



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 115038699 B

(45) 授权公告日 2024.12.03

(21) 申请号 202180012034.0

(22) 申请日 2021.01.27

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 115038699 A

(43) 申请公布日 2022.09.09

(30) 优先权数据  
10-2020-0011222 2020.01.30 KR

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2022.07.29

(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/KR2021/001082 2021.01.27

(87) PCT国际申请的公布数据  
W02021/153984 KO 2021.08.05

(73) 专利权人 (株)爱恩德生物  
地址 韩国首尔

(72) 发明人 林东烈 金旻澈 A·莫特  
南都铉

(74) 专利代理机构 北京市中伦律师事务所  
11410  
专利代理师 杨黎峰 石宝忠

(51) Int.Cl.  
C07D 421/06 (2006.01)  
A61K 31/28 (2006.01)  
A61K 47/68 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01)  
A61P 9/10 (2006.01)

(56) 对比文件  
KR 20170041562 A, 2017.04.17  
审查员 唐建刚

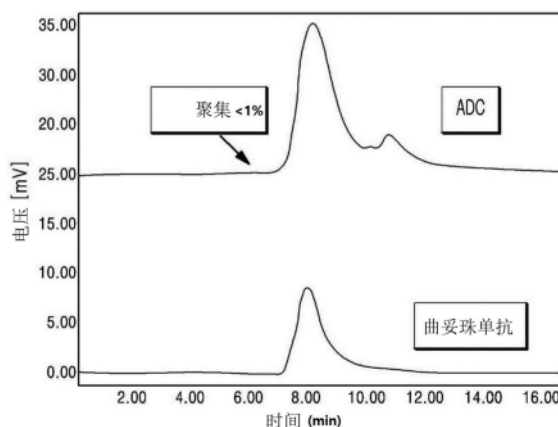
权利要求书6页 说明书28页 附图17页

(54) 发明名称

苯并硒吩系化合物、包含其的药物组合物及  
抗体-药物缀合物

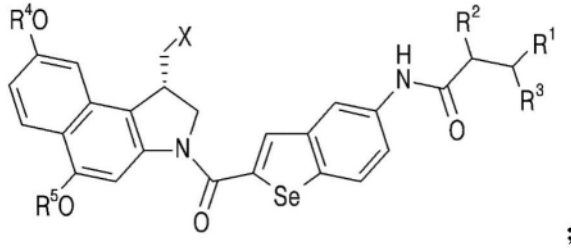
(57) 摘要

本公开涉及苯并硒吩系化合物、用于制备苯  
并硒吩系化合物的方法、包含苯并硒吩系化合物  
的药物组合物以及抗体-药物缀合物。



1. 一种苯并硒吩系化合物,由以下化学式1表示:

[化学式1]



在上述化学式1中,

$R^1$ 是取代或未取代的包含至少一个氮原子的 $C_{3-10}$ 杂环烷基、或取代或未取代的包含至少一个氮原子的 $C_{3-10}$ 杂芳基,

$R^2$ 和 $R^3$ 各自独立地是氢、氟、氯、溴、碘或取代或未取代的 $C_{1-5}$ 烷基,

$R^4$ 和 $R^5$ 各自独立地是氢、或取代或未取代的 $C_{1-5}$ 烷基,

所述 $C_{3-10}$ 杂环烷基和所述 $C_{3-10}$ 杂芳基还包含或不包含至少一个选自O和S的杂原子,并且

X是卤素,

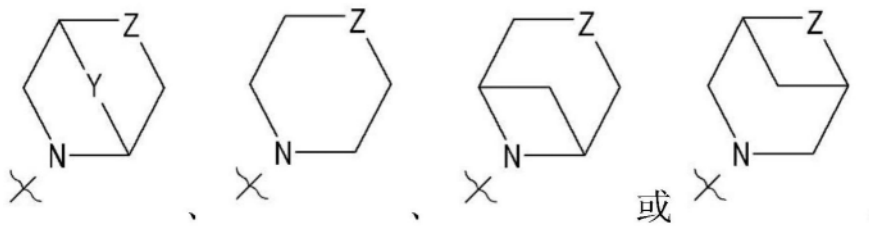
其中如果 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 和 $R^5$ 中的至少一者是被取代的,则 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 和 $R^5$ 中的所述至少一者的取代基是选自以下中的至少一种:氨基、 $C_{1-12}$ 烷基羰基氧基、羧基、羧酸酯基、氨基羰基、单 $C_{1-12}$ 烷基氨基羰基、二 $C_{1-12}$ 烷基氨基羰基、氰基、叠氮基、卤素基团、羟基、硝基、三氟甲基、硫醇基、 $C_{1-12}$ 烷基硫醇基、 $C_{1-12}$ 烷硫基羰基、硫代羧酸酯基、 $C_{1-12}$ 烷基、苄氧基、苄基、亚磺酰基、 $C_{1-12}$ 烷基亚磺酰基、磺酰基、硫酸酯基、磺酸酯基、磺酰胺基、磷酸酯基、膦酸酯基、亚膦酸酯基、氧代基、胍基、亚氨基和甲酰基。

2. 根据权利要求1所述的苯并硒吩系化合物,

其中 $R^4$ 和 $R^5$ 各自独立地是氢、甲基或乙基。

3. 根据权利要求1所述的苯并硒吩系化合物,

其中 $R^1$ 是吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、4-甲基哌嗪-1-基、吗啉代基、



Y是 $-CH_2-$ 或 $-C_2H_4-$ ,

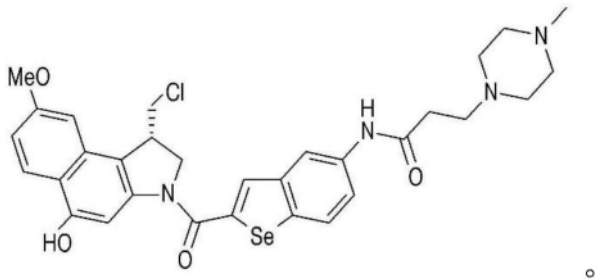
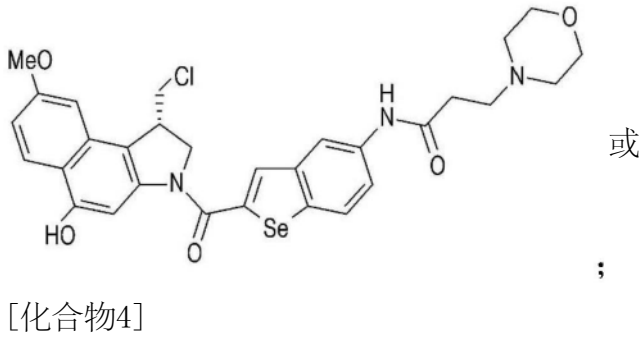
Z是 $-CHR-$ 、 $-NR-$ 、 $-O-$ 或 $-S-$ ,并且

R是氢或 $C_{1-3}$ 烷基。

4. 根据权利要求1所述的苯并硒吩系化合物,

其中所述苯并硒吩系化合物是化合物3或化合物4:

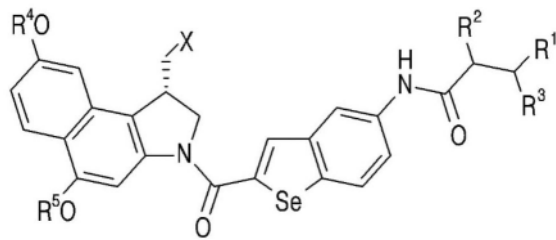
[化合物3]



5. 一种药物组合物, 包含由以下化学式1表示的苯并硒吩系化合物或其药学上可接受的盐,

所述药物组合物用于预防或治疗增殖性疾病:

[化学式1]



在上述化学式1中,

$R^1$ 是取代或未取代的包含至少一个氮原子的 $C_{3-10}$ 杂环烷基、或取代或未取代的包含至少一个氮原子的 $C_{3-10}$ 杂芳基,

$R^2$ 和 $R^3$ 各自独立地是氢、氟、氯、溴、碘或取代或未取代的 $C_{1-5}$ 烷基,

$R^4$ 和 $R^5$ 各自独立地是氢、或取代或未取代的 $C_{1-5}$ 烷基,

所述 $C_{3-10}$ 杂环烷基和所述 $C_{3-10}$ 杂芳基还包含或不包含至少一个选自O和S的杂原子, 并且

X是卤素,

其中如果 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 和 $R^5$ 中的至少一者是被取代的, 则 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 和 $R^5$ 中的所述至少一者的取代基是选自以下中的至少一种: 氨基、 $C_{1-12}$ 烷基羰基氧基、羧基、羧酸酯基、氨基羰基、单 $C_{1-12}$ 烷基氨基羰基、二 $C_{1-12}$ 烷基氨基羰基、氰基、叠氮基、卤素基团、羟基、硝基、三氟甲基、硫醇基、 $C_{1-12}$ 烷基硫醇基、 $C_{1-12}$ 烷基硫基羰基、硫代羧酸酯基、 $C_{1-12}$ 烷基、苄氧基、苄基、亚磺酰基、 $C_{1-12}$ 烷基亚磺酰基、磺酰基、硫酸酯基、磺酸酯基、磺酰胺基、磷酸酯基、膦酸酯基、亚膦酸酯基、氧代基、胍基、亚氨基和甲酰基。

6. 根据权利要求5所述的药物组合物,

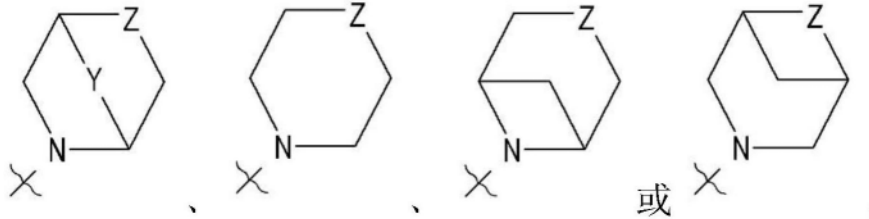
其中所述苯并硒吩系化合物或其药学上可接受的盐是前药。

7. 根据权利要求5所述的药物组合物，  
其中所述增殖性疾病是选自肿瘤、牛皮癣、骨病、成纤维细胞病症和动脉粥样硬化中的至少一种。

8. 根据权利要求7所述的药物组合物，  
其中所述肿瘤是癌症，所述癌症是实体瘤或恶性血液病。

9. 根据权利要求5所述的药物组合物，  
其中 $R^4$ 和 $R^5$ 各自独立地是氢、甲基或乙基。

10. 根据权利要求5所述的药物组合物，  
其中 $R^1$ 是吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、4-甲基哌嗪-1-基、吗啉代基、



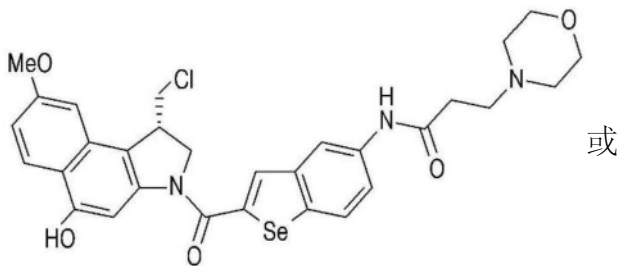
Y是 $-\text{CH}_2-$ 或 $-\text{C}_2\text{H}_4-$ ，

Z是 $-\text{CHR}-$ 、 $-\text{NR}-$ 、 $-\text{O}-$ 或 $-\text{S}-$ ，并且

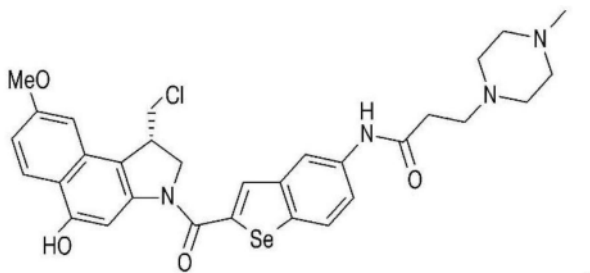
R是氢或 $\text{C}_{1-3}$ 烷基。

11. 根据权利要求5所述的药物组合物，  
其中所述苯并硒吩系化合物是化合物3或化合物4：

[化合物3]



[化合物4]



12. 根据权利要求7所述的药物组合物，  
其中所述肿瘤是癌症，所述癌症是选自以下中的至少一种：白血病、子宫癌、子宫肌瘤、脑膜瘤、肺癌、胃肠道恶性肿瘤、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、肝癌、肾癌、膀胱癌、胰腺癌、脑癌、肉瘤和黑色素瘤。

13. 根据权利要求7所述的药物组合物，  
其中所述肿瘤是癌症，所述癌症是选自以下中的至少一种：脑转移瘤、肠癌、小细胞肺

癌、非小细胞肺癌、成骨肉瘤和卡波西肉瘤。

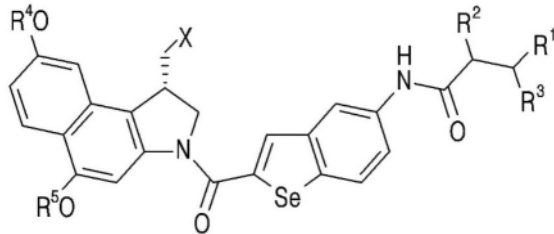
14. 一种抗体-药物缀合物或其药学上可接受的盐,包括:

抗体;

接头;和

由以下化学式1表示的苯并硒吩系化合物或其药学上可接受的盐:

[化学式1]



在上述化学式1中,

$R^1$ 是取代或未取代的包含至少一个氮原子的 $C_{3-10}$ 杂环烷基、或取代或未取代的包含至少一个氮原子的 $C_{3-10}$ 杂芳基,

$R^2$ 和 $R^3$ 各自独立地是氢、氟、氯、溴、碘或取代或未取代的 $C_{1-5}$ 烷基,

$R^4$ 和 $R^5$ 各自独立地是氢、或取代或未取代的 $C_{1-5}$ 烷基,

所述 $C_{3-10}$ 杂环烷基和所述 $C_{3-10}$ 杂芳基还包含或不包含至少一个选自O和S的杂原子,并且

X是卤素,

其中如果 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 和 $R^5$ 中的至少一者是被取代的,则 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 和 $R^5$ 中的所述至少一者的取代基是选自以下中的至少一种:氨基、 $C_{1-12}$ 烷基羰基氧基、羧基、羧酸酯基、氨基羰基、单 $C_{1-12}$ 烷基氨基羰基、二 $C_{1-12}$ 烷基氨基羰基、氰基、叠氮基、卤素基团、羟基、硝基、三氟甲基、硫醇基、 $C_{1-12}$ 烷基硫醇基、 $C_{1-12}$ 烷基硫基羰基、硫代羧酸酯基、 $C_{1-12}$ 烷基、苄氧基、苄基、亚磺酰基、 $C_{1-12}$ 烷基亚磺酰基、磺酰基、硫酸酯基、磺酸酯基、磺酰胺基、磷酸酯基、膦酸酯基、亚膦酸酯基、氧代基、胍基、亚氨基和甲酰基。

15. 根据权利要求14所述的抗体-药物缀合物或其药学上可接受的盐,

其中所述抗体-药物缀合物或其药学上可接受的盐是前药。

16. 根据权利要求14所述的抗体-药物缀合物或其药学上可接受的盐,

其中所述抗体包括对增殖性疾病具有免疫特异性的抗体、抗体变体或其抗原结合片段。

17. 根据权利要求16所述的抗体-药物缀合物或其药学上可接受的盐,

其中所述增殖性疾病是选自肿瘤、牛皮癣、骨病、成纤维细胞病症和动脉粥样硬化中的至少一种。

18. 根据权利要求17所述的抗体-药物缀合物或其药学上可接受的盐,

其中所述肿瘤是癌症,所述癌症是实体瘤或恶性血液病。

19. 根据权利要求14所述的抗体-药物缀合物或其药学上可接受的盐,

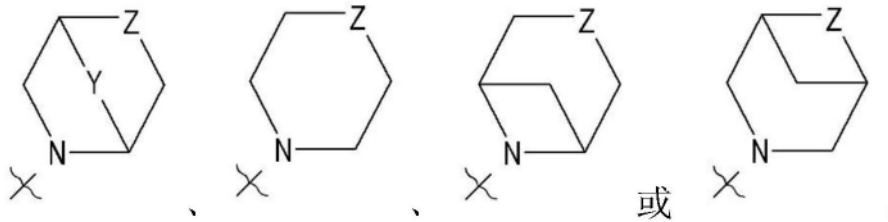
其中所述抗体选自:阿仑单抗、阿泊珠单抗、阿塞珠单抗、阿特殊单抗、巴匹组单抗、贝伐单抗、比伐珠单抗-美登木素生物碱、莫坎妥珠单抗、西利珠单抗、赛妥珠单抗、西妥昔单抗、西弗斯妥珠单抗、西妥珠单抗、达克珠单抗、依库珠单抗、依法珠单抗、依帕珠单抗、厄利

珠单抗、厄妥索单抗、泛维珠单抗、芳妥珠单抗、吉妥珠单抗、吉妥单抗、替伊莫单抗、奥英妥珠单抗、伊匹单抗、拉贝珠单抗、林妥珠单抗、马妥珠单抗、美泊利单抗、莫维组单抗、莫妥珠单抗、那他珠单抗、尼妥珠单抗、诺维珠单抗、努玛珠单抗、奥瑞组单抗、奥马珠单抗、帕利珠单抗、帕尼单抗、帕考珠单抗、培福妥珠单抗、培妥珠单抗、帕妥珠单抗、培克珠单抗、拉利珠单抗、兰尼单抗、瑞利珠单抗、瑞替珠单抗、雷西维珠单抗、利妥昔单抗、罗维珠单抗、卢利珠单抗、西罗珠单抗、西利珠单抗、索土珠单抗、替他珠单抗、他度珠单抗、他利珠单抗、替非组单抗、托珠单抗、托利珠单抗、托西莫单抗、曲妥珠单抗、西莫白介素单抗、妥库西珠单抗、乌玛珠单抗、乌珠单抗和维西珠单抗。

20. 根据权利要求14所述的抗体-药物缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述接头包括可切割接头或不可切割接头。

21. 根据权利要求14所述的抗体-药物缀合物或其药学上可接受的盐,其中 $R^4$ 和 $R^5$ 各自独立地是氢、甲基或乙基。

22. 根据权利要求14所述的抗体-药物缀合物或其药学上可接受的盐,其中 $R^1$ 是吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、4-甲基哌嗪-1-基、吗啉代基、



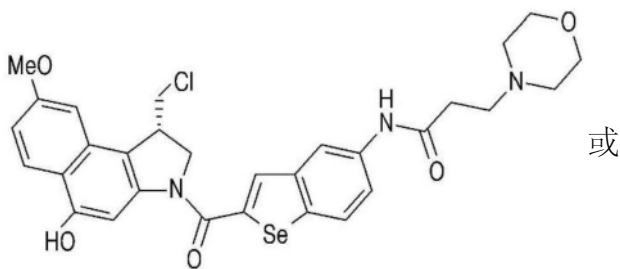
Y是 $-\text{CH}_2-$ 或 $-\text{C}_2\text{H}_4-$ ,

Z是 $-\text{CHR}-$ 、 $-\text{NR}-$ 、 $-\text{O}-$ 或 $-\text{S}-$ ,并且

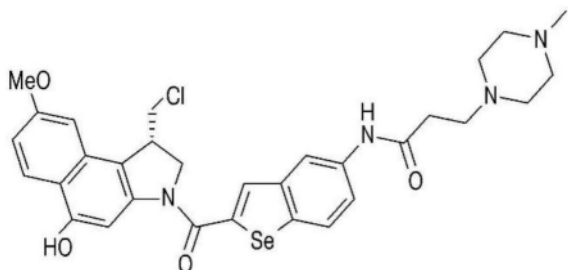
R是氢或 $\text{C}_{1-3}$ 烷基。

23. 根据权利要求14所述的抗体-药物缀合物或其药学上可接受的盐,其中所述苯并硒吩系化合物是化合物3或化合物4:

[化合物3]



[化合物4]



24. 根据权利要求17所述的抗体-药物缀合物或其药学上可接受的盐,

其中所述肿瘤是癌症,所述癌症是选自以下中的至少一种:白血病、子宫癌、子宫肌瘤、脑膜瘤、肺癌、胃肠道恶性肿瘤、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、肝癌、肾癌、膀胱癌、胰腺癌、脑癌、肉瘤和黑色素瘤。

25. 根据权利要求17所述的抗体-药物缀合物或其药学上可接受的盐,

其中所述肿瘤是癌症,所述癌症是选自以下中的至少一种:脑转移瘤、肠癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、成骨肉瘤和卡波西肉瘤。

## 苯并硒吩系化合物、包含其的药物组合物及抗体-药物缀合物

### 技术领域

[0001] 本公开涉及苯并硒吩系化合物、制备苯并硒吩系化合物的方法、以及包含苯并硒吩系化合物的药物组合物和抗体-药物缀合物。

### 背景技术

[0002] 多卡霉素已知为高效抗癌剂。然而,多卡霉素可能对正常细胞产生毒素,并在动物实验过程中杀死实验动物。因此,多卡霉素本身不能用于人类。在这方面,已经积极进行了用于通过肿瘤细胞特异性反应仅杀死肿瘤细胞并在血液中保持稳定性和高活性的研究。

[0003] 抗体疗法已用于靶向和治疗患有癌症、免疫学病症和血管生成病症的患者。当抗体-药物缀合物(ADC)(即免疫缀合物)用于局部递送会在癌症治疗过程中杀死或抑制肿瘤细胞的药物(例如细胞毒性药剂或细胞增殖抑制剂)时[参考文献:Payne,G.(2003)Cancer Cell 3:207-212;Trail等人(2003)Cancer Immunol.Immunother.52:328-337;Syrigos和Epenetos(1999)Anticancer Research 19:605-614;Niculescu-Duvaz和Springer(1997)Adv Drug Del.Rev.26:151-172;US 4975278],理论上可以将药物靶向递送至肿瘤细胞并允许药物在肿瘤细胞内积聚。

[0004] 然而,具有优异活性的常规衍生物在水溶性方面受到限制,因此当与靶特异性蛋白质例如抗体结合时可能聚集,这使得难以合成稳定的抗体-药物缀合物。

### 发明内容

[0005] 技术问题

[0006] 本公开构思用于提供苯并硒吩系化合物、制备苯并硒吩系化合物的方法、以及包含苯并硒吩系化合物的药物组合物和抗体-药物缀合物。

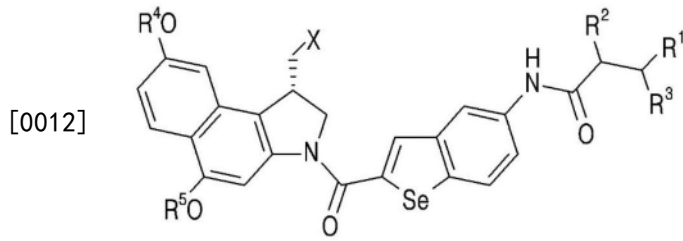
[0007] 具体地,本公开涉及通过将新型水溶性基团引入苯并硒吩中来制备水溶性和活性高度增加的新型苯并硒吩衍生物,以及苯并硒吩衍生物作为抗癌药物的用途。本公开的新型水溶性苯并硒吩衍生物可以用作抗体-药物缀合物并且可以用作前药。此外,水溶性苯并硒吩衍生物可以与诸如蛋白质、配体、纳米颗粒和适体的靶特异性物质融合,这使得其可以用作前药。

[0008] 然而,本公开要解决的问题不限于上述问题。虽然本文没有描述,但是本领域技术人员可以通过以下描述清楚地理解本发明要解决的其他问题。

[0009] 技术方案

[0010] 根据本公开的第一方面,提供了一种苯并硒吩系化合物,其由以下化学式I表示:

[0011] [化学式I]



[0013] 在上述化学式1中,

[0014]  $R^1$ 是取代或未取代的 $C_{3-10}$ 杂环烷基、取代或未取代的 $C_{5-10}$ 芳基、或取代或未取代的 $C_{3-10}$ 杂芳基,

[0015]  $R^2$ 和 $R^3$ 各自独立地是氢、氟、氯、溴、碘或取代或未取代的 $C_{1-5}$ 烷基,

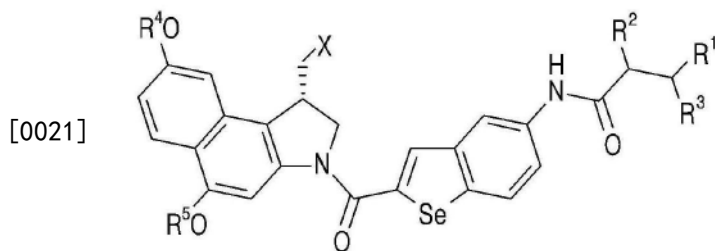
[0016]  $R^4$ 和 $R^5$ 各自独立地是氢、或取代或未取代的 $C_{1-5}$ 烷基,

[0017] 所述杂环烷基和所述杂芳基包含至少一个选自N、O和S的杂原子,并且

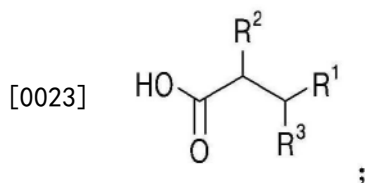
[0018] X是卤素。

[0019] 根据本公开的第二方面,提供了一种制备苯并硒吩系化合物的方法,包括:(a)使由以下化学式2表示的羧酸与由以下化学式3表示的胺反应制备中间产物;和(b)使中间产物与由以下化学式4表示的胺反应,得到由以下化学式1表示的苯并硒吩系化合物:

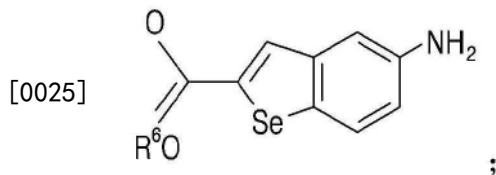
[0020] [化学式1]



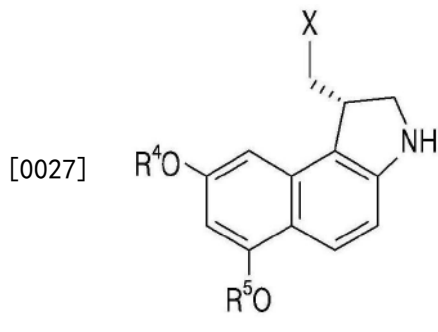
[0022] [化学式2]



[0024] [化学式3]



[0026] [化学式4]



[0028] 在上述化学式1、化学式2、化学式3和化学式4中，

[0029]  $R^1$ 是取代或未取代的 $C_{3-10}$ 杂环烷基、取代或未取代的 $C_{5-10}$ 芳基、或取代或未取代的 $C_{3-10}$ 杂芳基，

[0030]  $R^2$ 和 $R^3$ 各自独立地是氢、氟、氯、溴、碘或取代或未取代的 $C_{1-5}$ 烷基，

[0031]  $R^4$ 和 $R^5$ 各自独立地是氢、或取代或未取代的 $C_{1-5}$ 烷基，

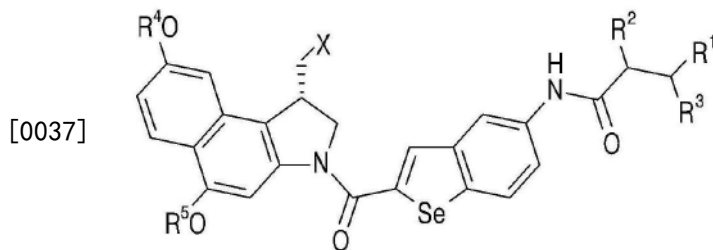
[0032]  $R^6$ 是取代或未取代的 $C_{1-5}$ 烷基，

[0033] 所述杂环烷基和所述杂芳基包含至少一个选自N、O和S的杂原子，并且

[0034] X是卤素。

[0035] 根据本发明的第三方面，提供了一种药物组合物，其包含由以下化学式1表示的苯并硒吩系化合物或其药学上可接受的盐，该药物组合物用于预防或治疗增殖性疾病：

[0036] [化学式1]



[0038] 在上述化学式1中，

[0039]  $R^1$ 是取代或未取代的 $C_{3-10}$ 杂环烷基、取代或未取代的 $C_{5-10}$ 芳基、或取代或未取代的 $C_{3-10}$ 杂芳基，

[0040]  $R^2$ 和 $R^3$ 各自独立地是氢、氟、氯、溴、碘或取代或未取代的 $C_{1-5}$ 烷基，

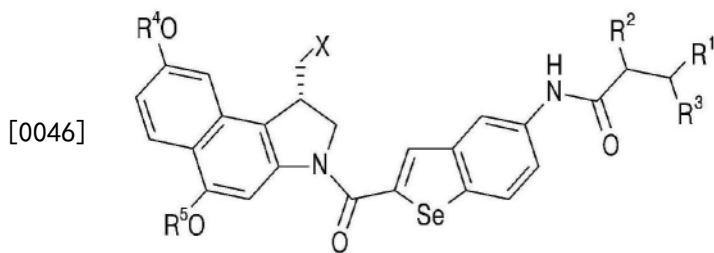
[0041]  $R^4$ 和 $R^5$ 各自独立地是氢、或取代或未取代的 $C_{1-5}$ 烷基，

[0042] 所述杂环烷基和所述杂芳基包含至少一个选自N、O和S的杂原子，并且

[0043] X是卤素。

[0044] 根据本公开的第四方面，提供了一种抗体-药物缀合物或其药学上可接受的盐，其包含抗体；接头；以及由以下化学式1表示的苯并硒吩系化合物或其药学上可接受的盐：

[0045] [化学式1]



[0047] 在上述化学式1中,

[0048]  $R^1$ 是取代或未取代的 $C_{3-10}$ 杂环烷基、取代或未取代的 $C_{5-10}$ 芳基、或取代或未取代的 $C_{3-10}$ 杂芳基,

[0049]  $R^2$ 和 $R^3$ 各自独立地是氢、氟、氯、溴、碘或取代或未取代的 $C_{1-5}$ 烷基,

[0050]  $R^4$ 和 $R^5$ 各自独立地是氢、或取代或未取代的 $C_{1-5}$ 烷基,

[0051] 所述杂环烷基和所述杂芳基包含至少一个选自N、O和S的杂原子,并且

[0052] X是卤素。

[0053] 根据本公开的第五方面,提供了一种抗癌组合物,该抗癌组合物包含根据第四方面的抗体-药物缀合物或其药学上可接受的盐。

[0054] 有益效果

[0055] 根据本公开的实施方案,通过引入新型水溶性基团,可以制备水溶性和活性大大增加的新型苯并硒吩衍生物,该苯并硒吩衍生物可以用作抗癌药物。本公开的新型水溶性苯并硒吩衍生物可以用作抗体-药物缀合物并且可以用作前药。此外,水溶性苯并硒吩衍生物可以与诸如蛋白质、配体、纳米颗粒和适体的靶特异性物质融合,这使得其可以用作前药。

[0056] 根据本发明的实施方案,苯并硒吩系化合物是对癌细胞具有高效抗癌作用的物质,其对癌细胞的 $IC_{50}$ 在nM或pM范围内,并可用于利用抗体-药物缀合物进行新药开发。

[0057] 根据本公开的实施方案的苯并硒吩系化合物、以及包含该苯并硒吩系化合物的药物组合物和抗体-药物缀合物对癌症具有显著的治疗效果,并且特别地对脑癌、脑转移瘤、非小细胞肺癌和黑色素瘤具有优异的抗癌和治疗效果。

[0058] 根据本公开的实施方案,可以合成包含水溶性和活性优异的苯并硒吩系化合物的DNA烷基化衍生物,并将该DNA烷基化衍生物作为抗癌药物或其前体应用。

[0059] 根据本公开的实施方案的苯并硒吩化合物衍生物可以与抗体-药物缀合物或蛋白质-缀合物结合而以靶定向方式作用于靶标,从而通过特异性治疗具有选择性作用。

[0060] 根据本公开的实施方案的苯并硒吩衍生物(前体、前药)、苯并硒吩衍生物-接头和苯并硒吩衍生物-接头-配体缀合物本身是稳定的,但可以用于靶向增殖性疾病例如癌症(特别地,脑癌、脑转移瘤、黑色素瘤、非小细胞肺癌)、特定治疗和/或最大化药效。因此,它们具有工业实用性。

## 附图说明

[0061] 图1示出了根据本公开的实施例制备的曲妥珠单抗-葡萄糖苷酸化合物3ADC的SEC分析结果。

[0062] 图2示出了根据本公开的实施例制备的曲妥珠单抗-葡萄糖苷酸化合物3ADC的HIC分

析结果。

[0063] 图3示出了根据本公开的实施例制备的曲妥珠单抗-葡萄糖苷酸化合物3ADC的PLRP分析结果。

[0064] 图4是示出了根据本公开的实施例制备的化合物3的体外细胞系活性的分析结果的表。

[0065] 图5示出了对根据本公开的实施例制备的化合物3 (DS-24) 的体内细胞系活性的分析的图。

[0066] 图6示出了根据本公开的实施例制备的化合物3与NCI细胞系中相应癌症类型的相关性的分析结果。

[0067] 图7a是示出了用ADC (DS-24) 处理的MCF-7和NCI-N87细胞的细胞活力的剂量-反应曲线的非线性回归分析的图线,图7b示出了作为其结果的 $IC_{50}$ 值的数据。

[0068] 图8a是用于证实ADC (DS-24) 抑制BT474肿瘤球体的作用的装置,图8b是示出了剂量-反应曲线的非线性回归分析的图线,图8c示出了作为其结果的 $IC_{50}$ 值的数据。

[0069] 图9a和图9b分别示出了关于ADC (DS-24) 在NCI-N87异种移植动物模型中的抗癌作用和施用ADC (DS-24) 的裸鼠体重变化的数据。

[0070] 图10a和图10b分别示出了根据通过在NCI-N87异种移植动物模型中对ADC (DS-24) 的全血细胞计数 (CBC) 试验进行的毒性分析,炎性细胞计数和贫血相关值。

[0071] 图11a、图11b和图11c示出了证实除了化合物3 (DS-24) 之外的七种类型的有效负载分别对胶质母细胞瘤细胞系U87MG、多发性骨髓瘤细胞系KMS11和膀胱癌细胞系RT112的细胞活力抑制作用的数据。

[0072] 图12a、图12b、图12c、图12d、图12e和图12f分别示出了证实除了化合物3 (DS-24) 之外的七种类型的有效负载对源自患有胶质母细胞瘤的患者的6种细胞的细胞活力抑制作用的数据。

[0073] 图13a和图13b是分别示出取决于DS-24和DS-26浓度的NCI-N87的细胞活力的图线。

[0074] 图14a和图14b是分别示出了取决于DS-24和DS-26浓度的SK-OV3的细胞活力的图线。

### 具体实施方式

[0075] 在下文中,将参考附图详细描述本公开的实施例,使得本领域的技术人员可以容易地实施本公开。然而,应当注意,本公开不限于这些实施例,而是可以各种其他方式实施。在附图中,为了解释的简单性,省略了与描述无关的部分,并且在整个文档中相同的附图标记表示相同的部分。

[0076] 在整个文件中,用于表明一个元件与另一个元件的连接或联接的术语“连接到”或“联接到”包括一个元件“直接连接或联接到”另一个元件的情况以及一个元件通过另一个元件“电子地连接或联接到”另一个元件的情况。

[0077] 在整个文件中,用于表明一个元件相对于另一个元件的位置的术语“在...上”包括一个元件与另一个元件相邻的情况以及这两个元件之间存在任何其他元件的情况。

[0078] 此外,在整个文件中,文件中使用的术语“包含或包括”和/或“包含有或包括有”意

指除了所描述的组成部分、步骤、操作和/或要素之外,不排除一个或多个其他组成部分、步骤、操作和/或要素的存在或添加,除非上下文另有说明。

[0079] 在整个文件中,术语“约或大约”或“基本上”旨在具有接近在允许误差下指定的数值或范围的含义,并旨在防止为理解本公开而公开的准确或绝对数值被任何不合情理的第三方非法或不公平地使用。

[0080] 在整个文件中,术语“…的步骤”并不意指“用于…的步骤”。

[0081] 在整个文件中,在马库什类型描述中包括的术语“组合”意指选自由以马库什类型描述的组成部分、步骤、操作和/或要素组成的组中的一个或多个组成部分、步骤、操作和/或要素的混合物或组合,因此意指本公开包括一个或多个选自马库什组的组成部分、步骤、操作和/或要素。

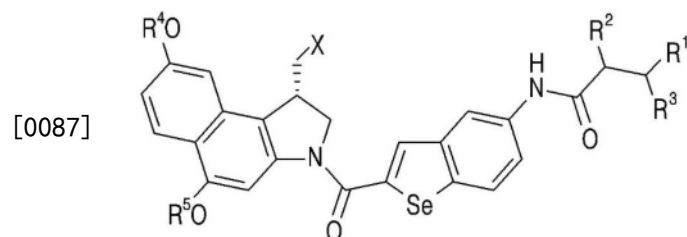
[0082] 在整个文件中,以“A和/或B”形式的短语意指“A或B,或A和B”。

[0083] 在整个文件中,术语“烷基”包括具有1至12个碳原子、1至10个碳原子、1至8个碳原子、1至5个碳原子或1至4个碳原子的直链或支链烷基,以及其所有可能的异构体。例如,烷基可以包括甲基(Me)、乙基(Et)、正丙基(<sup>n</sup>Pr)、异丙基(<sup>i</sup>Pr)、正丁基(<sup>n</sup>Bu)、叔丁基(<sup>t</sup>Bu)、异丁基(<sup>i</sup>Bu)、仲丁基(<sup>s</sup>Bu)、戊基、己基、异己基、庚基、4,4-二甲基戊基、辛基、2,2,4-三甲基戊基、壬基、癸基、十一烷基、十二烷基及其异构体,但可以不限于此。

[0084] 在以下描述中,将详细描述本公开的示例性实施方案,但本公开可以不限于此。

[0085] 根据本公开的第一方面,提供了一种苯并硒吩系化合物,其由以下化学式1表示:

[0086] [化学式1]



[0088] 在上述化学式1中,

[0089] R<sup>1</sup>是取代或未取代的C<sub>3-10</sub>杂环烷基、取代或未取代的C<sub>5-10</sub>芳基、或取代或未取代的C<sub>3-10</sub>杂芳基,

[0090] R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>各自独立地是氢、氟、氯、溴、碘或取代或未取代的C<sub>1-5</sub>烷基,

[0091] R<sup>4</sup>和R<sup>5</sup>各自独立地是氢、或取代或未取代的C<sub>1-5</sub>烷基,

[0092] 所述杂环烷基和所述杂芳基包含至少一个选自N、O和S的杂原子,并且

[0093] X是卤素。

[0094] 在本公开的一个实施方案中,如果官能团被取代,则取代基可以包括选自以下中的一个或多个成员:酰基、氨基(包括氨基、单烷基氨基和二烷基氨基、单芳基氨基和二芳基氨基以及烷基芳基氨基)、酰基氨基(包括氨基甲酰基和脲基)、烷基羰基氧基、芳基羰基氧基、烷氧基羰基氧基、烷氧基羰基、羧基、羧酸酯基、氨基羰基、单烷基氨基羰基和二烷基氨基羰基、氰基、叠氮基、卤素基团、羟基、硝基、三氟甲基、硫醇基、烷基硫醇基、芳基硫醇基、烷硫基羰基、硫代羧酸酯基、低级烷基、低级烯基、低级炔基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、低级烷氧基、芳氧基、芳氧基羰基氧基、苄氧基、苄基、亚磺酰基、烷基亚磺酰基、磺酰基、硫酸酯基、磺酸酯基、磺酰胺基(sulfonamide)、磷酸酯基、膦酸酯基、亚膦酸酯基、氧代基、

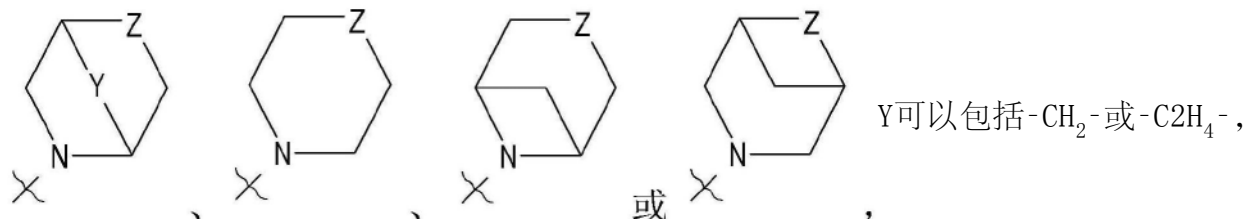
胍基、亚氨基和甲酰基,但可以不限于此。

[0095] 在本公开的一个实施方案中, $R^1$ 可以包括包含至少一个氮原子的 $C_{3-10}$ 杂环烷基或 $C_{3-10}$ 杂芳基,并且 $R^4$ 和 $R^5$ 可以各自独立地是氢、甲基或乙基,但可以不限于此。

[0096] 在本公开的一个实施方案中,X可以是F、Cl、Br或I,但可以不限于此。此外,在本公开的一个实施方案中,X可以是Cl。

[0097] 在本公开的一个实施方案中,本公开的苯并硒吩系化合物在 $-CHR^2CHR^1R^3$ 中包含两个 $sp^3$ 碳原子(其通过酰胺键连接到苯并硒吩主体)作为主要框架,因此,可以增加分子本身的柔性。此外,理想地, $R^1$ 可以包含有包含N、O或S的五边形或六边形环的各种衍生物。此外, $R^1$ 可以包含带有或不带有杂原子的双环,这可以促进在抗癌机制中的DNA小沟结合。

[0098] 在本公开的一个实施方案中, $R^1$ 可以包括吡咯烷基( $-NC_4H_8$ )、哌啶基( $-NC_5H_{10}$ )、哌嗪基( $-N_2C_4H_9$ )、4-甲基哌嗪-1-基( $-N_2C_5H_{11}$ )、吗啉代基( $-NOC_4H_8$ )、



Z可以包括 $-CHR-$ 、 $-NR-$ 、 $-O-$ 或 $-S-$ ,并且R可以包括氢或 $C_{1-3}$ 烷基,但可以不限于此。

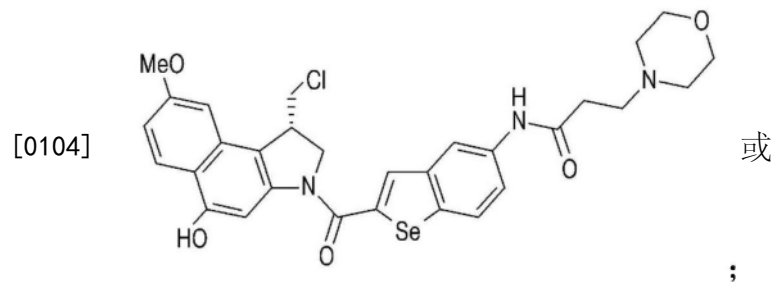
[0099] 在本公开的一个实施方案中, $R^1$ 可以是吡咯烷基( $-NC_4H_8$ )、哌啶基( $-NC_5H_{10}$ )、哌嗪基( $-N_2C_4H_9$ )、4-甲基哌嗪-1-基( $-N_2C_5H_{11}$ )或吗啉代基( $-NOC_4H_8$ )。

[0100] 在本公开的一个实施方案中, $R^2$ 和 $R^3$ 都可以是氢。

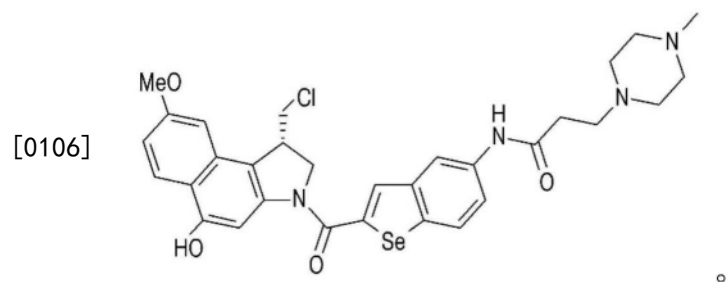
[0101] 在本公开的一个实施方案中, $R^5$ 和 $R^6$ 可以各自独立地是氢、甲基、乙基或丙基。

[0102] 在本公开的一个实施方案中,苯并硒吩系化合物可以包括以下:

[0103] [化合物3]



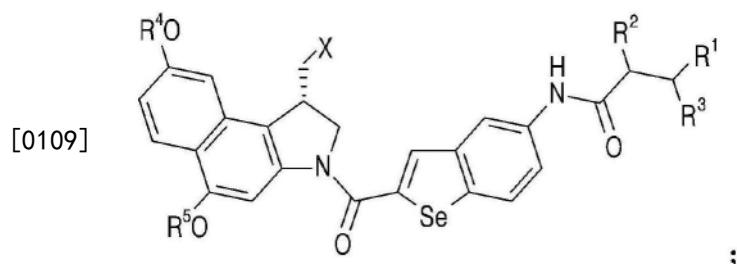
[0105] [化合物4]



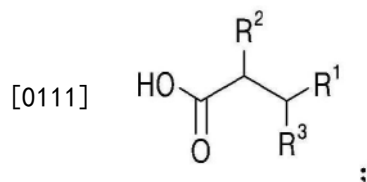
[0107] 根据本公开的第二方面,提供了一种制备苯并硒吩系化合物的方法,包括:(a)使由以下化学式2表示的羧酸与由以下化学式3表示的胺反应制备中间产物;(b)使中间产物

与由以下化学式4表示的胺反应,得到由以下化学式1表示的苯并硒吩类化合物:

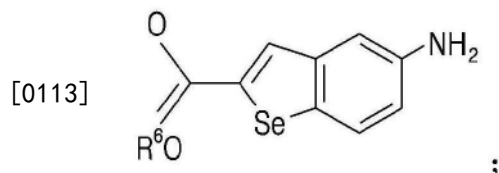
[0108] [化学式1]



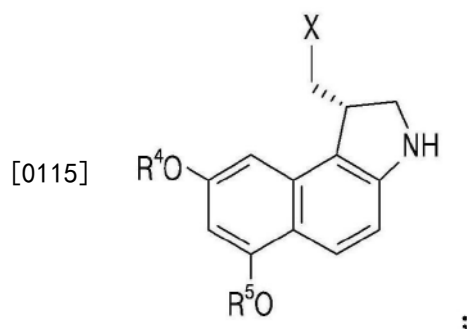
[0110] [化学式2]



[0112] [化学式3]



[0114] [化学式4]



[0116] 在上述化学式1、化学式2、化学式3和化学式4中,

[0117] R<sup>1</sup>是取代或未取代的C<sub>3-10</sub>杂环烷基、取代或未取代的C<sub>5-10</sub>芳基、或取代或未取代的C<sub>3-10</sub>杂芳基,

[0118] R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>各自独立地是氢、氟、氯、溴、碘或取代或未取代的C<sub>1-5</sub>烷基,

[0119] R<sup>4</sup>和R<sup>5</sup>各自独立地是氢、或取代或未取代的C<sub>1-5</sub>烷基,

[0120] R<sup>6</sup>是取代或未取代的C<sub>1-5</sub>烷基,

[0121] 所述杂环烷基和所述杂芳基包含至少一个选自N、O和S的杂原子,并且

[0122] X是卤素。

[0123] 在下文中省略了与关于本公开的第一方面的那些详细描述重叠的关于本公开的第二方面的详细描述,但是可以将本公开的第一方面的描述相同地应用于本公开的第二方面,尽管在下文中省略了它们。

[0124] 在本公开的一个实施方案中,如果官能团被取代,则取代基可以包括选自以下中的一个或多个成员:酰基、氨基(包括氨基、单烷基氨基和二烷基氨基、单芳基氨基和二芳基

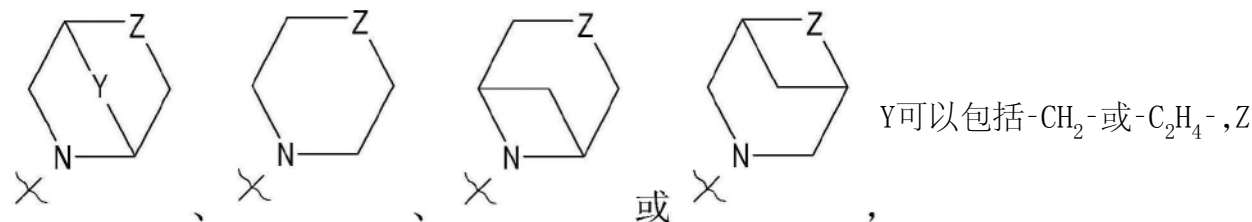
氨基以及烷基芳基氨基)、酰基氨基(包括氨基甲酰基和脲基)、烷基羰基氧基、芳基羰基氧基、烷氧基羰基氧基、烷氧基羰基、羧基、羧酸酯基、氨基羰基、单烷基氨基羰基和二烷基氨基羰基、氰基、叠氮基、卤素基团、羟基、硝基、三氟甲基、硫醇基、烷基硫醇基、芳基硫醇基、烷硫基羰基、硫代羧酸酯基、低级烷基、低级烯基、低级炔基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、低级烷氧基、芳氧基、芳氧基羰基氧基、苄氧基、苄基、亚磺酰基、烷基亚磺酰基、磺酰基、硫酸酯基、磺酸酯基、磺酰胺基、磷酸酯基、膦酸酯基、亚膦酸酯基、氧代基、胍基、亚氨基和甲酰基,但可以不限于此。

[0125] 在本公开的一个实施方案中, $R^1$ 可以包括包含至少一个氮原子的 $C_{3-10}$ 杂环烷基或 $C_{3-10}$ 杂芳基,并且 $R^4$ 和 $R^5$ 可以各自独立地是氢、甲基或乙基,但可以不限于此。

[0126] 在本公开的一个实施方案中,X可以是F、Cl、Br或I,但可以不限于此。此外,在本公开的一个实施方案中,X可以是Cl。

[0127] 在本公开的一个实施方案中,本公开的苯并哌啶系化合物在 $-CHR^2CHR^1R^3$ 中包含两个 $sp^3$ 碳原子(其通过酰胺键连接到苯并哌啶主体)作为主要框架,因此,可以增加分子本身的柔性。此外,理想地, $R^1$ 可以包含有包含N、O或S的五边形或六边形环的各种衍生物。此外, $R^1$ 可以包含带有或不带有杂原子的双环,这可以促进在抗癌机制中的DNA小沟结合。

[0128] 在本公开的一个实施方案中, $R^1$ 可以包括吡咯烷基( $-NC_4H_8$ )、哌啶基( $-NC_5H_{10}$ )、哌嗪基( $-N_2C_4H_9$ )、4-甲基哌嗪-1-基( $-N_2C_5H_{11}$ )、吗啉代基( $-NOC_4H_8$ )、



可以包括 $-CHR-$ 、 $-NR-$ 、 $-O-$ 或 $-S-$ ,并且R可以包括氢或 $C_{1-3}$ 烷基,但可以不限于此。

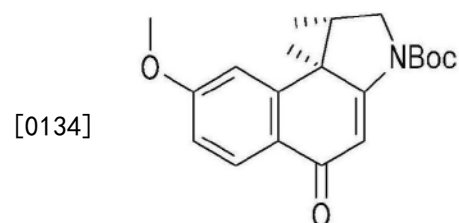
[0129] 在本公开的一个实施方案中, $R^1$ 可以是吡咯烷基( $-NC_4H_8$ )、哌啶基( $-NC_5H_{10}$ )、哌嗪基( $-N_2C_4H_9$ )、4-甲基哌嗪-1-基( $-N_2C_5H_{11}$ )或吗啉代基( $-NOC_4H_8$ )。

[0130] 在本公开的一个实施方案中, $R^2$ 和 $R^3$ 都可以是氢。

[0131] 在本公开的一个实施方案中, $R^5$ 和 $R^6$ 可以各自独立地是氢、甲基、乙基或丙基。

[0132] 在本公开的一个实施方案中,由(a)产生的中间产物可以是羧酸形式或羧酸盐形式,因为通过调节pH使 $R^6$ 被氢取代,但可以不限于此。

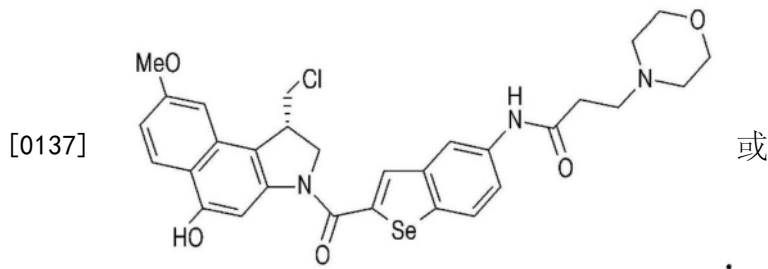
[0133] 在本公开的一个实施方案中,由上述化学式4表示的胺化合物可以通过对如下所示的常规已知的seco-MCBI进行酸处理而获得,但可以不限于此:



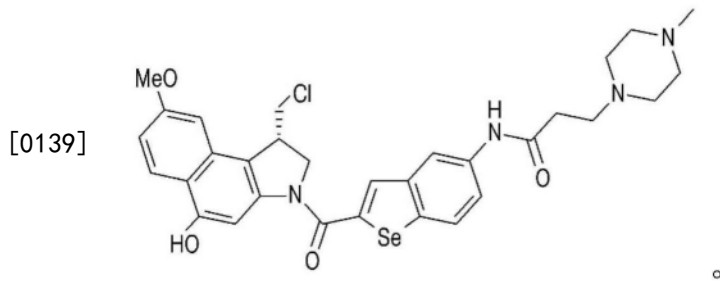
[0134]

[0135] 在本公开的一个实施方案中,苯并哌啶系化合物可以包括以下:

[0136] [化合物3]

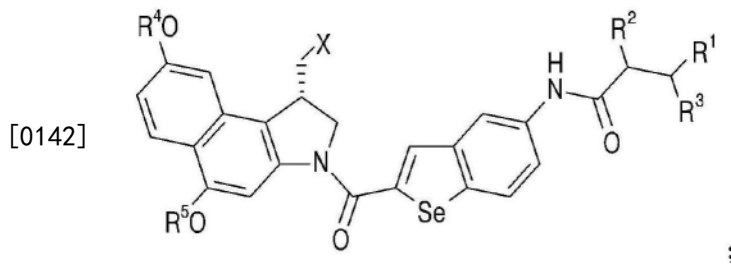


[0138] [化合物4]



[0140] 根据本发明的第三方面,提供了一种药物组合物,其包含由以下化学式1表示的苯并硒吩系化合物或其药学上可接受的盐,该药物组合物用于预防或治疗增殖性疾病疾病:

[0141] [化学式1]



[0143] 上述化学式1中,

[0144] R<sup>1</sup>是取代或未取代的C<sub>3-10</sub>杂环烷基、取代或未取代的C<sub>5-10</sub>芳基、或取代或未取代的C<sub>3-10</sub>杂芳基,

[0145] R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>各自独立地是氢、氟、氯、溴、碘或取代或未取代的C<sub>1-5</sub>烷基,

[0146] R<sup>4</sup>和R<sup>5</sup>各自独立地是氢、或取代或未取代的C<sub>1-5</sub>烷基,

[0147] 所述杂环烷基和所述杂芳基包含至少一个选自N、O和S的杂原子,并且

[0148] X是卤素。

[0149] 在下文中省略了与关于本公开的第一方面和第二方面的那些详细描述重叠的关于本公开的第三方面的详细描述,但是可以将本公开的第一方面和第二方面的描述相同地应用于本公开的第三方面,尽管在下文中省略了它们。

[0150] 在本公开的一个实施方案中,苯并硒吩系化合物或其药学上可接受的盐可以是前药,但可以不限于此。

[0151] 在本公开的一个实施方案中,苯并硒吩系化合物或其药学上可接受的盐在存在于溶剂中或施用到体内时可以呈活性形式,但可以不限于此。

[0152] 在本公开的一个实施方案中,增殖性疾病可以包括选自赘生物、肿瘤、癌症、白血病、牛皮癣、骨病、成纤维细胞病症和动脉粥样硬化中的至少一种,但可以不限于此。

[0153] 在本公开的一个实施方案中,癌症可以包括选自以下中的至少一种:实体瘤、恶性

血液病、结直肠癌、子宫癌、子宫肌瘤、脑膜瘤、肺癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、胃肠道恶性肿瘤、结直肠癌、肠癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、肝癌、肾癌、膀胱癌、胰腺癌、脑癌、脑转移瘤、肉瘤、成骨肉瘤、卡波西肉瘤和黑色素瘤,但可以不限于此。根据本公开的一个实施方案的药物组合物可以作为预防或治疗的靶标应用于各种疾病,不限于癌症类型。

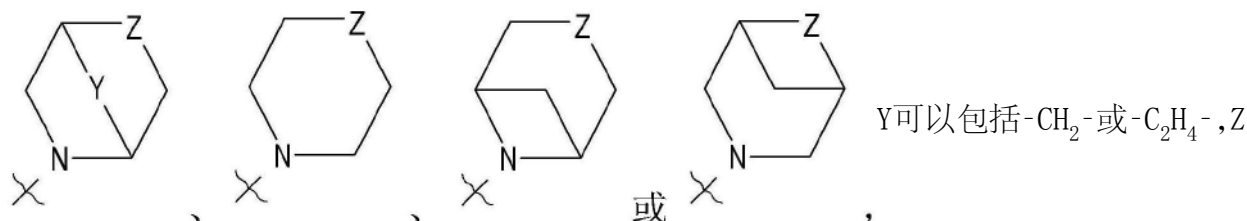
[0154] 在本公开的一个实施方案中,如果官能团被取代,则取代基可以包括选自以下中的一个或多个成员:酰基、氨基(包括氨基、单烷基氨基和二烷基氨基、单芳基氨基和二芳基氨基以及烷基芳基氨基)、酰基氨基(包括氨基甲酰基和脲基)、烷基羰基氧基、芳基羰基氧基、烷氧基羰基氧基、烷氧基羰基、羧基、羧酸酯基、氨基羰基、单烷基氨基羰基和二烷基氨基羰基、氰基、叠氮基、卤素基团、羟基、硝基、三氟甲基、硫醇基、烷基硫醇基、芳基硫醇基、烷硫基羰基、硫代羧酸酯基、低级烷基、低级烯基、低级炔基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、低级烷氧基、芳氧基、芳氧基羰基氧基、苄氧基、苄基、亚磺酰基、烷基亚磺酰基、磺酰基、硫酸酯基、磺酸酯基、磺酰胺基、磷酸酯基、膦酸酯基、亚膦酸酯基、氧代基、胍基、亚氨基和甲酰基,但可以不限于此。

[0155] 在本公开的一个实施方案中, $R^1$ 可以包括包含至少一个氮原子的 $C_{3-10}$ 杂环烷基或 $C_{3-10}$ 杂芳基,并且 $R^4$ 和 $R^5$ 可以各自独立地是氢、甲基或乙基,但可以不限于此。

[0156] 在本公开的一个实施方案中,X可以是F、Cl、Br或I,但可以不限于此。此外,在本公开的一个实施方案中,X可以是Cl。

[0157] 在本公开的一个实施方案中,本公开的苯并哌啶系化合物在 $-CHR^2CHR^1R^3$ 中包含两个 $sp^3$ 碳原子(其通过酰胺键连接到苯并哌啶主体)作为主要框架,因此,可以增加分子本身的柔性。此外,理想地, $R^1$ 可以包含有包含N、O或S的五边形或六边形环的各种衍生物。此外, $R^1$ 可以包含带有或不带有杂原子的双环,这可以促进在抗癌机制中的DNA小沟结合。

[0158] 在本公开的一个实施方案中, $R^1$ 可以包括吡咯烷基( $-NC_4H_8$ )、哌啶基( $-NC_5H_{10}$ )、哌嗪基( $-N_2C_4H_9$ )、4-甲基哌嗪-1-基( $-N_2C_5H_{11}$ )、吗啉代基( $-NOC_4H_8$ )、



可以包括 $-CHR-$ 、 $-NR-$ 、 $-O-$ 或 $-S-$ ,并且R可以包括氢或 $C_{1-3}$ 烷基,但可以不限于此。

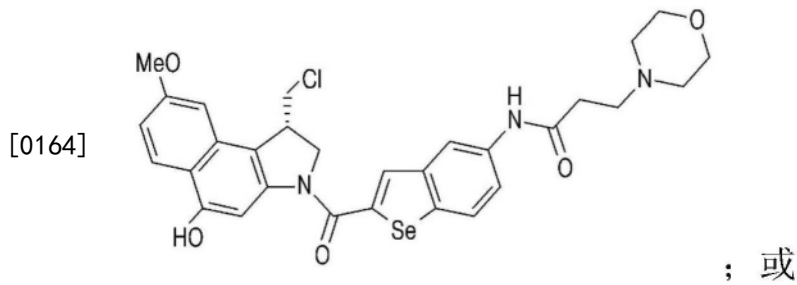
[0159] 在本公开的一个实施方案中, $R^1$ 可以是吡咯烷基( $-NC_4H_8$ )、哌啶基( $-NC_5H_{10}$ )、哌嗪基( $-N_2C_4H_9$ )、4-甲基哌嗪-1-基( $-N_2C_5H_{11}$ )或吗啉代基( $-NOC_4H_8$ )。

[0160] 在本公开的一个实施方案中, $R^2$ 和 $R^3$ 都可以是氢。

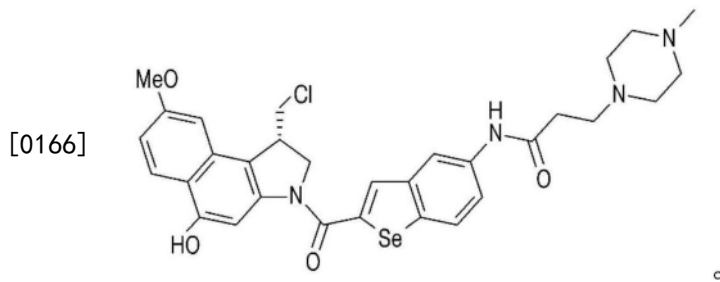
[0161] 在本公开的一个实施方案中, $R^5$ 和 $R^6$ 可以各自独立地是氢、甲基、乙基或丙基。

[0162] 在本公开的一个实施方案中,苯并哌啶系化合物可以包括以下:

[0163] [化合物3]

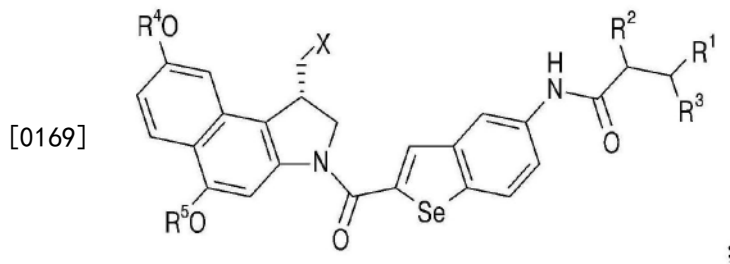


[0165] [化合物4]



[0167] 根据本发明的第四方面,提供了一种抗体-药物缀合物或其药学上可接受的盐,其包括抗体、接头以及由以下化学式1表示的苯并硒吩系化合物或其药学上可接受的盐:

[0168] [化学式1]



[0170] 上述化学式1中,

[0171] R<sup>1</sup>是取代或未取代的C<sub>3-10</sub>杂环烷基、取代或未取代的C<sub>5-10</sub>芳基、或取代或未取代的C<sub>3-10</sub>杂芳基,

[0172] R<sup>2</sup>和R<sup>3</sup>各自独立地是氢、氟、氯、溴、碘或取代或未取代的C<sub>1-5</sub>烷基,

[0173] R<sup>4</sup>和R<sup>5</sup>各自独立地是氢、或取代或未取代的C<sub>1-5</sub>烷基,

[0174] 所述杂环烷基和所述杂芳基包含至少一个选自N、O和S的杂原子,并且

[0175] X是卤素。

[0176] 在下文中省略了与关于本公开的第一方面至第三方面的那些详细描述重叠的关于本公开的第四方面的详细描述,但是可以将本公开的第一方面至第三方面的描述相同地应用于本公开的第四方面,尽管在下文中省略了它们。

[0177] 在本公开的一个实施方案中,抗体-药物缀合物或其药学上可接受的盐可以是前药,但可以不限于此。

[0178] 在本公开的一个实施方案中,抗体-药物缀合物或其药学上可接受的盐在存在于溶剂中或施用到体内时可以呈活性形式,但可以不限于此。

[0179] 在本公开的一个实施方案中,抗体可以包括对增殖性疾病免疫特异性的抗体、抗体变体或其抗原结合片段,但可以不限于此。这里,术语“抗体”可以包括多克隆抗体和单克隆抗体,理想地,它可以是单克隆抗体并且可以具有完整的抗体形式。整个抗体具有两条全

长轻链和两条全长重链并包括不变结构域,每条轻链通过二硫键与一条重链连接。此外,在本公开的一个实施方案中,抗体可以包括单克隆抗体、多特异性抗体、人抗体、人源化抗体、嵌合抗体、短链Fvs(scFV)、短链抗体、Fab片段、F(ab')片段、二硫键结合FV(dsFV)和抗独特型(anti-Id)抗体或其表位结合片段等,但可以不限于此。根据本公开的实施方案的完整的抗c-Met抗体包括IgA、IgD、IgE、IgM和IgG,并且IgG包括作为其亚型的IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。此外,术语“抗体变体”包括双抗体,并且双抗体是指包含针对分别识别不同抗原的抗体或抗体结合片段的单一物质的抗体,并且可以包括对癌症相关抗原或免疫检查点蛋白质抗原具有特异性或特异性结合免疫效应细胞相关抗原的抗体或其抗原结合片段,但可以不限于有限的抗体框架。此外,术语“抗原结合片段”是指具有特异性结合抗原的能力的片段,并且可以包括Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、scFv(scFv)<sub>2</sub>、scFv-Fc和Fv。

[0180] 在本公开的一个实施方案中,增殖性疾病可以包括选自赘生物、肿瘤、癌症、白血病、牛皮癣、骨病、成纤维细胞病症和动脉粥样硬化中的至少一种,但可以不限于此。

[0181] 在本公开的一个实施方案中,癌症可以包括选自以下中的至少一种:实体瘤、恶性血液病、结直肠癌、子宫癌、子宫肌瘤、脑膜瘤、肺癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、胃肠道恶性肿瘤、结直肠癌、肠癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、肝癌、肾癌、膀胱癌、胰腺癌、脑癌、脑转移瘤、肉瘤、成骨肉瘤、卡波西肉瘤和黑色素瘤,但可以不限于此。根据本公开的一个实施方案的药物组合物可以作为预防或治疗的靶标应用于各种疾病,不限于癌症的类型。

[0182] 在本公开的一个实施方案中,抗体可以结合至少一种选自以下的肿瘤相关抗原或细胞表面受体,但可以不限于此。此外,该抗体可以结合常规已知的以下各种抗原,但可以不限于此:

[0183] (1) BMPR1B(骨形态发生蛋白受体-1B型); (2) E16(LAT1、SLC7A5);

[0184] (3) STEAP1(前列腺六段跨膜上皮抗原); (4) 0772P(CA125、MUC16); (5) MPF(MPF、MSLN、SMR、巨核细胞增强因子、间皮素); (6) Napi3b[NAPI-3B、NPTIIb、SLC34A2、溶质载体家族34(磷酸钠)、成员2、II型钠依赖性磷酸盐转运蛋白(3b)]; (7) Sema 5b(FLJ10372、KIAA1445、Mm.42015、SEMA5B、SEMAG、臂板蛋白5b H log、sema结构域、7个血小板反应蛋白重复序列(1型和1型样)、跨膜结构域(TM)和短胞质结构域、(臂板蛋白)5B); (8) PSCA h1g(2700050C12Rik、C530008016Rik、RIKEN cDNA2700050C12、RIKEN cDNA 2700050C12基因); (9) ETBR(内皮素B型受体); (10) MSG783(RNF24、假设蛋白FLJ20315); (11) STEAP2[HGNC\_8639、IPCA-1、PCANAP1、STAMP1、STEAP2、STMP、前列腺癌相关基因1、前列腺癌相关蛋白1、前列腺六段跨膜上皮抗原2、前列腺六段跨膜蛋白]; (12) TrpM4[BR22450、FLJ20041、TRPM4、TRPM4B、瞬时受体电位阳离子通道、亚家族M、成员4]; (13) CRIPTO[CR、CR1、CRGF、CRIPTO、TDGF1、畸胎瘤衍生的生长因子]; (14) CD21(CR2(补体受体2)或C3DR(C3d/Epstein Barr病毒受体)或Hs 73792); (15) CD79b(CD79B、CD79P、IgB(免疫球蛋白相关β)、B29); (16) FcRH2(IFGP4、IRTA4、SPAP1A(含有磷酸酶锚蛋白1a的SH-12结构域)、SPAP1B、SPAP1C); (17) HER2; (18) NCA; (19) MDP; (20) IL20Rα; (21) 短小蛋白聚糖(Brevican); (22) EphB2R; (23) ASLG659; (24) PSCA; (25) GEDA; (26) BAFF-R(B细胞活化因子受体、BLyS受体3、BR3); (27) CD22(B细胞受体CD22-B同种型); (28) CD79a(CD79A、CD79α、免疫球蛋白相关α); (29) CXCR5(伯基特淋巴瘤受体1); (30) HLA-DOB(MHC II类分子的β亚基(Ia抗原)); (31) P2X5(嘌呤能受体P2X配体

门控离子通道5) ; (32) CD72 (B细胞分化抗原CD72、Lyb-2) ; (33) LY64 [淋巴细胞抗原64 (RP105), 富含亮氨酸的重复序列 (LRR) 家族的I型膜蛋白] ; (34) FcRH1 (Fc受体样蛋白1) ; (35) IRTA2 (免疫球蛋白超家族受体易位相关2) ; (36) TENB2 (推定的跨膜蛋白聚糖) ; (37) 作为免疫效应细胞相关抗原的其他选择HGF、EGFR、EGFRvIII、Her2、Her3、IGF-1R、VEGF、VEGFR-1、VEGFR-2、VEGFR-3、Ang2、D114、NRP1、FGFR、FGFR2、FGFR3、c-Kit、MUC1、MUC16、CD20、CD22、CD27、CD30、CD33、CD40、CD52、CD70、CD79、DDL3、Folate R1、Nectin 4、Trop2、gpNMB、Ax1、BCMA、PD-1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、BTLA、4-1BB、ICOS、GITR、OX40、VISTA、TIM-3、LAG-3、KIR、B7.1、B7.2、B7-H2、B7-H3、B7-H4、B7-H6、B7-H7、EphA2、EphA4、EphB2、E-选择素、EpCam、CEA、PSMA、PSA、c-MET等;和(38) TCR/CD3、CD16 (Fc  $\gamma$  RIIIa) CD44、CD56、CD69、CD64 (Fc  $\gamma$  RI)、CD89、CD11b/CD18 (CR3)。

[0185] 在本公开的一个实施方案中,抗体可以包括没有限制的任何抗体,只要它可以用于预防和治疗增殖性疾病,特别是治疗癌症,并且可以包括选自例如阿仑单抗 (alemtuzumab)、阿泊珠单抗 (apolizumab)、阿塞珠单抗 (aselizumab)、阿特殊单抗 (atlizumab)、巴匹组单抗 (bapineuzumab)、贝伐单抗 (bevacizumab)、比伐珠单抗-美登木素生物碱 (bivatuzumab mertansine)、莫坎妥珠单抗 (cantuzumab mertansine)、西利珠单抗 (cedelizumab)、赛妥珠单抗 (certolizumab pegol)、西妥昔单抗 (cetuximab)、西弗斯妥珠单抗 (cidfusituzumab)、西妥珠单抗 (cidtuzumab)、达克珠单抗 (daclizumab)、依库珠单抗 (eculizumab)、依法珠单抗 (efalizumab)、依帕珠单抗 (epratuzumab)、厄利珠单抗 (erlizumab)、厄妥索单抗 (ertumaxomab)、泛维珠单抗 (felvizumab)、芳妥珠单抗 (fontolizumab)、吉妥珠单抗 (gemtuzumab)、吉妥单抗 (gemtuzumab ozogamicin)、替伊莫单抗 (ibritumomab tiuxetan)、奥英妥珠单抗 (inotuzumab ozogamicin)、伊匹单抗 (ipilimumab)、拉贝珠单抗 (labetuzumab)、林妥珠单抗 (lintuzumab)、马妥珠单抗 (matuzumab)、美泊利单抗 (mepolizumab)、莫维组单抗 (motavizumab)、莫妥珠单抗 (motovizumab)、那他珠单抗 (natalizumab)、尼妥珠单抗 (nimotuzumab)、诺维珠单抗 (nolovizumab)、努玛珠单抗 (numavizumab)、奥瑞组单抗 (ocrelizumab)、奥马珠单抗 (omalizumab)、帕利珠单抗 (palivizumab)、帕尼单抗 (panitumumab)、帕考珠单抗 (pascolizumab)、培福妥珠单抗 (pecfusituzumab)、培妥珠单抗 (pectuzumab)、帕妥珠单抗 (pertuzumab)、培克珠单抗 (pexelizumab)、拉利珠单抗 (ralivizumab)、兰尼单抗 (ranibizumab)、瑞利珠单抗 (reslivizumab)、瑞替珠单抗 (reslizumab)、雷西维珠单抗 (resyvizumab)、利妥昔单抗 (rituximab)、罗维珠单抗 (rovelizumab)、卢利珠单抗 (ruplizumab)、西罗珠单抗 (sibrotuzumab)、西利珠单抗 (siplizumab)、索土珠单抗 (sontuzumab)、替他珠单抗 (tacatuzumab tetraxetan)、他度珠单抗 (tadocizumab)、他利珠单抗 (talizumab)、替非组单抗 (tefibazumab)、托珠单抗 (tocilizumab)、托利珠单抗 (toralizumab)、托西莫单抗 (tositumomab)、曲妥珠单抗 (trastuzumab)、西莫白介素单抗 (tucotuzumab celmoleukin)、妥库西珠单抗 (tucusituzumab)、乌玛珠单抗 (umavizumab)、乌珠单抗 (urtoxazumab) 和维西珠单抗 (visilizumab) 的成员,但可以不限于此。

[0186] 在本公开的一个实施方案中,本领域中使用的并且可用于抗体-药物缀合物的接头可以不受限制地使用。在本文中,接头是将抗体和药物附接的化学连接物,其当在体内循环或分布时保持稳定,但只有在其穿透进入肿瘤并进入细胞时才被选择性切割以释放结合

的药物。通常,接头由附接物、间隔物和释放物组成,并且可以通过修饰和/或改善市售接头的附接物、间隔物和释放物中的至少一个组分来开发新的接头。在本公开的一个实施方案中,不仅可以使本领域常用的接头,还可以使用新开发的接头,不限于所述接头。

[0187] 在本公开的一个实施方案中,接头可以通过化学缀合或酶促缀合与药物缀合,但可以不限于此。具体地,化学缀合可以包括赖氨酸酰胺偶联、半胱氨酸偶联或通过基因工程进行非天然氨基酸引入,但可以不限于此。此外,具体地,酶促缀合可以包括使用分选酶的转肽作用、使用微生物转谷氨酰胺酶的转肽作用或正聚糖工程,但可以不限于此。

[0188] 在本公开的一个实施方案中,接头可以包括至少一个可切割的接头,其可以被另外切割;或至少一个不可切割的接头,但可以不限于此。在本公开的一个实施方案中,接头可以包括可切割接头,例如二硫化物接头(其是可还原接头)、酶促可切割接头、脘接头(其是化学不稳定接头)、蛋白酶不稳定接头或糖苷酶敏感性接头;或不可切割的接头,例如不可切割的双功能接头或不可切割的间隔子接头,但可以不限于此。

[0189] 在本公开的一个实施方案中,接头还可以包括至少一种可切割的接头,其可以被另外切割;或至少一种不可切割的接头,其优选地选自下组:肼接头、硫脲接头、自牺牲接头、琥珀酰亚胺基反式-4-(马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-羧酸酯(SMCC)接头、二硫化物接头、硒醚接头、酰胺接头、硫醚接头和/或马来酰亚胺接头。

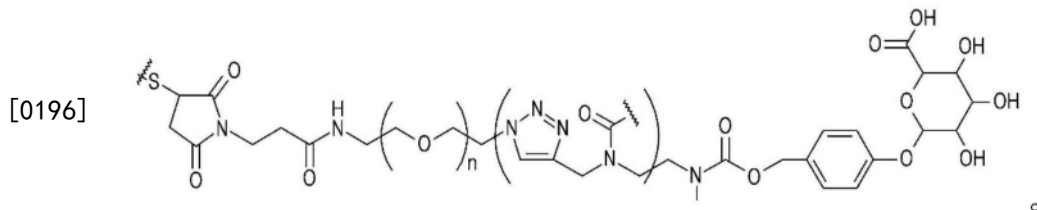
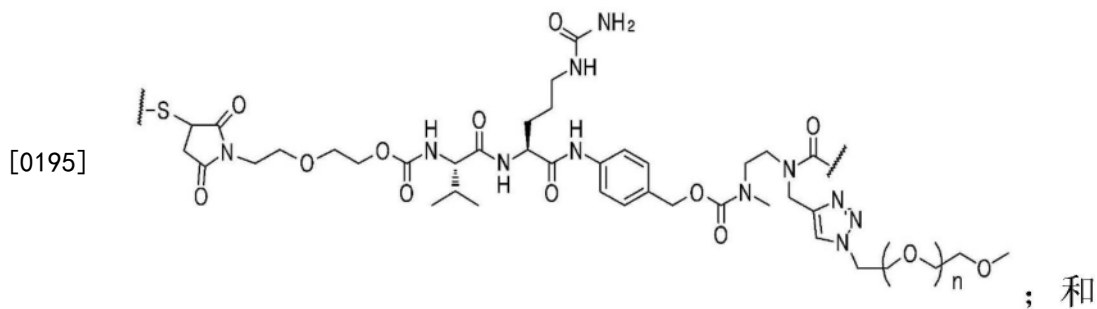
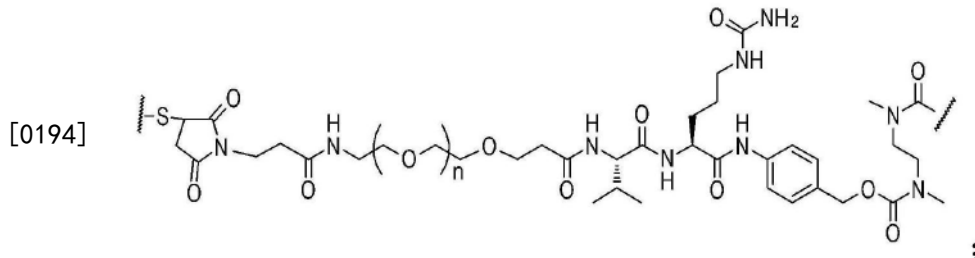
[0190] 在本公开的一个实施方案中,本领域普通技术人员会理解,另外的接头可以是合适的。这些接头可不被切割或可通过pH变化、氧化还原电位或特定的细胞内/细胞外酶而被切割。可切割的寡肽接头包括蛋白酶或基质金属蛋白酶可切割的接头。应理解,接头可以包括上述组合。例如,接头可以是缬氨酸-瓜氨酸PAB接头。

[0191] 在本公开的一个实施方案中,接头可以包括N-琥珀酰亚胺基-4-(2-吡啶基二硫代)戊酸酯(SPP)、N-琥珀酰亚胺基-4-(2-吡啶基二硫代)丁酸酯(SPDB)、二硫化物接头例如磺基-SPDB、MDS、DMDS、DSDM或NDMDS;酶促切割接头,例如Phe-Lys-PABC、Val-Cit-PABC、Val-Ala-PABC、MHVCBC(缬氨酸-瓜氨酸)或MHFKBC(苯丙氨酸-赖氨酸);脘接头,例如MHH;或葡萄糖苷酶敏感性接头,例如GBC(葡萄糖醛酸)、GBCDN(葡萄糖醛酸)、作为可切割接头的 $\beta$ -葡萄糖苷酸接头;或可包括作为不可切割的接头的Ma1-PEG-NHS、N-琥珀酰亚胺基-4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-羧酸酯(SMCC)、Ma1-烷烃接头、双马来酰亚胺聚乙二醇(BMPEO)、N-( $\beta$ -马来酰亚胺基丙氧基)琥珀酰亚胺酯(BMPS)、 $\epsilon$ -马来酰亚胺基己酸N-羟基琥珀酰亚胺基酯(EMCS)、 $\gamma$ -马来酰亚胺基丁酸N-琥珀酰亚胺酯(GMBS)、间马来酰亚胺基苯甲酰基-N-羟基琥珀酰亚胺酯(MBS)、4-(4-N-马来酰亚胺基苯基)-丁酸酰肼(MPBH)、N-琥珀酰亚胺基3-(溴乙酰胺基)丙酸酯(SBAP)、N-琥珀酰亚胺基碘乙酸酯(SIA)、N-琥珀酰亚胺基-4-(碘乙酰胺基)-氨基苯甲酸酯(SIAB)、N-琥珀酰亚胺基4-(对马来酰亚胺基苯基)丁酸酯(SMPB)或琥珀酰亚胺基-6-(马来酰亚胺基丙酰胺基)己酸酯(SMPH),但可以不限于此。

[0192] 在本公开的一个实施方案中,接头可以包括选自以下的成员,但可以不限于此:

[0193] BMPEO、BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、长链N-琥珀酰亚胺基4-(马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-羧酸酯(长链SMCC)、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、N-( $\epsilon$ -马来酰亚胺基己酰氧基)磺基琥珀酰亚胺基酯(磺基-EMCS)、N-( $\gamma$ -马来酰亚胺基丁酰氧基)磺基琥珀酰亚胺基酯(磺基-GMBS)、N-( $\kappa$ -马来酰亚胺基十一酰氧基)磺基琥珀酰亚胺基酯(磺基-KMUS)、间马来酰亚胺基苯甲酰基-N-羟基磺基琥珀酰亚胺基酯(磺基-MBS)、磺基琥珀酰亚胺基(4-碘乙

酰基)氨基苯甲酸酯(磺基-SIAB)、磺基琥珀酰亚胺基4-(N-马来酰亚胺基-甲基)环己烷-1-羧酸酯(磺基-SMCC)、磺基琥珀酰亚胺基4-(对马来酰亚胺基苯基)丁酸酯(磺基-SMPB)、琥珀酰亚胺基-(4-乙烯基砜)苯甲酸酯(SVSB)和双马来酰亚胺试剂:二硫代双马来酰亚胺基乙烷(DTME)、1,4-双马来酰亚胺基丁烷(BMB)、1,4-双马来酰亚胺基-2,3-二羟基丁烷(BMDB)、双马来酰亚胺基己烷(BMH)、双马来酰亚胺基乙烷(BMOE)、1,8-双马来酰亚胺基二甘醇[BM(PEO)<sub>2</sub>]和1,11-双马来酰亚胺基三甘醇[BM(PEO)<sub>3</sub>];以及



[0197] 在上述接头中,每条虚线可表示与抗体或苯并硒吩基化合物结合的共价键,n可以是约1至约1,000。

[0198] 在本公开的一个实施方案中,n可以是约1至约1,000、约1至约900、约1至约800、约1至约700、约1至约600、约1至约500、约1至约400、约1至约300、约1至约200、约1至约100、约1至约50、约1至约40、约1至约30、约1至约20、约1至约10、约1至约5、或约1至约3,但可以不限于此。在本公开的一个实施方案中,n可以是约1至约5,或约1至约3。

[0199] 在本公开的一个实施方案中,通过调节接头的n个聚乙二醇(PEG)以形成分子量为例如约1,000或约2,000的PEG或形成4臂或8臂的支链PEG,一种含有苯并硒吩系化合物的水溶性增加的DNA烷基化衍生物可以被合成并用作抗癌药物或其前体,但可以不限于此。

[0200] 在本公开的一个实施方案中,本公开的抗体-药物缀合物可以是对癌细胞具有高效抗癌作用的物质,其中针对癌细胞的IC<sub>50</sub>在nM或pM范围内,但可以不限于此。

[0201] 在本公开的一个实施方案中,接头和苯并硒吩系化合物可以通过肽键连接,但可以不限于此。

[0202] 在本公开的一个实施方案中,如果官能团被取代,则取代基可以包括选自以下中的一个或多个成员:酰基、氨基(包括氨基、单烷基氨基和二烷基氨基、单芳基氨基和二芳基

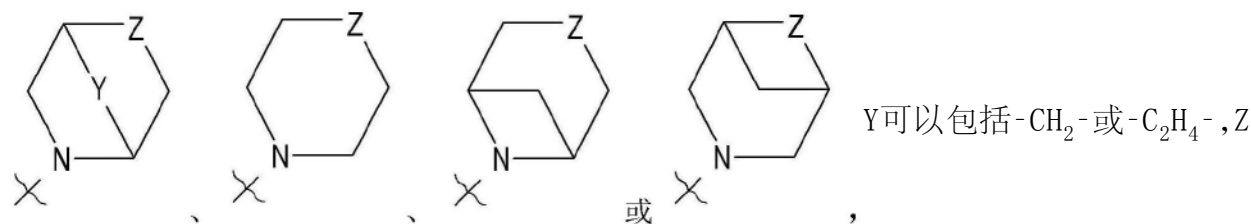
氨基以及烷基芳基氨基)、酰基氨基(包括氨基甲酰基和脲基)、烷基羰基氧基、芳基羰基氧基、烷氧基羰基氧基、烷氧基羰基、羧基、羧酸酯基、氨基羰基、单烷基氨基羰基和二烷基氨基羰基、氰基、叠氮基、卤素基团、羟基、硝基、三氟甲基、硫醇基、烷基硫醇基、芳基硫醇基、烷硫基羰基、硫代羧酸酯基、低级烷基、低级烯基、低级炔基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、低级烷氧基、芳氧基、芳氧基羰基氧基、苄氧基、苄基、亚磺酰基、烷基亚磺酰基、磺酰基、硫酸酯基、磺酸酯基、磺酰胺基、磷酸酯基、膦酸酯基、亚膦酸酯基、氧代基、胍基、亚氨基和甲酰基,但可以不限于此。

[0203] 在本公开的一个实施方案中, $R^1$ 可以包括包含至少一个氮原子的 $C_{3-10}$ 杂环烷基或 $C_{3-10}$ 杂芳基,并且 $R^4$ 和 $R^5$ 可以各自独立地是氢、甲基或乙基,但可以不限于此。

[0204] 在本公开的一个实施方案中,X可以是F、Cl、Br或I,但可以不限于此。此外,在本公开的一个实施方案中,X可以是Cl。

[0205] 在本公开的一个实施方案中,本公开的苯并硒吩系化合物在 $-CHR^2CHR^1R^3$ 中包含两个 $sp^3$ 碳原子(其通过酰胺键连接到苯并硒吩主体)作为主要框架,因此,可以增加分子本身的柔性。此外,理想地, $R^1$ 可以包含有包含N、O或S的五边形或六边形环的各种衍生物。此外, $R^1$ 可以包含带有或不带有杂原子的双环,这可以促进在抗癌机制中的DNA小沟结合。

[0206] 在本公开的一个实施方案中, $R^1$ 可以包括吡咯烷基( $-NC_4H_8$ )、哌啶基( $-NC_5H_{10}$ )、哌嗪基( $-N_2C_4H_9$ )、4-甲基哌嗪-1-基( $-N_2C_5H_{11}$ )、吗啉代基( $-NOC_4H_8$ )、



可以包括 $-CHR-$ 、 $-NR-$ 、 $-O-$ 或 $-S-$ ,并且R可以包括氢或 $C_{1-3}$ 烷基,但可以不限于此。

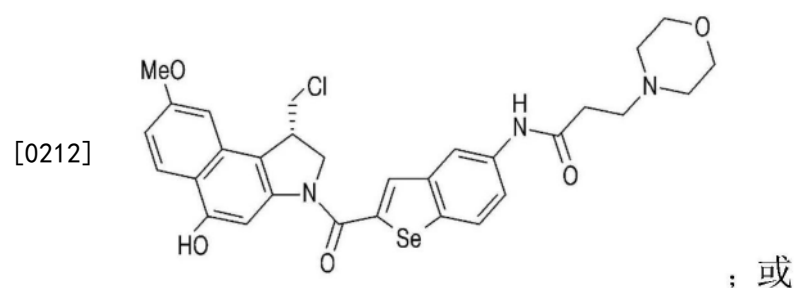
[0207] 在本公开的一个实施方案中, $R^1$ 可以是吡咯烷基( $-NC_4H_8$ )、哌啶基( $-NC_5H_{10}$ )、哌嗪基( $-N_2C_4H_9$ )、4-甲基哌嗪-1-基( $-N_2C_5H_{11}$ )或吗啉代基( $-NOC_4H_8$ )。

[0208] 在本公开的一个实施方案中, $R^2$ 和 $R^3$ 都可以是氢。

[0209] 在本公开的一个实施方案中, $R^5$ 和 $R^6$ 可以各自独立地是氢、甲基、乙基或丙基。

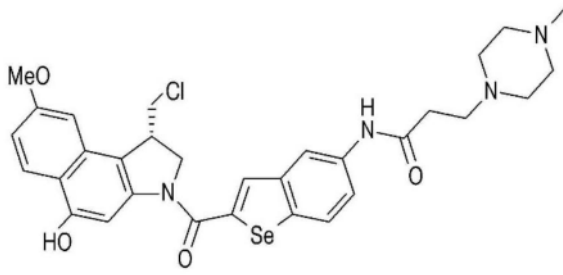
[0210] 在本公开的一个实施方案中,苯并硒吩系化合物可以包括以下:

[0211] [化合物3]



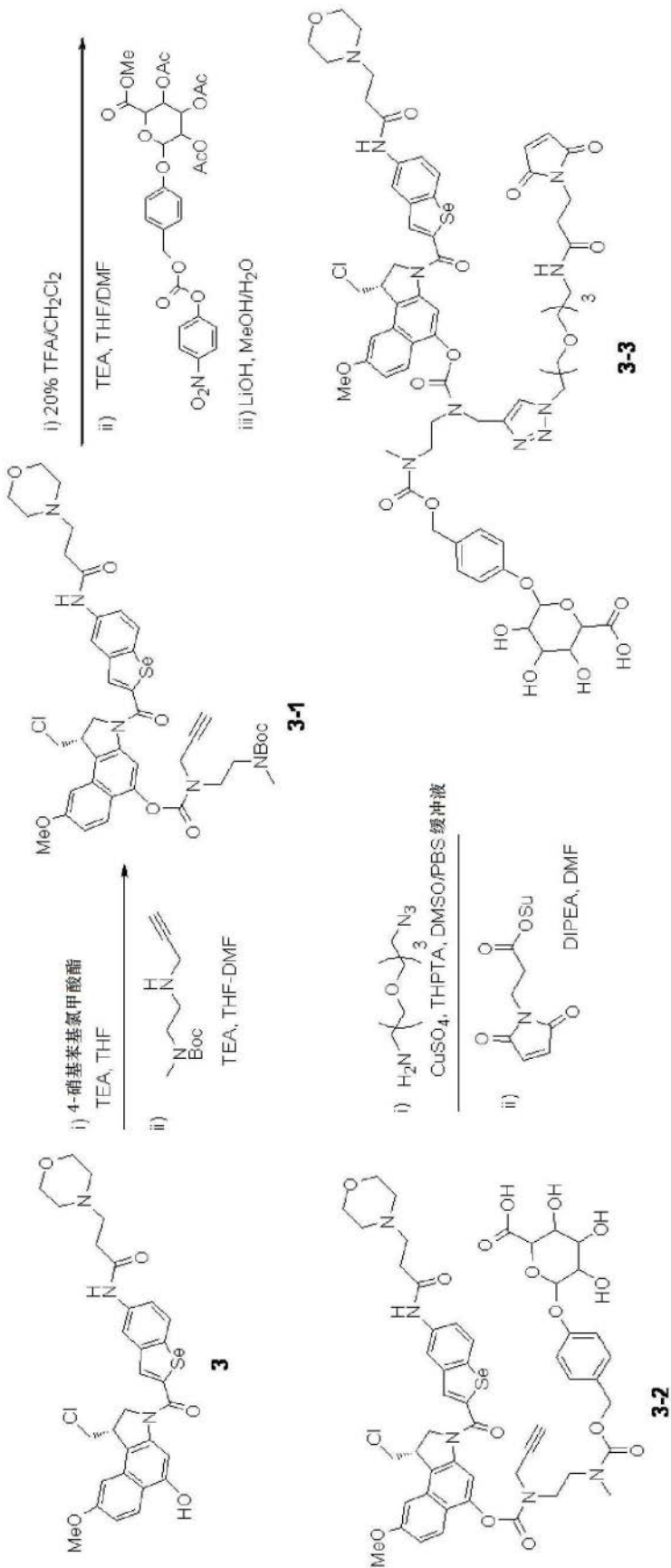
[0213] [化合物4]

[0214]



[0215] 在本公开的一个实施方案中,本发明的苯并硒吩类化合物与接头键合的键可以通过例如以下方法制备,但不限于此:

[0216]



[0217] 在本公开的一个实施方案中,抗体-药物缀合物的药物-抗体比(DAR)可以是约1至约8,但可以不限于此。在本公开的一个实施方案中,抗体-药物缀合物的DAR可以是约1至约

8、约1至约6、约1至约5、约2至约8、约2至约6、约2至约5、约3至约8、约3至约6或约3至约5,但可以不限于此。此外,在本公开的一个实施方案中,抗体-药物缀合物的DAR可以是约2至约5。

[0218] 根据本公开的第五方面,提供了一种抗癌组合物,其包含根据第四方面的抗体-药物缀合物或其药学上可接受的盐。

[0219] 在下文中省略了与关于本公开的第一方面至第四方面的那些详细描述重叠的关于本公开的第五方面的详细描述,但是可以将本公开的第一方面至第四方面的描述相同地应用于本公开的第五方面,尽管在下文中省略了它们。

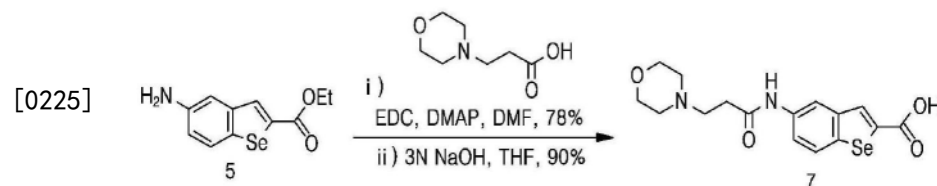
[0220] 在本公开的一个实施方案中,所述抗癌组合物可以对选自实体瘤、恶性血液病、结直肠癌、子宫癌、子宫肌瘤、脑膜瘤、肺癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、胃肠道恶性肿瘤、结直肠癌、肠癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、肝癌、肾癌、膀胱癌、胰腺癌、脑癌、脑转移瘤、肉瘤、成骨肉瘤、卡波西肉瘤和黑色素瘤(但可以不限于此)的至少一种疾病具有抗癌活性。根据本公开的一个实施方案的药物组合物可以作为预防或治疗的靶标应用于各种疾病,不限于癌症的类型。

[0221] 在下文中,将参考实施例更详细地解释本公开。然而,以下实施例是说明性的,仅是为了更好地理解本公开,而并不限制本公开。

[0222] [实施例]

[0223] 1. 中间产物的合成

[0224] (1) 5-(3-吗啉代丙酰胺基)苯并[b]硒吩-2-羧酸(化合物7)的制备



[0226] 将3-吗啉代丙酸(3当量)、EDC(3当量)和DMAP(2当量)溶解在DMF中并搅拌15min,然后使其与(乙基)(5-氨基-苯并[b]硒吩-2-羧酸酯)(化合物5,1当量)24h。反应完成后,使用二氯甲烷(MC)/水以用分液漏斗分离MC层,然后用MgSO<sub>4</sub>干燥并过滤。通过旋转蒸发器从滤液中除去溶剂,然后进行柱层析。产率:78%。

[0227] <sup>1</sup>H NMR(500.1MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ1.38(t, 3H, J=7, 2), 2.54-2.76(m, 8H), 3.82(t, 4H, J=4.4), 4.36(q, 2H, J=7.2), 7.36(dd, 1H, J=8.6, 2.1), 7.77(d, 1H, J=8.6), 8.21(s, 1H), 8.26(d, 1H, J=2.2), 10.87(bs, 1H, NH); <sup>13</sup>C NMR(125.7MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ14.4, 32.3, 52.9, 54.2, 61.7, 67.1, 117.6, 119.7, 126.1, 134.2, 136.3, 137.7, 138.8, 141.9, 163.9, 170.5; HRMS(ESI); 针对C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Se[M<sup>+</sup>]<sub>2</sub>的m/z计算值:410.07; 实测值:411.0824[M+H]<sup>+</sup>

[0228] 将上述过程中得到的(乙基)(5-(3-(吗啉代)丙酰胺基)苯并[b]硒吩-2-羧酸酯)(1当量)溶解在甲醇中,然后使其与2mL 3N NaOH反应24h。反应完成后,向其中加入20% HCl以将pH调节至酸性。然后,通过旋转蒸发器除去溶剂,随后进行柱层析。产率:90%。

[0229] <sup>1</sup>H NMR(500.1MHz, MeOD-d<sub>4</sub>) δ2.74-3.11(m, 8H), 3.81(s, 4H), 7.48(d, 1H, J=8.4), 7.87(d, 1H, J=8.9), 8.08(s, 1H), 8.21(s, 1H);

[0230] <sup>13</sup>C NMR(125.7MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ30.2, 51.1, 51.8, 63.2, 117.2, 119.7, 126.4, 133.9, 136.6, 137.8, 138.8, 141.6, 164.7, 167.9; HRMS(ESI); 针对C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Se[M<sup>+</sup>]<sub>2</sub>的m/z计算值:

382.04; 实测值: 383.0512 [M+H]<sup>+</sup>。

[0231] (3)-5-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺基)苯并[b]硒吩-2-羧酸(化合物8)的制备

[0232] 将3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酸(3当量)、EDC(3当量)和DMAP(2当量)溶解在DMF中并搅拌15min,然后使其与(乙基)(5-氨基-苯并[b]硒吩-2-羧酸酯)(化合物5,1当量)反应24h。反应完成后,使用二氯甲烷(MC)/水以用分液漏斗分离MC层,然后用MgSO<sub>4</sub>干燥并过滤。通过旋转蒸发器从滤液中除去溶剂,然后进行柱层析。产率:84%。

[0233] <sup>1</sup>H NMR (500.1MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.14 (t, 2H, J=7.1), 1.34 (t, 3H, J=7.2), 2.31 (s, 3H), 2.48-2.50 (m, 4H), 2.68-2.70 (m, 4H), 3.41 (q, 2H, J=7.1), 4.31 (q, 2H, J=7.1), 7.34 (d, 1H, J=8.7), 7.72 (d, 1H, J=8.6), 8.16 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 11.02 (bs, 1H, NH);

[0234] <sup>13</sup>C NMR (125.7MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 14.3, 15.3, 32.6, 46.0, 52.3, 53.6, 55.3, 61.6, 65.8, 117.5, 119.7, 126.0, 134.3, 136.5, 137.5, 138.5, 141.8, 163.8, 170.7; HRMS (ESI); 针对 C<sub>19</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>Se [M<sup>+</sup>] 的 m/z 计算值: 423.11; 实测值: 424.1139 [M+H]<sup>+</sup>。

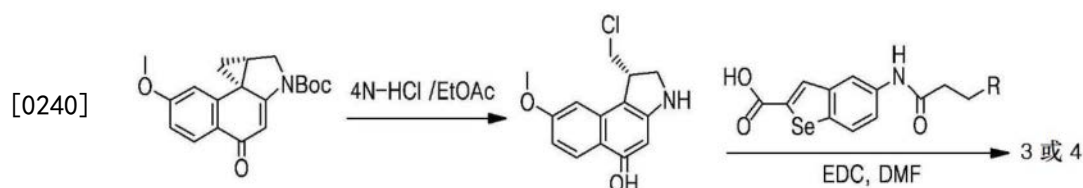
[0235] 将上述过程中得到的(乙基)(5-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺基)苯并[b]硒吩-2-羧酸酯)(1当量)溶解在甲醇中,然后使其与2mL的3N NaOH反应24h。反应完成后,向其中加入20% HCl 以将pH调节至酸性。然后,通过旋转蒸发器除去溶剂,随后进行柱层析。产率:62%。

[0236] <sup>1</sup>H NMR (500.1MHz, MeOD-d<sub>4</sub>) δ 2.54-2.58 (m, 2H), 2.66 (s, 3H), 2.77-3.05 (m, 9H), 3.27 (s, 1H), 7.38 (d, 1H, J=8.6), 7.74 (d, 1H, J=8.6), 7.90 (s, 1H), 8.08 (s, 1H);

[0237] <sup>13</sup>C NMR (125.7MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 34.9, 44.0, 51.5, 51.8, 54.2, 54.4, 54.7, 118.8, 120.2, 127.1, 131.3, 137.1, 140.1, 144.2, 149.1, 171.0, 172.5; HRMS (ESI); 针对 C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>Se [M<sup>+</sup>] 的 m/z 计算值: 395.07; 实测值: 396.0826 [M+H]<sup>+</sup>。

[0238] 2. 通过中间产物和seco-MCBI反应制备最终产物

[0239] 通过使用本领域中已知的方法,合成了用于合成的seco-MCBI(化合物1)。通过以下方法进行用于通过酸处理将苯并硒吩羧酸偶联至所获得的中间产物来合成化合物3和4的方法:

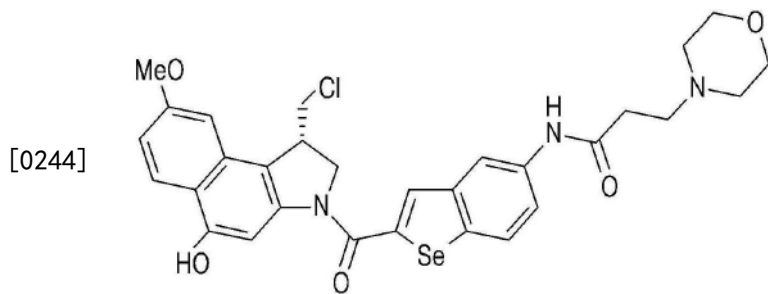


[0241] 通过在-78°C将4mL HCl饱和溶液(在乙酸乙酯中)加入到装有seco-MCBI(化合物1, 30mg, 0.09mmol)的圆底烧瓶中来制备反应混合物。将反应混合物在-78°C搅拌30min,然后在室温搅拌1h。在通过薄层色谱(TLC)观察到盐形成后,在氮气流下蒸发乙酸乙酯,然后在高真空下完全干燥1h。将产生的剩余物溶解在无水DMF(0.2mL)中,并在0°C加入羧酸(1.1当量)和EDC(52mg, 0.27mmol)(表示为化合物7或8)在无水DMF(0.5mL)中的混合物,然后在0°C搅拌3h并在室温搅拌5h。反应完成后,所得产物用水稀释并用乙酸乙酯(3×15mL)萃取。将得到的有机层用盐水洗涤并用MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩得到粗产物。将粗产物通过柱层析纯化以获得所需产物。

[0242] 3. 最终产品的分析结果

[0243] (1) (S)-N-(2-(1-(氯甲基)-5-羟基-8-甲氧基-2,3-二氢-1H-苯并[e]吡啶-3-羧

基) 苯并[b]硒吩-5-基) -3-吗啉代丙酰胺 (化合物3)



[0245]  $^1\text{H}$  NMR (500.1MHz, 丙酮- $d_6$ )  $\delta$ 10.28 (s, 1H), 9.31 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 8.14 (d,  $J=9.2\text{Hz}$ , 1H), 7.99 (m, 1H), 7.76 (brs, 1H), 7.54 (d,  $J=8.6\text{Hz}$ , 1H), 7.20 (s, 1H), 7.03 (d,  $J=9.3\text{Hz}$ , 1H), 4.76 (t,  $J=9.5\text{Hz}$ , 1H), 4.65 (d,  $J=11.0\text{Hz}$ , 1H), 4.18 (m, 1H), 4.06 (d,  $J=11.2\text{Hz}$ , 1H), 3.95 (s, 3H), 3.82-3.78 (m, 1H), 3.74 (m, 4H), 2.64-2.62 (m, 6H),

[0246]  $^{13}\text{C}$  NMR (500.1MHz,  $\text{CDCl}_3$ +甲醇- $d_4$ )  $\delta$ 171.3, 164.2, 159.7, 155.4, 143.5, 142.7, 142.3, 138.3, 136.6, 132.0, 130.6, 126.2, 126.0, 120.2, 118.9, 118.4, 116.2, 106.5, 101.8, 98.8, 66.7 (2C), 56.7, 55.7, 54.6, 53.4 (2C), 46.2, 45.3, 43.0 针对  $(\text{C}_{30}\text{H}_{30}\text{ClN}_3\text{O}_5\text{Se})$  的HRMS计算值:628.1088 [M+H] $^+$ , 实测值:628.1087。

[0247] 4.ma1-接头-有效负载 (化合物3-3) 的合成

[0248] (1) (S)-1-(氯甲基)-8-甲氧基-3-(5-(3-吗啉代丙酰胺基)苯并[b]硒吩-2-羰基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吡啶-5-基(4-硝基苯基)碳酸酯 (化合物3-1) 的合成

[0249] 将化合物3溶解在无水THF中, 然后用 $\text{N}_2$  (g) 填充。然后, 在 $0^\circ\text{C}$ 向其中加入TEA (6当量) 和氯甲酸4-硝基苯酯 (4当量) 并在室温下反应12h。在将所有THF蒸发后, 通过醚沉淀除去苯酚、pNPC和TEA。所得产物在以下反应中作为粗品使用。

[0250] 在将粗品溶解在DMF/THF (1:4) 中后, 在 $0^\circ\text{C}$ 向其中加入叔丁基甲基(2-(丙-2-炔-1-基氨基)乙基)氨基甲酸酯 (6当量) 和TEA (2当量) 并通过HPLC监测反应。反应完成后, 用MC/MeOH进行柱层析。产率:95%。

[0251]  $^1\text{H}$  NMR (500.1MHz, 丙酮)  $\delta$ 10.123 (s, 1H), 8.446 (s, 1H), 8.126-8.096 (q, 2H), 7.891-7.873 (d, 1H), 7.445-7.428 (d, 1H), 7.204-7.176 (t, 1H), 7.086-7.041 (q, 1H), 4.702-4.4 (m, 3H), 4.323 (s, 1H), 4.211-4.198 (d, 1H), 4.030-3.860 (m, 5H), 3.666-3.650 (q, 6H), 3.546-3.534 (d, 1H), 3.275 (s, 1H), 3.2~2.8 (m, 6H), 2.676-2.668 (s, 2H), 2.492-2.437 (t, 6H), 2.049-2.005 (m, 3H), 1.464-1.399 (t, 9H);  $^{13}\text{C}$  NMR (500.1MHz, 丙酮)  $\delta$ 170.94 163.15 160.05 156.53 155.98 155.06 154.78 149.13 148.89 145.41 143.78 143.06 138.08 137.46 132.41 131.10 126.50 125.32 122.68 121.21 119.97 118.81 117.82 109.80 109.74 102.40 80.44 79.92 79.82 74.26 67.47 56.46 55.95 55.07 54.01 47.41 47.09 46.54 46.13 45.63 42.92 38.16 37.65 37.33 35.28 34.92 34.17 28.73 28.67。

[0252] (2) (2R,3R,4R,5S,6S)-3,4,5-三乙酰氧基-6-(4-(((2-(((S)-1-(氯甲基)-8-甲氧基-3-(5-(3-吗啉代丙酰胺基)苯并[b]硒吩-2-羰基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吡啶-5-基)氧基)羰基(丙-2-炔-1-基)氨基)乙基)(甲基)氨基甲酸酯)氧基)甲基)苯氧基)四氢-2H-吡喃-2-羧酸 (化合物3-2) 的合成

[0253] 将化合物3-1溶解在TFA(在作为溶剂的二氯甲烷的存在下为20%)中,并将温度从0°C升至室温。通过HPLC监测反应,然后用MC重复干燥。然后,将所得产物作为粗品用于以下反应。

[0254] 将粗品溶解在DMF/THF(1:1)中,并向其中加入 $\beta$ -葡萄糖苷酸接头碳酸酯(3当量)和TEA(2当量)。当在通过HPLC监测时除去反应物之时反应结束。依次用乙酸乙酯(EA):己烷、EA:甲醇(MeOH)和MC:MeOH进行柱层析,同时通过HPLC进行监测。产率:60.9%

[0255]  $^1\text{H}$  NMR(500.1MHz,丙酮)  $\delta$ 10.9(s,1H),8.4(d,1H),8.1~8.0(t,2H),7.9~7.7(m,2H),7.45~7.32(t,1H),7.3~7.2(d,1H),7.2~7.1(t,1H),7.1~6.85(m,2H),5.5~5.3(m,1H),5.2~4.9(m,4H),4.7~4.5(m,2H),4.5~4.35(m,1H),4.3~4.25(s,1H),4.25~4.1(s,1H),4.0(d,1H),3.9~3.7(m,4H),3.7~3.4(m,9H),3.0~2.8(m,4H),2.7~2.6(m,2H),2.55~2.3(m,6H),1.3~1.1(m,4H),0.85~0.7(m,3H)。

[0256] 将上述过程中获得的化合物(1当量)溶解在甲醇/水(6:1)中。在0°C向其中加入LiOH(水合物,6当量)并搅拌1h。通过HPLC监测反应,随后通过加入乙酸进行酸化至pH 3以得到固体产物。过滤固体产物并用一些丙酮和MC除去杂质。产率:99%。

[0257]  $^1\text{H}$  NMR(500.1MHz,DMSO)  $\delta$ 10.245(s,1H),8.474(s,1H),8.323(s,1H),8.072-7.970(q,2H),7.867-7.721(m,1H),7.467(s,1H),7.324-7.229(q,3H),7.121(s,1H),6.960-6.861(t,2H),5.411(s,1H),5.208(s,1H),5.029-4.866(m,4H),5.411(s,1H),5.208(s,1H),5.029-4.866(t,4H),4.548-4.533(d,1H),4.400(s,2H),4.225-4.042(q,4H),4.0~3.5(m,17H),2.933(s,1H),2.871(s,1H),2.668-2.656(d,3H),2.441(s,3H),2.086(s,3H),1.140(s,1H)。

[0258] (3)(2R,3R,4R,5S,6S)-3,4,5-三乙酰氧基-6-(4-(((2-(((S)-1-(氯甲基)-8-甲氧基-3-(5-(3-吗啉代丙酰胺基)苯并[b]硒吩-2-羰基)-2,3-二氢-1H-苯并[e]吡啶-5-基)氧基)羰基)((1-(15-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-13-氧代-3,6,9-三氧杂-12-氮杂十五烷基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)氨基)乙基)(甲基)氨基甲酰基)氧基)甲基)苯氧基)四氢-2H-吡喃-2-羧酸(化合物3-3)的合成

[0259] 将化合物3-2(1当量)和2-(2-(2-(2-叠氮乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙胺(1.5当量)溶解在DMSO中,并将CuSO<sub>4</sub>(1当量)和THPTA(1当量)溶解在缓冲溶液中,然后放入化合物3-2的DMSO溶液中。在向其中加入抗坏血酸钠(10当量)20min后,通过HPLC监测反应。反应完成后,用HPLC进行分离。产率:82%。

[0260]  $^1\text{H}$  NMR(500.1MHz,DMSO)  $\delta$ 10.396(s,1H),8.451(s,1H),8.073-8.056(d,1H),8.073-8.056(q,2H),7.728(m,3H),7.511-7.493(d,1H),7.282-7.205(t,3H),7.103-7.085(d,1H),7.000-6.940(m,2H),5.754(s,0.5H),5.1~4.9(m,3H),4.9~4.7(m,2H),4.6~4.5(s,4H),4.4~4.3(s,1H),4.2~3.9(m,7H),3.9~3.8(s,3H),3.75~3.6(s,2H),3.6~3.4(m,8H),3.2~3.1(s,9H),3.0~2.8(m,6H),2.6~2.45(m,6H),2.14~2.05(s,4H),1.8~1.7(s,2H),1.3~1.2(s,1H)。

[0261] 在将上述过程中获得的化合物溶解在DMF中后,向其中加入DIPEA(2当量)和2,5-二氧代吡咯烷-1-基-3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H)-吡咯-1-基)丙酸酯(1.5当量)并在室温下搅拌2h。产率:23%

[0262]  $^1\text{H}$  NMR(500.1MHz,DMSO)  $\delta$ 10.383(s,1H),8.439(s,1H),8.35-8.3(d,1H),8.073-

8.056(d,1H),7.978-7.951(t,3H),7.85-7.6(m,1H),7.510-7.492(d,1H),7.272-7.199(d,3H),7.097-7.080(t,1H),6.995-6.940(q,3H),5.000~4.7(m,4H),4.6~4.5(m,4H),4.45~4.3(s,1H),4.15~3.6(m,10H),3.6~3.2(m,9H),3.2~3.1(m,3H),3.0~2.8(m,8H),2.8~2.7(s,3H),2.7~2.3(m,9H),1.753(s,2H),1.234(s,1H)。

[0263] 5. 曲妥珠单抗-有效负载(化合物3,DS-24)缀合物的合成



[0265] 将曲妥珠单抗(TmAb)用作抗体并在通过凝胶渗透色谱法纯化后使用。使用的抗体具有连接HC和LC的两个二硫键以及连接HC和HC的两个二硫键,因此共具有四个链间二硫键。用温和的还原剂三(2-羧乙基)膦盐酸盐(TCEP)部分还原抗体。当DAR为约2至约5时,抗原-抗体反应没有问题,且毒性高。因此,调节TCEP的当量以获得约2至约5的DAR平均值。

[0266] 在将TmAb(1当量)溶解在PBS(pH=7.25)中后,在培养器中用TCEP(2.75当量)将其还原30min,然后进行GPC以仅获得经还原的抗体。在用UV光谱仪检查抗体的存在或不存在后,加入1mM DTPA。将Ma1-接头-药物(10当量)以5mg/ml溶解在DMSO(DMSO 5%,PBS缓冲液95%)中,每次加入2当量。在培养器中在37°C每30min进行疏水性相互作用色谱(HIC)后,进一步添加Ma1-接头-药物。反应完成后,通过GPC获得纯样品,并与30mM组氨酸、80mM海藻糖、0.01% Tween<sup>®</sup>20和50mM PBS(pH 6)缓冲溶液通过离心配制。然后,将其在冻干机中干燥并储存。

[0267] 6. 合成的抗体-药物缀合物(ADC)的分析结果

[0268] (1) 曲妥珠单抗-葡萄糖苷酸化合物3ADC的尺寸排阻色谱(SEC)分析

[0269] SEC首先洗脱较大的颗粒。因此,如果它比抗体被更早洗脱,则可以检查是否存在聚集。如图1所示,作为合成含有化合物3的ADC的结果,测量聚集为1%或更低,证实几乎没有聚集。

[0270] (2) 曲妥珠单抗-葡萄糖苷酸-化合物3ADC的疏水性相互作用色谱(HIC)分析

[0271] 如图2所示,将具有药物-抗体比(DAR)为2、4、6、8等的样品与具有DAR为0的样品结合起来显示为1,这意味着所使用的接头-药物具有很高的极性和良好的水溶性。

[0272] (3) 曲妥珠单抗-葡萄糖苷酸-化合物3ADC的聚合物型反相(PLRC)分析

[0273] 在PLRP中,经还原抗体的每个部分都被还原(完全还原)并分别显示在光谱上,因此,可以检查抗体的哪个部分与接头-药物连接。如图3所示,当ADC被还原时,其分解成轻链和重链。图3示出了通过定量分析未连接至轻链(L0)、连接至轻链(L1)的一个、未连接至重链(H0)和连接至重链(H1、H2和H3)的一个、两个和三个而获得的数据。因此,确认了DAR为4.25。

[0274] 7. 化合物3和含有其的ADC的抗癌活性分析

[0275] (1) 化合物3的体外细胞系活性分析

[0276] 通过向NCI NTP程序请求样品来检查化合物3的活性。如图4所示,化合物3在多种细胞系中表现出非常强的活性,其中GI<sub>50</sub>(对于生长抑制50%,NCI NTP程序中的活性指数)为pM或更低,特别地在非小肺癌、CNS癌、黑色素瘤和肾癌(肾癌)中表现出显著强的活性。

[0277] (2) 化合物3的体内细胞系活性分析

[0278] 根据化合物3 (DS-24) 的体内细胞系活性的分析结果,证实了即使在非常低的浓度下也存在体内活性,如图5所示。

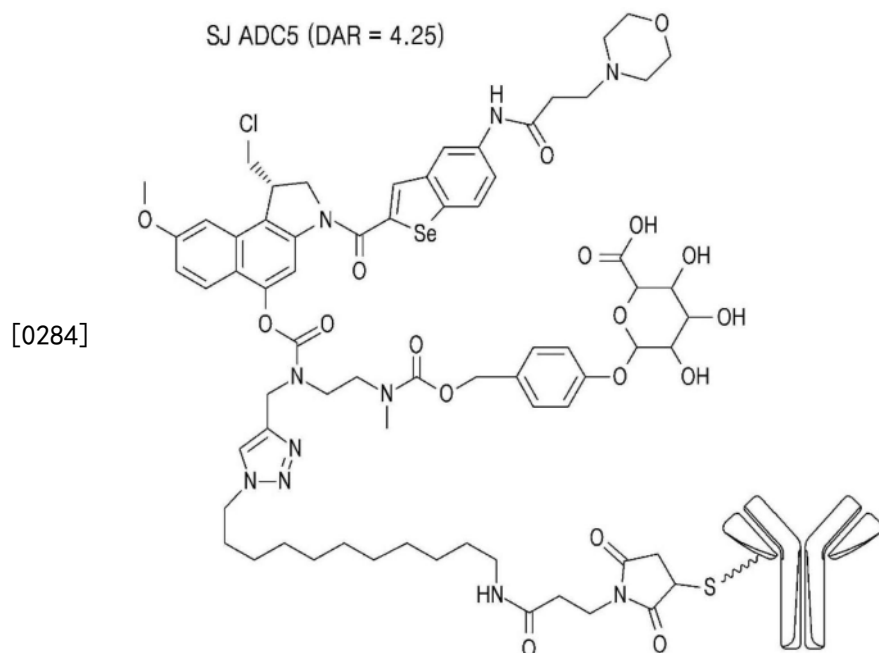
[0279] (3) 化合物3与NCI细胞系中相应癌症类型的相关性分析[癌症类型之间的敏感性差异(TGI)]

[0280] 基于图6所示的结果,分析了取决于通过NCI NTP程序证实了抗癌作用的细胞系中的癌症类型,反应性是否有任何统计学意义。结果,如图6所示,证实了与白血病相比,对非小细胞肺癌、CNS癌和黑色素瘤具有肿瘤生长抑制作用。此外,通过Wilcoxon秩和检验证实了白血病和黑色素瘤之间TGI的显著差异,p值为0.0074 (<0.05)。基于此,确定当化合物3应用于抗体-药物缀合物时,其在脑肿瘤、脑转移瘤(NSCLC)、肺癌和黑色素瘤中可以表现出显著的效力。

[0281] (4) 曲妥珠单抗-葡萄糖苷酸-化合物3ADC[ADC (DS-24)]的活性分析

[0282] 1) 取决于Her2的表达的ADC (DS-24) 的活性分析

[0283] 分析了如下合成的ADC,具有4.25的DAR并且对于两种制剂(ADC F1和ADC F2)表现出相似的活性。可以看出,在其中Her2(曲妥珠单抗抗原)高表达的SK-Br-3和JIMT-1细胞系中活性优异,而在其中Her2低表达且用作对照组的MCF-7中活性低。处理168h时的高活性被认为是因为使用的接头在MCF-7细胞系中不稳定。



[0285] [表1]

[0286]

	SK-Br-3 9 (nM)		JIMT-1 (nM)		MCF-7 (nM)	
	96 h	168 h	96 h	168 h	96 h	168 h
ADC F1	0.11	0.01	2.30	0.10	▶ > 10	0.12
ADC F2	0.12	0.01	1.27	0.08	▶ > 10	0.12

[0287] 2) 用ADC (DS-24) 处理的MCF-7细胞和NCI-N87细胞的细胞活力分析

[0288] 将MCF-7细胞和NCI-N87细胞用范围为0.02nM至100nM的7种不同浓度的ADC (DS-

24) 处理3天。图7a示出了剂量反应曲线的非线性回归分析,图7b示出了作为其结果的 $IC_{50}$ 值的数据。

[0289] 表达Her2的NCI-N87细胞对曲妥珠单抗-化合物3ADC敏感,而Her2阴性MCF-7细胞对其有抗性。具体地,如图7a和图7b所示,用曲妥珠单抗-葡萄糖苷酸-化合物3ADC处理MCF-7细胞和NCI-N87细胞,然后测量细胞内ATP水平以分析活力。结果,表达曲妥珠单抗的抗原的NCI-N87显示出高灵敏度,而不表达抗原的MCF7显示出低灵敏度。

[0290] 3) 检查ADC (DS-24) 对抑制BT474肿瘤球体的作用

[0291] 如图8a所示,在表达Her2的BT474细胞系(高度表达曲妥珠单抗的抗原)中形成三维肿瘤球体后,用范围为0.02nM至100nM的7种不同浓度的曲妥珠单抗和曲妥珠单抗-葡萄糖苷酸-化合物3ADC对其进行处理并在2周后观察。如图8b和图8c所示,通过剂量反应曲线的非线性回归分析证实了ADC (DS-24) 的高抗癌活性,曲妥珠单抗的 $IC_{50}$ 分析为18.19nM,ADC (DS-24) 的 $IC_{50}$ 分析为0.23nM。

[0292] 4) ADC (DS-24) 在NCI-N87异种移植动物模型中和体重变化方面的作用

[0293] 在将表达曲妥珠单抗的抗原的NCI-N87细胞系异种移植到裸鼠中后,静脉内施用曲妥珠单抗和曲妥珠单抗-葡萄糖苷酸-化合物2[ADC (DS-24)]中的每一种,然后观察抗癌活性。这里,将曲妥珠单抗每周两次以5mg/kg施用,将ADC (DS-24) 以1mg/kg和5mg/kg的剂量施用一次。

[0294] 如图9a所示,施用曲妥珠单抗的组和施用1mg/kg ADC (DS-24) 的组显示出一定程度的肿瘤形成抑制,并不显著。施用5mg/kg ADC (DS-24) 的组在第49天之前显示出肿瘤大小未增加,这与上述两组相比是显著的。如图9b所示,在施用期间小鼠的体重没有显著变化。因此,在施用ADC (DS-24) 的组中,没有发现诸如严重的体重变化的副作用,从而确认了没有出现毒性。

[0295] 5) 通过在NCI-N87异种移植动物模型中对ADC (DS-24) 的全血细胞计数 (CBC) 试验进行毒性分析

[0296] 在NCI-N87异种移植模型的效力评价中,在对所有受试者的评价结束时从小鼠中采集血液,并通过使用血细胞计数器进行全血细胞计数分析以确定抗体-药物缀合物如何影响小鼠的整个循环系统。

[0297] 如图10a所示,在对照组和施用组中,炎症细胞例如白细胞 (WBC)、中性粒细胞 (NEU)、淋巴细胞 (LYM) 和单核细胞 (MONO) 的水平在正常范围内。如图10b所示,贫血相关值(例如,红细胞、血红蛋白和血细胞比容)没有显示任何显著发现,并且还检查了平均红细胞容积 (MCV)、平均红细胞血红蛋白 (MCH) 和血小板计数 (PLT)。

[0298] 6) 通过高通量筛选评价DS-24游离毒素在细胞系和源自脑肿瘤患者的细胞中的作用

[0299] 图11a、图11b和图11c示出了证实除了化合物3 (DS-24) 之外的七种有效负载分别对胶质母细胞瘤细胞系U87MG、多发性骨髓瘤细胞系KMS11和膀胱癌细胞系RT112的细胞活力抑制作用的数据。此外,图12a、图12b、图12c、图12d、图12e和图12f示出了证实除了化合物3 (DS-24) 之外的七种有效负载分别对源自患有胶质母细胞瘤的患者的6种细胞的细胞活力抑制作用的数据。

[0300] 在用基于20 $\mu$ M为最高浓度稀释至14种不同浓度的药物处理后,通过两次重复试验

的浓度图验证效果是否与药物浓度成比例。药物处理后7天分析细胞活力以计算抑制50%细胞活力的 $IC_{50}$ 。

[0301] 分析的 $IC_{50}$ 值显示在下表2中,与KMS11和RT112相比,DM1、DM4、MMAE和MMAF显示对源自胶质母细胞瘤患者的细胞的细胞活力抑制作用显著降低。SN-38和deruxtecan-接头在所有细胞中表现出相似的功效,但与其他有效负载相比,具有较低的细胞活力抑制作用。DS-24在比较物质中表现出最高的细胞活力抑制作用。

[0302] 特别地,在源自胶质母细胞瘤患者的细胞和细胞系(U87MG)中,DS-24表现出的 $IC_{50}$ 值是其他所比较的有效负载的 $IC_{50}$ 值的约1/100至约1/1,000。因此,认为根据本发明的DS-24药物与其他药物相比有效抑制脑肿瘤和胶质母细胞瘤的细胞活力。

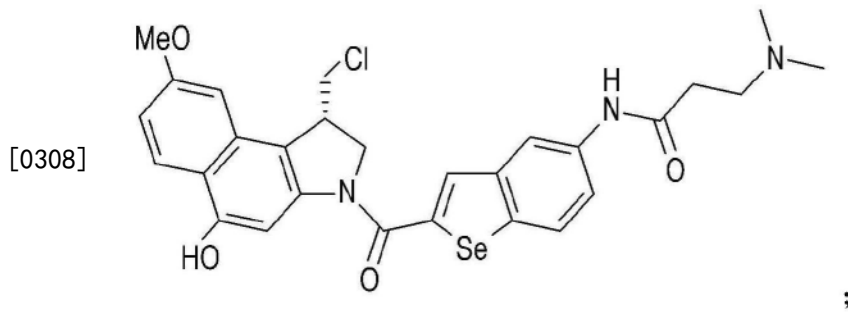
[0303] [表2]

	Dxd-接头	DS24	DM1	DM4	MMAE	MMAF	SN-38
KMS11 (MM)	N.D (未检测到)	1.22E-11	4.41E-11	2.29E-11	1.53E-10	9.14E-08	1.69E-07
RT112 (膀胱)	6.71E-06	8.37E-12	4.31E-11	2.02E-11	2.59E-10	1.12E-07	1.56E-08
U87MG (胶质母细胞瘤)	1.08E-05	3.39E-11	1.33E-08	1.51E-09	3.39E-09	3.53E-07	6.78E-08
[0304] GBM#1 (胶质母细胞瘤, PDC)	2.47E-05	9.80E-10	1.33E-07	2.98E-08	5.16E-08	1.69E-05	1.28E-07
GBM#2 (胶质母细胞瘤, PDC)	2.65E-05	2.64E-11	9.59E-08	5.31E-08	1.50E-08	1.36E-06	9.70E-08
GBM#3 (胶质母细胞瘤, PDC)	7.91E-05	3.13E-11	4.44E-04	N.D	1.67E-04	3.11E-05	1.31E-07
GBM#4 (胶质母细胞瘤, PDC)	N.D	2.15E-10	9.21E-08	8.15E-09	5.33E-08	8.86E-06	1.46E-07

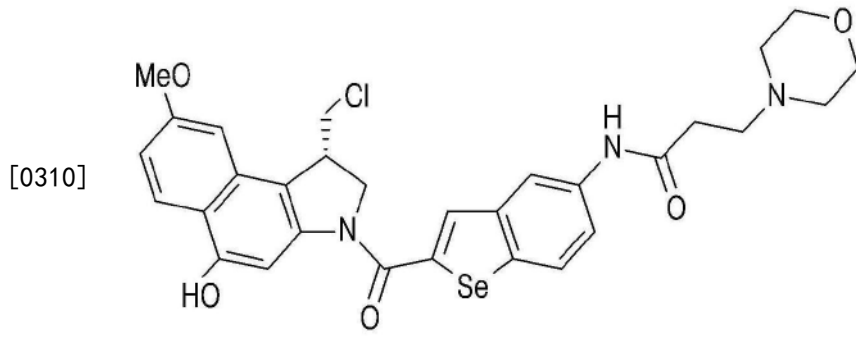
[0305] 8. 化合物3与化合物2相比的抗癌活性分析

[0306] 尽管本发明人先前制备了以下化合物2并分析了其抗癌活性,但证实根据本公开的以下化合物3与化合物2相比具有显著优异的抗癌活性。具体而言,进行了细胞生长抑制测定:

[0307] [化合物2] (DS-26)



[0309] [化合物3] (DS-24)



[0311] 将购自美国典型培养物保藏中心 (ATCC; Manassas, VA, USA) Her2-阳性人胃癌细胞 NCI-N87 和人卵巢癌细胞 SK-OV3 以 500 个细胞/孔接种到 384 孔板中。铺板 2h 后, 将细胞以 5 倍和 14 点系列稀释系列用毒素处理, 重复四次。在 37°C 在 5% CO<sub>2</sub> 加湿培养器中温育 3 天后, 使用基于萤火虫荧光素酶的三磷酸腺苷监测系统 (ATPlite™ 1step, PerkinElmer, MA, USA) 检查细胞活力。IC<sub>50</sub> 值计算为四次重复试验的平均值 (GraphPad Prism 5.0, CA 和 USA)。具体实验值如下表 3 所示。图 13a 和图 13b 是分别示出取决于 DS-24 和 DS-26 浓度的 NCI-N87 的细胞活力的图线, 图 14a 和图 14b 是分别示出取决于 DS-24 和 DS-26 浓度的 SK-OV3 的细胞活力的图。

[0312] [表 3]

[0313]	IC <sub>50</sub> (pM)/ AUC NCI-N87	IC <sub>50</sub> (pM)/ AUC SK-OV3
[0314]	化合物 2 (DS-26) 55 / 477	42 / 481
	化合物 3 (DS-24) 0.05 / 277	0.01 / 160

[0315] (\*AUC: 曲线下面积)

[0316] 提供本公开的上述描述是为了说明的目的, 本领域技术人员应当理解, 在不改变本公开的技术构思和本质特征的情况下, 可以进行各种变化和修改。因此, 显然上述实施例在所有方面都是说明性的并且不限制本公开。例如, 被描述为单一类型的每个组成部分可以以分布式方式实现。同样, 描述为分布式的组成部分可以以组合方式实现。

[0317] 本公开的范围由所附权利要求而不是由实施方案的详细描述限定。应当理解, 根据权利要求及其等同方案的含义和范围所设想的所有修改和实施方案均包括在本发明的范围内。

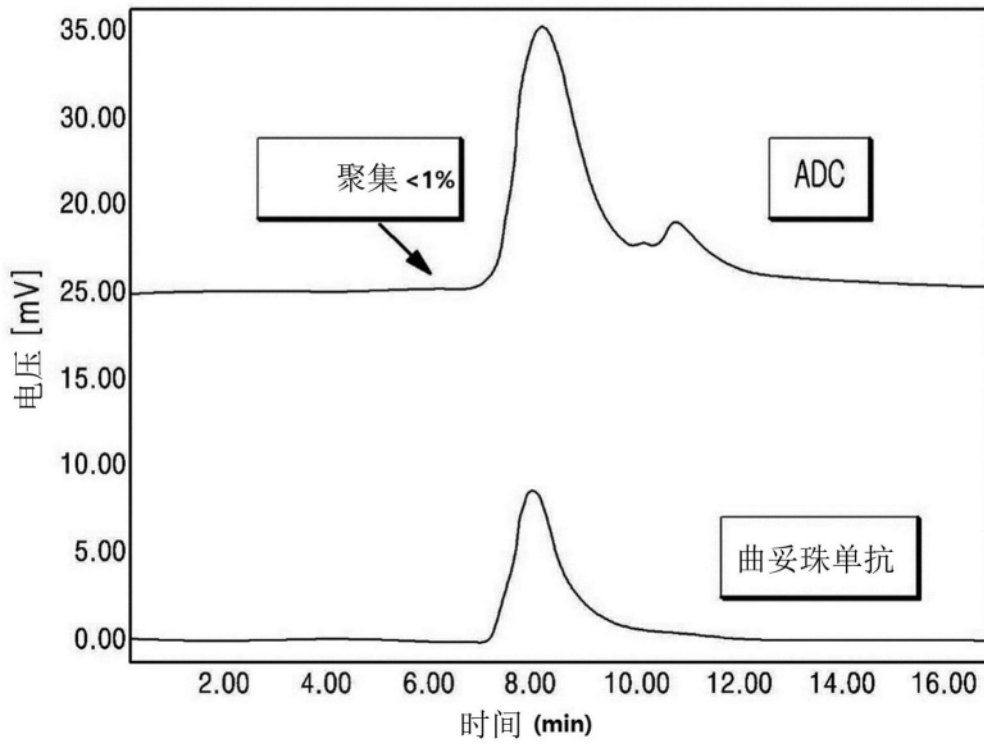


图1

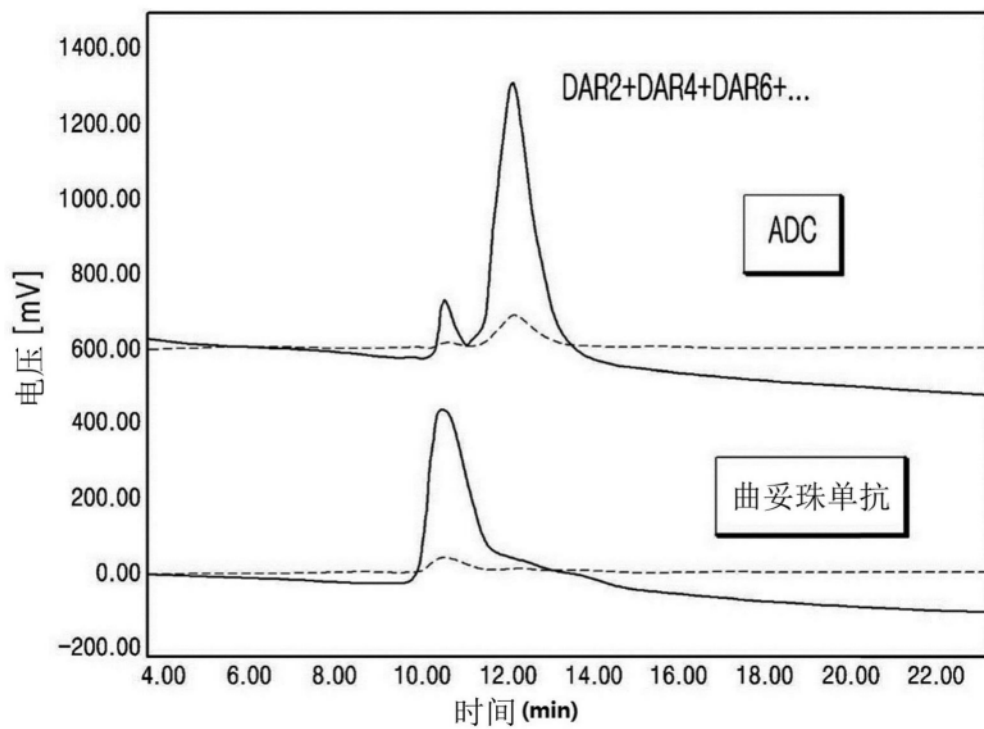


图2

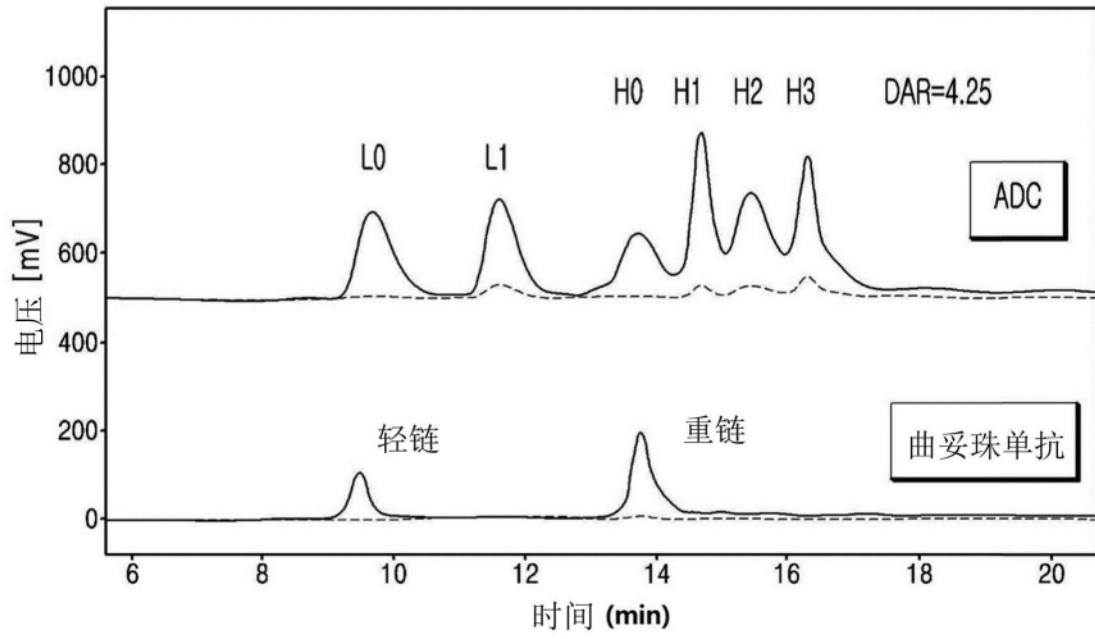


图3



- ✓ 细胞: **B16F10** (鼠科动物黑色素瘤细胞系)
- ✓ 细胞数量:  $1 \times 10^5$  个细胞/小鼠
- ✓ 施用范围: **DS-24** (5 ug/kg, 50 ug/kg, 100 ug/kg, IV, 每周两次)

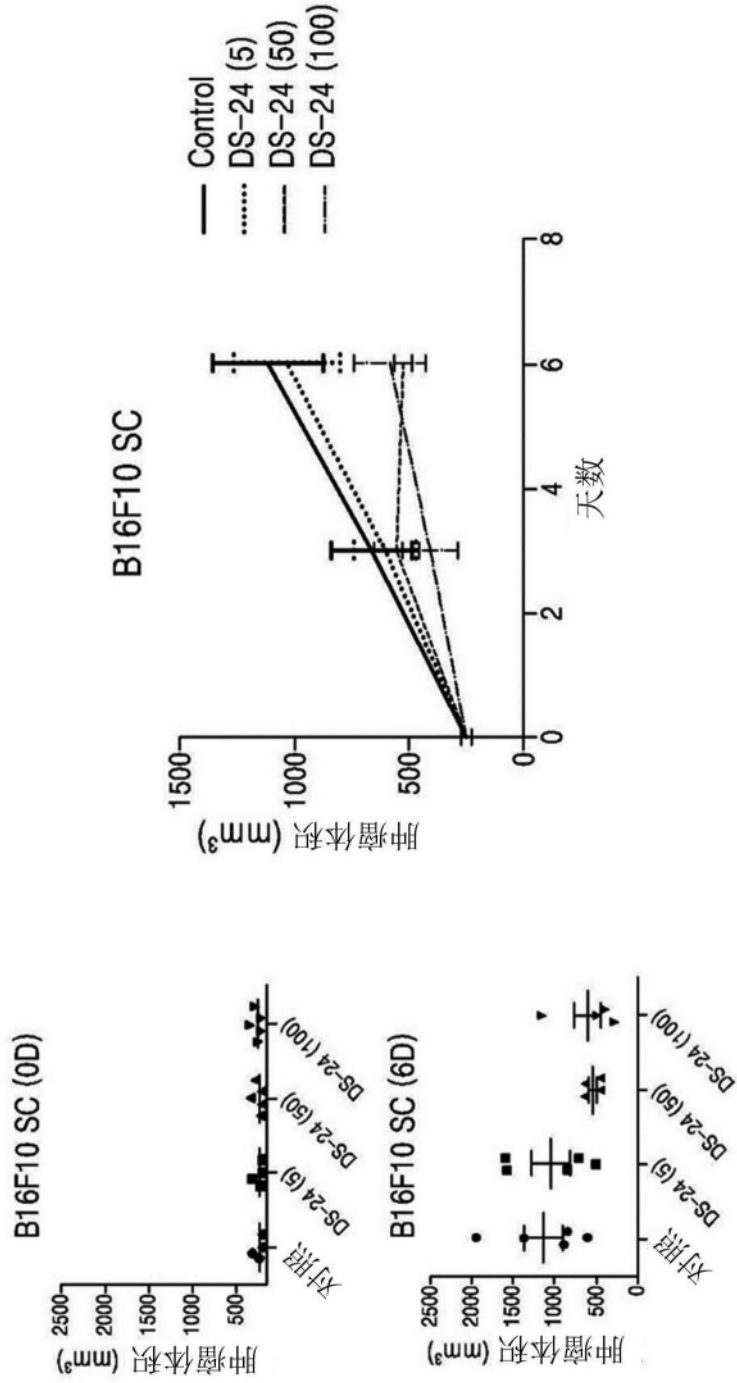


图5

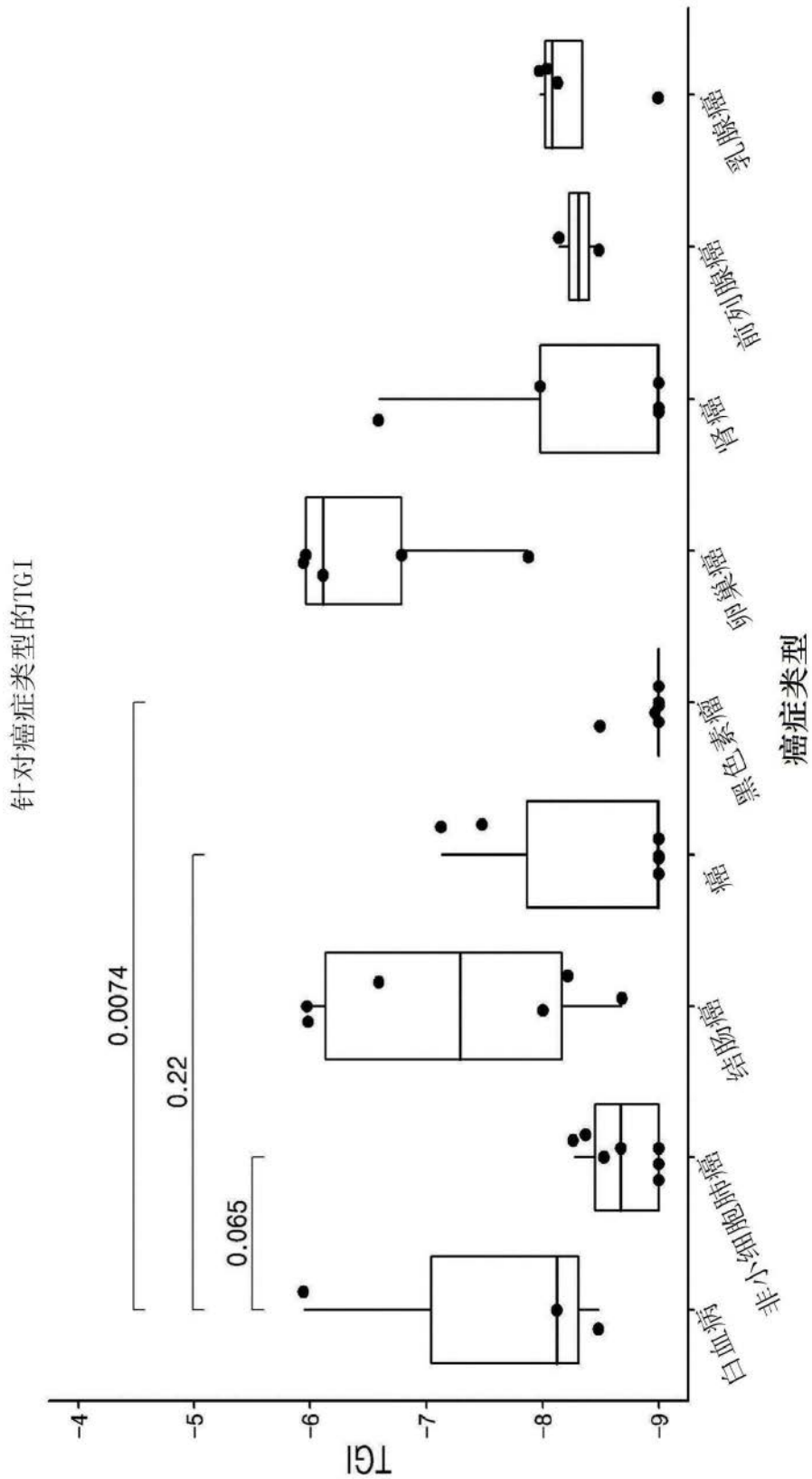


图6

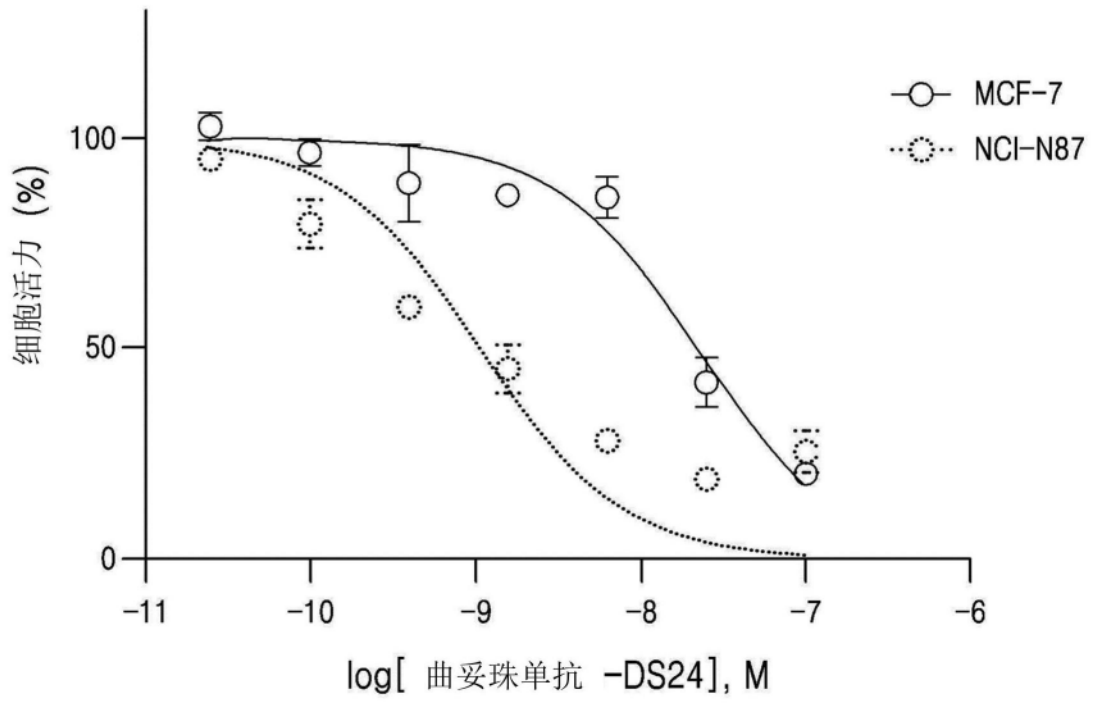


图7a

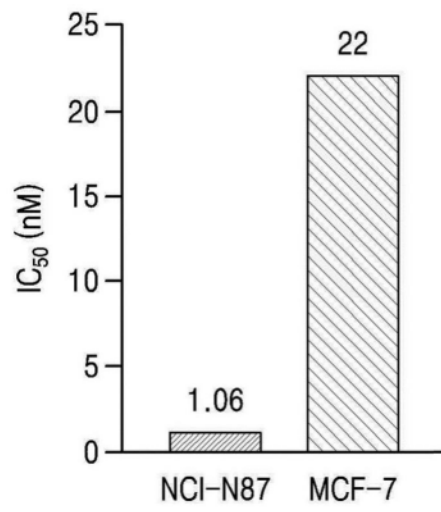


图7b

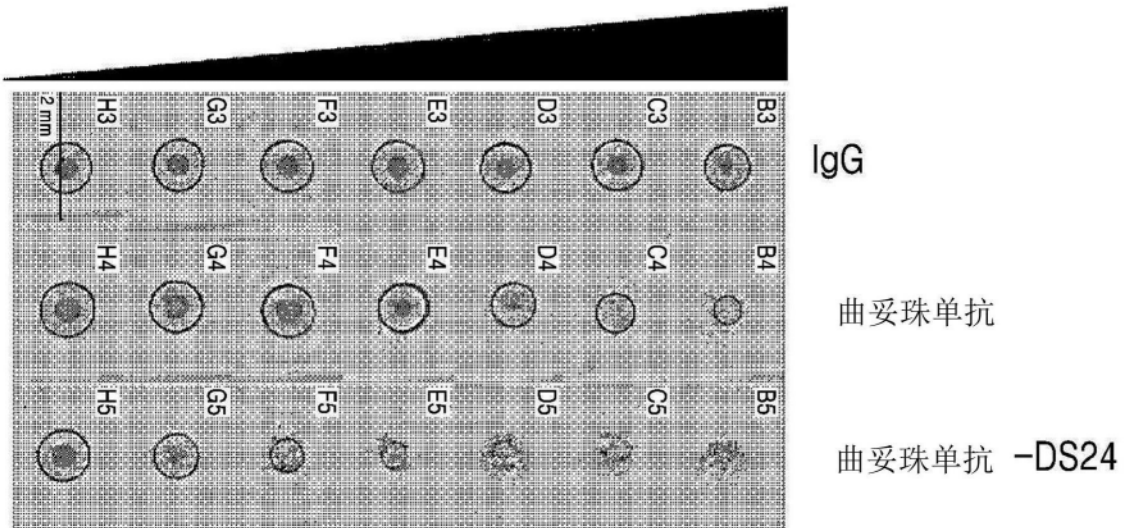


图8a

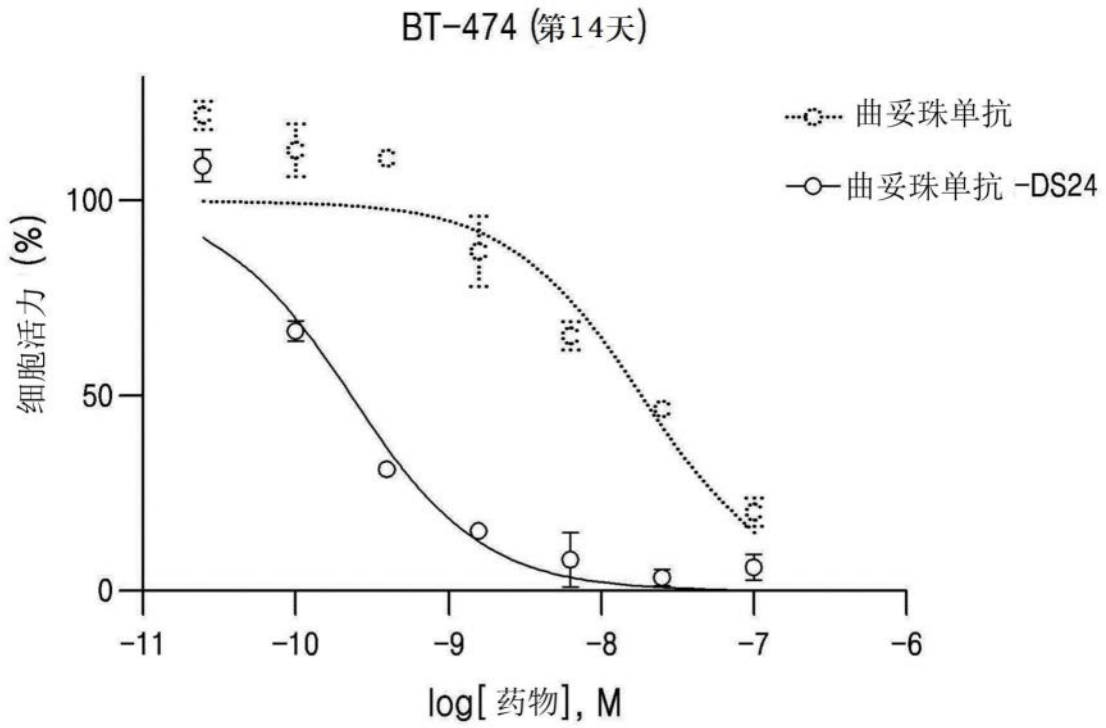


图8b

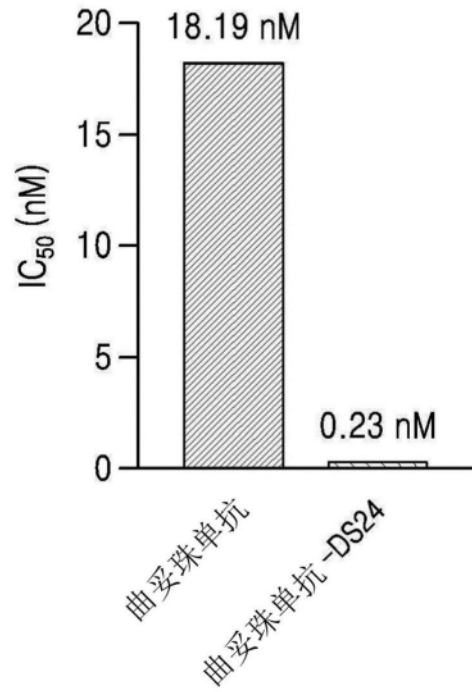


图8c

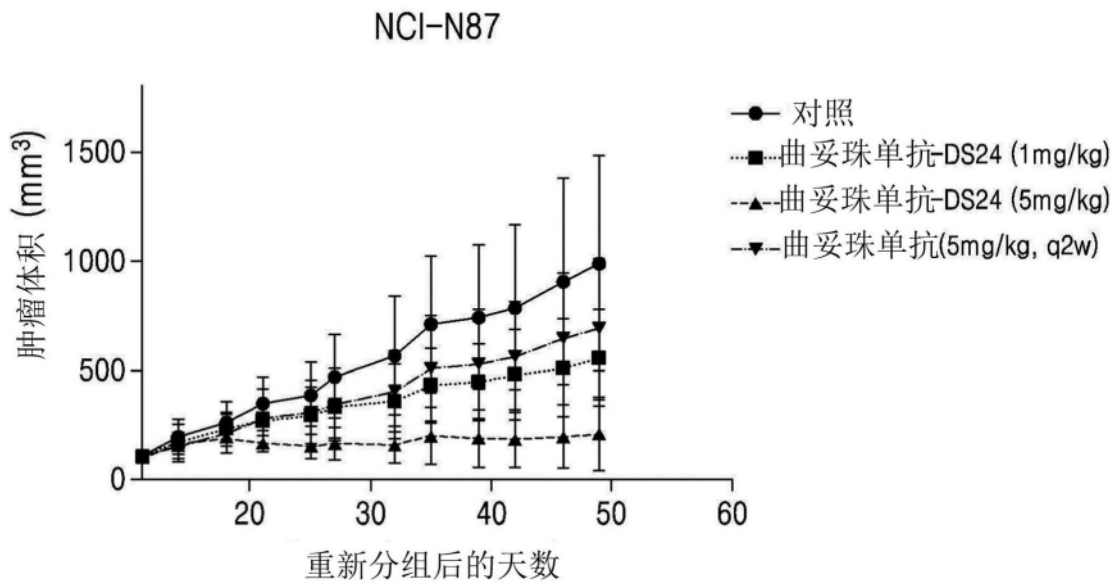


图9a

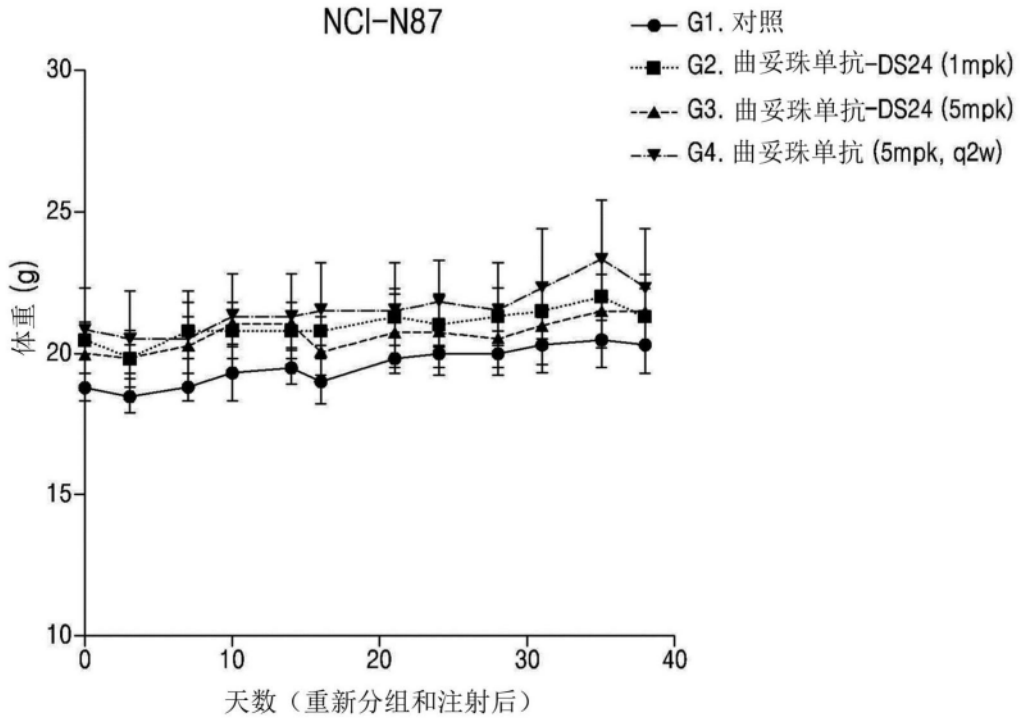


图9b

CBC 分析 (平均值±SD)

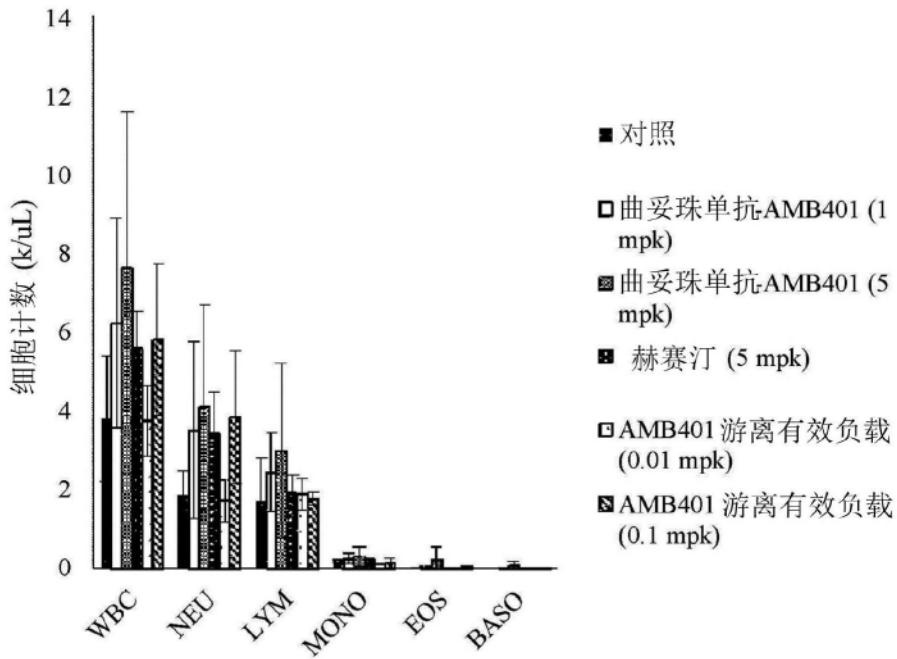


图10a

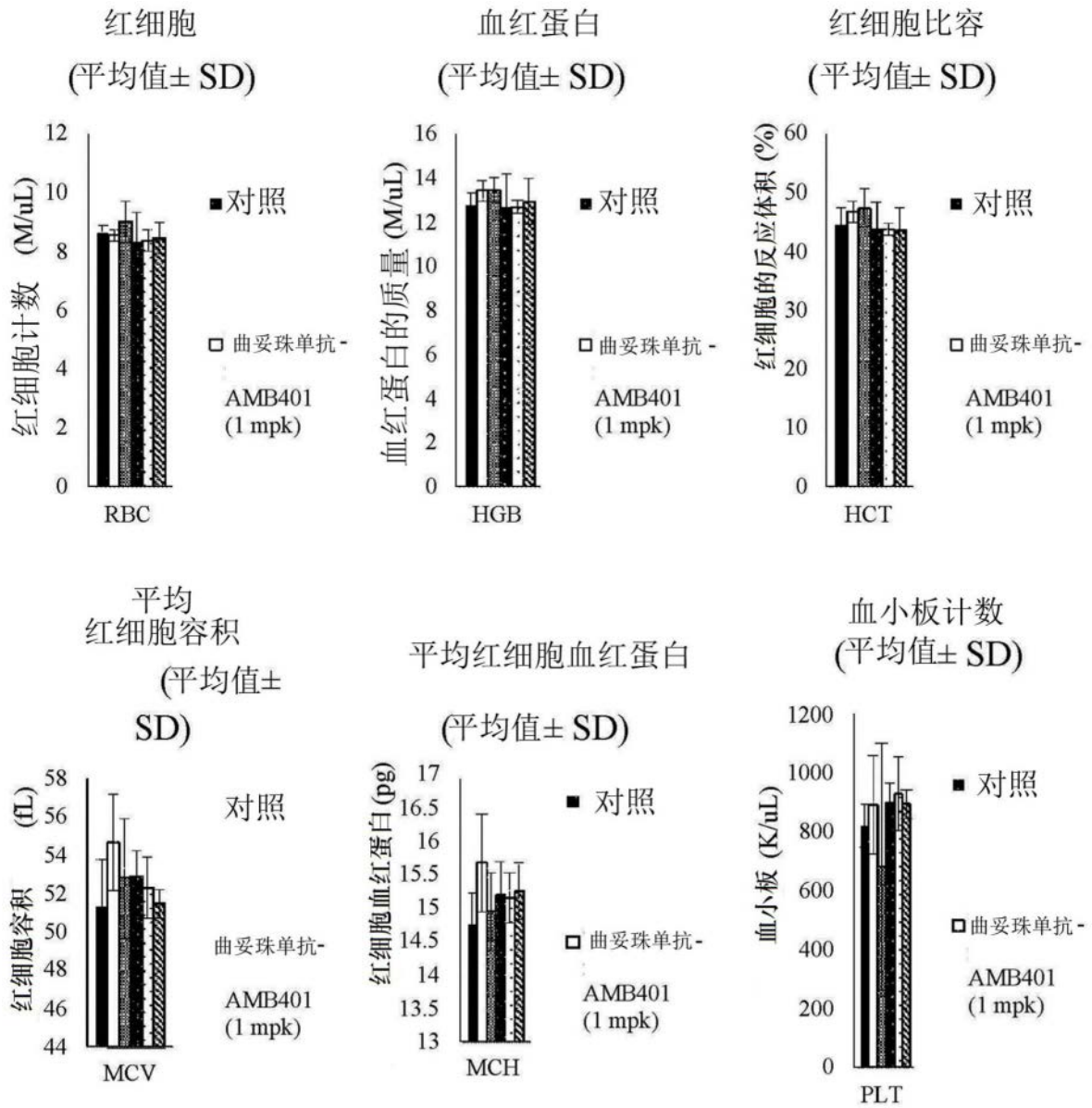


图10b

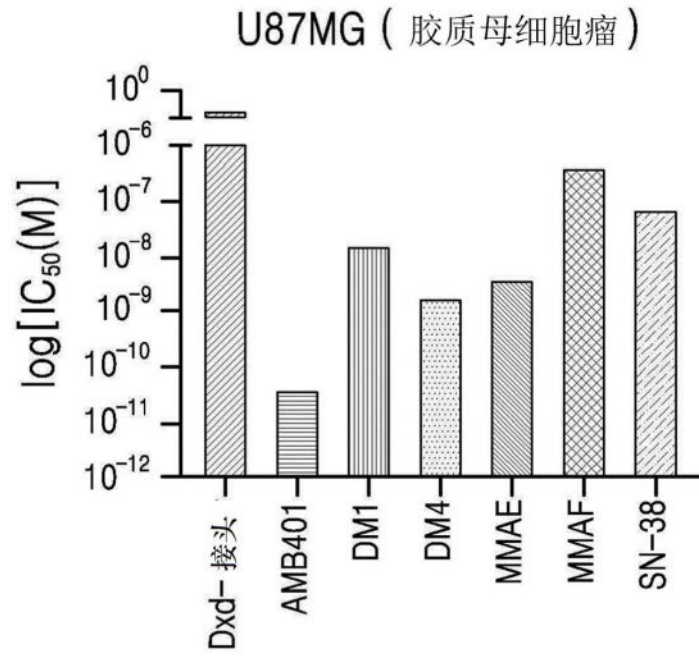


图11a

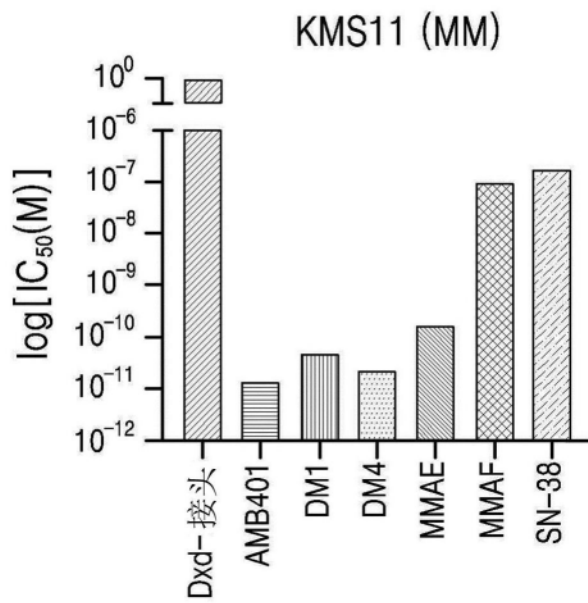


图11b

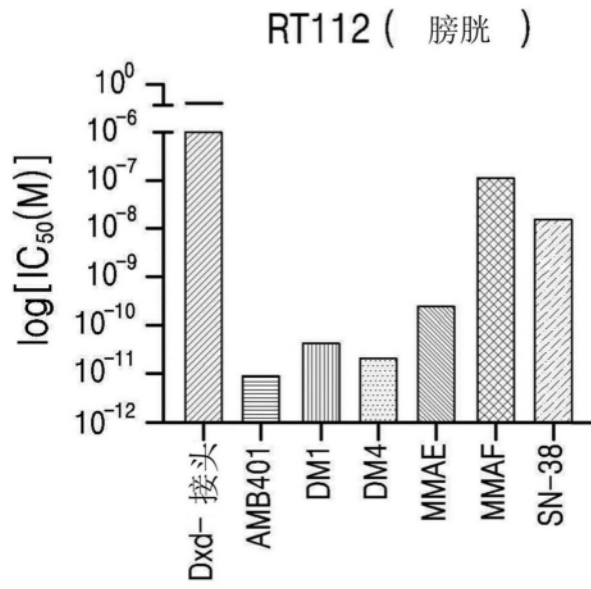


图11c

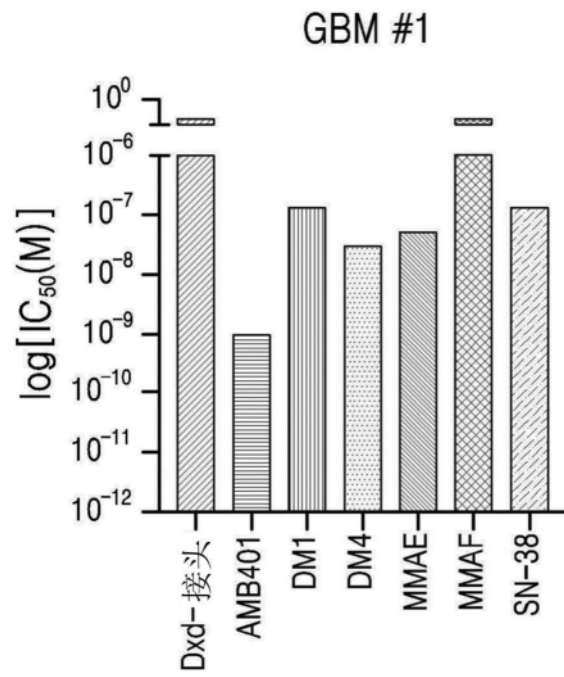


图12a

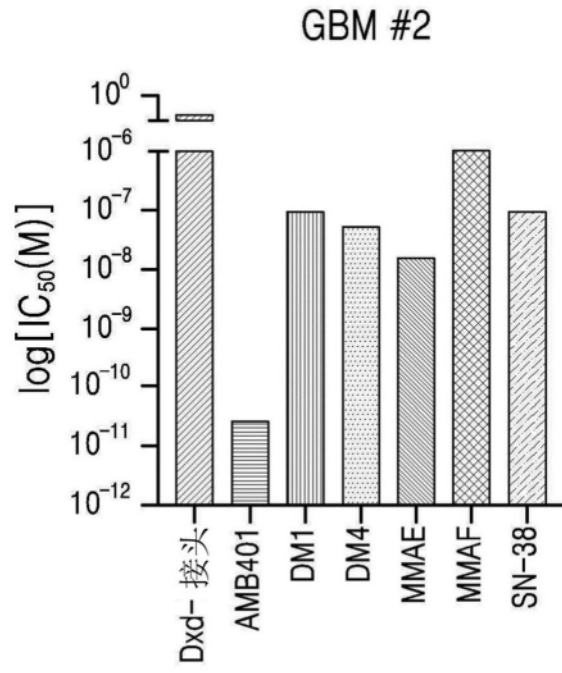


图12b

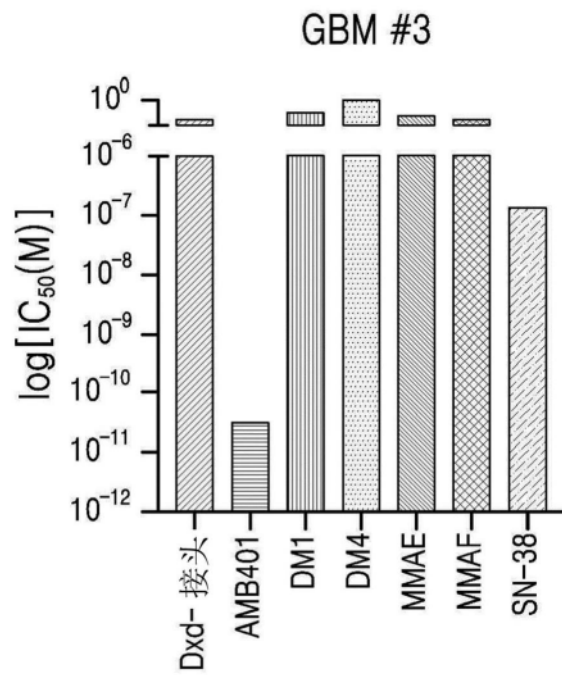


图12c

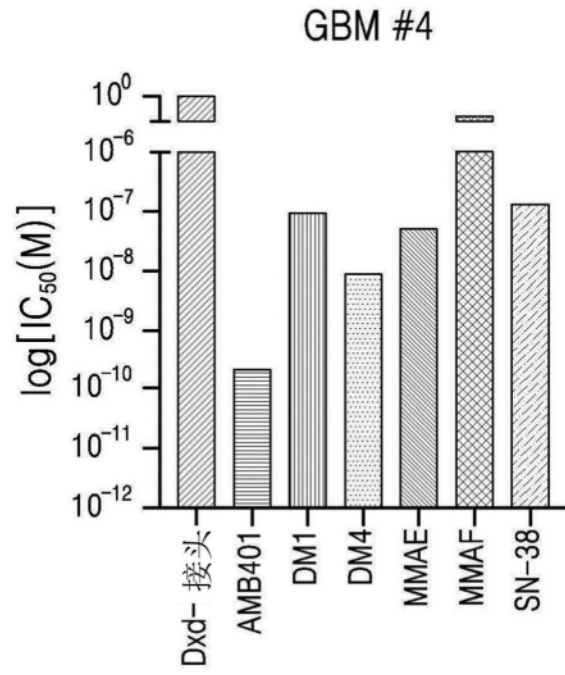


图12d

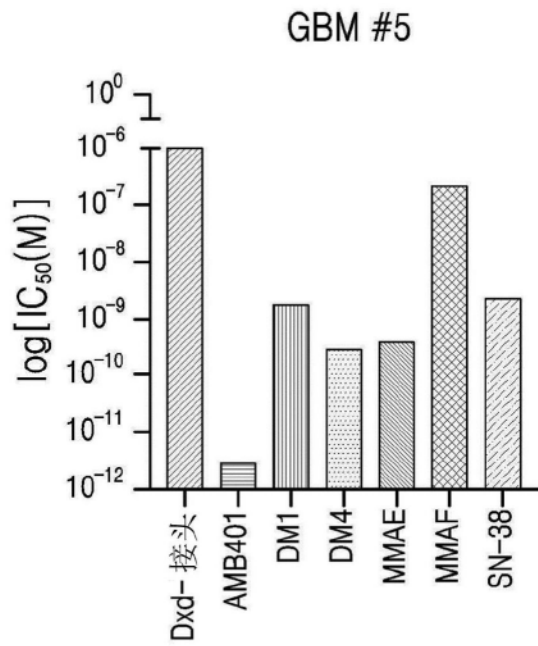


图12e

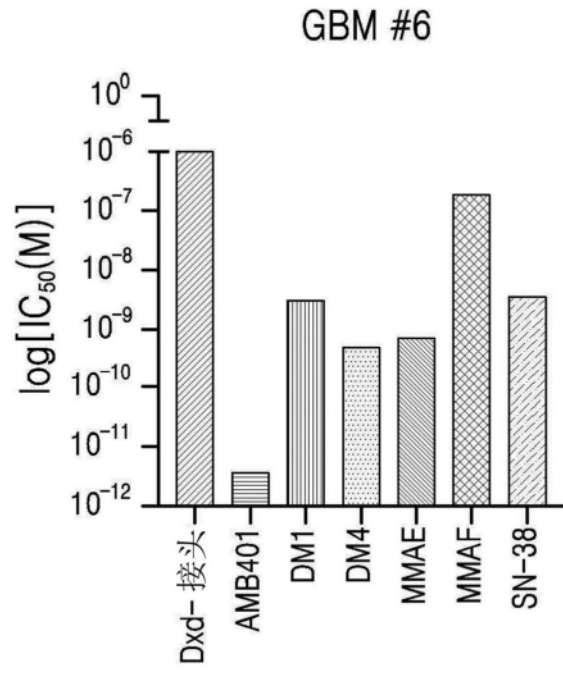


图12f

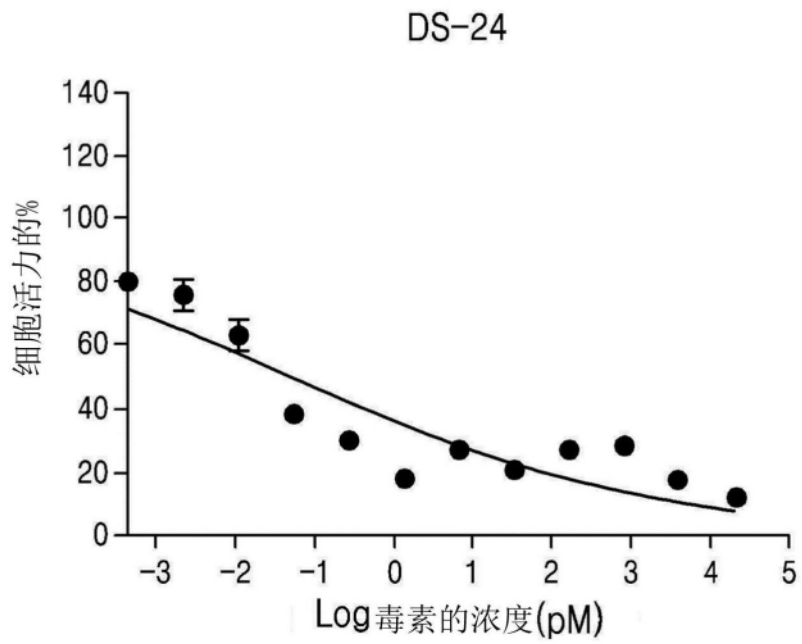


图13a

DS-26

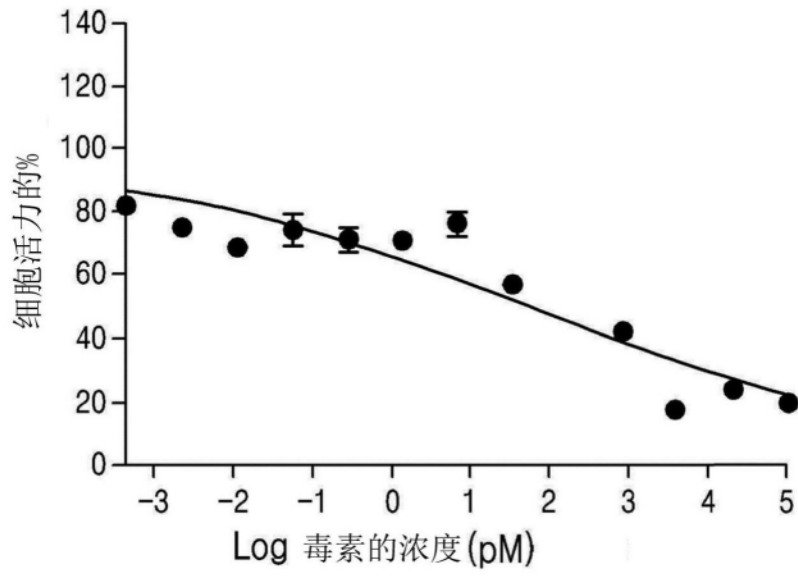


图13b

DS-24

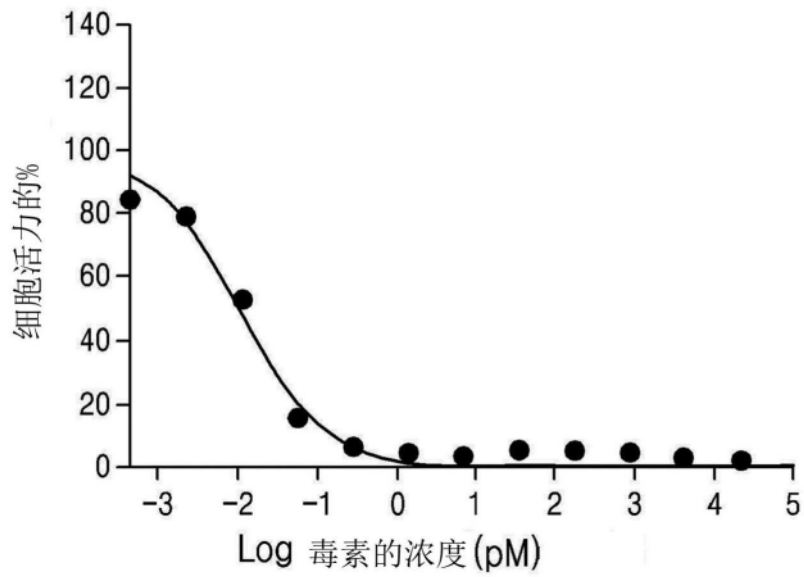


图14a

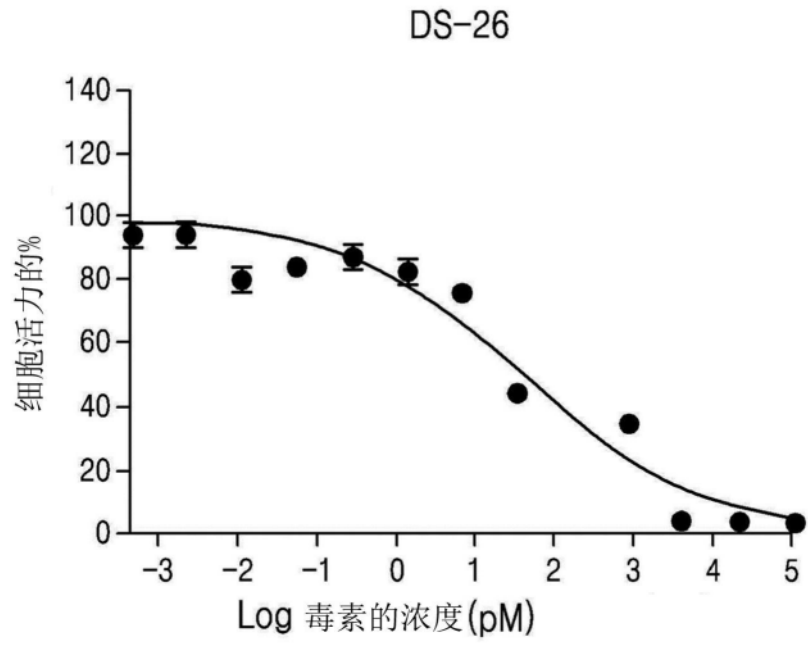


图14b