



(21)申請案號：105135454

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 11 月 02 日

(51)Int. Cl. : *C07D207/08 (2006.01)* *C07D401/12 (2006.01)*
 A61K31/40 (2006.01) *A61K31/4709 (2006.01)*
 A61K38/00 (2006.01) *A61K39/395 (2006.01)*
 A61K47/50 (2017.01)

(30)優先權：2015/11/03 美國 62/250,107

(71)申請人：財團法人工業技術研究院(中華民國) INDUSTRIAL TECHNOLOGY RESEARCH INSTITUTE (TW)

新竹縣竹東鎮中興路 4 段 195 號

(72)發明人：李昂 LEE, ON (TW)；蔡玫烜 TSAI, MEI HSUAN (TW)

(74)代理人：洪澄文；顏錦順

(56)參考文獻：

US 2010/0062008A1 US 2011/0020343A1
 US 2012/0107332A1

Svetlana O.Doronina RT AL., "Novel Peptide Linkers for Highly Potent Antibody-Auristatin Conjugate", Bioconjugate Chemistry (2008), 19(10), pp. 1960-1963

審查人員：謝敏哲

申請專利範圍項數：21 項 圖式數：2 共 121 頁

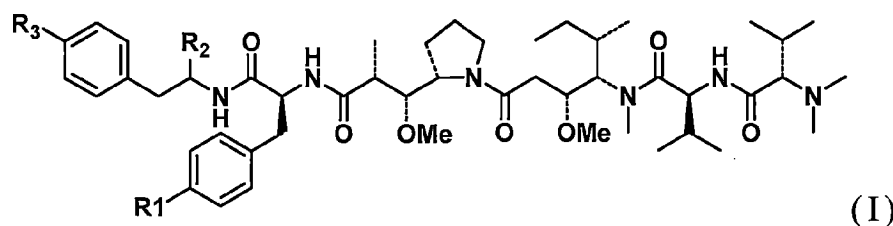
(54)名稱

化合物、連接子-藥物、及配體-藥物耦合體

COMPOUNDS, LINKER-DRUGS AND LIGAND-DRUG CONJUGATES

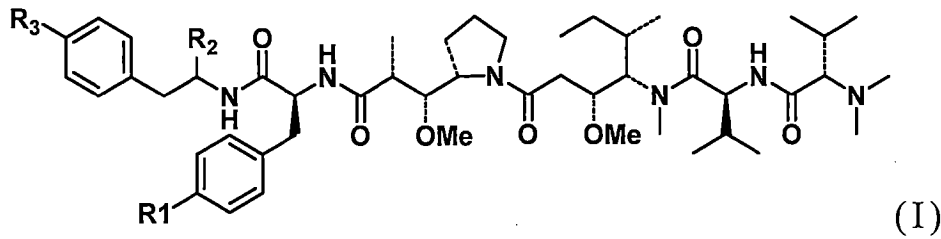
(57)摘要

本揭露提供一種具有式(I)的化合物或其藥學上可接受的鹽類或溶劑化物。式(I)中，每一 R1、R2 與 R3 獨立地為氫、胺基、硝基、鹵素、羥基、C1-C6 烷氧基、羧基、C1-C6 烷氧基羰基、C1-C6 胺基、C1-C6 胺基羰基、C1-C6 烷基、C1-C6 分支型烷基、C1-C6 環烷基、C1-C6 雜環基、芳基或雜芳基，R1 與 R3 至少其中之一為胺基。本揭露亦提供一種包含該化合物的連接子-藥物及配體-藥物耦合體。

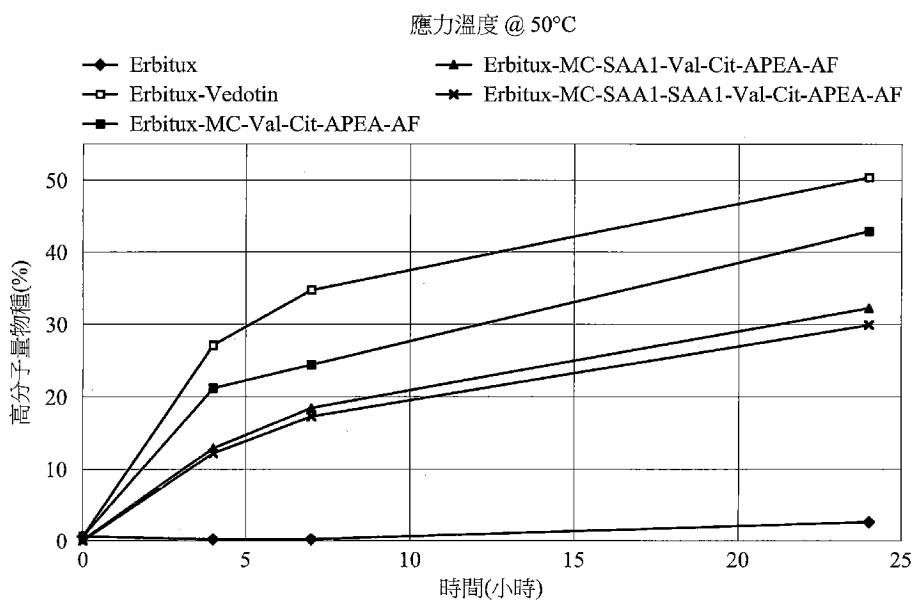


A compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof is provided. In formula (I), R1, R2 and R3 are each, independently, hydrogen, amino, nitro, halogen, hydroxyl, C1-C6

alkoxy, carboxylic acid, C1-C6 alkoxy carbonyl, C1-C6 amino, C1-C6 aminocarbonyl, C1-C6 alkyl, branched C1-C6 alkyl, C1-C6 cycloalkyl, C1-C6 heterocyclic, aryl or heteroaryl, provided at least one of R1 and R3 is an amino group. A linker-drug and a ligand-drug conjugate including the compound are also provided.

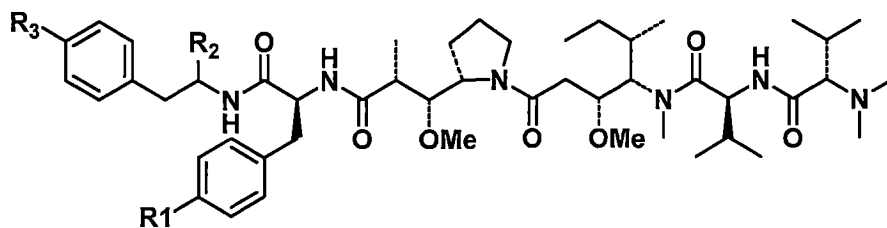


指定代表圖：



第 2 圖

特徵化學式：



發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】 化合物、連接子-藥物、及配體-藥物耦合體

Compounds, linker-drugs and ligand-drug
conjugates

【技術領域】

【0001】 本揭露係有關於一種化合物，特別是有關於一種海兔毒素衍生物(auristatine derivative)、新穎連接子、以及包含該海兔毒素衍生物的連接子-藥物、及配體-藥物耦合體。

【先前技術】

【0002】 抗體對於與之相對應的抗原具有高度的辨識能力，加上許多具有細胞毒性的藥物分子因無法選擇性毒殺癌症細胞而無法用於癌症治療，有鑑於此，將抗體與高毒殺性的藥物(例如毒素)設計為連結在一起，成為具有高度選擇性、專一性的耦合體藥物。由於耦合體藥物具有選擇性毒殺癌症細胞的特性，可望成為臨床上實用的藥物。抗體-藥物耦合體(Antibody-Drug Conjugates, ADCs)的概念在30年前就已經被提出。世界各大藥廠及許多小至中型的生技公司皆投入大量資金人物力或藉由合作方式來進行新穎性ADCs藥物的開發。

【0003】 目前，已有超過40個ADCs藥物在進行不同階段的臨床試驗。各種ADCs藥物在臨床上成功使用的結果，顯示開發新穎性ADCs藥物是協助人類滿足抗癌醫療需求的重要工作。

【發明內容】

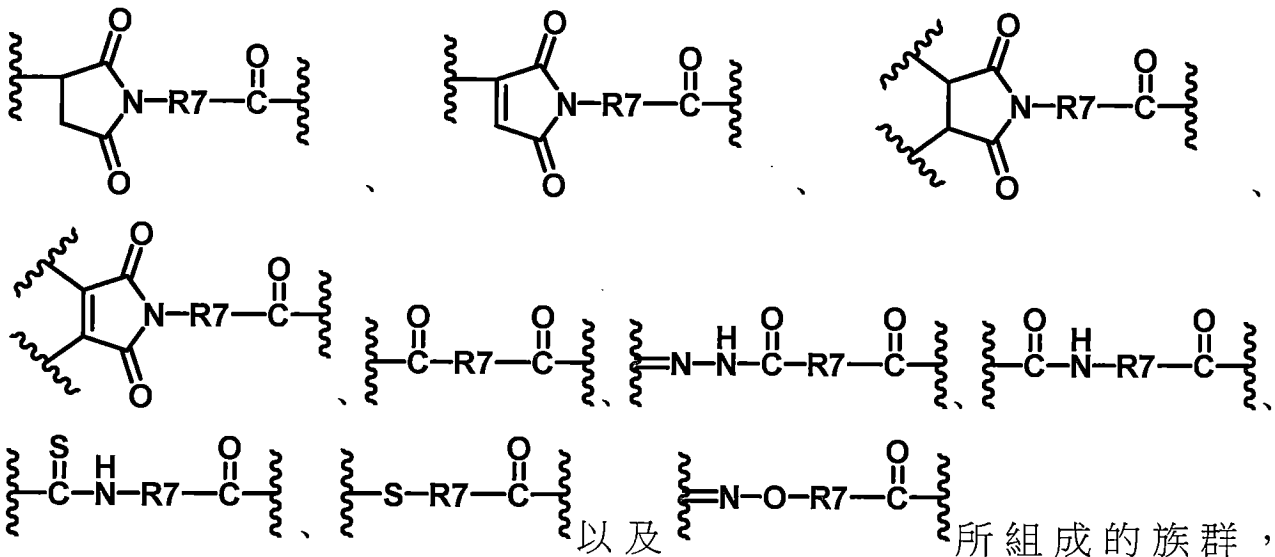
連接至耦合單元。

【0077】 式(VI)中， p 為2-8的整數，或為整數4。

【0078】 在一實施例中，配體單元可為葉酸、甲氨蝶呤(methotrexate)或與葉酸受體結合的葉酸受體結合配體。

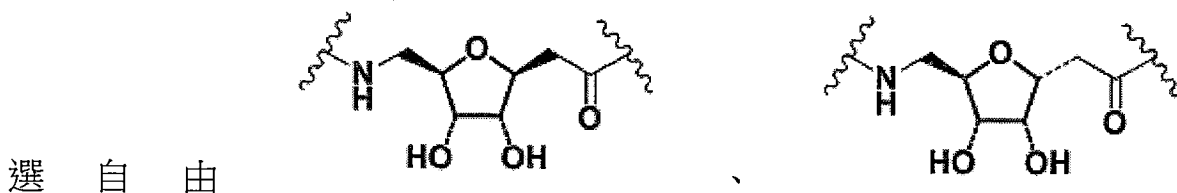
【0079】 在一實施例中，配體單元可為促黃體激素釋放激素(LHRH)、促黃體激素釋放激素促效劑、促黃體激素釋放激素拮抗劑或與促黃體激素釋放激素受體結合的促黃體激素釋放激素受體結合配體。

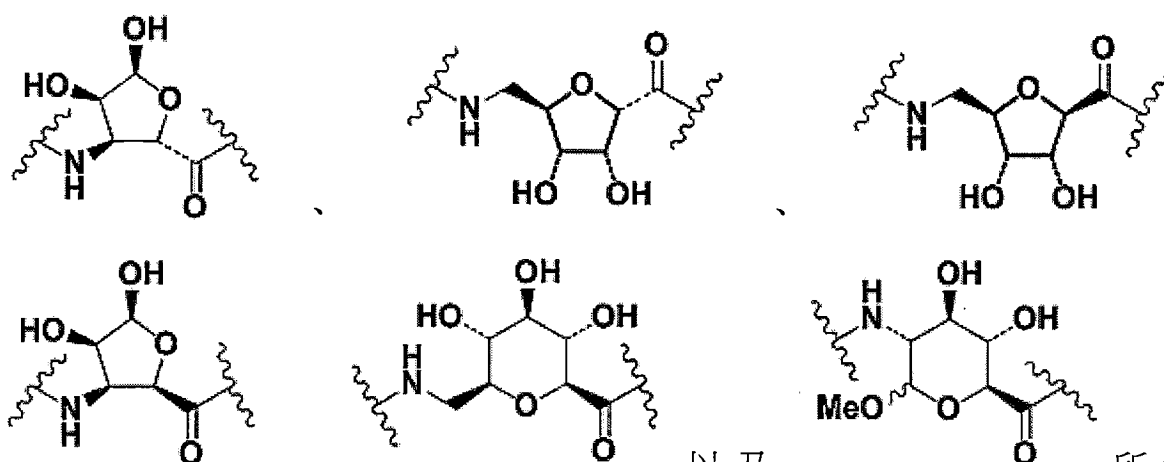
【0080】 在一實施例中，式(VI)中的C-為耦合單元，選自由



其中R7選自由-1,5-伸戊基-、-1,6-伸己基-、-1,4-伸環己基-、-(伸乙氧基) r -亞甲基-以及-(伸乙氧基) r -亞甲基-亞甲基-所組成的族群，以及 r 為2-5的整數。

【0081】 在一實施例中，式(VI)中的-SAAs-為糖胺基酸單元，



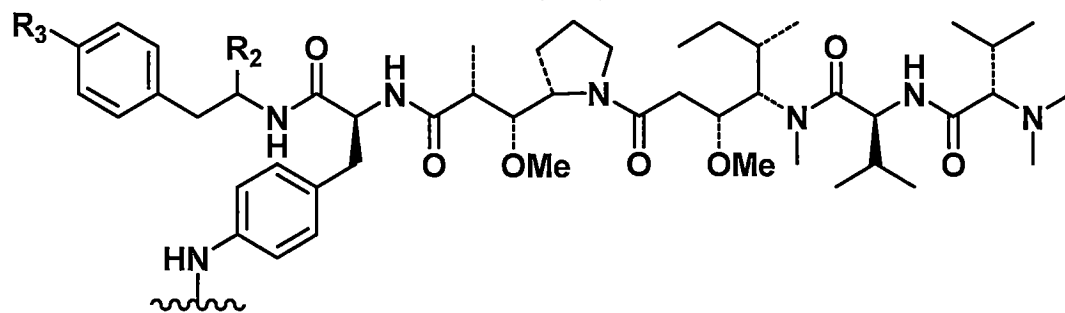


以及 所組成

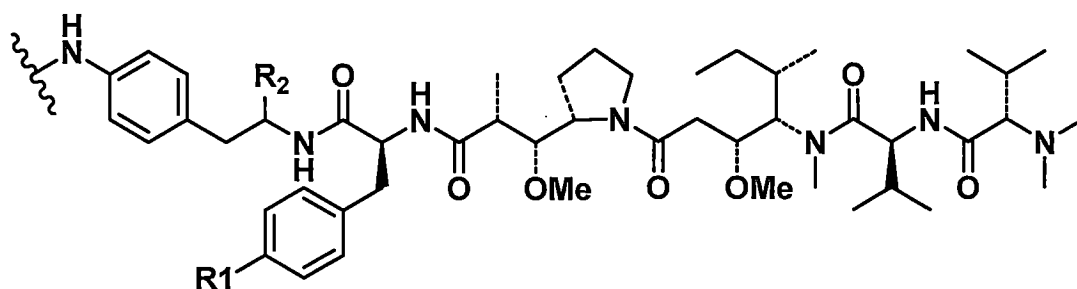
的族群。

【0082】 在一實施例中，式(VI)中的-AAs-為胜肽單元，選自由-纈胺酸-瓜胺酸-、-纈胺酸-離胺酸-、-纈胺酸-魚精胺酸-、-苯丙胺酸-瓜胺酸-、-苯丙胺酸-離胺酸-以及-苯丙胺酸-魚精胺酸-所組成的族群。

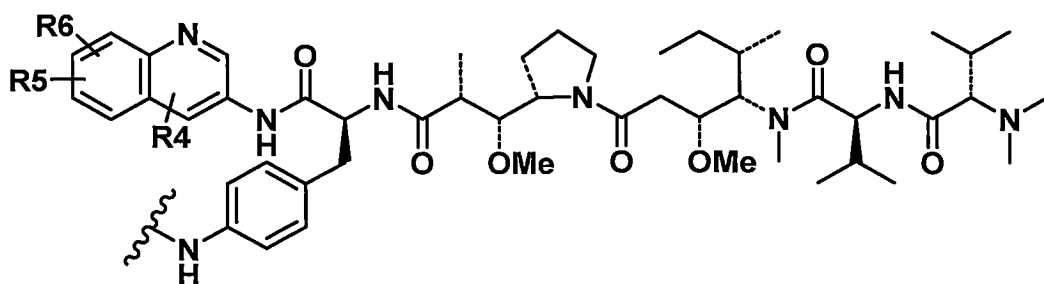
【0083】 在一實施例中，式(VI)中的-D為細胞毒性劑，選自



由



以及



所組成的

族群，其中每一R1、R2、R3、R4、R5與R6獨立地為氫、胺基、硝基、鹵素、羥基、甲氧基、乙氧基、羧基、甲氧基羰基、乙氧基羰基、甲基胺基、二甲基胺基、乙基胺基、二乙基胺基、1-吡咯啉基、1-哌啉基、1-哌嗪基、胺基羰基、甲基胺基羰基、二甲基胺基羰基、乙基胺基羰基、二乙基胺基羰基、1-吡咯啉基羰基、1-哌啉基羰基、1-哌嗪基羰基、甲基、乙基、丙基、異丙基或苯基。

【0084】 本揭露亦提供配體-藥物耦合體，用於藥物的標的傳輸。配體-藥物耦合體包括一配體單元，共價連接於至少一藥物單元。藥物單元可直接或藉由一連接子單元共價連接配體單元。

【0085】 耦合單元

【0086】 耦合單元可將一配體單元連接至一連接子單元至一藥物單元。天然或經化學手段存在於配體中有用的官能基團包括但不限定於巰基、胺基、羥基、羰基、甲醯基及羧基。適合的官能基團為巰基及胺基。在一實施例中，可藉由還原配體中的分子內二硫鍵形成巰基。在另一實施例中，可藉由配體中的離胺酸的胺基與Traut's試劑或其他巰基產生試劑反應形成巰基。在一特定實施例中，配體為一重組抗體，且經工程化以攜帶一或多個離胺酸或半胱胺酸。

【0087】 在一實施例中，耦合單元與配體單元中的一硫原子形成一鍵結。上述硫原子可來自配體的一巰基。

【0088】 在另一實施例中，耦合單元與配體單元中的兩硫原子形成兩鍵結。上述兩硫原子可來自配體的兩巰基。上述兩

巯基可來自配體的一雙硫鍵。

【0089】 在部分實施例中，藥物單元可為刺孢黴素 (calicheamicin)、喜樹鹼 (camptothecin)、美登木素生物鹼 (maytansinoid)、或蔥環類物 (anthracycline)。在部分實施例中，藥物單元可為紫杉烷 (taxane)、拓樸異構酶抑制劑 (topoisomerase inhibitor)、長春花生物鹼 (vinca alkaloid) 或其類似物。在部分典型實施例中，適合的細胞毒性劑包括，例如，DNA 小溝結合物 (例如烯二炔類 (enediynes) 及偏端黴素 (lexitropsins)，CBI 化合物，參見美國專利 US 6,130,237)、多卡黴素 (duocarmycins)、紫杉烷 (taxanes) (例如紫杉醇 (paclitaxel) 及多西紫杉醇 (docetaxel))、嘌呤黴素 (puromycins) 及長春花生物鹼 (vinca alkaloids)。其他細胞毒性劑包括，例如，CC-1065、SN-38、拓樸替康 (topotecan)、多柔比星 (doxorubicin)、根瘤菌素 (rhizoxin)、氰基嗎啉代 - 多柔比星 (cyanomorpholino-doxorubicin)、棘黴素 (echinomycin)、考布他汀 (combretastatin)、紡錘菌素 (netropsin)、埃博黴素 (epothilone)、雌莫司汀 (estramustine)、隱花素 (cryptophysin)、西地黴素 (cemadotin)、美登木素生物鹼 (maytansinoid)、蒂克黴素 (discodermolide)、艾榴塞洛素 (eleutherobins) 或米托蔥醌 (mitoxantrone)。

【0090】 藥物單元

【0091】 在部分實施例中，藥物單元可為抗微管蛋白劑。抗微管蛋白劑的例子包括海兔毒素 (auristatin)、紫杉烷 (taxane) 及長春花生物鹼 (vinca alkaloid)。其他抗微管蛋白劑包括，例

如，漿果赤黴素(baccatin)衍生物、西地黴素(cemadotin)、秋水仙鹼(colchicine)、秋水仙胺(colcimid)、考布他汀(combretastatins)、隱花素(cryptophysins)、蒂克黴素(discodermolide)、艾榴塞洛素(eleutherobin)、雌莫司汀(estramustine)、美登木素生物鹼(maytansinoid)、諾考達唑(nocodazole)或紫杉烷類似物。

【0092】 在特定實施例中，細胞毒性劑可為美登木素生物鹼(maytansinoids)或另一群組的抗微管蛋白劑。例如，在特定實施例中，美登木素生物鹼(maytansinoid)為美登素(maytansine)或DM-1 (ImmunoGen, Inc.; 參見 Chari et al., 1992, Cancer Res. 52:127-131)。

【0093】 在特定實施例中，細胞毒性劑或細胞抑制劑可為多拉司他汀(dolastatin)。在特定實施例中，細胞毒性劑或細胞抑制劑為海兔毒素類。因此，在特定實施例中，細胞毒性劑或細胞抑制劑為海兔毒素(MMAE)。

【0094】 配體單元

【0095】 耦合體化合物的配體單元包括任何與受體、抗原或其他給定靶細胞群(given target-cell population)有關的接受性基團產生鍵結或反應性結合或複合作用的配體單元。配體為與欲成為標的之細胞群之基團相結合、錯合或反應的分子。在一觀點來看，配體單元扮演將藥物單元傳輸至與配體單元反應的特定標的細胞群的角色。該等配體包括但不限定於，大分子量蛋白質(例如全長抗體)、抗體片段、蛋白質、小分子量蛋白質、多肽、寡肽、凝集素、適體、醣蛋白、非肽類、維生素、

營養傳輸分子(例如，但不限定於轉鐵蛋白)或任何其他細胞結合分子或物質。

【0096】 配體單元可與一連接子單元或一藥物單元形成鍵結。配體單元可藉由該配體的一異原子與一連接子單元形成鍵結。可存在於配體單元上的異原子包括硫原子(在一實施例中，來自配體的巯基)、氧原子(在一實施例中，來自配體的羰基、羧基或羥基)及氮原子(在一實施例中，來自配體的一級或二級胺基)。該些異原子可以配體的自然狀態存在於配體上，例如天然存在的抗體，或可藉由化學修飾導入配體中。

【0097】 在一實施例中，配體具有一巯基，且該配體藉由該巯基的硫原子與連接子單元連接。在另一實施例中，配體具有一或多個離胺酸殘基，可藉由化學修飾導入一或多個巯基。配體單元藉由巯基與連接子單元連接。可用於修飾離胺酸的試劑包括但不限定於N-琥珀醯亞胺基-S-乙醯基硫代乙酸酯(SATA)及2-亞胺基硫烷鹽酸鹽(Traut's試劑)。

【0098】 在另一實施例中，配體具有一或多個醱基，可藉由化學修飾形成一或多個巯基。配體單元藉由巯基的硫原子與連接子單元連接。在另一實施例中，配體具有一或多個醱基，可經氧化提供醛基(—CHO)(參見Laguzza et al., 1989, J. Med. Chem. 32(3):548-55)。此相對應的醛可與位於一部分連接子單元上的反應區形成鍵結。可與配體上的羰基反應的反應區包括但不限定於胍及羥胺。其他為連接或聯合藥物單元而修飾蛋白質的方案描述於Coligan等人(Current Protocols in Protein Science, vol. 2, John Wiley & Sons (2002))，已併入此案以供

參考。

【0099】 配體單元包括，例如，蛋白質，多肽或肽，但不限定於轉鐵蛋白、表皮生長因子(“EGF”)、鈴蟾肽、胃泌素、胃泌素釋放肽、血小板衍生生長因子、IL-2、IL-6、轉化生長因子(“TGF”)(例如TGF- α 或TGF- β)、牛痘生長因子(“VGF”)、胰島素及胰島素樣生長因子I、II、凝集素及來自低密度脂蛋白的載脂蛋白。

【0100】 配體單元亦包括抗體，例如多株抗體或單株抗體。抗體可為特定的抗原決定位，包括例如：癌症細胞抗原、病毒抗原、微生物抗原、蛋白質、胜肽、碳水化合物、化學物質、核酸、或其片段。多株抗體的製造方法為本技術領域所習知。單株抗體(mAb)至感興趣的抗原可利用任何本技術領域習知的技術製備而成。這些技術包括但不限於例如最初由Köhler和Milstein所描述的融合瘤技術(1975, Nature 256, 495-497)、人類B細胞融合瘤技術(Kozbor et al., 1983, Immunology Today 4:72)、EBV-融合瘤技術(Cole et al., 1985, 單株抗體及癌症療法, Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96)。這種抗體可為任何一種免疫球蛋白類型，包括IgG、IgM、IgE、IgA、及IgD，及其任何亞型。本揭露中由融合瘤所產生之單株抗體(mAb)可於體外(*in vitro*)或體內(*in vivo*)進行培養。

【0101】 單株抗體可為例如：人類單株抗體、人類化單株抗體、抗體片段、或嵌合抗體(例如：人類-小鼠抗體)。人類單株抗體可由任何本技術領域習知的技術製造(例如：Teng et al., 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80:7308-7312; Kozbor et al.,

1983, *Immunology Today* 4:72-79; and Olsson et al., 1982, *Meth. Enzymol.* 92:3-16)。

【0102】 抗體也可為一雙特異性抗體。雙特異性抗體的製造方法為本技術領域所習知。全長雙特異性抗體的傳統製造方法是基於兩個免疫球蛋白的重鏈-輕鏈對的共現性 (coexpression)，其中這兩個鏈具有不同的特異性 (參見例如：Milstein et al., 1983, *Nature* 305:537-539; 國際公開號 No. WO 93/08829, Traunecker et al., 1991, *EMBO J.* 10:3655-3659)。

【0103】 根據不同的方式 (approach)，具有結合特異性的抗體變異區域 (抗體-抗原結合位) 融合至免疫球蛋白恆定區域的序列所述融合較佳具有一免疫球蛋白重鏈恆定區域，包括至少一部份的鉸鏈區域、CH2區域、及CH3區域。較佳具有第一重鏈恆定區域 (CH1)，其包含輕鏈結合所必須的位點，存在於至少一個融合中。具有編碼免疫球蛋白重鏈融合以及，若需要，免疫球輕鏈的核酸，被插入至單獨的表現載體中，並且共同轉染至合適的宿主生物 (organism)。當使用了比例不均等的三個多胜肽鏈之構築提供最佳產量時，其提供了調整三個多胜肽片段於實施例中相互比例的彈性。然而，當至少兩個多胜肽鏈的表現為相等比例導致高產量或當各比例沒有特別明顯時，有可能在一個表現載體中插入兩個或所有三個多胜肽鏈的編碼序列。

【0104】 例如，雙特異性抗體可具有一雜交免疫球蛋白鏈，在其中一臂中具有第一結合特異性，且在另外一臂中具有一雜交免疫球蛋白重鏈-輕鏈對 (提供第二結合特異性)。這種不對稱

的結構有助於所期望的雙特異性化合物從不想要的免疫球蛋白鏈結合中分離，由僅存在於一個半的雙特異性分子中的免疫球蛋白輕鏈提供容易的分離方式(國際公開號 No.WO 94/04690)，其整體併入本文做為參考。

【0105】 更詳細之雙特異性抗體的產生可參見例如 Suresh et al., 1986, *Methods in Enzymology* 121:210; Rodrigues et al., 1993, *J. Immunology* 151:6954-6961; Carter et al., 1992, *Bio/Technology* 10:163-167; Carter et al., 1995, *J. Hematotherapy* 4:463-470; Merchant et al., 1998, *Nature Biotechnology* 16:677-681。利用這些技術，可製備出雙特異性抗體用於治療或避免此處所定義之疾病。

【0106】 雙功能抗體也被描述於歐洲專利公開號 EPA 0105 360。如此參考文獻所揭露，雜交或雙功能抗體可生物性地(即，藉由細胞融合技術)或化學性地衍生，特別係透過交聯劑或是二硫化橋鍵形成試劑，且可包括整個抗體或其片段。獲得這種雜交抗體的方法揭露於例如：國際公開號 WO 83/03679及歐洲專利公開號 EPA 0217577，兩者皆在此併入本文作為參考。

【0107】 抗體也可為功能性活性片段、抗體的衍生物或類似物，其中該抗體免疫特異性地結合至目標抗原(例如：癌症抗原、病毒抗原、微生物抗原、或其他結合至細胞或基質的抗體)。在此，“功能性活性”代表所述片段、衍生物或類似物可辨認衍生自片段，衍生物或類似物的抗體所辨認相同的抗原。特別地，於一實施例中，免疫球蛋白分子的遺傳性型(idiotype)的抗原性可藉由刪除框架及 CDR 序列而提升，所述 CDR 序列為

C-端的CDR序列，其專一性地辨認抗原。為了判斷哪一個CDR序列結合至抗原，可在結合試驗(binding assay)中使用包含CDR序列的合成胜肽，以及任何結合試驗中本技術領域所習知的抗原(例如：BIA core assay)(參見例如：Kabat et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, Md.; Kabat et al., 1980, J. Immunology 125(3):961-969)。

【0108】 其他有用的抗體包括抗體的片段，例如但不限於：F(ab')₂片段、Fab片段、Fab'、Fv片段及抗體的重鏈及輕鏈二聚體、或其任何最小片段像是Fvs或單鏈抗體(SCAs) (例如：U.S. Pat. No. 4,946,778; Bird, 1988, Science 242:423-42; Huston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; and Ward et al., 1989, Nature 334:544-54中所述)。

【0109】 也可使用重組抗體，像是嵌合或人類化單株抗體，包括人類和非人類蛋白質，皆可利用標準重組DNA技術製備(參見例如U.S. Pat. No. 4,816,567;及U.S. Pat. No. 4,816,397)。

人源化抗體為來自非人類物種的抗體分子，具有來自非人類物種的一或多種互補決定區(complementarity determining regions; CDRs)以及來自人類免疫球蛋白分子的框架區域(參見例如U.S. Pat. No. 5,585,089)。嵌合和人類化單株抗體可藉由本技術領域習知的重組DNA技術產生，例如使用國際公開號WO 87/02671；歐洲專利公開號0184187；歐洲專利公開號0171496；歐洲專利公開號0173494；國際公開號WO 86/01533；U.S. Pat. No. 4,816,567；歐洲專利公開號012023；Berter et al.,

1988, *Science* 240:1041-1043; Liu et al., 1987, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:3439-3443; Liu et al., 1987, *J. Immunol.* 139:3521-3526; Sun et al., 1987, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:214-218; Nishimura et al., 1987, *Cancer. Res.* 47:999-1005; Wood et al., 1985, *Nature* 314:446-449; Shaw et al., 1988, *J. Natl. Cancer Inst.* 80:1553-1559; Morrison, 1985, *Science* 229:1202-1207; Oi et al., 1986, *BioTechniques* 4:214; U.S. Pat. No. 5,225,539; Jones et al., 1986, *Nature* 321:552-525; Verhoeyan et al., 1988, *Science* 239:1534; and Beidler et al., 1988, *J. Immunol.* 141:4053-4060所述的方法。

【0110】 也可使用完整的人類抗體。人類抗體可利用例如無法表現內源性免疫球蛋白重鏈和輕鏈基因的轉基因小鼠，但其可以表現人類重鏈和輕鏈基因。轉基因小鼠以正常方式以經選擇之抗原進行免疫，例如：本發明全部或部分的多胜肽。直接對抗抗原的單株抗體可利用傳統融合瘤技術獲得。轉基因小鼠包含的人類免疫球蛋白轉基因在B細胞分化時重新排序(rearrange)，且接著進行類型轉換及體細胞突變。因此，利用這種技術，將可能產生有治療效果的IgG、IgA、IgM及IgE抗體。綜觀產生人類抗體的技術可參見Lonberg and Huszar (1995, *Int. Rev. Immunol.* 13:65-93)。關於產生人類抗體的技術及產生此種抗體的規定之更詳細討論可參見例如：U.S. Pat. Nos. 5,625,126; 5,633,425; 5,569,825; 5,661,016;以及 5,545,806。其他人類抗體可藉由商業上獲得，例如來自Abgenix, Inc. (Freemont, Calif.)以及Genpharm (San Jose, Calif.)。

【0111】 可利用稱為“定向選擇(guided selection)”的技術產生辨認經選擇的抗原決定位(epitope)的人類抗體。在此方式中，經選擇的非人類單株抗體，例如：小鼠抗體，用來定向(guide)會辨認相同抗原決定位的完整人類抗體的選擇(參見例如：Jespers et al., 1994, *Biotechnology* 12:899-903)。也可利用各種本技術領域習知的技術產生人類抗體，包括噬菌體展示庫(參見例如：Hoogenboom and Winter, 1991, *J. Mol. Biol.* 227:381; Marks et al., 1991, *J. Mol. Biol.* 222:581; Quan and Carter, 2002, “The rise of monoclonal antibodies as therapeutics,” in *Anti-IgE and Allergic Disease*, Jardieu, P. M. and Fick Jr., R. B, eds., Marcel Dekker, New York, N.Y., Chapter 20, pp. 427-469)。

【0112】 於其他實施例中，抗體為抗體的融合蛋白、或其功能性活性片段。例如，抗體可藉由非抗體的另一個蛋白質(或其部分，像是蛋白質的至少10、20或50個胺基酸)的胺基酸序列的N-端或C-端共價鍵進行融合(例如：胜肽鍵)。

【0113】 抗體也包括經修飾或未經修飾(亦即，藉由任何分子的共價連接)的類似物和衍生物，只要這樣的共價連接允許抗體保留其抗原結合免疫特異性。例如但不限於：抗體的類似物和衍生物，包括經過進一步修飾，例如：醣基化、乙醯化、聚乙二醇化、磷酸化、醯胺化、藉由習知的保護/阻隔基衍生化、蛋白酶切割、連接至細胞抗體單元或其他蛋白質等。可利用習知技術實現任何大量的化學修飾，包括但不限於專一性化學切割、乙醯化、甲醯化、衣黴素存在下的代謝合成等。此外，

類似物或衍生物可包括一種或多種非天然胺基酸。

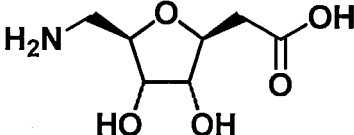
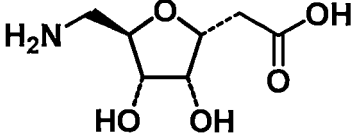
【0114】 抗體可在與Fc受體作用的胺基酸殘基中具有修飾(例如：取代、刪除或增加)。特別地，抗體包括在胺基酸殘基中具有修飾的抗體，經辨認為包含在抗Fc區域和FcRn受體之間的交互作用中(參見例如：國際公開號WO 97/34631，其整體在此併入本文作為參考)。對於目標抗原的抗體免疫特異性可從商業上獲得或是來自其他來源或利用本技術領域具有通常知識者所習知的方法產生，像是例如：化學合成或重組表現技術。編碼對於癌症抗原之抗體特異性的核苷酸序列可經由例如：GenBank數據庫或類似的數據庫、公開文獻、或是例行的基因選殖(cloning)及定序而獲得。

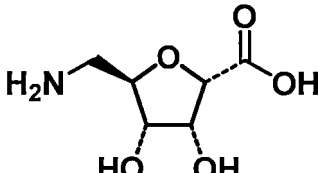
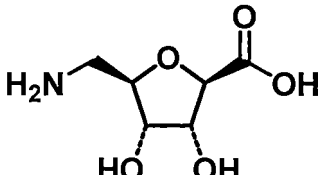
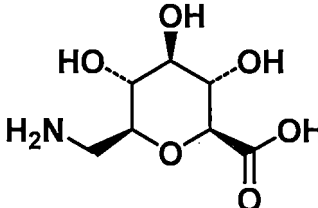
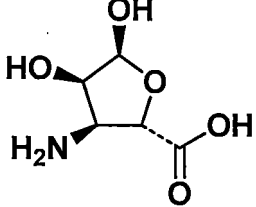
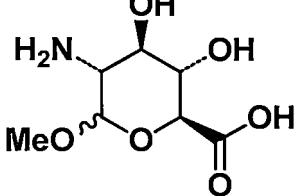
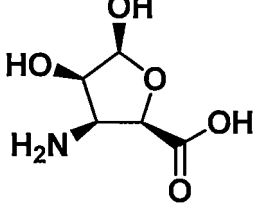
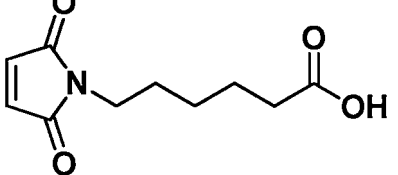
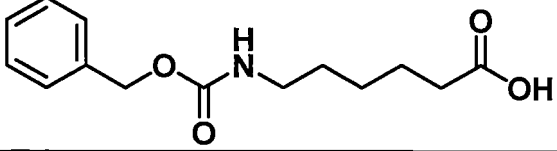
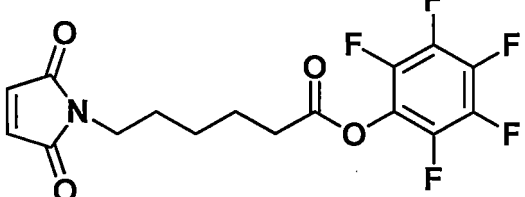
【0115】 實施例

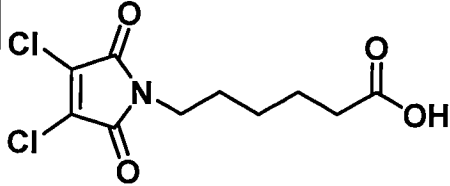
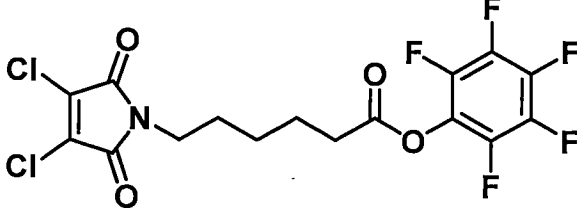
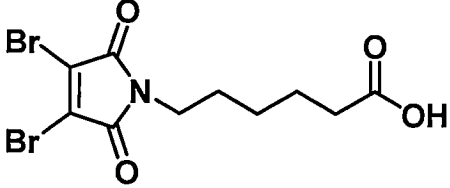
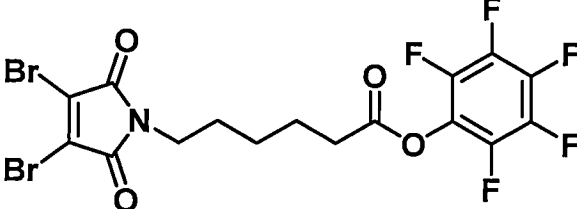
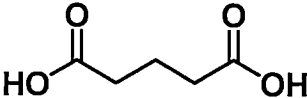
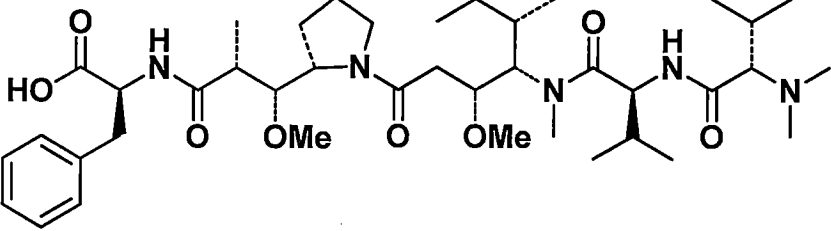
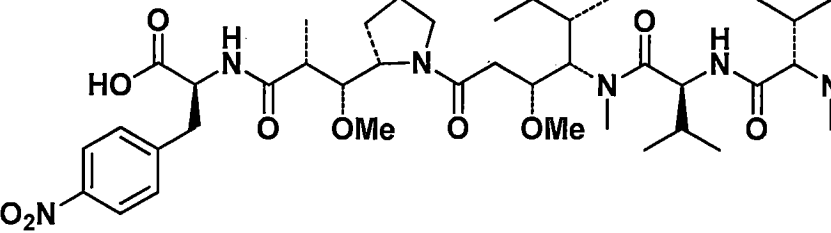
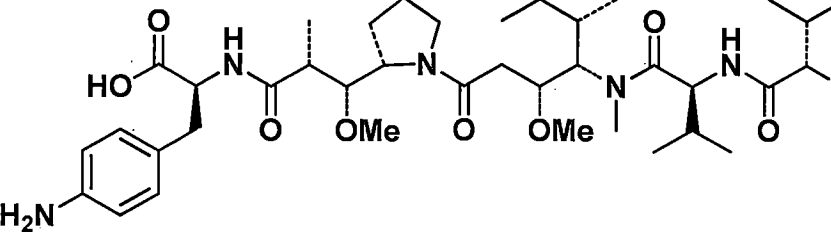
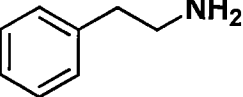
【0116】 本揭露藉由以下實施例做更詳細說明。MMAE (已知的毒素)、海兔毒素F (AF，已知的毒素)與vedotin(已知的連接子-毒素)購自Concortis Biotherapeutics。根據文獻合成Z-Val-Cit-OH、Z-Phe-Cit-OH及各種糖胺基酸。

【0117】 用於連接子、毒素與連接子-毒素的縮寫及其相對應的化學結構列於表1。

表 1

SAA1	
SAA2	

SAA3	
SAA4	
SAA5	
SAA6	
SAA7	
SAA8	
MC	
ZC	
MC-OPFP	

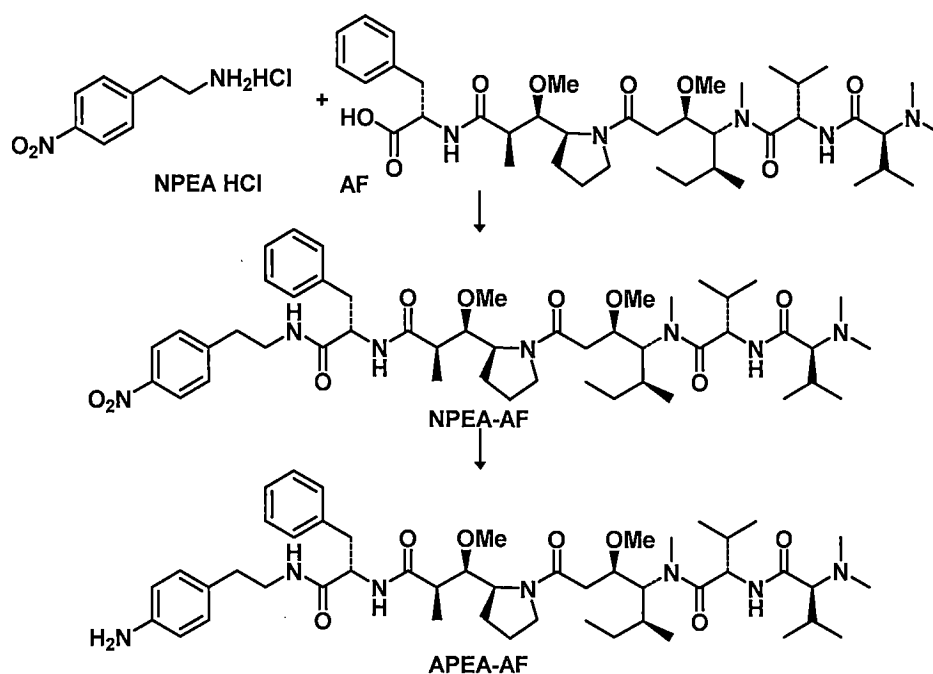
Cl2MC	
Cl2MC-OPFP	
Br2MC	
Br2MC-OPFP	
GA	
AF	
ANF	
AAF	
PEA	

NPEA	
NPEA (COOR)	
APEA	
APEA (COOR)	
3AQ	

【0118】 <毒素>

【0119】 實施例 1

【0120】 NPEA-AF及APEA-AF之合成



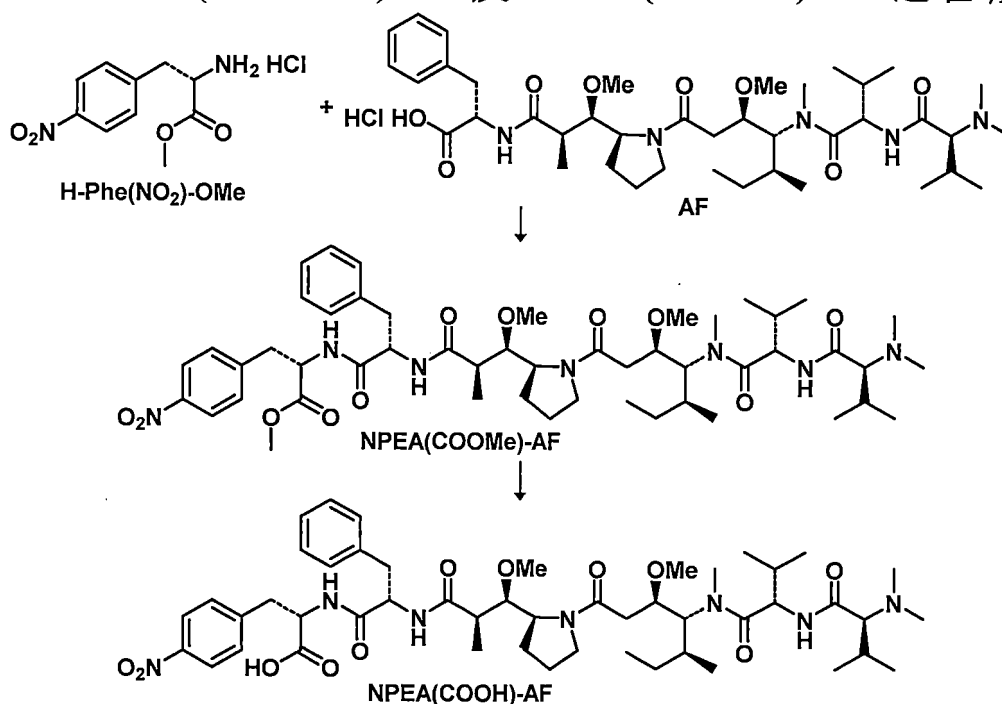
【0121】 將 HATU (101 mg, 0.2654 mmol) 加入含海兔毒素 (165 mg, 0.2212 mmol)、4-硝基苯乙胺鹽酸鹽 (45 mg, 0.2212 mmol)、DIPEA (0.155 mL, 0.8847 mmol)、DMF (0.100 mL) 以

及二氯甲烷(1 mL)的攪拌溶液中。於室溫攪拌12小時後，移除溶劑，並以製備型反相HPLC對殘留物進行純化。之後，進行凍乾，以獲得白色粉末的**NPEA-AF** (188 mg, 95%)。LC-MS: **NPEA-AF** ($C_{48}H_{75}N_7O_9$) required $[MH^+] = 894.6$, found $[MH^+] = 895.6$ 。

【0122】 將**NPEA-AF** (188 mg, 0.2103 mmol)溶於乙醇(50mL)，並混入HCl (0.4206 mmol)及鈀催化劑(22 mg)。於氫氣氣氛下，對混合物進行攪拌16小時。將催化劑濾除，並以20 mL乙醇清洗之。於減壓環境下，移除溶劑。將殘留物與水(10 mL)混合，之後，進行凍乾，以獲得白色粉末的**APEA-AF** (178mg, 98%)。LC-MS: **APEA-AF** ($C_{48}H_{77}N_7O_9$) required $[MH^+] = 864.6$, found $[MH^+] = 865.5$ 。

【0123】 實施例2

【0124】 **NPEA(COOMe)-AF**及**NPEA(COOH)-AF**之合成



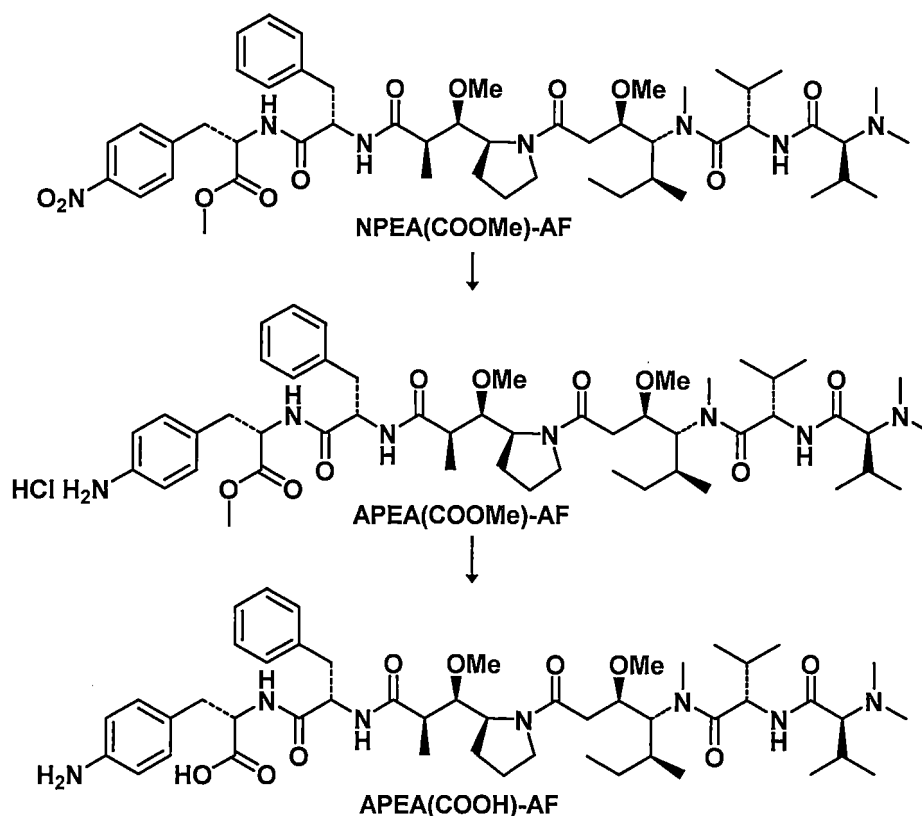
【0125】 將海兔毒素F (200 mg, 0.26 mmol)溶於少量DMF

(1 mL)，並以DCM (10 mL)進行稀釋。將溶液浸於冰浴中，並加入L-(4-硝基)苯基丙胺酸甲酯鹽酸鹽(67 mg, 0.26 mmol)及HATU (117 mg, 0.31 mmol)。於加入DIPEA (0.18 mL)後，將反應混合物自冰浴中移出，並於室溫攪拌過夜。於減壓環境下，蒸餾溶劑，並以製備型HPLC (46%乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3管柱30*250 mm; 流速25 mL/min)對殘留物進行純化，以獲得白色固體的**NPEA(COOMe)-AF** (175 mg, 72%)。LC-MS: **NPEA(COOMe)-AF** ($C_{50}H_{77}N_7O_{11}$) required $[MH^+] = 952.6$, found $[MH^+] = 952.5$ 。

【0126】 將**NPEA(COOMe)-AF** (20 mg)溶於THF與水的混合液(1:1, 10 mL)，並以氫氧化鈉(2.5 mg)處理之。於2小時後，於減壓環境下，蒸餾THF。水溶液以2N鹽酸進行酸化，並予以冷凍乾燥。以製備型HPLC (46%乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3管柱30*250 mm; 流速24 mL/min)對粗產物進行純化，以獲得白色固體的**NPEA(COOH)-AF** (15 mg, 75%)。LC-MS: **NPEA(COOH)-AF** ($C_{49}H_{75}N_7O_{11}$) required $[MH^+] = 938.6$, found $[MH^+] = 939.3$ 。

【0127】 實施例3

【0128】 **APEA(COOMe)-AF**及**APEA(COOH)-AF**之合成



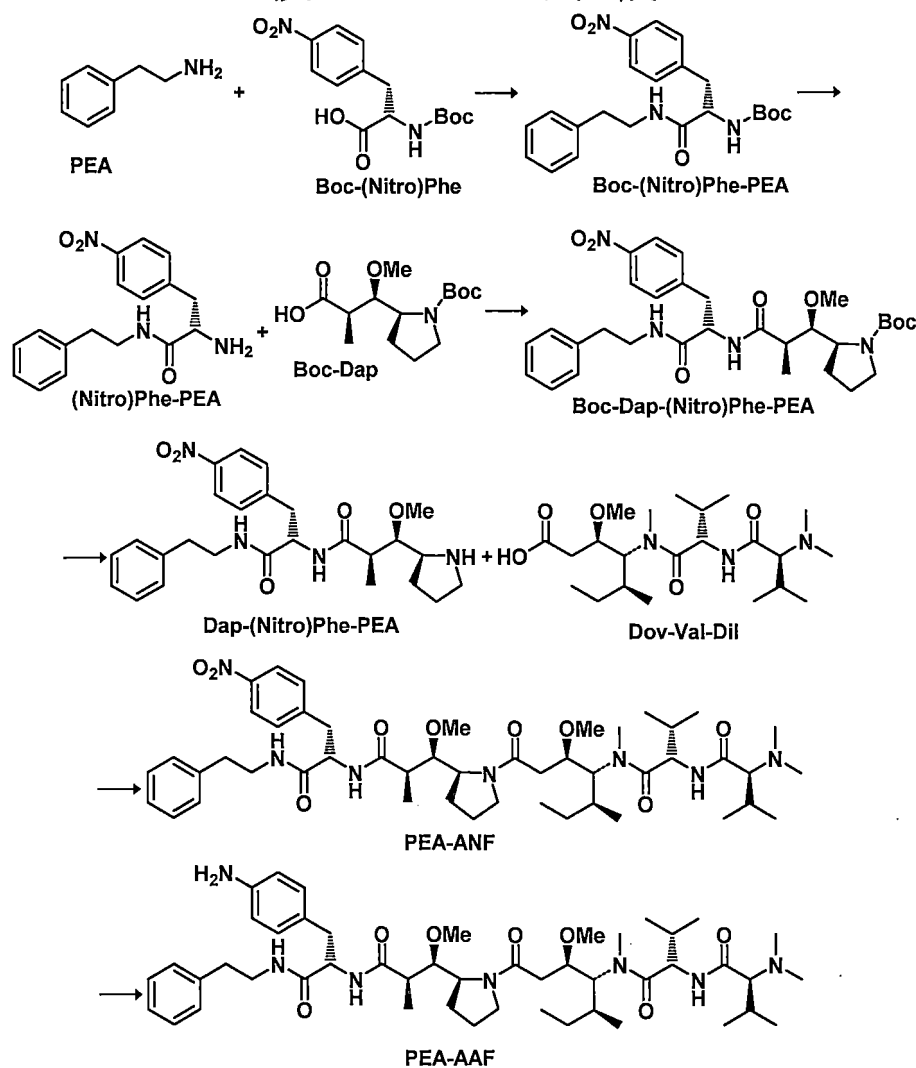
【0129】 將 **NPEA(COOMe)-AF** (100 mg, 0.105 mmol) 溶於包含 2N 鹽酸 (15 μ L) 的乙醇 (10 mL)。於加入催化劑 Pd/C (10%, 17 mg) 後，反應以氫氣球進行，並攪拌過夜。以矽藻土墊將催化劑 Pd/C 濾除，並於減壓環境下，蒸餾濾液。以製備型 HPLC (33% ACN/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30*250 mm; 流速 24 mL/min) 對粗產物進行純化，以獲得白色固體的 **APEA(COOME)-AF** (36 mg)。LC-MS: **APEA(COOME)-AF** ($C_{50}H_{79}N_7O_9$) required $[MH^+] = 922.6$, found $[MH^+] = 923.5$ 。

【0130】 將 **APEA(COOMe)-AF** (25 mg) 溶於 THF 與水的混合液 (1:1, 10 mL)，並以氫氧化鈉 (2.1 mg) 處理之。於 2 小時後，於減壓環境下，蒸餾 THF。水溶液以 2N 鹽酸進行酸化，並予以冷凍乾燥。以製備型 HPLC (29% 乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30*250 mm; 流速 24 mL/min) 對粗產物進行純化，以獲得白色固體的 **APEA(COOH)-AF** (14 mg, 58%)。LC-MS:

APEA(COOH)-AF ($C_{49}H_{77}N_7O_9$) required $[MH^+] = 908.6$, found $[MH^+] = 909.5$ 。

【0131】 實施例 4

【0132】 **PEA-ANF**及**PEA-AAF**之合成



【0133】 將 Boc-L-對硝基苯基丙胺酸 (4.66 g, 15 mmol) 及 苯乙胺 (1.94 g, 16 mmol) 加入含有二氯甲烷 (200 mL) 的燒瓶中，並加入偶聯劑 N-乙氧基羰基-2-乙氧基-1,2-二氫喹啉 (EEDQ, 17 g, 17 mmol)，於室溫攪拌混合物過夜。以 TLC (EtOAc/n-Hex = 1:1，產物 $R_f = 0.5$) 確認反應。於減壓環境下，蒸餾 DCM。以正己烷 (200 mL) 煮沸固體產物，並同時過濾。以熱的正己烷 (50 mL) 清洗固體產物 2 次，並吸氣乾燥，以獲得白色粉末的

Boc-(Nitro)Phe-PEA (4.81 g, 77.6%)。

【0134】 將 Boc-(Nitro)Phe-PEA (4.80 g, 11.6 mmol) 溶於二氯甲烷 (150 mL)，並混入三氟乙酸 (6.84 g, 4.6 mL, 60 mmol)。將溶液於室溫靜置過夜。於減壓環境下，蒸餾二氯甲烷。將殘留物與 THF (50 mL) 混合，並再次蒸餾。殘留物以 1N 碳酸鈉溶液 (250 mL) 進行處理，並以二氯甲烷 (100 mL) 萃取 2 次。以無水硫酸鎂對有機溶液進行乾燥，並過濾之。於減壓環境下，蒸餾濾液，並以正己烷 (50 mL) 攪拌淺黃色殘留物，直至固體形成。於減壓環境下，蒸餾正己烷，並於高真空環境下，乾燥產物，以獲得定量 (Nitro)Phe-PEA。

【0135】 將多拉普林鉀鹽 (dolaprolin potassium salt) (325 mg, 1.0 mmol) 溶於甲醇 (20 mL)，並以四乙基溴化銨 (232 mg, 1.1 mmol) 進行處理。於 3 小時後，於減壓環境下，蒸餾甲醇。以二氯甲烷 (10 mL) 處理殘留物，並過濾以移除溴化鉀。將濾液與 (Nitro)Phe-PEA (422 mg, 1.1 mmol) 及 HATU (456 mg, 1.2 mmol) 混合。於室溫攪拌過夜後，於減壓環境下，蒸餾二氯甲烷，並以製備型 HPLC (70% 乙腈 / 水 / 0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30*250 mm; 流速 25 mL/min) 對殘留物進行純化，以獲得白色固體的 Boc-Dap-(Nitro)Phe-PEA (527 mg, 產率 90%)。LC-MS: Boc-Dap-(Nitro)Phe-PEA ($C_{31}H_{42}N_4O_7$) required $[MH^+] = 583.3$, found $[MH^+] = 584.4$ 。

【0136】 將 Boc-Dap-(Nitro)Phe-PEA (527 mg, 0.9 mmol) 溶於二氯甲烷 (20 mL)，並以三氟乙酸 (7 mL) 進行處理。於 4 小時後，於減壓環境下，移除溶劑。將殘留物與乙酸乙酯 (50 mL)

混合，並再次蒸餾。將殘留物與水(20 mL)混合，並予以冷凍乾燥，以獲得白色粉末的 Dap-(Nitro)Phe-PEA (426 mg, 98%)。

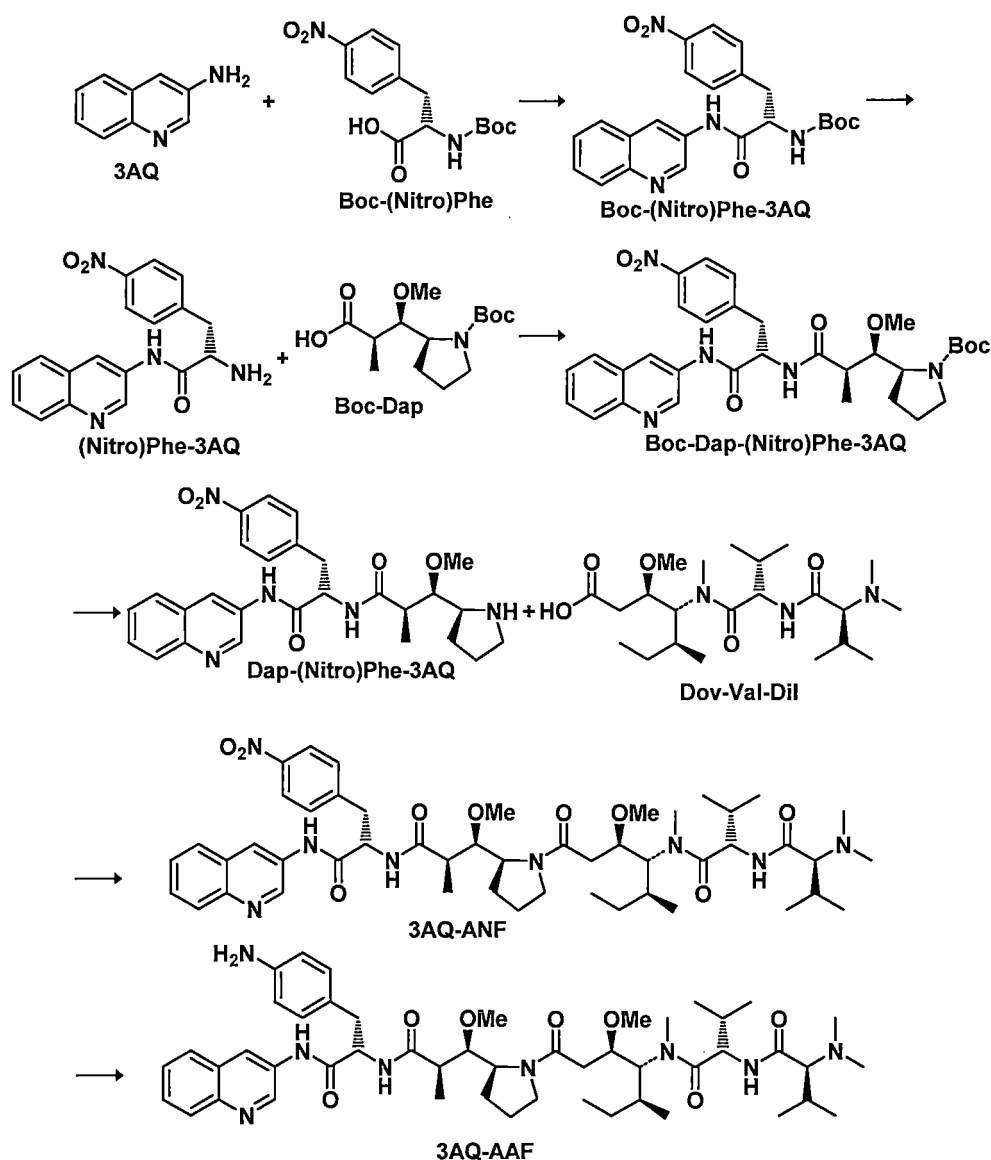
LC-MS: Dap-(Nitro)Phe-PEA ($C_{26}H_{34}N_4O_5$) required $[MH^+] = 483.3$, found $[MH^+] = 484.3$ 。

【0137】 將 Dov-Val-Dil (64.5 mg, 0.15 mmol)、Dap-(Nitro)Phe-PEA (72 mg, 0.15 mmol)及 HATU (68 mg, 0.18 mmol)溶於二氯甲烷(20 mL)，並以 DIPEA (86 mg, 0.66 mmol)進處理。於室溫攪拌過夜後，於減壓環境下，蒸餾二氯乙烷，並以製備型 HPLC (43%乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30*250 mm; 流速 25 mL/min)對殘留物進行純化，以獲得白色固體的 PEA-ANF (96.7 mg, 產率 72%)。LC-MS: PEA-ANF ($C_{48}H_{75}N_7O_9$) required $[MH^+] = 894.6$, found $[MH^+] = 895.6$ 。

【0138】 將 PEA-ANF (20 mg, 0.022 mmol)溶於乙醇(30 mL)，並混入鹽酸(0.067 mmol)。於加入催化量(16 mg)的 10% Pd/C後，將反應混合物導入氫氣球並攪拌過夜。以矽藻土墊將催化劑濾除後，於減壓環境下，蒸餾濾液，以獲得白色固體的 PEA-AAF (24.2 mg, 51%)。LC-MS: PEA-AAF ($C_{48}H_{77}N_7O_7$) required $[MH^+] = 864.6$, found $[MH^+] = 865.6$ 。

【0139】 實施例 5

【0140】 3AQ-ANF及 3AQ-AAF之合成



【0141】 將 Boc-(Nitro)Phe (46.55 g, 0.15 mol) 溶於二氯甲烷 (1 L)，並加入 N-羥基琥珀醯亞胺 (17.26 g, 0.15 mol) 及 EDCI (28.76 g, 0.15 mol)。於 4 小時後，加入 3AQ (21.63 g, 0.15 mol) 及乙基嗎啉 (17.28 g, 0.15 mol)，並於室溫攪拌 3 天。於減壓環境下，蒸餾二氯甲烷。殘留物與檸檬酸溶液 (1M, 500 mL) 及乙酸乙酯 (500 mL) 攪拌 30 分鐘。過濾固體產物，並以水 (200 mL) 清洗 2 次。將濕的粗產物溶於熱的丙酮 (1.5 L)，並以無水硫酸鎂乾燥及過濾。於減壓環境下，蒸餾濾液，以獲得 Boc-(Nitro)Phe-3AQ (31.52, 48.1%)。

【0142】 將 Boc-(Nitro)Phe-3AQ (30.55 g, 0.07 mol) 溶於二氯甲烷 (300 mL)，並以三氟乙酸 (50 mL, 74.45 g, 653 mmol) 進行處理。於室溫攪拌過夜後，於減壓環境下，蒸餾反應混合物。於油狀殘留物中，加入乙酸乙酯 (100 mL)，並於減壓環境下，進行蒸餾。上述步驟重複兩次以上，並於油狀產物中，加入乙醚 (300 mL)，以迫使三氟乙酸酯析出。固體產物懸浮於碳酸鈉溶液 (1 M, 500 mL) 與甲醇 (500 mL) 的混合液中，並攪拌直至懸浮均勻。於減壓環境下，蒸餾甲醇，並過濾固體產物，以水 (200 mL) 清洗 2 次。將濕的產物予以冷凍乾燥，以獲得 (Nitro)Phe-3AQ (20.35 g, 86.4%)。

【0143】 將多拉普林鉀鹽 (487.5 mg, 1.5 mmol) 溶於甲醇 (50 mL)，並以四乙基溴化銨 (316.4 mg, 1.4 mmol) 進行處理。於 4 小時後，於減壓環境下，蒸餾甲醇。殘留物以二氯甲烷 (10 mL) 進行處理，並過濾以移除溴化鉀。將濾液與 (Nitro)Phe-3AQ (556 mg, 1.65 mmol) 及 HATU (685 mg, 1.8 mmol) 混合。於室溫攪拌過夜後，於減壓環境下，蒸餾二氯甲烷，並以製備型 HPLC (42% 乙腈 / 水 / 0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30*250 mm; 流速 24 mL/min) 對殘留物進行純化，以獲得白色固體的 Boc-Dap-(Nitro)Phe-3AQ (781 mg, 產率 86%)。LC-MS: Boc-Dap-(Nitro)Phe-3AQ ($C_{32}H_{39}N_5O_7$) required $[MH^+] = 606.3$, found $[MH^+] = 607.4$ 。

【0144】 將 Boc-Dap-(Nitro)Phe-3AQ (606 mg, 1 mmol) 溶於二氯甲烷 (10 mL)，並以三氟乙酸 (6 mL) 進行處理。於 2 小時後，於減壓環境下，移除溶劑。殘留物與乙酸乙酯 (50 mL) 混合，

並再次蒸餾。殘留物與水(20 mL)混合，並予以冷凍乾燥，以獲得白色粉末的Dap-(Nitro)Phe-3AQ (500 mg, 99%)。LC-MS: Dap-(Nitro)Phe-3AQ ($C_{27}H_{31}N_5O_5$) required $[MH^+] = 506.2$, found $[MH^+] = 507.1$ 。

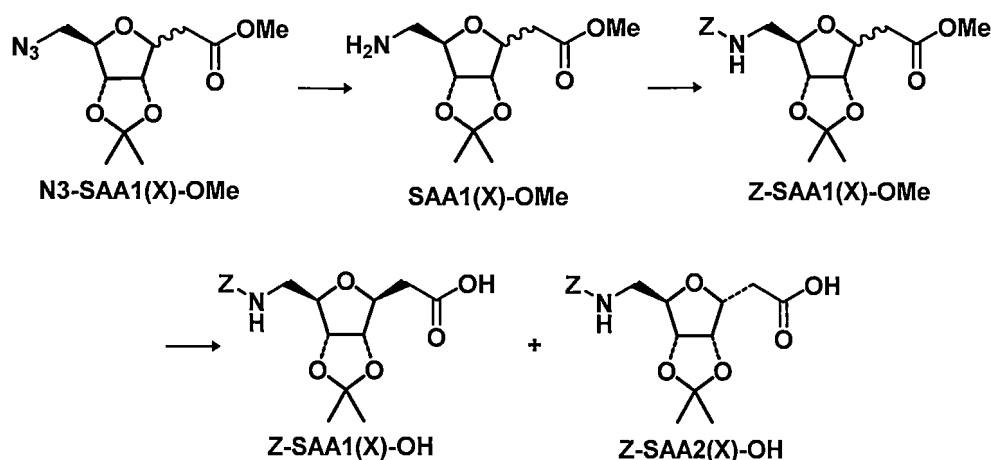
【0145】 將Dov-Val-Dil (200 mg, 0.466 mmol)、Dap-(Nitro)Phe-3AQ (236 mg, 0.466 mmol)與HATU (213 mg, 0.56 mmol)溶於二氯甲烷(5 mL)，並以DIPEA (267 mg, 2.05 mmol)進行處理。於室溫攪拌過夜後，於減壓環境下，蒸餾二氯甲烷，並以製備型preparative HPLC (43%乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3管柱30*250 mm; 流速25 mL/min)對殘留物進行純化，以獲得白色固體的3AQ-ANF (345.2 mg, 產率82%)。LC-MS: 3AQ-ANF ($C_{49}H_{72}N_8O_9$) required $[MH^+] = 917.5$, found $[MH^+] = 918.5$ 。

【0146】 將3AQ-ANF (105 mg, 0.114 mmol)溶於乙醇(30 mL)。於加入催化量(10 mg)的10% Pd/C後，將反應混合物導入氫氣球，並攪拌4小時。以矽藻土墊將催化劑濾除後，於減壓環境下，蒸餾濾液，並以製備型HPLC (36%乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3管柱30*250 mm; 流速25 mL/min)對殘留物進行純化。於減壓環境下，蒸餾含有3AQ-ANF的分餾物，以移除乙腈。將酸性水溶液以碳酸鈉進行鹼化，並過濾之，以獲得3AQ-AAF (80mg, 79%)。LC-MS: 3AQ-AAF ($C_{49}H_{74}N_8O_7$) required $[MH^+] = 887.6$, found $[MH^+] = 888.5$ 。

【0147】 <糖胺基酸>

【0148】 實施例6

【0149】 糖胺基酸 1 (SAA1)及糖胺基酸 2 (SAA2)衍生物之合成



【0150】 將核糖衍生物 **N3-SAA1(X)-OMe** (3.6 g) 溶於甲醇。於加入催化量的 Pd/C 後，將反應混合物導入氫氣球，並攪拌過夜。以矽藻土墊將催化劑濾除後，於減壓環境下，蒸餾甲醇，以獲得淡黃色液體的 **SAA1(X)-OMe** (3.14 g)。

【0151】 將 **Z-OSu** (9.75 g) 及 **DIPEA** (6.8 mL) 加入 **SAA1(X)-OMe** (8.72 g)/**DCM** (300 mL) 溶液。於 17 小時後，以 1N 碳酸鈉清洗反應混合物。有機層以無水硫酸鎂進行乾燥。於減壓環境下，蒸餾二氯甲烷，以獲得棕色液體的粗產物 **Z-SAA1(X)-OMe** (13.6 g)。

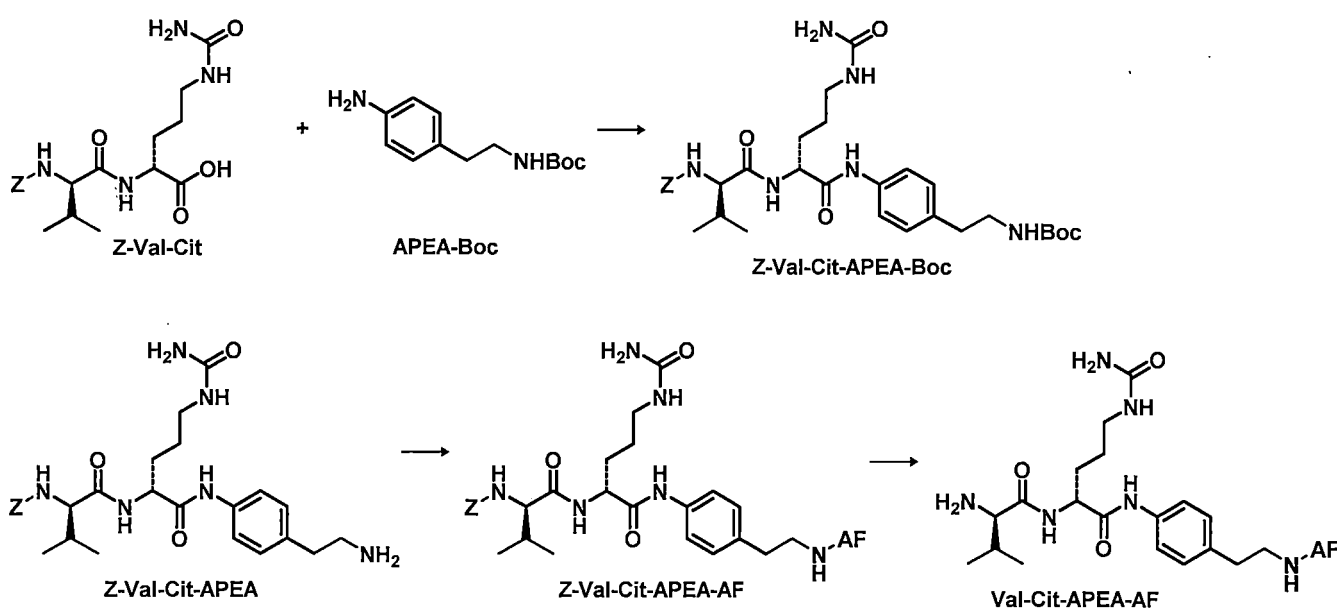
【0152】 將粗產物 **Z-SAA1(X)-OMe** (1 g) 溶於 **THF** (50 mL)，並以 1N 氫氧化鉀 (6 mL) 進行處理。於 3 小時後，於減壓環境下，蒸餾 **THF**。將粗產物水溶液與 **DCM** (100 mL) 混合，並以檸檬酸溶液小心酸化，直至 pH 達約 3-4。以水清洗有機溶液數次，並以無水硫酸鎂進行乾燥。於移除二氯甲烷後，以製備型 HPLC (45% 乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30x500 mm; 流速 55 mL/min; **Z-SAA1(X)-OH** RT 11 min; **Z-SAA2(X)-OH** RT

12 min)對粗產物液體進行純化。於收集Z-SAA1(X)-OH及Z-SAA2(X)-OH溶液後立即鹼化。於移除乙腈後，將Z-SAA1(X)-OH及Z-SAA2(X)-OH水溶液與二氯甲烷混合，並以檸檬酸溶液小心酸化，直至pH達約3-4。以二氯甲烷對Z-SAA1(X)-OH及Z-SAA2(X)-OH溶液進行萃取，並以無水硫酸鎂對有機層進行乾燥。於移除二氯甲烷後，獲得半固體的416 mg的Z-SAA1(X)-OH及104 mg的Z-SAA2(X)-OH。

【0153】 <中間體>

【0154】 實施例7

【0155】 Val-Cit-APEA-AF之合成



【0156】 將Z-Val-Cit (16.34 g, 40 mmol)及APEA-Boc (5.91 g, 25 mmol)加入二氯甲烷(1.5 L)與異丙醇(0.5 L)的混合液中，並攪拌3小時，之後，加入EEDQ (9.89 g, 40 mmol)。於室溫對混濁溶液進行攪拌。由於產物的析出，未溶的Z-Val-Cit逐漸消

失，且於1日後，溶液逐漸混濁。於48小時後，以HPLC測試反應完成。於減壓環境下，蒸餾反應混合物，直至形成厚的糊狀物。對混合物進行過濾，並以異丙醇(400 mL)清洗2次，以水(400 mL)清洗2次。固體產物懸浮於水(800 mL)中，並予以冷凍乾燥，以獲得白色粉末的Z-Val-Cit-APEA-Boc (16.62 g, 61%)。

【0157】 將Z-Val-Cit-APEA-Boc (18.80 g, 30 mmol)加入二氯甲烷(200 mL)中，並以三氟乙酸(15 mL)進行處理過夜。於減壓環境下，蒸餾二氯甲烷。於油狀殘留物中，加入乙酸乙酯(100 mL)，並於減壓環境下，進行蒸餾。上述步驟重複兩次以上，並於油狀產物中，加入乙醚(300 mL)，以迫使三氟乙酸酯析出。將乙醚溶液倒出。固體產物以乙酸乙酯(500 mL)進行攪拌，並過濾之。固體產物懸浮於碳酸鈉溶液(1 M, 500 mL)中，並攪拌直至懸浮均勻。將混合物離心，並倒出上清液。固體重懸浮於水(500 mL)中，並進行離心。上述步驟進行兩次。將灰白色濕的固體產物再懸浮於水(500 mL)中，並予以冷凍乾燥，以獲得Z-Val-Cit-APEA (9.87 g, 63%)。

【0158】 將海兔毒素F鹽酸鹽(626 mg, 0.8 mmol)溶於DMF (10 mL)與二氯甲烷(10 mL)的混合液中。於加入Z-Val-Cit-APEA (506 mg, 0.96 mmol, 1.2eq)及HATU (365 mg, 0.96 mmol, 1.2 eq)後，將反應混合物浸於冰浴中，之後，加入DIPEA (351 mg, 2.72 mmol, 3.4 eq)。於30分鐘後，移開冰浴，於室溫攪拌反應混合物過夜。之後，於減壓環境下，蒸餾溶劑，並以製備型HPLC (45%乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3管柱30*250 mm; 流速25 mL/min)對粗產物進行純化，

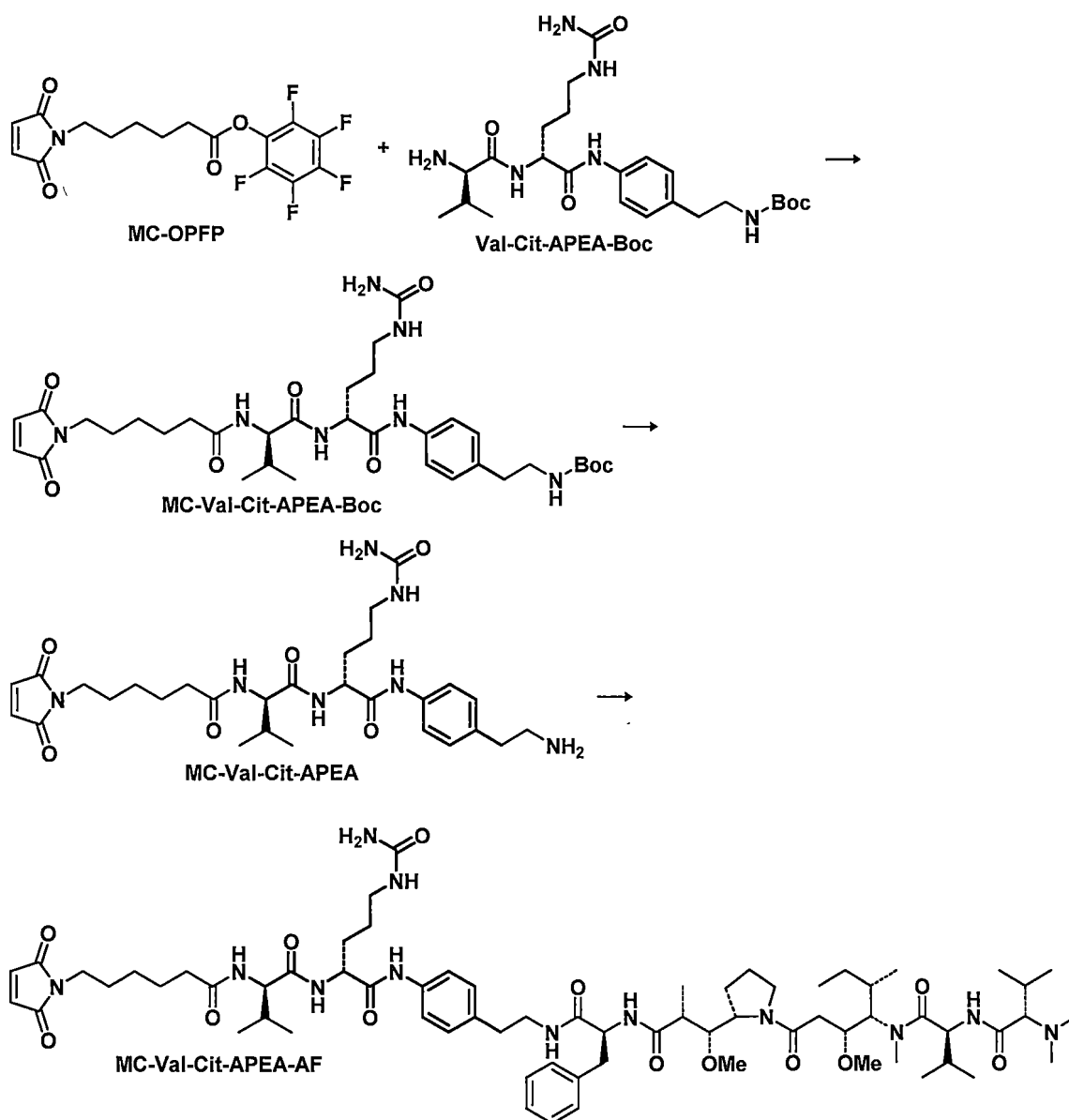
以獲得白色固體的 Z-Val-Cit-APEA-AF (574 mg, 51%)。LC-MS: Z-Val-Cit-APEA-AF ($C_{67}H_{103}N_{11}O_{12}$) required $[MH^+] = 1254.8$, found $[MH^+] = 1256.1$ 。

【0159】 將 Z-Val-Cit-APEA-AF (502 mg, 0.42 mmol) 溶於包含 2N 鹽酸 (630 μ L) 的乙醇 (30 mL)。於加入 Pd/C (10%, 30 mg) 後，將反應混合物導入氫氣球，並攪拌過夜。以矽藻土墊將催化劑 Pd/C 濾除，並於減壓環境下，蒸餾濾液。將產物與水 (10 mL) 混合，並予以冷凍乾燥，以獲得白色固體的 Val-Cit-APEA-AF (420 mg, 83%)。LC-MS: Val-Cit-APEA-AF ($C_{59}H_{97}N_{11}O_{10}$) required $[MH^+] = 1121.5$, found $[MH^+] = 1121.5$ 。

【0160】 <連接子-毒素>

【0161】 實施例 8

【0162】 MC-Val-Cit-APEA-AF 之合成



【0163】 將 Val-Cit-APEA-Boc (65 mg)與 MC-OPFP (50 mg) 溶於 DMF (5 mL)，並加入 DIPEA (0.023 mL)。於 5 小時後，於減壓環境下，移除 DMF 與 DIPEA。以製備型 HPLC (50% 乙腈 / 水 / 0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 50x500 mm; 流速 80 mL/min; RT 13.60 min) 對粗產物進行純化，以獲得白色固體的 MC-Val-Cit-APEA-Boc (40 mg)。LC-MS: MC-Val-Cit-APEA-Boc ($C_{34}H_{51}N_7O_8$) required $[MH^+] = 686.4$, found $[MH^+] = 687.3$ 。

【0164】 於室溫，將 MC-Val-Cit-APEA-Boc (40 mg) / DCM (5 mL) 以 TFA (300 L) 進行處理。於 17 小時後，於減壓環境下，移

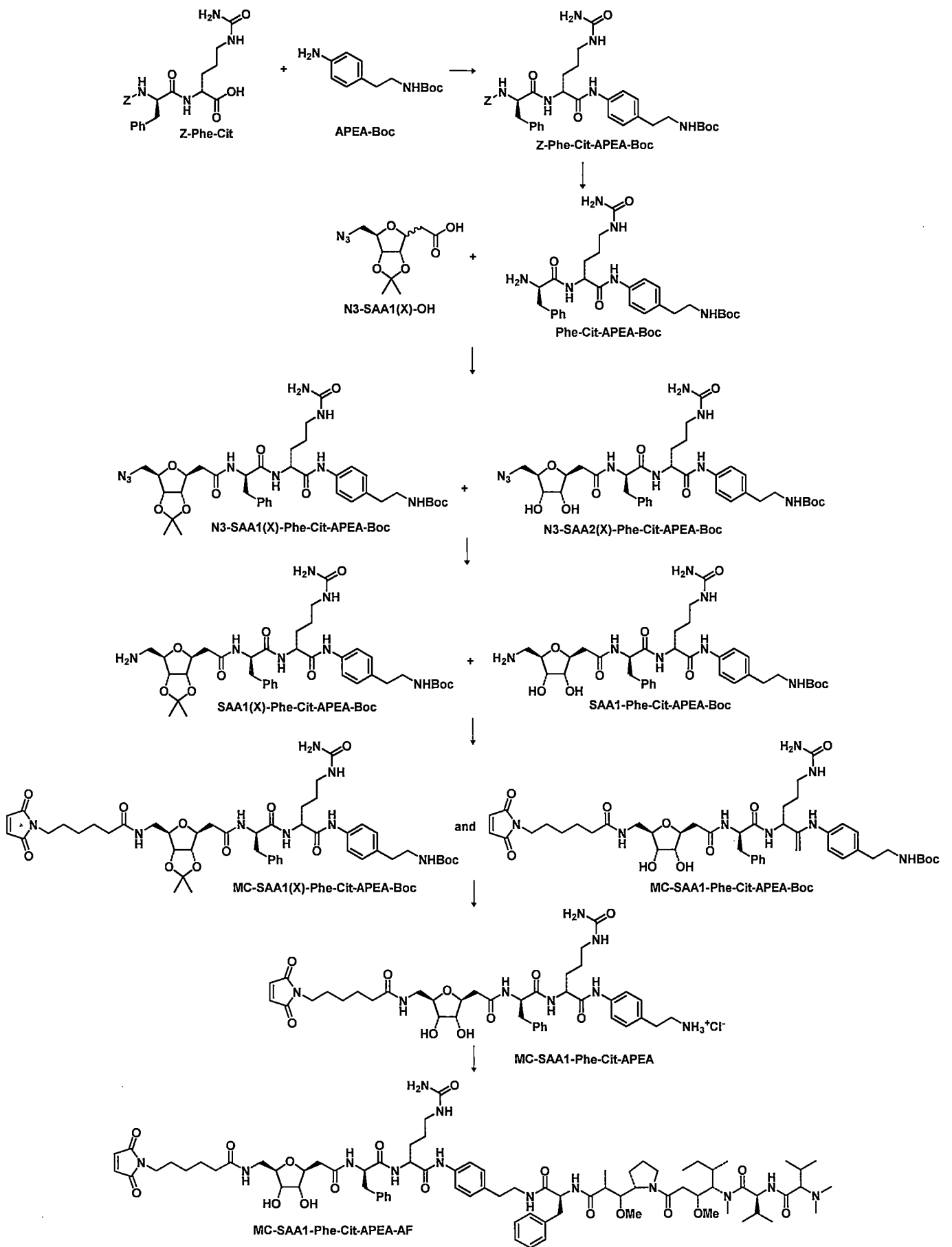
除 DCM 與 TFA，以獲得淡黃色固體的 MC-Val-Cit-APEA (46 mg)。

LC-MS: MC-Val-Cit-APEA ($C_{29}H_{43}N_7O_6$) required $[MH^+] = 586.3$, found $[MH^+] = 586.7$ 。

【0165】 將 MC-Val-Cit-APEA (37 mg) 與海兔毒素 F (47 mg) 溶於 DCM 與 DMF (10:1, 3.7 mL) 的混合液中。之後，加入 HBTU (37 mg) 與 DIPEA (0.037 mL)。於 17 小時後，於減壓環境下，移除 DCM 與 DMF 以製備型 HPLC (40% 乙腈 / 水 / 0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30*250 mm; 流速 25 mL/min; RT 14min) 對粗產物進行純化，以獲得白色固體的 MC-Val-Cit-APEA-AF (9 mg)。
LC-MS: MC-Val-Cit-APEA-AF ($C_{70}H_{109}N_{11}O_{13}$) required $[MH^+] = 1312.8$, found $[MH^+] = 1315.2$ 。

【0166】 實施例 9

【0167】 MC-SAA1-Phe-Cit-APEA-AF 之合成



【0168】 將 Z-Phe-Cit (9.13 g, 20 mmol) 加入二氯甲烷 (750 mL) 及異丙醇 (250 mL) 的混合液中，並攪拌直至雙肽完全溶解。之後，加入 APEA-Boc (7.09 g, 30 mmol) 及 EEDQ (7.42 g, 30 mmol)，並於室溫攪拌混合物 3 天。於減壓環境下，移除溶劑，並加入乙醚 (300 mL) 於殘留物中。過濾混合物，並將粗產物再懸浮於乙醚 (300 mL) 中。上述步驟重複 3 次。於真空環境下，對收集的固體產物進行乾燥，以獲得 Z-Phe-Cit-APEA-Boc (9.53 g, 產率 70.6%)。產物以 PMR 進行鑑定。

【0169】 將 Z-Phe-Cit-APEA-Boc (2.02 g, 3 mmol) 溶於 THF (250 mL) 與甲醇 (50 mL) 的混合液中。於加入催化量的 Pd/C (10%) 後，將反應混合物導入氫氣球，並攪拌過夜。以矽藻土墊將催化劑濾除後，於減壓環境下，蒸餾濾液，以獲得白色固體的 Phe-Cit-APEA-Boc (1.61 g, 99%)。

【0170】 將 HBTU (1.118 g) 與 DIPEA (1.02 mL) 加入 N3-SAA1(X)-OH (633 mg) 與 Phe-Cit-APEA-Boc (1.33 g) 溶於 DCM 與 DMF (10:1, 110 mL) 的混合液中。於 17 小時後，於減壓環境下，移除 DCM。於剩餘的粗 DMF 溶液中，加入水與乙醚，於過濾後，獲得米色固體。以濃檸檬酸水溶液清洗固體數次，以移除大部分的 HOBt 與 DMF。以製備型 HPLC (50% 乙腈 / 水 / 0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30*250 mm) 對 N3-SAA1(X)-Phe-Cit-APEA-Boc 進行純化。於減壓環境下，蒸餾乙腈，並對剩餘的水溶液進行冷凍乾燥，以獲得含有 N3-SAA1(X)-Phe-Cit-APEA-Boc 與 N3-SAA1-Phe-Cit-APEA-Boc 的白色固體 (1 g)。LC-MS:

N3-SAA1(X)-Phe-Cit-APEA-Boc ($C_{38}H_{53}N_9O_9$) required $[MH^+] = 780.9$, found $[MH^+] = 781.8$; N3-SAA1-Phe-Cit-APEA-Boc ($C_{35}H_{49}N_9O_9$) required $[MH^+] = 740.8$, found $[MH^+] = 741.7$ 。

【0171】 將 N3-SAA1(X)-Phe-Cit-APEA-Boc 與 N3-SAA1-Phe-Cit-APEA-Boc 的混合物 (100 mg) 溶於甲醇 (50 mL)。於加入催化量的 Pd/C (10%) 後，將反應混合物導入氫氣球，並攪拌過夜。以矽藻土墊將催化劑濾除後，於減壓環境下，移除甲醇，以獲得含有 SAA1(X)-Phe-Cit-APEA-Boc 與 SAA1-Phe-Cit-APEA-Boc 的白色固體 (78 mg)。

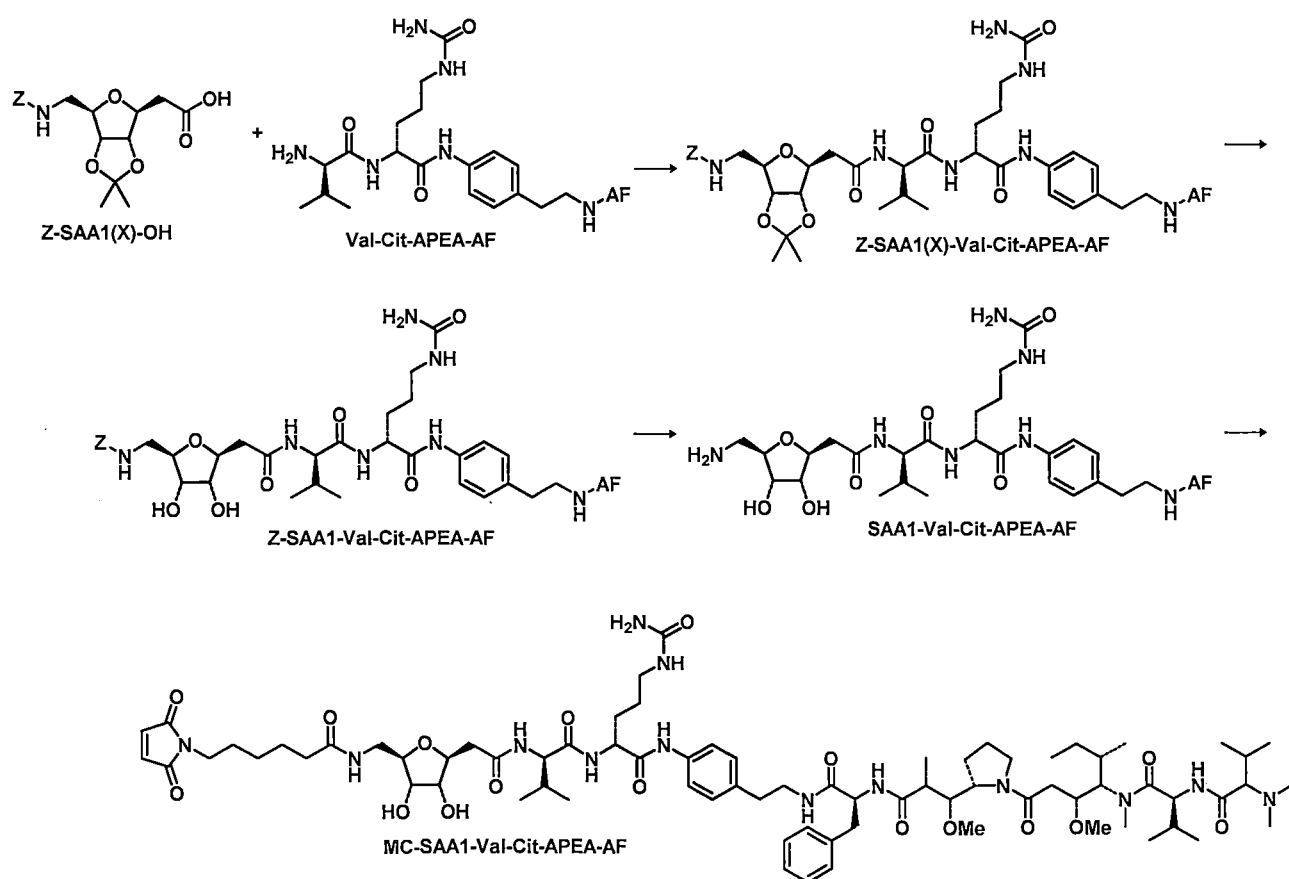
【0172】 將 MC-OPFP (103 mg) 加入 SAA1(X)-Phe-Cit-APEA-Boc/SAA1-Phe-Cit-APEA-Boc (210 mg)/甲醇 (50 mL) 的溶液中，之後，加入 DIPEA (0.047 mL)。於 17 小時後，對反應混合物進行濃縮。以製備型 HPLC (50% 乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30x500 mm; 流速 40 mL/min) 對粗產物進行純化，以獲得 MC-SAA1(X)-Phe-Cit-APEA-Boc 與 MC-SAA1-Phe-Cit-APEA-Boc 的溶液。

【0173】 以濃鹽酸 (10 eq.) 對 MC-SAA1(X)-Phe-Cit-APEA-Boc 與 MC-SAA1-Phe-Cit-APEA-Boc 的溶液進行處理。反應由分析型 HPLC 進行監測，直至水解完成。於減壓環境下，移除乙腈，並於水溶液進行冷凍乾燥後，獲得固體的 MC-SAA1-Phe-Cit-APEA。LC-MS: MC-SAA1-Phe-Cit-APEA ($C_{40}H_{54}N_8O_{10}$) required $[MH^+] = 807.4$, found $[MH^+] = 809.1$ 。

【0174】 將MC-SAA1-Phe-Cit-APEA (110 mg)溶於DCM與DMF (10:1, 10 mL)的混合液中，並分別加入海兔毒素F (93 mg)、HBTU (55 mg)與DIPEA (0.077 mL)。於17小時後，於減壓環境下，移除DCM、DMF及DIPEA。以製備型HPLC (35%乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3管柱30x250 mm; 流速40 mL/min)對粗產物進行純化。於減壓環境下，移除標的分餾物中的乙腈，並對剩餘的水溶液進行冷凍乾燥，以獲得白色固體的MHT-47 (20 mg)。LC-MS: MC-SAA1-Phe-Cit-APEA-AF ($C_{80}H_{119}N_{13}O_{17}$) required $[MH^+] = 1534.9$, found $[MH^+] = 1538.0$ 。

【0175】 實施例 10

【0176】 MC-SAA1-Val-Cit-APEA-AF之合成



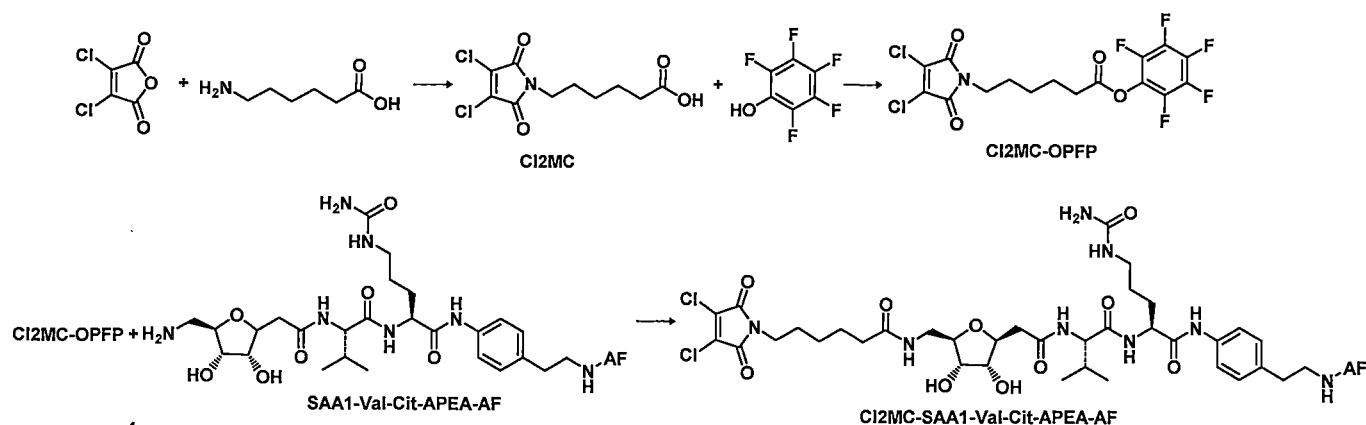
【0177】 將 HBTU (32.5 mg) 與 DIPEA (0.029 mL) 分別加入 Z-SAA1(X)-OH (26.1 mg) 與 Val-Cit-APEA-AF (80 mg) 溶於 DCM 與 DMF (10:1, 4.4 mL) 的混合液中。於 18 小時後，於減壓環境下，移除溶劑，並以製備型 HPLC (45% 乙腈 / 水 / 0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30x500 mm; 流速 65 mL/min; RT 11 min) 對粗產物進行純化。於移除乙腈後，將水溶液置於冰箱中過夜，直至 Z-SAA1(X)-Val-Cit-APEA-AF 完全轉變為 Z-SAA1-Val-Cit-APEA-AF。對水溶液進行冷凍乾燥，以獲得白色固體的 Z-SAA1-Val-Cit-APEA-AF (63 mg, 兩步驟以上的產率 63%)。

【0178】 將 Z-SAA1-Val-Cit-APEA-AF (63 mg) 溶於甲醇 (5 mL)，之後，加入催化劑 Pd/C。將反應混合物導入氫氣球，並攪拌 3 小時。以矽藻土墊將 Pd/C 濾除後，於減壓環境下，蒸餾濾液，以獲得白色固體的 SAA1-Val-Cit-APEA-AF (52.5 mg)。

【0179】 將 DIPEA (0.0056 mL) 加入 SAA1-Val-Cit-APEA-AF (40 mg) / MC-OPFP (11.6 mg) / 甲醇 (4 mL) 的溶液中。反應攪拌過夜，並於減壓環境下，進行蒸餾。以製備型 HPLC (35% 乙腈 / 水 / 0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30x500 mm; 流速 70 mL/min; RT 18 min) 對粗產物進行純化，以獲得白色固體的 **MC-SAA1-Val-Cit-APEA-AF (MHT-71)** (27 mg, 47%)。LC-MS: **MC-SAA1-Val-Cit-APEA-AF** ($C_{76}H_{120}N_{13}O_{17}$) required $[MH^+] = 1486.9$, found $[MH^+] = 1487.2$ 。

【0180】 實施例 11

【0181】 C12MC-SAA1-Val-Cit-APEA-AF之合成



【0182】 將3,4-二氯-呋喃-2,5-二酮(10.34 g, 0.0619 mol)與6-氨基己酸(8.13 g, 0.0619 mmol)混合於冰醋酸(50 mL)中。混合物回流12小時。於減壓環境下，蒸餾溶劑後，以快速管柱色層分析(乙酸乙酯/己烷=2/3)對殘留物進行純化，以獲得白色粉末的C12MC (12.48 g, 72%)。LC-MS: C12MC ($C_{10}H_{11}Cl_2NO_4$) required $[M-CO_2]^+ = 235.0$, found $[M-CO_2]^+ = 235.0$ 。

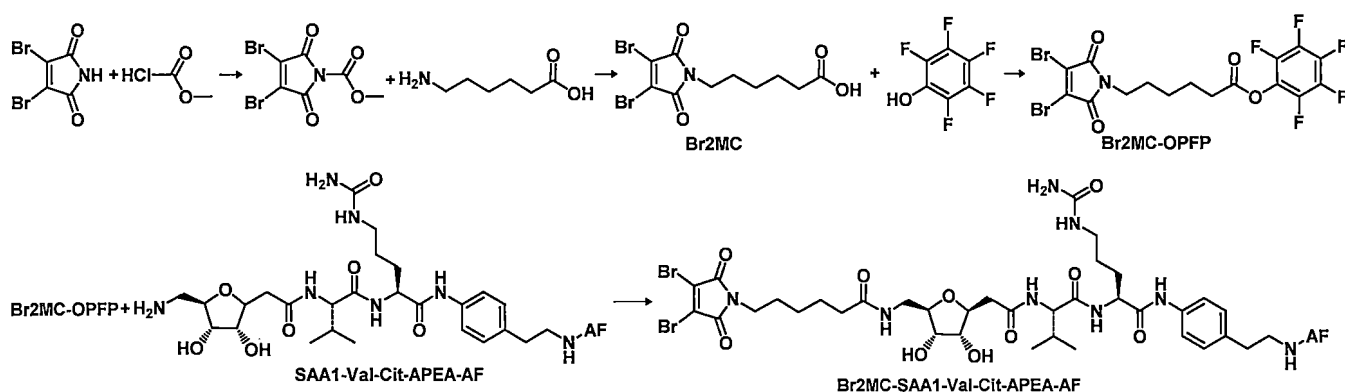
【0183】 將DCC (0.83 g, 4.0 mmol)加入C12MC (1.06 g, 3.8 mmol)/五氟苯酚(0.84 g, 4.5 mmol)/二氯甲烷(25 mL)的溶液中。於室溫攪拌反應混合物12小時，並過濾以移除不溶性的DCU。於減壓環境下，蒸餾反應混合物，直至體積達到約10 mL。將溶液儲存於4°C冰箱2小時。濾除不溶性材料，並將濾液以快速管柱色層分析(乙酸乙酯/己烷=1/30-1/20)進行純化，以獲得白色固體的C12MC-OPFP (1.39 g, 82%)。

【0184】 將DIPEA (0.002 mL, 0.0116 mmol)加入SAA1-Val-Cit-APEA-AF (5.0 mg, 0.0039 mmol)/C12MC-OPFP (2.0 mg, 0.0046 mmol)/DMF (1 mL)的溶液中。於室溫攪拌混

合物1小時，並於減壓環境下，進行蒸餾。以製備型HPLC (35% 乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3管柱30x250 mm; 流速 25 mL/min)對粗產物進行純化，以獲得白色固體的 **C12MC-SAA1-Val-Cit-APEA-AF** (3.0 mg, 50%)。LC-MS: **C12MC-SAA1-Val-Cit-APEA-AF** ($C_{76}H_{117}Cl_2N_{13}O_{17}$) required $[M+2H]^{2+} = 777.9$, found $[M+2H]^{2+} = 779.4$ 。

【0185】 實施例 12

【0186】 **Br2MC-SAA1-Val-Cit-APEA-AF**之合成



【0187】 將氯甲酸甲酯(0.303 mL, 3.92 mmol)加入3,4-二溴-吡咯-2,5-二酮(1.00 g, 3.92 mmol)/N-甲基嗎啉(0.431 mL, 3.92 mmol)/THF (35 mL)的溶液中。於室溫攪拌反應混合物3小時，之後，加入二氯甲烷(40 mL)，並以水(40 mL)清洗有機相3次。以無水硫酸鎂對有機溶液進行乾燥，並於減壓環境下，進行蒸餾，以獲得粉色粉末的3,4-二溴-2,5-二氧代-2,5-二氫-吡咯-1-羧酸甲酯(1.13 g, 93%)。

【0188】 將6-氨基己酸(476.0 mg, 3.6 mmol)溶於乙腈與水的混合溶液(3:2, 50 mL)中。溶液於冰浴中冷卻，並以飽和碳

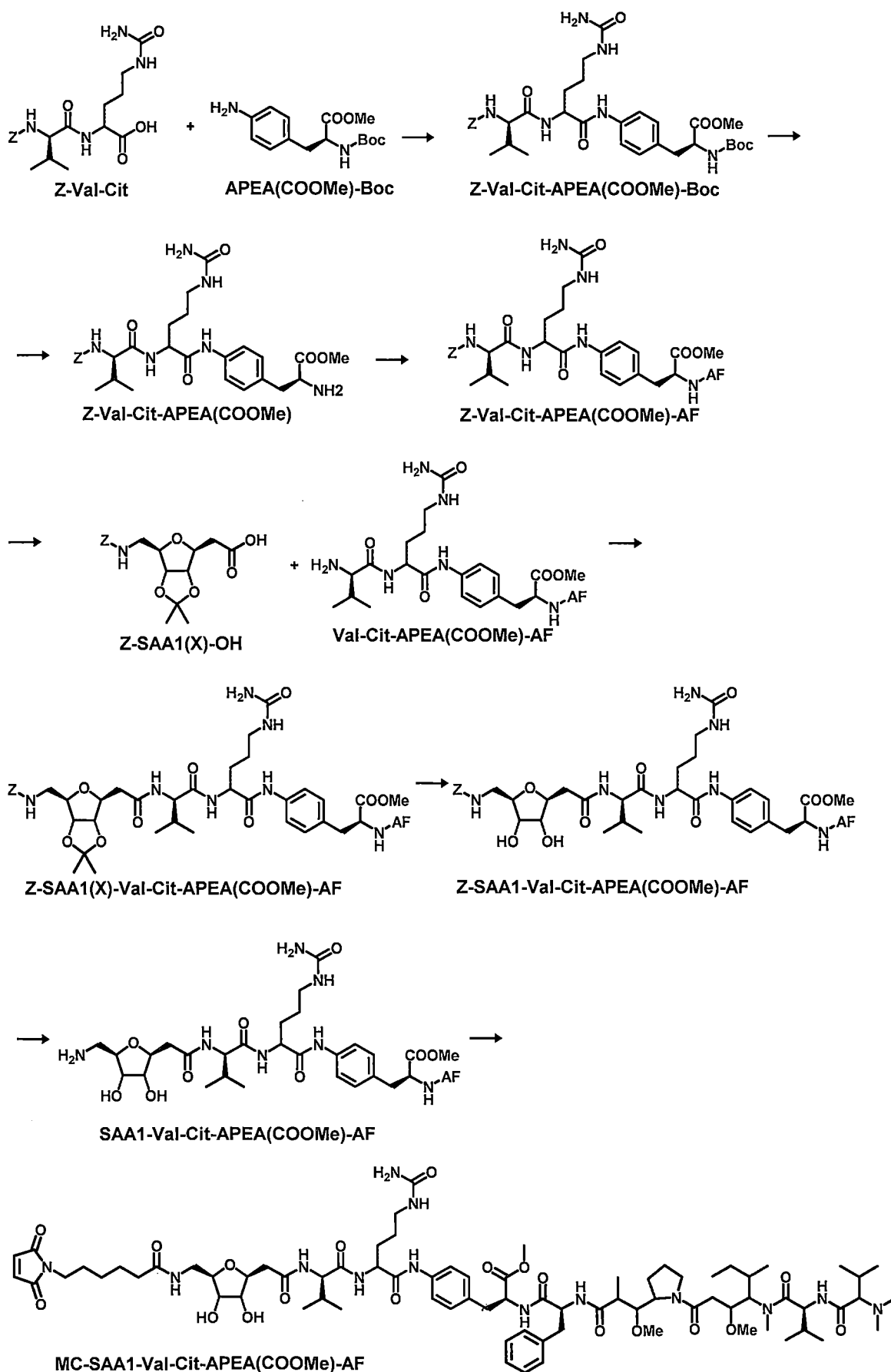
酸氫鈉溶液(1 mL)進行處理，之後，加入3,4-二溴-2,5-二氧代-2,5-二氫-吡咯-1-羧酸甲酯(1.13 g, 3.6 mmol)。於室溫攪拌混合物12小時，並以檸檬酸溶液調整pH至3-4。於減壓環境下，蒸餾混合物，以移除乙腈。以快速管柱色層分析(乙酸乙酯/己烷, 2/3)對殘留物進行純化，以獲得白色粉末的Br2MC (1.33 g, 99%)。LC-MS: Br2MC (C₁₀H₁₁Br₂NO₄) required [M+H]⁺ = 369.9, found [M+H]⁺ = 371.0。

【0189】 將DCC (0.79 g, 3.8 mmol)加入Br2MC (1.33 g, 3.86 mmol)/五氟苯酚(0.80 g, 4.3 mmol)/二氯甲烷(40 mL)的溶液中。於室溫攪拌反應混合物12小時，並過濾以移除不溶性的DCU。於減壓環境下，蒸餾反應混合物，直至體積達到約10mL。將溶液儲存於4°C 冰箱2小時。濾除不溶性材料，並將濾液以快速管柱色層分析(乙酸乙酯/己烷=1/30-1/20)進行純化，以獲得白色固體的Br2MC-OPFP (1.50 g, 78%)。

【0190】 將DIPEA (0.0036 mL, 0.0206 mmol)加入SAA1-Val-Cit-APEA-AF (8.9 mg, 0.0069 mmol)/Br2MC-OPFP (4.5 mg, 0.0083 mmol)/DMF (1 mL)的溶液中。於室溫攪拌混合物1小時，並於減壓環境下，進行蒸餾。以製備型HPLC (35% 乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3管柱30x250 mm; 流速25 mL/min)對粗產物進行純化，以獲得白色固體的Br2MC-SAA1-Val-Cit-APEA-AF (5.6 mg, 50%)。LC-MS: Br2MC-SAA1-Val-Cit-APEA-AF (C₇₆H₁₁₇Br₂N₁₃O₁₇) required [M+H]⁺ = 1644.7, found [M+H]⁺ = 1645.1。

【0191】 實施例 13

【0192】 MC-SAA1-Val-Cit-APEA(COOMe)-AF之合成



【0193】 將 Z-Val-Cit-OH (3.24 g, 7.93 mmol) 加入二氯甲烷與甲醇的混合液(3:1, 80 mL)中。於加入 APEA(COOMe)-Boc (2.8 g, 9.52 mmol) 後，加入偶聯劑 EEDQ (2.47 g, 9.52 mmol)，並於室溫對混濁溶液進行攪拌。未溶的 Z-Val-Cit 逐漸消失，溶液逐漸清澈。於 48 小時後，以 HPLC 測試反應完成。於減壓環境下，蒸餾反應混合物，直至形成厚的糊狀物。對混合物進行過濾，並以正己烷(50 mL)清洗 2 次，以水(50 mL)清洗 2 次，以乙醚(50 mL)清洗 2 次。於真空環境下，對固體產物進行乾燥，以獲得棕色粉末的 Z-Val-Cit-APEA(COOMe)-Boc (75.0 mg, 1.4%)。

【0194】 將 Z-Val-Cit-APEA(COOMe)-Boc (75.0 mg, 0.11 mmol) 加入二氯甲烷(8 mL)中，並於室溫以三氟乙酸(0.09 mL)進行處理。於 4 小時後，於減壓環境下，蒸餾溶劑。將殘留物與水(10 mL)混合，並予以冷凍乾燥，以獲得白色粉末的 Z-Val-Cit-APEA(COOMe)(96.0 mg)。

【0195】 將海兔毒素 F (80.0 mg, 0.102 mmol) 溶於少量 DMF (1 mL)，並以 DCM (10 mL) 進行稀釋。將溶液浸於冰浴中，並加入 Z-Val-Cit-APEA(COOMe)(71.4 mg, 0.102 mmol) 及 HATU (43.0 mg, 0.113 mmol)。於加入 DIPEA (0.071 mL) 後，移開冰浴。於室溫攪拌混合物 4 小時後，於減壓環境下，蒸餾溶劑，並以製備型 HPLC (43% 乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30*250 mm; 流速 24 mL/min) 對殘留物進行純化，以獲得白色固體的 Z-Val-Cit-APEA(COOMe)-AF (82.0 mg, 61%)。

【0196】 將 Z-Val-Cit-APEA(COOMe)-AF (82.0 mg,

0.062 mmol) 溶於包含鹽酸 (0.24 mmol) 的乙醇 (10 mL)。於加入 Pd/C (10%, 10 mg) 後，將反應混合物導入氫氣球，並攪拌過夜。以矽藻土墊將催化劑 Pd/C 濾除，並於減壓環境下，蒸餾濾液。將殘留物與水 (10 mL) 混合，並予以冷凍乾燥，以獲得白色粉末的 Val-Cit-APEA(COOMe)-AF (72.8 mg, 96%)。LC-MS: Val-Cit-APEA(COOMe)-AF ($C_{61}H_{99}N_{11}O_{12}$) required $[MH^+] = 1178.8$, found $[MH^+] = 1179.7$ 。

【0197】 將 Z-SAA1(X)-OH (22.0 mg, 0.06 mmol) 溶於二氯甲烷 (10 mL)。於加入 HATU (25.3 mg, 0.066 mmol) 後，將反應混合物浸於冰浴中，之後，加入 DIPEA (0.032 mL, 0.06 mmol)。於 10 分鐘後，移開冰浴，並將 Val-Cit-APEA(COOMe)-AF (72.8 mg, 0.06 mmol)/DMF (3 mL) 溶液於室溫加入反應混合物中。於 3 小時後，於減壓環境下，蒸餾溶劑，並以製備型 HPLC (45% 乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30*250 mm; 流速 24 mL/min) 對粗產物進行純化。於移除乙腈後，將水溶液於室溫靜置過夜，以使 Z-SAA1(X)-Val-Cit-APEA(COOMe)-AF 完全水解。將水溶液予以冷凍乾燥，以獲得白色固體的 Z-SAA1-Val-Cit-APEA(COOMe)-AF (43.5 mg, 兩步驟以上的產率 49%)。LC-MS: Z-SAA1-Val-Cit-APEA(COOMe)-AF ($C_{79}H_{120}N_{12}O_{18}$) required $[MH^+] = 1525.9$, found $[MH^+] = 1526.8$ 。

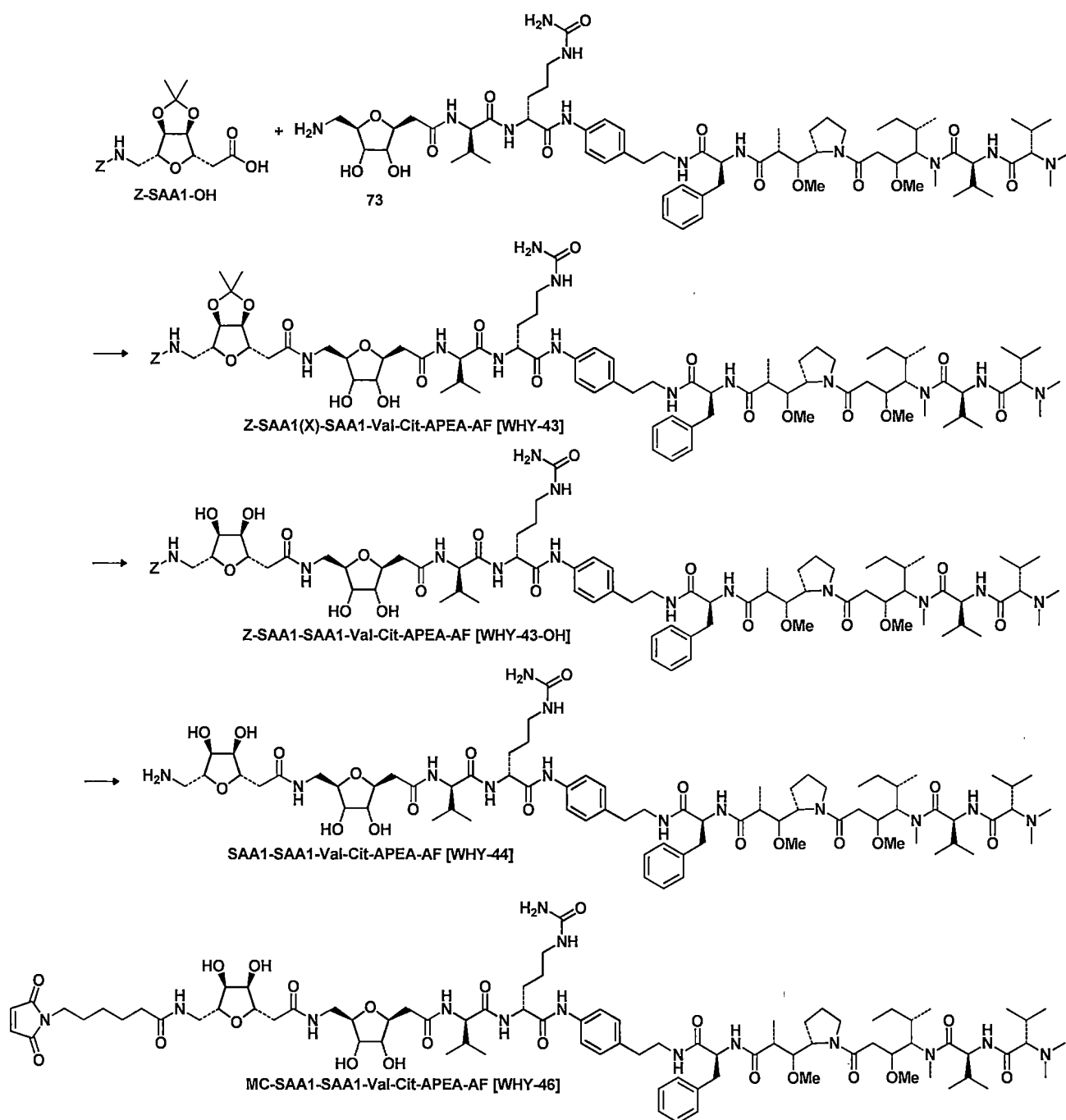
【0198】 將 Z-SAA1-Val-Cit-APEA(COOMe)-AF (43.5 mg, 0.029 mmol) 溶於包含鹽酸 (0.06 mmol) 的乙醇 (5 mL)。於加入 Pd/C (10%, 4.7 mg) 後，將反應混合物導入氫氣球，並攪拌過

夜。以矽藻土墊將催化劑Pd/C濾除，並於減壓環境下，蒸餾濾液。將殘留物與水(5 mL)混合，並予以冷凍乾燥，以獲得白色粉末的SAA1-Val-Cit-APEA(COOMe)-AF (38.4 mg, 94%)。

【0199】 將DIPEA (0.004 mL)加入SAA1-Val-Cit-APEA(COOMe)-AF (15.0 mg, 0.011 mmol)/MC-OPFP (4.5 mg, 0.012 mmol)/DMF (4 mL)的溶液中。於室溫攪拌混合物1小時，並於減壓環境下，進行蒸餾。以製備型HPLC (36%乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3管柱 30x250 mm; 流速24 mL/min)對粗產物進行純化，以獲得白色固體的MC-SAA1-Val-Cit-APEA(COOMe)-AF (10.0 mg, 60%)。LC-MS: MC-SAA1-Val-Cit-APEA(COOMe)-AF (C₇₈H₁₂₁N₁₃O₁₉) required [MH⁺] = 1544.9, found [MH⁺] = 1545.8。

【0200】 實施例14

【0201】 MC-SAA1-SAA1-Val-Cit-APEA-AF之合成



【0202】 將 Z-SAA1(X)-OH (28.0 mg, 0.076 mmol) 溶於二氯甲烷 (1 mL)。於加入 HATU (23.4 mg, 0.061 mmol) 後，將反應混合物浸於冰浴中，之後，加入 DIPEA (7.9 mg, 0.061 mmol)。於 10 分鐘後，移開冰浴，並將 SAA1-Val-Cit-APEA-AF (70.0 mg, 0.051 mmol)/DMF (3 mL) 溶液於室溫加入反應混合物中。於 1 小時後，於減壓環境下，蒸餾溶劑，並以製備型 HPLC (39% 乙

腓/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3管柱30*250 mm; 流速25 mL/min)對粗產物進行純化。於移除乙腓後，將水溶液於室溫靜置過夜，以使Z-SAA1(X)-SAA1-Val-Cit-APEA-AF完全水解。將水溶液予以冷凍乾燥，以獲得白色固體的Z-SAA1-SAA1-Val-Cit-APEA-AF (64mg，兩步驟以上的產率78%)。LC-MS: Z-SAA1-SAA1-Val-Cit-APEA-AF ($C_{81}H_{125}N_{13}O_{20}$) required $[MH^+] = 1602.0$ ，found $[MH^+] = 1601.5$ 。

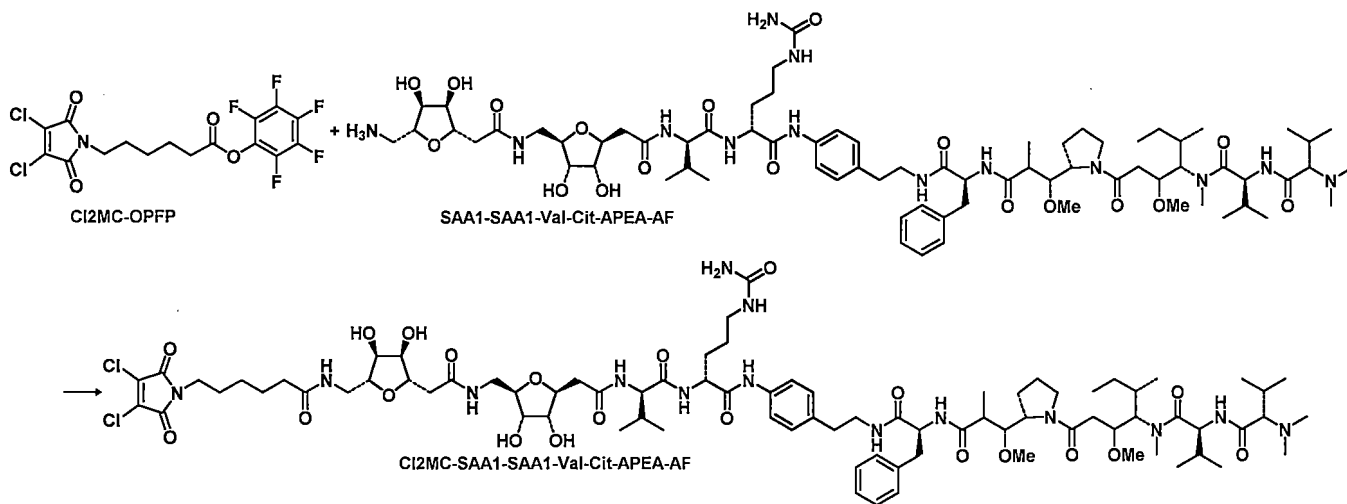
【0203】 將Z-SAA1-SAA1-Val-Cit-APEA-AF (64.0 mg，0.042 mmol)溶於包含鹽酸(0.136 mmol)的乙醇(20 mL)。於加入Pd/C (10%，6.5 mg)後，將反應混合物導入氫氣球，並攪拌過夜。以矽藻土墊將催化劑Pd/C濾除，並於減壓環境下，蒸餾濾液。將產物與水(10 mL)混合，並予以冷凍乾燥，以獲得白色固體的SAA1-SAA1-Val-Cit-APEA-AF (60.0 mg，97%)。LC-MS: SAA1-SAA1-Val-Cit-APEA-AF ($C_{73}H_{119}N_{13}O_{18}$) required $[MH^+] = 1466.9$ ，found $[MH^+] = 1467.5$ 。

【0204】 將SAA1-SAA1-Val-Cit-APEA-AF (30.0 mg，0.019 mmol)與DIPEA (7.4 mg，0.057 mmol)溶於DMF (2 mL)。將反應混合物浸於冰浴後，加入MC-OPFP (9.0 mg，0.023 mmol)。於10分鐘後，移開冰浴，並於室溫攪拌混合物1小時。於減壓環境下，蒸餾溶劑，並以製備型HPLC (33%乙腓/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3管柱30*250 mm; 流速25mL/min)對粗產物進行純化，以獲得白色固體的MC-SAA1-SAA1-Val-Cit-APEA-AF (18.5 mg，53%)。LC-MS: MC-SAA1-SAA1-Val-Cit-APEA-AF ($C_{83}H_{130}N_{14}O_{21}$) required

$[MH^+] = 1660.0$, found $[MH^+] = 1660.7$ 。

【0205】 實施例 15

【0206】 C12MC-SAA1-SAA1-Val-Cit-APEA-AF之合成

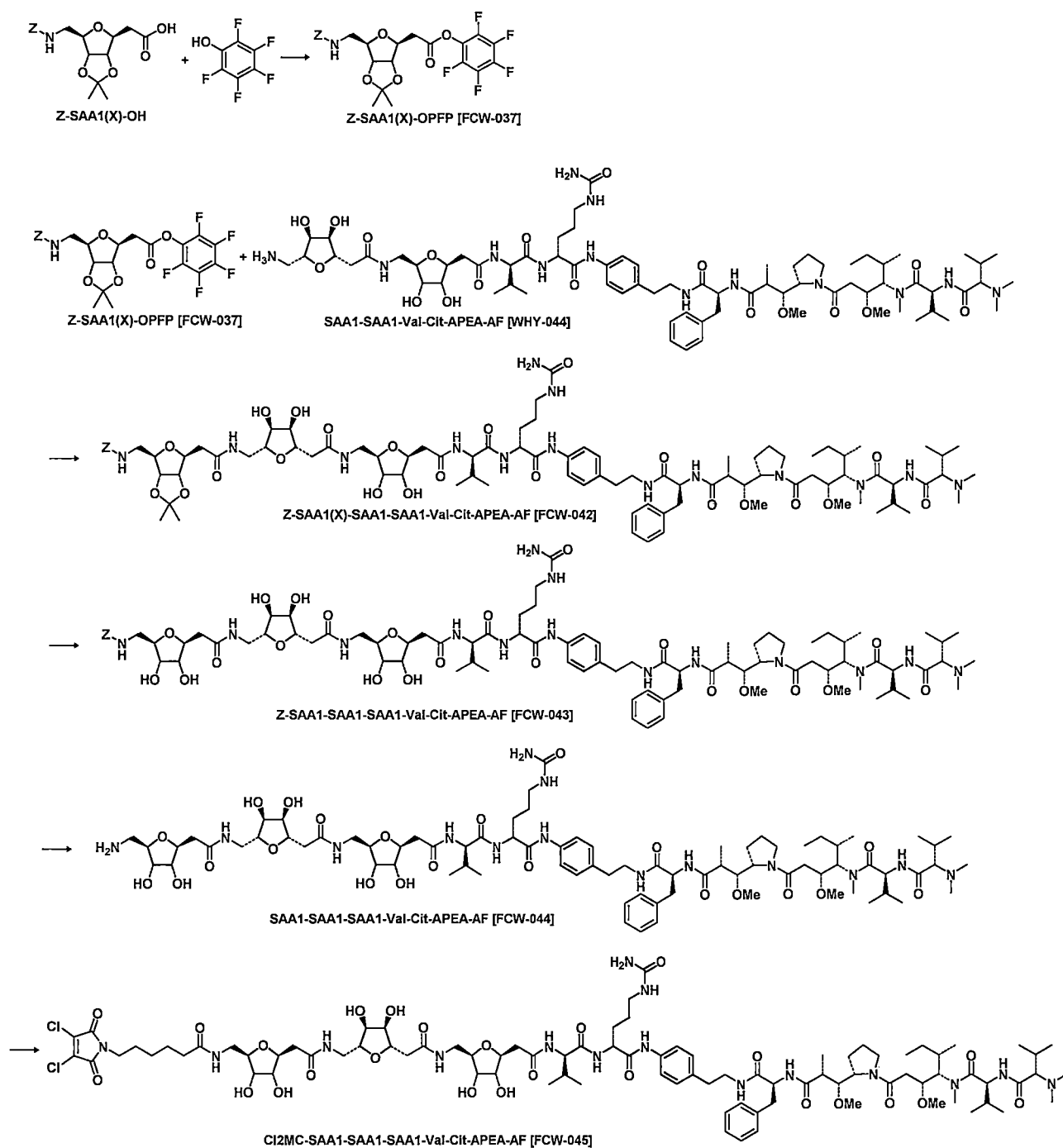


【0207】 將 SAA1-SAA1-Val-Cit-APEA-AF (3.0 mg, 0.00065 mmol) 與 DIPEA (0.003 mL, 0.0164 mmol) 溶於 DMF (1 mL)。將反應混合物浸於冰浴後，加入 C12MC-OPFP (3.0 mg, 0.0065 mmol)。於 10 分鐘後，移開冰浴，並於室溫攪拌混合物 1 小時。於減壓環境下，蒸餾溶劑，並以製備型 HPLC (33% 乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30*250 mm; 流速 25 mL/min) 對粗產物進行純化，以獲得白色固體的

C12MC-SAA1-SAA1-Val-Cit-APEA-AF (2.8 mg, 30%)。LC-MS: C12MC-SAA1-SAA1-Val-Cit-APEA-AF ($C_{83}H_{128}Cl_2N_{14}O_{21}$) required $[M+H]^+ = 1727.9$, found $[M+H]^+ = 1729.6$ 。

【0208】 實施例 16

【0209】 C12MC-SAA1-SAA1-SAA1-Val-Cit-APEA-AF 之合成



【0210】 將 DCC (0.133 g, 0.6411 mmol) 加入 Z-SAA1(X)-OH (0.221 g, 0.6048 mmol)/五氟苯酚 (0.134 g, 0.7258 mmol)/二氯甲烷 (20 mL) 的溶液中。於室溫攪拌反應混合物 12 小時，並過濾以移除不溶性的 DCU。於減壓環境下，蒸餾反應混合物，直至體積達到約 10 mL。將溶液儲存於 4°C 冰箱 2 小時。濾除不溶

性材料，並將濾液以快速管柱色層分析(乙酸乙酯/己烷=1/4-1/2)進行純化，以獲得白色固體的Z-SAA1(X)-OPFP (0.201 g, 63%)。

LC-MS: Z-SAA1(X)-OPFP ($C_{24}H_{22}F_5NO_7$) required $[M+H]^+ = 532.1$, found $[M+H]^+ = 533.1$ 。

【0211】 將SAA1-SAA1-Val-Cit-APEA-AF (4.8 mg, 0.0090 mmol)與DIPEA (0.004 mL, 0.0225 mmol)溶於DMF (1 mL)。將反應混合物浸於冰浴後，加入Z-SAA1(X)-OPFP (4.8 mg, 0.009 mmol)。於10分鐘後，移開冰浴，並於室溫攪拌混合物3小時。於減壓環境下，蒸餾溶劑，並以製備型HPLC (33%乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3管柱30*250 mm; 流速25 mL/min)對粗產物進行純化。於移除乙腈後，將水溶液於室溫靜置過夜，以水解縮丙酮基。將水溶液予以冷凍乾燥，以獲得白色固體的Z-SAA1-SAA1-SAA1-Val-Cit-APEA-AF (13.0 mg, 兩步驟以上的產率97%)。LC-MS:

Z-SAA1-SAA1-SAA1-Val-Cit-APEA-AF ($C_{88}H_{136}N_{14}O_{24}$) required $[M+H]^+ = 1774.0$, found $[M+H]^+ = 1774.9$ 。

【0212】 將Z-SAA1-SAA-SAA1-Val-Cit-APEA-AF [FCW-043] (13.0 mg, 0.0075 mmol)溶於包含鹽酸(0.0126 mmol)的乙醇(10 mL)。於加入Pd/C (10%, 0.8 mg)後，將反應混合物導入氫氣球，並攪拌過夜。以矽藻土墊將催化劑Pd/C濾除，並於減壓環境下，蒸餾濾液。將產物與水(5 mL)混合，並予以冷凍乾燥，以獲得白色固體的

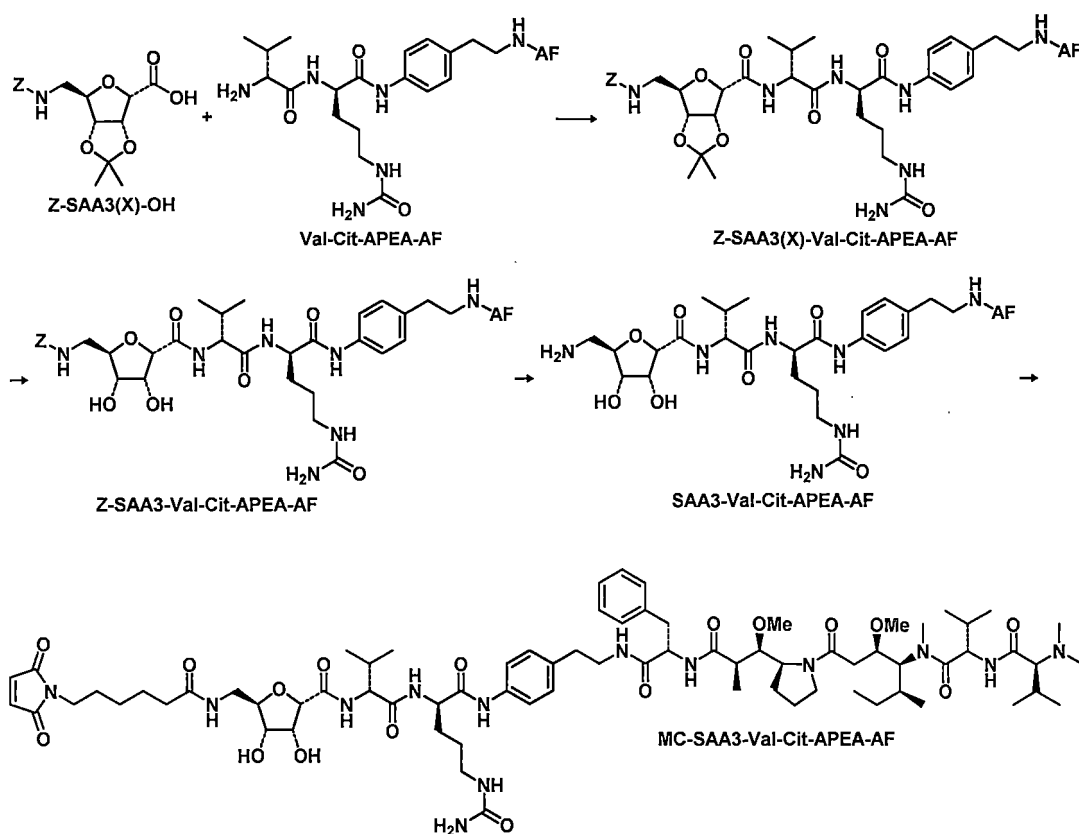
SAA1-SAA1-SAA1-Val-Cit-APEA-AF (9.0 mg, 75%)。LC-MS: SAA1-SAA1-SAA1-Val-Cit-APEA-AF ($C_{80}H_{130}N_{14}O_{22}$) required

$[M+H]^+ = 1640.0$, found $[M+H]^+ = 1640.9$ 。

【0213】 將 SAA1-SAA1-SAA1-Val-Cit-APEA-AF (5.0 mg , 0.0031 mmol)與 DIPEA (0.002 mL , 0.0092 mmol)溶於 DMF (1 mL) 。將反應混合物浸於冰浴後，加入 Cl₂MC-OPFP (2.0 mg , 0.0037 mmol) 。於10分鐘後，移開冰浴，並於室溫攪拌混合物3小時。於減壓環境下，蒸餾溶劑，並以製備型 HPLC (33%乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3管柱 30*250 mm; 流速 25mL/min)對粗產物進行純化，以獲得白色固體的 **Cl₂MC-SAA1-SAA1-SAA1-Val-Cit-APEA-AF** (1.0 mg , 17%) 。
LC-MS: Cl₂MC-SAA1-SAA1-SAA1-Val-Cit-APEA-AF
(C₉₀H₁₃₉Cl₂N₁₅O₂₅) required $[M+H]^+ = 1901.0$, found $[M+H]^+ = 1902.8$ 。

【0214】 實施例 17

【0215】 MC-SAA3-Val-Cit-APEA-AF之合成



【0216】 將 HATU (22.0 mg, 0.0572 mmol) 與 DIPEA (0.027 mL, 0.156 mmol) 分別加入 Z-SAA3(X)-OH (18.2 mg, 0.052 mmol) 與 Val-Cit-APEA-AF (60.0 mg, 0.052 mmol) 溶於 DCM 與 DMF (10:1, 6 mL) 的混合液中。於 18 小時後，於減壓環境下，移除溶劑，並以製備型 HPLC (43% 乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30*250 mm; 流速 24 mL/min) 對粗產物進行純化。於移除乙腈後，將水溶液於室溫靜置過夜，直至縮丙酮基完全移除。將水溶液予以冷凍乾燥，以獲得白色固體的 Z-SAA3-Val-Cit-APEA-AF (48.0 mg, 兩步驟以上的產率 65%)。

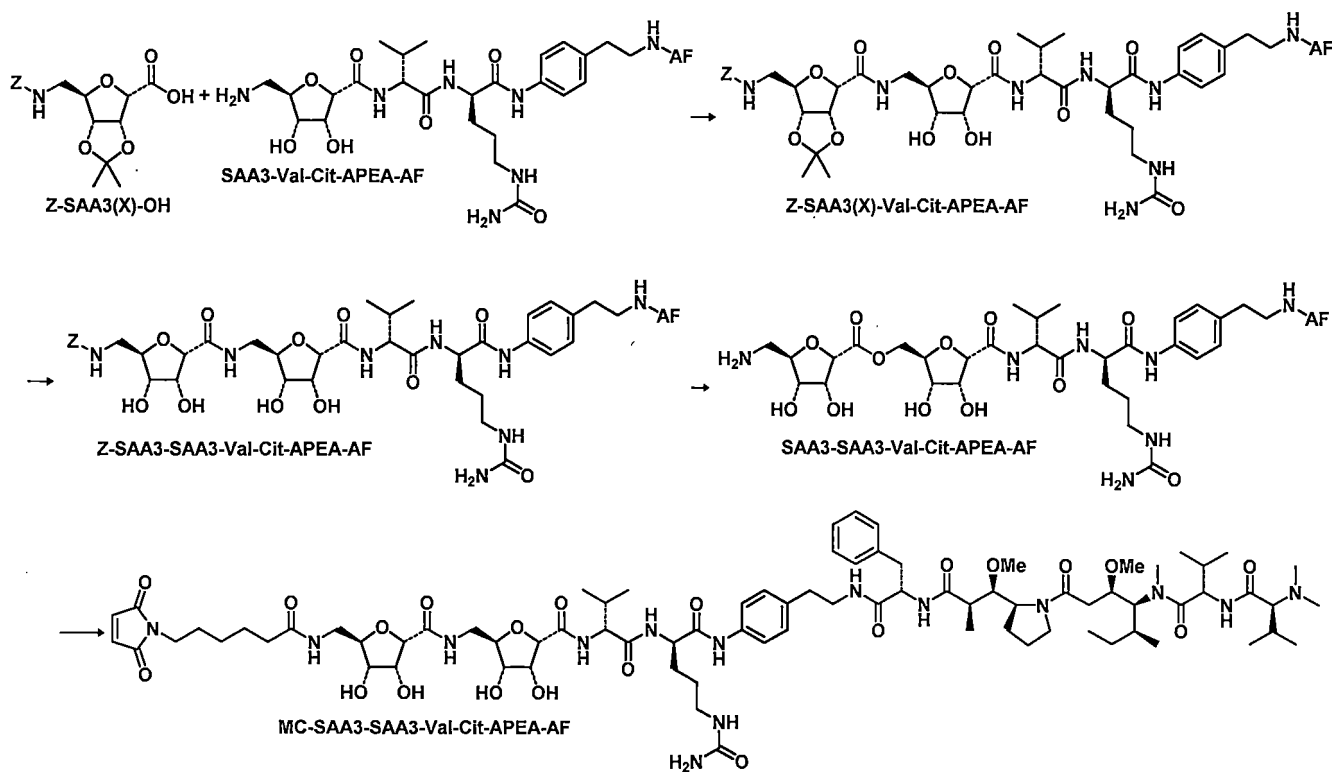
【0217】 將 Z-SAA3-Val-Cit-APEA-AF (48.0 mg, 0.034 mmol) 溶於包含鹽酸 (0.014 mL) 的乙醇 (5 mL)。於加入 Pd/C (10%, 4.7 mg) 後，將反應混合物導入氫氣球，並攪拌 5 小時。以矽藻土墊將催化劑 Pd/C 濾除，並於減壓環境下，蒸餾濾液。將產物與水

(5 mL)混合，並予以冷凍乾燥，以獲得白色固體的 SAA3-Val-Cit-APEA-AF (42.0 mg, 94%)。

【0218】 將DIPEA (0.006 mL)加入SAA3-Val-Cit-APEA-AF (20.0 mg, 0.015 mmol)/MC-OPFP (6.3 mg, 0.0165 mmol)/DMF (4 mL)的溶液中。反應於室溫攪拌1小時，並於減壓環境下，進行蒸餾。以製備型HPLC (36%乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3管柱30x250 mm; 流速24 mL/min)對粗產物進行純化，以獲得白色固體的MC-SAA3-Val-Cit-APEA-AF (12.2 mg, 55%)。LC-MS: MC-SAA3-Val-Cit-APEA-AF ($C_{75}H_{117}N_{13}O_{17}$) required $[MH^+] = 1473.8$, found $[MH^+] = 1473.6$ 。

【0219】 實施例 18

【0220】 MC-SAA3-SAA3-Val-Cit-APEA-AF之合成



【0221】 將 HATU (17.3 mg, 0.045 mmol) 與 DIPEA (0.02 mL, 0.123 mmol) 分別加入 Z-SAA3(X)-OH (14.5 mg, 0.041 mmol) 與 SAA3-Val-Cit-APEA-AF (54.5 mg, 0.041 mmol) 溶於 DCM 與 DMF (10:1, 6 mL) 的混合液中。於 18 小時後，於減壓環境下，蒸餾溶劑，並以製備型 HPLC (41% 乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30*250 mm; 流速 24 mL/min) 對粗產物進行純化。於移除乙腈後，將水溶液於室溫靜置過夜，直至縮酮基完全移除。將水溶液予以冷凍乾燥，以獲得白色固體的 Z-SAA3-SAA3-Val-Cit-APEA-AF (21.3 mg, 兩步驟以上的產率 33%)。

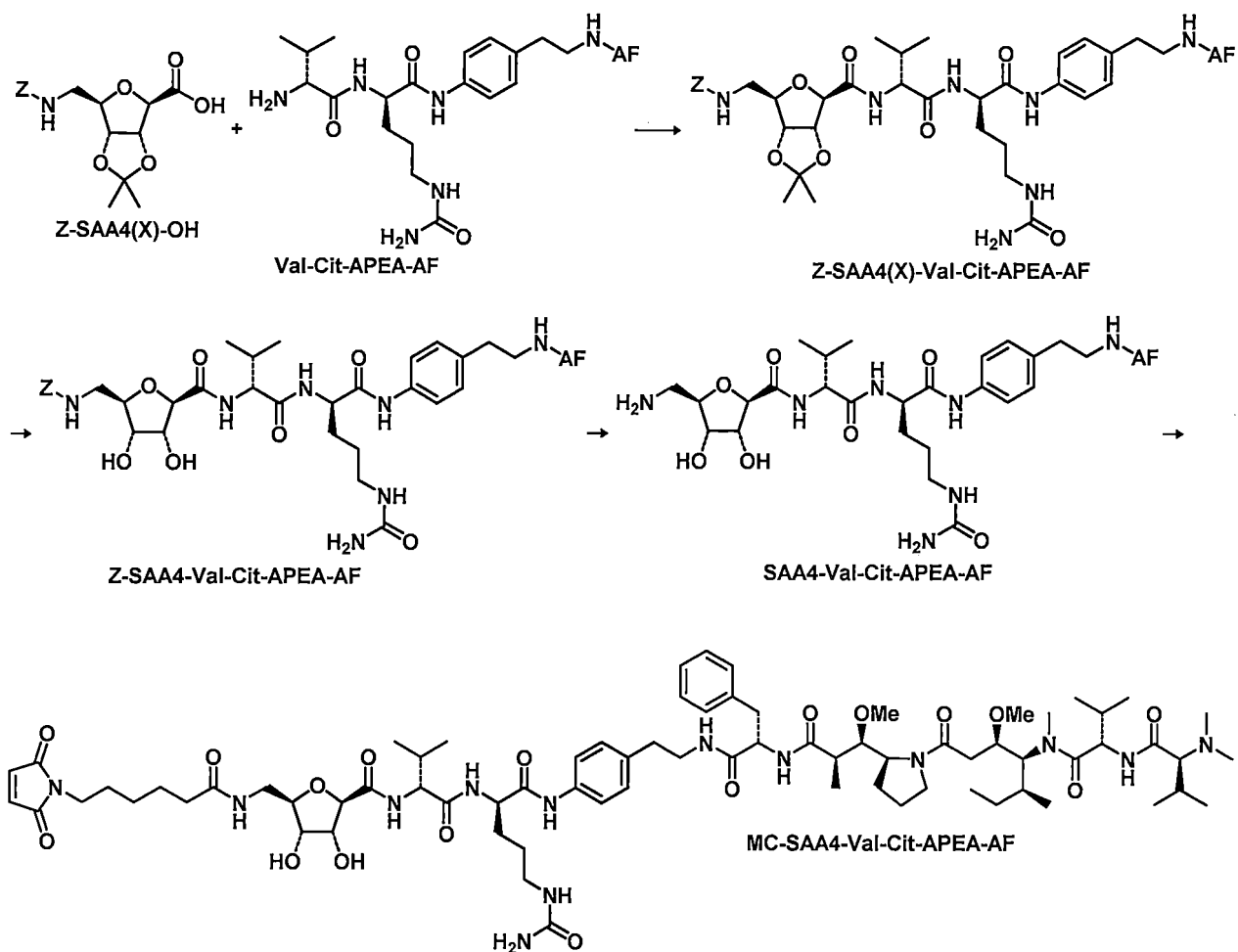
【0222】 將 Z-SAA3-SAA3-Val-Cit-APEA-AF (21.3 mg, 0.0135 mmol) 溶於包含鹽酸 (0.052 mmol) 的乙醇 (5 mL)。於加入 Pd/C (10%, 2.5 mg) 後，將反應混合物導入氫氣球，並攪拌 5 小時。以矽藻土墊將催化劑 Pd/C 濾除，並於減壓環境下，蒸餾濾液。將產物與水 (5 mL) 混合，並予以冷凍乾燥，以獲得白色固體的 SAA3-SAA3-Val-Cit-APEA-AF (16.1 mg, 81%)。

【0223】 將 DIPEA (0.004 mL) 加入 SAA3-SAA3-Val-Cit-APEA-AF (16.1 mg, 0.0109 mmol)/MC-OPFP (4.5 mg, 0.012 mmol)/DMF (5 mL) 的溶液中。於室溫攪拌反應混合物 1 小時，並於減壓環境下，進行蒸餾。以製備型 HPLC (33% 乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30x250 mm; 流速 24 mL/min) 對粗產物進行純化，以獲得白色固體的 MC-SAA3-SAA3-Val-Cit-APEA-AF (9.2 mg, 52%)。LC-MS: MC-SAA3-SAA3-Val-Cit-APEA-AF ($C_{81}H_{126}N_{14}O_{21}$)

required $[MH^+] = 1633.0$, found $[MH^+] = 1633.2$.

【0224】 實施例 19

【0225】 MC-SAA4-Val-Cit-APEA-AF之合成



【0226】 將 HATU (18.1 mg, 0.0473 mmol) 與 DIPEA (0.023 mL, 0.129 mmol) 分別加入 Z-SAA4(X)-OH (15.2 mg, 0.043 mmol) 與 Val-Cit-APEA-AF (50.0 mg, 0.043 mmol) 溶於 DCM 與 DMF (10:1, 6 mL) 的混合液中。於 18 小時後，於減壓環境下，移除溶劑，並以製備型 HPLC (43% 乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30*250 mm; 流速 24 mL/min) 對粗產物進行純化。於移除乙腈後，將水溶液於室溫靜置過夜，直至丙酮基完全移除。將水溶液予以冷凍乾燥，以獲得白色固體的

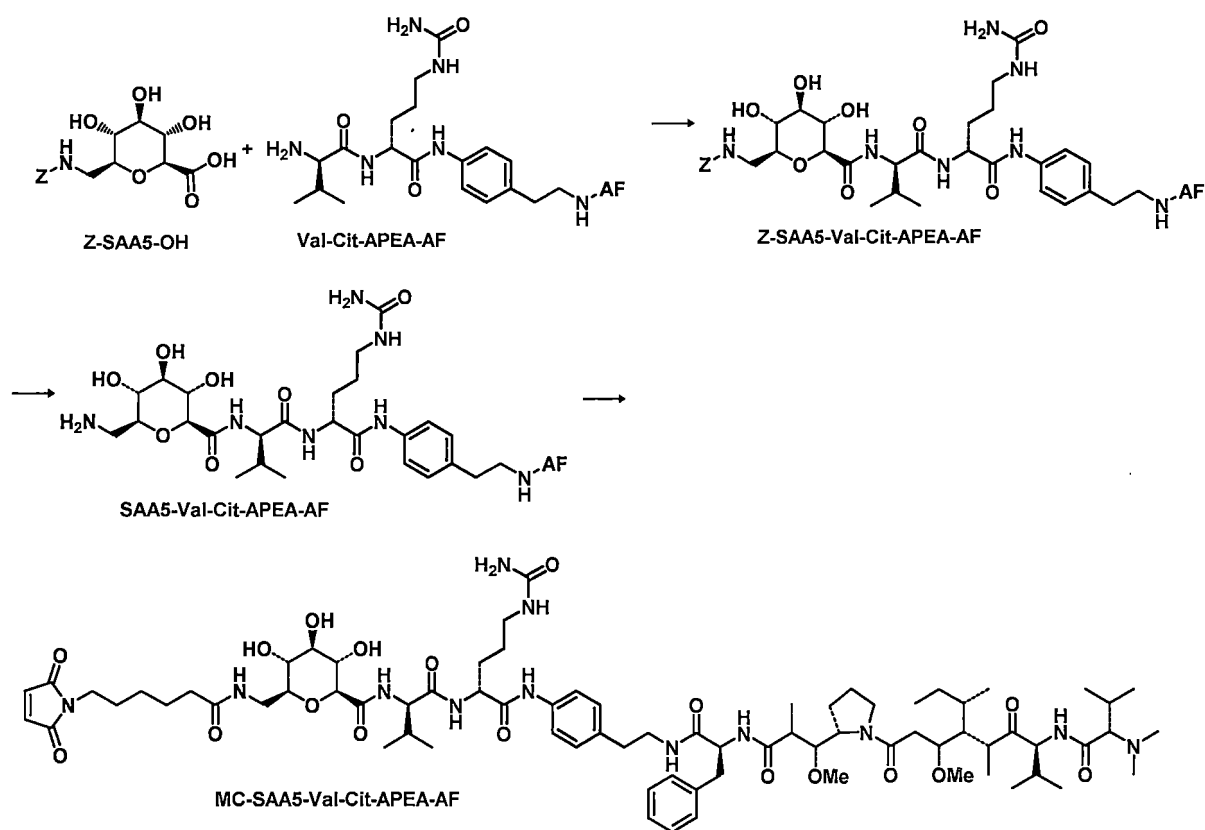
Z-SAA3-Val-Cit-APEA-AF (32.4 mg, 兩步驟以上的產率53%)。

【0227】 將 Z-SAA3-Val-Cit-APEA-AF (32.4 mg, 0.0229 mmol) 溶於包含鹽酸 (0.09 mmol) 的乙醇 (5 mL)。於加入 Pd/C (10%, 4.0 mg) 後，將反應混合物導入氫氣球，並攪拌 5 小時。以矽藻土墊將催化劑 Pd/C 濾除，並於減壓環境下，蒸餾濾液。將產物與水 (5 mL) 混合，並予以冷凍乾燥，以獲得白色固體的 SAA4-Val-Cit-APEA-AF (30.0 mg, 98%)。

【0228】 將 DIPEA (0.006 mL) 加入 SAA4-Val-Cit-APEA-AF (20.0 mg, 0.015 mmol)/MC-OPFP (6.3 mg, 0.0165 mmol)/DMF (4 mL) 的溶液中。反應於室溫攪拌 1 小時，並於減壓環境下，進行蒸餾。以製備型 HPLC (36% 乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30x250 mm; 流速 24 mL/min) 對粗產物進行純化，以獲得白色固體的 MC-SAA4-Val-Cit-APEA-AF (15.6 mg, 70%)。LC-MS: MC-SAA4-Val-Cit-APEA-AF ($C_{75}H_{117}N_{13}O_{17}$) required $[MH^+] = 1473.8$, found $[MH^+] = 1473.6$ 。

【0229】 實施例 20

【0230】 MC-SAA5-Val-Cit-APEA-AF 之合成



【0231】 將 HATU (40 mg, 0.1060 mmol) 加入 Val-Cit-APEA-AF (99 mg, 0.0884 mmol)、Z-SAA5-OH (36 mg, 0.1060 mmol) 與 DIPEA (0.046 mL, 0.2651 mmol) 溶於 DMF (2 mL) 與二氯甲烷 (20 mL) 的攪拌溶液中。於室溫攪拌 12 小時後，蒸餾溶劑，並以製備型 HPLC (43% 乙腈/水/0.1% TFA; UV 210nm; ODS-3 管柱 30*250 mm; 流速 24 mL/min) 對殘留物進行純化。於移除乙腈後，將水溶液於室溫靜置過夜，直至丙酮基完全移除。將水溶液予以冷凍乾燥，以獲得白色粉末的 Z-SAA5-Val-Cit-APEA-AF (33 mg, 26%)。LC-MS: Z-SAA5-Val-Cit-APEA-AF ($C_{75}H_{115}N_{11}O_{17}$) required $[M+2H]^{2+} = 721.9$, found $[M+2H]^{2+} = 723.6$ 。

【0232】 將 Z-SAA5-Val-Cit-APEA-AF (35.0 mg, 0.024 mmol) 溶於包含鹽酸 (0.048 mmol) 的乙醇 (8 mL)。於加入 Pd/C (10%，

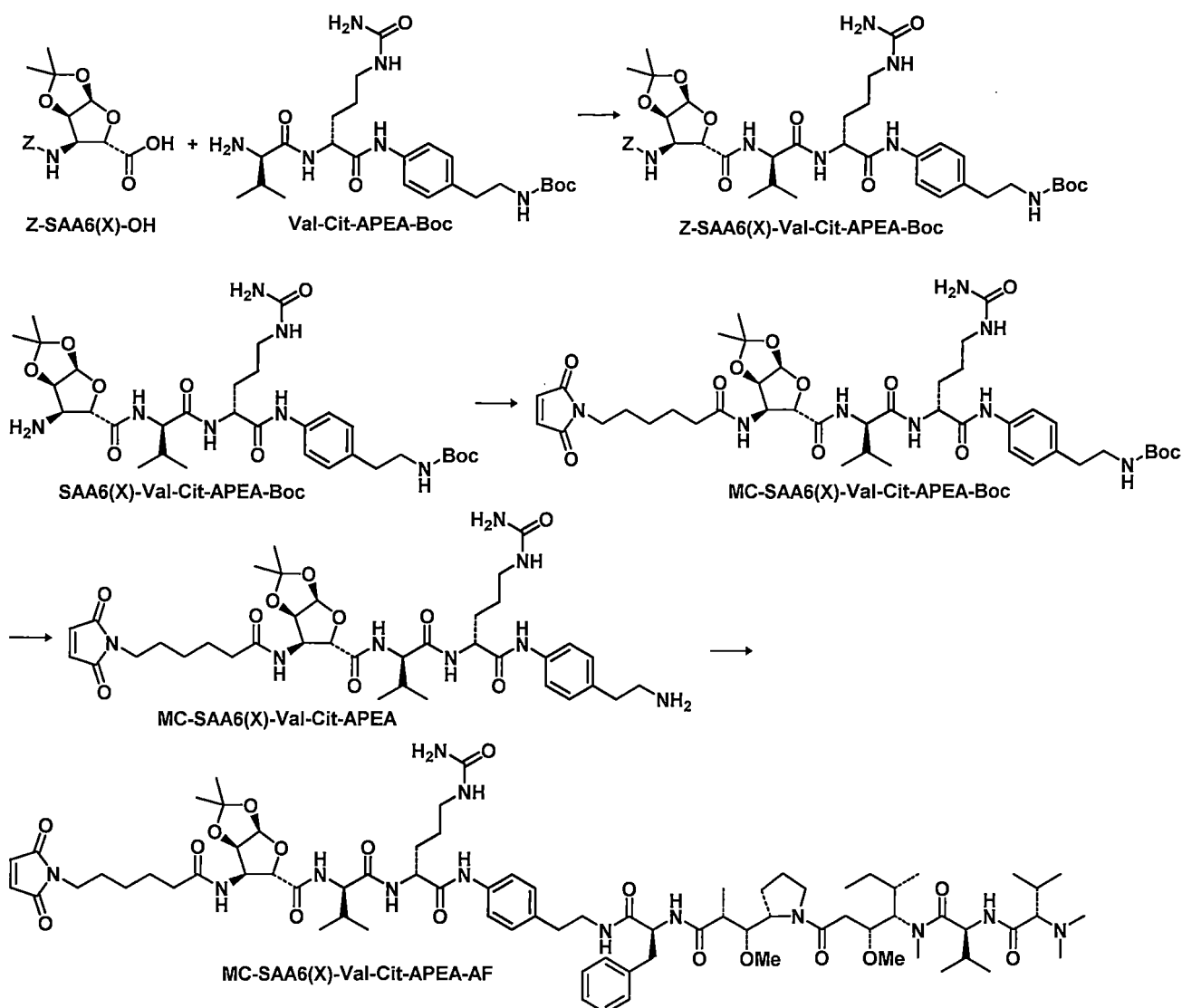
2.6 mg)後，將反應混合物導入氫氣球，並攪拌16小時。以矽藻土墊將催化劑Pd/C濾除，並於減壓環境下，蒸餾濾液。將產物與水(10 mL)混合，並予以冷凍乾燥，以獲得白色固體的 SAA5-Val-Cit-APEA-AF (30.0 mg, 95%)。LC-MS:

SAA5-Val-Cit-APEA-AF (C₆₇H₁₀₉N₁₁O₁₅) required [M+2H]²⁺ = 654.9, found [M+2H]²⁺ = 656.6。

【0233】 將DIPEA (0.0066 mL, 0.0378 mmol)加入 SAA5-Val-Cit-APEA-AF (16.5 mg, 0.0126 mmol)/MC-OPFP (5.7 mg, 0.0151 mmol)/DMF (3 mL)的溶液中。反應於室溫攪拌3小時，並於減壓環境下，進行蒸餾。以製備型HPLC (36%乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3管柱30x250 mm; 流速 24mL/min)對粗產物進行純化，以獲得白色固體的 MC-SAA5-Val-Cit-APEA-AF (12.0 mg, 63%)。LC-MS: MC-SAA5-Val-Cit-APEA-AF (C₇₇H₁₂₀N₁₂O₁₈) required [M+2H]²⁺ = 751.4, found [M+2H]²⁺ = 753.1。

【0234】 實施例 21

【0235】 MC-SAA6-Val-Cit-APEA-AF之合成



【0236】 將質子海綿 (63 mg) 與 HBTU (170 mg) 加入 Z-SAA6(X)-OH (100 mg)/二氯甲烷 (10 mL) 的溶液中。之後，加入 Val-Cit-APEA-Boc (150 mg)/DMF (1 mL) 溶液，並靜置過夜。於移除溶劑後，以製備型 HPLC (50% 乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30*500 mm; 流速 70 mL/min; RT 15 min) 對粗產物進行純化。於移除乙腈後，將水溶液於室溫靜置過夜，直至丙酮基完全移除。將水溶液予以冷凍乾燥，以獲得白色固體的 Z-SAA6(X)-Val-Cit-APEA-Boc (122.1 mg)。LC-MS: Z-SAA6(X)-Val-Cit-APEA-Boc ($C_{40}H_{57}N_7O_{11}$) required $[MH^+] =$

812.42, found $[MH^+] = 813.2$ 。

【0237】 將 Z-SAA6(X)-Val-Cit-APEA-Boc (50 mg) 溶於甲醇 (2 mL)，之後，加入催化劑 Pd/C。將反應混合物導入氫氣球，並靜置 17 小時。以矽藻土墊將催化劑 Pd/C 濾除，並於減壓環境下，蒸餾甲醇，以獲得白色固體的 SAA6(X)-Val-Cit-APEA-Boc (37.4 mg)。

【0238】 將 SAA6(X)-Val-Cit-APEA-Boc (47 mg) 與 MC-OPFP (28 mg) 溶於 DMF (4 mL)。加入 DIPEA (0.0141 mL) 於反應混合物中。於 5 小時後，於減壓環境下，移除 DMF 與 DIPEA。以製備型 HPLC (50% 乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30*500 mm; 流速 45-50 mL/min; RT 10.8 min) 對粗產物進行純化，以獲得白色固體的 MC-SAA6(X)-Val-Cit-APEA-Boc (42.5 mg)。LC-MS: MC-SAA6(X)-Val-Cit-APEA-Boc ($C_{42}H_{62}N_8O_{12}$) required $[MH^+] = 871.46$, found $[MH^+] = 871.5$ 。

【0239】 以 TFA (0.1 mL) 於室溫對 MC-SAA6(X)-Val-Cit-APEA-Boc (42.5 mg)/DCM (10 mL) 進行處理。於 17 小時後，於減壓環境下，移除 DCM 與 TFA，以獲得淡黃色固體的 [00358] MC-SAA6(X)-Val-Cit-APEA (40 mg)。LC-MS: MC-SAA6(X)-Val-Cit-APEA ($C_{37}H_{54}N_8O_{10}$) required $[MH^+] = 771.40$, found $[MH^+] = 771.9$ 。

【0240】 將 MC-SAA6(X)-Val-Cit-APEA (32 mg) 與海兔毒素 F (27 mg) 溶於 DCM 與 DMF (10:1, 12 mL) 的混合液中。之後，分別加入 HBTU (20.5 mg) 與 DIPEA (0.022 mL)。於 17 小時後，

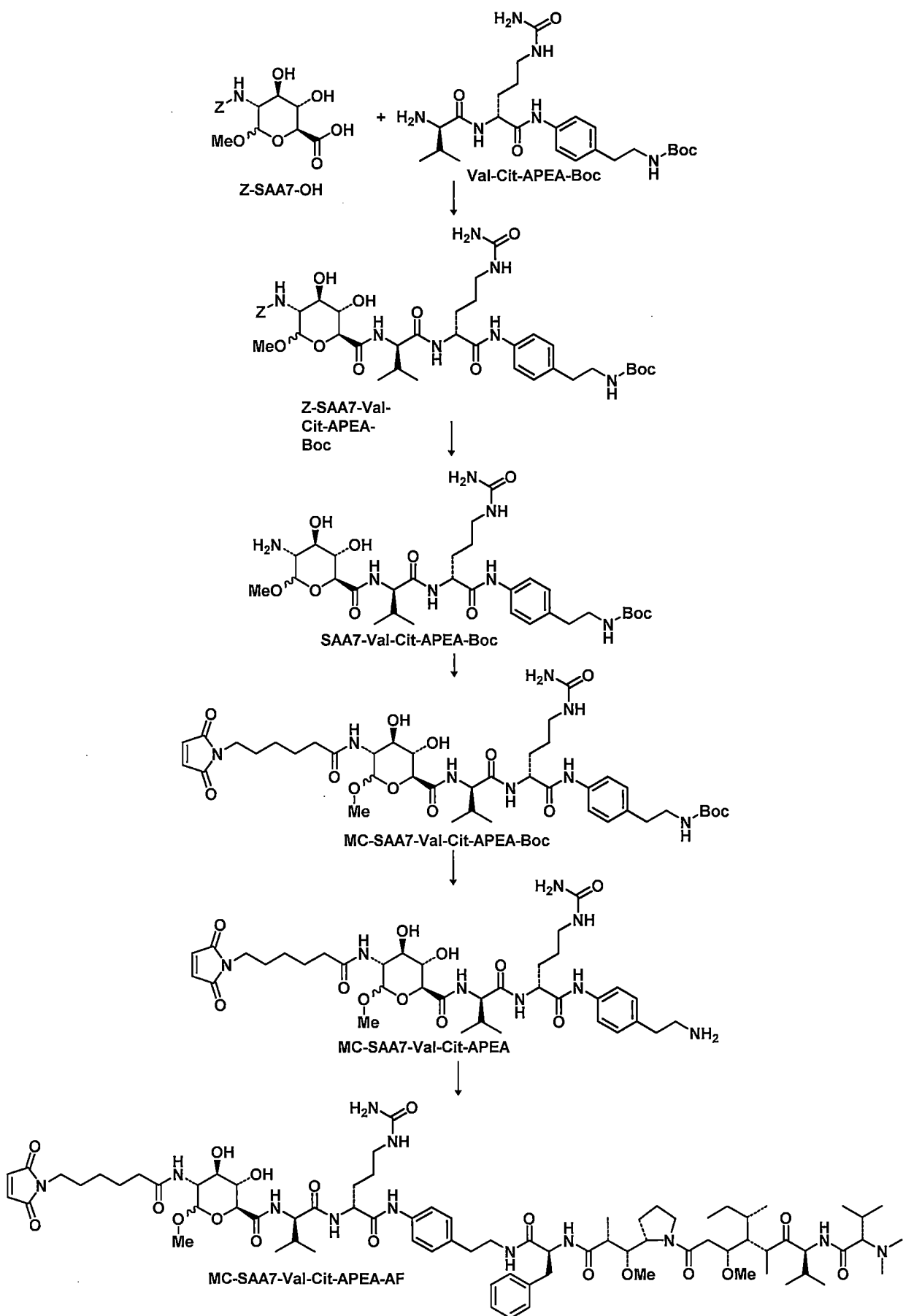
於減壓環境下，移除DCM與DMF。以製備型HPLC (40%乙腈 / 水 / 0.1% TFA; UV 210nm; ODS-3管柱30*500 mm; 流速30 mL/min)對粗產物進行純化，以獲得白色固體的

MC-SAA6(X)-Val-Cit-APEA-AF (15 mg)。LC-MS:

MC-SAA6(X)-Val-Cit-APEA-AF ($C_{77}H_{119}N_{13}O_{17}$) required $[MH^+] = 1498.89$, found $[MH^+] = 1500.7$ 。

【0241】 實施例22

【0242】 **MC-SAA7-Val-Cit-APEA-AF**之合成



【0243】 將 Val-Cit-APEA-Boc (2.46 g, 5 mmol) 與

Z-SAA7-OH (1.71 g, 5 mmol)溶於DMF (100 mL)。之後，將DIPEA (646.2 mg, 5 mmol)與HATU (1.90 g, 5 mmol)加入反應混合物中。於室溫攪拌混合物16小時後，於減壓環境下，蒸餾溶劑。以乙酸乙酯(200 mL)攪拌殘留物數小時，直至細白色粉末形成。濾除固體產物。以水(200 mL)煮沸白色粉末15分鐘，並同時過濾。以熱水(50 mL)清洗產物2次，並於真空下乾燥，以獲得Z-SAA7-Val-Cit-APEA-Boc。

【0244】 將Z-SAA7-Val-Cit-APEA-Boc (200 mg)溶於甲醇(50 mL)，之後，加入催化劑Pd/C。將反應導入氫氣球，並靜置17小時。以矽藻土墊將催化劑濾除，並於減壓環境下，蒸餾甲醇，以獲得白色固體的SAA7-Val-Cit-APEA-Boc (148 mg)。

【0245】 將SAA7-Val-Cit-APEA-Boc (240 mg)、MC-OPFP (144 mg)與DIPEA (0.072 mL)溶於DMF (20 mL)。於5小時後，於減壓環境下，移除DMF與DIPEA。將殘留物與45%乙腈/水(20 mL)混合，並進行離心。於移除液體部分後，獲得白色固體的MC-SAA7-Val-Cit-APEA-Boc (200 mg)。LC-MS:

MC-SAA7-Val-Cit-APEA-Boc ($C_{41}H_{62}N_8O_{13}$) required $[MH^+] = 875.5$, found $[MH^+] = 875.8$ 。

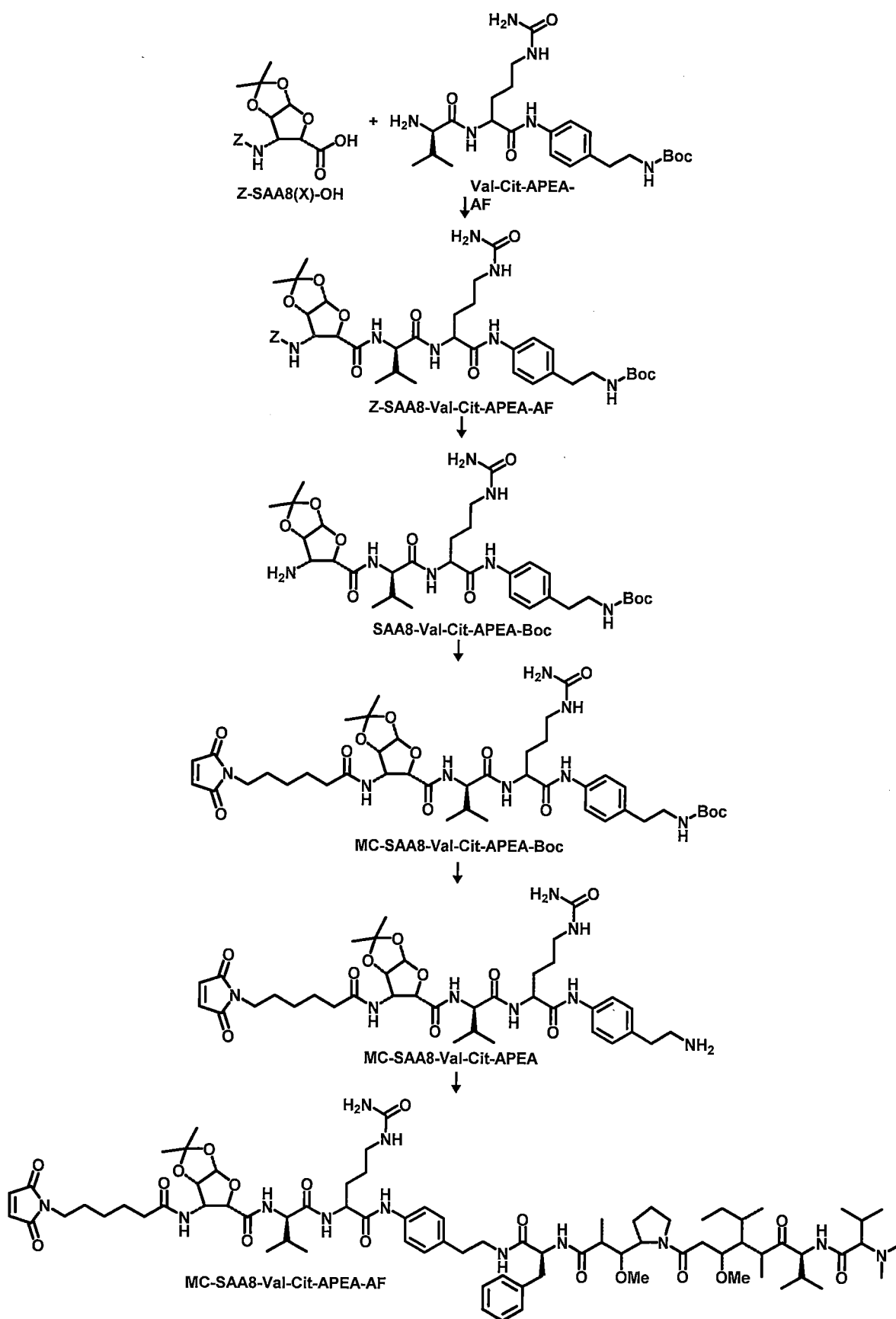
【0246】 以TFA (0.5 mL)於室溫對MC-SAA7-Val-Cit-APEA-Boc (200 mg)/DCM (30 mL)進行處理。於17小時後，於減壓環境下，移除DCM與TFA，以獲得淡黃色固體的MC-SAA7-Val-Cit-APEA (180 mg)。LC-MS:

MC-SAA7-Val-Cit-APEA ($C_{36}H_{54}N_8O_{11}$) required $[MH^+] = 775.4$, found $[MH^+] = 776.0$ 。

【0247】 將 MC-SAA7-Val-Cit-APEA (80 mg) 與海兔毒素 F (77 mg) 溶於 DCM 與 DMF (10:1, 16.6 mL) 的混合液中。之後，分別加入 HBTU (64 mg) 與 DIPEA (0.064 mL)。於 17 小時後，於減壓環境下，移除 DCM 與 DMF。以製備型 HPLC (40% 乙腈 / 水 / 0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30*250 mm; 流速 25 mL/min; RT 10.42 min) 對粗產物進行純化，以獲得白色固體的 **MC-SAA7-Val-Cit-APEA-AF** (50.9 mg)。LC-MS: **MC-SAA7-Val-Cit-APEA-AF** ($C_{77}H_{120}N_{12}O_{18}$) required $[MH^+] = 1503.0$, found $[MH^+] = 1504.1$ 。

【0248】 實施例 23

【0249】 **MC-SAA8-Val-Cit-APEA-AF** 之合成



【0250】 將質子海綿 (63 mg) 與 HBTU (170 mg) 加入 Z-SAA8(X)-OH (100 mg)/DCM (10 mL) 的溶液中。之後，加入

Val-Cit-APEA-Boc (150 mg)/DMF (1 mL)溶液，並將反應混合物靜置過夜。於移除溶劑後，以製備型HPLC (55%乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3管柱30*500 mm; 流速60 mL/min; RT 13 min)對殘留物進行純化，以獲得白色固體的Z-SAA8(X)-Val-Cit-APEA-Boc (144.6 mg)。LC-MS:

Z-SAA8(X)-Val-Cit-APEA-Boc ($C_{40}H_{57}N_7O_{11}$) required $[MH^+] = 812.4$, found $[MH^+] = 813.4$ 。

【0251】 將Z-SAA8(X)-Val-Cit-APEA-Boc (70 mg)溶於甲醇 (10 mL)，之後，加入催化劑Pd/C。將反應導入氫氣球，並靜置17小時。以矽藻土墊將催化劑濾除，並於減壓環境下，蒸餾濾液，以獲得白色固體的SAA8(X)-Val-Cit-APEA-Boc (54mg)。

【0252】 將SAA8(X)-Val-Cit-APEA-Boc (44 mg)與MC-OPFP (24.2 mg)溶於DMF (4 mL)。之後，加入DIPEA (0.0141 mL)。於5小時後，於減壓環境下，移除DMF與DIPEA。以製備型HPLC (45%乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3管柱30*250 mm; 流速35-40 mL/min; RT 13 min)對殘留物進行純化，以獲得白色固體的MC-SAA8(X)-Val-Cit-APEA-Boc (40 mg)。LC-MS: MC-SAA8(X)-Val-Cit-APEA-Boc ($C_{42}H_{62}N_8O_{12}$) required $[MH^+] = 871.5$, found $[MH^+] = 872.0$ 。

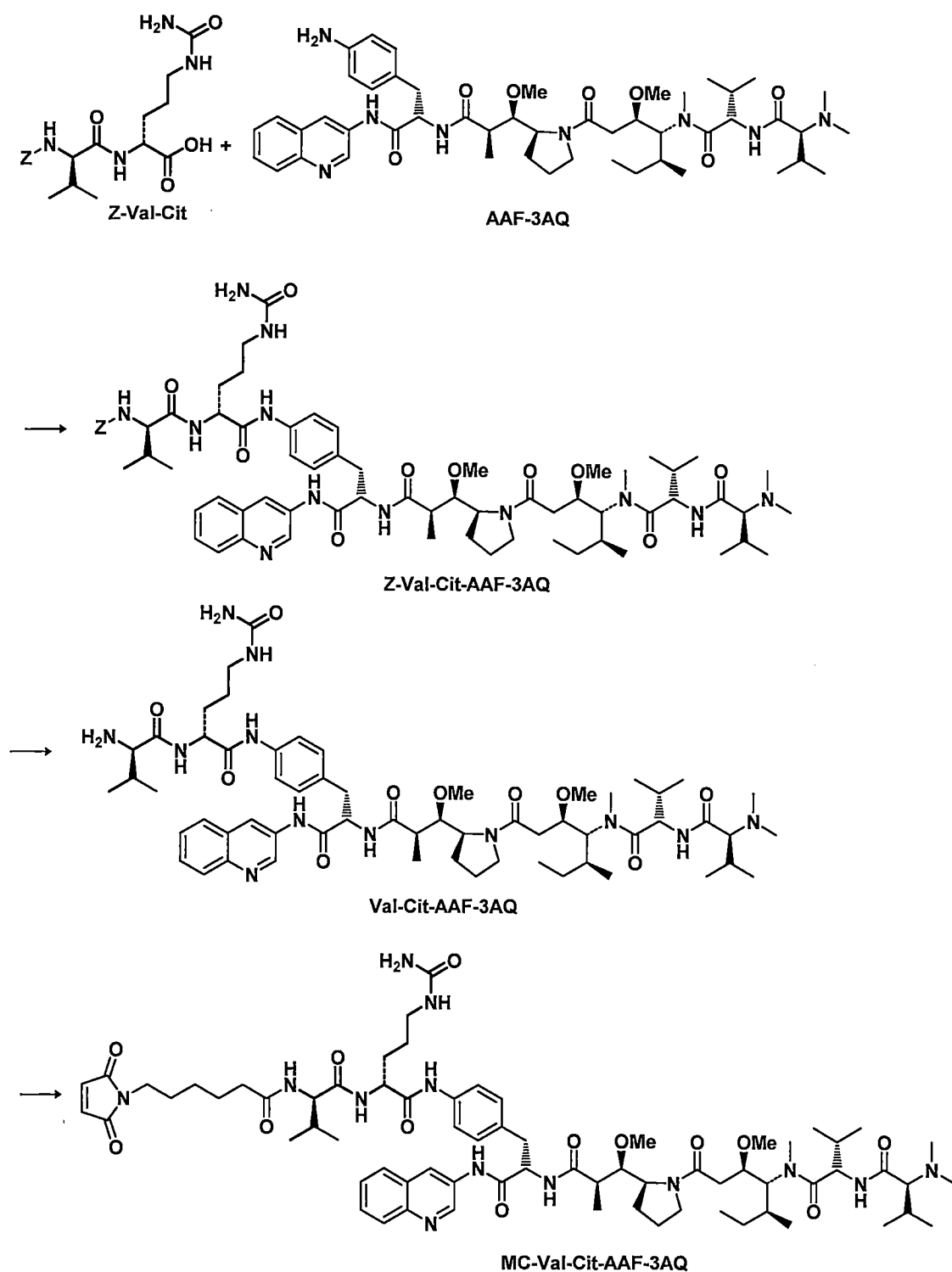
【0253】 以TFA (0.1 mL)於室溫對MC-SAA8(X)-Val-Cit-APEA-Boc (40 mg)/DCM (2 mL)進行處理。於17小時後，於減壓環境下，移除DCM與TFA，以獲得淡黃色固體的MC-SAA8(X)-Val-Cit-APEA (40 mg)。LC-MS: MC-SAA8(X)-Val-Cit-APEA ($C_{37}H_{54}N_8O_{10}$) required $[MH^+] =$

771.4, found $[MH^+] = 771.9$ 。

【0254】 將 MC-SAA8(X)-Val-Cit-APEA (25.6 mg) 與海兔毒素 F (24.5 mg) 溶於 DCM 與 DMF (10:1, 5.5 mL) 的混合液中。之後，分別加入 HBTU (20.5 mg) 與 DIPEA (0.022 mL)。於 17 小時後，於減壓環境下，移除 DCM 與 DMF。以製備型 HPLC (40% 乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30*250 mm; 流速 35-40 mL/min) 對殘留物進行純化，以獲得白色固體的 **MC-SAA8(X)-Val-Cit-APEA-AF** (3.3 mg)。LC-MS: **MC-SAA8(X)-Val-Cit-APEA-AF** ($C_{78}H_{120}N_{12}O_{17}$) required $[MH^+] = 1497.9$, found $[MH^+] = 1500.5$ 。

【0255】 實施例 24

【0256】 MC-Val-Cit-AAF-3AQ 之合成



【0257】 將 AAF-3AQ (30.8 mg, 0.035 mmol) 溶於 EtOH (10 mL) 與 DCM (10 mL) 的混合液中。於加入 Z-Val-Cit (15.7 mg, 0.038 mmol) 與 EEDQ (13 mg, 0.052 mmol) 後，於室溫攪拌混合物 7 天。於減壓環境下，蒸餾反應混合物，並以製備型 HPLC (34% 乙腈 / 水 / 0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30*250 mm;

流速 24 mL/min) 純化之，以獲得白色固體的 Z-Val-Cit-AAF-3AQ (4.83 mg, 10.7%)。LC-MS: Z-Val-Cit-AAF-3AQ ($C_{69}H_{101}N_{11}O_{12}$) required $[MH^+] = 1277.6$, found $[MH^+] = 1278.9$ 。

【0258】 將 Z-Val-Cit-AAF-3AQ (4.8 mg, 0.00376 mmol) 溶於乙醇 (10 mL)。於加入 Pd/C (10%, 16 mg) 後，將反應混合物導入氫氣球，並攪拌 4 小時。以矽藻土墊將催化劑 Pd/C 濾除，並於減壓環境下，蒸餾濾液。將產物與水 (5 mL) 混合，並予以冷凍乾燥，以獲得白色固體的 Val-Cit-AAF-3AQ (4.2 mg, 98%)。LC-MS: Val-Cit-AAF-3AQ ($C_{61}H_{95}N_{11}O_{10}$) required $[MH^+] = 1143.5$, found $[MH^+] = 1144.7$ 。

【0259】 將 Val-Cit-AAF-3AQ (4.8 mg, 0.00367 mmol) 與 MC-OPFP (1.67 mg, 0.0044 mmol) 溶於 DMF (0.5 mL)。加入 DIPEA (1.9 mg, 0.0147 mL) 於反應混合物中。於 3 小時後，於減壓環境下，移除 DMF 與 DIPEA。以製備型 HPLC (32% 乙腈 / 水 / 0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30*250 mm; 流速 24 mL/min) 對粗產物進行純化，以獲得白色固體的 MC-Val-Cit-AAF-3AQ。LC-MS: MC-Val-Cit-AAF-3AQ ($C_{71}H_{106}N_{12}O_{13}$) required $[MH^+] = 1336.7$, found $[MH^+] = 1337.7$ 。

【0260】 <效力試驗>

【0261】 實施例 25

【0262】 海兔毒素衍生物之效力

【0263】 將 FaDu 細胞以 2500 細胞/孔的密度接種於 Corning CellBIND 96-孔盤中。於培養 24 小時後，移除舊的培養基，並

將細胞培養於包含 MMAE、海兔毒素或海兔毒素衍生物，且濃度為 10^{-12} M 至 10^{-6} M (對數連續稀釋) 的培養基中 120 小時。之後，將細胞漂洗一次，並以 MTT 方法測定細胞存活率。將舊的培養基吸出，並於每孔加入包含 100 μ L、0.5 mg/mL MTT 的培養基。於培養 4 小時後，移除 MTT 試劑，並將沈澱物溶於 DMSO。以吸收波長 570 nm 的微量盤式分析儀 (Multiskan Ascent, Thermo Labsystems) 測量細胞的光度強度。以下列方程式計算細胞存活率。

$$\text{【0264】 細胞存活率 (\%)} = (\text{Ins} - \text{Inb}) / (\text{Inc} - \text{Inb}) \times 100\%$$

【0265】 方程式中，“Ins”為以既定毒素培養的細胞的光度強度，“Inb”為未接種細胞的空白井的強度，以及“Inc”為僅以培養基培養的細胞的強度(正控制)。

【0266】 於不同藥物濃度 ($n=6$) 下，曝露於毒素達 120 小時後，紀錄 FaDu 細胞的體外存活率，並利用 Origin 軟體的 Sigmoidal 模型進行數據擬合，以獲得 IC_{50} 值。

【0267】 表 2 顯示 FaDu 細胞中 APEA-AF、PEA-AF、PEA-ANF、PEA-AAF、3AQ-ANF、3AQ-AAF、NPEA(COOMe)-AF 及 APEA(COOMe)-AF 的效力與已知毒素 MMAE 相當，明顯優於另一已知毒素-海兔毒素 F (AF)。結果指出本揭露新穎的海兔毒素衍生物不但提升對細胞膜的通透性，亦維持對微管蛋白聚合的抑制效果。再者，NPEA(COOH)-AF 具有與海兔毒素相近的效力，且 APEA(COOH)-AF 顯示為最低效力，此結果顯示羧基可能會干擾毒素穿過細胞膜的通透性。本揭露新穎毒素的此種行為進一步用於構建無旁觀者效應的新穎藥物。

表 2

Toxin	IC ₅₀ (nM)
MMAE	0.38
AF	15.2
APEA-AF	0.70
PEA-AF	0.43
PEA-ANF	1.26
PEA-AAF	0.39
3AQ-ANF	0.35
3AQ-AAF	0.49
NPEA(COOMe)-AF	0.44
NPEA(COOH)-AF	23.2
APEA(COOMe)-AF	0.93
APEA(COOH)-AF	>>100

【0268】 <抗體-藥物耦合體 (ADCs)>

【0269】 實施例 26

【0270】 Erbitux 衍生之 ADCs 之製備

【0271】 以 2.4 莫耳當量 TCEP/0.025 M 硼酸鈉/0.025 M 氯化鈉/1mM DTPA (pH=8) 於 37°C 對 Erbitux 進行處理 2 小時。未進一步純化，將反應混合物冷卻至 0°C。之後，以 5.5 莫耳當量連接子-毒素於 0°C 對部分還原的 Erbitux 進行烷基化反應 30 分鐘。以半胱氨酸 (終濃度 1 mM) 淬滅任何未反應、過量的連接子-毒素。以脫鹽管柱 (ThermoFisher Scientific, MWCO: 40K) 對 ADCs 進行純化。於沖提過程中，將緩衝液更換為 Dulbecco's 磷酸鹽緩

衝鹽水 (ThermoFisher Scientific, PBS)。以 HIC 分析 ADCs 的耦合體分布，並計算平均藥物-抗體比 (DAR)。

【0272】 第 1 圖顯示本揭露新穎的连接子-毒素 MC-SAA1-Val-Cit-APEA-AF 成功地與 Erbitux 形成耦合體，且以 HIC 所測定的平均藥物-抗體比為 3.8。

【0273】 <熱應力試驗>

【0274】 實施例 27

【0275】 ADCs 之熱應力試驗

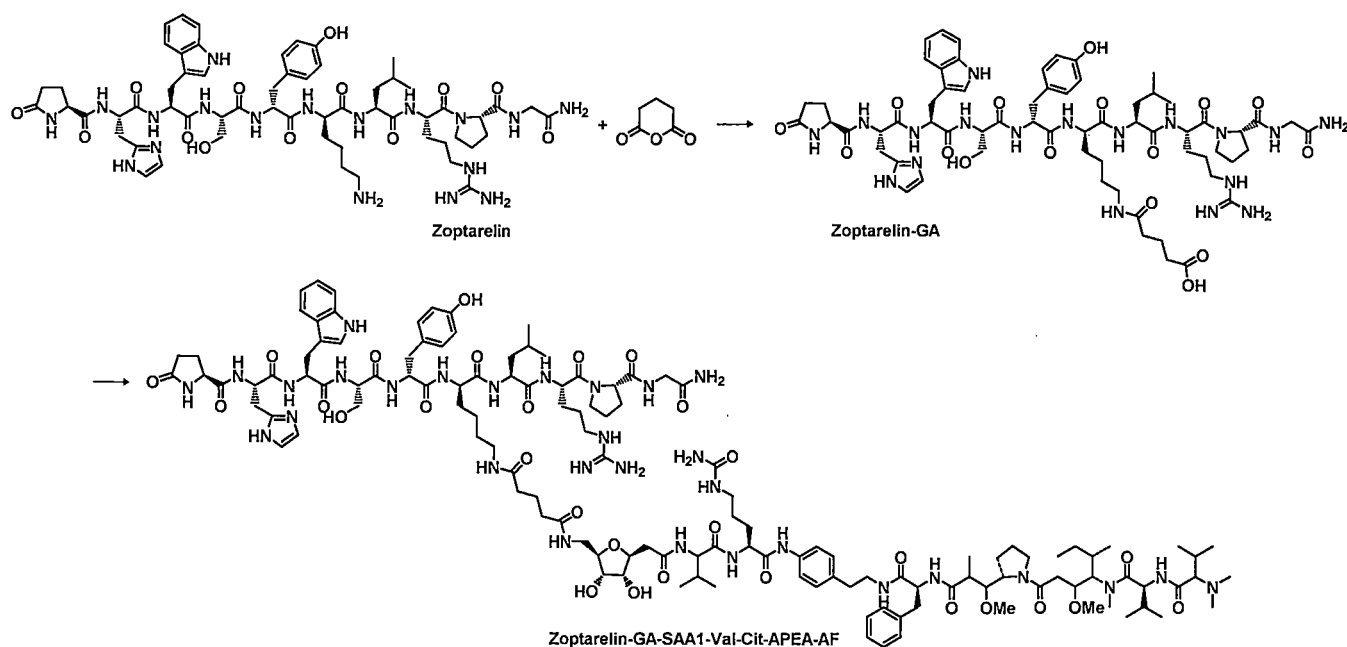
【0276】 將 500 μ L、3 mg/mL 的 Erbitux 與 ADCs/PBS 培養於 50°C 的水浴中。之後，於 0、4、7 及 24 小時對抗體與 ADCs 採樣，進行 SEC 分析。利用 Waters PDA 996 HPLC 的 Yarra 3 μ m SEC-3000 (300x7.8 mm) 管柱依大小分離抗體單體與集合產物。流動相由 0.020 M 磷酸鉀、0.025 M 氯化鉀與 5% (v/v) 異丙醇組成，pH 6.95。將 30 μ L 樣品以 0.5 mL/min 的流速注入管柱中，並於等位條件下分離。於 280 nm 檢測吸光度。一併整合於主峰前沖提出的所有物種，並稱為高分子量物種 (HMWS)。

【0277】 第 2 圖顯示其连接子包含糖胺基酸單元的 Erbitux-MC-SAA1-Val-Cit-APEA-AF 及 Erbitux-MC-SAA1-SAA1-Val-Cit-APEA-AF 較其连接子不包含任何糖胺基酸單元的 Erbitux-Vedotin 及 Erbitux-Val-Cit-APEA-AF 具有較低的 HMWS 百分比。因此，此試驗顯示具有糖胺基酸單元的连接子不但增加親水性，亦大幅提升 ADCs 的熱穩定性。

【0278】 <胜肽-藥物耦合體 (PDCs)>

【0279】 實施例 28

【0280】 Zoptarelin-GA-SAA1-Val-Cit-APEA-AF之合成



【0281】 將DIPEA (0.071 mL, 0.4070 mmol)加入 zoptarelin (170 mg, 0.1356 mmol)/戊二酸酐 (17 mg, 0.1492 mmol)/DMF (4 mL)的攪拌溶液中。於室溫攪拌12小時後，移除溶劑，並以製備型HPLC對殘留物進行純化，以獲得白色粉末的 Zoptarelin-GA (100 mg, 54%)。LC-MS: Zoptarelin-GA (C₆₄H₉₀N₁₈O₁₆), required [MH⁺] = 1367.7, [M+2H⁺] = 684.4; found [MH⁺] = 1368.7, [M+2H⁺] = 685.5。

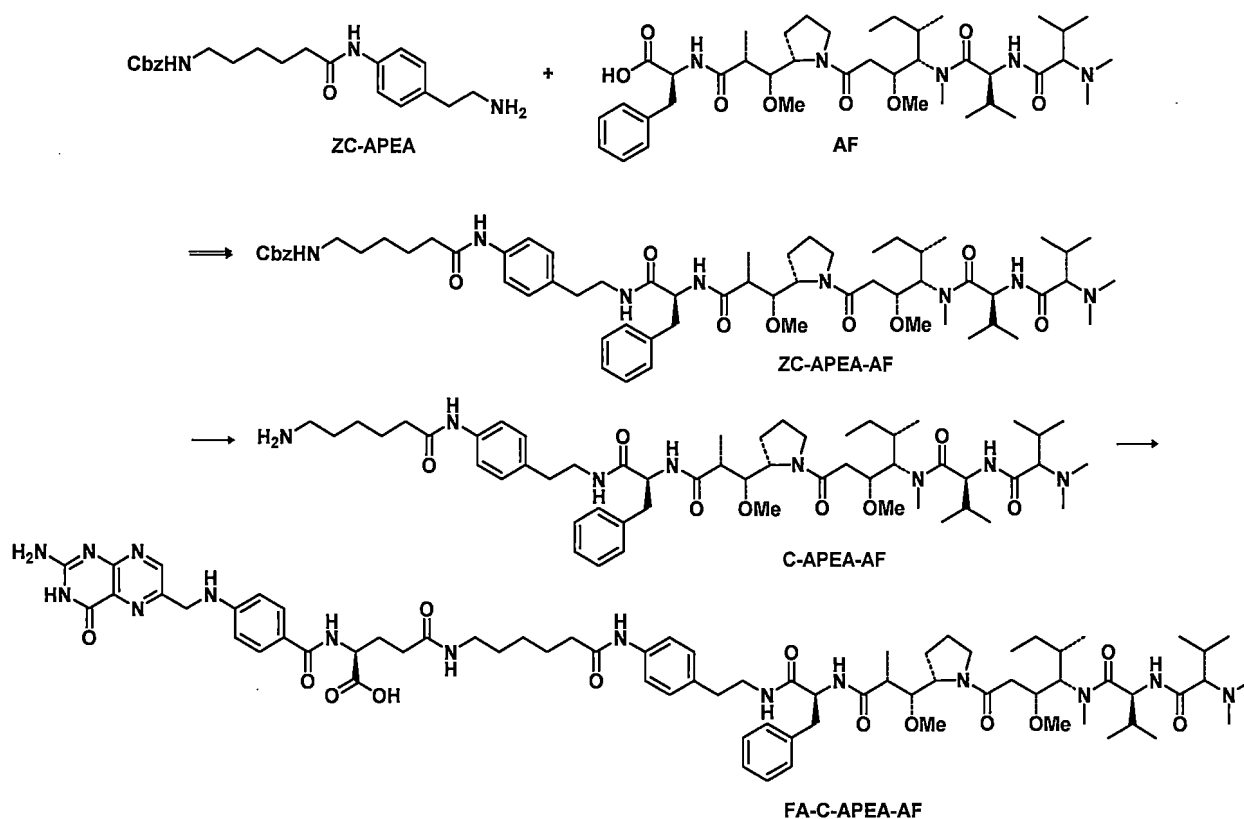
【0282】 將DCC (1.8 mg, 0.0088 mmol)加入 Zoptarelin-GA (10 mg, 0.0073 mmol)/五氟苯酚 (1.6 mg, 0.0088 mmol)/DMF (1 mL)的溶液中。於室溫攪拌反應混合物12小時，之後，加入 SAA1-Val-Cit-APEA-AF (9 mg, 0.0072 mmol)/DIPEA (0.0038 mL, 0.0216 mmol)/DMF (1 mL)。再經12小時後，移除溶劑，

並以製備型HPLC對殘留物進行純化，以獲得白色粉末的 **Zoptarelin-GA-SAA1-Val-Cit-APEA-AF** (8 mg, 43%)。LC-MS: **Zoptarelin-GA-SAA1-Val-Cit-APEA-AF** ($C_{130}H_{196}N_{30}O_{29}$), required $[M+2H^+] = 1322.6$, $[M+3H^+] = 882.1$, $[M+4H^+] = 661.8$; found $[M+2H^+] = 1323.7$, $[M+3H^+] = 882.7$, $[M+4H^+] = 662.6$ 。

【0283】 <小分子-藥物耦合體 (SMDCs)>

【0284】 實施例 29

【0285】 **FA-C-APEA-AF**之合成



【0286】 將 ZC-APEA (10.2 mg, 0.027 mmol) 加入海兔毒素 (20.8 mg, 0.027 mmol)/DMF (0.5 mL)/DCM (1 mL) 的溶液中。加入額外的 DMF (1 mL) 與 HATU (10.7 mg, 0.028 mmol) 於反應混合物中。混合物於冰浴中冷卻，並加入 DIPEA (8.03 mg, 0.062 mmol)。於室溫反應 2 小時後，於減壓環境下，蒸餾混合物。以

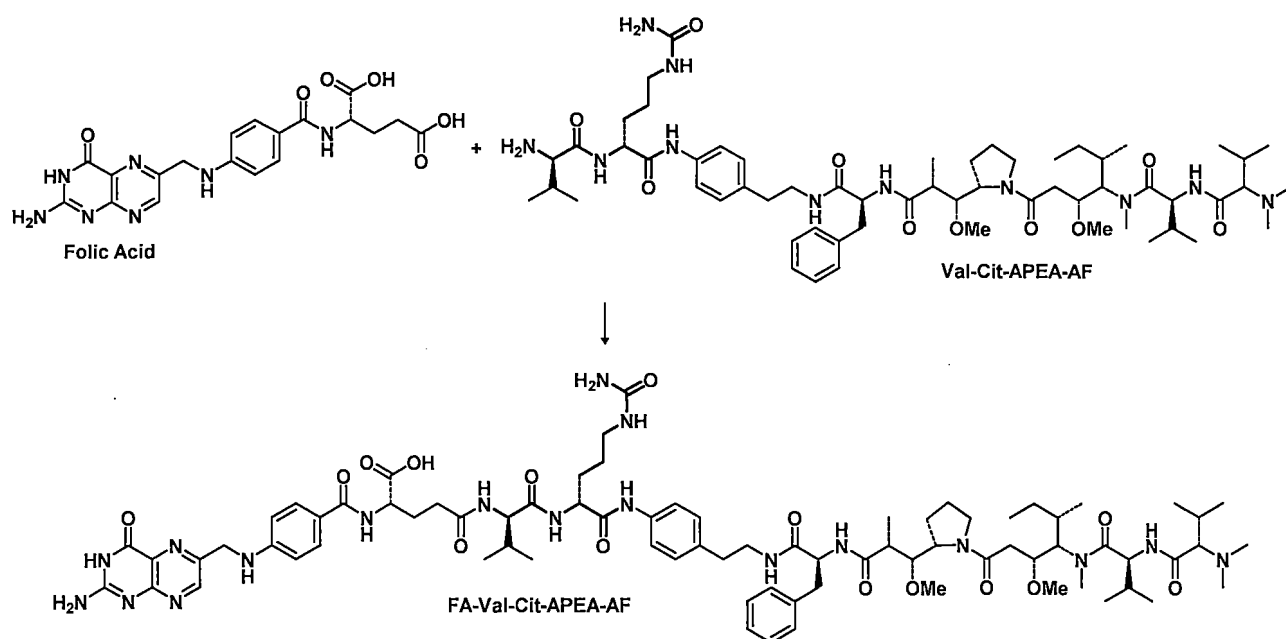
製備型 HPLC (45% 乙腈 / 水 / 0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30*250 mm; 流速 24 mL/min) 對殘留物進行純化，以獲得白色固體的 ZC-APEA-AF (18.2 mg, 51.1%)。LC-MS: ZC-APEA-AF ($C_{62}H_{94}N_8O_{10}$) required $[MH^+] = 1111.7$, found $[MH^+] = 1112.5$ 。

【0287】 將 10% Pd/C (3 mg) 與 2M 鹽酸 (0.016 mL, 0.032 mmol) 加入 ZC-APEA-AF (18.2 mg, 0.014 mmol) / EtOH (5 mL) 的溶液中。系統中的空氣以氫氣替代。反應於環境大氣下進行。當 ZC-APEA-AF 完全消耗時，以濾紙自反應混合物中移除催化劑，並濃縮濾液，之後，與水 (5 mL) 混合，並進行凍乾，以獲得 C-APEA-AF (14.5 mg, 99%)。

【0288】 於冰浴中，使葉酸 (8.0 mg, 0.018 mmol) 與 EDCI (6.2 mg, 0.040 mmol) / NHS (2.6 mg, 0.026 mmol) / DMF (2 mL) 進行反應。於 30 分鐘後，加入 C-APEA-AF (17.4 mg, 0.017 mmol) 與 DIPEA (8.8 mg, 0.068 mmol)。於 HPLC 指示 C-APEA-AF 幾乎消耗後，自混合物中移除 DMF，並以製備型 HPLC (36% 乙腈 / 水 / 0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30*250 mm; 流速 24 mL/min) 對殘留物進行純化。將特定分餾物進行濃縮並凍乾，以獲得黃色固體的 FA-C-APEA-AF (5.4 mg, 23.3%)。LC-MS: FA-C-APEA-AF ($C_{73}H_{105}N_{15}O_{13}$) required $[MH^+] = 1400.8$, found $[MH^+] = 1401.8$ 。

【0289】 實施例 30

【0290】 FA-Val-Cit-APEA-AF 之合成



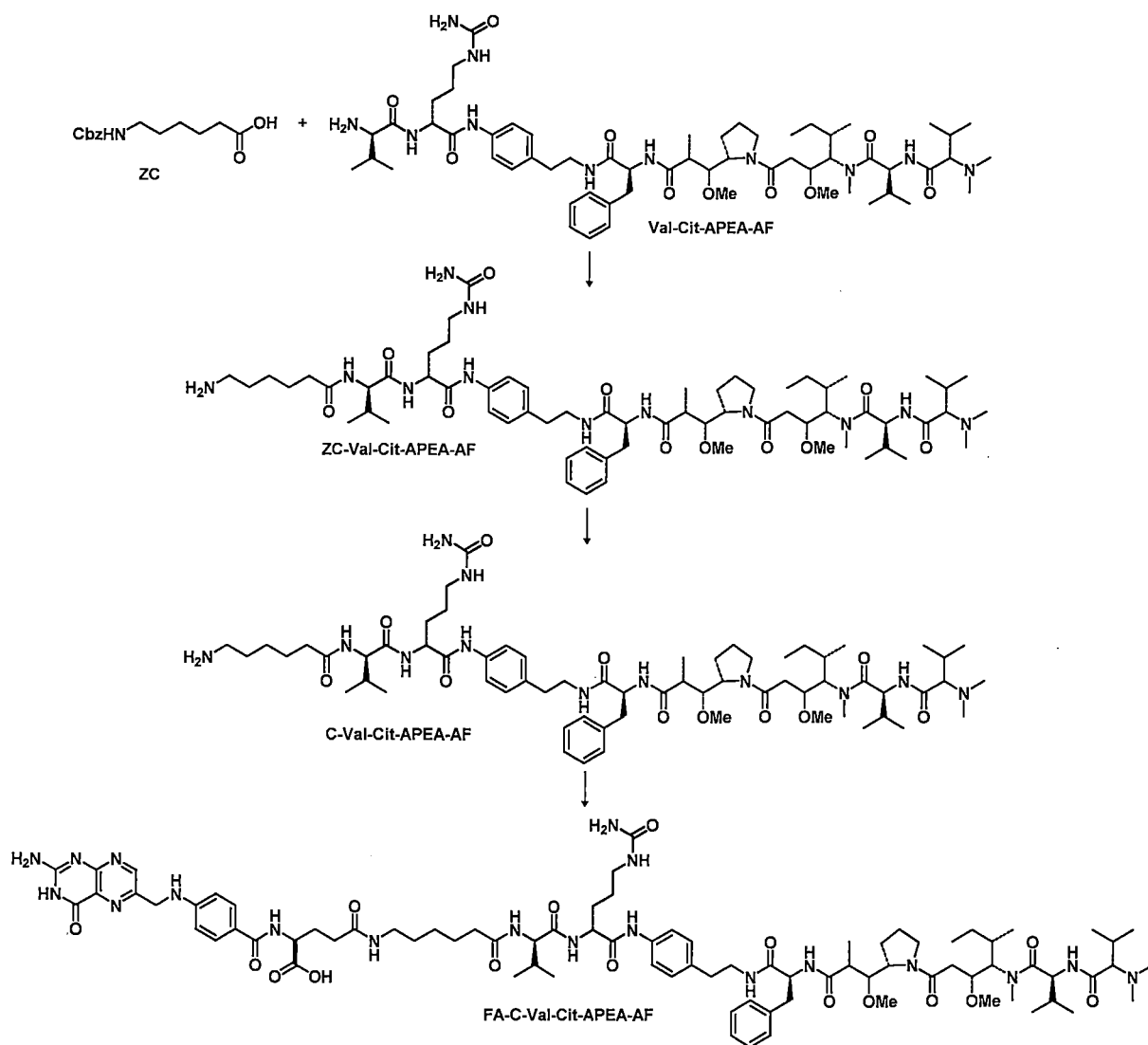
【0291】 將 DIPEA (6.5 mg, 0.050 mmol)、Val-Cit-APEA-AF (20.9 mg, 0.018 mmol)、NHS (3.0 mg, 0.026 mmol) 與 EDCI (4.0 mg, 0.026 mmol) 加入葉酸 (11.5 mg, 0.026 mmol)/DMF (1.5 mL) 的溶液中。反應混合物攪拌過夜。自反應混合物中移除 DMF 後，以製備型 HPLC (33% 乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30*250 mm; 流速 24 mL/min) 對殘留物進行純化。將特定分餾物進行濃縮並凍乾，以獲得黃色固體的

FA-Val-Cit-APEA-AF (11.6 mg, 37.4%)。LC-MS:

FA-Val-Cit-APEA-AF ($C_{78}H_{114}N_{18}O_{14}$) required $[MH^+] = 1543.9$, found $[MH^+] = 1544.8$ 。

【0292】 實施例 31

【0293】 **FA-C-Val-Cit-APEA-AF** 之合成



【0294】 將 ZC (9.2 mg, 0.037 mmol)、HATU (16.0 mg, 0.042 mmol) 與 DIPEA (9.0 mg, 0.069 mmol) 加入 Val-Cit-APEA-AF (35.6 mg, 0.029 mmol)/DMF (1 mL)/DCM (3 mL) 的溶液中。於室溫攪拌混合物過夜。移除溶劑，以製備型 HPLC (43% 乙腈 / 水 / 0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30*250 mm; 流速 24 mL/min) 對殘留物進行純化。將特定分餾物進行濃縮並凍乾，以獲得黃色固體的 ZC-Val-Cit-APEA-AF (19.0mg, 42.9%)。LC-MS: ZC-Val-Cit-APEA-AF (C₇₃H₁₁₄N₁₂O₁₃) required [MH⁺] = 1367.9, found [MH⁺] = 1368.9。

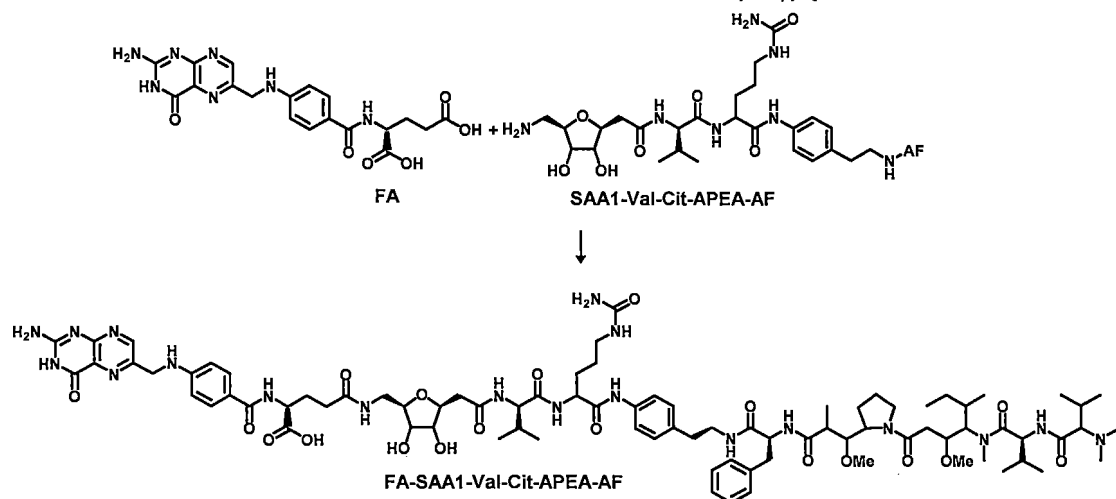
【0295】 將 5% Pd/C (4.4 mg) 與 2M 鹽酸 (0.015 mL, 0.030

mmol)加入 ZC-Val-Cit-APEA-AF (19.0 mg, 0.014 mmol)/EtOH (5 mL)的溶液中。系統中的空氣以氫氣替代。反應於環境大氣下進行過夜。當 ZC-Val-Cit-APEA-AF 完全消耗時，以濾紙自反應混合物中移除催化劑，並於旋轉蒸發器上進行濾液濃縮，之後，進行凍乾，以獲得 C-Val-Cit-APEA-AF (17.7mg, 99%)。

【0296】 將 DIPEA (2.7 mg, 0.021 mmol)、C-Val-Cit-APEA-AF (9.0 mg, 0.069 mmol)、NHS (1.2 mg, 0.010 mmol)與 EDCI (1.6 mg, 0.010 mmol)加入葉酸 (5.0 mg, 0.011 mmol)/DMF (0.75 mL)的溶液中。反應混合物攪拌過夜。以 HPLC 監測反應進程。自反應混合物中移除 DMF 後，以製備型 HPLC (33%乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3管柱 30*250 mm; 流速 24 mL/min)對殘留物進行純化。將特定分餾物進行濃縮並凍乾，以獲得黃色固體的 FA-C-Val-Cit-APEA-AF (4.5 mg, 34.7%)。LC-MS: FA-C-Val-Cit-APEA-AF ($C_{84}H_{125}N_{19}O_{16}$) required $[MH^+] = 1657.0$, found $[MH^+] = 1657.9$ 。

【0297】 實施例 32

【0298】 FA-SAA1-Val-Cit-APEA-AF之合成

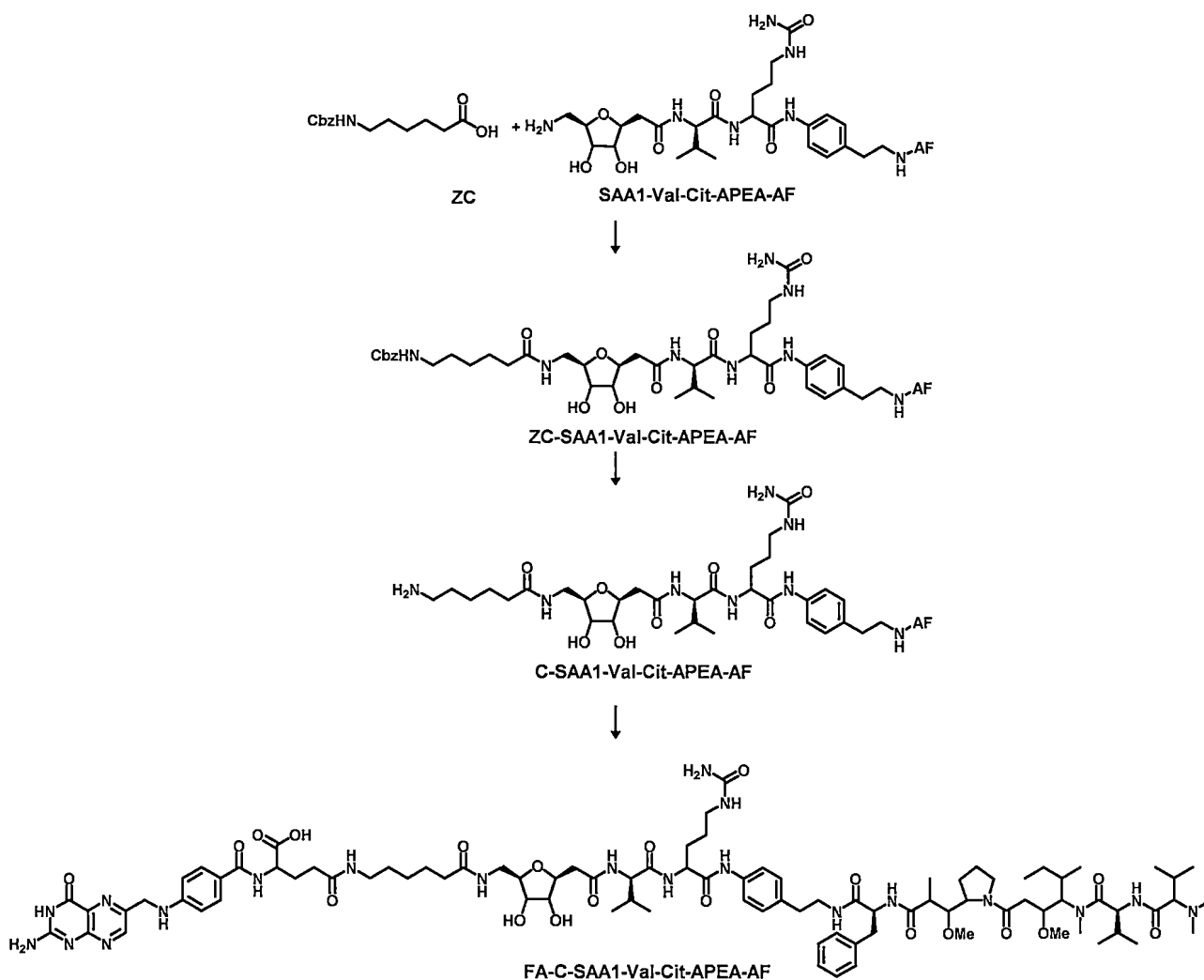


【0299】 將 DIPEA (5.8 mg, 0.045 mmol)、

SAA1-Val-Cit-APEA-AF (22.3 mg, 0.018 mmol)、NHS (3.0 mg, 0.026 mmol)與EDCI (4.0 mg, 0.026 mmol)加入葉酸(11.2 mg, 0.025 mmol)/DMF (1.5 mL)的溶液中。反應混合物攪拌過夜。以HPLC監測反應進程。自反應混合物中移除DMF後，以製備型HPLC (33%乙腈/水/0.1% TFA; UV 210nm; ODS-3管柱 30*250 mm; 流速 24 mL/min)對殘留物進行純化。將特定分餾物進行濃縮並凍乾，以獲得黃色固體的**FA-SAA1-Val-Cit-APEA-AF** (11.8 mg, 37.4%)。LC-MS: **FA-SAA1-Val-Cit-APEA-AF** ($C_{85}H_{125}N_{19}O_{19}$) required $[MH^+] = 1716.9$, found $[MH^+] = 1717.9$ (M+H)。

【0300】 實施例 33

【0301】 **FA-C-SAA1-Val-Cit-APEA-AF**之合成



【0302】 將 ZC (15.0 mg, 0.057 mmol)、HATU (16.8mg, 0.044 mmol)與 DIPEA (11.5 mg, 0.089 mmol)加入 SAA1-Val-Cit-APEA-AF (44.0 mg, 0.029 mmol)/DMF (1 mL)/DCM (3 mL)的溶液中。攪拌混合物過夜。於旋轉蒸發器上進行溶劑移除，並以製備型 HPLC (43%乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3管柱 30*250 mm; 流速 24 mL/min)對殘留物進行純化。收集分餾物，並進行濃縮及凍乾，以獲得白色固體的 ZC-SAA1-Val-Cit-APEA-AF (30.0 mg, 62.5%)。LC-MS: ZC-SAA1-Val-Cit-APEA-AF ($C_{80}H_{125}N_{13}O_{17}$) required $[MH^+] = 1540.9$, found $[MH^+] = 1541.8$ 。

【0303】 將 5% Pd/C (5.2 mg) 與 2M 鹽酸 (0.019 mL, 0.038 mmol) 加入 ZC-SAA1-Val-Cit-APEA-AF (30.0 mg, 0.018 mmol)/EtOH 的溶液中。系統中的空氣以氫氣替代。反應於環境大氣下進行過夜。當 ZC-SAA1-Val-Cit-APEA-AF 完全消耗時，以濾紙自反應混合物中移除催化劑，並於旋轉蒸發器上進行濾液濃縮，之後，進行凍乾，以獲得 C-SAA1-Val-Cit-APEA-AF (24.9 mg, 92.8%)。LC-MS: C-SAA1-Val-Cit-APEA-AF ($C_{72}H_{119}N_{13}O_{15}$) required $[M+2H]^{2+} = 704.0$, found $[M+2H]^{2+} = 705.1$ 。

【0304】 將 DIPEA (2.70 mg, 0.021 mmol)、C-SAA1-Val-Cit-APEA-AF (11.0 mg, 0.007 mmol)、NHS (1.2 mg, 0.010 mmol) 與 EDCI (1.6 mg, 0.010 mmol) 加入葉酸 (4.5 mg, 0.013 mmol)/DMF (0.7 mL) 的溶液中。反應混合物攪拌過夜。以 HPLC 監測反應進程。自反應混合物中移除 DMF 後，以製備型 HPLC (31% 乙腈/水/0.1% TFA; UV 210 nm; ODS-3 管柱 30*250 mm; 流速 24 mL/min) 對殘留物進行純化。將特定分餾物進行濃縮並凍乾，以獲得黃色固體的 FA-C-SAA1-Val-Cit-APEA-AF (3.9 mg, 25.5%)。LC-MS: FA-C-SAA1-Val-Cit-APEA-AF ($C_{91}H_{136}N_{20}O_{20}$) required $[MH^+] = 1830.1$, found $[MH^+] = 1831.0$ 。

【0305】 雖然本發明已以數個較佳實施例揭露如上，然其並非用以限定本發明，任何所屬技術領域中具有通常知識者，在不脫離本發明之精神和範圍內，當可作任意之更動與潤飾，因此本發明之保護範圍當視後附之申請專利範圍所界定者為

準。

【符號說明】

【0306】

無

發明摘要

※ 申請案號：105135454

※ 申請日：105/11/02

※ IPC分類：

C07D 207/08 (2006.01)

C07D 401/12 (2006.01)

A61K 31/40 (2006.01)

A61K 31/4709 (2006.01)

A61K 38/00 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

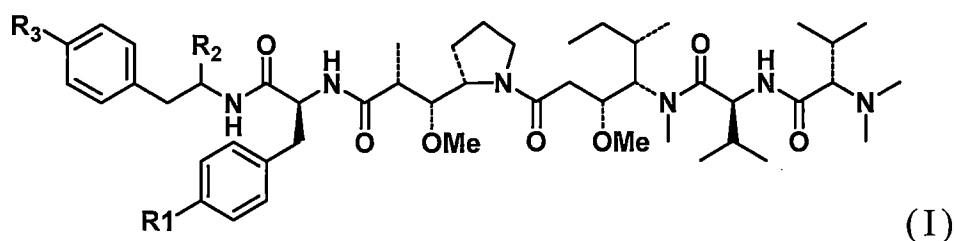
A61K 47/48 (2006.01)

【發明名稱】 化合物、連接子-藥物、及配體-藥物耦合體

Compounds, linker-drugs and ligand-drug conjugates

【中文】

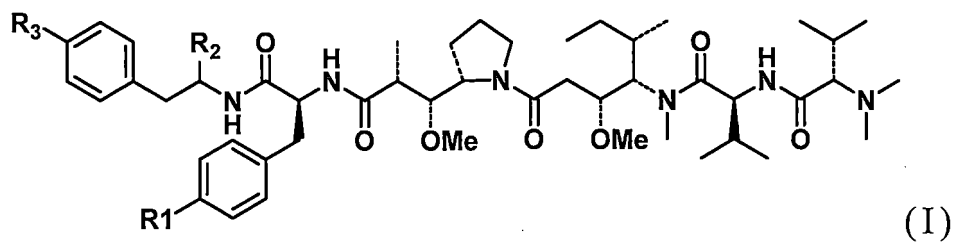
本揭露提供一種具有式(I)的化合物或其藥學上可接受的鹽類或溶劑化物。式(I)中，每一R1、R2與R3獨立地為氫、胺基、硝基、鹵素、羥基、C1-C6烷氧基、羧基、C1-C6烷氧基羰基、C1-C6胺基、C1-C6胺基羰基、C1-C6烷基、C1-C6分支型烷基、C1-C6環烷基、C1-C6雜環基、芳基或雜芳基，R1與R3至少其中之一為胺基。本揭露亦提供一種包含該化合物的連接子-藥物及配體-藥物耦合體。



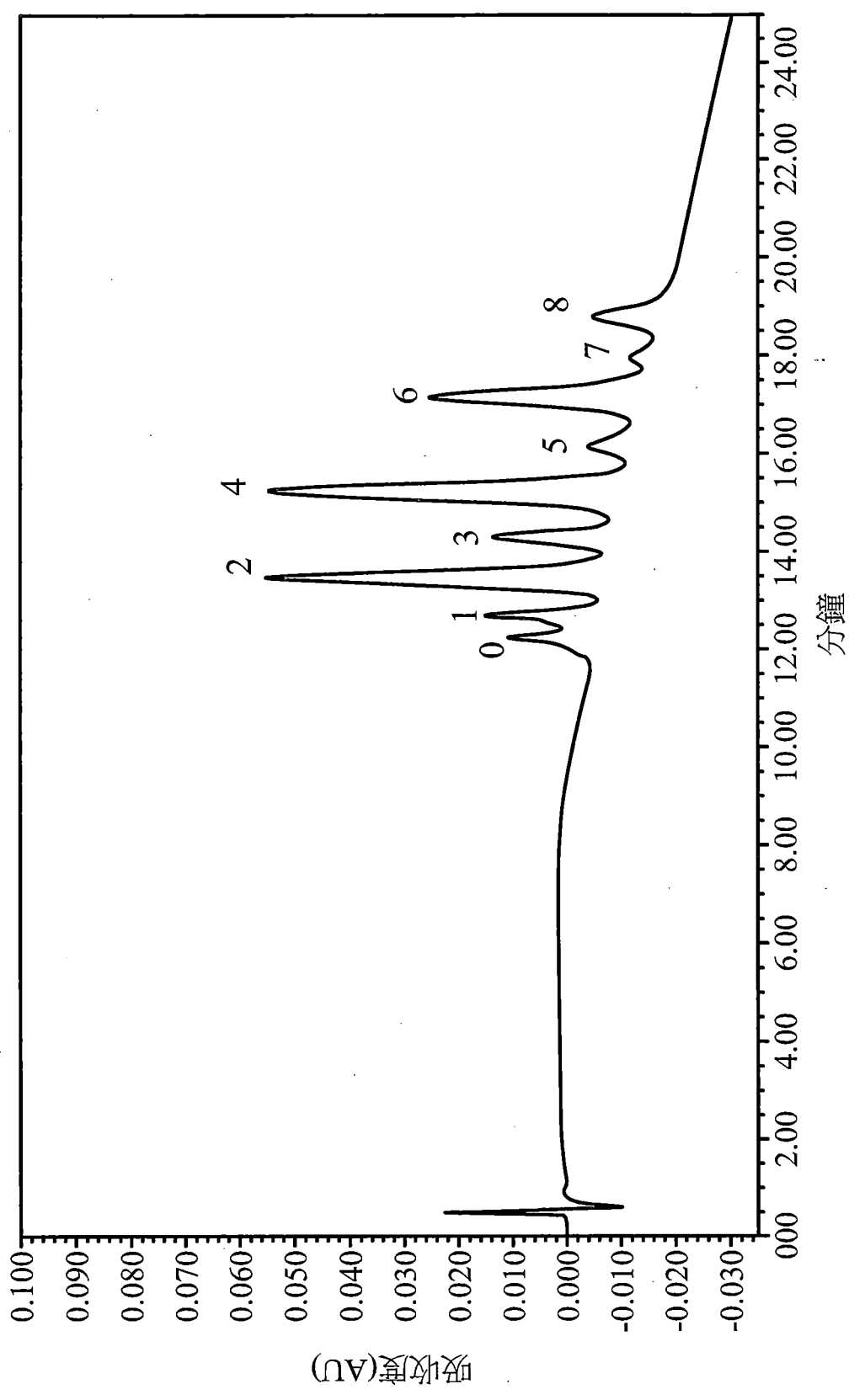
【英文】

A compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof is provided. In formula (I), R1, R2 and R3 are each, independently, hydrogen, amino, nitro, halogen, hydroxyl, C1-C6 alkoxy, carboxylic acid, C1-C6

alkoxycarbonyl, C1-C6 amino, C1-C6 aminocarbonyl, C1-C6 alkyl, branched C1-C6 alkyl, C1-C6 cycloalkyl, C1-C6 heterocyclic, aryl or heteroaryl, provided at least one of R1 and R3 is an amino group. A linker-drug and a ligand-drug conjugate including the compound are also provided.

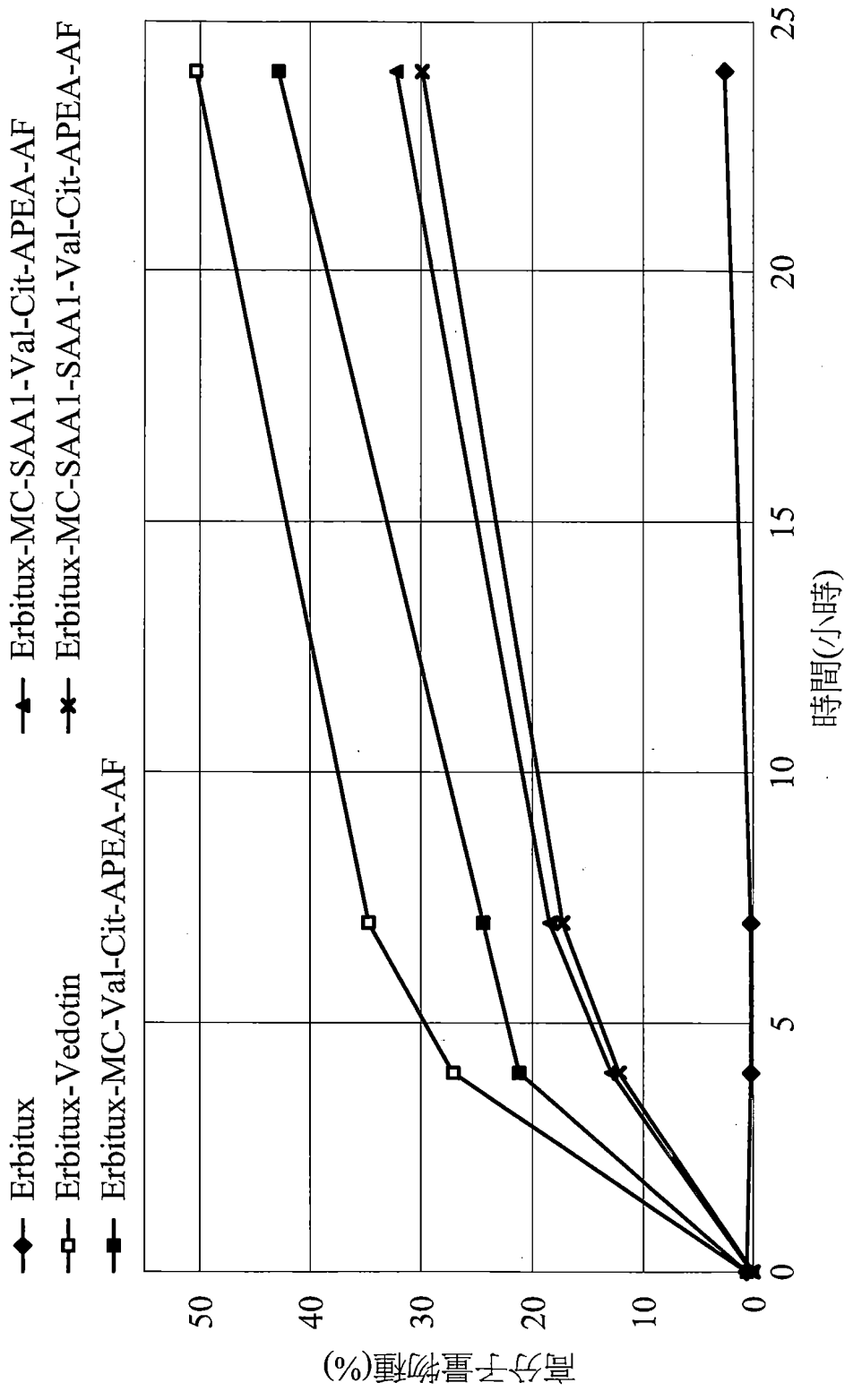


圖式



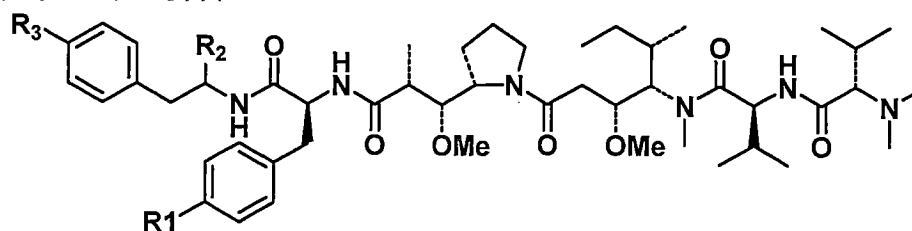
第1圖

應力溫度 @ 50°C



第 2 圖

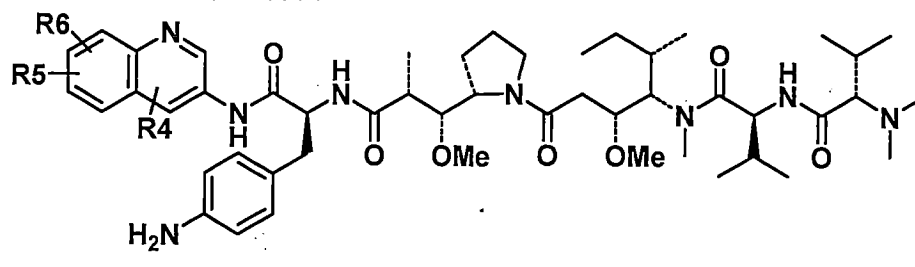
【0004】 本揭露的一實施例提供一種具有式(I)的化合物或其藥學上可接受的鹽類：



【0005】 (I)

【0006】 式(I)中，每一R1、R2與R3獨立地為氫、胺基、硝基、鹵素、羥基、C1-C6烷氧基、羧基、C1-C6烷氧基羰基、C1-C6胺基、C1-C6胺基羰基、C1-C6烷基、C1-C6分支型烷基、C1-C6環烷基、C1-C6雜環基、芳基或雜芳基，R1與R3至少其中之一為胺基。

【0007】 本揭露的另一實施例提供一種具有式(II)的化合物或其藥學上可接受的鹽類：

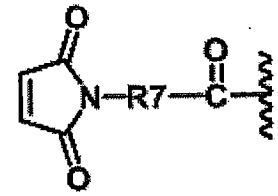


【0008】 (II)

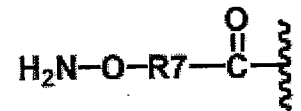
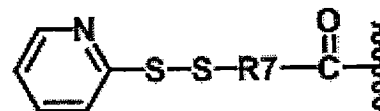
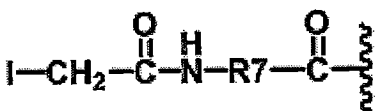
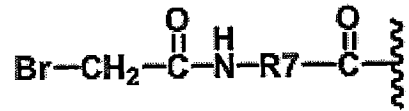
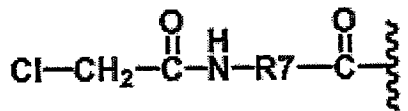
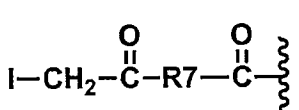
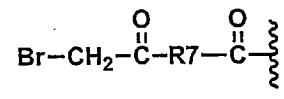
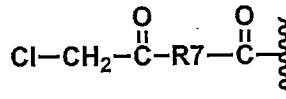
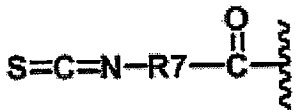
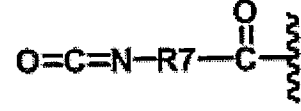
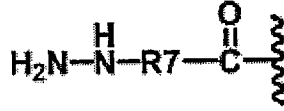
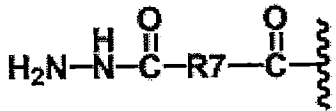
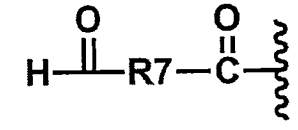
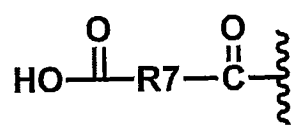
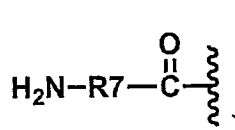
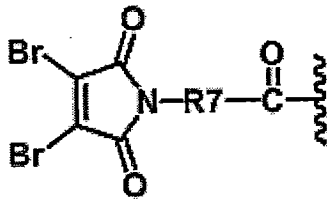
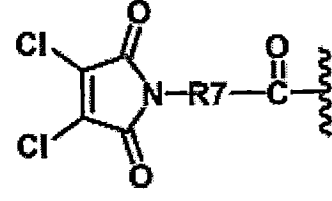
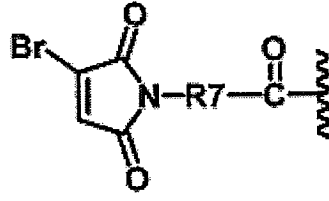
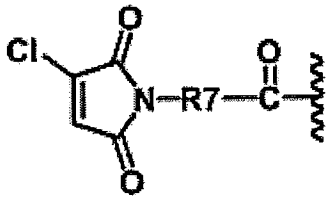
【0009】 式(II)中，每一R4、R5與R6獨立地為氫、胺基、硝基、鹵素、羥基、C1-C6烷氧基、羧基、C1-C6烷氧基羰基、C1-C6胺基、C1-C6胺基羰基、C1-C6烷基、C1-C6分支型烷基、C1-C6環烷基、C1-C6雜環基、芳基或雜芳基。

【0010】 本揭露的又一實施例提供一種具有式(III)的連接子-藥物或其藥學上可接受的鹽類：

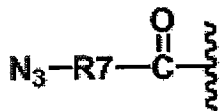
【0011】 C-SAAs-AAs-D (III)



【0012】 式(III)中，C-為一耦合單元，選自由

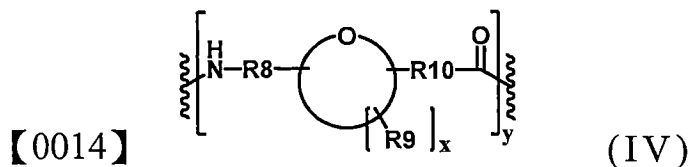


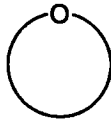
以



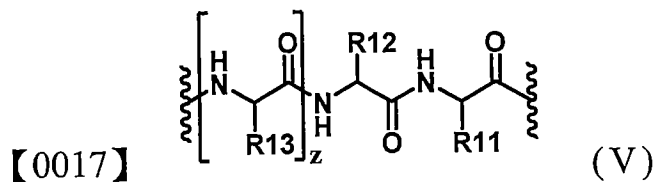
及 所組成的族群，其中R7選自由-C1-C10亞烷基-、
 -C3-C8碳環基-、-O-(C1-C8烷基)-、-亞芳基-、-C1-C10亞烷基-
 亞芳基-、-亞芳基-C1-C10亞烷基-、-C1-C10亞烷基-(C3-C8碳
 環基)-、-(C3-C8碳環基)-C1-C10亞烷基-、-C3-C8雜環基-、
 -C1-C10亞烷基-(C3-C8雜環基)-、-(C3-C8雜環基)-C1-C10亞烷
 基-、-(伸乙氧基)r-以及-(伸乙氧基)r-亞甲基-所組成的族群，
 以及r為1-10之整數。

【0013】 式(III)中，-SAAs-為一具有式(IV)的糖胺基酸單元：



【0015】 式(IV)中，x為1-8之整數，y為1-4之整數， 為四氫呋喃、二氫呋喃、四氫哌喃或二氫哌喃，每一R8與R10獨立地為單鍵、亞甲基、羥基亞甲基、伸乙基、亞乙基、羥基伸乙基、羥基亞乙基、二羥基伸乙基、二羥基亞乙基、伸乙烯基、亞乙烯基、伸丙基(propylene)、亞丙基、三亞甲基(trimethylene)、羥基伸丙基(hydroxypropylene)、羥基亞丙基、羥基三亞甲基(hydroxytrimethylene)、二羥基伸丙基(dihydroxypropylene)、二羥基亞丙基、二羥基三亞甲基(dihydroxytrimethylene)、三羥基伸丙基(trihydroxypropylene)、三羥基亞丙基或三羥基三亞甲基(trihydroxytrimethylene)，每一R9獨立地為羥基、甲基、羥甲基、乙基、羥乙基、二羥乙基、丙基、羥丙基、二羥丙基或三羥丙基、或同一環中任意兩R9與其連接之碳原子形成羰基、或任意兩R9、R8與任意一R9、或R10與任意一R9形成與原四氫呋喃、二氫呋喃、四氫哌喃或二氫哌喃融合之第二個四氫呋喃、二氫呋喃、四氫哌喃或二氫哌喃、或任意兩R9、R8與任意一R9、或R10與任意一R9與一亞甲基、亞乙基、1-亞丙基、2-亞丙基或苯亞甲基形成與原四氫呋喃、二氫呋喃、四氫哌喃或二氫哌喃融合之環狀縮醛或縮酮。

【0016】 式(III)中，-AAs-為一具有式(V)的胜肽單元：



【0018】 式 (V) 中， z 為 0-10 之整數， R_{11} 為 $-(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$ 、 $-(CH_2)_3NH_2$ 、 $-(CH_2)_3NHCONH_2$ 、 $-(CH_2)_4NHC(=NH)NH_2$ 、 $-(CH_2)_4NH_2$ 或 $-(CH_2)_4NHCONH_2$ ， R_{12} 為氫、甲基、乙基、丙基、異丙基、環丙基、丁基、第二丁基、異丁基、第三丁基、環丁基、苯基或苯甲基， R_{13} 為氫、甲基、異丙基、環丙基、丁基、第二丁基、異丁基、第三丁基、環丁基、環己基、苯基、苯甲基、 p -羥基苯甲基、 $-CH_2OH$ 、 $-CH(OH)CH_3$ 、 $-CH_2CH_2SCH_3$ 、 $-CH_2CONH_2$ 、 $-CH_2COOH$ 、 $-CH_2CH_2CONH_2$ 、 $-CH_2CH_2COOH$ 、 $-(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$ 、 $-(CH_2)_3NH_2$ 、 $-(CH_2)_3NHCOCH_3$ 、 $-(CH_2)_3NHCHO$ 、 $-(CH_2)_4NHC(=NH)NH_2$ 、 $-(CH_2)_4NH_2$ 、 $-(CH_2)_4NHCOCH_3$ 、 $-(CH_2)_4NHCHO$ 、 $-(CH_2)_3NHCONH_2$ 、 $-(CH_2)_4NHCONH_2$ 、 $-CH_2CH_2CH(OH)CH_2NH_2$ 、2-吡啶甲基、3-吡啶甲基或4-吡啶甲基。

【0019】 式 (III) 中， $-D$ 為一細胞毒性劑，選自由鵝膏蕈鹼 (amanitins)、蒽環類物 (anthracyclines)、海兔毒素 (auristatins)、漿果赤黴素 (baccatins)、刺孢黴素 (calicheamicins)、喜樹鹼 (camptothecins)、西地黴素 (cemadotins)、秋水仙鹼 (colchicines)、秋水仙胺 (colcimids)、考布他汀 (combretastatins)、隱花素 (cryptophysins)、蒂克黴素 (discodermolides)、多卡黴素 (duocarmycins)、棘黴素 (echinomycins)、艾榴塞洛素 (eleutherobins)、埃博黴素 (epothilones)、雌莫司汀 (estramustines)、偏端黴素 (lexitropsins)、美登木素生物鹼

(maytansinoids)、紡錘黴素(netropsins)、嘌呤黴素(puromycins)、吡咯并苯并二氮雜卓(pyrrolobenzodiazepines)、根黴素(rhizoxins)、紫杉烷(taxanes)、小管素(tubulysins)以及長春花生物鹼(vinca alkaloids)所組成的族群。

【0020】 本揭露的再一實施例提供一種具有式(VI)的配體-藥物耦合體：

【0021】 $L-(C-SAAs-AAs-D)_p$ (VI)

【0022】 式(VI)中， p 為1-20之整數， L -為一配體單元，選自由全長抗體、抗體片段、蛋白質、小分子量蛋白質、多肽、寡肽、適體、凝集素、醣蛋白、脂蛋白、醣脂、維生素、營養傳輸分子、激素、寡糖、多醣以及任何其他細胞結合分子或物質所組成的族群。式(VI)中， L -進一步連接至上述式(III)C-SAAs-AAs-D。

【0023】 為讓本發明之上述目的、特徵及優點能更明顯易懂，下文特舉一較佳實施例，並配合所附的圖式，作詳細說明如下。

【圖式簡單說明】

【0024】

第 1 圖顯示 Erbitux-MHT-71 的 HIC 態樣；以及

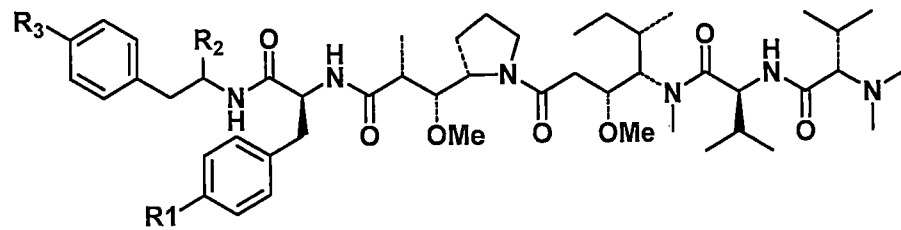
第 2 圖顯示 Erbitux 與 Erbitux-ADCs 於 50°C 的熱應力穩定性試驗結果。

【實施方式】

【0025】 本揭露化合物

【0026】 具有苯胺基團之海兔毒素衍生物

【0027】 本揭露提供一種新穎的海兔毒素衍生物，其特徵在於以一苯胺基團為連接點與連接子、配體或傳輸分子連接，且使該毒素具備更高抗癌活性的潛力，對抗一系列人類癌細胞株。在一實施例中，該海兔毒素衍生物為具有式(I)包含苯胺基團的化合物。本揭露亦提供該海兔毒素衍生物的藥學上可接受鹽類。

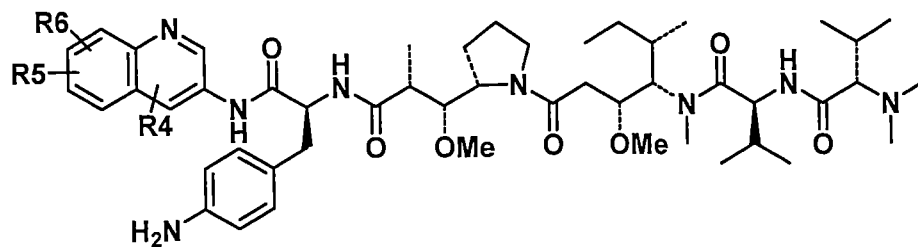


【0028】 (I)

【0029】 式(I)中，每一R1、R2與R3可獨立地為氫、胺基、硝基、鹵素、羥基、C1-C6烷氧基、羧基、C1-C6烷氧基羰基、C1-C6胺基、C1-C6胺基羰基、C1-C6正烷基、C1-C6分支型烷基、C1-C6環烷基、C1-C6雜環基、芳基或雜芳基，R1與R3至少其中之一為胺基。

【0030】 在一實施例中，R1為氫，R2為氫、羧基、C1-C6烷氧基羰基、C1-C6胺基羰基或C1-C6烷基，以及R3為胺基。

【0031】 在另一實施例中，該海兔毒素F衍生物為具有式(II)包含苯胺基團的化合物。本揭露亦提供該海兔毒素F衍生物的藥學上可接受鹽類：



【0032】 (II)

【0033】 式(II)中，每一R4、R5與R6可獨立地為氫、胺基、硝基、鹵素、羥基、C1-C6烷氧基、羧基、C1-C6烷氧基羰基、

C1-C6胺基、C1-C6胺基羰基、C1-C6烷基、C1-C6分支型烷基、C1-C6環烷基、C1-C6雜環基、芳基或雜芳基。

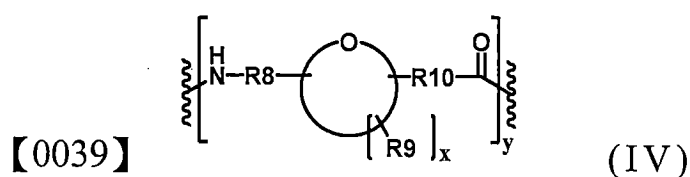
【0034】 在一實施例中，R4、R5與R6為氫。

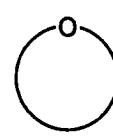
【0035】 包含糖胺基酸之連接子

【0036】 本揭露提供一種新穎的包含糖胺基酸的連接子，其特徵在於其C端具有可被組織蛋白酶B (cathepsin B)辨識的雙肽，以及其N端具有高親水性的糖胺基酸基團，以提升該連接子或含連接子物質的水溶性。連接子C端的羧基與N端的胺基均可作為連接點，與間隔物、連接子、配體、藥物、毒素、成像分子、抗體、胜肽或傳輸分子連接。

【0037】 本揭露連接子單元包括一糖胺基酸單元(-SAAs-)以及一胜肽單元(-AAs-)。胜肽單元可為二肽、三肽、四肽、五肽、六肽、七肽、八肽、九肽、十肽、十一肽或十二肽。

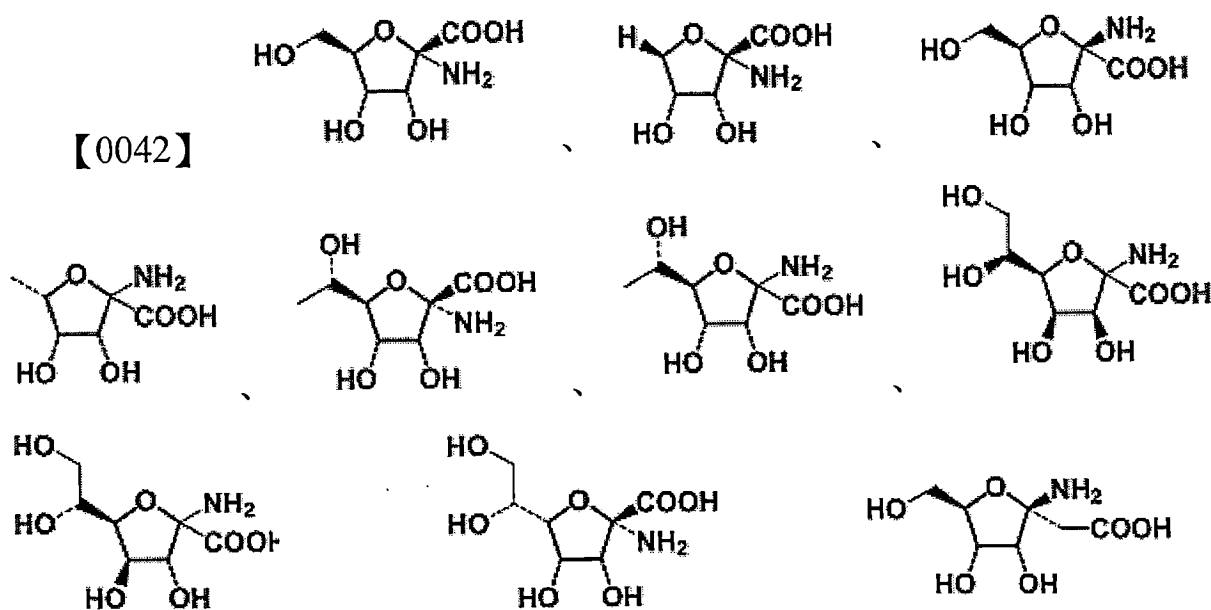
【0038】 在一實施例中，糖胺基酸單元(-SAAs-)具有式(IV)：

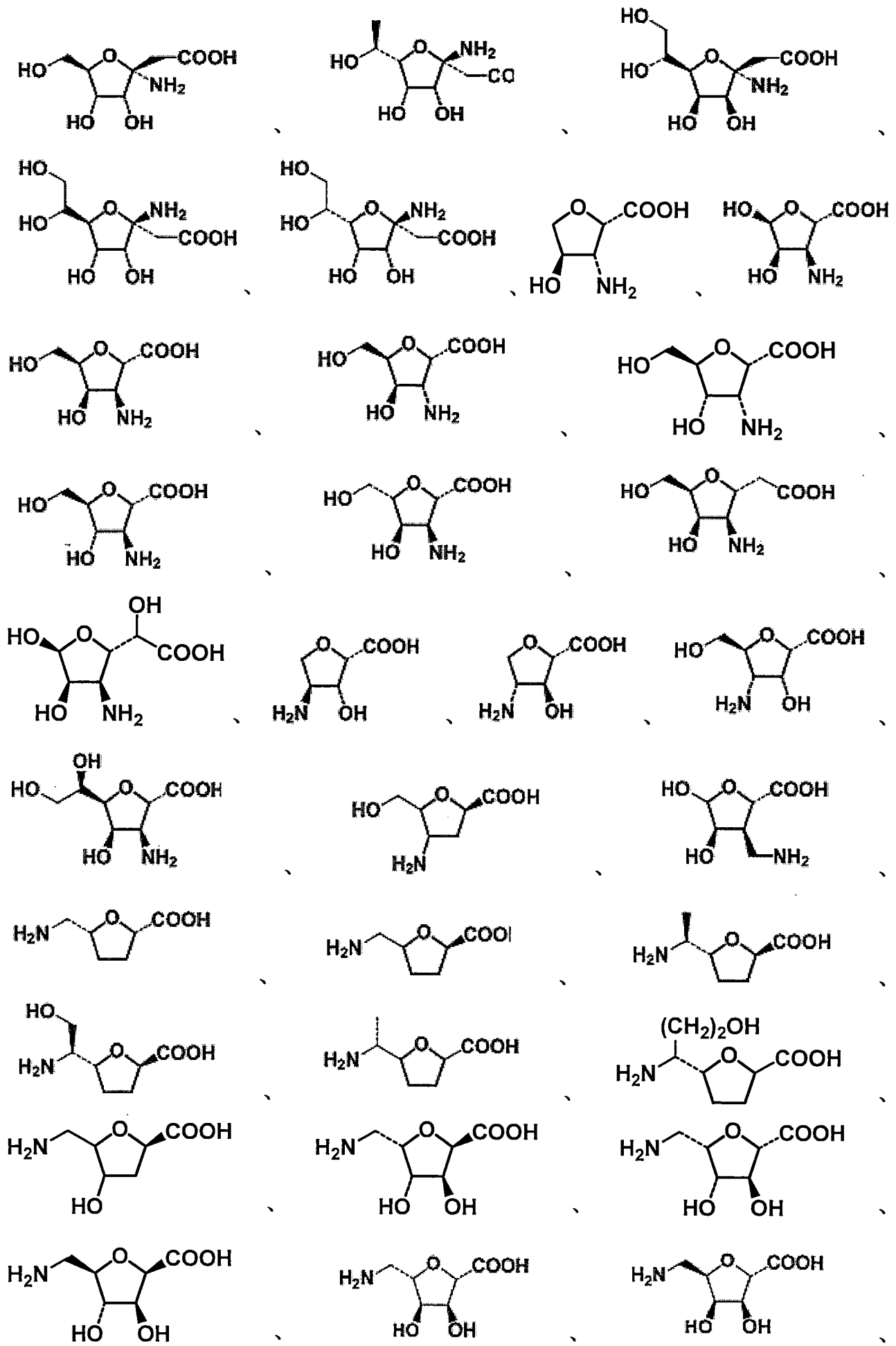


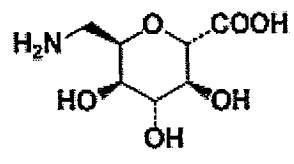
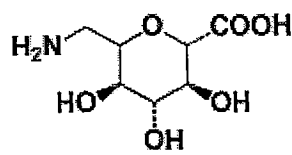
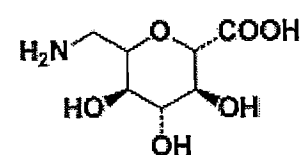
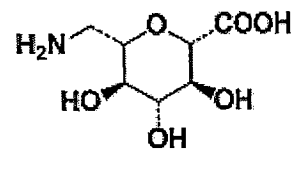
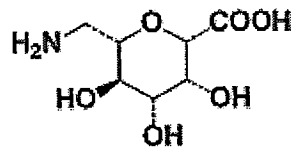
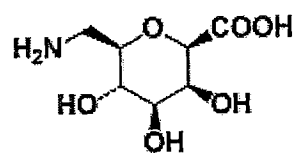
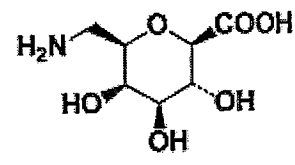
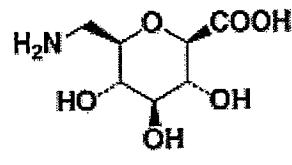
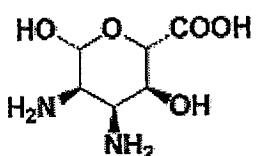
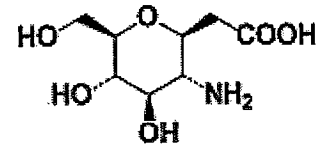
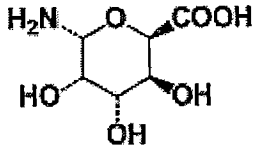
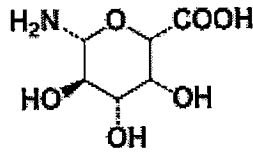
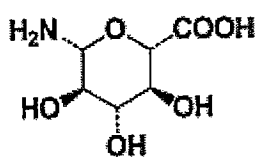
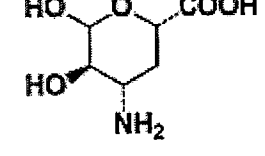
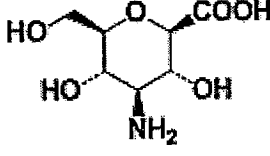
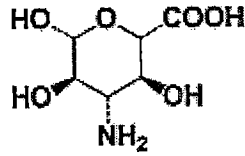
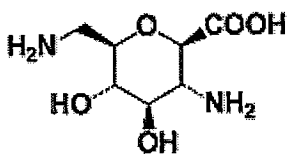
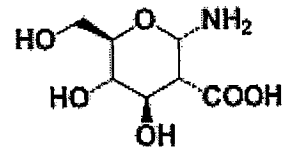
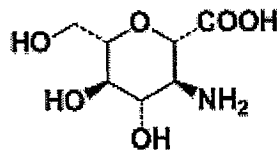
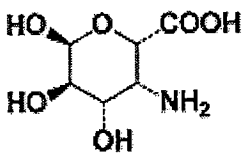
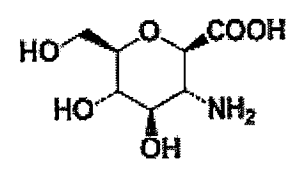
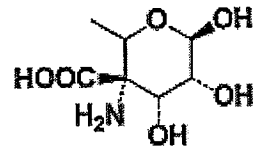
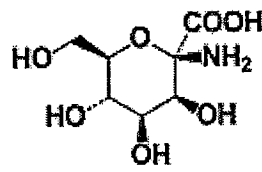
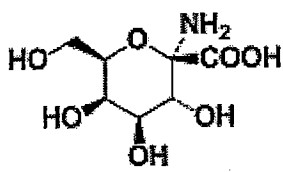
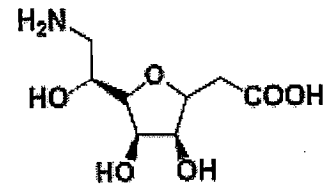
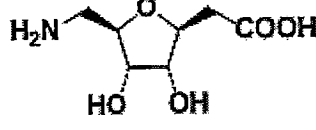
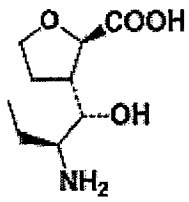
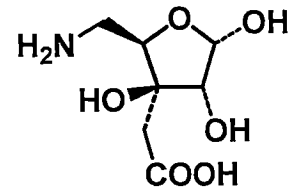
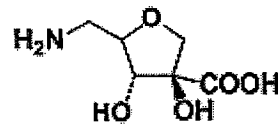
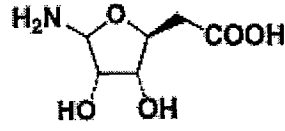
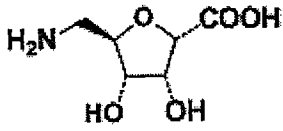
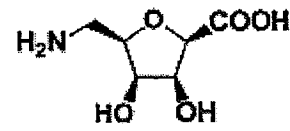
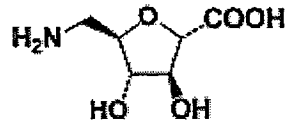
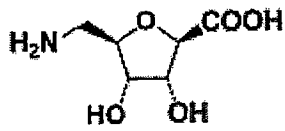
【0040】 式(IV)中，x為1-8的整數，y為1-4的整數， 可為四氫呋喃、二氫呋喃、四氫吡喃或二氫吡喃，每一R8與R10可獨立地為單鍵、亞甲基、羥基亞甲基、伸乙基、亞乙基、羥基伸乙基、羥基亞乙基、二羥基伸乙基、二羥基亞乙基、伸乙烯基、亞乙烯基、伸丙基(propylene)、亞丙基、三亞甲基(trimethylene)、羥基伸丙基(hydroxypropylene)、羥基亞丙基、

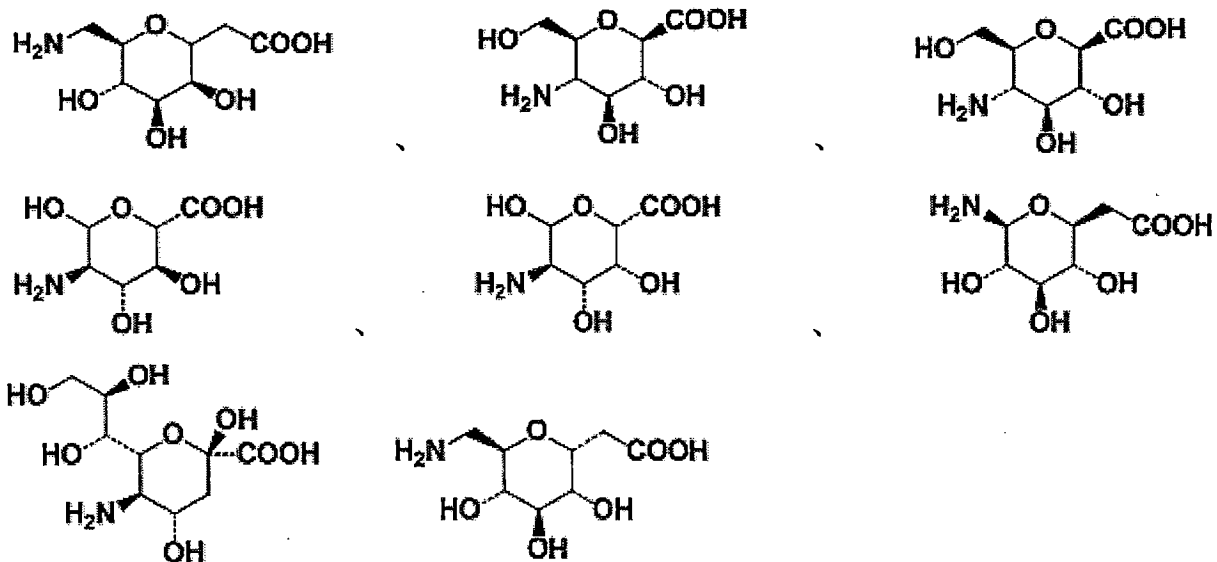
羥基三亞甲基 (hydroxytrimethylene)、二羥基伸丙基 (dihydroxypropylene)、二羥基亞丙基、二羥基三亞甲基 (dihydroxytrimethylene)、三羥基伸丙基 (trihydroxypropylene)、三羥基亞丙基或三羥基三亞甲基 (trihydroxytrimethylene)，每一 R9 可獨立地為羥基、甲基、羥甲基、乙基、羥乙基、二羥乙基、丙基、羥丙基、二羥丙基或三羥丙基、或同一環中任意兩 R9 與其連接之碳原子形成羰基、或任意兩 R9、R8 與任意一 R9、或 R10 與任意一 R9 形成與原四氫呋喃、二氫呋喃、四氫吡喃或二氫吡喃融合之第二個四氫呋喃、二氫呋喃、四氫吡喃或二氫吡喃、或任意兩 R9、R8 與任意一 R9、或 R10 與任意一 R9 與一亞甲基、亞乙基、1-亞丙基、2-亞丙基或苯亞甲基形成與原四氫呋喃、二氫呋喃、四氫吡喃或二氫吡喃融合之環狀縮醛或縮酮。

【0041】 在本揭露中，糖胺基酸的例子包括但不限於以下所述：

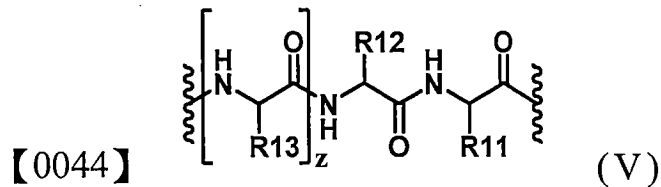








【0043】 在一實施例中，胜肽單元(-AAs-)具有式(V)：



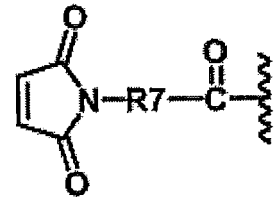
【0045】 式(V)中， z 為 0-10 的整數， R_{11} 可為 $-(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$ 、 $-(CH_2)_3NH_2$ 、 $-(CH_2)_3NHCONH_2$ 、 $-(CH_2)_4NHC(=NH)NH_2$ 、 $-(CH_2)_4NH_2$ 或 $-(CH_2)_4NHCONH_2$ ， R_{12} 可為氫、甲基、乙基、丙基、異丙基、環丙基、丁基、第二丁基、異丁基、第三丁基、環丁基、苯基或苯甲基， R_{13} 可為氫、甲基、異丙基、環丙基、丁基、第二丁基、異丁基、第三丁基、環丁基、環己基、苯基、苯甲基、 p -羥基苯甲基、 $-CH_2OH$ 、 $-CH(OH)CH_3$ 、 $-CH_2CH_2SCH_3$ 、 $-CH_2CONH_2$ 、 $-CH_2COOH$ 、 $-CH_2CH_2CONH_2$ 、 $-CH_2CH_2COOH$ 、 $-(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$ 、 $-(CH_2)_3NH_2$ 、 $-(CH_2)_3NHCOCH_3$ 、 $-(CH_2)_3NHCHO$ 、 $-(CH_2)_4NHC(=NH)NH_2$ 、 $-(CH_2)_4NH_2$ 、 $-(CH_2)_4NHCOCH_3$ 、 $-(CH_2)_4NHCHO$ 、 $-(CH_2)_3NHCONH_2$ 、 $-(CH_2)_4NHCONH_2$ 、 $-CH_2CH_2CH(OH)CH_2NH_2$ 、2-吡啶甲基、3-吡啶甲基或4-吡啶甲基。

【0046】 可藉由一或多種酵素對胜肽單元進行酵素截切，例如藉由腫瘤相關蛋白酶，以釋放藥物單元(-D)。

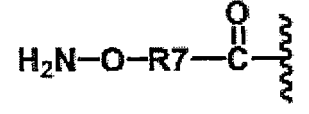
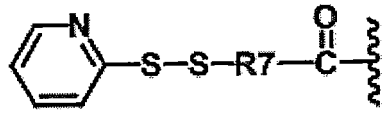
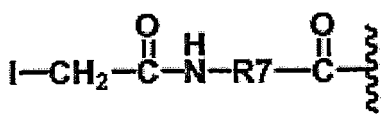
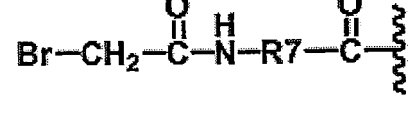
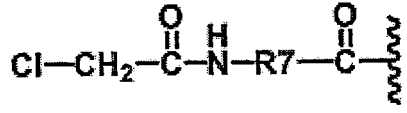
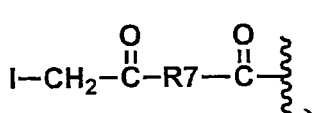
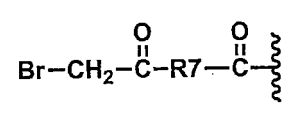
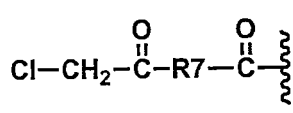
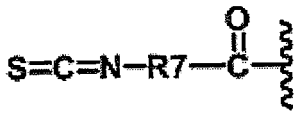
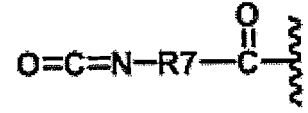
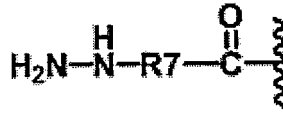
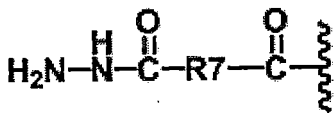
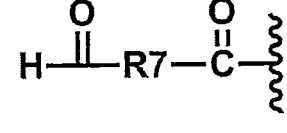
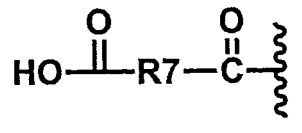
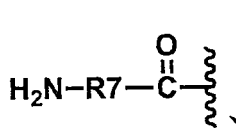
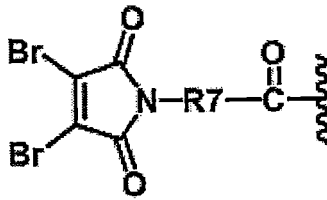
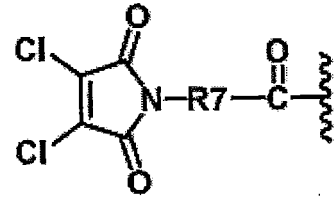
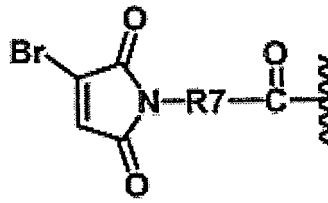
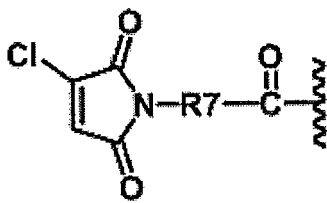
【0047】 連接子-藥物

【0048】 本揭露的一實施例提供一種具有式(III)的連接子-藥物或其藥學上可接受鹽類：

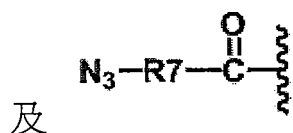
【0049】 C-SAAs-AAAs-D (III)



【0050】 式(III)中，C-為一耦合單元，選自由



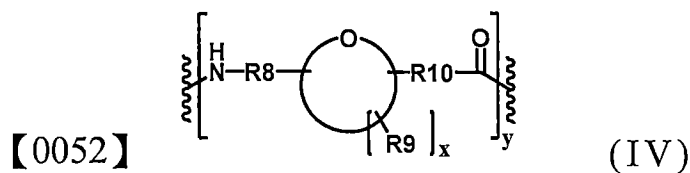
以

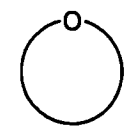


及 所組成的族群，其中R7選自由-C1-C10亞烷基-

-C3-C8碳環基-、-O-(C1-C8烷基)-、-亞芳基-、-C1-C10亞烷基-亞芳基-、-亞芳基-C1-C10亞烷基-、-C1-C10亞烷基-(C3-C8碳環基)-、-(C3-C8碳環基)-C1-C10亞烷基-、-C3-C8雜環基-、-C1-C10亞烷基-(C3-C8雜環基)-、-(C3-C8雜環基)-C1-C10亞烷基-、-(伸乙氧基)_r-以及-(伸乙氧基)_r-亞甲基-所組成的族群，以及r為1-10的整數。

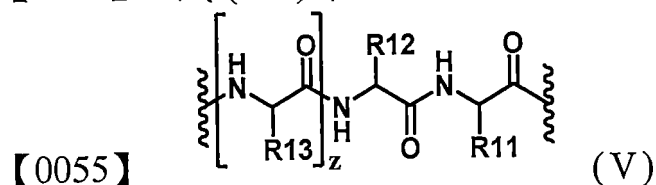
【0051】 式(III)中，-SAA_s-為一具有式(IV)的糖胺基酸單元：



【0053】 式(IV)中，x為1-8的整數，y為1-4的整數， 可為四氫呋喃、二氫呋喃、四氫吡喃或二氫吡喃，每一R₈與R₁₀可獨立地為單鍵、亞甲基、羥基亞甲基、伸乙基、亞乙基、羥基伸乙基、羥基亞乙基、二羥基伸乙基、二羥基亞乙基、伸乙烯基、亞乙烯基、伸丙基(propylene)、亞丙基、三亞甲基(trimethylene)、羥基伸丙基(hydroxypropylene)、羥基亞丙基、羥基三亞甲基(hydroxytrimethylene)、二羥基伸丙基(dihydroxypropylene)、二羥基亞丙基、二羥基三亞甲基(dihydroxytrimethylene)、三羥基伸丙基(trihydroxypropylene)、三羥基亞丙基或三羥基三亞甲基(trihydroxytrimethylene)，每一R₉可獨立地為羥基、甲基、羥甲基、乙基、羥乙基、二羥乙基、丙基、羥丙基、二羥丙基或三羥丙基、或同一環中任意兩R₉與其連接之碳原子形成羰基、或任意兩R₉、R₈與任意一R₉、

或 R10 與任意一 R9 形成與原四氫呋喃、二氫呋喃、四氫吡喃或二氫吡喃融合之第二個四氫呋喃、二氫呋喃、四氫吡喃或二氫吡喃、或任意兩 R9、R8 與任意一 R9、或 R10 與任意一 R9 與一亞甲基、亞乙基、1-亞丙基、2-亞丙基或苯亞甲基形成與原四氫呋喃、二氫呋喃、四氫吡喃或二氫吡喃融合之環狀縮醛或縮酮。

【0054】 式 (III) 中，-AAs- 為一具有式 (V) 的胜肽單元，：

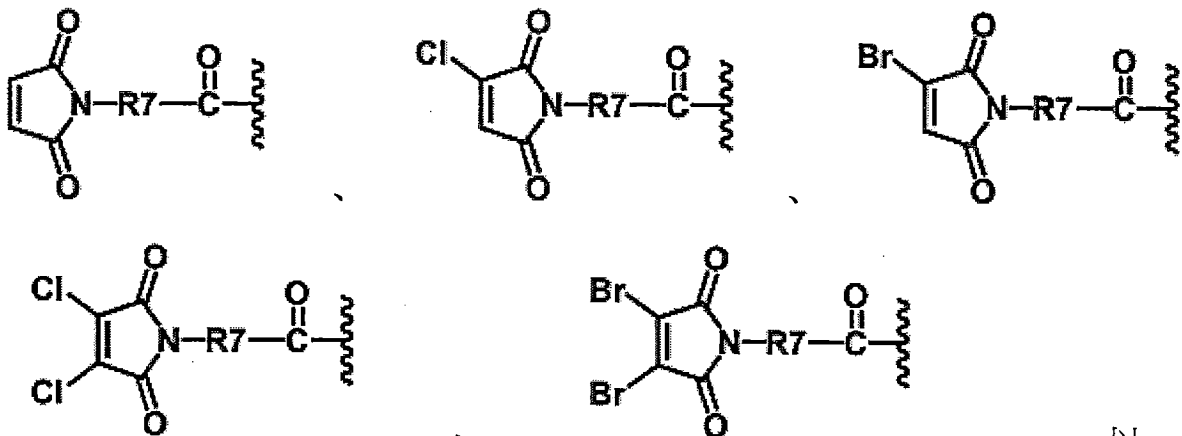


【0056】 式 (V) 中，z 為 0-10 的整數，R11 可為 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$ 或 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCONH}_2$ ，R12 可為氫、甲基、乙基、丙基、異丙基、環丙基、丁基、第二丁基、異丁基、第三丁基、環丁基、苯基或苯甲基，R13 可為氫、甲基、異丙基、環丙基、丁基、第二丁基、異丁基、第三丁基、環丁基、環己基、苯基、苯甲基、p-羥基苯甲基、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CONH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{COOH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCOCH}_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCHO}$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCOCH}_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCHO}$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCONH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{NH}_2$ 、2-吡啶甲基、3-吡啶甲基或 4-吡啶甲基。

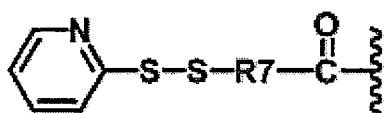
【0057】 式 (III) 中，-D 為一細胞毒性劑，選自由鵝膏蕈鹼 (amanitins)、蔥環類物 (anthracyclines)、海兔毒素 (auristatins)、

漿果赤黴素 (baccatins)、刺孢黴素 (calicheamicins)、喜樹鹼 (camptothecins)、西地黴素 (cemadotins)、秋水仙鹼 (colchicines)、秋水仙胺 (colcimids)、考布他汀 (combretastatins)、隱花素 (cryptophysins)、蒂克黴素 (discodermolides)、多卡黴素 (duocarmycins)、棘黴素 (echinomycins)、艾榴塞洛素 (eleutherobins)、埃博黴素 (epothilones)、雌莫司汀 (estramustines)、偏端黴素 (lexitropsins)、美登木素生物鹼 (maytansinoids)、紡錘黴素 (netropsins)、嘌呤黴素 (puromycins)、吡咯并苯并二氮雜卓 (pyrrolobenzodiazepines)、根黴素 (rhizoxins)、紫杉烷 (taxanes)、小管素 (tubulysins) 以及長春花生物鹼 (vinca alkaloids) 所組成的族群。

【0058】 在一實施例中，C- 為耦合單元，選自由

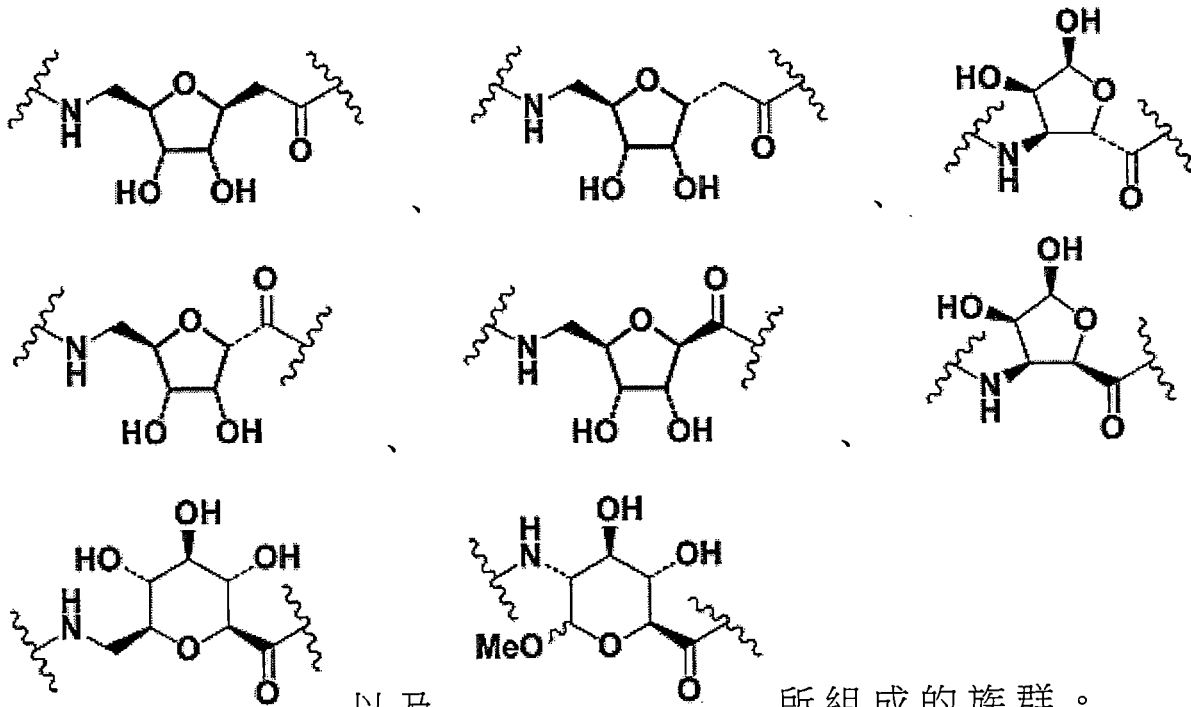


以及



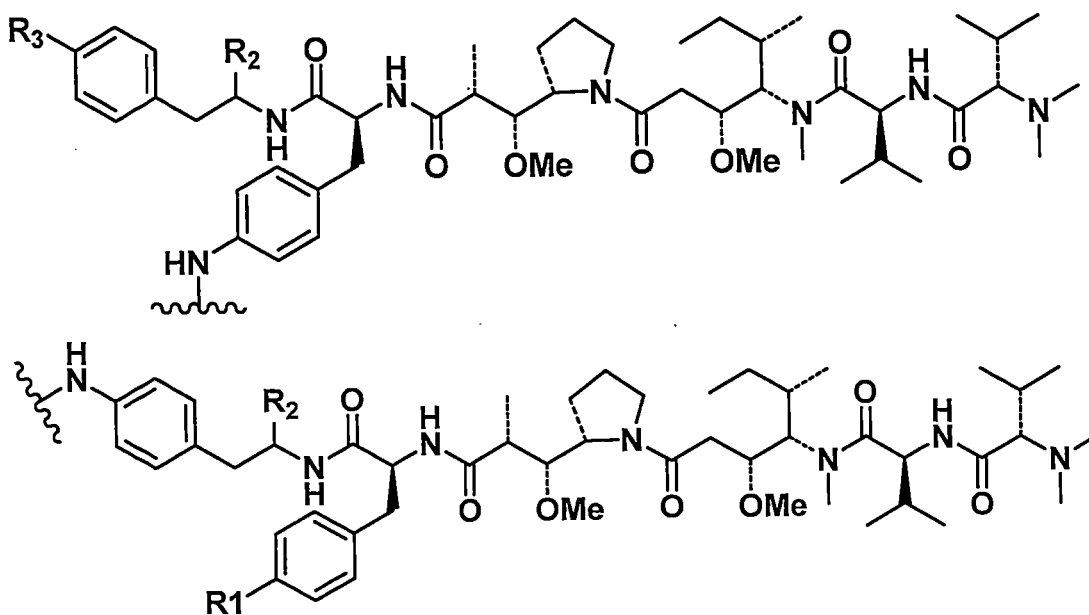
所組成的族群，其中 R7 選自由 -1,5-伸戊基-、-1,6-伸己基-、-1,4-伸環己基-、-(伸乙氧基)_r-CH₂- 以及 -(伸乙氧基)_r-亞甲基-亞甲基-所組成的族群，以及 r 為 2-5 的整數。

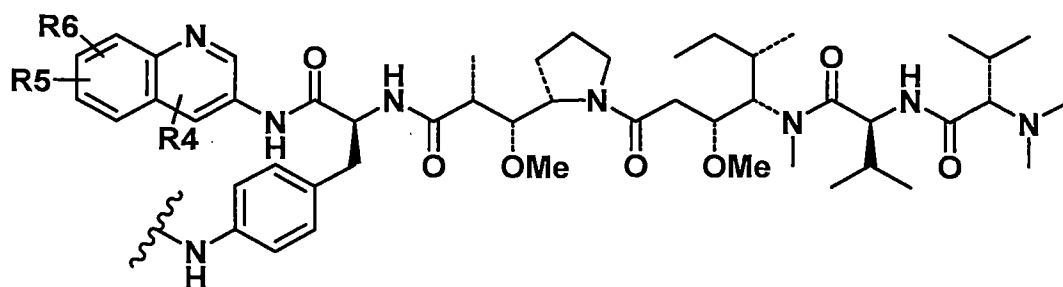
【0059】 在一實施例中，-SAAs- 為糖胺基酸單元，選自由



【0060】 在一實施例中，-AAs-為胜肽單元，選自由-纈胺酸-瓜胺酸-、-纈胺酸-離胺酸-、-纈胺酸-魚精胺酸-、-苯丙胺酸-瓜胺酸-、-苯丙胺酸-離胺酸-以及-苯丙胺酸-魚精胺酸-所組成的族群。

【0061】 在一實施例中，-D為細胞毒性劑，選自由





所組成的

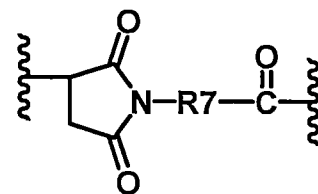
族群，其中每一R1、R2、R3、R4、R5與R6獨立地為氫、胺基、硝基、鹵素、羥基、甲氧基、乙氧基、羧基、甲氧基羰基、乙氧基羰基、甲基胺基、二甲基胺基、乙基胺基、二乙基胺基、1-吡咯啉基、1-哌啉基、1-哌嗪基、胺基羰基、甲基胺基羰基、二甲基胺基羰基、乙基胺基羰基、二乙基胺基羰基、1-吡咯啉基羰基、1-哌啉基羰基、1-哌嗪基羰基、甲基、乙基、丙基、異丙基或苯基。

【0062】 配體-藥物耦合體

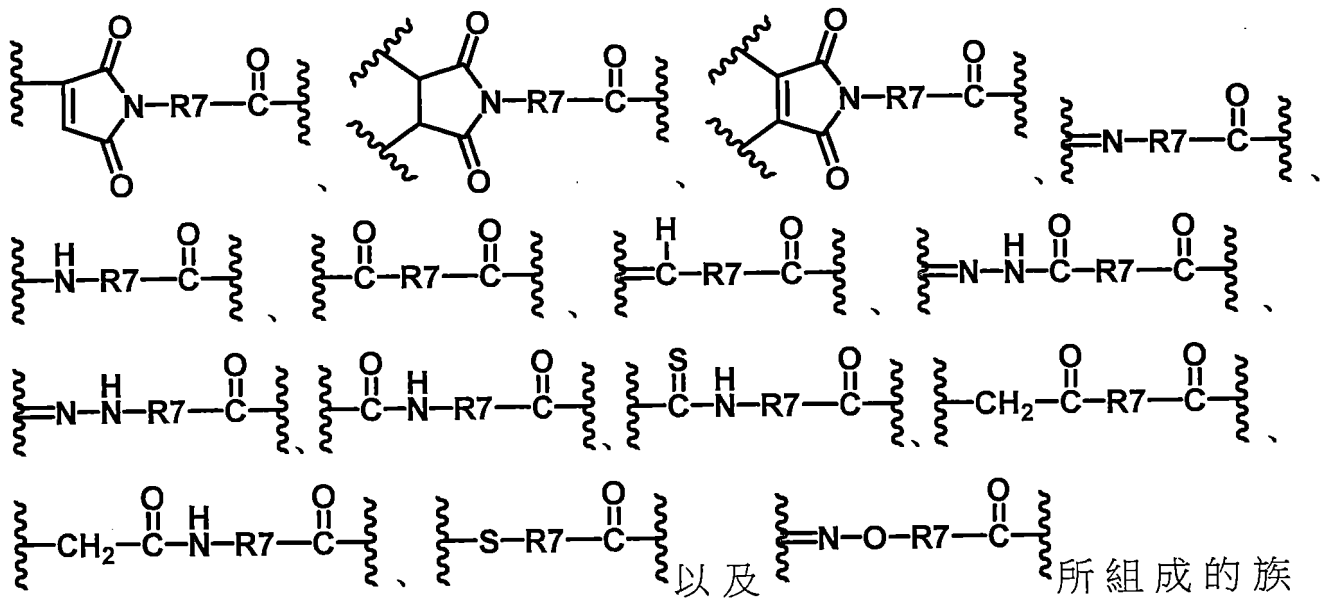
【0063】 本揭露的一實施例提供一種具有式(VI)的配體-藥物耦合體或其藥學上可接受鹽類：

【0064】 L-(C-SAAs-AAAs-D)_p (VI)

【0065】 式(VI)中，p為1-20的整數，L-為一配體單元，選自由全長抗體、抗體片段、蛋白質、小分子量蛋白質、多肽、寡肽、適體、凝集素、醣蛋白、脂蛋白、醣脂、維生素、營養傳輸分子、激素、寡糖、多醣以及任何其他細胞結合分子或物質所組成的族群。

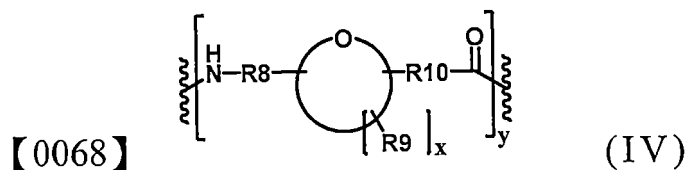


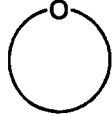
【0066】 式(VI)中，C-為一耦合單元，選自由



所組成的族群，其中R7選自由-C1-C10亞烷基-、-C3-C8碳環基-、-O-(C1-C8烷基)-、-亞芳基-、-C1-C10亞烷基-亞芳基-、-亞芳基-C1-C10亞烷基-、-C1-C10亞烷基-(C3-C8碳環基)-、-(C3-C8碳環基)-C1-C10亞烷基-、-C3-C8雜環基-、-C1-C10亞烷基-(C3-C8雜環基)-、-(C3-C8雜環基)-C1-C10亞烷基-、-(伸乙氧基)_r-以及-(伸乙氧基)_r-亞甲基-所組成的族群，以及r為1-10的整數。

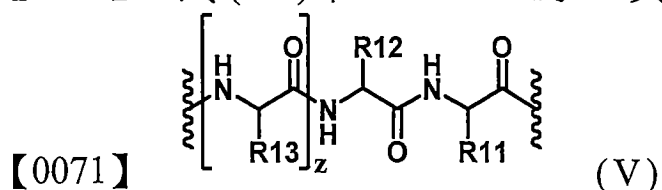
【0067】 式(VI)中，-SAAs-為一具有式(IV)的糖胺基酸單元：



【0069】 式(IV)中，x為1-8的整數，y為1-4的整數，可為四氫呋喃、二氫呋喃、四氫吡喃或二氫吡喃，每一R8與R10可獨立地為單鍵、亞甲基、羥基亞甲基、伸乙基、亞乙基、羥基伸乙基、羥基亞乙基、二羥基伸乙基、二羥基亞乙基、伸乙烯基、亞乙烯基、伸丙基(propylene)、亞丙基、三亞甲基

(trimethylene)、羥基伸丙基(hydroxypropylene)、羥基亞丙基、羥基三亞甲基(hydroxytrimethylene)、二羥基伸丙基(dihydroxypropylene)、二羥基亞丙基、二羥基三亞甲基(dihydroxytrimethylene)、三羥基伸丙基(trihydroxypropylene)、三羥基亞丙基或三羥基三亞甲基(trihydroxytrimethylene)，每一R9可獨立地為羥基、甲基、羥甲基、乙基、羥乙基、二羥乙基、丙基、羥丙基、二羥丙基或三羥丙基、或同一環中任意兩R9與其連接之碳原子形成羰基、或任意兩R9、R8與任意一R9、或R10與任意一R9形成與原四氫呋喃、二氫呋喃、四氫哌喃或二氫哌喃融合之第二個四氫呋喃、二氫呋喃、四氫哌喃或二氫哌喃、或任意兩R9、R8與任意一R9、或R10與任意一R9與一亞甲基、亞乙基、1-亞丙基、2-亞丙基或苯亞甲基形成與原四氫呋喃、二氫呋喃、四氫哌喃或二氫哌喃融合之環狀縮醛或縮酮。

【0070】 式(VI)中，-AAs-為一具有式(V)的胜肽單元：



【0072】 式(V)中，z為0-10的整數，R11可為 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$ 或 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCONH}_2$ ，R12可為氫、甲基、乙基、丙基、異丙基、環丙基、丁基、第二丁基、異丁基、第三丁基、環丁基、苯基或苯甲基，R13可為氫、甲基、異丙基、環丙基、丁基、第二丁基、異丁基、第三丁基、環丁基、環己基、苯基、苯甲基、p-羥基苯甲基、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、

-CH(OH)CH₃、-CH₂CH₂SCH₃、-CH₂CONH₂、-CH₂COOH、
 -CH₂CH₂CONH₂、-CH₂CH₂COOH、-(CH₂)₃NHC(=NH)NH₂、
 -(CH₂)₃NH₂、-(CH₂)₃NHCOCH₃、-(CH₂)₃NHCHO、-(CH₂)₄NHC(=NH)NH₂、
 -(CH₂)₄NH₂、-(CH₂)₄NHCOCH₃、-(CH₂)₄NHCHO、
 -(CH₂)₃NHCONH₂、-(CH₂)₄NHCONH₂、-CH₂CH₂CH(OH)CH₂NH₂、
 2-吡啶甲基、3-吡啶甲基或4-吡啶甲基。

【0073】 式(VI)中，-D為一細胞毒性劑，選自由鵝膏蕈鹼(amanitins)、蒽環類物(anthracyclines)、海兔毒素(auristatins)、漿果赤黴素(baccatins)、刺孢黴素(calicheamicins)、喜樹鹼(camptothecins)、西地黴素(cemadotins)、秋水仙鹼(colchicines)、秋水仙胺(colcimids)、考布他汀(combretastatins)、隱花素(cryptophysins)、蒂克黴素(discodermolides)、多卡黴素(duocarmycins)、棘黴素(echinomycins)、艾榴塞洛素(eleutherobins)、埃博黴素(epothilones)、雌莫司汀(estramustines)、偏端黴素(lexitropsins)、美登木素生物鹼(maytansinoids)、紡錘黴素(netropsins)、嘌呤黴素(puromycins)、吡咯并苯并二氮雜卓(pyrrolobenzodiazepines)、根黴素(rhizoxins)、紫杉烷(taxanes)、小管素(tubulysins)以及長春花生物鹼(vinca alkaloids)所組成的族群。

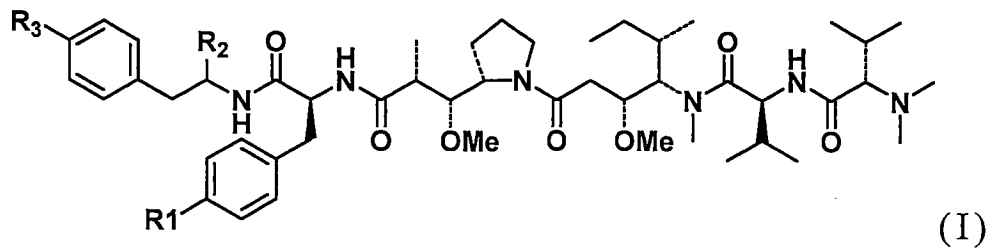
【0074】 在一實施例中，配體單元(L-)為與抗原結合的抗體。

【0075】 在一實施例中，抗體可為嵌合抗體、人源化抗體或其功能活性片段。

【0076】 在一實施例中，抗體藉由該抗體的半胱氨酸殘基

申請專利範圍

1. 一種具有式(I)的化合物或其藥學上可接受鹽類：

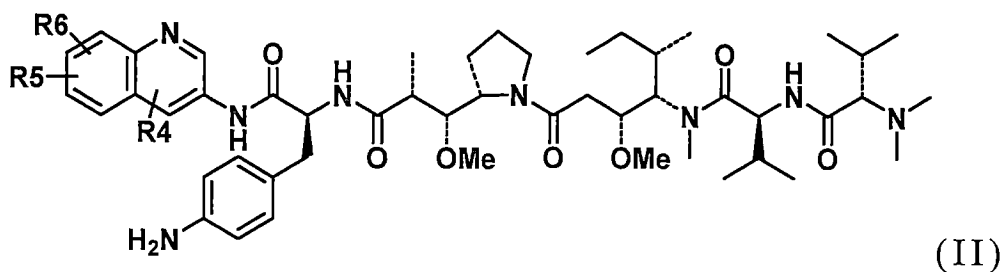


其中

每一 R1、R2與 R3獨立地為氫、胺基、硝基、鹵素、羥基、C1-C6烷氧基、羧基、C1-C6烷氧基羰基、C1-C6胺基、C1-C6胺基羰基、C1-C6烷基、C1-C6分支型烷基、C1-C6環烷基、C1-C6雜環基、芳基或雜芳基，R1與 R3至少其中之一為胺基。

2. 如申請專利範圍第1項所述之具有式(I)的化合物或其藥學上可接受鹽類，其中 R1為氫，R2為氫、羧基、C1-C6烷氧基羰基、C1-C6胺基羰基或 C1-C6烷基，以及 R3為胺基。

3. 一種具有式(II)的化合物或其藥學上可接受鹽類：



其中

每一 R4、R5與 R6獨立地為氫、胺基、硝基、鹵素、羥基、C1-C6烷氧基、羧基、C1-C6烷氧基羰基、C1-C6胺基、C1-C6胺基羰基、C1-C6烷基、C1-C6分支型烷基、

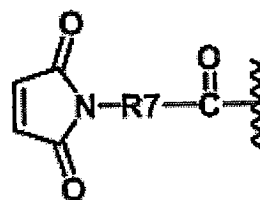
C1-C6環烷基、C1-C6雜環基、芳基或雜芳基。

4. 如申請專利範圍第3項所述之具有式(II)的化合物或其藥學上可接受鹽類，其中R4、R5與R6為氫。

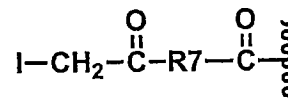
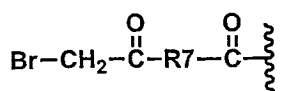
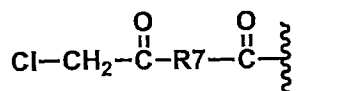
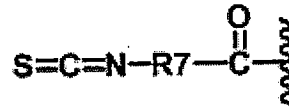
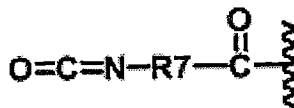
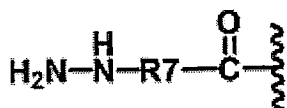
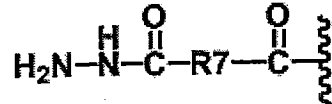
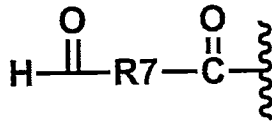
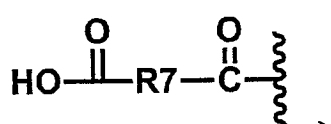
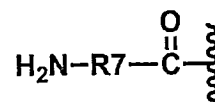
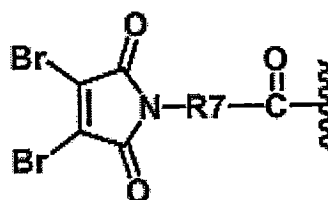
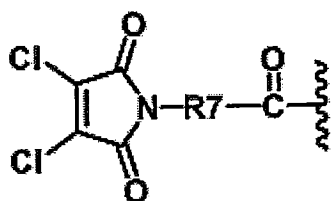
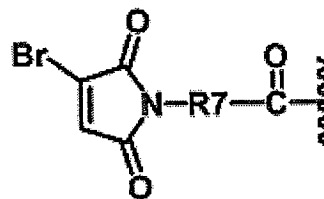
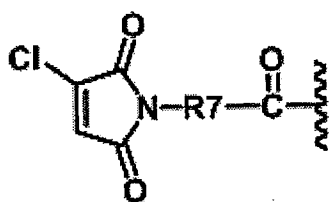
5. 一種具有式(III)的連接子-藥物或其藥學上可接受鹽類：

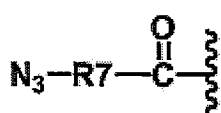
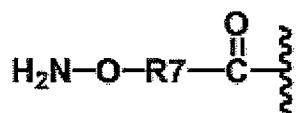
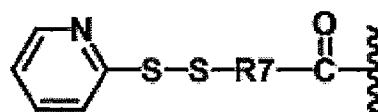
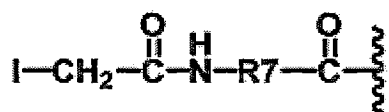
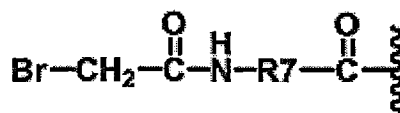
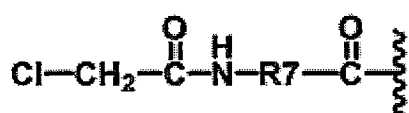
C-SAAs-AAAs-D (III)

其中



C- 為一耦合單元，選自由



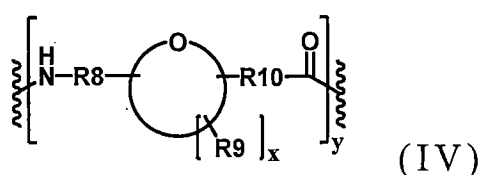


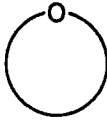
以及

所組成的族群，其中

R7選自由 -C1-C10亞烷基-、-C3-C8碳環基-、-O-(C1-C8烷基)-、-亞芳基-、-C1-C10亞烷基-亞芳基-、-亞芳基-C1-C10亞烷基-、-C1-C10亞烷基-(C3-C8碳環基)-、-(C3-C8碳環基)-C1-C10亞烷基-、-C3-C8雜環基-、-C1-C10亞烷基-(C3-C8雜環基)-、-(C3-C8雜環基)-C1-C10亞烷基-、-(伸乙氧基)_r-以及-(伸乙氧基)_r-亞甲基-所組成的族群，以及r為1-10之整數；

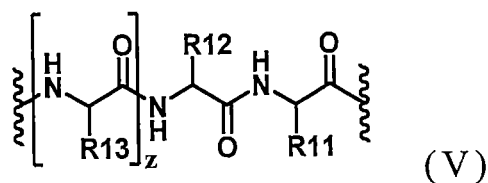
-SAAs-為一具有式(IV)之糖胺基酸單元：



其中x為1-8之整數，y為1-4之整數，為四氫呋喃、二氫呋喃、四氫吡喃或二氫吡喃，每一R8與R10獨立地為單鍵、亞甲基、羥基亞甲基、伸乙基、亞乙基、羥基伸乙基、羥基亞乙基、二羥基伸乙基、二羥基亞乙基、伸乙烯基、亞乙烯基、伸丙基(propylene)、亞丙基、三

亞甲基(trimethylene)、羥基伸丙基(hydroxypropylene)、羥基亞丙基、羥基三亞甲基(hydroxytrimethylene)、二羥基伸丙基(dihydroxypropylene)、二羥基亞丙基、二羥基三亞甲基(dihydroxytrimethylene)、三羥基伸丙基(trihydroxypropylene)、三羥基亞丙基或三羥基三亞甲基(trihydroxytrimethylene)，每一R9獨立地為羥基、甲基、羥甲基、乙基、羥乙基、二羥乙基、丙基、羥丙基、二羥丙基或三羥丙基、或同一環中任意兩R9與其連接之碳原子形成羰基、或任意兩R9、R8與任意一R9、或R10與任意一R9形成與原四氫呋喃、二氫呋喃、四氫哌喃或二氫哌喃融合之第二個四氫呋喃、二氫呋喃、四氫哌喃或二氫哌喃、或任意兩R9、R8與任意一R9、或R10與任意一R9與一亞甲基、亞乙基、1-亞丙基、2-亞丙基或苯亞甲基形成與原四氫呋喃、二氫呋喃、四氫哌喃或二氫哌喃融合之環狀縮醛或縮酮；

-AAs-為一具有式(V)的胜肽單元：



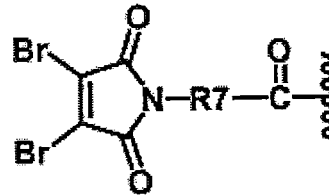
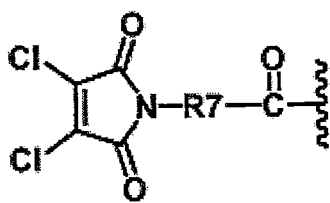
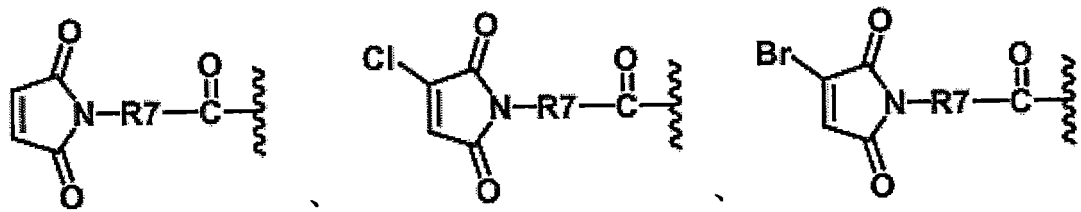
其中 z 為 0-10 之整數，R11 為 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$ 或 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCONH}_2$ ，R12 為 氫、甲基、乙基、

丙基、異丙基、環丙基、丁基、第二丁基、異丁基、第三丁基、環丁基、苯基或苯甲基，R13為氫、甲基、異丙基、環丙基、丁基、第二丁基、異丁基、第三丁基、環丁基、環己基、苯基、苯甲基、p-羥基苯甲基、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CONH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{COOH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCOCH}_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCHO}$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCOCH}_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCHO}$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCONH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{NH}_2$ 、2-吡啶甲基、3-吡啶甲基或4-吡啶甲基；以及

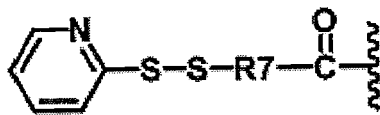
-D為一細胞毒性劑，選自由鵝膏蕈鹼(amanitins)、蒽環類物(anthracyclines)、海兔毒素(auristatins)、漿果赤黴素(baccatins)、刺孢黴素(calicheamicins)、喜樹鹼(camptothecins)、西地黴素(cemadotins)、秋水仙鹼(colchicines)、秋水仙胺(colcimids)、考布他汀(combretastatins)、隱花素(cryptophysins)、蒂克黴素(discodermolides)、多卡黴素(duocarmycins)、棘黴素(echinomycins)、艾榴塞洛素(eleutherobins)、埃博黴素(epothilones)、雌莫司汀(estrामustines)、偏端黴素(lexitropsins)、美登木素生物鹼(maytansinoids)、紡錘黴素(netropsins)、嘌呤黴素(puromycins)、吡咯并苯并

二氫雜卓 (pyrrolobenzodiazepines)、根黴素 (rhizoxins)、紫杉烷 (taxanes)、小管素 (tubulysins) 以及長春花生物鹼 (vinca alkaloids) 所組成的族群。

6. 如申請專利範圍第 5 項所述之具有式 (III) 的連接子-藥物或其藥學上可接受鹽類，其中 C- 為該耦合單元，選自由

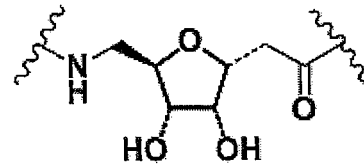
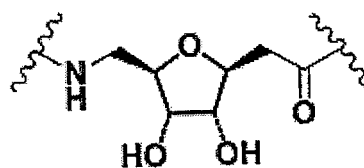


以及

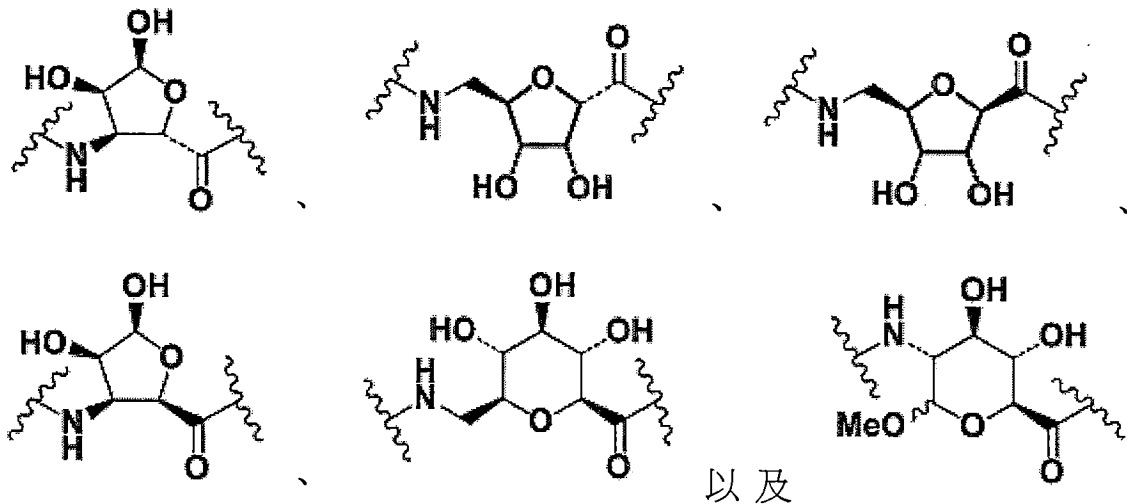


所組成的族群，其中 R7 選自由 -1,5-伸戊基-、-1,6-伸己基-、-1,4-伸環己基-、-(伸乙氧基)r-亞甲基-以及 -(伸乙氧基)r-亞甲基-亞甲基-所組成的族群，以及 r 為 2-5 之整數。

7. 如申請專利範圍第 5 項所述之具有式 (III) 的連接子-藥物或其藥學上可接受鹽類，其中 -SAAs- 為該糖胺基酸單元，



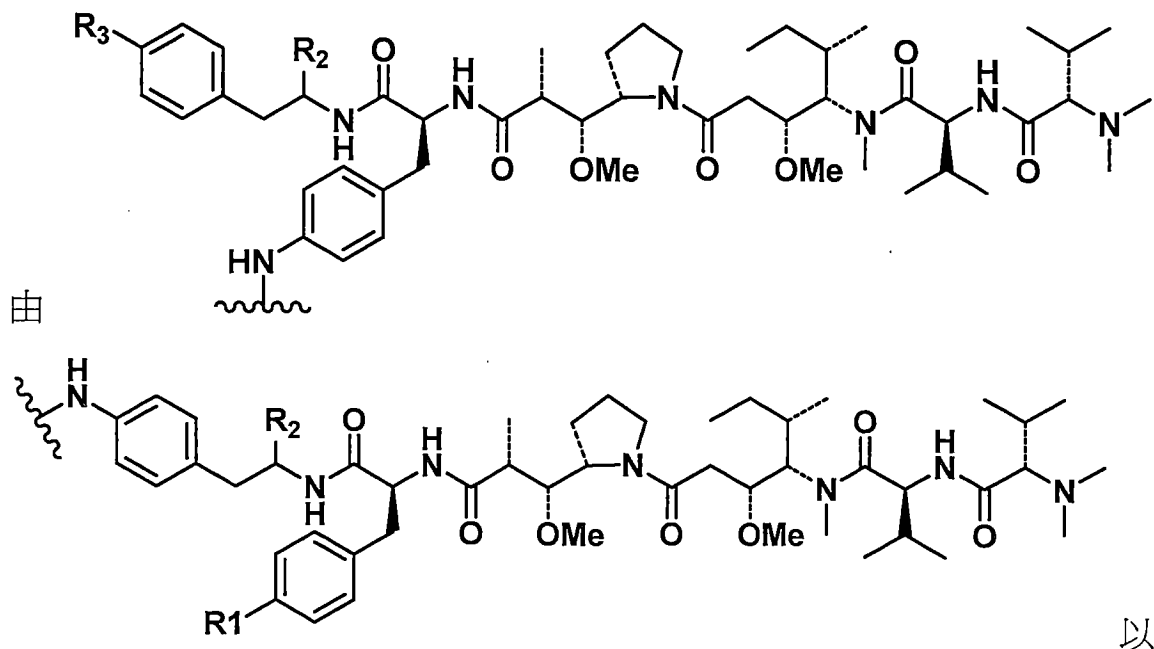
選自由

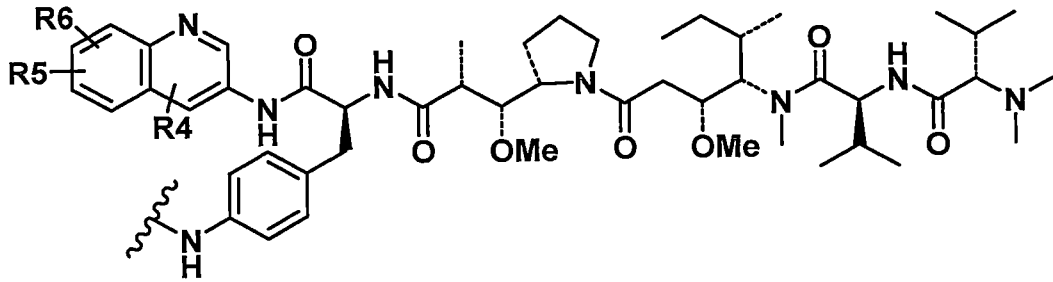


所組成的族群。

8. 如申請專利範圍第5項所述之具有式(III)的連接子-藥物或其藥學上可接受鹽類，其中-AAs-為該胜肽單元，選自由-纈胺酸-瓜胺酸-、-纈胺酸-離胺酸-、-纈胺酸-魚精胺酸-、-苯丙胺酸-瓜胺酸-、-苯丙胺酸-離胺酸-以及-苯丙胺酸-魚精胺酸-所組成的族群。

9. 如申請專利範圍第5項所述之具有式(III)的連接子-藥物或其藥學上可接受鹽類，其中-D為該細胞毒性劑，選自





及

所組成的族群，其中每一R1、R2、R3、R4、R5與R6獨立地為氫、胺基、硝基、鹵素、羥基、甲氧基、乙氧基、羧基、甲氧基羰基、乙氧基羰基、甲基胺基、二甲基胺基、乙基胺基、二乙基胺基、1-吡咯啉基、1-哌啉基、1-哌嗪基、胺基羰基、甲基胺基羰基、二甲基胺基羰基、乙基胺基羰基、二乙基胺基羰基、1-吡咯啉基羰基、1-哌啉基羰基、1-哌嗪基羰基、甲基、乙基、丙基、異丙基或苯基。

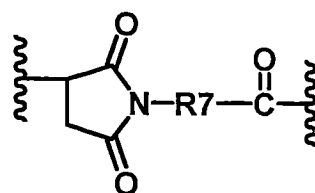
10. 一種具有式(VI)的配體-藥物耦合體或其藥學上可接受鹽類：



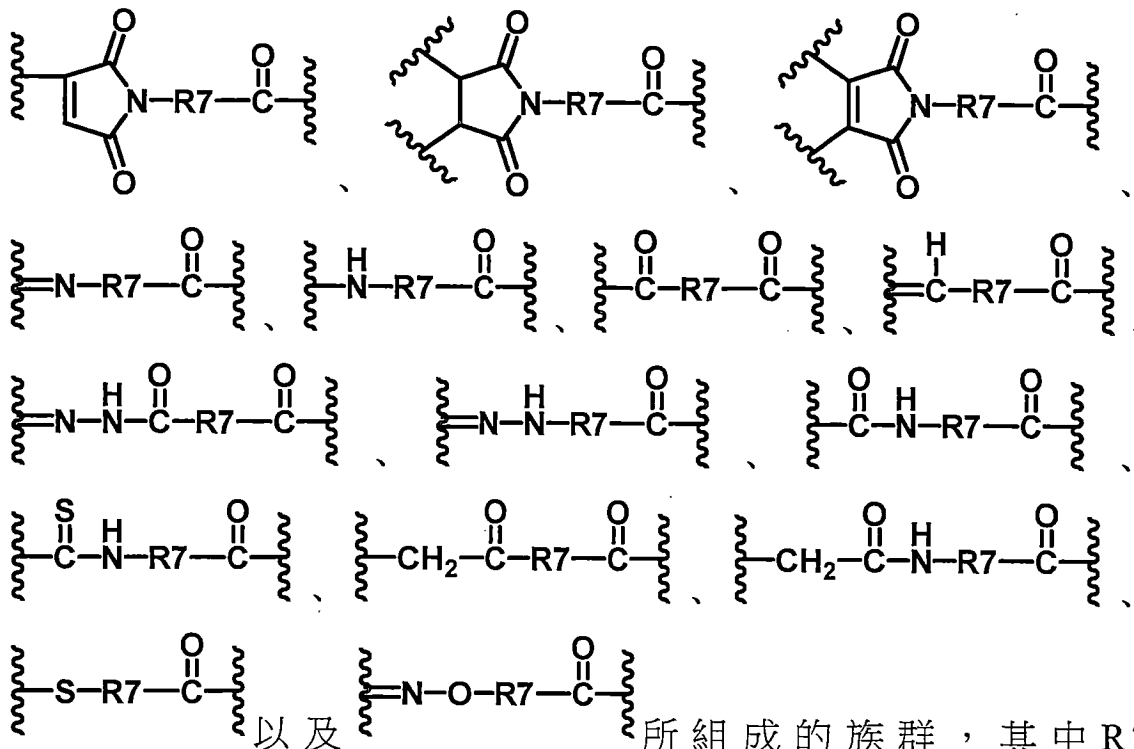
其中

p為1-20之整數；

L-為一配體單元，選自由全長抗體、抗體片段、蛋白質、小分子量蛋白質、多肽、寡肽、適體(aptamers)、凝集素、醣蛋白、脂蛋白、醣脂、維生素、營養傳輸分子、激素、寡糖、多醣以及任何其他細胞結合分子或物質所組成的族群；

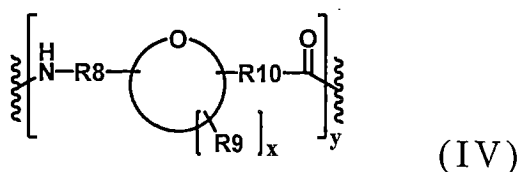


C- 為一耦合單元，選自由



以及所組成的族群，其中R7選自由-C1-C10亞烷基-、-C3-C8碳環基-、-O-(C1-C8烷基)-、-亞芳基-、-C1-C10亞烷基-亞芳基-、-亞芳基-C1-C10亞烷基-、-C1-C10亞烷基-(C3-C8碳環基)-、-(C3-C8碳環基)-C1-C10亞烷基-、-C3-C8雜環基-、-C1-C10亞烷基-(C3-C8雜環基)-、-(C3-C8雜環基)-C1-C10亞烷基-、-(伸乙氧基)_r-以及-(伸乙氧基)_r-CH₂-所組成的族群，以及r為1-10之整數；

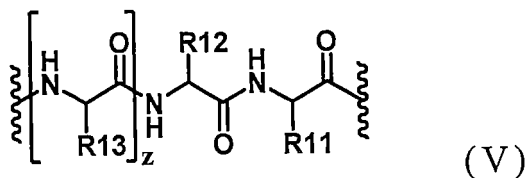
-SAAs-為一具有式(IV)的醯胺基酸單元：



其中x為1-8之整數，y為1-4之整數，為四氫 呋

喃、二氫呋喃、四氫吡喃或二氫吡喃，每一R8與R10獨立地為單鍵、亞甲基、羥基亞甲基、伸乙基、亞乙基、羥基伸乙基、羥基亞乙基、二羥基伸乙基、二羥基亞乙基、伸乙烯基、亞乙烯基、伸丙基(propylene)、亞丙基、三亞甲基(trimethylene)、羥基伸丙基(hydroxypropylene)、羥基亞丙基、羥基三亞甲基(hydroxytrimethylene)、二羥基伸丙基(dihydroxypropylene)、二羥基亞丙基、二羥基三亞甲基(dihydroxytrimethylene)、三羥基伸丙基(trihydroxypropylene)、三羥基亞丙基或三羥基三亞甲基(trihydroxytrimethylene)，每一R9獨立地為羥基、甲基、羥甲基、乙基、羥乙基、二羥乙基、丙基、羥丙基、二羥丙基或三羥丙基、或同一環中任意兩R9與其連接之碳原子形成羰基、或任意兩R9、R8與任意一R9、或R10與任意一R9形成與原四氫呋喃、二氫呋喃、四氫吡喃或二氫吡喃融合之第二個四氫呋喃、二氫呋喃、四氫吡喃或二氫吡喃、或任意兩R9、R8與任意一R9、或R10與任意一R9與一亞甲基、亞乙基、1-亞丙基、2-亞丙基或苯亞甲基形成與原四氫呋喃、二氫呋喃、四氫吡喃或二氫吡喃融合之環狀縮醛或縮酮；

-AAs-為一具有式(V)的胜肽單元：



其中 z 為 0-10 之整數， R_{11} 為 $-(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$ 、 $-(CH_2)_3NH_2$ 、 $-(CH_2)_3NHCONH_2$ 、 $-(CH_2)_4NHC(=NH)NH_2$ 、 $-(CH_2)_4NH_2$ 或 $-(CH_2)_4NHCONH_2$ ， R_{12} 為 氫、甲基、乙基、丙基、異丙基、環丙基、丁基、第二丁基、異丁基、第三丁基、環丁基、苯基或苯甲基， R_{13} 為 氫、甲基、異丙基、環丙基、丁基、第二丁基、異丁基、第三丁基、環丁基、環己基、苯基、苯甲基、*p*-羥基苯甲基、 $-CH_2OH$ 、 $-CH(OH)CH_3$ 、 $-CH_2CH_2SCH_3$ 、 $-CH_2CONH_2$ 、 $-CH_2COOH$ 、 $-CH_2CH_2CONH_2$ 、 $-CH_2CH_2COOH$ 、 $-(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$ 、 $-(CH_2)_3NH_2$ 、 $-(CH_2)_3NHCOCH_3$ 、 $-(CH_2)_3NHCHO$ 、 $-(CH_2)_4NHC(=NH)NH_2$ 、 $-(CH_2)_4NH_2$ 、 $-(CH_2)_4NHCOCH_3$ 、 $-(CH_2)_4NHCHO$ 、 $-(CH_2)_3NHCONH_2$ 、 $-(CH_2)_4NHCONH_2$ 、 $-CH_2CH_2CH(OH)CH_2NH_2$ 、2-吡啶甲基、3-吡啶甲基或 4-吡啶甲基；以及

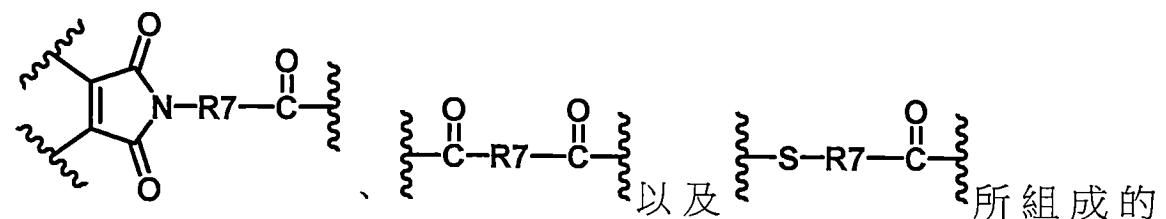
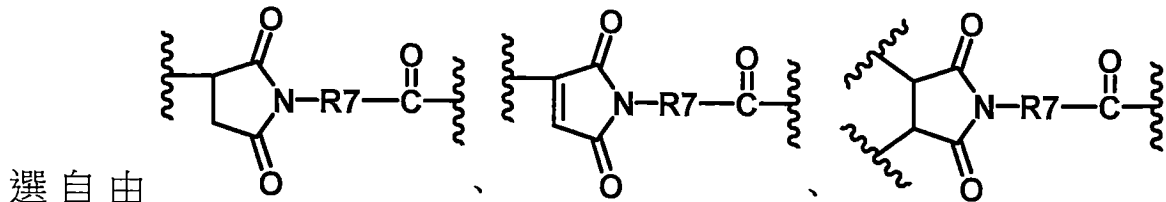
-D 為一細胞毒性劑，選自由鵝膏蕈鹼(amanitins)、蒽環類物(anthracyclines)、海兔毒素(auristatins)、漿果赤黴素(baccatins)、刺孢黴素(calicheamicins)、喜樹鹼(camptothecins)、西地黴素(cemadotins)、秋水仙鹼(colchicines)、秋水仙胺(colcimids)、考布他汀(combretastatins)、隱花素(cryptophysins)、蒂克黴素(discodermolides)、多卡黴素(duocarmycins)、棘黴素(echinomycins)、艾榴塞洛素(eleutherobins)、埃博黴素(epothilones)、雌莫司汀(estramustines)、偏端黴素(lexitropsins)、美登木素生物鹼(maytansinoids)、紡錘

黴素 (netropsins)、嘌呤黴素 (puromycins)、吡咯并苯并二氮雜卓 (pyrrolobenzodiazepines)、根黴素 (rhizoxins)、紫杉烷 (taxanes)、小管素 (tubulysins) 以及長春花生物鹼 (vinca alkaloids) 所組成的族群。

11. 如申請專利範圍第10項所述之具有式(VI)的配體-藥物耦合體或其藥學上可接受鹽類，其中該配體單元為與抗原結合之抗體。
12. 如申請專利範圍第11項所述之具有式(VI)的配體-藥物耦合體或其藥學上可接受鹽類，其中該抗體為嵌合抗體、人源化抗體或其功能活性片段。
13. 如申請專利範圍第11項所述之具有式(VI)的配體-藥物耦合體或其藥學上可接受鹽類，其中該抗體藉由該抗體之一半胱氨酸殘基連接至該耦合單元。
14. 如申請專利範圍第10項所述之具有式(VI)的配體-藥物耦合體或其藥學上可接受鹽類，其中p為2-8之整數。
15. 如申請專利範圍第14項所述之具有式(VI)的配體-藥物耦合體或其藥學上可接受鹽類，其中p為整數4。
16. 如申請專利範圍第10項所述之具有式(VI)的配體-藥物耦合體或其藥學上可接受鹽類，其中該配體單元為葉酸、甲氨蝶呤 (methotrexate) 或與葉酸受體結合之葉酸受體結合配體。
17. 如申請專利範圍第10項所述之具有式(VI)的配體-藥物耦合體或其藥學上可接受鹽類，其中該配體單元為促黃體激素釋放激素 (LHRH)、促黃體激素釋放激素促效劑、

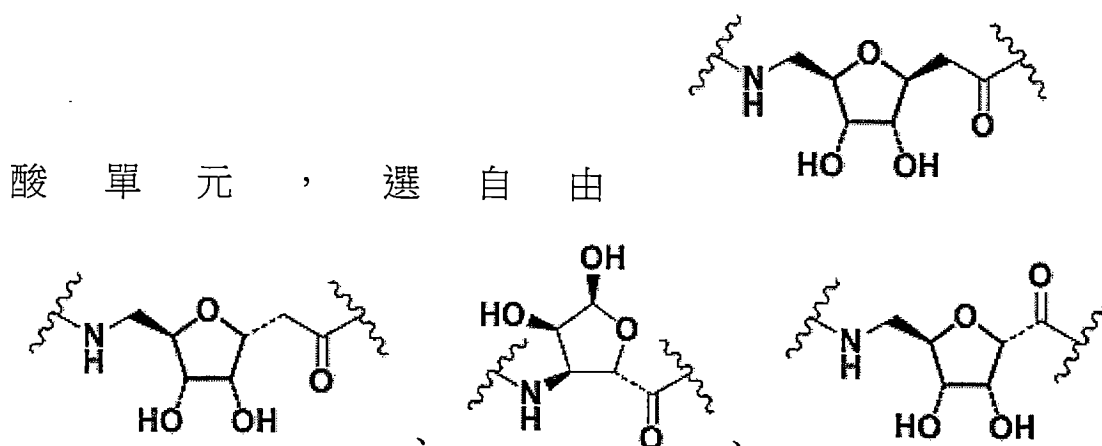
促黃體激素釋放激素拮抗劑或與促黃體激素釋放激素受體結合之促黃體激素釋放激素受體結合配體。

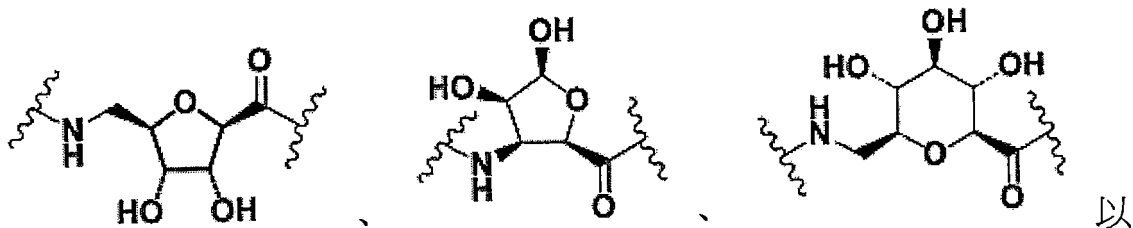
18. 如申請專利範圍第10項所述之具有式(VI)的配體-藥物耦合體或其藥學上可接受鹽類，其中C-為該耦合單元，



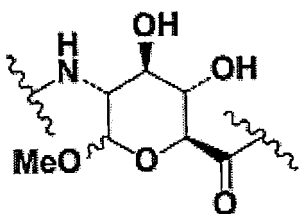
族群，其中R7選自由-1,5-伸戊基-、-1,6-伸己基-、-1,4-伸環己基-、-(伸乙氧基)r-亞甲基-以及-(伸乙氧基)r-亞甲基-亞甲基-所組成的族群，以及r為2-5之整數。

19. 如申請專利範圍第10項所述之具有式(VI)的配體-藥物耦合體或其藥學上可接受鹽類，其中-SAAs-為該糖胺基





以

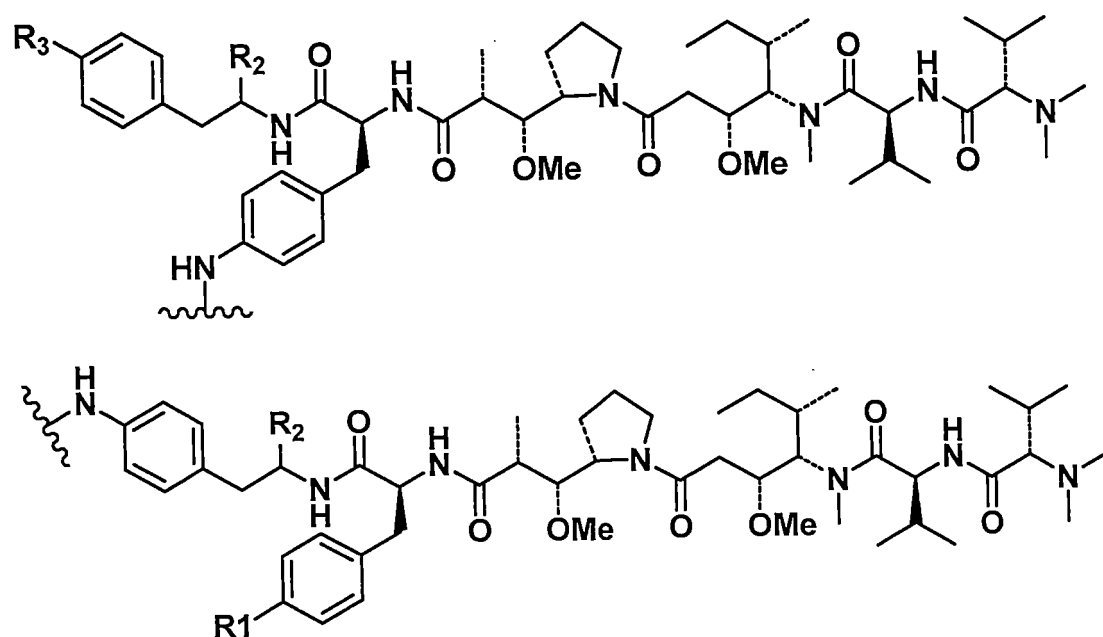


及

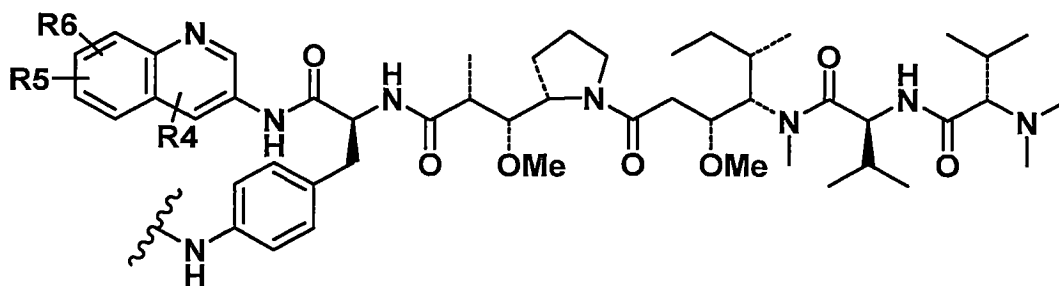
所組成的族群。

20. 如申請專利範圍第10項所述之具有式(VI)的配體-藥物耦合體或其藥學上可接受鹽類，其中-AAs-為該胜肽單元，選自由-纈胺酸-瓜胺酸-、-纈胺酸-離胺酸-、-纈胺酸-魚精胺酸-、-苯丙胺酸-瓜胺酸-、-苯丙胺酸-離胺酸-以及-苯丙胺酸-魚精胺酸-所組成的族群。

21. 如申請專利範圍第10項所述之具有式(VI)的配體-藥物耦合體或其藥學上可接受鹽類，其中-D為該細胞毒性劑，選自由



以



及

所組成的族群，其中每一 R1、R2、R3、R4、R5 與 R6 獨立地為氫、胺基、硝基、鹵素、羥基、甲氧基、乙氧基、羧基、甲氧基羰基、乙氧基羰基、甲基胺基、二甲基胺基、乙基胺基、二乙基胺基、1-吡咯啉基、1-哌啉基、1-哌嗪基、胺基羰基、甲基胺基羰基、二甲基胺基羰基、乙基胺基羰基、二乙基胺基羰基、1-吡咯啉基羰基、1-哌啉基羰基、1-哌嗪基羰基、甲基、乙基、丙基、異丙基或苯基。