



(21)申請案號：110137529

(22)申請日：中華民國 110 (2021) 年 10 月 08 日

(51)Int. Cl.：

A61K47/68 (2017.01)

A61K31/35 (2006.01)

A61K31/365 (2006.01)

A61K31/40 (2006.01)

A61K31/435 (2006.01)

A61K31/437 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2020/10/09

美國

63/089,859

(71)申請人：英商阿斯特捷利康英國股份有限公司 (英國) ASTRAZENECA UK LIMITED (GB)
英國

日商第一三共股份有限公司 (日本) DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED (JP)

日本

(72)發明人：麥提爾二世 傑洛米湯瑪斯 METTETAL II, JEROME THOMAS (US)；阿斯汀 阿札得雀瑞契巴思 ASTANEH, AZADEH CHERAGHCHI BASHI (GB)；里歐 伊麗莎貝塔 LEO, ELISABETTA (GB)；渥爾茲 亞恩 WALLEZ, YANN (FR)

(74)代理人：王彥評；黃政誠

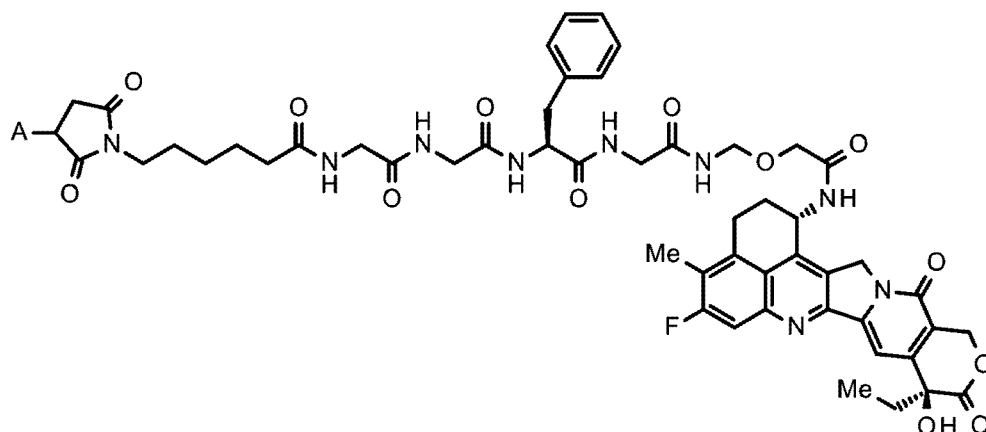
申請實體審查：無 申請專利範圍項數：89 項 圖式數：19 共 208 頁

(54)名稱

抗體-藥物結合物及 PARP1 選擇性抑制劑之組合

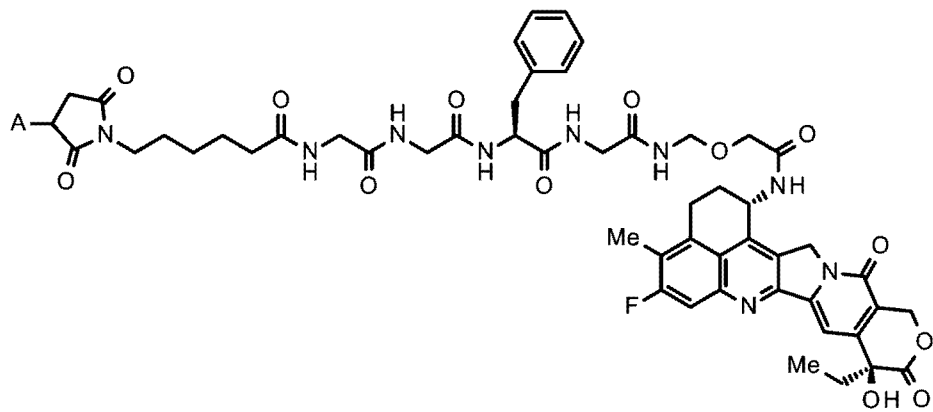
(57)摘要

提供一種用於投予與 PARP1 選擇性抑制劑組合的抗 HER2 抗體-藥物結合物之醫藥產品。該抗 HER2 抗體-藥物結合物係下式所表示的藥物-連接子(其中 A 表示與抗體的連結位置)經由硫醚鍵與抗 HER2 抗體結合的抗體-藥物結合物。亦提供一種治療用途及方法，其中將該抗體-藥物結合物及該 PARP1 選擇性抑制劑組合投予至受試者，

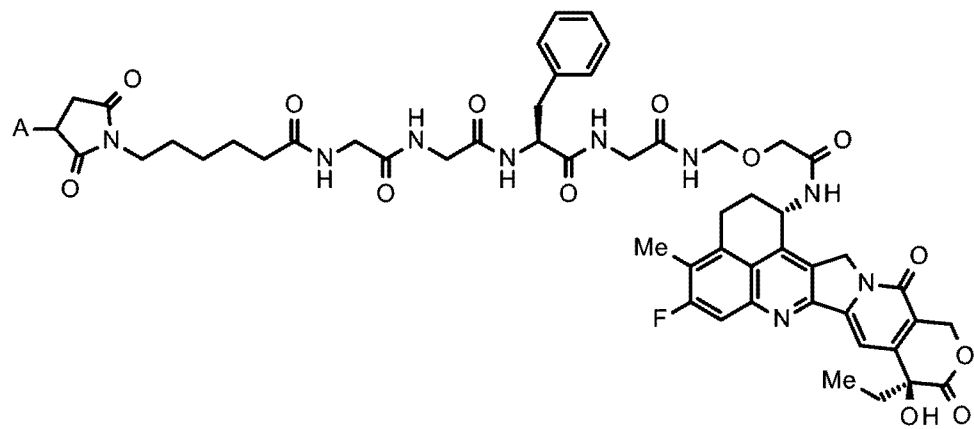


A pharmaceutical product for administration of an anti-HER2 antibody-drug conjugate in combination with a PARP1 selective inhibitor is provided. The anti-HER2 antibody-drug conjugate is an antibody-drug conjugate in which a drug-linker represented by the following formula (wherein A represents the connecting

position to an antibody) is conjugated to an anti-HER2 antibody via a thioether bond. Also provided is a therapeutic use and method wherein the antibody-drug conjugate and the PARP1 selective inhibitor are administered in combination to a subject:



特徵化學式：



【發明摘要】

【中文發明名稱】

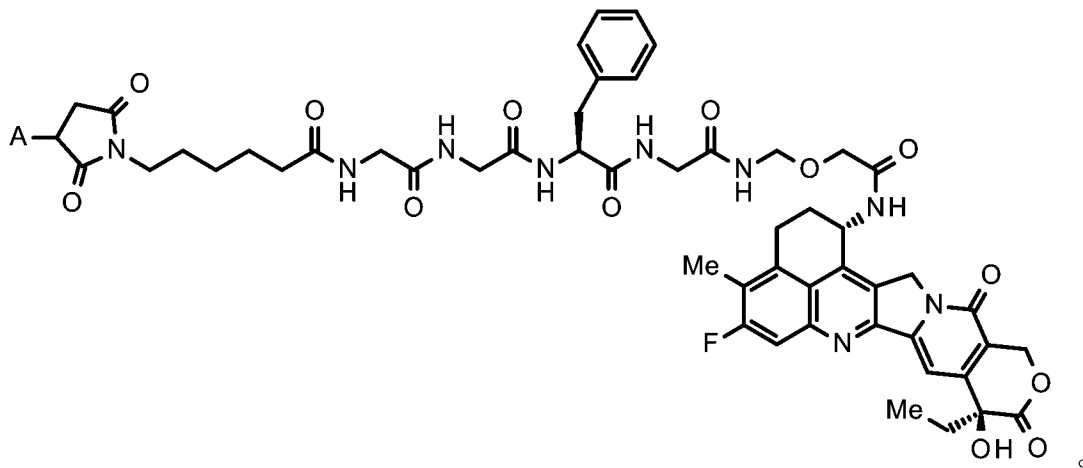
抗體-藥物結合物及 PARP1 選擇性抑制劑之組合

【英文發明名稱】

COMBINATION OF ANTIBODY-DRUG CONJUGATE AND PARP1
SELECTIVE INHIBITOR

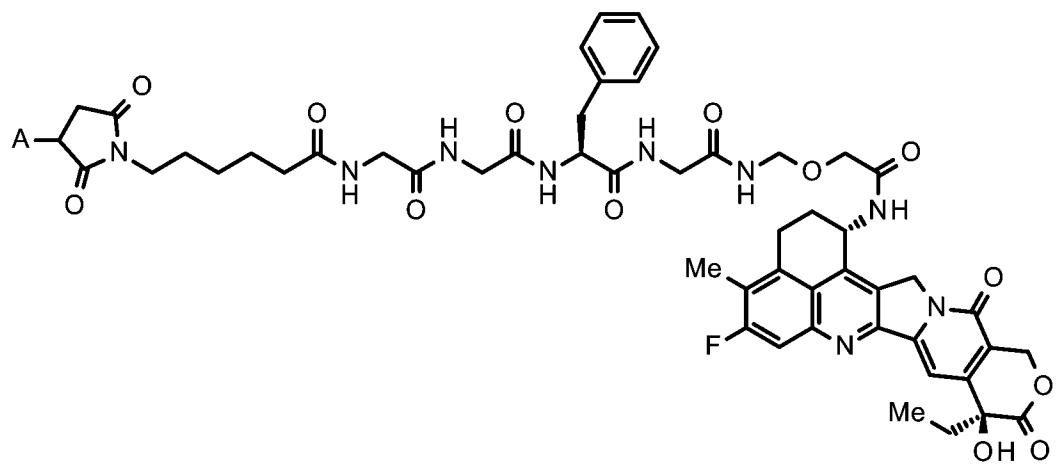
【中文】

提供一種用於投予與 PARP1 選擇性抑制劑組合的抗 HER2 抗體-藥物結合物之醫藥產品。該抗 HER2 抗體-藥物結合物係下式所表示的藥物-連接子(其中 A 表示與抗體的連結位置)經由硫醚鍵與抗 HER2 抗體結合的抗體-藥物結合物。亦提供一種治療用途及方法，其中將該抗體-藥物結合物及該 PARP1 選擇性抑制劑組合投予至受試者，



【 英文 】

A pharmaceutical product for administration of an anti-HER2 antibody-drug conjugate in combination with a PARP1 selective inhibitor is provided. The anti-HER2 antibody-drug conjugate is an antibody-drug conjugate in which a drug-linker represented by the following formula (wherein A represents the connecting position to an antibody) is conjugated to an anti-HER2 antibody via a thioether bond. Also provided is a therapeutic use and method wherein the antibody-drug conjugate and the PARP1 selective inhibitor are administered in combination to a subject:



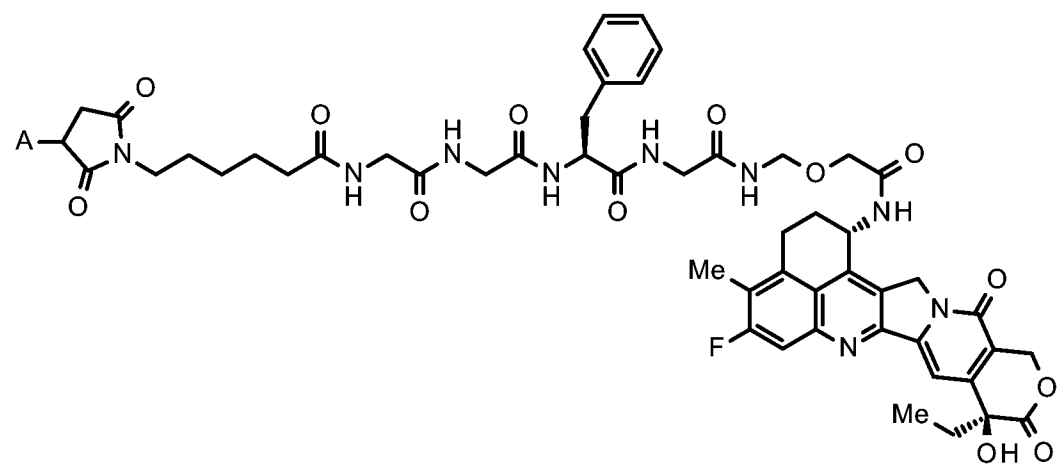
【 指定代表圖 】

無。

【 代表圖之符號簡單說明 】

無。

【 特 徵 化 學 式 】



【發明說明書】

【中文發明名稱】

抗體-藥物結合物及 PARP1 選擇性抑制劑之組合

【英文發明名稱】

COMBINATION OF ANTIBODY-DRUG CONJUGATE AND PARP1
SELECTIVE INHIBITOR

【技術領域】

【0001】本揭示係關於一種用於投予與 PARP1 選擇性抑制劑組合的特定抗體-藥物結合物之醫藥產品，其中該抗體-藥物結合物具有經由連接子結構與抗 HER2 抗體結合的抗腫瘤藥；及關於一種治療用途及方法，其中將該特定抗體-藥物結合物及 PARP1 選擇性抑制劑組合而投予至受試者。

【先前技術】

【0002】酶的聚(ADP-核糖)聚合酶(Poly(ADP-ribose) polymerase (PARP))家族於許多細胞代謝過程中扮演重要角色，如複製、重組、染色質重塑(chromatin remodeling)、及 DNA 損傷修復(*O'Connor MJ, Mol Cell (2015) 60(4): 547-60*)。PARP 抑制劑之例及其作用機制被教示於例如，WO2004/080976。

【0003】PARP1 及 PARP2 對於其在 DNA 損傷修飾中的角色而為最被廣泛研究的 PARP。PARP1 係藉由 DNA 損傷斷裂而活化，並作用於催化聚(ADP-核糖)(PAR)鏈至標的蛋白質之加成。此轉譯後修飾，已知為聚(ADP-核糖化)作用(PARylation)，媒介額外的 DNA 修復因子募

集至 DNA 損傷處。完成此募集角色後，PARP 自動 PARylation 觸發從 DNA 釋放結合的 PARP，以允許接近其它 DNA 修復蛋白質而完成修復。如此，PARP 至受損位點的結合、其催化活性以及最終從 DNA 中釋放皆為對於癌細胞應對化療藥物及放射治療引起的 DNA 損傷的重要步驟 (*Bai P. Biology of poly(ADP-ribose) polymerases : the factotums of cell maintenance. Mol Cell 2015 ; 58 : 947-58*)。

【0004】PARP 家族酶的抑制已被利用作為藉由不活化互補 DNA 修復路徑而選擇性地殺死癌細胞的策略。許多前臨床及臨床研究已證實帶有 BRCA1 或 BRCA2 的有害改變的腫瘤細胞，該 BRCA1 或 BRCA2 為藉由同源重組(HR)參與雙鏈 DNA 斷裂(DSB)修復的關鍵腫瘤抑制蛋白，對 DNA 修復酶 PARP 家族的小分子抑制劑為選擇性敏感。此類腫瘤具有缺陷的同源重組修復(homologous recombination deficiency (HRR))路徑，並且依賴 PARP 酶功能以維持生存。儘管 PARP 抑制劑療法主要針對 BRCA 突變的癌症，但 PARP 抑制劑已在非 BRCA 突變的腫瘤中進行臨床測試，彼等腫瘤表現出同源重組缺陷(HRD)(*Turner N, Tutt A, Ashworth A. Hallmarks of 'BRCAness' in sporadic cancers. Nat Rev Cancer 2004 ; 4 : 814-9*)。

【0005】據信，與非選擇性 PARP 抑制劑相比，對 PARP1 具有改善的選擇性之 PARP 抑制劑可能具有改善的功效和降低的毒性。亦據信 PARP1 的選擇性強抑制會

導致在 DNA 上之 PARP1 捕獲，通過 S-期的複製叉的崩潰而導致 DNA 雙股斷裂(double-strand breaks (DSBs))。亦據信 PARP1-DNA 捕獲為選擇性殺死具有 HRD 的腫瘤細胞的有效機制。

【0006】由與抗體結合的細胞毒性藥物所組成之抗體-藥物結合物(ADCs)，可以選擇性地將藥物遞送至癌細胞，因此預期會導致藥物在癌細胞內累積並殺死癌細胞(Ducry, L., et al., Bioconjugate Chem. (2010) 21, 5-13; Alley, S. C., et al., Current Opinion in Chemical Biology (2010) 14, 529-537; Damle N. K. Expert Opin. Biol. Ther. (2004) 4, 1445-1452; Senter P. D., et al., Nature Biotechnology (2012) 30, 631-637; Burris HA., et al., J. Clin. Oncol. (2011) 29(4): 398-405)。

【0007】一此種抗體-藥物結合物為曲妥珠單抗德魯特坎(trastuzumab deruxtecan)，其由 HER2-靶向抗體及依喜替康(exatecan)的衍生物所構成(Ogitani Y. et al., Clinical Cancer Research (2016) 22(20), 5097-5108; Ogitani Y. et al., Cancer Science (2016) 107, 1039-1046)。曲妥珠單抗德魯特坎(Enhertu[®], DS-8201)在表現 HER2 的實體瘤中顯示出顯著的臨床療效，該表現 HER2 的實體瘤包括乳癌、胃癌、結直腸癌和非小細胞肺癌。值得注目地，DS-8201 已顯示出在上述適應症的低 HER2 腫瘤中有希望的活性。需要確定 DS-8201 的組合夥伴，以提高療效、增加治療反應的持久性、提高對患者的耐受性及/或降低劑量依賴性毒性。

【0008】儘管抗體-藥物結合物(如曲妥珠單抗德魯特坎)及 PARP1 抑制劑具有治療潛力，尚未公開描述顯示組合使用抗體-藥物結合物和 PARP1 選擇性抑制劑之優異效果的測試結果的任何文獻。

【0009】因此，仍然需要改進的治療組成物及方法，其可增強現有癌症治療劑的功效、增加治療反應的持久性、提高對患者的耐受性及/或降低劑量依賴性毒性。

【發明內容】

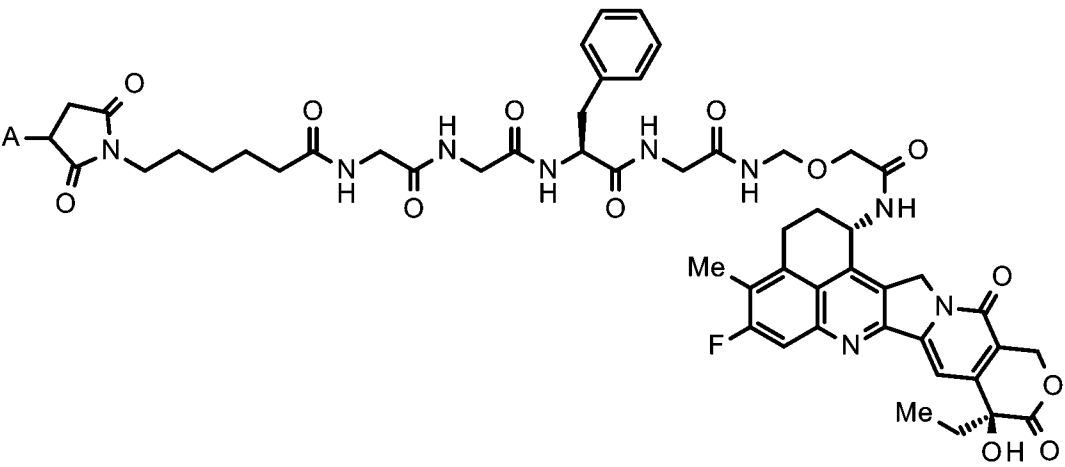
[揭示之摘述]

【0010】本揭示中使用的抗體-藥物結合物(一種包括作為一組分之拓撲異構酶 I 抑制劑依喜替康之衍生物的抗 HER2 抗體-藥物結合物)已被證實當單獨被投予時於某些癌症的治療中展現出優異的抗腫瘤作用，該癌症如乳癌及胃炎。此外，PARP1 抑制劑已被證實於某些癌症的治療中展現出抗腫瘤作用。然而，期望提供一種藥物及治療，其能夠在癌症的治療中獲得優異的抗腫瘤作用，如增強的功效、增加的治療反應的持久性及/或降低的劑量依賴性毒性。

【0011】本揭示提供一種醫藥產品，其透過投予與 PARP1 選擇性抑制劑組合的抗 HER2 抗體-藥物結合物，而可於癌症的治療中展現出優異的抗腫瘤作用。本揭示亦提供一種治療用途及方法，其中抗 HER2 抗體-藥物結合物及 PARP1 選擇性抑制劑被組合投予至受試者。

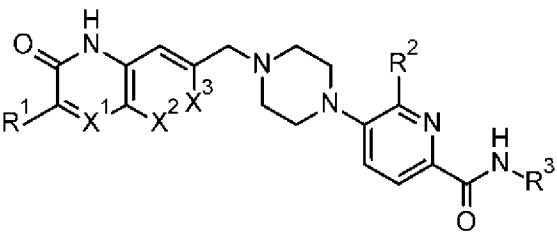
【 0012 】 具體而言，本揭示係關於下列 [1] 至 [54]：

[1] 一種醫藥產品，其包含用於組合投予之抗 HER2 抗體-藥物結合物及 PARP1 選擇性抑制劑，其中該抗 HER2 抗體-藥物結合物係下式所表示的藥物-連接子經由硫醚鍵與抗 HER2 抗體結合之抗體-藥物結合物，



其中 A 表示與抗體的連結位置；

[2] 如 [1] 之醫藥產品，其中該 PARP1 選擇性抑制劑為下式 (I) 所表示的化合物或其醫藥上可接受的鹽，



(I)

其中：

- X¹ 及 X² 係各自獨立地選自 N 及 C(H)，
- X³ 係獨立地選自 N 及 C(R⁴)，其中 R⁴ 為 H 或氟基，
- R¹ 為 C₁₋₄ 烷基或 C₁₋₄ 氟烷基，
- R² 係獨立地選自 H、鹵素基、C₁₋₄ 烷基、及 C₁₋₄ 氟烷基，及

R^3 為 H 或 C_{1-4} 烷基，

其條件為：

當 X^1 為 N，則 X^2 為 C(H)，且 X^3 為 $C(R^4)$ ，

當 X^2 為 N，則 $X^1=C(H)$ ，且 X^3 為 $C(R^4)$ ，及

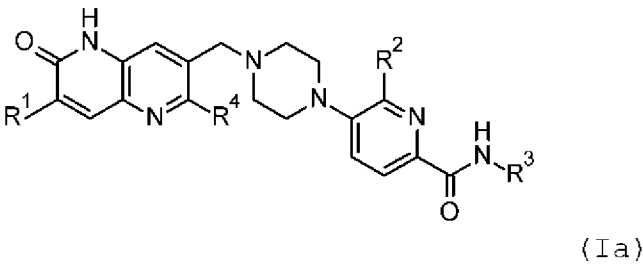
當 X^3 為 N，則 X^1 及 X^2 皆為 C(H)；

[3]如[2]之醫藥產品，其中於式(I)中， R^3 為 C_{1-4} 烷基；

[4]如[3]之醫藥產品，其中於式(I)中， R^3 為甲基；

[5]如[2]至[4]中任一項之醫藥產品，其中於式(I)中， R^1 為乙基；

[6]如[1]之醫藥產品，其中該 PARP1 選擇性抑制劑為下式(Ia)所表示的化合物或其醫藥上可接受的鹽，



其中

R^1 為 C_{1-4} 烷基，

R^2 係選自 H、鹵素基、 C_{1-4} 烷基、及 C_{1-4} 氟烷基，

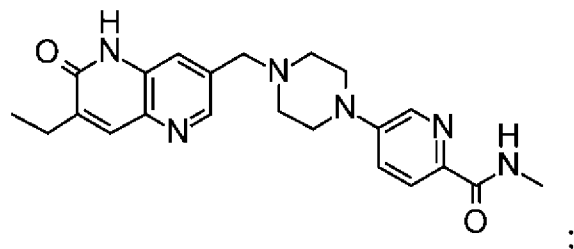
R^3 為 H 或 C_{1-4} 烷基，及

R^4 為 H；

[7]如[6]之醫藥產品，其中於式(Ia)中， R^2 為 H 或鹵素基；

[8]如[6]之醫藥產品，其中於式(Ia)中， R^1 為乙基， R^2 係選自 H、氯基及氟基，且 R^3 為甲基；

[9]如[1]之醫藥產品，其中該 PARP1 選擇性抑制劑為以下式所表示之 AZD5305(亦稱為 AZ14170049)或其醫藥上可接受的鹽，



[10]如[1]至[9]中任一項之醫藥產品，其中該抗HER2抗體為包含下列重鏈及輕鏈的抗體，該重鏈包含由 SEQ ID NO：3 表示的胺基酸序列所組成的 CDRH1[=SEQ ID NO：1 之胺基酸殘基 26 至 33]、由 SEQ ID NO：4 表示的胺基酸序列所組成的 CDRH2[=SEQ ID NO：1 之胺基酸殘基 51 至 58]及由 SEQ ID NO：5 表示的胺基酸序列所組成的 CDRH3[=SEQ ID NO：1 之胺基酸殘基 97 至 109]，該輕鏈包含由 SEQ ID NO：6 表示的胺基酸序列所組成的 CDRL1[=SEQ ID NO：2 之胺基酸殘基 27 至 32]、由由 SEQ ID NO：7 之胺基酸殘基 1 至 3 所組成的胺基酸序列所組成的 CDRL2[=SEQ ID NO：2 之胺基酸殘基 50 至 52]及由 SEQ ID NO：8 表示的胺基酸序列所組成的 CDRL3[=SEQ ID NO：2 之胺基酸殘基 89 至 97]；

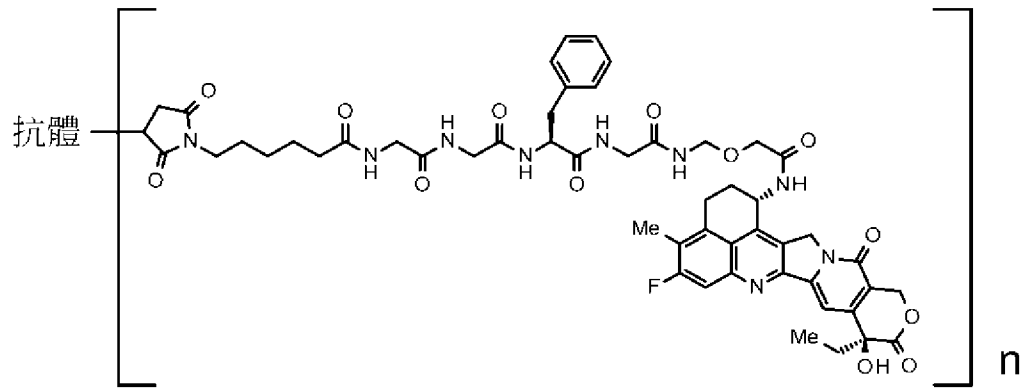
[11]如[1]至[9]中任一項之醫藥產品，其中該抗HER2抗體為包含下列重鏈及輕鏈的抗體，該重鏈包含由 SEQ ID NO：9 表示的胺基酸序列所組成的重鏈可變區[=SEQ ID NO：1 之胺基酸殘基 1 至 120]，該輕鏈包

含由 SEQ ID NO：10 表示的胺基酸序列所組成的輕鏈可變區 [=SEQ ID NO：2 之胺基酸殘基 1 至 107]；

[12]如 [1]至 [9]中任一項之醫藥產品，其中該抗 HER2 抗體為包含由 SEQ ID NO：1 表示的胺基酸序列所組成的重鏈及由 SEQ ID NO：2 表示的胺基酸序列所組成的輕鏈的抗體；

[13]如 [1]至 [9]中任一項之醫藥產品，其中該抗 HER2 抗體為包含由 SEQ ID NO：11 表示的胺基酸序列所組成的重鏈 [=SEQ ID NO：1 之胺基酸殘基 1 至 449] 及由 SEQ ID NO：2 表示的胺基酸序列所組成的輕鏈的抗體；

[14]如 [1]至 [13]中任一項之醫藥產品，其中該抗 HER2 抗體-藥物結合物係以下式表示，



其中「抗體」表示經由硫醚鍵而與藥物-連接子結合的抗 HER2 抗體，且 n 表示於抗體-藥物結合物中每個抗體分子所結合的藥物-連接子之平均單位數，其中 n 為 7 至 8 的範圍中；

[15]如 [1]至 [14]中任一項之醫藥產品，其中該抗 HER2 抗體-藥物結合物為曲妥珠單抗德魯特坎 (DS-8201)；

[16]如[1]至[15]中任一項之醫藥產品，其中該產品為組成物，該組成物包含該抗 HER2 抗體-藥物結合物及該 PARP1 選擇性抑制劑，用於同時投予；

[17]如[1]至[15]中任一項之醫藥產品，其中該產品為組合製劑，該組合製劑包含該抗 HER2 抗體-藥物結合物及該 PARP1 選擇性抑制劑，用於依序或同時投予；

[18]如[1]至[17]中任一項之醫藥產品，其中該產品係用於治療癌症；

[19]如[18]之醫藥產品，其中該癌症為選自由下列組成的群組之至少一者：乳癌、胃癌、大腸直腸癌、肺癌、食道癌、頭頸部癌、食道胃接合處腺癌、膽道癌、佩吉特氏病(Paget's disease)、胰臟癌、卵巢癌、子宮癌肉瘤、泌尿道上皮癌、前列腺癌、膀胱癌、胃腸道間質瘤、消化道間質瘤、子宮頸癌、鱗狀上皮細胞瘤、腹膜癌、肝癌、肝細胞癌、子宮體癌、腎臟癌、外陰部癌、甲狀腺癌、陰莖癌、白血病、惡性淋巴瘤、漿細胞瘤、骨髓瘤、多形性膠質母細胞瘤、骨肉瘤、肉瘤、及黑色素瘤；

[20]如[19]之醫藥產品，其中該癌症為乳癌；

[21]如[20]之醫藥產品，其中該乳癌具有 IHC 3+之 HER2 狀態評分；

[22]如[20]之醫藥產品，其中該乳癌為 HER2 低表現的乳癌；

[23]如[20]之醫藥產品，其中該乳癌具有 IHC 2+之 HER2 狀態評分；

[24]如[20]之醫藥產品，其中該乳癌具有 IHC 1+之 HER2 狀態評分；

[25]如[20]之醫藥產品，其中該乳癌具有 IHC >0 且 <1+之 HER2 狀態評分；

[26]如[20]之醫藥產品，其中該乳癌為三陰性乳癌；

[27]如[18]之醫藥產品，其中該癌症為胃癌；

[28]如[18]之醫藥產品，其中該癌症為大腸直腸癌；

[29]如[18]之醫藥產品，其中該癌症為肺癌；

[30]如[29]之醫藥產品，其中該肺癌為非小細胞肺癌；

[31]如[18]之醫藥產品，其中該癌症為胰臟癌；

[32]如[18]之醫藥產品，其中該癌症為卵巢癌；

[33]如[18]之醫藥產品，其中該癌症為前列腺癌；

[34]如[18]之醫藥產品，其中該癌症為腎臟癌；

[35]一種於治療癌症使用的如[1]至[17]中任一項定義的醫藥產品；

[36]如[25]之使用的醫藥產品，其中該癌症為如[19]至[34]中任一項所定義者；

[37]一種抗 HER2 抗體-藥物結合物或 PARP1 選擇性抑制劑於製造藥物之用途，該藥物用於組合投予抗 HER2 抗體-藥物結合物及 PARP1 選擇性抑制劑以治療癌症，其中該抗 HER2 抗體-藥物結合物及該 PARP1 選擇性抑制劑為如[1]至[15]中任一項所定義者；

[38]如[37]之用途，其中該癌症為如[19]至[34]中任一項所定義者；

[39]如[37]或[38]之用途，其中該藥物為組成物，該組成物包含抗 HER2 抗體-藥物結合物及 PARP1 選擇性抑制劑，用於同時投予；

[40]如[37]或[38]之用途，其中該藥物為組合製劑，該組合製劑包含抗 HER2 抗體-藥物結合物及 PARP1 選擇性抑制劑，用於依序或同時投予；

[41]一種於治療癌症中與 PARP1 選擇性抑制劑組合使用的抗 HER2 抗體-藥物結合物，其中該抗 HER2 抗體-藥物結合物及 PARP1 選擇性抑制劑係如[1]至[15]中任一項所定義者；

[42]如[41]之使用的抗 HER2 抗體-藥物結合物，其中該癌症為如[19]至[34]中任一項所定義者；

[43]如[41]或[42]之使用的抗 HER2 抗體-藥物結合物，其中該使用包含依序投予該抗 HER2 抗體-藥物結合物及該 PARP1 選擇性抑制劑；

[44]如[41]或[42]之使用的抗 HER2 抗體-藥物結合物，其中該使用包含同時投予該抗 HER2 抗體-藥物結合物及該 PARP1 選擇性抑制劑；

[45]一種於受試者中治療癌症使用的抗 HER2 抗體-藥物結合物，其中該治療包含分別、依序或同時對該受試者投予：i) 該抗 HER2 抗體-藥物結合物，及 ii) PARP1 選擇性抑制劑，其中該抗 HER2 抗體-藥物結合物及該 PARP1 選擇性抑制劑係如[1]至[15]中任一項所定義者；

[46]一種於治療癌症中與抗 HER2 抗體-藥物結合物組合使用的 PARP1 選擇性抑制劑，其中該抗 HER2 抗體-藥物結合物及該 PARP1 選擇性抑制劑係如 [1]至 [15]中任一項所定義者；

[47]如 [46]之使用的 PARP1 選擇性抑制劑，其中該癌症為係如 [19]至 [34]中任一項所定義者；

[48]如 [46]或 [47]之使用的 PARP1 選擇性抑制劑，其中該使用包含依序投予抗 HER2 抗體-藥物結合物及 PARP1 選擇性抑制劑；

[49]如 [46]或 [47]之使用的 PARP1 選擇性抑制劑，其中該使用包含同時投予抗 HER2 抗體-藥物結合物及 PARP1 選擇性抑制劑；

[50]一種於受試者中治療癌症使用的 PARP1 選擇性抑制劑，其中該治療包含分別、依序或同時對該受試者投予：i) 該 PARP1 選擇性抑制劑，及 ii) 抗 HER2 抗體-藥物結合物，其中該 PARP1 選擇性抑制劑及該抗 HER2 抗體-藥物結合物係如 [1]至 [15]中任一項所定義者；

[51]一種治療癌症之方法，其包含組合投予如 [1]至 [15]中任一項所定義之抗 HER2 抗體-藥物結合物及 PARP1 選擇性抑制劑至需要其之受試者；

[52]如 [51]之方法，其中該癌症係如 [19]至 [34]中任一項所定義者；

[53]如 [51]或 [52]之方法，其中該方法包含依序投予該抗 HER2 抗體-藥物結合物及該 PARP1 選擇性抑制劑；及

[54]如[51]或[52]之方法，其中該方法包含同時投予該抗 HER2 抗體-藥物結合物及該 PARP1 選擇性抑制劑。

[揭示之有利效果]

【0013】本揭示提供一種醫藥產品，其中組合投予抗 HER2 抗體-藥物結合物及 PARP1 選擇性抑制劑，該抗 HER2 抗體-藥物結合物具有經由連接子結構而與抗 HER2 抗體結合的抗腫瘤藥；及一種治療用途及方法，其中將該特定抗體-藥物結合物及 PARP1 選擇性抑制劑組合投予至受試者。如此，本揭示可提供一種藥物及治療，其於癌症的治療中可獲得優異的抗腫瘤作用。

【圖式簡單說明】

【0014】

圖 1 為顯示抗 HER2 抗體的重鏈之胺基酸序列 (SEQ ID NO：1) 的圖。

圖 2 為顯示抗 HER2 抗體的輕鏈之胺基酸序列 (SEQ ID NO：2) 的圖。

圖 3 為顯示重鏈 CDRH1 之胺基酸序列 (SEQ ID NO：3 [=SEQ ID NO：1 之胺基酸殘基 26 至 33]) 的圖。

圖 4 為顯示重鏈 CDRH2 之胺基酸序列 (SEQ ID NO：4 [=SEQ ID NO：1 之胺基酸殘基 51 至 58]) 的圖。

圖 5 為顯示重鏈 CDRH3 之胺基酸序列 (SEQ ID NO：5 [=SEQ ID NO：1 之胺基酸殘基 97 至 109]) 的圖。

圖 6 為顯示輕鏈 CDRL1 之胺基酸序列 (SEQ ID NO：6 [=SEQ ID NO：2 之胺基酸殘基 27 至 32]) 的圖。

圖 7 為顯示包含輕鏈 CDRL2(SAS)之胺基酸序列的胺基酸序列 (SEQ ID NO : 7 [=SEQ ID NO : 2 之胺基酸殘基 50 至 56])的圖。

圖 8 為顯示輕鏈 CDRL3 之胺基酸序列 (SEQ ID NO : 8 [=SEQ ID NO : 2 之胺基酸殘基 89 至 97])的圖。

圖 9 為顯示重鏈可變區之胺基酸序列 (SEQ ID NO : 9 [=SEQ ID NO : 1 之胺基酸殘基 1 至 120])的圖。

圖 10 為顯示輕鏈可變區之胺基酸序列 (SEQ ID NO : 10 [=SEQ ID NO : 2 之胺基酸殘基 1 至 107])的圖。

圖 11 為顯示重鏈之胺基酸序列 ((SEQ ID NO : 11 [=SEQ ID NO : 1 之胺基酸殘基 1 至 449])的圖。

圖 12A 及 12B 為顯示於具高 HER2 表現的細胞系中組合 DS-8201 與 AZD5305(AZ14170049 ; PARP1 選擇性抑制劑)之高通量篩選獲得的組合矩陣的圖。

圖 13A 及 13B 為顯示於具低 HER2 表現的細胞系中組合 DS-8201 與 AZD5305 之高通量篩選獲得的組合矩陣的圖。

圖 14 為顯示於以 DS-8201 組合 AZD5305 處理的細胞系中組合 Emax 及勒韋協同分數 (Loewe synergy score) 的圖。

圖 15A 及 15B 為顯示於具有低或高 HER2 表現的細胞系中組合 DS-8201 及 AZD5305 的組合矩陣的圖。

圖 16A 及 16B 分別顯示合成例 4 A 型之 X 射線繞射圖及代表性 DSC 記錄曲線。

圖 17 為顯示活體內單獨以 DS-8201 或 AZD5305 處理或 DS-8201 與 AZD5305 組合處理之腫瘤體積的圖。虛線代表 AZD5305 投劑期的結束。

圖 18A、18B 及 18C 為顯示組合 DS-8201 與 AZD5305 於具低或高 HER2 表現的 NSCLC 細胞系中高通量篩選獲得的組合矩陣的圖。

圖 19A、19B 及 19C 為顯示組合 DS-8201 與 AZD5305 於具 HER2-突變體表現的尿道癌細胞系中高通量篩選獲得的組合矩陣的圖。

【實施方式】

【0015】為了使本揭示可更容易被了解，首先定義某些術語。於整個詳細說明中闡述另外的定義。

【0016】於詳細描述本揭示之前，應了解本揭示並未被限定於特定組成或方法步驟，因此可能會變化。如於本說明書及所附申請專利範圍中使用，單數形式「一」、「一個」、「該」包括複數形式，除非上下文另有明確規定。術語「一」(或「一個」)以及術語「一個或多個」和「至少一個」在本文中可互換使用。

【0017】此外，本文使用的「及/或」將被視為兩個特定特徵或組件(包含或不包含另一個)的每一個的具體公開。如此，如本文中「A 及/或 B」的短語中使用的術語「及/或」係意圖包括「A 及 B」、「A 或 B」、單獨「A」、單獨「B」。同樣地，在如「A、B、及/或 C」短語中使用的術語「及/或」係意圖涵蓋以下每一態樣：A、B、及 C；A、B、或 C；A 或 C；A 或 B；B 或

C；A 及 C；A 及 B；B 及 C；A(單獨)；B(單獨)；及 C(單獨)。

【0018】除非另有定義，本文使用的所有技術及科學術語將具有如本揭示相關技術領域中具通常知識者通常所了解的相同意義。例如，the Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press；The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press；及 the Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press，為技術人員提供本揭示中使用的許多術語的通用詞典。

【0019】單位、前綴詞及符號以其國際單位制 (Système International de Unites (SI)) 接受的形式表示。數字範圍包括定義範圍的數字。

【0020】應理解，在本文中措詞「包含」描述態樣的任何方面，亦提供以「由...組成」及/或「基本上由...組成」的措詞描述的其它類似態樣。

【0021】本文中可互換使用術語「抑制」、「阻斷」、及「壓制」且指生物活性的任何統計學上地顯著降低，包括完全阻斷活性。例如，「抑制」可指於生物活性降低約 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或 100%。可使用本領域公認的技術測定細胞增殖，此等技術測量細胞分裂的速率，及/或經歷細胞分裂的細胞族群內的細胞比，及/或由於終末分化或細胞死亡而從細胞族群中損失的細胞的速率(例如，胸苷摻入(thymidine incorporation))。

【0022】術語「受試者」係指任何動物(例如，哺乳動物)，包括但不限於人類、非人類靈長類、嚙齒類等，為特定治療的接受者。通常，就人類受試者而言，本文中可交換使用術語「受試者」及「患者」。

【0023】術語「醫藥產品」係指一種製劑，其形式允許活性成分具有生物活性，或者作為含有所有活性成分(用於同時投予)的組成物，或者作為各別組成物的組合(組合製劑)各自含有至少一種但不是全部的活性成分(用於依序或同時投予)，且不含有對將要投予該產品的受試者具有不可接受的毒性的額外成分。此種產品可為無菌的。「同時投予」意指同時投予活性成分。「依序投予」意指活性成分以任一順序在單次投予之間的時間間隔一個接一個地投予。時間間隔可為例如小於 24 小時，較佳小於 6 小時，更佳小於 2 小時。

【0024】術語如「治療」或「處理」或「對待」或「緩解」或「減輕」係指下列兩者：(1)治愈、減緩、減輕已診斷病理狀況或失調的症狀及/或阻止其進展的治療措施；及(2)預防及/或減緩目標病理狀況或失調發展的預防或防止措施。如此，彼等需要治療者包括彼等已經患有此失調者；彼等易於患有此失調者；以及彼等需要預防此失調者。於某些態樣，若患者表現出例如某種類型癌症的完全、部分或暫時緩解，則根據本揭示之方法成功地「治療」了受試者的癌症。

【0025】術語「癌症」、「腫瘤」、「癌性」、及「惡性」係指或描述描述哺乳動物的生理狀況中通常以

不受調節的細胞生長為特徵者。癌症之例包括但不限於，乳癌、胃癌、大腸直腸癌、肺癌、食道癌、頭頸部癌、食道胃接合處腺癌、膽道癌、佩吉特氏病、胰臟癌、卵巢癌、子宮癌肉瘤、泌尿道上皮癌、前列腺癌、膀胱癌、胃腸道間質瘤、消化道間質瘤、子宮頸癌、鱗狀上皮細胞瘤、腹膜癌、肝癌、肝細胞癌、子宮體癌、腎臟癌、外陰部癌、甲狀腺癌、陰莖癌、白血病、惡性淋巴瘤、漿細胞瘤、骨髓瘤、多形性膠質母細胞瘤、骨肉瘤、肉瘤、及黑色素瘤。癌症包括血液科惡性疾病如急性骨髓性白血病、多發性骨髓瘤、慢性淋巴球性白血病、瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤、伯奇氏淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)、濾泡性淋巴瘤及實性瘤如乳癌、肺癌、神經胚細胞瘤及大腸癌症。

【0026】如本文所使用，術語「細胞毒性劑」定義廣泛，指抑制或防止細胞功能及/或引起細胞破壞(細胞死亡)及/或發揮抗腫瘤/抗增殖作用的物質。例如，細胞毒性劑直接或間接地防止贅生腫瘤細胞的發育、成熟或擴散。該術語亦包括僅引起細胞增殖抑制作用而不僅僅是細胞毒性作用的此類藥劑。該術語包括如下所具體陳述的化學治療劑，以及其它 HER2 拮抗劑、抗血管生成劑、酪胺酸激酶抑制劑、蛋白質激酶 A 抑制劑、細胞激酶家族成員、放射性同位素、及毒素(如細菌、真菌、植物或動物來源的酶活性毒素)。

【0027】術語「化學治療劑」為術語「細胞毒性劑」的子集，包括天然或合成的化合物。

【0028】根據本揭示之方法或用途，可將本揭示的化合物投予至患者以促進關於癌症的陽性治療反應。關於癌症治療的術語「陽性治療反應」係指與疾病相關的症狀的改善。例如，疾病的改善可表徵為完全反應。術語「完全反應」係指不存在臨床上可檢測的疾病，且任何先前的試驗結果均正常化。或者，疾病的改善可歸類為部分反應。「陽性治療反應」涵蓋癌症的進展及/或持續時間的減輕或抑制、癌症嚴重性的減輕或改善、及/或由投予本揭示化合物造成的其一種或多種症狀的改善。於特定態樣，此類術語係指投予本揭示化合物後的一種、兩種或三種或更多種的結果：

- (1) 癌細胞族群的穩定、減少或消除；
- (2) 癌症生長的穩定或減少；
- (3) 癌症形成的減損；
- (4) 原發性、區域性及/或轉移性癌症的根除、移除或控制；
- (5) 死亡率的降低；
- (6) 無病、無復發、無進展、及/或總生存期、持續時間或速率的增加；
- (7) 反應或緩解患者的反應率、反應持久性、或數量的增加；
- (8) 住院率降低；
- (9) 住院期間減少；
- (10) 癌症的大小被維持且不增加或增加小於10%，較佳小於5%，較佳小於4%，較佳小於2%；及

(11) 緩解患者的數量增加；

(12) 否則治療癌症所需的輔助療法(例如，化學療法或荷爾蒙療法)的數量減少。

【 0029 】 可以使用篩選技術評估臨床反應，如 PET、磁共振造影(MRI)掃描、X 射線造影、電腦斷層(CT)掃描、流式細胞分析技術或螢光激發細胞分選儀(FACS)分析、組織學、大體病理學、及血液化學，包括但不限於可藉由 ELISA、RIA、色層法等檢測到的變化。除了此等陽性治療反應之外，接受治療的受試者可經歷與疾病相關的症狀改善的有益效果。

【 0030 】 烷基及基團為直鏈或分支鏈，例如， C_{1-8} 烷基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-4} 烷基或 C_{5-6} 烷基。烷基之例為甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、三級丁基、正戊基、正己基、正庚基及正辛基，如甲基或正己基。

【 0031 】 氟烷基為烷基中一個或多個 H 原子被一個或多個氟原子替代，例如， C_{1-8} 氟烷基、 C_{1-6} 氟烷基、 C_{1-4} 氟烷基或 C_{5-6} 氟烷基。示例包括氟甲基(CH_2F-)、二氟甲基(CHF_2-)、三氟甲基(CF_3-)、2,2,2-三氟乙基(CF_3CH_2-)、1,1-二氟乙基(CH_3CHF_2-)、2,2-二氟乙基(CHF_2CH_2-)、及 2-氟乙基(CH_2FCH_2-)。

【 0032 】 鹵素基意指氟基、氯基、溴基、及碘基。於一具體實施例，鹵基為氟基或氯基。

【 0033 】 如本文所使用，短語「有效量」意指足以顯著且積極地改變待治療的症狀及/或病況的化合物或組成物的量(例如，提供陽性臨床反應)。於醫藥產品中

使用的活性成分的有效量將隨著下列因素而變化：所治療的特定病況、病況的嚴重程度、治療的持續時間、同時治療的性質、所使用的特定活性成分、利用的特定醫藥上可接受的賦形劑/載體、於主治醫師的知識和專長中的類似因素。尤其，與抗體-藥物結合物組合用於治療癌症的化合物的有效量為使得該組合足以在溫血動物如人類中對症地緩解癌症症狀、減緩癌症進展、或降低有癌症症狀的患者病情惡化的風險的量。

【0034】於本說明書，除非另有陳明，如本文所使用，術語「醫藥上可接受的」係指彼等化合物、材料、組成物、及/或劑型，在合理的醫學判斷範圍內，適合使用於與人類和動物組織接觸而沒有過度毒性、刺激性、過敏反應或其它問題或併發症，並與合理的利益/風險比相稱。

【0035】應理解，式(I)化合物可形成穩定的醫藥上可接受的酸或鹼鹽，於這種情形，化合物作為鹽的投予可能為適合的。酸加成鹽之例包括乙酸鹽、己二酸鹽、抗壞血酸鹽、苯甲酸鹽、苯磺酸鹽、碳酸氫鹽、硫酸氫鹽、丁酸鹽、樟腦酸鹽、樟腦磺酸鹽、膽鹼、檸檬酸鹽、環己基胺基磺酸鹽、二仲乙基二胺、乙磺酸鹽、反丁烯二酸鹽、麩胺酸鹽、乙醇酸鹽、半硫酸鹽、2-羥乙基-磺酸鹽、庚酸鹽、己酸鹽、鹽酸鹽、氫溴酸鹽、氫碘酸鹽、羥基馬來酸鹽、乳酸鹽、蘋果酸鹽、馬來酸鹽、甲磺酸鹽、葡甲胺(meglumine)、2-萘磺酸鹽、硝酸鹽、草酸鹽、雙羥萘酸鹽(pamoate)、過硫酸鹽、苯乙

酸鹽、磷酸鹽、二磷酸鹽、苦味酸鹽、新戊酸鹽、丙酸鹽、奎尼酸鹽(quininate)、水楊酸鹽、硬脂酸鹽、琥珀酸鹽、胺基磺酸鹽、對胺基苯磺酸鹽、硫酸鹽、酒石酸鹽、甲苯磺酸鹽(對甲苯磺酸鹽)、三氟乙酸鹽及十一酸鹽。較佳為無毒的生理學上可接受的鹽，儘管其它鹽可為有用的，如用於分離或純化產物。

【0036】鹽可藉由常規手段形成，如藉由使產物的游離鹼形式與一當量或多當量的適當酸，在鹽不溶於其中的溶劑或介質中或在如水的溶劑中反應，在真空中或藉由冷凍乾燥去除，或藉由在適合的離子交換樹脂上將現有鹽的陰離子交換為另一種陰離子而去除。

【0037】式(I)化合物可具有多於一個手性中心，應理解本申請案涵蓋所有單獨的立體異構物、對映異構物及非對映異構物及其混合物。如此，應理解，就式(I)化合物可憑藉一個或多個不對稱碳原子而以光學活性或外消旋形式存在而言，本申請案在其定義中包括任何此類光學活性或外消旋形式，該形式具有上述活性。本申請案涵蓋具有如本文定義的活性的所有此類立體異構物。

【0038】如此，在整個說明書中，當提及式(I)化合物時，應理解術語化合物包括為 PARP1 抑制劑的非對映異構物、非對映異構物的混合物、及對映異構物。

【0039】亦應理解，某些式(I)化合物及其醫藥上的鹽可溶劑化物以及非溶劑化物形式存在，例如，水合物及無水物形式。應理解，本文中的化合物涵蓋所有此種溶劑化物形式。為了清楚起見，此包括化合物之游離形

式之溶劑化物(例如，水合物)形式，以及化合物的鹽之溶劑化物(例如，水合物)形式。

【0040】式(I)化合物之一些可為結晶狀且可具有超過一種的結晶型。應理解，本揭示涵蓋具有 PARP1 選擇性抑制活性的任何結晶或非晶形式或其混合物。眾所周知，結晶材料可以使用常規技術例如 X 射線粉末繞射(以下稱為 XRPD)分析和差示掃描量熱法(DSC)進行分析。

【0041】如本文所述的式(I)意圖涵蓋其組成原子的所有同位素。例如，H(或氫)包括氫的任何同位素形式，包括 ^1H 、 ^2H (D)、及 ^3H (T)；C 包括碳的任何同位素形式，包括 ^{12}C 、 ^{13}C 、及 ^{14}C ；O 包括氧的任何同位素形式，包括 ^{16}O 、 ^{17}O 及 ^{18}O ；N 包括氮的任何同位素形式，包括 ^{13}N 、 ^{14}N 及 ^{15}N ；F 包括氟的任何同位素形式，包括 ^{19}F 及 ^{18}F 等。於一態樣，式(I)化合物包括與它們天然存在的豐度相對應的量的覆蓋在其中的原子的同位素。然而，於某些情形，可能需要通常存在較低豐度的特定同位素中富集一個或多個原子。例如， ^1H 通常以大於 99.98% 的豐度存在；然而，於一態樣，本文呈現的任何式的化合物可在其中存在 H 的一個或多個位置富含 ^2H 或 ^3H 。於另一態樣，當本文提供的任何式的化合物富含放射性同位素時，例如 ^3H 及 ^{14}C ，該化合物可有用於藥物及/或受質組織分布測定。應理解，本申請案涵蓋所有此類同位素形式。

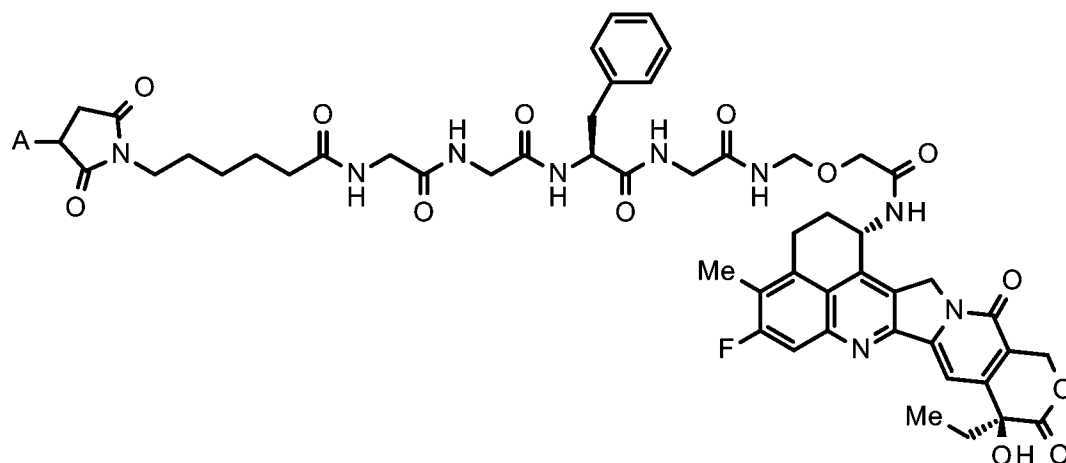
[具體實施例的描述]

【0042】下文，描述用於實施本揭示的較佳模式。下面描述的具體實施例僅用於說明本揭示的典型具體實施例之一例，並未意圖限制本揭示之範疇。

【0043】

1. 抗體-藥物結合物

本揭示中使用的抗體-藥物結合物為下式所表示的藥物-連接子經由硫醚鍵而與抗 HER2 抗體結合之抗體-藥物結合物，

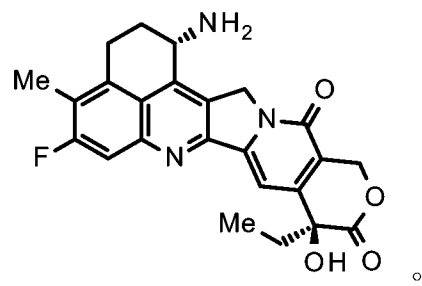


其中 A 表示與抗體的連結位置。

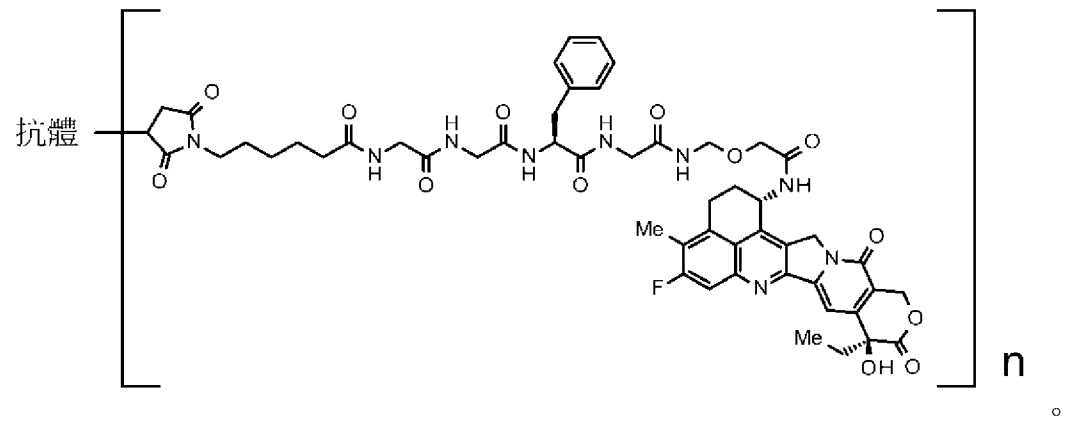
【0044】於本揭示，將抗體-藥物結合物中由連接子及藥物所組成的部分結構稱為「藥物-連接子」。藥物-連接子連接至在抗體的鏈間雙硫鍵部位(2 處的重鏈-重鏈間、及 2 處的重鏈-輕鏈間)所產生的硫醇基(換言之，半胱胺酸殘基之硫原子)。

【0045】本揭示之藥物-連接子包括作為組分之依喜替康 (IUPAC 名：(1S,9S)-1-胺基-9-乙基-5-氟-1,2,3,9,12,15-六氫-9-羥基-4-甲基-10H,13H-苯并[de]哌

喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮(亦可表示為化學名：(1S,9S)-1-胺基-9-乙基-5-氟-2,3-二氫-9-羥基-4-甲基-1H,12H-苯并[de]哌喃并[3',4':6,7]吡啶并[1,2-b]喹啉-10,13(9H,15H)-二酮))，其為拓模異構酶 I 抑制劑。依喜替康為具有抗腫瘤作用之喜樹鹼衍生物，以下式表示：

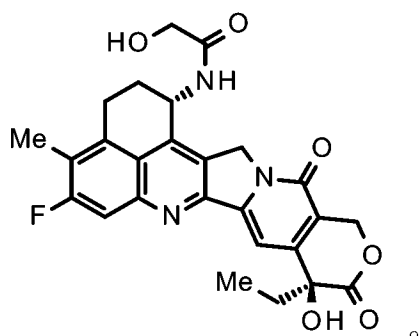


【0046】本揭示中使用的抗 HER2 抗體-藥物結合物亦能以下式表示：



【0047】此處，藥物-連接子經由硫醚鍵與抗 HER2 抗體(「Antibody-」)結合。n 之意義與所謂的藥物分子結合的平均數(DAR；藥物對抗體比)同義，表示每抗體分子結合的藥物-連接子之平均單位數。

【0048】於移行至癌細胞內後，本揭示中使用的抗 HER2 抗體-藥物結合物於連接子位置被切割以釋放下式所表示的化合物：



【0049】推斷此化合物為本揭示中使用的抗體-藥物結合物的抗腫瘤活性的原始來源，且已確認有拓撲異構酶 I 抑制作用 (Ogitani Y. et al., Clinical Cancer Research, 2016, Oct 15 ; 22(20) : 5097-5108, Epub 2016 Mar 29)。

【0050】本揭示中使用的抗 HER2 抗體-藥物結合物具有旁觀者效應 (bystander effect)(Ogitani Y. et al., Cancer Science (2016) 107, 1039-1046)。旁觀者效應通過本揭示中使用的抗體-藥物結合物在表現標的之癌細胞中內化的過程而發揮，然後釋放的化合物亦對存在於其周圍但不表現標的之癌細胞發揮抗腫瘤作用。即使當抗 HER2 抗體-藥物結合物與依據本揭示之 PARP1 選擇性抑制劑組合使用時，亦發揮此種旁觀者效應而呈優異的抗腫瘤作用。

【0051】
2.抗體-藥物結合物中的抗體

本揭示中使用的抗體-藥物結合物中的抗 HER2 抗體可衍生自任何物種，較佳為衍生自人類、大鼠、小鼠、或兔的抗 HER2 抗體。於抗體衍生自其它非人類物種的物種時的情形，較佳使用習知技術將其嵌合或人類化。抗 HER2 抗體可為多株抗體或單株抗體，且較佳為單株抗體。

【0052】本揭示中使用的抗體-藥物結合物中的抗體為較佳具有能夠靶向癌細胞的特徵的抗 HER2 抗體，且較佳為具有下列特性的抗體，例如，識別癌細胞的特性、與癌細胞結合的特性、內化至癌細胞中的特性及/或針對癌細胞的殺細胞活性。

【0053】抗 HER2 抗體對癌細胞的結合活性可使用流式細胞分析技術證實。抗體內化至癌細胞可使用下列確認：(1)使用與治療抗體結合的二級抗體(經螢光標記)，於螢光顯微鏡下，將被併入進細胞內的抗體進行可視化的分析(Cell Death and Differentiation (2008) 15, 751-761)，(2)使用與治療抗體結合的二級抗體(經螢光標記)，測定被併入進細胞內的螢光強度的分析(Molecular Biology of the Cell, Vol. 15, 5268-5282, December 2004)，或(3)使用與治療抗體結合的免疫毒素，其中當被併入至細胞內便釋放毒素而抑制細胞生長的 Mab-ZAP 分析(Bio Techniques 28: 162-165, January 2000)。作為免疫毒素，亦可使用白喉毒素的觸媒區與蛋白質 G 之重組複合蛋白質。

【0054】抗 HER2 抗體之抗腫瘤活性可藉由測定抗細胞生長的抑制活性而確認。例如，培養為過度表現為抗體標的蛋白質的 HER2 的癌細胞系，於各種濃度下添加抗體至培養系統中以測定對病灶形成(focus formation)、群落形成(colony formation)及球體(spheroid)增殖的抑制活性。於活體內可確認此抗腫瘤活性，例如，藉由投予抗體至已移植高度表現標的蛋白質的癌細胞系的裸鼠，並測定癌細胞中的改變。

【0055】由於抗 HER2 抗體-藥物結合物中結合的化合物發揮抗腫瘤作用，因此抗 HER2 抗體本身應有抗腫瘤作用為較佳，但非必須。為了特異性和選擇性地發揮抗腫瘤化合物對癌細胞的細胞毒活性，重要且亦為較佳者為抗 HER2 抗體應具有內化以遷移至癌細胞的特性。

【0056】本揭示中使用的抗體-藥物結合物中的抗 HER2 抗體，可藉由已知程序而獲得。例如，使用此領域所通常實施的方法可獲得本揭示之抗體，此涉及以抗原性多肽對動物進行免疫，並收集及純化活體內產生的抗體。抗體的來源並不限於人類，可將源自如小鼠、大鼠等非人類的動物的抗原對動物進行免疫。在此情形，可測試結合獲得的異源性抗原的抗體與人類抗原的交叉反應性，以篩選適用於人類疾病的抗體。

【0057】或者，依據本領域已知的方法將產生針對抗原的抗體的產生抗體的細胞與骨髓瘤細胞融合(例如，Kohler and Milstein, *Nature* (1975) 256, p. 495-497；及 Kennet, R. ed., *Monoclonal Antibodies*, p. 365-367, Plenum Press, N.Y. (1980))以建立融合瘤，進而可從中獲得單株抗體。

【0058】可藉由基因工程宿主細胞以產生編碼抗原蛋白質的基因而獲得抗原。具體而言，製備允許表現抗原基因的載體並將其轉移至宿主細胞因而表現基因。可純化如此表現的抗原。亦可藉由上述基因工程改造的抗原表現細胞或表現抗原的細胞系對動物進行免疫接種的方法而獲得抗體。

【0059】本揭示使用的抗體-藥物結合物中的抗HER2 抗體較佳為降低對人類的異種抗原性等為目的而人工修飾獲得的重組抗體，如嵌合抗體或人類化抗體，或較佳為僅具有源自人類的抗體的基因序列之抗體，即人類抗體。此等抗體可使用已知方法生產。

【0060】作為嵌合抗體，抗體中抗體可變區及恒定區係衍生自不同物種，可例示例如，衍生自小鼠或大鼠的抗體可變區與源自人類的抗體恒定區接合的嵌合抗體(Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81, 6851-6855, (1984))。

【0061】作為人類化抗體，可例示藉由僅將異源性抗體的互補決定區(CDR)整合到衍生自人類的抗體而獲得的抗體(Nature (1986) 321, pp. 522-525)、藉由 CDR 接枝法(CDR-grafting method)將異源性抗體之框架的部分胺基酸殘基以及異源性抗體的 CDR 序列接枝至人類抗體而獲得的抗體(WO 90/07861)、及使用基因轉換誘變策略而人類化的抗體(U.S.專利號 5821337)。

【0062】作為人類抗體，可例示藉由使用具有人類染色體片段的產生人類抗體的小鼠產生的抗體，該人類染色體片段包括人類抗體之重鏈及輕鏈基因(參見，Tomizuka, K. et al., Nature Genetics (1997) 16, p.133-143；Kuroiwa, Y. et. al., Nucl. Acids Res. (1998) 26, p.3447-3448；Yoshida, H. et. al., Animal Cell Technology: Basic and Applied Aspects vol.10, p.69-73 (Kitagawa, Y., Matsuda, T. and Iijima, S. eds.), Kluwer Academic Publishers, 1999；Tomizuka, K. et. al., Proc.

Natl. Acad. Sci. USA(2000) 97, p.722-727 等)。作為其它替代方式，可例示藉由噬菌體展示(phage display)獲得的抗體，該抗體選自人類抗體庫(參見，Wormstone, I. M. et. al, Investigative Ophthalmology & Visual Science. (2002)43 (7), p.2301-2308；Carmen, S. et. al., Briefings in Functional Genomics and Proteomics (2002), 1(2), p.189-203；Siriwardena, D. et. al., Ophthalmology (2002) 109(3), p.427-431 等)。

【0063】於本揭示，亦包括本揭示中使用的抗體-藥物結合物中的抗 HER2 抗體之經修飾的變異體。經修飾的變異體係指藉由對根據本揭示的抗體進行化學或生物學修飾而獲得的變異體。經化學修飾的變異體之例包括：包括化學部分與胺基酸骨架的連接的變異體、包括化學部分與 N-連接或 O-連接的碳水化合物鏈的連接的變異體等。經生物學修飾的變異體之例包括：經轉譯後修飾(如 N-連接或 O-連接的糖基化、N 端或 C 端的加工、脫醯胺化、天冬胺酸的異構化、甲硫胺酸的氧化)；及藉由在原核宿主細胞中表現，將甲硫胺酸殘基加成到 N 端的變異體。又，經修飾的變異體的意義中亦包括標記以便能夠檢測或單離依據本揭示之抗體或抗原之抗體，例如經酵素標記的抗體、經螢光標記的抗體、經親和力標記的抗體。此種依據本揭示之抗體之經修飾的變異體係有用於改善抗體的穩定性及血中滯留性、減低其抗原性、偵測或單離抗體或抗原等。

【0064】再者，依據本揭示，藉由調節與抗體連接的聚醣的修飾(醣基化、去岩藻糖基化等)，可能增強抗體依賴性細胞毒活性。作為調節抗體聚醣修飾的技術，已知揭示於 WO99/54342、WO00/61739、WO02/31140、WO2007/133855、WO2013/120066 等者。然而，技術並不限於此等。於依據本揭示之抗 HER2 抗體，亦包括其中調節聚醣修飾的抗體。

【0065】已知在培養的哺乳動物細胞中產生的抗體之重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失(*Journal of Chromatography A*, 705: 129-134 (1995))，且亦已知在培養的哺乳動物細胞中產生的抗體之重鏈羧基末端的兩個胺基酸殘基(甘胺酸及離胺酸)缺失且重新位於羧基末端的脯胺酸殘基被醯胺化(*Analytical Biochemistry*, 360: 75-83 (2007))。然而，此種重鏈序列的缺失及修飾不影響抗體之抗原結合親和力及效應子功能(*effector function*)(補體的活化、抗體依賴性細胞毒性作用等)。因此，於依據本揭示之抗 HER2 抗體，亦包括歷經此種修飾的抗體及抗體之功能片段，且亦包括重鏈之羧基末端刪除一個或兩個胺基酸的缺失變異體、藉由缺失變異體的醯胺化獲得的變異體(例如，羧基末端脯胺酸殘基已被醯胺化的重鏈)等。只要保留抗原結合親和力及效應子功能，則依據本揭示之抗 HER2 抗體的重鏈的羧基末端具有缺失的缺失變異體的類型不限於上述變異體。構成依據本揭示之抗體的兩條重鏈可為一種類型所構成(該類型為選自由全長重鏈和上述缺失變異體所組成的

群組)，或可為選自其中組合的兩種類型所構成。各缺失變異體的量比可受到產生依據本揭示之抗 HER2 抗體的哺乳動物培養細胞的種類及培養條件影響；然而較佳可例示依據本揭示之抗體中兩條重鏈兩者的羧基末端的一個胺基酸殘基已被刪除者。

【0066】作為依據本揭示之抗 HER2 抗體的同型(isotype)，可例示例如，IgG (IgG1、IgG2、IgG3、IgG4)，較佳可例示 IgG1 或 IgG2。

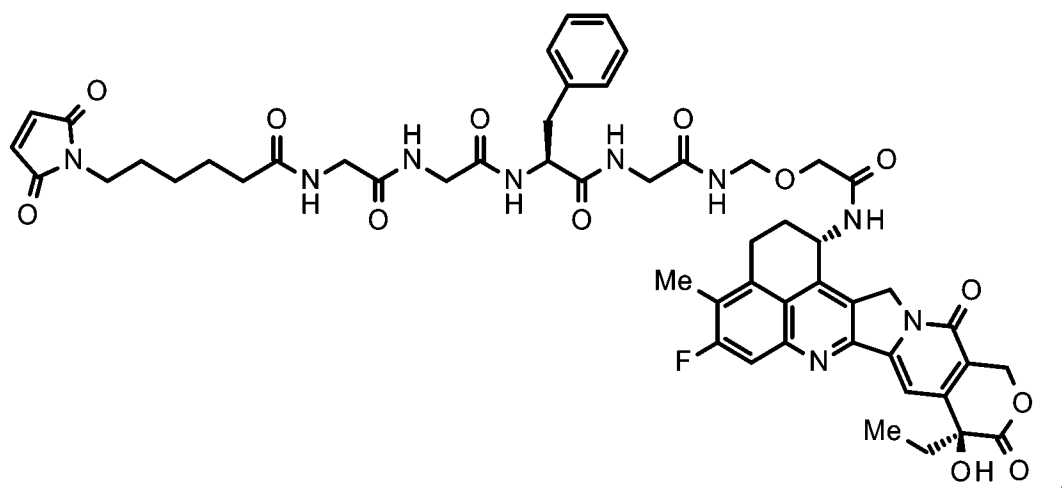
【0067】於本揭示，術語「抗 HER2 抗體」係指與 HER2(人類表皮生長因子受體第 2 型(Human Epidermal Growth Factor Receptor Type 2)；ErbB-2)特異性結合的抗體，較佳藉由與 HER2 結合而具有在表現 HER2 的細胞中內化的活性。

【0068】抗 HER2 抗體之例包括曲妥珠單抗(U.S.專利號 5821337) 及 帕妥珠單抗 (pertuzumab) (WO01/00245)，較佳可例示曲妥珠單抗。

【0069】

3. 抗體-藥物結合物之生產

於生產依據本揭示之抗 HER2 抗體-藥物結合物中使用的藥物-連接子中間體係以下式表示：



【0070】藥物-連接子中間體可表示為化學名 N-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯基-N-[(2-{[(1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羥基-4-甲基-10,13-二側氧基-2,3,9,10,13,15-六氫-1H,12H-苯并[de]哌喃并[3',4':6,7]吲哚并[1,2-b]喹啉-1-基]胺基}-2-側氧基乙氧基)甲基]甘胺醯胺，且可參考 WO2014/057687、WO2015/098099、WO2015/115091、WO2015/155998、WO2019/044947 等中的描述而生產。

【0071】藉由將上述藥物-連接子中間體與具有硫醇基(亦稱為硫氫基)的抗 HER2 抗體反應，可生產本揭示中使用的抗 HER2 抗體-藥物結合物。

【0072】具有硫氫基的抗 HER2 抗體可藉由本領域眾所周知的方法獲得(Hermanson, G. T, Bioconjugate Techniques, pp. 56-136, pp. 456-493, Academic Press (1996))。例如，藉由按照於抗體的鏈間雙硫鍵使用 0.3 至 3 莫耳當量之還原劑，如參(2-羧基乙基)膦鹽酸鹽(TCEP)，與抗體於含有螯合劑如乙二胺四乙酸(EDTA)的緩衝劑溶液中反應，可獲得抗體中的鏈間雙硫鍵被部分或完全還原之具有硫氫基的抗 HER2 抗體。

【0073】再者，藉由按照具有硫氫基的抗 HER2 抗體，使用 2 至 20 莫耳當量之藥物-連接子中間體，可生產抗 HER2 抗體-藥物結合物中有 2 至 8 個藥物分子結合者。

【0074】產生的抗體-藥物結合物的每一抗 HER2 抗體分子結合的藥物分子的平均數可以例如藉由如下來測定：基於抗體-藥物結合物與其結合物前驅物於 280nm 及 370nm 的二波長之 UV 吸光度的測量而計算之方法(UV 法)，或基於通過測量以還原劑處理抗體-藥物結合物所獲得的片段而計算之方法(HPLC 法)。

【0075】抗 HER2 抗體與藥物-連接子中間體之間的結合及抗體-藥物結合物之每一抗體分子之結合的藥物分子之平均數之計算可參考於 WO2014/057687、WO2015/098099、WO2015/115091、WO2015/155998、WO2017/002776、WO2018/212136 等之描述而進行。

【0076】於本揭示，術語「抗 HER2 抗體-藥物結合物」係指抗體-藥物結合物，使依據本揭示之抗體-藥物結合物中抗體為抗 HER2 抗體。

【0077】抗 HER2 抗體較佳為包含重鏈及輕鏈之抗體，該重鏈包含由 SEQ ID NO：1 之胺基酸殘基 26 至 33 所組成的胺基酸序列所組成的 CDRH1、由由 SEQ ID NO：1 之胺基酸殘基 51 至 58 所組成的胺基酸序列所組成的 CDRH2、及由 SEQ ID NO：1 之胺基酸殘基 97 至 109 所組成的胺基酸序列所組成的 CDRH3；該輕鏈包含由由 SEQ ID NO：2 之胺基酸殘基 27 至 32 所組成的胺

基 酸 序 列 所 組 成 的 CDRL1、由 由 SEQ ID NO：2 之 胺 基 酸 殘 基 50 至 52 所 組 成 的 胺 基 酸 序 列 所 組 成 的 CDRL2、及 由 由 SEQ ID NO：2 之 胺 基 酸 殘 基 89 至 97 所 組 成 的 胺 基 酸 序 列 所 組 成 的 CDRL3；更 佳 地 為 包 含 重 鏈 及 輕 鏈 之 抗 體，該 重 鏈 包 含 由 由 SEQ ID NO：1 之 胺 基 酸 殘 基 1 至 120 所 構 成 的 胺 基 酸 序 列 所 構 成 的 重 鏈 可 變 區，該 輕 鏈 包 含 由 由 SEQ ID NO：2 之 胺 基 酸 殘 基 1 至 107 所 構 成 的 胺 基 酸 序 列 所 構 成 的 輕 鏈 可 變 區；甚 至 更 佳 地 為 包 含 由 SEQ ID NO：1 表 示 的 胺 基 酸 序 列 所 組 成 的 重 鏈 及 由 SEQ ID NO：2 所 表 示 的 胺 基 酸 序 列 所 組 成 的 輕 鏈 之 抗 體，或 包 含 由 SEQ ID NO：1 之 胺 基 酸 殘 基 1 至 449 所 組 成 的 重 鏈 及 由 由 SEQ ID NO：2 之 所 有 胺 基 酸 殘 基 1 至 214 所 組 成 的 胺 基 酸 序 列 所 組 成 的 輕 鏈 之 抗 體。

【0078】抗 HER2 抗 體-藥 物 結 合 物 中 與 每 一 抗 體 分 子 結 合 的 藥 物-連 接 子 的 平 均 單 位 數 較 佳 為 2 至 8，更 佳 為 3 至 8，又 更 佳 為 7 至 8，再 更 佳 為 7.5 至 8，且 又 更 佳 為 約 8。

【0079】本 揭 示 中 使 用 的 抗 HER2 抗 體-藥 物 結 合 物 可 參 考 於 WO2015/115091 等 中 所 描 述 者 而 生 產。

【0080】於 較 佳 具 體 實 施 例，抗 HER2 抗 體-藥 物 結 合 物 為 曲 妥 珠 單 抗 德 魯 特 坎 (DS-8201)。

【0081】

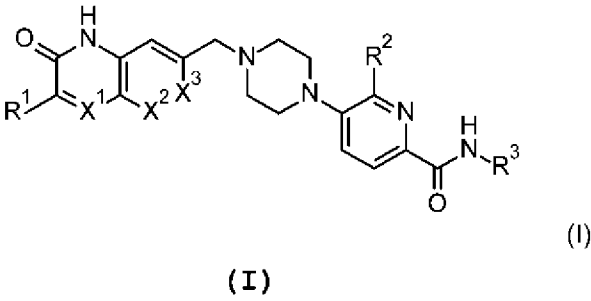
4. PARP1 選 擇 性 抑 制 劑

於 本 揭 示，術 語「PARP1 選 擇 性 抑 制 劑」係 指 對 PARP1 表 現 出 優 於 其 它 PARP 家 族 成 員 (如 PARP2、

PARP3、PARP5a、及 PARP6)的 PARP 抑制劑，有利地對 PARP1 的選擇性優於對 PARP2 的選擇性，較佳為對 PARP1 的選擇性至少 10 倍優於對 PARP2 的選擇性，更佳為對 PARP1 的選擇性至少 100 倍優於對 PARP2 的選擇性。PARP1 選擇性抑制劑之較佳例可包括彼等揭示於本文者。

【0082】可使用於依據本揭示之 PARP1 選擇性抑制劑之例包括式(I)化合物之氮雜喹啉酮(azaquinolone)。本文所述式(I)化合物之氮雜喹啉酮對 PARP1 具有意外地優於其它 PARP 家族成員如 PARP2、PARP3、PARP5a、及 PARP6 的高選擇性。有利地，本文所述的式(I)化合物具有低 hERG 活性。眾所周知，人類 ether-à-gogo 相關基因(hERG)編碼的心臟離子通道的阻斷為藥物發現和開發的風險因素，而 hERG 的阻斷可導致如心律不整的安全問題。

【0083】因此，於本揭示所使用的 PARP1 選擇性抑制劑之較佳具體實施例，PARP1 選擇性抑制劑為下式(I)所表示的化合物或其醫藥上可接受的鹽：



其中：

X¹ 及 X² 係各自獨立地選自 N 及 C(H)，

X^3 係獨立地選自 N 及 $C(R^4)$ ，其中 R^4 為 H 或氟基，
 R^1 為 C_{1-4} 烷基或 C_{1-4} 氟烷基(較佳為乙基)，

R^2 係獨立地選自 H、鹵素基、 C_{1-4} 烷基、及 C_{1-4} 氟烷基，及

R^3 為 H 或 C_{1-4} 烷基(較佳為 C_{1-4} 烷基，更佳為甲基)，

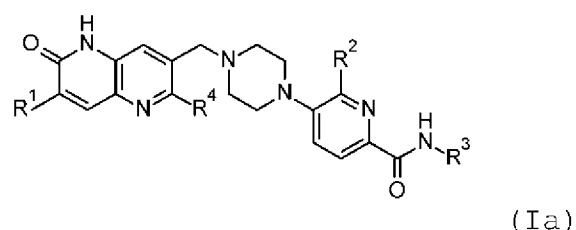
其條件為：

當 X^1 為 N，則 X^2 為 $C(H)$ ，且 X^3 為 $C(R^4)$ ，

當 X^2 為 N，則 $X^1=C(H)$ ，且 X^3 為 $C(R^4)$ ，及

當 X^3 為 N，則 X^1 及 X^2 皆為 $C(H)$ 。

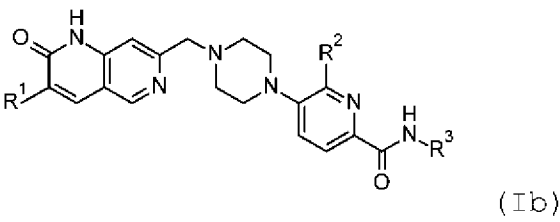
【 0084 】 於一具體實施例，本揭示中所使用的 PARP1 選擇性抑制劑為式 (Ia) 化合物：



其中

R^1 為 C_{1-4} 烷基， R^2 係選自 H、鹵素基、 C_{1-4} 烷基、及 C_{1-4} 氟烷基(較佳為選自二氟甲基、三氟甲基、及甲基，或為 H 或鹵素基)， R^3 為 H 或 C_{1-4} 烷基，且 R^4 為 H。於式 (Ia) 化合物中，較佳地 R^1 為乙基， R^2 係選自 H、氯基及氟基， R^3 為甲基，且 R^4 為 H。

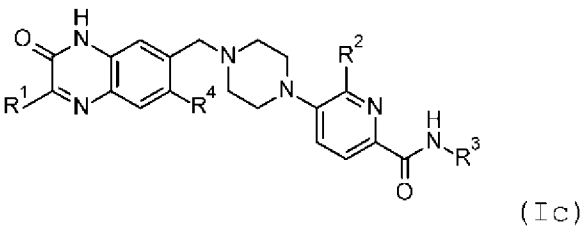
【 0085 】 於另一具體實施例，本揭示中所使用的 PARP1 選擇性抑制劑為式 (Ib) 化合物：



其中

R¹ 為 C₁₋₄ 烷基，R² 為 H 或鹵素基，及 R³ 為 H 或 C₁₋₄ 烷基。於式 (Ib) 化合物，較佳地 R¹ 為乙基，R² 係選自 H、氯基及氟基，及 R³ 為甲基。

【0086】於另一具體實施例，本揭示中所使用的 PARP1 選擇性抑制劑為式 (Ic) 化合物：



其中

R¹ 為 C₁₋₄ 烷基或 C₁₋₄ 氟烷基，R² 係獨立地選自 H、鹵素基、C₁₋₄ 烷基、及 C₁₋₄ 氟烷基，
R³ 為 H 或 C₁₋₄ 烷基，及 R⁴ 為 H 或氟基。

【0087】於另一具體實施例，PARP1 選擇性抑制劑為式 (Ic) 化合物，其中：

R¹ 係獨立地選自乙基、正丙基、三氟甲基、1,1-二氟乙基、2,2-二氟乙基、2-氟乙基、及 2,2,2-三氟乙基；R² 係獨立地選自 H、甲基、乙基、三氟甲基、二氟甲基、氟甲基、氟基、及氯基；R³ 為 H 或甲基，且 R⁴ 為 H。

【0088】於另一具體實施例，PARP1 選擇性抑制劑為式(I)化合物、或式(Ia)、(Ib)或(Ic)化合物，具有對 PARP1 的選擇性優於對 PARP2 的選擇性，較佳為對 PARP1 的選擇性至少 10 倍優於對 PARP2 的選擇性，更佳為對 PARP1 的選擇性至少 100 倍優於對 PARP2 的選擇性。

【0089】於其它具體實施例，本揭示中所使用的 PARP1 選擇性抑制劑為選自下列的化合物或其醫藥上可接受的鹽：

5-[4-[(3-乙基-2-側氧基-1H-1,6-噻啶-7-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺、

5-[4-[(3-乙基-2-側氧基-1H-1,6-噻啶-7-基)甲基]哌啶-1-基]-6-氟-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺、

6-氯-5-[4-[(3-乙基-2-側氧基-1H-1,6-噻啶-7-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺、

5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啶-3-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺、

5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啶-3-基)甲基]哌啶-1-基]-6-氟-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺、

6-氯-5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啶-3-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺、

5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啶-3-基)甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲醯胺

6-乙基-5-[4-[(2-乙基-3-側氧基-4H-喹啶-6-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺、

5-[4-[(2-乙基-3-側氧基-4H-喹啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-6-(三氟甲基)吡啶-2-甲醯胺、

6-(二氟甲基)-5-[4-[(2-乙基-3-側氧基-4H-喹啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺、

5-[4-[(2-乙基-3-側氧基-4H-喹啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺、

5-[4-[(2-乙基-3-側氧基-4H-喹啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]-6-氟-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺、

5-[4-[(2-乙基-3-側氧基-4H-喹啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]-N,6-di 甲基-吡啶-2-甲醯胺、

6-氯-5-[4-[(2-乙基-3-側氧基-4H-喹啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺、

N-甲基-5-[4-[[3-側氧基-2-(三氟甲基)-4H-喹啉-6-基]甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲醯胺、

6-氯-N-甲基-5-[4-[[3-側氧基-2-(三氟甲基)-4H-喹啉-6-基]甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲醯胺、

6-氟-N-甲基-5-[4-[[3-側氧基-2-(三氟甲基)-4H-喹啉-6-基]甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲醯胺、

N-甲基-5-[4-[(3-側氧基-2-丙基-4H-喹啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲醯胺、

6-氯-N-甲基-5-[4-[(3-側氧基-2-丙基-4H-喹啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲醯胺、

6-氟-N-甲基-5-[4-[(3-側氧基-2-丙基-4H-喹啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲醯胺、

5-[4-[(2-乙基-7-氟-3-側氧基-4H-喹啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]-6-氟-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺、

5-[4-[[2-(1,1-二氟乙基)-3-側氧基-4H-喹啉-6-基]甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺、

5-[4-[[2-(2,2-二氟乙基)-3-側氧基-4H-喹啉-6-基]甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺、

5-[4-[[2-(2,2-二氟乙基)-3-側氧基-4H-喹啉-6-基]甲基]哌啶-1-基]-6-氟-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺、

5-[4-[[2-(2-氟乙基)-3-側氧基-4H-喹啉-6-基]甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺、

6-氟-5-[4-[[2-(2-氟乙基)-3-側氧基-4H-喹啉-6-基]甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺、

N-甲基-5-[4-[[3-側氧基-2-(2,2,2-三氟乙基)-4H-喹啉-6-基]甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲醯胺、及

6-氟-N-甲基-5-(4-((3-側氧基-2-(2,2,2-三氟乙基)-3,4-二氫喹啉-6-基)甲基)哌啶-1-基)吡啶醯胺。

【0090】於另一具體實施例，本揭示中所使用的PARP1選擇性抑制劑為選自下列的化合物或其醫藥上可接受的鹽：

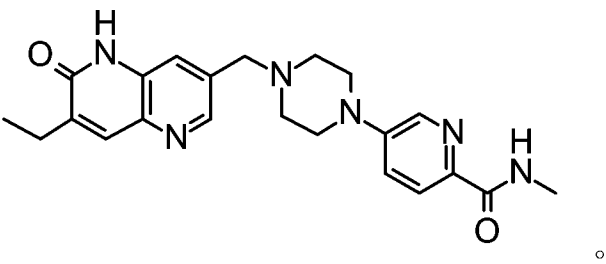
6-(二氟甲基)-5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啶-3-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺、

5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啶-3-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-6(三氟甲基)吡啶-2-甲醯胺、

5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啶-3-基)甲基]哌啶-1-基]-N,6-di 甲基-吡啶-2-甲醯胺、及

N-乙基-5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啉-3-基)甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲醯胺。

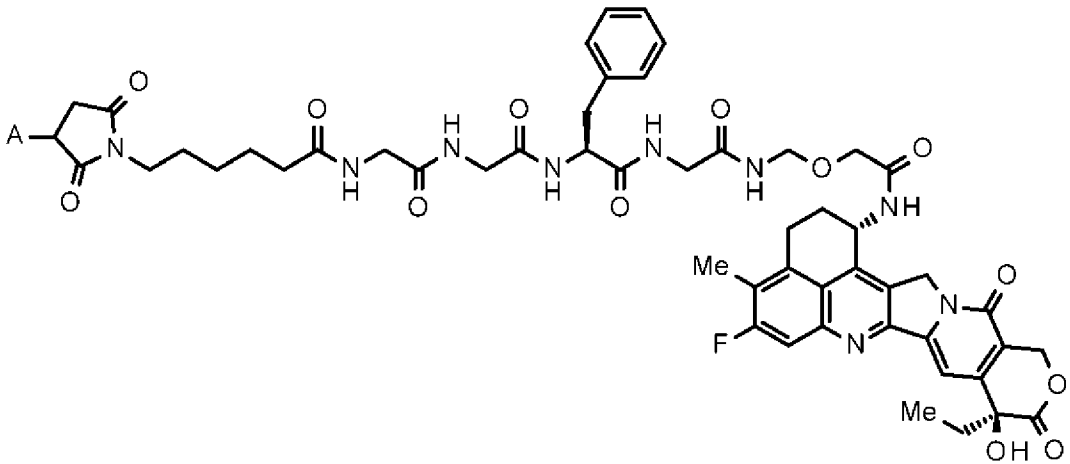
【0091】於一較佳具體實施例，本揭示中所使用的 PARP1 選擇性抑制劑為下式所表示的化合物 AZD5305 (5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啉-3-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺)或其醫藥上可接受的鹽：



【0092】

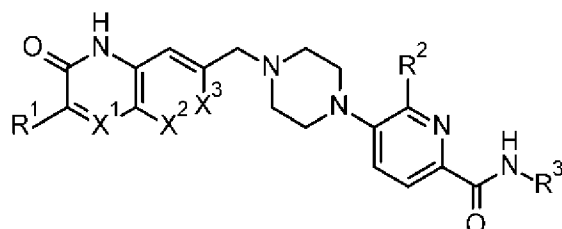
5.抗體-藥物結合物與 PARP1 選擇性抑制劑之組合

於本揭示之第一組合具體實施例，與 PARP1 選擇性抑制劑組合的抗 HER2 抗體-藥物結合物係以下式表示的藥物-連接子經由硫醚鍵而與抗 HER2 抗體結合之抗體-藥物結合物，



其中 A 表示與抗體的連結位置。

【0093】於另一組合具體實施例，如上列第一組合具體實施例所定義的抗 HER2 抗體-藥物結合物係與下式 (I) 所表示的化合物或其醫藥上可接受的鹽的 PARP1 選擇性抑制劑進行組合：



(I)

其中：

X¹ 及 X² 係各自獨立地選自 N 及 C(H)，

X³ 係獨立地選自 N 及 C(R⁴)，其中 R⁴ 為 H 或氟基，

R¹ 為 C₁₋₄ 烷基或 C₁₋₄ 氟烷基，

R² 係獨立地選自 H、鹵素基、C₁₋₄ 烷基、及 C₁₋₄ 氟烷基，及

R³ 為 H 或 C₁₋₄ 烷基，

其條件為：

當 X¹ 為 N，則 X² 為 C(H)，且 X³ 為 C(R⁴)，

當 X² 為 N，則 X¹=C(H)，且 X³ 為 C(R⁴)，及

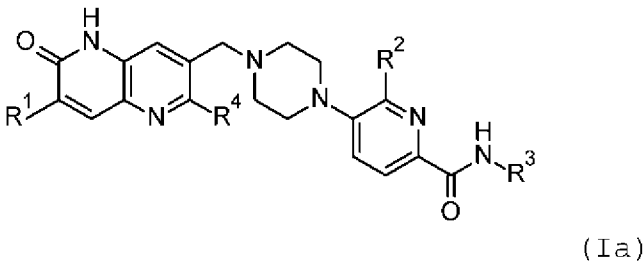
當 X³ 為 N，則 X¹ 及 X² 皆為 C(H)。

【0094】於另一組合具體實施例，如上定義的抗 HER2 抗體-藥物結合物與如上定義的 PARP1 選擇性抑制劑組合，其中於式 (I) 中，R³ 為 C₁₋₄ 烷基。

【0095】於另一組合具體實施例，如上定義的抗 HER2 抗體-藥物結合物與如上定義的 PARP1 選擇性抑制劑組合，其中於式 (I) 中，R³ 為甲基。

【 0096 】 於 另 一 組 合 具 體 實 施 例 ， 如 上 定 義 的 抗 HER2 抗 體 - 藥 物 結 合 物 與 如 上 定 義 的 PARP1 選 擇 性 抑 制 劑 組 合 ， 其 中 於 式 (I) 中 ， R^1 為 乙 基 。

【 0097 】 於 另 一 組 合 具 體 實 施 例 ， 如 上 定 義 的 抗 HER2 抗 體 - 藥 物 結 合 物 與 PARP1 選 擇 性 抑 制 劑 組 合 ， 該 PARP1 選 擇 性 抑 制 劑 為 下 式 (Ia) 所 表 示 的 化 合 物 或 其 醫 藥 上 可 接 受 的 鹽 ：



其 中

R^1 為 C_{1-4} 烷 基 ，

R^2 係 選 自 H、鹵 素 基、 C_{1-4} 烷 基、及 C_{1-4} 氟 烷 基 ，

R^3 為 H 或 C_{1-4} 烷 基 ， 及

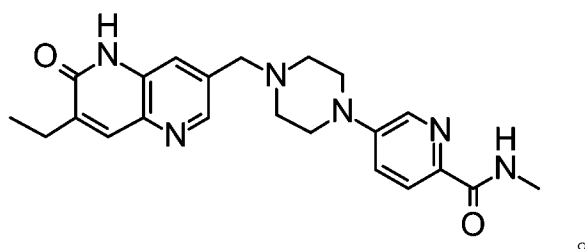
R^4 為 H 。

【 0098 】 於 另 一 組 合 具 體 實 施 例 ， 如 上 定 義 的 抗 HER2 抗 體 - 藥 物 結 合 物 與 如 上 定 義 的 PARP1 選 擇 性 抑 制 劑 組 合 ， 其 中 於 式 (Ia) 中 ， R^2 為 H 或 鹵 素 基 。

【 0099 】 於 另 一 組 合 具 體 實 施 例 ， 如 上 定 義 的 抗 HER2 抗 體 - 藥 物 結 合 物 與 如 上 定 義 的 PARP1 選 擇 性 抑 制 劑 組 合 ， 其 中 於 式 (Ia) 中 ， R^1 為 乙 基 ， R^2 係 選 自 H、氯 基 及 氟 基 ， 及 R^3 為 甲 基 。

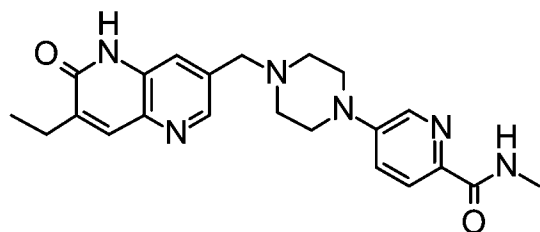
【 0100 】 於 另 一 組 合 具 體 實 施 例 ， 如 上 定 義 的 抗 HER2 抗 體 - 藥 物 結 合 物 與 PARP1 選 擇 性 抑 制 劑 組 合 ， 其

中該 PARP1 選擇性抑制劑為下式所表示的 AZD5305 或其醫藥上可接受的鹽：



【0101】於上述組合具體實施例每一者之具體實施例中，抗 HER2 抗體包含重鏈及輕鏈，該重鏈包含由 SEQ ID NO：3 表示的胺基酸序列所組成的 CDRH1、由 SEQ ID NO：4 表示的胺基酸序列所組成的 CDRH2 及由 SEQ ID NO：5 表示的胺基酸序列所組成的 CDRH3，該輕鏈包含由 SEQ ID NO：6 表示的胺基酸序列所組成的 CDRL1、由由 SEQ ID NO：7 之胺基酸殘基 1 至 3 所組成的胺基酸序列所組成的 CDRL2、及由 SEQ ID NO：8 表示的胺基酸序列所組成的 CDRL3。於上述組合具體實施例每一者之另一具體實施例中，抗 HER2 抗體包含重鏈及輕鏈，該重鏈包含由 SEQ ID NO：9 表示的胺基酸序列所組成之重鏈可變區，該輕鏈包含由 SEQ ID NO：10 表示的胺基酸序列所組成之輕鏈可變區。於上述組合具體實施例每一者之另一具體實施例中，抗 HER2 抗體包含由 SEQ ID NO：1 表示的胺基酸序列所組成的重鏈及由 SEQ ID NO：2 表示的胺基酸序列所組成的輕鏈。於上述組合具體實施例每一者之另一具體實施例中，抗 HER2 抗體包含由 SEQ ID NO：11 表示的胺基酸序列所組成的重鏈及由 SEQ ID NO：2 表示的胺基酸序列所組成的輕鏈。

【0102】於本揭示之特別較佳的組合具體實施例，抗 HER2 抗體-藥物結合物為曲妥珠單抗德魯特坎(DS-8201)且 PARP1 選擇性抑制劑為下式所表示的化合物：



，其亦認定為 AZD5305。

【0103】

6.治療的組合用途及方法

下列所述者為醫藥產品及治療用途及方法，其中組合投予依據本揭示之抗 HER2 抗體-藥物結合物及 PARP1 選擇性抑制劑。

【0104】本揭示之醫藥產品及治療用途及方法的特徵可在於抗 HER2 抗體-藥物結合物及 PARP1 選擇性抑制劑分別作為活性成分而包含於不同調配物中，且於同時或不同時間投予；或特徵可在於抗體-藥物結合物及 PARP1 選擇性抑制劑作為活性成分而含於單一調配物中並投予。

【0105】於揭示之醫藥產品及治療方法，可將本揭示使用的單一 PARP1 選擇性抑制劑與抗 HER2 抗體-藥物結合物組合而投予，或可將兩種或多種不同的 PARP1 選擇性抑制劑與抗體-藥物結合物組合而投予。

【0106】本揭示之醫藥產品及治療方法可用於治療癌症，且可較佳用於治療至少一種選自由下列組成的群組中之癌症：乳癌（包含三陰性乳癌、及管腔乳癌

(luminal breast cancer))、胃癌(亦稱為胃腺癌)、大腸直腸癌(亦稱為結腸直腸癌，包括結腸癌及直腸癌)、肺癌(包含小細胞肺癌及非小細胞肺癌)、食道癌、頭頸部癌(包含唾液腺癌及咽癌)、胃食道連接部腺癌、膽道癌(包含膽管癌)、佩吉特氏病、胰臟癌、卵巢癌、子宮癌肉瘤、泌尿道上皮癌、前列腺癌、膀胱癌、胃腸道間質瘤、子宮頸癌、鱗狀上皮細胞瘤、腹膜癌、肝癌、肝細胞癌、子宮體癌、腎臟癌、外陰部癌、甲狀腺癌、陰莖癌、白血病、惡性淋巴瘤、漿細胞瘤、骨髓瘤、多形性膠質母細胞瘤、骨肉瘤、肉瘤、及黑色素瘤，且可更佳用於治療至少一種選自由下列組成的群組中之癌症：乳癌、胃癌、大腸直腸癌、肺癌(較佳為非小細胞肺癌)、胰臟癌、卵巢癌、前列腺癌、及腎臟癌。

【0107】HER2 腫瘤標記之存在或不存在可藉由例如如下來測定：從癌症患者收集腫瘤組織以製備經福馬林固定之石蠟包埋的 (FFPE) 檢體並將檢體經歷基因產物(蛋白質)的試驗，例如，免疫組織化學(IHC)法、流式細胞儀、或西方墨點(Western blot)法，或基因轉錄的試驗，例如，原位雜交法(ISH)、定量的 PCR 法(q-PCR)、或微陣列分析，或藉由從癌症患者收集無細胞之循環的腫瘤 DNA(ctDNA)並將 ctDNA 經歷如次世代定序(NGS)之方法的試驗。

【0108】本揭示之醫藥產品及治療方法可用於表現 HER2 的癌症，該癌症可為過度表現 HER2 的癌症(高度或中等)或可為 HER2 低表現的癌症。

【0109】於本揭示，術語「過度表現 HER2 的癌症」並未特別限定，只要本發明所屬技術領域中具有通常知識者公認為過度表現 HER2 的癌症即可。過度表現 HER2 的癌症之較佳例可包括於 IHC 方法中 HER2 的表現評分為 3+ 的癌症，及於 IHC 方法中 HER2 表現評分為 2+ 且於原位雜交法 (ISH) 中 HER2 的表現而被判定為陽性的癌症。本揭示之原位雜交法包括螢光原位雜交法 (FISH) 及雙色原位雜交法 (DISH)。

【0110】於本揭示，術語「HER2 低表現的癌症」並未特別限定，只要本發明所屬技術領域中具有通常知識者公認為 HER2 低表現的癌症即可。HER2 低表現的癌症之較佳例可包括於 IHC 方法中 HER2 的表現評分為 2+ 且於原位雜交法中被判定 HER2 的表現為陰性的癌症，及於 IHC 方法中 HER2 的表現評分為 1+ 的癌症。

【0111】以 IHC 法評定 HER2 表現的程度的方法、或以原位雜交法判定 HER2 表現為陽性或陰性的方法並未特別限定，只要其為本發明所屬技術領域中具有通常知識者公認者即可。此方法之例可包括描述於 HER2 檢測指南第四版，乳癌 (由 Japanese Pathology Board for Optimal Use of HER2 for Breast Cancer 開發)。

【0112】癌症，特別是關於乳癌之治療，可為 HER2 過度表現 (高度或中等) 或低表現乳癌，或三陰性乳癌、及 / 或可具有 HER2 狀態評分為 IHC 3+、IHC 2+、IHC 1+ 或 IHC >0 且 <1+。

【0113】本揭示之醫藥產品及治療方法可較佳用於哺乳動物，但更佳用於人類。

【0114】本揭示之醫藥產品及治療方法的抗腫瘤作用可藉由將癌細胞移植至試驗對象動物以製備模型並測量藉由應用本揭示之醫藥產品及治療方法而減少的腫瘤體積或延長壽命的效果而證實。而且，本揭示中使用的抗體-藥物結合物及 PARP1 選擇性抑制劑之組合使用的效果可藉由比較單獨投予本揭示中使用的抗體-藥物結合物或單獨投予 PARP1 選擇性抑制劑的抗腫瘤作用而證實。

【0115】本揭示之醫藥產品及治療方法之抗腫瘤作用可於臨床試驗中確認，使用下列任何評價方法：藉由固體腫瘤的療效評價標準(Response Evaluation Criteria in Solid Tumors(RECIST))評價法、WHO 評價法、Macdonald 評價法、體重測定、及其它手法；且可基於下列指標來判定：完全反應(Complete response；CR)、部分反應(Partial response；PR)、進行性疾病(Progressive disease；PD)、客觀反應率(Objective Response Rate；ORR)、反應持續時間(Duration of response；DoR)、無進展存活(Progression-Free Survival；PFS)、整體存活(Overall Survival；OS)等。

【0116】藉由使用上述方法，可確認對於癌症治療，本揭示之醫藥產品及治療方法之抗腫瘤作用，相對於既存的醫藥產品及治療方法的優勢。

【0117】本揭示之醫藥產品及治療方法可延緩癌細胞的發展、抑制其生長，及進一步殺死癌細胞。此等作用可使癌症患者免於癌症引起的症狀或實現癌症患者之生活品質(QOL)的改善並藉由維持癌症患者的生命而達到治療效果。即使本揭示之醫藥產品及治療方法未達成殺死癌細胞，其仍可藉由抑制或控制癌細胞生長而達成癌症患者之較高的 QOL 同時達成更長期的生存。

【0118】本揭示之醫藥產品藉由對患者進行全身治療，另外，藉由局部應用於癌組織，可期望發揮治療效果。

【0119】於另一態樣，本揭示之醫藥產品及治療方法提供在使用電離輻射或其它化學治療劑的癌症治療中用作輔助劑的用途。例如，於癌症之治療，該治療可包含與治療上有效量之醫藥產品同時或依次投予電離輻射或其它化學治療劑至需要治療的受試者。

【0120】本揭示之醫藥產品及治療方法可作為與外科手術組合的輔助化學療法而使用。本揭示之醫藥產品可在外科手術前用以減小腫瘤大小為目的而投予(稱為術前輔助化學療法或新輔助性(neoadjuvant)療法)，或可在外科手術後用以防止腫瘤復發為目的而投予(稱為術後輔助化學療法、或輔助性(adjutant)療法)。

【0121】於另外態樣，本揭示之醫藥產品可用於治療癌症，該癌症為缺乏同源重組(Homologous Recombination (HR))依賴性 DNA DSB 修復活性。HR 依賴性 DNA DSB 修復路徑經由同源機制修復 DNA 中的雙

股斷裂(double-strand breaks (DSBs))以重新形成連續的 DNA 螺旋(K.K. Khanna and S.P. Jackson, *Nat. Genet.* 27(3): 247-254 (2001))。HR 依賴性 DNA DSB 修復路徑之組件包括，但不限於 ATM (NM_000051)、RAD51 (NM_002875)、RAD51L1 (NM_002877)、RAD51C (NM_002876)、RAD51L3 (NM_002878)、DMC1 (NM_007068)、XRCC2 (NM_005431)、XRCC3 (NM_005432)、RAD52 (NM_002879)、RAD54L (NM_003579)、RAD54B (NM_012415)、BRCA1 (NM_007295)、BRCA2 (NM_000059)、RAD50 (NM_005732)、MRE11A(NM_005590) 及 NBS1 (NM_002485)。參與 HR 依賴性 DNA DSB 修復路徑的其它蛋白質包括調節因子，如 EMSY(Hughes-Davies, *et al.*, *Cell*, **115**, pp523-535)。HR 組件亦描述於 Wood, *et al.*, *Science*, **291**, 1284-1289 (2001)。HR 依賴性 DNA DSB 修復缺陷的癌症可包含一種或多種癌細胞或由一種或多種癌細胞組成，相對於正常細胞，該癌細胞具有降低或消除的通過該路徑修復 DNA DSB 的能力，即於一種或多種癌細胞中 HR 依賴性 DNA DSB 修復路徑的活性可能被減少或消除。HR 依賴性 DNA DSB 修復路徑的一種或多種組件的活性可在患有 HR 依賴性 DNA DSB 修復缺陷的癌症的個體之一種或多種癌細胞中被消除。HR 依賴性 DNA DSB 修復路徑的組件在本領域中被充分表徵(參見例如，Wood, *et al.*, *Science*, **291**, 1284-1289 (2001))且包括上列組件。

【0122】於一些具體實施例，癌細胞可具有 BRCA1 及 / 或 BRCA2 缺陷表型 (phenotype)，即癌細胞中的 BRCA1 及 / 或 BRCA2 活性降低或消失。具有這種表型的癌細胞可能缺乏 BRCA1 及 / 或 BRCA2，即癌細胞中 BRCA1 及 / 或 BRCA2 的表現及 / 或活性可能會降低或消除，例如藉由編碼核酸中突變或多形性的手段，或藉由編碼調節因子的基因的增幅、突變或多形性的手段，例如編碼 BRCA2 調節因子的 EMSY 基因 (Hughes-Davies, *et al.*, *Cell*, **115**, 523-535)。BRCA1 及 BRCA2 為已知的腫瘤抑制因子，其野生型等位基因經常在異型接合的攜帶者的腫瘤中喪失 (Jasin M., *Oncogene*, **21(58)**, 8981-93 (2002)；Tutt, *et al.*, *Trends Mol Med.*, **8 (12)**, 571-6, (2002))。BRCA1 及 / 或 BRCA2 突變與乳癌的關聯於本領域中被充分表徵 (Radice, P.J., *Exp Clin Cancer Res.*, **21(3 Suppl)**, 9-12 (2002))。編碼 BRCA2 結合因子的 EMSY 基因的增幅亦與乳癌和卵巢癌有關。BRCA1 及 / 或 BRCA2 突變的攜帶者罹患某些癌症的風險亦較高，包括乳癌、卵巢癌、胰臟癌、前列腺癌、血液癌、胃腸道癌及肺癌。於一些具體實施例，該個體對於 BRCA1 及 / 或 BRCA2 或其調節子中的一個或多個變異如突變和多形性為異型接合的。BRCA1 和 BRCA2 變異的檢測為本領域眾所周知，且描述於例如 EP 699 754、EP 705 903、Neuhausen, S.L. and Ostrander, E.A., *Genet. Test*, **1**, 75-83 (1992)；Chappnis, P.O. and Foulkes, W.O., *Cancer Treat Res*, **107**, 29-59 (2002)；Janatova M., *et al.*,

Neoplasma, 50(4), 246-505 (2003) ; Jancarkova, N., *Ceska Gynekol.*, **68**{1}, 11-6 (2003))。BRCA2 結合因子 EMSY 增幅的測定描述於 Hughes-Davies, et al., *Cell*, **115**, 523-535)。

【0123】與癌症相關的突變和多形性可藉由檢測變異體核酸序列的存在而在核酸水平上檢測，或藉由檢測變異體(即突變體或等位基因變異體)多肽的存在而在蛋白質水平上檢測。

【0124】本揭示之醫藥產品可在含有至少一種醫藥上適合的成分的情況下投予。根據本揭示中使用的抗體-藥物結合物及 PARP1 選擇性抑制劑之劑量、投予濃度等，可從本領域通常使用的調配物添加劑等中適當地選擇及應用醫藥上適合的成分。本揭示中使用的抗 HER2 抗體-藥物結合物可例如作為含有緩衝劑如組胺酸緩衝劑、媒劑(vehicle)如蔗糖和海藻糖、以及界面活性劑如聚山梨醇酯 80 和 20 的醫藥產品投予。含有本揭示中使用的抗體-藥物結合物之藥物製品可較佳用作注射劑，更更佳用作水性注射劑或凍乾注射劑，甚至更佳用作凍乾注射劑。在含有本揭示中使用的抗 HER2 抗體-藥物結合物的醫藥產品為水性注射劑的情況下，水性注射劑可較佳以適合的稀釋劑稀釋，然後作為靜脈輸注給藥。稀釋液之例，可包括葡萄糖溶液、生理食鹽水等，較佳可例示葡萄糖溶液，更佳可例示 5%葡萄糖溶液。於本揭示之醫藥產品為凍乾注射劑的情形，可將需要量的預先溶解在注射用水中的凍乾注射劑較佳用適合的稀釋劑稀

釋後作為靜脈輸注給予。稀釋液之例可包括葡萄糖溶液及生理食鹽水，較佳可例示葡萄糖溶液，更佳可例示5%葡萄糖溶液。

【0125】可應用於投予本揭示之醫藥產品的投予途徑之例可包括靜脈內、皮內、皮下、肌肉內、及腹腔內途徑，較佳為靜脈內途徑。

【0126】本揭示中使用的抗 HER2 抗體-藥物結合物可以 1 至 180 天的間隔投予至人類，可較佳以一週、二週、三週或四週的間隔投予，更佳可以三週的間隔投予。本揭示中使用的抗 HER2 抗體-藥物結合物可以每次投予約 0.001 至 100 mg/kg 之劑量進行投予，且可較佳以每次投予 0.8 至 12.4 mg/kg 之劑量進行投予。例如，抗 HER2 抗體-藥物結合物可以 0.8 mg/kg、1.6 mg/kg、3.2 mg/kg、5.4 mg/kg、6.4 mg/kg、7.4 mg/kg、或 8 mg/kg 之劑量，每三週投予一次，且可較佳以 5.4 mg/kg 或 6.4 mg/kg 之劑量，每三週投予一次。

【0127】PARP1 選擇性抑制劑可以藉由任何適合的投予途徑以適合的劑量投予。特定疾病狀態的治療性處理所需的劑量大小必然會依據所治療的受試者、投予途徑及所欲治療疾病的嚴重程度而變化。有關投予途徑及劑量方案的更多資訊，可參考 Comprehensive Medicinal Chemistry 第 5 卷第 25.3 章(Corwin Hansch；Chairman of Editorial Board), Pergamon Press 1990。

【0128】式(I)化合物或其醫藥上可接受的鹽通常以醫藥製劑的形式經由口服途徑投予，該醫藥製劑以醫藥

上可接受的劑型包含活性成分或其醫藥上可接受的鹽或溶劑合物，或此類鹽的溶劑合物。依欲治療的失調和患者，組成物可以不同劑量投予。

【0129】上述式(I)化合物之醫藥調配物可製備用於口服投予，特別是以錠劑或膠囊的形式，且特別涉及針對提供靶向結腸的藥物釋放的技術(Patel, M. M. Expert Opin. Drug Deliv. 2011, 8 (10), 1247-1258)。

【0130】上述式(I)化合物之醫藥調配物可方便地以單位劑型投予且可藉由製藥領域眾所周知的任何方法製備，例如，如 Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA., (1985)所述。

【0131】適合口服投予之式(I)化合物之醫藥調配物可包含一種或多種生理學上可相容的載劑及/或賦形劑。賦形劑且可為固體或液體形式。錠劑及膠囊可以黏合劑、填充劑、潤滑劑及/或界面活性劑如硫酸月桂酯鈉製備。液體組成物可含有習用添加劑如懸浮劑、乳化劑及/或防腐劑。液體組成物可封裝在例如明膠中以提供單位劑型。固體口服劑型包括錠劑、兩片式硬殼膠囊(two-piece hard shell capsule)及軟彈性明膠(SEG)膠囊。此種兩片式硬殼膠囊可例如藉由將式(I)化合物填充到明膠或羥丙基甲基纖維素(HPMC)殼中而製備。

【0132】式(I)化合物之乾殼調配物通常包含約 40%至 60% w/w 濃度的明膠、約 20%至 30%濃度的塑化劑(如甘油、山梨醇或丙二醇)及約 30%至 40%濃度之水。

亦可存有其它材料如防腐劑、染料、遮光劑及風味劑。液體填充材料包含：已溶離、溶解或分散(使用懸浮劑，如蜂蠟、氫化蓖麻油或聚乙二醇 4000)的固體藥物或於媒劑或媒劑組合中的液體藥物，其中媒劑如礦物油、植物油、三酸甘油酯、二醇、多元醇及表面活性劑。

【0133】式(I)化合物或其醫藥上可接受的鹽在人類治療中的適合每日劑量為約 0.0001-100 mg/kg 體重。較佳為口服調配物，特別是錠劑或膠囊，它們可藉由本發明所屬技術領域中具有通常知識者已知的方法調配以提供 0.1mg 至 1000mg 範圍內的活性化合物之劑量。

[實施例]

【0134】鑑於以下所示的實施例具體地描述本揭示。然而，本揭示不限於此等例。此外，決不能以限制的方式對其進行解釋。

【0135】

PARP1 選擇性抑制劑之合成例

PARP1 選擇性抑制劑之下列描述的合成例 1 至 32 係如 WO2021/013735 之實施例 1 至 32。

【0136】

一般實驗條件

除非另有說明，否則使用 Bruker 300 MHz、400 MHz 或 500 MHz 光譜儀，於 27°C 下獲得 ^1H NMR 光譜；化學位移以百萬分率(ppm, δ 單位)表示，並參考溶劑之殘留單- ^1H 類同位素分子(isotopologue)(CHCl_3 : 7.24

ppm ; CHDCl_2 : 5.32 ppm ; $\text{CD}_3\text{S(=O)CD}_2\text{H}$: 2.49 ppm)。耦合常數係以赫茲之單位(Hz)作成。分裂模式描述明顯的多重性，並被指定為 s(單峰)、d(雙峰)、t(三重峰)、q(四重峰)、m(多重峰)及 br s (寬單峰)。使用裝配 Waters SQD 質譜儀的 Waters UPLC 或裝配 Shimadzu 2020 質譜儀的 Shimadzu LC-20AD LC-20XR LC-30AD 進行 LC-MS。除非另有說明，否則報告的分子離子對應於 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ；對於具有多個同位素模式的分子(Br、Cl等)，除非另有說明，否則報告的值為於最低同位素質量所獲得的值。

【0137】使用下列方法進行急速層析法：直相快速層析法(straight phase flash chromatography)，於來自 Biotage™ 的 SP1™ Purification system、來自 ISCO 的 CombiFlash®Rf 或於來自 Thermo Fisher 的 Gilson system，使用正相二氧化矽 FLASH+™ (40M、25M 或 12 M)或 SNAP™ KP-Sil Cartridges (340、100、50 或 10)、來自 Agela 的 Flash Column silica-CS 管柱，以 C18-flash columns 或標準急速層析法。一般而言，所有使用的溶劑為市場上可取得且為分析級。無水溶劑常規用於反應。於此等實施例中使用的相分離器(Phase Separator)為 ISOLUTE® 相分離器管柱。使用來自 Advanced Chemistry Development, Inc. (ACD/Labs)的 ACD/Name 12.01 命名下列命名的中間體及實施例。起始材料係獲自商業來源獲得或經由文獻方法製備。

【0138】

X 射線粉末繞射 (XRPD) 分析

使用 Bruker D8 繞射儀進行 XRPD 分析，該繞射儀為市場上可取得自 Bruker AXS Inc™(Madison, Wisconsin)。XRPD 光譜係藉由下列獲得：藉由將用於分析的材料樣本(約 10 mg)裝載於單矽晶體晶片支架上(例如，布魯克矽零背景 X 射線繞射樣本架)，並借助於顯微鏡載玻片將該樣本鋪展成薄層。將該樣本以 30 轉/分鐘旋轉(以改善計數統計)並以藉由在 40 kV 及 40 mA 下操作的銅製長細聚焦管產生的具有 1.5406 埃(即，約 1.54 埃)的波長之 X 射線照射。在 θ - θ 模式下從 5 度至 40 度的 2θ 的範圍內，使樣本每 0.02 度的 2θ 增量(連續掃描模式)曝光 1 秒。D8 的運行時間為~15 分鐘。XRPD 2θ 值可在合理範圍內變化，例如在 $\pm 0.2^\circ$ 的範圍內變化，且當由於各種各樣原因(包括例如較佳的方向)對基本上相同的晶形進行測量時 XRPD 強度可能變化。XRPD 的原理被描述於出版物中，例如，Giacovazzo, C. et al. (1995), *Fundamentals of Crystallography*, Oxford University Press; Jenkins, R. and Snyder, R. L. (1996), *Introduction to X-Ray Powder Diffractometry*, John Wiley & Sons, New York; 及 Klug, H. P. & Alexander, L. E. (1974), *X-ray Diffraction Procedures*, John Wiley and Sons, New York。

【 0139 】

DSC 分析

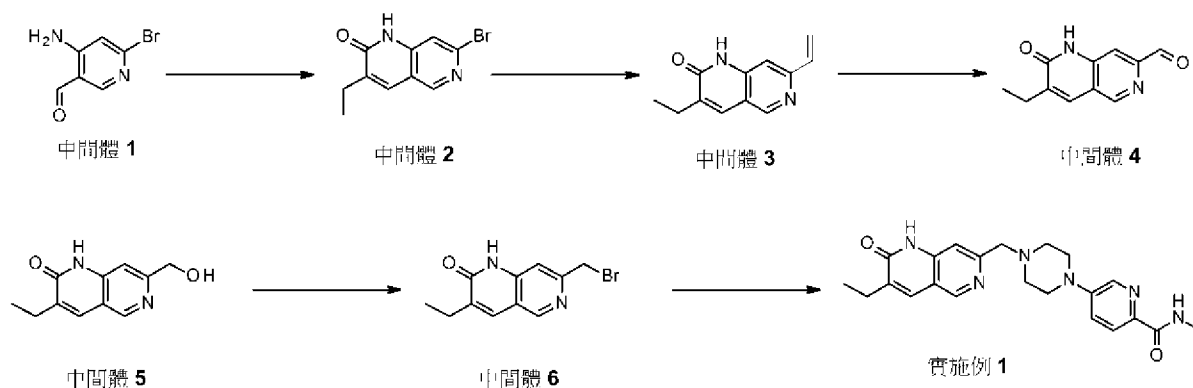
對於根據標準方法製備的樣本，使用可獲得自 TA INSTRUMENTS® (New Castle, Delaware)的 Q SERIES™ Q1000 DSC 熱量計進行 DSC 分析。將樣本(大約 2 mg)稱重於鋁樣本盤中並轉移至該 DSC。該儀器用氮氣以 50 mL/min 吹掃，並使用 10°C/分鐘的動態加熱速率，收集在 22°C與 300°C之間的數據。使用標準軟體(例如，來自 TA INSTRUMENTS®的 Universal v.4.5A)分析熱數據。

【0140】使用下列縮寫：AcOH=乙酸；aq=水性；BAST=雙(2-甲氧基乙基)胺基三氟化硫；Boc₂O=二碳酸二-三級丁酯；Boc=三級丁氧基羰基；CDCl₃=氘代氯仿；CD₃OD=氘代甲醇；CH₃NO₂=硝基甲烷；DCE=1,2-二氯乙烷；DCM=二氯甲烷；DEA=二乙胺；DEAD=偶氮二甲酸二乙酯；戴斯-馬丁過碘烷(Dess-Martin periodinane)=1,1,1-參(乙醯基氧基)-1,1-二氫-1,2-苯碘醯-3-(1*H*)-酮；DIPEA=*N,N*-二異丙基乙基胺；DMAP=2,6-二甲基胺基吡啶；DMF=*N,N*-二甲基甲醯胺；DMSO=二甲基亞砷；DMSO-*d*₆=氘代二甲基亞砷；DPPA=疊氮磷酸二苯酯；dppf=1,1'-雙(二苯基膦基)二茂鐵；DIAD=二-異丙基(E)-二氮烯-1,2-二甲酸酯；DSC=差示掃描量熱法；DTAD=二-三級丁基(E)-二氮烯-1,2-二甲酸酯；ee=鏡像異構物過量；eq.=當量；ESI=電灑游離；Et₂O=二乙醚；EtOAc 或 EA=乙酸乙酯；EtOH=乙醇；FA=甲酸；格拉布斯(Grubbs)催化劑(1,3-二 2,4,6-三甲苯基咪唑啉-2-亞基)(三環己基膦)二氯化鈦；h=小

時；HATU=(二甲基胺基)-*N,N*-二甲基(3-氧化-1*H*-[1,2,3]三唑并[4,5-*b*]吡啶基)甲烷亞胺陽離子六氟磷酸鹽；HCl=氫氯酸；H₂O₂=過氧化氫；HP=高壓；IPA=異丙醇；LC=液相層析；LiClO₄=過氯酸鋰；mmol=毫莫耳；mCPBA=間氯過氧苯甲酸；MeOH=甲醇；min=分鐘；MeCN 或 CH₃CN=乙腈；MeNO₂=硝基甲烷；MS=質譜；NMP=*N*-甲基-2-吡咯啉酮；NMR=核磁共振；Pd/C=鈀碳；Pd₂dba₃=參(二苯亞甲基丙酮)二鈀(0)；PdCl₂(dppf)=1,1'-雙(二-三級丁基膦基)二茂鐵二氯化鈀；PE=石油醚；PPh₃=三苯基膦；rt=室溫；Rt 或 RT=保留時間；Ruphos Pd G3=甲磺酸(2-二環己基膦基-2',6'-二異丙氧基-1,1'-聯苯基)[2-(2'-胺基-1,1'聯苯基)]鈀(II)；sat=飽和；SFC=超臨界流體層析法；T3P=2,4,6-三丙基-1,3,5,2,4,6-三氧三磷雜環己烷 2,4,6-三氧化物 (2,4,6-tripropyl-1,3,5,2,4,6-trioxatriphosphinane 2,4,6-trioxide)；TBTU=2-(1*H*-苯并[d][1,2,3]三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基異脲鎗四氟硼酸鹽；TFA=三氟乙酸；THF=四氫呋喃；TLC=薄層層析法；TMS=三甲基矽基；Xantphos=4,5-雙(二苯基膦基)-9,9-二甲基呔啶；CBr₄=四溴化碳；HCl=氫氯酸；HBr=氫溴酸；Cs₂CO₃=碳酸銨；MgSO₄=硫酸鎂；NaHCO₃=碳酸氫鈉；DDQ=2,3-二氯-5,6-二氰基-1,4-苯醌；SOCl₂=亞硫醢氯；DIBAL-H=氫化二異丁基鋁；NH₄HCO₃=碳酸氫銨；BINAP=2,2'-雙(二苯基膦基)-1,1'-聯萘基。

【 0141 】

起始材料及中間體之合成



【 0142 】

中間體 2：7-溴-3-乙基-1H-1,6-萘啶-2-酮

於 0℃ 逐滴添加丁醯氯 (0.143 mL, 1.37 mmol) 至 4-氨基-6-溴-吡啶-3-甲醛 (**中間體 1**, 250 mg, 1.24 mmol)、DIPEA (1.086 mL, 6.22 mmol) 及 DMAP (30.4 mg, 0.25 mmol) 於 CH₂Cl₂ (5 mL) 的攪拌溶液中。在 rt 下攪拌生成的溶液 4 h。添加超過 2 eq 之丁醯氯並將反應繼續另外的 24 h。以水稀釋反應並以乙酸乙酯萃取。將有機層經硫酸鈉乾燥並濃縮而提供粗產物。添加 1.5 mL MeOH 並濾出固體 (產物)，以 1 mL MeOH 洗滌而提供呈白色固體的 7-溴-3-乙基-1H-1,6-萘啶-2-酮 (**中間體 2**, 167 mg, 53.1 %)。

¹H NMR (DMSO-d₆) 1.17 (3H, t), 2.45 - 2.50 (2H, m, 與溶劑 DMSO 峰重疊), 7.35 (1H, s), 7.82 (1H, s), 8.63 (1H, s), 12.09 (1H, br s); m/z (ES⁺) [M+H]⁺ = 252.

【 0143 】

中間體 3：3-乙基-7-乙烯基-1*H*-1,6-噻啉-2-酮

添加 PdCl₂(dppf)(37.6 mg, 0.05 mmol)至 7-溴-3-乙基-1*H*-1,6-噻啉-2-酮(中間體 2, 130 mg, 0.51 mmol)、4,4,5,5-四甲基-2-乙烯基-1,3,2-二氧雜環戊硼烷(0.105 mL, 0.62 mmol)及 K₂CO₃(213 mg, 1.54 mmol)於 1,4-二噁烷(4 mL)/水(1.333 mL)的攪拌混合物中,並於 90℃攪拌此生成的混合物 1 h。將反應混合物以水稀釋並以乙酸乙酯萃取。將有機層合併,經硫酸鈉乾燥並濃縮而提供粗產物。生成的殘餘物藉由快速二氧化矽層析法純化,溶析梯度為 DCM 中的 0%至 20% MeOH。在減壓下濃縮產物級分至乾燥而得到呈黃色固體的 3-乙基-7-乙烯基-1*H*-1,6-噻啉-2-酮(中間體 3, 93 mg, 90%)。

¹H NMR (DMSO-*d*₆) 1.18 (3H, t), 2.53 (2H, m, 與溶劑 DMSO 峰重疊), 5.49 (1H, dd), 6.27 (1H, dd), 6.84 (1H, dd), 7.15 (1H, s), 7.81 (1H, s), 8.78 (1H, s), 12.00 (1H, br s); *m/z* (ES⁺) [M+H]⁺=201.

【 0144 】

中間體 4：3-乙基-2-側氧基-1*H*-1,6-噻啉-7-甲醛

將於 H₂O 中的四氧化鐵(0.024 mL, 3.00 μmol)添加至 3-乙基-7-乙烯基-1*H*-1,6-噻啉-2-酮(中間體 3, 30 mg, 0.15 mmol)、2,6-二甲基吡啶(0.035 mL, 0.30 mmol)及過碘酸鈉(128 mg, 0.60 mmol)於 THF(1 mL)/水(0.200 mL)之溶液中並於 rt 下攪拌隔夜。以水稀釋反應並以乙酸乙酯萃取,並濃縮濾液至乾燥。生成的殘餘物藉由快速二氧化矽層析法純化,溶析梯度為 DCM 中的 0

至 15% MeOH。在減壓下濃縮產物級分而得到呈淡黃色泡沫的 3-乙基-2-側氧基-1H-1,6-噻啉-7-甲醛(中間體 4, 24.00 mg, 79 %)。

^1H NMR (DMSO- d_6) 1.20 (3H, t), 2.55 - 2.62 (2H, m, 與溶劑 DMSO 峰重疊), 7.73 (1H, s), 7.95 (1H, s), 9.03 (1H, s), 10.00 (1H, s), 12.32 (1H, br s); m/z (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=203$.

【 0145 】

中間體 5 : 3-乙基-7-(羥基甲基)-1H-1,6-噻啉-2-酮

於 0°C 緩緩添加硼氫化鈉 (61.4 mg, 1.62 mmol) 至 3-乙基-2-側氧基-1H-1,6-噻啉-7-甲醛(中間體 4, 82 mg, 0.41 mmol) 於甲醇 (2 mL) 的攪拌溶液中, 並於室溫攪拌生成的混合物 1 h。於真空下移除甲醇並將生成的殘餘物藉由快速二氧化矽層析法純化, 溶析梯度為 DCM 中的 0 至 35% MeOH。在減壓下濃縮產物級分而得到呈淺黃色固體的 3-乙基-7-(羥基甲基)-1H-1,6-噻啉-2-酮(中間體 5, 68.0 mg, 82 %)。

^1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) 1.18 (3H, t), 2.52 - 2.55 (2H, m, 與溶劑 DMSO 峰重疊), 4.59 (2H, br s), 5.52 (1H, br s), 7.33 (1H, s), 7.80 (1H, s), 8.71 (1H, s), 12.01 (1H, br s); m/z (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=205$.

【 0146 】

中間體 6 : 7-(溴甲基)-3-乙基-1H-1,6-噻啉-2-酮

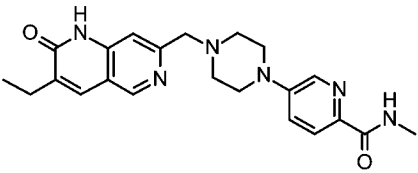
於 0°C 添加 CBr_4 (928 mg, 2.80 mmol) 至 3-乙基-7-(羥基甲基)-1H-1,6-噻啉-2-酮(中間體 5, 381 mg, 1.87

mmol) 及 三 苯 基 膦 (734 mg, 2.80 mmol) 於 CH₂Cl₂ (18.656 ml) 之攪拌溶液中並於 0℃攪拌生成的溶液 2 小時。將反應濃縮，生成的殘餘物藉由快速二氧化矽層析法純化，溶析梯度為 DCM 中的 0 至 15% MeOH。在減壓下濃縮產物級分而得到呈白色固體的 7-(溴甲基)-3-乙基-1H-1,6-噻啉-2-酮(中間體 6, 386 mg, 77 %)(含有三苯基氧化膦，難於分離)。此化合物無需進一步純化即經歷下一步驟。

$$m/z (ES^+) [M]^+ = 267.$$

【 0147 】

合成例 1：5-[4-[(3-乙基-2-側氧基-1H-1,6-噻啉-7-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺

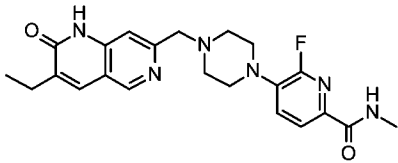


【 0148 】 於 20℃添加 DIPEA(0.059 mL, 0.34 mmol) 至 7-(溴甲基)-3-乙基-1H-1,6-噻啉-2-酮(中間體 6, 30 mg, 0.11 mmol)及 N-甲基-5-哌啶-1-基-吡啶-2-甲醯胺 2HCl (中間體 13, 42.8 mg, 0.15 mmol)於乙腈(1 mL)的攪拌溶液中。生成的溶液於 70℃攪拌 2 小時。在真空下移除溶劑並將生成的粗材料藉由逆相層析法(RediSep Rf Gold® C18, 於水中 0 至 90%乙腈, 0.1% NH₄OH 作為添加劑)進一步純化。在減壓下濃縮產物級分至乾燥而得到呈淺黃色固體的 5-[4-[(3-乙基-2-側氧基-1H-1,6-噻啉-7-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺(合成例 1, 23.60 mg, 51.7 %)。

¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) 1.18 (3H, br t), 2.54 (2H, m, 與溶劑 DMSO 峰重疊), 2.67 (4H, br s), 2.79 (3H, br d), 3.38 (4H, br s), 3.75 (2H, br s), 7.34 (1H, s), 7.42 (1H, br dd), 7.77 - 7.88 (2H, m), 8.29 (1H, br d), 8.40 (1H, br d), 8.75 (1H, s), 11.60 - 12.11 (1H, m); m/z (ES⁺) [M+H]⁺=407.

【 0149 】

合成例 2：5-[4-[(3-乙基-2-側氧基-1H-1,6-噻啶-7-基)甲基]哌啶-1-基]-6-氟-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺



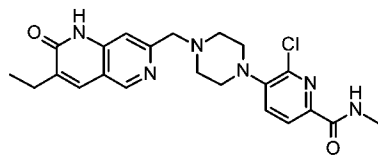
【 0150 】於 20℃添加 DIPEA(0.082 mL, 0.47 mmol)至 7-(溴甲基)-3-乙基-1H-1,6-噻啶-2-酮(中間體 6, 25 mg, 0.09 mmol)及 6-氟-N-甲基-5-哌啶-1-基-吡啶-2-甲醯胺, HCl (中間體 23, 28.3 mg, 0.10 mmol)於乙腈(2 mL)的攪拌溶液中。於 70℃攪拌生成的溶液 2 小時。在真空下移除溶劑。生成的殘餘物藉由快速二氧化矽層析法純化, 溶析梯度為 DCM 中的 0%至 20% MeOH。在減壓下濃縮產物級分而得到呈淺黃色固體的 5-[4-[(3-乙基-2-側氧基-1H-1,6-噻啶-7-基)甲基]哌啶-1-基]-6-氟-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺(合成例 2, 17.00 mg, 42.8%)。

¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) 1.18 (3H, t), 2.52 - 2.55 (2H, m, 與溶劑 DMSO 峰重疊), 2.64 (4H, br s), 2.77 (3H, d), 3.20 (4H, br s), 3.70 (2H, s), 7.32 (1H, s),

7.59 (1H, dd), 7.80 (1H, s), 7.86 (1H, d), 8.31 - 8.49 (1H, m), 8.73 (1H, s), 11.93 (1H, br s) ; m/z (ES⁺) [M+H]⁺=425.

【 0151 】

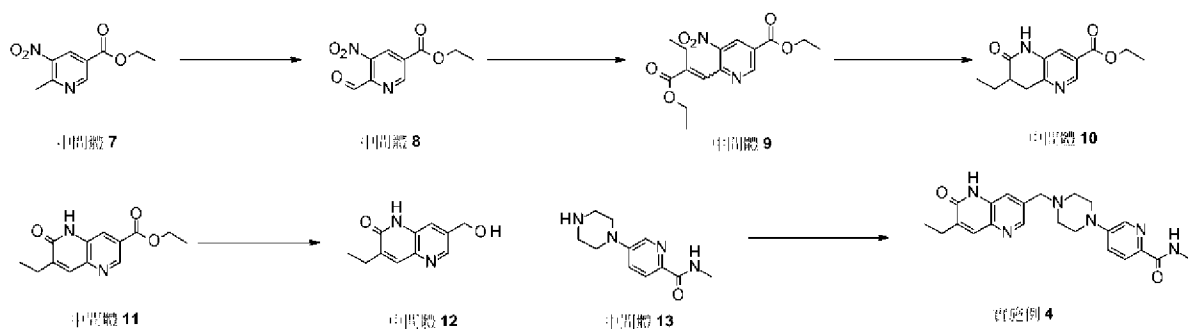
合成例 3：6-氯-5-[4-[(3-乙基-2-側氧基-1H-1,6-噻啉-7-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺



【 0152 】 於 20℃添加 DIPEA(0.082 mL, 0.47 mmol) 至 7-(溴甲基)-3-乙基-1H-1,6-噻啉-2-酮(中間體 6, 25 mg, 0.09 mmol)及 6-氯-N-甲基-5-哌啶-1-基-吡啶-2-甲醯胺, 2HCl(中間體 47, 33.7 mg, 0.10 mmol)於乙腈(2 mL)的攪拌溶液中並將生成的溶液於 70℃攪拌 2 小時。在真空下移除溶劑。生成的殘餘物藉由快速二氧化矽層析法純化, 溶析梯度為 DCM 中的 0%至 20% MeOH。在減壓下濃縮產物級分而得到呈白色固體的 6-氯-5-[4-[(3-乙基-2-側氧基-1H-1,6-噻啉-7-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺(合成例 3, 19.20 mg, 46.5 %)。

¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) 1.18 (3H, t), 2.53 (2H, m, 與溶劑 DMSO 峰重疊), 2.66 (4H, br s), 2.80 (3H, d), 3.15 (4H, br s), 3.72 (2H, s), 7.33 (1H, s), 7.68 (1H, d), 7.81 (1H, s), 7.95 (1H, d), 8.43 (1H, br d), 8.74 (1H, s), 11.93 (1H, s) ; m/z (ES⁺) [M+H]⁺=441.

【 0153 】



【 0154 】

中間體 8：6-甲醯基-5-硝基-吡啶-3-甲酸乙酯

於 110℃攪拌 6-甲基-5-硝基-吡啶-3-甲酸乙酯(中間體 7, 10 g, 47.58 mmol)及二氧化硒(7.92 g, 71.36 mmol)於 1,4-二噁烷(50 mL)之混合物 20 h。將反應混合物冷卻至室溫，通過矽藻土墊過濾並將該矽藻土以乙酸乙酯洗滌。濃縮合併的濾液，生成的殘餘物藉由快速二氧化矽層析法純化，溶析梯度為己烷中的 0%至 70%乙酸乙酯。在減壓下濃縮產物級分而得到呈棕色油狀物的 6-甲醯基-5-硝基-吡啶-3-甲酸乙酯(中間體 8, 9.70 g, 91 %)。¹H NMR (500 MHz, 氯仿-d) 1.48 (3H, t), 4.54 (2H, q), 8.81 (1H, d), 9.51 (1H, d), 10.32 (1H, s); m/z (ES⁺) [M]⁺=224.

【 0155 】

中間體 9：6-[(E)-2-乙氧基羰基丁-1-烯基]-5-硝基-吡啶-3-甲酸乙酯(E/Z 異構物之混合物)

於 0℃以加料漏斗於氫化鈉(9.63 g, 240.89 mmol)(60%，在礦物油中)於無水 THF(100 mL)的攪拌溶液中逐滴添加 2-(二乙氧基磷酸基)丁酸乙酯(60.8 g,

240.89 mmol)而得到灰色混合物。於 0℃攪拌生成的混合物 10 分鐘並經 10 分鐘加溫至室，並於 40℃攪拌 5 分鐘。將反應混合物冷卻至 -78℃，然後對此經冷卻的反應混合物緩緩添加 6-甲醯基-5-硝基-吡啶-3-甲酸乙酯(中間體 8, 22.5 g, 100.37 mmol)於 100 ml THF 之溶液。以飽和 NH₄Cl 溶液將混合物猝熄，以乙酸乙酯萃取。將合併的有機層經 Na₂SO₄ 乾燥，過濾並濃縮而提供粗產物。生成的殘餘物藉由快速二氧化矽層析法純化，溶析梯度為己烷中的 0%至 50%乙酸乙酯。在減壓下濃縮產物級分而得到呈黃色油狀物的 6-[(E)-2-乙氧基羰基丁-1-烯基]-5-硝基-吡啶-3-甲酸乙酯(中間體 9, 24.30 g, 75 %)(E/Z 異構物的 1:1 混合物)。¹H NMR (500 MHz, 氯仿-d) 1.13 (3H, t), 1.18 (3H, t), 1.23 (3H, t), 1.37 (3H, t), 1.45 (6H, q), 2.57 (2H, qd), 2.66 (2H, q), 4.11 - 4.24 (2H, m), 4.32 (2H, q), 4.45 - 4.56 (4H, m), 7.08 (1H, s), 7.85 (1H, s), 8.86 (2H, dd), 9.26 (1H, d), 9.43 (1H, d); m/z (ES⁺) [M]⁺=322.

【 0156 】

中間體 10 : 7-乙基-6-側氧基-7,8-二氫-5H-1,5-噻啶-3-甲酸乙酯

將 6-[(E)-2-乙氧基羰基丁-1-烯基]-5-硝基-吡啶-3-甲酸乙酯(E/Z 異構物的 1:1 混合物)(中間體 9, 3.75 g, 11.63 mmol)、Pd/C (1.857g, 1.75 mmol)(10%)於乙醇(30 mL)之混合物脫氣，充滿 H₂ (氣球)，並於室溫在 H₂ 氣

體環境下攪拌反應隔夜。混合物通過矽藻土床過濾並將矽藻土床以乙醇洗滌。濃縮後，添加在二噁烷中的 4M HCl (15 ml)至生成的殘餘物並於室溫攪拌混合物 30 分鐘。混合物以乙醚稀釋並濾出固體，以二乙醚洗滌並在真空下乾燥而得到呈白色固體的 7-乙基-6-側氧基-7,8-二氫-5H-1,5-噻啉-3-甲酸乙酯(中間體 10, 2.260 g, 78%)。 ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) 0.94 (3H, t), 1.33 (3H, t), 1.41 - 1.51 (1H, m), 1.69 - 1.81 (1H, m), 2.41 - 2.48 (1H, m), 2.94 (1H, dd), 3.20 (1H, dd), 4.35 (2H, t), 7.67 (1H, d), 8.61 (1H, d), 10.32 (1H, s); m/z (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=249$.

【 0157 】

中間體 11 : 7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啉-3-甲酸乙酯

將 7-乙基-6-側氧基-7,8-二氫-5H-1,5-噻啉-3-甲酸乙酯(中間體 10, 2.26 g, 9.10 mmol)溶解於 1,4-二噁烷 (40 mL)中，添加 DDQ (2.273 g, 10.01 mmol)並於回流下攪拌混合物 3 h。在減壓下移除溶劑，添加飽和 NaHCO_3 溶液並在室溫下攪拌殘餘物 1hr。濾出固體，以水並隨後以 10ml 之二乙醚洗滌。在真空下乾燥生成的固體而得到呈淡棕色固體的 7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啉-3-甲酸乙酯(中間體 11, 1.738 g, 78%)。

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) 1.14 - 1.28 (3H, m), 1.35 (3H, t), 2.58 (2H, q), 4.38 (2H, q), 7.83 (1H, s), 8.17 (1H, s), 8.90 (1H, s), 12.05 (1H, s); m/z (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=247$.

【 0158 】

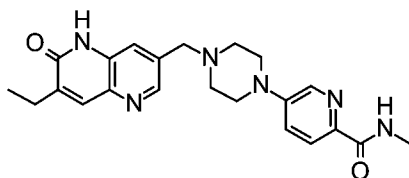
中間體 12：3-乙基-7-(羥基甲基)-1H-1,5-噻啉-2-酮

於 0°C 經 45 分鐘期間在氮氣下逐滴添加鋁氫化鋰 (2 M 於 THF (29.2 mL, 58.47 mmol)) 至在四氫呋喃 (150 mL) 中的 7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啉-3-甲酸乙酯 (中間體 11, 7.2 g, 29.24 mmol)。於 0°C 攪拌生成的混合物 1.5 小時。藉由逐滴添加 1 M aq HCl (29 mL)，將反應混合物猝熄。濃縮反應混合物並將固體以水 (~ 150 mL) 及 29 mL 之 1M HCl 溶液稀釋而獲得黃色懸浮液。藉由過濾收集固體，以水、二乙醚洗滌，並乾燥而獲得呈黃色固體的粗產物 (被一些無機鹽污染)。將此固體懸浮於甲醇與 DCM 之混合物 (2 : 1) (400 mL) 並加熱至回流。將固體濾出。將此固體再懸浮於甲醇/DCM 混合物並重複此程序 5 次以從此混合物中去除大部分產物。然後將合併的濾液濃縮直至約 100 mL 並藉由過濾收集固體，以乙醚洗滌，在真空下乾燥以產生呈黃色固體的 3-乙基-7-(羥基甲基)-1H-1,5-噻啉-2-酮 (中間體 12, 4.35 g, 72.8 %)。

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) 1.18 (3H, t), 2.52 - 2.56 (2H, m), 4.61 (2H, d), 5.44 (1H, t), 7.61 (1H, s), 7.74 (1H, s), 8.37 (1H, s), 11.87 (1H, br s); m/z (ES+) [M+H]⁺ = 205.3.

【 0159 】

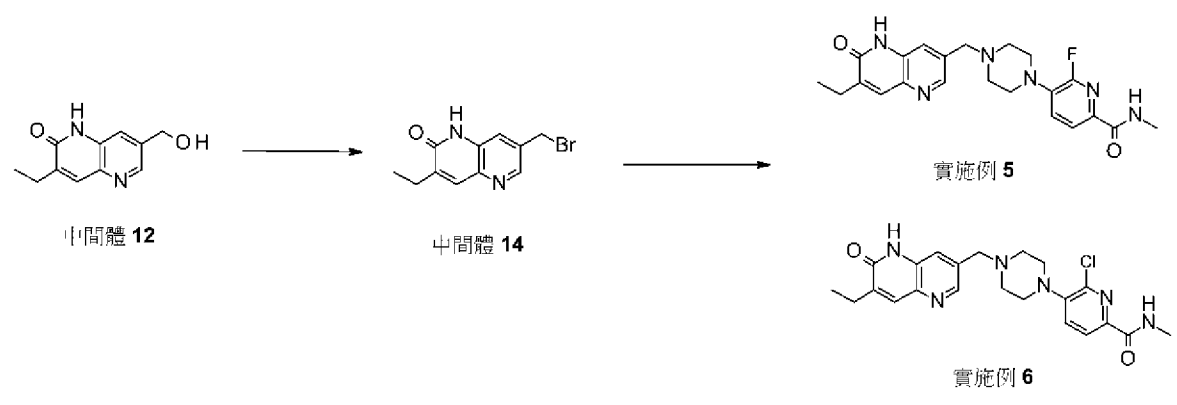
合成例 4：5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啉-3-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺



【0160】於 0°C 將亞硫醯氯 (6.41 mL, 88.14 mmol) 逐滴添加至 3-乙基-7-(羥基甲基)-1,5-噻啉-2(1H)-酮(中間體 12, 3 g, 14.69 mmol)及 N,N-二甲基甲醯胺 (0.114 mL, 1.47 mmol) 於 CH₂Cl₂ (60 mL) 的懸浮液中並於室溫攪拌生成的溶液 6 小時。將混合物濃縮至乾燥以得到粗製 7-(氯甲基)-3-乙基-1H-1,5-噻啉-2-酮(中間體 17)。

於 20°C 添加 DIPEA (12.83 mL, 73.45 mmol) 至 7-(氯甲基)-3-乙基-1H-1,5-噻啉-2-酮(中間體 17, 來自上述的粗製物)、碘化鉀 (0.488 g, 2.94 mmol) 及 N-甲基-5-吡啶-1-基-吡啶-2-甲醯胺, 2HCl (中間體 13, 4.31 g, 14.69 mmol) 於乙腈 (50.00 mL) 的攪拌溶液中。於 80°C 攪拌生成的溶液 2 小時。在真空下移除溶劑。將粗製材料以水稀釋, 以 NaHCO₃ 水溶液鹼化並以乙酸乙酯萃取。將有機層經硫酸鈉乾燥並濃縮而提供粗產物。生成的殘餘物藉由快速二氧化矽層析法純化, 溶析梯度為 DCM 中的 0 至 15% MeOH。在減壓下濃縮產物級分而得到呈灰白色部分結晶固體的 5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啉-3-基)甲基]吡啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺(合成例 4, 3.93 g, 65.8 %)。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) 1.19 (3H, t), 2.53 - 2.59 (6H, m), 2.79 (3H, d), 3.33 - 3.39 (4H, m), 3.66 (2H, s), 7.39 (1H, dd), 7.64 (1H, s), 7.76 (1H, s), 7.83 (1H, d), 8.27 (1H, d), 8.36 - 8.40 (1H, m), 8.41 (1H, d), 11.85 (1H, s); m/z (ES⁺) [M]⁺ = 406.

【 0161 】



【 0162 】

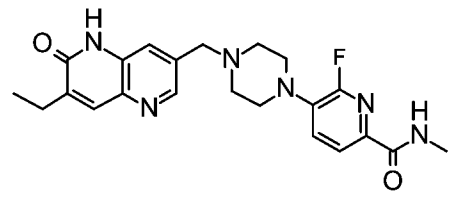
中間體 14：7-(溴甲基)-3-乙基-1H-1,5-噻啉-2-酮

於 0℃添加 CBr₄(219 mg，0.66 mmol)至 3-乙基-7-(羥基甲基)-1H-1,5-噻啉-2-酮(中間體 12，90 mg，0.44 mmol)及三苯基膦(173 mg，0.66 mmol)於 CH₂Cl₂(4 mL)的攪拌溶液中。於 0℃攪拌生成的溶液 2 小時。在真空下濃縮反應且生成的殘餘物藉由快速二氧化矽層析法純化，溶析梯度為 DCM 中的 0 至 15% MeOH。在減壓下濃縮產物級分而得到 7-(溴甲基)-3-乙基-1H-1,5-噻啉-2-酮(中間體 14，84 mg，71.4 %)(含有三苯基氧化膦，難於分離)。此化合物無需進一步純化即經歷下一步驟。

m/z (ES⁺) [M]⁺=267.

【 0163 】

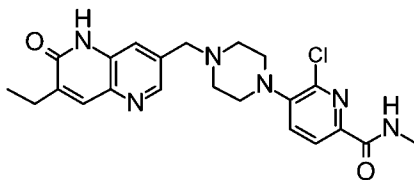
合成例 5：5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啉-3-基)甲基]哌咩-1-基]-6-氟-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺



【0164】於 20℃添加 DIPEA(0.082 mL, 0.47 mmol)至 7-(溴甲基)-3-乙基-1H-1,5-噻啉-2-酮(中間體 14, 25 mg, 0.09 mmol)及 6-氟-N-甲基-5-哌啶-1-基-吡啶-2-甲醯胺, 2HCl(中間體 23, 32.0 mg, 0.10 mmol)的乙腈(2 mL)之攪拌溶液中。於 70℃攪拌生成的溶液 2 小時。在真空下移除溶劑。生成的殘餘物藉由快速二氧化矽層析法純化, 溶析梯度為 DCM 中的 0%至 20% MeOH。在減壓下濃縮產物級分而得到淺黃色固體之 5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啉-3-基)甲基]哌啶-1-基]-6-氟-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺(合成例 5, 13.00 mg, 33 %)。¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) 1.19 (3H, t), 2.55 (2H, m, 與溶劑 DMSO 峰重疊), 2.58 (4H, br d), 2.77 (3H, d), 3.19 (4H, br s), 3.67 (2H, s), 7.57 (1H, dd), 7.63 (1H, s), 7.76 (1H, s), 7.85 (1H, d), 8.32 - 8.49 (2H, m), 11.85 (1H, s); m/z (ES⁺) [M+H]⁺=425.

【0165】

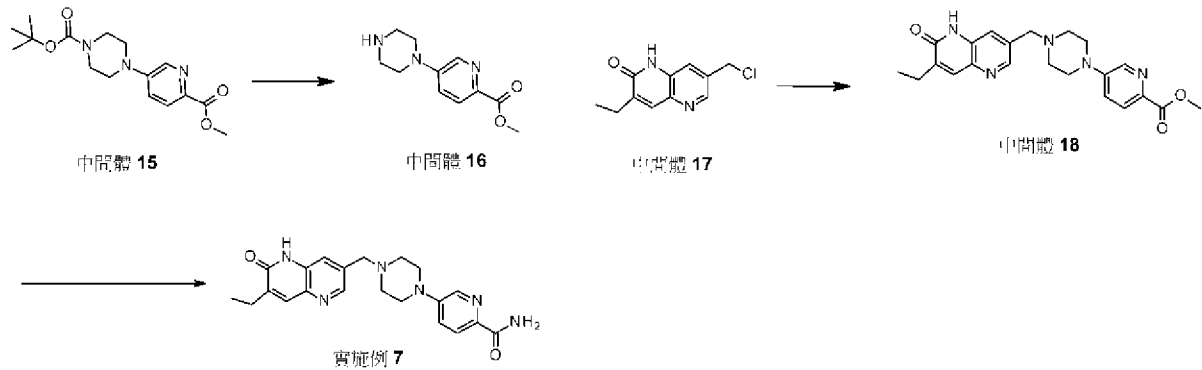
合成例 6：6-氯-5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啉-3-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺



【0166】於 20℃添加 DIPEA(0.082 mL, 0.47 mmol)至 7-(溴甲基)-3-乙基-1H-1,5-噻啉-2-酮(中間體 14, 25 mg, 0.09 mmol)及 6-氯-N-甲基-5-哌啶-1-基-吡啶-2-甲醯胺(中間體 48, 26.2 mg, 0.10 mmol)於乙腈(2 mL)之

攪拌溶液中。於 70℃攪拌生成的溶液 2 小時。在真空下移除溶劑。生成的殘餘物藉由快速二氧化矽層析法純化，溶析梯度為 DCM 中的 0%至 20% MeOH。在減壓下濃縮產物級分而得到呈淺黃色固體的 6-氯-5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啶-3-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺(合成例 6，19.80 mg，48.0 %)。1H NMR (500MHz, DMSO-d6) 1.19 (3H, t), 2.55 (2H, m，與溶劑 DMSO 峰重疊), 2.58 - 2.65 (4H, m), 2.79 (3H, d), 3.13 (4H, br s), 3.68 (2H, s), 7.63 (1H, d), 7.67 (1H, d), 7.76 (1H, s), 7.94 (1H, d), 8.34 - 8.50 (2H, m), 11.85 (1H, s)；m/z (ES⁺) [M+H]⁺=441.

【 0167 】



【 0168 】

中間體 16：5-哌啶-1-基吡啶-2-甲酸甲酯

將在二噁烷中的 HCl(4.67 mL，18.67 mmol)添加至 4-(6-甲氧基羰基-3-吡啶基)哌啶-1-甲酸三級丁酯(中間體 15，600 mg，1.87 mmol)於 MeOH(1 mL)之攪拌溶液中並於 rt 下攪拌生成的溶液 18 小時。在真空下移除溶劑以得到呈淡黃色固體的 5-哌啶-1-基吡啶-2-甲酸甲酯，2HCl (中間體 16，543 mg，99 %)。

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) 3.20 (4H, br s), 3.71 (4H, br s), 3.85 (3H, s), 7.58 (1H, br d), 7.99 (1H, br d), 8.43 (1H, br s), 9.73 (2H, br), 11.29 - 11.75 (1H, br) ; m/z (ES⁺) [M+H]⁺=222.

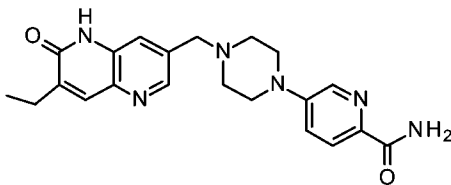
【 0169 】

中間體 18 : 5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啉-3-基)甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲酸甲酯

於 20°C 添加 DIPEA (944 μl, 5.40 mmol) 至 7-(氯甲基)-3-乙基-1H-1,5-噻啉-2-酮, HCl (中間體 17, 200 mg, 0.77 mmol)、碘化鈉 (11.57 mg, 0.08 mmol) 及 5-哌啶-1-基吡啶-2-甲酸甲酯, 2HCl (中間體 16, 250 mg, 0.85 mmol) 於乙腈 (6774 μl) 的攪拌溶液中。於 80°C 攪拌生成的溶液 3 小時。在真空下移除溶劑, 添加 0.4 mL 飽和碳酸氫鈉溶液及 1.5 mL 乙腈並攪拌反應 10 分鐘。濾出固體, 以 2 mL 水隨後 1 mL 乙腈洗滌而得到呈灰白色固體的 5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啉-3-基)甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲酸甲酯 (中間體 18, 158 mg, 50.2%)。 ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) 1.19 (3H, br t), 2.54 - 2.61 (6H, m), 3.40 (4H, br s), 3.66 (2H, s), 3.81 (3H, s), 7.35 (1H, br dd), 7.62 (1H, s), 7.75 (1H, s), 7.88 (1H, br d), 8.28 - 8.47 (2H, m), 12.03 (1H, br) ; m/z (ES⁺) [M+H]⁺=408.

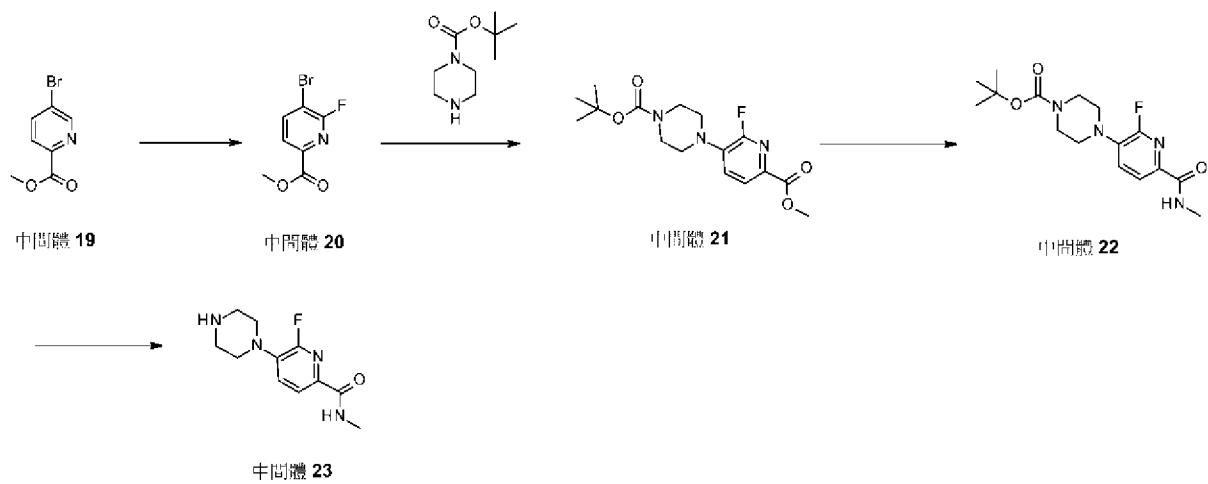
【 0170 】

合成例 7 : 5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啉-3-基)甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲醯胺



【 0171 】 添加氨(於甲醇中)(4 mL，28.00 mmol)至 5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啉-3-基)甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲酸甲酯(中間體 18，60 mg，0.15 mmol)並將生成的溶液加熱至 50℃ 24 h(密封管)。將反應冷卻至室溫，濾出固體並以 2 mL 甲醇洗滌以獲得呈淡棕色固體的 5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啉-3-基)甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲醯胺(合成例 7，88 mg，90 %)。¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) 1.19 (3H, t), 2.56 (6H, m，與溶劑 DMSO 峰重疊), 3.35 (4H, br d), 3.66 (2H, s), 7.30 (1H, br s), 7.40 (1H, dd), 7.64 (1H, s), 7.76 (2H, s), 7.85 (1H, d), 8.28 (1H, d), 8.41 (1H, d), 11.61 - 11.98 (1H, m)；m/z (ES⁺) [M+H]⁺=393.

【 0172 】



【 0173 】

中間體 20：5-溴-6-氟-吡啶-2-甲酸甲酯

將烘箱乾燥的燒瓶中注入於乙腈(60 mL)的 5-溴吡啶-2-甲酸甲酯(中間體 19, 6 g, 27.77 mmol)。添加氟化銀(II)(14.18 g, 97.21 mmol)並將混合物於室溫攪拌隔夜。反應混合物通過濾紙過濾並以 DCM 洗滌。濃縮濾液而得到淡棕色固體。將殘餘物懸浮於 DCM 及 sat. NH_4Cl 溶液之混合物中並濾出白色懸浮液。將有機層分離, 並將水溶液層以 DCM 萃取(100 ml x 2)。將合併的有機層經 Na_2SO_4 乾燥, 過濾並濃縮。生成的殘餘物藉由快速二氧化矽層析法純化, 溶析梯度為己烷中的 0 至 25% EtOAc。在減壓下濃縮產物級分至乾燥而得到 5-溴-6-氟-吡啶-2-甲酸甲酯(中間體 20, 5.98g 產率 90%)。 ^1H NMR (500 MHz, 氯仿-d) 4.01 (3H, s), 7.93 (1H, d), 8.15 (1H, t); m/z (ES^+) $[\text{M}]^+=234$.

【 0174 】

中間體 21 : 4-(2-氟-6-甲氧基羰基-3-吡啶基)哌啶-1-甲酸三級丁酯

於 80°C、 N_2 下攪拌哌啶-1-甲酸三級丁酯(13.11 g, 70.41 mmol)、5-溴-6-氟-吡啶-2-甲酸甲酯(中間體 20, 10.985 g, 46.94 mmol)、RuphosPd-G3 (2.5 g, 2.99 mmol)及 Cs_2CO_3 (38 g, 116.63 mmol)於 1,4-二噁烷(200 mL)之混合物隔夜。將混合物以水及乙酸乙酯稀釋, 將層分開。水溶液層以 DCM 萃取(100 ml x 2)。將合併的有機層經 Na_2SO_4 乾燥, 過濾並濃縮。生成的殘餘物藉由快速二氧化矽層析法純化, 溶析梯度為己烷中的 0% 至 100% EtOAc。在減壓下濃縮產物級分至乾燥而得到

呈黃色固體的 4-(2-氟-6-甲氧基羰基-3-吡啶基)哌啶-1-甲酸三級丁酯(中間體 21, 14.00 g, 88 %); ^1H NMR (500 MHz, 氯仿- d) 1.51 (9H, s), 3.16 - 3.32 (4H, m), 3.58 - 3.72 (4H, m), 3.98 (3H, s), 7.29 - 7.34 (1H, m), 8.00 (1H, d); m/z (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=340$.

【 0175 】

中間體 22 : 4-[2-氟-6-(甲基胺甲醯基)-3-吡啶基]哌啶-1-甲酸三級丁酯

於 r.t 攪拌在甲基胺(120 mL, 36.80 mmol, 33 wt% 在乙醇中)中的 4-(2-氟-6-甲氧基羰基-3-吡啶基)哌啶-1-甲酸三級丁酯(中間體 21, 12.49 g, 36.80 mmol) 24 小時(密封管)。在減壓下移除溶劑。將殘餘物溶解於 DCM 中並通過矽膠床過濾, 並以乙酸乙酯洗滌。將濾液濃縮並在真空下乾燥而得到呈黃色固體的 4-[2-氟-6-(甲基胺甲醯基)-3-吡啶基]哌啶-1-甲酸三級丁酯(中間體 22, 12.45 g, 100 %)。 ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 1.42 (9H, s), 2.77 (3H, d), 3.04 - 3.16 (4H, m), 3.43 - 3.56 (4H, m), 7.59 (1H, dd), 7.80 - 7.93 (1H, m), 8.41 (1H, q); m/z (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=340$.

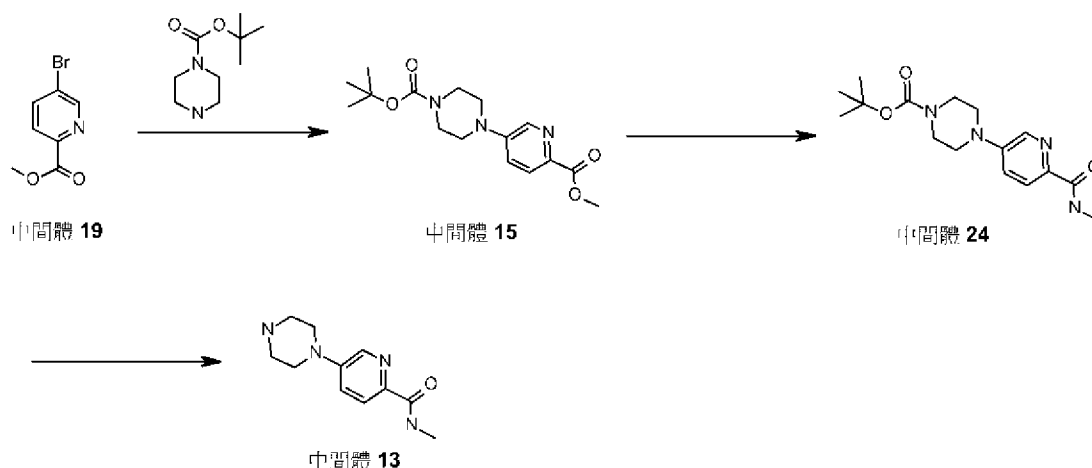
【 0176 】

中間體 23 : 6-氟-N-甲基-5-哌啶-1-基-吡啶-2-甲醯胺

於 0°C 添加 HCl (4M 於二噁烷, 100 mL, 400.00 mmol)至 4-[2-氟-6-(甲基胺甲醯基)-3-吡啶基]哌啶-1-甲酸三級丁酯(中間體 22, 12.5 g, 36.94 mmol)於 1,4-二噁烷(50 mL)的溶液中。於溫度溫熱至室溫期間攪拌反應

5h 而得到黃色懸浮液。將懸浮液以乙醚稀釋，濾出固體並以乙醚洗滌。在真空下乾燥此固體而得到呈淡黃色固體的 6-氟-N-甲基-5-哌啶-1-基-吡啶-2-甲醯胺，2HCl (中間體 23，11.42 g，99 %)。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2.8 (d, J=4.6 Hz, 3 H) 3.3 (br s, 4 H) 3.4 (br d, J=4.4 Hz, 4 H) 7.6 - 7.7 (m, 1 H) 7.9 (d, J=8.1 Hz, 1 H) 8.4 (br d, J=4.4 Hz, 1 H) 9.0 - 9.3 (m, 2 H) ; m/z (ES⁺) [M+H]⁺=239

【 0177 】



【 0178 】

中間體 15：4-(6-甲氧基羰基-3-吡啶基)哌啶-1-甲酸三級丁酯

將 Ruphos Pd G3 (4.07 g，4.86 mmol)添加至 5-溴吡啶-2-甲酸甲酯(中間體 19，30 g，138.87 mmol)、哌啶-1-甲酸三級丁酯(27.2 g，145.81 mmol)、Cs₂CO₃ (90 g，277.73 mmol)於 1,4-二噁烷(200 mL)的脫氣混合物中並在 N₂ 氣體環境下於 110°C攪拌混合物 6 hrs。然後將混合物冷卻至室溫，以水稀釋，以乙酸乙酯萃取(150 ml x

3)。將合併的有機層經無水 Na_2SO_4 乾燥並過濾。對此濾液添加 3-(二仲乙基三胺基)丙基-官能化的矽膠(12 g, 1.3 mmol/g 負載)並於 r.t 攪拌混合物 1hr。將混合物過濾，並將濾液濃縮至 ~100 ml。濾出結晶的黃色固體，以乙醚洗滌並在真空下乾燥而得到呈黃色固體的 4-(6-甲氧基羰基-3-吡啶基)哌啶-1-甲酸三級丁酯(中間體 **15**, 26.36 g, 82 mmol, 59.1 %)。 ^1H NMR (500 MHz, 氯仿- d) 1.50 (9H, s), 3.31 - 3.42 (4H, m), 3.56 - 3.68 (4H, m), 3.98 (3H, s), 8.04 (1H, d), 8.37 (1H, d); m/z (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=322$.

【0179】

中間體 24 : 4-[6-(甲基胺甲醯基)-3-吡啶基]哌啶-1-甲酸三級丁酯

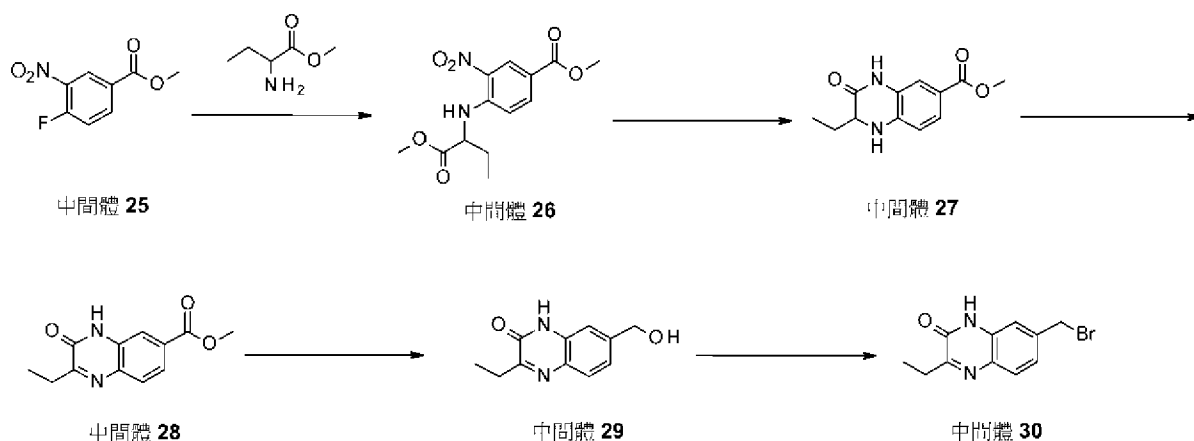
添加甲基胺(100 ml, 1155.26 mmol, 40%在水中)至 4-(6-甲氧基羰基-3-吡啶基)哌啶-1-甲酸三級丁酯(中間體 **15**, 36 g, 112.02 mmol)於 MeOH(100 mL)的溶液並將反應於室溫攪拌 4hs 以得到白色懸浮液。將混合物濃縮，將殘餘物分配於 sat. NH_4Cl 溶液與 DCM 之間，並將層分開。水溶液層以 DCM 萃取，合併有機層，以鹽水洗滌，經 Na_2SO_4 乾燥，過濾並濃縮而得到呈黃色固體的 4-[6-(甲基胺甲醯基)-3-吡啶基]哌啶-1-甲酸三級丁酯(中間體 **24**, 35.9 g, 100 %)。 ^1H NMR (500 MHz, 氯仿- d) 1.49 (9H, s), 3.02 (3H, d), 3.26 - 3.35 (4H, m), 3.58 - 3.67 (4H, m), 7.23 (1H, dd), 7.81 (1H, br d), 8.07 (1H, d), 8.16 (1H, d); m/z (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=321$.

【 0180 】

中間體 13：N-甲基-5-哌啶-1-基-吡啶-2-甲醯胺甲酸酯

添加 HCl (4M 於二噁烷，150 ml，600.00 mmol)至 4-[6-(甲基胺甲醯基)-3-吡啶基]哌啶-1-甲酸三級丁酯(中間體 24，35.9 g，112.05 mmol)於 MeOH (50 mL)的懸浮液中並於 r.t 攪拌生成的橘色懸浮液 4hr。在減壓下移除約 80 ml 之溶劑並將混合物以乙醚及己烷(200 ml，1/1)稀釋。藉由過濾收集固體，以己烷洗滌，乾燥並在真空下乾燥而得到呈黃色固體的 N-甲基-5-哌啶-1-基-吡啶-2-甲醯胺，2HCl 鹽(中間體 13，37.0 g，100 %)。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) 2.79 (3H, d), 3.22 (4H, br s), 3.53 - 3.67 (4H, m), 7.51 (1H, dd), 7.91 (1H, d), 8.33 (1H, d), 8.50 (1H, br s), 9.19 - 9.49 (2H, m); m/z (ES⁺) [M+H]⁺=221

【 0181 】



【 0182 】

中間體 26：4-(1-甲氧基羰基丙基胺基)-3-硝基-苯甲酸甲酯

分批添加碳酸氫鈉 (27.0 g, 321.39 mmol) 至 4-氟-3-硝基苯甲酸甲酯 (**中間體 25**, 16 g, 80.35 mmol)、及 2-氨基丁酸甲酯, HCl (14.81 g, 96.42 mmol) 於 THF (100 mL) 的攪拌混合物中。於室溫攪拌反應混合物隔夜。藉由添加水而將反應猝熄, 以乙酸乙酯萃取。將合併的有機層以飽和 aq. NaHCO₃ 溶液洗滌, 有機層經 MgSO₄ 乾燥並濃縮至乾燥以得到呈亮黃色固體的 4-(1-甲氧基羰基丙基氨基)-3-硝基-苯甲酸甲酯 (**中間體 26**, 22.86 g, 96 %)。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) 0.91 (3H, t), 1.75 - 2.12 (2H, m), 3.75 (3H, s), 3.85 (3H, s), 4.63 - 4.82 (1H, m), 7.15 (1H, d), 8.00 (1H, dd), 8.52 - 8.76 (2H, m).

【0183】

中間體 27 : 2-乙基-3-側氧基-2,4-二氫-1H-喹啉-6-甲酸甲酯

將 Pd/C (4.15 g, 3.90 mmol) 分批添加至 4-(1-甲氧基羰基丙基氨基)-3-硝基-苯甲酸甲酯 (**中間體 26**, 23.1 g, 77.97 mmol) 於 MeOH (300 mL) 的攪拌溶液中並在 H₂ 氣體環境下於室溫攪拌生成的漿液 30 h。在真空下移除甲醇, 添加 150 mL DMF 並攪拌混合物 10 min。在矽藻土上濾出鈀催化劑, 以 50 mL 之 DMF 洗滌 (材料在有機溶劑如 MeOH/DCM/EtOAc 中具有非常低的溶解度)。將濾液在 Genevac 中濃縮以得到呈灰色固體的 2-乙基-3-側氧基-2,4-二氫-1H-喹啉-6-甲酸甲酯 (**中間體 27**, 15.80 g, 87 %)。藉由 NMR 分析材料且不經純化而用於下一步驟。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) 0.91 (3H, t), 1.63 -

1.73 (2H, m), 3.75 (3H, s), 3.90 (1H, td), 6.71 (1H, d), 6.84 (1H, s), 7.33 (1H, d), 7.41 (1H, dd), 10.39 (1H, s); m/z (ES^+) $[M]^+=235$.

【 0184 】

中間體 28：2-乙基-3-側氧基-4H-喹啉-6-甲酸甲酯

添加 DDQ(15.87 g, 69.92 mmol)至 2-乙基-3-側氧基-2,4-二氫-1H-喹啉-6-甲酸甲酯(**中間體 27**, 15.6 g, 66.59 mmol)於 1,4-二噁烷(150 mL)的懸浮液。於室溫攪拌反應混合物隔夜。緩緩添加混合物至飽和 aq $NaHCO_3$ 溶液(~500 ml)並於室溫攪拌 20 min。過濾沉澱物，以水(100 ml)洗滌並乾燥以產生呈灰白色固體的 2-乙基-3-側氧基-4H-喹啉-6-甲酸甲酯(**中間體 28**, 11.40 g, 73.7%)。 ^1H NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$) 1.23 (3H, t), 2.83 (2H, q), 3.89 (3H, s), 7.73 - 7.86 (2H, m), 7.89 (1H, d), 12.45 (1H, s); m/z (ES^+) $[M+H]^+=233$.

【 0185 】

中間體 29：3-乙基-7-(羥基甲基)-1H-喹啉-2-酮

於 0°C在氮氣環境下經 50 分鐘的期間，逐滴添加鋁氫化鋰(2 M 於 THF(49.1 mL, 98.17 mmol))至 2-乙基-3-側氧基-4H-喹啉-6-甲酸甲酯(**中間體 28**, 11.4 g, 49.09 mmol)於四氫呋喃(350 mL)的漿液中。於 0°C攪拌生成的混合物 1.5 小時。於 0°C將反應混合物緩緩傾注至 1 M aq HCl (300 mL)。將反應混合物以乙酸乙酯(~300 ml X 2)萃取，隨後以 DCM/甲醇(5:1)萃取(150 ml x 3)。將合併的有機層濃縮至 300 ml 並以乙醚稀釋(200

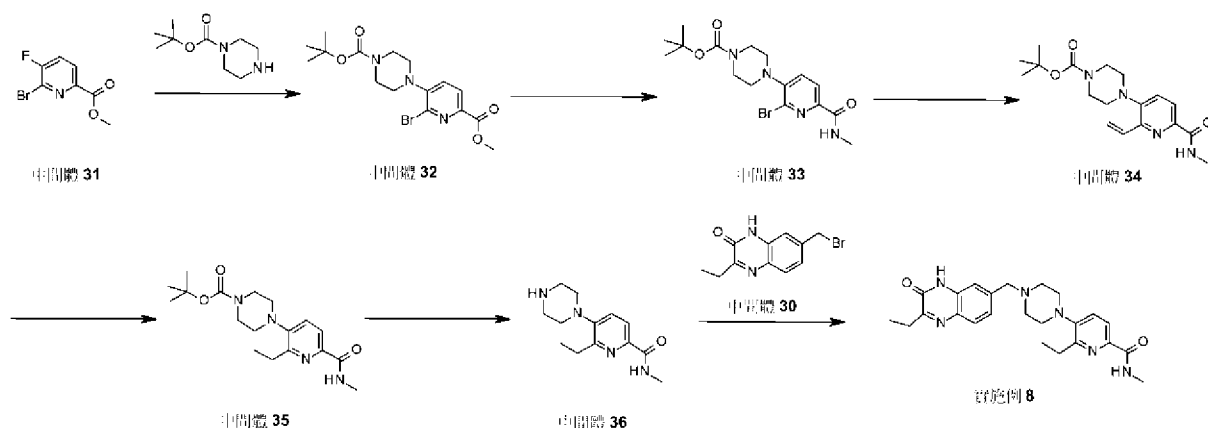
m1)而得到懸浮液。藉由過濾收集固體，以乙醚洗滌，在真空下乾燥以產生 3-乙基-7-(羥基甲基)-1H-喹啉-2-酮(中間體 29, 8.00 g, 80 %)。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) 1.22 (3H, t), 2.80 (2H, q), 4.59 (2H, s), 5.19 - 5.61 (1H, m), 7.19 (1H, dd), 7.28 (1H, s), 7.66 (1H, d), 12.28 (1H, br s); m/z (ES⁺) [M+H]⁺=205.

【 0186 】

中間體 30 : 7-(溴甲基)-3-乙基-1H-喹啉-2-酮

添加溴化氫(60 ml, 48 wt%於水)至 3-乙基-7-(羥基甲基)-1H-喹啉-2-酮(中間體 29, 7.8 g, 38.19 mmol)(生成澄清棕色溶液)並於 80°C攪拌混合物 8hrs, 將反應混合物冷卻至室溫, 傾注至 150 mL 冰水中以得到灰白色沈澱物。在真空下過濾固體並以水洗滌隨後以二乙醚洗滌, 並乾燥而得到呈米黃色固體的純度為 80%之 7-(溴甲基)-3-乙基-1H-喹啉-2-酮(中間體 30, 11.10 g, 84 %)。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) 1.20 (3H, t), 2.79 (2H, q), 4.79 (2H, s), 7.27 - 7.38 (2H, m), 7.69 (1H, d), 12.34 (1H, br s); m/z (ES⁺) [M]⁺=267.0.

【 0187 】



【 0188 】

中間體 32：4-(2-溴-6-甲氧基羰基-3-吡啶基)哌啶-1-甲酸三級丁酯

於 110 °C 攪拌哌啶-1-甲酸三級丁酯(**中間體 31**， 2.57 g， 13.80 mmol)、6-溴-5-氟-吡啶-2-甲酸甲酯(1.9 g， 8.12 mmol)及碳酸鉀(1.459 g， 10.55 mmol)於 DMF(20 mL)之混合物 5 小時，LCMS 指出完全轉化。將混合物冷卻至 r.t，以 DCM 及水稀釋，將層分開。將水層以 DCM 萃取兩次並將合併的有機層經無水 Na₂SO₄ 乾燥，過濾並濃縮。生成的殘餘物藉由快速二氧化矽層析法純化，溶析梯度為己烷中的 0%至 50% EtOAc。在減壓下濃縮產物級分至乾燥而得到呈淡黃色固體的 4-(2-溴-6-甲氧基羰基-3-吡啶基)哌啶-1-甲酸三級丁酯(**中間體 32**， 2.200 g， 67.7 %)。¹H NMR (500 MHz, 氯仿-d) 1.50 (9H, s), 3.05 - 3.20 (4H, m), 3.58 - 3.72 (4H, m), 3.98 (3H, s), 7.31 (1H, d), 8.06 (1H, d); m/z (ES⁺) [M+H]⁺=400.

【 0189 】

中間體 33：4-[2-溴-6-(甲基胺甲醯基)-3-吡啶基]哌啶-1-甲酸三級丁酯

將密封的壓力瓶注入 4-(2-溴-6-甲氧基羰基-3-吡啶基)哌啶-1-甲酸三級丁酯(**中間體 32**， 2.2 g， 5.50 mmol)及甲基胺(22 ml， 176.72 mmol)(33 w.t%於乙醇)並於 60 °C 加熱混合物 2 小時，LCMS 指出完全轉化。將混合物濃縮，生成的殘餘物藉由快速二氧化矽層析法純化，

溶析梯度為己烷中的 0%至 80% EtOAc。在減壓下濃縮產物級分至乾燥而得到呈白色固體的 4-[2-溴-6-(甲基胺甲醯基)-3-吡啶基]哌啶-1-甲酸三級丁酯(中間體 33, 2.200 g, 100%)。¹H NMR (500 MHz, 氯仿-d) 1.50 (9H, s), 3.02 (3H, d), 3.05 - 3.14 (4H, m), 3.56 - 3.74 (4H, m), 7.36 (1H, d), 7.68 (1H, br d), 8.11 (1H, d); m/z (ES⁺) [M+H]⁺=399.

【 0190 】

中間體 34 : 4-[6-(甲基胺甲醯基)-2-乙烯基-3-吡啶基]哌啶-1-甲酸三級丁酯

於 100°C、N₂ 下攪拌 4-[2-溴-6-(甲基胺甲醯基)-3-吡啶基]哌啶-1-甲酸三級丁酯(中間體 33, 200 mg, 0.50 mmol)、三丁基(乙烯基)錫烷(0.161 ml, 0.55 mmol)及第二代 XPhos Pd cycle (19.71 mg, 0.03 mmol)於 1,4-二噁烷(5 ml)的混合物 2.5hr, LCMS 指出完全轉化。混合物以 DCM 稀釋, 以飽和 NH₄Cl 洗滌, 乾燥有機層(無水 Na₂SO₄), 過濾並濃縮。生成的殘餘物藉由快速二氧化矽層析法純化, 溶析梯度為己烷中的 0%至 80% EtOAc。在減壓下濃縮產物級分至乾燥而得到呈白色固體的 4-[6-(甲基胺甲醯基)-2-乙烯基-3-吡啶基]哌啶-1-甲酸三級丁酯(中間體 34, 174 mg, 100%)。m/z (ES⁺) [M+H]⁺=347

【 0191 】

中間體 35 : 4-[2-乙基-6-(甲基胺甲醯基)-3-吡啶基]哌啶-1-甲酸三級丁酯

添加 Pd/C (53.5 mg, 0.05 mmol)(10 wt%乾量基準, 濕載)至 4-[6-(甲基胺甲醯基)-2-乙基-3-吡啶基]哌啶-1-甲酸三級丁酯(中間體 34, 174 mg, 0.50 mmol)於 MeOH (6 mL)的溶液。將燒瓶脫氣並再充填 H₂(氣球)。於 r.t 攪拌混合物隔夜。LCMS 指出反應未完成。添加更多的 Pd/C(53.5 mg, 0.05 mmol), 於 r.t 在 H₂ 氣體環境下攪拌生成的混合物 5hrs。混合物通過矽藻土墊過濾, 以甲醇洗滌, 將濾液濃縮至乾燥以產生呈無色殘餘物的 4-[2-乙基-6-(甲基胺甲醯基)-3-吡啶基]哌啶-1-甲酸三級丁酯(中間體 35, 172 mg, 98 %)。¹H NMR (500 MHz, 氯仿-d) 1.37 (3H, t), 1.51 (9H, s), 2.82 - 2.95 (6H, m), 3.05 (3H, d), 3.57 - 3.73 (4H, m), 7.39 (1H, d), 7.93 - 8.13 (2H, m); m/z (ES⁺) [M]⁺=348.

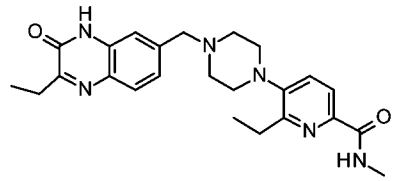
【0192】

中間體 36 : 6-乙基-N-甲基-5-哌啶-1-基-吡啶-2-甲醯胺

於 r.t 攪拌 4-[2-乙基-6-(甲基胺甲醯基)-3-吡啶基]哌啶-1-甲酸三級丁酯(中間體 35, 172 mg, 0.49 mmol)於 HCl (4M 於二噁烷, 8 ml, 32.00 mmol)的混合物 1hr 以得到白色懸浮液。混合物以乙醚稀釋並濾出固體, 在真空下乾燥以得到呈淡黃色固體的 6-乙基-N-甲基-5-哌啶-1-基-吡啶-2-甲醯胺, 2HCl(中間體 36, 159 mg, 100 %)。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) 1.31 (3H, t), 2.74 - 2.86 (5H, m), 3.00 - 3.14 (4H, m), 3.24 (4H, br s), 7.57 (1H, d), 7.82 (1H, d), 8.43 (1H, br d), 9.20 (2H, br s); m/z (ES⁺) [M+H]⁺=249.

【 0193 】

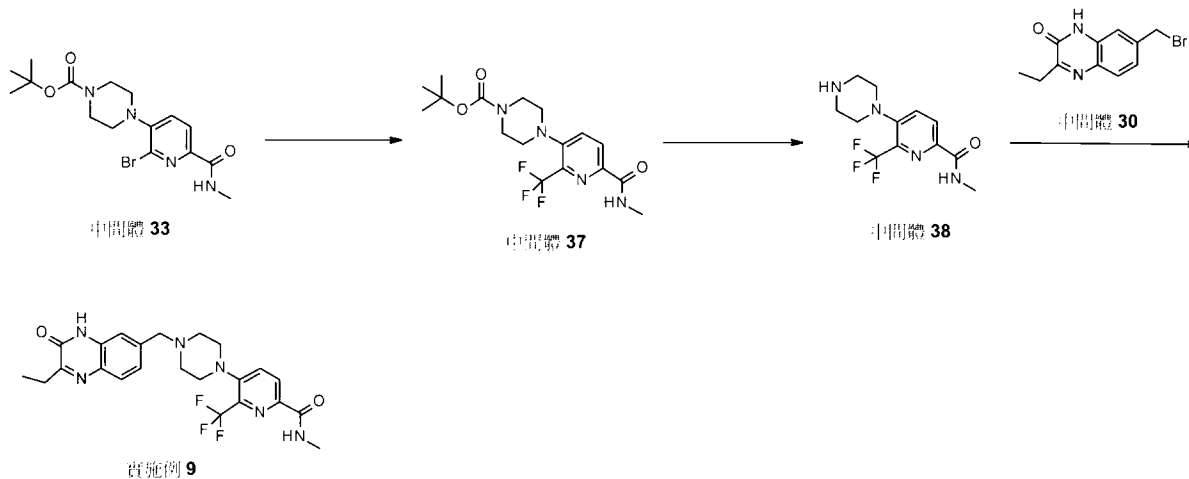
合成例 8：6-乙基-5-[4-[(2-乙基-3-側氧基-4H-喹啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺



【 0194 】 添加 DIPEA(0.203 mL, 1.17 mmol)至 6-乙基-N-甲基-5-哌啶-1-基-吡啶-2-甲醯胺, 2HCl (中間體 36, 75 mg, 0.23 mmol)及 7-(溴甲基)-3-乙基-1H-喹啉-2-酮(中間體 30, 69.3 mg, 0.23 mmol)於乙腈(3 mL)的懸浮液。於 60°C攪拌生成的混合物 3hrs, LCMS 指出完全轉化。將混合物冷卻至 r.t, 濃縮, 將殘餘物在 Gilson 逆相柱(以 0 至 95% ACN/水/0.1%TFA 溶析, 運行 15 分鐘, 從 5 至 9 分鐘收集)上進行純化。將含有產物的級分濃縮, 然後將殘餘物溶解於甲醇及 DCM。於 r.t 攪拌 300 mgs 之四烷基亞碳酸銨(tetraalkylammonium carbonate)聚合物鍵聯(40-90 目, 2.5-3.5mmol/g)及該混合物 10 min。然後將混合物過濾並以甲醇洗滌。將濾液濃縮, 再次溶解於水/CAN 之混合物中並將此混合物凍乾至乾燥以產生呈淡黃色固體的 6-乙基-5-[4-[(2-乙基-3-側氧基-4H-喹啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺(合成例 8, 60.0 mg, 59.1 %)。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) 1.22 (3H, t), 1.30 (3H, t), 2.54 - 2.69 (2H, m), 2.72 - 2.86 (7H, m), 2.93 (4H, br s), 3.26 (2H, s), 3.64 (2H, s), 7.17 - 7.33 (2H, m), 7.52 (1H, d),

7.69 (1H, br d), 7.80 (1H, d), 8.40 (1H, br d), 12.25 (1H, br s); m/z (ES⁺) $[M+H]^+=435$.

【 0195 】



【 0196 】

中間體 37：4-[6-(甲基胺甲酰基)-2-(三氟甲基)-3-吡啶基]哌啶-1-甲酸三級丁酯

於氟化銀(I)(176 mg, 1.39 mmol)於 DMF(2 mL)之良好攪拌混合物中，於室溫添加三甲基(三氟甲基)矽烷(0.247 mL, 1.67 mmol)。攪拌此混合物 20 min，隨後於其中添加銅粉(133 mg, 2.09 mmol)。攪拌 4h 後，反應混合物轉變成藍色(形成 $CuCF_3$ 的指標)。添加 4-(2-溴-6-甲氧基羰基-3-吡啶基)哌啶-1-甲酸三級丁酯(中間體 33, 150 mg, 0.38 mmol)至此混合物並於 90°C攪拌生成的混合物 18 hr 得到棕色懸浮液。LCMS 指出完全轉化。將混合物以乙酸乙酯稀釋並濾出固體。將濾液以水洗滌隨後以鹽水洗滌。有機層經無水 Na_2SO_4 乾燥，過濾並濃縮。生成的殘餘物藉由快速二氧化矽層析法純化，溶析梯度為己烷中的 0%至 70% EtOAc。在減壓下濃縮產

物級分至乾燥而得到呈黃色殘餘物的 4-[6-(甲基胺甲醯基)-2-(三氟甲基)-3-吡啶基]哌啶-1-甲酸三級丁酯(中間體 37, 146 mg, 100 %). ^1H NMR (500 MHz, 氯仿- d) 1.50 (9H, s), 2.93 - 3.03 (4H, m), 3.05 (3H, d), 3.55 - 3.69 (4H, m), 7.71 (1H, d), 7.81 (1H, br d), 8.33 (1H, d); m/z (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=389$.

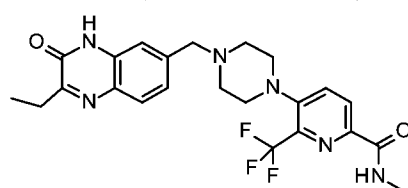
【 0197 】

中間體 38 : *N*-甲基-5-哌啶-1-基-6-(三氟甲基)吡啶-2-甲醯胺

於 r.t 攪拌 4-[6-(甲基胺甲醯基)-2-(三氟甲基)-3-吡啶基]哌啶-1-甲酸三級丁酯(中間體 37, 146 mg, 0.38 mmol)於 HCl(4M 於二噁烷, 8 ml, 32.00 mmol)的混合物 2 hr。LCMS 指出完全轉化。將溶劑濃縮至體積 2 ml, 混合物以乙醚/己烷(15 ml, 5/1)稀釋。濾出固體並在真空下乾燥而得到呈粉紅色固體的 *N*-甲基-5-哌啶-1-基-6-(三氟甲基)吡啶-2-甲醯胺, 2HCl (中間體 38, 127 mg, 94 %). ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) 2.83 (3H, d), 3.21 (8H, br s), 8.09 (1H, d), 8.23 (1H, d), 8.46 (1H, br d), 9.08 (2H, br d); m/z (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=289$.

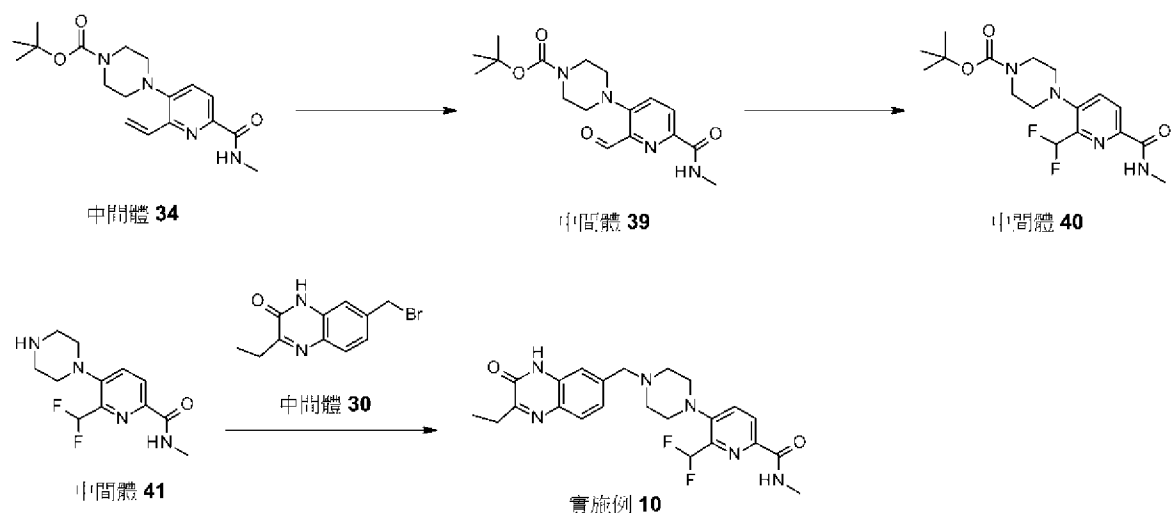
【 0198 】

合成例 9 : 5-[4-[(2-乙基-3-側氧基-4*H*-喹啶-6-基)甲基]哌啶-1-基]-*N*-甲基-6-(三氟甲基)吡啶-2-甲醯胺



【 0199 】 添加 DIPEA(0.121 mL, 0.69 mmol)至 N-甲基-5-哌啶-1-基-6-(三氟甲基)吡啶-2-甲醯胺, 2HCl (中間體 38, 50 mg, 0.14 mmol) 及 7-(溴甲基)-3-乙基喹啉-2(1H)-酮(中間體 30, 46.2 mg, 0.14 mmol)於乙腈(3 mL)的懸浮液中並於 60°C攪拌此混合物 3hr。將混合物冷卻至 r.t, 濃縮, 將殘餘物在 Gilson 逆相柱(以 0 至 95% ACN/水/0.1%TFA 溶析)上進行純化。於室溫濃縮含有產物的級分。然後將殘餘物溶解於甲醇及 DCM, 隨後添加 250 mg 之四烷基亞碳酸銨聚合物鍵聯(40-90 目, 2.5-3.5mmol/g)並於室溫攪拌此混合物 10min。然後濾出固體, 以甲醇洗滌並濃縮濾液而得到固體。然後將此固體再溶解於水/CH₃CN 的混合物中並凍乾至乾燥而得到呈白色固體的 5-[4-[(2-乙基-3-側氧基-4H-喹啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-6-(三氟甲基)吡啶-2-甲醯胺(合成例 9, 40.0 mg, 60.9%)。¹H NMR (500 MHz, 氯仿-d) 1.40 (3H, t), 2.70 (4H, br s), 2.98 - 3.08 (5H, m), 3.12 (4H, br s), 3.72 (2H, br s), 7.29 - 7.32 (1H, m), 7.37 (1H, dd), 7.74 (1H, d), 7.79 - 7.88 (2H, m), 8.33 (1H, d), 11.06 (1H, br s); m/z (ES⁺) [M+H]⁺=475.

【 0200 】



【 0201 】

中間體 39：4-[2-甲醯基-6-(甲基胺甲醯基)-3-吡啶基]嘧啶-1-甲酸三級丁酯

添加在 H₂O 中的四氧化鐵 (0.050 mL, 6.35 μmol) 至 4-[6-(甲基胺甲醯基)-2-乙烯基-3-吡啶基]嘧啶-1-甲酸三級丁酯 (**中間體 34**, 110 mg, 0.32 mmol)、2,6-二甲基吡啶 (0.074 mL, 0.64 mmol) 及過碘酸鈉 (272 mg, 1.27 mmol) 於 THF (5 mL)/水 (1 mL)/三級丁醇 (0.304 mL, 3.18 mmol) 的溶液中並於 rt 下攪拌此混合物隔夜而得到黃色懸浮液。LCMS 及 TLC 指出完全轉化。以水稀釋反應並以乙酸乙酯萃取。濃縮後，生成的殘餘物藉由快速二氧化矽層析法純化，溶析梯度為己烷中的 0% 至 100% EtOAc。在減壓下濃縮產物級分至乾燥而得到呈黃色固體的 4-[2-甲醯基-6-(甲基胺甲醯基)-3-吡啶基]嘧啶-1-甲酸三級丁酯 (**中間體 39**, 100 mg, 90%)。¹H NMR (500 MHz, 氯仿-d) 1.50 (9H, s), 3.07 (3H, d), 3.14 - 3.29 (4H, m), 3.66 - 3.79 (4H, m), 7.49 (1H, d), 7.86 (1H, br d), 8.28 (1H, d), 10.10 (1H, s). m/z (ES⁺) [M+H]⁺=349.

【 0202 】

中間體 40：4-[2-(二氟甲基)-6-(甲基胺甲醯基)-3-吡啶基]哌啶-1-甲酸三級丁酯

將於 CH_2Cl_2 (2 mL) 中的 4-[2-甲醯基-6-(甲基胺甲醯基)-3-吡啶基]哌啶-1-甲酸三級丁酯 (中間體 39, 99 mg, 0.28 mmol) 冷卻至 0°C , 添加 DAST (0.710 mL, 0.71 mmol) (1M 於 DCM), 於室溫攪拌生成的混合物 3 hr。TLC 及 LCMS 指出完全轉化。逐滴添加 sat. NaHCO_3 溶液而將反應猝熄並以 DCM 萃取。將合併的有機物經無水 Na_2SO_4 乾燥, 過濾並濃縮而得到粗產物。生成的殘餘物藉由快速二氧化矽層析法純化, 溶析梯度為己烷中的 0% 至 100% EtOAc。在減壓下濃縮產物級分至乾燥而得到呈灰白色固體的 4-[2-(二氟甲基)-6-(甲基胺甲醯基)-3-吡啶基]哌啶-1-甲酸三級丁酯 (中間體 40, 94 mg, 89 %). ^1H NMR (500 MHz, 氯仿- d) 1.51 (9H, s), 2.89 - 3.03 (4H, m), 3.06 (3H, d), 3.54 - 3.73 (4H, m), 6.82 - 7.16 (1H, m), 7.64 (1H, d), 7.94 (1H, br d), 8.29 (1H, d); m/z (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=371$.

【 0203 】

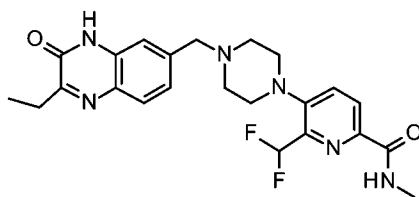
中間體 41：6-(二氟甲基)-*N*-甲基-5-哌啶-1-基-吡啶-2-甲醯胺

於 r.t 攪拌 4-[2-(二氟甲基)-6-(甲基胺甲醯基)-3-吡啶基]哌啶-1-甲酸三級丁酯 (中間體 40, 92 mg, 0.25 mmol) 在 HCl 4M (於 1,4-二噁烷 (6 mL, 24.00 mmol)) 的混合物 1.5 hr 而得到橘色懸浮液, 混合物以乙醚稀釋, 過

濾，並將固體再次溶解於甲醇，濃縮至乾燥以產生呈橘色固體的 6-(二氟甲基)-N-甲基-5-哌啶-1-基-吡啶-2-甲醯胺，2HCl (中間體 41, 56.0 mg, 65.7 %). ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) 2.83 (3H, d), 3.03 - 3.23 (5H, m), 3.30 (4H, br s), 7.06 - 7.49 (1H, m), 7.92 (1H, d), 8.13 (1H, d), 8.43 (1H, br d), 9.00 (2H, br d); m/z (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=271$.

【0204】

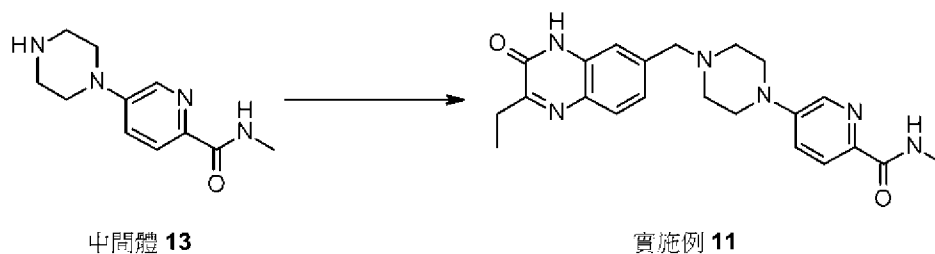
合成例 10：6-(二氟甲基)-5-[4-[(2-乙基-3-側氧基-4H-喹啶啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺



【0205】添加 DIPEA(0.127 mL, 0.73 mmol)至 6-(二氟甲基)-N-甲基-5-哌啶-1-基-吡啶-2-甲醯胺，2HCl (中間體 41, 50 mg, 0.15 mmol)及 7-(溴甲基)-3-乙基喹啶啉-2(1H)-酮(中間體 30, 48.6 mg, 0.15 mmol)於乙腈(3 mL)的懸浮液中。於 60°C攪拌生成的混合物 3hr, LCMS 指出完全轉化。將混合物濃縮，並將殘餘物在 Gilson 逆相柱(以 0 至 95% ACN/水/0.1%TFA 溶析)上進行純化。於室溫濃縮含產物的級份。然後將殘餘物溶解於甲醇及 DCM，隨後添加 250 mg 之四烷基亞碳酸銨聚合物鍵聯(40-90 目, 2.5-3.5mmol/g)並於室溫攪拌混合物 10min。然後濾出固體，以甲醇洗滌並濃縮濾液而得到固體。然後將此固體再溶解於水/CH₃CN 的混合物並凍乾至乾燥

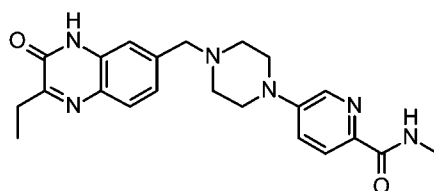
而得到呈黃色固體的 6-(二氟甲基)-5-[4-[(2-乙基-3-側氧基-4H-喹啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺(合成例 10, 50.0 mg, 75%)。¹H NMR (500 MHz, 氯仿-d) 1.40 (3H, t), 2.72 (4H, br s), 2.97 - 3.17 (9H, m), 3.73 (2H, s), 6.84 - 7.15 (1H, m), 7.32 (1H, s), 7.37 (1H, d), 7.64 (1H, d), 7.83 (1H, d), 7.95 (1H, br d), 8.29 (1H, d), 11.32 - 11.62 (1H, m); m/z (ES⁺) [M+H]⁺=457.

【0206】



【0207】

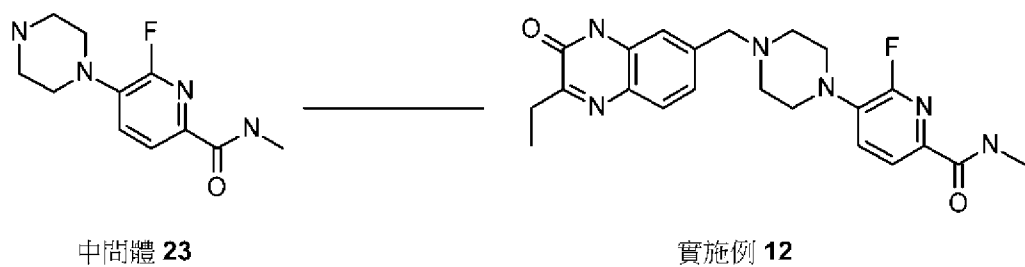
合成例 11：5-[4-[(2-乙基-3-側氧基-4H-喹啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺



【0208】在 20 mL 小瓶中添加 7-(溴甲基)-3-乙基喹啉-2(1H)-酮(中間體 30, 0.147 g, 0.55 mmol)及 N-甲基-5-哌啶-1-基-吡啶-2-甲醯胺, 2HCl (中間體 13, 0.161 g, 0.55 mmol)。將小瓶密封, 抽空, 並再充填 N₂。添加乙腈(3 mL)及 DIPEA(0.481 mL, 2.75 mmol)至小瓶並放置於預加熱至 70 °C 的加熱板。於相同溫度攪拌反應混合物 2 小時並冷卻至室溫。在真空下將反應體

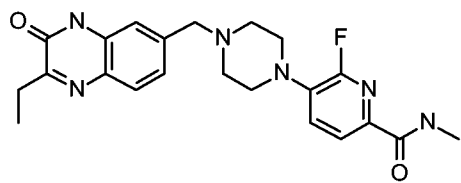
積減少至其初始體積的 1/3 並添加 NaHCO_3 水溶液 (2 mL)。攪拌反應混合物 30 分鐘，過濾並將固體以水 (50 mL) 洗滌。粗產物藉由快速二氧化矽層析法純化，使用 DCM 中的 0-30% MeOH，以產生呈淡黃色固體的 5-[4-[(2-乙基-3-側氧基-4H-喹啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺 (合成例 11, 93.0 mg, 41.6%)。 ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 1.22 (3H, t), 2.52 - 2.60 (4H, m), 2.73 - 2.85 (5H, m), 3.30 (4H, m, 與水峰重疊), 3.62 (2H, s), 7.22 - 7.31 (2H, m), 7.39 (1H, dd), 7.69 (1H, d), 7.83 (1H, d), 8.23 - 8.31 (1H, m), 8.39 (1H, br d), 12.13 - 12.36 (1H, m); m/z (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=407$.

【 0209 】



【 0210 】

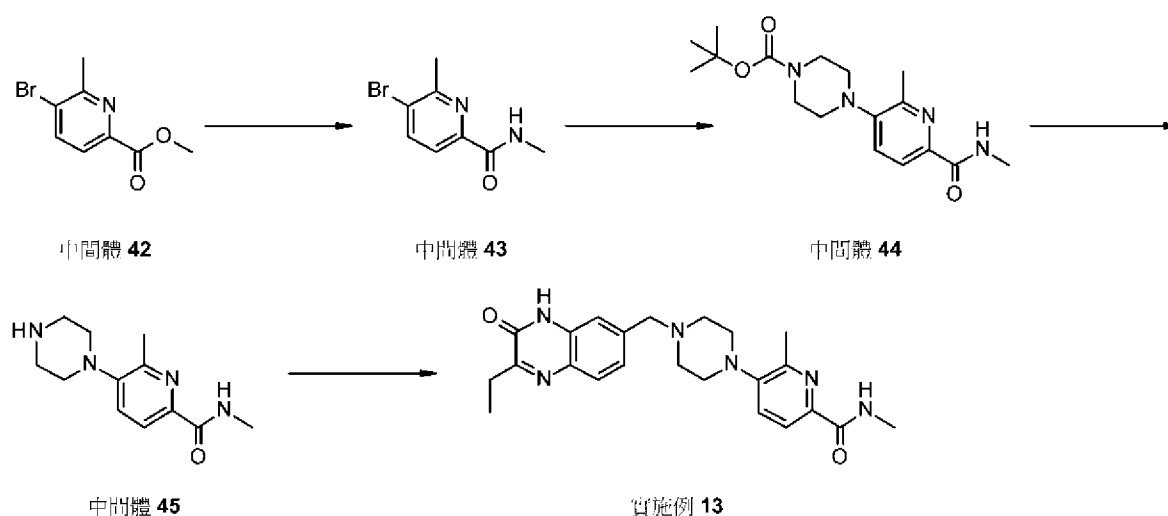
合成例 12 : 5-[4-[(2-乙基-3-側氧基-4H-喹啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]-6-氟-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺



【 0211 】 添加 7-(溴甲基)-3-乙基喹啉-2(1H)-酮 (中間體 30, 150 mg, 0.56 mmol) 至 6-氟-N-甲基-5-哌啶-1-基-吡啶-2-甲醯胺 (中間體 23, 60 mg, 0.25 mmol) 及

DIPEA(0.270 mL, 1.55 mmol)於 NMP (2 mL)中。於 80℃ 攪拌生成的混合物 2 小時。在減壓下移除溶劑。藉由製備型 HPLC(管柱：XBridge Shield RP18 OBD 管柱，5μm，19x150 mm；流動相 A：水 (10 MMOL/L NH₄HCO₃，0.1% NH₃.H₂O)，流動相 B：ACN；流速：20 mL/min；梯度：8 min 內 28% B 至 38% B；254；220 nm；RT：8.02 min)純化粗產物。將含有所欲化合物的級分蒸發至乾燥而得到呈白色固體的 5-[4-[(2-乙基-3-側氧基-4H-喹啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]-6-氟-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺(合成例 12，9 mg，42.9%)。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1.33 (3H, t), 2.65 - 2.72 (4H, m), 2.87 - 2.95 (5H, m), 3.26 - 3.30 (4H, m), 3.71 (2H, s), 7.33 - 7.41 (2H, m), 7.52 (1H, dd), 7.76 (1H, d), 7.90 (1H, dd)；¹⁹F NMR (376 MHz, CD₃OD) δ -73.40；m/z (ES⁺) [M+H]⁺=425.

【 0212 】



【 0213 】

中間體 43：5-溴-N,6-二甲基吡啶醯胺

將甲基胺於 THF(20 mL, 40.00 mmol)之 2 M 溶液添加至 5-溴-6-甲基吡啶甲酸甲酯(中間體 42, 2.0 g, 8.69 mmol)並於 80°C 攪拌生成的混合物 18 小時。在減壓下移除溶劑。藉由逆相層析法純化粗產物, 溶析梯度為水(0.1% NH_4HCO_3)中的 5 至 80% MeOH。將純的級分蒸發至乾燥而得到呈淺黃色固體的 5-溴-N,6-二甲基吡啶醯胺(中間體 43, 1.5 g, 75%)。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 2.65 (3H, s), 2.82 (3H, d), 7.75 (1H, d), 8.17 (1H, d), 8.57 – 8.76 (1H, m); m/z (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=229$.

【 0214 】

中間體 44 : 4-(2-甲基-6-(甲基胺甲醯基)吡啶-3-基)哌啶-1-甲酸三級丁酯

在氮氣下, 將 5-溴-N,6-二甲基吡啶醯胺(中間體 43, 1.0 g, 4.37 mmol)添加至於甲苯(20 mL)中的哌啶-1-甲酸三級丁酯(0.894 g, 4.80 mmol)、BINAP (0.272 g, 0.44 mmol)、 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0.098 g, 0.44 mmol)及 Cs_2CO_3 (3.56 g, 10.91 mmol)中。於 80°C 攪拌生成的混合物 16 小時。在減壓下移除溶劑。粗產物藉由逆相層析法純化, 溶析梯度為水(0.4% HCO_2H)中的 5 至 30% MeOH。將純的級分蒸發至乾燥而得到呈棕色固體的 4-(2-甲基-6-(甲基胺甲醯基)吡啶-3-基)哌啶-1-甲酸三級丁酯(中間體 44, 1.2 g, 82%)。 ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 1.50 (9H, s), 2.58 (3H, s), 2.92 – 3.00 (7H, m), 3.62 (4H, m), 7.50 (1H, d), 7.88 (1H, d); m/z (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=335$.

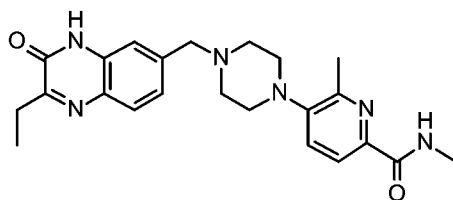
【 0215 】

中間體 45 : *N*,6-二甲基-5-(哌啶-1-基)吡啶醯胺

添加 4-(2-甲基-6-(甲基胺甲醯基)吡啶-3-基)哌啶-1-甲酸三級丁酯(**中間體 44** , 1.18 g , 3.53 mmol)至 HCl 於 1,4-二噁烷(10 mL , 329.15 mmol)的 4 M 溶液中。於室溫攪拌生成的混合物 1 小時。藉由過濾收集沉澱物,以石油醚(5 mL x 2)、Et₂O (5 mL x 2)洗滌,並在真空下乾燥而得到呈黃色固體的 *N*,6-二甲基-5-(哌啶-1-基)吡啶醯胺(**中間體 45** , 0.77 g , 81%)。 ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 2.86 (3H, s), 3.02 (3H, s), 3.42 – 3.54 (8H, m), 8.29 (2H, d); m/z (ES⁺) [M+H]⁺=235.

【 0216 】

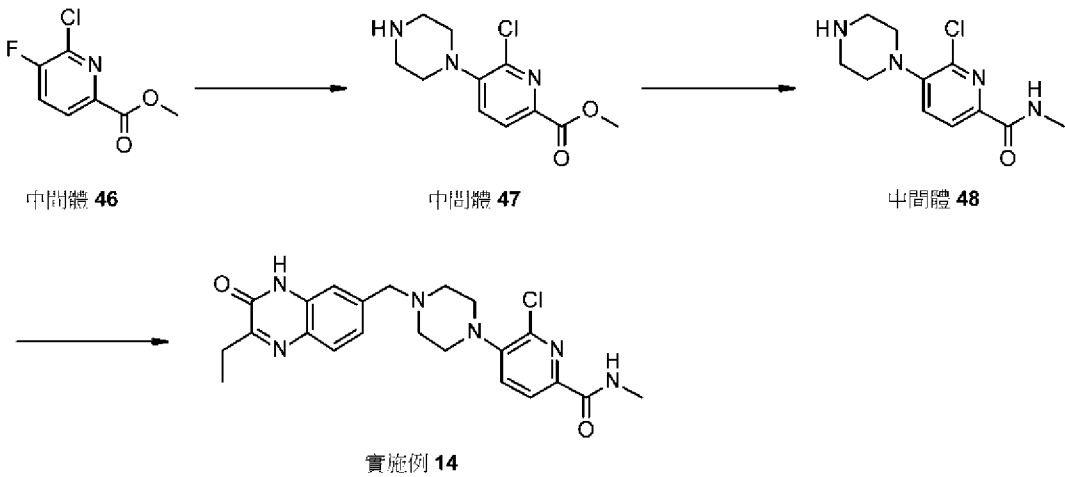
合成例 13 : 5-[4-[(2-乙基-3-側氧基-4*H*-喹啶啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]-*N*,6-二甲基-吡啶-2-甲醯胺



【 0217 】 將 7-(溴甲基)-3-乙基喹啶啉-2(1*H*)-酮(**中間體 30** , 100 mg , 0.37 mmol)添加至於 NMP (2 mL)的 *N*,6-二甲基-5-(哌啶-1-基)吡啶醯胺(**中間體 45** , 90 mg , 0.33 mmol)及 DIPEA(0.36 mL , 2.05 mmol)中。於 80℃攪拌生成的混合物 2 小時。在減壓下移除溶劑。藉由製備型 HPLC(管柱 : XBridge Prep OBD C18 管柱 30 x 150mm , 5μm ; 流動相 A : 水(10 MMOL/L NH₄HCO₃) , 流動相 B : ACN ; 流速 : 60 mL/min ; 梯度 : 7 min 內 30% B 至

40% B ; 254 ; 220 nm ; RT : 6.43 min) 純化粗產物。將含有所欲化合物的級分蒸發至乾燥而得到呈灰白固體的 5-[4-[(2-乙基-3-側氧基-4H-噻嘔啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]-N,6-二甲基-吡啶-2-甲醯胺 (合成例 13, 68.7 mg, 43.6%)。 ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1.33 (3H, t), 2.55 (3H, s), 2.71 (4H, s), 2.87 – 2.99 (5H, m), 3.05 (4H, t), 3.73 (2H, s), 7.35 (1H, s), 7.38 (1H, d), 7.49 (1H, d), 7.77 (1H, d), 7.87 (1H, d) ; m/z (ES+) [M+H]⁺=421.

【 0 2 1 8 】



【 0 2 1 9 】

中間體 47：6-氯-5-(哌嗪-1-基)吡啶甲酸甲酯

將哌啶 (1.0 g, 11.61 mmol) 添加至於 MeCN (30 mL) 中的 6-氯-5-氟吡啶甲酸甲酯 (中間體 46, 1.0 g, 5.28 mmol)。於 80°C 攪拌生成的混合物 18 小時。在減壓下移除溶劑。粗產物藉由逆相層析法純化，溶析梯度為水 (0.1% NH_4HCO_3) 中的 5 至 60% MeCN。將純的級分蒸發至乾燥而得到呈紅色油狀物的 6-氯-5-(哌啶-1-基)吡啶甲酸甲酯 (中間體 47, 1.28 g, 95%)。 ^1H NMR (400 MHz,

DMSO- d_6) δ 2.81 – 2.91 (4H, m), 3.04 – 3.08 (4H, m), 3.85 (3H, s), 7.61 (1H, d), 8.00 (1H, d)(NH 質子未顯示) ; m/z (ES^+) $[M+H]^+=256$.

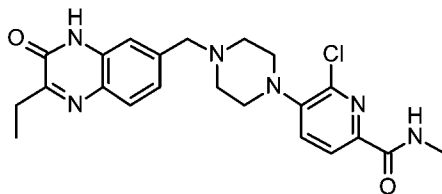
【 0220 】

中間體 48 : 6-氯-N-甲基-5-(哌啶-1-基)吡啶鹽胺

將甲基胺於 THF(40 mL, 80.00 mmol)的 2 M 溶液添加至 6-氯-5-(哌啶-1-基)吡啶甲酸甲酯(**中間體 47**, 1.26 g, 4.93 mmol)。於 80°C 攪拌生成的混合物 18 小時。在減壓下移除溶劑。粗產物藉由逆相層析法純化, 溶析梯度為水(0.1% NH_4HCO_3)中的 5 至 60% MeCN。將純的級分蒸發至乾燥而得到呈淺黃色油狀物的 6-氯-N-甲基-5-(哌啶-1-基)吡啶鹽胺(**中間體 48**, 1.12 g, 89%)。 ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 2.79 (3H, d), 2.85 – 2.89 (4H, m), 2.97 – 3.02 (4H, m), 7.63 (1H, d), 7.94 (1H, d), 8.45 (1H, q)(哌啶-NH 質子未顯示) ; m/z (ES^+) $[M+H]^+=255$.

【 0221 】

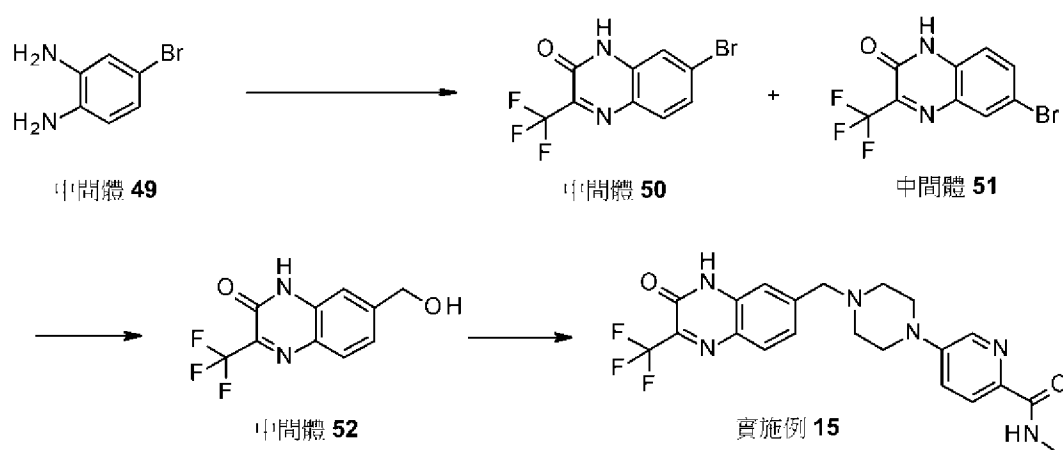
合成例 14 : 6-氯-5-[4-[(2-乙基-3-側氧基-4H-喹啶啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲鹽胺



【 0222 】 將 7-(溴甲基)-3-乙基喹啶啉-2(1H)-酮(**中間體 30**, 200 mg, 0.75 mmol)添加至於 NMP (2 mL)中的 6-氯-N-甲基-5-(哌啶-1-基)吡啶鹽胺(**中間體 48**, 100 mg,

0.39 mmol)及 DIPEA(0.358 mL, 2.05 mmol)。於 80℃攪拌生成的混合物 2 小時。在減壓下移除溶劑。藉由製備型 HPLC(管柱：XBridge Prep OBD C18 管柱 30×150 mm 5μm；流動相 A：水(10 MMOL/L NH₄HCO₃)，流動相 B：ACN；流速：60 mL/min；梯度：於 8 min 內 30% B 至 40% B；254；220 nm；RT：7.3 min)純化粗產物。將含有所欲化合物的級分蒸發至乾燥而得到呈白色固體的 6-氯-5-[4-[(2-乙基-3-側氧基-4H-喹啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺(合成例 14, 52.6 mg, 30.4%)。¹HNMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1.33 (3H, t), 2.71 (4H, s), 2.87 – 2.96 (5H, m), 3.23 (4H, s), 3.73 (2H, s), 7.33 – 7.41 (2H, m), 7.62 (1H, d), 7.77 (1H, d), 8.00 (1H, d)；m/z (ES⁺) [M+H]⁺=441.

【 0223 】



【 0224 】

中間體 50：7-溴-3-(三氟甲基)喹啉-2(1H)-酮

將 4-溴苯-1,2-二胺(中間體 49, 0.9 g, 4.81 mmol) 添加至於甲苯(10 mL)的 3,3,3-三氟-2-側氧基丙酸甲酯 (0.9 g, 5.77 mmol)。於 100°C 攪拌生成的混合物 60 分鐘。在減壓下移除溶劑。粗產物藉由快速二氧化矽層析法純化, 溶析梯度為在石油醚中的 0 至 50% EtOAc。將純的級分蒸發至乾燥而得到呈灰白固體的 7-溴-3-(三氟甲基)喹啉-2(1H)-酮及 6-溴-3-(三氟甲基)喹啉-2(1H)-酮之位置異構物性混合物 (regioisomeric mixture)(中間體 50+中間體 51, 1.28 g, 45.4%)。分離位置異構物之混合物, 未解釋 ^1H NMR 譜; m/z (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=295$.

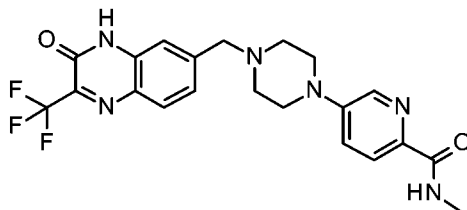
【 0225 】

中間體 52 : 7-(羥基甲基)-3-(三氟甲基)喹啉-2(1H)-酮

添加 $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ (0.3 g, 0.26 mmol)至 7-溴-3-(三氟甲基)喹啉-2(1H)-酮及 6-溴-3-(三氟甲基)喹啉-2(1H)-酮(中間體 50+中間體 51, 1.2 g, 2.05 mmol)及(三丁基錫烷基)甲醇(1.2 g, 3.74 mmol)於 1,4-二噁烷(40 mL)的混合物中。在氮氣下於 100°C 攪拌生成的混合物 18 小時。在減壓下移除溶劑。粗產物藉由逆相層析法純化, 溶析梯度為於水 (0.1% HCO_2H) 中的 5 至 50% MeCN。將純的級分蒸發至乾燥而得到呈灰白固體的 7-(羥基甲基)-3-(三氟甲基)喹啉-2(1H)-酮(中間體 52, 0.32 g, 64.0%)。 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$,) δ 4.63 (2H, d), 5.52 (1H, t), 7.30 (1H, dd), 7.38 (1H, d), 7.83 (1H, d), 13.05 (1H, s); m/z (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=245$.

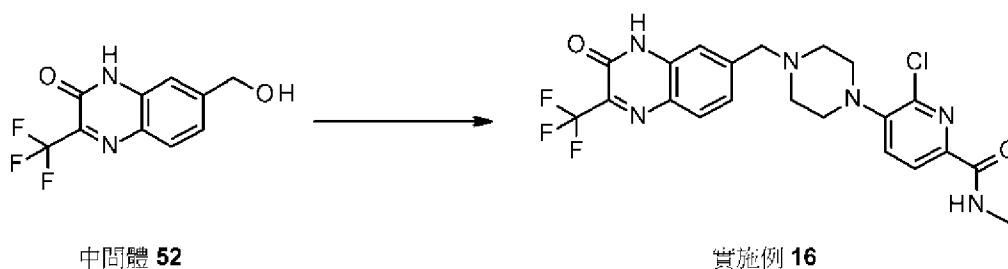
【 0226 】

合成例 15：N-甲基-5-[4-[[3-側氧基-2-(三氟甲基)-4H-喹啶-6-基]甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲醯胺



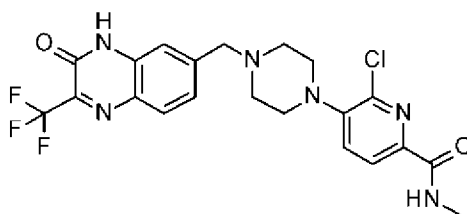
【 0227 】 將 33% HBr 於 AcOH(3 mL, 18.23 mmol)的溶液添加至 7-(羥基甲基)-3-(三氟甲基)喹啶-2(1H)-酮(中間體 52, 111 mg, 0.45 mmol)。於 80℃攪拌生成的混合物 1 小時。在減壓下移除溶劑。將 DIEA(0.5 mL, 2.86 mmol)及 N-甲基-5-(哌啶-1-基)吡啶醯胺(中間體 13, 100 mg, 0.45 mmol)添加至上列於 NMP (3 mL)的混合物。於 80℃攪拌生成的混合物 1 小時。在減壓下移除溶劑。藉由製備型 HPLC(管柱：XBridge Prep OBD C18 管柱, 30×150 mm 5μm；流動相 A：水(10 MMOL/L NH₄HCO₃), 流動相 B：ACN；流速：60 mL/min；梯度：7 min 內 22 B 至 32 B；254；220 nm；RT：5.77)純化粗產物。將含有所欲化合物的級分蒸發至乾燥而得到呈白色固體的 N-甲基-5-[4-[[3-側氧基-2-(三氟甲基)-4H-喹啶-6-基]甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲醯胺(合成例 15, 44.0 mg, 21.71%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 2.55 - 2.62 (m, 4H), 2.78 (d, 3H), 3.34 - 3.38 (t, 4H), 3.69 (s, 2H), 7.34 - 7.44 (m, 3H), 7.80 - 7.91 (m, 2H), 8.27 (d, 1H), 8.36 - 8.41 (m, 1H), 12.97 (s, 1H)；¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO-d₆) δ -68.36；m/z (ES⁺) [M+H]⁺=447.

【 0228 】



【 0229 】

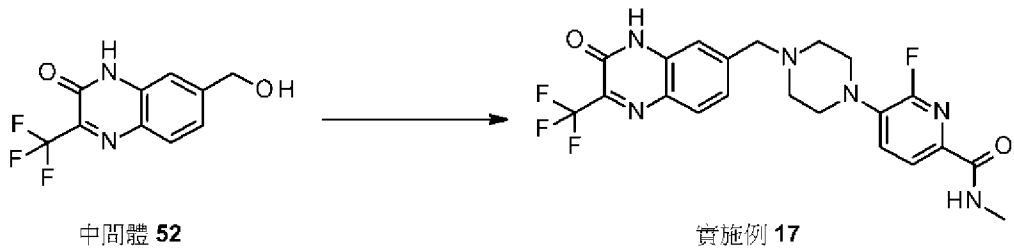
合成例 16：6-氯-N-甲基-5-[4-[[3-側氧基-2-(三氟甲基)-4H-喹啉-6-基]甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲醯胺



【 0230 】 將於 AcOH (3 mL, 18.23 mmol) 的 33% HBr 添加至 7-(羥基甲基)-3-(三氟甲基)喹啉-2(1H)-酮(中間體 52, 43.1 mg, 0.18 mmol)。於 80℃攪拌生成的混合物 1 小時。在減壓下移除溶劑。添加 DIPEA(0.5 mL, 2.86 mmol)及 6-氯-N-甲基-5-(哌啶-1-基)吡啶醯胺(中間體 48, 45 mg, 0.18 mmol)至上列於 NMP (5 mL) 的混合物。於 80℃攪拌生成的混合物 1 小時。在減壓下移除溶劑。藉由製備型 HPLC(管柱：XBridge Prep OBD C18 管柱, 30×150 mm 5um; 流動相 A：水(10 MMOL/L NH₄HCO₃), 流動相 B：ACN; 流速：60 mL/min; 梯度：於 7 min 內 10 B 至 50 B; 254; 220 nm; RT：6.75) 純化粗產物。將含有所欲化合物的級分蒸發至乾燥而得到呈灰白固體的 6-氯-N-甲基-5-[4-[[3-側氧基-2-(三氟

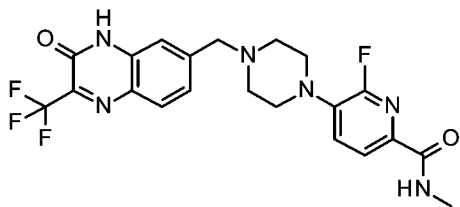
甲基)-4H-喹啉-6-基]甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲醯胺
(合成例 16, 22.00 mg, 25.9%)。 ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 2.56 - 2.64 (s, 4H), 2.79 (d, 3H), 3.09 - 3.17 (m, 4H), 3.71 (s, 2H), 7.36 - 7.42 (m, 2H), 7.67 (d, 1H), 7.88 (d, 1H), 7.94 (d, 1H), 8.39 - 8.44 (m, 1H), 12.89 (s, 1H); ¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO) δ -68.41; m/z (ES+) [M+H]⁺=481.

【 0231 】



【 0232 】

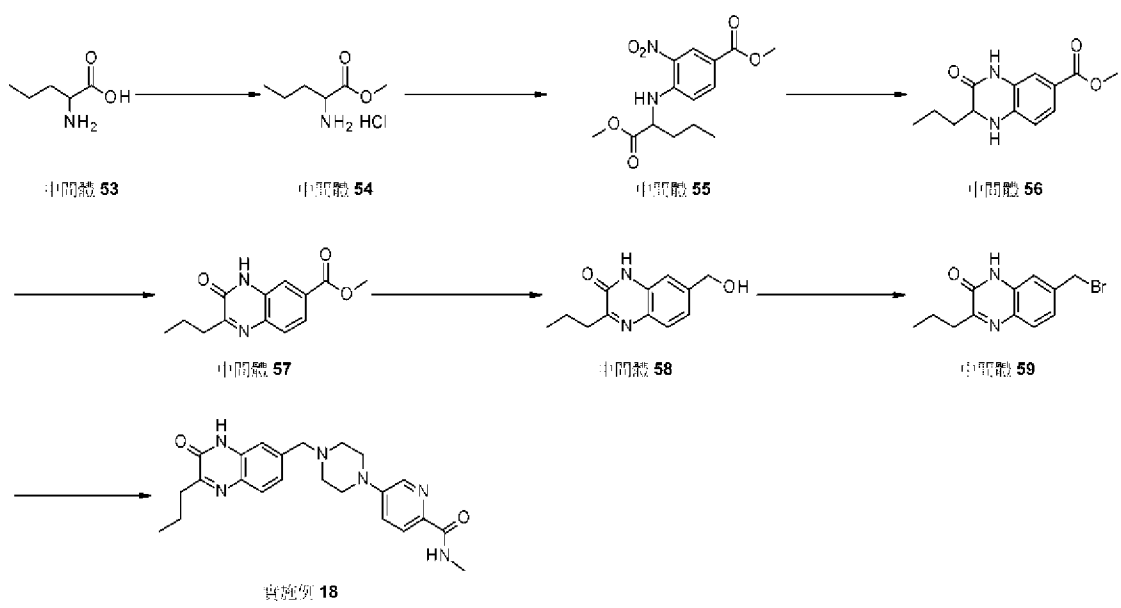
合成例 17: 6-氟-N-甲基-5-[4-[[3-側氧基-2-(三氟甲基)-4H-喹啉-6-基]甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲醯胺



【 0233 】 將於 AcOH 的 33% HBr(3 mL, 55.25 mmol) 添加至 7-(羥基甲基)-3-(三氟甲基)喹啉-2(1H)-酮(中間體 52, 102 mg, 0.42 mmol)中。於 80℃攪拌生成的混合物 1 小時。在減壓下移除溶劑。將 6-氟-N-甲基-5-(哌啶-1-基)吡啶醯胺(中間體 23, 100 mg, 0.42 mmol)及 DIPEA(0.5 mL, 2.86 mmol)添加至上列於 NMP (5 mL)的混合物。於 80℃攪拌生成的混合物 1 小時。在減壓下移

除溶劑。藉由製備型 HPLC(管柱：XBridge Prep OBD C18 管柱，30×150 mm 5um；流動相 A：水(10 MMOL/L NH₄HCO₃)，流動相 B：ACN；流速：60 mL/min；梯度：於 8 min 內 15 B 至 40 B；254；220 nm；RT：7.2) 純化粗產物。將含有所欲化合物的級分蒸發至乾燥而得到呈白色固體的 6-氟-N-甲基-5-[4-[[3-側氧基-2-(三氟甲基)-4H-喹啶啉-6-基]甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲醯胺 (合成例 17，66.0 mg，33.9%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 2.55 - 2.69 (m, 4H), 2.77 (d, 3H), 3.15 - 3.23 (m, 4H), 3.69 (s, 2H), 7.33 - 7.46 (m, 2H), 7.58 (dd, 1H), 7.78 - 7.93 (m, 2H), 8.37 - 8.42 (m, 1H), 12.99 (s, 1H)；¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO-d₆) δ -68.36,-72.52；m/z (ES⁺) [M+H]⁺=465.

【 0234 】



【 0235 】

中間體 54：2-胺基戊酸甲酯鹽酸鹽

於 0°C，將 SOCl_2 (17 mL, 232.94 mmol) 逐滴添加至於 MeOH (200 mL) 的 2-胺基戊酸 (中間體 53, 10.0 g, 85.36 mmol)。於室溫攪拌生成的混合物 18 小時。在減壓下移除溶劑而得到呈白色固體的 2-胺基戊酸甲酯鹽酸鹽 (中間體 54, 15.78 g, 110%)。 ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz) δ 0.88 (3H, t), 1.19 – 1.51 (2H, m), 1.67 – 1.83 (2H, m), 3.74 (3H, s), 3.89 – 3.93 (1H, m), 8.64 (3H, s); m/z (ES+) $[\text{M}+\text{H}]^+=132$.

【 0236 】

中間體 55：4-(1-甲氧基-1-側氧基戊-2-基胺基)-3-硝基苯甲酸甲酯

將碳酸氫鈉 (20.0 g, 238.08 mmol) 添加至於 THF 的 2-胺基戊酸甲酯鹽酸鹽 (中間體 54, 15.57 g, 92.88 mmol) 及 4-氟-3-硝基苯甲酸甲酯 (9.0 g, 45.19 mmol) (160 mL)。於室溫攪拌生成的混合物 18 小時。在減壓下移除溶劑。將反應混合物以 EtOAc (150 mL) 稀釋，依次以水 (100 mL x 1)、飽和 NaHCO_3 (100 mL x 1) 及飽和鹽水 (100 mL x 1) 洗滌。將有機層經 Na_2SO_4 乾燥，過濾並蒸發而得到呈黃色油狀物的 4-(1-甲氧基-1-側氧基戊-2-基胺基)-3-硝基苯甲酸甲酯 (中間體 55, 14.09 g, 100%)。 ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 0.89 (3H, t), 1.26 – 1.41 (2H, m), 1.84 – 1.94 (2H, m), 3.73 (3H, s), 3.83 (3H, s), 4.68 – 4.75 (1H, m), 7.12 (1H, d), 8.00 (1H, d), 8.60 (1H, d), 8.63 (1H, d); m/z (ES+) $[\text{M}+\text{H}]^+=311$.

【 0237 】

中間體 56：3-側氧基-2-丙基-1,2,3,4-四氫喹啉-6-甲酸甲酯

將 $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (20% wt, 1.58 g, 2.25 mmol) 添加至於 MeOH (300 mL) 中的 4-((1-甲氧基-1-側氧基戊-2-基)胺基)-3-硝基苯甲酸甲酯 (中間體 55, 14.05 g, 45.28 mmol)。於室溫 H_2 下攪拌生成的混合物 30 小時。過濾反應混合物。將沉澱物以 DMF (100 mL) 洗滌並將濾液蒸發至乾燥而得到粗產物。將粗產物以 DCM (10 mL) 洗滌並在真空下乾燥而得到呈白色固體的 3-側氧基-2-丙基-1,2,3,4-四氫喹啉-6-甲酸甲酯 (中間體 56, 9.12 g, 81%)。 ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 0.87 (3H, t), 1.32 – 1.46 (2H, m), 1.57 – 1.64 (2H, m), 3.74 (3H, s), 3.88 – 3.93 (1H, m), 6.70 (1H, d), 6.83 (1H, d), 7.32 (1H, d), 7.40 (1H, dd), 10.38 (1H, s); m/z (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=249$.

【 0238 】

中間體 57：3-側氧基-2-丙基-3,4-二氫喹啉-6-甲酸甲酯

將 DDQ (9.42 g, 41.50 mmol) 添加至於 1,4-二噁烷 (200 mL) 的 3-側氧基-2-丙基-1,2,3,4-四氫喹啉-6-甲酸甲酯 (中間體 56, 9.12 g, 36.73 mmol)。於室溫攪拌生成的混合物 18 小時。將反應混合物以飽和 NaHCO_3 (200 mL) 稀釋。於室溫攪拌生成的混合物 0.5 小時。藉由過濾收集沉澱物，以水 (1000 mL) 洗滌並在真空下乾燥而得到呈灰白固體的 3-側氧基-2-丙基-3,4-二氫喹啉-6-

甲酸甲酯(中間體 57, 7.86 g, 87%)。 ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 0.98 (3H, t), 1.68 - 1.80 (2H, m), 2.75 - 2.83 (2H, m), 3.89 (3H, s), 7.73 - 7.85 (2H, m), 7.88 (1H, d), 12.45 (1H, s); m/z (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=247$.

【 0239 】

中間體 58 : 7-(羥基甲基)-3-丙基喹啉-2(1H)-酮

於 0°C , 將 DIBAL-H 於 THF(100 mL, 100.00 mmol) 的 1 M 溶液逐滴添加至於 THF(200 mL) 的 3-側氧基-2-丙基-3,4-二氫喹啉-6-甲酸甲酯(中間體 57, 7.81 g, 31.71 mmol)。於室溫攪拌生成的混合物 18 小時。以 MeOH (5 mL) 及飽和酒石酸單鉀單鈉四水合物水溶液(20 mL)將反應混合物猝熄, 蒸發有機層而得到呈白色固體的 7-(羥基甲基)-3-丙基喹啉-2(1H)-酮(中間體 58, 1.2 g, 17.34%)。 ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 0.97 (3H, t), 1.36 - 1.77 (2H, m), 2.71 - 2.79 (2H, m), 4.59 (2H, s), 5.39 (1H, s), 7.18 (1H, dd), 7.27 (1H, d), 7.65 (1H, d), 12.30 (1H, s); m/z (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=219$.

【 0240 】

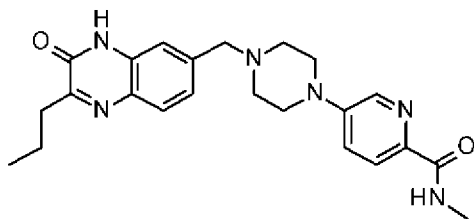
中間體 59 : 7-(溴甲基)-3-丙基喹啉-2(1H)-酮

將於 AcOH 的 33% HBr(74.6 μl , 1.37 mmol)添加至 7-(羥基甲基)-3-丙基喹啉-2(1H)-酮(中間體 58, 300 mg, 1.37 mmol)。於 80°C 攪拌生成的混合物 1 小時。在減壓下移除溶劑而得到呈棕色固體的 7-(溴甲基)-3-丙基喹啉-2(1H)-酮(中間體 59, 600 mg, 155%)(粗產物為不純的且含有 AcOH 及其它雜質。產物不經進一步純化

而使用於下一步驟。 ^1H NMR 譜不清楚且未解釋； m/z (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=282$ 。

【 0241 】

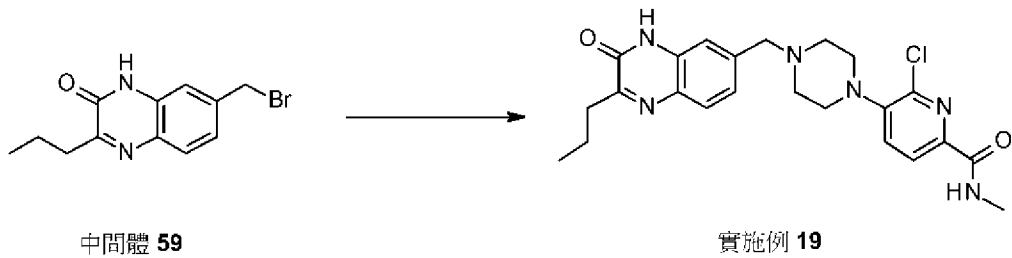
合成例 18：N-甲基-5-[4-[(3-側氧基-2-丙基-4H-喹啶啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲醯胺



【 0242 】將 DIPEA(200 μL , 1.15 mmol)添加至於 NMP (3 mL)中的 7-(溴甲基)-3-丙基喹啶啉-2(1H)-酮(中間體 59, 200 mg, 0.71 mmol)及 N-甲基-5-(哌啶-1-基)吡啶醯胺(中間體 13, 80 mg, 0.36 mmol)。於 80°C 攪拌生成的混合物 1 小時。在減壓下移除溶劑。藉由製備型 HPLC(管柱：XBridge Shield RP18 OBD 管柱, 19 x 250mm, 10 μm ；流動相 A：水(10 MMOL/L NH_4HCO_3 , 0.1% $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$)，流動相 B：ACN；流速：20 mL/min；梯度：於 7 min 內 38 B 至 50 B；254/220 nm；RT：6.20) 純化粗產物。將含有所欲化合物的級分蒸發至乾燥而得到呈白色固體的 N-甲基-5-[4-[(3-側氧基-2-丙基-4H-喹啶啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲醯胺(合成例 18, 71.0 mg, 46.5%)。 ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 0.97 (3H, t), 1.66 - 1.80 (2H, m), 2.55 - 2.61 (4H, m), 2.73 - 2.85 (5H, m), 3.33 - 3.40 (4H, m), 3.62 (2H, s), 7.19 - 7.31 (2H, m), 7.40 (1H, dd), 7.68 (1H, d), 7.83 (1H, d),

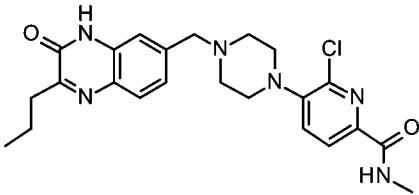
8.27 (1H, d), 8.35 - 8.45 (1H, m), 12.26 (1H, s); m/z (ES+) [M+H]⁺=421.

【 0243 】



【 0244 】

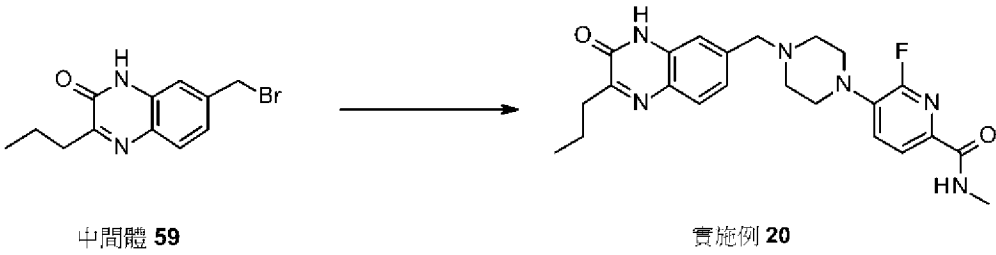
合成例 19：6-氯-N-甲基-5-[4-[(3-側氧基-2-丙基-4H-喹啶啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲醯胺



【 0245 】 將 DIPEA(200 μ L, 1.15 mmol)添加至於 NMP (3 mL)中的 7-(溴甲基)-3-丙基喹啶啉-2(1H)-酮(中間體 59, 200 mg, 0.71 mmol)及 6-氯-N-甲基-5-(哌啶-1-基)吡啶醯胺(中間體 48, 80 mg, 0.31 mmol)。於 80°C 攪拌生成的混合物 1 小時。在減壓下移除溶劑。藉由製備型 HPLC (管柱：XBridge Shield RP18 OBD 管柱, 19 x 250 mm, 10 μ m; 流動相 A：水(0.1% HCO₂H), 流動相 B：ACN; 流速：20 mL/min; 梯度：於 7 min 內 18 B 至 30 B; 254/220 nm; RT：5.93)純化粗產物。將含有所欲化合物的級分蒸發至乾燥而得到呈白色固體的 6-氯-N-甲基-5-[4-[(3-側氧基-2-丙基-4H-喹啶啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲醯胺(合成例 19, 52.0 mg,

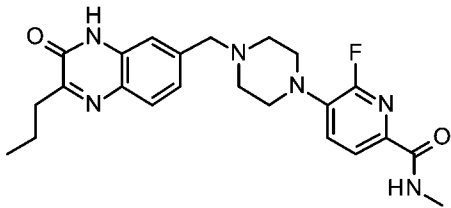
36.4%)。 ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 0.97 (3H, t), 1.66 - 1.79 (2H, m), 2.55 - 2.65 (4H, m), 2.71 - 2.85 (5H, m), 3.06 - 3.12 (4H, m), 3.64 (2H, s), 7.20 - 7.32 (2H, m), 7.64 - 7.72 (2H, m), 7.94 (1H, d), 8.40 - 8.50 (1H, m), 12.27 (1H, s) ; m/z (ES⁺) [M+H]⁺=455.

【 0246 】



【 0247 】

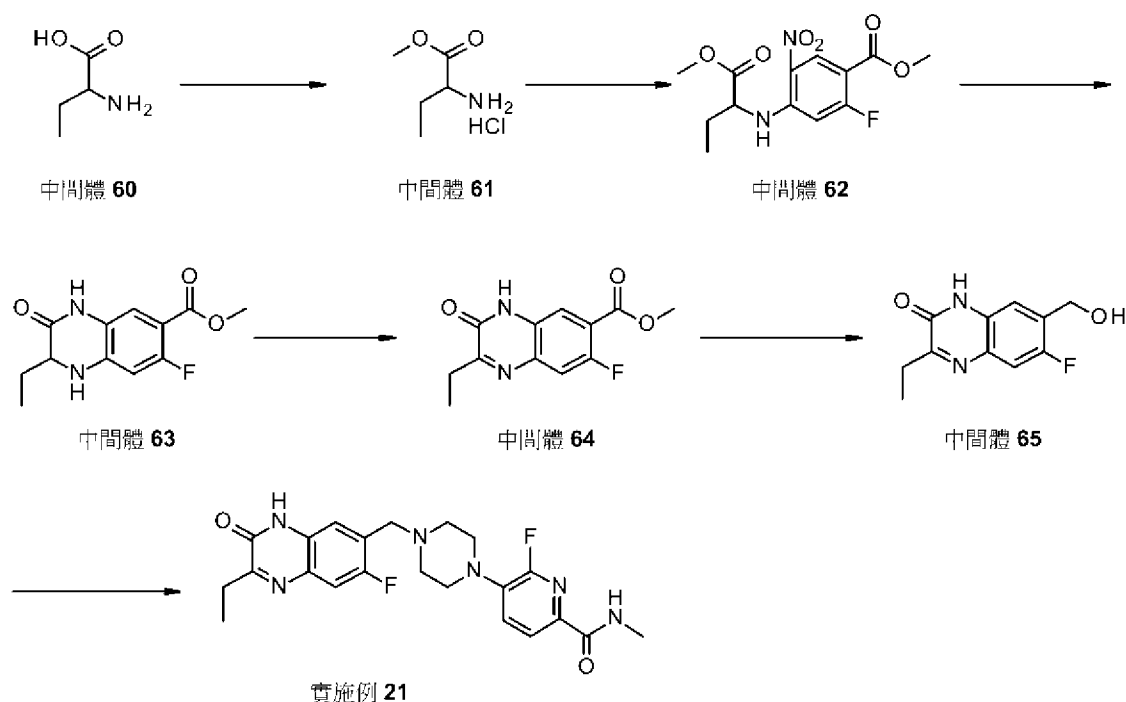
合成例 20：6-氟-N-甲基-5-[4-[(3-側氧基-2-丙基-4H-喹啶啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲醯胺



【 0248 】 將 DIPEA(500 μl， 2.86 mmol)添加至於 NMP (3 mL)的 7-(溴甲基)-3-丙基喹啶啉-2(1H)-酮(中間體 59， 200 mg， 0.71 mmol)及 6-氟-N-甲基-5-(哌啶-1-基)吡啶醯胺， 2 HCl(中間體 23， 100 mg， 0.32 mmol)。於 80℃攪拌生成的混合物 1 小時。在減壓下移除溶劑。藉由製備型 HPLC(管柱：SunFire C18 OBD Prep 管柱， 100 Å， 5 μm， 19 mm x 250 mm；流動相 A：水(0.1% HCO₂H)，流動相 B：ACN；流速：25 mL/min；梯度：於 13 min 內 10 B 至 20 B；254/220 nm；RT：12.13)純

化粗產物。將含有所欲化合物的級分蒸發至乾燥而得到呈白色固體的 6-氟-N-甲基-5-[4-[(3-側氧基-2-丙基-4H-喹啶啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲醯胺(合成例 20, 71.0 mg, 50.4%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 0.97 (3H, t), 1.66 - 1.78 (2H, m), 2.54 - 2.60 (4H, m), 2.71 - 2.83 (5H, m), 3.14 - 3.25 (4H, m), 3.62 (2H, s), 7.19 - 7.33 (2H, m), 7.57 (1H, dd), 7.68 (1H, d), 7.85 (1H, dd), 8.37 - 5.43 (1H, m), 12.27 (1H, s); ¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO-d₆) δ -72.51; m/z (ES⁺) [M+H]⁺=439.

【 0249 】



【 0250 】

中間體 61：2-氨基丁酸甲酯鹽酸鹽

於 0℃，將 SOCl₂(17 mL, 232.94 mmol)逐滴添加至於 MeOH (100 mL)的 2-氨基丁酸(中間體 60, 10.0 g, 96.97 mmol)。於室溫攪拌生成的混合物 18 小時。在減

壓下移除溶劑而得到呈白色固體的 2-胺基丁酸甲酯鹽酸鹽(中間體 61, 14.84 g, 100%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 0.91 (3H, t), 1.75 – 1.95 (2H, m), 3.73 (3H, s), 3.93 (1H, t), 8.72 (3H, s); m/z (ES⁺) [M+H]⁺=118.

【 0251 】

中間體 62 : 2-氟-4-(1-甲氧基-1-側氧基丁-2-基胺基)-5-硝基苯甲酸甲酯

將 DIPEA(4.02 mL, 23.03 mmol)添加至於 NMP (10 mL)中的 2,4-二氟-5-硝基苯甲酸甲酯(1.0 g, 4.61 mmol)及 2-胺基丁酸甲酯鹽酸鹽(中間體 61, 0.707 g, 4.61 mmol)。於 rt 下攪拌生成的混合物 5 小時。粗產物藉由逆相層析法純化, 溶析梯度 5 至 80% MeCN 於水(0.1% NH₄HCO₃)。將純的級分蒸發至乾燥而得到呈黑色固體的 2-氟-4-(1-甲氧基-1-側氧基丁-2-基胺基)-5-硝基苯甲酸甲酯(中間體 62, 1.2 g, 83%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 0.88 (3H, t), 1.78 – 2.03 (2H, m), 3.75 (3H, s), 3.83 (3H, s), 4.73 – 4.80 (1H, m), 7.06 (1H, d), 8.66 – 8.72 (2H, m); m/z (ES⁺) [M+H]⁺=315.

【 0252 】

中間體 63 : 2-乙基-7-氟-3-側氧基-1,2,3,4-四氫喹啉-6-甲酸甲酯

在氫氣下, 將 2-氟-4-((1-甲氧基-1-側氧基丁-2-基)胺基)-5-硝基苯甲酸甲酯(中間體 62, 1.15 g, 3.66 mmol)添加至於 MeOH (300 mL)及乙酸乙酯(50 mL)的 20 wt% Pd(OH)₂ (500 mg, 0.71 mmol)。於室溫攪拌生成的

混合物 3 天。反應並未完成。過濾反應混合物。蒸發有機層而得到呈棕色膠狀物的粗產物，2-乙基-7-氟-3-側氧基-1,2,3,4-四氫喹啉-6-甲酸甲酯(中間體 63，0.780 g，85%)。粗產物未進一步純化即直接用於下一步驟。粗產物不清澈，並且未解釋 ^1H NMR 譜； m/z (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=253$ 。

【 0253 】

中間體 64：2-乙基-7-氟-3-側氧基-3,4-二氫喹啉-6-甲酸甲酯

將 2-乙基-7-氟-3-側氧基-1,2,3,4-四氫喹啉-6-甲酸甲酯(中間體 63，760 mg，3.01 mmol)添加至於 DCM(20 mL)的 DDQ(821 mg，3.62 mmol)。於室溫攪拌生成的混合物 2 小時。反應完成。減壓下濃縮生成的混合物而獲得棕色固體。添加 NaHCO_3 飽和水溶液(10 mL)至該固體並於室溫攪拌 1 小時。將沉澱物過濾並以另外的 NaHCO_3 水溶液(10 mL x 5)沖洗。在真空下乾燥固體而得到呈棕色固體的 2-乙基-7-氟-3-側氧基-3,4-二氫喹啉-6-甲酸甲酯(中間體 64，750 mg，99%)。 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 1.20 (3 H, t), 2.82 (2 H, q), 3.87 (3 H, s), 7.65 (1 H, d), 7.76 (1 H, d), 12.42 (1 H, s)； m/z (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=251$ 。

【 0254 】

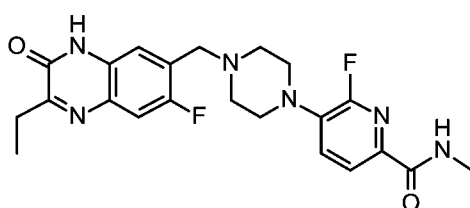
中間體 65：3-乙基-6-氟-7-(羥基甲基)喹啉-2(1H)-酮

將二異丁基氫化鋁於 THF(15.35 mL，15.35 mmol)的 1 M 溶液分批添加至於 THF(300 mL)的 2-乙基-7-氟-

3-側氧基-3,4-二氫喹啉-6-甲酸甲酯(中間體 64, 640 mg, 2.56 mmol)。於室溫攪拌生成的混合物 16 小時。此反應完成。於 0°C 以飽和酒石酸鉀鈉水溶液(20 mL)及 MeOH(10 mL)將反應混合物猝熄。於室溫攪拌生成的混合物 1 小時。過濾反應混合物並以 THF(50 mL x 3)洗滌。蒸發有機層至乾燥而得到粗產物。粗產物藉由逆相層析法純化, 溶析梯度為於水(0.4% HCO₂H)中的 5 至 60% MeOH。將純的級分蒸發至乾燥而得到呈灰白固體的 3-乙基-6-氟-7-(羥基甲基)喹啉-2(1H)-酮(中間體 65, 110 mg, 19.37%)。¹H NMR(400 MHz, DMSO-d₆) δ 1.21 (3H, t), 2.80 (2H, q), 4.63 (2H, d), 5.49 (1H, t), 7.41 (1H, d), 7.49 (1H, d), 12.36 (1H, s); m/z (ES⁺) [M+H]⁺=223.

【0255】

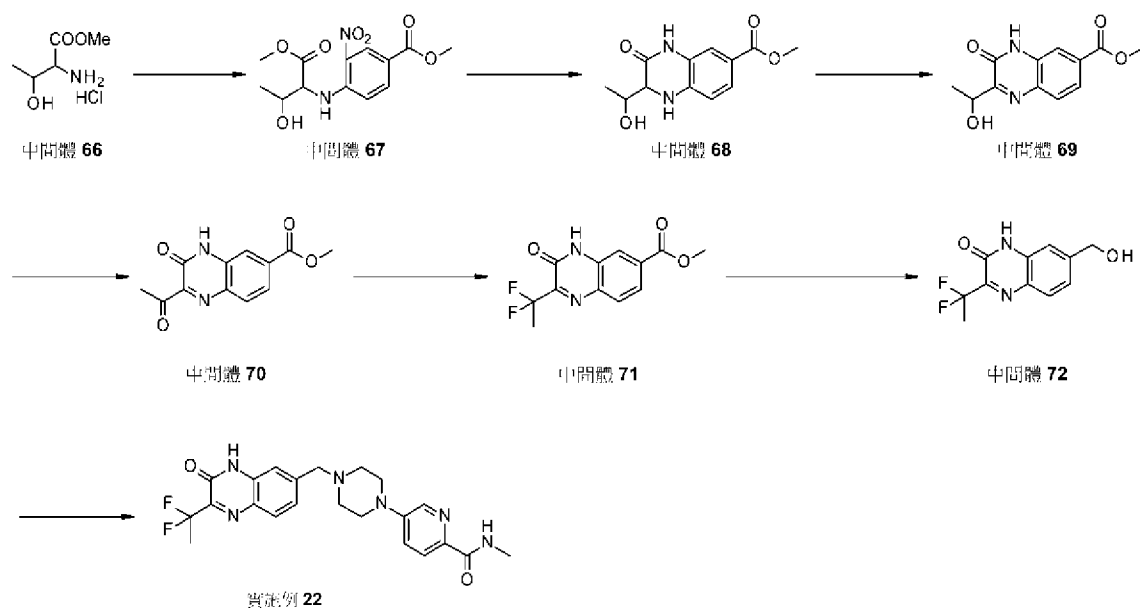
合成例 21: 5-[4-[(2-乙基-7-氟-3-側氧基-4H-喹啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]-6-氟-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺



【0256】將 3-乙基-6-氟-7-(羥基甲基)喹啉-2(1H)-酮(中間體 65, 50 mg, 0.23 mmol)添加至於 AcOH (2 mL, 12.15 mmol)中的 33% HBr。於 80°C 攪拌生成的混合物 2 小時。在真空下蒸發反應混合物而得到 7-(溴甲基)-3-乙基-6-氟喹啉-2(1H)-酮(粗產物)。該產物不須進一步純化而直接用於下一步驟。將 DIPEA(0.196 mL,

1.13 mmol) 添加至於 NMP (2 mL) 中的 7-(溴甲基)-3-乙基-6-氟喹啉-2(1H)-酮及 6-氟-N-甲基-5-(哌啶-1-基)吡啶-3-甲酰胺(中間體 23, 70 mg, 0.29 mmol)。於 80℃ 攪拌生成的混合物 2 小時。生成的混合物藉由製備型 HPLC(管柱: Sunfire prep C18 管柱, 30 x 150 mm, 5 μm; 流動相 A: 水(0.1% HCO₂H), 流動相 B: ACN; 流速: 60 mL/min; 梯度: 於 8 min 內 10 B 至 35 B; 254/220 nm; RT: 7.37) 進行純化。將含有所欲化合物的級分蒸發至乾燥而得到呈灰白固體的 5-[4-[(2-乙基-7-氟-3-側氧基-4H-喹啉-6-基)甲基]哌啶-1-基]-6-氟-N-甲基-吡啶-2-甲酰胺(合成例 21, 55.0 mg, 53.7%)。¹H NMR(400 MHz, DMSO-d₆) δ 1.21 (3H, t), 2.61 (4H, m), 2.73 – 2.85 (5H, m), 3.18 (4H, m), 3.68 (2H, s), 7.38 (1H, d), 7.51 – 7.61 (2H, m), 7.84 (1H, dd), 8.13 (0.29H, s), 8.38 (1H, m), 12.29 (1H, s); ¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO-d₆) δ -72.53, -124.31; m/z (ES⁺) [M+H]⁺=443.

【 0257 】



【 0258 】

中間體 67：4-(3-羥基-1-甲氧基-1-側氧基丁-2-基胺基)-3-硝基苯甲酸甲酯

將 DIPEA(8.77 mL, 50.22 mmol)添加至於 DMF(20 mL)中的 4-氟-3-硝基苯甲酸甲酯(2.0 g, 10.04 mmol)及 2-胺基-3-羥基丁酸甲酯鹽酸鹽(**中間體 66**, 2.04 g, 12.05 mmol)。於 rt 下攪拌生成的混合物 16 小時。將反應混合物以 EtOAc(100 mL)稀釋，並依次以飽和 NH_4Cl 水溶液(100 mL x 1)、及鹽水(100 mL x 4)洗滌。有機層經 Na_2SO_4 乾燥，過濾並蒸發而得到所欲產物，呈黃色固體的 4-((3-羥基-1-甲氧基-1-側氧基丁-2-基)胺基)-3-硝基苯甲酸甲酯(**中間體 67**, 2.9 g, 92%)。 ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 1.15 – 1.27 (3H, m), 3.64 – 3.74 (3H, m), 3.83 (3H, s), 4.08 – 4.44 (1H, m), 4.61 – 4.72 (1H, m), 5.39 – 5.60 (1H, m), 7.03 – 7.15 (1H, m), 7.90 – 8.03 (1H, m), 8.62 – 8.69 (1H, m), 8.73 – 8.89 (1H, m); m/z (ES+) $[\text{M}+\text{H}]^+=313$.

【 0259 】

中間體 68：2-(1-羥基乙基)-3-側氧基-1,2,3,4-四氫喹啉-6-甲酸甲酯

在氫氣下，將 20% $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (0.648 g, 0.92 mmol)添加至於 MeOH (300 mL)中的 4-((3-羥基-1-甲氧基-1-側氧基丁-2-基)胺基)-3-硝基苯甲酸甲酯(**中間體 67**, 2.88 g, 9.22 mmol)。於室溫攪拌生成的混合物 16 小時。此反應完成。將反應混合物通過矽藻土過濾。蒸發有機層

而得到呈灰色固體的 2-(1-羥基乙基)-3-側氧基-1,2,3,4-四氫喹啉-6-甲酸甲酯(中間體 68, 2.290 g, 99%)。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 1.07 (3H, m), 2.81 (1H, d), 3.72 (1H, m), 3.74 (3H, s), 4.78 (1H, d), 6.70 – 6.86 (2H, m), 7.27 (1H, d), 7.37 (1H, dd), 10.38 (1H, d); m/z (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=251$.

【 0260 】

中間體 69 : 2-(1-羥基乙基)-3-側氧基-3,4-二氫喹啉-6-甲酸甲酯

將 DDQ(2.265 g, 9.98 mmol)添加至於 DCM (100 mL)中的 2-(1-羥基乙基)-3-側氧基-1,2,3,4-四氫喹啉-6-甲酸甲酯(中間體 68, 2.27 g, 9.07 mmol)。於室溫攪拌生成的混合物 1 小時。此反應完成。於減壓下濃縮反應混合物而獲得棕色固體。將 NaHCO_3 飽和水溶液(100 mL)添加至該固體並於室溫攪拌 1 小時。過濾沉澱物並以另外的 aq NaHCO_3 溶液沖洗(30 mL x 3)。在真空下乾燥該固體而得到呈灰色固體的 2-(1-羥基乙基)-3-側氧基-3,4-二氫喹啉-6-甲酸甲酯(中間體 69, 2.24 g, 99%)。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 1.40 (3H, d), 3.88 (3H, s), 4.94 (1H, q), 7.69 (1H, dd), 7.77 (1H, d), 7.90 (1H, d)(2 質子未顯示); m/z (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=249$.

【 0261 】

中間體 70 : 2-乙醯基-3-側氧基-3,4-二氫喹啉-6-甲酸甲酯

將戴斯-馬丁過碘烷 (2.56 g, 6.04 mmol) 添加至於 DCM (30 mL) 中的 2-(1-羥基乙基)-3-側氧基-3,4-二氫喹啉-6-甲酸甲酯 (中間體 69, 1.0 g, 4.03 mmol)。於室溫攪拌生成的混合物 3 小時。蒸發反應混合物而得到粗產物。粗產物藉由逆相層析法純化，溶析梯度為於水 (0.4% HCO₂H) 中的 5 至 30% MeCN。將純的級分蒸發至乾燥而得到呈淺黃色固體的 2-乙醯基-3-側氧基-3,4-二氫喹啉-6-甲酸甲酯 (中間體 70, 0.62 g, 62.5%)。 ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 2.58 (3H, s), 3.91 (3H, s), 7.84 (1H, dd), 7.91 – 8.03 (2H, m), 12.86 (1H, s); m/z (ES⁺) [M+H]⁺=247.

【 0262 】

中間體 71 : 2-(1,1-二氟乙基)-3-側氧基-3,4-二氫喹啉-6-甲酸甲酯

將 BAST (1.35 mL, 7.31 mmol) 添加至於 DCM (20 mL) 中的 2-乙醯基-3-側氧基-3,4-二氫喹啉-6-甲酸甲酯 (中間體 70, 600 mg, 2.44 mmol)。於室溫攪拌生成的混合物 16 小時。蒸發反應混合物而得到粗產物。粗產物藉由逆相層析法純化，溶析梯度為於水 (0.4% HCO₂H) 中的 5 至 30% MeCN。將純的級分蒸發至乾燥而得到呈灰白固體的 2-(1,1-二氟乙基)-3-側氧基-3,4-二氫喹啉-6-甲酸甲酯 (中間體 71, 174 mg, 26.6 %)。 ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 2.07 (3H, t), 3.91 (3H, s), 7.84 (1H, dd), 7.92 – 7.99 (2H, m), 12.90 (1H, s); ¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO-d₆) δ -93.26; m/z (ES⁺) [M+H]⁺=269.

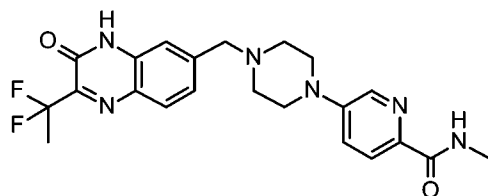
【 0263 】

中間體 72 : 3-(1,1-二氟乙基)-7-(羥基甲基)喹啉-2(1H)-酮

於 0℃，將二異丁基氫化鋁於 THF(2.39 mL，2.39 mmol)的 1M 溶液添加至於 THF(50 mL)中的 2-(1,1-二氟乙基)-3-側氧基-3,4-二氫喹啉-6-甲酸甲酯(**中間體 71**，160 mg，0.60 mmol)。於室溫攪拌生成的混合物 16 小時。於 0℃以飽和酒石酸鉀鈉水溶液(3 mL)及 MeOH(1 mL)將反應混合物猝熄。攪拌生成的混合物 1 小時。過濾反應混合物並以 THF 洗滌(10 mL x 3)。蒸發有機層而得到粗產物，3-(1,1-二氟乙基)-7-(羥基甲基)喹啉-2(1H)-酮(**中間體 72**，120 mg，84%)。該產物不須進一步純化而直接用於下一步驟。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 2.06 (3H, t), 4.63 (2H, s), 5.47 (1H, s), 7.26 (1H, dd), 7.35 (1H, d), 7.78 (1H, d), 12.75 (1H, br s); m/z (ES+) [M+H]⁺=241.

【 0264 】

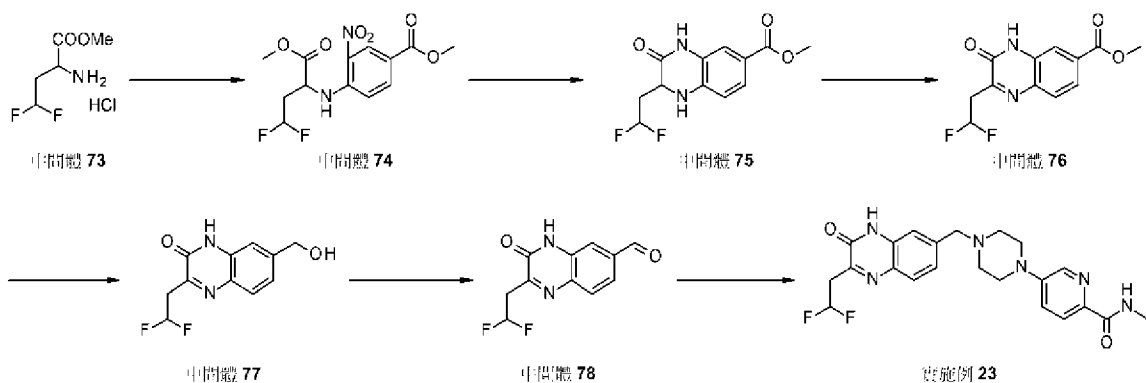
合成例 22 : 5-[4-[[2-(1,1-二氟乙基)-3-側氧基-4H-喹啉-6-基]甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺



【 0265 】將 3-(1,1-二氟乙基)-7-(羥基甲基)喹啉-2(1H)-酮(**中間體 72**，60 mg，0.25 mmol)添加至於乙酸(2 mL，12.15 mmol)中的 33% HBr。於 80℃攪拌生成的

混合物 2 小時。在真空下蒸發反應混合物而得到 7-(溴甲基)-3-(1,1-二氟乙基)喹啉-2(1H)-酮(粗產物)。該產物不須進一步純化而直接用於下一步驟。將 DIPEA(0.218 mL, 1.25 mmol)添加至於 NMP (3 mL)中的 7-(溴甲基)-3-(1,1-二氟乙基)喹啉-2(1H)-酮(粗產物)及 N-甲基-5-(哌啶-1-基)吡啶鹽胺(中間體 13, 60 mg, 0.27 mmol)。於 80°C 攪拌生成的混合物 1 小時。將反應混合物濃縮並藉由製備型 HPLC(管柱: XBridge Shield RP18 OBD 管柱, 30 x 150 mm, 5 μ m; 流動相 A: 水 (0.05% NH₃H₂O), 流動相 B: ACN; 流速: 60 mL/min; 梯度: 於 7 min 內 13 B 至 33 B; 254; 220 nm; RT: 5.70)進行純化。將含有所欲化合物的級分蒸發至乾燥而得到呈黃色固體的 5-[4-[[2-(1,1-二氟乙基)-3-側氧基-4H-喹啉-6-基]甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲鹽胺(合成例 22, 47.8 mg, 43.2%)。 ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 2.06 (3H, t), 2.52 - 2.62 (4H, m), 2.78 (3H, d), 3.30 - 3.40 (4H, m), 3.67 (2H, s), 7.32 - 7.42 (3H, m), 7.80 - 7.86 (2H, m), 8.27 (1H, d), 8.34 - 8.42 (1H, m), 12.70 (1H, s); ¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO-d₆) δ -92.74; m/z (ES⁺) [M+H]⁺=443.

【 0266 】



【 0267 】

中間體 74：4-(4,4-二氟-1-甲氧基-1-側氧基丁-2-基胺基)-3-硝基苯甲酸甲酯

將 DIPEA(8.77 mL, 50.22 mmol)添加至於 DMF(20 mL)中的 4-氟-3-硝基苯甲酸甲酯(2.0 g, 10.04 mmol)及 2-胺基-4,4-二氟丁酸甲酯鹽酸鹽(中間體 73, 2.0 g, 10.55 mmol)。於 40℃攪拌生成的混合物 8 小時。將反應混合物以 EtOAc 稀釋(100 mL)，依次以飽和 NH₄Cl (100 mL x 1)及鹽水(100 mL x 4)洗滌。有機層經 Na₂SO₄ 乾燥，過濾並蒸發而得到所欲產物，呈黃色固體的 4-((4,4-二氟-1-甲氧基-1-側氧基丁-2-基)胺基)-3-硝基苯甲酸甲酯(中間體 74, 2.5 g, 74.9%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 2.50 – 2.76 (2H, m), 3.71 (3H, s), 3.82 (3H, s), 4.95 (1H, q), 6.22 (1H, tt), 7.18 (1H, d), 7.99 (1H, dd), 8.63 (1H, d), 8.66 (1H, d)；m/z (ES+) [M+H]⁺=333.

【 0268 】

中間體 75：2-(2,2-二氟乙基)-3-側氧基-1,2,3,4-四氫喹啶啉-6-甲酸甲酯

在氫氣下，將 20% Pd(OH)₂/C (0.465 g, 0.66 mmol) 添加至於 MeOH (300 mL) 中的 4-((4,4-二氟-1-甲氧基-1-側氧基丁-2-基)胺基)-3-硝基苯甲酸甲酯(中間體 74, 2.2 g, 6.62 mmol)。於室溫攪拌生成的混合物 16 小時。將反應混合物通過矽藻土過濾。蒸發濾液而得到呈黃色固體的 2-(2,2-二氟乙基)-3-側氧基-1,2,3,4-四氫喹啉-6-甲酸甲酯(中間體 75, 1.64 g, 92%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 2.24 - 2.32 (2H, m), 3.76 (3H, s), 4.10 - 4.18 (1H, m), 6.27 (1H, tt), 6.73 (1H, d), 6.89 (1H, s), 7.37 (1H, d), 7.44 (1H, dd), 10.58 (1H, s); m/z (ES⁺) [M+H]⁺=271.

【 0269 】

中間體 76 : 2-(2,2-二氟乙基)-3-側氧基-3,4-二氫喹啉-6-甲酸甲酯

將 DDQ (1.478 g, 6.51 mmol) 添加至於 DCM (100 mL) 中的 2-(2,2-二氟乙基)-3-側氧基-1,2,3,4-四氫喹啉-6-甲酸甲酯(中間體 75, 1.6 g, 5.92 mmol)。於室溫攪拌生成的混合物 3 小時。在減壓下移除生成的混合物而獲得棕色固體。添加 Aq NaHCO₃ 飽和溶液 (100 mL) 至該固體並於室溫攪拌 1 小時。過濾沉澱物並以另外的 aq NaHCO₃ 溶液沖洗 (30 mL x 3)。在真空下乾燥固體而得到呈灰白固體的 2-(2,2-二氟乙基)-3-側氧基-3,4-二氫喹啉-6-甲酸甲酯(中間體 76, 1.58 g, 99%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 3.46 (2H, td), 3.90 (3H, s), 6.57 (1H, t), 7.79 - 7.92 (3H, m), 12.68 (1H, s); m/z (ES⁺) [M+H]⁺=269.

【 0270 】

中間體 77 : 3-(2,2-二氟乙基)-7-(羥基甲基)喹啉-2(1H)-酮

於 0°C，將二異丁基氫化鋁於 THF(22.37 mL，22.37 mmol)的 1 M 溶液分批添加至於 THF(100 mL)中的 2-(2,2-二氟乙基)-3-側氧基-3,4-二氫喹啉-6-甲酸甲酯(**中間體 76**，1.0 g，3.73 mmol)。於室溫攪拌生成的混合物 16 小時。於 0°C 以飽和酒石酸鉀鈉水溶液(20 mL)及 MeOH(10 mL)將反應混合物猝熄。攪拌生成的混合物 1 小時。過濾反應混合物並以 THF 洗滌(30 mL x 3)。蒸發有機層而得到呈紅色固體(粗產物)的 3-(2,2-二氟乙基)-7-(羥基甲基)喹啉-2(1H)-酮(0.72 g，80%)。粗產物藉由逆相層析法純化，溶析梯度為於水(0.4% HCO₂H)中的 5 至 60% MeOH。將純的級分蒸發至乾燥而得到呈紅色固體的 3-(2,2-二氟乙基)-7-(羥基甲基)喹啉-2(1H)-酮(**中間體 77**，500 mg，69.4%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 3.42 (2H, td), 4.61 (2H, s), 5.42 (1H, brs), 6.56 (1H, tt), 7.23 (1H, dd), 7.32 (1H, d), 7.71 (1H, d), 12.55 (1H, s); m/z (ES⁺) [M+H]⁺=241.

【 0271 】

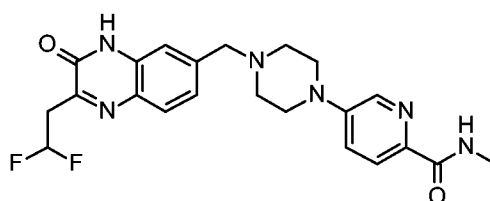
中間體 78 : 2-(2,2-二氟乙基)-3-側氧基-3,4-二氫喹啉-6-甲醛

將戴斯-馬丁過碘烷(530 mg，1.25 mmol)添加至於 DCM(5 mL)中的 3-(2,2-二氟乙基)-7-(羥基甲基)喹啉-2(1H)-酮(**中間體 77**，200 mg，0.83 mmol)。於室溫攪拌

生成的混合物 2 小時。蒸發生成的混合物而得到粗產物。粗產物藉由逆相層析法純化，溶析梯度為於水 (0.4% HCO₂H) 中的 5 至 30% MeCN。將純的級分蒸發至乾燥而得到呈黃色固體的 2-(2,2-二氟乙基)-3-側氧基-3,4-二氫喹啶-6-甲醛(中間體 78, 160 mg, 81%)。 ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 3.47 (2H, td), 6.58 (1H, tt), 7.77 - 7.85 (2H, m), 7.90 - 7.98 (1H, m), 10.09 (1H, s), 12.79 (1H, s); m/z (ES⁺) [M+H]⁺=239.

【 0272 】

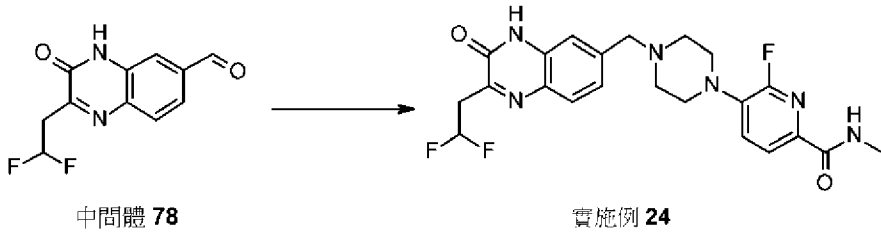
合成例 23 : 5-[4-[[2-(2,2-二氟乙基)-3-側氧基-4H-喹啶-6-基]甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺



【 0273 】 將異丙醇鈦 (65.6 mg, 0.23 mmol) 添加至於 THF (2 mL) 中的 2-(2,2-二氟乙基)-3-側氧基-3,4-二氫喹啶-6-甲醛(中間體 78, 55 mg, 0.23 mmol) 及 N-甲基-5-(哌啶-1-基)吡啶醯胺(中間體 13, 60 mg, 0.23 mmol)。於室溫攪拌生成的混合物 2 分鐘。添加三乙醯氧基硼氫化鈉 (196 mg, 0.92 mmol)。於室溫攪拌生成的混合物 1 小時。將反應混合物以 MeOH (0.1 mL) 猝熄。蒸發反應混合物而得到粗產物，其藉由製備型 HPLC (管柱：XBridge Shield RP18 OBD 管柱，30 x 150mm, 5um; 流動相 A：水 (0.05% NH₃H₂O)，流動相 B：ACN; 流速：60 mL/min; 梯度：於 7 min 內 13 B 至 33 B;

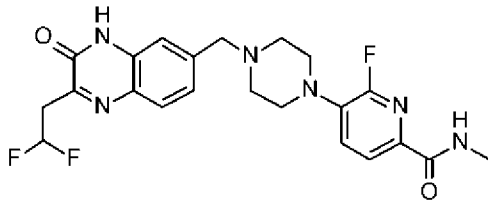
254 ; 220 nm ; RT : 5.70)進行純化。將含有所欲化合物的級分蒸發至乾燥而得到呈黃色固體的 5-[4-[[2-(2,2-二氟乙基)-3-側氧基-4H-喹啶啉-6-基]甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺(合成例 23, 8.76 mg, 8.57%)。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 2.56 (4H, m), 2.78 (3H, d), 3.32 - 3.48 (6H, m), 3.64 (2H, s), 6.55 (1H, tt), 7.27 - 7.33 (2H, m), 7.39 (1H, dd), 7.73 (1H, d), 7.83 (1H, d), 8.26 (1H, d), 8.37 (1H, m), 12.49 (1H, s) ; ^{19}F NMR (376 MHz, DMSO- d_6) δ -114.29 ; m/z (ES $^+$) [M+H] $^+$ =443.

【 0274 】



【 0275 】

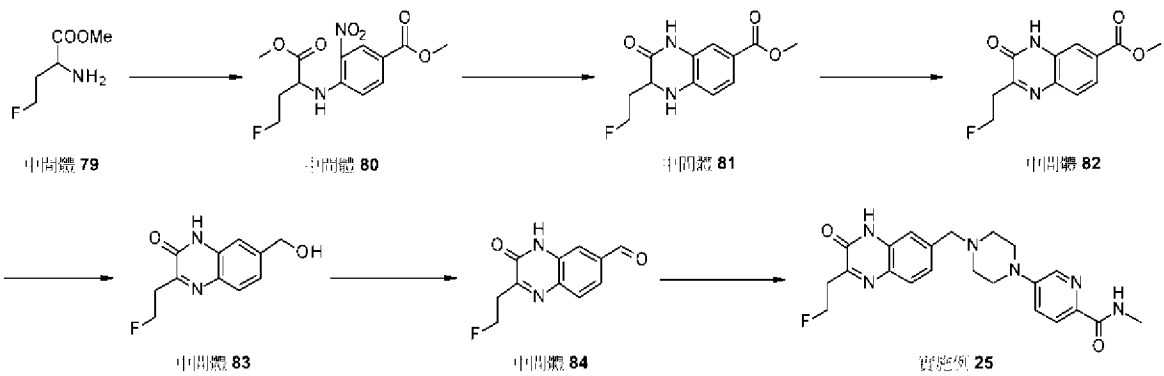
合成例 24 : 5-[4-[[2-(2,2-二氟乙基)-3-側氧基-4H-喹啶啉-6-基]甲基]哌啶-1-基]-6-氟-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺



【 0276 】 將異丙醇鈦 (59.7 mg, 0.21 mmol)添加至於 THF(2 mL)中的 2-(2,2-二氟乙基)-3-側氧基-3,4-二氫喹啶啉-6-甲醛(中間體 78, 50 mg, 0.21 mmol)及 6-氟-N-甲基-5-(哌啶-1-基)吡啶醯胺(中間體 23, 50.0 mg, 0.21 mmol)。於室溫攪拌生成的混合物 2 分鐘。添加三乙醯

氧基硼氫化鈉(178 mg，0.84 mmol)。於室溫攪拌生成的混合物 1 小時。此反應完成。將反應混合物以 MeOH (0.1 mL)猝熄。蒸發反應混合物而得到粗產物。藉由製備型 HPLC(管柱：Sunfire prep C18 管柱，30 x 150, 5 um；流動相 A：水(0.1% HCO₂H)，流動相 B：ACN；流速：60 mL/min；梯度：於 7 min 內 2 B 至 27 B；254/220 nm；RT：6.78)純化粗產物。將含有所欲化合物的級分蒸發至乾燥而得到呈黃色固體的 5-[4-[[2-(2,2-二氟乙基)-3-側氧基-4H-喹啶啉-6-基]甲基]哌啶-1-基]-6-氟-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺(合成例 24，21.72 mg，22.13%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 2.54 – 2.61 (4H, m), 2.76 (3H, d), 3.14 – 3.22 (4H, m), 3.41 (2H, td), 3.64 (2H, s), 6.39 – 6.71 (1H, m), 7.26 – 7.33 (2H, m), 7.57 (1H, dd), 7.73 (1H, d), 7.82 – 7.86 (1H, m), 8.13 (0.16H, s), 8.37 (1H, m), 12.49 (1H, s)；¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO-d₆) δ -72.52, -114.29；m/z (ES⁺) [M+H]⁺=461.

【 0277 】



【 0278 】

中間體 80：4-(4-氟-1-甲氧基-1-側氧基丁-2-基胺基)-3-硝基苯甲酸甲酯

將 DIPEA(8.77 mL, 50.22 mmol)添加至於 DMF(20 mL)中的 4-氟-3-硝基苯甲酸甲酯(2.0 g, 10.04 mmol)及 2-胺基-4-氟丁酸甲酯鹽酸鹽(**中間體 79**, 1.81 g, 10.55 mmol)。於 40℃攪拌生成的混合物 8 小時。將反應混合物以 EtOAc 稀釋(100 mL)，並依次以飽和 NH₄Cl(100 mL x 1)及鹽水(100 mL x 4)洗滌。有機層經 Na₂SO₄ 乾燥，過濾並蒸發而得到所欲產物，呈黃色固體的 4-((4-氟-1-甲氧基-1-側氧基丁-2-基)胺基)-3-硝基苯甲酸甲酯(**中間體 80**, 2.5 g, 79%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 2.25 – 2.35 (1H, m), 2.35 – 2.45 (1H, m), 3.71 (3H, s), 3.82 (3H, s), 4.36 – 4.58 (1H, m), 4.56 – 4.74 (1H, m), 4.84 (1H, q), 7.14 (1H, d), 7.99 (1H, dd), 8.63 (1H, d), 8.67 (1H, d); m/z (ES+) [M+H]⁺=315.

【0279】

中間體 81：2-(2-氟乙基)-3-側氧基-1,2,3,4-四氫喹啉-6-甲酸甲酯

在氫氣下，將 20% Pd(OH)₂/C(0.547 g, 0.78 mmol)添加至於 MeOH(300 mL)中的 4-((4-氟-1-甲氧基-1-側氧基丁-2-基)胺基)-3-硝基苯甲酸甲酯(**中間體 80**, 2.45 g, 7.80 mmol)。於室溫攪拌生成的混合物 16 小時。此反應完成。將反應混合物通過矽藻土過濾。蒸發濾液而得到呈灰色固體的 2-(2-氟乙基)-3-側氧基-1,2,3,4-四氫喹啉-6-甲酸甲酯(**中間體 81**, 1.9 g, 97%)。¹H NMR

(400 MHz, DMSO- d_6) δ 1.91 – 2.19 (2H, m), 3.75 (3H, s), 4.03 (1H, m), 4.49 – 4.73 (2H, m), 6.73 (1H, d), 6.91 (1H, d), 7.35 (1H, d), 7.42 (1H, dd), 10.46 (1H, s); m/z (ES^+) $[M+H]^+=253$.

【 0280 】

中間體 82 : 2-(2-氟乙基)-3-側氧基-3,4-二氫喹啉-6-甲酸甲酯

將 DDQ(1.83 g, 8.07 mmol)添加至於 DCM(100 mL)中的 2-(2-氟乙基)-3-側氧基-1,2,3,4-四氫喹啉-6-甲酸甲酯(**中間體 81**, 1.85 g, 7.33 mmol)。於室溫攪拌生成的混合物 3 小時。在減壓下移除生成的混合物而獲得棕色固體。將 Aq. $NaHCO_3$ 飽和溶液(100 mL)添加至該固體並於室溫攪拌 1 小時。過濾沉澱物並以另外的 aq $NaHCO_3$ 溶液(30 mL x 3)沖洗。在真空下乾燥該固體而得到呈灰色固體的 2-(2-氟乙基)-3-側氧基-3,4-二氫喹啉-6-甲酸甲酯(**中間體 82**, 1.8 g, 98%)。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 3.23 (2H, dt), 3.89 (3H, s), 4.90 (2H, dt), 7.76 – 7.85 (2H, m), 7.88 (1H, d), 12.55 (1H, s); m/z (ES^+) $[M+H]^+=251$.

【 0281 】

中間體 83 : 3-(2-氟乙基)-7-(羥基甲基)喹啉-2(1H)-酮

於 0°C, 將二異丁基氫化鋁於 THF(15.99 mL, 15.99 mmol)的 1 M 溶液分批添加至於 THF(100 mL)中的 2-(2-氟乙基)-3-側氧基-3,4-二氫喹啉-6-甲酸甲酯(**中間體 82**, 1.0 g, 4.00 mmol)。於室溫攪拌生成的混合物 16 小

時。於 0°C 以飽和酒石酸鉀鈉水溶液 (20 mL) 及 MeOH (10 mL) 將反應混合物猝熄。攪拌生成的混合物 1 小時。過濾反應混合物並以 THF (30 mL x 3) 洗滌。蒸發有機層而得到粗產物。粗產物藉由逆相層析法純化，溶析梯度為於水 (0.4% HCO₂H) 中的 5 至 60% MeOH。將純的級分蒸發至乾燥而得到呈棕色固體的 3-(2-氟乙基)-7-(羥基甲基)喹啉-2(1H)-酮 (中間體 **83**，0.49 g，55.2%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 3.20 (2H, dt), 4.60 (2H, d), 4.90 (2H, dt), 5.41 (1H, t), 7.21 (1H, dd), 7.30 (1H, d), 7.68 (1H, d), 12.42 (1H, s); m/z (ES+) [M+H]⁺=223.

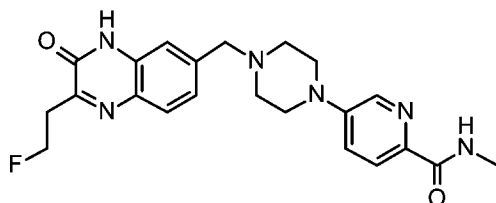
【 0282 】

中間體 84：2-(2-氟乙基)-3-側氧基-3,4-二氫喹啉-6-甲醛

將戴斯-馬丁過碘烷 (229 mg，0.54 mmol) 添加至於 DCM (3 mL) 中的 3-(2-氟乙基)-7-(羥基甲基)喹啉-2(1H)-酮 (中間體 **83**，100 mg，0.45 mmol)。於室溫攪拌生成的混合物 2 小時。蒸發反應混合物而得到粗產物。粗產物藉由逆相層析法純化，溶析梯度為於水 (0.4% HCO₂H) 中的 5 至 30% MeCN。將純的級分蒸發至乾燥而得到呈黃色固體的 2-(2-氟乙基)-3-側氧基-3,4-二氫喹啉-6-甲醛 (中間體 **84**，93 mg，94%)。¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 3.20 – 3.28 (2H, m), 4.90 (2H, dt), 7.74 – 7.80 (2H, m), 7.91 (1H, d), 10.06 (1H, s), 12.66 (1H, s); m/z (ES+) [M+H]⁺=221.

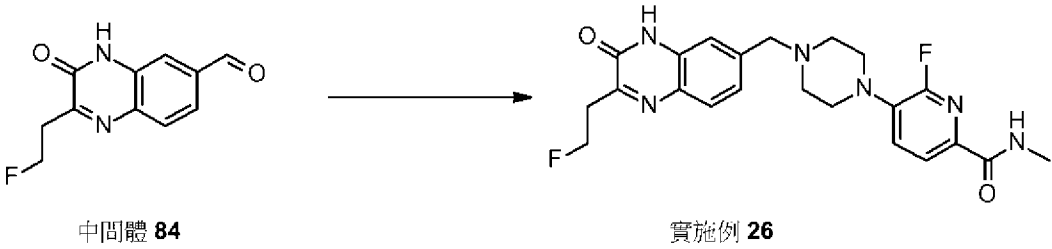
【 0283 】

合成例 25：5-[4-[[2-(2-氟乙基)-3-側氧基-4H-喹啶啉-6-基]甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺



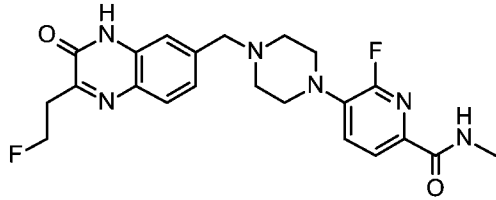
【0284】將異丙醇鈦(64.5 mg, 0.23 mmol)添加至於 THF(3 mL)中的 2-(2-氟乙基)-3-側氧基-3,4-二氫喹啶啉-6-甲醛(中間體 84, 50 mg, 0.23 mmol)及 N-甲基-5-(哌啶-1-基)吡啶醯胺(中間體 13, 50.0 mg, 0.23 mmol)。於室溫攪拌生成的混合物 2 分鐘。添加三乙醯氧基硼氫化鈉(192 mg, 0.91 mmol)。於室溫攪拌生成的混合物 2 小時。在另一批次中重複此步驟，合併兩批次進行純化。合併的反應混合物藉由製備型 HPLC(管柱：XBridge Prep OBD C18 管柱，30 × 150mm 5um；流動相 A：水(10 MMOL/L NH₄HCO₃)，流動相 B：ACN；流速：60 mL/min；梯度：於 7 min 內 20 B 至 35 B；254/210 nm；RT：6.38)進行純化。將含有所欲化合物的級分蒸發至乾燥而得到呈白色固體的 5-[4-[[2-(2-氟乙基)-3-側氧基-4H-喹啶啉-6-基]甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺(合成例 25, 4.83 mg, 2.54%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 2.53 – 2.59 (4H, m), 2.78 (3H, d), 3.17 (1H, t), 3.23 (1H, t), 3.32 – 3.38 (4H, m), 3.63 (2H, s), 4.83 (1H, t), 4.95 (1H, t), 7.25 – 7.32 (2H, m), 7.39 (1H, dd), 7.71 (1H, d), 7.83 (1H, d), 8.26 (1H, d), 8.37 (1H, d), 12.36 (1H, s)；¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO-d₆) δ -217.70；m/z (ES⁺) [M+H]⁺=425.

【 0285 】



【 0286 】

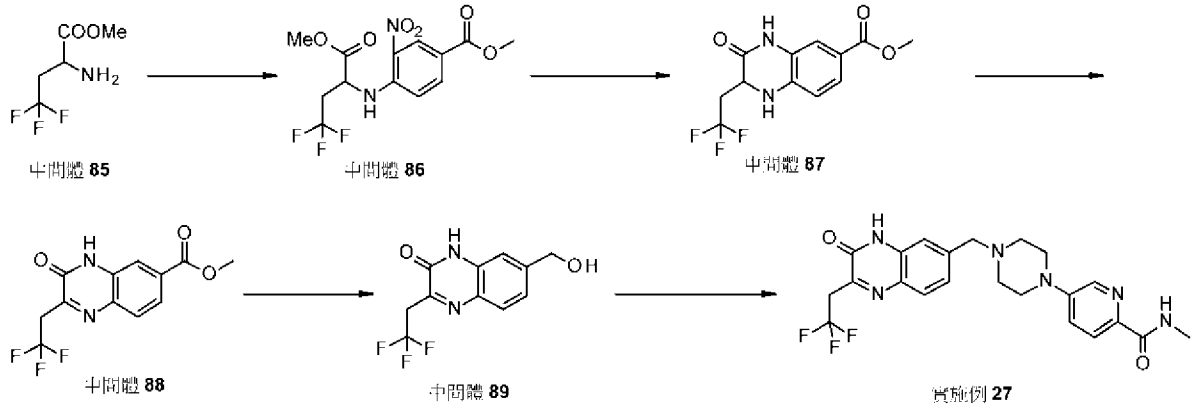
合成例 26：6-氟-5-[4-[[2-(2-氟乙基)-3-側氧基-4H-喹啉-6-基]甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺



【 0287 】 將異丙醇鈦 (90 mg, 0.32 mmol) 添加至於 THF (3 mL) 中的 2-(2-氟乙基)-3-側氧基-3,4-二氫喹啉-6-甲醛 (中間體 84, 70 mg, 0.32 mmol) 及 6-氟-N-甲基-5-(哌啶-1-基)吡啶醯胺 (中間體 23, 76 mg, 0.32 mmol)。於室溫攪拌生成的混合物 2 分鐘。添加三乙醯氧基硼氫化鈉 (269 mg, 1.27 mmol)。於室溫攪拌生成的混合物 1 小時。將反應混合物以 MeOH (0.1 mL) 猝熄。蒸發反應混合物而得到粗產物。藉由製備型 HPLC (管柱：XBridge Prep OBD C18 管柱, 30 × 150mm 5um; 流動相 A：水 (10 MMOL/L NH₄HCO₃), 流動相 B：ACN; 流速：60 mL/min; 梯度：於 8 min 內 28 B 至 35 B; 254/210 nm; RT：7) 純化粗產物。將含有所欲化合物的級分蒸發至乾燥而得到粗產物。粗產物藉由製備型 HPLC (管柱：Xselect CSH OBD 管柱 30*150mm 5um,

n；流動相 A：水(0.1% HCO₂H)，流動相 B：ACN；流速：60 mL/min；梯度：於 7 min 內 5 B 至 20 B；254；220 nm；RT：6.83)進一步純化。將含有所欲化合物的級分蒸發至乾燥而得到呈黃色固體的 6-氟-5-[4-[[2-(2-氟乙基)-3-側氧基-4H-喹啉-6-基]甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺(合成例 26，3.79 mg，2.65%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 2.55 – 2.60 (4H, m), 2.76 (3H, d), 3.14 – 3.25 (6H, m), 3.63 (2H, s), 4.89 (2H, dt), 7.24 – 7.31 (2H, m), 7.57 (1H, dd), 7.70 (1H, d), 7.84 (1H, d), 8.24 (0.174H, s), 8.38 (1H, d), 12.37 (1H, s)；¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO-d₆) δ -72.51, -217.71；(ES⁺) [M+H]⁺=443.

【 0288 】



【 0289 】

中間體 86：3-硝基-4-(4,4,4-三氟-1-甲氧基-1-側氧基丁-2-基胺基)苯甲酸甲酯

將 DIPEA(8.77 mL，50.22 mmol)添加至於 DMF(20 mL)中的 4-氟-3-硝基苯甲酸甲酯(2.0 g，10.04 mmol)及 2-胺基-4,4,4-三氟丁酸甲酯鹽酸鹽(中間體 85，2.2 g，

10.55 mmol)。於 50℃攪拌生成的混合物 10 小時。將反應混合物以 EtOAc (100 mL)稀釋，並依次以飽和水性 NH₄Cl(100 mL x 1)及鹽水(100 mL x 4)洗滌。有機層經 Na₂SO₄乾燥，過濾並蒸發而得到所欲產物，呈黃色固體的 3-硝基-4-((4,4,4-三氟-1-甲氧基-1-側氧基丁-2-基)胺基)苯甲酸甲酯(中間體 86，3.0 g，85%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 2.99 – 3.28 (2H, m), 3.73 (3H, s), 3.84 (3H, s), 5.18 (1H, td), 7.28 (1H, d), 8.01 (1H, dd), 8.65 (1H, d), 8.71 (1H, d)；m/z (ES⁺) [M+H]⁺=351.

【 0290 】

中間體 87：3-側氧基-2-(2,2,2-三氟乙基)-1,2,3,4-四氫喹啉-6-甲酸甲酯

在氫氣下，將 20% Pd(OH)₂/C (0.601 g，0.86 mmol) 添加至於 MeOH(300 mL)中的 3-硝基-4-((4,4,4-三氟-1-甲氧基-1-側氧基丁-2-基)胺基)苯甲酸甲酯(中間體 86，3.0 g，8.57 mmol)。於室溫攪拌生成的混合物 16 小時。將反應混合物通過矽藻土過濾。蒸發濾液至乾燥而得到呈灰白固體的 3-側氧基-2-(2,2,2-三氟乙基)-1,2,3,4-四氫喹啉-6-甲酸甲酯(中間體 87，2.3 g，93%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 2.64 – 2.83 (2H, m), 3.76 (3H, s), 4.32 – 4.37 (1H, m), 6.78 (1H, d), 6.90 (1H, d), 7.37 (1H, d), 7.43 (1H, dd), 10.64 (1H, s)；m/z (ES⁺) [M+H]⁺=289.

【 0291 】

中間體 88：3-側氧基-2-(2,2,2-三氟乙基)-3,4-二氫喹啉-6-甲酸甲酯

將 DDQ(1.975 g, 8.70 mmol)添加至於 DCM(100 mL)中的 3-側氧基-2-(2,2,2-三氟乙基)-1,2,3,4-四氫喹啉-6-甲酸甲酯(中間體 87, 2.28 g, 7.91 mmol)。於室溫攪拌生成的混合物 3 小時。在減壓下移除生成的混合物而獲得棕色固體。添加 Aq. NaHCO₃ 飽和溶液(100 mL)至該固體並於室溫攪拌 1 小時。過濾沉澱物並以另外的 NaHCO₃ 水溶液(30 mL x 3)沖洗。在真空下乾燥該固體而得到呈棕色固體的 3-側氧基-2-(2,2,2-三氟乙基)-3,4-二氫喹啉-6-甲酸甲酯(中間體 88, 2.2 g, 97%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 3.88 – 3.98 (5H, m), 7.81 (1H, dd), 7.86 – 7.94 (2H, m), 12.75 (1H, s); m/z (ES⁺) [M+H]⁺=287.

【 0292 】

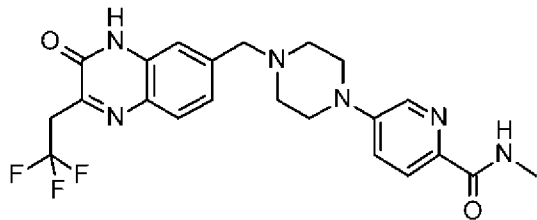
中間體 89 : 7-(羥基甲基)-3-(2,2,2-三氟乙基)喹啉-2(1H)-酮

於 0°C, 將二異丁基氫化鋁於 THF(20.96 mL, 20.96 mmol)的 1 M 溶液分批添加至於 THF(100 mL)中的 3-側氧基-2-(2,2,2-三氟乙基)-3,4-二氫喹啉-6-甲酸甲酯(中間體 88, 1.0 g, 3.49 mmol)。於室溫攪拌生成的混合物 16 小時。於 0°C以飽和酒石酸鉀鈉水溶液(20 mL)及 MeOH(10 mL)將反應混合物猝熄。攪拌生成的混合物 1 小時。過濾反應混合物並以 THF(30 mL x 3)洗滌。蒸發有機層而得到灰白色固體, 藉由快速二氧化矽層析法純化, 溶析梯度為於水(0.4% HCO₂H)中的 5 至 55% MeOH。將純的級分蒸發至乾燥而得到呈黃色固體的 7-

(羥基甲基)-3-(2,2,2-三氟乙基)喹啉-2(1H)-酮(中間體 89, 650 mg, 72.2 %). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 3.88 (2 H, q), 4.62 (2H, d), 5.45 (1H, t), 7.24 (1H, dd), 7.33 (1H, d), 7.73 (1H, d), 12.62 (1H, s); m/z (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=259$.

【 0293 】

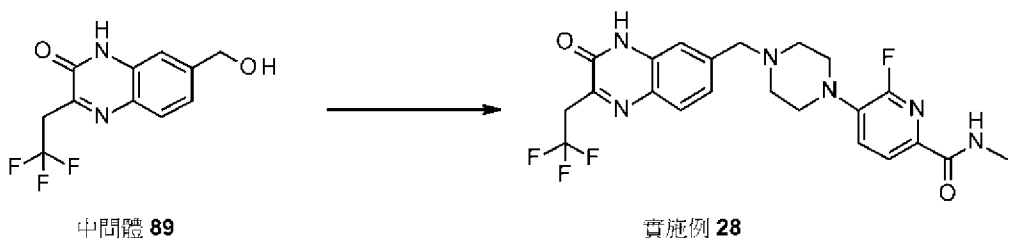
合成例 27 : N-甲基-5-[4-[[3-側氧基-2-(2,2,2-三氟乙基)-4H-喹啉-6-基]甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲醯胺



【 0294 】將 7-(羥基甲基)-3-(2,2,2-三氟乙基)喹啉-2(1H)-酮(中間體 89, 50 mg, 0.19 mmol)添加至於 AcOH 中的 33% HBr(2 mL, 12.15 mmol)。於 80℃攪拌生成的混合物 2 小時。在真空下蒸發反應混合物而得到 7-(溴甲基)-3-(2,2,2-三氟乙基)喹啉-2(1H)-酮(粗產物)。該產物不須進一步純化而直接用於下一步驟。將 DIPEA(0.169 mL, 0.97 mmol)添加至於 NMP(2 mL)中的 7-(溴甲基)-3-(2,2,2-三氟乙基)喹啉-2(1H)-酮(粗產物)及 N-甲基-5-(哌啶-1-基)吡啶醯胺(中間體 13, 50 mg, 0.23 mmol)。於 80℃攪拌生成的混合物 1 小時。將反應混合物濃縮並藉由製備型 HPLC(管柱: Sunfire prep C18 管柱, 30 x 150, 5 μm ; 流動相 A: 水(0.1% HCO_2H), 流動相 B: ACN; 流速: 60 mL/min; 梯度: 於 7 min 內 10

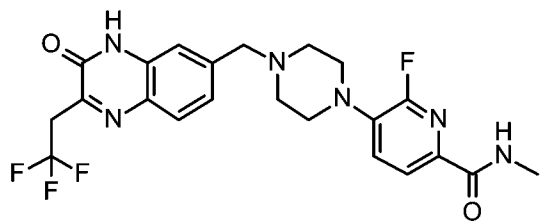
B 至 25 B ; 254/220 nm ; RT : 6.57) 進行純化。將含有所
欲化合物的級分蒸發至乾燥而得到呈灰白固體的 N-甲基
-5-[4-[[3-側氧基-2-(2,2,2-三氟乙基)-4H-喹啶啉-6-基]
甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲醯胺(合成例 27, 41.5 mg ,
46.6%)。 ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 2.56 (4H, m),
2.78 (3H, d), 3.35 (4H, m), 3.65 (2H, s), 3.88 (2H, q),
7.29 – 7.42 (3H, m), 7.79 (2H, m), 8.25 – 8.30 (1H, m),
8.38 (1H, m), 12.60 (1H, br s) ; ¹⁹F NMR (376 MHz,
DMSO-d₆) δ -61.53 ; m/z (ES⁺) [M+H]⁺=461.

【 0295 】



【 0296 】

合成例 28 : 6-氟-N-甲基-5-[4-[[3-側氧基-2-(2,2,2-三氟
乙基)-4H-喹啶啉-6-基]甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲醯胺

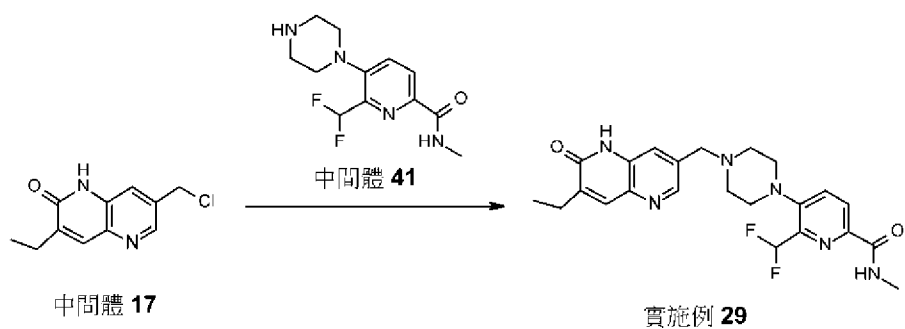


【 0297 】 將 7-(羥基甲基)-3-(2,2,2-三氟乙基)喹啶啉
-2(1H)-酮(中間體 89, 60 mg, 0.23 mmol)添加至於
AcOH 中的 33% HBr(2 mL, 12.15 mmol)。於 80℃攪拌
生成的混合物 2 小時。在真空下蒸發反應混合物而得到
7-(溴甲基)-3-(2,2,2-三氟乙基)喹啶啉-2(1H)-酮(粗產

物)。該產物不須進一步純化而直接用於下一步驟。將 DIPEA(0.203 mL, 1.16 mmol)添加至於 NMP(2 mL)中的 7-(溴甲基)-3-(2,2,2-三氟乙基)喹啉-2(1H)-酮(粗產物)及 6-氟-N-甲基-5-(哌啶-1-基)吡啶-2-甲醯胺(中間體 23, 60 mg, 0.25 mmol)。於 80°C 攪拌生成的混合物 2 小時。生成的混合物藉由製備型 HPLC(管柱: Sunfire prep C18 管柱, 30 x 150, 5 μ m; 流動相 A: 水(0.1% HCO₂H), 流動相 B: ACN; 流速: 60 mL/min; 梯度: 於 7 min 內 12 B 至 30 B; 254/220 nm; RT: 6.25)進行純化。將含有所欲化合物的級分蒸發至乾燥而得到呈灰白固體的 6-氟-N-甲基-5-[4-[[3-側氧基-2-(2,2,2-三氟乙基)-4H-喹啉-6-基]甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲醯胺(合成例 28, 49.0 mg, 43.3%)。 ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 2.53 - 2.63 (4H, m), 2.76 (3H, d), 3.15 - 3.22 (4H, m), 3.65 (2H, s), 3.88 (2H, q), 7.28 - 7.35 (2H, m), 7.57 (1H, dd), 7.76 (1H, d), 7.84 (1H, dd), 8.17 (0.185H, s), 8.38 (1H, m), 12.57 (1H, s); ¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO-d₆) δ -61.54, -72.52; m/z (ES⁺) [M+H]⁺=479.

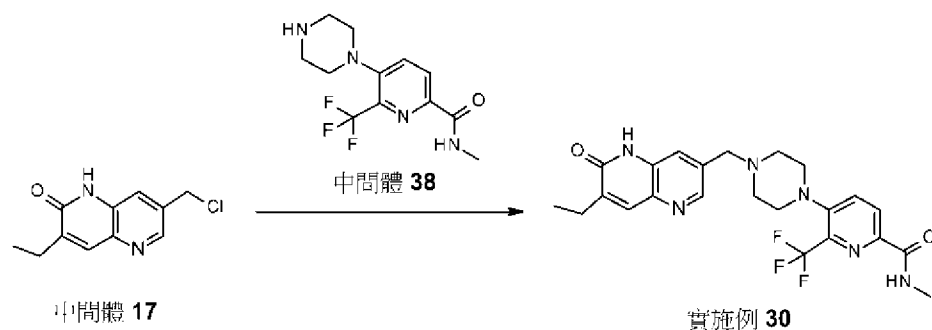
【 0298 】

合成例 29 : 6-(二氟甲基)-5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啶-3-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺



【0299】於 20℃添加 DIPEA(330 μ l, 1.89 mmol)至 7-(氯甲基)-3-乙基-1,5-噻啉-2(1H)-酮, HCl (中間體 17, 70 mg, 0.27 mmol)、碘化鈉(4.05 mg, 0.03 mmol)及 6-(二氟甲基)-N-甲基-5-嘧啶-1-基-吡啶-2-甲醯胺, 2HCl (中間體 41, 102 mg, 0.30 mmol)於乙腈(2.4 mL)的攪拌溶液並於 50℃攪拌生成的溶液 3 小時。在真空下移除溶劑並添加 50 mL 水隨後添加 3 mL sat NaHCO₃。混合物以乙酸乙酯萃取。濃縮後, 生成的殘餘物藉由快速二氧化矽層析法純化, 溶析梯度為於 DCM 中的 0 至 30% MeOH。在減壓下濃縮產物級分至乾燥而得到呈淺黃色固體的 6-(二氟甲基)-5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啉-3-基)甲基]嘧啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺(合成例 29, 52.0 mg, 42%)。¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) 1.19 (3H, t), 2.54 - 2.58 (2H, m), 2.63 (4H, br s), 2.84 (3H, d), 3.03 (4H, br t), 3.68 (2H, s), 7.14 (1H, t), 7.62 (1H, d), 7.76 (1H, s), 7.86 (1H, d), 8.10 (1H, d), 8.32 - 8.45 (2H, m), 11.86 (1H, s); m/z (ES⁺) [M+H]⁺=457.

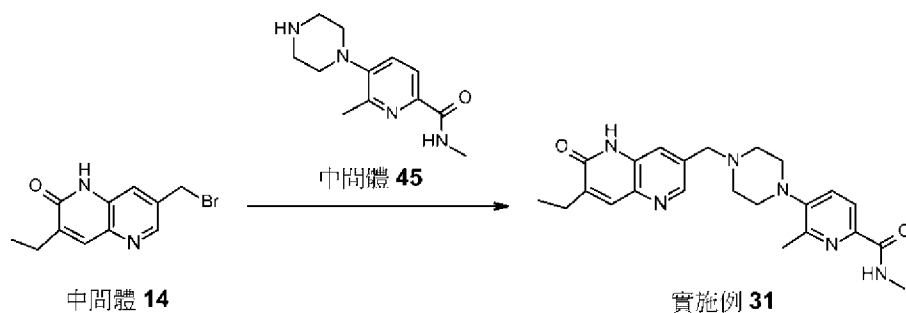
【0300】
合成例 30 : 5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啉-3-基)甲基]嘧啶-1-基]-N-甲基-6-(三氟甲基)吡啶-2-甲醯胺



【0301】於 20℃添加 DIPEA(330 μ l, 1.89 mmol)至 7-(氯甲基)-3-乙基-1,5-萘啶-2(1H)-酮, HCl (中間體 17, 70 mg, 0.27 mmol)、碘化鈉(4.05 mg, 0.03 mmol)及 N-甲基-5-哌啶-1-基-6-(三氟甲基)吡啶-2-甲醯胺, 2HCl (中間體 38, 107 mg, 0.30 mmol)於乙腈(2.4 mL)的攪拌溶液並於 50℃攪拌生成的溶液 3 小時。在真空下移除溶劑並添加 50 mL 水隨後 3 mL sat NaHCO₃。混合物以乙酸乙酯萃取。濃縮後, 生成的殘餘物藉由快速二氧化矽層析法純化, 溶析梯度為於 DCM 中的 0 至 30% MeOH。在減壓下濃縮產物級分至乾燥而得到呈淺黃色固體的 5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-萘啶-3-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-6(三氟甲基)吡啶-2-甲醯胺(合成例 30, 58.0 mg, 45%)。¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) 1.19 (3H, t), 2.54 - 2.62 (6H, m), 2.83 (3H, d), 3.04 (4H, br t), 3.67 (2H, s), 7.62 (1H, d), 7.75 (1H, s), 8.04 (1H, d), 8.19 (1H, d), 8.31 - 8.48 (2H, m), 11.85 (1H, s); m/z (ES⁺) [M+H]⁺=475.

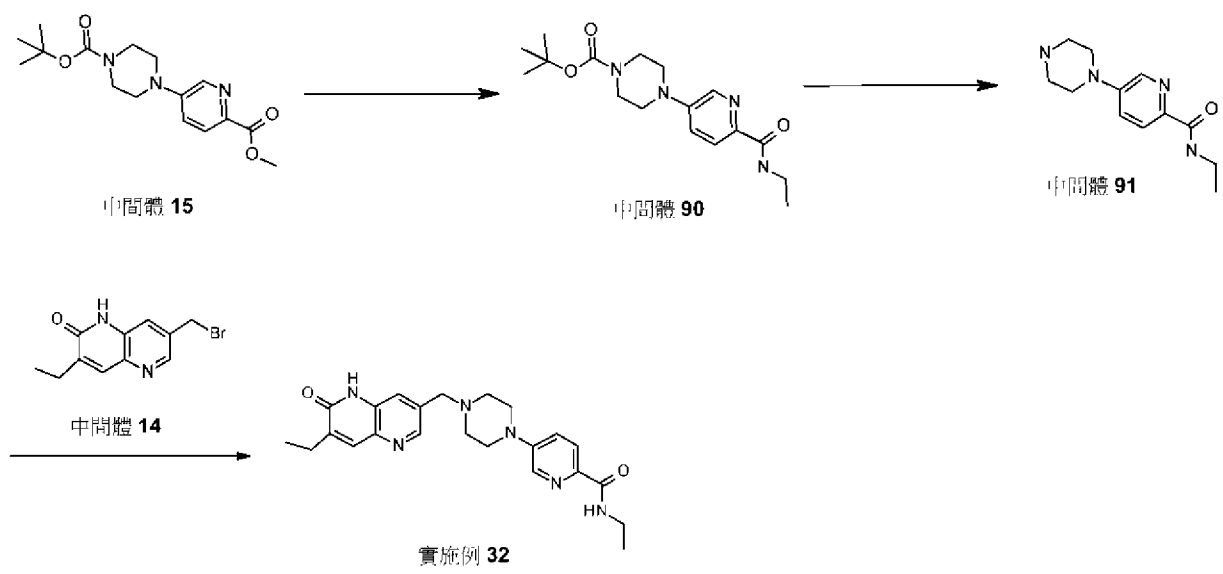
【0302】

合成例 31 : 5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-萘啶-3-基)甲基]哌啶-1-基]-N,6-二甲基-吡啶-2-甲醯胺



【0303】於 20℃添加 DIPEA(0.366 mL, 2.10 mmol)至 7-(溴甲基)-3-乙基-1,5-萘啶-2(1H)-酮(中間體 14, 80 mg, 0.30 mmol)及 N,6-二甲基-5-吡啶-1-基-吡啶-2-甲醯胺, 2HCl (中間體 45, 101 mg, 0.33 mmol)於乙腈(2 mL)的攪拌溶液並於 70℃攪拌生成的溶液 3 小時。在真空下移除溶劑並添加 50 mL 水隨後 3 mL sat NaHCO₃。混合物以乙酸乙酯萃取。濃縮後, 生成的殘餘物藉由快速二氧化矽層析法純化, 溶析梯度為於 DCM 中的 0 至 30% MeOH。在減壓下濃縮產物級分至乾燥而得到呈淺黃色固體的 5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-萘啶-3-基)甲基]吡啶-1-基]-N,6-二甲基-吡啶-2-甲醯胺(合成例 31, 36.0 mg, 29%)。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) 1.19 (3H, t), 2.50 (3H, s), 2.54 - 2.57 (2H, m), 2.57 - 2.64 (4H, m), 2.81 (3H, d), 2.96 (4H, br s), 3.68 (2H, s), 7.49 (1H, d), 7.63 (1H, d), 7.76 (1H, s), 7.80 (1H, d), 8.35 - 8.47 (2H, m), 11.85 (1H, br s); m/z (ES⁺) [M+H]⁺=421.

【0304】



【 0305 】

中間體 90：4-[6-(乙基胺甲醯基)-3-吡啶基]哌啶-1-甲酸三級丁酯

將在甲醇中的乙胺(7M， 7.78 mL， 15.56 mmol)添加至 4-(6-(甲氧基羰基)吡啶-3-基)哌啶-1-甲酸三級丁酯(中間體 15， 500 mg， 1.56 mmol)之溶液中並於 50℃攪拌生成的溶液 18 小時。在真空下移除溶劑並將樣本進一步乾燥而得到 4-[6-(乙基胺甲醯基)-3-吡啶基]哌啶-1-甲酸三級丁酯(中間體 90， 0.495 g， 95%)。 ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) 1.11 (3H, t), 1.43 (9H, s), 3.27 - 3.32 (6H, m), 3.44 - 3.52 (4H, m), 7.42 (1H, dd), 7.85 (1H, d), 8.28 (1H, d), 8.44 (1H, br t).

【 0306 】

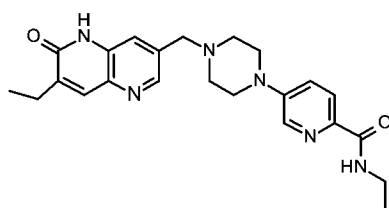
中間體 91：N-乙基-5-哌啶-1-基-吡啶-2-甲醯胺

緩緩添加於二噁烷的 HCl(0.473 mL， 15.58 mmol)至 4-(6-(乙基胺甲醯基)吡啶-3-基)哌啶-1-甲酸三級丁酯(中間體 90， 521 mg， 1.56 mmol)於甲醇(10 mL)的攪拌溶液

中。於 rt 下攪拌生成的溶液 17 小時。將反應濃縮並乾燥固體而得到 N-乙基-5-哌啶-1-基-吡啶-2-甲醯胺，2HCl (中間體 91, 421 mg, 88 %) ; m/z (ES^+) $[M+H]^+=235$.

【0307】

合成例 32 : N-乙基-5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啶-3-基)甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲醯胺



【0308】於 20°C 添加 DIPEA (0.320 mL, 1.83 mmol) 至 7-(溴甲基)-3-乙基-1,5-噻啶-2(1H)-酮 (中間體 14, 70 mg, 0.26 mmol) 及 N-乙基-5-哌啶-1-基-吡啶-2-甲醯胺，2HCl (中間體 91, 89 mg, 0.29 mmol) 於乙腈 (2 mL) 的攪拌溶液中並於 70°C 攪拌生成的溶液 3 小時。在真空下移除溶劑並添加 50 mL 水隨後添加 3 mL sat NaHCO₃。以乙酸乙酯萃取混合物。濃縮後，將粗產物藉由逆相層析法 (管柱 : XbridC18) 純化，溶析梯度為於水 (含 0.2% NH₄OH) 中的 20 至 50% MeCN。將純的級分蒸發至乾燥而得到呈白色固體的 N-乙基-5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啶-3-基)甲基]哌啶-1-基]吡啶-2-甲醯胺 (合成例 32, 28.0 mg, 25 %)。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) 1.10 (3H, t), 1.19 (3H, t), 2.52 - 2.55 (2H, m), 2.55 - 2.59 (4H, m), 3.26 - 3.30 (2H, m), 3.34 (4H, br d), 3.66 (2H, s), 7.40 (1H, dd), 7.63 (1H, s), 7.76 (1H, s), 7.83

(1H, d), 8.27 (1H, d), 8.36 - 8.46 (2H, m), 11.74 - 11.94 (1H, m); m/z (ES^+) $[M]^+ = 420$.

【0309】

合成例 4-形式 A

於合成例 4，藉由在減壓下蒸發甲醇/二氯甲烷溶液，獲得呈部分結晶固體的 5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啉-3-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺。呈白色如此獲得的結晶材料被表徵為結晶形式 A。

【0310】於結晶度較差的情形，可藉由在周圍溫度或在 50°C 下，將 20 mg 粗樣本懸浮於 0.20 ml 的水、甲醇、乙醇、丙酮、乙腈、四氫呋喃、乙酸乙酯或其它溶劑中 1 天，而獲得結晶形式 A。

【0311】藉由 XRPD 進行分析形式 A 並將結果示於圖 16A 且表列於下：

對於形式 A 的 XRPD 峰

角度(2θ±0.2°)	強度(%)
8.3	100.0
12.4	30.9
19.4	26.5
20.4	25.8
26.3	19.2
21.2	17.4
20.8	14.8
22.8	14.1
16.8	14.0
10.2	13.2
18.4	10.8
11.4	9.9
28.1	8.4
18.0	8.4
25.2	8.2
24.9	6.7
16.5	6.4
17.3	5.3
22.1	4.0
29.3	3.3
24.3	2.7
30.3	2.5
38.2	2.0
33.9	1.4
14.2	1.4
13.7	1.4
33.0	1.3
36.5	1.2
39.2	1.2

【0312】形式 A 的特徵在於提供使用 $\text{CuK}\alpha$ 輻射測量的下列 2θ 值中的至少一者：8.3、12.4、及 19.4°。

【0313】藉由熱技術分析形式 A。DSC 分析指出形式 A 具有在 254°C 開始並且在 255°C 達到頂峰的熔點。形式 A 之代表性 DSC 記錄曲線示於圖 16B。

【0314】

生物學測定(PARP1 選擇性抑制劑)

可採用以下測試程序而確定本文所述 PARP1 選擇性抑制劑化合物的抑制性質。

【0315】

PARP 螢光各向異性結合測定

將重組全長 6HIS 標記的 PARP1 蛋白質以 50 mM Tris pH 8、0.001% Triton X100、10 mM MgCl_2 、150 mM NaCl 稀釋至 6 nM，並與等體積之 2 nM 螢光探針溫育四小時(該螢光探針以 50 mM Tris pH 8、0.001% Triton X100、10 mM MgCl_2 、150 mM NaCl 稀釋)。將該探針的最終 DMSO 濃度維持低於 1% (v/v)。

【0316】將重組全長 PARP2 蛋白質以 50 mM Tris pH 8、0.001% Triton X100、10 mM MgCl_2 、150 mM NaCl 稀釋至 6 nM，並與等體積之 2 nM 螢光探針溫育四小時(該螢光探針以 50 mM Tris pH 8、0.001% Triton X100、10 mM MgCl_2 、150 mM NaCl 稀釋)。將該探針的最終 DMSO 濃度維持低於 1% (v/v)。

【0317】將重組全長 PARP3 蛋白質以 50 mM Tris pH 8、0.001% Triton X100、10 mM MgCl_2 、150 mM NaCl

稀釋至 100 nM，並與等體積之 6 nM 螢光探針溫育四小時(該螢光探針以 50 mM Tris pH 8、0.001% Triton X100、10 mM MgCl₂、150 mM NaCl 稀釋)。將該探針的最終 DMSO 濃度維持低於 1% (v/v)。

【0318】將重組 PARP5a 結合域以 50 mM Tris pH 8、0.001% Triton X100、10 mM MgCl₂、150 mM NaCl 稀釋至 160 nM，並與等體積之 6 nM 螢光探針溫育四小時(該螢光探針以 50 mM Tris pH 8、0.001% Triton X100、10 mM MgCl₂、150 mM NaCl 稀釋)。將該探針的最終 DMSO 濃度維持低於 1% (v/v)。

【0319】將重組全長 GST 標記的 PARP6 蛋白質以 50 mM Tris pH 8、0.001% Triton X100、10 mM MgCl₂、150 mM NaCl 稀釋至 160 nM，並與等體積之 6 nM 螢光探針溫育四小時(該螢光探針以 50 mM Tris pH 8、0.001% Triton X100、10 mM MgCl₂、150 mM NaCl 稀釋)。將該探針的最終 DMSO 濃度維持低於 1% (v/v)。

【0320】使用 BMG Pherastar FS[®]，於測試化合物或溶劑對照存在下，測量與蛋白質結合時之探針的螢光各向異性，並確定對各向異性的影響。計算不同測試化合物濃度之 %抑制值，並擬合至四參數對數圖以便確定 IC₅₀ 值。於必要時，化合物 K_i 可使用謬森 羅德巴德 (Munson Rodbard) 方程式由 IC₅₀ 值確定，該方程式定義於 Anal. Biochem. 1980 Sep 1; 107(1): 220-39，並基於與相關 PARP 蛋白質結合的探針之已知 K_D 。

【0321】

hERG 電生理學測定

使用 Nanion Syncropatch 768PE 獲得來自穩定轉染的 CHO hKv11.1 細胞的電生理學記錄(皆於 RT 下進行)。以 6 個化合物盤，每個在不同的濃度下，添加測試化合物、媒介物(vehicle)或陽性對照，以允許對細胞投予累積劑量(10 mM、3.167 mM、1 mM、0.3167 mM、0.1 mM、0.03167 mM)。將 600 μ l 之化合物再懸浮於 90 μ l 之參考緩衝液(以 mM 計，NaCl 80、KCL 4、CaCl 5、MgCl 1、NMDG Cl 60、D-葡萄糖一水合物 5、HEPES 10 (pH7.4 HCL, 298mOsm)，最終化合物濃度為 39.6 μ M、13.2 μ M、4.4 μ M、1.46 μ M、0.48 μ M、0.16 μ M。對於每一 Nanion Syncropatch 768PE 運行，在存在細胞外溶液(以 mM 計，NaCl 80、KCL 4、CaCl 5、MgCl 1、NMDG Cl 60、D-葡萄糖一水合物 5、HEPES 10 (pH7.4 HCL, 298mOsm))的情況下，測量每個細胞中的電流幅度，使用 Syncropatch 液體處理系統進行的所有液體添加。在 384 孔多孔介質電阻記錄晶片中加入 40 μ L 外部溶液(以 mM 計，HBPS、CaCl₂ 2、MgCl₂ 1(pH7.4，NaOH)，並灌注內部緩衝液(以 mM 計，KF 130、KCl 20、MgCl₂ 1、EGTA 10、HEPES 10、Escin 25(所有皆 Sigma-Aldrich；pH 7.2–7.30，使用 10 M KOH, 320 mOsm)至盤的底部。以 1e6 個細胞/ml 的密度，將 20 μ L 的保持在~9°C的細胞分配到晶片之每個孔中，隨後添加 20 μ L 的密封增強劑(以 mM 計，NaCl 80、KCl 3、CaCl 10、HEPES 10、MgCl 1 (pH7.4 NaOH))。執行洗滌步

驟，留下 40 μL 殘餘體積。在添加測試化合物之前，分配 40 μL 的參考緩衝液以建立穩定的基線，在 3 min 後進行 40 μL 之移除步驟，重複此步驟。移除 40 μL 之前，分配 40 μL 的濃度 1(0.16 μM)化合物，「即時」記錄 3 min 暴露。對另外 5 個後續化合物盤重複此步驟，以生成累積曲線分析。所有數據均進行洩漏扣除 (leak subtract)，2 個脈衝至 -80 mV 100 ms，100 ms 延遲。然後藉由從 -90mV 的保持電位到 +60mV 的電壓階躍誘發向外的 K^+ 電流，每個脈衝以 2Hz 的頻率以 15s 的脈衝間隔傳送。

【 0322 】

PARP 增殖測定(4 天化合物投劑)

在完全培養基中收取密度分別為 1.875E4 個細胞/ml 及 6.25E4 個細胞/ml 的 DLD1 細胞及 BRCA2 (-/-) DLD1 細胞，使用 Multidrop Combi，以 40 μL /孔接種到 384 孔盤 (Greiner, Kremsmunster, 奧地利; 781090) 中，然後在 37°C、5% CO_2 下溫育隔夜。次日(第 1 天)，使用 Multidrop Combi 添加 sytox green (5ul, 2uM) 及皂素 (10ul, 0.25% 儲備液) 至第 0 天盤，使用黑色膠黏蓋 (adhesive lid) 密封盤，並在 RT 下溫育 > 3 hr。使用裝有 4x 物鏡的 Cell Insight (Thermo Fisher) 將細胞成像。使用 Echo 555 添加測試化合物，並將其置於保持在 37°C、5% CO_2 下的培養箱中，並溫育 4 天。在第 5 天，向盤中添加 sytox green (5 ul, 2 uM)，然後添加皂素 (10 ul, 0.25% 儲備液)，使用黑色膠黏蓋密封盤並在 RT 下溫育

> 3 hr。以 4x 物鏡讀取 Cell Insight 上的所有細胞。針對第 0 天和第 5 天的盤，藉由評估 Cell Insight 輸出的總細胞數，確定 Genedata 中的增殖速率。

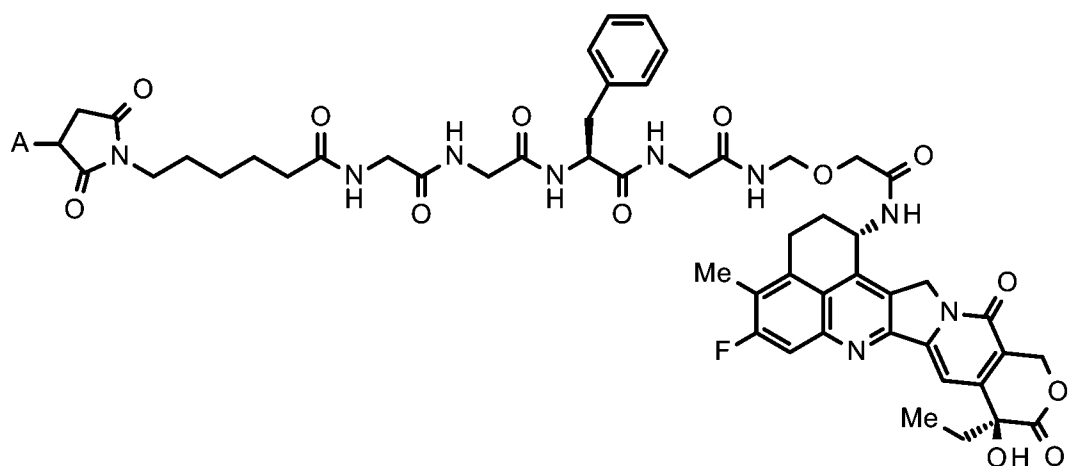
【 0323 】

合成例 編號	PARP1 IC50 (μM)	PARP2 IC50 (μM)	PARP3 IC50 (μM)	PARP5a IC50 (μM)	PARP6 IC50 (μM)	BRCA2 -/- DLD-1 prolif 4d IC50 (μM)	WT DLD-1 prolif 4d IC50 (μM)	hERG IC50 (μM)
1	0.003	1.7	4	>100	34	0.010	>30	>40
2	0.004	0.88	9.9	20	14	0.008	>30	>40
3	0.005	1.3	12	>100	14	0.004	>30	22
4	0.004	>1.5	4.7	>100	19	>0.017	>30	>40
5	0.002	0.65	7.1	>100	23	0.006	>30	>40
6	0.003	0.84	9.3	>100	8.2	0.006	>30	>40
7	0.002	1.3	2.6	94	22	4.14		
8	0.003	11	55	93	18	0.011	>19	>40
9	0.009	22	>100	>100	47	0.010	17	>40
10	0.005	17	48	56	26	0.006	>30	>40
11	0.005	4	13	>100	22	0.184	>30	>40
12	0.004	1.6	19	89	11	0.008	>30	>40
13	0.007	8.5	30	>100	30	0.005	>26	>40
14	0.004	2.9	30	50	11	0.006	>30	>40
15	0.011	3.6	35	>100	80	0.090	>30	>40
16	0.007	3.3	74	61	31	0.018	>22	>40
17	0.007	1.7	96	>100	59	0.020	>30	>40
18	0.031	17	>100	>100	>29	4.90	>30	5.2
19	0.015	>100	>100	>100	>29	0.015	>30	21
20	0.014	28	>100	>100	>100	0.016	>24	38
21	0.004	9.5	>100	>100	33	0.016	>30	>40
22	0.006	1	2.6	26	16	0.012	>30	>40
23	0.004	4.4	60	60	>100		4.2	36
24	0.003	5.1	>100	93	>100	0.010	14	37
25	0.002	6	43	>100	>100		>25	>40
26	0.005	6.7	>100	>100	>100	0.005	23	>40
27	0.007	16	>100	71	>100	10.3	>10	26
28	0.006	14	>100	>29	>100	0.027	>30	>40
29	0.004	6.1	9.9	>100	14	0.007	>30	>40
30	0.003	7.6	4.5	>100	10	0.004	>30	>40
31	0.005	3.7	2.6	>100	28			>40
32	0.003	2.1	1.9	>100	10			>40

【 0 3 2 4 】

實施例 1：抗體-藥物結合物的生產

依據 WO2015/115091 中所述的生產方法並使用抗 HER2 抗體(包含由 SEQ ID NO：11 表示的胺基酸序列所組成的重鏈(SEQ ID NO：1 之胺基酸殘基 1 至 449)及由 SEQ ID NO：2 之所有胺基酸殘基 1 至 214 所組成的胺基酸序列所組成的輕鏈的抗體)，生產一種下式表示的藥物-連接子經由硫醚鍵與抗 HER2 抗體結合之抗 HER2 抗體-藥物結合物(DS-8201：曲妥珠單抗德魯特坎)，

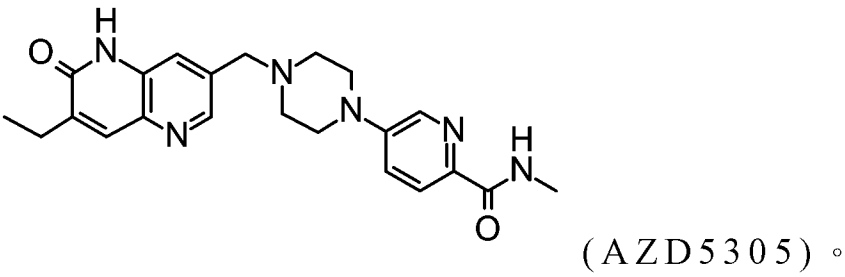


其中 A 表示與抗體的連結位置。抗體-藥物結合物的 DAR 為 7.7 或 7.8。

【 0 3 2 5 】

實施例 2：PARP1 選擇性抑制劑之生產

依據本文所述生產方法，製備式(I)之 PARP1 選擇性抑制劑。具體而言，可依據本文的合成例4(WO2021/013735 之實施例4)，製備5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-嘧啶-3-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺：



【 0326 】

實施例 3：抗腫瘤試驗

抗體 - 藥物結合物 DS-8201(曲妥珠單抗德魯特坎 (Enhertu[®]))與 PARP1 選擇性抑制劑 AZD5305 (5-[4-[(7-乙基 -6-側氧基 -5H-1,5-噻啶 -3-基)甲基]哌啶 -1-基]-N-甲基 -吡啶 -2-甲醯胺)之組合

【 0327 】

方法：

進行高通量組合篩選，其中以 DS-8201 及 AZD5305(PARP1 選擇性抑制劑)的組合處理 27 種具有不同 HER2 表現的乳癌細胞系和一種具有高 HER2 表現的胃細胞系(表 1)。

【 0328 】 表 1

細胞系	HER2 狀態	癌症類型
NCI-N87	Amp (高)	胃
SKBR3	Amp (高)	乳房
AU565	Amp (高)	乳房
HCC1569	Amp (高)	乳房
HCC1187	低	乳房
HCC1954	Amp (高)	乳房
KPL-4	Amp (高)	乳房
HCC38	Amp (低)	乳房
MCF7 (ER+)	Del (null)	乳房
MDA-MB-157	低	乳房
HCC1419	Amp (高)	乳房
ZR-75-30	Amp (高)	乳房
ZR-75-1 (ER+)	低	乳房
HCC1395	低	乳房
BT474 (ER+)	Amp (高)	乳房
EFM-19 (ER+)	低	乳房
HCC1937	null	乳房
BT-549	Del (null)	乳房
MDA-MB-453	低	乳房
MDA-MB-361	Amp (低)	乳房
CAL-51	低	乳房
MDA-MB-468	Amp (低)	乳房
T-47D (ER+)	低	乳房
HCC1143	低	乳房
JIMT1	Amp (低)	乳房
CAMA1 (ER+)	低	乳房
MDA-MB-231	低	乳房
HCC70	低	乳房

【0329】此篩選的讀數為 7 天 CellTiter-Glo 細胞活力測定，作為 6 x 6 劑量反應矩陣進行(DS-8201 為 5 點對數系列稀釋，AZD5305 為半對數系列稀釋)。AZD5305 的最大濃度為 3 μ M，DS-8201 的最大濃度為 10 μ g/ml。此外，曲妥珠單抗及依喜替康(DNA 拓撲異構酶 I 抑制劑)亦與 AZD5305 平行篩選，以幫助解開有效組合的作用機制。基於 Δ E_{max} 和勒韋協同分數(Loewe synergy score)的組合評估組合活性。

【0330】

結果：

HER2 高細胞系(KPL4、NCI-N87、SKBR3、HCC1954、HCC1569、AU565)的結果示於圖 12A 和 12B 以及表 2 中，以及 HER2 低細胞系(MDA-MB-468、MDA-MB-157、HCC1187、T47D、HCC38)的結果示於圖 13A 和 13B 以及表 3 中。

【0331】圖 12A 和 13A 顯示測量的細胞活力信號的矩陣。X 軸代表藥物 A(DS-8201)，Y 軸代表藥物 B(AZD5305)。方框中的值代表第 7 天以藥物 A+B 處理的細胞與 DMSO 對照的比例。所有值皆標準化為第 0 天的細胞活力值。0 到 100 之間的值代表生長抑制百分比，高於 100 的值代表細胞死亡。

【0332】圖 12B 和 13B 顯示勒韋過量矩陣。框中的值代表勒韋可加性模型計算的過量值。

【0333】表 2 和表 3 顯示 HSA 協同和勒韋可加性分數：

表 2

細胞系	KPL4	NCI-N87	SKBR3	HCC1954	HCC1569	AU565
HSA 協同分數	68.2	70.95	20.33	9.9	38.6	32.77
勒韋協同分數	68.2	70.95	20.33	9.9	38.6	32.77

表 3

細胞系	MDA-MB-468	MDA-MB-157	HCC1187	T47D	HCC38
HSA 協同分數	11.6	7.04	52.7	12.33	8.9
勒韋協同分數	11.6	6.5	52.7	12.33	8.8

【 0334 】

備 註：

若兩種化合物藉由相同的機制作用於相同的分子標靶，勒韋劑量可加性預測預期的反應。它基於化合物之間零相互作用的假設計算可加性，並且它與劑量反應關係的性質無關。

【 0335 】HAS(最高單一藥劑)[Berenbaum 1989]量化相應濃度下兩種單一化合物效應中較高的一者。將組合效果與在組合中使用的濃度下的每種單一藥劑的效果進行比較。超過最高單一劑效應指出協同性。HSA 不需要化合物影響相同的目標。

【 0336 】過量矩陣：對於濃度矩陣中的每個孔，將測量值或擬合值與每個濃度對(concentration pair)的預測非協同值進行比較。預測值由所選模型確定。預測值和觀察值之間的差異可能表示協同作用或拮抗作用，並顯示在過量矩陣中。過量矩陣值由過量體積和協同分數的組合分數匯總。

【0337】圖 14 顯示在以 DS-8201 與 AZD5305 組合所處理的各種細胞系中的組合 E_{max} 及勒韋協同分數。

【0338】從圖 12A 和 12B 以及表 2 中可以看出，AZD5305 與 DS-8201 協同性地相互作用，且亦增加 HER2+乳房及胃細胞系中的細胞死亡。從圖 13A 和 13B 以及表 3 中可以看出，AZD5305 與 DS-8201 協同性地相互作用，且亦在 E_{max}(3 μM AZD5305 和 10 μg/ml DS-8201)下增加 HER2 低乳癌細胞系中的細胞死亡。從圖 14 中可看出，在包括 HER2 低乳癌細胞系在內的 11 個細胞系中，以 DS-8201 與 AZD5305 組合治療導致高組合 E_{max} (>100)和勒韋協同分數(>5)。

【0339】

實施例 4：抗腫瘤試驗

抗體-藥物結合物 DS-8201(曲妥珠單抗德魯特坎 (Enhertu[®]))與 PARP1 選擇性抑制劑 AZD5305(5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啉-3-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺)之組合

【0340】

方法：

將在各自條件下生長的細胞以最佳密度接種在 96 孔盤中，以允許在檢測期間(4 至 8 天)線性增殖。接種後立即向細胞中投予指定的化合物，總體積為 200 μL/孔，並置於培養箱中。組合作為每個組合的 6 x 8 濃度反應矩陣進行。於終點，細胞於室溫下固定於 2% PFA 中 20 分鐘。為了獲得處理開始時的細胞數，每個實驗

使用一個額外的盤，並在細胞附著後固定。然後將細胞在 PBS 中的 0.5% Triton-X100 中可滲透化處理 10 分鐘。PBS 洗滌後，將細胞在 PBS 中的 5% FBS 中在室溫下封閉 1 小時，並在 5% FBS + 0.05% triton 中與一級抗體在 4°C 下溫育隔夜。在 PBS 中洗滌 3 次後，於室溫下將細胞與含有 Hoechst33258 的 5% FBS + 0.05% triton 中的二級抗體一起溫育 1 小時。在 PBS 中洗滌 3 次後，使用 Cellinsight 儀器以 10x 物鏡和 9 個視野/孔掃描細胞。基於核赫斯特染色 (Hoechst staining)，使用 Columbus 分析影像的細胞計數。與溶劑對照相比，使用總細胞計數/孔以計算每個孔中的相對生長。為了計算協同分數，使用 Combenefit 軟體分析生長抑制數據 (Di Veroli, G.Y., et al., *Combenefit : an interactive platform for the analysis and visualization of drug combinations*. Bioinformatics, 2016, **32**(18) : p. 2866-8)。

【 0341 】

結果：

圖 15A 和 15B 中顯示 HER2 高細胞系 (KPL4) 和兩種 HER2 低細胞系 (JIMT1、MDA-MB-468) 的結果。

【 0342 】圖 15A 顯示細胞計數矩陣，其中 Y 軸代表藥物 A (DS-8201)，X 軸代表藥物 B (AZD5305)。框中的值代表相對總細胞 (核) 計數，作為 DMSO 媒劑對照的百分比。

【 0343 】圖 15B 顯示矩陣，其中 Y 軸代表藥物 A (DS-8201)，X 軸代表藥物 B (AZD5305)，框中的值代表計算的勒韋協同分數。

【0344】實施例 3 和 4 中的結果證實，在活體外高表現和低表現 HER2 的細胞系兩者中，使用 AZD5305 的選擇性 PARP1 抑制增強 DS-8201 的抗腫瘤功效。於實施例 3，AZD5305 與 DS-8201 之組合在五種 HER2+乳癌細胞系、一種 HER2+胃癌細胞系(圖 12A、12B、14 及表 2)和五種 HER2 低乳癌細胞系(圖 13A、13B 及 14 及表 3)中顯示出組合益處。於實施例 4，AZD5305 與 DS-8201 之組合在 HER2-high(KPL4)和 HER2-low (JIMT-1、MDA-MB-468)細胞系中顯示出協同活性(圖 15A 和 15B)。

【0345】

實施例 5：抗腫瘤試驗-活體內

抗體-藥物結合物 DS-8201(曲妥珠單抗德魯特坎(Enhertu[®]))與 PARP1 選擇性抑制劑 AZD5305 (5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啉-3-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺)之組合

【0346】

方法：

使用 5-8 週齡的雌性裸鼠(Charles River)，在進入研究前 7 天適應環境。將 1×10^7 NCI-N87 腫瘤細胞(Matrigel 中 1:1)皮下植入雌性裸鼠的側腹。當腫瘤達到約 150 mm^3 時，將相似大小的腫瘤隨機分配於處理組，如表 4 所示：

【 0347 】 表 4

處理	劑量	投予路徑	投劑時間表 (28 天)
媒劑	----	IV + PO	單劑 + QD
DS-8201	3 mg/kg	IV	單劑
DS-8201	1 mg/kg	IV	單劑
AZD5305	1 mg/kg	PO	QD
DS-8201 + AZD5305	1 mg/kg 或 3mg/kg + 1 mg/kg	IV + PO	單劑+ QD

PO：口服(per os)投劑

QD：每天一次(quaque die) 投劑

【 0348 】 基於投劑當天的個體體重而計算每隻動物的化合物劑量。DS8201 及 AZD5305 於相同天投劑，以 DS8201 在 AZD5305 PO 投予後約 1 小時投予。DS-8201 在第 1 天以 1 mg/kg 或 3 mg/kg 的單劑投予，AZD5305 以 1 mg/kg QD 投予 28 天。投劑持續時間為 28 天。

【 0349 】

DS-8201 於 3 mg/kg 及 1 mg/kg 的調配物

DS-8201 的投劑溶液係於投劑當天藉由將 DS-8201 儲備液(20.1 mg/ml)在 25 mM 組胺酸緩衝液、9%蔗糖(pH5.5)中稀釋至 0.6 mg/ml 及 0.2 mg 而分別用於 3 mg/kg 及 1 mg/kg 投劑溶液。在以 5ml/kg 的投劑體積經由 IV 注射投予前，使用移液管充分混合每一投劑溶液。

【 0350 】

AZD5305 於 1 mg/kg 之調配物

為了調配 1 mg/kg 投劑溶液，製備濃度為 0.1 mg/ml 的 AZD5305，其造成 PO 投劑的投劑體積為 10 ml/kg。總共需要 49 ml 媒劑。添加 15 µl 1M HCl 之量至化合物，並藉由渦流充分混合。添加體積為 1 ml 的無菌水至

Eppendorf 管中，並使用 pellet pestle 與化合物充分混合。將化合物超聲波處理約 5 分鐘，然後將內容物轉移到玻璃瓶中。使用體積為 1 ml 的無菌水沖洗 Eppendorf 管中的任何殘留化合物，然後將其轉移到玻璃瓶中。將剩餘體積的無菌水 (37.2 ml；總媒劑體積的 80%) 加到玻璃瓶中並使用磁力攪拌器充分混合。將投劑溶液的 pH 值調整至 pH 3.74，然後將剩餘的媒劑 (9.772ml 無菌水) 加至玻璃瓶中並使用磁力攪拌器充分混合。將投劑溶液避光，每日取一小部分用於投劑。所有剩餘的投劑溶液在冰箱中最多保存 7 天。1 mg/kg AZD5305 的最終投劑基質為澄清溶液。

【 0351 】

測量

如下計算腫瘤生長抑制 (TGI)：

$$TGI\% = \{1 - (\text{經處理的 MTV} / \text{MTV 對照})\} * 100$$

其中 MTV = 平均腫瘤體積。

【 0352 】與媒劑對照相比，在最終測量當天使用 $(\log(\text{相對腫瘤體積}) = \log(\text{最終體積} / \text{起始體積}))$ 之單側 t-檢定 (one-tailed t-test) 評估統計顯著性。

【 0353 】

結果

將單獨使用 DS8201 或 AZD5305 或使用 DS-8201 與 AZD5305 組合治療的腫瘤體積示於圖 17。數據代表治療組的腫瘤體積隨時間的變化。圖 17 中的虛線代表投劑期的結束。有關完整劑量和時間表資訊，參閱上列表

4。顯示的值為平均值±SEM；對於媒劑處理的小鼠，最初 n=10，對於所有其它處理組，n=8。

【0354】將在 NCI-N87 異種移植物中單獨以 DS8201 或 AZD5305 或以 DS-8201 與 AZD5305 組合治療後的 TGI 反應(第 41 天 TGI%)顯示於表 5 中：

【0355】表 5

處理組	TGI% 第 41 天	p-值相對於 媒劑	顯著性
DS-8201 3 mg/kg	62%	0.00071	***
DS-8201 1 mg/kg	25%	0.025	†ns
AZD5305 1 mg/kg	40%	<0.0001	†ns
DS-8201 1 mg/kg + AZD5305 1 mg/kg	55%	<0.0001	**
DS-8201 3 mg/kg + AZD5305 1 mg/kg	90%	<0.0001	****

†不顯著

【0356】以 DS-8201 3 mg/kg 單一療法顯示在治療後第 41 天的 TGI 值為 62%。在 1 mg/kg DS-8201 治療後第 41 天顯示出 25%的 TGI。AZD5305 單一療法在治療後第 41 天達到 40%的 TGI。AZD5305 與 DS-8201 以 1 mg/kg 的組合治療造成治療後 41 天的 TGI 為 55%。使用較高的 DS-8201 3 mg/kg 劑量與 AZD5305 的組合治療在治療後第 41 天達成 90%的顯著 TGI，並顯示出比任何一種單獨療法更佳的反應。

【0357】治療組通常耐受性良好(兩隻異常值動物因體重減輕>15%而退出研究)且所有治療組的平均體重在研究期間保持穩定。

【0358】

實施例 6：

於活體外 HER2 高、HER2 低、及 HER2 突變表現細胞系中，抗體-藥物結合物 DS-8201(曲妥珠單抗德魯特坎(Enhertu[®]))與 PARP1 選擇性抑制劑 AZD5305 (5-[4-[(7-乙基-6-側氧基-5H-1,5-噻啉-3-基)甲基]哌啶-1-基]-N-甲基-吡啶-2-甲醯胺)的組合投劑

【 0359 】

方法：

進行高通量組合篩選，其中以 DS-8201 和 AZD5305 的組合篩選具有不同 HER2 表現的四種肺癌細胞系(表 6)和一種 HER2 突變癌細胞系(表 7)。

【 0360 】 表 6

細胞系	藉由流式細胞分析技術 於每一細胞的 HER2 受體	IHC Dako H2L H-分數	癌症類型
HCC1171	146050±654	200	NSCLC 腺癌
NCIH1573	51090±165	100	NSCLC 腺癌
NCIH2170	2472499±21851	300	NSCLC 鱗狀細胞癌
Calu6	12935±200	0	NSCLC 腺癌

【 0361 】 表 7

細胞系	藉由流式細胞分析技術 於每一細胞的 HER2 受體	HER2 突變	癌症類型
5637	27497±14	p.S310F	尿道

【 0362 】篩選的讀數為 7 天 CellTiter-Glo 細胞活力測定，作為 6x6 劑量反應矩陣進行(DS-8201 及 AZD5305，於每個組合各以半對數連續稀釋)。AZD5305 的最大濃度為 3.33 或 10 μM，DS-8201 的最大濃度為 100 μg/ml。基於 ΔEmax 和勒韋協同分數的組合評估組合活性。

【 0363 】

結果：

將 HER2+、HER2 低、HER2 低/無效 NSCLC 細胞系 (HCC1171、NCIH1573、NCIH2170、Calu6)的結果示於圖 18A、18B 及 18C 和表 8，而將 HER2 突變細胞系 (5637)示於圖 19A、19B 及 19C，以及表 9。

【 0364 】圖 18A 及 19A 顯示測量的細胞活力訊號的矩陣。X 軸代表藥物 A(DS-8201)，Y 軸代表藥物 B (AZD5305)。方框中的值代表第 7 天以藥物 A+B 處理的細胞與 DMSO 對照的比率。所有值均歸一化為第 0 天的細胞活力值。0 和 100 之間的值代表生長抑制百分比，高於 100 的值代表細胞死亡。

【 0365 】圖 18B 及 19B 顯示勒韋過量矩陣。框中的值代表勒韋可加性模型計算的過量值。

【 0366 】圖 18C 及 19C 顯示 HSA 過量矩陣。框中的值表示由 HAS(最高單一劑)模型計算的過量值。

【 0367 】表 8 及 9 顯示 HAS 協同性及勒韋可加性分數：

【 0368 】表 8

細胞系 (NSCLC)	HCC1171	NCIH1573	NCIH2170	Calu6
HSA 協同性分數	6.2	6.14	33.99	10.55
勒韋協同性分數	6.2	5.4	33.99	10.55

【 0369 】表 9

細胞系 (尿道)	5637
HSA 協同性分數	11.2
勒韋協同性分數	11.2

【0370】從圖 18A、18B 及 18C 以及表 8 中可以看出，AZD5305 與 DS-8201 協同性地相互作用，且亦增加細胞死亡，於 HER2+細胞系 NCIH2170，於 E_{max} (0.125 μ M AZD5305 及 100 μ g/ml DS-8201)；於 HER2 低細胞系 HCC1171，於 (0.125 μ M AZD5305 及 100 μ g/ml DS-8201)；及於 HER2 低/無效細胞系 Calu6，於 E_{max} (1.25 μ M AZD5305 及 100 μ g/ml DS-8201)。即使在單一藥劑活性不存在或低的情況下亦觀察到組合活性。儘管在細胞系 NCIH1573 中觀察到協同作用，但並無細胞死亡。

【0371】從圖 19A、19B 及 19C 以及表 9 中可以看出，AZD5305 與 DS-8201 協同性地相互作用，亦於 E_{max}(1.25 μ M AZD5305 及 100 μ g/ml DS-8201)下增加 HER2 突變細胞系 5637 中的細胞死亡。即使在 AZD5305 作為單一藥劑並無活性的情況下，亦觀察到組合活性。

【0372】前述書面說明書被認為足以使所屬技術領域中具通常知識者能夠實施具體實施例。前面的說明及實施例詳述某些具體實施例並描述了發明人設想的最佳模式。然而，將理解無論前述在文本中可能顯得多麼詳細，具體實施例可以多種方式實施且申請專利範圍包括其任何等同物。

【0373】序列表之非關鍵詞文字

SEQ ID NO：1-抗 HER2 抗體的重鏈之胺基酸序列

SEQ ID NO：2-抗 HER2 抗體的輕鏈之胺基酸序列

SEQ ID NO：3-重鏈 CDRH1 之胺基酸序列 [=SEQ ID NO：1 之胺基酸殘基 26 至 33]

SEQ ID NO：4-重鏈 CDRH2 之胺基酸序列 [=SEQ ID NO：1 之胺基酸殘基 51 至 58]

SEQ ID NO：5-重鏈 CDRH3 之胺基酸序列 [=SEQ ID NO：1 之胺基酸殘基 97 至 109]

SEQ ID NO：6-輕鏈 CDRL1 之胺基酸序列 [=SEQ ID NO：2 之胺基酸殘基 27 至 32]

SEQ ID NO：7-包含輕鏈 CDRL2 (SAS)之胺基酸序列的胺基酸序列 [=SEQ ID NO：2 之胺基酸殘基 50 至 56]

SEQ ID NO：8-輕鏈 CDRL3 之胺基酸序列 [=SEQ ID NO：2 之胺基酸殘基 89 至 97]

SEQ ID NO：9-重鏈可變區之胺基酸序列 [=SEQ ID NO：1 之胺基酸殘基 1 至 120]

SEQ ID NO：10-輕鏈可變區之胺基酸序列 [=SEQ ID NO：2 之胺基酸殘基 1 至 107]

SEQ ID NO：11-重鏈之胺基酸序列 [=SEQ ID NO：1 之胺基酸殘基 1 至 449]

【符號說明】

無。

序列表

<110> 阿斯特捷利康股份有限公司 (AstraZeneca UK Limited) 及第一三共股份有限公司 (DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED)

<120> 抗體-藥物結合物及PARP1選擇性抑制劑之組合

<130> PN838961TW

<140> TW 110137529

<141> 2021-10-08

<150> US63-089859

<151> 2020-10-09

<160> 11

<170> PatentIn版本3.5

<210> 1

<211> 450

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人類化抗HER2抗體的重鏈

<400> 1

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 2
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗HER2抗體的輕鏈

<400> 2

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 3
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗HER2抗體的重鏈之CDRH1

<400> 3

Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr
1 5

<210> 4
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人類化抗HER2抗體的重鏈之CDRH2

<400> 4

Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr
1 5

<210> 5
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗HER2抗體的重鏈之CDRH3

<400> 5

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 6
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗HER2抗體的輕鏈之CDRL1

<400> 6

Gln Asp Val Asn Thr Ala
1 5

<210> 7
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 包含人類化抗HER2抗體的輕鏈之CDRL2的序列

<400> 7

Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser
1 5

<210> 8
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗HER2抗體的輕鏈之CDRL3

<400> 8

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
1 5

<210> 9
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗HER2抗體的重鏈之可變區

<400> 9

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 10
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗HER2抗體的輕鏈之可變區

<400> 10

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 11
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類化抗HER2抗體的重鏈

<400> 11

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

65					70						75					80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
				85					90					95		
Ser	Arg	Trp	Gly	Gly	Asp	Gly	Phe	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	
			100					105					110			
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	
		115					120					125				
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	
	130					135					140					
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	
145					150					155					160	
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	
				165					170					175		
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	
			180					185					190			
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	
		195					200					205				
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	
	210					215					220					
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	
225					230					235					240	
Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	
				245					250					255		
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	
			260					265					270			
Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	
		275					280					285				
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	
	290					295					300					

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

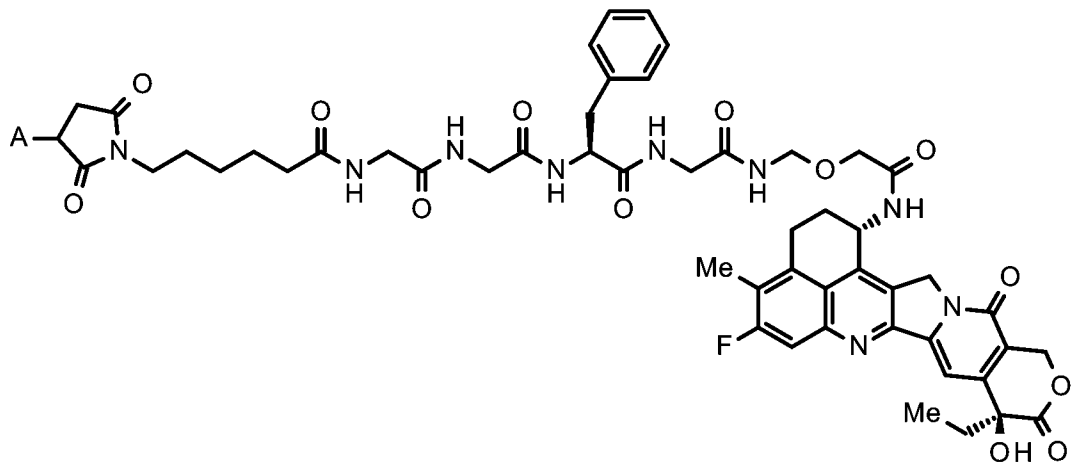
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

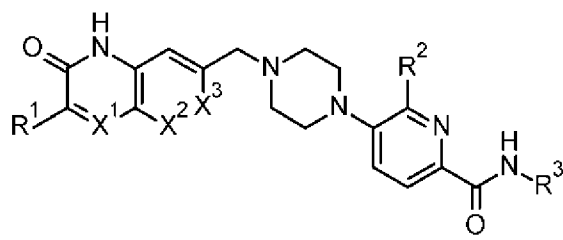
【發明申請專利範圍】

【請求項 1】一種醫藥產品，其包含用於組合投予之抗 HER2 抗體-藥物結合物及 PARP1 選擇性抑制劑，其中該抗 HER2 抗體-藥物結合物係下式所表示的藥物-連接子經由硫醚鍵而與抗 HER2 抗體結合之抗體-藥物結合物，



其中 A 表示與抗體的連結位置。

【請求項 2】如請求項 1 之醫藥產品，其中該 PARP1 選擇性抑制劑為下式 (I) 所表示的化合物或其醫藥上可接受的鹽，



(I)

其中：

- X¹ 及 X² 係各自獨立地選自 N 及 C(H)，
- X³ 係獨立地選自 N 及 C(R⁴)，其中 R⁴ 為 H 或氟基，
- R¹ 為 C₁₋₄ 烷基或 C₁₋₄ 氟烷基，

R^2 係獨立地選自 H、鹵素基、 C_{1-4} 烷基、及 C_{1-4} 氟烷基，及

R^3 為 H 或 C_{1-4} 烷基，

其條件為：

當 X^1 為 N，則 X^2 為 C(H)，且 X^3 為 C(R^4)，

當 X^2 為 N，則 $X^1=C(H)$ ，且 X^3 為 C(R^4)，及

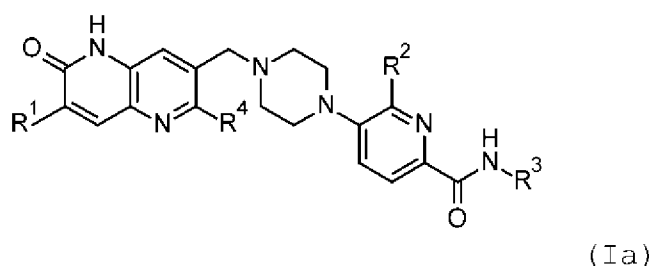
當 X^3 為 N，則 X^1 及 X^2 皆為 C(H)。

【請求項 3】如請求項 2 之醫藥產品，其中於式(I)中， R^3 為 C_{1-4} 烷基。

【請求項 4】如請求項 2 之醫藥產品，其中於式(I)中， R^3 為甲基。

【請求項 5】如請求項 2 至 4 中任一項之醫藥產品，其中於式(I)中， R^1 為乙基。

【請求項 6】如請求項 1 之醫藥產品，其中該 PARP1 選擇性抑制劑為下式(Ia)所表示的化合物或其醫藥上可接受的鹽，



其中

R^1 為 C_{1-4} 烷基，

R^2 係選自 H、鹵素基、 C_{1-4} 烷基、及 C_{1-4} 氟烷基，

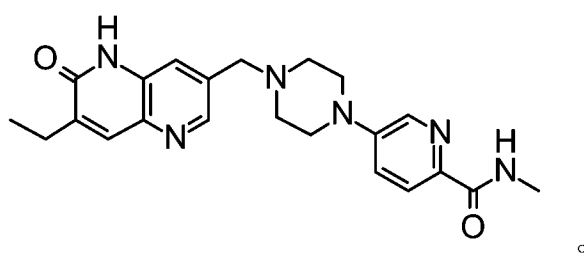
R^3 為 H 或 C_{1-4} 烷基，及

R^4 為 H。

【請求項 7】如請求項 6 之醫藥產品，其中於式 (Ia) 中， R^2 為 H 或鹵素基。

【請求項 8】如請求項 6 之醫藥產品，其中於式 (Ia) 中， R^1 為乙基， R^2 係選自 H、氯基及氟基，及 R^3 為甲基。

【請求項 9】如請求項 1 之醫藥產品，其中該 PARP1 選擇性抑制劑為下式所表示的 AZD5305 或其醫藥上可接受的鹽，



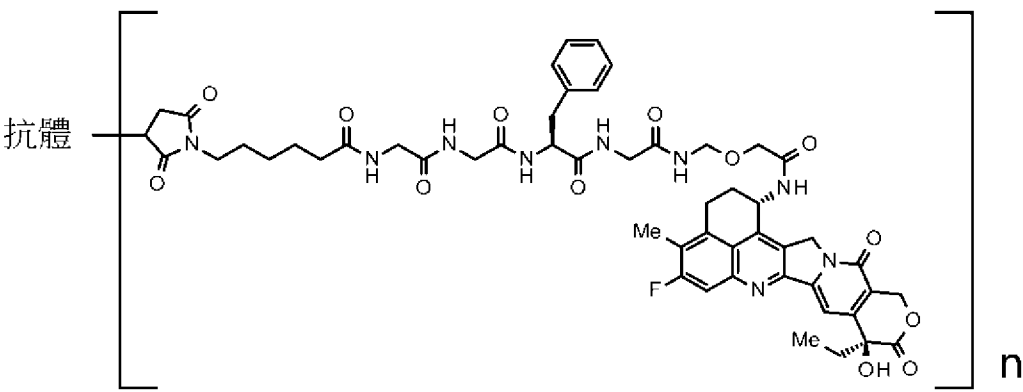
【請求項 10】如請求項 1 至 9 中任一項之醫藥產品，其中該抗 HER2 抗體為包含下列重鏈及輕鏈的抗體，該重鏈包含由 SEQ ID NO：3 表示的胺基酸序列所組成的 CDRH1、由 SEQ ID NO：4 表示的胺基酸序列所組成的 CDRH2 及由 SEQ ID NO：5 表示的胺基酸序列所組成的 CDRH3，該輕鏈包含由 SEQ ID NO：6 表示的胺基酸序列所組成的 CDRL1、由由 SEQ ID NO：7 之胺基酸殘基 1 至 3 所組成的胺基酸序列所組成的 CDRL2 及由 SEQ ID NO：8 表示的胺基酸序列所組成的 CDRL3。

【請求項 11】如請求項 1 至 9 中任一項之醫藥產品，其中該抗 HER2 抗體為包含下列重鏈及輕鏈的抗體，該重鏈包含由 SEQ ID NO：9 表示的胺基酸序列所組成的重鏈可變區，該輕鏈包含由 SEQ ID NO：10 表示的胺基酸序列所組成的輕鏈可變區。

【請求項 12】如請求項 1 至 9 中任一項之醫藥產品，其中該抗 HER2 抗體為包含由 SEQ ID NO：1 表示的胺基酸序列所組成的重鏈及由 SEQ ID NO：2 表示的胺基酸序列所組成的輕鏈的抗體。

【請求項 13】如請求項 1 至 9 中任一項之醫藥產品，其中該抗 HER2 抗體為包含由 SEQ ID NO：11 表示的胺基酸序列所組成的重鏈及由 SEQ ID NO：2 表示的胺基酸序列所組成的輕鏈。

【請求項 14】如請求項 1 至 13 中任一項之醫藥產品，其中該抗 HER2 抗體-藥物結合物係以下式表示，



其中「抗體」表示經由硫醚鍵而與藥物-連接子結合的抗 HER2 抗體，且 n 表示於抗體-藥物結合物中每個抗體分子所結合的藥物-連接子之平均單位數，其中 n 為 7 至 8 的範圍中。

【請求項 15】如請求項 1 至 14 中任一項之醫藥產品，其中該抗 HER2 抗體-藥物結合物為曲妥珠單抗德魯特坎 (trastuzumab deruxtecan)(DS-8201)。

【請求項 16】如請求項 1 至 15 中任一項之醫藥產品，其中該產品為組成物，該組成物包含該抗 HER2 抗體-藥物結合物及該 PARP1 選擇性抑制劑，用於同時投予。

【請求項 17】如請求項 1 至 15 中任一項之醫藥產品，其中該產品為組合製劑，該組合製劑包含該抗 HER2 抗體-藥物結合物及該 PARP1 選擇性抑制劑，用於依序或同時投予。

【請求項 18】如請求項 1 至 17 中任一項之醫藥產品，其中該產品係用於治療癌症。

【請求項 19】如請求項 18 之醫藥產品，其中該癌症為選自由下列組成的群組之至少一者：乳癌、胃癌、大腸直腸癌、肺癌、食道癌、頭頸部癌、食道胃接合處腺癌、膽道癌、佩吉特氏病(Paget's disease)、胰臟癌、卵巢癌、子宮癌肉瘤、泌尿道上皮癌、前列腺癌、膀胱癌、胃腸道間質瘤、消化道間質瘤、子宮頸癌、鱗狀上皮細胞瘤、腹膜癌、肝癌、肝細胞癌、子宮體癌、腎臟癌、外陰部癌、甲狀腺癌、陰莖癌、白血病、惡性淋巴瘤、漿細胞瘤、骨髓瘤、多形性膠質母細胞瘤、骨肉瘤、肉瘤、及黑色素瘤。

【請求項 20】如請求項 19 之醫藥產品，其中該癌症為乳癌。

【請求項 21】如請求項 20 之醫藥產品，其中該乳癌具有 IHC 3+之 HER2 狀態評分。

【請求項 22】如請求項 20 之醫藥產品，其中該乳癌為 HER2 低表現的乳癌。

【請求項 23】如請求項 20 之醫藥產品，其中該乳癌具有 IHC 2+之 HER2 狀態評分。

【請求項 24】如請求項 20 之醫藥產品，其中該乳癌具有 IHC 1+之 HER2 狀態評分。

【請求項 25】如請求項 20 之醫藥產品，其中該乳癌具有 IHC >0 且 <1+之 HER2 狀態評分。

【請求項 26】如請求項 20 之醫藥產品，其中該乳癌為三陰性乳癌。

【請求項 27】如請求項 18 之醫藥產品，其中該癌症為胃癌。

【請求項 28】如請求項 18 之醫藥產品，其中該癌症為大腸直腸癌。

【請求項 29】如請求項 18 之醫藥產品，其中該癌症為肺癌。

【請求項 30】如請求項 29 之醫藥產品，其中該肺癌為非小細胞肺癌。

【請求項 31】如請求項 18 之醫藥產品，其中該癌症為胰臟癌。

【請求項 32】如請求項 18 之醫藥產品，其中該癌症為卵巢癌。

【請求項 33】如請求項 18 之醫藥產品，其中該癌症為前列腺癌。

【請求項 34】如請求項 18 之醫藥產品，其中該癌症為腎臟癌。

【請求項 35】一種於治療癌症使用的醫藥產品，該醫藥產品如請求項 1 至 17 中任一項定義。

【請求項 36】如請求項 35 之使用的醫藥產品，其中該癌症為選自由下列組成的群組之至少一者：乳癌、胃癌、大腸直腸癌、肺癌、食道癌、頭頸部癌、食道胃接合處腺癌、膽道癌、佩吉特氏病、胰臟癌、卵巢癌、子宮癌肉瘤、泌尿道上皮癌、前列腺癌、膀胱癌、胃腸道間質瘤、消化道間質瘤、子宮頸癌、鱗狀上皮細胞瘤、腹膜癌、肝癌、肝細胞癌、子宮體癌、腎臟癌、外陰部癌、甲狀腺癌、陰莖癌、白血病、惡性淋巴瘤、漿細胞瘤、骨髓瘤、多形性膠質母細胞瘤、骨肉瘤、肉瘤、及黑色素瘤。

【請求項 37】如請求項 35 之使用的醫藥產品，其中該癌症為乳癌。

【請求項 38】如請求項 37 之使用的醫藥產品，其中該乳癌具有 IHC 3+之 HER2 狀態評分。

【請求項 39】如請求項 37 之使用的醫藥產品，其中該乳癌為 HER2 低表現的乳癌。

【請求項 40】如請求項 37 之使用的醫藥產品，其中該乳癌具有 IHC 2+之 HER2 狀態評分。

【請求項 41】如請求項 37 之使用的醫藥產品，其中該乳癌具有 IHC 1+之 HER2 狀態評分。

【請求項 42】如請求項 37 之使用的醫藥產品，其中該乳癌具有 IHC >0 且 <1+之 HER2 狀態評分。

【請求項 43】如請求項 37 之使用的醫藥產品，其中該乳癌為三陰性乳癌。

【請求項 44】如請求項 35 之使用的醫藥產品，其中該癌症為胃癌。

【請求項 45】如請求項 35 之使用的醫藥產品，其中該癌症為大腸直腸癌。

【請求項 46】如請求項 35 之使用的醫藥產品，其中該癌症為肺癌。

【請求項 47】如請求項 46 之使用的醫藥產品，其中該肺癌為非小細胞肺癌。

【請求項 48】如請求項 35 之使用的醫藥產品，其中該癌症為胰臟癌。

【請求項 49】如請求項 35 之使用的醫藥產品，其中該癌症為卵巢癌。

【請求項 50】如請求項 35 之使用的醫藥產品，其中該癌症為前列腺癌。

【請求項 51】如請求項 35 之使用的醫藥產品，其中該癌症為腎臟癌。

【請求項 52】一種抗 HER2 抗體-藥物結合物或 PARP1 選擇性抑制劑於製造用以治療癌症之用於組合投予抗 HER2 抗體-藥物結合物及 PARP1 選擇性抑制劑的藥物之用途，其中該抗 HER2 抗體-藥物結合物及該 PARP1 選擇性抑制劑係如請求項 1 至 15 中任一項所定義。

【請求項 53】如請求項 52 之用途，其中該癌症為選自由下列組成的群組之至少一者：乳癌、胃癌、大腸直腸癌、肺癌、食道癌、頭頸部癌、食道胃接合處腺癌、膽道癌、佩吉特氏病、胰臟癌、卵巢癌、子宮癌肉瘤、泌

尿道上皮癌、前列腺癌、膀胱癌、胃腸道間質瘤、消化道間質瘤、子宮頸癌、鱗狀上皮細胞瘤、腹膜癌、肝癌、肝細胞癌、子宮體癌、腎臟癌、外陰部癌、甲狀腺癌、陰莖癌、白血病、惡性淋巴瘤、漿細胞瘤、骨髓瘤、多形性膠質母細胞瘤、骨肉瘤、肉瘤、及黑色素瘤。

【請求項 54】如請求項 52 之用途，其中該癌症為乳癌。

【請求項 55】如請求項 54 之用途，其中該乳癌具有 IHC 3+之 HER2 狀態評分。

【請求項 56】如請求項 54 之用途，其中該乳癌為 HER2 低表現的乳癌。

【請求項 57】如請求項 54 之用途，其中該乳癌具有 IHC 2+之 HER2 狀態評分。

【請求項 58】如請求項 54 之用途，其中該乳癌具有 IHC 1+之 HER2 狀態評分。

【請求項 59】如請求項 54 之用途，其中該乳癌具有 IHC >0 且 <1+之 HER2 狀態評分。

【請求項 60】如請求項 54 之用途，其中該乳癌為三陰性乳癌。

【請求項 61】如請求項 52 之用途，其中該癌症為胃癌。

【請求項 62】如請求項 52 之用途，其中該癌症為大腸直腸癌。

【請求項 63】如請求項 52 之用途，其中該癌症為肺癌。

【請求項 64】如請求項 63 之用途，其中該肺癌為非小細胞肺癌。

【請求項 65】如請求項 52 之用途，其中該癌症為胰臟癌。

【請求項 66】如請求項 52 之用途，其中該癌症為卵巢癌。

【請求項 67】如請求項 52 之用途，其中該癌症為前列腺癌。

【請求項 68】如請求項 52 之用途，其中該癌症為腎臟癌。

【請求項 69】如請求項 52 至 68 中任一項之用途，其中該藥物為組成物，該組成物包含該抗 HER2 抗體-藥物結合物及該 PARP1 選擇性抑制劑，用於同時投予。

【請求項 70】如請求項 52 至 68 中任一項之用途，其中該藥物為組合製劑，該組合製劑包含該抗 HER2 抗體-藥物結合物及該 PARP1 選擇性抑制劑，用於依序或同時投予。

【請求項 71】一種治療癌症之方法，其包含組合投予如請求項 1 至 15 中任一項所定義的抗 HER2 抗體-藥物結合物及 PARP1 選擇性抑制劑至需要其之受試者。

【請求項 72】如請求項 71 之方法，其中該癌症為選自由下列組成的群組之至少一者：乳癌、胃癌、大腸直腸癌、肺癌、食道癌、頭頸部癌、食道胃接合處腺癌、膽

道癌、佩吉特氏病、胰臟癌、卵巢癌、子宮癌肉瘤、泌尿道上皮癌、前列腺癌、膀胱癌、胃腸道間質瘤、消化道間質瘤、子宮頸癌、鱗狀上皮細胞瘤、腹膜癌、肝癌、肝細胞癌、子宮體癌、腎臟癌、外陰部癌、甲狀腺癌、陰莖癌、白血病、惡性淋巴瘤、漿細胞瘤、骨髓瘤、多形性膠質母細胞瘤、骨肉瘤、肉瘤、及黑色素瘤。

【請求項 73】如請求項 71 之方法，其中該癌症為乳癌。

【請求項 74】如請求項 73 之方法，其中該乳癌具有 IHC 3+之 HER2 狀態評分。

【請求項 75】如請求項 73 之方法，其中該乳癌為 HER2 低表現的乳癌。

【請求項 76】如請求項 73 之方法，其中該乳癌具有 IHC 2+之 HER2 狀態評分。

【請求項 77】如請求項 73 之方法，其中該乳癌具有 IHC 1+之 HER2 狀態評分。

【請求項 78】如請求項 73 之方法，其中該乳癌具有 IHC >0 且 <1+之 HER2 狀態評分。

【請求項 79】如請求項 73 之方法，其中該乳癌為三陰性乳癌。

【請求項 80】如請求項 71 之方法，其中該癌症為胃癌。

【請求項 81】如請求項 71 之方法，其中該癌症為大腸直腸癌。

【請求項 82】如請求項 71 之方法，其中該癌症為肺癌。

【請求項 83】如請求項 82 之方法，其中該肺癌為非小細胞肺癌。

【請求項 84】如請求項 71 之方法，其中該癌症為胰臟癌。

【請求項 85】如請求項 71 之方法，其中該癌症為卵巢癌。

【請求項 86】如請求項 71 之方法，其中該癌症為前列腺癌。

【請求項 87】如請求項 71 之方法，其中該癌症為腎臟癌。

【請求項 88】如請求項 71 至 87 中任一項之方法，其中該方法包含依序投予該抗 HER2 抗體-藥物結合物及該 PARP1 選擇性抑制劑。

【請求項 89】如請求項 71 至 87 中任一項之方法，其中該方法包含同時投予該抗 HER2 抗體-藥物結合物及該 PARP1 選擇性抑制劑。

SEQ ID NO: 5 ... 重鏈CDR13之胺基酸序列

SRWGGDGFYAMDY

[(圖 5)]

SEQ ID NO: 6 ... 輕鏈CDR11之胺基酸序列

QDVNTA

[(圖 6)]

SEQ ID NO: 7 ... 包含輕鏈CDR2 (SAS)的胺基酸序列之胺基酸序列

SASFLYS

[(圖 7)]

SEQ ID NO: 8 ... 輕鏈CDR13之胺基酸序列

QQHYTTPTT

[(圖 8)]

SEQ ID NO: 9 ... 重鏈可變區之胺基酸序列

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFINIKDTYTHWVR
QAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSK
NTAYIQMNSIRAEFTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGT
LVTVSS

[(圖 9)]

SEQ ID NO: 10 ... 輕鏈可變區之胺基酸序列

DIQMTQSPSSISASVQDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQ
KPGKAPKLLIYSASFLYSCVPSRFSQSRSCDTFTITIS
SLQPLEDFATYYCQQHYTTPTTFGQGTKVEIK

[(圖 10)]

SEQ ID NO: 11 -- 重鏈之胺基酸序列

EVQIVFSGGGIVQPGGSLRLSCAASGFINIKDTYTHWVR
QAPGKGLEWVARIYPTINGYTRYADSVKGRFTISADTSK
NTAYIQMNSIRAE DTAVYYCSRWGCGDYAMDYWGQGTF
LVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAAAGCIVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVITFPAVLQSSGLYSISSVVT
VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHIT
CPPCPAPFELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTIPPSRERMTEKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVIEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[(11)]

KPL1-01082-13

000	0	0	07	132	127	131
135	13	0	01	170	130	134
002	15	19	00	175	130	132
010	8	4	72	130	102	132
009	2	7	00	132	107	132
0	0	2	7	13	00	00
0	0	0	0	0	0	0

000100

NCI-1387-01089-13

000	01	0	07	130	102	139
135	0	20	00	130	133	131
002	3	10	01	135	132	131
010	5	12	31	132	133	135
009	11	1	00	131	131	132
0	0	2	0	00	02	00
0	0	0	0	0	0	0

000100

SKBR3-01082-13

000	10	0	132	170	170	170
135	27	0	139	131	131	132
002	0	1	130	130	132	135
010	0	0	131	170	131	132
009	100	00	134	177	170	132
0	0	0	130	130	170	170
0	0	0	0	0	0	0

000100

NCCT001-01089-13

000	11	0	07	100	125	130
135	0	10	00	100	100	100
002	17	17	01	110	111	100
010	17	23	01	100	130	131
009	10	40	02	110	120	100
0	2	0	70	00	100	102
0	0	0	0	0	0	0

000100

NCCT003-01082-13

000	23	141	102	123	131	130
135	21	027	100	119	120	131
002	183	107	107	121	121	120
010	0	10	100	119	127	130
009	11	0	09	119	121	137
0	0	18	070	11	1	139
0	0	0	0	0	0	0

000100

NCCT006-01082-13

000	10	0	111	130	127	131
135	11	2	115	120	100	120
002	1	1	111	1100	102	12
010	1	10	112	110	102	120
009	2	2	110	110	100	07
0	0	2	00	1	121	123
0	0	0	0	0	0	0

000100

|(13) 12.A|

NOCT1612 (100R2) (p)

100	1	0	33	100	91	91
110	2	0	33	100	93	93
120	1	7	33	102	93	93
130	2	-2	76	100	93	97
140	2	1	73	90	97	92
Σ		2	0	0	0	0
Σ	5					

0820190

NOCT1612 (100R2) (p)

100	3	6	36	103	93	93
110	4	10	34	102	97	97
120	1	5	34	103	97	97
130	-1	3	29	101	97	93
140	0	8	30	105	97	97
Σ		1	0	0	2	2
Σ	2					

0820190

NOCT1612 (100R2) (p)

100	-1	3	75	7	3	3
110	0	3	71	9	10	10
120	-1	4	74	10	10	10
130	3	1	75	0	2	10
140	-1	1	76	0	0	10
Σ		2	0	3	4	5
Σ	2					

0820190

NOCT1612 (100R2) (p)

100	3	5	14	11	23	22
110	0	11	11	3	20	13
120	2	12	11	17	10	20
130	2	20	9	14	19	26
140	3	26	17	10	22	3
Σ		7	0	3	3	0
Σ	2					

0820190

NOCT1612 (100R2) (p)

100	3	45	33	113	113	30
110	7	32	23	113	113	30
120	3	19	33	113	113	30
130	0	16	23	113	113	30
140	-3	7	33	113	113	-3
Σ		0	46	33	32	-1
Σ	2					

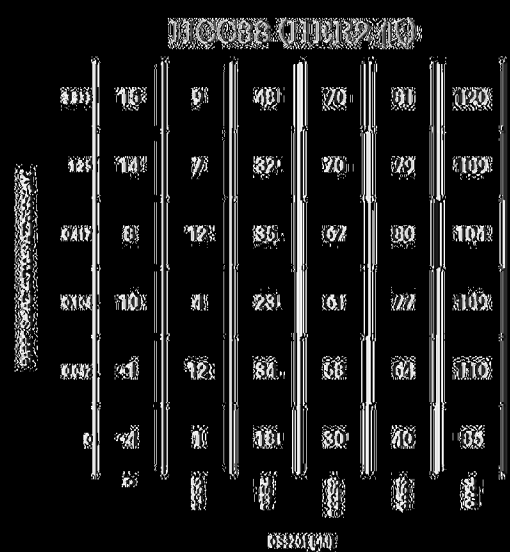
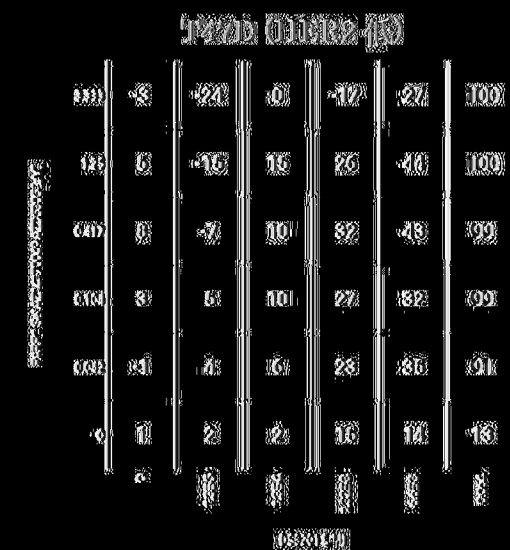
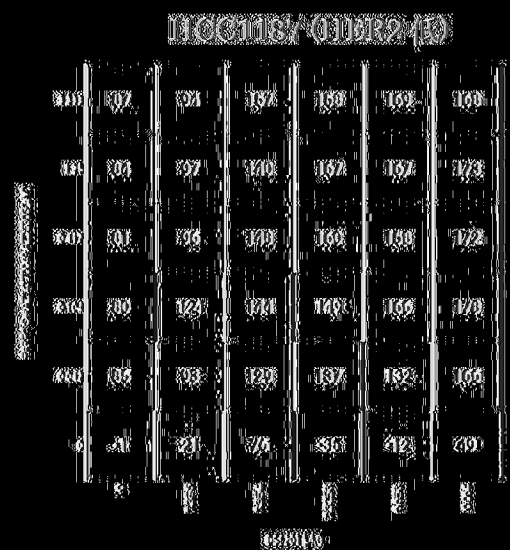
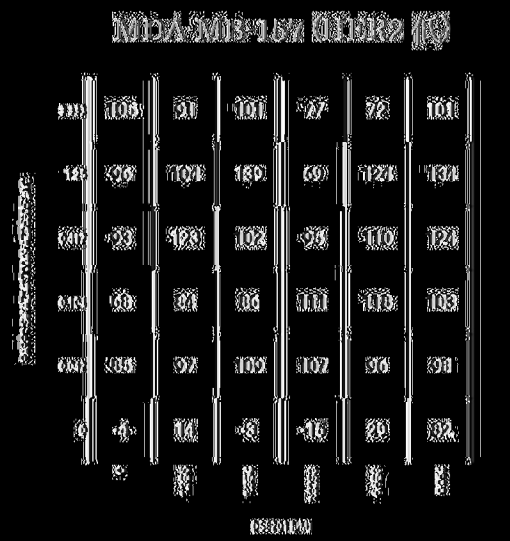
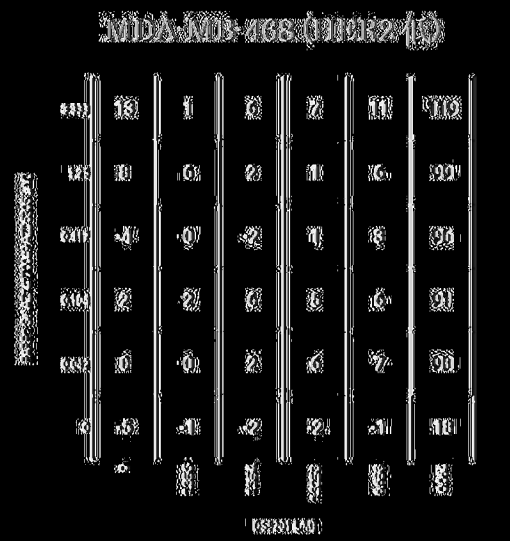
0820190

NOCT1612 (100R2) (p)

100	-1	3	12	97	12	-2
110	1	3	12	97	12	-17
120	1	3	12	97	12	-3
130	1	1	12	97	12	100
140	1	-3	17	97	12	99
Σ		2	19	-3	41	93
Σ	2					

0820190

|(12.3)|



|(110112) 13A|

MDA-MB-468 (110R2-13)

100	8	2	2	8	8	111
125	1	0	0	1	8	100
140	-1	-2	-2	-1	2	107
165	0	-1	0	0	8	100
180	-1	-2	-1	0	4	100
2		0	0	1	2	9
25						

1000100

MDA-MB-157 (110R2-13)

100	-2	-2	-1	20	4	20
125	-1	1	-17	18	26	80
140	-1	-1	2	0	16	20
165	-0	-3	0	18	20	20
180	-8	18	-17	14	16	10
2		-1	-1	-0	-2	1
25						

1000100

HCC1187 (110R2-13)

100	21	101	43	79	31	72
125	0	123	40	40	33	79
140	12	121	43	77	31	76
165	31	261	42	71	30	31
180	31	101	42	50	31	73
2		0	31	-20	-20	-20
25						

1000100

HMD1 (110R2-13)

100	-1	-2	-1	4	20	25
125	0	30	8	14	34	99
140	-1	-0	8	10	34	21
165	2	-4	3	12	30	94
180	0	-0	2	12	30	36
2		0	-1	0	18	1
25						

1000100

HCC98 (110R2-13)

100	31	-2	14	-40	30	20
125	0	-1	10	30	33	21
140	-1	-2	10	-40	43	32
165	0	0	15	32	33	24
180	4	0	10	20	22	20
2		2	10	0	-1	2
25						

1000100

[(11) 13B]

AZD5305 [nM]						
	0	3	10	30	100	300
DS-8201a [μg/mL]	100 47.0	76 47.0	66 47.0	79 47.0	88 47.0	86 47.0
0.1	98 47.0	62 47.0	62 47.0	66 47.0	64 47.0	66 47.0
1	79 47.0	37 47.0	20 47.0	27 47.0	32 47.0	22 47.0
10	65 47.0	9 47.0	8 47.0	4 47.0	1 47.0	3 47.0
100	16 47.0	1 47.0	1 47.0	1 47.0	1 47.0	3 47.0
1000	10 47.0	2 47.0	5 47.0	1 47.0	2 47.0	4 47.0
10000	13 47.0	3 47.0	4 47.0	4 47.0	6 47.0	3 47.0
100000	1 47.0	3 47.0	4 47.0	7 47.0	3 47.0	0 47.0

DS-8201a x AZD5305 = 15.0714

DS-8201 [μg/mL]								
	0	0.001	0.01	0.1	1	10	30	100
AZD5305 [nM]	100 47.0	102 47.0	94 47.0	80 47.0	75 47.0	63 47.0	20 47.0	5 47.0
1	114 47.0	77 47.0	77 47.0	61 47.0	57 47.0	33 47.0	11 47.0	4 47.0
3	109 47.0	77 47.0	70 47.0	61 47.0	54 47.0	21 47.0	10 47.0	3 47.0
10	88 47.0	85 47.0	61 47.0	46 47.0	44 47.0	19 47.0	7 47.0	3 47.0
30	87 47.0	81 47.0	64 47.0	46 47.0	40 47.0	13 47.0	5 47.0	3 47.0
100	82 47.0	68 47.0	61 47.0	43 47.0	37 47.0	16 47.0	5 47.0	3 47.0

AZD5305 x DS-8201 = 15.310144114

DS-8201 [μg/mL]								
	0	0.001	0.01	0.1	1	10	30	100
AZD5305 [nM]	100 47.0	102 47.0	103 47.0	101 47.0	66 47.0	10 47.0	2 47.0	1 47.0
1	101 47.0	88 47.0	84 47.0	84 47.0	73 47.0	4 47.0	1 47.0	0 47.0
3	81 47.0	85 47.0	85 47.0	88 47.0	61 47.0	3 47.0	1 47.0	0 47.0
10	60 47.0	82 47.0	73 47.0	70 47.0	46 47.0	2 47.0	1 47.0	0 47.0
30	82 47.0	84 47.0	85 47.0	76 47.0	43 47.0	2 47.0	1 47.0	0 47.0
100	88 47.0	82 47.0	61 47.0	74 47.0	42 47.0	3 47.0	1 47.0	0 47.0

AZD5305 x DS-8201 = 15.0107463710

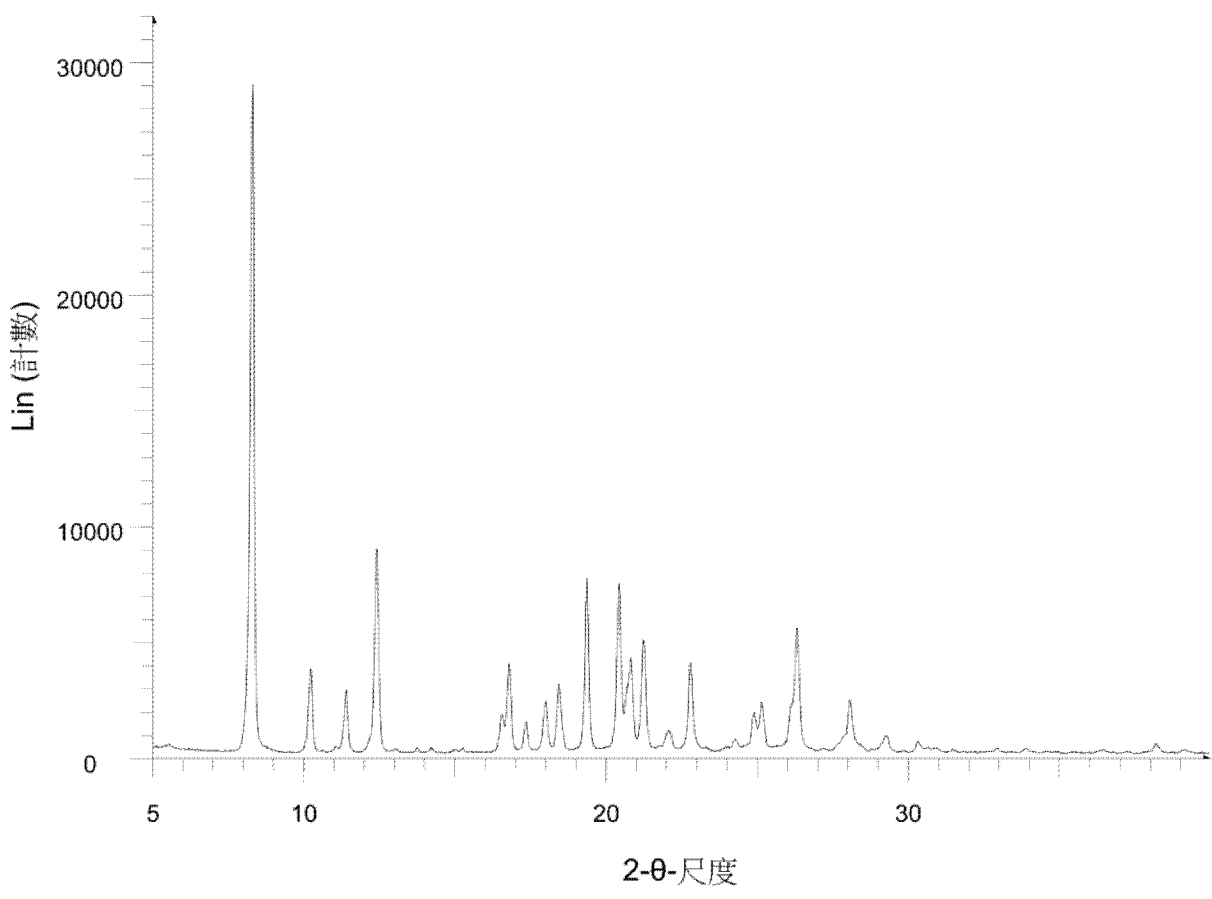
([] 15A)

		AZD5305 [nM]					
No.1		3	10	30	100	300	
DS-8201a [ng/ml]	0.1	24	1	18	29	17	
	1	48	54	66	51	61	
	10	48	50	52	55	53	
	100	23	23	23	23	24	
	1000	7	6	9	8	6	
	10000	3	2	2	4	3	
		100000	3	1	2	2	6
AZD5305-DS-8201a							
DS-8201a 7/27/15-300 = 15.111							

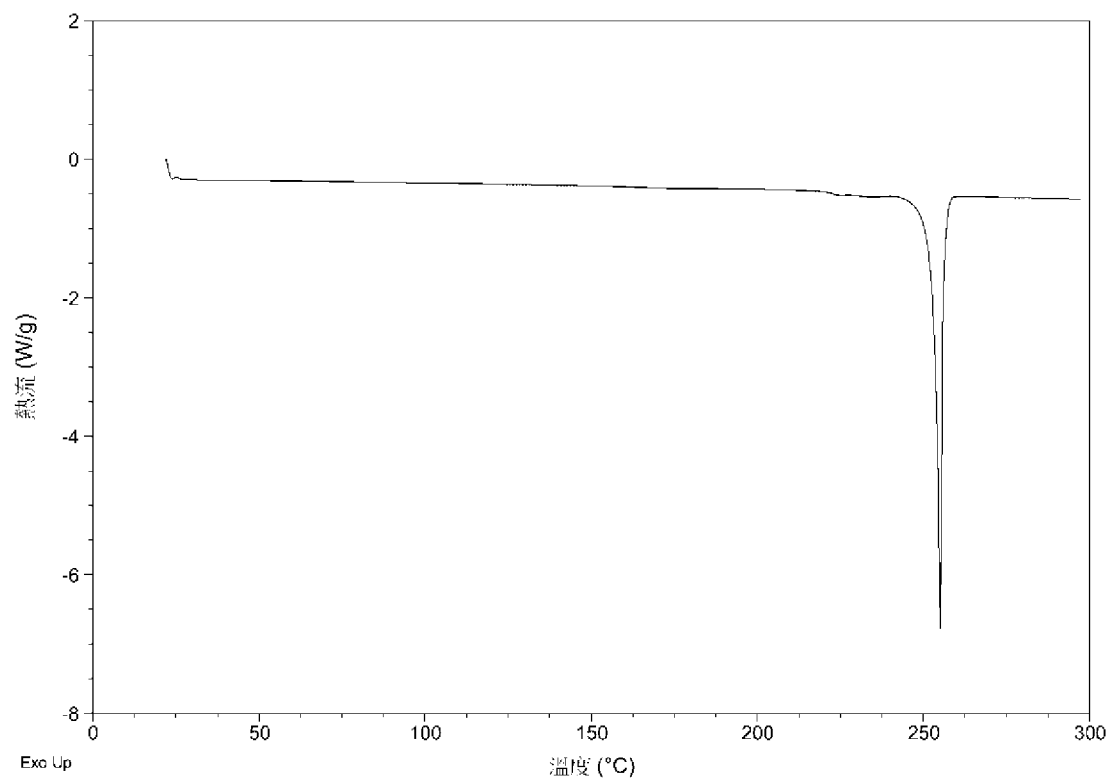
		DS-8201 [ng/ml]						
No.1		0.001	0.01	0.1	1	10	30	100
AZD5305 [nM]	1	22	24	30	17	6	17	12
	3	22	27	29	20	24	18	13
	10	3	26	33	30	11	24	19
	30	4	24	39	34	29	23	13
	100	22	1	42	37	25	23	13
AZD5305-DS-8201								
AZD5305-DS-8201 = 15.111								

		DS-8201 [ng/ml]						
No.1		0.001	0.01	0.1	1	10	30	100
AZD5305 [nM]	1	0	4	3	12	7	1	0
	3	4	9	10	7	7	1	0
	10	6	14	17	38	8	1	0
	30	1	0	9	40	6	1	0
	100	2	3	10	41	6	1	0
AZD5305-DS-8201								
AZD5305-DS-8201 = 15.111								

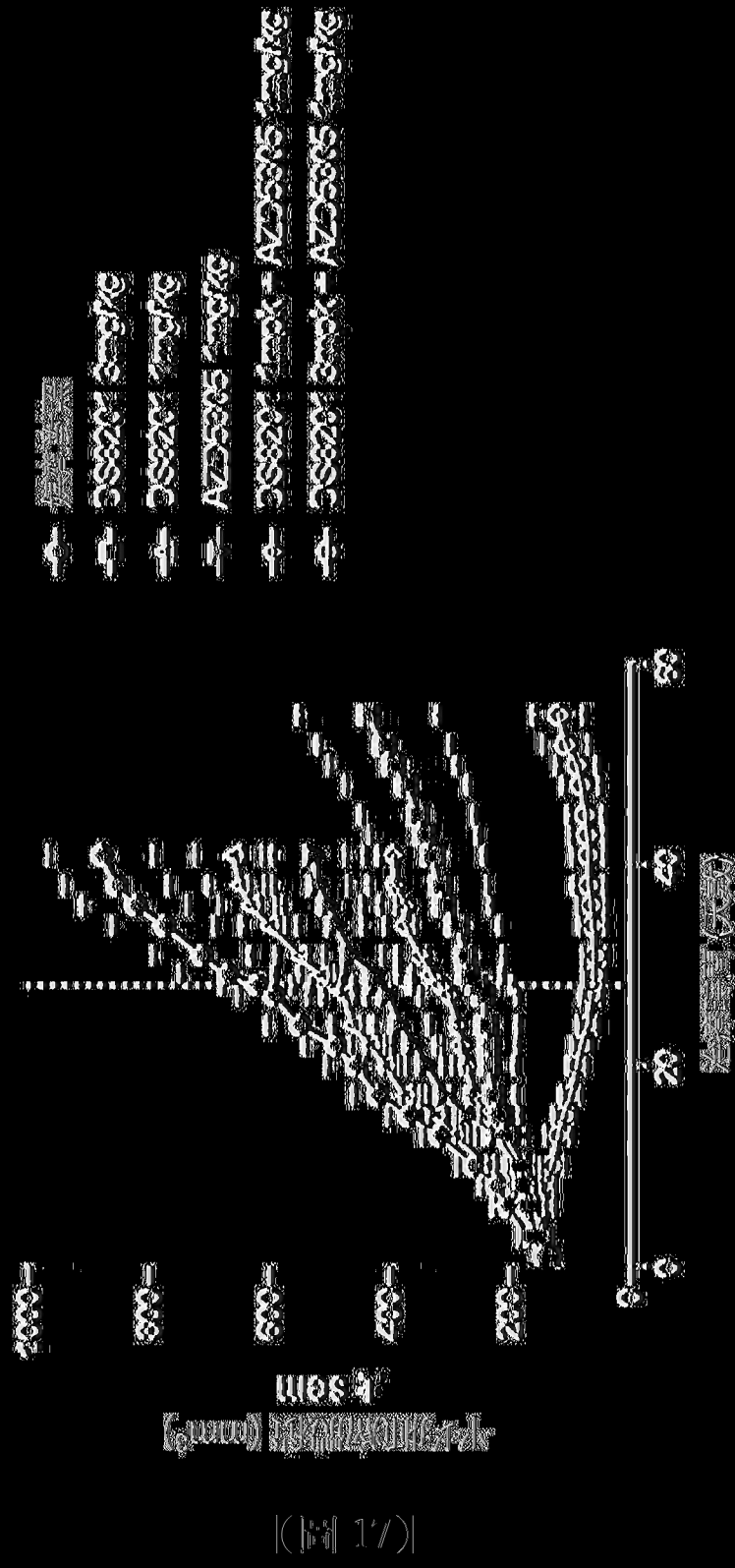
[(15.111) 15.111]



【圖 16A】



【圖 16B】



NO112170 (IIR2+2.5M)

8.833	2	163	173	176	183	181
1.26	4	162	163	181	179	182
0.417	6	167	172	177	173	186
0.126	2	169	163	180	173	187
0.042	5	169	167	175	173	183
0	1	87	89	92	114	150
0	0	0.697	0.697	0.697	0.697	0.697

DS8201 [μM]

NO111673 (IIR2+15.50K)

8.833	50	63	55	79	91	93
1.26	18	45	62	79	91	96
0.417	28	84	53	86	91	95
0.126	18	83	45	73	83	93
0.042	16	57	80	61	90	96
0	6	8	5	21	86	89
0	0	0.697	0.697	0.697	0.697	0.697

DS8201 [μM]

NO01171 (IIR2+15.140K)

8.833	2	31	41	67	93	115
1.26	4	22	39	65	93	121
0.417	4	22	40	69	91	125
0.126	4	23	40	61	93	133
0.042	6	24	24	61	93	123
0	0	0	2	21	58	85
0	0	0.697	0.697	0.697	0.697	0.697

DS8201 [μM]

Calut6 (IIR2+10.25.10K)

8.833	80	65	53	90	161	172
1.26	26	47	49	92	156	192
0.417	16	89	44	93	162	177
0.126	18	85	46	84	163	185
0.042	17	29	88	80	157	183
0	7	0	10	41	91	177
0	0	0.697	0.697	0.697	0.697	0.697

DS8201 [μM]

(IIR 18A)

NCU12170 (11 k2) 2.5M

AVDD = 1.8V

8.888	1	109	103	79	57	35
1.26	3	107	102	79	57	34
0.417	5	110	102	79	57	35
0.126	5	107	100	79	57	36
0.042	2	108	98	78	53	38
0		17	10	8	5	1
0						
0.63						
0.63						
0.63						
0.63						
0.63						

DS8201 (μM)

NCU12170 (11 k2) 50K

AVDD = 1.8V

8.888	2	17	15	27	28	4
1.26	14	18	25	46	41	3
0.417	3	10	30	53	43	4
0.126	5	10	29	52	43	4
0.042	11	16	27	45	46	3
0		2	5	3	0	2
0						
0.63						
0.63						
0.63						
0.63						
0.63						

DS8201 (μM)

NCU12170 (11 k2) 140K

AVDD = 1.8V

8.888	0	22	17	42	42	24
1.26	0	21	21	42	42	27
0.417	0	16	21	37	32	21
0.126	1	18	11	32	32	15
0.042	3	11	17	34	32	22
0		6	2	1	1	2
0						
0.63						
0.63						
0.63						
0.63						
0.63						

DS8201 (μM)

Calu6 (11 k2) 10K

AVDD = 1.8V

8.888	10	40	38	62	56	12
1.26	8	28	29	60	57	14
0.417	2	19	28	60	56	18
0.126	4	18	26	65	64	18
0.042	3	8	22	48	64	16
0		4	16	8	4	6
0						
0.63						
0.63						
0.63						
0.63						
0.63						

DS8201 (μM)

(11 18.3)

AVC5503-V

NO112170 (11 R2=2.5M)

8.888	1	109	103	79	57	85
1.26	8	107	102	79	57	84
0.417	4	110	102	79	57	85
0.126	4	107	100	79	57	86
0.042	2	106	93	76	51	84
0		17	10	8	5	1
0		0.01	0.02	0.07	0.20	0.60

DS8201 (μM)

AVC5503-V

NO111573 (11 R2=1.50K)

8.888	2	18	16	82	43	10
1.26	14	14	26	39	33	6
0.417	8	11	32	62	51	4
0.126	4	10	31	33	50	4
0.042	11	10	29	36	45	9
0		2	5	8	0	2
0		0.01	0.02	0.07	0.20	0.60

DS8201 (μM)

AVC5503-V

NO11171 (11 R2=1.70K)

8.888	6	27	37	42	49	26
1.26	2	21	24	45	49	27
0.417	6	16	21	37	39	28
0.126	1	16	18	32	39	28
0.042	3	16	17	34	34	24
0		4	2	2	3	2
0		0.01	0.02	0.07	0.20	0.60

DS8201 (μM)

AVC5503-V

Calu6 (11 R2=10K)

8.888	10	40	33	62	56	12
1.26	8	28	29	60	57	14
0.417	2	19	28	60	56	18
0.126	4	18	26	55	54	18
0.042	3	8	22	48	54	16
0		4	16	8	4	6
0		0.01	0.02	0.07	0.20	0.60

DS8201 (μM)

(11 18C)

