



(21)申請案號：112144459 (22)申請日：中華民國 107 (2018) 年 11 月 01 日

(51)Int. Cl. : C07D401/12 (2006.01) C07D213/74 (2006.01)
C07D409/12 (2006.01) C07D413/12 (2006.01)
C12N15/113 (2010.01) A61K47/54 (2017.01)
A61K47/60 (2017.01) A61K47/56 (2017.01)
A61K31/44 (2006.01) A61K31/4439(2006.01)
A61K31/4436(2006.01) A61K31/7088(2006.01)
A61K31/713 (2006.01) A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2017/11/01 美國 62/580,398
2018/03/22 美國 62/646,739
2018/06/01 美國 62/679,549

(71)申請人：美商愛羅海德製藥公司 (美國) ARROWHEAD PHARMACEUTICALS, INC. (US)
美國

(72)發明人：李 LI, ZHEN (US)；李曉愷 LI, XIAOKAI (CN)；布希 艾瑞克 W BUSH, ERIK W. (US)；朱銳 ZHU, RUI (CN)；舒東旭 SHU, DONGXU (CN)；班森 強 納森 BENSON, JONATHAN (US)；邵 鵬程 SHAO, PATRICK (US)；佛勒 沃特 斯 馬修 FOWLER-WATTERS, MATTHEW (US)

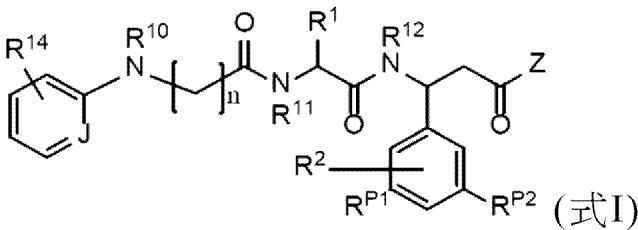
(74)代理人：陳長文；王淑靜；呂光

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：36 項 圖式數：0 共 309 頁

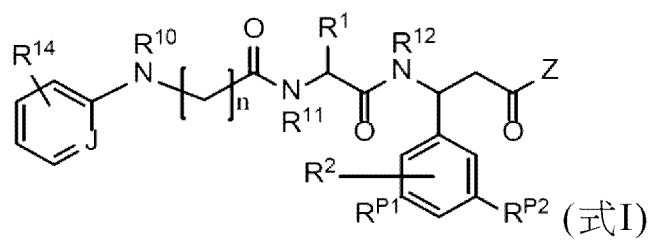
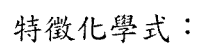
(54)名稱
整合素配體及其用途

(57)摘要

本發明描述一種具有血清穩定性及對整合素 $\alpha\text{v}\beta6$ 之親和力的式 I 之合成 $\alpha\text{v}\beta6$ 整合素配體，整合素 $\alpha\text{v}\beta6$ 係表現於多種細胞類型中之受體。所述之配體可用於將貨物分子(諸如 RNAi 藥劑或其他基於寡核苷酸之化合物)遞送至表現整合素 $\alpha\text{v}\beta6$ 之細胞中，且藉此有助於貨物分子攝取至此等細胞中。亦描述包括 $\alpha\text{v}\beta6$ 整合素配體之組合物及使用方法。



Synthetic $\alpha\text{v}\beta6$ integrin ligands of Formula I having serum stability and affinity for integrin $\alpha\text{v}\beta6$, which is a receptor expressed in a variety of cell types, are described. The described ligands are useful for delivering cargo molecules, such as RNAi agents or other oligonucleotide-based compounds, to cells that express integrin $\alpha\text{v}\beta6$, and thereby facilitating the uptake of the cargo molecules into these cells. Compositions that include $\alpha\text{v}\beta6$ integrin ligands and methods of use are also described.



[(發明摘要)]

[(中文發明名稱)]

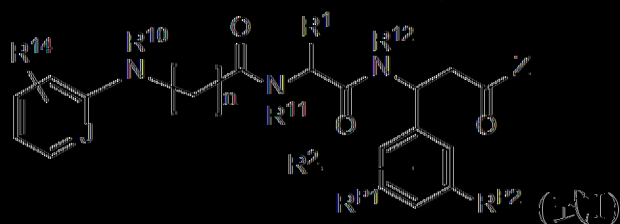
整合素配體及其用途

[(英文發明名稱)]

INTEGRIN LIGANDS AND USES THEREOF

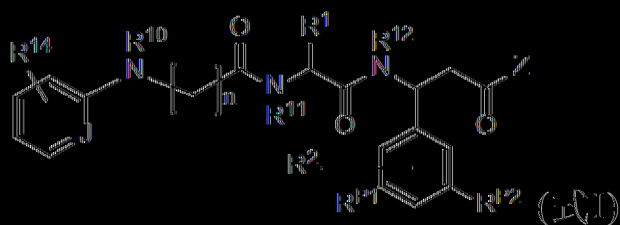
[(中文)]

本發明描述一種具有血清穩定性及對整合素 $\alpha v\beta 6$ 之親和力的式I之合成 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體，整合素 $\alpha v\beta 6$ 係表現於多種細胞類型中之受體。所述之配體可用於將貨物分子(諸如RNAi藥劑或其他基於寡核苷酸之化合物)遞送至表現整合素 $\alpha v\beta 6$ 之細胞中，且藉此有助於貨物分子攝取至此等細胞中。亦描述包括 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體之組合物及使用方法。



[(英文)]

Synthetic $\alpha v\beta 6$ integrin ligands of Formula I having serum stability and affinity for integrin $\alpha v\beta 6$, which is a receptor expressed in a variety of cell types, are described. The described ligands are useful for delivering cargo molecules, such as RNAi agents or other oligonucleotide-based compounds, to cells that express integrin $\alpha v\beta 6$, and thereby facilitating the uptake of the cargo molecules into these cells. Compositions that include $\alpha v\beta 6$ integrin ligands and methods of use are also described.



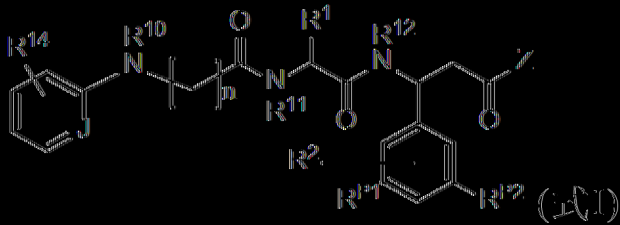
〔指定代表圖〕

無

〔代表圖之符號簡單說明〕

無

〔特徵化學式〕



【發明說明書】

【中文發明名稱】

整合素配體及其用途

【英文發明名稱】

INTEGRIN LIGANDS AND USES THEREOF

【技術領域】

【先前技術】

【0001】 表現於包括上皮細胞之各種細胞類型中之整合素 α -v β -6 (α v β 6)係TGF- β 之潛伏相關肽(LAP)及細胞外基質(ECM)蛋白質纖維結合蛋白、玻璃連結蛋白及肌腱蛋白的受體。儘管在正常健康成年人上皮細胞中幾乎偵測不到，但在傷口癒合期間及在不同癌症(例如結腸、卵巢、子宮內膜及胃癌)中 α v β 6整合素上調，且通常與不佳癌症預後相關。已展示 α v β 6整合素可促進癌轉移中之細胞侵入及遷移，且抑制細胞凋亡。 α v β 6整合素亦可調節基質金屬蛋白酶(MMP)之表現且活化TGF- β 1。主要在活體外研究中有越來越多的證據表明， α v β 6整合素可促進癌瘤進展。因此，尤其鑒於整合素 α v β 6在基質金屬蛋白酶(MMP)之表現及TGF- β 1活化中之作用，整合素 α v β 6作為腫瘤生物標記物及可能的治療標靶係有吸引力的。

【0002】 諸如藥物化合物之治療有效化合物在活體內向所需細胞及/或組織之遞送仍係藥品發展之一大挑戰。仍然存在對能夠選擇性靶向細胞或組織之穩定且有效的靶向配體之需求，其可用以有助於貨物分子(例如治療活性化合物或成分)向特定細胞或組織之靶向遞送。實際上，通常需要靶向配體，其可與一或多種所選貨物分子(諸如一或多種藥品或其他有

效負載)結合以有助於貨物分子在活體內向所需細胞或組織之遞送。此外，存在對靶向整合素 α -v β -6之化合物的需求，其適合於與貨物分子結合以將貨物分子在活體內遞送至表現整合素 α -v β -6之細胞中。關於特定貨物分子，諸如治療性基於寡核苷酸之化合物(例如反義寡核苷酸或RNAi藥劑)，存在對能夠靶向整合素 α -v β -6之靶向配體的需求，其可與基於寡核苷酸之化合物結合以將治療劑遞送至表現整合素 α -v β -6之細胞及/或組織中，且經由受體介導之胞吞作用、胞飲作用或藉由其他方式而有助於使治療劑進入至細胞中。

【發明內容】

【0003】 本文描述新穎的合成 α v β 6整合素配體(在本文中亦稱為 α v β 6配體)。本文所揭示之 α v β 6整合素配體在血清中穩定且對 α v β 6整合素具有親和力，且可與 α v β 6整合素特異性結合。 α v β 6整合素配體可與貨物分子結合以有助於將貨物分子遞送至表現 α v β 6整合素之所需細胞或組織中，諸如遞送至上皮細胞中。

【0004】 本文亦揭示將貨物分子在活體內遞送至表現 α v β 6整合素之組織及/或細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與已與一或多種貨物分子結合之一或多種本文所揭示之 α v β 6整合素配體。進一步揭示具有疾病、症狀或病症之受試者之治療方法，用於該治療方法之治療性貨物分子(例如活性醫藥成分)向表現 α v β 6整合素之細胞中之遞送能夠治療該受試者，其中該等方法包括向受試者投與已與一或多種治療性貨物分子結合之一或多種本文所揭示之 α v β 6整合素配體。

【0005】 在一些實施例中，本文描述抑制標靶基因於細胞中之表現之方法，其中該等方法包括向該細胞投與有效量之一或多種 α v β 6整合素

Z係 OR^{13} 、 $N(R^{13})_2$ 或 SR^{13} ；

R^1 係H、視情況經取代之 C_1-C_6 烷基、OH、COOH、 $CON(R^5)_2$ 、 OR^6 ，或 R^1 包含貨物分子，其中各 R^5 獨立地係H或 C_1-C_6 烷基，且 R^6 係H或 C_1-C_6 烷基；

R^2 、 R^{P1} 及 R^{P2} 各自獨立地係H、鹵基、視情況經取代之伸環烷基、視情況經取代之伸芳基、視情況經取代之伸雜環烷基或視情況經取代之伸雜芳基，或 R^2 、 R^{P1} 及 R^{P2} 可包含貨物分子；

R^{10} 係H或視情況經取代之烷基；

R^{11} 係H或視情況經取代之烷基，或 R^{11} 及 R^1 連同其所連接之原子一起形成視情況經取代之雜環；

R^{12} 係H或視情況經取代之烷基；

各 R^{13} 獨立地係H、視情況經取代之烷基，或 R^{13} 包含貨物分子；

R^{14} 係視情況經取代之烷基；及

其中 R^1 、 R^2 、 R^{13} 、 R^{P1} 及 R^{P2} 中之至少一者包含貨物分子。

【0010】 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體可與一種或多種(例如2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30；或1至30、1至25、1至20、1至15、1至10、1至5、5至30、5至25、5至20、5至15、5至10、10至30、10至25、10至20、10至15、15至30、15至25、15至20、20至30、20至25或25至30種)貨物分子(例如本文所述或此項技術中已知之貨物分子中之任一者)結合。

【0011】 在一些實施例中，多於一種本文所揭示之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體(例如2、3、4、5、6、7、8或1至8、1至7、1至6、1至5、1至4、1至3、1

至2、2至8、2至7、2至6、2至5、2至4、2至3、3至8、3至7、3至6、3至5、3至4、4至8、4至7、4至6或4至5種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體)可與一種貨物分子(例如本文所述或此項技術中已知之貨物分子中之任一者)結合。

【0012】 在另一態樣中，本發明提供包括本文所述之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體中之一或多者之組合物。舉例而言，在一些實施例中，包含一或多種本文所揭示之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體之組合物包括一或多種在活體內遞送至細胞中之基於寡核苷酸之化合物，諸如一或多種RNAi藥劑。在一些實施例中，本文描述用於將RNAi藥劑在活體內遞送至細胞中之組合物，其中RNAi藥劑連接至一或多種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體。

【0013】 描述包括一或多種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體之組合物。在一些實施例中，組合物包含醫藥學上可接受之賦形劑。在一些實施例中，包括一或多種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體之組合物包含一或多種其他醫藥物質或醫藥活性成分或化合物。在一些實施例中，本文描述包括一或多種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體之藥物。

【0014】 包括與一或多種貨物分子結合之一或多種本文所揭示之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體的組合物可有助於將貨物分子在活體內或活體外遞送至表現整合素 $\alpha v\beta 6$ 之細胞中。舉例而言，包括一或多種本文所揭示之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體的組合物可將諸如基於寡核苷酸之化合物的貨物分子在活體內或活體外遞送至第I型及第II型肺泡上皮細胞、杯狀細胞、分泌上皮細胞、纖毛上皮細胞、角膜及結膜上皮細胞、真皮上皮細胞、膽管上皮細胞、腸上皮細胞、管上皮細胞、腺上皮細胞及上皮腫瘤(癌瘤)中。

【0015】 在另一態樣中，本發明提供包含以下之方法：使用一或多種如本文所述之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體及/或組合物，且必要時使所揭示之 $\alpha v\beta 6$

整合素配體及/或組合物成為呈醫藥產品之適用於投與之形式。在其他實施例中，本發明提供用於製造本文所述之配體及組合物(例如藥物)之方法。

【0016】 包括一或多種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體之組合物可鑒於試圖投與之貨物分子使用此項技術中已知適用於此類投與之投與途徑在活體內向受試者投與，包括例如吸入(氣霧劑或乾粉調配物)、鼻內、皮下、靜脈內、腹膜內、皮內、經皮、口服、舌下、表面或瘤內投與。在一些實施例中，可例如藉由靜脈內或皮下投與來投與包括一或多種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體之組合物以用於全身傳遞。在一些實施例中，可例如藉由吸入遞送經由乾粉吸入器或噴霧器投與包括一或多種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體之組合物以用於定位遞送。在一些實施例中，可藉由表面投與來投與包括一或多種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體之組合物以用於定位遞送。

【0017】 在一些實施例中，本文揭示將一或多種所需貨物分子在活體內遞送至第I型肺泡上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種貨物分子結合之一或多種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體。

【0018】 在一些實施例中，本文揭示將一或多種所需貨物分子在活體內遞送至第II型肺泡上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種貨物分子結合之一或多種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體。

【0019】 在一些實施例中，本文揭示將一或多種所需貨物分子在活體內遞送至杯狀細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種貨物分子結合之一或多種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體。

【0020】 在一些實施例中，本文揭示將一或多種所需貨物分子在活體內遞送至分泌上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一

或多種貨物分子結合之一或多種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體。

【0021】 在一些實施例中，本文揭示將一或多種所需貨物分子在活體內遞送至纖毛上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種貨物分子結合之一或多種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體。

【0022】 在一些實施例中，本文揭示將一或多種所需貨物分子在活體內遞送至角膜上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種貨物分子結合之一或多種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體。

【0023】 在一些實施例中，本文揭示將一或多種所需貨物分子在活體內遞送至結膜上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種貨物分子結合之一或多種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體。

【0024】 在一些實施例中，本文揭示將一或多種所需貨物分子在活體內遞送至真皮上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種貨物分子結合之一或多種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體。

【0025】 在一些實施例中，本文揭示將一或多種所需貨物分子在活體內遞送至膽管上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種貨物分子結合之一或多種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體。

【0026】 在一些實施例中，本文揭示將一或多種所需貨物分子在活體內遞送至腸上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種貨物分子結合之一或多種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體。

【0027】 在一些實施例中，本文揭示將一或多種所需貨物分子在活體內遞送至管上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種貨物分子結合之一或多種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體。

【0028】 在一些實施例中，本文揭示將一或多種所需貨物分子在活

體內遞送至腺上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種貨物分子結合之一或多種 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體。

【0029】 在一些實施例中，本文揭示將一或多種所需貨物分子在活體內遞送至上皮腫瘤(癌瘤)中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種貨物分子結合之一或多種 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體。

【0030】 在一些實施例中，本文揭示將基於寡核苷酸之化合物在活體內遞送至第I型肺泡上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種基於寡核苷酸之化合物結合之一或多種 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體。在一些實施例中，本文揭示將RNAi藥劑在活體內遞送至第I型肺泡上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種RNAi藥劑結合之一或多種 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體。在一些實施例中，本文揭示活體內抑制標靶基因於第I型肺泡上皮細胞中之表現之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種對 $\alpha v \beta 6$ 整合素具有親和力之配體結合的RNAi藥劑。

【0031】 在一些實施例中，本文揭示將基於寡核苷酸之化合物在活體內遞送至第II型肺泡上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種基於寡核苷酸之化合物結合之一或多種 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體。在一些實施例中，本文揭示將RNAi藥劑在活體內遞送至第II型肺泡上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種RNAi藥劑結合之一或多種 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體。在一些實施例中，本文揭示活體內抑制標靶基因於第II型肺泡上皮細胞中之表現之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種對 $\alpha v \beta 6$ 整合素具有親和力之配體結合的RNAi藥劑。

【0032】 在一些實施例中，本文揭示將基於寡核苷酸之化合物在活體內遞送至杯狀細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多

種基於寡核苷酸之化合物結合之一或多種 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體。在一些實施例中，本文揭示將RNAi藥劑在活體內遞送至杯狀細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種RNAi藥劑結合之一或多種 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體。在一些實施例中，本文揭示活體內抑制標靶基因於杯狀細胞中之表現之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種對 $\alpha v \beta 6$ 整合素具有親和力之配體結合的RNAi藥劑。

【0033】 在一些實施例中，本文揭示將基於寡核苷酸之化合物在活體內遞送至分泌上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種基於寡核苷酸之化合物結合之一或多種 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體。在一些實施例中，本文揭示將RNAi藥劑在活體內遞送至分泌上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種RNAi藥劑結合之一或多種 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體。在一些實施例中，本文揭示活體內抑制標靶基因於分泌上皮細胞中之表現之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種對 $\alpha v \beta 6$ 整合素具有親和力之配體結合的RNAi藥劑。

【0034】 在一些實施例中，本文揭示將基於寡核苷酸之化合物在活體內遞送至纖毛上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種基於寡核苷酸之化合物結合之一或多種 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體。在一些實施例中，本文揭示將RNAi藥劑在活體內遞送至纖毛上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種RNAi藥劑結合之一或多種 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體。在一些實施例中，本文揭示活體內抑制標靶基因於纖毛上皮細胞中之表現之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種對 $\alpha v \beta 6$ 整合素具有親和力之配體結合的RNAi藥劑。

【0035】 在一些實施例中，本文揭示將基於寡核苷酸之化合物在活

體內遞送至角膜上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種基於寡核苷酸之化合物結合之一或多種 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體。在一些實施例中，本文揭示將RNAi藥劑在活體內遞送至角膜上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種RNAi藥劑結合之一或多種 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體。在一些實施例中，本文揭示活體內抑制標靶基因於角膜上皮細胞中之表現之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種對 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素具有親和力之配體結合的RNAi藥劑。

【0036】 在一些實施例中，本文揭示將基於寡核苷酸之化合物在活體內遞送至結膜上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種基於寡核苷酸之化合物結合之一或多種 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體。在一些實施例中，本文揭示將RNAi藥劑在活體內遞送至結膜上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種RNAi藥劑結合之一或多種 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體。在一些實施例中，本文揭示活體內抑制標靶基因於結膜上皮細胞中之表現之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種對 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素具有親和力之配體結合的RNAi藥劑。

【0037】 在一些實施例中，本文揭示將基於寡核苷酸之化合物在活體內遞送至真皮上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種基於寡核苷酸之化合物結合之一或多種 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體。在一些實施例中，本文揭示將RNAi藥劑在活體內遞送至真皮上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種RNAi藥劑結合之一或多種 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體。在一些實施例中，本文揭示活體內抑制標靶基因於真皮上皮細胞中之表現之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種對 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素具有親和力之配體結合的RNAi藥劑。

【0038】 在一些實施例中，本文揭示將基於寡核苷酸之化合物在活體內遞送至膽管上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種基於寡核苷酸之化合物結合之一或多種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體。在一些實施例中，本文揭示將RNAi藥劑在活體內遞送至膽管上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種RNAi藥劑結合之一或多種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體。在一些實施例中，本文揭示活體內抑制標靶基因於膽管上皮細胞中之表現之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種對 $\alpha v\beta 6$ 整合素具有親和力之配體結合的RNAi藥劑。

【0039】 在一些實施例中，本文揭示將基於寡核苷酸之化合物在活體內遞送至腸上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種基於寡核苷酸之化合物結合之一或多種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體。在一些實施例中，本文揭示將RNAi藥劑在活體內遞送至腸上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種RNAi藥劑結合之一或多種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體。在一些實施例中，本文揭示活體內抑制標靶基因於腸上皮細胞中之表現之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種對 $\alpha v\beta 6$ 整合素具有親和力之配體結合的RNAi藥劑。

【0040】 在一些實施例中，本文揭示將基於寡核苷酸之化合物在活體內遞送至管上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種基於寡核苷酸之化合物結合之一或多種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體。在一些實施例中，本文揭示將RNAi藥劑在活體內遞送至管上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種RNAi藥劑結合之一或多種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體。在一些實施例中，本文揭示活體內抑制標靶基因於管上皮細胞中之表現之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種對 $\alpha v\beta 6$

整合素具有親和力之配體結合的RNAi藥劑。

【0041】 在一些實施例中，本文揭示將基於寡核苷酸之化合物在活體內遞送至腺上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種基於寡核苷酸之化合物結合之一或多種 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體。在一些實施例中，本文揭示將RNAi藥劑在活體內遞送至腺上皮細胞中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種RNAi藥劑結合之一或多種 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體。在一些實施例中，本文揭示活體內抑制標靶基因於腺上皮細胞中之表現之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種對 $\alpha v \beta 6$ 整合素具有親和力之配體結合的RNAi藥劑。

【0042】 在一些實施例中，本文揭示將基於寡核苷酸之化合物在活體內遞送上皮腫瘤(癌瘤)中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種基於寡核苷酸之化合物結合之一或多種 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體。在一些實施例中，本文揭示將RNAi藥劑在活體內遞送至上皮腫瘤(癌瘤)中之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種RNAi藥劑結合之一或多種 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體。在一些實施例中，本文揭示活體內抑制標靶基因於上皮腫瘤(癌瘤)中之表現之方法，其中該等方法包括向受試者投與與一或多種對 $\alpha v \beta 6$ 整合素具有親和力之配體結合的RNAi藥劑。

【0043】 除非另外定義，否則本文所用之所有除非另外定義，否則本文中所用之所有技術及科學術語均具有與本發明所屬領域中之一般技術者通常所理解相同的含義。儘管類似或等效於本文所述之彼等方法及材料可用於實踐或測試本發明，但合適的方法及材料描述如下。所有公開案、專利申請案、專利及本文所提及之其他參考案均以全文引用的方式併入本文中。在衝突之情況下，以本說明書(包括定義)為主。另外，本文所述之

材料、方法及實例僅為說明性的且並不欲作為限制性的。

【0044】自以下實施方式及申請專利範圍將顯而易見本發明之其他特點、特徵、態樣及優點。

【實施方式】

相關申請案之交叉參考

【0045】本申請案主張2017年11月1日申請之美國臨時專利申請案第62/580,398號、2018年3月22日申請之美國臨時專利申請案第62/646,739號及2018年6月1日申請之美國臨時專利申請案第62/679,549號之優先權，其中各者之內容以全文引用的方式併入本文中。

$\alpha v\beta 6$ 整合素配體。

【0046】本文描述具有血清穩定性及對整合素 $\alpha v\beta 6$ 之親和力的合成 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體。 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體可用以靶向活體外、就地、離體及/或活體內表現整合素 $\alpha v\beta 6$ 之細胞。在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體可與一或多種貨物分子結合以較佳將貨物分子引導且靶向活體外、就地、離體及/或活體內表現整合素 $\alpha v\beta 6$ 之細胞。在一些實施例中，貨物分子包括或由醫藥活性化合物組成。在一些實施例中，貨物分子包括或由諸如RNAi藥劑之基於寡核苷酸之化合物組成。在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體與貨物分子結合以將貨物分子在活體內引導至上皮細胞。

【0047】在第一態樣中，本發明提供合成 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體。

【0048】在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體包括下式之結構：

C₆烷基，且R⁶係H或C₁-C₆烷基；

R²、R^{P1}及R^{P2}各自獨立地係H、鹵基、視情況經取代之伸環烷基、視情況經取代之伸芳基、視情況經取代之伸雜環烷基或視情況經取代之伸雜芳基，或R²、R^{P1}及R^{P2}可包含與反應性基團結合之鍵聯基團；

R¹⁰係H或視情況經取代之烷基；

R¹¹係H或視情況經取代之烷基，或R¹¹及R¹連同其所連接之原子一起形成視情況經取代之雜環；

R¹²係H或視情況經取代之烷基；

各R¹³獨立地係H、視情況經取代之烷基，或R¹³包含與反應性基團結合之鍵聯基團；

R¹⁴係視情況經取代之烷基；及

其中R¹、R²、R¹³、R^{P1}及R^{P2}中之至少一者包含與反應性基團結合之鍵聯基團。

【0058】 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體可與一或多種(例如2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30；或1至30、1至25、1至20、1至15、1至10、1至5、5至30、5至25、5至20、5至15、5至10、10至30、10至25、10至20、10至15、15至30、15至25、15至20、20至30、20至25或25至30種)貨物分子(例如本文所述或此項技術中已知之貨物分子中之任一者)結合。

【0059】 在一些實施例中，多於一種本文所揭示之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體(例如2、3、4、5、6、7、8或1至8、1至7、1至6、1至5、1至4、1至3、1至2、2至8、2至7、2至6、2至5、2至4、2至3、3至8、3至7、3至6、3至

5、3至4、4至8、4至7、4至6或4至5種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體)可與一種貨物分子(例如本文所述或此項技術中已知之貨物分子中之任一者)結合。

【0060】 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體視情況經由諸如聚乙二醇(PEG)基團之鍵聯基團與一或多種貨物分子結合。

【0061】 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體視情況經由骨架與一或多種貨物分子結合，該骨架包括至少一個用於各配體之連接點及至少一個用於各貨物分子之連接點。在一些實施例中， $\alpha v\beta 6$ 整合素配體包含、由或基本上由一種貨物分子組成。在一些實施例中， $\alpha v\beta 6$ 整合素配體包含、由或基本上由多於一種貨物分子組成。

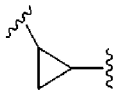
【0062】 在一些實施例中， $\alpha v\beta 6$ 整合素配體包含、由或基本上由以下中之任一者組成：結構1、結構2、結構5、結構5.1、結構5.2、結構6、結構6.1、結構6.2、結構6.3、結構6.4、結構7、結構8、結構9、結構10、結構11、結構12、結構13、結構14、結構15、結構16、結構17、結構18、結構19、結構20、結構22、結構23、結構24、結構25、結構27、結構29、結構30、結構31、結構32、結構33、結構34、結構35、結構36或結構37，各如本文所揭示。

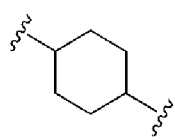
【0063】 本文所揭示之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體中之任一者可連接至貨物分子、反應性基團及/或經保護反應性基團。可使用反應性基團以有助於 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體與貨物分子之結合。本文所揭示之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體可增加貨物分子向 $\alpha v\beta 6$ 整合素或向表現 $\alpha v\beta 6$ 整合素之細胞的標靶。貨物分子可為(但不限於)醫藥活性成分或化合物、前藥或具有已知治療或診斷益處之另一物質。在一些實施例中，貨物分子可為(但不限於)小分子、抗體、抗體片段、免疫球蛋白、單株抗體、標籤或標記物、脂質、基於天然或經

修飾之寡核苷酸之化合物(例如反義股寡核苷酸或RNAi藥劑)、天然或經修飾之核酸、肽、適體、聚合物、多元胺、蛋白質、毒素、維生素、聚乙二醇、半抗原、地高辛、生物素、放射性原子或分子或螢光團。在一些實施例中，貨物分子包括醫藥活性成分或前藥。在一些實施例中，貨物分子包括基於寡核苷酸之化合物作為醫藥活性成分。在一些實施例中，貨物分子包括RNAi藥劑作為醫藥活性成分。

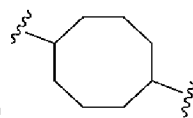
【0064】 如本文所使用，術語「烷基」係指除非另外規定，否則具有1至10個碳原子之直鏈或支鏈飽和脂族烴基。舉例而言，「C₁-C₆烷基」包括具有以直鏈或支鏈排列之1、2、3、4、5或6個碳之烷基。烷基之非限制性實例包括甲基、乙基、異丙基、第三丁基、正己基。如本文所使用，術語「胺基烷基」係指如由正常原子價所允許在任何位置經一或多個胺基取代之如上文所定義之烷基。胺基可未經取代、經單取代或經二取代。胺基烷基之非限制性實例包括胺基甲基、二甲胺基甲基及2-胺基丙-1-基。

【0065】 如本文所使用，術語「環烷基」意謂除非另外規定，否則具有3至14個碳原子之飽和或不飽和非芳族烴環基團。環烷基之非限制性實例包括(但不限於)環丙基、甲基-環丙基、2,2-二甲基-環丁基、2-乙基-環戊基及環己基。環烷基可包括多個螺環或稠合環。環烷基視情況如由正常原子價所允許在任何位置經單、二、三、四或五取代。

【0066】 如本文所使用，術語「伸環烷基」係指如本文所述之環烷基之二價基團。伸環烷基係環烷基之亞類，係指與環烷基相同但具有兩個取代點之基團。伸環烷基之實例包括伸環丙基 、1,4-伸環己基



及1,5-伸環辛基(1,5-cyclooxylene)



。環伸烷基視情況如由正常原子價所允許在任何位置經單、二、三、四或五取代。環伸烷基可為單、二或三環的。

【0067】 如本文所使用，術語「烯基」係指除非另外規定，否則含有至少一個碳碳雙鍵且具有2至10個碳原子之直鏈或支鏈非芳族烴基。至多五個碳-碳雙鍵可存在於此類基團中。舉例而言，「C₂-C₆」烯基定義為具有2至6個碳原子之烯基。烯基之實例包括(但不限於)乙烯基、丙烯基、丁烯基及環己烯基。烯基之直鏈、支鏈或環狀部分可含有雙鍵且視情況如由正常原子價所允許在任何位置經單、二、三、四或五取代。術語「環烯基」意謂具有特定數目之碳原子及至少一個碳碳雙鍵之單環烴基。

【0068】 如本文所使用，術語「炔基」係指除非另外規定，否則含有2至10個碳原子且含有至少一個碳-碳參鍵之直鏈或支鏈烴基。可存在至多5個碳-碳參鍵。因此，「C₂-C₆炔基」意謂具有2至6個碳原子之炔基。炔基之實例包括(但不限於)乙炔基、2-丙炔基及2-丁炔基。炔基之直鏈或支鏈部分可視情況如由正常原子價所允許在任何位置經單、二、三、四或五取代。

【0069】 如本文所使用，「烷氧基」或「烷氧基」係指具有指定數目之碳原子的-O-烷基。舉例而言，C₁₋₆烷氧基意欲包括C₁、C₂、C₃、C₄、C₅及C₆烷氧基。舉例而言，C₁₋₈烷氧基意欲包括C₁、C₂、C₃、C₄、C₅、C₆、C₇及C₈烷氧基。烷氧基之實例包括(但不限於)甲氧基、乙氧基、正丙氧基、異丙氧基、正丁氧基、第二丁氧基、第三丁氧基、正戊氧基、第二戊氧基、正庚氧基及正辛氧基。

【0070】 如本文所使用，「酮基」係指經由羰基橋鍵連接之任何如

第 21 頁(發明說明書)

本文所定義之烷基、烯基、炔基、環烷基、環烯基、雜環基、雜芳基或芳基。酮基之實例包括(但不限於)烷醯基(例如乙醯基、丙醯基、丁醯基、戊醯基或己醯基)、烯醯基(例如丙烯醯基)、炔醯基(例如乙炔醯基、丙炔醯基、丁炔醯基、戊炔醯基或己炔醯基)、芳醯基(例如苯甲醯基)、雜芳醯基(例如吡咯醯基、咪唑醯基、喹啉醯基或吡啶醯基)。

【0071】 如本文所使用，「烷氧羰基」係指經由羰基橋鍵連接之任何如上文所定義之烷氧基(亦即-C(O)O-烷基)。烷氧羰基之實例包括(但不限於)甲氧羰基、乙氧羰基、丙氧羰基、異丙氧羰基、正丙氧羰基、第三丁氧羰基、苯甲氧羰基或正戊氧羰基。

【0072】 如本文所使用，「芳氧羰基」係指經由氧基羰基橋鍵連接之如本文所定義之任何芳基(亦即，-C(O)O-芳基)。芳氧羰基之實例包括(但不限於)苯氧羰基及萘氧羰基。

【0073】 如本文所使用，術語「雜芳氧羰基」係指經由氧基羰基橋鍵連接之任何如本文中所定義之雜芳基(亦即-C(O)O-雜芳基)。雜芳氧羰基之實例包括(但不限於)2-吡啶氧基羰基、2-噁唑氧基羰基、4-噻唑氧基羰基或嘧啶氧基羰基。

【0074】 如本文所使用，「芳基」或「芳族」意謂各環中具有至多6個原子之任何穩定單環或多環碳環，其中至少一個環係芳族環。芳基之實例包括(但不限於)苯基、萘基、蒽基、四氫萘基、二氫茚基及聯二苯。在芳基取代基係雙環且一個環係非芳族環之情況下，應瞭解連接係經由芳族環。芳基視情況如由正常原子價所允許在任何位置經單、二、三、四或五取代。

【0075】 如本文所使用，術語「伸芳基」係指如本文所述之芳基之

二價基團。伸芳基係芳基之亞類，係指與芳基相同但具有兩個取代點之基團。伸芳基之實例包括伸苯基，其係指二價苯基。伸芳基視情況如由正常原子價所允許在任何位置經單、二、三、四或五取代。

【0076】如本文所使用，術語「鹵基」係指鹵素基團。舉例而言，「鹵基」可指氟(F)、氯(Cl)、溴(Br)或碘(I)基團。

【0077】如本文所使用，術語「雜芳基」表示各環中具有至多7個原子之穩定單環或多環，其中至少一個環係芳族環且含有1至4個選自由O、N及S組成之群的雜原子。雜芳基之實例包括(但不限於)吡啶基、呋喃基、噻吩基、噁吩基、噻嗪基、噻唑基、吡唑基、咪唑基、吲哚基、苯并三唑基、呋喃基、噻吩基、苯并噻吩基、苯并呋喃基、苯并咪唑酮基、苯并噁唑酮基、喹啉基、異喹啉基、二氫異吲哚酮基、咪唑并吡啶基、異吲哚酮基、吲哚基、噁唑基、噁二唑基、異噁唑基、吲哚基、吡嗪基、噻嗪基、吡啶基、嘧啶基、吡咯基及四氫喹啉。亦瞭解，「雜芳基」包括任何含氮雜芳基之N-氧化物衍生物。在雜芳基取代基係雙環且一個環係非芳族環或不合雜原子之情況下，應瞭解連接係經由芳族環或經由含雜原子環。雜芳基視情況如由正常原子價所允許在任何位置經單、二、三、四或五取代。

【0078】如本文所使用，術語「伸雜芳基」係指如本文所述之雜芳基之二價基團。伸雜芳基係雜芳基之亞類，係指與雜芳基相同但具有兩個取代點之基團。雜芳基之實例包括伸吡啶基、伸嘧啶基及伸吡咯基。伸雜芳基視情況如由正常原子價所允許在任何位置經單、二、三、四或五取代。

【0079】如本文所使用，術語「雜環(heterocycle)」、「雜環(heterocyclic)」或「雜環基(heterocyclyl)」意謂含有1至4選自由O、N及

S組成之群的雜原子之3至14員芳族或非芳族雜環，包括多環基團。如本文所使用，術語「雜環(heterocyclic)」亦視為與術語「雜環(heterocycle)」及「雜環基(heterocyclyl)」同義，且亦理解為具有本文所闡述之相同定義。「雜環基」包括上文所提及之雜芳基以及其二氫及四氫類似物。雜環基之實例包括(但不限於)氮雜環丁烷基、苯并咪唑基、苯并呋喃基、苯并呋嗪基、苯并吡唑基、苯并三唑基、苯并噻吩基、苯并噁唑基、卞唑基、卞啉基、噌啉基、呋喃基、咪唑基、吲哚啉基、吲哚基、吲哚嗪基、吲唑基、異苯并呋喃基、異吲哚基、異喹啉基、異噻唑基、異噁唑基、萘吡啶基、噁二唑基、側氧基噁唑啉基、噁唑基、噁唑啉、側氧基哌嗪基、側氧基吡咯啉基、側氧基嗎啉基、異噁唑啉、氧雜環丁烷基、哌喃基、吡嗪基、吡唑基、噻嗪基、吡啶并吡啶基、噻嗪基、吡啶基、吡啶酮基、嘧啶基、嘧啶酮基、吡咯基、喹啉基、喹啉基、喹啉基、四氫哌喃基、四氫呋喃基、四氫硫哌喃基、四氫異喹啉基、四唑基、四唑並吡啶基、噻二唑基、噻唑基、噻吩基、三唑基、1,4-二氧雜環己烷基、六氫氮雜卓基、哌嗪基、哌啶基、吡啶-2-酮基、吡咯啉基、嗎啉基、硫代嗎啉基、二氫苯并咪唑基、二氫苯并呋喃基、二氫苯并噻吩基、二氫苯并噁唑基、二氫呋喃基、二氫咪唑基、二氫吲哚基、二氫異噁唑基、二氫異噻唑基、二氫噁二唑基、二氫噁唑基、二氫吡嗪基、二氫吡唑基、二氫吡啶基、二氫嘧啶基、二氫吡咯基、二氫喹啉基、二氫四唑基、二氫噻二唑基、二氫噻唑基、二氫噻吩基、二氫三唑基、二氫氮雜環丁烷基、二氧離子基硫代嗎啉基、亞甲基二氧基苯甲醯基、四氫呋喃基及四氫噻吩基、及其N-氧化物。雜環基取代基之連接可經由碳原子或經由雜原子進行。雜環基視情況如由正常原子價所允許在任何位置經單、二、三、四或五取代。

【0080】 如本文所使用，術語「雜環烷基」意謂含有1至4個選自由O、N及S組成之群的雜原子之3至14員非芳族雜環，包括多環基團。雜環基之實例包括(但不限於)氮雜環丁烷基、側氧基哌嗪基、側氧基吡咯啉基、側氧基嗎啉基、氧雜環丁烷基、哌喃基、吡啶酮基、嘧啶酮基、四氫哌喃基、四氫呋喃基、四氫硫哌喃基、四氫異喹啉基、1,4-二氧雜環己烷基、六氫氮雜卓基、哌嗪基、哌啶基、吡咯啉基、嗎啉基、硫代嗎啉基、二氫呋喃基、二氫咪唑基、二氫異噁唑基、二氫異噻唑基、二氫噁二唑基、二氫噁唑基、二氫吡嗪基、二氫吡唑基、二氫吡啶基、二氫嘧啶基、二氫吡咯基、二氫四唑基、二氫噻二唑基、二氫噻唑基、二氫噻吩基、二氫三唑基、二氧離子基硫代嗎啉基及四氫噻吩基、及其N-氧化物。雜環烷基取代基之連接可經由碳原子或經由雜原子進行。雜環基視情況如由正常原子價所允許在任何位置經單、二、三、四或五取代。

【0081】 如本文所使用，術語「伸雜環烷基」係指如本文所述之雜環烷基之二價基團。伸雜環烷基係雜環烷基之亞類，係指與雜環烷基相同但具有兩個取代點之基團。伸雜環烷基之實例包括伸哌啶基、伸吡啶基及伸四氫呋喃基。伸雜環烷基視情況如由正常原子價所允許在任何位置經單、二、三、四或五取代。

【0082】 如本文所使用，術語「治療(treat)」、「治療(treatment)」及其類似術語意謂用於提供受試者疾病之一或多種症狀之發生次數、嚴重程度及/或發生頻率的減輕或緩解之方法或步驟。如本文所使用，「治療(treat)」及「治療(treatment)」可包括受試者疾病之一或多種症狀之發生次數、嚴重程度及/或發生頻率的預防、管理、預防性治療及/或抑制。

【0083】 如本文所使用，當提及RNAi藥劑時，「向細胞中引入」一

詞意謂將RNAi藥劑功能性傳遞至細胞中。「功能性傳遞」一詞意謂以使RNAi藥劑能夠具有預期生物活性(例如序列特異性抑制基因表現)的方式將RNAi藥劑傳遞至細胞。

【0084】 除非另外說明，否則使用如本文所用之符號意謂根據本文所述之發明之範疇任何基團可與其連接。

【0085】 如本文所使用，術語「異構體」係指具有相同分子式，但在性質或其原子結合序列或空間中其原子之排列方面不同的化合物。原子空間排列不同之異構體稱為「立體異構體」。彼此不為鏡像之立體異構體稱為「非對映異構體」且不重疊鏡像之立體異構體稱為「對映異構體」或有時稱為光學異構體。結合於四個不相同取代基之碳原子稱為「對掌性中心」。當本文所述之化合物含有烯系雙鍵或異構結構並非特定定義之具有幾何不對稱性之其他中心時，化合物可意欲包括個別E與Z幾何異構體或混合物。舉例而言，式I化合物或其醫藥學上可接受之鹽意謂包括所有可能的異構體以及其外消旋及光學純形式。同樣，除非另外明確說明，否則亦意欲包括所有互變異構形式。

【0086】 如本文所使用，鍵聯基團係使一個分子或分子之一部分連接至另一至第二分子或分子之第二部分的一或多個原子。在此項技術中，術語鍵聯基團及間隔子有時可互換使用。類似地，如此項技術中所用，術語骨架有時可與鍵聯基團互換使用。在一些實施例中，鍵聯基團可包括肽可裂解鍵聯基團。在一些實施例中，鍵聯基團可包括或由肽苯丙胺酸-瓜胺酸-苯丙胺酸-脯胺酸組成。在一些實施例中，鍵聯基團可包括或由PEG基團組成。

【0087】 如本文所使用，術語「連接」當指兩個分子之間的連接時

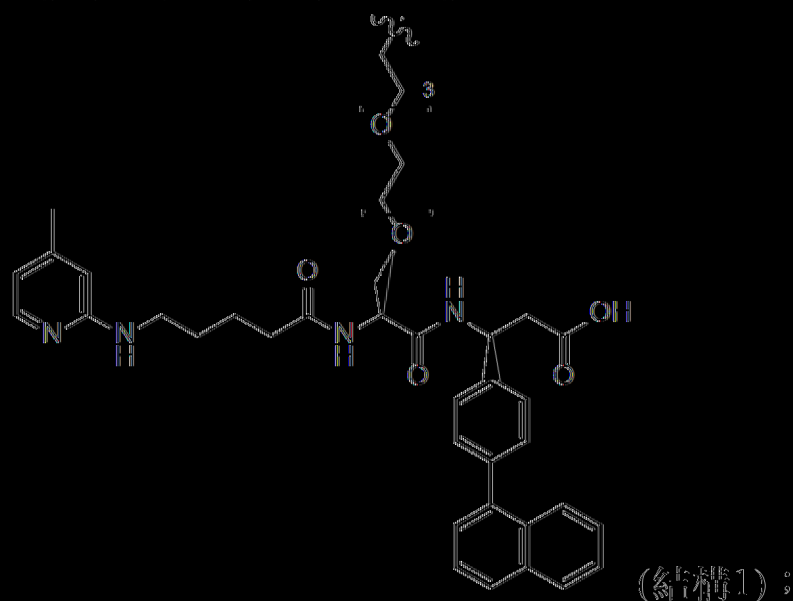
專利範圍中使用時，「基本上由……組成」一詞將申請專利範圍之範疇限制於指定物質或步驟及實質上不影響所主張發明之基礎及新穎特徵的物質或步驟。

[(0091)] 本文描述使用所述 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體以將貨物分子標靶且遞送至表現 $\alpha v \beta 6$ 整合素之細胞。貨物分子可在活體外、就地、離體或活體內遞送至細胞。

[(0092)] 在式1b之一些實施例中，鍵聯基團係含有2至20個乙二醇單元之PEG基團。

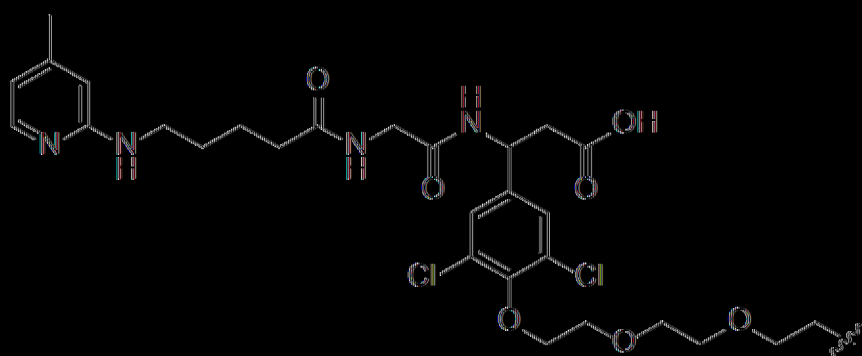
[(0093)] 在式1b之一些實施例中，反應性基團係疊氮基。

[(0094)] 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體具有包括、由或基本上由以下表示之結構中之任一者組成之結構：





(結語2) 6
9



(細清) 9

(結構 5.1) 9

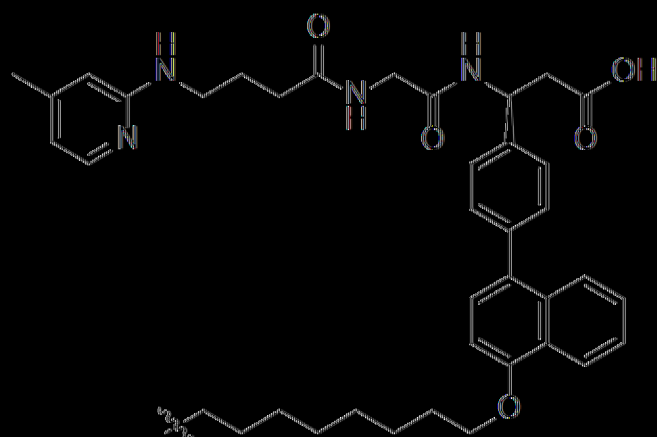
(糸巻5.2) 9



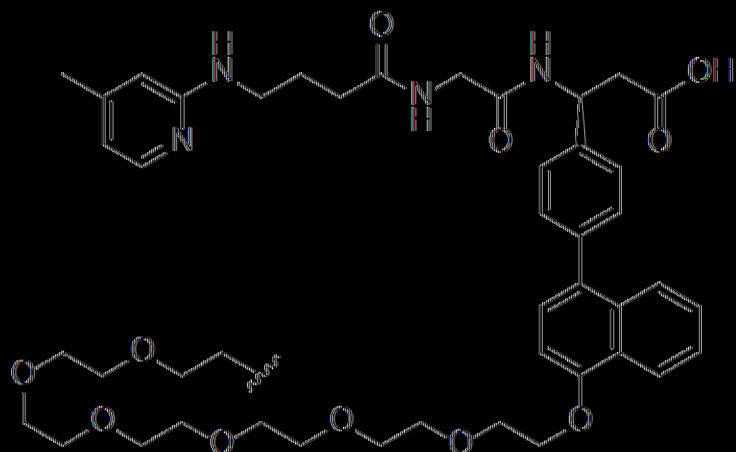
(結構6)；



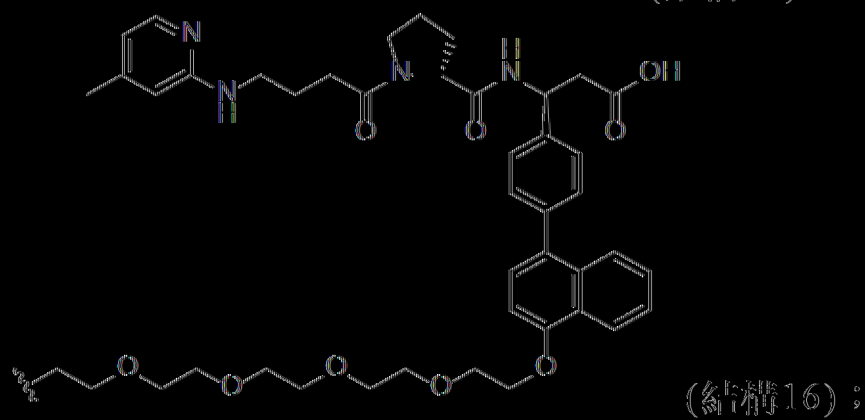
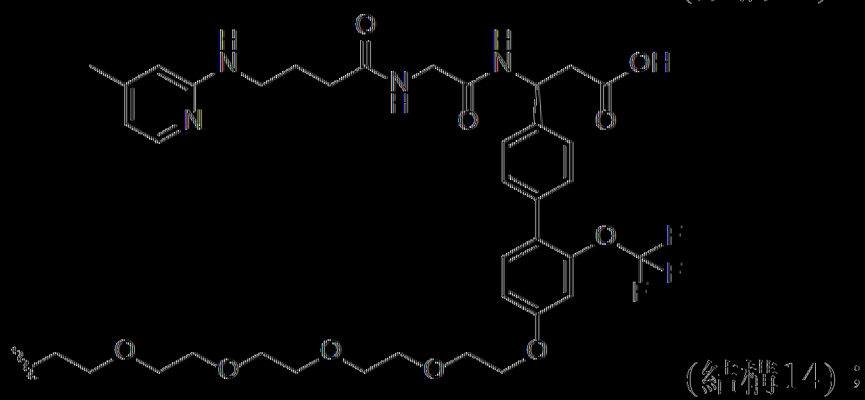
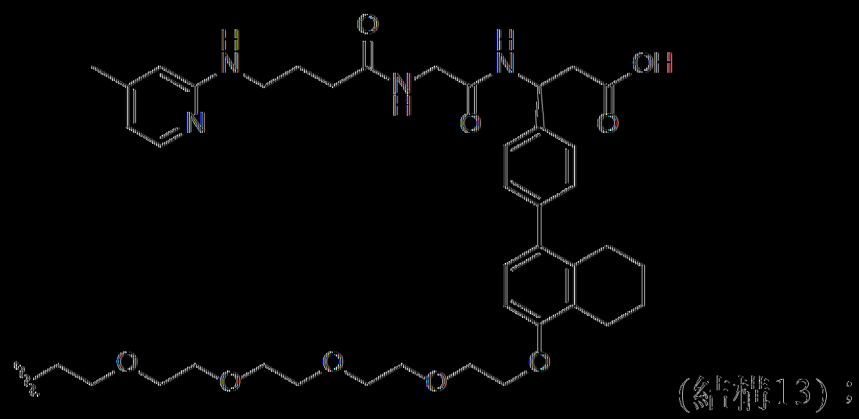
(結構6.1)；

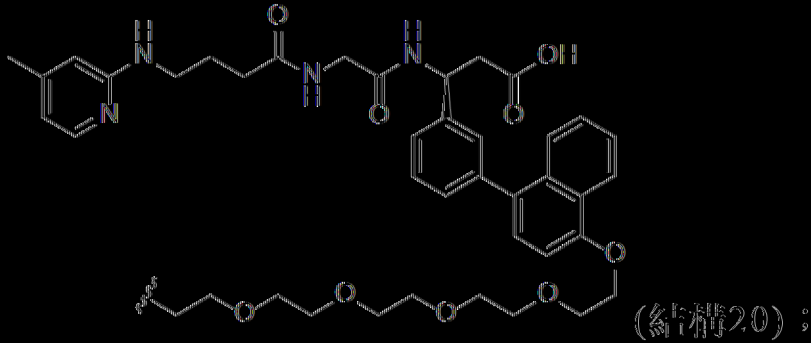
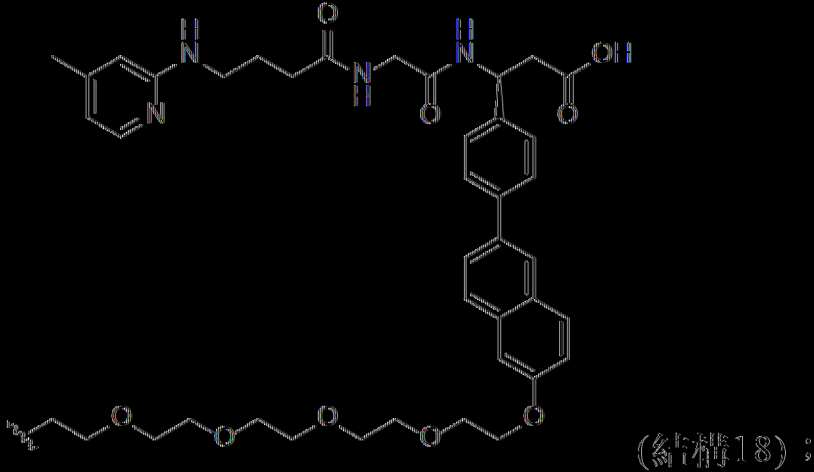
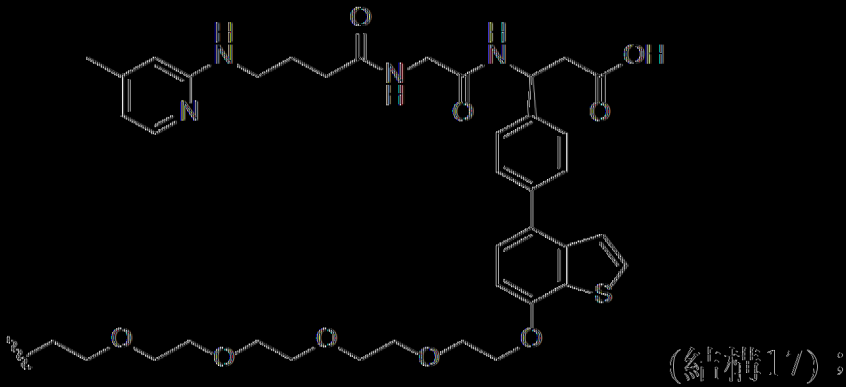


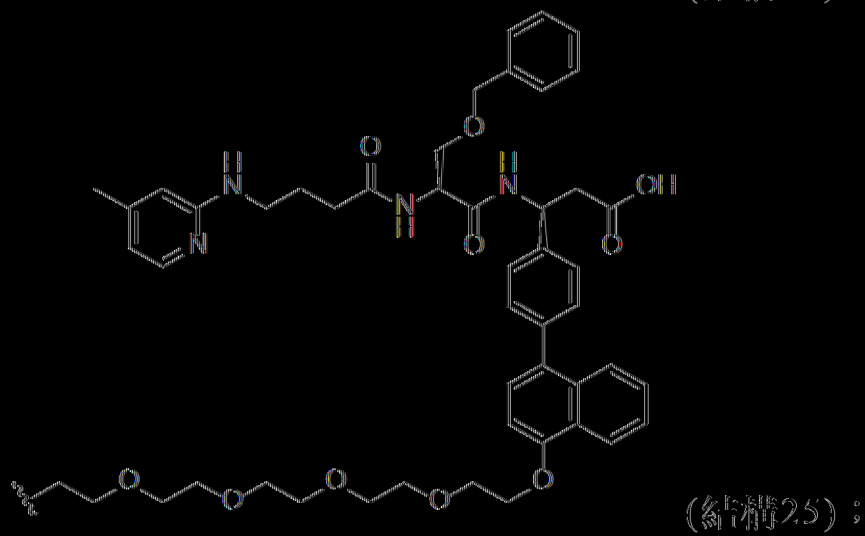
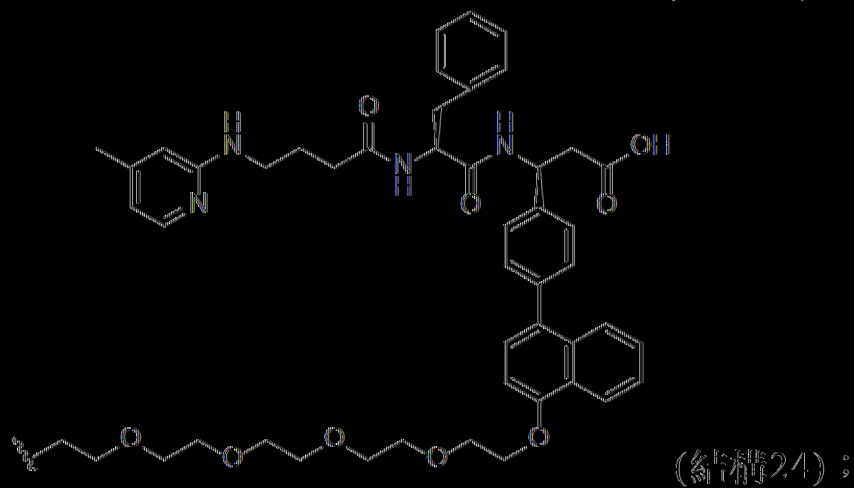
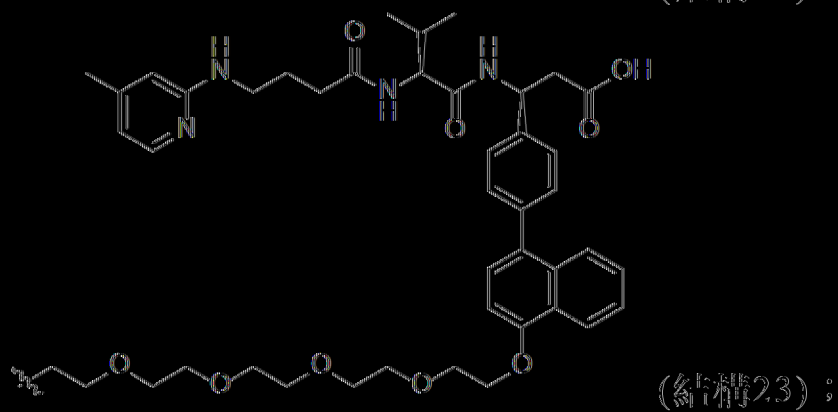
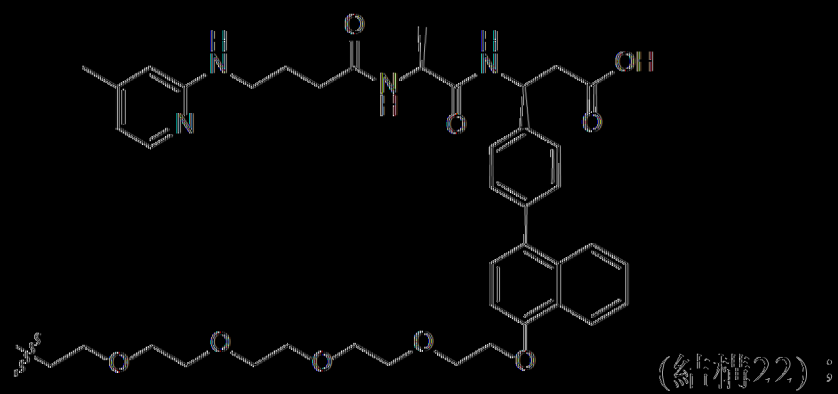
(結構6.2)；

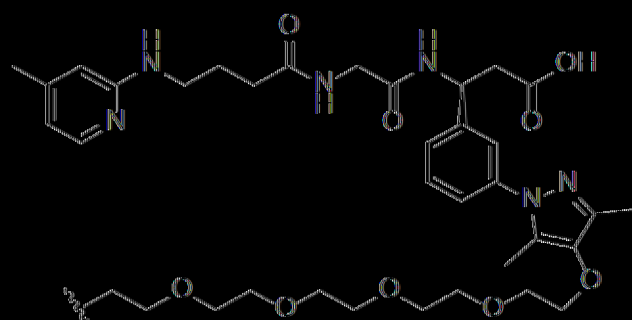


(結構6.3)；

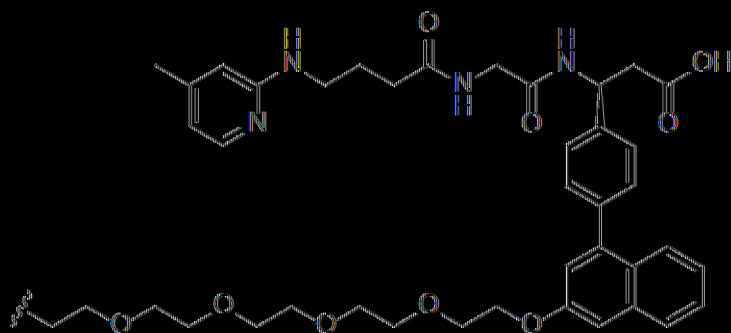




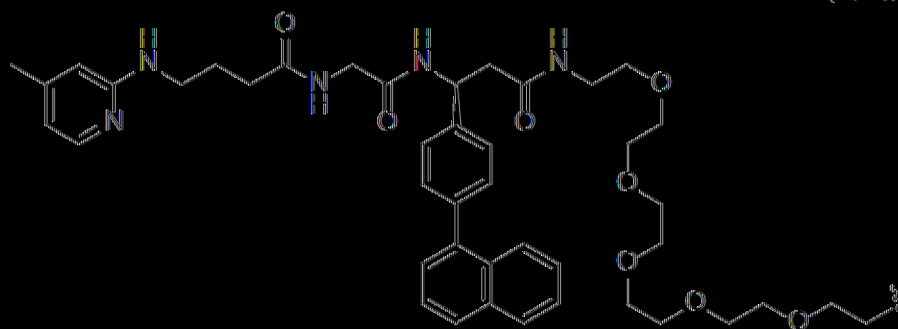




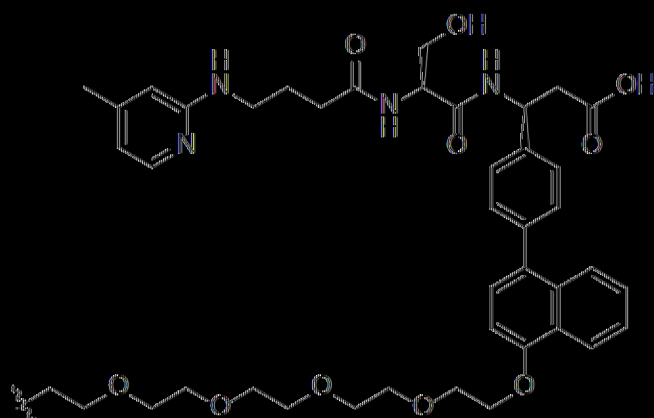
(結構27)；



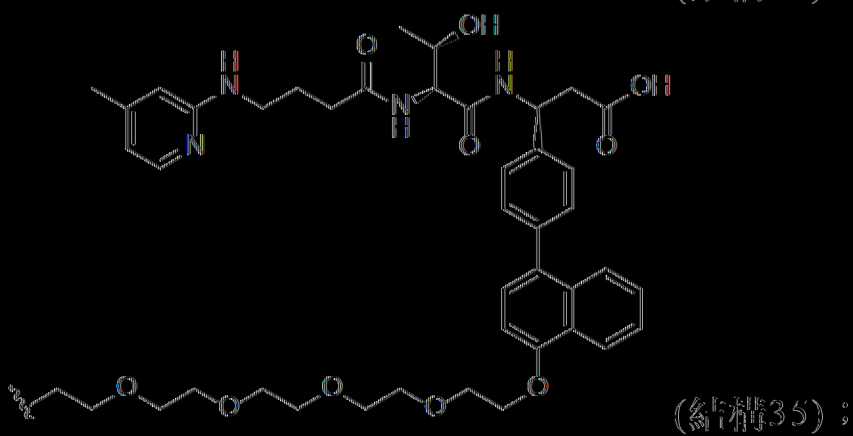
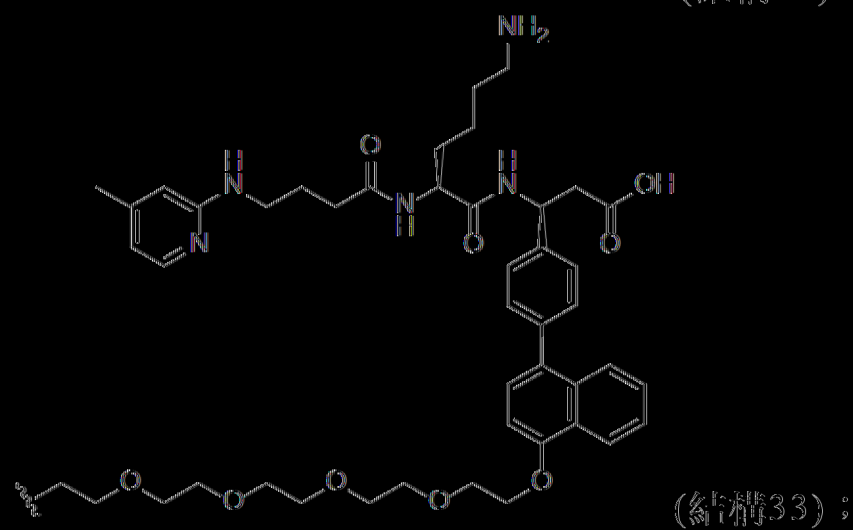
(結構29)；



(結構30)；



(結構31)；



5、3至4、4至8、4至7、4至6或4至5種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體)可與一種貨物分子(例如本文所述或此項技術中已知之貨物分子中之任一者)結合。

【0097】 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體視情況經由諸如聚乙二醇(PEG)基團之鍵聯基團與一或多種貨物分子結合。

【0098】 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體視情況經由骨架與一或多種貨物分子結合，該骨架包括至少一個用於各配體之連接點及至少一個用於各貨物分子之連接點。在一些實施例中， $\alpha v\beta 6$ 整合素配體包含、由或基本上由一種貨物分子組成。在一些實施例中， $\alpha v\beta 6$ 整合素配體包含、由或基本上由多於一種貨物分子組成。

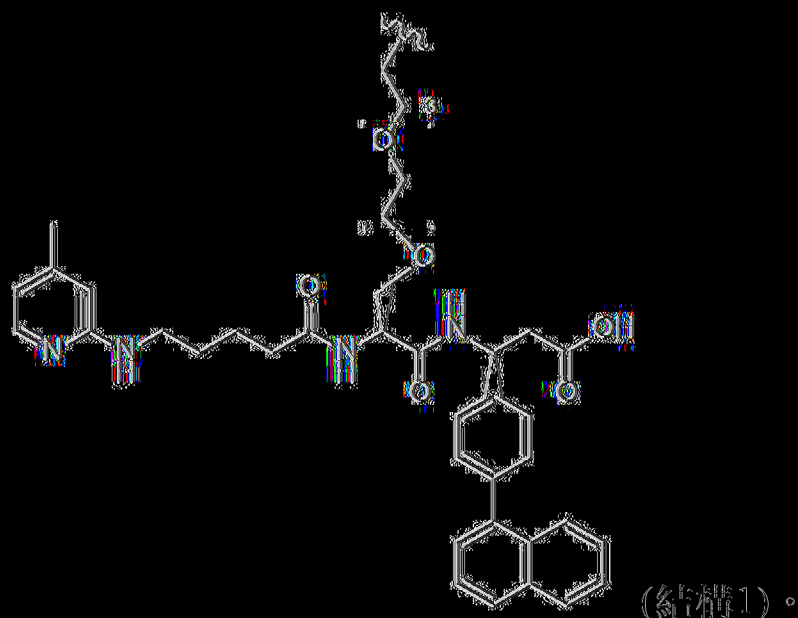
【0099】 在一些實施例中， $\alpha v\beta 6$ 整合素配體包含、由或基本上由以下中之任一者組成：結構1、結構2、結構5、結構5.1、結構5.2、結構6、結構6.1、結構6.2、結構6.3、結構6.4、結構7、結構8、結構9、結構10、結構11、結構12、結構13、結構14、結構15、結構16、結構17、結構18、結構19、結構20、結構22、結構23、結構24、結構25、結構27、結構29、結構30、結構31、結構32、結構33、結構34、結構35、結構36或結構37，各如本文所揭示。

【0100】 本文所揭示之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體中之任一者可連接至貨物分子、反應性基團及/或經保護反應性基團。可使用反應性基團以有助於 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體與貨物分子之結合。本文所揭示之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體可增加貨物分子向 $\alpha v\beta 6$ 整合素或向表現 $\alpha v\beta 6$ 整合素之細胞的標靶。貨物分子可為(但不限於)醫藥活性成分或化合物、前藥或具有已知治療益處之另一物質。在一些實施例中，貨物分子可為(但不限於)小分子、抗體、抗體片段、免疫球蛋白、單株抗體、標籤或標記物、脂質、基於天然或經修飾之

寡核苷酸之化合物(例如反義股寡核苷酸或RNAi藥劑)、天然或經修飾之核酸、肽、適體、聚合物、多元胺、蛋白質、毒素、維生素、聚乙二醇、半抗原、地高辛、生物素、放射性原子或分子或螢光團。在一些實施例中，貨物分子包括醫藥活性成分或前藥。在一些實施例中，貨物分子包括基於寡核苷酸之化合物作為醫藥活性成分。在一些實施例中，貨物分子包括RNAi藥劑作為醫藥活性成分。

[0101] 在一個態樣中，本發明提供一種包含如本文所述之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體、鍵聯基團及骨架之結構，其中該骨架與貨物分子結合。在一些實施例中，結構可包括呈單牙形式之配體。在一些實施例中，結構可包括呈雙牙形式之配體。在一些實施例中，結構可包括呈三牙形式之配體。在一些實施例中，結構可包括呈四牙形式之配體。

[0102] 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體包含以下結構：



[0103] 在一些實施例中，結構1之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體連接至一或多種貨物分子(例如RNAi藥劑)。

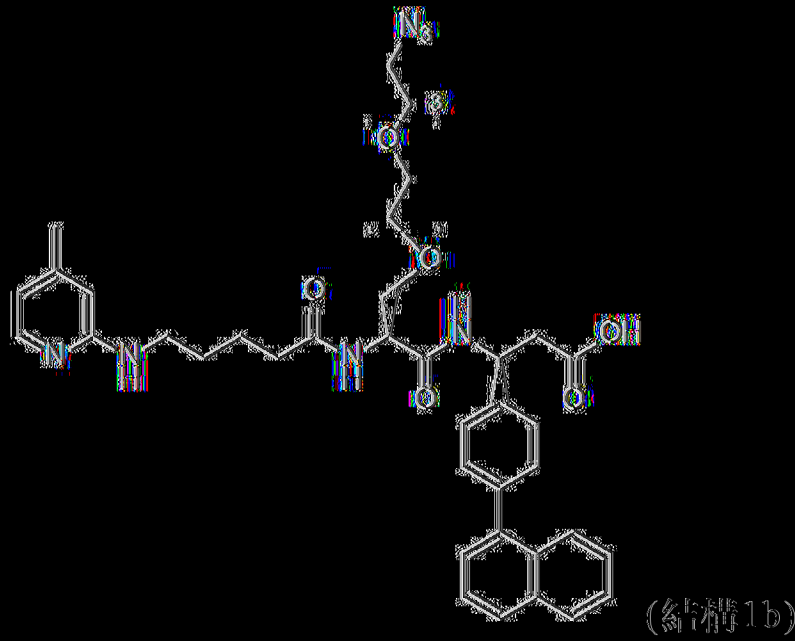
[0104] 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體可經合成以包括反應性

基團、經保護反應性基團或貨物分子，且包含以下結構：

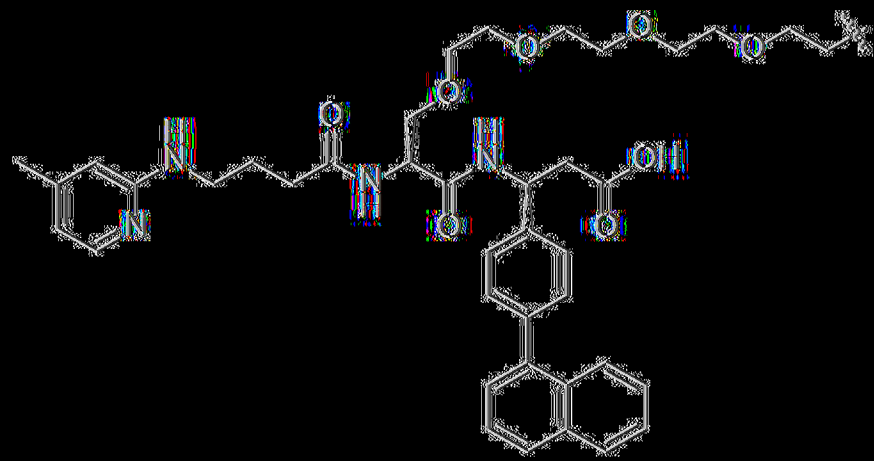


其中X包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子(例如RNAi藥劑)。

[0105] 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體可經合成以包括聚乙二醇(PEG)-疊氨基反應性基團，且包含以下結構：



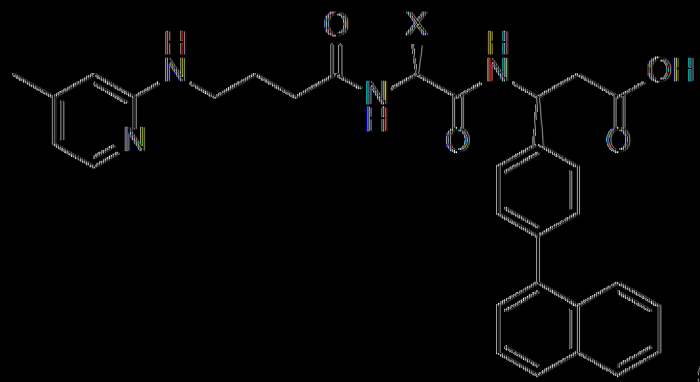
[0106] 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體包含以下結構：



(結構2)

[0107] 在一些實施例中，結構2之 $\alpha\text{v}\beta6$ 整合素配體連接至一或多種貨物分子(例如RNAi藥劑)。

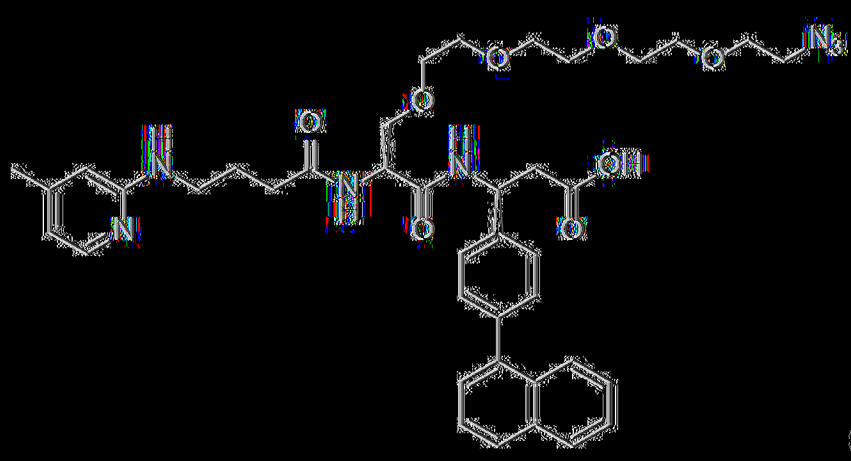
[0108] 在一些實施例中， $\alpha\text{v}\beta6$ 整合素配體可經合成以包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子，且包含以下結構：



(結構2a)，

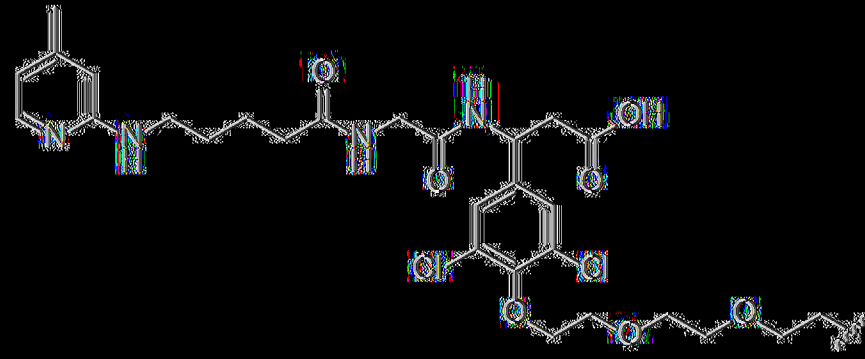
其中X包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子(例如RNAi藥劑)。

[0109] 在一些實施例中， $\alpha\text{v}\beta6$ 整合素配體可經合成以包括聚乙二醇(PEG)-胺基反應性基團，且包含以下結構：



(結構2b)。

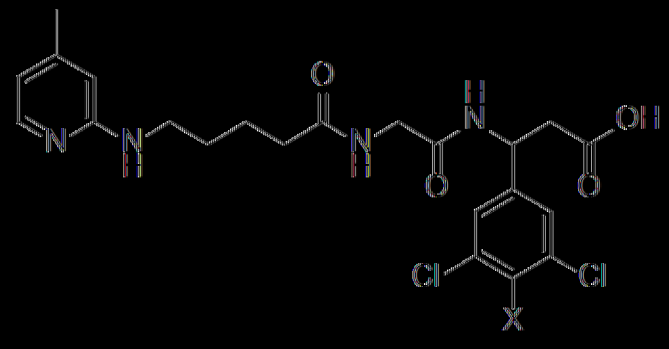
[0110] 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體可經合成以包括聚乙二醇(PEG)-疊氨基反應性基團，且包含以下結構：



(結構5)

[0111] 在一些實施例中，結構5之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體連接至一或多種貨物分子(例如RNAi藥劑)。

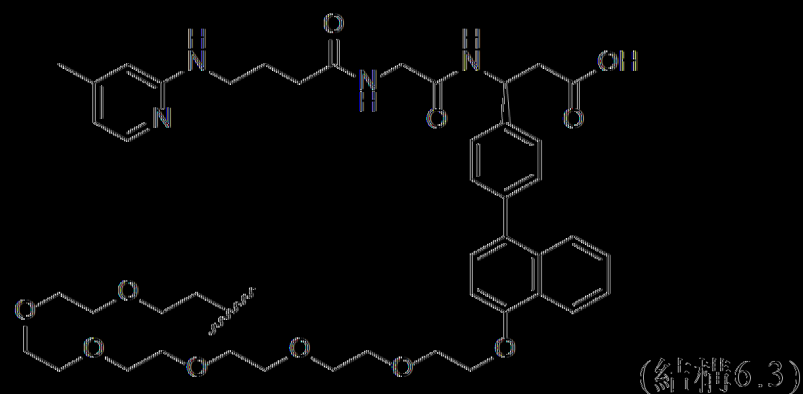
[0112] 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體可經合成以包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子，且包含以下結構：



(結構5a)，

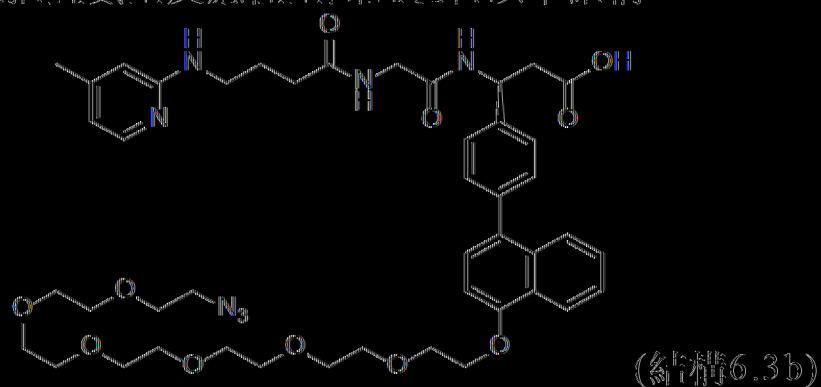
其中X包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子(例如RNAi藥劑)。

[0113] 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體可經合成以包括聚乙二醇



[0133] 在一些實施例中，結構6.3之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體連接至一或多種貨物分子(例如RNAi藥劑)。

[0134] 在一些實施例中， $\alpha v\beta 6$ 整合素配體可經合成以包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子。在一些實施例中， $\alpha v\beta 6$ 整合素配體可經合成以包括疊氮基反應性基團且包含以下結構：

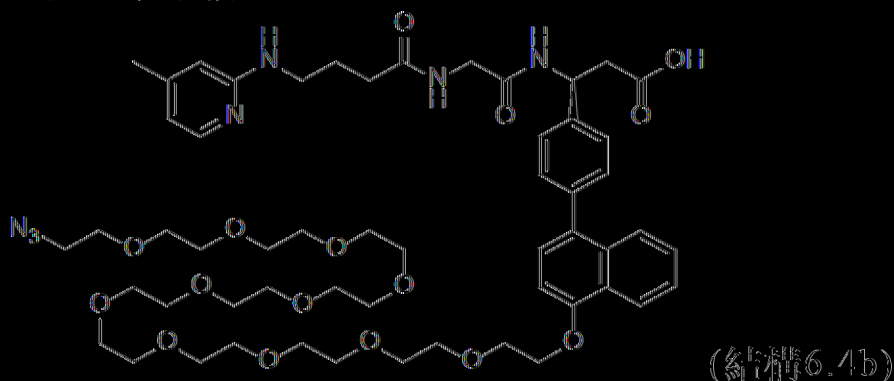


[0135] 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體包含以下結構：



[0136] 在一些實施例中，結構6.4之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體連接至一或多種貨物分子(例如RNAi藥劑)。

〔0137〕 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體可經合成以包括帶氨基反應性基團且包含以下結構：

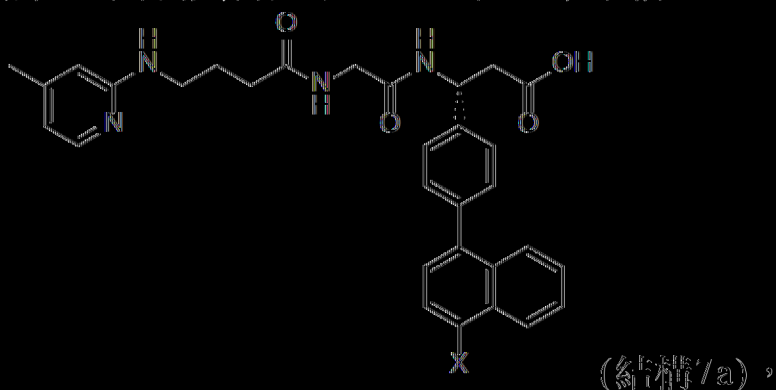


〔0138〕 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體包含以下結構：



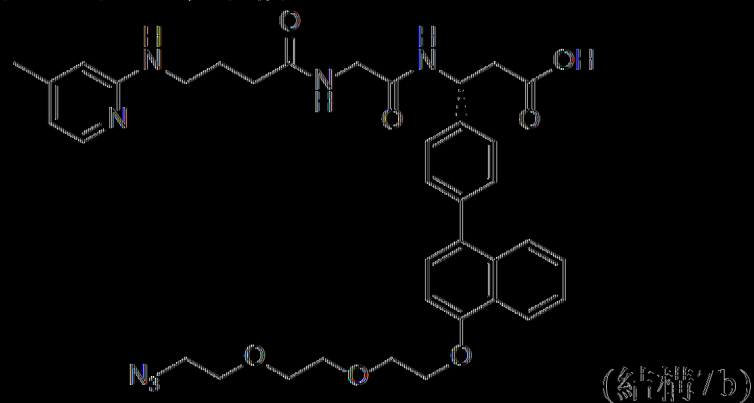
〔0139〕 在一些實施例中，結構7之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體連接至一或多種貨物分子(例如RNAi藥劑)。

〔0140〕 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體可經合成以包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子，且包含以下結構：

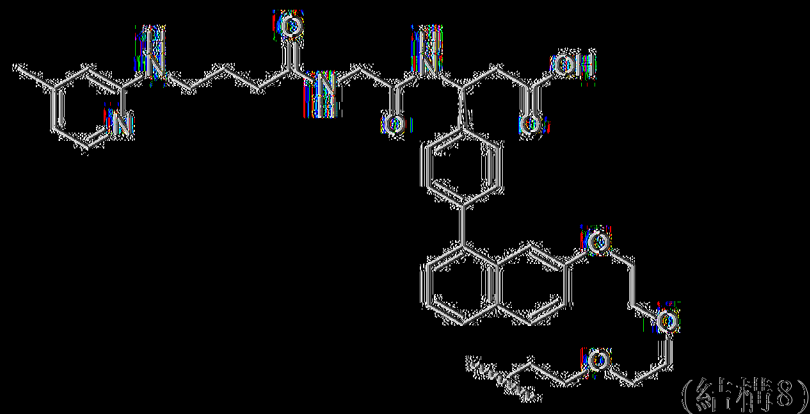


其中X包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子(例如RNAi藥劑)。

[0141] 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體可經合成以包括PEG-疊氮基反應性基團且包含以下結構：

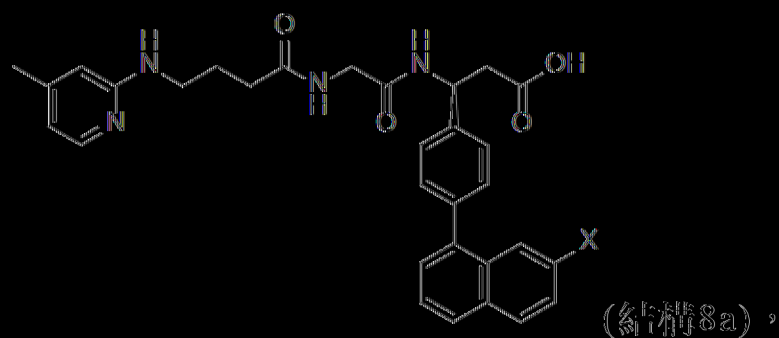


[0142] 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體包含以下結構：



[0143] 在一些實施例中，結構8之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體連接至一或多種貨物分子(例如RNAi藥劑)。

[0144] 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體可經合成以包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子，且包含以下結構：

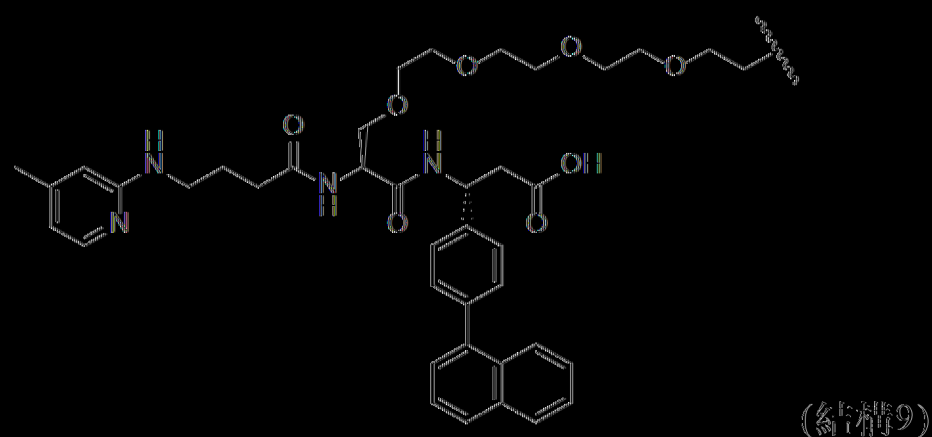


其中X包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子(例如RNAi藥劑)。

[0145] 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體可經合成以包括PEG-疊氮基反應性基團且包含以下結構：



[0146] 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體包含以下結構：

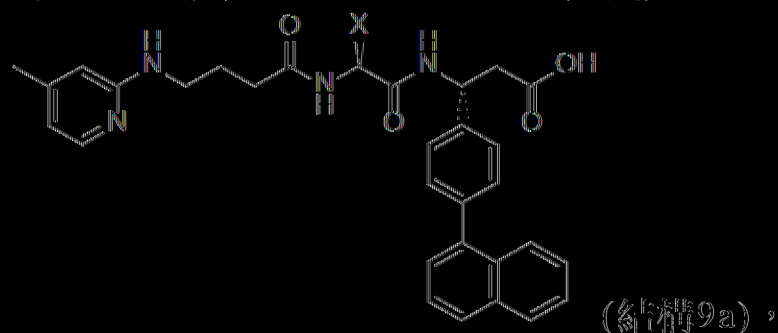


[0147] 在一些實施例中，結構9之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體連接至一或多種貨物分子(例如RNAi藥劑)。

[0148] 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體可經合成以包括反應性

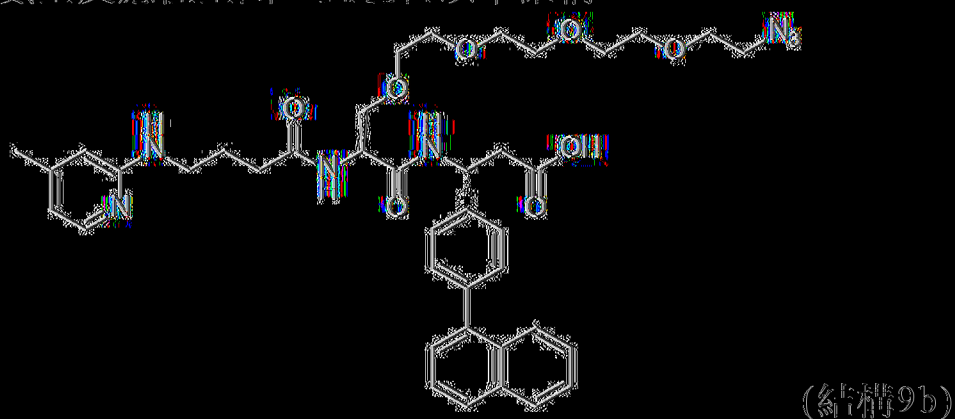
第 52 頁(發明說明書)

基團、經保護反應性基團或貨物分子，且包含以下結構：



其中X包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子(例如RNAi藥劑)。

[0149] 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體可經合成以包括聚乙二醇(PEG)-疊氮基反應性基團，且包含以下結構：

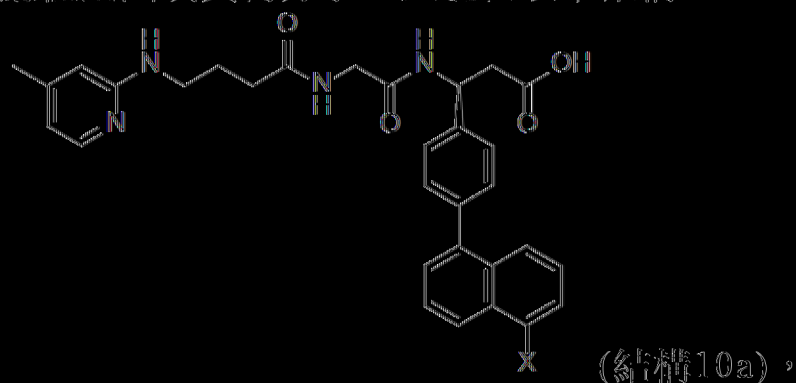


[0150] 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體包含以下結構：



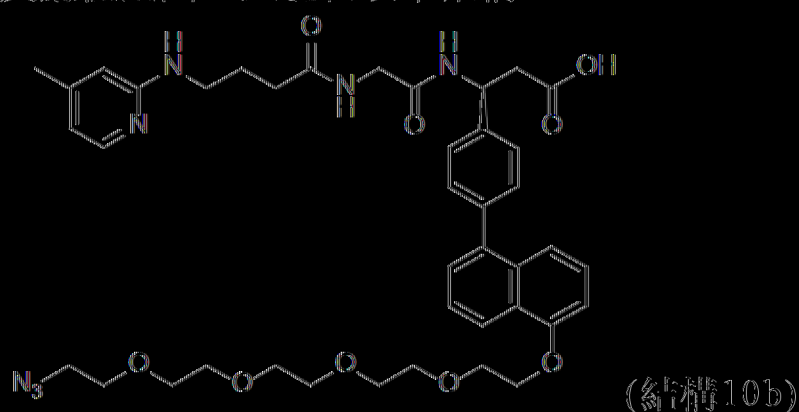
[0151] 在一些實施例中，結構10之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體連接至一或多種貨物分子(例如RNAi藥劑)。

[(0152)] 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體可經合成以包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子，且包含以下結構：



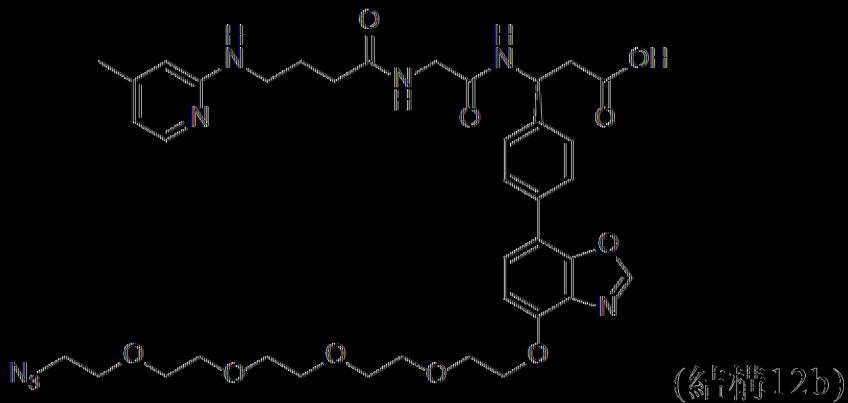
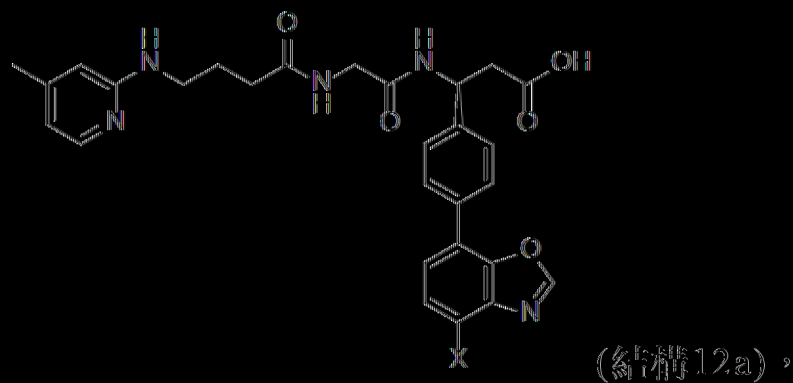
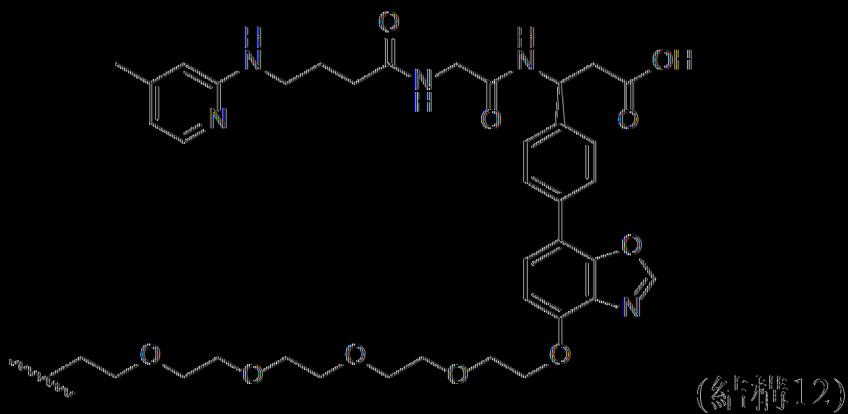
其中X包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子(例如RNAi藥劑)。

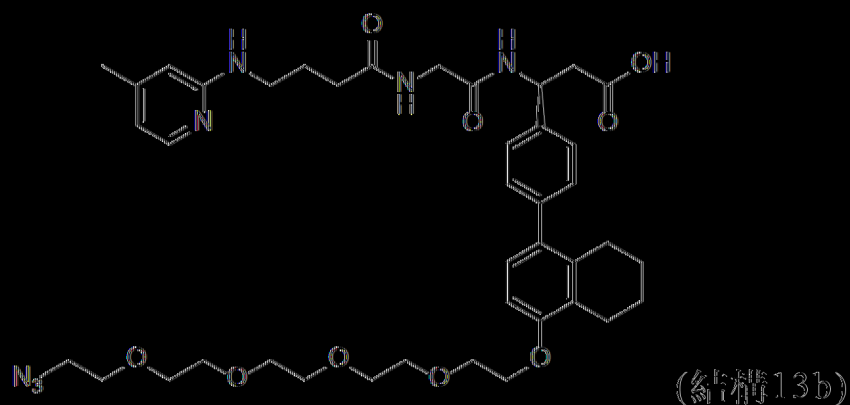
[(0153)] 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體可經合成以包括聚乙二醇(PEG)-疊氮基反應性基團，且包含以下結構：



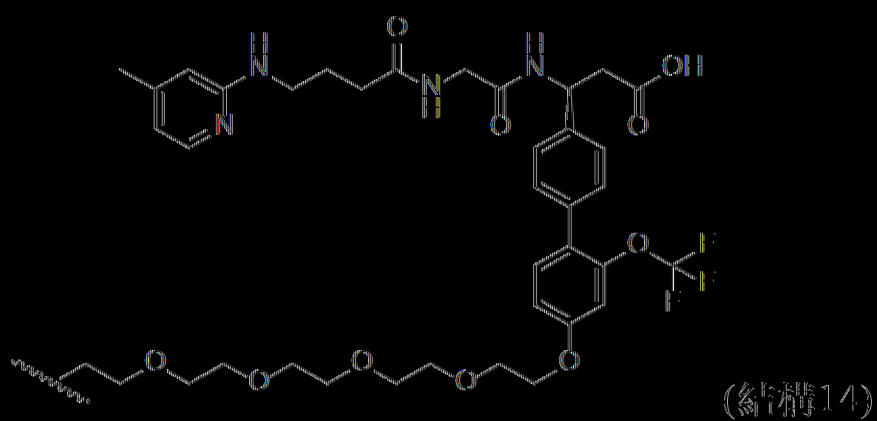
[(0154)] 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體包含以下結構：





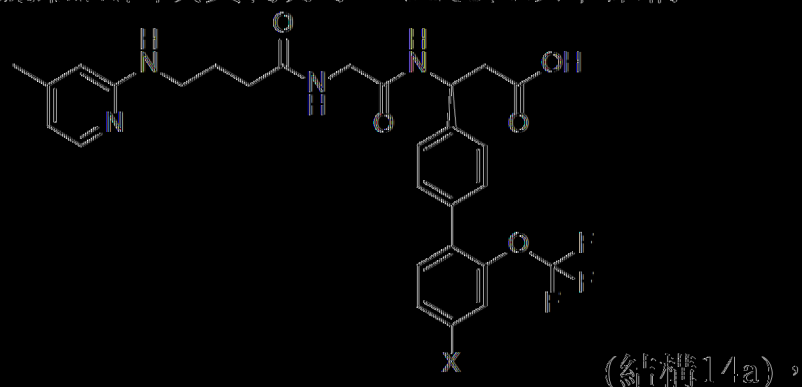


〔0166〕 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體包含以下結構：

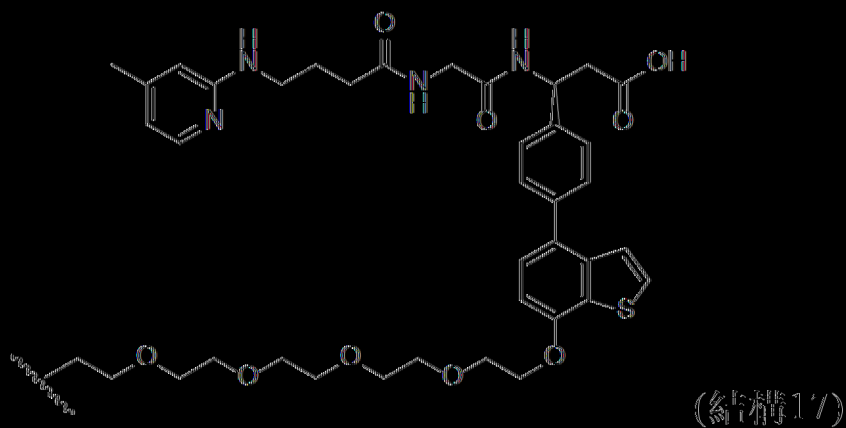
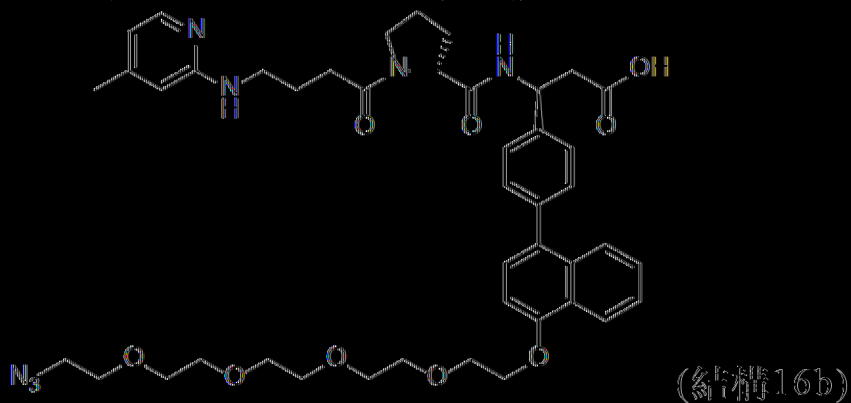
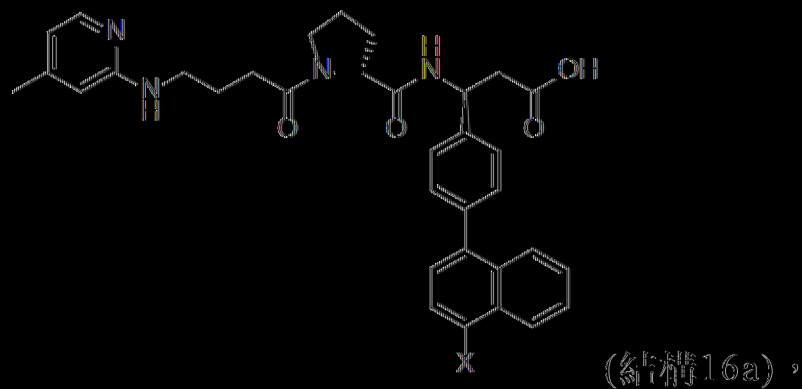


〔0167〕 在一些實施例中，結構14之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體連接至一或多種貨物分子(例如RNAi藥劑)。

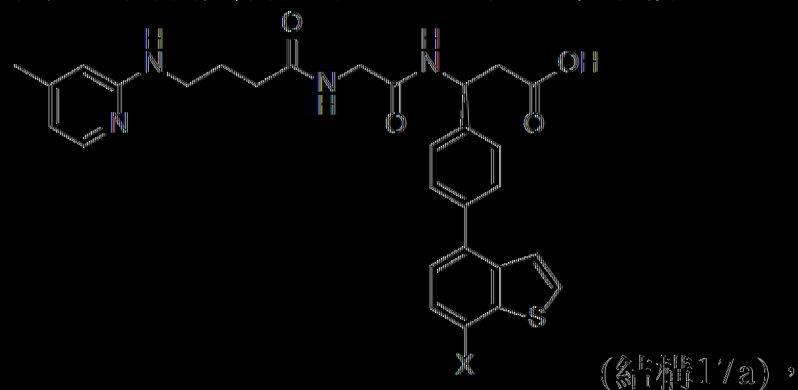
〔0168〕 在一些實施例中， $\alpha v\beta 6$ 整合素配體可經合成以包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子，且包含以下結構：



其中X包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子(例如RNAi藥劑)。

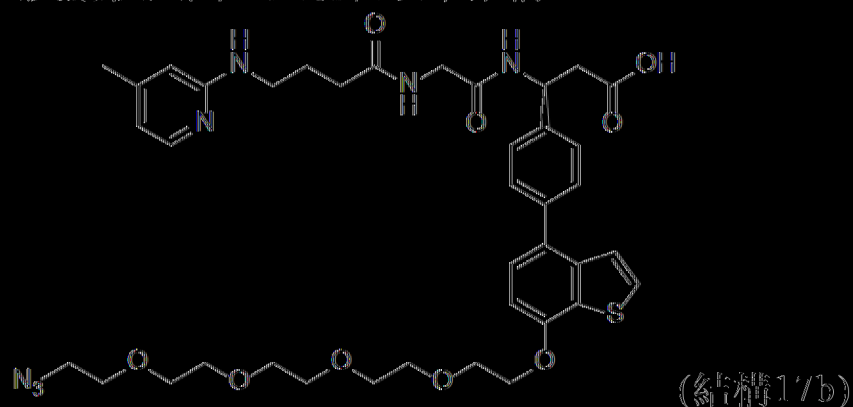


[(0180)] 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體可經合成以包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子，且包含以下結構：

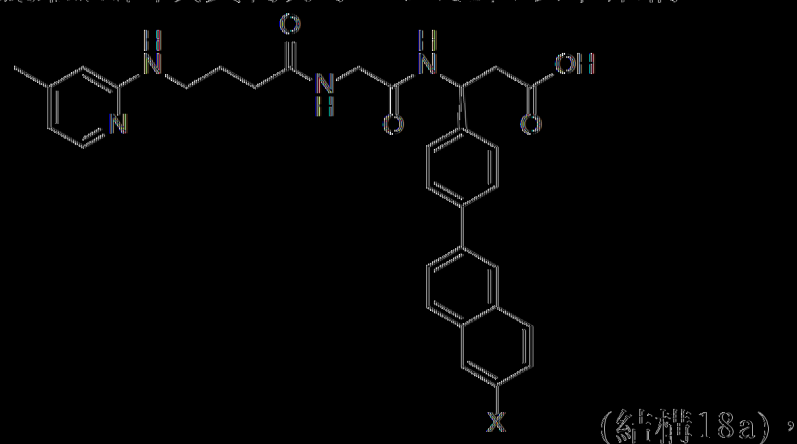
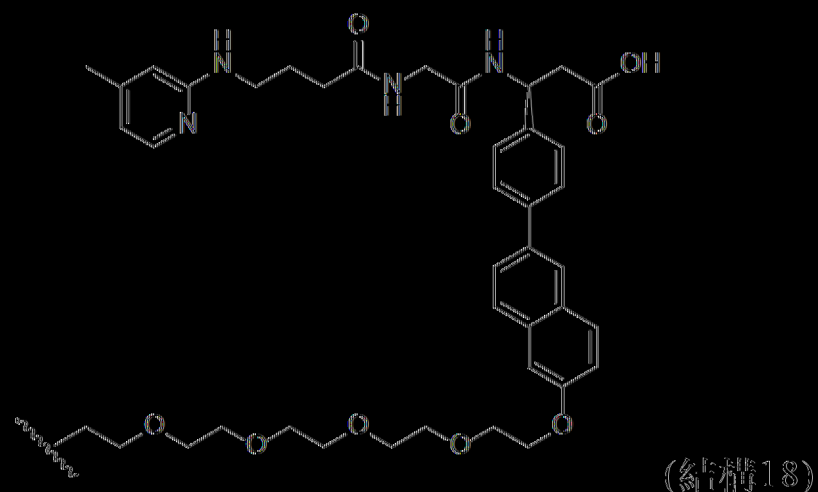


其中X包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子(例如RNAi藥劑)。

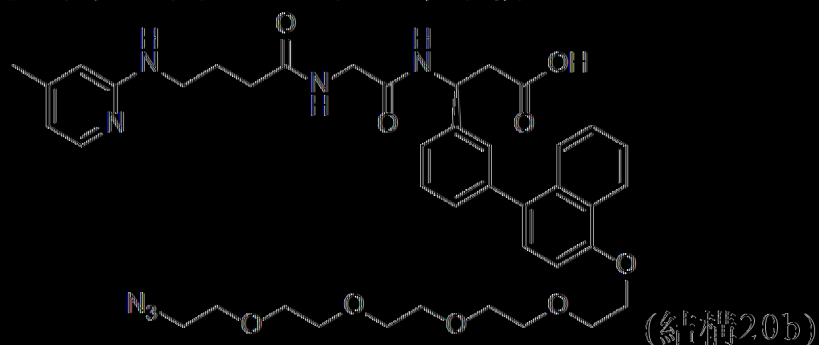
[(0181)] 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體可經合成以包括聚乙二醇(PEG)-疊氮基反應性基團，且包含以下結構：



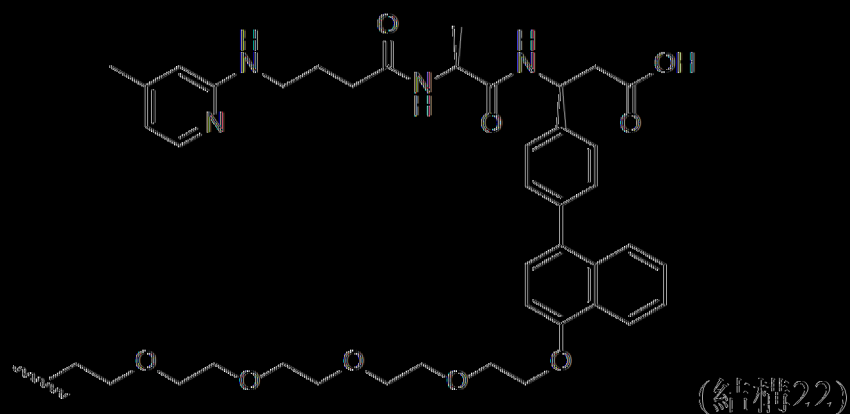
[(0182)] 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體包含以下結構：



〔0193〕 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體可經合成以包括聚乙二醇(PEG)-疊氮基反應性基團，且包含以下結構：

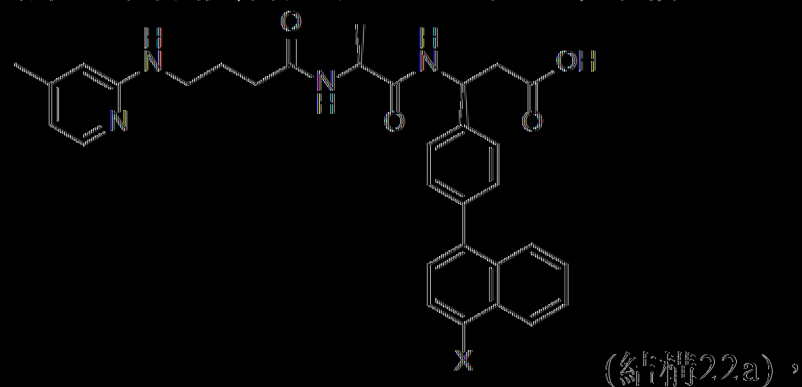


〔0194〕 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體包含以下結構：



〔0195〕 在一些實施例中，結構22之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體連接至一或多種貨物分子(例如RNAi藥劑)。

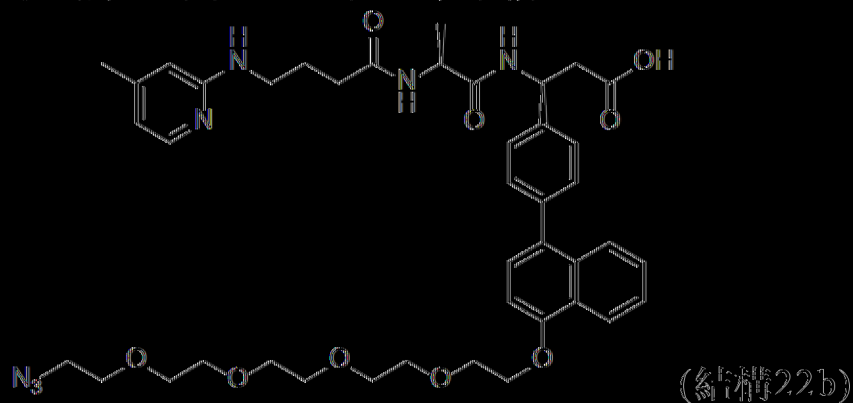
〔0196〕 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體可經合成以包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子，且包含以下結構：



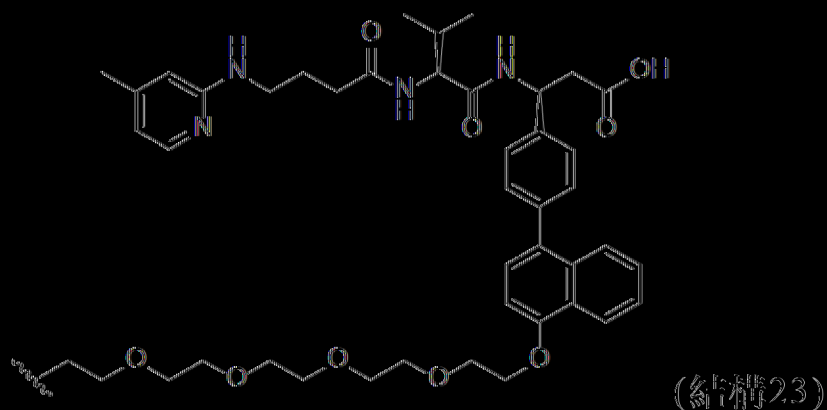
其中X包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子(例如RNAi藥劑)。

劑)。

[0197] 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體可經合成以包括聚乙二醇(PEG)-疊氮基反應性基團，且包含以下結構：

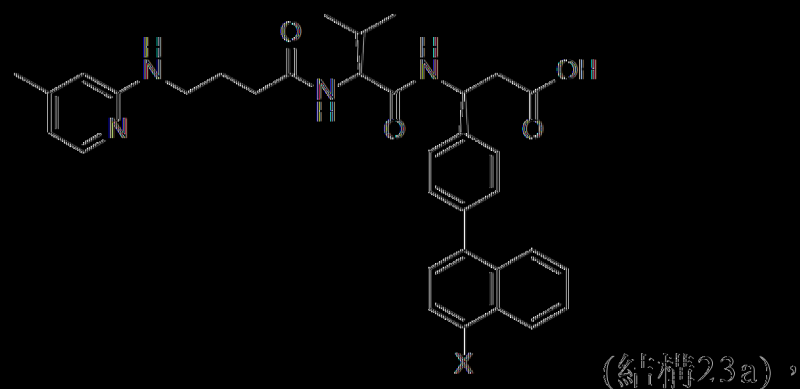


[0198] 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體包含以下結構：



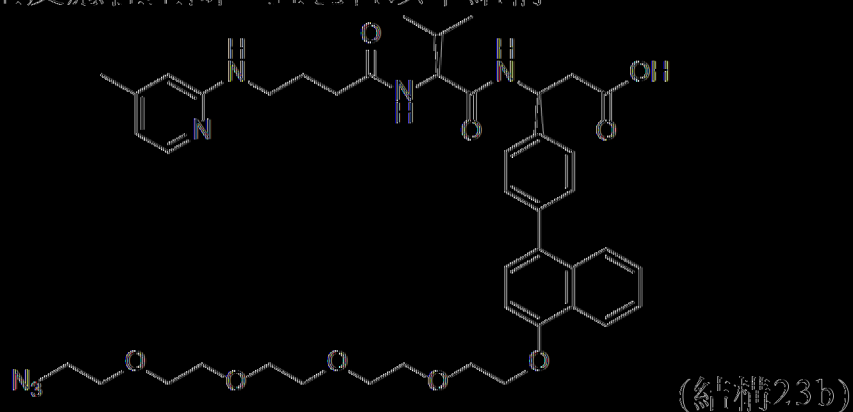
[0199] 在一些實施例中，結構23之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體連接至一或多種貨物分子(例如RNAi藥劑)。

[0200] 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體可經合成以包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子，且包含以下結構：



其中X包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子(例如RNAi藥劑)。

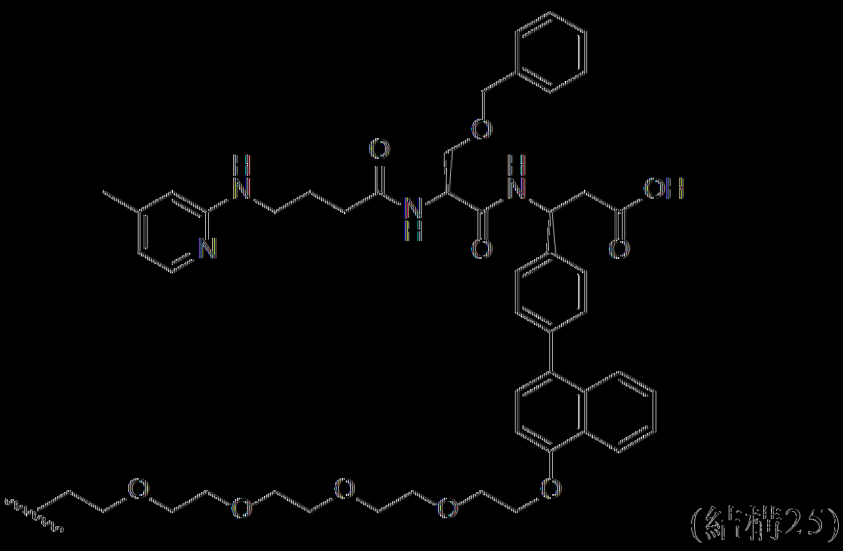
[(0201)] 在一些實施例中， $\alpha v\beta 6$ 整合素配體可經合成以包括聚乙二醇(PEG)-疊氮基反應性基團，且包含以下結構：



[(0202)] 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體包含以下結構：

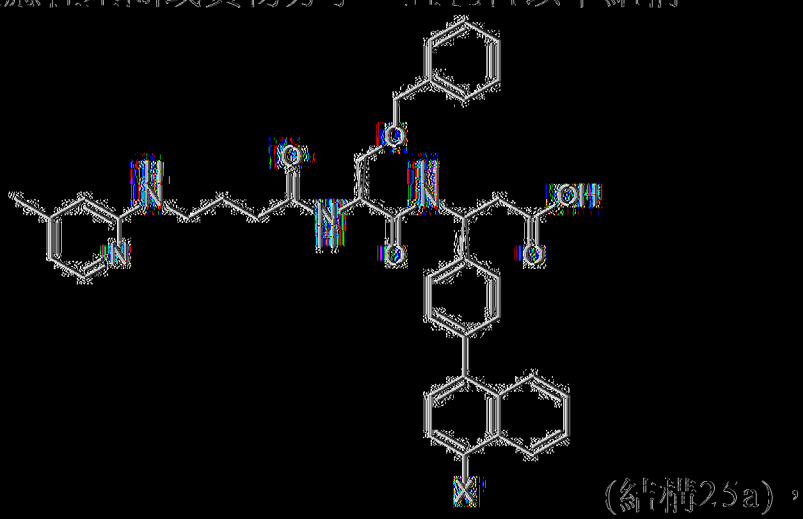


[(0203)] 在一些實施例中，結構24之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體連接至一或多



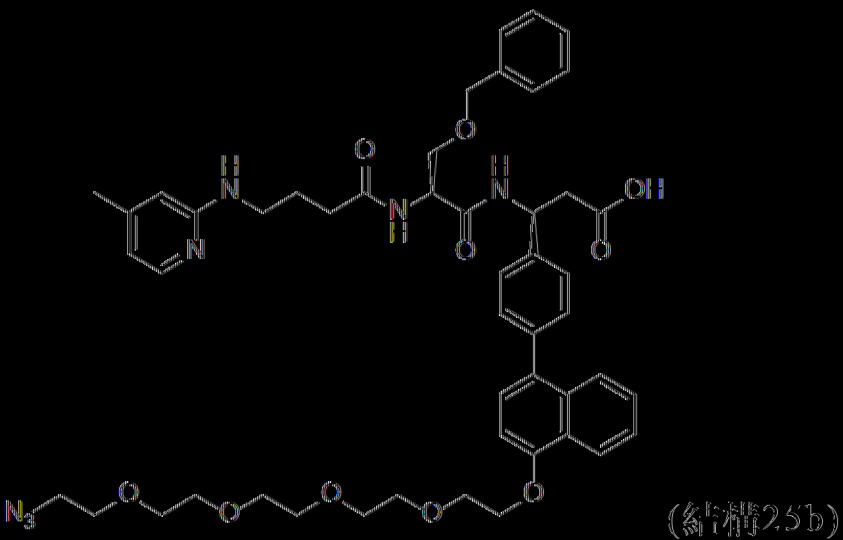
[(0207)] 在一些實施例中，結構25之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體連接至一或多種貨物分子(例如RNAi藥劑)。

[(0208)] 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體可經合成以包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子，且包含以下結構：

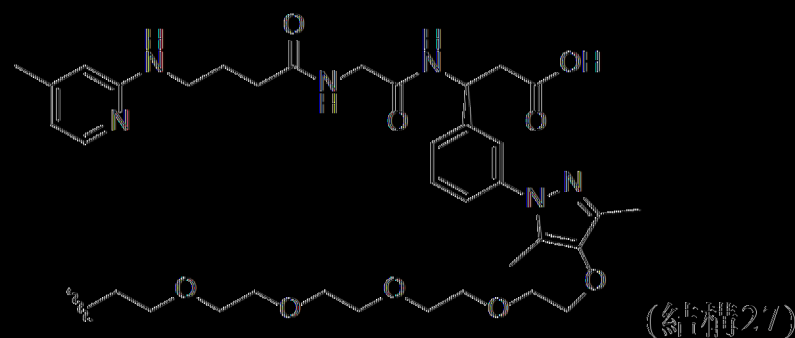


其中X包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子(例如RNAi藥劑)。

[(0209)] 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體可經合成以包括聚乙二醇(PEG)-胺基反應性基團，且包含以下結構：

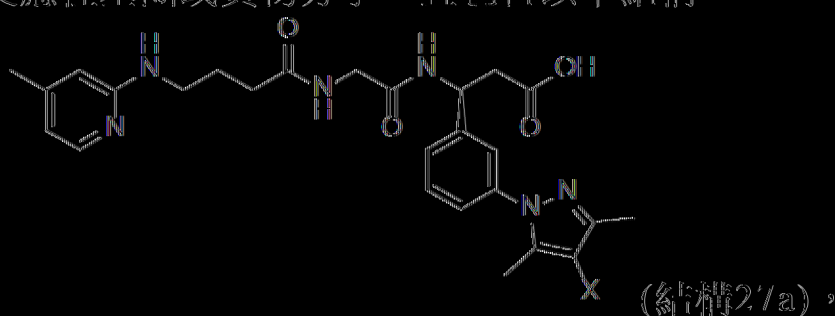


〔0210〕 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體包含以下結構：



〔0211〕 在一些實施例中，結構25之 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體連接至一或多種貨物分子(例如RNAi藥劑)。

〔0212〕 在一些實施例中， $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體可經合成以包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子，且包含以下結構：

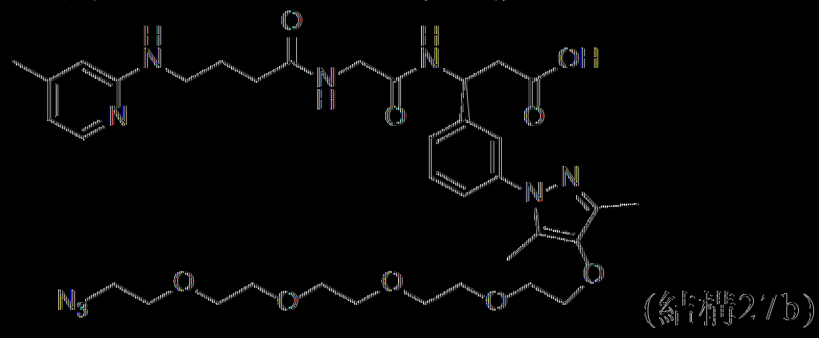


其中X包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子(例如RNAi藥劑)。

〔0213〕 在一些實施例中， $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體可經合成以包括聚乙二醇

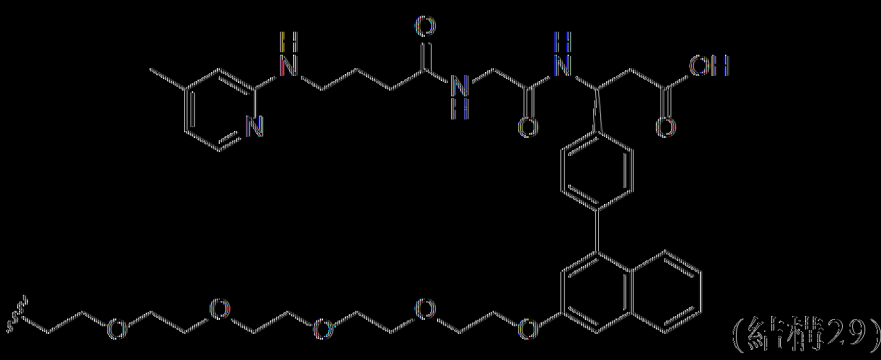
第 71 頁(發明說明書)

醇(PHG)-疊氮基反應性基團，且包含以下結構：



[(0214)] 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體包含以下結構：

[(0215)] 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體包含以下結構：



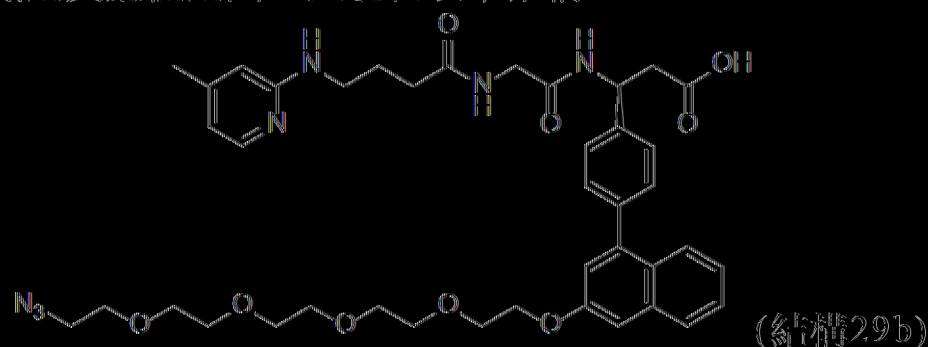
[(0216)] 在一些實施例中，結構25之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體連接至一或多種貨物分子(例如RNAi藥劑)。

[(0217)] 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體可經合成以包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子，且包含以下結構：

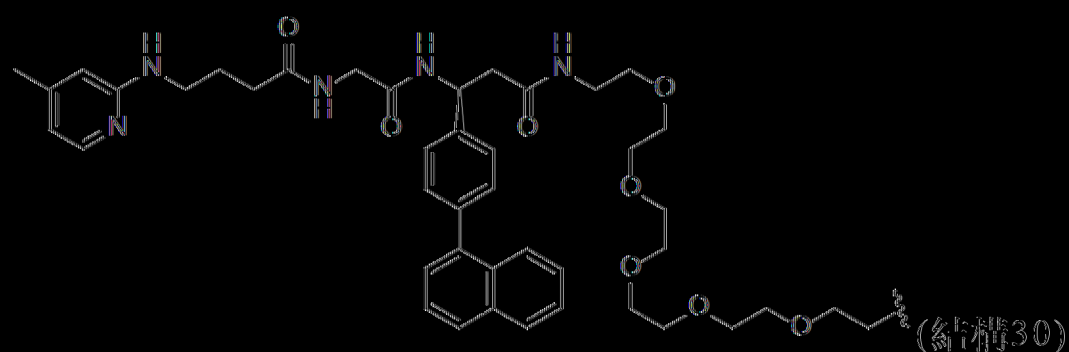


其中X包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子(例如RNAi藥劑)。

[(0218)] 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體可經合成以包括聚乙二醇(PEG)骨架氨基反應性基團，且包含以下結構：

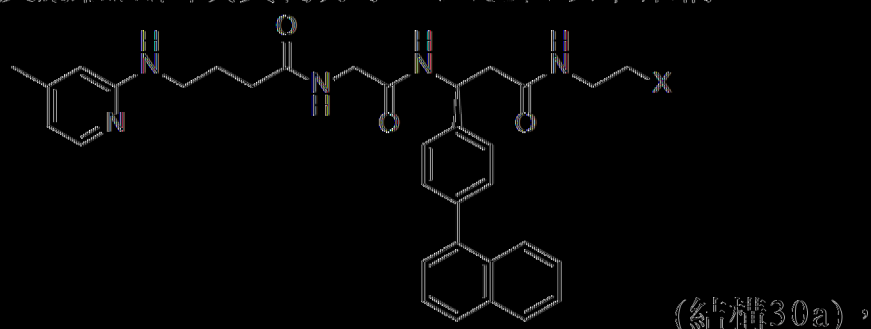


[(0219)] 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體包含以下結構：



[(0220)] 在一些實施例中，結構25之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體連接至一或多種貨物分子(例如RNAi藥劑)。

[(0221)] 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體可經合成以包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子，且包含以下結構：

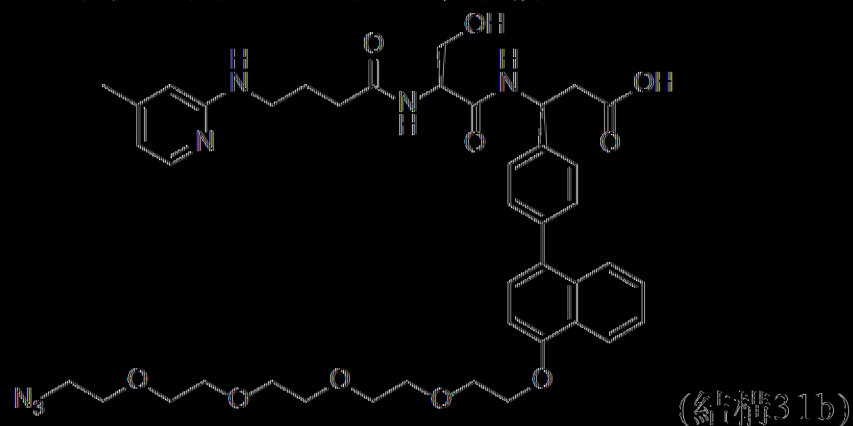


其中X包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子(例如RNAi藥劑)。

[(0222)] 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體可經合成以包括聚乙二醇

第 73 頁(發明說明書)

[(0226)] 在一些實施例中， $\alpha_v\beta_6$ 整合素配體可經合成以包括聚乙二醇(PEG)-疊氮基反應性基團，且包含以下結構：

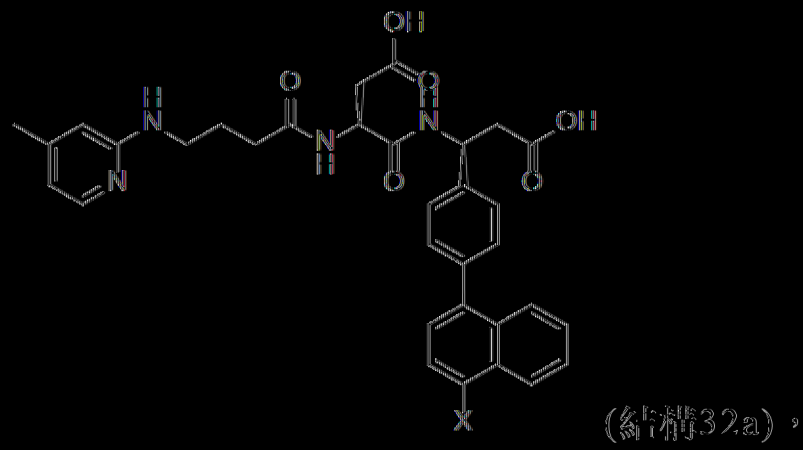


[(0227)] 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha_v\beta_6$ 整合素配體包含以下結構：



[(0228)] 在一些實施例中，結構25之 $\alpha_v\beta_6$ 整合素配體連接至一或多種貨物分子(例如RNAi藥劑)。

[(0229)] 在一些實施例中， $\alpha_v\beta_6$ 整合素配體可經合成以包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子，且包含以下結構：

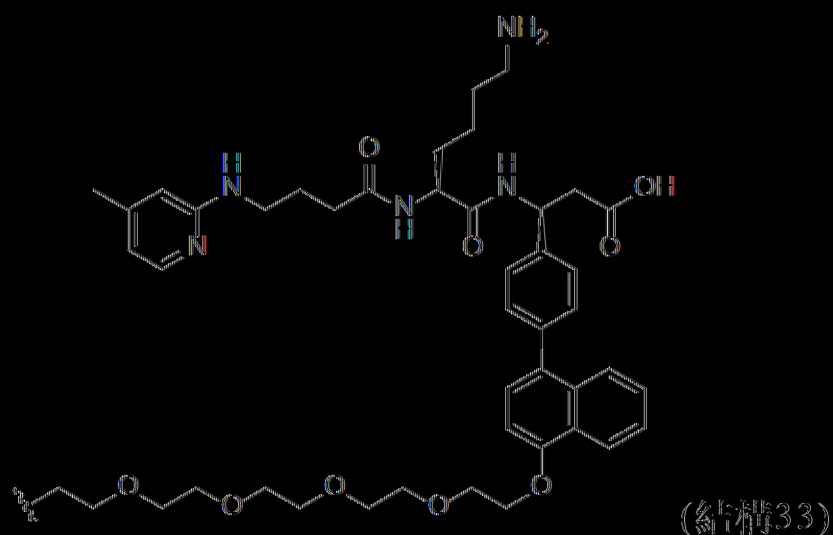


其中X包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子(例如RNAi藥劑)。

[(0230)] 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體可經合成以包括聚乙二醇(PEG)-疊氮基反應性基團，且包含以下結構：

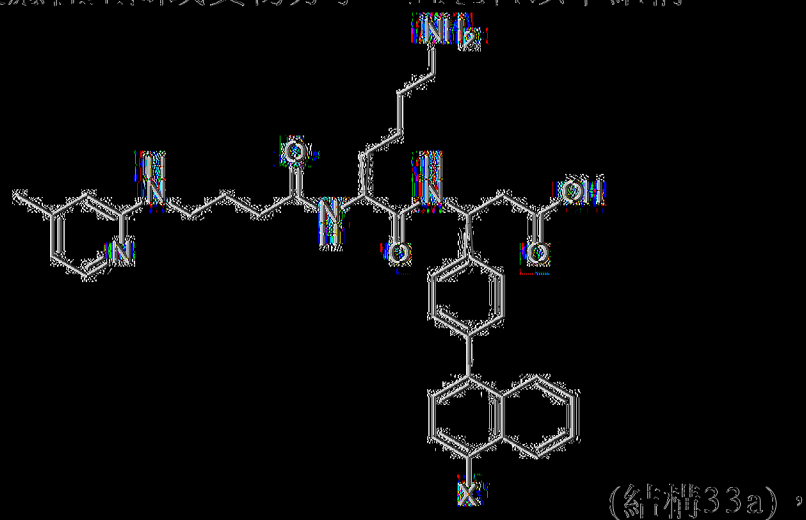


[(0231)] 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體包含以下結構：



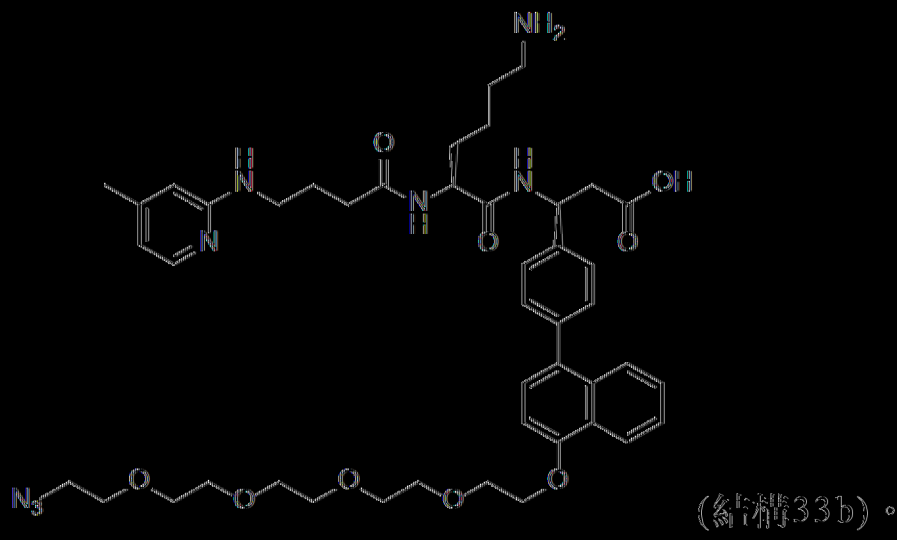
[(0232)] 在一些實施例中，結構25之 α v β 6整合素配體連接至一或多種貨物分子(例如RNAi藥劑)。

[(0233)] 在一些實施例中， α v β 6整合素配體可經合成以包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子，且包含以下結構：



其中X包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子(例如RNAi藥劑)。

[(0234)] 在一些實施例中， α v β 6整合素配體可經合成以包括聚乙二醇(PEG)-胺基反應性基團，且包含以下結構：

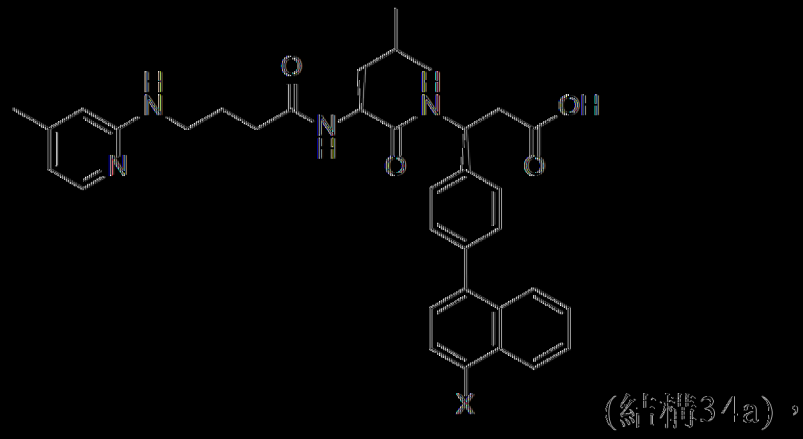


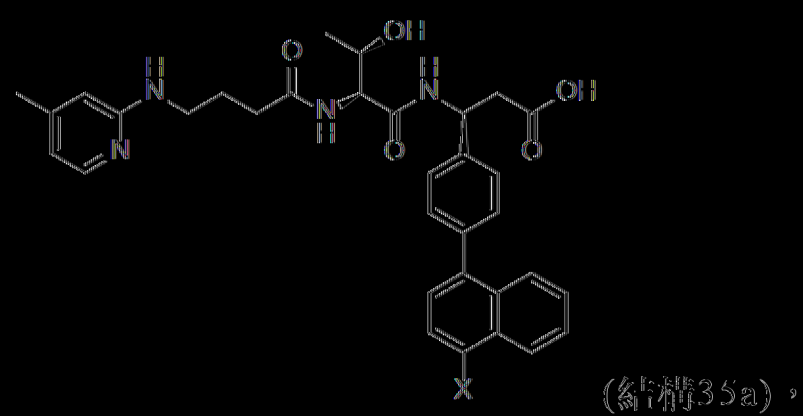
[(0235)] 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體包含以下結構：



[(0236)] 在一些實施例中，結構25之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體連接至一或多種貨物分子(例如RNAi藥劑)。

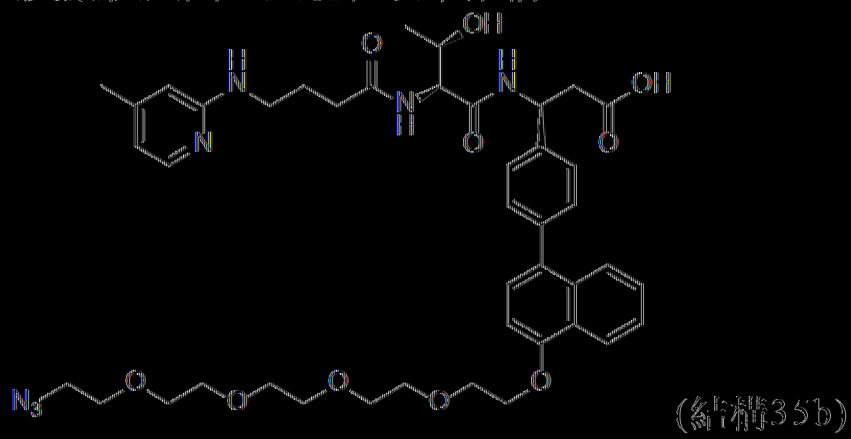
[(0237)] 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體可經合成以包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子，且包含以下結構：



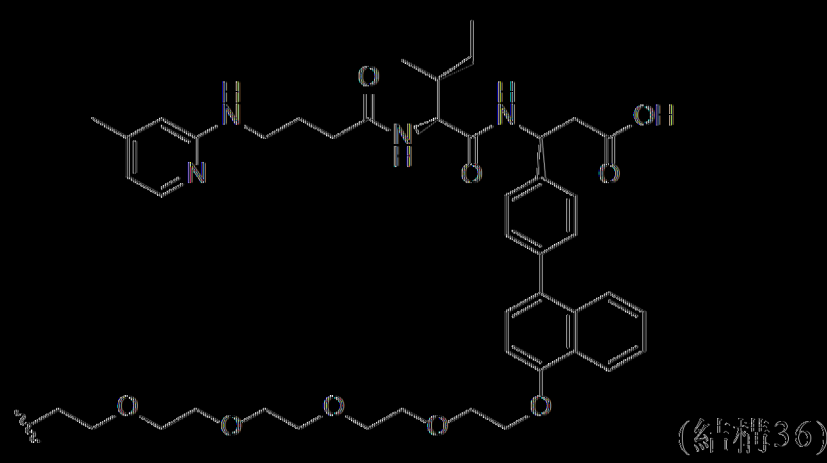


其中X包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子(例如RNAi藥劑)。

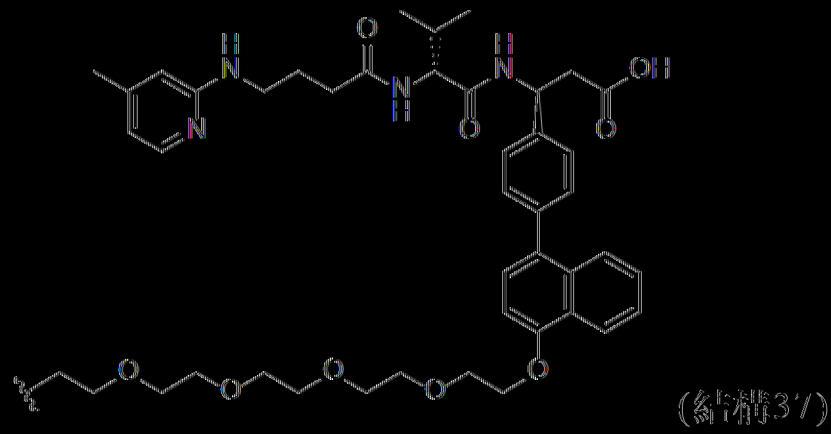
[(0242)] 在一些實施例中， $\alpha v \beta 6$ 整合素配體可經合成以包括聚乙二醇(PEG)-疊氮基反應性基團，且包含以下結構：



[(0243)] 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體包含以下結構：

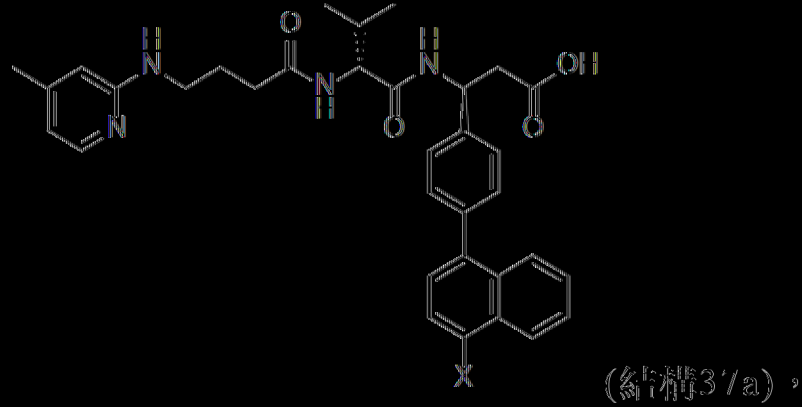


[(0244)] 在一些實施例中，結構25之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體連接至一或多



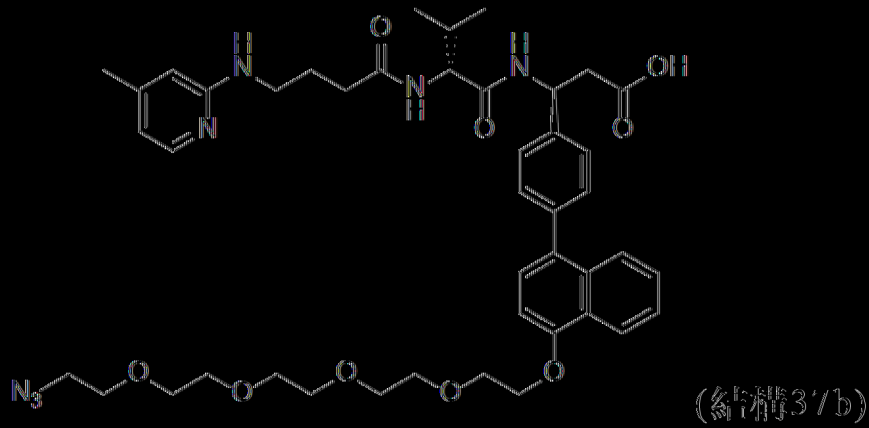
[0248] 在一些實施例中，結構25之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體連接至一或多種貨物分子(例如RNAi藥劑)。

[0249] 在一些實施例中， $\alpha v\beta 6$ 整合素配體可經合成以包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子，且包含以下結構：



其中X包括反應性基團、經保護反應性基團或貨物分子(例如RNAi藥劑)。

[0250] 在一些實施例中， $\alpha v\beta 6$ 整合素配體可經合成以包括聚乙二醇(PEG)鏈與反應性基團，且包含以下結構：

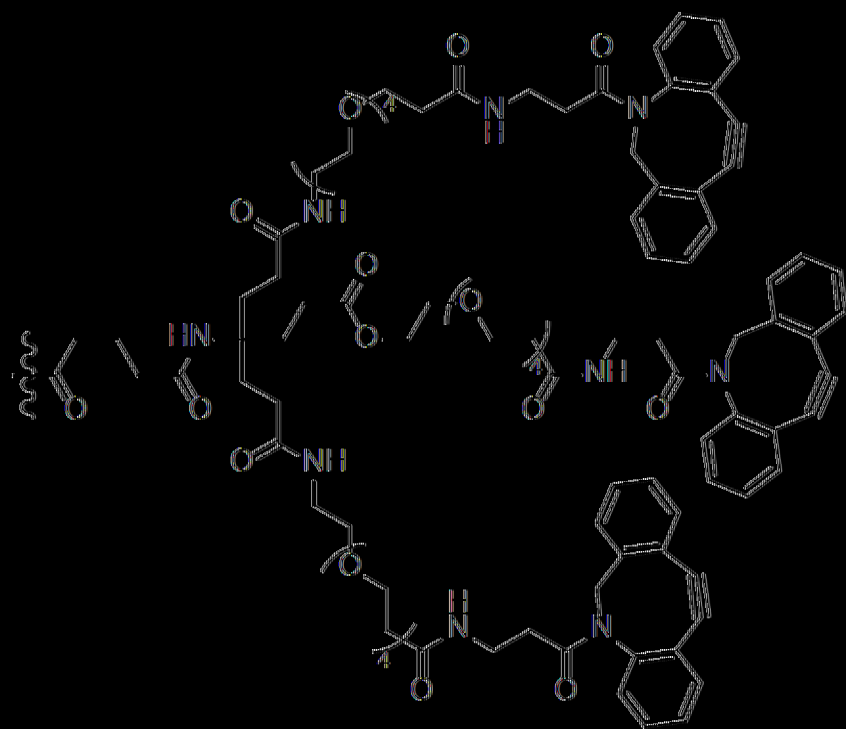


【0251】 如以下中之任一者所揭示之反應性基團：結構1a、結構1b、結構2a、結構2b、結構5a、結構5b、結構6a、結構6b、結構7a、結構7b、結構8a、結構8b、結構9a、結構9b、結構10a、結構10b、結構11a、結構11b、結構12a、結構12b、結構13a、結構13b、結構14a、結構14b、結構15a、結構15b、結構16a、結構16b、結構17a、結構17b、結構18a、結構18b、結構19a、結構19b、結構20a、結構20b、結構22a、結構22b、結構23a、結構23b、結構24a、結構24b、結構25a、結構25b、結構27a、結構27b、結構29a、結構29b、結構30a、結構30b、結構31a、結構31b、結構32a、結構32b、結構33a、結構33b、結構34a、結構34b、結構35a、結構35b、結構36a、結構36b、結構37a或結構37b可用以將 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體連接至所關注之分子，亦即連接至諸如RNAi藥劑之貨物分子。貨物分子可為靶向 $\alpha v\beta 6$ 整合素表現細胞所需之任何分子。

多牙 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體及骨架

【0252】 如本文所揭示，在一些實施例中，一或多種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體可連接至一或多種貨物分子。在一些實施例中，僅一種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體與貨物分子結合(在本文中稱為「單牙」或「單價」配體)。在一些實施例中，兩種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體與貨物分子結合(在本文中稱為「雙牙」或「二價」配體)。在一些實施例中，三種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體與貨物分子結合(在本文中稱為「三牙」或「三價」配體)。在一些實施例中，四種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體與貨物分子結合(在本文中稱為「四牙」或「四價」配體)。在一些實施例中，超過四種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體與貨物分子結合。

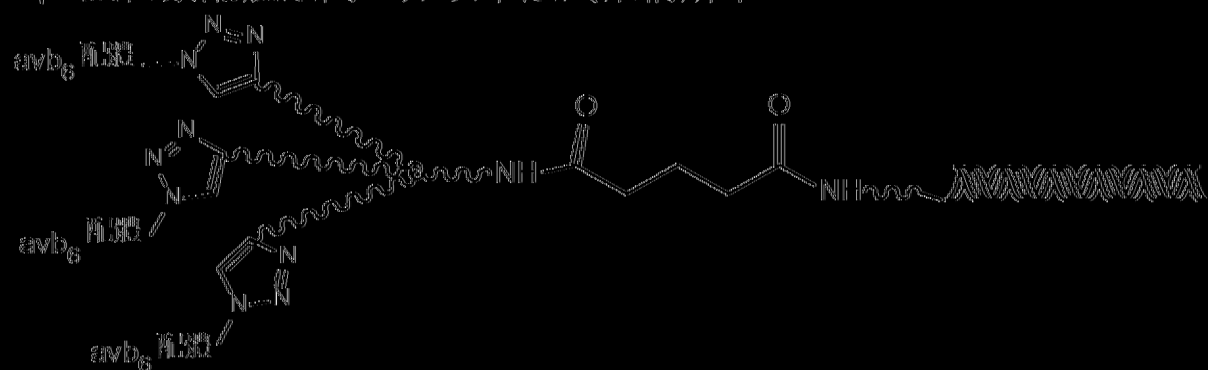
【0253】 在一些實施例中，在僅一種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體與貨物分子結合(在本文中稱為「單牙」配體)之情況下， $\alpha v\beta 6$ 整合素配體可與貨物分子



(結構381)，其中

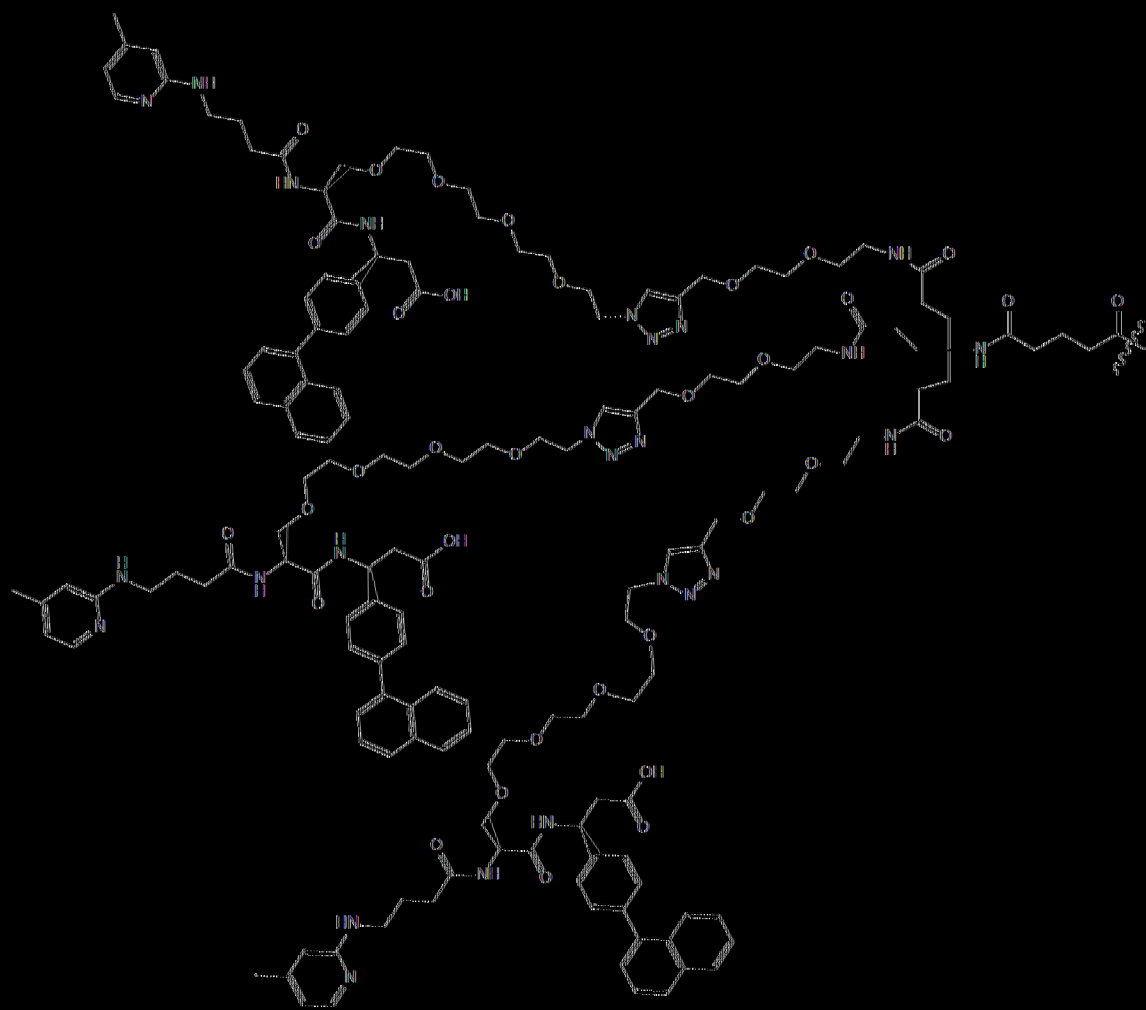
指示與反應性基團或包含貨物分子之部分連接。

[0260] 在一些實施例中，三唑基團形成於RNAi藥劑與本文所揭示之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體之間，如以下通式結構所示：



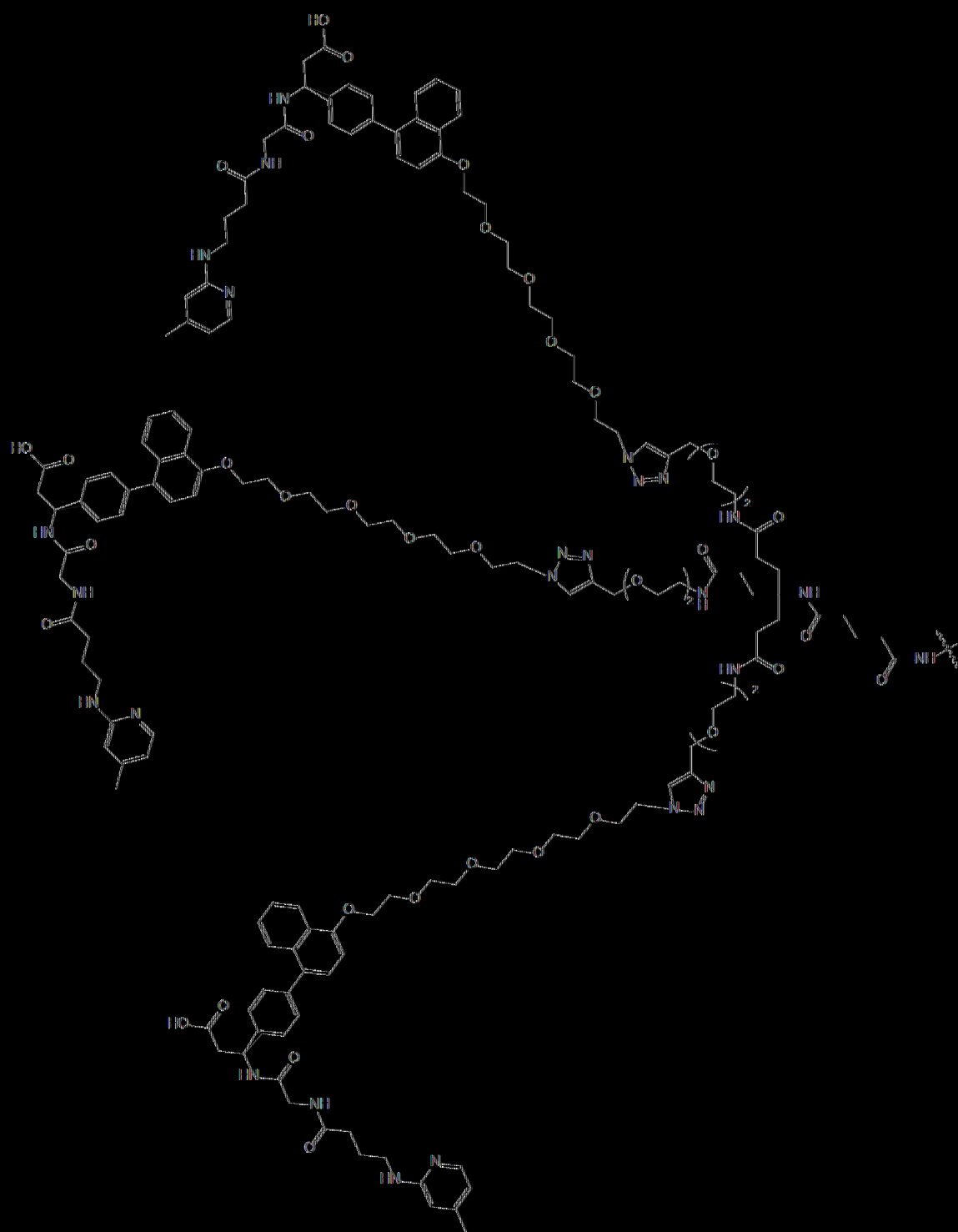
(結構390)，其中指示可用以使配體連接至RNAi藥劑之任何適合的骨架或鍵聯基團，且指示RNAi藥劑。

[0261] 在一些實施例中，骨架可合成為胺基磷酸酯化合物，其可經由胺基磷酸酯合成使得三牙配體容易偶合RNAi藥劑之有義股之5'末端，如以下結構所示：



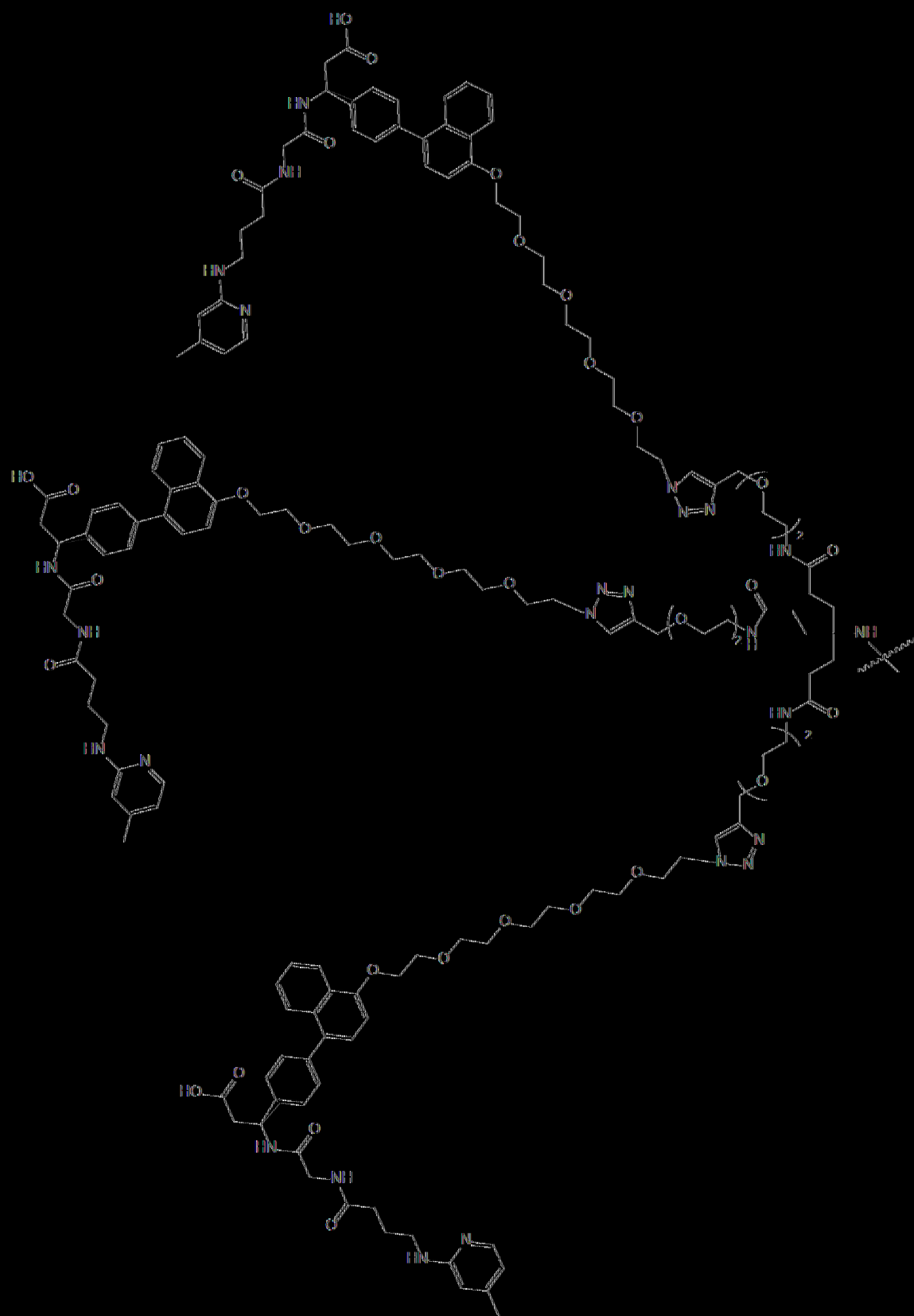
(結構700)

〔0265〕 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha_v\beta_6$ 整合素配體包含呈三
牙形式之結構6.1，且可由以下結構表示：



(結構701)

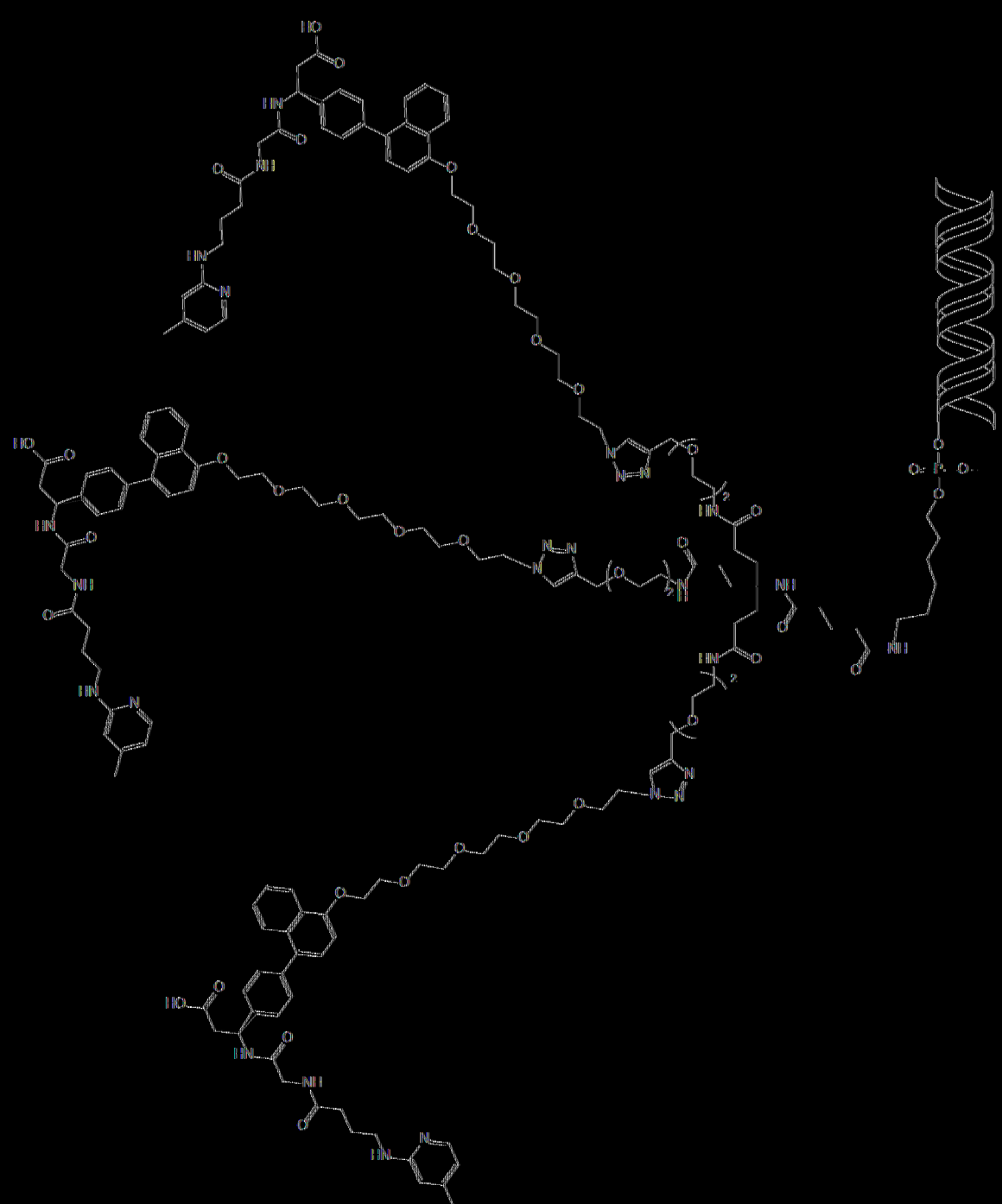
[0266] 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha_v\beta_6$ 整合素配體包含呈三
牙形式之結構6.1，且可由以下結構表示：



(結構701a)

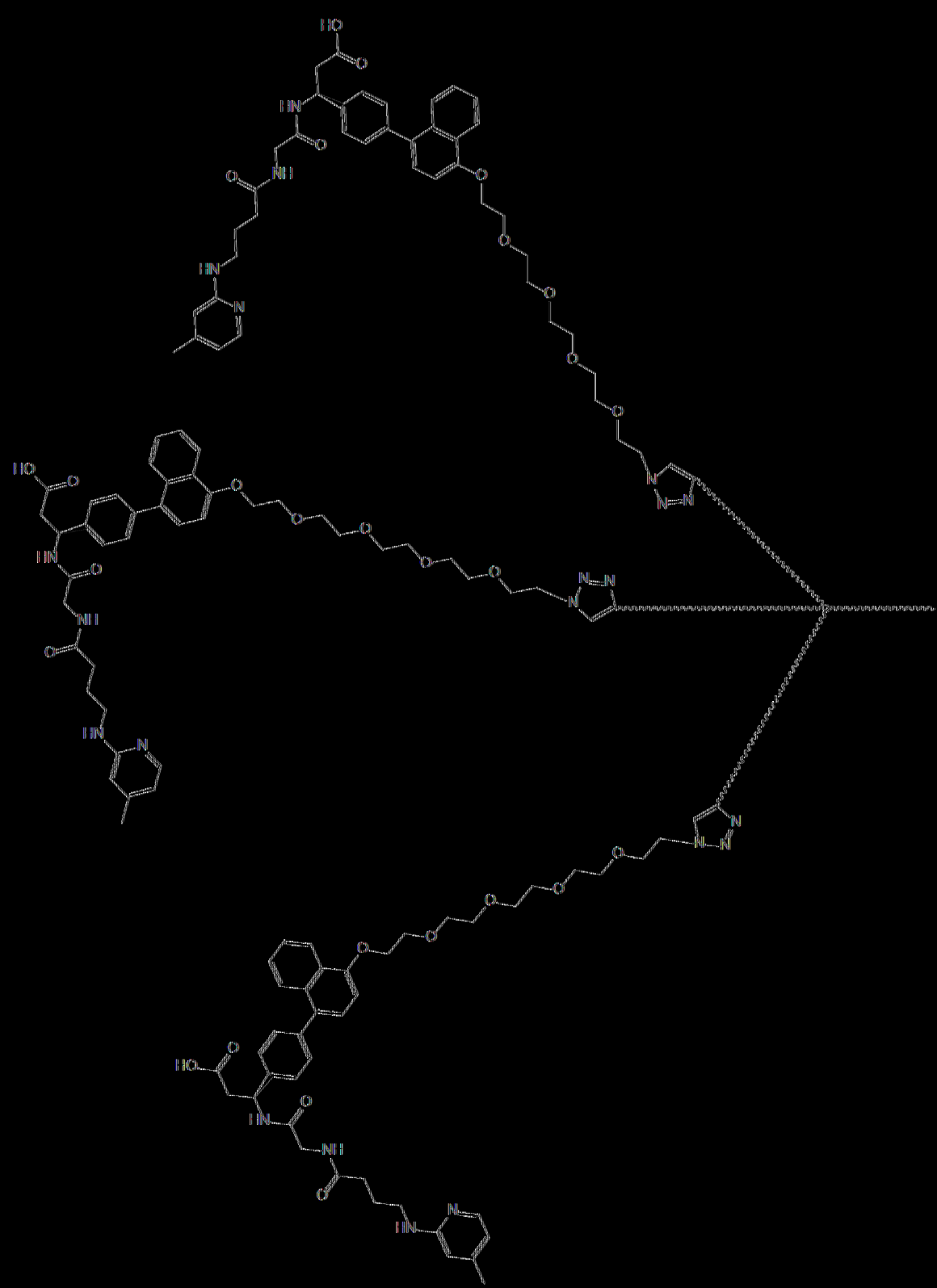
[0267] 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體包含包括戊二酸連接子之呈三牙形式之結構6.1，且可由以下結構表示：

(系譜#01b)



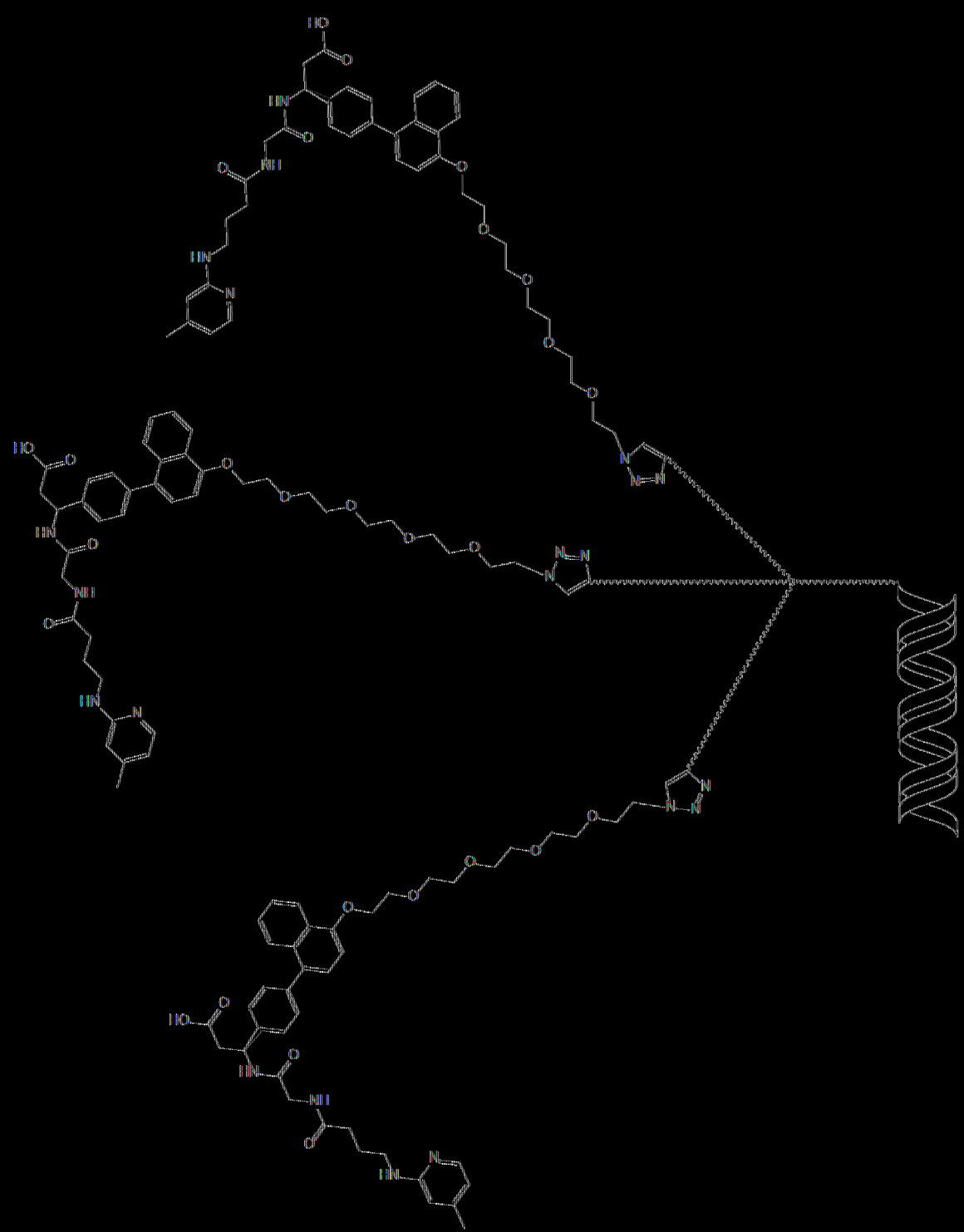
(結構701c)，其中指示RNAi藥劑。

〔0269〕 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體包含呈三
牙形式之結構6.1，且可由以下結構表示：



(結構701d)，其中  指示可用以連接配體及貨物分子之任何適合的骨架。

〔0270〕 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體包含與RNAi藥劑結合之呈三牙形式之結構6.1，且可由以下結構表示：



(結構701c)，其中指示可用以連接配體及RNAi藥劑之任何適合的骨架，且指示RNAi藥劑。反應性基團及經保護反應性基團。

〔0271〕反應性基團在此項技術中已熟知且使得在兩種分子或反應物之間形成共價鍵聯。本文中適用於本發明範疇之反應性基團包括(但不

限於)：胺基、醯胺基、羧酸基、疊氮基、炔烴、炔丙基、BCN(雙環[6.1.0]壬炔、DBCO(二苯并環辛炔)硫醇、順丁烯二醯亞胺基、胺氧基、N-羥基丁二醯亞胺(NHS)或其他活化酯(例如PNP、TFP、PFP)、溴基、醛、碳酸酯、甲苯磺酸酯、四嗪、反式-環辛烯(TCO)、醯肼、羥基、二硫基及鄰吡啶基二硫基。

【0272】 併入反應性基團可有助於將本文所揭示之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體結合至貨物分子。結合反應在此項技術中已熟知且使得在兩種分子或反應物之間形成共價鍵聯。本文中適用於本發明範疇之結合反應包括(但不限於)醯胺偶合反應、邁克爾加成反應、腓形成反應及點擊化學環加成反應。

【0273】 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v\beta 6$ 整合素靶向配體合成為四氟苯基(TFP)酯，其可藉由反應性胺基置換以連接貨物分子。在一些實施例中，本文所揭示之整合素靶向配體合成為疊氮化物，其可例如經由點擊化學環加成反應與炔丙基或DBCO基團結合以連接貨物分子。

【0274】 經保護反應性基團通常亦用於此項技術中。保護基使反應性基團暫時化學轉化為在非保護基團反應之條件下不反應之基團，例如以在後續化學反應中提供化學選擇性。本文中適用於本發明範疇之經保護反應性基團包括(但不限於)BOC基團(第三丁氧基羰基)、Fmoc (9-芴基甲氧基羰基)、羧基苄甲基(CBZ)基團、苄甲酯及PBF (2,2,4,6,7-五甲基二氫苯并呋喃-5-磺醯基)。

貨物分子(包括RNAi藥劑)

【0275】 貨物分子係自本文所述之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體分離時對包含 $\alpha v\beta 6$ 整合素受體之細胞具有所需作用之任何分子。貨物分子可為(但不限

於)醫藥成分、藥品、前藥、具有已知治療益處之物質、小分子、抗體、抗體片段、免疫球蛋白、單株抗體、標籤或標記物、脂質、天然或經修飾之核酸或聚核苷酸、肽、聚合物、多元胺、蛋白質、適體、毒素、維生素、PEG、半抗原、地高辛、生物素、放射性原子或分子或螢光團。在一些實施例中，一或多種貨物分子(例如相同或不同貨物分子)連接至一或多種 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體以使貨物分子靶向表現 $\alpha v \beta 6$ 整合素之細胞。

【0276】 在一些實施例中，一或多種貨物分子係醫藥成分或醫藥組合物。在一些實施例中，一或多種貨物分子係基於寡核苷酸之化合物。如本文所使用，「基於寡核苷酸之化合物」係含有約10-50個(例如10至48、10至46、10至44、10至42、10至40、10至38、10至36、10至34、10至32、10至30、10至28、10至26、10至24、10至22、10至20、10至18、10至16、10至14、10至12、12至50、12至48、12至46、12至44、12至42、12至40、12至38、12至36、12至34、12至32、12至30、12至28、12至26、12至24、12至22、12至20、12至18、12至16、12至14、14至50、14至48、14至46、14至44、14至42、14至40、14至38、14至36、14至34、14至32、14至30、14至28、14至26、14至24、14至22、14至20、14至18、14至16、16至50、16至48、16至46、16至44、16至42、16至40、16至38、16至36、16至34、16至32、16至30、16至28、16至26、16至24、16至22、16至20、16至18、18至50、18至48、18至46、18至44、18至42、18至40、18至38、18至36、18至34、18至32、18至30、18至28、18至26、18至24、18至22、18至20、20至50、20至48、20至46、20至44、20至42、20至40、20至38、20至36、20至34、20至32、20至30、20至28、20至26、20至24、20至22、22至50、22至48、22至46、22至44、22

至42、22至40、22至38、22至36、22至34、22至32、22至30、22至28、22至26、22至24、24至50、24至48、24至46、24至44、24至42、24至40、24至38、24至36、24至34、24至32、24至30、24至28、24至26、26至50、26至48、26至46、26至44、26至42、26至40、26至38、26至36、26至34、26至32、26至30、26至28、28至50、28至48、28至46、28至44、28至42、28至40、28至38、28至36、28至34、28至32、28至30、30至50、30至48、30至46、30至44、30至42、30至40、30至38、30至36、30至34、30至32、32至50、32至48、32至46、32至44、32至42、32至40、32至38、32至36、32至34、34至50、34至48、34至46、34至44、34至42、34至40、34至38、34至36、36至50、36至48、36至46、36至44、36至42、36至40、36至38、38至50、38至48、38至46、38至44、38至42、38至40、40至50、40至48、40至46、40至44、40至42、42至50、42至48、42至46、42至44、44至50、44至48、44至46、46至50、46至48或48至50個)核苷酸或核苷酸鹼基對之核苷酸序列。在一些實施例中，基於寡核苷酸之化合物具有與細胞內之所表現靶標核酸或標靶基因中之編碼序列至少部分互補的核鹼基序列。在一些實施例中，基於寡核苷酸之化合物在遞送至表現基因之細胞中時能夠抑制潛在基因之表現，且在本文中稱為「抑制表現之基於寡核苷酸之化合物」。可活體外或活體內抑制基因表現。

【0277】 「基於寡核苷酸之化合物」包括(但不限於)：單股寡核苷酸、單股反義寡核苷酸、短干擾RNA (siRNA)、雙股RNA (dsRNA)、微型RNA (miRNA)、短髮夾RNA (shRNA)、核糖核酸酶、干擾RNA分子及切丁酶受質。在一些實施例中，基於寡核苷酸之化合物係單股寡核苷酸，

諸如反義寡核苷酸。在一些實施例中，基於寡核苷酸之化合物係雙股寡核苷酸。在一些實施例中，基於寡核苷酸之化合物係雙股寡核苷酸，亦即RNAi藥劑。

【0278】 在一些實施例中，一或多種貨物分子係「RNAi藥劑」，其如本文所定義係含有RNA或RNA類(例如化學修飾之RNA)寡核苷酸分子之組合物，其能夠以序列特異性方式降低或抑制標靶信使RNA (mRNA)之mRNA轉錄物之轉譯。如本文所使用，RNAi藥劑可經由RNA干擾機制(亦即經由與哺乳動物細胞之RNA干擾路徑機制(RNA誘導之沉默複合物或RISC)之相互相用誘導RNA干擾)或藉由任何替代性機制或路徑來起作用。儘管咸信RNAi藥劑(如該術語在本文中所使用)主要經由RNA干擾機制起作用，但所揭示之RNAi藥劑不藉由任何特定路徑或作用機制結合或受限於任何特定路徑或作用機制。本文所揭示之RNAi藥劑包含有義股及反義股，且包括(但不限於)：短(或小)干擾RNA (siRNA)、雙股RNA (dsRNA)、微型RNA (miRNA)、短髮夾RNA (shRNA)及切丁酶受質。本文中所述之RNAi藥劑之反義股與所靶向之mRNA至少部分互補。RNAi藥劑可包括一或多種經修飾之核苷酸及/或一或多種非磷酸二酯鍵聯。

【0279】 通常，RNAi藥劑可包含至少一個包括第一序列之有義股(亦稱為隨從股)及包括第二序列之反義股(亦稱為引導股)。RNAi藥劑有義股及反義股之長度可各自為長16至49個核苷酸。在一些實施例中，RNAi藥劑之有義股及反義股之長度獨立地係17至26個核苷酸。在一些實施例中，有義股及反義股之長度獨立地係19至26個核苷酸。在一些實施例中，有義股及反義股之長度獨立地係21至26個核苷酸。在一些實施例中，有義股及反義股之長度獨立地係21至24個核苷酸。有義股及反義股

可為相同長度或不同長度。RNAi藥劑包括與標靶基因中之序列至少部分互補的反義股序列，且當遞送至表現標靶之細胞中時，RNAi藥劑可在活體內或活體外抑制一或多種靶基因之表現。

【0280】基於寡核苷酸之化合物一般可包含且RNAi藥劑可特定包含經修飾之核苷酸及/或一或多種非磷酸二酯鍵聯。如本文所用，「經修飾之核苷酸」係除核糖核苷酸(2'-羥基核苷酸)外之核苷酸。在一些實施例中，至少50% (例如至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少97%、至少98%、至少99%或100%)之核苷酸為經修飾之核苷酸。如本文所使用，經修飾之核苷酸包括(但不限於)去氧核糖核苷酸、核苷酸模擬物、無鹼基核苷酸、2'-修飾之核苷酸、3'至3'鍵聯(反向)核苷酸、包含非天然鹼基之核苷酸、橋連核苷酸、肽核酸、2',3'-斷核苷酸模擬物(未鎖定核鹼基類似物、鎖定核苷酸、3'-O-甲氧基(2'核苷間連接)核苷酸、2'-F-阿拉伯型核苷酸、5'-Me、2'-氟核苷酸、N-嗎啉基核苷酸、膦酸乙烯酯去氧核糖核苷酸、含膦酸乙烯酯之核苷酸及含膦酸環丙酯之核苷酸。2'-修飾之核苷酸(亦即在五員糖環之2'位置具有除羥基外之核苷酸)包括(但不限於)2'-O-甲基核苷酸、2'-去氧-2'-氟核苷酸、2'-去氧核苷酸、2'-甲氧基乙基(2'-O-2-甲氧基乙基)核苷酸、2'-胺基核苷酸及2'-烷基核苷酸。

【0281】此外，諸如RNAi藥劑之基於寡核苷酸之化合物之一或多種核苷酸可藉由非標準鍵聯或主結構(亦即經修飾之核苷間鍵聯或經修飾之主結構)連接。經修飾之核苷間鍵聯可為含有非磷酸酯之共價核苷間鍵聯。經修飾之核苷間鍵聯或主鏈包括(但不限於)5'硫代磷酸酯基、對掌性硫代磷酸酯、硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、磷酸三酯、胺基烷基-磷酸三

酯、磷酸烷基酯(例如磷酸甲酯或3'-仲烷基磷酸酯)、對掌性磷酸酯、亞磷酸酯、胺基磷酸酯(例如3'-胺基胺基磷酸酯、胺基烷基胺基磷酸酯或硫羰基胺基磷酸酯)、硫羰基烷基-磷酸酯、硫羰基烷基磷酸三酯、N-嗎啉基鍵聯、具有正常3'-5'鍵聯之硼烷磷酸酯、硼烷磷酸酯之2'-5'連接之類似物或具有反向極性之硼烷磷酸酯，其中相鄰核苷單元對使3'-5'連接至5'-3'或使2'-5'連接至5'-2'。

【0282】 既定化合物中之所有位置無需經均一修飾。相反，可在單一基於寡核苷酸之化合物中或甚至在其單一核苷酸中併入超過一個修飾。

【0283】 在一些實施例中，貨物分子包括用於抑制 α ENaC基因表現之RNAi藥劑。貨物分子可為國際專利申請案第PCT/US18/40874號中所述之RNAi藥劑，該文獻以全文引用的方式併入本文中。

【0284】 RNAi藥劑有義股及反義股可藉由此項技術中已知之方法合成及/或修飾。舉例而言，涉及抑制 α -ENaC表現之RNAi藥劑之揭示內容可見於例如國際專利申請公開案第WO 2008/152131號中，該文獻以全文引用的方式併入本文中。與RNAi藥劑相關之其他揭示內容可見於例如，修飾之揭示內容可見於例如Arrowhead Pharmaceuticals公司之國際專利申請案第PCT/US2017/0455446號中，該文獻亦以全文引用的方式併入本文中。在一些實施例中，一或多種貨物分子可包括或由可充當藥物動力學(PK)調節劑之PEG部分組成。在一些實施例中，一或多種貨物分子可包括具有約20-900個環氧乙烷(CH₂-CH₂-O)單元之PEG部分(例如20至850、20至800、20至750、20至700、20至650、20至600、20至550、20至500、20至450、20至400、20至350、20至300、20至250、20至200、20至150、20至100、20至75、20至50、100至850、100至800、100至

750、100至700、100至650、100至600、100至550、100至500、100至450、100至400、100至350、100至300、100至250、100至200、100至150、200至850、200至800、200至750、200至700、200至650、200至600、200至550、200至500、200至450、200至400、200至350、200至300、200至250、250至900、250至850、250至800、250至750、250至700、250至650、250至600、250至550、250至500、250至450、250至400、250至350、250至300、300至900、300至850、300至800、300至750、300至700、300至650、300至600、300至550、300至500、300至450、300至400、300至350、350至900、350至850、350至800、350至750、350至700、350至650、350至600、350至550、350至500、350至450、350至400、400至900、400至850、400至800、400至750、400至700、400至650、400至600、400至550、400至500、400至450、450至900、450至850、450至800、450至750、450至700、450至650、450至600、450至550、450至500、500至900、500至850、500至800、500至750、500至700、500至650、500至600、500至550、550至900、550至850、550至800、550至750、550至700、550至650、550至600、600至900、600至850、600至800、600至750、600至700、600至650、650至900、650至850、650至800、650至750、650至700、700至900、700至850、700至800、700至750、750至900、750至850、750至800、800至900、850至900或850至900個環氧乙烷單元)。在一些實施例中，一或多種貨物分子由具有大致455個環氧乙烷單元之PEG部分(約20千道爾頓(kDa)分子量)組成。在一些實施例中，PEG部分具有約2千道爾頓之分子量。在一些實施例中，PEG部分具有約20千道爾頓之分子量。在一些實施

例中，PEG部分具有約40千道爾頓之分子量。本文所述之PEG部分可為直鏈或支鏈部分。PEG部分可為個別(單分散)或非個別(多分散)部分。用作PK提高貨物分子之PEG部分可商購得。在一些實施例中，一或多種貨物分子包括可充當PK調節劑或增強劑之PEG部分，以及不同貨物分子，諸如醫藥活性成分或化合物。

【0285】 所述之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體包括其鹽或溶劑合物。 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體之溶劑合物被視為意謂歸因於其相互吸引力形成之惰性溶劑分子於 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體上之加成。溶劑合物係例如單或二水合物或與醇，諸如與甲醇或乙醇之加成化合物。

【0286】 可提供游離胺基或游離羥基作為具有對應保護基之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體之取代基。

【0287】 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體亦包括例如衍生物，亦即經例如烷基或醯基、糖或寡肽改質之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體，該等衍生物在活體外或在生物體中發生裂解。

【0288】 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體有助於經由配體介導之胞吞作用、胞飲作用或藉由其他方式將貨物分子遞送至表面上呈現 $\alpha v\beta 6$ 整合素之細胞之細胞溶質中。在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體有助於將貨物分子遞送至呈現 $\alpha v\beta 6$ 整合素之細胞的質膜中。

醫藥組合物

【0289】 在一些實施例中，本發明提供包括、由或基本上由本文所揭示之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體中之一或多者組成之醫藥組合物。

【0290】 如本文所使用，「醫藥組合物」包含藥理學有效量之活性

醫藥成分(API)及視情況選用之一或多種醫藥學上可接受之賦形劑。醫藥學上可接受之賦形劑(賦形劑)係有意包括於藥物遞送系統中之非活性醫藥成分(API，治療性產品)之物質。賦形劑在預定劑量下不發揮或不意欲發揮治療效果。賦形劑可用於a)在製造期間輔助加工藥物遞送系統，b)保護、支持或增強API之穩定性、生物可用性或患者接受性，c)有助於產品鑑別，及/或d)在儲存或使用期間增強API遞送之總體安全性、有效性之任何其他屬性。醫藥學上可接受之賦形劑可為或可不為惰性物質。

【0291】 賦形劑包括(但不限於)：吸收增強劑、抗黏劑、消泡劑、抗氧化劑、黏合劑、緩衝劑、載劑、塗佈劑、顏料、遞送增強劑、葡聚糖、右旋糖、稀釋劑、崩解劑、乳化劑、增量劑、填充劑、調味劑、滑動劑、保濕劑、潤滑劑、油狀物、聚合物、防腐劑、生理食鹽水、鹽、溶劑、糖類、懸浮劑、持續釋放型基質、甜味劑、增稠劑、張力劑、媒劑、驅水劑及濕潤劑。

【0292】 本文所述之醫藥組合物可含有一般見於醫藥組合物中之其他另外組分。在一些實施例中，另外組分係醫藥學活性材料。醫藥學活性材料包括(但不限於)：止癢劑、收斂劑、局部麻醉劑或消炎劑(例如抗組胺劑、苯海拉明等)、小分子藥物、抗體、抗體片段、適體及/或疫苗。

【0293】 醫藥組合物亦可含有防腐劑、增溶劑、穩定劑、潤濕劑、乳化劑、甜味劑、著色劑、氣味劑、用於改變滲透壓之鹽、緩衝劑、塗佈劑或抗氧化劑。其亦可含有其他有已知治療益處之藥劑。

【0294】 醫藥組合物可視所需局部或全身治療及待治療之區域而定以多種方式投與。可藉由此項技術中通常已知之任何方式進行投與，諸如(但不限於)表面(例如藉由經皮貼片)、經肺(例如藉由粉劑或氣霧劑之吸入

或吹入，包括藉由霧化器、氣管內、鼻內)、表皮、經皮、經口或非經腸。非經腸投與包括(但不限於)靜脈內、動脈內、皮下、腹膜內或肌肉內注射或輸注；皮下(例如經由植入裝置)、顱內、腦實質內、鞘內及室內投與。在一些實施例中，藉由皮下注射投與本文所述之醫藥組合物。醫藥組合物可例如以錠劑、包衣錠劑、糖衣藥丸、硬及軟明膠膠囊、溶液、乳液或懸浮液之形式經口投與。亦可經直腸進行投與，例如使用栓劑；局部或經皮投與，例如使用軟膏、乳膏、凝膠或溶液；或非經腸投與，例如使用可注射溶液。

【0295】 適於可注射使用之醫藥組合物包括無菌水溶液(在水溶性之情況下)或分散液及用於臨時製備無菌可注射溶液或分散液之無菌粉末。對於靜脈內投與，適合的載劑包括生理食鹽水、抑菌水、Cremophor ELTM (BASF, Parsippany, NJ)或磷酸鹽緩衝鹽水。其在製造及儲存條件下應為穩定的，且應保護其免遭微生物(諸如細菌及真菌)之污染作用。載劑可為含有例如水、乙醇、多元醇(例如丙三醇、丙二醇及液態聚乙二醇)之溶劑或分散介質及其適合混合物。舉例而言，可藉由使用包衣(諸如卵磷脂)、藉由維持就分散液而言所需粒度及藉由使用界面活性劑來維持適當的流動性。在許多情況下，組合物中較佳包括等張劑，例如糖、多元醇(諸如甘露糖醇、山梨糖醇)或氯化鈉。可注射組合物之延長吸收可藉由在組合物中包括延遲吸收之藥劑(例如單硬脂酸鋁及明膠)來達成。

【0296】 無菌可注射溶液可藉由如下製備：將所需量之活性化合物與上文所列舉之成分中之一者或組合一起併入適當溶劑中，視需要隨後過濾滅菌。一般而言，分散液係藉由將活性化合物併入含有鹼性分散介質及上文所列舉之所需其他成分的無菌媒液中製備。在用於製備無菌可注射溶

液之無菌散劑之情況下，製備方法包括真空乾燥及冷凍乾燥，其產生活性成分加來自其先前無菌過濾溶液之任何其他所需成分的散劑。

【0297】適用於關節內投與之調配物可呈本文所述配體中任一者之無菌水性製劑形式，其可呈微晶形式，例如呈水性微晶懸浮液形式。脂質體調配物或可生物降解聚合物系統亦可用於呈遞用以關節內及經眼投與之本文所述之配體中任一者。

【0298】活性化合物可與防止化合物自體內快速排除之載劑製備諸如控制釋放型調配物，其包括植入物及微囊封遞送系統。可使用可生物降解、生物相容性聚合物，諸如乙烯乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、膠原蛋白、聚原酸酯及聚乳酸。用於製備此調配物之方法將為一般熟習此項技術者顯而易見。亦可使用脂質體懸浮液作為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製備，例如美國專利案第4,522,811號中所述。

【0299】醫藥組合物可含有通常見於醫藥組合物中之其他另外組分。此等另外組分包括(但不限於)：止癢劑、收斂劑、局部麻醉劑或消炎劑(例如抗組胺劑、苯海拉明等)。如本文所使用，「藥理學有效量」、「治療有效量」或簡單的「有效量」係指產生藥理學、治療性或預防性結果之醫藥活性劑之量。

【0300】含有 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體之藥物亦係本發明之目的，且用於製造此等藥物之方法亦係本發明之目的，該等方法包含使一或多種含有 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體之化合物及必要時一或多種具有已知治療益處之其他物質成為醫藥學上可接受之形式。

【0301】所述 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體及本文所揭示之包含 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體

之醫藥組合物可封裝或包括於套組、容器、包裝或分配器中。 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體及包含 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體之醫藥組合物可封裝於預填注射器或小瓶中。

細胞、組織及非人類生物體

【0302】 涵蓋包括本文所述之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體中之至少一者的細胞、組織及非人類生物體。藉由此項技術中可利用之任何方式將 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體遞送至細胞、組織或非人類生物體來製得細胞、組織或非人類生物體。在一些實施例中，細胞為哺乳動物細胞，包括(但不限於)人類細胞。

靶向基團、連接基團、藥物動力學(PK)調節劑及遞送媒劑

【0303】 在一些實施例中， $\alpha v\beta 6$ 配體與一或多種非核苷酸基團結合，該等基團包括(但不限於)鍵聯基團、藥物動力學(PK)調節劑、遞送聚合物或遞送媒劑。非核苷酸基團可增強貨物分子之靶向、遞送或連接。靶向基團及鍵聯基團之實例提供於表6中。非核苷酸基團可共價連接至有義股及/或反義股之3'端及/或5'端。在實施例中，在貨物分子係RNAi藥劑之情況下，RNAi藥劑含有連接至有義股之3'端及/或5'端之非核苷酸基團。在一些實施例中，非核苷酸基團連接至RNAi藥劑有義股之5'端。 $\alpha v\beta 6$ 配體可直接或經由連接子/鍵聯基團間接連接至貨物分子。在一些實施例中， $\alpha v\beta 6$ 配體經由不穩定、可裂解或可逆鍵或連接子連接至貨物分子。

【0304】 在一些實施例中，非核苷酸基團增強RNAi藥劑或連接至其之結合物之藥物動力學或生物分佈特性，以改良細胞特異性或組織特異性分佈及結合物之細胞特異性攝取。在一些實施例中，非核苷酸基團增強RNAi藥劑之胞吞作用。

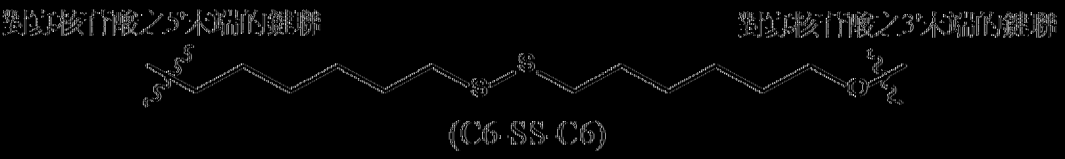
【0305】 靶向基團或靶向部分增強其所連接之貨物分子的藥物動力學或生物分佈特性，以改良貨物分子之細胞特異性(在一些情況下包括器官特異性)分佈及細胞特異性(或器官特異性)攝取。在一些實施例中，靶向配體可包含如本文所述之 $\alpha v\beta 6$ 配體。在一些實施例中，靶向基團包含連接子。在一些實施例中，靶向基團包含PK調節劑。在一些實施例中， $\alpha v\beta 6$ 配體使用連接子連接至貨物分子，該連接子係諸如PEG連接子或一個、兩個或三個無鹼基及/或核糖醇(無鹼基核糖)殘基，該等殘基在一些情況下可充當連接子。

【0306】 可合成具有諸如胺基(在本文中亦稱為胺)之反應性基團的貨物分子。在實施例中，在貨物分子係RNAi藥劑之情況下，可在5'末端及/或3'末端連接反應性基團。反應性基團可用於隨後使用此項技術中典型之方法連接 $\alpha v\beta 6$ 配體。

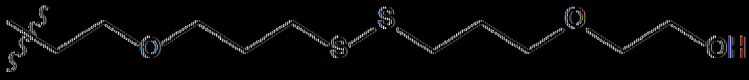
【0307】 舉例而言，在一些實施例中，合成在RNAi藥劑之有義股之5'-末端具有 $\text{NH}_2\text{-C}_6$ 基團之RNAi藥劑。末端胺基隨後可反應以與例如包括 $\alpha v\beta 6$ 整合素靶向配體之基團形成結合物。在一些實施例中，合成在RNAi藥劑之有義股之5'-末端具有一或多個炔基基團之RNAi藥劑。該(等)末端炔基可隨後反應以與例如包括 $\alpha v\beta 6$ 整合素靶向配體之基團形成結合物。

【0308】 在一些實施例中，鍵聯基團與 $\alpha v\beta 6$ 配體結合。鍵聯基團有助於 $\alpha v\beta 6$ 配體與貨物分子、藥物動力學調節劑、遞送聚合物或遞送媒劑之共價鍵聯。鍵聯基團之實例包括(但不限於)：Alk-SMPT-C6、Alk-SS-C6、DBCO-TEG、Me-Alk-SS-C6及C6-SS-Alk-Me；反應性基團，諸如一級胺及炔基、烷基、無鹼基殘基/核苷酸、胺基酸、三炔基官能化基

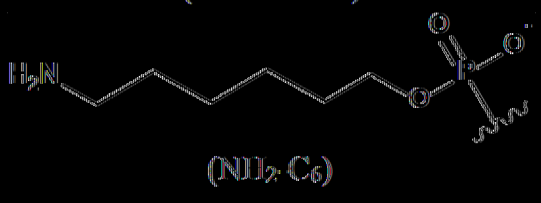
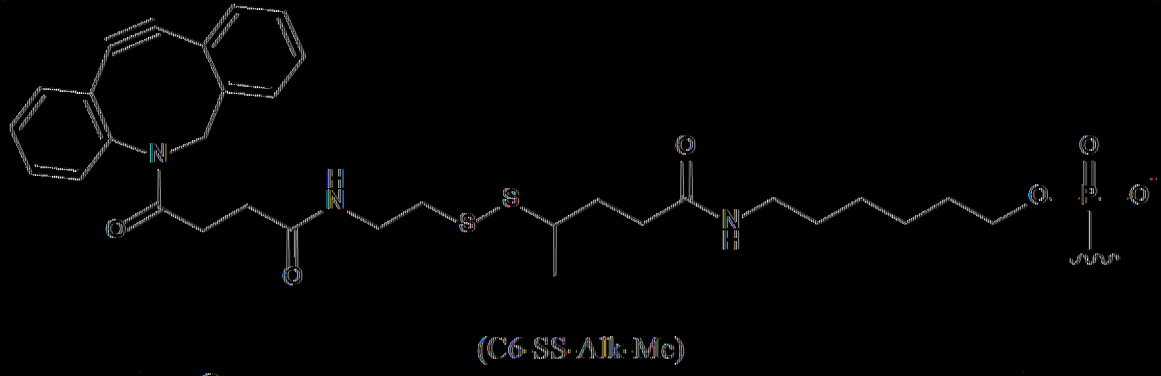
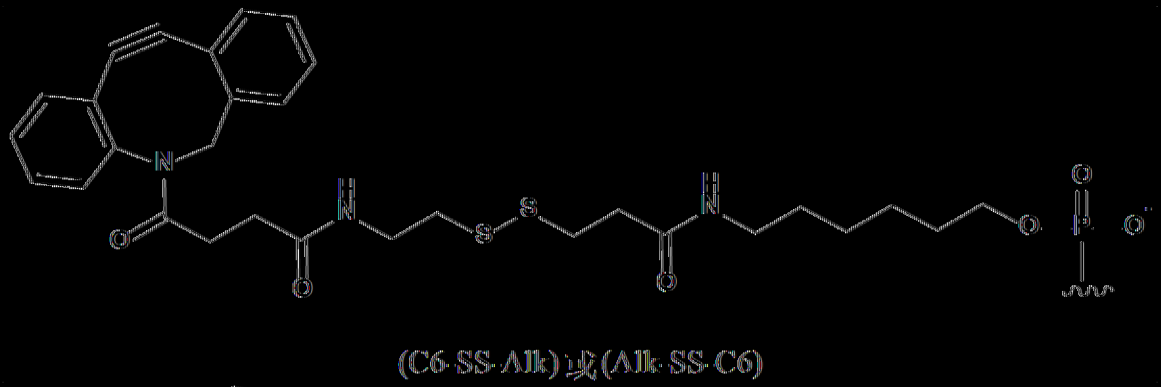
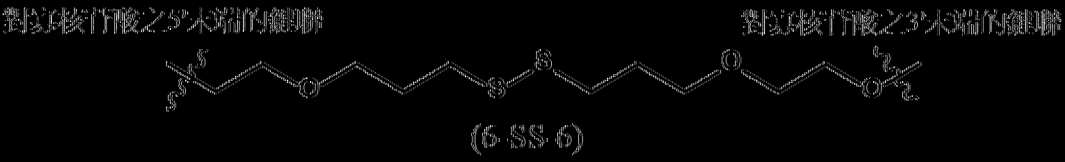
當位於寡核苷酸內部時：

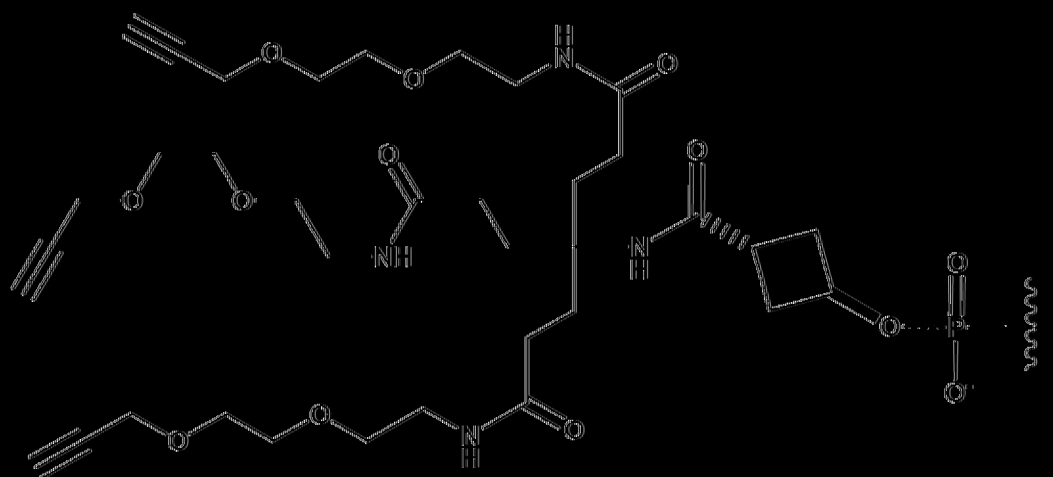


當位於寡核苷酸之3'末端時：

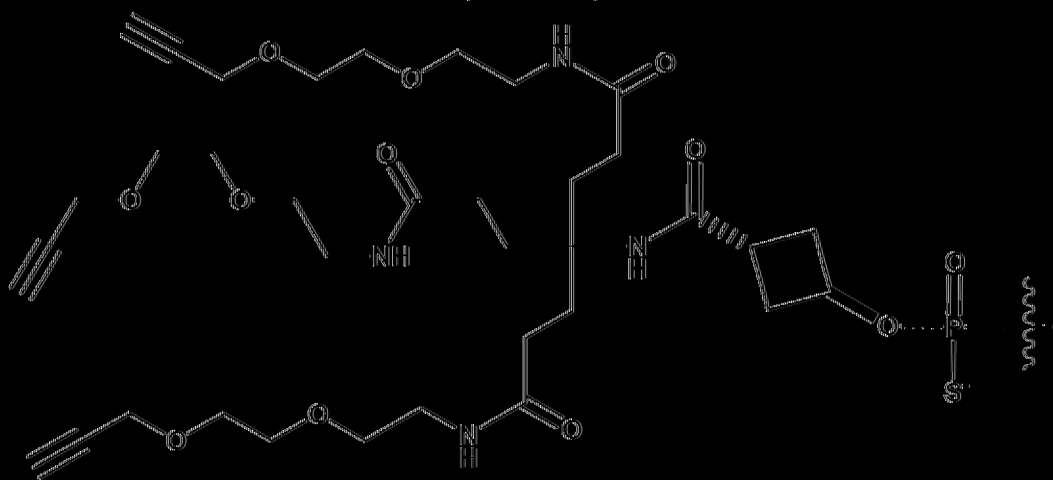


當位於寡核苷酸內部時：

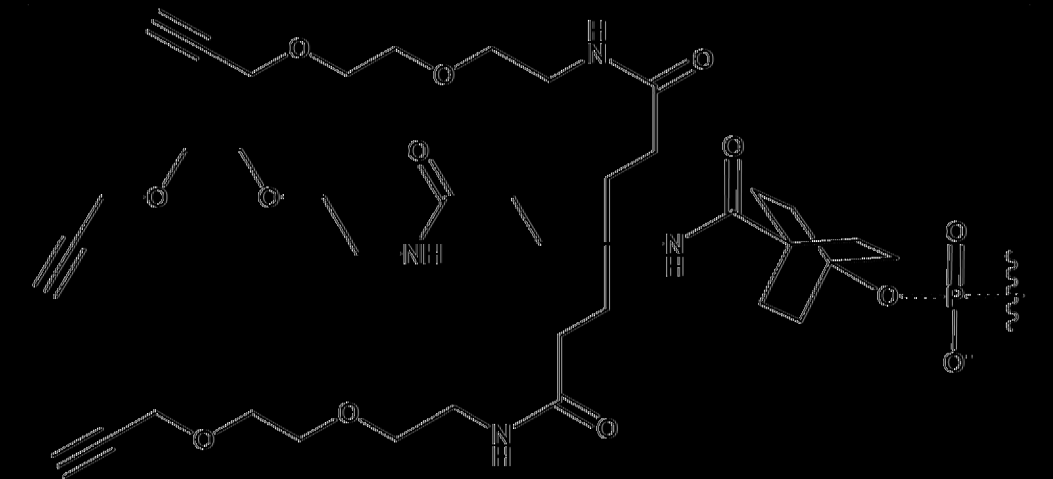




(TriAlk11)

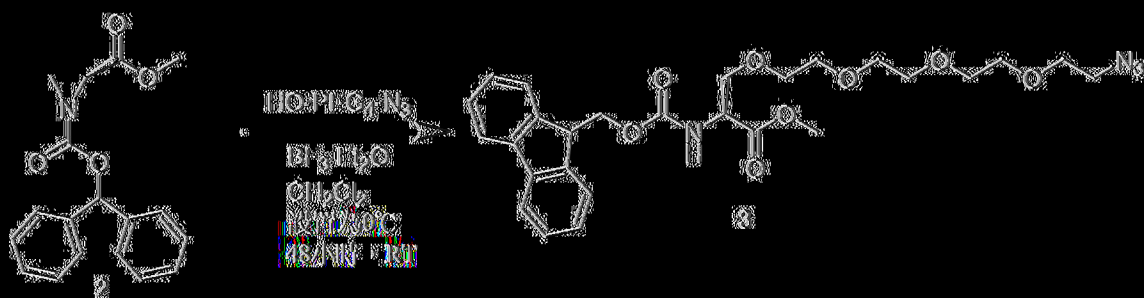


(TriAlk11)s

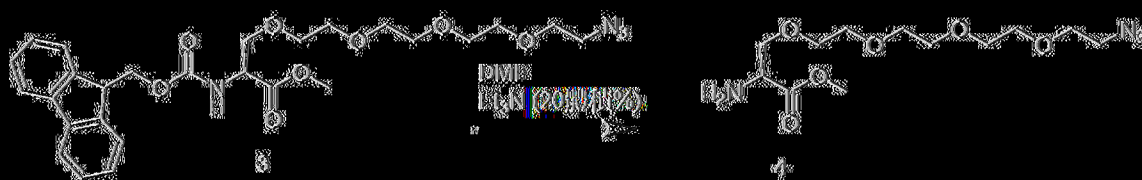


(TriAlk12)

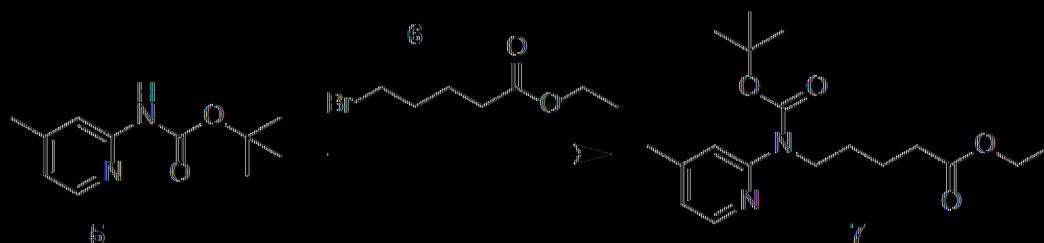
(8:2)監測反應。乾燥溶液得到白色沈澱物及淺黃色油狀物之混合物。添加己烷(40 mL)且經熱風槍逐漸加熱直至所有白色沈澱物溶解。添加己烷產生兩個層，透明上層及油層。將己烷層傾倒出且保留油層。重複添加己烷且再次傾倒出。使油狀物乾燥。將氮丙啶(1.06 g, 10.5 mmol)溶解於THF / H₂O (2 / 1)中，總計60 mL。在室溫下將Fmoc-OSu (5.312 g, 15.75 mmol, 1.5當量)及NaHCO₃ (2.646 g, 31.5 mmol, 3當量，保持pH = 8.5)添加至混合物中且使其反應隔夜。藉由TLC己烷：乙酸乙酯8:2監測反應。濃縮混合物直至移除所有THF，接著用乙酸乙酯(350 mL)及H₂O (25 mL)稀釋。分離各層且用H₂O (40 mL)洗滌有機物。接著用pH 3-4水(2×40 mL)、接著用H₂O (40 mL)、接著用飽和NaCl水溶液(40 mL)洗滌有機物。有機相經Na₂SO₄乾燥，過濾且濃縮。產物經二氧化矽管柱用10%-20%於己烷中之乙酸乙酯純化。



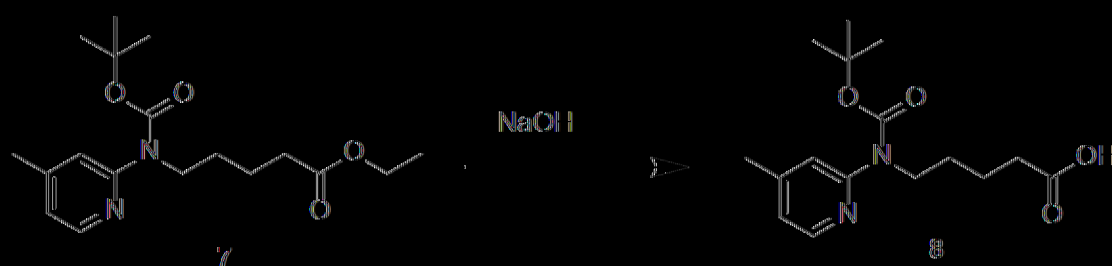
[0318] 將化合物2 (Fmoc-氮丙啶) (1.46 g, 4.52 mmol)及HO-PEG₄-N₃ (1.983 g, 9.04 mmol, 2當量)溶解於DCM中。使混合物冷卻至0 °C。逐滴添加三氟化硼合二乙醚(12滴)。在室溫下攪拌混合物48小時。藉由TLC、具有5% MeOH之DCM監測反應。用NH₄Cl飽和溶液(5 mL)淬滅反應物，用DCM (60 mL)稀釋且用H₂O (3×20 mL)、飽和NaCl水溶液(20 mL)洗滌，經Na₂SO₄乾燥，過濾，且濃縮。產物經二氧化矽管柱用40%-60%於己烷中之乙酸乙酯純化。



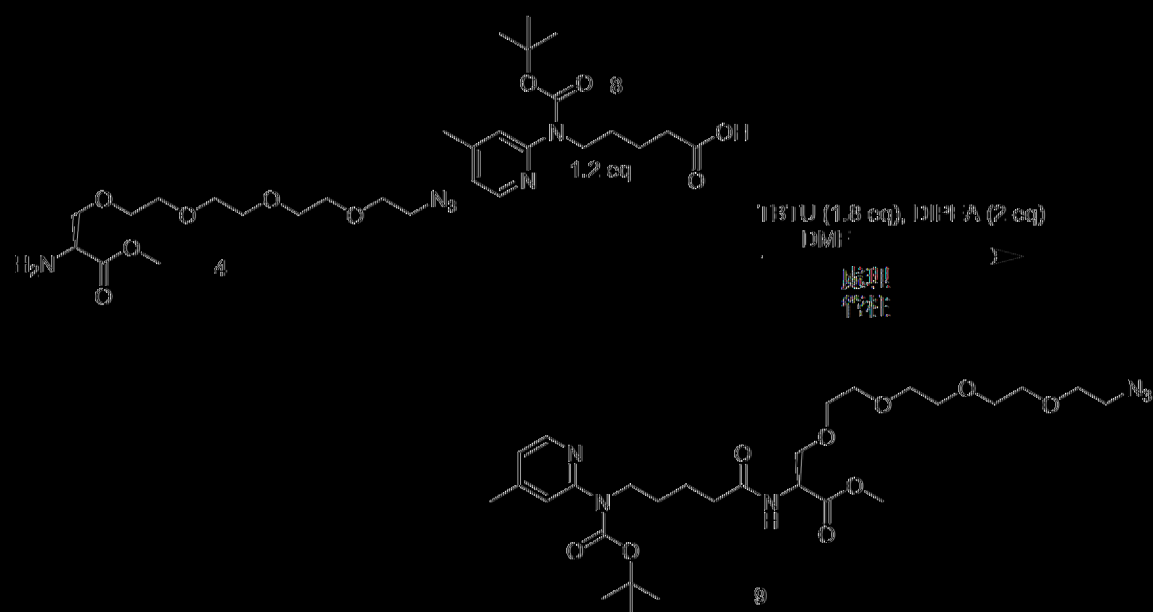
〔0319〕 將化合物3溶解於20%三乙胺於DMF中之溶液中。藉由TLC監測反應。將產物濃縮。



〔0320〕 將化合物5 ((4-甲基吡啶-2-基)胺基甲酸第三丁酯) (0.501 g, 2.406 mmol, 1.0當量)溶解於DMF (17 mL)中。在室溫下向混合物中添加NaH (0.116 mg, 3.01 mmol, 1.25當量, 60 %於礦物油中之分散液)。攪拌混合物10 min, 接著添加5-溴戊酸乙酯(0.798 g, 3.82 mmol, 0.604 mL)。在3小時之後, 用乙醇(18 mL)淬滅反應物, 且濃縮。將產物溶解於DCM (50 mL)中且用飽和NaCl水溶液(50 mL)洗滌, 經Na₂SO₄乾燥, 過濾且濃縮。產物經二氧化矽管柱用梯度0-5%於DCM中之甲醇來純化。



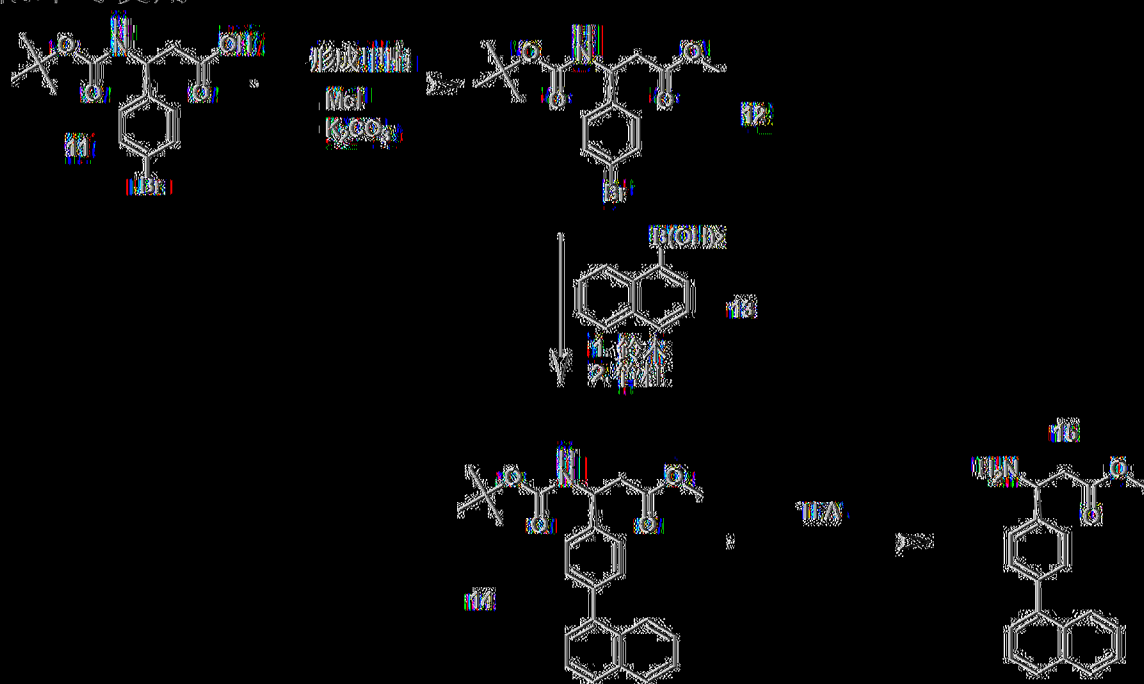
〔0321〕 將化合物7 (0.80 g, 2.378 mmol)溶解於100 mL丙酮: 0.1 M NaOH (1:1)中, 且藉由TLC (5%於己烷中之乙酸乙酯)監測反應。濃縮有機物, 且用0.3 M檸檬酸(40 mL)將混合物酸化至pH 3-4。用DCM (3×75 mL)萃取產物。將有機物混合, 經Na₂SO₄乾燥, 過濾且濃縮。產物未經進一步純化即可使用。



[0322] 將化合物4 (0.340 g, 1.104 mmol)溶解於DMF (10 mL)中。向溶液中添加TBTU (0.531 g, 1.655 mmol)及二異丙基乙胺(0.320 mL, 1.839 mmol)。接著添加化合物8 (0.295 g, 0.9197 mmol)。藉由LC-MS及TLC (具有5% MeOH之DCM)監測反應。反應在2小時內完成。將產物濃縮且溶解於乙酸乙酯(150 mL)中，且用pH 3-4 H₂O (2×12 mL)洗滌。接著依序用H₂O (2×12 mL)、飽和NaHCO₃水溶液(12 mL)、飽和NaCl水溶液(12 mL)洗滌產物。有機相經Na₂SO₄乾燥，過濾且濃縮。產物經二氧化矽管柱用20%於乙酸乙酯中之己烷至100%於乙酸乙酯中之己烷純化。



[0323] 將化合物9 (0.330 g, 0.540 mmol)溶解於10 mL MeOH : 二噁烷[1:1]及1 M LiOH溶液(10 mL)中。在室溫下攪拌混合物2小時，藉由LC-MS及TLC (EtOAc)監測。濃縮有機物，且用H₂O (5 mL)稀釋混合物且酸化至pH 4。用乙酸乙酯(2×50 mL)萃取產物。將有機物混合，用飽和NaCl水溶液(10 mL)洗滌，經Na₂SO₄乾燥，過濾且濃縮。產物未經進一步純化即可使用。

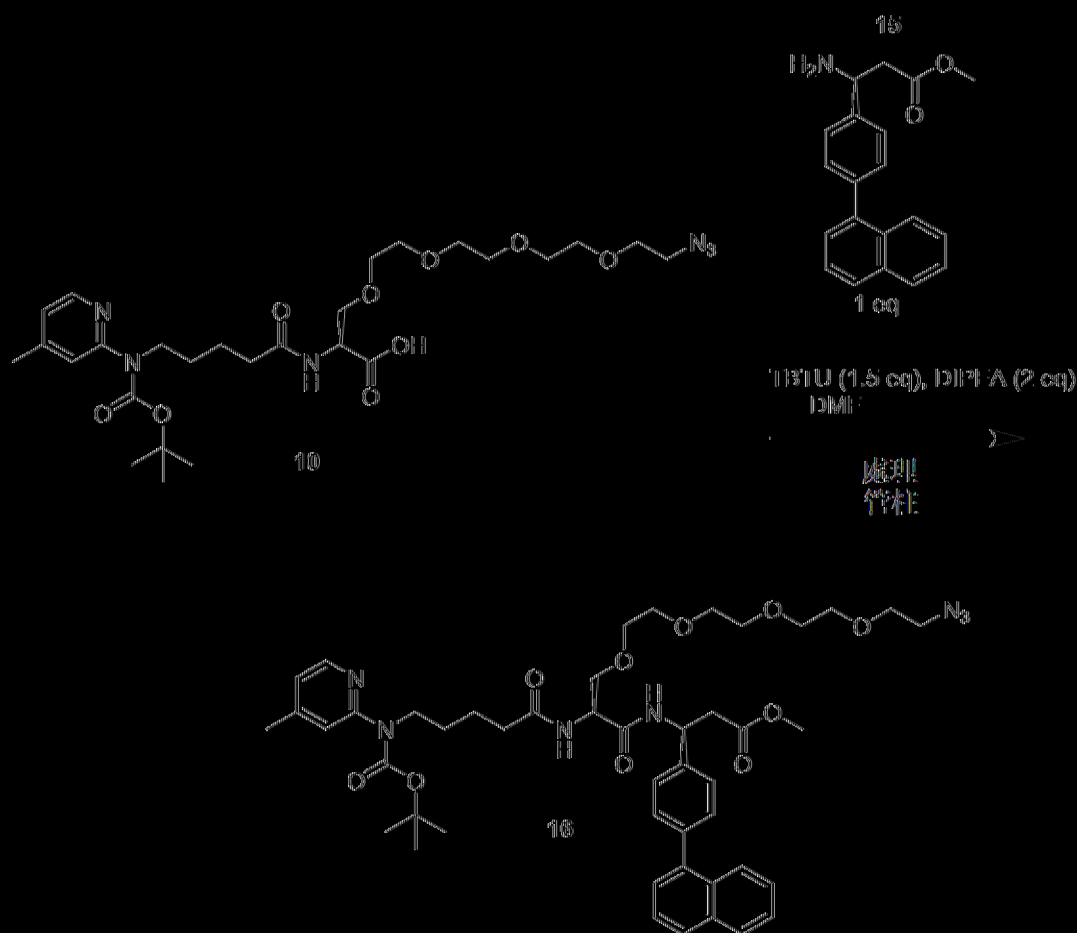


[0324] 將化合物11 ((S)-3-(4-溴苯基)-3-((第三丁氧羰基)胺基)-丙酸) (2.0 g, 5.81 mmol)溶解於DMF (40 mL)中。向混合物中添加K₂CO₃ (1.2 g, 8.72 mmol)。接著添加碘甲烷(1.65 g, 11.62 mmol, 0.72 mL)。藉由TLC (己烷：乙酸乙酯(1:3))監測反應。完成後，使混合物冷卻至0℃且添加H₂O (20 mL)及MTBE (40 mL)。用MTBE (4×40 mL)萃取產物。依序用飽和NaHCO₃水溶液(40 mL)、H₂O (4×40 mL)洗滌合併之有機相。混合物經Na₂SO₄乾燥，過濾且濃縮。

[0325] 向乾燥產物化合物12 (1.0 g, 2.7915 mmol)中添加化合物13 (1-萘酚酸(0.960 g, 5.583 mmol, 2當量))。向混合物中添加[1,1'-雙

(二苯基膦基)二茂鐵二氯鋁(II)或Pd(dppf)Cl₂ (0.0817 g, 0.1117 mmol, 0.4當量)以及Na₂CO₃ (0.888 g, 8.375 mmol, 3當量)。接下來，添加1,4-二噁烷(5 mL)及H₂O (0.2 mL)，且在100℃下攪拌混合物4小時。藉由TLC (己烷：乙酸乙酯(7:3))監測反應。產物藉由二氧化矽層析用梯度0%至50%於己烷中之乙酸乙酯來純化。

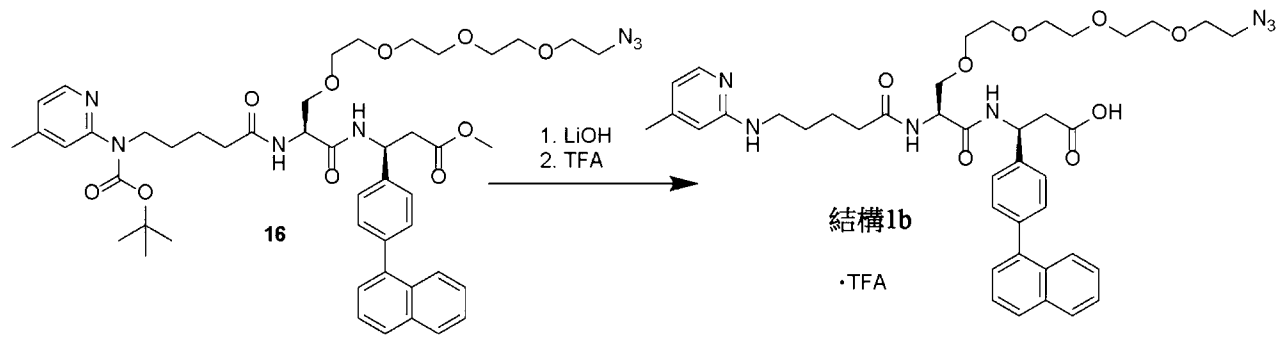
[0326] 將化合物14 (0.200 g, 0.493 mmol)溶解於DCM (2.5 mL)中，接著添加TFA (0.45 mL)。藉由TLC (DCM：甲醇(9:1))監測反應。完成後，濃縮反應混合物。將殘餘物溶解於DCM (4 mL)中且依序用飽和NaHCO₃水溶液(2×2 mL)、飽和NaCl水溶液(2×2 mL)洗滌。有機相經Na₂SO₄乾燥，過濾且濃縮。產物未經進一步純化即可使用。



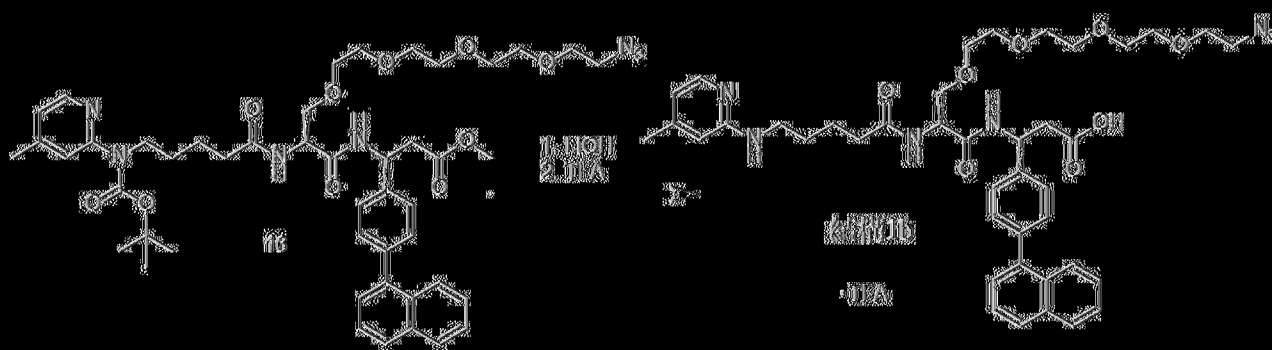
[0327] 將化合物10 (0.3224 g, 0.54 mmol)溶解於DMF (7 mL)中。向混合物中添加TBTU (0.236 g, 0.735 mmol)及二異丙基乙胺(0.170 g, 1.62 mmol)。反應混合物在100℃下攪拌4小時。藉由TLC (己烷：乙酸乙酯(7:3))監測反應。產物藉由二氧化矽層析用梯度0%至50%於己烷中之乙酸乙酯來純化。

第 125 頁(發明說明書)

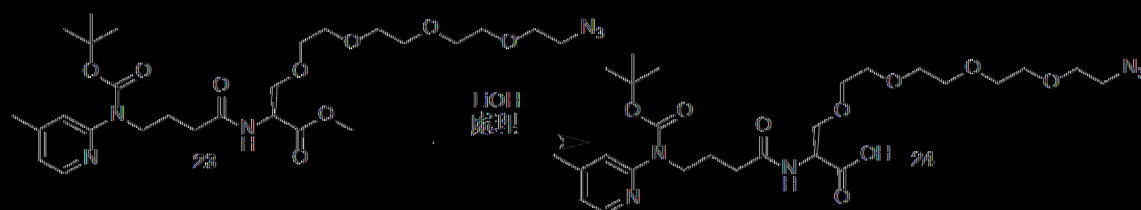
mL, 0.98 mmol)。接著添加化合物15 (0.1496 g, 0.49 mmol)。在室溫下攪拌反應物2小時。藉由LC-MS監測反應。濃縮混合物，且將殘餘物溶解於乙酸乙酯(90 mL)中，且用pH 3-4 H₂O (3×10 mL)洗滌。依序用H₂O (2×10 mL)、飽和NaHCO₃水溶液(10 mL)及飽和NaCl水溶液(1×10 mL)洗滌產物。有機相經Na₂SO₄乾燥，過濾且濃縮。產物藉由二氧化矽層析使用DCM、至5% MeOH之梯度來純化。



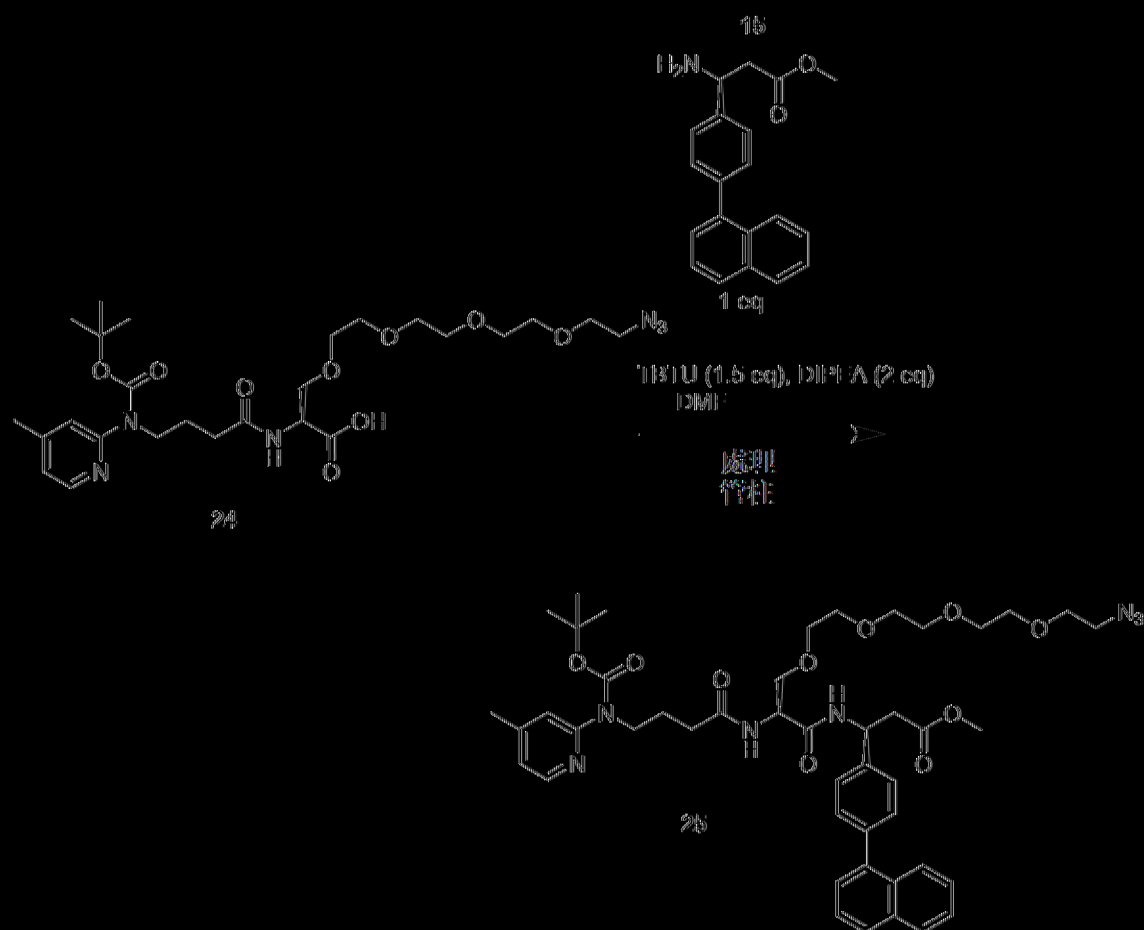
【0328】 將化合物16 (0.250 g, 0.2828 mmol)溶解於MeOH：二噁烷[1:1] (4 mL)及1 M LiOH溶液(4 mL)中。在室溫下攪拌混合物2小時。濃縮有機物，且用H₂O (3 mL)稀釋混合物且酸化至pH 4。用乙酸乙酯 (3×20 mL)萃取產物。將有機物混合且用飽和NaCl水溶液(10 mL)洗滌。產物經Na₂SO₄乾燥。將產物(0.200 g, 0.2299 mmol)溶解於2 mL DCM：TFA [25:75]中，且在室溫下攪拌2小時。向混合物中添加甲苯(4 mL)。將混合物濃縮，接著與乙腈(2×4 mL)共蒸發。產物藉由HPLC、梯度經30分鐘35%ACN至50%、0.1% TFA緩衝劑來純化。=> [M+H]⁺ C₄₁H₅₁N₇O₈之計算值為：769.90，實驗值：770.45；¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.64 (d, 1H), 8.07 (d, 1H), 8.00 (d, 1H), 7.95 (d, 1H), 7.78 (t, 2H), 7.60-7.40 (m, 8H), 6.80 (s, 1H), 6.67 (d, 1H), 5.31 (q, 1H), 4.55 (m, 1H), 3.62 - 3.45 (m, 18H), 3.40 (t, 2H), 3.25 (m, 2H), 2.80 (dd, 2H), 2.30 (s, 3H), 2.20 (t, 2H), 1.55 (m, 4H)。



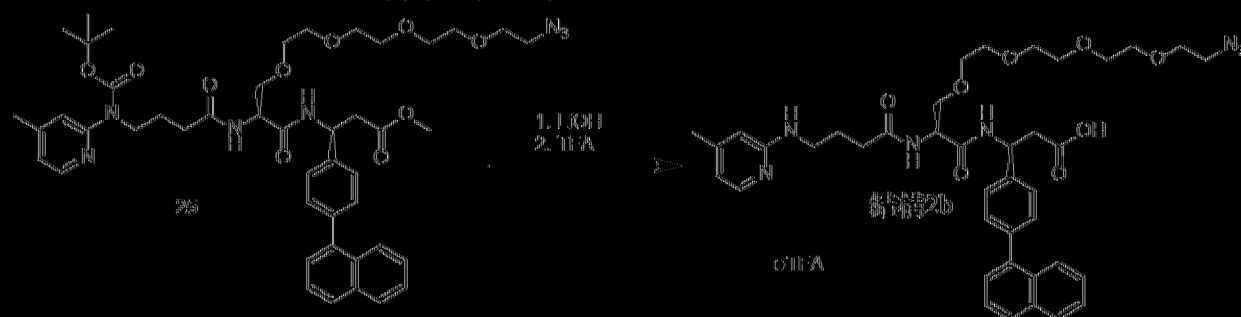
[0331] 將化合物22 (0.340 g, 1.104 mmol)溶解於DMF (10 mL)中。向混合物中添加TBTU (0.531 g, 1.655 mmol)及二異丙基乙胺(0.320 mL, 1.839 mmol)。接著添加化合物10 (0.295 g, 0.9197 mmol)。藉由LC-MS及TLC (具有5% MeOH之DCM)監測反應。反應在2小時內完成。將混合物濃縮，溶解於乙酸乙酯(150 mL)中，且用pH 3-4 H₂O (2×12 mL)洗滌。接著依序用H₂O (2×12 mL)、飽和NaHCO₃水溶液(12 mL)、飽和NaCl水溶液(12 mL)洗滌混合物。有機相經Na₂SO₄乾燥，過濾且濃縮。產物經二氧化矽管柱用20%於乙酸乙酯中之己烷至100%於乙酸乙酯中之己烷純化。



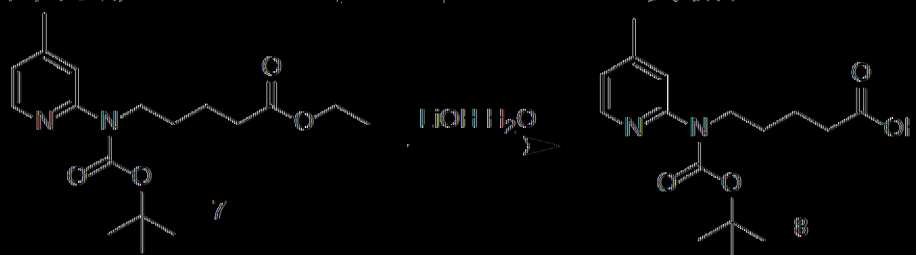
[0332] 將化合物23 (0.330 g, 0.540 mmol)溶解於10 mL MeOH : 二噁烷[1:1]及1 M LiOH溶液(10 mL)中。在室溫下攪拌混合物2小時且藉由LC-MS及TLC (100% EtOAc)監測。濃縮有機物，且用H₂O (5 mL)稀釋殘餘物且酸化至pH 4。用乙酸乙酯(2×50 mL)萃取產物。用飽和NaCl水溶液(1×10 mL)洗滌合併之有機相。有機相經Na₂SO₄乾燥，過濾且濃縮。產物未經進一步純化即可使用。



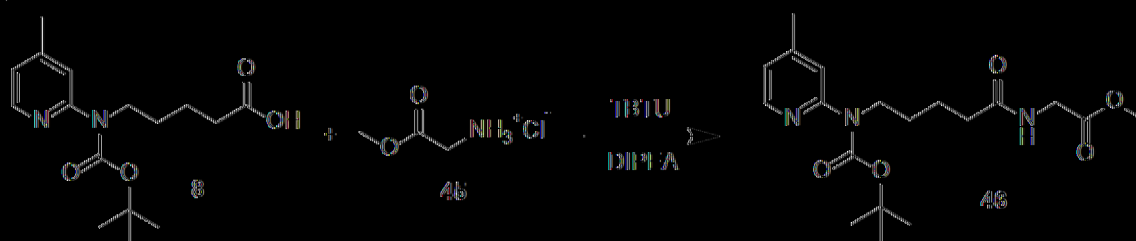
[0333] 將化合物24 (0.3224 g, 0.54 mmol)溶解於DMF (7 mL)中。向混合物中添加TBTU (0.236 g, 0.735 mmol)及二異丙基乙胺(0.170 mL, 0.98 mmol)。接著添加化合物15 (0.1496 g, 0.49 mmol)。在室溫下攪拌混合物2小時。藉由HPLC-MS監測反應。濃縮混合物，且將殘餘物溶解於乙酸乙酯(90 mL)中，且用pH 3-4 H₂O (3×10 mL)洗滌。依序用H₂O (2×10 mL)、飽和NaHCO₃水溶液(10 mL)及飽和NaCl水溶液(10 mL)洗滌濃縮物。有機相經Na₂SO₄乾燥，過濾且濃縮。產物經二氧化矽管柱用DCM、至5% MeOH之梯度來純化。



之後在相同溫度下添加化合物6 (1.18 mL, 5.647 mmol, 1.2當量)。在0℃下再攪拌30分鐘之後，使混合物升溫至室溫。在室溫下攪拌1小時之後，藉由飽和 NH_4Cl 水溶液淬滅反應物。用乙酸乙酯(3×20 mL)萃取水相且將有機相合併，經 Na_2SO_4 乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相來分離。LC-MS: $[\text{M}+\text{H}]^+$ 337.20，實驗值337.39。



[0336] 在0℃下向化合物7 (1.347 g, 4.00 mmol, 1當量)於THF (5 mL)及 H_2O (5 mL)中之溶液中逐份添加單水合氫氰化鋇(0.505 g, 12.01 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫。在室溫下攪拌1小時之後，反應混合物藉由 HCl (6 N)酸化至pH 4.0。用乙酸乙酯(3×20 mL)萃取水相且將有機相合併，經 Na_2SO_4 乾燥且濃縮。LC-MS: $[\text{M}+\text{H}]^+$ 309.17，實驗值309.39。

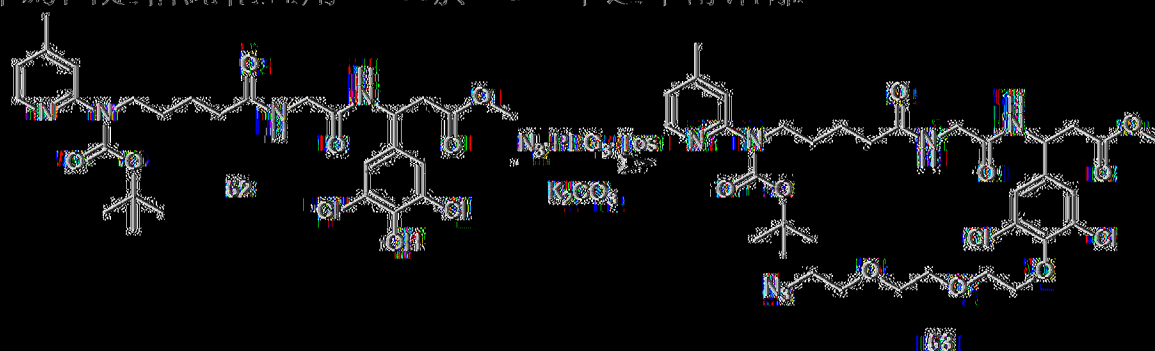


[0337] 在0℃下向化合物8 (1.163 g, 3.77 mmol, 1當量)、化合物45 (568 mg, 4.52 mmol, 1.2當量)及TBTU (1.453 g, 4.52 mmol, 1.2當量)於無水DMF (10 mL)中之溶液中添加二異丙基乙胺(1.97 mL, 11.31 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫，且攪拌3小時。藉由飽和 NaHCO_3 溶液(20 mL)淬滅反應物。用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相，且將有機相合併，經無水 Na_2SO_4 乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽

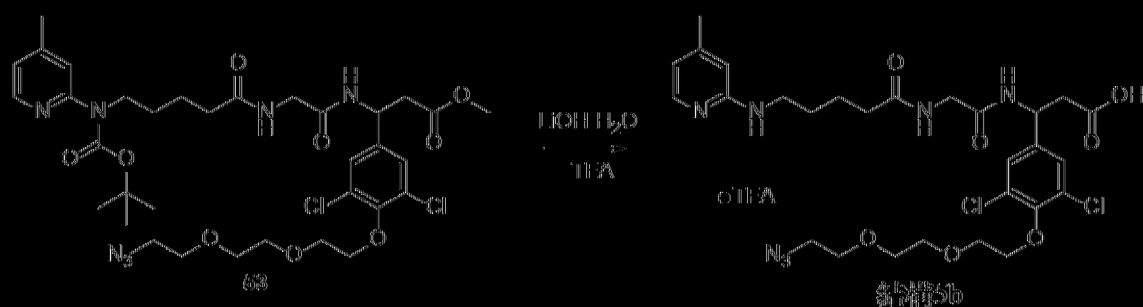
水甲醇(10 mL)中之懸浮液中添加亞硫醯氯(308 μ L, 4.24 mmol, 2.0當量)。使反應物升溫至室溫且攪拌隔夜。減壓移除溶劑且產物未經進一步純化即可直接使用。LC-MS: 計算值[M+H]⁺ 264.01, 實驗值264.20。



[0341] 在0℃下向化合物50 (150 mg, 0.410 mmol, 1當量)、化合物51 (148 mg, 0.492 mmol, 1.2當量)及TBTU (158 mg, 0.492 mmol, 1.2當量)於無水DMF (5 mL)中之溶液中添加二異丙基乙胺(0.214 mL, 1.23 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫, 且攪拌3小時。藉由飽和NaHCO₃水溶液(10 mL)淬滅反應物, 且用乙酸乙酯(3×20 mL)萃取產物。將有機相合併, 經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化, 且用2-4%於DCM中之甲醇溶離。

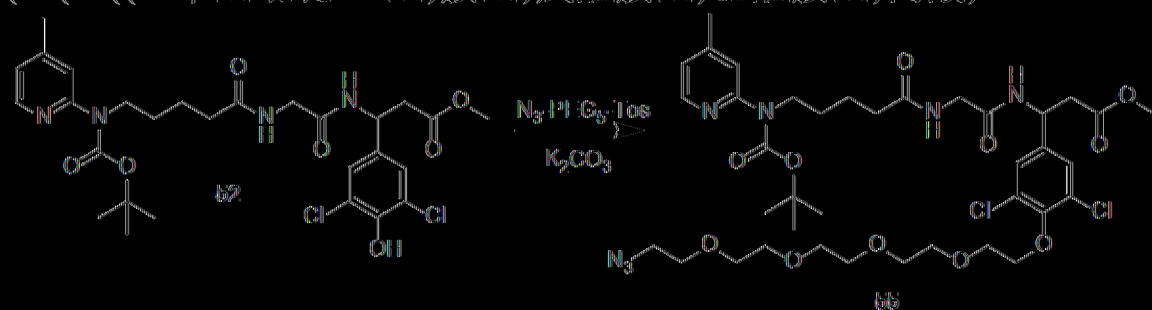


[0342] 在0℃下向化合物52 (80 mg, 0.130 mmol, 1當量)及疊氮基-PEG₃-OTs (86 mg, 0.262 mmol, 2當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加K₂CO₃ (36 mg, 0.262 mmol, 2當量)。在80℃下攪拌反應混合物1小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化, 且用2-4%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS: 計算值[M+H]⁺ 768.28, 實驗值769。

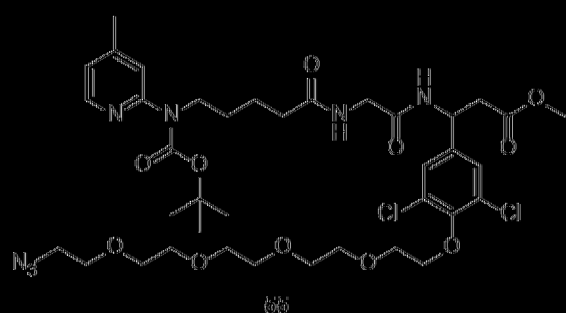


[0343] 在室溫下向化合物53 (58 mg, 0.0755 mmol, 1.0當量)於THF (2 mL)及水(2 mL)中之溶液中添加單水合氫氧化鋰(10 mg, 0.226 mmol, 3.0當量)。在室溫下再攪拌混合物2小時。藉由HCl (6N)將pH調節至3.0, 且用EtOAc (3×10 mL)萃取水相。將有機相合併, 經Na₂SO₄乾燥且濃縮。將TFA (0.25 mL)及DCM (0.75 mL)添加至殘餘物中且在室溫下再攪拌混合物1小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑。LC-MS: 計算值[M+H]⁺ 654.21, 實驗值655。

結構5.1b (3-((4-((14-疊氮基-3,6,9,12-四氧雜-1-四烷基)氧基)-3,5-二氯苯基)-3-(2-(5-((4-甲基吡啶-2-基)胺基)戊酰胺基)乙酰胺基)丙酸)

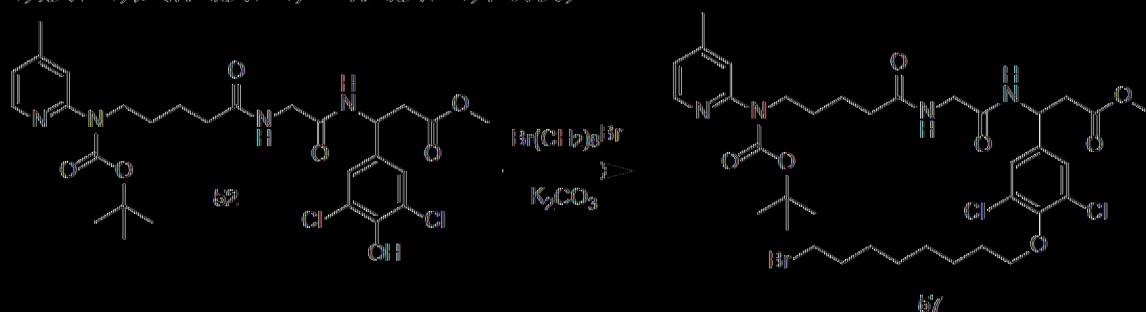


[0344] 在0℃下向化合物52 (100 mg, 0.163 mmol, 1當量)及疊氮基-PEG₅-OTs (205 mg, 0.491 mmol, 3當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加K₂CO₃ (68 mg, 0.491 mmol, 2當量)。在80℃下攪拌反應混合物1小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化且用2-3%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS: 計算值[M+H]⁺ 856.33, 實驗值857.07。

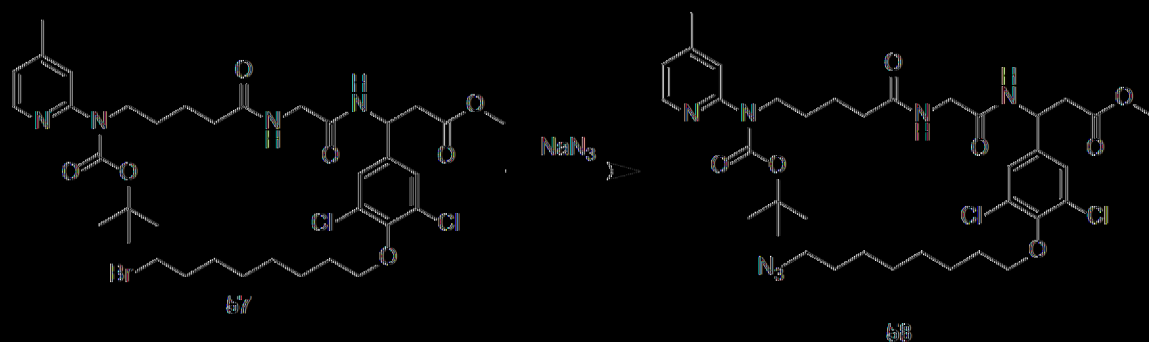


[0345] 在室溫下向化合物55 (119 mg, 0.139 mmol, 1.0當量)於THF (4 mL)及水(4 mL)中之溶液中添加氫氧化鋇(10 mg, 0.417 mmol, 3.0當量)。在室溫下再攪拌混合物1小時。藉由HCl (6N)將pH調節至3.0, 且用EtOAc (3×10 mL)萃取水相。將有機相合併, 經Na₂SO₄乾燥且濃縮。將TFA (2 mL)及DCM (2 mL)添加至殘餘物中且在室溫下再攪拌混合物3小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑。LC-MS: 計算值[M+H]⁺ 742.27, 實驗值743.02。

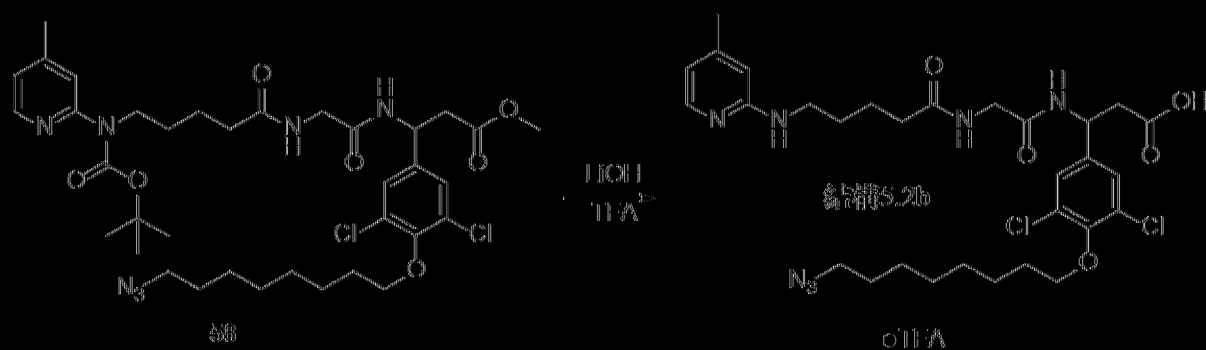
結構5.2b (3-(4-((8-羧基辛基)氧基)-3,5-二氯苯基)-3-(2-(5-((4-甲基吡啶-2-基)胺基)戊酰胺基)乙酰胺基)丙酸)



[0346] 在室溫下向化合物52 (89 mg, 0.14 mmol, 1當量)及1,8-二溴辛烷(80 μ L, 0.436 mmol, 3當量)於丙酮(2 mL)中之溶液中添加K₂CO₃ (60 mg, 0.436 mmol, 3當量)。在55°C下攪拌反應混合物6小時。藉由飽和NaHCO₃溶液淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相。將有機相合併, 經Na₂SO₄乾燥且濃縮。LC-MS: 計算值[M+H]⁺ 801.23, 實驗值801.98。



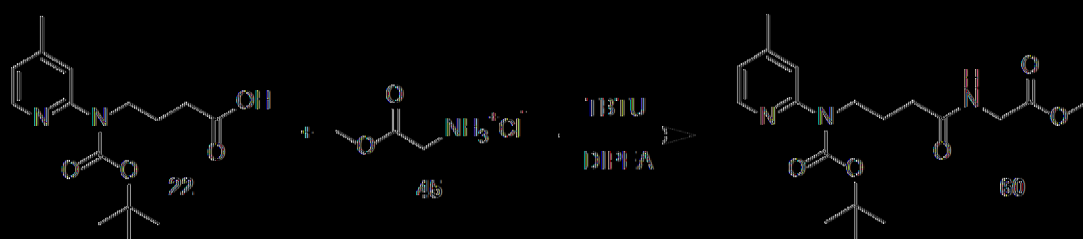
[0347] 在室溫下向化合物57 (97 mg, 0.114 mmol, 1當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加疊氮化鈉(15 mg, 0.229 mmol, 2當量)。在80℃下攪拌反應混合物2小時。藉由水淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水層。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物未經進一步純化即可直接使用。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 764.32，實驗值765.07。



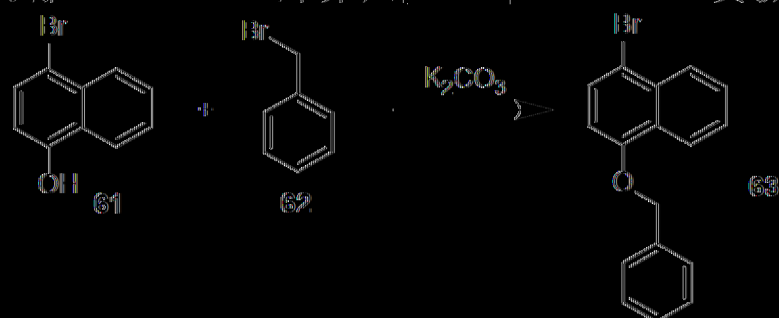
[0348] 在室溫下向化合物58 (78 mg, 0.101 mmol, 1.0當量)於THF (2 mL)及水(2 mL)中之溶液中添加氫氧化鋇(7 mg, 0.304 mmol, 3.0當量)。在室溫下再攪拌混合物1小時。藉由HCl (6N)將pH調節至3.0，且用EtOAc (3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。將TFA (2 mL)及DCM (2 mL)添加至殘餘物中且在室溫下再攪拌混合物3小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 650.25，實驗值650.83。

合成結構6b、6.1b、6.2b、6.3b及6.4b.

結構6b ((S)-3-(4-(4-(2-(2-(2-疊氨基乙氧基)乙氧基)乙氧基)苯-1-基)苯基)-3-(2-(4-((4-甲基吡啶-2-基)胺基)丁酰胺基)乙酰胺基)丙酸)



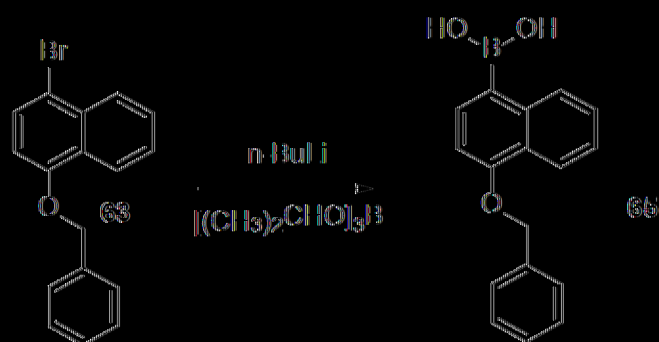
[0349] 在0℃下向化合物22 (1.1 g, 3.95 mmol, 1當量)、化合物45 (595 mg, 4.74 mmol, 1.2當量)及TBTU (1.52 g, 4.74 mmol, 1.2當量)於無水DMF (10 mL)中之溶液中添加二異丙基乙胺(2.06 mL, 11.85 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫，且攪拌3小時。藉由飽和NaHCO₃溶液(10 mL)淬滅反應物。用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相，且將有機相合併，經無水Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相來分離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 366.20，實驗值367。



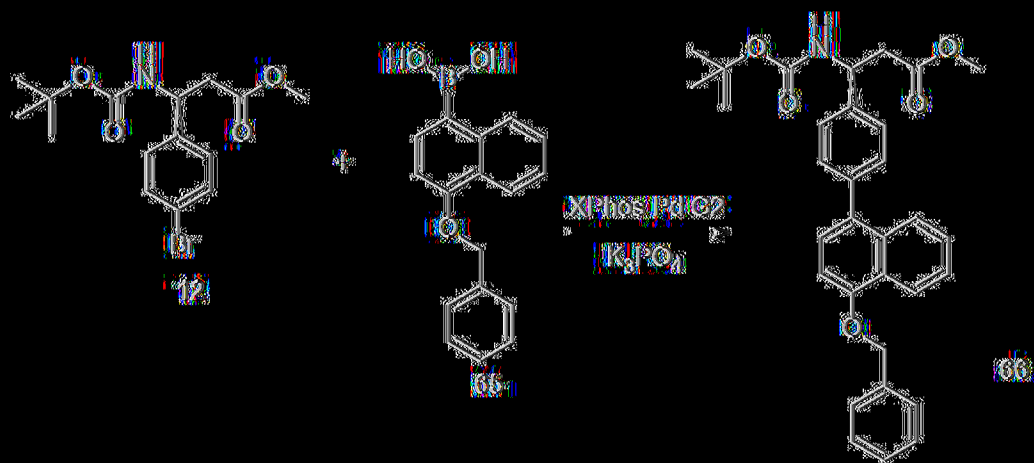
[0350] 在0℃下向化合物61 (2 g, 8.96 mmol, 1當量)及化合物62 (2.13 mL, 17.93 mmol, 2當量)於無水DMF (10 mL)中之溶液中添加K₂CO₃ (2.48 g, 17.93 mmol, 2當量)。使反應混合物升溫至室溫且攪拌隔夜。藉由水(10 mL)淬滅反應物。用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相，且將有機相合併，經無水Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相來分離。

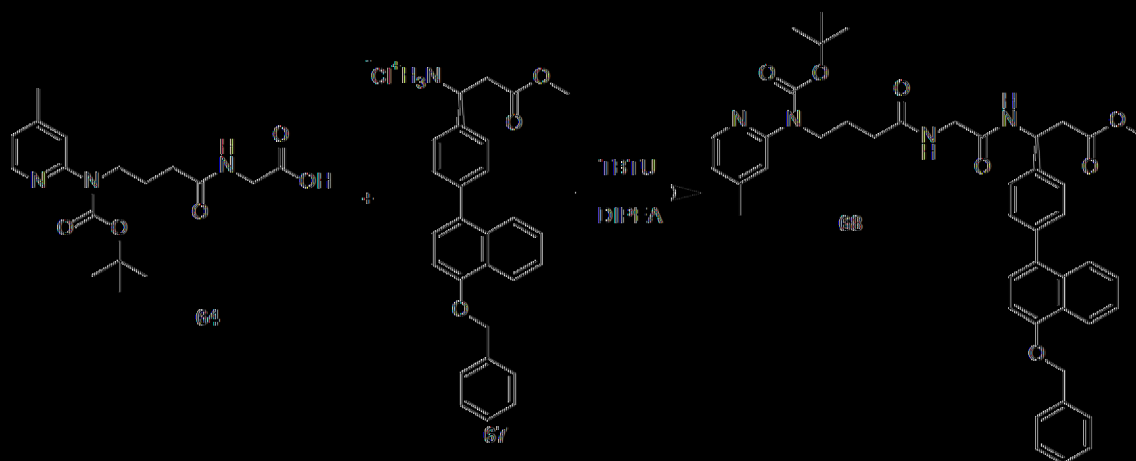


[0351] 在0℃下向化合物60 (1.77 g, 4.84 mmol, 1當量)於THF (5 mL)及H₂O (5 mL)中之溶液中逐份添加單水合氫氧化鋁(0.61 g, 14.53 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫。在室溫下攪拌3小時之後，反應混合物藉由HCl (6 N)酸化至pH 3.0。用乙酸乙酯(3×20 mL)萃取水相且將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 352.18，實驗值352。

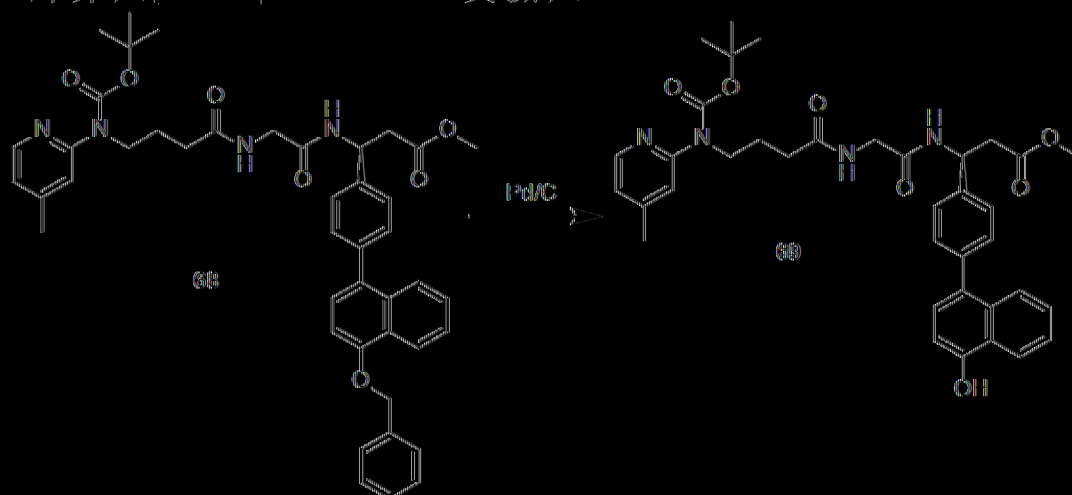


[0352] 在-78℃下向化合物63 (1.88 g, 6.0 mmol, 1.0當量)於無水THF (20 mL)中之溶液中逐滴添加於己烷中之 $n\text{-BuLi}$ (3.6 mL, 9.0 mmol, 1.5當量)。反應再保持在-78℃下1小時。接著在-78℃下將硼酸三異丙酯(2.08 mL, 9.0 mmol, 1.5當量)添加至混合物中。接著使反應升溫至室溫且再攪拌1小時。藉由飽和NH₄Cl溶液(20 mL)淬滅反應物且將pH調節至3。用EtOAc (3×20 mL)萃取水相，且將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。



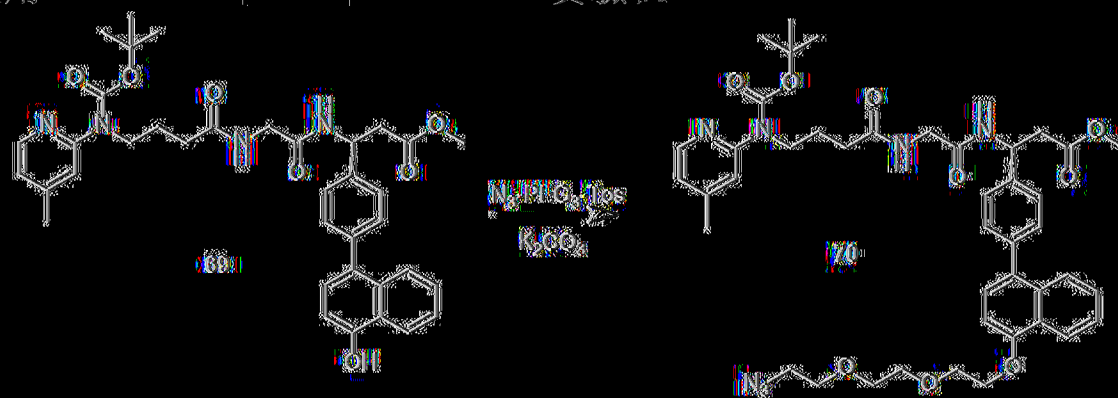


[0355] 在0℃下向化合物64 (500 mg, 1.423 mmol, 1當量)、化合物67 (669 mg, 1.494 mmol, 1.05當量)及TBTU (548 mg, 0.492 mmol, 1.2當量)於無水DMF (15 mL)中之溶液中添加二異丙基乙胺(0.744 mL, 4.268 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫且再攪拌1小時。藉由飽和NaHCO₃水溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×20 mL)萃取產物。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化且用3-4%於DCM中之甲醇溶離。產率係96.23%。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 745.35，實驗值746.08。

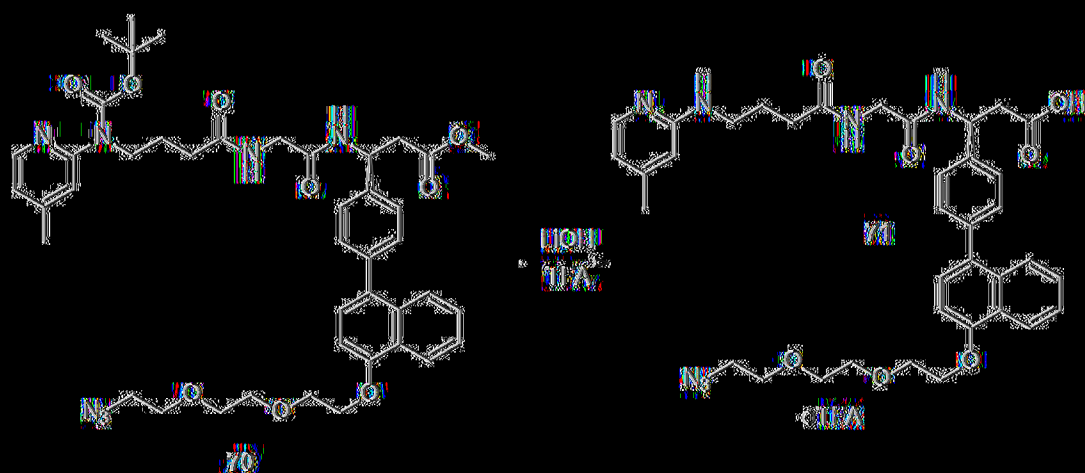


[0356] 在室溫下向化合物68 (1.02 g, 1.369 mmol, 1當量)於乙酸乙酯(10 mL)中之溶液中添加10% Pd/C (0.15 g, 50% H₂O)。使反應混合物升溫至室溫且藉由LC-MS監測反應。反應保持在室溫下隔夜。經由

Celite®濾出固體且藉由旋轉蒸發器移除溶劑。產物未經進一步純化即可直接使用。LC-MS: $[M+H]^+$ 655.31, 實驗值655.87。



[0357] 在0℃下向化合物69 (100 mg, 0.152 mmol, 1當量)及疊氮基-PEG₃-OTs (100 mg, 0.305 mmol, 2當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加K₂CO₃ (42 mg, 0.305 mmol, 2當量)。在80℃下攪拌反應混合物6小時。藉由飽和NaHCO₃溶液淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相。將有機相合併, 經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相來分離。LC-MS: 計算值 $[M+H]^+$ 812.39, 實驗值813.14。



[0358] 在室溫下向化合物70 (77 mg, 0.0948 mmol, 1.0當量)於THF (2 mL)及水(2 mL)中之溶液中添加氫氧化鋇(7 mg, 0.284 mmol, 3.0當量)。在室溫下再攪拌混合物2小時。藉由HCl (6N)將pH調節至3.0, 且用EtOAc (3×10 mL)萃取水相。將有機相合併, 經Na₂SO₄乾燥且濃

第 141 頁(發明說明書)

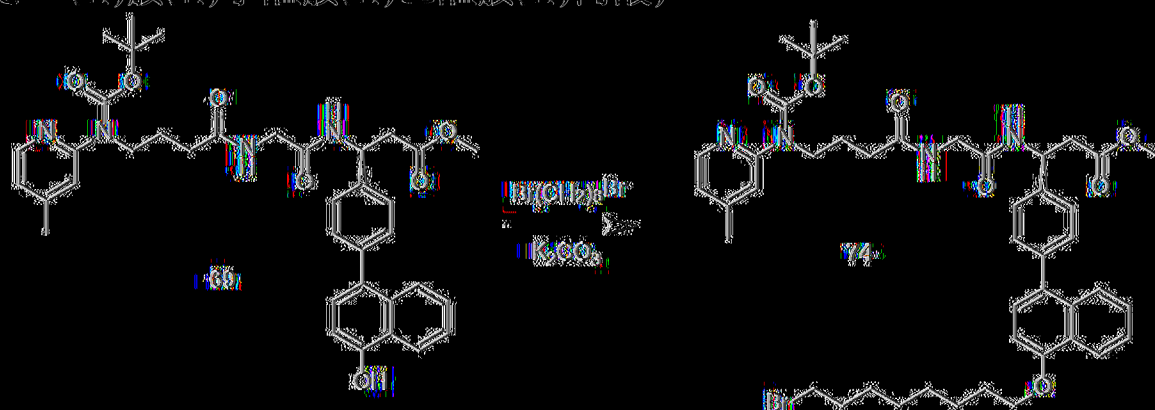
表單編號 A01.01



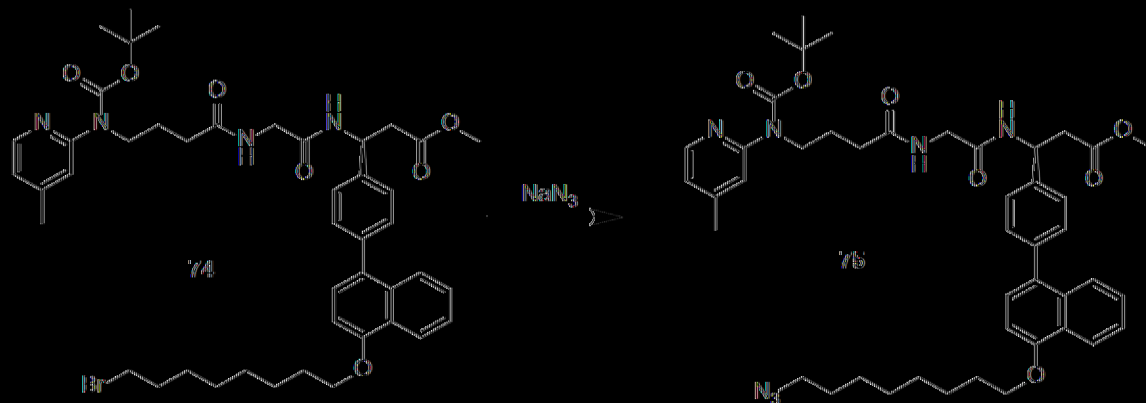
第 142 頁(發明說明書)

3.0當量)。在室溫下再攪拌混合物1小時。藉由HCl (6N)將pH調節至3.0，且用EtOAc (3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。將TFA (0.5 mL)及DCM (0.5 mL)添加至殘餘物中且在室溫下再攪拌混合物3小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 786.37，實驗值786.95。

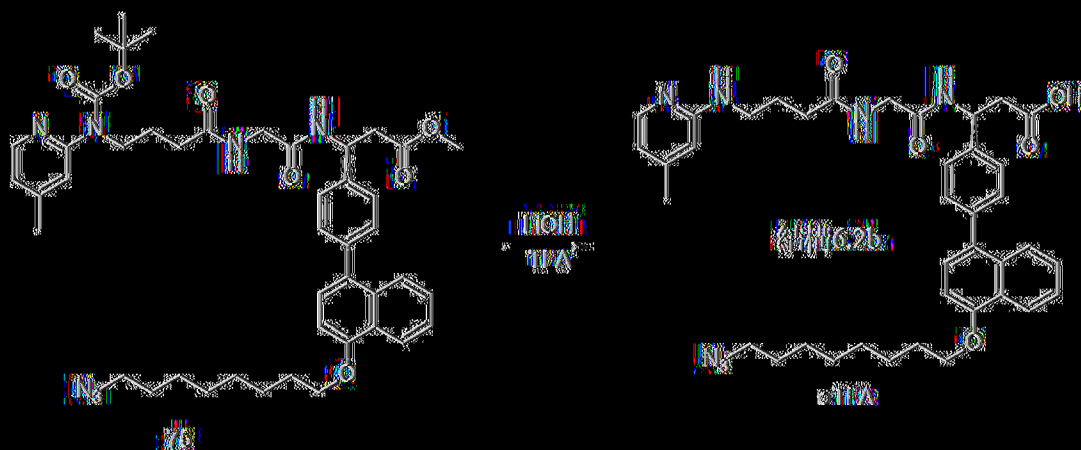
結構6.2b ((S)-3-(4-(4-((8-疊氮基辛基)氧基)萘-1-基)苯基)-3-(2-(4-((4-甲基吡啶-2-基)胺基)丁醯胺基)乙醯胺基)丙酸)



[0361] 在室溫下向化合物69 (150 mg, 0.229 mmol, 1當量)及1,8-二溴辛烷(127 μ L, 0.687 mmol, 3當量)於丙酮(2 mL)中之溶液中添加K₂CO₃ (95 mg, 0.687 mmol, 3當量)。在55°C下攪拌反應混合物隔夜。藉由飽和NaHCO₃溶液淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水層。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 845.34，實驗值845.91。

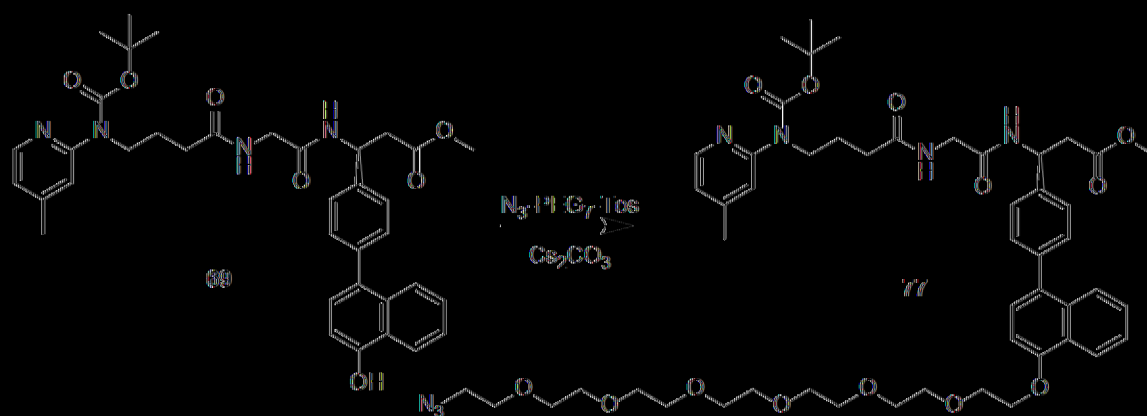


[0362] 在室溫下向化合物74 (97 mg, 0.114 mmol, 1當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加氫氧化鈉(15 mg, 0.229 mmol, 2當量)。在80℃下攪拌反應混合物2小時。藉由水淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水層。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 808.43，實驗值809.00。

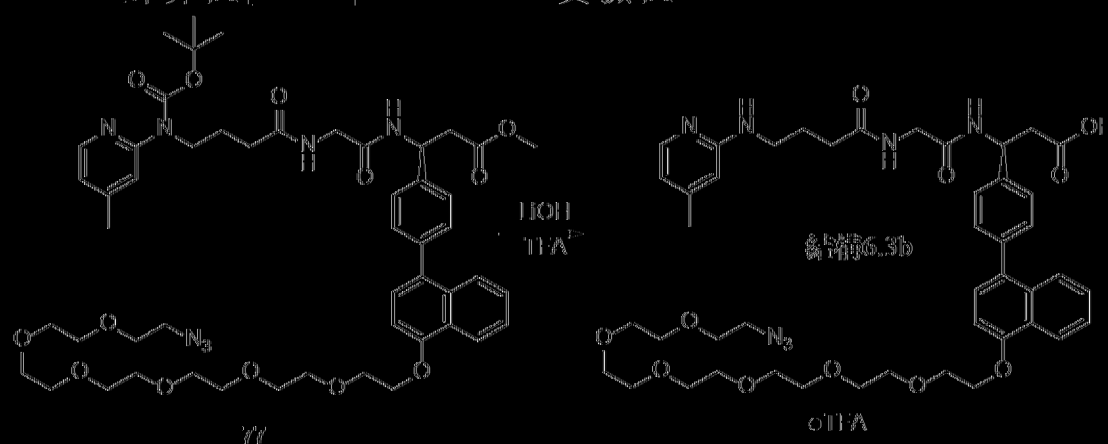


[0363] 在室溫下向化合物75 (92 mg, 0.114 mmol, 1.0當量)於THF (2 mL)及水(2 mL)中之溶液中添加氫氧化鋰(8 mg, 0.342 mmol, 3.0當量)。在室溫下再攪拌混合物1小時。藉由HCl (6N)將pH調節至3.0，且用EtOAc (3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。將TFA (0.5 mL)及DCM (0.5 mL)添加至殘餘物中且在室溫下再攪拌混合物3小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 694.36，實驗值694.94。

結構6.3b ((S)-3-(4-(4-((20-羥氨基-3,6,9,12,15,18-六氧雜-2-壬基)氧基)苯-1-基)苯基)-3-(2-(4-((4-甲基吡啶-2-基)胺基)丁醯胺基)乙醯胺基)丙酸)



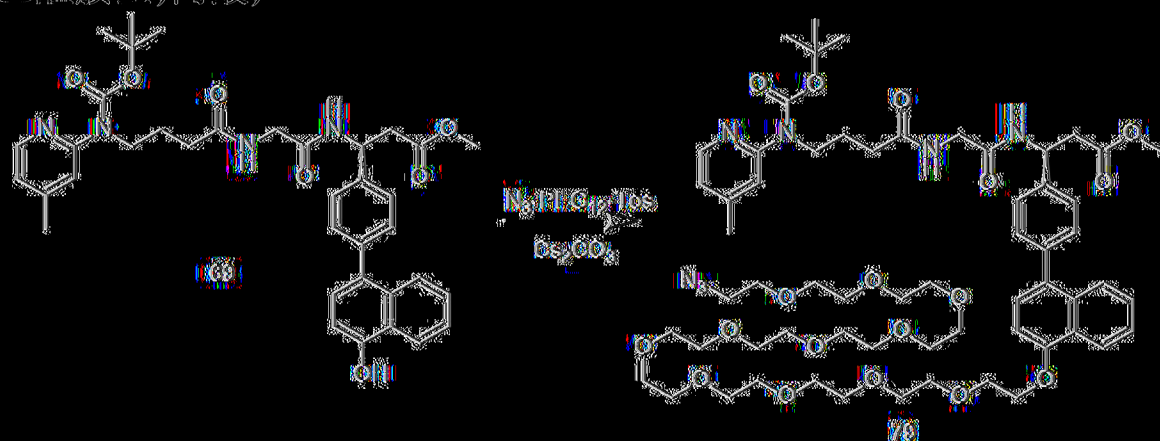
[0364] 在0℃下向化合物69 (100 mg, 0.152 mmol, 1當量)及疊氮基-PEG₇-OTs (154 mg, 0.305 mmol, 2當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加Cs₂CO₃ (100 mg, 0.305 mmol, 2當量)。在40℃下攪拌反應混合物隔夜。藉由飽和NaHCO₃溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水層。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用2-3%於DCM中之甲醇溶離產物。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 988.50，實驗值989.14。



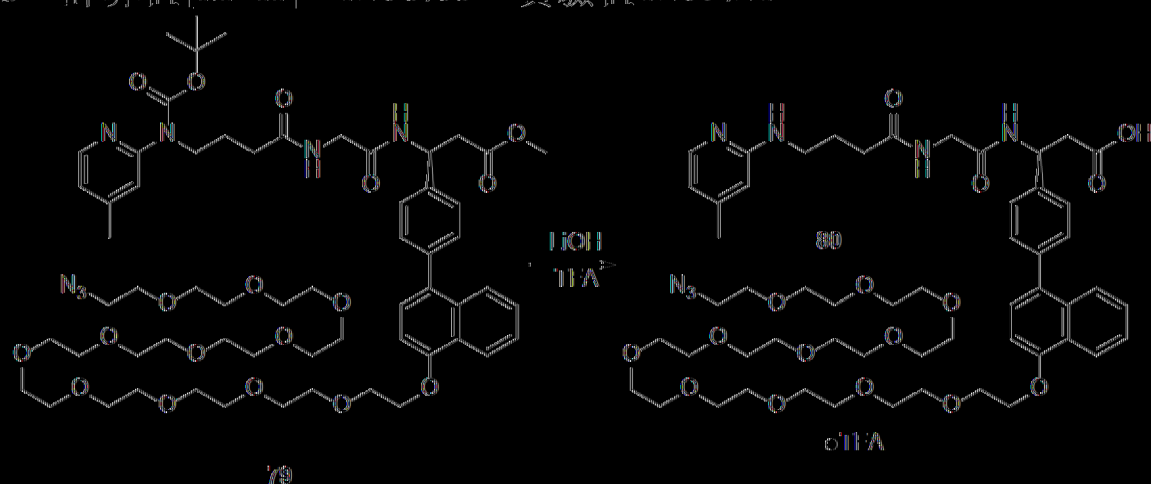
[0365] 在室溫下向化合物21 (112 mg, 0.113 mmol, 1.0當量)於THF (2 mL)及水(2 mL)中之溶液中添加氫氧化鋇(8 mg, 0.340 mmol, 3.0當量)。在室溫下再攪拌混合物1小時。藉由HCl (6N)將pH調節至3.0，且用EtOAc (3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。將TFA (4 mL)及DCM (2 mL)添加至殘餘物中且在室溫下再攪拌混合物3小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 874.43，

實驗值875.08。

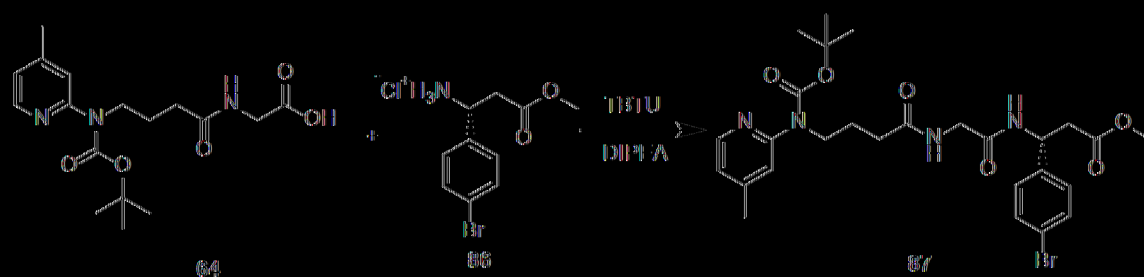
結構6.4b ((S)-3-(4-(4-((35-疊氮基-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-十一氧基)氧基)苯-1-基)苯基)-3-(2-(4-((4-甲基吡啶-2-基)胺基)乙醯胺基)丙酸)丙酸)



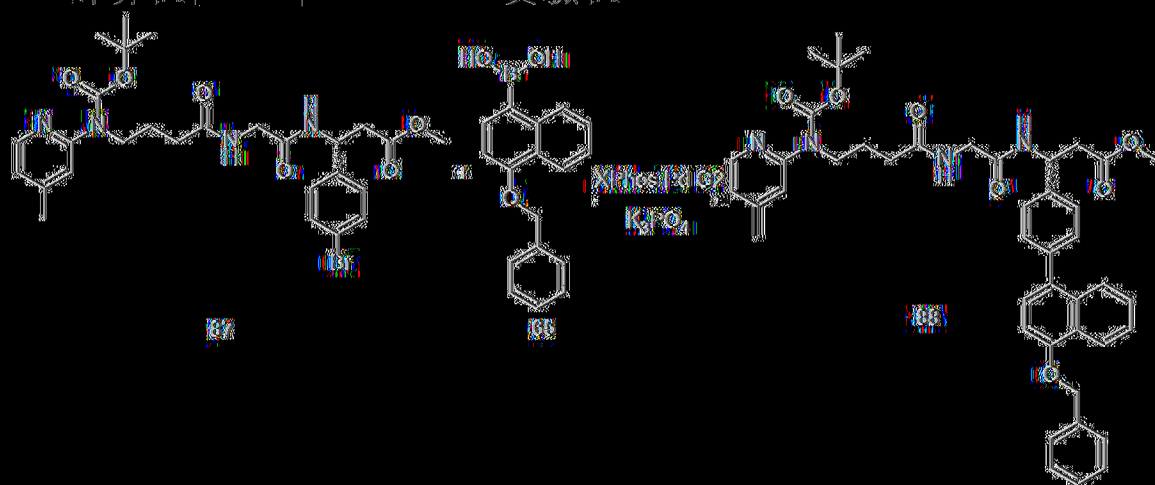
[0366] 在0℃下向化合物69 (80 mg, 0.122 mmol, 1當量)及疊氮基-PEG₁₂-OTs (184 mg, 0.244 mmol, 2當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加Cs₂CO₃ (80 mg, 0.244 mmol, 2當量)。在40℃下攪拌反應混合物5小時。藉由飽和NaHCO₃溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水層。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用2-3%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 1208.63，實驗值1209.21。



[0367] 在室溫下向化合物82 (100 mg, 0.0972 mmol, 1.0當量)

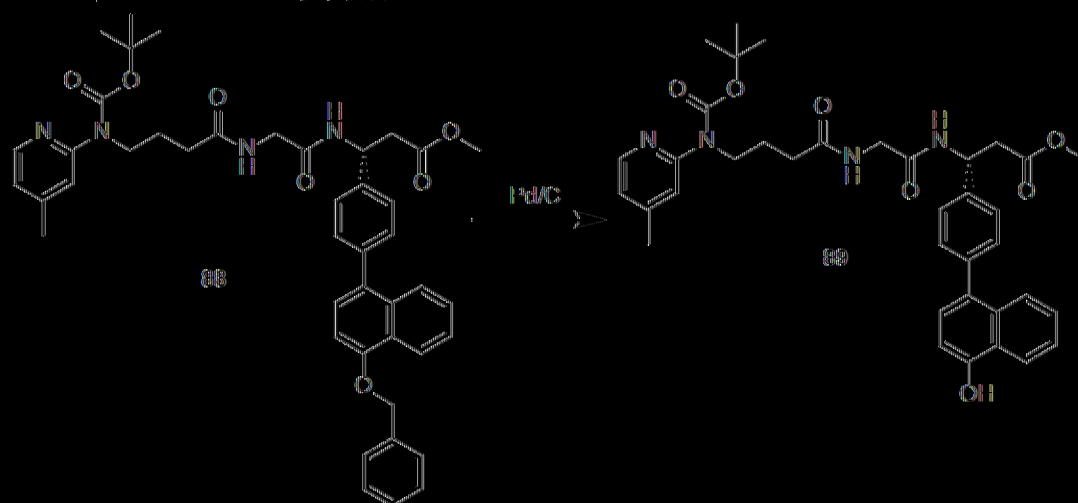


[0370] 在0℃下向化合物64 (190 mg, 2.248 mmol, 1當量)、化合物86 (128 mg, 2.473 mmol, 1.10當量)及TBTU (866 mg, 2.698 mmol, 1.20當量)於無水DMF (15 mL)中之溶液中添加二異丙基乙胺 (1.175 mL, 6.744 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫且再攪拌1小時。藉由飽和NaHCO₃水溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×20 mL)萃取產物。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化且用3-4%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 591.17，實驗值591.49。

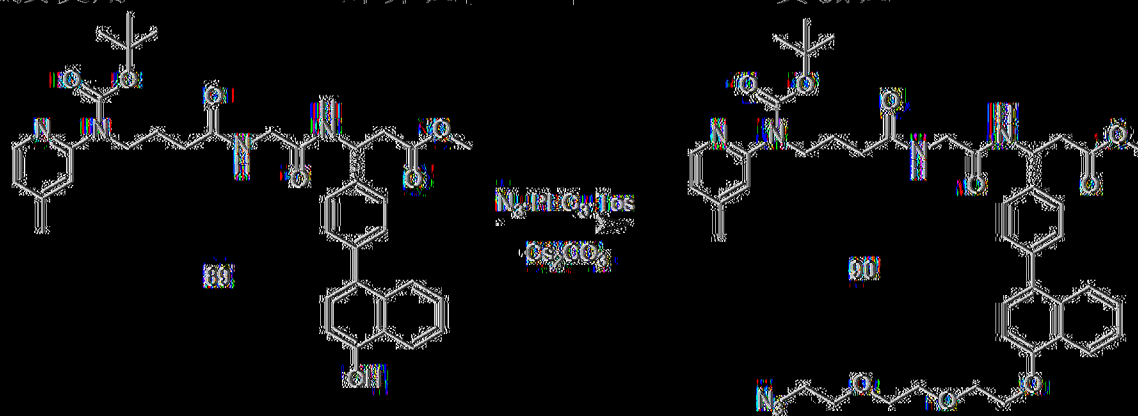


[0371] 將化合物87 (200 mg, 0.338 mmol, 1.0當量)、化合物65 (141 mg, 0.507 mmol, 1.5當量)、XPhos Pd G2 (5.3 mg, 0.068 mmol, 0.02當量)及K₃PO₄ (143 mg, 0.676 mmol, 2.0當量)混合於圓底燒瓶中。燒瓶用螺帽隔片密封，且接著抽成真空且用氮氣回填(重複此方法總計3次)。接著經由注射器添加THF (8 mL)及水(2 mL)。混合物用氮氣鼓泡20分鐘且反應保持在室溫下隔夜。用水(10 mL)淬滅反應物，且用

乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相。有機相經 Na_2SO_4 乾燥且濃縮。LC-MS：計算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 745.35，實驗值746.08。

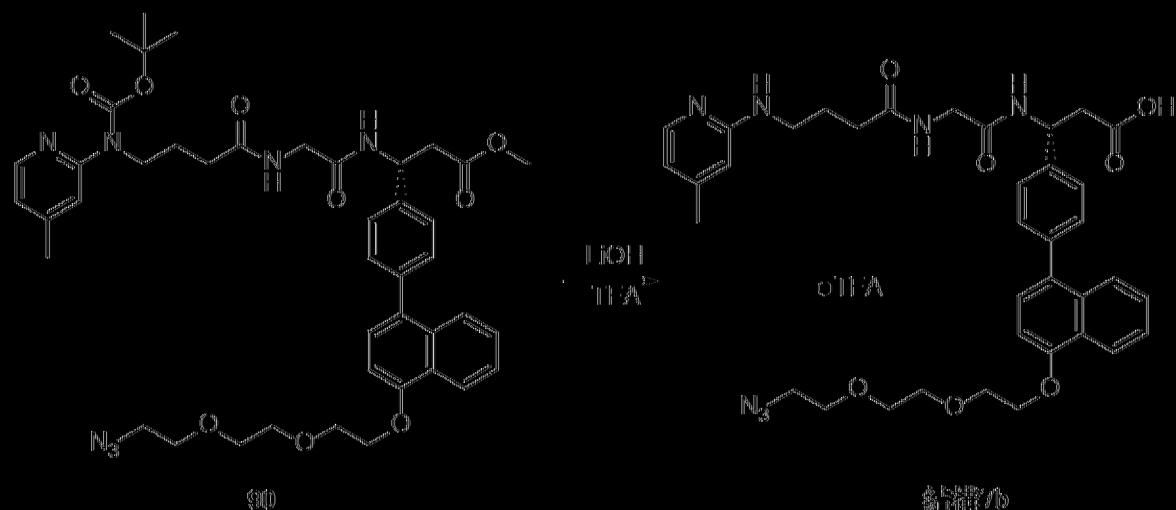


[0372] 在室溫下向化合物88 (0.247 g, 0.331 mmol, 1當量)於乙酸乙酯(10 mL)中之溶液中添加10% Pd/C (100 mg)。在室溫下攪拌反應混合物隔夜。藉由經Celite®過濾來移除催化劑，且產物未經進一步純化即可直接使用。LC-MS：計算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 655.31，實驗值655.96。



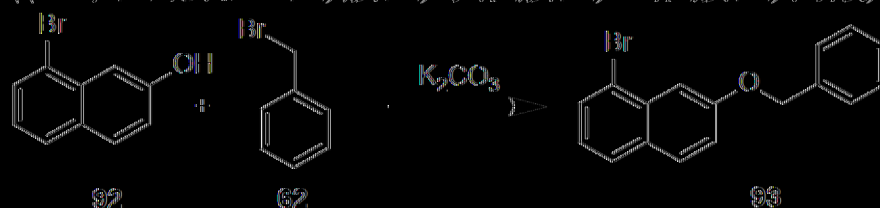
[0373] 在0℃下向化合物89 (50 mg, 0.076 mmol, 1當量)及疊氮基-PEG₃-OTs (50 mg, 0.152 mmol, 2當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加 Cs_2CO_3 (50 mg, 0.152 mmol, 2當量)。在室溫下攪拌反應混合物72小時。藉由飽和 NaHCO_3 溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水層。將有機相合併，經 Na_2SO_4 乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用4%於DCM中之甲醇溶離。

LC-MS：計算值[M+H]⁺ 812.39，實驗值813.14。



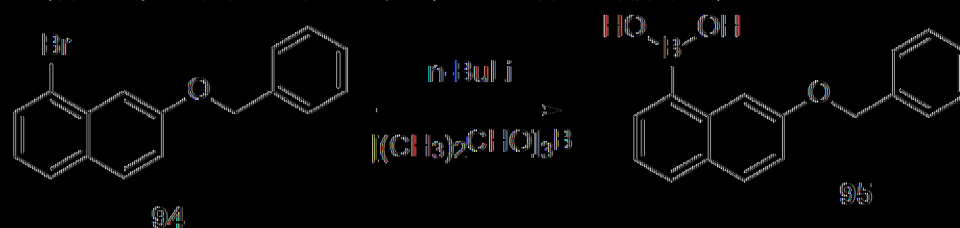
[0374] 在室溫下向化合物90 (36 mg, 0.0443 mmol, 1.0當量)於THF (2 mL)及水(2 mL)中之溶液中添加氫氧化鋇(3 mg, 0.133 mmol, 3.0當量)。在室溫下再攪拌混合物1小時。藉由HCl (6N)將pH調節至3.0，且用EtOAc (3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。將TFA (0.5 mL)及DCM (0.5 mL)添加至殘餘物中且在室溫下再攪拌混合物3小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 698.32，實驗值698.90。

合成結構8b ((S)-3-(4-(1-(2-(2-(2-疊氮基乙氧基)乙氧基)乙氧基)苯基)苯基)-3-(2-(4-((4-甲基吡啶-2-基)胺基)丁酰胺基)乙酰胺基)丙酸)。

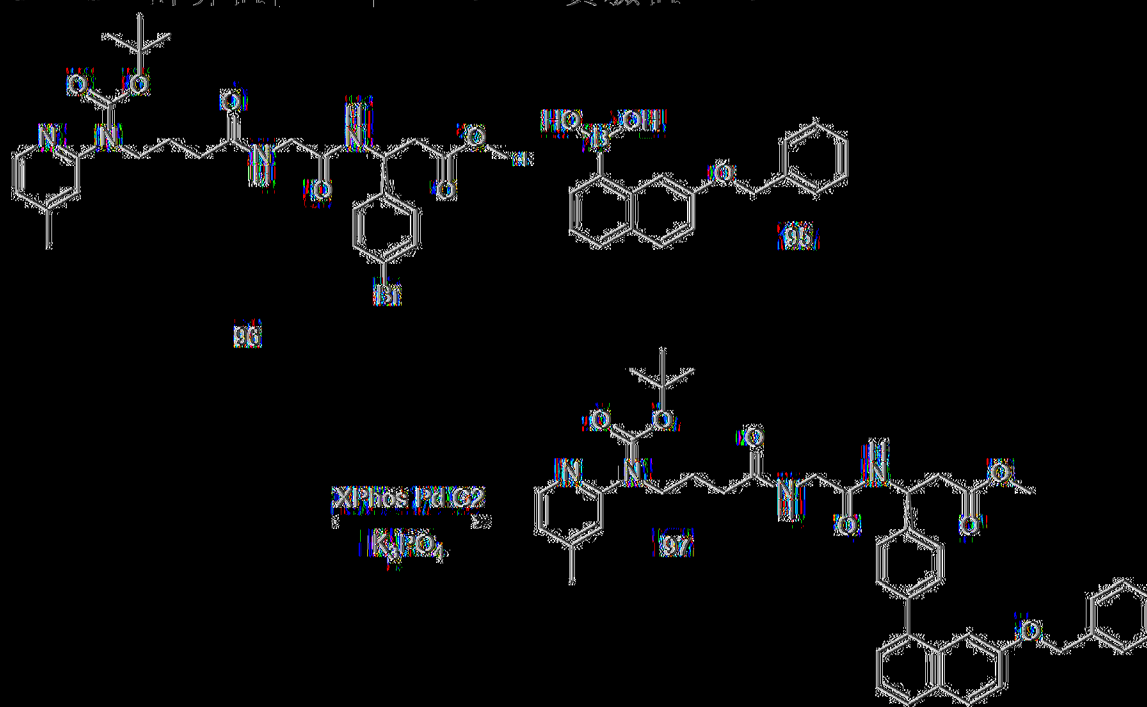


[0375] 在室溫下向化合物92 (1.0 g, 4.48 mmol, 1當量)及化合物62 (1.06 mL, 8.96 mmol, 2當量)於無水DMF (10 mL)中之溶液中添加K₂CO₃ (1.24 g, 8.96 mmol, 2當量)。在80℃下攪拌反應混合物隔夜。藉由飽和NaHCO₃溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水

相。將有機相合併，經 Na_2SO_4 乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用5%於己烷中之乙酸乙酯溶離。

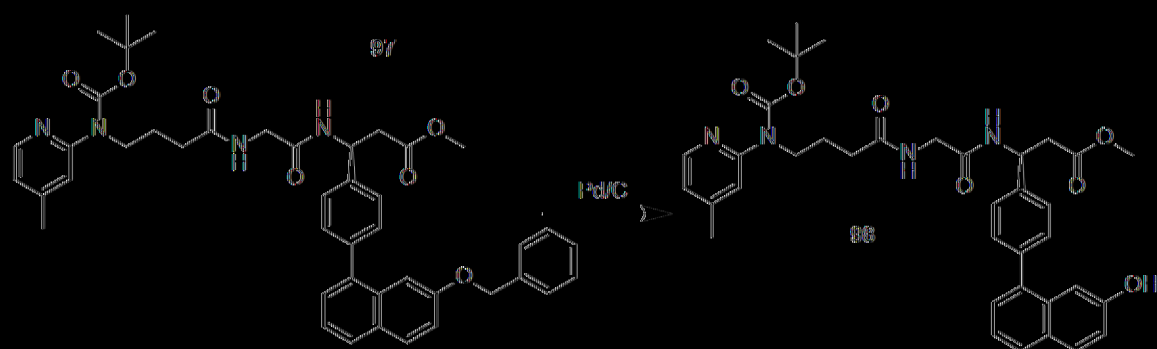


[0376] 在 -78°C 下向化合物94 (0.5 g, 1.596 mmol, 1.0當量)於無水THF (10 mL)中之溶液中逐滴添加於己烷中之 $n\text{-BuLi}$ (0.96 mL, 2.394 mmol, 1.5當量)。反應再保持在 -78°C 下1小時。接著在 -78°C 下將硼酸三異丙酯(0.553 mL, 2.394 mmol, 1.5當量)添加至混合物中。接著使反應升溫至室溫且再攪拌1小時。藉由飽和 NH_4Cl 溶液(20 mL)淬滅反應物且將pH調節至3。用 EtOAc (3×20 mL)萃取水相，且將有機相合併，經 Na_2SO_4 乾燥且濃縮。用己烷濕磨固體且過濾。產物未經進一步純化即可直接使用。LC-MS：計算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 277.11，實驗值277.35。

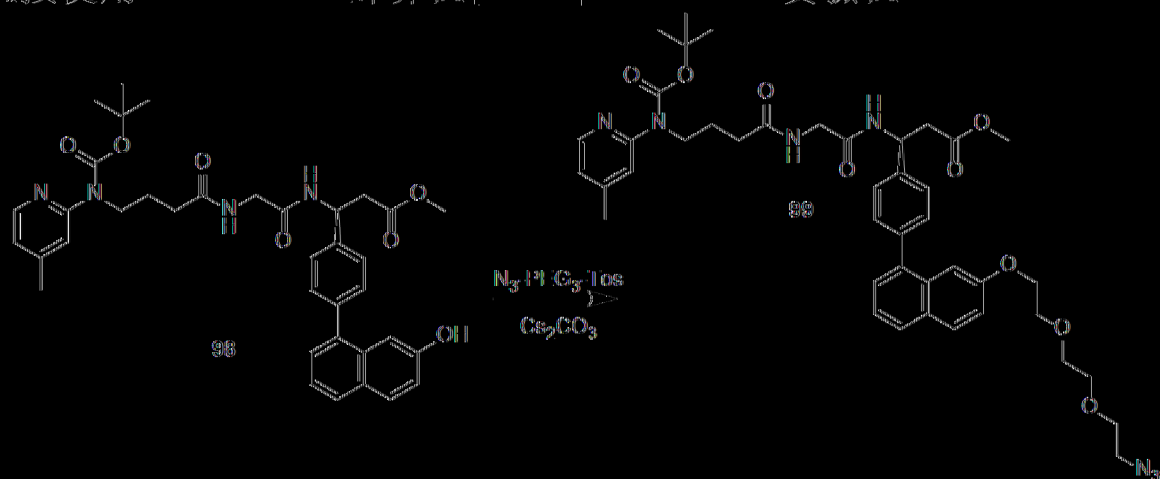


[0377] 將化合物96 (100 mg, 0.169 mmol, 1.0當量)、化合物95 (70 mg, 0.253 mmol, 1.5當量)、XPhos Pd G2 (2.7 mg, 0.0034

mmol, 0.02當量)及 K_3PO_4 (72 mg, 0.338 mmol, 2.0當量)混合於圓底燒瓶中。燒瓶用螺帽隔片密封, 且接著抽成真空且用氮氣回填(重複此方法總計3次)。接著經由注射器添加THF (8 mL)及水(2 mL)。混合物用氮氣鼓泡20分鐘且反應保持在室溫下隔夜。用水(10 mL)淬滅反應物, 且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相。將有機相合併, 經 Na_2SO_4 乾燥且濃縮。化合物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用3%於DCM中之甲醇分離。

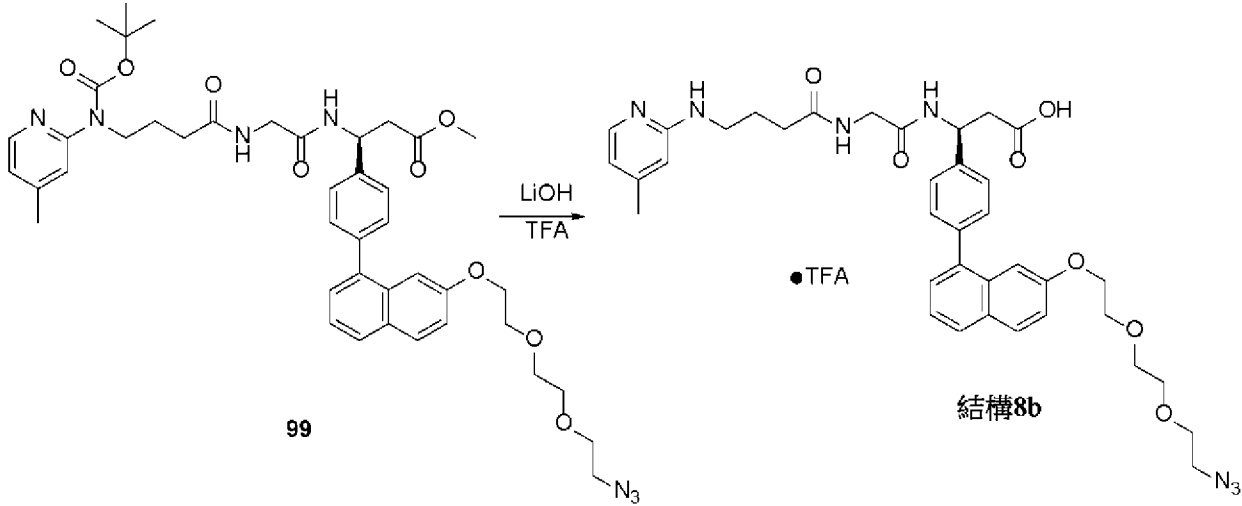


[0378] 在室溫下向化合物97 (0.116 g, 0.157 mmol, 1當量)於乙酸乙酯(10 mL)中之溶液中添加10% Pd/C (100 mg)。在室溫下攪拌反應混合物隔夜。藉由經Celite®過濾來移除催化劑, 且產物未經進一步純化即可直接使用。LC-MS: 計算值[M+H]⁺ 655.31, 實驗值655.87。



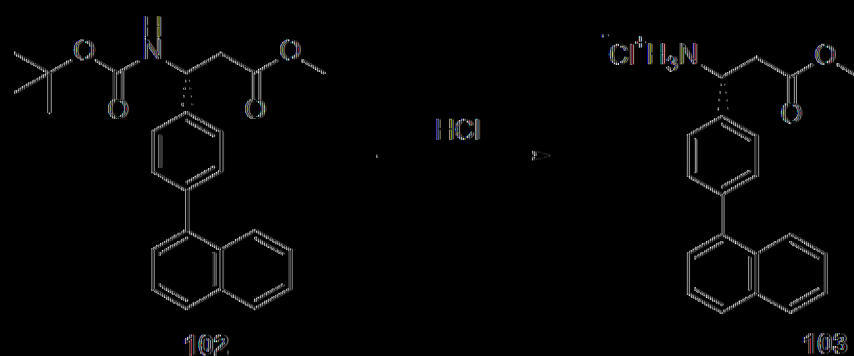
[0379] 在室溫下向化合物98 (87 mg, 0.133 mmol, 1當量)及疊氮基-PEG₃-OTs (87 mg, 0.266 mmol, 2當量)於無水DMF (2 mL)中之溶

液中添加Cs₂CO₃ (87 mg, 0.266 mmol, 2當量)。在40℃下攪拌反應混合物6小時。藉由飽和NaHCO₃溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水層。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用3-4%於DCM中之MeOH溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 812.39，實驗值813.05。

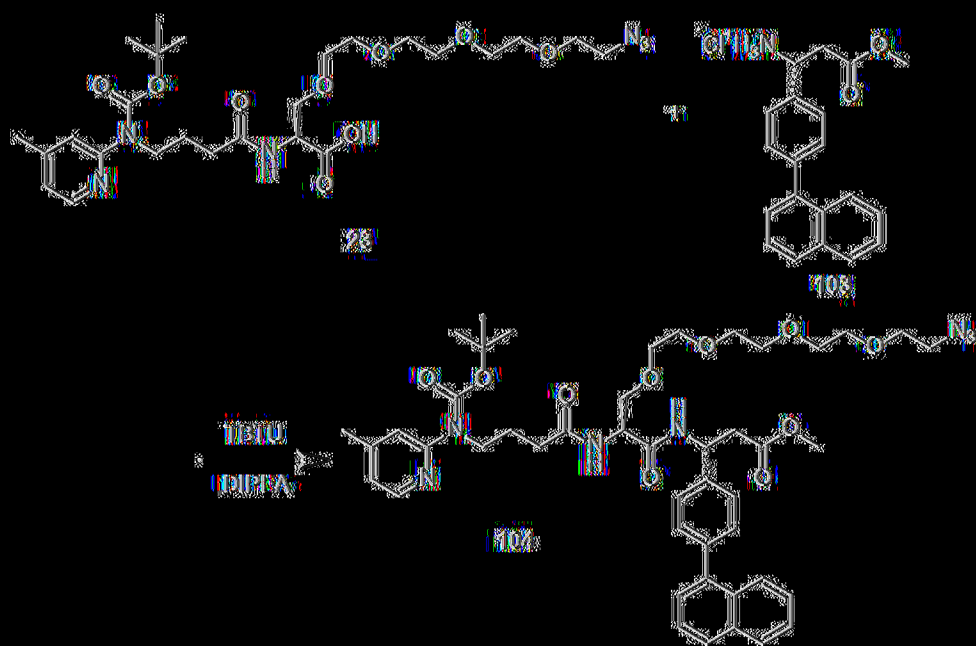


【0380】在室溫下向化合物99 (65 mg, 0.0801 mmol, 1.0當量)於THF (2 mL)及水(2 mL)中之溶液中添加氫氧化鋰(6 mg, 0.240 mmol, 3.0當量)。在室溫下再攪拌混合物1小時。藉由HCl (6N)將pH調節至3.0，且用EtOAc (3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。將TFA (0.5 mL)及DCM (0.5 mL)添加至殘餘物中且在室溫下再攪拌混合物3小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 698.32，實驗值698.99。

合成結構9b ((14S,17R)-1-疊氮基-14-(4-((4-甲基吡啶-2-基)胺基)丁醯胺基)-17-(4-(萘-1-基)苯基)-15-側氧基-3,6,9,12-四氧雜-16-氮雜十九烷-19-酸).

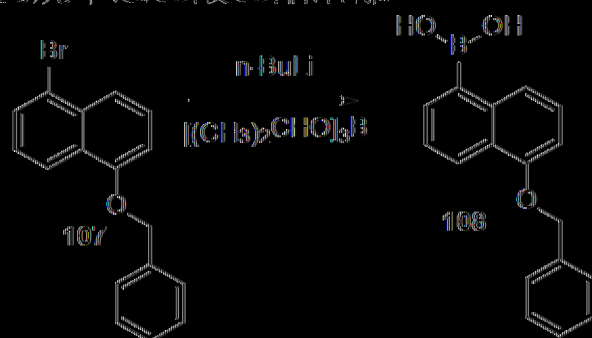


[0381] 化合物102 (0.19 g, 0.468 mmol, 1.0當量)藉由冰浴冷卻。將於二噁烷中之HCl (2.35 mL, 9.37 mmol, 20當量)添加至燒瓶中。使反應升溫至室溫且再攪拌1小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑且產物未經進一步純化即可直接使用。LC-MS: 計算值[M+H]⁺ 306.14, 實驗值 306.51。

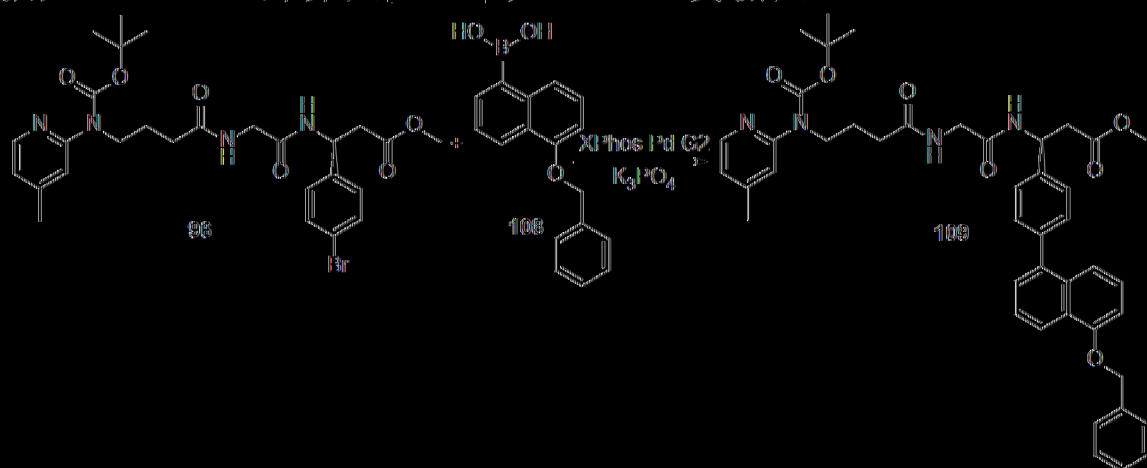


[0382] 在0℃下向化合物23 (110 mg, 0.188 mmol, 1當量)、化合物103 (71 mg, 0.207 mmol, 1.10當量)及TBTU (72.7 mg, 0.226 mmol, 1.20當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加二異丙基乙胺(0.1 mL, 0.566 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫且再攪拌1小時。藉由飽和NaHCO₃水溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取產物。將有機相合併, 經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用

機相合併，經 Na_2SO_4 乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用5%於己烷中之乙酸乙酯溶離。

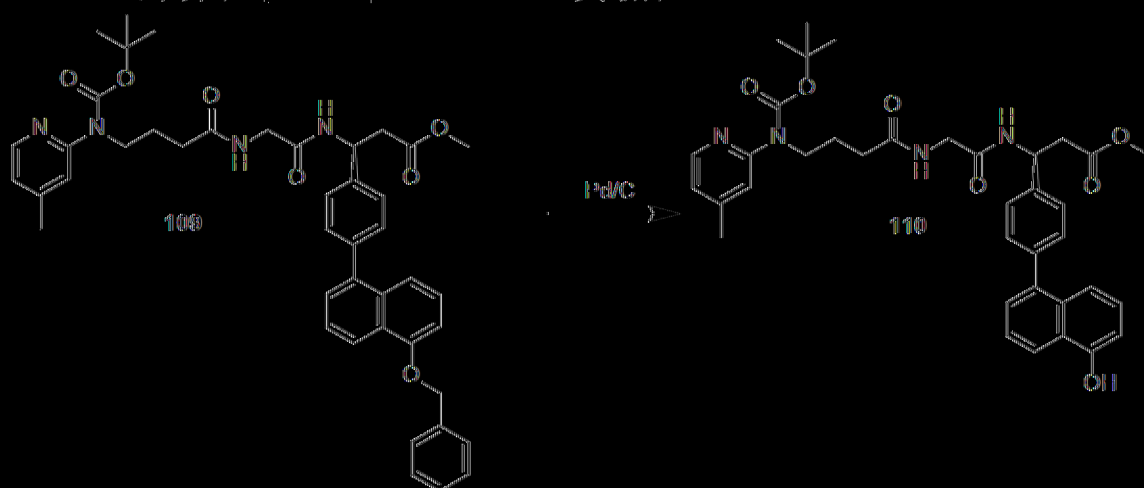


[0385] 在 -78°C 下向化合物107 (1.188 g, 3.793 mmol, 1.0當量)於無水THF (10 mL)中之溶液中逐滴添加於己烷中之 $n\text{-BuLi}$ (2.27 mL, 5.689 mmol, 1.5當量)。反應再保持在 -78°C 下1小時。接著在 -78°C 下將硼酸三異丙酯(1.31 mL, 5.689 mmol, 1.5當量)添加至混合物中。接著使反應升溫至室溫且再攪拌1小時。藉由飽和 NH_4Cl 溶液(20 mL)淬滅反應物且將pH調節至3。用 EtOAc (3×20 mL)萃取水相，且將有機相合併，經 Na_2SO_4 乾燥且濃縮。用己烷濕磨固體且過濾。產物未經進一步純化即可直接使用。LC-MS：計算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 277.11，實驗值277.26。

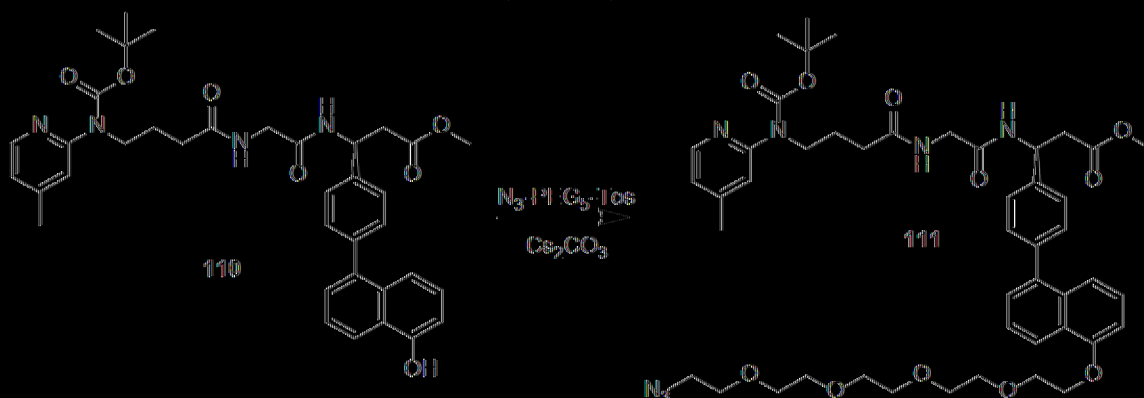


[0386] 將化合物96 (100 mg, 0.169 mmol, 1.0當量)、化合物108 (70 mg, 0.253 mmol, 1.5當量)、XPhos Pd G2 (2.7 mg, 0.0034 mmol, 0.02當量)及 K_3PO_4 (72 mg, 0.338 mmol, 2.0當量)混合於圓底燒

瓶中。燒瓶用螺帽隔片密封，且接著抽成真空且用氮氣回填(重複此方法總計3次)。接著經由注射器添加THF (8 mL)及水(2 mL)。混合物用氮氣鼓泡20分鐘且反應保持在室溫下隔夜。用水(10 mL)淬滅反應物，且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經 Na_2SO_4 乾燥且濃縮。化合物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用3%於DCM中之甲醇分離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 745.35，實驗值745.99。

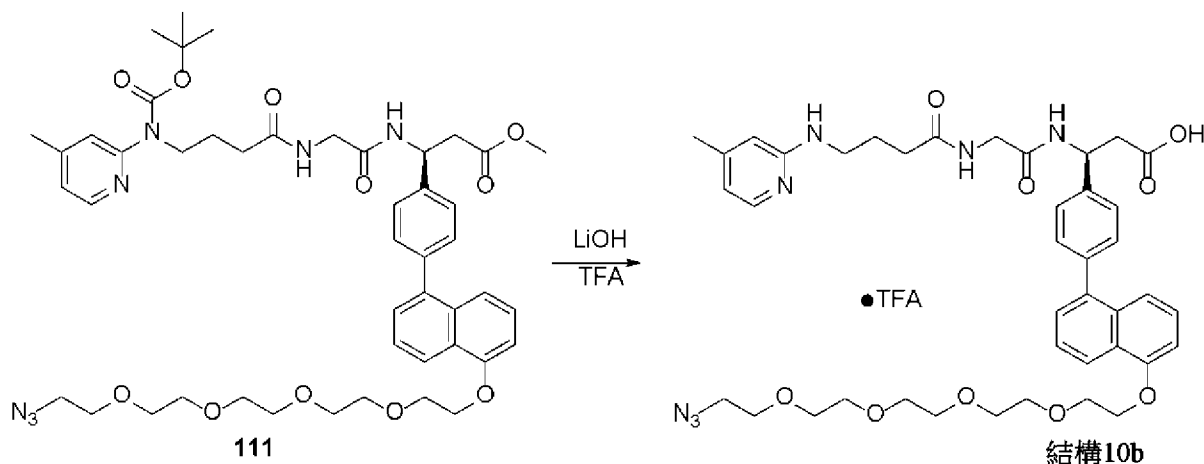


[0387] 在室溫下向化合物109 (0.135 g, 0.181 mmol, 1當量)於乙酸乙酯(10 mL)中之溶液中添加10% Pd/C (100 mg)。在室溫下攪拌反應混合物隔夜。藉由經Celite®過濾來移除催化劑，且產物未經進一步純化即可直接使用。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 655.31，實驗值655.87。



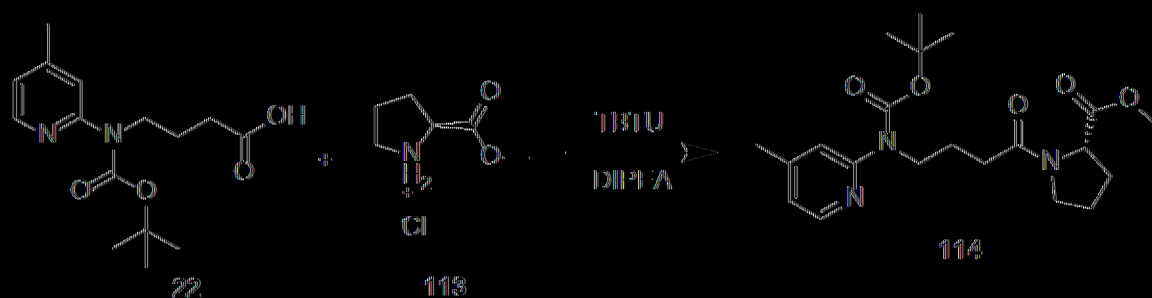
[0388] 在室溫下向化合物110 (50 mg, 0.0764 mmol, 1當量)及疊氮基-PEG₅-OTs (64 mg, 0.152 mmol, 2當量)於無水DMF (2 mL)中之

溶液中添加 Cs_2CO_3 (50 mg, 0.152 mmol, 2當量)。在 40°C 下攪拌反應混合物3小時。藉由飽和 NaHCO_3 溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水層。將有機相合併，經 Na_2SO_4 乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化且用4%於DCM中之甲醇溶離。產率係62%。LC-MS：計算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 900.44，實驗值901.19。

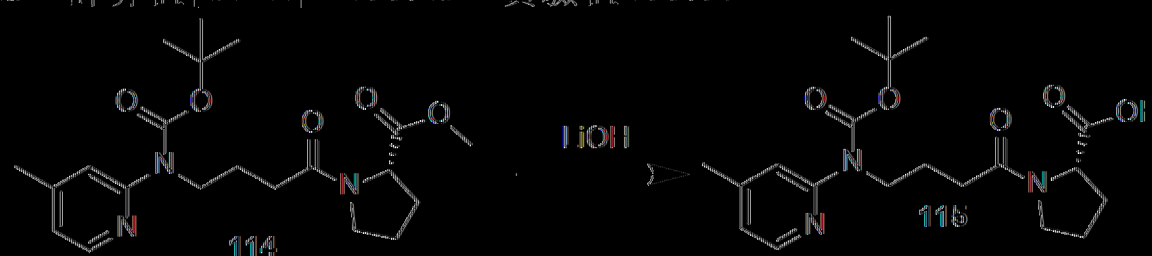


【0389】在室溫下向化合物111 (43 mg, 0.0478 mmol, 1.0當量)於THF (2 mL)及水(2 mL)中之溶液中添加氫氧化鋰(3.4 mg, 0.143 mmol, 3.0當量)。在室溫下再攪拌混合物1小時。藉由HCl (6N)將pH調節至3.0，且用EtOAc (3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經 Na_2SO_4 乾燥且濃縮。將TFA (4 mL)及DCM (2 mL)添加至殘餘物中且在室溫下再攪拌混合物3小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑。LC-MS：計算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 786.37，實驗值787.04。

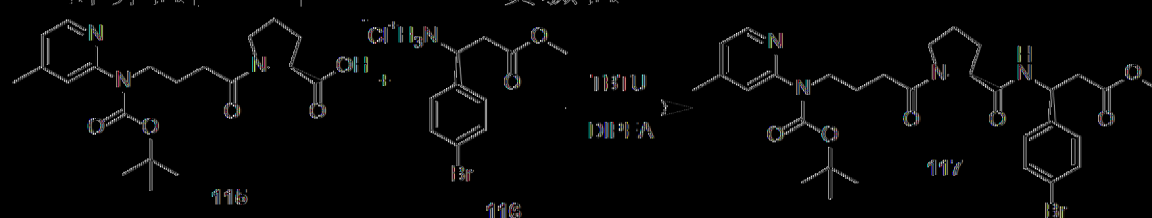
合成結構11b ((S)-3-(4-(4-((14-疊氮基-3,6,9,12-四氧雜十四烷基)氧基)萘-1-基)苯基)-3-((S)-1-(4-((4-甲基吡啶-2-基)胺基)丁醯基)吡咯啶-2-甲醯胺基)丙酸).



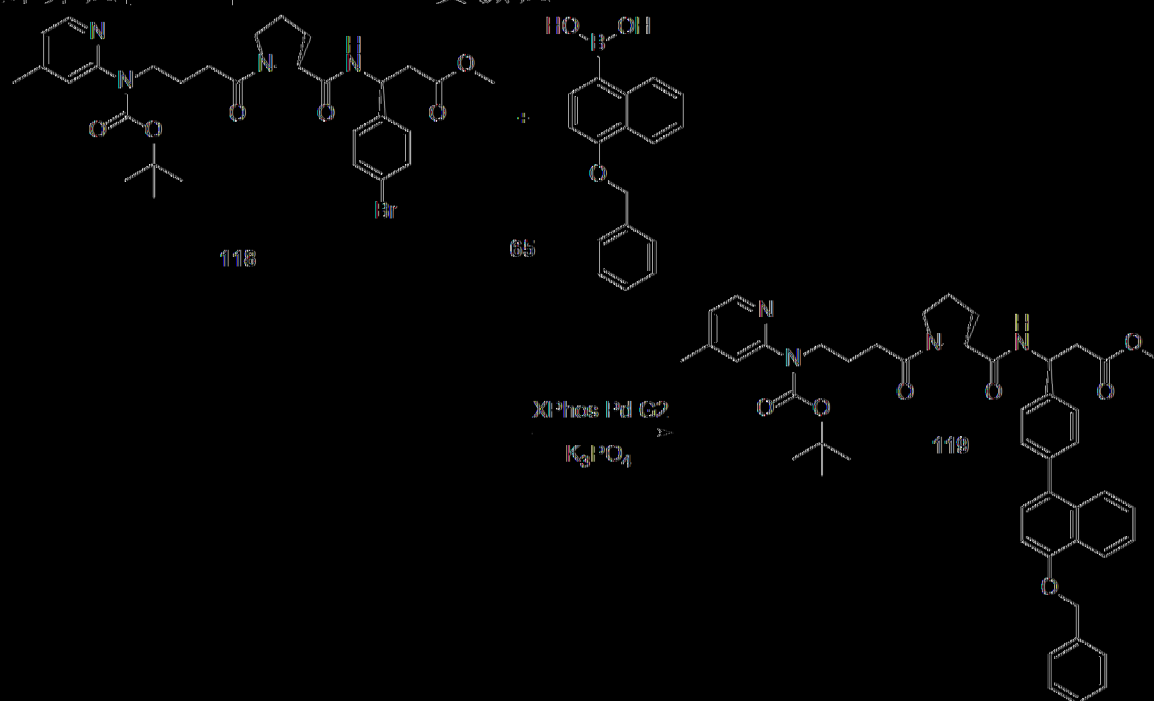
[0390] 在0℃下向化合物22 (500 mg, 1.698 mmol, 1當量)、化合物113 (295 mg, 1.783 mmol, 1.05當量)及TBTU (654 mg, 2.038 mmol, 1.2當量)於無水DMF (10 mL)中之溶液中添加二異丙基乙胺(0.888 mL, 5.096 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫且再攪拌1小時。藉由飽和NaHCO₃水溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取產物。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化且用2-3%於DCM中之甲醇溶離。產率係98.72%。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 406.23，實驗值406.07。



[0391] 在0℃下向化合物114 (0.68 g, 1.676 mmol, 1當量)於THF (5 mL)及H₂O (5 mL)中之溶液中逐份添加氫氧化鋰(0.12 g, 5.030 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫。在室溫下攪拌1小時之後，反應混合物藉由HCl (6 N)酸化至pH 3.0。用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相且將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物未經進一步純化即可使用。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 392.21，實驗值392.39。

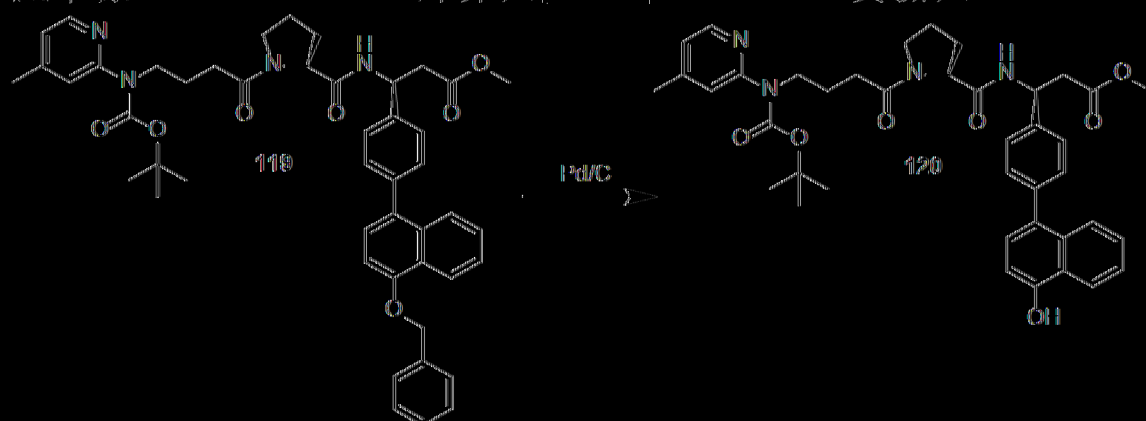


[0392] 在0℃下向化合物115 (300 mg, 0.766 mmol, 1當量)、化合物116 (237 mg, 0.804 mmol, 1.05當量)及TBTU (295 mg, 0.919 mmol, 1.2當量)於無水DMF (10 mL)中之溶液中添加二異丙基乙胺(0.400 mL, 2.299 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫且再攪拌1小時。藉由飽和NaHCO₃水溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取產物。將有機相合併, 經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化且用3-4%於DCM中之甲醇溶離。產率係83%。LC-MS: 計算值[M+H]⁺ 631.21, 實驗值631.46。

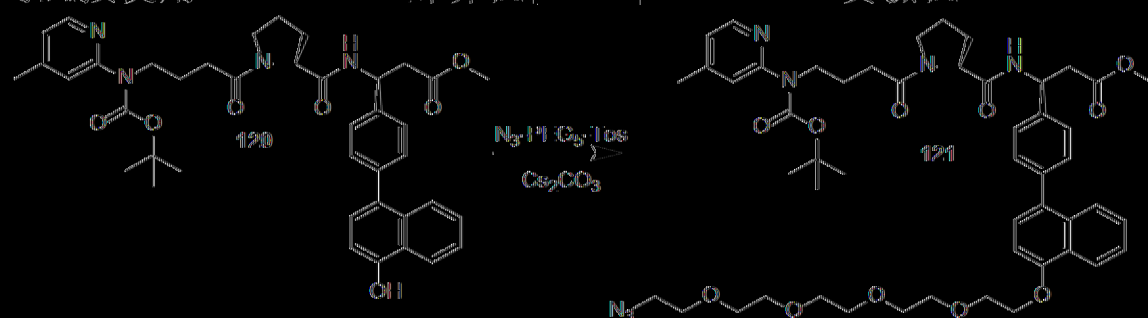


[0393] 將化合物118 (100 mg, 0.158 mmol, 1.0當量)、化合物65 (66 mg, 0.237 mmol, 1.5當量)、XPhos Pd G2 (2.5 mg, 0.0032 mmol, 0.02當量)及K₃PO₄ (67 mg, 0.316 mmol, 2.0當量)混合於圓底燒瓶中。燒瓶用螺帽隔片密封, 且接著抽成真空且用氮氣回填(重複此方法總計3次)。接著經由注射器添加THF (5 mL)及水(1 mL)。混合物用氮氣鼓泡20分鐘且反應保持在40℃下1小時。用水(10 mL)淬滅反應物, 且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相。將有機相合併, 經Na₂SO₄乾燥且濃縮。化

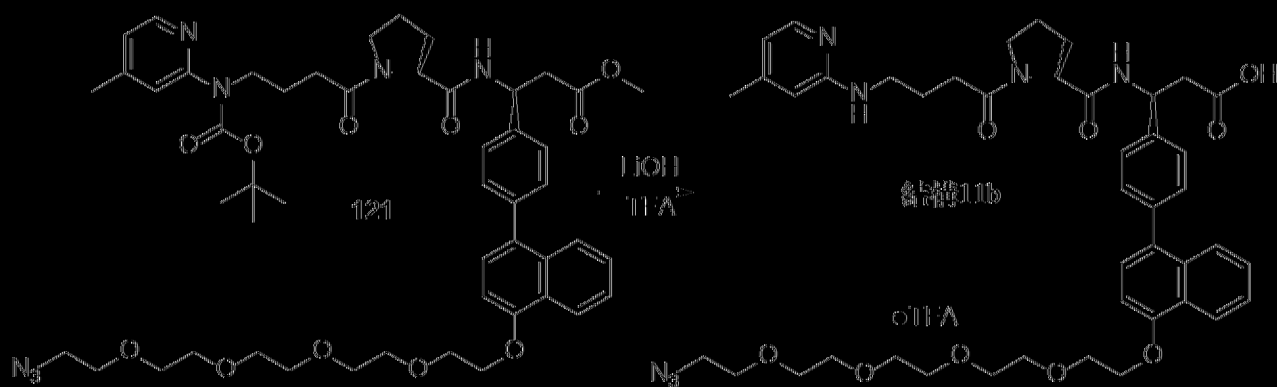
合物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用3%於DCM中之甲醇溶離。產率係96%。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 785.38，實驗值785.69。



[0394] 在室溫下向化合物119 (0.120 g, 0.153 mmol, 1當量)於乙酸乙酯(10 mL)中之溶液中添加10% Pd/C (100 mg)。在室溫下攪拌反應混合物隔夜。藉由經Celite®過濾來移除催化劑，且產物未經進一步純化即可直接使用。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 695.34，實驗值695.66。

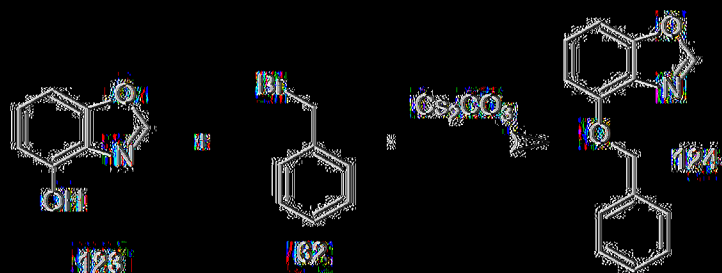


[0395] 在室溫下向化合物120 (83 mg, 0.119 mmol, 1當量)及疊氮基-PEG₅-OTs (100 mg, 0.239 mmol, 2當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加Cs₂CO₃ (78 mg, 0.239 mmol, 2當量)。在40℃下攪拌反應混合物3小時。藉由飽和NaHCO₃溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水層。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化且用4%於DCM中之甲醇溶離。產率係79%。LC-MS：計算值940.47，實驗值941.16。



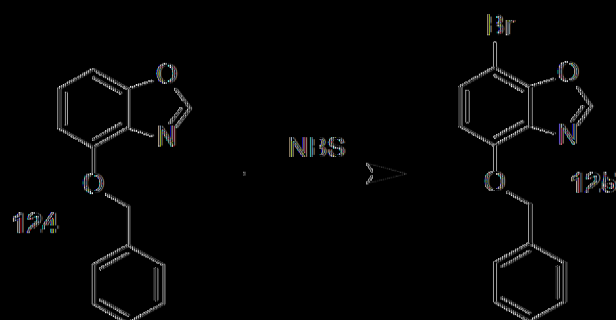
[0396] 在室溫下向化合物121 (89 mg, 0.0947 mmol, 1.0當量) 於THF (2 mL)及水(2 mL)中之溶液中添加氫氧化鉀(6.8 mg, 0.284 mmol, 3.0當量)。在室溫下再攪拌混合物1小時。藉由HCl (6N)將pH調節至3.0, 且用EtOAc (3×10 mL)萃取水相。將有機相合併, 經Na₂SO₄乾燥且濃縮。將TFA (4 mL)及DCM (2 mL)添加至殘餘物中且在室溫下再攪拌混合物3小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑。LC-MS: 計算值[M+H]⁺ 826.41, 實驗值827.10。

合成結構12b ((S)-3-(4-(4-((14-羧基-3,6,9,12-四氧雜十四烷基)氧基)苯并[d]噁唑-7-基)苯基)-3-(2-(4-((4-甲基吡啶-2-基)胺基)丁酰胺基)乙酰胺基)丙酸)。

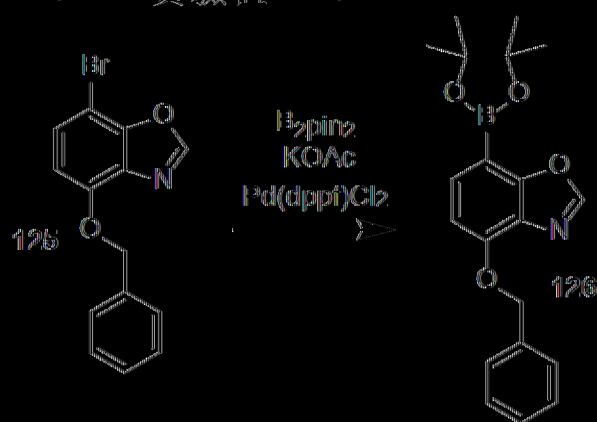


[0397] 在0℃下向化合物123 (1.0 g, 7.40 mmol, 1當量)及化合物62 (1.32 mL, 11.10 mmol, 1.5當量)於無水DMF (10 mL)中之溶液中添加Cs₂CO₃ (3.62 g, 11.10 mmol, 1.5當量)。使反應混合物升溫至室溫且攪拌隔夜。藉由水(10 mL)淬滅反應物。用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相, 且將有機相合併, 經無水Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由

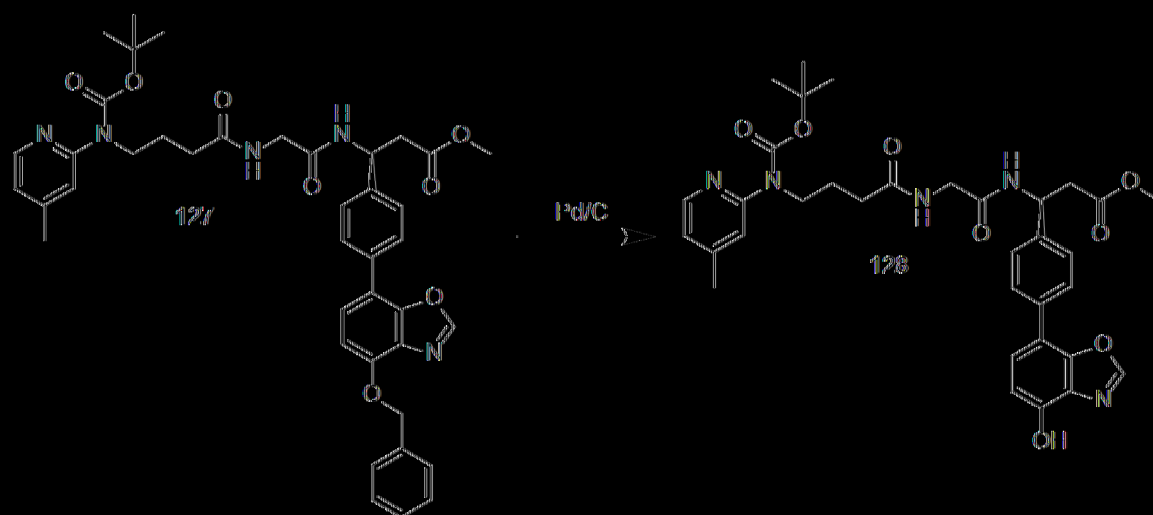
CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用5:1%於己烷中之乙酸乙酯溶離。產率85%。



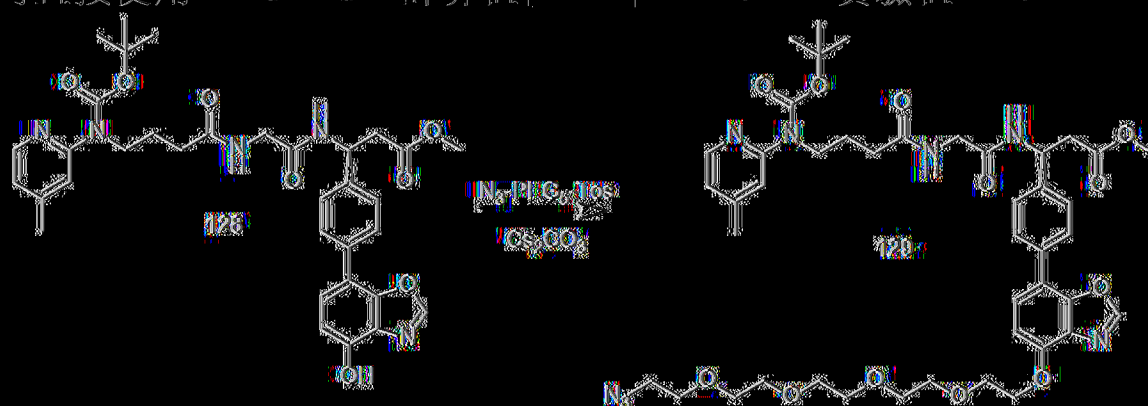
[0398] 在0℃下向化合物124 (1.425 g, 6.326 mmol, 1當量)於無水乙腈(20 mL)中之溶液中逐份添加N-溴丁二酰亞胺(1.216 g, 6.832 mmol, 1.08當量)。反應混合物再保持在0℃下30分鐘且接著使其升溫至室溫且攪拌隔夜。減壓移除溶劑且殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化。產物用4:5%於己烷中之乙酸乙酯溶離。產率65%。LC-MS: 計算值[M+H]⁺ 303.99, 實驗值304.08。



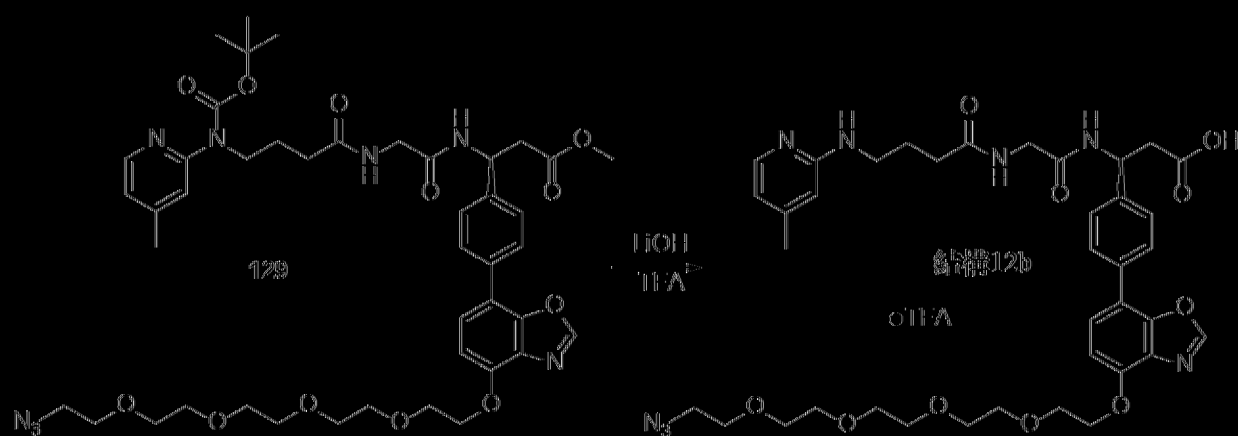
[0399] 在100℃下在氬氣下攪拌化合物125 (1.339 g, 4.402 mmol, 1當量)、雙(頻哪醇根基)二硼(2.236 g, 8.805 mmol, 2當量)、乙酸鉀(0.864 g, 8.805 mmol, 2當量)及Pd(dppf)Cl₂ (161 mg, 0.220 mmol, 0.05當量)於15 mL無水1,4-二噁烷中之混合物8小時。在濃縮之後,使殘餘物分配於H₂O與DCM之間,用DCM萃取水相,且合併之有機層用鹽水洗滌,經Na₂SO₄乾燥,且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽



[0401] 在室溫下向化合物127 (0.219 g, 0.297 mmol, 1當量)於乙酸乙酯(10 mL)中之溶液中添加10% Pd/C (100 mg)。在室溫下攪拌反應混合物隔夜。藉由經Celite®過濾來移除催化劑，且產物未經進一步純化即可直接使用。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 646.28，實驗值646.78。

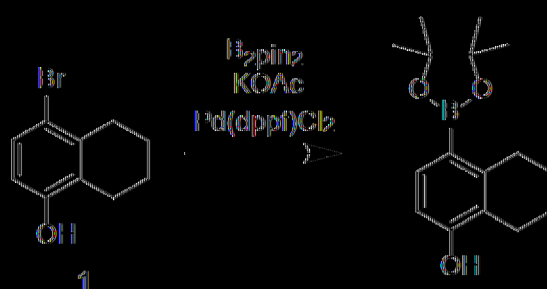


[0402] 在室溫下向化合物128 (73 mg, 0.113 mmol, 1當量)及疊氮基-PEG₅-OTs (94 mg, 0.226 mmol, 2當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加Cs₂CO₃ (74 mg, 0.226 mmol, 2當量)。在40℃下攪拌反應混合物3小時。藉由飽和NaHCO₃溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水層。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化且用4%於DCM中之甲醇溶離。產率係80%。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 891.42，實驗值892.00。



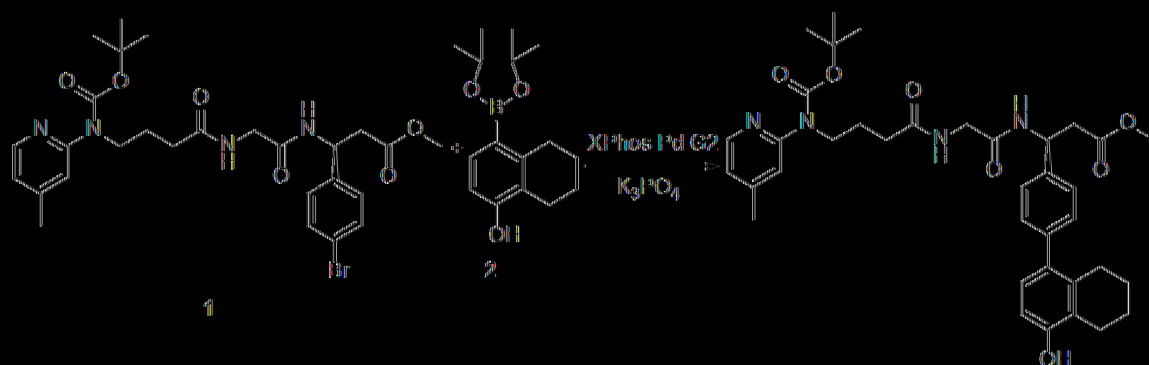
[0403] 在室溫下向化合物129 (43 mg, 0.0478 mmol, 1.0當量) 於THF (2 mL)及水(2 mL)中之溶液中添加氫氧化鋇(3.4 mg, 0.143 mmol, 3.0當量)。在室溫下攪拌混合物1小時。藉由HCl (6N)將pH調節至3.0, 且用EtOAc (3×10 mL)萃取水相。將有機相合併, 經Na₂SO₄乾燥且濃縮。將TFA (4 mL)及DCM (2 mL)添加至殘餘物中且在室溫下再攪拌混合物3小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑。LC-MS: 計算值[M+H]⁺ 777.35, 實驗值777.94。

合成結構13b ((S)-3-(4-(4-((14-疊氮基-3,6,9,12-四氧雜-1-四烷基)氧基)-5,6,7,8-四氧雜-1-基)苯基)-3-(2-(4-((4-甲基吡嗪-2-基)胺基)乙酰胺基)丙酸)丙酸)。

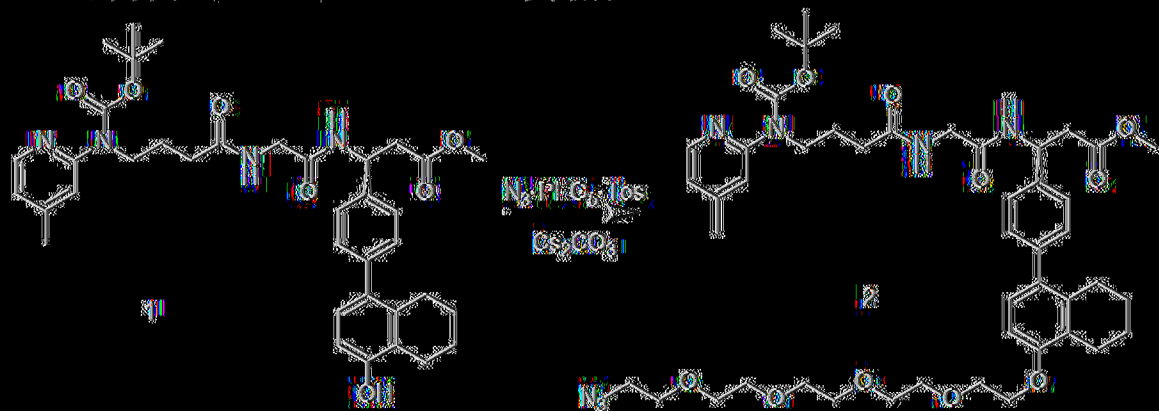


[0404] 在80℃下在氮氣下攪拌化合物1 (300 mg, 1.321 mmol, 1當量)、雙(頻哪醇根基)二硼(671 mg, 2.642 mmol、2當量)、乙酸鉀(389 mg, 3.963 mmol, 2當量)及Pd(dppf)Cl₂ (48 mg, 0.066 mmol, 0.05當量)於10 mL無水1,4-二噁烷中之混合物隔夜。在濃縮之後, 使殘餘物分配

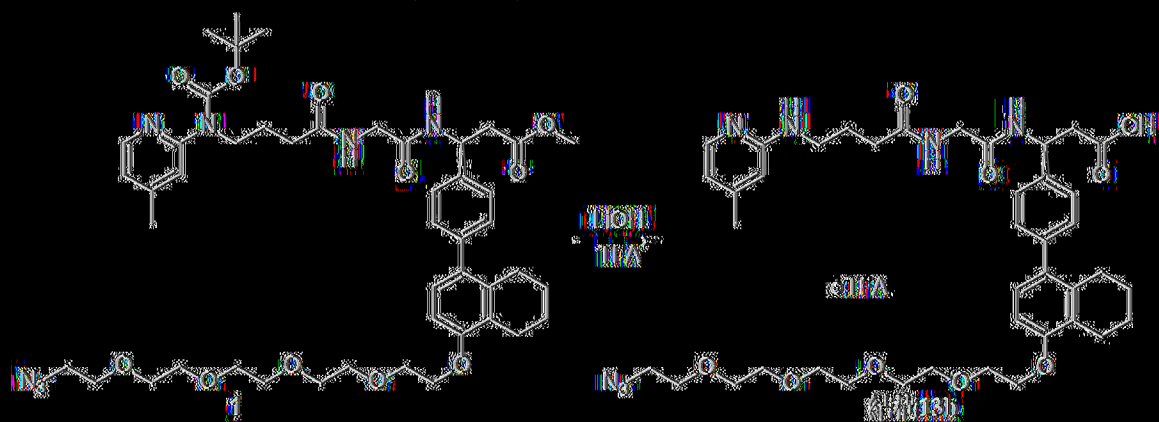
於H₂O與DCM之間，用DCM萃取水相，且合併之有機層用鹽水洗滌，經Na₂SO₄乾燥，且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化且用10%於己烷中之乙酸乙酯溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 273.17，實驗值273.29。



[0405] 將化合物1 (100 mg, 0.169 mmol, 1.0當量)、化合物2 (70 mg, 0.253 mmol, 1.5當量)、XPhos Pd G2 (2.7 mg, 0.0034 mmol, 0.02當量)及K₃PO₄ (72 mg, 0.338 mmol, 2.0當量)混合於圓底燒瓶中。燒瓶用螺帽隔片密封，且接著抽成真空且用氮氣回填(重複此方法總計3次)。接著經由注射器添加THF (5 mL)及水(1 mL)。混合物用氮氣鼓泡20分鐘且反應保持在40°C下3小時。接著使反應物冷卻至室溫且靜置隔夜。用飽和NaHCO₃ (10 mL)淬滅反應物，且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。化合物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用4-5%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 659.34，實驗值659.57。

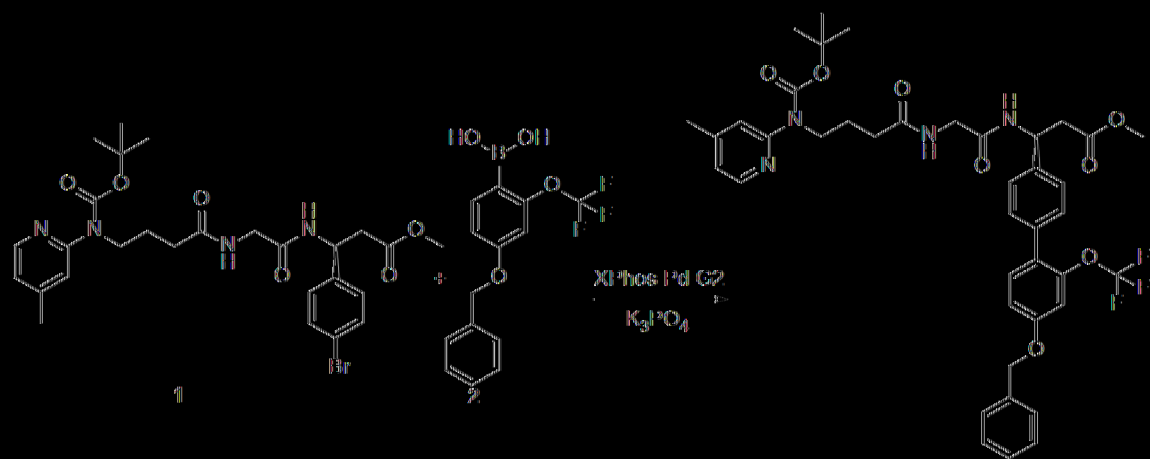


[0406] 在室溫下向化合物1 (30 mg, 0.0455 mmol, 1當量)及疊氨基-PEG₅-OTs (38 mg, 0.0911 mmol, 2當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加Cs₂CO₃ (30 mg, 0.0911 mmol, 2當量)。在40℃下攪拌反應混合物3小時。藉由飽和NaHCO₃溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水層。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化且用4%於DCM中之甲醇溶離。產率係70%。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 904.47，實驗值904.88。



[0407] 在室溫下向化合物1 (29 mg, 0.0321 mmol, 1.0當量)於THF (2 mL)及水(2 mL)中之溶液中添加氫氧化鋇(2.3 mg, 0.0962 mmol, 3.0當量)。在室溫下再攪拌混合物1小時。藉由HCl (6N)將pH調節至3.0，且用EtOAc (3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。將TFA (4 mL)及DCM (2 mL)添加至殘餘物中且在室溫下再攪拌混合物3小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 790.41，實驗值790.64。

合成結構14b ((S)-3-(4'-((14-疊氨基-3,6,9,12-四氧雜-1-四烷基氧基)-2',6'-bis(三氟甲氧基)-[1,1'-聯苯]-4-基)-3-(2-(4-((4-甲基吡啶-2-基)胺基)乙酰胺基)丙酸)內酸)。

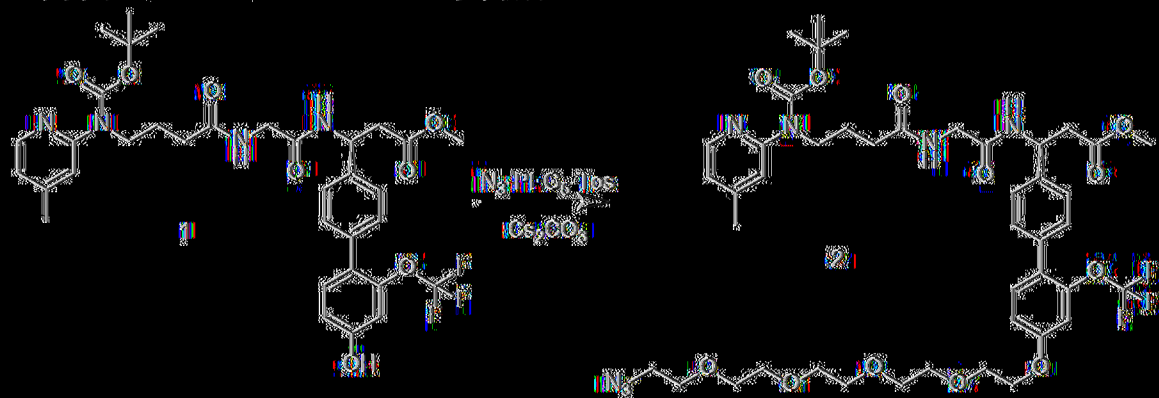


[0408] 將化合物1 (150 mg, 0.253 mmol, 1.0當量)、化合物2 (118 mg, 0.380 mmol, 1.5當量)、XPhos Pd G2 (4 mg, 0.0051 mmol, 0.02當量)及 K_3PO_4 (107 mg, 0.507 mmol, 2.0當量)混合於圓底燒瓶中。燒瓶用螺帽隔片密封，且接著抽成真空且用氮氣回填(重複此方法總計3次)。接著經由注射器添加THF (5 mL)及水(1 mL)。混合物用氮氣鼓泡10分鐘且反應保持在40°C下隔夜。用水(10 mL)淬滅反應物，且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經 Na_2SO_4 乾燥且濃縮。化合物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用2-4%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 779.32，實驗值779.65。

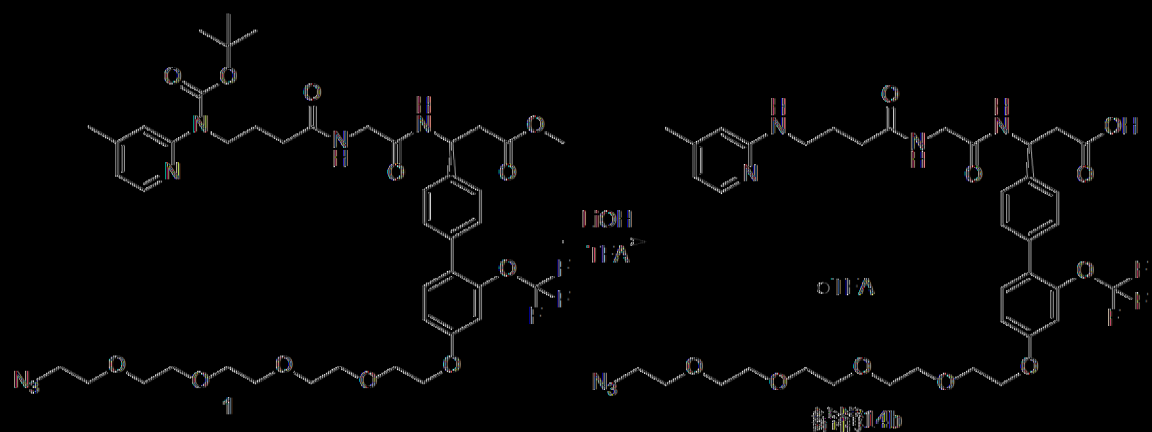


[0409] 在室溫下向化合物1 (0.19 g, 0.244 mmol, 1當量)於乙酸乙酯(10 mL)中之溶液中添加10% Pd/C (100 mg)。將反應抽成真空且用

氮氣回填(重複此方法3次)。在室溫下攪拌反應混合物隔夜。藉由經 Celite®過濾來移除催化劑，且產物未經進一步純化即可直接使用。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 689.27，實驗值689.54。



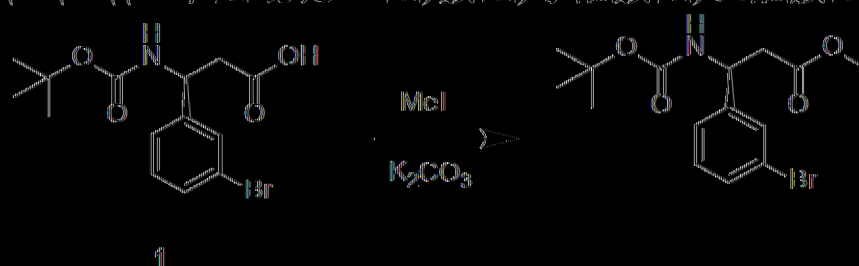
[0410] 在室溫下向化合物1 (80 mg, 0.116 mmol, 1當量)及疊氮基-PEG₅-OTs (97 mg, 0.232 mmol, 2當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加Cs₂CO₃ (76 mg, 0.232 mmol, 2當量)。在40℃下攪拌反應混合物3小時。藉由飽和NaHCO₃溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×5 mL)萃取水層。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化且用3-4%於DCM中之甲醇溶離。產率係82%。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 934.41，實驗值935.04。



[0411] 在室溫下向化合物1 (90 mg, 0.0964 mmol, 1.0當量)於THF (2 mL)及水(2 mL)中之溶液中添加氫氧化鋇(7 mg, 0.289 mmol, 3.0當量)。在室溫下再攪拌混合物1小時。藉由HCl (6N)將pH調節至3.0，

且用EtOAc (3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。將TFA (4 mL)及DCM (2 mL)添加至殘餘物中且在室溫下再攪拌混合物3小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 820.34，實驗值820.89。

合成結構15b ((S)-3-(3-(5-((14-疊氮基-3,6,9,12-四氫雜[1,4]噻基)氨基)苯-1-基)苯基)-3-(2-(4-((4-甲基吡啶-2-基)胺基)丁酰胺基)乙酰胺基)丙酸)。

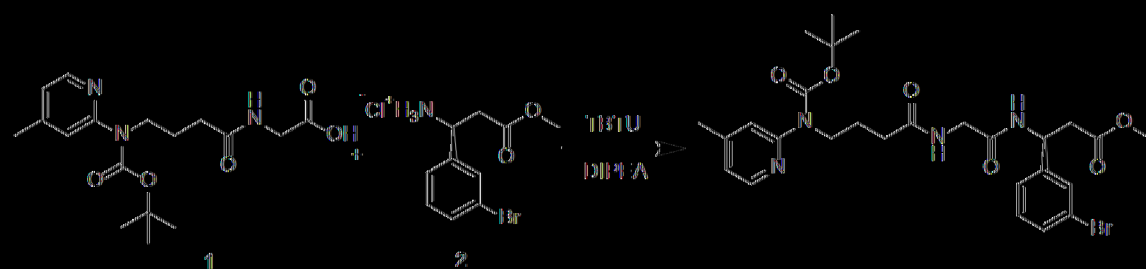


[0412] 在室溫下向化合物1 (1.0 g, 2.90 mmol, 1當量)及碳酸鉀 (0.60 g, 4.36 mmol, 1.5當量)於無水DMF (10 mL)中之溶液中添加碘甲烷(362 μ L, 5.81 mmol, 2.0當量)。在室溫下攪拌反應混合物1小時。接著用水(20 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經無水Na₂SO₄乾燥，且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用15%於己烷中之乙酸乙酯溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 358.06，實驗值358.18。

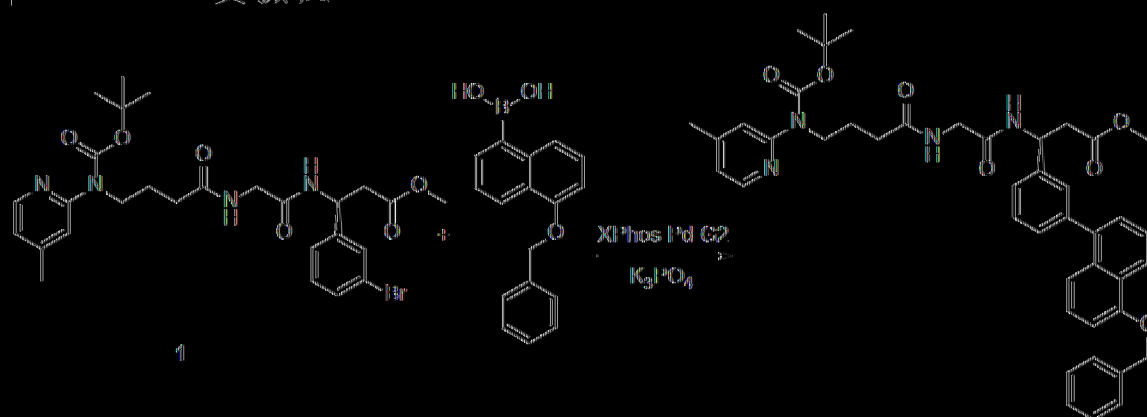


[0413] 化合物1 (858 mg, 1.677 mmol, 1.0當量)藉由冰浴冷卻。將於二噁烷中之HCl (8.4 mL, 33.54 mmol, 20當量)添加至燒瓶中。使反應升溫至室溫且再攪拌1小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑且產物未經進一步純化即可直接使用。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 258.01，實驗值

258.08。

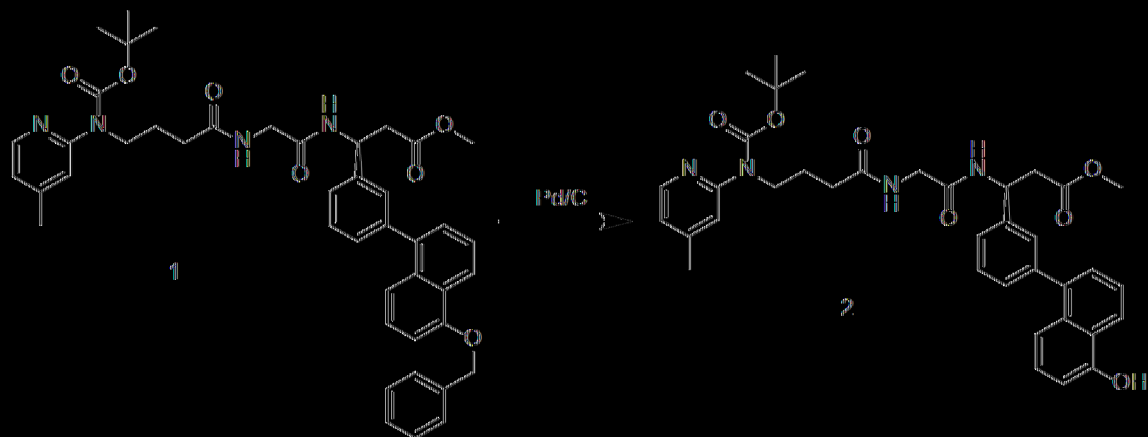


[0414] 在0℃下向化合物1 (640 mg, 1.821 mmol, 1當量)、化合物2 (590 mg, 2.003 mmol, 1.10當量)及TBTU (702 mg, 2.185 mmol, 1.20當量)於無水DMF (10 mL)中之溶液中添加二異丙基乙胺(0.952 mL, 5.464 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫且再攪拌1小時。藉由飽和 NaHCO_3 水溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取產物。將有機相合併，經 Na_2SO_4 乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化且用3-4%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS：計算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 591.17，實驗值591.40。

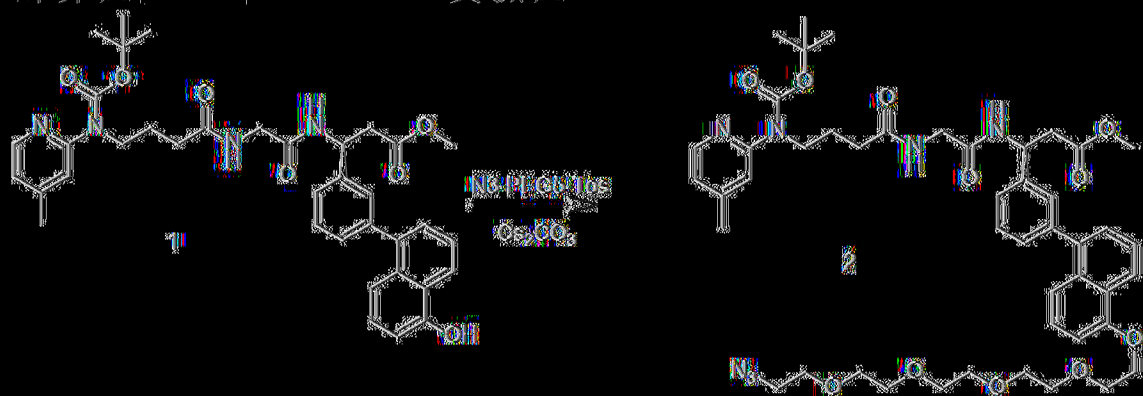


[0415] 將化合物1 (150 mg, 0.253 mmol, 1.0當量)、化合物2 (106 mg, 0.380 mmol, 1.5當量)、XPhos Pd G2 (4 mg, 0.0051 mmol, 0.02當量)及 K_3PO_4 (107 mg, 0.507 mmol, 2.0當量)混合於圓底燒瓶中。燒瓶用螺帽隔片密封，且接著抽成真空且用氮氣回填(重複此方法總計3次)。接著經由注射器添加THF (5 mL)及水(1 mL)。混合物用氮氣鼓泡10分鐘且反應保持在40℃下2小時。用水(10 mL)淬滅反應物，且用乙酸乙

酯(3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經 Na_2SO_4 乾燥且濃縮。化合物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用3-4%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS：計算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 745.35，實驗值745.99。

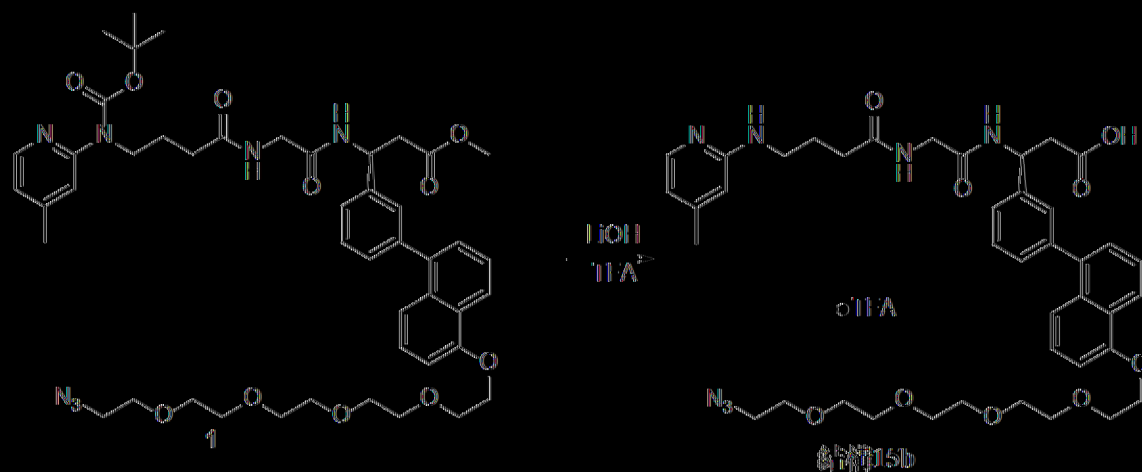


[0416] 在室溫下向化合物1 (0.189 g, 0.253 mmol, 1當量)於乙酸乙酯(10 mL)中之溶液中添加10% Pd/C (100 mg)。將反應抽成真空且用氫氣回填(重複此方法3次)。在室溫下攪拌反應混合物隔夜。藉由經Celite®過濾來移除催化劑，且產物未經進一步純化即可直接使用。LC-MS：計算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 655.31，實驗值655.42。



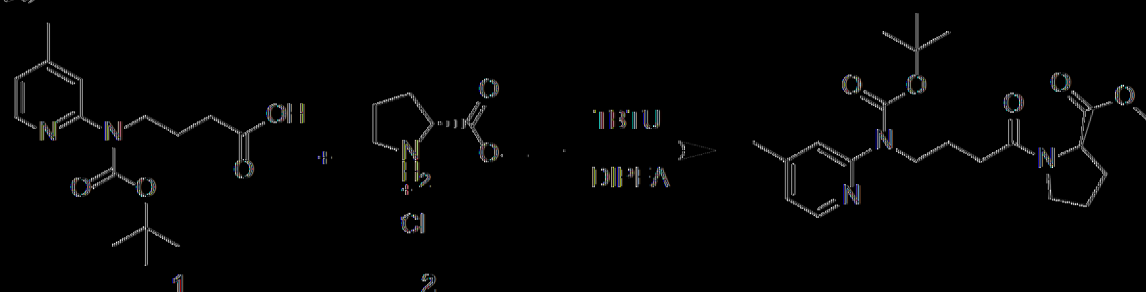
[0417] 在室溫下向化合物1 (80 mg, 0.122 mmol, 1當量)及疊氮基-PEG₅-OTs (102 mg, 0.244 mmol, 2當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加 Cs_2CO_3 (80 mg, 0.244 mmol, 2當量)。在40°C下攪拌反應混合物3小時。藉由飽和 NaHCO_3 溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×5 mL)萃取水相。將有機相合併，經 Na_2SO_4 乾燥且濃縮。產物藉由

CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化且用1-2%於DCM中之甲醇溶離。
產率係90%。LC-MS：計算值900.44，實驗值901.10。



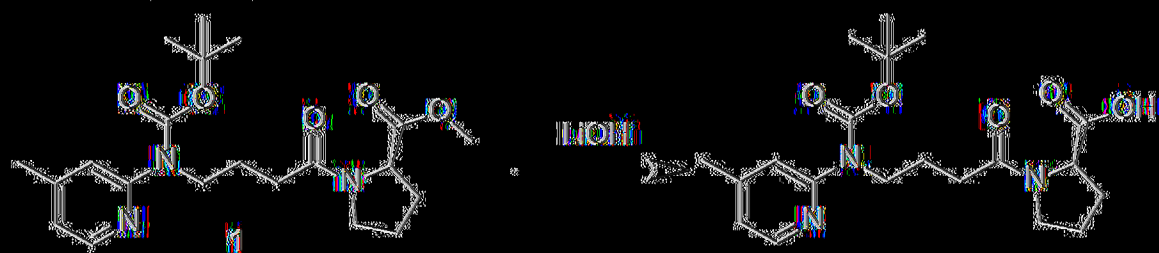
[0418] 在室溫下向化合物1 (100 mg, 0.111 mmol, 1.0當量)於THF (2 mL)及水(2 mL)中之溶液中添加氫氧化鋇(8 mg, 0.333 mmol, 3.0當量)。在室溫下再攪拌混合物1小時。藉由HCl (6N)將pH調節至3.0，且用EtOAc (3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。將TFA (4 mL)及DCM (2 mL)添加至殘餘物中且在室溫下再攪拌混合物3小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 786.37，實驗值786.95。

合成結構16b ((S)-3-(4-(4-((14-疊氮基-3,6,9,12-四氧雜十四烷基)氧基)苯基)-3-((R)-1-(4-((4-甲基吡啶-2-基)胺基)噻咯啉-2-甲磺酸基)丙酸)。

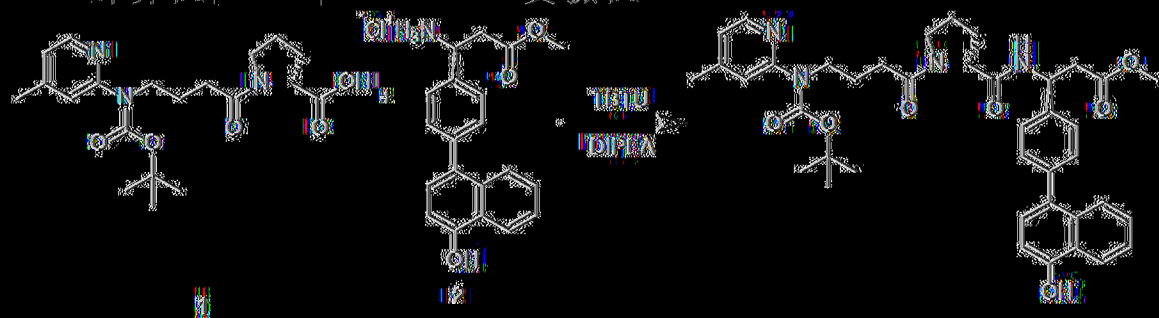


[0419] 在0℃下向化合物1 (500 mg, 1.698 mmol, 1當量)、化合物2 (295 mg, 1.783 mmol, 1.05當量)及TBTU (654 mg, 2.038 mmol，

1.2當量)於無水DMF (10 mL)中之溶液中添加N-異丙基乙胺(0.888 mL, 5.096 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫且再攪拌1小時。藉由飽和 NaHCO_3 水溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取產物。將有機相合併, 經 Na_2SO_4 乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化且用2-3%於DCM中之甲醇溶離。產率係98.43%。LC-MS: 計算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 406.23, 實驗值406.34。

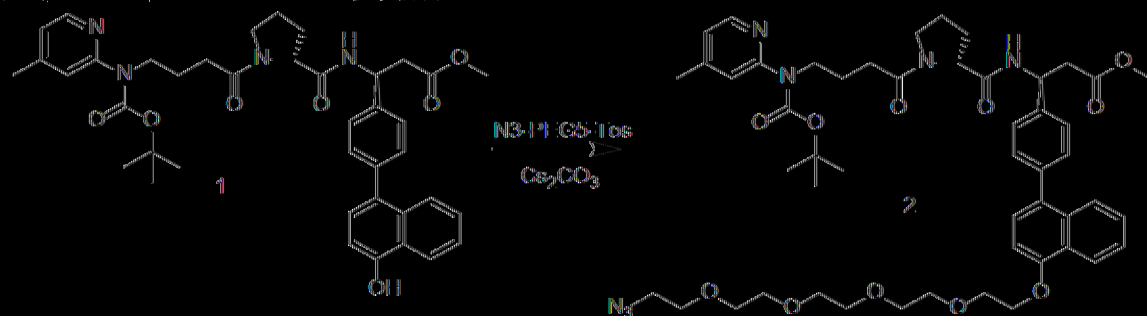


[0420] 在 0°C 下向化合物1 (0.678 g, 1.672 mmol, 1當量)於THF (10 mL)及 H_2O (10 mL)中之溶液中逐份添加氫氧化鋇(0.12 g, 5.016 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫。在室溫下攪拌1小時之後, 反應混合物藉由 HCl (6 N)酸化至pH 3.0。用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相且將有機相合併, 經 Na_2SO_4 乾燥且濃縮。產物未經進一步純化即可使用。LC-MS: 計算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 392.21, 實驗值392.39。

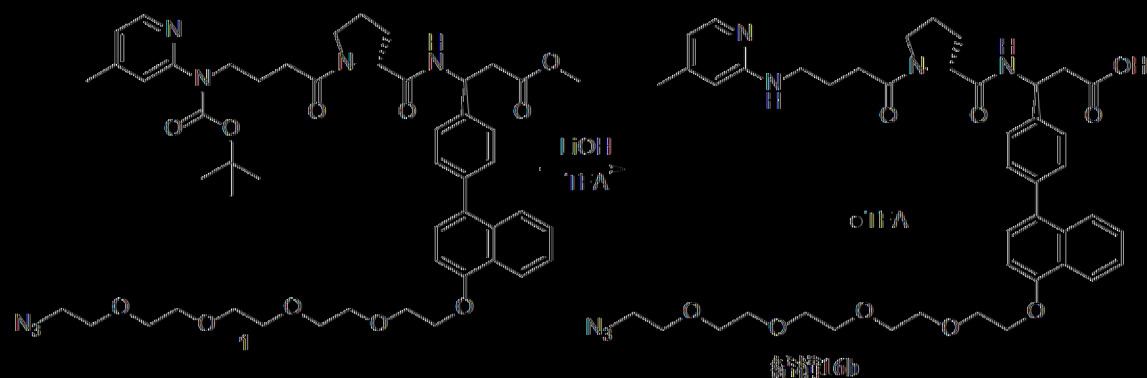


[0421] 在 0°C 下向化合物1 (130 mg, 0.332 mmol, 1當量)、化合物2 (125 mg, 0.348 mmol, 1.05當量)及TBTU (128 mg, 0.398 mmol, 1.2當量)於無水DMF (5 mL)中之溶液中添加N-異丙基乙胺(0.174 mL, 0.996 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫且再攪拌1小時。藉由飽

和 NaHCO_3 水溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取產物。將有機相合併，經 Na_2SO_4 乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化且用3-4%於DCM中之甲醇溶離。產率係86%。LC-MS：計算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 695.34，實驗值695.93。



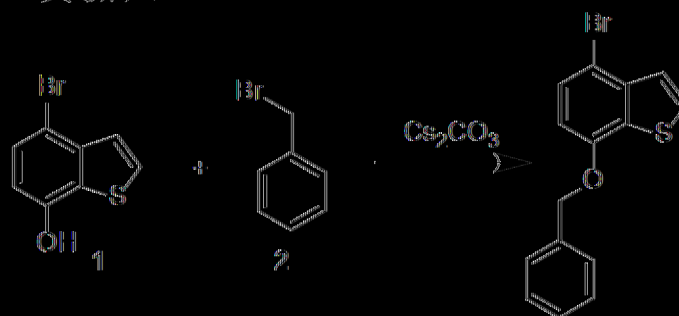
[0422] 在室溫下向化合物1 (80 mg, 0.115 mmol, 1當量)及疊氮基-PEG5-OTs (96 mg, 0.230 mmol, 2當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加 Cs_2CO_3 (75 mg, 0.230 mmol, 2當量)。在40℃下攪拌反應混合物3小時。藉由飽和 NaHCO_3 溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水層。將有機相合併，經 Na_2SO_4 乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化且用4-5%於DCM中之甲醇溶離。產率係60%。



[0423] 在室溫下向化合物1 (65 mg, 0.0691 mmol, 1.0當量)於THF (2 mL)及水(2 mL)中之溶液中添加氫氧化鋰(5 mg, 0.207 mmol, 3.0當量)。在室溫下再攪拌混合物1小時。藉由HCl (6N)將pH調節至3.0，且用EtOAc (3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經 Na_2SO_4 乾燥且濃

第 176 頁(發明說明書)

使用矽膠作為固定相分離且用5%於己烷中之乙酸乙酯溶離。LC-MS：計算值[M-H]⁺ 226.92，實驗值227.03。

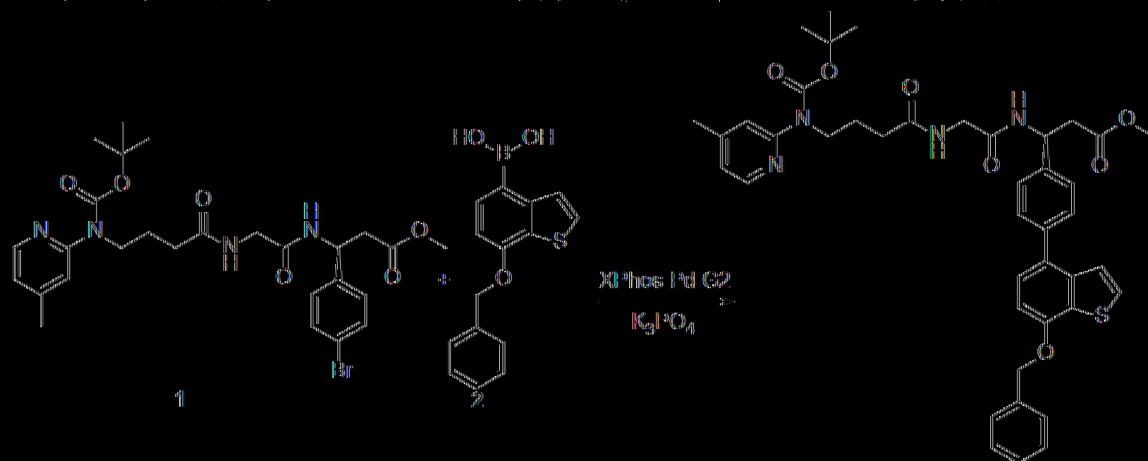


[0426] 在室溫下向化合物1 (1.838 g, 8.023 mmol, 1當量)及化合物2 (1.906 mL, 16.04 mmol, 2當量)於無水DMF (10 mL)中之溶液中添加Cs₂CO₃ (5.228 g, 16.04 mmol, 2當量)。在室溫下攪拌反應混合物隔夜。藉由水(20 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用2-3%於己烷中之乙酸乙酯溶離。

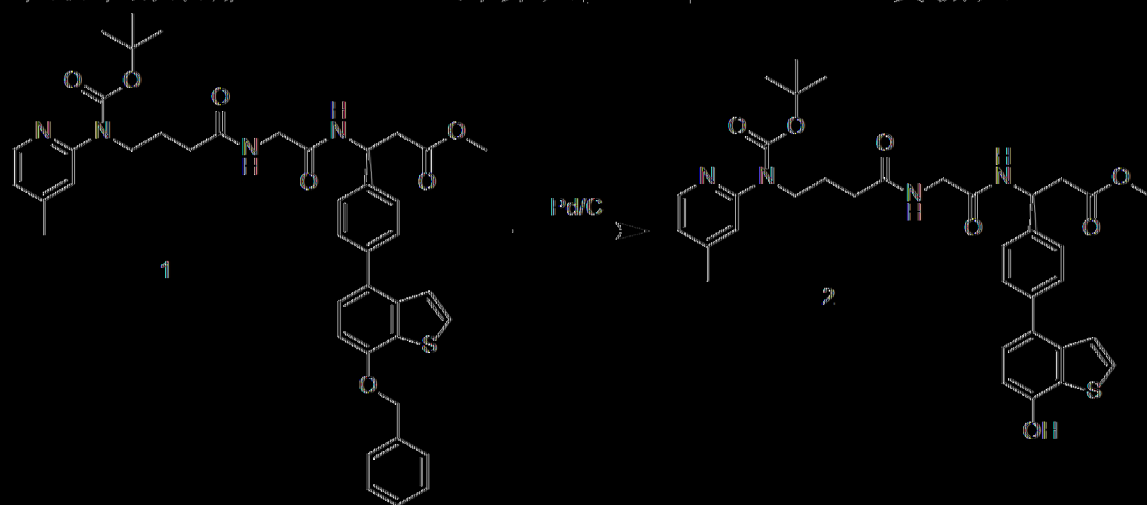


[0427] 在-78℃下向化合物1 (2.22 g, 6.954 mmol, 1.0當量)於無水THF (20 mL)中之溶液中逐滴添加於己烷中之n-BuLi (4.17 mL, 10.43 mmol, 1.5當量)。反應再保持在-78℃下1小時。接著在-78℃下將硼酸三異丙酯(2.40 mL, 10.43 mmol, 1.5當量)添加至混合物中。接著使反應升溫至室溫且再攪拌1小時。藉由飽和NH₄Cl溶液(20 mL)淬滅反應物且將pH調節至3。用EtOAc (3×20 mL)萃取水相，且將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用4-6%

於DCM中之甲醇溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 283.07，實驗值283.20。



[0428] 將化合物1 (400 mg, 0.676 mmol, 1.0當量)、化合物2 (288 mg, 1.01 mmol, 1.5當量)、XPhos Pd G2 (10 mg, 0.0135 mmol, 0.02當量)及K₃PO₄ (287 mg, 1.352 mmol, 2.0當量)混合於圓底燒瓶中。燒瓶用螺帽隔片密封，且接著抽成真空且用氮氣回填(重複此方法總計3次)。接著經由注射器添加THF (8 mL)及水(2 mL)。混合物用氮氣鼓泡10分鐘且反應保持在40℃下2小時。用飽和NaHCO₃溶液(10 mL)淬滅反應物，且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。化合物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用3-4%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 751.31，實驗值751.84。

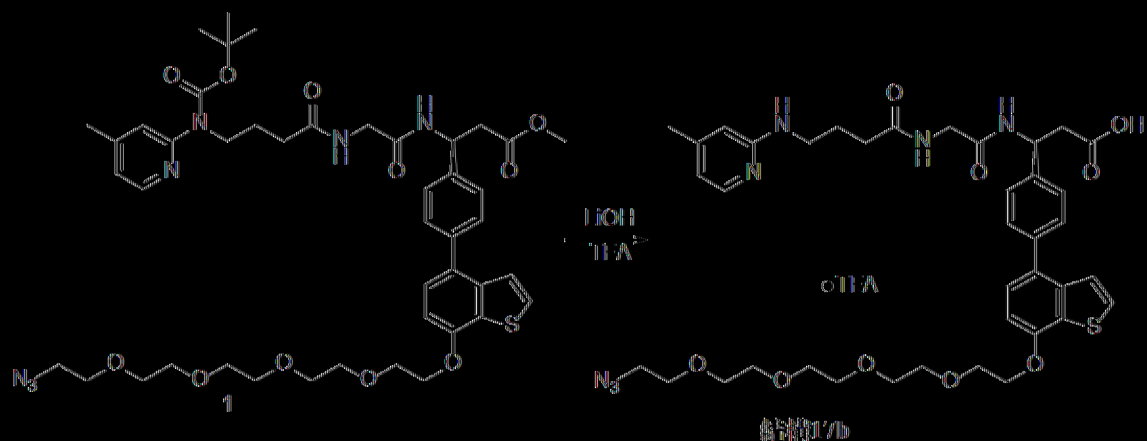


[0429] 在室溫下向化合物1 (0.50 g, 0.666 mmol, 1當量)於乙酸

乙酸乙酯(10 mL)中之溶液中添加10% Pd/C (100 mg)。將反應抽成真空且用氮氣回填(重複此方法3次)。在室溫下攪拌反應混合物隔夜。藉由經Celite®過濾移除催化劑且產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用5%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 661.26，實驗值661.73。



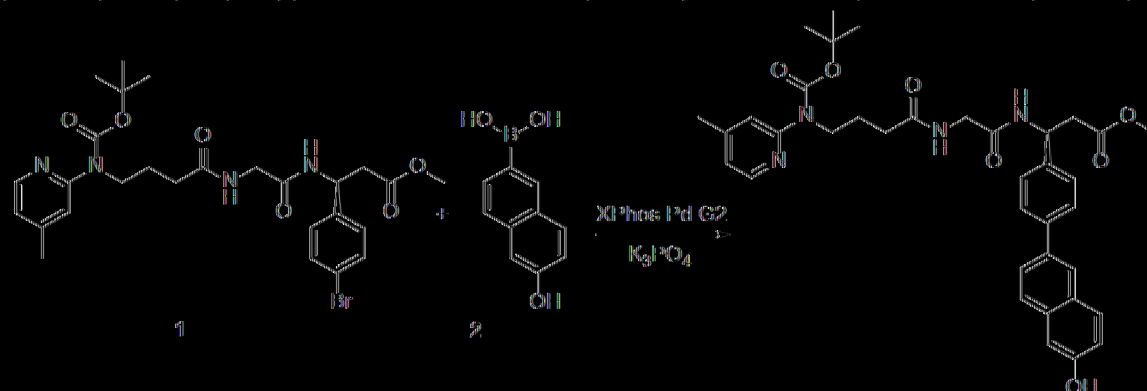
[0430] 在室溫下向化合物1 (130 mg, 0.196 mmol, 1當量)及疊氮基-PEG5-OTs (164 mg, 0.393 mmol, 2當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加Cs₂CO₃ (128 mg, 0.393 mmol, 2當量)。在40℃下攪拌反應混合物3小時。藉由飽和NaHCO₃溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×5 mL)萃取水層。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化且用3-4%於DCM中之甲醇溶離。產率係82%。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 906.40，實驗值906.95。



[0431] 在室溫下向化合物1 (147 mg, 0.162 mmol, 1.0當量)於

THF (2 mL)及水(2 mL)中之溶液中添加氫氧化鋰(12 mg, 0.486 mmol, 3.0當量)。在室溫下再攪拌混合物1小時。藉由HCl (6N)將pH調節至3.0, 且用EtOAc (3×10 mL)萃取水相。將有機相合併, 經Na₂SO₄乾燥且濃縮。將TFA (2 mL)及DCM (2 mL)添加至殘餘物中且在室溫下再攪拌混合物3小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑且產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相來分離。LC-MS: 計算值[M+H]⁺ 792.33, 實驗值792.89。

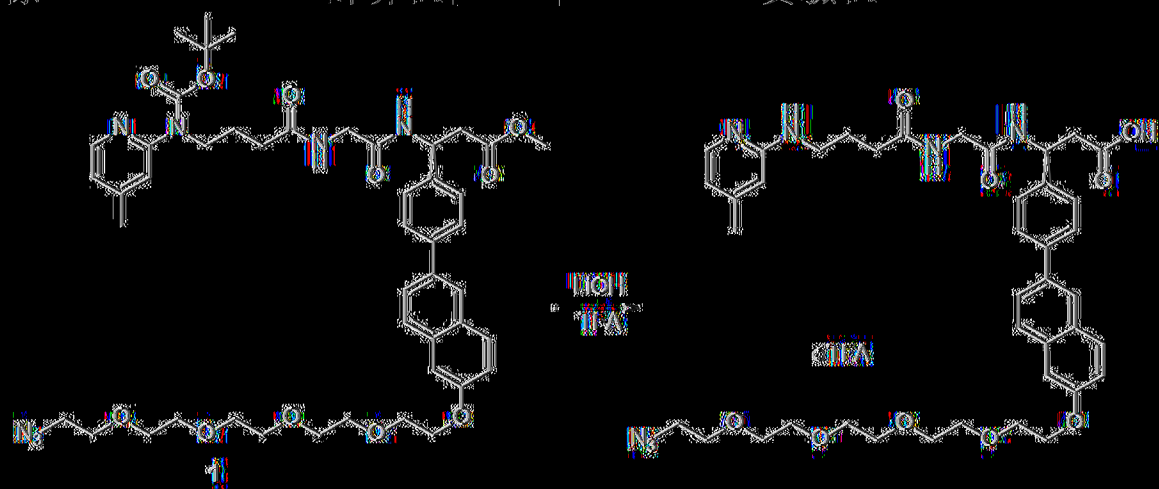
合成結構18b ((S)-3-(4-(6-((14-疊氮基-3,6,9,12-四氫雜[1,4]噻嗪-5-基)-2-基)苯基)-3-(2-(4-((4-甲基吡啶-2-基)胺基)丁酰胺基)乙酰胺基)丙酸))



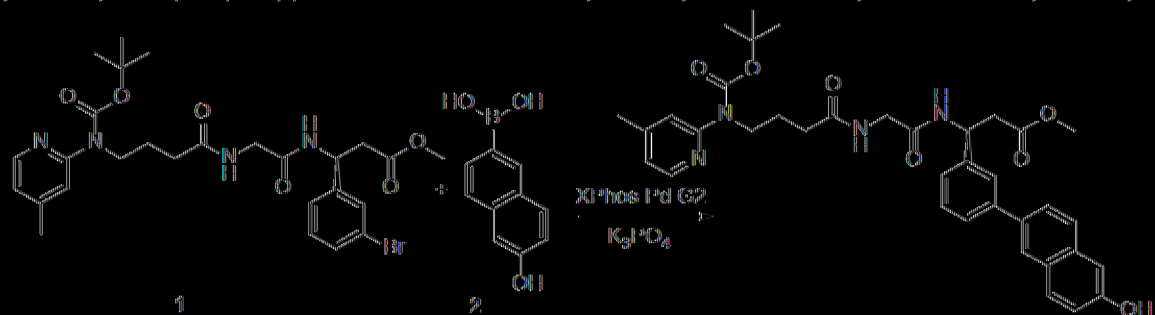
[0432] 將化合物1 (150 mg, 0.253 mmol, 1.0當量)、化合物2 (71.5 mg, 0.380 mmol, 1.5當量)、XPhos Pd G2 (4 mg, 0.0051 mmol, 0.02當量)及K₃PO₄ (107 mg, 0.507 mmol, 2.0當量)混合於圓底燒瓶中。燒瓶用螺帽隔片密封, 且接著抽成真空且用氮氣回填(重複此方法總計3次)。接著經由注射器添加THF (5 mL)及水(1 mL)。混合物用氮氣鼓泡10分鐘且反應保持在40°C下2小時。用水(10 mL)淬滅反應物, 且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相。將有機相合併, 經Na₂SO₄乾燥且濃縮。化合物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用2-3%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS: 計算值[M+H]⁺ 655.31, 實驗值655.87。

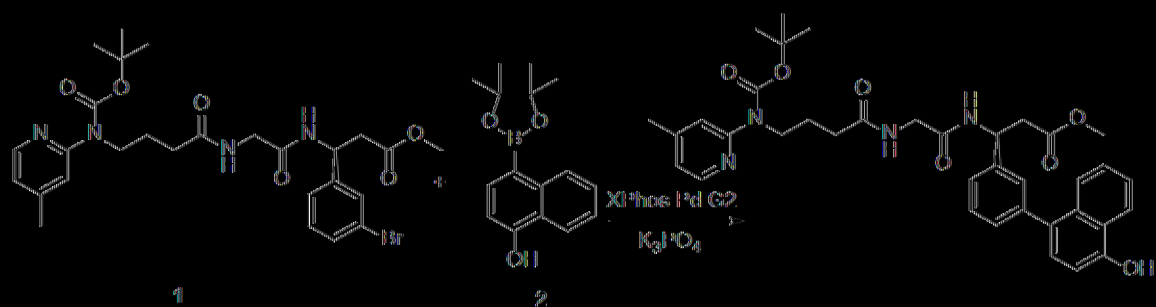


[0433] 在室溫下向化合物1 (160 mg, 0.244 mmol, 1當量)及疊氮基-PEG5-OTs (204 mg, 0.488 mmol, 2當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加 Cs_2CO_3 (160 mg, 0.488 mmol, 2當量)。在60℃下攪拌反應混合物3小時。藉由飽和 NaHCO_3 溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×5 mL)萃取水層。將有機相合併，經 Na_2SO_4 乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化且用3-4%於DCM中之甲醇溶離。產率係30%。LC-MS：計算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 900.44，實驗值901.01。

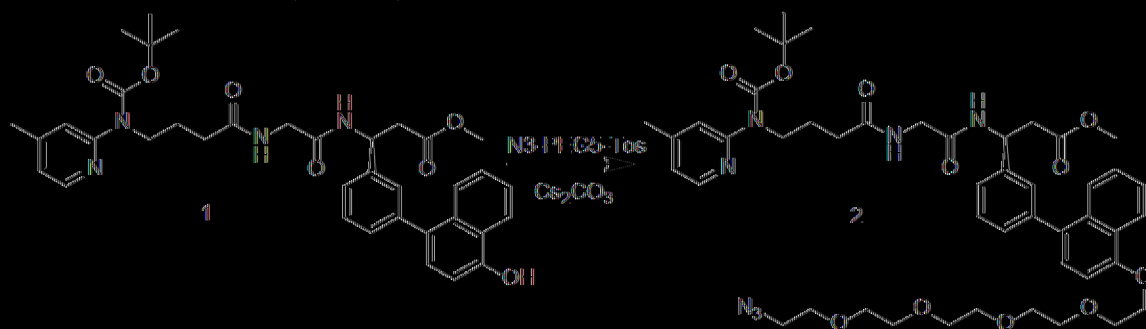


[0434] 在室溫下向化合物1 (67 mg, 0.0744 mmol, 1.0當量)於THF (2 mL)及水(2 mL)中之溶液中添加氫氧化鋰(5 mg, 0.223 mmol, 3.0當量)。在室溫下再攪拌混合物1小時。藉由HCl (6N)將pH調節至3.0，且用EtOAc (3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經 Na_2SO_4 乾燥且濃縮。將TFA (2 mL)及DCM (2 mL)添加至殘餘物中且在室溫下再攪拌混合



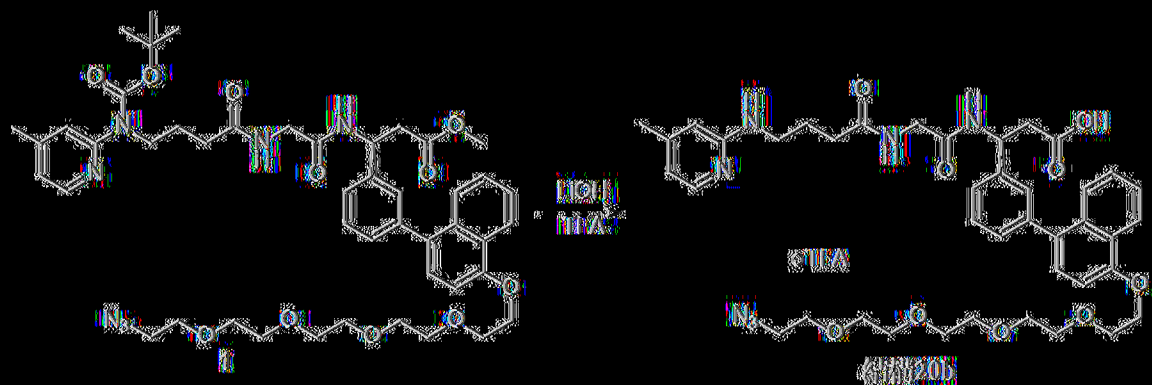


[0438] 將化合物1 (150 mg, 0.253 mmol, 1.0當量)、化合物2 (102 mg, 0.380 mmol, 1.5當量)、XPhos Pd G2 (4 mg, 0.0051 mmol, 0.02當量)及 K_3PO_4 (107 mg, 0.507 mmol, 2.0當量)混合於圓底燒瓶中。燒瓶用螺帽隔片密封，且接著抽成真空且用氮氣回填(重複此方法總計3次)。接著經由注射器添加THF (5 mL)及水(1 mL)。混合物用氮氣鼓泡10分鐘且反應保持在40℃下2小時。用水(10 mL)淬滅反應物，且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經 Na_2SO_4 乾燥且濃縮。化合物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用2-3%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 655.31，實驗值655.78。



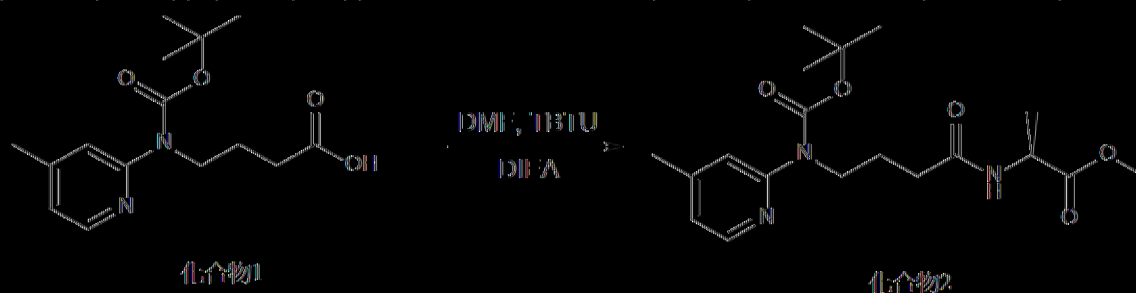
[0439] 在室溫下向化合物1 (160 mg, 0.244 mmol, 1當量)及疊氮基-PEG₅-OTs (204 mg, 0.488 mmol, 2當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加 Cs_2CO_3 (159 mg, 0.488 mmol, 2當量)。在60℃下攪拌反應混合物3小時。藉由飽和 $NaHCO_3$ 溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×5 mL)萃取水相。將有機相合併，經 Na_2SO_4 乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化且用3-4%於DCM中之甲醇溶離。

LC-MS：計算值[M+H]⁺ 900.44，實驗值901.01。

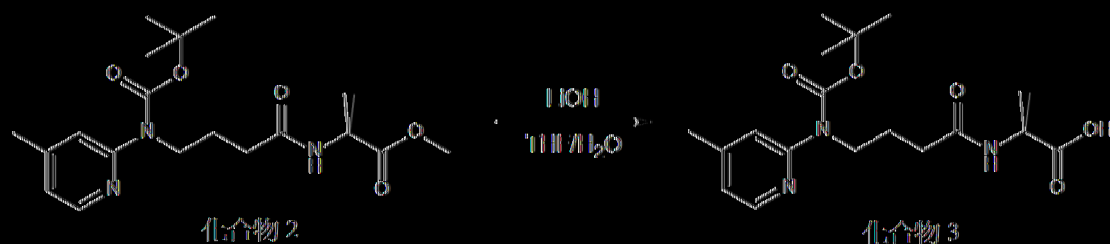


[0440] 在室溫下向化合物1 (125 mg, 0.138 mmol, 1.0當量)於THF (2 mL)及水(2 mL)中之溶液中添加氫氧化鋇(10 mg, 0.416 mmol, 3.0當量)。在室溫下再攪拌混合物1小時。藉由HCl (6N)將pH調節至3.0，且用EtOAc (3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。將TFA (4 mL)及DCM (2 mL)添加至殘餘物中且在室溫下再攪拌混合物3小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑且藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用8-12%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 786.37，實驗值786.86。

合成結構22b ((S)-3-(4-(4-((14-疊氮基-3,6,9,12-四氧雜-1-四烷基)氧基)苯-1-基)苯基)-3-((S)-2-(4-((4-甲基吡嗪-2-基)胺基)丁酰胺基)丙酰胺)丙酸)。



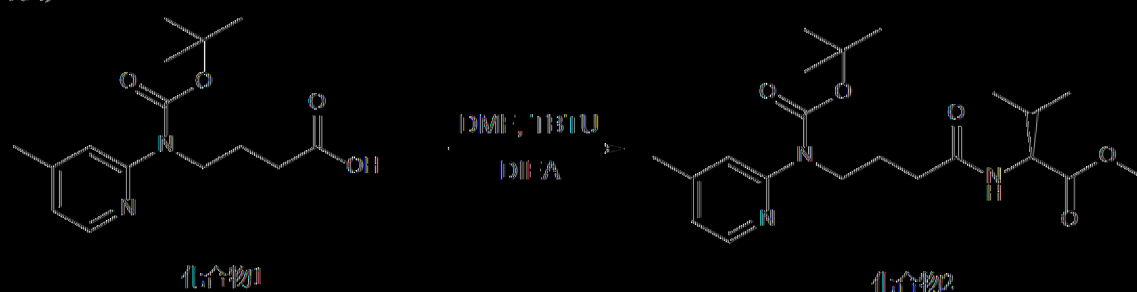
[0441] 在0℃下向化合物1 (250 mg, 0.85 mmol)、L-丙胺酸甲酯鹽酸鹽(130 mg, 0.93 mmol)及TBTU (327 mg, 1.02 mmol)於DMF (2 mL)中之溶液中添加DIPEA (329 mg, 444 μL, 2.55 mmol)。使反應混合物升溫至室溫且攪拌1小時。用飽和NH₄Cl (水性)溶液(0.75 mL)及去離子





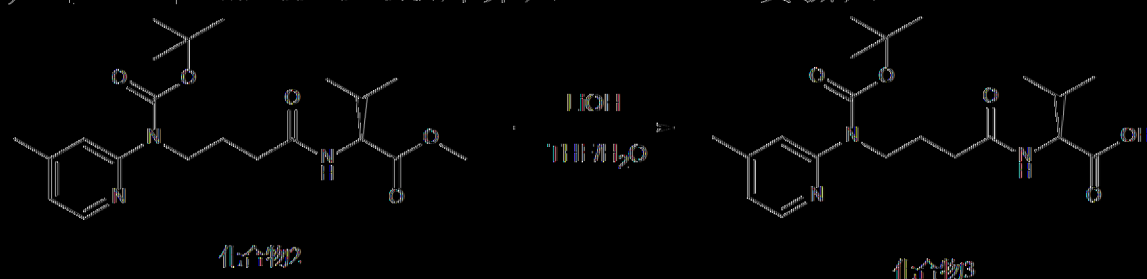
[0445] 在0℃下向化合物5 (142 mg, 0.16 mmol)於THF (2 mL)及去離子水(1.5 mL)中之溶液中添加氫氧化鋇(11 mg, 0.47 mmol)於去離子水(0.5 mL)中之溶液。使反應升溫至室溫且攪拌1小時。反應混合物用6 M HCl (水溶液)酸化至pH = 3。用乙酸乙酯(3×8 mL)萃取水相。合併之有機相經Na₂SO₄乾燥，過濾且濃縮。向粗殘餘物中添加TFA (2.0 mL)及水 (100 μ L)。在室溫下攪拌反應混合物1.5小時。減壓移除溶劑，且將殘餘物與乙腈:甲苯[1:1] (2×20 mL)共蒸發。粗混合物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，用0-13%於DCM中之甲醇來分離。結構22b之產量：100 mg (80%)。[M+H]⁺ C₄₂H₅₃N₇O₉之計算值：800.92，實驗值：800.81。

合成結構23b ((S)-3-(4-(4-((14-疊氮基-3,6,9,12-四氫雜[1,4]吡嗪-1-基)苯基)-3-((S)-3-甲基-2-((4-((4-甲基吡嗪-2-基)胺基)丁酰胺基)丁酰胺基)丙酸))

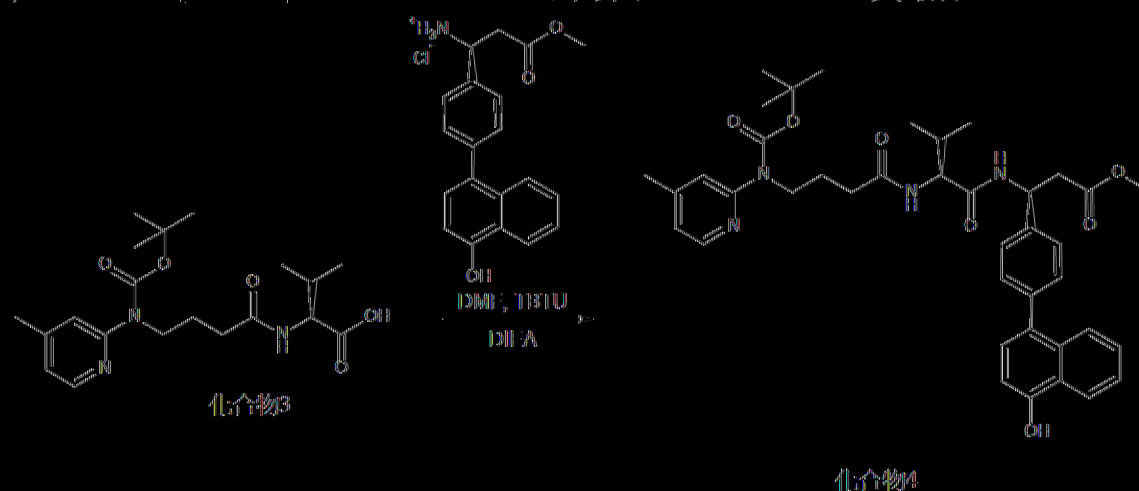


[0446] 在0℃下向化合物1 (250 mg, 0.85 mmol)、L-纈胺酸甲酯鹽酸鹽(157 mg, 0.93 mmol)及TBTU (327 mg, 1.02 mmol)於DMF (2

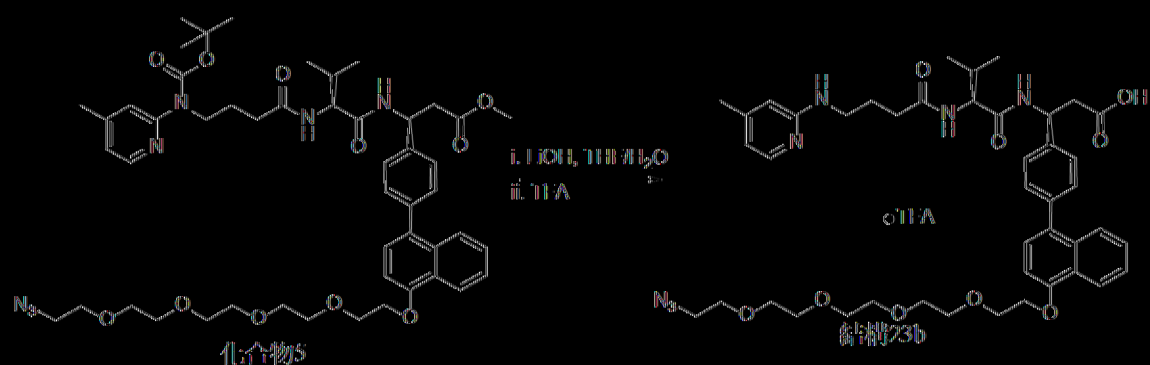
mL)中之溶液中添加DIPEA (329 mg, 444 μ L, 2.55 mmol)。使反應混合物升溫至室溫且攪拌1小時。用飽和 NH_4Cl (水性)溶液(0.75 mL)及去離子水(1 mL)淬滅反應物，接著用乙酸乙酯(3 mL)萃取。再用乙酸乙酯(2 $\times$ 3 mL)萃取水層。用飽和 NaHCO_3 (水)溶液(2 mL)洗滌合併之有機相。有機相經 Na_2SO_4 乾燥，過濾且濃縮。粗混合物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，用0-5%於DCM中之甲醇來分離。化合物2之產量：297 mg (86%)。[M⁺H]⁺ $\text{C}_{21}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_5$ 之計算值：408.51，實驗值：407.87。



[0447] 在0°C下向化合物2 (297 mg, 0.73 mmol)於THF (4.5 mL)及去離子水(3 mL)中之溶液中添加氫氧化鉀(52 mg, 2.19 mmol)於去離子水(1 mL)中之溶液。使反應升溫至室溫且攪拌40分鐘。反應混合物用6 M HCl (水溶液)酸化至pH = 3。用乙酸乙酯(3 $\times$ 10 mL)萃取水相。合併之有機相經 Na_2SO_4 乾燥，過濾且濃縮。化合物3未經進一步純化即可使用，假設產率100%。[M⁺H]⁺ $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_5$ 之計算值：394.49，實驗值：393.83。

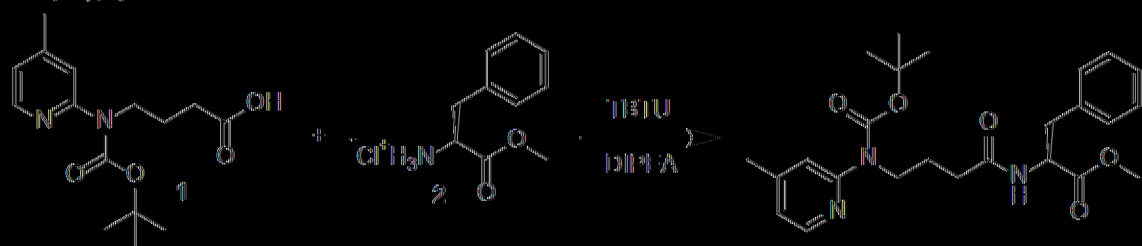


[0448] 在0°C下向化合物3 (287 mg, 0.73 mmol)、化合物3a (287



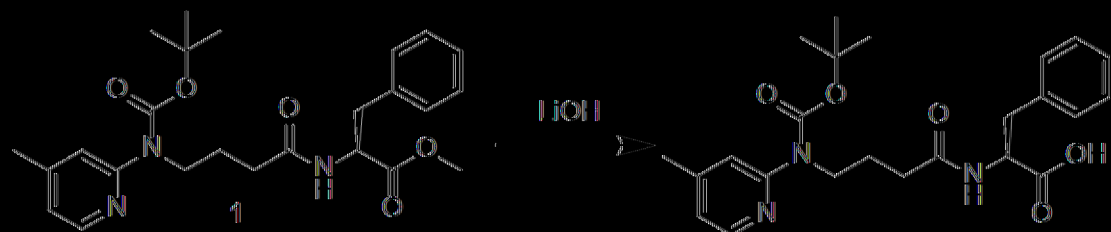
[0450] 向化合物5 (134 mg, 0.14 mmol)於THF (2 mL)及去離子水(1.5 mL)中在0℃之溶液中添加氫氧化鋰(10 mg, 0.43 mmol)於去離子水(0.5 mL)中之溶液。使反應物升溫至室溫且攪拌1小時。反應混合物用6 M HCl (水溶液)酸化至pH = 3。用乙酸乙酯(3×8 mL)萃取水相。合併之有機相經Na₂SO₄乾燥，過濾且濃縮。向粗殘餘物中添加TFA (1.9 mL)及水(95 μL)。在室溫攪拌反應混合物1.5小時。減壓移除溶劑，且將殘餘物與乙腈:甲苯[1:1] (2×20 mL)共蒸發。粗混合物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相用0-10%甲醇於DCM中分離。結構23b之產量：36 mg (30.5%)。C₄₄H₅₇N₇O₉之[M+H]⁺計算值：828.97，實驗值828.90。

結構24b ((S)-3-(4-(4-((14-疊氮基-3,6,9,12-四氫雜[1,4]庚基)氧基)萘-1-基)苯基)-3-((S)-2-(4-((4-甲基吡啶-2-基)胺基)丁醯胺基)-3-苯基丙醯胺基)丙酸)之合成

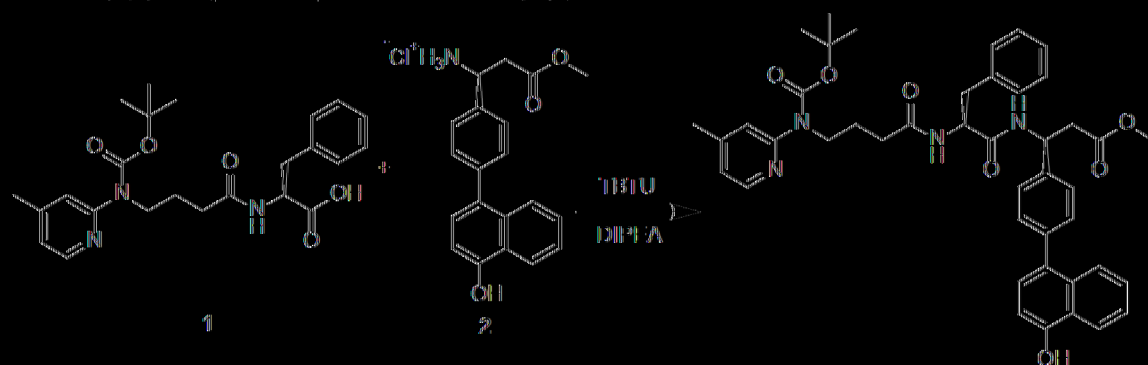


[0451] 在0℃向化合物1 (200 mg, 0.679 mmol, 1當量)、化合物2 (161 mg, 0.747 mmol, 1.2當量)及TBTU (261 mg, 0.815 mmol, 1.2當量)於無水DMF (4 mL)中之溶液中添加N-異丙基乙胺(0.355 mL, 2.038 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫且再攪拌1小時。用飽和

NaHCO₃溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用2-3%甲醇於DCM中溶離。LC-MS：[M+H]⁺ 計算值456.24，實驗值456.12。

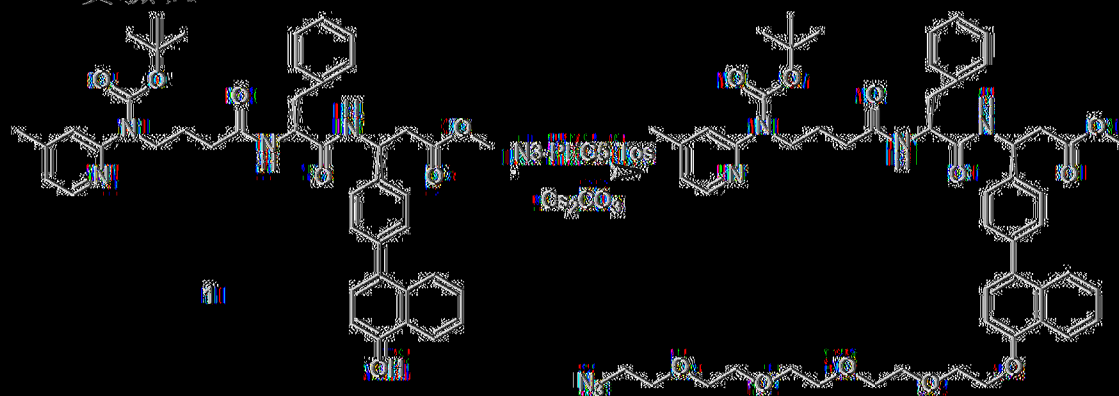


[0452] 在0℃下向化合物1 (300 mg, 0.658 mmol, 1當量)於THF (5 mL)及H₂O (5 mL)中之溶液中逐份添加氫氧化鋇(47 mg, 1.975 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫。在室溫下攪拌1小時之後，反應混合物藉由HCl (6 N)酸化至pH 3.0。用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相且將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物未經進一步純化即可使用。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 442.23，實驗值442.08。

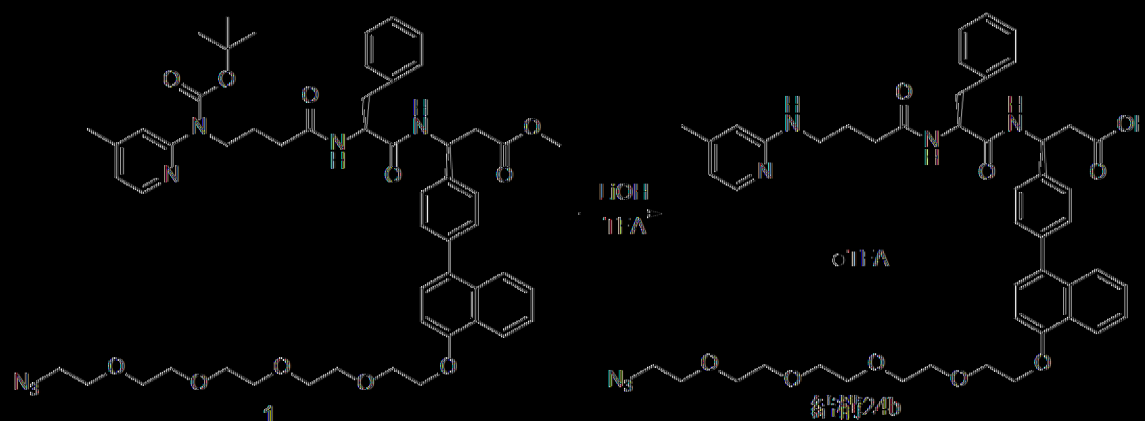


[0453] 在0℃下向化合物1 (290 mg, 0.656 mmol, 1當量)、化合物2 (258 mg, 0.722 mmol, 1.1當量)及TBTU (253 mg, 0.788 mmol, 1.2當量)於無水DMF (5 mL)中之溶液中添加二異丙基乙胺(0.343 mL, 1.970 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫且再攪拌1小時。用飽和NaHCO₃溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為

固定相分離且用3-4%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 745.35，實驗值745.63。



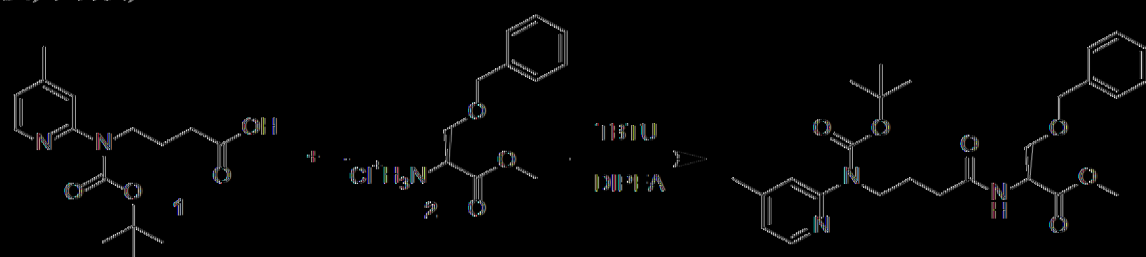
[0454] 在室溫下向化合物1 (113 mg, 0.151 mmol, 1當量)及疊氮基-PEG5-OTs (126 mg, 0.303 mmol, 2當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加Cs₂CO₃ (99 mg, 0.303 mmol, 2當量)。在40°C下攪拌反應混合物3小時。藉由飽和NaHCO₃溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×5 mL)萃取水層。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化且用3-4%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 990.49，實驗值990.87。



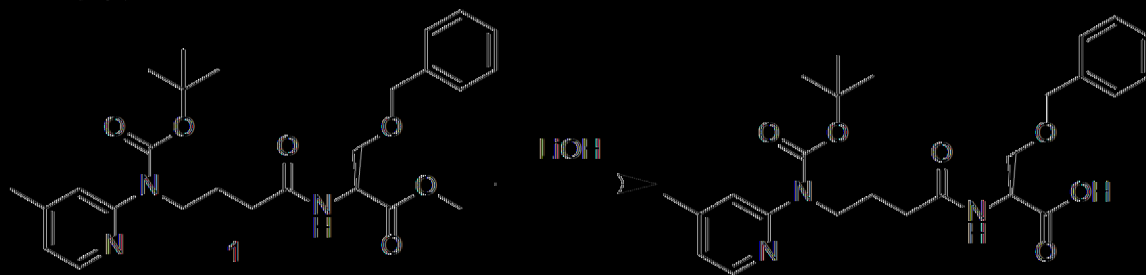
[0455] 在室溫下向化合物1 (140 mg, 0.141 mmol, 1.0當量)於THF (2 mL)及水(2 mL)中之溶液中添加氫氧化鋁(10 mg, 0.424 mmol, 3.0當量)。在室溫下再攪拌混合物1小時。藉由HCl (6N)將pH調節至3.0，且用EtOAc (3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃

縮。將TFA (4 mL)及DCM (2 mL)添加至殘餘物中且在室溫下再攪拌混合物3小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑且藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用6-10%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 876.42，實驗值876.88。

合成結構25b ((S)-3-(4-(4-((14-羥基-3,6,9,12-四氧雜-1-四烷基)氧基)苯-1-基)苯基)-3-((S)-3-(苯甲氧基)-2-(4-((4-甲基吡嗪-2-基)胺基)內酰胺)內酰胺)丙酰胺)丙酸)。



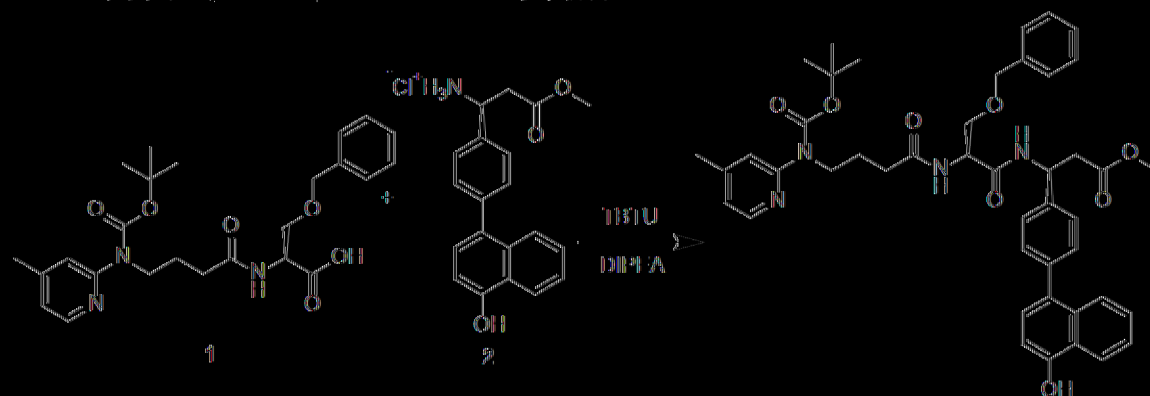
[0456] 在0℃下向化合物1 (100 mg, 0.339 mmol, 1當量)、化合物2 (92 mg, 0.373 mmol, 1.1當量)及TBTU (131 mg, 0.407 mmol, 1.2當量)於無水DMF (4 mL)中之溶液中添加三異丙基乙胺(0.178 mL, 1.019 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫且再攪拌1小時。用飽和NaHCO₃溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用2-4%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 486.25，實驗值486.37。



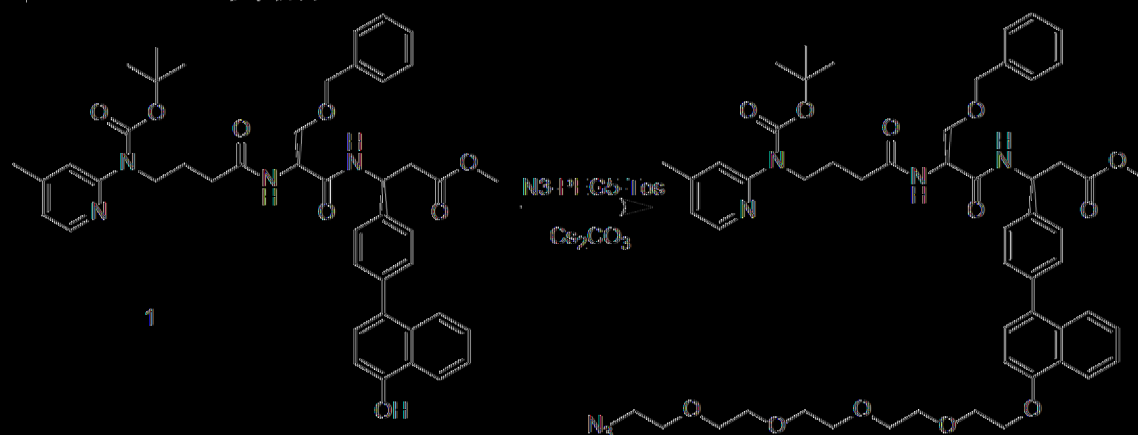
[0457] 在0℃下向化合物1 (160 mg, 0.329 mmol, 1當量)於THF (5 mL)及H₂O (5 mL)中之溶液中逐份添加氫氧化鋰(23 mg, 0.988

mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫。在室溫下攪拌1小時之後, 反應混合物藉由HCl (6 N)酸化至pH 3.0。用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相且將有機相合併, 經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物未經進一步純化即可使用。

LC-MS: 計算值[M+H]⁺ 472.24, 實驗值472.32。

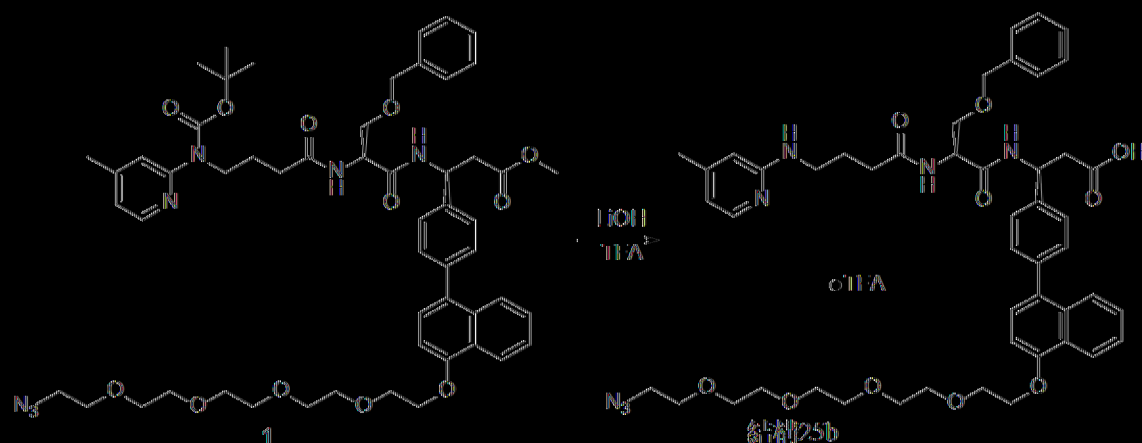


[0458] 在0℃下向化合物1 (1600 mg, 0.339 mmol, 1當量)、化合物2 (133 mg, 0.373 mmol, 1.1當量)及TBTU (130 mg, 0.815 mmol, 1.2當量)於無水DMF (3 mL)中之溶液中添加二異丙基乙胺(0.177 mL, 1.018 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫且再攪拌1小時。用飽和NaHCO₃溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相。將有機相合併, 經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用2-3%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS: 計算值[M+H]⁺ 775.36, 實驗值775.87。



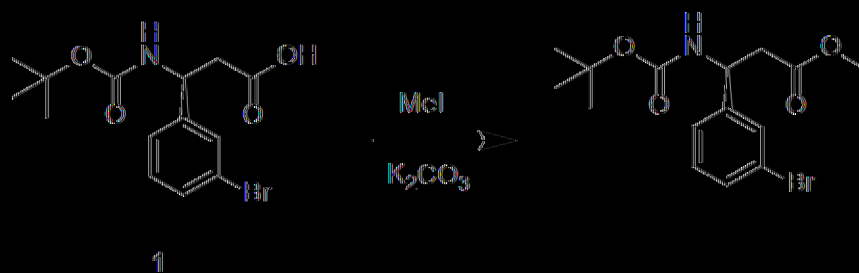
[0459] 在室溫下向化合物1 (140 mg, 0.180 mmol, 1當量)及疊

氨基-PEG5-OTs (150 mg, 0.361 mmol, 2當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加Cs₂CO₃ (117 mg, 0.361 mmol, 2當量)。在40℃下攪拌反應混合物3小時。藉由飽和NaHCO₃溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×5 mL)萃取水層。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化且用3-4%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 1020.50，實驗值1020.88。

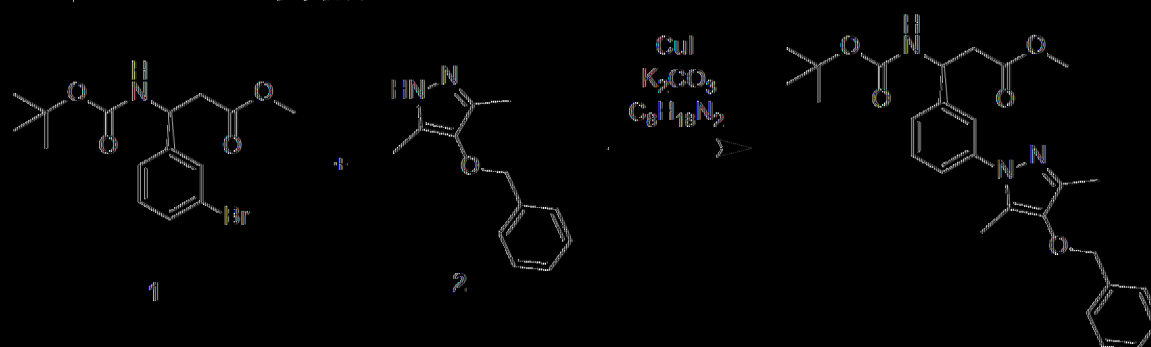


[0460] 在室溫下向化合物1 (170 mg, 0.166 mmol, 1.0當量)於THF (2 mL)及水(2 mL)中之溶液中添加氫氧化鋁(12 mg, 0.499 mmol, 3.0當量)。在室溫下再攪拌混合物1小時。藉由HCl (6N)將pH調節至3.0，且用EtOAc (3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。將TFA (4 mL)及DCM (2 mL)添加至殘餘物中且在室溫下再攪拌混合物3小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑且藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用6-10%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 906.43，實驗值906.95。

合成結構25b ((S)-3-(3-(4-((14-疊氮基-3,6,9,12-四氧雜-1-四烷基)氧基)-3,5-二甲基-1H-吡嘓-1-基)苯基)-3-(2-(4-((4-甲基吡嘓-2-基)胺基)丁酰胺基)乙酰胺基)丙酸)。



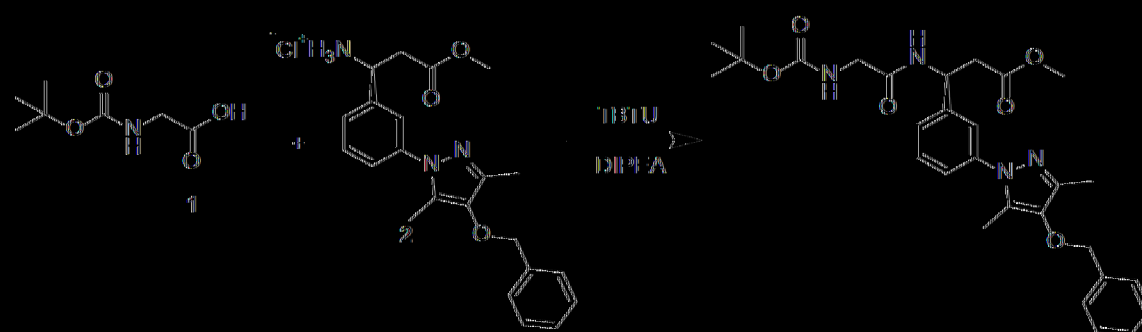
[0461] 在室溫下向化合物1 (3.0 g, 8.71 mmol, 1當量)及碳酸鉀 (1.806 g, 13.073 mmol, 1.5當量)於無水DMF (10 mL)中之溶液中添加碘甲烷(1.085 mL, 17.431 mmol, 2.0當量)。在室溫下攪拌反應混合物1小時。接著用水(20 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經無水Na₂SO₄乾燥，且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用15%於己烷中之乙酸乙酯溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 358.06，實驗值358.15。



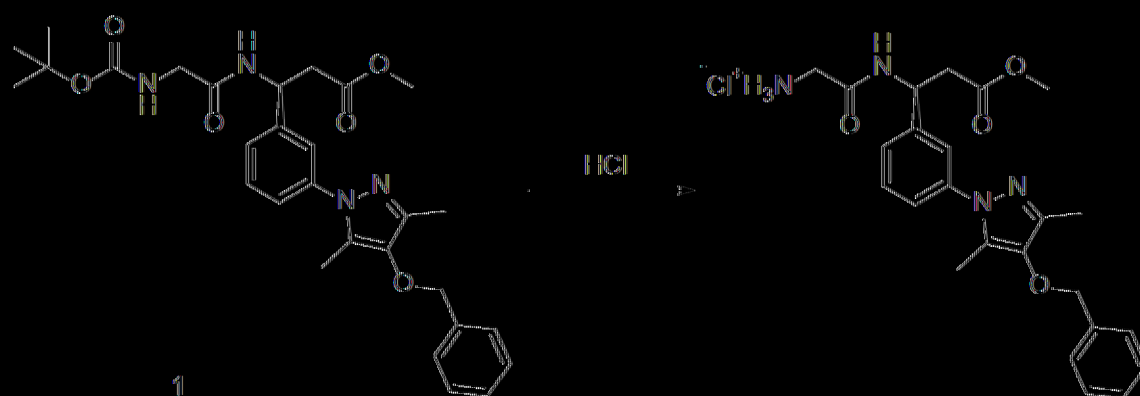
[0462] 化合物1 (200 mg, 0.558 mmol, 1當量)、化合物2 (169 mg, 0.837 mmol, 1.5當量)、碘化銅(I) (106 mg, 0.558 mmol, 1.0當量)、碳酸鉀(154 mg, 1.116 mmol, 2.0當量)及反式-N,N'-二甲基環己烷-1,2-二胺(88 μL, 0.558 mmol, 1.0當量)於無水DMF (5 mL)中之混合物用氮氣回填3次。在120℃下攪拌混合物24小時。使混合物冷卻至室溫且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用30-40%於己烷中之乙酸乙酯溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 480.24，實驗值480.43。



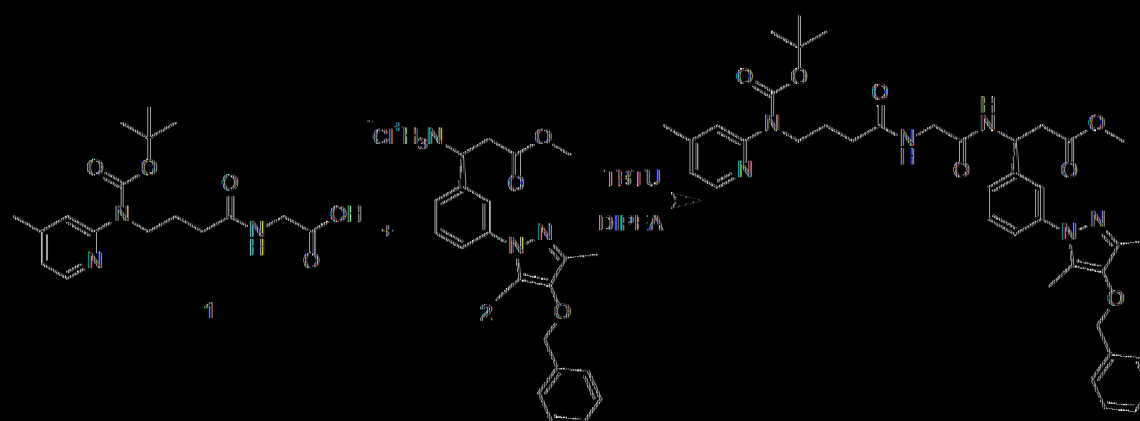
[0463] 化合物1 (30 mg, 0.0626 mmol, 1.0當量)藉由冰浴冷卻。將於二噁烷中之HCl (0.313 mL, 1.25 mmol, 20當量)添加至燒瓶中。使反應升溫至室溫且再攪拌1小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑且產物未經進一步純化即可直接使用。LC-MS: 計算值[M+H]⁺ 380.19, 實驗值 380.33。



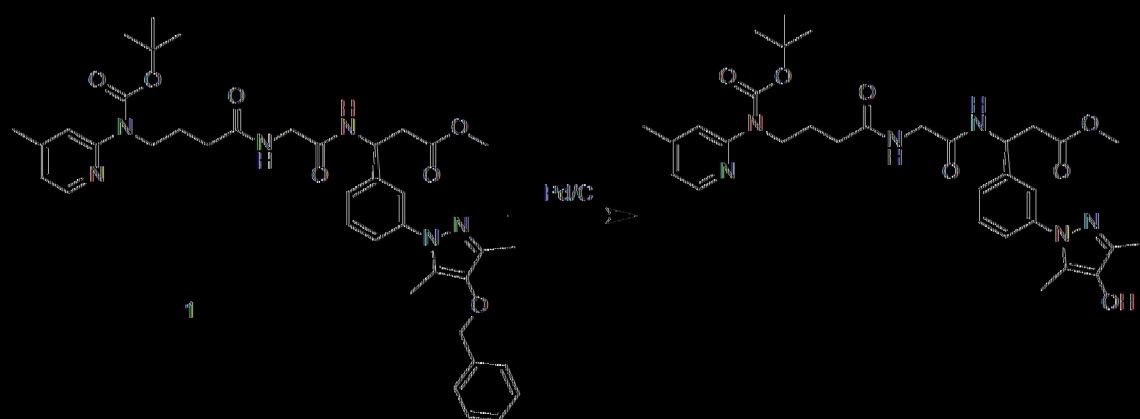
[0464] 在0℃下向化合物1 (10 mg, 0.0571 mmol, 1當量)、化合物2 (26 mg, 0.0628 mmol, 1.1當量)及TBTU (22 mg, 0.0685 mmol, 1.2當量)於無水DMF (1 mL)中之溶液中添加二異丙基乙胺(0.030 mL, 0.171 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫且再攪拌1小時。用飽和NaHCO₃溶液(5 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×5 mL)萃取水相。將有機相合併, 經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用3-4%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS: 計算值[M+H]⁺ 537.26, 實驗值537.41。



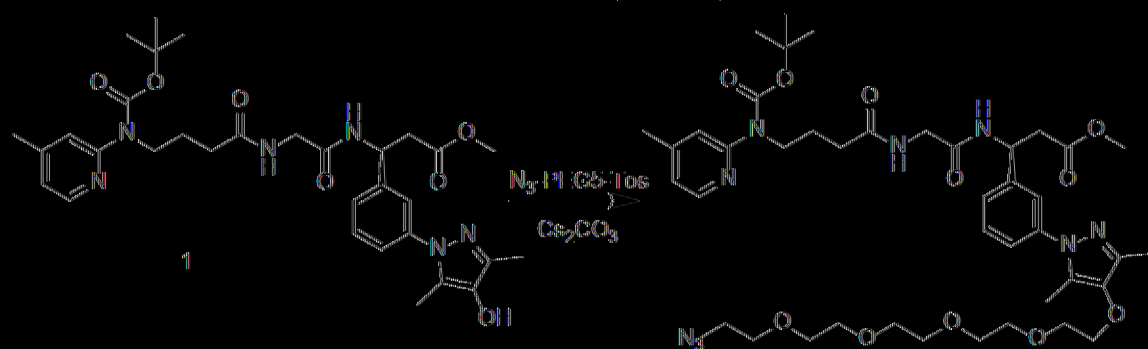
[(0465)] 化合物1 (30 mg, 0.0626 mmol, 1.0當量)藉由冰浴冷卻。將於二噁烷中之HCl (0.313 mL, 1.25 mmol, 20當量)添加至燒瓶中。使反應升溫至室溫且再攪拌1小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑且產物未經進一步純化即可直接使用。LC-MS: 計算值[M+H]⁺ 437.21, 實驗值 437.31。



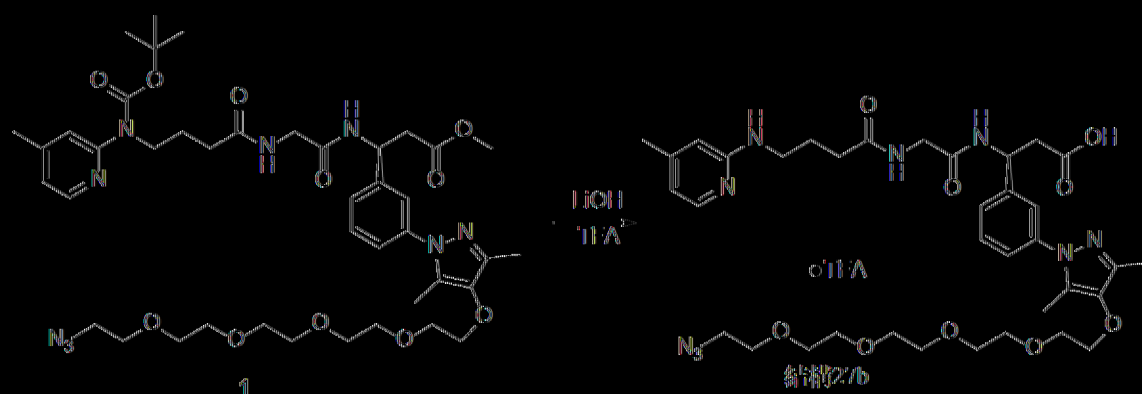
[(0466)] 在0℃下向化合物1 (20 mg, 0.0569 mmol, 1當量)、化合物2 (26 mg, 0.0626 mmol, 1.1當量)及TBTU (22 mg, 0.0683 mmol, 1.2當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加二異丙基乙胺(0.03 mL, 0.170 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫且再攪拌1小時。用飽和NaHCO₃溶液(5 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×5 mL)萃取水相。將有機相合併, 經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用4-5%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS: 計算值[M+H]⁺ 713.36, 實驗值713.85。



[0467] 在室溫下向化合物1 (0.033 g, 0.0463 mmol, 1當量)於乙酸乙酯(10 mL)中之溶液中添加10% Pd/C (20 mg)。在室溫下在氫氣下攪拌反應混合物隔夜。藉由經Celite®過濾來移除催化劑，且產物未經進一步純化即可直接使用。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 623.31，實驗值623.56。

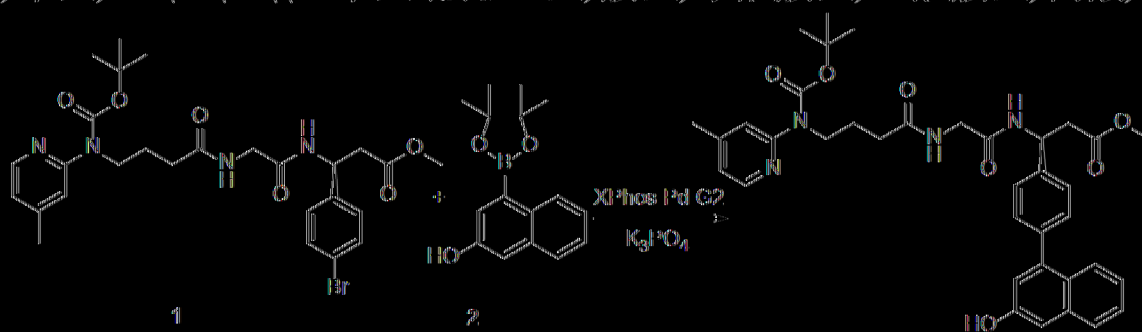


[0468] 在室溫下向化合物1 (16 mg, 0.0257 mmol, 1當量)及疊氮基-PEG5-OTf (22 mg, 0.0514 mmol, 2當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加Cs₂CO₃ (17 mg, 0.0514 mmol, 2當量)。在40℃下攪拌反應混合物3小時。藉由飽和NaHCO₃溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×5 mL)萃取水層。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化且用3-4%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 868.45，實驗值868.96。



[0469] 在室溫下向化合物1 (5 mg, 0.0058 mmol, 1.0當量)於THF (1 mL)及水(1 mL)中之溶液中添加氫氧化鋰(1 mg, 0.0346 mmol, 6.0當量)。在室溫下再攪拌混合物1小時。藉由HCl (6N)將pH調節至3.0, 且用EtOAc (3×10 mL)萃取水相。將有機相合併, 經Na₂SO₄乾燥且濃縮。將TFA (1 mL)及DCM (1 mL)添加至殘餘物中且在室溫下再攪拌混合物3小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑。LC-MS: 計算值[M+H]⁺ 754.38, 實驗值755。

合成結構29b ((S)-3-(4-(3-((14-疊氮基-3,6,9,12-四氫雜[1,4]烷基)氨基)苯基)-2-(4-((4-甲基吡嗪-2-基)胺基)乙酰胺基)丙酰胺基)丙酸)。

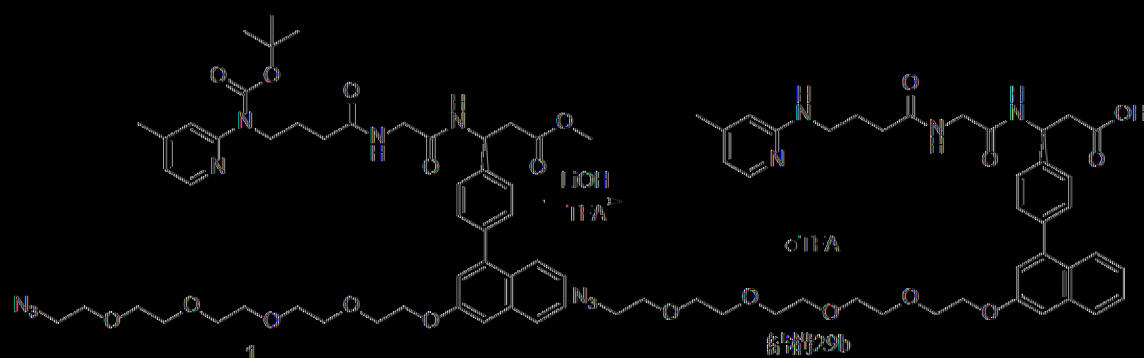


[0470] 將化合物1 (100 mg, 0.169 mmol, 1.0當量)、化合物2 (68 mg, 0.253 mmol, 1.5當量)、XPhos Pd G2 (3 mg, 0.0034 mmol, 0.02當量)及K₃PO₄ (72 mg, 0.338 mmol, 2.0當量)混合於圓底燒瓶中。燒瓶用螺帽隔片密封, 且接著抽成真空且用氮氣回填(重複此方法總計3次)。接著經由注射器添加THF (5 mL)及水(1 mL)。混合物用氮氣鼓泡10

分鐘且反應保持在40℃下2小時。用水(10 mL)淬滅反應物，且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。化合物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用4%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 655.31，實驗值656。



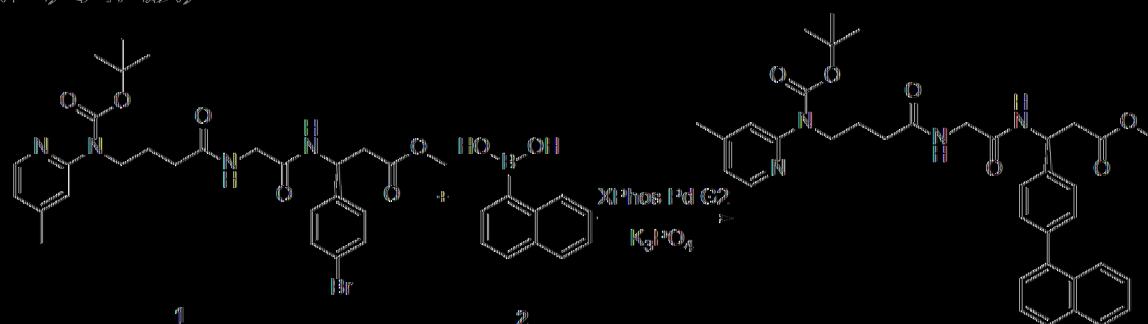
[0471] 在室溫下向化合物1 (100 mg, 0.152 mmol, 1當量)及疊氮基-PEG5-OTs (127 mg, 0.305 mmol, 2當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加Cs₂CO₃ (100 mg, 0.305 mmol, 2當量)。在40℃下攪拌反應混合物3小時。藉由飽和NaHCO₃溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×5 mL)萃取水層。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化且用3-4%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 900.44，實驗值901。



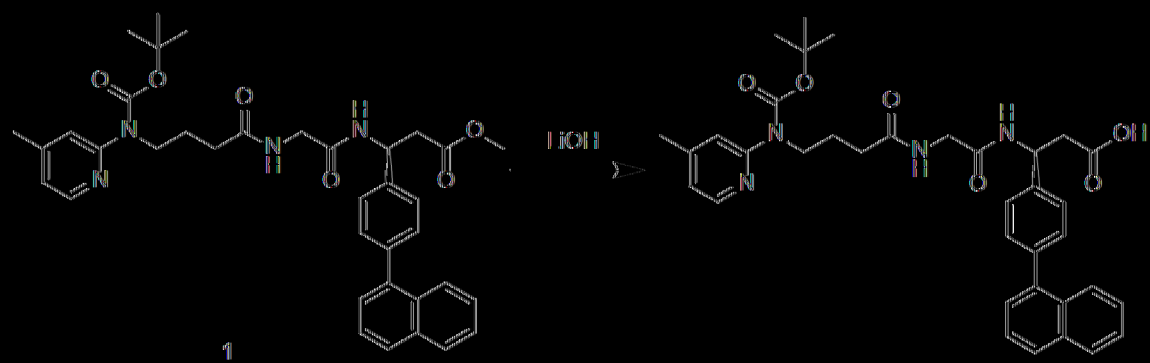
[0472] 在室溫下向化合物1 (125 mg, 0.138 mmol, 1.0當量)於THF (1 mL)及水(1 mL)中之溶液中添加氫氟化鋁(10 mg, 0.416 mmol, 3.0當量)。在室溫下再攪拌混合物1小時。藉由HCl (6N)將pH調節至3.0，

且用EtOAc (3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。將TFA (3 mL)及DCM (2 mL)添加至殘餘物中且在室溫下再攪拌混合物3小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑。產物未經進一步純化即可直接使用。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 786.37，實驗值787。

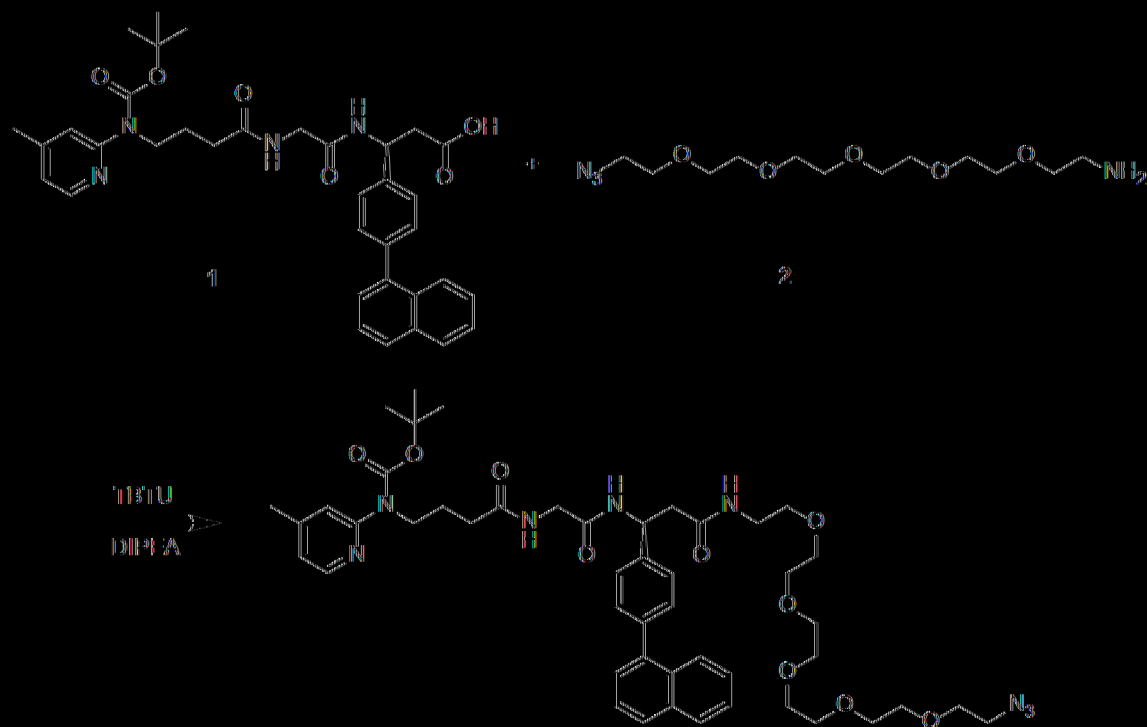
合成結構30b ((S)-N-(1-羥氧基-21-(4-(羧基)苯基)-19,23-二側氧基-3,6,9,12,15-五側氧基-18,22-二氧雜-2-十四烷-24-基)-4-((4-甲基吡啶-2-基)胺基)丁酰胺)。



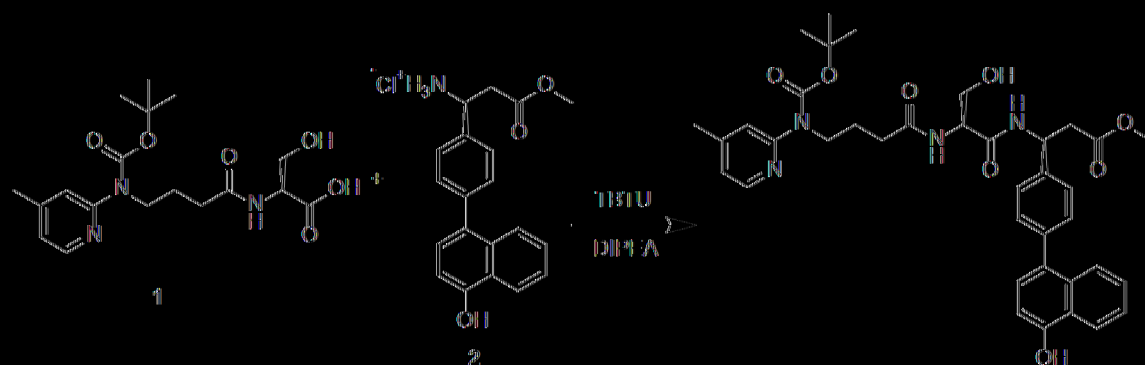
[0473] 將化合物1 (100 mg, 0.169 mmol, 1.0當量)、化合物2 (43 mg, 0.253 mmol, 1.5當量)、XPhos Pd G2 (3 mg, 0.0034 mmol, 0.02當量)及K₃PO₄ (72 mg, 0.338 mmol, 2.0當量)混合於圓底燒瓶中。燒瓶用螺帽隔片密封，且接著抽成真空且用氮氣回填(重複此方法總計3次)。接著經由注射器添加THF (5 mL)及水(1 mL)。混合物用氮氣鼓泡10分鐘且反應保持在40℃下2小時。用水(10 mL)淬滅反應物，且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。化合物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用3-4%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 639.31，實驗值640。



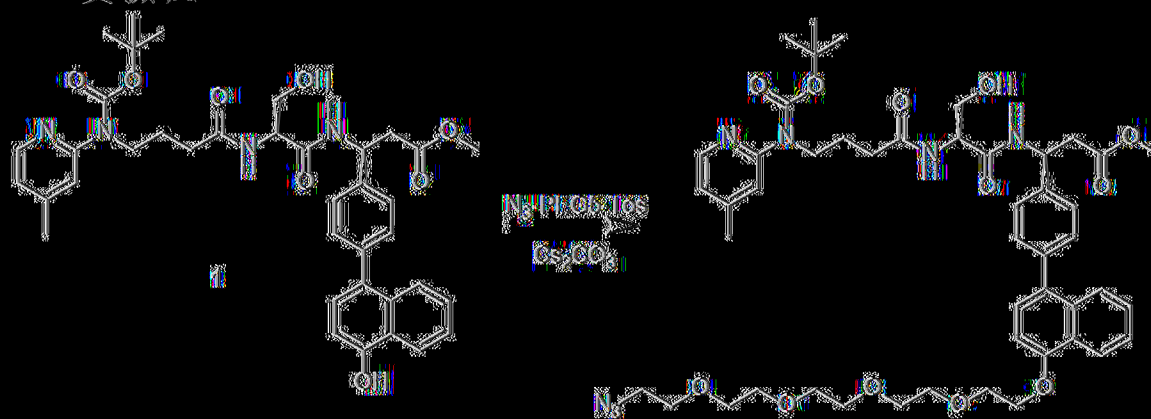
[0474] 在0℃下向化合物1 (90 mg, 0.140 mmol, 1當量)於THF (5 mL)及H₂O (5 mL)中之溶液中逐份添加氫氧化鋇(10 mg, 0.422 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫。在室溫下攪拌1小時之後，反應混合物藉由HCl (6 N)酸化至pH 3.0。用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相且將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物未經進一步純化即可使用。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 625.29，實驗值625.36。



[0475] 在0℃下向化合物1 (88 mg, 0.140 mmol, 1當量)、化合物2 (48 mg, 0.154 mmol, 1.1當量)及TBTU (54 mg, 0.169 mmol, 1.2當量)於無水DMF (3 mL)中之溶液中添加二異丙基乙胺(0.074 mL, 0.422 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫且再攪拌1小時。用飽和



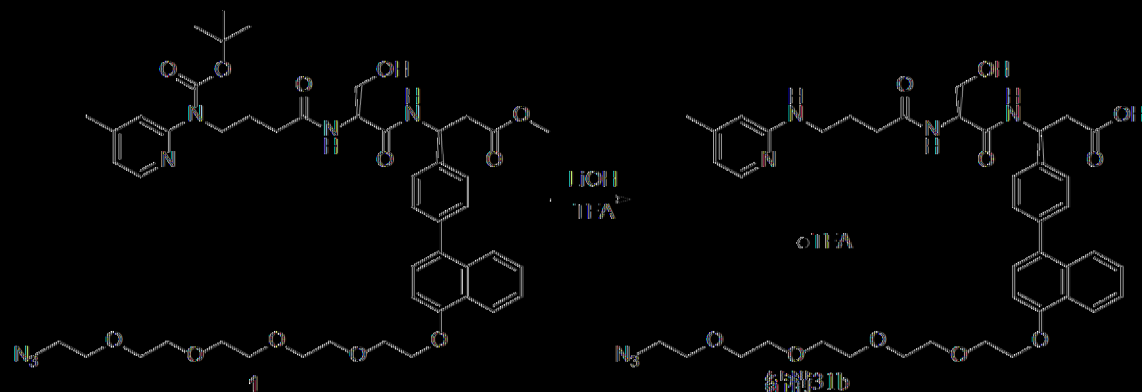
[0479] 在0℃下向化合物1 (189 mg, 0.495 mmol, 1當量)、化合物2 (195 mg, 0.545 mmol, 1.1當量)及TBTU (190 mg, 0.595 mmol, 1.2當量)於無水DMF (5 mL)中之溶液中添加N-異丙基乙胺(0.259 mL, 1.486 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫且再攪拌1小時。用飽和NaHCO₃溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用4-6%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 685.32，實驗值685.58。



[0480] 在室溫下向化合物1 (75 mg, 0.109 mmol, 1當量)及疊氮基-PEG5-OTs (91 mg, 0.219 mmol, 2當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加Cs₂CO₃ (71 mg, 0.219 mmol, 2當量)。在40℃下攪拌反應混合物隔夜。藉由飽和NaHCO₃溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水層。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化且用4%於DCM中之甲醇溶離。產

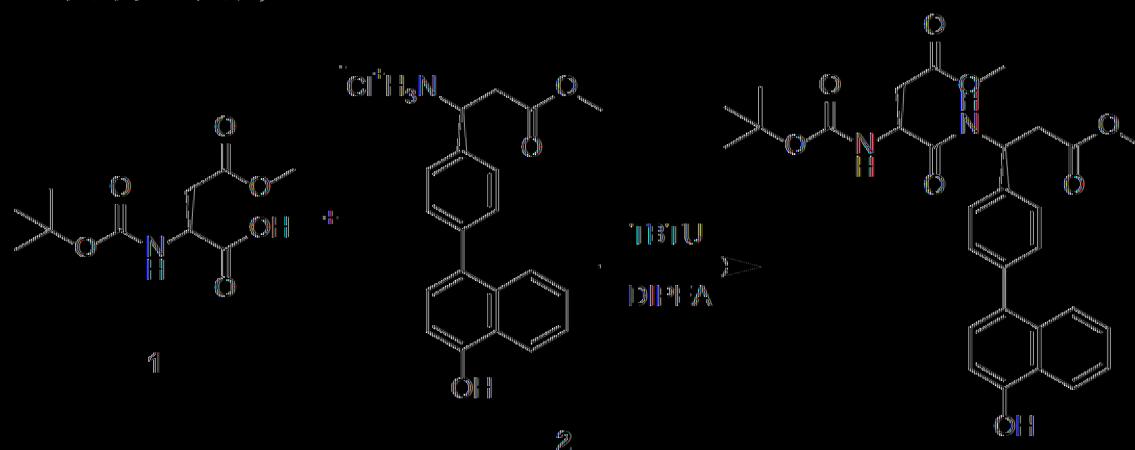
第 208 頁(發明說明書)

率係29%。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 930.45，實驗值930.90。



[0481] 在室溫下向化合物1 (30 mg, 0.0323 mmol, 1.0當量)於THF (1 mL)及水(1 mL)中之溶液中添加氫氧化鋇(2.3 mg, 0.0968 mmol, 3.0當量)。在室溫下再攪拌混合物1小時。藉由HCl (6N)將pH調節至3.0，且用EtOAc (3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。將TFA (2 mL)及DCM (1 mL)添加至殘餘物中且在室溫下再攪拌混合物3小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑且產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相來分離。產物用12-15%於二氯甲烷中之甲醇溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 816.39，實驗值816.92。

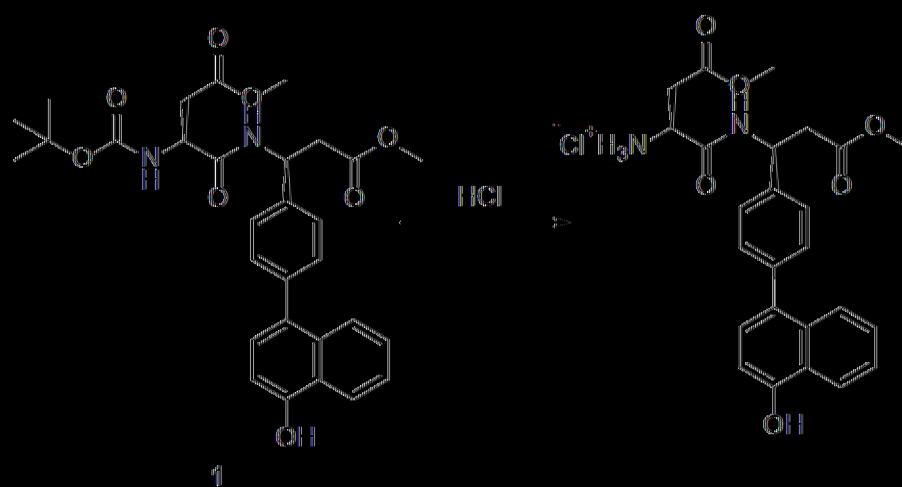
合成結構32b ((S)-4-(((S)-1-(4-(4-((14-羥氧基-3,6,9,12-四氧雜-1-四烷基)氧基)苯-1-基)苯基)-2-羧基乙基)胺基)-3-(4-((4-甲基吡啶-2-基)胺基)丁基)-4-側氧基丁酸)。



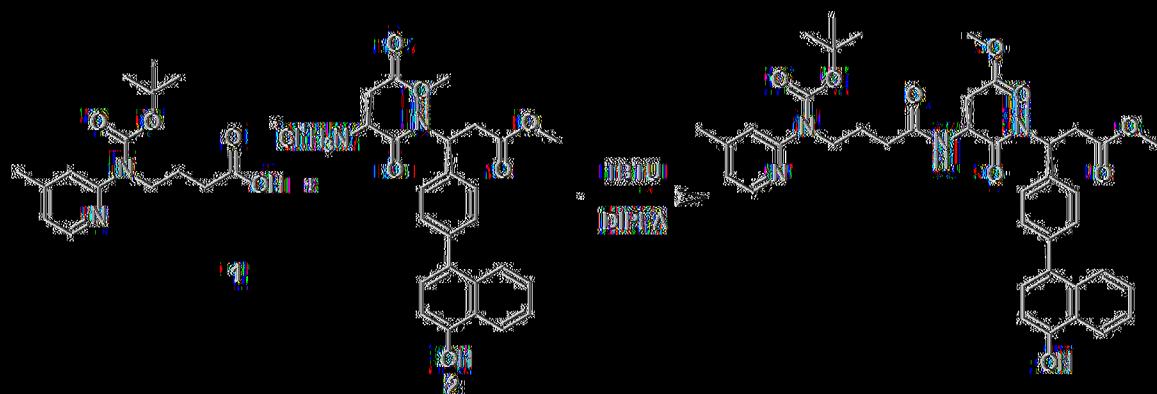
[0482] 在0℃下向化合物1 (100 mg, 0.404 mmol, 1當量)、化合

第 209 頁(發明說明書)

物2 (160 mg, 0.444 mmol, 1.1當量)及TBTU (155 mg, 0.485 mmol, 1.2當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加二異丙基乙胺(0.211 mL, 1.213 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫且再攪拌1小時。用飽和NaHCO₃溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×5 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用2-3%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 551.23，實驗值551.45。



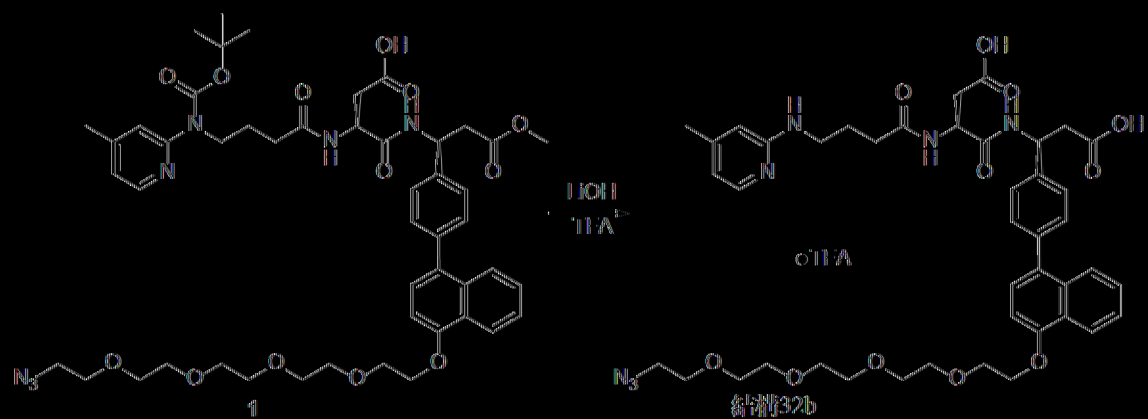
[0483] 化合物1 (0.164 g, 0.297 mmol, 1.0當量)藉由冰浴冷卻。將於二噁烷中之HCl (0.745 mL, 2.978 mmol, 10當量)添加至燒瓶中。使反應升溫至室溫且再攪拌1小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑且產物未經進一步純化即可直接使用。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 451.18，實驗值451.35。



[0484] 在0℃下向化合物1 (100 mg, 0.404 mmol, 1當量)、化合物2 (160 mg, 0.444 mmol, 1.1當量)及TBTU (155 mg, 0.485 mmol, 1.2當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加二異丙基乙胺(0.211 mL, 1.213 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫且再攪拌1小時。用飽和NaHCO₃溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×5 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用3-5%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 727.33，實驗值727.53。

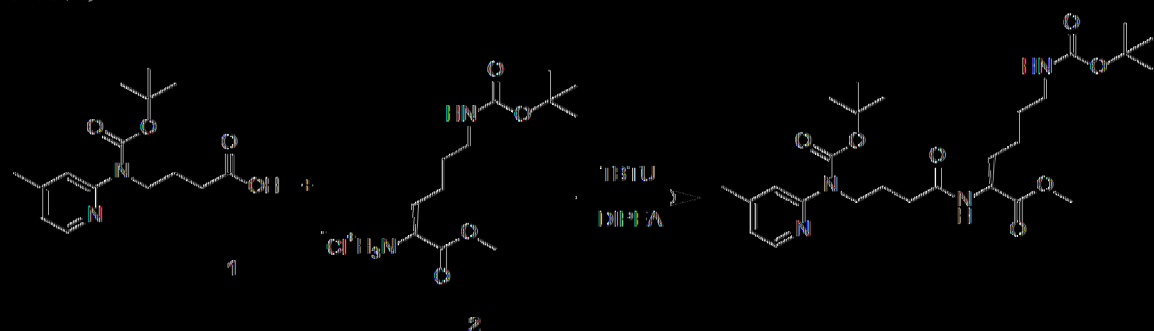


[0485] 在室溫下向化合物1 (150 mg, 0.206 mmol, 1當量)及疊氮基-PEG5-OTs (172 mg, 0.412 mmol, 2當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加Cs₂CO₃ (134 mg, 0.412 mmol, 2當量)。在室溫下攪拌反應混合物隔夜。藉由飽和NaHCO₃溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化且用4%於DCM中之甲醇溶離。產率係29%。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 940.45，實驗值940.71。

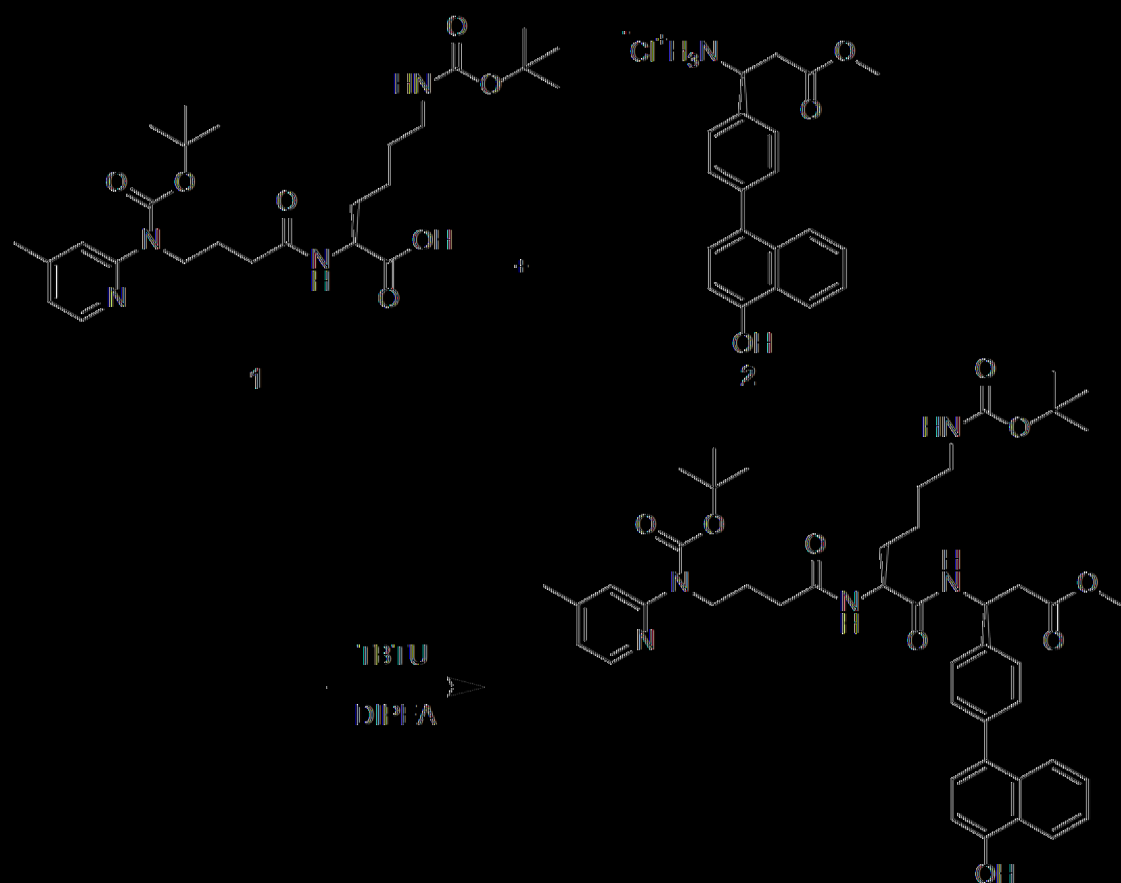


[0486] 在室溫下向化合物1 (30 mg, 0.0344 mmol, 1.0當量)於THF (1 mL)及水(1 mL)中之溶液中添加氫氧化鉀(2.5 mg, 0.103 mmol, 3.0當量)。在室溫下再攪拌混合物1小時。藉由HCl (6N)將pH調節至3.0, 且用EtOAc (3×10 mL)萃取水相。將有機相合併, 經Na₂SO₄乾燥且濃縮。將TFA (2 mL)及DCM (1 mL)添加至殘餘物中且在室溫下再攪拌混合物3小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑且產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相來分離。產物用20%於二氯甲烷中之甲醇溶離。LC-MS: 計算值[M+H]⁺ 844.38, 實驗值844.56。

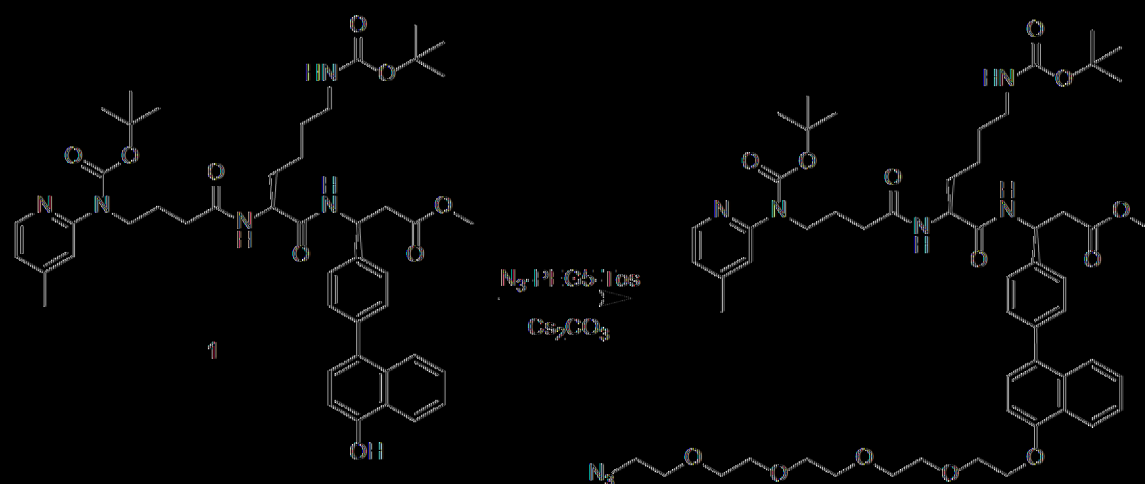
合成結構33b ((S)-3-((S)-6-胺基-2-(4-((4-甲基吡啶-2-基)胺基)丁醯胺基)己醯胺基)-3-(4-(4-((14-胺基-3,6,9,12-四氧雜十四烷基)氧基)苯-1-基)苯基)丙酸)。



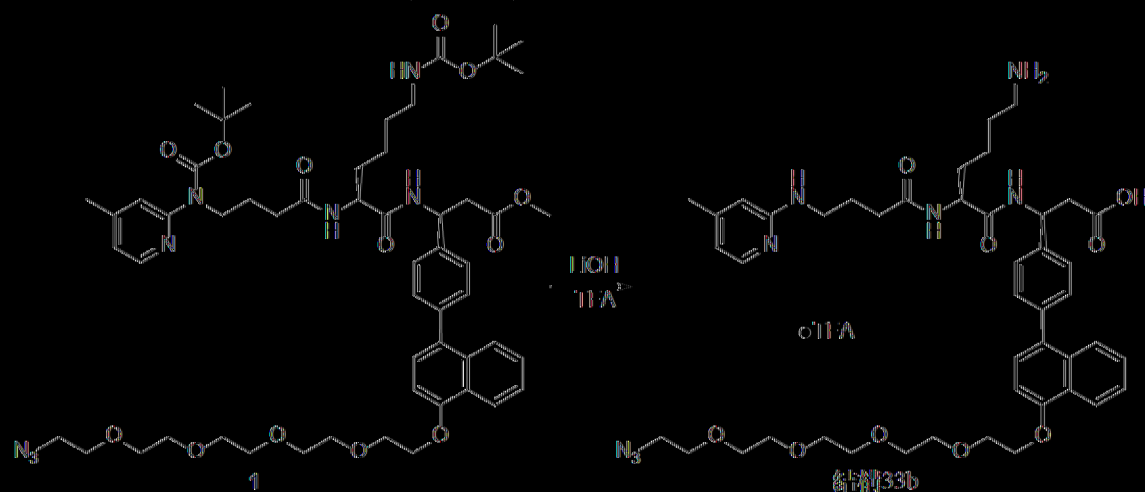
[0487] 在0℃下向化合物1 (150 mg, 0.509 mmol, 1當量)、化合物2 (166 mg, 0.560mmol, 1.1當量)及TBTU (196 mg, 0.611 mmol, 1.2當量)於無水DMF (3 mL)中之溶液中添加二異丙基乙胺(0.266 mL,



[0489] 在0℃下向化合物1 (230 mg, 0.440 mmol, 1當量)、化合物2 (173 mg, 0.484 mmol, 1.1當量)及TBTU (170 mg, 0.528 mmol, 1.2當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加二異丙基乙胺(0.230 mL, 1.320 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫且再攪拌1小時。用飽和NaHCO₃溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×5 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用4-6%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 826.43，實驗值826.65。



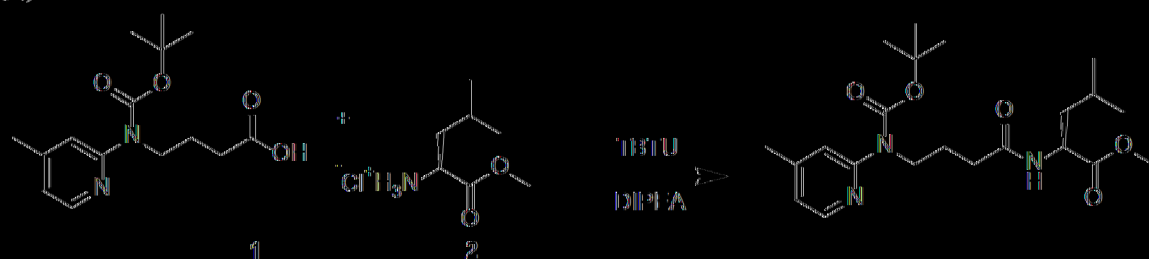
[0490] 在室溫下向化合物1 (150 mg, 0.181 mmol, 1當量)及疊氮基-PEG5-OTs (113 mg, 0.272 mmol, 1.5當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加Cs₂CO₃ (118 mg, 0.363 mmol, 2當量)。在40℃下攪拌反應混合物3小時。藉由飽和NaHCO₃溶液(5 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×5 mL)萃取水層。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化且用4%於DCM中之甲醇溶離。產率係66%。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 1071.57，實驗值1071.89。



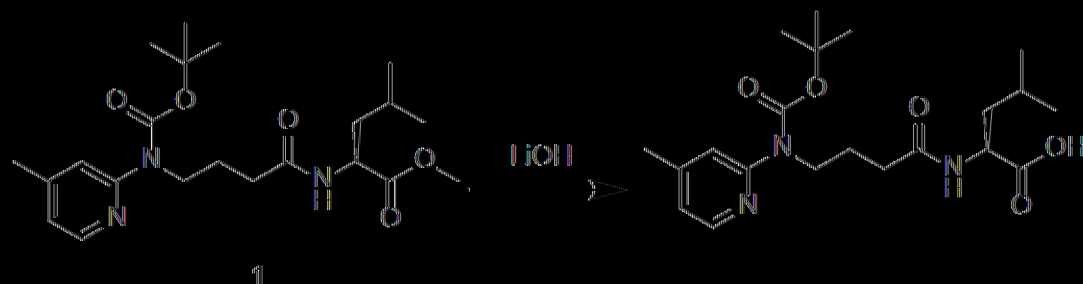
[0491] 在室溫下向化合物1 (130 mg, 0.121 mmol, 1.0當量)於THF (2 mL)及水(2 mL)中之溶液中添加氫氧化鋇(8.7 mg, 0.364 mmol, 3.0當量)。在室溫下再攪拌混合物1小時。藉由HCl (6N)將pH調節至3.0，且用EtOAc (3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃

縮。將TFA (3 mL)及DCM (2 mL)添加至殘餘物中且在室溫下再攪拌混合物3小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑且產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相來分離。產物用20%於二氯甲烷中之甲醇溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 857.45，實驗值857.64。

合成結構34b ((S)-3-(4-(4-((14-疊氮基-3,6,9,12-四氫雜[1,4]噻嗪基)基)苯基)-3-((S)-4-甲基-2-(4-((4-甲基吡嗪-2-基)胺基)戊酰胺基)丙酸基)丙酸基)戊酰胺基)丙酸基)內酸)。

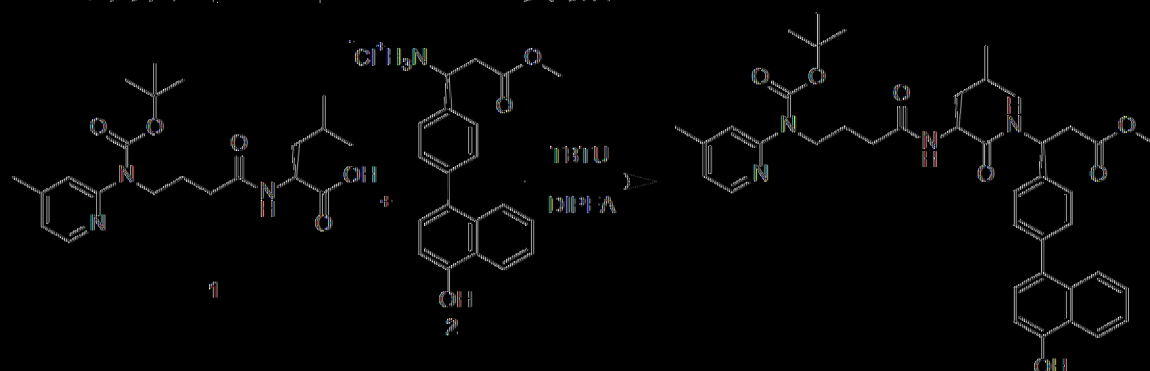


[0492] 在0℃下向化合物1 (150 mg, 0.509 mmol, 1當量)、化合物2 (101 mg, 0.560 mmol, 1.1當量)及TBTU (196 mg, 0.611 mmol, 1.2當量)於無水DMF (3 mL)中之溶液中添加二異丙基乙胺(0.266 mL, 1.528 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫且再攪拌1小時。用飽和NaHCO₃溶液(5 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×5 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用3-5%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 422.26，實驗值422.36。

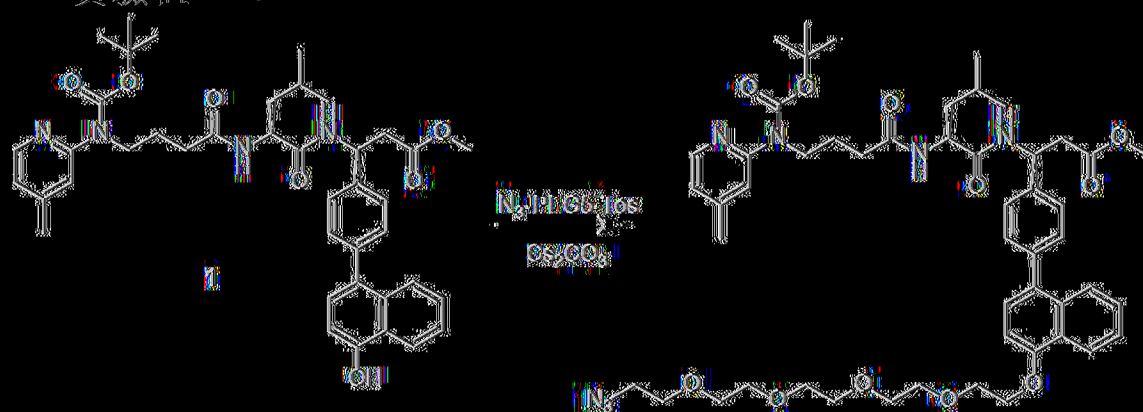


[0493] 在0℃下向化合物1 (186 mg, 0.441 mmol, 1當量)於THF

(3 mL)及H₂O (3 mL)中之溶液中逐份添加氫氧化鋇(31 mg, 1.323 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫。在室溫下攪拌1小時之後,反應混合物藉由HCl (6 N)酸化至pH 3.0。用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相且將有機相合併,經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物未經進一步純化即可使用。LC-MS: 計算值[M+H]⁺ 408.24, 實驗值408.23。

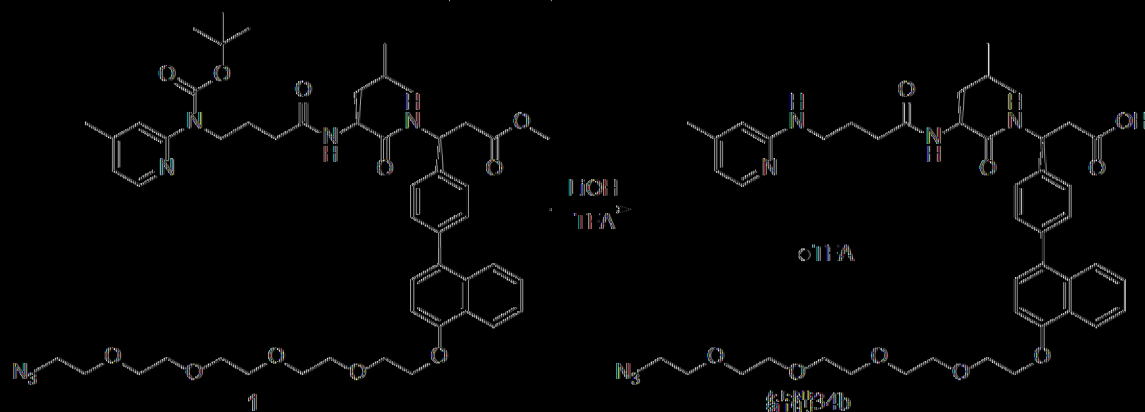


[0494] 在0℃下向化合物1 (168 mg, 0.412 mmol, 1當量)、化合物2 (162 mg, 0.453 mmol, 1.1當量)及TBTU (159 mg, 0.494 mmol, 1.2當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加二異丙基乙胺(0.215 mL, 1.237 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫且再攪拌1小時。用飽和NaHCO₃溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×5 mL)萃取水相。將有機相合併,經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相分離且用2-4%於DCM中之甲醇溶離。LC-MS: 計算值[M+H]⁺ 711.37, 實驗值711.69。



[0495] 在室溫下向化合物1 (150 mg, 0.206 mmol, 1當量)及疊
第21/頁(發明說明書)

氨基-PEG5-OTs (132 mg, 0.317 mmol, 1.5當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液中添加Cs₂CO₃ (137 mg, 0.422 mmol, 2當量)。在40℃下攪拌反應混合物3小時。藉由飽和NaHCO₃溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相純化且用3-4%於DCM中之甲醇溶離。產率係82%。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 956.51，實驗值956.64。



[0496] 在室溫下向化合物1 (160 mg, 0.167 mmol, 1.0當量)於THF (2 mL)及水(2 mL)中之溶液中添加氫氧化鋰(12 mg, 0.502 mmol, 3.0當量)。在室溫下再攪拌混合物1小時。藉由HCl (6N)將pH調節至3.0，且用EtOAc (3×10 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。將TFA (3 mL)及DCM (2 mL)添加至殘餘物中且在室溫下再攪拌混合物3小時。藉由旋轉蒸發器移除溶劑且產物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相來分離。產物用8-10%於二氯甲烷中之甲醇溶離。LC-MS：計算值[M+H]⁺ 842.44，實驗值842.67。

合成結構35b ((S)-3-(4-(4-(14-疊氮基-3,6,9,12-四氧雜-1-四烷基)氨基)苯-1-基)苯基)-3-((2S,3R)-3-羧基-2-(4-(4-甲基吡啶-2-基)胺基)-1-噁胺基)丙酸)。

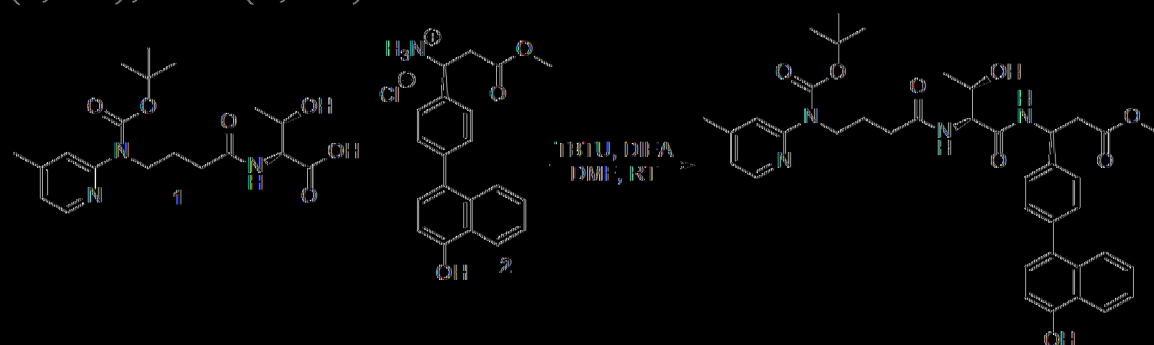


[0497] 向含有L-蘇胺酸·OMe HCl (1.000 g, 5.896 mmol, 1.3當量)之小瓶中添加化合物1 (1.335 g, 4.535 mmol, 1當量)、二甲胺基吡啶 (0.277 g, 2.268 mmol, 0.5當量)及CH₂Cl₂ (13.3 mL)。向混合物中添加二異丙胺(2.054 mL, 11.792 mmol, 2.6當量)且使所得溶液冷卻至0℃。添加EDC·HCl (1.130 g, 5.896 mmol, 1.3當量)且在0℃下攪拌反應物30分鐘，之後升溫至室溫。在16小時之後藉由HPLC確定反應完成，且轉移至分液漏斗中，用66%飽和NH₄Cl (4×20 mL)及飽和NH₄Cl (20 mL)洗滌。有機層經Na₂SO₄乾燥且濃縮，得到黏稠油狀物(1.7588 g, 94.7%)，其直接用於下一步驟中。LC-MS：計算值[M+H]⁺：410.22，實驗值410.03

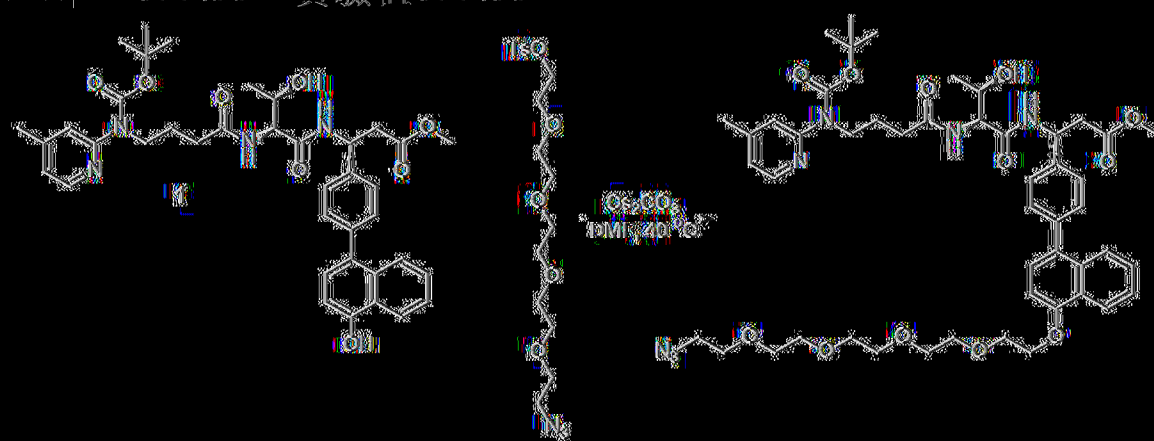


[0498] 將化合物1溶解於MeOH (4.5 mL)中且向混合物中添加2.0 M LiOH溶液(9.1 mL)。攪拌反應物1.5小時且濃縮以移除MeOH。接著混合物用20% KH₂SO₄酸化至pH = 4，且用EtOAc (3×15 mL)萃取。將合併之有機層用鹽水(20 mL)洗滌，經Na₂SO₄乾燥，且濃縮，以獲得呈固體狀之3 (1.5095 g, 產率88.9%)。LC-MS：計算值[M+H]⁺：394.21，實驗值394.37。¹H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ 8.26 (d, 1H), 7.27 ~ 7.24 (m, 1H), 7.23 (s, 1H), 6.95 (ddd, 1H), 4.60 (dd, 1H), 4.39 (qd, 1H), 3.97 ~

3.77 (m, 2H), 2.36 (s, 3H),), 2.41 ~ 2.23 (m, 2H), 1.98 ~ 1.84 (m, 2H), 1.45 (s, 9H), 1.19 (d, 3H)。



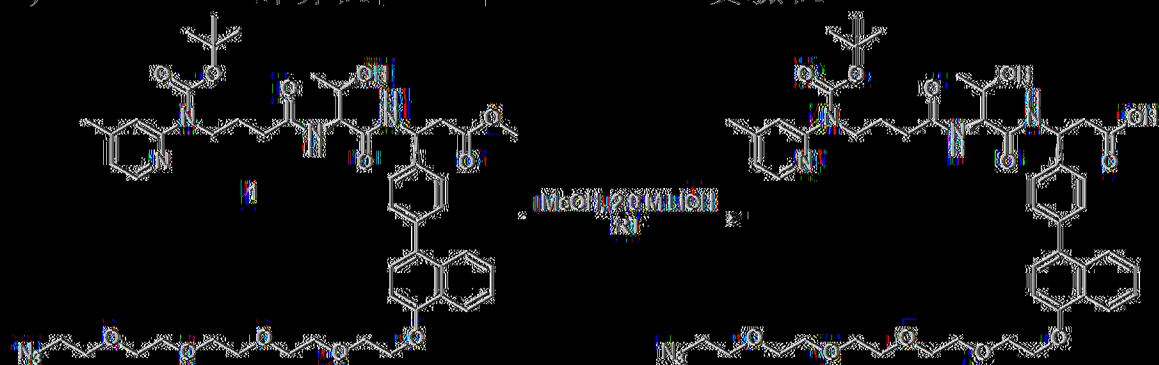
[0499] 小瓶中裝入化合物1 (0.200 g, 0.506 mmol, 1當量)、TBTU (0.195 g, 0.607 mmol, 1.2當量)、DMF (2.0 mL)及DIEA (0.264 mL, 1.517 mmol, 3.0當量)。攪拌反應物2分鐘，之後添加2 (0.253 g, 0.708 mmol, 1.4當量)。在完成之後，反應物用飽和 NaHCO_3 水溶液(10 mL)稀釋，用EtOAc (3×5 mL)萃取。合併之有機層用鹽水(10 mL)洗滌，經 Na_2SO_4 乾燥且濃縮。粗物質經由管柱層析，用0-20%於 CH_2Cl_2 中之MeOH溶離來純化，以獲得產物(150.8 mg, 產率42.7%)。LC-MS：計算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ：699.33，實驗值699.53



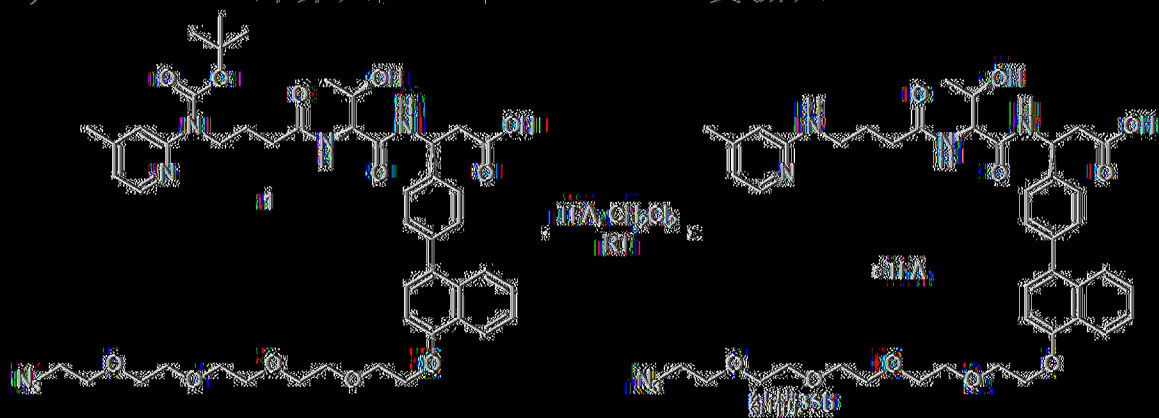
[0500] 向含有化合物1 (0.151 g, 0.216 mmol, 1當量)之小瓶中添加 Cs_2CO_3 (0.106 g, 0.324 mmol, 1.5當量)及DMF (1.9 mL)。將 N_3 -PEG5-OTs (0.135 g, 0.324 mmol, 1.5當量)添加至混合物中，且在40℃下攪拌反應物。在完成之後，反應物用EtOAc (10 mL)、飽和 NaHCO_3 水

第 220 頁(發明說明書)

溶液(5 mL)及水(5 mL)稀釋。分離各層且用EtOAc萃取水溶液，總計3×10 mL。合併之有機層經Na₂SO₄乾燥且濃縮。粗物質經由管柱層析，用0-20%於CH₂Cl₂中之MeOH溶離來純化，以獲得產物(103 mg，產率50.4%)。LC-MS：計算值[M+H]⁺：944.47，實驗值944.56

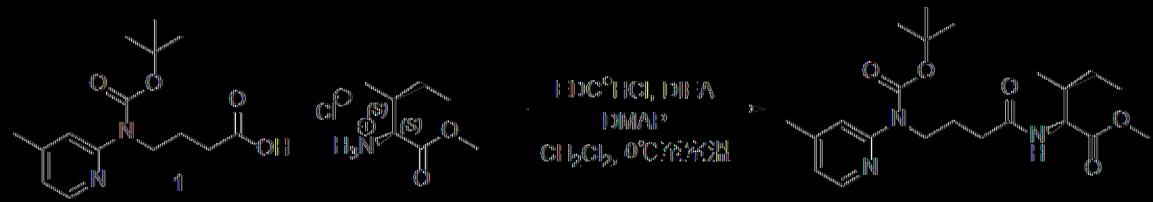


[0501] 向含有化合物1 (0.103 g，0.109 mmol，1當量)之小瓶中添加MeOH (1.5 mL)及2.0 M LiOH (2.0 mL)。在室溫下攪拌反應物，接著濃縮以移除MeOH，用20% KHSO₄酸化至pH = 2。向混合物中添加EtOAc (5 mL)及水(4 mL)。用EtOAc (3×5 mL)萃取水層。合併之有機層用鹽水(10 mL)洗滌，經Na₂SO₄乾燥且濃縮，得到產物(0.0879 g，86.9%)。LC-MS：計算值[M+H]⁺：930.45，實驗值930.56。



[0502] 向含有化合物1 (0.0879 g，0.0945 mmol，1當量)之小瓶中添加CH₂Cl₂ (0.3 mL)及三氟乙酸(0.64 mL)。在室溫下攪拌溶液。在完成之後(>97%產物)，將反應物濃縮，與甲苯(3 mL)且接著與乙腈(2×3 mL)共蒸發。在另外TFA存在(115.6 mg)下獲得產物。

合成結構36b ((S)-3-(4-(4-((14-疊氮基-3,6,9,12-四氫雜[1,4]烷基)氨基)苯-1-基)苯基)-3-(((2S,3S)-3-甲基-2-((4-((4-甲基吡嗪-2-基)氨基)丁酰胺基)戊酰胺基)丙酸)內酯)。



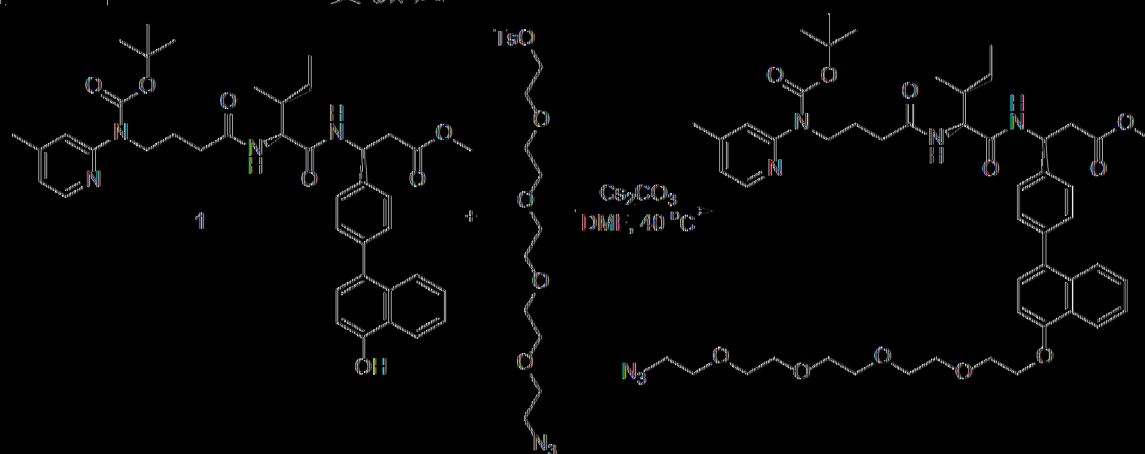
[0503] 向含有L-異白胺酸·OMe·HCl (1.000 g, 5.505 mmol, 1.3當量)之小瓶中添加化合物1 (1.246 g, 4.234 mmol, 1當量)、2-甲胺基吡嗪(0.259 g, 2.117 mmol, 0.5當量)及CH₂Cl₂ (12.5 mL)。向混合物中添加L-異丙胺(2.054 mL, 11.792 mmol, 2.6當量)且使所得溶液冷卻至0℃。添加EDC·HCl (1.055 g, 5.505 mmol, 1.3當量)且在0℃下攪拌反應物30分鐘，之後升溫至室溫。在16小時之後藉由HPLC確定反應完成，且轉移至分液漏斗中，用66%飽和NH₄Cl (4×20 mL)及飽和NH₄Cl (1×20 mL)洗滌。有機層經Na₂SO₄乾燥且濃縮，得到黏稠油狀物(1.8634 g，用CH₂Cl₂潤濕)，其直接用於下一步驟中。LC-MS：計算值[M+H]⁺：422.26，實驗值422.00。



[0504] 將化合物1溶解於MeOH (4.2 mL)中且向混合物中添加2.0 mL LiOH溶液(8.5 mL)。攪拌反應物1.5小時且濃縮以移除MeOH。接著混合物用20% KH₂SO₄酸化至pH = 4且用EtOAc (3×15 mL)萃取。合併之有機物用鹽水(20 mL)洗滌，經Na₂SO₄乾燥且濃縮，以獲得呈黏稠油狀之產物(1.6123 g，產率93.4%，經兩個步驟)。LC-MS：計算值[M+H]⁺：

406.24，實驗值406.43。 ^1H NMR (400 MHz, 氯仿-*d*) δ 8.23 (d, 1H), 7.12 (d, 1H), 6.95 – 6.88 (m, 1H), 4.58 (dd, 1H), 3.99 – 3.83 (m, 2H), 2.35 – 2.34 (s, 3H), 2.30 (hept, 2H), 2.00 – 1.84 (m, 4H), 1.45 (s, 9H), 0.91 (m, 6H)。

[0505] 小瓶中裝入化合物1 (0.200 g, 0.491 mmol, 1當量)、TBTU (0.189 g, 0.589 mmol, 1.2當量)、DMF (2.0 mL)及DIEA (0.256 mL, 1.472 mmol, 3.0當量)。攪拌反應物2分鐘，之後添加2 (0.246 g, 0.687 mmol, 1.4當量)。在完成之後，反應物用飽和 NaHCO_3 水溶液(10 mL)稀釋，用EtOAc (3×5 mL)萃取。合併之有機層用鹽水(10 mL)洗滌，經 Na_2SO_4 乾燥且濃縮。粗物質經由管柱層析，用0-20%於 CH_2Cl_2 中之MeOH溶離來純化，以獲得產物(0.3024 mg, 產率86.7%)。LC-MS：計算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ：711.37，實驗值711.51。

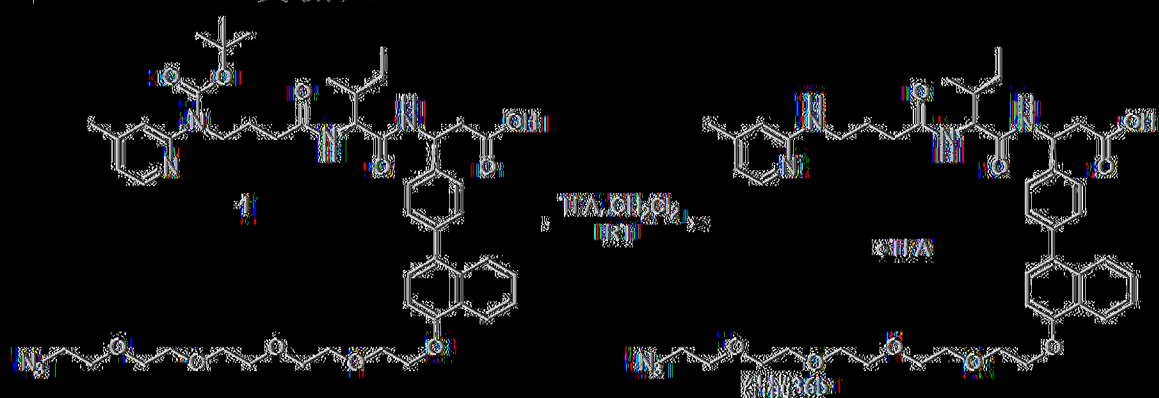


[0506] 向含有化合物1 (0.170 g, 0.238 mmol, 1當量)之小瓶中添加 Cs_2CO_3 (0.116 g, 0.358 mmol, 1.5當量)及DMF (2.1 mL)。將 N_3 -PIGS-OTs (0.149 g, 0.358 mmol, 1.5當量)添加至混合物中，且在40℃下攪拌反應物。在完成之後，反應物用EtOAc (10 mL)、飽和 NaHCO_3 水溶液(5 mL)及水(5 mL)稀釋。分離各層且用EtOAc萃取水溶液，總計3×10 mL。合併之有機層經 Na_2SO_4 乾燥且濃縮。粗物質經由管柱層析，

用0.20%於 CH_2Cl_2 中之 MeOH 溶離來純化，以獲得產物(0.1645 g，產率72.1%)。LC-MS：計算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ：956.51，實驗值956.78。



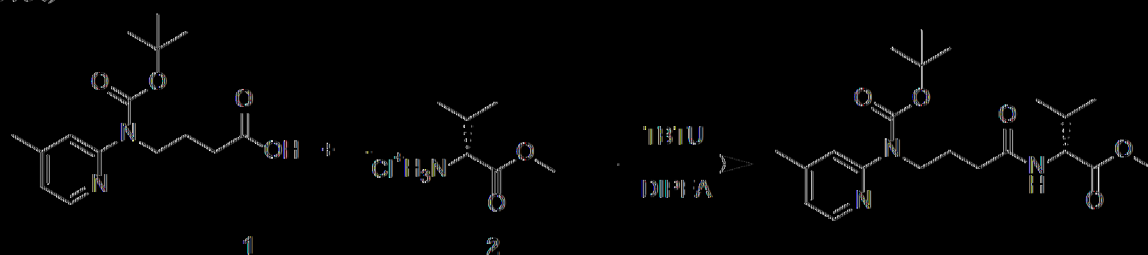
[0507] 向含有化合物1 (0.164 g，0.172 mmol，1當量)之小瓶中添加 MeOH (2.0 mL)及2.0 M LiOH (3.0 mL)。在室溫下攪拌反應物且藉由HPLC監測。又需要 LiOH (33 mg，1.38 mmol，8當量)、水(5 mL)及 MeOH (4 mL)以溶解物質且驅動反應。HPLC顯示形成兩個新穎峰，視為非對映異構體。在達到>94%轉化率時，濃縮反應物以移除 MeOH ，用20% KH_2SO_4 酸化至 $\text{pH} \approx 2$ 。向混合物中添加 EtOAc (5 mL)及水(4 mL)。用 EtOAc (4×5 mL)萃取水層。合併之有機層用鹽水(10 mL)洗滌，經 Na_2SO_4 乾燥且濃縮，得到產物(0.1417 g，87.4%)。LC-MS：計算值 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ：942.49，實驗值942.56。



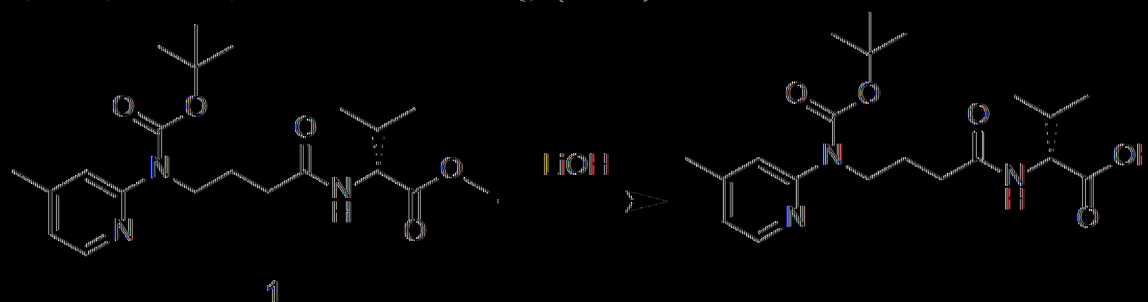
[0508] 向含有化合物1 (0.1417 g，0.1504 mmol，1當量)之小瓶中添加 CH_2Cl_2 (0.5 mL)及三氟乙酸(1.0 mL)。在室溫下攪拌溶液。在完成之後(>97%產物)，將反應物濃縮，與甲苯(3 mL)且接著與乙腈(2×3 mL)

共蒸發。在另外TBA存在(150.3 mg)下獲得產物。對於起始物質與產物，經由反應存在兩個峰。LC-MS：計算值[M+H]⁺：842.44，實驗值842.56。發現兩個產物峰具有相同質量，指示存在非對映異構體。

合成結構37b ((S)-3-(4-(4-((14-疊氮基-3,6,9,12-四氧雜-1-四烷基)氨基)苯-1-基)苯基)-3-((R)-3-甲基-2-(4-((4-甲基吡嗪-2-基)胺基)-1-胺基)-1-胺基)丙酸)。

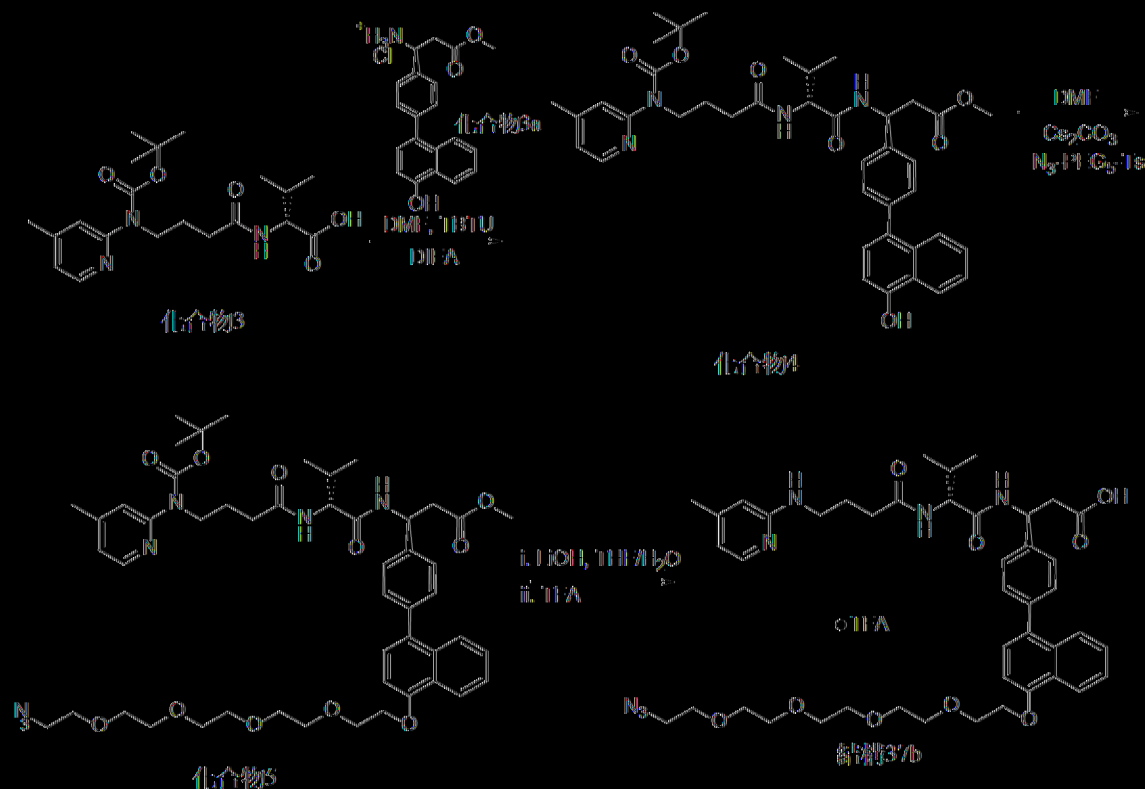


[0509] 在0℃下向化合物1 (150 mg, 0.509 mmol, 1當量)、化合物2 (94 mg, 0.560 mmol, 1.1當量)及TBTU (196 mg, 0.611 mmol, 1.2當量)於無水DMF (3 mL)中之溶液中添加二異丙基乙胺(0.266 mL, 1.528 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫且再攪拌1小時。用飽和NaHCO₃溶液(10 mL)淬滅反應物且用乙酸乙酯(3×5 mL)萃取水相。將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物藉由CombiFlash分離且用2-3%於DCM中之甲醇溶離。產量：205 mg (99%)。



[0510] 在0℃下向化合物1 (207 mg, 0.508 mmol, 1當量)於THF (5 mL)及H₂O (5 mL)中之溶液中逐份添加氫氧化鋰(36 mg, 1.523 mmol, 3當量)。使反應混合物升溫至室溫。在室溫下攪拌1小時之後，反

應混合物藉由HCl (6 N)酸化至pH 3.0。用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取水相且將有機相合併，經Na₂SO₄乾燥且濃縮。產物未經進一步純化即可使用。
產量：180 mg (91%)。



[0511] 在0℃下向化合物3 (180 mg, 0.46 mmol)、化合物3a (180 mg, 0.50 mmol)及TBTU (176 mg, 0.55 mmol)於DMF (2.5 mL)中之溶液中添加DIPEA (177 mg, 239 μ L, 1.37 mmol)。使反應混合物升溫至室溫且攪拌1小時。用飽和NH₄Cl (水性)溶液(1.75 mL)及去離子水(1.75 mL)淬滅反應混合物，接著用乙酸乙酯(8 mL)萃取。再用乙酸乙酯(2×8 mL)萃取水相。合併之有機相用半飽和NH₄Cl (水性)溶液(6 mL)及半飽和NaHCO₃ (水)溶液(6 mL)洗滌。有機相經Na₂SO₄乾燥，過濾且濃縮。粗混合物藉由CombiFlash使用矽膠作為固定相，用0-5%於DCM中之甲醇來分離。化合物4之產量：295 mg (92%)。[M+H]⁺ C₄₀H₄₈N₄O₇之計算值：697.84，實驗值：697.82。

【0512】向化合物4 (200 mg, 0.29 mmol)及疊氮基-PEG₅-OTs (240 mg, 0.57 mmol)於無水DMF (2.5 mL)中之溶液中添加Cs₂CO₃ (187 mg, 0.57 mmol)。在60°C下攪拌反應混合物2小時。用飽和NaHCO₃ (水)溶液(15 mL)及去離子水(7.5 mL)淬滅反應混合物，接著用乙酸乙酯(10 mL)萃取。再用乙酸乙酯(2×10 mL)萃取水層。合併之有機相經Na₂SO₄乾燥，過濾且濃縮。粗混合物藉由CombiFlash使用矽膠作為固定相，用0-5%於DCM中之甲醇來分離。化合物5之產量：97 mg (36%)。[M+H]⁺C₅₀H₆₇N₇O₁₁之計算值：943.15，實驗值：942.96。

【0513】向化合物5 (94 mg, 0.10 mmol)於THF (1.5 mL)及去離子水(1 mL)中之溶液中添加氫氧化鋰(7.2 mg, 0.30 mmol)於去離子水(0.5 mL)中之溶液。攪拌反應混合物1小時，接著用6 M HCl (水溶液)酸化至pH = 3。用乙酸乙酯(3×5 mL)萃取水相。合併之有機相經Na₂SO₄乾燥，過濾且濃縮。向粗殘餘物中添加TFA (1.34 mL)及水(67 µL)。在室溫下攪拌反應混合物1.5小時。減壓移除溶劑，且將殘餘物與乙腈:甲苯[1:1] (2×20 mL)共蒸發。粗混合物藉由CombiFlash使用矽膠作為固定相，用0-10%於DCM中之甲醇來分離。結構37b之產量：44 mg (53%)。[M+H]⁺C₄₄H₅₇N₇O₉之計算值：828.97，實驗值：828.63。

實例2. 三牙αvβ6整合素配體之合成及αvβ6整合素配體與貨物分子(RNAi藥劑)之結合.

【0514】αvβ6整合素配體可與適用於抑制一或多種靶向基因表現之一或多種RNAi藥劑結合。αvβ6整合素配體有助於將RNAi藥劑遞送至靶向細胞及/或組織中。以上實例1描述本文所揭示之某些αvβ6整合素配體之合成。以下描述合成本文所闡述之非限制性實例中所說明之某些αvβ6整

合素配體-RNAi藥劑結合物之通用程序。

【0515】 A. *RNAi藥劑之合成*. RNAi藥劑可使用此項技術中一般已知之方法合成。對於本文所闡述之實例中所說明之RNAi藥劑之合成，RNAi藥劑之正義股及反義股根據寡核苷酸合成中所用之固相上之胺基磷酸酯技術合成。視規模而定，使用MerMade96E® (Bioautomation)、MerMade12® (Bioautomation)或OP Pilot 100 (GE Healthcare)。在由受控微孔玻璃(CPG，500 Å或600 Å，獲自Prime Synthesis, Aston, PA, USA)製成之固體載體上進行合成。所有RNA及2'-修飾之RNA胺基磷酸酯係購自Thermo Fisher Scientific (Milwaukee, WI, USA)。特定言之，使用以下2'-O-甲基胺基磷酸酯：(5'-O-二甲氧基三苯甲基-N⁶-(苯甲醯基)-2'-O-甲基-腺苷-3'-O-(2-氰基乙基-N,N-二異丙基胺基)胺基磷酸酯、5'-O-二甲氧基-三苯甲基-N⁴-(乙醯基)-2'-O-甲基-胞苷-3'-O-(2-氰基乙基-N,N-二異丙基-胺基)胺基磷酸酯、(5'-O-二甲氧基三苯甲基-N²-(異丁醯基)-2'-O-甲基-鳥苷-3'-O-(2-氰基-乙基-N,N-二異丙基胺基)胺基磷酸酯及5'-O-二甲氧基-三苯甲基-2'-O-甲基尿苷-3'-O-(2-氰基乙基-N,N-二異丙基胺基)胺基磷酸酯。2'-去氧-2'-氟-胺基磷酸酯帶有與2'-O-甲基RNA胺基酸酯相同之保護基。5'-二甲氧基三苯甲基-2'-O-甲基-肌苷-3'-O-(2-氰基乙基-N,N-二異丙胺基)胺基磷酸酯係購自Glen Research (Virginia)。反向無鹼基(3'-O-二甲氧基三苯甲基-2'-去氧核糖-5'-O-(2-氰基乙基-N,N-二異丙胺基)胺基磷酸酯係購自ChemGenes (Wilmington, MA, USA)。使用以下UNA胺基磷酸酯：5'-(4,4'-二甲氧基三苯甲基)-N⁶-(苯甲醯基)-2',3'-斷-腺苷、2'-苯甲醯基-3'-[(2-氰基乙基)-(N,N-二異丙基)]-胺基磷酸酯、5'-(4,4'-二甲氧基三苯甲基)-N-乙醯基-2',3'-斷-胞嘧啶、2'-苯甲醯基-3'-[(2-氰基乙基)-

(N,N-二異-丙基)]-胺基磷酸酯、5'-(4,4'-二甲氧基三苯甲基)-N-異丁醯基-2',3'-斷-鳥苷、2'-苯甲醯基-3'-[(2-氰基乙基)-(N,N-二異丙基)]-胺基磷酸酯及5'-(4,4'-二甲氧基-三苯甲基)-2',3'-斷-尿苷、2'-苯甲醯基-3'-[(2-氰基乙基)-(N,N-二異-丙基)]-胺基磷酸酯。TFA胺基連接臂胺基磷酸酯亦係購買的(ThermoFisher)。

【0516】 在一些實施例中，本文所揭示之 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體藉由使組分連接至包括三炔基之骨架而與RNAi藥劑結合。在一些實施例中，三炔基藉由使用含有三炔烴之胺基磷酸酯來添加，其可添加在RNAi藥劑之有義股之5'末端。當與本文中某些實例中所呈現之RNAi藥劑結合使用時，將含有三炔烴之胺基磷酸酯溶解於無水二氯甲烷或無水乙腈(50 mM)中，而將所有其他胺基酸酯溶解於無水乙腈(50 mM)中，且添加分子篩(3 Å)。使用5-苯甲硫基-1H-四唑(BTT，250 mM乙腈溶液)或5-乙硫基-1H-四唑(ETT，250 mM乙腈溶液)作為活化劑溶液。偶合時間係10分鐘(RNA)、90秒(2' O-Me)及60秒(2' F)。為引入硫代磷酸酯鍵聯，使用100 mM 3-苯基1,2,4-二噻唑啉-5-酮(POS，獲自PolyOrg, Inc., Leominster, MA, USA)於無水乙腈中之溶液。

【0517】 或者，在經由三炔烴骨架而非使用胺基磷酸酯法使 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體與RNAi藥劑結合之情況下，可在合成後引入含有三炔烴之化合物(參見例如下文章節E)。當與本文所闡述之某些實例中所呈現之RNAi藥劑結合使用時，當三炔基在合成後連接至有義股之5'端時，有義股之5'端核苷酸用在5'端包括一級胺之核苷酸官能化，以有助於連接至含有三炔烴之骨架。將TFA胺基連接臂胺基磷酸酯溶解於無水乙腈(50 mM)中且添加分子篩(3 Å)。使用5-苯甲硫基-1H-四唑(BTT，250 mM乙腈溶液)或5-乙

硫基-1H-四唑(ETT, 250 mM乙腈溶液)作為活化劑溶液。偶合時間係10分鐘(RNA)、90秒(2' O-Me)及60秒(2' F)。為引入硫代磷酸酯鍵聯, 使用100 mM 3-苯基1,2,4-二噁唑啉-5-酮(POS, 獲自PolyOrg, Inc., Leominster, MA, USA)於無水乙腈中之溶液。

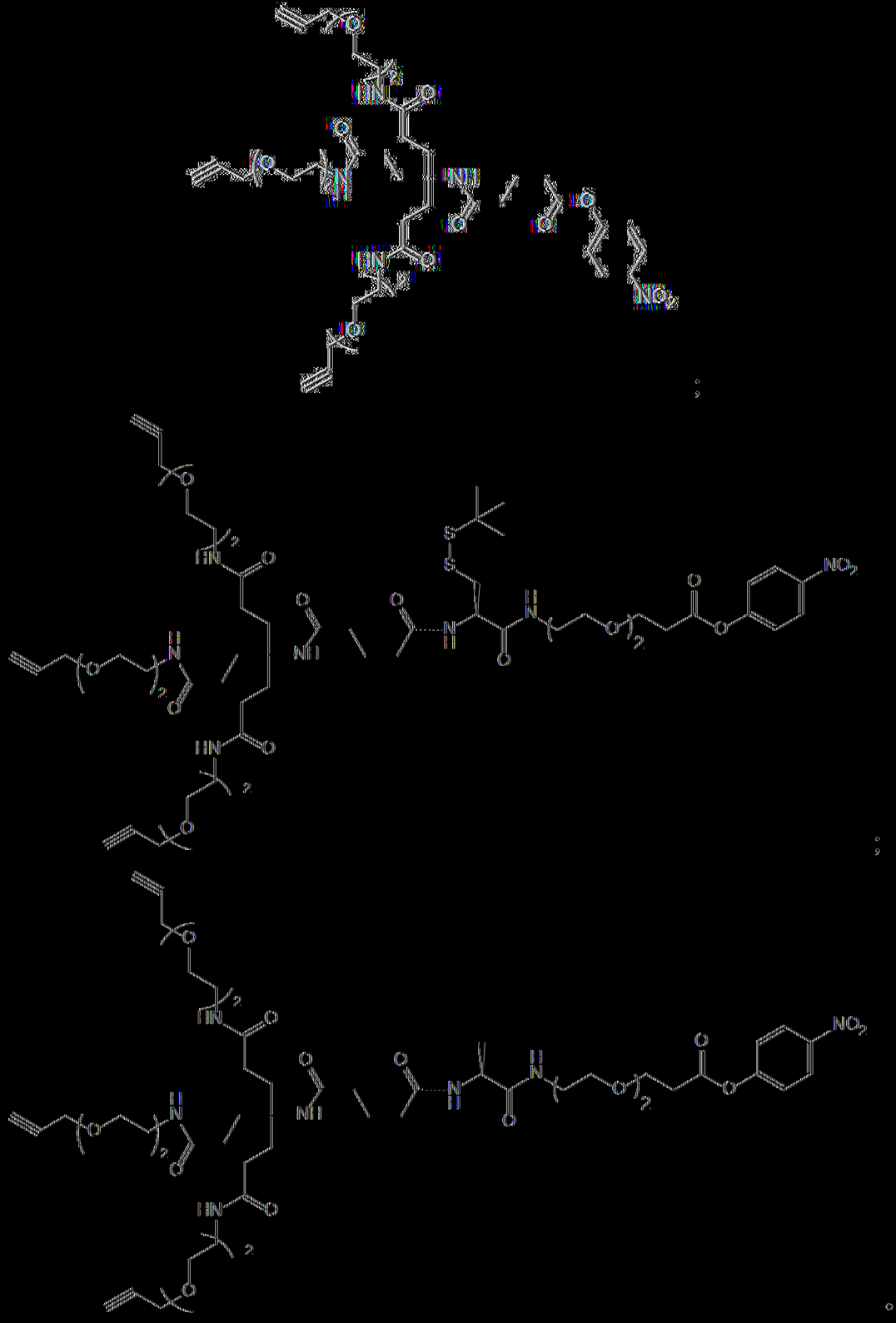
【0518】 B. 載體所結合之寡聚物之裂解及脫除保護基. 在固相合成結束之後, 在30°C下用40 wt%甲胺於水中之1:1體積溶液及28%至31%氫氧化銨溶液(Aldrich)處理乾燥固體載體1.5小時。將溶液蒸發且固體殘餘物於水中復原(參見下文)。

【0519】 C. 純化. 使用TKSgel SuperQ-5PW 13 μ m管柱及Shimadzu LC-8系統, 藉由陰離子交換HPLC純化粗寡聚物。緩衝劑A係20 mM Tris、5 mM EDTA pH 9.0且含有20%乙腈, 且緩衝劑B在添加1.5 M氯化鈉之情況下與緩衝劑A相同。在260 nm下記錄UV跡線。將適當溶離份混合, 接著用100 mM碳酸氫銨pH 6.7及20%乙腈或過濾水之操作緩衝液, 使用裝填有Sephadex G25細粒之GE Healthcare XK 16/40管柱藉由尺寸排阻HPLC來操作。

【0520】 D. 黏接. 藉由將等莫耳濃度RNA溶液(有義股及反義股)合併於1×PBS (磷酸鹽緩衝鹽水, 1×, Corning, Cellgro)中來使互補股混合以形成RNAi藥劑。將一些RNAi藥劑凍幹且儲存於-15°C至-25°C。藉由經UV-Vis光譜儀量測1× PBS中之溶液吸光度來測定雙螺旋體濃度。接著將260 nm溶液吸光度乘以換算因數及稀釋因數以測定雙螺旋濃度。所用換算因數係0.037 mg/(mL·cm), 或者對於一些實驗, 自以實驗方式測定之消光係數來計算換算因數。

【0521】 E. 三炔烴骨架之結合. 在黏接之前或之後, RNAi藥劑之5'

或3'胺官能化有義股可與三炔烴骨架結合。可用於形成本文所揭示之構築體的實例三炔烴骨架結構包括以下：

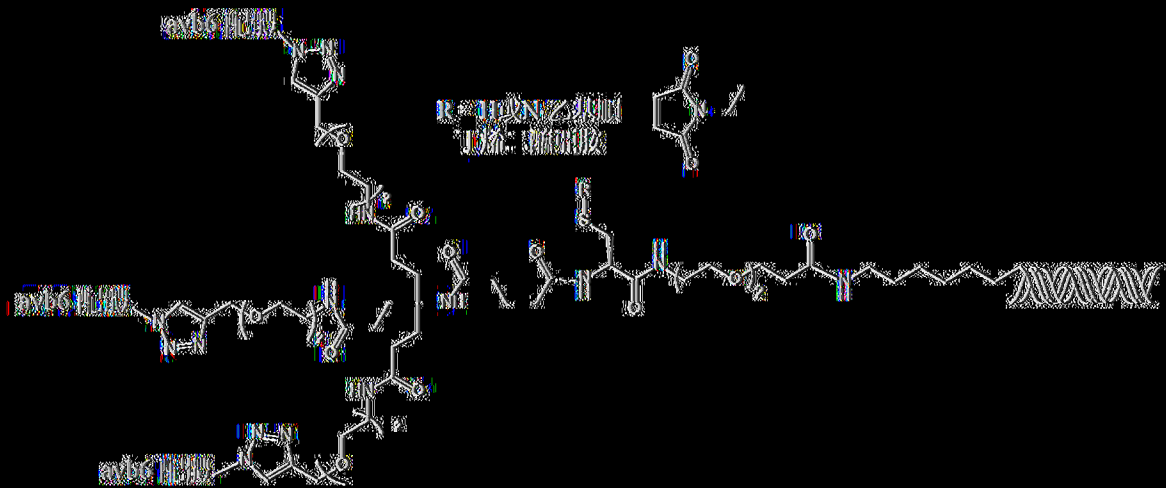


〔0522〕 以下描述三炔烴骨架與黏接之雙螺旋體之結合：將胺官能

化雙螺旋體以約50-70 mg/mL溶解於90% DMSO/10% H₂O中。依序添加40當量三乙胺、3當量三炔炔-PNP。一旦完成，即將結合物在1×磷酸鹽緩衝鹽水/乙腈(1:14比率)之溶劑系統中沈澱兩次，且乾燥。

【0523】 *F. $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體之結合*. 在黏接之前或之後，5'或3'三牙炔炔官能化有義股與 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體結合。以下實例描述 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體與黏接之雙螺旋體之結合：於去離子水中製備0.5 M參(3-羥丙基三唑基甲基)胺(THPTA)、0.5 M五水合硫酸Cu(II) (Cu(II)SO₄·5H₂O)及2 M抗壞血酸鈉溶液之儲備溶液。製備75 mg/mL $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體之DMSO溶液。在含有三炔炔官能化雙螺旋體(3 mg, 75 μL , 40 mg/mL於去離子水中，約15,000 g/mol)之1.5 mL離心管中，添加25 μL 之1 M Hepes pH 8.5緩衝劑。渦旋後，添加35 μL DMSO，且使溶液渦旋。將 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體添加至反應(6當量/雙螺旋體，2當量/炔炔，約15 μL)中且使溶液渦旋。使用pH紙檢測pH，且確認pH係約8。在另一1.5 mL離心管中，將50 μL 之0.5 M THPTA與10 μL 之0.5 M Cu(II)SO₄·5H₂O混合，渦旋，且在室溫下培育5分鐘。在5分鐘之後，將THPTA/Cu溶液(7.2 μL ，6當量5:1 THPTA:Cu)添加至反應小瓶中，且渦旋。緊接著，將2 M抗壞血酸酯(5 μL ，每雙螺旋體50當量，每炔炔16.7)添加至反應小瓶中，且渦旋。一旦反應完成(通常在0.5至1小時內完成)，即刻藉由非變性陰離子交換層析純化反應物。

【0524】 *G. 半胱胺酸連接子上之硫醇基之官能化*. 在一些實施例中，可使用半胱胺酸連接子以有助於使 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體結合至RNAi藥劑。在黏接之前或之後，5'或3'三牙炔炔-Cys(Stbu)-PEG₂官能化有義股用含有順丁烯二醯亞胺之部分官能化，或可還原且保持為游離硫醇，如以下結構中所示：



[0525] 以下實例描述具有N-乙基順丁烯二醯亞胺之三炔烴-Cys(S1bu)-PEG₂-雙螺旋體之改質：將三炔烴-Cys(S1bu)-PEG₂-雙螺旋體 (35 mg)溶解於500 μ L去離子H₂O中。將HEPES緩衝劑(1M，pH 8.5，82 μ L)添加至反應物中，且將溶液渦旋。添加1 M二硫蘇糖醇(DTT，100當量，236 μ L)之溶液且將溶液置放於渦流振盪器上3小時。在確認藉由變性RP-HPLC還原二硫鍵之後，使結合物在1×磷酸鹽緩衝鹽水/乙腈(1:14比率)之溶劑系統中沈澱三次。將沈澱之集結粒於0.5 mL之0.1 M HEPES pH 6.5中復原，且將N-乙基順丁烯二醯亞胺(3 mg，10當量)添加至溶液中，且置放於渦流混合器上約15分鐘。反應完成後，使結合物於1×磷酸鹽緩衝鹽水/乙腈(1:14比率)之溶劑系統中沈澱三次，去鹽且乾燥。

實例3. α v β 6整合素配體結合活性。

[0526] 如以下表1中所報導，獲得結構1及2之 α v β 6整合素配體之IC₅₀結合數據：

表1. IC₅₀結合活性。

群組1	IC ₅₀ (nM)		
	α v β 3	α v β 5	α v β 6
結構1	無活性	無活性	13
結構2	無活性	無活性	129

[0527] 在此項技術中通常所用且已知之條件下檢測疊氮基官能化

結構(亦即，結構1b及2b)之IC50。如表1中所示，結構1及2展示與 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素之選擇性結合。

實例4. 與 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體結合之RNAi藥劑標靶 $\alpha\text{-ENaC}$ 在大鼠中之活體內氣管內投與.

【0528】 包括有義股及反義股之RNAi藥劑根據固相上之胺基磷酸酯技術根據此項技術中已知且如本文中實例2中所闡述之寡核苷酸合成中所通常使用之通用程序合成。RNAi藥劑包括核鹼基序列與表現胺氯吡脒敏感性上皮鈉通道之 α 次單元(通常稱為 $\alpha\text{-ENaC}$ 或SCNN1A)之基因至少部分互補的反義股。 $\alpha\text{-ENaC}$ RNAi藥劑經設計能夠以序列特異性方式降低或抑制 $\alpha\text{-ENaC}$ 之信使RNA (mRNA)轉錄物之轉譯，藉此抑制 $\alpha\text{-ENaC}$ 基因之表現。此實例中所用之RNAi藥劑(AD04835)包含經修飾之核苷酸及多於一種非磷酸二酯鍵聯，且包括以下核苷酸序列：

有義股序列(5' → 3')：

(NH₂-C₆)sgscugugcaAfCfCfagaacaaauas(invAb) (SEQ ID NO:1)

反義股序列(5' → 3')

cPrpusAfsusUfuGfuUfcUfgGfuUfgCfaCfaGfsc (SEQ ID NO:2)，

其中(invAb)表示反向(3'-3'連接)無鹼基去氧核糖核苷酸；s表示硫代磷酸酯鍵聯；a、c、g及u分別表示2'-O-甲基腺苷、胞苷、鳥苷或尿苷；Af、Cf、Gf及Uf分別表示2'-氟腺苷、胞苷、鳥苷或尿苷；cPrpu表示5'-環丙基膦酸酯-2'-O-甲基尿苷(參見例如表A)；且(NH₂-C₆)表示視需要有助於靶向配體結合之C₆端胺(參見例如表A)。

【0529】 如一般熟習此項技術者所清楚理解，核苷酸單體藉由標準磷酸二酯鍵聯連接，但其中如本文所揭示之經修飾核苷酸序列中所示，改

為包括硫代磷酸酯鍵替代寡核苷酸中通常存在之磷酸二酯鍵聯。

【0530】 在研究第1天及第2天，雄性史泊格-多利大鼠經由微型噴霧器裝置(Penn Century, Philadelphia, PA)氣管內投與200微升之劑量，其包括以下給藥組：

- (1) 5%於水媒劑中之右旋糖(D5W)；
- (2) 3.0 mg/kg之無配體之 α -ENaC RNAi藥劑(AD04835)(「裸RNAi藥劑」)，其調配於5%於水中之右旋糖(d5w)中；或
- (3) 3.0 mg/kg之與結構1之三牙 α v β 6整合素配體結合之 α -ENaC RNAi藥劑(AD04835)，其調配於d5w中。

【0531】 在第2及3組中使用相同 α -ENaC RNAi藥劑。對於第3組，接著使存在於RNAi藥劑之有義股之5'末端上末端胺(NH₂-C₆)與包括三個末端炔烴基團之骨架結合。接著使炔烴基團與存在於結構1b上之疊氮基官能基結合，藉此形成結構1之三牙 α v β 6整合素配體。通用合成程序描述於以上實例2中。

【0532】 各組對四(4)隻大鼠進行給藥。在研究第5天使大鼠安樂死，且在採集及均質化之後自兩個肺分離全部RNA。 α -ENaC之mRNA豐度藉由基於探針之定量PCR進行定量，正規化為GAPDH表現，且表示為媒劑對照組之分數(幾何平均值，+/- 95%信賴區間)。

表2. 正規化為實例4之對照的mRNA之相對 α -ENaC表現.

群組	相對表現 (幾何平均值)	95%信賴區間之 上限/下限
(1) 5%右旋糖媒劑	1.000	0.81 / 1.23
(2) 裸RNAi藥劑(無配體)	0.36	0.07 / 1.79
(3) 三牙 α v β 6整合素配體結構1 [(α v β 6整合素配體結構1) ₃ -RNAi藥劑]	0.19	0.05 / 0.59

【0533】 如以上表2中所示，在活體內與無任何配體之裸RNAi藥劑

(64%之阻斷基因表現)(亦即第2組)及媒劑對照相比，與 α -ENaC RNAi藥劑結合之三牙形式之結構1之 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體(亦即第3組)展示增加之 α -ENaC mRNA之相對阻斷基因表現(大致81%之阻斷基因表現)。

實例5. 與 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體結合之RNAi藥劑標靶 α -ENaC在大鼠中之活體內口咽抽吸投與.

【0534】 在以下實例中，將各種RNAi藥劑用作貨物分子以測試貨物分子經由 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素至所關注之細胞中之遞送。某些本文所用之RNAi藥劑描述於US 62/679,549中，其以全文引用的方式併入本文中。

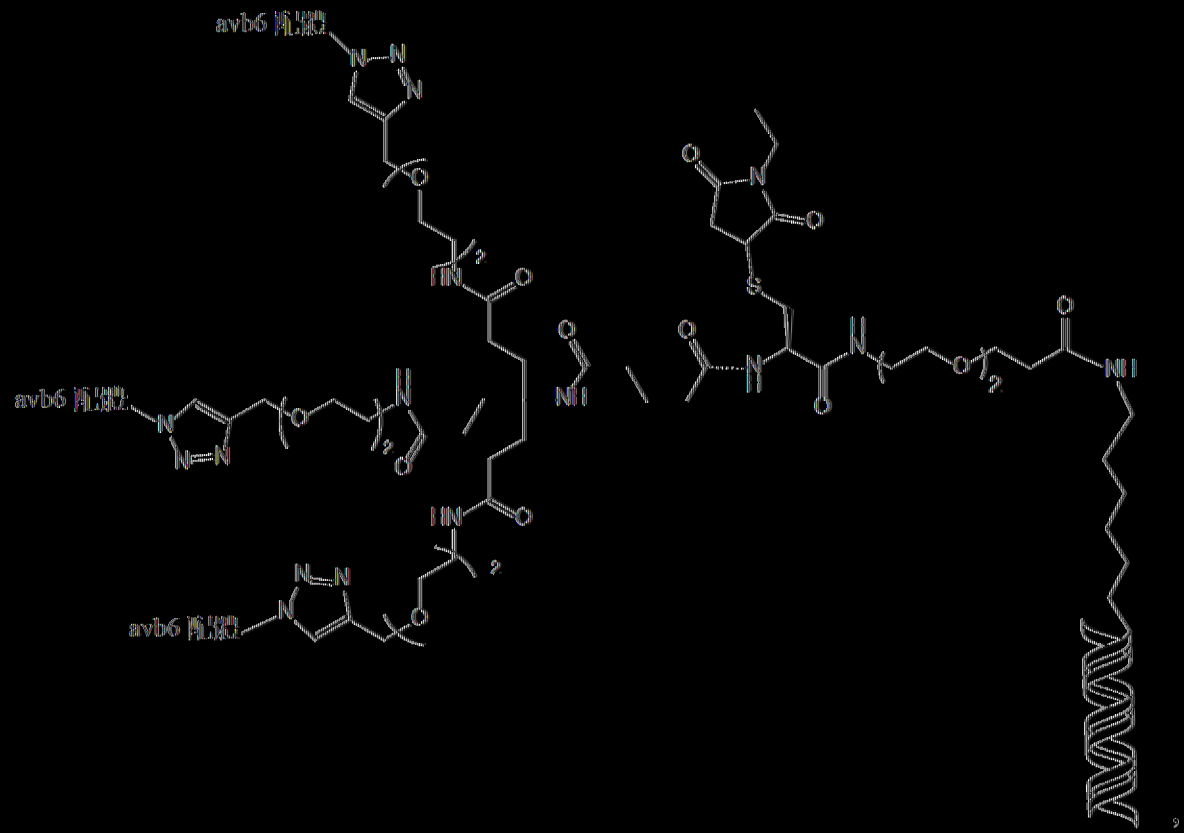
【0535】 在研究第1天，根據以下給藥組，使用吸管經由口咽(「OP」)抽吸投與向雄性史泊格多利大鼠給藥200微升：

表3. 實例5中之大鼠給藥組.

群組	RNAi藥劑及劑量	給藥方案
1	等張生理食鹽水(無RNAi藥劑)	第1天單次OP給藥
2	0.5 mg/kg之與結構2之三牙 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體結合之 α -ENaC雙股RNAi藥劑(AD04835)，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天單次OP給藥
3	0.5 mg/kg之與結構5.1之三牙 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體結合之 α -ENaC雙股RNAi藥劑(AD04835)，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天單次OP給藥
4	0.5 mg/kg之與結構5.2之三牙 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體結合之 α -ENaC雙股RNAi藥劑(AD04835)，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天單次OP給藥
5	0.5 mg/kg之與結構6之三牙 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體結合之 α -ENaC雙股RNAi藥劑(AD04835)，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天單次OP給藥
6	0.5 mg/kg之與結構6.1之三牙 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體結合之 α -ENaC雙股RNAi藥劑(AD04835)，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天單次OP給藥
7	0.5 mg/kg之與結構6.2之三牙 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體結合之 α -ENaC雙股RNAi藥劑(AD04835)，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天單次OP給藥

【0536】 合成具有導引以靶向人類 α -ENaC基因之核苷酸序列之

RNAi藥劑，且其在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團(NH₂-C₆)以有助於與αvβ6整合素配體之結合。對應αvβ6整合素配體接著經由包括半胱胺酸-正乙基-順丁烯二醯亞胺連接子之三牙骨架與RNAi藥劑結合。對於實例5之RNAi藥劑-αvβ6整合素配體結合物，第2-7組中之各者的RNAi藥劑以及骨架/連接子結構一致。因此，第2至7組之僅有變化係所用之特异性αvβ6整合素配體(各呈三牙形式)。實例5之RNAi藥劑-αvβ6整合素配體結合物具有由以下表示之結構：



其中表示RNAi藥劑，且「avb6配體」表示對應配體結構。在此實例中所用之RNAi藥劑(AD04835)之結構闡述於以上實例4中。

[0537] 各組(n=5)對五(5)隻大鼠進行給藥。在研究第9天處死大鼠，且在採集及均質化之後自兩個肺分離全部RNA。α-ENaC (SCNN1A) mRNA表現藉由基於探針之定量PCR進行定量，正規化為GAPDH表現，且表示為媒劑對照組之分數(幾何平均值，1/-95%信賴區間)。

表4. 實例5中處死時(第9天)之平均相對rENaC mRNA表現.

群組標識	平均相對rENaC mRNA表現	下限 (誤差)	上限 (誤差)
第1組(等張生理食鹽水)	1.000	0.195	0.243
第2組(RNAi藥劑-Cys-(正乙基-Mal)-PEG ₂ -三牙 α v β 6整合素配體結構2)	0.543	0.114	0.145
第3組(RNAi藥劑-Cys-(正乙基-Mal)-PEG ₂ -三牙 α v β 6整合素配體結構5.1)	0.541	0.138	0.185
第4組(RNAi藥劑-Cys-(正乙基-Mal)-PEG ₂ -三牙 α v β 6整合素配體結構5.2)	0.522	0.151	0.212
第5組(RNAi藥劑-Cys-(正乙基-Mal)-PEG ₂ -三牙 α v β 6整合素配體結構6)	0.399	0.108	0.148
第6組(RNAi藥劑-Cys-(正乙基-Mal)-PEG ₂ -三牙 α v β 6整合素配體結構6.1)	0.351	0.100	0.139
第7組(RNAi藥劑-Cys-(正乙基-Mal)-PEG ₂ -三牙 α v β 6整合素配體結構6.2)	0.568	0.061	0.068

【0538】 舉例而言，第6組(AD04835-三牙-結構6.1)展示與對照組相比平均rENaC mRNA表現降低大致65% (0.351)；第2組(AD04835-三牙-結構2)展示與對照組相比平均rENaC mRNA表現降低大致46% (0.543)；且第4組(AD04835-三牙-結構5.2)展示與對照組相比平均rENaC mRNA表現降低大致48% (0.522)。

實例6. 與 α v β 6整合素配體結合之RNAi藥劑標靶 α -ENaC在大鼠中之活體內口咽抽吸投與.

【0539】 在研究第1天，根據以下給藥組，使用吸管經由口咽(「OP」)抽吸投與向雄性史泊格多利大鼠給藥200微升：

表5. 實例6中之大鼠給藥組.

群組	RNAi藥劑及劑量	給藥方案
1	等張生理食鹽水(無RNAi藥劑)	第1天單次OP給藥
2	0.5 mg/kg之與包括戊二酸連接子(亦即具有結構300a中所表示之結構)的結構2之三牙 α v β 6整合素配體結合之 α -ENaC雙股RNAi藥劑(AD05347)，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天單次OP給藥
3	0.5 mg/kg之與包括戊二酸連接子(亦即具有結構300a中所表示之結構)的結構2之三牙 α v β 6整合素配體結合之 α -ENaC雙股RNAi藥劑(AD05453)，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天單次OP給藥
4	0.5 mg/kg之與包括戊二酸連接子(亦即具有結構300a中所表示之結構)的結構6之三牙 α v β 6整合素配體結合之 α -ENaC雙股RNAi藥劑(AD05453)，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天單次OP給藥
5	0.5 mg/kg之與包括戊二酸連接子(亦即具有結構300a中所表示之結構)的結構6.1之三牙 α v β 6整合素配體結合之 α -ENaC雙股RNAi藥劑(AD05453)，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天單次OP給藥
6	0.5 mg/kg之與包括戊二酸連接子(亦即具有結構300a中所表示之結構)的結構7之三牙 α v β 6整合素配體結合之 α -ENaC雙股RNAi藥劑(AD05453)，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天單次OP給藥

【0540】 合成具有導引以靶向人類 α -ENaC基因之核苷酸序列之RNAi藥劑，且其在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團(NH₂-C₆)以有助於與 α v β 6整合素配體之結合。用於此實例中之RNAi藥劑包含經修飾之核苷酸及多於一種非磷酸二酯鍵聯，且包括以下核苷酸序列：

AD05347：

有義股序列(5' → 3')：

(NH₂-C₆)cscugugcaAfCfCfagaacaaauas(invAb) (SEQ ID NO:3)

反義股序列(5' → 3')

cPrpusAfsusUfuGfuUfcUfgGfuUfgCfaCfaGfsc (SEQ ID NO:2)，及

AD05453：

有義股序列(5' > 3') :

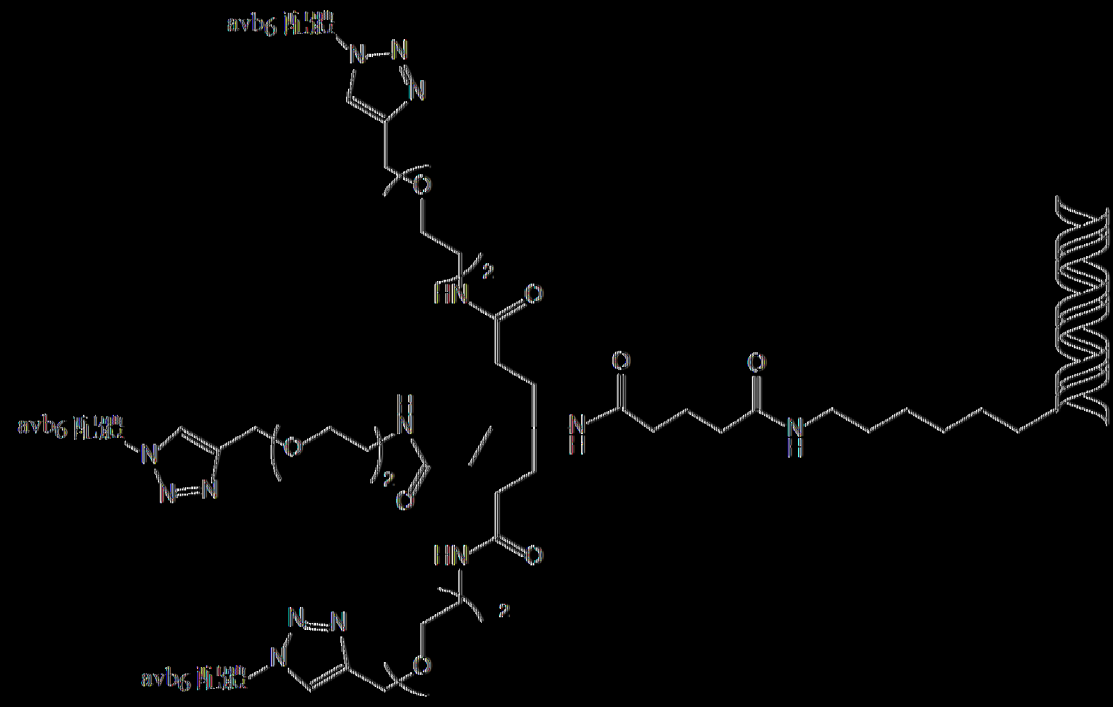
(NH₂-C₆)cscugugcaAfCfCfagaacaaauas(invAb) (SEQ ID NO:3)

反義股序列(5' > 3')

usAfsusUfuGfuUfcUfgGfuUfgCfaCfaGfsg (SEQ ID NO:4) ,

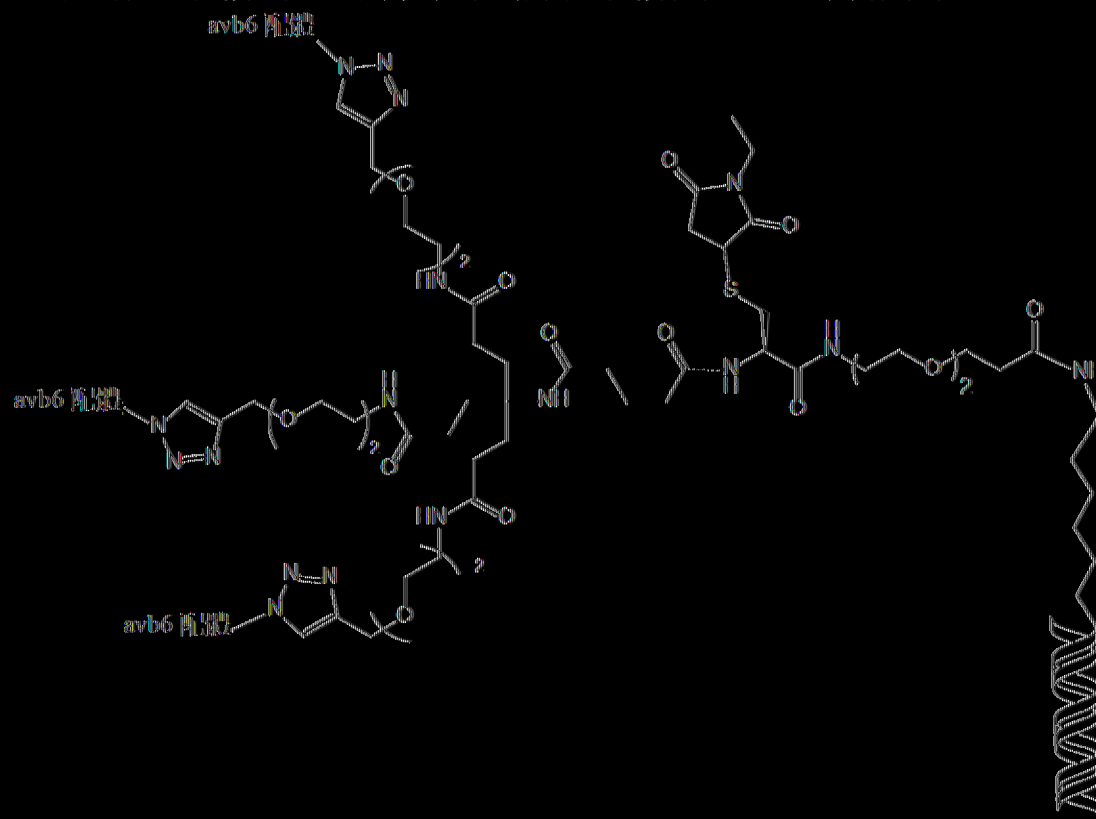
其中(invAb)表示反向(3'-3'連接)無鹼基去氧核糖核苷酸；s表示硫代磷酸酯鍵聯；a、c、g及u分別表示2'-O-甲基腺苷、胞苷、鳥苷或尿苷；Af、Cf、Gf及Uf分別表示2'-氟腺苷、胞苷、鳥苷或尿苷；cPrpu表示5'-環丙基膦酸酯-2'-O-甲基尿苷(參見例如表A)；且(NH₂-C₆)表示視需要有助於靶向配體結合之C₆端胺(參見例如表A)。

[0541] 對於第2、3、4、5及6組，對應αvβ6整合素配體經由如以下結構300a中所描繪之包括戊二酸連接子(經由添加戊二酸)之三牙骨架/連接子結構與RNAi藥劑結合：



(結構300a)，其中表示RNAi藥劑，且「avb6配體」表示對應配體結構。

[(0542)] 對於第7及8組，對應 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體經由具有結構330a中描繪之結構的三牙骨架/連接子結構與RNAi藥劑結合：



(結構330a)，其中表示RNAi藥劑，且「avb6配體」表示對應配體結構。

[(0543)] 在第1、3、4、6及7組($n=4$)中對四(4)隻大鼠進行給藥；在第5及8組($n=5$)中對五(5)隻大鼠進行給藥；且在第2組($n=3$)中對三(3)隻大鼠進行給藥。在研究第9天處死大鼠，且在採集及均質化之後自兩個肺分離全部RNA。 α -ENaC (SCNN1A) mRNA表現藉由基於探針之定量PCR進行定量，正規化為GAPDH表現，且表示為媒劑對照組之分數(幾何平均值， $\pm$ 95%信賴區間)。

表6. 實例6中處死時(第9天)之平均相對rENaC mRNA表現.

群組標識	動物之數量 (n=)	平均相對 rENaC mRNA 表現	下限 (誤差)	上限 (誤差)
第1組(等張生理食鹽水)	4	1.000	0.137	0.159
第2組(0.5 mg/kg AD05347-戊二酸-三牙αvβ6整合素配體結構2)	3	0.486	0.090	0.110
第3組 (0.5 mg/kg AD05453-戊二酸-三牙αvβ6整合素配體結構2)	4	0.615	0.066	0.074
第4組(0.5 mg/kg AD05453-戊二酸-三牙αvβ6整合素配體結構6)	4	0.512	0.119	0.156
第5組(0.5 mg/kg AD05453-戊二酸-三牙αvβ6整合素配體結構6.1)	5	0.494	0.101	0.127
第6組(0.5 mg/kg AD05453-戊二酸-三牙αvβ6整合素配體結構7)	4	0.743	0.104	0.121

【0544】 如以上表6中所示，α-ENaC RNAi試劑中之各者相比於對照展示出大鼠中mRNA表現之降低。舉例而言，第5組(AD05453-三牙αvβ6整合素配體結構6.1)展示與對照組相比平均rENaC mRNA表現降低大致51% (0.494)，且第3組(AD05453-三牙αvβ6整合素配體結構2)展示與對照組相比平均rENaC mRNA表現降低大致38% (0.615)。此外，第5組(其包括αvβ6整合素配體結構6.1)展示優於第6組(其包括αvβ6整合素配體結構7)之改良，指示如結構6.1中所見之αvβ6整合素配體之(s)之對掌性依賴性優於如結構7中所見之(r)。

實例7. 與αvβ6整合素配體結合之RNAi藥劑標靶α-ENaC在大鼠中之活體內口咽抽吸投與.

【0545】 在研究第1天，根據以下給藥組，使用吸管經由口咽(「OP」)抽吸投與向雄性史泊格多利大鼠給藥200微升：

表7. 實例7中之大鼠給藥組.

群組	RNAi藥劑及劑量	給藥方案
1	等張生理食鹽水(無RNAi藥劑)	第1天單次OP給藥
2	0.5 mg/kg之與包括戊二酸連接子(亦即具有結構300a中所表示之結構)的結構2之三牙 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體結合之 α -ENaC RNAi藥劑AD05347，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天單次OP給藥
3	0.5 mg/kg之與包括戊二酸連接子(亦即具有結構300a中所表示之結構)的結構6.1之三牙 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體結合之 α -ENaC RNAi藥劑AD05347，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天單次OP給藥
4	0.5 mg/kg之與包括戊二酸連接子(亦即具有結構300a中所表示之結構)的結構2之三牙 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體結合之 α -ENaC RNAi藥劑AD05453，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天單次OP給藥
5	0.5 mg/kg之與包括戊二酸連接子(亦即具有結構300a中所表示之結構)的結構9之三牙 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體結合之 α -ENaC RNAi藥劑AD05453，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天單次OP給藥
6	0.5 mg/kg之與包括戊二酸連接子(亦即具有結構300a中所表示之結構)的結構6之三牙 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體結合之 α -ENaC RNAi藥劑AD05453，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天單次OP給藥
7	0.5 mg/kg之與包括戊二酸連接子(亦即具有結構300a中所表示之結構)的結構8之三牙 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體結合之 α -ENaC RNAi藥劑AD05453，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天單次OP給藥
8	0.5 mg/kg之與包括戊二酸連接子(亦即具有結構300a中所表示之結構)的結構6.1之三牙 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體結合之 α -ENaC RNAi藥劑AD05453，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天單次OP給藥
9	0.5 mg/kg之與包括戊二酸連接子(亦即具有結構300a中所表示之結構)的結構10之三牙 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體結合之 α -ENaC RNAi藥劑AD05453，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天單次OP給藥
10	0.5 mg/kg之與包括戊二酸連接子(亦即具有結構300a中所表示之結構)的結構11之三牙 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體結合之 α -ENaC RNAi藥劑AD05453，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天單次OP給藥

群組	RNAi藥劑及劑量	給藥方案
11	0.5 mg/kg之與另外包括20千道爾頓(kDa) PEG部分的三牙基於肽之上皮細胞靶向配體經由有義股之5'末端上之胺(NH ₂ -C ₆)鍵聯結合之 α -ENaC RNAi藥劑AD05453，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天單次OP給藥

【0546】 合成具有導引以靶向人類 α -ENaC基因之核苷酸序列之RNAi藥劑，且其在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團(NH₂-C₆)以有助於與 α v β 6整合素配體之結合。供此實例中所用之RNAi藥劑用之核苷酸序列闡述於以上實例6中。對於第2、3、4、5、6、7、8、9及10組，對應 α v β 6整合素配體經由如以上實例6中所示之結構300a中所描繪之包括戊二酸連接子(經由添加戊二酸)之三牙骨架/連接子結構與RNAi藥劑結合。對於第11組，上皮細胞靶向配體包含已知結合至 α v β 6整合素之RGD模擬肽且包括作為藥物動力學(PK)調節劑之20 kDa PEG部分。

【0547】 各組(n=4)對四(4)隻大鼠進行給藥。在研究第9天處死大鼠，且在採集及均質化之後自兩個肺分離全部RNA。 α -ENaC (SCNN1A) mRNA表現藉由基於探針之定量PCR進行定量，正規化為GAPDH表現，且表示為媒劑對照組之分數(幾何平均值，+/- 95%信賴區間)。

表8. 實例7中處死時(第9天)之平均相對rENaC mRNA表現.

群組標識	平均相對rENaC mRNA表現	下限 (誤差)	上限 (誤差)
第1組(等張生理食鹽水)	1.000	0.162	0.193
第2組(0.5 mg/kg AD05347-戊二酸-三牙 α v β 6整合素配體結構2)	0.469	0.101	0.129
第3組(0.5 mg/kg AD05347-戊二酸-三牙 α v β 6整合素配體結構6.1)	0.358	0.078	0.100
第4組(0.5 mg/kg AD05453-戊二酸-三牙 α v β 6整合素配體結構2)	0.562	0.086	0.102
第5組(0.5 mg/kg AD05453-戊二酸-三牙 α v β 6整合素配體結構9)	0.620	0.168	0.230
第6組(0.5 mg/kg AD05453-戊二酸-三牙 α v β 6整合素配體結構6)	0.559	0.099	0.120
第7組(0.5 mg/kg AD05453-戊二酸-三牙 α v β 6整合素配體結構8)	0.691	0.072	0.081

第8組(0.5 mg/kg AD05453-戊二酸-三牙αvβ6整合素配體結構6.1)	0.454	0.055	0.063
第9組(0.5 mg/kg AD05453-戊二酸-三牙αvβ6整合素配體結構10)	0.454	0.080	0.097
第10組(0.5 mg/kg AD05453-戊二酸-三牙αvβ6整合素配體結構11)	0.577	0.113	0.140
第11組(0.5 mg/kg AD05453-三牙基於肽之上皮細胞靶向配體-20kDa PEG)	0.558	0.057	0.064

【0548】 如以上表8中所示，α-ENaC RNAi試劑中之各者相比於對照展示出大鼠中mRNA表現之降低。舉例而言，第3組(AD05347-戊二酸-三牙αvβ6整合素配體結構6.1)展示與對照組相比平均rENaC mRNA表現降低大致64% (0.358)，且第8組(AD05453-戊二酸-三牙αvβ6整合素配體結構6.1)展示與對照組相比平均rENaC mRNA表現降低大致55% (0.454)。此外，實例7中之αvβ6整合素配體(亦即結構2、結構6、結構6.1、結構8、結構9、結構10及結構11)均展示與另外包括相對大的20千道爾頓PEG部分以增強第11組之藥物動力學效應的三牙基於肽之上皮細胞靶向配體類似的阻斷基因表現程度。

實例8. 與αvβ6整合素配體結合之RNAi藥劑標靶α-ENaC在大鼠中之活體內氣管內投與

【0549】 在研究第1天及第2天，雄性史泊格-多利大鼠經由微型噴霧器裝置(Penn Century, Philadelphia, PA)氣管內投與200微升之劑量，其包括以下給藥組：

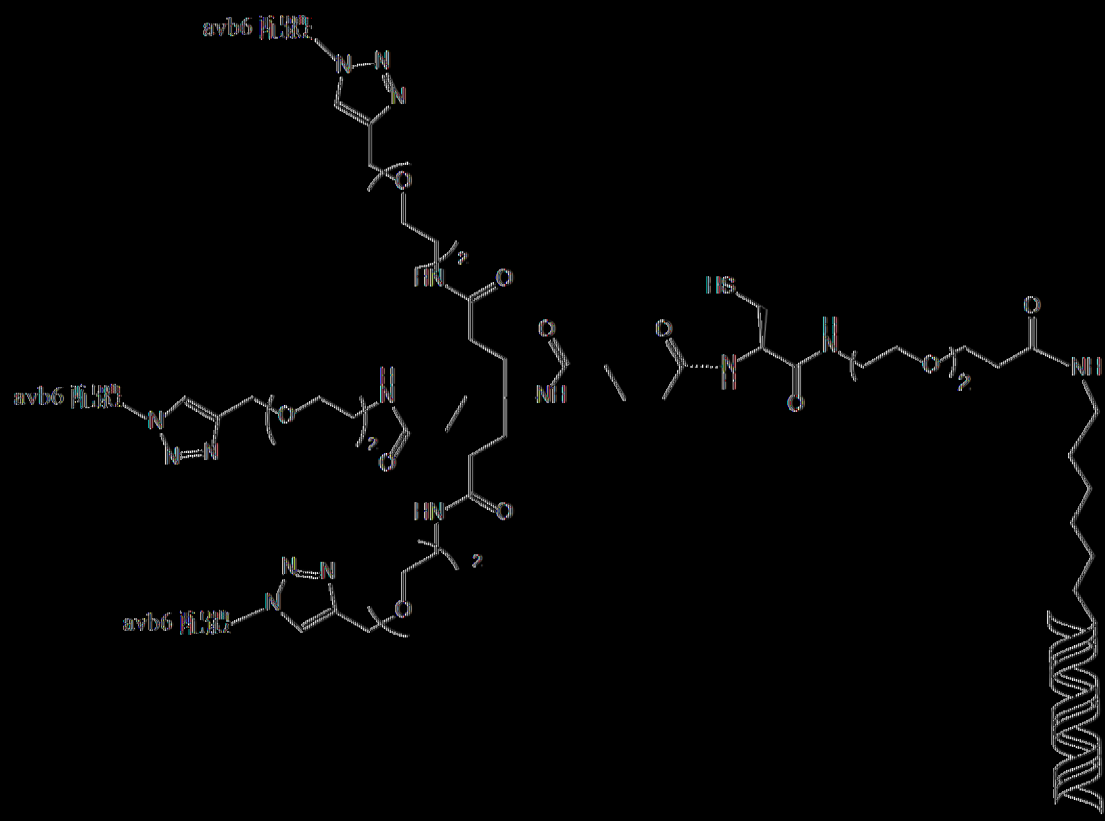
表9. 實例8中之大鼠給藥組.

群組	RNAi藥劑及劑量	給藥方案
1	等張生理食鹽水(無RNAi藥劑)	第1天及第2天 IT給藥

2	1.5 mg/kg之與另外包括20千道爾頓(kDa) PEG部分、半胱胺酸連接子及FCFP肽連接子的單牙基於肽之上皮細胞靶向配體經由有義股之5'末端上之胺(NH ₂ -C ₆)鍵聯結合之 α -ENaC RNAi藥劑AD04835，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天及第2天 IT給藥
3	0.5 mg/kg之與包括半胱胺酸連接子(亦即具有結構331a中所表示之結構)的結構1之三牙 α v β 6整合素配體結合之 α -ENaC RNAi藥劑AD04835，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天及第2天 IT給藥
4	1.5 mg/kg之與包括半胱胺酸連接子(亦即具有結構331a中所表示之結構)的結構1之三牙 α v β 6整合素配體結合之 α -ENaC RNAi藥劑AD04835，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天及第2天 IT給藥
5	1.5 mg/kg之與包括半胱胺酸-正乙基-順丁烯二醯亞胺連接子(亦即具有結構330a中所表示之結構)的結構1之三牙 α v β 6整合素配體結合之 α -ENaC RNAi藥劑AD04835，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天及第2天 IT給藥
6	1.5 mg/kg之與另外包括20kDa PEG部分及半胱胺酸連接子之三牙基於肽之上皮細胞靶向配體經由有義股之5'末端上之胺(NH ₂ -C ₆)鍵聯結合之 α -ENaC RNAi藥劑AD04835，其調配於等張生理食鹽水中	第1天及第2天 IT給藥
7	1.5 mg/kg之與包括戊二酸連接子(亦即具有結構300a中所表示之結構)的結構1之三牙 α v β 6整合素配體結合之 α -ENaC RNAi藥劑AD04835，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天及第2天 IT給藥

【0550】 合成具有導引以靶向人類 α -ENaC基因之核苷酸序列之RNAi藥劑，且其在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團(NH₂-C₆)以有助於與 α v β 6整合素配體之結合。供此實例中所用之RNAi藥劑用之核苷酸序列闡述於以上實例4中。

【0551】 對於第3及4組，結構1之 α v β 6整合素配體經由如以下結構331a中所描繪之包括半胱胺酸連接子之三牙骨架及連接子結構與RNAi藥劑結合：



(結構331a)，其中表示RNAi藥劑，且「avb6配體」表示對應配體結構。

[0552] 對於第5組， α v β 6整合素配體經由如以上實例6中所示之結構330a中所描繪之包括半胱胺酸-正乙基-順丁烯二酰亞胺連接子之三牙骨架及連接子結構與RNAi藥劑結合。對於第7組， α v β 6整合素配體經由如以上實例6中所示之結構300a中所描繪之包括戊二酸連接子之三牙骨架及連接子結構與RNAi藥劑結合。對於第2及6組，基於肽之上皮細胞靶向配體包含RGD-模擬肽且包括作為藥物動力學(PK)調節劑之20kDa PEG部分。

[0553] 在第2至7組中之各者中使用相同 α -B β NaC RNAi藥劑。

[0554] 在第1、2、3、4、5及6組(n=5)中之各者中對五(5)隻大鼠進行給藥，且在第7組(n=4)中對四(4)隻大鼠進行給藥。在研究第8天處死大鼠，且在採集及均質化之後自兩個肺分離全部RNA。 α -B β NaC

(SCNN1A) mRNA表現藉由基於探針之定量PCR進行定量，正規化為 GAPDH表現，且表示為媒劑對照組之分數(幾何平均值，+/- 95%信賴區間)。

表10. 實例8中處死時(第8天)之平均相對rENaC mRNA表現.

群組標識	平均相對rENaC mRNA表現	下限 (誤差)	上限 (誤差)
第1組(等張生理食鹽水)	1.000	0.143	0.167
第2組(1.5 mg/kg AD04835-Cys-FCFP-單牙基於肽之配體-PEG20kDa)	0.354	0.078	0.100
第3組(0.5 mg/kg AD04835-Cys-結構1之三牙αvβ6整合素配體)	0.695	0.215	0.312
第4組(15 mg/kg AD04835-Cys-結構1之三牙αvβ6整合素配體)	0.438	0.077	0.093
第5組(1.5 mg/kg AD04835-Cys-(正乙基-Mal)-結構1之三牙αvβ6整合素配體)	0.349	0.083	0.108
第6組(1.5 mg/kg AD04835-Cys-PEG20k-三牙基於肽之配體)	0.643	0.070	0.079
第7組(1.5 mg/kg AD04835-戊二酸-結構1之三牙αvβ6整合素配體)	0.648	0.184	0.256

【0555】 如以上表10中所示，α-ENaC RNAi試劑中之各者相比於對照展示出大鼠中mRNA表現之降低。舉例而言，第5組(包含AD04835-Cys-(乙基-Mal)-三牙αvβ6整合素配體結構1)展示與對照組相比平均mRNA表現降低大致65% (0.358)，其與第2組中達成之阻斷基因表現程度類似，該第2組具有亦包括作為藥物動力學調節劑之20kDa PEG部分之基於肽之上皮細胞靶向配體。

實例9. 與αvβ6整合素配體結合之RNAi藥劑標靶α-ENaC在大鼠中之活體內氣管內投與

【0556】 在研究第1天及第2天，雄性史泊格-多利大鼠經由微型噴霧器裝置(Penn Century, Philadelphia, PA)氣管內投與200微升之劑量，其包括以下給藥組：

表11. 實例9中之大鼠給藥組.

群組	RNAi藥劑及劑量	給藥方案
1	等張生理食鹽水(無RNAi藥劑)	第1天及第2天 IT給藥
2	1.5 mg/kg之與包括戊二酸連接子(亦即具有結構300a中所表示之結構)的結構1之三牙 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體結合之 α -ENaC RNAi藥劑AD04835，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天及第2天 IT給藥
3	1.5 mg/kg之與包括戊二酸連接子(亦即具有結構300a中所表示之結構)的結構2之三牙 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體結合之 α -ENaC RNAi藥劑AD04835，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天及第2天 IT給藥
6	1.5 mg/kg之與包括半胱胺酸連接子(亦即具有結構331a中所表示之結構)的結構2之三牙 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體結合之 α -ENaC RNAi藥劑AD04835，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天及第2天 IT給藥

【0557】 合成具有導引以靶向人類 α -ENaC基因之核苷酸序列之RNAi藥劑，且其在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團($\text{NH}_2\text{-C}_6$)以有助於與 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體之結合。供此實例中所用之RNAi藥劑用之核苷酸序列闡述於以上實例4中。對於第2及3組，對應 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體經由如以上實例6中所示之結構300a中所描繪之包括戊二酸連接子之三牙骨架/連接子結構與RNAi藥劑結合。對於第6組，對應 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體經由如以上實例8中所示之結構331a中所描繪之包括半胱胺酸連接子之三牙骨架/連接子結構與RNAi藥劑結合。

【0558】 在第2至8組中之各者中使用相同 α -ENaC RNAi藥劑。在第1組($n=5$)中對五(5)隻大鼠進行給藥，且在第2及3組($n=4$)中之各者中對四(4)隻大鼠進行給藥。在研究第9天處死大鼠，且在採集及均質化之後自兩個肺分離全部RNA。 α -ENaC (SCNN1A) mRNA表現藉由基於探針之定量PCR進行定量，正規化為GAPDH表現，且表示為媒劑對照組之分數(幾何平均值， $\pm 95\%$ 信賴區間)。

表12. 實例9中處死時(第9天)之平均相對rENaC mRNA表現.

群組標識	平均相對rENaC mRNA表現	下限 (誤差)	上限 (誤差)
第1組(等張生理食鹽水)	1.000	0.165	0.197
第2組(1.5 mg/kg AD04835-戊二酸-三牙 α v β 6整合素配體結構1)	0.545	0.121	0.156
第3組(1.5 mg/kg AD04835-戊二酸-三牙 α v β 6整合素配體結構2)	0.483	0.038	0.041
第6組(1.5 mg/kg AD04835-Cys-三牙 α v β 6整合素配體結構2)	0.237	0.125	0.267

【0559】 如以上表12中所示， α -ENaC RNAi試劑中之各者相比於對照展示出大鼠中mRNA表現之降低。舉例而言，第3組(RNAi藥劑-戊二酸-三牙 α v β 6整合素配體結構2)展示與對照組相比平均rENaC mRNA表現降低大致52% (0.483)，且第6組(RNAi藥劑-Cys-三牙 α v β 6整合素配體結構2)展示與對照組相比平均rENaC mRNA表現降低大致76% (0.237)。

實例10. 與 α v β 6整合素配體結合之RNAi劑標靶 α -ENaC在大鼠中之活體內氣管內投與.

【0560】 在研究第1天及第2天，雄性史泊格-多利大鼠經由微型噴霧器裝置(Penn Century, Philadelphia, PA)氣管內投與200微升之劑量，其包括以下給藥組：

【0561】 表13. 實例10中之大鼠給藥組.

群組	RNAi藥劑及劑量	給藥方案
1	等張生理食鹽水(無RNAi藥劑)	第1天及第2天 IT給藥
2	1.0 mg/kg之與另外包括20 kDa PEG部分、半胱胺酸連接子及FCFP肽連接子的單牙基於肽之上皮細胞靶向配體經由有義股之5'末端上之胺(NH ₂ -C ₆)鍵聯結合之 α -ENaC RNAi藥劑AD04835，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天及第2天 IT給藥
3	1.5 mg/kg之與包括半胱胺酸連接子(亦即具有結構331a中所表示之結構)的結構1之三牙 α v β 6整合素配體結合之 α -ENaC RNAi藥劑AD04835，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天及第2天 IT給藥

4	1.5 mg/kg之與包括半胱胺酸連接子(亦即具有結構331a中所表示之結構)的結構2之三牙 $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ 整合素配體結合之 $\alpha\text{-ENaC}$ RNAi藥劑AD04835，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天及第2天 IT給藥
5	1.0 mg/kg之與包括半胱胺酸連接子(亦即具有結構331a中所表示之結構)的結構2之三牙 $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ 整合素配體結合之 $\alpha\text{-ENaC}$ RNAi藥劑AD04835，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天及第2天 IT給藥
6	0.50 mg/kg之與包括半胱胺酸連接子(亦即具有結構331a中所表示之結構)的結構2之三牙 $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ 整合素配體結合之 $\alpha\text{-ENaC}$ RNAi藥劑AD04835，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天及第2天 IT給藥
7	0.10 mg/kg之與包括半胱胺酸連接子(亦即具有結構331a中所表示之結構)的結構2之三牙 $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ 整合素配體結合之 $\alpha\text{-ENaC}$ RNAi藥劑AD04835，其調配於等張生理食鹽水中。	第1天及第2天 IT給藥

【0562】 合成具有導引以靶向人類 $\alpha\text{-ENaC}$ 基因之核苷酸序列之RNAi藥劑，且其在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團($\text{NH}_2\text{-C}_6$)以有助於與 $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ 整合素配體之結合。供此實例中所用之RNAi藥劑用之核苷酸序列闡述於以上實例4中。對於第3、4、5及6組，對應 $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ 整合素配體經由如以上實例8中所示之結構331a中所描繪之包括半胱胺酸連接子之三牙骨架/連接子結構與RNAi藥劑結合。對於第2組，靶向配體包含RGD-模擬肽且包括作為藥物動力學(PK)調節劑之20kDa PEG部分及FCFP肽連接子。

【0563】 在第2至7組中之各者中使用相同 $\alpha\text{-ENaC}$ RNAi藥劑。

【0564】 各組($n=5$)對五(5)隻大鼠進行給藥。在研究第9天處死大鼠，且在採集及均質化之後自兩個肺分離全部RNA。 $\alpha\text{-ENaC}$ (SCNN1A) mRNA表現藉由基於探針之定量PCR進行定量，正規化為GAPDH表現，且表示為媒劑對照組之分數(幾何平均值， $\pm 95\%$ 信賴區間)。

表14. 實例10中處死時(第8天)之平均相對rENaC mRNA表現.

群組標識	平均相對rENaC mRNA表現	下限 (誤差)	上限 (誤差)
第1組(等張生理食鹽水)	1.000	0.164	0.196
第2組(1.0 mg/kg AD04835-Cys-PEG20kDa-FCFP-PEG ₂₀ -基於肽之上皮細胞靶向配體)	0.531	0.132	0.176
第3組(1.5 mg/kg AD04835-Cys-三牙αvβ6整合素配體結構1)	0.451	0.156	0.238
第4組(1.5 mg/kg AD04835-Cys-三牙αvβ6整合素配體結構2)	0.418	0.077	0.094
第5組(1.0 mg/kg AD04835-Cys-三牙αvβ6整合素配體結構2)	0.436	0.043	0.048
第6組(0.5 mg/kg AD04835-Cys-三牙αvβ6整合素配體結構2)	0.537	0.049	0.054
第7組(0.1 mg/kg AD04835-Cys-三牙αvβ6整合素配體結構2)	0.616	0.069	0.078

如以上表14中所示，α-ENaC RNAi試劑中之各者相比於對照展示出大鼠中mRNA表現之降低。值得注意的是，儘管不包括作為藥物動力學調節劑之大20千道爾頓PEG部分，但第5組(1.0 mg/kg AD04835-Cys-三牙αvβ6整合素配體結構2)展示與第2組(1.0 mg/kg AD04835-Cys-PEG20kDa-FCFP-PEG₂₀-基於肽之上皮細胞靶向配體)相比數值上優良的對α-ENaC表現之抑製程度(第5組=大致56%阻斷基因表現(0.436)；第2組=大致47% (0.531))。

實例11. 與αvβ6整合素配體結合之RNAi藥劑標靶α-ENaC在大鼠中之活體內口咽抽吸投與.

【0565】 在研究第1天、第2天及第3天，根據以下給藥組，使用吸管經由口咽(「OP」)抽吸投與向雄性史泊格多利大鼠給藥200微升：

表15. 實例11中之大鼠給藥組.

群組	RNAi藥劑及劑量	給藥方案
1	等張生理食鹽水(無RNAi藥劑)	在第1、2及3天各施與OP給藥
2	0.01 mg/kg之AD05453 (「裸RNAi藥劑」), 其調配於等張生理食鹽水中。	在第1、2及3天各施與OP給藥
3	0.05 mg/kg之AD05453 (「裸RNAi藥劑」), 其調配於等張生理食鹽水中	在第1、2及3天各施與OP給藥
4	0.15 mg/kg之AD05453 (「裸RNAi藥劑」), 其調配於等張生理食鹽水中	在第1、2及3天各施與OP給藥
5	0.50 mg/kg之AD05453 (「裸RNAi藥劑」), 其調配於等張生理食鹽水中	在第1、2及3天各施與OP給藥
6	0.01 mg/kg與結構6.1之三牙 $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ 整合素配體結合之AD05453, 其調配於等張生理食鹽水中。	在第1、2及3天各施與OP給藥
7	0.05 mg/kg與結構6.1之三牙 $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ 整合素配體結合之AD05453, 其調配於等張生理食鹽水中。	在第1、2及3天各施與OP給藥
8	0.15 mg/kg與結構6.1之三牙 $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ 整合素配體結合之AD05453, 其調配於等張生理食鹽水中。	在第1、2及3天各施與OP給藥
9	0.50 mg/kg與結構6.1之三牙 $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ 整合素配體結合之AD05453, 其調配於等張生理食鹽水中。	在第1、2及3天各施與OP給藥

【0566】 合成具有導引以靶向人類 $\alpha\text{-ENaC}$ 基因之核苷酸序列之RNAi藥劑，且其在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團($\text{NH}_2\text{-C}_6$)以有助於與 $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ 整合素配體之結合。供此實例中所用之RNAi藥劑用之核苷酸序列闡述於以上實例6中。對應 $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ 整合素配體經由如以上實例6中所示之結構300a中所描繪之包括戊二酸連接子之三牙骨架/連接子結構與RNAi藥劑結合。

【0567】 在第1、3、4、5、8及9組($n=5$)中之各者中對五(5)隻大鼠進行給藥，且在第2、6及7組($n=6$)中對六(6)隻大鼠進行給藥。在研究第9天處死大鼠，且在採集及均質化之後自兩個肺分離全部RNA。 $\alpha\text{-ENaC}$ (SCNN1A) mRNA表現藉由基於探針之定量PCR進行定量，正規化為GAPDH表現，且表示為媒劑對照組之分數(幾何平均值， $\pm$ 95%信賴區間)。

表16. 實例11中處死時(第9天)之平均相對rENaC mRNA表現.

群組標識	平均相對rENaC mRNA表現	下限 (誤差)	上限 (誤差)
第1組(等張生理食鹽水)	1.000	0.199	0.249
第2組(0.01 mg/kg AD05347 (裸))	1.016	0.219	0.279
第3組(0.05 mg/kg AD05347 (裸))	0.881	0.157	0.192
第4組(0.15 mg/kg AD05347 (裸))	0.638	0.179	0.250
第5組(0.50 mg/kg AD05347 (裸))	0.354	0.076	0.097
第6組(0.01 mg/kg AD05453-戊二酸-三牙 $\alpha\beta6$ 整合素配體結構6.1)	0.646	0.058	0.063
第7組(0.05 mg/kg AD05453-戊二酸-三牙 $\alpha\beta6$ 整合素配體結構6.1)	0.432	0.044	0.049
第8組(0.15 mg/kg AD05453-戊二酸-三牙 $\alpha\beta6$ 整合素配體結構6.1)	0.319	0.034	0.038
第9組(0.50 mg/kg AD05453-戊二酸-三牙 $\alpha\beta6$ 整合素配體結構6.1)	0.254	0.043	0.052

【0568】 如以上表16中所示，與具有結構6.1之 $\alpha\beta6$ 整合素配體(呈三牙形式)結合之 α -ENaC RNAi藥劑中之各者展示與對照組相比大鼠中之mRNA表現降低。此外，在各劑量濃度下，與具有結構6.1之 $\alpha\beta6$ 整合素配體結合之 α -ENaC RNAi藥劑勝過裸投與之 α -ENaC RNAi藥劑，展示配體對RNAi藥劑遞送之影響。(例如比較第2及6組；第3及7組；第4及8組；及第5及9組)。

實例12. 另外 $\alpha\beta6$ 整合素配體結合活性.

【0569】 如以下表17中所報導，獲得本文中某些實例中所用之結構2、6.1、7及23之 $\alpha\beta6$ 整合素配體之另外IC50結合數據：

表17. IC50結合活性.

群組	IC50 $\alpha\beta6$ (nM)
結構2	205.4
結構6.1	1.6
結構7	381.5
結構23	759.7

【0570】 在此項技術中通常使用且已知之條件下檢測疊氮基-官能化

結構(亦即結構2b及6.1b、7b及23b)之IC50。如以上表17中所示，結構6.1展示與 $\alpha v \beta 6$ 整合素之有效結合活性(IC50 = 1.6 nM)。

實例13. 與 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體結合之RNAi藥劑標靶 α -ENaC在大鼠中之活體內口咽抽吸投與.

【0571】 在研究第1天，根據以下給藥組，使用吸管經由口咽(「OP」)抽吸投與向雄性史泊格多利大鼠給藥200微升：

表18. 實例13中之大鼠給藥組.

群組	RNAi藥劑及劑量	給藥方案
1	等張生理食鹽水(無RNAi藥劑)	在第1天施與單次OP給藥
5	(0.5 mg/kg AD05347三牙 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體結構1)	在第1天施與單次OP給藥
6	(0.5 mg/kg AD05347三牙 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體結構2)	在第1天施與單次OP給藥
7	(0.5 mg/kg AD05347三牙 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體結構5)	在第1天施與單次OP給藥

【0572】 合成具有導引以靶向人類 α -ENaC基因之核苷酸序列之RNAi藥劑，且彼等包括AD05347雙螺旋體之RNAi藥劑在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團(NH₂-C₆)以有助於與 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體之結合。用於RNAi藥劑AD05347之核苷酸序列闡述於以上實例6中。對應 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體經由如以上實例6中所示之結構300a中所描繪之包括戊二酸連接子之三牙骨架/連接子結構與RNAi藥劑結合。

【0573】 各組(n=5)對五(5)隻大鼠進行給藥。在研究第9天處死大鼠，且在採集及均質化之後自兩個肺分離全部RNA。 α -ENaC (SCNN1A) mRNA表現藉由基於探針之定量PCR進行定量，正規化為GAPDH表現，且表示為媒劑對照組之分數(幾何平均值，+/- 95%信賴區間)。

表19. 實例13中處死時(第9天)之平均相對rENaC mRNA表現.

群組標識	平均相對rENaC mRNA表現	下限 (誤差)	上限 (誤差)
第1組(等張生理食鹽水)	1.000	0.044	0.046
第5組(0.5 mg/kg AD05347三牙 α v β 6整合素配體結構1)	0.449	0.088	0.109
第6組(0.5 mg/kg AD05347三牙 α v β 6整合素配體結構2)	0.487	0.049	0.055
第7組(0.5 mg/kg AD05347三牙 α v β 6整合素配體結構5)	0.715	0.078	0.087

實例14. 與 α v β 6整合素配體結合之RNAi藥劑標靶 α -ENaC在大鼠中之活體內口咽抽吸投與.

【0574】 在研究第1天，根據以下給藥組，使用吸管經由口咽(「OP」)抽吸投與向雄性史泊格多利大鼠給藥200微升：

表20. 實例14中之大鼠給藥組.

群組	RNAi藥劑及劑量	給藥方案
1	等張生理食鹽水(無RNAi藥劑)	在第1天施與單次OP給藥
2	(0.5 mg/kg AD05347-三牙 α v β 6整合素配體結構2)	在第1天施與單次OP給藥
3	(0.5 mg/kg AD05453-三牙 α v β 6整合素配體結構6.1)	在第1天施與單次OP給藥
4	(0.5 mg/kg AD05453-三牙 α v β 6整合素配體結構6.3)	在第1天施與單次OP給藥
5	(0.5 mg/kg AD05453-三牙 α v β 6整合素配體結構6.4)	在第1天施與單次OP給藥

【0575】 合成具有導引以靶向人類 α -ENaC基因之核苷酸序列之RNAi藥劑，且彼等包括AD05347及AD05453雙螺旋體之RNAi藥劑在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團(NH₂-C₆)以有助於與 α v β 6整合素配體之結合。供此實例中所用之RNAi藥劑用之核苷酸序列闡述於以上實例6中。對應 α v β 6整合素配體經由如以上實例6中所示之結構300a中所描繪之包括戊二酸連接子之三牙骨架/連接子結構與RNAi藥劑結合。

【0576】 各組(n=4)對四(4)隻大鼠進行給藥。在研究第9天處死大鼠，且在採集及均質化之後自兩個肺分離全部RNA。α-ENaC (SCNN1A) mRNA表現藉由基於探針之定量PCR進行定量，正規化為GAPDH表現，且表示為媒劑對照組之分數(幾何平均值，+/- 95%信賴區間)。

表21. 實例14中處死時(第9天)之平均相對rENaC mRNA表現.

群組標識	平均相對rENaC mRNA表現	下限 (誤差)	上限 (誤差)
第1組(等張生理食鹽水)	1.000	0.164	0.197
第2組(0.5 mg/kg AD05347-三牙αvβ6整合素配體結構2)	0.418	0.051	0.058
第3組(0.5 mg/kg AD05453-三牙αvβ6整合素配體結構6.1)	0.472	0.071	0.084
第4組(0.5 mg/kg AD05453-三牙αvβ6整合素配體結構6.3)	0.534	0.059	0.066
第5組(0.5 mg/kg AD05453-三牙αvβ6整合素配體結構6.4)	0.620	0.105	0.127

實例15. 與αvβ6整合素配體結合之RNAi藥劑標靶α-ENaC在大鼠中之活體內口咽抽吸投與.

【0577】 在研究第1天，根據以下給藥組，使用吸管經由口咽(「OP」)抽吸投與向雄性史泊格多利大鼠給藥200微升：

表22. 實例15中之大鼠給藥組.

群組	RNAi藥劑及劑量	給藥方案
1	等張生理食鹽水(無RNAi藥劑)	在第1天施與單次OP給藥
4	(0.5 mg/kg AD05453-三牙αvβ6整合素配體結構6.1)	在第1天施與單次OP給藥
9	(0.5 mg/kg AD05453-三牙αvβ6整合素配體結構2)	在第1天施與單次OP給藥
11	(0.5 mg/kg AD05453-三牙αvβ6整合素配體結構12)	在第1天施與單次OP給藥
12	(0.5 mg/kg AD05453-三牙αvβ6整合素配體結構13)	在第1天施與單次OP給藥

【0578】 合成具有導引以靶向人類α-ENaC基因之核苷酸序列之

RNAi藥劑，該等RNAi藥劑在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團(NH₂-C₆)以有助於與αvβ6整合素配體之結合。用於RNAi藥劑AD05453之核苷酸序列闡述於以上實例6中。對應αvβ6整合素配體經由如以上實例6中所示之結構300a中所描繪之包括戊二酸連接子之三牙骨架/連接子結構與RNAi藥劑結合。

【0579】 在第1-9及12組(n=4)中之每一者中對四(4)隻大鼠進行給藥。在第10及11組(n=3)中對三(3)隻大鼠進行給藥。在研究第7天處死大鼠，且在採集及均質化之後自兩個肺分離全部RNA。α-ENaC (SCNN1A) mRNA表現藉由基於探針之定量PCR進行定量，正規化為GAPDH表現，且表示為媒劑對照組之分數(幾何平均值，+/- 95%信賴區間)。

表23. 實例15中處死時(第7天)之平均相對rENaC mRNA表現.

群組標識	平均相對rENaC mRNA表現	下限 (誤差)	上限 (誤差)
第1組(等張生理食鹽水)	1.000	0.058	0.062
第4組(0.5 mg/kg AD05453-三牙αvβ6整合素配體結構6.1)	0.606	0.217	0.338
第9組(0.5 mg/kg AD05453-三牙αvβ6整合素配體結構2)	0.705	0.136	0.169
第11組(0.5 mg/kg AD05453-三牙αvβ6整合素配體結構12)	0.703	0.093	0.108
第12組(0.5 mg/kg AD05453-三牙αvβ6整合素配體結構13)	0.711	0.086	0.098

實例16. 與αvβ6整合素配體結合之RNAi藥劑標靶α-ENaC在大鼠中之活體內口咽抽吸投與.

【0580】 在研究第1天，根據以下給藥組，使用吸管經由口咽(「OP」)抽吸投與向雄性史泊格多利大鼠給藥200微升：

表24. 實例16中之大鼠給藥組.

群組	RNAi藥劑及劑量	給藥方案
1	等張生理食鹽水(無RNAi藥劑)	在第1天施與單次OP給藥
2	(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構6.1)	在第1天施與單次OP給藥
3	(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構14)	在第1天施與單次OP給藥
4	(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構15)	在第1天施與單次OP給藥

【0581】 合成具有導引以靶向人類α-ENaC基因之核苷酸序列之RNAi藥劑，該等RNAi藥劑在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團(NH₂-C₆)以有助於與αvβ6整合素配體之結合。用於RNAi藥劑AD05453之核苷酸序列闡述於以上實例6中。對應αvβ6整合素配體經由如以上實例6中所示之結構300a中所描繪之包括戊二酸連接子之三牙骨架/連接子結構與RNAi藥劑結合。

【0582】 各組對四(4)隻大鼠進行給藥。在研究第9天處死大鼠，且在採集及均質化之後自兩個肺分離全部RNA。α-ENaC (SCNN1A) mRNA表現藉由基於探針之定量PCR進行定量，正規化為GAPDH表現，且表示為媒劑對照組之分數(幾何平均值，+/- 95%信賴區間)。

表25. 實例16中處死時(第9天)之平均相對rENaC mRNA表現.

群組標識	平均相對rENaC mRNA表現	下限(誤差)	上限(誤差)
第1組(等張生理食鹽水)	1.000	0.084	0.092
第2組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構6.1)	0.597	0.163	0.224
第3組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構14)	0.674	0.115	0.139
第4組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構15)	0.533	0.047	0.052

實例17. 與αvβ6整合素配體結合之RNAi藥劑標靶α-ENaC在大鼠中之活體

內口咽抽吸投與.

【0583】 在研究第1天，根據以下給藥組，使用吸管經由口咽 (「OP」)抽吸投與向雄性史泊格多利大鼠給藥200微升：

表26. 實例17中之大鼠給藥組.

群組	RNAi藥劑及劑量	給藥方案
1	等張生理食鹽水(無RNAi藥劑)	在第1天施與單次OP給藥
2	(0.5 mg/kg AD05453三牙 α v β 6整合素配體結構6.1)	在第1天施與單次OP給藥
3	(0.5 mg/kg AD05453三牙 α v β 6整合素配體結構16)	在第1天施與單次OP給藥
4	(0.5 mg/kg AD05453三牙 α v β 6整合素配體結構11)	在第1天施與單次OP給藥

【0584】 合成具有導引以靶向人類 α -ENaC基因之核苷酸序列之RNAi藥劑，該等RNAi藥劑在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團(NH₂-C₆)以有助於與 α v β 6整合素配體之結合。用於RNAi藥劑AD05453之核苷酸序列闡述於以上實例6中。對應 α v β 6整合素配體經由如以上實例6中所示之結構300a中所描繪之包括戊二酸連接子之三牙骨架/連接子結構與RNAi藥劑結合。

【0585】 各組對五(5)隻大鼠進行給藥，但其中第4組改對四(4)隻大鼠進行給藥。在研究第9天處死大鼠，且在採集及均質化之後自兩個肺分離全部RNA。 α -ENaC (SCNN1A) mRNA表現藉由基於探針之定量PCR進行定量，正規化為GAPDH表現，且表示為媒劑對照組之分數(幾何平均值，+/- 95%信賴區間)。

表27. 實例17中處死時(第9天)之平均相對rENaC mRNA表現.

群組標識	平均相對rENaC mRNA表現	下限 (誤差)	上限 (誤差)
第1組(等張生理食鹽水)	1.000	0.195	0.242
第2組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構6.1)	0.489	0.168	0.257
第3組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構16)	0.872	0.104	0.118
第4組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構11)	0.625	0.126	0.158

實例18. 與αvβ6整合素配體結合之RNAi藥劑標靶α-ENaC在大鼠中之活體內口咽抽吸投與.

【0586】 在研究第1天，根據以下給藥組，使用吸管經由口咽(「OP」)抽吸投與向雄性史泊格多利大鼠給藥200微升：

表28. 實例18中之大鼠給藥組.

群組	RNAi藥劑及劑量	給藥方案
1	等張生理食鹽水(無RNAi藥劑)	在第1天施與單次OP給藥
2	(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構6.1)	在第1天施與單次OP給藥
3	(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構17)	在第1天施與單次OP給藥
4	(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構15)	在第1天施與單次OP給藥

【0587】 合成具有導引以靶向人類α-ENaC基因之核苷酸序列之RNAi藥劑，該等RNAi藥劑在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團(NH₂-C₆)以有助於與αvβ6整合素配體之結合。用於RNAi藥劑AD05453之核苷酸序列闡述於以上實例6中。對應αvβ6整合素配體經由如以上實例6中所示之結構300a中所描繪之包括戊二酸連接子之三牙骨架/連接子結構與RNAi藥劑結合。

【0588】 各組對四(4)隻大鼠進行給藥。在研究第9天處死大鼠，且

在採集及均質化之後自兩個肺分離全部RNA。α-ENaC (SCNN1A) mRNA表現藉由基於探針之定量PCR進行定量，正規化為GAPDH表現，且表示為媒劑對照組之分數(幾何平均值，+/- 95%信賴區間)。

表29. 實例18中處死時(第9天)之平均相對rENaC mRNA表現.

群組標識	平均相對rENaC mRNA表現	下限 (誤差)	上限 (誤差)
第1組(等張生理食鹽水)	1.000	0.140	0.162
第2組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構6.1)	0.622	0.035	0.037
第3組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構17)	0.818	0.101	0.116
第4組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構15)	0.628	0.101	0.120

實例19. 與αvβ6整合素配體結合之RNAi藥劑標靶α-ENaC在大鼠中之活體內口咽抽吸投與.

【0589】 在研究第1天，根據以下給藥組，使用吸管經由口咽(「OP」)抽吸投與向雄性史泊格多利大鼠給藥200微升：

表30. 實例19中之大鼠給藥組.

群組	RNAi藥劑及劑量	給藥方案
1	等張生理食鹽水(無RNAi藥劑)	在第1天施與單次OP給藥
2	(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構6.1)	在第1天施與單次OP給藥
3	(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構15)	在第1天施與單次OP給藥
4	(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構18)	在第1天施與單次OP給藥
5	(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構19)	在第1天施與單次OP給藥
6	(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構20)	在第1天施與單次OP給藥

【0590】 合成具有導引以靶向人類α-ENaC基因之核苷酸序列之RNAi藥劑，該等RNAi藥劑在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團

(NH₂-C₆)以有助於與αvβ6整合素配體之結合。用於RNAi藥劑AD05453之核苷酸序列闡述於以上實例6中。對應αvβ6整合素配體經由如以上實例6中所示之結構300a中所描繪之包括戊二酸連接子之三牙骨架/連接子結構與RNAi藥劑結合。

【0591】 各組對四(4)隻大鼠進行給藥。在研究第9天處死大鼠，且在採集及均質化之後自兩個肺分離全部RNA。α-ENaC (SCNN1A) mRNA表現藉由基於探針之定量PCR進行定量，正規化為GAPDH表現，且表示為媒劑對照組之分數(幾何平均值，+/- 95%信賴區間)。

表31. 實例19中處死時(第9天)之平均相對rENaC mRNA表現.

群組標識	平均相對rENaC mRNA表現	下限 (誤差)	上限 (誤差)
第1組(等張生理食鹽水)	1.000	0.121	0.138
第2組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構6.1)	0.503	0.074	0.086
第3組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構15)	0.700	0.079	0.089
第4組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構18)	0.742	0.137	0.169
第5組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構19)	0.837	0.186	0.239
第6組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構20)	0.589	0.078	0.090

實例20. 與αvβ6整合素配體結合之RNAi藥劑標靶α-ENaC在大鼠中之活體內口咽抽吸投與.

【0592】 在研究第1及2天，根據以下給藥組，使用吸管經由口咽(「OP」)抽吸投與向雄性史泊格多利大鼠給藥200微升：

表32. 實例20中之大鼠給藥組.

群組	RNAi藥劑及劑量	給藥方案
1	等張生理食鹽水(無RNAi藥劑)	在第1及2天施與OP給藥
2	(0.5 mg/kg AD05453三牙 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體結構6.1)	在第1及2天施與OP給藥
3	(0.5 mg/kg AD05453三牙 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體結構22)	在第1及2天施與OP給藥
4	(0.5 mg/kg AD05453三牙 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體結構23)	在第1及2天施與OP給藥
5	(0.5 mg/kg AD05453三牙 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體結構24)	在第1及2天施與OP給藥
6	(0.5 mg/kg AD05453三牙 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體結構25)	在第1及2天施與OP給藥
7	(0.5 mg/kg AD05453三牙 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體結構15)	在第1及2天施與OP給藥

【0593】 合成具有導引以靶向人類 α -ENaC基因之核苷酸序列之RNAi藥劑，該等RNAi藥劑在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團(NH₂-C₆)以有助於與 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體之結合。用於RNAi藥劑AD05453之核苷酸序列闡述於以上實例6中。對應 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體經由如以上實例6中所示之結構300a中所描繪之包括戊二酸連接子之三牙骨架/連接子結構與RNAi藥劑結合。

【0594】 各組對四(4)隻大鼠進行給藥，但其中第1組改對三(3)隻大鼠進行給藥。在研究第9天處死大鼠，且在採集及均質化之後自兩個肺分離全部RNA。 α -ENaC (SCNN1A) mRNA表現藉由基於探針之定量PCR進行定量，正規化為GAPDH表現，且表示為媒劑對照組之分數(幾何平均值，+/- 95%信賴區間)。

表33. 實例20中處死時(第9天)之平均相對rENaC mRNA表現.

群組標識	平均相對rENaC mRNA表現	下限 (誤差)	上限 (誤差)
第1組(等張生理食鹽水)	1.000	0.164	0.197
第2組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構6.1)	0.400	0.057	0.066
第3組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構22)	0.483	0.170	0.263
第4組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構23)	0.339	0.042	0.048
第5組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構24)	0.493	0.125	0.168
第6組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構25)	0.416	0.089	0.113
第7組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構15)	0.473	0.052	0.058

實例21. 與αvβ6整合素配體結合之RNAi藥劑標靶α-ENaC在大鼠中之活體內口咽抽吸投與.

【0595】 在研究第1及2天，根據以下給藥組，使用吸管經由口咽(「OP」)抽吸投與向雄性史泊格多利大鼠給藥200微升：

表34. 實例21中之大鼠給藥組.

群組	RNAi藥劑及劑量	給藥方案
1	等張生理食鹽水(無RNAi藥劑)	在第1及2天施與OP給藥
2	(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構6.1)	在第1及2天施與OP給藥
4	(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構27)	在第1及2天施與OP給藥

【0596】 合成具有導引以靶向人類α-ENaC基因之核苷酸序列之RNAi藥劑，該等RNAi藥劑在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團(NH₂-C₆)以有助於與αvβ6整合素配體之結合。用於RNAi藥劑AD05453之核苷酸序列闡述於以上實例6中。對應αvβ6整合素配體經由如以上實例6中所示之結構300a中所描繪之包括戊二酸連接子之三牙骨架/連接子結構與RNAi藥劑結合。

【0597】 各組對五(5)隻大鼠進行給藥，但其中第2組改對六(6)隻大鼠進行給藥。在研究第9天處死大鼠，且在採集及均質化之後自兩個肺分離全部RNA。α-ENaC (SCNN1A) mRNA表現藉由基於探針之定量PCR進行定量，正規化為GAPDH表現，且表示為媒劑對照組之分數(幾何平均值，+/- 95%信賴區間)。

表35. 實例21中處死時(第9天)之平均相對rENaC mRNA表現.

群組標識	平均相對rENaC mRNA表現	下限 (誤差)	上限 (誤差)
第1組(等張生理食鹽水)	1.000	0.150	0.176
第2組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構6.1)	0.380	0.108	0.151
第4組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構27)	0.411	0.051	0.058

實例22. 與αvβ6整合素配體結合之RNAi藥劑標靶α-ENaC在大鼠中之活體內口咽抽吸投與.

【0598】 在研究第1及2天，根據以下給藥組，使用吸管經由口咽(「OP」)抽吸投與向雄性史泊格多利大鼠給藥200微升：

表36. 實例22中之大鼠給藥組.

群組	RNAi藥劑及劑量	給藥方案
1	等張生理食鹽水(無RNAi藥劑)	在第1及2天施與OP給藥
2	(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構6.1)	在第1及2天施與OP給藥
3	(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構29)	在第1及2天施與OP給藥
4	(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構30)	在第1及2天施與OP給藥
5	(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構31)	在第1及2天施與OP給藥
6	(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構32)	在第1及2天施與OP給藥
7	(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構33)	在第1及2天施與OP給藥

【0599】 合成具有導引以靶向人類α-ENaC基因之核苷酸序列之

RNAi藥劑，該等RNAi藥劑在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團(NH₂-C₆)以有助於與αvβ6整合素配體之結合。用於RNAi藥劑AD05453之核苷酸序列闡述於以上實例6中。對應αvβ6整合素配體經由如以上實例6中所示之結構300a中所描繪之包括戊二酸連接子之三牙骨架/連接子結構與RNAi藥劑結合。

【0600】 各組對四(4)隻大鼠進行給藥。在研究第9天處死大鼠，且在採集及均質化之後自兩個肺分離全部RNA。α-ENaC (SCNN1A) mRNA表現藉由基於探針之定量PCR進行定量，正規化為GAPDH表現，且表示為媒劑對照組之分數(幾何平均值，+/- 95%信賴區間)。

表37. 實例22中處死時(第9天)之平均相對rENaC mRNA表現.

群組標識	平均相對rENaC mRNA表現	下限 (誤差)	上限 (誤差)
第1組(等張生理食鹽水)	1.000	0.179	0.218
第2組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構6.1)	0.511	0.132	0.178
第3組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構29)	0.455	0.024	0.025
第4組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構30)	0.637	0.047	0.050
第5組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構31)	0.505	0.079	0.093
第6組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構32)	0.534	0.135	0.181
第7組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構33)	0.560	0.145	0.196

實例23. 與αvβ6整合素配體結合之RNAi藥劑標靶α-ENaC在大鼠中之活體內口咽抽吸投與.

【0601】 在研究第1及2天，根據以下給藥組，使用吸管經由口咽(「OP」)抽吸投與向雄性史泊格多利大鼠給藥200微升：

表38. 實例23中之大鼠給藥組.

群組	RNAi藥劑及劑量	給藥方案
1	等張生理食鹽水(無RNAi藥劑)	在第1及2天施與OP給藥
2	(0.5 mg/kg AD05453三牙 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體結構6.1)	在第1及2天施與OP給藥
3	(0.5 mg/kg AD05453三牙 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體結構29)	在第1及2天施與OP給藥
4	(0.5 mg/kg AD05453三牙 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體結構34)	在第1及2天施與OP給藥
5	(0.5 mg/kg AD05453三牙 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體結構35)	在第1及2天施與OP給藥
6	(0.5 mg/kg AD05453三牙 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體結構36)	在第1及2天施與OP給藥
7	(0.5 mg/kg AD05453三牙 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體結構37)	在第1及2天施與OP給藥

【0602】 合成具有導引以靶向人類 α -ENaC基因之核苷酸序列之RNAi藥劑，該等RNAi藥劑在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團($\text{NH}_2\text{-C}_6$)以有助於與 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體之結合。用於RNAi藥劑AD05453之核苷酸序列闡述於以上實例6中。對應 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體經由如以上實例6中所示之結構300a中所描繪之包括戊二酸連接子之三牙骨架/連接子結構與RNAi藥劑結合。

【0603】 各組對四(4)隻大鼠進行給藥。在研究第9天處死大鼠，且在採集及均質化之後自兩個肺分離全部RNA。 α -ENaC (SCNN1A) mRNA表現藉由基於探針之定量PCR進行定量，正規化為GAPDH表現，且表示為媒劑對照組之分數(幾何平均值，+/- 95%信賴區間)。

表39. 實例23中處死時(第9天)之平均相對rENaC mRNA表現.

群組標識	平均相對rENaC mRNA表現	下限 (誤差)	上限 (誤差)
第1組(等張生理食鹽水)	1.000	0.117	0.132
第2組(0.5 mg/kg AD05453三牙 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體結構6.1)	0.368	0.079	0.100
第3組(0.5 mg/kg AD05453三牙 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體結構29)	0.429	0.033	0.036

第4組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構34)	0.465	0.103	0.132
第5組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構35)	0.449	0.053	0.060
第6組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構36)	0.501	0.043	0.047
第7組(0.5 mg/kg AD05453三牙αvβ6整合素配體結構37)	0.443	0.049	0.055

其他實施例

【0604】 應理解，儘管本發明已結合其實施方式加以描述，但前述描述意欲說明且不限制由所附申請專利範圍之範疇定義的本發明之範疇。其他態樣、優點及修改屬於以下申請專利範圍之範疇內。

【序列表】

<110>	美商愛羅海德製藥公司 (ARROWHEAD PHARMACEUTICALS, INC.)	
<120>	整合素配體及其用途	
<130>	107138860	
<150>	62/580,398	
<151>	2017-11-01	
<150>	62/646,739	
<151>	2018-03-22	
<150>	62/679,549	
<151>	2018-06-01	
<160>	4	
<210>	1	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	RNAi 藥劑有義股修飾之序列	
<400>	1	
	gcugugcaac cagaacaaau a	21
<210>	2	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	RNAi 藥劑反義股修飾之序列	
<400>	2	
	uauuuguucu gguugcacag c	21
<210>	3	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<220>
<223> RNAi 藥劑有義股修飾之序列

<400> 3
ccugugcaac cagaacaaau a 21

<210> 4
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

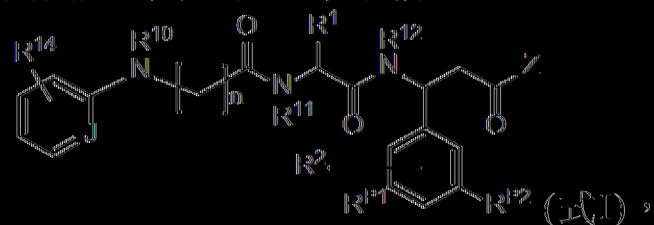
<220>
<223> RNAi 藥劑反義股修飾之序列

<400> 4
uauuuuguucu gguugcacag g 21

[(發明)申請專利範圍]

[(請求項1)]

一種 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體，其包含以下結構：



或其醫藥學上可接受之鹽，

其中，

n係0至7之整數；

J係C-H或N；

Z係OR¹³、N(R¹³)₂或SR¹³；

R¹係H、視情況經取代之C₁-C₆烷基、OH、COOH、CON(R⁵)₂、OR⁶，或R¹包含貨物分子，其中各R⁵獨立地係H或C₁-C₆烷基，且R⁶係H或C₁-C₆烷基；

R²、R^{P1}及R^{P2}各自獨立地係H、鹵基、視情況經取代之仲環烷基、視情況經取代之仲芳基、視情況經取代之仲雜環烷基，或視情況經取代之仲雜芳基，或R²、R^{P1}及R^{P2}可包含貨物分子；

R¹⁰係H或視情況經取代之烷基；

R¹¹係H或視情況經取代之烷基，或R¹¹及R¹連同其所連接之原子一起形成視情況經取代之雜環；

R¹²係H或視情況經取代之烷基；

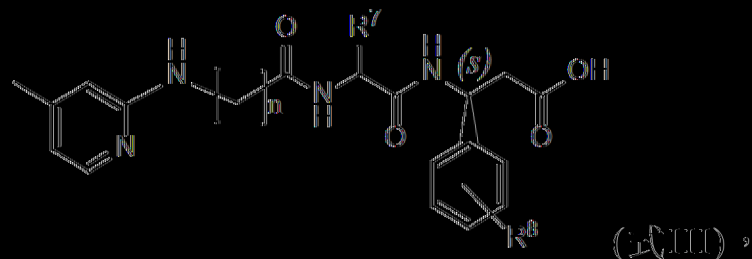
各R¹³獨立地係H、視情況經取代之烷基，或R¹³包含貨物分子；

R¹⁴係視情況經取代之烷基；及

其中R¹、R²、R¹³、R^{P1}及R^{P2}中之至少一者包含貨物分子。

第1頁(發明)申請專利範圍

如請求項1之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體，其包含以下結構：



或其醫藥學上可接受之鹽，

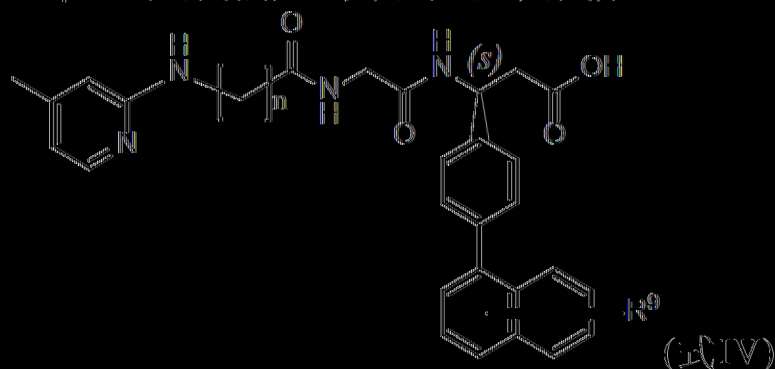
1000

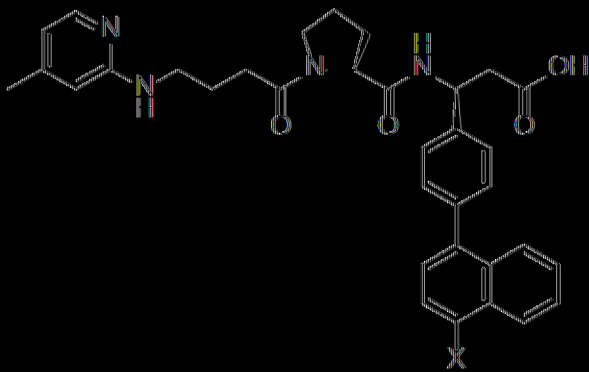
n 係1至7之整數(亦即 n 係1、2、3、4、5、6或7)：

R'包括一種或多種貨物分子；及

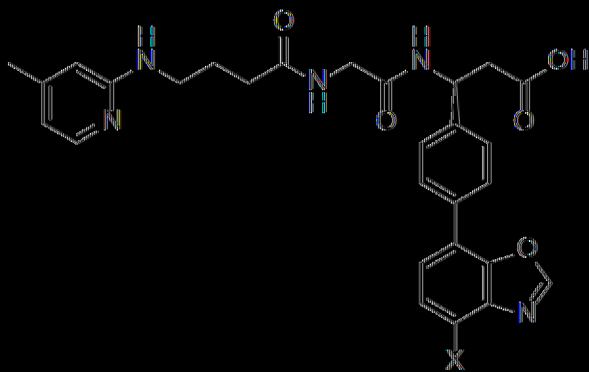
〔附米項4〕

如請求項1之 $\alpha_v\beta_6$ 整合素配體，其包含以下結構：

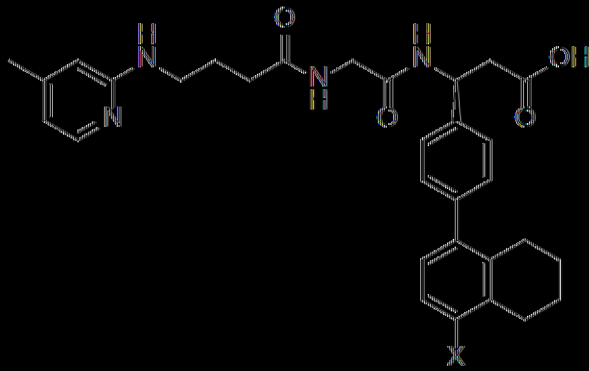




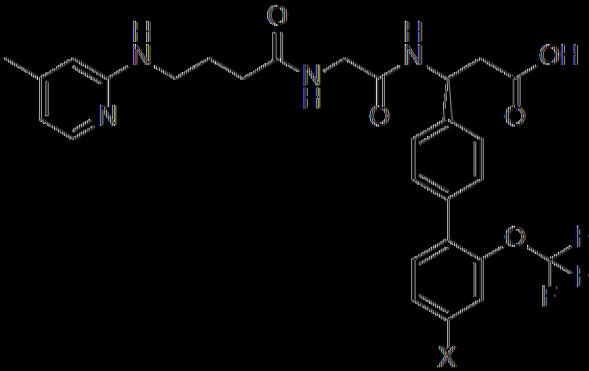
(結構11a)、



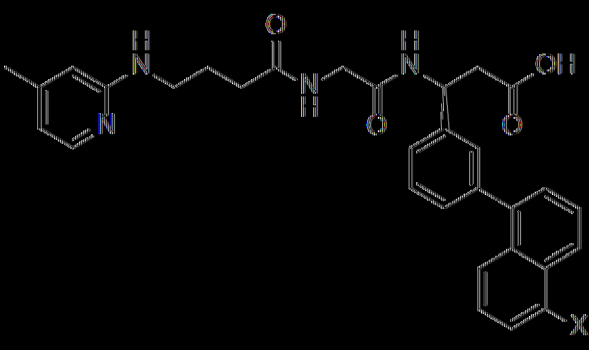
(結構12a)、



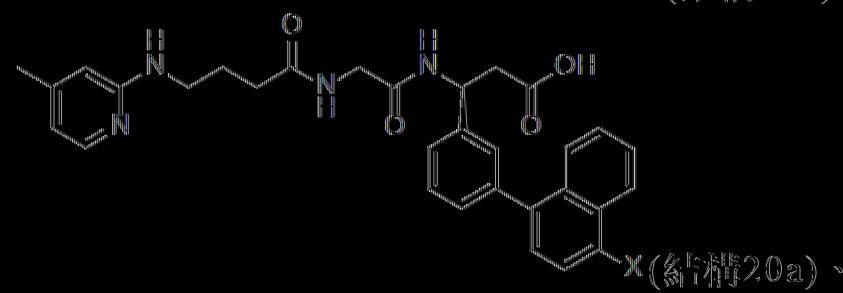
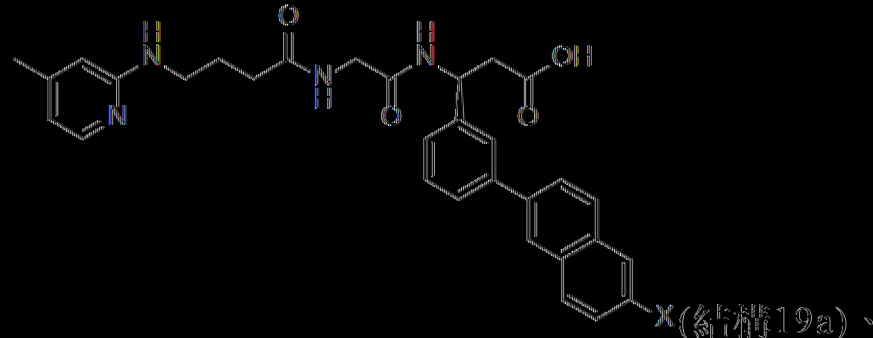
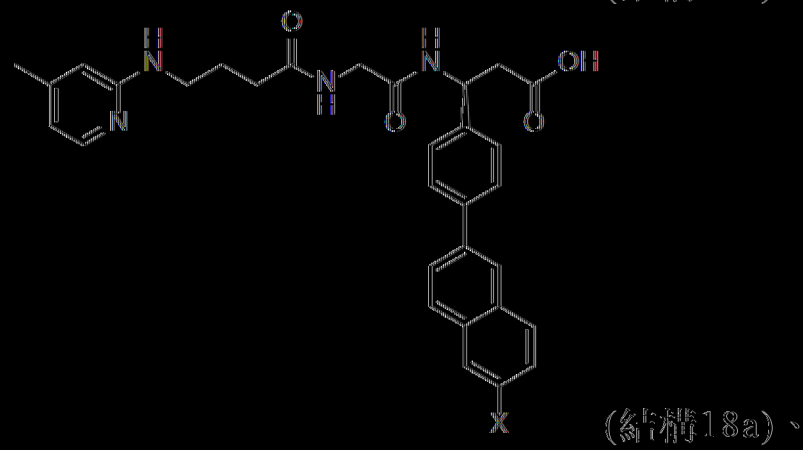
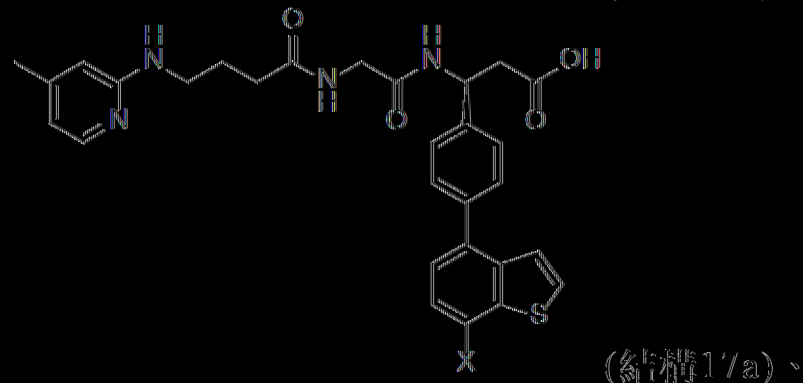
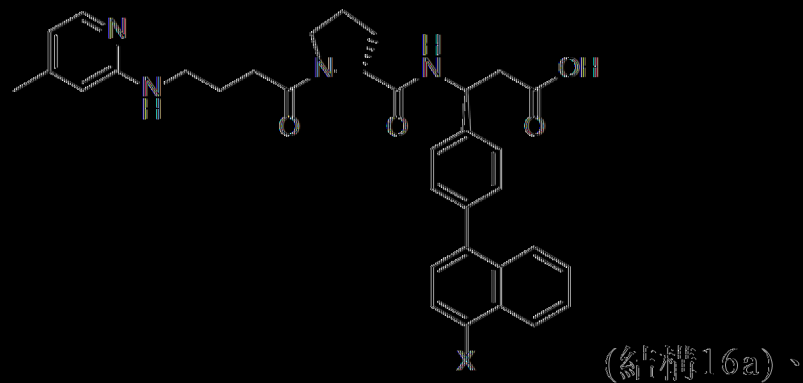
(結構13a)、

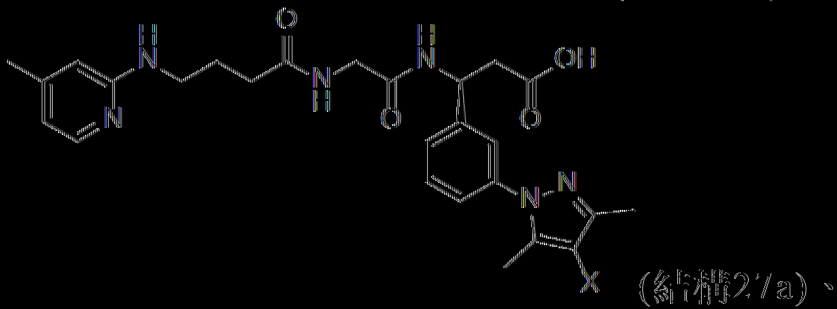
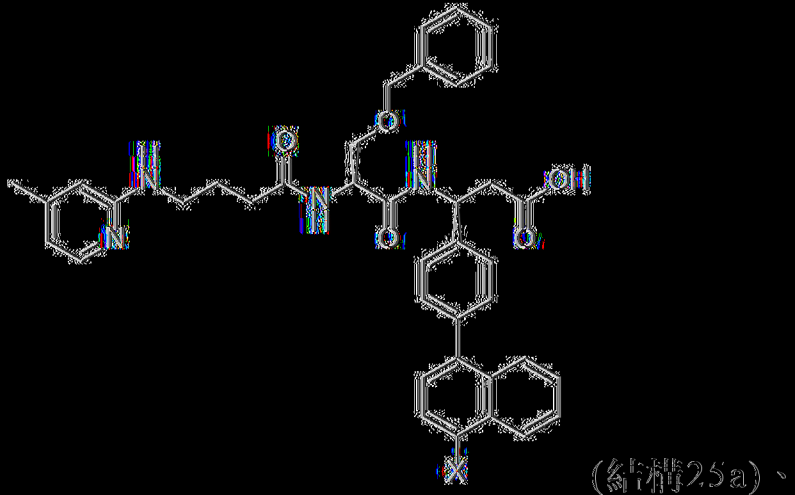
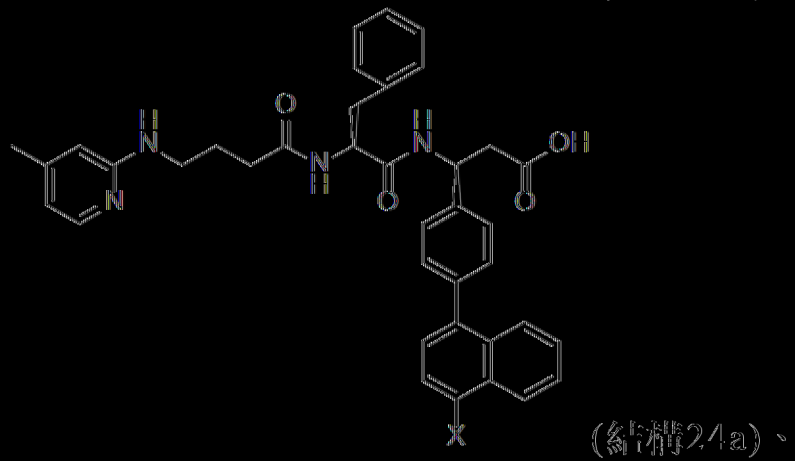
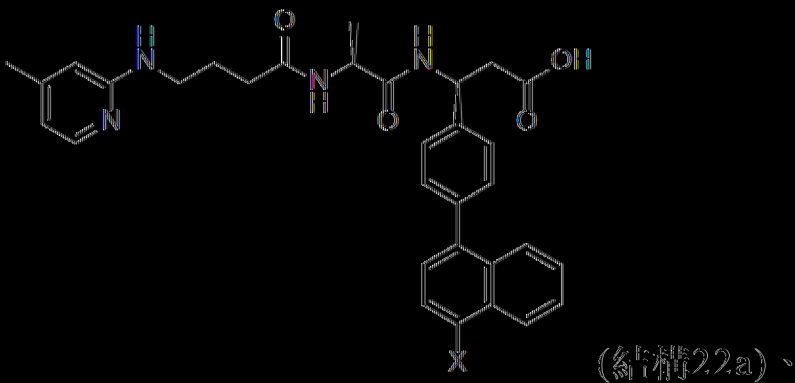


(結構14a)、



(結構15a)、



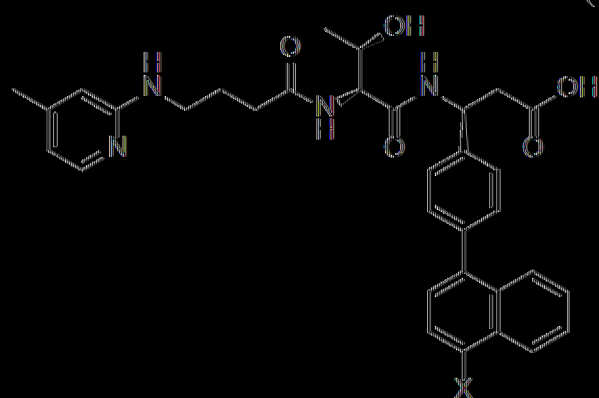




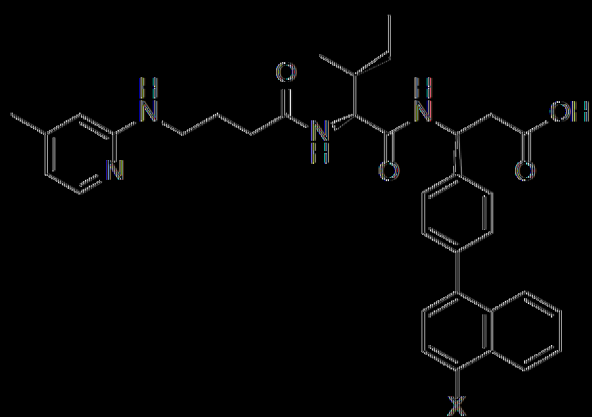
(結構33a)、



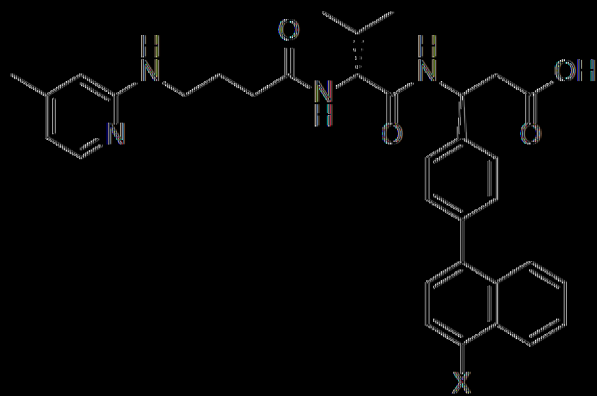
(結構34a)、



(結構35a)、



(結構36a)，及

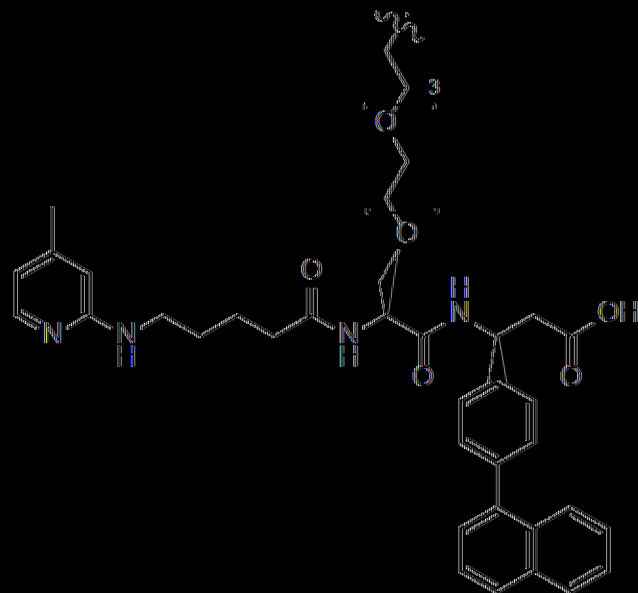


(結構3/a) 9

或其醫藥學上可接受之鹽，其中X包含貨物分子。

|(請求項8)|

種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體，其選自由以下組成之群：



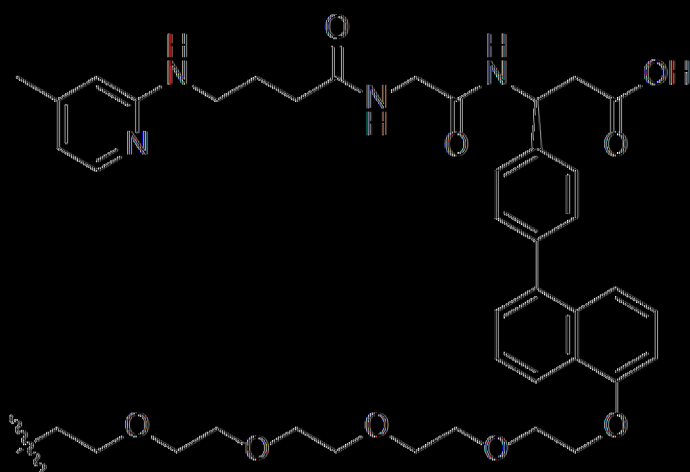
(結語1) 〇
9



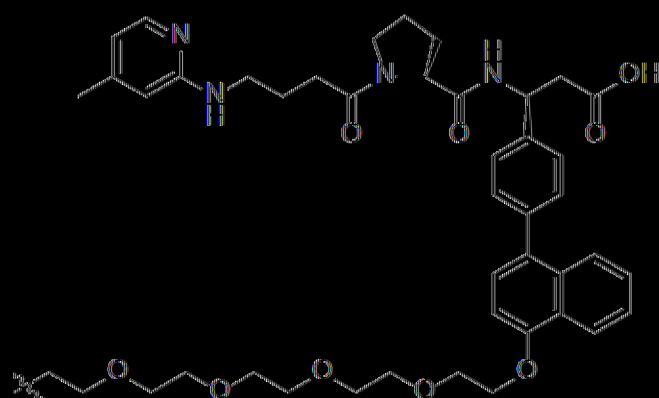
(糸洲2) 09



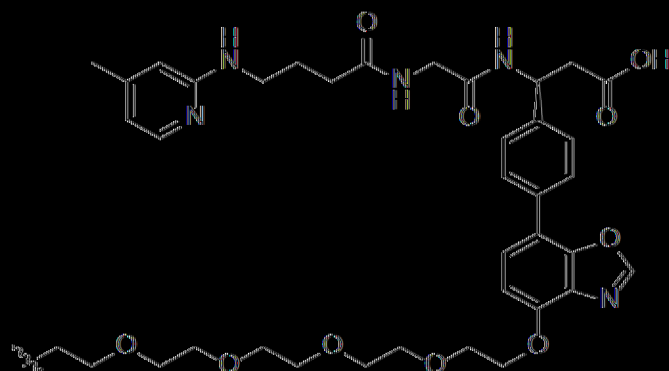
(結構9)；



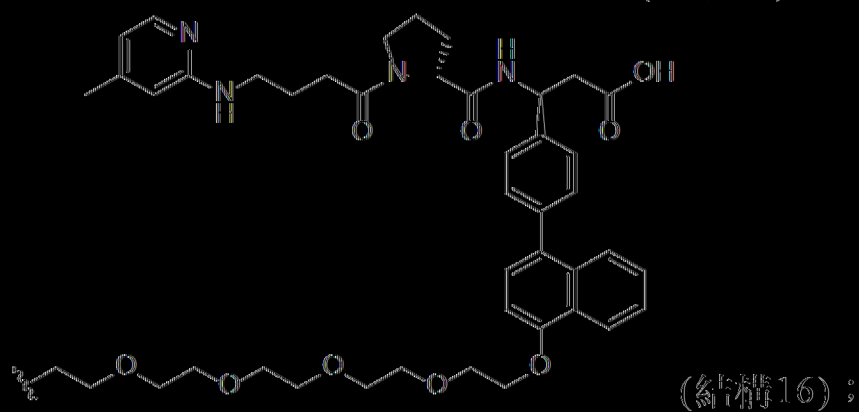
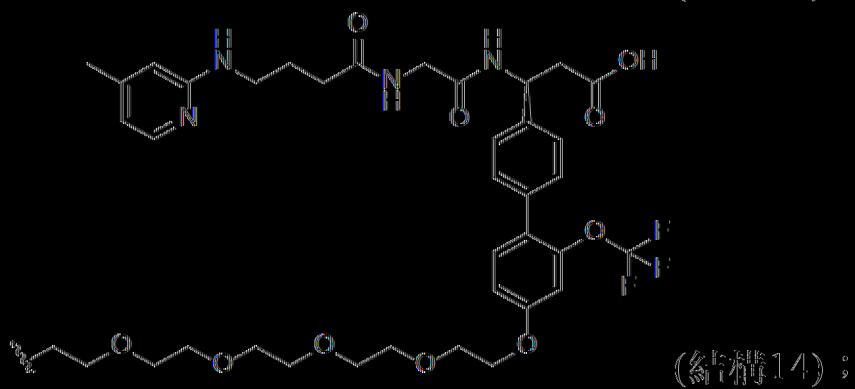
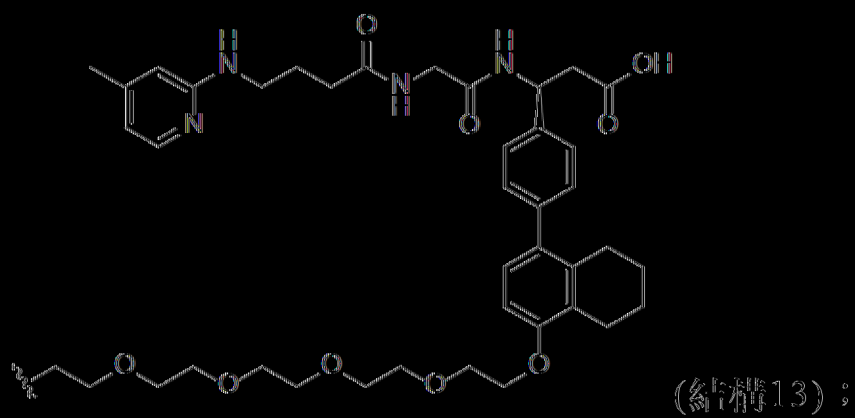
(結構10)；

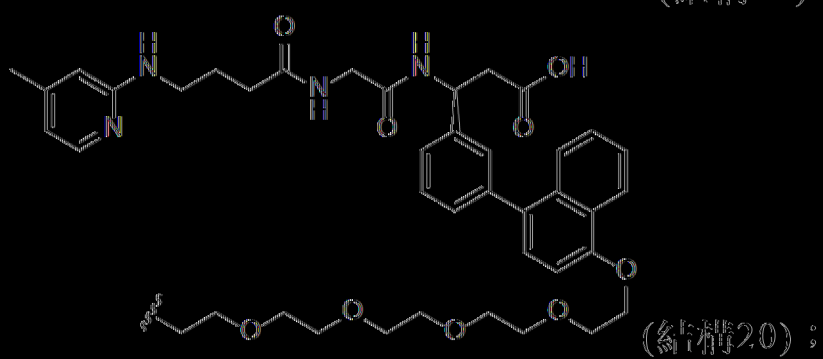
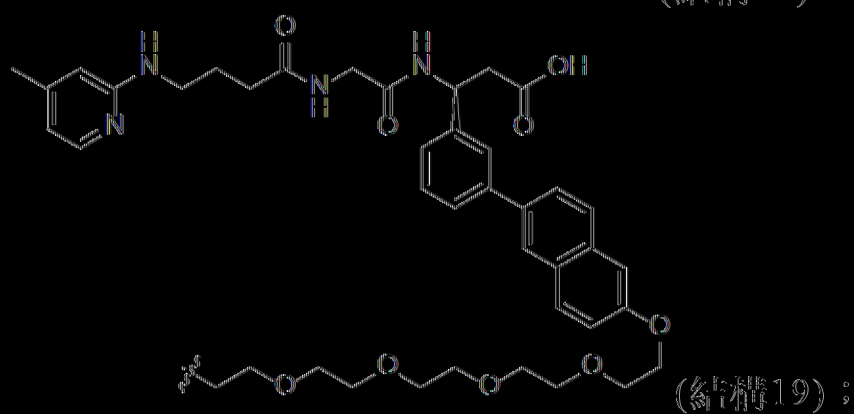
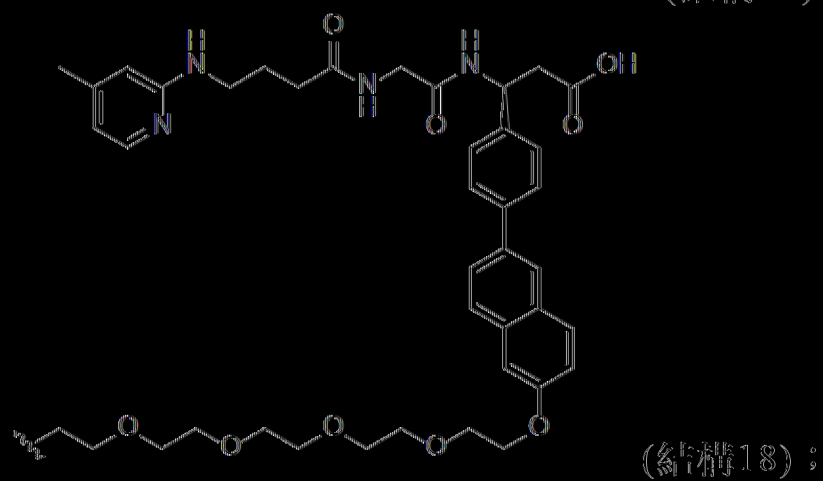
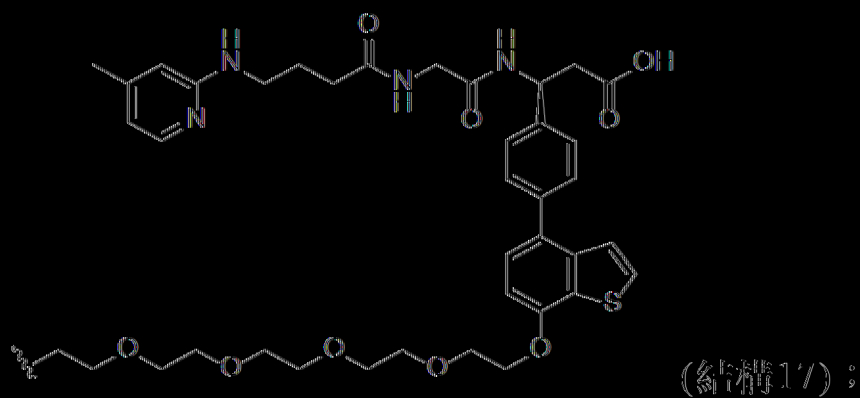


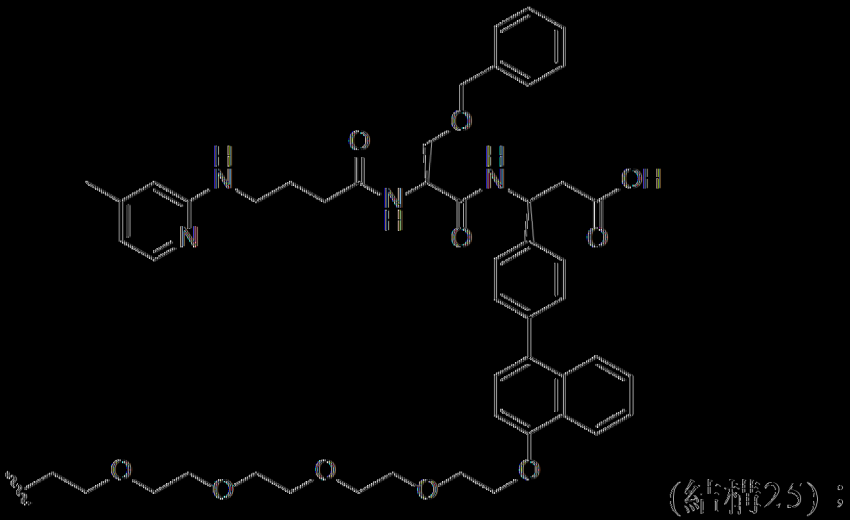
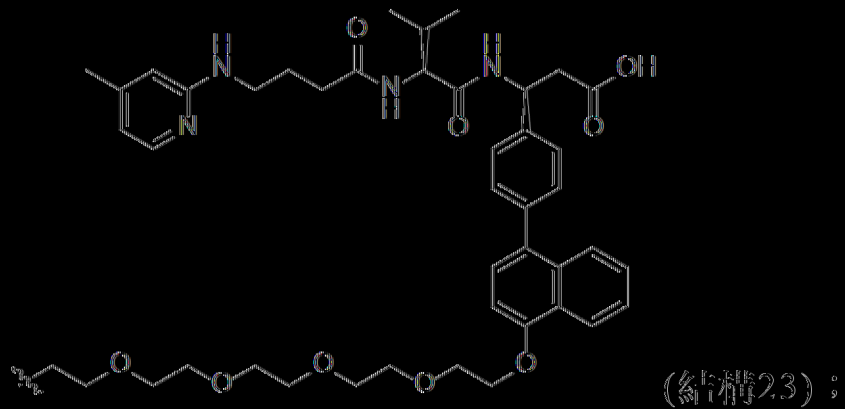
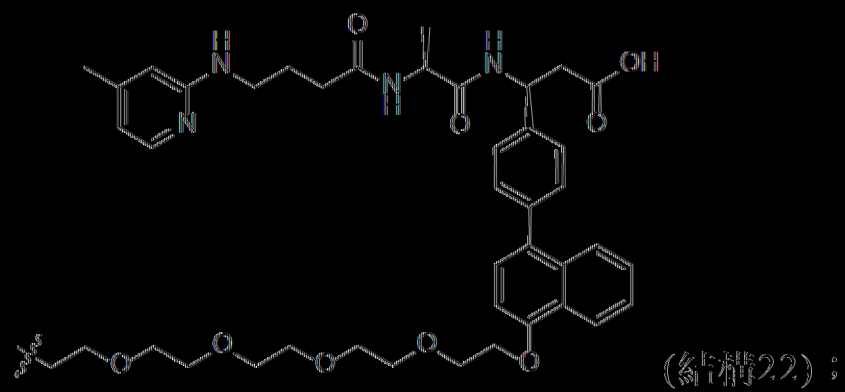
(結構11)；

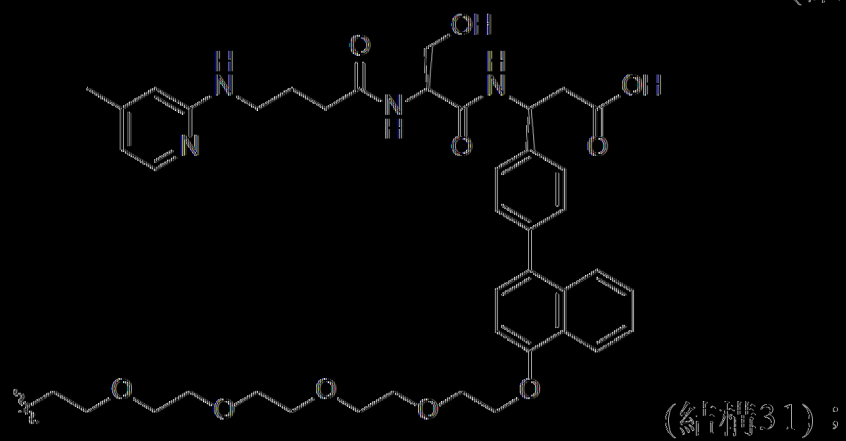
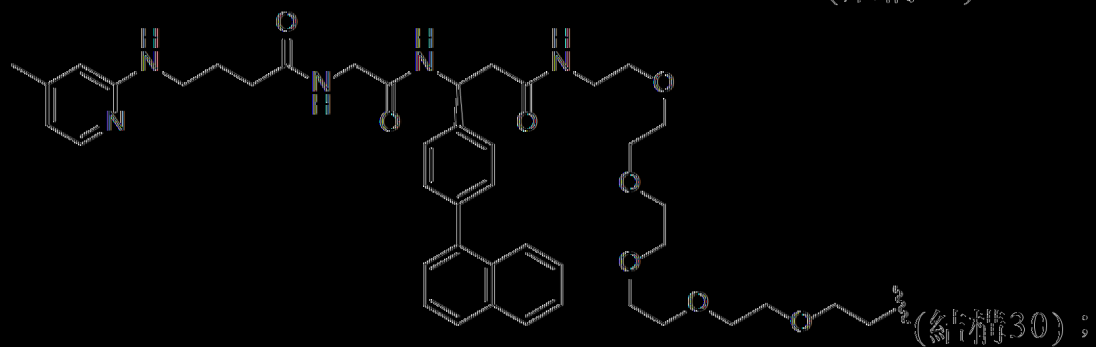
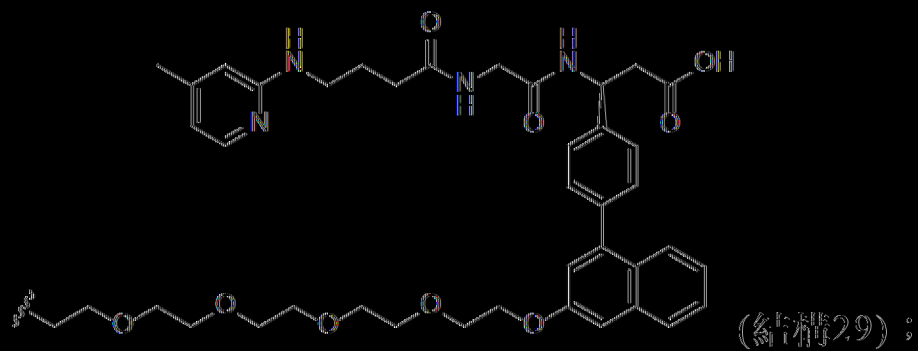
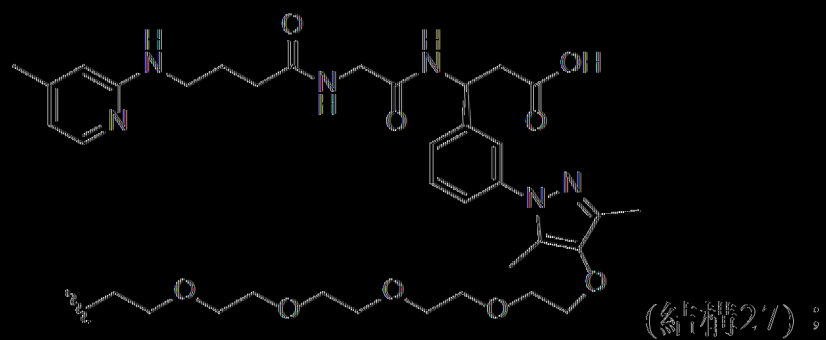


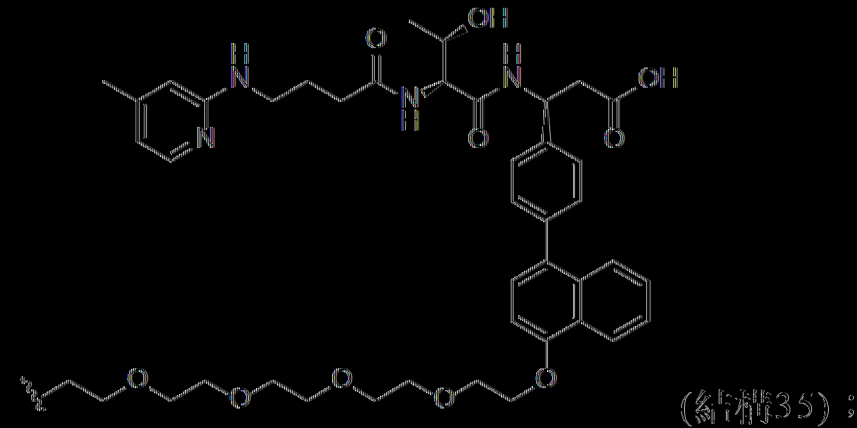
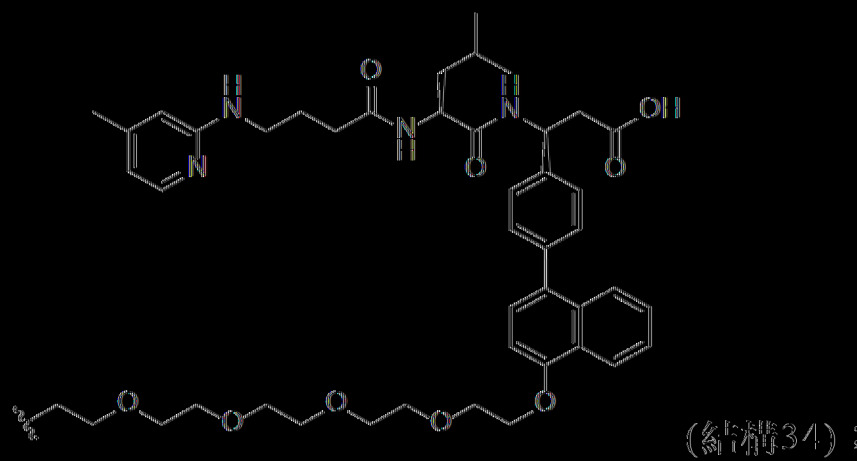
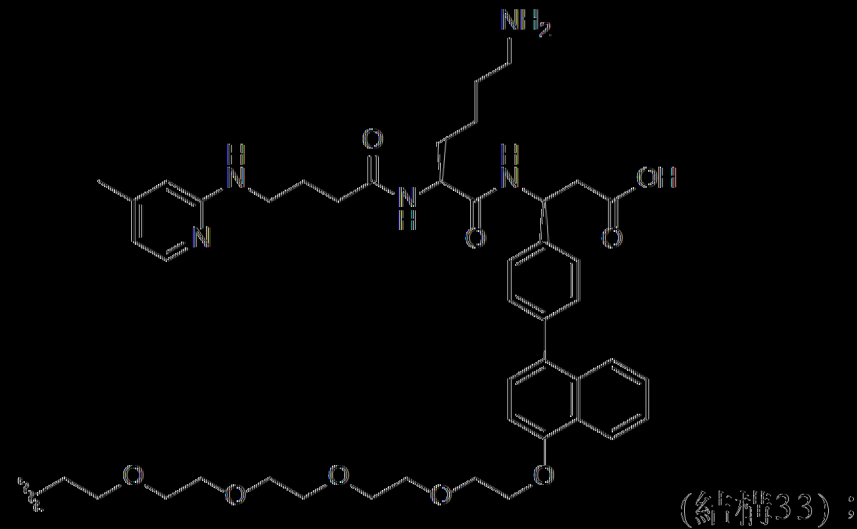
(結構12)；





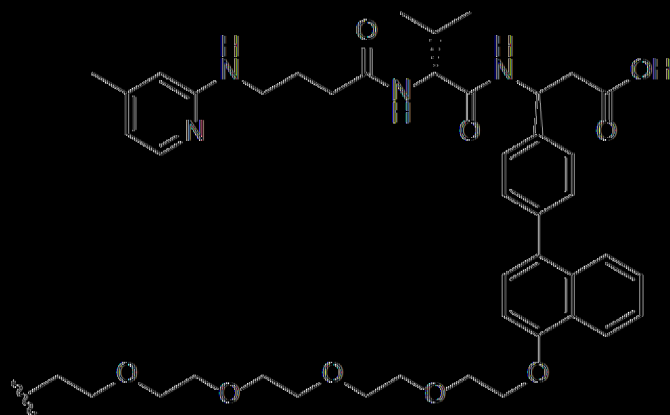








(結構36)；及



(結構37)。

或其醫藥學上可接受之鹽，其中 $\sim$ 指示與包含貨物分子之部分之連接點。

〔請求項9〕

如請求項1之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體，其中該貨物分子係活性醫藥成分或前藥。

〔請求項10〕

如請求項1之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體，其中該貨物分子包含小分子、抗體、抗體片段、免疫球蛋白、單株抗體、標籤或標記物、脂質、天然或經修飾之核酸、天然或經修飾之核酸寡核苷酸、天然或經修飾之核酸聚核苷酸、肽、適體(aptamer)、聚合物、多元胺、蛋白質、毒素、維生素、聚乙二醇、半抗原、地高辛(digoxigenin)、生物素、放射性原子或分子，或螢光團。

【請求項11】

如請求項1之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體，其中該貨物分子包含RNAi藥劑。

【請求項12】

如請求項1之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體，其進一步包含具有2-20個環氧乙烷單元之聚乙二醇連接子。

【請求項13】

一種結構，其包含如請求項1之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體、鍵聯基團及骨架，其中該結構與該貨物分子結合。

【請求項14】

如請求項13之結構，其中該結構包含呈單牙形式之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體。

【請求項15】

如請求項13之結構，其中該結構包含呈雙牙形式之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體。

【請求項16】

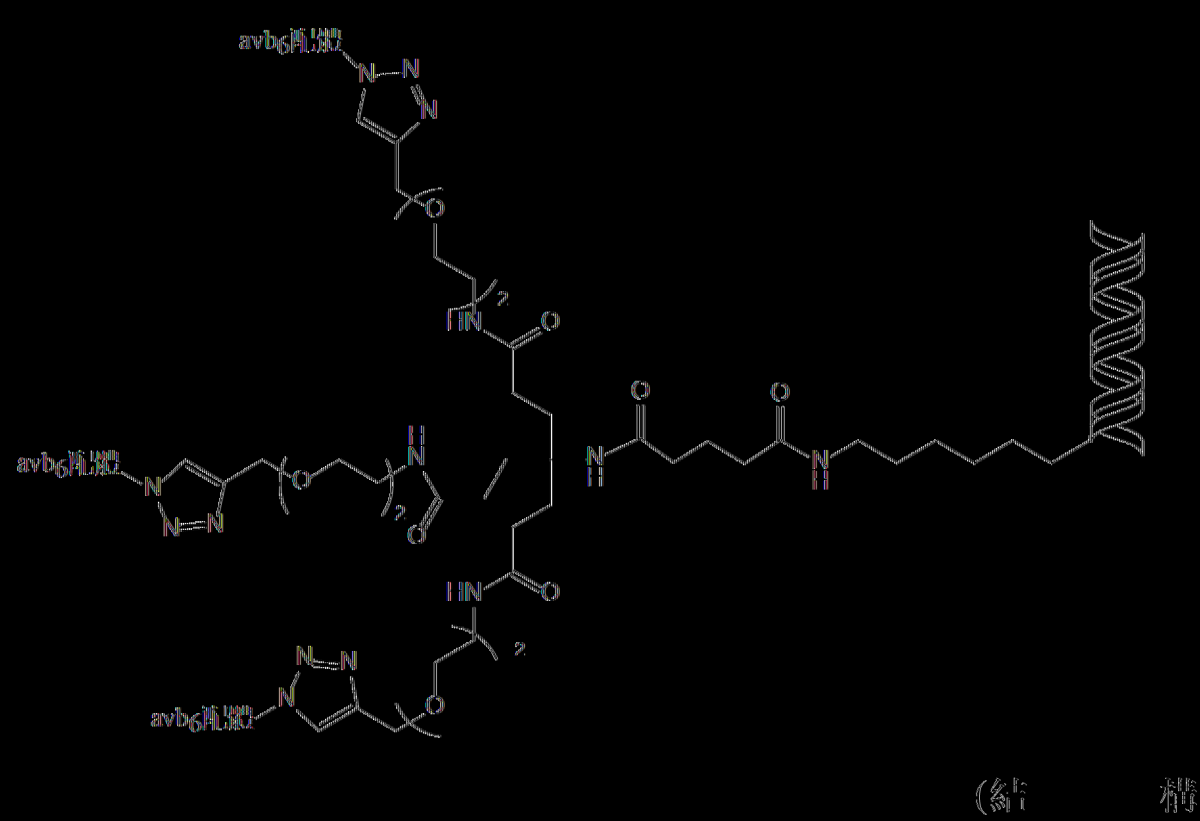
如請求項13之結構，其中該結構包含呈三牙形式之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體。

【請求項17】

如請求項13之結構，其中該結構包含呈四牙形式之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體。

【請求項18】

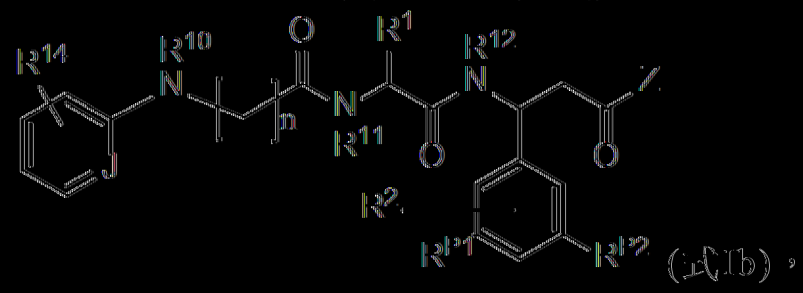
如請求項13之結構，其中該骨架具有下式：



300a)，
其中表示RNAi藥劑，且「avb6配體」表示各自配體結構及連接劑。

[請求項19]

一種 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體前驅體，其包含以下結構：



或其醫藥學上可接受之鹽，

其中，

n係0至7之整數；

J係C、H或N；

Z係 OR^{13} 、 $\text{N}(\text{R}^{13})_2$ 或 SR^{13} ；

R^1 係H、視情況經取代之 C_1 - C_6 烷基、OH、COOH、 $CON(R^5)_2$ 、 OR^6 ，或 R^1 包含與反應性基團結合之鍵聯基團，其中各 R^5 獨立地係H或 C_1 - C_6 烷基，且 R^6 係H或 C_1 - C_6 烷基；

R^2 、 R^{P1} 及 R^{P2} 各自獨立地係H、視情況經取代之伸環烷基、視情況經取代之伸芳基、視情況經取代之伸雜環烷基，或視情況經取代之伸雜芳基，或 R^2 、 R^{P1} 及 R^{P2} 可包含與反應性基團結合之鍵聯基團；

R^{10} 係H或視情況經取代之烷基；

R^{11} 係H或視情況經取代之烷基，或 R^{11} 及 R^1 連同其所連接之原子一起形成視情況經取代之雜環；

R^{12} 係H或視情況經取代之烷基；

各 R^{13} 獨立地係H、視情況經取代之烷基，或 R^{13} 包含與反應性基團結合之鍵聯基團；

R^{14} 係視情況經取代之烷基；及

其中 R^1 、 R^2 、 R^{13} 、 R^{P1} 及 R^{P2} 中之至少一者包含與反應性基團結合之鍵聯基團。

【請求項20】

如請求項19之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體前驅體，其中該鍵聯基團係PEG連接子。

【請求項21】

如請求項19之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體前驅體，其中該PEG連接子包含2-20個PEG單元。

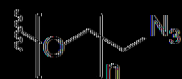
【請求項22】

如請求項19之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體前驅體，其中該反應性基團係疊氮

基。

[(請求項23)]

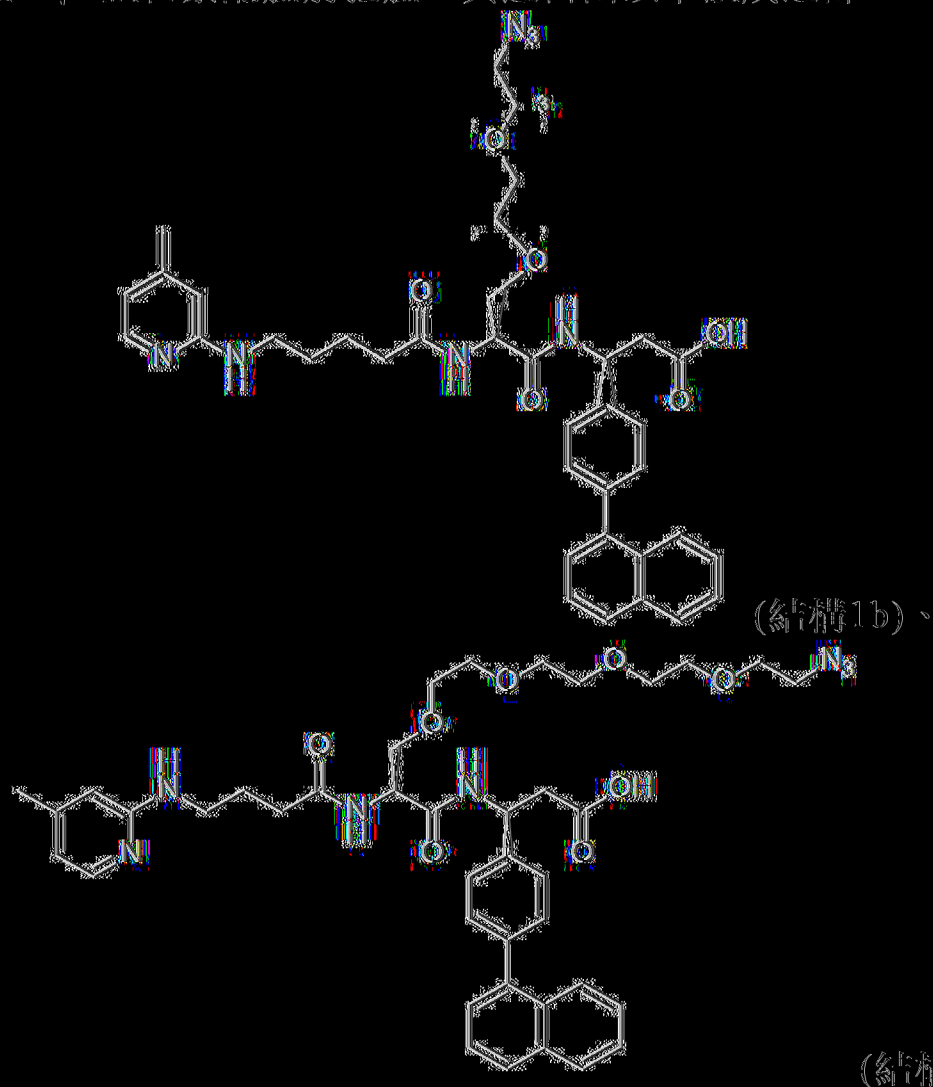
如請求項19之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體前驅體，其中與反應性基團結合之該鍵聯基團具有以下結構：

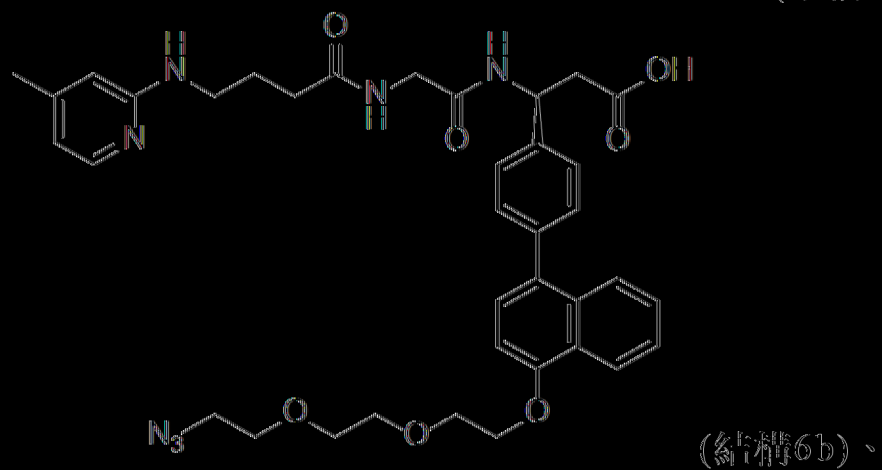
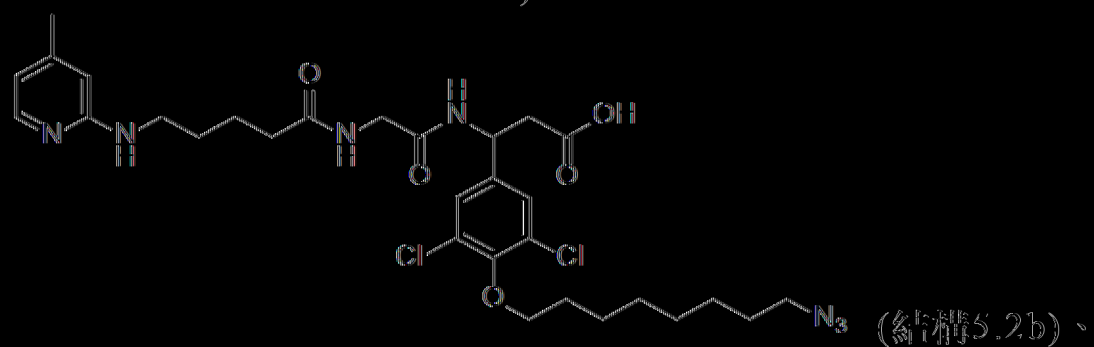
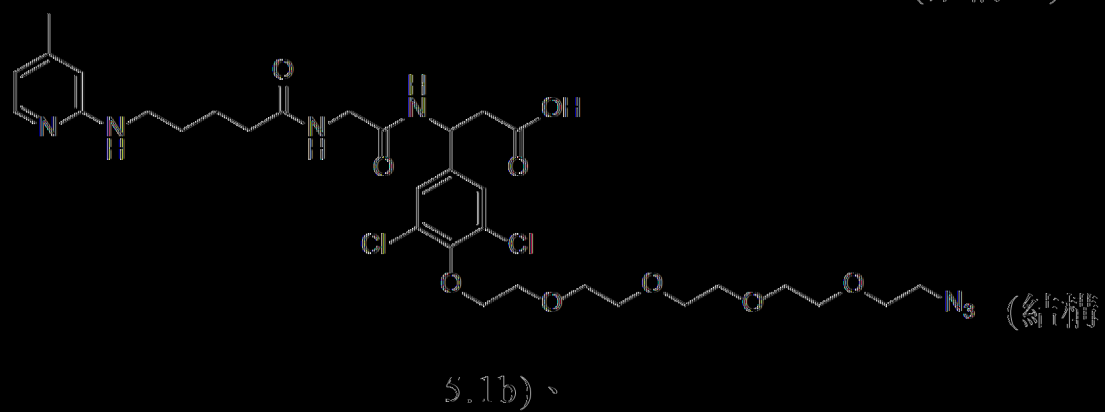
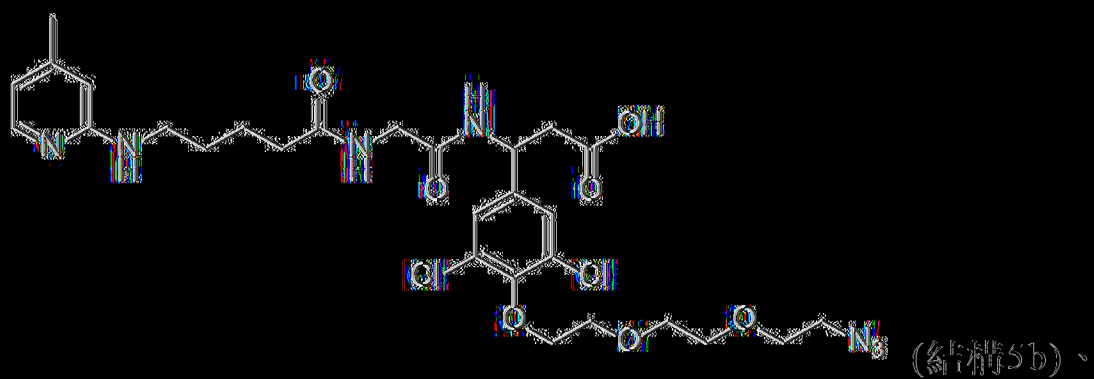


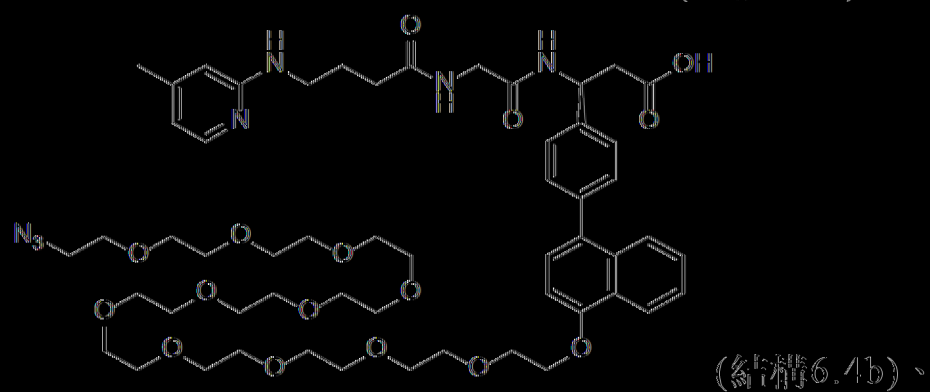
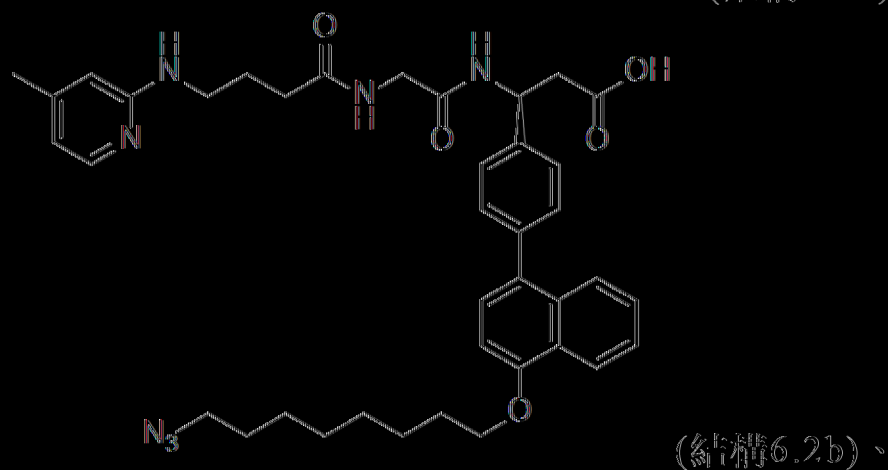
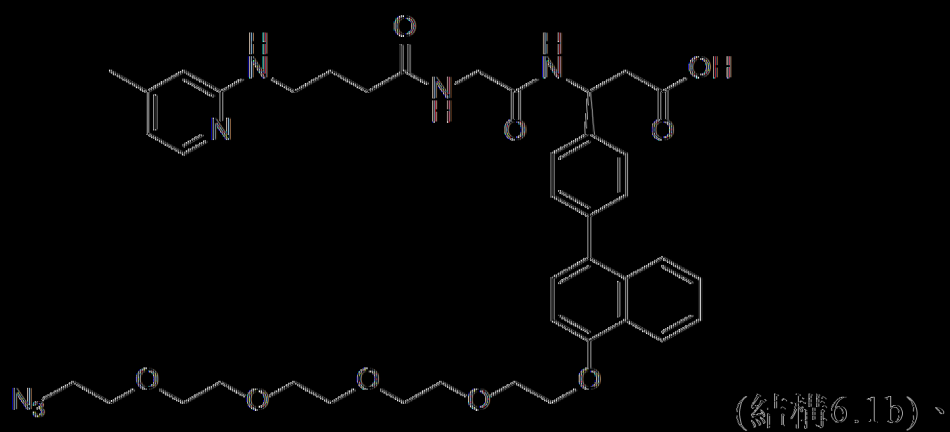
其中n係2至20之整數，且 $\sim$ 指示與該式1b結構之連接點。

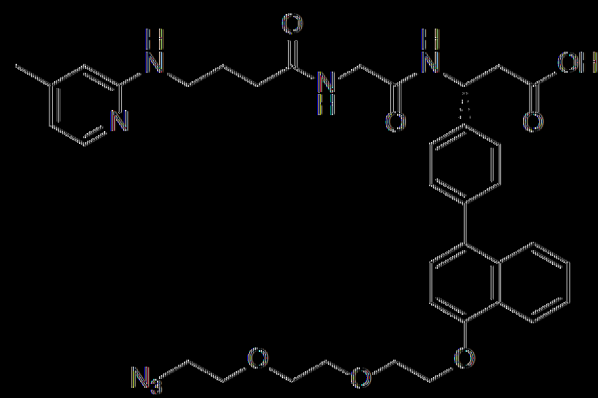
[(請求項24)]

一種 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體前驅體，其選自由以下組成之群：

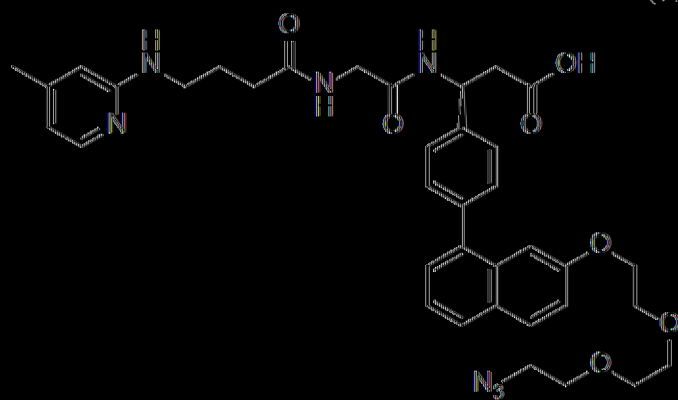








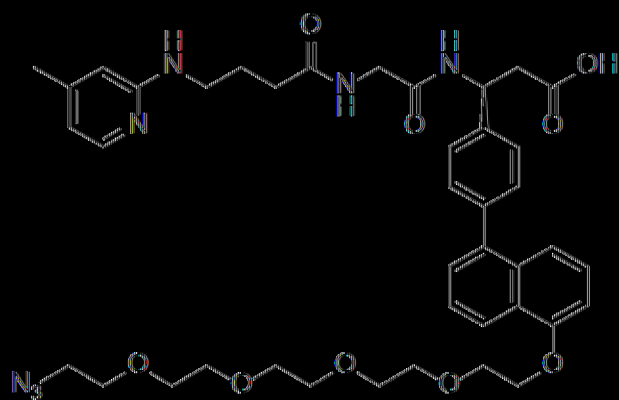
(結構7b)、



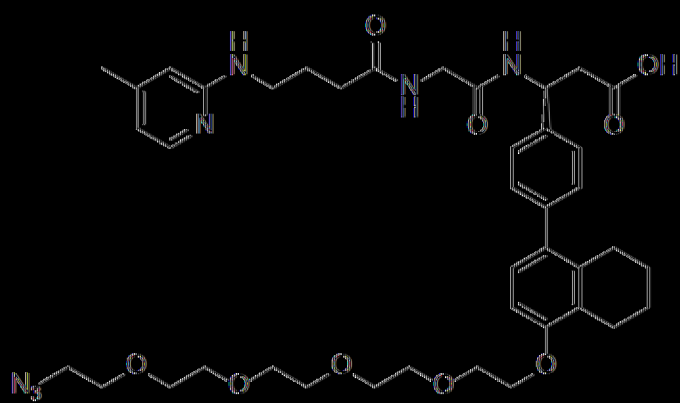
(結構8b)、

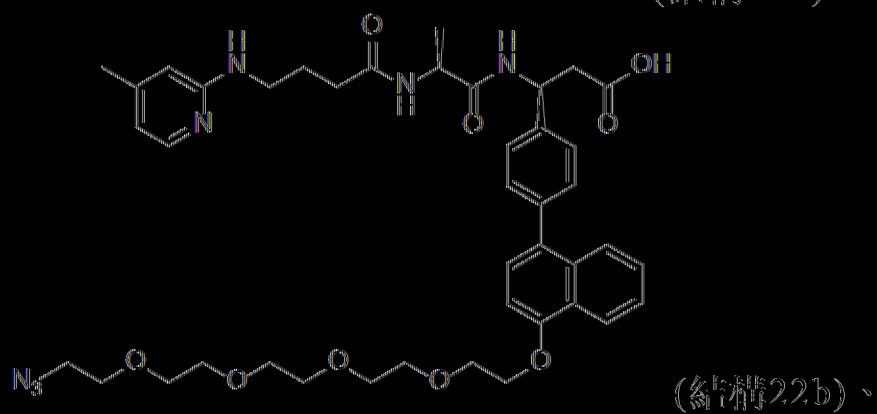
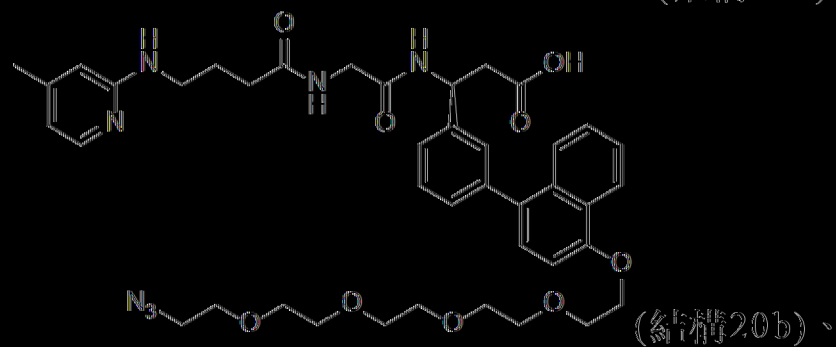


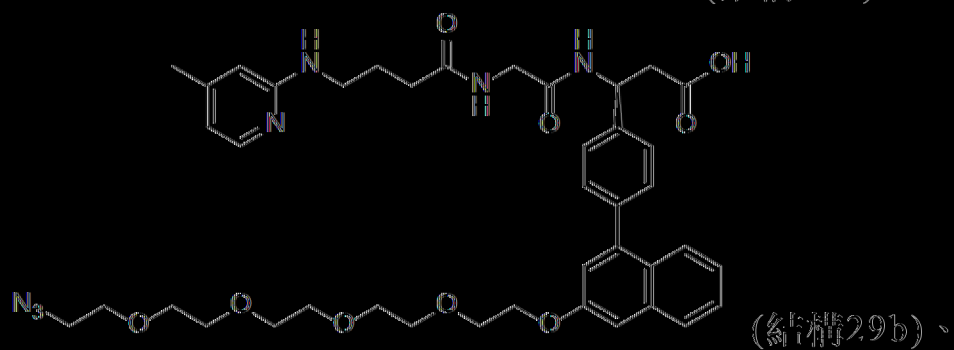
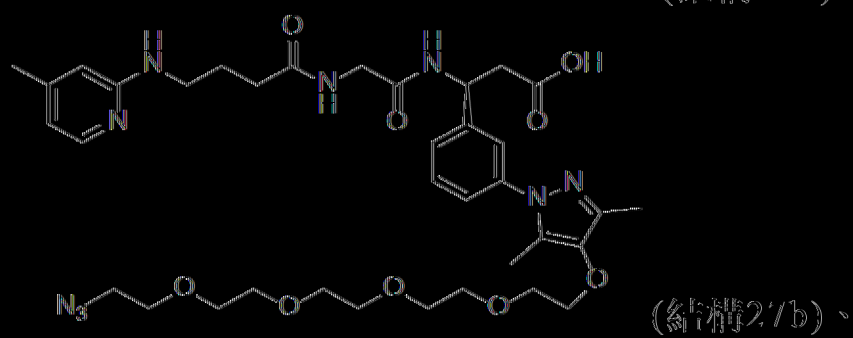
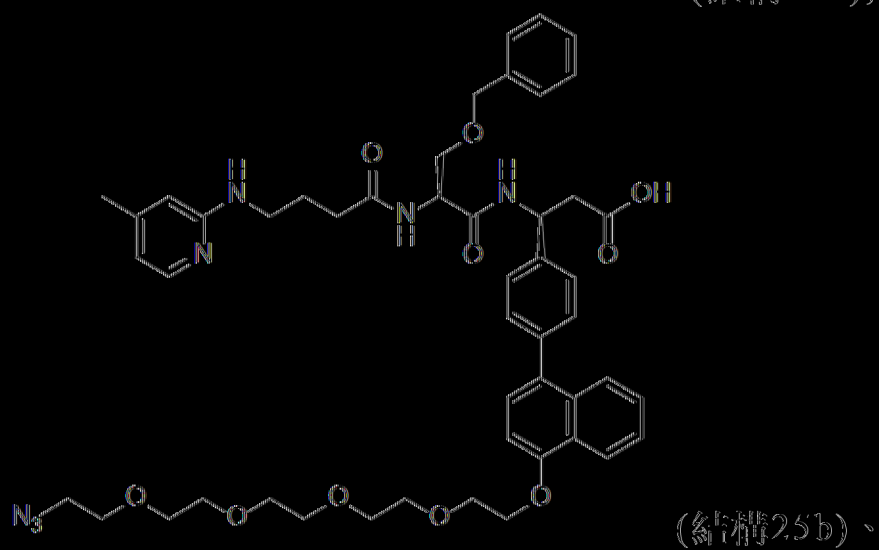
(結構9b)、

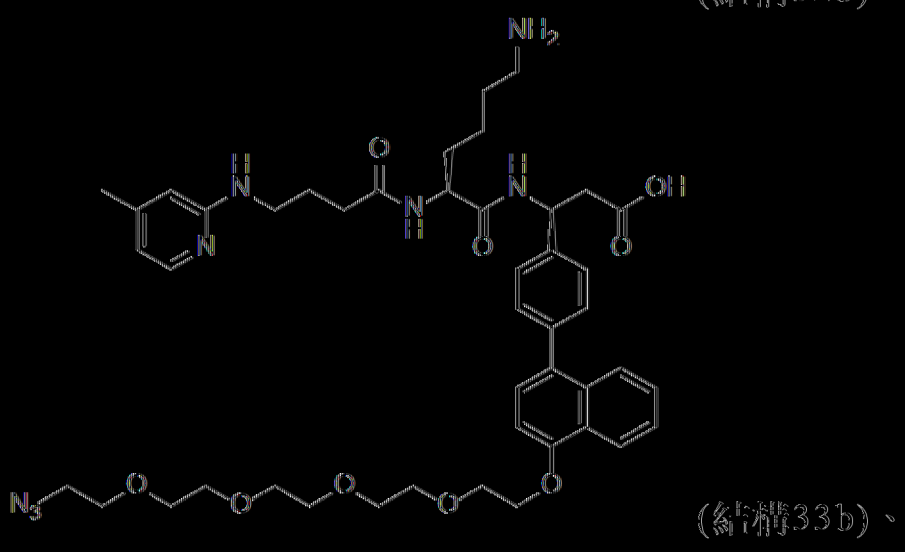
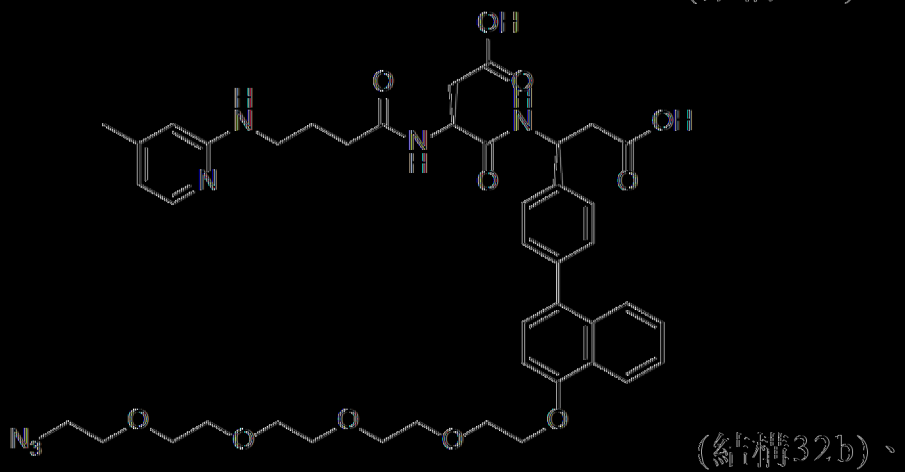
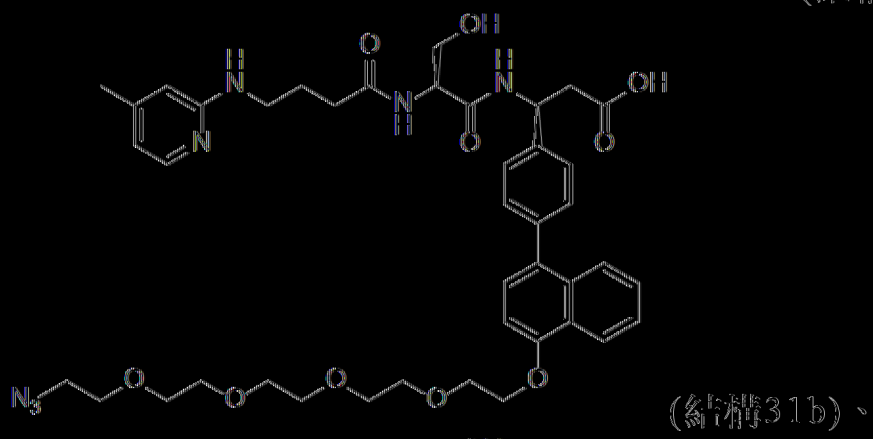
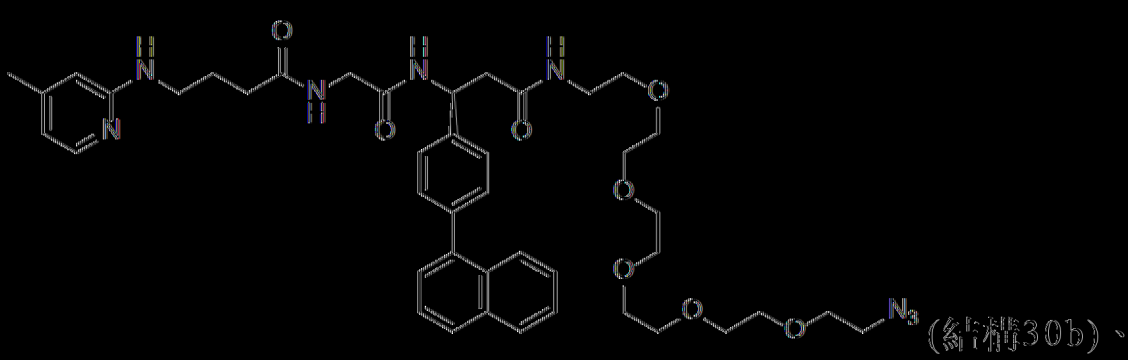


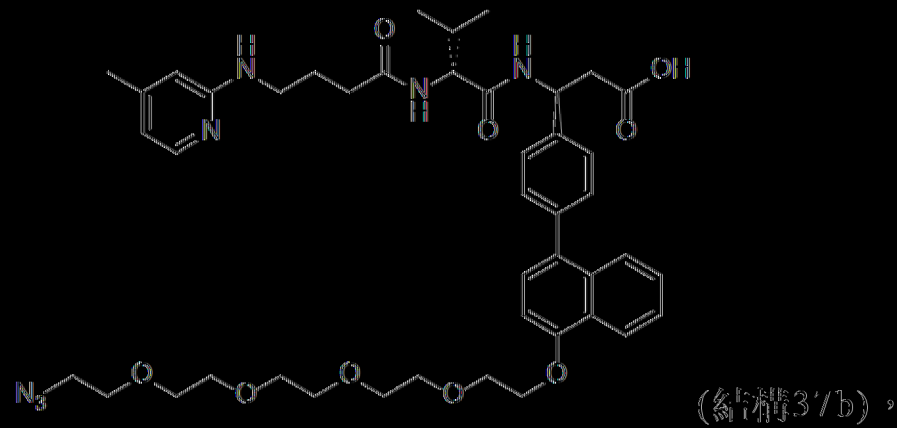
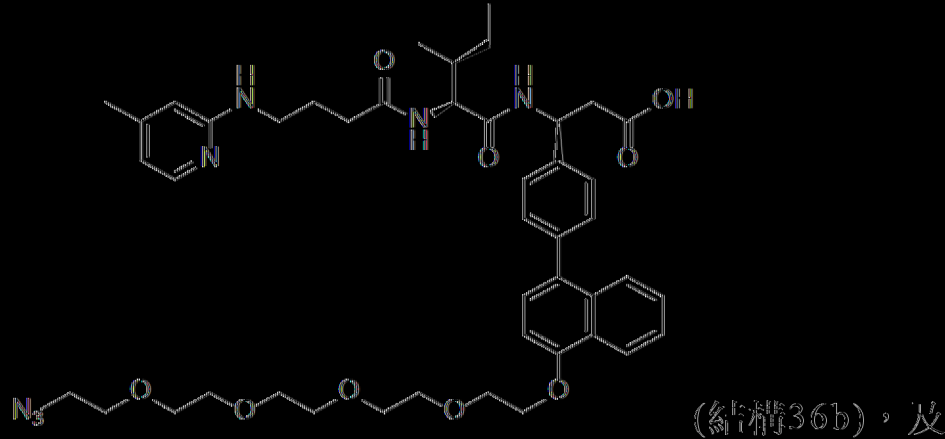
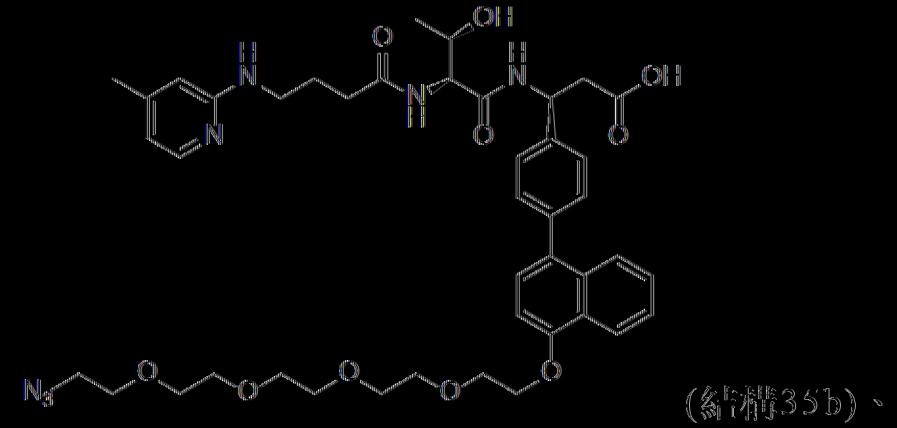
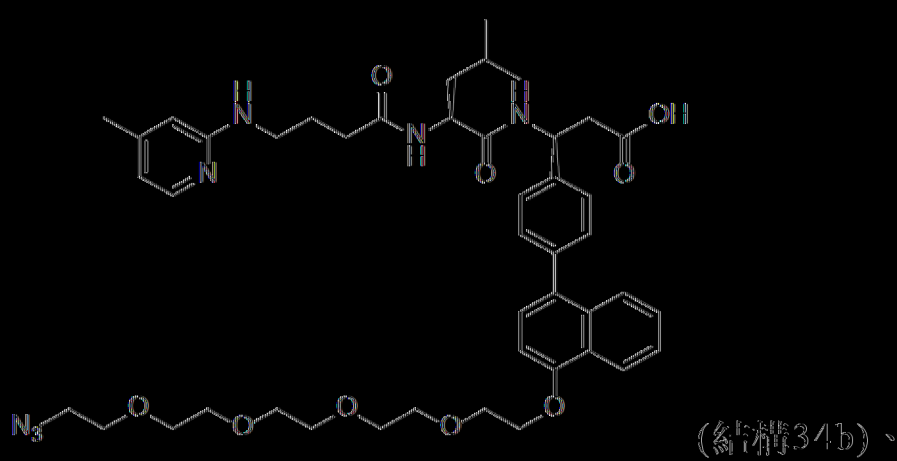
(結構10b)、











或其醫藥學上可接受之鹽。

〔請求項25〕

一種組合物，其包含如請求項1至12中任一項之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體或如請求項13至18中任一項之結構及醫藥學上可接受之賦形劑。

【請求項26】

如請求項25之組合物，其中該 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體與能夠抑制標靶基因於上皮細胞中表現的基於寡核苷酸之化合物結合。

【請求項27】

如請求項25之組合物，其中該 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體與能夠抑制標靶基因於上皮細胞中表現的RNAi藥劑結合。

【請求項28】

如請求項25之組合物，其中該 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體與能夠抑制標靶基因於小支氣管上皮細胞中表現的RNAi藥劑結合。

【請求項29】

一種如請求項1至12中任一項之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體或如請求項13至18中任一項之結構之用途，其用於製備用於將該一或多種貨物分子遞送至細胞中之藥劑。

【請求項30】

一種如請求項1至12中任一項之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體、如請求項13至18中任一項之結構或如請求項25至28中任一項之組合物之用途，其用於製備用於將該一或多種貨物分子在活體內遞送至個體細胞或組織中之藥劑。

【請求項31】

如請求項29之用途，其中該細胞選自由以下組成之群：第I型及第II型肺泡上皮細胞、杯狀細胞、分泌上皮細胞、纖毛上皮細胞、角膜及結膜上皮細胞、真皮(dermal)上皮細胞、膽管上皮細胞(cholangiocyte)、腸上

皮細胞(enterocyte)、管(ductal)上皮細胞、腺上皮細胞及上皮腫瘤(癌瘤)。

【請求項32】

如請求項29之用途，其中該一或多種貨物分子包含基於寡核苷酸之化合物。

【請求項33】

如請求項32之用途，其中該基於寡核苷酸之化合物係RNAi藥劑。

【請求項34】

一種與如請求項1至12中任一項之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體結合之基於寡核苷酸之化合物之用途，其用於製備用於活體內抑制標靶基因於細胞中表現的藥劑。

【請求項35】

如請求項34之用途，其中該細胞選自由以下組成之群：第I型及第II型肺泡上皮細胞、杯狀細胞、分泌上皮細胞、纖毛上皮細胞、角膜及結膜上皮細胞、真皮上皮細胞、膽管上皮細胞、腸上皮細胞、管上皮細胞、腺上皮細胞及上皮腫瘤(癌瘤)。

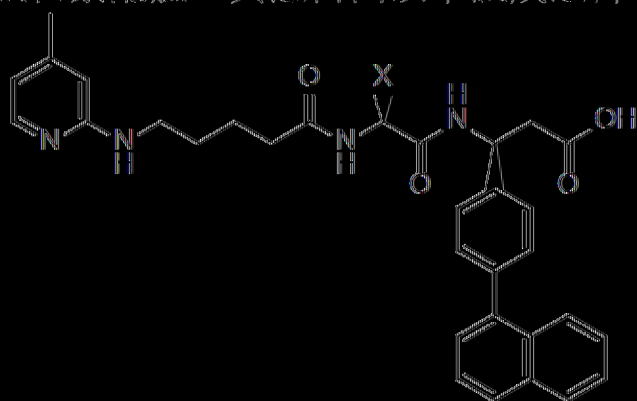
【請求項36】

如請求項34之用途，其中該基於寡核苷酸之化合物係RNAi藥劑。

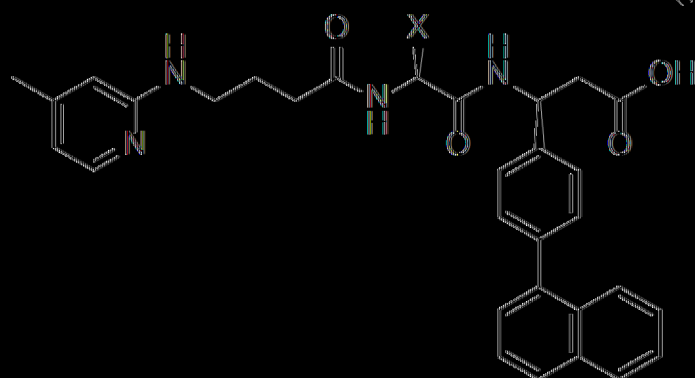
[(發明申請專利範圍)]

[(請求項1)]

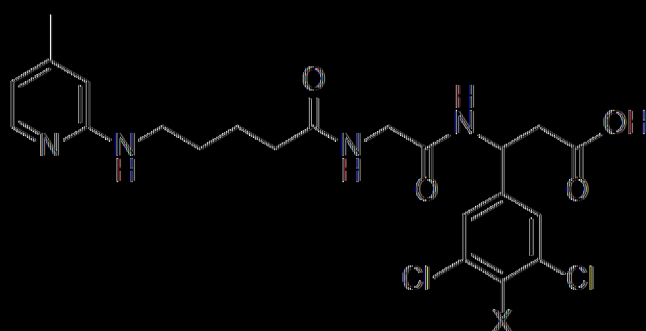
一種 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素配體，其選自由以下組成之群：



(結構1a)、



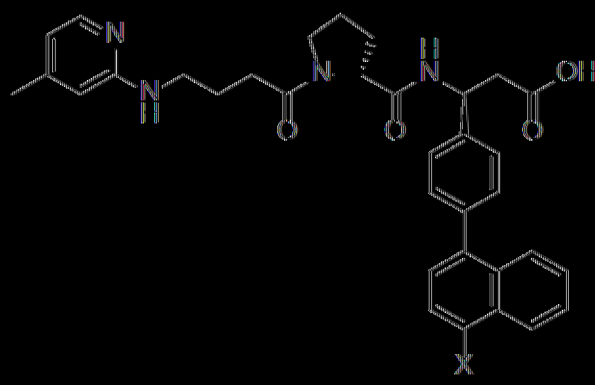
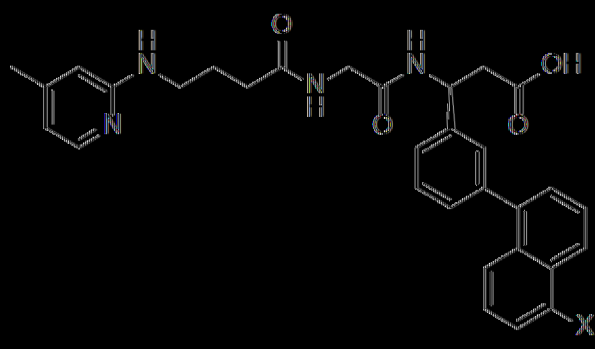
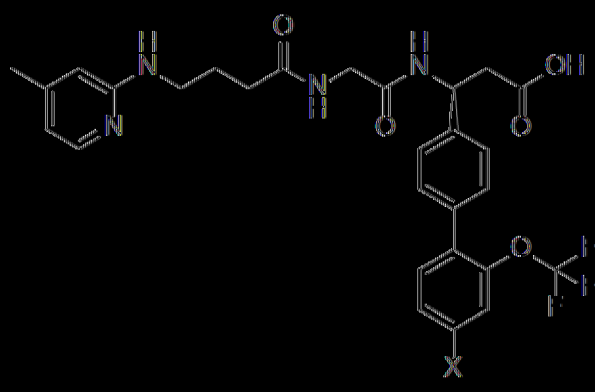
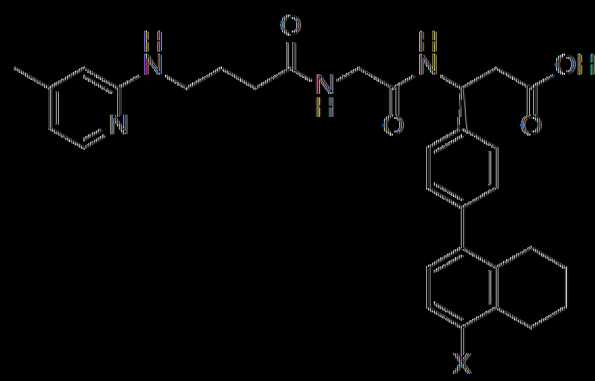
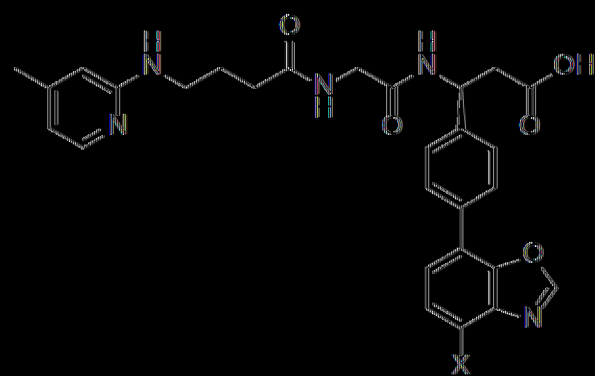
(結構2a)、



(結構5a)、

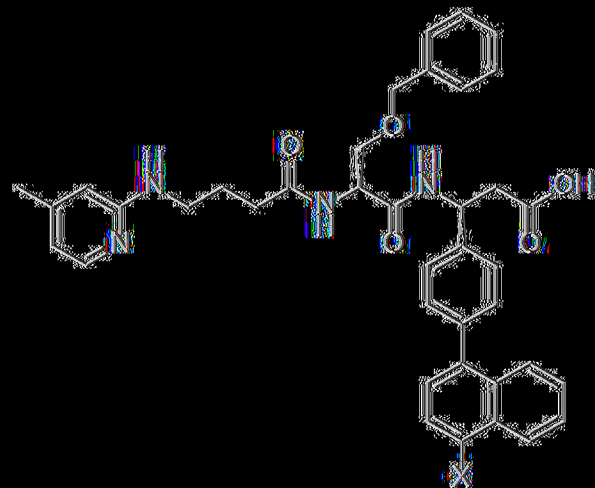


(結構6a)、

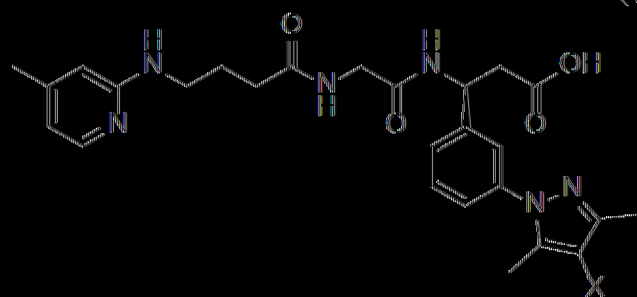




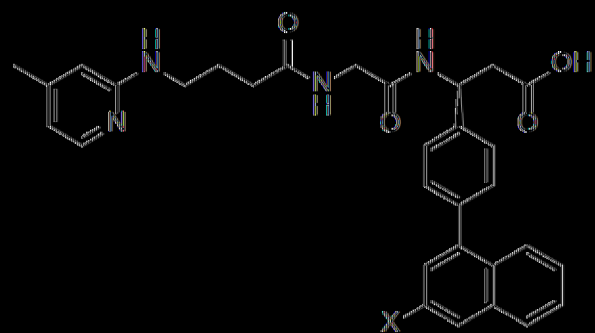
(結構24a)、



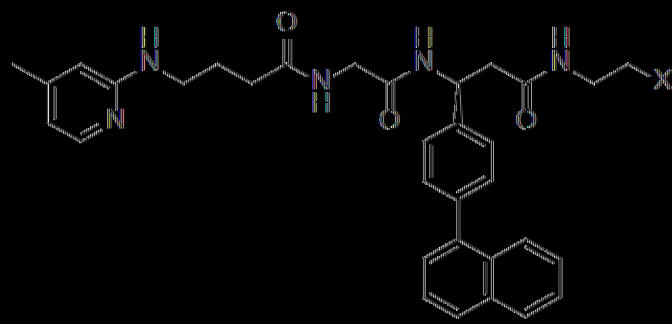
(結構25a)、



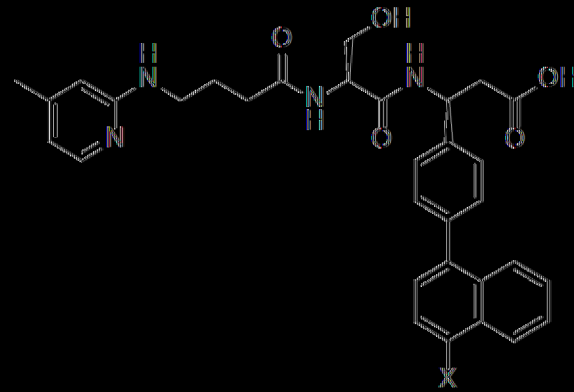
(結構27a)、



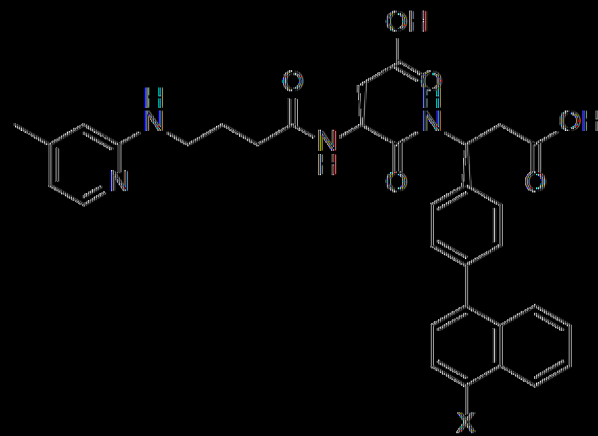
(結構29a)、



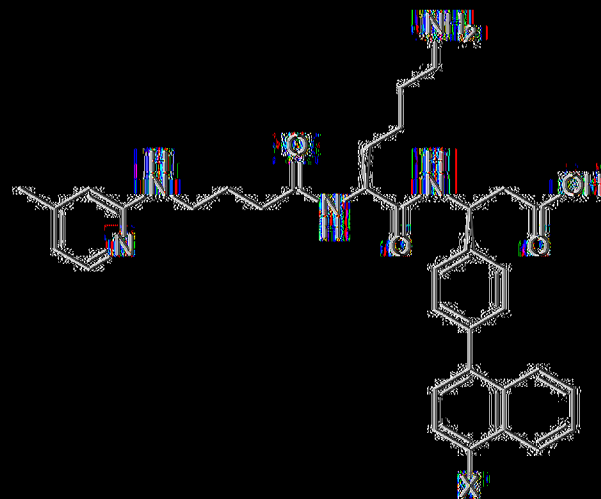
(結構30a)、



(結構31a)、



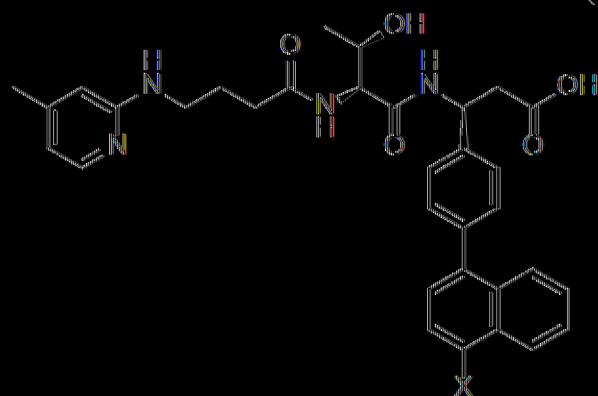
(結構32a)、



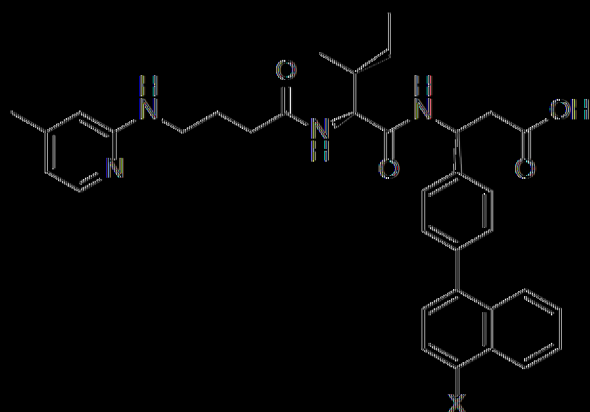
(結構33a)、



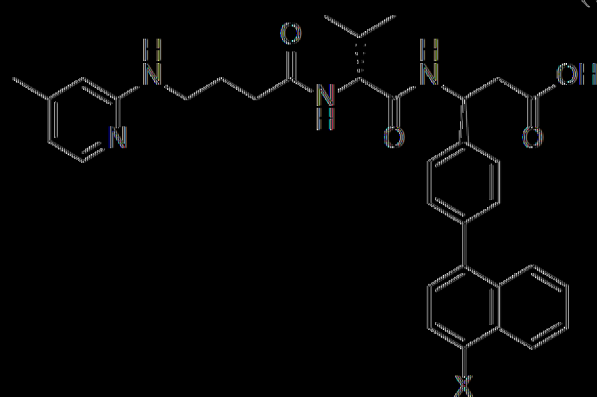
(結構34a)、



(結構35a)、



(結構36a)、及



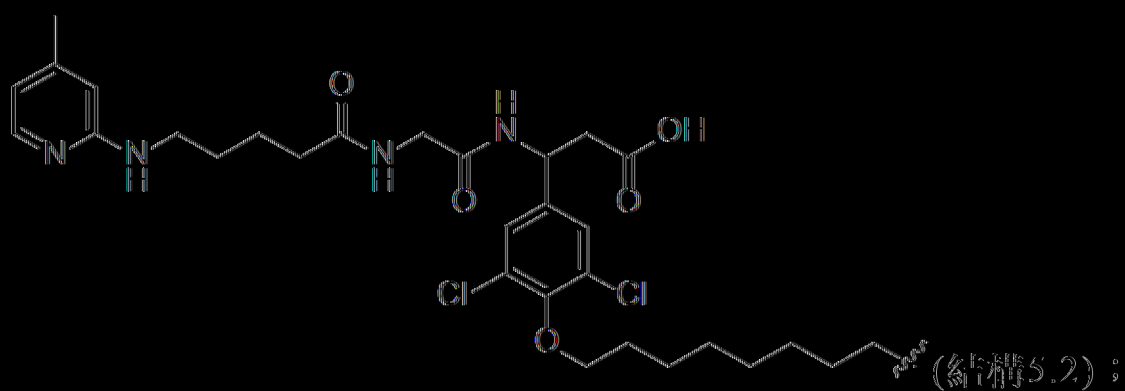
(結構37a)、

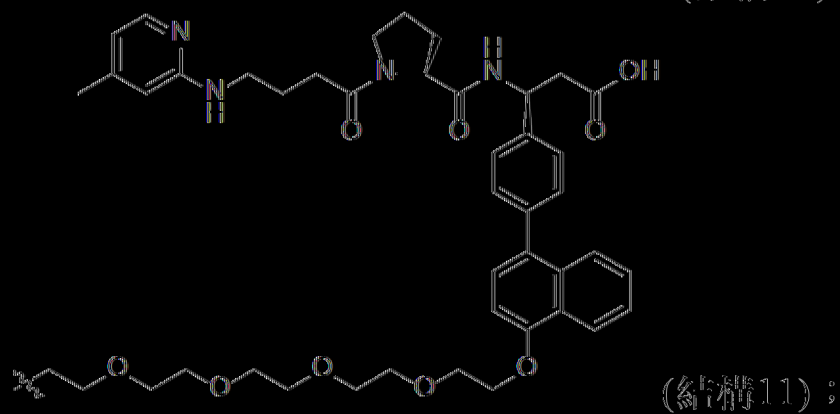
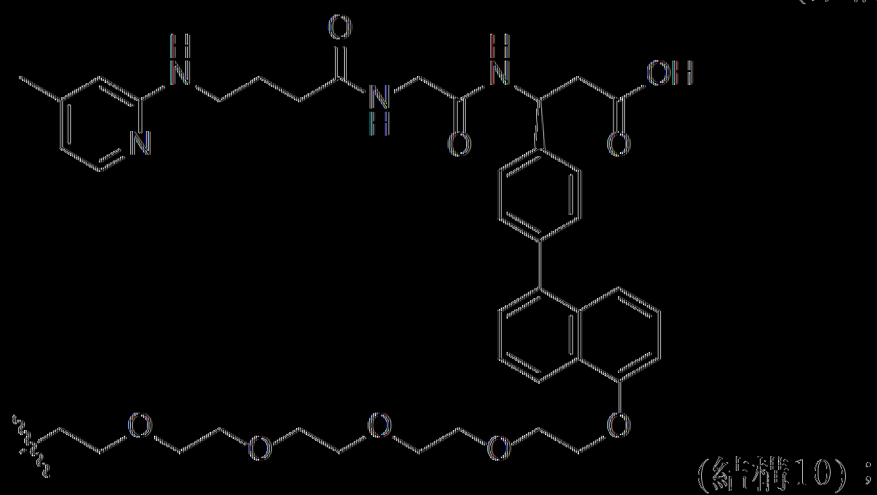
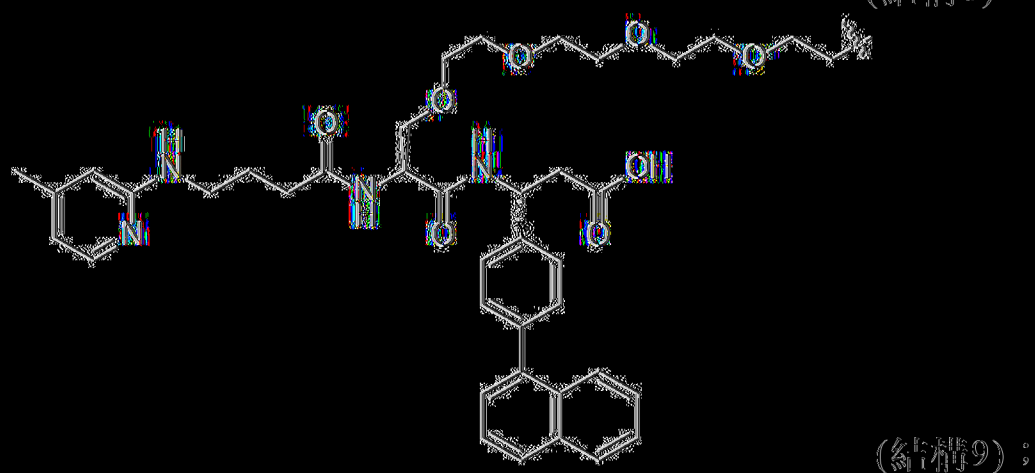
或其醫藥學上可接受之鹽，其中X包含貨物分子；及

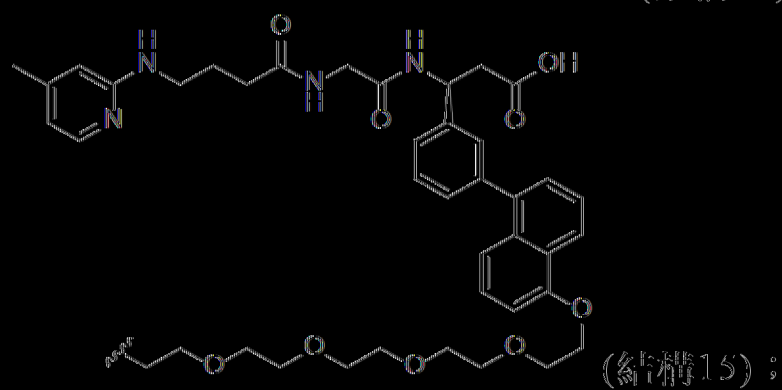
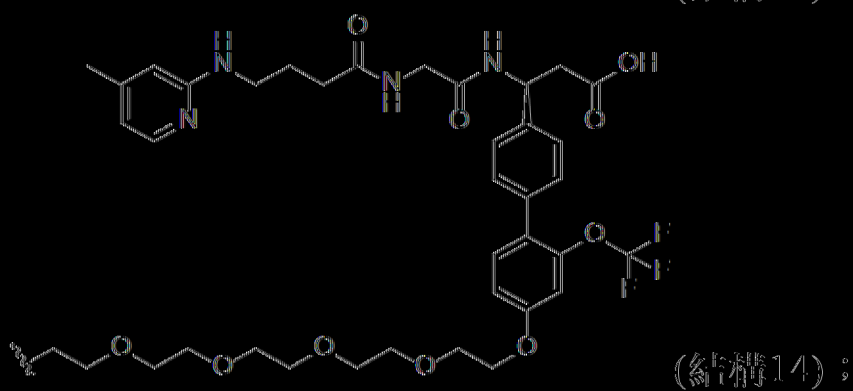
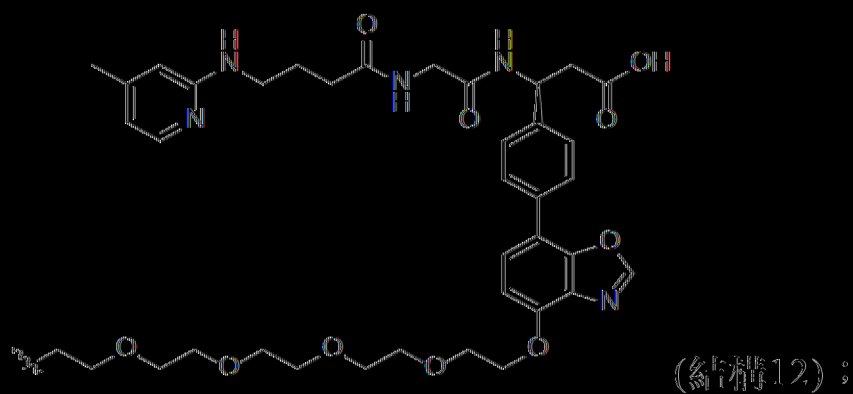
其中於結構1a、2a、5a、7a、8a、9a、10a、11a、12a、13a、14a、

15a、16a、17a、18a、19a、20a、22a、24a、25a、27a、29a、30a、

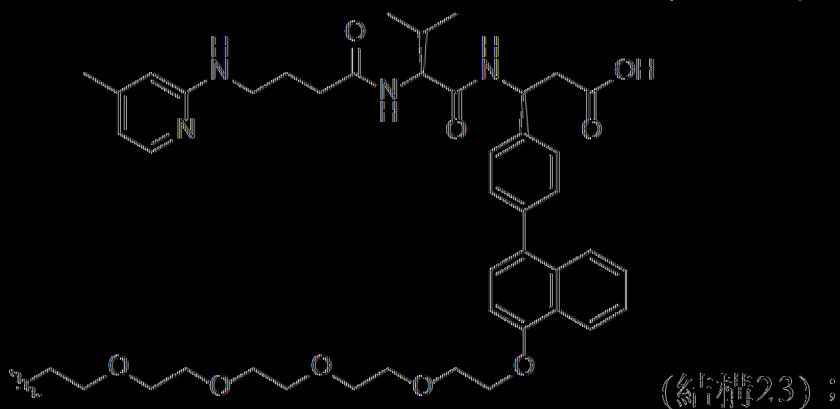
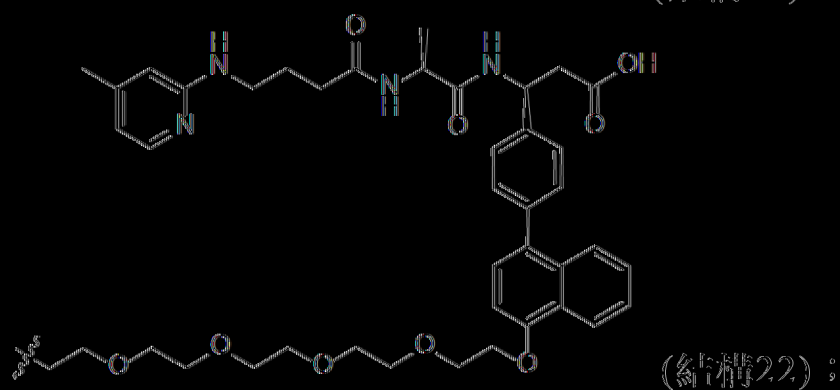
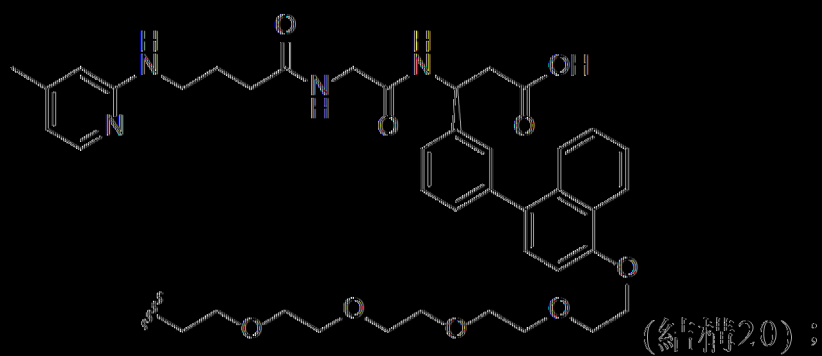






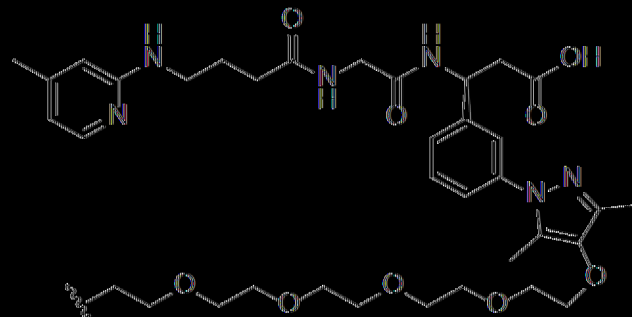




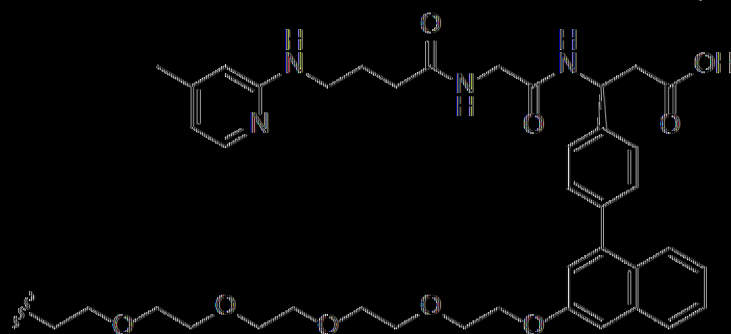




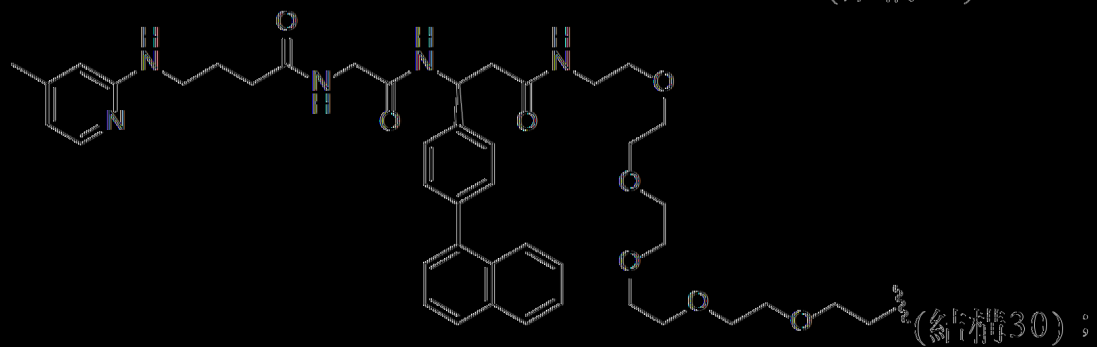
(結構25)；



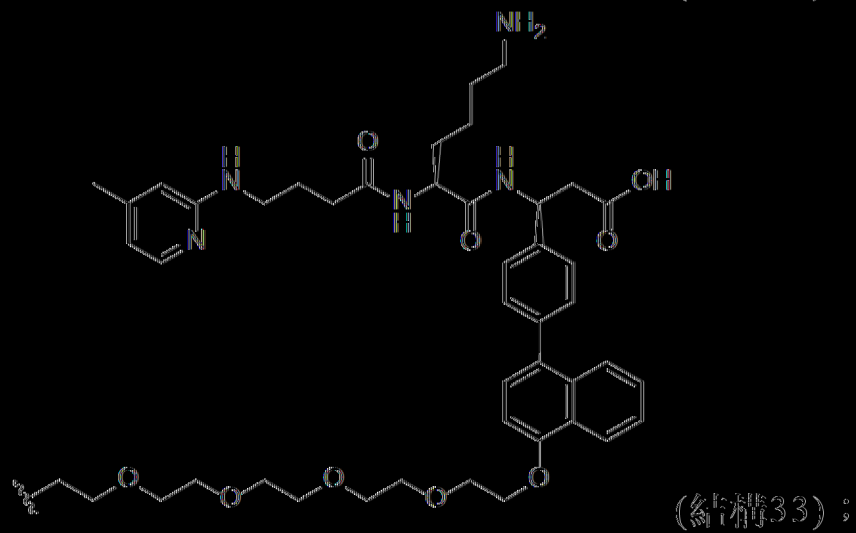
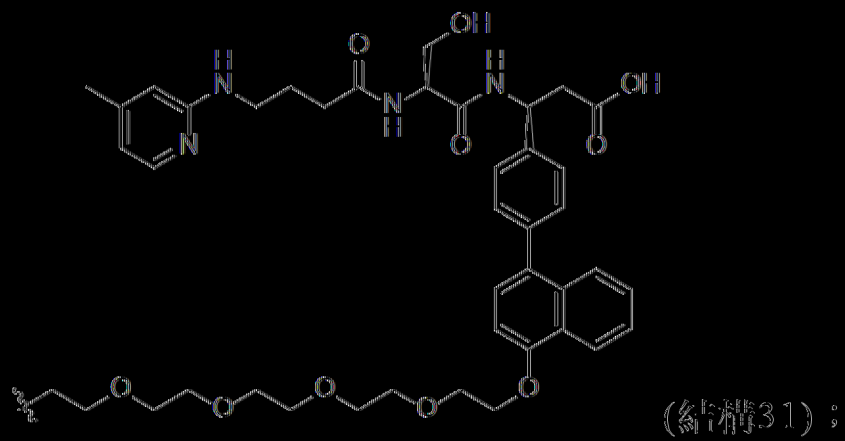
(結構27)；

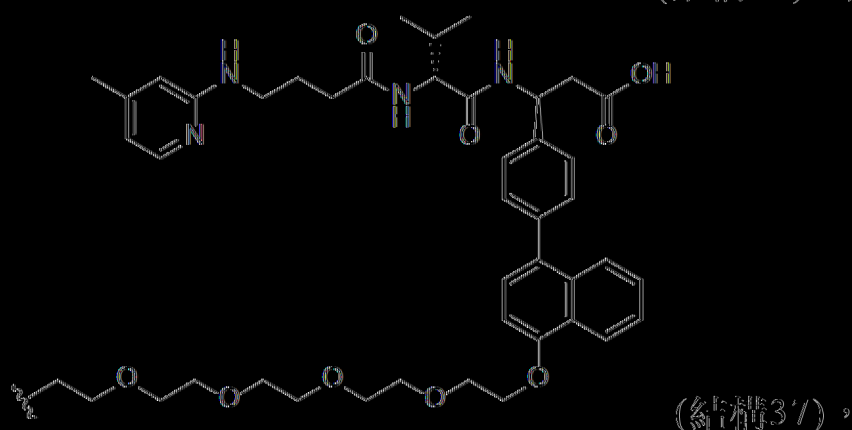
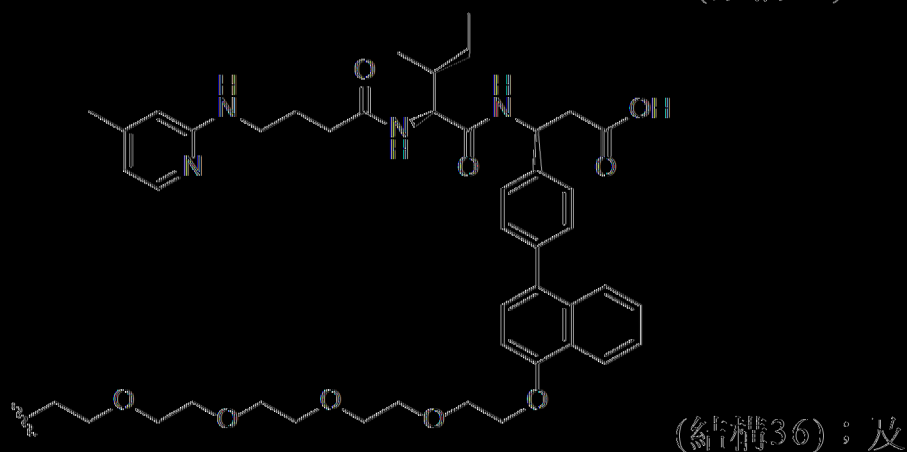
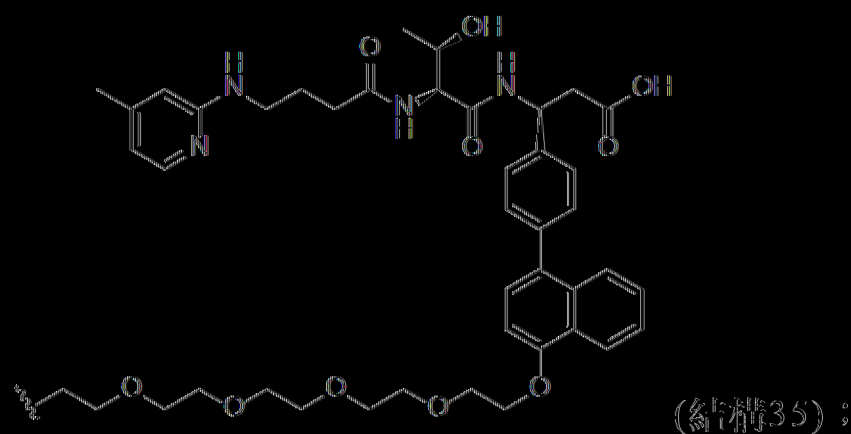


(結構29)；



(結構30)；





或其醫藥學上可接受之鹽，其中 --- 指示與包含貨物分子之部分之連接點；及

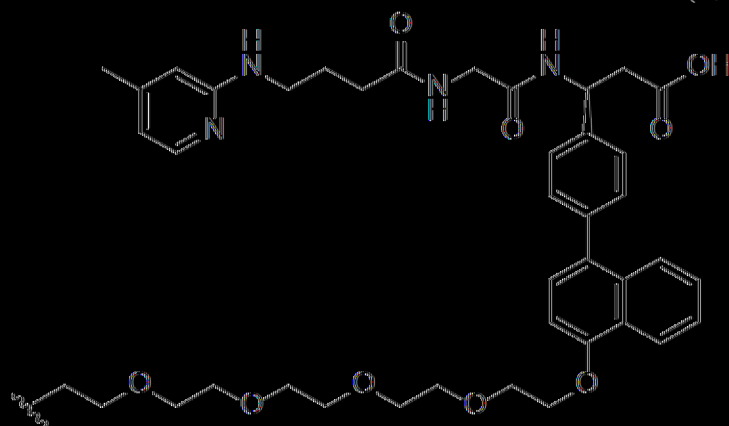
其中於結構1、2、5、5.1、5.2、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、22、23、24、25、27、29、30、31、32、33、34、35、36或37中的該貨物分子為天然或經修飾之核酸、天然或經修飾之核酸寡核苷酸、或天然或經修飾之核酸聚核苷酸；及

其中於結構6、6.1、6.2、6.3或6.4中的該貨物分子為天然或經修飾

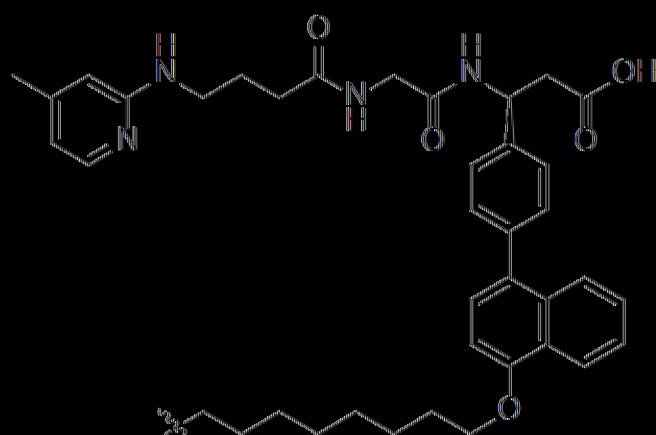
|(前米項4)|

[illegible]

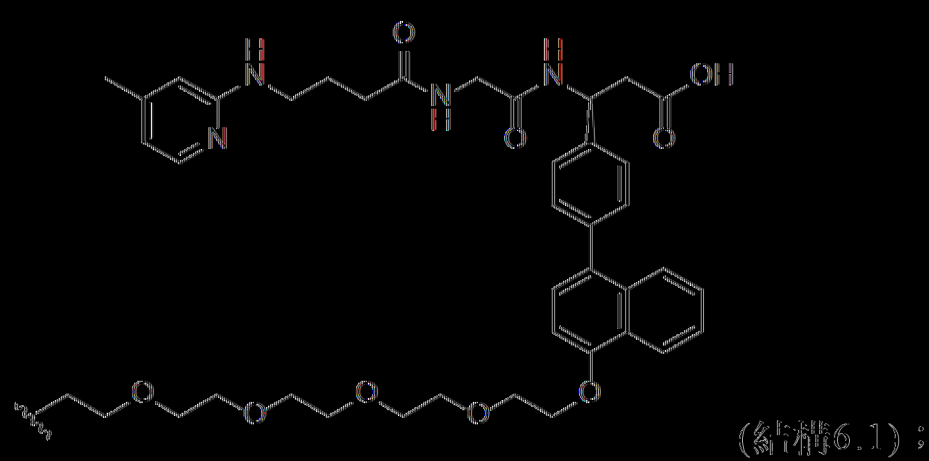
(經濟6) 9



(結構6.1) :



(結構 6.2) :

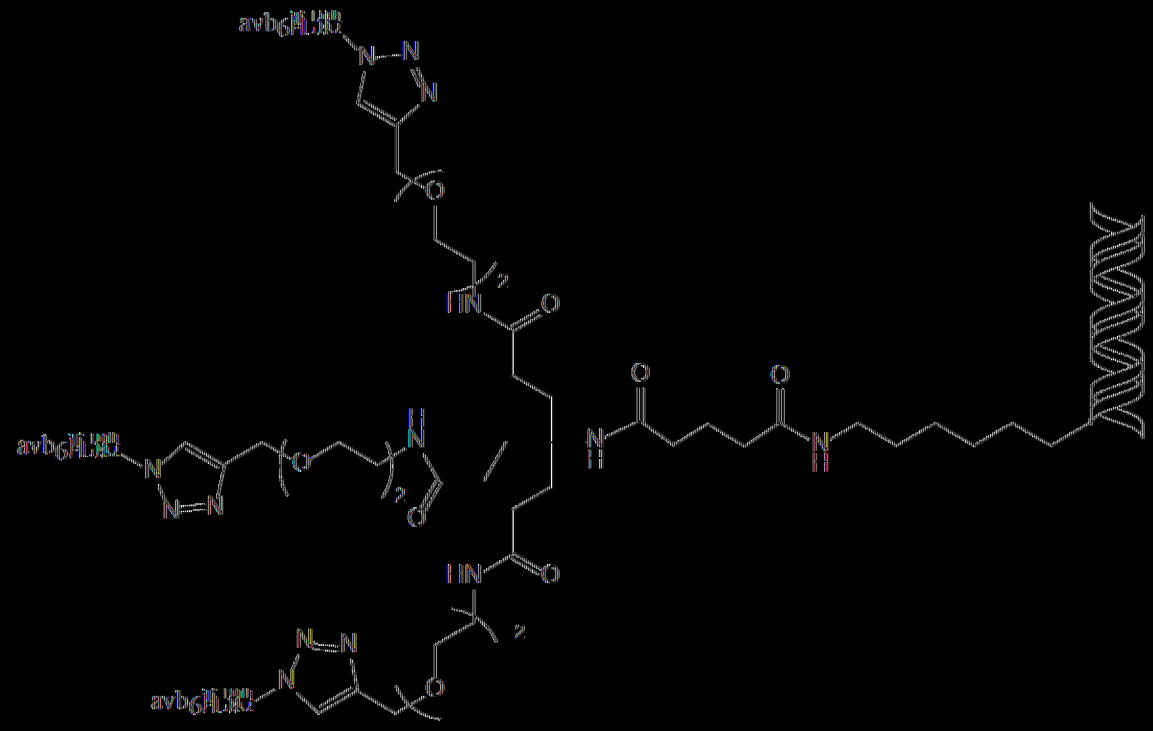


或其醫藥學上可接受之鹽，其中^{avb6}指示與包含貨物分子之部分之連接點；及

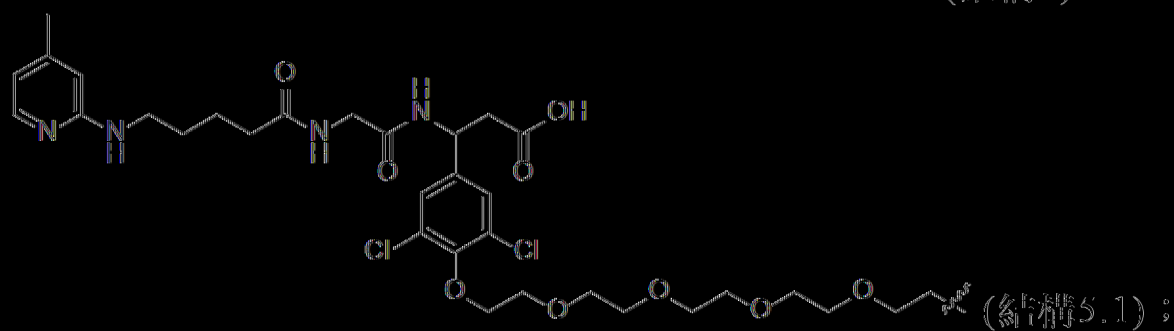
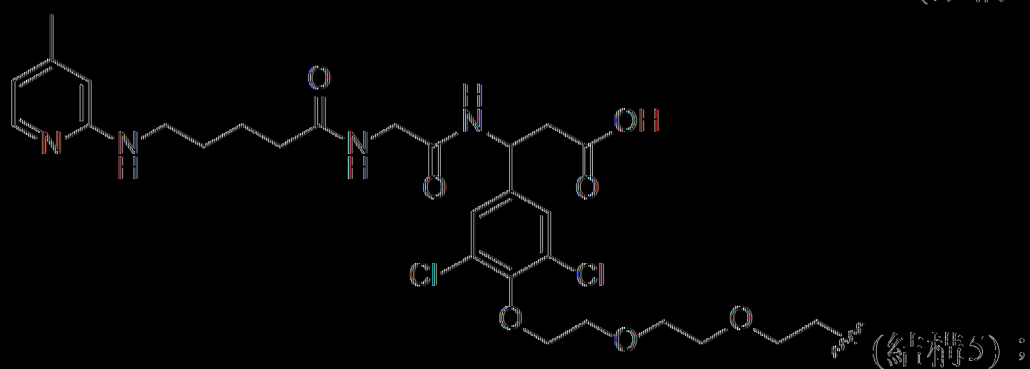
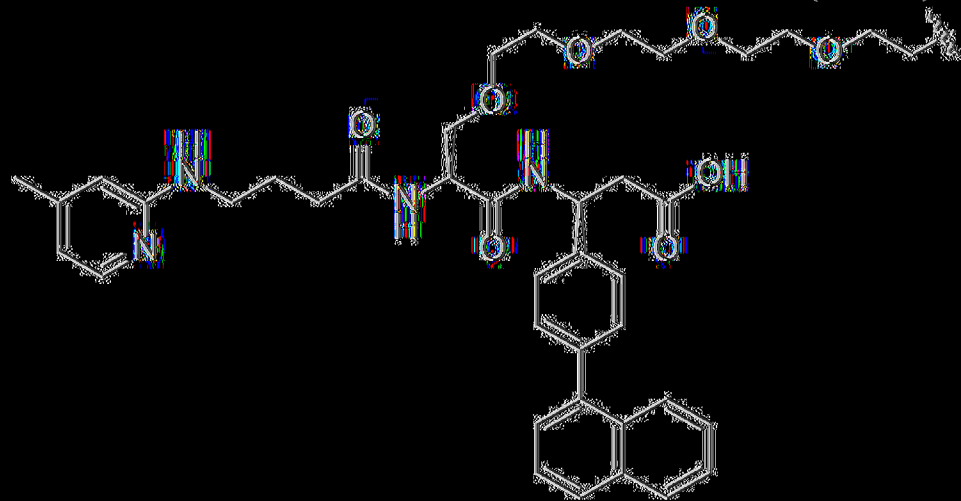
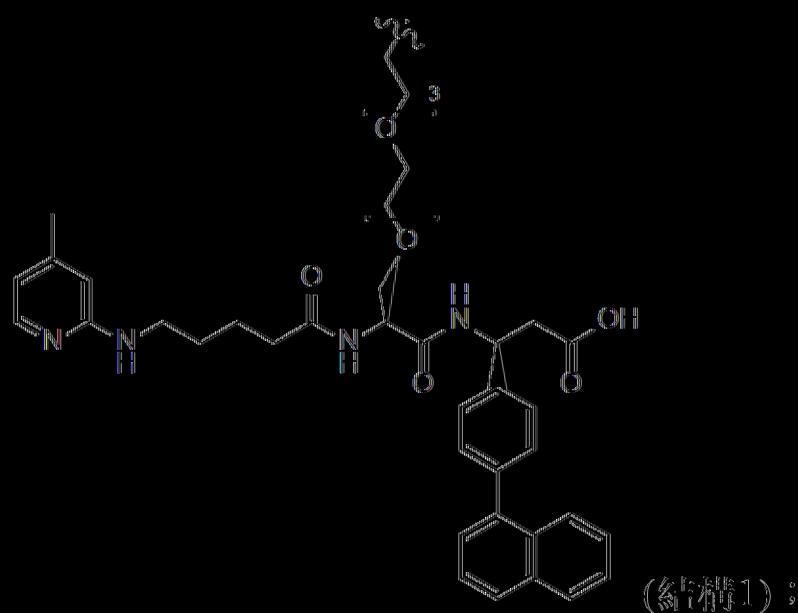
其中該貨物分子為天然或經修飾之核酸、或天然或經修飾之核酸聚核苷酸。

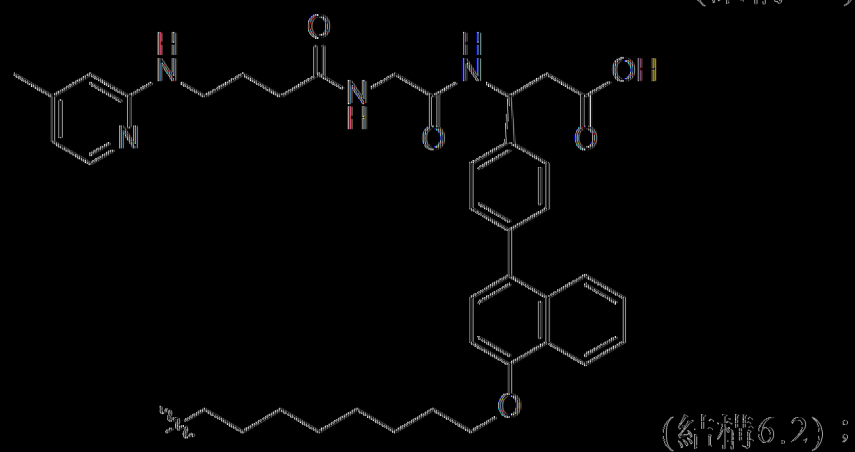
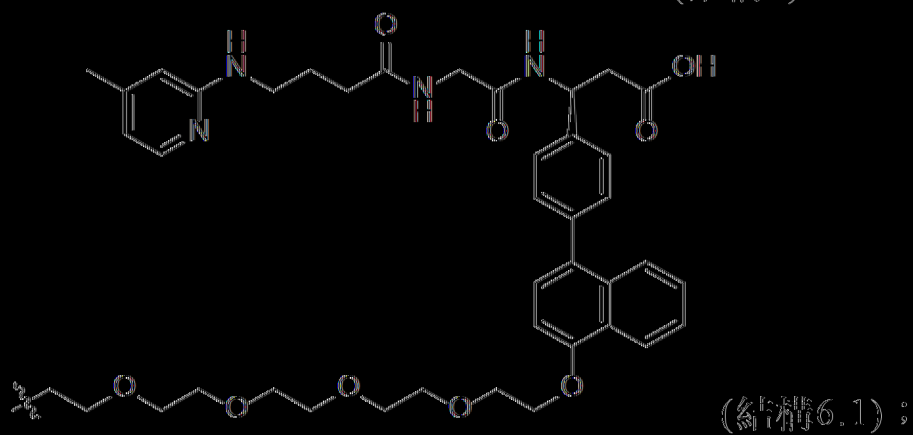
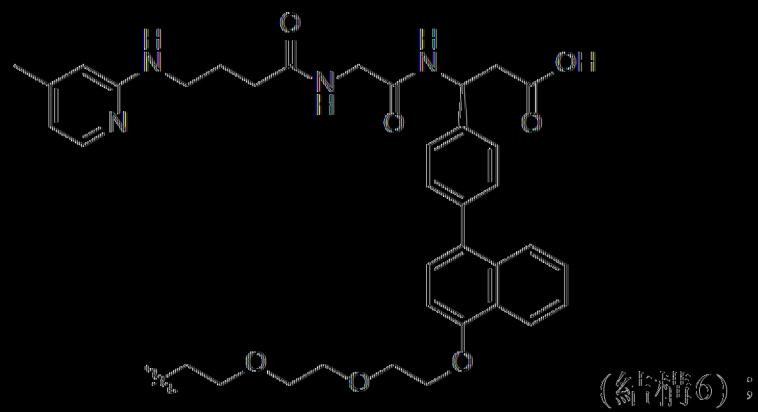
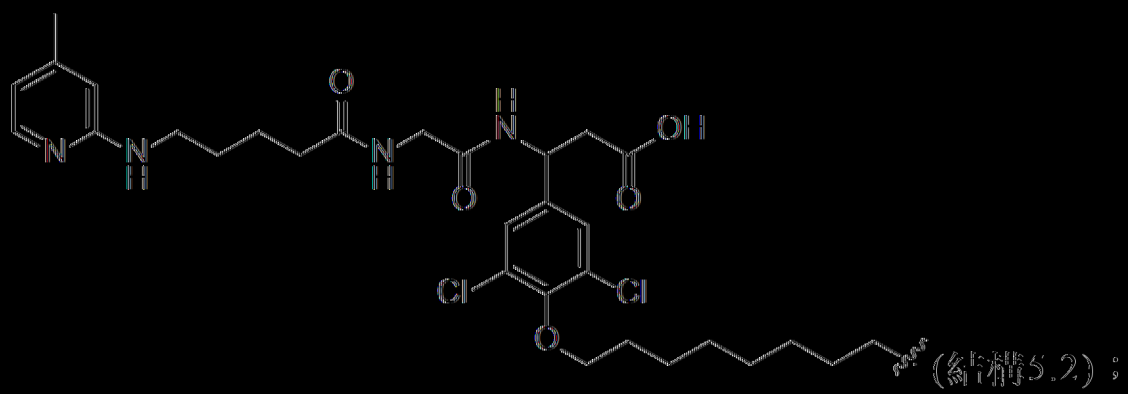
〔請求項6〕

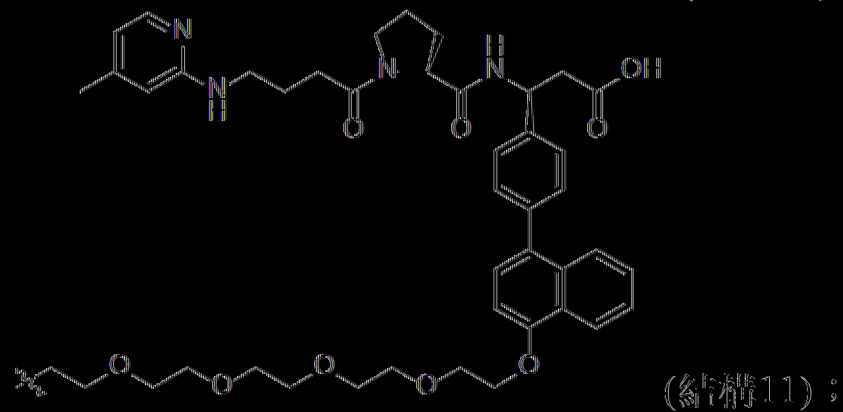
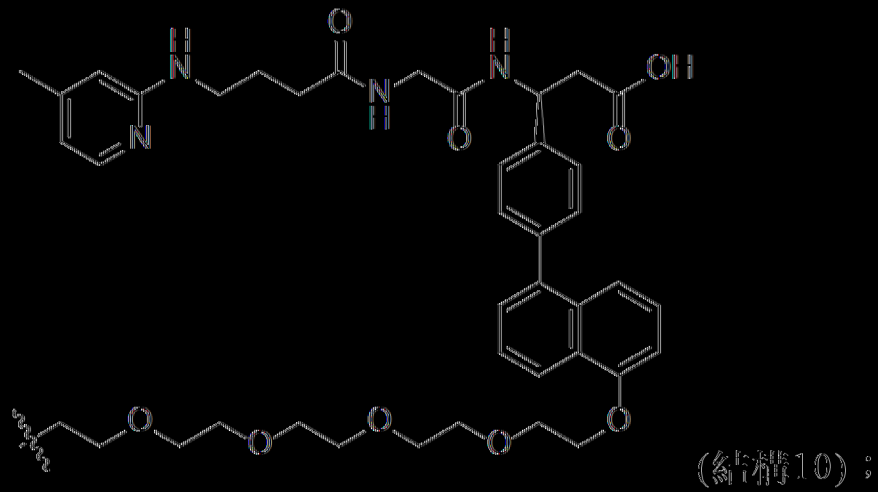
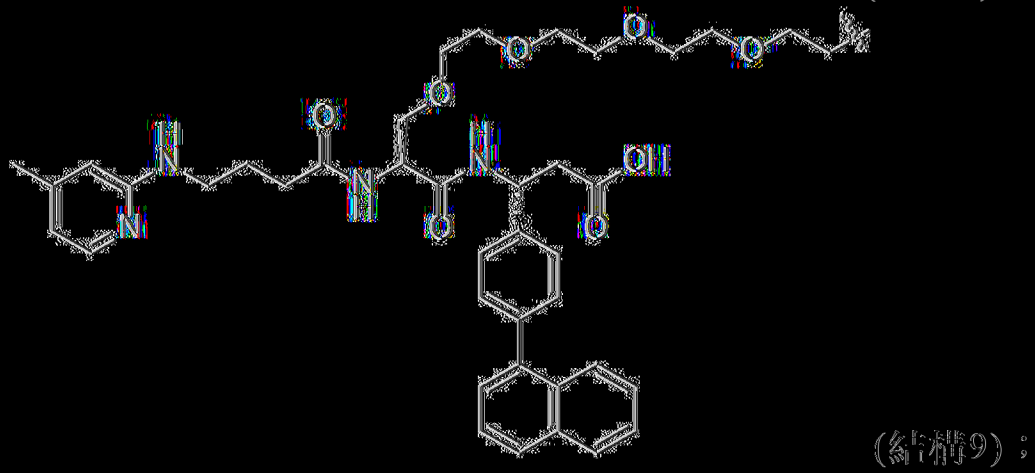
一種下式之結構，

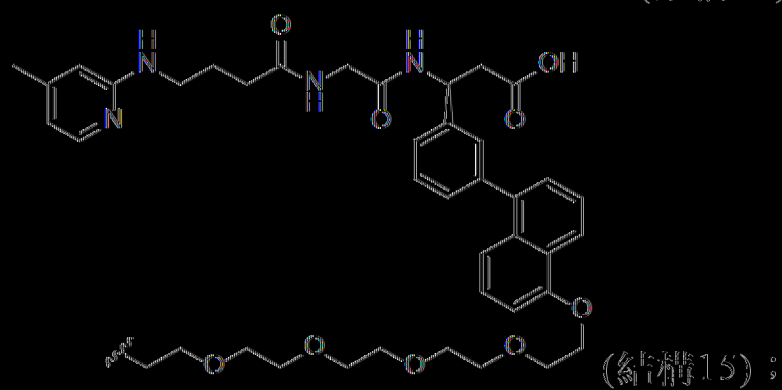
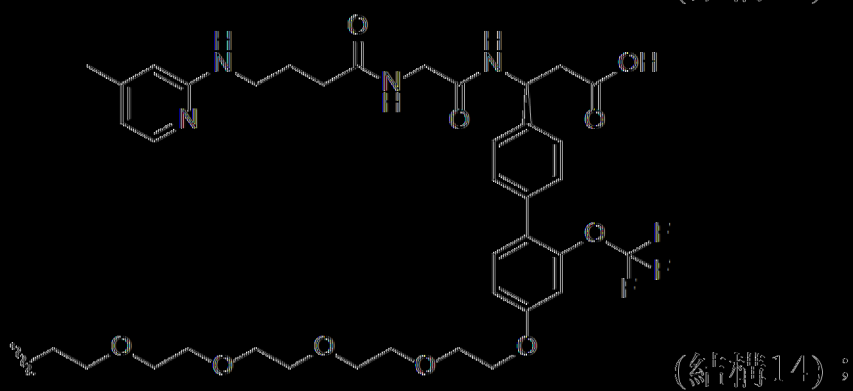
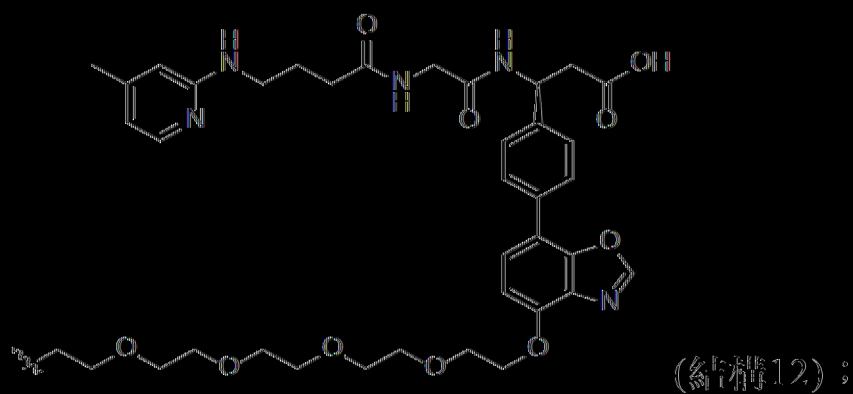


其中表示RNAi藥劑，且「^{avb6}配體」為選自由以下組成之群之^{avβ6}配體：







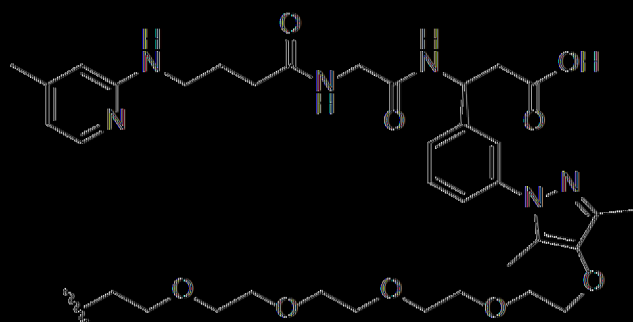




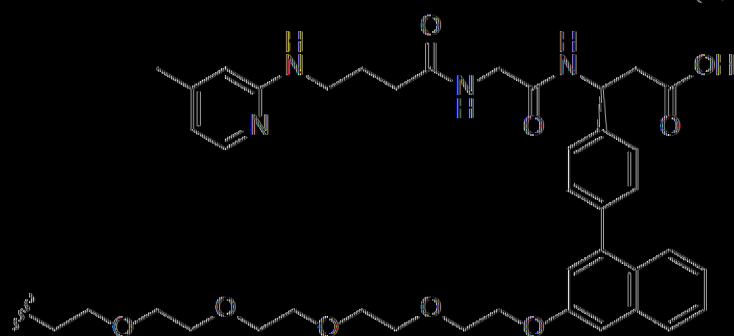




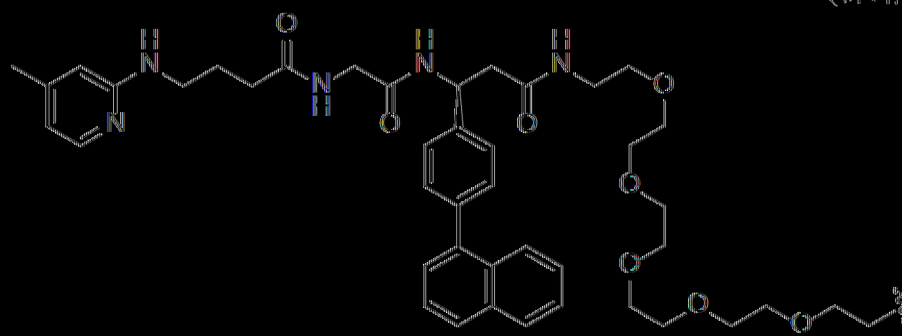
(結構25)；



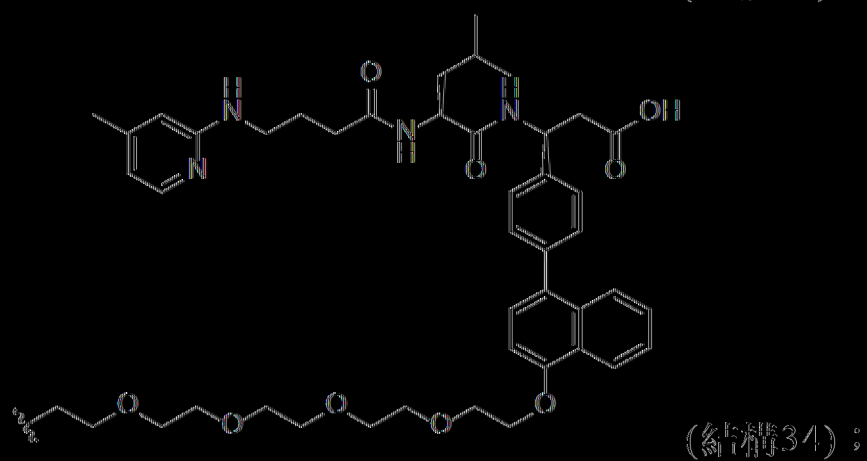
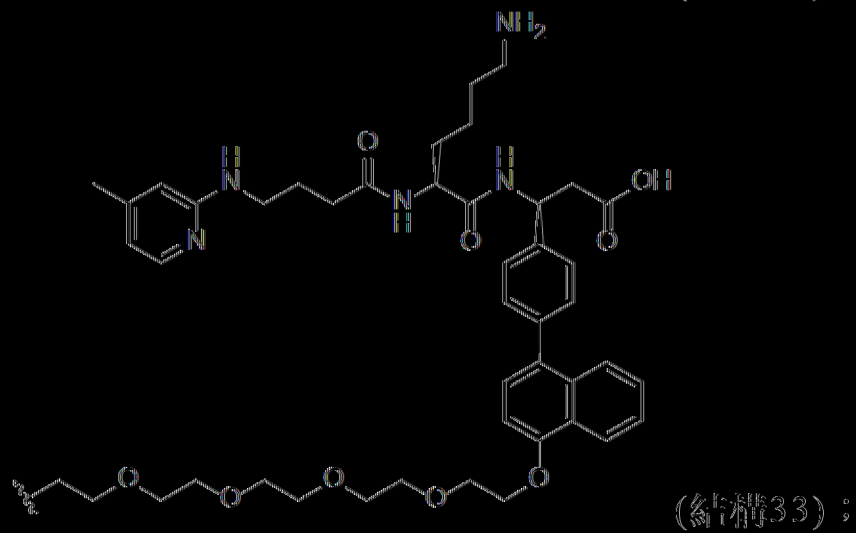
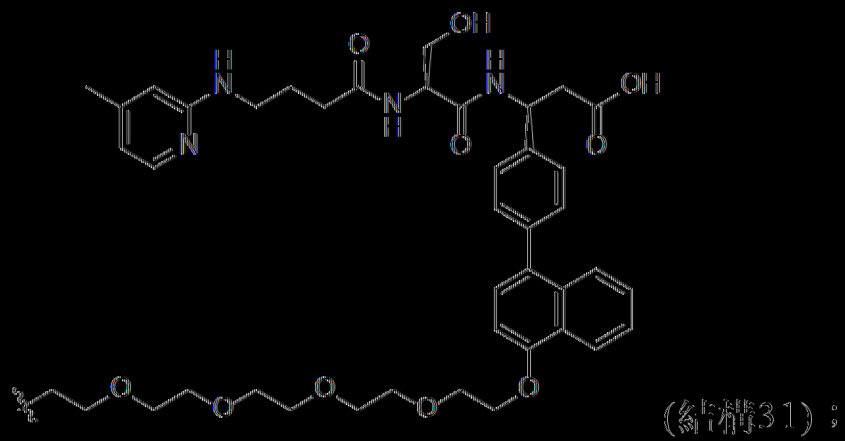
(結構27)；



(結構29)；



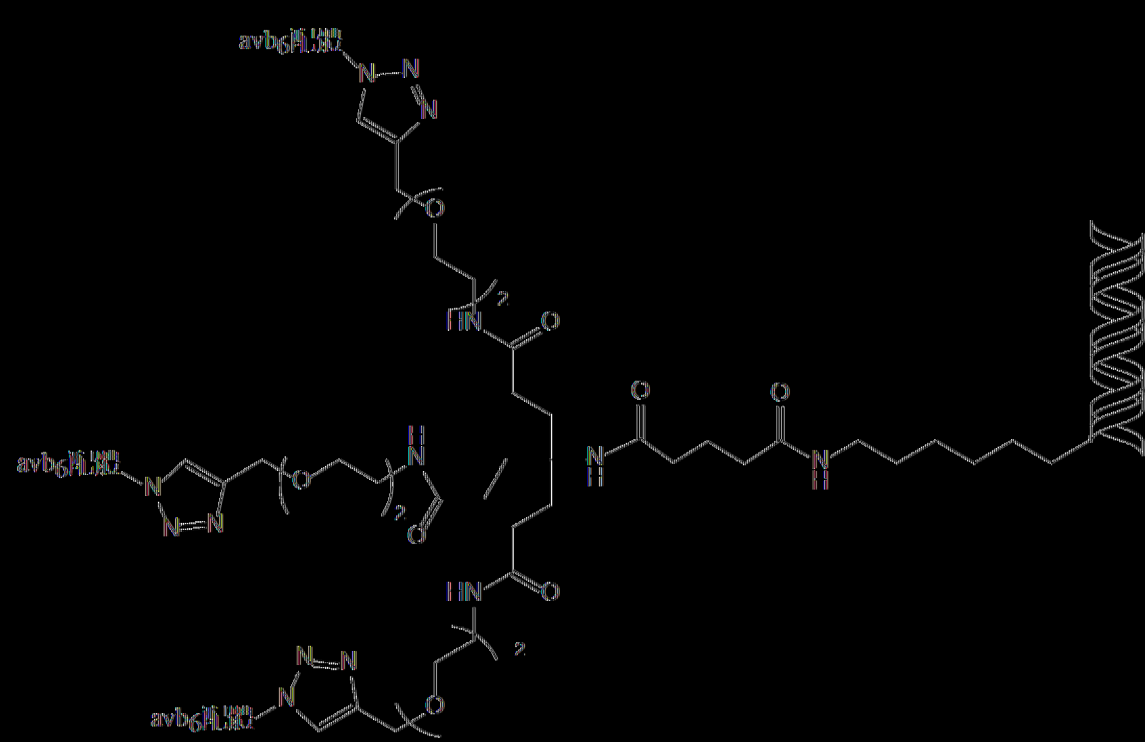
(結構30)；



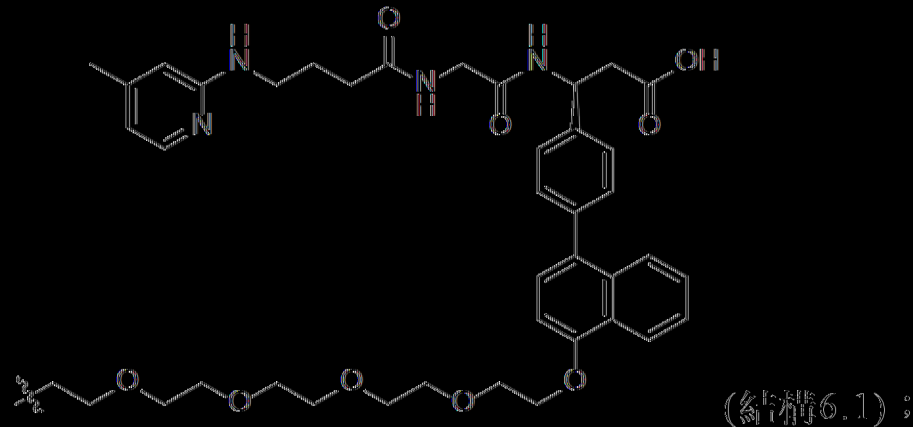
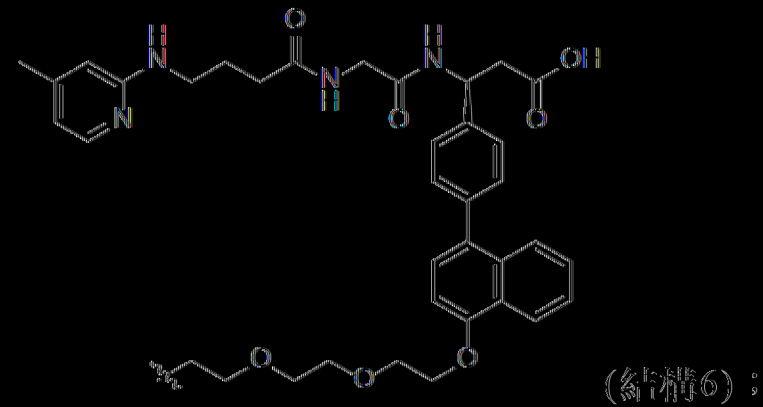


〔前采項〕

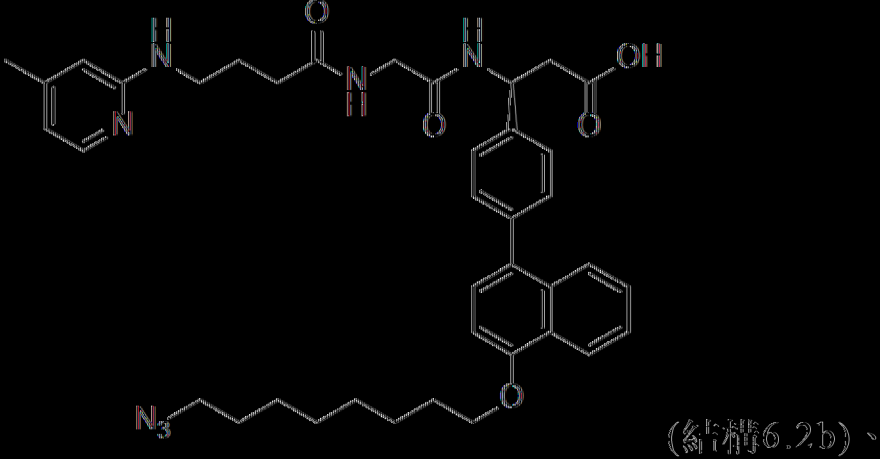
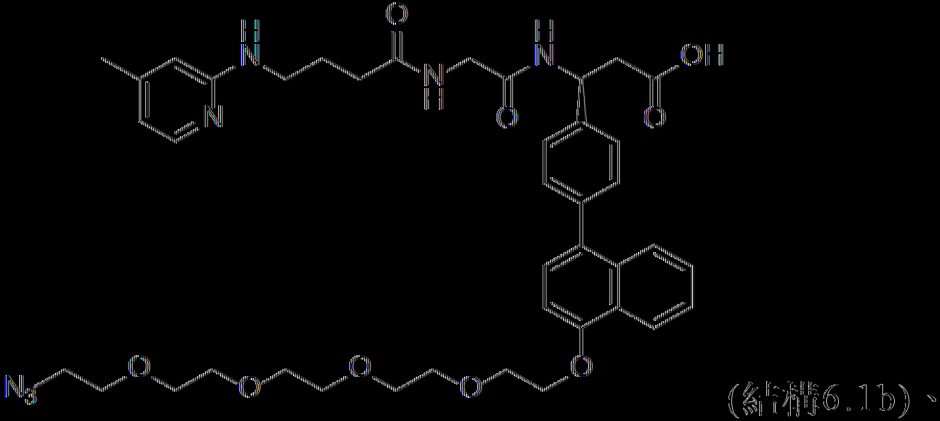
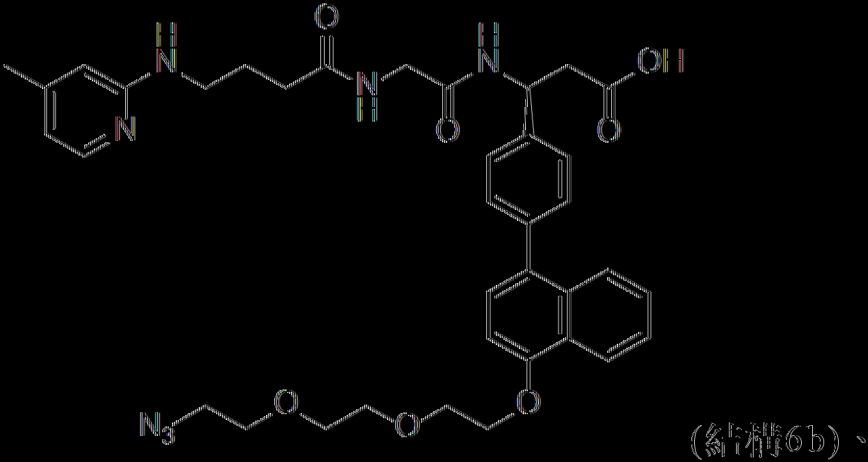
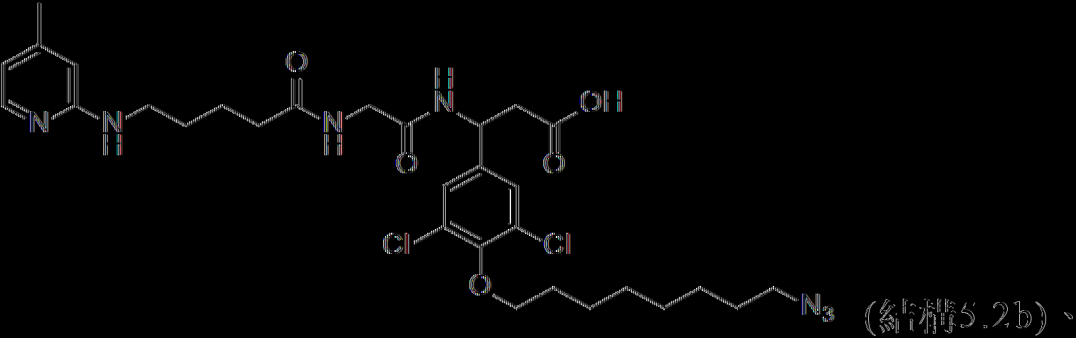
如請求項6之結構，具有下式：

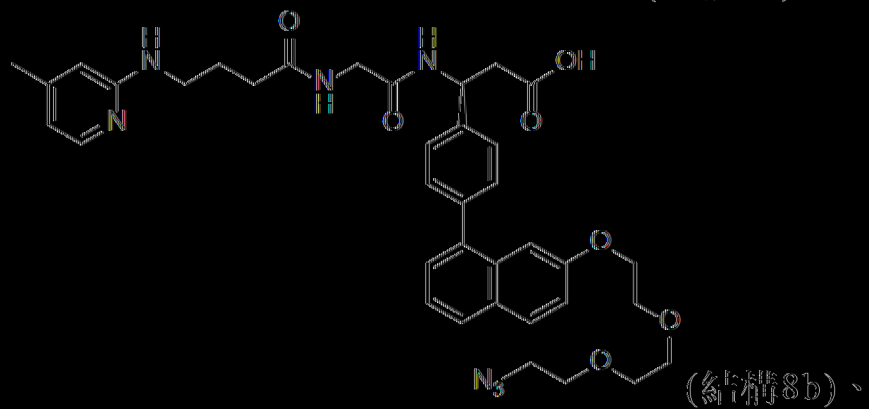
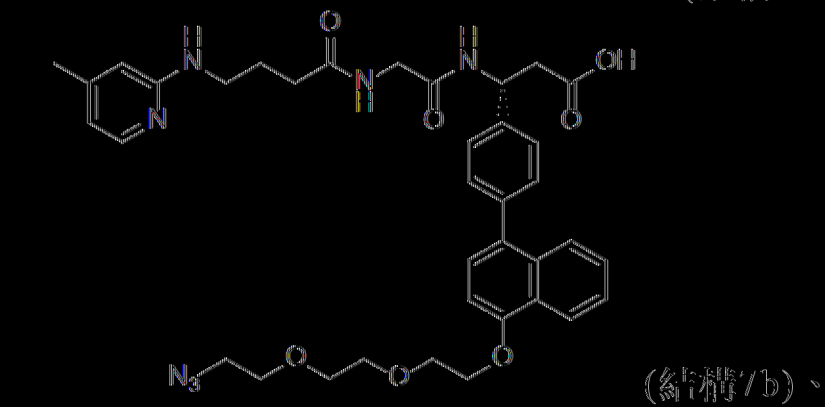
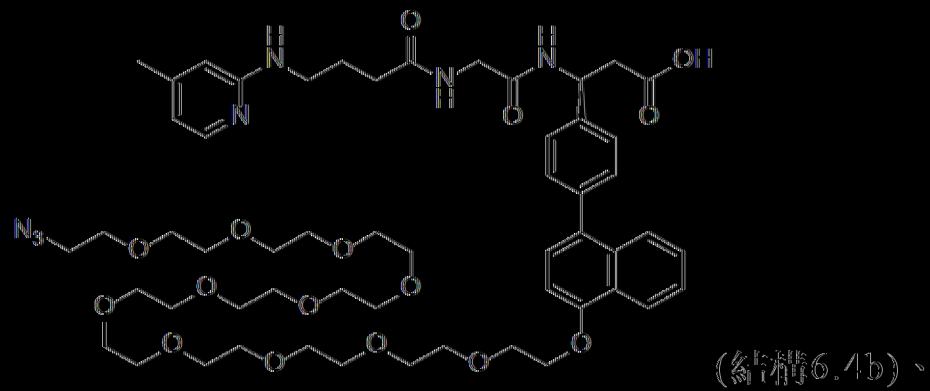


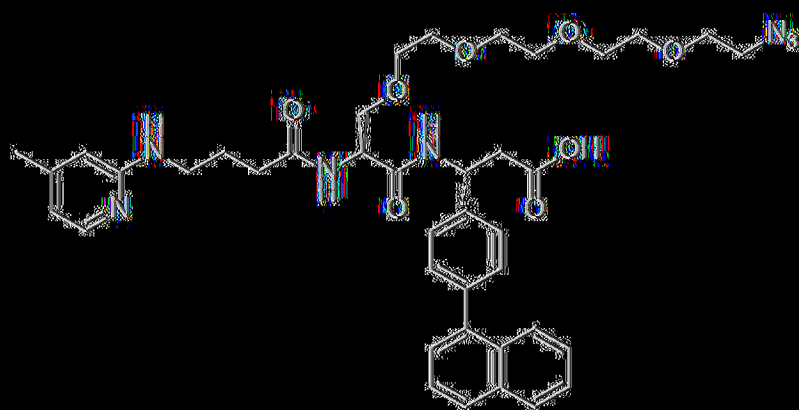
(結構300a)，
其中表示RNAi藥劑，且「avb6配體」為選自由以下組成之群之αvβ6配體：



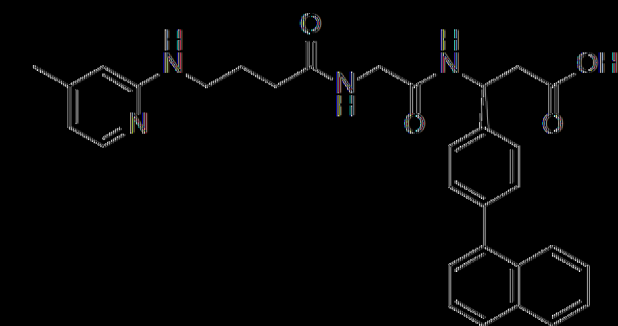




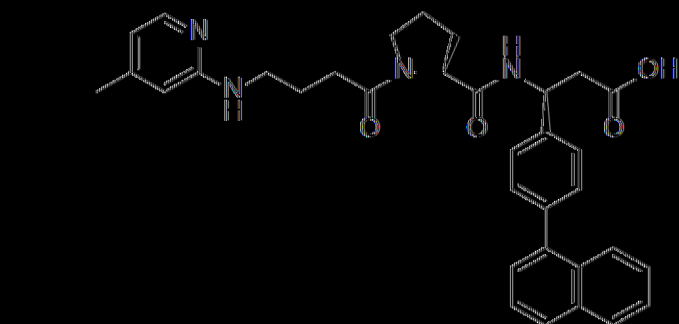




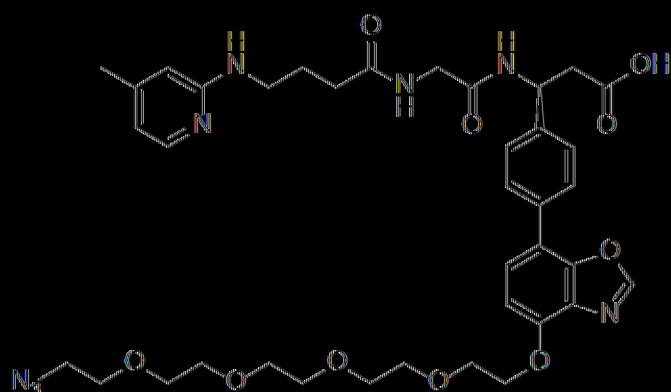
(結構9b)、



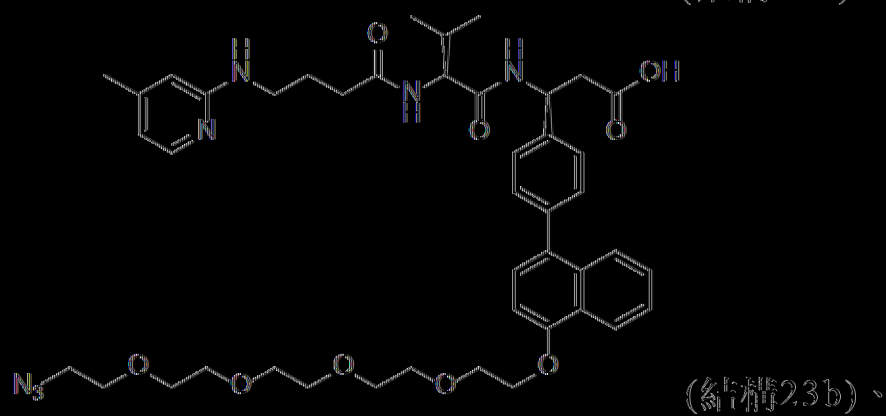
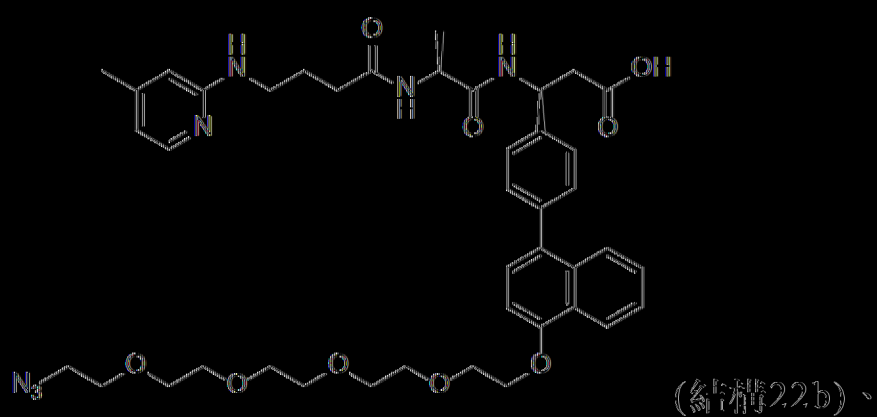
(結構10b)、

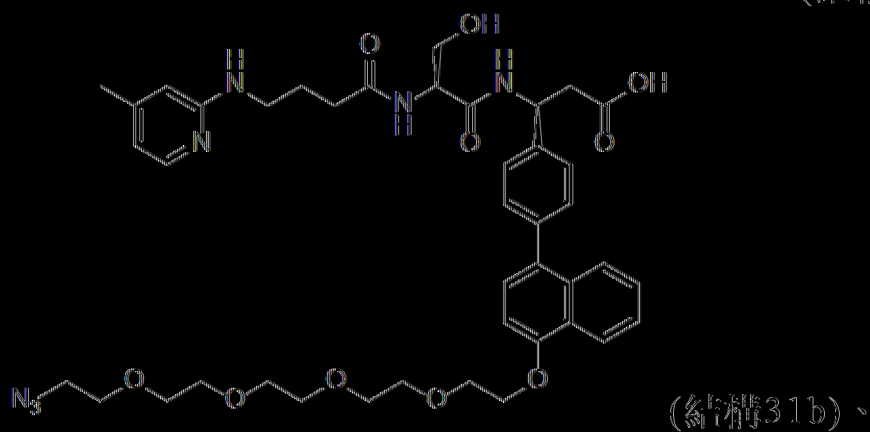
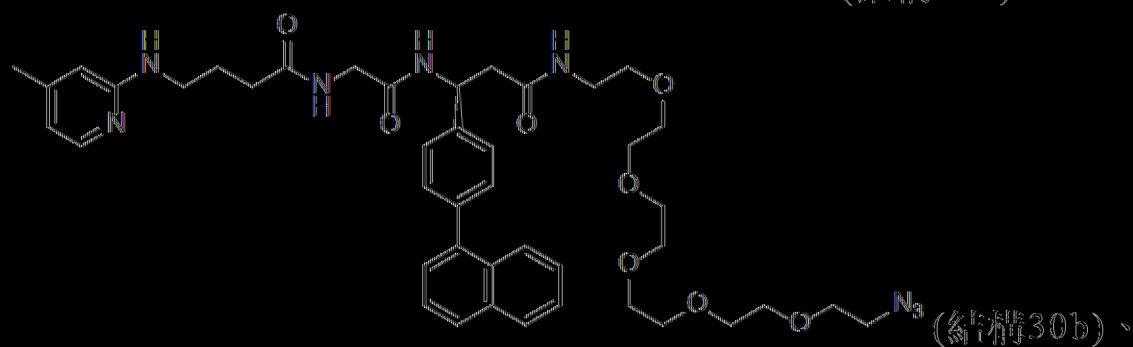
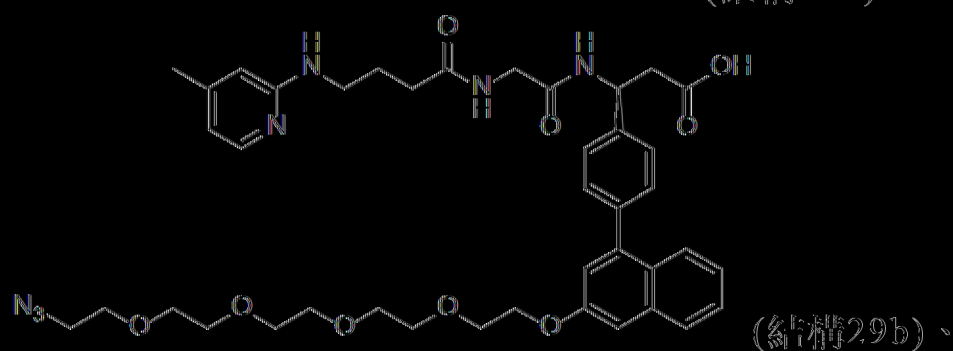
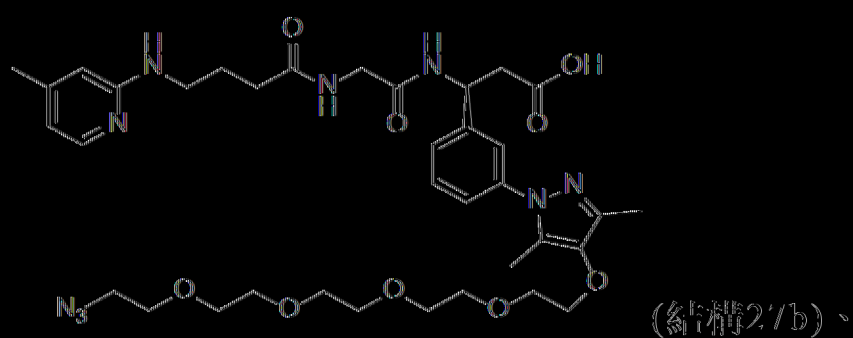


(結構11b)、



(結構12b)、



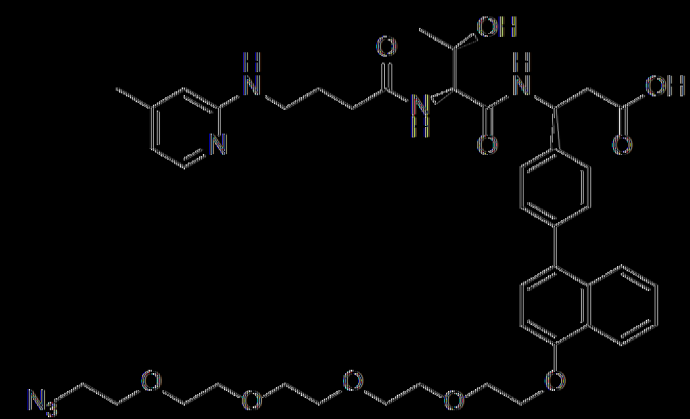




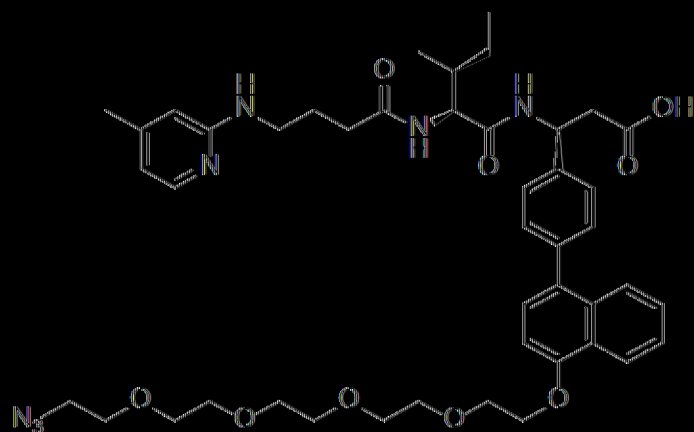
(結構33b)、



(結構34b)、



(結構35b)、



(結構36b)，及



(結構37b)。

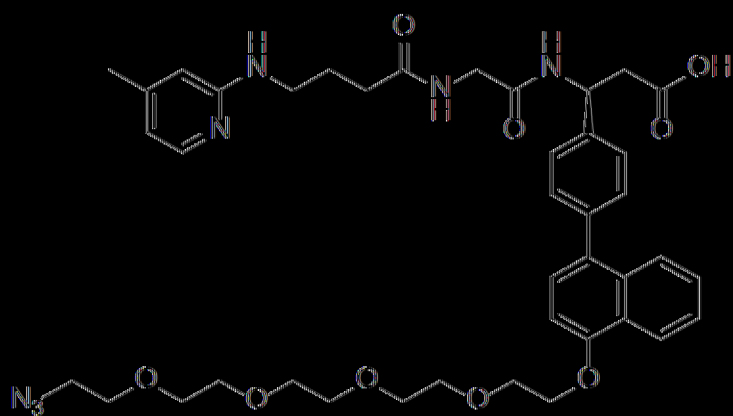
或其醫藥學上可接受之鹽。

〔請求項10〕

如請求項9之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體前驅體，其選自由以下組成之群：



(結構6b)。



(結構6.1b)。



| (請求項11) |

(結構6.1b) ,

或其醫藥學上可接受之鹽。

【請求項12】

一種組合物，其包含如請求項1至5中任一項之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體，及醫藥學上可接受之賦形劑。

【請求項13】

一種組合物，其包含如請求項6至8中任一項之結構，及醫藥學上可接受之賦形劑。

【請求項14】

如請求項12之組合物，其中該 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體與能夠抑制標靶基因於上皮細胞中之表現的天然或經修飾之核酸、天然或經修飾之核酸寡核苷酸、或天然或經修飾之核酸聚核苷酸結合。

【請求項15】

如請求項12或13之組合物，其中該 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體與能夠抑制標靶基因於上皮細胞中之表現的RNAi藥劑結合。

【請求項16】

如請求項12或13之組合物，其中該 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體與能夠抑制標靶基因於小支氣管上皮細胞中之表現的RNAi藥劑結合。

【請求項17】

一種如請求項1至5中任一項之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體之用途，其用於製備用於將天然或經修飾之核酸、天然或經修飾之核酸寡核苷酸、或天然或經修飾之核酸聚核苷酸遞送至細胞中之藥劑。

【請求項18】

一種如請求項6至8中任一項之結構之用途，其用於製備用於將RNAi

藥劑遞送至細胞中之藥劑。

【請求項19】

一種如請求項1至5中任一項之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體之用途，其用於製備用於將天然或經修飾之核酸、天然或經修飾之核酸寡核苷酸、或天然或經修飾之核酸聚核苷酸在活體內遞送至細胞或組織中之藥劑。

【請求項20】

一種如請求項6至8中任一項之結構之用途，其用於製備用於將RNAi藥劑在活體內遞送至細胞或組織中之藥劑。

【請求項21】

一種如請求項1至5中任一項之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體之用途，其用於製備用於活體內抑制標靶基因於細胞中之表現的藥劑。

【請求項22】

一種如請求項6至8中任一項之結構之用途，其用於製備用於活體內抑制標靶基因於細胞中之表現的藥劑。

【請求項23】

如請求項17至22中任一項之用途，其中該細胞選自由以下組成之群：第I型及第II型肺泡上皮細胞、杯狀細胞、分泌上皮細胞、纖毛上皮細胞、角膜及結膜上皮細胞、真皮(dermal)上皮細胞、膽管上皮細胞(cholangiocyte)、腸上皮細胞(enterocyte)、管(ductal)上皮細胞、腺上皮細胞及上皮腫瘤(癌瘤)。

【請求項24】

一種如請求項1至5中任一項之 $\alpha v \beta 6$ 整合素配體、如請求項6至8中任一項之結構或如請求項12至16中任一項之組合物之用途，其用於製備用

於治療結腸癌、卵巢癌、子宮內膜癌或胃癌之藥劑。

【請求項25】

一種如請求項1至5中任一項之 $\alpha v\beta 6$ 整合素配體、如請求項6至8中任一項之結構或如請求項12至16中任一項之組合物之用途，其用於製備用於治療與基質金屬蛋白酶(MMP)相關之疾病或病症之藥劑。