

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2023年12月7日 (07.12.2023)



(10) 国际公布号
WO 2023/232145 A1

(51) 国际专利分类号:
C07D 491/22 (2006.01) A61K 31/4375 (2006.01)
C07D 498/22 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2023/098113

(22) 国际申请日: 2023年6月2日 (02.06.2023)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202210625888.2 2022年6月2日 (02.06.2022) CN

(71) 申请人: 华东师范大学 (EAST CHINA NORMAL UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国上海市闵行区东川路500号, Shanghai 200241 (CN)。上海医药集团股份有限公司 (SHANGHAI PHARMACEUTICALS

HOLDING CO., LTD.) [CN/CN]; 中国上海市浦东新区张江路92号, Shanghai 201203 (CN)。

(72) 发明人: 吕伟 (LV, Wei); 中国上海市闵行区东川路500号, Shanghai 200241 (CN)。程祉扬 (CHENG, Zhiyang); 中国上海市浦东新区张江路92号, Shanghai 201203 (CN)。周伟 (ZHOU, Wei); 中国上海市浦东新区张江路92号, Shanghai 201203 (CN)。夏广新 (XIA, Guangxin); 中国上海市浦东新区张江路92号, Shanghai 201203 (CN)。朱阳 (ZHU, Yang); 中国上海市浦东新区张江路92号, Shanghai 201203 (CN)。柯樱 (KE, Ying); 中国上海市浦东新区张江路92号, Shanghai 201203 (CN)。陈娜 (CHEN, Na); 中国上海市浦东新区张江路92号, Shanghai 201203 (CN)。

(74) 代理人: 上海弼兴律师事务所 (SHANGHAI BESHINING LAW OFFICE); 中国上海市徐汇

(54) Title: SMALL MOLECULE OF HOMOCAMPTOTHECINS AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 一种高喜树碱类小分子及其应用

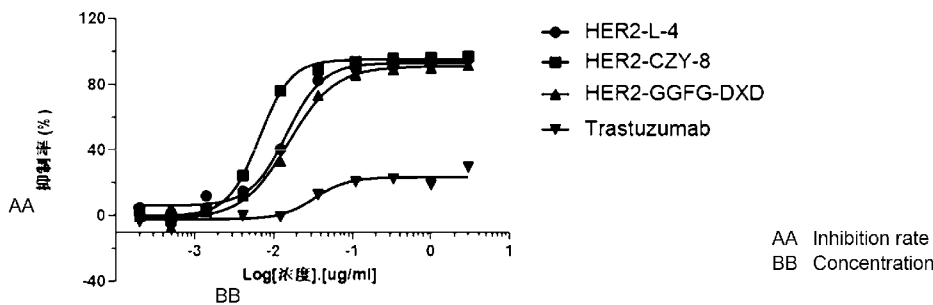
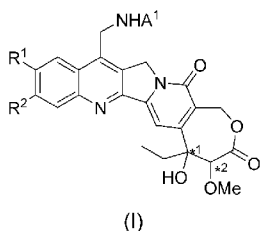


图1

(57) Abstract: Disclosed in the present invention are a small molecule of homocamptothecins and the use thereof. Specifically disclosed in the present invention are a small molecule of homocamptothecins as shown in formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and an antibody-drug conjugate thereof; and same can inhibit the proliferation of tumor cells.

(57) 摘要: 本发明公开了一种高喜树碱类小分子及其应用。本发明具体公开了一种如式 (I) 所示的高喜树碱类小分子或其药学上可接受的盐, 及其抗体药物偶联物, 能够抑制肿瘤细胞的增殖。

WO 2023/232145 A1

区小木桥路 681 号外经大厦 21 楼,
Shanghai 200032 (CN)。

- (81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。
- (84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

根据细则4.17的声明:

- 关于申请人有权申请并被授予专利(细则4.17(ii))
- 发明人资格(细则4.17(iv))

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

一种高喜树碱类小分子及其应用

本申请要求申请日为 2022/6/2 的中国专利申请 2022106258882 的优先权。本申请引用上述中国专利申请的全文。

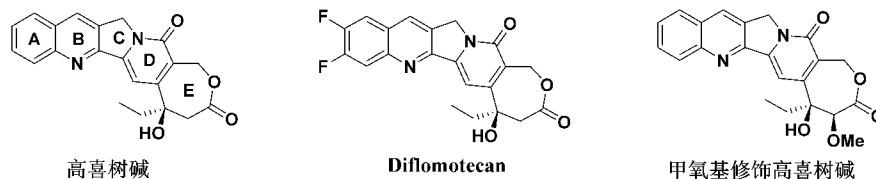
技术领域

本发明涉及一种高喜树碱类小分子及其应用。

背景技术

喜树碱类化合物是 DNA 拓扑异构酶 I 的特异性抑制剂。喜树碱类化合物通过与 Topo I-DNA 可裂解二元复合物的结合形成稳定的 Topo I-DNA-CPT 三元复合物,影响了 DNA 的再连接,加大了 Topo I 介导的 DNA 损伤,最终导致细胞死亡。

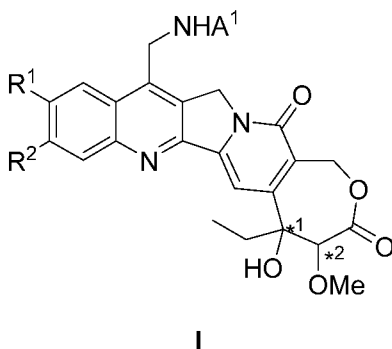
传统喜树碱化合物是一个五环喹啉类生物碱,结构中包含喹啉环 AB、吡咯环 C、吡啶酮环 D 和 α -羟基内酯环 E,其中 20-位为 S 构型。1998 年, Bigg 等人发现包含一个七元 β -羟基内酯环结构的高喜树碱类化合物,在增加内酯环稳定性的同时保持了抗肿瘤活性(Bailly, C. Crit. Rev. Oncol. Hematol. **2003**, 45, 91)。其中 Diflomotecan 是第一个进入临床研究的高喜树碱类化合物,表现出高的体外细胞毒性和良好的体内抗肿瘤活性;Diflomotecan 的 Topo I 抑制活性要强于喜树碱(Kroep, J. R.; Gelderblom, H. Expert. Opin. Investig. Drugs **2009**, 18, 69)。吕伟课题组在高喜树碱的结构基础上,在内酯环羧基 α 位引入甲氧基制备新型高喜树碱衍生物。甲氧基修饰的高喜树碱衍生物在保持高细胞毒活性,其相关衍生物在某些肿瘤细胞中能达到 pM 级别的肿瘤抑制活性,并且在体内抗肿瘤实验中表现出优异的抗肿瘤效果和低毒性(DOI: 10.1016/j.bmc.2015.03.031),进一步表明以甲氧基修饰的高喜树碱母核结构用于新型喜树碱结构改造的可行性。同时,该类母核衍生物体现的高细胞毒活性也为高喜树碱类衍生物用于抗体药物偶联物提供可能。但目前,高喜树碱衍生物并未有作为 ADC 效应分子报道。



发明内容

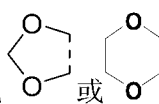
本发明所要解决的技术问题是为了克服现有技术中高喜树碱类衍生物及其抗体药物偶联物结构单一的缺陷,而提供了一种高喜树碱类小分子、抗体药物偶联物及其应用。本发明提供的高喜树碱类小分子、抗体药物偶联物具有很好的细胞毒活性,能够抑制肿瘤细胞的增值。

本发明提供了一种如式 I 所示的高喜树碱类小分子或其药学上可接受的盐,



其中，A¹为H或-C(=O)-C₁₋₆亚烷基-OH；

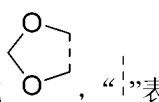
R¹和R²独立地为C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基或卤素；

或者R¹和R²与相邻的碳原子形成 ， “|”表示并环的连接位置；

以“*1”和“*2”标记的碳原子独立地表示S构型、R构型或它们的混合物。

在本发明的某一方案中，所述的如式I所示的高喜树碱类小分子或其药学上可接受的盐中，A¹为H或-C(=O)-C₁₋₆亚烷基-OH；

R¹和R²独立地为C₁₋₆烷基或卤素；

或者R¹和R²与相邻的碳原子形成 ， “|”表示并环的连接位置；

以“*1”和“*2”标记的碳原子独立地表示S构型、R构型或它们的混合物。

在本发明的某一方案中，所述的药学上可接受的盐可为三氟醋酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、磷酸盐、硫酸盐、高氯酸盐、乙酸盐、草酸盐、马来酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、琥珀酸盐或丙二酸盐，例如三氟醋酸盐。

在本发明的某一方案中，A¹为-C(=O)-C₁₋₆亚烷基-OH时，所述的C₁₋₆亚烷基优选为-CH₂-、-CH₂CH₂-、-CH₂CH₂CH₂-或-CH(CH₃)CH₂-，例如-CH₂-。

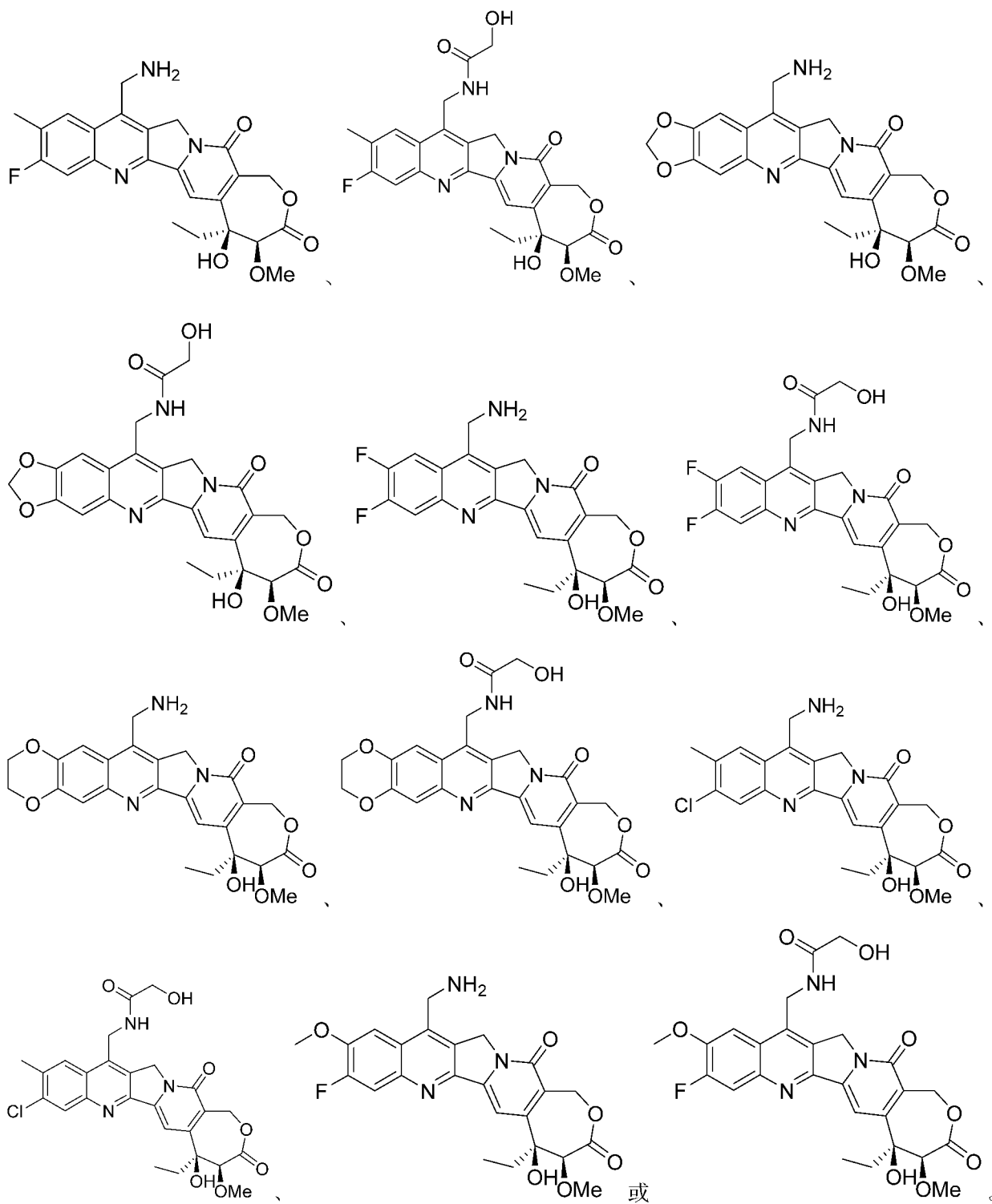
在本发明的某一方案中，R¹和R²独立地为C₁₋₆烷基时，所述的C₁₋₆烷基优选为甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基或叔丁基，例如甲基。

在本发明的某一方案中，R¹和R²独立地为C₁₋₆烷氧基时，所述的C₁₋₆烷氧基为甲氧基、-OCH₂CH₃、异丙氧基或叔丁氧基，例如甲氧基。

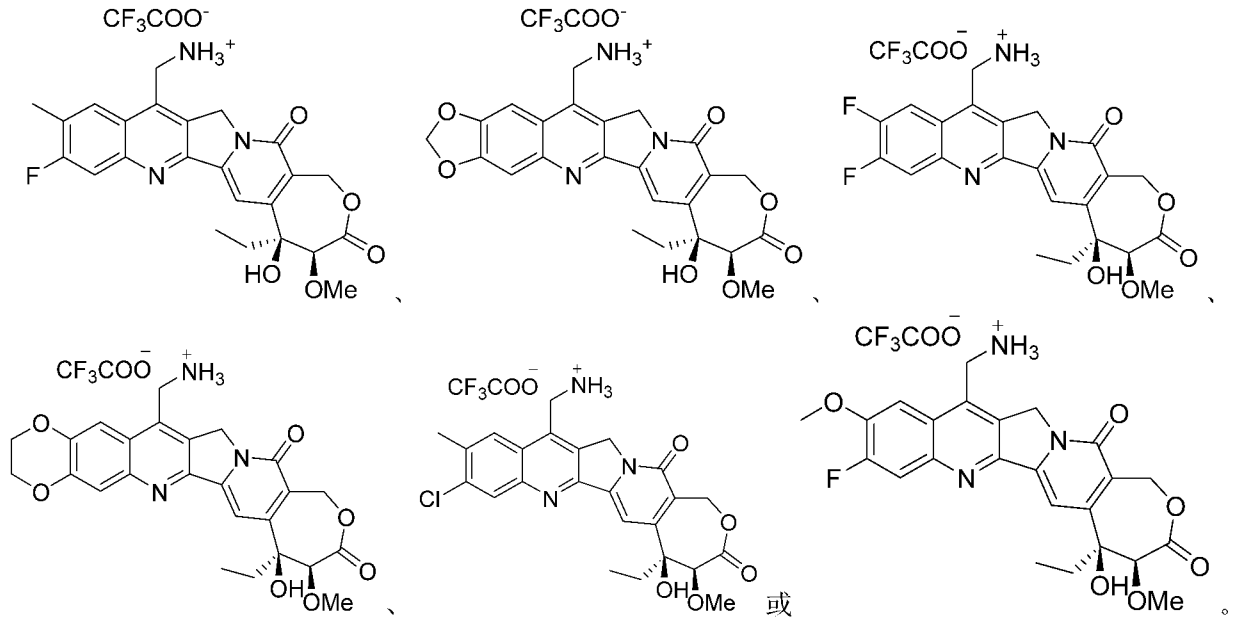
在本发明的某一方案中，R¹和R²独立地为卤素时，所述的卤素为氟、氯、溴或碘，例如氟。

在本发明的某一方案中，A¹为H或-C(=O)CH₂OH。

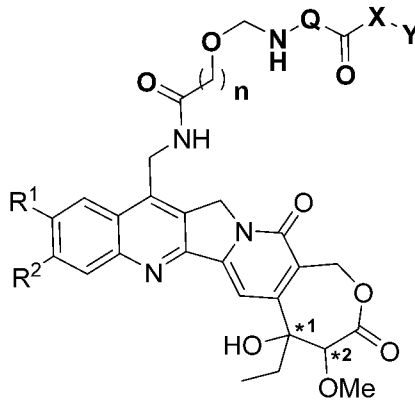
在本发明的某一方案中，所述的如式I所示的高喜树碱类小分子选自如下任一结构：



在本发明的某一方案中，所述的如式 I 所示的高喜树碱类小分子其药学上可接受的盐选自如下任一结构：



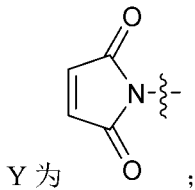
本发明还提供了一种如式 II 所示的连接基-药物偶联物，



II

其中，Q 为单个氨基酸残基、二肽残基、三肽残基或四肽残基；

X 为 $-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_m-$ 、 $-(\text{CR}^a\text{R}^b)_m-$ 、 $-\text{O}(\text{CR}^a\text{R}^b)_m-$ 、 $-\text{NH}-(\text{CR}^a\text{R}^b)_m-\text{CR}^c\text{R}^d-$ 或 $-\text{S}(\text{CR}^a\text{R}^b)_m-\text{CR}^c\text{R}^d-$ ；



Y 为

R^a 和 R^b 独立地为 H、D、卤素、 C_{1-6} 烷基、卤代 C_{1-6} 烷基、氘代 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、羟基、氨基、氰基、硝基、3-10 元环烷基或 3-10 元杂环基；

或者， R^a 和 R^b 与其相连接的碳原子一起形成 3-10 元环烷基或 3-10 元杂环基；

R^c 和 R^d 独立地为 H、 C_{1-6} 烷基、卤素、卤代 C_{1-6} 烷基、氘代 C_{1-6} 烷基、3-10 元环烷基、3-10 元杂环基、6-14 元芳基或 5-10 元杂芳基；

或者， R^c 和 R^d 与其相连接的碳原子一起形成 3-10 元环烷基或 3-10 元杂环基；

m 独立地为 0-10;

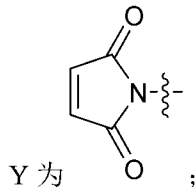
n 为 1-6;

R¹、R²、“*1”和“*2”的定义如前所述。

在本发明的某一方案中，所述 3-10 元杂环基和 5-10 元杂芳基中的杂原子选自 N、O 和 S 中的一种或多种，杂原子的个数为 1-3 个。

在本发明的某一方案中，所述的如式 II 所示的连接基-药物偶联物中，Q 为单个氨基酸残基、二肽残基、三肽残基或四肽残基；

X 为-(OCH₂CH₂)_m-、-(CR^aR^b)_m-、-O(CR^aR^b)_m-、-NH-(CR^aR^b)_m-CR^cR^d-或-S(CR^aR^b)_m-CR^cR^d-;



R^a 和 R^b 独立地为 H、D、卤素、C₁₋₆ 烷基、卤代 C₁₋₆ 烷基、氘代 C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基、羟基、氨基、氰基、硝基、3-10 元环烷基或 3-10 元杂环基；

或者，R^a 和 R^b 与其相连接的碳原子一起形成 3-10 元环烷基或 3-10 元杂环基；

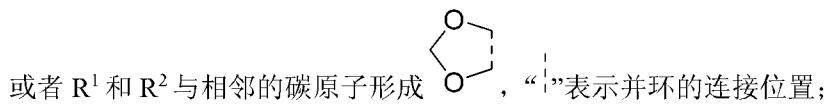
R^c 和 R^d 独立地为 H、C₁₋₆ 烷基、卤素、卤代 C₁₋₆ 烷基、氘代 C₁₋₆ 烷基、3-10 元环烷基、3-10 元杂环基、6-14 元芳基或 5-10 元杂芳基；

或者，R^c 和 R^d 与其相连接的碳原子一起形成 3-10 元环烷基或 3-10 元杂环基；

m 独立地为 0-10;

n 为 1-6;

R¹ 和 R² 独立地为 C₁₋₆ 烷基或卤素；



以“*1”和“*2”标记的碳原子独立地表示 S 构型、R 构型或它们的混合物。

在本发明的某一方案中，所述的单个氨基酸残基为-Phe-、-Lys-、-Val-、-Ala-、-Cit-、-Leu-、-Ile-、-Arg-或-Trp-。

在本发明的某一方案中，所述的二肽残基为 C^o-Lys-Phe-NH、C^o-Ala-Val-NH、C^o-Lys-Val-NH、C^o-Lys-Ala-NH、C^o-Cit-Val-NH、C^o-Cit-Phe-NH、C^o-Cit-Leu-NH、C^o-Cit-Ile-NH、C^o-Arg-Phe-NH、C^o-Cit-Trp-NH 或 C^o-Val-Gly-NH。

在本发明的某一方案中，所述的三肽残基为 C^o-Ala-Val-Glu-NH、C^o-Cit-Val-Glu-NH、C^o-Ala-Val-αGlu-NH 或 C^o-Cit-Val-αGlu-NH。

在本发明的某一方案中，所述的四肽残基为 C^o-Gly-Phe-(Gly)₂-NH 或 C^o-(Gly)₂-Phe-Gly-NH。

在本发明的某一方案中，所述的二肽残基、三肽残基或四肽残基中的 C=O 表示所述的二肽残基、三肽残基或四肽残基的左侧通过羰基与所述的如式 III 所示的抗体药物偶联物中的氨基连接，所述的

二肽残基、三肽残基或四肽残基中的 NH 表示所述的二肽残基、三肽残基或四肽残基的右侧通过氨基与所述的如式 III 所示的抗体药物偶联物中的羰基连接。

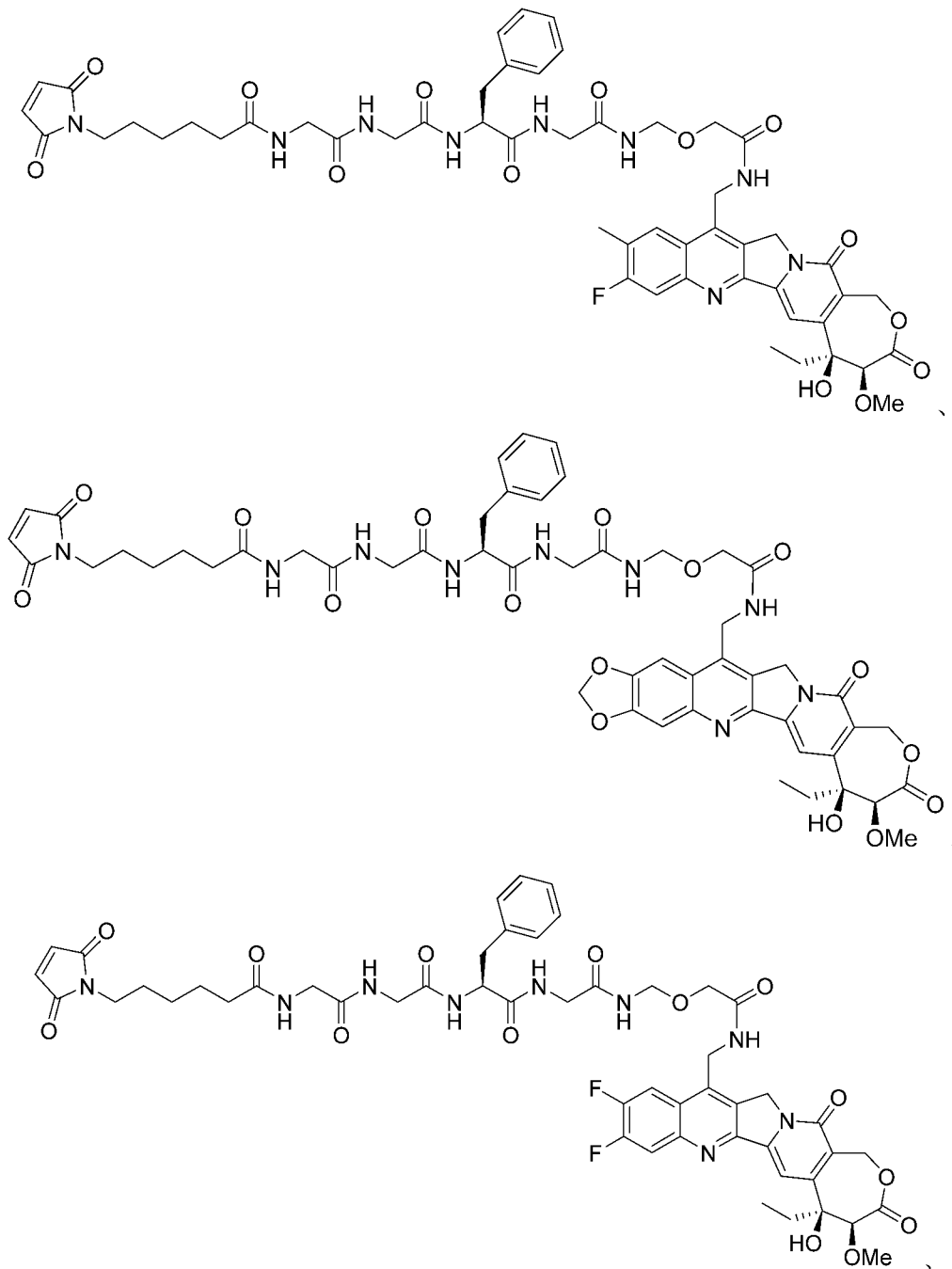
在本发明的某一方案中， R^a 和 R^b 独立地为 H。

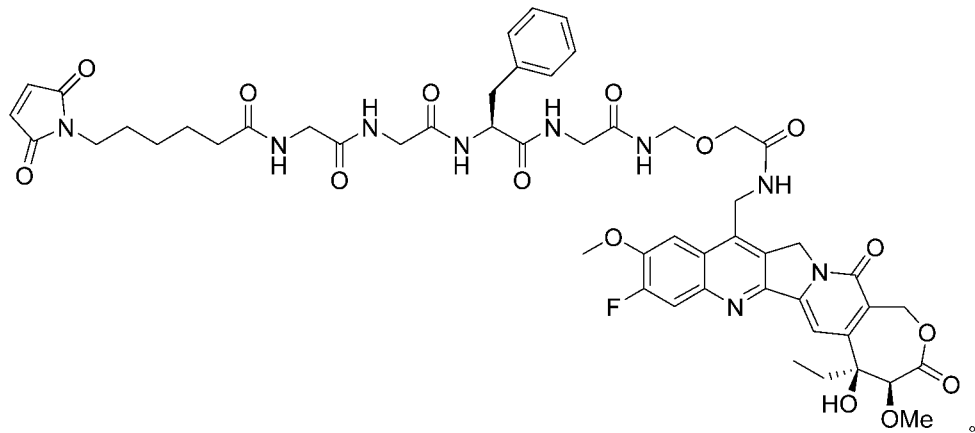
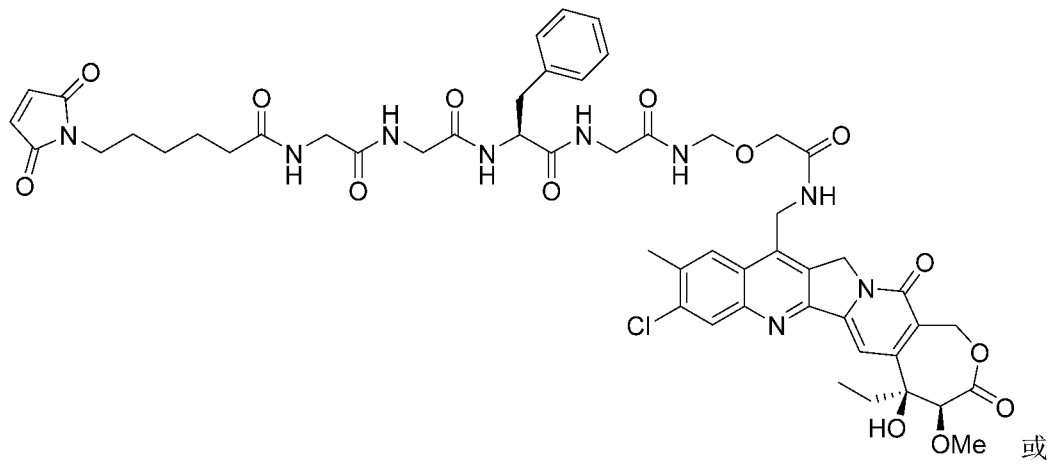
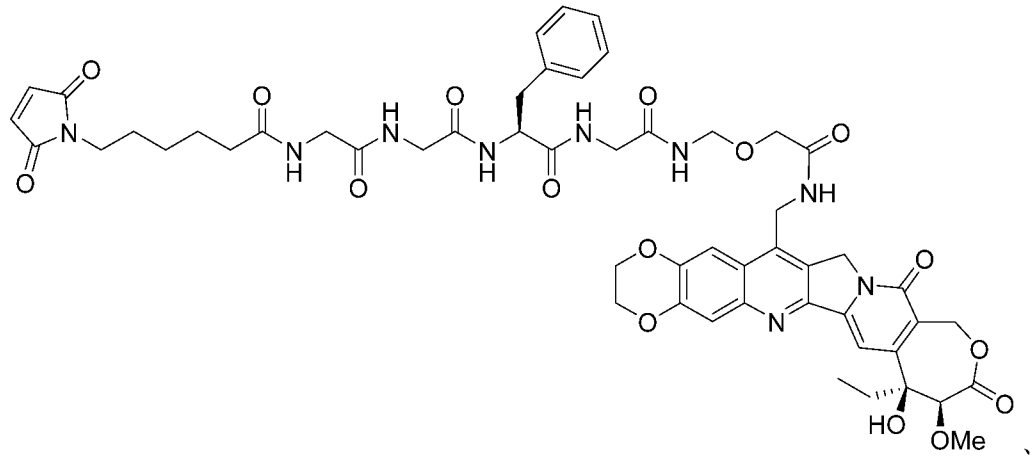
在本发明的某一方案中， m 独立地为 5。

在本发明的某一方案中， n 为 1。

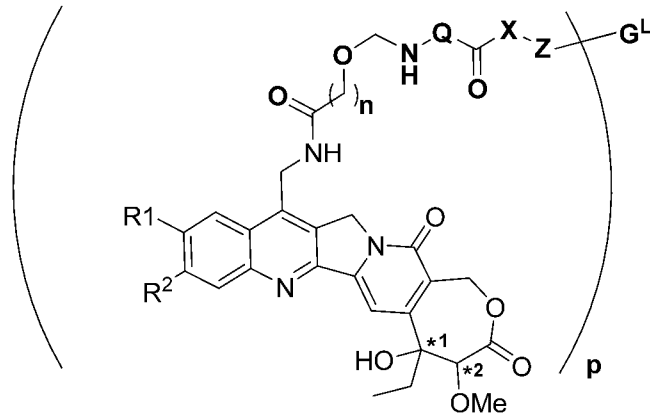
在本发明的某一方案中，所述的四肽残基为 $C^{\alpha}-Gly-Phe-(Gly)_2-NH$ 。

在本发明的某一方案中，所述的如式 II 所示的连接基-药物偶联物可为如下结构：





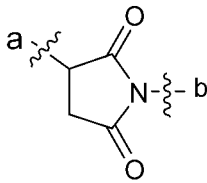
本发明还提供了一种如式 III 所示的抗体药物偶联物：

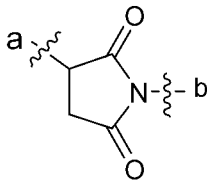


III

其中，G^L 为抗体；

p 为 1-8；

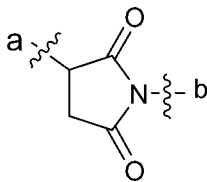


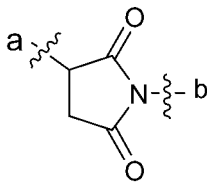
Z 为 ，其中 b 端与 X 连接，a 端与 G^L 连接；

R¹、R²、X、Q、n、“*1”和“*2”的定义如前所述。

在本发明的某一方案中，所述的如式 III 所示的抗体药物偶联物中，G^L 为抗体；

p 为 1-8；



Z 为 ，其中 b 端与 X 连接，a 端与 G^L 连接；

Q 为单个氨基酸残基、二肽残基、三肽残基或四肽残基；

X 为-(OCH₂CH₂)_m-、-(CR^aR^b)_m-、-O(CR^aR^b)_m-、-NH-(CR^aR^b)_m-CR^cR^d-或-S(CR^aR^b)_m-CR^cR^d-；

R^a和 R^b独立地为 H、D、卤素、C₁₋₆烷基、卤代 C₁₋₆烷基、氘代 C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基、羟基、氨基、氰基、硝基、3-10 元环烷基或 3-10 元杂环基；

或者，R^a和 R^b与其相连接的碳原子一起形成 3-10 元环烷基或或 3-10 元杂环基；

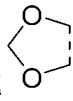
R^c和 R^d独立地为 H、C₁₋₆烷基、卤素、卤代 C₁₋₆烷基、氘代 C₁₋₆烷基、3-10 元环烷基、3-10 杂环基、6-14 元芳基或 5-10 元杂芳基；

或者，R^c和 R^d与其相连接的碳原子一起形成 3-10 元环烷基或 3-10 元杂环基；

m 独立地为 0-10；

n 为 1-6；

R¹和 R²独立地为 C₁₋₆烷基或卤素；

或者 R¹ 和 R² 与相邻的碳原子形成 , “-”表示并环的连接位置;

以 “*1” 和 “*2” 标记的碳原子独立地表示 S 构型、R 构型或它们的混合物。

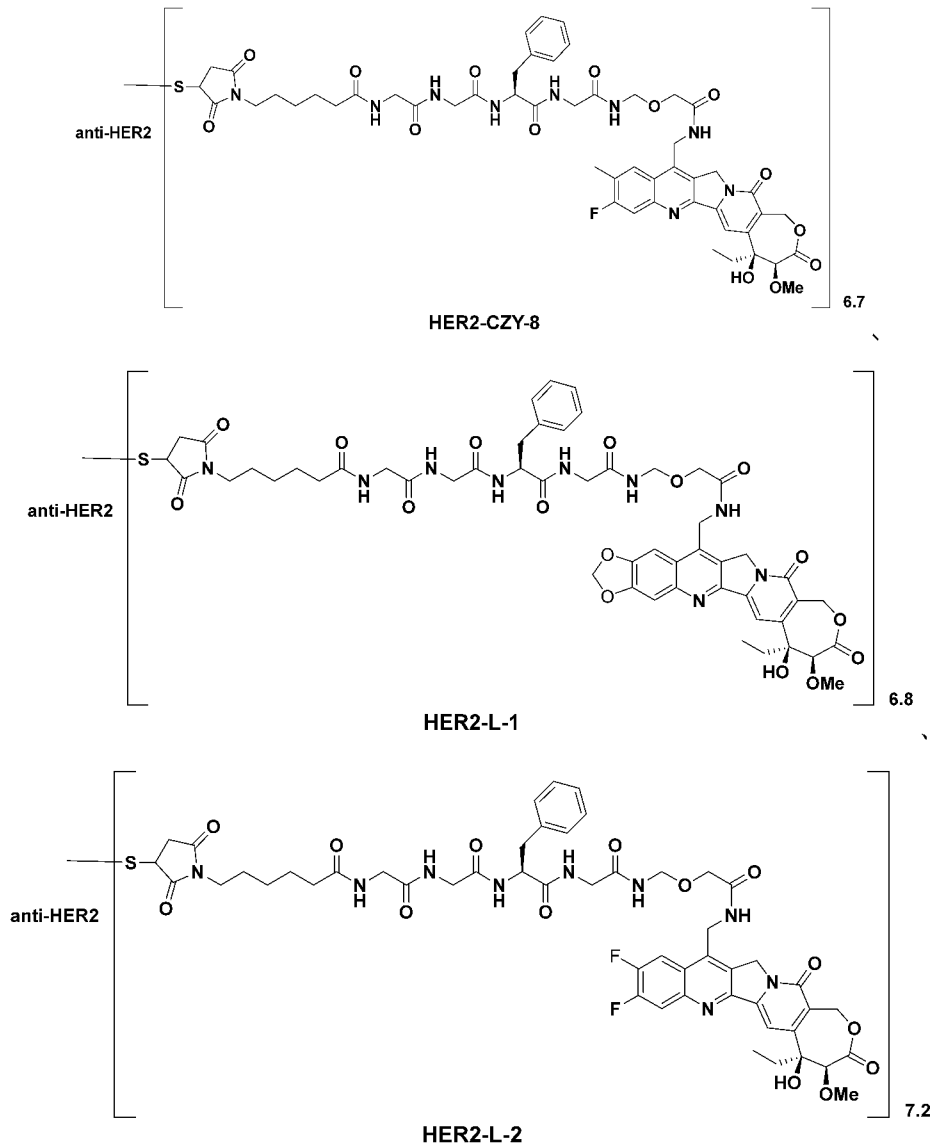
在本发明的某一方案中, G^L 为 HER2 抗体, 例如 Trastuzumab (曲妥珠单抗)。

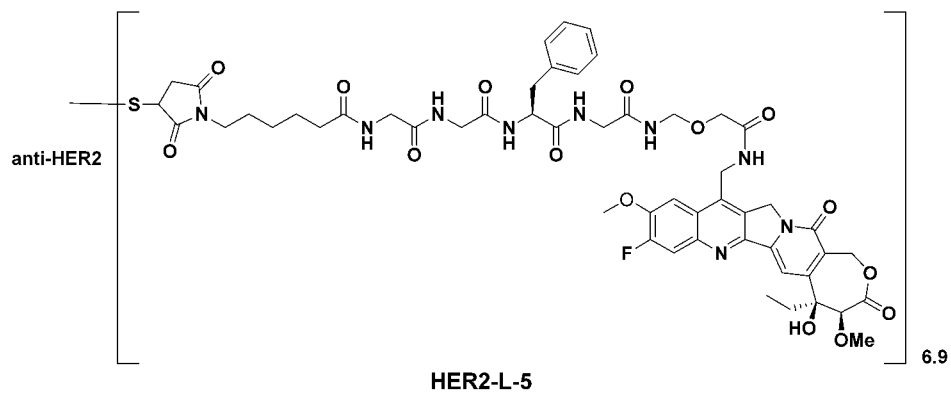
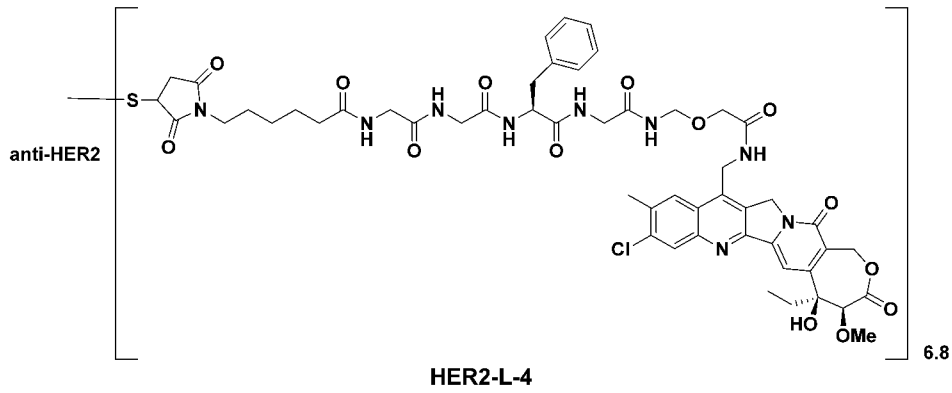
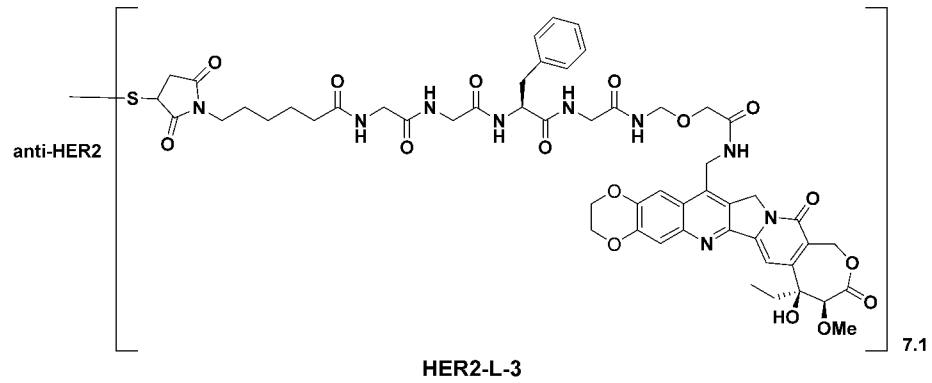
在本发明的某一方案中, p 可以为整数, 也可以为小数, 优选为 6.7-7.2, 例如 6.8、6.9 或 7.1。

在本发明的某一方案中, p 可以为整数, 也可以为小数, 例如 6.7。

在本发明的某一方案中, 所述 Z 的 a 端和所述的 G^L 以硫醚键相连。所述的 G^L 可通过含二硫键的抗体 (例如 Trastuzumab) 在还原剂作用下将二硫键还原为巯基后得到。

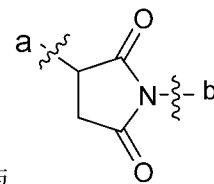
在本发明的某一方案中, 所述的如式 III 所示的抗体药物偶联物可为如下结构:





其中HER2抗体为Trastuzumab。

本领域技术人员可以理解的是，Z是与打开二硫键后的抗体自身所含有巯基（例如，通过还原剂还原抗体自身的二硫键可以打开二硫键，生成-SH）进行连接。例如抗体药物偶联物HER2-L-5中，-S-



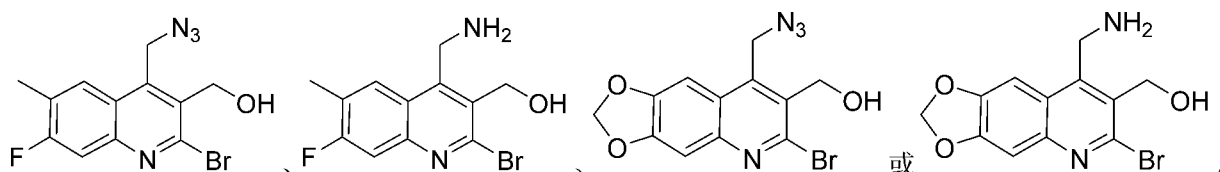
并非另外外接的硫原子，而是打开双硫键后的HER2抗体自身所含有巯基与进行连接后形成的-S-

本发明还提供了一种药物组合物，其包括如上所述的如式 I 所示的高喜树碱类小分子或其药学上可接受的盐、或如上所述的如式 III 所示的抗体药物偶联物，和至少一种药用辅料。

本发明还提供了一种如上所述的如式 I 所示的高喜树碱类小分子、或其药学上可接受的盐、或如上所述的如式 III 所示的抗体药物偶联物在制备用于预防或治疗癌症的药物中的用途。所述的癌症优选为

乳腺癌、肺癌、肾癌、肝癌、卵巢癌、尿道癌、前列腺癌、多形性成胶质细胞瘤、胰腺癌、大肠癌、胃肠道间质瘤、宫颈癌、鳞状细胞癌、腹膜癌、结肠癌、直肠癌、结肠直肠癌、子宫癌、唾液腺癌、肾癌、外阴癌、甲状腺癌、阴茎癌、白血病、恶性淋巴瘤、浆细胞瘤、骨髓瘤、肉瘤、黑色素瘤、膀胱癌、胃癌或食道癌，优选为乳腺癌。

本发明还提供了如下所式的化合物，



术语定义

依据起始物料和方法的选择，本发明化合物可以以可能的异构体中的一个或它们的混合物，例如外消旋体和非对应异构体混合物（这取决于不对称碳原子的数量）的形式存在。光学活性的(R)-或(S)-异构体可使用手性合成子或手性试剂制备，或使用常规技术拆分。

所得的任何立体异构体的混合物可以依据组物理化学性质上的差异被分离成纯的或基本纯的几何异构体，对映异构体，非对映异构体，例如，通过色谱法和/或分步结晶法。

在本说明书中，可由本领域技术人员选择基团及其取代基以提供稳定的结构部分和化合物。当通过从左向右书写的常规化学式描述取代基时，该取代基也同样包括从右向左书写结构式时所得到的在化学上等同的取代基。

术语“卤素”是指氟、氯、溴或碘。

术语“烷基”是指具有指定的碳原子数（例如 C₁~C₆）的直链或支链烷基。烷基包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基、仲丁基、正戊基、正己基、正庚基、正辛基等。

术语“芳基”是指具有指定的碳原子数（例如 C₆~C₁₀）的、仅由碳原子组成的环状基团，其为单环或多环，且至少一个环具有芳香性（符合休克尔规则）。芳基通过具有芳香性的环或不具有芳香性的环与分子中的其他片段连接。芳基包括但不限于苯基、萘基等。

基团末端的“-”是指该基团通过该位点与分子中的其他片段连接。例如，CH₃-C(=O)-是指乙酰基。

在本申请中，作为基团或是其它基团的一部分，术语“亚烷基”表示从饱和的直链或支链烃基中去掉两个氢原子所得到的饱和的二价烃基基团；即烷基中的一个氢被取代，烷基的定义如上所述。亚烷基基团的实例包括亚甲基(-CH₂-)，亚乙基{包括-CH₂CH₂-或-CH(CH₃)-}，亚异丙基{包括-CH(CH₃)CH₂-或-C(CH₃)₂-}等等。

术语“烷氧基”是指-O-烷基，烷基的定义如上所述。

术语“环烷基”是指具有指定的碳原子数（例如 C₃~C₆）的、仅由碳原子组成的、饱和的单环环状基团。环烷基包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基等。

术语“杂环基”是指具有指定环原子数（例如 5~10 元）的、指定杂原子数（例如 1 个、2 个或 3 个）的、指定杂原子种类（N、O 和 S 中的一种或多种）的环状基团，其为单环、桥环或螺环，且每

一个环均为饱和的。杂环烷基包括但不限于氮杂环丁烷基、四氢吡咯基、四氢咪喃基、吗啉基、哌啶基等。

术语“杂芳基”是指具有指定环原子数（例如 5~10 元）的、指定杂原子数（例如 1 个、2 个或 3 个）的、指定杂原子种类（N、O 和 S 中的一种或多种）的环状基团，其为单环或多环，且至少一个环具有芳香性（符合休克尔规则）。杂芳基通过具有芳香性的环或不具有芳香性的环与分子中的其他片段连接。杂芳基包括但不限于呋喃基、吡咯基、噻吩基、吡啶基、咪唑基、噁唑基、噻唑基、吡啶基、嘧啶基、吲哚基等。

术语“药学上可接受的盐”是指化合物与药学上可接受的（相对无毒、安全、适合于患者使用）酸或碱反应得到的盐。当化合物中含有相对酸性的官能团时，可以通过在合适的惰性溶剂中用足量的药学上可接受的碱与化合物的游离形式接触的方式获得碱加成盐。药学上可接受的碱加成盐包括但不限于钠盐、钾盐、钙盐、铝盐、镁盐、铋盐、铵盐等。当化合物中含有相对碱性的官能团时，可以通过在合适的惰性溶剂中用足量的药学上可接受的酸与化合物的游离形式接触的方式获得酸加成盐。药学上可接受的酸加成盐包括但不限于盐酸盐、硫酸盐、甲磺酸盐等。

术语“药用辅料”是指生产药品和调配处方时使用的赋形剂和附加剂，是除活性成分以外，包含在药物制剂中的所有物质。

在符合本领域常识的基础上，上述各优选条件，可任意组合，即得本发明各较佳实例。

本发明所用试剂和原料均市售可得。

本发明的积极进步效果在于：本发明提供了一类结构新颖的高喜树碱类小分子、其抗体药物偶联物，能够抑制肿瘤细胞的增殖。

附图说明

图 1 为实验例 2 中 HER2-CZY-8 和 HER2-L-4 对 NCI-N87 肿瘤细胞增殖能力的影响。

图 2 为实验例 3 中抗体药物偶联物对 NOG 小鼠皮下移植 NCI-N87 细胞动物模型的抗肿瘤药效检测结果。

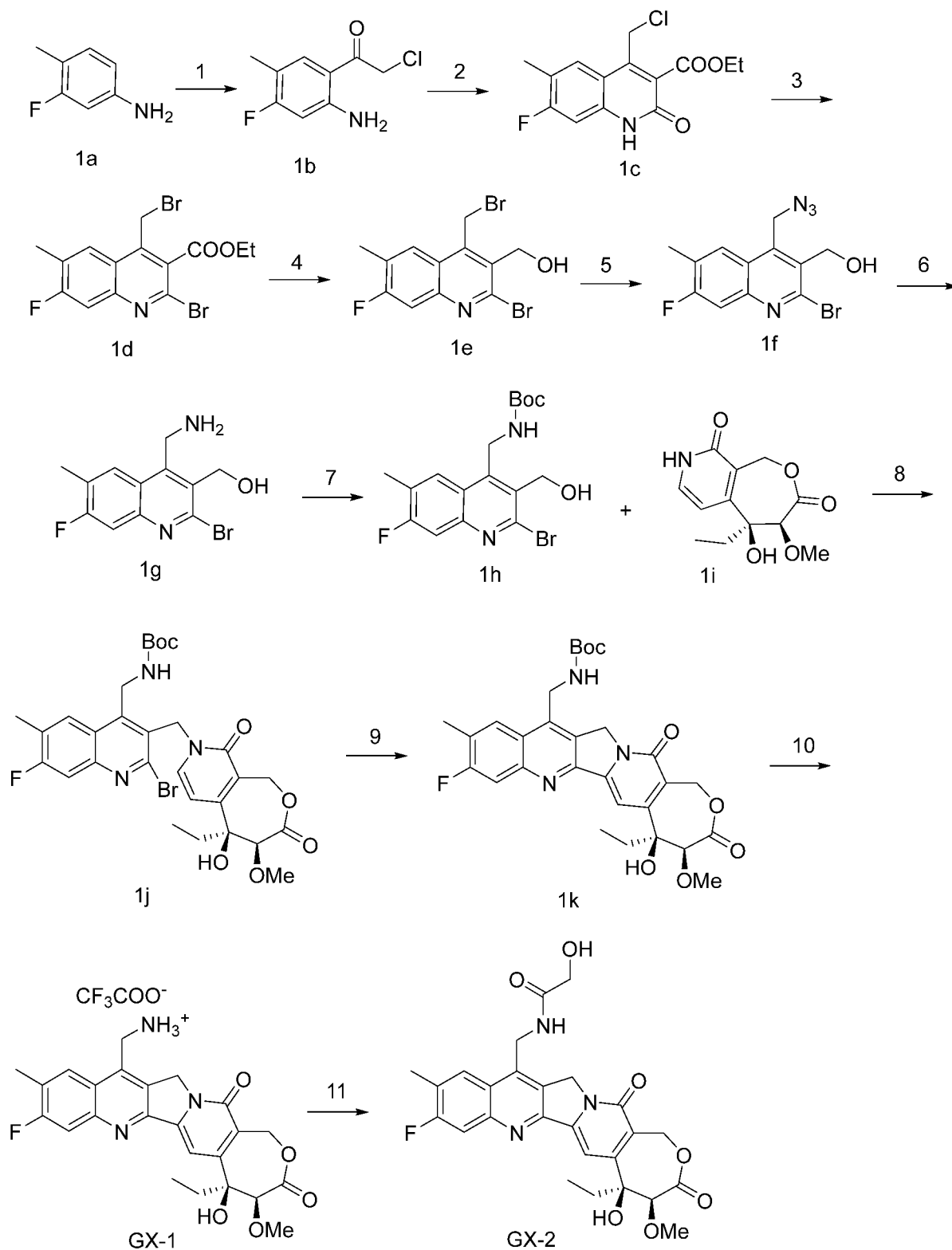
图 3 为实验例 3 中 NOG 小鼠皮下移植 NCI-N87 细胞动物模型的体重变化。

具体实施方式

下面通过实施例的方式进一步说明本发明，但并不因此将本发明限制在所述的实施例范围之内。下列实施例中未注明具体条件的实验方法，按照常规方法和条件，或按照商品说明书选择。

下列实施例中，DCC 表示二环己基碳二亚胺；DMAP 表示二甲氨基吡啶；DIPEA 表示二异丙基乙胺；DMF 表示 N,N-二甲基甲酰胺；PBS 表示磷酸缓冲盐溶液。

实施例 1 化合物 GX-1 和化合物 GX-2 的制备



步骤 1:

氮气保护下，将 80 mL 三氯化硼的二氯甲烷溶液 (1 mol/L) 溶于 400 mL 无水 1, 2-二氯甲烷中，冰水浴下将体系冷却至 0 °C。在冰水浴下，将化合物 **1a** (12.5 g, 99.9 mmol) 加入反应体系，保持冰水浴反应 10 min，再依次将氯乙腈 (13.5 mL, 213.3 mmol) 和无水氯化铝 (17.5 g, 131.2 mmol)，保持冰水浴反应 10 分钟，再将体系移至室温反应 10 分钟，然后将体系升温至回流反应 40 小时。反应

完毕后体系冷却至室温，缓慢加入 200 mL 冰水，然后加入 200 mL 5% 盐酸水溶液搅拌 30 分钟，用二氯甲烷 (300 mL×3) 萃取，有机相依次用水、饱和氯化钠水洗涤，无水 MgSO₄ 干燥。旋干溶剂后得粗产品，经柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯=20:1) 分离纯化得到 7.0 g 化合物 **1b**，收率 35%。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.68 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.31 (s, 2H), 6.53 (d, J = 12.5 Hz, 1H), 4.98 (s, 2H), 2.10 (s, 3H). MS (ESI) *m/z* = 202.5 (M + H⁺).

步骤 2:

将化合物 **1b** (2.7 g, 13.4 mmol) 溶于 20 mL 无水二氯甲烷中，依次加入 DCC (5.5 g, 26.8 mmol)，DMAP (160 mg, 1.3 mmol)，在冰水浴下，将丙二酸单乙酯 (2.4 mL, 20.1 mmol) 缓慢滴入体系，滴加完毕后在室温下反应 12 小时。反应完毕后，过滤，滤液旋干得到粗产物 4.0 g，将粗产物溶于 20 mL 乙醇。向体系分批加入乙醇钠 (1.4 g, 20.6 mmol)，室温下继续反应 2 小时。反应完毕后将体系中析出的固体滤出，固体用二氯甲烷和乙醚打浆得到 2.5 g 化合物 **1c**，收率 63%。¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.90 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 7.62 (d, J = 9.9 Hz, 1H), 4.86 (s, 2H), 4.53 (q, J = 6.2 Hz, 2H), 2.51 (s, 3H), 1.46 (t, J = 6.7 Hz, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ 165.28, 163.44 (d, J = 255.0 Hz), 147.94 (d, J = 13.3 Hz), 146.31, 141.49, 129.15 (d, J = 20.8 Hz), 126.98 – 126.82 (m), 125.81 (d, J = 6.7 Hz), 121.19, 112.87 (d, J = 22.3 Hz), 62.89, 37.93, 15.78 (d, J = 3.5 Hz), 14.09. MS (ESI) *m/z* = 298.6 (M + H⁺).

步骤 3:

将化合物 **1c** (2.0 g, 6.7 mmol) 分散于 30 mL 无水乙腈中，向体系加入三溴氧磷 (2.8 g, 10.1 mmol)，加料完毕后升温回流反应 12 h。反应完毕后将体系倒入 100 mL 冰水中，用乙酸乙酯 (100 mL×3) 萃取，有机相依次用水、饱和氯化钠水溶液洗涤，无水 MgSO₄ 干燥。旋干溶剂后得粗产品，经柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯=90:1) 分离纯化得到 2.0 g 化合物 **1d**，收率 75%。¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.89 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.68 – 7.61 (m, 1H), 4.74 (d, J = 6.2 Hz, 2H), 4.54 (q, J = 6.7 Hz, 2H), 2.51 (s, 3H), 1.48 (t, J = 7.0 Hz, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ 165.89, 165.37, 148.58 (d, J = 13.2 Hz), 141.12, 137.64, 129.81 – 128.45 (m), 125.80 (d, J = 6.7 Hz), 121.15 (d, J = 10.3 Hz), 113.32 – 112.42 (m), 100.02, 62.92 (d, J = 5.6 Hz), 23.45 (d, J = 14.7 Hz), 15.88 (t, J = 3.6 Hz), 14.11. MS (ESI) *m/z* = 406.4 (M + H⁺).

步骤 4:

在冰水浴下，将化合物 **1d** (2.0 g, 4.9 mmol) 溶于 40 mL 无水二氯甲烷中，向反应体系逐滴加入 1M 的二异丁基氢化铝的正己烷溶液 (25 mL, 24.5 mmol)，滴加完毕后保持冰水浴反应 2 小时。反应完毕后，将反应液缓慢加入 40 mL 饱和酒石酸钠盐水中，搅拌 4 小时后，用二氯甲烷 (20 mL×3) 萃取，有机相用饱和氯化钠水溶液洗涤，无水 MgSO₄ 干燥。旋干溶剂得粗产品，经柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯=5:1) 分离纯化得到 1.4 g 化合物 **1e**，收率 80%。¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.85 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.61 (d, J = 10.1 Hz, 1H), 5.06 (s, 2H), 4.98 (s, 2H), 2.50 (s, 3H), 2.40 (s, 1H). ¹³C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ 163.05 (d, J = 254.1 Hz), 148.22 (d, J = 13.2 Hz), 145.08, 143.96 – 143.36 (m),

130.52 (d, J = 2.6 Hz), 128.71 (d, J = 20.9 Hz), 125.50 (d, J = 6.6 Hz), 122.51, 112.71 (d, J = 22.1 Hz), 61.28, 23.75, 15.87. MS (ESI) m/z = 364.1 (M + H⁺).

步骤 5:

将化合物 **1e** (1.4 g, 3.9 mmol) 溶于 15 ml 二甲基亚砜中, 加入叠氮化钠 (300 mg, 4.7 mmol), 室温搅拌反应 12 小时。反应完毕后加入 150 ml 水, 有固体析出, 直接过滤得到 1.2 g 化合物 **1f**, 不进一步分离, 直接进行下一步反应。MS (ESI) m/z = 326.2 (M + H⁺).

步骤 6:

将化合物 **1f** (1.2 g, 3.7 mmol) 溶于四氢呋喃和水 (3:1, 40 mL) 混合溶剂中, 在冰水浴下向体系加入 1M 的三甲基磷的四氢呋喃溶液 (6.5 mL, 5.6 mmol), 滴加完毕后保持冰水浴反应 3 小时。反应完毕后将反应体系旋干得到粗产物, 经柱层析 (二氯甲烷: 甲醇=30: 1) 分离纯化得到 1.0 g 化合物 **1g**, 收率 90%。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.23 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.65 (d, J = 10.6 Hz, 1H), 4.83 (s, 2H), 4.25 (s, 2H), 2.45 (s, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 163.16, 160.67, 150.53, 147.13 (d, J = 13.0 Hz), 145.81, 131.64 (d, J = 2.2 Hz), 127.36 (d, J = 6.4 Hz), 126.71 (d, J = 20.4 Hz), 123.52, 111.39 (d, J = 21.6 Hz), 60.19, 15.09. MS (ESI) m/z = 300.2 (M + H⁺).

步骤 7:

在冰水浴下, 将化合物 **1g** (1.0 g, 3.3 mmol) 溶于 20 mL 无水 N,N-二甲基甲酰胺中, 加入 Boc 酸酐 (1.0 g, 4.6 mmol), 将体系逐渐升至室温反应 4 小时。反应完毕后加入 200 mL 水并用乙酸乙酯 (50 mL×3) 萃取, 有机相依次用水、饱和氯化钠水洗涤, 无水 MgSO₄ 干燥。旋干溶剂后得粗产品, 经柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯=5: 1) 分离纯化得到 1.0 g 化合物 **1h**, 收率 80%。¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.94 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.59 (d, J = 10.2 Hz, 1H), 5.25 (s, 1H), 5.09 (d, J = 4.0 Hz, 2H), 4.87 (d, J = 6.1 Hz, 2H), 3.39 (s, 1H), 2.47 (s, 3H), 1.41 (s, 9H). ¹³C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ 164.08, 161.57, 155.79, 148.10 (d, J = 13.0 Hz), 145.72, 144.61, 131.51, 128.34 (d, J = 20.6 Hz), 126.09 (d, J = 6.5 Hz), 123.44, 112.62 (d, J = 21.9 Hz), 80.74, 61.42, 38.02, 28.34, 15.75. MS (ESI) m/z = 400.3 (M + H⁺).

步骤 8:

化合物 **1i** 参考文献 (Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2015, 23(9), 1950-1962) 制备得到。

在氮气保护下, 将化合物 **1h** (380 mg, 0.95 mmol)、化合物 **1i** (240 mg, 0.95 mmol) 和三苯基磷 (300 mg, 1.14 mmol) 溶于 20 mL 无水二氯甲烷中, 在冰水浴下向体系逐滴加入偶氮二甲酸二乙酯 (180 μL, 1.14 mmol), 滴加完毕后将体系移至室温反应 6 小时。反应完毕后将溶剂旋干得到粗产物, 经柱层析 (二氯甲烷: 甲醇=80: 1) 分离纯化得到 400 mg 化合物 **1j**, 收率 67%。¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.15 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.58 (d, J = 10.2 Hz, 1H), 7.43 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 6.50 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 5.88 (s, 1H), 5.61 – 5.33 (m, 3H), 5.19 (d, J = 15.2 Hz, 1H), 4.98 – 4.78 (m, 2H), 4.45 (s, 1H), 3.55 (s, 3H), 3.16 (s, 1H), 2.46 (s, 3H), 2.07 (dd, J = 14.4, 7.4 Hz, 1H), 1.73 (dt, J = 14.9, 7.5 Hz, 1H), 1.45 (s, 9H), 0.85 (t, J = 7.5 Hz, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ 168.88, 164.50, 160.62, 155.54, 152.64, 148.20, 144.47, 137.42, 128.79 (d, J = 20.4 Hz), 127.13, 125.69, 123.50, 112.31 (d, J = 23.1 Hz), 105.91,

82.54, 80.20, 76.19, 62.35, 59.19, 50.57, 38.25, 33.01, 28.36, 15.67, 8.46. MS (ESI) $m/z = 635.3$ ($M + H^+$).

步骤 9:

在氮气保护下, 将化合物 **1j** (250 mg, 0.39 mmol), 醋酸钨 (90 mg, 0.39 mmol), 醋酸钾 (155 mg, 1.58 mmol), 三(邻甲基苯基)磷 (120 mg, 0.39 mmol) 和四丁基氯化铵 (110 mg, 0.39 mmol) 溶于 25 mL 无水乙腈中, 升温至回流反应 12 小时。反应完毕后将溶剂旋干得到粗产物, 经柱层析 (二氯甲烷: 甲醇=80: 1) 分离纯化得到 150 mg 化合物 **1k**, 收率 69%。MS (ESI) $m/z = 554.4$ ($M + H^+$)。

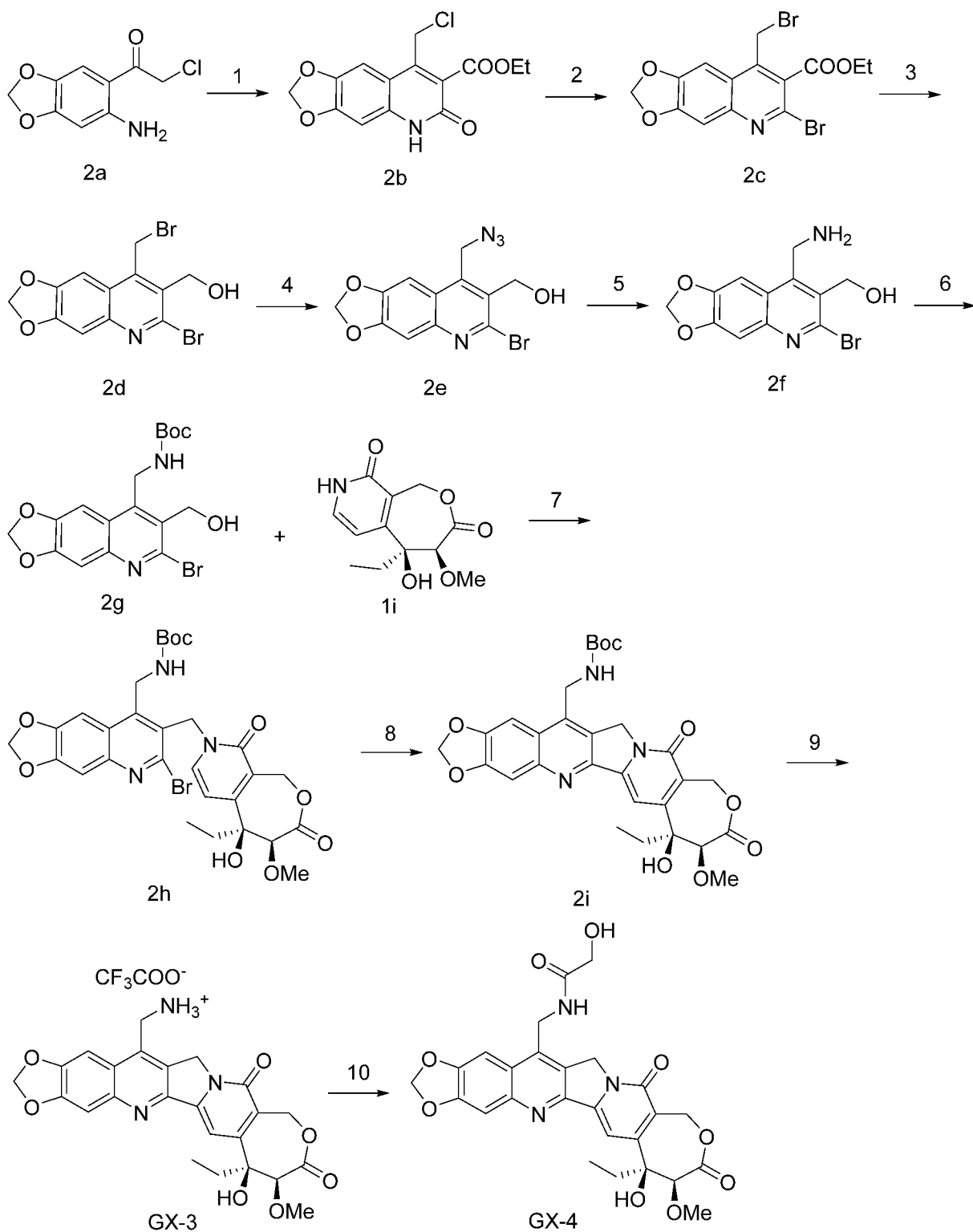
步骤 10:

将含 150 mg 化合物 **1k** 溶于 15 mL 含 5% 三氟醋酸的二氯甲烷中, 室温搅拌反应 6 小时。反应完毕后将溶剂旋干得到粗产物, 经乙醚打浆得到 110 mg 化合物 **GX-1**, 收率 90%。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.54 – 8.35 (m, 4H), 7.97 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H), 7.37 (s, 1H), 5.96 (s, 1H), 5.63 – 5.44 (m, 4H), 4.98 (s, 1H), 4.71 (s, 2H), 3.47 (s, 3H), 2.54 (s, 3H), 2.29 (dd, $J = 14.3, 7.5$ Hz, 1H), 1.81 (dd, $J = 14.3, 7.4$ Hz, 1H), 0.74 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 169.80, 163.37, 160.88, 158.83, 158.11 (d, $J = 31.2$ Hz), 153.77, 152.55, 148.64 (d, $J = 12.9$ Hz), 144.11, 134.22, 130.46, 127.96 (d, $J = 20.9$ Hz), 126.70, 123.66 (d, $J = 11.4$ Hz), 112.63 (d, $J = 21.5$ Hz), 99.97, 99.55, 78.75, 77.07, 60.76, 58.11, 50.14, 35.82, 32.50, 15.26, 8.73. HRMS (ESI) m/z calcd for C₂₄H₂₅N₃O₅F [$M + H^+$]: 454.1778; found 454.1768。

步骤 11:

将 **GX-1** (50 mg, 0.09 mmol) 和乙醇酸 (10 mg, 0.14 mmol) 溶于 2 mL 无水 N,N-二甲基甲酰胺中, 加入 DIPEA (32 μ L, 0.27 mmol) 后室温搅拌反应 12 小时。反应完毕后将溶剂旋干得到粗产物, 经柱层析 (二氯甲烷: 甲醇 =15: 1) 分离纯化得到 20 mg **GX-2**, 收率 30%。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.74 (d, $J = 6.3$ Hz, 1H), 8.46 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.87 (d, $J = 10.7$ Hz, 1H), 7.33 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 5.91 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 5.61 – 5.54 (m, 2H), 5.49 (d, $J = 10.5$ Hz, 3H), 4.97 (s, 1H), 4.83 (d, $J = 5.9$ Hz, 2H), 3.84 (d, $J = 5.8$ Hz, 2H), 3.46 (s, 3H), 2.27 (dt, $J = 14.6, 7.3$ Hz, 1H), 1.81 (dd, $J = 14.3, 7.5$ Hz, 1H), 1.36 – 1.19 (m, 2H), 0.73 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 172.39, 169.80, 161.82 (d, $J = 249.7$ Hz), 158.82, 153.62, 152.38, 148.62 (d, $J = 13.0$ Hz), 144.39, 139.62, 128.80, 127.34 (d, $J = 20.6$ Hz), 126.84, 123.80, 123.35, 112.41 (d, $J = 22.0$ Hz), 99.59, 78.79, 77.02, 61.44, 60.82, 58.08, 50.33, 36.88, 32.47, 15.29, 8.69. HRMS (ESI) m/z calcd for C₂₆H₂₇N₃O₇F [$M + H^+$]: 512.1833; found 512.1838。

实施例 2: 化合物 GX-3 和化合物 GX-4 的制备



步骤 1:

将化合物 **2a** (2.7 g, 12.6 mmol) 溶于 20 mL 无水二氯甲烷中, 依次加入 DCC (5.2 g, 25.2 mmol), DMAP (160 mg, 1.3 mmol), 在冰水浴下, 将丙二酸单乙酯 (2.3 mL, 18.9 mmol) 缓慢滴入体系, 滴加完毕后在室温下反应 12 小时。反应完毕后, 过滤, 滤液旋干得到粗产物 4.0 g, 将粗产物溶于 20 mL 乙醇。向体系分批加入乙醇钠 (1.3 g, 18.9 mmol), 室温下继续反应 2 小时。反应完毕后将体系中析出的固体滤出, 固体用二氯甲烷和乙醚打浆得到化合物 **2b** 白色固体 2.5 g, 收率 64%。¹H NMR

(400 MHz, DMSO- d_6) δ 12.20 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 6.86 (s, 1H), 6.16 (s, 2H), 4.82 (s, 2H), 4.32 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 1.29 (t, J = 7.1 Hz, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ 165.21, 158.29, 151.14, 144.16, 142.42, 136.41, 124.57, 110.47, 103.06, 102.36, 95.52, 61.43, 14.02. MS (ESI) m/z = 310.5 (M + H $^+$).

步骤 2:

将化合物 **2b** (2.0 g, 6.5 mmol) 分散于 30 ml 无水乙腈中, 向体系加入三溴氧磷 (2.7 g, 9.8 mol), 加料完毕后升温回流反应 12 h。反应完毕后将体系倒入 100 mL 冰水中, 用乙酸乙酯 (100 mL \times 3) 萃取, 有机相依次用水、饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水 MgSO_4 干燥。旋干溶剂后得粗产品, 经柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯=90: 1) 分离纯化得到化合物 **2c** 白色固体 2.0 g, 白色固体, 收率 74%。 ^1H NMR (400 MHz, Chloroform- d) δ 7.33 (d, J = 10.7 Hz, 2H), 6.18 (s, 2H), 4.67 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 4.53 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 1.47 (t, J = 7.1 Hz, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, Chloroform- d) δ 166.24, 152.26, 149.45, 147.29, 140.30, 134.92, 127.91, 121.70, 106.13, 102.64, 99.58, 62.80, 24.27, 14.12. MS (ESI) m/z = 418.2 (M + H $^+$).

步骤 3:

在冰水浴下, 将化合物 **2c** (2.0 g, 4.8 mmol) 溶于 40 mL 无水二氯甲烷中, 向反应体系逐滴加入 1M 的二异丁基铝的正己烷溶液 (24.5 mL, 24.0 mmol), 滴加完毕后保持冰水浴反应 2 小时。反应完毕后, 将反应液缓慢加入 40 mL 饱和酒石酸钠盐水溶液中, 搅拌 4 小时后, 用二氯甲烷 (20 mL \times 3) 萃取, 有机相用饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水 MgSO_4 干燥。旋干溶剂得粗产品, 经柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯=5: 1) 分离纯化得到化合物 **2d** 白色固体 1.4 g, 收率 78%。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.62 (s, 1H), 7.34 (s, 1H), 6.27 (s, 2H), 5.47 (s, 1H), 5.20 (s, 2H), 4.80 (s, 2H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ 151.42, 148.81, 145.94, 143.55, 142.26, 130.29, 122.60, 104.70, 102.80, 99.91, 59.67, 26.17. MS (ESI) m/z = 376.1 (M + H $^+$).

步骤 4:

将化合物 **2d** (1.4 g, 3.7 mmol) 溶于 15 mL 二甲基亚砜中, 加入叠氮化钠 (280 mg, 4.4 mmol), 室温搅拌反应 12 小时。反应完毕后加入 150 mL 水, 有固体析出, 直接过滤得到化合物 **2e** 粗产物 1.2 g, 不进一步分离, 直接进行下一步反应。MS (ESI) m/z = 338.2 (M + H $^+$).

步骤 5:

将化合物 **2e** (1.2 g, 3.6 mmol) 溶于四氢呋喃和水 (3:1, 40 mL) 混合溶剂中, 在冰水浴下向体系加入 1M 的三甲基磷的四氢呋喃溶液 (6.3 mL, 5.4 mmol), 滴加完毕后保持冰水浴反应 3 小时。反应完毕后将反应体系旋干得到粗产物, 经柱层析 (二氯甲烷: 甲醇=30: 1) 分离纯化得到化合物 **2f** 白色固体 1.0 g, 收率 90%。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.62 (s, 1H), 7.29 (s, 1H), 6.24 (s, 2H), 4.80 (s, 2H), 4.16 (s, 2H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ 151.29, 150.35, 148.77, 146.22, 143.12, 130.85, 123.84, 104.96, 102.86, 100.93, 60.79. MS (ESI) m/z = 312.2 (M + H $^+$).

步骤 6:

在冰水浴下, 将化合物 **2f** (1.0 g, 3.2 mmol) 溶于 20 mL 无水 DMF 中, 加入 Boc 酸酐 (1.0 g, 4.6 mmol), 将体系逐渐升至室温反应 4 小时。反应完毕后加入 200 mL 水并用乙酸乙酯 (50 mL \times 3) 萃

取, 有机相依次用水、饱和氯化钠水洗涤, 无水 MgSO_4 干燥。旋干溶剂后得粗产品, 经柱层析 (石油醚: 乙酸乙酯=5: 1) 分离纯化得到化合物 **2g** 白色固体 1.0 g, 收率 75%。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.59 (s, 1H), 7.40 (t, $J = 5.8$ Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.24 (s, 2H), 5.22 (s, 1H), 4.87 (s, 2H), 4.63 (d, $J = 5.5$ Hz, 2H), 1.36 (s, 9H)。 ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-d_6) δ 155.99, 151.37, 148.99, 146.13, 145.50, 143.19, 131.61, 123.91, 105.08, 103.00, 100.81, 78.95, 60.39, 38.04, 28.61。 MS (ESI) $m/z = 412.1$ ($\text{M} + \text{H}^+$)。

步骤 7:

在氮气保护下, 将化合物 **2g** (380 mg, 0.93 mmol)、化合物 **1i** (240 mg, 0.95 mmol) 和三苯基磷 (300 mg, 1.14 mmol) 溶于 20 mL 无水二氯甲烷中, 在冰水浴下向体系逐滴加入偶氮二甲酸二乙酯 (180 μL , 1.14 mmol), 滴加完毕后将体系移至室温反应 6 小时。反应完毕后将溶剂旋干得到粗产物, 经柱层析 (二氯甲烷: 甲醇=80: 1) 分离纯化得到化合物 **2h** 油状液体 400 mg, 收率 67%。 ^1H NMR (400 MHz, Chloroform- d) δ 7.55 (s, 1H), 7.34 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 7.28 (s, 1H), 6.48 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 6.14 (s, 2H), 5.70 – 5.56 (m, 2H), 5.52 – 5.35 (m, 2H), 5.23 (d, $J = 15.2$ Hz, 1H), 4.74 (tt, $J = 14.9, 8.0$ Hz, 2H), 4.46 (s, 1H), 3.57 (s, 3H), 3.12 (s, 1H), 2.07 (dd, $J = 14.4, 7.4$ Hz, 1H), 1.74 (dd, $J = 14.4, 7.4$ Hz, 1H), 1.44 (s, 9H), 0.86 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H)。 ^{13}C NMR (101 MHz, Chloroform- d) δ 168.88, 160.58, 152.42, 151.86, 149.48, 147.06, 142.15, 136.72, 124.72, 123.84, 123.39, 105.88, 105.52, 102.37, 100.47, 82.60, 80.18, 76.15, 62.44, 59.17, 38.54, 32.96, 32.59, 28.35, 8.43。 MS (ESI) $m/z = 647.4$ ($\text{M} + \text{H}^+$)。

步骤 8:

在氮气保护下, 将化合物 **2h** (250 mg, 0.39 mmol)、醋酸钡 (90 mg, 0.39 mmol)、醋酸钾 (155 mg, 1.58 mmol)、三(邻甲基苯基)磷 (120 mg, 0.39 mmol) 和四丁基氯化铵 (110 mg, 0.39 mmol) 溶于 25 mL 无水乙腈中, 升温至回流反应 12 小时。反应完毕后将溶剂旋干得到粗产物, 经柱层析 (二氯甲烷: 甲醇=80: 1) 分离纯化得到化合物 **2i** 白色固体 150 mg, 不进一步分离, 直接进行下一步反应。 MS (ESI) $m/z = 566.4$ ($\text{M} + \text{H}^+$)。

步骤 9:

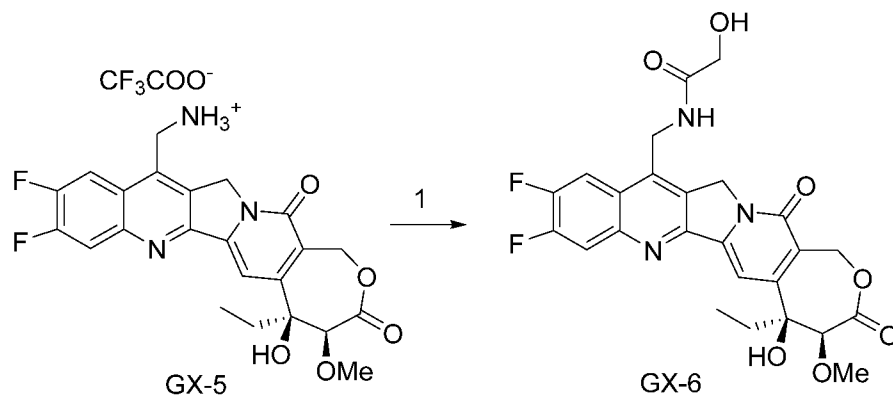
将 150 mg 化合物 **2i** 溶于 5 mL 含 5% 三氟醋酸的二氯甲烷中, 室温搅拌反应 6 小时。反应完毕后将溶剂旋干得到粗产物, 经乙醚打浆得到化合物 **GX-3** 淡黄色固体 138 mg, 收率 90%。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.32 (s, 3H), 7.82 (s, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.26 (s, 1H), 6.31 (s, 2H), 5.91 (s, 1H), 5.60 – 5.38 (m, 4H), 4.96 (s, 1H), 4.60 (s, 2H), 3.44 (s, 3H), 2.26 (dd, $J = 14.1, 7.4$ Hz, 1H), 1.78 (dq, $J = 14.9, 7.5$ Hz, 1H), 0.70 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H)。 ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-d_6) δ 169.86, 158.89, 158.11, 157.81, 153.85, 151.34, 149.70, 149.43, 147.49, 144.69, 133.28, 129.53, 124.26, 122.79, 105.56, 103.00, 100.14, 99.12, 78.66, 77.11, 60.75, 58.10, 50.13, 36.19, 32.51, 8.76。 HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_7$ [$\text{M} + \text{H}^+$]: 466.1614; found 466.1632。

步骤 10:

将化合物 **GX-3** (50 mg, 0.09 mmol) 和乙醇酸 (10 mg, 0.14 mmol) 溶于 2 mL 无水 DMF 中, 加入 DIPEA (32 μL , 0.27 mmol) 后室温搅拌反应 12 小时。反应完毕后将溶剂旋干得到粗产物, 经柱层

析（二氯甲烷：甲醇 =15: 1）分离纯化得到 GX-4（淡黄色固体）18 mg，收率 40%。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.71 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.26 (s, 1H), 6.29 (d, J = 2.5 Hz, 2H), 5.89 (s, 1H), 4.97 (s, 1H), 4.72 (d, J = 6.1 Hz, 2H), 3.82 (d, J = 4.9 Hz, 2H), 3.47 (s, 3H), 2.28 (dd, J = 14.0, 7.3 Hz, 1H), 1.80 (dt, J = 16.3, 8.3 Hz, 1H), 1.39–1.21 (m, 2H), 0.73 (t, J = 7.4 Hz, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d₆) δ 172.77, 170.33, 159.34, 154.16, 151.28, 149.95, 149.43, 147.78, 145.45, 139.00, 128.74, 124.56, 122.90, 105.86, 103.09, 100.66, 99.24, 77.52, 61.90, 61.29, 58.53, 50.78, 37.54, 32.95, 9.18. HRMS (ESI) m/z calcd for C₂₆H₂₆N₃O₉ [M + H⁺]: 524.1669; found 524.1665。

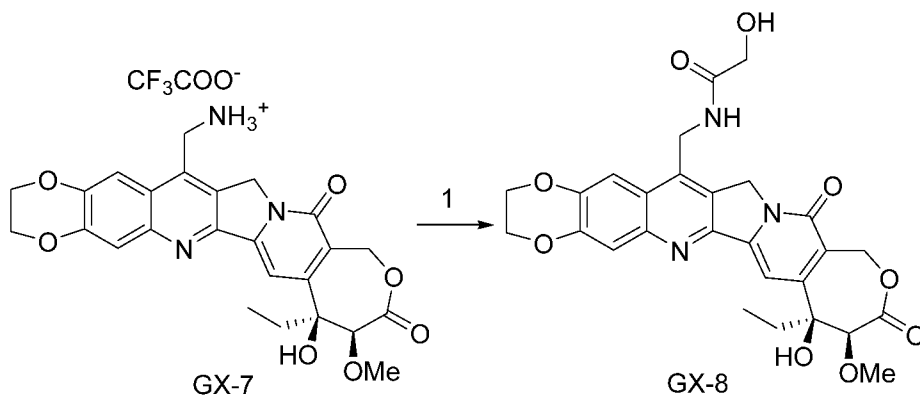
实施例 3: 化合物 GX-5 和化合物 GX-6 的制备



参照实施例 1 合成化合物 GX-5, MS (ESI) $m/z = 458.4$ (M + H⁺)。

GX-6 的合成, 步骤 1: 将化合物 GX-5 (50 mg, 0.087 mmol) 和乙醇酸 (10 mg, 0.14 mmol) 溶于 2 mL 无水 DMF 中, 加入 DIPEA (32 μL, 0.27 mmol) 后室温搅拌反应 8 小时。反应完毕后将溶剂旋干得到粗产物, 经柱层析 (二氯甲烷: 甲醇 =15: 1) 分离纯化得到 GX-6 (20 mg, 收率 44%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.72 (d, J = 6.2 Hz, 1H), 8.26 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 8.11 (d, J = 10.6 Hz, 1H), 7.23 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 5.81 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 5.66–5.54 (m, 3H), 4.97 (s, 1H), 4.85 (d, J = 5.9 Hz, 2H), 3.85 (d, J = 5.8 Hz, 2H), 3.47 (s, 3H), 2.25 (dt, J = 14.6, 7.3 Hz, 1H), 1.82 (dd, J = 14.3, 7.5 Hz, 1H), 1.35–1.19 (m, 2H), 0.71 (t, J = 7.6 Hz, 3H). MS (ESI) $m/z = 516.5$ (M + H⁺)。

实施例 4: 化合物 GX-7 和化合物 GX-8 的制备

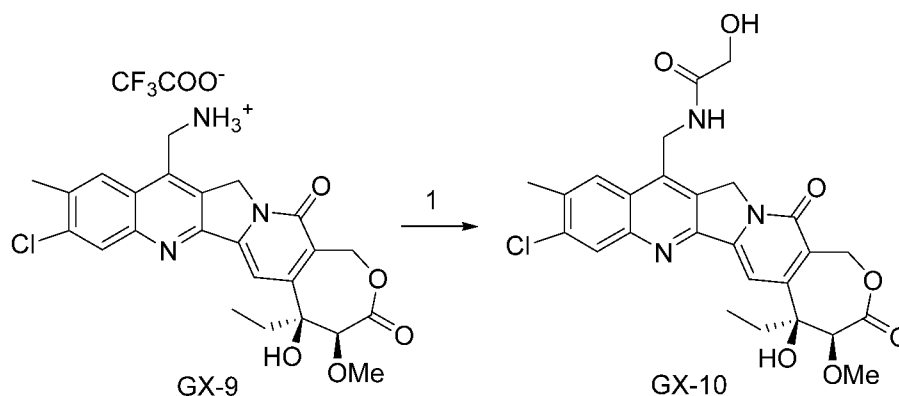


参照实施例 1 合成化合物 **GX-7**, MS (ESI) $m/z = 480.5 (M + H^+)$ 。

化合物 **GX-8** 的合成, 步骤 1:

将化合物 **GX-7** (50 mg, 0.084 mmol) 和乙醇酸 (10 mg, 0.14 mmol) 溶于 2 mL 无水 DMF 中, 加入 DIPEA (32 μ L, 0.27 mmol) 后室温搅拌反应 8 小时。反应完毕后将溶剂旋干得到粗产物, 经柱层析 (二氯甲烷: 甲醇 =15: 1) 分离纯化得到 **GX-8** (22 mg, 收率 48%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.73 (t, $J = 6.2$ Hz, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.26 (s, 1H), 5.89 (s, 1H), 5.60-5.43 (m, 3H), 4.92 (s, 1H), 4.76 (d, $J = 6.1$ Hz, 2H), 4.35 (m, 4H) 3.81(d, $J = 4.9$ Hz, 2H), 3.46 (s, 3H), 2.27 (dd, $J = 14.0, 7.3$ Hz, 1H), 1.82 (dt, $J = 16.3, 8.3$ Hz, 1H), 1.39-1.21 (m, 2H), 0.72 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H). MS (ESI) $m/z = 538.5 (M + H^+)$ 。

实施例 5: 化合物 **GX-9** 和化合物 **GX-10** 的制备

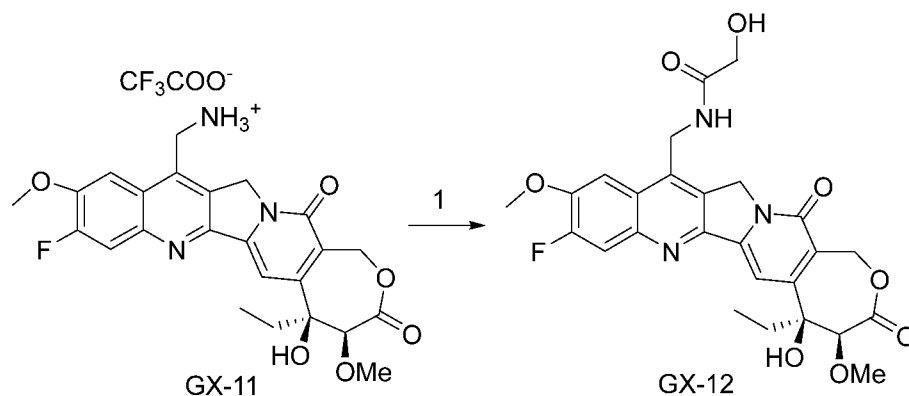


参照实施例 1 合成化合物 **GX-9**, MS (ESI) $m/z = 470.9 (M + H^+)$ 。

化合物 **GX-10** 的合成, 步骤 1:

将化合物 **GX-9** (50 mg, 0.086 mmol) 和乙醇酸 (10 mg, 0.14 mmol) 溶于 2 mL 无水 DMF 中, 加入 DIPEA (32 μ L, 0.27 mmol) 后室温搅拌反应 8 小时。反应完毕后将溶剂旋干得到粗产物, 经柱层析 (二氯甲烷: 甲醇 =15: 1) 分离纯化得到 **GX-10** (18 mg, 收率 39%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.76 (d, $J = 6.2$ Hz, 1H), 8.18 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.67 (d, $J = 10.7$ Hz, 1H), 7.36 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 5.92 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 5.63 - 5.44 (m, 3H), 4.98 (s, 1H), 4.83 (d, $J = 5.9$ Hz, 2H), 3.85 (d, $J = 5.9$ Hz, 2H), 3.48 (s, 3H), 2.40 (s, 3H), 2.28 (dt, $J = 14.6, 7.3$ Hz, 1H), 1.81 (dd, $J = 14.3, 7.5$ Hz, 1H), 1.33 - 1.14 (m, 2H), 0.73 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H). MS (ESI) $m/z = 528.9 (M + H^+)$ 。

实施例 6: 化合物 **GX-11** 和化合物 **GX-12** 的制备

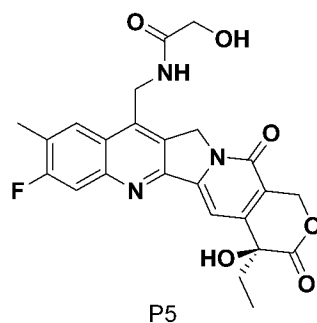


参照实施例 1 合成化合物 **GX-11**，MS (ESI) $m/z = 470.3 (M + H^+)$ 。

化合物 **GX-12** 的合成，步骤 1:

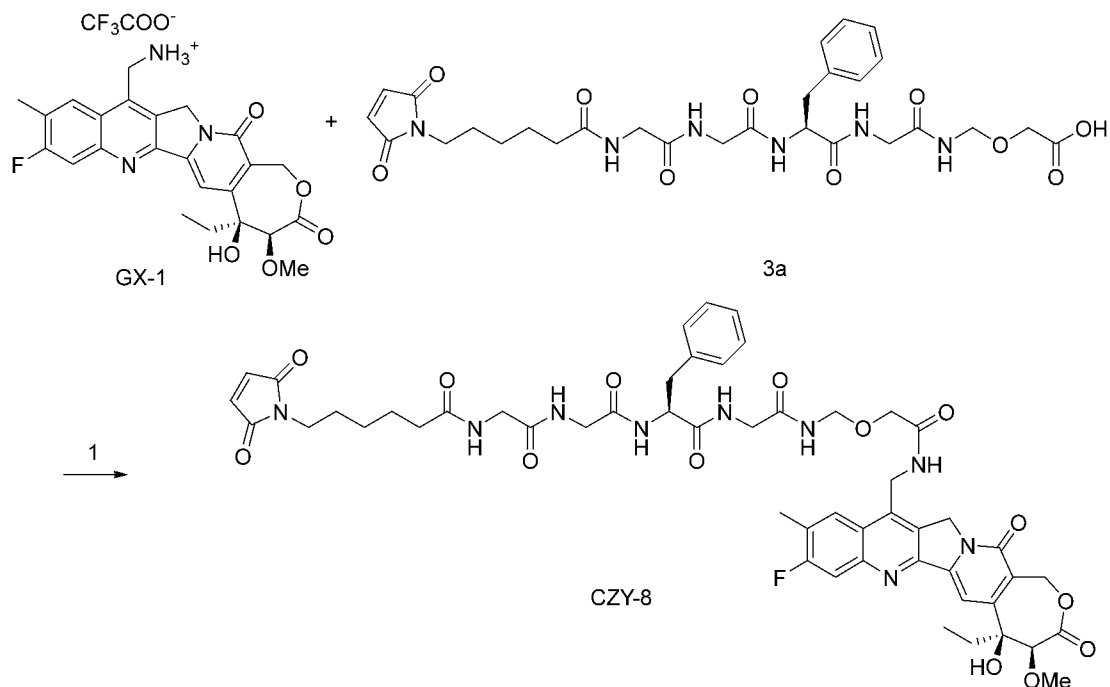
将化合物 **GX-11** (50 mg, 0.088 mmol) 和乙醇酸 (10 mg, 0.14 mmol) 溶于 2 mL 无水 DMF 中，加入 DIPEA (32 μ L, 0.27 mmol) 后室温搅拌反应 8 小时。反应结束后将溶剂旋干得到粗产物，经柱层析 (二氯甲烷: 甲醇 = 15: 1) 分离纯化得到 **GX-12** (15 mg, 收率 32%)。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 8.75 (t, $J = 6.1$ Hz, 1H), 8.55 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.97 (d, $J = 10.8$ Hz, 1H), 7.22 (s, 1H), 5.89 (s, 1H), 5.58-5.42 (m, 3H), 4.97 (s, 1H), 4.72 (d, $J = 6.1$ Hz, 2H), 4.02 (s, 3H), 3.82 (d, $J = 4.9$ Hz, 2H), 3.47 (s, 3H), 2.28 (dd, $J = 14.0, 7.3$ Hz, 1H), 1.80 (dt, $J = 16.3, 8.3$ Hz, 1H), 1.39-1.21 (m, 2H), 0.73 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H)。MS (ESI) $m/z = 528.6 (M + H^+)$ 。

实施例 7: 参照化合物 **P5** 的制备



化合物 **P5** 参考专利 (WO2020219287) 制备得到。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 0.86 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H), 1.79 - 1.99 (m, 3H), 2.59 (s, 0H), 3.87 (d, $J = 5.5$ Hz, 3H), 4.80 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H), 5.42 (s, 3H), 5.53 (s, 2H), 5.58 (t, $J = 5.8$ Hz, 1H), 6.53 (s, 1H), 7.34 (s, 1H), 7.93 (d, $J = 10.7$ Hz, 1H), 8.44 (d, $J = 1.2, 8.2$ Hz, 1H), 8.77 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H)。 (ESI) $m/z = 468.2 (M + H^+)$ 。

实施例 8: 化合物 **CZY-8** 的制备



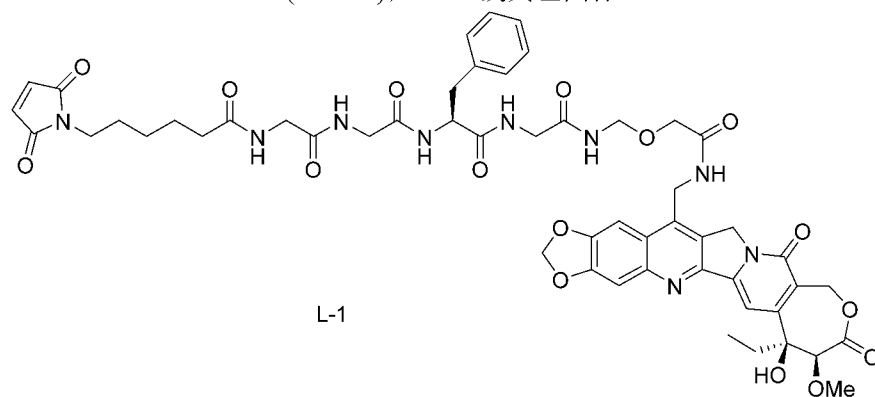
步骤 1:

N-((*S*)-12-苄基-1-((4*S*,5*S*)-5-乙基-9-氟-5-羟基-4-甲氧基-10-甲基-3,15-二氧代-4,5,13,15-四氢-1*H*,3*H*-氧杂环[3',4':6,7] 吡啶并[1,2-*b*]喹啉-12-基)-3,8,11,14,17-五氧代-5-氧杂-2,7,10,13,16-五氮杂十八-18-基)-6-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1*H*-吡咯-1-基) 己酰胺 **CZY-8**

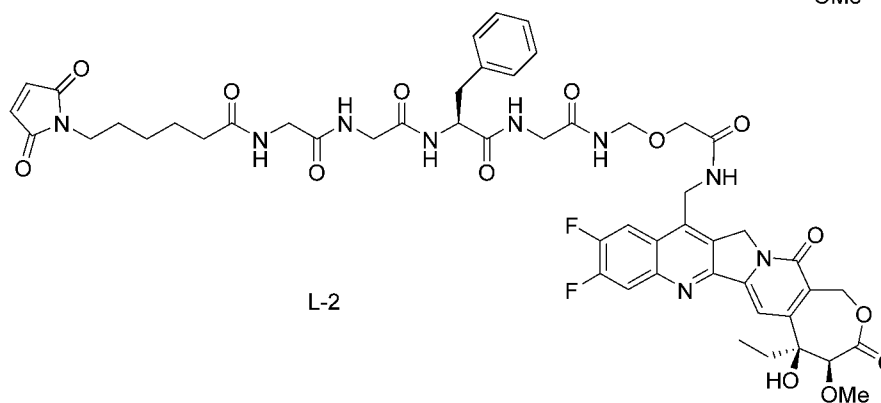
将化合物 **GX-1** (30 mg, 0.05 mmol) 和化合物 **3a** (购于上海禧耀医药科技有限公司, CAS: 1599440-25-1) (50 mg, 0.08 mmol) 溶于 2 mL 无水 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 依次加入 DMTMM (4-(4,6-二甲氧基三嗪-2-基)-4-甲基吗啉盐酸盐, 20 mg, 0.06 mmol) 和 DIPEA (15 μ L, 0.15 mmol), 室温搅拌反应 12 小时。反应完毕后将溶剂旋干得到粗产物, 经柱层析 (二氯甲烷: 甲醇 =10: 1) 分离纯化得到 30 mg 化合物 **CZY-8**, 收率 55%。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.75 (s, 1H), 8.63 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 8.42 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.31 (d, *J* = 6.2 Hz, 1H), 8.14 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 8.03 (d, *J* = 23.2 Hz, 2H), 7.87 (d, *J* = 10.7 Hz, 1H), 7.34 (s, 1H), 7.23 (d, *J* = 7.3 Hz, 3H), 7.17 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 6.98 (s, 2H), 5.91 (s, 1H), 5.51 (d, *J* = 39.2 Hz, 3H), 4.97 (s, 1H), 4.86 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H), 4.59 (d, *J* = 6.5 Hz, 2H), 4.47 (s, 1H), 3.91 (s, 2H), 3.68 (dd, *J* = 21.3, 6.3 Hz, 4H), 3.58 (dd, *J* = 15.1, 4.0 Hz, 1H), 3.46 (s, 3H), 3.04 (d, *J* = 13.6 Hz, 1H), 2.80 (t, *J* = 11.5 Hz, 1H), 2.32 – 2.23 (m, 1H), 2.09 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 1.85 – 1.76 (m, 1H), 1.45 (q, *J* = 7.2 Hz, 4H), 1.32 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H), 1.20 (d, *J* = 24.5 Hz, 6H), 0.72 (d, *J* = 7.8 Hz, 3H)。¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 172.61, 171.39, 171.05, 170.12, 169.80, 169.57, 169.46, 168.90, 163.07, 160.59, 158.84, 153.67, 152.41, 148.62 (d, *J* = 13.0 Hz), 144.37, 139.38, 137.80, 134.42, 129.12, 128.74, 128.07, 127.54, 127.33, 126.78, 126.25, 123.73, 123.36, 99.66, 77.02, 69.61, 66.96, 60.83, 58.09, 54.23, 50.33, 42.09 (d, *J* = 4.4 Hz), 41.84, 37.22, 36.96, 34.89, 32.49, 29.00, 27.77, 25.81, 24.56, 15.27 (d, *J* = 2.8 Hz), 8.69。HRMS (ESI) *m/z* calcd for C₅₂H₅₉N₉O₁₄F [M + H⁺]: 1052.4166; found 1052.4146。

实施例 9

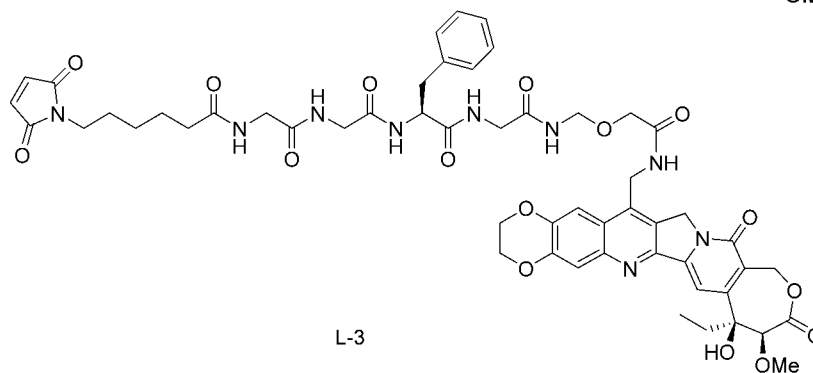
参照实施例 8 的合成方法, 将 GX-1 分别替换成 GX-3、GX-5、GX-7、GX-9、GX-11 后和化合物 3a 缩合, 分别合成化合物 L-1~L-5: L-1, 淡黄色固体, MS (ESI) $m/z = 1064.4 (M+H^+)$; L-2, 淡黄色固体, MS (ESI) $m/z = 1056.7 (M+H^+)$; L-3, 淡黄色固体, MS (ESI) $m/z = 1078.5 (M+H^+)$; L-4, 淡黄色固体, MS (ESI) $m/z = 1068.4 (M+H^+)$; L-5, 淡黄色固体, MS (ESI) $m/z = 1050.5 (M+H^+)$ 。



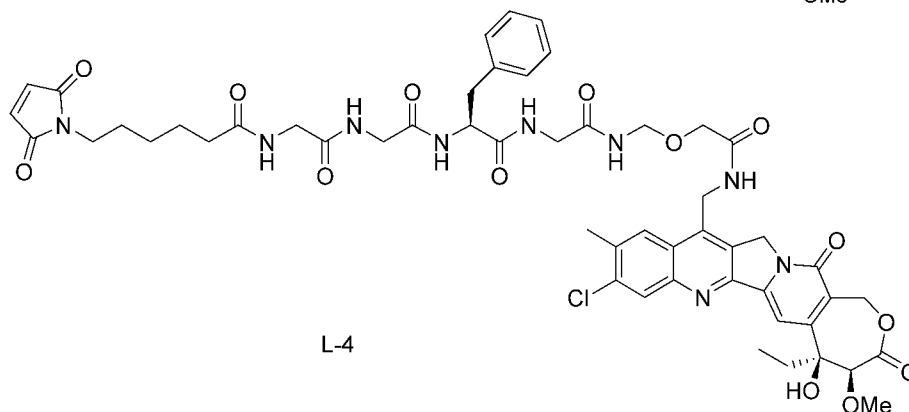
L-1



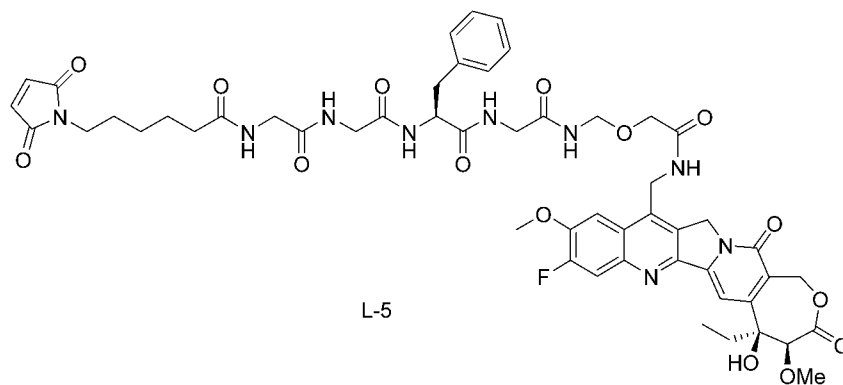
L-2



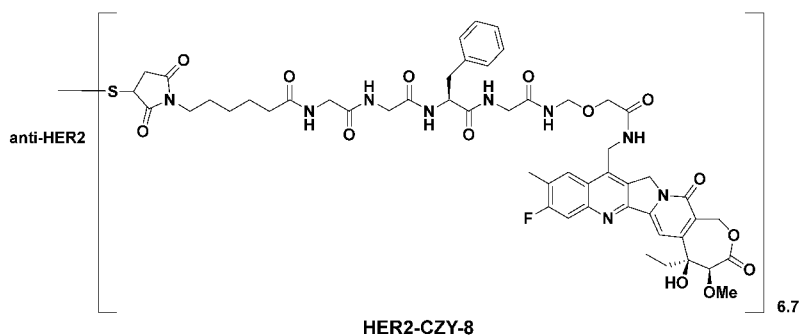
L-3



L-4



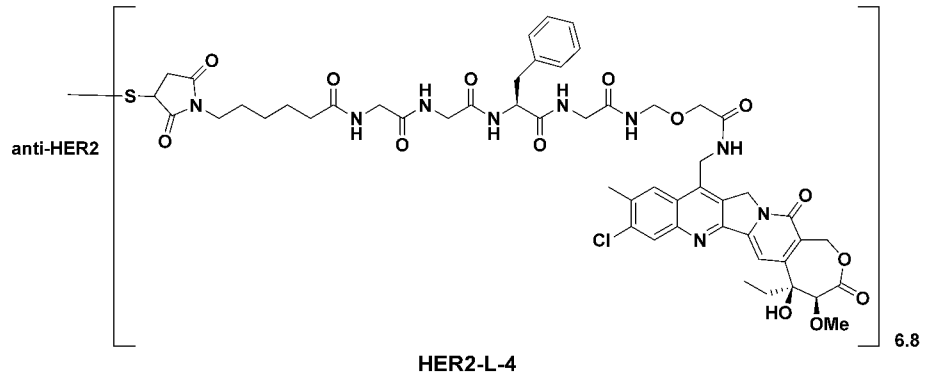
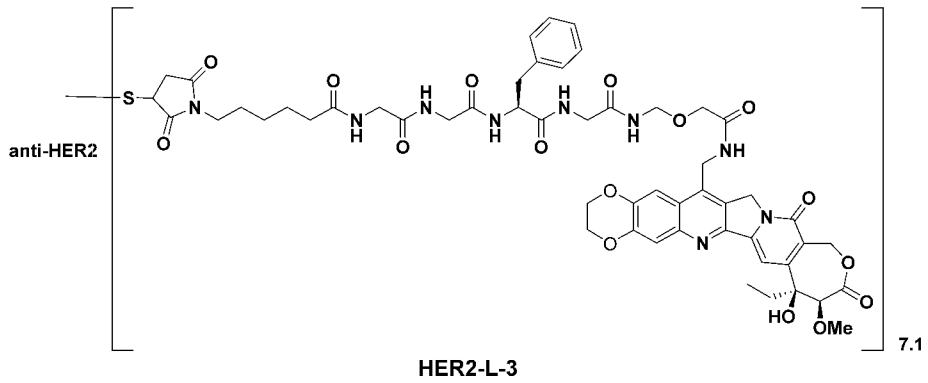
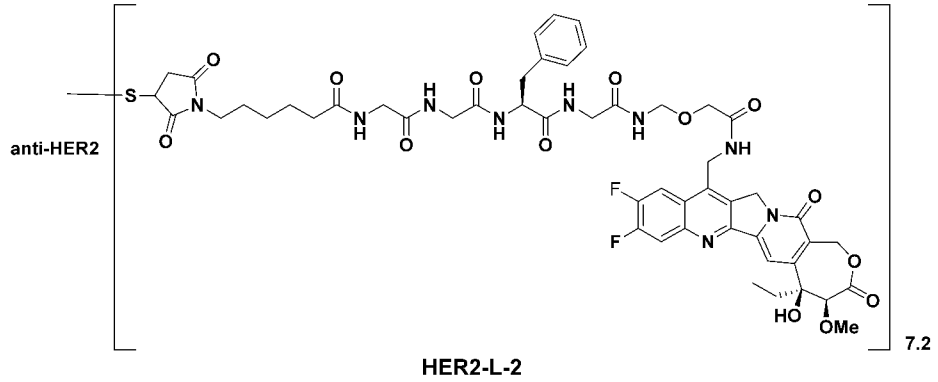
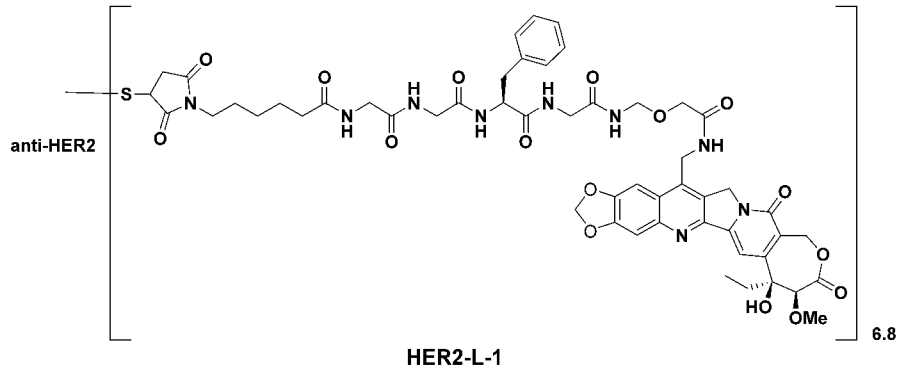
实施例 10:

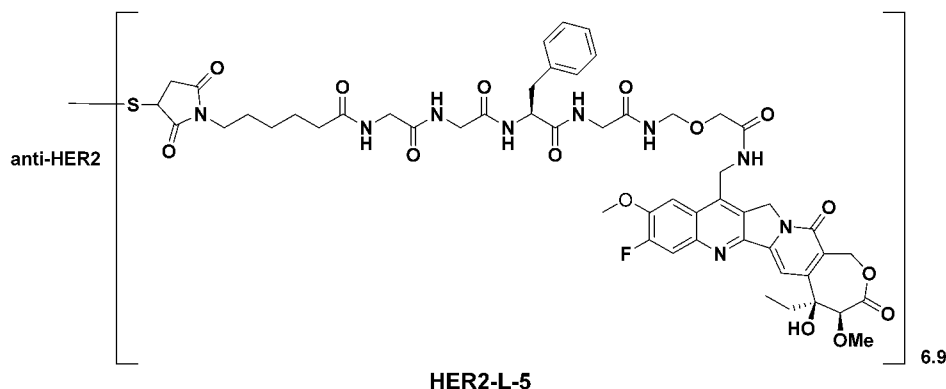


在 37°C 条件下, 向抗体 Trastuzumab (HER2 抗体, CAS: 180288-69-1) 购自杭州皓阳生物技术有
限公司的 PBS 缓冲水溶液 (pH=6.5 的 0.05M 的 PBS 缓冲水溶液; 10.0 mg/mL, 1.0 mL, 67.6 nmol)
加入配置好的三(2 羧乙基)膦(TCEP)的水溶液 (10 mM, 37.2 μ L, 372 nmol), 置于水浴振荡器, 于 37°C
下振荡反应 3 小时后, 停止反应。将反应液用水浴降温至 25°C。将化合物 CZY-8 (1.32mg, 1014 nmol)
溶解于 50 μ L DMSO 中, 加入到上述反应液中, 置于水浴振荡器, 于 25°C 下振荡反应 3 小时后, 停止
反应。将反应液用 Sephadex G25 凝胶柱脱盐纯化(流动相: pH 为 6.5 的 0.05M 的 PBS 缓冲水溶液,
含 0.001M 的 EDTA), 得到偶联物 HER2-CZY-8 的 PBS 缓冲液 (1.1 mg/mL, 7.5 mL), 于 4°C 储存。
SEC-HPLC 检测纯度: 96.68%, RP-HPLC 计算的载药量平均值 (DAR) 为 6.7。

实施例 11

参照实施例 15 的合成方法, 将 CZY-8 分别替换成 L-1、L-2、L-3、L-4、L-5 后和抗体 Trastuzumab
偶联, 分别得到相应的偶联物: HER2-L-1 (DAR=6.8)、HER2-L-2 (DAR=7.2)、HER2-L-3 (DAR=7.1)、
HER2-L-4 (DAR=6.8)、HER2-L-5 (DAR=6.9)。





生物学评价

实验例1. 化合物对肿瘤细胞的增殖抑制活性测定

使用SRB法测试高喜树碱衍生物GX-1、GX-2、GX-3、GX-4、GX-5、GX-6、GX-7、GX-8、GX-9、GX-10、GX-11、GX-12、喜树碱P5、Exatecan（CAS号为171335-80-1，购自上海禧耀医药科技有限公司）和DXd（CAS号为1599440-33-1，购自上海禧耀医药科技有限公司）对肿瘤细胞增殖能力的影响。处于对数生长期的细胞按相应浓度接种至96孔培养板，每孔100 μ L完全培养基培养过夜。加入不同浓度的化合物，每个浓度设三复孔，并设置无化合物作用的阳性对照孔及无细胞阴性对照孔。细胞在37 $^{\circ}$ C、5%CO₂条件下培养72 h。药物作用结束后，用磺酰罗丹明B（Sulforhodamine B, SRB）蛋白染色法检测化合物对细胞增殖的抑制作用，具体操作步骤如下：倾去培养液，用10%三氯乙酸固定细胞，4 $^{\circ}$ C放置1 h后用蒸馏水洗涤5次，烘箱中烘干后。加入由1%冰醋酸配制的SRB 4 mg/ml溶液100 μ L/孔，室温中染色15 min，去上清液，用1%冰醋酸洗涤5次，烘箱中烘干。最后加入150 μ L/孔的Tris溶液，振荡混匀，用全波长式微孔板酶标仪SpectraMax 190测定560 nm处的OD值。化合物对细胞增殖的抑制率由以下公式计算：

$$\text{抑制率 (\%)} = [1 - (\text{OD}_{\text{给药孔}} - \text{OD}_{\text{阴性对照孔}}) / (\text{OD}_{\text{阳性对照孔}} - \text{OD}_{\text{阴性对照孔}})] \times 100\%$$

本次筛选所用细胞株见表1，化合物GX-1、GX-2、GX-3、GX-4、GX-5、GX-6、GX-7、GX-8、GX-9、GX-10、GX-11、GX-12、P5、Exatecan和DXd抑制肿瘤细胞增殖结果见表2。

表1. 本次筛选所用细胞株概况

细胞代号	细胞株名称	培养液	STR 鉴定与否
NCI-N87	人胃癌细胞	1640+10%FBS	正确
SK-BR-3	人乳腺癌细胞	5A+10%FBS	正确
MDA-MB-468	人乳腺癌细胞	L-15 +15%G胎牛	正确

表2. 化合物对肿瘤细胞增殖能力的影响

Compounds	IC ₅₀ (nM)		
	NCI-N87	SK-BR-3	MDA-MB-468
GX-1	2.45	1.61	0.58

GX-2	21.57	6.60	2.83
GX-3	5.45	1.81	1.10
GX-4	115.66	15.81	14.64
GX-5	9.25	3.81	2.62
GX-6	44.81	38.45	15.34
GX-7	9.45	2.83	0.98
GX-8	77.8	52.8	19.9
GX-9	2.33	1.77	0.68
GX-10	24.50	15.35	3.82
GX-11	10.54	9.55	15.25
GX-12	83.54	58.96	45.97
P5	45.37	17.75	8.11
Exatecan	3.68	2.13	1.40
DXd	15.80	8.14	2.13

实验例 2. 抗体药物偶联物对肿瘤细胞的增殖抑制活性测定

(1) HER2-CZY-8 对肿瘤细胞增殖能力测试方法:

抗体药物偶联物 HER2-GGFG-DXd 其 CAS 号为 1826843-81-5, 购自杭州皓阳生物技术有限公司。

通过 CTG(CELL TITER-GLO)发光法检测抗体对 NCI-N87 肿瘤细胞体外活性的影响从而研究抗体抑制细胞增殖的作用。共计 4 块 96 孔板, 双复孔测试, 测试药物在 NCI-N87 细胞上处理 6 天和 7 天的活性。

首先进行细胞培养, 将肿瘤细胞系在 37°C, 5% CO₂ 的培养箱中进行培养。定期传代, 取处于对数生长期的细胞用于铺板。用台盼兰进行细胞染色并计数活细胞, 将细胞浓度调整至合适浓度。在培养板中每孔加入 135 μ L 细胞悬液, 在空白对照空中加入不含细胞的培养液, 将培养板在 37°C, 5% CO₂, 及 100% 相对湿度的培养箱中培养过夜。再制备 100X 抗体稀释母板: 将抗体用 PBS 从最高浓度梯度稀释至最低浓度。30 μ g/mL 的作用浓度, 直接在 135 μ L 的细胞中加入 10.5 μ L 的培养基, 然后加上 4.5 μ L 的 1 mg/mL 的抗体。10X 抗体工作液的配制: 在 V 形底的 96 孔板中加入 135 μ L 细胞培养液, 从 100X 抗体稀释母板中吸取 15 μ L 抗体加入 96 孔板的细胞培养液中。在溶媒对照和空白对照中加入 15 μ L PBS。加入抗体或 PBS 后用排枪吹打混匀。

加药: 取 15 μ L 的 10X 抗体工作液加入到细胞培养板中。在溶媒对照和空白对照中加入 15 μ L PBS-细胞培养液混合液。将 96 孔细胞板放回培养箱中培养 6 天和 7 天。

随后用 CellTiter-Glo 发光法检测细胞活性: 将 CellTiter-Glo 缓冲液融化并放置至室温, 同时将 CellTiter-Glo 底物放置至室温。在一瓶 CellTiter-Glo 底物中加入 CellTiter-Glo 缓冲液以溶解底物, 从而配制 CellTiter-Glo 工作液。缓慢涡旋震荡使充分溶解。取出细胞培养板放置 30 分钟使其平衡至室

温。在每孔中加入 75 μ L（等于每孔中细胞培养液一半体积）的 CellTiter-Glo 工作液。用铝箔纸包裹细胞板以避光。将培养板在轨道摇床上振摇 2 分钟以诱导细胞裂解。培养板在室温放置 10 分钟以稳定发光信号。在 2104 EnVision 读板器上检测发光信号。最后用下列公式来计算检测抗体的抑制率 (Inhibition rate, IR): $IR (\%) = (1 - (RLU_{\text{抗体}} - RLU_{\text{空白对照}}) / (RLU_{\text{溶媒对照}} - RLU_{\text{空白对照}})) * 100\%$ 。在 Excel 中计算不同浓度抗体的抑制率, 然后用 GraphPad Prism 软件作抑制曲线图, 计算 EC_{50} 。HER2-CZY-8 对肿瘤细胞增殖结果见表 3。

表 3. HER2-CZY-8 对肿瘤细胞增殖能力的影响

Compounds	EC_{50} (ng/mL)	
	NCI-N87, 144 h	NCI-N87, 168 h
HER2-CZY-8	19.33	19.10
HER2-GGFG-DXd	21.38	21.10

(2) HER2-CZY-8 和 HER2-L-4 对肿瘤细胞增殖能力测试方法:

阳性对照抗体 Trastuzumab (HER2 抗体, CAS: 180288-69-1) 购自杭州皓阳生物技术有限公司)。

将 NCI-N87 细胞消化后重悬细胞计数, 离心去除上清液, 调整细胞密度。细胞计数仪计数, 吸取 20 μ L 细胞悬液, 与 20 μ L VisStain AOP1 Staining Solution 混合, 取 20 μ L 液体, 细胞计数。分别铺细胞于 96 孔细胞培养板中, 每孔加 180 μ L, 每孔种 1000 细胞或者每孔种 2000 细胞。轻轻拍打混匀, 将细胞培养板放入 37 $^{\circ}$ C 细胞培养箱孵育 16 小时。用 RPMI1640 medium/10%FBS 稀释化合物, 每孔加入 20 μ L, 使得最大浓度为 100 nM, 3 倍稀释, 10 个点。溶媒对照为 DMSO, 在空白对照中加入 20 μ L RPMI1640 medium/10%FBS。轻轻拍打混匀, 将细胞培养板放入 37 $^{\circ}$ C 细胞培养箱孵育 7 days。培养 7 天后, 将细胞板从培养箱中取出, 吸去培养液, 加入 20 μ L 培养液, 再每孔加入 20 μ L CTG。振荡器振荡 5 min, 室温静置 10 min, 取 30 μ L 反应液到 Viewplate-96 white 白色透明底酶标板, 在 EnVision 读板器进行数据分析。

计算公式: 用下列公式来计算检测抗体的抑制率(Inhibition rate, IR): $IR (\%) = (1 - (RLU_{\text{抗体}} - RLU_{\text{空白对照}}) / (RLU_{\text{溶媒对照}} - RLU_{\text{空白对照}})) * 100\%$ 。在 Excel 中计算不同浓度抗体的抑制率, 然后用 GraphPad Prism 软件作抑制曲线图和计算相关参数, 包括最小抑制率 E_{min} , 最大抑制率 E_{max} 及半数有效抑制率 IC_{50} 。结果如表 4 和图 1 所示。

表 4 HER2-CZY-8 和 HER2-L-4 对 NCI-N87 肿瘤细胞增殖能力的影响

抗体药物偶联物	绝对 IC_{50} (μ g/mL)	相对 IC_{50} (μ g/mL)	最小 (%)	最大 (%)
HER2-L-4	0.0148	0.0147	4.83	95.52
HER2-CZY-8	0.0070	0.0066	3.41	97.19
HER2-GGFG-DXd	0.0182	0.0155	-0.39	91.61

实施例 3: HER2-CZY-8 对 NOG 小鼠皮下移植 NCI-N87 细胞动物模型的抗肿瘤药效试验:

本试验采用 NCI-N87 细胞皮下接种 NOG 小鼠测定 HER2-CZY-8 的抗肿瘤作用。

NOG 小鼠: 雌性 NOG 小鼠 (6 周) 购自浙江维通利华实验动物技术有限公司。小鼠在到达后适应性饲养 7 天, 随后开始研究。

细胞: 人源乳腺癌 NCI-N87 细胞 (ATCC 来源, 货号 CRL-5822), 按照说明书进行常规传代培养; 无血清培养基重悬细胞并调整细胞密度, 在第 0 天将细胞悬液皮下接种至雌性 NOG 小鼠右腋窝皮下来建立 NCI-N87 荷瘤小鼠模型。

给药: 在细胞接种后第 6 天, 入组动物平均肿瘤体积达到 167 mm^3 时开始分组给药 (每组 6 只小鼠), 阴性对照抗体 (人 IgG Control, 来源: 杭州皓阳生物技术有限公司, 货号: HSP067-F1)、阳性对照抗体 Trastuzumab (HER2 抗体, CAS: 180288-69-1) 购自杭州皓阳生物技术有限公司、本发明抗体 HER2-CZY-8, 给药期间监测各组小鼠瘤体积和体重变化, 监测频率均为 2 次/周, 连续监测 3 周。在每次给药前测定体重和肿瘤体积, 接种后第 49 天计算肿瘤体积抑制率 (TGI%), 计算公式如下: $\text{TGI}(\%) = [1 - (T_i - T_0) / (V_i - V_0)] \times 100$; 其中 T_i : 给药组肿瘤体积均数, T_0 : 给药组 D0 天的肿瘤体积均数, V_i : 同型对照组肿瘤体积均数, V_0 : 同型对照组 D0 天的肿瘤体积均数。肿瘤体积测定: 采用游标卡尺测定肿瘤的长径 (a) 和宽径 (b), 肿瘤体积按如下公式计算: $\text{TV} = 1/2 \times a \times b^2$ 。采用电子天平测定体重。表 5 为给药剂量和方式。

表 5 给药试验设计

编号	给药剂量	给药次数	给药方式
阴性对照抗体	1mg/kg	QW (D0, D7)	静脉注射
	10 mg/kg	BIW (D10, D14, D17, D21)	
Trastuzumab	1mg/kg	QW (D0, D7)	静脉注射
	10 mg/kg	BIW (D10, D14, D17, D21)	
HER2-CZY-8	1mg/kg	QW (D0, D7)	静脉注射
	10 mg/kg	BIW (D10, D14, D17, D21)	

注: QW 表示一周一次; BIW 表示一周两次。

表 6 结果表明接种后第 49 天, 本发明抗体 HER2-GGFG-DXd 肿瘤体积抑制率为 75.2%, 显著优于阳性抗体 Trastuzumab。

表 6 第 49 天 ADC 体内抑制肿瘤生长能力

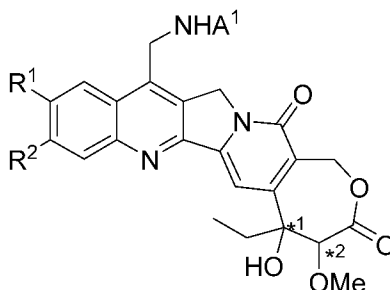
编号	肿瘤体积 (mm^3) (均数 ± 标准误差)	肿瘤体积抑制率
阴性对照抗体	1707 ± 166	/
Trastuzumab	1538 ± 159	10.9%
HER2-CZY-8	549 ± 58	75.2%

根据图 2 和图 3 可知, HER2-CZY-8 显著性抑制 NOG 小鼠皮下移植 NCI-N87 细胞动物模型肿瘤的生长, 并且对 NOG 小鼠体重没有明显影响。

虽然以上描述了本发明的具体实施方式, 但是本领域的技术人员应当理解, 这些仅是举例说明, 在不背离本发明的原理和实质的前提下, 可以对这些实施方式做出多种变更或修改。因此, 本发明的保护范围由所附权利要求书限定。

权利要求

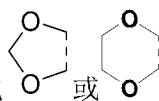
1. 一种如式 I 所示的高喜树碱类小分子或其药学上可接受的盐，



I

其中，A¹ 为 H 或 -C(=O)-C₁₋₆ 亚烷基-OH；

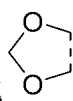
R¹ 和 R² 独立地为 C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基或卤素；

或者 R¹ 和 R² 与相邻的碳原子形成 ， “|” 表示并环的连接位置；

以 “*1” 和 “*2” 标记的碳原子独立地表示 S 构型、R 构型或它们的混合物。

2. 如权利要求 1 所述的如式 I 所示的高喜树碱类小分子或其药学上可接受的盐，其特征在于，A¹ 为 H 或 -C(=O)-C₁₋₆ 亚烷基-OH；

R¹ 和 R² 独立地为 C₁₋₆ 烷基或卤素；

或者 R¹ 和 R² 与相邻的碳原子形成 ， “|” 表示并环的连接位置；

以 “*1” 和 “*2” 标记的碳原子独立地表示 S 构型、R 构型或它们的混合物。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的如式 I 所示的高喜树碱类小分子或其药学上可接受的盐，其特征在于，所述的如式 I 所示的高喜树碱类小分子或其药学上可接受的盐满足下述条件中的一个或多个：

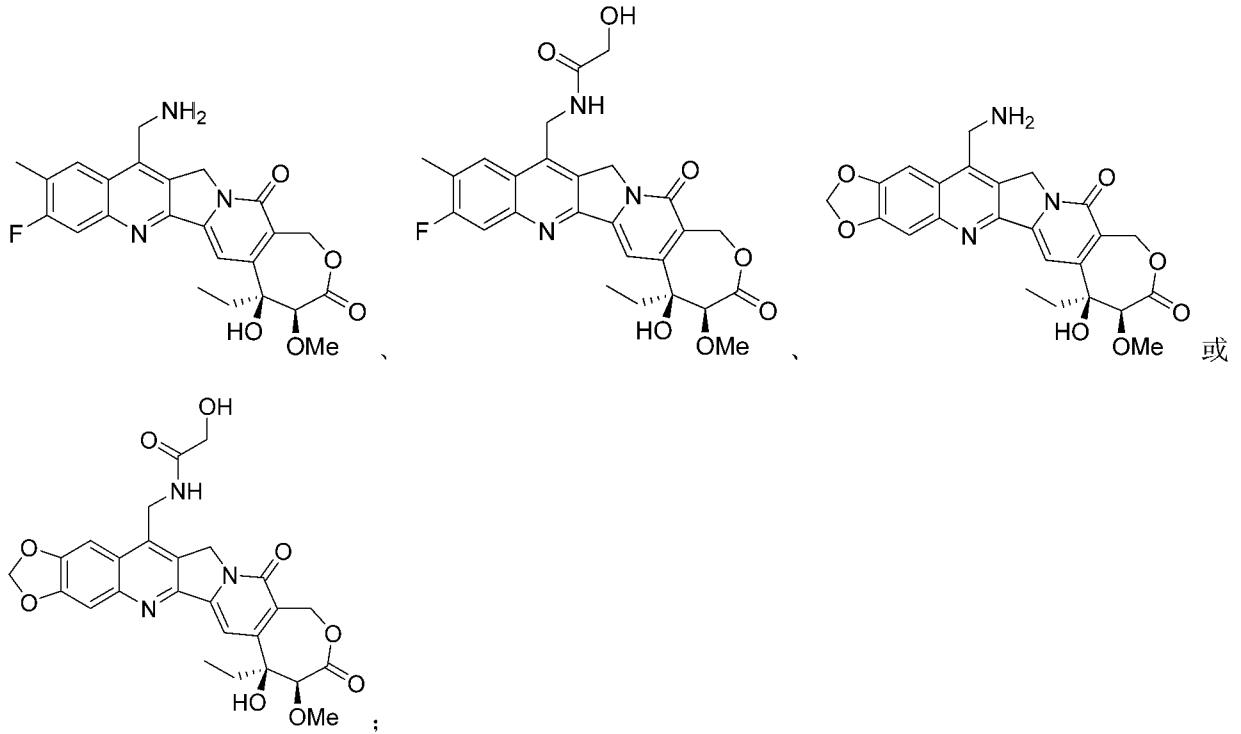
(1) 所述的药学上可接受的盐为三氟醋酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、磷酸盐、硫酸盐、高氯酸盐、乙酸盐、草酸盐、马来酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、琥珀酸盐或丙二酸盐；

(2) A¹ 为 -C(=O)-C₁₋₆ 亚烷基-OH 时，所述的 C₁₋₆ 亚烷基为 -CH₂-、-CH₂CH₂-、-CH₂CH₂CH₂- 或 -CH(CH₃)CH₂-，例如 -CH₂-；

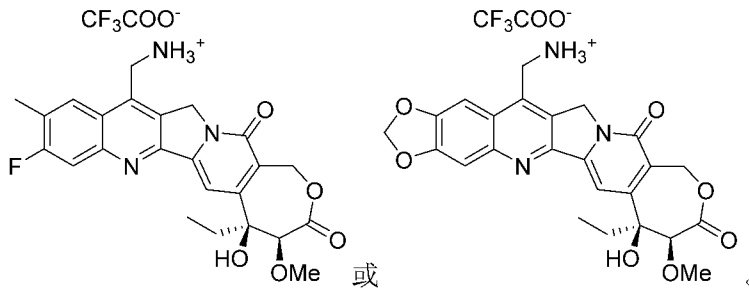
(3) R¹ 和 R² 独立地为 C₁₋₆ 烷基时，所述的 C₁₋₆ 烷基为甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基或叔丁基，例如甲基；

(4) R¹ 和 R² 独立地为卤素时，所述的卤素为氟、氯、溴或碘，例如氟；

(5) 所述的如式 I 所示的高喜树碱类小分子选自如下任一结构：



(6) 所述的如式 I 所示的高喜树碱类小分子其药学上可接受的盐选自如下任一结构:

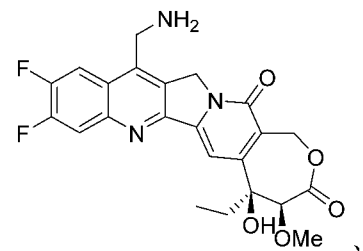


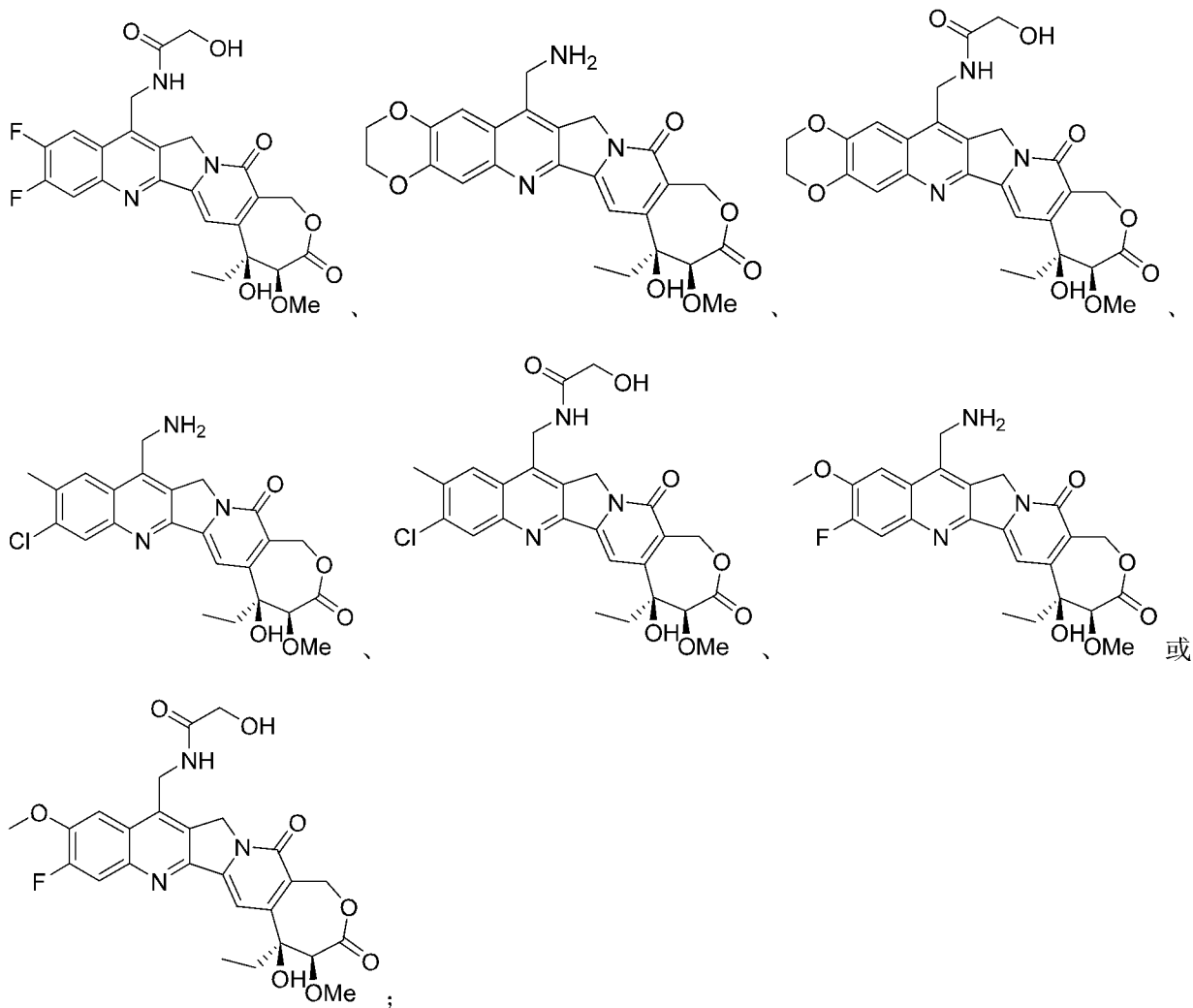
4. 如权利要求 1 所述的如式 I 所示的高喜树碱类小分子或其药学上可接受的盐, 其特征在于, 所述的如式 I 所示的高喜树碱类小分子或其药学上可接受的盐满足下述条件中的一个或多个:

(1) R^1 和 R^2 独立地为 C_{1-6} 烷氧基时, 所述的 C_{1-6} 烷氧基为甲氧基、 $-OCH_2CH_3$ 、异丙氧基或叔丁氧基;

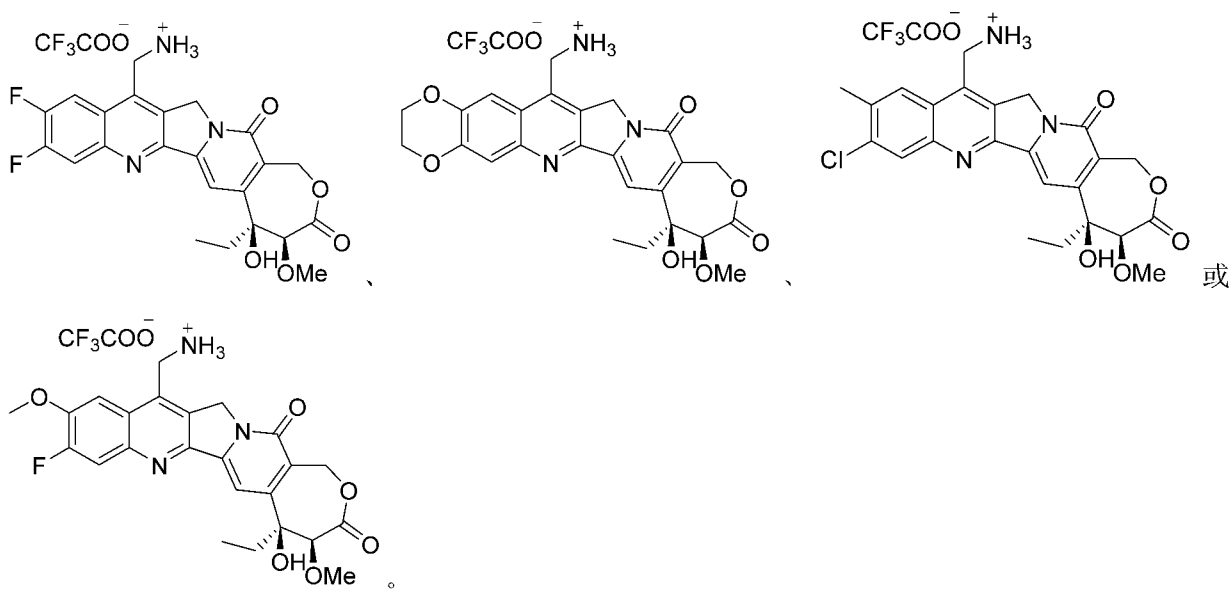
(2) A^1 为 H 或 $-C(=O)CH_2OH$;

(3) 所述的如式 I 所示的高喜树碱类小分子选自如下任一结构:





(4) 所述的如式 I 所示的高喜树碱类小分子其药学上可接受的盐选自如下任一结构：

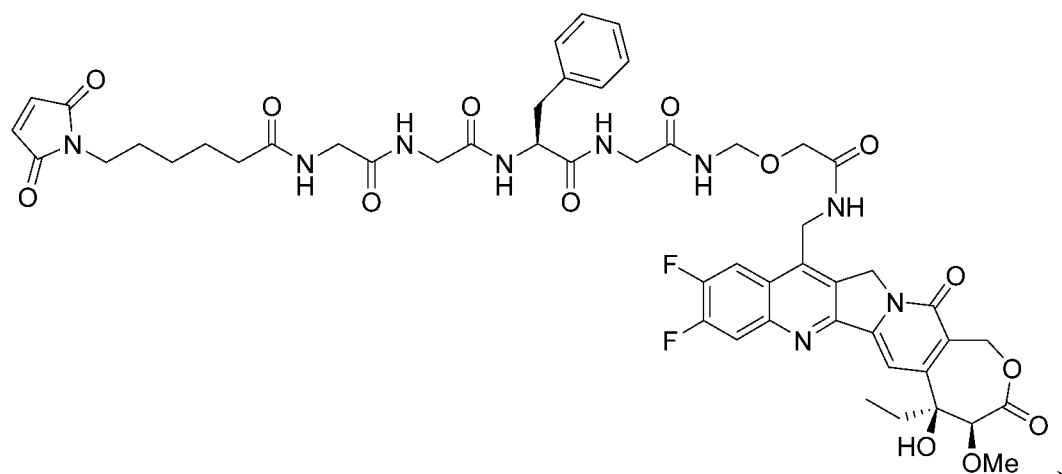
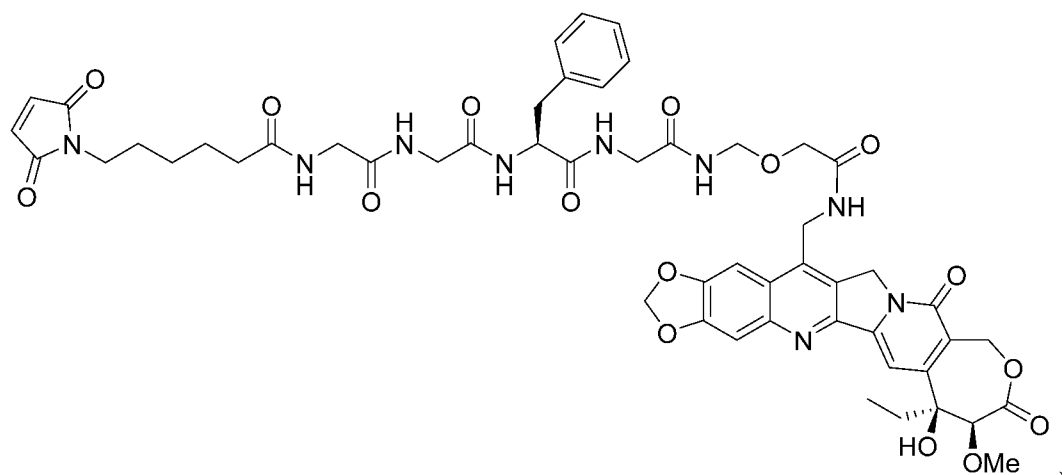
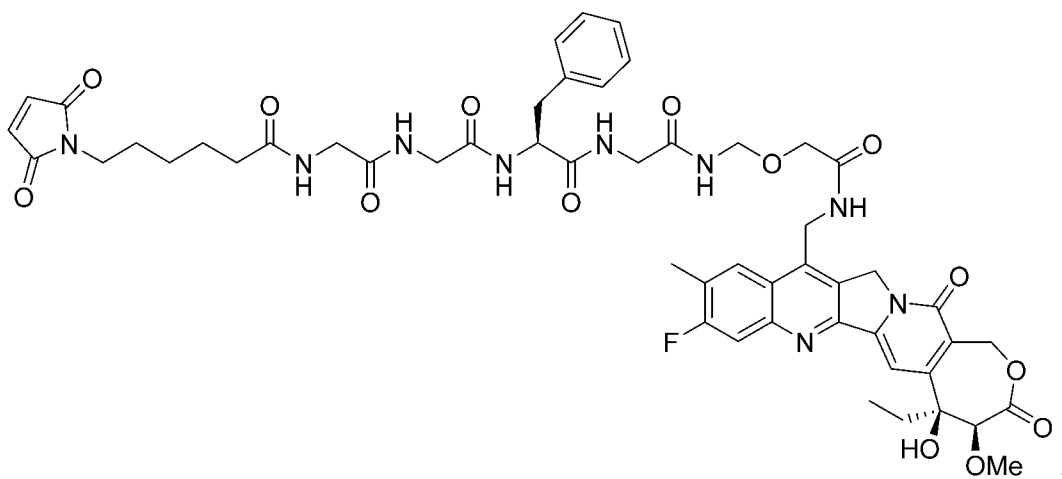


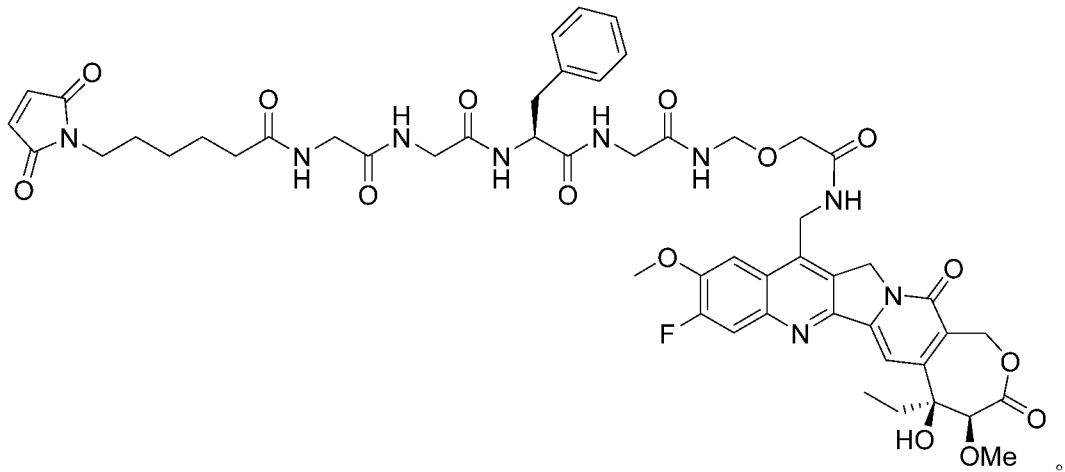
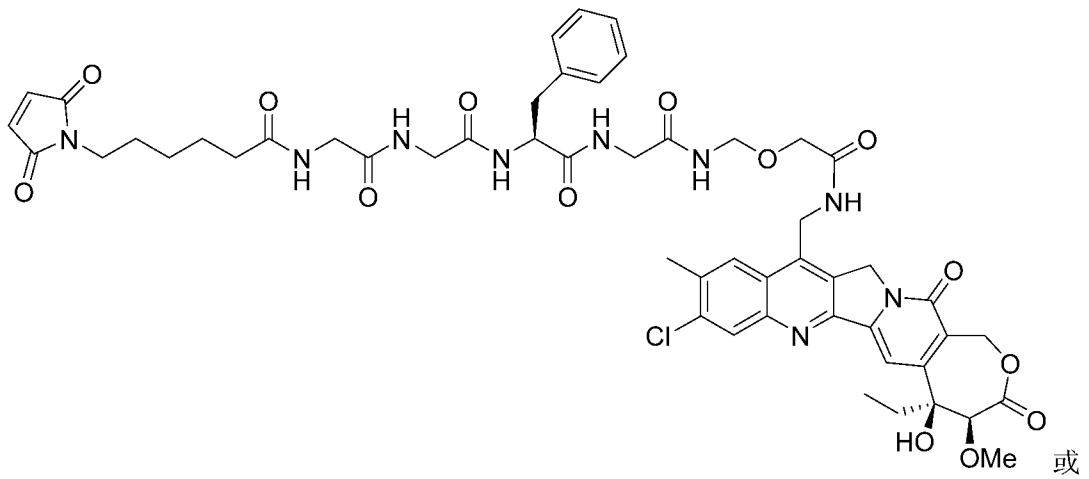
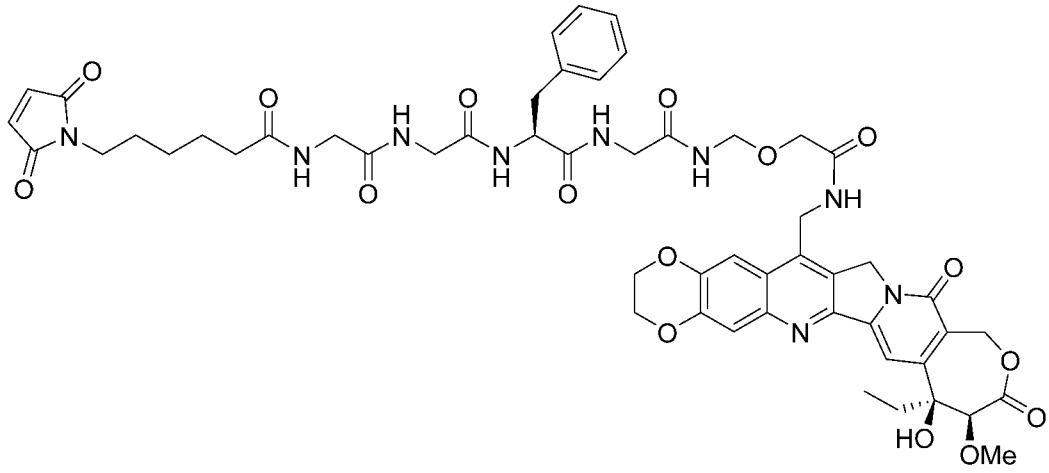
5. 一种如式 II 所示的连接基-药物偶联物，

(7) 所述的四肽残基为 $C=O$ -Gly-Phe-(Gly)₂-NH 或 $C=O$ -(Gly)₂-Phe-Gly-NH₂;

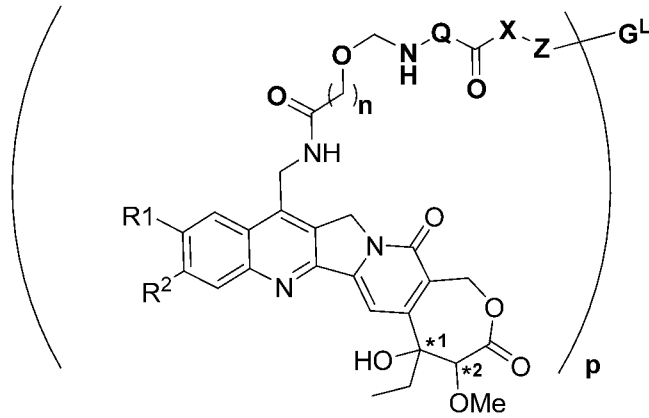
(8) 所述 3-10 元杂环基和 5-10 元杂芳基中的杂原子选自 N、O 和 S 中的一种或多种, 杂原子的个数为 1-3 个。

7. 如权利要求 5 所述的如式 II 所示的连接基-药物偶联物, 其特征在于, 所述的如式 II 所示的连接基-药物偶联物为如下结构:





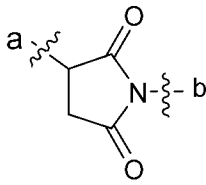
8. 一种如式 III 所示的抗体药物偶联物:

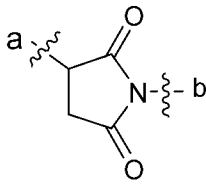


III

其中，GL 为抗体；

p 为 1-8；

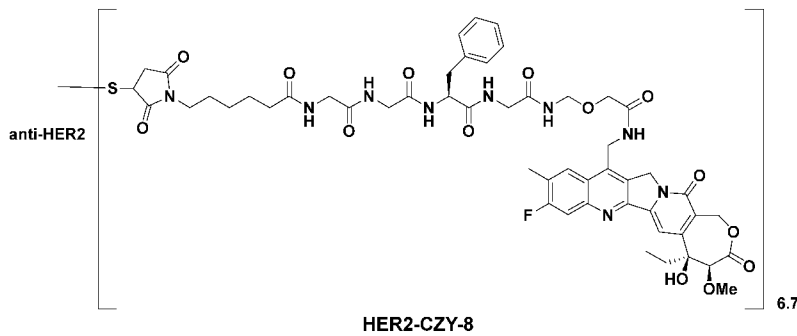


Z 为 ，其中 b 端与 X 连接，a 端与 GL 连接；

R¹、R²、X、Q、n、“*1”和“*2”的定义如权利要求 5 或 6 所述。

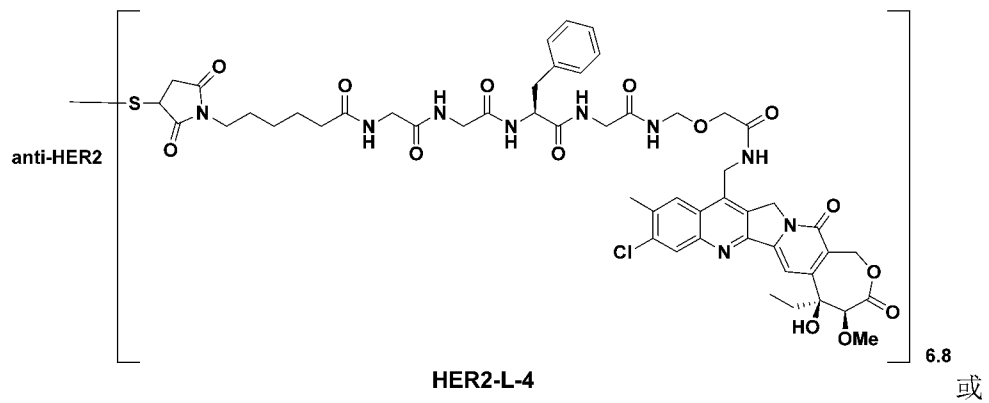
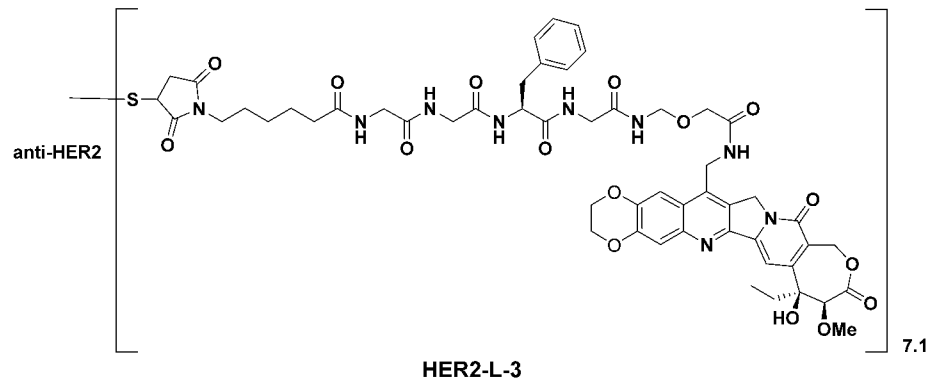
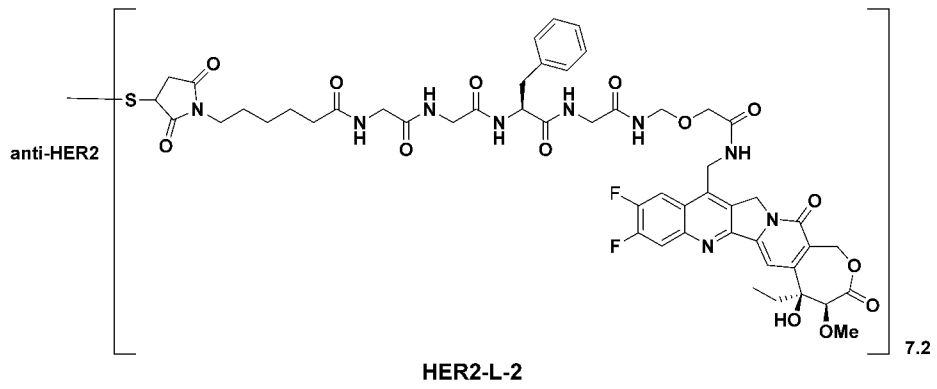
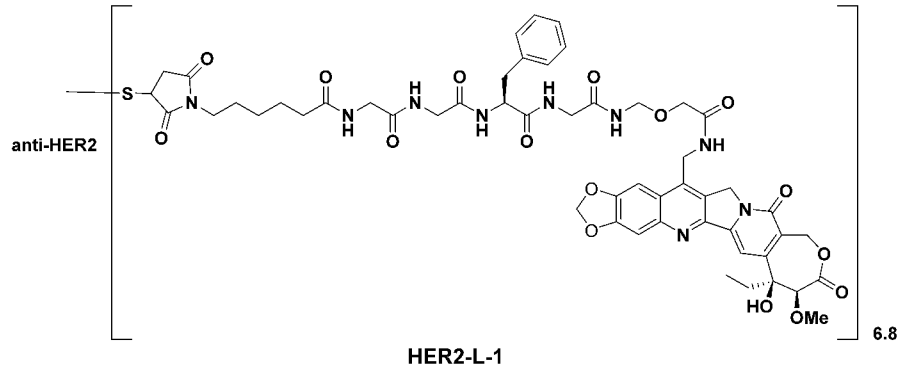
9. 如权利要求 8 所述的抗体药物偶联物，其特征在于，所述的抗体药物偶联物满足下述条件中的一个或多个：

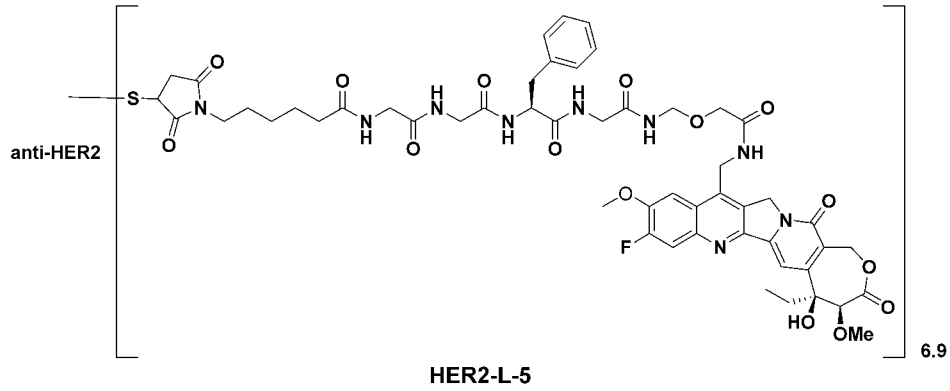
- (1) p 为 6.7；
- (2) Z 的 a 端和 GL 以硫醚键的形式相连；
- (3) GL 为 HER2 抗体，例如 Trastuzumab；
- (4) 所述的如式 III 所示的抗体药物偶联物为如下结构：



，其中 HER2 抗体为 Trastuzumab。

10. 如权利要求 8 所述的抗体药物偶联物，其特征在于，p 为 6.7-7.2，例如 6.8、6.9 或 7.1；和/或，所述的如式 III 所示的抗体药物偶联物为如下结构：





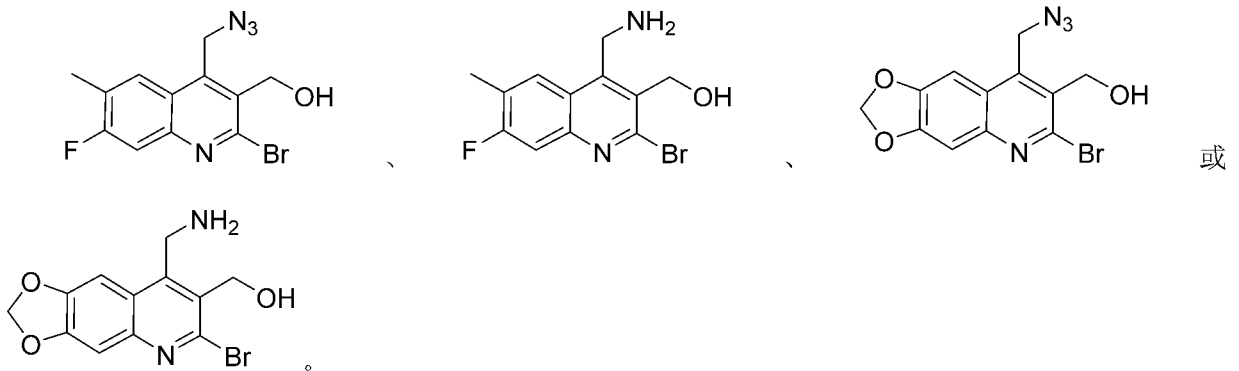
其中HER2抗体为Trastuzumab。

11. 一种药物组合物，其包括如权利要求 1-4 中任一项所述的如式 I 所示的高喜树碱类小分子或其药学上可接受的盐、或如权利要求 8-10 中任一项所述的如式 III 所示的抗体药物偶联物，和至少一种药用辅料。

12. 一种如权利要求1-4中任一项所述的如式I所示的高喜树碱类小分子或其药学上可接受的盐、或如权利要求8-10中任一项所述的如式III所示的抗体药物偶联物在制备用于预防或治疗癌症的药物中的应用。

13. 如权利要求12所述的应用，其特征在于，所述的癌症为乳腺癌、肺癌、肾癌、肝癌、卵巢癌、尿道癌、前列腺癌、多形性成胶质细胞瘤、胰腺癌、大肠癌、胃肠道间质瘤、宫颈癌、鳞状细胞癌、腹膜癌、结肠癌、直肠癌、结肠直肠癌、子宫癌、唾液腺癌、肾癌、外阴癌、甲状腺癌、阴茎癌、白血病、恶性淋巴瘤、浆细胞瘤、骨髓瘤、肉瘤、黑色素瘤、膀胱癌、胃癌或食道癌。

14. 如下所示的化合物，



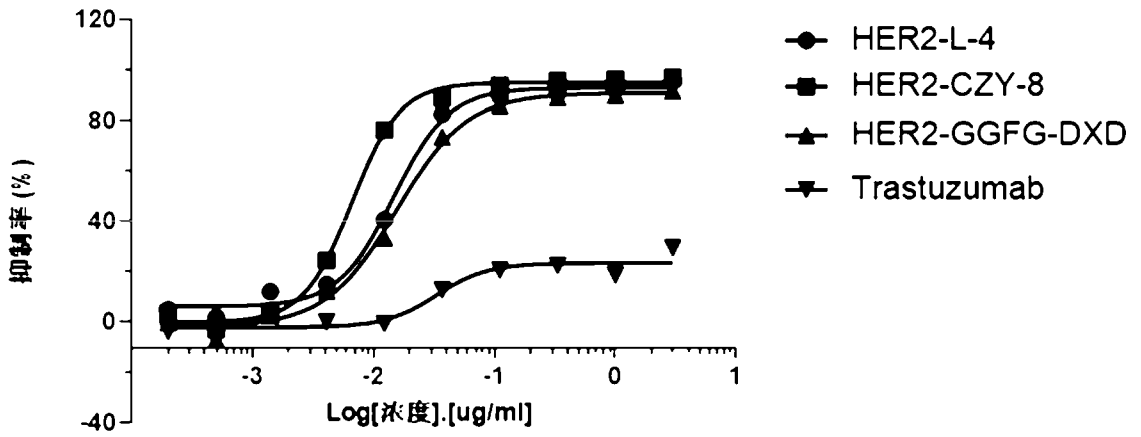


图 1

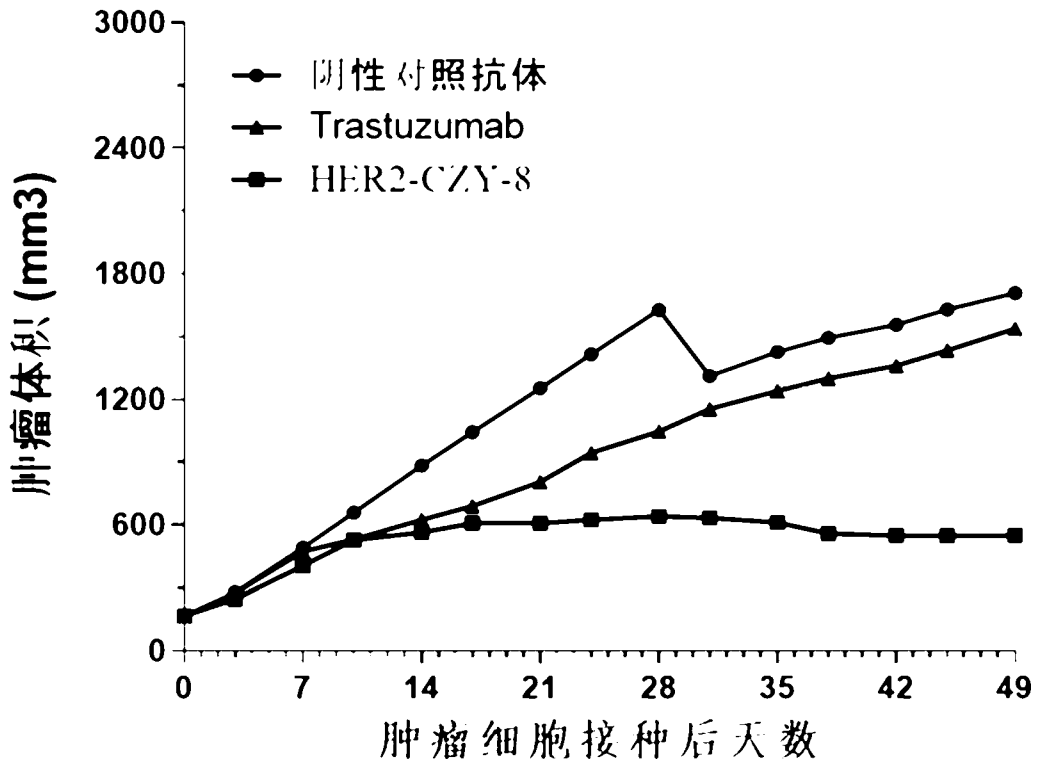


图 2

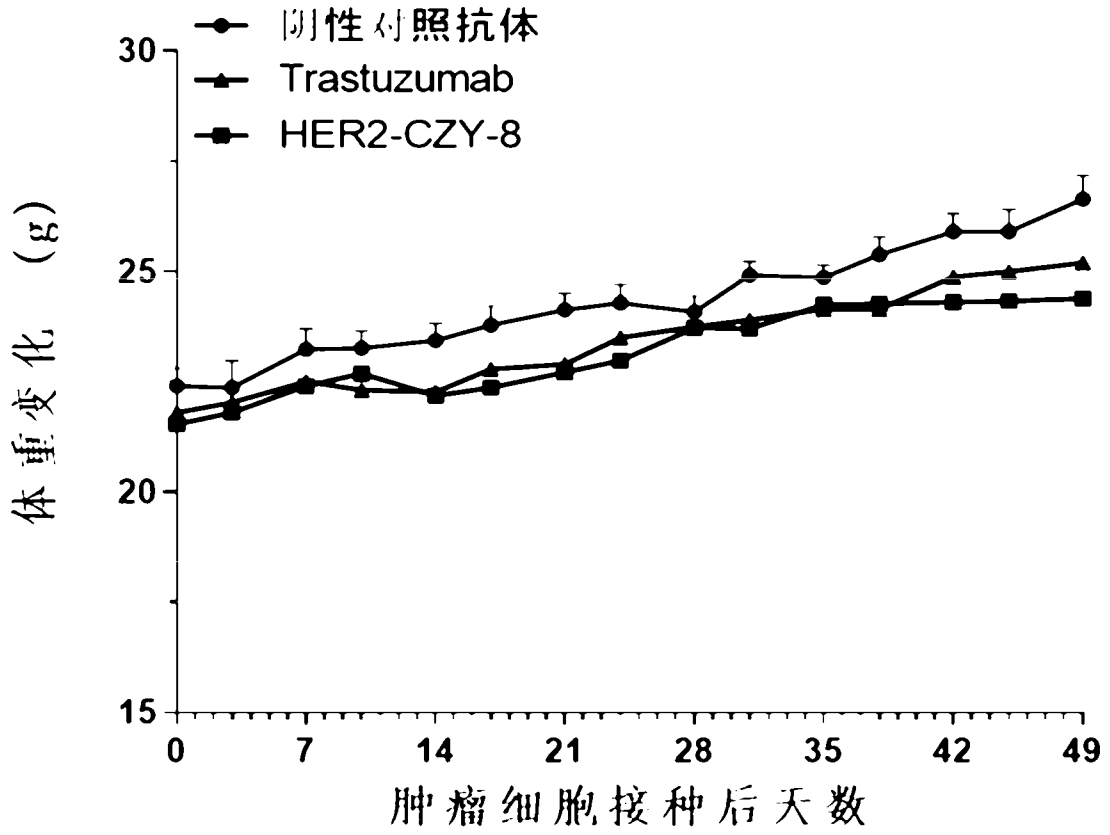


图 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/098113

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
C07D 491/22(2006.01)i; C07D 498/22(2006.01)i; A61K 31/4375(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
IPC: C07D A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
CNABS, CNTXT, ENTXT, DWPI, 中国知网, CNKI, 万方数据库, WANFANG DATABASE, Web of science, 百度学术, BAIDU SCHOLAR, Registry, Caplus: 华东师范大学, 上海医药集团, 吕伟, 程祉扬, 周伟, 夏广新, 朱阳, 柯樱, 陈娜, 高喜树碱, 喜树碱, 抗体药物偶联物, 偶联物, 连接子, 癌症, 肿瘤, 癌, 拓扑异构酶, ADC, antibody, diflomotecan, camptothecin, conjugate?, connect?, tumour?, tumor?, cancer.		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 1241191 A (SOCIETE DE CONSEILS DE RECHERCHES ET D'APPLICATIONS SCIENTIFIQUES) 12 January 2000 (2000-01-12) description, embodiments 30 and 48; page 20; and claims 1-10	1-4, 11-14
X	CN 1241192 A (SOCIETE DE CONSEILS DE RECHERCHES ET D'APPLICATIONS SCIENTIFIQUES) 12 January 2000 (2000-01-12) claims 1-16, and description, embodiments 1-10	1-4, 11-14
X	CN 1192740 A (SOCIETE DE CONSEILS DE RECHERCHES ET D'APPLICATIONS SCIENTIFIQUES) 09 September 1998 (1998-09-09) claims 1-31, and description, embodiments 1-28	1-4, 11-14
Y	CN 112125915 A (SICHUAN BAILI PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 25 December 2020 (2020-12-25) description, paragraphs 9 and 25; and claims 1-22	5-13
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
14 August 2023		21 August 2023
Name and mailing address of the ISA/CN		Authorized officer
China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088		
		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/098113

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN 112138171 A (SHANGHAI FUDAN-ZHANGJIANG BIO-PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 29 December 2020 (2020-12-29) claims 1-15	5-13
Y	CN 114456186 A (SICHUAN BAILI PHARMACEUTICAL CO., LTD. et al.) 10 May 2022 (2022-05-10) claims 1-28	5-13
Y	WO 2021190602 A1 (JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD. et al.) 30 September 2021 (2021-09-30) claims 1-15	5-13
Y	CN 1241191 A (SOCIETE DE CONSEILS DE RECHERCHES ET D'APPLICATIONS SCIENTIFIQUES) 12 January 2000 (2000-01-12) description, embodiments 30 and 48; page 20; and claims 1-10	5-13
Y	CN 1241192 A (SOCIETE DE CONSEILS DE RECHERCHES ET D'APPLICATIONS SCIENTIFIQUES) 12 January 2000 (2000-01-12) claims 1-16, and description, embodiments 1-10	5-13
Y	CN 1192740 A (SOCIETE DE CONSEILS DE RECHERCHES ET D'APPLICATIONS SCIENTIFIQUES) 09 September 1998 (1998-09-09) claims 1-31, and description, embodiments 1-28	5-13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2023/098113

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	1241191	A	12 January 2000	FR	2757514	A1	26 June 1998
				FR	2757514	B1	12 February 1999
				PT	946567	E	30 January 2004
				CA	2275351	A1	02 July 1998
				CA	2275351	C	14 October 2008
				CZ	220599	A3	15 September 1999
				CZ	299795	B6	26 November 2008
				BR	9714170	A	29 February 2000
				NZ	335939	A	28 April 2000
				WO	9828305	A1	02 July 1998
				AU	5326598	A	17 July 1998
				AU	734485	B2	14 June 2001
				HU	9904210	A2	28 May 2000
				HU	9904210	A3	28 September 2000
				HK	1024695	A1	20 October 2000
				ES	2206761	T3	16 May 2004
				MY	119473	A	31 May 2005
				NO	992998	D0	18 June 1999
				NO	992998	L	18 August 1999
				NO	326464	B1	08 December 2008
				EP	0946567	A1	06 October 1999
				EP	0946567	B1	27 August 2003
				ZA	9711129	B	03 May 1999
				JP	2001505922	A	08 May 2001
				JP	3576175	B2	13 October 2004
				DK	0946567	T3	22 December 2003
				KR	20000069608	A	25 November 2000
				KR	100516874	B1	26 September 2005
				PL	334125	A1	14 February 2000
				PL	188181	B1	31 December 2004
				DE	69724453	D1	02 October 2003
				DE	69724453	T2	09 June 2004
				AT	248177	T	15 September 2003
RU	2194051	C2	10 December 2002				
JP	2004115535	A	15 April 2004				
AR	008543	A1	19 January 2000				
UA	57758	C2	15 July 2003				
MXPA	99005776	A	31 August 2004				
CN	1241192	A	12 January 2000	IL	129892	A	20 September 2007
				DK	0946566	T3	15 March 2004
				BR	9713977	A	11 April 2000
				BR	9713977	B1	29 June 2010
				KR	20000062260	A	25 October 2000
				KR	100516873	B1	26 September 2005
				PL	334092	A1	31 January 2000
				PL	188109	B1	31 December 2004
				WO	9828304	A1	02 July 1998
				HU	0001385	A2	28 October 2000
				HU	0001385	A3	28 December 2002
				AT	253582	T	15 November 2003

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2023/098113

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		MY 122042 A	31 March 2006
		AR 005849 A1	21 July 1999
		UA 57757 C2	15 July 2003
		PT 946566 E	31 March 2004
		TW 410224 B	01 November 2000
		ES 2206760 T3	16 May 2004
		NZ 335938 A	28 April 2000
		CA 2275345 A1	02 July 1998
		CA 2275345 C	26 January 2010
		DE 69726007 D1	11 December 2003
		DE 69726007 T2	03 June 2004
		JP 2001506270 A	15 May 2001
		JP 3576174 B2	13 October 2004
		EP 0946566 A1	06 October 1999
		EP 0946566 B1	05 November 2003
		CZ 209299 A3	15 September 1999
		CZ 299794 B6	26 November 2008
		NO 992997 D0	18 June 1999
		NO 992997 L	18 August 1999
		NO 324973 B1	14 January 2008
		HK 1024694 A1	20 October 2000
		AU 5326498 A	17 July 1998
		AU 734512 B2	14 June 2001
		IL 129892 A0	29 February 2000
CN	1192740 A	09 September 1998	
		CZ 415397 A3	12 August 1998
		CZ 296156 B6	11 January 2006
		DE 69623961 D1	31 October 2002
		DE 69623961 T2	08 May 2003
		IL 128044 A0	30 November 1999
		CL 2004001168 A1	20 May 2005
		DK 1251125 T3	18 April 2006
		MX 9710228 A	31 March 1998
		NZ 312715 A	28 January 2000
		BR 9608639 A	29 June 1999
		CA 2225528 A1	09 January 1997
		CA 2225528 C	05 June 2007
		AT 312105 T	15 December 2005
		HK 1056726 A1	27 February 2004
		EP 0835258 A1	15 April 1998
		EP 0835258 B1	25 September 2002
		DE 69635560 D1	12 January 2006
		DE 69635560 T2	17 August 2006
		NO 975988 D0	19 December 1997
		NO 975988 L	19 February 1998
		NO 316749 B1	26 April 2004
		AU 6460896 A	22 January 1997
		AU 716377 B2	24 February 2000
		IL 122635 A0	16 August 1998
		IL 122635 A	31 October 2001
		RU 2164515 C2	27 March 2001

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2023/098113

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		PL 324339 A1	25 May 1998
		PL 185354 B1	30 April 2003
		WO 9700876 A1	09 January 1997
		KR 19990028263 A	15 April 1999
		KR 100440838 B1	17 December 2004
		RO 117918 B1	30 September 2002
		DK 0835258 T3	03 February 2003
		TW 457234 B	01 October 2001
		JPH 11508249 A	21 July 1999
		JP 3576171 B2	13 October 2004
		JP 2004123756 A	22 April 2004
		PT 835258 E	28 February 2003
		HK 1015783 A1	22 October 1999
		ES 2254600 T3	16 June 2006
		AT 224900 T	15 October 2002
		HK 1050686 A1	04 July 2003
		ES 2184882 T3	16 April 2003
		EP 1251125 A2	23 October 2002
		EP 1251125 A3	11 December 2002
		EP 1251125 B1	07 December 2005
CN 112125915 A	25 December 2020	WO 2021052402 A1	25 March 2021
		EP 4032892 A1	27 July 2022
		JP 2022548908 A	22 November 2022
		BR 112022004913 A2	07 June 2022
		US 2022411436 A1	29 December 2022
		IL 291337 A	01 May 2022
		AU 2020347715 A1	07 April 2022
		IN 202217014667 A	01 July 2022
		HK 40068825 A0	30 September 2022
CN 112138171 A	29 December 2020	None	
CN 114456186 A	10 May 2022	WO 2022078260 A1	21 April 2022
		AU 2021359457 A1	11 May 2023
		IL 302054 A	01 June 2023
WO 2021190602 A1	30 September 2021	CA 3175048 A1	30 September 2021
		TW 202144014 A	01 December 2021
		AU 2021243080 A1	22 September 2022
		JP 2023521956 A	26 May 2023
		BR 112022019042 A2	01 November 2022
		EP 4130045 A1	08 February 2023
		KR 20220157425 A	29 November 2022
		CN 115103858 A	23 September 2022
		IN 202227057021 A	11 November 2022

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2023/098113

<p>A. 主题的分类</p> <p>C07D 491/22(2006.01)i; C07D 498/22(2006.01)i; A61K 31/4375(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																							
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>IPC: C07D A61K A61P</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNABS, CNTXT, ENTXT, DWPI, 中国知网, 万方数据库, Web of science, 百度学术, Registry, Caplus, 华东师范大学, 上海医药集团, 吕伟, 程祉扬, 周伟, 夏广新, 朱阳, 柯樱, 陈娜, 高喜树碱, 喜树碱, 抗体药物偶联物, 偶联物, 连接子, 癌症, 肿瘤, 癌, 拓扑异构酶, ADC, antibody, diflomotecan, camptothecin, conjugate?, connect?, tumour?, tumor?, cancer.</p>																							
<p>G. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>CN 1241191 A (科学研究与运用咨询公司) 2000年1月12日 (2000 - 01 - 12) 说明书实施例30, 48;说明书第20页;权利要求1-10</td> <td>1-4, 11-14</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>CN 1241192 A (科学研究与运用咨询公司) 2000年1月12日 (2000 - 01 - 12) 权利要求1-16, 说明书实施例1-10</td> <td>1-4, 11-14</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>CN 1192740 A (科学研究与运用咨询公司) 1998年9月9日 (1998 - 09 - 09) 权利要求1-31, 说明书实施例1-28</td> <td>1-4, 11-14</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 112125915 A (四川百利药业有限责任公司) 2020年12月25日 (2020 - 12 - 25) 说明书9, 25;权利要求1-22</td> <td>5-13</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 112138171 A (上海复旦张江生物医药股份有限公司) 2020年12月29日 (2020 - 12 - 29) 权利要求1-15</td> <td>5-13</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 114456186 A (四川百利药业有限责任公司 等) 2022年5月10日 (2022 - 05 - 10) 权利要求1-28</td> <td>5-13</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	X	CN 1241191 A (科学研究与运用咨询公司) 2000年1月12日 (2000 - 01 - 12) 说明书实施例30, 48;说明书第20页;权利要求1-10	1-4, 11-14	X	CN 1241192 A (科学研究与运用咨询公司) 2000年1月12日 (2000 - 01 - 12) 权利要求1-16, 说明书实施例1-10	1-4, 11-14	X	CN 1192740 A (科学研究与运用咨询公司) 1998年9月9日 (1998 - 09 - 09) 权利要求1-31, 说明书实施例1-28	1-4, 11-14	Y	CN 112125915 A (四川百利药业有限责任公司) 2020年12月25日 (2020 - 12 - 25) 说明书9, 25;权利要求1-22	5-13	Y	CN 112138171 A (上海复旦张江生物医药股份有限公司) 2020年12月29日 (2020 - 12 - 29) 权利要求1-15	5-13	Y	CN 114456186 A (四川百利药业有限责任公司 等) 2022年5月10日 (2022 - 05 - 10) 权利要求1-28	5-13
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																					
X	CN 1241191 A (科学研究与运用咨询公司) 2000年1月12日 (2000 - 01 - 12) 说明书实施例30, 48;说明书第20页;权利要求1-10	1-4, 11-14																					
X	CN 1241192 A (科学研究与运用咨询公司) 2000年1月12日 (2000 - 01 - 12) 权利要求1-16, 说明书实施例1-10	1-4, 11-14																					
X	CN 1192740 A (科学研究与运用咨询公司) 1998年9月9日 (1998 - 09 - 09) 权利要求1-31, 说明书实施例1-28	1-4, 11-14																					
Y	CN 112125915 A (四川百利药业有限责任公司) 2020年12月25日 (2020 - 12 - 25) 说明书9, 25;权利要求1-22	5-13																					
Y	CN 112138171 A (上海复旦张江生物医药股份有限公司) 2020年12月29日 (2020 - 12 - 29) 权利要求1-15	5-13																					
Y	CN 114456186 A (四川百利药业有限责任公司 等) 2022年5月10日 (2022 - 05 - 10) 权利要求1-28	5-13																					
<p><input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p>																							
<p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>“D” 申请人在国际申请中引证的文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件</p> <p>“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件</p> <p>“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性</p> <p>“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性</p> <p>“&” 同族专利的文件</p>																							
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2023年8月14日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2023年8月21日</p>																					
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p>		<p>授权官员</p> <p>郭军霞</p> <p>电话号码 (+86) 020-28958988</p>																					

C. 相关文件

类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
Y	WO 2021190602 A1 (江苏恒瑞医药股份有限公司 等) 2021年9月30日 (2021 - 09 - 30) 权利要求1-15	5-13
Y	CN 1241191 A (科学研究与运用咨询公司) 2000年1月12日 (2000 - 01 - 12) 说明书实施例30, 48; 说明书第20页; 权利要求1-10	5-13
Y	CN 1241192 A (科学研究与运用咨询公司) 2000年1月12日 (2000 - 01 - 12) 权利要求1-16, 说明书实施例1-10	5-13
Y	CN 1192740 A (科学研究与运用咨询公司) 1998年9月9日 (1998 - 09 - 09) 权利要求1-31, 说明书实施例1-28	5-13

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2023/098113

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	1241191	A	2000年1月12日	FR	2757514	A1	1998年6月26日
				FR	2757514	B1	1999年2月12日
				PT	946567	E	2004年1月30日
				CA	2275351	A1	1998年7月2日
				CA	2275351	C	2008年10月14日
				CZ	220599	A3	1999年9月15日
				CZ	299795	B6	2008年11月26日
				BR	9714170	A	2000年2月29日
				NZ	335939	A	2000年4月28日
				WO	9828305	A1	1998年7月2日
				AU	5326598	A	1998年7月17日
				AU	734485	B2	2001年6月14日
				HU	9904210	A2	2000年5月28日
				HU	9904210	A3	2000年9月28日
				HK	1024695	A1	2000年10月20日
				ES	2206761	T3	2004年5月16日
				MY	119473	A	2005年5月31日
				NO	992998	D0	1999年6月18日
				NO	992998	L	1999年8月18日
				NO	326464	B1	2008年12月8日
				EP	0946567	A1	1999年10月6日
				EP	0946567	B1	2003年8月27日
				ZA	9711129	B	1999年5月3日
				JP	2001505922	A	2001年5月8日
				JP	3576175	B2	2004年10月13日
				DK	0946567	T3	2003年12月22日
				KR	20000069608	A	2000年11月25日
				KR	100516874	B1	2005年9月26日
				PL	334125	A1	2000年2月14日
				PL	188181	B1	2004年12月31日
				DE	69724453	D1	2003年10月2日
				DE	69724453	T2	2004年6月9日
				AT	248177	T	2003年9月15日
				RU	2194051	C2	2002年12月10日
				JP	2004115535	A	2004年4月15日
				AR	008543	A1	2000年1月19日
				UA	57758	C2	2003年7月15日
				MXPA	99005776	A	2004年8月31日
CN	1241192	A	2000年1月12日	IL	129892	A	2007年9月20日
				DK	0946566	T3	2004年3月15日
				BR	9713977	A	2000年4月11日
				BR	9713977	B1	2010年6月29日
				KR	20000062260	A	2000年10月25日
				KR	100516873	B1	2005年9月26日
				PL	334092	A1	2000年1月31日
				PL	188109	B1	2004年12月31日
				WO	9828304	A1	1998年7月2日
				HU	0001385	A2	2000年10月28日
				HU	0001385	A3	2002年12月28日
				AT	253582	T	2003年11月15日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2023/098113

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
		MY 122042 A	2006年3月31日
		AR 005849 A1	1999年7月21日
		UA 57757 C2	2003年7月15日
		PT 946566 E	2004年3月31日
		TW 410224 B	2000年11月1日
		ES 2206760 T3	2004年5月16日
		NZ 335938 A	2000年4月28日
		CA 2275345 A1	1998年7月2日
		CA 2275345 C	2010年1月26日
		DE 69726007 D1	2003年12月11日
		DE 69726007 T2	2004年6月3日
		JP 2001506270 A	2001年5月15日
		JP 3576174 B2	2004年10月13日
		EP 0946566 A1	1999年10月6日
		EP 0946566 B1	2003年11月5日
		CZ 209299 A3	1999年9月15日
		CZ 299794 B6	2008年11月26日
		NO 992997 D0	1999年6月18日
		NO 992997 L	1999年8月18日
		NO 324973 B1	2008年1月14日
		HK 1024694 A1	2000年10月20日
		AU 5326498 A	1998年7月17日
		AU 734512 B2	2001年6月14日
		IL 129892 A0	2000年2月29日
CN 1192740 A	1998年9月9日	CZ 415397 A3	1998年8月12日
		CZ 296156 B6	2006年1月11日
		DE 69623961 D1	2002年10月31日
		DE 69623961 T2	2003年5月8日
		IL 128044 A0	1999年11月30日
		CL 2004001168 A1	2005年5月20日
		DK 1251125 T3	2006年4月18日
		MX 9710228 A	1998年3月31日
		NZ 312715 A	2000年1月28日
		BR 9608639 A	1999年6月29日
		CA 2225528 A1	1997年1月9日
		CA 2225528 C	2007年6月5日
		AT 312105 T	2005年12月15日
		HK 1056726 A1	2004年2月27日
		EP 0835258 A1	1998年4月15日
		EP 0835258 B1	2002年9月25日
		DE 69635560 D1	2006年1月12日
		DE 69635560 T2	2006年8月17日
		NO 975988 D0	1997年12月19日
		NO 975988 L	1998年2月19日
		NO 316749 B1	2004年4月26日
		AU 6460896 A	1997年1月22日
		AU 716377 B2	2000年2月24日
		IL 122635 A0	1998年8月16日
		IL 122635 A	2001年10月31日
		RU 2164515 C2	2001年3月27日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2023/098113

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
				PL	324339	A1	1998年5月25日
				PL	185354	B1	2003年4月30日
				WO	9700876	A1	1997年1月9日
				KR	19990028263	A	1999年4月15日
				KR	100440838	B1	2004年12月17日
				RO	117918	B1	2002年9月30日
				DK	0835258	T3	2003年2月3日
				TW	457234	B	2001年10月1日
				JPH	11508249	A	1999年7月21日
				JP	3576171	B2	2004年10月13日
				JP	2004123756	A	2004年4月22日
				PT	835258	E	2003年2月28日
				HK	1015783	A1	1999年10月22日
				ES	2254600	T3	2006年6月16日
				AT	224900	T	2002年10月15日
				HK	1050686	A1	2003年7月4日
				ES	2184882	T3	2003年4月16日
				EP	1251125	A2	2002年10月23日
				EP	1251125	A3	2002年12月11日
				EP	1251125	B1	2005年12月7日
CN	112125915	A	2020年12月25日	WO	2021052402	A1	2021年3月25日
				EP	4032892	A1	2022年7月27日
				JP	2022548908	A	2022年11月22日
				BR	112022004913	A2	2022年6月7日
				US	2022411436	A1	2022年12月29日
				IL	291337	A	2022年5月1日
				AU	2020347715	A1	2022年4月7日
				IN	202217014667	A	2022年7月1日
				HK	40068825	A0	2022年9月30日
CN	112138171	A	2020年12月29日	无			
CN	114456186	A	2022年5月10日	WO	2022078260	A1	2022年4月21日
				AU	2021359457	A1	2023年5月11日
				IL	302054	A	2023年6月1日
WO	2021190602	A1	2021年9月30日	CA	3175048	A1	2021年9月30日
				TW	202144014	A	2021年12月1日
				AU	2021243080	A1	2022年9月22日
				JP	2023521956	A	2023年5月26日
				BR	112022019042	A2	2022年11月1日
				EP	4130045	A1	2023年2月8日
				KR	20220157425	A	2022年11月29日
				CN	115103858	A	2022年9月23日
				IN	202227057021	A	2022年11月11日