



(21) 申請案號：106116802

(22) 申請日：中華民國 106 (2017) 年 05 月 22 日

(51) Int. Cl. : A61K47/60 (2017.01)

A61K38/07 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30) 優先權：2016/05/24 美國 62/340,926

2017/04/14 美國 62/485,812

(71) 申請人：美商安美基公司 (美國) AMGEN INC. (US)

美國

(72) 發明人：路荷 蓋瑞 LUEHR, GARY (US)；安尼特 夏比爾 T ANIK, SHABBIR T.

(US)；彭 吉 PENG, GE (US)；達森可 艾瑞娜 DOTSENKO, IRINA (RU)；菲亞

西芳格沙 帕西特 PHIASIVONGSA, PASIT (US)；羅曼尼尼 丹提 ROMANINI,

DANTE (US)

(74) 代理人：陳長文

(56) 參考文獻：

TW 201414751A

審查人員：陳世芹

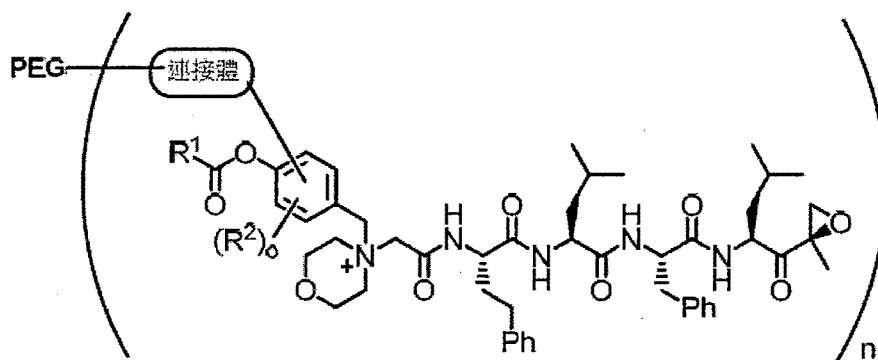
申請專利範圍項數：27 項 圖式數：15 共 160 頁

(54) 名稱

聚乙二醇化卡非佐米化合物

(57) 摘要

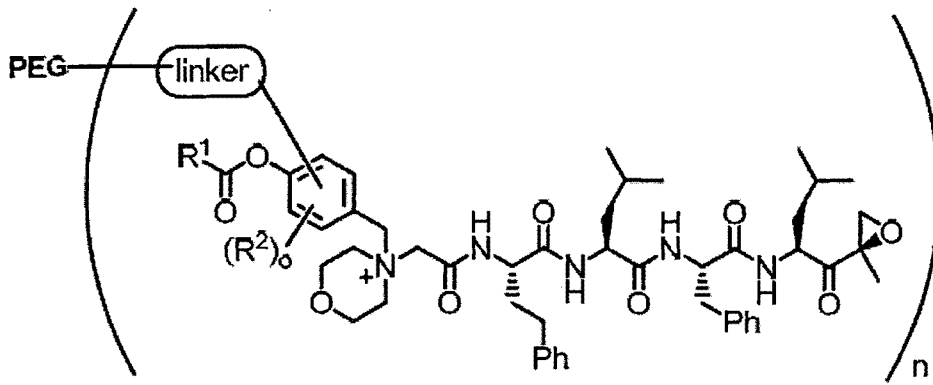
本發明提供式 I 之聚合物聚乙二醇化卡非佐米化合物，及其醫藥學上可接受之鹽



式 I

其中  $R^1$ 、 $R^2$ 、連接體、PEG、 $n$  及  $o$  如本文所定義。本發明亦提供製備及使用此等化合物來治療癌症且特定言之治療包括多發性骨髓瘤在內之血液學惡性腫瘤之方法。

The present invention provides polymeric pegylated carfilzomib compounds, and pharmaceutically acceptable salts thereof, of Formula I



Formula I

wherein  $R^1$ ,  $R^2$ , linker, PEG,  $n$  and  $o$  are as defined herein. The invention also provides methods of making and using these compounds to treat cancer, and particularly to treat hematological malignancies including multiple myeloma.

指定代表圖：

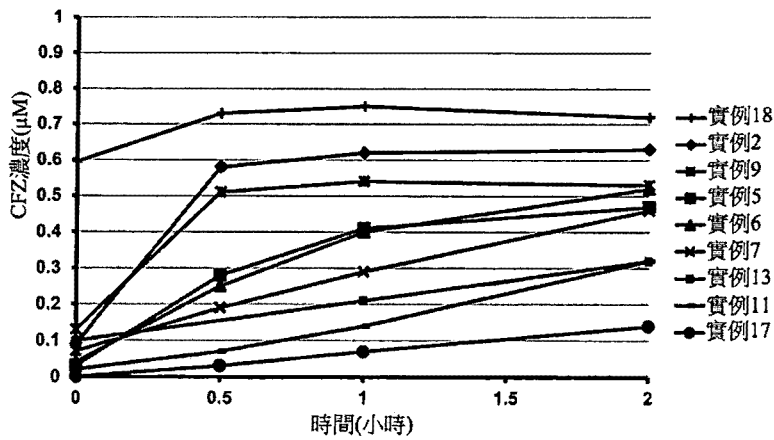
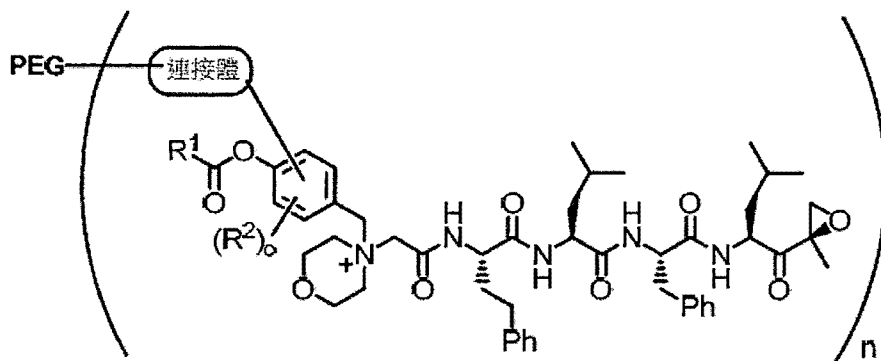


圖 1

特徵化學式：



式I

I759301

## 發明摘要

※ 申請案號：106116802

※ 申請日：106/05/22

A61K 47/60 (2017.01)

※IPC 分類：A61K 38/07 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

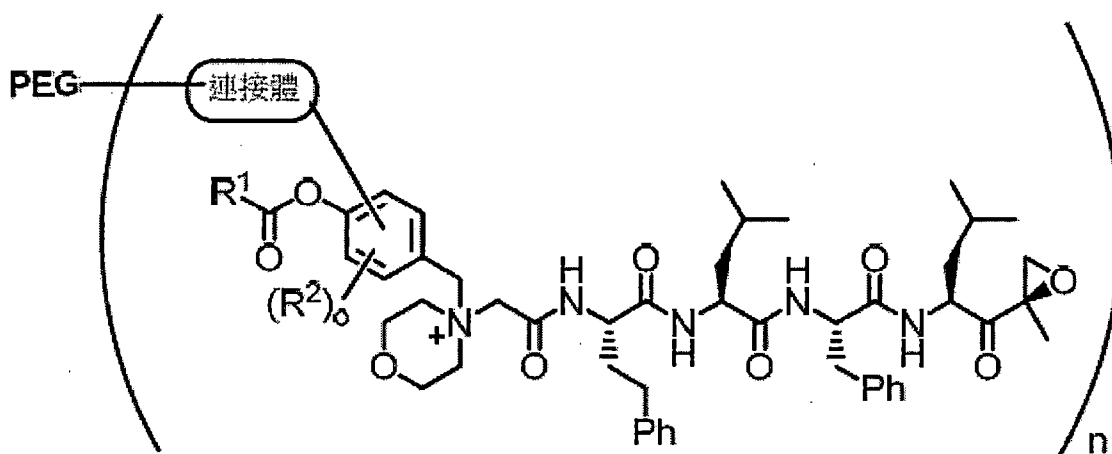
## 【發明名稱】(中文/英文)

聚乙二醇化卡非佐米化合物

PEGYLATED CARFILZOMIB COMPOUNDS

## 【中文】

本發明提供式 I 之聚合物聚乙二醇化卡非佐米化合物，及其醫藥學上可接受之鹽

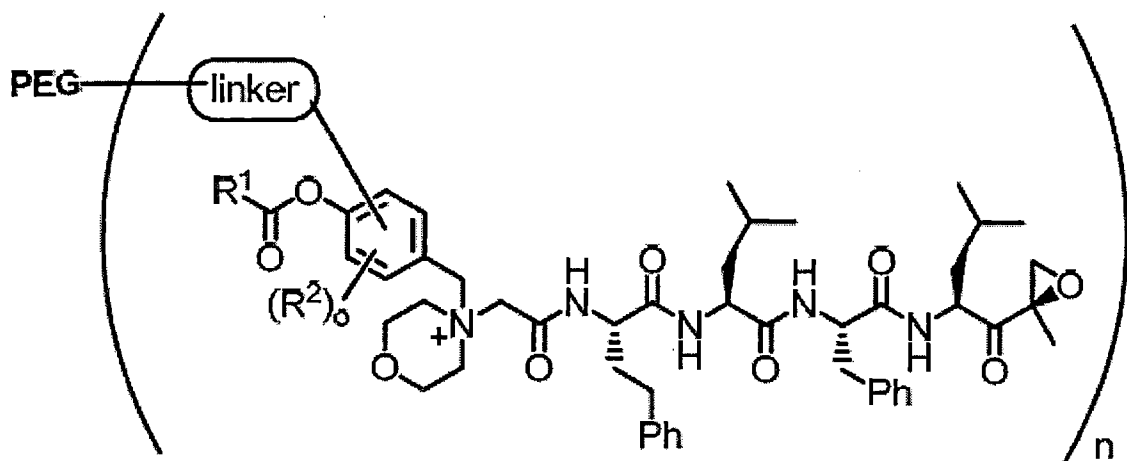


式 I

其中  $R^1$ 、 $R^2$ 、連接體、PEG、 $n$  及  $o$  如本文所定義。本發明亦提供製備及使用此等化合物來治療癌症且特定言之治療包括多發性骨髓瘤在內之血液學惡性腫瘤之方法。

## 【英文】

The present invention provides polymeric pegylated carfilzomib compounds, and pharmaceutically acceptable salts thereof, of Formula I



Formula I

wherein  $R^1$ ,  $R^2$ , linker, PEG,  $n$  and  $o$  are as defined herein. The invention also provides methods of making and using these compounds to treat cancer, and particularly to treat hematological malignancies including multiple myeloma.



# 發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

## 【發明名稱】(中文/英文)

聚乙二醇化卡非佐米化合物

PEGYLATED CARFILZOMIB COMPOUNDS

## 【技術領域】

【0001】 本發明係關於聚乙二醇化卡非佐米化合物、包含該等化合物之醫藥組合物及其用於治療癌症之方法及用途，該癌症包括血液學惡性腫瘤(諸如多發性骨髓瘤)及實體腫瘤。

## 【先前技術】

【0002】 癌症為全世界最廣泛疾病之一及主要死亡原因。僅在美國，癌症為第二大死亡原因，僅被心臟病超過。癌症之特徵通常在於正常細胞過程之失調或未調節細胞增殖。

【0003】 多發性骨髓瘤(MM)為源於漿細胞之進行性且惡性贅瘤類型之癌症。其特徵在於骨髓內惡性漿細胞之異常積聚，且其佔所有血液學癌症之大約 13% (Palumbo 及 Anderson, 2011)。在美國，在 2015 年預期約 26,850 個新病例經診斷患有 MM，且預期約 11,240 人死於該疾病(ACS, 2015)。在美國，MM 之發病率已歸因於一般人群之增加的預期壽命而穩定地增加 (Warren 等人, 2013)。該疾病最通常影響老年人群，其中中值發病年齡大約為 69 歲(Howlander 等人, 2013 ; ACS, 2015)。

【0004】 MM 管理之治療目標在於提供症狀減輕、實現疾病控制及提供延長緩解(Kurtin, 2013)。慣常地，高劑量化學治療劑(美法侖、長春新鹼、環磷醯胺、阿黴素、脂質體阿黴素、苯達莫司汀)、隨後自體幹細胞移植(ASCT)之組合已用於治療年輕、初治及體檢合格患者(不足 65 歲) (Palumbo 等人, 2011)。年齡、合併症病狀及老年醫學評估為決定患者有資格耐受高劑量療法(HDT)、隨後 ASCT 之主要準則(Palumbo 等人, 2014)。關於無資格用於 HDT 及 ASCT 之老年患者，美法侖加上強體松已為數十年來之標準療法 (Palumbo 等人, 2011 ; Rodríguez 等人, 2012)。在最近十年期間，MM 之治療程序經歷了藉由引入新穎免疫調節劑(諸如沙利度胺、來那度胺及泊馬度胺)

及靶向蛋白酶體抑制劑(硼替佐米及卡非佐米)實現之範例改變(Richardson 等人, 2007 ; Dmoszyńska, 2008 ; Gupta 等人, 2013)。

【0005】 卡非佐米為選擇性地且不可逆地結合於組成性蛋白酶體及免疫蛋白酶體之四肽環氧酮蛋白酶體抑制劑。更特定言之，該環氧酮親電子彈頭結合於該蛋白酶體蛋白之  $\beta 5$  次單元的催化性酰胺酸殘基。CFZ 充分耐受可接受之毒性型態。卡非佐米、多形形式、製造方法、調配物、其用途及其他卡非佐米屬性描述於 US20050245435、US20140105921 及 PCT 公開案 WO2006017842、WO2009045497、WO2014169897、WO2013169282、WO2014011695、WO2006063154、WO2014015016 及 WO2010048298 中，該等文獻之各說明書由此以引用之方式整體併入本文中。

【0006】 卡非佐米已在具有復發性且難治性 MM 之患者及新近經診斷患有 MM 之患者中顯示振奮人心的反應率。為此，卡非佐米最初在 2012 年 7 月獲批(Kyprolis®)作為單一試劑療法用於治療具有復發性且難治性 MM 之患者。最近，Kyprolis 獲批與來那度胺及地塞米松組合(2015 年 7 月)且與地塞米松組合(2016 年 1 月)用於治療已接受第一線至第三線療法之具有復發性且難治性 MM 之患者。關於卡非佐米之獲批治療方案在於藉由輸注經短暫 10 分鐘時期或經較慢、較長 30 分鐘持續時間將其投與至患者。此輸注為在 28 日週期中，每週連續 2 日發生，持續連續三週。因此，為了遵守此治療方案，患者需要每週兩次在連續日子驅車或乘車至授權藥物投與中心，諸如醫生辦公室、診所或醫院，其中卡非佐米可適當地且安全地經投與。對一些患者而言，此舉可為不方便或不實際的，或可簡單地為負擔，從而增加對開具處方之卡非佐米治療方案之完整且完全過程的順應性降低或減少之可能性，或甚至完全無順應性。

【0007】 卡非佐米在人類中快速地代謝且清除。卡非佐米(一種小型四肽化合物)在人類中展現約 60 分鐘或更短之活體內短暫半衰期。一種卡非佐米清除機制係經由肝血流，導致卡非佐米之相對簡短半衰期。具有短暫半衰期或快速清除之藥物產品一般而言傾向於展現降低之靶標覆蓋，導致減少及/或縮短之生物抑制活性。為了克服該等不足，典型地投與額外藥物以在生物作用位點處提供更多藥物及延長功效。因此，卡非佐米之快速清

除及每週兩次給藥頻率為功效、遞送及/或患者順應性之可能改良留下空間。

【0008】 目前獲批之卡非佐米(Kyprolis®)為包含磺丁基醚  $\beta$  環糊精(SBEC D)及檸檬酸鈉緩衝液之無菌凍乾調配物。該凍乾物用無菌水復原，且輸注或注射至患者中。該 SBEC D 賦形劑主要充當卡非佐米之增溶添加劑，且與卡非佐米形成複合物，由此改良卡非佐米水溶性。

【0009】 史實已披露，解決藥物產品之弱點的嘗試已導致製備此等醫藥化合物之替代形式，包括產生前藥型式，以嘗試增強其藥物  $pK_a$  及/或 PD 特性。例如，Greenwald 等人揭示了含胺化合物之前藥(*J. Med. Chem.*, 1999, 42, 3657-3667)。WO2005063777 揭示了用於治療肺部發炎之磷酸苯甲酯及經取代磷酸苯甲酯前藥。WO20090152160 揭示了用於治療動脈高血壓之卡巴前列環素及前列環素前藥。美國專利公開案第 20040100225 號揭示了伊馬替尼之醯氧基甲基前藥(Gleevec®)。又，PCT 公開案 WO2011084846 揭示了利培酮之醯氧基甲基前藥。此等前藥揭示內容教示了烷基-醯氧基甲基連接之前藥。另一實例美國專利申請公開案第 US20140105921 號描述了卡非佐米及其他環氧酮蛋白酶體抑制劑前藥，該等前藥具有連接該抑制劑至聚乙二醇單元(PEG)之醯氧基甲基連接體。然而，已發現此等卡非佐米前藥化合物在活體內代謝期間釋放亞甲基醯副產物，該等副產物可潛在地有毒且可提供安全風險。為此，將需要鑒別卡非佐米之替代形式及/或替代方式以遞送活性醫藥成分卡非佐米至患者，同時保持或可能改良目前獲批卡非佐米治療之功效及/或安全性。

### 【發明內容】

【0010】 本發明提供向患者遞送治療性抗癌益處、同時維持可相當或較長卡非佐米血漿濃度及蛋白酶體暴露之新穎聚合物卡非佐米化合物，亦即卡非佐米之經修飾結構。為此，此等聚合物卡非佐米化合物提供可與目前獲批卡非佐米環糊精 IV 調配物之蛋白酶體抑制活性相當的蛋白酶體抑制活性。

【0011】 特定言之，本發明提供聚乙二醇化卡非佐米化合物，其具有改良水溶性；且其適用於治療多種類型之癌症，包括而不限於多發性骨髓瘤。更特定言之，此處所提供之聚乙二醇化化合物維持或展現合適生物可



用性且降低或完全地消除對諸如磺丁基醚- $\beta$ -環糊精之增溶賦形劑或試劑之需求。本發明進一步提供一種製備該等聚乙二醇化卡非佐米化合物之方法、包含該等化合物之醫藥組合物及使用該等化合物及組合物治療多種形式之癌症(諸如多發性骨髓瘤)的方法。

**【0012】** 在本發明之一態樣中, 本文所述之聚乙二醇化卡非佐米化合物包括一或多種共價連接之 PEG 部分, 該等部分(i)當與不含該等聚合物部分的相應獲批卡非佐米產品相比時可向卡非佐米賦予增強之溶解性、滲透性、藥物動力學(pK)及/或藥效學(PD)特性; 及(ii)在投與至個體之後可活體內裂解或經移除, 由此進一步提供游離卡非佐米, 該卡非佐米已證明安全性及功效性能以治療多種癌症, 包括而不限於多發性骨髓瘤。

**【0013】** 由本發明提供之聚乙二醇化卡非佐米化合物進一步提供潛在益處, 包括而不限於當與目前獲批卡非佐米產品相比時延長釋放從而允許降低之給藥頻率、較低 C 最大及因而可能降低副作用。本發明化合物之改良安全型態亦可由增強之水溶性引起, 該水溶性可能促進目前獲批之輸注投與模式之替代投與模式, 諸如皮下投與。本發明之聚乙二醇化卡非佐米化合物之經修飾 pK 及/或生物分佈型態可導致治療癌症之改良功效, 該等癌症包括而不限於多發性骨髓瘤及實體腫瘤。此外, 本發明之聚乙二醇化卡非佐米化合物提供具有潛在改良之化學及溫度穩定性、較低給藥體積及消除凍乾步驟(用於目前獲批卡非佐米藥物產品之製造程序的一部分)之潛力之調配選項。

#### **【圖式簡單說明】**

**【0014】** 圖 1 為藉由人類血漿中數種所例示之聚乙二醇化卡非佐米化合物與游離卡非佐米之比率產生的曲線圖(代表人類 pK);

**【0015】** 圖 2 為反映大鼠血漿中之代表性聚乙二醇化卡非佐米化合物之 pK 的圖;

**【0016】** 圖 3 為卡非佐米及化合物實例 1 對血液、腎上腺、心臟及肝組織中之胰凝乳蛋白酶樣蛋白酶體活性之影響的圖示說明;

**【0017】** 圖 4 為本發明之實例 13、26 及 34 之平均卡非佐米血漿濃度隨時間之圖示說明;

【0018】 圖 5 為說明在小鼠異種移植瘤模型中實例 13 對 CFZ-磺丁基醚  $\beta$  環糊精調配物之功效的圖；

【0019】 圖 6 為來自圖 5 中所說明之研究的小鼠存活之圖示說明；

【0020】 圖 7 為說明在小鼠異種移植瘤模型中實例 13 對 CFZ-磺丁基醚  $\beta$  環糊精調配物之第二功效研究的圖；

【0021】 圖 8 為實例 23 之 NMR 譜圖；

【0022】 圖 9 為卡非佐米之細胞 CT-L 活性之圖；

【0023】 圖 10 為化合物實例 5 之細胞 CT-L 活性之圖；

【0024】 圖 11 為化合物實例 35 之細胞 CT-L 活性之圖；

【0025】 圖 12 為化合物實例 36 之細胞 CT-L 活性之圖；

【0026】 圖 13 為化合物實例 37 之細胞 CT-L 活性之圖；

【0027】 圖 14 為化合物實例 38 之細胞 CT-L 活性之圖；及

【0028】 圖 15 為化合物實例 35 及 36 之活體內 CT-L 活性之圖。

#### 【實施方式】

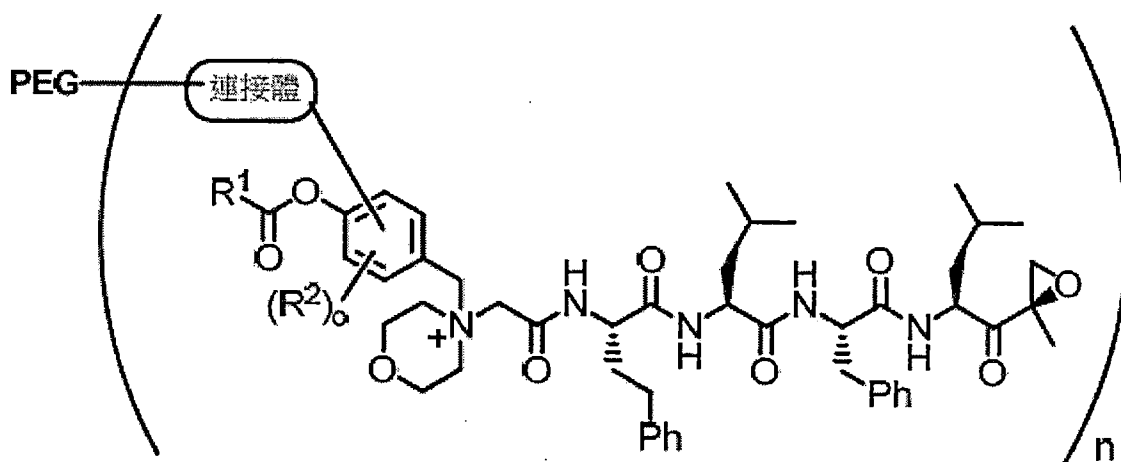
【0029】 本發明提供新穎聚乙二醇化卡非佐米化合物、包含該等化合物之醫藥組合物、製備該等化合物之方法及該等化合物及包括該等化合物之組合物用於治療癌症之用途，包括治療血液學惡性腫瘤(諸如多發性骨髓瘤、淋巴瘤、白血病)及治療諸如實體腫瘤之其他癌症。特定言之，聚乙二醇(PEG)連接之卡非佐米之聚合物單元具有可與目前獲批 IV 投與之 Kyprolis® (卡非佐米)相當或改良之多種藥物動力學(pK)及/或藥效學(PD)特性。

【0030】 卡非佐米為尤其描述於美國專利第 7,417,042 號及第 7,737,112 號中之環氧酮蛋白酶抑制劑。本發明所述之聚乙二醇化卡非佐米化合物(i)一般賦予相對於不含該等 PEG 部分之游離藥物卡非佐米增強之溶解性、滲透性、pK 及/或 PD 特性；及(ii)可活體內裂解，由此釋放自由活性藥物卡非佐米。在由本發明提供之實施例中，卡非佐米之 N 端「帽」(例如，N-嗎啉基帽)轉化為四級鹽(例如，藉由添加 N-醯氧基苯基甲基)。在一些實施例中，該四級鹽含有 PEG 部分。在一些實施例中，該等聚乙二醇化化合物可藉由 pH 改變及/或酶裂解，該等酶諸如但不限於酯酶、細胞色素 P450、

磷酸二酯酶、磷醯胺酶、磷酸酶及 DT-黃遞酶、或其任何組合。在一些實施例中，該 PEG 為線性 PEG。在一些實施例中，該 PEG 為雙官能 PEG，其可結合每個 PEG 1-2 種化合物。在一些實施例中，該 PEG 為四臂 PEG，其可結合每個 PEG 1-4 種化合物。在一些實施例中，該 PEG 為具有六聚甘油核心之八臂 PEG，其可結合每個 PEG 1-8 種化合物。在一些實施例中，該 PEG 為具有三新戊四醇核心之八臂 PEG，其可結合每個 PEG 1-8 種化合物。在一些實施例中，該 PEG 為分支兩臂 PEG。在一些實施例中，該 PEG 為分支四臂 PEG。另外，該等化合物可進一步包括增溶劑、滲透增強劑、遮蔽劑、巨分子載劑、靶向部分及改良半衰期及疾病特異性之生物製劑，其直接地連接於該化合物或經由間隔劑部分間接地連接。

【0031】 術語「態樣」及實施例」在本文中可互換使用。

【0032】 在本發明之態樣 1 中，本發明提供一種具有式 I 結構之聚乙二醇化卡非佐米化合物



式 I

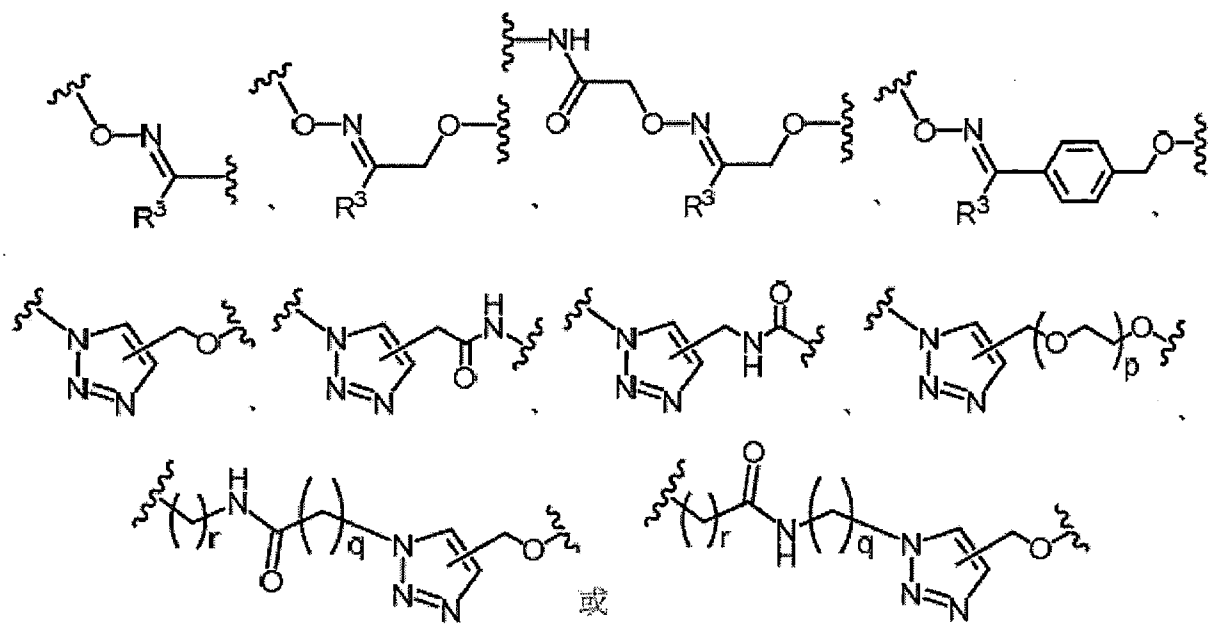
或其醫藥學上可接受之鹽，其中

$R^1$  為  $C_{1-10}$  烷基或  $C_{3-7}$  環烷基；

各  $R^2$  獨立地為  $C_{1-6}$  烷基、 $-OCH_3$  或鹵素；

$o$  為選自 0、1、2 或 3 之整數；

連接體為具有以下結構之部分



其中  $R^3$  為 H 或  $CH_3$  ;

$n$  為選自 1、2、3 或 4 之整數 ;

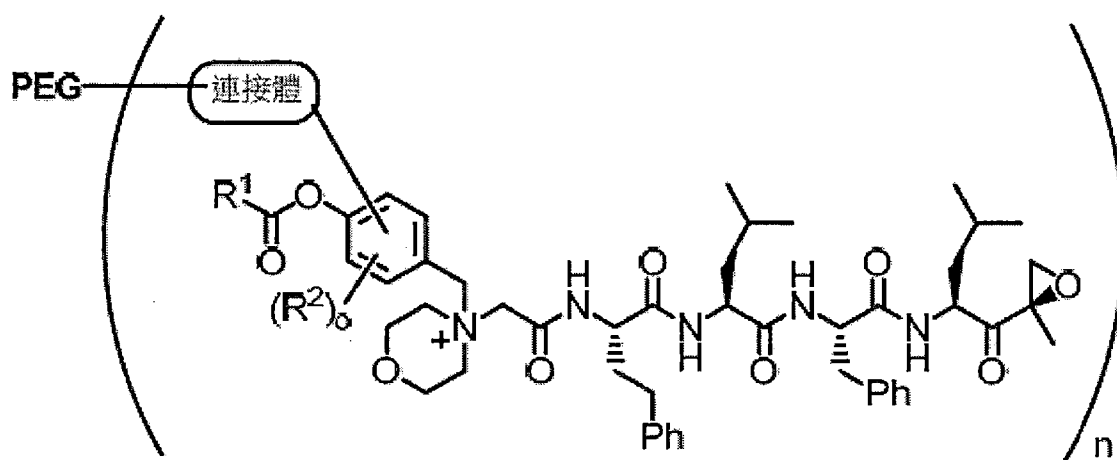
$p$  為選自 0、1、2、3 或 4 之整數 ;

$q$  為選自 1、2、3、4、5、6、7、8 或 9 之整數 ;

$r$  為選自 0、1、2、3、4 或 5 之整數 ; 及

PEG 為具有介於約 500 至約 20,000 範圍內之分子量的聚乙二醇聚合物部分。

【0033】 在本發明之態樣 1a 中，本發明提供一種具有式 I 結構之聚乙二醇化卡非佐米化合物



式 I

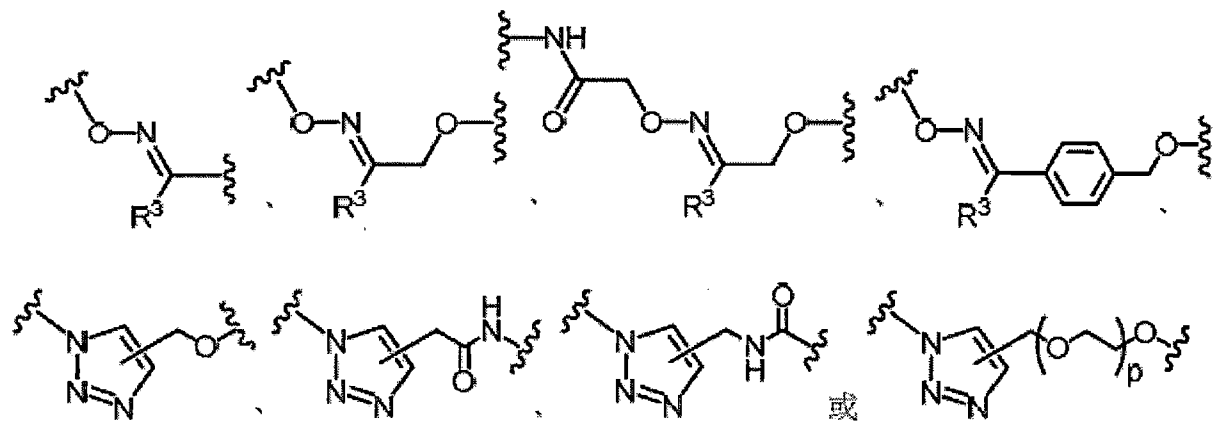
或其醫藥學上可接受之鹽，其中

$R^1$  為  $C_{1-10}$  烷基或  $C_{3-7}$  環烷基；

各  $R^2$  獨立地為  $C_{1-6}$  烷基、 $-OCH_3$  或鹵素；

$o$  為選自 0、1、2 或 3 之整數；

連接體為具有以下結構之部分



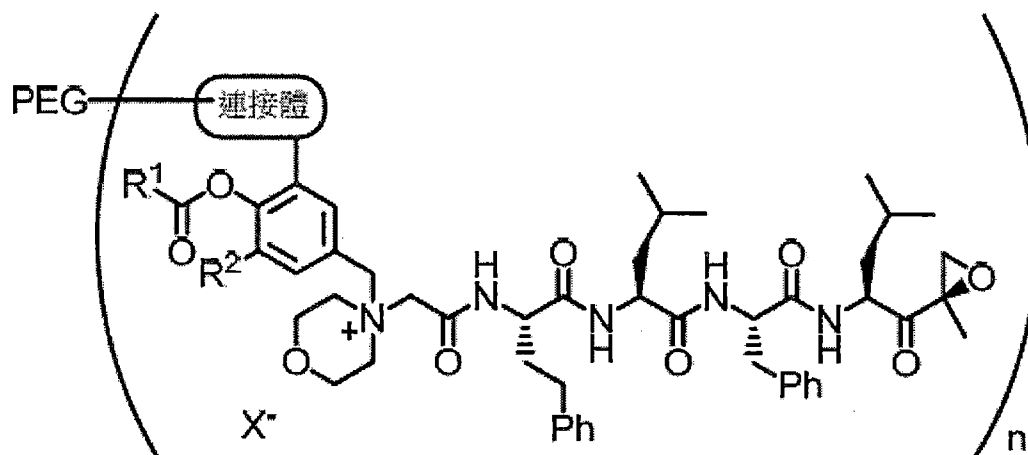
其中  $R^3$  為 H 或  $CH_3$ ；及

$p$  為選自 0、1、2、3 或 4 之整數；

$n$  為選自 1、2、3 或 4 之整數；及

PEG 為具有介於約 500 至約 20,000 範圍內之分子量的聚乙二醇聚合物部分。

【0034】 在本發明之態樣 2 中，本發明提供具有式 II 結構之聚乙二醇化卡非佐米化合物



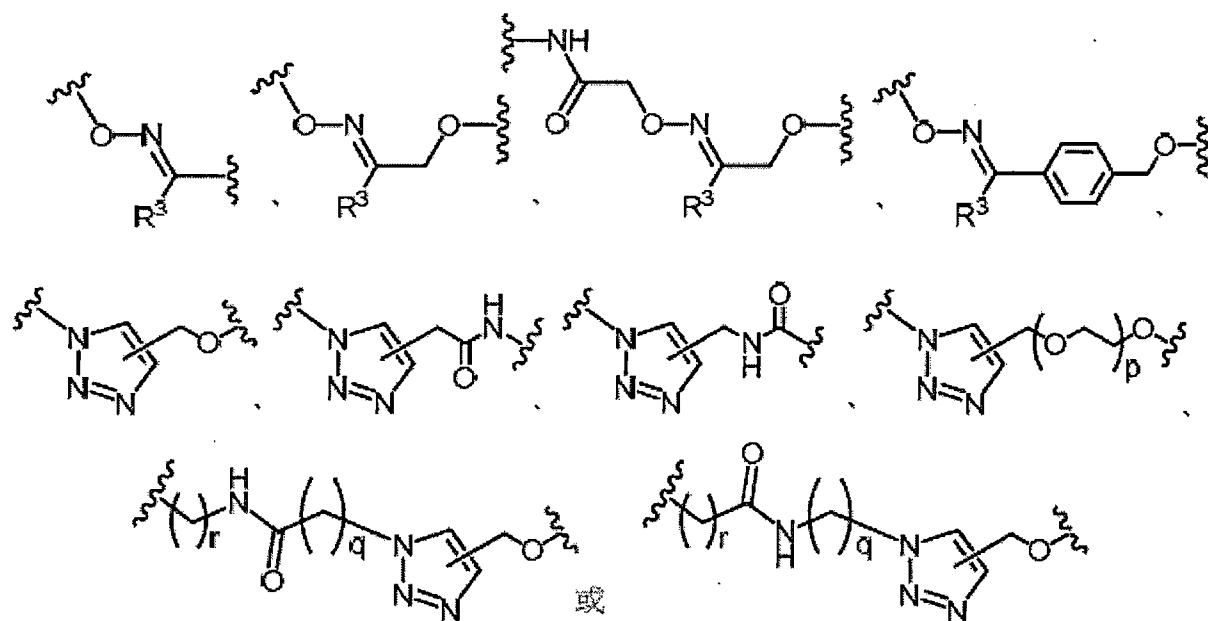
式 II

其中

$R^1$  為  $C_{1-10}$  烷基或  $C_{3-7}$  環烷基；

$R^2$  為  $C_{1-6}$  烷基、 $-OCH_3$  或鹵素；

連接體為具有以下結構之部分



其中  $R^3$  為 H 或  $CH_3$  ;

$n$  為選自 1、2、3 或 4 之整數 ;

$p$  為選自 0、1、2、3 或 4 之整數 ;

$q$  為選自 1、2、3、4、5、6、7、8 或 9 之整數 ;

$r$  為選自 0、1、2、3、4 或 5 之整數 ;

X 為選自氯化物、硫酸氫鹽、硫酸鹽、硝酸鹽、磷酸鹽、烷基-磺酸鹽或芳基-磺酸鹽之相對離子鹽 ; 及

PEG 為具有介於約 2000 至約 20,000 範圍內之分子量的聚乙二醇聚合物部分。

【0035】 在本發明之態樣 3 中，本發明提供態樣 1、1a 及 2 之化合物，其中  $R^1$  為  $C_{1-10}$  烷基。

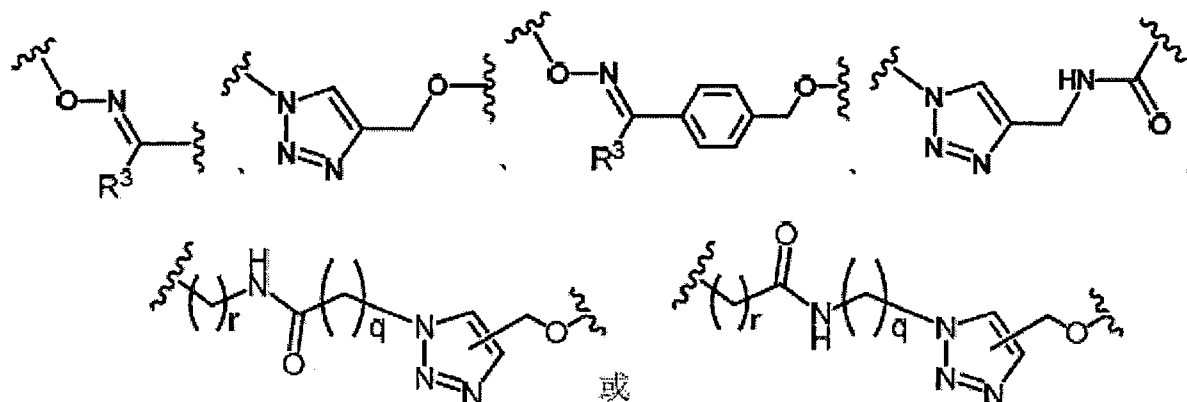
【0036】 在本發明之態樣 4 中，本發明提供態樣 1、1a、2 及 3 中任一者之化合物，其中各  $R^2$  獨立地為 H、 $CH_3$  或鹵素。

【0037】 在本發明之態樣 5 中，本發明提供態樣 1、1a、2、3 及 4 中任一者之化合物，其中各  $R^2$  獨立地為 H、 $CH_3$ 、Cl 或 F。

【0038】 在本發明之態樣 5a 中，本發明提供態樣 1、1a、2、3 及 4 中任一者之化合物，其中各  $R^2$  獨立地為 H、 $CH_3$  或 F。

【0039】 在本發明之態樣 6 中，本發明提供態樣 1、1a、2、3、4 及

5 中任一者之化合物，其中該連接體為具有以下結構之部分

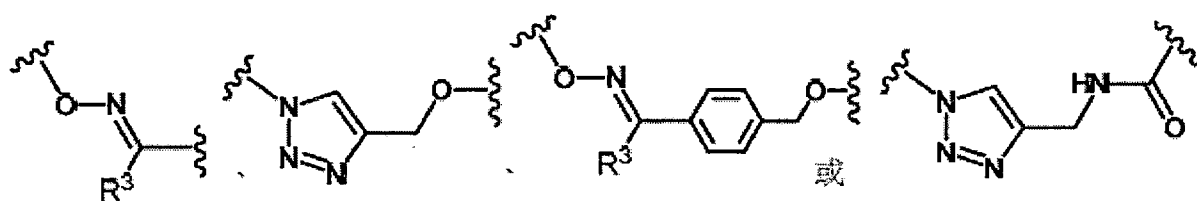


其中  $R^3$  為 H 或  $CH_3$  ；

$q$  為選自 1、2、3、4 或 5 之整數；及

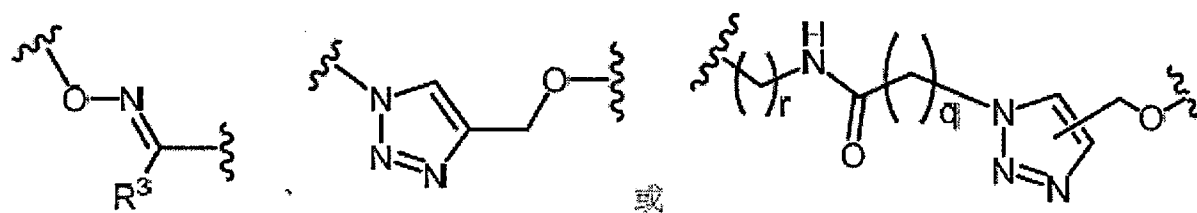
$r$  為選自 0、1、2、3 或 4 之整數。

【0040】 在本發明之態樣 6a 中，本發明提供態樣 1、1a、2、3、4 及 5 中任一者之化合物，其中該連接體為具有以下結構之部分



其中  $R^3$  為 H 或  $CH_3$  。

【0041】 在本發明之態樣 7 中，本發明提供態樣 1、1a、2、3、4、5 及 7 中任一者之化合物，其中該連接體為

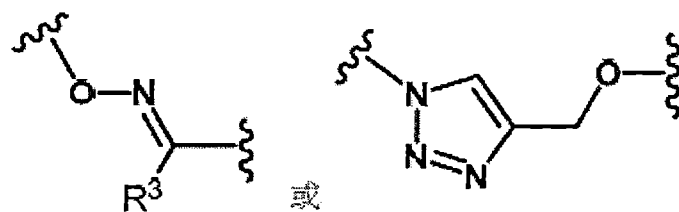


其中  $R^3$  為 H 或  $CH_3$  ；

$q$  為 4；及

$r$  為 2。

【0042】 在本發明之態樣 7a 中，本發明提供態樣 1、1a、2、3、4、5 及 7 中任一者之化合物，其中該連接體為

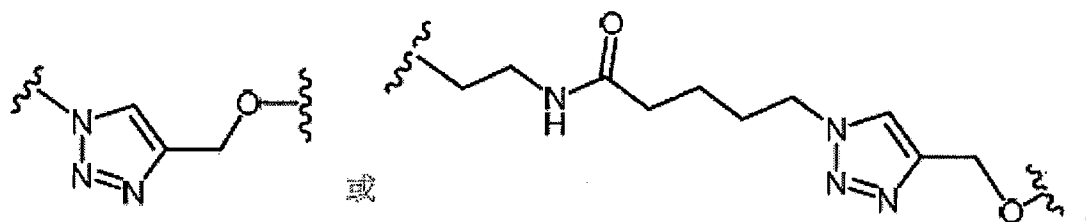


其中  $R^3$  為 H 或  $CH_3$ 。

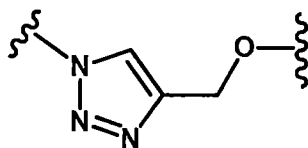
【0043】 在本發明之態樣 8 中，本發明提供態樣 1、1a、2、3、4、6、6a、7 及 7a 中任一者之化合物，其中  $R^3$  為 H。

【0044】 在本發明之態樣 9 中，本發明提供態樣 1-8 中任一者之化合物，其中  $R^1$  為甲基、乙基、丙基、異丙基、丁基、第三丁基、戊基、己基或庚基。

【0045】 在本發明之態樣 10 中，本發明提供態樣 1-9 中任一者之化合物，其中  $R^1$  為甲基、乙基、丙基、異丙基、丁基、第三丁基、戊基、己基或庚基；且該連接體為



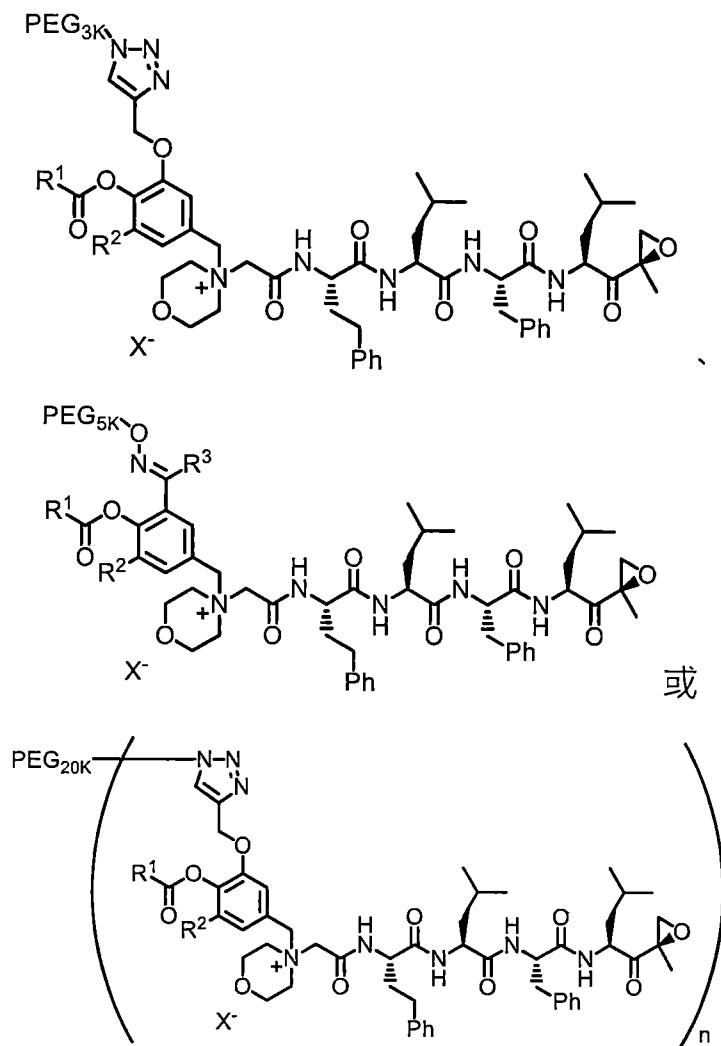
【0046】 在本發明之態樣 10a 中，本發明提供態樣 1-9 中任一者之化合物，其中  $R^1$  為甲基、乙基、丙基、異丙基、丁基、第三丁基、戊基、己基或庚基；且該連接體為



【0047】 應注意在態樣 1、1a、2 及態樣 3-10 中，術語「或其醫藥學上可接受之鹽」可包括四級氮陽離子電荷之相對離子鹽，諸如態樣 2 之式 II 中所說明者，或下文態樣 11-24 中所說明之彼等鹽。進一步，應注意預期術語「態樣 1-X 中任一者」亦包括本文所揭示之 1-X 之所有子態樣，包括而不限於子態樣 1a、5a、6a、7a 及 10a。

【0048】 在本發明之態樣 11 中，本發明提供根據態樣 1-10 中任一者之聚乙二醇化卡非佐米化合物，其具有以下結構





其中  $R^1$  為  $C_{1-10}$  烷基；

$R^2$  為  $C_{1-6}$  烷基、 $-OCH_3$  或鹵素；

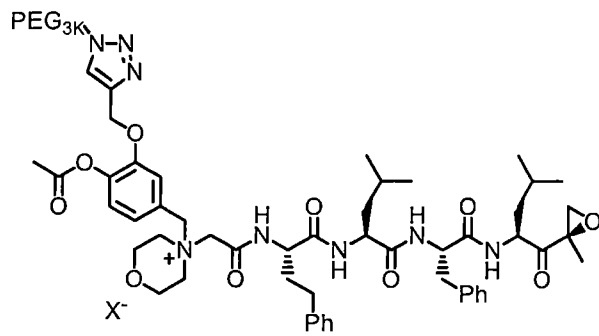
$R^3$  為 H 或  $CH_3$ ；

$X^-$  為選自氯化物陰離子及烷基-磺酸鹽陰離子之相對陰離子；

$n$  為 4；及

PEG 為具有介於約 2000 至約 20,000 範圍內之分子量的聚乙二醇聚合物部分。

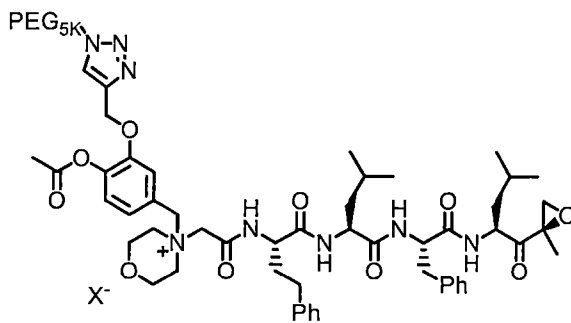
【0049】 在本發明之態樣 12 中，本發明提供態樣 1-11 中任一者之化合物，其中該化合物為



，其中 X 為鹵化物、磺酸鹽或烷基

基-磺酸鹽相對離子鹽。

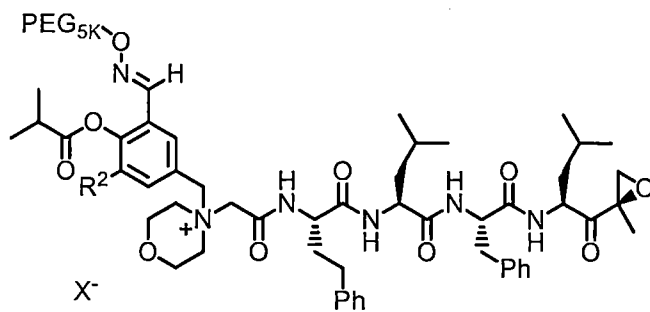
【0050】 在本發明之態樣 12a 中，本發明提供態樣 1-11 中任一者之化合物，其中該化合物為



，其中 X 為鹵化物、磺酸鹽或烷基

-磺酸鹽相對離子鹽。

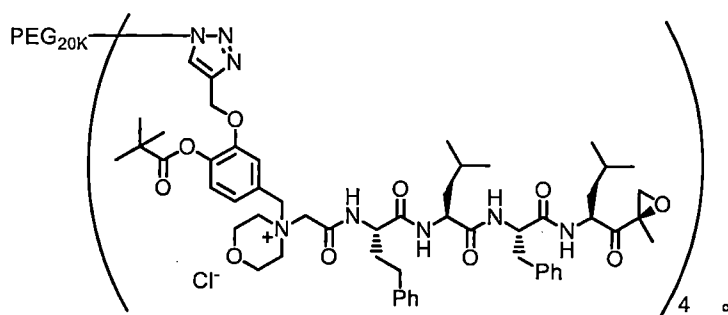
【0051】 在本發明之態樣 13 中，本發明提供態樣 1-11 中任一者之化合物，其中該化合物為



，其中 X 為鹵化物、磺酸鹽或

烷基-磺酸鹽相對離子鹽。

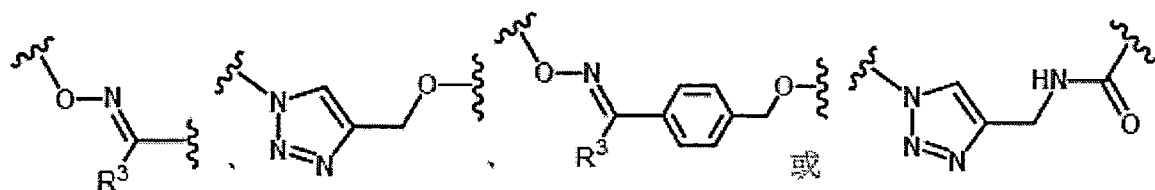
【0052】 在本發明之態樣 14 中，本發明提供態樣 1-11 中任一者之化合物，其中該化合物為



【0053】 在本發明之態樣 15 中，本發明提供態樣 1 及 2 中任一者之化合物，其中  $R^1$  為甲基、乙基、丙基、異丙基、丁基、第三丁基、戊基、己基或庚基；

各  $R^2$  獨立地為  $CH_3$  或鹵素；

連接體為具有以下結構之部分



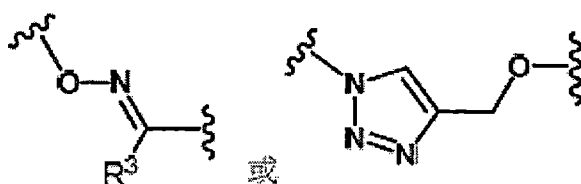
其中  $R^3$  為 H 或  $CH_3$ ；及

PEG 為具有 2000、3000、5000 或 20,000 之分子量的聚乙二醇聚合物部分。

【0054】 在本發明之態樣 16 中，本發明提供態樣 15 之化合物，其中  $R^1$  為甲基、乙基、丙基、異丙基、丁基、第三丁基、戊基、己基或庚基；

各  $R^2$  獨立地為  $CH_3$ ；

連接體為具有以下結構之部分

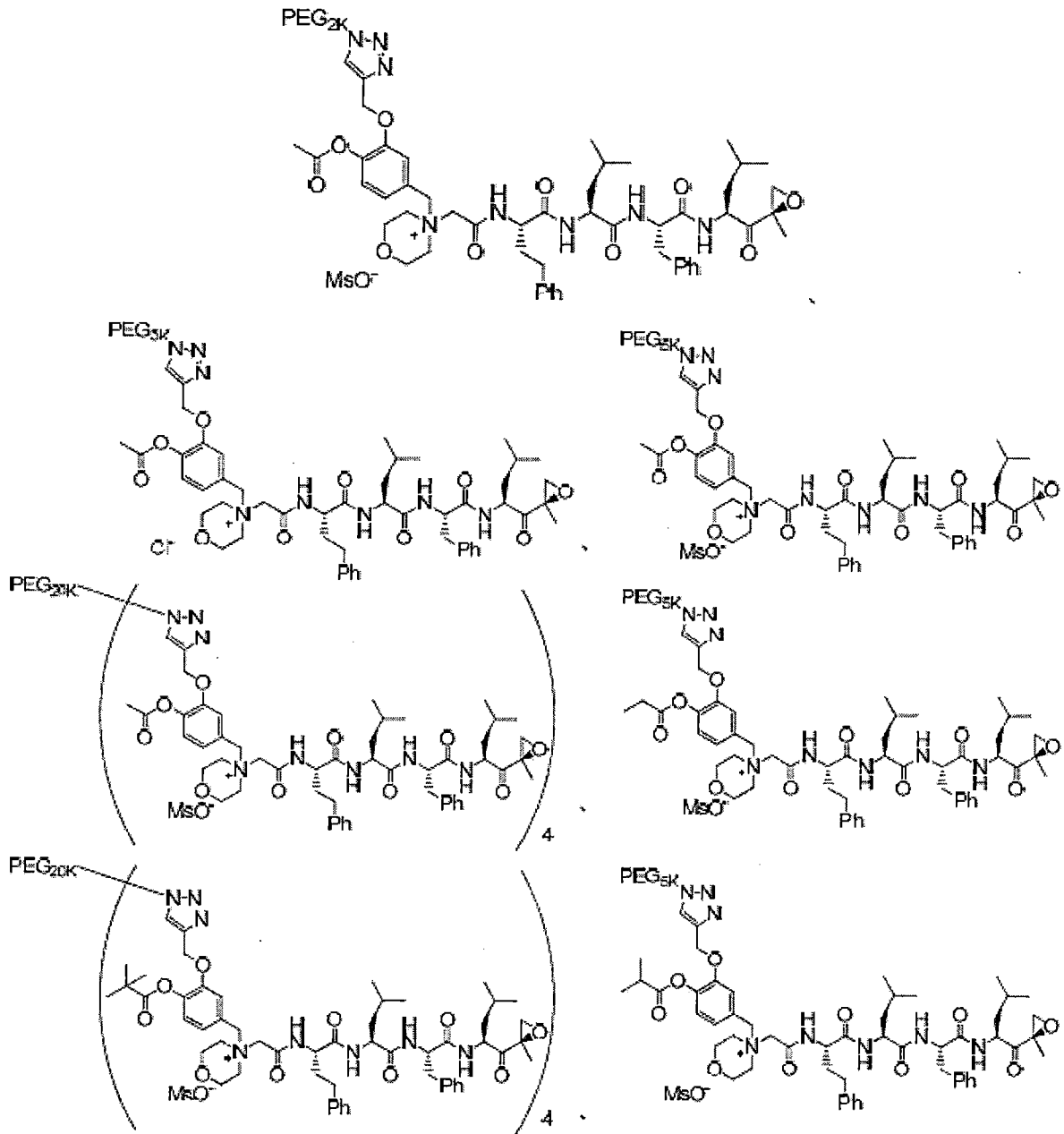


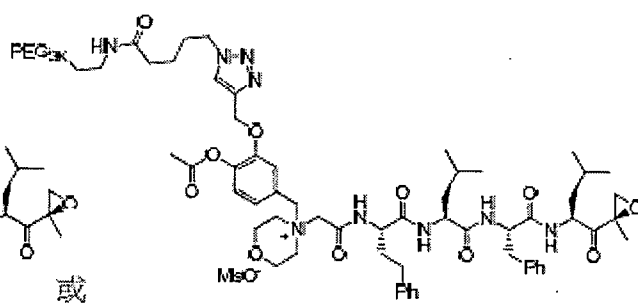
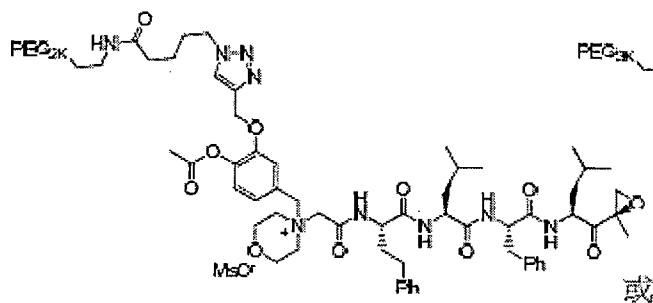
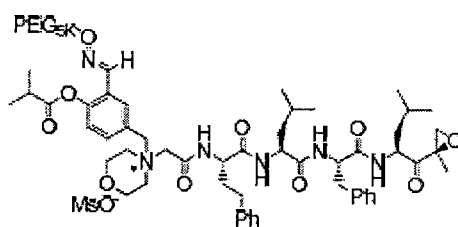
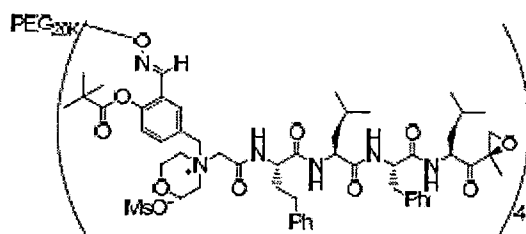
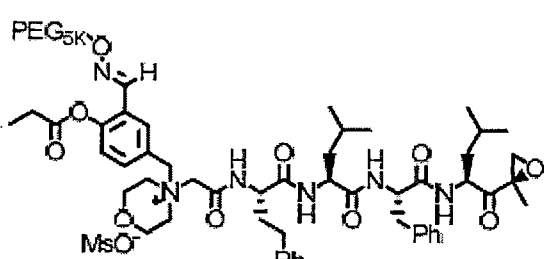
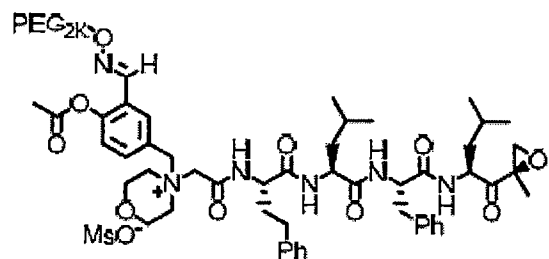
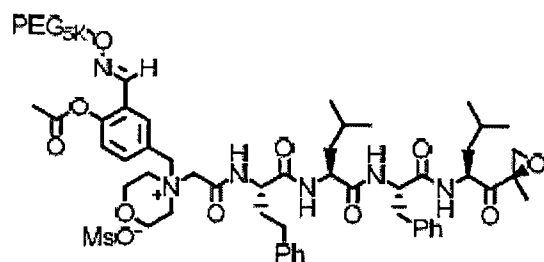
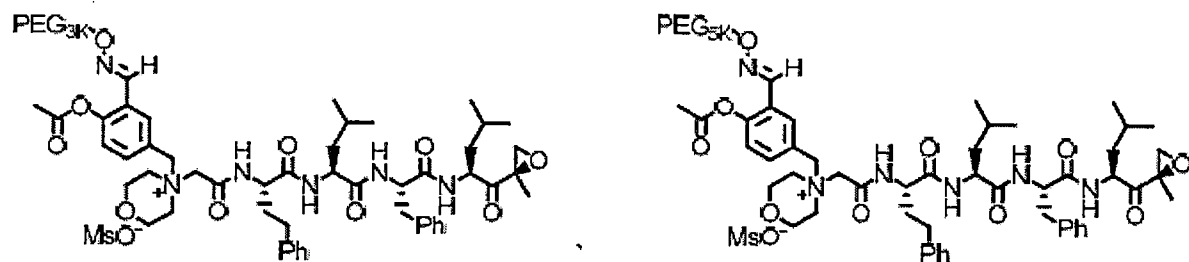
其中  $R^3$  為 H；及

PEG 為具有 3000、5000 或 20,000 之分子量的聚乙二醇聚合物部分。

【0055】 在本發明之態樣 17 中，本發明提供態樣 1-16 中任一者之化合物，其中該化合物為下文表 2 中所述之如實例 1-34 所表示之個別化合物，或其醫藥學上可接受之鹽。

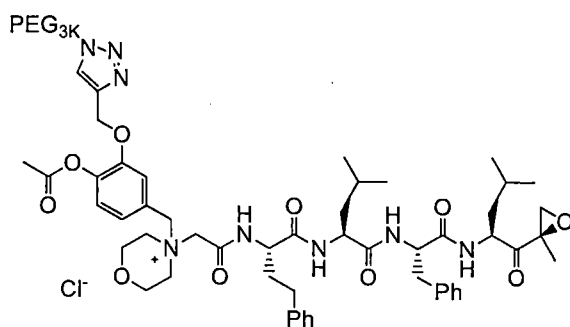
【0056】 在本發明之態樣 18 中，本發明提供態樣 1-17 中任一者之化合物，其中該化合物為



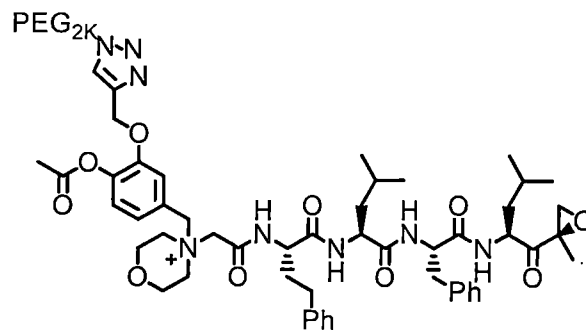


或其醫藥學上可接受之鹽。

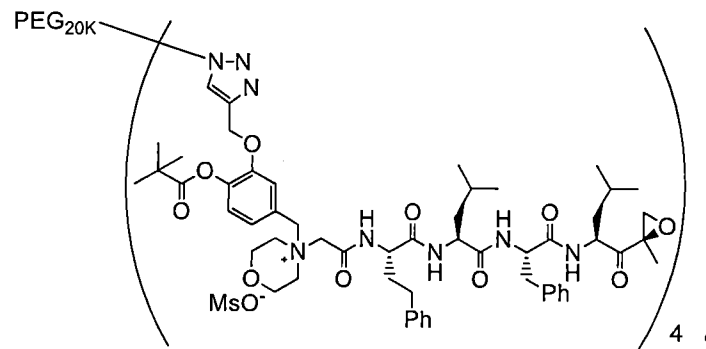
【0057】 在本發明之態樣 19 中，本發明提供態樣 1-18 中任一者之化合物，其中該化合物為



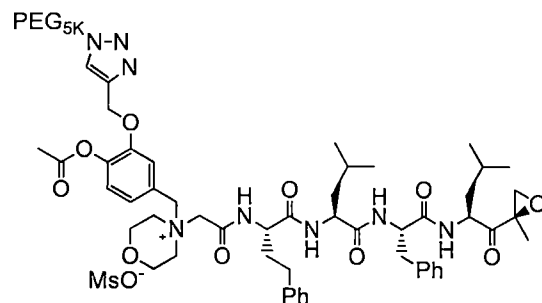
【0058】 在本發明之態樣 19a 中，本發明提供態樣 1-18 中任一者之化合物，其中該化合物為



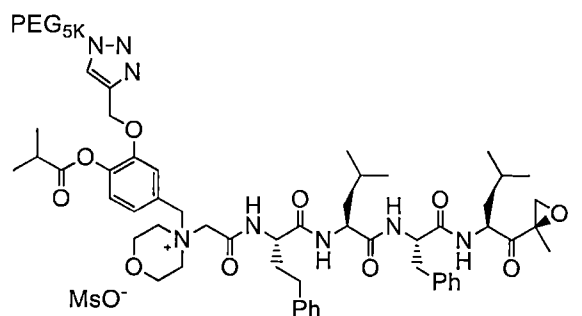
【0059】 在本發明之態樣 20 中，本發明提供態樣 1-18 中任一者之化合物，其中該化合物為



【0060】 在本發明之態樣 21 中，本發明提供態樣 1-18 中任一者之化合物，其中該化合物為

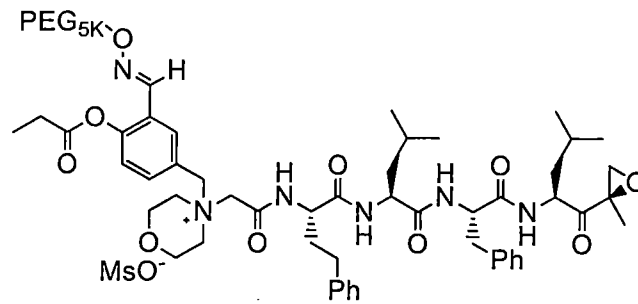


【0061】 在本發明之態樣 22 中，本發明提供態樣 1-18 中任一者之化合物，其中該化合物為

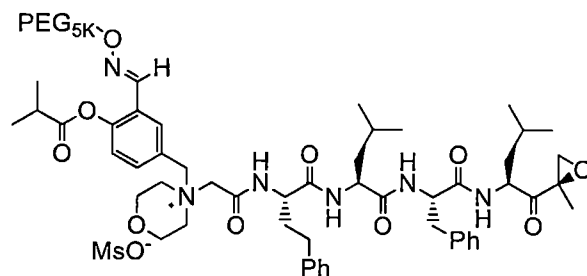


【0062】 在本發明之態樣 23 中，本發明提供態樣 1-18 中任一者之化

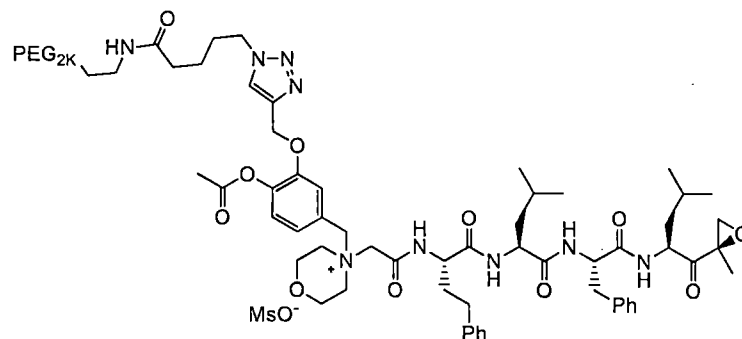
合物，其中該化合物為



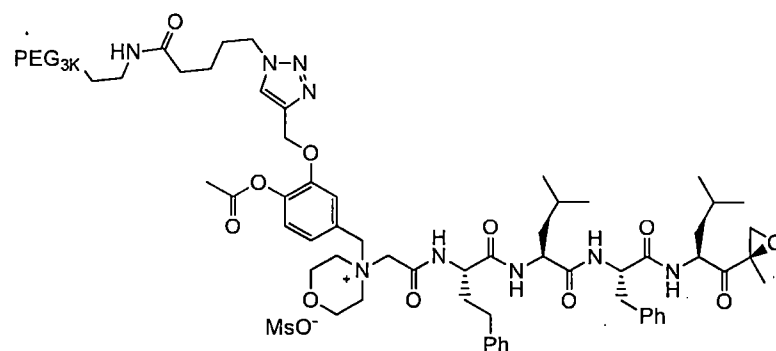
【0063】 在本發明之態樣 24 中，本發明提供態樣 1-18 中任一者之化合物，其中該化合物為



【0064】 在本發明之態樣 25 中，本發明提供態樣 1-18 中任一者之化合物，其中該化合物為



【0065】 在本發明之態樣 26 中，本發明提供態樣 1-18 中任一者之化合物，其中該化合物為



【0066】 在本發明之態樣 27 中，本發明提供態樣 1-16 中任一者之化合物，其中 PEG 具有介於約 2K 至約 20K 範圍內之重量。

【0067】 在本發明之態樣 28 中，本發明提供態樣 1-16 中任一者之化合物，其中 PEG 具有 3K、5K 或 20K 之重量。

【0068】 在本發明之態樣 29 中，本發明提供態樣 1-16 中任一者之化合物，該化合物為包含選自氯化物陰離子、硫酸氫鹽陰離子、硫酸鹽陰離子、硝酸鹽陰離子、磷酸鹽陰離子、烷基-磺酸鹽陰離子或芳基-磺酸鹽陰離子之相對陰離子的醫藥學上可接受之鹽。

【0069】 在本發明之態樣 30 中，本發明提供態樣 29 之化合物，其中該相對陰離子為氯化物陰離子或烷基-磺酸鹽陰離子。

【0070】 在本發明之態樣 31 中，本發明提供態樣 29 之化合物，其中該相對陰離子為氯化物陰離子或甲烷-磺酸鹽陰離子。

【0071】 在本發明之態樣 32 中，本發明提供一種醫藥組合物，其包含根據態樣 1-26 中任一者之化合物及醫藥學上可接受之賦形劑、載劑或稀釋劑。

【0072】 在本發明之態樣 33 中，本發明提供態樣 32 之醫藥組合物，其經口投與或可藉由輸注或注射非經腸投與。

【0073】 在本發明之態樣 34 中，本發明提供根據態樣 32-33 中任一者之醫藥組合物，其包含一或多種根據態樣 1-26 中任一者之化合物以及醫藥學上可接受之賦形劑、載劑或稀釋劑。

【0074】 在本發明之態樣 35 中，本發明提供根據態樣 32-34 中任一者之醫藥組合物，其包含至少兩種根據態樣 1-28 中任一者之化合物以及醫藥學上可接受之賦形劑、載劑或稀釋劑。

【0075】 在本發明之態樣 36 中，本發明提供一種治療多發性骨髓瘤之方法，該方法包含向有需要之患者投與治療有效量的態樣 1-31 中任一者之化合物或態樣 32-35 中任一者之醫藥組合物。

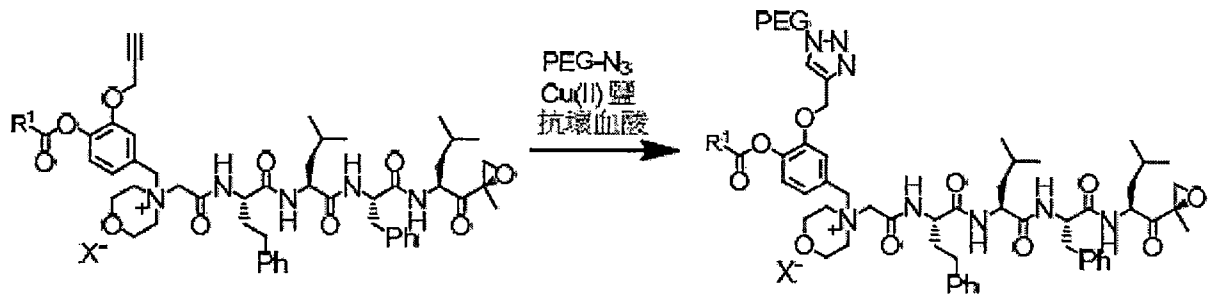
【0076】 在本發明之態樣 37 中，本發明提供態樣 34 之方法，其中該多發性骨髓瘤為復發性、難治性或復發性且難治性多發性骨髓瘤。

【0077】 在本發明之態樣 38 中，本發明提供態樣 36 之方法，其中該



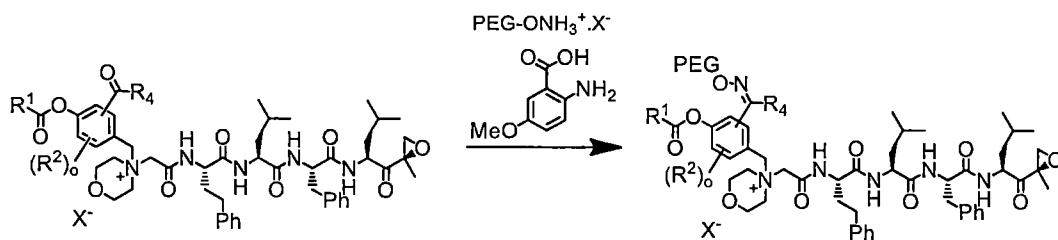
多發性骨髓瘤為新近診斷之多發性骨髓瘤。

【0078】 在本發明之態樣 39 中，本發明提供一種製備根據態樣 1-16 中任一者之化合物的方法，該方法包含以下步驟



其中 X-為選自由氯化物陰離子、硫酸氫鹽陰離子、硫酸鹽陰離子、硝酸鹽陰離子、磷酸鹽陰離子、烷基-磺酸鹽陰離子或芳基-磺酸鹽陰離子組成之群之相對離子鹽，且 PEG 具有介於約 2K 至約 20K 範圍內之重量，以製備式 I 化合物

【0079】 在本發明之態樣 40 中，本發明提供一種製備根據態樣 1 之式 I 化合物的方法，該方法包含以下步驟



其中

X-為氯化物陰離子、硫酸氫鹽陰離子、硫酸鹽陰離子、硝酸鹽陰離子、磷酸鹽陰離子、烷基-磺酸鹽陰離子或芳基-磺酸鹽陰離子之相對離子鹽；

PEG 具有介於約 2K 至約 20K 範圍內之重量；及

R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>4</sup> 及 o 如態樣 1 中所定義，以製備式 I 化合物。

【0080】 在其他態樣中，本發明提供具有式(SM)<sub>m</sub>-PEG 之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中各 SM 為獨立地選擇之如上文及本文中無論何處所定義之式 I 或式 II 化合物且在 n 個位置處連接於規定重量之 PEG，其中 n 為 2-10 (例如在態樣 14 之化合物中 n = 4；亦參見下文表 I)。

【0081】 在一些實施例中，卡非佐米嗎啉環之氮原子經如式 I 及 II 中所示之苯甲基酯部分取代，由此形成四級氮原子且其中與該四級氮原子

締合之正電荷由醫藥學上可接受之鹽離子(如本文中由 X-定義)平衡。

【0082】 在本發明之一些態樣中，本文所述之化合物當與該等相應環氧酮蛋白酶抑制劑相比時自身展現較低治療活性且當與該等相應環氧酮蛋白酶抑制劑相比時活體內展現增強之溶解性、滲透性、藥物動力學及/或藥效學特性。

【0083】 在本發明之一些態樣中，該聚合物部分或聚乙二醇部分藉由 pH 改變及/或酶自卡非佐米活性成分裂解，該等酶諸如但不限於酯酶、細胞色素 P450、磷酸二酯酶、磷醯胺酶、磷酸酶及 DT-黃遞酶、或其任何組合。

【0084】 在本發明之一些態樣中，該 PEG 為線性 PEG。在本發明之一些態樣中，該 PEG 為雙官能 PEG，其可結合每個 PEG 1-2 種化合物。在本發明之一些態樣中，該 PEG 為四臂 PEG，其可結合每個 PEG 1-4 種化合物。在本發明之一些態樣中，該 PEG 為具有六聚甘油核心之八臂 PEG，其可結合每個 PEG 1-8 種化合物。在本發明之一些態樣中，該 PEG 為具有三新戊四醇核心之八臂 PEG，其可結合每個 PEG 1-8 種化合物。在本發明之一些態樣中，該 PEG 為分支兩臂 PEG。在本發明之一些態樣中，該 PEG 為分支四臂 PEG。另外，該等化合物可進一步包括增溶劑、滲透增強劑、遮蔽劑、巨分子載劑、靶向部分及改良半衰期及疾病特異性之生物製劑，其直接地連接於該化合物或經由間隔劑部分間接地連接。

【0085】 雖然不希望受理論束縛，但有可能本發明化合物可暫時地遮蔽或部分遮蔽蛋白酶抑制活性，直至該等聚乙二醇化連接部分已裂解，從而釋放游離卡非佐米(經測試且監管批准之活性醫藥部分)至全身循環中，這可降低不需要之副作用，該等副作用可在其他方面與多種投與途徑有關。為此，本發明之聚乙二醇化卡非佐米化合物可充當卡非佐米之前藥。或者，由於該聚乙二醇化部分定位於卡非佐米四肽骨架結構之嗎啉末端附近，本發明化合物在聚乙二醇裂解之前可很好地具有活性蛋白酶抑制活性。

【0086】 本發明化合物之有益特性亦可促進皮下投與且展現例如超出四小時之卡非佐米半衰期。在本發明之態樣 41 中，本發明化合物之人類血漿半衰期長於 0.5 h。在本發明之態樣 42 中，該等化合物之人類血漿半衰期在 0.5 與 5 h 之間。在本發明之態樣 43 中，該化合物之人類血漿半衰期

長於 5 h。在本發明之態樣 44 中，該化合物之人類血漿半衰期在 5 與 100 h 之間。在本發明之態樣 45 中，該化合物之人類血漿半衰期長於 100 h。在本發明之態樣 46 中，該化合物之人類血漿半衰期在 100 與 836 h 之間。在本發明之態樣 47 中，該化合物之人類血漿半衰期在 200 與 300 h 之間。在本發明之態樣 48 中，該化合物之人類血漿半衰期為約 267 h。在本發明之態樣 49 中，該化合物之人類血漿半衰期長達 836 h。由於延長卡非佐米之半衰期，本發明在用卡非佐米治療時潛在地改良給藥以及患者便利性及順應性。

**【0087】** 在本發明之態樣 50 中，本發明提供一種醫藥組合物，其包括如本文中無論何處所述之 PEG 卡非佐米化合物及醫藥學上可接受之賦形劑、載劑或稀釋劑。

**【0088】** 在本文中稍後描述之本發明之其他態樣或實施例中，提供用於治療選自由癌症、自體免疫疾病、移植相關病狀、神經退化性疾病、纖維變性相關病狀、缺血相關病狀、感染(病毒性、寄生蟲性或原核)及與骨損失有關之疾病組成之群的疾病或病狀之方法，該方法包括向患者投與治療有效量的如本文中無論何處所述之化合物。在進一步態樣中，由本發明提供用於治療患者中之癌症(例如多發性骨髓瘤，例如復發性及/或難治性多發性骨髓瘤)的方法，該等方法包括向患者投與治療有效量之如本文所述之化合物。

**【0089】** 除非另外規定，否則本文所用之所有技術及科學術語均具有如本發明所屬領域之一般技術者通常所理解之相同意義。本文中描述用於本發明之方法及材料；亦可使用此項技術中已知之其他合適方法及材料。該等材料、方法及實例僅為說明性的，且不意欲為限制性的。本文所提及之所有公開案、專利申請案、專利、序列、資料庫入口及其他參考文獻均以引用之方式整體併入，就如同此處書寫一般。若有衝突，則將以本說明書(包括定義)為準。本發明之其他特徵及優勢將由實施方式及申請專利範圍顯而易知。

**【0090】** 如本文所用，術語「態樣」與術語「實施例」同義使用。

## 定義

【0091】 以下定義應進一步幫助理解如本文所用之術語及本文所述之發明之範圍。

【0092】 術語「 $C_{x-y}$  烷基」係指鏈中含有  $x$  至  $y$  個碳之經取代或未經取代飽和烴基，包括直鏈烷基及分支鏈烷基。術語「鹵烷基」係指其中至少一個氫原子由鹵基(例如，氟、氯、溴、碘)置換之烷基，例如  $CH_2F$ 、 $CHF_2$ 、三氟甲基及 2,2,2-三氟乙基。

【0093】 術語「 $C_{2-y}$  烯基」及「 $C_{2-y}$  炔基」係指長度及可能取代類似於上文所述之烷基、但分別含有至少一個雙鍵或三鍵之經取代或未經取代不飽和脂族基團。在一些實施例中，二價基團伸烯基及伸炔基包括 2 至 12 個碳原子。在某些實施例中，伸烷基及伸炔基包括 2 至 10 個碳原子。在某些實施例中，伸烷基及伸炔基包括 2 至 6 個碳原子(例如，2、3、4、5 或 6 個碳原子)。

【0094】 術語「烷氧基」係指其中連接氧之烷基。代表性烷氧基包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、第三丁氧基及其類似基團。「醚」為藉由氧共價連接之兩個烴。因此，使烷基成為醚之彼烷基之取代基為或類似烷氧基。

【0095】 如本文所用，術語「 $C_{3-\gamma}$  環烷基」係指完全飽和、經取代或未經取代環，其中該環之各原子為碳，且該環含有 3 至  $\gamma$  個碳原子大小。例如，術語  $C_{3-7}$  環烷基意欲意謂含有大約 3 至 7 個碳原子大小之碳環。該等環包括例如環丙基、環丁基、環戊基、環己基及環庚基環。此等環可進一步如所規定經取代。

【0096】 術語「癌症」及「癌的」當用於本文中時係指或描述個體中之生理學病狀，其特徵典型地在於未調節細胞生長。癌症之實例包括而不限於血液學惡性腫瘤或血源性癌症(諸如多發性骨髓瘤及白血病)，及其他癌症(諸如癌瘤、淋巴瘤、肉瘤及胚細胞瘤)。該等癌症之更特定實例包括鱗狀細胞癌瘤、肺癌、胰臟癌、子宮頸癌、膀胱癌、肝癌、乳癌、結腸癌瘤及頭頸部癌。雖然如本文所用之術語「癌症」不限於該疾病之任一特定形式，但咸信本發明方法將對於個體中在某種程度上已變得抵抗使用抗癌劑(包括而不限於化學治療劑、抗有絲分裂劑、蔥環類及其類似物)之治療之癌症及對於已在使用該等抗癌劑之治療後復發之癌症尤其有效。

【0097】 術語「包含」意欲為開放式，包括所指示之組分但不排除其他要素。

【0098】 如本文所用之術語或縮寫「例如(eg)」或「例如(eg.)」意欲意謂「例如(example)」。

【0099】 術語「抑制劑」意欲描述阻斷或降低酶、受體或其他藥理學靶標之酶或系統活性之化合物(例如，抑制諸如 suc-LLVY-AMC、Box-LLR-AMC 及 Z-LLE-AMC 之標準螢光肽基質之蛋白水解裂解、抑制 20S 蛋白酶體之多種催化活性)。抑制劑可以競爭性、無競爭或非競爭性抑制起作用。抑制劑可逆地或不可逆地結合，且因此該術語包括作為酶之自殺受質的化合物。抑制劑可修飾在酶之活性位點上或附近的一或多個位點，或其可在酶上別處引起構形改變。術語抑制劑在本文中比科學文獻更廣泛地使用以便亦涵蓋其他類別之藥理學上或治療上適用試劑，諸如激動劑、拮抗劑、刺激劑、輔助因子及其類似物。

【0100】 術語「耐藥性」及「多重耐藥性」當用於本文中時係指已發展及/或抵抗藥物之癌細胞。此等術語包括展現極少至無功效或自該藥物之初始劑量下所展現之功效減少之功效的癌細胞。該等癌細胞可抵抗一種藥物或不同化學結構之多種藥物，該等藥物經引導以作用於癌細胞內之不同生物靶標。

【0101】 術語「醫藥學上可接受之鹽」涵蓋通常用於形成鹼金屬鹽及形成游離酸或游離鹼之加成鹽的鹽。該鹽之性質不關鍵，只要其為醫藥學上可接受的。該化合物之合適醫藥學上可接受之酸加成鹽可由無機酸或由有機酸製備。該等無機酸之實例包括而不限於鹽酸、氫溴酸、氫碘酸、硝酸、碳酸、硫酸及磷酸。有機酸之實例包括而不限於脂族、環脂族、芳族、芳基脂族、雜環、羧酸及磺酸類別之有機酸，其實例為甲酸、乙酸、己二酸、丁酸、丙酸、丁二酸、乙醇酸、葡糖酸、乳酸、蘋果酸、酒石酸、檸檬酸、抗壞血酸、葡糖醛酸、順丁烯二酸、反丁烯二酸、丙酮酸、天冬胺酸、麩胺酸、苯甲酸、鄰胺苯甲酸、甲磺酸、4-羥基苯甲酸、苯基乙酸、杏仁酸、撲酸(embonic/pamoic)、甲烷磺酸、乙烷磺酸、乙烷二磺酸、苯磺酸、泛酸、2-羥基乙烷磺酸、甲苯磺酸、磺胺酸、環己基胺基磺酸、樟腦酸、樟

腦磺酸、二葡萄糖酸、環戊烷丙酸、十二烷基磺酸、葡萄糖庚酸、甘油磷酸、庚酸、己酸、2-羥基-乙烷磺酸、菸鹼酸、2-萘磺酸、草酸、撲酸(palmoic)、果膠酯酸、過硫酸、2-苯基丙酸、苦味酸、特戊酸、丙酸、丁二酸、酒石酸、硫氰酸、甲磺酸、十一烷酸、硬脂酸、褐藻酸、 $\beta$ -羥基丁酸、水楊酸、半乳糖二酸及半乳糖醛酸。

【0102】 該化合物之合適醫藥學上可接受之鹼加成鹽包括而不限於金屬鹽(諸如由鋁、鈣、鋰、鎂、鉀、鈉及鋅製得之鹽)，或由有機鹼製得之鹽，該等有機鹼包括一級胺、二級胺、三級胺及經取代胺，包括環胺，諸如咖啡因、精胺酸、二乙胺、N-乙基哌啶、組胺酸、葡萄糖胺、異丙胺、離胺酸、嗎啉、N-乙基嗎啉、哌嗪、哌啶、三乙胺、三甲胺。本文所涵蓋之所有鹽均可藉由習知方式由相應化合物藉由使例如適當酸或鹼與該化合物反應來製備。

【0103】 如本文所用，術語「蛋白酶體」意欲包括免疫及組成性蛋白酶體。

【0104】 術語「難治性」當用於此處時意欲指未屈服於、抵抗或非回應於治療、刺激(療法)或治癒，包括抵抗多種治療性治癒劑。「難治性」當用於本文中表徵癌症或腫瘤之情形中時意欲指該癌症或腫瘤對使用一或多種抗癌劑之治療為非回應性的或具有抵抗或減弱之反應。該治療典型地在一段時期內為連續的、延長的及/或重複的，導致該癌症或腫瘤復發或發展耐性或對於彼極其相同治療變為難治性。

【0105】 如本文所用，術語「個體」係指任何哺乳動物，包括人類及動物(諸如牛、馬、犬及貓)。因此，本發明可用於人類患者以及獸醫個體及患者。在本發明之一實施例中，本發明化合物可投與至人類個體。

【0106】 措辭「治療有效」或「治療有效量」意欲定量本發明化合物之量，該量根據用於欲治療之病症或病狀或美容目的之臨床上可接受之標準當作為所需給藥方案之一部分投與(至患者，例如人類)時會緩解症狀、改善病狀、或減慢疾病病狀之發作，例如在可應用於任何醫學治療之合理效益/風險比率下。

【0107】 因此，其為本發明化合物可治療癌症之量，無論該癌症為多

發性骨髓瘤或其他血液學惡性腫瘤或實體腫瘤。

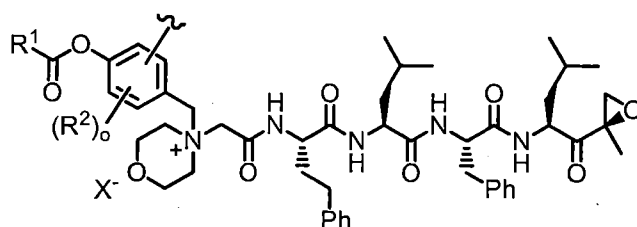
【0108】 如本文所用，術語「治療(treat)」、「治療(treating)」及「治療(treatment)」係指療法，包括而不限於治癒性療法、預防性療法(prophylactic therapy)及預防性療法(preventative therapy)且一般包括以改良或穩定化患者之病狀的方式逆轉、降低或阻止病狀之症狀、臨床病徵及潛在病理學。預防性治療一般構成完全地預防病症之發作或延遲個體中病症之臨床前證據階段之發作。術語「預防性或治療性」治療為公認的且包括向宿主投與一或多種本發明組合物。若其在不需病狀(例如，宿主動物之疾病或其他不需狀態)之臨床顯現之前、或在該病狀已消退之後投與，則該治療為預防性的(亦即，其保護宿主免於發展不需病狀)，而若其在不需病狀之顯現之後投與，則該治療為治療性的(亦即，其意欲減弱、改善或穩定化現有不需病狀或其副作用)。

【0109】 術語「經取代」係指具有置換分子之一或多個非氫原子上的氫之取代基之部分。應理解「取代」或「經取代」包括暗含限制條件，即該取代與經取代原子及取代基之允許價態一致，且該取代產生穩定化合物，例如該化合物不會自發地經歷諸如藉由重排、環化、消除等導致之轉化。如本文所用，術語「經取代」預期包括有機化合物之所有可允許取代基。在一廣泛態樣中，該等可允許取代基包括有機化合物之無環及環狀、分支及未分支、碳環及雜環、芳族及非芳族取代基。該等可允許取代基可為用於適當有機化合物之一或多者且相同或不同。出於本發明之目的，諸如氮之雜原子可具有氫取代基及/或本文所述之有機化合物的滿足雜原子價態之任何可允許取代基。取代基可包括例如鹵素、羥基、羰基(諸如羧基、烷氧羰基、甲醯基或醯基)、硫羰基(諸如硫酯、硫代乙酸酯或硫代甲酸酯)、烷氧基、磷醯基、磷酸酯、膦酸酯、亞膦酸酯、胺基、醯胺基、脒、亞胺、氰基、硝基、疊氮基、巯基、烷硫基、硫酸酯、磺酸酯、胺磺醯基、磺醯胺基、磺醯基、雜環基、芳烷基或芳族或雜芳族部分。熟習此項技術者應理解，烴鏈上取代之部分適當時可自身經取代。

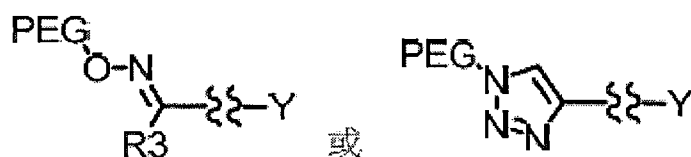
【0110】 如本文所用，術語 PEG 意欲具有其通常理解及傳統意義。特定言之，PEG 為由重複聚(乙二醇)聚合物單元構成之部分，其精確數目確

定了其分子量。例如，用於本發明之 PEG 部分可具有如本文所述以及例如如表 I 中所示之式 A-I 所描繪之架構中任一者。此分子量之單位為道爾頓。因此，預期對如本文(本說明書、申請專利範圍及摘要)所用之 PEG 的分子量之提及，例如關於既定 PEG 之「2K」、「3K」、「5K」及「20K」或「2000」、「3000」、「5000」或「20000」提及分別意謂 2000 道爾頓(或 2 千道爾頓)、3000 道爾頓(或 3 千道爾頓)、5000 道爾頓(或 5 千道爾頓)及 20000 道爾頓(或 20 千道爾頓) PEG 重量。此外，如本文所用之「KDa」意謂千道爾頓。應理解，表 I 中之式 A、B、C、D、E、F、G、H 及 I 所示之卡非佐米化合物說明本文中經由如本發明所述及定義之連接體共價連接的不同 PEG 部分。為了幫助理解表 I 中之各式，

Y=



其中  $R^1$  及  $R^2$  如本文中式 I 及 II 所定義。相對陰離子  $X^-$  如本文中式 I 及 II 所定義。例如，相對陰離子  $X^-$  可為  $Cl^-$ 、 $HSO_4^-$ 、 $SO_4^{2-}$ 、 $NO_3^-$ 、 $H_2PO_4^-$ 、烷基/芳基- $SO_3^-$ ，諸如甲苯磺酸酯(甲苯磺醯基磺酸)、甲磺酸酯(甲烷磺酸)或苯甲酸酯(苯甲基磺酸)陰離子。該卡非佐米化合物之 PEG 部分典型地具有在約 400 道爾頓至約 50,000 道爾頓範圍內之分子量。以下式 A-I 所說明之化合物的連接體部分亦如本文中式 I 及 II 所定義。例如，該連接體可為

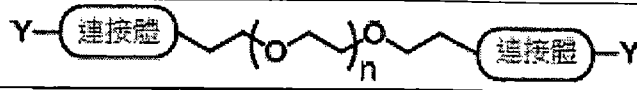
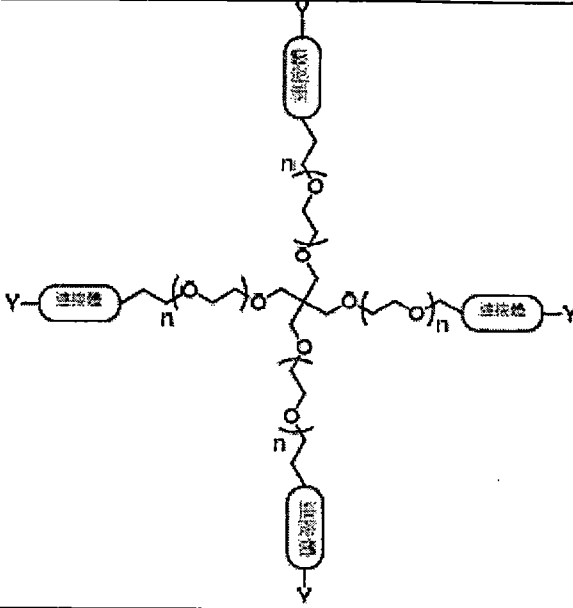
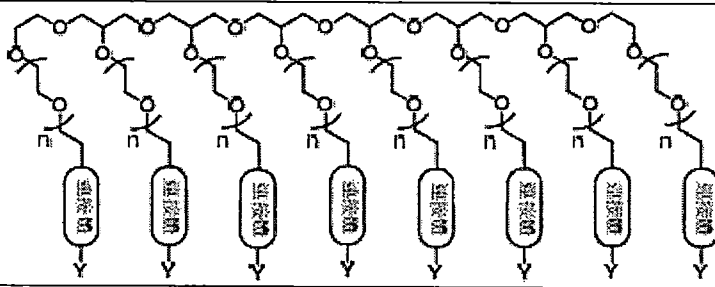
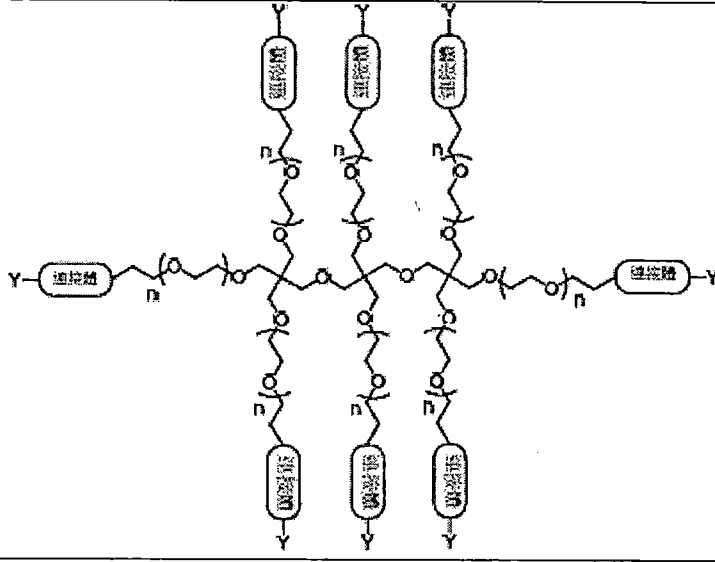
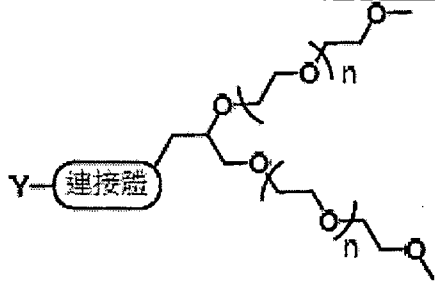


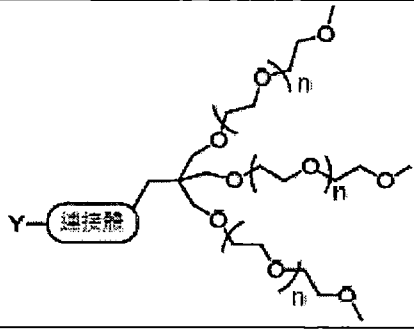
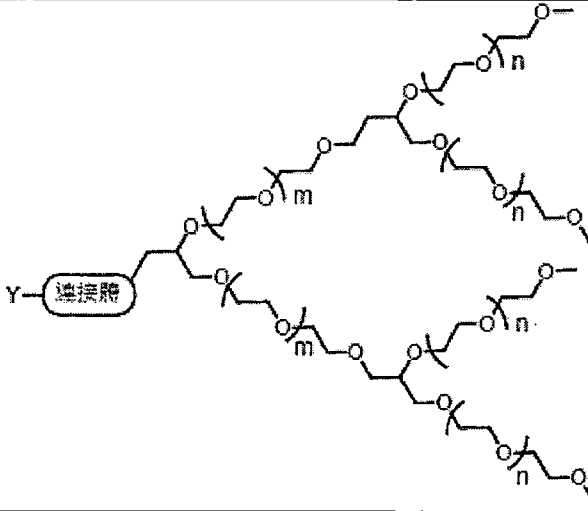
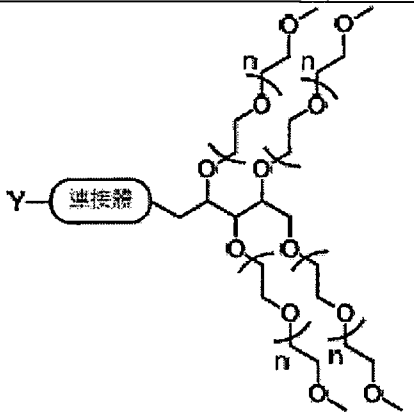
其中  $R^3$  為 H 或 Me。

表 I

入口	結構	PEG 類 型	卡非佐 米分子
A		線性	1



B		雙官能	2
C		4 臂	4
D		8 臂 六聚甘 油核心	8
E		8 臂 三新戊 四醇核 心	8
F		分支 2 臂	1

G		分支 3 臂	1
H		分支 4 臂	1
I		分支 4 臂	1

- 【0111】 在實施例 51 中，PEG 具有大於 1 kDa 之分子量。
- 【0112】 在實施例 52 中，PEG 具有約 1 kDa 之分子量。
- 【0113】 在實施例 53 中，PEG 具有大於 2 kDa 之分子量。
- 【0114】 在實施例 54 中，PEG 具有約 2 kDa 之分子量。
- 【0115】 在實施例 55 中，PEG 具有大於 5 kDa 之分子量。
- 【0116】 在實施例 56 中，PEG 具有約 5 kDa 之分子量。
- 【0117】 在實施例 57 中，PEG 具有大於 10 kDa 之分子量。
- 【0118】 在實施例 58 中，PEG 具有約 10 kDa 之分子量。
- 【0119】 在實施例 59 中，PEG 具有大於 20 kDa 之分子量。
- 【0120】 在實施例 60 中，PEG 具有約 20 kDa 之分子量。

【0121】 在實施例 61 中，PEG 具有大於 30 kDa 之分子量。

【0122】 在實施例 62 中，PEG 具有約 30 kDa 之分子量。

【0123】 在實施例 63 中，PEG 具有大於 40 kDa 之分子量。

【0124】 在實施例 64 中，PEG 具有約 40 kDa 之分子量。

【0125】 在實施例 65 中，PEG 具有大於 50 kDa 之分子量。

【0126】 在實施例 66 中，在結合於環氧酮蛋白酶抑制劑之前，PEG 具有複數個反應性官能基(例如，疊氮基)。

【0127】 在一些實施例中，在結合於環氧酮蛋白酶抑制劑之前，PEG 具有 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個反應性官能基(例如，疊氮基)。

【0128】 本發明之 PEG 卡非佐米化合物具有結合於卡非佐米活性醫藥成分(API)之聚乙二醇(PEG)聚合物鏈。為此，本發明在態樣 67 中提供式 I 或式 II 之卡非佐米 PEG 化合物，其中 n 為 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10，例如 2、3、4、5、6、7、8、9 或 10。在實施例 68 中，n 為 8。在實施例 69 中，n 為 4。在實施例 70 中，n 為 2。在實施例 71 中，n 為 1

#### 本發明之一般合成及代表性實例

【0129】 如所述，式 I 及 II 中之聚乙二醇化卡非佐米化合物為活性醫藥成分卡非佐米之可裂解聚合物 PEG 載劑(式 I 及 II)且活體內釋放游離卡非佐米。該增溶性聚合物載劑，即所需大小及/或重量之聚乙二醇(PEG)可購得且可例如購自 ThermoFisher Scientific、Sigma-Aldrich 及聚合物材料之類似商業供應商。該 PEG 基團可以多種連接體，包括經由如本文所述之自降解對烷醯基氧基取代之苯甲基連接體附接於呈嗎啶環上之四級鹽形式的卡非佐米。該連接體含有隱蔽親核苯酚基團，該基團在生物或化學觸發機制之後變成供電子且接著起始電子級聯，最終導致卡非佐米之釋放。增溶性聚合物載劑及四級鹽形成之獨特組合導致具有異常高之水溶性的結合物。卡非佐米以酶促方式經由酯酶或以化學方式藉由氫氧化物催化之水解自該結合物釋放。應注意，此 PEG 結合物單獨/自身具活性作為蛋白酶體抑制劑，且當該結合物暴露於適當酯酶或略微鹼性環境時快速地釋放更具活性之醫藥成分卡非佐米。位移速率可在一定時間範圍內藉由在式 I 及 II 中之位置 R<sup>2</sup> 處引入限制酶接近之空間龐大基團、及/或電子密度調節基團而變化。

【0130】 縮寫：用於一般流程及實例中之以下縮寫意欲意謂以下：

DCM 二氯甲烷(dichloromethane/methylene dichloride)

DMF 二甲基甲醯胺

DMSO 二甲亞砜

EtOAc 乙酸乙酯

MeOH 甲醇

mpk 毫克每公斤；mg/kg

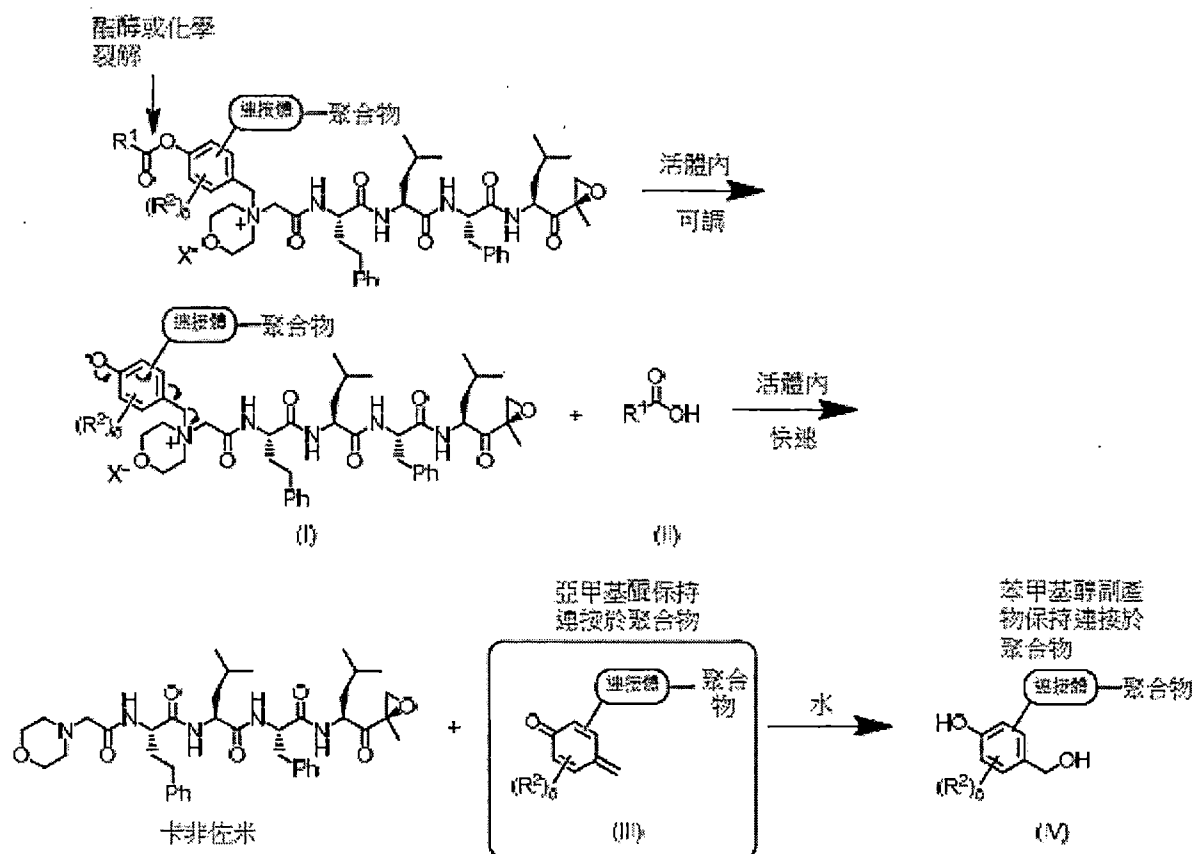
RT, rt 室溫

NaCl 氯化鈉

tBuOH 第三丁醇(t-butanol/t-butyl alcohol)

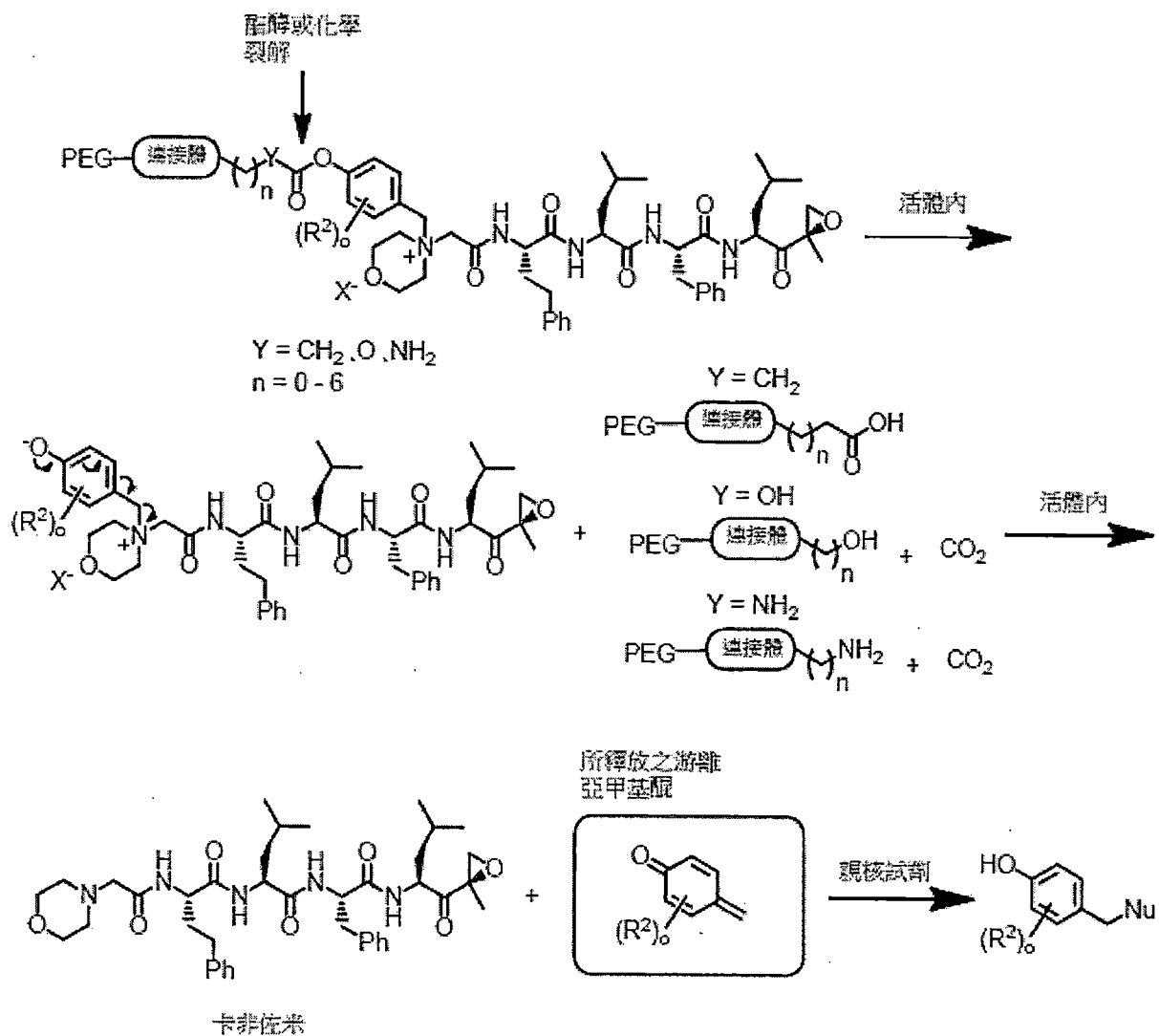
【0131】 用於製備本發明化合物之起始材料卡非佐米描述於 PCT 公開案 WO2006017842、WO2009045497、WO2014169897、WO2013169282、WO2014011695、WO2006063154、WO2014015016、WO2010048298 及美國專利第 7,714,042 號及第 7,737,112 號中，該等文獻之各說明書由此以引用之方式整體併入本文中。

流程 1：苯甲基消除四級鹽之裂解



【0132】 該苯基酯之酶及/或化學水解提供羧酸(II)及酚鹽中間物(I)，該中間物經歷快速 1, 6 消除以提供游離卡非佐米及亞甲基醌，該亞甲基醌保持共價連接於該增溶性 PEG 聚合物。已知亞甲基醌為反應性邁克爾受體且咸信其提供與潛在基因毒性有關之風險。在本發明中，亞甲基醌連接體副產物永久連接於該聚合物可藉由防止細胞接近且降低與血清親核試劑之反應性而減弱毒性。活體內中間物 III 之最可能命運為與水反應以形成苯甲基醇-聚合物加合物，該加合物藉由排泄快速地自身體移除。

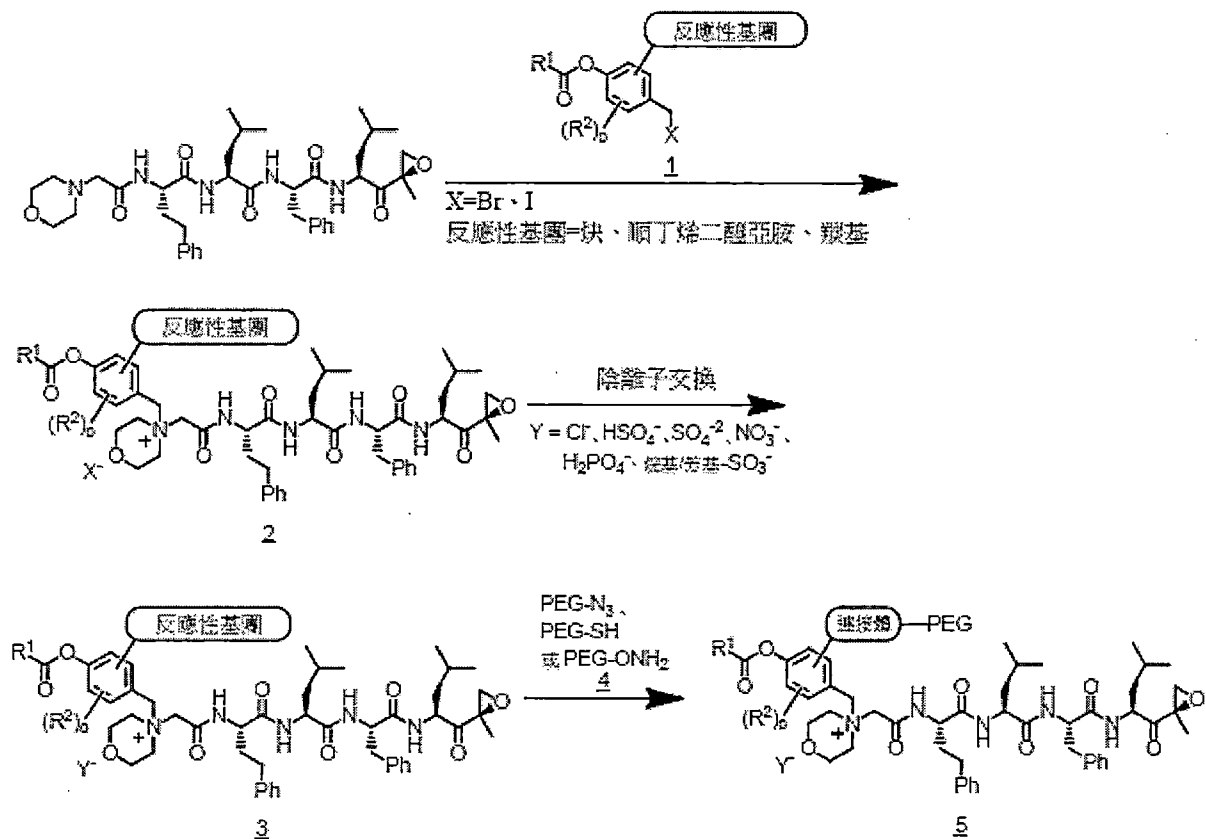
流程 2：先前描述之卡非佐米-聚合物結合物之裂解



【0133】 流程 2 說明一種用於 WO2014011695 中所述之卡非佐米聚合物化合物之代謝路徑。此處，如上文所說明，該等卡非佐米-聚合物結合物與酯酶相互作用或經受如箭頭所示之化學攻擊。此攻擊導致在酯水解時釋放游離亞甲基醌(上文經囊封)。此亞甲基中間物自由地進一步與細胞親核

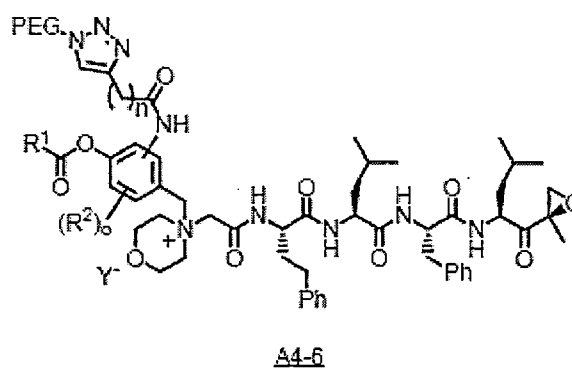
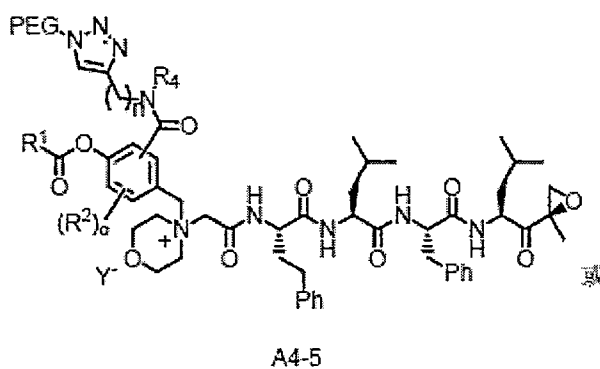
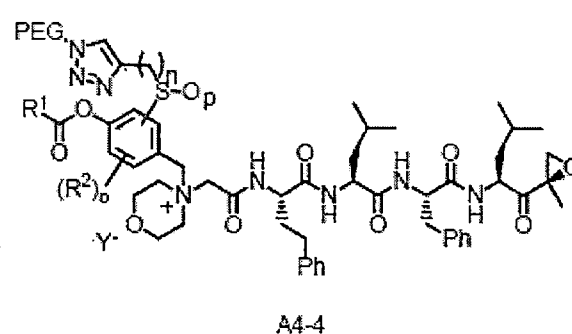
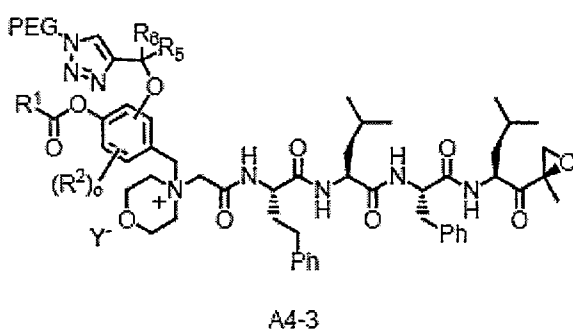
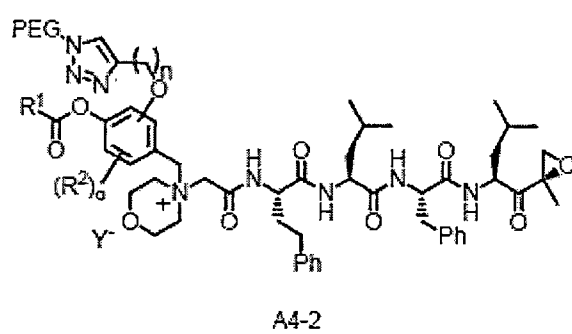
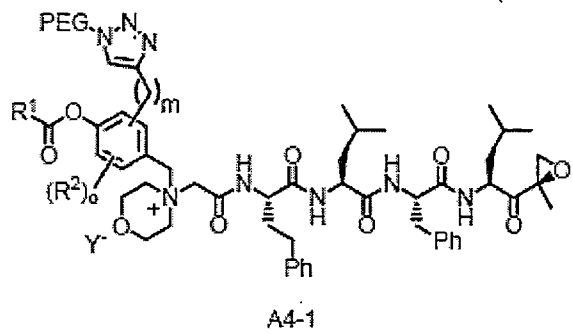
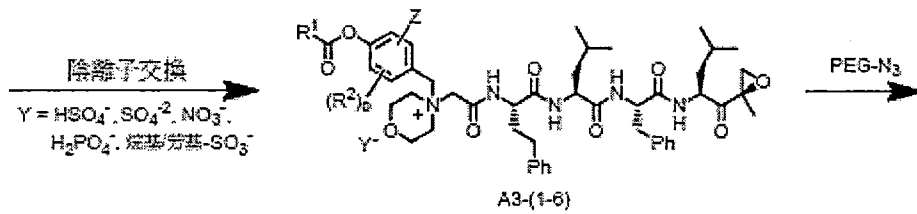
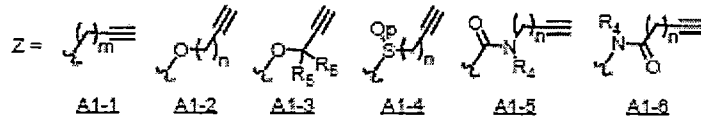
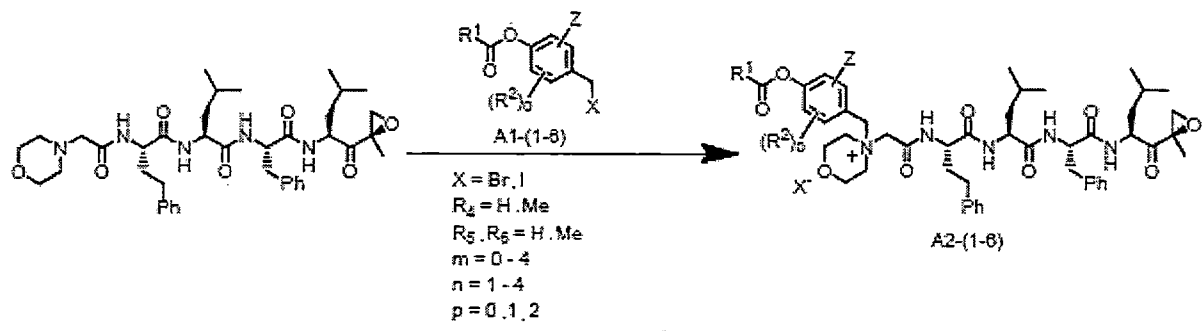
試劑反應，其可能導致毒性。本發明之聚乙二醇化卡非佐米化合物避免了如流程 1 中所述之此潛在毒性副產物。

### 流程 3：兩步 PEG 聚合物結合程序



【0134】 由本發明提供之卡非佐米-PEG 化合物以兩步程序製備，如流程 3 中所示。卡非佐米首先與經適當取代之對烷醯基氧基取代之苯甲基鹵(1)反應以生成四級鹽中間物(2)。四級鹽溴化物或碘化物陰離子可經由離子交換樹脂交換為醫藥學上可接受之鹽離子，諸如硫酸氫鹽、硫酸鹽、硝酸鹽、磷酸二氫鹽或烷基/芳基磺酸鹽，以生成中間物(3)。此中間物便利地附接有適於與互補官能化聚合物試劑(4)反應之反應性基團以提供所需產物 5。可購得大量 PEG 試劑，呈多種分子量、架構、端基化學及反應性端基(臂)數目(參見表 1)。其可直接地與本發明中所述之連接體化學相容或可需要由已知方法進行一些進一步化學操縱。分支鏈及多臂 PEG 可提供優於線性 PEG 之優勢，諸如較高藥物負載、改良之穩定性及/或較低調配黏度之潛力。

### 流程 4：經由疊氮化物/炔點擊化學實現之兩步聚合物結合



【0135】 流程 4 說明「點擊」化學(諸如 Huisgen 1, 3-偶極疊氮化物/炔環加成及胺基氧基/醛肟化), 其歸因於高化學產率、無害副產物、大的熱

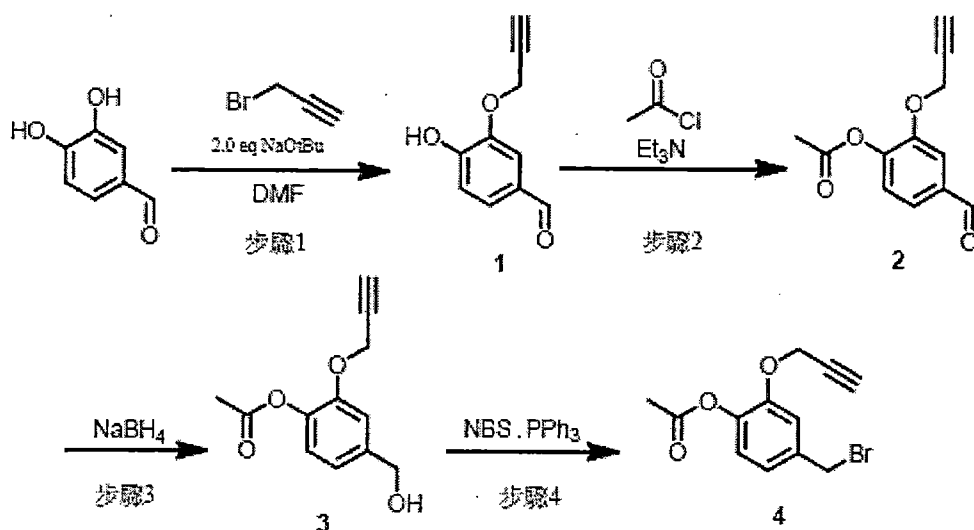
力學驅動力及起始材料可用性尤其適用於聚合物及聚合物 PEG 連接。

【0136】 Huisgen 1, 3-偶極疊氮化物/炔環加成需要苯甲基經能夠與諸如 PEG-疊氮化物(-N<sub>3</sub>)之疊氮化物官能化聚合物載劑反應之炔基(A1-(1-6))取代以生成 1,2,3-三唑連接之結合物(A4-(1-6))。該炔部分可直接連接或經由烷基間隔劑(A1-1)連接，經由醚(A1-2,3)、硫醚、亞砷或砷(A1-4)鍵連接，或經由醯胺鍵(A1-5,6)連接。多種疊氮基取代之 PEG 試劑現可呈多種大小及結構購得，而且可容易地由任何可購得 PEG-醇經由藉由甲磺醯化或甲苯磺醯化活化、隨後與疊氮化物鹽反應而製備。該環加成反應可使用可購得之亞銅鹽催化劑執行，但更有效地使用銅(II) (例如硫酸銅(II)、甲磺酸銅(II))及還原劑(例如，抗壞血酸鈉)的混合物執行以原位產生 Cu (I)。由於銅(I)在水性環境中且在氧存在下不穩定，可視情況添加穩定化配位體，諸如三-(苯甲基三唑基甲基)胺(TBTA)、三(3-羥基丙基三唑基甲基)胺(THPTA)、2-[4-({雙[(1-第三丁基-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基]胺基}甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基]乙醇硫酸氫酯(BTTES)或2-[4-({雙[(1-第三丁基-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基]胺基}甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基]乙酸(BTTAA)。該反應可在 RT 下或在高溫下在多種溶劑、及水與多種可混溶有機溶劑(包括醇、DMSO、DMF、*t*BuOH 及丙酮)之混合物中進行。最終 PEG-卡非佐米產物(A4-(1-6))可便利地藉由用水或鹽水稀釋反應混合物、用諸如 DCM 之有機溶劑萃取、及自異丙醇或乙醚/異丙醇混合物再沉澱直至獲得所需純度之產物而經處理。中間物或產物暴露於處理程序期間之陰離子(諸如鹽水中之氯化物陰離子)典型地導致最終產物中之陰離子的混合物，且可必需最終陰離子交換樹脂處理以確保產物鹽均質性。

【0137】 中間物四級鹵化物鹽(溴化物或碘化物，(A2-(1-6))可轉化為不用諸如甲磺酸鹽、硫酸氫鹽或硫酸鹽之銅(I)催化劑沉澱之陰離子(A3-(1-6))以實現高反應產率。另外，可需要交換鹵化物陰離子以防止環氧化物開環及可能形成溴醇或碘醇副產物。

#### 流程 4A1-2





合成乙酸 4-(溴甲基)-2-(丙-2-炔基氧基)苯酯(流程 4 中之中間物 A1-2)

步驟 1：4-羥基-3-(丙-2-炔基氧基)苯甲醛(1)

【0138】 在 20°C 下向 NaOtBu 於 DMF (150 mL) 中之混合物中添加含 3,4-二羥基苯甲醛(10 g · 72.5 mmol) 之 DMF (50 mL)。該混合物用冰浴冷卻且攪拌，同時逐份添加 3-溴丙-1-炔(8.62 g · 72.5 mmol)，試圖保持內部溫度在 15-20°C 之間。該反應混合物在 RT 下攪拌 2 小時。該混合物用水(300 mL)稀釋且用 EtOAc (200 mL×3) 萃取。組合之有機層用水洗滌以移除 DMF，經無水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 乾燥，且濃縮為棕色固體。殘餘物重複地自 DCM/石油醚(30 mL/500 mL) 結晶以提供化合物 1。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 9.87 (s, 1H), 7.54 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 7.49 (dd, J<sub>1</sub> = 1.5 Hz, J<sub>2</sub> = 8.1 Hz, 1H), 7.09 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 4.82 (m, 2H), 2.62 (m, 1H)。

步驟 2：乙酸 4-甲醯基-2-(丙-2-炔基氧基)苯酯(2)

【0139】 在 0°C 下向化合物 1 (10.00 g · 56.82 mmol) 於 DCM (150 mL) 中之溶液中添加 Et<sub>3</sub>N (11.48 g · 113.64 mmol)、隨後乙醯氯(5.35 g · 68.18 mmol)。該反應混合物在 RT 下攪拌 2 小時。該混合物用飽和 2N HCl 水溶液(100 mL)及水(50 mL)洗滌，經無水 MgSO<sub>4</sub> 乾燥，且濃縮以提供化合物 2。該化合物無需進一步純化即用於下一步驟中。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 9.96 (s, 1H), 7.63 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.54 (dd, J<sub>1</sub> = 1.6 Hz, J<sub>2</sub> = 8.0 Hz, 1H), 7.25 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.79 (d, J = 2.4 Hz, 2H), 2.57 (t, J = 2.4 Hz, 1H), 2.35 (s, 3H)。

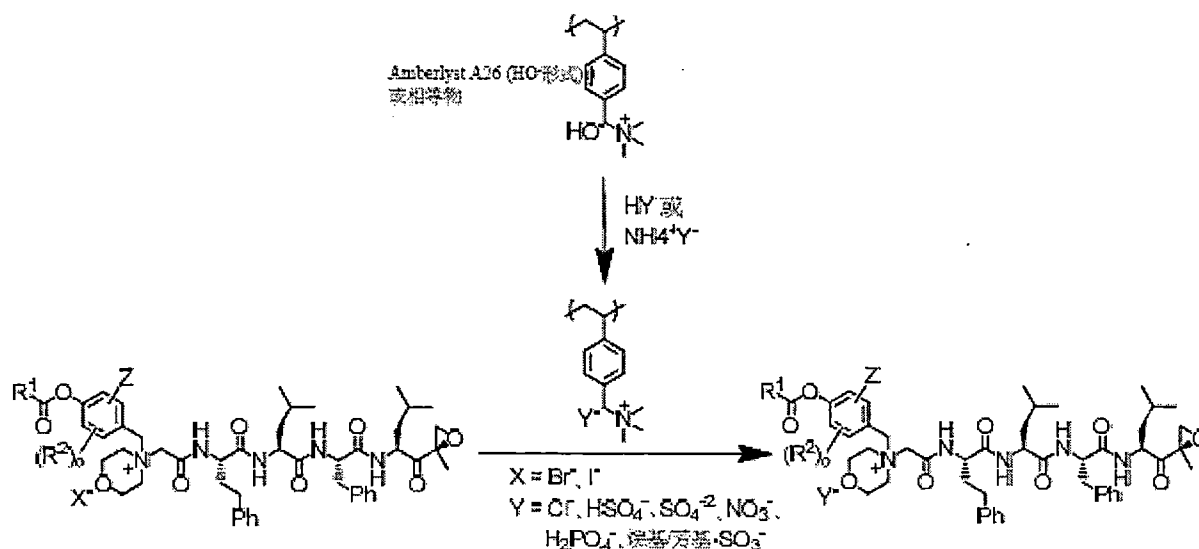
步驟 3：乙酸 4-(羥基甲基)-2-(丙-2-炔基氧基)苯酯(3)

【0140】 在 0°C 下分成小份向化合物 2 (12.00 g · 55.05 mmol) 於 DCM/MeOH (150 mL/15 mL) 中之溶液中添加 NaBH<sub>4</sub> (3.06 g · 82.57 mmol)。該反應混合物在 RT 下攪拌 30 min。該混合物藉由丙酮(5 mL)淬滅，且濃縮。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 2:1)純化以提供化合物 3。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 7.16 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.04 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.98 (dd, *J*<sub>1</sub> = 1.6 Hz, *J*<sub>2</sub> = 8.0 Hz, 1H), 4.72 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H), 4.69 (s, 2H), 2.53 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H), 2.32 (s, 3H)。

步驟 4：乙酸 4-(溴甲基)-2-(丙-2-炔基氧基)苯酯(4)

【0141】 在 0°C 下向化合物 3 (11.50 g · 52.27 mmol) 於 DCM (150 mL) 中之溶液中添加 PPh<sub>3</sub> (20.50 g · 78.41 mmol) 及 NBS (11.04 g · 62.73 mmol)。該反應混合物在室溫下攪拌 0.5 小時。濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 20:1)純化以提供化合物 4 (7.82 g · 53% 產率)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 7.14 (m, 1H), 7.02 (m, 2H), 4.73 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H), 4.48 (s, 2H), 2.55 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H), 2.32 (s, 3H)。

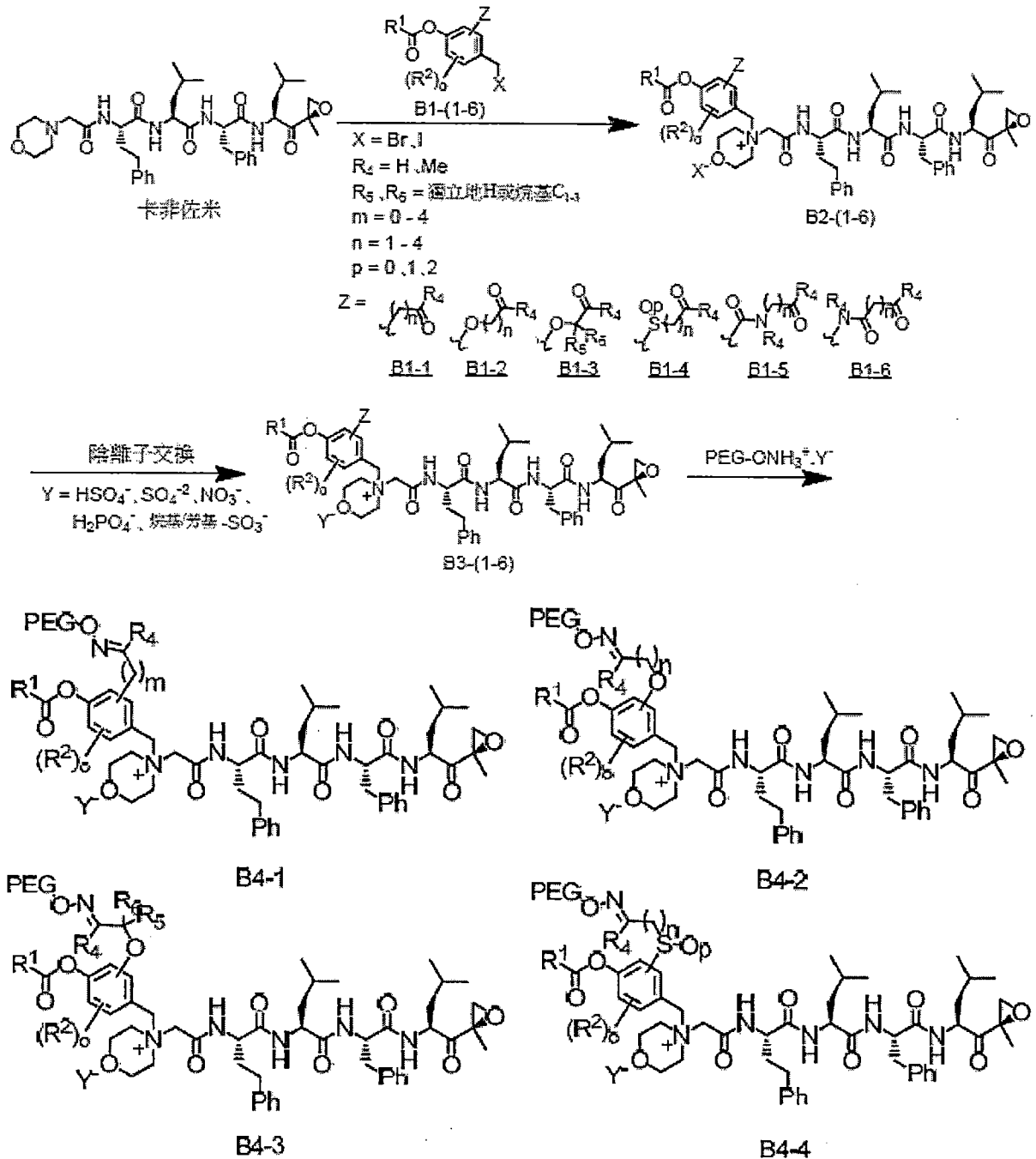
流程 5：四級鹽陰離子交換

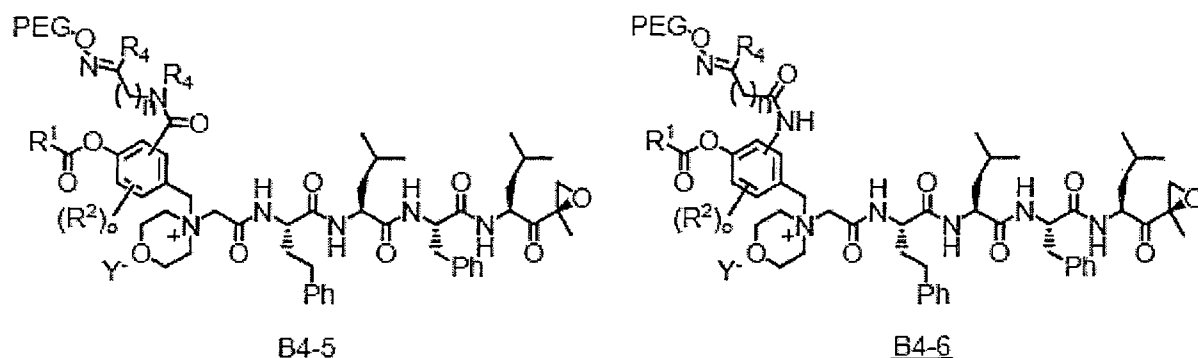


【0142】 離子交換可藉由使中間物四級鹵化物與銀鹽反應或更實際地傳遞通過離子交換樹脂而實現，如流程 5 中所述。存在於中間物或最終產物中之卡非佐米四級鹽陰離子可經由陰離子交換樹脂有效地轉化為不同強酸陰離子，諸如硫酸氫鹽、硫酸鹽、磷酸二氫鹽、硝酸鹽或烷基/芳基磺

酸鹽。諸如 Amberlyst A26 (OH-形式)之陰離子交換樹脂用所需酸或銨鹽預處理，且接著使該四級鹵化物鹽傳遞通過。由諸如乙酸鹽、甲酸鹽或乳酸鹽之弱酸陰離子製備之結合物歸因於該四級鹽之增加的鹼性及與酯觸發基團不相容而不穩定。

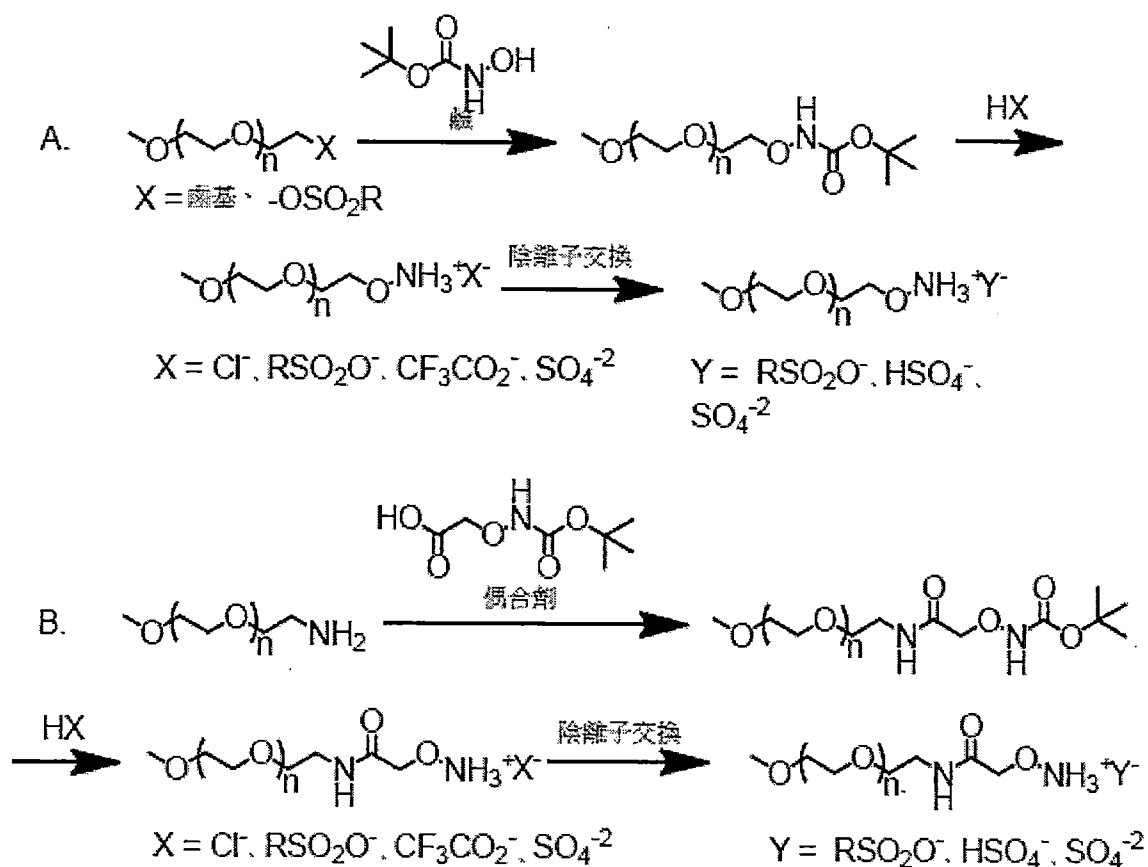
流程 6：經由胺基氧基/羰基化學實現之兩步聚合物結合





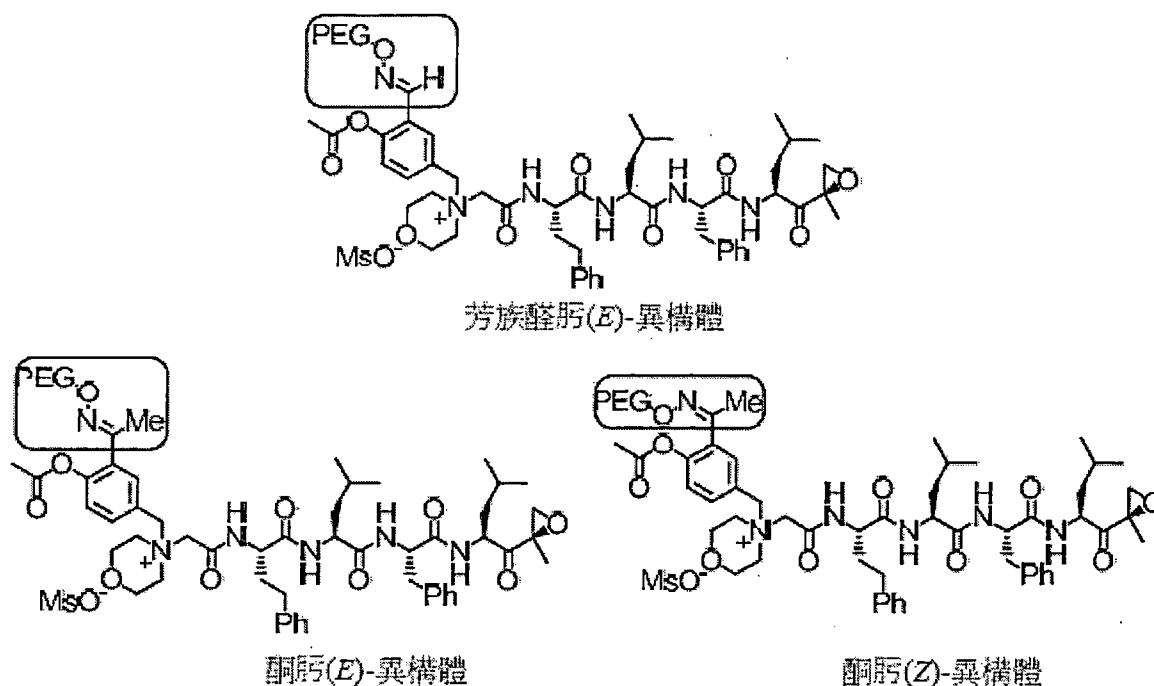
【0143】 或者，苯甲基(B1-(1-6))可經能夠與諸如 PEG-胺基氧基(-ONH<sub>2</sub>)之胺基氧基官能化聚合物載劑反應之羰基(醛或酮)取代以提供穩定肟連接之結合物(B4-(1-6))。該羰基部分可直接連接或經由烷基間隔劑(B1-1)連接，經由醚(B1-2,3)、硫醚、亞砜或砜(B1-4)鍵連接，或經由醯胺鍵(B1-5,6)連接。使卡非佐米及苯甲基鹵(B1-(1-6))在 RT 下或在高溫下在諸如乙腈之合適有機溶劑中反應以提供呈溴化物或碘化物鹽形式之四級中間物(B2-(1-6))。可需要交換此鹵化物陰離子以防止環氧化物開環及可能形成溴醇或碘醇副產物。陰離子交換可藉由使中間物四級鹵化物與銀鹽反應或更實際地傳遞通過離子交換樹脂而實現，如先前(流程 5)中所述。接著使卡非佐米四級鹽中間物(B3-(1-6))及 PEG-ONH<sub>3</sub><sup>+</sup>Y<sup>-</sup>聚合物試劑在 RT 下或在高溫下在諸如 DCM 或混合水性有機溶劑之合適有機物中反應。諸如苯胺、對苯二胺或 5-甲氧基鄰胺基苯甲酸之肟化催化劑可視情況添加，但通常非必需。注意卡非佐米四級鹽中間物(B3-(1-6))及 PEG-胺基氧基試劑陰離子鹽為同一的以避免形成混合陰離子鹽最終產物及需要任何進一步陰離子操縱。最終 PEG-卡非佐米產物可便利地藉由蒸發反應溶劑及自異丙醇或乙醚/異丙醇混合物再沉澱殘餘物直至獲得所需純度之產物而經處理。

流程 7：合成 PEG-胺基氧基試劑



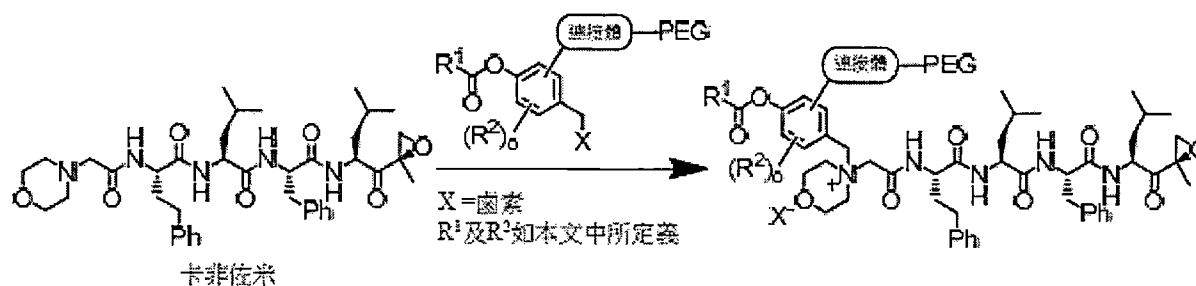
【0144】 PEG-胺基氧基試劑可購得或可容易地由甲磺醯基或甲苯磺醯基活化之 PEG-醇、PEG-鹵化物(A)或 PEG-胺(B)起始材料製備，如流程 7 中所描繪。第三丁基氧基羰基保護之中間物可用諸如氯化氫、甲烷磺酸、三氟乙酸或硫酸之強酸脫除保護基以生成呈氯化物、三氟乙酸鹽或硫酸鹽形式之 PEG-胺基氧基試劑。PEG-胺基氧基試劑陰離子可視情況經由陰離子交換樹脂交換為不同陰離子。

流程 8：胍異構體



【0145】 一般技術者容易理解，肟可呈兩種幾何異構體形式存在：*順式*(*Z*)-異構體及*反式*(*E*)-異構體，如流程 8 中所描繪。本發明中之多個實例為芳族醛肟且僅呈(*E*)-異構體形式存在。非芳族醛肟及酮肟可通常完全經分離且呈(*Z*)-異構體及(*E*)-異構體形式獲得。本發明中所述之聚乙二醇化非芳族醛肟及酮肟可呈獨立(*Z*)及(*E*)-異構體形式或呈(*Z*)及(*E*)-異構體之混合物形式存在。

流程 9：直接聚合物結合以形成四級鹽

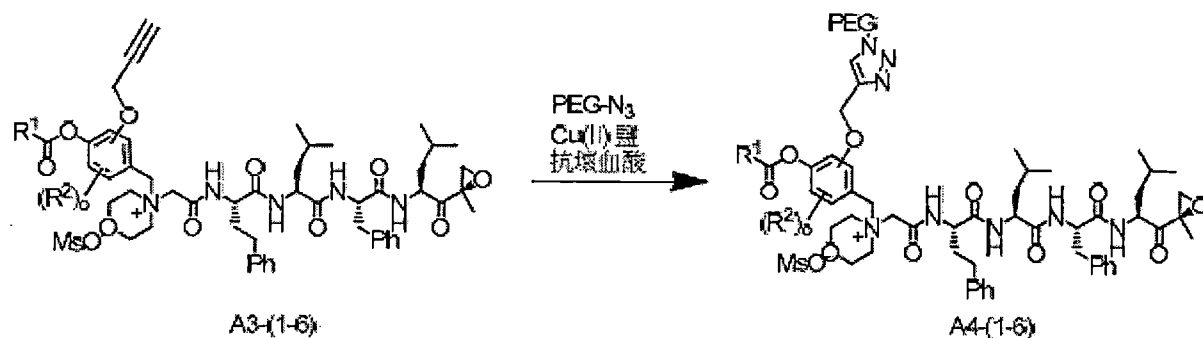


【0146】 或者，本發明中所述之卡非佐米-聚合物結合物可在卡非佐米及預附接有所需聚合物鏈之對烷醯基氧基取代之苯甲基鹵化物之一步反應中製備，如流程 9 中所示。該聚合物鏈可經由多種已知化學或先前所述之炔/疊氮化物或羰基/胺基氧基化學經附接。此途徑可歸因於難以分離含 PEG 產物與未反應之聚乙二醇化起始材料而不太需要。

本發明之代表性實例

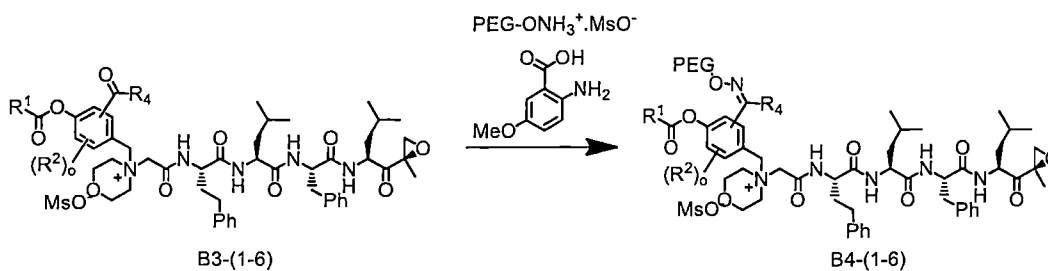
【0147】 以下聚乙二醇化卡非佐米化合物為本發明之代表性實例且不意欲解釋為限制本發明之範圍。該等聚乙二醇化卡非佐米化合物使用以下兩種一般 PEG 連接方法(A 及 B)製備。

PEG 三唑-連接體方法 A :



【0148】 卡非佐米四級鹽中間物 A3-(1-6) (1.5 eq)、PEG-疊氮化物(1 eq)及(L)-抗壞血酸(0.75 eq)混合於 DMF (50 mL/mmol PEG-疊氮化物)中以生成奶油色懸浮液。該混合物劇烈地攪拌 5 分鐘且快速地逐滴添加硫酸銅(II)五水合物(0.3 eq)於水(10 mL/mmol PEG-疊氮化物)中之溶液。該反應立即變暗為黃棕色且該懸浮液在 5 min 內變得澄清。1 小時之後，添加第二份抗壞血酸(0.75 eq)且反應混合物攪拌 60 分鐘。添加第三份抗壞血酸(0.38 eq)且反應混合物在 RT 下攪拌隔夜。添加水(100 mL/mmol PEG-疊氮化物)及 NaCl (15 g/mmol PEG-疊氮化物)且攪拌該混合物直至 NaCl 溶解。產物用 DCM (3 X 35 mL/mmol PEG-疊氮化物)萃取。萃取物經無水硫酸鈉乾燥，過濾，且在真空下在 40°C 下濃縮。殘餘物在 40°C 下溶解於異丙醇(125 mL/mmol PEG-疊氮化物)中。一旦固體完全溶解，即添加二乙醚(90 mL/mmol PEG-疊氮化物)且該溶液在冰浴中冷卻。過濾所得固體且濾餅用 2-丙醇及二乙醚各洗滌兩次。濾餅溶解於 DCM 中且在真空下濃縮。殘餘物溶解於溫(40°C)異丙醇(200 mL/mmol PEG-疊氮化物)中且接著使其在冰浴中冷卻。過濾所得固體且濾餅用 2-丙醇及二乙醚各洗滌兩次且接著在真空下乾燥。

PEG 脞-連接體方法 B



【0149】 DCM (15 mL/mmol B3-(1-6))中之卡非佐米四級鹽中間物 B3-(1-6) (1 eq)、PEG-ONH<sub>3</sub><sup>+</sup>MsO<sup>-</sup> (0.8 eq)及 5-甲氧基鄰胺基苯甲酸(脲化催化劑, 0.3 eq)在 RT 下攪拌直至藉由 HPLC (ELS 偵測器)觀察到該 PEG 試劑之完全消耗。該反應混合物蒸發至乾且殘餘物在 40°C下溶解於異丙醇(15 mL/ mmol B3-(1-6))中。該澄清溶液冷卻至 RT 且添加乙醚(5 mL/mmol B3-(1-6))以誘導結晶。該混合物在冰浴中冷卻 5-10 分鐘且藉由過濾收集所形成之固體。自異丙醇/乙醚再結晶再重複一或兩次直至如藉由 HPLC 所偵測, 所有未反應卡非佐米四級鹽中間物 B3-(1-6)均經移除。最終固體在真空下在 30 下°C乾燥。典型產率: 60-80%; 典型反應時間: 關於含有醛官能之中間物為 10-30 min, 關於具有酮官能之中間物為 24 h。

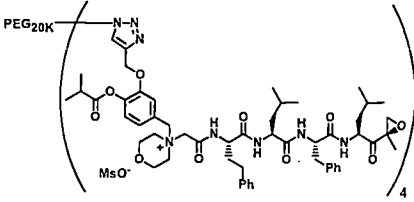
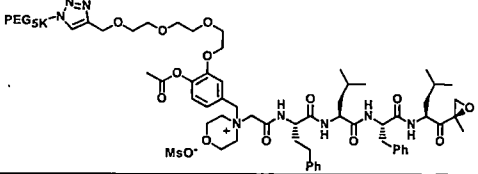
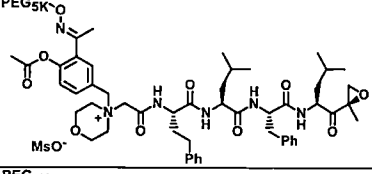
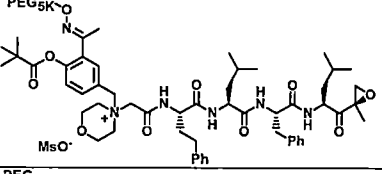
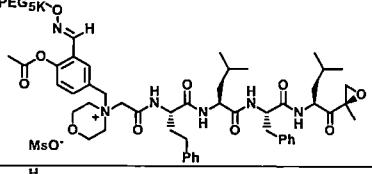
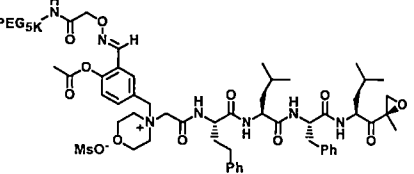
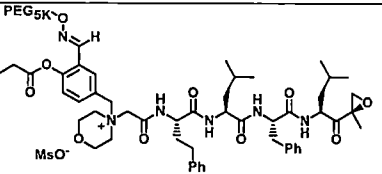
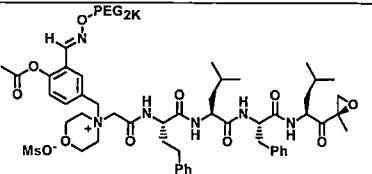
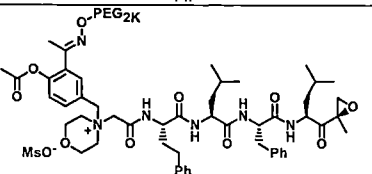
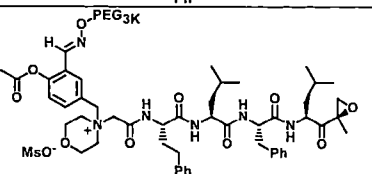
【0150】 所製備之 PEG-卡非佐米化合物、PEG 架構及 PEG 連接體方法之實例列於表 2 中。表 2 進一步包括 PEG 加合物之大小及重量(道爾頓)及用於附接 PEG 部分至卡非佐米骨架之方法。

表 2

實例	結構	PEG 大小/ 臂	PEG 連接 體方法
1		20K/4	A
2		5K/1	A
3		5K/1	A



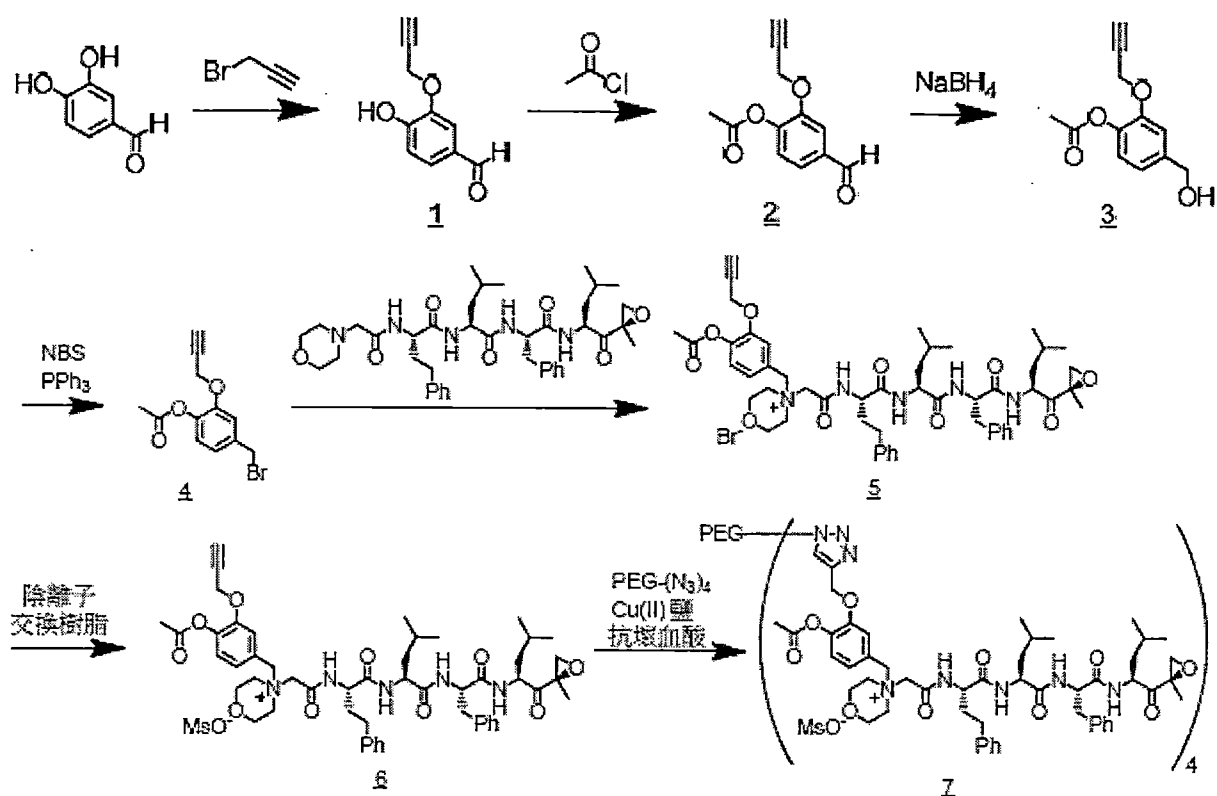
4		5K/1	A
5		5K/1	A
6		5K/1	A
7		5K/1	A
8		5K/1	A
9		5K/1	A
10		5K/1	A
11		20K/4	A
12		20K/4	A
13		20K/4	A

14		20K/4	A
15		5K/1	A
16		5K/1	B
17		5K/1	B
18		5K/1	B
19		5K/1	B
20		5K/1	B
21		2K/1	B
22		2K/1	B
23		3K/1	B

24		3K/1	B
25		20K/4	B
26		5K/1	B
27		5K/1	B
28		5K/1	B
29		20K/4	B
30		20K/4	B
31		5K/1	B
32		5K/1	B

33		5K/1	B
34		3K/1	A
35		3K/1	A
36		2K/1	A
37		3K/1	A
38		2K/1	A

實例 1：甲烷磺酸 4-(4-乙醯氧基-3-((1-(PEG<sub>20K</sub>-4 臂)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)苯甲基)-4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎊(7)



#### 4-羥基-3-(丙-2-炔基氧基)苯甲醛(1)

【0151】 在 20°C 下向 NaH 於 DMSO (300 mL) 中之混合物中添加含 3,4-二羥基苯甲醛(30 g · 217.39 mmol) 之 DMSO (50 mL)。該混合物攪拌 30 min 且添加 3-溴丙-1-炔(25.87 g · 217.39 mmol)。該反應混合物在 RT 下攪拌一小時。該混合物傾入冰水(800 mL)中且所得溶液經調節至 pH=2。該混合物用 EtOAc (500 mL×3) 萃取，經無水 MgSO<sub>4</sub> 乾燥，且濃縮。殘餘物重複地自 DCM/石油醚(30 mL/500 mL) 結晶以提供化合物 1 (30 g · 78% 產率)；<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 9.87 (s, 1H), 7.54 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 7.49 (dd, *J*<sub>1</sub> = 1.5 Hz, *J*<sub>2</sub> = 8.1 Hz, 1H), 7.09 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 4.82 (m, 2H), 2.62 (m, 1H)。

#### 乙酸 4-甲醯基-2-(丙-2-炔基氧基)苯酯(2)

【0152】 在 0°C 下向化合物 1 (10.00 g · 56.82 mmol) 於 DCM (150 mL) 中之溶液中添加 Et<sub>3</sub>N (11.48 g · 113.64 mmol)、隨後乙醯氯(5.35 g · 68.18 mmol)。該反應混合物在 RT 下攪拌 2 小時。該混合物用飽和 2 N HCl 水溶液(100 mL)及水(50 mL)洗滌，經無水 MgSO<sub>4</sub> 乾燥，且濃縮以提供化合物 2 (12 g · 97% 產率)，該化合物無需進一步純化即用於下一步驟中；<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 9.96 (s, 1H), 7.63 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.54 (dd, *J*<sub>1</sub> = 1.6 Hz, *J*<sub>2</sub> = 8.0 Hz, 1H), 7.25 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 4.79 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H), 2.57 (t, *J* =

2.4 Hz, 1H), 2.35 (s, 3H)

乙酸 4-(羥基甲基)-2-(丙-2-炔基氧基)苯酯(3)

【0153】 在 0°C 下分成小份向化合物 2 (12.00 g · 55.05 mmol) 於 DCM/MeOH (150 mL/15 mL) 中之溶液中添加 NaBH<sub>4</sub> (3.06 g · 82.57 mmol)。該反應混合物在 RT 下攪拌 30 min。該混合物藉由丙酮(5 mL)淬滅，且濃縮。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 2:1)純化以提供化合物 3 (10.32 g · 85%產率)；<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 7.16 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.04 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.98 (dd, *J*<sub>1</sub> = 1.6 Hz, *J*<sub>2</sub> = 8.0 Hz, 1H), 4.72 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H), 4.69 (s, 2H), 2.53 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H), 2.32 (s, 3H)。

乙酸 4-(溴甲基)-2-(丙-2-炔基氧基)苯酯(4)

【0154】 在 0°C 下向化合物 3 (11.50 g · 52.27 mmol) 於 DCM (150 mL) 中之溶液中添加 PPh<sub>3</sub> (20.50 g · 78.41 mmol) 及 NBS (11.04 g · 62.73 mmol)。該反應混合物在 RT 下攪拌 0.5 小時。濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 20:1)純化以提供化合物 4 (7.82 g · 53%產率)；<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 7.14 (m, 1H), 7.02 (m, 2H), 4.73 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H), 4.48 (s, 2H), 2.55 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H), 2.32 (s, 3H)。

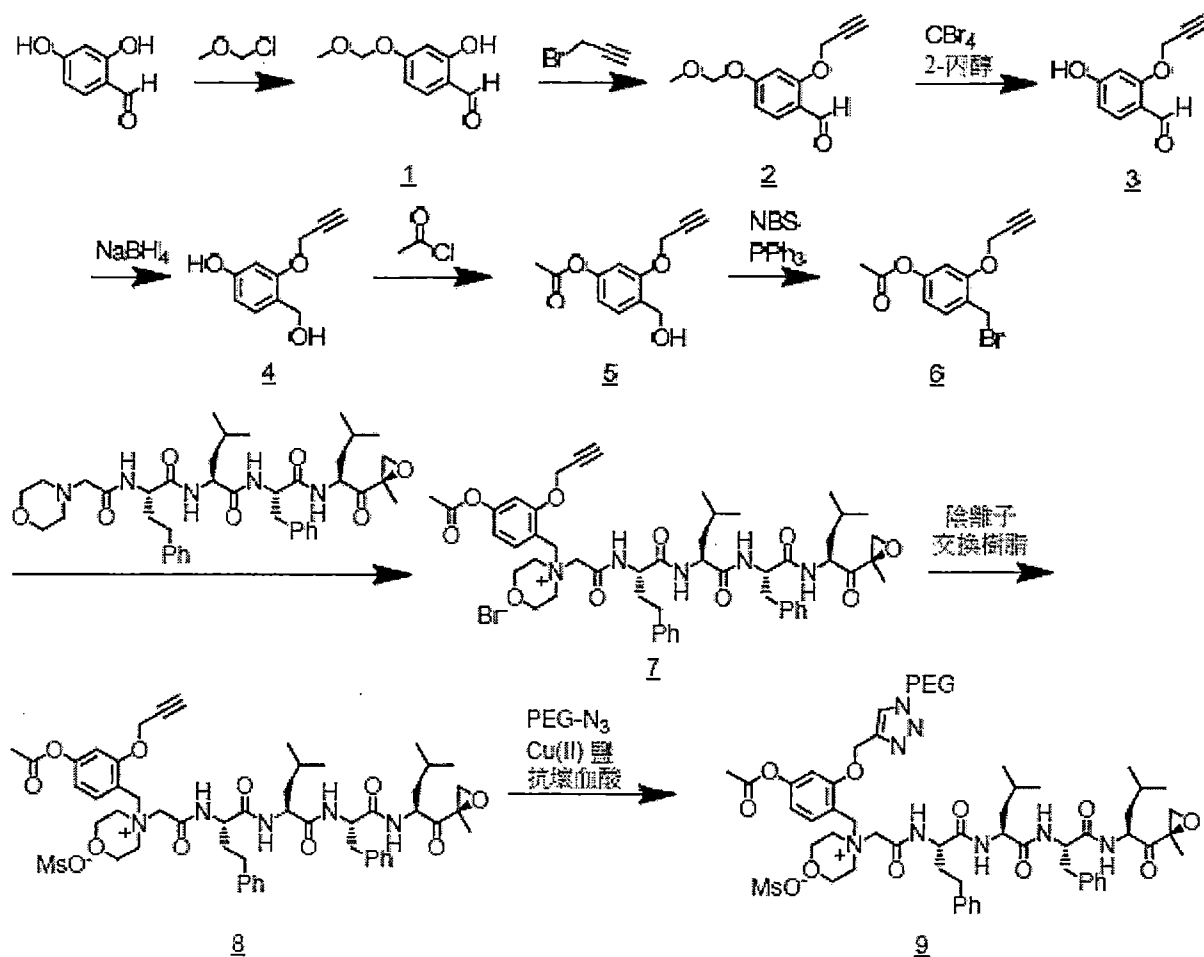
甲烷磺酸 4-(4-乙醯氧基-3-(丙-2-炔-1-基氧基)苯甲基)-4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎂(6)

【0155】 向化合物 4 (5.85 g · 20.67 mmol) 於 MeCN (50 mL) 中之溶液中添加(S)-4-甲基-N-((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(N-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺(4.96 g, 6.89 mmol)。該反應混合物在 45°C 下攪拌 2 天。濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(EtOAc/MeOH = 100:6)純化以提供所需化合物 5，該化合物藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽(3.2 g · 50%產率)；<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 9.66 (m, 1H), 7.83 (m, 1H), 7.36 (m, 1H), 7.26-7.14 (m, 13H), 6.72 (m, 1H), 5.18 (m, 1H), 4.90 (m, 2H), 4.77 (m, 2H), 4.53-4.36 (m, 4H), 4.26 (m, 3H), 4.08 (m, 1H), 3.92

(m, 2H), 3.74 (m, 1H), 3.46 (m, 1H), 3.35 (m, 1H), 3.13 (m, 1H), 3.04 (m, 2H), 2.81 (s, 3H), 2.75 (m, 2H), 2.62 (m, 1H), 2.33 (m, 3H), 2.20 (m, 1H), 2.12 (m, 1H), 1.70-1.53 (m, 3H), 1.50-1.33 (m, 5H), 1.25 (m, 2H), 0.90-0.81 (m, 12H)。

【0156】 實例 1 由化合物 6 及 PEG<sub>20K</sub>(N<sub>3</sub>)<sub>4</sub> 根據一般聚乙二醇化程序 A 製備；<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, 弛豫時間= 10 s) DMSO-d<sub>6</sub> NMR: δ 9.50 (s, 4H), 8.50 (s, 4H), 8.39 (d, *J* = 8 Hz, 4H), 8.27 (d, *J* = 8 Hz, 4H), 8.11 (s, 4H), 8.05 (d, *J* = 8 Hz, 4H), 7.58 (s, 4H), 7.26-7.29 (m, 12H), 7.12-7.23 (m, 32H), 7.03-7.06 (m, 4H), 5.26 (m, 8H), 4.89-5.00 (m, 8H), 4.52-4.56 (m, 12H), 4.28-4.38 (m, 16H), 4.17-4.20 (m, 4H), 4.05 (m, 16H), 3.81 (t, *J* = 5.5 Hz, 8H), 3.63-3.66 (m, 8H), 3.50 (s, 2098H), 3.10 (d, *J* = 5 Hz, 4H), 2.94-2.98 (m, 12H), 2.72-2.78 (m, 4H), 2.50-2.65 (m, 8H), 2.24 (s, 12H), 1.90-1.98 (m, 4H), 1.78-1.88 (m, 4H), 1.58-1.66 (m, 8H), 1.39 (s, 12H), 1.25-1.38 (m, 12H), 0.836-0.882 (m, 24H), 0.786-0.817 (m, 24H)；負載：87%。

實例 2：甲烷磺酸 4-(4-乙醯氧基-2-((1-PEG<sub>5K</sub>-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)苯甲基)-4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎊(9)。



#### 2-羥基-4-(甲氧基甲氧基)苯甲醛(1)

【0157】 向化合物 2,4-二羥基苯甲醛(5.04 g · 36.24 mmol)於 THF (100 mL)中之溶液中添加 DIPEA (6.52 g · 54.35 mmol)及氯(甲氧基)甲烷(3.21 g · 39.86 mmol)。該反應混合物在 RT 下攪拌隔夜。濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 15:1)純化以提供化合物 1 (3.96 g · 60% 產率);  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  11.41 (s, 1H), 9.76 (s, 1H), 7.48 (dd,  $J_1 = 2.7$  Hz,  $J_2 = 8.4$  Hz, 1H), 6.67 (dd,  $J_1 = 2.4$  Hz,  $J_2 = 8.7$  Hz, 1H), 6.62 (d,  $J = 2.1$  Hz, 1H), 5.25 (d,  $J = 2.7$  Hz, 2H), 3.51 (d,  $J = 3.0$  Hz, 3H)。

#### 4-(甲氧基甲氧基)-2-(丙-2-炔基氧基)苯甲醛(2)

【0158】 在  $20^\circ\text{C}$  下向 NaH (900 mg · 21.252 mmol)於 DMSO (100 mL)中之混合物中添加含化合物 1 (2.0 g · 10.63 mmol)之 DMSO (50 mL)。該混合物在相同溫度下攪拌 30 min 且接著逐滴添加 3-溴丙-1-炔(1.90 g · 15.94 mmol)。該反應混合物在相同溫度下攪拌 4 小時且接著傾入冰水(100 mL)中。所得溶液經調節至 pH=2-3 且添加 EtOAc (100 mL)。分離兩相且水相用



EtOAc (100 mL×3)萃取。有機組合之有機相經乾燥且濃縮。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 3:1)純化以提供化合物 2 (1.89 g · 80%產率);  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  10.34 (s, 1H), 7.85 (d,  $J = 9.3$  Hz, 1H), 6.76 (m, 2H), 5.26 (s, 2H), 4.83 (d,  $J = 2.4$  Hz, 2H), 3.52 (s, 3H), 2.60 (q,  $J = 2.4$  Hz, 1H)。

#### 4-羥基-2-(丙-2-炔基氧基)苯甲醛(3)

【0159】 向化合物 2 (5.1 g · 23.18 mmol)於丙-2-醇(100 mL)中之溶液中添加  $\text{CBr}_4$  (760 mg · 2.32 mmol)。該反應混合物回流隔夜。濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 3:1)純化以提供化合物 3 (2.44 g · 60%產率);  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  10.76 (s, 1H), 10.11 (s, 1H), 7.60 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 6.59 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 6.52 (dd,  $J_1 = 2.0$  Hz,  $J_2 = 8.8$  Hz, 1H), 4.92 (d,  $J = 2.4$  Hz, 2H), 3.70 (q,  $J = 2.4$  Hz, 1H)。

#### 4-(羥基甲基)-3-(丙-2-炔基氧基)苯酚(4)

【0160】 在  $0^\circ\text{C}$ 下分成小份向化合物 3 (2.45 g · 13.92 mmol)於 MeOH (40 mL)中之溶液中添加  $\text{NaBH}_4$  (618 mg · 16.698 mmol)。該反應混合物在相同溫度下攪拌 1 小時且接著用水(1.5 mL)淬滅。濃縮過量溶劑且殘餘物再溶解於 EtOAc (100 mL)中。所得溶液經乾燥且濃縮以提供化合物 4 (1.80 g · 74%產率)。其無需進一步純化即用於下一步驟中;  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  6.98 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 6.32 (s, 1H), 6.26 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 4.65 (d,  $J = 2.0$  Hz, 2H), 4.32 (s, 2H), 3.54 (m, 1H)。

#### 乙酸 4-(羥基甲基)-3-(丙-2-炔基氧基)苯酯(5)

【0161】 在  $0^\circ\text{C}$ 下向化合物 4 (1.20 g · 6.74 mmol)於 DCM (30 mL)中之溶液中逐滴添加 TEA (1.70 g · 16.85 mmol)、隨後乙醯氯(634 mg · 8 mmol)。該反應混合物在 RT 下攪拌 30 min。濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 5:1)純化以提供化合物 5 (360 mg · 30%產率);  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  7.38 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 6.79 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 6.75 (dd,  $J_1 = 2.0$  Hz,  $J_2 = 8.0$  Hz, 1H), 5.09 (m,  $J = 5.6$  Hz, 1H), 4.82 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 4.46 (d,  $J = 5.6$  Hz, 2H), 3.60 (q,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 2.26 (s, 3H)。

## 乙酸 4-(溴甲基)-3-(丙-2-炔基氧基)苯酯(6)

【0162】 在 0°C 下分成小份向化合物 5 (360 mg · 1.64 mmol) 於 DCM (15 mL) 中之溶液中添加 PPh<sub>3</sub> (515 mg · 1.96 mmol) · 隨後 NBS (318 mg · 1.80 mmol) 。該反應混合物在相同溫度下攪拌 30 min 。濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 50:1)純化以提供化合物 6 (190 mg · 41%產率); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.36 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.78 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 6.73 (dd, *J*<sub>1</sub> = 2.0 Hz, *J*<sub>2</sub> = 8.4 Hz, 1H), 4.77 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H), 4.54 (s, 2H), 2.56 (q, *J* = 2.4 Hz, 1H), 2.31 (s, 3H) 。

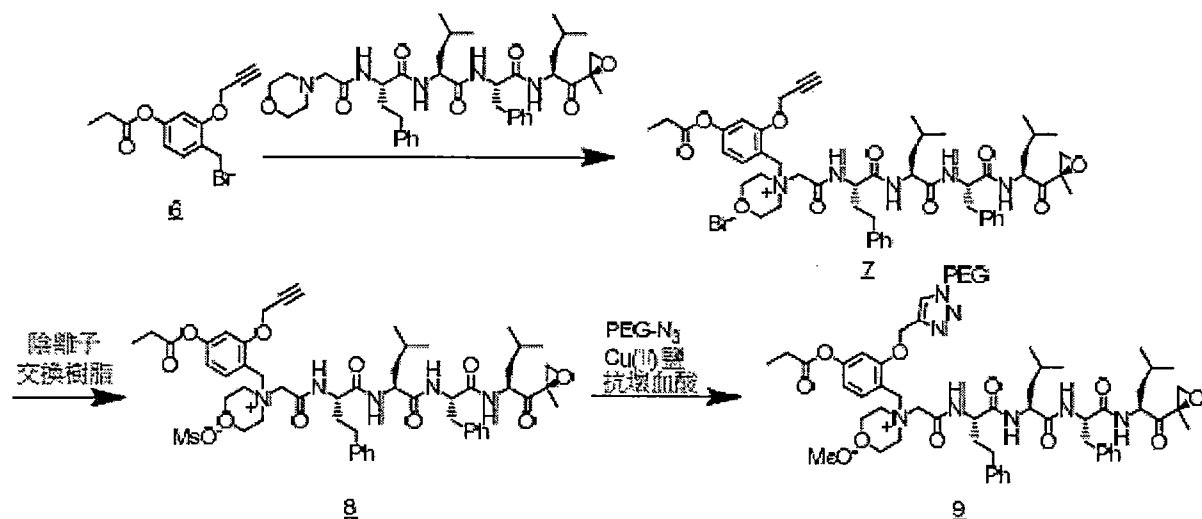
甲烷磺酸 4-(4-乙醯氧基-2-(丙-2-炔-1-基氧基)苯甲基)-4-((4*S*,7*S*,10*S*,13*S*)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((*R*)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎊 (8)

【0163】 向化合物 6 (190 mg · 0.67 mmol) 於 MeCN (10 mL) 中之溶液中添加(*S*)-4-甲基-*N*-((*S*)-1-(((*S*)-4-甲基-1-((*R*)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((*S*)-2-(2-(*N*-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺(480 mg, 0.67 mmol) 。該反應混合物在 45°C 下攪拌隔夜 。濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(MeOH/EtOAc = 1:50)純化以提供所需化合物 7 · 該化合物藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽(340 mg · 74%產率); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 9.68 (m, 1H), 7.88 (m, 1H), 7.63 (m, 1H), 7.33~7.16 (m, 10H), 6.89 (m, 3H), 6.50 (m, 1H), 5.16 (m, 1H), 5.05 (m, 1H), 4.87 (m, 1H), 4.75 (m, 2H), 4.47 (m, 2H), 4.45~4.12 (m, 8H), 4.02 (m, 3H), 3.72 (m, 1H), 3.54 (m, 1H), 3.38 (m, 1H), 3.20 (m, 1H), 3.06 (m, 2H), 2.80 (s, 3H), 2.74 (m, 2H), 2.63 (m, 2H), 2.40~2.08 (m, 5H), 1.64 (m, 2H), 1.47 (s, 3H), 0.85 (m, 12H) 。

【0164】 實例 2 之化合物由化合物 8 及 PEG<sub>5K</sub>N<sub>3</sub> 根據一般聚乙二醇化程序 A 製備

實例 3 : 甲烷磺酸 4-((4*S*,7*S*,10*S*,13*S*)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((*R*)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(2-((1-PEG<sub>5K</sub>-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)-4-(丙醯基氧基)苯

甲基嗎啉-4-鎊(9)



2-羥基-4-(甲氧基甲氧基)苯甲醛(1)

【0165】 向 2,4-二羥基苯甲醛(5.0 g · 36.23 mmol)於 THF 中之溶液中添加 DIPEA (6.52 g · 54.35 mmol)及氯(甲氧基)甲烷(3.21 g · 39.86 mmol)。該反應混合物攪拌隔夜。濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 15:1)純化以提供化合物 1 (3.96 g · 60%產率)；<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 11.41 (s, 1H), 9.76 (s, 1H), 7.48 (dd, *J*<sub>1</sub> = 2.7 Hz, *J*<sub>2</sub> = 8.4 Hz, 1H), 6.67 (dd, *J*<sub>1</sub> = 2.4 Hz, *J*<sub>2</sub> = 8.7 Hz, 1H), 6.62 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 5.25 (d, *J* = 2.7 Hz, 2H), 3.51 (d, *J* = 3.0 Hz, 3H)。

4-(甲氧基甲氧基)-2-(丙-2-炔基氧基)苯甲醛(2)

【0166】 在 20°C 下向 NaH (900 mg · 21.252 mmol)於 DMSO (100 mL)中之混合物中添加含化合物 1 (2.0 g · 10.626 mmol)之 DMSO (50 mL)。該混合物在相同溫度下攪拌 30 min 且接著逐滴添加 3-溴丙-1-炔(1.90 g · 15.94 mmol)。該反應混合物在相同溫度下攪拌 4 小時且接著傾入冰水(100 mL)中。所得溶液經調節至 pH=2-3 且添加 EtOAc (100 mL)。分離兩相且水相用 EtOAc (100 mL×3)萃取。組合之有機相經乾燥且濃縮。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 3:1)純化以提供化合物 2 (1.89 g · 80%產率)；<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 10.34 (s, 1H), 7.85 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 6.76 (m, 2H), 5.26 (s, 2H), 4.83 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H), 3.52 (s, 3H), 2.60 (q, *J* = 2.4 Hz, 1H)。

4-羥基-2-(丙-2-炔基氧基)苯甲醛(3)

【0167】 向化合物 2 (5.1 g · 23.18 mmol) 於丙-2-醇(100 mL)中之溶液中添加 CBr<sub>4</sub> (760 mg · 2.318 mmol)。該反應混合物回流隔夜。濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 3:1)純化以提供化合物 3 (2.44 g · 60%產率); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 10.76 (s, 1H), 10.11 (s, 1H), 7.60 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.59 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 6.52 (dd, *J*<sub>1</sub> = 2.0 Hz, *J*<sub>2</sub> = 8.8 Hz, 1H), 4.92 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H), 3.70 (q, *J* = 2.4 Hz, 1H)。

#### 4-(羥基甲基)-3-(丙-2-炔基氧基)苯酚(4)

【0168】 在 0°C 下分成小份向化合物 3 (2.45 g · 13.92 mmol) 於 MeOH (40 mL) 中之溶液中添加 NaBH<sub>4</sub> (618 mg · 16.698 mmol)。該反應混合物在相同溫度下攪拌 1 小時且接著藉由水(1.5 mL)淬滅。濃縮過量溶劑且殘餘物再溶解於 EtOAc (100 mL) 中。所得溶液經乾燥且濃縮以提供化合物 4 (1.80 g · 74%產率)，其無需進一步純化即用於下一步驟中；<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 6.98 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.32 (s, 1H), 6.26 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 4.65 (d, *J* = 2.0 Hz, 2H), 4.32 (s, 2H), 3.54 (m, 1H)。

#### 丙酸 4-(羥基甲基)-3-(丙-2-炔基氧基)苯酯(5)

【0169】 在 0°C 下向化合物 4 (2.4 g · 13.5 mmol) 於 DCM/THF (30 mL/5 mL) 中之溶液中添加 Et<sub>3</sub>N (3.41 g · 33.75 mmol) 及丙酸酐(1.93 g · 14.8 mmol)。該反應混合物在 RT 下攪拌隔夜。濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 3:1)純化以提供化合物 5 (850 mg · 30%產率); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.38 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.81 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.74 (dd, *J*<sub>1</sub> = 2.4 Hz, *J*<sub>2</sub> = 8.4 Hz, 1H), 5.08 (br, s, 1H), 4.80 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 4.46 (s, 2H), 3.60 (m, 1H), 2.20 (m, 2H), 1.16 (m, 3H)。

#### 丙酸 4-(溴甲基)-3-(丙-2-炔基氧基)苯酯(6)

【0170】 在 RT 下向化合物 5 (850 mg · 3.63 mmol) 於 DCM (40 mL) 中之溶液中添加 PPh<sub>3</sub> (1.24 g · 4.72 mmol) 及 NBS (767.4 mg · 4.36 mmol)。該反應混合物攪拌 30 min。濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 3:1)純化以提供化合物 6 (780 mg · 73%產率); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.34 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.78 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 6.73 (dd, *J*<sub>1</sub> = 2.4 Hz, *J*<sub>2</sub> = 8.4 Hz, 1H), 4.77 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 4.54 (m, 1H), 2.60 (m, 2H),

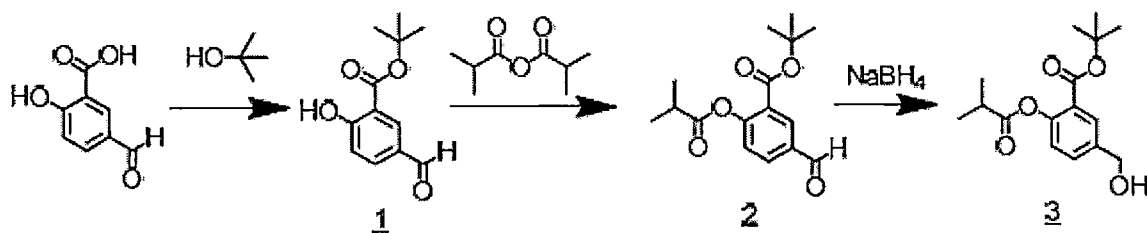
2.56 (m, 1H), 1.27 (q,  $J = 7.6$  Hz, 3H)。

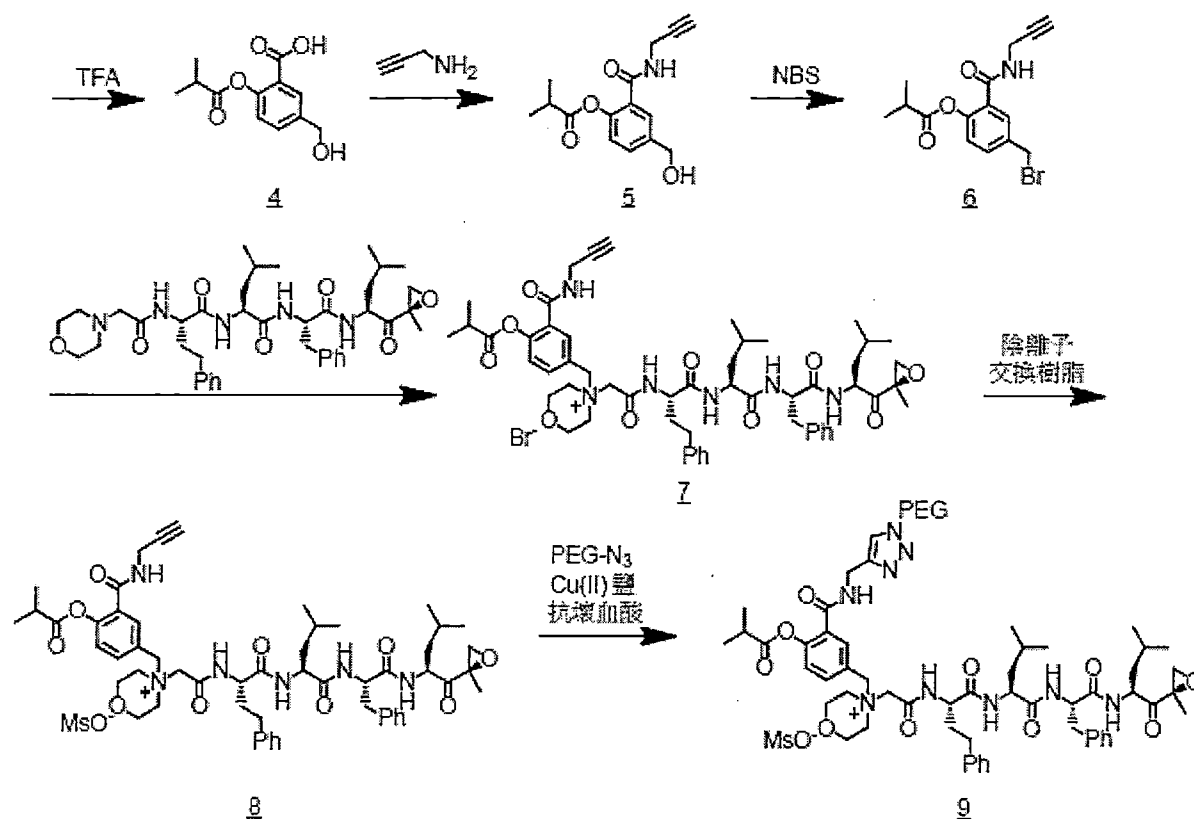
甲烷磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(2-(丙-2-炔-1-基氧基)-4-(丙醯基氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(8)

【0171】 向化合物 6 (780 mg · 2.626 mmol)於 MeCN (10 mL)中之溶液中添加(S)-4-甲基-N-((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(N-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺(945 mg, 1.313 mmol)。該反應混合物在 RT 下攪拌隔夜。濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(EtOAc/MeOH = 100:3)純化以提供所需化合物 7 (760 mg · 57%產率)，該化合物藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽(740 mg · 97%產率)； $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9.64 (m, 1H), 7.88 (m, 1H), 7.63 (m, 1H), 7.26 (m, 10H), 6.92 (m, 1H), 6.89 (m, 2H), 6.50 (m, 1H), 5.16 (m, 1H), 5.05 (m, 1H), 4.87 (m, 1H), 4.78 (m, 2H), 4.47 (m, 2H), 4.45~4.12 (m, 8H), 3.72 (m, 1H), 3.54 (m, 1H), 3.38 (m, 1H), 3.20 (m, 1H), 3.06 (m, 2H), 2.84 (m, 1H), 2.80 (s, 3H), 2.74 (m, 2H), 2.63 (m, 3H), 2.40~2.08 (m, 5H), 1.64 (m, 2H), 1.47 (s, 3H), 1.24 (m, 3H), 0.85 (m, 12H)。

【0172】 實例 3 之聚乙二醇化卡非佐米化合物由化合物 8 及  $\text{PEG}_{5\text{K}}\text{N}_3$  根據一般聚乙二醇化程序 A 製備。

實例 4：甲烷磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(4-(異丁醯基氧基)-3-(((1- $\text{PEG}_{5\text{K}}$ -1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)胺甲醯基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(9)





#### 5-甲醯基-2-羥基苯甲酸第三丁酯(1)

【0173】 在 RT 下向化合物 5-甲醯基-2-羥基苯甲酸(2.01 g · 12 mmol) 於 2-甲基丙-2-醇(70 mL)中之溶液中添加 DCC (2.3 g · 12 mmol)。該反應混合物在回流下攪拌 3 小時。濃縮溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 5:1)純化以提供化合物 1 (1.8 g · 75%產率)。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 11.76 (s, 1H), 9.91 (s, 1H), 8.33 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 8.00 (dd, *J*<sub>1</sub> = 1.8 Hz, *J*<sub>2</sub> = 8.7 Hz, 1H), 7.11 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 1.68 (s, 9H)。

#### 5-甲醯基-2-(異丁醯基氧基)苯甲酸第三丁酯(2)

【0174】 在 RT 下向化合物 1 (1.01 g · 4.5 mmol)於 THF (20 mL)中之溶液中添加吡啶(1.07 g · 13.5 mmol)及異丁酸酐(1.423 g · 9 mmol)。該反應混合物攪拌 3 小時。濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 10:1)純化以提供化合物 2 (420 mg · 36%產率)。<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 10.04 (s, 1H), 8.36 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 8.04 (dd, *J*<sub>1</sub> = 2.1 Hz, *J*<sub>2</sub> = 8.4 Hz, 1H), 7.25 (m, 1H), 2.91 (m, 1H), 1.59 (s, 9H), 1.36 (d, *J* = 6.9 Hz, 6H)

#### 5-(羥基甲基)-2-(異丁醯基氧基)苯甲酸第三丁酯(3)

【0175】 在 RT 下向化合物 2 (400 mg · 1.37 mmol)於 THF (20 mL)中

之溶液中添加  $\text{NaBH}_4$  (57.3 mg · 1.5 mol)。該反應混合物攪拌 1 小時且接著藉由丙酮(1 mL)淬滅。濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 8:1)純化以提供化合物 3 (300 mg · 75%產率)。 $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.85 (m, 1H), 7.52 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 7.06 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 4.73 (s, 2H), 2.88 (m, 1H), 1.57 (s, 9H), 1.30 (m, 6H)。

#### 5-(羥基甲基)-2-(異丁醯基氧基)苯甲酸(4)

【0176】 化合物 3 (400 mg · 1.38 mmol)於 TFA/DCM (v/v, 3 mL/12 mL)中之溶液在 RT 下攪拌隔夜。該混合物傾入水中且水相經調節至 pH=3-4。分離兩相且有機相經無水  $\text{MgSO}_4$  乾燥且濃縮以提供化合物 4 (202 mg · 62%產率)。該化合物無需進一步純化即用於下一步驟。

#### 異丁酸 4-(羥基甲基)-2-(丙-2-炔基胺甲醯基)苯酯(5)

【0177】 在  $0^\circ\text{C}$ 下向化合物 4 (202 mg · 0.85 mmol)於 DCM (20 mL)中之溶液中添加 DIPEA (219.3 mg · 1.7 mmol)、HATU (969 mg · 2.55 mmol)及丙-2-炔-1-胺(93.5 mg · 1.7 mmol)。該反應混合物攪拌 30 min。濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 5:1)純化以提供化合物 5 (130 mg · 60%產率);  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.83 (m, 1H), 7.52 (m, 1H), 7.10 (m, 1H), 4.65 (s, 2H), 4.24 (m, 2H), 2.87 (m, 1H), 2.30 (m, 1H), 1.26 (m, 6H)。

#### 異丁酸 4-(溴甲基)-2-(丙-2-炔基胺甲醯基)苯酯(6)

【0178】 在  $0^\circ\text{C}$ 下向化合物 5 (130 mg · 0.5 mmol)於 DCM (15 mL)中之溶液中添加  $\text{PPh}_3$  (170.3 mg · 0.65 mmol)及 NBS (105.6 mg · 0.6 mmol)。該反應混合物攪拌 30 min 且濃縮溶劑。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 10:1)純化以提供化合物 6 (50 mg · 32%產率)。 $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.88 (m, 1H), 7.37 (m, 1H), 7.11 (m, 1H), 4.51 (s, 2H), 4.23 (m, 2H), 2.87 (m, 1H), 2.31 (m, 1H), 1.37 (m, 6H)。

溴化 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(4-(異丁醯基氧基)-3-(丙-2-炔-1-基胺甲醯基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(8)

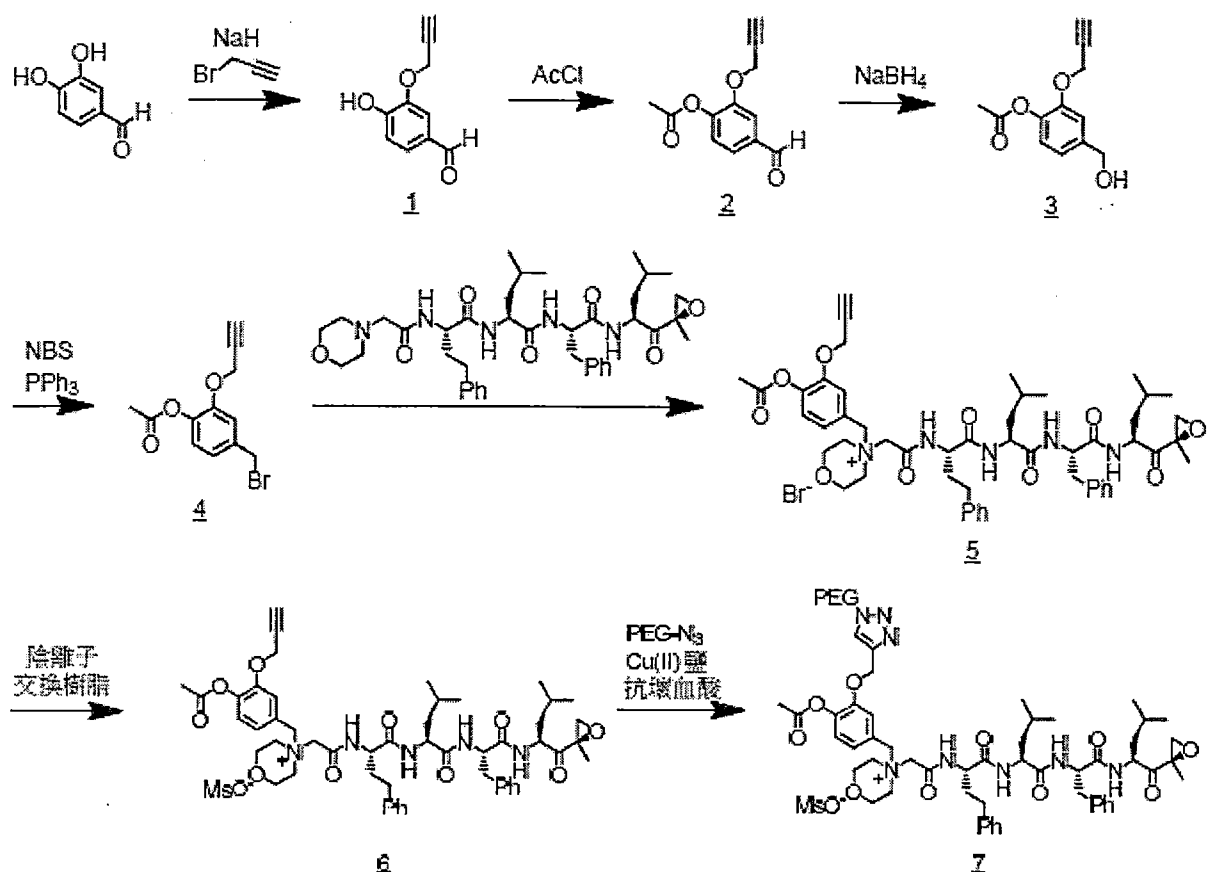
【0179】 向化合物 6 (360 mg · 1.1 mmol)於 MeCN (4 mL)中之溶液中

添加(S)-4-甲基-N-((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(N-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺(720 mg, 1.0 mmol)。該反應混合物在 45°C 下攪拌隔夜。濃縮溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(EtOAc/MeOH = 50:1)純化以提供所需產物 7。該產物接著藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽(150 mg, 15%產率)；<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 9.61 (m, 1H), 7.90 (m, 1H), 7.64 (m, 2H), 7.34-7.10 (m, 12H), 6.92 (m, 1H), 6.68 (m, 1H), 5.03 (m, 2H), 4.86 (m, 1H), 4.58-4.32 (m, 4H), 4.28-4.10 (m, 5H), 3.96 (m, 4H), 3.47-3.31 (m, 2H), 3.18 (m, 1H), 3.06-2.87 (m, 2H), 2.83 (s, 3H), 2.76 (m, 2H), 2.26 (m, 1H), 2.23-2.04 (m, 3H), 1.66-1.58 (m, 2H), 1.42 (m, 4H), 1.38-1.30 (m, 6H), 1.27 (m, 4H), 0.90-0.84 (m, 12H)。

【0180】 實例 4 之聚乙二醇化卡非佐米化合物由化合物 8 及 PEG<sub>5K</sub>N<sub>3</sub> 根據一般聚乙二醇化程序 A 製備。

實例 5：甲磺酸 4-(4-乙醯氧基-3-((1-PEG<sub>5K</sub>-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)苯甲基)-4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎗(7)





#### 4-羥基-3-(丙-2-炔基氧基)苯甲醛(1)

【0181】 在 20°C 下向 NaH 於 DMSO (300 mL) 中之混合物中添加含 3,4-二羥基苯甲醛(30 g, 217.39 mmol) 之 DMSO (50 mL)。該混合物攪拌 30 min 且添加 3-溴丙-1-炔(25.87 g, 217.39 mmol)。該反應混合物在 RT 下攪拌一小時。該混合物傾入冰水(800 mL)中且所得溶液經調節至 pH=2。該混合物用 EtOAc (500 mL×3) 萃取，經無水 MgSO<sub>4</sub> 乾燥，且濃縮。殘餘物重複地自 DCM/石油醚(30 mL/500 mL) 結晶以提供化合物 1 (30 g, 78% 產率)；<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 9.87 (s, 1H), 7.54 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 7.49 (dd, *J*<sub>1</sub> = 1.5 Hz, *J*<sub>2</sub> = 8.1 Hz, 1H), 7.09 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 4.82 (m, 2H), 2.62 (m, 1H)。

#### 乙酸 4-甲醯基-2-(丙-2-炔基氧基)苯酯(2)

【0182】 在 0°C 下向化合物 1 (10.00 g, 56.82 mmol) 於 DCM (150 mL) 中之溶液中添加 Et<sub>3</sub>N (11.48 g, 113.64 mmol)、隨後乙醯氯(5.35 g, 68.18 mmol)。該反應混合物在 RT 下攪拌 2 小時。該混合物用飽和 2 N HCl 水溶液(100 mL)及水(50 mL)洗滌，經無水 MgSO<sub>4</sub> 乾燥，且濃縮以提供化合物 2 (12 g, 97% 產率)，該化合物無需進一步純化即用於下一步驟中；<sup>1</sup>H NMR

(CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):  $\delta$  9.96 (s, 1H), 7.63 (d,  $J = 1.6$  Hz, 1H), 7.54 (dd,  $J_1 = 1.6$  Hz,  $J_2 = 8.0$  Hz, 1H), 7.25 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 4.79 (d,  $J = 2.4$  Hz, 2H), 2.57 (t,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 2.35 (s, 3H)。

乙酸 4-(羥基甲基)-2-(丙-2-炔基氧基)苯酯(3)

【0183】 在 0°C 下分成小份向化合物 2 (12.00 g · 55.05 mmol) 於 DCM/MeOH (150 mL/15 mL) 中之溶液中添加 NaBH<sub>4</sub> (3.06 g · 82.57 mmol) 。該反應混合物在 RT 下攪拌 30 min 。該混合物藉由丙酮(5 mL)淬滅，且濃縮。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 2:1)純化以提供化合物 3 (10.32 g · 85%產率)；<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):  $\delta$  7.16 (d,  $J = 1.6$  Hz, 1H), 7.04 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 6.98 (dd,  $J_1 = 1.6$  Hz,  $J_2 = 8.0$  Hz, 1H), 4.72 (d,  $J = 2.4$  Hz, 2H), 4.69 (s, 2H), 2.53 (t,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 2.32 (s, 3H)。

乙酸 4-(溴甲基)-2-(丙-2-炔基氧基)苯酯(4)

【0184】 在 0°C 下向化合物 3 (11.50 g · 52.27 mmol) 於 DCM (150 mL) 中之溶液中添加 PPh<sub>3</sub> (20.50 g · 78.41 mmol) 及 NBS (11.04 g · 62.73 mmol) 。該反應混合物在 RT 下攪拌 0.5 小時。濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 20:1)純化以提供化合物 4 (7.82 g · 53%產率)；<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):  $\delta$  7.14 (m, 1H), 7.02 (m, 2H), 4.73 (d,  $J = 2.4$  Hz, 2H), 4.48 (s, 2H), 2.55 (t,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 2.32 (s, 3H)。

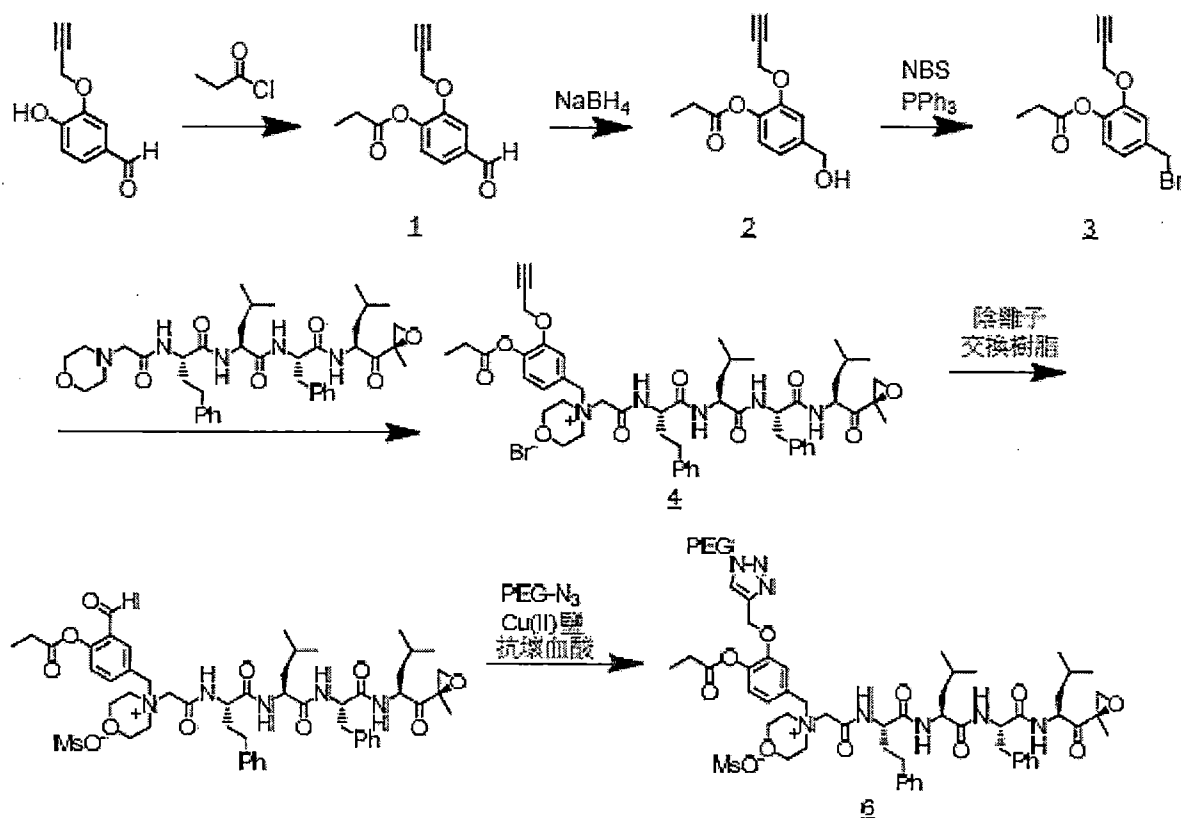
甲烷磺酸 4-(4-乙醯氧基-3-(丙-2-炔-1-基氧基)苯甲基)-4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎊 (6)

【0185】 向化合物 4 (5.85 g · 20.67 mmol) 於 MeCN (50 mL) 中之溶液中添加(S)-4-甲基-N-((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(N-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺(4.96 g, 6.89 mmol) 。該反應混合物在 45°C 下攪拌 2 天。濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(EtOAc/MeOH = 100:6)純化以提供所需化合物 5，該化合物藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽(3.2 g · 50%產率)；<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):  $\delta$  9.66 (m, 1H),

7.83 (m, 1H), 7.36 (m, 1H), 7.26-7.14 (m, 13H), 6.72 (m, 1H), 5.18 (m, 1H), 4.90 (m, 2H), 4.77 (m, 2H), 4.53-4.36 (m, 4H), 4.26 (m, 3H), 4.08 (m, 1H), 3.92 (m, 2H), 3.74 (m, 1H), 3.46 (m, 1H), 3.35 (m, 1H), 3.13 (m, 1H), 3.04 (m, 2H), 2.81 (s, 3H), 2.75 (m, 2H), 2.62 (m, 1H), 2.33 (m, 3H), 2.20 (m, 1H), 2.12 (m, 1H), 1.70-1.53 (m, 3H), 1.50-1.33 (m, 5H), 1.25 (m, 2H), 0.90-0.81 (m, 12H)。

【0186】 實例 5 之聚乙二醇化卡非佐米化合物由化合物 6 及 PEG<sub>5K</sub>N<sub>3</sub> 根據一般聚乙二醇化程序 A 製備。

實例 6：甲烷磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(3-((1-PEG<sub>5K</sub>-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)-4-(丙醯基氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(6)



丙酸 4-甲醯基-2-(丙-2-炔-1-基氧基)苯酯(1)

【0187】 在 0°C 下向 4-羥基-3-(丙-2-炔基氧基)苯甲醛(2.64 g · 15 mmol) 於 DCM (30 mL) 中之溶液中添加 TEA (3 g · 30 mmol) 及丙醯氯(1.67 g · 18 mmol)。該反應混合物在 RT 下攪拌一小時。此混合物用水(50 mL)淬滅且收集 DCM 相，經無水 MgSO<sub>4</sub> 乾燥，且濃縮。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石

油醚/EtOAc = 10:1)純化以提供化合物 1 (2.4 g · 85%產率);  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9.97 (s, 1H), 7.64 (d,  $J = 1.5$  Hz, 1H), 7.55 (d,  $J_1 = 1.5$  Hz,  $J_2 = 7.8$  Hz, 1H), 7.26 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 4.79 (d,  $J = 2.1$  Hz, 1H), 2.68 (q,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 2.58 (t,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 1.31 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H)。

丙酸 4-(羥基甲基)-2-(丙-2-炔基氧基)苯酯(2)

【0188】 在  $0^\circ\text{C}$  下分成小份向化合物 1 (2.32 g · 0.01 mol) 於 THF (30 mL) 中之溶液中添加  $\text{NaBH}_4$  (570 mg · 0.015 mol)。該反應混合物在室溫下攪拌 2 小時且接著藉由飽和  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (15 mL) 淬滅。收集有機相且水相藉由 DCM (20 mL $\times$ 3) 萃取。組合有機相，經無水  $\text{MgSO}_4$  乾燥，且濃縮。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 2:1)純化以提供化合物 2 (1.7 g · 73%產率);  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.12~6.95 (m, 3H), 4.68 (m, 2H), 4.62 (m, 2H), 2.63 (m, 2H), 2.53 (m, 1H), 1.27 (m, 3H)。

丙酸 4-(溴甲基)-2-(丙-2-炔基氧基)苯酯(3)

【0189】 依序向化合物 2 (1.7 g · 7.26 mmol) 於 DCM (30 mL) 中之溶液中添加  $\text{PPh}_3$  (2.28 g · 8.7 mmol) 及 DIPEA (1.12 g · 8.7 mmol)。該混合物冷卻至  $0^\circ\text{C}$  且分成小份添加 NBS (1.4 g · 7.78 mmol)。該反應混合物在相同溫度下攪拌 20 min。濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 10:1)純化以提供化合物 3 (400 mg · 19%產率)。

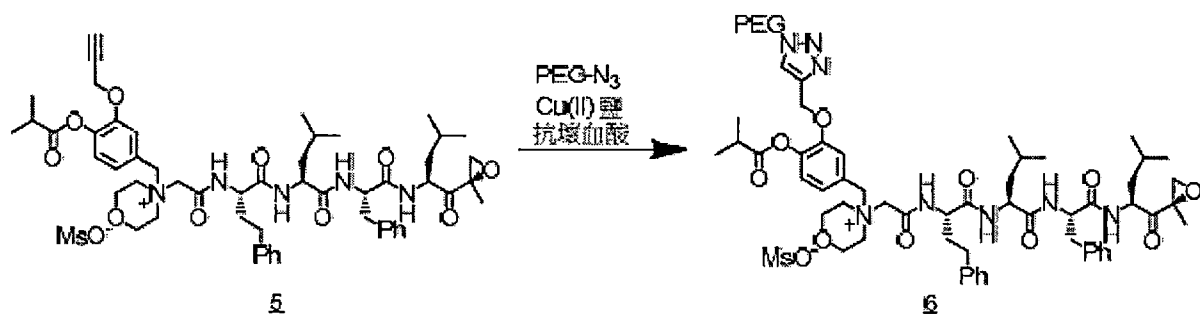
甲烷磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(3-(丙-2-炔-1-基氧基)-4-(丙醯基氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(5)

【0190】 向化合物 3 (400 mg · 1.34 mmol) 於 MeCN (5 mL) 中之溶液中添加化合物(S)-4-甲基-N-((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(N-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺(484.8 mg, 0.67 mmol)。該反應混合物在  $45^\circ\text{C}$  下加熱隔夜。濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析純化以提供所需化合物 4 (380 mg · 48%產率)，該化合物藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽(370 mg · 定量);  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9.63 (m, 1H), 7.82 (m, 1H), 7.35~7.09 (m, 13H), 6.91 (m, 1H), 6.52 (m, 1H), 5.13 (m,

1H), 5.02~4.82 (m, 5H), 4.72 (m, 2H), 4.50~3.83 (m, 11H), 3.52~3.31 (m, 2H), 3.18~2.58 (m, 11H), 1.68~1.18 (m, 9H), 0.88 (m, 12H)。

【0191】 實例 6 之聚乙二醇化卡非佐米化合物由化合物 5 及 PEG<sub>5K</sub>N<sub>3</sub> 根據一般聚乙二醇化程序 A 製備。

實例 7：甲磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(4-(異丁醯基氧基)-3-((1-PEG<sub>5K</sub>-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(6)



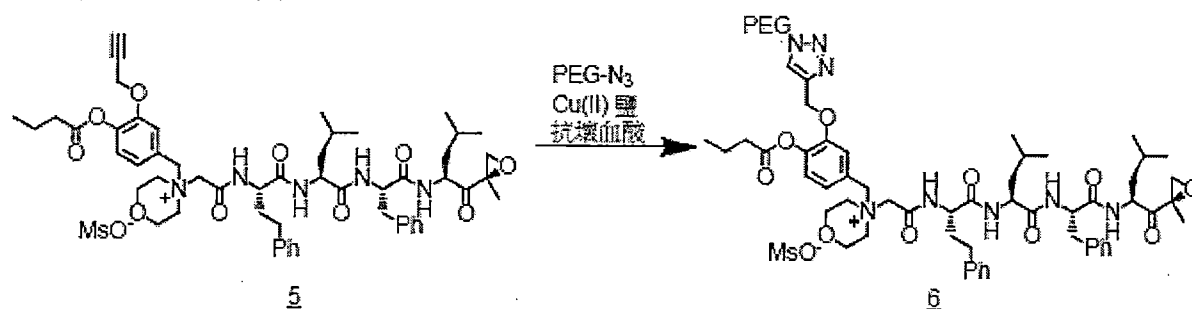
甲磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(4-(異丁醯基氧基)-3-(丙-2-炔-1-基氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(5)

【0192】 向化合物 3 (0.5 g · 1.6 mmol) 於 MeCN (9 mL) 中之溶液中添加(S)-4-甲基-N-((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(N-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺(864 mg, 1.2 mmol)。該反應混合物在 45°C 下攪拌 20 小時。濃縮溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(EtOAc/MeOH = 100:6)純化以提供所需化合物 4。該化合物接著藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽(500 mg · 44%產率)；<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 9.67 (m, 1H), 7.82 (m, 1H), 7.27 (m, 16H), 6.85 (m, 1H), 6.47 (m, 1H), 5.13 (m, 1H), 5.02 (m, 1H), 4.85 (m, 1H), 4.70 (m, 2H), 4.45 (m, 2H), 4.37 (m, 2H), 4.23 (m, 4H), 3.92 (m, 2H), 3.84 (m, 1H), 3.46 (m, 1H), 3.35 (m, 1H), 3.15 (m, 1H), 3.03 (m, 1H), 2.92 (m, 1H), 2.80 (s, 3H), 2.73 (m, 2H), 2.58 (m, 1H), 2.20 (m, 1H), 2.12 (m, 1H), 1.70 (m, 1H), 1.62 (m, 3H), 1.43 (m, 4H), 1.28 (m, 6H), 1.21 (m, 3H), 0.85 (m,

12H)。

【0193】 實例 7 藉由類似於實例 3 及 5 中所述之彼等方法的方法製備，其中中間物以類似方式製得，且化合物 5 及 PEG<sub>5K</sub>N<sub>3</sub> 根據一般聚乙二醇化程序 A 反應。

實例 8：甲烷磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(4-(丁醯基氧基)-3-((1-PEG<sub>5K</sub>-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(6)

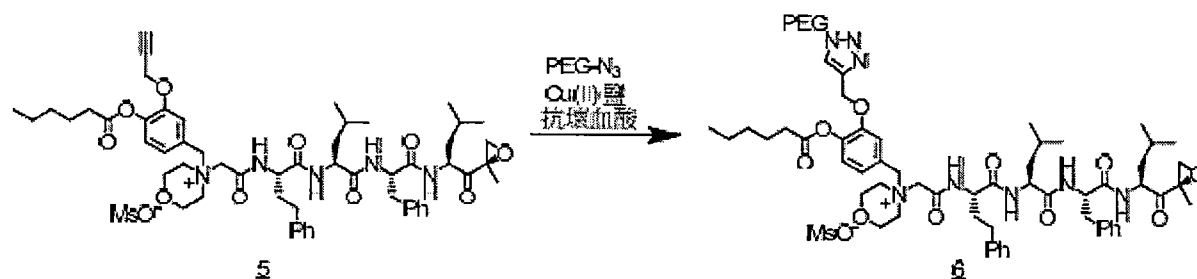


甲烷磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(4-(丁醯基氧基)-3-(丙-2-炔-1-基氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(5)

【0194】 向化合物 3 (0.7 g · 2.25 mmol) 於 MeCN (8 mL) 中之溶液中添加(S)-4-甲基-N-((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(N-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺(0.8 g, 1.125 mmol)。該反應混合物在 45°C 下攪拌隔夜。濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(EtOAc/MeOH = 100/3)純化以提供所需化合物 4 (500 mg · 23.3%產率)，該化合物藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽(460 mg · 92%產率)；<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 9.73 (m, 1H), 7.76 (m, 1H), 7.33~7.10 (m, 13H), 6.91 (m, 1H), 6.52 (m, 1H), 5.18 (m, 1H), 5.08~4.85 (m, 2H), 4.72 (m, 2H), 4.50~3.78 (m, 11H), 3.52~3.31 (m, 2H), 3.18~2.58 (m, 11H), 2.18 (m, 2H), 1.68~1.24 (m, 12H), 0.84 (m, 12H)。

【0195】 實例 8 藉由類似於實例 3 中所述之彼等方法的方法製備，其中中間物以類似方式製得(使用丙醯氯來產生與實例 3 中所示之中間物 1 的相關性)，且化合物 5 及 PEG<sub>5K</sub>N<sub>3</sub> 根據一般聚乙二醇化程序 A 反應。

實例 9：甲烷磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(4-(己醯基氧基)-3-((1-PEG<sub>5K</sub>-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(6)



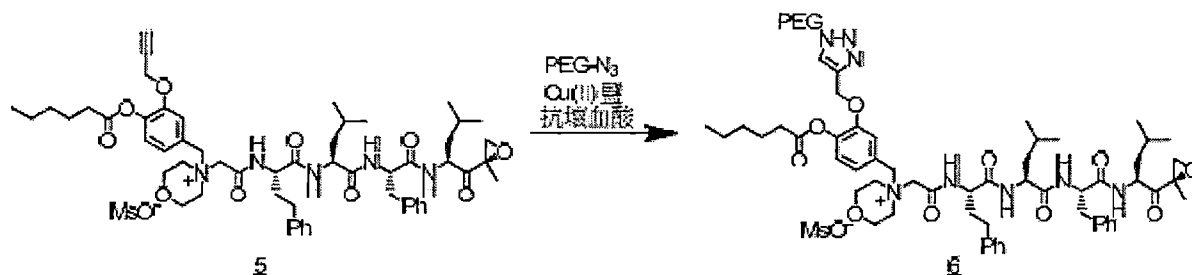
甲烷磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(4-(己醯基氧基)-3-(丙-2-炔-1-基氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(5)

【0196】 向化合物 3 (1.41 g, 4.16 mmol) 於 MeCN (25 mL) 中之溶液中添加 (S)-4-甲基-N-((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(N-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺 (1.0 g, 1.39 mmol)。該反應混合物在 40~45°C 下加熱隔夜。濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析 (EtOAc/MeOH = 20:1) 純化以提供所需化合物 4。該化合物藉由用離子交換樹脂處理而轉化為甲磺酸鹽 (570 mg, 41% 產率)；<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 9.72 (m, 1H), 7.82 (m, 1H), 7.34~7.15 (m, 12H), 7.10 (m, 1H), 6.82 (m, 1H), 6.43 (m, 1H), 5.15 (m, 1H), 4.98 (m, 1H), 4.76 (m, 2H), 4.46 (m, 2H), 4.38 (m, 2H), 4.25 (m, 3H), 4.12 (m, 1H), 4.01 (m, 2H), 3.85 (m, 2H), 3.47 (m, 1H), 3.36 (m, 1H), 3.15 (m, 1H), 3.01 (m, 2H), 2.80 (s, 3H), 2.72 (m, 2H), 2.60 (m, 2H), 2.51 (m, 1H), 2.35~2.14 (m, 4H), 1.76 (m, 2H), 1.55 (m, 2H), 1.48 (m, 4H), 1.37 (m, 6H), 1.23 (m, 3H), 0.86 (m, 12 H)。

【0197】 實例 9 藉由類似於實例 3 中所述之彼等方法的方法製備。其中中間物以類似方式製得 (使用戊醯氯來產生與實例 3 中所示之中間物 1 的相關性)。且化合物 5 及 PEG<sub>5K</sub>N<sub>3</sub> 根據一般聚乙二醇化程序 A 反應。

實例 10：甲烷磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基

-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(3-((1-PEG<sub>5K</sub>-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)-4-(辛醯基氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(6)



【0198】 實例 10 藉由類似於實例 3 中所述之彼等方法的方法製備。其中中間物以類似方式製得(使用庚醯氯及三甲胺來產生與實例 3 中所示之中間物 1 醛的相關性)，且化合物 5 及 PEG<sub>5K</sub>N<sub>3</sub> 根據一般聚乙二醇化程序 A 反應。

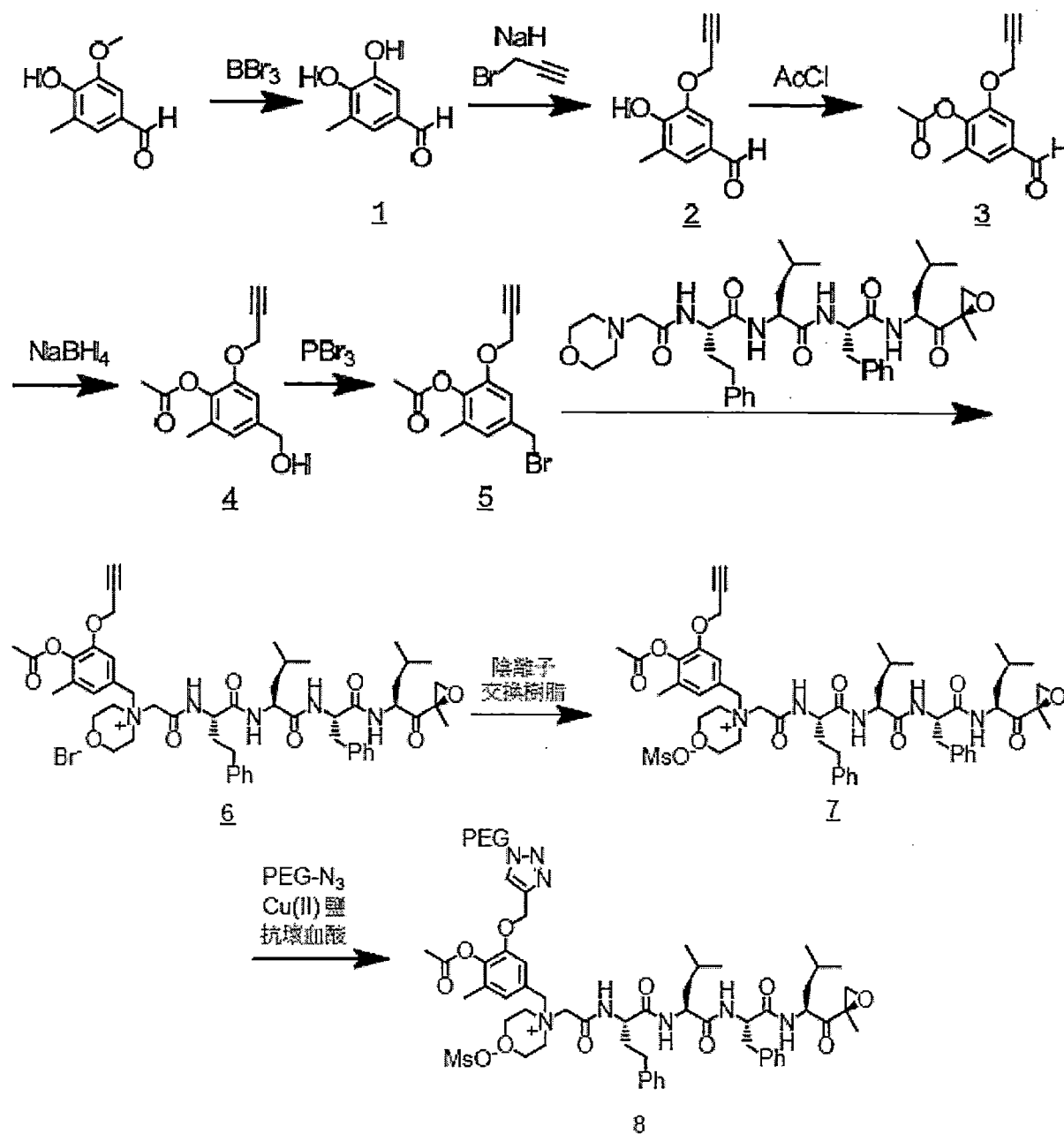
甲烷磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(4-(辛醯基氧基)-3-(丙-2-炔-1-基氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(5)

【0199】 向化合物 3 (1.53 g, 4.17 mmol) 於 MeCN (25 mL) 中之溶液中添加(S)-4-甲基-N-((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(N-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺(1.00 g, 1.39 mmol)。該反應混合物在 40~45°C 下攪拌隔夜。濃縮溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(EtOAc/MeOH = 100:5)純化以提供所需化合物 4。該化合物接著藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽(620 mg, 44%產率)；<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 9.69 (m, 1H), 7.82 (m, 1H), 7.34~7.15 (m, 12H), 7.10 (m, 1H), 6.88 (m, 1H), 6.51 (m, 1H), 5.15 (m, 1H), 4.98 (m, 1H), 4.88 (m, 1H), 4.74 (m, 2H), 4.46 (m, 2H), 4.38 (m, 2H), 4.25 (m, 4H), 4.02 (m, 2H), 3.85 (m, 1H), 3.47 (m, 1H), 3.36 (m, 1H), 3.15 (m, 1H), 3.01 (m, 2H), 2.83 (s, 3H), 2.72 (m, 2H), 2.60 (m, 3H), 2.35-2.14 (m, 3H), 1.76 (m, 2H), 1.55 (m, 2H), 1.48-1.23 (15H), 0.92~0.78 (12 H)。

實例 11：甲烷磺酸 4-(4-乙醯氧基-3-甲基-5-((1-PEG<sub>5K</sub>-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)苯甲基)-4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基



-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎊(8)



### 3,4-二羥基-5-甲基苯甲醛(1)

【0200】 在 $-78^\circ\text{C}$ 下向化合物 4-羥基-3-甲氧基-5-甲基-苯甲醛(2.00 g, 12.04 mmol)於 DCM (100 mL)中之溶液中添加  $\text{BBr}_3$  (3.02 g, 12.04 mmol)。該反應混合物在室溫下攪拌隔夜。該混合物在 $-20^\circ\text{C}$ 下用飽和  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (100 mL)淬滅。分離兩相且水溶液用 EtOAc (50 mL)萃取。組合之有機相經無水  $\text{MgSO}_4$  乾燥且濃縮。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 10:1)純化以提供化合物 1 (1.56 g, 85%產率);  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):

$\delta$  9.94 (s, 1H), 9.69 (s, 1H), 9.47 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 2.02 (s, 3H)。  
4-羥基-3-甲基-5-(丙-2-炔基氧基)苯甲醛(2)

【0201】 在 0°C 下向 NaH (489.12 mg · 20.38 mmol) 於 DMSO (30 mL) 中之混合物中添加含化合物 1 (1.55 g · 10.19 mmol) 之 DMSO (10 mL)。該混合物攪拌 30 min 且接著在相同溫度下添加 3-溴丙-1-炔 (1.21 g · 10.19 mmol)。該反應混合物攪拌 30 min 且用水 (100 mL) 淬滅。所得溶液經調節至 pH=4-5 且用 EtOAc (400 mL × 3) 萃取。組合之 EtOAc 相用鹽水 (50 mL) 洗滌，經無水 MgSO<sub>4</sub> 乾燥且濃縮。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析 (石油醚/EtOAc = 10:1) 純化以提供化合物 2 (1.7 g · 88% 產率)；<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  9.84 (s, 1H), 9.77 (s, 1H), 7.42 (m, 2H), 4.94 (d, *J* = 2.1 Hz, 2H), 3.65 (m, 1H), 2.22 (s, 3H)。

乙酸 4-甲醯基-2-甲基-6-(丙-2-炔基氧基)苯酯(3)

【0202】 在 0°C 下以液滴形式向化合物 2 (1.60 g · 8.41 mmol) 於 DCM 中之溶液中添加吡啶 (2.00 g · 25.23 mmol)、隨後乙醯氯 (1.32 g · 16.82 mmol)。該反應混合物在 RT 下攪拌 1 小時且接著添加水 (100 mL)。分離兩相且有機相用稀 HCl (1 N · 50 mL) 洗滌，經無水 MgSO<sub>4</sub> 乾燥且濃縮以提供化合物 3 (2.0 g · 定量)，該化合物無需進一步純化即用於下一步驟；<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  9.95 (s, 1H), 7.56 (m, 2H), 4.96 (m, 2H), 3.67 (m, 1H), 2.36 (m, 3H), 2.23 (s, 3H)。

乙酸 4-(羥基甲基)-2-甲基-6-(丙-2-炔基氧基)苯酯(4)

【0203】 在 0°C 下分成小份向化合物 3 (2.00 g · 8.61 mmol) 於 THF (50 mL) 中之溶液中添加 NaBH<sub>4</sub> (325.80 mg · 8.61 mmol)。該反應混合物在相同溫度下攪拌 1 小時且接著用水 (1 mL) 淬滅。該混合物用 DCM (100 mL) 稀釋，直接經無水 MgSO<sub>4</sub> 乾燥且濃縮。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析 (石油醚/EtOAc = 5:1) 純化以提供化合物 4 (1.5 g · 74% 產率)；<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  7.00 (s, 1H), 6.86 (s, 1H), 5.26 (m, 1H), 4.78 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H), 4.47 (m, 2H), 3.61 (m, 1H), 2.31 (s, 3H), 2.11 (s, 3H)。

乙酸 4-(溴甲基)-2-甲基-6-(丙-2-炔基氧基)苯酯(5)

【0204】 在 0°C 下向化合物 4 (1.50 g · 6.46 mmol) 於 DCM (50 mL) 中

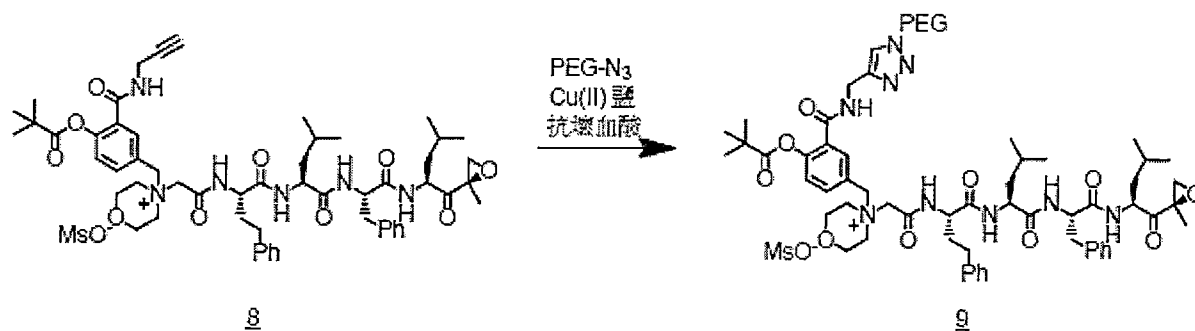
之溶液中添加  $\text{PBr}_3$  (1.75 g, 6.46 mmol)。該反應混合物攪拌 30 min 且接著用水(50 mL)淬滅。分離兩相且有機相經無水  $\text{MgSO}_4$  乾燥且濃縮。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 30:1)純化以提供化合物 5 (750 mg, 39%產率);  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.00 (s, 1H), 6.94 (s, 1H), 4.73 (d,  $J$  = 2.4 Hz, 2H), 4.47 (s, 2H), 2.57 (m, 1H), 2.37 (s, 3H), 2.19 (s, 3H)。

甲烷磺酸 4-(4-乙醯氧基-3-甲基-5-(丙-2-炔-1-基氧基)苯甲基)-4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎊(7)

【0205】 向化合物 5 (351.25 mg, 1.19 mmol)於 MeCN (5 mL)中之溶液中添加(S)-4-甲基-N-(((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(N-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺(428.35 mg, 595.00  $\mu\text{mol}$ )。該反應混合物在 40-45°C 下攪拌隔夜。濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(EtOAc/MeOH = 100:1)純化以提供所需化合物 6。該化合物藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽(280 mg, 50%產率);  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9.68 (m, 1H), 7.82 (m, 1H), 7.26 (m, 11H), 7.00 (m, 2H), 6.60 (m, 1H), 5.17 (m, 1H), 5.08 (m, 1H), 4.78 (m, 3H), 4.46 (m, 4H), 4.22 (m, 4H), 4.01 (m, 2H), 3.80 (m, 2H), 3.45 (m, 2H), 3.18 (m, 1H), 3.05 (m, 2H), 2.80 (s, 3H), 2.73 (m, 2H), 2.60 (m, 1H), 2.43 (m, 3H), 2.20 (m, 3H), 1.58 (m, 2H), 1.46 (m, 6H), 1.32 (m, 3H), 0.88 (m, 12H)。

【0206】 實例 11 由化合物 7 及  $\text{PEG}_{5K}\text{N}_3$  根據一般聚乙二醇化程序 A 反應而製備。

實例 12: 甲烷磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(3-(((1- $\text{PEG}_{5K}$ -1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)胺甲醯基)-4-(特戊醯基氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(9)

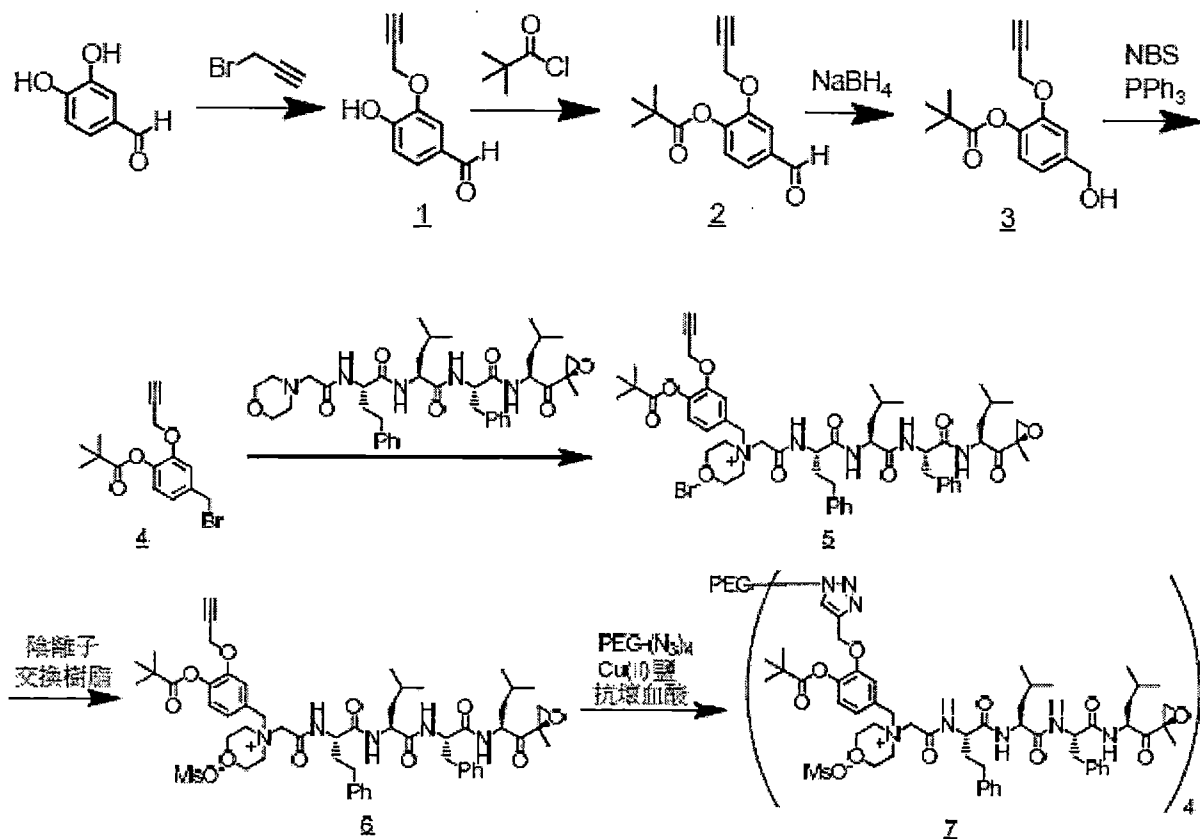


甲磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(4-(特戊醯基氧基)-3-(丙-2-炔-1-基胺甲醯基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(8)

【0207】 向化合物 6 (400 mg · 1.1 mmol) 於 MeCN (10 mL) 中之溶液中添加(S)-4-甲基-N-((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(N-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺(720 mg · 0.1 mmol)。該反應混合物在 45°C 下攪拌隔夜。濃縮過量溶劑且殘餘物重複地自 MeCN/Et<sub>2</sub>O (v/v, 1/5) 結晶以提供所需化合物 7，該化合物藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽 (120 mg · 11.2% 產率)；<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 9.63 (m, 1H), 7.82~7.55 (m, 4H), 7.33~7.08 (m, 11H), 6.85 (m, 1H), 6.62 (m, 1H), 5.13~4.82 (m, 2H), 4.50~3.93 (m, 14H), 3.42~2.68 (m, 11H), 2.5~1.9 (m, 6H), 1.68~1.18 (m, 19H), 0.88 (m, 12H)。

【0208】 實例 12 藉由類似於實例 4 中所述之彼等方法的方法製備，其中中間物以類似方式製得(使用第三丁醯氯來產生與實例 4 中所示之中間物 1 的相關性)，且化合物 8 及 PEG<sub>5K</sub>N<sub>3</sub> 根據一般聚乙二醇化程序 A 反應。

實例 13：甲酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(3-((1-(PEG<sub>20K</sub>-4 臂)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)-4-(特戊醯基氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(7)



#### 4-羥基-3-(丙-2-炔基氧基)苯甲醛(1)

【0209】 在 20°C 下向 NaH 於 DMSO (300 mL) 中之混合物中添加含 3,4-二羥基苯甲醛(30 g · 217.39 mmol) 之 DMSO (50 mL)。該混合物攪拌 30 min 且添加 3-溴丙-1-炔(25.87 g · 217.39 mmol)。該反應混合物在 RT 下攪拌一小時且接著傾入冰水中。所得溶液經調節至 pH=2 且接著用 EtOAc (500 mL×3) 萃取。組合之有機相經無水 MgSO<sub>4</sub> 乾燥且濃縮。殘餘物重複地自 DCM/石油醚(30 mL/500 mL) 結晶以提供化合物 1 (30 g · 78% 產率); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 9.89 (s, 1H), 7.54 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 7.49 (dd, *J*<sub>1</sub> = 1.5 Hz, *J*<sub>2</sub> = 8.1 Hz, 1H), 7.09 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 4.82 (m, 2H), 2.62 (m, 1H)。

#### 特戊酸 4-甲醯基-2-(丙-2-炔基氧基)苯酯(2)

【0210】 在 0°C 下向化合物 1 (3.0 g · 17 mmol) 於 DCM (120 mL) 中之溶液中添加 Et<sub>3</sub>N (3.45 g · 34 mmol)、隨後特戊醯氯(2.34 g · 20.4 mmol)。該反應混合物在 RT 下攪拌 2 小時。該混合物用飽和 NaHCO<sub>3</sub> (20 mL) 及水(20 mL) 洗滌，經無水 MgSO<sub>4</sub> 乾燥，且濃縮。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 50:1) 純化以提供呈白色固體狀之化合物 2 (2.10 g · 47% 產率); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 9.99 (s, 1H), 7.61 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.55

(dd,  $J_1 = 1.8$  Hz,  $J_2 = 8.1$  Hz, 1H), 7.26 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 4.77 (d,  $J = 2.4$  Hz, 2H), 2.58 (t,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 1.42 (s, 9H)。

特戊酸 4-(羥基甲基)-2-(丙-2-炔基氧基)苯酯(3)

【0211】 在 0°C 下向化合物 2 (1.8 g · 6.9 mmol) 於 DCM/MeOH (100 mL/10 mL) 中之溶液中添加 NaBH<sub>4</sub> (0.37 g · 10.4 mmol)。該反應混合物在 RT 下攪拌 30 min。該混合物藉由丙酮(3 mL)淬滅且濃縮溶劑。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 3:1)純化以提供化合物 3 (1.50 g · 83%產率); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 7.11 (m, 1H), 7.00 (m, 2H), 4.68 (m, 4H), 2.53 (m, 1H), 1.41 (s, 9H)。

特戊酸 4-(溴甲基)-2-(丙-2-炔基氧基)苯酯(4)

【0212】 在 0°C 下向化合物 3 (1.50 g · 5.7 mmol) 於 DCM (60 mL) 中之溶液中添加 PPh<sub>3</sub> (1.80 g · 6.8 mmol) 及 NBS (1.11 g · 6.3 mmol)。該反應混合物在 RT 下攪拌 0.5 小時。濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 50:1)純化以提供化合物 4 (1.34 g · 81%產率); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 7.12 (d,  $J = 1.5$  Hz, 1H), 7.03 (m, 2H), 4.70 (d,  $J = 2.4$  Hz, 2H), 4.51 (d,  $J = 3.9$  Hz, 2H), 2.56 (t,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 1.40 (s, 9H)。

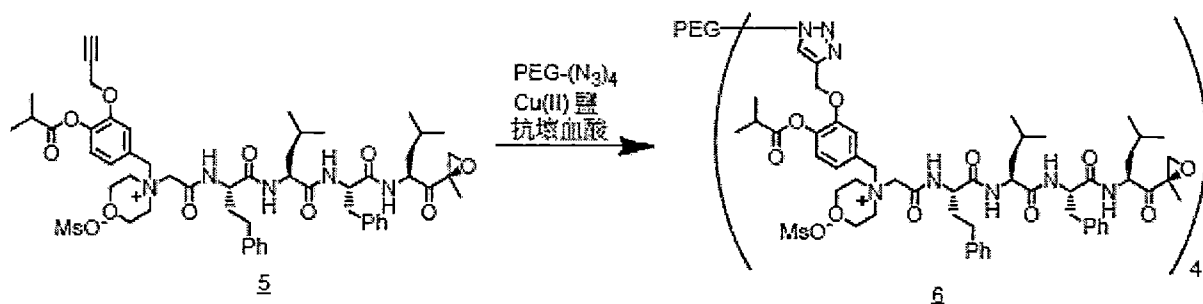
甲烷磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(4-(特戊醯基氧基)-3-(丙-2-炔-1-基氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(6)

【0213】 向化合物 4 (2.38 g · 7.3 mmol) 於 MeCN (30 mL) 中之溶液中添加(S)-4-甲基-N-((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(N-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺(2.64 g · 3.7 mmol)。該反應混合物在 45°C 下攪拌隔夜。濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(EtOAc/MeOH = 100:6)純化以提供所需化合物 5。該化合物藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽(1.23 g · 25%產率); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 9.83 (m, 1H), 7.92 (m, 1H), 7.50-7.11 (m, 13H), 7.03 (m, 1H), 6.62 (m, 1H), 5.25 (m, 1H), 5.15-4.90 (m, 2H), 4.88-4.75 (m, 2H), 4.70-4.20 (m, 7H), 4.20-3.90 (m, 3H), 3.70-3.40 (m, 4H), 3.26 (m, 1H), 3.15 (m, 2H), 2.90 (s, 3H), 2.85 (m, 2H),

2.40-2.10 (m, 2H), 1.87-1.63 (m, 5H), 1.55 (m, 3H), 1.41 (s, 9H), 1.38 (m, 2H), 0.89-1.05 (m, 12H)。

【0214】 化合物實例 13 由化合物 6 及 PEG<sub>20K</sub>(N<sub>3</sub>)<sub>4</sub> 根據一般聚乙二醇化程序 A 製備。化合物實例 13 亦在本文中所說明之多個圖中經指定為 OP-59381。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, 弛豫時間= 10 s, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.47 (s, 4H), 8.42 (d, J = 8.5 Hz, 4H), 8.29 (d, J = 7.5 Hz, 4H), 8.11 (s, 4H), 8.07 (d, J = 8 Hz, 4H), 7.53 (s, 4H), 7.26-7.29 (m, 4H), 7.11-7.19 (m, 32H), 7.05-7.06 (m, 4H), 5.21 (s, 8H), 4.95 (dd, J = 12.5 Hz 及 39.0 Hz, 8H), 4.52-4.54 (m, 12H), 4.28-4.38 (m, 16H), 4.17-4.20 (m, 4H), 4.06 (m, 20H), 3.78 (t, J = 5.5 Hz, 8H), 3.61-3.65 (m, 8H), 3.50 (s, 2133H), 3.35-3.37 (m, 8H), 3.10 (d, J = 5 Hz, 4H), 2.94-2.98 (m, 12H), 2.73-2.78 (m, 4H), 2.50-2.65 (m, 8H), 1.90-1.98 (m, 4H), 1.78-1.88 (m, 4H), 1.51-1.68 (m, 8H), 1.39 (s, 12H), 1.25-1.38 (m, 16H), 1.18 (s, 36H), 0.833-0.881 (m, 24H), 0.782-0.815 (m, 24H) ; 負載 : 86%。

實例 14 : 甲烷磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(4-(異丁醯基氧基)-3-((1-PEG<sub>20K</sub>-4 臂-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(14)



甲烷磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(4-(異丁醯基氧基)-3-(丙-2-炔-1-基氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(5)

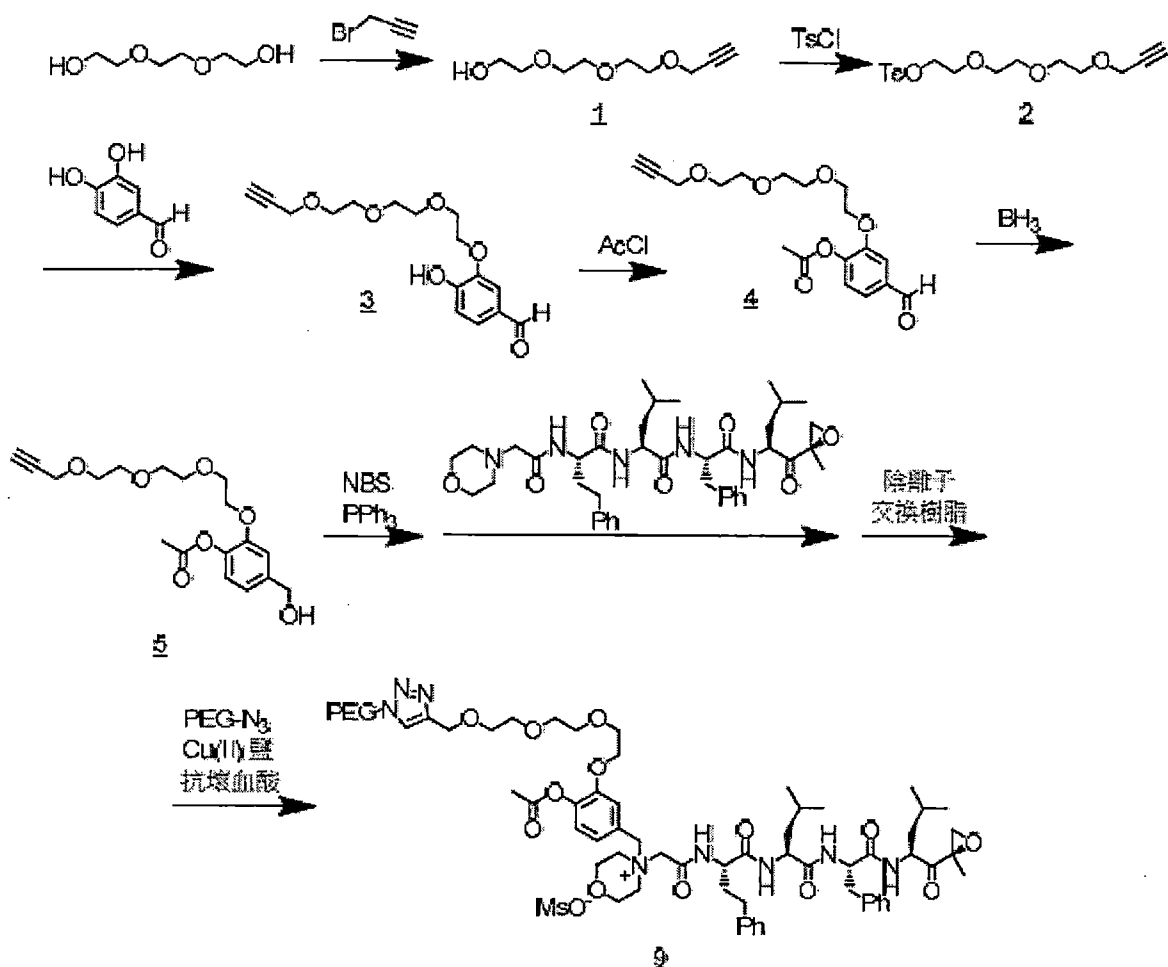
【0215】 向化合物 3 (0.5 g · 1.6 mmol)於 MeCN (9 mL)中之溶液中添加(S)-4-甲基-N-((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(N-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺(864 mg · 1.2 mmol)。該反應混合物在 45°C下攪拌 20 小

時。濃縮溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(EtOAc/MeOH = 100:6)純化以提供所需化合物 4。該化合物接著藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽(500 mg, 44%產率);  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9.67 (m, 1H), 7.82 (m, 1H), 7.27 (m, 16H), 6.85 (m, 1H), 6.47 (m, 1H), 5.13 (m, 1H), 5.02 (m, 1H), 4.85 (m, 1H), 4.70 (m, 2H), 4.45 (m, 2H), 4.37 (m, 2H), 4.23 (m, 4H), 3.92 (m, 2H), 3.84 (m, 1H), 3.46 (m, 1H), 3.35 (m, 1H), 3.15 (m, 1H), 3.03 (m, 1H), 2.92 (m, 1H), 2.80 (s, 3H), 2.73 (m, 2H), 2.58 (m, 1H), 2.20 (m, 1H), 2.12 (m, 1H), 1.70 (m, 1H), 1.62 (m, 3H), 1.43 (m, 4H), 1.28 (m, 6H), 1.21 (m, 3H), 0.85 (m, 12H)。

【0216】 實例 14 藉由類似於實例 3、5 及 7 中所述之彼等方法的方法製備，其中中間物以類似方式製得(使用異丙醯氯來產生與實例 3 中所示之中間物 1 的相關性)，且化合物 5 及  $\text{PEG}_{20\text{K}}\text{N}_3$  根據一般聚乙二醇化程序 A 反應。

實例 15: 甲烷磺酸 4-(4-乙醯氧基-3-(2-(2-(2-((1- $\text{PEG}_{5\text{K}}$ -1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)苯甲基)-4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎊(9)





#### 2-(2-(2-(丙-2-炔-1-基氧基)乙氧基)乙氧基)乙-1-醇(1)

【0217】 在 0°C 下向 NaH (3.47 g · 0.086 mol) 於 THF (320 mL) 中之混合物中添加 2,2'-(乙烷-1,2 -二基雙(氧基))二乙醇(20 g · 0.133 mol)。該混合物在相同溫度下攪拌 30 min 且接著添加 3-溴丙-1-炔(7.93 g · 0.066 mol)。該反應混合物在 0°C 下保持 2 小時且接著留在 RT 下隔夜。該混合物用水(4 mL)淬滅且所得溶液直接經無水 MgSO<sub>4</sub> 乾燥且濃縮。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 1:1)純化以提供化合物 1 (10.12 g · 80%產率); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 4.21 (d, *J* = 2.0 Hz, 2H), 3.75-3.68 (m, 10H), 3.62 (m, 2H), 2.44 (m, 1H), 2.23 (s, 1H)。

#### 4-甲基苯磺酸 2-(2-(2-(丙-2-炔-1-基氧基)乙氧基)乙氧基)乙酯(2)

【0218】 在 0°C 下向化合物 1 (5 g · 26.6 mmol) 於 DCM (80 mL) 中之溶液中添加 TsCl (7.6 g · 39.89 mmol)、隨後吡啶(25 mL)。該反應混合物在 RT 下攪拌隔夜。該 DCM 溶液用 HCl (3 N · 50 mL × 4) 洗滌，經乾燥且濃縮以提供化合物 2 (7.89 g · 87%產率)，該化合物無需進一步純化即用於下一

步驟中;  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.80 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.34 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 4.20 (m, 4H), 3.68 (m, 6H), 3.61 (m, 4H), 2.45 (m, 1H), 2.40 (m, 3H)。

#### 4-羥基-3-(2-(2-(2-(丙-2-炔基氧基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)苯甲醛(3)

【0219】 在  $20^\circ\text{C}$  下依序向 NaH (0.82 g · 20.47 mmol) 於 DMSO (50 mL) 中之混合物中添加 3,4-二羥基苯甲醛 (1.41 g · 10.23 mmol) 於 DMSO (5 mL) 中之溶液及化合物 2 (3.5 g · 10.23 mmol) 於 DMSO (5 mL) 中之溶液。該反應混合物在 RT 下攪拌隔夜。該混合物傾入冰水 (500 mL) 中且此水溶液由 2 N HCl 調節至 pH=2。所得混合物用 EtOAc (50 mL × 3) 萃取且組合之 EtOAc 相經無水  $\text{MgSO}_4$  乾燥且濃縮。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析 (石油醚/EtOAc = 1:1) 純化以提供化合物 3 (579 mg · 18% 產率);  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9.80 (s, 1H), 7.46 (m, 2H), 7.03 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 4.25 (m, 4H), 3.88 (m, 2H), 3.70 (m, 8H), 2.45 (m, 1H)。

#### 乙酸 4-甲醯基-2-(2-(2-(2-(丙-2-炔基氧基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)苯酯 (4)

【0220】 在  $0^\circ\text{C}$  下向化合物 3 (479 mg · 1.56 mmol) 於 THF (20 mL) 中之溶液中添加 TEA (471 mg · 4.67 mmol) 及  $\text{Ac}_2\text{O}$  (238 mg · 2.33 mmol)。該反應混合物在室溫下攪拌 3 小時。濃縮過量溶劑且殘餘物溶解於 EtOAc (40 mL) 中。所得溶液用水 (50 mL) 洗滌，經無水  $\text{MgSO}_4$  乾燥且濃縮。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析 (石油醚/EtOAc = 2:1) 純化以提供化合物 4 (400 mg · 74% 產率);  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9.94 (s, 1H), 7.52 (d,  $J = 1.6$  Hz, 1H), 7.49 (dd,  $J_1 = 1.6$  Hz,  $J_2 = 8.0$  Hz, 1H), 7.22 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 4.23 (m, 2H), 4.20 (m, 2H), 3.86 (m, 2H), 3.72 (m, 8H), 2.43 (m, 1H), 2.34 (s, 3H)。

#### 乙酸 4-(羥基甲基)-2-(2-(2-(2-(丙-2-炔基氧基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)苯酯(5)

【0221】 在  $0^\circ\text{C}$  下逐滴向化合物 4 (1.18 g · 3.38 mmol) 於 THF (50 mL) 中之溶液中添加  $\text{BH}_3/\text{THF}$  溶液 (3.4 mL · 3.38 mmol)。該反應混合物攪拌 30 min 且接著用 MeOH (5 mL) 淬滅。濃縮反應溶液且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析 (石油醚/EtOAc = 1:1) 純化以提供化合物 5 (700 mg · 59% 產率);  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.09 (d,  $J = 1.8$  Hz, 1H), 7.03 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 6.94 (dd,

$J_1 = 1.8$  Hz,  $J_2 = 8.1$  Hz, 1H), 4.68 (s, 2H), 4.22 (m, 4H), 3.85 (m, 2H), 3.74 (m, 8H), 2.46 (m, 1H), 2.33 (s, 3H)。

乙酸 4-(溴甲基)-2-(2-(2-(2-(丙-2-炔基氧基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)苯酯  
(6)

【0222】 在 0°C 下分成小份向化合物 5 (680 mg · 1.93 mmol) 於 DCM (40 mL) 中之溶液中添加  $\text{PPh}_3$  (607 mg · 2.32 mmol) · 隨後 NBS (374 mg · 2.13 mmol) · 濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 3:1) 純化以提供化合物 6 (430 mg · 54% 產率);  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.03 (s, 1H), 6.99 (m, 2H), 4.46 (s, 2H), 4.20-4.16 (m, 4H), 3.83 (m, 2H), 3.68 (m, 8H), 2.43 (m, 1H), 2.29 (s, 3H) · 化合物 6 使用如本文所述之類似方法轉化為化合物 8。

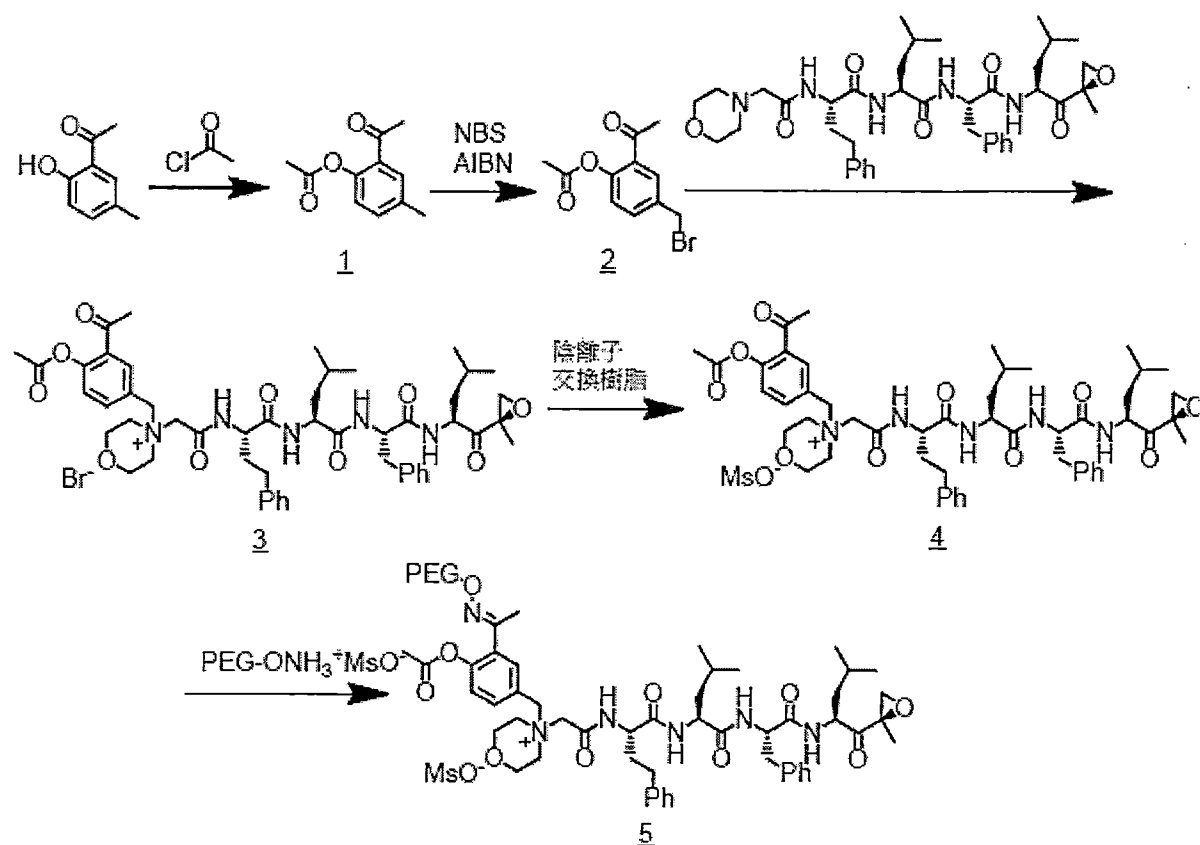
甲烷磺酸 4-(4-乙醯氧基-3-(2-(2-(2-(丙-2-炔-1-基氧基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)苯甲基)-4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎘(8)

【0223】 向化合物 6 (430 mg · 1.04 mmol) 於 MeCN (5 mL) 中之溶液中添加化合物(S)-4-甲基-N-(((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(N-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺(743 mg · 1.04 mmol) · 該反應混合物在 RT 下攪拌隔夜 · 濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(EtOAc/MeOH = 10:1) 純化以提供所需產物 7 (160 mg · 14% 產率) · 該產物接著藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽(135 mg · 85% 產率);  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9.68 (m, 1H), 7.73 (m, 1H), 7.29-7.05 (m, 13H), 6.82 (m, 1H), 6.40 (m, 1H), 5.15 (m, 1H), 5.08 (m, 1H), 5.02 (m, 1H), 4.82 (m, 2H), 4.51 (m, 2H), 4.38 (m, 3H), 4.20 (m, 4H), 4.15 (m, 2H), 4.03 (m, 2H), 3.84 (m, 1H), 3.76 (m, 2H), 3.65 (m, 9H), 3.50 (m, 1H), 3.38 (m, 1H), 3.18 (m, 1H), 3.02 (m, 2H), 2.86 (m, 1H), 2.80 (s, 3H), 2.64 (m, 2H), 2.46 (m, 1H), 2.32 (m, 3H), 2.30-2.05 (m, 3H), 1.60 (m, 2H), 1.52 (m, 6H), 1.24 (m, 2H), 0.84 (12 H)。

【0224】 實例 15 由化合物 8 及  $\text{PEG}_{5K}\text{N}_3$  根據一般聚乙二醇化程序 A

製備。

實例 16：甲烷磺酸 4-(4-乙醯氧基-3-(1-(PEG<sub>5K</sub>-亞胺基)乙基)苯甲基)-4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎊 (5)



乙酸 2-乙醯基-4-甲基苯酯(1)

【0225】 在 0°C 下向 1-(2-羥基-5-甲基苯基)乙酮(1.5 g · 0.01 mol) 於 DCM (15 mL) 中之溶液中添加 TEA (1.5 g · 0.015 mol) 及乙醯氯(0.94 g · 0.012 mol)。該反應混合物在室溫下攪拌隔夜。此混合物用水(20 mL)淬滅。收集 DCM 相，用鹽水(20 mL)洗滌，經無水 MgSO<sub>4</sub> 乾燥，且濃縮。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 3:1)純化以提供化合物 1 (0.9 g · 47% 產率)；<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.64 (m, 1H), 7.37 (m, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 2.57 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 2.37 (s, 3H)。

乙酸 2-乙醯基-4-(溴甲基)苯酯(2)

【0226】 向化合物 1 (0.5 g · 2.6 mmol) 於 CCl<sub>4</sub> (20 mL) 中之溶液中添

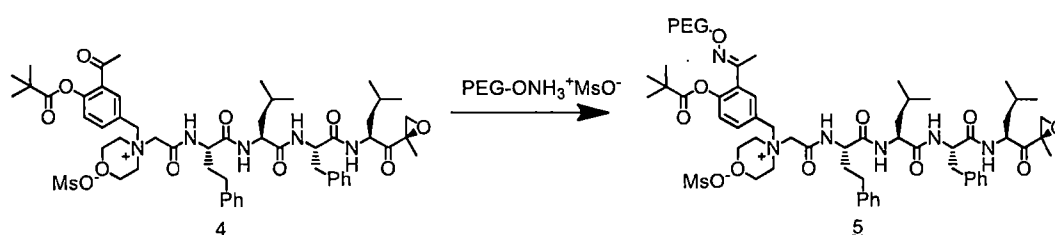
加 NBS (573 mg · 3.25 mmol) 及 AIBN (42.6 mg · 0.26 mmol)。該反應混合物在回流下加熱隔夜。該混合物冷卻至 RT 且過濾。濃縮濾液且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 10:1)純化以提供化合物 2 (160 mg · 23%產率);  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  8.02 (m, 1H), 7.73 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 7.25 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 4.81 (s, 2H), 2.53 (s, 3H), 2.32 (s, 3H)。

甲烷磺酸 4-(4-乙醯氧基-3-乙醯基苯甲基)-4-((4*S*,7*S*,10*S*,13*S*)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((*R*)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎂(4)

【0227】 向化合物 2 (1.03 g · 3.7 mmol) 於 MeCN (10 mL) 中之溶液中添加化合物(S)-4-甲基-N-((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(N-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺(884.7 mg · 1.23 mmol)。該反應混合物在 45°C 下加熱隔夜。濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(EtOAc/MeOH = 100:3)純化以提供所需化合物 3，該化合物藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽(260 mg · 21%產率);  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9.62 (m, 1H), 8.06 (m, 1H), 7.88~7.71 (m, 2H), 7.33~7.11 (m, 11H), 6.95 (m, 1H), 6.66 (m, 1H), 5.33~4.91 (m, 2H), 4.55~3.90 (m, 11H), 3.58~2.91 (m, 4H), 2.85 (s, 3H), 2.74 (m, 2H), 2.61 (s, 3H), 2.40 (s, 3H), 2.31~1.94 (m, 7H), 1.72~1.18 (m, 8H), 0.88 (m, 12H)。

【0228】 實例 16 由化合物 4 及  $\text{PEG}_{5K}\text{ONH}_3^+\cdot\text{MsO}^-$  根據一般聚乙二醇化程序 B 製備。

實例 17：甲烷磺酸 4-((4*S*,7*S*,10*S*,13*S*)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((*R*)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(3-(1-( $\text{PEG}_{5K}$ -亞胺基)乙基)-4-(特戊醯基氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎂(5)

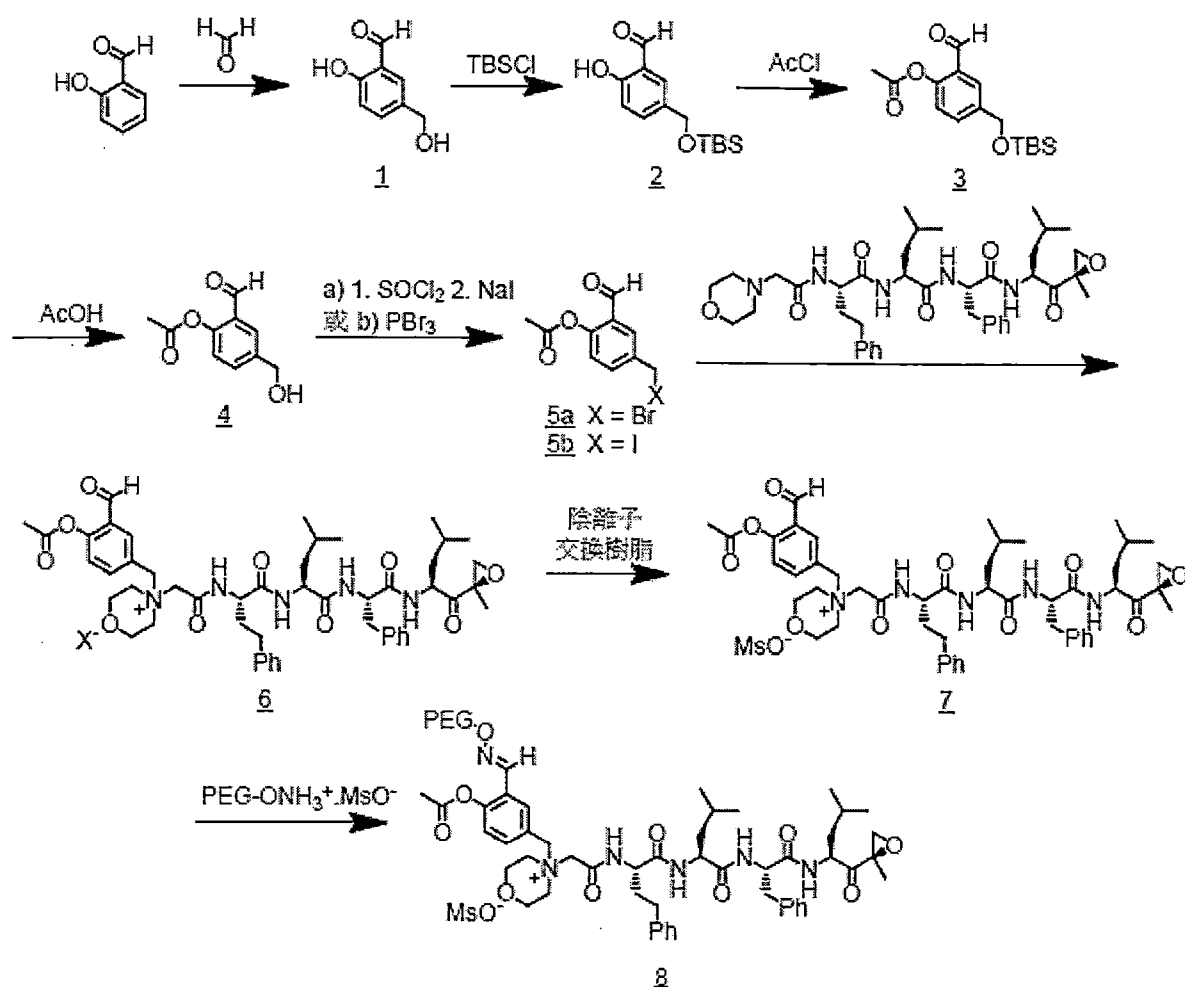


甲烷磺酸 4-(3-乙醯基-4-(特戊醯基氧基)苯甲基)-4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎊(4)

【0229】 向化合物 2 (1.03 g · 3.2 mmol)於 MeCN (10 mL)中之溶液中添加(S)-4-甲基-N-((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(N-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺(766 mg · 1.06 mmol)。該反應混合物在 45°C下攪拌隔夜。濃縮過量溶劑且殘餘物重複地自 EtOAc/Et<sub>2</sub>O (5/1, v/v)結晶以提供所需化合物 3。該化合物藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽(300 mg · 32%產率); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 9.68 (m, 1H), 8.06 (m, 1H), 7.75 (m, 1H), 7.40-7.15 (m, 12H), 6.92 (m, 1H), 6.65 (m, 1H), 5.28-4.96 (m, 2H), 4.55-4.42 (m, 4H), 4.38-4.18 (m, 4H), 4.07-3.90 (m, 3H), 3.60-3.30 (m, 2H), 3.17 (m, 2H), 3.04 (m, 2H), 2.85 (s, 3H), 2.80 (m, 2H), 2.63 (s, 3H), 2.44 (s, 3H), 2.28-2.12 (m, 2H), 2.04 (m, 3H), 1.76 (m, 3H), 1.50-1.40 (m, 6H), 1.30-1.18 (m, 4H), 0.92-0.84 (m, 12H)。

【0230】 實例 17 藉由類似於實例 16 中所述之彼等方法的方法製備。其中中間物以類似方式製得(使用第三丁醯氯來產生與實例 16 中所示之中間物 1 的相關性)。且化合物 4 及 PEG<sub>5K</sub>ONH<sub>3</sub><sup>+</sup>.MsO<sup>-</sup>根據一般聚乙二醇化程序 B。

實例 18：甲烷磺酸 4-(3-乙醯氧基-4-((PEG<sub>5K</sub>-亞胺基)甲基)苯甲基)-4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎊(8)



## 2-羥基-5-(羥基甲基)苯甲醛(1)

【0231】 向甲醛水溶液(37% · 17 mL)中添加 2-羥基苯甲醛(10.3 g · 84.4 mmol)及濃 HCl (42 mL)。該反應混合物在回流下加熱隔夜。該混合物冷卻至 RT 且接著用 EtOAc (200 mL)萃取。有機相經無水硫酸鈉乾燥且濃縮。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 3:1)純化以提供化合物 1 (1.97 g · 15%產率)；<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300 MHz): δ 10.61 (s, 1H), 10.26 (s, 1H), 7.60 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 7.46 (dd, *J* = 2.4, 8.7 Hz, 1H), 6.96 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 5.18 (m, 1H), 4.42 (d, *J* = 3.3 Hz, 2H)。

## 5-(((第三丁基二甲基矽烷基)氧基)甲基)-2-羥基苯甲醛(2)

【0232】 向化合物 1 (2.01 g · 13.2 mmol)於 DCM (60 mL)中之溶液中添加咪唑(1.43 g · 21 mmol)。該溶液冷卻至 0°C 且添加第三丁基氯二甲基矽烷(2.57 g · 17.1 mmol)。該反應混合物在 RT 下攪拌 3 h 且接著傾入水(50 mL)中。分離兩相且有機相經無水硫酸鈉乾燥且濃縮。殘餘物藉由矽膠急驟管

柱層析(石油醚/EtOAc = 50:1)純化以提供化合物 2 (3.2 g · 91%產率);  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  10.85 (br, s, 1H), 9.78 (s, 1H), 7.41 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.35 (dd,  $J = 2.0, 8.4$  Hz, 1H), 6.85 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 4.59 (s, 2H), 0.82 (s, 9H), 0.00 (s, 6H)。

乙酸 4-((第三丁基二甲基矽烷基氧基)甲基)-2-甲醯基苯酯(3)

【0233】 向化合物 2 (25 g · 94 mmol)於 DCM (500 mL)中之溶液中添加 TEA (19.0 g · 188 mmol)。該混合物冷卻至  $0^\circ\text{C}$ 且添加乙醯氯(11.1 g · 141 mmol)。該反應混合物在室溫下攪拌 2 h。該混合物用水(500 mL)洗滌。有機相經無水硫酸鈉乾燥且濃縮。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 100:1)純化以提供化合物 3 (19.7 g · 68%產率);  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  9.98 (s, 1H), 7.70 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.49 (dd,  $J = 2.4, 8.4$  Hz, 1H), 7.03 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 4.66 (s, 2H), 2.28 (s, 3H), 0.83 (s, 9H), 0.00 (s, 6H)。

乙酸 2-甲醯基-4-(羥基甲基)苯酯(4)

【0234】 化合物 3 (3.6 g · 11.7 mmol)溶解於 AcOH/THF/ $\text{H}_2\text{O}$  (50 mL/25 mL/25 mL)中。該反應混合物在  $30^\circ\text{C}$ 下攪拌 3 h。移除過量 THF 且所得溶液經調節至 pH=7-8 且接著用 EtOAc (50 mL $\times$ 3)萃取。組合之有機相經無水硫酸鈉乾燥且濃縮。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 3:1)純化以提供化合物 4 (2.04 g · 90%產率);  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ , 400 MHz):  $\delta$  10.08 (s, 1H), 7.85 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.67 (dd,  $J = 2.4, 8.4$  Hz, 1H), 7.26 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 4.57 (s, 2H), 2.35 (s, 3H)。

乙酸 4-(溴甲基)-2-甲醯基苯酯(5a)

【0235】 在  $0^\circ\text{C}$ 下向化合物 4 (2.03 g · 10.3 mmol)於 DCM (80 mL)中之溶液中添加  $\text{PBr}_3$  (2.79 g · 10.3 mmol)。該反應混合物在 RT 下攪拌 4 h。該反應藉由添加水(20 mL)淬滅且所得混合物用飽和  $\text{NaHCO}_3$  水溶液調節至 pH=7。分離有機相，經無水硫酸鈉乾燥且濃縮。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 3:1)純化以提供化合物 5a (300 mg · 11%產率);  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz):  $\delta$  10.12 (s, 1H), 7.92 (d,  $J = 2.1$  Hz, 1H), 7.68 (dd,  $J = 2.4, 8.4$  Hz, 1H), 7.22 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 4.54 (s, 2H), 2.42 (s, 3H)。



## 乙酸 4-(碘甲基)-2-甲醯基苯酯(5b)

【0236】 在 0°C 下向化合物 4 (5.0 g · 27.55 mmol) 於 DCM (300 mL) 中之溶液中添加 SOCl<sub>2</sub> (6.13 g · 51.55 mmol)。該反應混合物在回流下加熱隔夜。濃縮該混合物且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 10:1) 純化以提供相應苯甲基氯(2.4 g · 44%產率)；<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 10.12 (s, 1H), 7.92 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 7.68 (dd, *J* = 2.4, 8.4 Hz, 1H), 7.22 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 4.64 (s, 2H), 2.42 (s, 3H)。

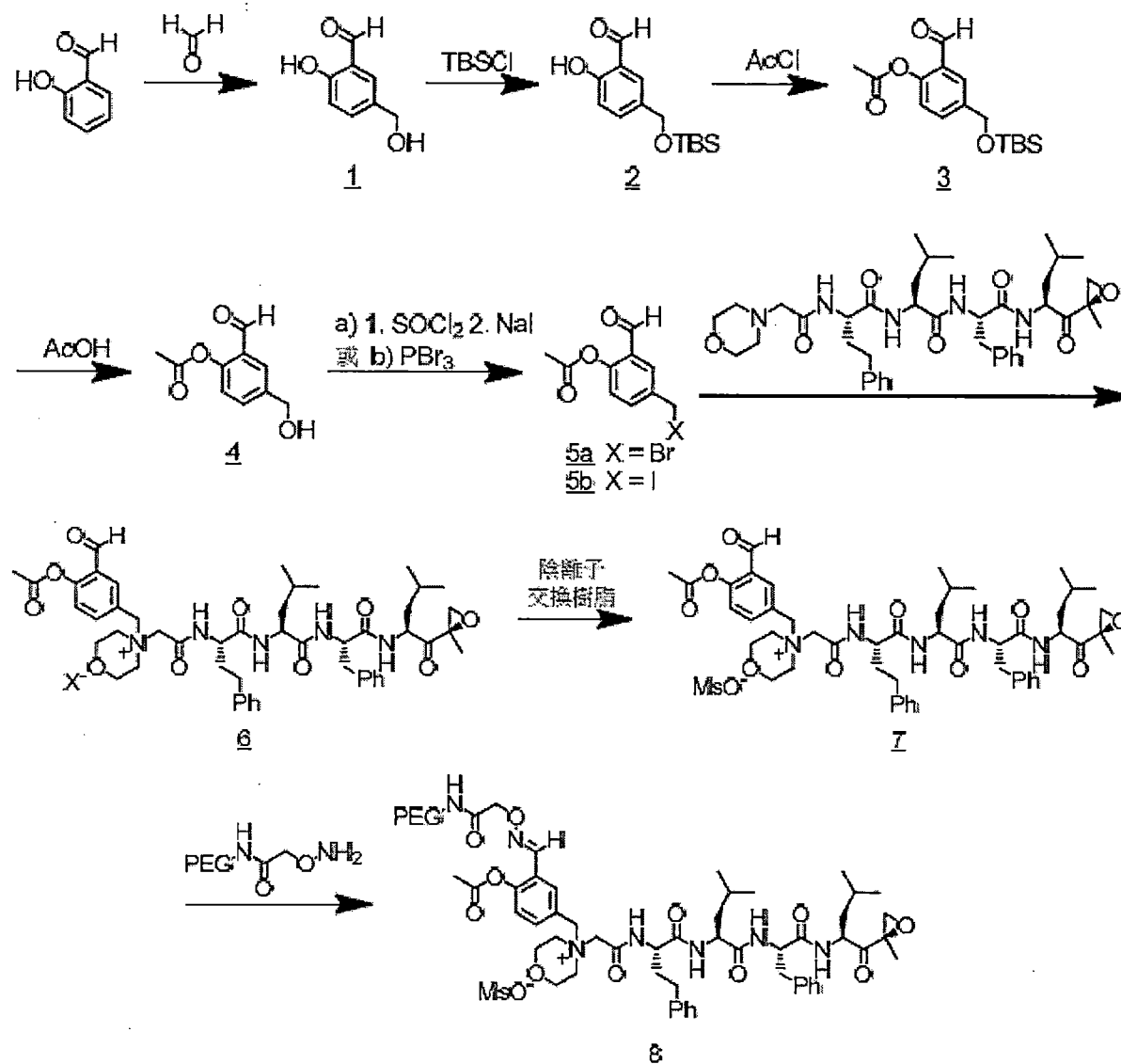
【0237】 向苯甲基氯(2.4 g · 11.29 mmol)於丙酮(160 mL)中之溶液中添加 NaI (16.94 g · 112.94 mmol)。該反應混合物在 30°C 下攪拌隔夜。濃縮該混合物且殘餘物溶解於 DCM (100 mL) 中。所得溶液用飽和 Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 水溶液(50 mL×3)及水(50 mL)洗滌，經無水硫酸鈉乾燥且濃縮以提供化合物 5b (2.1 g · 61%產率)，該化合物無需進一步純化即用於下一步驟中。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 10.10 (s, 1H), 7.90 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 7.66 (dd, *J* = 2.1, 8.4 Hz, 1H), 7.16 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 4.49 (s, 2H), 2.41 (s, 3H)。

甲烷磺酸 4-(4-乙醯氧基-3-甲醯基苯甲基)-4-((4*S*,7*S*,10*S*,13*S*)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((*R*)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎊(7)

【0238】 向化合物 5b (380 mg · 1.48 mmol) 於 MeCN (5 mL) 中之溶液中添加(S)-4-甲基-N-((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((*R*)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(*N*-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺(532 mg · 0.74 mmol)。該反應混合物在 45°C 下攪拌隔夜。在減壓下移除溶劑。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(DCM/MeOH = 10:1) 純化以提供所需化合物(6)，該化合物接著藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽(280 mg · 39%產率)；<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 10.15 (s, 1H), 9.53 (br s, 1H), 8.03 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.85 (m, 1H), 7.68 (br s, 1H), 7.37 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.26-7.13 (m, 10H), 6.84 (br s, 1H), 6.52 (br s, 1H), 5.20 (m, 2H), 4.97 (m, 1H), 4.50-3.96 (m, 7H), 3.46-3.28 (m, 2H), 3.16 (m, 1H), 3.06-2.92 (m, 3H), 2.85-2.61 (m, 7H), 2.44 (s, 3H), 2.14 (m, 2H), 1.69-1.17 (m, 11H), 0.89-0.83 (m, 12H)。化合物 5a 亦可能用於此反應。

【0239】 實例 18 由化合物 7 及 PEG<sub>5K</sub>ONH<sub>3</sub><sup>+</sup>.MsO<sup>-</sup> 根據一般聚乙二醇化程序 A 製備。

實例 19：甲磺酸 4-(4-乙醯氧基-3-((E)-((2-(PEG<sub>5K</sub>-胺基)-2-側氧基乙氧基)亞胺基)甲基)苯甲基)-4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎊(8)



### 2-羥基-5-(羥基甲基)苯甲醛(1)

【0240】 向甲醛水溶液(37% · 17 mL)中添加 2-羥基苯甲醛(10.3 g · 84.4 mmol)及濃 HCl (42 mL)。該反應混合物在回流下加熱隔夜。該混合物冷卻至 RT 且接著用 EtOAc (200 mL)萃取。有機相經無水硫酸鈉乾燥且濃縮。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 3:1)純化以提供化合物 1

(1.97 g · 15%產率) ;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 300 MHz):  $\delta$  10.61 (s, 1H), 10.26 (s, 1H), 7.60 (d,  $J = 2.1$  Hz, 1H), 7.46 (dd,  $J = 2.4, 8.7$  Hz, 1H), 6.96 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 5.18 (m, 1H), 4.42 (d,  $J = 3.3$  Hz, 2H)。

#### 5-(((第三丁基二甲基矽烷基)氧基)甲基)-2-羥基苯甲醛(2)

【0241】 向化合物 1 (2.01 g · 13.2 mmol)於 DCM (60 mL)中之溶液中添加咪唑(1.43 g · 21 mmol)。該溶液冷卻至  $0^\circ\text{C}$ 且添加第三丁基氯二甲基矽烷(2.57 g · 17.1 mmol)。該反應混合物在 RT 下攪拌 3 h 且接著傾入水(50 mL)中。分離兩相且有機相經無水硫酸鈉乾燥且濃縮。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 50:1)純化以提供化合物 2 (3.2 g · 91%產率) ;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  10.85 (br, s, 1H), 9.78 (s, 1H), 7.41 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.35 (dd,  $J = 2.0, 8.4$  Hz, 1H), 6.85 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 4.59 (s, 2H), 0.82 (s, 9H), 0.00 (s, 6H)。

#### 乙酸 4-(((第三丁基二甲基矽烷基氧基)甲基)-2-甲醯基苯酯(3)

【0242】 向化合物 2 (25 g · 94 mmol)於 DCM (500 mL)中之溶液中添加 TEA (19.0 g · 188 mmol)。該混合物冷卻至  $0^\circ\text{C}$ 且添加乙醯氯(11.1 g · 141 mmol)。該反應混合物在 RT 下攪拌 2 h。該混合物用水(500 mL)洗滌。有機相經無水硫酸鈉乾燥且濃縮。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 100:1)純化以提供化合物 3 (19.7 g · 68%產率) ;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  9.98 (s, 1H), 7.70 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.49 (dd,  $J = 2.4, 8.4$  Hz, 1H), 7.03 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 4.66 (s, 2H), 2.28 (s, 3H), 0.83 (s, 9H), 0.00 (s, 6H)。

#### 乙酸 2-甲醯基-4-(羥基甲基)苯酯(4)

【0243】 化合物 3 (3.6 g · 11.7 mmol)溶解於 AcOH/THF/ $\text{H}_2\text{O}$  (50 mL/25 mL/25 mL)中。該反應混合物在  $30^\circ\text{C}$ 下攪拌 3 h。移除過量 THF 且所得溶液經調節至 pH=7-8 且接著用 EtOAc (50 mL $\times$ 3)萃取。組合之有機相經無水硫酸鈉乾燥且濃縮。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 3:1)純化以提供化合物 4 (2.04 g · 90%產率) ;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz):  $\delta$  10.08 (s, 1H), 7.85 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.67 (dd,  $J = 2.4, 8.4$  Hz, 1H), 7.26 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 4.57 (s, 2H), 2.35 (s, 3H)。

#### 乙酸 4-(溴甲基)-2-甲醯基苯酯(5a)

【0244】 在 0°C 下向化合物 4 (2.03 g · 10.3 mmol) 於 DCM (80 mL) 中之溶液中添加 PBr<sub>3</sub> (2.79 g · 10.3 mmol)。該反應混合物在 RT 下攪拌 4 h。該反應藉由添加水 (20 mL) 淬滅且所得混合物用飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液調節至 pH=7。分離有機相，經無水硫酸鈉乾燥且濃縮。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析 (石油醚/EtOAc = 3:1) 純化以提供化合物 5a (300 mg · 11% 產率)；<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 10.12 (s, 1H), 7.92 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 7.68 (dd, *J* = 2.4, 8.4 Hz, 1H), 7.22 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 4.54 (s, 2H), 2.42 (s, 3H)。

乙酸 4-(碘甲基)-2-甲醯基苯酯(5b)

【0245】 在 0°C 下向化合物 4 (5.0 g · 27.55 mmol) 於 DCM (300 mL) 中之溶液中添加 SOCl<sub>2</sub> (6.13 g · 51.55 mmol)。該反應混合物在回流下加熱隔夜。濃縮該混合物且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析 (石油醚/EtOAc = 10:1) 純化以提供相應苯甲基氯 (2.4 g · 44% 產率)；<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 10.12 (s, 1H), 7.92 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 7.68 (dd, *J* = 2.4, 8.4 Hz, 1H), 7.22 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 4.64 (s, 2H), 2.42 (s, 3H)。

【0246】 向苯甲基氯 (2.4 g · 11.29 mmol) 於丙酮 (160 mL) 中之溶液中添加 NaI (16.94 g · 112.94 mmol)。該反應混合物在 30°C 下攪拌隔夜。濃縮該混合物且殘餘物溶解於 DCM (100 mL) 中。所得溶液用飽和 Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 水溶液 (50 mL × 3) 及水 (50 mL) 洗滌，經無水硫酸鈉乾燥且濃縮以提供化合物 5b (2.1 g · 61% 產率)。該化合物無需進一步純化即用於下一步驟中。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 10.10 (s, 1H), 7.90 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 7.66 (dd, *J* = 2.1, 8.4 Hz, 1H), 7.16 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 4.49 (s, 2H), 2.41 (s, 3H)。

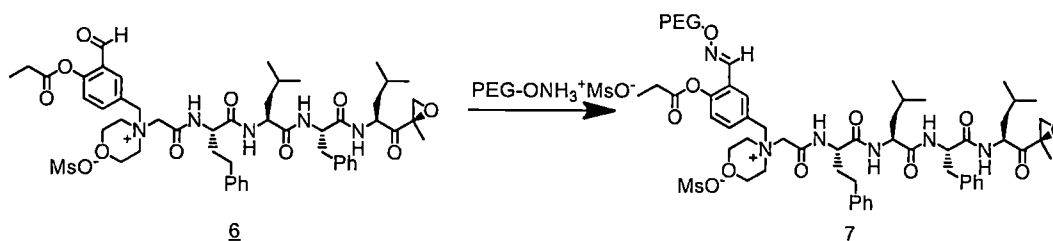
甲烷磺酸 4-(4-乙醯氧基-3-甲醯基苯甲基)-4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎊(7)

【0247】 向化合物 5b (380 mg · 1.48 mmol) 於 MeCN (5 mL) 中之溶液中添加 (S)-4-甲基-N-((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(N-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺 (532 mg · 0.74 mmol)。該反應混合物在 45°C 下攪拌隔夜。在減壓下移除溶劑。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析 (DCM/MeOH

= 10:1)純化以提供所需化合物(6)·該化合物接著藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽(280 mg · 39%產率);  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  10.15 (s, 1H), 9.53 (br s, 1H), 8.03 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.85 (m, 1H), 7.68 (br s, 1H), 7.37 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.26-7.13 (m, 10H), 6.84 (br s, 1H), 6.52 (br s, 1H), 5.20 (m, 2H), 4.97 (m, 1H), 4.50-3.96 (m, 7H), 3.46-3.28 (m, 2H), 3.16 (m, 1H), 3.06-2.92 (m, 3H), 2.85-2.61 (m, 7H), 2.44 (s, 3H), 2.14 (m, 2H), 1.69-1.17 (m, 11H), 0.89-0.83 (m, 12H)·化合物 5a 亦可能用於此反應。

【0248】 實例 19 由化合物 7 及  $\text{PEG}_{5\text{K}}\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2\text{ONH}_2$  (Creative PEGWorks, Chapel Hill, NC, US)根據一般聚乙二醇化程序 A 製備。

實例 20 : 甲磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(3-((PEG<sub>5K</sub>-亞胺基)甲基)-4-(丙醯基氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊 (7)



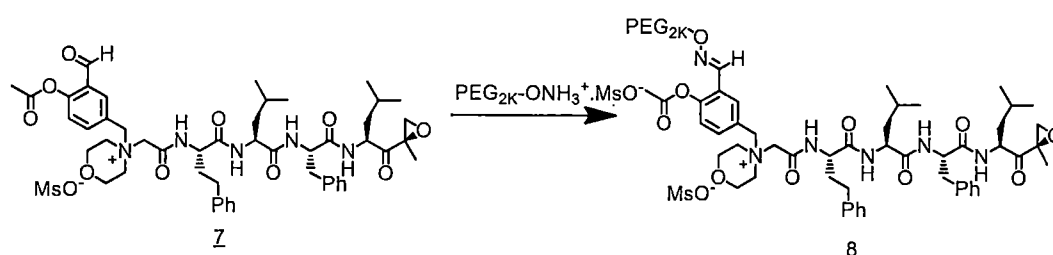
甲磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(3-甲醯基-4-(丙醯基氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(6)

【0249】 向化合物 4 (400 mg · 1.476 mmol)於 MeCN (5 mL)中之溶液中添加(S)-4-甲基-N-(((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(N-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺(318.8 mg · 0.442 mmol)·該反應混合物在 45°C 下攪拌隔夜·濃縮過量溶劑且殘餘物重複地自 MeCN/Et<sub>2</sub>O (1/5, v/v)結晶以提供所需化合物 5·該化合物藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽(200 mg · 15%產率);  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  10.18 (s, 1H), 7.68 (br, s, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.88 (m, 1H), 7.72 (br, 1H), 7.38 (m, 1H), 7.30~7.15 (m, 10 H), 6.74 (m, 1H), 6.37 (br, 1 H), 5.25~5.01 (m, 3H), 4.50~3.90 (m, 12 H),

3.47~3.12 (m, 3H), 2.97 (m, 2H), 2.97~2.71 (m, 7H), 2.15 (m, 2H), 2.71~1.10 (m, 9H), 0.87 (m, 12 H)。

【0250】 實例 20 藉由類似於實例 16 中所述之彼等方法的方法製備，其中中間物以類似方式製得(使用乙醯氯來產生與實例 16 中所示之中間物 1 的相關性)，且化合物 6 及 PEG<sub>5K</sub>ONH<sub>3</sub><sup>+</sup>.MsO<sup>-</sup>根據一般聚乙二醇化程序 B。

實例 21：甲烷磺酸 4-(3-乙醯氧基-4-((PEG<sub>2K</sub>-亞胺基)甲基)苯甲基)-4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎊 (8)



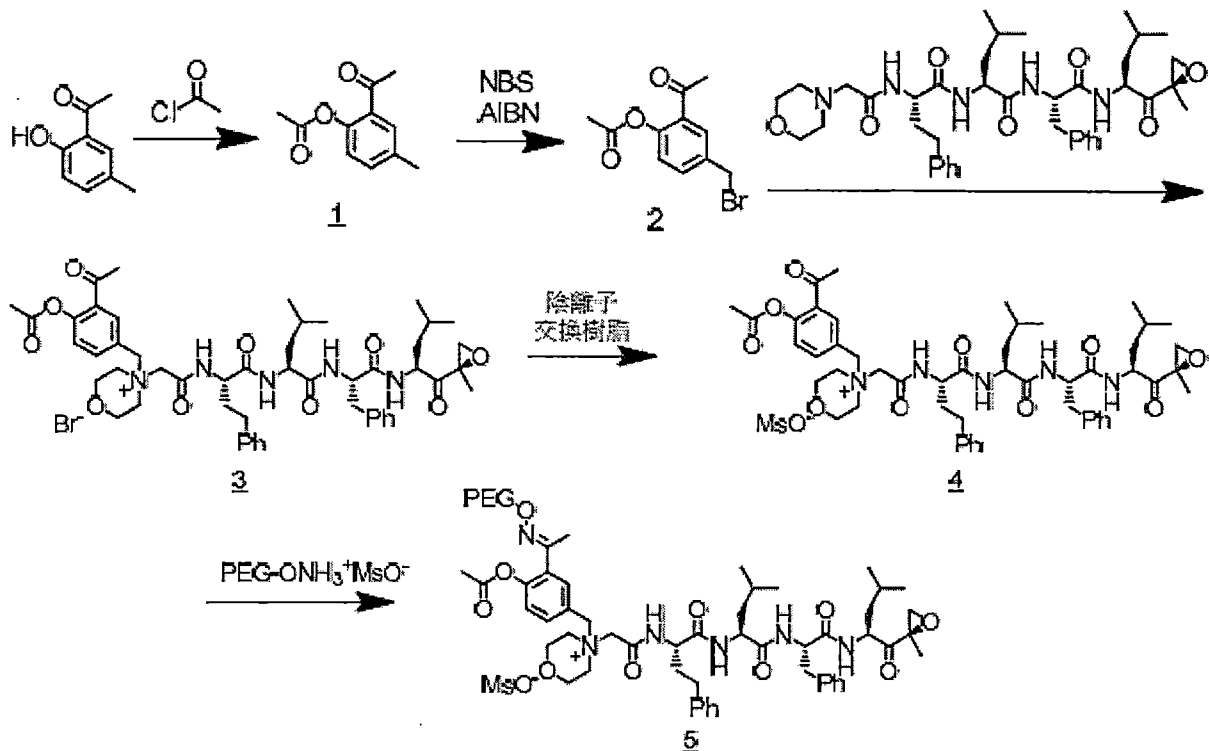
甲烷磺酸 4-(4-乙醯氧基-3-甲醯基苯甲基)-4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎊(7)

【0251】 向化合物 5b (380 mg · 1.48 mmol)於 MeCN (5 mL)中之溶液中添加(S)-4-甲基-N-((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(N-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺(532 mg · 0.74 mmol)。該反應混合物在 45°C 下攪拌隔夜。在減壓下移除溶劑。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(DCM/MeOH = 10:1)純化以提供所需化合物(6)，該化合物接著藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽(280 mg · 39%產率)；<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 10.15 (s, 1H), 9.53 (br s, 1H), 8.03 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.85 (m, 1H), 7.68 (br s, 1H), 7.37 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.26-7.13 (m, 10H), 6.84 (br s, 1H), 6.52 (br s, 1H), 5.20 (m, 2H), 4.97 (m, 1H), 4.50-3.96 (m, 7H), 3.46-3.28 (m, 2H), 3.16 (m, 1H), 3.06-2.92 (m, 3H), 2.85-2.61 (m, 7H), 2.44 (s, 3H), 2.14 (m, 2H), 1.69-1.17 (m, 11H), 0.89-0.83 (m, 12H)。

【0252】 實例 21 由化合物 7 及 PEG<sub>2K</sub>ONH<sub>3</sub><sup>+</sup>.MsO<sup>-</sup>根據一般聚乙二醇

化程序 A 製備。

實例 22：甲烷磺酸 4-(4-乙醯氧基-3-(1-(PEG<sub>2K</sub>-亞胺基)乙基)苯甲基)-4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎊 (5)



#### 乙酸 2-乙醯基-4-甲基苯酯(1)

【0253】 在 0°C 下向 1-(2-羥基-5-甲基苯基)乙酮(1.5 g, 0.01 mol) 於 DCM (15 mL) 中之溶液中添加 TEA (1.5 g, 0.015 mol) 及乙醯氯(0.94 g, 0.012 mol)。該反應混合物在 RT 下攪拌隔夜。此混合物用水(20 mL)淬滅。收集 DCM 相，用鹽水(20 mL)洗滌，經無水 MgSO<sub>4</sub> 乾燥，且濃縮。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 3:1)純化以提供化合物 1 (0.9 g, 47% 產率)；<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.64 (m, 1H), 7.37 (m, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 2.57 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 2.37 (s, 3H)。

#### 乙酸 2-乙醯基-4-(溴甲基)苯酯(2)

【0254】 向化合物 1 (0.5 g, 2.6 mmol) 於 CCl<sub>4</sub> (20 mL) 中之溶液中添加 NBS (573 mg, 3.25 mmol) 及 AIBN (42.6 mg, 0.26 mmol)。該反應混合物在回流下加熱隔夜。該混合物冷卻至 RT 且過濾。濃縮濾液且殘餘物藉由矽

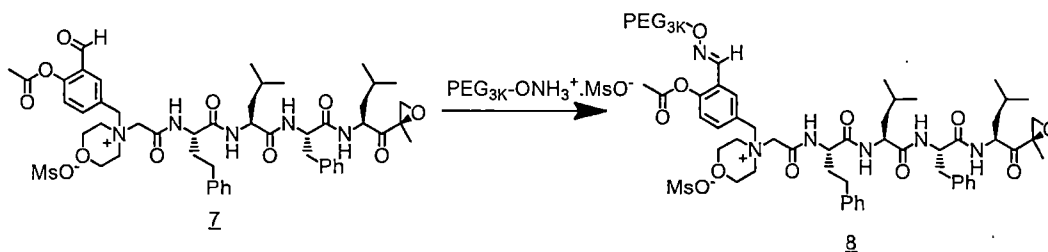
膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 10:1)純化以提供化合物 2 (160 mg · 23%產率) ;  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8.02 (m, 1H), 7.73 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 7.25 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H), 4.81 (s, 2H), 2.53 (s, 3H), 2.32 (s, 3H)。

甲烷磺酸 4-(4-乙醯氧基-3-乙醯基苯甲基)-4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎊(4)

【0255】 向化合物 2 (1.03 g · 3.7 mmol)於 MeCN (10 mL)中之溶液中添加化合物(S)-4-甲基-N-((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(N-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺(884.7 mg · 1.23 mmol)。該反應混合物在 45°C 下加熱隔夜。濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(EtOAc/MeOH = 100:3)純化以提供所需化合物 3，該化合物藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽(260 mg · 21%產率);  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9.62 (m, 1H), 8.06 (m, 1H), 7.88~7.71 (m, 2H), 7.33~7.11 (m, 11H), 6.95 (m, 1H), 6.66 (m, 1H), 5.33~4.91 (m, 2H), 4.55~3.90 (m, 11H), 3.58~2.91 (m, 4H), 2.85 (s, 3H), 2.74 (m, 2H), 2.61 (s, 3H), 2.40 (s, 3H), 2.31~1.94 (m, 7H), 1.72~1.18 (m, 8H), 0.88 (m, 12H)。

【0256】 實例 22 由化合物 4 及  $\text{PEG}_{2K}\text{ONH}_3^+\cdot\text{MsO}^-$  根據一般聚乙二醇化程序 B 製備。

實例 23：甲烷磺酸 4-(3-乙醯氧基-4-((PEG<sub>3K</sub>-亞胺基)甲基)苯甲基)-4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎊(8)



甲烷磺酸 4-(4-乙醯氧基-3-甲醯基苯甲基)-4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-

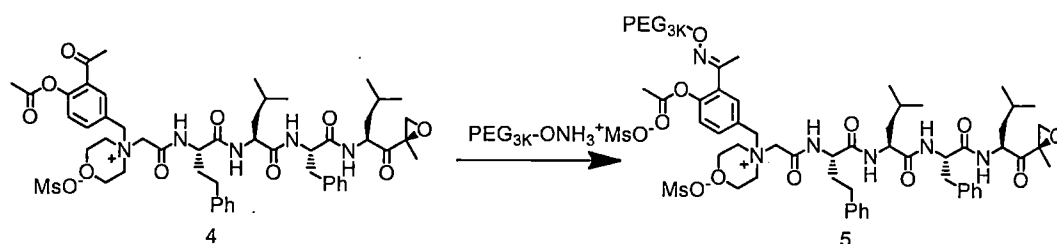


苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎊(7)

【0257】 向化合物 5b (380 mg · 1.48 mmol)於 MeCN (5 mL)中之溶液中添加(S)-4-甲基-N-((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(N-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺(532 mg · 0.74 mmol)。該反應混合物在 45°C 下攪拌隔夜。在減壓下移除溶劑。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(DCM/MeOH = 10:1)純化以提供所需化合物(6)。該化合物接著藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽(280 mg · 39%產率)；<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 10.15 (s, 1H), 9.53 (br s, 1H), 8.03 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.85 (m, 1H), 7.68 (br s, 1H), 7.37 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.26-7.13 (m, 10H), 6.84 (br s, 1H), 6.52 (br s, 1H), 5.20 (m, 2H), 4.97 (m, 1H), 4.50-3.96 (m, 7H), 3.46-3.28 (m, 2H), 3.16 (m, 1H), 3.06-2.92 (m, 3H), 2.85-2.61 (m, 7H), 2.44 (s, 3H), 2.14 (m, 2H), 1.69-1.17 (m, 11H), 0.89-0.83 (m, 12H)。

【0258】 實例 23 藉由類似於實例 16 中所述之彼等方法的方法製備。其中中間物以類似方式製得(使用乙醯氯來產生與實例 16 中所示之中間物 1 的相關性)。且化合物 7 及 PEG<sub>3K</sub>ONH<sub>3</sub><sup>+</sup>.MsO<sup>-</sup>根據一般聚乙二醇化程序 A。

實例 24：甲磺酸 4-(4-乙醯氧基-3-(1-(PEG<sub>3K</sub>-亞胺基)乙基)苯甲基)-4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎊(5)



甲磺酸 4-(4-乙醯氧基-3-乙醯基苯甲基)-4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎊(4)

【0259】 向化合物 2 (1.03 g · 3.7 mmol)於 MeCN (10 mL)中之溶液中添加化合物(S)-4-甲基-N-((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-

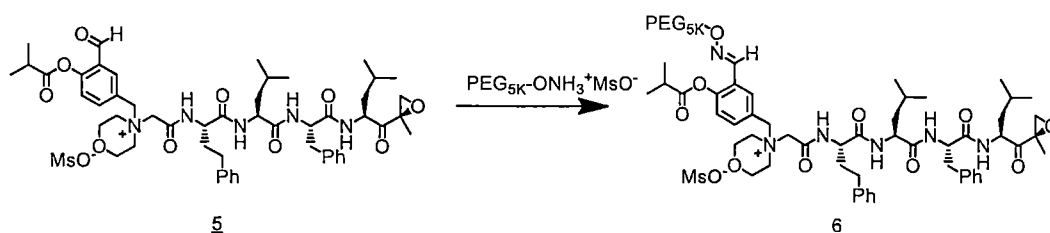
側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(N-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺(884.7 mg · 1.23 mmol)。該反應混合物在 45°C 下加熱隔夜。濃縮過量溶劑且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(EtOAc/MeOH = 100:3)純化以提供所需化合物 3。該化合物藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽(260 mg · 21%產率);  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9.62 (m, 1H), 8.06 (m, 1H), 7.88~7.71 (m, 2H), 7.33~7.11 (m, 11H), 6.95 (m, 1H), 6.66 (m, 1H), 5.33~4.91 (m, 2H), 4.55~3.90 (m, 11H), 3.58~2.91 (m, 4H), 2.85 (s, 3H), 2.74 (m, 2H), 2.61 (s, 3H), 2.40 (s, 3H), 2.31~1.94 (m, 7H), 1.72~1.18 (m, 8H), 0.88 (m, 12H)。

【0260】 實例 24 藉由類似於實例 22 中所述之彼等方法的方法製備。其中中間物以類似方式製得且化合物 4 及  $\text{PEG}_{3\text{K}}\text{ONH}_3^+\cdot\text{MsO}^-$  根據一般聚乙二醇化程序 B。

實例 25. 甲磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(3-(2-( $\text{PEG}_{20\text{K}}$ -4 臂-亞胺基)乙氧基)-4-(特戊醯基氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊

【0261】 實例 25 藉由類似於實例 17 中所述之彼等方法的方法製備。其中中間物以類似方式製得，同時使用  $\text{PEG}_{20\text{K}}\text{ONH}_3^+\cdot\text{MsO}^-$  且根據一般聚乙二醇化程序 B。

實例 26：甲磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(4-(異丁醯基氧基)-3-(( $\text{PEG}_{5\text{K}}$ -亞胺基)甲基)苯甲基)嗎啉-4-鎊 (6)



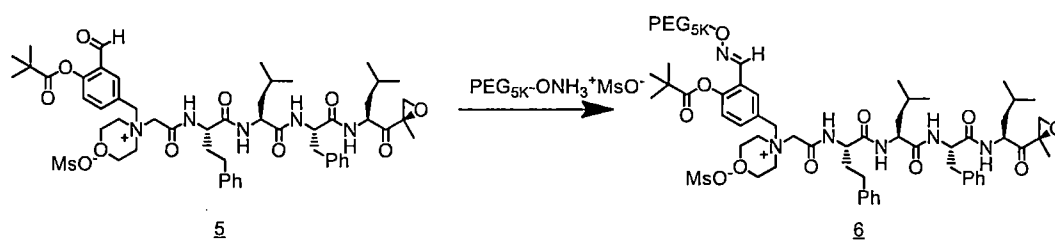
甲磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷

基)-4-(3-甲醯基-4-(異丁醯基氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(5)

【0262】 向化合物 3 (550 mg · 1.657 mmol)於 MeCN (8 mL)中之溶液中添加(S)-4-甲基-N-(((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(N-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺(393 mg · 0.547 mmol)。該反應混合物在 40°C下攪拌隔夜。濃縮過量溶劑且殘餘物重複地自(EtOAc/Et<sub>2</sub>O = 1:5)結晶以提供所需化合物 4。該化合物藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽 5 (115 mg · 7.5%產率); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 10.18 (s, 1H), 9.68 (m, 1H), 8.04 (m, 1H), 7.89 (m, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.35 (m, 1H), 7.30 (m, 1H), 7.11-7.29 (m, 9H), 6.79 (s, 1H), 6.44 (m, 1H), 5.18(m, 2H), 4.99 (m, 1H), 4.41 (m, 3H), 4.20 (m, 3H), 3.99 (m, 3H), 3.40 (m, 1H), 3.30 (m, 1H), 3.20 (m, 1H), 2.95 (m, 2H), 2.92 (m, 1H), 2.79 (m, 3H), 2.75 (m, 2H), 2.21 (m, 1H), 2.09 (m, 1H), 1.83 (m, 4H), 1.62 (m, 2H), 1.49 (m, 4H), 1.38 (m, 6H), 1.24 (m, 2H), 0.88 (m, 12H)。

【0263】 實例 26 藉由類似於實例 16 中所述之彼等方法的方法製備。其中中間物以類似方式製得(使用異丙醯氯來產生與實例 16 中所示之中間物 1 的相關性)。且化合物 5 及 PEG<sub>5K</sub>ONH<sub>3</sub><sup>+</sup>.MsO<sup>-</sup>根據一般聚乙二醇化程序 B。

實例 27：甲磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(3-((PEG<sub>5K</sub>-亞胺基)甲基)-4-(特戊醯基氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(6)

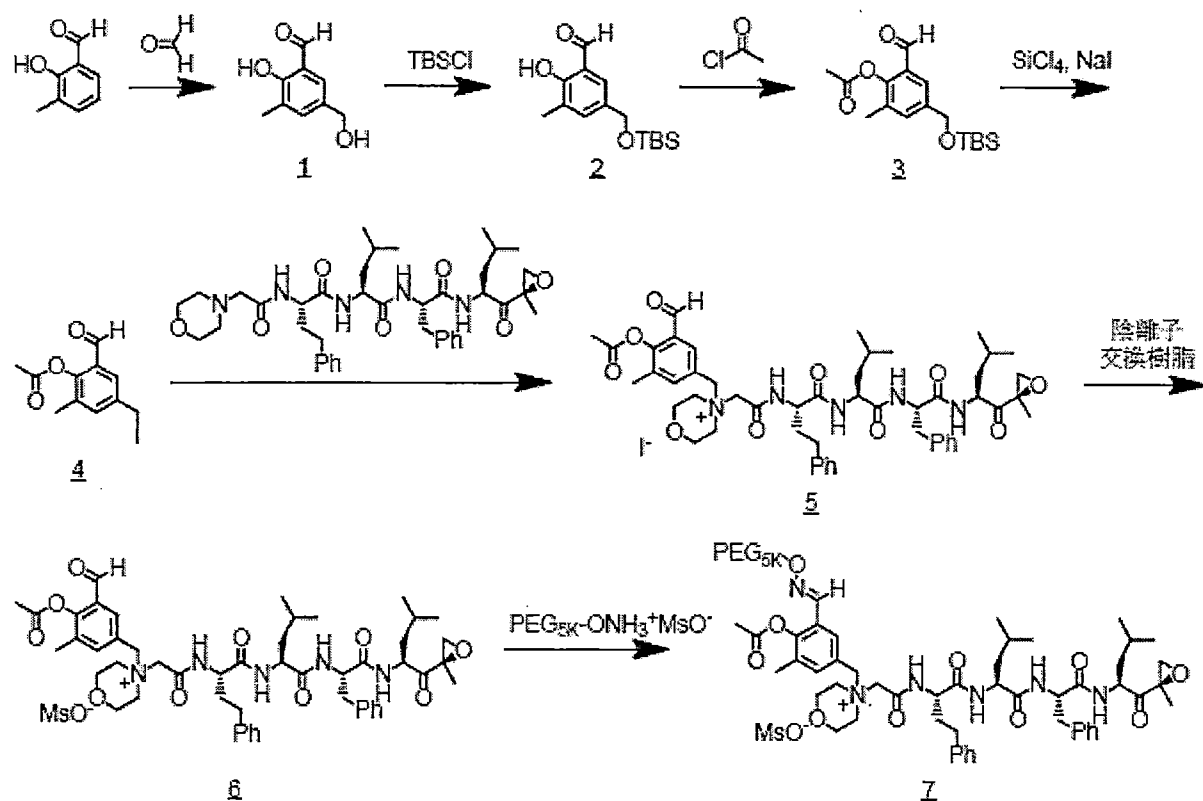


甲磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(3-甲醯基-4-(特戊醯基氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(5)

【0264】 向化合物 3 (500 mg · 1.44 mmol)於 MeCN (8 mL)中之溶液中添加(S)-4-甲基-N-(((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(N-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺(360 mg · 0.5 mmol)。該反應混合物在 40°C下攪拌隔夜。濃縮過量溶劑且殘餘物重複地自(EtOAc/Et<sub>2</sub>O = 1:5)結晶以提供所需化合物 4。該化合物藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽 5 (130 mg · 12%產率); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 10.17 (s, 1H), 9.74 (m, 1H), 8.01 (m, 1H), 7.90 (m, 1H), 7.74 (m, 1H), 7.36-7.12 (m, 11H), 6.78 (m, 1H), 6.41 (m, 1H), 5.22 (m, 1H), 5.14 (m, 2H), 4.58-4.35 (m, 3H), 4.28-4.10 (m, 3H), 4.08-3.83 (m, 3H), 3.38 (m, 1H), 3.29 (m, 1H), 3.17 (m, 1H), 2.97 (m, 2H), 2.83 (s, 3H), 2.76 (m, 2H), 2.30-2.20 (m, 2H), 1.70-1.58 (m, 2H), 1.47 (m, 6H), 1.42 (s, 10H), 1.30-1.16 (m, 3H), 0.90-0.84 (m, 12H)。

【0265】 實例 27 藉由類似於實例 16 中所述之彼等方法的方法製備。其中中間物以類似方式製得(使用第三丁醯氯來產生與實例 16 中所示之中間物 1 的相關性)。且化合物 5 及 PEG<sub>5K</sub>ONH<sub>3</sub><sup>+</sup>.MsO<sup>-</sup>根據一般聚乙二醇化程序 B。

實例 28：甲磺酸 4-(4-乙醯氧基-3-(1-(PEG<sub>5K</sub>-亞胺基)乙基)-5-甲基苯甲基)-4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎘(7)



### 2-羟基-5-(羟基甲基)-3-甲基苯甲醛(1)

【0266】 在 RT 下向 2-羟基-3-甲基苯甲醛(5.01 g · 36.84 mmol)及甲醛(37% · 7.01 g · 86.45 mmol)之混合物中添加濃 HCl (30 mL)。該反應混合物在 80°C 下加熱 1 h。添加水(90 mL)且所得混合物用 EtOAc (100 mL×3)萃取。濃縮組合之有機相且殘餘物用水(150 mL · 40°C)處理。濾出固體且濾液用 EtOAc (100 mL×3)萃取。組合之有機相經無水 MgSO<sub>4</sub> 乾燥且濃縮以提供化合物 1 (2.60 g · 43%產率); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 11.26 (s, 1H), 9.88 (s, 1H), 7.41 (s, 2H), 4.66 (s, 2H), 2.28 (s, 3H)。

### 5-(((第三丁基二甲基矽烷基)氧基)甲基)-2-羟基-3-甲基苯甲醛(2)

【0267】 在 0°C 下向化合物 1 (2.60 g · 15.66 mmol)於 DCM (50 mL)中之溶液中添加咪唑(2.13 g · 31.33 mmol)。添加 TBSCl (3.54 g · 23.50 mmol)於 DCM (5 mL)中之溶液且該反應混合物在室溫下攪拌 1 h。濃縮該混合物且殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(己烷/EtOAc = 200:1)純化以生成化合物 2 (3.90 g · 88.9%產率); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 10.85 (br, s, 1H), 9.96 (s, 1H), 7.44 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.33 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 4.56 (s, 2H), 2.12 (s, 3H), 0.82 (s, 9H), 0.00 (s, 6H)。

乙酸 4-(((第三丁基二甲基矽烷基)氧基)甲基)-2-甲醯基-6-甲基苯酯(3)

【0268】 在 0°C 下向化合物 2 (1.70 g · 6.08 mmol) 於 DCM (50 mL) 中之溶液中添加 TEA (1.23 g · 12.14 mmol) 及乙醯氯 (715 mg · 9.11 mmol)。該反應混合物在 RT 下攪拌 20 min。該混合物用 DCM (50 mL) 稀釋且接著傾入水 (100 mL) 中。分離兩相且有機相用鹽水 (100 mL) 洗滌，經無水 MgSO<sub>4</sub> 乾燥且濃縮以提供粗化合物 3 (1.94 g · 定量)，該化合物無需進一步純化即用於下一步驟；<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 9.90 (s, 1H), 7.52 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.35 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 4.63 (s, 2H), 2.30 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 0.83 (s, 9H), 0.00 (s, 6H)。

乙酸 2-甲醯基-4-(碘甲基)-6-甲基苯酯(4)

【0269】 在 0°C 下向 NaI (4.66 g · 31.06 mmol) 於 MeCN (50 mL) 中之溶液中添加化合物 3 (2.01 g · 6.21 mmol) 及 SiCl<sub>4</sub> (1.06 g · 6.21 mmol)。該反應混合物在 RT 下攪拌 15 min。濃縮該混合物且殘餘物用 DCM (100 mL) 處理。過濾所得混合物且濾液用飽和 Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (50 mL × 2) 洗滌，經無水 MgSO<sub>4</sub> 乾燥且濃縮。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析 (己烷/EtOAc = 15:1) 純化以生成化合物 4 (803 mg · 41% 產率)；<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 10.00 (s, 1H), 7.70 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 7.52 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 4.44 (s, 2H), 2.42 (s, 3H), 2.22 (s, 3H)。

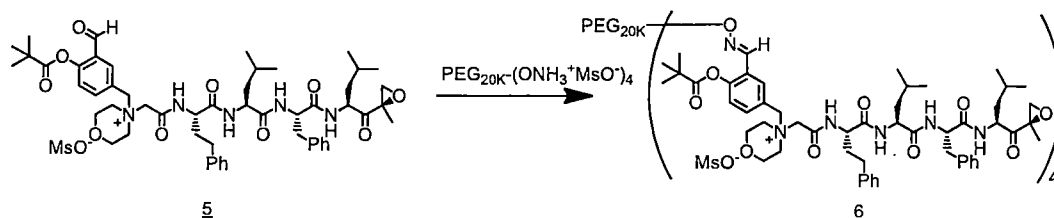
甲 烷 磺 酸 4-(4-乙醯氧基-3-乙醯基-5-甲基苯甲  
基)-4-((4*S*,7*S*,10*S*,13*S*)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((*R*)-2-甲基環氧乙  
烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎊  
(6)

【0270】 向化合物 4 (803 mg · 1.57 mmol) 於 MeCN (5 mL) 中之溶液中添加 (*S*)-4-甲基-*N*-((*S*)-1-(((*S*)-4-甲基-1-((*R*)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((*S*)-2-(2-(*N*-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺 (340 mg, 0.47 mmol)。該反應混合物在 40°C 下攪拌隔夜。濃縮過量溶劑且殘餘物自 (EtOAc/Et<sub>2</sub>O = 1:5) 再結晶三次以提供所需碘化物鹽 5。該鹽藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽 6 (202 mg · 47% 產率)；<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 10.05 (s, 1H), 9.55 (m, 1H), 7.86

(m, 1H), 7.74 (m, 2H), 7.13-7.29 (m, 10H), 6.85 (m, 1H), 6.51 (m, 1H), 5.23 (m, 1H), 5.05 (m, 2H), 4.45 (m, 5H), 4.22 (m, 5H), 4.00 (m, 4H), 3.30-3.52 (m, 2H), 3.17 (m, 1H), 2.98 (m, 2H), 2.83 (s, 4H), 2.76 (m, 2H), 2.46 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 2.08-2.25 (m, 2H), 1.48-1.69 (m, 4H), 1.45 (m, 2H), 1.38 (m, 2H), 1.25 (m, 2H), 0.88 (m, 12H)。

【0271】 實例 28 由化合物 6 及 PEG<sub>5K</sub>ONH<sub>3</sub><sup>+</sup>.MsO 根據一般聚乙二醇化程序 B 製備。

實例 29：甲烷磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(3-((PEG<sub>20K</sub>-4 臂-亞胺基)甲基)-4-(特戊醯基氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊



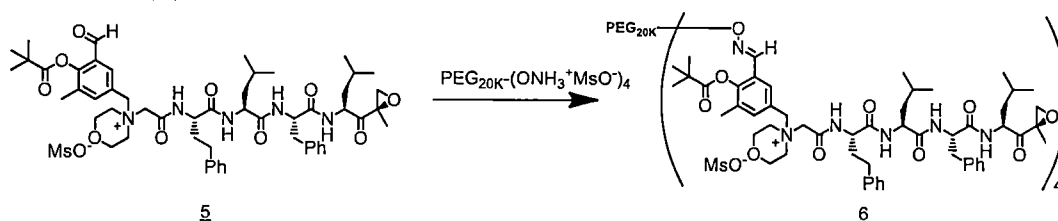
甲烷磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(3-甲醯基-4-(特戊醯基氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(5)

【0272】 向化合物 3 (500 mg · 1.44 mmol) 於 MeCN (8 mL) 中之溶液中添加(S)-4-甲基-N-((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(N-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺(360 mg · 0.5 mmol)。該反應混合物在 40°C 下攪拌隔夜。濃縮過量溶劑且殘餘物重複地自(EtOAc/Et<sub>2</sub>O = 1:5)結晶以提供所需化合物 4。該化合物藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽 5 (130 mg · 12%產率); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 10.17 (s, 1H), 9.74 (m, 1H), 8.01 (m, 1H), 7.90 (m, 1H), 7.74 (m, 1H), 7.36-7.12 (m, 11H), 6.78 (m, 1H), 6.41 (m, 1H), 5.22 (m, 1H), 5.14 (m, 2H), 4.58-4.35 (m, 3H), 4.28-4.10 (m, 3H), 4.08-3.83 (m, 3H), 3.38 (m, 1H), 3.29 (m, 1H), 3.17 (m, 1H), 2.97 (m, 2H), 2.83 (s, 3H), 2.76 (m, 2H), 2.30-2.20 (m, 2H), 1.70-1.58 (m, 2H), 1.47 (m, 6H), 1.42

(s, 10H), 1.30-1.16 (m, 3H), 0.90-0.84 (m, 12H)。

【0273】 實例 29 藉由類似於實例 18 中所述之彼等方法的方法製備，其中中間物以類似方式製得(使用第三丁醯氯來產生與實例 18 中所示之中間物 1 的相關性)，且化合物 5 及 PEG<sub>20K</sub>-(ONH<sub>3</sub><sup>+</sup>.MsO<sup>-</sup>)<sub>4</sub> 根據一般聚乙二醇化程序 B。

實例 30：甲烷磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(3-(PEG<sub>20K</sub>-4 臂-亞胺基)甲基)-5-甲基-4-(特戊醯基氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(6)



甲烷磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(3-甲醯基-5-甲基-4-(特戊醯基氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(5)

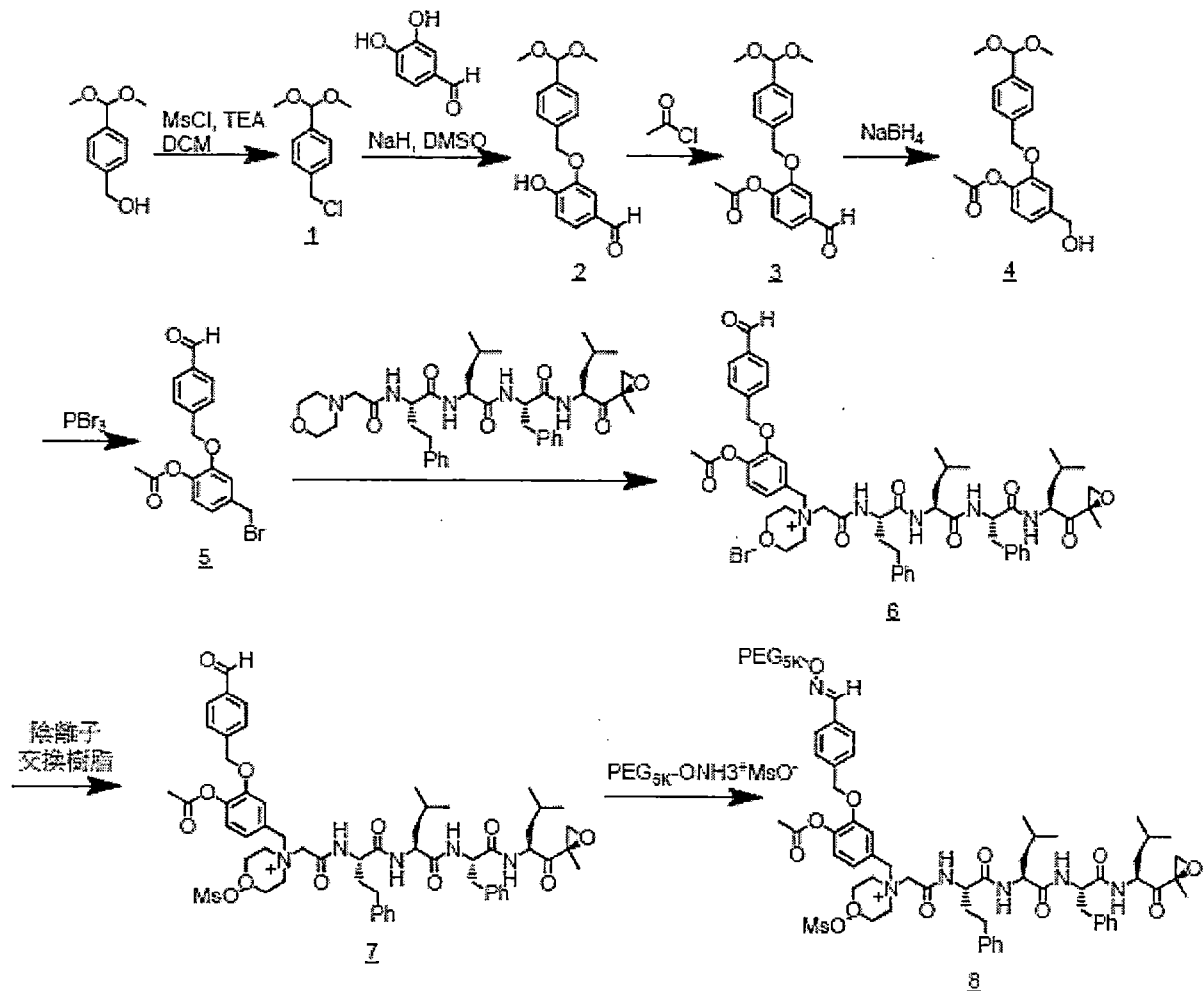
【0274】 向化合物 3 (900 mg · 2.60 mmol)於 MeCN (8 mL)中之溶液中添加(S)-4-甲基-N-((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(N-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺(624 mg · 0.87 mmol)。該反應混合物在 40°C 下攪拌隔夜。濃縮過量溶劑且殘餘物重複地自(EtOAc/Et<sub>2</sub>O = 1:5)結晶以提供所需化合物 4，該化合物藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽 5 (222 mg · 9.0%產率)；<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 10.05 (s, 1H), 9.66 (m, 1H), 7.82 (m, 3H), 7.12-7.30 (m, 10H), 6.84 (m, 1H), 6.47 (m, 1H), 5.19 (m, 1H), 5.01 (m, 2H), 4.47 (m, 5H), 4.20 (m, 4H), 3.98 (m, 4H), 3.40 (m, 1H), 3.28 (m, 1H), 3.17 (m, 1H), 2.98 (m, 2H), 2.83 (m, 4H), 2.73 (m, 2H), 2.25 (m, 3H), 2.10 (m, 2H), 1.61 (m, 2H), 1.47 (m, 12H), 1.26 (m, 2H), 0.87 (m, 12H)。

【0275】 實例 30 藉由類似於實例 28 中所述之彼等方法的方法製備，其中中間物以類似方式製得(使用第三丁醯氯來產生與實例 28 中所示之中



間物 1 的相關性) · 且化合物 5 及 PEG<sub>20K</sub>(ONH<sub>3</sub><sup>+</sup>·MsO<sup>-</sup>)<sub>4</sub> 根據一般聚乙二醇化程序 B。

實例 31：甲烷磺酸 4-(4-乙醯氧基-3-((4-(PEG<sub>5K</sub>-亞胺基)甲基)苯甲基)氧基)苯甲基)-4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎊(8)



#### 1-(氯甲基)-4-(二甲氧基甲基)苯(1)

【0276】 在 0°C 下向(4-(二甲氧基甲基)苯基)甲醇(200 mg · 1.1 mmol) 於 DCM (10 ml) 中之溶液中添加 TEA (365.6 mg · 3.62 mmol) 及 MsCl (207.6 mg · 1.813 mmol)。該反應混合物在 RT 下攪拌 2 h · 且接著傾入飽和 NaHCO<sub>3</sub> (10 mL) 中。分離兩相，且有機相經無水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 乾燥且濃縮以提供化合物 1 (200 mg · 91% 產率)，該化合物無需進一步純化即用於下一步驟。

#### 4-(4-(二甲氧基甲基)苯甲基氧基)-3-羥基苯甲醌(2)

【0277】 在室溫下向化合物 1 (200 mg · 0.998 mmol)於 DMSO (5 mL)中之溶液中添加 NaH (37.4 mg · 1.1 mmol)。在 30 min 反應之後，添加 3,4-二羥基苯甲醛(137.7 mg · 0.998 mmol)於 DMSO (5 mL)中之溶液且該反應混合物在 RT 下攪拌隔夜。該混合物傾入飽和 NaHCO<sub>3</sub> (10 mL)中且所得混合物用 DCM (10 mL×2)萃取。組合之有機層經無水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 乾燥且濃縮以提供化合物 2 (300 mg · 粗物質)，該化合物無需進一步純化即用於下一步驟。

乙酸 2-(4-(二甲氧基甲基)苯甲基氧基)-4-甲醯基苯酯(3)

【0278】 在 0°C 下向化合物 2 (300 mg · 1 mmol)於 DCM (10 mL)中之溶液中添加 TEA (202 mg · 2 mmol)及 AcCl (102 mg · 1.3 mmol)。該反應混合物在 r.t.下攪拌 2 h，且接著傾入飽和 NaHCO<sub>3</sub> (10 mL)中。分離兩相，且有機層經無水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 乾燥且濃縮以提供化合物 3 (200 mg · 粗物質)，該化合物無需進一步純化即用於下一步驟。

乙酸 2-(4-(二甲氧基甲基)苯甲基氧基)-4-(羥基甲基)苯酯(4)

【0279】 向化合物 3 (200 mg · 0.58 mmol)於 DCM/MeOH (10 mL/1mL)中之溶液中添加 NaBH<sub>4</sub> (19.8 mg · 0.58 mmol)。該反應混合物在 0°C 下攪拌 1 小時且接著用丙酮(5 mL)淬滅。該混合物傾入飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液(10 mL)中且用 DCM (10 mL×2)萃取。組合之有機層經無水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 乾燥且濃縮以提供化合物 4 (300 mg · 粗物質)，該化合物無需進一步純化即用於下一步驟。

乙酸 4-(溴甲基)-2-(4-甲醯基苯甲基氧基)苯酯(5)

【0280】 向化合物 4 (1.8 g · 5.2 mmol)於 DCM (50 mL)中之溶液中添加 PBr<sub>3</sub> (1.41 g · 5.2 mmol)。該反應混合物在 RT 下攪拌 5 小時且接著用飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液(60 mL)淬滅。分離兩層且水相用 DCM (50 mL×2)萃取。組合之有機層經無水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 乾燥且濃縮。殘餘物藉由矽膠急驟管柱層析(石油醚/EtOAc = 4:1)純化以提供化合物 5 (327 mg · 15%產率)；<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO): δ 10.01 (s, 1H), 7.96~7.94 (m, 2H), 7.62~7.60 (m, 2H), 7.31 (m, 1H), 7.13~7.07 (m, 2H), 5.26 (s, 2H), 4.68 (s, 2H), 2.27 (s, 3H)。

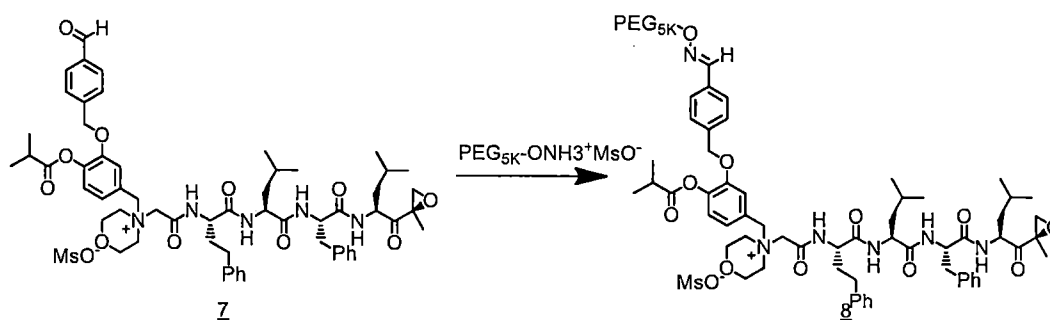
甲烷磺酸 4-(4-乙醯氧基-3-((4-甲醯基苯甲基)氧基)苯甲基)-4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎊

(7)

【0281】 向化合物 5 (320 mg · 0.884 mmol) 於 MeCN (6 mL) 中之溶液中添加(S)-4-甲基-N-((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(N-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺(254 mg · 0.354 mmol)。該反應混合物在 45°C 下攪拌 48 小時。蒸發過量溶劑且殘餘物重複地自 MeCN/Et<sub>2</sub>O (1/5, v/v) 結晶以提供所需產物 6，該產物接著藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽化合物 7 (180 mg · 47% 產率)。

【0282】 化合物 7 (500 mg · 0.46 mmol)、2-胺基-5-甲氧基苯甲酸(25.5 mg · 0.14 mmol) 及 PEG-O-NH<sub>2</sub> (甲磺酸鹽, 2.12 g · 0.41 mmol) 於 DCM 中之溶液在 r.t. 下攪拌 2 h。接著濃縮該反應混合物且殘餘物在 40°C 下溶解於 <sup>i</sup>PrOH 中。該溶液冷卻至 RT 且添加 Et<sub>2</sub>O 以誘導結晶。該混合物在冰浴中保持 10 min 且接著過濾。濾餅自 <sup>i</sup>PrOH/Et<sub>2</sub>O (5/2) 結晶以提供 8 (2.10 g · 82% 產率)。

實例 32：甲磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(4-(異丁醯基氧基)-3-((4-(PEG<sub>5K</sub>-亞胺基)甲基)苯甲基)氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(8)



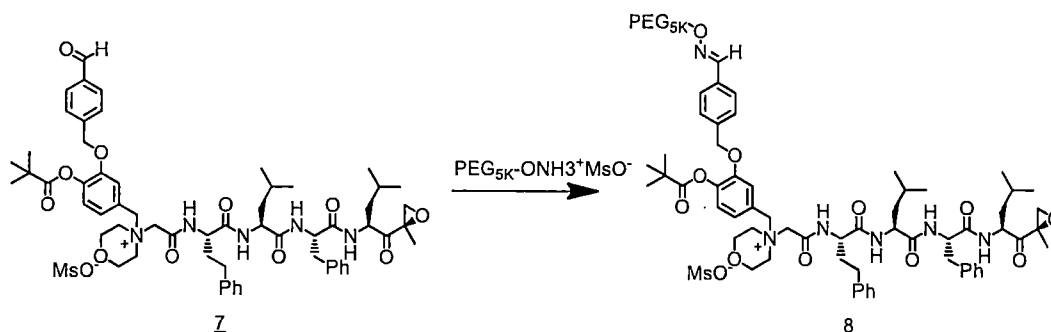
甲磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(3-(4-甲醯基苯甲基氧基)-4-(異丁醯基氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(7)

【0283】 向化合物 5 (310.4 mg · 0.80 mmol) 於 MeCN (2 mL) 中之溶液中添加(S)-4-甲基-N-((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧

基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(N-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺(286 mg, 0.30 mmol)。該反應混合物在 45°C 下攪拌 48 小時。蒸發過量溶劑且殘餘物重複地自 MeCN/Et<sub>2</sub>O (1/5, v/v) 結晶以提供所需產物 6。該產物接著藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽化合物 7 (280 mg, 83% 產率)。

【0284】 化合物 6 (280 mg, 0.25 mmol)、2-胺基-5-甲氧基苯甲酸(14.0 mg, 0.026 mmol)及 PEG-O-NH<sub>2</sub> (甲磺酸鹽, 1.16 g, 0.227 mmol)於 DCM (3 mL)中之溶液在 r.t.下攪拌 2 h。接著濃縮該反應混合物且殘餘物在 40°C 下溶解於 i-PrOH 中。該溶液冷卻至室溫且添加 Et<sub>2</sub>O 以誘導結晶。該混合物在冰浴中保持 10 min 且藉由過濾收集所形成之固體。重複兩次自 i-PrOH/Et<sub>2</sub>O (5:2)結晶直至所有 7 均經移除以提供 8 (1.0 g, 72% 產率)。

實例 33：甲磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(3-((4-(PEG<sub>5K</sub>-亞胺基)甲基)苯甲基)氧基)-4-(特戊醯基氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(8)



甲磺酸 4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)-4-(3-(4-甲醯基苯甲基氧基)-4-(特戊醯基氧基)苯甲基)嗎啉-4-鎊(7)

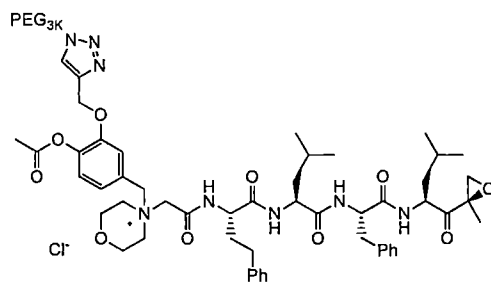
【0285】 向化合物 5 (實例 31 中化合物 5 之第三丁基酯類似物, 230 mg, 0.51 mmol)於 MeCN (3 mL)中之溶液中添加(S)-4-甲基-N-((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-(N-嗎啉基)乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)戊醯胺(184 mg, 0.25 mmol)。該反應混合物在 45°C 下攪拌 48 小時。蒸發過量溶劑且殘

餘物重複地自 MeCN/Et<sub>2</sub>O (1/5, v/v) 結晶以提供所需產物 6。該產物接著藉由用離子交換樹脂處理而轉化為相應甲磺酸鹽化合物 7 (170 mg · 71% 產率)；<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 9.99 (s, 1H), 9.59 (m, 1H), 7.87~7.85 (m, 2H), 7.57~7.55 (m, 2H), 7.32 (m, 1H), 7.26~7.13 (m, 11H), 7.03 (m, 1H), 6.89 (m, 1H), 6.44 (m, 1H), 5.18 (m, 2H), 5.05~5.03 (m, 1H), 4.92~4.88 (m, 2H), 4.46~4.42 (m, 4H), 4.18~4.03 (m, 4H), 3.94~3.90 (m, 3H), 3.40~3.32 (m, 1H), 3.27~3.20 (m, 1H), 3.13 (m, 1H), 3.00~2.98 (m, 2H), 3.82~2.80 (m, 3H), 2.79 (m, 1H), 2.74~2.72 (m, 2H), 2.19 (m, 1H), 2.10~1.97 (m, 4H), 1.64~1.55 (m, 2H), 1.48~1.44 (m, 5H), 1.29 (m, 6H), 0.88~0.81 (m, 12H)。

【0286】 化合物 7 (170 mg · 0.15 mmol)、2-胺基-5-甲氧基苯甲酸(28.2 mg · 0.016 mmol)及 PEG-O-NH<sub>2</sub> (甲磺酸鹽 · 614 mg · 0.12 mmol)於 DCM 中之溶液在 RT 下攪拌 30 min。接著濃縮該反應混合物且殘餘物在 40°C 下溶解於 *t*-PrOH 中。該溶液冷卻至 RT 且添加 Et<sub>2</sub>O 以誘導結晶。該混合物在冰浴中保持 10 min 且接著過濾。濾餅自 *t*-PrOH/Et<sub>2</sub>O (5/2) 結晶以提供 8 (580 mg · 77%)。

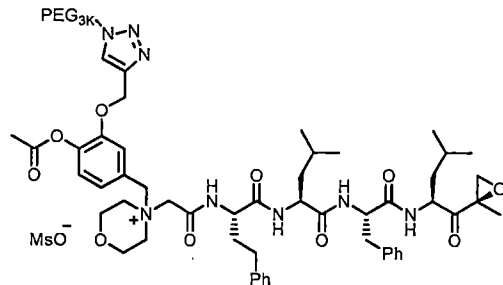
【0287】 本發明之代表性卡非佐米前藥實例 31-33 提供具有潛在增強之化學穩定性的脞連接之結合物。在此等實例中，脞連接用供電子苯甲基氧基間隔開以增加 PEG 構築體之總體穩定性。

實例 34：氯化 4-(4-乙醯氧基-3-((1-PEG<sub>3K</sub>-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)苯甲基)-4-((4*S*,7*S*,10*S*,13*S*)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((*R*)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎊



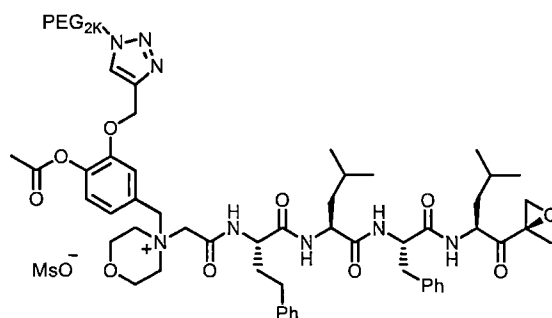
【0288】 實例 34 使用類似於實例 5-11 中教示之彼方法及方法 A 的方法，但使用具有氯化物陰離子作為相對離子之氯化物鹽中間物來製備。

實例 35: 甲磺酸 4-(4-乙醯氧基-3-((1-PEG<sub>3K</sub>-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)苯甲基)-4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎊



【0289】 實例 35 使用類似於實例 5-11 中教示之彼方法及方法 A 的方法，使用 PEG<sub>3K</sub>N<sub>3</sub> 來製備。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz): δ 9.19 (M, 1H), 8.24 (m, 2H), 8.12 (m, 1H), 7.90 (m, 1H), 7.62 (m, 1H), 7.22 (m, 13 H), 7.0 (m, 1H), 5.26 (m, 2H), 4.88 (m, 2H), 4.53 (m, 3H), 4.37 (br s, 4H), 4.05 (m, 5H), 3.81 (m, 2H), 3.68 (m, 4H), 3.52 (br s, 339H), 3.30 (m, 4H), 3.24 (s, 4H), 2.94 (m, 2H), 2.75 (m, 1H), 2.63 (m, 2H), 2.24 (s, 3H), 1.87 (m, 2H), 1.59 (m, 2H), 1.40 (m, 7H), 0.84 (m, 12H)

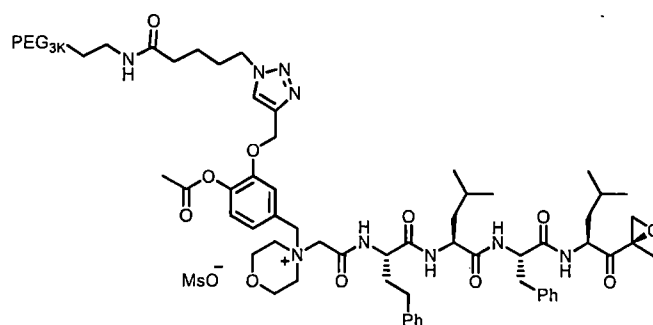
實例 36: 甲磺酸 4-(4-乙醯氧基-3-((1-PEG<sub>2K</sub>-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)苯甲基)-4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎊



【0290】 實例 36 使用類似於實例 5-11 中教示之彼方法及方法 A 的方法，使用 PEG<sub>2K</sub>N<sub>3</sub> 來製備。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz): δ 9.44 (M, 1H), 8.26 (m, 2H), 8.16 (m, 1H), 8.00 (m, 1H), 7.62 (m, 1H), 7.22 (m, 13 H), 5.26 (m, 2H), 5.00 (m, 2H), 4.54 (m, 3H), 4.37 (m, 5H), 4.09 (m, 4H), 3.81 (m, 2H), 3.68

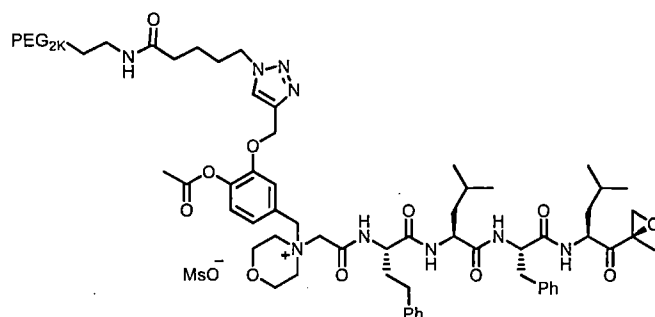
(m, 2H), 3.50 (br s, 218H), 3.32 (m, 2H), 3.27 (s, 1H), 3.26 (s, 4H), 2.94 (m, 2H), 2.76 (m, 1H), 2.61 (m, 2H), 2.24 (s, 3H), 1.90 (m, 2H), 1.62 (m, 2H), 1.40 (m, 7H), 0.82 (m, 12H)

實例 37: 甲磺酸 4-(4-乙醯氧基-3-((1-(5-((2-PEG<sub>3K</sub>-乙基)胺基)-5-側氧基戊基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)苯甲基)-4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎊



【0291】 實例 37 使用類似於實例 5-11 中教示之彼方法及方法 A 的方法，使用具有源於 5-疊氮基戊酸之連接體的 PEG<sub>3K</sub> 來製備。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz): δ 9.26 (M, 1H), 8.25 (m, 2H), 8.17 (m, 1H), 7.98 (d, 1H), 7.87 (m, 1H), 7.62 (m, 1H), 7.22 (m, 11 H), 7.02 (m, 1H), 4.99 (m, 2H), 4.56 (m, 1H), 4.37 (br s, 6H), 4.11 (m, 3H), 3.71 (m, 3H), 3.52 (br s, 304H), 3.25 (br s, 7H), 2.75 (m, 1H), 2.61 (m, 2H), 2.24 (s, 3H), 2.11 (m, 1H), 1.87 (m, 2H), 1.40 (m, 5H), 0.82 (m, 12H)

實例 38: 甲磺酸 4-(4-乙醯氧基-3-((1-(5-((2-PEG<sub>2K</sub>-乙基)胺基)-5-側氧基戊基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲氧基)苯甲基)-4-((4S,7S,10S,13S)-10-苯甲基-7-異丁基-15-甲基-13-((R)-2-甲基環氧乙烷-2-羰基)-2,5,8,11-四側氧基-4-苯乙基-3,6,9,12-四氮雜十六烷基)嗎啉-4-鎊



【0292】 實例 38 使用類似於實例 5-11 中教示之彼方法及方法 A 的方法，使用具有源於 5-疊氮基戊酸之連接體的 PEG<sub>2K</sub> 來製備。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz): δ 9.56 (M, 1H), 8.29 (m, 2H), 8.18 (m, 1H), 8.04 (m, 1H), 7.92 (m, 1H), 7.62 (m, 1H), 7.22 (m, 11 H), 7.0 (m, 1H), 5.38 (m, 2H), 4.99 (m, 2H), 4.56 (m, 1H), 4.37 (br s, 7H), 4.19 (m, 3H), 4.02 (m, 3H), 3.52 (br s, 179H), 3.25 (br s, 5H), 2.94 (m, 2H), 2.80 (m, 1H), 2.63 (m, 2H), 2.24 (s, 3H), 2.10 (m, 2H), 1.87 (m, 2H), 1.40 (m, 9H), 0.82 (m, 12H)

【0293】 本發明之例示性化合物可顯示出由於具有適合且足以提供該癌症治療之藥物動力學及藥效學型態而有效治療多種癌症(包括而不限於多發性骨髓瘤)。以下例示性描述及附圖顯示本發明之所選代表性化合物的此等藥物動力學及藥效學型態中之一些。

實例 39：人類血漿中之 PEG-卡非佐米化合物轉化。

人類血漿轉化方案：

【0294】 在 DMSO 中製備所需測試化合物之 1 毫莫耳濃度(mM)儲備液。藉由自 1 mM 儲備液稀釋在乙腈:水中製備該測試化合物之 25 μM 儲備液(亦即，2.5 μL 之 1 mM 儲備溶液添加至 97.5 μL 之乙腈:水(50:50)中) 冷凍人類血漿(自 5 名男性彙集，2KEDTA 抗凝血劑)在室溫下解凍且在 1400x RCF 4°C 下離心持續 15 分鐘。大約 90% 之澄清上清液部分轉移至分離管中且用於該分析。關於時間 0 min 樣品，血漿在 80°C 下熱不活化。向 72 μL 熱不活化血漿中添加 3 μL 25 μM 工作儲備液且用 200 μL 含內部標準之乙腈碰撞 50 μL 樣品。關於分析，藉由將 20 μL 25 μM 工作儲備液摻加至 480 μL 血漿中來製備 1 μM 培育樣品。樣品在 37°C 下在震盪器水浴中在輕微震盪下培育 0.5、1、2、4 及 6 h。在各時間點，50 μL 樣品用 200 μL 含有內部標準之乙腈沉澱且在 4000x RCF、4°C 下離心持續 20 分鐘。150 μL 上清液用 150 μL 水稀釋且藉由 LC-MS/MS 進行分析。使用具有 5 μM 最高卡非佐米濃度、隨後 2.5 倍稀釋之血漿產生 8 點校準曲線。所釋放之卡非佐米之量針對該校準曲線進行定量且以 μM 報道。

【0295】 圖 1 顯示 PEG-卡非佐米化合物之代表性實例轉化為卡非佐米之游離、非 PEG 結合、活性形式的速率。如所示，本發明之例示化合物



提供卡非佐米的血漿濃度，其在時間 0 開始且逐漸地增加(關於大多數所描繪實例)至有意義濃度持續長達 2 小時且在一些情況下持續長於 2 小時。此圖顯示本發明之例示性化合物的半衰期預計在人類血漿中為至少 2 小時，且潛在地更長。因此，圖 1 說明本發明之 PEG-卡非佐米化合物提供卡非佐米之活性形式至血漿中的緩慢釋放，由此允許卡非佐米潛在更長持續時間作用於細胞蛋白酶體酶，導致預期之對蛋白酶體活性的延長抑制效應。

【0296】 PEG-卡非佐米結合物靜脈內投與至雌性 Balb/c 小鼠( $n = 3$ )之後的平均血漿濃度( $\mu\text{M}$ )。所指示之劑量為  $\text{mg/kg}$  之 PEG-卡非佐米結合物。

實例 40：PEG-卡非佐米小鼠 pK

【0297】 PEG 卡非佐米化合物呈靜脈內(i.v.)推注形式在含有 10% (w/v)乙醇之水溶液中以規定劑量(劑量體積  $5 \text{ mL/kg}$ )投與至小鼠(Balb/c，雌性， $n = 3$  每個劑量組)。在所指示之時間點收集血液樣品且藉由 LC/MS-MS 一式兩份量測血漿卡非佐米濃度。對照組比較物型態為卡非佐米標準調配物，亦即用於投與之 10% (w/v)磺丁基醚- $\beta$ -環糊精及  $10 \text{ mmol/L}$  之檸檬酸鈉(pH 3.5)的水溶液調配物( $5 \text{ mg/kg}$ )。此標準卡非佐米表示目前獲批用於治療多發性骨髓瘤之卡非佐米調配物。關於實例 13、16 及 18，投與至小鼠之不同劑量反映卡非佐米之含量及給藥量，及經計算與該標準卡非佐米調配物中提供之卡非佐米的彼量大致相同之量。

【0298】 如圖 2 中所描繪，雖然實例 18 展現類似於對照組卡非佐米之彼型態的型態，但實例 13 及 16 展現其型態之延伸。特定言之，實例 16 在與對照組之時期相同的時期內具有游離、活性卡非佐米之改良可用性。然而，實例 13 展現在比對照組卡非佐米長得多的時期內之卡非佐米釋放，其導致在彼較長時期內顯著較高之卡非佐米血漿濃度。實例 13 之血漿濃度為對照組之血漿濃度的多個對數倍數。

實例 41：PEG-卡非佐米化合物對卡非佐米之蛋白酶體抑制

【0299】 PEG 卡非佐米化合物實例 1 呈靜脈內(i.v.)推注形式在含有 10% (w/v)乙醇之水溶液中以規定劑量(劑量體積  $5 \text{ mL/kg}$ )投與至小鼠(Balb/c，雌性， $n = 3$  每個劑量組)。卡非佐米標準在用於投與之 10% (w/v)磺丁基醚- $\beta$ -環糊精及  $10 \text{ mmol/L}$  之檸檬酸鈉(pH 3.5)的水溶液中調配( $5$

mg/kg)。在 i.v. 藥物投與之後的所選時間點，收集組織樣品(腎上腺、心臟、肝及骨髓)。藉由心臟穿刺收集全血至含有肝素鈉之管中。

**【0300】** 血液：使用 EDTA 微離心管收集大約 0.4 mL 全血。樣品立即置於冰上且在室溫(RT)下在微離心機中以最大速度短暫離心 2 分鐘。細胞集結粒儲存於濕冰上。全血細胞集結粒再懸浮於 1 ml 磷酸鹽緩衝生理食鹽水(PBS)中且在 4°C 下以最大速度離心。移除上清液且該等集結粒用 PBS 洗滌第二次。樣品再懸浮於 2 體積之溶解緩衝液(20 mM Tris, pH 8.0, 5 mM EDTA)中，接著冷凍且儲存於 -80°C 下直至分析。

腎上腺、心臟及肝組織：

**【0301】** 在給藥後規定之圖解時間點收集組織(腎上腺、心臟及肝)。切去組織且在 4°C 下置於含有 PBS 之 15 ml 管中。關於均質化組織，樣品用剪刀切碎且約 0.1-0.2 mg 部分置於 2 mL 微離心管中。組織部分冷凍且儲存於 -80°C 下。

樣品加工：

**【0302】** 所有樣品均於冰上解凍。溶解緩衝液中之所有單細胞集結粒(全血)均短暫地渦旋，接著在 4°C 下在微離心機中以 14,000 rpm 短暫離心持續 15 分鐘。上清液在樣品板中以 100  $\mu$ L:25  $\mu$ L 50% 甘油之比率經轉移，其中甘油最終濃度為 10%。此等樣品接著準備用於分析，或其可在 -80°C 下冷凍。大約 2 體積之溶解緩衝液及不銹鋼珠粒添加至解凍之組織部分(腎上腺、心臟及肝)中。樣品每一側在 20 mHz 下均質化持續 60 秒，接著在 4°C 下在微離心機中以 14,000 rpm 短暫離心持續 15 分鐘。上清液在樣品板中以 100  $\mu$ L:25  $\mu$ L 50% 甘油之比率經轉移，其中甘油最終濃度為 10%。小心避免具有高脂肪含量之組織(亦即，腎上腺)的頂部脂質層。此等樣品接著準備用於分析，或其可在 -80°C 下冷凍。在此溶解產物/10% 甘油平台處冷凍之樣品應在分析之前在冰上解凍。各樣品之蛋白濃度藉由 Bradford 分析來量測。藉由監測游離 AMC 自螢光肽 Suc-Leu-Leu-Val-Tyr-AMC (BostonBiochem) 之釋放來定量蛋白酶體胰凝乳蛋白酶樣(CT-L)活性。

**【0303】** 如圖 3 所示，在小鼠中之血液中以及腎上腺、心臟及肝組織中，CT-L 活性在標準卡非佐米與實例結合物 1 之間可相當。

實例 42：關於實例 13、26 及 34 (各自 IV 投與)之平均卡非佐米血漿濃度-時間型態。

【0304】 該等 PEG 卡非佐米化合物以靜脈內(i.v.)推注形式以 5 mg/kg (等於卡非佐米，劑量體積 1 mL/kg)投與至小鼠(Balb/c，雄性，n = 9 每個劑量組)。在所指示之時間點(給藥後 0.5、1、2、4、6、12、16 及 24 小時)收集來自各小鼠之血液樣品且藉由用 125  $\mu$ L 含有作為內部標準之 D10-CFZ 的乙腈進行蛋白沉澱來提取 25  $\mu$ L 血漿樣品且接著離心。藉由 LC-MS/MS 使用多反應監測以陽性電噴霧電離模式量測上清液中之卡非佐米濃度。該分析之定量下限為 0.500 ng/mL。

【0305】 如圖 4 所示，此研究中之對照組標準卡非佐米(CFZ)環糊精調配物(5 mg/mL)在極短時期內導致血漿濃度下降。3K-PEG CFZ (實例 34)存在於血漿中持續在該 PEG 結合物之初始投與後長達 20 與約 25 小時之間。同樣，5K-PEG CFZ (實例 26)存在於血漿中，如圖 5 中所量測，在約 25 小時之實際上所有時間內均處於較高濃度下。最終，20K-PEG (實例 13)為在 3K 及 5K-PEG 曲線上方之曲線(雖然在其間開始)，且披露出此 PEG 結合物在所量測之 25 小時過程中釋放卡非佐米至血漿中，同時在彼極長持續時間內提供在顯著較高血漿濃度下之卡非佐米。最終，如圖 4 所示，在開始時間點處之最高曲線(包含 3K-PEG 及 20K-PEG 卡非佐米化合物之組合的調配物)展現個別地高於且長於 3K-PEG 且可與單獨較高分子量 20K-PEG 卡非佐米化合物相當之血漿濃度。

【0306】 表 4 描述當代表性卡非佐米化合物實例與標準卡非佐米進行比較且所有樣品均 IV 給藥時獲得之結果。

表 4：pK 量測

實例編號	C <sub>最大</sub> (ng/mL)	AUC <sub>0-24</sub> (ng.h/mL)	T <sub>1/2</sub> (h)	CL/F (mL/kg/h)	分佈體積 (V <sub>dss</sub> ; mL/kg)
CFZ-IV	46.7	153	10.9	29000	245000
34	1470	2230	6.09	2230	2110
26	472	847	8.51	5770	12800
13	616	3510	3.68	1400	6900

【0307】 在實例 39-41 中給藥之 PEG 卡非佐米調配物一般如下製備：所需量之 PEG-CFZ 化合物使用分析天平稱出至無菌玻璃容器中。基於該材料之重量計算稀釋劑體積。10 mM 乙酸鹽(pH 5.0)、9%蔗糖之稀釋劑添加至該玻璃容器中，其最終體積導致 PEG-CFZ 化合物之濃度為 1 mg/ml、5 mg/mL、10 mg/mL 或 20 mg/mL。各 PEG-CFZ 樣品在室溫下攪拌 1 小時以允許該材料完全溶解。一旦該材料完全溶解於溶液中，取出樣品以量測 pH，發現該 pH 始終在 4.9-5.1 之所需範圍內。因此，未進行進一步 pH 調節。對所有樣品執行樣品重量滲透濃度量測及內毒素測試且發現其始終在 295-312 mOsm (對於重量滲透濃度)及<1.0 EU/mL (對於內毒素計數)之可接受範圍內。樣品在溶解之後即刻經無菌填充至 5 cc 無菌玻璃小瓶中，塞住且蓋帽。在實例 39-41 中的運輸及給藥之前 1 天至 2.5 週時期內，樣品在-70°C 下冷凍，如下文所述。

實例 43：實例 13 及 CFZ-磺丁基醚  $\beta$  環糊精在 SCID 灰棕色小鼠中之 HT-29 人類結腸直腸腺癌異種移植物模型中之功效研究(圖 5)

【0308】 程序：自 Harlan Laboratories (Livermore, CA)購得 6 至 7 週齡之雌性灰棕色嚴重複合型免疫缺乏(SCID)小鼠(60 只加上備用)。在抵達之後，使用電子天平(Ohaus SCOUT® PRO, Parsippany, NJ)對動物稱重，給予臨床檢查以確保該等動物在良好狀態下，且每個籠子圈養 5 只(在給藥之前)。該等動物維持於 Micro-VENT 全通風齧齒動物圈養系統(Allentown Caging Equipment Co., Allentown, NJ)中之 HEPA 過濾環境中，每小時提供至少 10 次室內換氣。設定動物室控制以維持溫度及相對濕度分別在 20°C $\pm$ 1°C 及 50% $\pm$ 20%下。圈養室在 12:12 光暗循環下。籠子經高壓滅菌，且動物在 SaniChip 照射墊料 7990.BG (Harlan Teklad; Hayward, CA)上分層。水經高壓滅菌且經由水瓶隨意供應至各籠子。照射 2018 Teklad Global 16%蛋白齧齒動物飼料((Harlan Teklad)隨意供應至各籠子。

【0309】 化合物調配：如上文一般所述製備實例 13。卡非佐米比較物化合物製備為 CFZ-磺丁基醚  $\beta$  環糊精(1 mg/mL)。實例 13 之粉末樣品在 10% ETOH/生理食鹽水中稀釋至 30 mg/ml (第 3 組)或 50 mg/ml (第 3 組開始第四劑量)或 40 mg/ml (第 4 組)。媒劑及 CFZ-磺丁基醚  $\beta$  環糊精在該研究中

儲存於 4°C 下。在該研究期間，定期檢查實例 13 在該懸浮液之品質方面的潛在改變；未觀察到改變

【0310】 細胞株：人類結腸直腸腺癌細胞(CA)株 NCI-HT29 (HT-29; ATCC® HTB-38™)購自 ATCC (Manassas, VA)。在 MGI 簽收之後，細胞在 RPMI 1640 及 10%胎牛血清中內部生長持續 7 個繼代，接著用於產生冷凍儲備液。該等細胞自冷凍儲備液回收且如上文加以培養。在生長之後，該等細胞短暫離心且以 5E07 個細胞/mL 之濃度再懸浮於無添加劑之無血清培養基中，接著與 Matrigel™ (Trevigen, Gaithersburg, MD) 1:1 組合。在植入時，細胞對應於 MGI 第 7 繼代(MGP7)。

【0311】 細胞植入：在預計分級日之前大約 3 週，小鼠藉由皮下(SC)注射植入至左下側腹中，其中每只小鼠 200  $\mu$ L (5.0E06 個細胞)新鮮製備之 HT29:Matrigel 混合物。所有程序均在 HEPA 過濾層流通風櫥中進行。

【0312】 研究設計：所有組之研究設計及處理均顯示於表 I 中(功效)。當腫瘤達到每只小鼠大約 200 mm<sup>3</sup> 之平均體積時，具有確定腫瘤及中等體重之四十只動物隨機化為 4 個處理組(每組 n=10 只小鼠)。在第 0 日開始，動物藉由每週一次(qw)注射媒劑(第 1 組)或以 5 mpk 每週兩次 D1D2 注射(亦即，每週兩個相鄰日) CFZ-磺丁基醚  $\beta$  環糊精(第 2 組)或以 150 mg/kg 每週兩次 D1D2 注射 OP-59381 (第 3 組)來進行投與。以第四劑量開始(亦即，在三週之後)，第 3 組動物之給藥增加至 250 mg/kg。第 4 組以 200 mg/kg 每週一次(qw)注射 OP-59381 (實例 13)來給藥。所有此等劑量均以 5 mL/kg 之劑量體積呈靜脈內(IV)注射形式投與。在 IV 給藥持續第七週之後(亦即，關於第 1-4 組在第 42 日之後)，腫瘤處理功效看來減慢或完全停止。

表 5

第 0-48 日				
實驗	組	試劑	劑量 (mg/kg)	頻率
1	1 (n=10)	媒劑	-	QW x 7 週
1	2 (n=10)	CFZ-磺丁基醚 $\beta$ 環糊精	5	QD x 2 (D1D2) x 7 週

1	3 (n=10)	實例 13	150/250	QW x 7 週
1	4 (n=10)	實例 13	200	QW x 7 週

【0313】 如圖 5 可見，媒劑組(第 1 組)中之腫瘤經 IV 給藥時間間隔線性生長，其中截止第 49 日腫瘤增加至初始大小之約 2,755%。雖然在所有三個組中第 0 日至第 15 日腫瘤大小相對媒劑對照組未改變，但截止第 19 日腫瘤生長在 200 mpk 實例 13 及 5 mpk CFZ-磺丁基醚 β 環糊精處理動物中顯著減弱。此顯著減弱持續至第 29 日，此時所有三個實驗組均實現顯著性，該顯著性持續至第 40 日，證明 3 種劑量足以提供抗腫瘤活性。

實例 44：實例 44 反映了由實例 41 之研究產生之小鼠存活資料，該資料在表 6 中製表且圖解說明於圖 6 中。

表 6

組	第 0 日 腫瘤體積 (mm <sup>3</sup> )	第 40 日 腫瘤體積(mm <sup>3</sup> )	與 媒 劑 相比%改 變	在第 40 日動物 之#
1 媒劑	95.8	2471.6	0	3
2 CFZ-磺丁基醚 β 環糊精 5 mpk (D1D2)	95.6	1370.6	-44.5%	4
3 實例 13- 150 mpk 至 250 mpk (QW)	95.5	998.5	-59.6%	9
4 實例 13- 200 mpk (QW)	95.9	1443.0	-41.6%	7

【0314】 實例 41 及 42 披露了人類結腸直腸腺癌細胞之小鼠異種移植模型中卡非佐米代表性化合物實例 13 之功效。媒劑組中之腫瘤在研究期間線性生長。用化合物實例 13 (200 mpk，或第 3 週之後 150 上升至 250 mpk) 或用 CFZ-磺丁基醚 β 環糊精(5 mpk)每週一次靜脈內給藥會在第一劑量投與之 19 日內提供腫瘤生長之顯著減弱(與媒劑對照組相比)。另外，用該兩種調配物靜脈內給藥與重量增加之顯著減弱有關。

實例 45：實例 13 及 CFZ-磺丁基醚 β 環糊精在 SCID 灰棕色小鼠中之 HT-29 結腸直腸腺癌異種移植模型中之功效研究(圖 7)

【0315】 程序：自 Harlan Laboratories (Livermore, CA)購得 6 至 7 週

齡之雌性灰棕色嚴重複合型免疫缺乏(SCID)小鼠(60 只加上備用)。在抵達之後，使用電子天平(Ohaus SCOUT® PRO, Parsippany, NJ)對動物稱重，給予臨床檢查以確保該等動物在良好狀態下，且每個籠子圈養 5 只(在給藥之前)。該等動物維持於 Micro-VENT 全通風齧齒動物圈養系統(Allentown Caging Equipment Co., Allentown, NJ)中之 HEPA 過濾環境中，每小時提供至少 10 次室內換氣。設定動物室控制以維持溫度及相對濕度分別在  $20^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  及  $50\% \pm 20\%$  下。圈養室在 12:12 光暗循環下。籠子經高壓滅菌，且動物在 SaniChip 照射墊料 7990.BG (Harlan Teklad; Hayward, CA)上分層。水經高壓滅菌且經由水瓶隨意供應至各籠子。照射 2018 Teklad Global 16%蛋白齧齒動物飼料((Harlan Teklad)隨意供應至各籠子。

【0316】 化合物調配：實例 13 如本文所述調配至所需濃度。卡非佐米呈 CFZ-磺丁基醚  $\beta$  環糊精(1 mg/mL)形式提供。實例 13 之粉末樣品在 10% ETOH/生理食鹽水中稀釋至 30 mg/ml (第 3 組)或 50 mg/ml (第 4 組)。媒劑及 CFZ-磺丁基醚  $\beta$  環糊精在該研究中儲存於  $4^{\circ}\text{C}$  下。在該研究期間，定期檢查實例 13 製劑在該懸浮液之品質方面的潛在改變；未觀察到改變。

【0317】 細胞株：人類結腸直腸腺癌細胞(CA)株 NCI-HT29 (HT-29; ATCC® HTB-38™)購自 ATCC (Manassas, VA)。在 MGI 簽收之後，細胞在 RPMI 1640 及 10%胎牛血清中內部生長持續 7 個繼代，接著用於產生冷凍儲備液。該等細胞自冷凍儲備液回收且如上文加以培養。在生長之後，該等細胞短暫離心且以  $5\text{E}07$  個細胞/mL 之濃度再懸浮於無添加劑之無血清培養基中，接著與 Matrigel™ (Trevigen, Gaithersburg, MD) 1:1 組合。在植入時，細胞對應於 MGI 第 7 繼代(MGP7)。

【0318】 細胞植入：在預計分級日之前大約 3 週，小鼠藉由皮下(SC)注射植入至左下側腹中，其中每只小鼠 200  $\mu\text{L}$  ( $5.0\text{E}06$  個細胞)新鮮製備之 HT29:Matrigel 混合物。所有程序均在 HEPA 過濾層流通風櫥中進行。

【0319】 研究設計：所有組之研究設計及處理均顯示於表 I 中(功效)。當腫瘤達到每只小鼠大約 200  $\text{mm}^3$  之平均體積時，具有確定腫瘤及中等體重之四十只動物隨機化為 4 個處理組(每組  $n=10$  只小鼠)。在第 0 日開始，動物藉由每週一次(qw)注射媒劑(第 1 組)或以 5 mpk 每週兩次 D1D2 注

射(亦即, 每週兩個相鄰日) CFZ-磺丁基醚  $\beta$  環糊精(第 2 組)或以 150 mg/kg 或 250 mg/kg 每週兩次 D1D2 注射實例 13 (分別為第 3 組及第 4 組)來進行投與。所有此等劑量均以 5 mL/kg 之劑量體積呈靜脈內(IV)注射形式投與。在第六週之劑量投與之後(亦即, 在第 35 日之後), 就功效而言 IV 給藥停止。

【0320】 如圖 7 可見, 媒劑組(第 1 組)中之腫瘤經 IV 給藥時間間隔線性生長, 其中截止第 41 日腫瘤增加至初始大小之約 2100%。相比之下, 所有實驗組中之腫瘤生長均顯著減弱: 第 41 日, 第 2、3 及 4 組之腫瘤大小分別為 83.6%、79.6%及 61.8%。此減弱實現了在最早時間點(9 或 12 日)開始之顯著性, 證明兩種劑量足以提供抗腫瘤活性。腫瘤生長在 IV 給藥結束之後(第 35 日之後)重新開始。

表 7

第 0-48 日			
組	試劑	劑量	頻率
1 (n=10)	媒劑	-	QW x 6 週
2 (n=10)	CFZ-磺丁基醚 $\beta$ 環糊精	5 mg/kg	QD x 2 (D1D2) x 6 週
3 (n=10)	實例 13	150 mg/kg	QD x 2 (D1D2) x 6 週
4 (n=10)	實例 13	250 mg/kg	QW x 6 週

實例 46: 細胞中例示性化合物之蛋白酶體抑制(圖 9-14)

【0321】 細胞株: MOLT-4 人類急性淋巴母細胞白血病 T 淋巴母細胞在生長培養基(補充有 10% FBS 及 1x L-麩醯胺之 RPMI-1640 基礎培養基)中生長持續至少 6 個繼代。懸浮細胞以 1-2e6 個細胞/mL (50  $\mu$ L, 約 60,000 個細胞/孔)之速率一式兩份接種至 96 孔培養盤中。

【0322】 處理: 卡非佐米及聚乙二醇化卡非佐米化合物實例 5、35、36、37 及 38 之製劑以 10 mM 濃度溶解於 DMSO 中。在 DMSO 中執行連續稀釋以產生覆蓋 7 個對數之濃度, 且接著各連續稀釋液進一步在生長培養基中稀釋 40 倍。稀釋液接著以相等體積添加至含有細胞之孔中, 進一步稀釋化合物濃度兩倍。細胞在 37°C(5% CO<sub>2</sub>)下培育 1 小時, 接著在 RT 下以 1500 rpm 短暫離心持續 5 min。移除培養基且細胞用 PBS 洗滌 3 次。在



最後一次洗滌之後，移除上清液且細胞集結粒在乾冰上冷凍。

【0323】 分析：細胞集結粒解凍且接著藉由再懸浮於 50  $\mu$ L 溶解緩衝液中之冰上(20 mM Tris-HCl, 5 mM EDTA, pH 8)中而溶解。該製劑以 1500 rpm 離心持續 5 min 且接著直接用於 AMC-LLVY 螢光分析。每 2 分鐘進行量測持續 70 分鐘以產生動力學曲線，且使用 5-15 分鐘斜率(RFU/min, 初始速度)計算  $IC_{50}$  值。

【0324】 如圖 10 所示，代表性例示性化合物 5 展現約 16.25 nM 之細胞蛋白酶胰凝乳蛋白酶樣(CT-L)  $IC_{50}$  抑制效能。相比之下，卡非佐米之對照樣品展現約 9.2 nM 之  $IC_{50}$  活性(類似於實例 5 之效能的效能)。同樣，化合物實例第 35 號(圖 11)展現約 9.0 nM 之細胞蛋白酶胰凝乳蛋白酶樣(CT-L)  $IC_{50}$  抑制效能，化合物實例第 36 號(圖 12)展現約 21.8 nM 之細胞蛋白酶胰凝乳蛋白酶樣(CT-L)  $IC_{50}$  抑制效能，化合物實例第 37 號(圖 13)展現約 22.8 nM 之細胞蛋白酶胰凝乳蛋白酶樣(CT-L)  $IC_{50}$  抑制效能且化合物實例第 38 號(圖 14)展現約 21.8 nM 之細胞蛋白酶胰凝乳蛋白酶樣(CT-L)  $IC_{50}$  抑制效能。本發明之一些代表性化合物展現作為聚乙二醇化卡非佐米化合物之 CT-L 抑制活性。

實例 47：PEG-卡非佐米結合物對卡非佐米之蛋白酶體抑制

【0325】 PEG 卡非佐米化合物實例 35 及 36 呈皮下推注形式在用於投與之含有 10 mmol/L 乙酸钠(pH 5.0)及 9%蔗糖之水溶液中(20 mg/kg)以規定劑量(劑量體積 5 mL/kg)投與至小鼠(Balb/c, 雌性, n = 3 每個劑量組)。在藥物投與之後之所選時間點，使用含有肝素之管收集血液樣品。樣品立即置於冰上且在室溫(RT)下在微離心機中以最大速度短暫離心 2 分鐘。細胞集結粒儲存於濕冰上。全血細胞集結粒再懸浮於 1 ml 磷酸鹽緩衝生理食鹽水(PBS)中且在 4°C 下以最大速度離心。移除上清液且該等集結粒用 PBS 洗滌第二次。樣品再懸浮於 2 體積之溶解緩衝液(20 mM Tris, pH 8.0, 5 mM EDTA)中，接著冷凍且儲存於 -80°C 下直至分析。

【0326】 樣品加工：所有樣品均於冰上解凍。溶解緩衝液中之所有單細胞集結粒(全血)均短暫地渦旋，接著在 4°C 下在微離心機中以 14,000 rpm 短暫離心持續 15 分鐘。上清液在樣品板中以 100  $\mu$ L:25  $\mu$ L 50%甘油之比率

經轉移，其中甘油最終濃度為 10%。此等樣品接著準備用於分析，或其可在-80°C下冷凍。在此溶解產物/10%甘油平台處冷凍之樣品應在分析之前在冰上解凍。各樣品之蛋白濃度藉由 Bradford 分析來量測。藉由監測游離 AMC 自螢光肽 Suc-Leu-Leu-Val-Tyr-AMC (BostonBiochem) 之釋放來定量蛋白酶體胰凝乳蛋白酶樣(CT-L)活性。

【0327】 圖 15 描繪本發明之代表性化合物實例 35 及 36 之活體內藥效學(PD)活性。如圖 15 所示，實例 35 及 36 在小鼠中投與之後經 48 h 各自展現活體內幾乎完全 CT-L 抑制。即使經 96 h 之持續時間，該等化合物繼續在小鼠中展現約 50%或更高之 CT-L 抑制活性。

#### 使用方法

【0328】 蛋白酶體抑制之生物效應為適用且所需的。蛋白酶體抑制已經建議為預防及/或治療多種疾病，包括但不限於增生性疾病、神經毒性/退化性疾病、阿爾茲海默氏、缺血病狀、發炎、自體免疫疾病、HIV、癌症、器官移植排斥、敗血性休克、抗原呈現之抑制、減少之病毒性基因表現、寄生蟲感染、與酸中毒有關之病狀、黃斑變性、肺病狀、肌肉消耗性疾病、纖維變性疾病、骨及毛髮生長疾病。因此，包含治療有效劑量之本發明 PEG 卡非佐米化合物之醫藥調配物提供一種向患者投與藥物及治療此等病狀之方式。

【0329】 在細胞層面上，在用多種蛋白酶體抑制劑處理細胞時已報道聚泛素化蛋白之積聚、細胞形態改變及細胞凋亡。亦已揭示蛋白酶體抑制，且其已在臨床上及商業上經證明為適用抗腫瘤治療策略。為此，該等化合物及包括本發明化合物之組合物適用於治療癌症，包括而不限於新近經診斷及/或復發性及難治性多發性骨髓瘤。

【0330】 活體外及活體內模型已顯示惡性細胞一般易經受蛋白酶體抑制。實際上，蛋白酶體抑制已經驗證為用於治療多發性骨髓瘤之治療性策略。這可能部分地歸因於高度增殖性惡性細胞依賴於蛋白酶體系統來快速地移除蛋白(Rolfe 等人, *J. Mol. Med.* (1997) 75:5-17 ; Adams, *Nature* (2004) 4: 349-360)。本文提供一種治療癌症之方法，該方法包含向需要該治療之患者投與治療有效量的式 I 及 II 之聚乙二醇化卡非佐米化合物，或如本文所

提供或所述之任何特定例示之 PEG 卡非佐米化合物。

【0331】 如本文所用，術語「癌症」包括但不限於血源性癌症及實體腫瘤。癌症可折磨血液、骨、器官、皮膚組織及血管系統之組分，包括但不限於膀胱、血液、骨、腦、乳房、子宮頸、胸部、結腸、子宮內膜、食道、眼、頭、腎、肝、肺、淋巴結、口腔、頸、卵巢、胰臟、前列腺、直腸、腎、皮膚、胃、睪丸、喉及子宮之癌症。特定癌症包括但不限於白血病(急性淋巴球性白血病(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)、慢性淋巴球性白血病(CLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、毛細胞白血病)、成熟 B 細胞贅瘤(小淋巴球性淋巴瘤)、B 細胞幼淋巴球性白血病、淋巴漿細胞性淋巴瘤(諸如華氏巨球蛋白血症)、脾邊緣區淋巴瘤、漿細胞骨髓瘤、漿細胞瘤、單株免疫球蛋白沉積病、重鏈病、結外邊緣區 B 細胞淋巴瘤(MALT 淋巴瘤)、結節性邊緣區 B 細胞淋巴瘤(NMZL)、濾泡性淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、彌漫性 B 細胞淋巴瘤、縱隔(胸腺)大 B 細胞淋巴瘤、血管內大 B 細胞淋巴瘤、原發性滲出性淋巴瘤及伯基特淋巴瘤/白血病)、成熟 T 細胞及天然殺手(NK)細胞贅瘤(T 細胞幼淋巴球性白血病、T 細胞大顆粒淋巴球性白血病、侵襲性 NK 細胞白血病、成人 T 細胞白血病/淋巴瘤、結外 NK/T 細胞淋巴瘤、腸病型 T 細胞淋巴瘤、肝脾 T 細胞淋巴瘤、母細胞性 NK 細胞淋巴瘤、蕈狀肉芽腫(塞紮萊症候群)、原發性皮膚未分化大細胞淋巴瘤、淋巴瘤樣丘疹病、血管免疫母細胞性 T 細胞淋巴瘤、非特指型外周 T 細胞淋巴瘤及未分化大細胞淋巴瘤)、霍奇金淋巴瘤(結節性硬化、混合細胞型、富含淋巴細胞、淋巴細胞耗乏或未耗乏、結節性淋巴細胞為主型)、非霍奇金氏淋巴瘤、骨髓瘤(多發性骨髓瘤、無痛性骨髓瘤、冒煙性骨髓瘤)、慢性骨髓增生性疾病、骨髓增生異常/骨髓增生性疾病、骨髓增生異常症候群、免疫缺乏相關淋巴增生性病、組織細胞及樹突狀細胞贅瘤、肥大細胞增生症、軟骨肉瘤、尤文肉瘤、纖維肉瘤、惡性巨細胞腫瘤、骨髓瘤骨病、骨肉瘤、乳癌(激素依賴性、激素非依賴性)、婦科癌症(子宮頸、子宮內膜、輸卵管、妊娠滋養細胞疾病、卵巢、腹膜、子宮、陰道及陰門)、基底細胞癌(BCC)、鱗狀細胞癌(SCC)、惡性黑色素瘤、隆突性皮膚纖維肉瘤、梅克爾細胞癌、卡波西氏肉瘤、星細胞瘤、毛狀星細胞瘤、胚胎發育不良性神經上皮腫瘤、寡樹突神

經膠細胞瘤、室鼓膜瘤、多形性神經膠質母細胞瘤、混合型神經膠質瘤、寡星細胞瘤、神經管胚細胞瘤、視網膜胚細胞瘤、神經胚細胞瘤、胚細胞瘤、畸胎瘤、惡性間皮瘤(腹膜間皮瘤、心包間皮瘤、胸膜間皮瘤)、胃-腸-胰臟或胃腸胰臟神經內分泌腫瘤(GEP-NET)、類癌瘤、胰臟內分泌腫瘤(PET)、結腸直腸腺癌、結腸直腸癌、侵襲性神經內分泌腫瘤、平滑肌肉瘤黏液性腺癌、印戒細胞腺癌、肝細胞癌、膽管癌、肝胚細胞瘤、血管瘤、肝腺瘤、局限性結節狀增生(結節狀再生性增生、錯構瘤)、非小細胞肺癌(NSCLC)(鱗狀細胞肺癌、腺癌、大細胞肺癌)、小細胞肺癌、甲狀腺癌、前列腺癌(激素抗拒性、雄激素非依賴性、雄激素依賴性、激素不敏感性)及軟組織肉瘤(纖維肉瘤、惡性纖維性組織細胞瘤、皮膚纖維肉瘤、脂肪肉瘤、橫紋肌肉瘤平滑肌肉瘤、血管肉瘤、滑膜肉瘤、惡性外周神經鞘瘤/神經纖維肉瘤、骨外骨肉瘤)。

【0332】 在一態樣中，本發明提供如本文所提供之聚乙二醇化卡非佐米化合物或包含該化合物之醫藥組合物，其可經投與以治療患者中之多發性骨髓瘤。例如，多發性骨髓瘤可包括新近經診斷或復發性及/或難治性多發性骨髓瘤中任一者或兩者。

【0333】 造血及淋巴樣組織之多種腫瘤的特徵在於細胞增殖之增加，或特定類型之細胞。慢性骨髓增生性疾病(CMPD)為純系造血幹細胞病症，其特徵在於一或多個骨髓譜系之骨髓的增生，導致外周血中粒細胞、紅血球及/或血小板之數目增加。因而，蛋白酶體抑制劑用於治療該等疾病之用途引人注目且經檢查(Cilloni 等人, *Haematologica* (2007) 92: 1124-1229)。CMPD 可包括慢性骨髓性白血病、慢性中性粒細胞白血病、慢性嗜酸粒細胞白血病、真性紅血球增多症、慢性特發性骨髓纖維化、原發性血小板增多症及不可分類慢性骨髓增生性疾病。本文提供一種治療 CMPD 之方法，該方法包含向需要該治療之患者投與有效量的本文所揭示之蛋白酶體抑制劑化合物。

【0334】 骨髓增生異常/骨髓增生性疾病(諸如慢性骨髓單核細胞性白血病、非典型慢性骨髓白血病、青少年骨髓單核細胞性白血病及不可分類骨髓增生異常/骨髓增生性疾病)之特徵在於歸因於一或多個骨髓譜系之

增生的骨髓細胞過多。用本文所述之組合物抑制該蛋白酶體可用於藉由向需要該治療之患者提供有效量之該組合物來治療此等骨髓增生異常/骨髓增生性疾病。

【0335】 骨髓增生異常症候群(MDS)係指一組造血幹細胞病症，其特徵在於一或多種主要骨髓細胞株中之增生異常及無效造血。在此等血液學惡性腫瘤中用蛋白酶體抑制劑靶向 NF- $\kappa$ B 會誘導細胞凋亡，由此殺滅惡性細胞(Braun 等人 *Cell Death and Differentiation* (2006) 13:748-758)。本文進一步提供一種治療 MDS 之方法，該方法包含向需要該治療之患者投與有效量的本文所提供之化合物。MDS 包括難治性貧血、難治性貧血伴環形含鐵胚血球、難治性血球減少伴多譜系增生異常、難治性貧血伴過多胚細胞、不可分類骨髓增生異常症候群及與分離之 del (5q)染色體異常有關的骨髓增生異常症候群。

【0336】 肥大細胞增生症為肥大細胞之增生及其隨後積聚於一或多個器官系統中。肥大細胞增生症包括但不限於皮膚肥大細胞增生症、無痛性全身性肥大細胞增生症(ISM)、全身性肥大細胞增生症合併純系血液學非肥大細胞譜系疾病(SM-AHNMD)、侵襲性全身性肥大細胞增生症(ASM)、肥大細胞白血病(MCL)、肥大細胞肉瘤(MCS)及皮外肥大細胞瘤。本文進一步提供一種治療肥大細胞增生症之方法，該方法包含向經診斷患有肥大細胞增生症之患者投與有效量的本文所揭示之化合物。

【0337】 額外實施例包括用於影響致癌蛋白之蛋白酶體依賴性調節之方法及治療或抑制癌症生長之方法，各方法包括使細胞暴露(活體內，例如患者中，或活體外)於本文所揭示之組合物。HPV-16 及 HPV-18 源性 E6 蛋白刺激粗網狀細胞溶解產物中 p53 之 ATP 及泛素依賴性結合及降解。隱性致癌基因 p53 已顯示在非許可溫度下積聚於具有突變型不耐熱 E1 之細胞株中。升高水準之 p53 可導致細胞凋亡。由泛素系統降解之原致癌蛋白之實例包括 c-Mos、c-Fos 及 c-Jun。一實施例為一種用於治療 p53 相關細胞凋亡之方法，該方法包括向患者投與有效量的本文所揭示之組合物。

【0338】 亦已證明，結合於 20S 蛋白酶體之抑制劑在骨器官培養物中刺激骨形成。此外，當該等抑制劑已全身性投與至小鼠時，某些蛋白酶

體抑制劑增加骨體積及骨形成速率超過 70% (Garrett, I. R. 等人, *J. Clin. Invest.* (2003) 111: 1771-1782), 由此表明該泛素-蛋白酶體機構調節成骨細胞分化及骨形成。因此, 所揭示之組合物可適用於治療及/或預防與骨損失有關之疾病, 諸如骨質疏鬆症。

【0339】 骨組織為用於具有刺激骨細胞之能力的因子之優秀來源。因此, 牛骨組織之提取物不僅含有負責維持骨結構完整性之結構蛋白, 而且含有可刺激骨細胞增生之生物活性骨生長因子。在此等後者因子中有新近描述之蛋白家族, 其稱作骨成形性蛋白(BMP)。所有此等生長因子均對其他類型之細胞以及對骨細胞具有影響, 包括 Hardy, M. H. 等人, *Trans Genet* (1992) 8:55-61 描述骨成形性蛋白(BMP)在發育期間在毛囊中差異表現之跡象。Harris, S. E. 等人, *J Bone Miner Res* (1994) 9:855-863 描述 TGF- $\beta$  對骨細胞中之 BMP-2 及其他物質之表現的影響。在成熟期間及在細胞增生時期之後亦發生成熟毛囊中之 BMP-2 表現(Hardy 等人 (1992, 上述)。因此, 本文所提供之化合物亦可適用於毛囊生長刺激。

【0340】 最後, 所揭示之組合物亦適用作用於篩選由 Ntn 水解酶(包括該蛋白酶體)加工之蛋白(例如, 酶、轉錄因子)之診斷劑(例如, 在診斷套組中或用於臨床實驗室)。所揭示之組合物亦適用作用於特異性結合 X/MB1 次單元或  $\alpha$  鏈且抑制與其相關之蛋白水解活性的研究試劑。例如, 可確定該蛋白酶體之其他次單元之活性(及特異性抑制劑)。

【0341】 大多數細胞蛋白在成熟或活化期間經受蛋白水解加工。本文所揭示之酶抑制劑可用於確定細胞、發育或生理學過程或輸出是否由特定 Ntn 水解酶之蛋白水解活性調節。一種該方法包括獲得生物體、完整細胞製劑或細胞提取物; 使該生物體、細胞製劑或細胞提取物暴露於本文所揭示之組合物; 使化合物暴露之生物體、細胞製劑或細胞提取物暴露於信號, 及監測該過程或輸出。本文所揭示之化合物的高選擇性允許既定細胞、發育或生理學過程中 Ntn (例如, 20S 蛋白酶體)之快速且精確消除或牽連。

#### 醫藥組合物

【0342】 本發明進一步提供醫藥組合物以對癌症患者投與該治療。該等組合物包含一種及在一些實施例中超過一種如本文所述之式 I 或 II 及其

子式之 PEG 卡非佐米化合物。本發明所提供之一種類型的醫藥組合物為非經腸投與之醫藥組合物。適用於輸注、注射或皮下投與之可非經腸投與組合物可包括無菌水溶液(其中水可溶)或分散液及/或用於供輸注或注射用之無菌溶液或分散液的臨時製備之無菌粉末。關於靜脈內投與(諸如藉由輸注)，合適載劑包括無菌注射用水、無菌緩衝液(諸如檸檬酸鹽緩衝液)、抑菌水及 Cremophor EL™ (BASF, Parsippany, NJ)。在所有情況下，尤其就人類用途、治療及消耗而言，該組合物必須無菌且應流動至使其容易添加至或拉升至注射器或輸注袋中之程度。該組合物應在製造及儲存條件下穩定且必須針對諸如細菌及真菌之微生物的污染作用進行防腐處理。載劑可為含有例如水、乙醇、多元醇(例如，甘油、丙二醇、液體聚乙二醇及其類似物)及其合適混合物之溶劑或分散介質。適當流動性可例如藉由使用塗層(諸如卵磷脂)，在分散液之情況下藉由維持所需粒徑及藉由使用界面活性劑來維持。微生物作用之預防可藉由多種抗細菌劑及抗真菌劑，例如對羥基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、抗壞血酸、硫柳汞及其類似物實現。在多種情況下，在該組合物中包括例如糖、多元醇(諸如甘露糖醇、山梨糖醇)及氯化鈉之等張劑將為較佳的。可藉由在該組合物中包括延遲吸收之試劑(例如單硬脂酸鋁及明膠)來引起可注射組合物之延長吸收。

【0343】 無菌可注射溶液可藉由在需要時具有一種上文所列舉之成分或該等成分之組合的適當溶劑中併入所需量之本發明活性化合物 PEG 卡非佐米化合物、隨後過濾滅菌來製備。一般地，分散液藉由將該卡非佐米併入無菌媒劑中來製備，該無菌媒劑含有基礎分散介質及來自上文所列舉之彼等的所需其他成分。在用於製備無菌可注射溶液之無菌粉末的情況下，合適製備方法為冷凍乾燥(凍乾)，其提供該卡非佐米之粉末形式加上來自其先前經無菌過濾溶液之任何額外所需成分。

【0344】 如本文所述之本發明治療性化合物之全身性投與亦可藉由經黏膜或經皮方式。關於經黏膜或經皮投與，適於欲滲透之障壁的滲透劑用於該調配物中。該等滲透劑一般為此項技術中已知的，且就經黏膜投與而言包括例如清潔劑、膽鹽及梭鏈孢酸衍生物。經黏膜投與可經由使用鼻噴霧劑或栓劑來實現。關於經皮投與，本發明活性化合物經調配成如此項

技術中一般已知之軟膏、油膏、凝膠或乳膏。

【0345】 在一實施例中，本發明之治療性 PEG 卡非佐米化合物用將保護該等治療性化合物免於自身體快速消除之載劑製備，諸如控制釋放調配物。其他實例包括而不限於植入物及微囊封遞送系統。可使用生物可降解、生物相容性聚合物，諸如乙烯乙酸乙烯酯、聚酞、聚乙醇酸、膠原蛋白、聚原酸酯及聚乳酸。該等調配物可使用標準技術製備，或在商業上獲自例如 Alza Corporation 及 Nova Pharmaceuticals, Inc。脂質體懸浮液(包括用細胞抗原之單株抗體靶向所選細胞之脂質體)亦可用作醫藥學上可接受之載劑。此等可根據熟習此項技術者已知之方法(例如，如美國專利第 4,522,811 號所述)製備。

【0346】 由本發明提供之醫藥組合物可立即投與，或可分成多個欲以時間間隔投與之較小劑量。應理解治療之精確劑量及持續時間隨所治療之疾病而變且可憑經驗使用已知測試方案或藉由自活體內或活體外測試資料外推而確定。應注意濃度及劑量值亦可隨欲緩解之病狀的嚴重程度而變化。應進一步理解關於任何特定患者，特定給藥方案應根據個體需求及投與或監督投與該等組合物之人的專業判斷隨時間加以調節，且本文所陳述之濃度範圍僅為例示性的且不意欲限制所主張之組合物的範圍或實踐。

【0347】 可製備含有在 0.005%至 100%範圍內之如本文所述之本發明 PEG-卡非佐米化合物的劑型或組合物(餘下由無毒載劑構成)。熟習此項技術者已知用於製備此等組合物之方法。本發明之預期醫藥組合物可含有 0.001%-100%、在一實施例中 0.1-95%且在另一實施例中 75-85%之由此提供的 PEG 卡非佐米化合物。該等醫藥組合物可連同投與說明書一起納入容器、包裝或分配器中。在一些實施例中，本文所提供之 PEG 卡非佐米化合物可如美國專利第 9309283 號所述經調配。

#### 投與

【0348】 如本文所述製備之組合物可以多種形式投與，視欲治療之病症及患者之年齡、健康狀態及體重而定，如此項技術中所熟知。例如，在該等組合物欲經口投與之情況下，其可經調配為錠劑、膠囊、顆粒、散劑或糖漿；或就非經腸投與而言，其可經調配為注射液(靜脈內、肌肉內或皮



下)、滴注製劑或栓劑。關於藉由眼科黏膜途徑應用，其可經調配為滴眼劑或眼用軟膏。此等調配物可藉由習知方式以及本文所述之方法製備且必要時，活性成分可與諸如黏合劑、崩解劑、潤滑劑、矯味劑、增溶劑、懸浮助劑、乳化劑或塗佈劑之任何習知添加劑或賦形劑混合。儘管劑量將視患者之症狀、年齡及體重、欲治療或預防之病症的性質及嚴重程度、投與途徑及藥物形式而變化，一般而言，0.01 至 2000 mg 該化合物之每日劑量經推薦用於成人類患者，且此劑量可以單一劑量或以分次給藥投與。可與載劑材料組合以產生單一劑型之活性成分的量一般將為該化合物產生治療效應之彼量。下文提供關於本發明化合物之劑量的更多資訊。一般而言，意欲用於非經腸用途(例如，靜脈內、皮下注射)之組合物包括增溶劑。該增溶劑可為經取代環糊精。

【0349】 就既定患者之治療功效而言將產生最有效結果之該組合物的精確投與時間及/或量將取決於該特定 PEG 卡非佐米化合物之活性、藥物動力學及生物可用性、該患者之生理狀況(包括年齡、性別、疾病類型及階段、一般身體狀況、對既定劑量的反應性及藥物類型)、投與途徑及其類似因素。然而，以上指導方針可用作用於微調該治療之基礎，例如確定最佳投與時間及/或量，其將僅僅需要由監測該患者及調節劑量及/或時間安排組成之常規實驗。

【0350】 措辭「醫藥學上可接受」在本文中用於指在合理醫學判斷之範圍內適合與人類及動物組織接觸使用而無過量毒性、刺激、過敏性反應或其他問題或併發症，與合理效益/風險比率相稱之彼等配位體、材料、組合物及/或劑型。

【0351】 如本文所用，措辭「醫藥學上可接受之載劑」意謂醫藥學上可接受之材料、組合物或媒劑，諸如液體或固體填充劑、稀釋劑、賦形劑、溶劑或囊封材料。各載劑必須在可與該調配物之其他成分相容且對患者無害之意義上為「可接受的」。可充當醫藥學上可接受之載劑的材料之一些實例包括：(1)糖，諸如乳糖、葡萄糖及蔗糖；(2)澱粉，諸如玉米澱粉、馬鈴薯澱粉及經取代或未取代  $\beta$ -環糊精；(3)纖維素及其衍生物，諸如羧基甲基纖維素鈉、乙基纖維素及乙酸纖維素；(4)粉末狀黃耆膠；(5)麥芽；(6)明膠；

(7)滑石；(8)賦形劑，諸如可可脂及栓劑蠟；(9)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；(10)二醇，諸如丙二醇；(11)多元醇，諸如甘油、山梨糖醇、甘露糖醇及聚乙二醇；(12)酯，諸如油酸乙酯及月桂酸乙酯；(13)瓊脂；(14)緩衝劑，諸如氫氧化鎂及氫氧化鋁；(15)褐藻酸；(16)無熱原質水；(17)等張生理食鹽水；(18)林格氏溶液；(19)乙醇；(20)磷酸鹽緩衝溶液；及(21)用於醫藥調配物中之其他無毒可相容物質。在某些實施例中，本文所提供之醫藥組合物為非熱原質的，亦即當投與至患者時不誘導顯著溫度升高。

【0352】 術語「醫藥學上可接受之鹽」係指本發明化合物之相對無毒、無機及有機酸加成鹽或鹼性鹽。此等鹽可在該等化合物之最終分離及純化期間當場製備，或藉由獨立地使呈其游離鹼形式之經純化 PEG-卡非佐米化合物與合適的有機或無機酸反應且分離因此形成之鹽來製備。代表性酸加成鹽包括氫溴酸鹽、鹽酸鹽、硫酸鹽、硫酸氫鹽、磷酸鹽、硝酸鹽、乙酸鹽、戊酸鹽、油酸鹽、棕櫚酸鹽、硬脂酸鹽、月桂酸鹽、苯甲酸鹽、乳酸鹽、磷酸鹽、甲苯磺酸鹽、檸檬酸鹽、順丁烯二酸鹽、反丁烯二酸鹽、丁二酸鹽、酒石酸鹽、萘酸鹽、甲磺酸鹽、葡庚糖酸鹽、乳糖酸鹽、月桂基磺酸鹽、及胺基酸鹽、及其類似物。(參見例如 Berge 等人 (1977) 「Pharmaceutical Salts」, *J. Pharm. Sci.* 66: 1-19。)

【0353】 在一些實施例中，本文所提供之 PEG 卡非佐米化合物可含有一或多種酸性官能基且因此能夠與醫藥學上可接受之鹼形成醫藥學上可接受之鹽。在此等情況中之術語「醫藥學上可接受之鹽」係指該化合物之相對無毒無機及有機鹼加成鹽。此等鹽可同樣在該等抑制劑之最終分離及純化期間當場製備，或藉由獨立地使呈其游離酸形式之該化合物與合適的鹼(諸如醫藥學上可接受之金屬陽離子的氫氧化物、碳酸鹽或碳酸氫鹽)，與氨，或與醫藥學上可接受之有機一級、二級或三級胺反應來製備。代表性鹼性鹽包括而不限於鹼金屬或鹼土金屬鹽，諸如鋰、鈉、鉀、鈣、鎂及鋁鹽，及其類似物。適用於形成鹼加成鹽之代表性有機胺包括乙胺、二乙胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌嗪及其類似物(參見例如 Berge 等人, 上述)。

【0354】 濕潤劑、乳化劑及潤滑劑(諸如月桂基硫酸鈉及硬脂酸鎂)以

及著色劑、釋放劑、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該等組合物中。

【0355】 醫藥學上可接受之抗氧化劑的實例包括：(1)水溶性抗氧化劑，諸如抗壞血酸、半胱胺酸鹽酸鹽、硫酸氫鈉、偏亞硫酸氫鈉、亞硫酸鈉及起類似物；(2)油溶性抗氧化劑，諸如棕櫚酸抗壞血脂、丁基化羥基茴香醌(BHA)、丁基化羥基甲苯(BHT)、卵磷脂、沒食子酸丙酯、 $\alpha$ -生育酚及其類似物；及(3)金屬螯合劑，諸如檸檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨糖醇、酒石酸、磷酸及其類似物。

【0356】 適用於經口投與之調配物可呈膠囊、藥囊、丸劑、錠劑、口含錠(使用調味基料，通常為蔗糖及阿拉伯膠或黃耆膠)、散劑、顆粒形式，或呈水性或非水性液體中之溶液或懸浮液形式，或呈水包油或油包水液體乳液形式，或呈醃劑或糖漿形式，或呈丸粒(使用惰性基質，諸如明膠及甘油，或蔗糖及阿拉伯膠)形式及/或呈漱口水形式，及其類似形式，各含有預定量之本發明化合物作為活性成分。組合物亦可呈推注、舐劑或糊劑形式投與。

【0357】 在用於經口投與之固體劑型(膠囊、錠劑、丸劑、糖衣藥丸、散劑、顆粒及其類似劑型)中，該活性成分(本發明化合物)與一或多種醫藥學上可接受之載劑混合，諸如檸檬酸鈉或磷酸二鈣，及/或以下任一者：(1)填充劑或增量劑，諸如澱粉、環糊精、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露糖醇及/或矽酸；(2)黏合劑，諸如羧基甲基纖維素、褐藻酸鹽、明膠、聚乙烯吡咯啉酮、蔗糖及/或阿拉伯膠；(3)保濕劑，諸如甘油；(4)崩解劑，諸如瓊脂、碳酸鈣、馬鈴薯或木薯澱粉、褐藻酸、某些矽酸鹽及碳酸鈉；(5)溶解阻滯劑，諸如石蠟；(6)吸收促進劑，諸如四級銨化合物；(7)濕潤劑，諸如鯨蠟醇及單硬脂酸甘油酯；(8)吸附劑，諸如高嶺土及膨潤土；(9)潤滑劑，諸如滑石、硬脂酸鈣、硬脂酸鎂、固體聚乙二醇、月桂基硫酸鈉及其混合物；及(10)著色劑。在膠囊、錠劑及丸劑之情況下，該等醫藥組合物亦可包含緩衝劑。類似類型之固體組合物亦可在使用諸如乳糖(lactose/milk sugar)以及高分子量聚乙二醇及其類似物之賦形劑的軟及硬填充明膠膠囊中用作填充劑。

【0358】 錠劑可藉由視情況與一或多種附屬成分一起壓縮或模製而製得。壓縮錠劑可使用黏合劑(例如明膠或羥基丙基甲基纖維素)、潤滑劑、惰性稀釋劑、防腐劑、崩解劑(例如乙醇酸澱粉鈉或交聯羧基甲基纖維素鈉)、表面活性或分散劑製備。模製錠劑可藉由在合適機器中模製用惰性液體稀釋劑濕潤之粉末狀抑制劑之混合物而製得。

【0359】 錠劑及諸如糖衣藥丸、膠囊、丸劑及顆粒之其他固體劑型可視情況刻痕或用包衣及殼製備，諸如腸溶包衣及醫藥調配技術中熟知之其他包衣。其亦可使用例如呈變化比例以提供所需釋放型態之羥基丙基甲基纖維素、其他聚合物基質、脂質體及/或微球調配以便提供其中活性成分之緩慢或控制釋放。其可藉由例如經由細菌截留過濾器過濾，或藉由併入呈可在使用之前即刻溶解於無菌水或一些其他無菌可注射介質中之無菌固體組合物形式的滅菌劑來滅菌。此等組合物亦可視情況含有乳濁劑且可具有如下組成，該組成使其視情況以延遲方式在胃腸道之特定部分中僅或優先地釋放活性成分。可使用之包埋組合物的實例包括聚合物質及蠟。該活性成分亦可呈微囊封形式，適當時具有一或多種上文所述之賦形劑。

【0360】 用於經口投與之液體劑型包括醫藥學上可接受之乳液、微乳液、溶液、懸浮於、糖漿及醃劑。除了該活性成分以外，該液體劑型亦可含有此項技術中通常使用之惰性稀釋劑，諸如水或其他溶劑、增溶劑及乳化劑，諸如乙醇、異丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苯甲醇、苯甲酸苯甲酯、丙二醇、1,3-丁二醇、油(尤其棉籽油、花生油、玉米胚芽油、橄欖油、蓖麻油及芝麻油)、甘油、四氫糠醇、聚乙二醇、及山梨聚糖之脂肪酸酯及其混合物。

【0361】 除惰性稀釋劑以外，該等經口組合物亦可包括佐劑，諸如濕潤劑、乳化劑及懸浮劑、甜味劑、調味劑、著色劑、芳香劑及防腐劑。

【0362】 除了活性抑制劑以外，懸浮液亦可含有懸浮劑，例如乙氧基化異硬脂醇、聚氧乙烯山梨糖醇及山梨聚糖酯、微晶纖維素、偏氫氧化鋁、膨潤土、瓊脂及黃耆膠及其混合物。

【0363】 用於直腸或陰道投與之調配物可呈栓劑形式提供，該栓劑可藉由混合一或多種抑制劑與包含例如可可脂、聚乙二醇、栓劑蠟或水楊酸

鹽之一或多種合適非刺激性賦形劑或載劑來製備，其在室溫下為固體，但在體溫下為液體且因此將在直腸或陰道腔中融化且釋放活性劑。

【0364】 適用於陰道投與之調配物亦包括子宮托、棉塞、乳膏、凝膠、糊劑、發泡劑或含有如此項技術中已知適當之載劑的噴霧調配物。

【0365】 用於表面或經皮投與本發明之所選化合物的劑型包括散劑、噴霧劑、軟膏、糊劑、乳膏、洗劑、凝膠、溶液、貼片及吸入劑。該化合物可在無菌條件下與醫藥學上可接受之載劑及與可需要之任何防腐劑、緩衝液或推進劑混合。

【0366】 除本發明化合物以外，該等軟膏、糊劑、乳膏及凝膠亦可含有賦形劑，諸如動物及植物脂肪、油、蠟、石蠟、澱粉、黃耆膠、纖維素衍生物、聚乙二醇、矽酮、膨潤土、矽酸、滑石及氧化鋅或其混合物。除本發明化合物以外，散劑及噴霧劑亦可含有賦形劑，諸如乳糖、滑石、矽酸、氫氧化鋁、矽酸鈣及聚醯胺粉末或此等物質之混合物。噴霧劑可另外含有慣用推進劑，諸如氯氟烴及揮發性未取代烴，諸如丁烷及丙烷。

【0367】 本發明之 PEG 卡非佐米化合物可藉由氣霧劑投與。此藉由製備含有該組合物之水性氣霧劑、脂質體製劑或固體粒子來實現。可能使用非水性(例如，氟碳推進劑)懸浮液。在一些實施例中，聲波噴霧器為較佳的，因為其使該試劑與剪切力之接觸減至最低，該剪切力可導致該化合物之降解。通常地，水性氣霧劑藉由與習知醫藥學上可接受之載劑及穩定劑一起調配該試劑之水溶液或懸浮液而製得。該等載劑及穩定劑隨特定組合物之需求而變化，但典型地包括非離子性界面活性劑(Tween、Pluronic、山梨聚糖酯、卵磷脂、Cremophor)、醫藥學上可接受之共溶劑(諸如聚乙二醇)、無害蛋白(如血清白蛋白)、山梨聚糖酯、油酸、卵磷脂、胺基酸(諸如甘胺酸)、緩衝液、鹽、糖或糖醇。氣霧劑一般地由等張溶液製備。

【0368】 經皮貼片具有向身體提供本發明化合物之控制遞送的附加優勢。該等劑型可藉由使該化合物溶解或分散於適當介質中而製得。吸收增強劑亦可用於增加該(等)化合物跨皮膚之通量。該通量之速率可藉由提供速率控制膜或在聚合物基質或凝膠中分散該(等)化合物來控制。

【0369】 適用於非經腸投與之醫藥組合物包含與一或多種醫藥學上

可接受之無菌水性或非水性溶液、分散液、懸浮液或乳液組合的一或多種本發明化合物，或可僅在使用之前復原成無菌可注射溶液或分散液之無菌粉末，其可含有抗氧化劑、緩衝液、抑菌劑、使得該調配物與預期接受者之血液等張之溶質或懸浮或增稠劑。可用於本文所提供之醫藥組合物的合適水性及非水性載劑之實例包括注射用水(諸如藉由皮下投與(例如，無菌注射用水))、乙醇、多元醇(諸如甘油、丙二醇、聚乙二醇及其類似物)、緩衝液(諸如檸檬酸鹽緩衝液)及其合適混合物、植物油(諸如橄欖油)及可注射有機酯(諸如油酸乙酯)。適當流動性可例如藉由使用塗佈材料(諸如卵磷脂)，在分散液之情況下藉由維持所需粒徑及藉由使用界面活性劑來維持。

**【0370】** 醫藥組合物典型地包括醫藥學上可接受之載劑。如本文所用，術語「醫藥學上可接受之載劑」包括可與醫藥投與相容之緩衝液、無菌注射用水、溶劑、分散介質、塗料、抗細菌劑及抗真菌劑、等張劑及吸收延遲劑及其類似物。在一些實施例中，醫藥學上可接受之載劑為酸-鹼緩衝液系統，諸如檸檬酸鹽緩衝液，以維持用於所得溶液之穩定 pH。在一些實施例中，醫藥學上可接受之載劑為無菌注射用水。在一些實施例中，醫藥學上可接受之載劑包含檸檬酸。

**【0371】** 此等組合物亦可含有佐劑，如防腐劑、濕潤劑、乳化劑及分散劑。微生物作用之預防可藉由包括多種抗細菌劑及抗真菌劑，例如對羥基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸及其類似物來確保。亦可需要在該等組合物中包括張力調節劑，諸如糖及其類似物。另外，可藉由包括延遲吸收之試劑(諸如單硬脂酸鋁及明膠)來引起可注射醫藥形式之延長吸收。在一些情況下，為了延長藥物之效應，可需要減慢自皮下或肌肉內注射吸收該藥物。例如，非經腸投與之藥物形式的延遲吸收藉由使該藥物溶解或懸浮於油媒劑中來實現。

**【0372】** 可注射儲槽形式藉由在諸如聚丙交酯-聚乙交酯之生物可降解聚合物中形成本發明化合物之微囊封基質而製得。視卡非佐米與聚合物之比率(典型地重量比率)及所用特定聚合物之性質而定，可控制卡非佐米釋放之速率。其他生物可降解聚合物之實例包括聚(原酸酯)及聚(酐)。儲槽可注射調配物亦藉由將該藥物截留於可與身體組織相容之脂質體或微乳液中

來製備。

【0373】 試劑之製劑可經口、非經腸、經表面或經直腸給予。其當然藉由適用於各投與途徑之形式給予。例如，其呈錠劑或膠囊形式、藉由注射、吸入、眼用洗劑、軟膏、栓劑、輸注；藉由洗劑或軟膏經表面；及藉由栓劑經直腸投與。在一些實施例中，投與為經口。

【0374】 如本文所用，措辭「非經腸投與(parenteral administration)」及「非經腸投與(administered parenterally)」意謂除腸及表面投與以外之投與模式，通常藉由注射，且包括而不限於靜脈內、肌肉內、動脈內、鞘內、囊內、眶內、心內、皮內、腹膜內、經氣管、皮下、表皮下、關節內、囊下、蛛網膜下、脊椎內及胸骨內注射及輸注。

【0375】 如本文所用，措辭「全身性投與(systemic administration)」、「全身性投與(administered systemically)」、「外周投與(peripheral administration)」及「外周投與(administered peripherally)」意謂配位體、藥物或其他材料除直接投與至中樞神經系統中以外之投與，以致其進入患者之系統且因此經受代謝及其他類似過程，例如皮下投與。

【0376】 本文所述之本發明之 PEG-卡非佐米化合物可藉由任何合適投與途徑，包括經口、經鼻(如藉由例如噴霧劑)、經直腸、陰道內、非經腸、腦池內及經表面(如藉由散劑、軟膏或滴劑，包括經頰及舌下)投與至人類及其他動物以用於療法。

【0377】 與所選投與途徑無關，可以合適水合形式使用之本發明化合物及/或本文所提供之醫藥組合物藉由熟習此項技術者已知之習知方法調配成醫藥學上可接受之劑型。

【0378】 如上文所提及，由本發明提供之醫藥組合物中該 PEG 卡非佐米化合物之實際劑量可變化以便包括在臨床上證明有效及/或在商業上獲批有效之活性無 PEG 卡非佐米劑的量，以實現對癌症患者(包括而不限於對多發性骨髓瘤患者)之所需治療反應。為此，在醫藥學上可接受之組合物中本發明之聚乙二醇化卡非佐米化合物之特定量及/或濃度將視數種因素而變化，包括欲投與之化合物的量、所用化合物之藥物動力學特徵及投與途徑。一般而言，由本發明提供之醫藥組合物可為用於非經腸投與之水溶液，其

含有約 0.1-20% w/v 之本文所揭示之化合物以及其他物質。假定每日 1-4 次分次給藥，PEG 卡非佐米化合物活性成分之典型劑量範圍為每日約 0.01 至約 50 mg/kg 體重。各分次給藥將含有一或多種由本發明提供之化合物。所需、特定化合物劑量應為足以在患者血漿中提供治療有效劑量之自由作用卡非佐米之量，該有效劑量基於用於監管獲批適應症的監管獲批用途。此有效量可在患者之間變化，且一般取決於數種因素，包括患者之總體健康狀況及所選化合物之特定調配組合物及投與途徑。

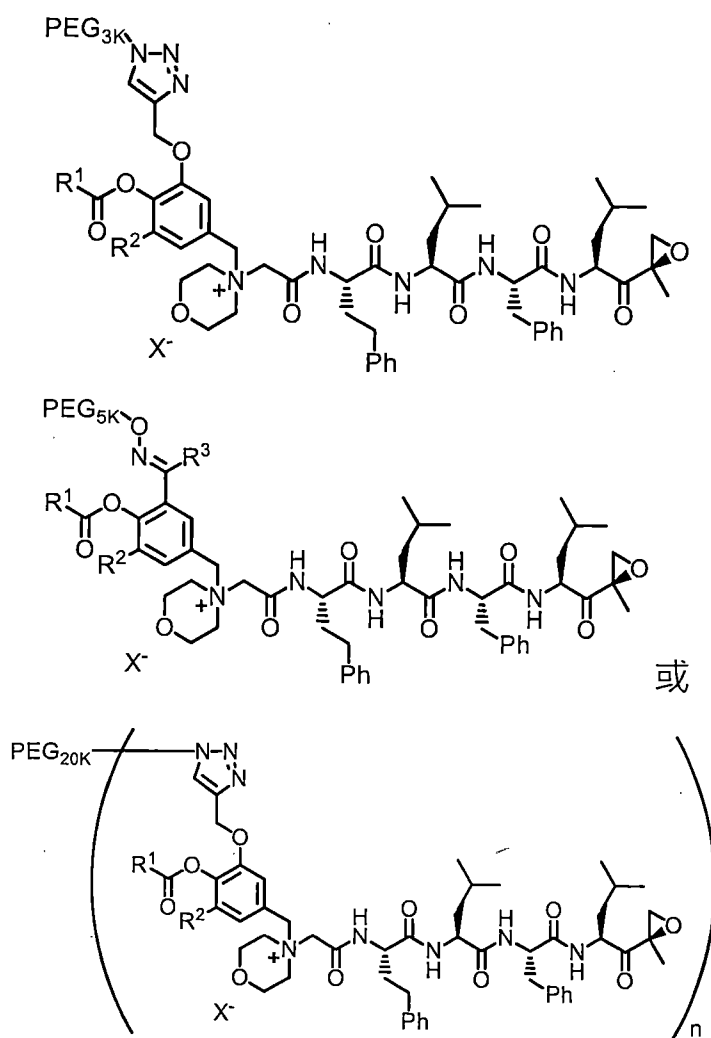
**【0379】** 卡非佐米目前以每日一次提供，持續每週最初連續 2 日，在 28 日週期中持續連續 3 週之劑量獲批，其量足以提供介於 20 mg/m<sup>2</sup> 至 56 mg/m<sup>2</sup> 範圍內之患者血漿濃度。因此，本發明之較高分子量 PEG 卡非佐米化合物應以足以在藥物動力學上提供大約等於獲批劑量範圍之量的量投與。例如，本發明之 2K PEG 化合物為大約 24 重量%游離卡非佐米。因此，使用具有 1.9 m<sup>2</sup> 平均體表之平均男性時，為了實現約 27 mg/m<sup>2</sup> 之相等劑量，吾人將必須以約 215 mg 之該 2k PEG CFZ 化合物給藥。同樣，吾人可以約 1100 mg 之 20K PEG CFZ 化合物給藥以遞送與目前獲批卡非佐米調配物之 70 mg/m<sup>2</sup> 劑量將相同之量的卡非佐米。

**【0380】** 在本發明之實施例 71 中，提供一種治療需要治療之個體中的癌症之方法，該方法包含向該個體投與有效劑量的式 I 之 PEG 卡非佐米化合物以治療該癌症。在實施例 72 中，本發明提供實施例 71 之方法，其中該癌症為多發性骨髓瘤。在實施例 73 中，本發明提供實施例 71-72 中任一者之方法，其中 PEG 卡非佐米之有效劑量在約 100 mg 至約 2000 mg 範圍內。在實施例 74 中，本發明提供實施例 71-73 中任一者之方法，其中該有效劑量在每日約 150 mg 至約 1000 mg 範圍內。在實施例 75 中，本發明提供實施例 71-74 中任一者之方法，其中所投與之 PEG 卡非佐米化合物之有效劑量在每日約 200 mg 至約 500 mg 範圍內。在實施例 76 中，本發明提供實施例 71-73 中任一者之方法，其中所投與之 2K PEG 卡非佐米化合物之有效劑量在每日約 150 mg 至約 600 mg 範圍內。在實施例 77 中，本發明提供實施例 71-73 中任一者之方法，其中所投與之 3K PEG 卡非佐米化合物之有效劑量在每日約 300 mg 至約 2000 mg 範圍內。在實施例 78 中，本發明



提供實施例 71-73 中任一者之方法，其中所投與之 5K PEG 卡非佐米化合物之有效劑量在每日約 800 mg 至約 3000 mg 範圍內。在實施例 79 中，本發明提供實施例 71-73 中任一者之方法，其中所投與之 20K PEG 卡非佐米化合物之有效劑量在每日約 800 mg 至約 3000 mg 範圍內。在實施例 80 中，本發明提供實施例 71-73 中任一者之方法，其中所投與之 PEG 卡非佐米化合物之有效劑量在每日約 200 mg 至約 1500 mg 範圍內。在實施例 81 中，本發明提供實施例 71-73 中任一者之方法，其中所投與之 PEG 卡非佐米化合物之有效劑量在每日約 5 mg/kg 至約 50 mg/kg (以該個體之重量計)範圍內。在實施例 82 中，本發明提供實施例 71-73 中任一者之方法，其中所投與之 2K、3K 或 5K PEG 卡非佐米化合物之有效劑量在每日約 200 mg 至約 800 mg 範圍內。在實施例 83 中，本發明提供實施例 71-73 中任一者之方法，其中所投與之 2K 或 3K PEG 卡非佐米化合物之有效劑量在每日約 200 mg 至約 500 mg 範圍內。在實施例 84 中，本發明提供實施例 71-73 中任一者之方法，其中所投與之 5K 或 20K PEG 卡非佐米化合物之有效劑量在每日約 400 mg 至約 1000 mg 範圍內。在實施例 85 中，本發明提供實施例 71-84 中任一者之方法，其中該方法進一步包含投與類固醇。在實施例 86 中，本發明提供實施例 85 之方法，其中該類固醇選自由地塞米松及潑尼松組成之群。在實施例 87 中，本發明提供實施例 85-86 中任一者之方法，其中該類固醇為地塞米松。在實施例 88 中，本發明提供實施例 85-86 中任一者之方法，其中該類固醇為潑尼松。在實施例 89 中，本發明提供實施例 71-88 中任一者之方法，其中該方法進一步包含投與選自由沙利度胺、來那度胺及泊馬度胺組成之群之免疫調節劑。在實施例 90 中，本發明提供實施例 89 之方法，其中該免疫調節劑為來那度胺或泊馬度胺。在實施例 91 中，本發明提供實施例 89-90 中任一者之方法，其中該免疫調節劑為來那度胺。在實施例 92 中，本發明提供實施例 89-90 中任一者之方法，其中該免疫調節劑為泊馬度胺。在實施例 93 中，本發明提供實施例 71-88 中任一者之方法，其中該方法進一步包含投與 CD-38 抑制劑。在實施例 94 中，本發明提供實施例 93 之方法，其中該 CD-38 抑制劑為達雷木單抗。在實施例 95 中，本發明提供實施例 71-94 中任一者之方法，其中該癌症為復發性或難治性多發

性骨髓瘤。在實施例 96 中，本發明提供實施例 71-94 中任一者之方法，其中該癌症為新近經診斷之多發性骨髓瘤。在實施例 97 中，本發明提供實施例 96 之方法，其中該癌症為新近經診斷之多發性骨髓瘤且其中該患者有資格接受幹細胞移植，如由註冊、授權醫學從業者所確定。在實施例 98 中，本發明提供實施例 96 之方法，其中該癌症為新近經診斷之多發性骨髓瘤且其中該患者無資格接受幹細胞移植，如由註冊、授權醫學從業者所確定。在實施例 99 中，本發明提供實施例 71-98 中任一者之方法，其中該方法包含向該個體投與包含式 I 之 PEG 卡非佐米化合物的醫藥組合物。在實施例 100 中，本發明提供實施例 99 之方法，其中該醫藥組合物為經口溶液或非經腸溶液。在實施例 101 中，本發明提供實施例 99-100 中任一者之方法，其中該醫藥組合物為可在投與之前復原之冷凍乾燥製劑。在實施例 102 中，本發明提供實施例 71-98 中每一者之方法，其中該 PEG 卡非佐米化合物為



其中 R<sup>1</sup> 為 C<sub>1-10</sub> 烷基；

$R^2$  為  $C_{1-6}$  烷基、 $-OCH_3$  或鹵素；

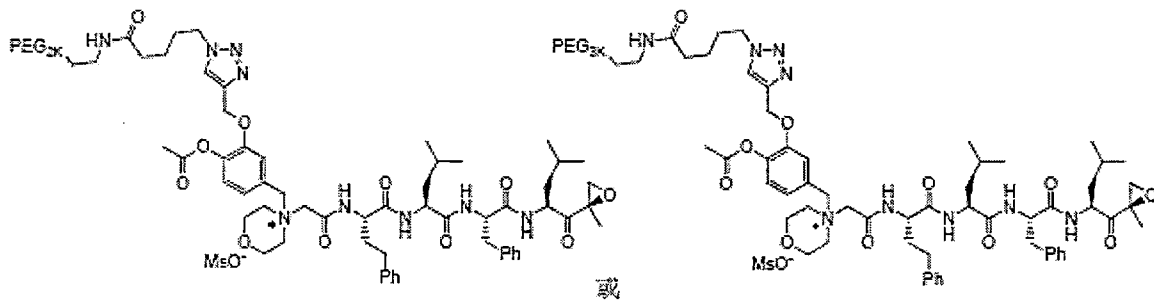
$R^3$  為 H 或  $CH_3$ ；

X 為選自氯化物陰離子及烷基-磺酸鹽陰離子之相對陰離子；

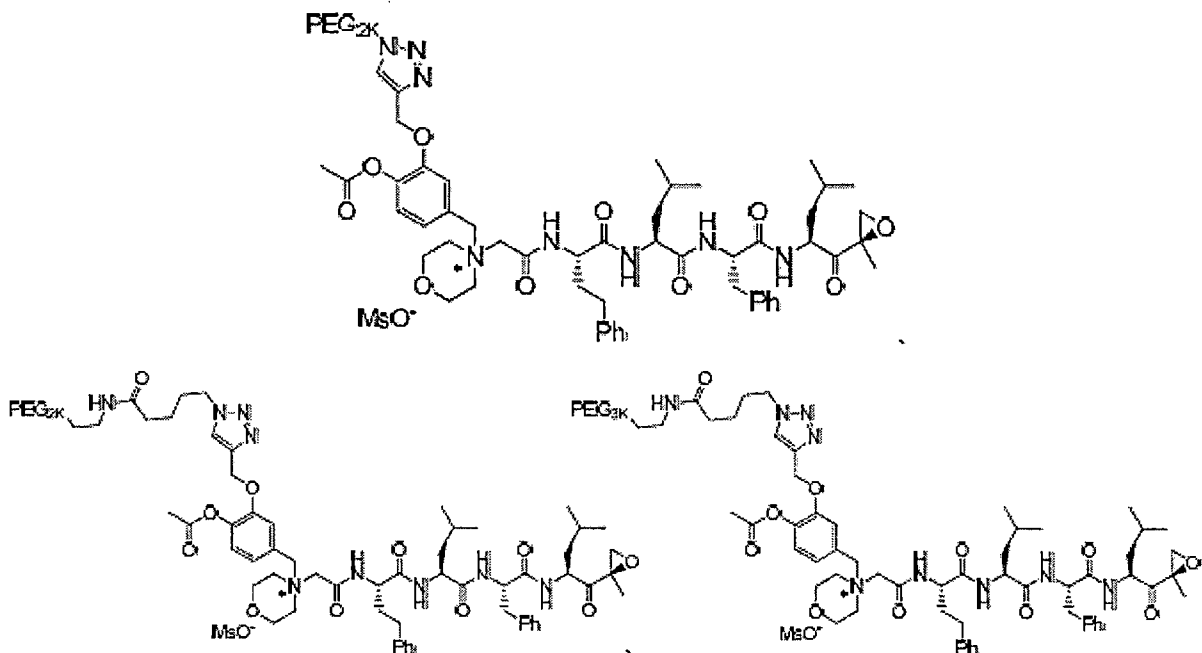
n 為 4；及

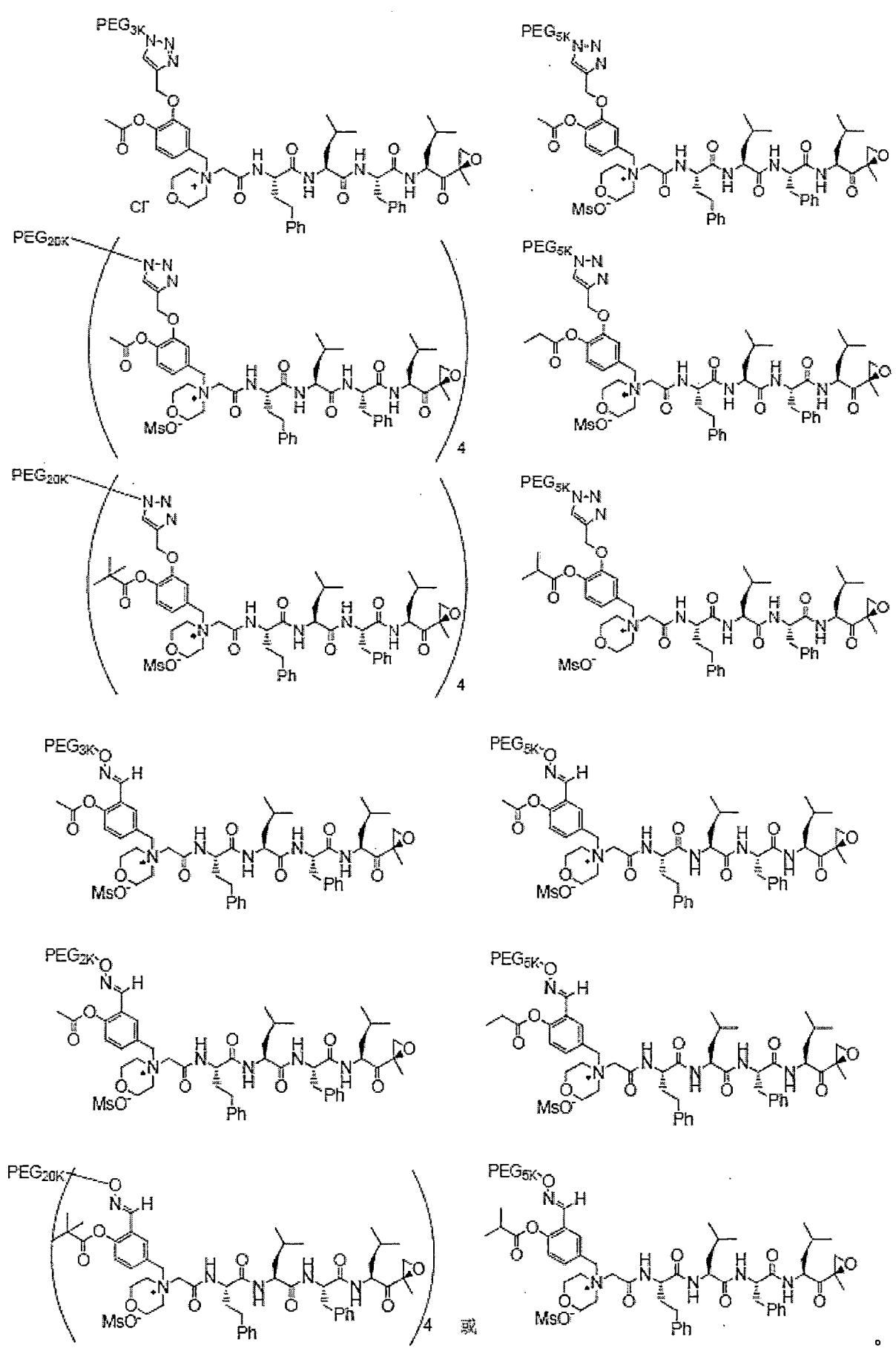
PEG 為具有 3000、5000 或 20000 道爾頓分子量之聚乙二醇聚合物部分。

【0381】 在實施例 103 中，本發明提供實施例 71-98 之方法，其中該 PEG 卡非佐米化合物為



【0382】 在實施例 104 中，本發明提供實施例 71-98 之方法，其中該 PEG 卡非佐米化合物為





組合

【0383】 雖然本發明之 PEG-卡非佐米化合物可呈單獨活性醫藥劑形式給藥或投與，但其亦可與一或多種試劑(諸如第二抗癌劑)組合使用。當呈組合形式投與時，該 PEG 卡非佐米活性成分及該另一試劑可經調配為同時或在不同時間依序投與之獨立組合物，或兩種活性劑可呈單一組合物形式給予。

【0384】 在定義本發明之 PEG 卡非佐米化合物及另一抗癌劑之用途時，措辭「協同療法」(或「組合療法」)意欲涵蓋在將提供該藥物組合物之有益效應的方案中以依序方式投與各試劑，且亦意欲涵蓋以實質上同時方式共投與此等試劑，諸如在具有固定比率之此等活性劑的單一劑量調配物中，或在用於各活性劑之多個、獨立劑量調配物中。因此，本發明在投與次序方面不受限制，亦即該(等) PEG 卡非佐米化合物可在另一試劑之投與之前、同時或之後投與。

【0385】 在某些實施例中，本文所述之 PEG-卡非佐米化合物與一或多種其他蛋白酶體抑制劑共同投與。另一蛋白酶體抑制劑可包括例如硼替佐米、奧普佐米或依沙佐米。在另一實施例中，本文所述之 PEG 卡非佐米化合物與包括沙利度胺、來那度胺及泊馬度胺之免疫調節化合物組合投與。在來自前一實施例之一實施例中，該 PEG 卡非佐米與選自來那度胺及泊馬度胺之免疫調節劑組合投與。在另一實施例中，本發明提供一種藉由向個體投與包含式 I 或 II 之 PEG 卡非佐米化合物及免疫調節劑之組合療法來治療該個體中之癌症的方法。在另一實施例中，該癌症為多發性骨髓瘤。

【0386】 在某些實施例中，本文所述之 PEG-卡非佐米化合物與一或多種化學治療劑共同投與。合適化學治療劑可包括天然產品，諸如長春花屬生物鹼(亦即，長春花鹼、長春新鹼及長春瑞濱)、紫杉烷(例如多西他賽、紫杉醇，例如多西他賽)、表鬼臼毒素(亦即，依託泊苷、替尼泊苷)、抗生素(放線菌素(放線菌素 D) 道諾黴素、阿黴素及艾達黴素；例如阿黴素)、蔥環類、米托蒽醌、博來黴素、普卡黴素(光神黴素)及絲裂黴素、酶(L-天冬醯胺酶，其全身性代謝 L-天冬醯胺且剝奪不具有合成其自身天冬醯胺之能力的細胞)；抗血小板劑；抗增生/抗有絲分裂烷基化劑，諸如氮芥(二氯甲基二乙胺、異環磷醯胺、環磷醯胺及類似物、美法侖、苯丁酸氮芥，例如

美法侖)、伸乙亞胺及甲基三聚氰胺(六甲基三聚氰胺及噻替哌)、烷基磺酸酯(白消安)、亞硝基脲(卡莫司汀(BCNU)及類似物、鏈脲黴素)、四氮烯(trazene)-達卡巴嗪(DTIC); 抗增生/抗有絲分裂抗代謝物, 諸如葉酸類似物(胺甲喋呤)、嘧啶類似物(氟脲嘧啶、氟尿昔及阿糖胞苷)、嘌呤類似物及相關抑制劑(巯嘌呤、硫鳥嘌呤、噴司他丁及 2-氯去氧腺苷); 芳香酶抑制劑(阿那曲唑、依西美坦及來曲唑); 鉑配位錯合物(順鉑、卡鉑)、甲基苄肼、羥基脲、米托坦、胺麩精; DNA 結合/細胞毒性劑(例如 Zalypsis); 組蛋白去乙酰酶(HDAC)抑制劑(例如曲古抑菌素、丁酸鈉、阿皮西單(apicidan)、辛二醯苯胺異羥肱酸(SAHA (Vorinostat))、曲古抑菌素 A、酯肽、制蚜菌素、A-161906、斯瑞泰德、PXD-101、CHAP、丁酸、德布地欣(depudecin)、奧沙福拉定(oxamflatin)、苯基丁酸鹽、丙戊酸、MS275 (N-(2-胺基苯基)-4-[N-(吡啶-3-基甲氧基-羰基)胺基甲基]苯甲醯胺)、LAQ824/LBH589、CI994、MGCD0103、ACY-1215、Panobinostat); 激素(亦即, 雌激素)及激素激動劑, 諸如促黃體激素釋放激素(LHRH)激動劑(戈舍瑞林、亮丙瑞林及曲普瑞林)。其他化學治療劑可包括二氯甲基二乙胺、喜樹鹼、異環磷醯胺、他莫昔芬、雷洛昔芬、吉西他濱、溫諾平或前述之任何類似物或衍生物變異體。

【0387】 在某些實施例中, 本文所述之 PEG-卡非佐米化合物與細胞因子共同投與。細胞因子包括但不限於干擾素- $\gamma$ 、- $\alpha$  及 - $\beta$ 、介白素 1-8、10 及 12、粒細胞單核細胞群落刺激因子(GM-CSF)、TNF- $\alpha$  及 - $\beta$  及 TGF- $\beta$ 。

【0388】 在某些實施例中, 本文所述之 PEG-卡非佐米化合物與類固醇共同投與。合適類固醇可包括但不限於 21-乙醯氧基孕烯醇酮、阿氯米松、阿爾孕酮、安西奈德、倍氯米松、倍他米松、布地奈德、氯潑尼松、氯倍他索、氯可托龍、氯潑尼醇、皮質固酮、皮質酮、可的伐唑、地夫可特、地奈德、去羥米松、地塞米松、二氟拉松、二氟可龍、二氟潑尼酯、甘草次酸、氟紮可特、氟氯奈德、氟米松、氟尼縮松、丙酮化氟新龍、乙酸氟輕鬆、氟可丁丁酯、氟可龍、氟米龍、乙酸氟培龍、乙酸氟潑尼定、氟潑尼松龍、氟氫縮松、丙酸氟替卡松、福莫可他、哈西奈德、鹵倍他索丙酸酯、鹵米松、氫化可的松、氯替潑諾、馬潑尼酮、甲羥松、甲潑尼松、

甲潑尼龍、糠酸莫米松、對氟米松、強碳松、潑尼松龍、25-二乙基胺基乙酸潑尼松龍、潑尼松龍磷酸鈉、潑尼松、潑尼松龍戊酸酯、潑尼立定、利美素龍、替可的松、氟經潑尼松龍、曲安奈德、苯曲安奈德、己曲安奈德及其鹽及/或衍生物(例如氫化可的松、地塞米松、甲潑尼龍及潑尼松龍；例如地塞米松)。在某些實施例中，本文所述之 PEG-卡非佐米化合物與地塞米松共同投與。在某些實施例中，共同療法包括在 KYPROLIS (卡非佐米)標籤上提供之給藥方案，如由 US FDA 及由 EMA 批准。

【0389】 在一些實施例中，本文所述之 PEG-卡非佐米化合物與免疫治療劑共同投與。合適免疫治療劑可包括但不限於 MDR 調節劑(維拉帕米、戊司泊達、比立考達、塔利奎達、拉尼奎達)、環孢黴素、沙利度胺及單株抗體。該等單株抗體可為裸的或結合的，諸如利妥昔單抗、托西莫單抗、阿侖珠單抗、依帕珠單抗、替伊莫單抗、吉妥珠單抗-奧佐米星、貝伐單抗、西妥昔單抗、厄洛替尼及曲妥珠單抗。

【0390】 在某些實施例中，本文所述之 PEG-卡非佐米化合物與一或多種組蛋白去乙酰酶(HDAC)抑制劑(例如曲古抑菌素、丁酸鈉、阿皮西單、辛二醯苯胺異脛脲酸(「SAHA」 (Vorinostat))、曲古抑菌素 A、酯肽、制蚜菌素、A-161906、斯瑞泰德、PXD-101、CHAP、丁酸、德布地欣、奧沙福拉定、苯基丁酸鹽、丙戊酸、MS275 (N-(2-胺基苯基)-4-[N-(吡啶-3-基甲氧基-羰基)胺基甲基]苯甲醯胺)、LAQ824/LBH589、CI994、MGCD0103、ACY-1215、Panobinostat；例如 SAHA、ACY-1215、Panobinostat)共同投與。

【0391】 在某些實施例中，本文所述之 PEG-卡非佐米化合物與一或多種氮芥(二氯甲基二乙胺、異環磷醯胺、環磷醯胺及類似物、美法侖、苯丁酸氮芥，例如美法侖)共同投與。

【0392】 在某些實施例中，本文所述之 PEG-卡非佐米化合物與一或多種 DNA 結合/細胞毒性劑(例如 Zalypsis)共同投與。

【0393】 在某些實施例中，本文所述之 PEG-卡非佐米化合物與一或多種紫杉烷(例如多西他賽、紫杉醇，例如多西他賽)共同投與。

【0394】 在某些實施例中，本文所述之 PEG-卡非佐米化合物與一或多種抗生素(放線菌素(放線菌素 D) 道諾黴素、阿黴素及艾達黴素；例如阿

黴素)共同投與。

**【0395】** 前述僅說明本發明且不意欲將本發明限制於所揭示之用途。對熟習此項技術者而言常規之變化及改變意欲在隨附申請專利範圍中界定之本發明之範圍及性質內。

**【符號說明】**

**【生物材料寄存】**

國內寄存資訊【請依寄存機構、日期、號碼順序註記】

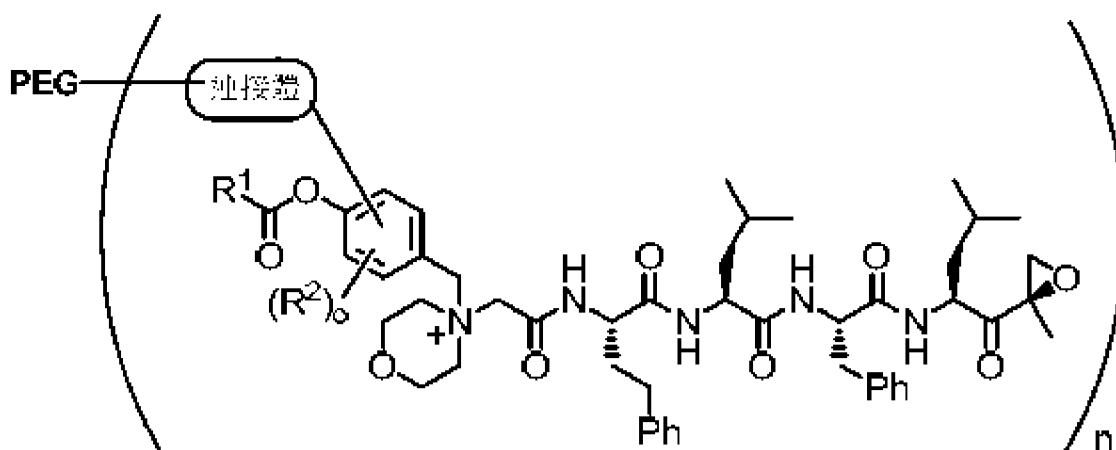
國外寄存資訊【請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記】

**【序列表】** (請換頁單獨記載)



# 申請專利範圍

1. 一種具有式 I 結構之聚乙二醇化卡非佐米化合物，



式 I

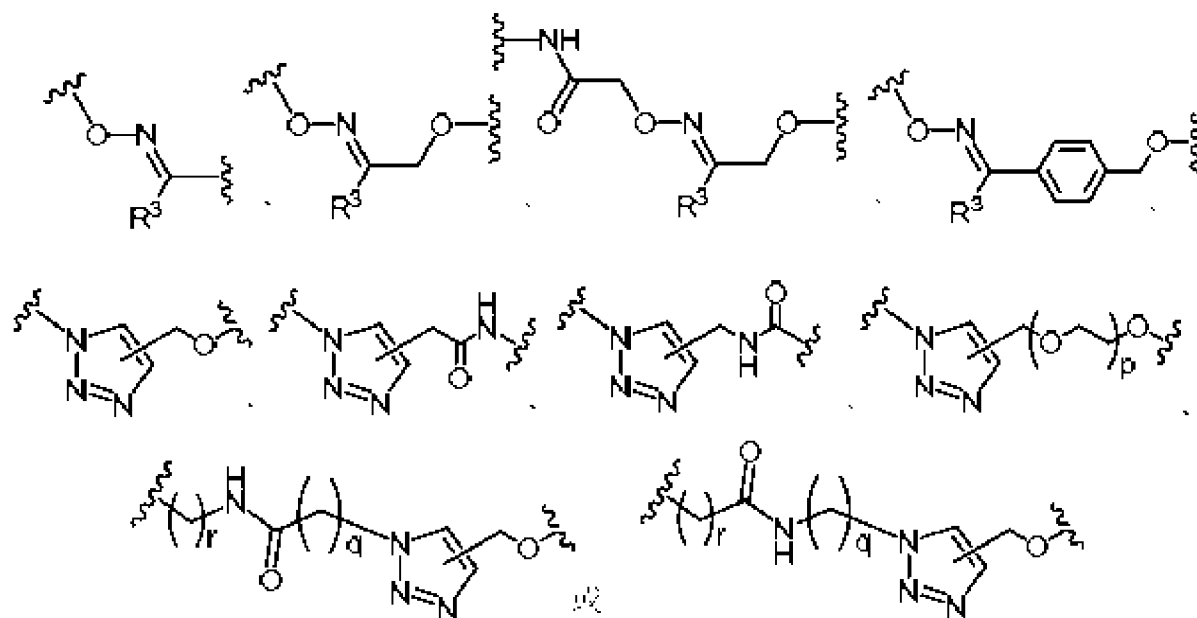
或其醫藥學上可接受之鹽，其中

$R^1$  為  $C_{1-10}$  烷基或  $C_{3-7}$  環烷基；

各  $R^2$  獨立地為 H、 $C_{1-6}$  烷基、 $-OCH_3$  或鹵素；

$o$  為選自 0、1、2 或 3 之整數；

連接體為具有以下結構之部分



其中  $R^3$  為 H 或  $CH_3$ ；

$n$  為選自 1、2、3 或 4 之整數；

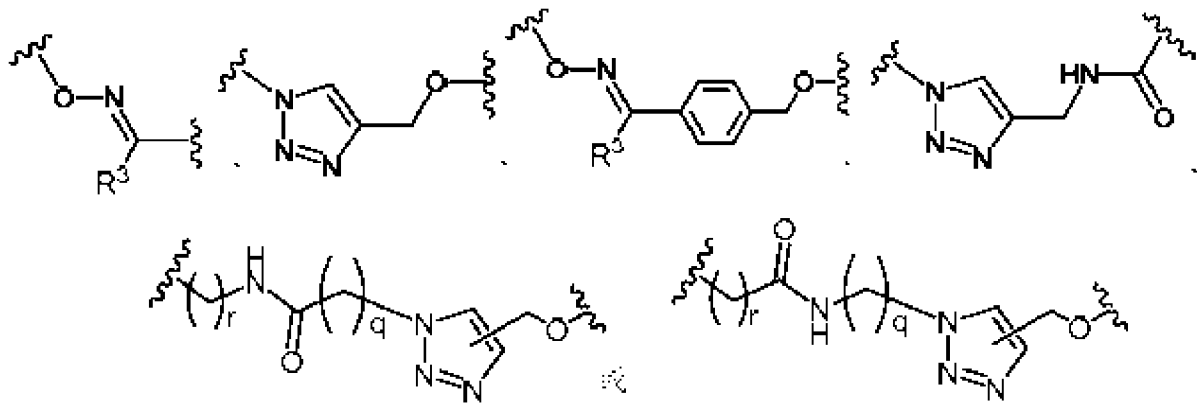
$p$  為選自 0、1、2、3 或 4 之整數；

$q$  為選自 1、2、3、4、5、6、7、8 或 9 之整數；

r 為選自 0、1、2、3、4 或 5 之整數；及

PEG 為具有介於約 500 至約 20,000 範圍內之分子量的聚乙二醇聚合物部分。

2. 如申請專利範圍第 1 項所述之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中  $R^1$  為  $C_{1-10}$  烷基。
3. 如申請專利範圍第 1 項所述之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中各 o 為 0 或 1 且  $R^2$  為  $CH_3$  或鹵素。
4. 如申請專利範圍第 1 項所述之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中各 o 為 0 或 1 且  $R^2$  為  $CH_3$  或 F。
5. 如申請專利範圍第 1 項所述之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該連接體為具有以下結構之部分

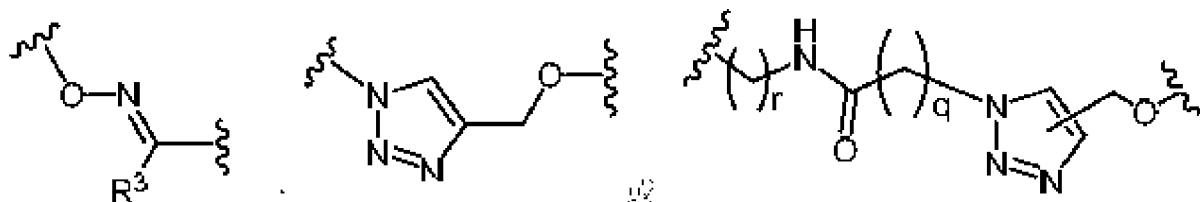


其中  $R^3$  為 H 或  $CH_3$ ；

q 為選自 1、2、3、4 或 5 之整數；及

r 為選自 0、1、2、3 或 4 之整數。

6. 如申請專利範圍第 1 項所述之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該連接體為



其中  $R^3$  為 H 或  $CH_3$ ；

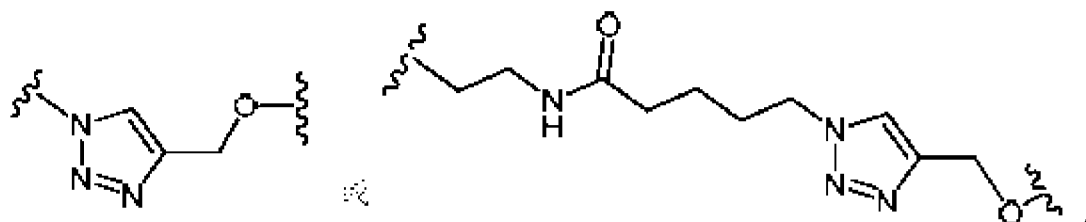
q 為 4；及

r 為 2。

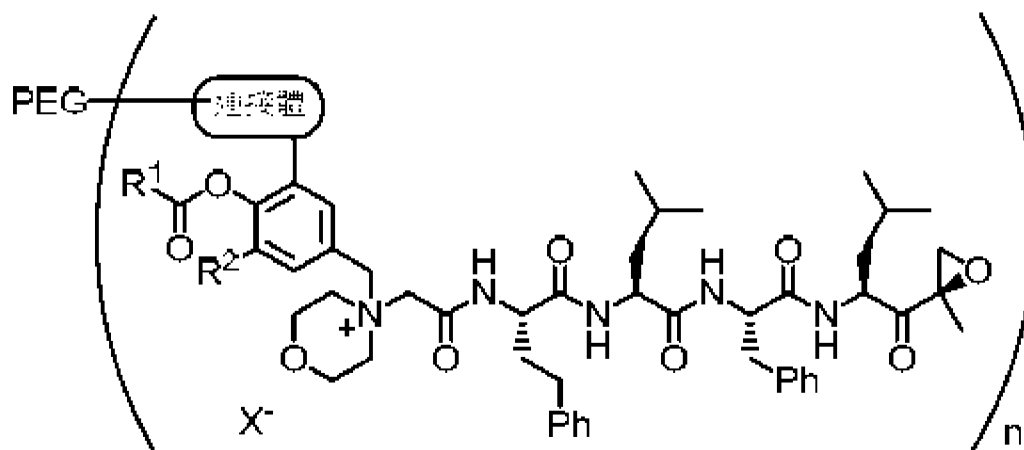
7. 如申請專利範圍第 2 項所述之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中

$R^1$  為甲基、乙基、丙基、異丙基、丁基、第三丁基、戊基、己基或庚基。

8. 如申請專利範圍第 1 項所述之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中  $R^1$  為甲基、乙基、丙基、異丙基、丁基、第三丁基、戊基、己基或庚基；且該連接體為



9. 如申請專利範圍第 1 項所述之聚乙二醇化卡非佐米化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該化合物具有式 II 結構



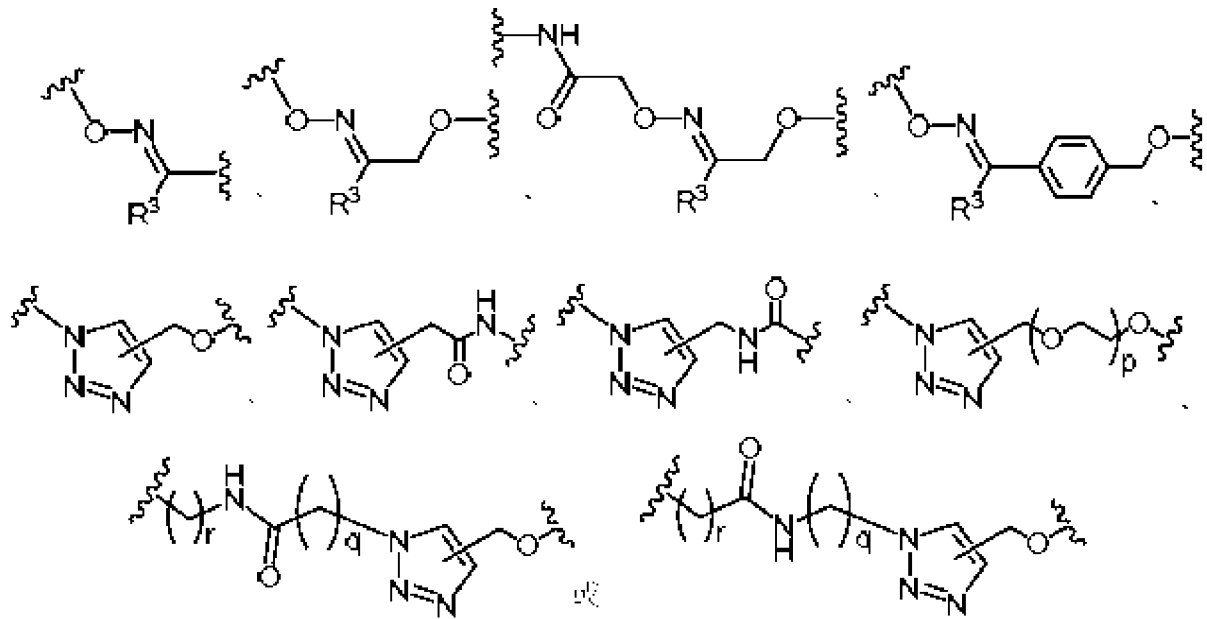
式 II

其中

$R^1$  為  $C_{1-10}$  烷基或  $C_{3-7}$  環烷基；

$R^2$  為 H、 $C_{1-6}$  烷基、 $-OCH_3$  或鹵素；

連接體為具有以下結構之部分



其中  $R^3$  為 H 或  $CH_3$  ；

$n$  為選自 1、2、3 或 4 之整數；

$p$  為選自 0、1、2、3 或 4 之整數；

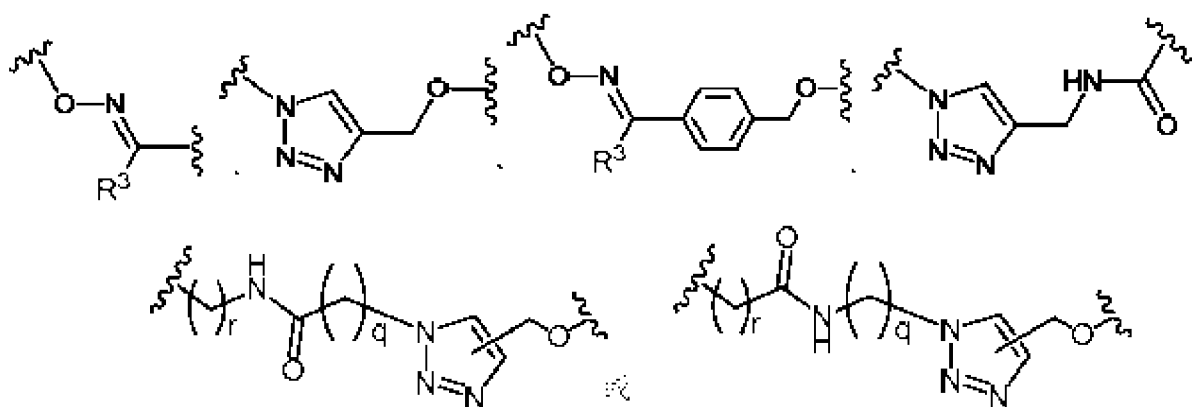
$q$  為選自 1、2、3、4、5、6、7、8 或 9 之整數；

$r$  為選自 0、1、2、3、4 或 5 之整數；

$X$  為選自氯化物、硫酸氫鹽、硫酸鹽、硝酸鹽、磷酸鹽、烷基-磺酸鹽或芳基-磺酸鹽之相對離子鹽；及

PEG 為具有介於約 2000 至約 20,000 範圍內之分子量的聚乙二醇聚合物部分。

10. 如申請專利範圍第 9 項所述之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中  $R^1$  為  $C_{1-10}$  烷基。
11. 如申請專利範圍第 9 項所述之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中  $R^2$  為 H、 $CH_3$  或鹵素。
12. 如申請專利範圍第 9 項所述之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中  $R^2$  為 H、 $CH_3$  或 F。
13. 如申請專利範圍第 9 項所述之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該連接體為具有以下結構之部分

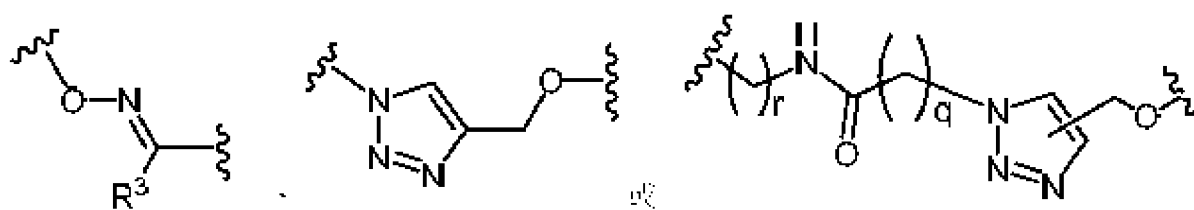


其中  $R^3$  為 H 或  $CH_3$  ；

$q$  為選自 1、2、3、4 或 5 之整數；及

$r$  為選自 0、1、2、3 或 4 之整數。

14. 如申請專利範圍第 9 項所述之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該連接體為



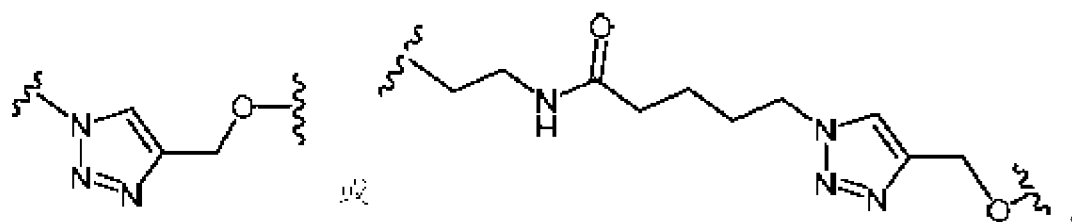
其中  $R^3$  為 H 或  $CH_3$  ；

$q$  為 4；及

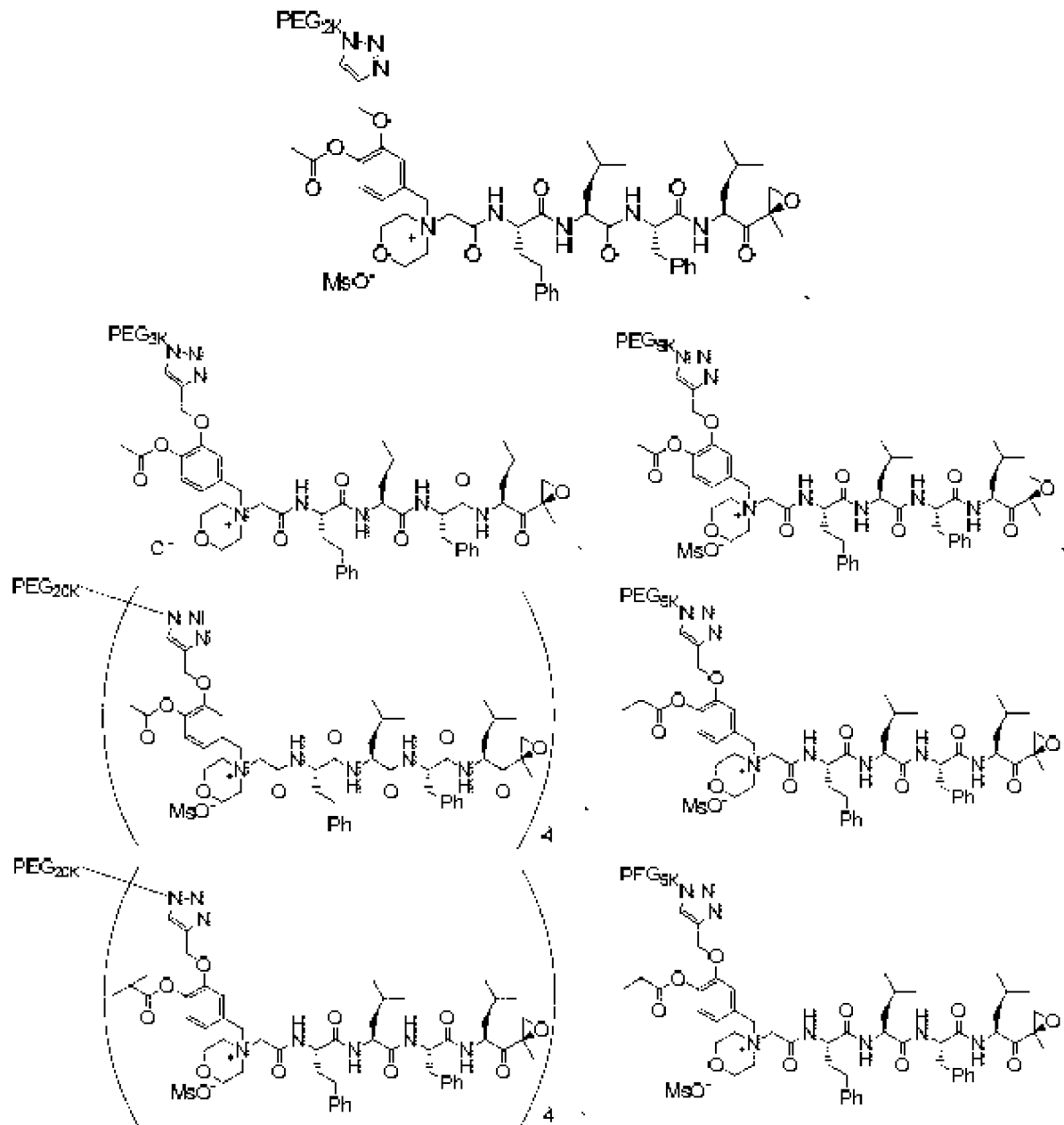
$r$  為 2。

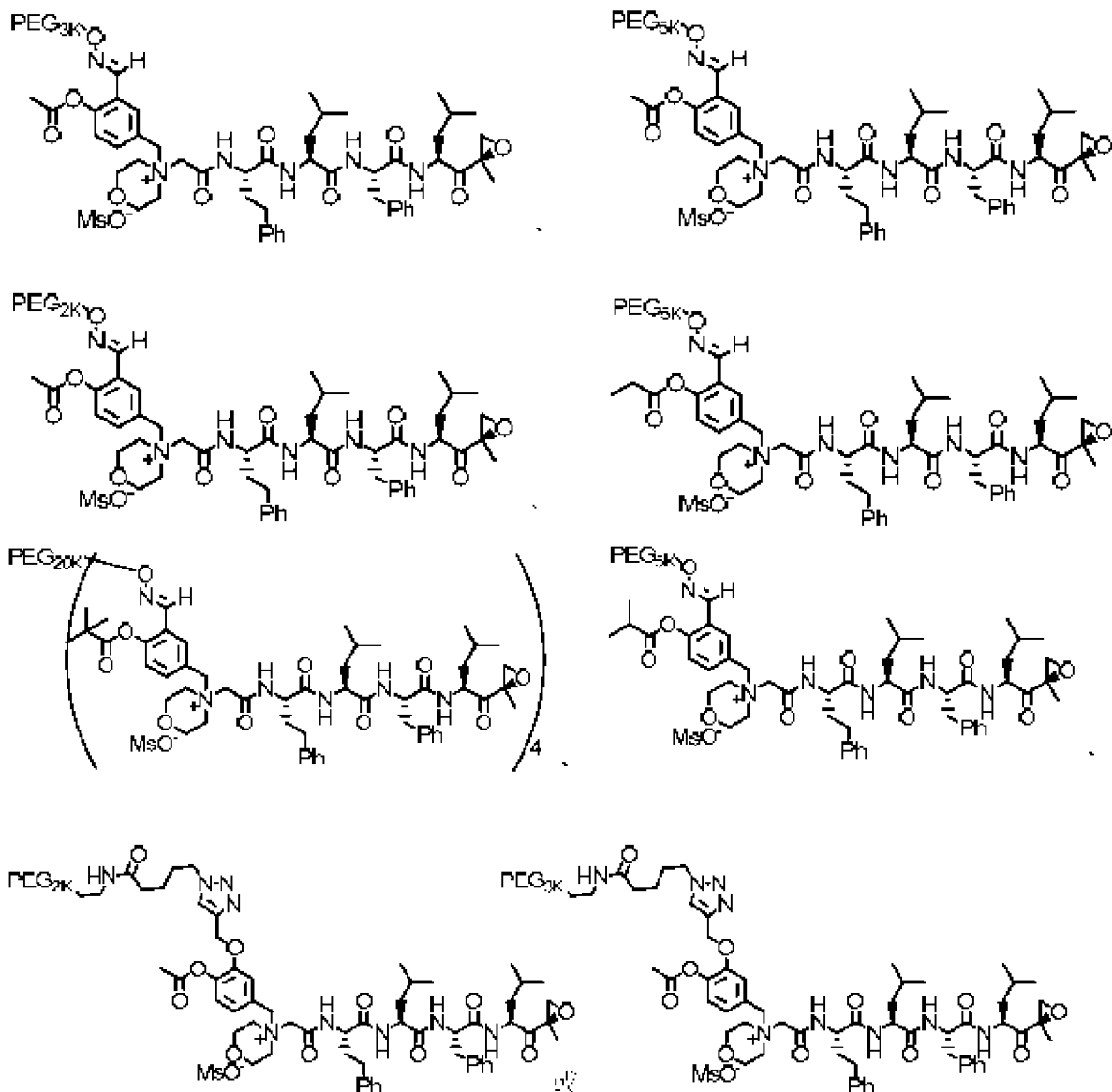
15. 如申請專利範圍第 9 項所述之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中  $R^1$  為甲基、乙基、丙基、異丙基、丁基、第三丁基、戊基、己基或庚基。

16. 如申請專利範圍第 9 項所述之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中  $R^1$  為甲基、乙基、丙基、異丙基、丁基、第三丁基、戊基、己基或庚基；且該連接體為



17. 如申請專利範圍第 1 項所述之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該化合物具有以下結構

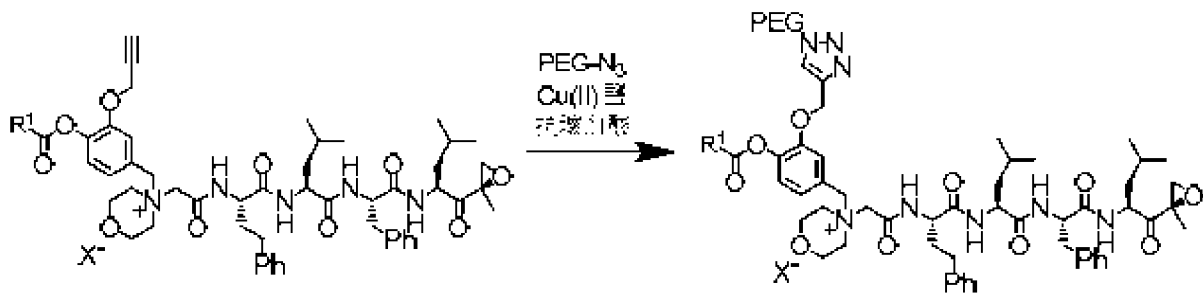




18. 如申請專利範圍第 1 項所述之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該 PEG 具有介於約 2K 至約 20K 範圍內之重量。
19. 如申請專利範圍第 1 項所述之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該 PEG 具有 2K、3K、5K 或 20K 之重量。
20. 如申請專利範圍第 1 項所述之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其為包含選自氯化物陰離子、硫酸氫鹽陰離子、硫酸鹽陰離子、硝酸鹽陰離子、磷酸鹽陰離子、烷基-磺酸鹽陰離子或芳基-磺酸鹽陰離子之相對陰離子之醫藥學上可接受之鹽。
21. 如申請專利範圍第 20 項所述之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該相對陰離子為氯化物陰離子或烷基-磺酸鹽陰離子。
22. 一種醫藥組合物，其包含如申請專利範圍第 1 項所述之化合物或其醫藥

學上可接受之鹽及醫藥學上可接受之賦形劑、載劑或稀釋劑。

23. 如申請專利範圍第 22 項所述之醫藥組合物，其經口或藉由輸注或注射投與。
24. 一種如申請專利範圍第 1 項所述之化合物或其醫藥學上可接受之鹽或如申請專利範圍第 22 項所述之組合物的用途，其係用於製造用於治療多發性骨髓瘤之藥劑。
25. 如申請專利範圍第 24 項所述之用途，其中該多發性骨髓瘤為復發性、難治性或復發性且難治性多發性骨髓瘤。
26. 如申請專利範圍第 24 項所述之用途，其中該多發性骨髓瘤為新進經診斷之多發性骨髓瘤。
27. 一種製備如申請專利範圍第 1 項所述之化合物或其醫藥學上可接受之鹽之方法，該方法包含以下步驟



其中 X<sup>-</sup> 為選自由氯化物陰離子、硫酸氫鹽陰離子、硫酸鹽陰離子、硝酸鹽陰離子、磷酸鹽陰離子、烷基-磺酸鹽陰離子或芳基-磺酸鹽陰離子組成之群之相對離子鹽，且 PEG 具有介於約 2K 至約 20K 範圍內之重量，以製備式 I 化合物。



# 圖式

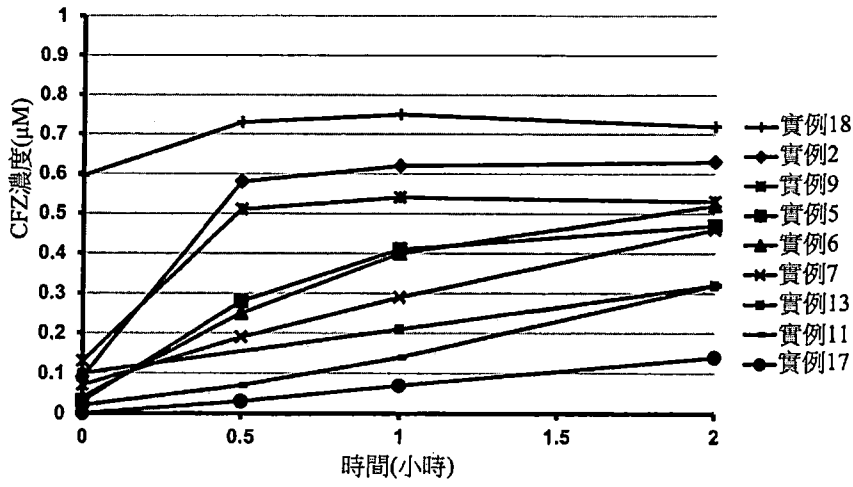


圖 1

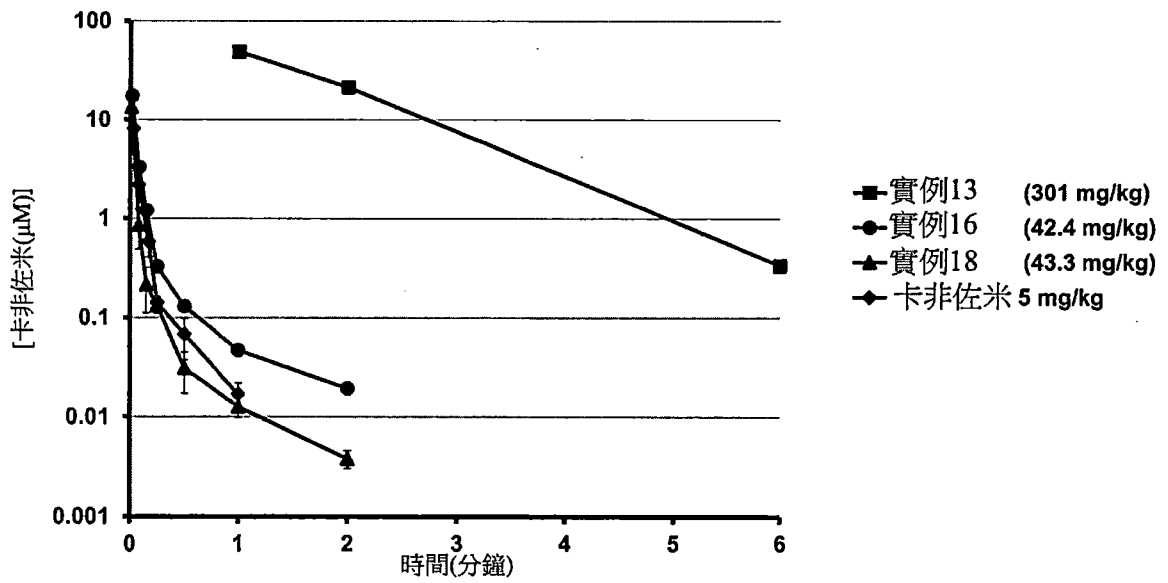


圖 2

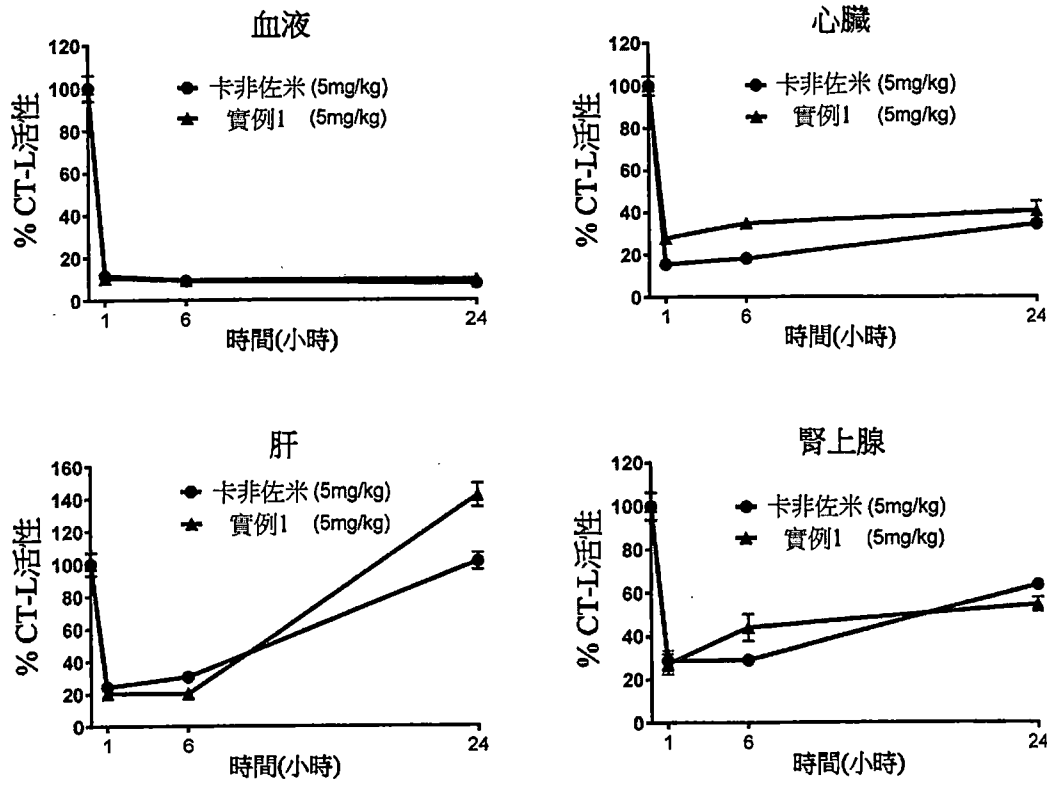


圖 3

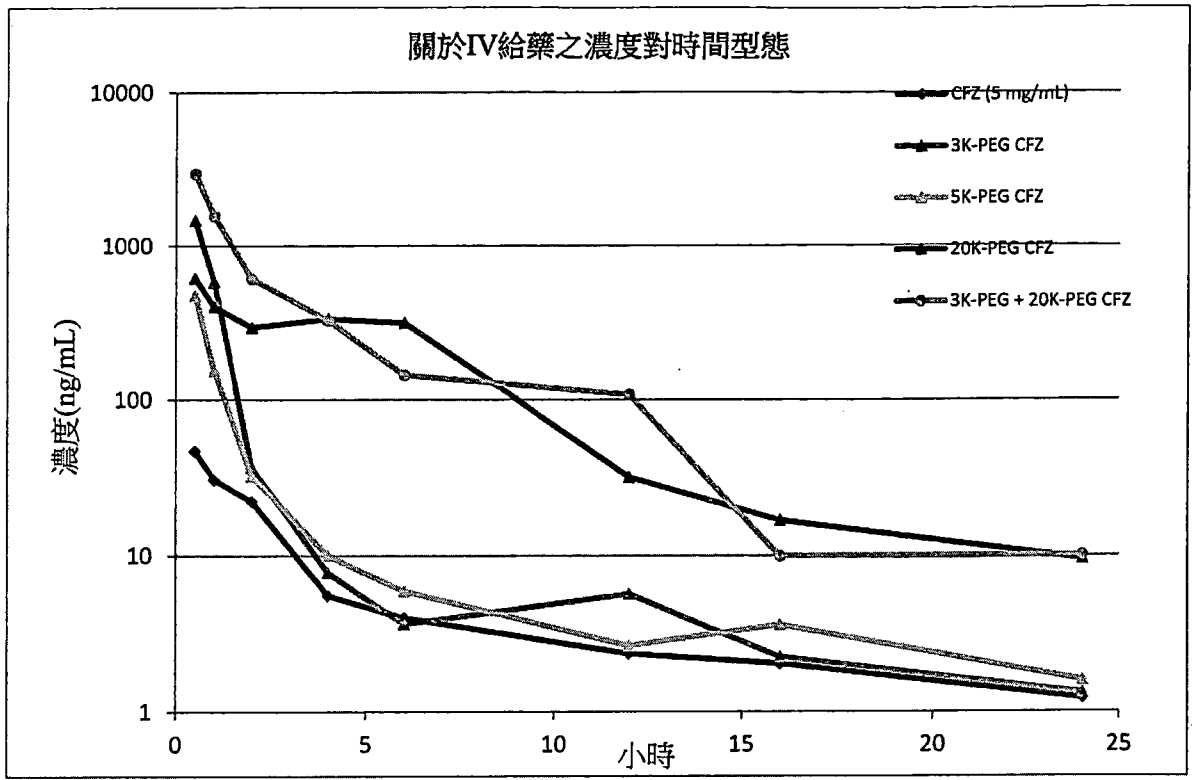


圖 4

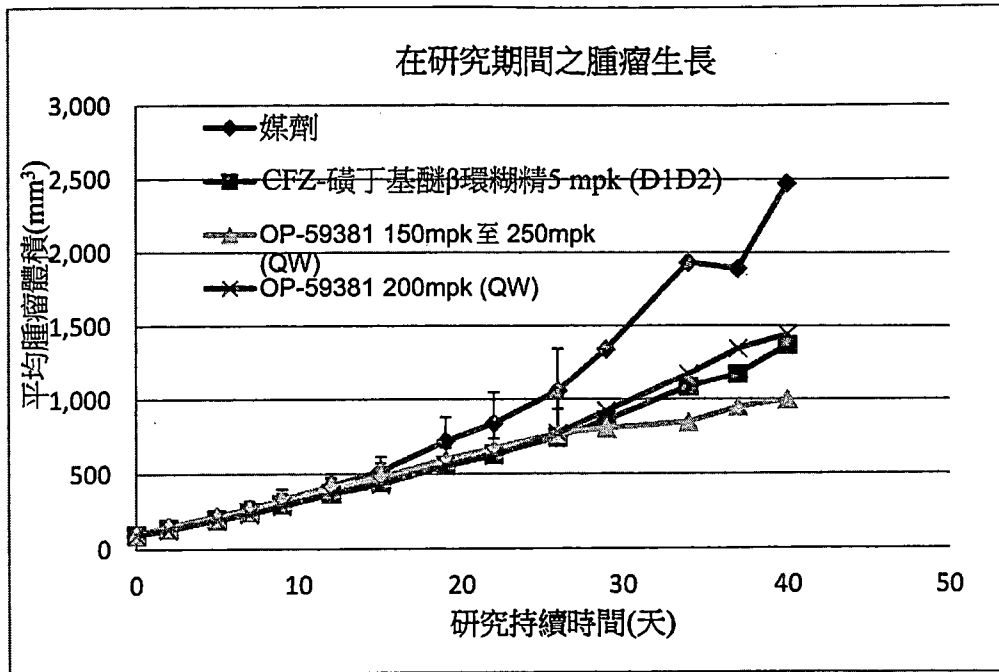


圖 5

HT-29癌症異種移植模型中之CFZ-磺丁基醯β環糊精及OP-0059381

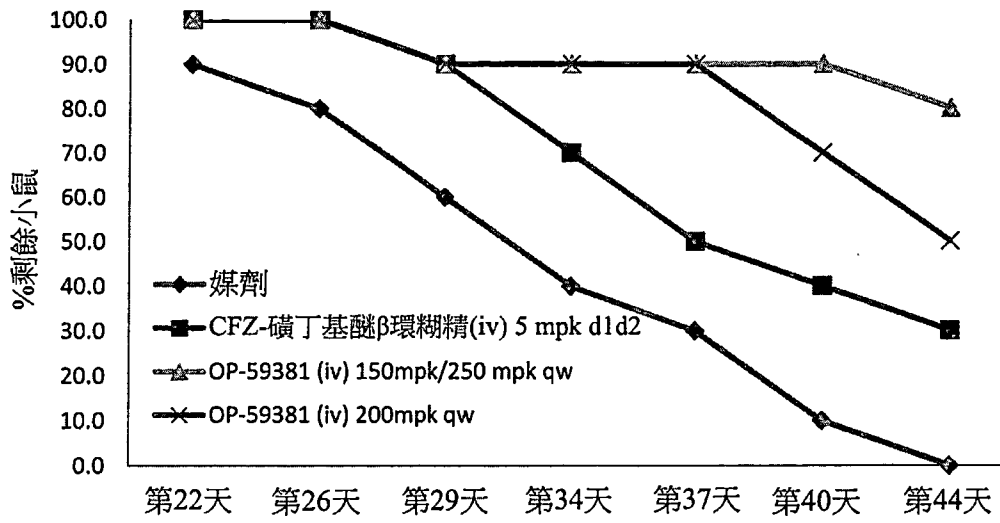


圖 6

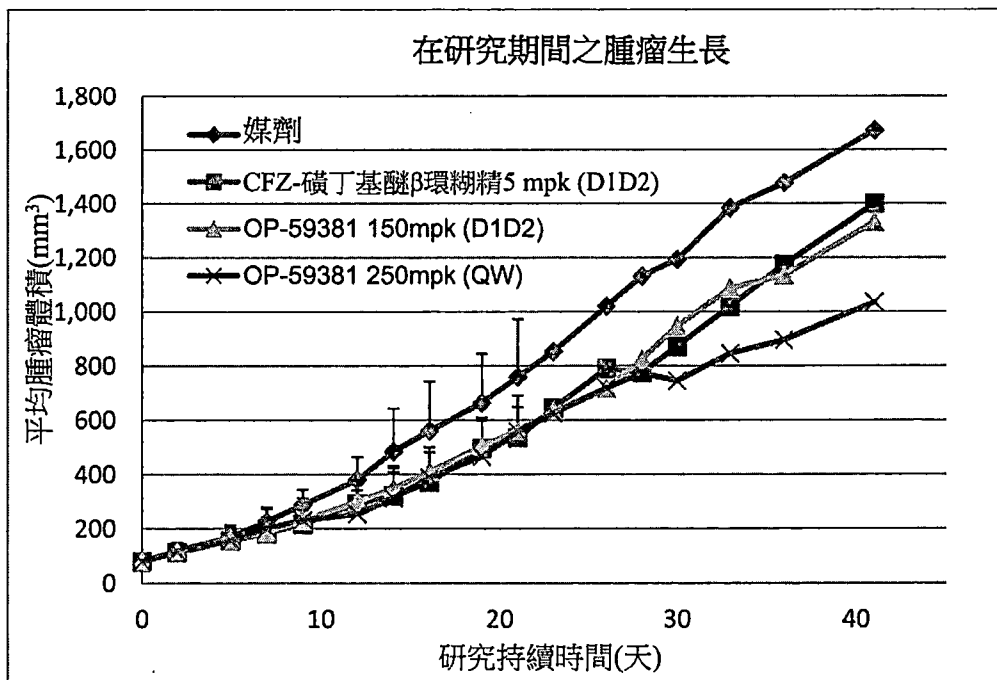


圖 7

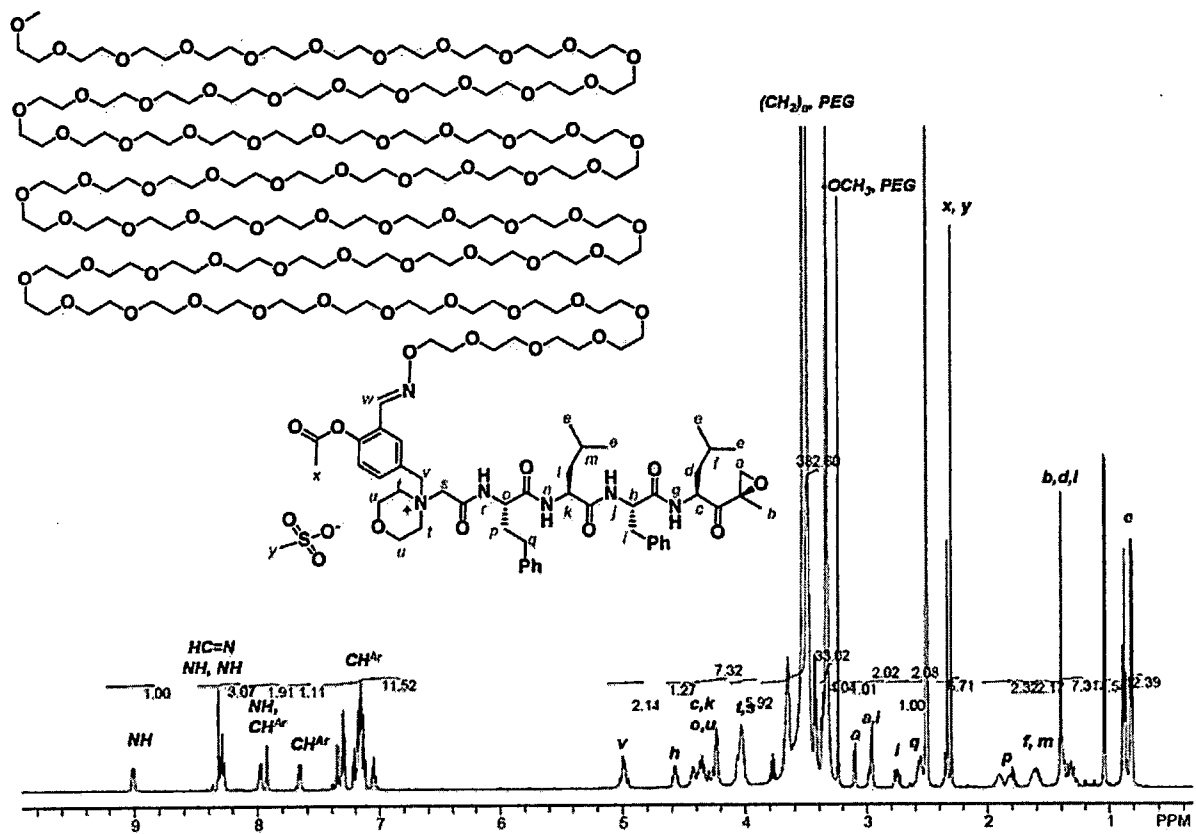
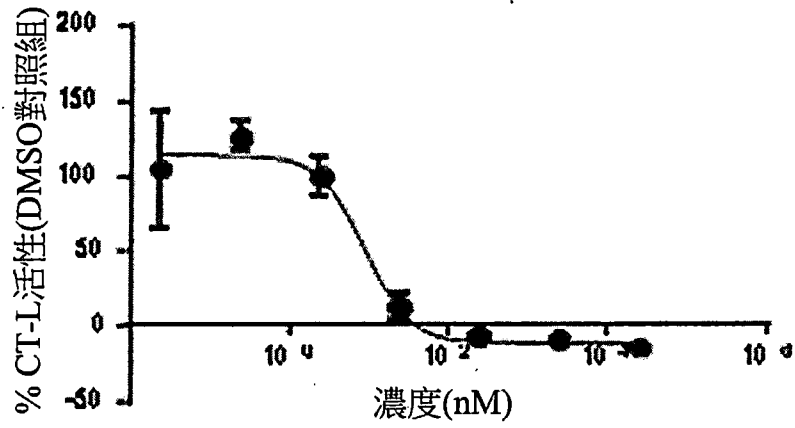


圖 8

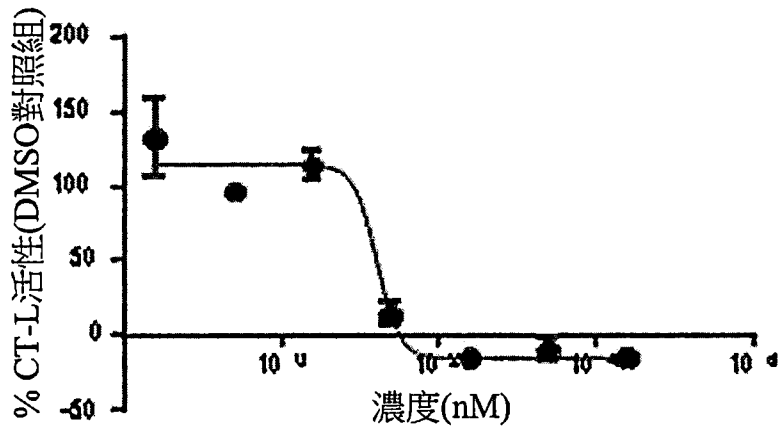
卡非佐米



IC50	9.190
------	-------

圖 9

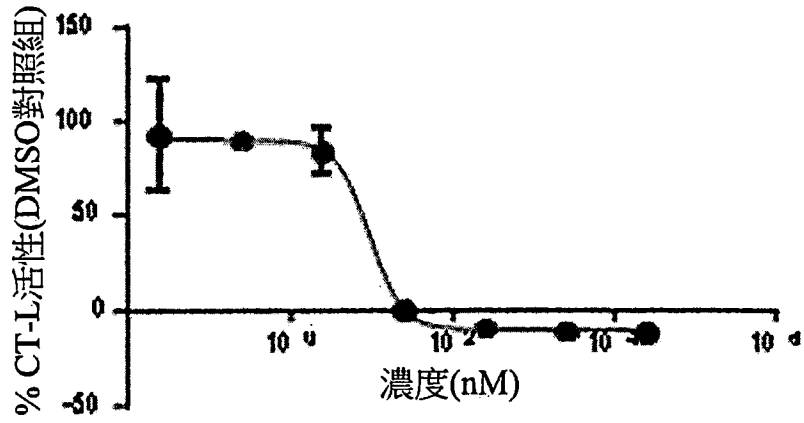
實例5



IC50	16.25
------	-------

圖 10

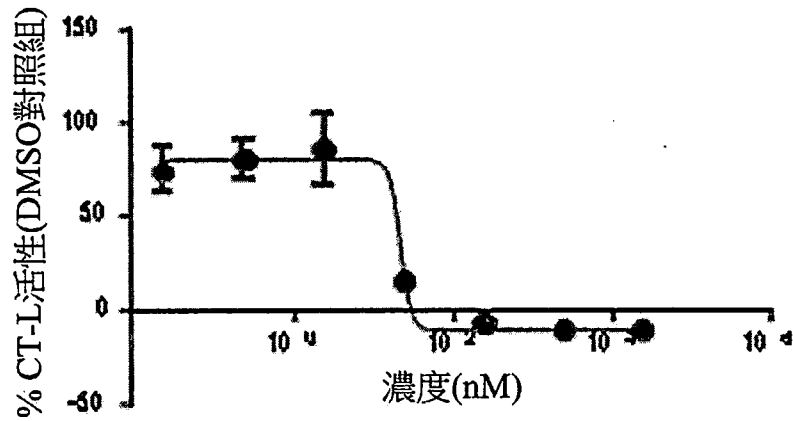
實例35



IC50	9.013
------	-------

圖 11

實例36

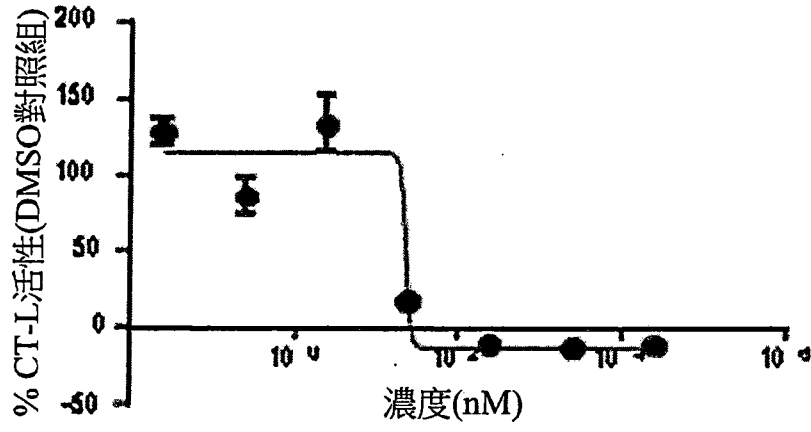


IC50	~ 21.76
------	---------

圖 12



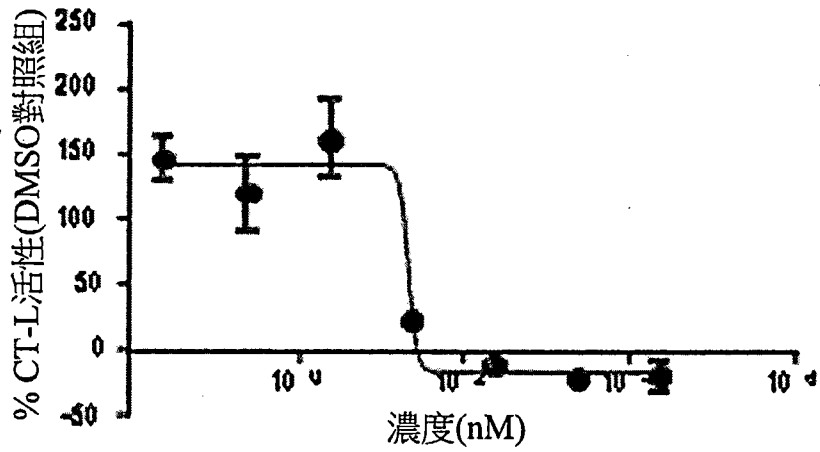
實例37



IC50 ~ 22.81

圖 13

實例38



IC50 ~ 21.79

圖 14

基線校正之CTL活性對媒劑

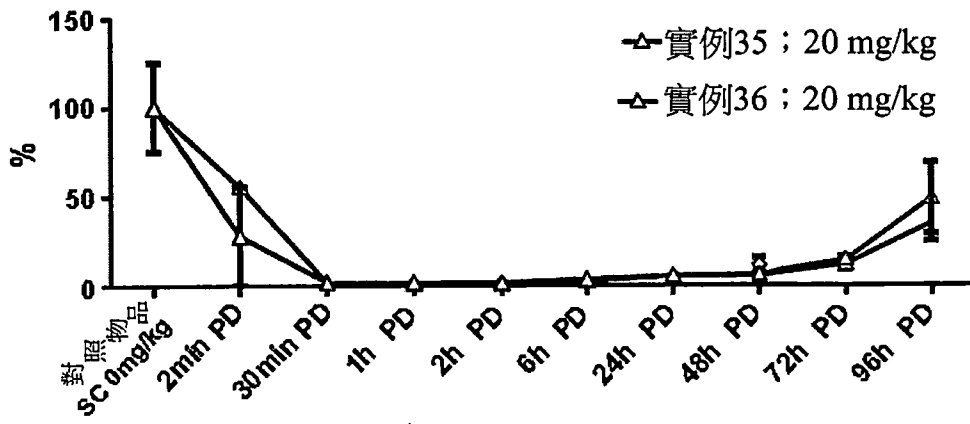


圖 15