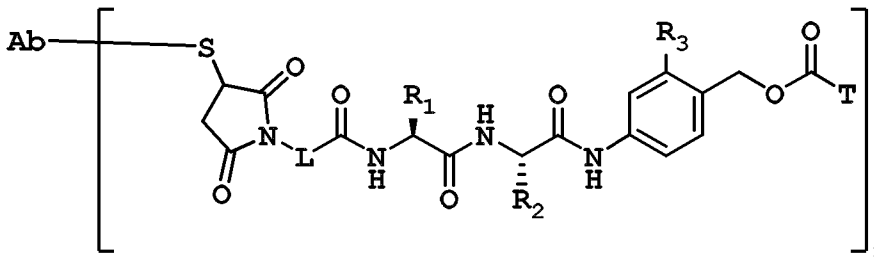
L_3 可以包含任选取代的 ，，

其中，L_3 可以被任选取代的 

取代，其中 n2 为 4 至 18 的数，

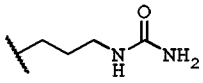
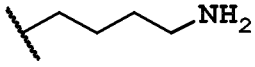
T 可以包含伊沙替康（Exatecan，CAS 登录号 171335-80-1）和/或贝洛替康（Belotecan，CAS 登录号 256411-32-2）和/或 Genz-644282(CAS 登录号 529488-28-6)。

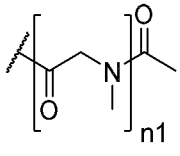
例如，本申请提供一种化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中所述化合物可以包含式（C2-Trop-2）所示的结构：



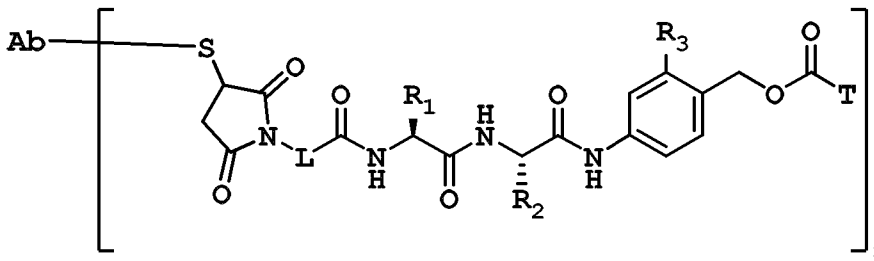
（C2-Trop-2），

其中，L 可以含任选取代的亚烷基、任选取代的聚乙二醇基和任选取代的亚脂环基；R_1 可以为任选取代的异丙基或任选取代的苄基；R_2 可以为任选取代的甲基、任选取代的

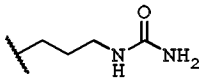
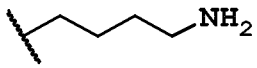
或任选取代的；R_3 可以为氢或任选取代的甲基；其中，R_2

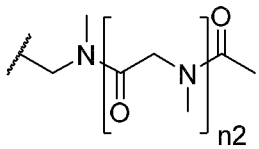
可以被任选取代的取代，其中 n1 为 4 至 18 的数，T 可以包含伊沙替康（Exatecan，CAS 登录号 171335-80-1）和/或贝洛替康（Belotecan，CAS 登录号 256411-32-2）和/或 Genz-644282(CAS 登录号 529488-28-6)。

例如，本申请提供一种化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中所述化合物可以包含式（C2-Trop-2）所示的结构：

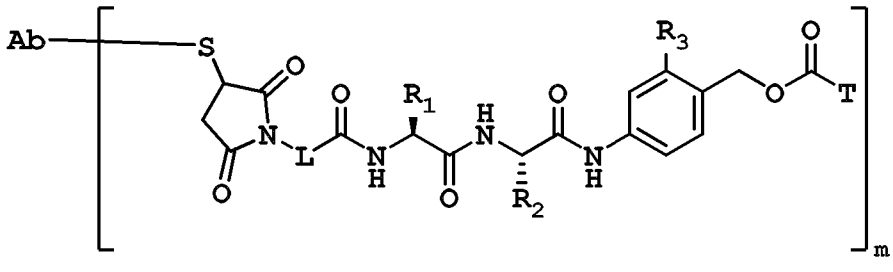
（C2-Trop-2），

其中，L 可以含任选取代的亚烷基、任选取代的聚乙二醇基和任选取代的亚脂环基；R_1 可以为任选取代的异丙基或任选取代的苄基；R_2 可以为任选取代的甲基、任选取代的

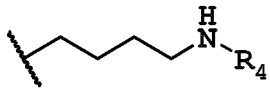
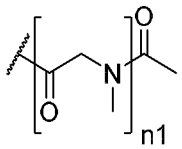
或任选取代的；R_3 可以为氢或任选取代的甲基；其中，R_2

可以被任选取代的取代，其中 n2 为 4 至 18 的数，T 可以包含伊沙替康（Exatecan，CAS 登录号 171335-80-1）和/或贝洛替康（Belotecan，CAS 登录号 256411-32-2）和/或 Genz-644282(CAS 登录号 529488-28-6)。

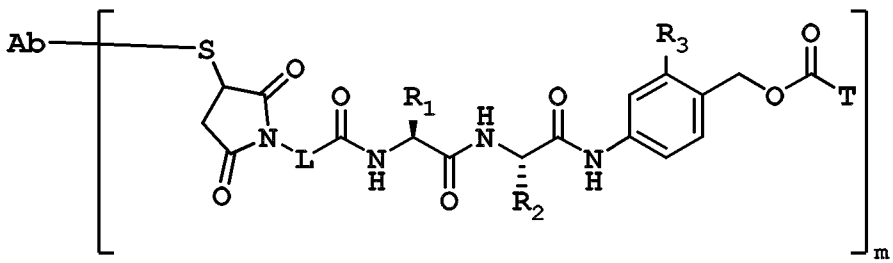
例如，本申请提供一种化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中所述化合物可以包含式（C2-Trop-2）所示的结构：



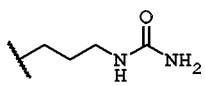
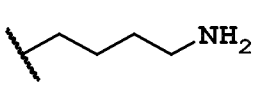
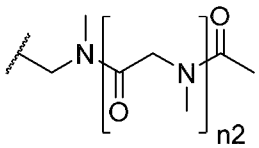
（C2-Trop-2），

其中，L 可以含任选取代的亚烷基、任选取代的聚乙二醇基和任选取代的亚脂环基；R_1 可以为任选取代的异丙基或任选取代的苄基；R_2 可以为任选取代的 ；R_3 可以为氢或任选取代的甲基；其中，R_4 可以为任选取代的 ，其中 n1 为 4 至 18 的数，T 可以包含伊沙替康（Exatecan，CAS 登录号 171335-80-1）和/或贝洛替康（Belotecan，CAS 登录号 256411-32-2）和/或 Genz-644282(CAS 登录号 529488-28-6)。

例如，本申请提供一种化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中所述化合物可以包含式（C2-Trop-2）所示的结构：



（C2-Trop-2），

其中，L 可以含任选取代的亚烷基、任选取代的聚乙二醇基和任选取代的亚脂环基；R_1 可以为任选取代的异丙基或任选取代的苄基；R_2 可以为任选取代的甲基、任选取代的 或任选取代的 ；R_3 可以为氢或 R_5；其中，R_5 可以为任选取代的 ，其中 n2 为 4 至 18 的数，T 可以包含伊沙替康（Exatecan，CAS 登录号 171335-80-1）和/或贝洛替康（Belotecan，CAS 登录号 256411-32-2）和/或 Genz-644282(CAS 登录号 529488-28-6)。

例如，其中所述 Ab 可以包含抗 Trop-2 抗体或其抗原结合片段。

例如，其中所述抗体可以选自以下组：鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体和全人源抗

体。

例如，其中所述抗体可以包含单克隆抗体。

例如，其中所述抗体可以包含双特异性抗体。

例如，其中所述抗原结合片段可以选自以下组：Fab，Fab′，Fv 片段，$F(ab')_2$，$F(ab)_2$，scFv，di-scFv，VHH 和 dAb。

例如，其中所述 Ab 的重链 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 和轻链 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含抗 Trop-2 抗体的重链 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 和轻链 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

例如，其中所述 Ab 的重链可变区 VH 和轻链可变区 VL 分别包含抗 Trop-2 抗体的重链可变区 VH 和轻链可变区 VL。

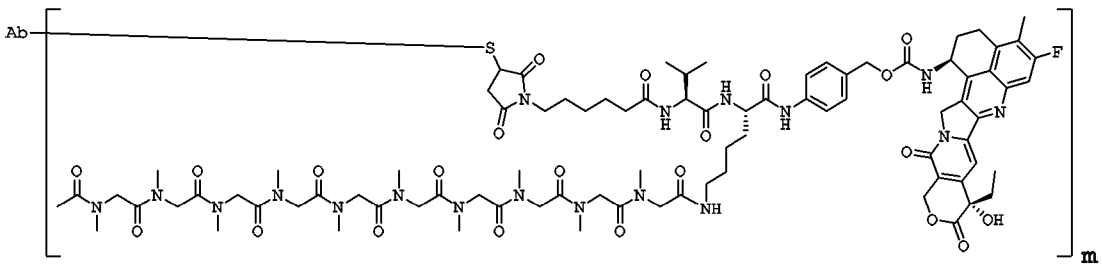
例如，其中所述 Ab 的重链和轻链分别包含抗 Trop-2 抗体的重链和轻链。

例如，其中所述 Ab 可以包含赛妥珠单抗（Sacituzumab，hRS7）。

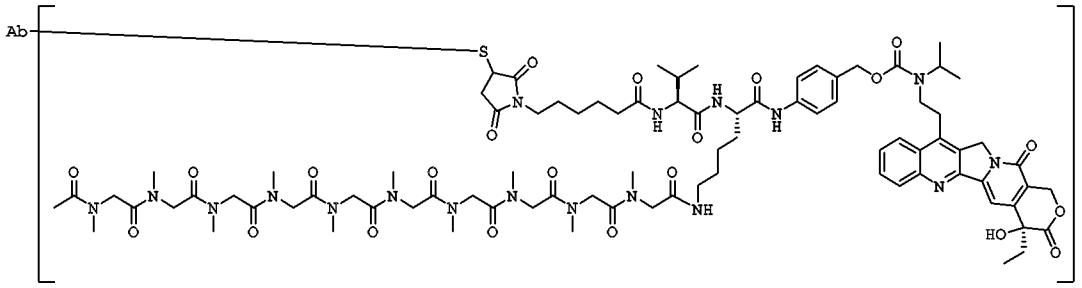
例如，其中所述 m 可以通过选自以下组的方法测定：疏水层析、十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳和液相质谱。例如，m 作为单个单克隆抗体分子与细胞毒性药物偶联后得到的抗体偶联药物中的药物分子与单克隆抗体分子的摩尔比的平均值，m 可以为 1-8 的整数或小数，例如，m 可以为约 1 至约 2、约 1 至约 3、约 1 至约 4、约 1 至约 5、约 1 至约 6、约 1 至约 7 或约 1 至约 8；例如，m 可以为约 2 至约 8、约 3 至约 8、约 4 至约 8、约 5 至约 8、约 6 至约 8、约 7 至约 8，或约 1、约 2、约 3、约 4、约 5、约 6、约 7 或约 8。

另一方面，本申请还提供一种化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，

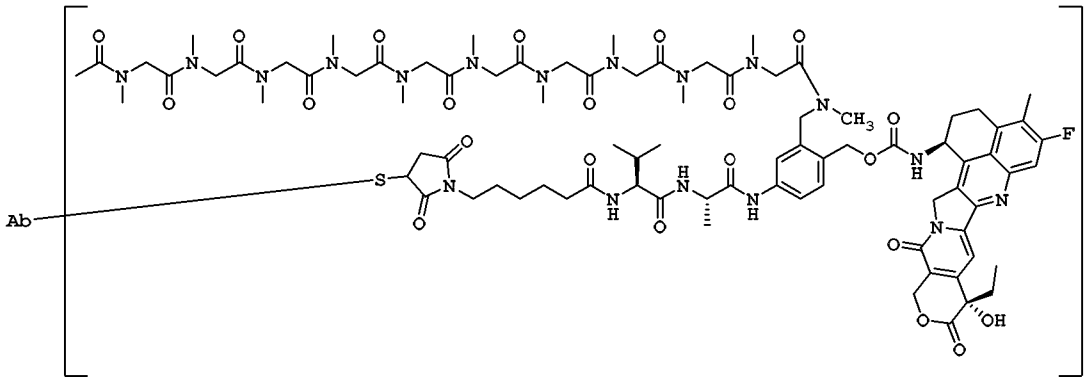
其中，所述化合物包含选自以下组的结构：



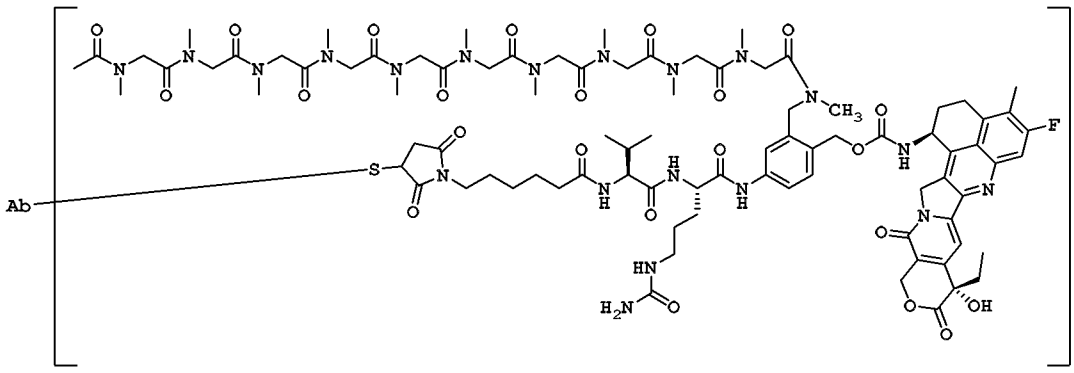
（C-Trop-2-1），



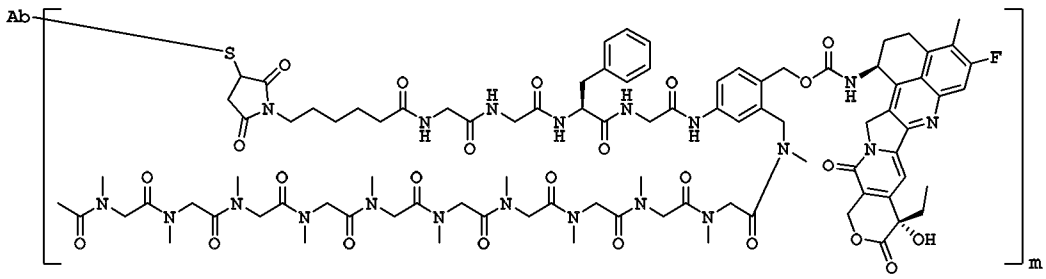
（C-Trop-2-2），



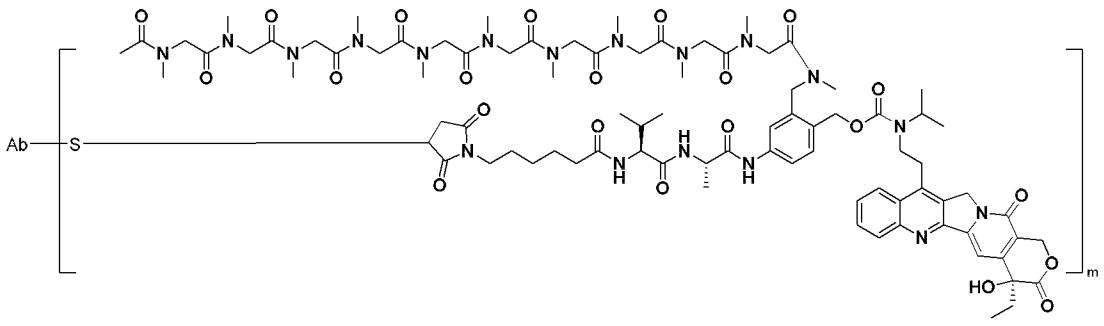
（C-Trop-2-3），



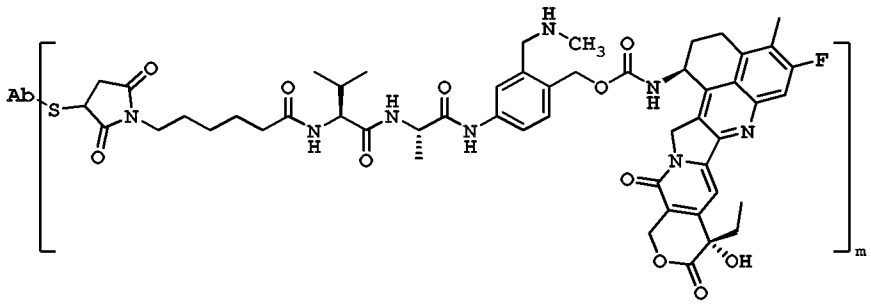
（C-Trop-2-4），



（C-Trop-2-5），

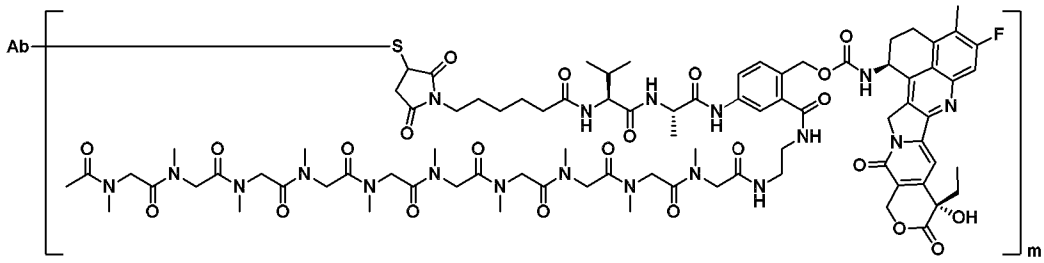


（C-Trop-2-6），



（C-Trop-2-7），

和



（C-Trop-2-8），

Ab 为能够结合 Trop-2 的配体，m 为 1-8 的数。

本申请所述配体可以是蛋白类激素、凝集素、生长因子、抗体或其他能与细胞、受体和/或抗原结合的分子。例如，本申请的配体可以是抗 Trop-2 抗体或其抗原结合片段。

在本申请中，所述配体包含抗体轻链可变区 VL 中的至少一个 CDR。本申请所述 CDR 可以是根据 Kabat 定义的；也可以是根据 Chothia 定义的，各种方式定义的 CDR 序列均包含在本申请的保护范围之内。

例如，本申请的抗原结合蛋白可以是包含重链可变区的 CDR1-3 和轻链可变区的 CDR1-3，其中重链可变区的 CDR1-3 和轻链可变区的 CDR1-3 可以分别为赛妥珠单抗（Sacituzumab）的重链可变区的 CDR1-3 和轻链可变区 CDR1-3。例如，本申请的抗原结合蛋白可以具有结合 TROP2 的结合能力。

例如，本申请的抗原结合蛋白可以是包含重链可变区和轻链可变区，其中重链可变区和轻链可变区可以分别为赛妥珠单抗（Sacituzumab）的重链可变区的和轻链可变区。例如，本申请的抗原结合蛋白可以具有结合 TROP2 的结合能力。

例如，本申请的抗原结合蛋白可以是包含重链和轻链，其中重链和轻链可以分别为赛妥珠单抗（Sacituzumab）的重链的和轻链。

例如，赛妥珠单抗（Sacituzumab）的重链氨基酸序列可以如 SEQ ID NO：1 所示，赛妥珠单抗（Sacituzumab）的轻链氨基酸序列可以如 SEQ ID NO：2 所示。

作为验证本申请化合物显著的优势，例如本申请的配体可以为：例如，赛妥珠单抗（Sacituzumab）的重链氨基酸序列可以如 SEQ ID NO：1 所示，赛妥珠单抗（Sacituzumab）的轻链氨基酸序列可以如 SEQ ID NO：2 所示。例如，曲妥珠单抗（Trastuzumab）的重链氨基酸序列可以如 SEQ ID NO：3 所示，曲妥珠单抗（Trastuzumab）的轻链氨基酸序列可以如 SEQ ID NO：4 所示。例如，帕妥珠单抗（Pertuzumab）的重链氨基酸序列可以如 SEQ ID NO：5 所示，帕妥珠单抗（Pertuzumab）的轻链氨基酸序列可以如 SEQ ID NO：6 所示。例如，恩诺单抗（Enfortumab）的重链氨基酸序列可以如 SEQ ID NO：7 所示，恩诺单抗（Enfortumab）的轻链氨基酸序列可以如 SEQ ID NO：8 所示。例如，Patritumab 的重链氨基酸序列可以如 SEQ ID NO：9 所示，Patritumab 的轻链氨基酸序列可以如 SEQ ID NO：10 所示。例如，抗体 H01L02 的重链氨基酸序列可以如 SEQ ID NO：11 所示，抗体 H01L02 的轻链氨基酸序列可以如 SEQ ID NO：12 所示。

本申请的抗体可以利用该领域广为周知的技术制备，例如杂交瘤方法、重组 DNA 技术、噬菌体展示技术、合成技术或该等技术的组合、或该领域已知的其它技术。变体可以是指抗体的氨基酸序列突变体，以及天然多肽的共价衍生物，条件是保留了与天然多肽相当的生物活性。氨基酸序列突变体与天然氨基酸序列的差异一般在于天然氨基酸序列中的一个活多个氨基酸被取代或在多肽序列中缺失和/或插入一个或多个氨基酸。缺失突变体包括天然多肽的片段和 N 端和/或 C 端截短突变体。通常氨基酸序列突变体与天然序列相比至少具有 70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或 99%以上的同源性。

由于本申请提供的抗体-药物偶联物可以靶向瞄准特殊的细胞群体，与细胞表面特异蛋白(抗原)结合，从而通过结合物内吞或药物渗入使得药物以活性形式释放到细胞内，因此，本申请的抗体-药物偶联物可以用于治疗目标疾病，本申请的抗体-药物偶联物可以以治疗有效量，通过合适的途径给予受试者(例如人)。需要治疗的受试者可以是有风险，或怀疑患有与特定抗原的活性或表达量有关病症的患者。这样的患者可以通过常规体检来鉴定。

当用本申请的抗体-药物偶联物治疗时，可以通过本领域常规的方法进行递送。例如，它可以通过使用脂质体，水凝胶，环糊精，生物可降解的纳米胶囊，或生物粘附性微球被引入到细胞中。或者，所述核酸或载体可在本地通过直接注射或通过使用输注泵递送。其它方

法可以包括通过使用缀合物和生物可降解的聚合物的使用各种运输和载体系统。

一方面，本申请提供一种药物组合物，其可以含有本申请中任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，以及可以包含任选地药学上可接受的载体。

申请所述的药物组合物除活性化合物外，可以含有一种或多种辅料，所述辅料可以选自以下组的成分：填充剂(稀释剂)、粘合剂、润湿剂、崩解剂和赋形剂等。根据给药方法的不同，组合物可以含有 0.1 至 99 重量%的活性化合物。

含活性成分的药物组合物可以是适用于口服的形式，例如片剂、糖锭剂、锭剂、水或油混悬液、可分散粉末或颗粒、乳液、硬或软胶囊，或糖浆剂。可以按照本领域任何已知制备药用组合物的方法制备口服组合物，所述组合物可以含有粘合剂、填充剂、润滑剂、崩解剂或药学上可接受的润湿剂等，所述组合物还可以含有一种或多种选自以下组的成分：甜味剂、矫味剂、着色剂和防腐剂。

水悬浮液可以含有活性物质和用于混合的适宜制备的水悬浮液的赋形剂。水混悬液也可以含有一种或多种防腐剂，例如一种或多种着色剂、一种或多种矫味剂和一种或多种甜味剂。油混悬液可以通过使活性成分悬浮于植物油中配制而成。油悬浮液可以含有增稠剂。还可以加入上述的甜味剂和矫味剂。

药物组合物还可以是用于制备水混悬液的可分散粉末和颗粒提供活性成分，通过加入水混合分散剂、湿润剂、悬浮剂或防腐剂中的一种或多种。也可加入其他赋形剂例如甜味剂、矫味剂和着色剂。通过加入抗氧化剂例如抗坏血酸保存这些组合物。本申请的药物组合物也可以是水包油乳剂的形式。

药物组合物可以是无菌注射水溶液形式。可以使用的可接受的溶媒或溶剂有水、林格氏液和等渗氯化钠溶液。无菌注射制剂可以是其中活性成分溶于油相的无菌注射水包油微乳。例如将活性成分溶于大豆油和卵磷脂的混合物中。然后可以将油溶液加入水和甘油的混合物中处理形成微乳。可通过局部大量注射，将注射液或微乳注入患者的血流中。或者，可以按可保持本申请化合物恒定循环浓度的方式给予溶液和微乳。为保持这种恒定浓度，可使用连续静脉内递药装置。例如，所述装置可以是静脉注射泵。

药物组合物可以是用于肌内和皮下给药的无菌注射水或油混悬液的形式。可按已知技术，用上述本申请所述适宜的分散剂或湿润剂和悬浮剂配制该混悬液。无菌注射制剂也可以是在肠胃外可接受的无毒稀释剂或溶剂中制备的无菌注射溶液或混悬液。或者，可方便地用无菌固定油作为溶剂或悬浮介质。

可按用于直肠给药的栓剂形式给予本申请化合物。可通过将药物与在普通温度下为固体但在直肠中为液体，因而在直肠中会溶化而释放药物的适宜的无刺激性赋形剂混合来制备这些药物组合物。此类物质包括可可脂、甘油明胶、氢化植物油、各种分子量的聚乙二醇和聚乙二醇的脂肪酸酯的混合物。

如本领域技术人员所熟知的，药物的给药剂量依赖于多种因素，包括但并非限定于以下因素：所用具体化合物的活性、患者的年龄、患者的体重、患者的健康状况、患者的行为、患者的饮食、给药时间、给药方式、排泄的速率、药物的组合等；另外，最佳的治疗方式如治疗的模式、本申请所述化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐，和/或化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐的日用量或可药用的盐的种类可以根据传统的治疗方案来验证。

本申请的药物组合物可以含有安全有效量的本申请的抗体-药物偶联物以及药学上可接受的载体。这类载体可以包括(但并不限于)：盐水、缓冲液、葡萄糖、水、甘油、乙醇、及其组合。通常药物制剂应与给药方式相匹配，本申请的药物组合物可以被制成溶液剂形式，例如用生理盐水或含有葡萄糖和其他辅剂的水溶液通过常规方法进行制备。所述的药物组合物可以在无菌条件下制造。活性成分的给药量可以是治疗有效量。

本申请所述的抗体-药物偶联物的有效量可以随给药的模式和待治疗的疾病的严重程度等而变化。有效量的选择可以由本领域普通技术人员根据各种因素来确定(例如通过临床试验)。所述的因素可以包括但不限于：所述的双功能抗体偶联物的药代动力学参数例如生物利用率、代谢、半衰期等；患者所要治疗的疾病的严重程度、患者的体重、患者的免疫状况、给药的途径等。通常，当本申请的抗体-药物偶联物每天以合适的剂量给予，可以得到令人满意的效果。例如，由治疗状况的迫切要求，可以每天给予若干次分开的剂量，或将剂量按比例地减少。

本申请化合物可以单独给药，或者可以与其他药学上可接受的治疗剂联合给药。使用药物组合物时，可以是将安全有效量的本申请化合物适用于需要治疗的哺乳动物(如人)，其中施用时剂量可以为药学上认为的有效给药剂量，具体剂量还可以考虑给药途径、病人健康状况等因素。

本申请提供一种本申请的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，和/或本申请的药物组合物在制备可以用于治疗和/或预防肿瘤的药物中的用途。例如，所述肿瘤可以选

自与以下组靶点表达相关的肿瘤：HER2。例如，所述与所述靶点表达相关的肿瘤包含所述靶点高表达的肿瘤和/或所述靶点阳性的肿瘤。例如，所述肿瘤包含实体肿瘤和/或血液肿瘤。例如，所述肿瘤选自以下组：乳腺癌、卵巢癌、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、急性淋巴细胞性白血病、间变性大细胞淋巴瘤、多发性骨髓瘤、前列腺癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、恶性黑色素瘤、鳞状细胞癌、胶质母细胞瘤、肾细胞癌、胃肠道肿瘤、胰腺癌、前列腺癌、直结肠、胃癌、神经胶质瘤和间皮瘤。

本申请提供一种本申请的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，和/或本申请的药物组合物，其可以用于治疗和/或预防肿瘤的药物中的用途。例如，所述肿瘤可以选自与以下组靶点表达相关的肿瘤：HER2。例如，所述与所述靶点表达相关的肿瘤包含所述靶点高表达的肿瘤和/或所述靶点阳性的肿瘤。例如，所述肿瘤包含实体肿瘤和/或血液肿瘤。例如，所述肿瘤选自以下组：乳腺癌、卵巢癌、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、急性淋巴细胞性白血病、间变性大细胞淋巴瘤、多发性骨髓瘤、前列腺癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、恶性黑色素瘤、鳞状细胞癌、胶质母细胞瘤、肾细胞癌、胃肠道肿瘤、胰腺癌、前列腺癌、直结肠、胃癌、神经胶质瘤和间皮瘤。

本申请提供一种预防和/或治疗肿瘤的方法，可以包括向受试者施用本申请的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，和/或本申请的药物组合物。例如，所述肿瘤可以选自与以下组靶点表达相关的肿瘤：HER2。例如，所述与所述靶点表达相关的肿瘤包含所述靶点高表达的肿瘤和/或所述靶点阳性的肿瘤。例如，所述肿瘤包含实体肿瘤和/或血液肿瘤。例如，所述肿瘤选自以下组：乳腺癌、卵巢癌、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、急性淋巴细胞性白血病、间变性大细胞淋巴瘤、多发性骨髓瘤、前列腺癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、恶性黑色素瘤、鳞状细胞癌、胶质母细胞瘤、肾细胞癌、胃肠道肿瘤、胰腺癌、前列腺癌、直结肠、胃癌、神经胶质瘤和间皮瘤。

不欲被任何理论所限，下文中的实施例仅仅是为了阐释本申请的化合物、制备方法和用途等，而不用于限制本申请发明的范围。

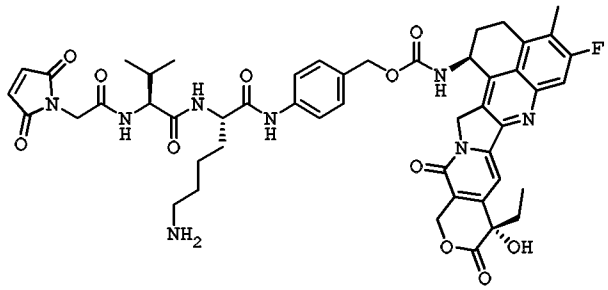
实施例

实施例 1 化合物的合成与制备

本申请所述的原料为市售产品，或者通过本领域已知的方法制备或根据本文所述方法制

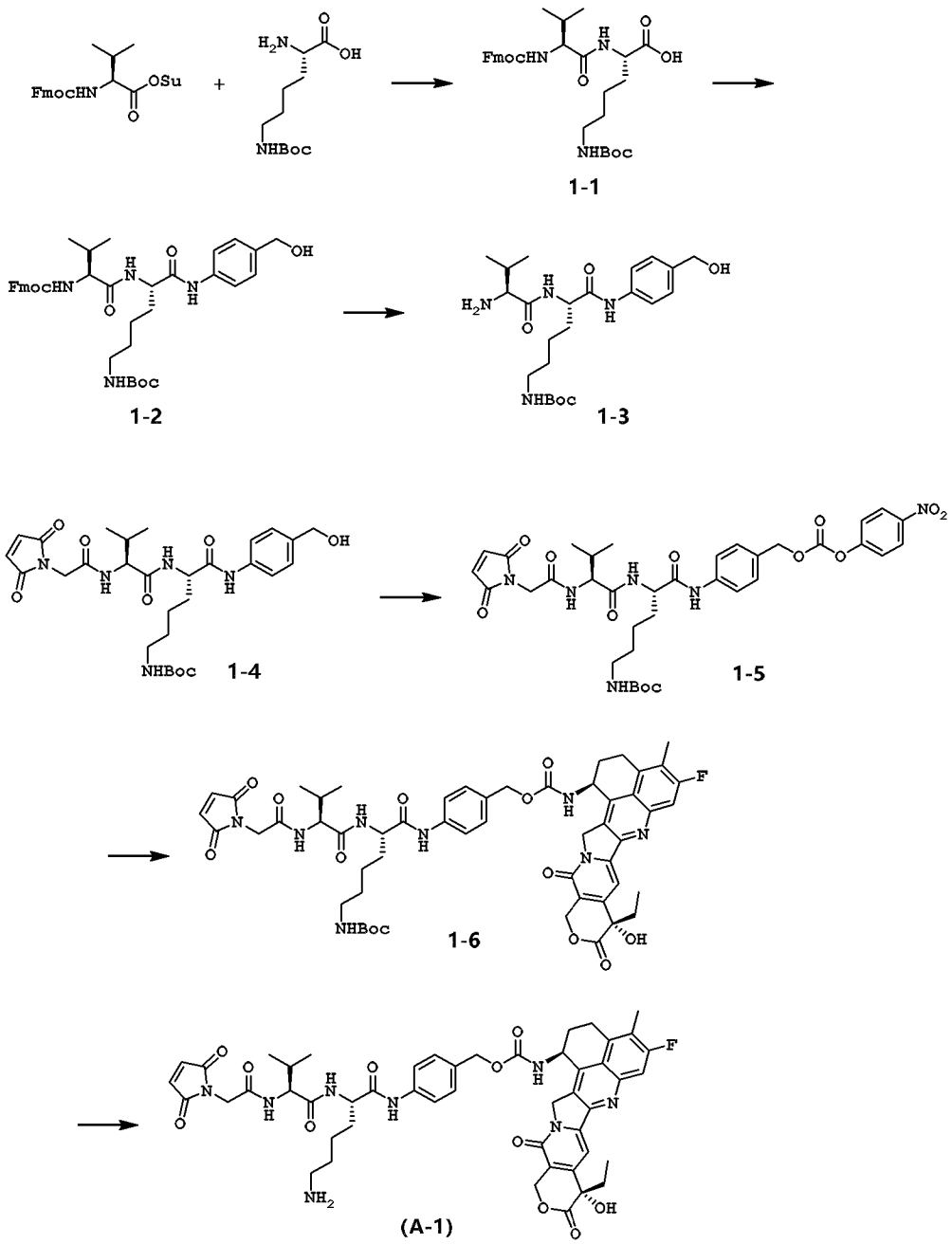
备。其中，Fmoc 是 9-芴基甲氧基羰基保护基（9-fluorenylmethyloxycarbonyl），Boc 是叔丁氧基羰基保护基（tert-butoxycarbonyl），TBDMS/TBS 是叔丁基二甲基硅基保护基（tert-butyldimethylsilyl）。

化合物（A-1）的合成



（A-1）

合成路线：



步骤 1：中间体 1-1 的合成

Fmoc-Val-OSu (100 g, 229 mmol) 溶解于 500 毫升四氢呋喃中，分别加入 Nε-(叔丁氧基羰基)-L-赖氨酸 (59.3 g, 241 mmol) 与碳酸氢钠（20.21 g, 241 mmol) 在 500 毫升的水溶液。反应液室温搅拌 48 小时，检测反应结束。反应液用 1N 稀盐酸调节 pH 至 6 左右，并加入 500 毫升乙酸乙酯萃取，分离有机相后再经水和饱和盐水各洗一次后，无水硫酸钠干燥，蒸干。剩余物经甲基叔丁基醚重结晶后得产物 1-1（107 克，收率 82%）为白色固体。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 567.29，实测值: 568.26 (M+H)。

步骤 2：中间体 1-2 的合成

将中间体 1-1 (60 g, 106 mmol)溶解于二氯甲烷与甲醇（v:v=2:1，900 毫升）的混合溶剂

中。室温下加入对氨基苄醇（19.52 g, 159 mmol），后再加入 EEDQ (39.2 g, 159 mmol)。反应液室温搅拌 24 小时，反应液减压蒸干，加入乙醚搅拌至固体析出，过滤，固体用乙醚淋洗数次，固体干燥后获得中间体 1-2（51 克，收率 72%）。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 672.35，实测值: 673.37 (M+H)。

步骤 3：中间体 1-3 的合成

将中间体 1-2 (50 g, 74.3 mmol)溶解于 370 毫升 DMF 中。室温下加入二乙胺（78 ml, 743 mmol）。反应液室温搅拌 2 小时，反应液减压蒸干，加入乙酸乙酸、乙醚搅拌至固体析出，过滤，固体用乙醚淋洗数次，固体干燥后获得中间体 1-3（31.5 克，收率 94%）。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 450.28，实测值: 451.32 (M+H)。

步骤 4：中间体 1-4 的合成

将中间体 1-3 (5 g, 11.10 mmol) 溶解于 100 毫升 DMF 中，室温入加入马来酰亚胺基乙酸琥珀酰亚胺（2.80 g, 11.10 mmol），反应液室温搅拌过夜，反应液减压蒸干，加入甲基叔丁基醚搅拌至固体析出，过滤，固体用乙醚淋洗数次，固体干燥后获得中间体 1-4，直接用于下一步反应。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 587.30，实测值: 588.31 (M+H)。

步骤 5：中间体 1-5 的合成

将中间体 1-4 (2 g, 3.40 mmol) 溶解于 40 毫升 DMF 中，室温下分别加入 DIPEA (1.189 ml, 6.81 mmol) 与双(4-硝基苯基)碳酸酯(1.553 g, 5.10 mmol)。氩气下室温搅拌过夜，加入甲基叔丁基醚搅拌至固体析出，过滤，固体用乙醚淋洗数次，固体干燥后获得中间体 1-5，直接用于下一步反应。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 752.30，实测值: 753.31 (M+H)。

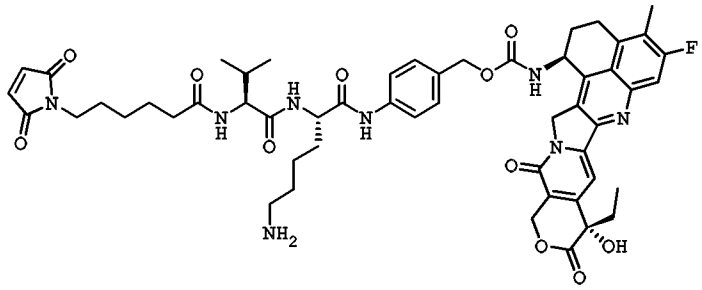
步骤 6：中间体 1-6 的合成

将中间体 1-5(142 mg, 0.188 mmol) 溶解于 400 μL 无水 DMF 中，加入 100μL 无水吡啶，后再加入依沙替康甲磺酸盐（购自上海皓元，100 mg, 0.188 mmol）与 HOBt(25.4 mg, 0.188 mmol)。氩气下室温搅拌过夜，反应液经反相 HPLC 制备纯化得中间体 1-6（80 mg, 收率 40%）。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1048.43，实测值: 1045.45 (M+H)。

步骤 7：化合物（A-1）的合成

将中间体 1-6(100 mg, 0.095 mmol) 溶解于 1 mL 无水二氯甲烷中，冰浴下加入 500 μL 三氟乙酸后，恢复至室温搅拌 30 分钟，减压除去溶剂得终产物， 后经反相 HPLC 制备纯化得终产物化合物（A-1）（70 mg, 收率 77%）。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1048.43，实测值: 1045.45 (M+H)。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 948.38，实测值: 949.37 (M+H)。

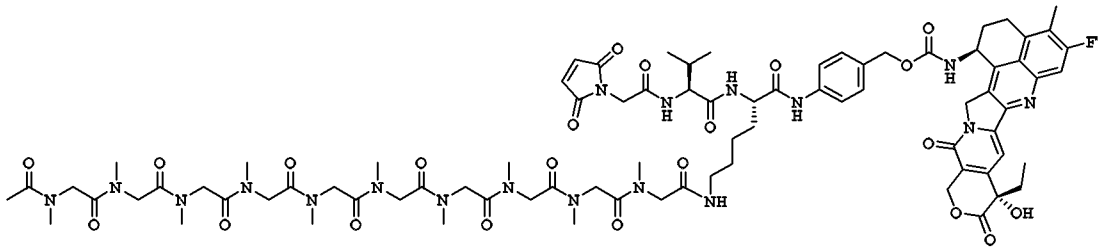
化合物（A-2）的合成



（A-2），

化合物（A-2）的合成与化合物（A-1）的合成步骤相同，只是将其中步骤 4 中的原料马来酰亚胺基乙酸琥珀酰亚胺替换为 6-(马来酰亚胺基)己酸琥珀酰亚胺酯，经过数步反应得产物（A-2）为米色无定形粉末。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1004.44，实测值: 1005.45 (M+H)。

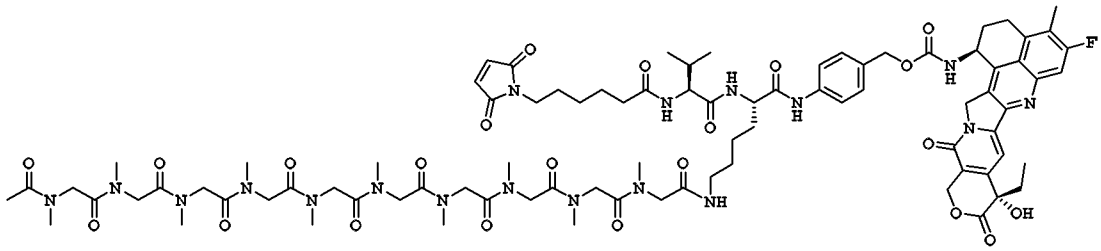
化合物（A-3）的合成



（A-3），

将化合物（A-1）（100 mg, 0.105 mmol）溶解于 1 毫升无水 DMF 中，分别加入乙酰化-10 聚肌氨酸（Ac-Sar10-COOH，97 mg, 0.126 mmol），HATU (48 mg, 0.126 mmol)和 DIPEA(37 μL, 0.211 mmol)后，室温搅拌过夜，减压除去溶剂得终产物， 后经反相 HPLC 制备纯化得终产物化合物（A-3）（87 mg, 收率 49%）。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1700.76，实测值: 1701.78 (M+H)。

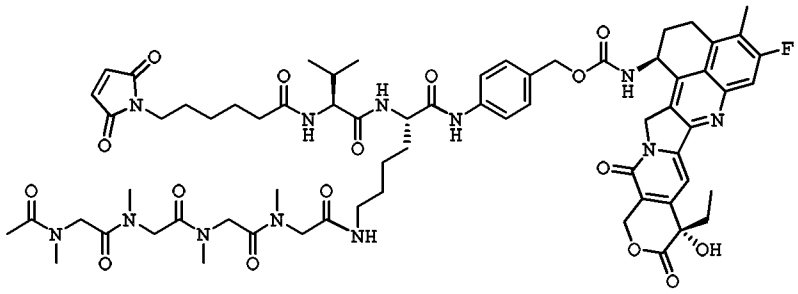
化合物（A-4）的合成



（A-4），

将化合物（A-2）（100 mg, 0.099 mmol）溶解于 1 毫升无水 DMF 中，分别加入乙酰化-10 聚肌氨酸（Ac-Sar10-COOH，92 mg, 119 mmol），HATU (45mg, 119 mmol)和 DIPEA(35 μL, 0.199 mmol)后，室温搅拌过夜，减压除去溶剂得终产物， 后经反相 HPLC 制备纯化得终产物化合物（A-4）（95 mg, 收率 54%）。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1756.83，实测值: 1757.85 (M+H)。

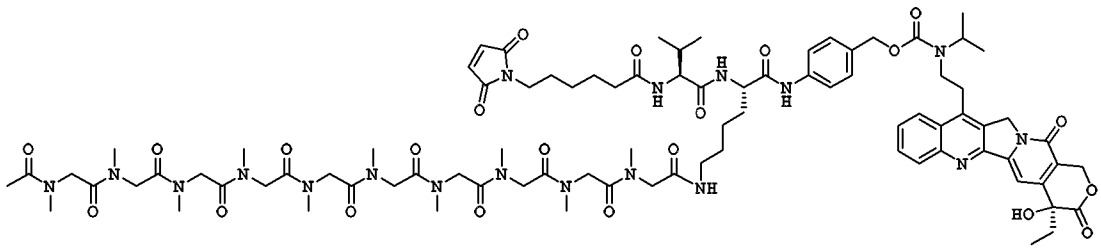
化合物（A-5）的合成



（A-5）

化合物（A-5）的合成与化合物（A-4）的合成步骤相同，只是将最后一个步骤中的乙酰化-10 聚肌氨酸（Ac-Sar10-COOH）替换为乙酰化-4 聚肌氨酸(Ac-Sar4-COOH)，经过数步反应得产物（A-5）为米色无定形粉末。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1330.60，实测值: 1331.61 (M+H)。

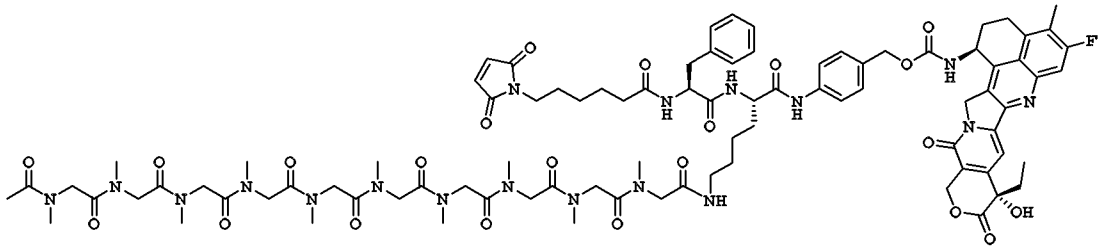
化合物（A-6）的合成



（A-6），

化合物（A-6）的合成与化合物（A-4）的合成步骤相同，只是将步骤 6 中的依沙替康甲磺酸盐替换为贝洛替康盐酸盐（购自上海皓元化学），经过数步反应得产物（A-6）为白色无定形粉末。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1754.87，实测值: 1755.88 (M+H)。

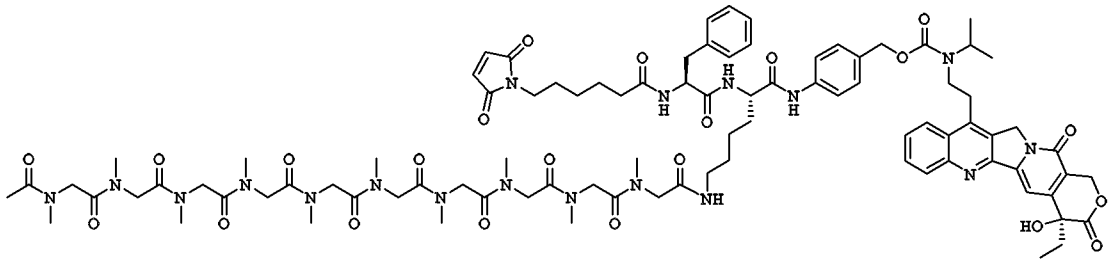
化合物（A-7）的合成



（A-7），

化合物（A-7）的合成与化合物（A-4）的合成步骤相同，只是将步骤 1 中的 Fmoc-Val-OSu 替换为 Fmoc-Phe-OSu，经过数步反应得产物（A-7）为米色无定形粉末。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1804.83，实测值: 1805.85 (M+H)。

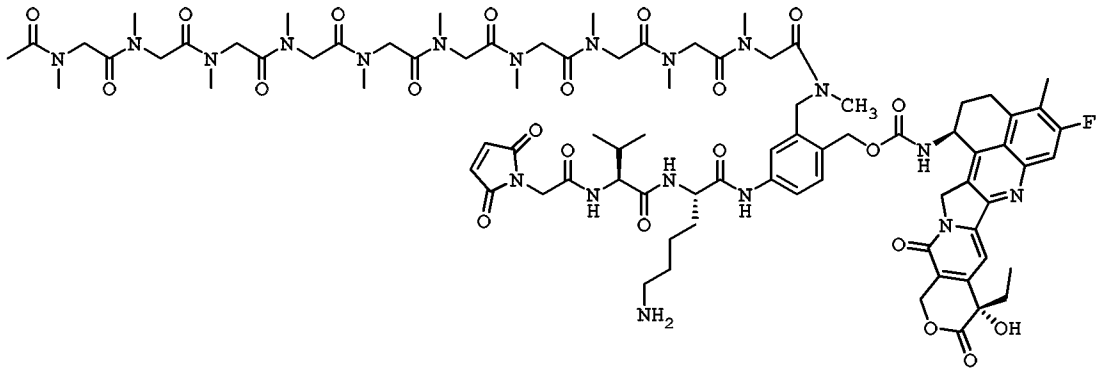
化合物（A-8）的合成



（A-8），

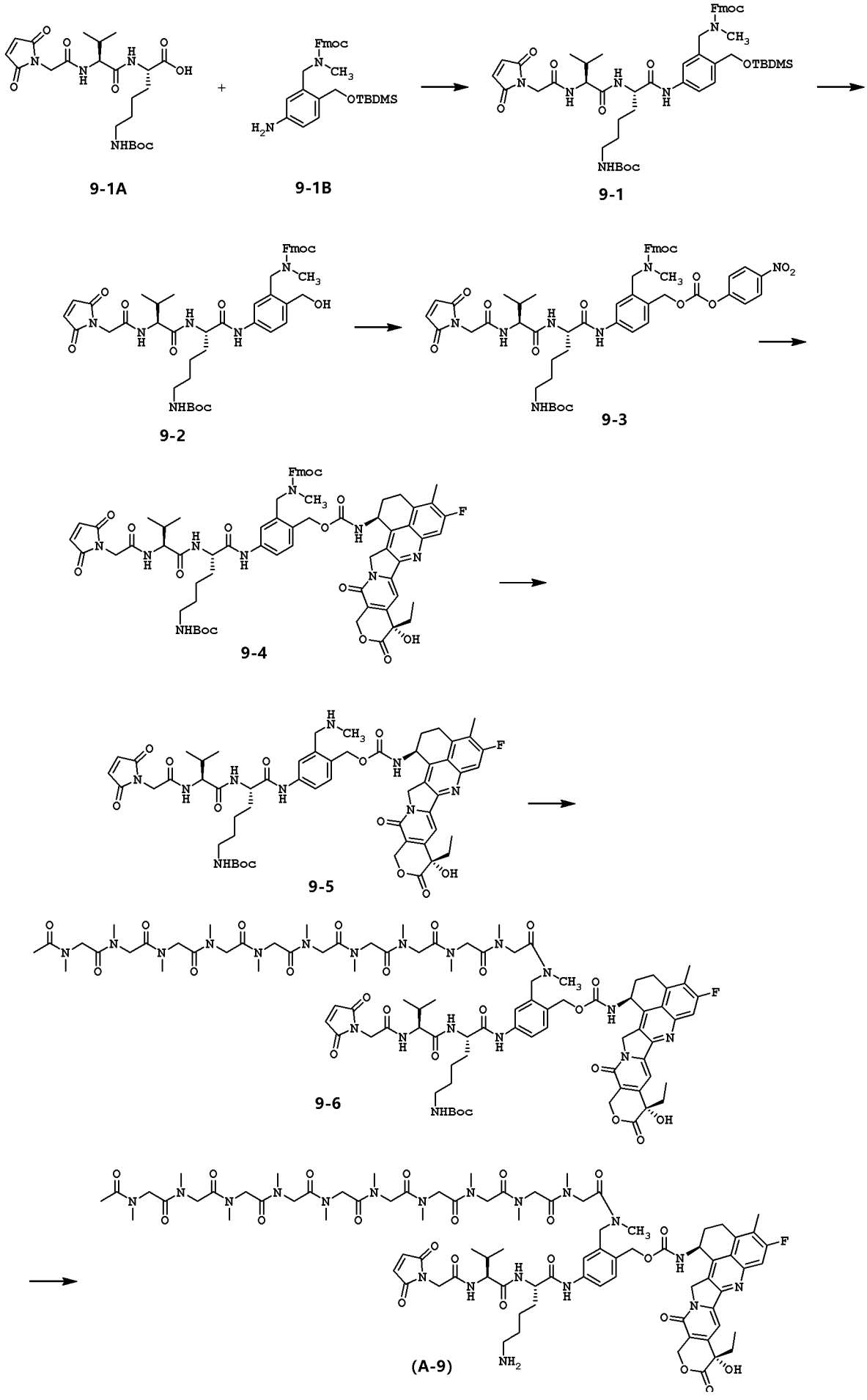
化合物（A-8）的合成与化合物（A-7）的合成步骤相同，只是将步骤 6 中的依沙替康甲磺酸盐替换为贝洛替康盐酸盐（购自上海皓元化学），经过数步反应得产物（A-8）为白色无定形粉末。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1802.87，实测值: 1803.86 (M+H)。

化合物（A-9）的合成



（A-9）

合成路线：


9-1A
9-1B
9-1
9-2
9-3
9-4
9-5
9-6
(A-9)

步骤 1：中间体 9-1 的合成

将中间体 9-1A (1.3 g, 2.69 mmol)与 9-1B(1.35 g, 2.69 mmol)溶解于二氯甲烷与甲醇（v:v=2:1，90 毫升）的混合溶剂中。室温下加入对 EEDQ (800 mg, 3.23 mmol)。反应液室温搅拌 24 小时，反应液减压蒸干，经柱层析获得 9-1（1.8 g，收率 69%）。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 966.49，实测值: 967.50 (M+H)。

步骤 2：中间体 9-2 的合成

将中间体 9-1(900 mg, 0.93mmol)溶解于 20 毫升无水四氢呋喃中，氩气氛下冰浴冷却，加入氢氟酸吡啶复合物（1.8g, 18.61 mmol），反应液在 0 度下搅拌 2 小时，加入水萃灭反应，二氯甲烷萃取，分离出有机层，无水硫酸钠干燥，经柱层析获得中间体 9-2（610 mg，收率 77%）。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 852.41，实测值: 853.43 (M+H)。

步骤 3：中间体 9-3 的合成

将中间体 9-2 (600 mg, 0.703 mmol) 溶解于 4 毫升无水 DMF 中，室温下分别加入 DIPEA (0.84 ml, 1.05 mmol) 与双(4-硝基苯基)碳酸酯(321 mg, 1.05 mmol)。氩气下室温搅拌过夜，减压蒸去溶剂，后加入甲基叔丁基醚搅拌至固体析出，过滤，固体用乙醚淋洗数次，固体干燥后获得中间体 9-3，直接用于下一步反应。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1017.41，实测值: 1018.38 (M+H)。

步骤 4：中间体 9-4 的合成

将中间体 9-3 (300 mg, 0.295 mmol) 溶解于 400 μL 无水 DMF 中，加入 100μL 无水吡啶，后再加入依沙替康甲磺酸盐（购自上海皓元，157 mg, 0.295 mmol）与 HOBt(40 mg, 0. 295 mmol)。氩气下室温搅拌过夜，反应液经反相 HPLC 制备纯化得中间体 9-4（160 mg, 收率 41%）。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1313.54，实测值: 1314.51 (M+H)。

步骤 5：中间体 9-5 的合成

将中间体 9-4 (150 mg, 0.114 mmol)溶解于 1 毫升 DMF 中。室温下加入二乙胺（120 μL, 1.14 mmol）。反应液室温搅拌 2 小时，反应液减压蒸干获得中间体 9-5，直接用于下一步反应。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1091.48，实测值: 1092.51 (M+H)。

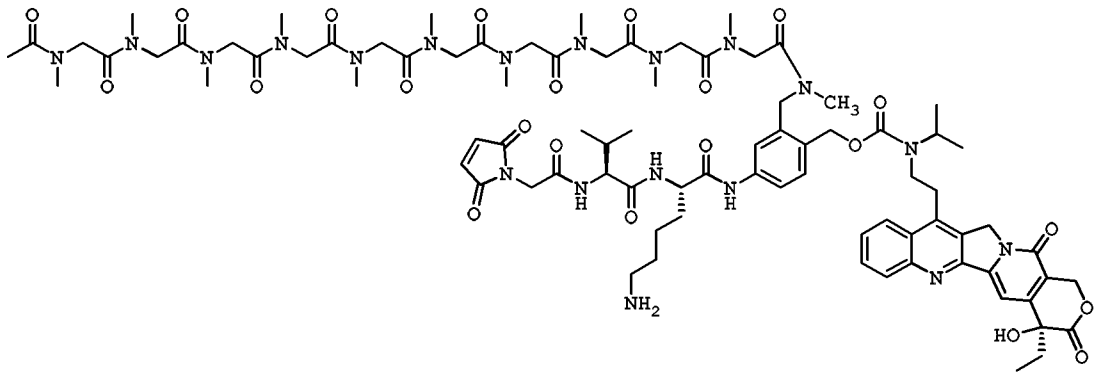
步骤 6：中间体 9-6 的合成

将化合物 9-5（120 mg, 0.110 mmol）溶解于 1 毫升无水 DMF 中，分别加入乙酰化-10 聚肌氨酸（Ac-Sar10-COOH，102 mg, 0.132 mmol），HATU (50 mg, 0.132 mmol)和 DIPEA(38 μL, 0.22 mmol)后，室温搅拌过夜，减压除去溶剂得终产物， 后经反相 HPLC 制备纯化得中间体化合物 9-6（105 mg, 收率 52%）。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1843.86，实测值: 1844.84 (M+H)。

步骤 7：化合物（A-9）的合成

将中间体 9-6（100 mg, 0.054 mmol）溶解于 1 mL 无水二氯甲烷中，冰浴下加入 500 μL 三氟乙酸后，恢复至室温搅拌 30 分钟，减压除去溶剂得终产物， 后经反相 HPLC 制备纯化得终产物化合物（A-9）（57 mg, 收率 60%）。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1048.43，实测值: 1045.45 (M+H)。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1743.81，实测值: 1744.85 (M+H)。

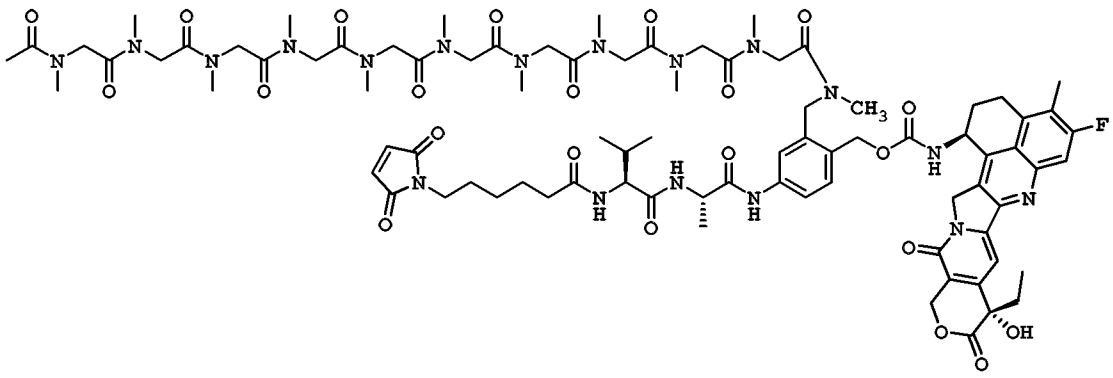
化合物（A-10）的合成



（A-10），

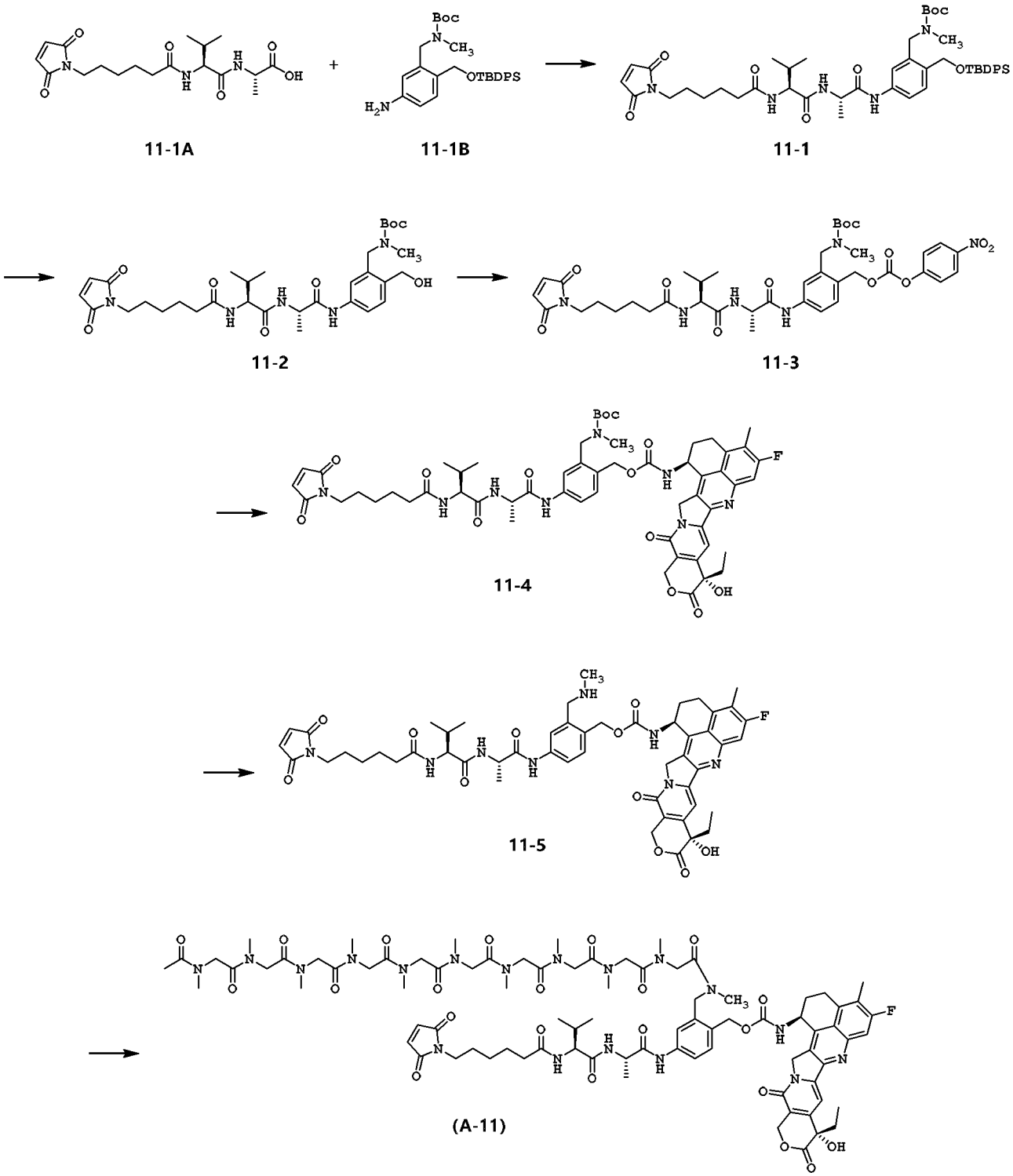
化合物（A-10）的合成与化合物（A-9）的合成步骤相同，只是将步骤 4 中的依沙替康甲磺酸盐替换为贝洛替康盐酸盐（购自上海皓元化学），经过数步反应得产物（A-10）为白色无定形粉末。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1741.85，实测值: 1742.83 (M+H)。

化合物（A-11）的合成



（A-11）

合成路线：



步骤 1：中间体 11-1 的合成

将中间体 11-1A（Mc-Val-Ala-OH，购自上海皓元化学，2.4 g, 6.29 mmol)与 11-1B(3.18 g, 6.29 mmol)溶解于二氯甲烷与甲醇（v:v=2:1，90 毫升）的混合溶剂中。室温下加入对 EEDQ (1.86 g, 7.55 mmol)。反应液室温搅拌 24 小时，反应液减压蒸干，经柱层析获得 11-1（3.9 g，收率 71%）。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 867.46，实测值: 868.49 (M+H)。

步骤 2：中间体 11-2 的合成

将中间体 11-1（2 g, 2.3 mmol）溶解于 50 毫升无水四氢呋喃中，氩气氛下冰浴冷却，加入氢氟酸吡啶复合物（4.6 g, 46 mmol），反应液在 0 度下搅拌 2 小时，加入水萃灭反应，二氯甲烷萃取，分离出有机层，无水硫酸钠干燥，经柱层析获得中间体 11-2（1.1 g，收率 76%）。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 629.34，实测值: 630.31 (M+H)。

步骤 3：中间体 11-3 的合成

将中间体 11-2 (700 mg, 1.11 mmol) 溶解于 4 毫升无水 DMF 中，室温下分别加入 DIPEA (0.39 ml, 2.23 mmol) 与双(4-硝基苯基)碳酸酯(406 mg, 1.33 mmol)。氩气下室温搅拌过夜，减压蒸去溶剂，后加入甲基叔丁基醚搅拌至固体析出，过滤，固体用乙醚淋洗数次，固体干燥后获得中间体 11-3，直接用于下一步反应。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 794.35，实测值: 795.41 (M+H)。

步骤 4：中间体 11-4 的合成

将中间体 11-3 (300 mg, 0.44 mmol) 溶解于 400 μL 无水 DMF 中，加入 100μL 无水吡啶，后再加入依沙替康甲磺酸盐（购自上海皓元，234 mg, 0.44 mmol）与 HOBt(60 mg, 0.44 mmol)。氩气下室温搅拌过夜，反应液经反相 HPLC 制备纯化得中间体 11-4（230 mg, 收率 48%）。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1090.48，实测值: 1091.53 (M+H)。

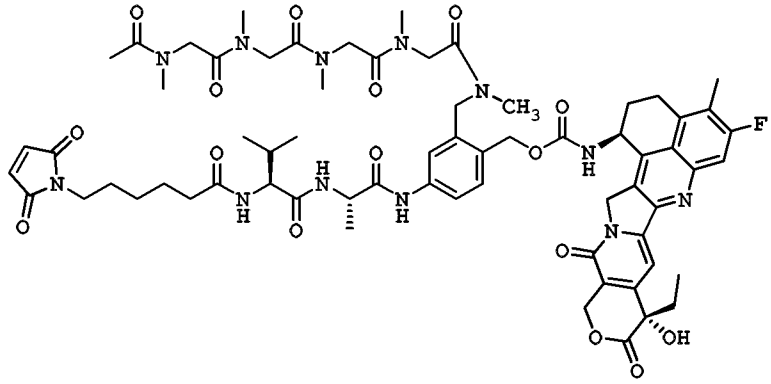
步骤 5：中间体 11-5 的合成

将中间体 11-4(200 mg, 0.183 mmol) 溶解于 1 mL 无水二氯甲烷中，冰浴下加入 300 μL 三氟乙酸后，恢复至室温搅拌 30 分钟，减压除去溶剂得终产物得中间体 11-5 的三氟乙酸盐，未经进一步纯化直接用于下一步反应。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 990.43，实测值: 991.47 (M+H)。

步骤 6：化合物（A-11）的合成

将化合物 11-5（120 mg, 0.109 mmol）溶解于 1 毫升无水 DMF 中，分别加入乙酰化-10 聚肌氨酸（Ac-Sar10-COOH，84 mg, 0.109 mmol），HATU (50 mg, 0.130 mmol)和 DIPEA(38 μL, 0.22 mmol)后，室温搅拌过夜，减压除去溶剂得终产物， 后经反相 HPLC 制备纯化得化合物（A-11）（74 mg, 收率 38%）。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1742.81，实测值: 1743.85 (M+H)。

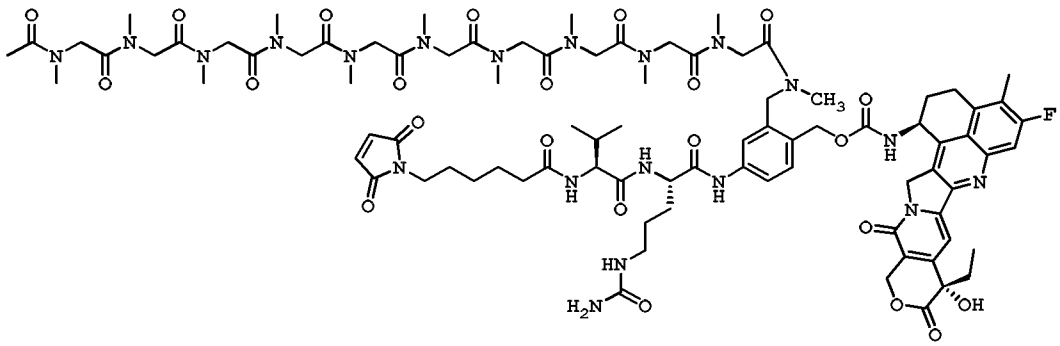
化合物（A-12）的合成



（A-12）

化合物（A-12）的合成与化合物（A-11）的合成步骤相同，只是将步骤 6 中的原料化合物 Ac-Sar10-COOH 替换为 Ac-Sar4-COOH，经过数步反应得产物（A-12）为米色无定形粉末。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1316.59，实测值: 1317.62 (M+H)。

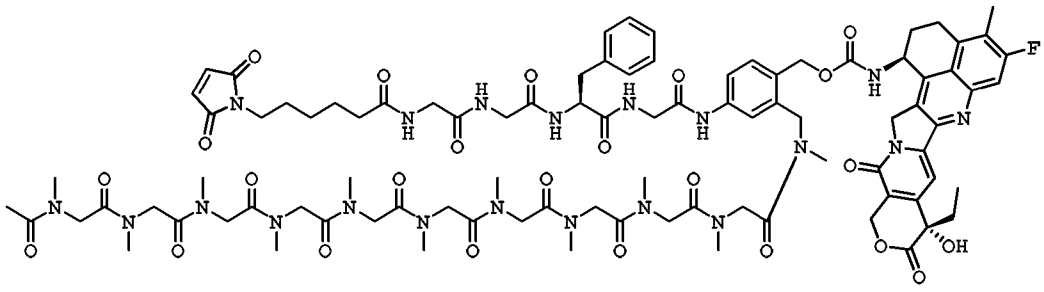
化合物（A-13）的合成



（A-13）

化合物（A-13）的合成与化合物（A-11）的合成步骤相同，只是将步骤 1 中的原料化合物 11-1A 替换为 Mc-Val-Cit-OH（购自上海皓元化学），经过数步反应得产物（A-13）为米色无定形粉末。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1828.86，实测值: 1829.88 (M+H)。

化合物（A-14）的合成

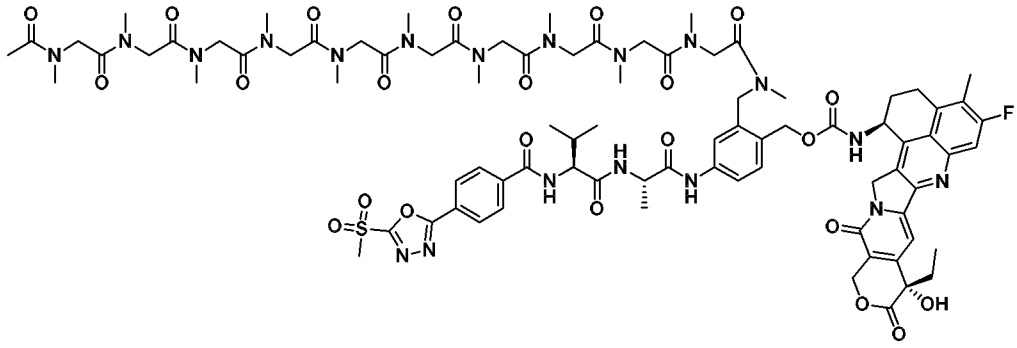


（A-14）

化合物（A-14）的合成与化合物（A-11）的合成步骤相同，只是将步骤 1 中的原料化合物 11-1A(Mc-VA-OH)替换为 Mc-GGFG-OH（购自上海皓元化学），经过数步反应得产物（A-

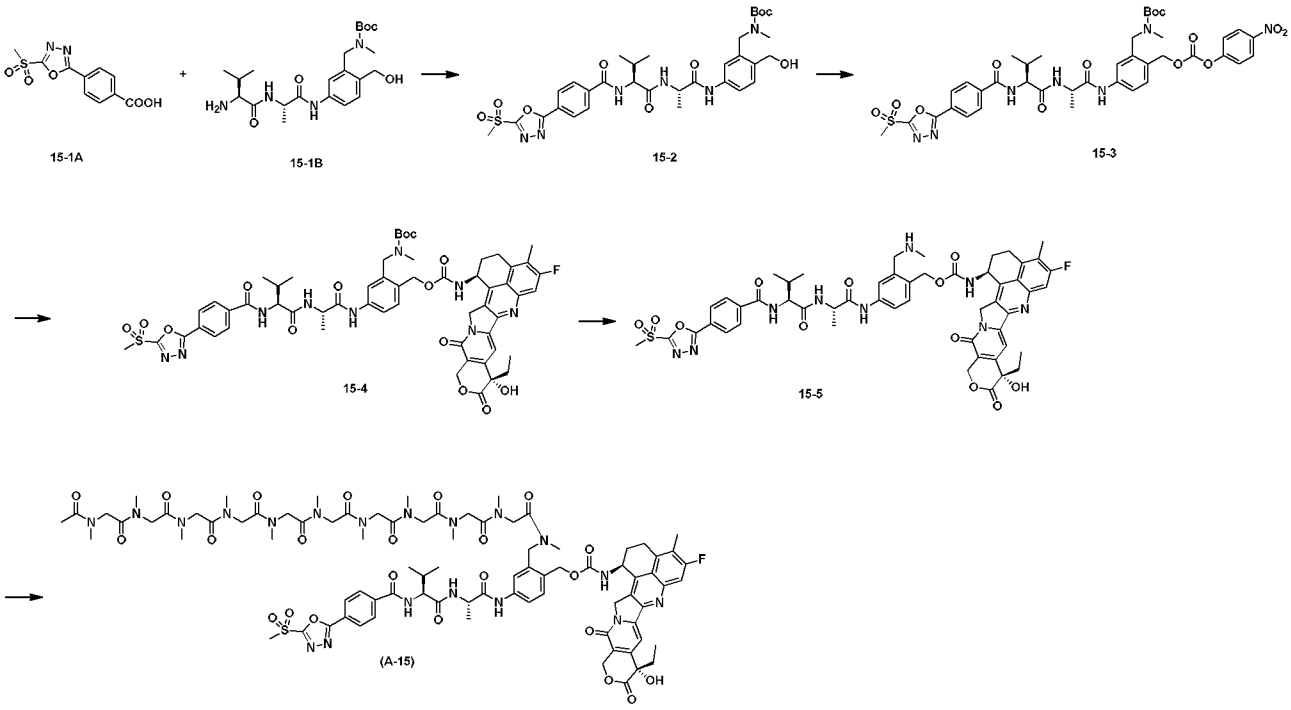
13）为米色无定形粉末。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1890.84，实测值: 1891.90 (M+H)。

化合物（**A-15**）的合成



（A-15）

合成路线：



步骤 1：中间体 15-2 的合成

将中间体15-1A (2.3 g, 8.57 mmol)与15-1B (3.74 g, 8.57 mmol)溶解于二氯甲烷与甲醇（v:v=2:1，90毫升）的混合溶剂中。室温下加入对EEDQ (4.24 g, 17.15 mmol)。反应液室温搅拌24小时，反应液减压蒸干，经柱层析获得中间体15-2 (3.23 g, 4.70 mmol, 54.9 % yield)。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 686.27，实测值: 687.21 (M+H)。

步骤 2：中间体 15-3 的合成

将中间体 15-2 (2.3 g, 3.35 mmol) 溶解于 40 毫升无水 DMF 中，室温下分别加入 DIPEA (1.170 ml, 6.70 mmol)与双(4-硝基苯基)碳酸酯 (1.528 g, 5.02 mmol)。氩气下室温搅拌过夜，减

压蒸去溶剂，后加入甲基叔丁基醚搅拌至固体析出，过滤，固体用乙醚淋洗数次，固体干燥后获得中间体 15-3 (2.1 g, 2.465 mmol, 收率 73.6 %)，直接用于下一步反应。

步骤 3：中间体 15-4 的合成

将中间体15-3 (400 mg, 0.470 mmol)溶解于4 mL无水DMF中，加入1 mL无水吡啶，后再加入依沙替康游离碱(购自上海皓元化学) (204 mg, 0.470 mmol)与HOBt (63.4 mg, 0.470 mmol)。氩气下室温搅拌过夜，反应液蒸干后，柱层析纯化（DCM:MeOH=30:1）得中间体15-4 (244 mg, 0.213 mmol, 收率45.3 %)。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1147.41，实测值: 1148.48 (M+H)。

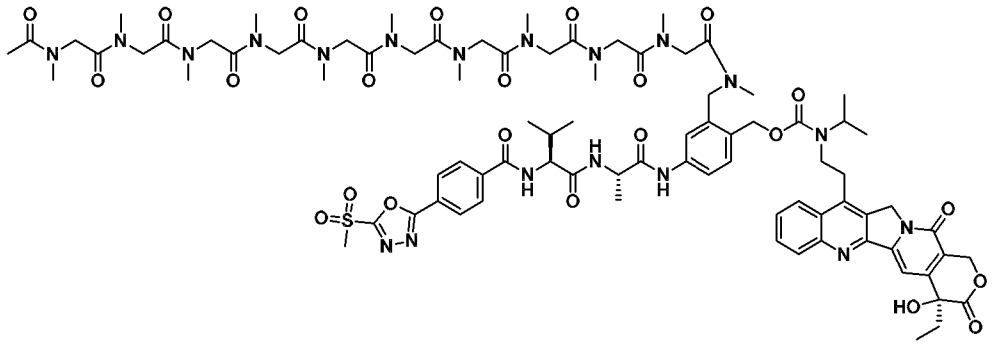
步骤 4：中间体 15-5 的合成

将中间体 15-4 (200 mg, 0.183 mmol) 溶解于 1 mL 无水二氯甲烷中，冰浴下加入 300 μL 三氟乙酸后，恢复至室温搅拌 30 分钟，减压除去溶剂得终产物得中间体 15-5 的三氟乙酸盐，未经进一步纯化直接用于下一步反应。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1047.36，实测值: 1048.40 (M+H)。

步骤 5：化合物 A-15 的合成

将中间体化合物 15-5 (150 mg, 0.131 mmol)溶解于 1 毫升无水 DMF 中，分别加入乙酰化-10 聚肌氨酸（Ac-Sar10-COOH) (101 mg, 0.131 mmol)，DIPEA (114 μl, 0.654 mmol)和 HATU (74.6 mg, 0.196 mmol)后，室温搅拌过夜，减压除去溶剂得终产物， 后经反相 HPLC 制备纯化得化合物 A-15 (107 mg, 0.059 mmol, 收率 45.4 %)。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1799.74，实测值: 1800.77 (M+H)。

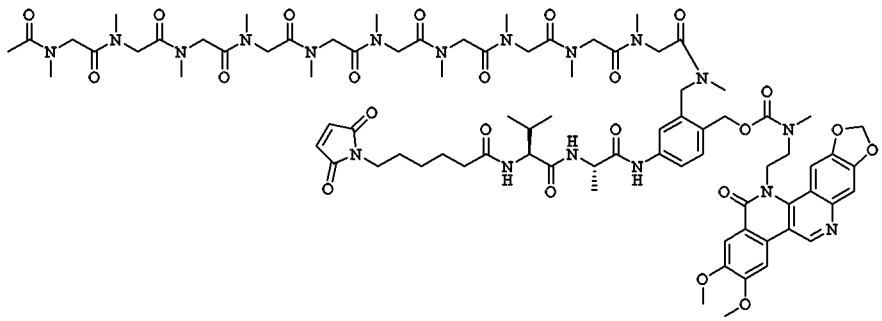
化合物（A-16）的合成



（A-16）

化合物（A-16）的合成与化合物（A-15）的合成步骤相同，只是将步骤 3 中的依沙替康甲磺酸盐替换为贝洛替康盐酸盐（购自上海皓元化学），经过数步反应得产物（A-16）为米色无定形粉末。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1797.78，实测值: 1798.81 (M+H)。

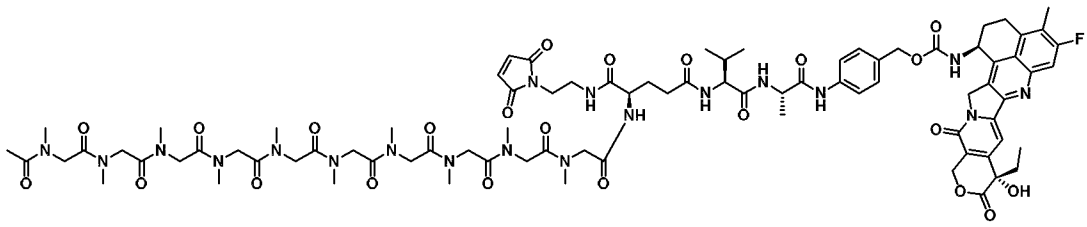
化合物（**A-17**）的合成



（A-17）

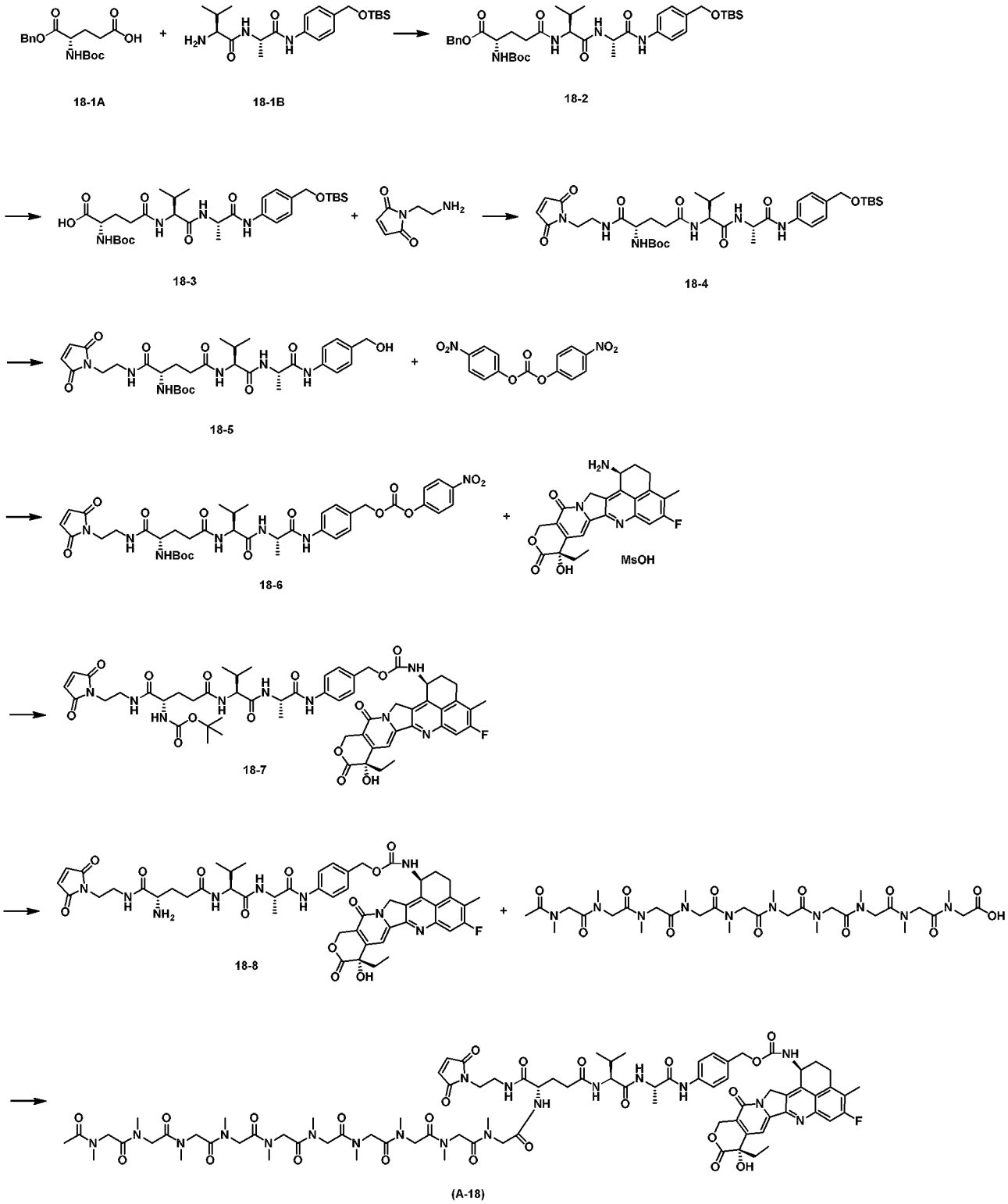
化合物（A-17）的合成与化合物（A-11）的合成步骤相同，只是将步骤 4 中的依沙替康甲磺酸盐替换为Genz-644282（购自上海皓元化学），经过数步反应得产物（A-17）为米色无定形粉末。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1714.80，实测值: 1715.83 (M+H)。

化合物（**A-18**）的合成



（A-18）

合成路线：



步骤 1：中间体 18-2 的合成

将中间体18-1A (购自上海毕得医药，4.94 g, 14.82 mmol)与15-1B (依据WO2016038383中的方法合成，6.04 g, 14.82 mmol)溶解于二氯甲烷与甲醇（v:v=2:1，120毫升）的混合溶剂中。室温下加入对EEDQ (7.33 g, 29.6 mmol)。反应液室温搅拌24小时，反应液减压蒸干，产物经乙醚搅拌过滤后真空干燥得中间体18-2 (6.3 g, 59 % yield)。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 726.40，

实测值: 727.41 (M+H)。

步骤 2：中间体 18-3 的合成

将中间体 18-2（3.0 g, 4.13 mmol）溶解于 50 毫升 THF 中，加入 10%Pd-C (800 mg)，常压氢化 8 小时后，TLC 检测反应完全，过滤除去钯碳，反应液蒸干后直接用于下一步反应。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 636.36，实测值: 637.34 (M+H)。

步骤 3：中间体 18-4 的合成

将中间体化合物 18-3 (2.6 g, 4.08 mmol)溶解于 100 毫升无水 DMF 中，分别加入 N-(2-氨基乙基)马来酰亚胺盐酸盐 (721 mg, 4.08 mmol)，DIPEA (1.42 mL, 8.17 mmol)和 HATU (2.0 g, 5.31 mmol)后，室温搅拌过夜，减压除去溶剂得终产物， 后经柱层析纯化得化合物 18-4 (2.2 g, 71% yield)。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 758.40，实测值: 759.42 (M+H)。

步骤 4：中间体 18-5 的合成

将中间体 18-4 (1.0 g, 1.32 mmol)溶解于 20 毫升无水四氢呋喃中，氩气氛下冰浴冷却，加入氢氟酸吡啶复合物（2.6 g, 26.4 mmol），反应液在 0 度下搅拌 2 小时，加入水萃灭反应，二氯甲烷萃取，分离出有机层，无水硫酸钠干燥，经柱层析获得中间体 18-5（570 mg，收率 67%）。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 644.32，实测值: 645.35 (M+H)。

步骤 5：中间体 18-6 的合成

将中间体 18-5 (500 mg, 0.776 mmol) 溶解于 10 毫升无水 DMF 中，室温下分别加入 DIPEA (271 μl, 1.55 mmol)与双(4-硝基苯基)碳酸酯 (236 mg0.776 mmol)。氩气下室温搅拌过夜，减压蒸去溶剂，后加入甲基叔丁基醚搅拌至固体析出，过滤，固体用乙醚淋洗数次，固体干燥后获得中间体 18-6 (530 mg, 84 % yield)，直接用于下一步反应。

步骤 6：中间体 18-7 的合成

将中间体 18-6 (400 mg, 0.494 mmol) 溶解于 4 mL 无水 DMF 中，加入 1 mL 无水吡啶，后再加入依沙替康甲磺酸盐（购自上海皓元，263 mg, 0.494 mmol）与 HOBt(66.7 mg, 0.494 mmol)。氩气下室温搅拌过夜，反应液经反相 HPLC 制备纯化得中间体 18-7（320 mg, 收率 58%）。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1105.46，实测值: 1106.48 (M+H)。

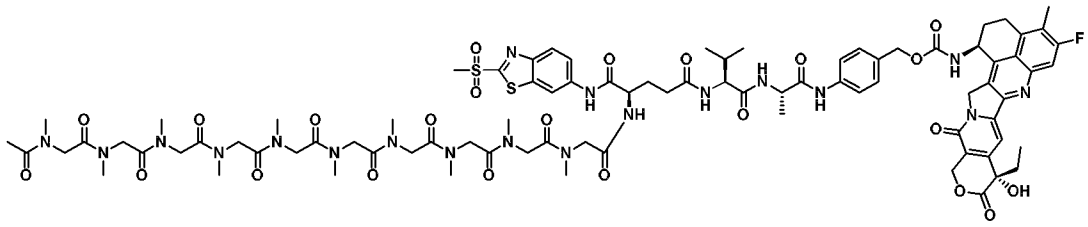
步骤 7：中间体 18-8 的合成

将中间体 15-4 (300 mg, 0.27 mmol) 溶解于 3 mL 无水二氯甲烷中，冰浴下加入 1 mL 三氟乙酸后，恢复至室温搅拌 30 分钟，减压除去溶剂得终产物得中间体 18-8 的三氟乙酸盐，未经进一步纯化直接用于下一步反应。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1005.40，实测值: 1006.41 (M+H)。

步骤 8：化合物 A-18 的合成

将中间体化合物 15-5 (300 mg, 0.268 mmol)溶解于 5 毫升无水 DMF 中，分别加入乙酰化-10 聚肌氨酸（Ac-Sar10-COOH) (206 mg, 0.268 mmol)，DIPEA (94 μl, 0.536 mmol)和 HATU (122 mg, 0.321 mmol)后，室温搅拌过夜，减压除去溶剂得终产物， 后经反相 HPLC 制备纯化得化合物 A-18 (170 mg, 36 % yield)。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1757.78，实测值: 1758.82 (M+H)。

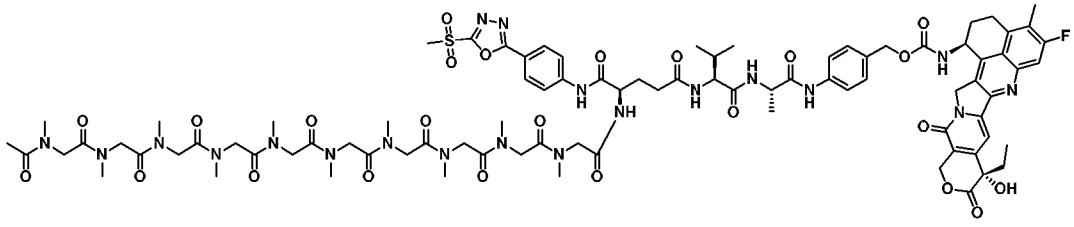
化合物（A-19）的合成



（A-19）

化合物（A-19）的合成与化合物（A-18）的合成步骤相同，只是将步骤 3 中的 N-(2-氨基乙基)马来酰亚胺盐酸盐替换为 2-(methylsulfonyl)benzo[d]thiazol-6-amine，经过数步反应得产物（A-19）。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1845.73，实测值: 1846.75 (M+H)。

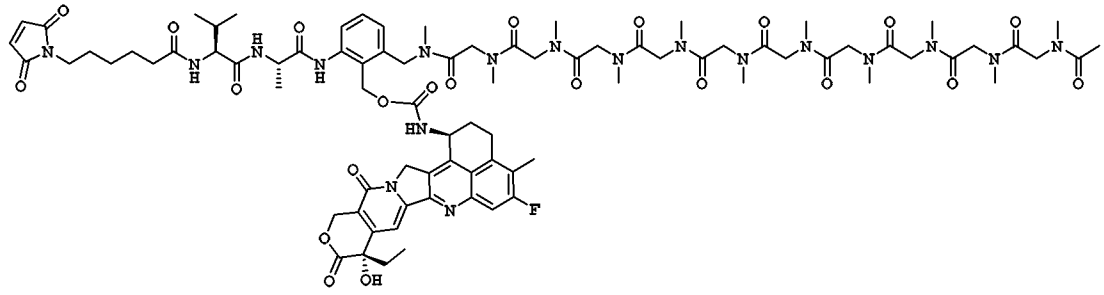
化合物（A-20）的合成



（A-20）

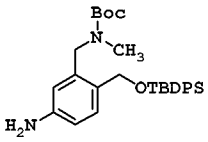
化合物（A-20）的合成与化合物（A-18）的合成步骤相同，只是将步骤 3 中的 N-(2-氨基乙基)马来酰亚胺盐酸盐替换为 4-(5-(methylsulfonyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)aniline，经过数步反应得产物（A-20）。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1856.76，实测值: 1857.80 (M+H)。

化合物（A-21）的合成

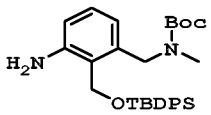


（A-21）

化合物（A-21）的合成与化合物（A-11）的合成步骤相同，只是将步骤 1 中的中间体

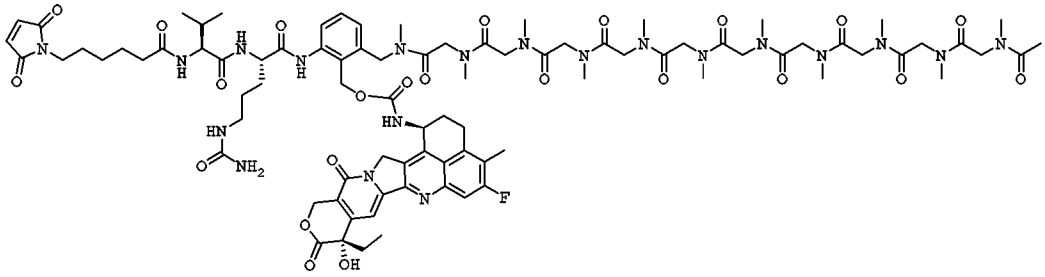


（11-1B）替换为



（21-1B），经过数步反应得产物（A-21）。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1742.81，实测值: 1743.85 (M+H)。

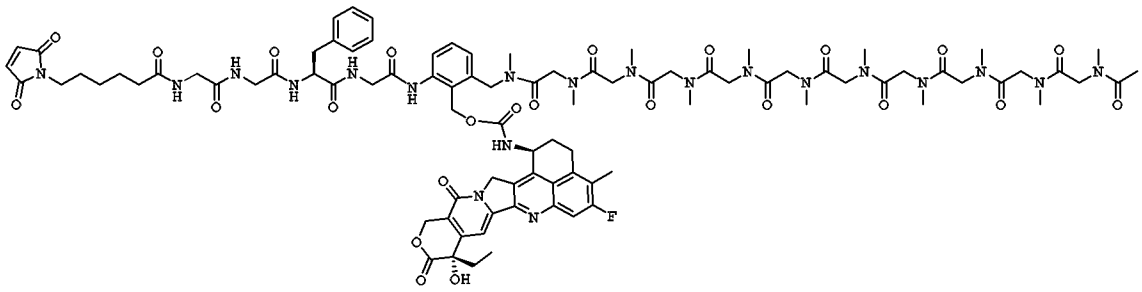
化合物（A-22）的合成



（A-22）

化合物（A-22）的合成与化合物（A-21）的合成步骤相同，只是将步骤 1 中的原料化合物 Mc-Val-Ala-OH 替换为 Mc-Val-Cit-OH，经过数步反应得产物（A-22）为米色无定形粉末。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1828.86，实测值: 1829.87 (M+H)。

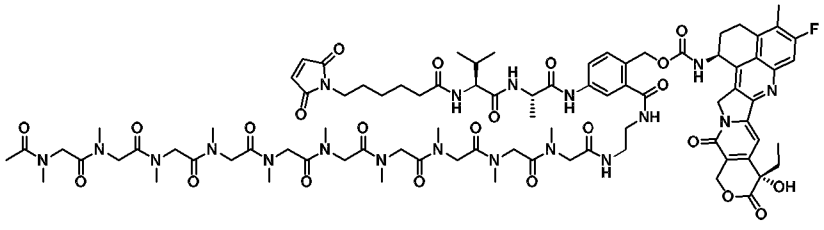
化合物（A-23）的合成



（A-23）

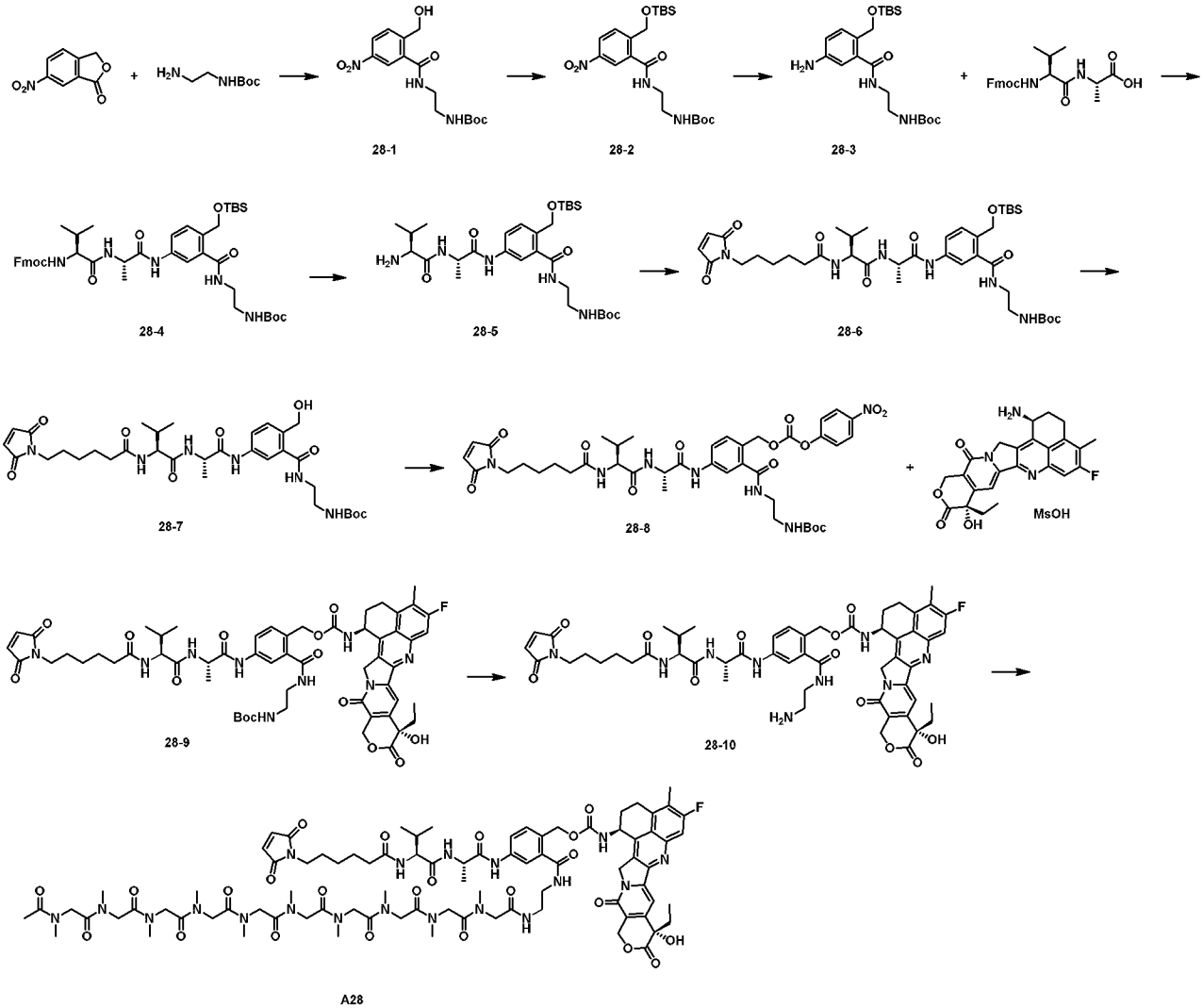
化合物（A-23）的合成与化合物（A-21）的合成步骤相同，只是将步骤 1 中的原料化合物Mc-Val-Ala-OH替换为Mc-GGFG-OH，经过数步反应得产物（A-23）为米色无定形粉末。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1890.84，实测值: 1891.86 (M+H)。

化合物（**A-28**）的合成



（A-28）

合成路线：



步骤 1：中间体 28-1 的合成

称取6-nitroisobenzofuran-1(3*H*)-one (10 g, 55.8 mmol)与tert-butyl (2-aminoethyl)carbamate (9.84 g, 61.4 mmol)在100毫升圆底烧瓶中，加热至90度搅拌过夜。加入甲基叔丁基醚（MTBE）搅拌，过滤，固体用MTBE洗涤多次后，真空干燥获得中间体28-1（13.6 g，收率72%)。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 339.14，实测值: 340.17 (M+H)。

步骤 2：中间体 28-2 的合成

将中间体 28-1(10 g, 29.5 mmol)与咪唑(8.02 g, 118 mmol)溶解于 300 毫升二氯甲烷中，冰浴冷却下加入 TBS-Cl (6.66 g, 44.2 mmol)，室温下搅拌过夜。反应液加入水淬灭反应，分离有机相后再经水和饱和盐水各洗一次后，无水硫酸钠干燥，蒸干。粗品柱层析纯化得中间体 28-2 （12.3 g，收率 92%）。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 453.23，实测值: 454.33 (M+H)。

步骤 3：中间体 28-3 的合成

将中间体 28-2(6.0 g, 13.23 mmol)溶解于 THF:EtOH(1:1) (500 mL)，氩气下加入 1 克 10% Pd-C，再加入甲酸铵(8.34 g, 132 mmol)。室温搅拌过夜，过滤除去钯碳，蒸干滤液，加入二氯甲烷与水，分离有机相后再经水和饱和盐水各洗一次后，无水硫酸钠干燥，蒸干，得中间体 28-3 （5.6 g, 100%）。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 423.26，实测值: 424.31 (M+H)。

步骤 4：中间体 28-4 的合成

将中间体 28-3 (5.5 g, 12.98 mmol)与 Fmoc-Val-Alal-OH (5.33 g, 12.98 mmol)溶解于二氯甲烷与甲醇（v:v=2:1，300 毫升）的混合溶剂中。室温下加入 EEDQ (4.82 g, 19.47 mmol)。反应液室温搅拌 24 小时，反应液减压蒸干，加入乙醚搅拌至固体析出，过滤，固体用乙醚淋洗数次，固体干燥后获得中间体 28-4（6.4 克，收率 60%）。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 815.43，实测值: 816.48 (M+H)。

步骤 5：中间体 28-5 的合成

将中间体 28-4 (6.0 g, 7.35 mmol)溶解于 100 毫升 DMF 中。室温下加入二乙胺（7.68 ml, 73.5 mmol）。反应液室温搅拌 2 小时，反应液减压蒸干，加入乙酸乙酸、乙醚搅拌至固体析出，过滤，固体用乙醚淋洗数次，固体干燥后获得中间体 28-5（4.3 克，收率 98%）。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 593.36，实测值: 594.40 (M+H)。

步骤 6：中间体 28-6 的合成

将中间体 28-5 (4.0 g, 6.74 mmol) 溶解于 100 毫升 DMF 中，室温入加入马来酰亚胺基乙酸琥珀酰亚胺（2.07 g, 6.74 mmol），反应液室温搅拌过夜，反应液减压蒸干，加入甲基叔丁基醚搅拌至固体析出，过滤，固体用乙醚淋洗数次，固体干燥后获得中间体 28-6，直接用于下一步反应。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 786.43，实测值: 787.45 (M+H)。

步骤 7：中间体 28-7 的合成

将中间体 28-6 (3.5 g, 4.45 mmol)溶解于 100 毫升无水四氢呋喃中，氩气氛下冰浴冷却，加入氢氟酸吡啶复合物（8.8 g, 89 mmol），反应液在 0 度下搅拌 2 小时，加入水萃灭反应，二氯甲烷萃取，分离出有机层，无水硫酸钠干燥，经柱层析获得中间体 28-7（1.6 g，收率 53%）。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 672.35，实测值: 673.37 (M+H)。

步骤 8：中间体 28-8 的合成

将中间体 28-7 (1.0 g, 1.49 mmol) 溶解于 20 毫升无水 DMF 中，室温下分别加入 DIPEA (0.519 ml, 2.97 mmol) 与双(4-硝基苯基)碳酸酯(678 mg, 2.23 mmol)。氩气下室温搅拌过夜，减压蒸去溶剂，后加入甲基叔丁基醚搅拌至固体析出，过滤，固体用乙醚淋洗数次，固体干燥后获得中间体 28-8，直接用于下一步反应。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 837.35，实测值: 838.36 (M+H)。

步骤 9：中间体 28-9 的合成

将中间体 28-8 (300 mg, 0.358 mmol) 溶解于 4 mL 无水 DMF 中，加入 1 mL 无水吡啶，后再加入依沙替康甲磺酸盐（购自上海皓元，190 mg, 0.358 mmol）与 HOBt(55 mg, 0.358 mmol)。氩气下室温搅拌过夜，反应液经反相 HPLC 制备纯化得中间体 28-9（234 mg, 收率 58%）。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1133.49，实测值: 1134.52 (M+H)。

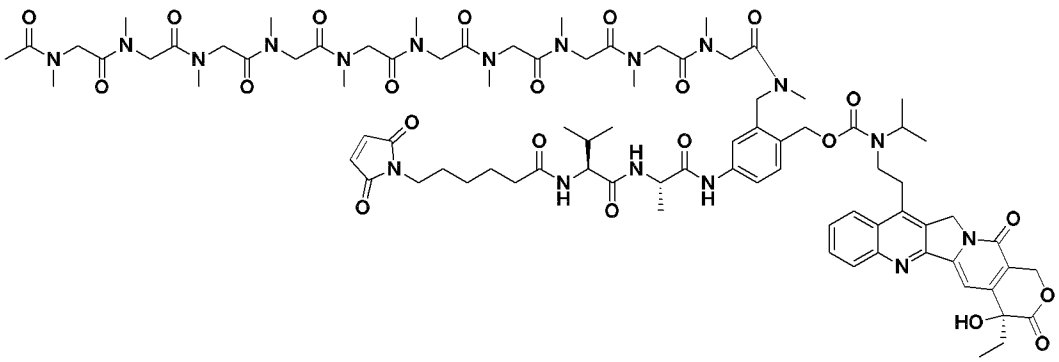
步骤 10：中间体 28-10 的合成

将中间体 28-10 (200 mg, 0.176 mmol) 溶解于 1 mL 无水二氯甲烷中，冰浴下加入 300 μL 三氟乙酸后，恢复至室温搅拌 30 分钟，减压除去溶剂得终产物得中间体 28-10 的三氟乙酸盐，未经进一步纯化直接用于下一步反应。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1033.43，实测值: 1034.45 (M+H)。

步骤 11：化合物 A28 的合成

将步骤 10 中所获得的化合物 28-10 溶解于 1 毫升无水 DMF 中，分别加入乙酰化-10 聚肌氨酸（Ac-Sar10-COOH，136 mg, 0.176 mmol），HATU (87 mg, 0.229 mmol)和 DIPEA(154 μL, 0.88 mmol)后，室温搅拌过夜，减压除去溶剂得终产物， 后经反相 HPLC 制备纯化得化合物（A-11）（135 mg, 收率 43%）。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1785.82，实测值: 1786.85 (M+H)。

化合物（A-29）的合成

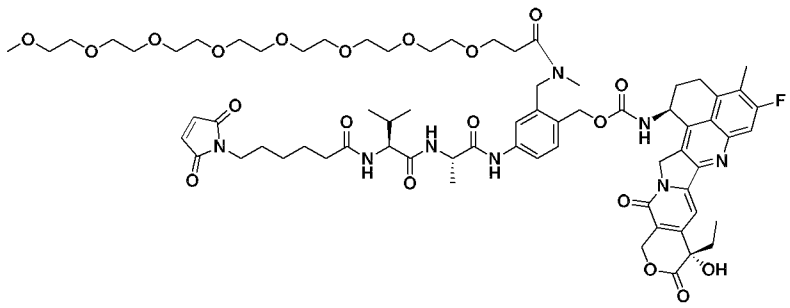


（A-29）

化合物（A-29）的合成与化合物（A-11）的合成步骤相同，只是将步骤 4 中的依沙替康

甲磺酸盐替换为贝洛替康盐酸盐（购自上海皓元化学），经过数步反应得产物（A-29）为白色无定形粉末。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1740.85，实测值: 1741.82 (M+H)。

A-11 分子对应的 PEG 衍生物 AP-1 的合成



（AP-1）

化合物（AP-1）的合成与化合物（A-11）的合成步骤相同，只是将步骤 1 中的原料化合物 Ac-Sar10-COOH 替换为 m-PEG8-acid (CAS 1093647-41-6)，经过数步反应得产物（AP-1）为米色无定形粉末。LC-MS(ESI, m/z) 理论值: 1384.64，实测值: 1385.66 (M+H)。

对照品 MC-Val-Cit-PABC-DX8951 的合成

参照文献 WO2020233174A1 方法，Mc-Val-Cit-OH（购自上海皓元化学）与双(4-硝基苯基)碳酸酯反应，获得活化硝基酯后并进一步与依沙替康甲磺酸盐（购自上海皓元）反应获得对照品化合物 MC-Val-Cit-PAB-DX8951。

实施例 2　ADC 制备的通用方法

将抗体或抗原结合片段，例如将靶向 HER2 的 Trastuzumab 原液（重链序列如 SEQ ID NO：3 所示，轻链序列如 SEQ ID NO：4 所示）和/或例如靶向 Trop-2 的 hRS7 单抗（Sacituzumab），用 50mM 磷酸二氢钾-氢氧化钠(KH_2PO4-NaOH)/150mM 氯化钠(NaCl)/1mM 二乙基三胺五乙酸(DTPA)，pH 7 反应缓冲液稀释至 2mg/mL，加入 6.0 倍过量摩尔比的三(2-羧乙基)膦盐酸盐(TCEP)，反应液于 35° C 搅动 2.5 小时。

将上述反应液冷至 8°C，未经纯化加入适量的二甲基乙酰胺(DMA)，再分别加入 6-15 倍过量摩尔比的对照品药物分子或药物连接子缀合物 A1~A29 (10 mg/ml 预先溶在 DMA 中)，保证反应体系中 DMA 的体积占比不超过 20%，于 37° C 搅动 3 小时进行偶联。

采用脱盐柱将偶联反应混合物用 pH 6.0 的组氨酸-醋酸/蔗糖凝胶过滤纯化，根据 UV280 紫外吸收值收集出峰样品。然后经由 0.15 微米孔径的过滤装置除菌，-60° C 保存。

抗体偶联物 1（对照 ADC1）的制备

参照上述通用方法将 10 倍过量的对照品 MC-Val-Cit-PAB-DX8951 与还原后的 Trastuzumab 单抗偶联获得对应的抗体偶联物 1，通过尺寸排阻层析（SEC-HPLC）分析聚合体的含量，分析图谱见图 1，聚体 1 的比例约为 26%，聚体 2 的比例约为 20%。通过 UV 分析获得载药量（DAR）约为 4~5。

抗体偶联物 2（对照 ADC2）的制备

参照上述通用方法将 12 倍过量的对照品 Deruxtecan(购自上海皓元化学)与还原后的 Trastuzumab 单抗偶联获得对应的抗体偶联物 2，通过尺寸排阻层析（SEC-HPLC）分析聚合体的含量，分析图谱见图 2，聚体的比例约为 2%。通过疏水作用高效液相色谱（HIC-HPLC）分析获得载药量（DAR）约为 7-8，分析图谱见图 3。

抗体偶联物 3 的制备

参照上述通用方法将 8 倍过量化合物（A-2）与还原后的 Trastuzumab 单抗偶联获得对应的抗体偶联物 3，通过尺寸排阻层析（SEC-HPLC）分析聚合体的含量，分析图谱见图 4。聚体 1 的比例约为 6.8%，聚体 2 的比例约为 7.7%。通过 UV 分析获得载药量（DAR）约为 6~7。

抗体偶联物 4 的制备

参照上述通用方法将将 12 倍过量化合物（A-4）与还原后的 Trastuzumab 单抗偶联获得载药量（DAR）约为 7~8 的抗体偶联物 4，通过尺寸排阻层析（SEC-HPLC）分析聚合体的含量，分析图谱见图 5。聚体 1 的比例约为 0.3%。通过疏水作用高效液相色谱（HIC-HPLC）分析获得载药量（DAR）约为 7-8，分析图谱见图 6。

抗体偶联物 5 的制备

参照上述通用方法将 12 倍过量化合物（A-11）与还原后的 Trastuzumab 单抗偶联获得对应的抗体偶联物 5，通过尺寸排阻层析（SEC-HPLC）分析聚合体的含量，分析图谱见图 7，抗体偶联物 5 单体的纯度为 99.41%。通过疏水作用高效液相色谱（HIC-HPLC）分析获得载药量（DAR）约为 7-8，分析图谱见图 8。

抗体偶联物 6 的制备

参照上述通用方法将 12 倍过量化合物（A-14）与还原后的 Trastuzumab 单抗偶联获得对应的抗体偶联物 6，通过尺寸排阻层析（SEC-HPLC）分析聚合体的含量，分析图谱见图 9，抗体偶联物 6 单体的纯度为 99.60%。通过疏水作用高效液相色谱（HIC-HPLC）分析获得载药量（DAR）约为 7-8，分析图谱见图 10。

抗体偶联物 7 的制备

参照上述通用方法将 15 倍过量化合物（A-24）与还原后的 Trastuzumab 单抗偶联获得对应的抗体偶联物 7，通过尺寸排阻层析（SEC-HPLC）分析聚合体的含量，分析图谱见图 11，抗体偶联物 7 单体的纯度为 96.36%。通过疏水作用高效液相色谱（HIC-HPLC）分析获得载药量（DAR）约为 7-8，分析图谱见图 12。

抗体偶联物 8（对照 ADC3）的制备

参照上述通用方法将 12 倍过量的化合物 AP-1 与还原后的 Trastuzumab 单抗偶联获得对应的抗体偶联物 8，通过尺寸排阻层析（SEC-HPLC）分析聚合体的含量，分析图谱见图 13，抗体偶联物 7 单体的纯度为 97.92%。通过疏水作用高效液相色谱（HIC-HPLC）分析获得载药量（DAR）约为 7-8，分析图谱见图 14。

抗体偶联物 9 的制备

参照上述通用方法将 12 倍过量化合物（A-11）与还原后的 Patritumab 单抗偶联获得对应的抗体偶联物 9，通过尺寸排阻层析（SEC-HPLC）分析聚合体的含量，分析图谱见图 15，抗体偶联物 9 单体的纯度为 97.92%。通过疏水作用高效液相色谱（HIC-HPLC）分析获得载药量（DAR）约为 7-8，分析图谱见图 16。

抗体偶联物 10 的制备

参照上述通用方法将 12 倍过量化合物（A-11）与还原后的 H01L02 单抗偶联获得对应的抗体偶联物 10，通过尺寸排阻层析（SEC-HPLC）分析聚合体的含量，分析图谱见图 17，抗体偶联物 10 单体的纯度为 99.10%。通过疏水作用高效液相色谱（HIC-HPLC）分析获得载药量（DAR）约为 7-8，分析图谱见图 18。

抗体偶联物 11 的制备

参照上述通用方法将 12 倍过量化合物（A-28）与还原后的 Trastuzumab 单抗偶联获得对应的抗体偶联物 11，通过尺寸排阻层析（SEC-HPLC）分析聚合体的含量，分析图谱见图 19，抗体偶联物 11 单体的纯度为 99.59%。通过疏水作用高效液相色谱（HIC-HPLC）分析获得载药量（DAR）约为 7-8，分析图谱见图 20。

抗体偶联物 12 的制备

参照上述通用方法将 12 倍过量化合物（A-29）与还原后的 Trastuzumab 单抗偶联获得对应的抗体偶联物 12，通过尺寸排阻层析（SEC-HPLC）分析聚合体的含量，分析图谱见图 21，抗体偶联物 12 单体的纯度为 99.67%。通过疏水作用高效液相色谱（HIC-HPLC）分析获得载药量（DAR）约为 7-8，分析图谱见图 22。

抗体偶联物 13 的制备

将靶向 Trop-2 的 hRS7 单抗原液透析换液至 50mM 磷酸二氢钠-磷酸氢二钠（NaH_2PO_4-Na_2HPO_4）/50mM 氯化钠（NaCl），pH7.0 缓冲液中。测量溶液中单抗浓度后用上述缓冲液稀释抗体至 5mg/mL。将反应管置于冰浴中冷却降温 10 分钟。加入 2.5 倍摩尔比的三(2-羧乙基)膦盐酸盐（TCEP），反应液于 4℃搅拌过夜。在上述未纯化的反应液中继续加入适量的二甲基乙酰胺(DMA)，再分别加入 6.0 倍过量摩尔比的对照品药物分子或药物连接子缀合物 A-11 (10 mM 预先溶在 DMA 中)，保证反应体系中 DMA 的体积占比不超过 10%，于 4℃搅动 2 小时进行偶联。偶联结束后，向反应液中加入 4.0 倍摩尔比的半胱氨酸（Cysteine）小分子消耗过量的药物连接子缀合物 A-11，反应于 4℃搅动 30 分钟进行淬灭。采用脱盐柱将偶联反应混合物用 pH 5.5 的组氨酸-醋酸/氯化钠过滤纯化，收集滤出样品。向样品中加入十分之一体积的活性炭-组氨酸-醋酸/氯化钠的悬浊液（300mg/mL），室温搅动 2 小时充分吸收游离药物小分子。然后经由 0.22 微米孔径的过滤装置除菌，-80° C 保存。通过尺寸排阻层析（SEC-HPLC）分析聚合体的含量，分析图谱见图 25，抗体偶联物 13 单体的纯度为 98.95%。

抗体-药物偶联物中的偶联药物浓度可以通过测量抗体-药物偶联物水溶液在 280 nm 和 370 nm 两种波长下的紫外吸光度来计算，然后进行如下计算。

在任何给定波长处的总吸光度等于系统中所有吸收光的化学物质的吸光度之和（吸光可加和性）。因此，基于抗体与药物偶联前后抗体与药物的摩尔吸收系数不发生变化的假设，抗体-药物偶联物中抗体浓度与药物浓度由下式表示。

$$A_{280} = A_{D,280} + A_{A,280} = \varepsilon_{D,280} C_D + \varepsilon_{A,280} C_A \quad (1)$$

$$A_{370} = A_{D,370} + A_{A,370} = \varepsilon_{D,370}C_D + \varepsilon_{A,370}C_A \quad (2)$$

其中，A_{280}代表抗体-药物偶联物溶液在 280 nm 下的吸光度，A_{370}代表抗体-药物偶联物溶液在 370 nm 下的吸光度。$A_{D,280}$代表药物连接子缀合物在 280 nm 下的吸光度，$A_{D,370}$代表药物连接子缀合物在 370 nm 下的吸光度。$A_{A,280}$代表抗体在 280 nm 下的吸光度，$A_{A,370}$代表抗体在 370 nm 下的吸光度。$\varepsilon_{D,280}$代表药物连接子缀合物在 280 nm 下的摩尔吸收系数，$\varepsilon_{D,370}$代表药物连接子缀合物在 370 nm 下的摩尔吸收系数，$\varepsilon_{A,280}$代表抗体在 280 nm 下的摩尔吸收系数，$\varepsilon_{A,370}$代表抗体在 370 nm 下的摩尔吸收系数。C_D代表抗体-药物偶联物溶液中药物连接子缀合物的浓度，C_A代表抗体-药物偶联物溶液中抗体的浓度。

$\varepsilon_{A,280}$可以通过已知的计算方法从抗体的氨基酸序列中估计（Protein Science, 1995, vol. 4, 2411-2423），$\varepsilon_{A,370}$一般为零。通过药物连接子缀合物在一定摩尔浓度下溶液的吸光度，根据 Lambert-Beer 定律，得到 $\varepsilon_{D,280}$和 $\varepsilon_{D,370}$。通过酶标仪或紫外分光光度计测出 A_{280}和 A_{370}的数值，并将上述 4 个摩尔吸收系数的值带入联立方程（1）和（2）中，可计算出 C_A和 C_D的值。则每个抗体分子中偶联药物分子的平均数目 DAR = C_D / C_A。化合物 A-11 的紫外吸光系数为 $\varepsilon_{D,280}$=6480，$\varepsilon_{D,370}$=16483，并用于本例中药物抗体偶联比的计算，抗体偶联物 13 的 DAR 值约为 4.0。

抗体偶联物 14 的制备

将靶向 Trop-2 的 hRS7 单抗原液透析换液至 50mM 磷酸二氢钠-磷酸氢二钠（NaH_2PO_4-Na_2HPO_4）/50mM 氯化钠（NaCl），pH7.0 缓冲液中。测量溶液中单抗浓度后用上述缓冲液稀释抗体至 5mg/mL。将反应管置于冰浴中冷却降温 10 分钟。加入 2.5 倍摩尔比的三(2-羧乙基)膦盐酸盐（TCEP），反应液于 4℃搅拌过夜。在上述未纯化的反应液中继续加入适量的二甲基乙酰胺(DMA)，再分别加入 6.0 倍过量摩尔比的对照品药物分子或药物连接子缀合物 A-14 (10 mM 预先溶在 DMA 中)，保证反应体系中 DMA 的体积占比不超过 10%，于 4℃搅动 2 小时进行偶联。偶联结束后，向反应液中加入 4.0 倍摩尔比的半胱氨酸（Cysteine）小分子消耗过量的药物连接子缀合物 A-14，反应于 4℃搅动 30 分钟进行淬灭。采用脱盐柱将偶联反应混合物用 pH 5.5 的组氨酸-醋酸/氯化钠过滤纯化，收集滤出样品。向样品中加入十分之一体积的活性炭-组氨酸-醋酸/氯化钠的悬浊液（300mg/mL），室温搅动 2 小时充分吸收游离药物小分子。然后经由 0.22 微米孔径的过滤装置除菌，-80° C 保存。通过尺寸排阻层析（SEC-HPLC）分析聚合体的含量，分析图谱见图 26，抗体偶联物 14 单体的纯度为 98.20%。化合物 A-14 的紫外吸光系数为 $\varepsilon_{D,280}$=5932，$\varepsilon_{D,370}$=14997，并用于本例中药物抗体偶联比的计算，

抗体偶联物 14 的 DAR 值约为 4.2。

抗体偶联物 15 的制备

将靶向 Trop-2 的 hRS7 单抗原液透析换液至 50mM 磷酸二氢钠-磷酸氢二钠（NaH_2PO_4-Na_2HPO_4）/50mM 氯化钠（NaCl），pH7.0 缓冲液中。测量溶液中单抗浓度后用上述缓冲液稀释抗体至 5mg/mL。将反应管置于冰浴中冷却降温 10 分钟。加入 2.5 倍摩尔比的三(2-羧乙基)膦盐酸盐（TCEP），反应液于 4℃搅拌过夜。在上述未纯化的反应液中继续加入适量的二甲基乙酰胺(DMA)，再分别加入 6.0 倍过量摩尔比的对照品药物分子或药物连接子缀合物 A-24 (10 mM 预先溶在 DMA 中)，保证反应体系中 DMA 的体积占比不超过 10%，于 4℃搅动 2 小时进行偶联。偶联结束后，向反应液中加入 4.0 倍摩尔比的半胱氨酸（Cysteine）小分子消耗过量的药物连接子缀合物 A-24，反应于 4℃搅动 30 分钟进行淬灭。采用脱盐柱将偶联反应混合物用 pH 5.5 的组氨酸-醋酸/氯化钠过滤纯化，收集滤出样品。向样品中加入十分之一体积的活性炭-组氨酸-醋酸/氯化钠的悬浊液（300mg/mL），室温搅动 2 小时充分吸收游离药物小分子。然后经由 0.22 微米孔径的过滤装置除菌，-80° C 保存。通过尺寸排阻层析（SEC-HPLC）分析聚合体的含量，分析图谱见图 27，抗体偶联物 15 单体的纯度为 96.36%。化合物 A-24 的紫外吸光系数为 $\varepsilon_{D,280}$=4723，$\varepsilon_{D,370}$=12467，并用于本例中药物抗体偶联比的计算，抗体偶联物 15 的 DAR 值约为 4.0。

本申请的化合物以及其制备的 ADC 对比对照分子制备的 ADC 分子在更高载药量的情况下单体纯度更高，提示该类 ADC 分子具有更佳的稳定性。此外，疏水作用高效液相色谱（HIC-HPLC）分析结果显示该本申请的 ADC 分子较对照分子有更低的保留时间，与裸抗更接近，提示该类 ADC 分子具有更佳的亲水性，在体内可能具有更长的半衰期与更强的体内药效。

实施例 3　抗体偶联物稳定性实验测试

基于喜树碱类拓扑异构酶抑制剂的 ADC 药物如 Sacituzumab govitecan（Trodelvy）与 Trastuzumab Deruxtecan（Enhertu）通常情况下具有较高的药物抗体荷载比（DAR），由于喜树碱类分子具有芳香稠环类结构，具有较强的疏水性性，具得该类 ADC 分子的稳定性必然受到一定影响。本发明所制备的 ADC 在特定位置引入了聚肌氨酸肽链，具有更好的“屏障效应”，可能具有较好的稳定性，我们设计了抗体稳定性加速试验来验证这一假设。

比较的分子包括：

1．曲妥珠单抗

2．抗体偶联物 2

3．抗体偶联物 5

4．抗体偶联物 6

5．抗体偶联物 7

5．抗体偶联物 8

我们将待测分子样品用制剂缓冲液（20 mM Histidine-acetic acid, 150 mM NaCl, pH 5.5）稀释至浓度为 5 毫克/毫升，取 50 μL 直接进行测试或放置于 55°C 水浴锅中分别孵育 1 小时、2 小时、5 小时、24 小时、48 小时与 72 小时之后再进行测试（稳定性加速实验）。分别通过 UV 法检测样品浓度变化，以及在安捷伦 1260 Infinity II 生物惰性液相色谱系统上采用 TSK-GEL SWXL3000 分子排阻色谱柱对样品中的正常结构 ADC 分子（主峰）、聚合分子的含量进行定量分析。

HPLC 的流动相为 200 mM 磷酸盐缓冲液（pH 7.0）+150 mM KCl+15% IPA，柱温 25 °C，进样体积为 7 μL，流速为 0.75 毫升/分钟，UV 检测波长 280 nm 和 370 nm。

样品浓度变化统计结果如图 23 所示，我们发现曲妥珠单抗与其对应的抗体偶联药物 5、抗体偶联药物 6 均具有较好的热稳定性，0-72 小时过程中浓度变化差异较小，而抗体偶联药物 2、抗体偶联药物 7 与抗体偶联药物 8 的样品在 24 小时后出现 ADC 浓度快速下降并发生沉淀现象，从而导致样品浓度快速下降。

进一步通过分子排阻色谱对上述加速稳定性实验样品中的聚合分子增加比例变化结果进行分析，统计结果如图 24 所示，与样品浓度变化趋势一致，样品稳定性从高到低排序为曲妥珠单抗≈ 抗体偶联物 5 > 抗体偶联物 6 > 抗体偶联物 7 > 抗体偶联物 8 ≈ 抗体偶联物 2。

上述结果验证了本发明特定位置的亲水性聚肌氨酸肽链具有“屏障效应”为抗体药物偶联物分子带来了“意想不到”的稳定性提高的效果。

实施例 4 体外细胞毒活性测试

选择人肺鳞癌细胞 NCI-H2170 与 LK-2，人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 作为本次实验体外活性检测用细胞株，通过流式细胞技术(FACS)测定上述人肿瘤细胞表面 TROP2 抗原表达量情况（通过 rMFI 表示），同时观察抗体偶联物 13、DS-1062a（对照药物，参照 US11173213B2 中描述方法进行制备）、hIgG-deruxtecan 偶联物、hIgG-A-11 偶联物对细胞杀伤的量效情况。抗体偶联药物加样后终浓度设定 500 nM 为起始浓度，500～0.1 nM 设计系列

9 个浓度(5 倍比稀释)，观察 120 小时的杀伤(或抑制)变化，化学发光染色（Luminescent Cell Viability Assay），读取荧光数据后计算 IC_{50}。

如表 1 所示，抗体偶联物 13、DS-1062a（对照药物）均能明显抑制肿瘤细胞增殖，显著强于阴性对阳药物 IgG-deruxtecan 偶联物、IgG A-1 偶联物，本发明的抗体偶联物 13 明显优于临床药物 DS-1062a。

表 1

Cells	Trop2 表达 (rMFI)	IC_{50}(nM)			
		DS-1062a	抗体偶联物 13	hIgG-deruxtecan	hIgG- A-11
NCI-H2170	31.12	NA	41.557	NA	NA
LK-2	7.31	NA	346.959	NA	NA
MDA-MB-231	11.81	519.257	91.847	NA	NA

综合以上活性测试结果看，本申请的化合物制备得的 ADC 均表现良好的体外抗肿瘤活性，特别对于相关抗原低表达的肿瘤细胞本申请的抗体偶联物优势更为明显。

实施例 5 体内抗肿瘤功效测定

可以在体内测量本发明的组合的功效，即在啮齿类动物中植入癌细胞的同种异体移植物或异种移植物，并用所述组合处理肿瘤。将受试小鼠用药物或对照处理，并监测数周或更长时间以测量到达肿瘤倍增的时间、对数细胞杀伤和肿瘤抑制。

体内抗肿瘤实验

将作为人肺鳞癌细胞 NCI-H2170（ATCC）悬浮于生理盐水，将 4×10^7 个细胞向雌性裸鼠的右体侧部皮下移植，在第 6 天随机实施分组。将分组日作为第 0 天，在第 0 天，分别以 5mg/kg 的用量向尾静脉内给予抗体偶联物 13，DS-1062a（阳性对照药物）、hIgG-A-11 偶联物作为阴性对照组。

结果示于图 28，对于人肺鳞癌细胞 NCI-H2170，给予 5mg/kg 的 DS-1062a、抗体偶联物 13 均显示出抗肿瘤活性，5mg/kg 单次给药剂量下，抗体偶联物 13 的抑瘤活性显著强于对照药物 DS-1062a。此外从小鼠体重变化趋势来看（图 29），提示抗体偶联物 13 安全性良好。

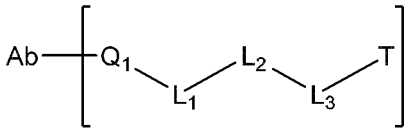
从活性测试结果看，本申请的化合物制备得的 ADC 均表现出一定的体内抗肿瘤活性，与对照样品相比可以显示出显著更强的抗肿瘤活性。荷瘤小鼠对以上药物均能很好耐受，没

有体重减轻等症状发生。

前述详细说明是以解释和举例的方式提供的，并非要限制所附权利要求的范围。目前本申请所列举的实施方式的多种变化对本领域普通技术人员来说是显而易见的，且保留在所附的权利要求和其等同方案的范围内。

权 利 要 求 书

1. 一种化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，其中所述化合物包含式（C-Trop-2）所示的结构：



（C-Trop-2）

其中，Q_1 包含连接体，

L_1 包含-L_{1a}-C(=O)-，

其中，L_{1a} 选自以下组：任选取代的亚烷基、任选取代的聚乙二醇基、任选取代的亚烯基、任选取代的亚炔基、任选取代的亚脂环基、任选取代的亚脂杂环基、任选取代的亚芳基和任选取代的亚杂芳基；

L_2 包含任选取代的多肽残基，

L_3 包含任选取代的间隔基团，

其中，L_2 和/或 L_3 包含任选取代的聚肌氨酸残基，

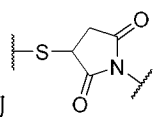
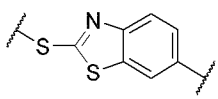
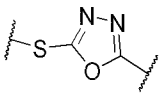
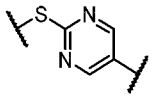
T 包含药物单元，

Ab 为能够结合 Trop-2 的配体，m 为 1-8 的数。

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

其中，Q_1 包含与巯基偶联后的连接体。

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

其中，Q_1 选自以下组：任选取代的、任选取代的、任选取代的、和任选取代的。

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

其中，L_{1a} 选自以下组：任选取代的 C_1-C_7 的亚烷基、任选取代的二甘醇基至八甘醇基、任选取代的 C_3-C_6 亚脂环基、任选取代的亚芳基和任选取代的亚杂芳基。

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

其中，L_{1a}选自以下组：任选取代的亚甲基、任选取代的亚乙基、任选取代的亚丙基、任选取代的亚丁基、任选取代的亚戊基、任选取代的二甘醇基、任选取代的四甘醇基、任选取代的六甘醇基、任选取代的八甘醇基和任选取代的亚环己基。

6. 根据权利要求 1-5 中任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，

其中，L_2包含任选取代的选自以下组的氨基酸构成的多肽残基：苯丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、色氨酸、缬氨酸、甲硫氨酸、酪氨酸、丙氨酸、苏氨酸、组氨酸、丝氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、赖氨酸、天冬酰胺、谷氨酸、脯氨酸、瓜氨酸、天冬氨酸和甘氨酸。

7. 根据权利要求 1-6 中任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，

其中，L_2包含任选取代的选自以下组的氨基酸构成的多肽残基：甘氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸、丙氨酸、精氨酸、瓜氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺和赖氨酸。

8. 根据权利要求 1-7 中任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，

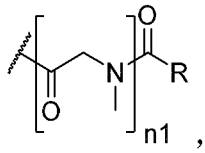
其中，L_2包含任选取代的选自以下组的多肽残基：苯丙氨酸-赖氨酸（Phe-Lys）、缬氨酸-丙氨酸（Val-Ala）、缬氨酸-瓜氨酸（Val-Cit）、谷氨酸-缬氨酸-丙氨酸（Glu- Val-Ala）、谷氨酸-缬氨酸-瓜氨酸（Glu-Val-Cit）、缬氨酸-赖氨酸（Val-Lys）、丙氨酸-丙氨酸-丙氨酸（Ala-Ala-Ala）、丙氨酸-丙氨酸-天冬酰胺（Ala-Ala-Asn）和甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-甘氨酸（Gly-Gly-Phe-Gly）。

9. 根据权利要求 1-8 中任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，

其中，当L_2包含赖氨酸残基时，所述赖氨酸残基被包含聚肌氨酸残基的结构R_1取代。

10. 根据权利要求 9 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构

体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，

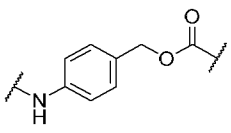
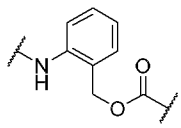


其中，所述 R_1 为任选取代的 ，其中 n1 为 4 至 18 的数，R 选自以下组：C_1-C_6 烷基、C_1-C_6 环烷基、和 C_1-C_6 烷氧基。

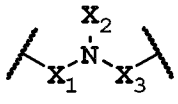
11. 根据权利要求 10 所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，

其中，n1 为 4 至 18。

12. 根据权利要求 1-11 中任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，

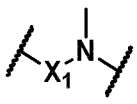
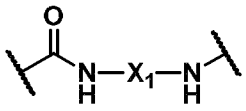
其中，L_3 选自以下组：任选取代的，和任选取代的。

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

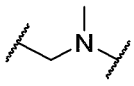
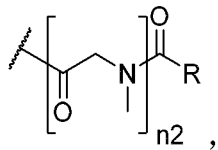
其中，L_3 的苯环与任选取代的聚肌氨酸残基通过结构单元-X-连接，结构单元-X-选自以下组：任选取代的，其中 X_1 选自以下组：羰基、C_1-C_8 烷基、C_1-C_8 烷氧基、C_1-C_6 环烷基、包含 1-8 个原子的直链杂烷基、和包含 1-8 个原子的直链-环状杂烷基，所述杂烷基包含选自 N、O 或者 S 的 1-3 个原子；其中 X_2 选自以下组：氢、C_1-C_8 烷基、C_1-C_8 烷氧基、C_1-C_6 环烷基、包含 1-8 个原子的直链杂烷基、和包含 1-8 个原子的直链-环状杂烷基，所述杂烷基包含选自 N、O 或者 S 的 1-3 个原子；其中 X_3 为共价键或选自以下组：氢、C_1-C_8 烷基、C_1-C_8 烷氧基、C_1-C_6 环烷基、包含 1-8 个原子的直链杂烷基、和包含 1-8 个原子的直链-环状杂烷基，所述杂烷基包含选自 N、O 或者 S 的 1-3 个原子；所述的 C_1-C_8 烷基、C_1-C_8 烷氧基、C_1-C_6 环烷基、包含 1-8 个原子的直链杂烷基、和包含 1-8 个原子的直链-环状杂烷基各自独立地任选地被选自氘代、卤素、氰基、硝基、氨基、烷基、羧基、烷氧基或环烷基的一个或者多个取代基取代。

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

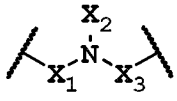
物，

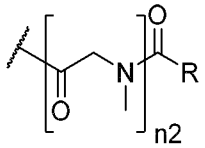
其中，L_3的苯环与任选取代的聚肌氨酸残基通过结构单元-X-连接，结构单元-X-选自以下组：任选取代的、和任选取代的，其中X_1选自以下组：C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧基、C_1-C_6环烷基、包含 1-8 个原子的直链杂烷基、和包含 1-8 个原子的直链-环状杂烷基，所述杂烷基包含选自 N、O 或者 S 的 1-3 个原子，所述的C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧基、C_1-C_6环烷基、包含 1-8 个原子的直链杂烷基、和包含 1-8 个原子的直链-环状杂烷基各自独立地任选地选自氘代、卤素、氰基、硝基、氨基、烷基、羧基、烷氧基或环烷基的一个或者多个取代基取代。

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

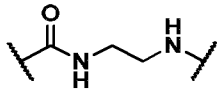
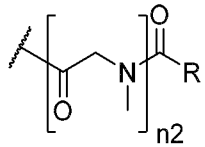
其中，结构单元-X-为任选取代的，所述任选取代的聚肌氨酸残基包含，其中 n2 为 4 至 18 的数，R 选自以下组：C_1-C_6烷基、C_1-C_6环烷基、和C_1-C_6烷氧基。

16. 根据权利要求 13-15 中任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，

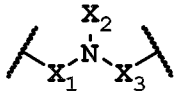
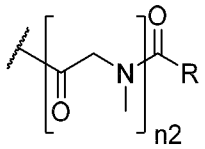
其中，结构单元-X-选自以下组：任选取代的，其中X_1选自以下组：羰基、C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧基、C_1-C_6环烷基、包含 1-8 个原子的直链杂烷基、和包含 1-8 个原子的直链-环状杂烷基，所述杂烷基包含选自 N、O 或者 S 的 1-3 个原子；其中X_2选自以下组：氢、C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧基、C_1-C_6环烷基、包含 1-8 个原子的直链杂烷基、和包含 1-8 个原子的直链-环状杂烷基，所述杂烷基包含选自 N、O 或者 S 的 1-3 个原子；其中X_3为共价键或选自以下组：氢、C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧基、C_1-C_6环烷基、包含 1-8 个原子的直链杂烷基、和包含 1-8 个原子的直链-环状杂烷基，所述杂烷基包含选自 N、O 或者 S 的 1-3 个原子；所述的C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧基、C_1-C_6环烷基、包含 1-8 个原子的直链杂烷基、和包含 1-8 个原子的直链-环状杂烷基各自独立地任选地被选自氘代、卤素、氰基、硝基、氨

基、烷基、羧基、烷氧基或环烷基的一个或者多个取代基取代，所述任选取代的聚肌氨酸残基包含，其中 n2 为 4 至 18 的数，R 选自以下组：C_1-C_6烷基、C_1-C_6环烷基、和 C_1-C_6烷氧基。

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

其中，结构单元-X-为任选取代的，所述任选取代的聚肌氨酸残基包含，其中 n2 为 4 至 18 的数，R 选自以下组：C_1-C_6烷基、C_1-C_6环烷基、和 C_1-C_6烷氧基。

18. 根据权利要求 13-14 和 17 中任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，

其中，结构单元-X-选自以下组：任选取代的，其中 X_1 选自以下组：羰基、C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧基、C_1-C_6环烷基、包含 1-8 个原子的直链杂烷基、和包含 1-8 个原子的直链-环状杂烷基，所述杂烷基包含选自 N、O 或者 S 的 1-3 个原子；其中 X_2 选自以下组：氢、C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧基、C_1-C_6环烷基、包含 1-8 个原子的直链杂烷基、和包含 1-8 个原子的直链-环状杂烷基，所述杂烷基包含选自 N、O 或者 S 的 1-3 个原子；其中 X_3 为共价键或选自以下组：氢、C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧基、C_1-C_6环烷基、包含 1-8 个原子的直链杂烷基、和包含 1-8 个原子的直链-环状杂烷基，所述杂烷基包含选自 N、O 或者 S 的 1-3 个原子；所述的 C_1-C_8烷基、C_1-C_8烷氧基、C_1-C_6环烷基、包含 1-8 个原子的直链杂烷基、和包含 1-8 个原子的直链-环状杂烷基各自独立地任选地被选自氘代、卤素、氰基、硝基、氨基、烷基、羧基、烷氧基或环烷基的一个或者多个取代基取代，所述任选取代的聚肌氨酸残基包含，其中 n2 为 4 至 18 的数，R 选自以下组：C_1-C_6烷基、C_1-C_6环烷基、

和 C_1-C_6 烷氧基。

19. 根据权利要求 15-18 中任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，

其中，n2 为 4 至 18。

20. 根据权利要求 1-19 中任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，

其中，T 包含具有抗肿瘤活性的化合物。

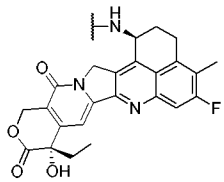
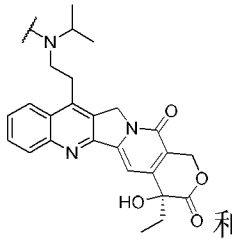
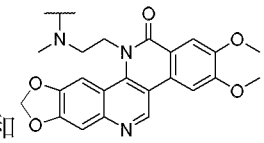
21. 根据权利要求 1-20 中任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，

其中，T 包含拓扑异构酶抑制剂。

22. 根据权利要求 1-21 中任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，

其中，T 包含喜树碱类及非喜树碱类拓扑异构酶 I 抑制剂。

23. 根据权利要求 1-22 中任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，

其中，T 选自以下组的结构：，和。

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

其中所述 Ab 包含抗 Trop-2 抗体或其抗原结合片段。

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

其中所述抗体选自以下组：鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体和全人源抗体。

26. 根据权利要求 24-25 中任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，

其中所述抗体包含单克隆抗体。

27. 根据权利要求 24-26 中任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，

其中所述抗体包含双特异性抗体。

28. 根据权利要求 24-27 中任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，

其中所述抗原结合片段选自以下组：Fab，Fab′，Fv 片段，$F(ab')_2$，$F(ab)_2$，scFv，di-scFv，VHH 和 dAb。

29. 根据权利要求 1-28 中任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，

其中所述 Ab 的重链 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 和轻链 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含抗 Trop-2 抗体的重链 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 和轻链 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

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

其中所述 Ab 的重链 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 和轻链 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含 hRS7 的重链 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 和轻链 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

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

其中所述 Ab 的重链可变区 VH 和轻链可变区 VL 分别包含抗 Trop-2 抗体的重链可变区 VH 和轻链可变区 VL。

32. 根据权利要求 1-31 中任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，

其中所述 Ab 的重链可变区 VH 和轻链可变区 VL 分别包含 hRS7 的重链可变区 VH 和轻链可变区 VL。

33. 根据权利要求 1-32 中任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，

其中所述 Ab 的重链和轻链分别包含抗 Trop-2 抗体的重链和轻链。

34. 根据权利要求 1-33 中任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，

其中所述 Ab 的重链和轻链分别包含 hRS7 的重链和轻链。

35. 根据权利要求 1-34 中任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，

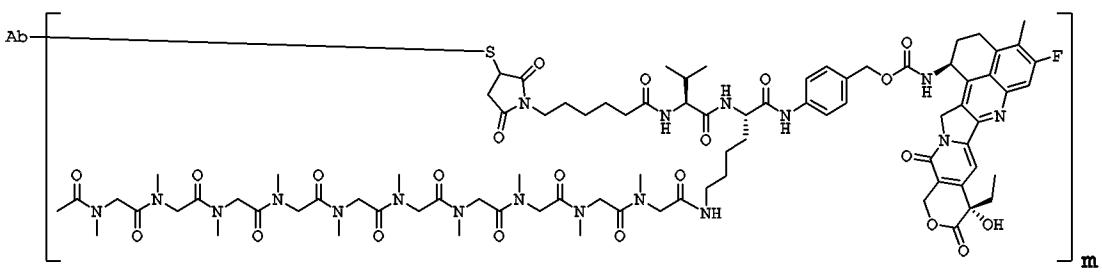
其中所述 Ab 包含 hRS7。

36. 根据权利要求 1-35 中任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，

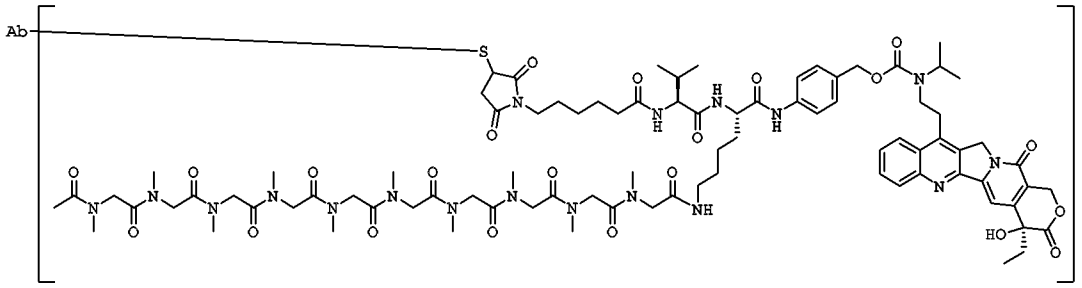
其中所述 m 通过选自以下组的方法测定：疏水层析、十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳和液相质谱。

37. 一种化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，

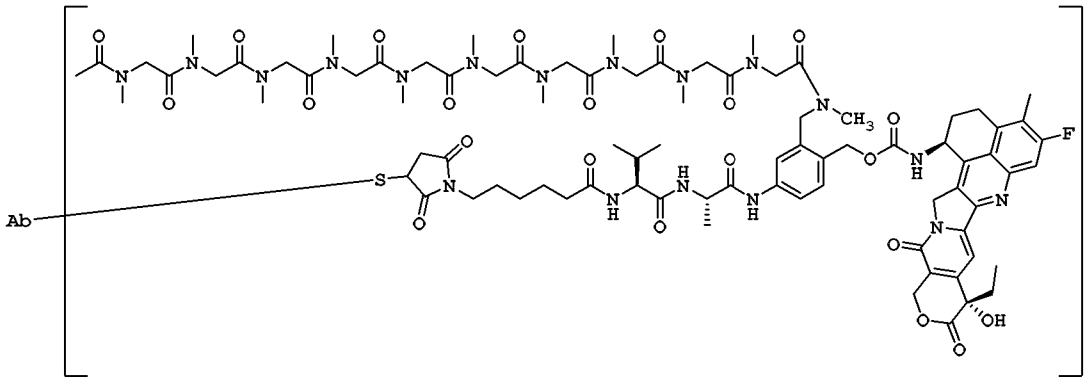
其中，所述化合物包含选自以下组的结构：



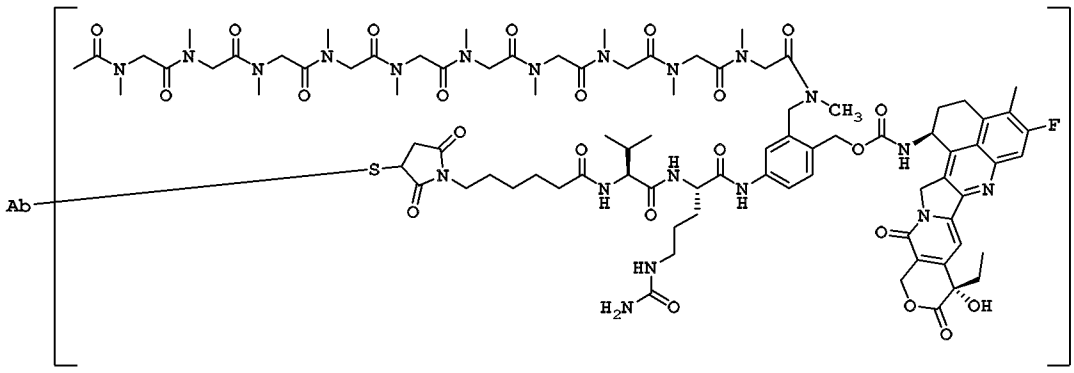
（C-Trop-2-1），



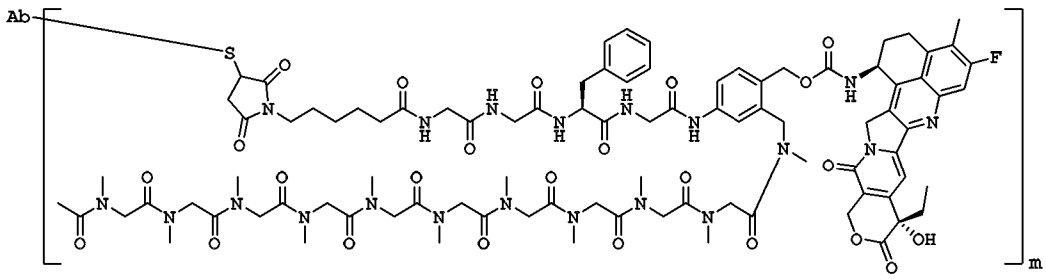
（C-Trop-2-2），



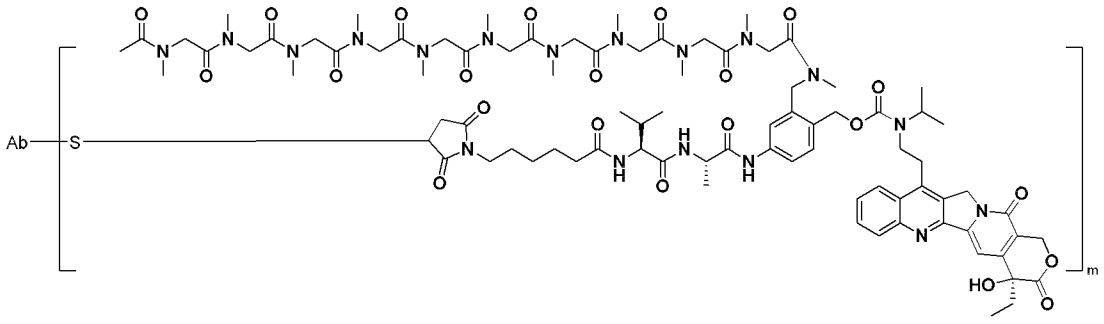
（C-Trop-2-3），



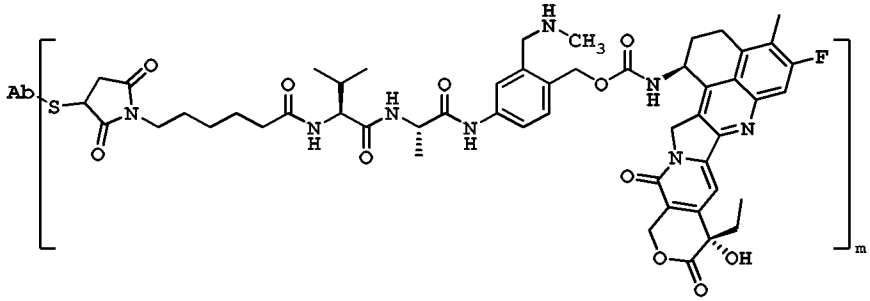
（C-Trop-2-4），



（C-Trop-2-5），

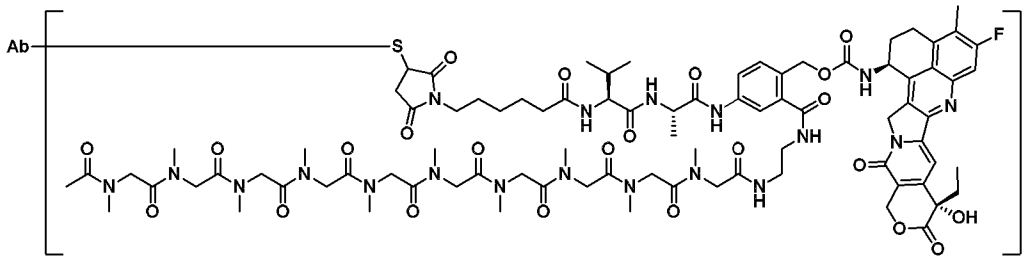


（C-Trop-2-6），



（C-Trop-2-7），

和



（C-Trop-2-8），

Ab 为能够结合 Trop-2 的配体，m 为 1-8 的数。

38. 一种药物组合物，其含有权利要求 1-37 中任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，以及任选地药学上可接受的载体。

39. 含有权利要求 1-37 中任一项所述的化合物，或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其药学上可接受的盐、前药或溶剂合物，和/或权利要求 38 所述的药物组合物在制备用于治疗和/或预防肿瘤的药物中的用途。

40. 根据权利要求 39 所述的用途，所述肿瘤与 Trop-2 表达相关的肿瘤。

41. 根据权利要求 40 所述的用途，所述与所述靶点表达相关的肿瘤包含所述靶点高表达的肿瘤和/或所述靶点阳性的肿瘤。

42. 根据权利要求 39-41 中任一项所述的用途，所述肿瘤包含实体肿瘤和/或血液肿瘤。

43. 根据权利要求 39-42 中任一项所述的用途，所述肿瘤选自以下组：肺癌、尿道癌、大肠癌、前列腺癌、卵巢癌、胰腺癌、乳腺癌、膀胱癌、胃癌、胃肠道间质瘤、宫颈癌、食

道癌、鳞状细胞癌、腹膜癌、肝癌、肝细胞癌、结肠癌、直肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌、子宫癌、唾液腺癌、肾癌、外阴癌、甲状腺癌、阴茎癌、白血病、恶性淋巴瘤、浆细胞瘤、骨髓瘤、或肉瘤。肺癌、尿道癌、大肠癌、前列腺癌、卵巢癌、胰腺癌、乳腺癌、膀胱癌、胃癌、胃肠道间质瘤、宫颈癌、食道癌、鳞状细胞癌、腹膜癌、肝癌、肝细胞癌、结肠癌、直肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌、子宫癌、唾液腺癌、肾癌、外阴癌、甲状腺癌、阴茎癌、白血病、恶性淋巴瘤、浆细胞瘤、骨髓瘤、和肉瘤。

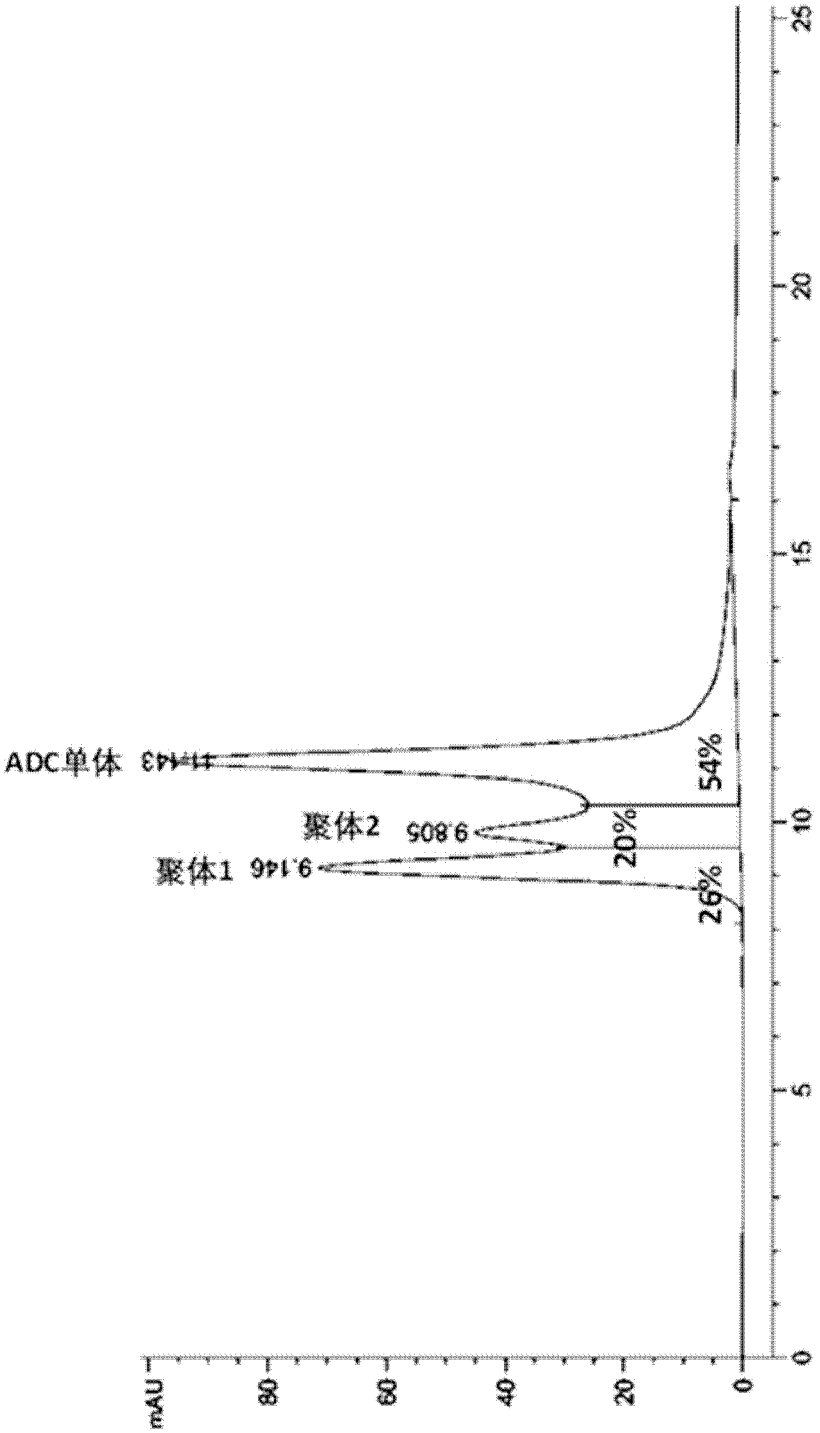


图 1

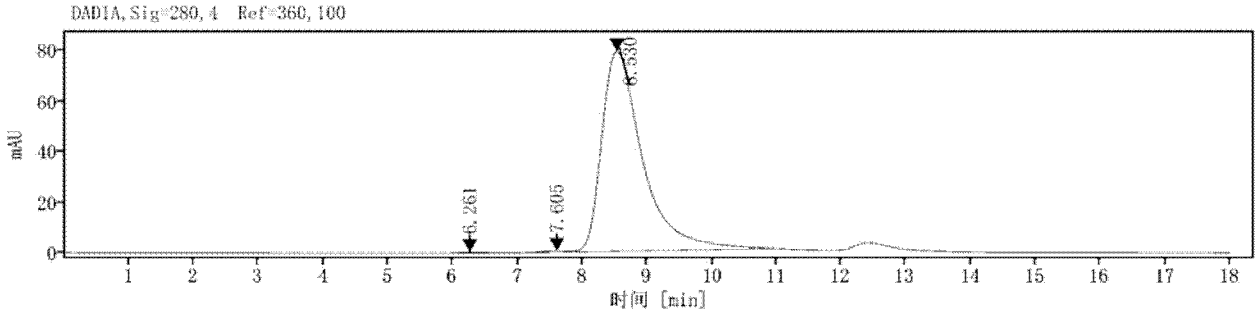

DAD1A, Sig=280, 4 Ref=360, 100
mAU
时间 [min]
6.261
7.605
8.330

图 2

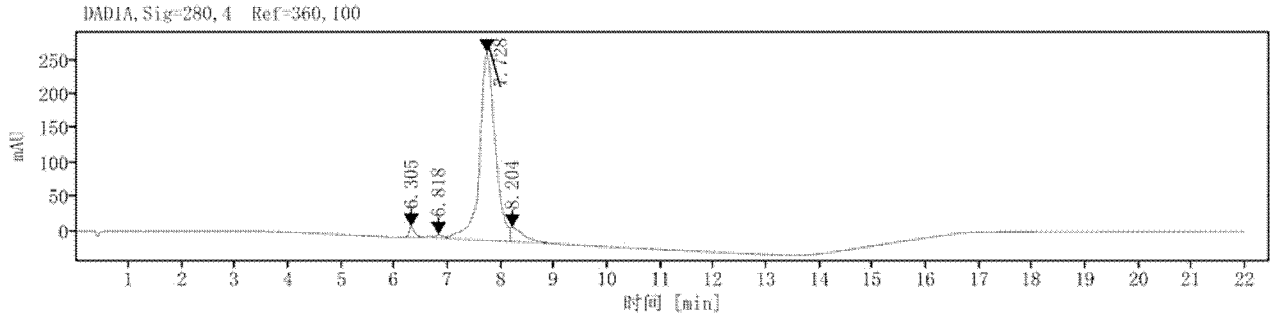

DAD1A, Sig=280, 4 Ref=360, 100
mAU
时间 [min]
6.305
6.818
7.728
8.204

图 3

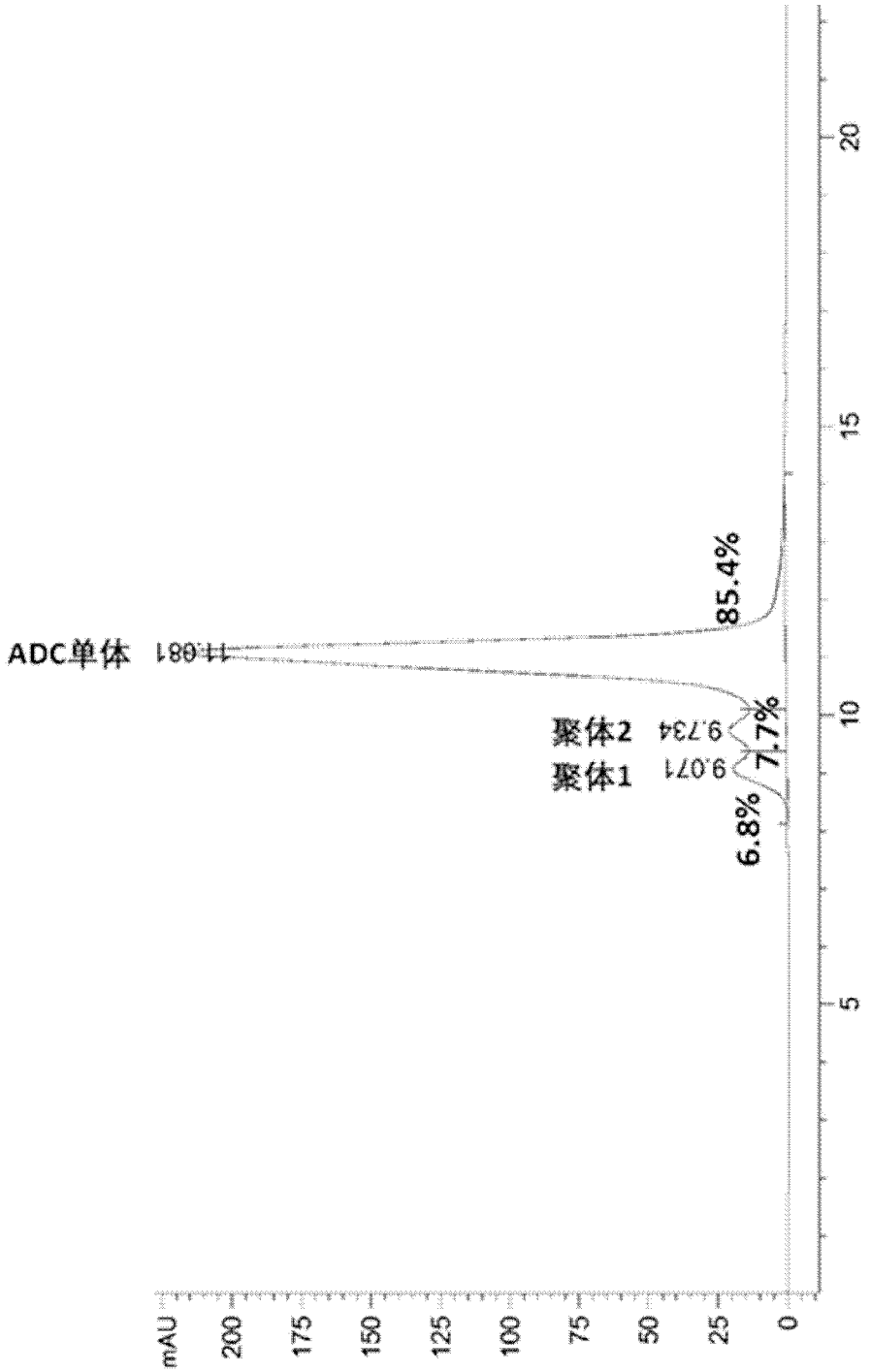

ADC单体
11.081
85.4%
聚体2
9.734
7.7%
聚体1
9.071
6.8%
mAU
200
175
150
125
100
75
50
25
0
5
10
15
20

图 4

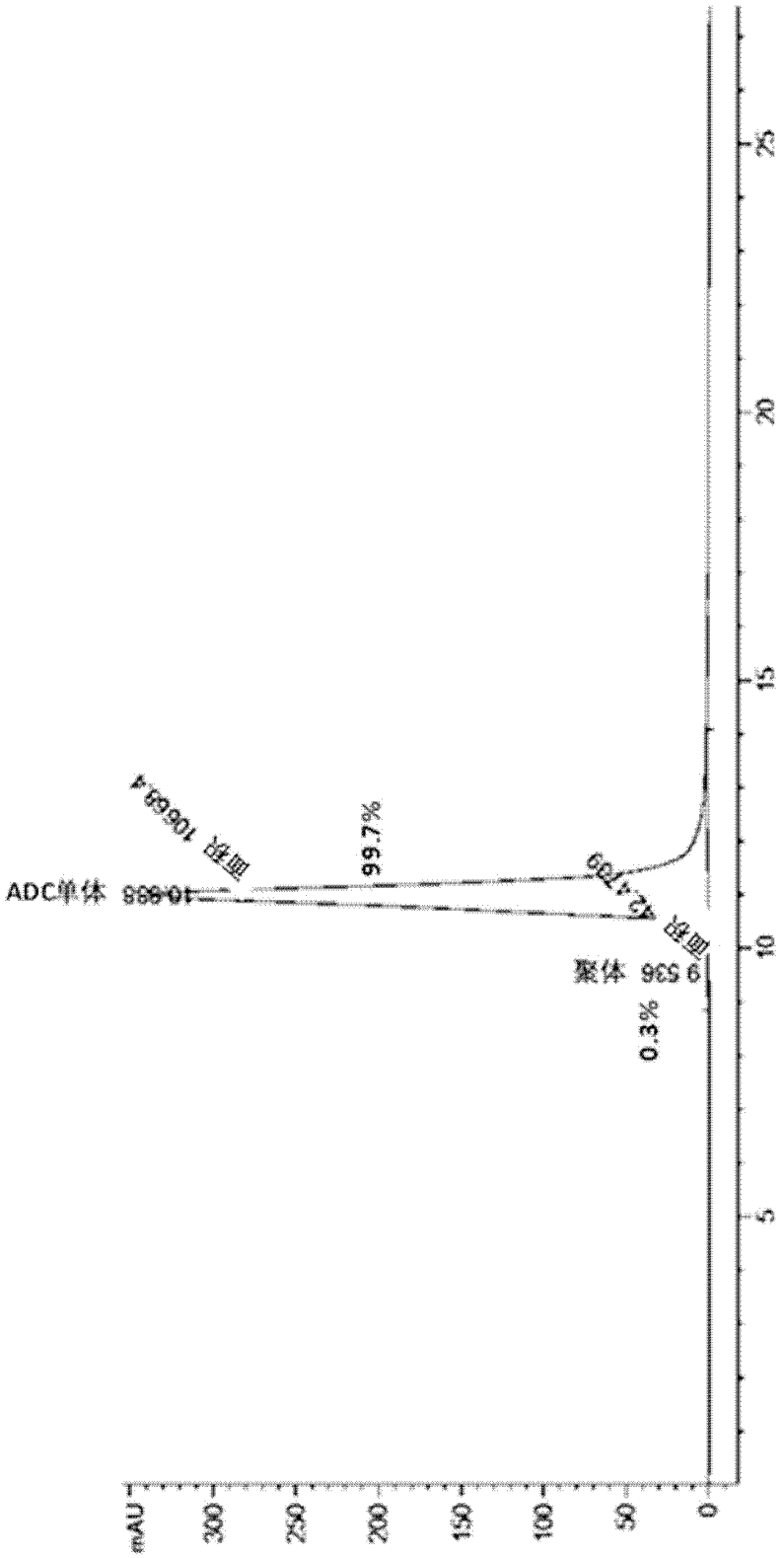

mAU
300
250
200
150
100
50
0
5
10
15
20
25
ADC单体 10.888
99.7%
0.3%
聚体 9.536

图 5

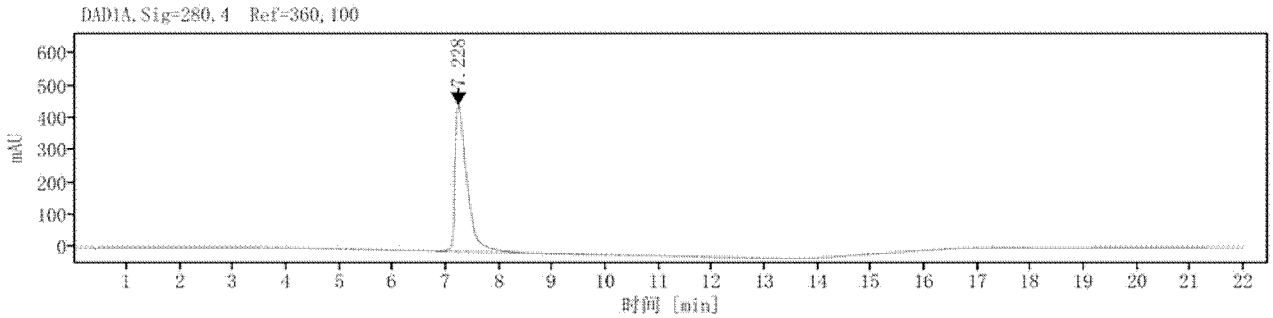

DAD1A, Sig=280, 4 Ref=360, 100
mAU
7.228
时间 [min]

图 6

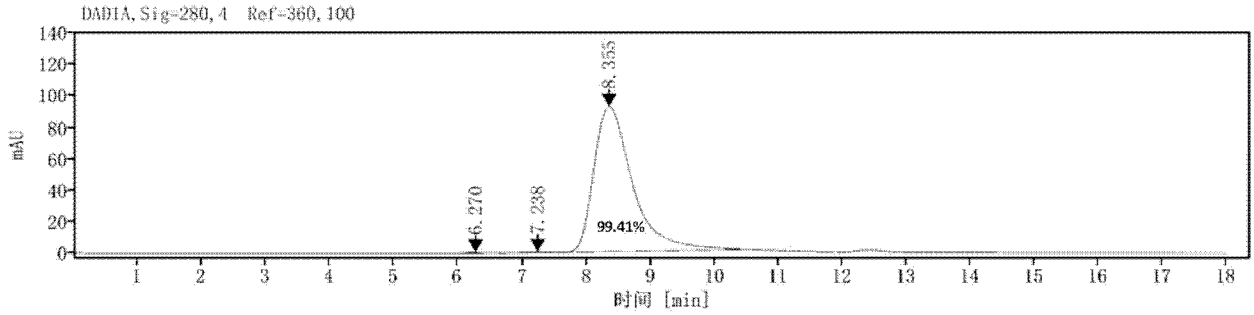

DAD1A, Sig=280, 4 Ref=360, 100
mAU
6.270
7.238
8.355
99.41%
时间 [min]

图 7

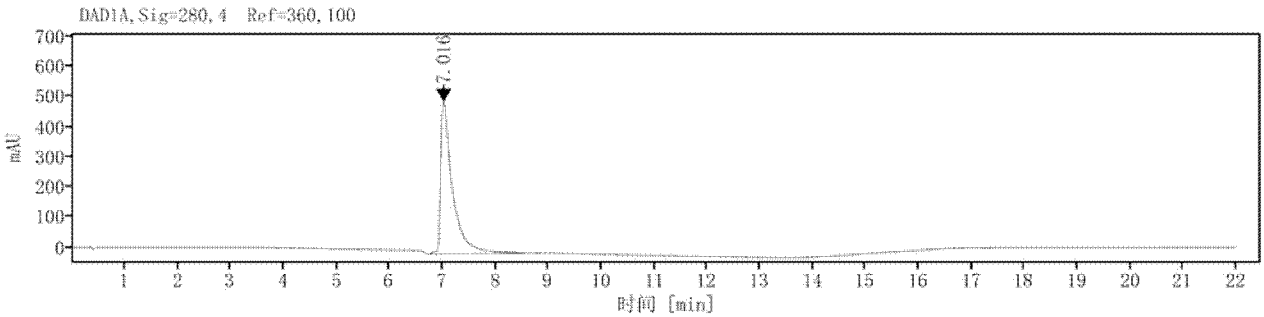

DAD1A, Sig=280, 4 Ref=360, 100
mAU
7.016
时间 [min]

图 8

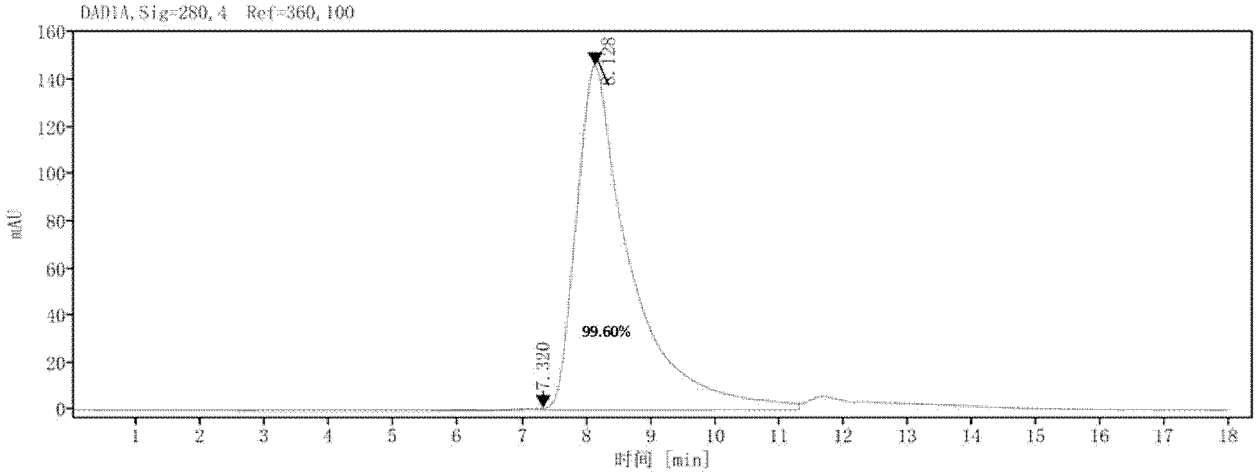

DAD1A, Sig=280, 4 Ref=360, 100
mAU
时间 [min]
7.328
7.320
99.60%

图 9

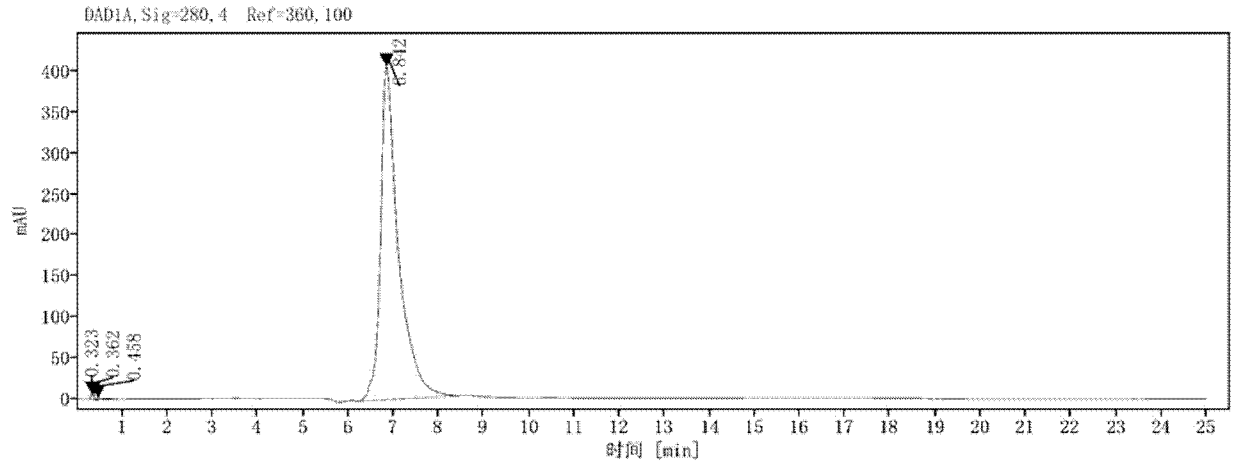

DAD1A, Sig=280, 4 Ref=360, 100
mAU
时间 [min]
6.812
0.323
0.362
0.458

图 10

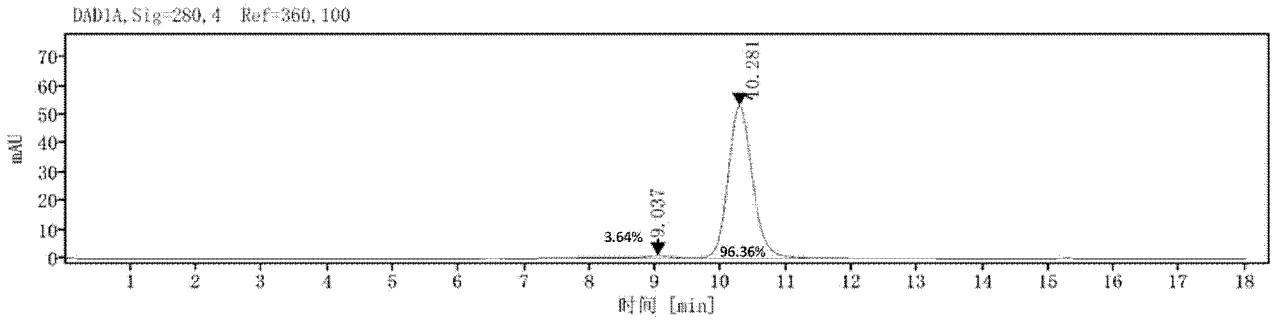

DAD1A, Sig=280, 4 Ref=360, 100
mAU
时间 [min]
10.281
9.037
3.64%
96.36%

图 11

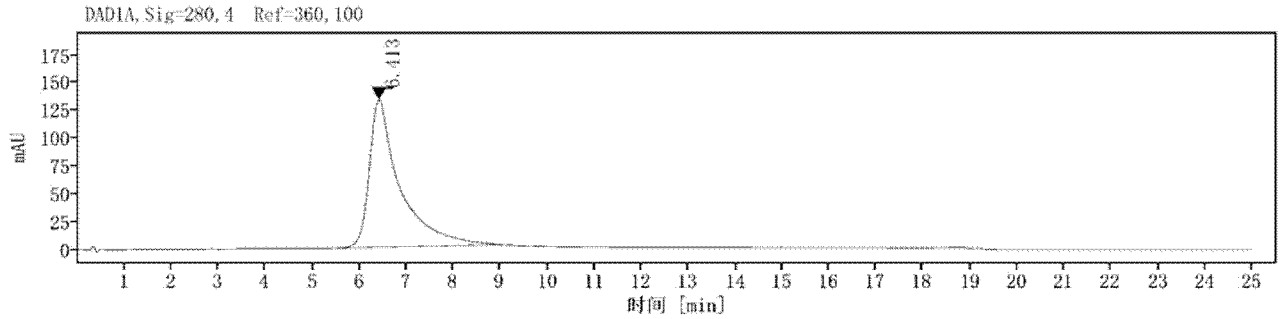


图 12

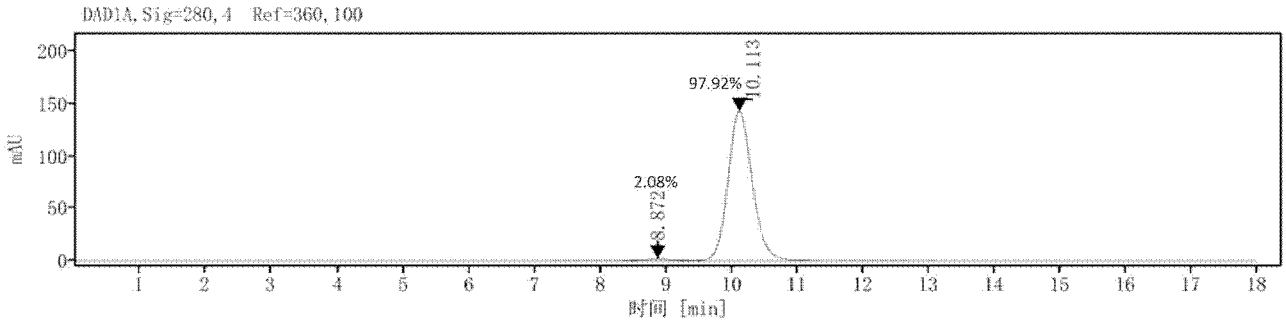


图 13

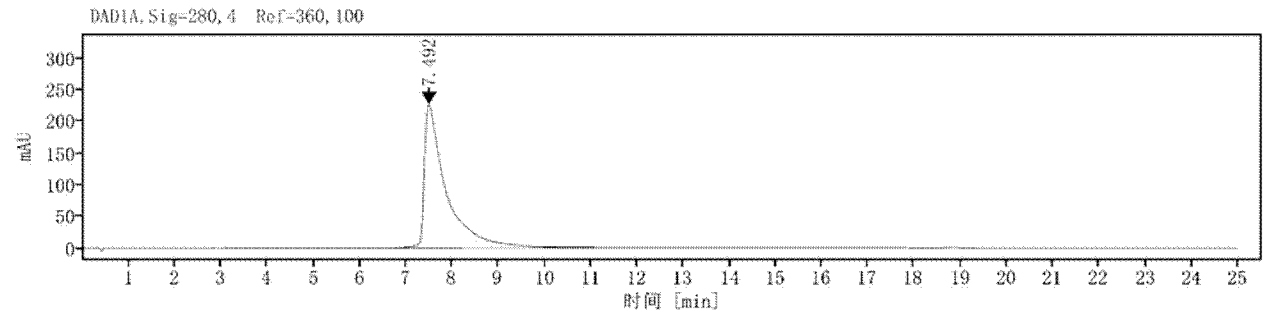


图 14

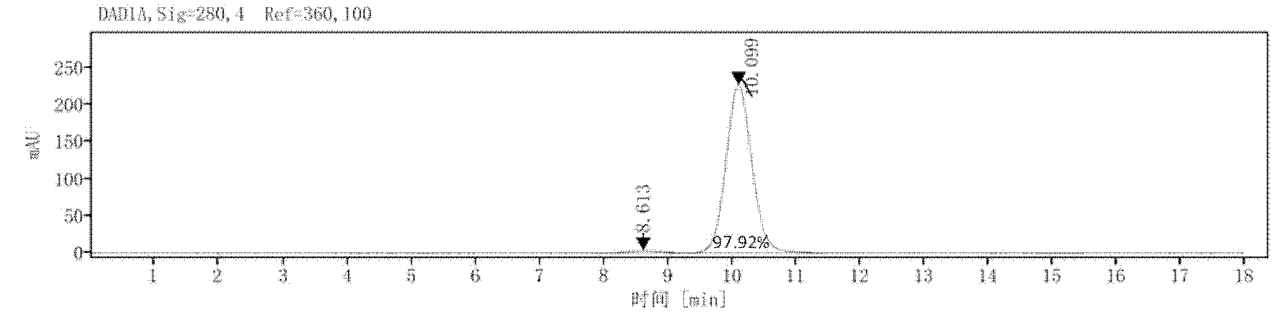


图 15

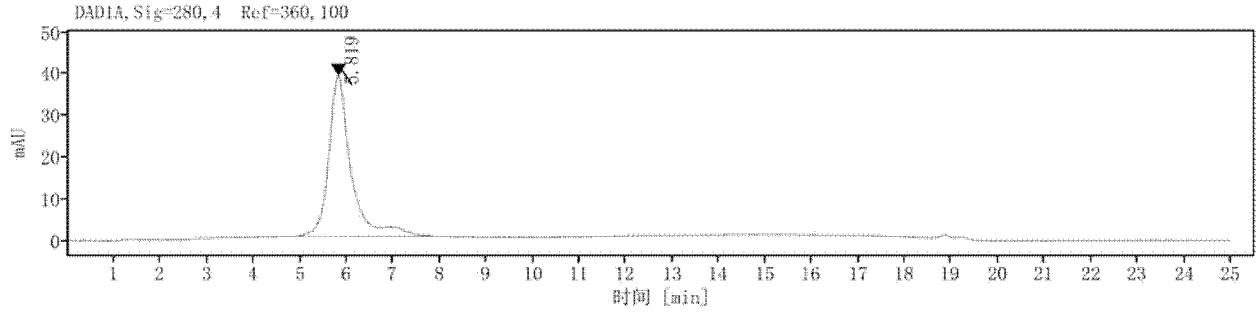


图 16

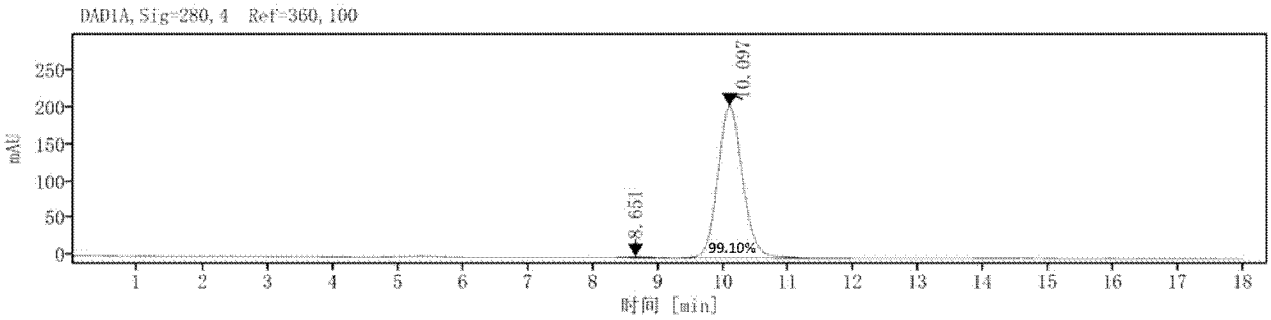


图 17

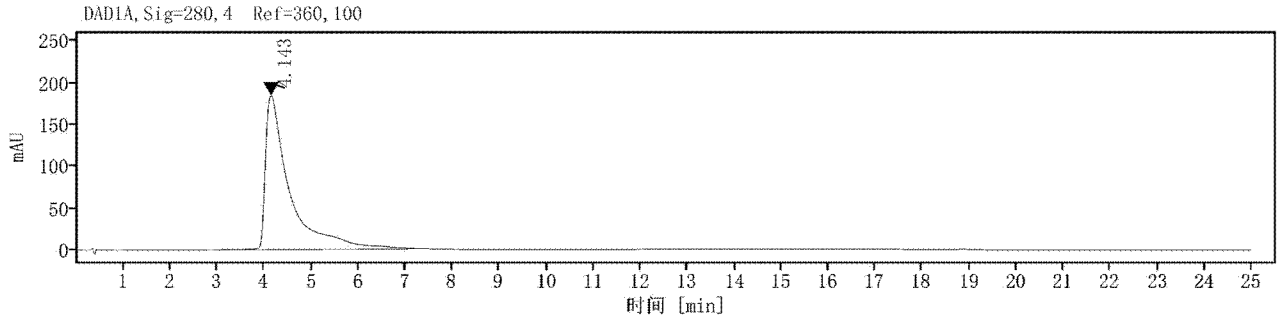


图 18

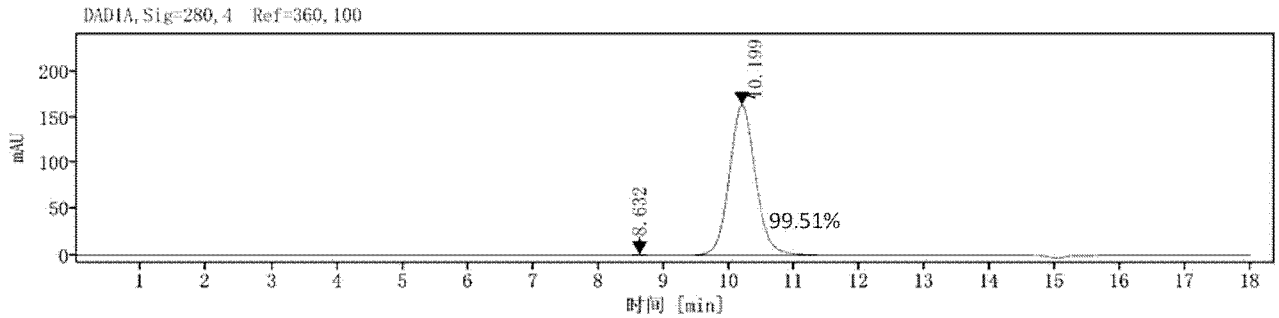


图 19

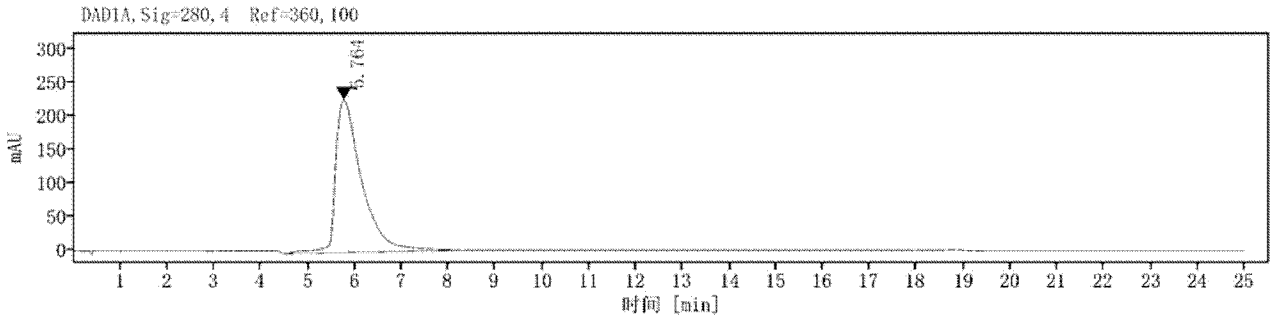

DAD1A, Sig=280, 4 Ref=360, 100
mAU
时间 [min]
5.764

图 20

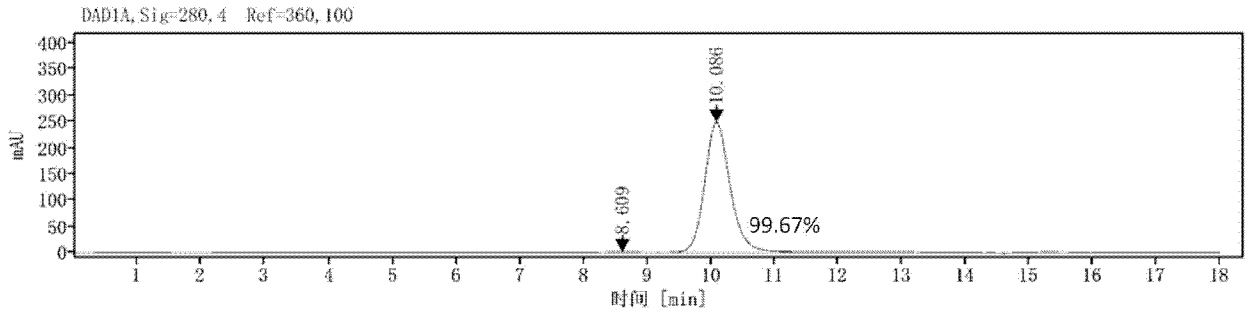

DAD1A, Sig=280, 4 Ref=360, 100
mAU
时间 [min]
8.609
10.086
99.67%

图 21

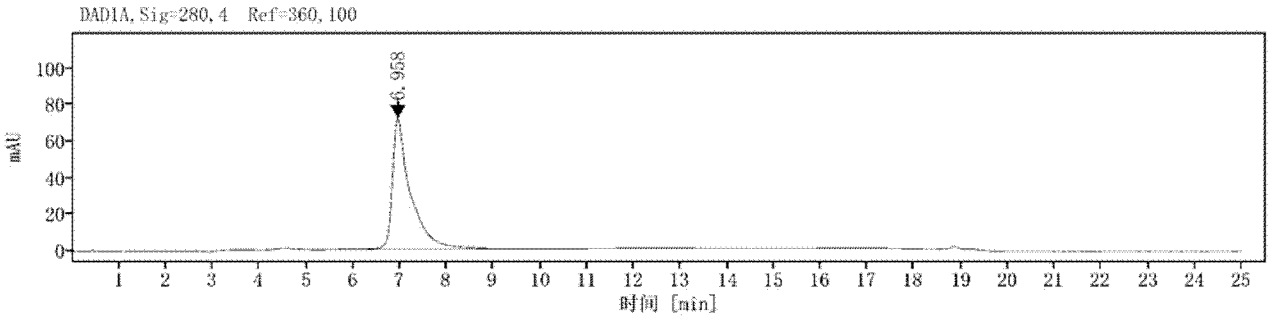
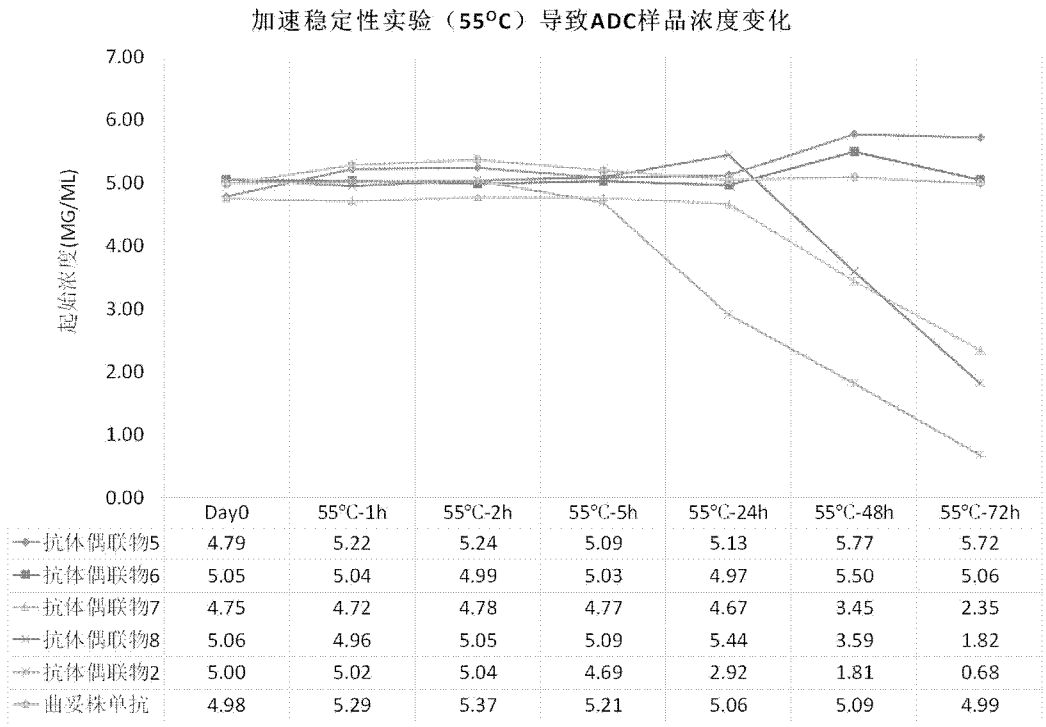
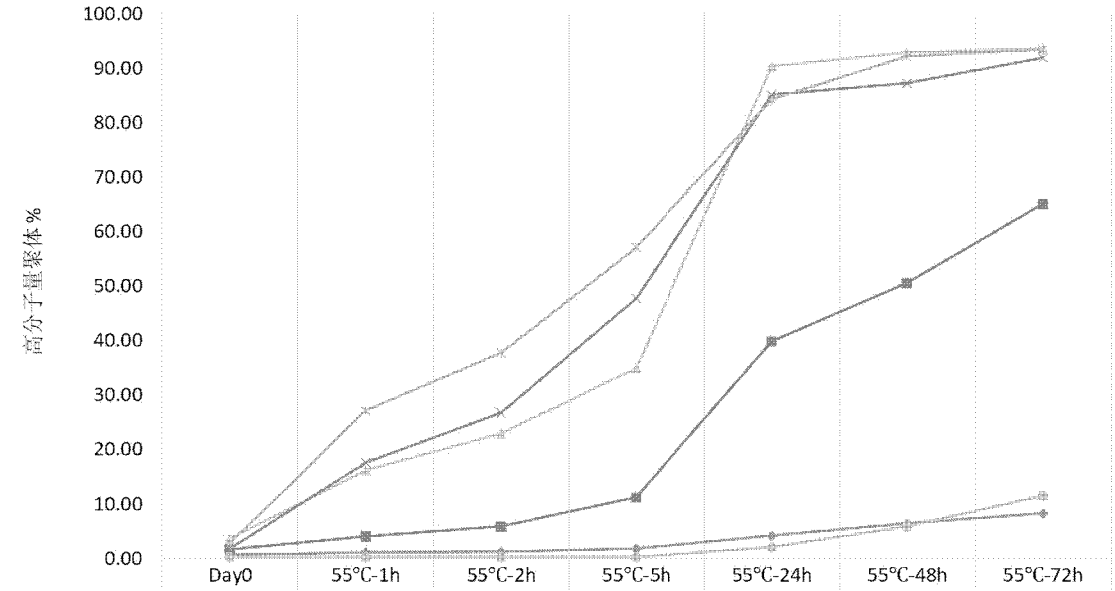

DAD1A, Sig=280, 4 Ref=360, 100
mAU
时间 [min]
6.958

图 22



	Day0	55°C-1h	55°C-2h	55°C-5h	55°C-24h	55°C-48h	55°C-72h
抗体偶联物5	4.79	5.22	5.24	5.09	5.13	5.77	5.72
抗体偶联物6	5.05	5.04	4.99	5.03	4.97	5.50	5.06
抗体偶联物7	4.75	4.72	4.78	4.77	4.67	3.45	2.35
抗体偶联物8	5.06	4.96	5.05	5.09	5.44	3.59	1.82
抗体偶联物2	5.00	5.02	5.04	4.69	2.92	1.81	0.68
曲妥株单抗	4.98	5.29	5.37	5.21	5.06	5.09	4.99

图 23



	Day0	55°C-1h	55°C-2h	55°C-5h	55°C-24h	55°C-48h	55°C-72h
抗体偶联物5	0.68	0.98	1.24	1.71	4.10	6.38	8.22
抗体偶联物6	1.60	3.98	5.89	11.23	39.80	50.45	64.94
抗体偶联物7	3.63	16.11	22.80	34.80	90.25	92.87	93.58
抗体偶联物8	1.79	17.45	26.65	47.67	85.07	87.20	91.83
抗体偶联物2	2.67	27.02	37.65	57.00	84.22	92.18	93.44
曲妥株单抗	0.23	0.24	0.22	0.21	1.95	5.88	11.48

图 24

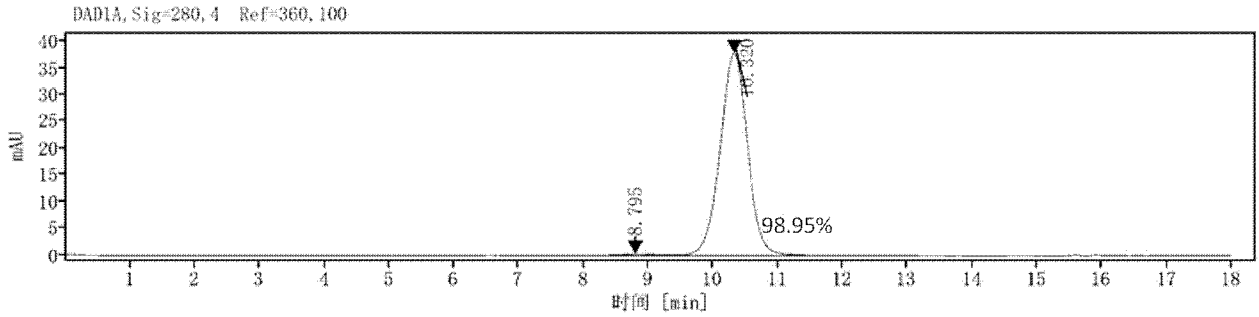

DAD1A, Sig=280, 4 Ref=360, 100
mAU
时间 [min]
8.795
10.320
98.95%

图 25

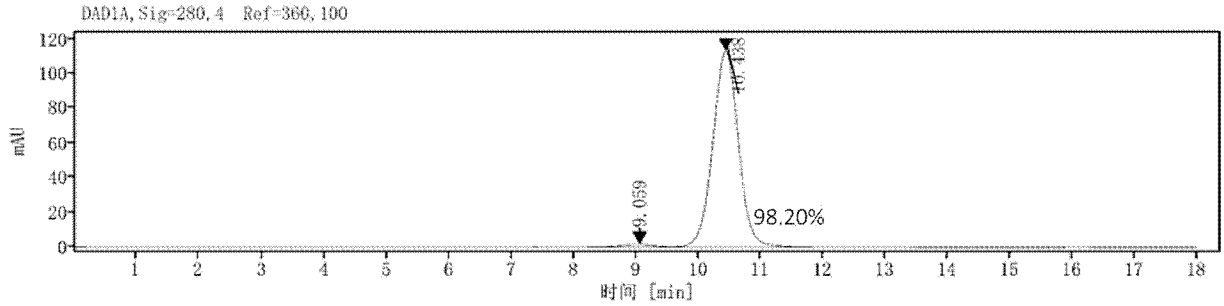

DAD1A, Sig=280, 4 Ref=360, 100
mAU
时间 [min]
9.059
10.438
98.20%

图 26

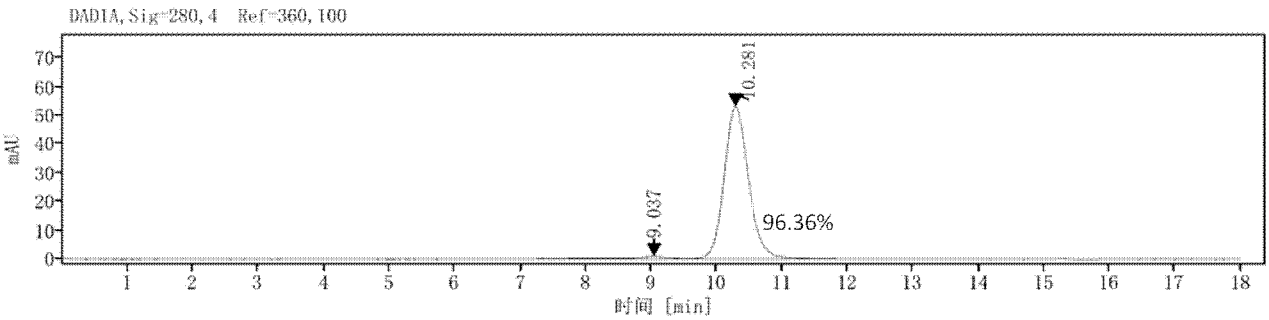

DAD1A, Sig=280, 4 Ref=360, 100
mAU
时间 [min]
9.037
10.281
96.36%

图 27

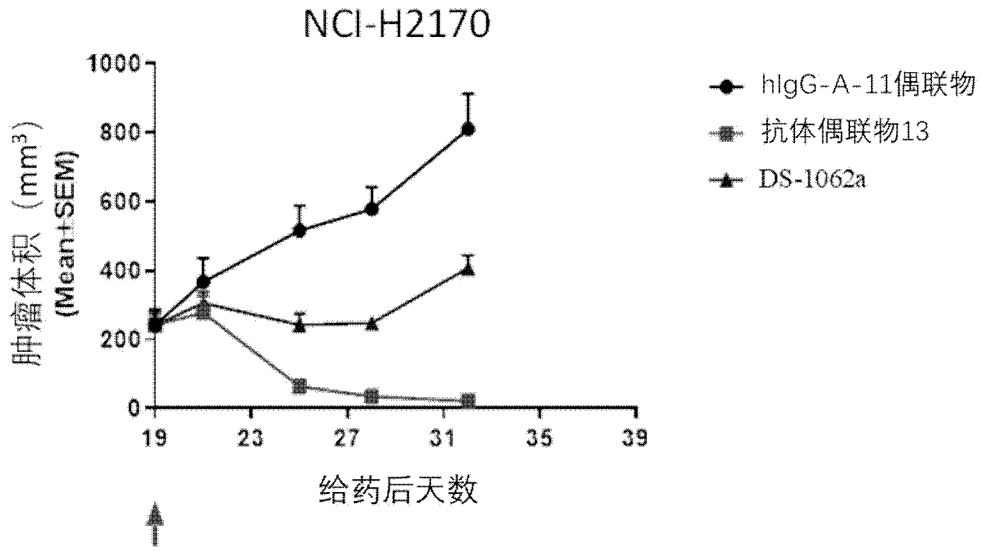

NCI-H2170
肿瘤体积（mm³）
(Mean+SEM)
1000
800
600
400
200
0
19
23
27
31
35
39
给药后天数
hIgG-A-11偶联物
抗体偶联物13
DS-1062a

图 28

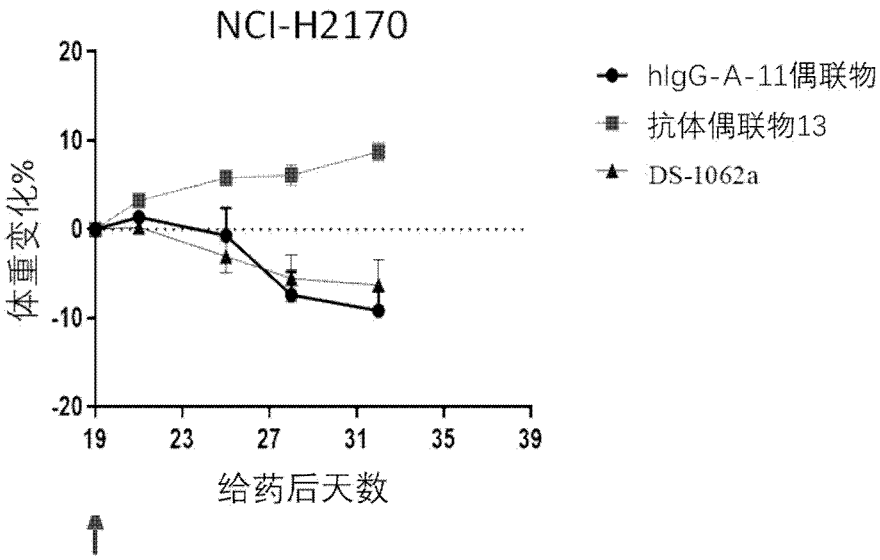

NCI-H2170
体重变化%
20
10
0
-10
-20
19
23
27
31
35
39
给药后天数
hIgG-A-11偶联物
抗体偶联物13
DS-1062a

图 29

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2022/089726

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 47/68(2017.01)i; A61K 47/54(2017.01)i; C07K 5/062(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K; C07K; A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNTXT; CNABS; DWPI; SIPOABS; STNext caplus/reg; CNKI: 上海汇连生物; 张惠; 抗体偶联药物; 聚肌氨酸; 结构检索, structural search; ADC; antibody drug conjugate; Polysarcosine; Trop 2

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2020236841 A2 (NOVARTIS AG) 26 November 2020 (2020-11-26) claims 1-5 and 10-22, and description, page 205, table 4A, page 9, paragraph 3, page 150, last paragraph, and page 225	1-43
Y	WO 2020236841 A2 (NOVARTIS AG) 26 November 2020 (2020-11-26) claims 1-5 and 10-22, and description, page 205, table 4A, page 9, paragraph 3, page 150, last paragraph, and page 225	1-43
Y	WARREN, V. et al. "Monodisperse Polysarcosine-based Highly-loaded Antibody-drug Conjugates" *Chemical Science,* Vol. 10, No. 14, 06 March 2019 (2019-03-06), abstract, and figure 1, and pages 4048-4053	1-43
Y	CONILH, L. et al. "Exatecan Antibody Drug Conjugates Based on a Hydrophilic Polysarcosine Drug-Linker Platform" *Pharmaceuticals,* Vol. 14, No. 3, 09 March 2021 (2021-03-09), abstract, and figure 1, and pages 1-17	1-43
X	WO 2020233174 A1 (MABPLEX INTERNATIONAL LTD.) 26 November 2020 (2020-11-26) claims 1-9	1-8, 12, 20-43

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
15 June 2022	**29 June 2022**
Name and mailing address of the ISA/CN **China National Intellectual Property Administration (ISA/CN)** **No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088, China** Facsimile No. **(86-10)62019451**	Authorized officer Telephone No.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 105102455 A (DONG-A ST CO., LTD. et al.) 25 November 2015 (2015-11-25) entire document	1-43
A	CN 111542344 A (MABLINK BIOSCIENCE) 14 August 2020 (2020-08-14) entire document	1-43
A	CN 108066772 A (SHANGHAI INSTITUTE OF MATERIA MEDICA, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) 25 May 2018 (2018-05-25) entire document	1-43

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2022/089726

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
   a. ☑ forming part of the international application as filed:
      ☑ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
      ☐ on paper or in the form of an image file.
   b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
   c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
      ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).
      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2022/089726

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
WO	2020236841	A2	26 November 2020	IL	287596	D0	01 December 2021
				KR	20220010527	A	25 January 2022
				AU	2020279731	A1	06 January 2022
				CA	3140063	A1	26 November 2020
				CN	113853219	A	28 December 2021
				EP	3972650	A2	30 March 2022
WO	2020233174	A1	26 November 2020	US	2021085799	A1	25 March 2021
				AU	2020204250	A1	10 December 2020
				RU	2745738	C1	31 March 2021
				JP	2022512519	A	07 February 2022
				EP	3760233	A1	06 January 2021
				KR	20200135284	A	02 December 2020
CN	105102455	A	25 November 2015	SG	11201504887 T	A	30 July 2015
				ES	2714951	T3	30 May 2019
				US	2021113710	A1	22 April 2021
				SG	10201705150 R	A	28 July 2017
				US	2018264131	A1	20 September 2018
				ZA	201504941	B	29 November 2017
				MY	169117	A	18 February 2019
				US	2014193437	A1	10 July 2014
				KR	20210132742	A	04 November 2021
				CN	108546283	A	18 September 2018
				PH	12015501422	B1	21 September 2015
				RU	2015129800	A	30 January 2017
				CA	2896690	A1	26 June 2014
				AR	094280	A1	22 July 2015
				TW	201427694	A	16 July 2014
				US	2015352222	A1	10 December 2015
				BR	112015014712	A2	11 July 2017
				JP	2016508136	A	17 March 2016
				MX	2015007918	A	21 June 2016
				HK	1216640	A1	25 November 2016
				KR	20150119848	A	26 October 2015
				AU	2013364065	A1	23 July 2015
				US	2016015830	A1	21 January 2016
				RU	2019105549	A	28 March 2019
				IL	239506	D0	31 August 2015
				DK	2935259	T3	18 March 2019
				NZ	630601	A	26 May 2017
				PT	2935259	T	04 April 2019
				WO	2014100762	A1	26 June 2014
				EP	2935259	A1	28 October 2015
				CL	2015001735	A1	19 August 2016
CN	111542344	A	14 August 2020	EP	3700577	A1	02 September 2020
				US	2020345863	A1	05 November 2020
				JP	2021500412	A	07 January 2021
				WO	2019081455	A1	02 May 2019
CN	108066772	A	25 May 2018	WO	2018086239	A1	17 May 2018

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2022/089726

A. 主题的分类

A61K 47/68(2017.01)i; A61K 47/54(2017.01)i; C07K 5/062(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

A61K; C07K; A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称，和使用的检索词（如使用））

CNTXT;CNABS;DWPI; SIPOABS; STNext caplus/reg;CNKI:上海汇连生物；张惠；抗体偶联药物；聚肌氨酸；结构检索; ADC; antibody drug conjugate; Polysarcosine; Trop 2

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
X	WO 2020236841 A2 (NOVARTIS AG) 2020年11月26日 (2020-11-26) 权利要求1-5，10-22；说明书第205页表4A，第9页第3段，第150页最后1段，第225页	1-43
Y	WO 2020236841 A2 (NOVARTIS AG) 2020年11月26日 (2020-11-26) 权利要求1-5，10-22；说明书第205页表4A，第9页第3段，第150页最后1段，第225页	1-43
Y	WARREN, Viricel等. "Monodisperse polysarcosine-based highly-loaded antibody-drug conjugates; " Chemical Science; , 第10卷，第14期，2019年3月6日 (2019-03-06), 摘要，图1；第4048-4053页	1-43
Y	CONILH, Louise等. "Exatecan Antibody Drug Conjugates Based on a Hydrophilic Polysarcosine Drug-Linker Platform; " Pharmaceuticals ; , 第14卷，第3期，2021年3月9日 (2021-03-09), 摘要，图1；第1-17页	1-43
X	WO 2020233174 A1 (烟台迈百瑞国际生物医药有限公司) 2020年11月26日 (2020-11-26) 权利要求1-9	1-8，12，20-43

☑ 其余文件在C栏的续页中列出。

☑ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型：

"A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

"E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

"L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件，或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件（如具体说明的）

"O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

"P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

"T" 在申请日或优先权日之后公布，与申请不相抵触，但为了理解发明之理论或原理的在后文件

"X" 特别相关的文件，单独考虑该文件，认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

"Y" 特别相关的文件，当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时，要求保护的发明不具有创造性

"&" 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期
2022年6月15日	2022年6月29日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451	受权官员 吴铁生 电话号码 （86）10-53961870

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	CN 105102455 A (荷商台医有限合伙公司等) 2015年11月25日 (2015 - 11 - 25) 全文	1-43
A	CN 111542344 A (马布林克生物科学公司) 2020年8月14日 (2020 - 08 - 14) 全文	1-43
A	CN 108066772 A (中国科学院上海药物研究所) 2018年5月25日 (2018 - 05 - 25) 全文	1-43

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2022/089726

第I栏　核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1.c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列,国际检索是基于下列序列表进行的：

a. ☑ 作为国际申请的一部分提交的：
   - ☑ 附件C/ST.25文本文件形式
   - ☐ 纸件或图形文件形式

b. ☐ 根据细则13之三.1(a)仅为国际检索目的以附件C/ST.25文本文件形式与国际申请同时提交的：

c. ☐ 仅为国际检索目的在国际申请日之后提交的：
   - ☐ 附件C/ST.25文本文件形式（细则13之三.1(a)）
   - ☐ 纸件或图形文件形式（细则13之三.1(b)和行政规程第713段）

2. ☐ 另外，在提交/提供了多个版本或副本的序列表的情况下，提供了关于随后提交的或附加的副本中的信息与申请时提交的作为申请一部分的序列表的信息相同或未超出申请时提交的申请中的信息范围（如适用）的所需声明。

3. 补充意见：

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2022/089726

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
WO	2020236841	A2	2020年11月26日	IL	287596	D0	2021年12月1日
				KR	20220010527	A	2022年1月25日
				AU	2020279731	A1	2022年1月6日
				CA	3140063	A1	2020年11月26日
				CN	113853219	A	2021年12月28日
				EP	3972650	A2	2022年3月30日
WO	2020233174	A1	2020年11月26日	US	2021085799	A1	2021年3月25日
				AU	2020204250	A1	2020年12月10日
				RU	2745738	C1	2021年3月31日
				JP	2022512519	A	2022年2月7日
				EP	3760233	A1	2021年1月6日
				KR	20200135284	A	2020年12月2日
CN	105102455	A	2015年11月25日	SG	11201504887T	A	2015年7月30日
				ES	2714951	T3	2019年5月30日
				US	2021113710	A1	2021年4月22日
				SG	10201705150R	A	2017年7月28日
				US	2018264131	A1	2018年9月20日
				ZA	201504941	B	2017年11月29日
				MY	169117	A	2019年2月18日
				US	2014193437	A1	2014年7月10日
				KR	20210132742	A	2021年11月4日
				CN	108546283	A	2018年9月18日
				PH	12015501422	B1	2015年9月21日
				RU	2015129800	A	2017年1月30日
				CA	2896690	A1	2014年6月26日
				AR	094280	A1	2015年7月22日
				TW	201427694	A	2014年7月16日
				US	2015352222	A1	2015年12月10日
				BR	112015014712	A2	2017年7月11日
				JP	2016508136	A	2016年3月17日
				MX	2015007918	A	2016年6月21日
				HK	1216640	A1	2016年11月25日
				KR	20150119848	A	2015年10月26日
				AU	2013364065	A1	2015年7月23日
				US	2016015830	A1	2016年1月21日
				RU	2019105549	A	2019年3月28日
				IL	239506	D0	2015年8月31日
				DK	2935259	T3	2019年3月18日
				NZ	630601	A	2017年5月26日
				PT	2935259	T	2019年4月4日
				WO	2014100762	A1	2014年6月26日
				EP	2935259	A1	2015年10月28日
				CL	2015001735	A1	2016年8月19日
CN	111542344	A	2020年8月14日	EP	3700577	A1	2020年9月2日
				US	2020345863	A1	2020年11月5日
				JP	2021500412	A	2021年1月7日
				WO	2019081455	A1	2019年5月2日
CN	108066772	A	2018年5月25日	WO	2018086239	A1	2018年5月17日