



- (21) 申請案號：111142076 (22) 申請日：中華民國 111 (2022) 年 11 月 03 日
- (51) Int. Cl. : C07K5/02 (2006.01) C07K7/02 (2006.01)
 A61K47/68 (2017.01) A61P35/00 (2006.01)
- (30) 優先權：2021/11/03 美國 63/275,177
 2021/12/30 美國 63/295,476
- (71) 申請人：美商艾德森特克斯治療股份有限公司 (美國) ADCENTRX THERAPEUTICS INC.
 (US)
 美國
- (72) 發明人：李 理察 H LI, RICHARD HUI (US)；李 東駿 LEE, DONG JUN (US)
- (74) 代理人：劉法正；尹重君
- 申請實體審查：無 申請專利範圍項數：89 項 圖式數：0 共 172 頁

(54) 名稱

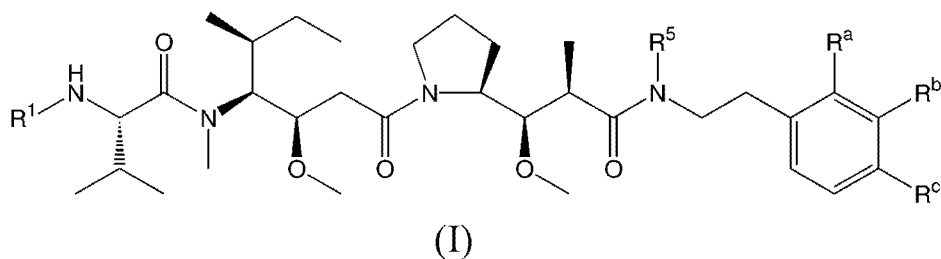
新穎的澳瑞他汀(AURISTATIN)類似物及其免疫綴合物

(57) 摘要

本發明提供新穎的澳瑞他汀(auristatin)類似物及其免疫綴合物，以及醫藥組成物及製備方法及用於治療各種疾病及病症(例如，癌症)之用途。

The invention provides novel auristatin analogs and immunoconjugates thereof, as well as pharmaceutical compositions and methods of preparation and use for treating various diseases and disorders (e.g., cancer).

特徵化學式：



【發明摘要】

【中文發明名稱】

新穎的澳瑞他汀(AURISTATIN)類似物及其免疫綴合物

【英文發明名稱】

NOVEL AURISTATIN ANALOGS AND IMMUNOCONJUGATES THEREOF

【中文】

本發明提供新穎的澳瑞他汀(auristatin)類似物及其免疫綴合物，以及醫藥組成物及製備方法及用於治療各種疾病及病症(例如，癌症)之用途。

【英文】

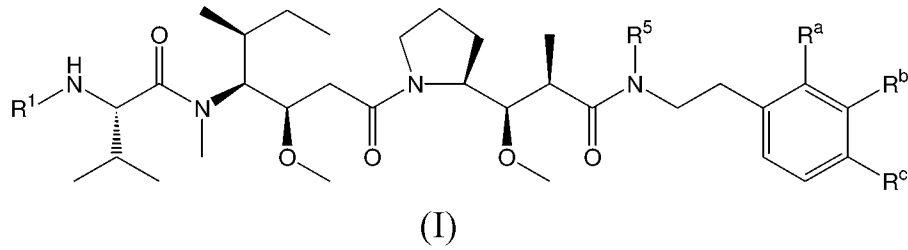
The invention provides novel auristatin analogs and immunoconjugates thereof, as well as pharmaceutical compositions and methods of preparation and use for treating various diseases and disorders (*e.g.*, cancer).

【指定代表圖】(無)

【代表圖之符號簡單說明】

(無)

【特徵化學式】



【發明說明書】

【中文發明名稱】

新穎的澳瑞他汀(AURISTATIN)類似物及其免疫綴合物

【英文發明名稱】

NOVEL AURISTATIN ANALOGS AND IMMUNOCONJUGATES
THEREOF

【技術領域】

優先權申請專利範圍及相關專利申請案

【0001】 本申請案主張 2021 年 11 月 3 日提交美國臨時申請案第 63/275,177 號及 2021 年 12 月 30 日提交的第 63/295,476 號之優先權，其各者之全部內容以引用之方式併入本文中。

發明領域

【0002】 本發明大體上係關於新穎的化合物及其治療性用途。更特定言之，本發明提供新穎的澳瑞他汀(auristatin)類似物及其免疫綴合物，以及醫藥組成物及製備方法及用於治療各種疾病及病症(例如，癌症)之用途。

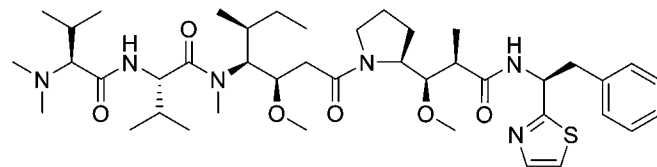
【先前技術】

發明背景

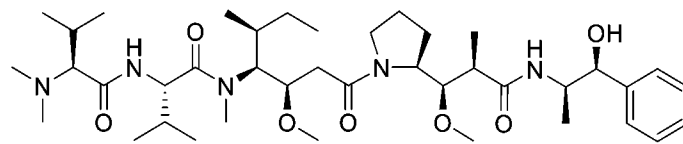
【0003】 細胞毒性劑(其由於其高細胞毒性而通常採用化學治療劑)通常經歷快速血漿清除及對癌細胞之較低選擇性。單株抗體療法之特徵在於高選擇性及長血漿半衰期，但通常具有有限的細胞毒性。抗體-藥物綴合物(Antibody-drug conjugates；ADC)(具有高細胞毒性及長血漿半衰期之一類療法)代表癌症治療之有前景的治療模式。迄今為止，十一種 ADC 已經 FDA 批准，包括吉妥單抗奧佐米星(gemtuzumab ozogamicin) (Mylotarg™)，在 2000 年經 FDA 批准之第一種 ADC。(參見，例如，Drago 等人 2021 *Nature Reviews* 18, 327-344；Mckertish 等人 2021 *Biomedicines* 9, 872；Khongorzui 等人 2020 *Molecular Cancer Res.* 18:3-

19 ; Bross 等人 **2001** *Clin. Cancer Res.* 7, 1490-1496 ; Hamann 等人 **2002** *Bioconjug. Chem.* 13, 47-58 ; Lamb, **2017** *Drugs* 77, 1603-1610 。)

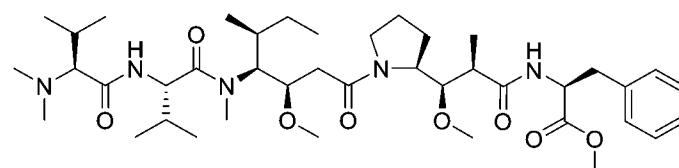
【0004】 澳瑞他汀為天然抗贅生性產物尾海兔素(dolastatin) 10 之複雜類似物家族。此等細胞毒性劑比小紅莓(Doxorubicin) (習知癌症化學療法藥物)更具 100 至 1,000 倍毒性。



尾海兔素 10



澳瑞他汀 E



澳瑞他汀 PHE

【0005】 咸信澳瑞他汀在有絲分裂階段引起癌細胞停滯且最終引起細胞凋亡。以澳瑞他汀為主之 ADC 近年來已為臨床研究之主題，其中一些已經 FDA 批准，例如在 2011 年首先批准之本妥昔單抗維多汀(brentuximab vedotin) (Adcetris™)。(參見，例如，McGinn 等人 **2012** *Clin. Cancer Res.* 18, 5845-5849 ; Deng 等人 **2013** *Clin. Cancer Res.* 19, 22-27 ; 美國專利第 6,884,869 B2 號 ; 美國專利第 7,498,298 B2 號 ; WO 2015/095301 A2 ; WO 2015/151079 A2 ; WO 2015/151081 A2 ; WO 2016/123412 A1 ; WO 2011/097627 A1 ; WO 2001/018032 A2 。)

【0006】 儘管近年來 ADC 之臨床開發取得顯著進展，但其設計及開發涉及許多挑戰，包括缺乏穩定性、高凝集傾向及有限生物可用性，以及適合於開發的有限數目之有效細胞毒性劑。

【0007】 有效且適用於開發的新穎澳瑞他汀類似物及基於新穎澳瑞他汀的

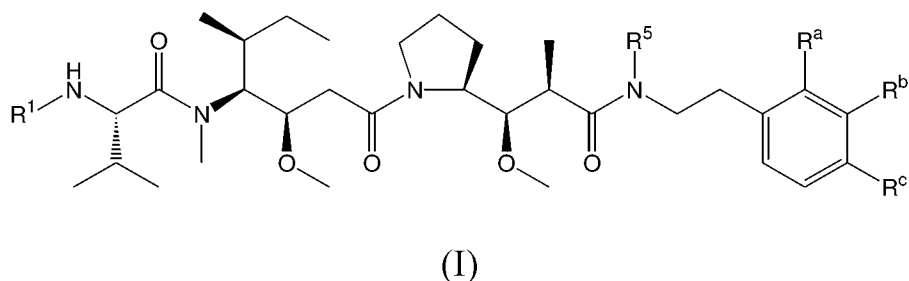
免疫綴合物為高度所需的。

【發明內容】

發明概要

【0008】 本發明提供具有使其適合在免疫綴合物中使用之高細胞毒性及有利穩定性及其他特性的新穎澳瑞他汀類似物。本文所揭露之澳瑞他汀類似物的特徵在於位置 5(P5)位置處之獨特 N-取代與附近苯胺基協同組合以供與連接子綴合，位置 1(P1)處之進一步變化用於微調有效負載以適合不同的 ADC 構築體及應用。高效力、高穩定性、低免疫原性以及增加之滲透性及令人滿意的溶解度使得此等化合物理想地適合作為細胞毒性劑以用於開發免疫綴合物作為癌症之新穎治療劑。

【0009】 在一個態樣中，本發明大體上係關於一種化合物，其具有結構式 (I)：



或其醫藥學上可接受之鹽，

其中

R^1 為 ，其中 R^2 為未經取代或經取代之 C_1 - C_6 烷基、雜烷基、環烷基或環雜烷基；

R^a 、 R^b 及 R^c 中之各者係選自 H 及 NR^xR^y ，其限制條件為 R^a 、 R^b 及 R^c 中之僅一者為 NR^xR^y 且其他者中之各者為 H；

R^x 及 R^y 中之各者獨立地選自 R、 R^t 及 $L-R^z$ ，其限制條件為當 R^x 及 R^y 中之

一者為 L-R^z 或 R^r 時，其他者為 R；

R⁵ 為 CR'₃，其中各 R' 獨立地為 H 或 F；

L 為連接子；

R^r 為 (C=O)-O-(CH₂)_p-R^v 或 (C=O)-(CH₂)_q-R^v；

R^v 為 R、OR、NHR、NR₂、芳基或胺基酸；

p 為 0、1、2、3、4、5 或 6；

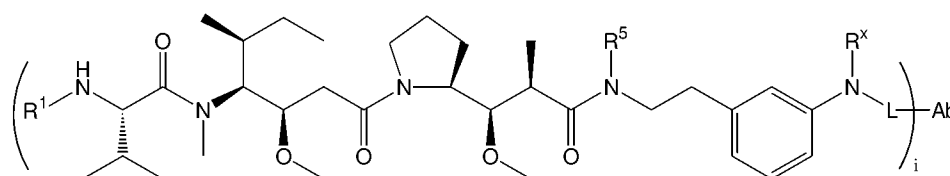
q 為 0、1、2、3、4、5 或 6；

R^z 包含官能性或反應性基團；且

R 為 H 或 C₁-C₃ 烷基。

【0010】在另一態樣中，本發明大體上係關於一種組成物，其包含本文所揭露之化合物，諸如根據本文中之式(I)-(V⁶)及表 1 中之任一者，或其醫藥學上可接受之鹽，及任擇地醫藥學上可接受之賦形劑、載體或稀釋劑。

【0011】在又另一態樣中，本發明大體上係關於一種免疫綴合物，其具有結構式(VI)：

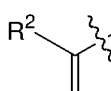


(VI)

或其醫藥學上可接受之鹽，

其中

Ab 表示抗原結合部分；

R¹ 為 ，其中 R² 為未經取代或經取代之 C₁-C₆ 烷基、雜烷基、環烷基或環雜烷基；

R^x 及 R^y 中之各者獨立地選自 R 及 $L-R^z$ ，其限制條件為當 R^x 及 R^y 中之一者為 NR^z 時，其他者為 R ；

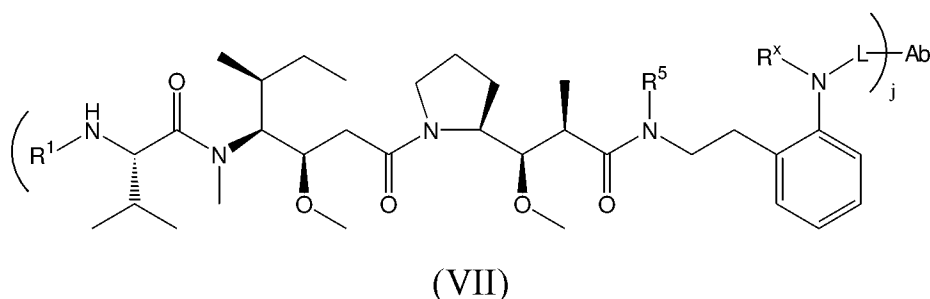
R^5 為 CR'_3 ，其中各 R' 獨立地為 H 或 F ；

L 為連接子；且

R 為 H 或 C_1-C_3 烷基；且

i 為 1 至約 20 範圍內之整數。

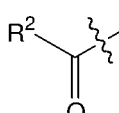
【0012】在又另一態樣中，本發明大體上係關於一種免疫綴合物，其具有結構式(VII)：



或其醫藥學上可接受之鹽，

其中

Ab 表示抗原結合部分；

R^1 為 ，其中 R^2 為未經取代或經取代之 C_1-C_6 烷基、雜烷基、環烷基或環雜烷基；

R^x 及 R^y 中之各者獨立地選自 R 及 $L-R^z$ ，其限制條件為當 R^x 及 R^y 中之一者為 NR^z 時，其他者為 R ；

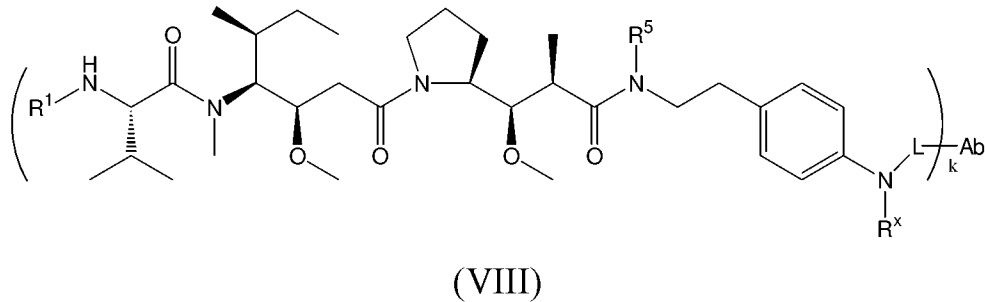
R^5 為 CR'_3 ，其中各 R' 獨立地為 H 或 F ；

L 為連接子；且

R 為 H 或 C_1-C_3 烷基；且

j 為 1 至約 20 範圍內之整數。

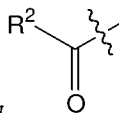
【0013】在又另一態樣中，本發明大體上係關於一種免疫綴合物，其具有結構式(VIII)：



或其醫藥學上可接受之鹽，

其中

Ab 表示抗原結合部分；

R^1 為 ，其中 R^2 為未經取代或經取代之 C_1 - C_6 烷基、雜烷基、環烷基或環雜烷基；

R^x 及 R^y 中之各者獨立地選自 R 及 $L-R^z$ ，其限制條件為當 R^x 及 R^y 中之一者為 NR^z 時，其他者為 R；

R^5 為 CR'_3 ，其中各 R' 獨立地為 H 或 F；

L 為連接子；且

R 為 H 或 C_1 - C_3 烷基；且

k 為 1 至約 20 範圍內之整數。

【0014】在又另一態樣中，本發明大體上係關於一種醫藥組成物，其包含本文所揭露之免疫綴合物或其醫藥學上可接受之鹽，及醫藥學上可接受之賦形劑、載體或稀釋劑。

【0015】在又另一態樣中，本發明大體上係關於一種組合，其包含治療有效量的本文中所揭露之免疫綴合物，及一或多種治療活性助劑及/或佐劑。

【0016】在又另一態樣中，本發明大體上係關於一種用於治療或減輕疾病

或病況之方法，其包含向有需要之個體投予治療有效量的本文中所揭露之免疫綴合物。

【0017】 在又另一態樣中，本發明大體上係關於本文所揭露之免疫綴合物用於製造藥劑之用途。

【0018】 在又另一態樣中，本發明大體上係關於本文所揭露之免疫綴合物用於治療疾病或病況(例如，癌症)之用途。

【實施方式】

較佳實施例之詳細說明

【0019】 本發明部分地基於具有有利的效力、穩定性及其他概況之新穎澳瑞他汀類似物作為免疫綴合物之有效負載的發現。對現有澳瑞他汀之關鍵結構改良包括 P5 處之 N-甲基取代與附近苯胺基協同組合以供與連接子綴合。此等修改引起有效負載之滲透性增加且使得能夠經由 C 端進行連接子安裝。有效負載分子之進一步微調可經由 P1 處之修改實現以適合廣泛範圍之 ADC 構築體及應用。舉例而言，苯胺基允許 ADC 構築體傾向於更佳的保持有效負載之效力。此外，高效且穩定的細胞毒性劑亦享有令人滿意的溶解度及低免疫原性，使得其適用於開發為免疫綴合物及癌症之新穎治療劑。

定義

【0020】 除非另外規定，否則本文所使用之所有技術及科學術語具有與本發明所屬的所屬技術領域中具有通常知識者通常所理解相同之含義。有機化學之一般原理以及特異性功能部分及反應性描述於「Organic Chemistry」, Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 2006 中。

【0021】 除非根據發現術語之情形另外規定，否則以下術語意欲具有以下含義。

【0022】 本文所提供之範圍應理解為範圍內所有值之簡寫。舉例而言，1 至

16 之範圍應理解為包括來自由 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15 或 16 組成之群的任何數目、數目組合或子範圍。

【0023】如本文所使用，「至少」一特定值應理解為該值及大於該值之所有值。

【0024】如本文所使用，「超過一」應理解為 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、40、50、100 等，或其間之任何值。

【0025】在本說明書及隨附申請專利範圍中，除非上下文另外明確規定，否則單數形式「一(a/an)」及「該(the)」包括多個指示物。

【0026】除非上下文明確陳述或顯而易見，否則如本文所用，術語「約」應理解為在此項技術中之正常容限範圍內，例如在平均值之 2 個標準差內。約可理解為在所陳述值之 10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.1%、0.05%或 0.01%內。除非上下文另外明確說明，否則本文所提供之所有數值均由術語約來修飾。

【0027】除非明確陳述或自上下文顯而易見，否則如本文所用，術語「或」應理解為包括性的。

【0028】本文所揭露之任何組成物或方法均可與本文所提供之任何其他組成物及方法中之一或多者組合。

【0029】本文變數之任何定義中的化學基團清單之敘述包括該變數呈任何單一基團或所列基團組合形式的定義。本文變數或態樣之實施例之敘述包括作為任何單一實施例或與任何其他實施例或其部分組合的該實施例。

【0030】當用於定義組成物及方法時，術語「包含」意欲意謂組成物及方法包括所敘述要素，但不排除其他要素。當用於定義組成物及方法時，術語「基本上由…組成」應意謂組成物及方法包括所敘述要素且排除對組成物及方法具

有任何重要意義之其他要素。舉例而言，「基本上由…組成」係指投予明確敘述之藥理學活性劑且排除未明確敘述之藥理學活性劑。術語基本上由…組成並不排除藥理學非活性劑或惰性劑，例如醫藥學上可接受之賦形劑、載體或稀釋劑。當用於定義組成物及方法時，術語「由…組成」應意謂排除其他成分之痕量要素及實質性方法步驟。由此等過渡術語中之各者定義的實施例在本發明之範疇內。

【0031】 本發明之某些化合物可以特定幾何或立體異構形式存在。本發明涵蓋如在本發明範疇內之所有此類化合物，包括順式異構物及反式異構物、構型異構物、*R*-鏡像異構物及 *S*-鏡像異構物、非鏡像異構物、(d)-異構物、(l)-異構物、其外消旋混合物及其他其混合物。額外不對稱碳原子可存在於諸如烷基之取代基中。所有此類異構物以及其混合物意欲包括於本發明中。在某些實施例中，各不對稱原子具有 *R*-組態或 *S*-組態之至少 50%鏡像異構過量、至少 60%鏡像異構過量、至少 70%鏡像異構過量、至少 80%鏡像異構過量、至少 90%鏡像異構過量、至少 95%鏡像異構過量或至少 99%鏡像異構過量。對於光學活性化合物，通常較佳使用一種鏡像異構物以實質性排除另一種鏡像異構物。

【0032】 含有各種異構物比率中之任一者的異構混合物可根據本發明使用。舉例而言，當組合僅二種異構物時，本發明涵蓋含有 50:50、60:40、70:30、80:20、90:10、95:5、96:4、97:3、98:2、99:1 或 100:0 異構物比率之混合物。所屬技術領域中具有通常知識者將容易瞭解，涵蓋類似比率以用於更複雜的異構物混合物。

【0033】 舉例而言，若需要本發明化合物之特定鏡像異構物，則其可藉由不對稱合成或藉由用對掌性助劑衍生來製備，其中所得非鏡像異構混合物經分離且輔助基團裂解以提供純的所需鏡像異構物。替代地，在分子含有鹼性官能基(諸如胺基)或酸性官能基(諸如羧基)的情況下，與適當光學活性酸或鹼形成非鏡像異構鹽，接著藉由此項技術中熟知之分步結晶或層析方法解析由此形成之非

鏡像異構物，且隨後回收純的鏡像異構物。

【0034】異構物之混合物可基於組分之物理化學差異分離成純的或實質上純的幾何或光學異構物、非鏡像異構物、外消旋物，例如藉由層析及/或分步結晶。

【0035】下文更詳細地描述特定官能基及化學術語之定義。當列出值範圍時，希望該範圍內涵蓋各值及子範圍。舉例而言，「C₁₋₆ 烷基」意欲涵蓋 C₁、C₂、C₃、C₄、C₅、C₆、C₁₋₆、C₁₋₅、C₁₋₄、C₁₋₃、C₁₋₂、C₂₋₆、C₂₋₅、C₂₋₄、C₂₋₃、C₃₋₆、C₃₋₅、C₃₋₄、C₄₋₆、C₄₋₅ 及 C₅₋₆ 烷基。

【0036】在取代基藉由其自左至右書寫之習知化學式指定的情況下，其同樣涵蓋由自右向左書寫結構產生的化學上一致之取代基，例如-C(=O)-O-等效於-O-C(=O)-。

【0037】本發明化合物之結構受到熟習此項技術者已知之化學鍵結原理的限制。因此，在基團可經多個取代基中之一或多者取代的情況下，選擇此類取代以便符合化學鍵結之原理且得到本身不穩定及/或所屬技術領域中具有通常知識者已知在環境條件(諸如水性、中性及數種已知生理條件)下可能不穩定之化合物。

【0038】如本文所使用，術語「烷基」係指僅由碳原子及氫原子組成、不含不飽和度、具有一至十個碳原子(例如，C₁₋₁₀ 烷基)之直鏈或分支鏈烴鏈基團。不論何時出現在本文中時，諸如「1 至 10」之數值範圍係指所給出範圍中之各整數；例如，「1 至 10 個碳原子」意謂烷基可由 1 個碳原子、2 個碳原子、3 個碳原子等至多並包括 10 個碳原子組成，但本定義亦覆蓋未指定數值範圍之術語「烷基」之存在。在一些實施例中，「烷基」可為 C₁₋₆ 基團。在一些實施例中，烷基具有 1 至 10 個、1 至 8 個、1 至 6 個或 1 至 3 個碳原子。代表性飽和直鏈烷基包括但不限於-甲基、-乙基、-正丙基、-正丁基、-正戊基及-正己基；而飽和分支鏈

烷基包括但不限於-異丙基、-二級丁基、-異丁基、-三級丁基、-異戊基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2-甲基己基、3-甲基己基、4-甲基己基、5-甲基己基、2,3-二甲基丁基及類似基團。烷基藉由單鍵連接至親代分子。除非另外陳述，否則在本說明書中，烷基任擇地經獨立地包括以下之取代基中之一或多者取代：醯基、烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷芳基、環烷基、芳烷基、芳基、芳氧基、胺基、醯胺基、甲脒基、亞胺基、疊氮化物、碳酸酯基、胺基甲酸酯基、羰基、雜烷基、雜芳基、雜芳基烷基、雜環烷基、羥基、氰基、鹵基、鹵烷氧基、鹵烷基、酯、醚、氫硫基、硫基、烷基硫基、芳基硫基、硫羰基、硝基、側氧基、磷酸酯基、膦酸酯基、亞膦酸酯基、矽基、亞砷基、磺醯基、磺醯胺基、磺基、磺酸酯基、脲、 $-\text{Si}(\text{R}^a)_3$ 、 $-\text{OR}^a$ 、 $-\text{SR}^a$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^a$ 、 $-\text{N}(\text{R}^a)_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^a$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^a)_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^a)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$ 、 $-\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{O})\text{R}^a$ 、 $-\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^a)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{NR}^a)\text{N}(\text{R}^a)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^a)\text{S}(\text{O})_t\text{N}(\text{R}^a)_2$ (其中 t 為 1 或 2)、 $-\text{P}(=\text{O})(\text{R}^a)(\text{R}^a)$ 或 $-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OR}^a)_2$ ，其中各 R^a 獨立地為氫、烷基、鹵烷基、碳環、碳環基烷基、芳基、芳烷基、雜環烷基、雜環烷基烷基、雜芳基或雜芳基烷基，且此等部分中之各者可如本文所定義任擇地經取代。在一非限制性實施例中，經取代之烷基可選自氟甲基、二氟甲基、三氟甲基、2-氟乙基、3-氟丙基、羥甲基、2-羥乙基、3-羥丙基、苯甲基及苯乙基。

【0039】 如本文所使用，術語「烷氧基」係指經由氧連接至親代分子結構之基團-O-烷基，包括 1 至 10 個碳原子(C_{1-10})的直鏈、分支鏈、飽和環狀組態及其組合。實例包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、異丙氧基、丁氧基、三級丁氧基、戊氧基、環丙基氧基、環己氧基及類似基團。「低碳數烷氧基」係指含有一至六個碳之烷氧基。在一些實施例中， C_{1-3} 烷氧基為涵蓋 1 至 3 個碳原子之直鏈及分支鏈烷基的烷氧基。除非另外陳述，否則在本說明書中，烷氧基可任擇地經獨立地包括以下之一或多個取代基取代：醯基、烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷芳基、

環烷基、芳烷基、芳基、芳氧基、胺基、醯胺基、甲脒基、亞胺基、疊氮化物、碳酸酯基、胺基甲酸酯基、羰基、雜烷基、雜芳基、雜芳基烷基、雜環烷基、羥基、氰基、鹵基、鹵烷氧基、鹵烷基、酯、醚、氫硫基、硫基、烷基硫基、芳基硫基、硫羰基、硝基、側氧基、磷酸酯基、磷酸酯基、亞磷酸酯基、矽基、亞碲基、磺醯基、磺醯胺基、磺基、磺酸酯基、脲、 $-\text{Si}(\text{R}^a)_3$ 、 $-\text{OR}^a$ 、 $-\text{SR}^a$ 、 $-\text{OC}(\text{O})-\text{R}^a$ 、 $-\text{N}(\text{R}^a)_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^a$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^a)_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^a)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$ 、 $-\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{O})\text{R}^a$ 、 $-\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^a)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{NR}^a)\text{N}(\text{R}^a)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^a)\text{S}(\text{O})_t\text{N}(\text{R}^a)_2$ (其中 t 為 1 或 2)、 $-\text{P}(=\text{O})(\text{R}^a)(\text{R}^a)$ 或 $-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OR}^a)_2$ ，其中各 R^a 獨立地為氫、烷基、鹵烷基、碳環、碳環基烷基、芳基、芳烷基、雜環烷基、雜環烷基烷基、雜芳基或雜芳基烷基，且此等部分中之各者可如本文所定義任擇地經取代。

【0040】 如本文所使用，術語「芳族」或「芳基」係指具有 6 至 14 環原子之基團(例如， C_{6-14} 芳族或 C_{6-14} 芳基)，其具有至少一個環，該環具有作為碳環的共軛 π 電子系統(例如，苯基、萘基及蒽基)。在一些實施例中，芳基為 C_{6-10} 芳基。舉例而言，將由經取代苯衍生物形成且在環原子處具有自由價數之二價基團命名為經取代之伸苯基。在其他實施例中，藉由自具有自由價之碳原子移除氫原子而衍生自名稱以「基(-yl)」結尾之單價多環烴基的二價基團藉由將「亞/伸(-idene)」添加至對應單價基團之名稱來命名，例如具有二個連接點之蒽基稱為伸蒽基。不論何時出現在本文中時，諸如「6 至 14 個芳基」之數值範圍係指給定範圍中之各整數；例如「6 至 14 個環原子」意謂芳基可由 6 個環原子、7 個環原子等至多並包括 14 個環原子組成。該術語包括單環或稠環多環(亦即，共用相鄰環原子對之環)基團。多環芳基包括雙環、三環、四環及類似者。在多環基團中，僅需要一個環為芳族的，因此芳基定義涵蓋諸如二氫萘基之基團。芳基之非限制性實例包括苯基、萘基、蒽基、四氫蒽基、菲基、蔥基、萘基、吲哚基、二氫萘基及類似基團。除非另外陳述，否則在本說明書中，芳基部分可任擇地經獨立地

包括以下之一或多個取代基取代：醯基、烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷芳基、環烷基、芳烷基、芳基、芳氧基、胺基、醯胺基、甲脞基、亞胺基、疊氮化物、碳酸酯基、胺基甲酸酯基、羰基、雜烷基、雜芳基、雜芳基烷基、雜環烷基、羥基、氰基、鹵基、鹵烷氧基、鹵烷基、酯、醚、氫硫基、硫基、烷基硫基、芳基硫基、硫羰基、硝基、側氧基、磷酸酯基、磷酸酯基、亞磷酸酯基、矽基、亞砷基、磺醯基、磺醯胺基、磺基、磺酸酯基、脲、 $-\text{Si}(\text{R}^a)_3$ 、 $-\text{OR}^a$ 、 $-\text{SR}^a$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^a$ 、 $-\text{N}(\text{R}^a)_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^a$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^a)_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^a)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$ 、 $-\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{O})\text{R}^a$ 、 $-\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^a)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{NR}^a)\text{N}(\text{R}^a)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^a)\text{S}(\text{O})_t\text{N}(\text{R}^a)_2$ (其中 t 為 1 或 2)、 $-\text{P}(=\text{O})(\text{R}^a)(\text{R}^a)$ 或 $-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OR}^a)_2$ ，其中各 R^a 獨立地為氫、烷基、鹵烷基、碳環、碳環基烷基、芳基、芳烷基、雜環烷基、雜環烷基烷基、雜芳基或雜芳基烷基，且此等部分中之各者可如本文所定義任擇地經取代。

【0041】 如本文所使用，術語「環烷基」及「碳環基」各自係指僅含有碳及氫之單環或多環基團，且可為飽和或部分不飽和的。除非另外陳述，否則在本說明書中，該術語意欲包括經取代及未經取代之環烷基。若碳環含有至少一個雙鍵，則部分不飽和環烷基可稱為「環烯基」，或若碳環含有至少一個參鍵，則稱為「環炔基」。環烷基包括具有 3 至 13 個環原子之基團(亦即， C_{3-13} 環烷基)。不論何時出現在本文中時，諸如「3 至 10」之數值範圍係指給定範圍內之各整數；例如，「3 至 13 個碳原子」意謂環烷基可由 3 個碳原子、4 個碳原子、5 個碳原子等至多並包括 13 個碳原子組成。術語「環烷基」亦包括不含雜原子之橋接及螺稠合環狀結構。該術語亦包括單環或稠環多環(亦即，共用相鄰環原子對之環)基團。多環芳基包括雙環、三環、四環及類似者。在一些實施例中，「環烷基」可為 C_{3-8} 環烷基。在一些實施例中，「環烷基」可為 C_{3-5} 環烷基。環烷基之說明性實例包括但不限於以下部分： C_{3-6} 碳環基包括但不限於環丙基(C_3)、環丁基(C_4)、環戊基(C_5)、環戊烯基(C_5)、環己基(C_6)、環己烯基(C_6)、環己二烯基(C_6)及類似基

團。C₃₋₇ 碳環基之實例包括降莖基(norbornyl) (C₇)。C₃₋₈ 碳環基之實例包括前述 C₃₋₇ 碳環基以及環庚基(C₇)、環庚二烯基(C₇)、環庚三烯基(C₇)、環辛基(C₈)、雙環[2.2.1]庚烷基、雙環[2.2.2]辛基及類似基團。C₃₋₁₃ 碳環基之實例包括前述 C₃₋₈ 碳環基以及八氫-1H 茛基、十氫萘基、螺[4.5]癸基及類似基團。除非另外陳述，否則在本說明書中，環烷基可任擇地經獨立地包括以下之一或多個取代基取代：醯基、烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷芳基、環烷基、芳烷基、芳基、芳氧基、胺基、醯胺基、甲脒基、亞胺基、疊氮化物、碳酸酯基、胺基甲酸酯基、羰基、雜烷基、雜芳基、雜芳基烷基、雜環烷基、羥基、氰基、鹵基、鹵烷氧基、鹵烷基、酯、醚、氫硫基、硫基、烷基硫基、芳基硫基、硫羰基、硝基、側氧基、磷酸酯基、膦酸酯基、亞膦酸酯基、矽基、亞碲基、磺醯基、磺醯胺基、磺基、磺酸酯基、脲、-Si(R^a)₃、-OR^a、-SR^a、-OC(O)-R^a、-N(R^a)₂、-C(O)R_a、-C(O)OR^a、-OC(O)N(R^a)₂、-C(O)N(R^a)₂、-N(R^a)C(O)OR^a、-N(R^a)C(O)R^a、-N(R^a)C(O)N(R^a)₂、-N(R^a)C(NR^a)N(R^a)₂、-N(R^a)S(O)_tN(R^a)₂ (其中 t 為 1 或 2)、-P(=O)(R^a)(R^a)或-O-P(=O)(OR^a)₂，其中各 R^a 獨立地為氫、烷基、鹵烷基、碳環基、碳環基烷基、芳基、芳烷基、雜環烷基、雜環烷基烷基、雜芳基或雜芳基烷基，且此等部分中之各者可如本文所定義任擇地經取代。術語「環烯基」及「環炔基」反映「環烷基」之以上描述，其中字首「烷(alk)」分別經「烯(alken)」或「炔(alkyn)」置換，且親代「烯基」或「炔基」術語係如本文所描述。舉例而言，環烯基可具有 3 至 13 個環原子，諸如 5 至 8 個環原子。在一些實施例中，環炔基可具有 5 至 13 個環原子。

【0042】 如本文所使用，術語「雜環烷基」係指環烷基，其具有一或多個選自除碳以外之原子的骨架鏈原子，例如 O、N、S、P 或其組合。除非另外陳述，否則在本說明書中，該術語意欲包括經取代及未經取代之雜環烷基。雜環烷基之說明性實例包括 2-羥基-氮丙啶-1-基、3-側氧基-1-氧雜環丁-2-基、2,2-二甲

基-四氫呋喃-3-基、3-羧基-咪啉-4-基、1-環丙基-4-甲基-哌啶-2-基、2-吡咯啉基、3-吡咯啉基、二氫-2H-哌喃基、1,2,3,4-四氫吡啶、3,4-二氫-2H-[1,4]嘔啉等。

【0043】 如本文所使用，術語「鹵素」係指氟(F)、氯(Cl)、溴(Br)或碘(I)。如本文所使用，術語「鹵化物」或「鹵基」意謂氟、氯、溴或碘。術語「鹵烷基」、「鹵烯基」、「鹵炔基」及「鹵烷氧基」包括經一或多個鹵基或經其組合取代之烷基、烯基、炔基及烷氧基結構。舉例而言，術語「氟烷基」及「氟烷氧基」分別包括鹵烷基及鹵烷氧基，其中鹵基為氟，諸如但不限於三氟甲基、二氟甲基、2,2,2-三氟乙基、1-氟甲基-2-氟乙基及類似基團。烷基、烯基、炔基及烷氧基中之各者係如本文所定義且可如本文所定義任擇地進一步經取代。

【0044】 如本文所使用，術語「雜原子」係指氧(O)、氮(N)、硫(S)及磷(P)。

【0045】 如本文所使用，術語「雜烷基」係指烷基，其具有一或多個選自除碳以外之原子的骨架鏈原子，例如氧、氮、硫、磷或其組合。可給定數值範圍，例如 C₁₋₄ 雜烷基，其係指總鏈長，在此實例中為 4 個原子長。舉例而言，-CH₂OCH₂CH₃ 基團稱為「C₄」雜烷基，其在原子鏈長描述中包括雜原子中心。可經由雜烷基鏈中之雜原子或碳連接至親代分子結構。舉例而言，含 N 雜烷基部分係指其中骨架原子中之至少一者為氮原子的基團。雜烷基中之一或多個雜原子可任擇地經氧化。若存在，一或多個氮原子亦可任擇地經四級銨化。舉例而言，雜烷基亦包括經一或多氮氧化物(-O-)取代基取代之骨架鏈。例示性雜烷基包括但不限於醚，諸如甲氧基乙烷基(-CH₂CH₂OCH₃)、乙氧基乙烷基(-CH₂OCH₂CH₃)、(甲氧基甲氧基)乙烷基(-CH₂CH₂OCH₂OCH₃)、(甲氧基甲氧基)甲烷基(-CH₂OCH₂OCH₃)及(甲氧基乙氧基)甲烷基(-CH₂OCH₂CH₂OCH₃)及類似基團；胺，諸如(-CH₂CH₂NHCH₃)、(-CH₂CH₂N(CH₃)₂)、(-CH₂NHCH₂CH₃)、(-CH₂N(CH₂CH₃)(CH₃))及類似基團。

【0046】 如本文所使用，術語「雜芳基」或替代地「雜芳族」係指具有環

碳原子及 1 至 6 個提供於芳族環系統中之環雜原子的 5 至 18 員單環或多環(例如，雙環、三環、四環及類似者)芳族環系統(例如，在環狀陣列中共用 6、10 或 14 個 π 電子)之基團，其中各雜原子獨立地選自氮、氧、磷及硫(「5 至 18 員雜芳基」)。雜芳基多環系統可在一個或兩個環中包括一或多個雜原子。不論何時出現在本文中時，諸如「5 至 18」之數值範圍係指給定範圍中之各整數，例如「5 至 18 個環原子」意謂雜芳基可由 5 個環原子、6 個環原子等至多並包括 18 個環原子組成。在一些情況下，雜芳基可具有 5 至 14 個環原子。在一些實施例中，具有例如藉由自具有自由價之原子移除氫原子而衍生自名稱以「基」結尾之單價雜芳基之二價基團的雜芳基藉由將「亞/伸」添加至對應單價基團之名稱來命名，例如具有二個連接點之吡啶基為伸吡啶基。

【0047】 舉例而言，含 N「雜芳族」或「雜芳基」部分係指其中環之骨架原子中之至少一者為氮原子的芳族基。雜芳基中之一或多個雜原子可任擇地經氧化。若存在，一或多個氮原子亦可任擇地經四級銨化。雜芳基包括經一或多個氮氧化物(-O-)取代基取代之環系統，諸如吡啶基 N-氧化物。雜芳基經由環之任何原子連接至親代分子結構。

【0048】 「雜芳基」亦包括環系統，其中如上文所定義之雜芳基環與一或多個芳基稠合，其中與親代分子結構之連接點在芳基上或在雜芳基環上，或其中如上文所定義之雜芳基環與一或多個環烷基或雜環基稠合，其中與親代分子結構之連接點在雜芳基環上。對於其中一個環不含雜原子之多環雜芳基(例如，吡啶基、喹啉基、咪唑基及類似基團)，與親代分子結構之連接點可在任一環上，亦即攜帶雜原子之環(例如，2-吡啶基)或不含雜原子之環(例如，5-吡啶基)。在一些實施例中，雜芳基為具有環碳原子及 1 至 4 個提供於芳族環系統中之環雜原子的 5 至 10 員芳族環系統，其中各雜原子獨立地選自氮、氧、磷及硫(「5 至 10 員雜芳基」)。在一些實施例中，雜芳基為具有環碳原子及 1 至 4 個提供於芳族環

喹啉基、喹啉基、喹啉基、異喹啉基、四氫喹啉基、5,6,7,8-四氫喹啉基、5,6,7,8-四氫苯并[4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶基、6,7,8,9-四氫-5H-環庚[4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶基、5,6,7,8-四氫吡啶并[4,5-c]嘧啶基、噻唑基、噻二唑基、噻喃基、三唑基、四唑基、三吡基、噻吩并[2,3-d]嘧啶基、噻吩[3,2-d]嘧啶基、噻吩并[2,3-c]吡啶基及苯硫基(亦即，噻吩基)。除非另外陳述，否則在本說明書中，雜芳基部分可任擇地經獨立地包括以下之一或多個取代基取代：醯基、烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷芳基、環烷基、芳烷基、芳基、芳氧基、胺基、醯胺基、甲脒基、亞胺基、疊氮化物、碳酸酯基、胺基甲酸酯基、羰基、雜烷基、雜芳基、雜芳基烷基、雜環烷基、羥基、氰基、鹵基、鹵烷氧基、鹵烷基、酯、醚、氫硫基、硫基、烷基硫基、芳基硫基、硫羰基、硝基、側氧基、磷酸酯基、膦酸酯基、亞膦酸酯基、矽基、亞碲基、磺醯基、磺醯胺基、磺基、磺酸酯基、脲、 $-\text{Si}(\text{R}^a)_3$ 、 $-\text{OR}^a$ 、 $-\text{SR}^a$ 、 $-\text{OC}(\text{O})-\text{R}^a$ 、 $-\text{N}(\text{R}^a)_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^a$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^a)_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^a)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$ 、 $-\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{O})\text{R}^a$ 、 $-\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^a)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{NR}^a)\text{N}(\text{R}^a)_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^a)\text{S}(\text{O})_t\text{N}(\text{R}^a)_2$ (其中t為1或2)、 $-\text{P}(=\text{O})(\text{R}^a)(\text{R}^a)$ 或 $-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OR}^a)_2$ ，其中各 R^a 獨立地為氫、烷基、鹵烷基、碳環基、碳環基烷基、芳基、芳烷基、雜環烷基、雜環烷基烷基、雜芳基或雜芳基烷基，且此等部分中之各者可如本文所定義任擇地經取代。

【0050】 如本文所使用，術語「投予(administer)」及「投予(administering)」係指向個體經口投予、以栓劑形式投予、局部接觸、靜脈內、非經腸、腹膜內、肌內、病灶內、鞘內、顱內、吸入、眼內、鼻內或皮下投予，或植入緩慢釋放裝置(例如，微型滲透泵)。特定患者之適合投予途徑將視所治療之疾病或病況之性質及嚴重程度或所使用之療法之性質及活性化合物之性質而定。

【0051】 投予可藉由任何適合途徑，包括非經腸及經黏膜(例如，經頰、舌下、經齶、經牙齦、經鼻、經陰道、經直腸或經皮)。非經腸投予包括例如靜脈

內、肌肉內、小動脈內、皮內、皮下、腹膜內、室內及顱內。其他遞送模式包括但不限於使用脂質體調配物、靜脈內輸注、經皮貼片等。

【0052】如本文所使用，術語「共投予」係指血液中同時存在二種藥理學藥劑。二種藥理學藥劑可同時或依序投予。

【0053】如本文所使用，術語「親和力」係指單抗原位點處抗原結合部分(例如，抗體)與抗原之間的相互作用之強度。

【0054】如本文所使用，術語「促效劑」係指與受體組合可產生細胞反應之化合物。促效劑可直接結合於受體之配位體。替代地，促效劑可藉由例如(a)與直接結合於受體之另一分子形成複合物或(b)以其他方式引起另一化合物之改質以使得另一化合物直接結合於受體而間接與受體組合。

【0055】如本文所使用，術語「拮抗劑」係指與促效劑或反向促效劑競爭以結合於受體，藉此阻斷促效劑或反向促效劑對受體之作用的化合物。然而，拮抗劑對組成性受體活性無影響。

【0056】如本文所使用，術語「胺基酸」係指通式 $\text{NH}_2\text{-CHR-COOH}$ 之分子，其中「R」為多個不同側鏈中之一者，或攜帶親代胺基酸之肽內的殘基。胺基酸包括天然存在之胺基酸，其中「R」為天然存在之胺基酸中發現之取代基。「R」亦可為天然存在之胺基酸中未發現之取代基。術語「胺基酸殘基」係指當與另一胺基酸接合時在失去水分子之後保留的胺基酸部分。術語「經修飾之胺基酸」係指攜帶不對應於二十個遺傳編碼胺基酸中之一者之「R」取代基的胺基酸。

【0057】如本文所使用，術語「抗原」意謂使得免疫系統產生抗體或針對其之特異性細胞介導之免疫反應的任何物質。疾病相關抗原為與使免疫系統產生抗體或針對其之特異性細胞介導之反應之任何疾病相關的任何物質。抗原能夠由免疫系統識別及/或能夠誘導引起 B 淋巴球及/或 T 淋巴球活化之體液免疫反應及/或細胞免疫反應。抗原可具有一或多個表位(B 細胞及/或 T 細胞表位)。

抗原較佳將通常以高度選擇性方式與其對應抗體或 TCR 反應且不與可由其他抗原引發之多種其他抗體或 TCR 反應。如本文所使用之抗原亦可為若干個別抗原之混合物。

【0058】 如本文所使用，術語「抗原結合部分」係指能夠特異性結合於抗原之部分，且包括但不限於抗體及抗體片段、肽及小分子配位體。

【0059】 如本文所使用，術語「抗體」係指能夠結合表位或抗原決定子 (determinant) 之分子。該術語意謂包括完整抗體及其抗原結合片段。該術語涵蓋多株、單株、嵌合、Fab、Fv、單鏈抗體及單一或多個免疫球蛋白可變鏈或 CDR 域設計以及雙特異性及多特異性抗體。抗體可來自任何動物來源。較佳地，抗體為哺乳動物，例如人類、鼠類、兔、山羊、天竺鼠、駝色、馬及類似者，或其他適合動物。抗體可識別多肽或聚核苷酸抗原。該術語包括活性片段，包括例如免疫球蛋白之抗原結合片段、重鏈之可變區及/或恆定區、輕鏈之可變區及/或恆定區、互補決定區(cdr)及骨架區。該術語包括多株及單株抗體製劑，以及包括以下之製劑：雜交抗體、經改變之抗體、嵌合抗體、雜交抗體分子、F(ab)₂ 及 F(ab) 片段；Fv 分子(例如，非共價雜二聚體)、二聚及三聚抗體片段構築體；微型抗體、人源化抗體分子及獲自此類分子之任何功能性片段，其中此類片段保持特異性結合。

【0060】 如本文所使用，術語「抗原結合片段」係指保持與抗原之表位特異性相互作用(例如，藉由結合、空間位阻、穩定/去穩定化、空間分佈)之能力的抗體之一或多個部分。

【0061】 結合片段之實例包括但不限於單鏈 Fv (scFv)、二硫化物連接之 Fv (sdFv)、Fab 片段、F(ab') 片段、由 V_L、V_H、C_L 及 C_{H1} 域組成之單價片段；F(ab)₂ 片段、包含由位於鉸鏈區處之二硫化物連接之二個 Fab 片段的二價片段；由 V_H 及 C_{H1} 域組成之 Fd 片段；由抗體之單臂之 V_L 及 V_H 域組成之 Fv 片段；dAb 片

段(Ward 等人, 1989 *Nature* 341: 544-546), 其由 V_H 域組成; 及經分離之互補決定區(CDR), 或抗體之其他表位結合片段。

【0062】 另外, F_v 片段之二個域 V_L 及 V_H 可使用重組方法藉由合成連接子接合, 該合成連接子使其能夠製備為單一蛋白質鏈, 其中 V_L 及 V_H 區配對以形成單價分子。(稱為單鏈 F_v (「scFv」); 參見例如 Bird 等人, 1988 *Science* 242:423-426; 及 Huston 等人 1988 *Proc. Natl. Acad. Sci.* 85:5879-5883。)此類單鏈抗體亦意欲涵蓋於術語「抗原結合片段」內。此等抗原結合片段係使用所屬技術領域中具有通常知識者已知之習知技術獲得, 且以與完整抗體相同之方式針對效用來篩選片段。

【0063】 抗原結合片段亦可併入單域抗體、最大抗體、微型抗體、奈米抗體、胞內抗體、雙功能抗體、三功能抗體、四功能抗體、v-NAR 及雙-scFv 中。(參見例如, Hollinger 及 Hudson, 2005 *Nature Biotechnology* 23:1 126-1136。)抗原結合片段可移植至基於多肽(諸如纖維結合蛋白 III 型(Fn3))之骨架中。(參見例如, 美國專利第 6,703,199 號, 其描述纖維結合蛋白多肽單功能抗體。)抗原結合片段可併入包含一對串聯 F_v 片段(V_H - C_H1 - V_H - C_H1)之單鏈分子中, 該對串聯 F_v 片段連同互補輕鏈多肽一起形成一對抗原結合區。(Zapata 等人, 1995 *Protein Eng.* 8:1057-1062; 美國專利第 5,641,870 號。)

【0064】 如本文所使用, 術語「雙特異性抗體」或「雙特異性」係指對至少二個不同抗原表位具有結合特異性之抗體, 通常單株抗體。表位可來自相同抗原或二個不同抗原。用於製備雙特異性抗體之方法係此項技術中已知的。舉例而言, 可利用二種免疫球蛋白重鏈/輕鏈對之共表現以重組方式產生雙特異性抗體。替代地, 可以利用化學鍵聯製備雙特異性抗體。雙特異性抗體包括雙特異性抗體片段。(參見例如, Milstein 等人 1983 *Nature* 305:537-39; Brennan 等人 1985 *Science* 229:81; Hollinger 等人 1994 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90:6444-48; Gruber 等人

1994 *J. Immunol.* 152:5368-74。)

【0065】如本文所使用，術語「嵌合抗體」或「嵌合」係指其中重鏈及/或輕鏈中之一部分與衍生自特定物種或屬於特定抗體類別或子類之抗體中之對應序列相同或同源，同時鏈之其餘部分與衍生自另一物種或屬於另一抗體類別或子類之抗體以及此類抗體之片段中之對應序列相同或同源的抗體，只要其特異性結合目標抗原及/或展現所需生物活性即可。

【0066】如本文所使用，術語「人類抗體」係指具有其中骨架區及 CDR 區均來源於人源序列之可變區的抗體。此外，若抗體含有恆定區，則該恆定區亦來源於此類人類序列，例如人類生殖系序列，或人類生殖系序列或抗體之突變型，其含有來源於人類骨架序列分析之共同子骨架序列，例如，如 Knappik 等人 2000 *J. Mol. Biol.* 296:57-86 中所描述。人類抗體可包括不由人類序列編碼之胺基酸殘基，例如藉由活體外隨機或位點特異性突變誘發或藉由活體內體細胞突變引入之突變，或促進穩定性或製造之取代。

【0067】如本文所使用，術語「人源化抗體」係指含有來自非人類(例如，鼠類)抗體以及人類抗體之序列的抗體。此類抗體為含有來源於非人類免疫球蛋白之最小序列的嵌合抗體。一般而言，人源化抗體包含實質上所有至少一個且通常二個可變域，其中所有或實質上所有高變環對應於非人類免疫球蛋白之彼等區域且所有或實質上所有 FR 區為人類免疫球蛋白序列之彼等區域。人源化抗體任擇地亦包含免疫球蛋白恆定區(Fc)之至少一部分，通常人類免疫球蛋白之恆定區之至少一部分。(參見例如，Cabilly 美國專利第 4,816,567 號；Queen 等人 1989 *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86:10029-10033；ANTIBODY ENGINEERING: A PRACTICAL APPROACH, Oxford University Press 1996。)

【0068】如本文所使用，術語「單株抗體」係指自實質上均質抗體群體獲得的抗體，亦即除可以少量存在的可能天然存在之突變以外，包含該群體之個別

抗體為相同的。單株抗體針對單一抗原性表位具有高度特異性。相比之下，習知(多株)抗體製劑通常包括針對不同表位(或對其具有特異性)之多種抗體。「單株」指示抗體之特徵為自實質上均質之抗體群獲得，且不應理解為需要藉由任何特定方法來產生該抗體。舉例而言，根據本發明使用之單株抗體可藉由此項技術中已知之各種方法(包括首次由 Kohler 等人 1975 *Nature* 256: 495 描述之融合瘤方法)製得，或可由重組 DNA 方法(參見例如，美國專利第 4,816,567 號)製得。「單株抗體」亦可使用例如 Clackson 等人 1991 *Nature* 352: 624-628 及 Marks 等人 1991 *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 中描述之技術自噬菌體抗體庫分離。此等單株抗體將通常以至少約 1 μm ，更通常至少約 300 nM，通常至少約 30 nM，較佳至少約 10 nM 之 Kd 結合。

【0069】 如本文所使用，術語「生物活性」實體或具有「生物活性」之實體為具有天然存在之分子之結構、調控或生物化學功能或與代謝或生理學過程相關之任何功能的實體。生物活性多肽或其片段包括可參與生物過程或反應及/或可產生所需效應的多肽或其片段。生物活性可包括改良之所需活性或減少之非所需活性。舉例而言，實體在其參與與另一分子之分子相互作用時、在其在緩解疾病病況方面具有治療價值時、在其在誘導免疫反應方面具有預防價值時或在其在測定分子之存在方面具有診斷及/或預後價值時顯示生物活性。生物活性蛋白或多肽可為天然存在的或其可例如藉由重組或化學合成由已知組分合成且可包括異源組分。

【0070】 如本文所使用，術語「癌症」及「癌性」係指或描述哺乳動物中通常以不受調控之細胞生長為特徵的生理學病況。癌症之實例包括但不限於癌瘤、淋巴瘤、肉瘤、母細胞瘤及白血病。此類癌症之更特定實例包括鱗狀細胞癌、肺癌、胰臟癌、子宮頸癌、膀胱癌、肝細胞瘤、乳癌、大腸癌及頭頸癌。

【0071】 如本文所使用，術語「可裂解」連接子係指藉由共價連接連接二

個部分，但在生理上相關條件下分解以切斷該等部分之間的共價連接的連接子或連接子組分。通常，可裂解連接子在胞內環境中比在細胞外時更快速地活體內切斷，使得有效負載之釋放優先發生於目標細胞內部。裂解可為酶促或非酶促的。通常自抗體釋放有效負載而不會使抗體降解。裂解可保留連接至有效負載之連接子或連接子組分之一些部分，或其可在無連接子之任何殘餘部分或組分之下情況下釋放有效負載(亦即無痕跡釋放)。

【0072】 如本文所使用，術語「不可裂解」連接子係指尤其不易在生理條件下分解之連接子或連接子組分，亦即其至少與免疫綴合物之抗體或抗原結合片段部分同樣穩定。此類連接子有時稱為「穩定的」，意謂其對降解具有足夠的抵抗力以保持有效負載連接至抗原結合部分，直至抗原結合部分本身至少部分降解。在此情況下，Ab之降解先於連接子之活體內裂解。具有穩定或不可裂解連接子的免疫綴合物之抗體部分之降解可留下一些或全部連接子及一或多個來自抗體之胺基酸基團，其連接至在活體內遞送之有效負載或藥物部分。

【0073】 如本文所使用，術語「細胞」係指任何原核、真核、原代細胞或永生細胞株，如組織或器官中的此類細胞之任何群組。較佳地，細胞係哺乳動物(例如,人類)來源且可受一或多種病原體感染。

【0074】 術語「細胞毒性劑」及「有效負載」在本文中可互換使用且係指抑制或防止或阻止細胞之表現活性、細胞之功能及/或引起細胞破壞的化合物或物質。該術語意欲包括放射性同位素、化學治療劑，及毒素，諸如小分子毒素或細菌、真菌、植物或動物來源之酶活性毒素，包括其片段及/或變異體。

【0075】 如本文所用，術語「疾病」、「病況」或「病症」在本文中可互換使用且係指病理性病況，例如可藉由症狀或其他鑑別因子鑑別為自健康或正常狀態發散的病況。術語「疾病」包括病症、症候群、病況及損傷。疾病包括但不限於增殖性疾病、發炎性疾病、免疫性疾病、代謝性疾病、感染性疾病及局部缺

血性疾病。

【0076】如此處所使用，術語「同源性」或「同源」係指二種多肽之間或二種聚核苷酸之間的序列相似性。可藉由對出於比較目的而比對之各序列中的位置進行比較來測定相似性。若二個多肽序列之給定位置不一致，則該位置之相似性或守恆性可藉由評定該位置之胺基酸之相似性來測定。序列之間的相似程度隨該等序列共有之匹配或同源位置的數目而變化。比對二個序列以測定其序列相似性百分比可使用此項技術中已知之軟體程式進行，諸如 Ausubel 等人 1999 *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley and Sons, Baltimore, MD 中描述之彼等軟體程式。給定胺基酸序列或核酸序列之術語「同源物」意指「同源物」之對應序列與給定胺基酸序列或核酸序列具有實質上的一致性或同源性。

【0077】就序列比較而言，通常一個序列充當參考序列，測試序列與其比較。當使用序列比較算法時，將測試序列及參考序列輸入至電腦中，必要時指定子序列座標，且指定序列算法程式參數。較佳地，可使用預設程式參數，或可指定替代參數。序列比較算法接著基於程式參數來計算測試序列相對於參考序列之序列一致性百分比。

【0078】適合於測定序列一致性及序列相似性百分比的算法之一個實例為 BLAST 算法，其分別描述於 Altschul 等人 1977 *Nuc. Acids Res.* 25:3389-3402 及 Altschul 等人 1990 *J. Mol. Biol.* 215:403-410 中。BLAST 軟體可經由國家生物技術資訊中心(National Center for Biotechnology Information)在全球資訊網 ncbi.nlm.nih.gov/ 上公開獲得。可使用預設參數或其他非預設參數二者。BLASTN 程式(對於核苷酸序列)使用如下預設值：字長(W)為 11，期望值(E)為 10，M=5，N=-4 及兩股比較。對於胺基酸序列，BLASTP 程式使用如下預設值：字長為 3 及期望值(E)為 10，以及 BLOSUM62 計分矩陣(參見 Henikoff 及 Henikoff, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:10915 (1989))比對(B)為 50，期望值(E)為 10，M=5，N=-4，及

雙股比較。

【0079】 如本文所使用，術語「一致」或「一致性」百分比在二種或更多種核酸或多肽序列之情形中係指二個或更多個相同的序列或子序列，或具有指定百分比之相同的胺基酸殘基或核苷酸(亦即，當在比較窗口或指定區域進行比較及比對以獲得最大對應性時，在指定區域內，約 70%一致性，較佳地 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性)，如使用具有下文描述之預設參數的 BLAST 或 BLAST 2.0 序列比較算法或藉由手動比對及目視檢查所量測。此類序列接著稱為「實質上一致」。此定義亦關於或可施加至測試序列之補充。該定義亦包括具有缺失及/或添加之序列以及具有取代之彼等序列。如下所描述，較佳的算法可考慮空位及其類似者。較佳地，一致性存在於長度為至少約 25、50、75、100、150、200 個胺基酸或核苷酸之區域內，且時常存在於長度為 225、250、300、350、400、450、500 個胺基酸或核苷酸之區域內或全長之胺基酸或核酸序列內。

【0080】 本發明之化合物可單獨投予或可共投予至患者。共投予意謂包括單獨或以組合(超過一種化合物或藥劑)形式同時或依序投予化合物。因此，製劑亦可在需要時與其他活性物質組合(例如，以減少代謝降解)。

【0081】 本發明之組成物可藉由以下方式遞送：經皮，藉由局部途徑，調配為敷藥棒、溶液、懸浮液、乳液、凝膠、乳膏、軟膏、糊劑、凍膠、塗料、散劑及氣溶膠。口服製劑包括適合於患者攝入的錠劑、丸劑、散劑、糖衣藥丸、膠囊、液體、口含錠、扁囊劑、凝膠、糖漿、漿液、懸浮液等。固體形式製劑包括散劑、錠劑、丸劑、膠囊、扁囊劑、栓劑及可分散顆粒劑。液體形式製劑包括溶液、懸浮液及乳液，例如水或水/丙二醇溶液。

【0082】 本發明之組成物可另外包括用以提供持續釋放及/或舒適度之組分。此類組分包括高分子量陰離子型黏膜模擬(mucomimetic)聚合物、膠凝化多

醣及細粉狀藥物載體基質。此等組分更詳細地論述在美國專利第 4,911,920 號；第 5,403,841 號；第 5,212,162 號；及第 4,861,760 號中。此等專利之全部內容出於所有目的以全文引用之方式併入本文中。本發明之組成物亦可以用於在體內緩慢釋放之微球體形式遞送。舉例而言，微球體可經由皮內注射在皮下緩慢釋放之含藥物微球體來投予(參見 Rao, 1995 *J. Biomater Sci. Polym. Ed.* 7:623-645)；以可生物降解及可注射凝膠調配物形式來投予(參見例如 Gao 1995 *Pharm. Res.* 12:857-863)；或以用於經口投予之微球體形式來投予(參見例如 Eyles 1997 *J. Pharm. Pharmacol.* 49:669-674)。

【0083】 如本文所使用，術語「需要」治療係指將在生物學上、在醫學上或在生活品質上受益於此類治療的個體。

【0084】 如本文所使用，術語「特異性結合」或「選擇性結合」當在描述抗原(例如蛋白質或聚醣)與抗體、抗體片段或抗體衍生之結合劑之間的相互作用的情形中使用時，係指一種結合反應，其決定了抗原在非均質蛋白質群及其他生物製劑(例如生物樣本，例如血液、血清、血漿或組織樣本)中的存在。因此，在某些指定的免疫分析條件下，具有特定結合特異性的抗體或結合劑對特定抗原的結合為背景的至少二(2)倍且不以顯著量實質上結合於存在於樣本中的其他抗原。在實施例中，在指定免疫分析條件下，具有特定結合特異性的抗體或結合劑對特定抗原的結合為背景的至少十(10)倍且不以顯著量實質上結合於存在於樣本中的其他抗原。在此類條件下，特異性結合於抗體或結合劑可能需要根據針對特定蛋白質之特異性來選擇抗體或藥劑。需要或適當時，可藉由減除與來自其他物種(例如，小鼠或大鼠)或其他亞型之分子交叉反應的抗體來實現此選擇。替代地，在一些實施例中，選擇與某些所需分子交叉反應之抗體或抗體片段。

【0085】 多種免疫分析格式可用於選擇與特定蛋白質發生特異性免疫反應的抗體。舉例而言，固相 ELISA 免疫分析通常用於選擇與蛋白質具有特異性免

疫反應性之抗體。(參見例如，Harlow & Lane, *Using Antibodies, A Laboratory Manual* (1998)，描述可以用於測定特異性免疫反應性之免疫分析格式及條件。)通常，特異性或選擇性結合反應產生的信號為背景信號的至少兩倍，且更通常，為背景的至少 10 至 100 倍。

【0086】 如本文所使用，術語「治療有效量」係指足以在最小或無非所需副作用之情況下實現預定治療作用的一或多種治療劑之劑量。治療有效量可容易由熟練的醫師確定，例如藉由首先投予低劑量之藥理學藥劑且接著逐漸增加劑量，直至實現所需治療作用而具有最小或無非所需副作用。

【0087】 術語「免疫綴合物」及「抗體-藥物綴合物」在本文中可互換使用且係指具有抗原結合部分(例如，抗體或其抗原結合片段、肽或小分子配位體)與細胞毒性劑或有效負載之連接的化合物。連接可為共價鍵或非共價相互作用且可包括螯合。因此，術語「免疫綴合物」及「抗體-藥物綴合物」包括肽-藥物綴合物及小分子-藥物綴合物。各種連接子及連接策略為此項技術中已知的且可用於形成免疫綴合物。

【0088】 如本文所使用，關於生物目標抑制劑相互作用的術語「抑制(inhibition)」、「抑制(inhibit)」及「抑制(inhibiting)」及類似者係指相對於在不存在無抑制劑之情況下蛋白質之活性或功能而不利地影響(例如，降低)蛋白質之活性或功能。在實施例中，抑制意謂相對於在不存在抑制劑之情況下蛋白質之濃度或位準而不利地影響(例如，減低)蛋白質之濃度或位準。在實施例中，抑制係指減少疾病或疾病症狀。在實施例中，抑制係指特定蛋白質目標之活性降低。抑制包括至少部分、部分或完全阻斷刺激，減少、預防或延緩活化，或不活化、去敏或下調信號轉導或酶促活性或蛋白質之量。在實施例中，抑制係指由直接相互作用產生的目標蛋白之活性降低(例如，抑制劑結合於目標蛋白)。在實施例中，抑制係指來自間接相互作用的目標蛋白之活性降低(例如，抑制劑結合於活化目

標蛋白，藉此預防目標蛋白活化之蛋白質)。

【0089】如本文所使用，術語「分離的」或「純化的」係指實質上或基本上不含在其天然狀態下通常伴隨其的組分的材料。純度及均質性通常使用諸如聚丙烯醯胺凝膠電泳或高效液相層析之分析型化學技術來測定。「分離之抗體」係指實質上不含具有不同抗原特異性之其他抗體的抗體。然而，特異性結合於一種抗原的經分離抗體可與其他抗原具有交叉反應性。另外，分離抗體可實質上不含其他細胞材料及/或化學物質。

【0090】如本文所使用，術語「調節」係指當與適合對照相比時直接地或間接地產生量測活性之增加或減少、刺激、抑制、干擾或阻斷。多肽或聚核苷酸之「調節劑」係指當與適合對照相比時，影響例如增加、減少、刺激、抑制、干擾或阻斷多肽或聚核苷酸之量測活性的物質。舉例而言，「調節劑」可以可量測之親和力結合於及/或活化或抑制目標，或直接或間接地影響受體活性之正常調控。

【0091】如本文所使用，所揭露化合物之「醫藥學上可接受之形式」包括但不限於其醫藥學上可接受之鹽、酯、水合物、溶劑合物、異構物、前驅藥及經同位素標記之衍生物。在一個實施例中，「醫藥學上可接受之形式」包括但不限於其醫藥學上可接受之鹽、酯、前驅藥及經同位素標記之衍生物。在一些實施例中，「醫藥學上可接受之形式」包括但不限於其醫藥學上可接受之異構物及立體異構物、前驅藥及經同位素標記之衍生物。

【0092】在某些實施例中，醫藥學上可接受之形式為醫藥學上可接受之鹽。

【0093】如本文所使用，術語「醫藥學上可接受之鹽」係指在合理醫學判斷範疇內適用於與個體之組織接觸而無異常毒性、刺激、過敏反應及類似者且與合理益處/風險比相稱的彼等鹽。醫藥學上可接受之鹽在此項技術中為吾人所熟知。舉例而言，Berge 等人在 *J. Pharmaceutical Sciences* (1977) 66: 1-19 中詳細

描述醫藥學上可接受之鹽。本文所提供之化合物之醫藥學上可接受之鹽包括衍生自適合無機及有機酸及鹼的彼等醫藥學上可接受之鹽。藥學上可接受之無毒性酸加成鹽之實例為胺基與無機酸，諸如鹽酸、氫溴酸、磷酸、硫酸以及過氯酸，或與有機酸，諸如乙酸、草酸、順丁烯二酸、酒石酸、檸檬酸、丁二酸或丙二酸形成之鹽，或藉由使用此項技術中已知之其他方法，諸如離子交換形成之鹽。其他藥學上可接受之鹽包括己二酸鹽、海藻酸鹽、抗壞血酸鹽、天冬胺酸鹽、苯磺酸鹽、苯甲酸鹽、硫酸氫鹽、硼酸鹽、丁酸鹽、樟腦酸鹽、樟腦磺酸鹽、檸檬酸鹽、環戊烷丙酸鹽、二葡萄糖酸鹽、十二烷基硫酸鹽、乙烷磺酸鹽、甲酸鹽、反丁烯二酸鹽、葡庚糖酸鹽、甘油磷酸鹽、葡糖酸鹽、半硫酸鹽、庚酸鹽、己酸鹽、氫碘酸鹽、2-羥基-乙烷磺酸鹽、乳糖酸鹽、乳酸鹽、月桂酸鹽、月桂基硫酸鹽、蘋果酸鹽、順丁烯二酸鹽、丙二酸鹽、甲烷磺酸鹽、2-萘磺酸鹽、菸鹼酸鹽、硝酸鹽、油酸鹽、草酸鹽、棕櫚酸鹽、雙羥萘酸鹽、果膠酸鹽、過硫酸鹽、3-苯基丙酸鹽、磷酸鹽、苦味酸鹽、特戊酸鹽、丙酸鹽、硬脂酸鹽、丁二酸鹽、硫酸鹽、酒石酸鹽、對甲苯磺酸鹽、十一烷酸鹽、戊酸鹽及其類似鹽。在一些實施例中，可衍生出鹽之有機酸包括例如乙酸、丙酸、乙醇酸、丙酮酸、乳酸、順丁烯二酸、丙二酸、丁二酸、反丁烯二酸、酒石酸、檸檬酸、苯甲酸、肉桂酸、杏仁酸、甲磺酸、乙磺酸、對甲苯磺酸、水楊酸及類似酸。

【0094】 該等鹽可在所揭露之化合物的分離及純化期間原位製備，或單獨地諸如藉由使親代化合物之游離鹼或游離酸分別與適合鹼或酸反應。衍生自適當鹼的醫藥學上可接受之鹽包括鹼金屬鹽、鹼土金屬鹽、銨鹽以及 $N^+(C_{1-4} \text{烷基})_4$ 鹽。代表性鹼金屬或鹼土金屬鹽包括鈉、鋰、鉀、鈣、鎂、鐵、鋅、銅、錳、鋁及類似金屬。適當時，其他醫藥學上可接受之鹽包括使用抗衡離子，諸如鹵離子、氫氧根、羧酸根、硫酸根、磷酸根、硝酸根、低碳數烷基磺酸根及芳基磺酸根形成的無毒銨、四級銨及胺陽離子。可衍生出鹽之有機鹼包括例如一級、二級及三

級胺、經取代之胺(包括天然存在的經取代之胺)、環胺、鹼性離子交換樹脂及其類似物，諸如異丙胺、三甲胺、二乙胺、三乙胺、三丙胺及乙醇胺。在一些實施例中，醫藥學上可接受之鹼加成鹽可選自銨鹽、鉀鹽、鈉鹽、鈣鹽及鎂鹽。

【0095】 在某些實施例中，醫藥學上可接受之形式為「溶劑合物」(例如，水合物)。如本文所使用，術語「溶劑合物」係指進一步包括藉由非共價分子間力結合的化學計量或非化學計量之量的溶劑的化合物。溶劑合物可為所揭露化合物或其醫藥學上可接受之鹽。在溶劑為水的情況下，溶劑合物為「水合物」。醫藥學上可接受之溶劑合物及水合物為例如可包括 1 至約 100、或 1 至約 10、或 1 至約 2、約 3 或約 4 種溶劑或水分子之複合物。應理解，如本文所使用之術語「化合物」涵蓋化合物及化合物之溶劑合物以及其混合物。

【0096】 在某些實施例中，醫藥學上可接受之形式為前驅藥。如本文所使用，術語「前驅藥(prodrug)」(或「前驅藥(pro-drug)」)係指活體內轉化以產生所揭露化合物或化合物之醫藥學上可接受之形式的化合物。當向個體投予時，前驅藥可為非活性的，但例如藉由水解(例如，在血液中水解)活體內轉化為活性化合物。在某些情況下，前驅藥具有優於親代化合物之經改良物理及/或遞送特性。前驅藥可在向個體投予時增加化合物之生物可用性(例如，藉由在經口投予後允許增強至血液中之吸收)或相對於親代化合物增強至感興趣生物區室(例如，腦或淋巴系統)之遞送。例示性前驅藥包括相對於親代化合物具有增強的水溶解度或活性輸送穿過腸膜的所揭露化合物之衍生物。

【0097】 前驅藥化合物通常在哺乳動物生物體中提供溶解度、組織相容性或延緩釋放之優點。(參見例如，Bundgard, H. 1985 *Design of Prodrugs*, 第 7-9、21-24 頁, Elsevier, Amsterdam ; Higuchi 等人 1987 「Pro-drugs as Novel Delivery Systems」 *A.C.S. Symposium Series*, 第 14 卷, 及 *Bioreversible Carriers in Drug Design*, 編者 Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon

Press, 1987。)

【0098】前驅藥形式通常在哺乳動物生物體中提供溶解度、組織相容性或延緩釋放之優點。(參見例如，Bundgard, Design of Prodrugs, 第 7-9、21-24 頁, Elsevier, Amsterdam 1985 及 Silverman, The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action, 第 352-401 頁, Academic Press, San Diego, Calif., 1992。)此項技術中通常已知的前驅藥包括熟知的酸衍生物，諸如(例如)藉由親代酸與適合醇反應製備之酯、藉由親代酸化合物與胺反應製備之醯胺、反應形成醯化鹼衍生物之鹼性基團等。其他前驅藥衍生物可與本文所揭露之其他特徵組合來增強生物可用性。因此，所屬技術領域中具有通常知識者將瞭解，具有游離胺基、醯胺基、羥基或羧基的某些本發明所揭露化合物可轉化成前驅藥。前驅藥包括具有共價鍵結於本文中所揭露之上述取代基中之任一者的碳酸酯、胺基甲酸酯、醯胺或烷基酯部分的化合物。

【0099】前驅藥之例示性優點可包括但不限於其物理特性，諸如與親代化合物相比在生理 pH 值下非經腸投予之水溶性增強，或其可增強消化道之吸收，或其可增強藥物穩定性以用於長期儲存。

【0100】如本文所使用，術語「醫藥學上可接受之」賦形劑、載體或稀釋劑係指醫藥學上可接受之材料、組成物或載劑，諸如液體或固體填充劑、稀釋劑、賦形劑、溶劑或囊封材料，其參與將主題藥劑自身體之一個器官或部分攜載或輸送至身體之另一器官或部分。各載體在與調配物之其他成分相容且對患者無害的意義上必須為「可接受的」。可充當醫藥學上可接受之載體的材料之一些實例包括：糖，諸如乳糖、葡萄糖及蔗糖；澱粉，諸如玉米澱粉及馬鈴薯澱粉；纖維素及其衍生物，諸如羧甲基纖維素鈉、乙基纖維素及乙酸纖維素；粉末狀黃耆；麥芽；明膠；滑石；賦形劑，諸如可可脂(cocoa butter)及栓劑蠟；油，諸如花生油、棉籽油、紅花油、芝麻油、橄欖油、玉米油及大豆油；二醇，諸如丙二醇；

多元醇，諸如丙三醇、山梨糖醇、甘露糖醇及聚乙二醇；酯，諸如油酸乙酯及月桂酸乙酯；瓊脂；緩衝劑，諸如氫氧化鎂及氫氧化鋁；褐藻酸；無熱原質水；等張鹽水；林格氏溶液(Ringer's solution)；乙醇；磷酸鹽緩衝溶液；及醫藥調配物中所採用的其他無毒相容物質。濕潤劑、乳化劑及潤滑劑(諸如月桂基硫酸鈉、硬脂酸鎂及聚氧化乙烯-聚氧化丙烯共聚物)以及著色劑、脫模劑、塗佈劑、甜味劑、調味劑及芳香劑、防腐劑及抗氧化劑亦可存在於組成物中。

【0101】 如本文所使用，術語「蛋白質」及「多肽」可互換使用以指胺基酸殘基之聚合物，且不限於最小長度。因此，肽、寡肽、二聚體、多聚體及類似物包括於定義內。全長蛋白質與其片段皆涵蓋於該定義中。該等術語亦包括多肽之表現後修飾，例如醮基化、乙醮化、磷酸化及其類似修飾。此外，出多肽可指一種蛋白質，其包括對天然序列之修飾，諸如缺失、添加及取代(實際上通常為守恆的)，只要該蛋白質保持所需活性即可。此等修飾可為有意的或可為偶然的。胺基酸在本文中可由其通常已知之三字母符號或由IUPAC-IUB生物化學命名委員會(Biochemical Nomenclature Commission)所推薦之單字母符號來指代。

【0102】 如本文所使用，術語「受體」係指能夠與另一分子(稱為配位體)相互作用之蛋白質，包括醮蛋白或其片段。配位體通常為胞外分子，其在結合於受體時通常引發細胞反應，諸如信號轉導路徑之起始。受體無需一定為膜結合蛋白質。配位體可屬於任何類別之生物化學或化學化合物。

【0103】 如本文所使用，術語「樣本」係指來自人類、動物之樣本，或研究樣本，例如細胞、組織、器官、流體、氣體、氣溶膠、漿液、膠體或凝結材料。「樣本」可例如在不自人類或動物移除之情況下在活體內測試，或其可在活體外測試。樣本可在處理之後例如藉由組織學方法進行測試。「樣本」亦指例如包含流體或組織樣本之細胞或自流體或組織樣本分離之細胞。「樣本」亦可指新近獲自人類或動物之細胞、組織、器官或流體，或指經處理或儲存之細胞、組織、器

官或流體。

【0104】如本文所使用，術語「刺激(stimulate)」或「刺激(stimulating)」係指增加、擴增、加強、增強生理活性，例如免疫反應。刺激可為正改變。舉例而言，增加可為5%、10%、25%、50%、75%或甚至90-100%。其他例示性增加包括2倍、5倍、10倍、20倍、40倍或甚至100倍。

【0105】如本文所使用，術語「個體」係指任何動物(例如哺乳動物)，包括但不限於人、非人靈長類動物、嚙齒動物及其類似物，其為特定治療之接受者。涵蓋投予之個體包括但不限於人類(例如，任何年齡群之雄性或雌性，例如兒童個體(例如，嬰兒、幼兒、青年)或成人個體(例如，年輕成人、中年成人或老年成人))及/或其他非人類動物，例如非人類哺乳動物(例如，靈長類動物(例如，石蟹獼猴、恆河猴)；商業上相關之哺乳動物，諸如牛、豬、馬、綿羊、山羊、貓及/或狗)、嚙齒動物(例如，大鼠及/或小鼠)等。在某些實施例中，非人類動物為哺乳動物。非人類動物可為處於任何發育階段之雄性或雌性。非人類動物可為基因轉殖動物。通常，關於人類個體之術語「個體」及「患者」在本文中可互換使用。

【0106】如本文所使用，術語「抑制(suppress)」或「抑制(suppressing)」係指減少、衰減、減弱、抑制或穩定生理活性，例如免疫反應。遏制可為負改變。舉例而言，減少可為5%、10%、25%、50%、75%或甚至90-100%。例示性減少包括2倍、5倍、10倍、20倍、40倍或甚至100倍。

【0107】如本文中所使用，術語「治療(treatment)」或「治療(treating)」係指在疾病或病症發生之前或之後減少、延遲或改善此類病況之方法。可針對疾病及/或潛在病變之一或多種影響或症狀進行治療。治療可為疾病或疾病之症狀之任何減少及可為但不限於其之完全去除。治療(Treating)或治療(treatment)因此係指治療或改善損傷、疾病、病變或病況中之任何成功標誌，包括任何客觀或主觀參數，諸如症狀之減輕；緩解；消除或使得損傷、病變或病況對患者為更可耐受

環雜烷基；

R^a 、 R^b 及 R^c 中之各者係選自H及 NR^xR^y 其限制條件為 R^a 、 R^b 及 R^c 中之僅一者為 NR^xR^y 且其他者中之各者為H；

R^x 及 R^y 中之各者獨立地選自R、 R^r 及 $L-R^z$ ，其限制條件為當 R^x 及 R^y 中之一者為 $L-R^z$ 或 R^r 時，其他者為R；

R^5 為 CR'_3 ，其中各 R' 獨立地為H或F；

L為連接子；

R^r 為 $(C=O)-O-(CH_2)_p-R^v$ 或 $(C=O)-(CH_2)_q-R^v$ ；

R^v 為R、OR、NHR、 NR_2 、芳基或胺基酸；

p 為0、1、2、3、4、5或6；

q 為0、1、2、3、4、5或6；

R^z 包含官能性或反應性基團；且

R為H或 C_1-C_3 烷基。

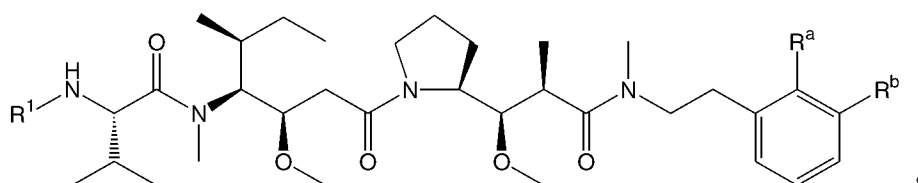
【0111】 在某些實施例中， R^5 為 CH_3 。在某些實施例中， R^5 為 CF_3 。在某些實施例中， R^5 為 CHF_2 。在某些實施例中， R^5 為 CH_2F 。

【0112】 在某些實施例中， R^a 為 NR^xR^y ， R^b 為H且 R^c 為H。在某些實施例中， R^a 為H， R^b 為 NR^xR^y 且 R^c 為H。在某些實施例中， R^a 為H， R^b 為H且 R^c 為 NR^xR^y 。

【0113】 在某些實施例中， R^5 為 CH_3 ，而 R^a 為 NR^xR^y ， R^b 為H且 R^c 為H。在某些實施例中， R^5 為 CH_3 ，而 R^a 為H， R^b 為H且 R^c 為 NR^xR^y 。在某些實施例中， R^5 為 CH_3 ，而 R^a 為H， R^b 為H且 R^c 為 NR^xR^y 。

【0114】 在某些實施例中， R^5 為 CF_3 ，而 R^a 為 NR^xR^y ， R^b 為H且 R^c 為H。在某些實施例中， R^5 為 CF_3 ，而 R^a 為H， R^b 為H且 R^c 為 NR^xR^y 。在某些實施例中， R^5 為 CF_3 ，而 R^a 為H， R^b 為H且 R^c 為 NR^xR^y 。

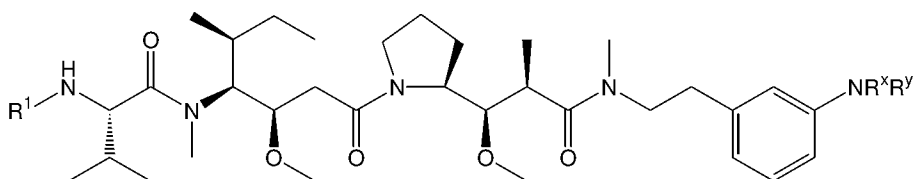
【0115】 在某些實施例中， R^5 為 CH_3 且 R^c 為H，其具有結構式(II)：



(II)

【0116】 在(II)之某些實施例中， R^a 為H且 R^b 為 NR^xR^y ，且化合物具有結構式

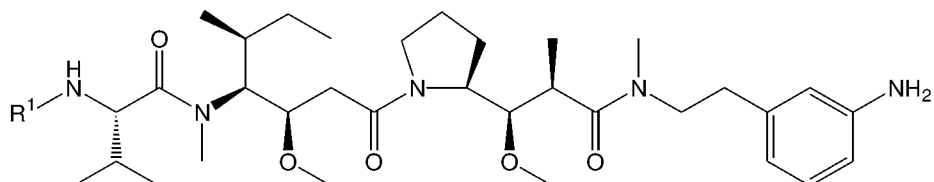
(III)：



(III)

【0117】 在(III)之某些實施例中， R^x 為H且 R^y 為H，且化合物具有結構式

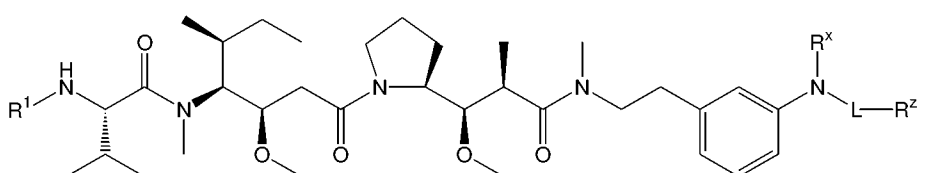
(III¹)：

(III¹)

【0118】 在(III)之某些實施例中， R^x 為H或 CH_3 且 R^y 為 $(C=O)-O-(CH_2)_p-R^v$ ，其中 R^v 為R、OR、NHR、 NR_2 、芳基或胺基酸；且 p 為0、1、2或3。

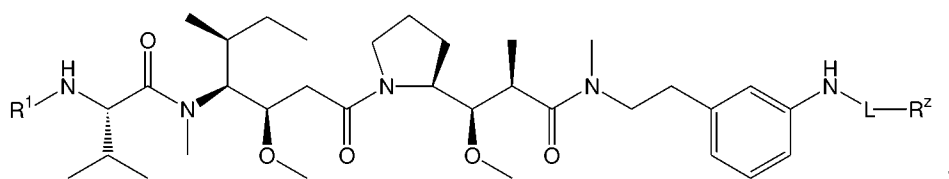
【0119】 在(III)之某些實施例中， R^x 為H或 CH_3 且 R^y 為 $(C=O)-(CH_2)_q-R$ ，其中 R^v 為R、OR、NHR、 NR_2 、芳基或胺基酸；且 q 為0、1、2或3。

【0120】 在(III)之某些實施例中， R^y 為 $L-R^z$ ，且化合物具有結構式(III²)：

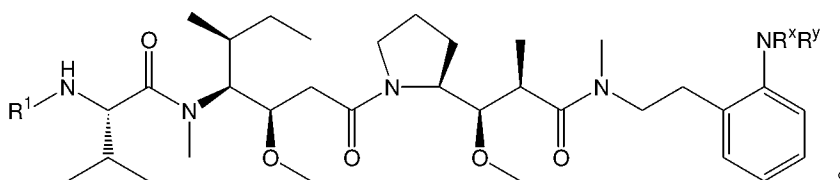


(III²)

【0121】 在(III²)之某些實施例中，R^x為H，且化合物具有結構式(III³)：

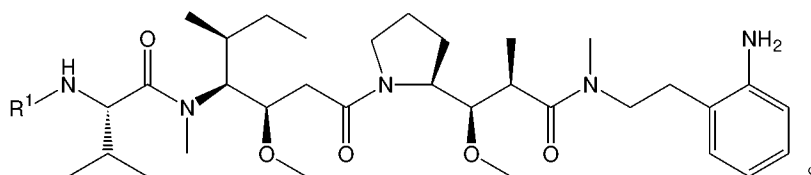
(III³)

【0122】 在(II)之某些實施例中，R^a為NR^xR^y且R^b為H，且化合物具有結構式(IV)：



(IV)

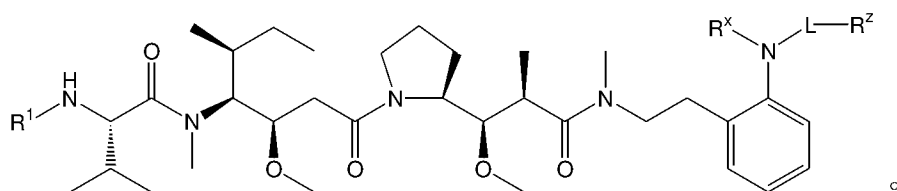
【0123】 在(IV)之某些實施例中，R^x為H且R^y為H，且化合物具有結構式(IV¹)：

(IV¹)

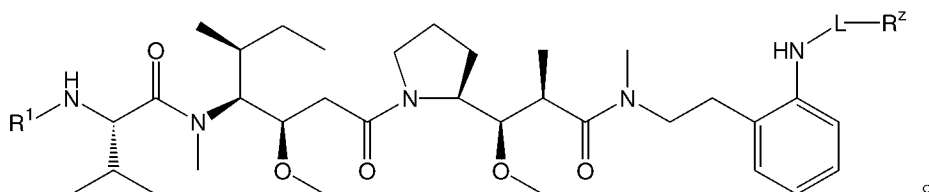
【0124】 在(IV)之某些實施例中，R^x為H或CH₃且R^y為(C=O)-O-(CH₂)_p-R^v，其中R^v為R、OR、NHR、NR₂、芳基或胺基酸；且p為0、1、2或3。

【0125】 在(IV)之某些實施例中，R^x為H或CH₃且R^y為(C=O)-(CH₂)_q-R^v，其中R^v為R、OR、NHR、NR₂、芳基或胺基酸；且q為0、1、2或3。

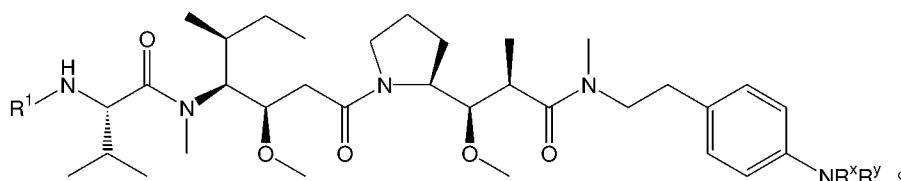
【0126】 在(IV)之某些實施例中，R^y為L-R^z，且化合物具有結構式(IV²)：

(IV²)

【0127】 在(IV²)之某些實施例中，R^x為H，且化合物具有結構式(IV³)：

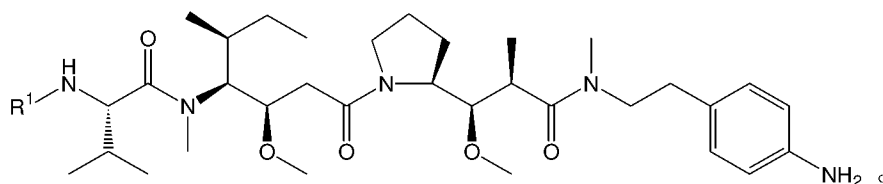
(IV³)

【0128】 在(I)之某些實施例中，R⁵為CH₃，R^a為H，R^b為H，且R^c為NR^xR^y，其具有結構式(V)：



(V)

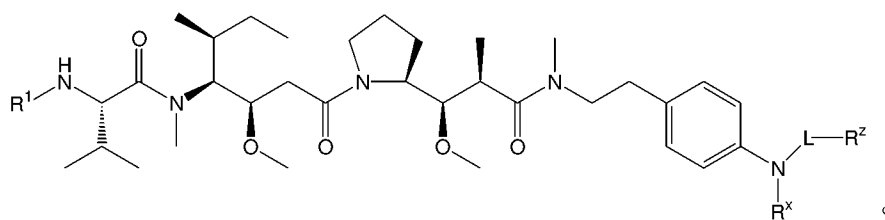
【0129】 在(V)之某些實施例中，R^x為H且R^y為H，其具有結構式(V¹)：

(V¹)

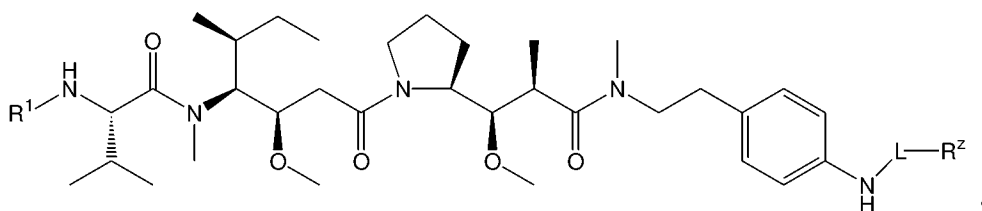
【0130】 在(V)之某些實施例中，R^x為H或CH₃且R^y為(C=O)-O-(CH₂)_p-R^v，其中R^v為R、OR、NHR、NR₂、芳基或胺基酸，且p為0、1、2或3。

【0131】 在(V)之某些實施例中，R^x為H或CH₃且R^y為(C=O)-(CH₂)_q-R^v，其中R^v為R、OR、NHR、NR₂、芳基或胺基酸，且q為0、1、2或3。

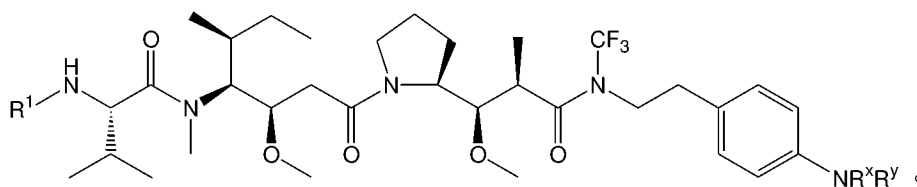
【0132】 在(V)之某些實施例中， R^y 為 $L-R^z$ ，其具有結構式(V²)：

(V²)

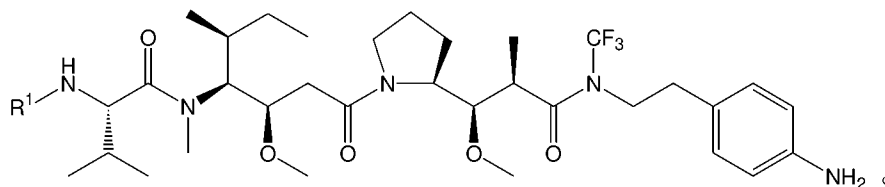
【0133】 在(V²)之某些實施例中， R^x 為H，其具有結構式(V³)：

(V³)

【0134】 在(I)之某些實施例中， R^5 為 CF_3 ， R^a 為H， R^b 為H，且 R^c 為 NR^xR^y ，且化合物具有結構式(V⁴)：

(V⁴)

【0135】 在(V⁴)之某些實施例中， R^x 為H且 R^y 為H，其具有結構式(V⁵)：

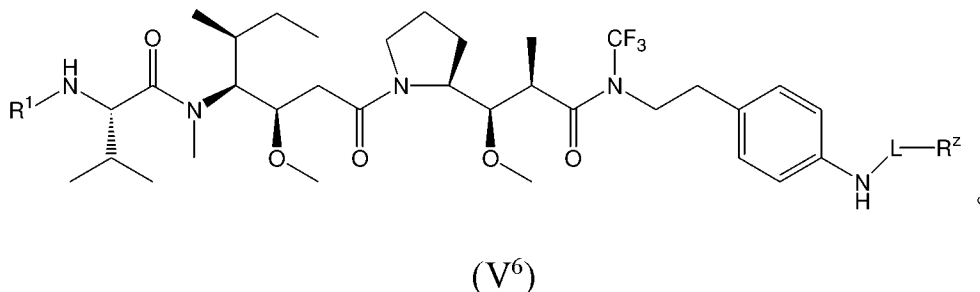
(V⁵)

【0136】 在(V⁴)之某些實施例中， R^x 為H或 CH_3 且 R^y 為 $(C=O)-O-(CH_2)_p-R^v$ ，其中 R^v 為R、OR、NHR、 NR_2 、芳基或胺基酸；且 p 為0、1、2或3。

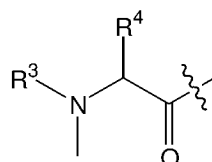
【0137】 在(V⁴)之某些實施例中， R^x 為H或 CH_3 且 R^y 為 $(C=O)-(CH_2)_q-R^v$ ，其

中 R^y 為R、OR、NHR、 NR_2 、芳基或胺基酸；且 q 為0、1、2或3。

【0138】在(V⁴)之某些實施例中， R^x 為H且 R^y 為L- R^z ，且化合物具有結構式(V⁶)：

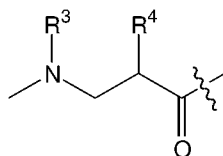


【0139】在以上式(I)至(V⁶)中之任一者之某些實施例中， R^1 為



其中 R^3 及 R^4 中之各者獨立地為H或未經取代或經取代之 C_1 - C_5 烷基，或與其所鍵結之N及C原子一起形成包含O、N及S中之一或多者的5員至7員雜環烷基，其任擇地經鹵素原子或 C_1 - C_3 烷基中之一或多者取代。

【0140】在以上式(I)至(V⁶)中之任一者之某些實施例中， R^1 為



其中 R^3 及 R^4 中之各者獨立地為H或未經取代或經取代之 C_1 - C_5 烷基，或與其所鍵結之N及C原子一起形成包含O、N及S中之一或多者的5員至7員雜環烷基，其任擇地經鹵素原子或 C_1 - C_3 烷基中之一或多者取代。

【0141】在某些實施例中， R^3 為H且 R^4 為H或未經取代或經取代之 C_1 - C_5 烷基(例如，甲基、乙基、丙基、異丙基、正丁基、異丁基、三級丁基)。

【0142】在某些實施例中， R^3 為甲基，其任擇地經一或多個鹵素原子(例如，F、Cl)取代，且 R^4 為H或未經取代或經取代之 C_1 - C_5 烷基(例如，甲基、乙基、丙

基、異丙基、正丁基、異丁基、三級丁基)。

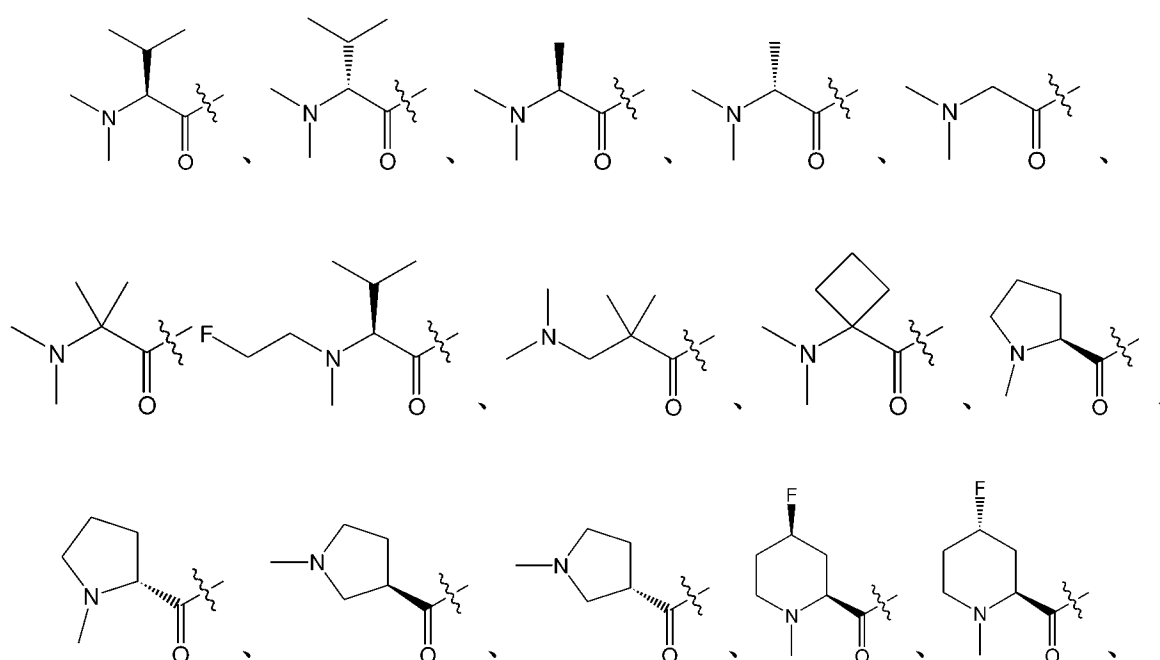
【0143】 在某些實施例中， R^3 為乙基，其任擇地經一或多個鹵素原子(例如，F、Cl)取代，且 R^4 為H或未經取代或經取代之 C_1 - C_5 烷基(例如，甲基、乙基、丙基、異丙基、正丁基、異丁基、三級丁基)。

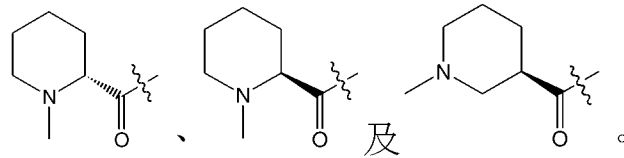
【0144】 在某些實施例中， R^3 為丙基或異丙基，其任擇地經一或多個鹵素原子(例如，F、Cl)取代，且 R^4 為H或未經取代或經取代之 C_1 - C_5 烷基(例如，甲基、乙基、丙基、異丙基、正丁基、異丁基、三級丁基)。

【0145】 在某些實施例中， R^4 為H。在某些實施例中， R^4 為甲基。在某些實施例中， R^4 為異丙基。

【0146】 在某些實施例中， R^3 及 R^4 與其分別鍵結之N及C原子一起形成5員雜環烷基，其任擇地經F、Cl及Br中之一或多者取代。在某些實施例中， R^3 及 R^4 與其分別鍵結之N及C原子一起形成6員雜環烷基，其任擇地經F、Cl及Br中之一或多者取代。在某些實施例中， R^3 及 R^4 與其分別鍵結之N及C原子一起形成7員雜環烷基，其任擇地經F、Cl及Br中之一或多者取代。

【0147】 在式(I)至(V⁶)中之任一者之某些實施例中， R^1 係選自：





【0148】 在式(I)至(V⁶)中之任一者之某些實施例中，L為不可裂解連接子。

【0149】 在式(I)至(V⁶)中之任一者之某些實施例中，L為可裂解連接子。

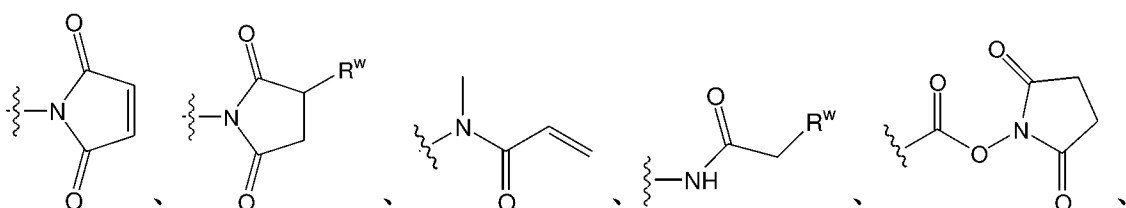
【0150】 在某些實施例中，L為酸不穩定或酸敏感性連接子。在某些實施例中，L為蛋白酶敏感性連接子。在某些實施例中，L為溶酶體蛋白酶敏感性連接子。在某些實施例中，L為β-葡萄糖苷酸敏感性連接子。在某些實施例中，L為麩胱甘肽敏感性二硫化物連接子。

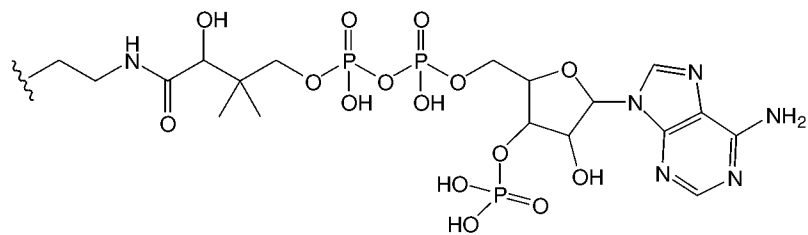
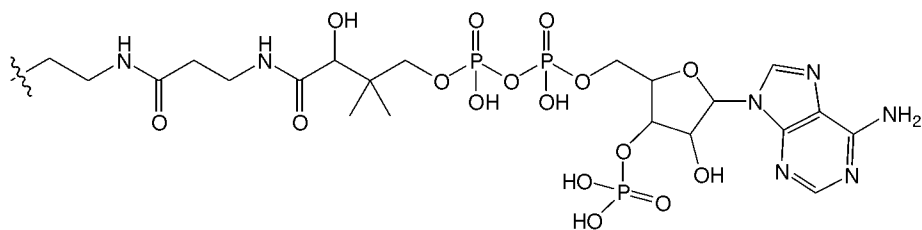
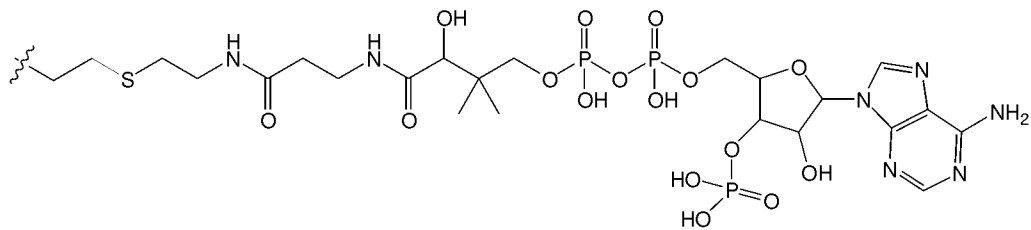
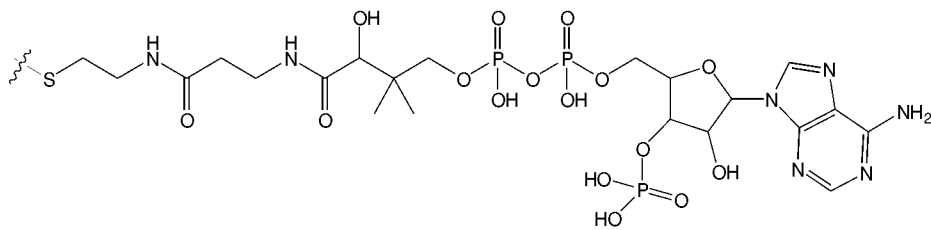
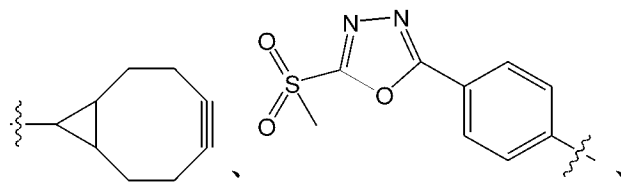
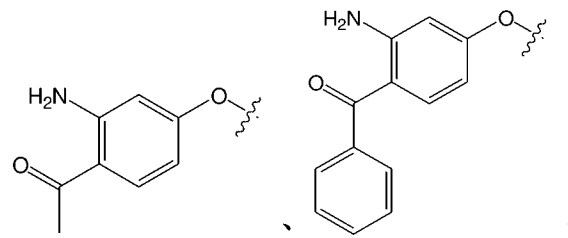
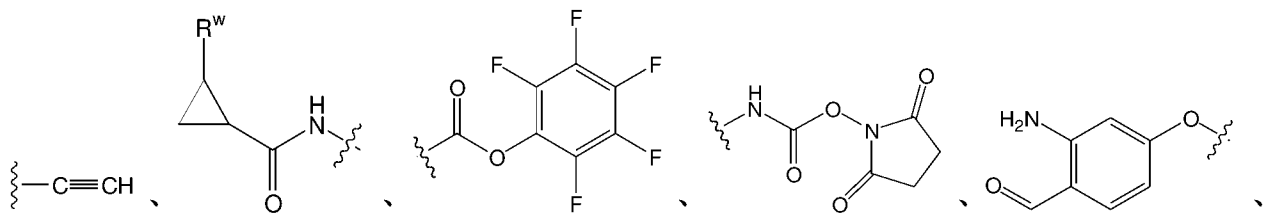
【0151】 在某些實施例中，L為未分支的連接子，亦即適用於與每個連接子之單一細胞毒性劑或有效負載綴合。

【0152】 在某些實施例中，L為分支的連接子，例如具有2、3、4、5、6、7、8或更多個分支，其中各分支適用於與細胞毒性劑或有效負載綴合，藉此適用於與每個連接子之超過一種細胞毒性劑或有效負載綴合。

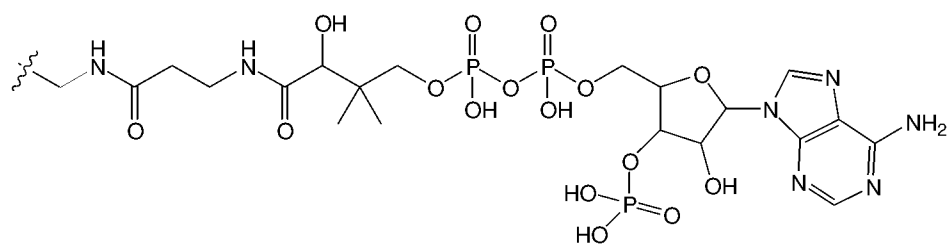
【0153】 在式(I)至(V⁶)中之任一者之某些實施例中，R^z (若存在)包含適用於與抗原結合部分綴合之官能性或反應性基團，例如選自以下之官能性或反應性基團：

-N₃、-NR^uC(=O)CH=CH₂、-SH、-SSR^t、-S(=O)₂(CH=CH₂)、-(CH₂)₂S(=O)₂(CH=CH₂)、
-NR^uS(=O)₂(CH=CH₂)、-NR^uC(=O)CH₂R^w、-NR^uC(=O)CH₂Br、-NR^uC(=O)CH₂I、
-NHC(=O)CH₂Br、NHC(=O)CH₂I、-ONH₂、-C(=O)NHNH₂、-CO₂H、-NH₂、-NCO、
-NCS、





或

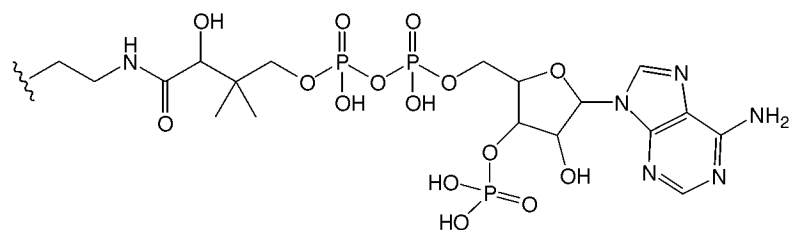
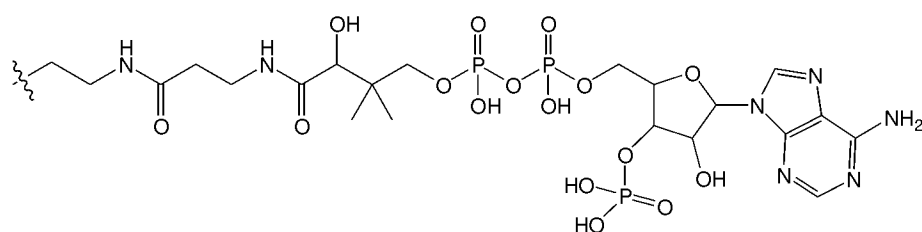
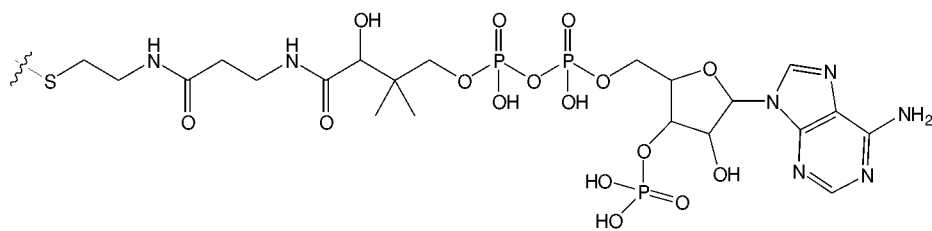
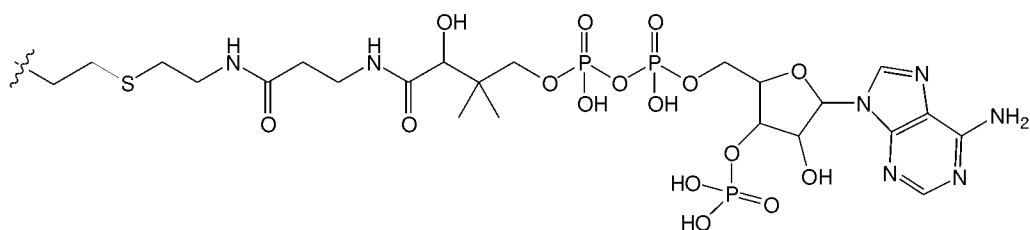


其中

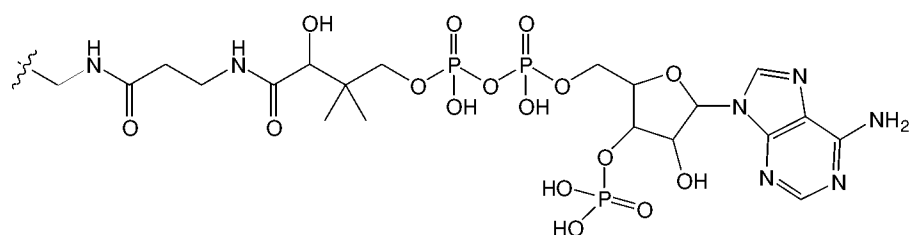
R^u 為 H 或 C_1 - C_6 烷基，

R^t 為 2-吡啶基或 4-吡啶基，且

R^w 為



或

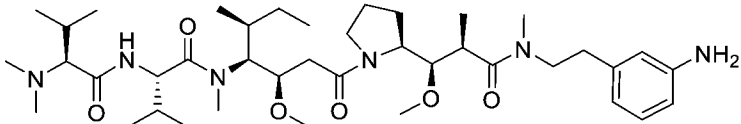
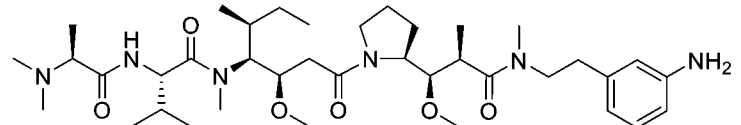
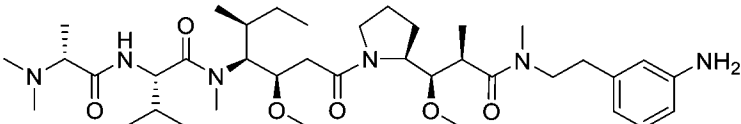
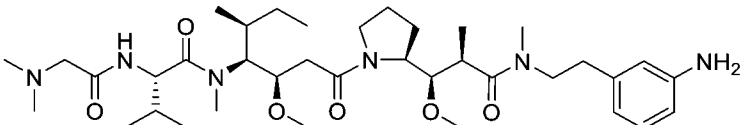
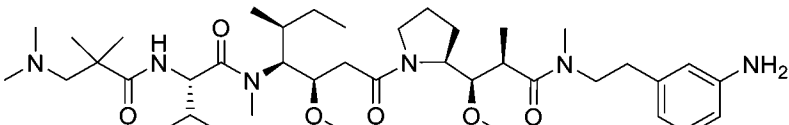
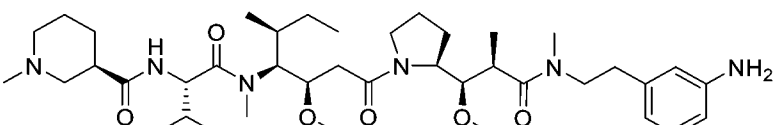
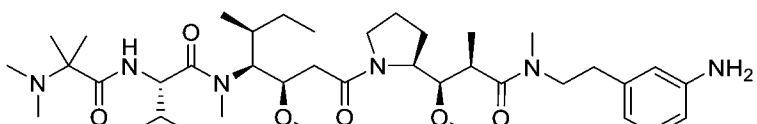
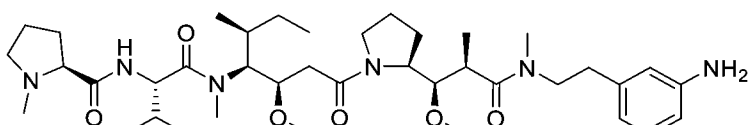


【0154】關於R^Z及/或L之組分中可採用之連接子及反應性或官能性基團的額外揭露內容提供於章節「連接子及連接技術」及「連接子-抗體及連接子-有效負載連接」及其中所引用之參考文獻中，其各者以引用之方式併入本文中。

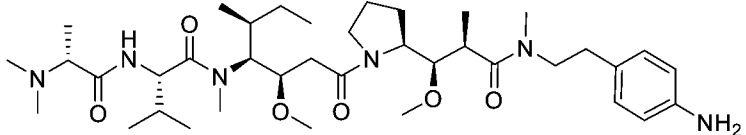
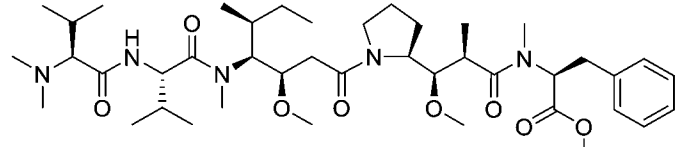
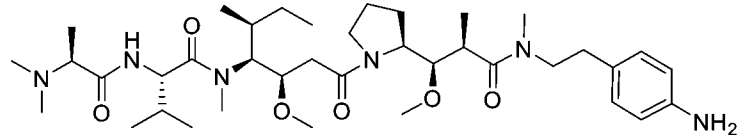
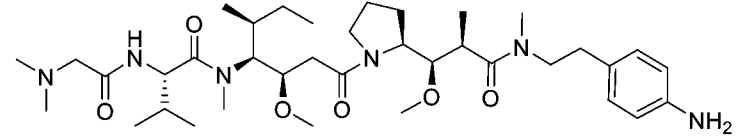
【0155】本發明亦包括用於合成澳瑞他汀類似物(包括其中間物或前驅物)之方法。

【0156】本發明之澳瑞他汀類似物之非限制性實例包括：

表 1. 澳瑞他汀類似物之實例

化合物編號	結構
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	

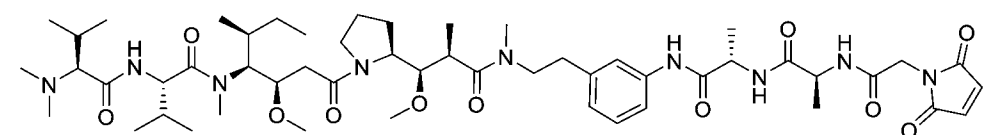
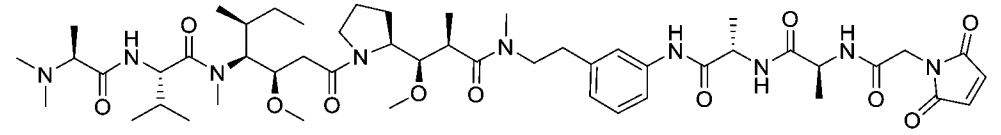
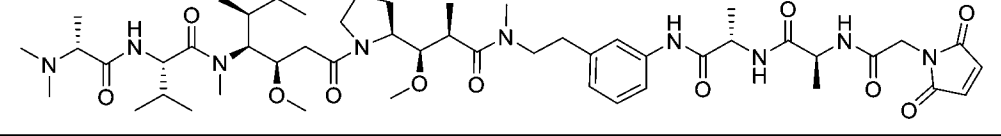
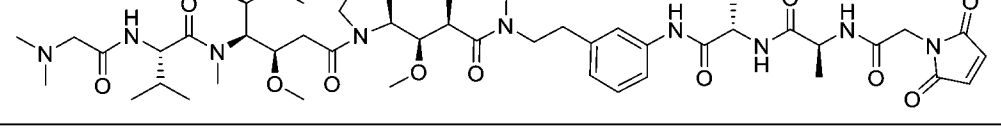
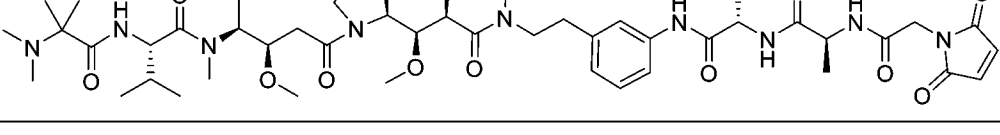
9	
10	
11	
12	
13	
14	
15	
16	
17	
18	
19	
23	

24	
25	
26	
27	

【0157】 在另一態樣中，本發明大體上係關於藉由本文所揭露之化合物於連接子之綴合形成的藥物-連接子綴合物。

【0158】 連接子綴合之澳瑞他汀類似物之非限制性實例包括：

表 2.澳瑞他汀類似物之實例

化合物編號	結構
28	
29	
30	
31	
32	

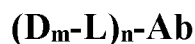
33	
34	
35	
36	
37	
38	
39	
40	

【0159】 用於測定化合物與微管蛋白之結合親和力的方法為此項技術中已知的。(參見例如，Muller等人 **2006** *Anal. Chem.* 78, 4390-4397；Hamel等人 **1995** *Molecular Pharmacology* 47: 965-976；Hamel等人 **1990** *J. Biological Chemistry* 265:28, 17141-17149。)

【0160】 在一些實施例中，本文中所揭露之澳瑞他汀類似物以範圍介於比單甲基澳瑞他汀E (MMAE)與微管蛋白之結合親和力低(弱)10倍至比MMAE與微管蛋白之結合親和力高(強)5倍、10倍、20倍、30倍、50倍或100倍的親和力結合微管蛋白。

免疫綴合物

【0161】 典型ADC由抗原結合部分(Ab)(例如單株抗體)、連接子(L)及細胞毒性劑或有效負載(D)構成，如下文所表示：



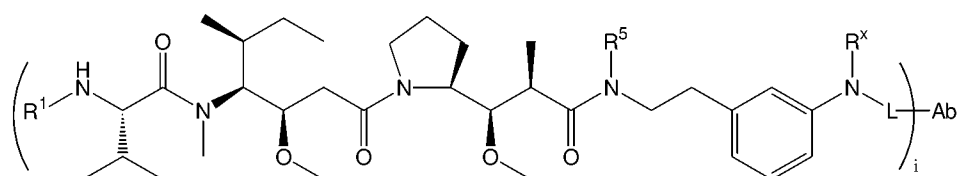
其中各 m 及 n 為整數。有效負載 D (例如本文中所揭露之澳瑞他汀類似物) 可與 Ab 之不同部分綴合且通常經由半胱胺酸或離胺酸殘基連接。一般而言，超過一種有效負載 D 分子可連接至各 Ab 。當採用分支的連接子時，超過一種有效負載 D 部分可連接至各連接子 L 。在一些實施例中， n 範圍介於 1 至 16、1 至 12、1 至 10、1 至 8、1 至 6、1 至 5、1 至 4、1 至 3 或 1 至 2。在一些實施例中， n 範圍介於 2 至 10、2 至 8、2 至 7、2 至 6、2 至 5、2 至 4 或 2 至 3。在其他實施例中， n 為 1、2、3、4、5 或 6。在一些實施例中， n 為 2、3 或 4。在一些實施例中， L 為未分支的連接子 m 為 1。在一些實施例中， L 為分支的 linker 且 m 可範圍介於 2 至 10、2 至 8、2 至 6 或 2 至 4。在一些實施例中， m 為 2、3 或 4。

【0162】 藥物與抗體比率(DAR)或藥物負載可藉由習知手段，諸如UV、質譜、ELISA分析、HIC、HPLC或電泳表徵。在例示性實施例中，DAR範圍介於1至16、2至8、1至12、1至10、1至8、1至6、1至5、1至4、1至3、1至2或約1。

【0163】 免疫綴合物之DAR可藉由各種方法來控制，包括限制有效負載-連接子中間物或連接子試劑相對於抗原結合部分之莫耳過量；限制綴合反應時間或溫度；改變半胱胺酸硫醇修飾之還原條件；及修改半胱胺酸殘基之數目及位置及連接子-有效負載連接之位置。(參見例如，WO 2006/034488 A2。)

【0164】 在一個態樣中，本發明大體上係關於藉由本文所揭露之化合物經由連接子與抗原結合部分之綴合而形成的免疫綴合物。

【0165】 在另一態樣中，本發明大體上係關於一種免疫綴合物，其具有結構式(VI)：

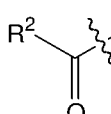


(VI)

或其醫藥學上可接受之鹽，

其中

Ab 表示抗原結合部分；

R^1 為 ，其中 R^2 為未經取代或經取代之 C_1 - C_6 烷基、雜烷基、環烷基或環雜烷基；

R^x 及 R^y 中之各者獨立地選自 R 及 $L-R^z$ ，其限制條件為當 R^x 及 R^y 中之一者為 NR^z 時，其他者為 R；

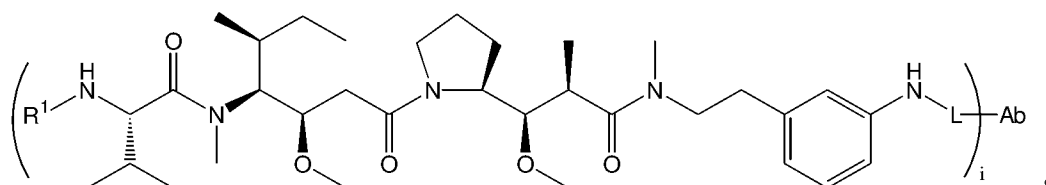
R^5 為 CR'_3 ，其中各 R' 獨立地為 H 或 F；

L 為連接子；且

R 為 H 或 C_1 - C_3 烷基；且

i 為 1 至約 20 範圍內之整數。

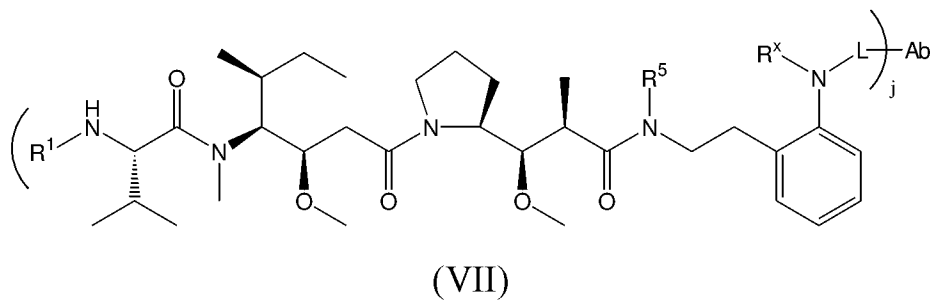
【0166】在式(VI)之免疫綴合物之某些實施例中， R^5 為 CH_3 且 R^x 為 H，且免疫綴合物具有結構式(VI¹)：

(VI¹)

【0167】在式(VI)至(VI¹)之某些實施例中， i 為 1 至 20 範圍內之整數。在某些實施例中， i 為 1 至 16 範圍內之整數。在某些實施例中， i 為 1 至 12 範圍內之整數。

在某些實施例中， i 為1至10範圍內之整數。在某些實施例中， i 為1至8範圍內之整數。在某些實施例中， i 為1至6範圍內之整數。在某些實施例中， i 為1至5範圍內之整數。在某些實施例中， i 為1至約4範圍內之整數。在某些實施例中， i 為1至3範圍內之整數。在某些實施例中， i 為1至2範圍內之整數。在某些實施例中， i 為1。

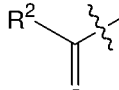
【0168】在另一態樣中，本發明大體上係關於一種免疫綴合物，其具有結構式(VII)：



或其醫藥學上可接受之鹽，

其中

Ab 表示抗原結合部分；

R^1 為 ，其中 R^2 為未經取代或經取代之 C_1-C_6 烷基、雜烷基、環烷基或環雜烷基；

R^x 及 R^y 中之各者獨立地選自 R 及 $L-R^z$ ，其限制條件為當 R^x 及 R^y 中之一者為 NR^z 時，其他者為 R；

R^5 為 CR'_3 ，其中各 R' 獨立地為 H 或 F；

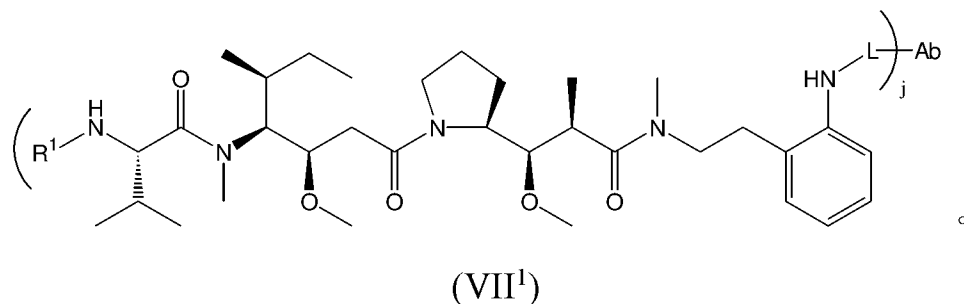
L 為連接子；且

R 為 H 或 C_1-C_3 烷基；且

j 為 1 至約 20 範圍內之整數。

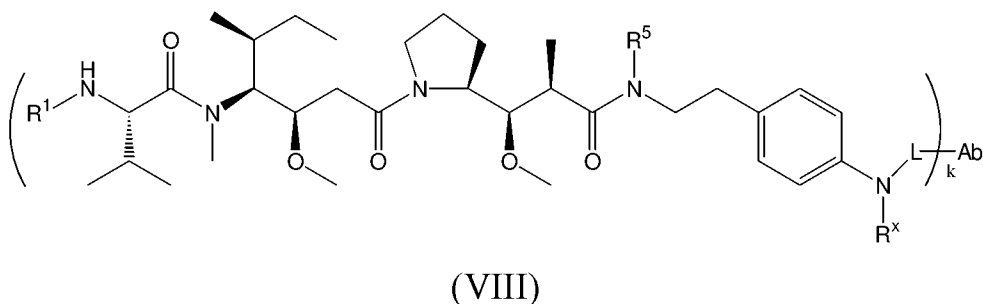
【0169】在式(VII)之免疫綴合物之某些實施例中， R^5 為 CH_3 且 R^x 為 H，其具

有結構式(VII¹)：



【0170】 在式(VII)至(VII¹)之某些實施例中， j 為1至20範圍內之整數。在某些實施例中， j 為1至16範圍內之整數。在某些實施例中， j 為1至12範圍內之整數。在某些實施例中， j 為1至10範圍內之整數。在某些實施例中， j 為1至8範圍內之整數。在某些實施例中， j 為1至6範圍內之整數。在某些實施例中， j 為1至5範圍內之整數。在某些實施例中， j 為1至約4範圍內之整數。在某些實施例中， j 為1至3範圍內之整數。在某些實施例中， j 為1至2範圍內之整數。在某些實施例中， j 為1。

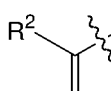
【0171】 在又另一態樣中，本發明大體上係關於一種免疫綴合物，其具有結構式(VIII)：



或其醫藥學上可接受之鹽，

其中

Ab 表示抗原結合部分；

R^1 為 ，其中 R^2 為未經取代或經取代之 C_1 - C_6 烷基、雜烷基、環烷基或環雜烷基；

R^x 及 R^y 中之各者獨立地選自 R 及 $L-R^z$ ，其限制條件為當 R^x 及 R^y 中之一者為 NR^z 時，其他者為 R ；

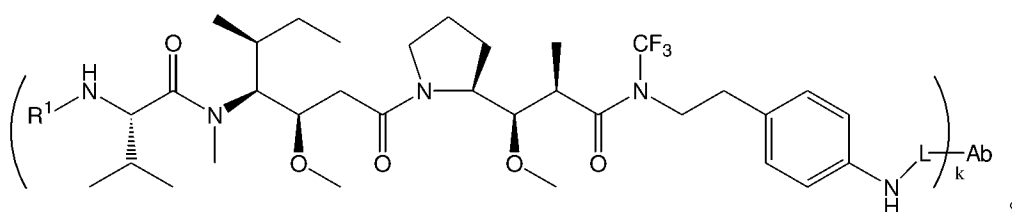
R^5 為 CR'_3 ，其中各 R' 獨立地為 H 或 F ；

L 為連接子；且

R 為 H 或 C_1-C_3 烷基；且

k 為 1 至約 20 範圍內之整數。

【0172】在式(VIII)之免疫綴合物之某些實施例中， R^5 為 CF_3 且 R^x 為 H ，其具有結構式(VIII¹)：



(VIII¹)

【0173】在式(VIII)至(VIII¹)之某些實施例中， k 為 1 至 20 範圍內之整數。在某些實施例中， k 為 1 至 16 範圍內之整數。在某些實施例中， k 為 1 至 12 範圍內之整數。在某些實施例中， k 為 1 至 10 範圍內之整數。在某些實施例中， k 為 1 至 8 範圍內之整數。在某些實施例中， k 為 1 至 6 範圍內之整數。在某些實施例中， k 為 1 至 5 範圍內之整數。在某些實施例中， k 為 1 至約 4 範圍內之整數。在某些實施例中， k 為 1 至 3 範圍內之整數。在某些實施例中， k 為 1 或 2。在某些實施例中， k 為 1。

【0174】在式(VI)至(VIII¹)中發現之所有取代基(例如， R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^x 、 R^y 、 R 、 R' 、 L)可如名稱「澳瑞他汀類似物及細胞毒素」之章節中結合式(I)至(V⁶)中所論述進行選擇且以其全部內容併入本文中，包括 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^x 、 R^y 、 R 、 R' 、 L 及 R^z 中之各者及所有組合及所得化合物。本發明因此包括對應於 Ab 連接之式(I)至(V⁶)的免疫綴合物。

【0175】除其中抗原結合部分為抗體或抗體片段之免疫綴合物以外，本發

明另外包括其中抗原結合部分為肽且其中抗原結合部分為小分子配位體之免疫綴合物。(參見例如，Zhuang等人 **2019** *Eur. J. Med. Chem.* 163, 883-895；Patel等人 **2021** *New J. Chem.* 45, 5291-5321。)

【0176】本發明亦包括用於合成免疫綴合物(包括其中間物或前驅物)之方法。本發明另外包括一種組成物，其包含免疫綴合物、中間物或其前驅物。

抗原結合部分

【0177】迄今為止，已鑑別許多獨特抗原且可潛在地用於以抗體為主之療法中作為目標。當選擇抗原時，一般考慮若干因素。首先，目標抗原應在腫瘤中具有高表現且在健康細胞中無表現或低表現。實例為HER2受體，其相較於健康細胞在腫瘤細胞中之表現高幾乎100倍。其次，目標抗原應顯示於腫瘤細胞之表面上以可用於循環單株抗體。另外，目標抗原應具有內化特性，因為其將有助於ADC轉運至細胞中，此將繼而增強細胞毒性劑之功效。儘管一些研究已證明針對腫瘤微環境之組分的未內化ADC產物可在細胞外空間中有效地分離其藥物且在一些情況下判斷強效治療活性，且ADC通常誘導強「旁觀者效應(bystander effect)」。(Strohl WR **2018** *Protein & Cell.* 9(1):86-120；Damelin等人 **2015** *Pharma. Res.* 32(11):3494-507；Diamantis等人 **2016** *British J. Cancer* 114(4):362-7；Tipton等人 **2015** *Blood* 125(12):1901-9；Donaghy等人 **2016** *mAbs.* 8(4):659-71；Casi等人 **2015** *Molecular Pharmaceutics* 12(6):1880-4。)

【0178】抗原結合部分可選擇性結合於在目標細胞類型上發現之細胞表面標記物的任何部分。一般而言，抗體應較佳具有目標特異性且將細胞毒性藥物遞送至腫瘤細胞且具有目標結合親和力，亦即對腫瘤細胞表面抗原之高結合親和力。另外，抗體應較佳具有良好的保持性、低免疫原性、低交叉反應性及適當的連接結合特性。(Peters等人 **2015** *Bioscience Reports* 35(4)；Hughes B **2010** *Nature Reviews Drug Discovery* 9(9):665-7。)

【0179】 在某些實施例中，Ab為抗體。

【0180】 在某些實施例中，Ab為單株抗體。

【0181】 在某些實施例中，Ab為嵌合抗體。

【0182】 在某些實施例中，Ab為人源化抗體。

【0183】 在某些實施例中，Ab為雙特異性抗體。

【0184】 在某些實施例中，Ab為抗體片段。

【0185】 在某些實施例中，Ab為Fab片段。

【0186】 在某些實施例中，Ab為肽。

【0187】 在某些實施例中，Ab為小分子配位體。

【0188】 在一些態樣中，Ab為特異性結合於主要或優先在癌細胞之表面上發現之抗原(例如，腫瘤相關抗原)的抗體或抗體片段(例如，抗體之抗原結合片段)。

【0189】 在一些態樣中，Ab為特異性結合於細胞表面受體蛋白質或其他細胞表面分子、細胞存活調控因子、細胞增殖調控因子、與已知或疑似功能性地促進組織發育或分化相關之分子、淋巴激素、細胞介素、參與細胞週期調控之分子、參與血小管生成之分子或與已知或疑似功能性地促進血管生成相關之分子的抗體或抗體片段(例如，抗原結合片段)。

【0190】 因此，適用於本發明之免疫綴合物的抗原結合部分包括但不限於針對細胞表面受體及腫瘤相關或腫瘤特異性抗原之抗體，其為此項技術中熟知的且可經製備以用於使用此項技術中已知之方法及資訊產生抗體。

【0191】 為試圖發現對於癌症診斷及療法有效的細胞目標，研究人員設法鑑別與一或多個正常非癌細胞相比特異性表現於一或多種特定類型之癌細胞之表面上的跨膜或另外的腫瘤相關或腫瘤特異性多肽。腫瘤相關多肽與在非癌細胞之表面上相比更大量地表現於癌細胞之表面上，而腫瘤特異性多肽特異性地

表現於一或多種特定類型之癌細胞之表面上而非表現於非癌細胞上。此類細胞表面抗原多肽之鑑別已產生特異性靶向癌細胞以經由以抗體為主之療法進行破壞的能力。(參見例如, Liu等人 2017 *Eur. J. Cancer Care (Engl)*. 2017年9月; 26(5), 數位物件識別碼: 10.1111/ecc.12446; WO 2016/192527 A1。)

【0192】 腫瘤相關抗原可為簇分化因子(例如, CD蛋白質)。在本發明之一些態樣中, 本發明之抗原結合部分特異性結合於一種抗原。在本發明之一些態樣中, 本發明之抗原結合部分特異性結合於本文所描述之二種或更多種抗原, 例如本發明之抗原結合部分為雙特異性或多特異性抗體或其抗原結合片段。

【0193】 抗體或抗原結合片段之非限制性實例包括抗雌激素受體抗體、抗孕酮受體抗體、抗p53抗體、抗HER-2抗體、抗EGFR抗體、抗組織蛋白酶D抗體、抗BCL-2抗體、抗上皮鈣黏蛋白抗體、抗CA125抗體、抗CA15-3抗體、抗CA19-9抗體、抗c-erbB-2抗體、抗P-醣蛋白抗體、抗CEA抗體、抗視網膜母細胞瘤蛋白抗體、抗ras癌蛋白抗體、抗Lewis X抗體、抗Ki 67抗體、抗PCNA抗體、抗CD3抗體、抗CD4抗體、抗CD5抗體、抗CD7抗體、抗CD8抗體、抗CD9/p24抗體、抗CD1抗體、抗CD11c抗體、抗CD13抗體、抗CD14抗體、抗CD15抗體、抗CD19抗體、抗CD20抗體、抗CD22抗體、抗CD23抗體、抗CD30抗體、抗CD31抗體、抗CD33抗體、抗CD34抗體、抗CD35抗體、抗CD38抗體、抗CD39抗體、抗CD41抗體、抗LCA/CD45抗體、抗CD45RO抗體、抗CD45RA抗體、抗CD71抗體、抗CD95/Fas抗體、抗CD99抗體、抗CD100抗體、抗S-100抗體、抗CD106抗體、抗泛蛋白抗體、抗c-myc抗體、抗細胞角蛋白抗體、抗 λ 輕鏈抗體、抗黑素體抗體、抗前列腺特異性抗原抗體、抗tau抗原抗體、抗纖維蛋白抗體、抗角蛋白抗體及抗Tn抗原抗體。

【0194】 適用於本發明之免疫綴合物之抗體及抗體片段包括經修飾或經工程改造之抗體, 諸如經修飾以引入半胱胺酸殘基或其他反應性胺基酸(包括Pel、

吡咯離胺酸、肽標籤及非天然胺基酸)代替天然序列之至少一個胺基酸的抗體，因此提供抗體或抗原結合片段上之反應位點以供與細胞毒性劑綴合。

【0195】藥物部分之位置可經設計、控制及已知。舉例而言，半胱胺酸胺基酸可在抗體中之反應性位點處經工程改造且其不形成鏈內或分子間二硫化物鍵。(Junutula等人 2008 *Nature Biotech.* 26(8):925-932；Dornan等人 2009 *Blood* 114(13):2721-2729；美國專利第7,521,541 B2號；美國專利第7,723,485 B2號；WO 2009/052249 A2。)經工程改造之半胱胺酸硫醇可與具有硫醇反應性親電子基團(諸如順丁烯二醯亞胺或 α 鹵基醯胺)的本發明之連接子試劑或藥物-連接子試劑反應以形成具有經半胱胺酸工程改造之抗體及藥物部分的ADC。

【0196】另外，抗體或抗體片段可經修飾以併入PeI或吡咯離胺酸或非天然胺基酸作為與藥物綴合之位點。用於酶促綴合方法之肽標籤可引入至抗體中。(Junutula等人 2008 *Nat. Biotechnol.* 26:925-932；Ou等人 2011 *PNAS* 108 (26), 10437-10442；Axup等人 2012 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109, 16101-16106；Liu等人 2010 *Annu. Rev. Biochem.* 79, 413-444；Kim等人 2013 *Curr. Opin. Chem. Biol.* 17, 412-419；Strop等人 2013 *Chem. Biol.* 20(2):161-7；Rabuka 2010 *Curr. Opin. Chem. Biol.* 14(6):790-6；Rabuka 等人 2012 *Nat. Protoc.* 7(6): 1052-67；WO 2015/095301 A2；WO 2013/184514 A2。)

【0197】抗體及抗體片段可容易地藉由此項技術中已知之任何方法產生，包括但不限於重組表現、化學合成及抗體四聚體之酶促消化，而全長單株抗體可藉由例如融合瘤或重組產生來獲得。重組表現可來自此項技術中已知之任何適當宿主細胞，例如哺乳動物宿主細胞、細菌宿主細胞、酵母宿主細胞、昆蟲宿主細胞等。(參見例如，Carvalho等人 2016 「Production Processes for Monoclonal Antibodies」，數位物件識別碼：10.5772/64263 (<https://www.intechopen.com/chapters/51512>)；Monoclonal Antibody Production,

Committee on Methods of Producing Monoclonal Antibodies, Institute for Laboratory Animal Research, National Research Council, NATIONAL ACADEMY PRESS Washington, DC 1999 ; Jakobovits 1998 *Adv. Drug Del. Rev.* 31:33-42 ; Marks等人 1991 *J. Mol. Biol.* 222:581 ; Cole等人 1985 *Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy* 77-96 ; Teng等人 1983 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 80:7308-7312 ; Kozbor等人, 1983 *Immunology Today* 4:72-79 ; Olsson等人 1982 *Meth. Enzymol.* 92:3-16 ; 美國專利第6,657,103 B2號。)

連接子及連接技術

【0198】 本文中所揭露之細胞毒性劑適用於在免疫綴合物中用作有效負載。本發明之澳瑞他汀類似物可連接至連接子或直接連接至抗原結合部分。ADC中之連接子通常經設計以在循環中實現高穩定性，且在可裂解連接子之情況下，在目標組織中實現有效負載之特異性釋放。

【0199】 用於建構免疫綴合物的適合連接子及連接技術為此項技術中所熟知且可用於製備本發明之免疫綴合物。一般而言，連接子可在抗原結合部分上之任何適合可用位置處連接至抗原結合部分，例如連接至可用的胺基氮原子(例如，一級或二級胺)或羥基氧原子，或連接至可用的硫氫基，諸如在半胱胺酸上。連接子與本文中所揭露之細胞毒性澳瑞他汀類似物的連續可在細胞毒性劑之N端或C端處。

【0200】 各種連接子及連接策略為已知的且可用於製備本發明之免疫綴合物。(參見例如，Kang等人 2021 「Recent developments in chemical conjugation strategies targeting native amino acids in proteins and their applications in antibody-drug conjugates」 *Chemical Science Royal Soc. of Chem.*, 數位物件識別碼：10.1039/d1sc02973h ; Su等人 2021 「Antibody-drug conjugates: Recent advances in linker chemistry」 *Acta Pharmaceutica Sinica B*,

<https://doi.org/10.1016/j.apsb.2021.03.042> ; Drago等人 2021 *Nature Reviews* 18, 327-344 ; Mckertish等人 2021 *Biomedicines* 9, 872 ; Bargh等人 2019 「Cleavable linkers in antibody-drug conjugates」 *Chem. Soc. Rev.* 48, 4361, 數位物件識別碼 : 10.1039/c8cs00676h ; Lash 2011 「Antibody-Drug Conjugates: the Next Generation of Moving Parts」 *Start-Up*, 2011年12月, 1-6 ; WO 2021/055865 A1 ; WO 2016/192527 A1 ; WO 2015/095301 A2 ; WO 2011/097627 A1 ; WO 2004/010957 A1 ; 美國公開案第20060074008 A2號 ; 美國公開案第20050238649 A2號 ; 及美國公開案第20060024317 A2號。)

【0201】 連接子可分類為可裂解的或不可裂解的。在具有不可裂解連接子之ADC的情況下，釋放通常經由ADC之內化，隨後使抗體在溶酶體中降解，從而引起有效負載之釋放仍經由連接子連接至抗體胺基酸殘基。不可裂解連接子之實例包括順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)及4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-甲酸酯(MCC)連接子。可裂解連接子之實例包括Val-Cit、N-丁二醯亞胺基-4-(2-吡啶基二硫基)丁酸酯(SPDB)、N-丁二醯亞胺基-4-(2-吡啶基二硫基)戊酸酯(SPP)及醯肼。

【0202】 對於包含可裂解連接子之免疫綴合物，連接子在活體內實質上穩定，直至免疫綴合物結合於細胞或進入細胞，此時胞內酶或胞內化學條件(pH、減小容量)使連接子裂解以釋放細胞毒性肽。

【0203】 可裂解連接子可進一步基於裂解機制分類為化學可裂解連接子(諸如酸可裂解連接子、可還原二硫化物連接子及外源刺激觸發之連接子)及酶可裂解連接子(諸如，含二肽Val-Cit之連接子、糖苷酶可裂解連接子、磷酸酶可裂解連接子)。酸可裂解連接子(亦稱為pH敏感性連接子)經設計以利用胞內體(pH 5.5-6.2)及溶酶體(pH 4.5-5.0)之酸性，雖然在pH 7.4下在循環中維持穩定性。酸可裂解連接子之實例為酸敏感性N-醯基醯肼鍵，其在酸催化時水解成酮及醯肼有

效負載。亦已報導含有其他官能基之酸可裂解連接子，諸如碳酸酯連接子。糖苷酶可裂解連接子包括β-葡萄糖醛酸苷酶可裂解連接子、β-半乳糖可裂解連接子、磷酸酶可裂解連接子。(參見例如，Bargh等人 **2019** 「Cleavable linkers in antibody-drug conjugates」 *Chem. Soc. Rev.* 48, 4361, 數位物件識別碼：10.1039/c8cs00676h；Ducry等人 **2010** *Bioconjugate Chem.*, 第21卷, 5-13；Jeffrey等人 **2006** *Bioconjugate Chem.* 17, 831-840；Burke等人 **2009** *Bioconjugate Chem.* 20, 1242-1250；Kolodych等人 **2017** *J. Med. Chem.* 142, 376-382；Kern等人 **2016** *Bioconjugate Chem.* 27, 2081-2088；Stenton等人 **2018** *Chem. Sci.* 9, 4185-4189；Pillow等人 **2017** *Mol. Cancer Ther.* 16, 871-878；Dubowchik等人 **1998** *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 8, 3341-3346；Dubowchik等人 **1998** *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 8, 3347-3352；WO 2021/055865 A1；WO 2016/192527 A1；WO 2015/095301 A2；US 2021/0138077 A1；WO 2013/173393 A1；WO 2011/097627 A1。)

連接子-抗體及連接子-有效負載連接

【0204】 多年來已開發出多種連接策略，包括位點特異性結合技術、抗體工程改造及化學修飾。

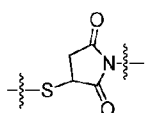
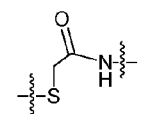
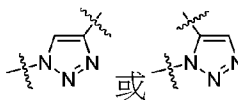
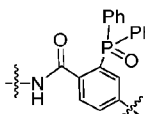
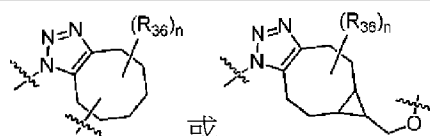
【0205】 主要連接方法包括順丁烯二醯亞胺連接(例如，N-烷基順丁烯二醯亞胺、N-苯基順丁烯二醯亞胺)、雙(乙烯磺醯基)哌啶連接、N-甲基-N-苯基乙烯基磺醯胺連接及以Pt(II)為主之連接。(參見例如，Su等人 **2021** 「Antibody-drug conjugates: Recent advances in linker chemistry」 *Acta Pharmaceutica Sinica B*, <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2021.03.042>；Mckertish等人 **2021** *Biomedicines* 9, 872；Patterson等人 **2015** *Bioconjug. Chem.* 26:2243e8；Lyu等人 **2018** *ACS Chem. Biol.* 13:958e64；Zhou 2017 *Biomedicines* 5:64；Christie等人 **2017** *Antibodies (Basel)* 6:20；Sun等人 **2019** *Org. Biomol. Chem.* 17: 2005e12；Huang等人 **2018** *Org. Lett.* 20: 6526e9；Sijbrandi等人 **2017** *Cancer Res.* 77: 257e67；Merkul等人 2020 *Angew*

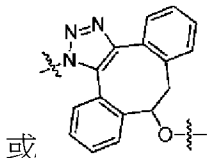
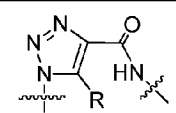
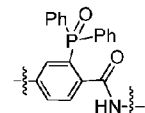
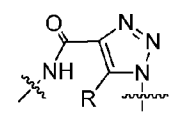
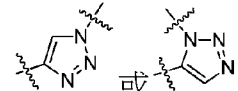
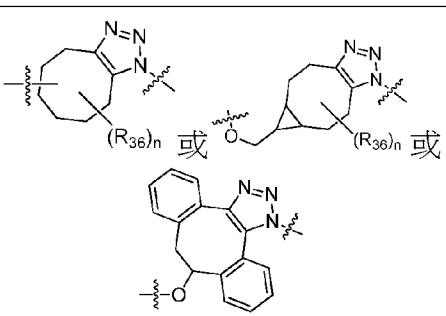
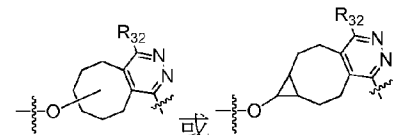
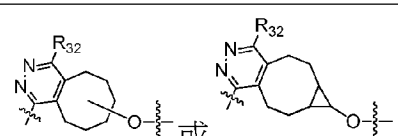
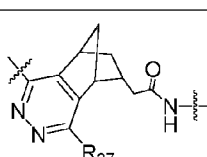
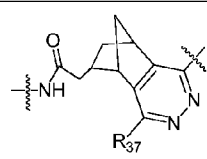
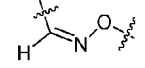
Chem. Int. Ed. Engl. 60:3008e15 ; Merkul 等人 2019 *Expert Opin. Drug Deliv.* 16:783e93 ; WO 2015/095301 A2 ; US 2021/0138077 A1 ; WO 2013/173393 A1 ; WO 2016/192527 A1 ; WO 2021/055865 A1 。)

【0206】 已報導多種連接子-有效負載連接策略，諸如胺基甲酸酯連接及碳酸酯連接。(參見例如， Wahby 等人 2020 *Clin. Cancer Res.* 可獲自：<https://doi.10.1158/1078-0432.CCR-20-3119> ; Perini 等人 2013 *Biol. Ther.* 3:15e23 ; Burke 等人 2016 *Mol. Cancer Ther.* 15:938e45 ; WO 2015/095301 A2 ; US 2021/0138077 A1 ; WO 2013/173393 A1 ; WO 2016/192527 A1 ; WO 2021/055865 A1 。)

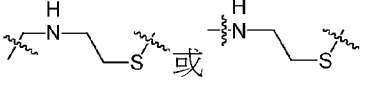
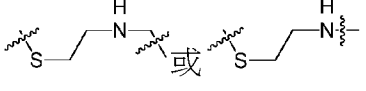
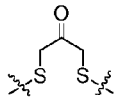
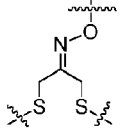
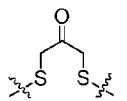
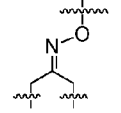
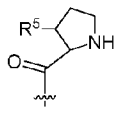
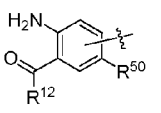
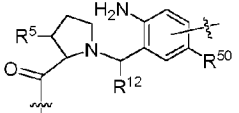
【0207】 連接策略及反應性基團之非限制性實例提供於表3中。(參見例如， WO 2015/095301 A2 ; 美國專利第9,988,420 B2號。)

表 3. 例示性反應性基團及部分

反應性基團 1	反應性基團 2	化學部分
硫醇	硫醇	-S-S-
硫醇	順丁烯二醯亞胺	
硫醇	鹵乙醯胺	
疊氮化物	炔烴	
疊氮化物	三芳基磷	
疊氮化物	環辛烯	

反應性基團 1	反應性基團 2	化學部分
		 或
疊氮化物	氧雜降冰片二烯	
三芳基磷	疊氮化物	
氧雜降冰片二烯	疊氮化物	
炔烴	疊氮化物	 或
環辛烯	疊氮化物	
環辛烯	二芳基四吡	
二芳基四吡	環辛烯	
單芳基四吡	降冰片烯	
降冰片烯	單芳基四吡	
醛	脛胺	

反應性基團 1	反應性基團 2	化學部分
醛	醯肼	
醛	NH ₂ -NH-C(=O)-	
酮	羥胺	
酮	醯肼	
酮	NH ₂ -NH-C(=O)-	
羥胺	醛	
羥胺	酮	
醯肼	醛	
醯肼	酮	
NH ₂ -NH-C(=O)-	醛	
NH ₂ -NH-C(=O)-	酮	
鹵乙醯胺	硫醇	
順丁烯二醯亞胺	硫醇	
乙烯基磺	硫醇	
硫醇	乙烯基磺	

反應性基團 1	反應性基團 2	化學部分
氮丙啶	硫醇	
硫醇	氮丙啶	
	脛胺	
	脛胺	
		

醫藥組成物及使用方法

醫藥組成物

【0208】 在另一態樣中，本發明大體上係關於一種組成物，其包含本文所揭露之化合物，諸如根據式(I)至(V⁶)及表1及表2中之任一者，或其醫藥學上可接受之鹽，及任擇地醫藥學上可接受之賦形劑、載體或稀釋劑。

【0209】 在又另一態樣中，本發明大體上係關於一種醫藥組成物，其包含本文中所揭露之免疫綴合物，諸如根據式(VI)至(VIII¹)中之任一者，或其醫藥學上可接受之鹽，及醫藥學上可接受之賦形劑、載體或稀釋劑。

【0210】 本發明因此提供一種醫藥製劑，其包含治療有效量的根據本發明之化合物或免疫綴合物。

【0211】 可適用的賦形劑之實例包括但不限於水、鹽水、右旋糖、甘露糖醇、乳糖、卵磷脂、白蛋白、麩胺酸鈉、半胱胺酸鹽酸鹽、澱粉、纖維素及膠。在一較佳實施例中，本發明之醫藥組成物以用於以固體(例如，錠劑、膠囊、口含劑、顆粒劑、栓劑、可復原以提供液體形式之結晶或非晶形無菌固體等)、液體(例如，溶液、懸浮液、乳液、酞劑、乳劑、藥膏等)或半固體(凝膠、軟膏、乳

膏及類似物)形式投予之醫藥形式調配。本發明之醫藥組成物可藉由任何途徑投予，包括但不限於經口、靜脈內、肌肉內、動脈內、髓內、鞘內、室內、經眼、皮下、腹膜內、鼻內、經腸、局部、舌下或經直腸途徑。活性成分之不同投予形式、待使用之賦形劑及其製造程序之修訂可見於Remington's Pharmaceutical Sciences (A. R. Gennaro編), 第20版, Williams & Wilkins PA, USA (2000)中。醫藥學上可接受之載劑之實例在目前先進技術中為已知的且包括用磷酸鹽緩衝之鹽水溶液、水、乳液(諸如油/水乳液)、不同類型之增濕劑、無菌溶液等。包含該載劑之組成物可藉由目前先進技術中已知之習知程序調配。防腐劑、穩定劑、染料及甚至調味劑、抗氧化劑及/或懸浮劑可提供於醫藥組成物中。舉例而言，可添加苯甲酸鈉、抗壞血酸及對羥基苯甲酸酯作為防腐劑。

【0212】 本發明亦涵蓋一種套組，其包含至少一種本文中所揭露之免疫綴合物及其中安置有免疫綴合物及/或醫藥組成物之注射器及/或瓶或安瓿。

使用方法

【0213】 在又另一態樣中，本發明大體上係關於一種用於治療或減輕疾病或病況之方法，其包含向有需要之個體投予治療有效量的本文中所揭露之免疫綴合物。

【0214】 在某些實施例中，疾病或病況為癌症。

【0215】 在某些實施例中，該方法進一步包含向個體投予化學療法及放射線療法中之一或多者。

【0216】 在又另一態樣中，本發明大體上係關於本文所揭露之免疫綴合物用於製造藥劑之用途。

【0217】 在某些實施例中，本文所揭露之免疫綴合物用於治療疾病或病況，其中疾病或病況為癌症。

【0218】 在又另一態樣中，本發明大體上係關於本文中所揭露之免疫綴合

物用於治療癌症之用途。

【0219】 例示性癌症包括：癌瘤、肉瘤、白血病及淋巴瘤。癌症類型及身體位置之癌症之詳盡清單可見於國家癌症研究所網站，例如 <https://www.cancer.gov/types> and <https://www.cancer.gov/types/by-body-location>，其各者以全文引用之方式併入本文中。

【0220】 在某些實施例中，疾病或病症為一或多種選自以下之癌症：胃癌、骨髓癌、大腸癌、鼻咽癌、食道癌及前列腺癌、神經膠瘤、神經母細胞瘤、乳癌、肺癌、卵巢癌、大腸直腸癌、甲狀腺癌、白血病(例如，骨髓性白血病、淋巴球性白血病、急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、急性淋巴母細胞性白血病、T-譜系急性淋巴母細胞性白血病或T-ALL慢性淋巴球性白血病、骨髓發育不良症候群、毛細胞白血病)、淋巴瘤(霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma)、非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma))、多發性骨髓瘤、膀胱癌、腎癌、胃癌(例如，胃腸道基質瘤)、肝癌、黑色素瘤及胰臟癌及肉瘤。

【0221】 免疫綴合物可一般藉由全身性途徑，特定言之藉由靜脈內途徑、藉由肌內、皮內、腹膜內或皮下途徑或藉由經口途徑投予。免疫綴合物通常靜脈內投予至個體之血流中以便避免抗體之胃酸或蛋白水解酶降解。在一些實施例中，包含本文中所揭露之免疫綴合物的組成物將以依序方式投予若干次。

組合療法

【0222】 在又另一態樣中，本發明大體上係關於一種組合，其包含治療有效量的本文中所揭露之免疫綴合物，及一或多種治療活性助劑及/或佐劑。

【0223】 助劑包括但不限於化學治療劑、生長因子抑制劑、生物反應調節劑、抗激素療法、選擇性雌激素受體調節劑(SERM)、血管生成抑制劑及抗雄激素。

【0224】 佐劑包括但不限於此項技術中已知之彼等佐劑。(參見例如，

Temizoz等人 2016 Int. Immunol. 28(7): 329-338。)

【0225】如本文所使用，術語「化學治療劑」係指適用於治療癌症之化合物。化學治療劑之實例包括埃羅替尼(Erlotinib) (TARCEVA[®], Genentech/OSI Pharm.)、硼替佐米(Bortezomib) (VELCADE[®], Millennium Pharm.)、氟維司群(ulvestrant) (FASLODEX[®], AstraZeneca)、紓癌特(Sutent) (SU11248, Pfizer)、來曲唑(Letrozole) (FEMARA[®], Novartis)、甲磺酸伊馬替尼(Imatinib mesylate) (GLEEVEC[®], Novartis)、PTK787/ZK 222584 (Novartis)、奧沙利鉑(Oxaliplatin) (Eloxatin[®], Sanofi)、5-FU (5-氟尿嘧啶)、甲醯四氫葉酸(Leucovorin)、雷帕黴素(Rapamycin) (西羅莫司(Sirolimus), RAPAMUNE[®], Wyeth)、拉帕替尼(Lapatinib) (TYKERB[®], GSK572016, Glaxo Smith Kline)、洛那法尼(Lonafarnib) (SCH 66336)、索拉非尼(Sorafenib) (BAY43-9006, Bayer Labs)及吉非替尼(Gefitinib) (IRESSA[®], AstraZeneca)、AG1478、AG1571 (SU 5271; Sugen); 烷化劑, 諸如噻替派(thiotepa)及CYTOXAN[®]環磷醯胺; 磺酸烷基酯, 諸如白消安(busulfan)、英丙舒凡(improsulfan)及哌泊舒凡(piposulfan); 氮丙啶, 諸如苯唑多巴(benzodopa)、卡波醯(carboquone)、米特多巴(meturedopa)及尤利多巴(uredopa); 乙炔亞胺及甲基三聚氰胺, 包括六甲蜜胺、三伸乙基三聚氰胺、三伸乙基磷醯胺、三伸乙基硫代磷醯胺及三羥甲基三聚氰胺; 多聚乙醯(尤其布拉他辛(bullatacin)及布拉他辛酮(bullatacinone)); 喜樹鹼(camptothecin) (包括合成類似物拓樸替康(topotecan)); 苔蘚蟲素(bryostatin); 海洋抑素(callystatin); CC-1065 (包括其阿多來新(adozelesin)、卡折來新(carzelesin)及比折來新(bizelesin)合成類似物); 念珠藻環肽(尤其克瑞托欣(cryptophycin) 1及克瑞托欣8); 尾海兔素; 倍癌黴素(duocarmycin) (包括合成類似物 KW-2189 及 CB1-TM1); 艾榴塞洛素(eleutherobin); 盤克斯達汀(pancratistatin); 沙考地汀(sarcodictyin); 海綿抑素(spongistatin); 氮芥, 諸如苯丁酸氮芥(chlorambucil)、蔡氮芥(chlornaphazine)、氮磷醯胺、雌氮芥、異環磷醯胺、

甲基二(氯乙基)胺(mechlorethamine)、甲基二(氯乙基)胺氧化物鹽酸鹽、美法侖(melphalan)、新氮芥、苯芥膽甾醇(phenesterine)、潑尼氮芥(prednimustine)、曲洛磷胺(trofosfamide)、尿嘧啶氮芥；亞硝基脲，諸如卡莫司汀(carmustine)、氯脲菌素(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀(lomustine)、尼莫司汀(nimustine)及雷莫司汀(ranimustine)；抗生素，諸如烯二炔抗生素(例如，卡利奇黴素(calicheamicin)，尤其卡利奇黴素 γ 及卡利奇黴素 ω II (1994 *Angew Chem. Intl. Ed. Engl.* 33: 183-186)；達米辛(dynemicin)，包括達米辛A；雙膦酸鹽，諸如氯屈膦酸鹽；埃斯培拉黴素(esperamicin)；以及新制癌菌素發色團及相關色蛋白烯二炔抗生素發色團)、阿克拉黴素(aclacinomycin)、放射菌素(actinomycin)、安麴黴素(authramycin)、偶氮絲胺酸(azaserine)、博來黴素(bleomycin)、放線菌素C、卡拉比辛(carabycin)、洋紅黴素(caminomycin)、嗜癌菌素(carzinophilin)、色黴素(chromomycin)、放線菌素D、道諾比星(daunorubicin)、地托比星(detorubicin)、6-重氮-5-側氧基-L-正白胺酸、ADRIAMYCIN[®](小紅莓(doxorubicin)、N-咪啉基-小紅莓、氰基-N-咪啉基-小紅莓、2-吡咯啉基-小紅莓及去氧小紅莓)、表柔比星(epirubicin)、依索比星(esonibicin)、伊達比星(idarubicin)、麻西羅黴素(marcellomycin)、絲裂黴素(mitomycin) (諸如絲裂黴素C)、黴酚酸、諾加黴素(nogalamycin)、橄欖黴素(olivomycin)、培洛黴素(peplomycin)、泊非羅黴素(porfiromycin)、嘌呤黴素(puromycin)、奎那黴素(quelamycin)、羅多比星(rodorubicin)、鏈黑菌素(streptonigrin)、鏈脲菌素(streptozocin)、殺結核菌素(tubercidin)、烏苯美司(ubenimex)、淨司他丁(zinostatin)、左柔比星(zorubicin)；抗代謝物，諸如甲胺喋呤(methotrexate)及5-氟尿嘧啶(5-FU)；葉酸類似物，諸如迪諾特寧(denopterin)、甲胺喋呤、蝶羅呤(pteropterin)、曲美沙特(trimetrexate)；嘌呤類似物，諸如氟達拉濱(fludarabine)、6-巰基嘌呤、硫咪嘌呤(thiamiprine)、硫烏嘌呤(thioguanine)；嘧啶類似物，諸如安西他濱(ancitabine)、氮胞苷

(azacitidine)、6-氮尿苷、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷(cytarabine)、二去氧尿苷(dideoxyuridine)、去氧氟尿苷(doxifluridine)、依諾他濱(enocitabine)、氟尿苷(floxuridine)；雄激素，諸如卡普甾酮(calusterone)、丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate)、環硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、甾內酯(testolactone)；抗腎上腺藥物，諸如胺魯米特(aminoglutethimide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane)；葉酸補充劑，諸如亞葉酸；乙醯葡醛酯(aceglatone)；醛磷醯胺糖苷(aldophosphamide glycoside)；胺基乙醯丙酸(aminolevulinic acid)；恩尿嘧啶(eniluracil)；安吡啶(amsacrine)；貝斯布西(bestrabucil)；比生群(bisantrene)；依達曲沙(edatraxate)；地磷醯胺(defofamine)；地美可辛(demecolcine)；地吡醯(diaziquone)；艾福米辛(elformthine)；依利醋鉍(elliptinium acetate)；埃坡黴素(epothilone)；依託格魯(etoglucid)；硝酸鎂；羥基脲；磨菇多糖(lentinan)；氯尼達明(lonidainine)；類美登素(maytansinoid)，諸如美登素(maytansine)及安絲菌素(ansamitocin)；丙脘脞(mitoguazone)；米托蒽醯(mitoxantrone)；莫哌達醇(mopidamol)；硝拉維林(nitracrine)；噴司他丁(pentostatin)；苯來美特(phenamet)；吡柔比星(pirarubicin)；洛索蒽醯(losoxantrone)；鬼臼酸(podophyllinic acid)；2-乙基醯肼；丙卡巴肼(procarbazine)；PSK[®]多醣複合物(JHS Natural Products, Eugene, Oreg.)；雷佐生(razoxane)；根瘤菌素(rhizoxin)；西索菲蘭(sizofuran)；螺旋鍺(spirogermanium)；細交鏈孢菌酮酸(tenuazonic acid)；三亞胺醯(triaziquone)；2,2',2"-三氯三乙胺；單端孢黴烯(trichothecene) (尤其T-2毒素、弗納庫林(verracurin) A、桿孢菌素(roridin) A及胺癸叮(anguidine))；烏拉坦(urethan)；長春地辛(vindesine)；達卡巴嗪(dacarbazine)；甘露醇氮芥(mannomustine)；二溴甘露醇(mitobronitol)；二溴衛矛醇(mitolactol)；哌泊溴烷(pipobroman)；加西托星(gacytosine)；阿拉伯糖苷(「Ara-C」)；環磷醯胺；噻替派；類紫杉醇，例如TAXOL[®] (紫杉醇(paclitaxel)；Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.)、ABRAXANE[®] (無克列莫佛

(Cremophor))、紫杉醇之經白蛋白工程改造之奈米粒子調配物(American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, 111.)及TAXOTERE[®](多西他賽(doxetaxel); Rhone-Poulenc Rorer, Antony, France); 苯丁酸氮芥; GEMZAR[®](吉西他濱(gemcitabine)); 6-硫代鳥嘌呤; 巯基嘌呤; 甲胺喋呤; 鉑類似物, 諸如順鉑(cisplatin)及卡鉑(carboplatin); 長春鹼(vinblastine); 依託泊苷(VP-16); 異環磷醯胺; 米托蒽醌; 長春新鹼(vincristine); NAVELBINE[®](長春瑞濱(vinorelbine)); 諾凡特龍(novantrone); 替尼泊苷(teniposide); 依達曲沙(edatrexate); 道諾黴素(daunomycin); 胺基喋呤(aminopterin); 卡培他濱(capecitabine)(XELODA[®]); 伊班膦酸鹽(ibandronate); CPT-11; 拓樸異構酶抑制劑RFS 2000; 二氟甲基鳥胺酸(DMFO); 類視黃素, 諸如視黃酸; 以及以上中之任一者之醫藥學上可接受之鹽、酸及衍生物。

【0226】 在某些實施例中, 本文中所揭露之治療方法可使得能夠使用減少劑量之化學療法(或其他療法)及/或較不頻繁投予, 此對於所有患者且對於不良好耐受化學治療劑之毒性之彼等患者有利。

【0227】 另外, 可使用生長因子抑制劑、生物反應調節劑、抗激素療法、選擇性雌激素受體調節劑(SERM)、血管生成抑制劑及抗雄激素。舉例而言, 可使用抗激素, 例如抗雌激素, 例如諾瓦得士(Nolvadex)(他莫昔芬(tamoxifen)), 或抗雄激素, 諸如康士得(Casodex)(4'-氰基-3-(4-氟苯基磺醯基)-2-羥基-2-甲基-3'-(三氟甲基)丙醯苯胺)。

【0228】 第二種、第三種或另外的藥劑或療法之額外實例可包括但不限於免疫療法(例如, PD-1抑制劑(派姆單抗(pembrolizumab)、納武單抗(nivolumab)、西米普利單抗(cemiplimab))、PD-L1抑制劑(阿替利珠單抗(atezolizumab)、阿維單抗(avelumab)、德瓦魯單抗(durvalumab))、CTLA4拮抗劑、細胞信號轉導抑制劑(例如, 伊馬替尼(imatinib)、吉非替尼、硼替佐米、埃羅替尼、索拉非尼、舒尼

替尼(sunitinib)、達沙替尼(dasatinib)、伏立諾他(vorinostat)、拉帕替尼(lapatinib)、坦羅莫司(temsirolimus)、尼羅替尼(nilotinib)、依維莫司(everolimus)、帕佐泮尼(pazopanib)、曲妥珠單抗(trastuzumab)、貝伐單抗(bevacizumab)、西妥昔單抗(cetuximab)、雷珠單抗(ranibizumab)、派加替尼(pegaptanib)、帕尼單抗(panitumumab)及類似物)、有絲分裂抑制劑(例如，紫杉醇、長春新鹼、長春鹼及類似物)、烷化劑(例如，順鉑、環磷醯胺、苯丁酸氮芥、卡莫司汀及類似物)、抗代謝物(例如，甲胺喋呤、5-FU及類似物)、嵌入抗癌劑(例如，放射菌素、蔥環黴素、博萊黴素、絲裂黴素C及類似物)、拓樸異構酶抑制劑(例如，伊立替康、拓樸替康、替尼泊昔及類似物)、免疫治療劑(例如，介白素、干擾素及類似物)、及抗激素藥劑(例如，他莫昔芬、雷諾昔酚(raloxifene)及類似物)。

【0229】 經同位素標記之化合物亦在本揭露內容之範疇內。如本文所使用，「經同位素標記之化合物」係指包括各自如本文所描述之其醫藥鹽及前驅藥的本發明所揭露之化合物，其中一或多個原子由原子質量或質量數不同於自然界中通常存在之原子質量或質量數的原子置換。可併入本發明所揭露之化合物中的同位素之實例包括氫、碳、氮、氧、磷、氟及氯之同位素，分別諸如 ^2H 、 ^3H 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{18}O 、 ^{17}O 、 ^{31}P 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{18}F 及 ^{36}Cl 。

【0230】 藉由對本發明所揭露之化合物進行同位素標記，該等化合物可適用於藥物及/或受質組織分佈分析。氘化(^3H)及碳-14(^{14}C)標記之化合物因其容易製備及可偵測性而尤其較佳。此外，用諸如氘(^2H)之較重同位素取代由於更大的代謝穩定性而可提供特定治療優勢，例如增加活體內半衰期或降低劑量需求，且因此在一些情況下可為較佳的。本發明所揭露之經同位素標記之化合物(包括其醫藥鹽、酯及前驅藥)可藉由此項技術中已知的任何手段製備。

【0231】 此外，用諸如氘之較重同位素取代正常豐度之氫(^1H)可獲得特定治療優點，例如由改良之吸收、分佈、代謝及/或排泄(ADME)特性產生，形成具

有改良之功效、安全性及/或耐受性的藥物。用¹³C置換正常豐度之¹²C亦可獲得益處。(參見，WO 2007/005643、WO 2007/005644、WO 2007/016361及WO 2007/016431。)

【0232】因此，本發明中涵蓋具有經氬原子置換之一或多個氬原子(例如，1、2、4、5、6、7、8、9、10等)的同位素衍生化合物。在某些實施例中，本發明之同位素衍生化合物具有一個經氬原子置換之氬原子。

【0233】本發明所揭露之化合物之立體異構物(例如，順式及反式異構物)及所有光學異構物(例如，R及S鏡像異構物)以及此類異構物之外消旋、非鏡像異構及其他混合物在本揭露內容之範疇內。

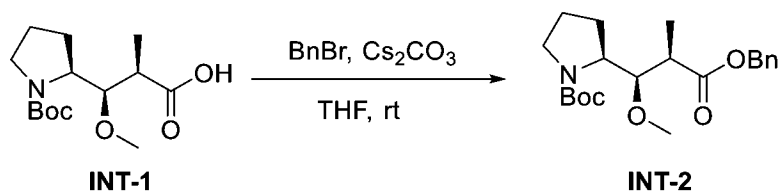
【0234】本發明化合物在其製備之後較佳地經分離及純化，以獲得含有按重量計等於或大於95% (「實質上純」)之量的組成物，其接著如本文所描述使用或調配。在某些實施例中，本發明化合物之純度超過99%。

【0235】本發明化合物之溶劑合物及多晶形物亦涵蓋於本文中。本發明化合物之溶劑合物包括例如水合物。

【0236】以下實例意欲說明本發明之實踐且不得以任何方式限制。

實例

合成

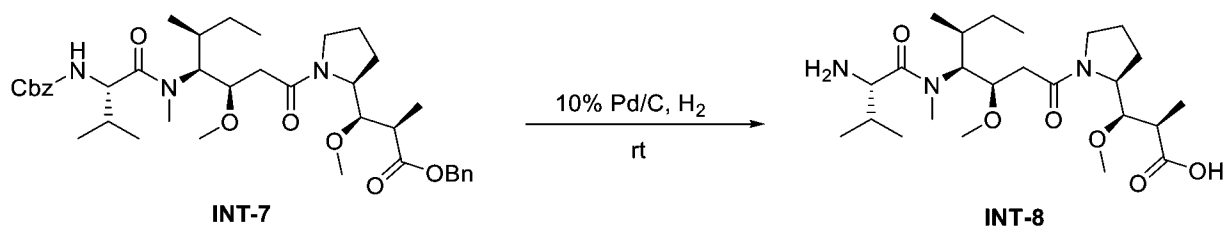


(S)-2-((1R,2R)-3-(苯甲氧基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-甲酸

三級丁酯 INT-2

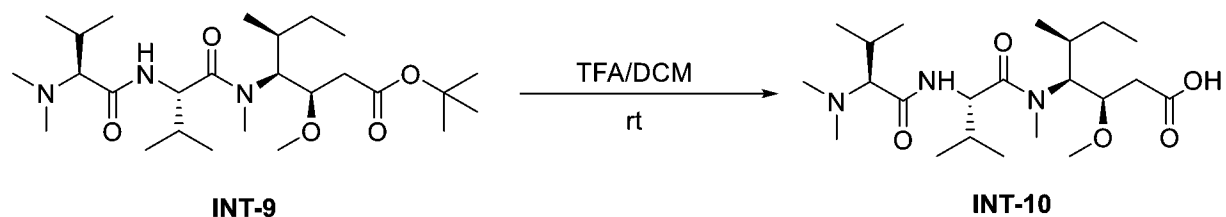
【0237】向(2R,3R)-3-((S)-1-(三級丁氧基羰基)吡咯啉-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酸INT-1 (19 g, 66.12 mmol; Leyan)於190 mL無水THF中之溶液中添加

mmol)於200 mL DMF中之溶液中添加HATU (16.9 g, 44.44 mmol)。將反應物冷卻至0°C，且添加DIEA (16.5 mL, 0.1 mmol)。使所得混合物自然升溫至室溫且攪拌3 h。LCMS顯示完成。將反應物用DCM (500 mL)稀釋，用H₂O (1 L*2)洗滌，經Na₂SO₄乾燥，過濾且濃縮至乾燥。藉由逆相管柱(H₂O/CH₃CN)純化殘餘物，得到呈黃色油狀之INT-7 (12.5 g, 81%產率)。LCMS (ESI): *m/z* 696.3 [M + H]⁺。



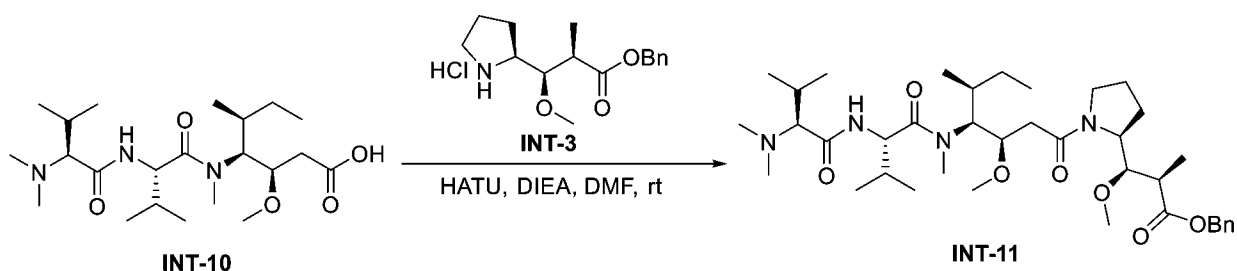
(2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-胺基-N,3-二甲丁醯胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚醯基)吡咯啉-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酸 INT-8

【0242】向INT-7 (12.5 g, 17.96 mmol)於125 mL MeOH中之溶液中添加10% Pd/C (3.75 g)。接著將反應物在H₂氛圍(1 atm)下在室溫下攪拌4 h。LCMS顯示完成。過濾混合物，且用DCM/MeOH = 1:1 (v/v) (50 mL*3)洗滌濾餅。濃縮合併之濾液，得到呈白色固體狀之INT-8 (8 g, 94%產率)。LCMS (ESI): *m/z* 472.1 [M + H]⁺; HPLC (NH₂管柱)：在210 nm下，99.7%，*R_t* = 6.59 min。



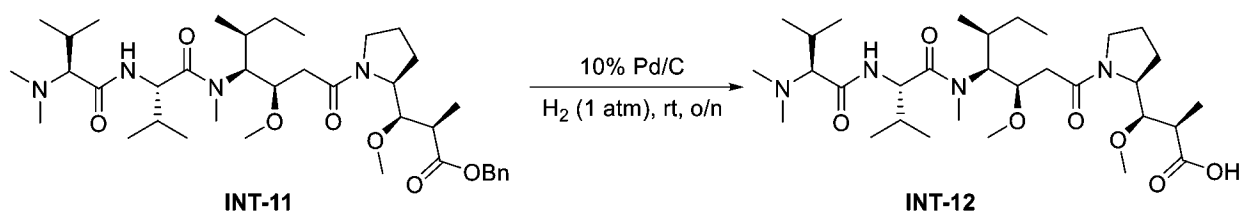
(3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(二甲基胺基)-3-甲基丁醯胺基)-N,3-二甲丁醯胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酸 INT-10

【0243】向INT-9 (8 g, 16.47 mmol)於100 mL DCM中之溶液中添加TFA (34.5 mL, 461.2 mmol)。將混合物在室溫下攪拌6 h。HPLC顯示完成。直接濃縮反應物，得到呈淡黃色油狀之粗INT-10 (9.5 g, 100%產率)，其不經進一步純化即直接用於下一步驟中。LCMS (ESI): *m/z* 430.2[M + H]⁺。



(2*R*,3*R*)-3-((*S*)-1-((3*R*,4*S*,5*S*)-4-((*S*)-2-((*S*)-2-(二甲基胺基)-3-甲基丁醯胺基)-*N*,3-二甲丁醯胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚醯基)吡咯啉-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酸苯甲酯 INT-11

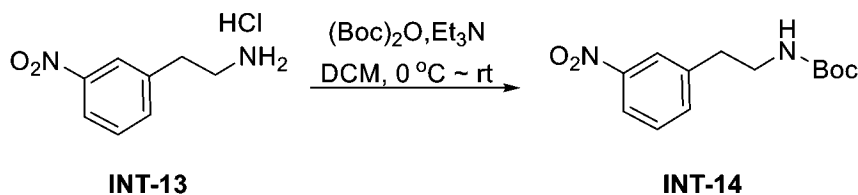
【0244】向粗INT-10 (9.5 g, 16.47 mmol; 參見上文)於50 mL DMF中之溶液中添加HATU (12.39 g, 32.6 mmol)及DIEA (12.1 mL, 73.33 mmol)。將反應物在室溫下攪拌0.5 h, 接著添加INT-3 (6.9 g, 22 mmol)。將所得混合物在室溫下攪拌20 h。LCMS顯示完成。濃縮反應物, 且藉由逆相管柱(H₂O/CH₃CN)純化殘餘物, 得到呈白色固體狀之INT-11 (6.57 g, 2個步驟58.5%產率)。LCMS (ESI): *m/z* 689.5 [M + H]⁺。



(2*R*,3*R*)-3-((*S*)-1-((3*R*,4*S*,5*S*)-4-((*S*)-2-((*S*)-2-(二甲基胺基)-3-甲基丁醯胺基)-*N*,3-二甲丁醯胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚醯基)吡咯啉-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酸 INT-12

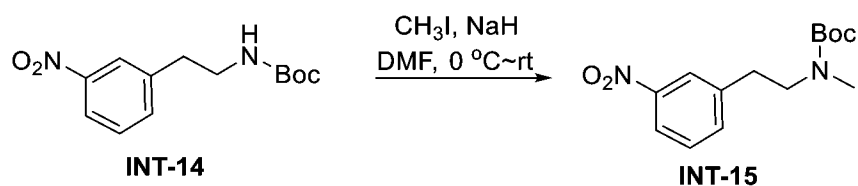
【0245】向INT-11 (6.4 g, 9.29 mmol)於315 mL MeOH/DCM (v/v = 20:1)中之溶液中添加10% Pd/C (1.6 g)。接著將反應物在H₂氛圍(1 atm)下在室溫下攪拌16 h。LCMS顯示完成。過濾混合物, 且濃縮濾液, 得到呈白色固體狀之INT-12 (5.61 g, 100%產率)。LCMS (ESI): *m/z* 599.3 [M + H]⁺; HPLC: 在210 nm下, 97.8%, *R*_t = 8.61 min; ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.29 (s, 1H), 9.51 (s, 1H), 8.91 (s, 1H),

4.66 (bs, 1H), 4.61 - 4.50 (m, 1H), 4.03 - 3.95 (m, 2H), 3.92 - 3.76 (m, 1H), 3.74 - 3.61 (m, 1H), 3.56 - 3.48 (m, 1H), 3.29 (s, 3H), 3.22 - 3.14 (m, 4H), [3.04 (s, 0.6H), 3.01 (s, 2.4H)], 2.82 - 2.68 (m, 6H), 2.48 - 2.43 (m, 1H), 2.39 - 2.26 (m, 3H), 2.08 - 1.83 (m, 4H), 1.83 - 1.68 (m, 3H), 1.35 - 1.27 (m, 1H), [1.18 (d, $J = 6.9$ Hz, 0.6H), 1.11 (d, $J = 6.8$ Hz, 2.4H)], 0.97 - 0.84 (m, 15H), 0.77 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H)。



3-硝基苯乙基胺基甲酸三級丁酯 INT-14

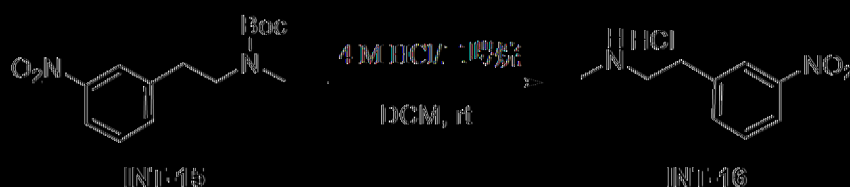
【0246】在室溫下在 N_2 氛圍下，向2-(3-硝基苯基)乙胺鹽酸鹽INT-13 (5.5 g, 27.14 mmol)於110 mL乾燥DCM中之溶液中添加 Et_3N (11.32 mL/8.24 g, 81.43 mmol)。藉由冰浴將混合物冷卻至 $0^\circ C$ ，接著添加 Boc_2O (2.37 g, 10.86 mmol)。使反應物自然升溫至室溫且攪拌16 h。TLC顯示完成(石油醚:EtOAc = 1:1, $R_f = 0.75$)。混合物藉由添加120 mL H_2O 淬滅，且接著用DCM (70 mL *3)萃取。將合併之有機層用 H_2O 及鹽水洗滌，經 Na_2SO_4 乾燥，過濾且濃縮至乾燥。藉由急驟層析(石油醚:EtOAc = 10:1至5:1, v/v)純化殘餘物，得到呈淡黃色油狀之INT-14 (7.23 g, 100%產率)。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.11-8.04 (m, 2H), 7.55-7.51 (m, 1H), 7.50-7.44 (m, 1H), 4.60 (bs, 1H), 3.41 (q, $J = 6.7$ Hz, 2H), 2.92 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 1.42 (s, 9H)。



甲基(3-硝基苯乙基)胺基甲酸三級丁酯 INT-15

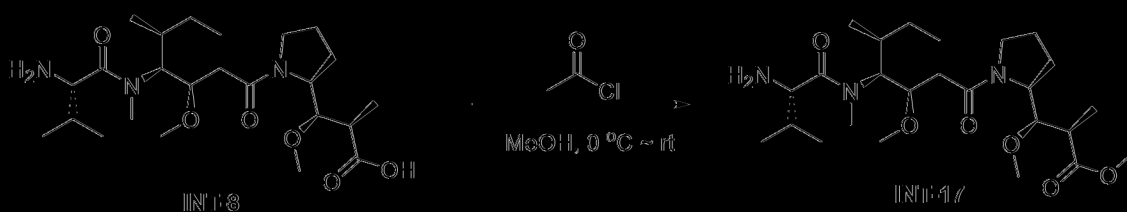
【0247】在 $0^\circ C$ 下在 N_2 氛圍下，在20 min內向3-硝基苯乙基胺基甲酸三級丁

將DNTC-14 (1.23 g, 27.13 mmol)於80 mL無水DMF中之溶液中逐份添加160% NaCl (1.63 g, 40.7 mmol), 持續3次。將混合物在0°C下攪拌10 min, 接著添加CCl₄ (2.87 mL, 46.12 mmol)。使反應物自然升溫至室溫且攪拌3 h。TLC顯示完成(石油醚:EtOAc = 5:1, R_f = 0.6)。混合物藉由在0°C下緩慢添加100 mL H₂O淬滅, 接著用EtOAc (60 mL *3)萃取。將合併之有機層用H₂O及鹽水洗滌, 經Na₂SO₄乾燥, 過濾且濃縮至乾燥。藉由急驟層析(石油醚:EtOAc = 50:1至40:1至30:1, v/v)純化殘餘物, 得到呈黃色油狀之DNTC-15 (6.56 g, 86%產率)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.12-8.03 (m, 2H), 7.60-7.41 (m, 2H), 3.48 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.99-2.88 (m, 2H), 2.84 (s, 3H), 1.37 (s, 9H)。



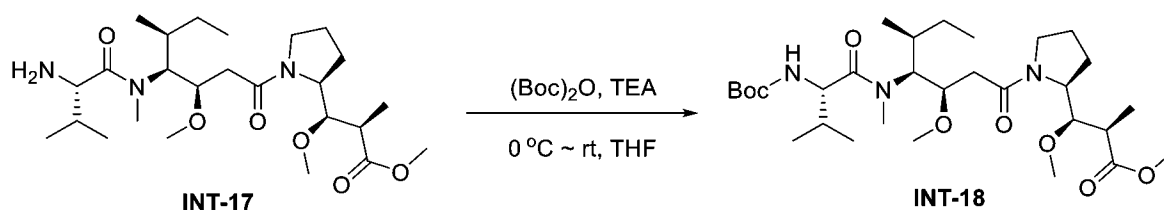
N-甲基-2-(3-硝基苄基)乙胺鹽酸鹽 DNTC-16

[0248] 向甲基(3-硝基苄基)胺基甲酸三級丁酯DNTC-15 (6.56 g, 23.40 mmol)於60 mL DCM中之溶液中添加4 M HCl/MeOH (30 mL, 120 mmol)。將反應物在室溫下攪拌2 h, 在此期間, 許多白色固體沈澱。TLC顯示完成。將混合物濃縮至乾燥。將殘餘物用MeOH (40 mL)漿化3次, 得到呈淡黃色固體狀之DNTC-16 (4.92 g, 91%產率): LCMS (ESI): m/z 181.1 [M+H]⁺; HPLC: 在210 nm下, 99.2%, R_t = 11.90 min; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.22 (bs, 2H), 8.17 (t, J = 1.8 Hz, 1H), 8.15-8.09 (m, 1H), 7.77 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.64 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 3.25-3.08 (m, 4H), 2.54 (s, 3H)。



(2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-胺基-N,3-二甲丁醯胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚醯基)吡咯啉-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酸甲酯 INT-17

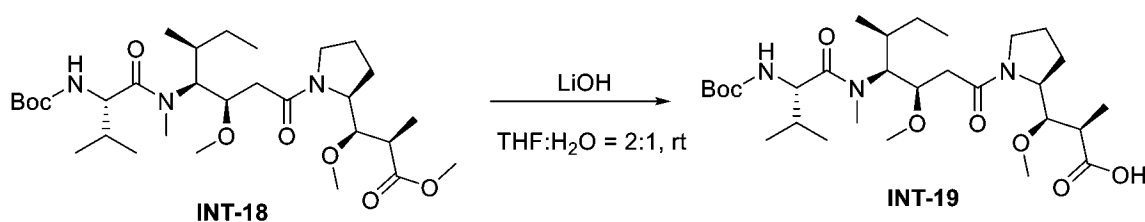
【0249】在0°C下在N₂氛圍下，將乙醯氯(1.16 mL, 16.22 mmol)逐滴添加至乾燥MeOH (17 mL)中。將溶液在0°C下攪拌1 h，隨後一次性添加INT-8 (1.5 g, 3.18 mmol)。使反應物自然升溫至室溫且攪拌16 h。LCMS顯示完成。在減壓下在35°C下將混合物濃縮至乾燥。藉由MTBE (15 mL* 2)漿化殘餘物，得到呈黃色泡沫固體狀之INT-17 (1.55 g, 100%產率)：LCMS (ESI): m/z 486.1 [M + H]⁺；HPLC (NH₂管柱)：在210 nm下，96.1%，R_t = 11.30 min；¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.67-8.07 (m, 2H), 4.90-4.51 (m, 1H), 4.50-4.30 (m, 1H), 4.22-4.09 (m, 1H), 4.02-3.88 (m, 1H), 3.87-3.73 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.60 - 3.37 (m, 6H), 3.32 (s, 3H), 3.21-3.04 (m, 2H), 3.03-2.89 (m, 1H), 2.62 - 2.54 (m, 1H), 2.53-2.42 (m, 2H), 2.36-2.22 (m, 1H), 2.13-2.01 (m, 2H), 1.96-1.81 (m, 2H), 1.60-1.47 (m, 1H), 1.36-1.21 (m, 7H), 1.15-1.00 (m, 7H), 0.95-0.82 (m, 3H)。



(2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((三級丁氧基羰基)胺基)-N,3-二甲丁醯胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚醯基)吡咯啉-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酸甲酯 INT-18

【0250】在室溫下在N₂氛圍下，向INT-17 (3.96 g, 7.58 mmol)於40 mL無水THF中之溶液中添加Et₃N (3.15 mL/2.30 g, 22.73 mmol)。藉由冰浴將混合物冷卻至0°C，接著添加Boc₂O (1.82 g, 8.33 mmol)。使反應物自然升溫至室溫且攪拌16 h。LCMS顯示完成。藉由濃縮移除THF溶劑，接著添加100 mL EtOAc。將所得混合物用H₂O (30 mL*2)及鹽水(30 mL)洗滌，經Na₂SO₄乾燥，過濾且濃縮。藉由急驟層析(石油醚:EtOAc = 5:1至3:1至1:1, v/v)純化殘餘物，得到呈無色油狀之

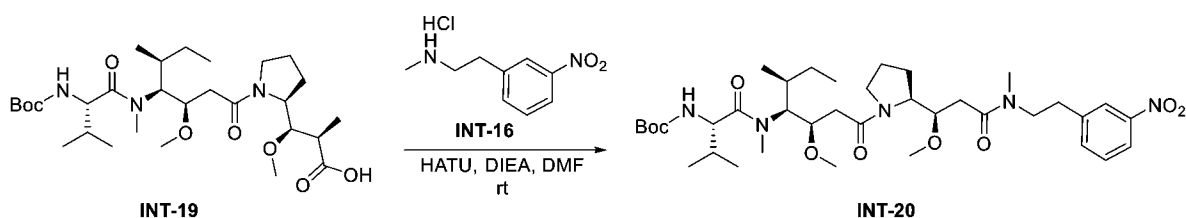
INT-18 (4.55 g, 76%產率)。LCMS (ESI): m/z 586.3 [M + H]⁺。



(2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((三級丁氧基羰基)胺基)-N,3-二甲丁醯胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚醯基)吡咯啉-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙酸 INT-19

【0251】 向**INT-18** (1.61 g, 2.75 mmol)於20 mL THF中之溶液中添加10 mL LiOH (330 mg, 13.78 mmol)水溶液。將混合物在室溫下攪拌16 h。HPLC顯示完成(偵測到<5%去Boc副產物)。緩慢添加4 M HCl/二噁烷(約4 mL)以將pH調節至約2。將所得混合物用H₂O (15 mL)稀釋，接著用DCM (30 mL *3)萃取。將合併之有機層用H₂O (15 mL)及鹽水(15 mL)洗滌，經Na₂SO₄乾燥，過濾且濃縮。藉由逆相管柱(H₂O:CH₃CN)純化殘餘物，得到呈無色油狀之**INT-19** (1.06 g, 67%產率)。

LCMS (ESI): m/z 572.3 [M + H]⁺



((S)-2-(((2S,3R)-5-(乙基((2S,3R)-3-甲氧基-5-((3-硝基苄基)胺基)-5-側氧基戊-2-基)胺基)-3-甲氧基-5-側氧基戊-2-基)(甲基)胺基)-4-甲基戊-1-烯-3-基)胺基甲酸三級丁酯 INT-20

【0252】 試管A：向**INT-16** (524 mg, 2.42 mmol)於DMF (3 mL)中之溶液中添加DIEA (0.8 mL, 4.7 mmol)。將混合物在室溫下攪拌0.5 h以形成溶液A。

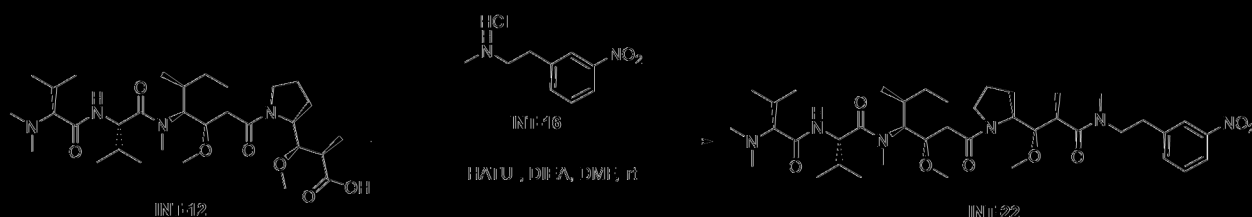
【0253】 試管B：在室溫下，向**INT-19** (1.06 g, 1.86 mmol)於10 mL DMF中之另一溶液中添加HATU (1.42 g, 3.72 mmol)。將混合物在室溫下攪拌0.5 h，添加溶液A，隨後添加DIEA (0.6 mL, 3.75 mmol)。將所得混合物在室溫下攪拌2 h。

LCMS顯示完成。藉由逆相管柱(C_{18} /DCM:MeOH)直接純化反應物，得到呈黃色油狀之INT-20 (1.16 g, 85%產率)。LCMS (ESI): m/z 734.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。



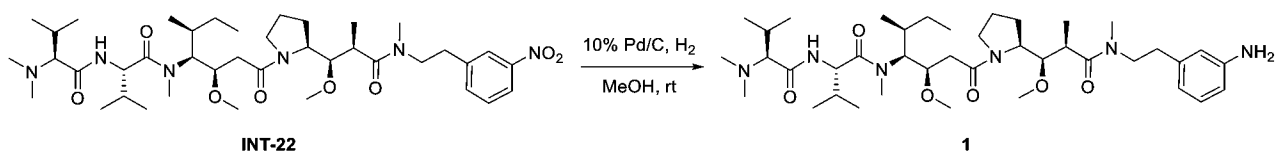
(3R,4S)-4-((S)-2-胺基-N,3-二甲基醯胺基)-N-乙基-3-甲氧基-N-((2S,3R)-3-甲基氨基-5-((3-硝基苯乙基)胺基)-5-側氧基戊-2-基)戊醯胺鹽酸鹽 [INT-21]

[0254] 向INT-20 (1.16 g, 1.58 mmol)於12 mL DCM中之溶液中添加4 M HCl/二噁烷(6 mL, 24 mmol)。將反應物在室溫下攪拌2 h。TLC顯示完成。將混合物濃縮至乾燥。將殘餘物用MeOH(10 mL*3)漿化，接著冷凍乾燥，得到呈黃色固體狀之INT-21 (1.1 g, 100%產率)。LCMS (ESI): m/z 634.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。



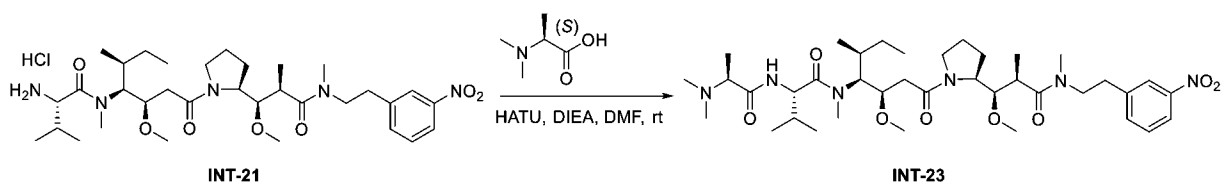
(S)-2-((S)-2-(二甲基胺基)-3-甲基醯胺基)-N-((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-(甲基(3-硝基苯乙基)胺基)-3-側氧基丙基)吡咯啶-1-基)-5-甲基-1-側氧基戊-4-基)-N,3-二甲基醯胺 [INT-22]

[0255] 向INT-16 (178 mg, 0.818 mmol)於1 mL DMF中之溶液中逐滴添加DIEA (227 mg, 1.753 mmol)，隨後添加ECLAU (334 mg, 0.877 mmol)、INT-12 (350 mg, 0.584 mmol)及DMF (1 mL)。將混合物在室溫下攪拌2 h，HPLC顯示完成。向反應混合物中添加EtOAc (100 mL)，接著用鹽水(50 mL*3)洗滌。將有機層經 Na_2SO_4 乾燥，過濾且濃縮。藉由矽膠管柱(DCM:MeOH :: 100:1至10:1, v/v)，接著製備型TLC (DCM:MeOH :: 12:1, v/v ; R_f :: 0.6)純化殘餘物，得到呈黃色油狀之INT-22 (277 mg, 62%產率)。

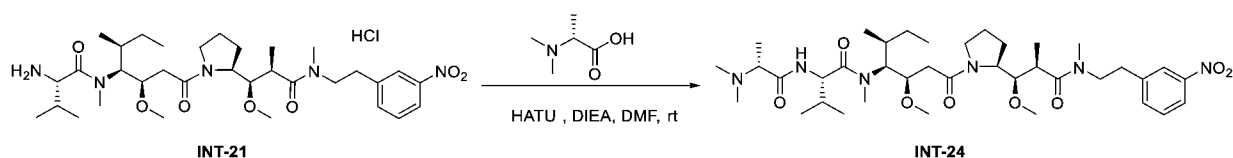


(S)-*N*-((*3R,4S,5S*)-1-((*S*)-2-((*1R,2R*)-3-((*3*-氨基苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-2-((*S*)-2-(二甲基胺基)-3-甲基丁醯胺基)-*N,3*-二甲基丁醯胺 **1**

【0256】 向INT-22 (277 mg, 0.364 mmol)於25 mL MeOH中之溶液中添加10% Pd/C (50 mg)。接著將反應物在H₂氛圍(1 atm)下在室溫下攪拌16 h。TLC (DCM:MeOH=12:1, v/v, R_f = 0.6)顯示完成。過濾混合物，且濃縮濾液。藉由製備型TLC (DCM:MeOH = 12:1, v/v, R_f = 0.6)純化殘餘物，得到呈灰白色固體狀之**1** (122 mg, 46%產率)。LCMS (ESI): m/z 731.0 [M+H]⁺；HPLC：在210 nm下，98.6%，R_t = 8.10 min；¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.15 - 7.03 (m, 1H), 7.03 - 6.94 (m, 1H), 6.61 - 6.53 (m, 1H), 6.53 - 6.41 (m, 2H), 4.97 - 4.89 (m, 1H), 4.89 - 4.66 (m, 1H), 4.27 - 4.14 (m, 1H), 4.01 - 3.88 (m, 1H), 3.86 - 3.68 (m, 2H), 3.60 - 3.53 (m, 1H), 3.45 - 3.37 (m, 4H), 3.37 - 3.29 (m, 4H), 3.27 - 3.22 (m, 1H), 3.17 - 3.14 (m, 1H), 3.04 - 2.98 (m, 1H), 2.94 - 2.85 (m, 3H), 2.80 - 2.68 (m, 3H), 2.62 - 2.45 (m, 3H), 2.38 - 2.27 (m, 6H), 2.12 - 2.05 (m, 2H), 2.04 - 1.97 (m, 2H), 1.95 - 1.90 (m, 1H), 1.86 - 1.81 (m, 1H), 1.80 - 1.74 (m, 1H), 1.73 - 1.66 (m, 1H), 1.55 - 1.44 (m, 1H), 1.20 - 1.12 (m, 3H), 1.06 - 0.96 (m, 9H), 0.96 - 0.90 (m, 6H), 0.85 - 0.78 (m, 3H)。

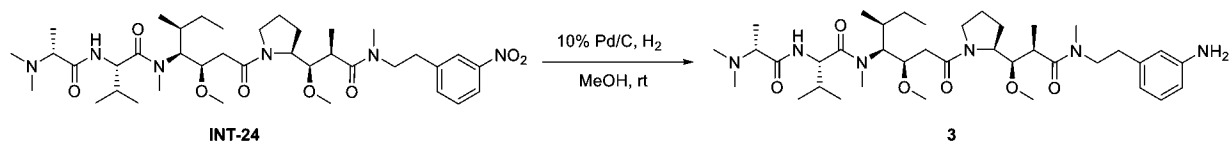


(S)-2-((*S*)-2-(二甲基胺基)丙醯胺)-*N*-((*3R,4S,5S*)-3-甲氧基-1-((*S*)-2-((*1R,2R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-(甲基(3-硝基苯乙基)胺基)-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-*N,3*-二甲基丁醯胺 INT-23



(S)-2-((R)-2-(二甲基氨基)丙醯胺)-N-((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-(甲基(3-硝基苯乙基)胺基)-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-N,3-二甲基丁醯胺 INT-24

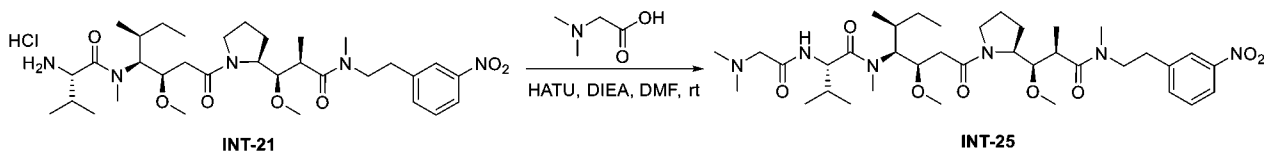
【0259】向INT-21 (165 mg, 0.246 mmol)及N,N-二甲基-L-丙胺酸(38 mg, 0.32 mmol)於3 mL DMF中之溶液中添加HATU (187 mg, 0.492 mmol), 隨後添加DIEA (0.16 mL, 0.985 mmol)。將混合物在室溫下在N₂氛圍下攪拌2 h, LCMS顯示完成。藉由逆相管柱(H₂O:CH₃CN)直接純化反應混合物, 得到呈無色油狀之INT-24 (130 mg, 72%產率)。LCMS (ESI): *m/z* 733.1[M + H]⁺。



(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((3-胺基苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-2-((R)-2-(二甲基氨基)丙醯胺)-N,3-二甲基丁醯胺 3

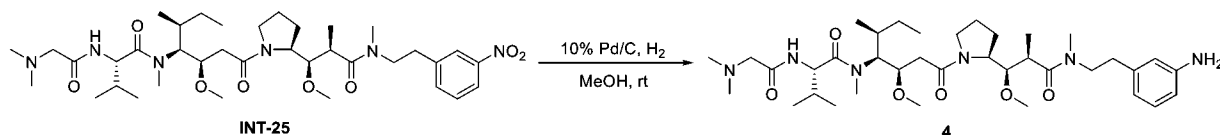
【0260】向INT-24 (130 mg, 0.177 mmol)於3 mL MeOH中之溶液中添加10% Pd/C(40 mg)。接著將反應物在H₂氛圍(1 atm)下在室溫攪拌3 h。LCMS顯示完成。過濾混合物, 且濃縮濾液。凍乾殘餘物, 得到呈灰白色固體狀之3 (115 mg, 92%產率)。LCMS (ESI): *m/z* 703.2 [M + H]⁺; HPLC: 在210 nm下, 99.4%, *R*_t = 7.94 min; ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.85-7.74 (m, 1H), 6.96-6.86 (m, 1H), 6.53 (bs, 1H), 6.47-6.31 (m, 3H), 4.93 (dd, *J*₁ = 29.9 Hz, *J*₂ = 10.8 Hz, 2H), 4.79-4.62 (m, 1H), 4.60 - 4.49 (m, 1H), 4.07-3.95 (m, 1H), 3.93-3.67 (m, 2H), 3.66 - 3.43 (m, 3H), 3.40-3.34 (m, 1H), 3.30-3.24 (m, 2H), 3.21-3.05 (m, 5H), 2.97-2.94 (m, 1H), 2.93-2.87 (m, 2H), 2.86-2.73 (m, 2H), 2.68-2.54 (m, 3H), 2.49-2.37 (m, 1H), 2.18-2.12 (m, 6H), 2.01-

1.78 (m, 4H), 1.72-1.54 (m, 2H), 1.35-1.26 (m, 1H), 1.10-0.96 (m, 6H), 0.94- 0.82 (m, 10H), 0.81- 0.73 (m, 3H)。



(S)-2-(2-(二甲基胺基)乙醯胺基)-N-((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-(甲基(3-硝基苯乙基)胺基)-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-N,3-二甲基丁醯胺 INT-21

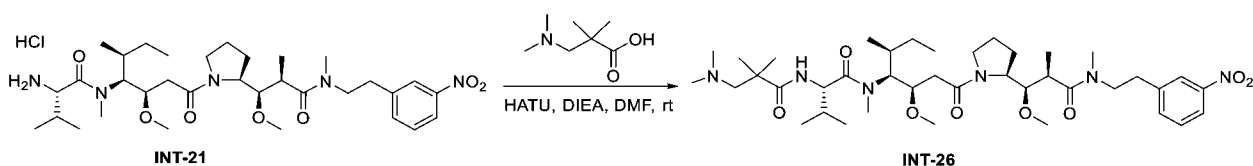
【0261】向INT-21 (210 mg, 0.332 mmol)及2-(二甲基胺基)乙酸(41 mg, 0.398 mmol)於5 mL DMF中之溶液中添加HATU (189 mg, 0.497 mmol), 隨後添加DIEA (128 mg, 0.992 mmol)。將混合物在室溫下攪拌1 h, LCMS顯示完成(LCMS (ESI): m/z 719.1 [M + H]⁺)。將反應物用20 mL H₂O稀釋, 接著用DCM (15 mL*3)萃取。將合併之有機層用H₂O (10 mL)及鹽水(10 mL*3)洗滌, 經Na₂SO₄乾燥, 過濾且濃縮。藉由製備型TLC (DCM:MeOH = 13:1, v/v; R_f = 0.7)純化殘餘物, 得到呈無色油狀之INT-25(190 mg, 79.8%產率)。



(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((3-胺基苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-2-(2-(二甲基胺基)乙醯胺基)-N,3-二甲基丁醯胺 4

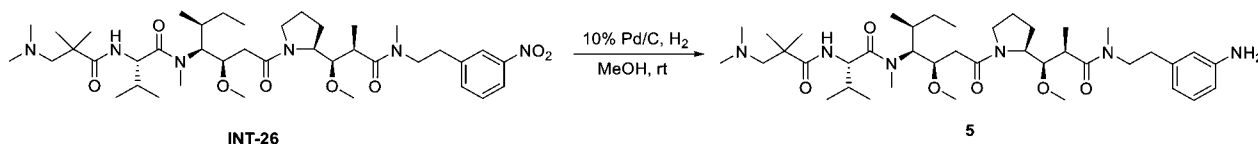
【0262】向INT-25 (190 mg, 0.264 mmol)於5 mL MeOH中之溶液中添加10% Pd/C(38 mg)。接著將反應物在H₂氛圍(1 atm)下在室溫下攪拌3 h。LCMS顯示完成。過濾混合物, 且濃縮濾液。藉由逆相管柱(H₂O:CH₃CN)純化殘餘物, 得到呈白色固體狀之4 (103 mg, 56.6%產率)。LCMS (ESI): m/z 689.2 [M + H]⁺; HPLC: 在210 nm下, 99.2%, R_t = 11.16 min; ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.69-7.60 (m,

1H), 6.96-6.86 (m, 1H), 6.45-6.31 (m, 3H), 4.93 (dd, $J_1 = 31.4$ Hz, $J_2 = 12.4$ Hz, 2H), 4.82-4.55 (m, 2H), 4.06-3.94 (m, 1H), 3.93-3.63 (m, 2H), 3.60-3.42 (m, 2H), 3.39-3.35 (m, 1H), 3.30-3.24 (m, 2H), 3.22-3.15 (m, 3H), 3.15-3.04 (m, 2H), 3.01-2.92 (m, 2H), 2.91-2.85 (m, 2H), 2.85-2.77 (m, 2H), 2.67-2.54 (m, 3H), 2.48-2.38 (m, 1H), 2.25-2.15 (m, 6H), 2.03-1.77 (m, 4H), 1.74-1.56 (m, 2H), 1.33-1.21 (m, 2H), 1.09-0.99 (m, 2H), 0.97-0.70 (m, 14H)。



(S)-2-(3-(二甲基胺基)-2,2-二甲基丙醯胺基)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-3-甲氧基-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-(甲基(3-硝基苯乙基)胺基)-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-*N*,3-二甲基丁醯胺 INT-26

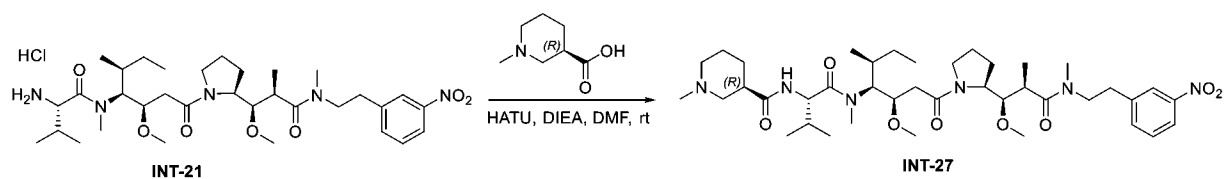
【0263】向INT-21 (200 mg, 0.30 mmol)於4 mL DMF中之溶液中添加DIEA (174 mg, 1.34 mmol)。將混合物在室溫下攪拌5 min, 接著添加3-(二甲基胺基)-2,2-二甲基丙酸(52 mg, 0.36 mmol)及HATU (170 mg, 0.448 mmol)。將所得混合物在室溫下攪拌1 h, LCMS顯示完成。直接濃縮反應物。藉由逆相管柱(H₂O:CH₃CN)純化殘餘物, 得到呈黃色油狀之粗INT-26 (223 mg, 98%產率), 其不經再純化即直接使用。LCMS (ESI): m/z 761.0 [M + H]⁺。



步驟 2 : *(S)*-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((3-胺基苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-2-(3-(二甲基胺基)-2,2-二甲基丙醯胺基)-*N*,3-二甲基丁醯胺 5

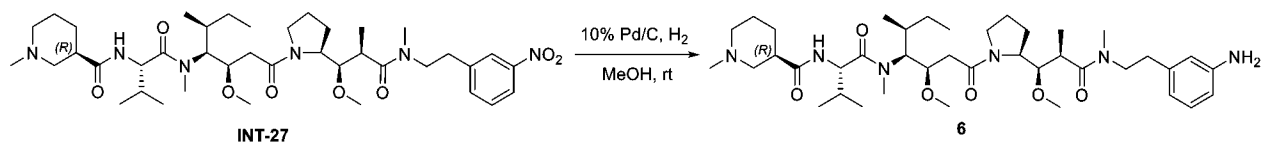
【0264】向INT-26 (223 mg, 0.293 mmol)於4 mL MeOH中之溶液中添加10%

Pd/C (45 mg)。接著將反應物在H₂氛圍(1 atm)下在室溫下攪拌2 h。LCMS顯示完成。過濾混合物，且濃縮濾液。藉由逆相管柱(H₂O:CH₃CN)純化殘餘物，得到呈灰白色固體狀之**5** (184 mg, 85.6%產率)。LCMS (ESI): *m/z* 731.2 [M + H]⁺; HPLC: 在210 nm下, 96.7%, *R*_t = 12.84 min; ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.93 (s, 1H), 6.98 - 6.86 (m, 1H), 6.48 - 6.31 (m, 3H), 5.16 - 4.79 (m, 1H), 4.78 - 4.59 (m, 1H), 4.58 - 4.39 (m, 1H), 4.09 - 3.96 (m, 1H), 3.95 - 3.57 (m, 2H), 3.56 - 3.39 (m, 2H), 3.31 - 3.24 (m, 4H), 3.23 - 3.12 (m, 5H), 3.10 - 2.95 (m, 3H), 2.91 - 2.86 (m, 2H), 2.85 - 2.75 (m, 2H), 2.72 - 2.54 (m, 7H), 2.47 - 2.39 (m, 1H), 2.36 - 2.20 (m, 1H), 2.14 - 2.03 (m, 1H), 1.96 - 1.75 (m, 3H), 1.74 - 1.56 (m, 2H), 1.31 - 1.14 (m, 6H), 1.12 - 0.96 (m, 3H), 0.96 - 0.82 (m, 10H), 0.82 - 0.59 (m, 5H)。



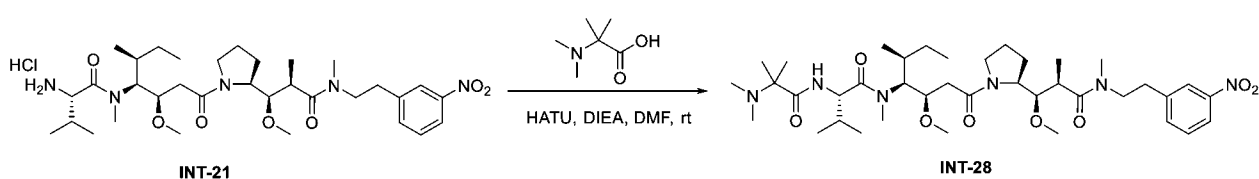
(R)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-(甲基(3-硝基苯乙基)胺基)-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)(甲基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁-2-基)-1-甲基哌啶-3-甲醯胺 INT-27

【0265】向INT-21 (200 mg, 0.30 mmol)於4 mL DMF中之溶液中添加DIEA (174 mg, 1.34 mmol)。將混合物在室溫下攪拌5 min, 接著添加(R)-1-甲基哌啶-3-甲酸(51 mg, 0.36 mmol)及HATU (170 mg, 0.448 mmol)。將所得混合物在室溫下攪拌1 h, LCMS顯示完成。濃縮反應物。藉由逆相管柱(H₂O:CH₃CN)純化殘餘物, 得到呈淡黃色油狀之INT-27 (232 mg, 100%產率)。LCMS (ESI): *m/z* 759.0 [M + H]⁺。



(R)-*N*-(*(S)*-1-(((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((3-胺基苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)(甲基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁-2-基)-1-甲基哌啶-3-甲醯胺 **6**

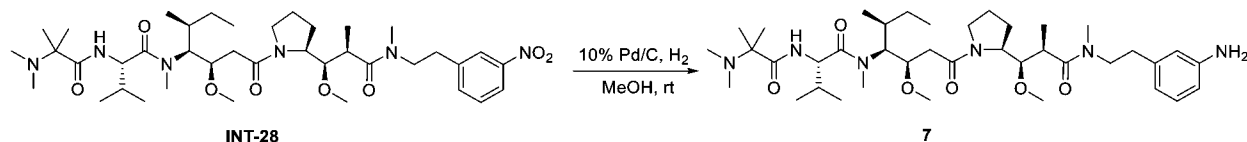
【0266】向INT-27 (232 mg, 0.293 mmol)於4 mL MeOH中之溶液中添加10% Pd/C (46 mg)。接著將反應物在H₂氛圍(1 atm)下在室溫下攪拌3 h。LCMS顯示完成。過濾混合物，且濃縮濾液。藉由逆相管柱(H₂O:CH₃CN)純化殘餘物，得到呈灰白色固體狀之**6** (191 mg, 85.7%產率)。LCMS (ESI): *m/z* 729.1 [M + H]⁺; HPLC: 在210 nm下, 97.7%, *R*_t = 12.00 min; ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.46 - 8.25 (m, 1H), 7.02 - 6.82 (m, 1H), 6.44 - 6.29 (m, 3H), 5.07 - 4.83 (m, 1H), 4.79 - 4.59 (m, 1H), 4.56 - 4.42 (m, 1H), 4.07 - 3.97 (m, 1H), 3.96 - 3.69 (m, 2H), 3.65 - 3.56 (m, 1H), 3.54 - 3.45 (m, 2H), 3.29 - 3.26 (m, 2H), 3.23 - 3.12 (m, 6H), 3.08 - 2.93 (m, 3H), 2.92 - 2.87 (m, 2H), 2.85 - 2.78 (m, 2H), 2.77 - 2.69 (m, 2H), 2.65 - 2.57 (m, 5H), 2.47 - 2.38 (m, 1H), 2.04 - 1.82 (m, 4H), 1.81 - 1.69 (m, 3H), 1.67 - 1.56 (m, 2H), 1.47 - 1.36 (m, 1H), 1.32 - 1.25 (m, 1H), 1.12 - 0.95 (m, 4H), 0.95 - 0.81 (m, 11H), 0.81 - 0.73 (m, 3H)。



(S)-2-(2-(二甲基胺基)-2-甲基丙胺基)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-3-甲氧基-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-(甲基(3-硝基苯乙基)胺基)-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-*N*,3-二甲基丁醯胺 INT-28

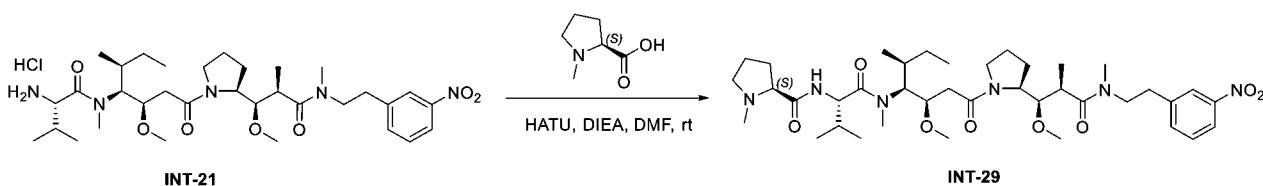
【0267】向2-(二甲基胺基)-2-甲基丙酸(78 mg, 0.597 mmol)及HATU (227 mg, 0.597 mmol)於3 mL DMF中之溶液中添加DIEA (0.2 mL, 1.2 mmol)。將混合物在室溫下在N₂氛圍下攪拌30 min, 且接著添加INT-21 (200 mg, 0.298 mmol)。

將所得混合物在室溫下攪拌4 h。LCMS顯示完成。藉由逆相管柱(H₂O:CH₃CN)直接純化反應混合物，得到呈淡黃色固體狀之**INT-28** (140 mg，63%產率)。LCMS (ESI): m/z 747.0 [M + H]⁺。



(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((3-氨基苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-2-(2-(二甲基胺基)-2-甲基丙胺基)-N,3-二甲基丁醯胺 7

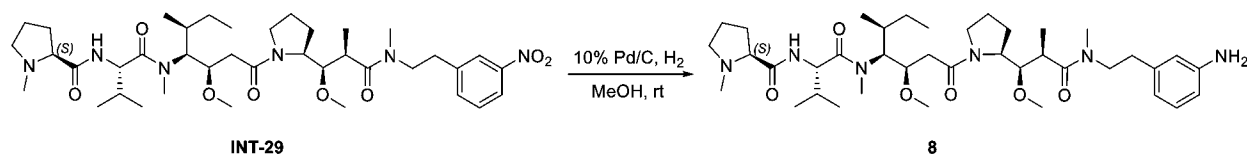
【0268】 向**INT-28** (140 mg, 0.187 mmol)於3 mL MeOH中之溶液中添加10% Pd/C (40 mg)。接著將反應物在H₂氛圍(1 atm)下在室溫下攪拌4 h。LCMS顯示完成。過濾混合物，且濃縮濾液。凍乾殘餘物，得到呈黃色固體狀之**7** (125 mg，93%產率)。LCMS (ESI): m/z 717.1 [M + H]⁺；HPLC：在210 nm下，97.7%， R_t = 12.62 min；¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.71-7.55 (m, 1H), 6.96 - 6.85 (m, 1H), 6.96-6.85 (m, 1H), 6.48-6.31 (m, 3H), 5.04-4.85 (m, 2H), 4.78-4.49 (m, 2H), 4.04-3.96 (m, 1H), 3.95-3.68 (m, 2H), 3.66-3.55 (m, 1H), 3.54-3.42 (m, 2H), 3.41-3.36 (m, 1H), 3.34 -3.25 (m, 2H), 3.24-3.10 (m, 4H), 3.10-2.92 (m, 2H), 2.92-2.84 (m, 2H), 2.81 (d, J = 11.2 Hz, 1H), 2.69-2.53 (m, 4H), 2.48-2.38 (m, 1H), 2.31-2.05 (m, 6H), 2.03-1.76 (m, 4H), 1.76-1.55 (m, 2H), 1.32-1.22 (m, 2H), 1.17-1.02 (m, 5H), 1.01-0.95 (m, 3H), 0.94-0.72 (m, 12H)。



(S)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-(甲基(3-硝基苯乙基)胺基)-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)(甲

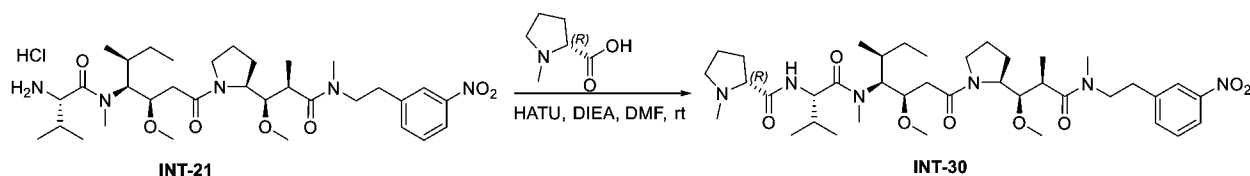
(基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁-2-基)-1-甲基吡咯啉-2-甲醯胺 INT-29

【0269】向*N*-甲基-*L*-脯胺酸單水合物(50 mg, 0.388 mmol)及HATU (227 mg, 0.597 mmol)於3 mL DMF中之溶液中添加DIEA (0.22 mL, 1.34 mmol)。將混合物在室溫下在N₂氛圍下攪拌30 min, 接著添加INT-21 (200 mg, 0.298 mmol)。將所得混合物在室溫下攪拌2 h。LCMS顯示完成。濃縮反應混合物且將殘餘物再溶解於70 mL EtOAc中。將有機層用H₂O (15 mL*2)及鹽水(10 mL)洗滌, 經Na₂SO₄乾燥, 過濾且濃縮, 得到呈黃色泡沫固體狀之粗INT-29 (260 mg, >100%產率), 其不經進一步純化即直接使用。LCMS (ESI): *m/z* 745.1 [M + H]⁺。



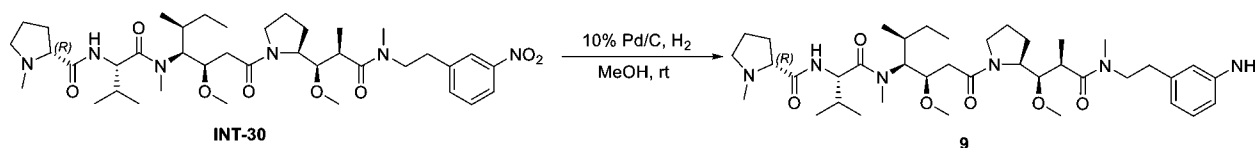
(*S*)-*N*-((*S*)-1-(((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((3-胺基苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)(甲基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁-2-基)-1-甲基吡咯啉-2-甲醯胺 8

【0270】向INT-29 (220 mg, 0.295 mmol; 參見上文)於5 mL MeOH中之溶液中添加10% Pd/C (60 mg)。接著將反應物在H₂氛圍(1 atm)下在室溫下攪拌5 h。LCMS顯示完成。過濾混合物, 且濃縮濾液。藉由逆相管柱(H₂O:CH₃CN)純化殘餘物, 得到呈灰白色固體狀之8 (150 mg, 71%產率)。LCMS (ESI): *m/z* 715.1 [M + H]⁺; HPLC: 在210 nm下, 98.2%, *R*_t = 11.96 min; ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.06 - 8.95 (m, 1H), 7.08 - 6.96 (m, 1H), 6.68 - 6.49 (m, 3H), 4.80 - 4.50 (m, 2H), 4.19 - 3.81 (m, 3H), 3.79 - 3.71 (m, 1H), 3.69 - 3.43 (m, 5H), 3.29 - 3.25 (m, 2H), 3.22 - 3.09 (m, 6H), 3.01 - 2.86 (m, 4H), 2.84 - 2.76 (m, 4H), 2.72 - 2.59 (m, 3H), 2.47 - 2.40 (m, 1H), 2.40 - 2.17 (m, 1H), 2.12 - 1.78 (m, 6H), 1.78 - 1.56 (m, 3H), 1.36 - 1.15 (m, 2H), 1.12 - 1.01 (m, 2H), 1.01 - 0.84 (m, 11H), 0.84 - 0.70 (m, 3H)。



(R)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-(甲基(3-硝基苯乙基)胺基)-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)(甲基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁-2-基)-1-甲基吡咯啉-2-甲醯胺 INT-30

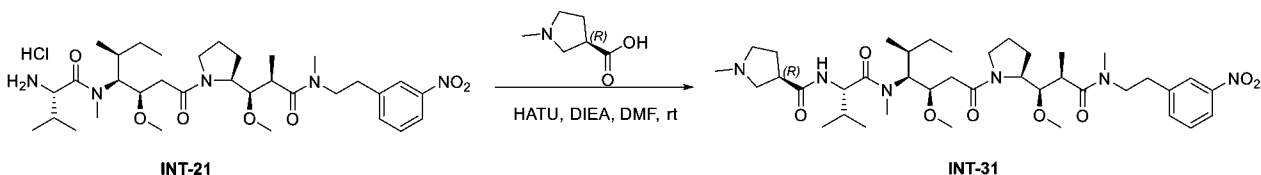
【0271】 向INT-21 (200 mg, 0.3 mmol)及(R)-1-甲基吡咯啉-2-甲酸(50 mg, 0.387 mmol)於5 mL DMF中之溶液中添加HATU (182 mg, 0.48 mmol), 隨後添加DIEA (124 mg, 0.96 mmol)。將混合物在室溫下攪拌1 h, LCMS顯示完成(LCMS (ESI): m/z 745.0 $[M+H]^+$)。反應物藉由0.5 mL H₂O淬滅, 且直接濃縮。藉由製備型TLC (DCM:MeOH = 12:1, v/v; R_f = 0.7)純化殘餘物, 得到呈無色油狀之INT-30 (220 mg, 93.6%產率)。



(R)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((3-胺基苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)(甲基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁-2-基)-1-甲基吡咯啉-2-甲醯胺 9

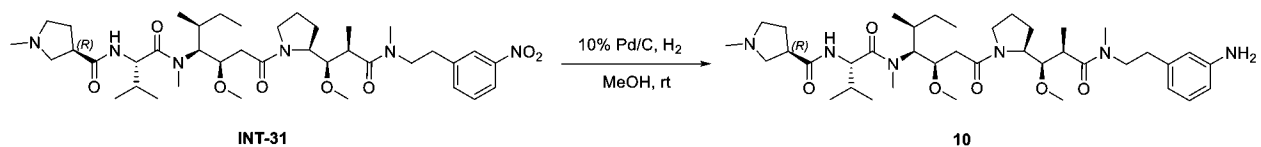
【0272】 向INT-30 (220 mg, 0.296 mmol; 參見上文)於5 mL MeOH中之溶液中添加10% Pd/C (50 mg)。接著將反應物在H₂氛圍(1 atm)下在室溫下攪拌3 h。LCMS顯示完成。過濾混合物, 且濃縮濾液。藉由逆相管柱(H₂O:CH₃CN)純化殘餘物, 得到呈白色固體狀之9 (168 mg, 79.6%產率)。LCMS (ESI): m/z 715.3 $[M+H]^+$; HPLC: 在210 nm下, 98.2%, R_t = 11.88 min; ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.71 - 7.59 (m, 1H), 6.96 - 6.85 (m, 1H), 6.46 - 6.30 (m, 3H), 4.99 - 4.86 (m, 2H), 4.76 - 4.50 (m, 2H), 4.13 - 3.87 (m, 2H), 3.78 - 3.60 (m, 2H), 3.59 - 3.41 (m, 3H), 3.30 -

3.23 (m, 2H), 3.22 - 3.10 (m, 4H), 3.09 - 2.92 (m, 3H), 2.91 - 2.83 (m, 2H), 2.83 - 2.76 (m, 2H), 2.68 - 2.55 (m, 3H), 2.49 - 2.37 (m, 1H), 2.34 - 2.22 (m, 4H), 2.11 - 1.95 (m, 2H), 1.95 - 1.77 (m, 3H), 1.75 - 1.48 (m, 5H), 1.33 - 1.18 (m, 2H), 1.11 - 1.01 (m, 2H), 1.00 - 0.82 (m, 10H), 0.80 - 0.71 (m, 3H)。



(R)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-(甲基(3-硝基苯乙基)胺基)-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)(甲基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁-2-基)-1-甲基吡咯啉-3-甲醯胺 INT-31

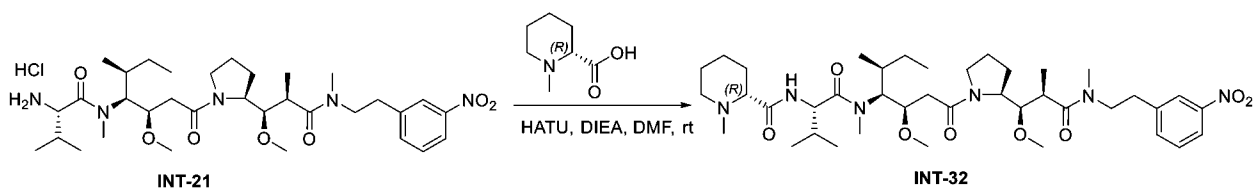
【0273】向(R)-1-甲基吡咯啉-3-甲酸(50 mg, 0.39 mmol)及HATU (227 mg, 0.6 mmol)於3 mL DMF中之溶液中添加DIEA (0.22 mL, 1.34 mmol)。將混合物在室溫下在N₂氛圍下攪拌30 min, 接著添加INT-21 (200 mg, 0.3 mmol)。將所得混合物在室溫下攪拌2 h。LCMS顯示完成。直接濃縮反應物, 且將殘餘物再溶解於70 mL EtOAc中。將有機層用H₂O (15 mL*2)及鹽水(10 mL)洗滌, 經Na₂SO₄乾燥, 過濾且濃縮, 得到呈黃色泡沫固體狀之粗INT-31 (260 mg, 在LCMS上約76%純度), 其不經進一步純化即直接使用。LCMS (ESI): *m/z* 745.0 [M + H]⁺。



(R)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((3-胺基苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)(甲基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁-2-基)-1-甲基吡咯啉-3-甲醯胺 10

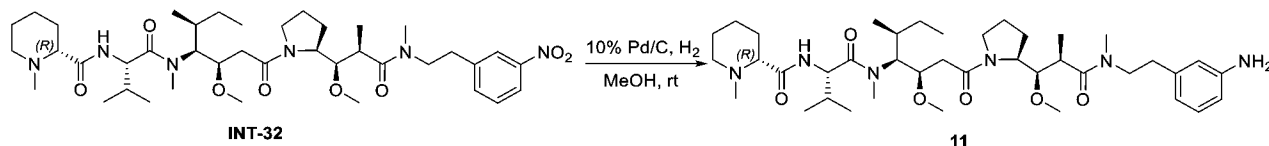
【0274】向粗INT-31 (150 mg, 0.2 mmol; 參見上文)於5 mL MeOH中之溶液中添加10% Pd/C (40 mg)。接著將反應物在H₂氛圍(1 atm)下在室溫下攪拌4 h。

LCMS顯示完成。過濾混合物，且濃縮濾液。藉由逆相管柱(H₂O:CH₃CN)純化殘餘物，得到呈黃色固體狀之**10** (130 mg, 90.3%產率)。LCMS (ESI): *m/z* 715.1 [M + H]⁺; HPLC: 在210 nm下, 96.2%, R_t = 7.87 min; ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.33 - 8.21 (m, 1H), 6.95 - 6.86 (m, 1H), 6.46 - 6.31 (m, 3H), 5.08 - 4.88 (m, 1H), 4.76 - 4.59 (m, 1H), 4.57 - 4.42 (m, 1H), 4.10 - 3.89 (m, 2H), 3.82 - 3.68 (m, 2H), 3.65 - 3.53 (m, 2H), 3.51 - 3.46 (m, 2H), 3.45 - 3.43 (m, 1H), 3.42 - 3.40 (m, 1H), 3.20 - 3.13 (m, 5H), 3.09 - 2.94 (m, 4H), 2.91 - 2.86 (m, 2H), 2.84 - 2.74 (m, 2H), 2.68 - 2.54 (m, 6H), 2.49 - 2.19 (m, 2H), 2.13 - 1.96 (m, 2H), 1.95 - 1.90 (m, 1H), 1.89 - 1.75 (m, 3H), 1.74 - 1.57 (m, 2H), 1.35 - 1.23 (m, 2H), 1.11 - 1.01 (m, 2H), 1.00 - 0.92 (m, 2H), 0.91 - 0.82 (m, 8H), 0.81 - 0.74 (m, 3H)。



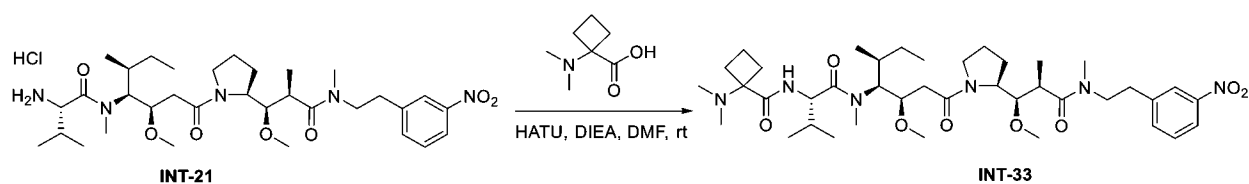
(R)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-(甲基(3-硝基苯乙基)胺基)-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)(甲基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁-2-基)-1-甲基哌啶-2-甲醯胺 INT-32

【0275】 向**INT-21** (200 mg, 0.3 mmol)於4 mL DMF中之溶液中添加DIEA (174 mg, 1.34 mmol)。將混合物在室溫下攪拌5 min, 且接著添加(R)-1-甲基哌啶-2-甲酸(51 mg, 0.36 mmol), 隨後添加HATU (170 mg, 0.448 mmol)。將所得混合物在室溫下攪拌1 h, LCMS顯示完成。濃縮反應物。藉由逆相管柱(H₂O:CH₃CN)純化殘餘物, 得到呈淡黃色油狀之**INT-32** (206 mg, 86%產率), 其不經再純化即直接使用。LCMS (ESI): *m/z* 759.0 [M + H]⁺



(R)-*N*-(((*S*)-1-(((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((3-胺基苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)(甲基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁-2-基)-1-甲基哌啶-2-甲醯胺 **11**

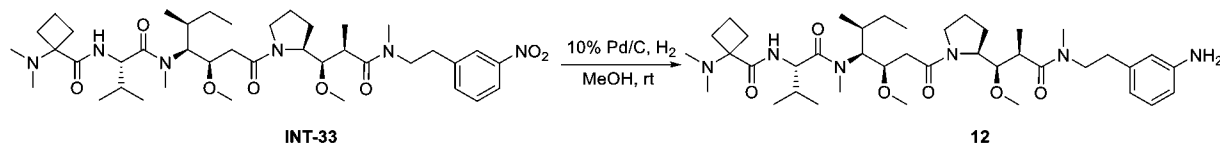
【0276】 向**INT-32** (156 mg, 0.206 mmol)於5 mL MeOH中之溶液中添加10% Pd/C (30 mg)。接著將反應物在H₂氛圍(1 atm)下在室溫下攪拌16 h。LCMS顯示完成。過濾混合物，且濃縮濾液。藉由逆相管柱(H₂O:CH₃CN)純化殘餘物，得到呈灰白色固體狀之**11** (85 mg, 55.7%產率)。LCMS (ESI): *m/z* 365.2 [M/2 + H]⁺; HPLC: 在210 nm下, 96.6%, R_t = 11.81 min; ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.41 (t, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.02 - 6.83 (m, 1H), 6.46 - 6.30 (m, 3H), 5.14 - 4.92 (m, 1H), 4.92 - 4.53 (m, 2H), 4.39 - 4.27 (m, 1H), 4.09 - 3.87 (m, 2H), 3.83 - 3.69 (m, 1H), 3.68 - 3.57 (m, 1H), 3.55 - 3.44 (m, 2H), 3.43 - 3.35 (m, 1H), 3.30 - 3.25 (m, 2H), 3.24 - 3.16 (m, 4H), 3.14 - 3.07 (m, 3H), 3.05 - 2.95 (m, 4H), 2.93 - 2.89 (m, 3H), 2.87 - 2.76 (m, 7H), 2.69 - 2.53 (m, 4H), 2.49 - 2.40 (m, 1H), 2.34 - 2.21 (m, 1H), 2.04 - 1.88 (m, 2H), 1.87 - 1.75 (m, 2H), 1.73 - 1.45 (m, 2H), 1.33 - 1.17 (m, 2H), 1.16 - 1.00 (m, 4H), 0.99 - 0.87 (m, 10H), 0.85 - 0.77 (m, 3H)。



1-(二甲基胺基)-*N*-(((*S*)-1-(((3*R*,4*S*,5*S*)-3-甲氧基-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-(甲基(3-硝基苯乙基)胺基)-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)(甲基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁-2-基)環丁甲醯胺 **INT-33**

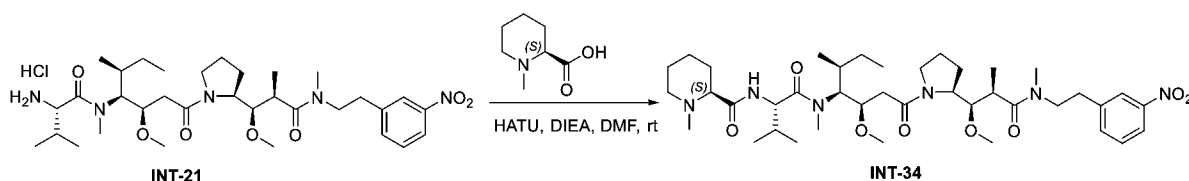
【0277】 向1-(二甲基胺基)環丁烷甲酸(85 mg, 0.597 mmol)於3 mL DMF中之溶液中添加DIEA (0.2 mL, 1.19 mmol)及HATU (227 mg, 0.597 mmol)。將混合物在室溫下攪拌0.5 h, 且接著添加**INT-21** (200 mg, 0.298 mmol)。將所得混合

物在室溫下攪拌1.5 h。LCMS顯示完成。藉由逆相管柱(H₂O/CH₃CN)直接純化反應物，得到呈白色固體狀之**INT-33** (178 mg, 78.6%產率)。LCMS (ESI): *m/z* 759.2 [M + H]⁺。



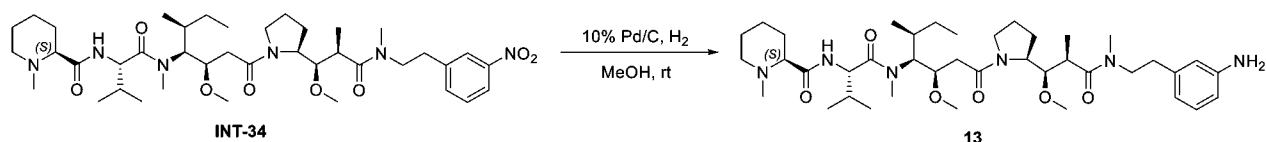
N-((*S*)-1-(((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((3-氨基苯乙基)(甲基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)(甲基)氨基)-3-甲基-1-側氧基丁-2-基)-1-(二甲基氨基)環丁甲醯胺 **12**

【0278】 向**INT-33** (178 mg, 0.235 mmol)於5 mL MeOH中之溶液中添加10% Pd/C (36 mg)。接著將反應物在H₂氛圍(1 atm)下在室溫下攪拌2 h。LCMS顯示完成。過濾混合物，且濃縮濾液。藉由製備型TLC (DCM:MeOH= 14:1, v/v, R_f = 0.5)、接著逆相管柱(H₂O:CH₃CN)純化殘餘物，得到呈灰白色固體狀之**12** (97 mg, 56.6%產率)。LCMS (ESI): *m/z* 729.5 [M + H]⁺；HPLC：在210 nm下，99.9%，R_t = 8.13 min；¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.43 (m, 1H), 6.91 (m, 1H), 6.46 - 6.31 (m, 3H), 4.98 (d, *J* = 6.4 Hz, 1H), 4.90 (d, *J* = 13.8 Hz, 1H), 4.77 - 4.50 (m, 2H), 4.00 (m, 1H), 3.95 - 3.75 (m, 1H), 3.75 - 3.66 (m, 1H), 3.66 - 3.54 (m, 1H), 3.54 - 3.40 (m, 2H), 3.39 - 3.33 (m, 1H), 3.30 - 3.25 (m, 2H), 3.24 - 3.07 (m, 5H), 2.98 (bs, 1H), 2.89 (d, *J* = 3.1 Hz, 2H), 2.84 - 2.79 (m, 1H), 2.79 - 2.65 (m, 1H), 2.65 - 2.51 (m, 3H), 2.49 - 2.38 (m, 1H), 2.31 - 2.14 (m, 2H), 2.14 - 2.08 (m, 7H), 2.08 - 1.99 (m, 2H), 1.99 - 1.70 (m, 4H), 1.68 - 1.57 (m, 3H), 1.36 - 1.25 (m, 1H), 1.08 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 1.04 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 0.98 (d, *J* = 6.6 Hz, 1H), 0.95 - 0.82 (m, 9H), 0.81 - 0.72 (m, 3H)。



(S)-*N*-((*S*)-1-(((3*R*,4*S*,5*S*)-3-甲氧基-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-(甲基(3-硝基苯乙基)胺基)-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)(甲基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁-2-基)-1-甲基哌啶-2-甲醯胺 INT-34

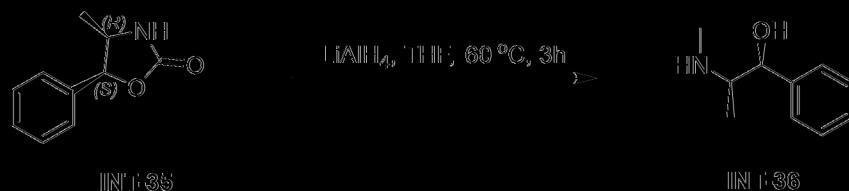
【0279】 向(*S*)-1-甲基哌啶-2-甲酸(54 mg, 0.38 mmol)於5 mL DMF中之溶液中添加HATU (182 mg, 0.48 mmol), 隨後添加DIEA (124 mg, 0.96 mmol)。將反應混合物在室溫下攪拌0.5 h, 接著添加INT-21 (200 mg, 0.3 mmol)。將所得混合物在室溫下攪拌1 h。LCMS顯示完成(LCMS (ESI): m/z 759.2 [M+ H]⁺)。反應物藉由50 mL H₂O淬滅, 用DCM (20 mL*3)萃取。將合併之有機層用H₂O及鹽水洗滌, 經Na₂SO₄乾燥, 過濾且濃縮, 得到呈黃色油狀之粗產物INT-34 (350 mg, >100%產率)。



(S)-*N*-((*S*)-1-(((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((3-胺基苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)(甲基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁-2-基)-1-甲基哌啶-2-甲醯胺 13

【0280】 向INT-34 (270 mg, 0.356 mmol)於10 mL MeOH中之溶液中添加10% Pd/C (54 mg)。接著將反應物在H₂氛圍(1 atm)下在室溫下攪拌2 h。LCMS顯示完成。過濾混合物, 且濃縮濾液。藉由逆相管柱(H₂O:CH₃CN)純化殘餘物, 得到呈灰白色固體狀之13 (224.22 mg, 86.6%產率)。LCMS (ESI): m/z 729.5 [M+ H]⁺; HPLC: 在210 nm下, 96.8%, R_t = 12.03 min。¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.54 - 7.43 (m, 1H), 6.95 - 6.85 (m, 1H), 6.47 - 6.30 (m, 3H), 4.97 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 4.90 (d, J = 17.0 Hz, 1H), 4.79 - 4.48 (m, 2H), 4.04 - 3.95 (m, 1H), 3.95 - 3.66 (m, 2H), 3.66 - 3.54 (m, 1H), 3.54 - 3.41 (m, 2H), 3.40 - 3.35 (m, 1H), 3.30 - 3.25 (m, 2H), 3.23 - 3.05 (m, 5H), 2.94 (bs, 1H), 2.89 (d, J = 5.0 Hz, 2H), 2.87 - 2.70 (m, 3H), 2.69 - 2.52

(m, 4H), 2.47 · 2.20 (m, 2H), 2.07 · 2.01 (m, 3H), 2.01 · 1.88 (m, 3H), 1.88 · 1.75 (m, 2H), 1.72 · 1.55 (m, 4H), 1.53 · 1.38 (m, 2H), 1.33 · 1.25 (m, 1H), 1.22 · 1.12 (m, 1H), 1.08 (d, J : 6.7 Hz, 1H), 1.04 (d, J : 6.7 Hz, 1H), 1.00 · 0.92 (m, 2H), 0.91 · 0.80 (m, 8H), 0.80 · 0.72 (m, 3H)。



(1*S*,2*R*)-2-(4-甲基胺基)-1-苯基丙-1-醇(NTC-36)

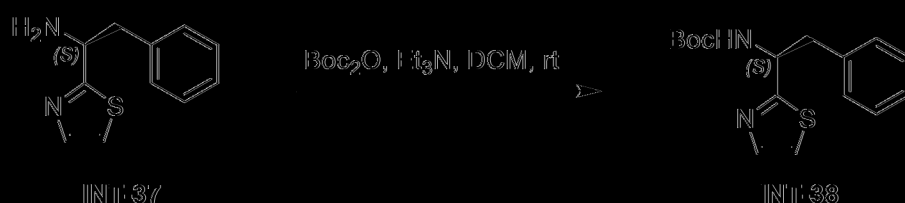
[0281] 向在氮氣下在25°C下攪拌的(4*R*,5*S*)-4-甲基-5-苯基-1,3-噁嗪啉-2-酮(NTC-35) (100 mg, 0.56 mmol)於DMF(4 mL)中之溶液中添加LiAlH₄(43 mg, 1.13 mmol)。將反應混合物在60°C下攪拌4 h。將其用Na₂SO₄·10H₂O (1 g)淬滅，過濾且濃縮。藉由Combi-Flash (己烷/醚:EtOAc = 3/1)純化殘餘物，得到呈白色固體狀之INT-36 (100 mg, 90.4%)。LCMS (ESI): m/z 166.1 (M+H)⁺。



(*S*)-2-((*S*)-2-(4-甲基胺基)-3-甲基-噁嗪啉-2-酮)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-(((1*S*,2*R*)-1-苯基-1-丙基)-2-基)(4-甲基胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-*N*,3-(4-甲基)噁嗪-23

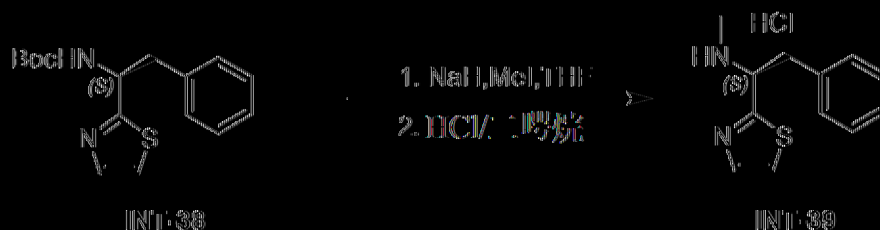
[0282] 向在氮氣下在25°C下攪拌的INT-12 (54 mg, 0.09 mmol)、*N,N,N',N'*-四甲基-*O*-(1-萹雜苯并-3-噁-1-基)鈾(41 mg, 0.10 mmol)及2,4,6-三甲基吡啶(22 mg, 0.18 mmol)於DMAc (0.5 mL)中之溶液中添加INT-36 (15 mg, 0.09 mmol)於DMAc (0.5 mL)中之溶液。將反應混合物在25°C下攪拌30 min。過濾且藉由製備型HPLC (ACN-H₂O(0.1% TFA))直接純化，得到呈白色固體狀之23 (45.1 mg,

63.55%)。LCMS (ESI): m/z 463 (M + H)⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.57 (s, 1H), 8.92 (d, J : 8.3 Hz, 1H), 7.32–7.28 (m, 2H), 7.24–7.19 (m, 2H), 4.91–4.42 (m, 6H), 4.09 (d, J : 4.3 Hz, 1H), 3.99 (s, 1H), 3.76 (s, 1H), 3.71 (s, 1H), 3.65–3.57 (m, 2H), 3.37 (t, J : 9.4 Hz, 1H), 3.29–3.21 (m, 6H), 3.20–3.06 (m, 3H), 3.04–2.98 (m, 1H), 2.95–2.89 (m, 1H), 2.81–2.74 (m, 6H), 2.72 (d, J : 4.5 Hz, 2H), 2.42 (d, J : 4.4 Hz, 1H), 2.34–2.14 (m, 3H), 1.94–1.83 (m, 1H), 1.72–1.60 (m, 1H), 1.55–1.44 (m, 1H), 1.41–1.29 (m, 2H), 1.26–1.09 (m, 3H), 1.08–0.97 (m, 6H), 0.97–0.93 (m, 6H), 0.92–0.85 (m, 6H), 0.78 (dd, J : 15.0, 7.4 Hz, 3H)。



(S)-2-苄基-1-(1,3-噻唑-2-基)乙胺甲酰胺(綴)醇[INT-38]

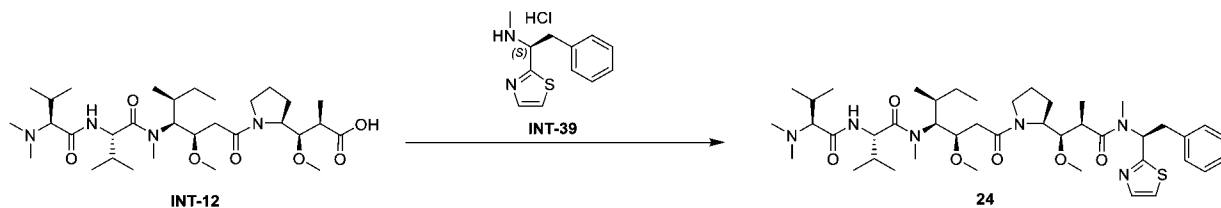
(0283) 向(1S)-2-苄基-1-(1,3-噻唑-2-基)乙胺[INT-37] (204 mg, 1.00 mmol) 及Et₃N (202 mg, 2.00 mmol)於DCM (5 mL)中之經攪拌溶液中添加(Boc)₂O (327 mg, 1.50 mmol)。將混合物在25°C下攪拌16 h。將其用水(10 mL)稀釋，用DCM(2 * 10 mL)萃取，將合併之有機相經Na₂SO₄乾燥，過濾且在真空中濃縮。藉由Combi-Flash (4 油醚:EtOAc = 5/1)純化殘餘物，得到呈白色固體狀之INT-38 (250 mg, 82.2%)。LCMS (ESI): m/z 305 (M + H)⁺。



(S)-甲磺(2-苄基-1-(1,3-噻唑-2-基)乙基)胺甲酰胺(綴)醇[INT-39]

(0284) 在0°C下，向INT-38 (100 mg, 0.328 mmol)於THF (2 mL)中之溶液中添加氫化鈉(27 mg, 0.657 mmol, 60%於礦物油中)。將反應物在0°C下攪拌10

min，接著在0°C下添加MeI (93 mg, 0.657 mmol)。將其在25°C下攪拌2 h，用水 (10 mL)淬滅，用EtOAc (10 mL *3)萃取，將合併之有機相經硫酸鈉乾燥，過濾，濃縮。藉由Combi-Flash (石油醚:EtOAc = 5:1)純化，得到甲基化產物(60 mg)。LCMS (ESI): m/z 319.2 (M + H)⁺。將甲基化產物溶解於HCl/二噁烷(3 mL, 1N)中，在25°C下攪拌1 h，濃縮，得到呈白色固體狀之**INT-39** (48 mg, 粗物質)。



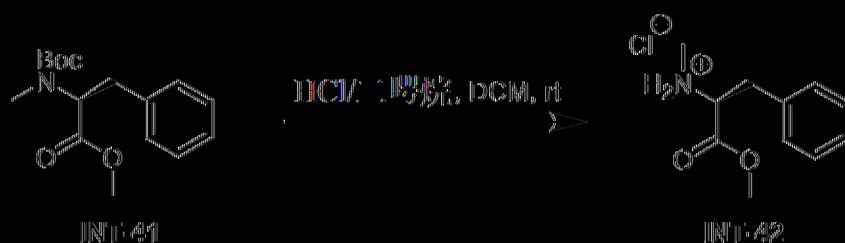
(S)-2-((*S*)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁醯胺基)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-3-甲氧基-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-(甲基(*S*)-2-苯基-1-(噻唑-2-基)乙基)胺基)-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-*N*,3-二甲基丁醯胺 **24**

【0285】 向**INT-12** (30 mg, 0.05 mmol)、**INT-39** (11 mg, 0.05 mmol)及HATU (23 mg, 0.06 mmol)於DMAc (1.5 mL)中之溶液中添加DIEA (13 mg, 0.10 mmol)，將反應物在25°C下攪拌2 h。藉由製備型HPLC (ACN-H₂O (0.1% TFA))直接純化，得到呈白色固體狀之**24** (21 mg, 52.3%)。LCMS (ESI): m/z 799.5 (M + H)⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.64 (s, 1H), 9.00-8.85 (m, 1H), 7.90 (m, 2H), 7.31 - 7.19 (m, 4H), 7.18 - 7.00 (m, 1H), 6.50-6.30 (m, 1H), 4.90-4.50 m, 3H), 3.66 - 3.40 (m, 4H), 3.37-3.29 (m, 1H), 3.28 (s, 3H), 3.23 - 3.12 (m, 3H), 3.11 - 2.91 (m, 3H), 2.84- 2.70 (m, 8H), 2.46-2.41 (m, 1H), 2.34 - 2.23 (m, 1H), 2.19 - 2.09 (m, 1H), 2.08 (m, 6H), 1.94-1.64 (m, 2H), 1.59- 1.16(m, 3H), 1.12 - 0.69 (m, 21H)。

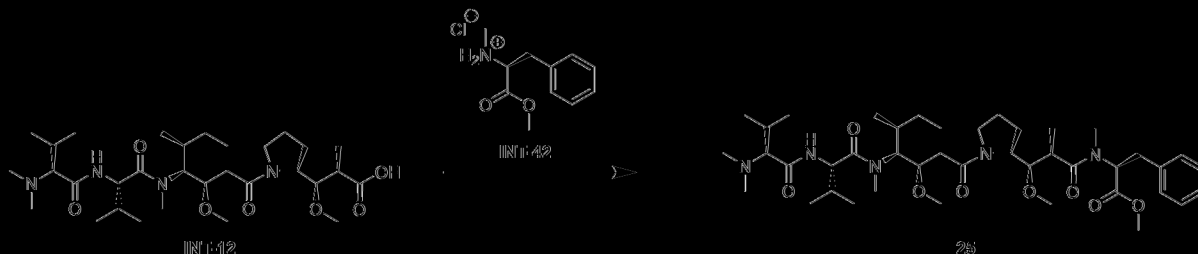


N-(*tert*-丁氧基羰基)-*N*-甲基-*L*-苯基丙胺酸甲酯 [INT-41]

[0286] 向在氮氣下在25°C下攪拌的(4*R*,5*S*)-4-甲基-5-苯基吡啶定-2-酮 [INT-40] (100 mg, 0.36 mmol)及Ag₂O (413 mg, 1.78 mmol)於DMF (4 mL)中之混合物中逐滴添加TfCl (101 mg, 0.71 mmol)於DMF (1 mL)中之溶液。將反應混合物在25°C下攪拌12 h。將其用水(20 mL)稀釋，用EtOAc (10 mL*3)萃取。將有機層合併，用鹽水(10 mL)洗滌，經Na₂SO₄乾燥，過濾且濃縮。藉由Combi-Flash (石油醚:EtOAc = 3/1)純化殘餘物，得到呈白色固體狀之[INT-41] (100 mg, 90.5%)。LCMS (ESI): *m/z* 316 (M+Na)⁺。

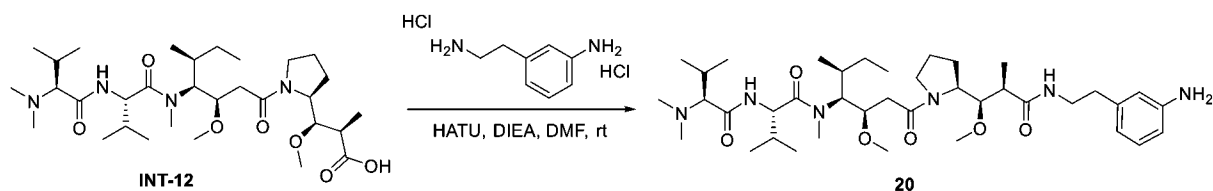
*N*-3-(*N*-甲基-*L*-苯基丙胺酸甲酯)-吡啶-2-羧酸鹽 [INT-42]

[0287] 向在25°C下攪拌的[INT-41] (100 mg, 0.34 mmol)於DCM (4 mL)中之溶液中添加1,4-二噁烷/HCl (1 mL, 4N)。將反應混合物在25°C下攪拌2 h，濃縮，得到呈白色固體狀之[INT-42] (60 mg, 粗物質)。LCMS (ESI): *m/z* 194.2 (M+H)⁺。



N-((2*R*,3*R*)-3-((*S*)-1-((3*R*,4*S*,5*S*)-4-((*S*)-2-((*S*)-2-(*N*-甲基胺基)-3-甲基丁醯胺基)-*N*,3-(*N*-甲基醯胺基)-3-甲氧基-5-甲氧基吡啶-2-基)-3-甲氧基-2-甲基丙醯基)-*N*-甲基-*L*-苯基丙胺酸甲酯 [25]

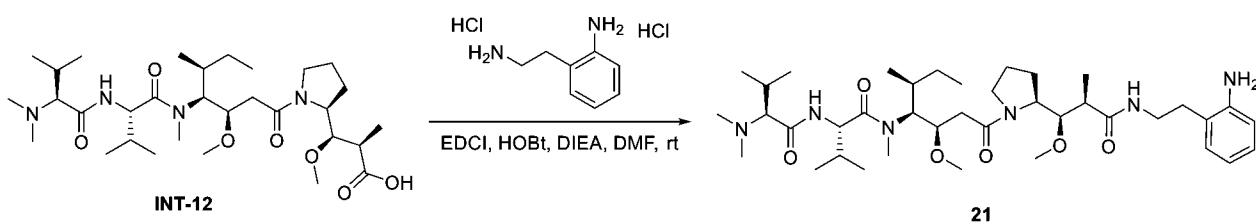
【0288】 向在氮氣下在25°C下攪拌的INT-12 (30 mg, 0.05 mmol)、DIEA (18 mg, 0.15 mmol)及HATU (29 mg, 0.07 mmol)於DMAc (1.5 mL)中之溶液中添加INT-42 (17 mg, 0.07 mmol)於DMAc (0.5 mL)中之溶液。將反應混合物在25°C下攪拌2 h、藉由製備型HPLC(ACN- H₂O (0.1% TFA))直接純化，得到呈白色固體狀之25 (13.3 mg, 32.9%)。LCMS (ESI): m/z 774.2 (M+H)⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.59 (s, 1H), 8.93 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.28 (dd, *J* = 15.0, 6.7 Hz, 1H), 7.20 (s, 4H), 5.43 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 5.08 (ddd, *J* = 38.3, 11.0, 5.0 Hz, 1H), 4.80 - 4.55 (m, 2H), 4.02 (d, *J* = 41.8 Hz, 1H), 3.79 - 3.56 (m, 6H), 3.45 (dd, *J* = 17.3, 8.2 Hz, 1H), 3.24 (t, *J* = 10.9 Hz, 5H), 3.17 (d, *J* = 8.8 Hz, 4H), 3.10 (d, *J* = 11.0 Hz, 2H), 3.04 - 2.95 (m, 2H), 2.85 - 2.68 (m, 10H), 2.48 - 2.39 (m, 2H), 2.29 (dt, *J* = 16.0, 8.0 Hz, 1H), 2.18 - 1.96 (m, 1H), 1.88 (s, 1H), 1.79 - 1.68 (m, 1H), 1.61 (dd, *J* = 12.1, 6.3 Hz, 1H), 1.47 - 1.13 (m, 2H), 1.05 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H), 1.02 - 0.92 (m, 9H), 0.92 - 0.89 (m, 3H), 0.88 - 0.84 (m, 3H), 0.79 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H)。



(S)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((3-氨基苯乙基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-2-((*S*)-2-(二甲基胺基)-3-甲基丁醯胺基)-*N*,3-二甲基丁醯胺 20

【0289】 向3-(2-胺基-乙基)-苯胺二鹽酸鹽(1.67 g, 8.01 mmol)於DMF (100 mL)中之溶液中添加DIEA (4.6 mL, 26.72 mmol)。將混合物在室溫下攪拌0.5 h，接著添加INT-12 (4 g, 6.68 mmol)，隨後添加HATU (3.3 g, 8.68 mmol)。將所得混合物在室溫下攪拌2 h。LCMS顯示完成。反應物藉由H₂O (150 mL)淬滅，接著用EtOAc (100 mL*3)萃取。將合併之有機層用H₂O (50 mL)及鹽水(50 mL)洗滌，

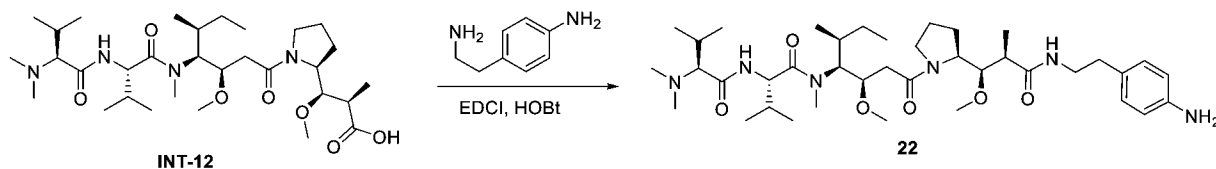
經Na₂SO₄乾燥，過濾且濃縮至乾燥。藉由逆相管柱(H₂O/CH₃CN)純化殘餘物，得到呈白色固體狀之**20** (3.4 g, 71%產率)。LCMS (ESI): m/z 717.2 [M + H]⁺; HPLC: 在210 nm下，99.48%，R_t = 10.72 min; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.09 - 7.96 (m, 1H), 7.82 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 6.89 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.42 - 6.36 (m, 2H), 6.33 (t, *J* = 8.2 Hz, 1H), 4.90 (d, *J* = 14.7 Hz, 2H), 4.79 - 4.61 (m, 1H), 4.61 - 4.48 (m, 1H), 4.04 - 3.94 (m, 1H), 3.88 - 3.80 (m, 1H), 3.77 - 3.70 (m, 1H), 3.61 - 3.48 (m, 1H), 3.46 - 3.36 (m, 1H), 3.29 (d, 3H), 3.27 - 3.22 (m, 1H), 3.18 (d, 3H), [3.15 (s, 1.5H); 3.00 (s, 1.5H)], 3.14 - 3.09 (m, 1H), 2.68 - 2.53 (m, 3H), 2.46 - 2.40 (m, 1H), 2.34 - 2.22 (m, 1H), 2.22 - 2.13 (m, 7H), 1.97 - 1.82 (m, 4H), 1.73 - 1.56 (m, 2H), 1.36 - 1.25 (m, 1H), 1.10 - 1.03 (m, 3H), 0.94 - 0.82 (m, 13H), 0.78 - 0.67 (m, 6H)。



(S)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((2-氨基苯乙基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-2-((*S*)-2-(二甲基胺基)-3-甲基丁醯胺基)-*N*,3-二甲基丁醯胺 **21**

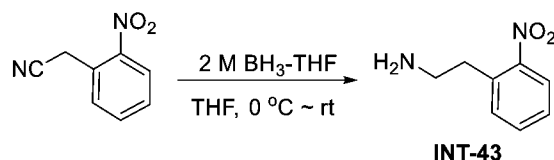
【0290】向2-(2-胺基-乙基)-苯胺二鹽酸鹽(20.9 mg, 100.2 μmol)於DMF (2 mL)中之溶液中添加DIEA (53.9 mg, 417.5 μmol)。將混合物在室溫下攪拌0.5 h。接著添加EDCI (24 mg, 125.2 μmol)及HOBT (22.6 mg, 167 μmol)，隨後逐滴添加INT-12 (50 mg, 83.5 μmol)/DMF (0.5 mL)。將所得混合物在室溫下攪拌3 h。LCMS 顯示完成。藉由逆相管柱(CH₃CN/H₂O)直接純化反應物，得到呈灰白色固體狀之**21** (50 mg, 83.5%產率)。LCMS (ESI): m/z 717.0 [M + H]⁺; HPLC: 在210 nm下，99.6%，R_t = 11.04 min; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.11 - 6.94 (m, 3H), 6.94 - 6.82 (m, 1H), 6.75 - 6.62 (m, 2H), 4.93 - 4.69 (m, 2H), 4.39 - 4.05 (m, 4H), 4.03 - 3.67

(m, 2H), 3.56 - 3.44 (m, 2H), 3.43 - 3.25 (m, 8H), [3.15 (s, 0.8H); 3.03 (s, 2.2H)], 2.79 - 2.70 (m, 2H), 2.46 - 2.32 (m, 3H), 2.30 - 2.18 (m, 6H), 2.12 - 1.94 (m, 4H), 1.87 - 1.77 (m, 2H), 1.41 - 1.30 (m, 1H), 1.28 - 1.20 (m, 3H), 1.10 - 0.88 (m, 16H), 0.82 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H)。



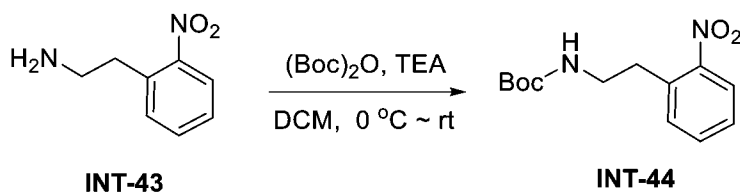
(S)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((4-氨基苯乙基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-2-((*S*)-2-(二甲基胺基)-3-甲基丁醯胺基)-*N*,3-二甲基丁醯胺 **20**

【0291】隨後向4-(2-胺乙基)苯胺(13.7 mg, 100.2 μmol)於DMF (2 mL)中之溶液中添加EDCI (24 mg, 0.125 mmol)、HOBT (16.9 mg, 0.125 mmol)及DIEA (21.6 mg, 0.167 mmol)。接著在2 min內逐滴添加INT-12 (50 mg, 83.5 μmol)/DMF (0.5 mL)。將反應物在室溫下攪拌4 h。LCMS顯示完成。藉由製備型HPLC (H₂O/CH₃CN)直接純化混合物，得到呈灰白色固體狀之**22** (7 mg, 12%產率)。LCMS (ESI): m/z 717.1 [$M + H$]⁺; HPLC: 在210 nm下, 96.4%, $R_t = 10.29$ min; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.98 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 6.92 (dd, $J = 21.8, 8.7$ Hz, 2H), 6.64 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 6.61 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 6.40 (s, 1H), 4.96 - 4.83 (m, 1H), 4.83 - 4.70 (m, 2H), 4.16 - 4.07 (m, 2H), 3.88 - 3.84 (m, 1H), 3.83 - 3.74 (m, 1H), 3.62 - 3.56 (m, 1H), 3.46 - 3.43 (m, 2H), 3.37 - 3.31 (m, 8H), [3.14 (s, 1H); 3.02 (s, 2H)], 2.71 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 2.46 - 2.41 (m, 2H), 2.37 - 2.34 (m, 1H), 2.26 - 2.23 (m, 6H), 2.08 - 1.93 (m, 5H), 1.38 - 1.28 (m, 2H), 1.23 - 1.20 (m, 3H), 1.01 - 0.93 (m, 15H), 0.83 - 0.79 (m, 3H)。



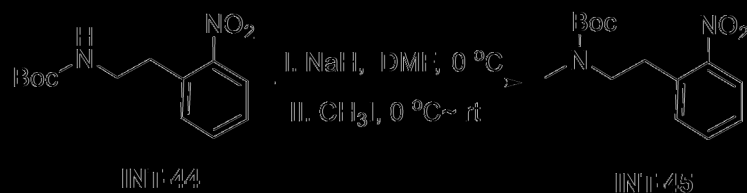
2-(2-硝基苯基)乙胺 INT-43

【0292】在 N_2 氛圍下，向藉由冰浴預先冷卻至 0°C 的2-(2-硝基苯基)乙腈(3 g, 18.5 mmol)於50 mL無水THF中之溶液中添加2 M $\text{BH}_3\text{-THF}$ (21.3 mL, 42.6 mmol)。使混合物自然升溫至室溫且攪拌9 h。TLC顯示完成(DCM:MeOH = 10:1, $R_f = 0.4$)。將混合物再次冷卻至 0°C ，接著藉由緩慢添加30 mL MeOH淬滅，且接著濃縮至乾燥，得到呈棕色固體狀之粗INT-43 (3.07 g, 100%產率)：LCMS (ESI): m/z 167.1 $[\text{M} + \text{H}]^+$ ，其不經進一步純化即直接使用。



2-硝基苯乙基胺基甲酸三級丁酯 INT-44

【0293】在室溫下在 N_2 氛圍下，向2-(2-硝基苯基)乙胺INT-43 (3.07 g粗物質, 18.5 mmol)於40 mL乾燥DCM中之溶液中添加 Et_3N (7.8 mL, 56.0 mmol)。藉由冰浴將混合物冷卻至 0°C ，接著逐滴添加含 Boc_2O (4.7 mL, 20.52 mmol)之20 mL DCM。使反應物自然升溫至室溫且攪拌16 h。TLC顯示完成(DCM:MeOH = 10:1, $R_f = 0.95$)。藉由添加100 mL H_2O 淬滅混合物，且接著用DCM (50 mL *3)萃取。將合併之有機層用 H_2O 及鹽水洗滌，經 Na_2SO_4 乾燥，過濾且濃縮至乾燥。藉由急驟層析(石油醚:EtOAc = 40:1至30:1至20:1, v/v)純化殘餘物，得到呈淡黃色油狀之INT-44 (3.85 g, 2個步驟78%產率)。LCMS (ESI): m/z 167.1 $[\text{M} - t\text{-Bu}]$ 。



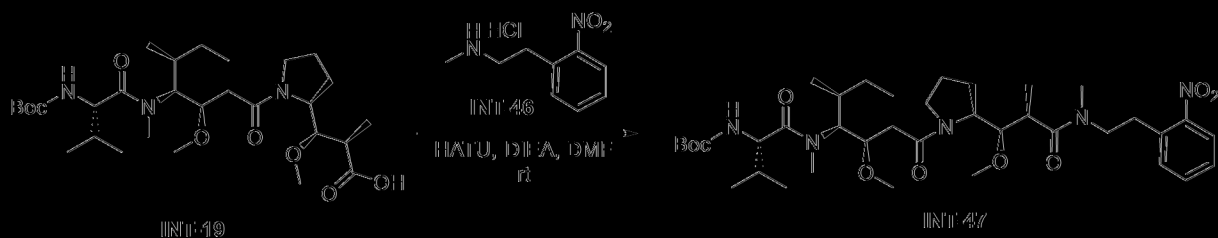
甲基(2-硝基苯乙基)胺基甲酸三級丁酯 (INT-45)

(0294) 在0°C下在N₂氛圍下，向2-硝基苯乙基胺基甲酸三級丁酯 (INT-44) (2 g, 7.51 mmol) 於40 mL 無水DMF中之溶液中添加160% NaH (601 mg, 15 mmol)。將混合物在0°C下攪拌30 min，接著添加ICH₃I (1.1 mL, 17.3 mmol)。使反應物自然升溫至室溫且攪拌隔夜。TLC顯示完成(石油醚:EtOAc = 5:1, R_f = 0.7)。混合物藉由在0°C下緩慢添加180 mL H₂O淬滅，接著用EtOAc (30 mL *3) 萃取。將合併之有機相用Cl₂O及鹽水洗滌，經Na₂SO₄乾燥，過濾且濃縮至乾燥。藉由急驟層析(石油醚:EtOAc = 40:1至30:1至25:1, v/v)純化殘餘物，得到INT-45 (1.44 g, 62% 產率)。LCMS (ESI): *m/z* 181.1 [M + t-Bu]。



N-甲基-2-(2-硝基苯基)乙胺鹽酸鹽 (INT-46)

(0295) 向甲基(2-硝基苯乙基)胺基甲酸三級丁酯 (INT-45) (1.34 g, 4.78 mmol) 於15 mL DCM中之溶液中添加4 M HCl / 二噁烷 (10 mL, 40 mmol)。將反應物在室溫下攪拌2.5 h。TLC顯示完成。將混合物濃縮至乾燥。將殘餘物用DCME (20 mL) 藥化3次，得到呈淡黃色固體狀之INT-46 (920 mg, 64% 產率): LCMS (ESI): *m/z* 181.1 [M + H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.14 (s, 2H), 8.02 (dd, *J*: 8.2, 1.2 Hz, 1H), 7.73 (td, *J*: 7.6, 1.3 Hz, 1H), 7.63 ~ 7.52 (m, 2H), 3.25 ~ 3.15 (m, 4H), 2.57 (s, 3H)。



(*S*)-1-(((3*R*,4*S*,5*S*)-3-甲氧基-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-(甲基(2-硝基苯乙基)胺基)-3-吡咯基丙基)吡咯啉-1-基)-5-甲基-1-吡咯基庚-4-基)(甲基)胺基)-3-甲氧基丁-2-基)胺基甲酸二級丁酯(Intermediate 47)

(0296) 試管A：向Intermediate 46 (870 mg, 4.02 mmol)於DMF (30 mL)中之溶液中添加DIEA (2.3 mL, 13.9 mmol)。將混合物在室溫下攪拌20 min以形成溶液A。

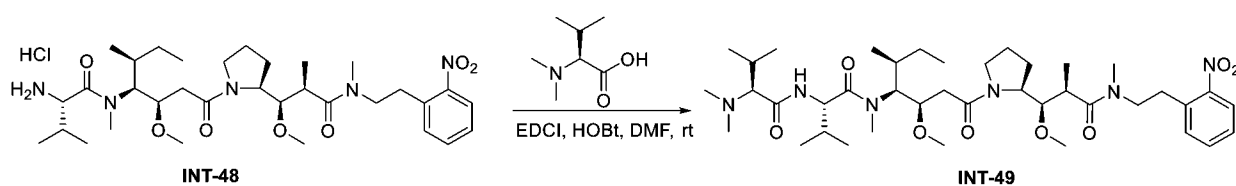
(0297) 試管B：在室溫下，向Intermediate 19 (1.77 g, 3.09 mmol)於20 mL DMF中之另一溶液中添加HATU (2.35 g, 6.18 mmol)及DIEA (2.3 mL, 13.9 mmol)。將混合物在室溫下攪拌0.5 h，接著添加溶液A。將所得混合物在室溫下攪拌3.5 h。LCMS顯示完成。藉由逆相層析(C₁₈/CH₂Cl₂/CN)直接純化反應物，得到呈黃色油狀之Intermediate 47 (1.74 g, 73%產率)。LCMS (ESI): *m/z* 734.2 [M+H]⁺。



(*S*)-2-胺基-N-((3*R*,4*S*,5*S*)-3-甲氧基-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-(甲基(2-硝基苯乙基)胺基)-3-吡咯基丙基)吡咯啉-1-基)-5-甲基-1-吡咯基庚-4-基)-N,3-二甲基丁酰胺二級胺鹽(Intermediate 48)

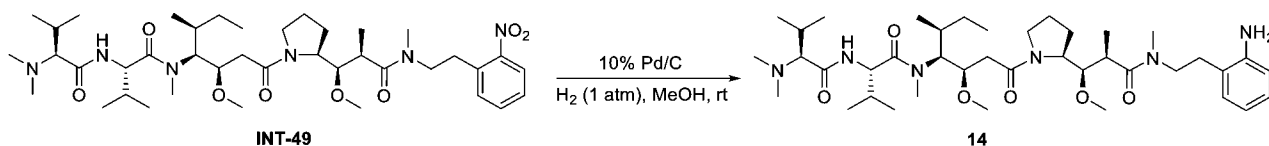
(0298) 向Intermediate 47 (1.54 g, 2.1 mmol)於20 mL DCM中之溶液中添加4 M HCl/1,2-二氯乙烷(5 mL, 20 mmol)。將反應物在室溫下攪拌3 h。TLC顯示完成。將混合物濃縮至乾燥。將殘餘物用Me₂BE(30 mL*3)漿化，接著冷凍乾燥，得到呈黃色固體狀之Intermediate 48 (1.27 g, 90%產率)。LCMS (ESI): *m/z* 634.2 [M+H]⁺; HPLC:

在210 nm下，98.2%， $R_t = 11.74$ min。



(S)-2-((S)-2-(二甲基胺基)-3-甲基丁醯胺基)-N-((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-(甲基(2-硝基苯乙基)胺基)-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-N,3-二甲基丁醯胺 INT-49

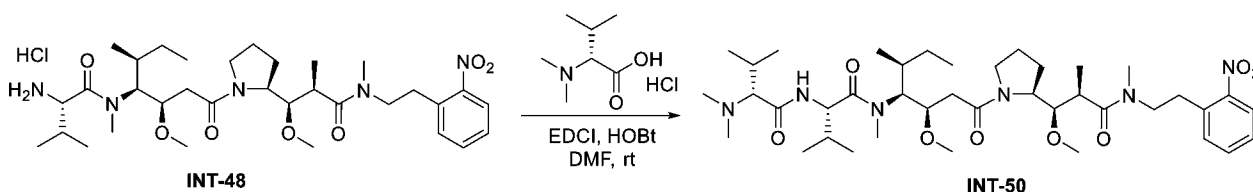
【0299】向INT-48 (100 mg, 0.149 mmol)及(S)-2-(二甲基胺基)-3-甲基丁酸 (26 mg, 0.179 mmol)於2 mL DMF中之溶液中添加EDCI (43 mg, 0.224 mmol)及HOBT (40 mg, 0.298 mmol)，隨後添加DIEA (87 mg, 0.671 mmol)。將混合物在室溫下在 N_2 氛圍下攪拌2 h，LCMS顯示完成。藉由逆相管柱($H_2O:CH_3CN$)直接純化反應混合物，得到呈無色油狀之INT-49 (96 mg, 85%產率)。LCMS (ESI): m/z 760.9 $[M + H]^+$ 。



(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((2-胺基苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-2-((S)-2-(二甲基胺基)-3-甲基丁醯胺基)-N,3-二甲基丁醯胺 14

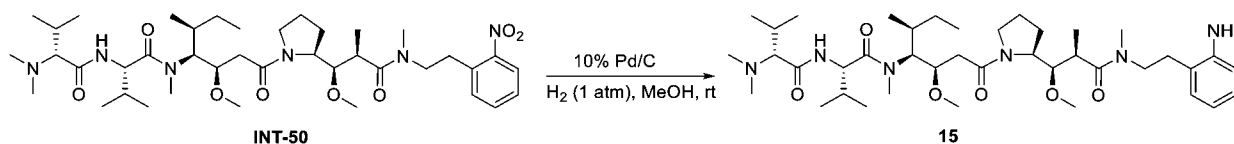
【0300】向INT-49 (96 mg, 0.126 mmol)於4 mL MeOH中之溶液中添加10% Pd/C (20 mg)。接著將反應物在 H_2 氛圍(1 atm)下在室溫下攪拌2.5 h。LCMS顯示完成。過濾混合物，且濃縮濾液。凍乾殘餘物，得到呈白色固體狀之14 (33 mg, 36%產率)。LCMS (ESI): m/z 730.9 $[M + H]^+$ ；HPLC：在210 nm下，95.5%， $R_t = 13.51$ min； 1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.14 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 8.01 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.96 - 6.79 (m, 2H), 6.68 - 6.58 (m, 1H), 6.54 - 6.41 (m, 1H), 5.14 - 4.91 (m,

2H), 4.75 - 4.47 (m, 2H), 4.14 - 3.73 (m, 3H), 3.70 - 3.39 (m, 3H), 3.34 (s, 3H), 3.30 - 3.23 (m, 2H), 3.23 - 3.19 (m, 1H), 3.19 - 3.07 (m, 4H), 3.01 - 2.92 (m, 3H), 2.86 - 2.81 (m, 1H), 2.76 - 2.52 (m, 4H), 2.41 (d, $J = 20.7$ Hz, 1H), 2.30 - 2.14 (m, 6H), 2.03 - 1.84 (m, 4H), 1.84 - 1.55 (m, 3H), 1.36 - 1.25 (m, 1H), 1.10 (dd, $J = 21.8, 6.7$ Hz, 2H), 0.95 - 0.80 (m, 12H), 0.79 - 0.69 (m, 6H)。



(S)-2-((R)-2-(二甲基胺基)-3-甲基丁醯胺基)-N-((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-(甲基(2-硝基苯乙基)胺基)-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-N,3-二甲基丁醯胺 INT-50

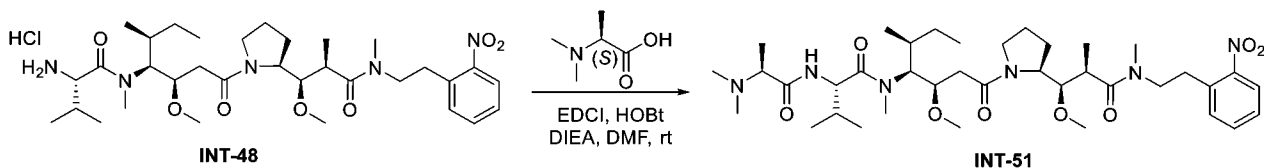
【0301】向INT-48 (100 mg, 0.149 mmol)及(R)-2-(二甲基胺基)-3-甲基丁酸 (32 mg, 0.179 mmol)於2 mL DMF中之溶液中添加EDCI (43 mg, 0.224 mmol)及HOBT (40 mg, 0.298 mmol), 隨後添加DIEA (87 mg, 0.671 mmol)。將混合物在室溫下在N₂氛圍下攪拌3天, LCMS顯示完成。藉由逆相管柱(H₂O:CH₃CN)直接純化反應混合物, 得到呈無色油狀之INT-50 (100 mg, 88%產率)。LCMS (ESI): m/z 761.1 [M + H]⁺。



(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((2-胺基苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-2-((R)-2-(二甲基胺基)-3-甲基丁醯胺基)-N,3-二甲基丁醯胺 15

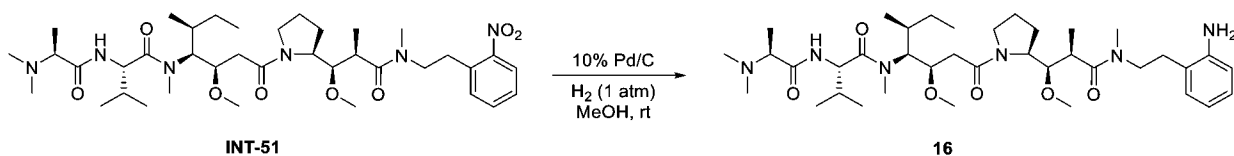
【0302】向INT-50 (100 mg, 0.131 mmol)於3 mL MeOH中之溶液中添加10% Pd/C (20 mg)。接著將反應物在H₂氛圍(1 atm)下在室溫下攪拌2 h。LCMS顯示完

成。過濾混合物，且濃縮濾液。凍乾殘餘物，得到呈灰白色固體狀之**15** (62 mg，64%產率)。LCMS (ESI): m/z 731.1 $[M + H]^+$ ；HPLC：在210 nm下，97.4%， $R_t = 8.67$ min； 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.14 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 8.01 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 6.98 - 6.79 (m, 2H), 6.66 - 6.57 (m, 1H), 6.51 - 6.41 (m, 1H), 5.14 - 4.91 (m, 2H), 4.78 - 4.60 (m, 1H), 4.59 - 4.44 (m, 1H), 4.10 - 3.81 (m, 2H), 3.81 - 3.46 (m, 3H), 3.46 - 3.35 (m, 1H), 3.34 - 3.32 (m, 3H), 3.31 - 3.30 (m, 1H), 3.30 - 3.23 (m, 2H), 3.23 - 3.10 (m, 5H), 3.03 - 2.95 (m, 3H), 2.85 - 2.81 (m, 1H), 2.78 - 2.53 (m, 4H), 2.41 (d, $J = 20.1$ Hz, 1H), 2.34 - 2.18 (m, 1H), 2.17 - 2.11 (m, 5H), 2.00 - 1.84 (m, 4H), 1.78 - 1.60 (m, 2H), 1.41 - 1.29 (m, 1H), 1.10 (dd, $J = 22.2, 6.7$ Hz, 2H), 0.96 - 0.83 (m, 11H), 0.82 - 0.73 (m, 7H)。



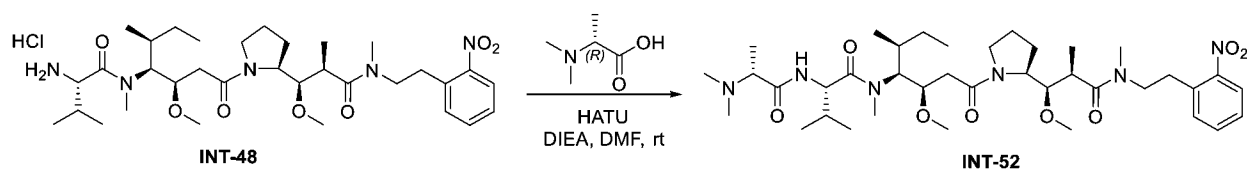
(S)-2-((*S*)-2-(二甲基氨基)丙醯胺)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-3-甲氧基-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-(甲基(2-硝基苯乙基)胺基)-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-*N*,3-二甲基丁醯胺 INT-51

【0303】向INT-48 (100 mg，0.149 mmol)及(*S*)-2-(二甲基氨基)丙酸(22 mg，0.188 mmol)於3 mL DMF中之溶液中添加EDCI (45 mg，0.235 mmol)及HOBT (32 mg，0.237 mmol)，隨後添加DIEA (71 mg，0.55 mmol)。將混合物在室溫下在 N_2 氛圍下攪拌3 h，LCMS顯示完成。混合物藉由添加15 mL H_2O 淬滅，接著用DCM (20 mL *3)萃取。將合併之有機層用 H_2O 及鹽水洗滌，經 Na_2SO_4 乾燥，過濾且濃縮。藉由製備型TLC (DCM:MeOH = 10:1， $R_f = 0.7$)純化殘餘物，得到呈淡黃色油狀之INT-51 (100 mg，91%產率)。LCMS (ESI): m/z 733.5 $[M + H]^+$ 。



(*S*)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((2-氨基苯乙基)(甲基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-2-((*S*)-2-(二甲基氨基)丙醯胺)-*N*,3-二甲基丁醯胺 **16**

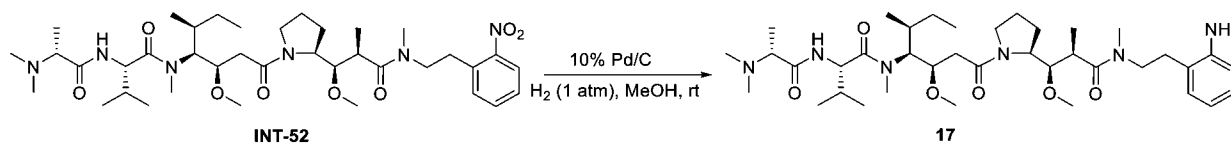
【0304】 向INT-51 (110 mg, 0.15 mmol)於5 mL MeOH中之溶液中添加10% Pd/C (22 mg)。接著將反應物在H₂氛圍(1 atm)下在室溫下攪拌1.5 h。LCMS顯示完成。過濾混合物，且濃縮濾液。凍乾殘餘物，得到呈灰白色固體狀之**16** (90 mg, 86%產率)。LCMS (ESI): *m/z* 703.3 [M + H]⁺；HPLC：在210 nm下，96.6%，*R*_t = 8.52 min；¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.78 (dd, *J* = 25.1, 8.5 Hz, 1H), 6.94 - 6.76 (m, 2H), 6.69 - 6.57 (m, 1H), 6.51 - 6.41 (m, 1H), 5.20 - 4.87 (m, 2H), 4.76 - 4.50 (m, 2H), 4.14 - 3.84 (m, 2H), 3.84 - 3.72 (m, 1H), 3.71 - 3.60 (m, 1H), 3.59 - 3.49 (m, 1H), 3.49 - 3.37 (m, 2H), 3.31 - 3.27 (m, 2H), 3.27 - 3.22 (m, 1H), 3.22 - 3.19 (m, 1H), 3.19 - 3.15 (m, 2H), 3.15 - 3.02 (m, 2H), 3.00 - 2.89 (m, 4H), 2.89 - 2.74 (m, 2H), 2.73 - 2.60 (m, 2H), 2.59 - 2.52 (m, 1H), 2.48 - 2.35 (m, 1H), 2.24 - 2.15 (m, 6H), 2.03 - 1.86 (m, 3H), 1.83 - 1.55 (m, 3H), 1.34 - 1.26 (m, 1H), 1.14 - 1.02 (m, 5H), 0.95 - 0.80 (m, 9H), 0.80 - 0.66 (m, 5H)。



(*S*)-2-((*R*)-2-(二甲基氨基)丙醯胺)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-3-甲氧基-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-(甲基(2-硝基苯乙基)氨基)-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-*N*,3-二甲基丁醯胺 INT-52

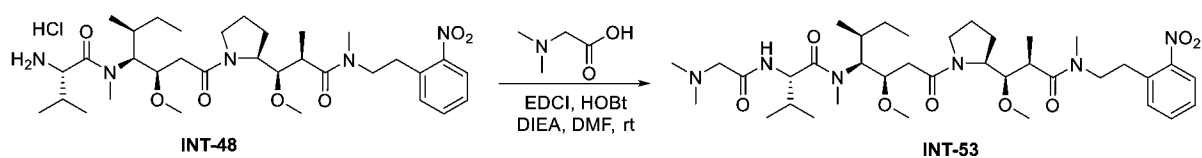
【0305】 向INT-48 (100 mg 0.149 mmol)及(*R*)-2-(二甲基氨基)丙酸(21 mg，

0.174 mmol)於4 mL DMF中之溶液中添加HATU (78 mg, 0.205 mmol), 隨後添加 DIEA (51 mg, 0.395 mmol)。將混合物在室溫下在N₂氛圍下攪拌4 h, LCMS顯示完成。將混合物直接濃縮至乾燥, 得到粗物質。用15 mL H₂O稀釋粗殘餘物, 接著用EtOAc (10 mL *4)萃取。將合併之有機層用H₂O及鹽水洗滌, 經Na₂SO₄乾燥, 過濾且濃縮, 得到呈黃色油狀之粗INT-52 (180 mg)。LCMS (ESI): *m/z* 733.1 [M + H]⁺。



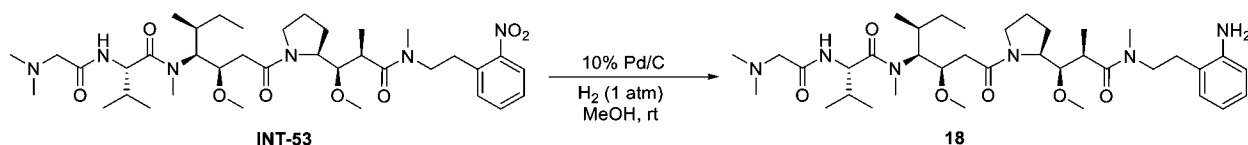
(S)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((2-氨基苯乙基)(甲基)氨基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-2-((*R*)-2-(二甲基氨基)丙醯胺)-*N*,3-二甲基丁醯胺 **17**

【0306】向粗INT-52 (180 mg)於5 mL MeOH中之溶液中添加10% Pd/C (20 mg)。接著將反應物在H₂氛圍(1 atm)下在室溫下攪拌4 h。LCMS顯示完成。過濾混合物, 且濃縮濾液。將殘餘物藉由逆相管柱(H₂O:CH₃CN)純化, 接著凍乾, 得到呈白色固體狀之**17** (60 mg, 2個步驟54%產率)。LCMS (ESI): *m/z* 703.4 [M + H]⁺; HPLC: 在210 nm下, 99.4%, *R*_t = 12.52 min; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.04 - 8.90 (m, 1H), 7.00 - 6.81 (m, 2H), 6.70 - 6.58 (m, 1H), 6.58 - 6.43 (m, 1H), 4.79 - 4.58 (m, 1H), 4.57 - 4.42 (m, 1H), 4.06 - 3.97 (m, 1H), 3.96 - 3.89 (m, 1H), 3.89 - 3.73 (m, 1H), 3.73 - 3.56 (m, 1H), 3.56 - 3.39 (m, 2H), 3.33 - 3.28 (m, 5H), 3.27 - 3.10 (m, 6H), 3.09 - 2.85 (m, 4H), 2.84 - 2.79 (m, 1H), 2.79 - 2.52 (m, 9H), 2.41 (d, *J* = 20.2 Hz, 1H), 2.37 - 2.17 (m, 1H), 2.09 - 1.85 (m, 3H), 1.85 - 1.55 (m, 3H), 1.49 - 1.34 (m, 3H), 1.34 - 1.25 (m, 1H), 1.09 (dd, *J* = 17.8, 6.7 Hz, 2H), 0.97 - 0.80 (m, 9H), 0.80 - 0.62 (m, 5H)。



(S)-2-(2-(二甲基胺基)乙醯胺基)-N-((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-(甲基(2-硝基苯乙基)胺基)-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-N,3-二甲基丁醯胺 INT-53

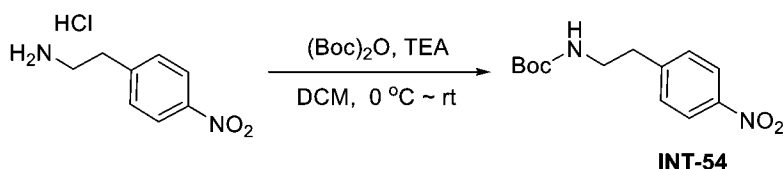
【0307】向INT-48 (100 mg, 0.149 mmol)及2-(二甲基胺基)乙酸(20 mg, 0.189 mmol)於5 mL DMF中之溶液中添加EDCI (45 mg, 0.235 mmol)及HOBT (32 mg, 0.237 mmol), 隨後添加DIEA (71 mg, 0.55 mmol)。將混合物在室溫下在N₂氛圍下攪拌3 h, LCMS顯示完成。將混合物在減壓下直接濃縮至乾燥。藉由製備型TLC (DCM: MeOH = 10:1, R_f = 0.7)純化殘餘物, 得到呈黃色油狀之粗INT-53 (117 mg, 100%產率)。LCMS (ESI): m/z 719.0 [M + H]⁺。



(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((2-胺基苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-2-(2-(二甲基胺基)乙醯胺基)-N,3-二甲基丁醯胺 18

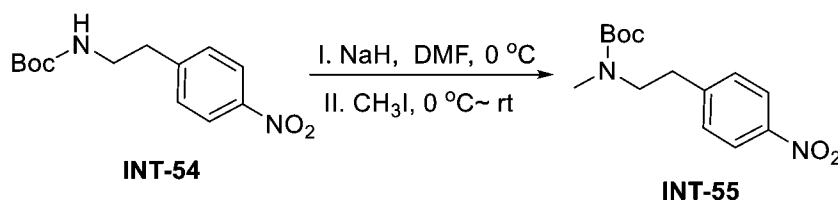
【0308】向INT-53 (117 mg, 0.163 mmol)於5 mL MeOH中之溶液中添加10% Pd/C (23 mg)。接著將反應物在H₂氛圍(1 atm)下在室溫下攪拌2 h。LCMS顯示完成。過濾混合物, 且濃縮濾液, 得到呈白色泡沫固體狀之**18** (103 mg, 92%產率)。LCMS (ESI): m/z 690.2 [M + H]⁺, 345.2 [M + 2H]²⁺; HPLC: 在210 nm下, 98.6%, R_t = 13.22 min; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.73 - 7.61 (m, 1H), 6.95 - 6.79 (m, 2H), 6.66 - 6.57 (m, 1H), 6.52 - 6.41 (m, 1H), 5.15 - 4.91 (m, 2H), 4.80 - 4.55 (m, 2H), 4.08 - 3.83 (m, 2H), 3.82 - 3.57 (m, 2H), 3.56 - 3.40 (m, 2H), 3.39 - 3.33 (m, 2H), 3.31 - 3.26 (m, 2H), 3.26 - 3.13 (m, 4H), 3.13 - 3.06 (m, 1H), 3.06 - 2.99 (m, 1H), 2.99 -

2.97 (m, 2H), 2.95 - 2.92 (m, 3H), 2.91 - 2.77 (m, 1H), 2.73 - 2.66 (m, 2H), 2.66 - 2.52 (m, 1H), 2.47 - 2.34 (m, 1H), 2.22 - 2.19 (m, 5H), 2.00 - 1.84 (m, 3H), 1.84 - 1.56 (m, 3H), 1.35 - 1.18 (m, 2H), 1.09 (dd, $J = 15.8, 6.7$ Hz, 2H), 1.01 - 0.84 (m, 7H), 0.84 - 0.79 (m, 3H), 0.79 - 0.68 (m, 4H)。



4-硝基苯乙基胺基甲酸三級丁酯 INT-54

【0309】在室溫下在 N_2 氛圍下，向2-(4-硝基苯基)乙胺鹽酸鹽(3 g, 14.8 mmol)於50 mL乾燥DCM中之溶液中添加 Et_3N (4.49 g, 44.41 mmol)。藉由冰浴將混合物冷卻至 $0^\circ C$ ，接著添加 Boc_2O (4.85 g, 22.21 mmol)。使反應物自然升溫至室溫且攪拌16 h。TLC顯示完成(石油醚:EtOAc = 3:1, $R_f = 0.45$)。藉由添加30 mL H_2O 淬滅混合物，且接著用EtOAc (30 mL *3)萃取。將合併之有機層用 H_2O 及鹽水洗滌，經 Na_2SO_4 乾燥，過濾且濃縮至乾燥。藉由急驟層析(石油醚:EtOAc = 5:1, v/v)純化殘餘物，得到呈淡黃色油狀之INT-54 (3.8 g, 96%產率)。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.19 - 8.14 (m, 2H), 7.36 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 4.57 (s, 1H), 3.41 (dd, $J = 13.2, 6.6$ Hz, 2H), 2.92 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 1.43 (s, 9H)。



甲基(4-硝基苯乙基)胺基甲酸三級丁酯 INT-55

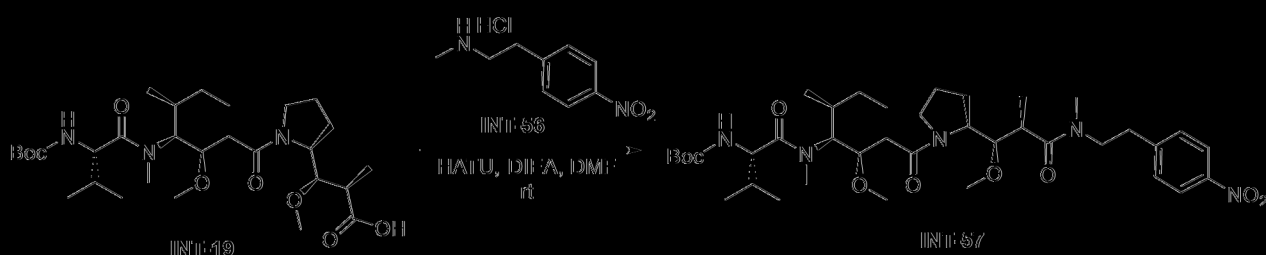
【0310】在 N_2 氛圍下，藉由冰浴將甲基(4-硝基苯乙基)胺基甲酸三級丁酯 INT-54 (3.2 g, 12 mmol)於60 mL無水DMF中之溶液冷卻至 $0^\circ C$ 持續20 min。在

0°C下在5 min內，向此溶液中逐份添加160% NaCl (0.72 g, 18 mmol)持續3次，隨後立即添加 CCl_4 (2.87 mL, 46.12 mmol)。使反應物自然升溫至室溫且攪拌3 h。TLC顯示完成(石油醚:EtOAc: 5:1, R_f : 0.75)。混合物藉由在0°C下緩慢添加150 mL H_2O 淬滅，接著用EtOAc (60 mL *3)萃取。將合併之有機層用 H_2O 及鹽水洗滌，經 Na_2SO_4 乾燥，過濾且濃縮，得到呈黃色油狀之INTC 55 (2.4 g, 71%產率)。LCMS (ESI): m/z 181.1 [M + t-Bu]。



N-甲基-2-(4-硝基苯乙基)乙胺鹽酸鹽 (INTC 56)

(0311) 向N-甲基-2-(4-硝基苯乙基)乙胺(三級)胺 (INTC 55) (2.4 g, 9 mmol)於40 mL DCM中之溶液中添加4 M HCl / 1,2-二氯乙烷(20 mL, 80 mmol)。將反應物在室溫下攪拌2 h。TLC顯示完成。將混合物濃縮至乾燥。將殘餘物用 Me_2NH (20 mL)漿化3次，得到呈淡黃色固體狀之INTC 56 (1.69 g, 91%產率)；LCMS (ESI): m/z 181.1 [M + H]⁺；¹H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.28 (s, 2H), 8.27 - 8.14 (m, 2H), 7.57 (m, 2H), 3.13 (m, 4H), 2.54 (s, 3H)。

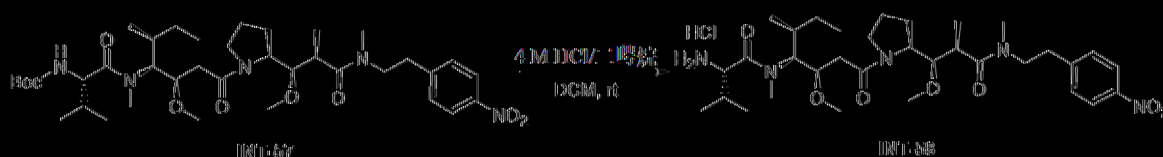


(S)-1-(((3R,4S,5S)-3-甲基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲基-2-甲基-3-(4-硝基苯乙基)乙基)-3-吡咯烷基)吡咯啉-1-基)-5-甲基-1-吡咯庚-4-基)(甲基)胺基)-3-甲基-1-吡咯丁-2-基)乙胺(三級)胺 (INTC 57)

(0312) 試管A：向INTC 56 (500 mg, 2.3 mmol)於DMF (10 mL)中之溶液中

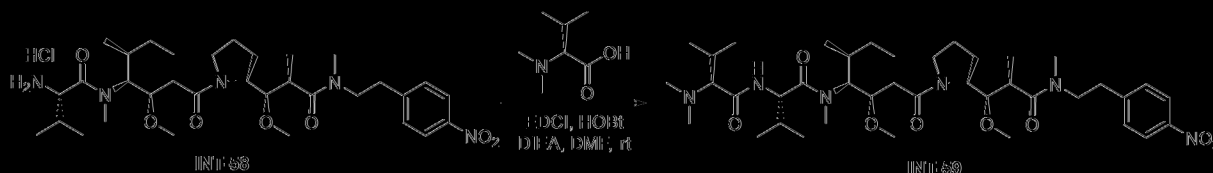
添加DIEA (640 mg, 3.99 mmol)。將混合物在室溫下攪拌0.5 h以形成溶液A。

(0313) 試管B：在室溫下，向INT-19 (1.02 g, 1.78 mmol)於30 mL DMSO中之另一溶液中添加CAATU (1.35 g, 3.55 mmol)及DIEA (640 mg, 3.99 mmol)。將混合物在室溫下攪拌0.5 h，隨後添加溶液A。將所得混合物在室溫下攪拌4 h。LCMS顯示完成。藉由逆相管柱(C_{18} / CH_2CN)直接純化反應物，得到呈黃色油狀之INT-57 (1.01 g, 75%產率)。LCMS (ESI): m/z 734.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。



(S)-2-胺基-N-((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-(甲基(4-硝基苯乙基)胺基)-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-N,3-二(甲基)膦胺羧酸鹽 INT-58

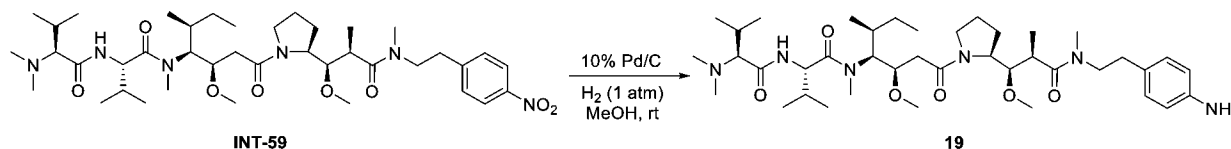
(0314) 向INT-57 (1.0 g, 1.36 mmol)於10 mL DCM中之溶液中添加4 M HCl/二噁烷(5 mL, 20 mmol)。將反應物在室溫下攪拌3 h。TLC顯示完成。將混合物濃縮至乾燥。將殘餘物用MTBE (10 mL*3)漿化，接著冷凍乾燥，得到呈黃色固體狀之INT-58 (0.76 g, 86%產率)。LCMS (ESI): m/z 634.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ；HPLC：在210 nm下，97.1%， R_t : 9.36 min。



(S)-2-((S)-2-(二(甲基)胺基)-3-甲基膦胺基)-N-((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-(甲基(4-硝基苯乙基)胺基)-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-N,3-二(甲基)膦胺 INT-59

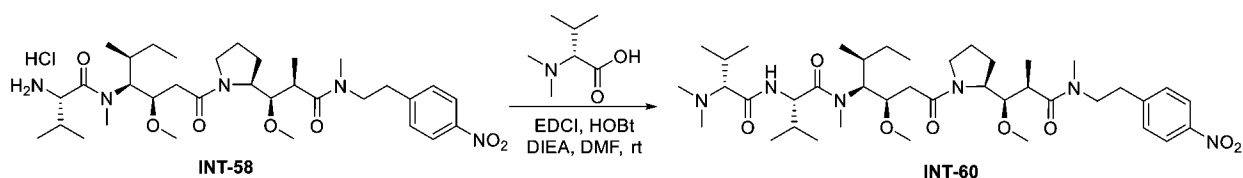
(0315) 向INT-58 (100 mg, 0.149 mmol)及(S)-2-(二(甲基)胺基)-3-甲基膦胺

(33 mg, 0.224 mmol)於2 mL DMF中之溶液中添加EDCI (46 mg, 0.235 mmol)及HOBt (32 mg, 0.328 mmol), 隨後添加DIEA (124 mg, 0.969 mmol)。將混合物在室溫下在N₂氛圍下攪拌2 h, LCMS顯示完成。藉由逆相管柱(H₂O:CH₃CN)直接純化反應混合物, 得到呈無色油狀之**INT-59** (120 mg, 100%產率)。LCMS (ESI): *m/z* 761.1[M+ H]⁺。



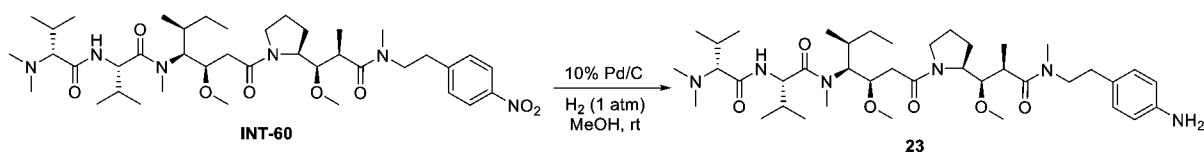
(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-氨基苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-2-((S)-2-(二甲基胺基)-3-甲基丁醯胺基)-N,3-二甲基丁醯胺 19

【0316】 向**INT-59** (120 mg, 0.149 mmol)於3 mL MeOH中之溶液中添加10% Pd/C (24 mg)。接著將反應物在H₂氛圍(1 atm)下在室溫下攪拌3 h。LCMS顯示完成。過濾混合物, 且濃縮濾液。將殘餘物藉由製備型TLC (DCM:MeOH=12:1, R_f = 0.5)純化, 接著凍乾, 得到呈灰白色固體狀之**19** (45 mg, 41%產率)。LCMS (ESI): *m/z* 366.2 [M + 2H]²⁺; HPLC: 在210 nm下, 95.6%, R_t = 12.36 min; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.01 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 6.90 - 6.81 (m, 2H), 6.53 - 6.42 (m, 2H), 4.90 - 4.75 (m, 2H), 4.73 - 4.47 (m, 2H), 4.17 - 3.79 (m, 2H), 3.79 - 3.59 (m, 2H), 3.55 - 3.41 (m, 2H), 3.40 - 3.33 (m, 2H), 3.29 - 3.25 (m, 2H), 3.24 - 3.16 (m, 4H), 3.15 - 2.93 (m, 3H), 2.91 - 2.82 (m, 2H), 2.82 - 2.77 (m, 1H), 2.67 - 2.58 (m, 3H), 2.57 - 2.52 (m, 1H), 2.49 - 2.39 (m, 1H), 2.24 - 2.17 (m, 6H), 1.99 - 1.83 (m, 4H), 1.82 - 1.56 (m, 3H), 1.34 - 1.25 (m, 1H), 1.11 - 1.00 (m, 2H), 0.99 - 0.94 (m, 1H), 0.93 - 0.84 (m, 13H), 0.79 - 0.68 (m, 6H)。



(S)-2-((*R*)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁醯胺基)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-3-甲氧基-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-(甲基(4-硝基苯乙基)胺基)-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-*N*,3-二甲基丁醯胺 INT-60

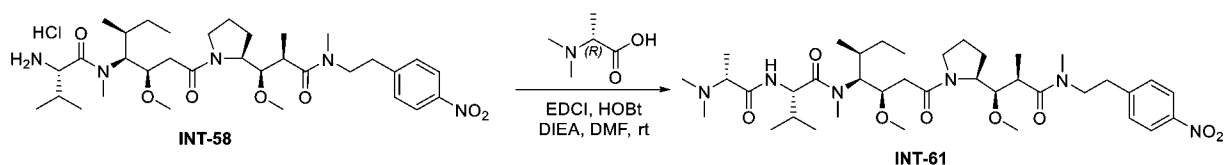
【0317】 向INT-58 (100 mg, 0.149 mmol)及(*R*)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁酸 (49 mg, 0.268 mmol)於3 mL DMF中之溶液中添加EDCI (68 mg, 0.355 mmol)及HOBt (64 mg, 0.473 mmol), 隨後添加DIEA (0.19 mL, 1.06 mmol)。將混合物在室溫下在N₂氛圍下攪拌2天, LCMS顯示幾乎完成。藉由逆相管柱(H₂O:CH₃CN)直接純化反應混合物, 得到呈無色油狀之INT-60 (60 mg, 53%產率)。LCMS (ESI): *m/z* 761.1[M+ H]⁺。



(S)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((4-胺基苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-2-((*R*)-2-(二甲基氨基)-3-甲基丁醯胺基)-*N*,3-二甲基丁醯胺 23

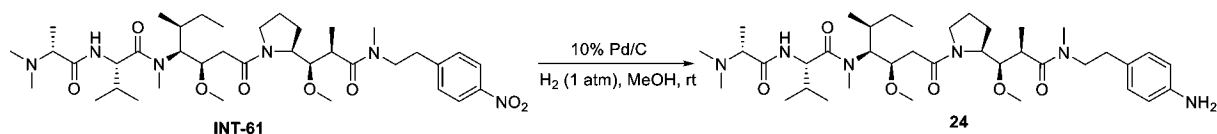
【0318】 向INT-60 (60 mg, 0.788 mmol)於2 mL MeOH中之溶液中添加10% Pd/C (18 mg)。接著將反應物在H₂氛圍(1 atm)下在室溫下攪拌隔夜。LCMS顯示完成。過濾混合物, 且濃縮濾液。凍乾殘餘物, 得到呈白色固體狀之23 (45 mg, 78%產率)。LCMS (ESI): *m/z* 731.4 [M + H]⁺; HPLC: 在210 nm下, 95.9%, *R*_t = 12.13 min; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.01 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 6.91 - 6.79 (m, 2H), 6.53 - 6.41 (m, 2H), 4.89 - 4.74 (m, 2H), 4.73 - 4.44 (m, 2H), 4.15 - 3.84 (m, 2H), 3.77 - 3.58 (m, 2H), 3.57 - 3.38 (m, 3H), 3.30 - 3.23 (m, 3H), 3.23 - 3.16 (m, 4H), 3.16

- 2.95 (m, 3H), 2.89 - 2.82 (m, 2H), 2.82 - 2.77 (m, 1H), 2.69 - 2.54 (m, 4H), 2.43 (d, $J = 15.3$ Hz, 1H), 2.28 - 2.12 (m, 6H), 2.01 - 1.84 (m, 4H), 1.81 - 1.57 (m, 3H), 1.40 - 1.29 (m, 1H), 1.05 (dd, $J = 17.7, 6.6$ Hz, 2H), 0.98 - 0.94 (m, 1H), 0.93 - 0.83 (m, 13H), 0.82 - 0.70 (m, 6H)。



(S)-2-((*R*)-2-(二甲基胺基)丙醯胺)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-3-甲氧基-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-(甲基(4-硝基苯乙基)胺基)-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-*N*,3-二甲基丁醯胺 INT-61

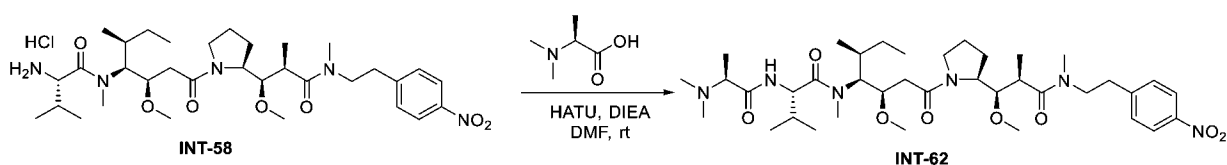
【0319】向INT-58 (100 mg, 0.149 mmol)及(*R*)-2-(二甲基胺基)丙酸(24 mg, 0.194 mmol)於2 mL DMF中之溶液中添加EDCI (46 mg, 0.239 mmol)及HOBT (43 mg, 0.313 mmol), 隨後添加DIEA (0.12 mL, 0.744 mmol)。將混合物在室溫下在 N_2 氛圍下攪拌2天, LCMS顯示剩餘30% STM。停止反應且藉由逆相管柱($H_2O:CH_3CN$)直接純化, 得到呈黃色油狀之粗INT-61 (120 mg)。LCMS (ESI): m/z 733 $[M + H]^+$ 。



(S)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((4-胺基苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-2-((*R*)-2-(二甲基胺基)丙醯胺)-*N*,3-二甲基丁醯胺 24

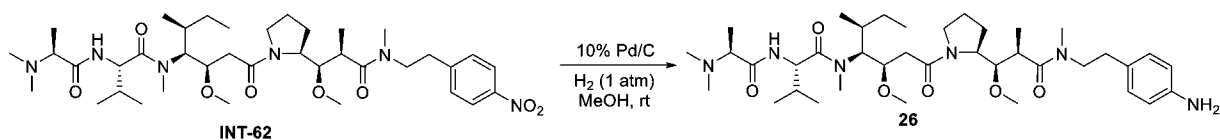
【0320】向INT-61 (120 mg粗物質)於3 mL MeOH中之溶液中添加10% Pd/C (24 mg)。接著將反應物在 H_2 氛圍(1 atm)下在室溫下攪拌2 h。LCMS顯示完成。過濾混合物, 且濃縮濾液。藉由製備型TLC ($DCM:MeOH = 13:1$, $R_f = 0.5$)純化

殘餘物，得到呈灰白色固體狀之**24** (37 mg，2個步驟35%產率)。LCMS (ESI): m/z 703.8 $[M + H]^+$ ；HPLC：在210 nm下，97.7%， $R_t = 11.99$ min； 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.80 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 6.90 - 6.79 (m, 2H), 6.54 - 6.39 (m, 2H), 4.93 - 4.78 (m, 2H), 4.74 - 4.47 (m, 2H), 4.05 - 3.75 (m, 2H), 3.74 - 3.56 (m, 2H), 3.55 - 3.41 (m, 2H), 3.30 - 3.23 (m, 3H), 3.19 - 3.14 (m, 3H), 3.13 - 2.91 (m, 4H), 2.86 - 2.73 (m, 3H), 2.65 - 2.53 (m, 3H), 2.48 - 2.37 (m, 1H), 2.34 - 2.17 (m, 1H), 2.17 - 2.10 (m, 6H), 2.02 - 1.79 (m, 4H), 1.76 - 1.59 (m, 2H), 1.34 - 1.26 (m, 1H), 1.08 - 1.00 (m, 5H), 0.97 - 0.71 (m, 15H)。



(S)-2-((*S*)-2-(二甲基氨基)丙醯胺)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-3-甲氧基-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-(甲基(4-硝基苯乙基)胺基)-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-*N*,3-二甲基丁醯胺 INT-62

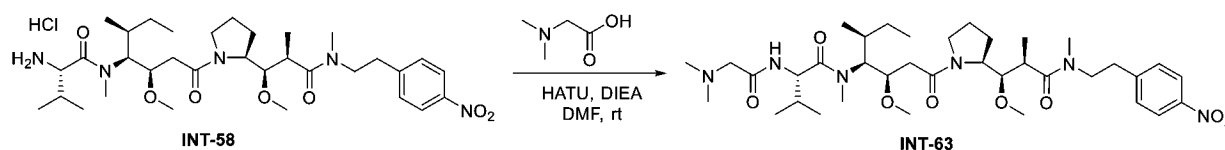
【0321】向INT-58 (100 mg，0.149 mmol)及(*S*)-2-(二甲基氨基)丙酸(21 mg，0.174 mmol)於3 mL DMF中之溶液中添加HATU (78 mg，0.205 mmol)，隨後添加DIEA (51 mg，0.395 mmol)。將混合物在室溫下在 N_2 氛圍下攪拌3 h，LCMS顯示完成。將混合物直接濃縮至乾燥，得到粗物質。用10 mL H_2O 稀釋粗殘餘物，接著用EtOAc (10 mL *4)萃取。將合併之有機層用 H_2O 及鹽水洗滌，經 Na_2SO_4 乾燥，過濾且濃縮，得到呈黃色油狀之粗INT-62 (185 mg)。LCMS (ESI): m/z 733.3 $[M + H]^+$ 。



(S)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((4-胺基苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基

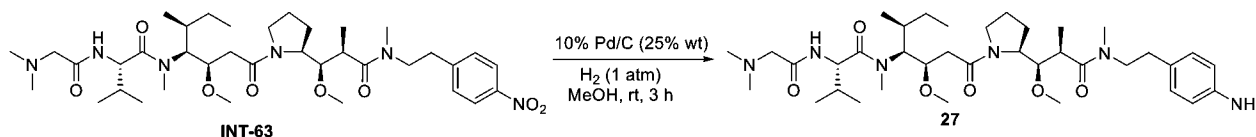
2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-2-((S)-2-(二甲基胺基)丙醯胺)-N,3-二甲基丁醯胺 26

【0322】 向INT-62 (185 mg粗物質)於5 mL MeOH中之溶液中添加10% Pd/C (30 mg)。接著將反應物在H₂氛圍(1 atm)下在室溫下攪拌隔夜。LCMS顯示完成。過濾混合物，且濃縮濾液。將殘餘物藉由逆相管柱(H₂O:CH₃CN)純化，接著凍乾，得到呈淡粉色固體狀之**26** (30 mg，2個步驟28%產率)。LCMS (ESI): m/z 725.8 [M + Na]⁺, 352.6 [M + 2H]²⁺；HPLC：在210 nm下，92.9%，R_t = 11.53 min



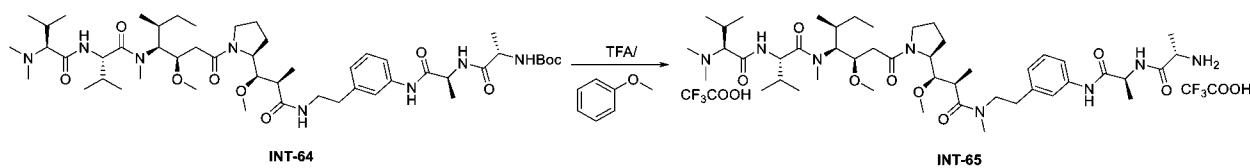
(S)-2-(2-(二甲基胺基)乙醯胺基)-N-((3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-((S)-2-((1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-(4-硝基苯乙基)胺基)-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-N,3-二甲基丁醯胺 INT-63

【0323】 向INT-58 (100 mg，0.149 mmol)及2-(二甲基胺基)乙酸(18 mg，0.174 mmol)於4 mL DMF中之溶液中添加HATU (78 mg，0.205 mmol)，隨後添加DIEA (51 mg，0.395 mmol)。將混合物在室溫下在N₂氛圍下攪拌3 h，LCMS顯示完成。將混合物直接濃縮至乾燥，得到粗物質。用15 mL H₂O稀釋粗殘餘物，接著用EtOAc (10 mL *4)萃取。將合併之有機層用H₂O及鹽水洗滌，經Na₂SO₄乾燥，過濾且濃縮，得到呈黃色油狀之粗INT-63 (190 mg)。LCMS (ESI): m/z 719.3 [M + H]⁺。



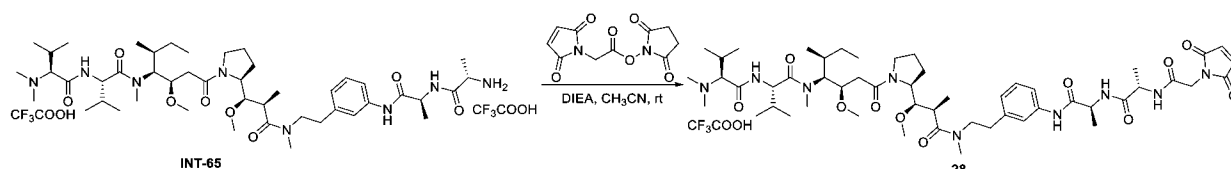
(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-胺基苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-2-(2-(二甲基胺基)乙醯胺基)-N,3-二甲基丁醯胺 27

到呈黃色油狀之**INT-64** (70 mg, 49%產率)。LCMS (ESI): m/z 972.8 $[M + H]^+$, 995.7 $[M + Na^+]$ 。



(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((3-((S)-2-((S)-2-氨基丙醯胺基)丙醯胺)苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-2-((S)-2-(二甲基胺基)-3-甲基丁醯胺基)-N,3-二甲基丁醯胺雙(2,2,2-三氟乙酸酯) INT-65

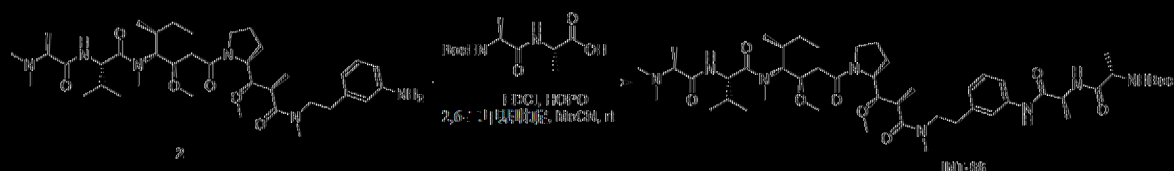
【0326】向**INT-64** (80 mg, 82 μmol)及苯甲醚(45 μL , 411 μmol)之混合物中添加TFA (0.7 mL)。接著將反應物在室溫下攪拌10 min, 接著藉由添加350 mL MTBE淬滅, 在此期間, 許多白色固體沈澱。過濾所得混合物, 且收集濾餅並在減壓下乾燥, 得到呈灰白色固體狀之**INT-65** (70 mg, 76%產率)。LCMS (ESI): m/z 873.8 $[M + H]^+$ 。



(S)-2-((S)-2-(二甲基胺基)-3-甲基丁醯胺基)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((3-((S)-2-((S)-2-(2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙醯胺基)丙醯胺)丙醯胺)苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-N,3-二甲基丁醯胺 2,2,2-三氟乙酸酯 28

【0327】向**INT-65** (70 mg, 64 μmol)及2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙酸2,5-二側氧基吡咯啉-1-基酯(26 mg, 104 μmol)於2 mL CH_3CN 中之溶液中添加DIEA (27 μL , 160 μmol)。接著將反應物在室溫下攪拌45 min。LCMS顯示

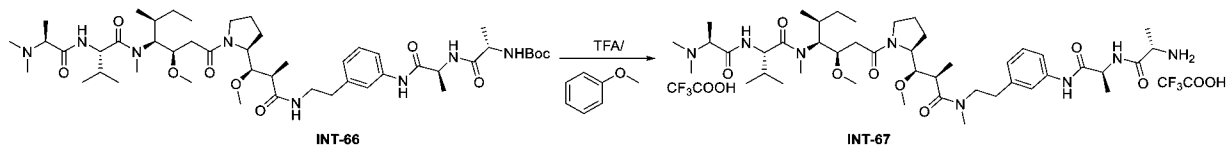
完成。藉由添加TEBA (0.02 mL)直接淬滅混合物且攪拌5 min。將所得混合物即刻傳送至製備型HPLC (0.1% TEBA於Et₂O/CH₂Cl₂/CN中)，接著凍乾，得到呈白色固體狀之28 (45 mg, 63%產率)。LCMS (ESI): m/z 505.5 [M + 2H]²⁺; HPLC: 在210 nm下, 99.1%, R_t: 8.87 min; ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.84 - 9.75 (m, 1H), 9.52 (s, 1H), 8.91 (d, J: 8.1 Hz, 1H), 8.43 (d, J: 7.2 Hz, 1H), 8.19 - 8.11 (m, 1H), 7.49 (d, J: 7.4 Hz, 1H), 7.45 - 7.35 (m, 1H), 7.23 - 7.15 (m, 1H), 7.09 (s, 2H), 6.95 - 6.87 (m, 1H), 4.77 - 4.64 (m, 1H), 4.63 - 4.55 (m, 1H), 4.40 - 4.28 (m, 2H), 4.13 - 4.04 (m, 2H), 4.03 - 3.96 (m, 1H), 3.92 (m, 1H), 3.78 - 3.69 (m, 3H), 3.51 - 3.49 (m, 1H), 3.48 - 3.46 (m, 1H), 3.45 - 3.42 (m, 1H), 3.35 - 3.24 (m, 4H), 3.22 - 3.16 (m, 3H), [3.13 (s, 1.5H), 2.99 (s, 1.5H)], 2.90 (d, J: 2.2 Hz, 2H), 2.84 - 2.79 (m, 2H), 2.79 - 2.70 (m, 6H), 2.70 - 2.58 (m, 2H), 2.48 - 2.40 (m, 1H), 2.36 - 2.18 (m, 2H), 2.06 - 1.92 (m, 2H), 1.89 - 1.84 (m, 1H), 1.81 - 1.56 (m, 3H), 1.30 (dd, J: 7.0, 3.2 Hz, 4H), 1.25 - 1.18 (m, 4H), 1.04 (dd, J: 14.9, 6.7 Hz, 2H), 0.98 - 0.82 (m, 15H), 0.81 - 0.72 (m, 3H)。



(*S*)-1-(((*S*)-1-((3-(2-((2*R*,3*R*)-3-((*S*)-1-((3*R*,4*S*,5*S*)-4-((*S*)-2-((*S*)-2-(1-(2-甲基胺基)丙醯胺)-*N*,3-(2-甲基)醯胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚醯基)吡咯啶-2-基)-3-甲氧基-*N*,2-(2-甲基丙醯胺基)乙基)苯基)胺基)-1-側氧基丙-2-基)胺基)丙酸)-3-級丁醇)IN.T.66

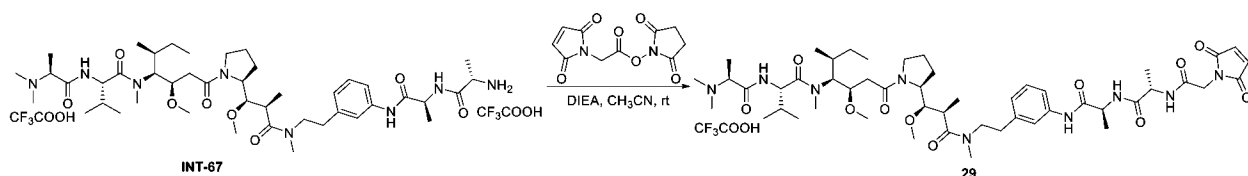
[(0328)] 11j2 (110 mg, 156 μmol)及(*S*)-2-((*S*)-2-(1-(2-級丁氧基羰基)胺基)丙醯胺)丙酸(58 mg, 223 μmol)於5 mL CH₂Cl₂中之溶液中添加EDCI (53 mg, 276 μmol)及HOPO (31 mg, 279 μmol)之混合物，隨後添加2,6-二甲基吡啶(60 mg, 560 μmol)。將反應物在室溫下在N₂氛圍下攪拌16 h，LCMS顯示完成。將混合物直接濃縮至

乾燥，且藉由製備型TLC (DCM:MeOH = 10:1， $R_f = 0.75$)純化殘餘物，得到呈無色油狀之**INT-66** (120 mg，82%產率)。LCMS (ESI): m/z 473.2 $[M + 2H]^{2+}$ 。



(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((3-((S)-2-((S)-2-氨基丙醯胺基)丙醯胺)苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-2-((S)-2-(二甲基胺基)丙醯胺)-N,3-二甲基丁醯胺雙(2,2,2-三氟乙酸酯) INT-67

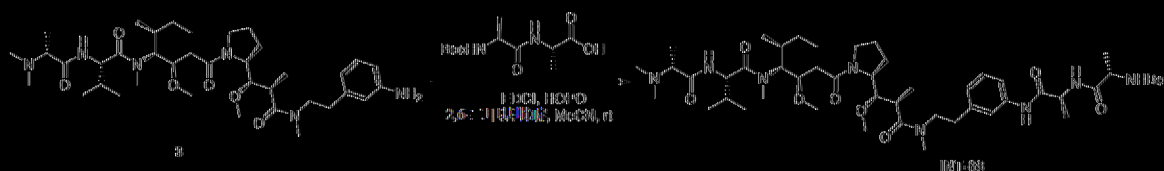
【0329】向**INT-66** (120 mg，127 μmol)及苯甲醚(69 mg，638 μmol)之混合物中添加TFA (3 mL)。接著將反應物在室溫下攪拌5 min。TLC顯示完成(DCM/MeOH = 10:1，v/v；對於**INT-66**， $R_f = 0.75$)。將混合物用150 mL MTBE稀釋，在此期間，許多白色固體沈澱。將所得混合物過濾，且收集濾餅並在減壓下乾燥，得到呈無色油狀之**INT-67** (148 mg，100%產率)。LCMS (ESI): m/z 846.1 $[M + H]^+$ 。



(S)-2-((S)-2-(二甲基胺基)丙醯胺)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((3-((S)-2-((S)-2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙醯胺基)丙醯胺)丙醯胺)苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-N,3-二甲基丁醯胺 2,2,2-三氟乙酸酯 29

【0330】向**INT-67** (148 mg，129 μmol)及2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙酸2,5-二側氧基吡咯啉-1-基酯(47 mg，186 μmol)於5 mL CH_3CN 中之溶液中添加DIEA (30 mg，232 μmol)。接著將反應物在室溫下攪拌30 min。LCMS顯

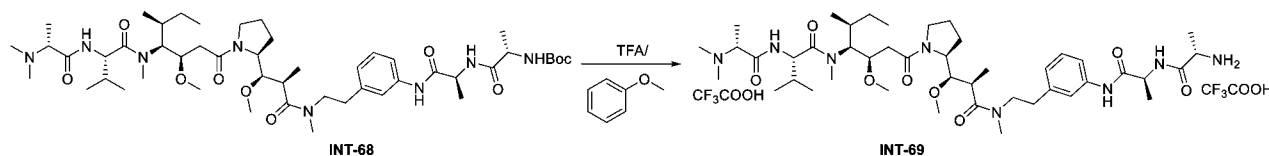
示完成。藉由添加TEBA (0.12 mL)直接萃滅混合物。將所得混合物即刻傳送至製備型HPLC (0.1% TEBA於H₂O/CH₃CN中)，接著凍乾，得到呈白色固體狀之29 (40 mg, 28%產率)。LCMS (ESI): m/z 982.9 [M+H]⁺, 491.6 [M+2H]²⁺; HPLC: 在210 nm下, 98.5%, R_t: 8.65 min; ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.90-9.70 (m, 2H), 8.97 (d, J: 8.4 Hz, 1H), 8.43 (d, J: 7.2 Hz, 1H), 8.22-8.10 (m, 1H), 7.54-7.48 (m, 1H), 7.48-7.36 (m, 1H), 7.27-7.17 (m, 1H), 7.09 (s, 2H), 6.98-6.87 (m, 1H), 4.79-4.60 (m, 1H), 4.61-4.49 (m, 1H), 4.43-4.28 (m, 2H), 4.17-4.04 (m, 2H), 4.02-3.89 (m, 2H), 3.80-3.63 (m, 2H), 3.33-3.25 (m, 4H), 3.23-3.13 (m, 4H), [3.11 (s, 1.2H), 2.98 (s, 1.8H)], 2.94-2.87 (m, 2H), 2.86-2.81 (m, 1H), 2.81-2.72 (m, 7H), 2.72-2.60 (m, 2H), 2.45-2.40 (m, 1H), 2.40-2.20 (m, 2H), 2.11-1.93 (m, 2H), 1.93-1.76 (m, 3H), 1.71-1.55 (m, 2H), 1.39-1.28 (m, 6H), 1.22 (d, J: 6.3 Hz, 4H), 1.05 (dd, J: 13.4, 6.7 Hz, 2H), 1.01-0.82 (m, 11H), 0.81-0.74 (m, 3H)。



((S)-1-(((S)-1-((3-(2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((R)-2-(2-甲基胺基)內酰胺)-N,3-((2-甲基)內酰胺基)-3-甲基基)-5-甲基庚酰胺基)吡咯啉-2-基)-3-甲基基)-N,2-((2-甲基)內酰胺基)乙基)苯基)胺基)-1-側氧基丙-2-基)胺基)甲酰胺)羧酸)鎂鹽]·N·H₂O

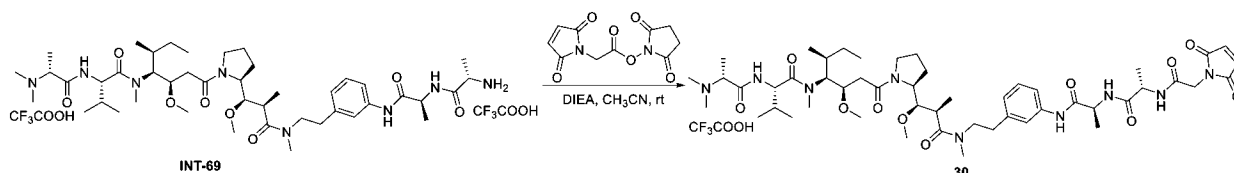
[0331] 向3 (90 mg, 128 μmol)及(S)-2-((S)-2-((C-三級丁基羧基)胺基)內酰胺)內酸(40 mg, 154 μmol)於3 mL CH₃CN中之溶液中添加EDCI (37 mg, 192 μmol)及HOBt (22 mg, 192 μmol)之混合物，隨後添加2,6-二甲基吡啶(45 μL, 384 μmol)。將反應物在室溫下在N₂氛圍下攪拌16 h，LCMS顯示完成。將混合物直接濃縮至乾燥，且藉由製備型HPLC (DCM:MeOH = 13:1, R_f: 0.65)純化殘餘物，得到呈黃

色固體狀之**INT-68** (75 mg, 62%產率)。LCMS (ESI): m/z 945.1 $[M + H]^+$ 。



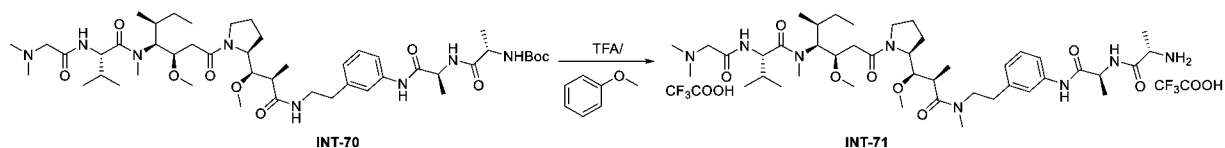
(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((3-((S)-2-((S)-2-氨基丙醯胺基)丙醯胺)苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-2-((R)-2-(二甲基胺基)丙醯胺)-N,3-二甲基丁醯胺雙(2,2,2-三氟乙酸酯) INT-69

【0332】向**INT-68** (75 mg, 79 μmol)及苯甲醚(43 μL , 400 μmol)之混合物中添加TFA (0.75 mL)。接著將反應物在室溫下攪拌20 min，接著藉由添加40 mL MTBE淬滅，在此期間，許多白色固體沈澱。將所得混合物過濾，且收集濾餅並在減壓下乾燥，得到呈黃色固體狀之**INT-69** (60 mg, 70%產率)。LCMS (ESI): m/z 845.1 $[M + H]^+$, 423.1 $[M + 2H]^{2+}$ 。



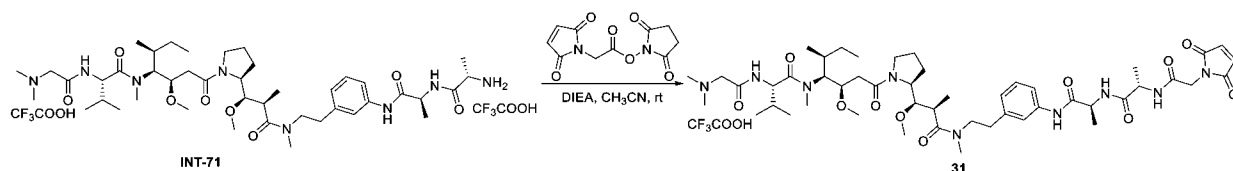
(S)-2-((R)-2-(二甲基胺基)丙醯胺)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((3-((S)-2-((S)-2-(2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙醯胺基)丙醯胺)丙醯胺)苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-N,3-二甲基丁醯胺 2,2,2-三氟乙酸酯 30

【0333】向**INT-69** (60 mg, 56 μmol)及2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙酸2,5-二側氧基吡咯啉-1-基酯(21 mg, 81 μmol)於2 mL CH_3CN 中之溶液中添加DIEA (20 μL , 125 μmol)。接著將反應物在室溫下攪拌45 min。LCMS顯示完成。藉由添加TFA (30 μL)直接淬滅混合物。將所得混合物即刻傳送至製備型HPLC (0.1% TFA於 $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ 中)，接著凍乾，得到呈白色固體狀之**30** (45 mg, 90%產率)。



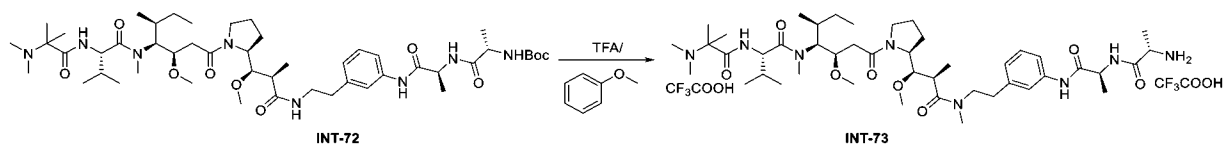
(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((3-((S)-2-((S)-2-氨基丙醯胺基)丙醯胺)苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-2-(2-(二甲基胺基)乙醯胺基)-N,3-二甲基丁醯胺雙(2,2,2-三氟乙酸酯) GEF2101-46-3 (1550-26)

【0335】 向INT-70 (100 mg, 107 μ mol)及苯甲醚(60 mg, 555 μ mol)之混合物中添加TFA (3 mL)。接著將反應物在室溫下攪拌5 min。TLC顯示完成(DCM/MeOH = 10:1, v/v; 對於INT-70, R_f = 0.75)。將混合物用100 mL MTBE稀釋, 在此期間, 許多白色固體沈澱。將所得混合物過濾, 且收集濾餅並在減壓下乾燥, 得到呈黃色油狀之INT-71 (160 mg, >100%產率), 其不經進一步鑑別即直接使用。



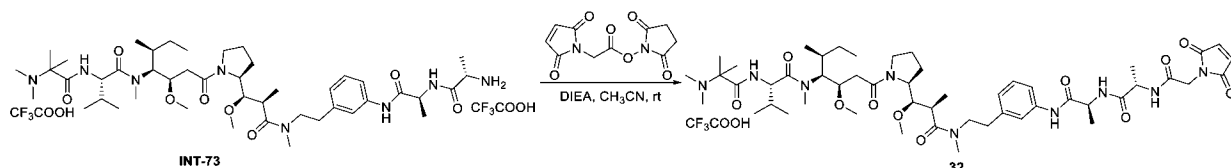
(S)-2-(2-(二甲基胺基)乙醯胺基)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((3-((S)-2-((S)-2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙醯胺基)丙醯胺)丙醯胺)苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-N,3-二甲基丁醯胺 2,2,2-三氟乙酸酯 31

【0336】 向INT-71 (160 mg粗物質, 107 μ mol)及2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙酸2,5-二側氧基吡咯啉-1-基酯(52 mg, 206 μ mol)於5 mL CH₃CN中之溶液中添加DIEA (33 mg, 256 μ mol)。接著將反應物在室溫下攪拌80 min。HPLC顯示完成。藉由添加TFA (0.14 mL)直接淬滅混合物。將所得混合物即刻傳送至製備型HPLC (0.1% TFA於H₂O/CH₃CN中), 接著凍乾, 得到呈白色固體狀之



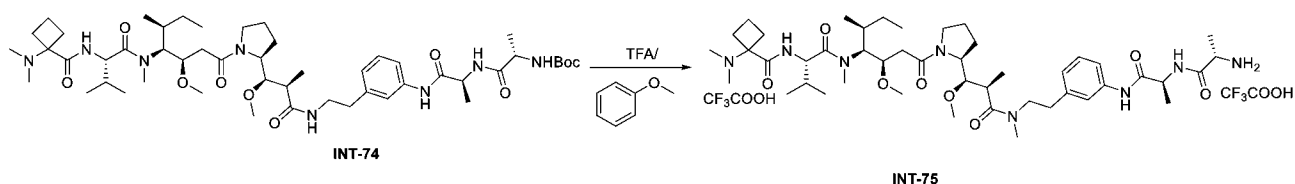
(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((3-((S)-2-((S)-2-氨基丙酰胺基)丙酰胺)苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-2-(2-(二甲基胺基)-2-甲基丙胺基)-N,3-二甲基丁酰胺雙(2,2,2-三氟乙酸酯) INT-73

【0338】向INT-72 (130 mg, 136 μmol)及苯甲醚(75 μL , 691 μmol)之混合物中添加TFA (1.2 mL)。接著將反應物在室溫下攪拌10 min, 接著藉由添加60 mL MTBE淬滅, 在此期間, 許多白色固體沈澱。將所得混合物過濾, 且收集濾餅並在減壓下乾燥, 得到呈淡黃色固體狀之INT-73 (115 mg, 77%產率)。LCMS (ESI): m/z 859.3 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。



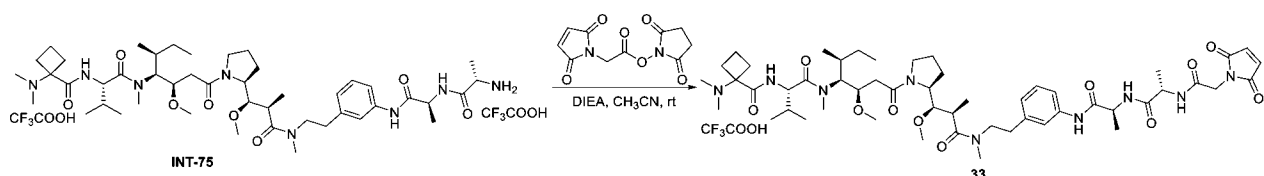
(S)-2-(2-(二甲基胺基)-2-甲基丙胺基)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((3-((S)-2-((S)-2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙酰胺基)丙酰胺)丙酰胺)苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-N,3-二甲基丁酰胺 2,2,2-三氟乙酸酯 32

【0339】向INT-73 (110 mg, 101 μmol)及2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙酸2,5-二側氧基吡咯啉-1-基酯(37 mg, 147 μmol)於2.5 mL CH_3CN 中之溶液中添加DIEA (38 μL , 226 μmol)。接著將反應物在室溫下攪拌50 min, 接著藉由添加TFA (70 μL)直接淬滅。將所得混合物即刻傳送至製備型HPLC (0.1% TFA 於 $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ 中), 接著凍乾, 得到呈白色固體狀之32 (55 mg, 49%產率)。LCMS (ESI): m/z 997.2 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 498.8 $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}$; HPLC: 在210 nm下, 96.3%, $R_t =$



N-((*S*)-1-(((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((3-((*S*)-2-((*S*)-2-氨基丙醯胺基)丙醯胺)苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)(甲基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁-2-基)-1-(二甲基胺基)環丁甲醯胺雙(2,2,2-三氟乙酸酯) INT-75

【0341】向INT-74 (72 mg, 75 μ mol)及苯甲醚(41 mg, 376 μ mol)之混合物中添加TFA (0.7 mL)。接著將反應物在室溫下攪拌30 min。TLC顯示完成(DCM/MeOH = 13:1, v/v; 對於INT-74, R_f = 約0.6)。將混合物用35 mL MTBE稀釋, 在此期間, 許多白色固體沈澱。將所得混合物過濾, 且收集濾餅並在減壓下乾燥, 得到呈淡黃色固體狀之INT-75 (56 mg, 68%產率)。LCMS (ESI): m/z 436.4 $[M + 2H]^{2+}$ 。



1-(二甲基胺基)-*N*-((*S*)-1-(((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((3-((*S*)-2-((*S*)-2-(2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙醯胺基)丙醯胺)丙醯胺)苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)(甲基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁-2-基)環丁甲醯胺雙(2,2,2-三氟乙酸酯) 33

【0342】向INT-75 (56 mg, 51 μ mol)及2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙酸2,5-二側氧基吡咯啉-1-基酯(19 mg, 76 μ mol)於2 mL CH_3CN 中之溶液中添加DIEA (17 μ L, 102 μ mol)。接著將反應物在室溫下攪拌50 min。TLC顯示完成(DCM/MeOH = 7:1, v/v; 對於INT-75, R_f = 約0.15)。藉由添加TFA (50 μ L)

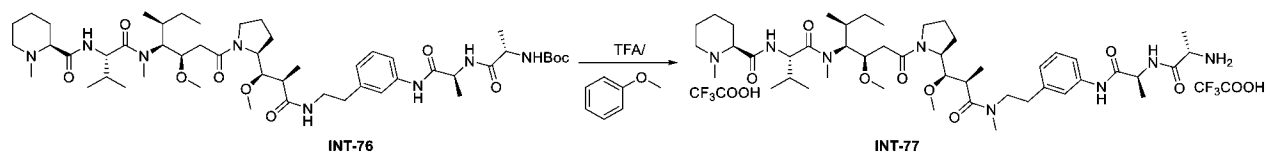
直接淬滅混合物且攪拌5 min。將所得混合物即刻傳送至製備型(0.1% TFA於Et₂O/CH₃CN中)，接著凍乾，得到呈灰白色固體狀之33 (26 mg, 45%產率)。LCMS (ESI): m/z 505.0 [M+2H]²⁺; HPLC: 在210 nm下, 99.9%, R_t: 8.92 min; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.46 (s, 1H), 9.88-9.74 (m, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.42 (d, *J*: 7.2 Hz, 1H), 8.20-8.08 (m, 1H), 7.49 (d, *J*: 7.4 Hz, 1H), 7.47-7.34 (m, 1H), 7.26-7.13 (m, 1H), 7.08 (s, 2H), 6.96-6.87 (m, 1H), 4.81-4.64 (m, 1H), 4.53-4.43 (m, 1H), 4.40-4.29 (m, 2H), 4.11-4.07 (m, 2H), 3.96-3.93 (m, 2H), 3.91-3.86 (m, 2H), 3.77-3.71 (m, 1H), 3.68-3.61 (m, 1H), 3.58-3.40 (m, 3H), 3.35-3.21 (m, 4H), 3.20-3.05 (m, 5H), [3.03 (s, 1H), 2.91 (s, 2H)], 2.84-2.80 (m, 1H), 2.79-2.56 (m, 10H), 2.48-2.40 (m, 2H), 2.38-2.04 (m, 2H), 1.99-1.77 (m, 4H), 1.75-1.54 (m, 3H), 1.38-1.26 (m, 4H), 1.25-1.20 (m, 3H), 1.05 (dd, *J*: 16.6, 6.7 Hz, 2H), 1.00-0.84 (m, 10H), 0.77 (q, *J*: 7.5 Hz, 3H)。



((*S*)-1-(((*S*)-1-(3-(2-((2*R*,3*R*)-3-((*S*)-1-((3*R*,4*S*,5*S*)-4-((*S*)-*N*,3-二甲基-2-((*S*)-1-甲基哌啶-2-甲酰胺基)丁酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酰胺)吡咯啶-2-基)-3-甲氧基-*N*,2-二甲基內酰胺基)乙基)苯基)胺基)-1-側氧基丙-2-基)胺基)丙酸)二級丁胺)IN.C.16

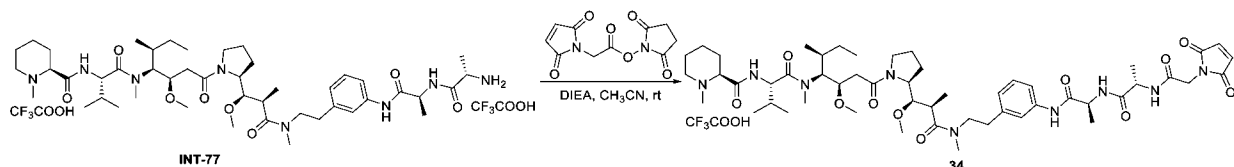
(0343) [(*S*)-2-((*S*)-2-(二級丁基羧基)胺基)丙酰胺)丙酸(64 mg, 247 μmol)於3 mL CH₃CN中之溶液中添加EDCI (59 mg, 309 μmol)及HOBT (34 mg, 309 μmol)之混合物，隨後添加2,6-二甲基吡啶(12 μL, 617 μmol)。將反應物在室溫下在N₂氛圍下攪拌16 h, LCMS顯示完成。藉由逆相管柱(Et₂O:CH₃CN)直接純化混合物，得到呈黃色固體狀之IN.C.16 (120 mg, 60%

產率)。LCMS (ESI): m/z 972.0 $[M + H]^+$ 。



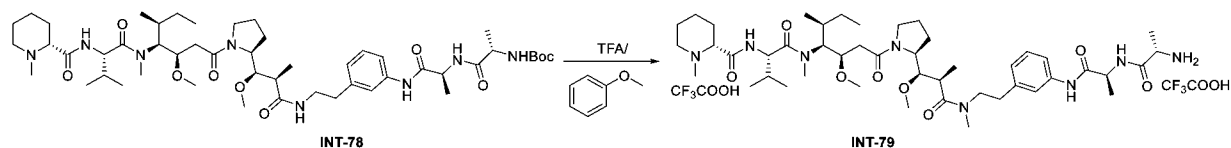
(S)-*N*-((*S*)-1-(((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((3-((*S*)-2-((*S*)-2-氨基丙醯胺基)丙醯胺)苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)(甲基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁-2-基)-1-甲基哌啶-2-甲醯胺雙(2,2,2-三氟乙酸酯) INT-77

【0344】向INT-76 (90 mg, 93 μmol)及苯甲醚(50 μL , 463 μmol)之混合物中添加TFA (0.9 mL)。接著將反應物在室溫下攪拌10 min, 接著藉由添加45 mL MTBE淬滅, 在此期間, 許多白色固體沈澱。過濾所得混合物, 且收集濾餅並在減壓下乾燥, 得到呈灰白色固體狀之INT-77 (85 mg, 82%產率)。LCMS (ESI): m/z 436.2 $[M + 2H]^{2+}$ 。



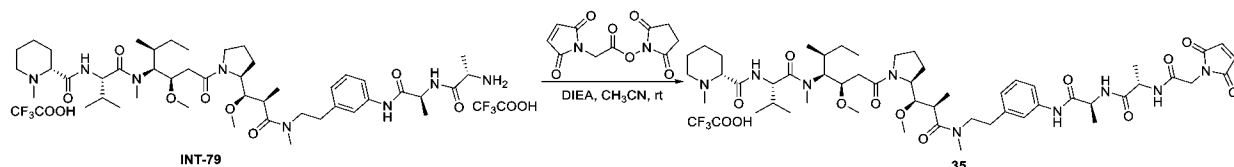
(S)-*N*-((*S*)-1-(((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((3-((*S*)-2-((*S*)-2-(2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙醯胺基)丙醯胺)丙醯胺)苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)(甲基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁-2-基)-1-甲基哌啶-2-甲醯胺 2,2,2-三氟乙酸酯 34

【0345】向INT-77 (80 mg, 73 μmol)及2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙酸2,5-二側氧基吡咯啉-1-基酯(27 mg, 106 μmol)於3 mL CH_3CN 中之溶液中添加DIEA (21 mg, 162 μmol)。接著將反應物在室溫下攪拌35 min, 接著藉由添加TFA (60 μL)淬滅。LCMS顯示完成。將所得混合物即刻傳送至製備型HPLC (0.1% TFA於 $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ 中), 接著凍乾, 得到呈白色固體狀之34 (16 mg, 20%產



(R)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((3-((S)-2-((S)-2-氨基丙酰胺)丙酰胺)苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)(甲基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁-2-基)-1-甲基哌啶-2-甲酰胺雙(2,2,2-三氟乙酸酯) INT-79

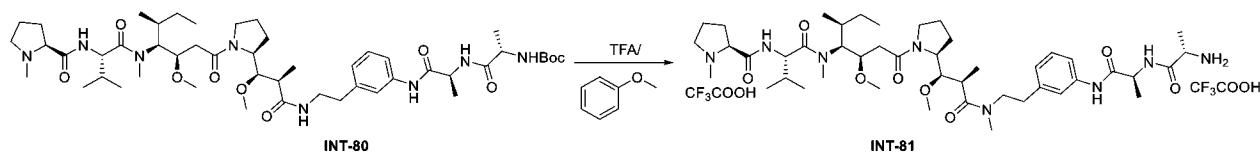
【0347】 向INT-78 (120 mg, 124 μmol)及苯甲醚(67 mg, 620 μmol)之混合物中添加TFA (3 mL)。接著將反應物在室溫下攪拌5 min。TLC顯示完成(DCM/MeOH = 8:1, v/v; 對於INT-78, R_f = 約0.55)。將混合物用200 mL MTBE稀釋,在此期間,許多白色固體沈澱。過濾所得混合物,且收集濾餅並在減壓下乾燥,得到呈灰白色固體狀之INT-79 (110 mg, 80%產率)。LCMS (ESI): m/z 436.2 $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}$ 。



(R)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((3-((S)-2-((S)-2-(2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙酰胺基)丙酰胺)丙酰胺)苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)(甲基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁-2-基)-1-甲基哌啶-2-甲酰胺 2,2,2-三氟乙酸酯 35

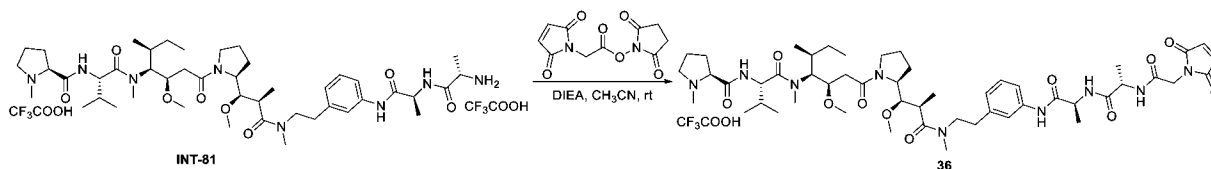
【0348】 向INT-79 (110 mg, 100 μmol)及2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙酸2,5-二側氧基吡咯啉-1-基酯(43 mg, 170 μmol)於6 mL CH_3CN 中之溶液中添加DIEA (29 mg, 225 μmol)。接著將反應物在室溫下攪拌30 min。LCMS顯示完成。藉由添加TFA (0.2 mL)淬滅混合物。將所得混合物藉由製備型HPLC (0.1% TFA於 $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ 中)純化兩次,接著凍乾,得到呈白色固體狀之35 (26

率)。LCMS (ESI): m/z 957.3 $[M + H]^+$ 。



(S)-*N*-((*S*)-1-(((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((3-((*S*)-2-((*S*)-2-氨基丙醯胺基)丙醯胺)苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)(甲基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁-2-基)-1-甲基吡咯啉-2-甲醯胺雙(2,2,2-三氟乙酸酯) INT-81

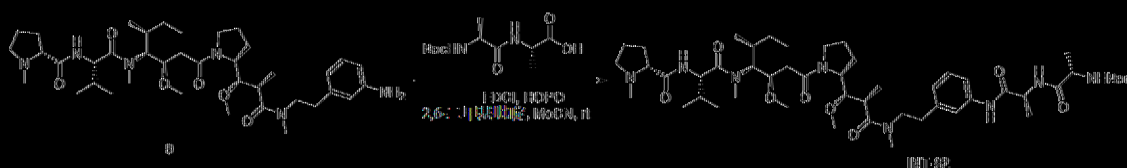
【0350】向INT-80 (110 mg, 115 μ mol)及苯甲醚(65 μ L, 598 μ mol)之混合物中添加TFA (1 mL)。接著將反應物在室溫下攪拌10 min, 接著藉由添加50 mL MTBE淬滅, 在此期間, 許多白色固體沈澱。過濾所得混合物, 且收集濾餅並在減壓下乾燥, 得到呈灰白色固體狀之INT-81 (110 mg, 87%產率)。LCMS (ESI): m/z 857.2 $[M + H]^+$ 。



(S)-*N*-((*S*)-1-(((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((3-((*S*)-2-((*S*)-2-(2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙醯胺基)丙醯胺)丙醯胺)苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)(甲基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁-2-基)-1-甲基吡咯啉-2-甲醯胺 2,2,2-三氟乙酸酯 36

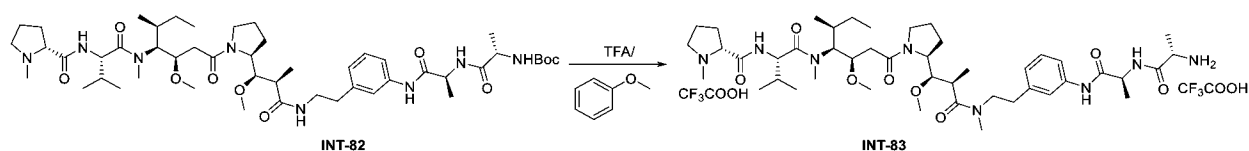
【0351】向INT-81 (110 mg, 101 μ mol)及2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙酸2,5-二側氧基吡咯啉-1-基酯(36 mg, 142 μ mol)於2 mL CH_3CN 中之溶液中添加DIEA (38 μ L, 227 μ mol)。接著將反應物在室溫下攪拌45 min, 接著藉由添加TFA (70 μ L)淬滅。LCMS顯示完成。將所得混合物即刻傳送至製備型HPLC (0.1% TFA於 $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ 中), 接著凍乾, 得到呈灰白色固體狀之36 (60 mg, 53%

產率)。LCMS (ESI): m/z 994.1 $[M+H]^+$, 497.8 $[M+2H]^{2+}$; HPLC: 在210 nm下, 98.8%, R_t : 8.62 min; 1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.86 (m, 1H), 9.62 (s, 1H), 9.00 (d, J : 8.6 Hz, 1H), 8.43 (d, J : 7.2 Hz, 1H), 8.22-8.12 (m, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.46-7.34 (m, 1H), 7.26-7.16 (m, 1H), 7.09 (s, 2H), 6.97-6.87 (m, 1H), 4.81-4.65 (m, 2H), 4.65-4.47 (m, 2H), 4.41-4.28 (m, 2H), 4.15-4.01 (m, 3H), 3.99-3.88 (m, 1H), 3.78-3.66 (m, 1H), 3.65-3.51 (m, 2H), 3.51-3.34 (m, 2H), 3.33-3.25 (m, 3H), 3.24-3.16 (m, 3H), 3.16-2.94 (m, 4H), 2.94-2.85 (m, 2H), 2.84-2.72 (m, 5H), 2.71-2.54 (m, 2H), 2.47-2.37 (m, 2H), 2.34-2.19 (m, 1H), 2.10-1.97 (m, 2H), 1.96-1.75 (m, 4H), 1.75-1.56 (m, 3H), 1.33-1.26 (m, 3H), 1.21 (d, J : 7.0 Hz, 4H), 1.04 (dd, J : 12.9, 6.7 Hz, 2H), 0.99-0.69 (m, 14H)。



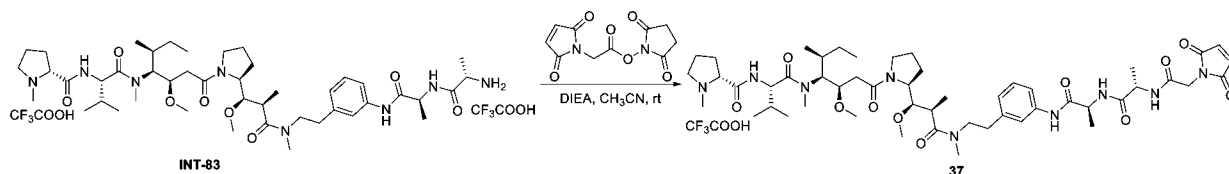
(*S*)-1-(((*S*)-1-(3-(2-(2*R*,3*R*)-3-((*S*)-1-((3*R*,4*S*,5*S*)-4-((*S*)-*N*,2-(2-甲基-2-(*R*)-1-甲基吡咯啶-2-甲酰胺基)內酰胺基)-3-甲基-5-甲基內酰胺基)吡咯啶-2-基)-3-甲基-*N*,2-(2-甲基內酰胺基)乙基)苯基)胺基)-1-側氧基內-2-基)胺基)丙酸二級丁酯(NT-82)

[(0352)] 149 (90 mg, 126 μ mol)及(*S*)-2-((*S*)-2-(2-級丁基羧基)胺基)內酰胺)丙酸(38 mg, 145 μ mol)於3 mL CH_2Cl_2 中之溶液中添加EDCI (36 mg, 189 μ mol)及HOPO (21 mg, 189 μ mol)之混合物,隨後添加2,6-二甲基吡啶(40 mg, 378 μ mol)。將反應物在室溫下在 N_2 氛圍下攪拌16 h, LCMS顯示完成。藉由逆相管柱($H_2O:CH_2Cl_2$)直接純化混合物,得到呈灰白色固體狀之(NT-82) (110 mg, 91%產率)。LCMS (ESI): m/z 957.7 $[M+H]^+$ 。



(R)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((3-((S)-2-((S)-2-氨基丙酰胺基)丙酰胺)苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)(甲基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁-2-基)-1-甲基吡咯啉-2-甲酰胺雙(2,2,2-三氟乙酸酯) INT-83

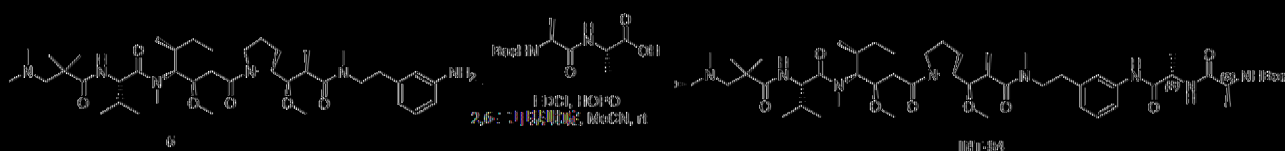
【0353】 向INT-82 (110 mg, 117 μmol)及苯甲醚(63 mg, 583 μmol)之混合物中添加TFA (1.1 mL)。接著將反應物在室溫下攪拌30 min。TLC顯示完成(DCM/MeOH = 13:1, v/v; 對於INT-82, $R_f=0.4$)。將混合物用50 mL MTBE稀釋, 在此期間, 許多白色固體沈澱。將所得混合物過濾, 且收集濾餅並在減壓下乾燥, 得到呈灰白色固體狀之INT-83 (127 mg, 100%產率), 其直接用於下一步驟。



(R)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((3-((S)-2-((S)-2-(2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙酰胺基)丙酰胺)丙酰胺)苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)(甲基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁-2-基)-1-甲基吡咯啉-2-甲酰胺 2,2,2-三氟乙酸酯 37

【0354】 向INT-83 (127 mg, 117 μmol)及2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙酸2,5-二側氧基吡咯啉-1-基酯(44 mg, 176 μmol)於2 mL CH_3CN 中之溶液中添加DIEA (39 μL , 234 μmol)。接著將反應物在室溫下攪拌30 min。TLC及LCMS顯示完成(DCM/MeOH = 6:1, v/v; 對於INT-83, $R_f=$ 約0.15)。藉由添加TFA (0.1 mL)直接淬滅混合物且攪拌5 min。將所得混合物即刻傳送至製備型HPLC (0.1% TFA於 $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ 中), 接著凍乾, 得到呈灰白色固體狀之37 (29 mg, 22%產率)。

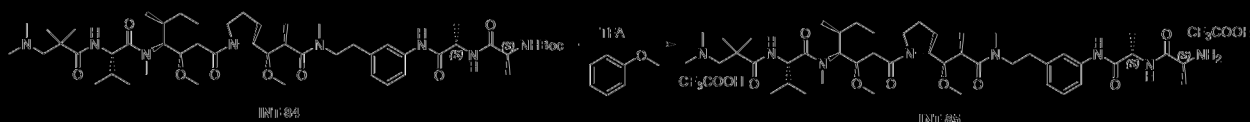
LCMS (ESI): m/z 1016.0 $[M + Na]^+$; HPLC: 柱: 210 mm, 99.2%, R_t : 8.70 min; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.87 ~ 9.76 (m, 1H), 9.69 (s, 1H), 9.02 (d, J : 8.1 Hz, 1H), 8.43 (d, J : 7.1 Hz, 1H), 8.21 ~ 8.11 (m, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.47 ~ 7.34 (m, 1H), 7.25 ~ 7.15 (m, 1H), 7.09 (s, 2H), 6.96 ~ 6.86 (m, 1H), 4.74 ~ 4.64 (m, 1H), 4.58 ~ 4.53 (m, 1H), 4.38 ~ 4.36 (m, 1H), 4.33 ~ 4.30 (m, 1H), 4.11 ~ 4.07 (m, 2H), 4.04 ~ 4.00 (m, 1H), 3.97 ~ 3.88 (m, 1H), 3.78 ~ 3.61 (m, 2H), 3.60 ~ 3.51 (m, 2H), 3.51 ~ 3.39 (m, 2H), 3.36 ~ 3.24 (m, 4H), 3.23 ~ 3.16 (m, 4H), [3.12 (s, 1.3H), 2.99 (s, 1.7H)], 2.93 ~ 2.87 (m, 2H), 2.83 ~ 2.80 (m, 1H), 2.79 ~ 2.60 (m, 6H), 2.49 ~ 2.19 (m, 2H), 2.13 ~ 2.00 (m, 2H), 1.99 ~ 1.71 (m, 6H), 1.70 ~ 1.49 (m, 2H), 1.32 ~ 1.28 (m, 3H), 1.24 ~ 1.20 (m, 4H), 1.04 (dd, J : 13.6, 6.6 Hz, 2H), 1.00 ~ 0.85 (m, 10H), 0.84 ~ 0.74 (m, 4H)。



(*(S)*)-1-(((*(S)*)-1-((3-(2-((2*R*,3*R*)-3-((*(S)*)-1-((3*R*,4*S*,5*S*)-4-((*(S)*)-2-(3-(二甲基氨基)-2,2-二甲基丙酸基)-*N*,3-(二甲基)脲基)-3-甲基-5-甲基吡咯-2-基)-3-甲基-*N*,2-(二甲基丙酸基)乙基)苯基)胺基)-1-側氧基丙-2-基)胺基)丙酸二級丁酯)INT 84

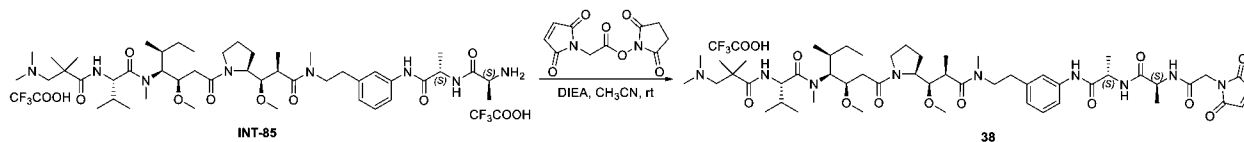
[(0355)] 113 (60 mg, 82 μ mol)及(*(S)*)-2-((*(S)*)-2-((三級丁氧基羰基)胺基)丙酸基)丙酸(26 mg, 98.5 μ mol)於3 mL CH_2Cl_2 中之溶液中添加EDCI (24 mg, 123 μ mol)及HOPO (14 mg, 123 μ mol)之混合物,隨後添加2,6-二甲基吡啶(29 μ L, 246 μ mol)。將反應物在室溫下在 N_2 氛圍下攪拌16 h, LCMS顯示完成。藉由逆相管柱($H_2O:CH_2Cl_2$)直接純化混合物,得到呈白色固體狀之INT 84 (50 mg, 63%產率)。

LCMS (ESI): m/z 974.2 $[M + H]^+$ 。



(S)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((3-((*S*)-2-((*S*)-2-胺基丙醯胺基)丙醯胺)苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-2-(3-(二甲基胺基)-2,2-二甲基丙醯胺基)-*N*,3-二甲基丁醯胺 2,2,2-三氟乙酸酯 INT-85

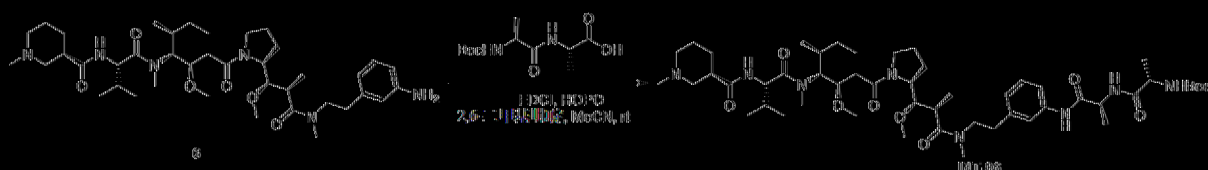
【0356】 向INT-84 (50 mg, 51 μmol)及苯甲醚(28 mg, 257 μmol)之混合物中添加TFA (0.5 mL)。接著將反應物在室溫下攪拌10 min，接著藉由添加25 mL MTBE淬滅，在此期間，許多白色固體沈澱。將所得混合物過濾，且收集濾餅並在減壓下乾燥，得到呈淡黃色固體狀之INT-85 (50 mg, 88%產率)。LCMS (ESI): m/z 873.6 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 437.5 $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}$ 。



(S)-2-(3-(二甲基胺基)-2,2-二甲基丙醯胺基)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((3-((*S*)-2-((*S*)-2-(2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙醯胺基)丙醯胺)丙醯胺)苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)-*N*,3-二甲基丁醯胺 2,2,2-三氟乙酸酯 38

【0357】 向INT-85 (50 mg, 45 μmol)及2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1*H*-吡咯-1-基)乙酸2,5-二側氧基吡咯啉-1-基酯(17 mg, 66 μmol)於2 mL CH_3CN 中之溶液中添加DIEA (17 μL , 101 μmol)。接著將反應物在室溫下攪拌45 min，接著藉由添加TFA (0.04 mL)淬滅。LCMS顯示完成。將所得混合物即刻傳送至製備型HPLC (0.1% TFA於 $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ 中)，接著凍乾，得到呈白色固體狀之38 (23 mg, 45%產率)。LCMS (ESI): m/z 506.0 $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}$ ；HPLC：在210 nm下，99.9%， $R_t = 8.77$ min； ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.90 - 9.73 (m, 1H), 8.91 (s, 1H), 8.43 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 8.24 - 8.10 (m, 1H), 7.99 - 7.84 (m, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.47 - 7.34 (m, 1H), 7.25 - 7.16 (m, 1H), 7.09 (s, 2H), 6.97 - 6.87 (m, 1H), 4.76 - 4.58 (m, 1H), 4.55 - 4.44

(m, 1H), 4.40 ~ 4.31 (m, 2H), 4.11 ~ 4.08 (m, 2H), 3.97 ~ 3.94 (m, 1H), 3.75 ~ 3.74 (m, 1H), 3.60 ~ 3.54 (m, 1H), 3.50 ~ 3.42 (m, 2H), 3.36 ~ 3.23 (m, 6H), 3.22 ~ 3.17 (m, 3H), 3.15 ~ 2.95 (m, 4H), 2.92 ~ 2.88 (m, 2H), 2.82 ~ 2.72 (m, 8H), 2.69 ~ 2.64 (m, 1H), 2.49 ~ 2.19 (m, 2H), 2.14 ~ 2.04 (m, 1H), 2.02 ~ 1.82 (m, 3H), 1.80 ~ 1.72 (m, 1H), 1.71 ~ 1.56 (m, 2H), 1.31 ~ 1.26 (m, 6H), 1.24 ~ 1.19 (m, 7H), 1.04 (dd, J : 13.2, 6.7 Hz, 2H), 0.98 ~ 0.83 (m, 11H), 0.77 (q, J : 7.2 Hz, 3H)。



((S)-1-(((S)-1-((3-(2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基-2-((R)-1-甲基哌啶-3-甲酰胺基)酰胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚酸基)吡咯啶-2-基)-3-甲氧基-N,2-二甲基內酰胺基)乙基)苯基)胺基)-1-側氧基內-2-基)胺基)-1-側氧基內-2-基)胺基)甲酸) 綴丁醇]IN.C.86

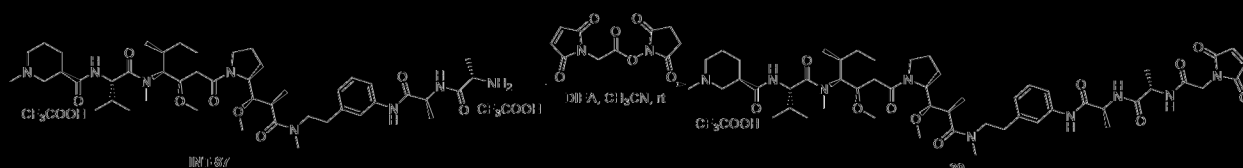
[0358] 向6 (50 mg, 69 μ mol)及(S)-2-((S)-2-((3-級丁氧基羧基)胺基)內酰胺)內酸(22 mg, 82 μ mol)於2 mL CH_2Cl_2/CN 中之溶液中添加EDCI (20 mg, 103 μ mol)及HOBt (12 mg, 103 μ mol)之混合物,隨後添加2,6-二甲基吡啶(24 μ L, 206 μ mol)。將反應物在室溫下在 N_2 氛圍下攪拌16 h, LCMS顯示完成。藉由逆相管柱($H_2O:CH_2Cl_2/CN$)直接純化混合物,得到呈白色固體狀之IN.C.86 (35 mg, 53%產率)。LCMS (ESI): m/z 971.2, $[M+H]^+$ 。



((R)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((3-((S)-2-((S)-2-胺基內酰胺基)內酰胺)苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲氧基-3-側氧基內基)吡咯啶-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)(甲基)胺基)-3-甲氧基-1-側氧基丁-2-基)-1-甲基哌

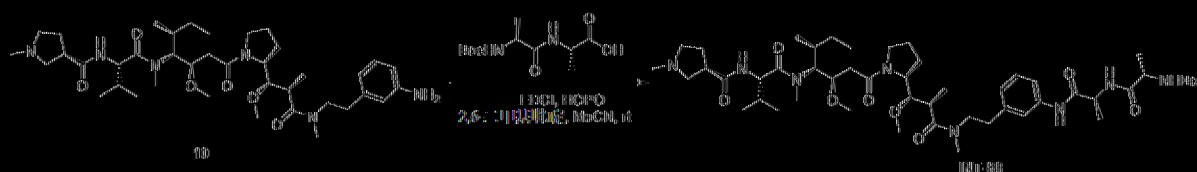
式 3-甲酰胺雙(2,2,2-三氟乙酸鹽) [INT-87]

[0359] 向[INT-86] (35 mg, 36 μ mol)及苯甲醚(20 μ L, 180 μ mol)之混合物中添加DIEA (0.35 mL)。接著將反應物在室溫下攪拌10 min, 接著藉由添加18 mL MeCN淬滅, 在此期間, 許多白色固體沈澱。將所得混合物過濾, 且收集濾餅並在減壓下乾燥, 得到呈淡黃色固體狀之[INT-87] (30 mg, 75%產率), 其不經進一步鑑別即直接使用。



(R)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((3-(S)-2-((S)-2-(2-(2,5-二側氧基-2,5-二氧-1H-吡咯-1-基)乙酰胺基)丙酰胺)丙酰胺)苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啶-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)(甲基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁-2-基)-1-甲氧嘧啶-3-甲酰胺-2,2,2-三氟乙酸鹽[39]

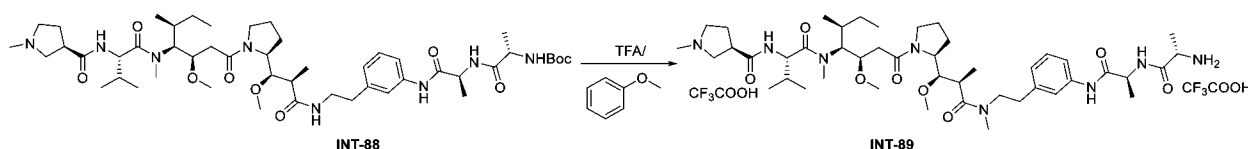
[0360] 向[INT-87] (35 mg, 36 μ mol)及2-(2,5-二側氧基-2,5-二氧-1H-吡咯-1-基)乙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基醇(12 mg, 46 μ mol)於6 mL CH_2Cl_2 中之溶液中添加DIEA (12 μ L, 71 μ mol)。接著將反應物在室溫下攪拌30 min。LCMS顯示完成。藉由添加DIEA (20 μ L)淬滅混合物。將所得混合物即刻傳送至製備型C18PLC (0.1% TFA於 H_2O/CH_2Cl_2 中), 接著凍乾, 得到呈白色固體狀之39 (5 mg, 14%產率)。LCMS (ESI): m/z 505.0 [M+2H]²⁺; C18PLC: 在210 min下, 99.8%, R_t : 8.62 min。



步驟 1: ((S)-1-(((S)-1-((3-(2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-二甲基

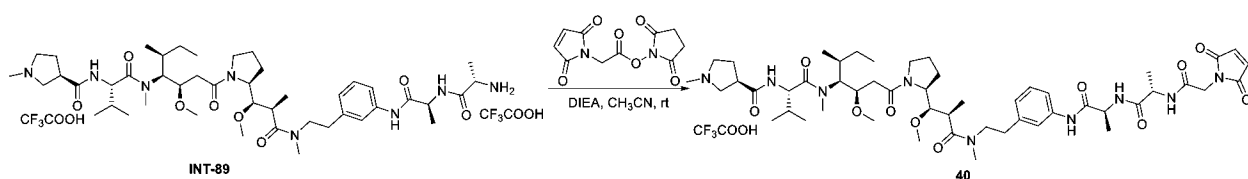
-2-((R)-1-甲基吡咯啉-3-甲醯胺基)丁醯胺基)-3-甲氧基-5-甲基庚醯基)吡咯啉-2-基)-3-甲氧基-N,2-二甲基丙醯胺基)乙基)苯基)胺基)-1-側氧基丙-2-基)胺基)-1-側氧基丙-2-基)胺基甲酸三級丁酯 INT-88

【0361】向**10** (110 mg, 154 μmol)及(S)-2-((S)-2-((三級丁氧基羰基)胺基)丙醯胺)丙酸(48 mg, 185 μmol)於3 mL CH_3CN 中之溶液中添加EDCI (44 mg, 231 μmol)及HOPO (26 mg, 231 μmol)之混合物，隨後添加2,6-二甲基吡啶(54 μL , 462 μmol)。將反應物在室溫下在 N_2 氛圍下攪拌16 h，LCMS顯示完成。藉由逆相管柱($\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$)直接純化混合物，得到呈黃色泡沫固體狀之**INT-88** (105 mg, 71% 產率)。LCMS (ESI): m/z 957.1 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。



(R)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-2-((S)-2-胺基丙醯胺基)丙醯胺)苯乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)(甲基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁-2-基)-1-甲基吡咯啉-3-甲醯胺雙(2,2,2-三氟乙酸酯) INT-89

【0362】向**INT-88** (100 mg, 104 μmol)及苯甲醚(57 μL , 522 μmol)之混合物中添加TFA (1 mL)。接著將反應物在室溫下攪拌10 min，接著藉由添加50 mL MTBE淬滅，在此期間，許多白色固體沈澱。將所得混合物過濾，且收集濾餅並在減壓下乾燥，得到呈淡黃色固體狀之**INT-89** (90 mg, 78%產率)。LCMS (ESI): m/z 880.3 $[\text{M} + \text{Na}^+]$, 429.1 $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}$ 。



(R)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-2-((S)-2-(2,5-二側氧

基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙醯胺基)丙醯胺)丙醯胺)苄乙基)(甲基)胺基)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基)吡咯啉-1-基)-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基)(甲基)胺基)-3-甲基-1-側氧基丁-2-基)-1-甲基吡咯啉-3-甲醯胺 2,2,2-三氟乙酸酯 **40**

【0363】 向INT-89 (90 mg, 83 μmol)及2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙酸2,5-二側氧基吡咯啉-1-基酯(30 mg, 116 μmol)於2 mL CH_3CN 中之溶液中添加DIEA (30 μL 185 μmol)。接著將反應物在室溫下攪拌50 min。LCMS顯示完成。藉由添加TFA (60 μL)淬滅混合物。將所得混合物即刻傳送至製備型HPLC (0.1% TFA於 $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ 中)，接著凍乾，得到呈白色固體狀之**40** (65 mg, 71%產率)。LCMS (ESI): m/z 995.2 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 497.7 $[\text{M} + 2\text{H}]^{2+}$; HPLC: 在210 nm下, 98.6%, $R_t = 8.57$ min; ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.92 - 9.67 (m, 2H), 8.54 - 8.39 (m, 2H), 8.21 - 8.10 (m, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.46 - 7.34 (m, 1H), 7.25 - 7.16 (m, 1H), 7.09 (s, 2H), 6.97 - 6.87 (m, 1H), 4.75 - 4.59 (m, 2H), 4.55 - 4.44 (m, 2H), 4.38 - 4.31 (m, 2H), 4.13 - 4.05 (m, 2H), 4.03 - 3.85 (m, 2H), 3.79 - 3.57 (m, 3H), 3.55 - 3.38 (m, 3H), 3.29 (dd, $J = 13.5, 5.7$ Hz, 4H), 3.21 - 3.16 (m, 3H), 3.13 - 2.95 (m, 4H), 2.91 - 2.86 (m, 2H), 2.85 - 2.78 (m, 3H), 2.77 - 2.73 (m, 1H), 2.72 - 2.58 (m, 2H), 2.46 - 2.32 (m, 2H), 2.30 - 2.04 (m, 2H), 2.00 - 1.73 (m, 5H), 1.67 - 1.42 (m, 2H), 1.33 - 1.26 (m, 3H), 1.21 (d, $J = 6.8$ Hz, 4H), 1.04 (dd, $J = 12.4, 6.7$ Hz, 2H), 0.98 - 0.70 (m, 14H)。

生物活性

分析方案

【0364】 將HCC1954乳腺管癌及T47D細胞(ATCC, Manassas, VA, USA)接種至384孔白壁培養盤中且使其黏附2至4小時。接著藉由添加以2 \times 最終濃度製備之5倍連續稀釋之測試品至少一式兩份地處理細胞，且在37 $^\circ\text{C}$ 下培育120小時。處理後之細胞生存力係藉由細胞效價Glo 2.0分析(Promega, Madison, WI, USA)來測定且正規化為未經處理之對照。使用GraphPad Prism (La Jolla, CA, USA)分析劑

量反應關係，且使用4參數邏輯方程式自非線性回歸分析推導IC₅₀值。

表 4.例示性化合物在 HCC1954 中之活體外效力

化合物	IC ₅₀ (nM)
1	+++
2	+++
3	+++
4	+++
5	++
6	+
7	+++
8	+++
9	+++
10	+
11	+++
12	+++
13	+++
14	+++
15	+++
16	+++
17	+++
18	++
19	+++
23	+++
24	+++
26	++
27	+++

+++ : <5 nM ; ++ : 5-10 nM ; + : >10 nM

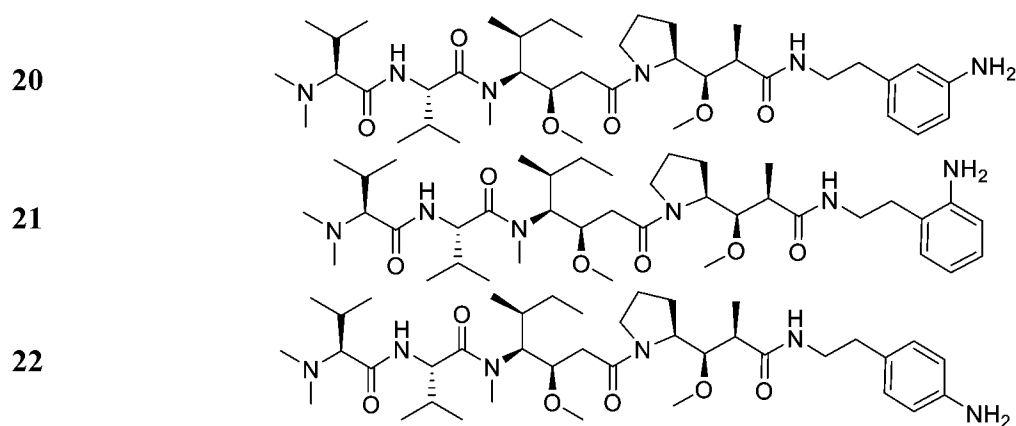
表 5.N-甲基化類似物 1,2-NH₂/1,3-NH₂/1,4-NH₂在 HCC1954 分析及 T47D 分析中之比較

化合物	IC ₅₀ (倍差)	
	HCC1954	T47D
1 (1,3-NH ₂)	1	1
14 (1,2-NH ₂)	0.8	1.3
19 (1,4-NH ₂)	2.1	3.8
2 (1,3-NH ₂)	1	1
16 (1,2-NH ₂)	1.8	3.4
26 (1,4-NH ₂)	4.2	12.7

【0365】與19及26中之P5部分之1,4-NH₂組態相比，1,2-NH₂(14及16)及1,3-NH₂(1及2)組態出人意料地更有效。

表 6A.在 HCC1954 分析及 T47D 分析中 NCH₃-醯胺與其 NH-醯胺類似物之效力比較

化合物	IC ₅₀ (倍差)	
	HCC1954	T47D
20 (NH)	1	1
1 (NMe)	1.5	1.6
21 (NH)	1	1
14 (NMe)	2.0	1.8
22 (NH)	1	1
19 (NMe)	2.3	6.9



【0366】此等結果顯示，P4與P5之間的N上之甲基取代保留效力。當甲基化發生時，此為出人意料的且與其他熟知澳瑞他汀衍生物形成鮮明對比。舉例而言，澳瑞他汀E、澳瑞他汀PHE及尾海兔素10分子之P4部分與P5部分之間的醯胺之N-甲基化引起效力降低23倍至240倍。此突出化合物1中之P5部分之乙烯官能基之獨特及出人意料的特性。

表 6B. HCC1954 5 天分析

化合物編號	IC ₅₀ [N-Me 醯胺] / IC ₅₀ [NH-醯胺]
澳瑞他汀 E	23
23	
澳瑞他汀 PHE	139
25	
尾海兔素 10	240

【0367】本發明之例示性化合物與某些抗體(例如，曲妥珠單抗)綴合且測試效力。此等綴合物顯示約8之有利DAR及約1%之聚集(SEC)。

【0368】此等綴合物在HCC1954分析中顯示優越的IC₅₀。

表 7. HCC1954 分析中之例示性 ADC (曲妥珠單抗) IC₅₀

化合物編號	IC ₅₀
28	+++
29	+++
30	+++
31	+++
32	+++
33	+
37	+++
38	+

+++ : <5 nM ; ++ : 5-10 nM ; + : >10 nM

【0369】 申請人之揭露內容參看圖式在本文中描述於較佳實施例中，其中相似編號表示相同或相似要素。貫穿本說明書對「一個實施例」、「一實施例」或類似語言的提及意謂結合實施例所描述的特定特徵、結構或特性包括於本發明之至少一個實施例中。因此，貫穿本說明書片語「在一個實施例中」、「在一實施例中」及類似語言之出現可(但未必)皆指相同實施例。

【0370】 在一或多個實施例中，可以任何合適方式組合申請人之揭露內容之所描述特徵、結構或特性。在本文中之描述中，敘述眾多特定細節以提供對本發明之實施例之透徹理解。然而，熟習相關技術者將認識到，申請人之組成物及/或方法可在無特定細節中之一或多者的情況下或藉由其他方法、組分、材料等來實踐。在其他情況下，並不詳細展示或描述熟知結構、材料或操作，以避免使本揭露內容之態樣混淆。

【0371】 除非另外定義，否則本文中所使用的所有技術及科學術語均具有如所屬技術領域中具有通常知識者通常所理解相同之含義。雖然任何與本文中所描述之方法及材料相似或等效的方法及材料亦可用於實施或測試本揭露內容，但現描述較佳的方法及材料。除所揭露之特定次序以外，本文中所敘述之方法可以邏輯上可能之任何次序進行。

參考文獻併入

【0372】 已在本揭露內容中做出對其他文獻，諸如專利、專利申請案、專利公開案、期刊、書籍、論文、手稿、網站內容之參考及引用。所有此類文獻出

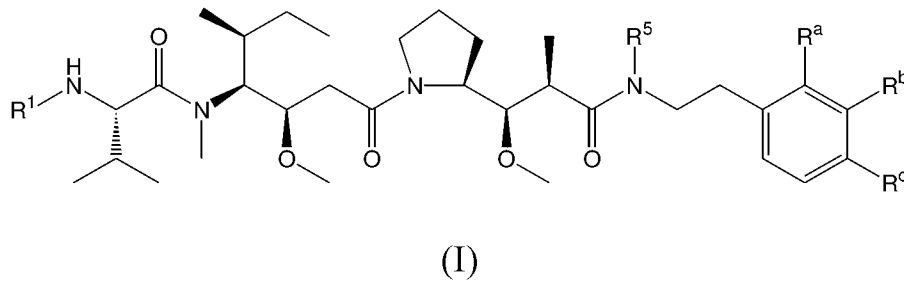
於所有目的特此以其全文引用之方式併入本文中。據稱以引用方式併入本文中但與現有定義、陳述或本文中明確闡述之其他揭露材料矛盾的任何材料或其部分僅在所併入材料與本發明材料之間不出現衝突的程度上併入。在發生衝突之情況下，應以有利於本揭露內容作為較佳揭露內容的方式解決衝突。

等效物

【0373】 代表性實例意欲幫助說明本發明，且並不意欲亦不應解釋為限制本發明之範疇。實際上，除本文所顯示及描述之彼等修改及實施例以外，本發明之各種修改及其許多其他實施例對熟習此項技術者而言將自此文件之全部內容變得顯而易見，包括實例及對本文中所包括之科學及專利文獻的參考。實例含有可適於在本發明之各種實施例及其等效物中實踐本發明的重要額外資訊、範例及指導。

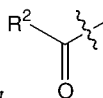
【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種化合物，其具有結構式(I)：



或一其醫藥學上可接受之鹽，

其中

R^1 為 ，其中 R^2 為一未經取代或經取代之 C_1 - C_6 烷基、雜烷基、環烷基或環雜烷基；

R^a 、 R^b 及 R^c 中之各者係選自 H 及 NR^xR^y ，其限制條件為 R^a 、 R^b 及 R^c 中之僅一者為 NR^xR^y 且其他者中之各者為 H；

R^x 及 R^y 中之各者獨立地選自 R、 R^t 及 $L-R^z$ ，其限制條件為當 R^x 及 R^y 中之一者為 $L-R^z$ 或 R^t 時，其他者為 R；

R^5 為 CR'_3 ，其中各 R' 獨立地為 H 或 F；

L 為一連接子；

R^t 為 $(C=O)-O-(CH_2)_p-R^v$ 或 $(C=O)-(CH_2)_q-R^v$ ；

R^v 為 R、OR、NHR、 NR_2 、一芳基或一胺基酸；

p 為 0、1、2、3、4、5 或 6；

q 為 0、1、2、3、4、5 或 6；

R^z 包含一官能性或反應性基團；且

R 為 H 或一 C_1 - C_3 烷基。

【請求項2】 如請求項 1 之化合物，其中 R^5 為 CH_3 。

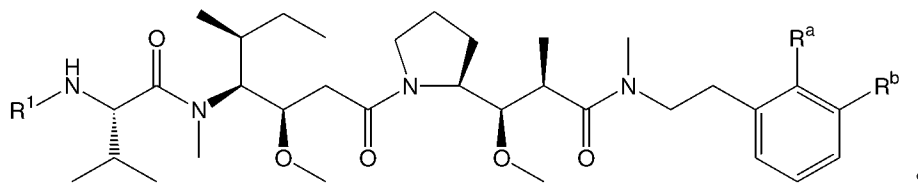
【請求項3】 如請求項 1 之化合物，其中 R^5 為 CF_3 。

【請求項4】 如請求項 1 至 3 中任一項之化合物，其中 R^a 為 NR^xR^y 、 R^b 為 H 且 R^c 為 H。

【請求項5】 如請求項 1 至 3 中任一項之化合物，其中 R^a 為 H、 R^b 為 NR^xR^y 且 R^c 為 H。

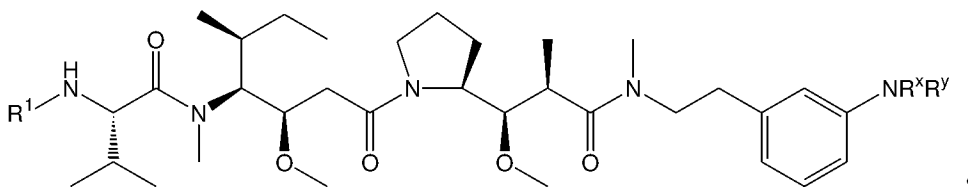
【請求項6】 如請求項 1 至 3 中任一項之化合物，其中 R^a 為 H、 R^b 為 H 且 R^c 為 NR^xR^y 。

【請求項7】 如請求項 1 之化合物，其中 R^5 為 CH_3 且 R^c 為 H，其具有結構式(II)：



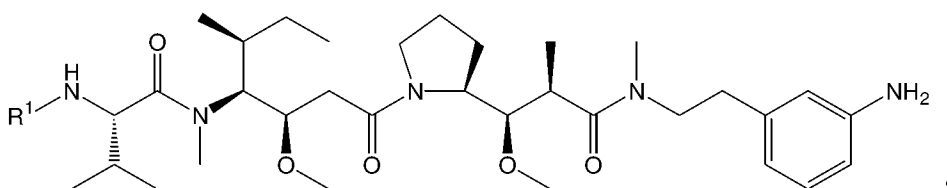
(II)

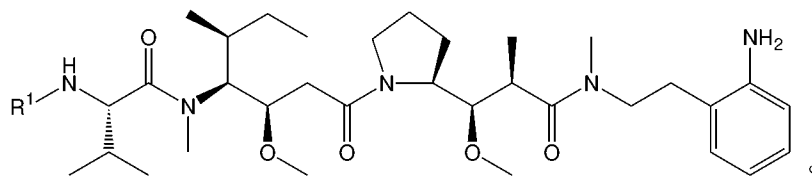
【請求項8】 如請求項 7 之化合物，其中 R^a 為 H 且 R^b 為 NR^xR^y ，其具有結構式(III)：



(III)

【請求項9】 如請求項 8 之化合物，其中 R^x 為 H 且 R^y 為 H，其具有結構式(III¹)：

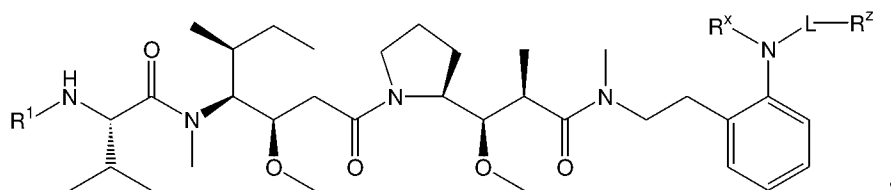
(III¹)

(IV¹)

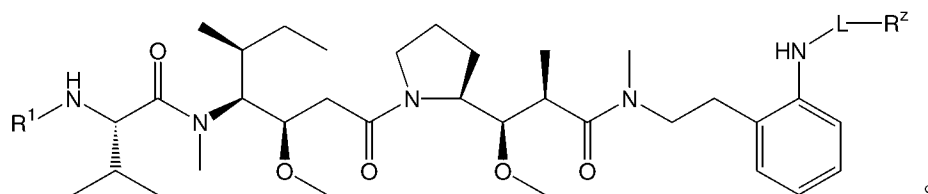
【請求項16】如請求項 14 之化合物，其中 R^x 為 H 或 CH₃ 且 R^y 為(C=O)-O-(CH₂)_p-R^v，其中 R^v 為 R、OR、NHR、NR₂、一芳基或一胺基酸，且 p 為 0、1、2 或 3。

【請求項17】如請求項 14 之化合物，其中 R^x 為 H 或 CH₃ 且 R^y 為(C=O)-(CH₂)_q-R^v，其中 R^v 為 R、OR、NHR、NR₂、一芳基或一胺基酸，且 q 為 0、1、2 或 3。

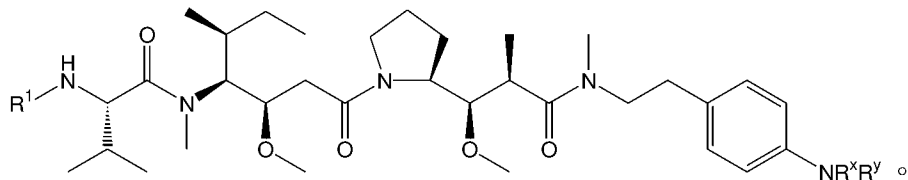
【請求項18】如請求項 14 之化合物，其中 R^y 為 L-R^z，其具有結構式(IV²)：

(IV²)

【請求項19】如請求項 18 之化合物，其中 R^x 為 H，其具有結構式(IV³)：

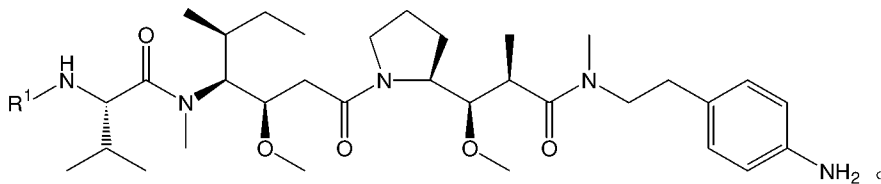
(IV³)

【請求項20】如請求項 1 之化合物，其中 R⁵ 為 CH₃、R^a 為 H、R^b 為 H，且 R^c 為 NR^xR^y，其具有結構式(V)：



(V)

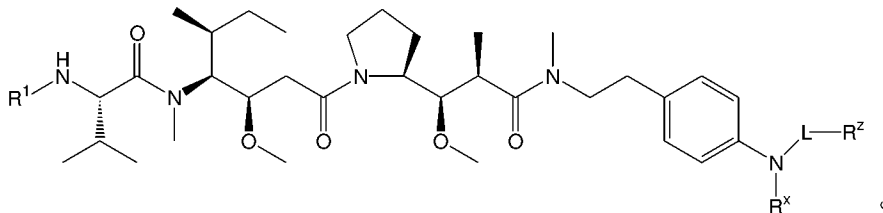
【請求項21】如請求項 20 之化合物，其中 R^x 為 H 且 R^y 為 H，其具有結構式(V¹)：

(V¹)

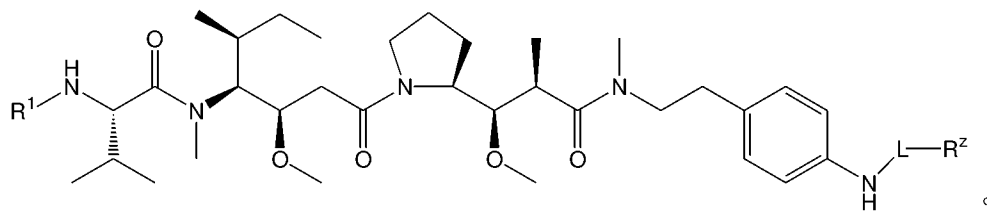
【請求項22】如請求項 20 之化合物，其中 R^x 為 H 或 CH₃ 且 R^y 為(C=O)-O-(CH₂)_p-R^v，其中 R^v 為 R、OR、NHR、NR₂、一芳基或一胺基酸，且 *p* 為 0、1、2 或 3。

【請求項23】如請求項 20 之化合物，其中 R^x 為 H 或 CH₃ 且 R^y 為(C=O)-(CH₂)_q-R^v，其中 R^v 為 R、OR、NHR、NR₂、一芳基或一胺基酸，且 *q* 為 0、1、2 或 3。

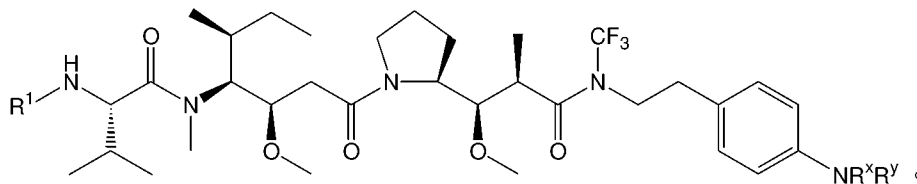
【請求項24】如請求項 20 之化合物，其中 R^y 為 L-R^z，其具有結構式(V²)：

(V²)

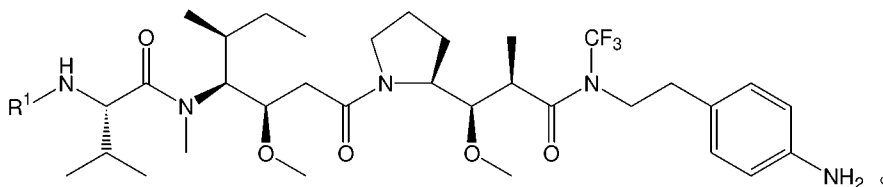
【請求項25】如請求項 24 之化合物，其中 R^x 為 H，其具有結構式(V³)：

(V³)

【請求項26】如請求項1之化合物，其中 R⁵ 為 CF₃、R^a 為 H、R^b 為 H，且 R^c 為 NR^xR^y，其具有結構式(V⁴)：

(V⁴)

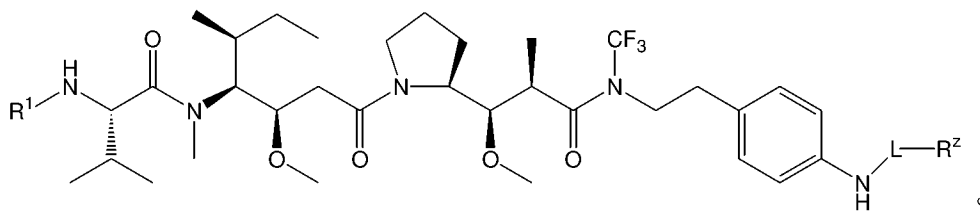
【請求項27】如請求項26之化合物，其中 R^x 為 H 且 R^y 為 H，其具有結構式(V⁵)：

(V⁵)

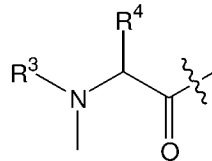
【請求項28】如請求項26之化合物，其中 R^x 為 H 或 CH₃ 且 R^y 為(C=O)-O-(CH₂)_p-R^v，其中 R^v 為 R、OR、NHR、NR₂、一芳基或一胺基酸，且 p 為 0、1、2 或 3。

【請求項29】如請求項26之化合物，其中 R^x 為 H 或 CH₃ 且 R^y 為(C=O)-(CH₂)_q-R^v，其中 R^v 為 R、OR、NHR、NR₂、一芳基或一胺基酸，且 q 為 0、1、2 或 3。

【請求項30】如請求項26之化合物，其中 R^x 為 H 且 R^y 為 L-R^z，其具有結構式(V⁶)：

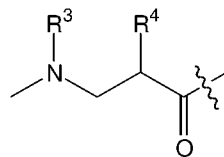
(V⁶)

【請求項31】如請求項 1 至 30 中任一項之化合物，其中 R¹ 為



其中 R³ 及 R⁴ 中之各者獨立地為 H 或一未經取代或經取代之 C₁-C₅ 烷基，或與其所鍵結之 N 及 C 原子一起形成包含 O、N 及 S 中之一或多者之一 5 員至 7 員雜環烷基，其任擇地經鹵素原子或 C₁-C₃ 烷基中之一或多者取代。

【請求項32】如請求項 1 至 30 中任一項之化合物，其中 R¹ 為



其中 R³ 及 R⁴ 中之各者獨立地為 H 或一未經取代或經取代之 C₁-C₅ 烷基，或與其所鍵結之 N 及 C 原子一起形成包含 O、N 及 S 中之一或多者之一 5 員至 7 員雜環烷基，其任擇地經鹵素原子或 C₁-C₃ 烷基中之一或多者取代。

【請求項33】如請求項 31 或 32 之化合物，其中 R⁴ 為異丙基。

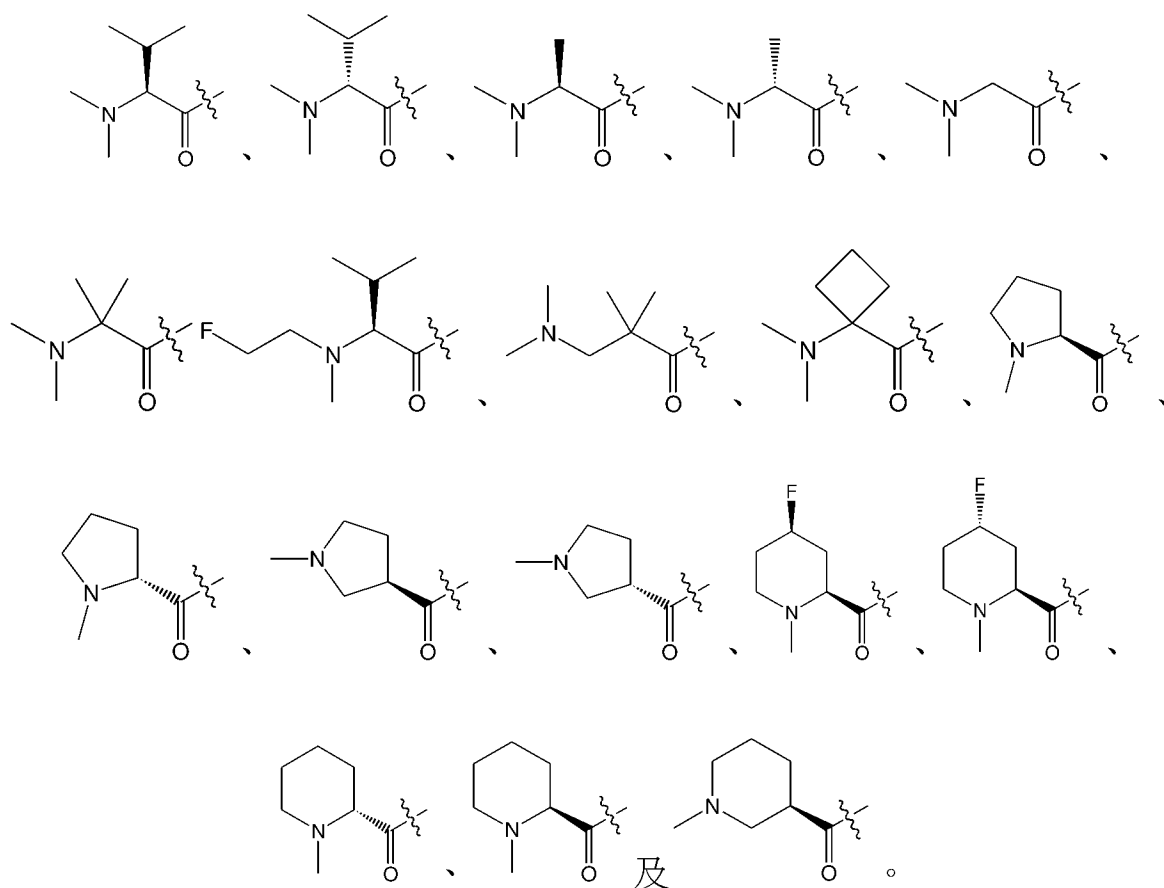
【請求項34】如請求項 31 或 32 之化合物，其中 R⁴ 為甲基。

【請求項35】如請求項 31 或 32 之化合物，其中 R³ 及 R⁴ 與其所鍵結之 N 及 C 原子一起形成包含 N 的一 5 員雜環烷基，其任擇地經鹵素原子或 C₁-C₃ 烷基中之一或多者取代。

【請求項36】如請求項 31 或 32 之化合物，其中 R³ 及 R⁴ 與其所鍵結之 N 及 C 原子一起形成包含 N 的一 6 員雜環烷基，其任擇地經鹵素原子或 C₁-C₃ 烷基中

之一或多者取代。

【請求項37】如請求項 1 至 36 中任一項之化合物，其中 R_1 係選自：



【請求項38】如請求項 1 至 37 中任一項之化合物，其中 L 為一不可裂解連接子。

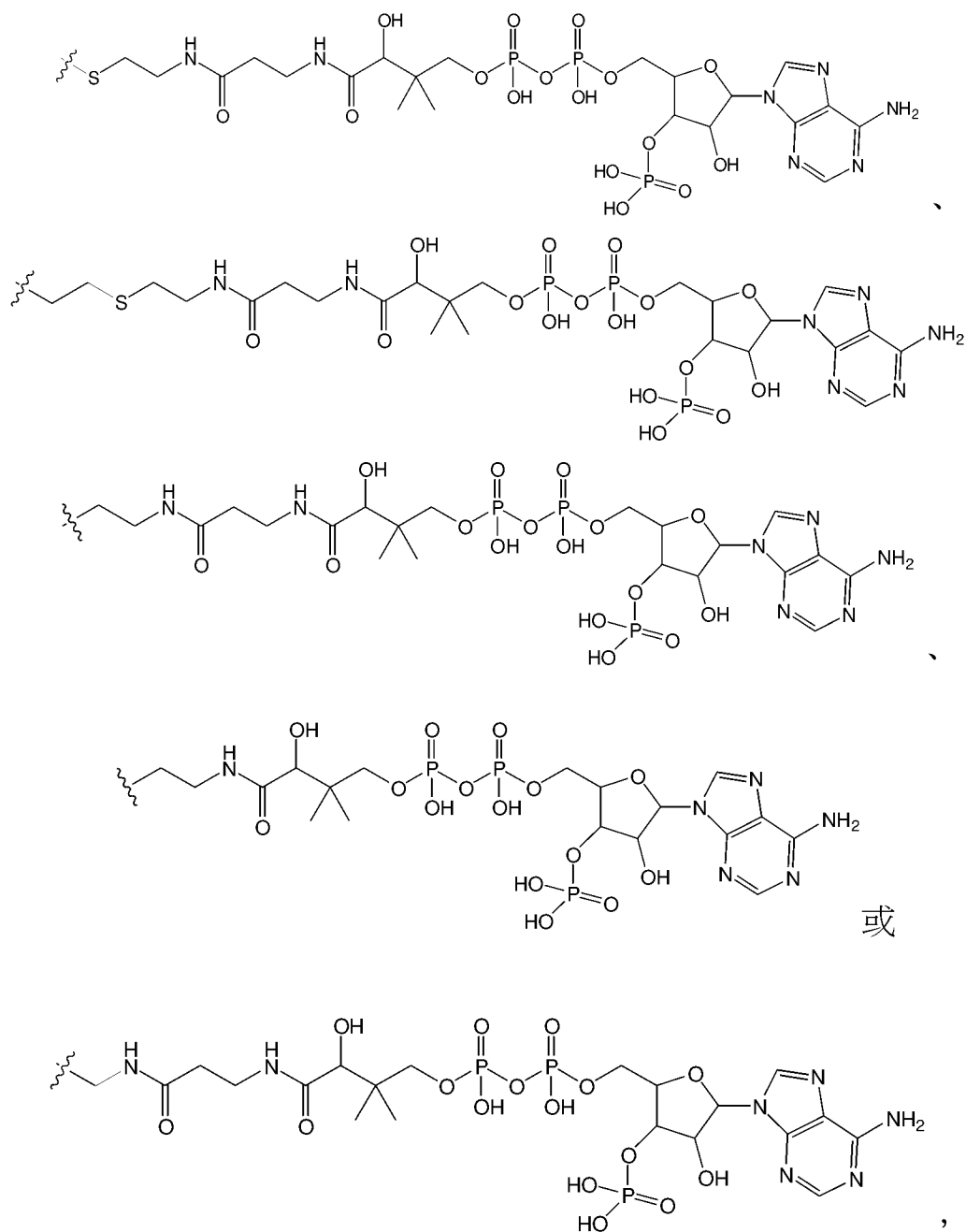
【請求項39】如請求項 1 至 37 中任一項之化合物，其中 L 為一可裂解連接子。

【請求項40】如請求項 39 之化合物，其中 L 為一酸不穩定或酸敏感性連接子。

【請求項41】如請求項 39 之化合物，其中 L 為蛋白酶敏感性連接子。

【請求項42】如請求項 41 之化合物，其中 L 為溶酶體蛋白酶敏感性連接子。

【請求項43】如請求項 41 之化合物，其中 L 為 β -葡萄糖苷酸敏感性連接

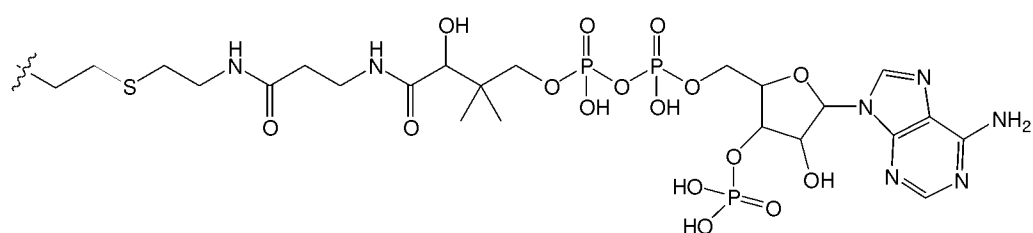


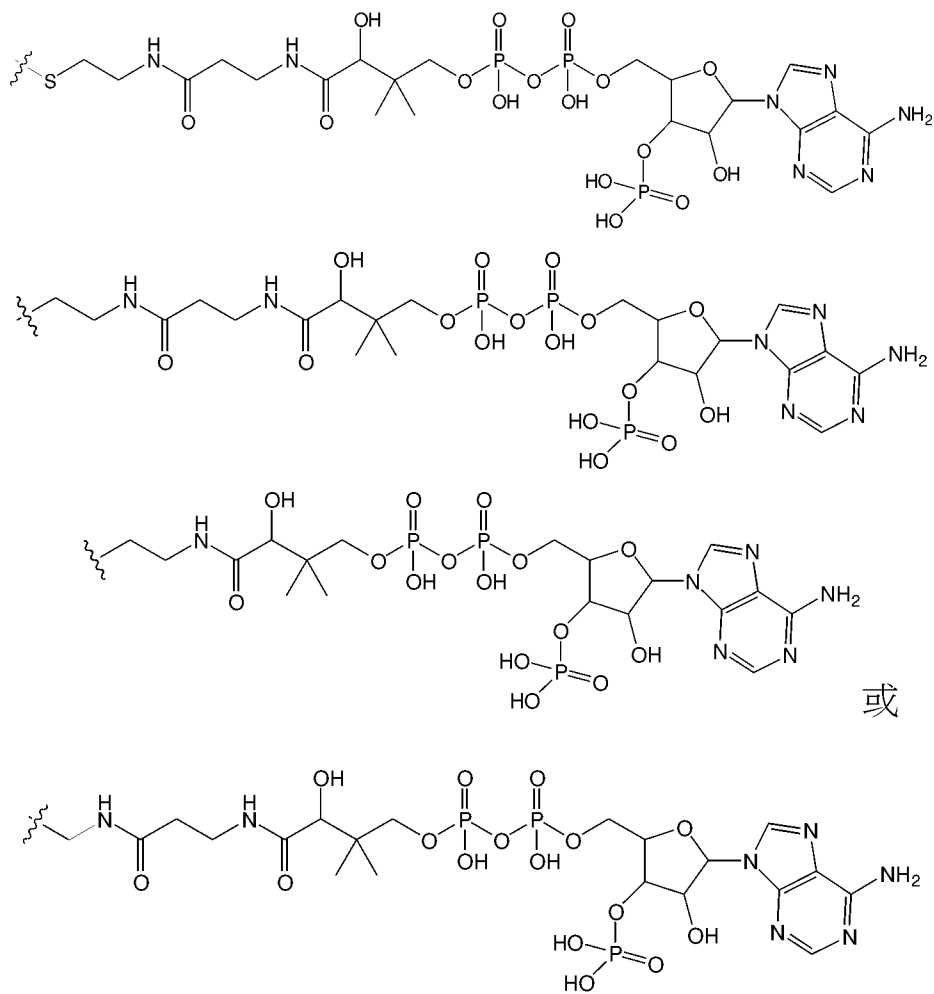
其中

R^u 為 H 或一 C_1 - C_6 烷基，

R^t 為 2-吡啶基或 4-吡啶基，且

R^w 為





【請求項46】 一種化合物，其係選自以下：

化合物 編號	結構
1	
2	
3	
4	

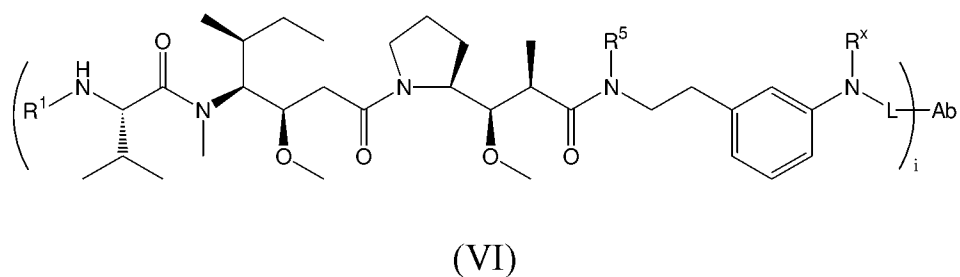
5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	
12	
13	
14	
15	
16	

17	
18	
19	
23	
24	
26	
27	

【請求項47】一種藥物-連接子綴合物，其藉由如請求項 1 至 46 中任一項之化合物與一連接子之綴合而形成。

【請求項48】一種免疫綴合物，其藉由如請求項 1 至 46 中任一項之化合物經由一連接子與一抗原結合部分之綴合而形成。

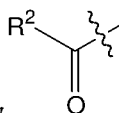
【請求項49】一種免疫綴合物，其具有結構式(VI)：



或一其醫藥學上可接受之鹽，

其中

Ab 表示一抗原結合部分；

R^1 為 ，其中 R^2 為一未經取代或經取代之 C_1 - C_6 烷基、雜烷基、環烷基或環雜烷基；

R^x 及 R^y 中之各者獨立地選自 R 及 L- R^z ，其限制條件為當 R^x 及 R^y 中之一者為 NR^z 時，其他者為 R；

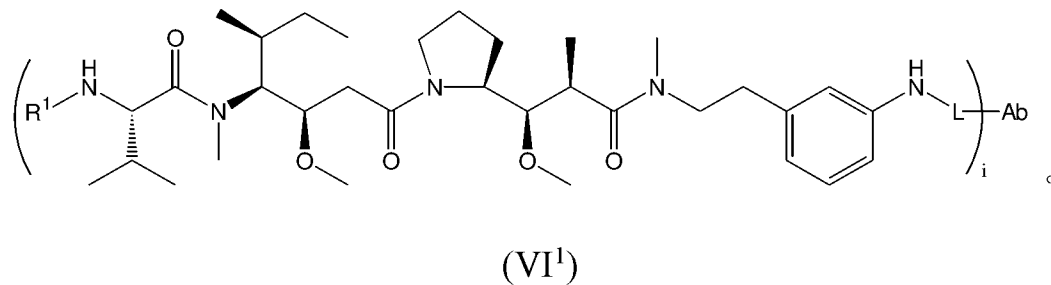
R^5 為 CR'_3 ，其中各 R' 獨立地為 H 或 F；

L 為一連接子；且

R 為 H 或一 C_1 - C_3 烷基；

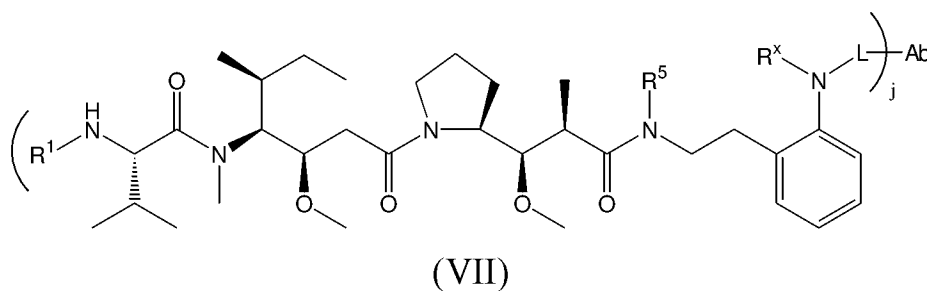
i 為 1 至約 20 範圍內之一整數。

【請求項50】如請求項 49 之免疫綴合物，其中 R^5 為 CH_3 且 R^x 為 H，其具有結構式(VI¹)：



【請求項51】如請求項 49 或 50 之免疫綴合物，其中 i 在 1 至約 16 之範圍內。

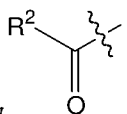
【請求項52】一種免疫綴合物，其具有結構式(VII)：



或一其醫藥學上可接受之鹽，

其中

Ab 表示一抗原結合部分；

R^1 為 ，其中 R^2 為一未經取代或經取代之 C_1 - C_6 烷基、雜烷基、環烷基或環雜烷基；

R^x 及 R^y 中之各者獨立地選自 R 及 $L-R^z$ ，其限制條件為當 R^x 及 R^y 中之一者為 NR^z 時，其他者為 R；

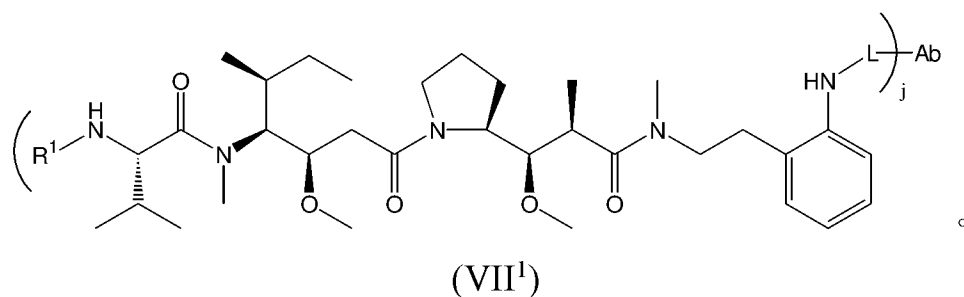
R^5 為 CR'_3 ，其中各 R' 獨立地為 H 或 F；

L 為一連接子；且

R 為 H 或一 C_1 - C_3 烷基；且

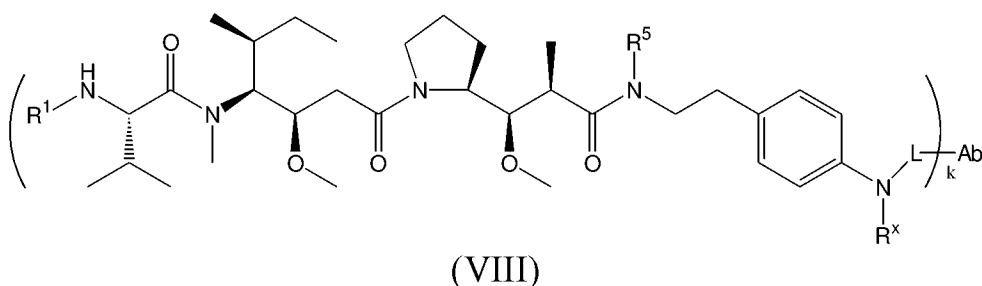
j 為 1 至約 20 範圍內之一整數。

【請求項53】如請求項 52 之免疫綴合物，其中 R^5 為 CH_3 且 R^x 為 H，其具有結構式(VII¹)：



【請求項54】如請求項 52 或 53 之免疫綴合物，其中 j 在 1 至約 16 之範圍內。

【請求項55】一種免疫綴合物，其具有結構式(VIII)：



或一其醫藥學上可接受之鹽，

其中

Ab 表示一抗原結合部分；

R^1 為 ，其中 R^2 為一未經取代或經取代之 C_1 - C_6 烷基、雜烷基、環烷基或環雜烷基；

R^x 及 R^y 中之各者獨立地選自 R 及 $L-R^z$ ，其限制條件為當 R^x 及 R^y 中之一者為 NR^z 時，其他者為 R；

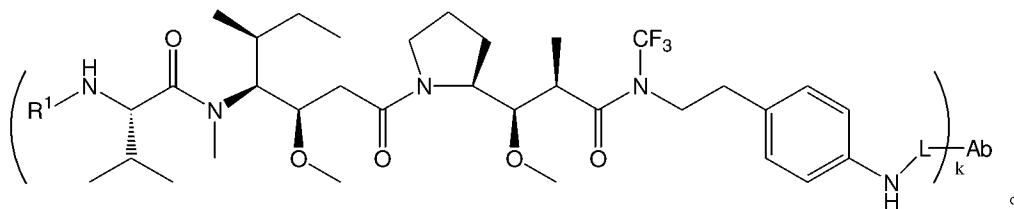
R^5 為 CR'_3 ，其中各 R' 獨立地為 H 或 F；

L 為一連接子；且

R 為 H 或一 C_1 - C_3 烷基；且

k 為 1 至約 20 範圍內之一整數。

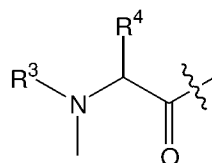
【請求項56】如請求項 55 之免疫綴合物，其中 R^5 為 CF_3 且 R^x 為 H，其具有結構式(VIII¹)：



(VIII¹)

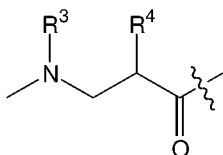
【請求項57】如請求項 55 或 56 中任一項之免疫綴合物，其中 k 在 1 至約 16 之範圍內。

【請求項58】如請求項 48 至 57 中任一項之免疫綴合物，其中 R^1 為



其中 R³ 及 R⁴ 中之各者獨立地為 H 或一未經取代或經取代之 C₁-C₅ 烷基，或與其所鍵結之 N 及 C 原子一起形成包含 O、N 及 S 中之一或多者的一 5 員至 7 員雜環烷基，其任擇地經鹵素原子或 C₁-C₃ 烷基中之一或多者取代。

【請求項59】如請求項 48 至 57 中任一項之免疫綴合物，其中 R¹ 為



其中 R³ 及 R⁴ 中之各者獨立地為 H 或一未經取代或經取代之 C₁-C₅ 烷基，或與其所鍵結之 N 及 C 原子一起形成包含 O、N 及 S 中之一或多者的一 5 員至 7 員雜環烷基，其任擇地經鹵素原子或 C₁-C₃ 烷基中之一或多者取代。

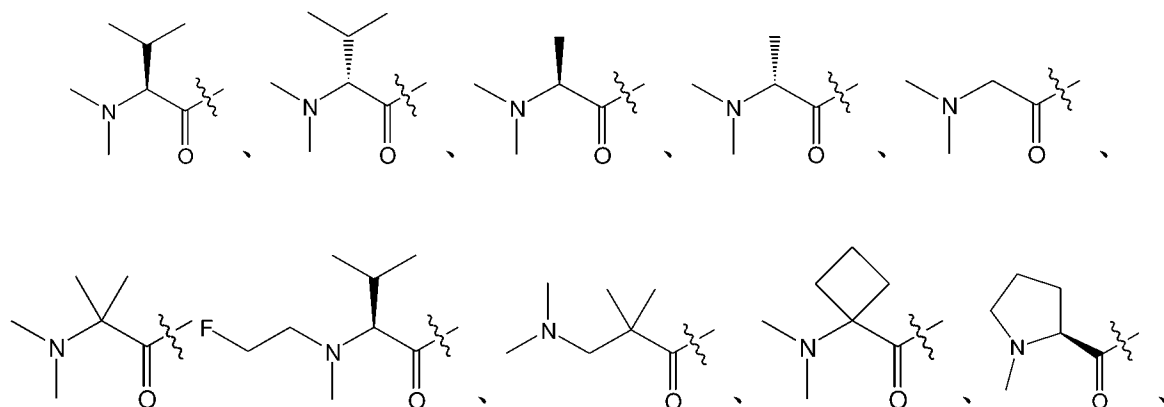
【請求項60】如請求項 58 或 59 之免疫綴合物，其中 R⁴ 為異丙基。

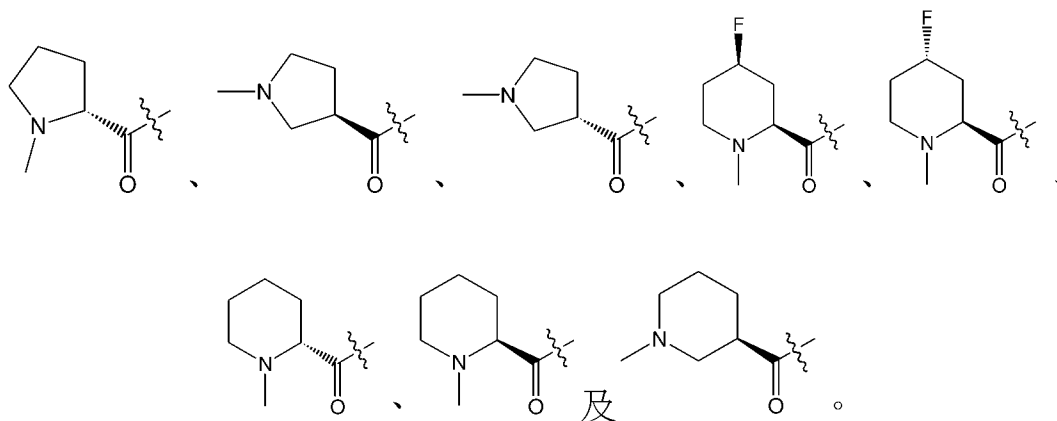
【請求項61】如請求項 58 或 59 之免疫綴合物，其中 R⁴ 為甲基。

【請求項62】如請求項 58 或 59 之免疫綴合物，其中 R³ 及 R⁴ 與其所鍵結之 N 及 C 原子一起形成包含 N 的一 5 員雜環烷基，其任擇地經鹵素原子或 C₁-C₃ 烷基中之一或多者取代。

【請求項63】如請求項 58 或 59 之免疫綴合物，其中 R³ 及 R⁴ 與其所鍵結之 N 及 C 原子一起形成包含 N 的一 6 員雜環烷基，其任擇地經鹵素原子或 C₁-C₃ 烷基中之一或多者取代。

【請求項64】如請求項 58 至 63 中任一項之免疫綴合物，其中 R¹ 係選自：





【請求項65】如請求項 58 至 64 中任一項之免疫綴合物，其中 L 為一不可裂解連接子。

【請求項66】如請求項 58 至 64 中任一項之免疫綴合物，其中 L 為一可裂解連接子。

【請求項67】如請求項 66 之免疫綴合物，其中 L 為一酸不穩定或酸敏感性連接子。

【請求項68】如請求項 66 之免疫綴合物，其中 L 為蛋白酶敏感性連接子。

【請求項69】如請求項 68 之免疫綴合物，其中 L 為溶酶體蛋白酶敏感性連接子。

【請求項70】如請求項 68 之免疫綴合物，其中 L 為 β -葡萄糖苷酸敏感性連接子。

【請求項71】如請求項 66 之免疫綴合物，其中 L 為麩胱甘肽敏感性二硫化物連接子。

【請求項72】如請求項 48 至 71 中任一項之免疫綴合物，其中 Ab 為一抗體。

【請求項73】如請求項 72 之免疫綴合物，其中該抗體為一單株抗體。

【請求項74】如請求項 72 之免疫綴合物，其中該抗體為一嵌合抗體。

【請求項75】如請求項 72 之免疫綴合物，其中該抗體為一人源化抗體。

【請求項76】如請求項 72 之免疫綴合物，其中該抗體為一雙特異性抗體。

【請求項77】如請求項 48 至 71 中任一項之免疫綴合物，其中 Ab 為一抗體片段。

【請求項78】如請求項 77 之免疫綴合物，其中 Ab 為一 Fab 片段。

【請求項79】如請求項 48 至 71 中任一項之免疫綴合物，其中 Ab 為一肽。

【請求項80】如請求項 48 至 71 中任一項之免疫綴合物，其中 Ab 為一小分子配位體。

【請求項81】一種醫藥組成物，其包含如請求項 48 至 80 中任一項之免疫綴合物或一其醫藥學上可接受之鹽，及一醫藥學上可接受的賦形劑、載體或稀釋劑。

【請求項82】一種組合，其包含一治療有效量的如請求項 48 至 80 中任一項之免疫綴合物及一或多種治療活性助劑及/或佐劑。

【請求項83】一種用於治療或減輕一疾病或病況之方法，其包含向一有需要之個體投予一治療有效量的如請求項 48 至 80 中任一項之免疫綴合物。

【請求項84】如請求項 83 之方法，其中該疾病或病況為癌症。

【請求項85】如請求項 83 或 84 之方法，其進一步包含向該個體投予化學療法及放射線療法中之一或多者。

【請求項86】一種如請求項 48 至 80 中任一項之免疫綴合物之用途，其用於製造一藥劑。

【請求項87】一種如請求項 48 至 80 中任一項之免疫綴合物的用途，其用於治療癌症。

【請求項88】如請求項 48 至 80 中任一項之免疫綴合物，其用於治療癌症。

【請求項89】一種組成物，其包含如請求項 48 至 80 中任一項之免疫綴合物。