

(21)申請案號：106112079

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 04 月 11 日

(51)Int. Cl. : **C07H21/00 (2006.01)**

**A61K47/61 (2017.01)**

**A61K31/713 (2006.01)**

(30)優先權：2016/04/11 美國

62/321,034

2016/11/03 美國

62/417,156

2016/12/22 美國

62/438,310

(71)申請人：加拿大商艾爾布圖斯生技公司 (加拿大) ARBUTUS BIOPHARMA CORPORATION  
(CA)

加拿大

(72)發明人：黑柳斯 詹姆士 HEYES, JAMES (CA)；賀蘭 理查 J HOLLAND, RICHARD J. (CA)；馬汀 阿倫 D MARTIN, ALAN D. (CA)；伍德 馬克 WOOD, MARK (CA)

(74)代理人：陳長文

(56) 參考文獻：

WO 2015/168532A2

審查人員：吳祖漢

申請專利範圍項數：11 項      圖式數：8      共 144 頁

(54)名稱

靶向組合物

(57)摘要

本發明提供包含靶向部分、核酸及視情況選用之連接基團之結合物，以及可用於製備該等結合物之合成中間物及合成方法。該等結合物可用於將治療性核酸靶向肝臟且治療肝臟疾病，包括肝炎（例如 B 型肝炎及 D 型肝炎）。

The invention provides conjugates that comprise a targeting moiety, a nucleic acid, and optional linking groups as well as synthetic intermediates and synthetic methods useful for preparing the conjugates. The conjugates are useful to target therapeutic nucleic acids to the liver and to treat liver diseases including hepatitis (e.g. hepatitis B and hepatitis D).

指定代表圖：

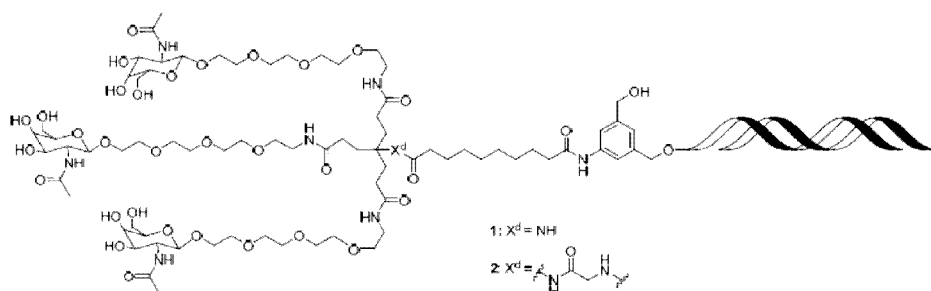
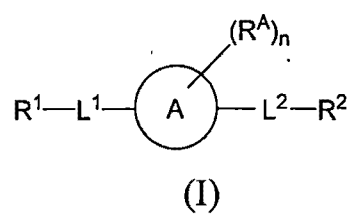


圖 3

特徵化學式：



## 發明摘要

※ 申請案號：106112079

※ 申請日：106/04/11

※IPC 分類：*C07H 21/00* (2006.01)*A61K 47/61* (2017.01)*A61K 31/713* (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

靶向組合物

TARGETED COMPOSITIONS

## 【中文】

本發明提供包含靶向部分、核酸及視情況選用之連接基團之結合物，以及可用於製備該等結合物之合成中間物及合成方法。該等結合物可用於將治療性核酸靶向肝臟且治療肝臟疾病，包括肝炎(例如 B 型肝炎及 D 型肝炎)。

## 【英文】

The invention provides conjugates that comprise a targeting moiety, a nucleic acid, and optional linking groups as well as synthetic intermediates and synthetic methods useful for preparing the conjugates. The conjugates are useful to target therapeutic nucleic acids to the liver and to treat liver diseases including hepatitis (e.g. hepatitis B and hepatitis D).

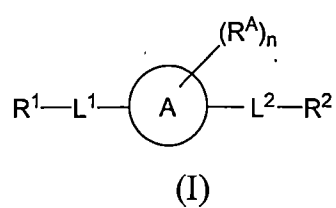
**【代表圖】**

**【本案指定代表圖】：**圖 3

**【本代表圖之符號簡單說明】：**

無

**【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：**



# 發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

## 【發明名稱】(中文/英文)

靶向組合物

**TARGETED COMPOSITIONS**

相關申請案之交叉引用

【0001】 本專利申請案主張 2016 年 4 月 11 日申請之美國臨時專利申請案第 62/321,034 號、2016 年 11 月 3 日申請之美國臨時專利申請案第 62/417,156 號及 2016 年 12 月 22 日申請之美國臨時專利申請案第 62/438,310 號的優先權益，該等申請案以引用的方式併入本文中。

## 【先前技術】

【0002】 許多疾病為肝臟所特有的，例如 B 型肝炎及非酒精性脂肪肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)。因此，具有可主要靶向肝臟、腎臟、心臟、胰臟或活體內其他器官的治療組合物將為有益的。

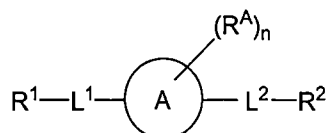
【0003】 包括 siRNA 之核酸可用作治療劑。

【0004】 當前，需要可用於在活體內遞送(例如靶向)治療性核酸之組合物及方法。

## 【發明內容】

【0005】 本發明提供可用於靶向治療性核酸(例如靶向肝臟)之化合物、組合物及方法。

【0006】 因此，在一態樣中，本發明提供一種式 I 化合物：



(I)，

其中：

R<sup>1</sup> 為靶向配位體；

L<sup>1</sup> 不存在或為連接基團；

L<sup>2</sup> 不存在或為連接基團；

$R^2$  為核酸；

環 A 不存在、為 3-20 員環烷基、5-20 員芳基、5-20 員雜芳基或 3-20 員雜環烷基；

各  $R^A$  獨立地選自由以下組成之群：氫、羥基、CN、F、Cl、Br、I、 $-C_{1-2}$  烷基-OR<sup>B</sup>、 $C_{1-10}$  烷基  $C_{2-10}$  烯基及  $C_{2-10}$  炔基；其中該  $C_{1-10}$  烷基  $C_{2-10}$  烯基及  $C_{2-10}$  炔基視情況經一或多個獨立地選自鹵基、羥基及  $C_{1-3}$  烷氧基之基團取代；

$R^B$  為氫、保護基、與固體支撐物之共價鍵或與結合於固體支撐物之連接基團之鍵；且

n 為 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10；

或其鹽。

【0007】 可用 siRNA 分子(包括其組合)治療之疾病及病狀包括肝臟疾病，例如與脂肪積累有關或由其引起之肝臟疾病，諸如肝脂肪變性、非酒精性脂肪肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)、非酒精性脂肪肝炎(NASH)、脂肪肝移植、肝炎(例如 B 型或 D 型)及/或急性肝損傷，包括暴發性及亞暴發性肝衰竭及高三酸甘油血症。

【0008】 本發明亦提供可用於製備式 I 化合物之本文中揭示之合成中間物及方法。

【0009】 自以下實施方式及圖，本領域技術人員將顯而易見本發明之其他目標、特徵及優點。

#### 【圖式簡單說明】

【0010】 圖 1：說明式 Ie 之中間化合物，其中靶向配位體/連接子結合於固相支撐物，且其中  $Pg^1$  為保護基 DMTr。

【0011】 圖 2：說明式 Id 之代表性化合物，其中靶向配位體結合於固相支撐物，其中核酸共價結合。

【0012】 圖 3：說明式 Id 之代表性化合物，其中靶向配位體-核酸結合物已自固相支撐物裂解且脫除保護基，得到式 I 化合物。

【0013】 圖 4：說明在 C57 初級肝細胞上 GalNAc 結合物在各種劑量下轉染 24 小時之後的 TTR mRNA 基因敲減實驗。

【0014】 圖 5：說明在單次皮下給與 1 mg/kg TTR siRNA-GalNAc 結合物之後 TTR 蛋白質之敲減；C57 小鼠(n=4)。

【0015】 圖 6：說明在單次皮下給與 1 mg/kg TTR siRNA-GalNAc 結合物之後肝臟中 TTR mRNA 之敲減；C57 小鼠(n=4)。

【0016】 圖 7：展示來自實例 25 之代表性化合物的資料。(表 1：皮下投與之 siRNA(TTR)-結合物(1mg/kg)之效率(血漿 TTR 相對於 PBS 對照之 %))

【0017】 圖 8：展示來自實例 25 之代表性化合物的資料。(表 2：皮下投與之 siRNA(TTR)-結合物(2mg/kg)之效率(血漿 TTR 相對於 PBS 對照之 %))

### 【實施方式】

【0018】 除非另外說明，否則如本文所用，以下術語具有歸於其之含義。

【0019】 如本文所用，術語「小干擾 RNA」或「siRNA」係指當 siRNA 處於與標靶基因或序列相同的細胞中時，能夠減少或抑制標靶基因或序列之表現(例如藉由介導 siRNA 序列之降解或抑制與 siRNA 序列互補之 mRNA 之轉譯)的雙鏈 RNA (亦即雙鏈體 RNA)。siRNA 可與標靶基因或序列基本上或完全一致，或可包含錯配區(亦即錯配基元)。在某些實施例中，siRNA 可長約 19-25 個(雙鏈體)核苷酸，且較佳長約 20-24、21-22 或 21-23 個(雙鏈體)核苷酸。siRNA 雙鏈體可包含具有約 1 至約 4 個核苷酸或約 2 至約 3 個核苷酸之 3'懸垂物及 5'磷酸末端。siRNA 之實例包括(但不限於)自兩個分開之成鏈分子組裝的雙鏈聚核苷酸分子，其中一條鏈為有義鏈且另一條鏈為互補反義鏈。

【0020】 在某些實施例中，siRNA 之一或兩個鏈上的 5'及/或 3'懸垂物包含 1-4 (例如 1、2、3 或 4)個經修飾及/或未修飾之去氧胸苷(t 或 dT)核苷酸、1-4 (例如 1、2、3 或 4)個經修飾(例如 2'OMe)及/或未修飾之尿苷(U)核糖核苷酸及/或 1-4 (例如 1、2、3 或 4)個與標靶序列互補(例如反義鏈中之 3'懸垂物)或具有其互補鏈(例如有義鏈中 3'懸垂物)的經修飾(例如 2'OMe)及/或未修飾之核糖核苷酸或去氧核糖核苷酸。

【0021】 較佳地，siRNA 係化學合成。siRNA 亦可藉由用大腸桿菌核糖核酸酶 III 或 Dicer 裂解較長 dsRNA (例如長度大於約 25 個核苷酸之 dsRNA)來產生。此等酶將 dsRNA 加工成生物活性 siRNA (參見例如 Yang 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99:9942-9947 (2002)；Calegari 等人, *Proc.*

*Natl. Acad. Sci. USA*, 99:14236 (2002); Byrom 等人, *Ambion TechNotes*, 10(1):4-6 (2003); Kawasaki 等人, *Nucleic Acids Res.*, 31:981-987 (2003); Knight 等人, *Science*, 293:2269-2271 (2001); 及 Robertson 等人, *J. Biol. Chem.*, 243:82 (1968))。較佳地，dsRNA 長度為至少 50 個核苷酸至約 100、200、300、400 或 500 個核苷酸。dsRNA 長度可長達 1000、1500、2000、5000 個核苷酸或更長。dsRNA 可編碼整個基因轉錄物或部分基因轉錄物。在某些情況下，siRNA 可藉由質體編碼(例如轉錄為自動摺疊成具有髮夾環之雙鏈體之序列)。

【0022】 短語「抑制標靶基因之表現」係指本發明之 siRNA 能夠使標靶基因沉默、減少或抑制標靶基因之表現(例如 DGAT2 及視情況 ANGPTL3 表現)。為檢查基因沉默之程度，測試樣品(例如來自表現標靶基因之相關生物體之生物樣品或表現標靶基因之培養細胞之樣品)與使標靶基因沉默、減少或抑制標靶基因之表現的 siRNA 接觸。將測試樣品中標靶基因之表現與未接觸 siRNA 之對照樣品(例如來自表現標靶基因之相關生物體之生物樣品或表現標靶基因之培養細胞之樣品)中標靶基因之表現相比。對照樣品(例如表現標靶基因之樣品)可分配 100%之值。在特定實施例中，當測試樣品相對於對照樣品(例如僅緩衝液、靶向不同基因之 siRNA 序列、加擾 siRNA 序列等)之值為約 100%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、89%、88%、87%、86%、85%、84%、83%、82%、81%、80%、79%、78%、77%、76%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、5%或 0%時，實現標靶基因之沉默、標靶基因之表現之抑制或減少。適合分析法包括(但不限於)使用本領域技術人員已知之技術，諸如斑點墨點法、北方墨點法、原位雜交、ELISA、免疫沈澱、酶功能以及本領域技術人員已知之表型分析法檢查蛋白質或 mRNA 含量。

【0023】 術語「合成活化基團」係指可附接於原子以活化該原子，使得其與另一反應基團形成共價鍵的基團。應瞭解，合成活化基團之性質可視其活化之原子而定。舉例而言，當合成活化基團附接於氧原子時，合成活化基團為將活化該氧原子以與另一反應基團形成鍵(例如酯、胺基甲酸酯

或醚鍵)之基團。已知此類合成活化基團。可附接於氧原子之合成活化基團之實例包括(但不限於)乙酸酯基、丁二酸酯基、三氟甲磺酸酯基及甲磺酸酯基。當合成活化基團附接於羧酸之氧原子時，合成活化基團可為衍生自己知之偶合試劑(例如已知之醯胺偶合試劑)的基團。已知此類偶合試劑。此類偶合試劑之實例包括(但不限於) N,N'-二環己基碳化二亞胺(DCC)、羥基苯并三唑(HOBT)、N-(3-二甲基胺基丙基)-N'-乙基碳酸酯(EDC)、六氟磷酸(苯并三唑-1-基氧基)三(二甲基胺基)磷(BOP)、六氟磷酸苯并三唑-1-基-氧基三吡咯啶基磷(PyBOP)或六氟磷酸 O- 苯并三唑-1-基 -N,N,N',N'-四甲基脲(HBTU)。

【0024】 諸如 siRNA 之治療性核酸之「有效量」或「治療有效量」為足夠產生所需作用，例如與在缺乏 siRNA 下偵測到之正常表現水準相比，抑制標靶序列之表現的量。在特定實施例中，當相對於對照(例如僅緩衝液、靶向不同基因之 siRNA 序列、加擾 siRNA 序列等)，用 siRNA 獲得之值為約 100%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、89%、88%、87%、86%、85%、84%、83%、82%、81%、80%、79%、78%、77%、76%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、5%或 0%時，實現標靶基因或標靶序列之表現之抑制。用於量測標靶基因或標靶序列之表現的適合分析法包括(但不限於)使用本領域技術人員已知之技術，諸如斑點墨點法、北方墨點法、原位雜交、ELISA、免疫沈澱、酶功能以及本領域技術人員已知之表型分析法檢查蛋白質或 mRNA 含量。

【0025】 如本文所用，術語「核酸」係指含有呈單鏈或雙鏈形式之至少兩個核苷酸(亦即去氧核糖核苷酸或核糖核苷酸)且包括 DNA 及 RNA 之聚合物。「核苷酸」含有糖去氧核糖(DNA)或核糖(RNA)、鹼基及磷酸酯基。核苷酸經由磷酸酯基連接在一起。「鹼基」包括嘌呤及嘧啶，其進一步包括天然化合物腺嘌呤、胸腺嘧啶、鳥嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、肌苷及天然類似物，以及嘌呤及嘧啶之合成衍生物，包括(但不限於)置放諸如(但不限於)胺、醇、硫醇、羧酸酯及烷基鹵之新反應基團之修飾。核酸包括含有已知之核苷酸類似物或經修飾之主鏈殘基或鏈的核酸，其為合成、天然存在及

非天然存在的，且具有與參考核酸類似之結合性質。此類類似物及/或經修飾之殘基之實例包括(但不限於)硫代磷酸酯、胺基磷酸酯、膦酸甲酯、對掌性-膦酸甲酯、2'-O-甲基核糖核苷酸及肽-核酸(peptide-nucleic acid, PNA)。另外，核酸可包括一或多個 UNA 部分。

【0026】 術語「核酸」包括任何寡核苷酸或聚核苷酸，其中含有至多 60 個核苷酸之片段一般稱為寡核苷酸，且更長片段稱為聚核苷酸。去氧核糖寡核苷酸由稱為去氧核糖之 5 碳糖在此糖之 5' 及 3' 碳上共價接合於磷酸酯基組成，形成交替之無分支聚合物。DNA 可呈例如反義分子、質體 DNA、預縮合 DNA、PCR 產物、載體、表現卡匣、嵌合序列、染色體 DNA 或此等組之衍生物及組合的形式。核糖寡核苷酸由其中 5 碳糖為核糖之類似重複結構組成。RNA 可呈例如小干擾 RNA (siRNA)、Dicer-受質 dsRNA、小髮夾 RNA (shRNA)、不對稱干擾 RNA (aiRNA)、微 RNA (miRNA)、mRNA、tRNA、rRNA、病毒 RNA (vRNA) 及其組合之形式。因此，在本發明之上下文中，術語「聚核苷酸」及「寡核苷酸」係指由天然存在之鹼基、糖及糖間(主鏈)鍵組成的核苷酸或核苷單體之聚合物或寡聚物。術語「聚核苷酸」及「寡核苷酸」亦包括功能類似之包含非天然存在之單體的聚合物或寡聚物或其部分。因為諸如細胞吸收增強、免疫原性降低及在核酸酶存在下之穩定性增加的特性，所以此類經修飾或經取代之寡核苷酸經常較佳超越天然形式。

【0027】 除非另有指示，否則特定核酸序列亦暗中涵蓋其保守修飾之變異體(例如簡併密碼子取代)、等位基因、直系同源物、SNP 及互補序列以及明確指示之序列。特定言之，簡併密碼子取代可藉由產生其中一或多個所選(或所有)密碼子之第三個位置經混合鹼基及/或去氧肌苷殘基取代的序列來實現(Batzer 等人, *Nucleic Acid Res.*, 19:5081 (1991); Ohtsuka 等人, *J. Biol. Chem.*, 260:2605-2608 (1985); Rossolini 等人, *Mol. Cell. Probes*, 8:91-98 (1994))。

【0028】 在一個實施例中，核酸可為 siRNA。適合 siRNA 以及可用於其製備之方法及中間物在國際專利申請公開案第 WO 2016/054421 號中報導。在一個實施例中，siRNA 可選自以下表中所示之 siRNA。

| 名稱 | 雙鏈體序列                                                                               |                  |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| 1m | 5' <u>A</u> g G u A U g u U G C C C g U u U G U <u>U</u> <u>U</u> 3' (SEQ ID NO:1)  | 5' (SEQ ID NO:2) |
| 2m | 5' <u>G</u> C u c A g U U U A C U A G U G C c A U <u>U</u> 3' (SEQ ID NO:3)         | 5' (SEQ ID NO:4) |
| 3m | 5' <u>C</u> C G U g u G C A C U u C G C u u C A <u>U</u> <u>U</u> 3' (SEQ ID NO:5)  | 5' (SEQ ID NO:6) |
| 4m | 5' <u>G</u> C u c A g' U U U A C U A G U G C c A <u>U</u> <u>U</u> 3' (SEQ ID NO:7) | 5' (SEQ ID NO:8) |

| 名稱  | 雙鏈體序列                                                                               |                   |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| 5m  | 5' <u>C</u> C G U g u G C A C U u C G C u U C A U <u>U</u> 3' (SEQ ID NO:9)         | 5' (SEQ ID NO:10) |
| 6m  | 5' <u>C</u> u g g C U C A G U U U A C u A g U G U <u>U</u> 3' (SEQ ID NO:11)        | 5' (SEQ ID NO:12) |
| 7m  | 5' <u>C</u> C G U g u G C A C U u C G C u U C A <u>U</u> <u>U</u> 3' (SEQ ID NO:13) | 5' (SEQ ID NO:14) |
| 8m  | 5' <u>G</u> C u C A g U U U A C u A g U G C C A <u>U</u> <u>U</u> 3' (SEQ ID NO:15) | 5' (SEQ ID NO:16) |
| 9m  | 5' <u>A</u> g G u A U G u U G C C C g U u U G U <u>U</u> <u>U</u> 3' (SEQ ID NO:17) | 5' (SEQ ID NO:18) |
| 10m | 5' <u>G</u> C C g A u C C A U A C u g C g g A A <u>U</u> <u>U</u> 3' (SEQ ID NO:19) | 5' (SEQ ID NO:20) |
| 11m | 5' <u>G</u> C C g A u C C A U A C u g C g g A A <u>U</u> <u>U</u> 3' (SEQ ID NO:21) | 5' (SEQ ID NO:22) |
| 12m | 5' <u>G</u> C C g A u C C A U A C u g C G g A A <u>U</u> <u>U</u> 3' (SEQ ID NO:23) | 5' (SEQ ID NO:24) |
| 13m | 5' <u>G</u> C C g A u C C A U A C u g C G g A A <u>U</u> <u>U</u> 3' (SEQ ID NO:25) | 5' (SEQ ID NO:26) |
| 14m | 5' <u>G</u> C u C A g U U U A C u A g U G C C A <u>U</u> <u>U</u> 3' (SEQ ID NO:27) | 5' (SEQ ID NO:28) |
| 15m | 5' <u>C</u> u g G C u C A G U U u A C U A G U G <u>U</u> <u>U</u> 3' (SEQ ID NO:29) | 5' (SEQ ID NO:30) |

- 【0029】術語「基因」係指包含對於多肽或前驅多肽產生而言所必需之部分長度或整個長度編碼序列的核酸(例如 DNA 或 RNA)序列。
- 【0030】如本文所用，「基因產物」係指諸如 RNA 轉錄物或多肽之

基因產物。

【0031】 除非另有說明，否則如本文所用，單獨或作為另一取代基之一部分的術語「烷基」意謂具有指定碳原子數目之直鏈或支鏈烴基(亦即  $C_{1-8}$  意謂一至八個碳)。烷基之實例包括甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、第三丁基、異丁基、第二丁基、正戊基、正己基、正庚基、正辛基及其類似基團。術語「烯基」係指具有一或多個雙鍵之不飽和烷基。類似地，術語「炔基」係指具有一或多個三鍵之不飽和烷基。此類不飽和烷基之實例包括乙烯基、2-丙烯基、巴豆基、2-異戊烯基、2-(丁二烯基)、2,4-戊二烯基、3-(1,4-戊二烯基)、乙炔基、1-丙炔基及 3-丙炔基、3-丁炔基及更高碳數之同系物及異構體。

【0032】 單獨或作為另一取代基之一部分的術語「伸烷基」意謂衍生自烷烴(包括直鏈及支鏈烷烴)之二價基團，例如  $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$  及  $-CH(CH_3)CH_2CH_2-$ 。

【0033】 術語「環烷基」、「碳環基」或「碳環」係指總共具有 3 至 20 個環原子數目(例如 3-20 員環烷基為具有 3 至 20 個環原子之環烷基，或  $C_{3-20}$  環烷基為具有 3-20 個碳環原子之環烷基)，且對於 3-5 員環烷基而言，完全飽和或在環頂點之間具有至多一個雙鍵，且對於 6 員環烷基或更大環烷基而言，完全飽和或在環頂點之間具有至多兩個雙鍵的烴環系統。如本文所用，「環烷基」、「碳環基」或「碳環」亦意指二環、多環及螺環烴環系統，諸如二環[2.2.1]庚烷、蒾烷、二環[2.2.2]辛烷、金剛烷、降冰片烯、螺環  $C_{5-12}$  烷烴等等。如本文所用，術語「烯基」、「炔基」、「環烷基」、「碳環」及「碳環基」意圖包括其單鹵化及多鹵化變體。

【0034】 術語「雜環烷基」、「雜環基」或「雜環」係指總共具有 3-20 個環原子(例如 3-20 員雜環烷基為具有 3-20 個環原子之雜環烷基， $C_{2-19}$  雜環烷基為具有 3-10 個環原子且 2-19 個之間的環原子為碳的雜環烷基)，含有一個至十個選自 N、O 及 S 之雜原子的飽和或部分不飽和環系統基團，其中作為環原子，氮及硫原子視情況氧化，氮原子視情況四級胺化。除非另有說明，否則「雜環烷基」環、「雜環基」環或「雜環」可為單環、二環、螺環或多環環系統。「雜環烷基」環、「雜環基」環或「雜環」之非限制性

實例包括吡咯啉、哌啉、N-甲基哌啉、咪唑啉、吡唑啉、丁內醯胺、戊內醯胺、咪唑啉酮、乙內醯脲、二氧戊環、鄰苯二醯亞胺、哌啉、嘧啉-2,4(1H,3H)-二酮、1,4-二噁烷、嗎啉、硫嗎啉、硫嗎啉-S-氧化物、硫嗎啉-S,S-氧化物、哌嗪、哌喃、吡啶酮、3-吡咯啉、硫哌喃、哌喃酮、四氫呋喃、四氫噻吩、奎寧環、托品烷、2-氮雜螺[3.3]庚烷、(1R,5S)-3-氮雜二環[3.2.1]辛烷、(1s,4s)-2-氮雜二環[2.2.2]辛烷、(1R,4R)-2-氧雜-5-氮雜二環[2.2.2]辛烷及其類似物。「雜環烷基」、「雜環基」或「雜環」基團可經由一或多個環碳或雜原子附接於分子之其餘部分。「雜環烷基」、「雜環基」或「雜環」可包括其單鹵化及多鹵化變體。

【0035】 術語「烷氧基」及「烷硫基」以其習知意義使用，且係指經由氧原子(「氧基」)或硫基附接於分子其餘部分之彼等烷基，且進一步包括其單鹵化及多鹵化變體。

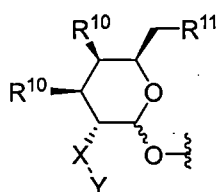
【0036】 除非另有說明，否則單獨或作為另一取代基之一部分的術語「鹵基」或「鹵素」意謂氟、氯、溴或碘原子。術語「(鹵)烷基」意圖包括「烷基」與「鹵烷基」取代基。另外，術語「鹵烷基」意圖包括單鹵烷基及多鹵烷基。舉例而言，術語「C<sub>1-4</sub> 鹵烷基」意圖包括三氟甲基、2,2,2-三氟乙基、4-氯丁基、3-溴丙基、二氟甲基及其類似基團。

【0037】 術語「芳基」意謂具有 6-14 個碳原子之碳環芳基，無論是否與一或多個基團稠合。除非另有說明，否則芳基之實例包括苯基、萘基、聯苯基及其類似基團。

【0038】 術語「雜芳基」係指含有一個至五個選自 N、O 及 S 之雜原子的芳環，其中氮及硫原子視情況氧化，且氮原子視情況四級鉸化。雜芳基可經由雜原子附接於分子其餘部分。雜芳基之實例包括吡啶基、噻吩基、吡嗪基、嘧啶基、三嗪基、喹啉基、喹噁啉基、喹唑啉基、噌啉基、酞嗪基、苯并三嗪基、嘌呤基、苯并咪唑基、苯并吡唑基、苯并三唑基、苯并噁唑基、異苯并呋喃基、異吲哚基、吲哚基、苯并三嗪基、噻吩并吡啶基、噻吩并嘧啶基、吡唑并嘧啶基、咪唑并吡啶、苯并噻唑基、苯并呋喃基、苯并噻吩基、吲哚基、喹啉基、異喹啉基、異噻唑基、吡唑基、吲哚基、喋啶基、咪唑基、三唑基、四唑基、噁唑基、異噁唑基、噻二唑基、吡咯

基、噻唑基、呋喃基、噻吩基及其類似基團。

【0039】 術語醣包括單醣、二醣及三醣。該術語包括葡萄糖、蔗糖、果糖、半乳糖及核糖，以及去氧糖，諸如去氧核糖，及胺基糖，諸如軟骨糖胺。醣衍生物宜如國際專利申請公開案第 WO 96/34005 號及第 97/03995 號中所述製備。醣宜經由醚鍵、硫醚鍵(例如 S-醣苷)、胺氮(例如 N-醣苷)或碳-碳鍵(例如 C-醣苷)連接至式 I 化合物之其餘部分。在一個實施例中，醣宜經由醚鍵連接至式 I 化合物之其餘部分。在一個實施例中，術語醣包括下式之基團：



其中：

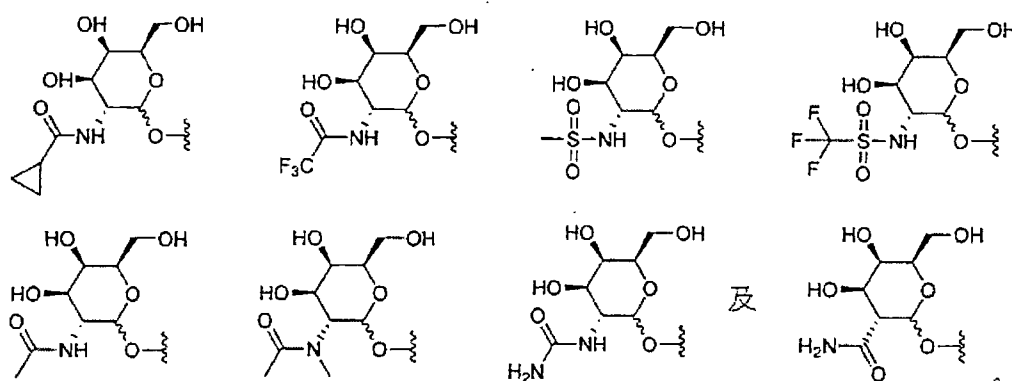
X 為  $\text{NR}^3$ ，且 Y 係選自  $-(\text{C}=\text{O})\text{R}^4$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}^5$  及  $-(\text{C}=\text{O})\text{NR}^6\text{R}^7$ ；或 X 為  $-(\text{C}=\text{O})-$  且 Y 為  $\text{NR}^8\text{R}^9$ ；

$\text{R}^3$  為氫或  $(\text{C}_1\text{-C}_4)$  烷基；

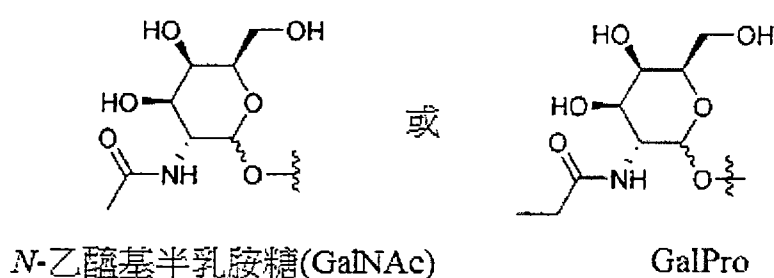
$\text{R}^4$ 、 $\text{R}^5$ 、 $\text{R}^6$ 、 $\text{R}^7$ 、 $\text{R}^8$  及  $\text{R}^9$  各獨立地選自由以下組成之群：氫、 $(\text{C}_1\text{-C}_8)$  烷基、 $(\text{C}_1\text{-C}_8)$  鹵烷基、 $(\text{C}_1\text{-C}_8)$  烷氧基及  $(\text{C}_3\text{-C}_6)$  環烷基，其視情況經一或多個獨立地選自由以下組成之群的基團取代：鹵基、 $(\text{C}_1\text{-C}_4)$  烷基、 $(\text{C}_1\text{-C}_4)$  鹵烷基、 $(\text{C}_1\text{-C}_4)$  烷氧基及  $(\text{C}_1\text{-C}_4)$  鹵烷氧基；

$\text{R}^{10}$  為  $-\text{OH}$ 、 $-\text{NR}^8\text{R}^9$  或  $-\text{F}$ ；且

$\text{R}^{11}$  為  $-\text{OH}$ 、 $-\text{NR}^8\text{R}^9$ 、 $-\text{F}$  或視情況經一或多個獨立地選自由以下組成之群的基團取代的 5 員雜環：鹵基、羥基、羧基、胺基、 $(\text{C}_1\text{-C}_4)$  烷基、 $(\text{C}_1\text{-C}_4)$  鹵烷基、 $(\text{C}_1\text{-C}_4)$  烷氧基及  $(\text{C}_1\text{-C}_4)$  鹵烷氧基。在另一實施例中，醣可選自由以下組成之群：



【0040】 在另一實施例中，醣可為：



【0041】 術語「動物」包括哺乳動物物種，諸如人類、小鼠、大鼠、狗、貓、倉鼠、天竺鼠、兔、家畜及其類似物種。

#### 產生 siRNA 分子

【0042】 SiRNA 可呈若干形式提供，包括例如一或多種分離之小干擾 RNA (siRNA) 雙鏈體、更長雙鏈 RNA (dsRNA) 或在 DNA 質體中自轉錄卡匣轉錄之 siRNA 或 dsRNA。在一些實施例中，siRNA 可酶促產生或藉由部分/全部有機合成產生，且經修飾之核糖核苷酸可藉由活體外酶或有機合成引入。在某些情況下，各鏈係化學製備。合成 RNA 分子之方法為本領域中已知，例如如 Verma 及 Eckstein (1998) 中所述或如本文中所述之化學合成方法。

【0043】 用於分離 RNA、合成 RNA、雜交核酸、製備及篩選 cDNA 文庫及進行 PCR 之方法為本領域中所熟知(參見例如 Gubler 及 Hoffman, *Gene*, 25:263-269 (1983); Sambrook 等人, 上述; Ausubel 等人, 上述), 以及 PCR 方法(參見美國專利第 4,683,195 號及第 4,683,202 號; *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications* (Innis 等人編輯, 1990))。表現文庫亦為本領域技術人員熟知。揭示可用於本發明中之通用方法的其他基礎文本包

括 Sambrook 等人, *Molecular Cloning, A Laboratory Manual* (第 2 版 1989); Kriegler, *Gene Transfer and Expression: A Laboratory Manual* (1990); 及 *Current Protocols in Molecular Biology* (Ausubel 等人編輯, 1994)。此等參考文獻之揭示內容以引用的方式全部併入本文中以達成所有目的。

【0044】 通常, siRNA 係化學合成。包含本發明之 siRNA 分子之寡核苷酸可使用本領域中已知之多種技術中之任一者, 諸如以下中描述之技術合成: Usman 等人, *J. Am. Chem. Soc.*, 109:7845 (1987); Scaringe 等人, *Nucl. Acids Res.*, 18:5433 (1990); Wincott 等人, *Nucl. Acids Res.*, 23:2677-2684 (1995); 及 Wincott 等人, *Methods Mol. Bio.*, 74:59 (1997)。寡核苷酸之合成使用常見核酸保護及偶合基團, 諸如在 5'-端之二甲氧基三苯甲基及在 3'-端之亞磷醯胺。作為非限制性實例, 小規模合成可在 Applied Biosystems 合成器上使用 0.2  $\mu\text{mol}$  規模方案進行。或者, 0.2  $\mu\text{mol}$  規模之合成可在來自 Protogene 之 96 孔盤合成器(Palo Alto, CA)上進行。然而, 更大或更小規模之合成亦在本發明之範疇內。適合用於寡核苷酸合成之試劑、用於 RNA 保護基脫除之方法及用於 RNA 純化之方法為本領域技術人員所知。

【0045】 siRNA 分子可自兩個不同寡核苷酸組裝, 其中一個寡核苷酸包含 siRNA 之有義鏈且另一個包含 siRNA 之反義鏈。舉例而言, 各鏈可分開合成且在合成及/或脫除保護基之後藉由雜交或聯接來接合在一起。

#### 本發明之實施例

【0046】 本發明之一態樣為如發明內容中闡述之式 I 化合物, 或其鹽。

【0047】 在式 I 化合物之一個實施例中,  $R^1$  為靶向配位體;

$L^1$  不存在或為連接基團;

$L^2$  不存在或為連接基團;

$R^2$  為核酸;

環 A 不存在、為 3-20 員環烷基、5-20 員芳基、5-20 員雜芳基或 3-20 員雜環烷基;

各  $R^A$  獨立地選自由以下組成之群: 氫、羥基、CN、F、Cl、Br、I、 $-C_{1-2}$  烷基- $OR^B$  及視情況經一或多個獨立地選自鹵基、羥基及  $C_{1-3}$  烷氧基之基團

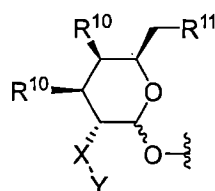
取代的  $C_{1-8}$  烷基；

$R^B$  為氫、保護基、與固體支撐物之共價鍵或與結合於固體支撐物之連接基團之鍵；且

$n$  為 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10。

【0048】 在一個實施例中， $R^1$  為  $-C(H)_{(3-p)}(L^3\text{-醣})_p$ ，其中各  $L^3$  獨立地為連接基團； $p$  為 1、2 或 3；且醣為單醣或二醣。

【0049】 在一個實施例中，醣為：



其中：

$X$  為  $NR^3$ ，且  $Y$  係選自  $-(C=O)R^4$ 、 $-SO_2R^5$  及  $-(C=O)NR^6R^7$ ；或  $X$  為  $-(C=O)-$  且  $Y$  為  $NR^8R^9$ ；

$R^3$  為氫或  $(C_1-C_4)$  烷基；

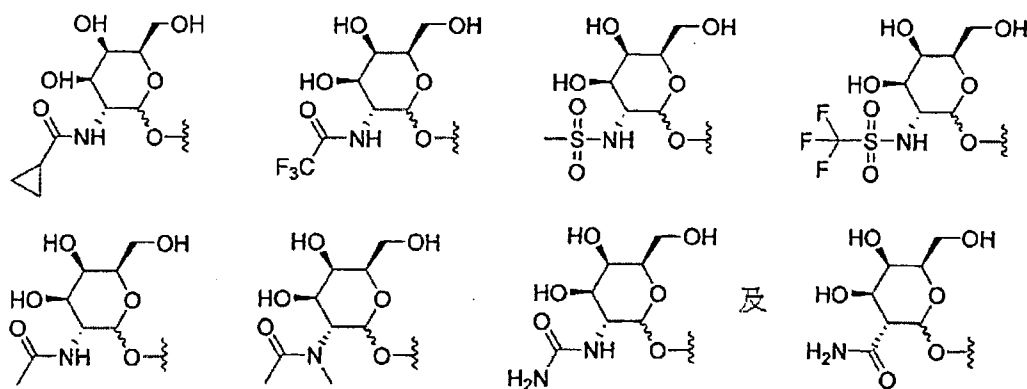
$R^4$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^8$  及  $R^9$  各獨立地選自由以下組成之群：氫、 $(C_1-C_8)$  烷基、 $(C_1-C_8)$  鹵烷基、 $(C_1-C_8)$  烷氧基及  $(C_3-C_6)$  環烷基，其視情況經一或多個獨立地選自由以下組成之群的基團取代：鹵基、 $(C_1-C_4)$  烷基、 $(C_1-C_4)$  鹵烷基、 $(C_1-C_4)$  烷氧基及  $(C_1-C_4)$  鹵烷氧基；

$R^{10}$  為  $-OH$ 、 $-NR^8R^9$  或  $-F$ ；且

$R^{11}$  為  $-OH$ 、 $-NR^8R^9$ 、 $-F$  或視情況經一或多個獨立地選自由以下組成之群的基團取代的 5 員雜環：鹵基、羥基、羧基、胺基、 $(C_1-C_4)$  烷基、 $(C_1-C_4)$  鹵烷基、 $(C_1-C_4)$  烷氧基及  $(C_1-C_4)$  鹵烷氧基；

或其鹽。

【0050】 在一個實施例中，醣係選自由以下組成之群：



及其鹽。

【0051】 在一個實施例中，醣為：



*N*-乙醯基半乳糖胺(GalNAc)

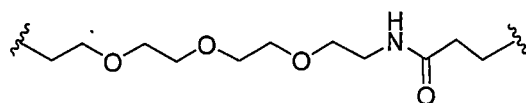
GalPro

【0052】 在一個實施例中，各  $L^3$  獨立地為具有 0 至 50 個碳原子之有分支或未分支之二價飽和或不飽和烴鏈，其中該烴鏈中之該等碳原子中的一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)視情況經-O-、-NR<sup>X</sup>-、-NR<sup>X</sup>-C(=O)-、-C(=O)-NR<sup>X</sup>-或-S-置換，且其中 R<sup>X</sup> 為氫或(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基，且其中烴鏈視情況經一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)選自以下之取代基取代：(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷氧基、(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)環烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷醯基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷醯氧基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷氧基羰基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基硫基、疊氮基、氰基、硝基、鹵基、羥基、側氧基(=O)、羧基、芳基、芳氧基、雜芳基及雜芳氧基。

【0053】 在一個實施例中，各  $L^3$  獨立地為具有 1 至 20 個碳原子之有分支或未分支之二價飽和或不飽和烴鏈，其中該烴鏈中之該等碳原子中的一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)視情況經-O-、-NR<sup>X</sup>-、-NR<sup>X</sup>-C(=O)-、-C(=O)-NR<sup>X</sup>-或-S-置換，且其中 R<sup>X</sup> 為氫或(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基，且其中烴鏈視情況經一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)選自以下之取代基取代：(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷氧基、(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)環烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷醯基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷醯氧基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷氧基羰基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基硫基、疊氮基、氰基、硝基、鹵基、羥基、側氧基(=O)、羧基、芳基、

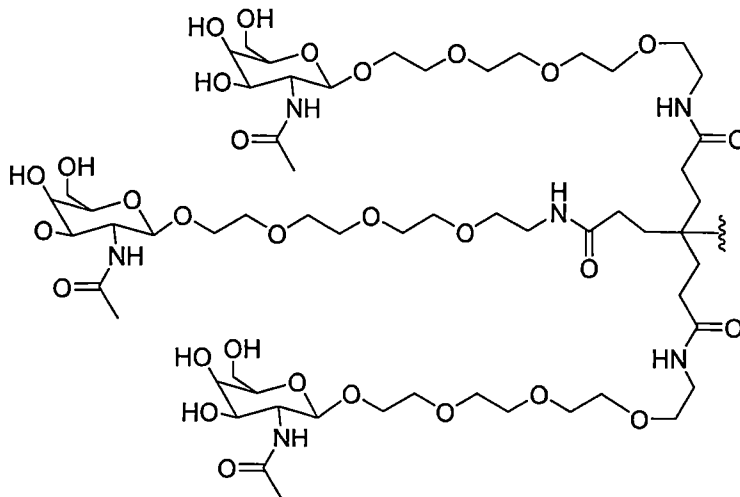
芳氧基、雜芳基及雜芳氧基。

【0054】 在一個實施例中， $L^3$  為：



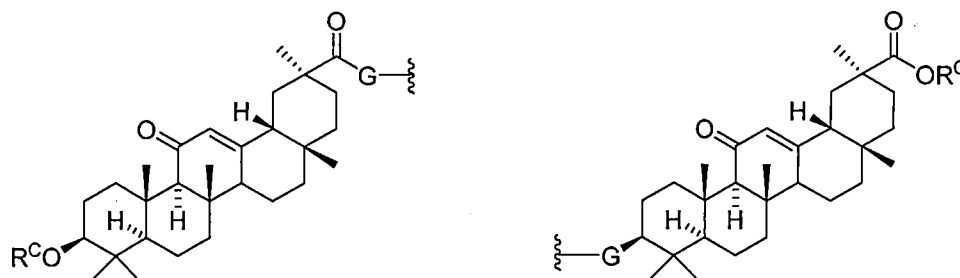
或其鹽。

【0055】 在一個實施例中， $R^1$  為：



或其鹽。

【0056】 在一個實施例中， $R^1$  為：

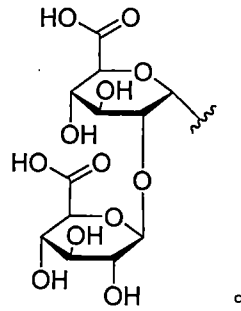


其中  $G$  為  $-NH-$  或  $-O-$ ；

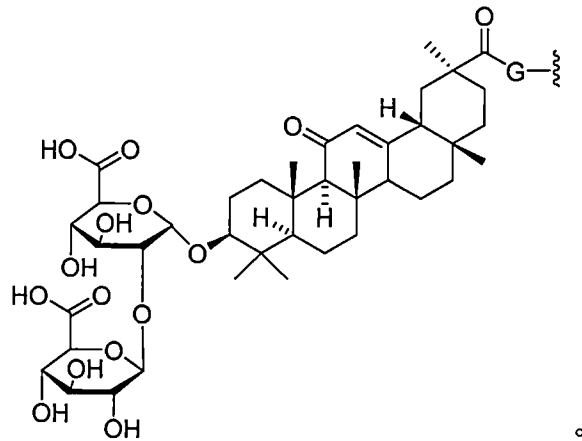
$R^C$  為氫、 $(C_1-C_8)$  烷基、 $(C_1-C_8)$  鹵烷基、 $(C_1-C_8)$  烷氧基、 $(C_1-C_6)$  烷酯基、 $(C_3-C_{20})$  環烷基、 $(C_3-C_{20})$  雜環、芳基、雜芳基、單糖、二糖或三糖；且其中該環烷基、雜環、芳基、雜芳基及糖視情況經一或多個獨立地選自由以下組成之群之基團取代：鹵基、羧基、羥基、胺基、 $(C_1-C_4)$  烷基、 $(C_1-C_4)$  鹵烷基、 $(C_1-C_4)$  烷氧基及  $(C_1-C_4)$  鹵烷氧基；

或其鹽。

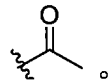
【0057】 在一個實施例中， $R^C$  為：



【0058】 在一個實施例中， $R^1$  為：

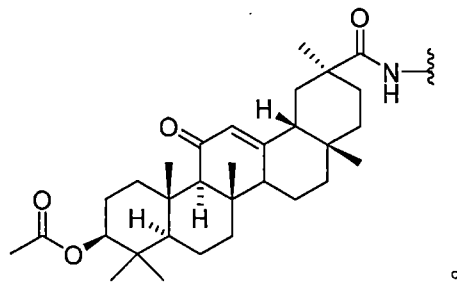


【0059】 在一個實施例中， $R^C$  為：

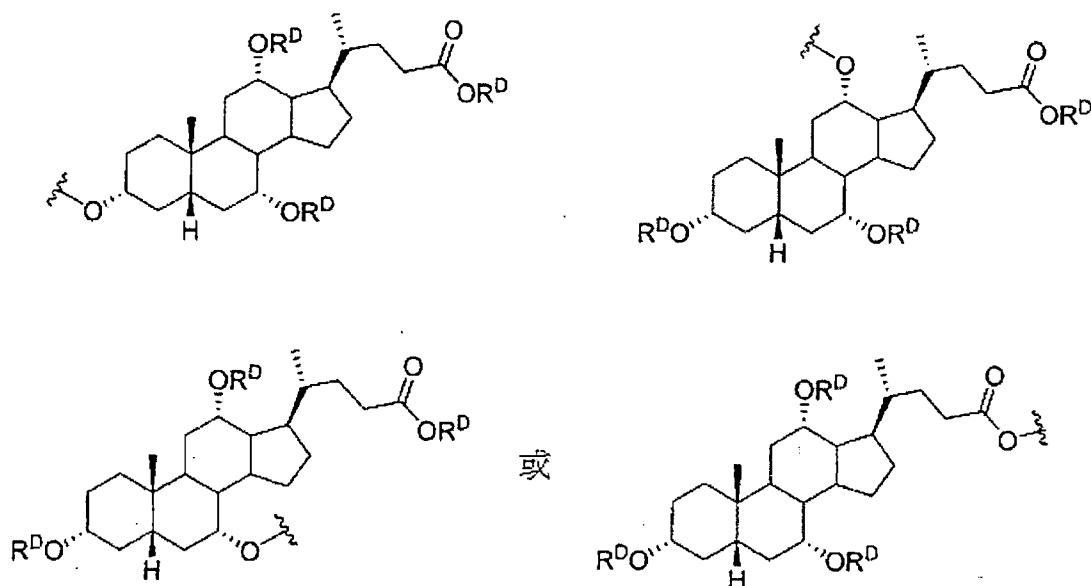


【0060】 在一個實施例中，G 為-NH-。

【0061】 在一個實施例中， $R^1$  為：



【0062】 在一個實施例中， $R^1$  為：



其中各  $R^D$  獨立地選自由以下組成之群：氫、 $(C_1-C_6)$ 烷基、 $(C_9-C_{20})$ 烷基、甲矽烷基、 $(R^W)_3Si-$ 、 $(C_2-C_6)$ 烯基、四氫吡喃基、 $(C_1-C_6)$ 烷醯基、苯甲醯基、芳基 $(C_1-C_3)$ 烷基、TMTTr (三甲氧基三苯甲基)、DMTr (二甲氧基三苯甲基)、MMTr (單甲氧基三苯甲基)及 Tr (三苯甲基)；且

各  $R^W$  獨立地選自由以下組成之群： $(C_1-C_4)$ 烷基及芳基。

【0063】 在一個實施例中，連接基團  $L^1$  及  $L^2$  獨立地為具有 1 至 50 個碳原子之有分支或未分支之二價飽和或不飽和烴鏈，其中該烴鏈中之該等碳原子中的一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)視情況經-O-、 $-NR^X-$ 、 $-NR^X-C(=O)-$ 、 $-C(=O)-NR^X-$ 或-S-置換，且其中  $R^X$  為氫或 $(C_1-C_6)$ 烷基，且其中烴鏈視情況經一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)選自以下之取代基取代： $(C_1-C_6)$ 烷氧基、 $(C_3-C_6)$ 環烷基、 $(C_1-C_6)$ 烷醯基、 $(C_1-C_6)$ 烷醯氧基、 $(C_1-C_6)$ 烷氧基羰基、 $(C_1-C_6)$ 烷基硫基、疊氮基、氰基、硝基、鹵基、羥基、側氧基(=O)、羧基、芳基、芳氧基、雜芳基及雜芳氧基。

【0064】 在一個實施例中， $L^1$  及  $L^2$  獨立地為具有 1 至 20 個碳原子之有分支或未分支之二價飽和或不飽和烴鏈，其中該烴鏈中之該等碳原子中的一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)視情況經-O-、 $-NR^X-$ 、 $-NR^X-C(=O)-$ 、 $-C(=O)-NR^X-$ 或-S-置換，且其中  $R^X$  為氫或 $(C_1-C_6)$ 烷基，且其中烴鏈視情況經一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)選自以下之取代基取代： $(C_1-C_6)$ 烷氧基、 $(C_3-C_6)$ 環烷基、 $(C_1-C_6)$ 烷醯基、 $(C_1-C_6)$ 烷醯氧基、 $(C_1-C_6)$ 烷氧基羰基、 $(C_1-C_6)$

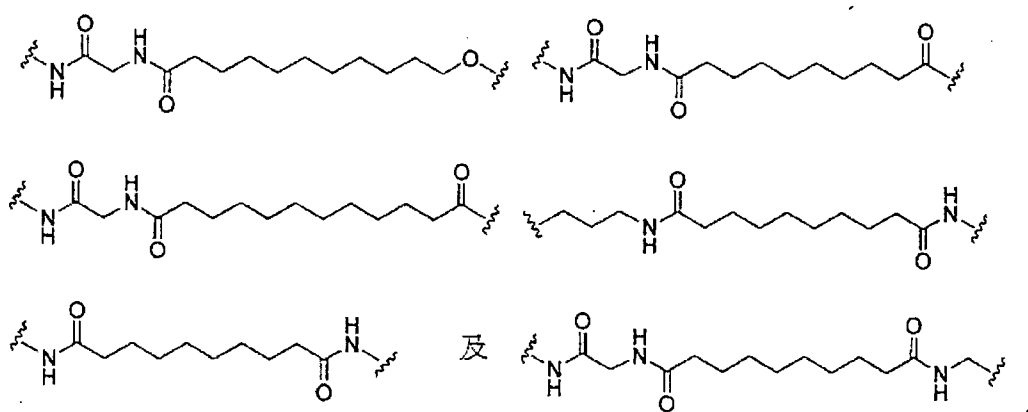
烷基硫基、疊氮基、氰基、硝基、鹵基、羥基、側氧基(=O)、羧基、芳基、芳氧基、雜芳基及雜芳氧基。

【0065】 在一個實施例中， $L^1$  及  $L^2$  獨立地為具有 1 至 14 個碳原子之有分支或未分支之二價飽和或不飽和烴鏈，其中該烴鏈中之該等碳原子中的一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)視情況經-O-、-NR<sup>X</sup>-、-NR<sup>X</sup>-C(=O)-、-C(=O)-NR<sup>X</sup>-或-S-置換，且其中 R<sup>X</sup> 為氫或(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基，且其中烴鏈視情況經一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)選自以下之取代基取代：(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷氧基、(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)環烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷醯基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷醯氧基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷氧基羰基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基硫基、疊氮基、氰基、硝基、鹵基、羥基、側氧基(=O)、羧基、芳基、芳氧基、雜芳基及雜芳氧基。

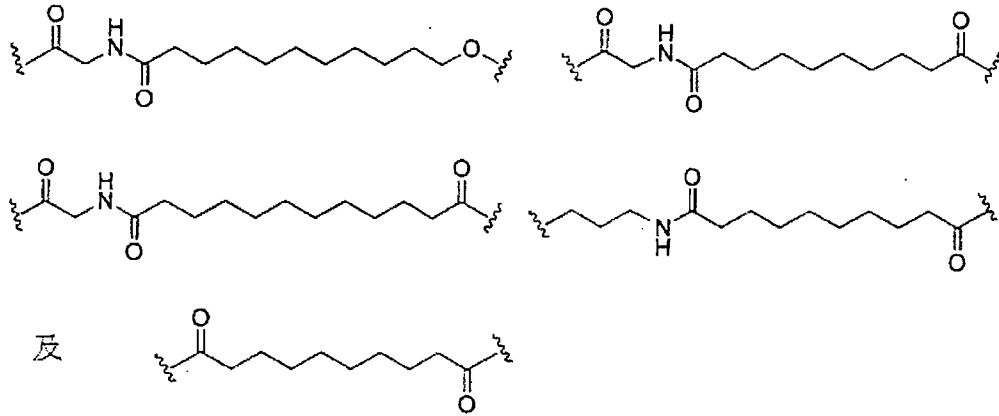
【0066】 在一個實施例中， $L^1$  經由-NH-、-O-、-S-、-(C=O)-、-(C=O)-NH-、-NH-(C=O)-、-(C=O)-O-、-NH-(C=O)-NH-或-NH-(SO<sub>2</sub>)-連接至 R<sup>1</sup>。

【0067】 在一個實施例中， $L^2$  經由-O-連接至 R<sup>2</sup>。

【0068】 在一個實施例中， $L^1$  係選自由以下組成之群：



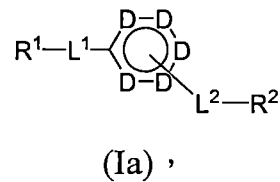
【0069】 在一個實施例中， $L^1$  係選自由以下組成之群：



及其鹽。

【0070】 在一個實施例中， $L^2$  為  $-\text{CH}_2-\text{O}-$  或  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$ 。

【0071】 在一個實施例中，式 I 化合物具有下式 Ia：

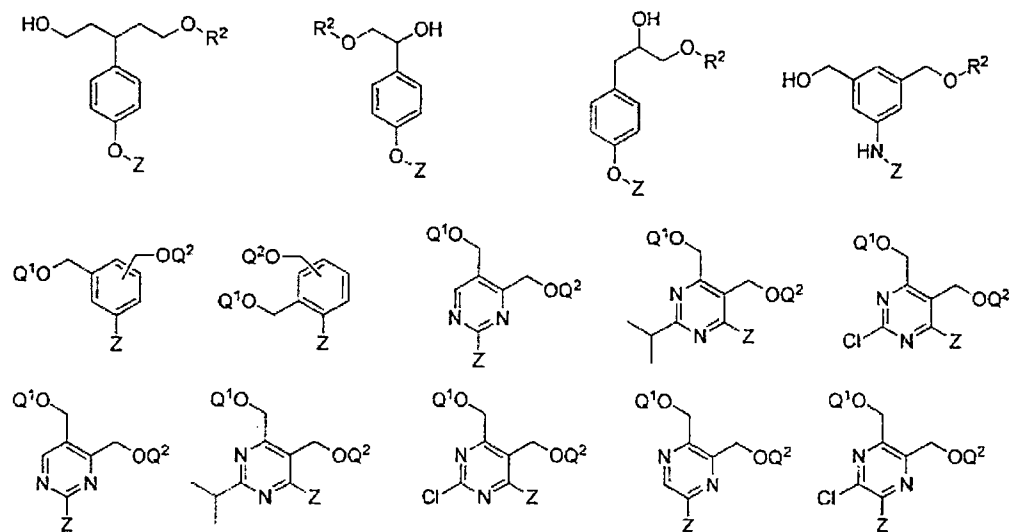


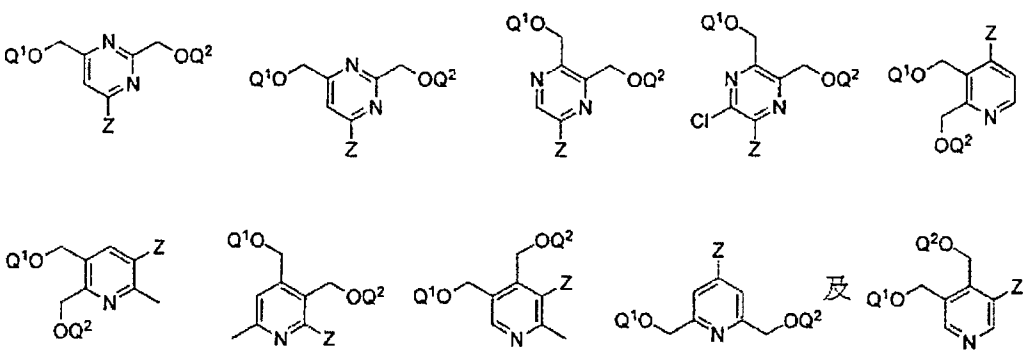
其中：

各 D 獨立地選自由以下組成之群： $-\overset{\text{R}^A}{\text{C}}=$  及  $-\text{N}=$ ；

或其鹽。

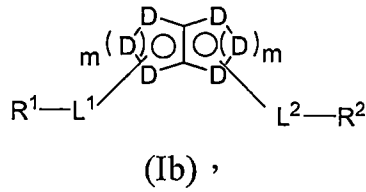
【0072】 在一個實施例中，式 Ia 化合物係選自由以下組成之群：





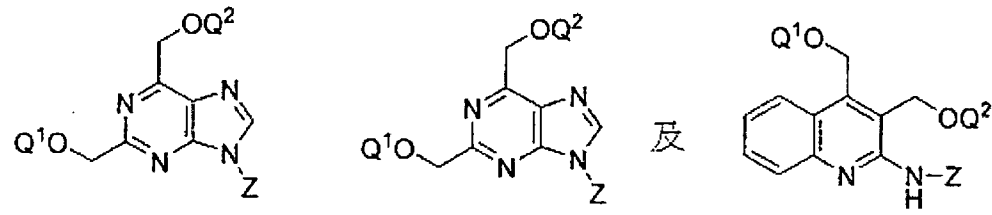
其中：  
Q<sup>1</sup> 為氫且 Q<sup>2</sup> 為 R<sup>2</sup>；或 Q<sup>1</sup> 為 R<sup>2</sup> 且 Q<sup>2</sup> 為氫；  
Z 為-L<sup>1</sup>-R<sup>1</sup>；  
及其鹽。

【0073】 在一個實施例中，式 I 化合物具有下式 Ib：



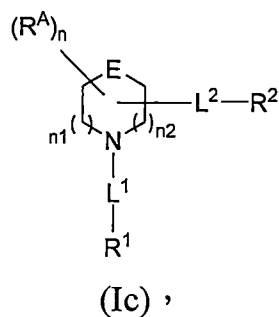
其中：  
各 D 獨立地選自由以下組成之群： $\text{—}\overset{\text{R}^{\text{A}}}{\text{C}}=\text{}$ 及-N=；  
各 m 獨立地為 1 或 2；  
或其鹽。

【0074】 在一個實施例中，式 Ib 化合物係選自由以下組成之群：



其中：  
Q<sup>1</sup> 為氫且 Q<sup>2</sup> 為 R<sup>2</sup>；或 Q<sup>1</sup> 為 R<sup>2</sup> 且 Q<sup>2</sup> 為氫；  
Z 為-L<sup>1</sup>-R<sup>1</sup>；  
及其鹽。

【0075】 在一個實施例中，式 I 化合物具有下式(Ic)：



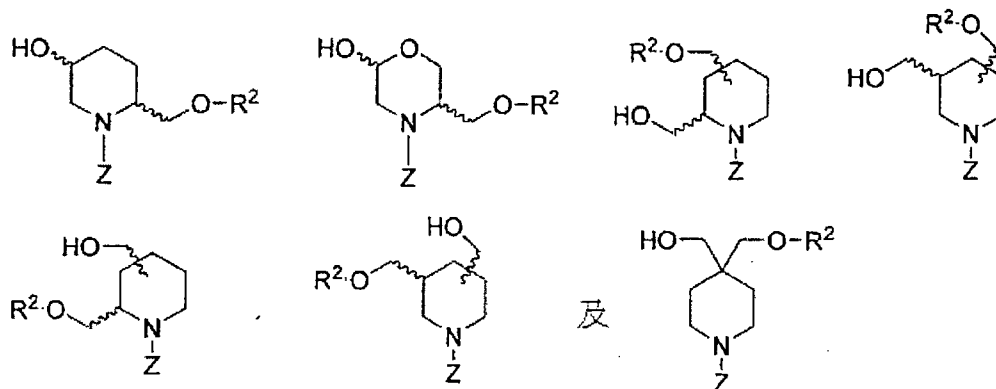
其中 E 為-O-或-CH<sub>2</sub>-;

n 係選自由 0、1、2、3 及 4 組成之群; 且

n<sub>1</sub> 及 n<sub>2</sub> 各獨立地選自由 0、1、2 及 3 組成之群;

或其鹽。

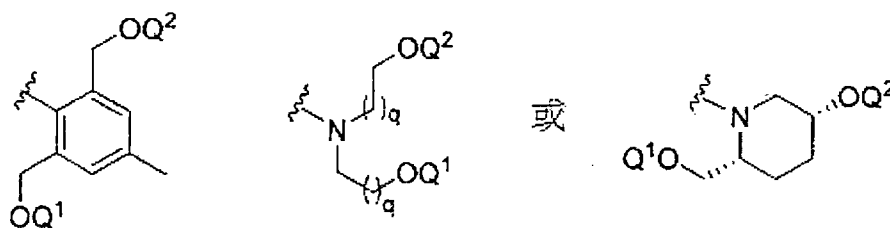
【0076】 在某些實施例中, 式(Ic)化合物係選自由以下組成之群:



其中 Z 為-L<sup>1</sup>-R<sup>1</sup>;

及其鹽。

【0077】 在一個實施例中, -A-L<sup>2</sup>-R<sup>2</sup> 部分為:



其中:

Q<sup>1</sup> 為氫且 Q<sup>2</sup> 為 R<sup>2</sup>; 或 Q<sup>1</sup> 為 R<sup>2</sup> 且 Q<sup>2</sup> 為氫; 且

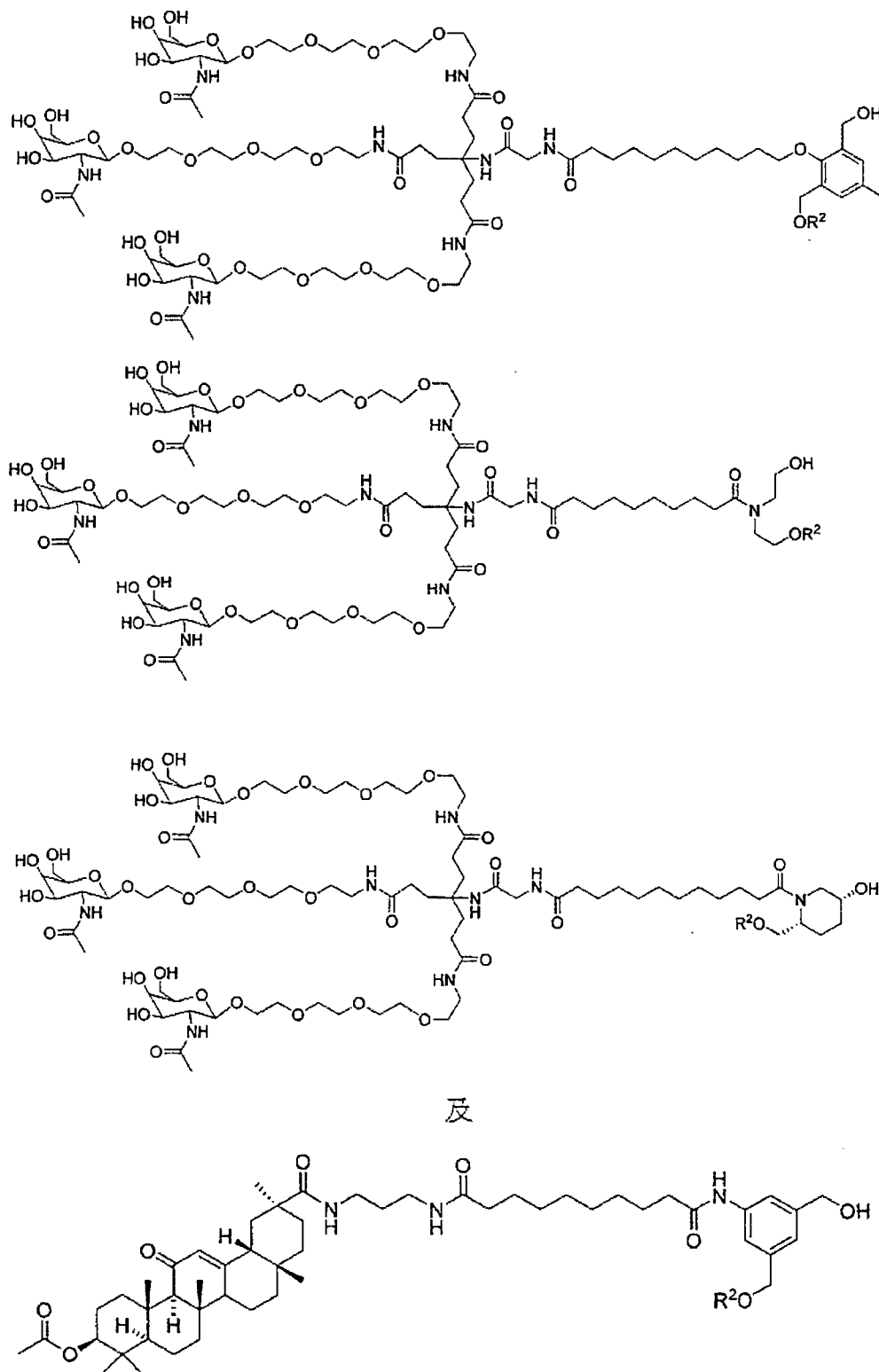
各 q 獨立地為 0、1、2、3、4 或 5;

或其鹽。

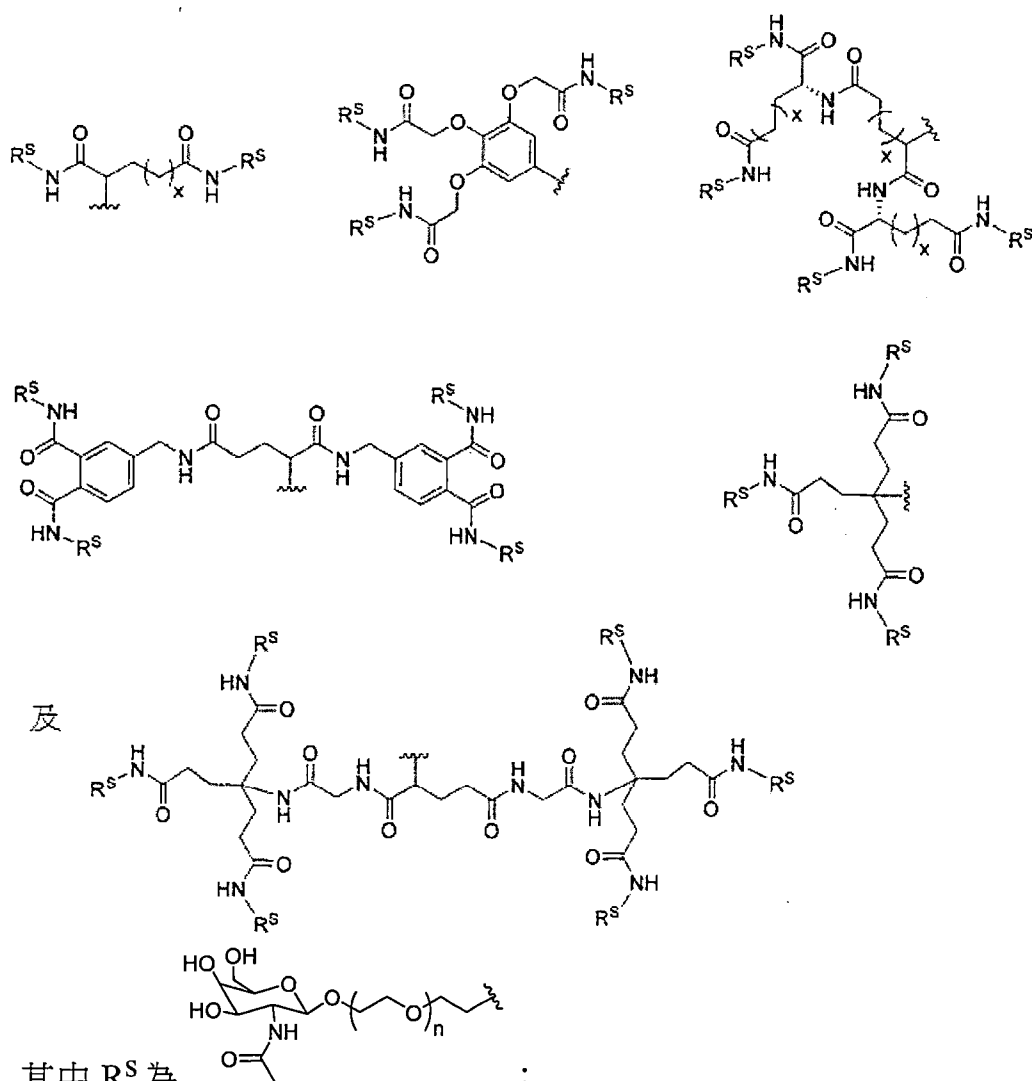
【0078】 在一個實施例中, R<sup>2</sup> 為寡核苷酸。

【0079】 在一個實施例中， $R^2$  為 siRNA。

【0080】 在一個實施例中，式(I)化合物係選自由以下組成之群：



【0081】 在一個實施例中， $R^1$  係選自由以下組成之群：

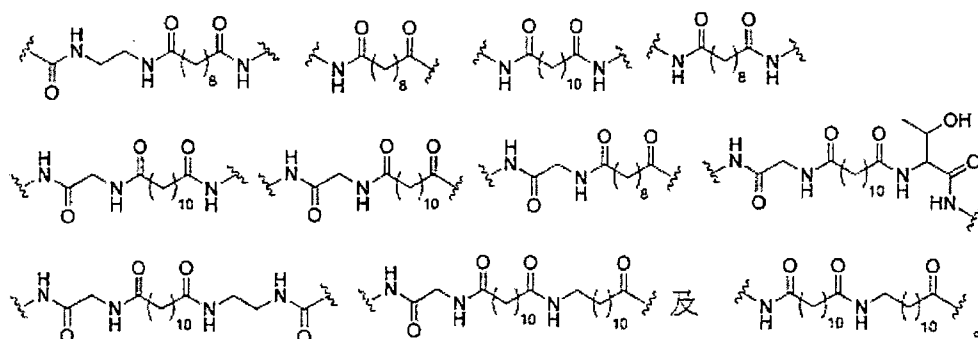


其中  $R^S$  為

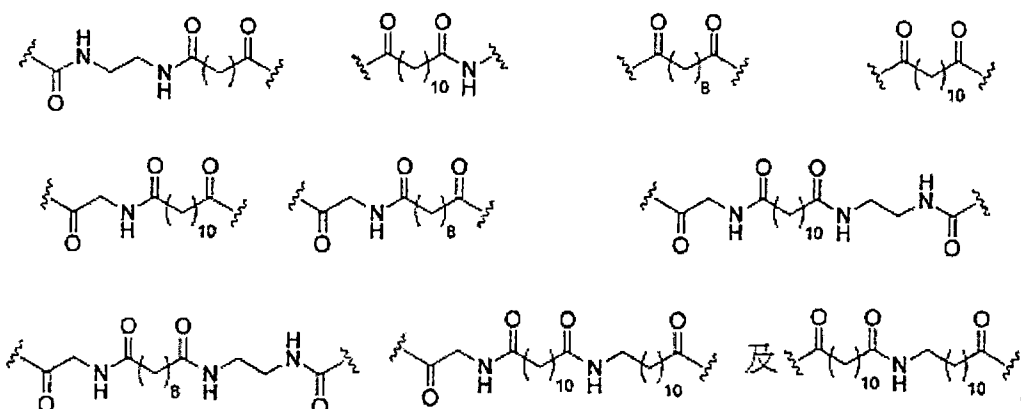
$n$  為 2、3 或 4；

$x$  為 1 或 2。

【0082】 在一個實施例中， $L^1$  係選自由以下組成之群：



【0083】 在一個實施例中， $L^1$  係選自由以下組成之群：



【0084】 在一個實施例中，A 不存在、為苯基、吡咯啉基或環戊基。

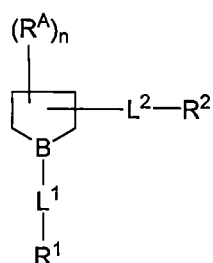
【0085】 在一個實施例中， $L^2$  為視情況經經基取代之  $C_{1-4}$  伸烷基-O-。

【0086】 在一個實施例中， $L^2$  為  $-CH_2O-$ 、 $-CH_2CH_2O-$  或  $-CH(OH)CH_2O-$ 。

【0087】 在一個實施例中，各  $R^A$  獨立地為經基或視情況經經基取代之  $C_{1-8}$  烷基。

【0088】 在一個實施例中，各  $R^A$  獨立地選自由以下組成之群：經基、甲基及  $-CH_2OH$ 。

【0089】 在一個實施例中，式 I 化合物具有下式(Ig)：



(Ig)，

其中 B 為-N-或-CH-；

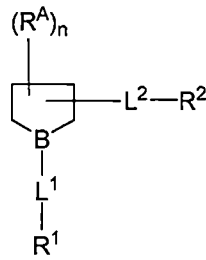
$L^1$  不存在或為-NH-；

$L^2$  為視情況經經基或鹵基取代之  $C_{1-4}$  伸烷基-O-；

$n$  為 0、1 或 2；

或其鹽。

【0090】 在一個實施例中，式 I 化合物具有下式(Ig)：



(Ig) ,

其中 B 為-N-或-CH-；

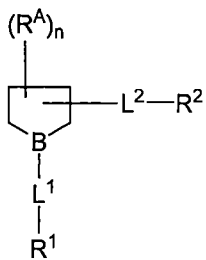
L<sup>1</sup> 不存在或為-NH-；

L<sup>2</sup> 為視情況經羥基或鹵基取代之 C<sub>1-4</sub> 伸烷基-O-；

n 為 0、1、2、3、4、5、6 或 7；

或其鹽。

【0091】 在一個實施例中，式 I 化合物具有下式(Ig)：



(Ig) ,

其中 B 為-N-或-CH-；

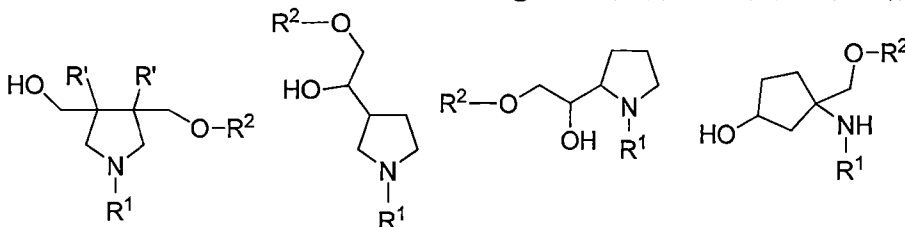
L<sup>1</sup> 不存在或為-NH-；

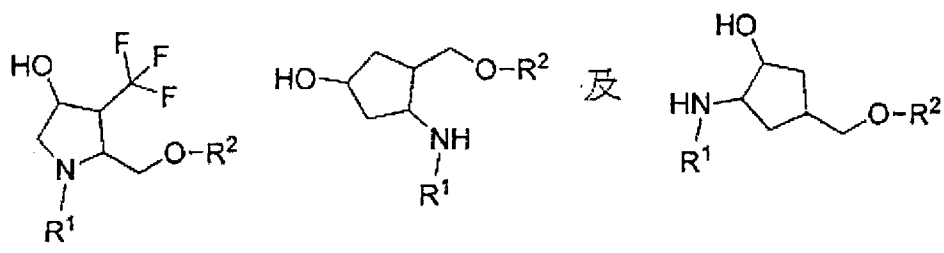
L<sup>2</sup> 為視情況經羥基或鹵基取代之 C<sub>1-4</sub> 伸烷基-O-；

n 為 0、1、2、3 或 4；

或其鹽。

【0092】 在一個實施例中，式 Ig 化合物係選自由以下組成之群：

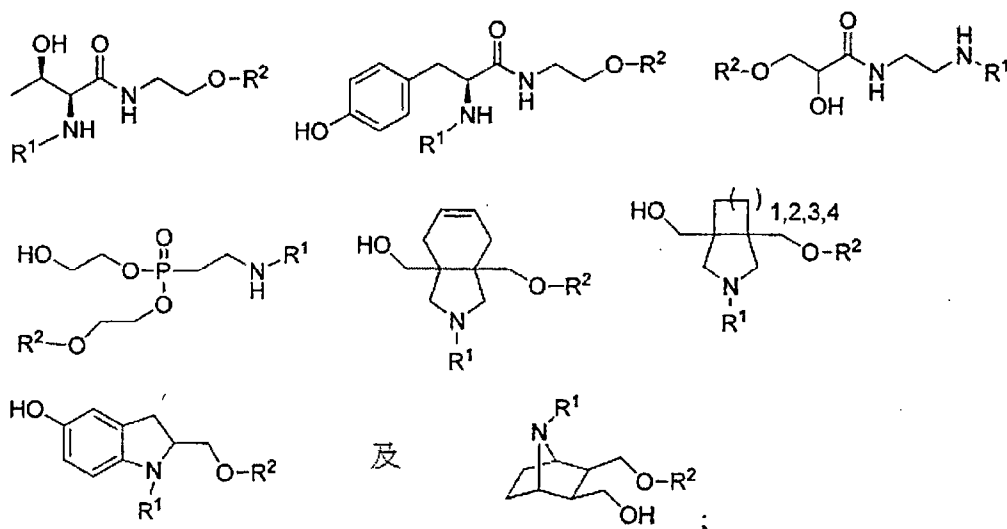




其中  $R^1$  為  $C_{1-9}$  烷基、 $C_{2-9}$  烯基或  $C_{2-9}$  炔基；其中該  $C_{1-9}$  烷基、 $C_{2-9}$  烯基或  $C_{2-9}$  炔基視情況經鹵基或羥基取代；

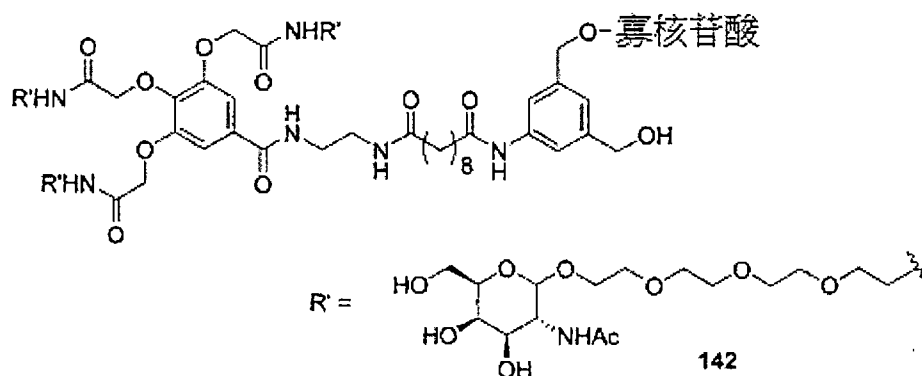
及其鹽。

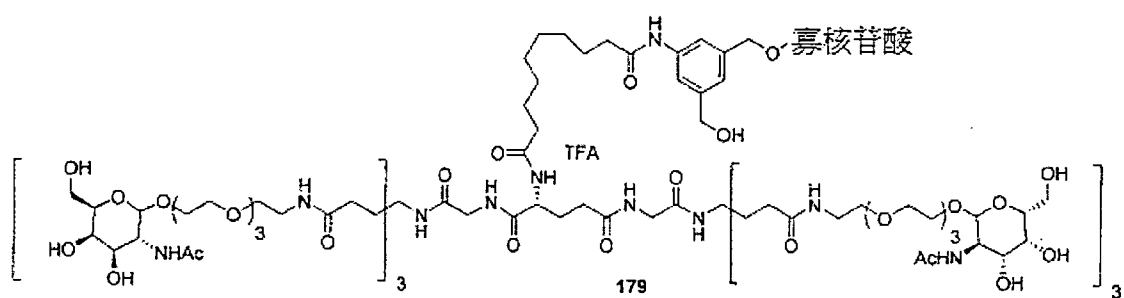
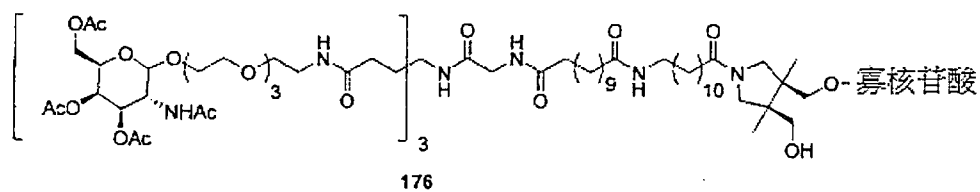
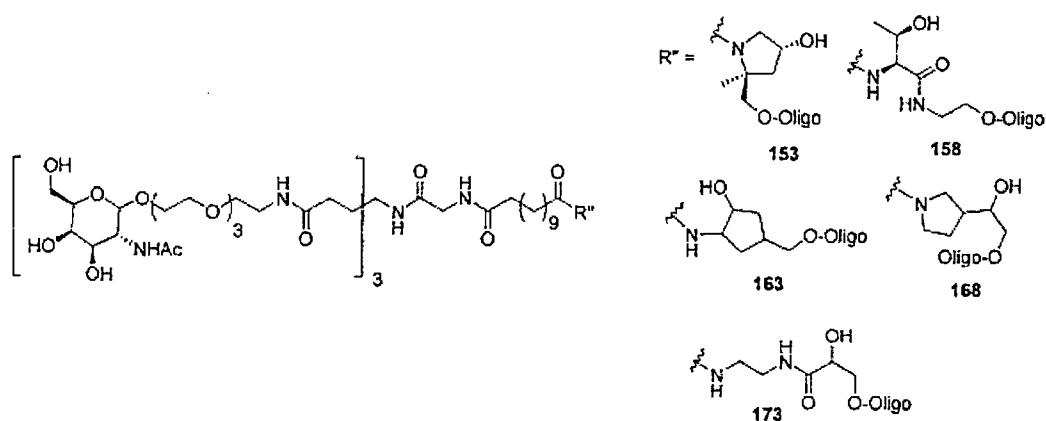
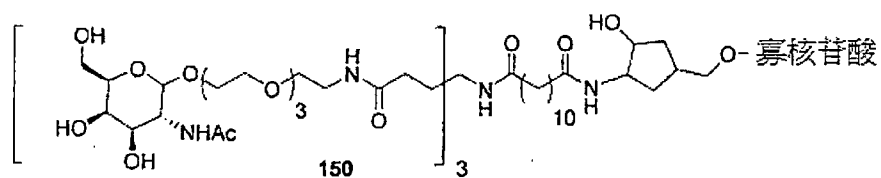
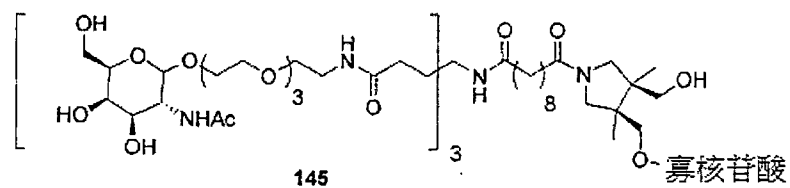
【0093】 在一個實施例中，式 I 化合物係選自由以下組成之群：

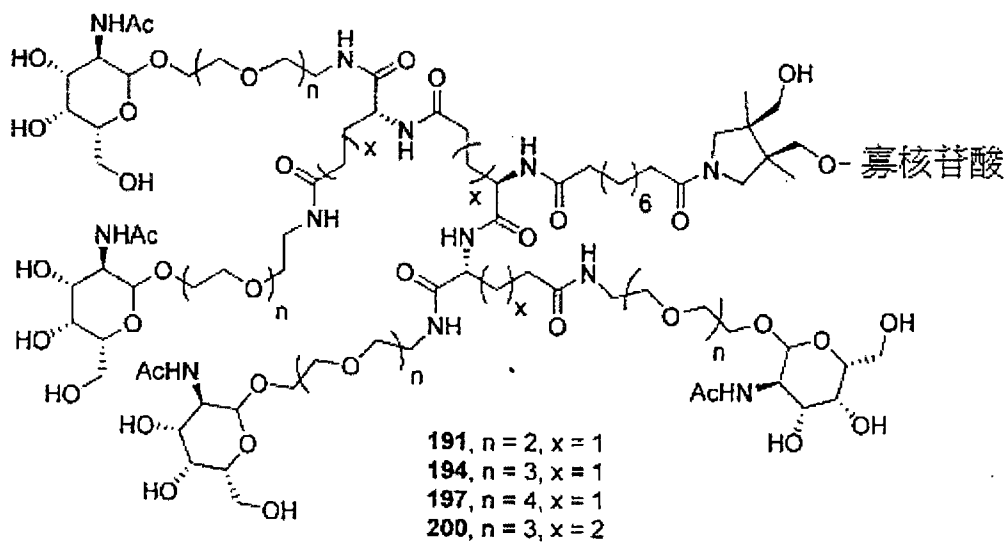
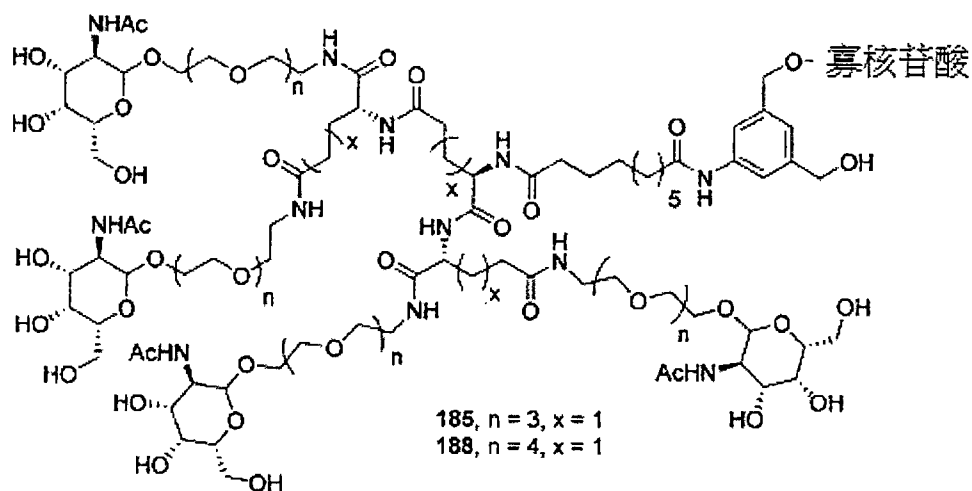
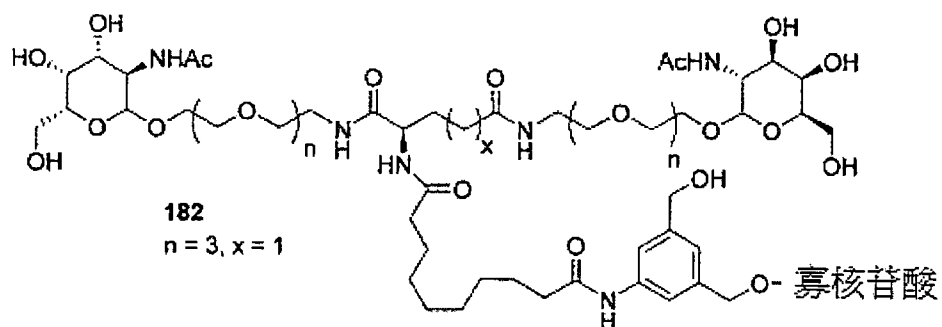


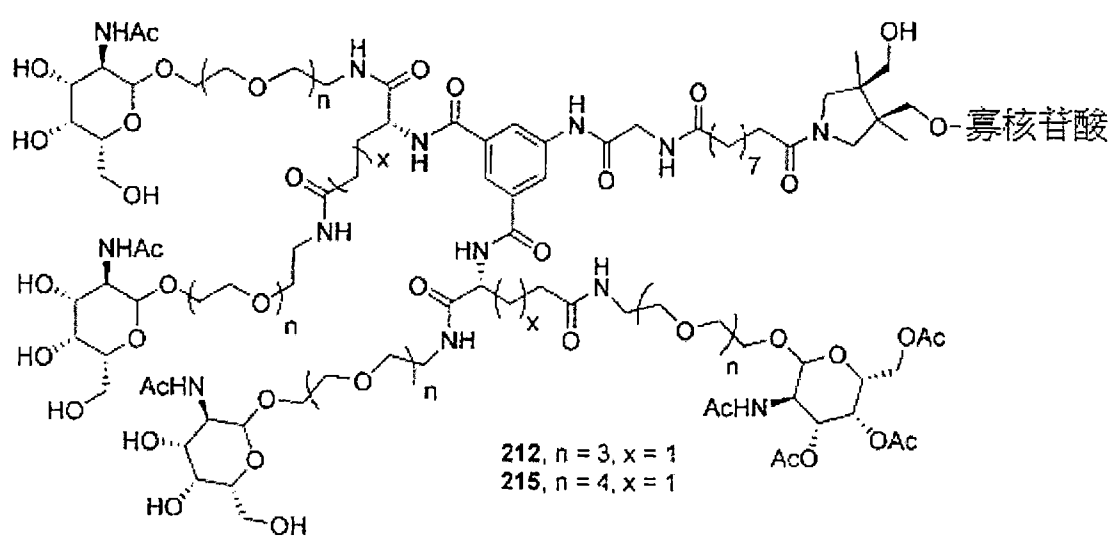
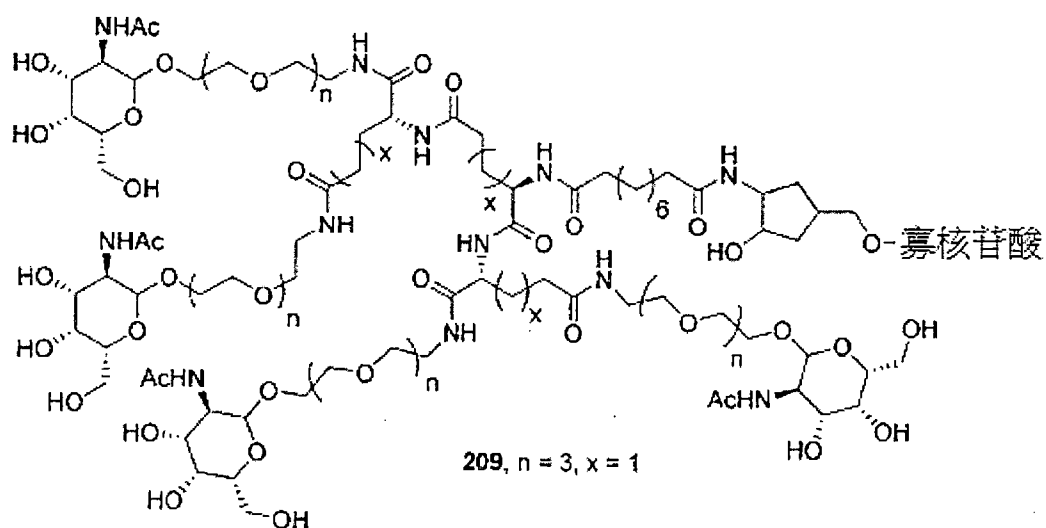
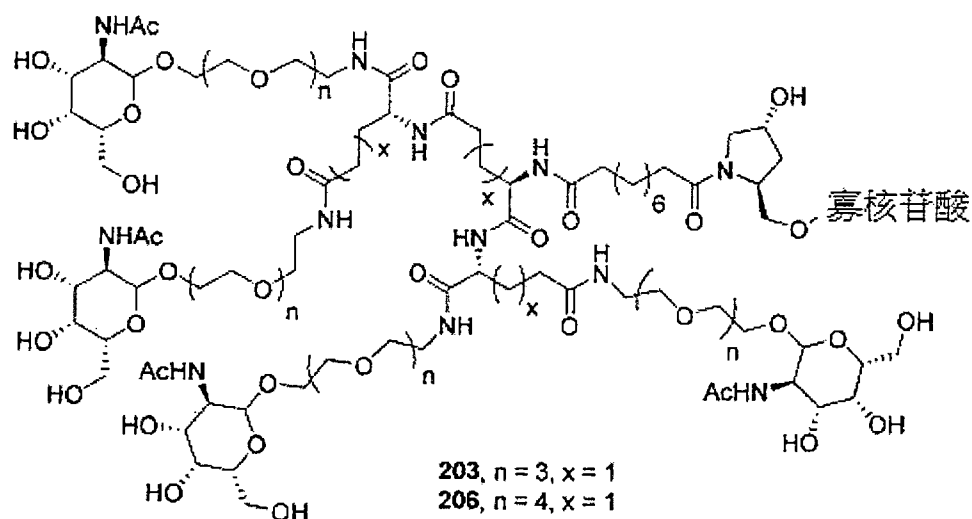
及其鹽。

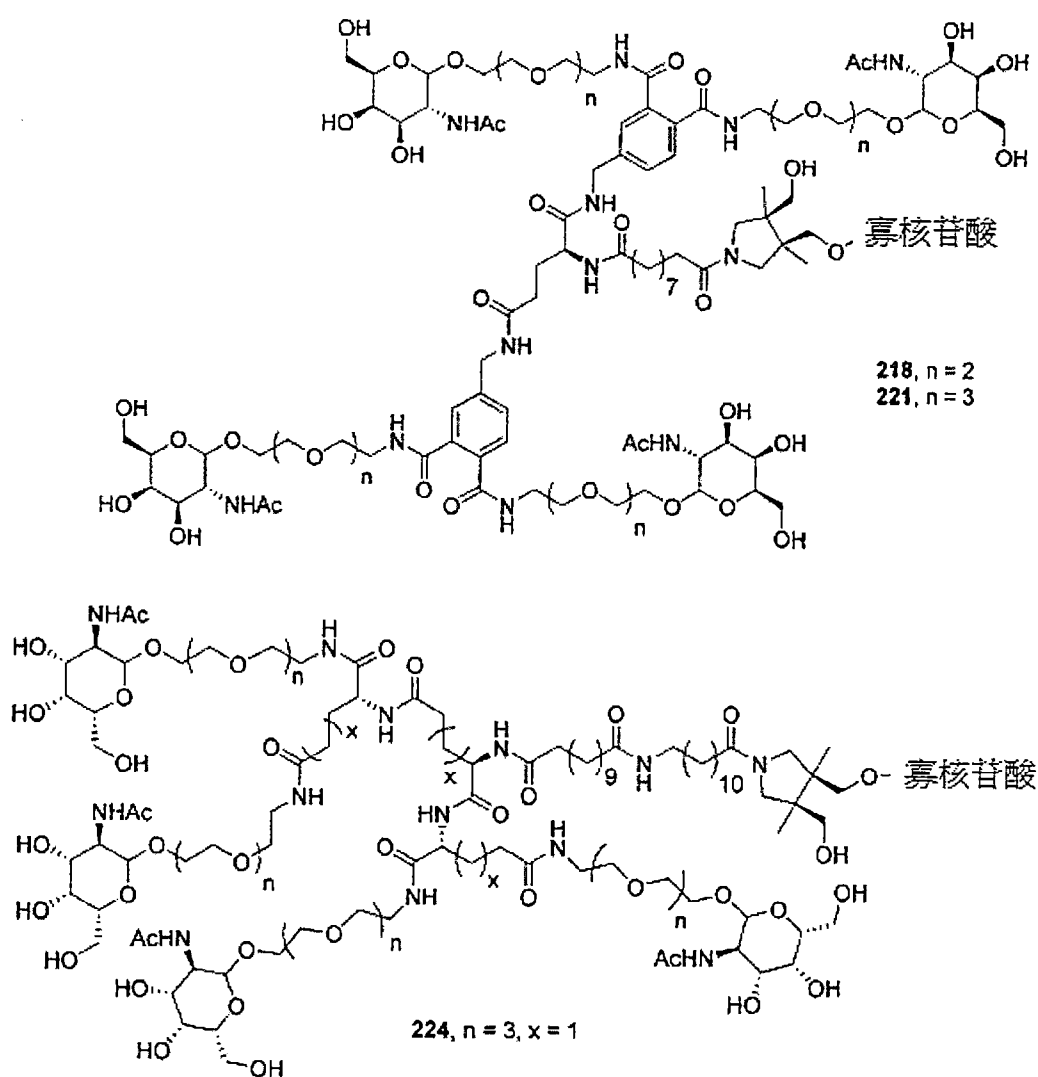
【0094】 在一個實施例中，式 I 化合物或其鹽係選自由以下組成之群：



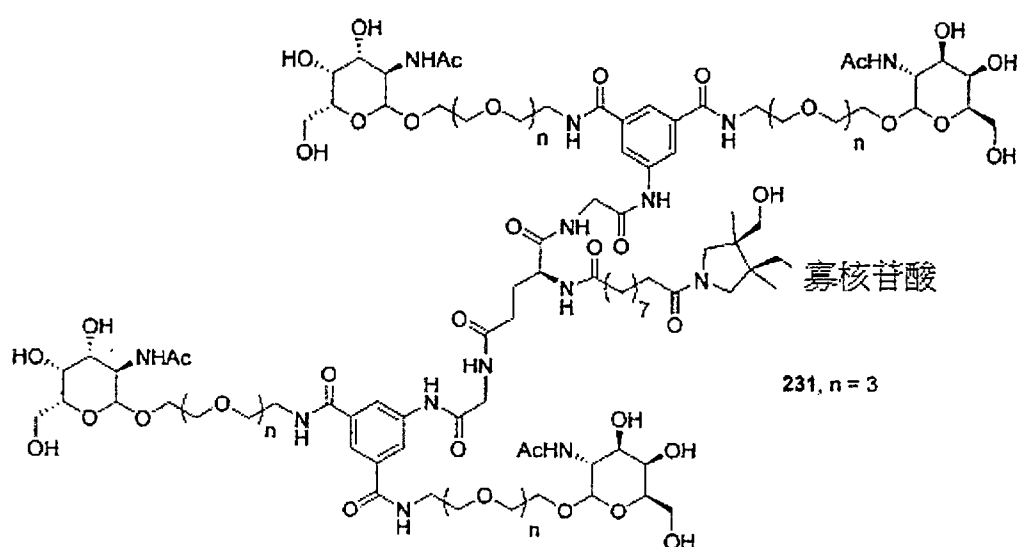








; 及



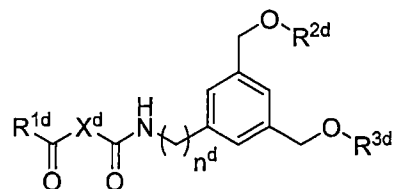
或其醫藥學上可接受之鹽。

【0095】 本發明之一個態樣為包含式 I 化合物及醫藥學上可接受之

載劑的醫藥組合物。

【0096】 本發明之另一個態樣為一種將核酸遞送至動物肝臟之方法，其包括向該動物投與式 I 化合物或其醫藥學上可接受之鹽。

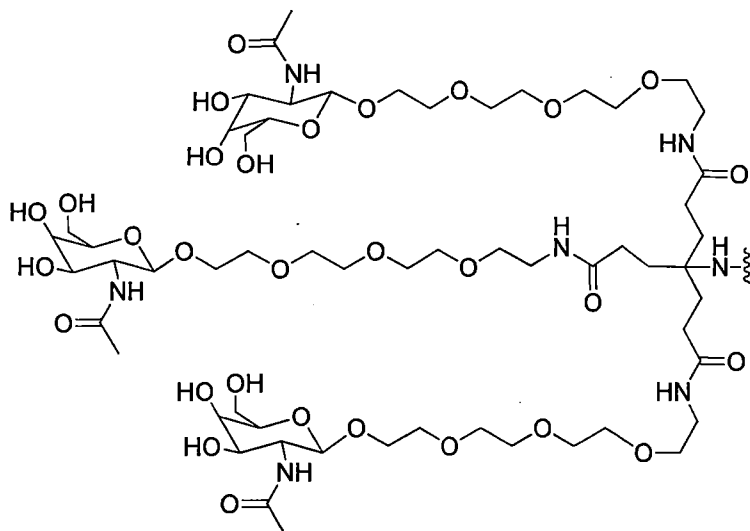
【0097】 在一個實施例中，式 I 化合物具有下式(Id)：



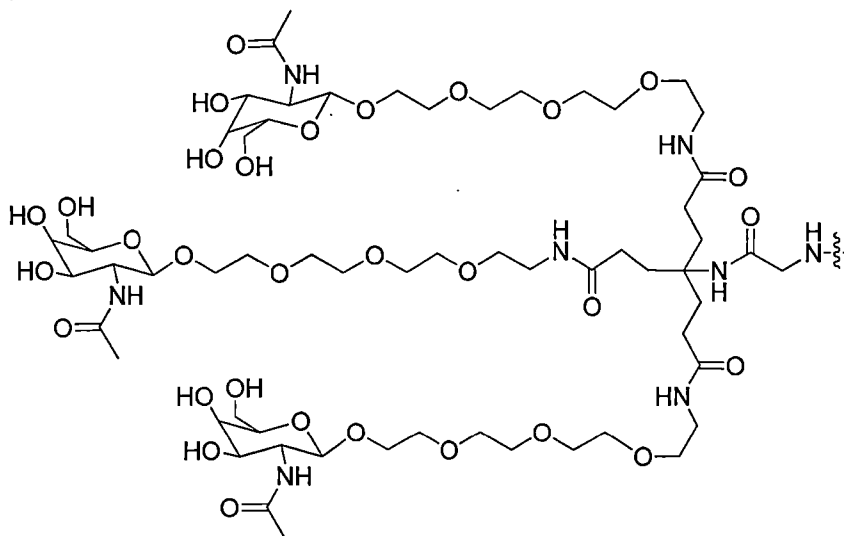
(Id)，

其中：

$R^{1d}$  係選自：



及



$X^d$  為  $C_{2-10}$  伸烷基；

$N^d$  為 0 或 1；

$R^{2d}$  為核酸；且

$R^{3d}$  為 H、保護基、與固體支撐物之共價鍵或與結合於固體支撐物之連接基團之鍵。

【0098】 在一個實施例中， $R^{3d}$  包括將式 Id 化合物之其餘部分接合至固體支撐物之連接基團。連接基團之性質並非關鍵，其限制條件為化合物為適合於製備其中  $R^{2d}$  為核酸之式 Id 化合物之中間物。

【0099】 在一個實施例中， $R^{3d}$  中之連接子的分子量為約 20 道爾頓至約 1,000 道爾頓。

【0100】 在一個實施例中， $R^{3d}$  中之連接子的分子量為約 20 道爾頓至約 500 道爾頓。

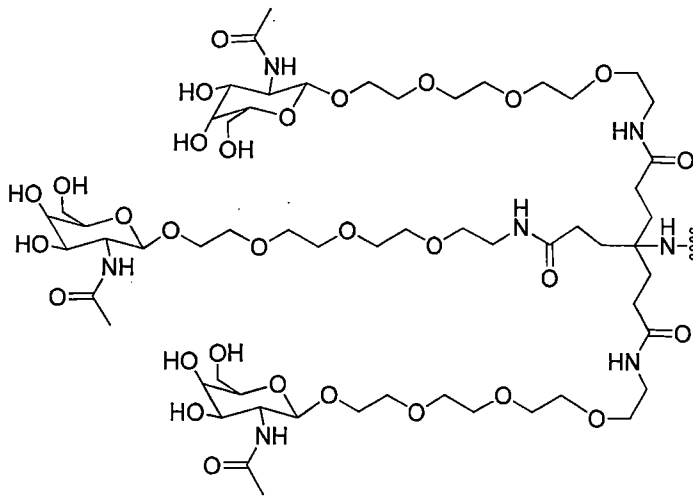
【0101】 在一個實施例中， $R^{3d}$  中之連接子將固體支撐物與式 I 化合物之其餘部分間隔約 5 埃至約 40 埃(包括 5 埃及 40 埃)長。

【0102】 在一個實施例中， $R^{3d}$  中之連接子為具有 2 至 15 個碳原子之有分支或未分支之二價飽和或不飽和烴鏈，其中該等碳原子中之一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)視情況經(-O-)或(-N(H)-)置換，且其中該鏈視情況在碳上經一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)選自以下之取代基取代：(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷氧基、(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)環烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷醯基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷醯氧基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷氧基羰基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基硫基、疊氮基、氰基、硝基、鹵基、羥基、側氧基(=O)、羧基、芳基、芳氧基、雜芳基及雜芳氧基。

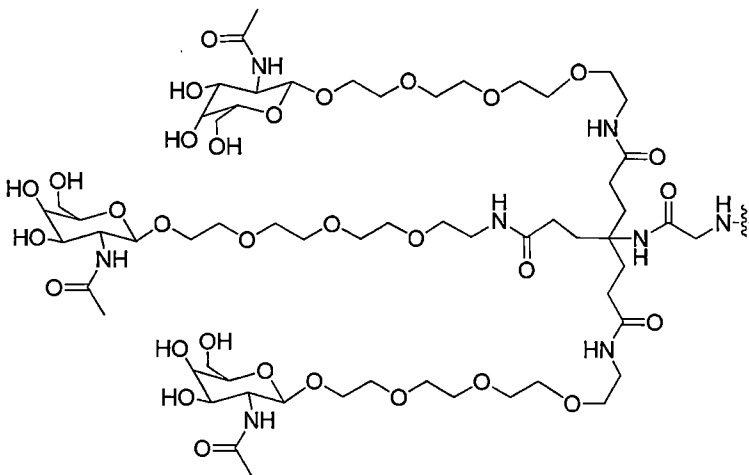
【0103】 在一個實施例中， $R^{3d}$  中之連接子為具有 2 至 10 個碳原子之有分支或未分支之二價飽和或不飽和烴鏈，其中該等碳原子中之一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)視情況經(-O-)或(-N(H)-)置換，且其中該鏈視情況在碳上經一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)選自以下之取代基取代：(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷氧基、(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)環烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷醯基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷醯氧基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷氧基羰基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基硫基、疊氮基、氰基、硝基、鹵基、羥基、側氧基(=O)、羧基、芳基、芳氧基、雜芳基及雜芳氧基。

【0104】 在一個實施例中， $R^{3d}$  中之連接子為 -C(=O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(=O)N(H)-。

【0105】 在一個實施例中， $R^{1d}$  為：



【0106】 在一個實施例中， $R^{1d}$  為：



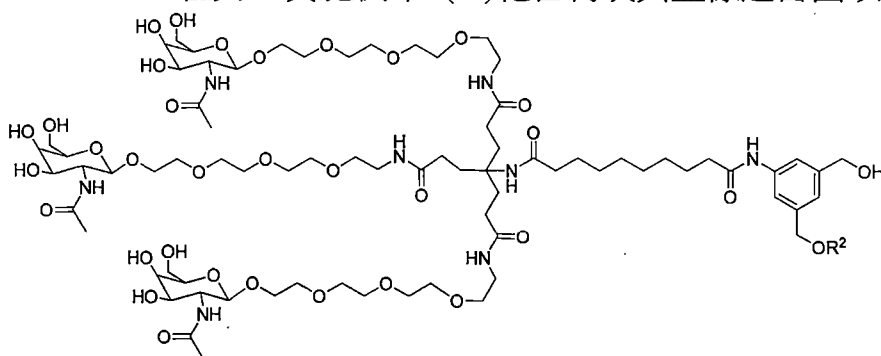
【0107】 在一個實施例中， $X^d$  為  $C_8$  伸烷基。

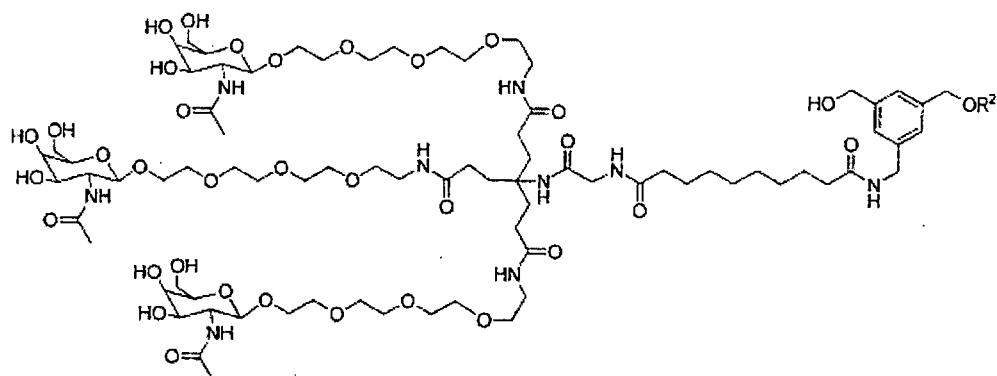
【0108】 在一個實施例中， $n^d$  為 0。

【0109】 在一個實施例中， $R^{2d}$  為 siRNA。

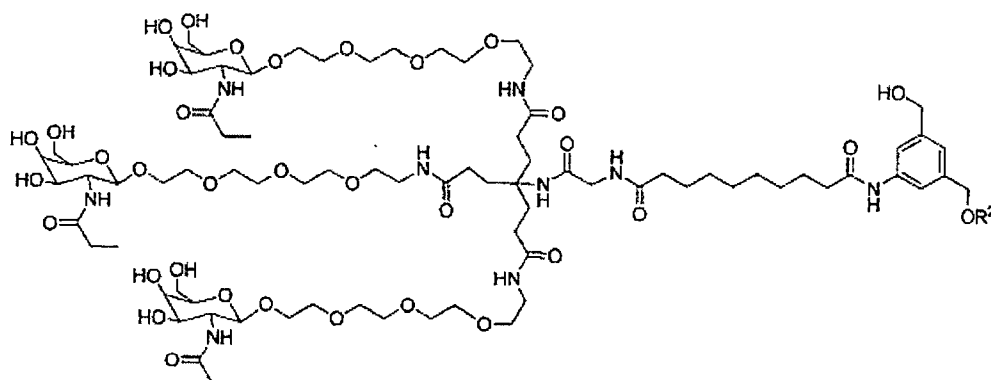
【0110】 在一個實施例中， $R^{3d}$  為 H。

【0111】 在另一實施例中，(Id)化合物或其鹽係選自由以下組成之群：





及

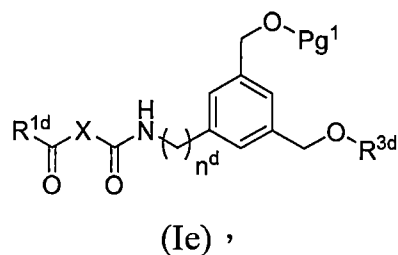


及其鹽。

【0112】 本發明之一個態樣為包含式(Id)化合物及醫藥學上可接受之載劑的醫藥組合物。

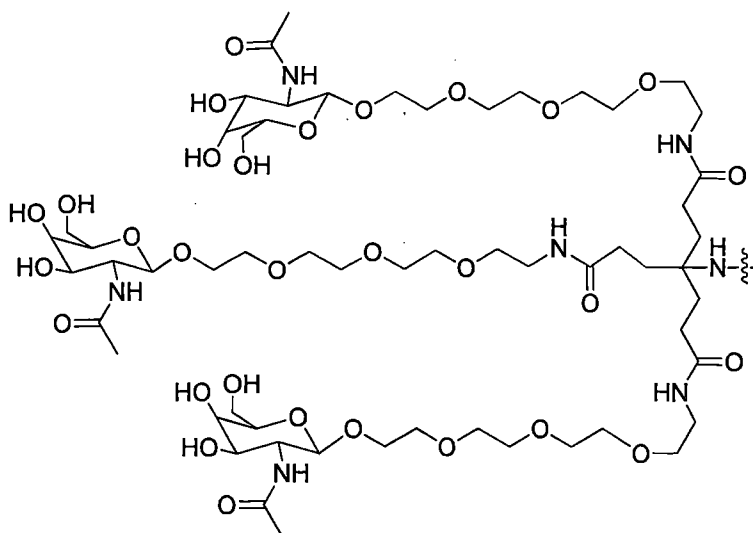
【0113】 本發明之一個態樣為遞送至動物肝臟之核酸，其包括向該動物投與式(Id)化合物或其醫藥學上可接受之鹽。

【0114】 本發明亦提供可用於製備式(Id)化合物之本文中揭示之合成中間物及方法。舉例而言，本發明包括式(Ie)之中間化合物：

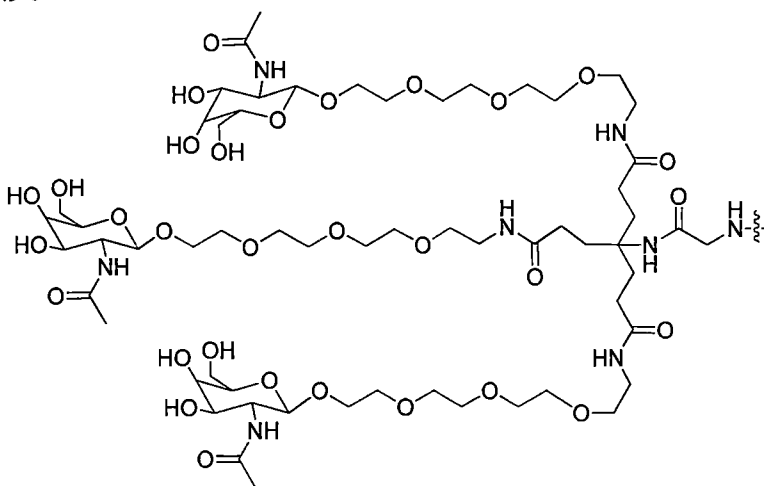


或其鹽，其中：

R¹ᵈ 係選自：



及



$X^d$  為  $C_{2-8}$  伸烷基；

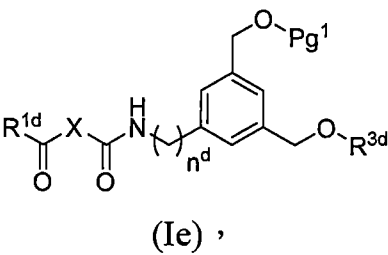
$n^d$  為 0 或 1；

$Pg^1$  為 H 或合適保護基；且

$R^{3d}$  為 H、保護基、與固體支撐物之共價鍵或與結合於固體支撐物之連接基團之鍵。圖 1 說明式(Ie)之代表性中間化合物，其中靶向配位體/連接子結合於固相支撐物，且其中  $Pg^1$  為保護基 DMTr。

【0115】 在一個實施例中， $Pg^1$  為 TMTTr (三甲氧基三苯甲基)、DMTr (二甲氧基三苯甲基)、MMTr (單甲氧基三苯甲基)或 Tr (三苯甲基)。

【0116】 本發明亦提供一種製備如本文中描述之式(Id)化合物之方法，其包括使對應之式(Ie)化合物經受：



其中：

X<sup>d</sup> 為 C<sub>2-8</sub> 伸烷基；

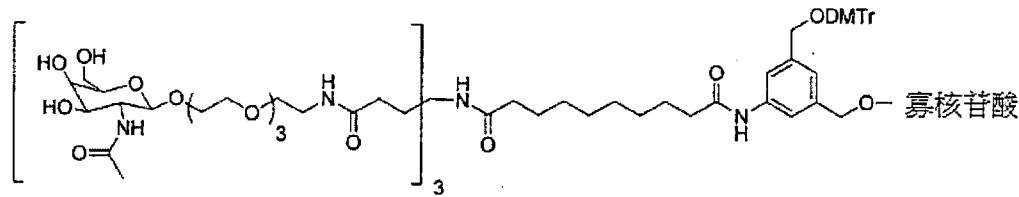
n<sup>d</sup> 為 0 或 1；

Pg<sup>1</sup> 為 H；且

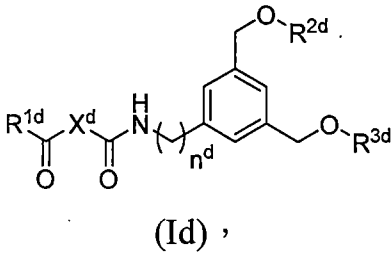
R<sup>3d</sup> 為與固體支撐物之共價鍵或與結合於固體支撐物之連接基團之鍵，固相核酸合成條件，得到其中 R<sup>2d</sup> 為核酸之對應式 Id 化合物。

【0117】 在一個實施例中，該方法進一步包括自固體支撐物移除化合物，得到其中 R<sup>3d</sup> 為 H 之對應式 Id 化合物。

【0118】 在一個實施例中，化合物不為：

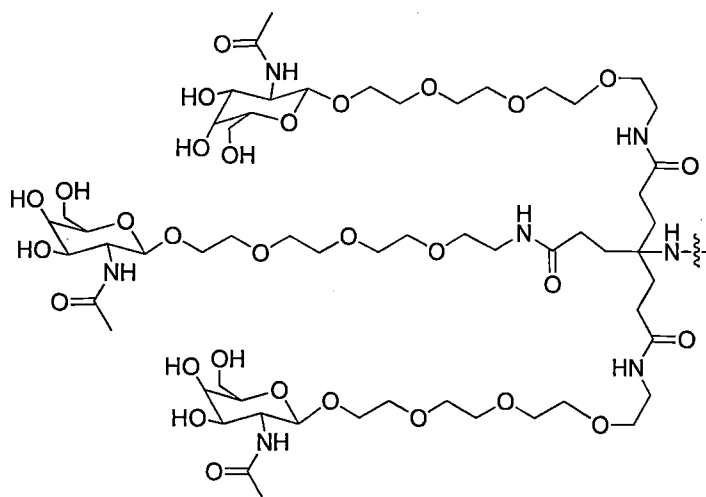


【0119】 在一個實施例中，化合物不為式 Id 化合物：

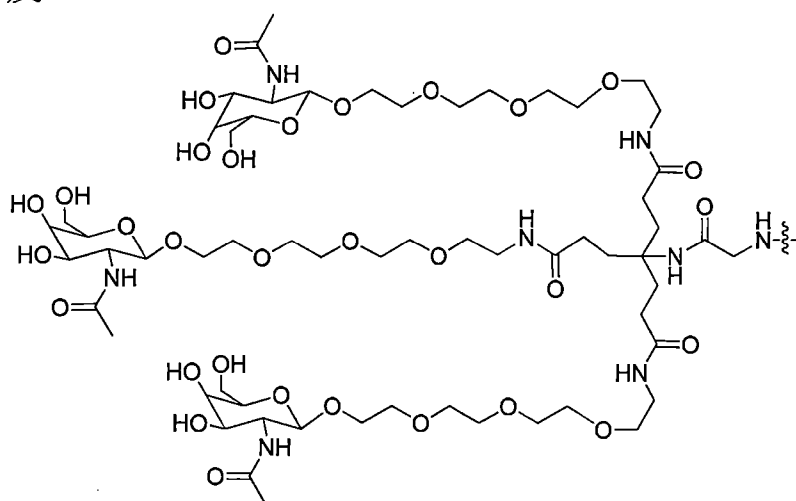


或其鹽，其中：

R<sup>1d</sup> 係選自：



及



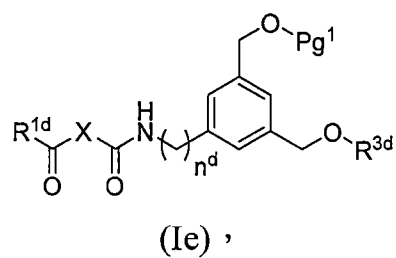
$X^d$  為  $C_{2-10}$  伸烷基；

$N^d$  為 0 或 1；

$R^{2d}$  為核酸；且

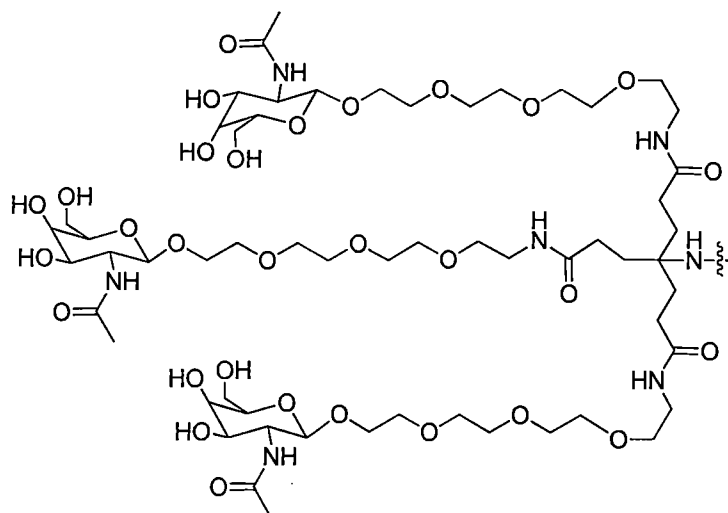
$R^{3d}$  為 H、保護基、與固體支撐物之共價鍵或與結合於固體支撐物之連接基團之鍵。

【0120】 在一個實施例中，化合物不為式 **Ie** 化合物：

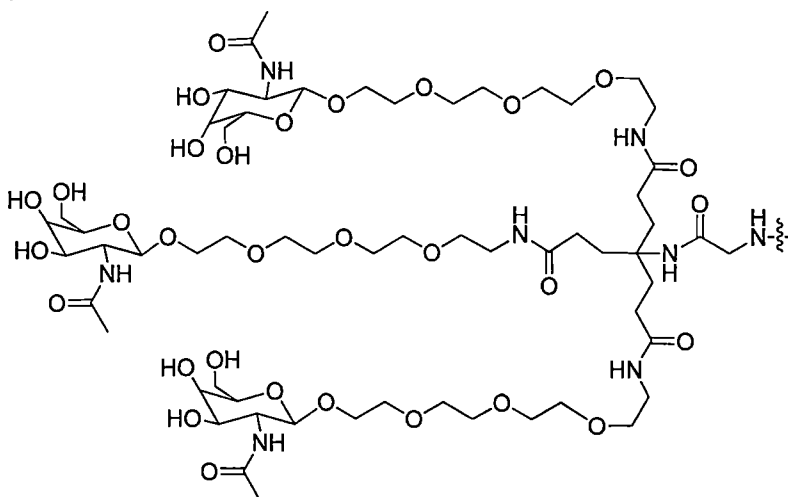


或其鹽，其中：

$R^{1d}$  係選自：



及



$X^d$  為  $C_{2-8}$  伸烷基；

$n^d$  為 0 或 1；

$Pg^1$  為 H 或合適保護基；且

$R^{3d}$  為 H、保護基、與固體支撐物之共價鍵或與結合於固體支撐物之連接基團之鍵。

【0121】 在一個實施例中， $R^{3d}$  為 H。

【0122】 在一個實施例中， $R^{3d}$  為與固體支撐物之共價鍵。

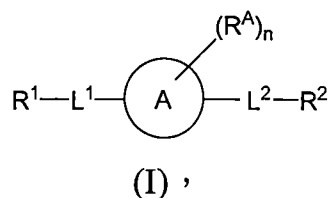
【0123】 在一個實施例中， $R^{3d}$  為與結合於固體支撐物之連接基團之鍵，其中連接基團為具有 2 至 15 個碳原子之有分支或未分支之二價飽和或不飽和烴鏈，其中該等碳原子中之一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)視情況經(-O-)或(-N(H)-)置換，且其中該鏈視情況在碳上經一或多個(例如 1、2、3

或 4 個)選自以下之取代基取代：(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷氧基、(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)環烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷醯基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷醯氧基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷氧基羰基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基硫基、疊氨基、氰基、硝基、鹵基、羥基、側氧基(=O)、羧基、芳基、芳氧基、雜芳基及雜芳氧基。

【0124】 在一個實施例中，R<sup>3d</sup> 為與結合於固體支撐物之連接基團之鍵，其中連接基團為具有 2 至 10 個碳原子之有分支或未分支之二價飽和或不飽和烴鍵，其中該等碳原子中之一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)視情況經(-O-)或(-N(H)-)置換，且其中該鍵視情況在碳上經一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)選自以下之取代基取代：(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷氧基、(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)環烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷醯基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷醯氧基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷氧基羰基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基硫基、疊氨基、氰基、硝基、鹵基、羥基、側氧基(=O)、羧基、芳基、芳氧基、雜芳基及雜芳氧基。

【0125】 在一個實施例中，R<sup>3d</sup> 為與結合於固體支撐物之連接基團之鍵，其中連接基團為-C(=O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(=O)N(H)-。

【0126】 在一個實施例中，本發明提供式(I)化合物：



其中：

R<sup>1</sup> 為 H 或合成活化基團；

L<sup>1</sup> 不存在或為連接基團；

L<sup>2</sup> 不存在或為連接基團；

R<sup>2</sup> 為核酸；

該環 A 不存在、為 3-20 員環烷基、5-20 員芳基、5-20 員雜芳基或 3-20 員雜環烷基；

各 R<sup>A</sup> 獨立地選自由以下組成之群：氫、羥基、CN、F、Cl、Br、I、-C<sub>1-2</sub> 烷基-OR<sup>B</sup>、C<sub>1-10</sub> 烷基 C<sub>2-10</sub> 烯基及 C<sub>2-10</sub> 炔基；其中該 C<sub>1-10</sub> 烷基 C<sub>2-10</sub> 烯基及 C<sub>2-10</sub> 炔基視情況經一或多個獨立地選自鹵基、羥基及 C<sub>1-3</sub> 烷氧基之基團取

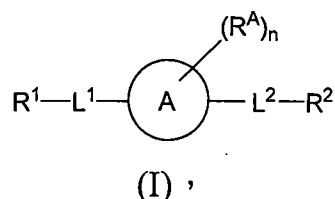
代；

$R^B$  為氫、保護基、與固體支撐物之共價鍵或與結合於固體支撐物之連接基團之鍵；且

$n$  為 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10；

或其鹽。

【0127】 在一個實施例中，本發明提供式(I)化合物：



其中：

$R^1$  為靶向配位體；

$L^1$  不存在或為連接基團；

$L^2$  不存在或為連接基團；

$R^2$  為 H 或合成活化基團；

該環 A 不存在、為 3-20 員環烷基、5-20 員芳基、5-20 員雜芳基或 3-20 員雜環烷基；

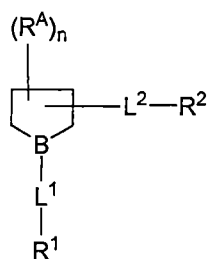
各  $R^A$  獨立地選自由以下組成之群：氫、羥基、CN、F、Cl、Br、I、 $-C_{1-2}$  烷基- $OR^B$ 、 $C_{1-10}$  烷基  $C_{2-10}$  烯基及  $C_{2-10}$  炔基；其中該  $C_{1-10}$  烷基  $C_{2-10}$  烯基及  $C_{2-10}$  炔基視情況經一或多個獨立地選自鹵基、羥基及  $C_{1-3}$  烷氧基之基團取代；

$R^B$  為氫、保護基、與固體支撐物之共價鍵或與結合於固體支撐物之連接基團之鍵；且

$n$  為 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10；

或其鹽。

【0128】 在一個實施例中，本發明提供式(Ig)化合物：



(Ig),

其中：

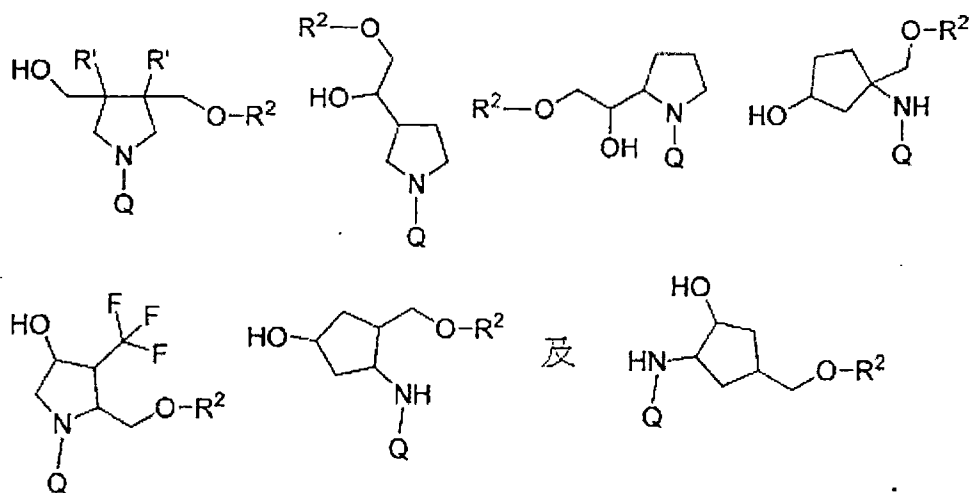
B 為-N-或-CH-；

L<sup>2</sup> 為視情況經經基或鹵基取代之 C<sub>1-4</sub> 伸烷基-O-；且

n 為 0、1、2、3、4、5、6 或 7；

或其鹽。

【0129】 在一個實施例中，本發明提供選自由以下組成之群的化合物：



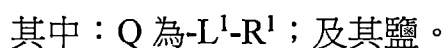
其中：

Q 為-L<sup>1</sup>-R<sup>1</sup>；且

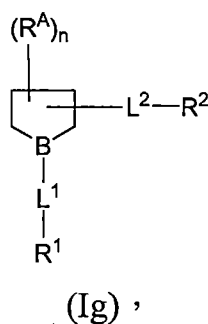
R' 為 C<sub>1-9</sub> 烷基、C<sub>2-9</sub> 烯基或 C<sub>2-9</sub> 炔基；其中該 C<sub>1-9</sub> 烷基、C<sub>2-9</sub> 烯基或 C<sub>2-9</sub> 炔基視情況經鹵基或經基取代；

及其鹽。

【0130】 在一個實施例中，本發明提供選自由以下組成之群的化合物：



【0131】 在一個實施例中，本發明提供式(Ig)化合物：



其中：

B 為-N-或-CH-；

$L^1$  不存在或為連接基團；

L<sup>2</sup> 為視情況經羥基或鹵基取代之 C<sub>1-4</sub> 伸烷基-O-；

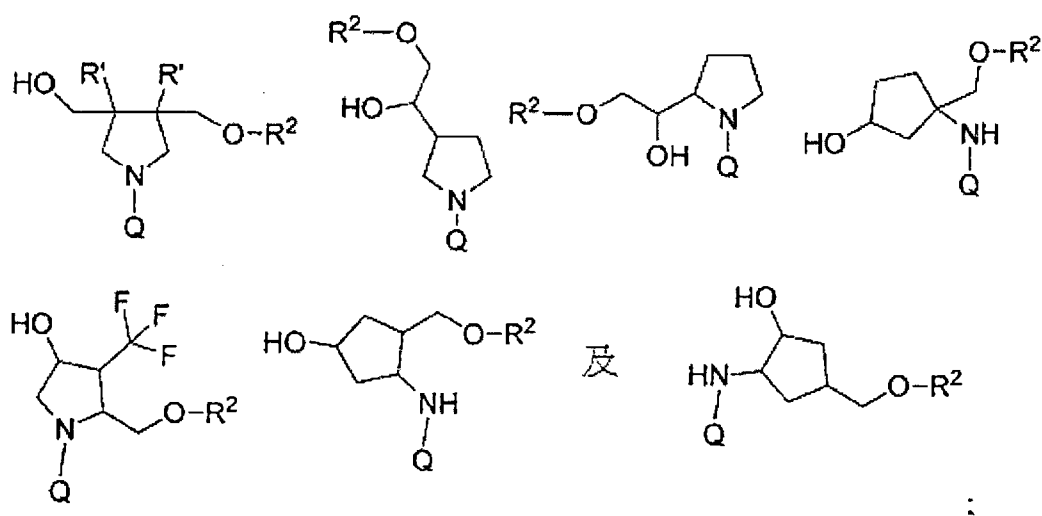
n 為 0、1、2、3、4、5、6 或 7；

R<sup>1</sup> 為 H 或合成活化基團；且

R<sup>2</sup> 為 H 或合成活化基團；

或其鹽。

【0132】 在一個實施例中，本發明提供選自由以下組成之群的化合物：



其中 Q 為  $-L^1-R^1$ ；

$L^1$  不存在或為連接基團；

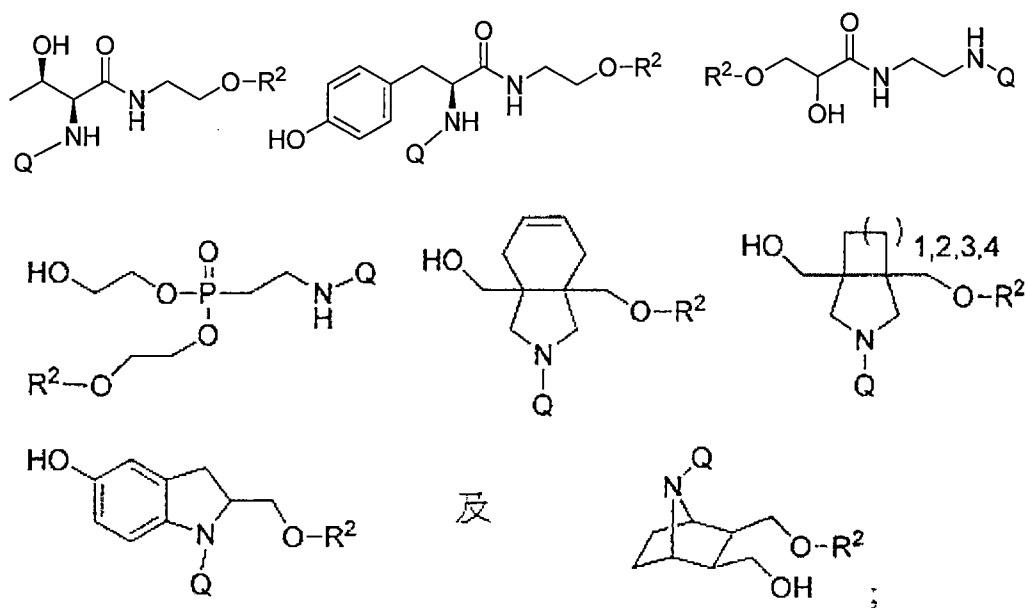
$R^1$  為  $C_{1-9}$  烷基、 $C_{2-9}$  烯基或  $C_{2-9}$  炔基；其中該  $C_{1-9}$  烷基、 $C_{2-9}$  烯基或  $C_{2-9}$  炔基視情況經鹵基或經基取代；

$R^1$  為 H 或合成活化基團；且

$R^2$  為 H 或合成活化基團；

或其鹽。

【0133】 在一個實施例中，本發明提供選自由以下組成之群的化合物：



其中：

Q 為  $-L^1-R^1$ ；

$L^1$  不存在或為連接基團；

$R^1$  為 H 或合成活化基團；且

$R^2$  為 H 或合成活化基團；

或其鹽。

【0134】 在一個實施例中， $R^1$  為 H 或可衍生自 DCC、HOBt、EDC、BOP、PyBOP 或 HBTU 之合成活化基團。

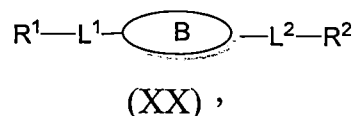
【0135】 在一個實施例中， $R^2$  為 H、乙酸酯基、三氟甲磺酸酯基、甲磺酸酯基或丁二酸酯基。

【0136】 在一個實施例中， $R^1$  為可衍生自 DCC、HOBt、EDC、BOP、PyBOP 或 HBTU 之合成活化基團。

【0137】 在一個實施例中， $R^2$  為乙酸酯基、三氟甲磺酸酯基、甲磺酸酯基或丁二酸酯基。

【0138】 在一個實施例中， $L^1$  為具有 5 至 20 個碳原子之有分支或未分支之二價飽和或不飽和烴鏈，其中該烴鏈中之該等碳原子中的一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)視情況經-O-、-NH-、-NH-C(=O)-、-C(=O)-NH-或-S-置換。

【0139】 在一個實施例中，本發明提供式(XX)化合物：



其中：

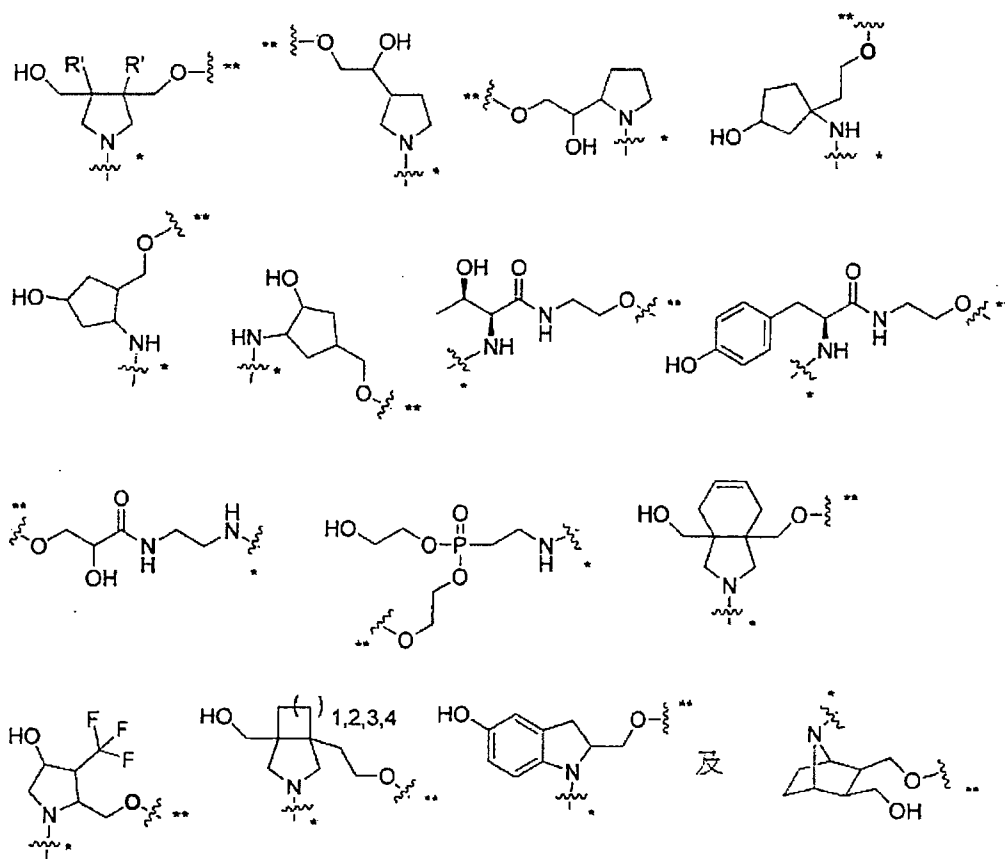
$R^1$  為靶向配位體；

$L^1$  不存在或為連接基團；

$L^2$  不存在或為連接基團；

$R^2$  為核酸；

B 為二價且係選自由以下組成之群：



其中：

各 R' 獨立地為 C<sub>1-9</sub> 烷基、C<sub>2-9</sub> 烯基或 C<sub>2-9</sub> 炔基；其中該 C<sub>1-9</sub> 烷基、C<sub>2-9</sub> 烯基或 C<sub>2-9</sub> 炔基視情況經鹵基或羥基取代；

用\*標記之化合價附接至 L<sup>1</sup> 或若 L<sup>1</sup> 不存在，則附接至 R<sup>1</sup>；且

用\*\*標記之化合價附接至 L<sup>2</sup> 或若 L<sup>2</sup> 不存在，則附接至 R<sup>2</sup>；

或其鹽。

【0140】 在一個實施例中，R<sup>1</sup> 包含 2-8 種醚。

【0141】 在一個實施例中，R<sup>1</sup> 包含 2-6 種醚。

【0142】 在一個實施例中，R<sup>1</sup> 包含 2-4 種醚。

【0143】 在一個實施例中，R<sup>1</sup> 包含 3-8 種醚。

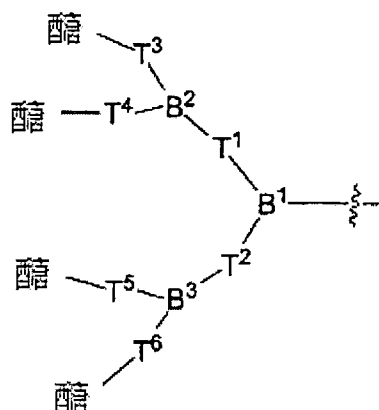
【0144】 在一個實施例中，R<sup>1</sup> 包含 3-6 種醚。

【0145】 在一個實施例中，R<sup>1</sup> 包含 3-4 種醚。

【0146】 在一個實施例中，R<sup>1</sup> 包含 3 種醚。

【0147】 在一個實施例中，R<sup>1</sup> 包含 4 種醚。

【0148】 在一個實施例中， $R^1$  具有下式：



其中：

$B^1$  為包含約 1 至約 20 個原子之三價基團且共價鍵結至  $L^1$ 、 $T^1$  及  $T^2$ ；

$B^2$  為包含約 1 至約 20 個原子之三價基團且共價鍵結至  $T^1$ 、 $T^3$  及  $T^4$ ；

$B^3$  為包含約 1 至約 20 個原子之三價基團且共價鍵結至  $T^2$ 、 $T^5$  及  $T^6$ ；

$T^1$  不存在或為連接基團；

$T^2$  不存在或為連接基團；

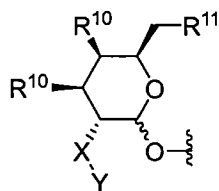
$T^3$  不存在或為連接基團；

$T^4$  不存在或為連接基團；

$T^5$  不存在或為連接基團；且

$T^6$  不存在或為連接基團。

【0149】 在一個實施例中，各醣獨立地選自：



其中：

$X$  為  $NR^3$ ，且  $Y$  係選自  $-(C=O)R^4$ 、 $-SO_2R^5$  及  $-(C=O)NR^6R^7$ ；或  $X$  為  $-(C=O)-$  且  $Y$  為  $NR^8R^9$ ；

$R^3$  為氫或  $(C_1-C_4)$  烷基；

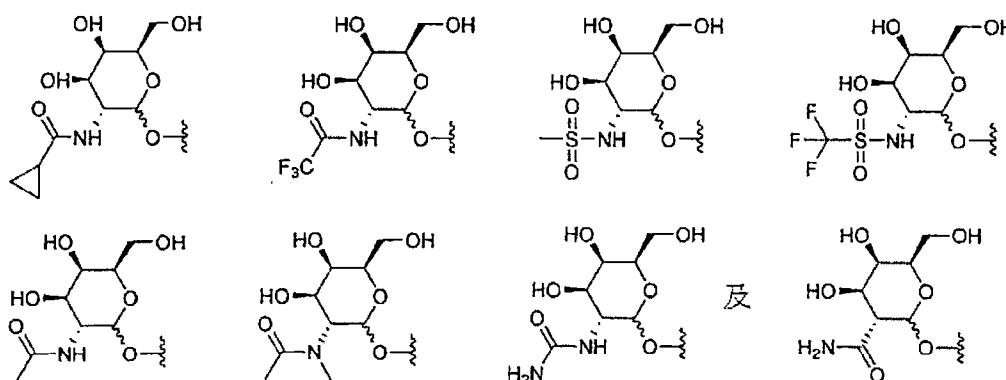
$R^4$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^8$  及  $R^9$  各獨立地選自由以下組成之群：氫、 $(C_1-C_8)$  烷基、 $(C_1-C_8)$  鹵烷基、 $(C_1-C_8)$  烷氧基及  $(C_3-C_6)$  環烷基，其視情況經一或多

個獨立地選自由以下組成之群的基團取代：鹵基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)鹵烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷氧基及(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)鹵烷氧基；

R<sup>10</sup> 為-OH、-NR<sup>8</sup>R<sup>9</sup> 或-F；且

R<sup>11</sup> 為-OH、-NR<sup>8</sup>R<sup>9</sup>、-F 或視情況經一或多個獨立地選自由以下組成之群的基團取代的 5 員雜環：鹵基、羥基、羧基、胺基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)鹵烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷氧基及(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)鹵烷氧基。

【0150】 在一個實施例中，各糖獨立地選自由以下組成之群：



【0151】 在一個實施例中，各糖獨立地為：



【0152】 在一個實施例中，T<sup>1</sup> 與 T<sup>2</sup> 之一不存在。

【0153】 在一個實施例中，T<sup>1</sup> 與 T<sup>2</sup> 兩者不存在。

【0154】 在一個實施例中，T<sup>1</sup>、T<sup>2</sup>、T<sup>3</sup>、T<sup>4</sup>、T<sup>5</sup> 及 T<sup>6</sup> 各獨立地不存在或為具有 1 至 50 個碳原子之有分支或未分支之飽和或不飽和烴鏈，其中該烴鏈中之該等碳原子中的一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)視情況經-O-、-NR<sup>x</sup>-、-NR<sup>x</sup>-C(=O)-、-C(=O)-NR<sup>x</sup>-或-S-置換，且其中 R<sup>x</sup> 為氫或(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基，且其中烴鏈視情況經一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)選自以下之取代基取代：(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷氧基、(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)環烷基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷酯基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷酯氧基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷氧基羰基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基硫基、疊氮基、氰基、硝基、鹵基、羥基、側氧基(=O)、羧基、芳基、芳氧基、雜芳基及雜芳氧基。

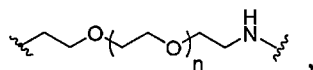
【0155】 在一個實施例中， $T^1$ 、 $T^2$ 、 $T^3$ 、 $T^4$ 、 $T^5$  及  $T^6$  各獨立地不存在或為具有 1 至 20 個碳原子之有分支或未分支之飽和或不飽和烴鏈，其中該烴鏈中之該等碳原子中的一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)視情況經-O-、-NR<sup>X</sup>-、-NR<sup>X</sup>-C(=O)-、-C(=O)-NR<sup>X</sup>-或-S-置換，且其中 R<sup>X</sup> 為氫或(C1-C6)烷基，且其中烴鏈視情況經一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)選自以下之取代基取代：(C1-C6)烷氧基、(C3-C6)環烷基、(C1-C6)烷鹽基、(C1-C6)烷鹽氧基、(C1-C6)烷氧基羰基、(C1-C6)烷基硫基、疊氮基、氰基、硝基、鹵基、羥基、側氧基(=O)、羧基、芳基、芳氧基、雜芳基及雜芳氧基。

【0156】 在一個實施例中， $T^1$ 、 $T^2$ 、 $T^3$ 、 $T^4$ 、 $T^5$  及  $T^6$  各獨立地不存在或為具有 1 至 50 個碳原子之有分支或未分支之飽和或不飽和烴鏈，或其鹽，其中該烴鏈中之該等碳原子中的一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)視情況經-O-或-NR<sup>X</sup>-置換，且其中 R<sup>X</sup> 為氫或(C1-C6)烷基，且其中烴鏈視情況經一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)選自以下之取代基取代：鹵基、羥基及側氧基(=O)。

【0157】 在一個實施例中， $T^1$ 、 $T^2$ 、 $T^3$ 、 $T^4$ 、 $T^5$  及  $T^6$  各獨立地不存在或為具有 1 至 20 個碳原子之有分支或未分支之飽和或不飽和烴鏈，其中該烴鏈中之該等碳原子中的一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)視情況經-O-置換且其中烴鏈視情況經一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)選自以下之取代基取代：鹵基、羥基及側氧基(=O)。

【0158】 在一個實施例中， $T^1$ 、 $T^2$ 、 $T^3$ 、 $T^4$ 、 $T^5$  及  $T^6$  各獨立地不存在或為具有 1 至 20 個碳原子之有分支或未分支之飽和或不飽和烴鏈，其中該烴鏈中之該等碳原子中的一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)視情況經-O-置換且其中烴鏈視情況經一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)選自以下之取代基取代：鹵基、羥基及側氧基(=O)。

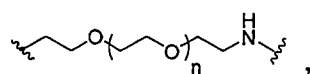
【0159】 在一個實施例中， $T^3$ 、 $T^4$ 、 $T^5$  及  $T^6$  中之至少一者為：



其中：

$n = 1、2、3$ 。

【0160】 在一個實施例中， $T^3$ 、 $T^4$ 、 $T^5$  及  $T^6$  各獨立地選自由以下組成之群：



其中：

$n = 1, 2, 3$ 。

【0161】 在一個實施例中， $T^1$  及  $T^2$  中之至少一者為甘胺酸。

【0162】 在一個實施例中， $T^1$  及  $T^2$  各為甘胺酸。

【0163】 在一個實施例中， $B^1$  為包含 1 至 15 個原子之三價基團且共價鍵結至  $L^1$ 、 $T^1$  及  $T^2$ 。

【0164】 在一個實施例中， $B^1$  為包含 1 至 10 個原子之三價基團且共價鍵結至  $L^1$ 、 $T^1$  及  $T^2$ 。

【0165】 在一個實施例中， $B^1$  包含  $(C_1-C_6)$  烷基。

【0166】 在一個實施例中， $B^1$  包含  $C_{3-8}$  環烷基。

【0167】 在一個實施例中， $B^1$  包含甲矽烷基。

【0168】 在一個實施例中， $B^1$  包含 D-胺基酸或 L-胺基酸。

【0169】 在一個實施例中， $B^1$  包含醚。

【0170】 在一個實施例中， $B^1$  包含磷酸酯基。

【0171】 在一個實施例中， $B^1$  包含磷酸酯基。

【0172】 在一個實施例中， $B^1$  包含芳基。

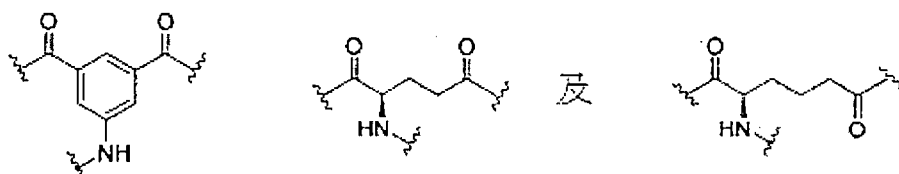
【0173】 在一個實施例中， $B^1$  包含苯環。

【0174】 在一個實施例中， $B^1$  為苯環。

【0175】 在一個實施例中， $B^1$  為 CH。

【0176】 在一個實施例中， $B^1$  包含雜芳基。

【0177】 在一個實施例中， $B^1$  係選自由以下組成之群：



【0178】 在一個實施例中， $B^2$  為包含 1 至 15 個原子之三價基團且共

價鍵結至  $L^1$ 、 $T^1$  及  $T^2$ 。

【0179】 在一個實施例中， $B^2$  為包含 1 至 10 個原子之三價基團且共價鍵結至  $L^1$ 、 $T^1$  及  $T^2$ 。

【0180】 在一個實施例中， $B^2$  包含  $(C_1-C_6)$  烷基。

【0181】 在一個實施例中， $B^2$  包含  $C_{3-8}$  環烷基。

【0182】 在一個實施例中， $B^2$  包含甲矽烷基。

【0183】 在一個實施例中， $B^2$  包含 D-胺基酸或 L-胺基酸。

【0184】 在一個實施例中， $B^2$  包含醚。

【0185】 在一個實施例中， $B^2$  包含磷酸酯基。

【0186】 在一個實施例中， $B^2$  包含磷酸酯基。

【0187】 在一個實施例中， $B^2$  包含芳基。

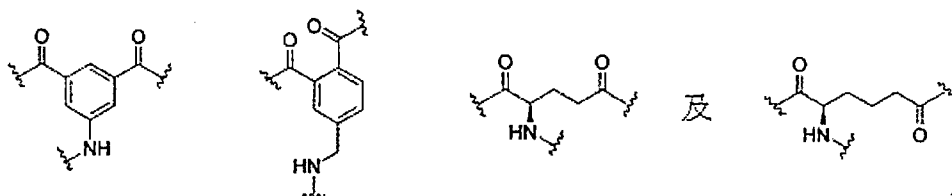
【0188】 在一個實施例中， $B^2$  包含苯環。

【0189】 在一個實施例中， $B^2$  為苯環。

【0190】 在一個實施例中， $B^2$  為  $CH$ 。

【0191】 在一個實施例中， $B^2$  包含雜芳基。

【0192】 在一個實施例中， $B^2$  係選自由以下組成之群：



【0193】 在一個實施例中， $B^3$  為包含 1 至 15 個原子之三價基團且共價鍵結至  $L^1$ 、 $T^1$  及  $T^2$ 。

【0194】 在一個實施例中， $B^3$  為包含 1 至 10 個原子之三價基團且共價鍵結至  $L^1$ 、 $T^1$  及  $T^2$ 。

【0195】 在一個實施例中， $B^3$  包含  $(C_1-C_6)$  烷基。

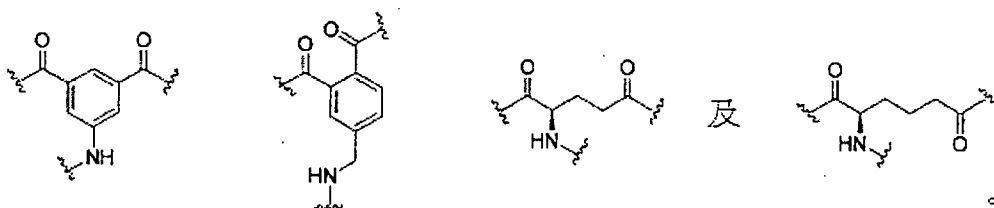
【0196】 在一個實施例中， $B^3$  包含  $C_{3-8}$  環烷基。

【0197】 在一個實施例中， $B^3$  包含甲矽烷基。

【0198】 在一個實施例中， $B^3$  包含 D-胺基酸或 L-胺基酸。

【0199】 在一個實施例中， $B^3$  包含醚。

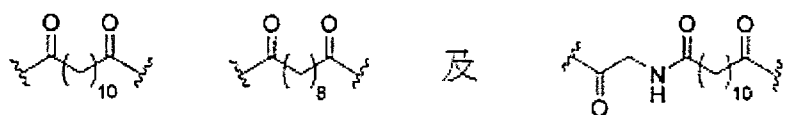
- 【0200】 在一個實施例中， $B^3$  包含磷酸酯基。
- 【0201】 在一個實施例中， $B^3$  包含磷酸酯基。
- 【0202】 在一個實施例中， $B^3$  包含芳基。
- 【0203】 在一個實施例中， $B^3$  包含苯環。
- 【0204】 在一個實施例中， $B^3$  為苯環。
- 【0205】 在一個實施例中， $B^3$  為 CH。
- 【0206】 在一個實施例中， $B^3$  包含雜芳基。
- 【0207】 在一個實施例中， $B^3$  係選自由以下組成之群：



或其鹽。

【0208】 在一個實施例中， $L^1$  及  $L^2$  獨立地為具有 1 至 50 個碳原子之有分支或未分支之二價飽和或不飽和烴鏈，其中該烴鏈中之該等碳原子中的一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)視情況經-O-、-NR<sup>X</sup>-、-NR<sup>X</sup>-C(=O)-、-C(=O)-NR<sup>X</sup>-或-S-置換，且其中 R<sup>X</sup> 為氫或(C1-C6)烷基，且其中烴鏈視情況經一或多個(例如 1、2、3 或 4 個)選自以下之取代基取代：(C1-C6)烷氧基、(C3-C6)環烷基、(C1-C6)烷醯基、(C1-C6)烷醯氧基、(C1-C6)烷氧基羰基、(C1-C6)烷基硫基、疊氨基、氰基、硝基、鹵基、羥基、側氧基(=O)、羧基、芳基、芳氧基、雜芳基及雜芳氧基。

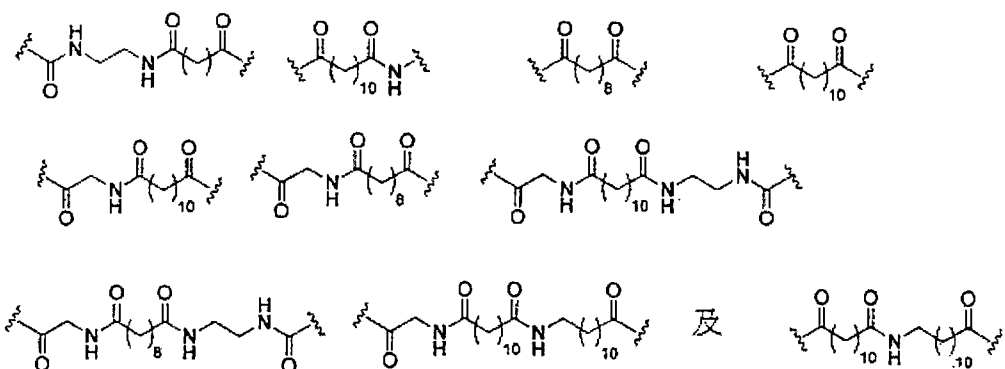
【0209】 在一個實施例中， $L^1$  係選自由以下組成之群：



或其鹽。

【0210】 在一個實施例中， $L^1$  經由選自由以下組成之群的鍵連接至  $B^1$ ：-O-、-S-、-(C=O)-、-(C=O)-NH-、-NH-(C=O)-、-(C=O)-O-、-NH-(C=O)-NH-或-NH-(SO<sub>2</sub>)-。

【0211】 在一個實施例中， $L^1$ 係選自由以下組成之群：



【0212】 在一個實施例中， $L^2$ 經由-O-連接至  $R^2$ 。

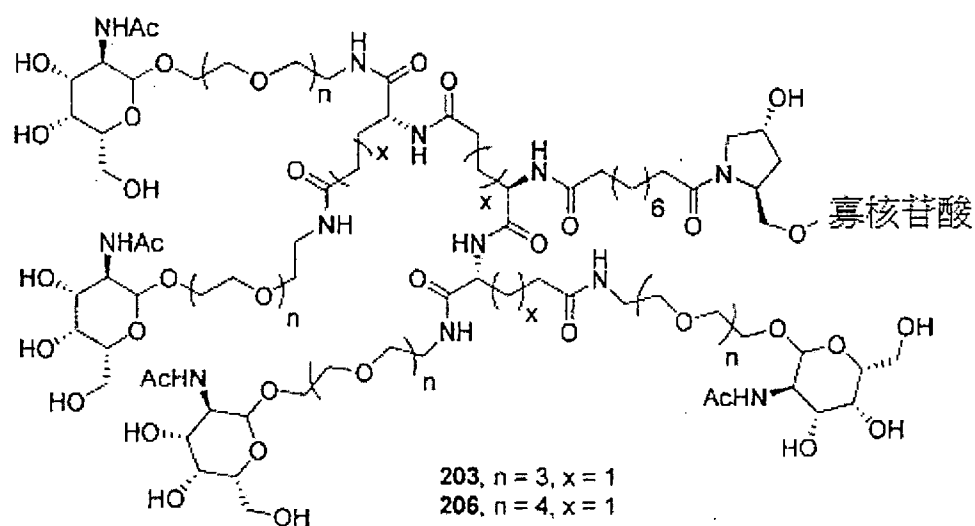
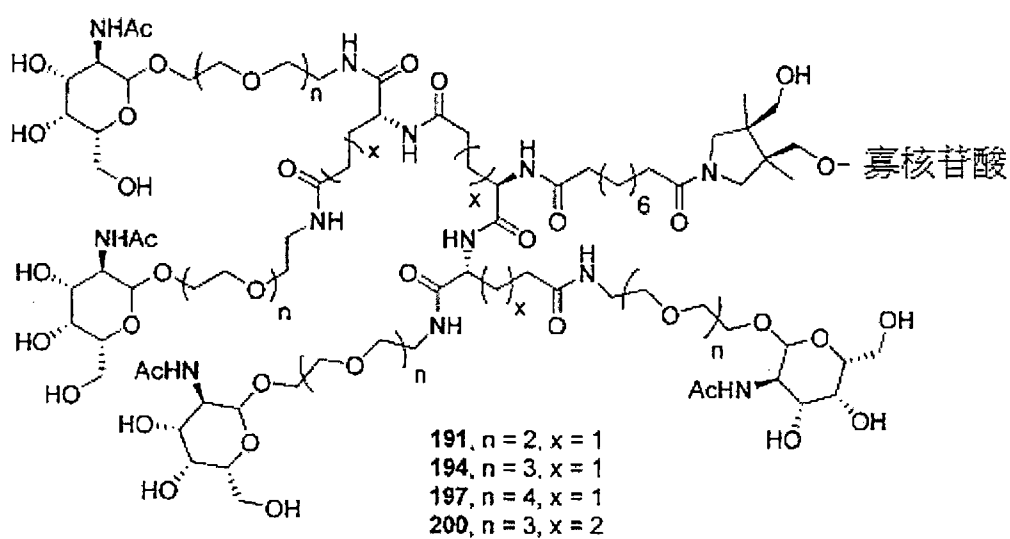
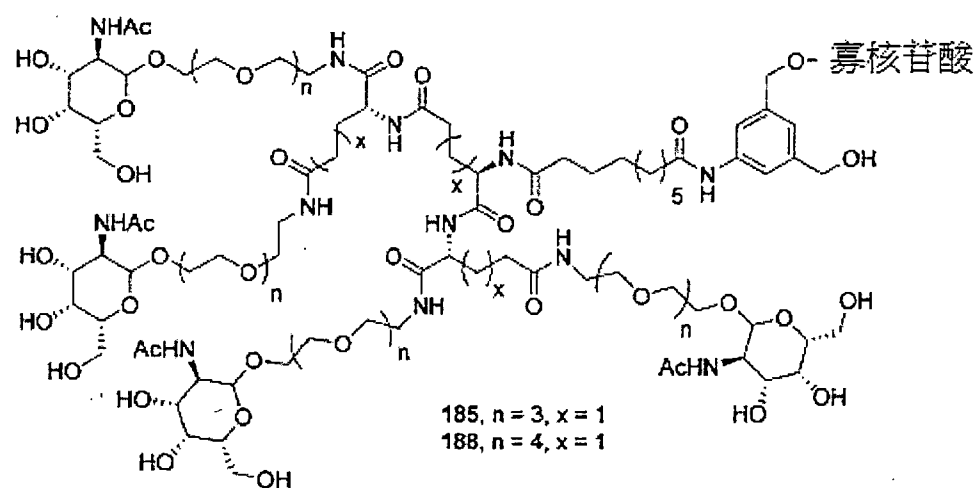
【0213】 在一個實施例中， $L^2$ 為視情況經經基取代之  $C_{1-4}$  伸烷基-O-。

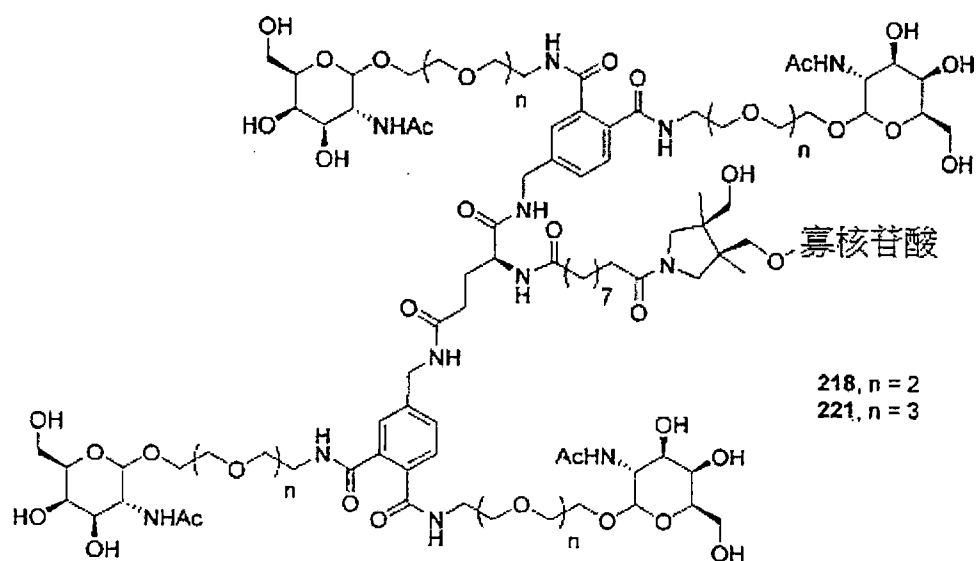
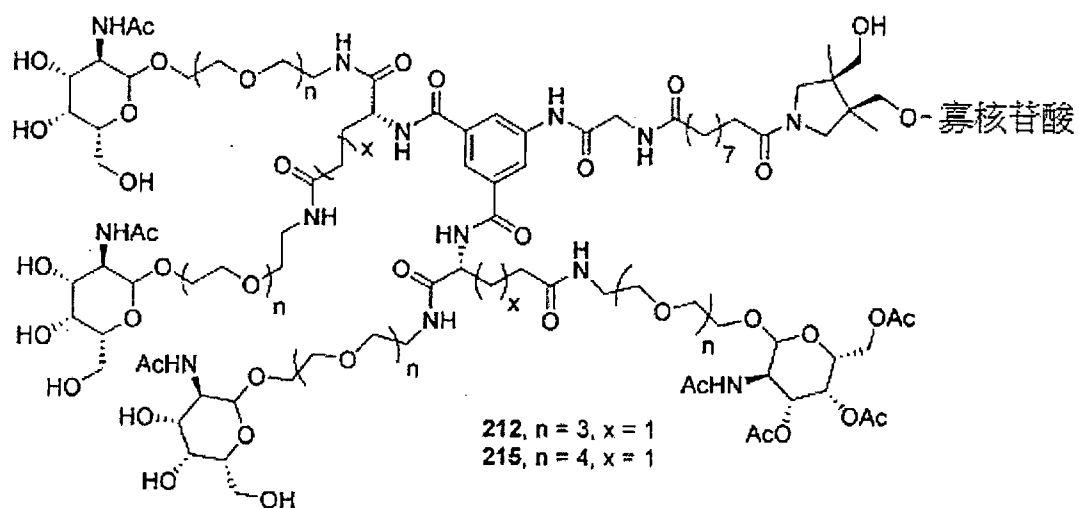
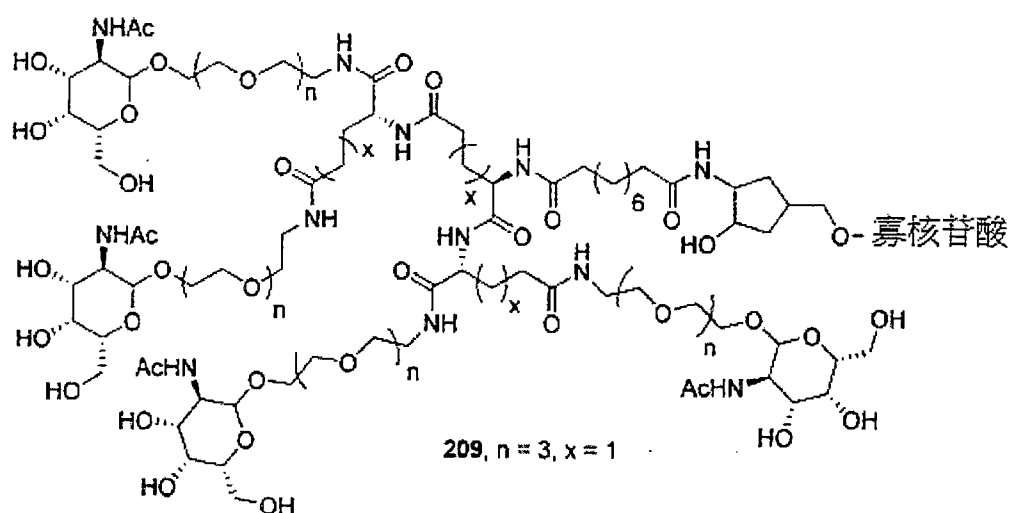
【0214】 在一個實施例中， $L^2$ 經由-O-連接至  $R^2$ 。

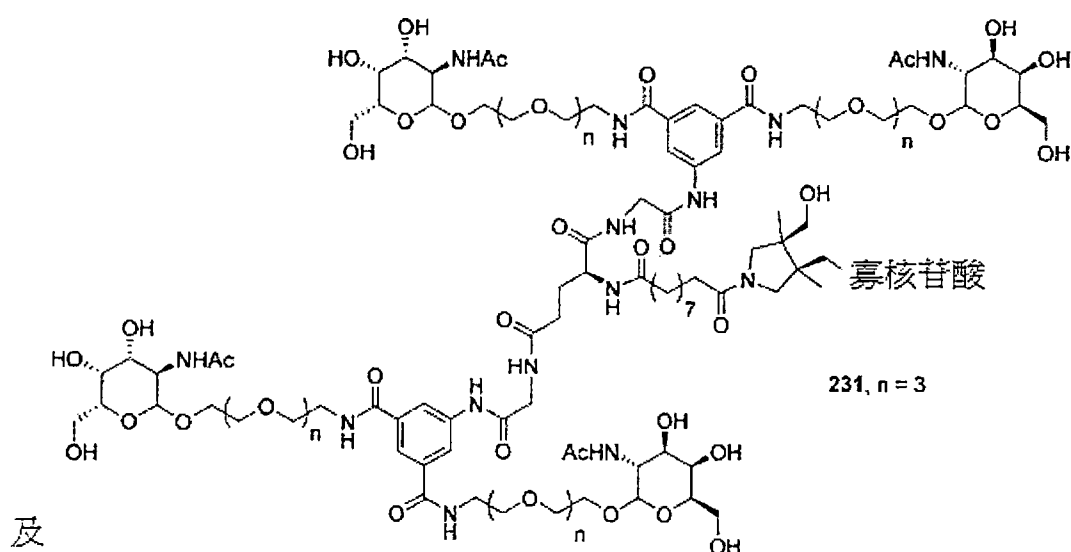
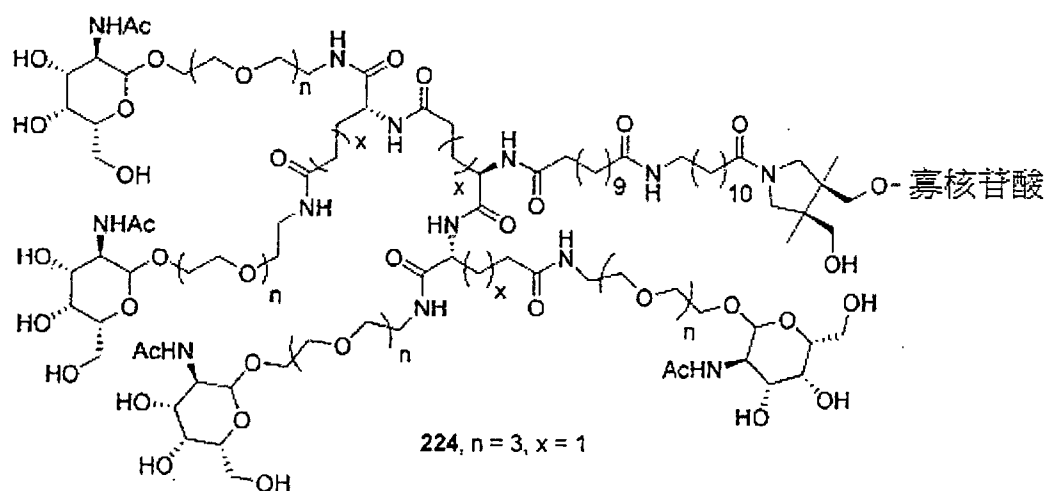
【0215】 在一個實施例中， $L^2$ 不存在。

【0216】 在一個實施例中，本發明提供選自由以下組成之群的化合物

或鹽：







及

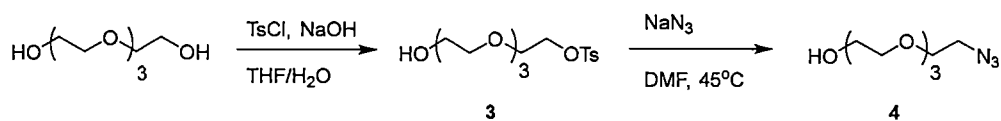
及其醫藥學上可接受之鹽。

### 實例

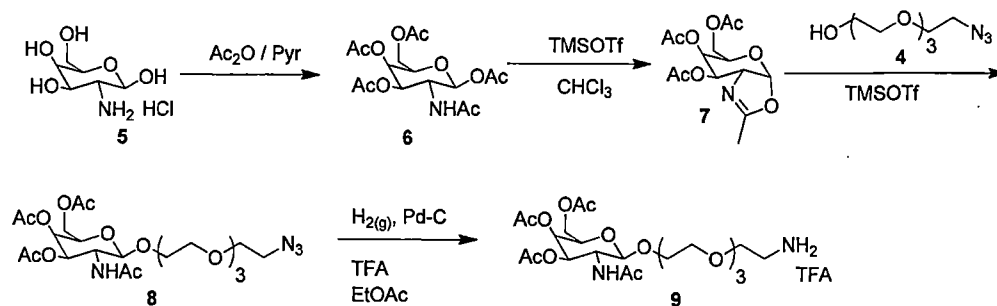
【0217】 本發明將藉助於特定實例更詳細地描述。以下實例出於說明性目的提供，且不意欲以任何方式限制本發明。本領域技術人員將容易識別多種非關鍵參數，該等參數可變化或修改，得到基本上相同之結果。

#### 實例 1. 合成結合物 1

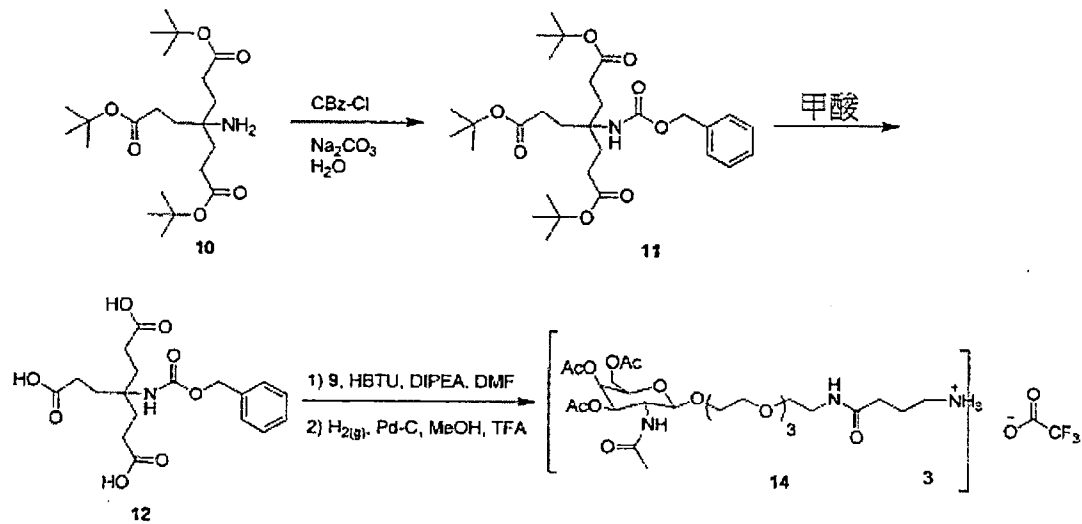
##### 流程 1.



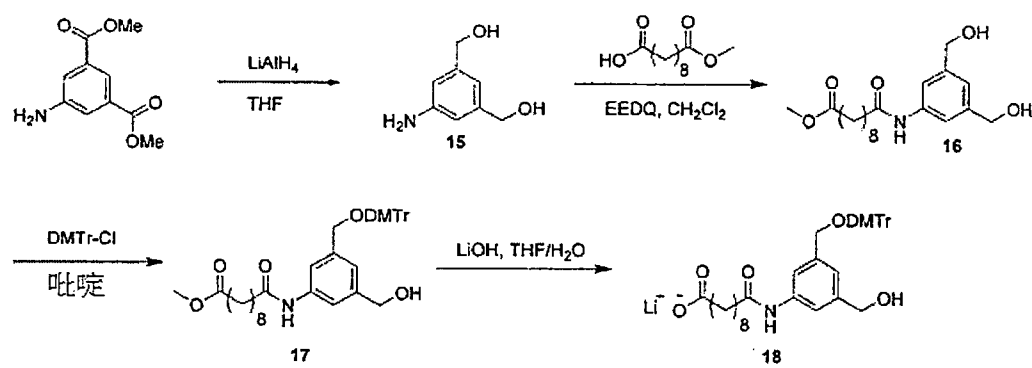
##### 流程 2.



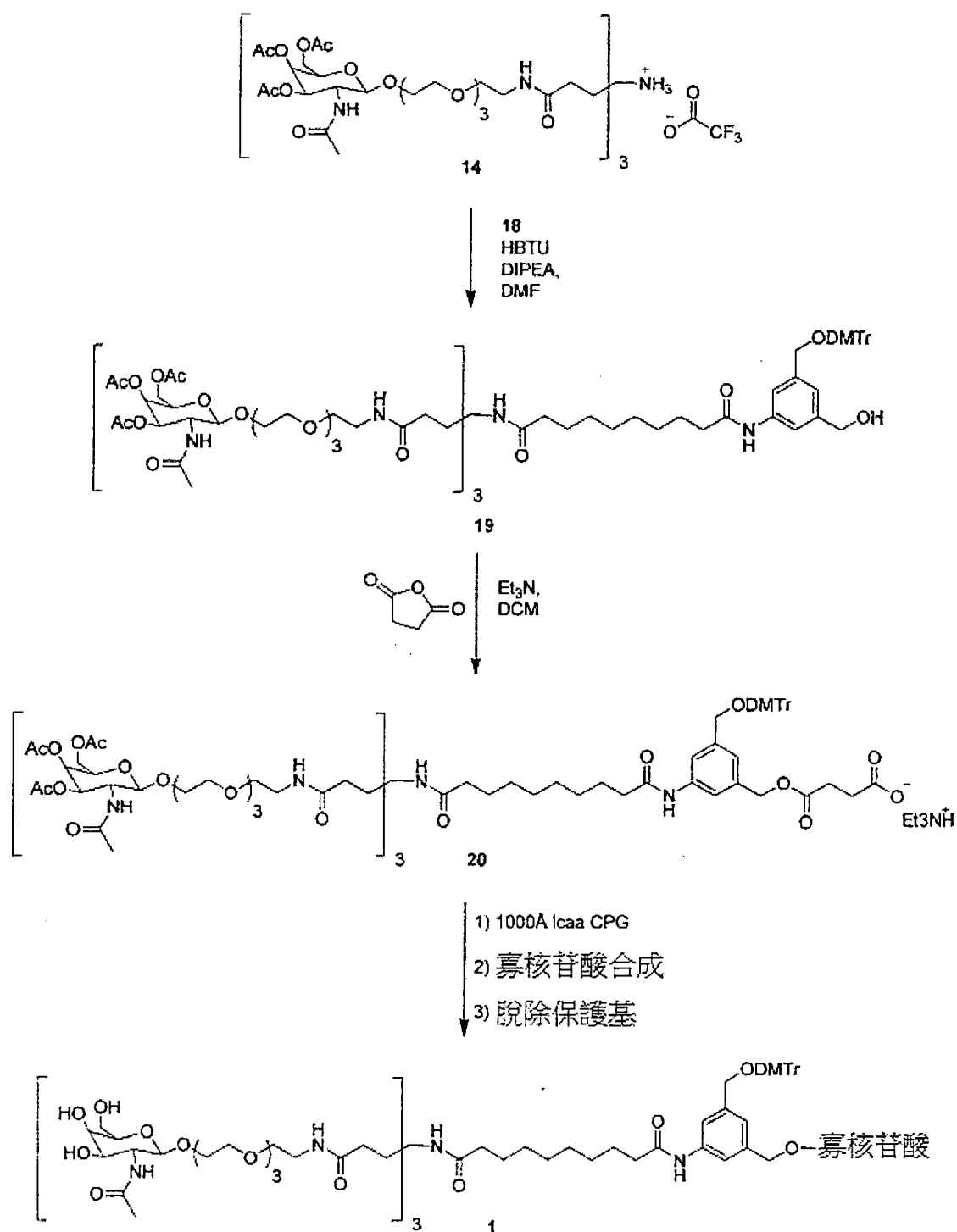
流程 3.



流程 4.

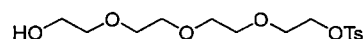


流程 5.



步驟 1. 製備 4-甲基苯磺酸 2-(2-(2-(2-羟基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙酯

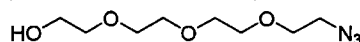
3



【0218】 使四乙二醇(934 g, 4.8 mol)於 THF (175mL)及 NaOH 水溶液 (5M, 145 mL)中之溶液冷卻(0℃)且用溶於 THF (605 mL)中之對甲苯磺醯氯 (91.4 g, 480 mmol)處理且接著攪拌兩小時(0℃)。將反應混合物用水(3L)稀

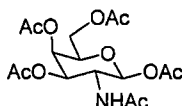
釋且用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  萃取( $3 \times 500 \text{ mL}$ )。將合併之萃取物用水及鹽水洗滌，接著乾燥( $\text{MgSO}_4$ )，過濾且濃縮，得到呈淺黃色油狀之 4-甲基苯磺酸 2-(2-(2-(2-羥基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙酯 **3** ( $140 \text{ g}$ ,  $84\%$ )。R<sub>f</sub> (0.57, 10% MeOH- $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )。

**步驟 2. 製備 2-(2-(2-(2-疊氮基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙-1-醇 **4****



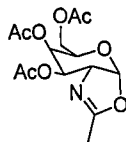
【0219】 將 **3** ( $140 \text{ g}$ ,  $403 \text{ mmol}$ )於 DMF ( $880 \text{ mL}$ )中之溶液用疊氮化鈉( $131 \text{ g}$ ,  $2.02 \text{ mol}$ )處理且加熱( $45^\circ\text{C}$ )隔夜。大部分 DMF 在減壓下移除且殘餘物溶於  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $500 \text{ mL}$ )中且用鹽水洗滌( $3 \times 500 \text{ mL}$ )，接著乾燥( $\text{MgSO}_4$ )，過濾且濃縮。使殘餘物通過短二氧化矽床(5% MeOH- $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )且濃縮，得到呈黃色油狀之 2-(2-(2-(2-疊氮基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙-1-醇 **4** ( $65 \text{ g}$ ,  $74\%$ )。R<sub>f</sub> (0.56, 10% MeOH- $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )。

**步驟 3. 製備全乙醯化半乳糖 **6****



【0220】 將含 D-半乳糖鹽酸鹽 **5** ( $250 \text{ g}$ ,  $1.16 \text{ mol}$ )之吡啶( $1.5 \text{ L}$ )用乙酸酐( $1.25 \text{ L}$ ,  $13.2 \text{ mol}$ )處理 45 分鐘。攪拌隔夜後，將反應混合物分成三個  $1 \text{ L}$  部分。將各  $1 \text{ L}$  部分傾倒至  $3 \text{ L}$  冰水中且混合一小時。混合後，濾出固體，合併，在液氮上冷凍且接著凍乾 5 天，得到呈白色固體狀之全乙醯化半乳糖 **6** ( $369.4 \text{ g}$ ,  $82\%$ )。R<sub>f</sub> (0.58, 10% MeOH- $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )。

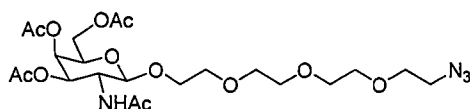
**步驟 4. 製備二乙酸(3aR,5R,6R,7R,7aR)-5-(乙醯氧基甲基)-2-甲基-3a,6,7,7a-四氫-5H-嘔喃并[3,2-d]噁唑-6,7-二基酯 **7****



【0221】 將全乙醯化半乳糖 **6** ( $8.45 \text{ g}$ ,  $21.7 \text{ mmol}$ )於  $\text{CHCl}_3$  ( $320 \text{ mL}$ )中之溶液用 TMSOTf ( $4.32 \text{ mL}$ ,  $23.9 \text{ mmol}$ )逐滴處理。攪拌(1.5 小時,  $40^\circ\text{C}$ )後反應藉由添加三乙胺( $5 \text{ mL}$ )來淬滅且濃縮至乾，得到呈淺黃色玻璃狀之化合物 **7** ( $7.2 \text{ g}$ , 定量)。產物未經進一步純化即使用。R<sub>f</sub> (0.59, 10% MeOH- $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )。

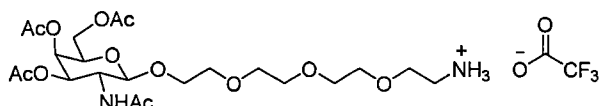
**步驟 5. 製備二乙酸(2R,3R,4R,5R,6R)-5-乙醯胺基-2-(乙醯氧基甲**

基)-6-(2-(2-(2-(2-疊氨基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)四氫-2H-呓喃-3,4-二基酯 **8**



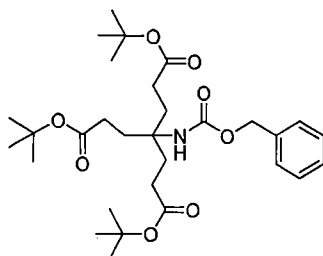
【0222】 化合物 **7** (7.2 g, 21.7 mmol) 及 2-(2-(2-(2-疊氨基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙-1-醇 **4** (2.65 g, 15.2 mmol) 自甲苯 (150 mL) 共沸 (3 次) 以移除痕量水。經乾燥之物質溶於 1,2-二氯乙烷 (150 mL) 中，冷卻 (約 5 °C) 且用 TMSOTf (784  $\mu$ L, 4.34 mmol) 處理。攪拌隔夜後，反應藉由添加三乙胺 (5 mL) 來淬滅且濃縮。殘餘物藉由層析法 (1%  $\rightarrow$  5% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) 來純化，得到呈棕色油狀之 **8** (7.12 g, 85%)。R<sub>f</sub> (0.3, 10% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)。

步驟 6. 製備 2-(2-(2-(2-(((2R,3R,4R,5R,6R)-3-乙醯氨基-4,5-二乙醯氧基-6-(乙醯氧基甲基)四氫-2H-呓喃-2-基)氧基)乙氧基)乙氧基)乙-1-胺鎓 2,2,2-三氟乙酸鹽 **9**



【0223】 將疊氮化物 **8** (7.12 g, 13 mmol) 於 EtOAc (150 mL) 及三氟乙酸 (2 mL) 中之溶液用鈀/木炭 (1.5 g, 10% w/w 濕基) 處理。接著反應混合物用氫氣淨化且劇烈攪拌隔夜。在用氫氣淨化後，混合物經矽藻土過濾，用 MeOH 清洗。將濾液濃縮且經由層析法 (5%  $\rightarrow$  10%  $\rightarrow$  20% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) 來純化，得到呈棕色油狀之 **9** (5.8 g, 72%)。R<sub>f</sub> (0.34, 15% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)。

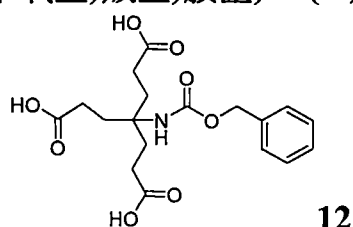
步驟 7. 製備 4-(((苯甲氧基)羰基)胺基)-4-(3-(第三丁氧基)-3-側氧基丙基)庚二酸二第三丁酯 **11**



【0224】 向 4-胺基-4-(3-(第三丁氧基)-3-側氧基丙基)庚二酸二第三丁酯 **10** (13.5 g, 33 mmol)、25% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (aq) (150 mL) 及二氯甲烷 (300 mL) 之溶液緩慢添加氯甲酸苯甲酯 (14 mL, 98 mmol)。將溶液在室溫下劇烈攪拌隔夜

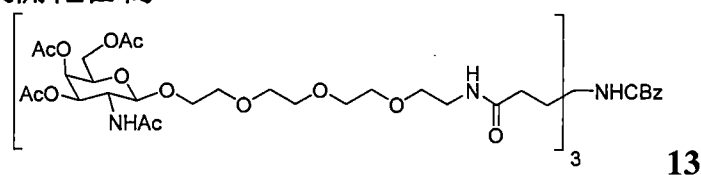
(16 小時)。結束後，添加額外二氯甲烷(100 mL)且分離二氯甲烷層。將水層用二氯甲烷(2×100 mL)萃取。合併之二氯甲烷萃取物經硫酸鎂乾燥，過濾且濃縮至乾。產物 **11** 呈無色油狀分離，無需將其進行進一步純化(15.8 g，88%)。Rf (0.7, 1:1 EtOAc-己烷)。

**步驟 8. 製備 4-(((苯甲氧基)羰基)胺基)-4-(2-羧基乙基)庚二酸 **12****



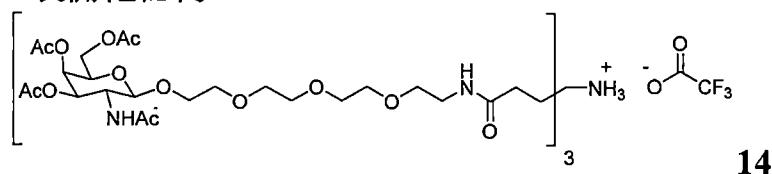
【0225】 將 **11** (15.6 g，28.8 mmol)於甲酸(50 mL)中之溶液在室溫下攪拌 2 小時。溶液濃縮至乾且溶解於乙酸乙酯(約 25 mL)中。靜置後，產物結晶成無色固體。將固體過濾，用乙酸乙酯洗滌且空氣乾燥，得到呈無色固體狀之 **12** (10.2 g，93%)。Rf (0.1, 10% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)。

**步驟 9. 製備化合物 **13****



【0226】 將 **12** (793 mg，2.08 mmol)及 **9** (5.8 g，9.36 mmol)於 DMF (50mL)中之溶液用 BOP (3.67 g，8.32 mmol)處理，接著用 *N,N*-二異丙基乙胺(4.31 mL，25 mmol)處理。攪拌隔夜後，混合物濃縮至乾且進行層析(1% → 2% → 5% → 10% → 15% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)，得到 **13** (5.71 g [粗]，>100% - 含有不影響下一步之偶合副產物)。Rf (0.45, 10% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)。

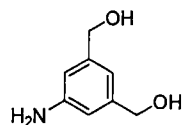
**步驟 10. 製備化合物 **14****



【0227】 化合物 **13** (5.7 g)溶於 MeOH (150 mL)及 TFA (1.5 mL)中且用鈀/木炭(1 g，10% w/w 濕基)處理。接著反應混合物用氫氣淨化且劇烈攪拌隔夜。在用氫氣淨化後，混合物經矽藻土過濾，用 MeOH 清洗。將濾液濃縮且經由層析法(5% → 10% → 20% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)來純化，得到呈棕色

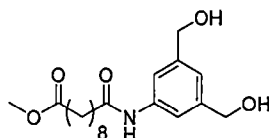
油狀之 **14** (2.15 g, 兩步 56%)。Rf (0.32, 10% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)。

**步驟 11. 製備(5-胺基-1,3-伸苯基)二甲醇 **15****



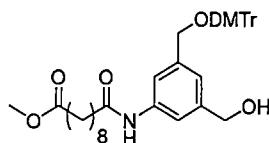
【0228】 將 5-胺基間苯二甲酸二甲酯(20.0 g, 96 mmol)於 THF (350 mL)中之溶液經一小時逐滴添加至 3.75 當量 LiAlH<sub>4</sub> (13.6 g, 358 mmol)於 THF (440 mL)中之回流混合物。將混合物在回流下再攪拌 2 小時，接著冷卻至室溫且藉由小心添加 MeOH (27 mL)、接著水(40 mL)來淬滅。攪拌淬滅之混合物兩小時之後，將其過濾且濃縮至乾。殘餘物自 EtOAc 重結晶(2 次)，得到呈微棕色-黃色結晶狀之 **15** (10.2 g, 70 %)。

**步驟 12. 製備 10-((3,5-雙(羥基甲基)苯基)胺基)-10-側氧基癸酸甲酯 **16****



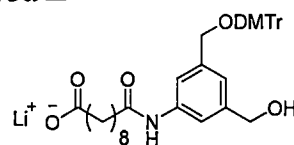
【0229】 將癸二酸甲酯(3.8 g, 17 mmol)、**15** (2.5 g, 17 mmol)及 EEDQ (8.1 g, 33 mmol)於 2:1 二氯甲烷/甲醇(200 mL)中之溶液在室溫下攪拌 2 小時。結束後，溶液濃縮至乾。所得固體用二氯甲烷(50 mL)濕磨且過濾。將固體用冷二氯甲烷清洗且空氣乾燥，得到呈無色固體狀之 **16** (4.3 g, 72%)。Rf (0.33, EtOAc)。

**步驟 13. 製備 10-((3-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-5-(羥基甲基)苯基)胺基)-10-側氧基癸酸甲酯 **17****

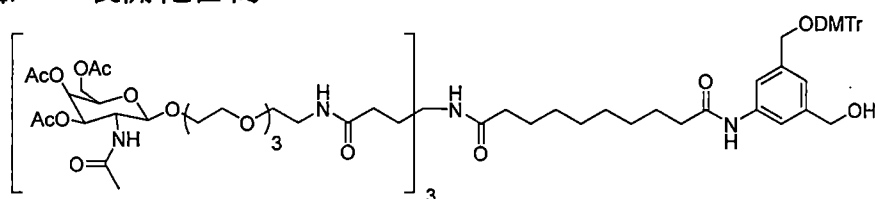


【0230】 向 **16** (4.3 g, 12 mmol)於吡啶(50 mL)中之溶液添加 4,4'-(氯(苯基)亞甲基)雙(甲氧基苯) (4.1 g, 12 mmol)。將溶液在氮氣下在室溫下攪拌隔夜。結束後，溶液濃縮至乾且殘餘物藉由管柱層析法(0.5% → 0.75% → 1% → 1.5% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)來純化，得到呈黃色固體狀之 **17** (2.9 g, 35%)。Rf (0.6, 10% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)。

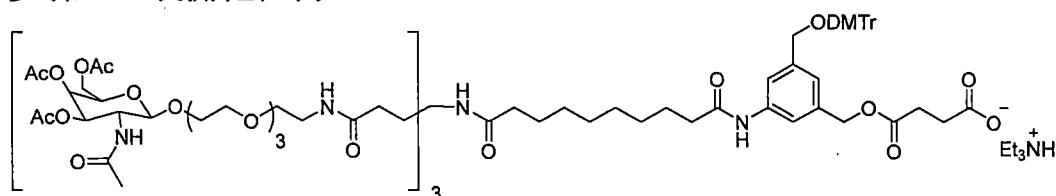
**步驟 14. 製備 10-((3-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-5-(羥基甲**

基)苯基)胺基)-10-側氧基癸酸鋰 **18**

【0231】 向 **17** (2.9 g, 4.3 mmol)於 THF (60 mL)中之溶液添加水(15 mL)及氫氧化鋰(112 mg, 4.7 mmol)。將溶液在室溫下攪拌隔夜。結束後，溶液濃縮以移除 THF。剩餘水溶液在液氮上速凍且凍乾隔夜，得到無色固體(2.9 g, 定量)。Rf (0.3, 10% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)。

步驟 15. 製備化合物 **19**

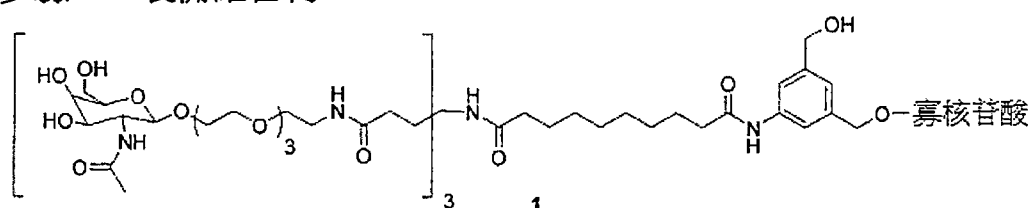
【0232】 向 **14** (454 mg, 0.67 mmol)、**18** (1.25 g, 0.67 mmol)及 HBTU (381 mg, 1.0 mmol)於無水 DMF (25 mL)中之溶液添加 *N,N*-二異丙基乙胺 (0.35 mL, 2.0 mmol)。將溶液在室溫下攪拌隔夜。結束後，將溶液傾倒至乙酸乙酯(250 mL)中且用鹽水(3×200 mL)洗滌。乙酸乙酯層經硫酸鎂乾燥，過濾且濃縮至乾。藉由管柱層析法(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 中 5% → 7.5% → 10% → 15% MeOH)來純化，得到呈淺橙色泡沫狀之 **19** (1.5 g, 94%)。Rf (0.25, 10% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)。

步驟 16. 製備化合物 **20**

【0233】 將化合物 **19** (1.5 g, 0.6 mmol)、丁二酸酐(120 mg, 1.2 mmol)、DMAP (220 mg, 1.8 mmol)及三甲胺(250 μL, 1.8 mmol)於無水 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 mL)中之溶液在室溫下攪拌隔夜。結束後，溶液濃縮至乾且經由短矽藻土塞過濾(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 中 100% CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> → 15% MeOH)，得到呈淡米色泡沫狀之產物 **20** (1.1 g, 70%)。質量 *m/z* (ES-TOF MS) 727.7 [M + 3H - DMTr]<sup>+</sup>, 1091.1 [M + 2H - DMTr]。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.92 (br s, 1H), 7.78 (s, 1H),

7.49-7.47 (m, 3H), 7.41 (br s, 1H), 7.38-7.34 (m, 5H), 7.32-7.26 (m, 4H), 7.24-7.08 (br s, 3H), 7.08 (s, 1H), 6.90-6.80 (m, 7H), 5.31 (d, 3H,  $J = 2.7\text{Hz}$ ), 5.12 (s, 2H), 5.06 (dd, 3H,  $J = 11.2, 3.2\text{ Hz}$ ), 4.78 (d, 3H,  $J = 8.5\text{ Hz}$ ), 4.24-4.08 (m, 12H), 3.95-3.88 (m, 7H), 3.85-3.76 (m, 4H), 3.78 (s, 6H), 3.68-3.56 (m, 34H), 3.54-3.44 (m, 8H), 3.41-3.33 (m, 6H), 2.70-2.60 (m, 4H), 2.52-2.30 (m, 30H), 2.24-2.16 (m, 8H), 2.14 (s, 9H), 2.04 (s, 9H), 2.02-1.96 (m, 6H), 1.98 (s, 9H), 1.96 (s, 9H), 1.74-1.52 (m, 4H), 1.36-1.24 (m, 12H)。

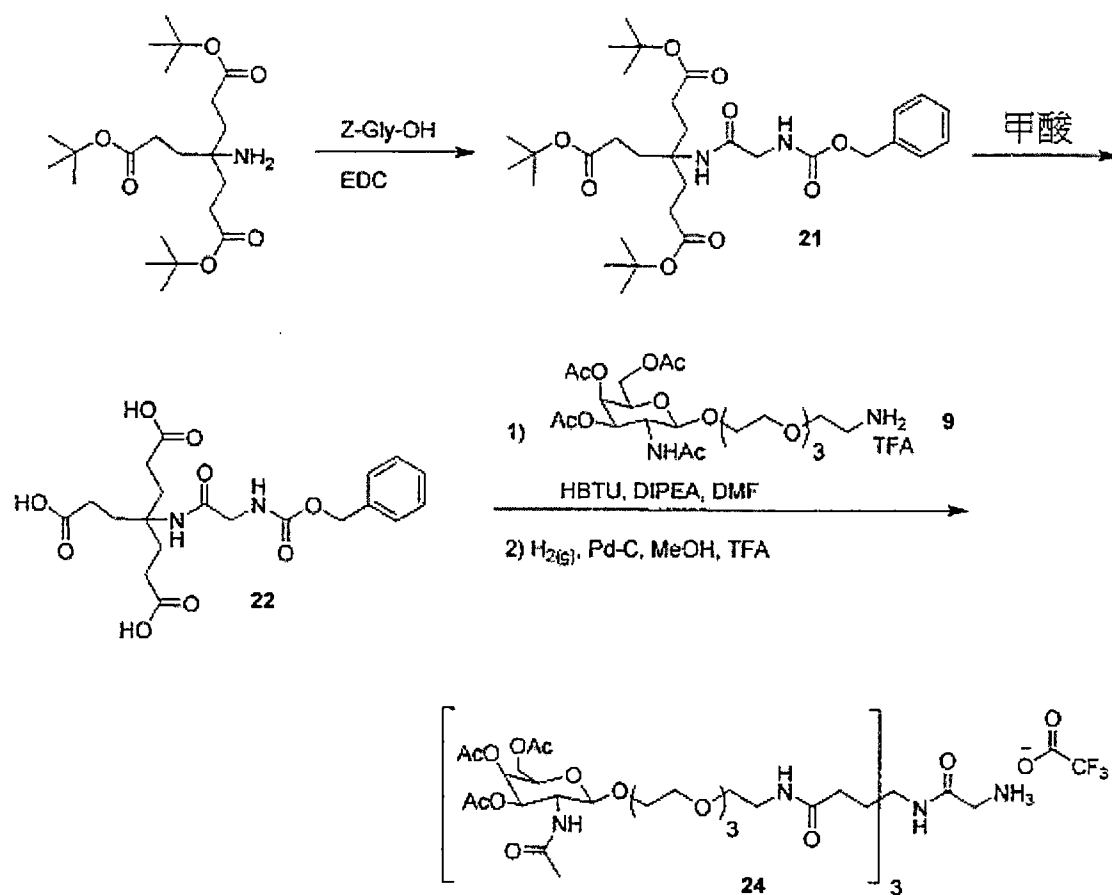
#### 步驟 17. 製備結合物 1



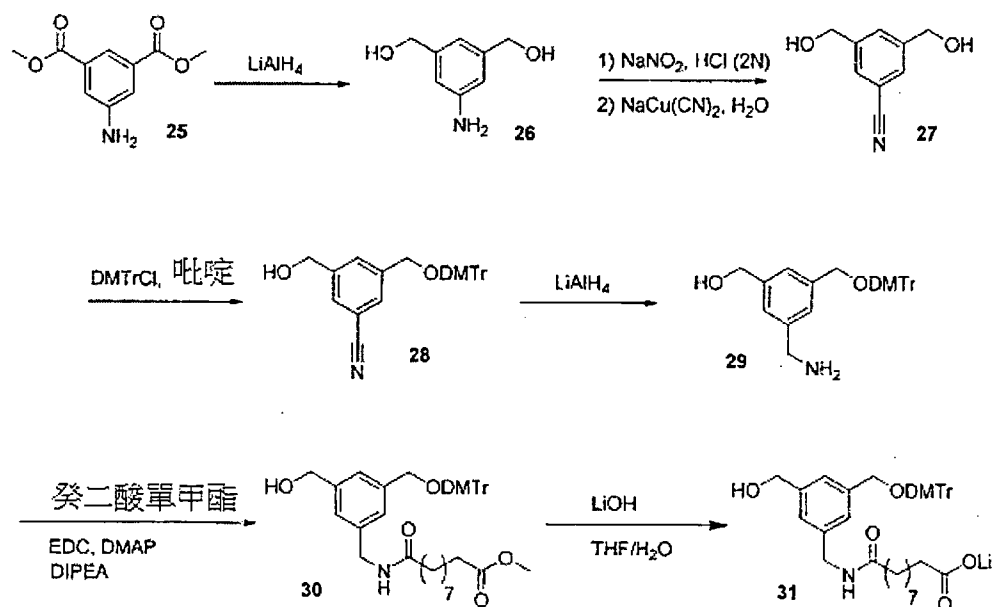
【0234】 使用標準醯胺偶合化學將丁二酸酯 **20** 負載至 1000Å LCAA (長鏈胺基烷基) CPG (可控多孔玻璃) 上。將二異丙基碳化二亞胺(52.6  $\mu\text{mol}$ )、N-羥基丁二醯亞胺(0.3 mg, 2.6  $\mu\text{mol}$ )及吡啶(10  $\mu\text{L}$ )於無水乙腈(0.3 mL)中之溶液添加至含 **20** (20.6 mg, 8  $\mu\text{mol}$ )之無水二氯甲烷(0.2 mL)。將此混合物添加至 LCAA CPG (183 mg)。將懸浮液在室溫下輕緩混合隔夜。**20** 消失後(HPLC)，將反應混合物過濾且 CPG 用各 1 mL 二氯甲烷、乙腈、5% 乙酸酐/5% N-甲基咪唑/5%吡啶於 THF 中之溶液，接著 THF、乙腈及二氯甲烷洗滌。CPG 接著在高真空下乾燥。藉由標準 DMTr 分析法，藉由 UV/Vis (504 nm)，測得負載為 25  $\mu\text{mol/g}$ 。所得 GalNAc 負載之 CPG 固體支撐物用於使用標準程序之自動化寡核苷酸合成中。脫除核苷酸保護基，接著自固體支撐物移除(同時脫除半乳糖乙醯酯保護基)，得到作為代表性實例之 GalNAc-寡核苷酸結合物 **1**。

#### 實例 2：合成結合物 **34**

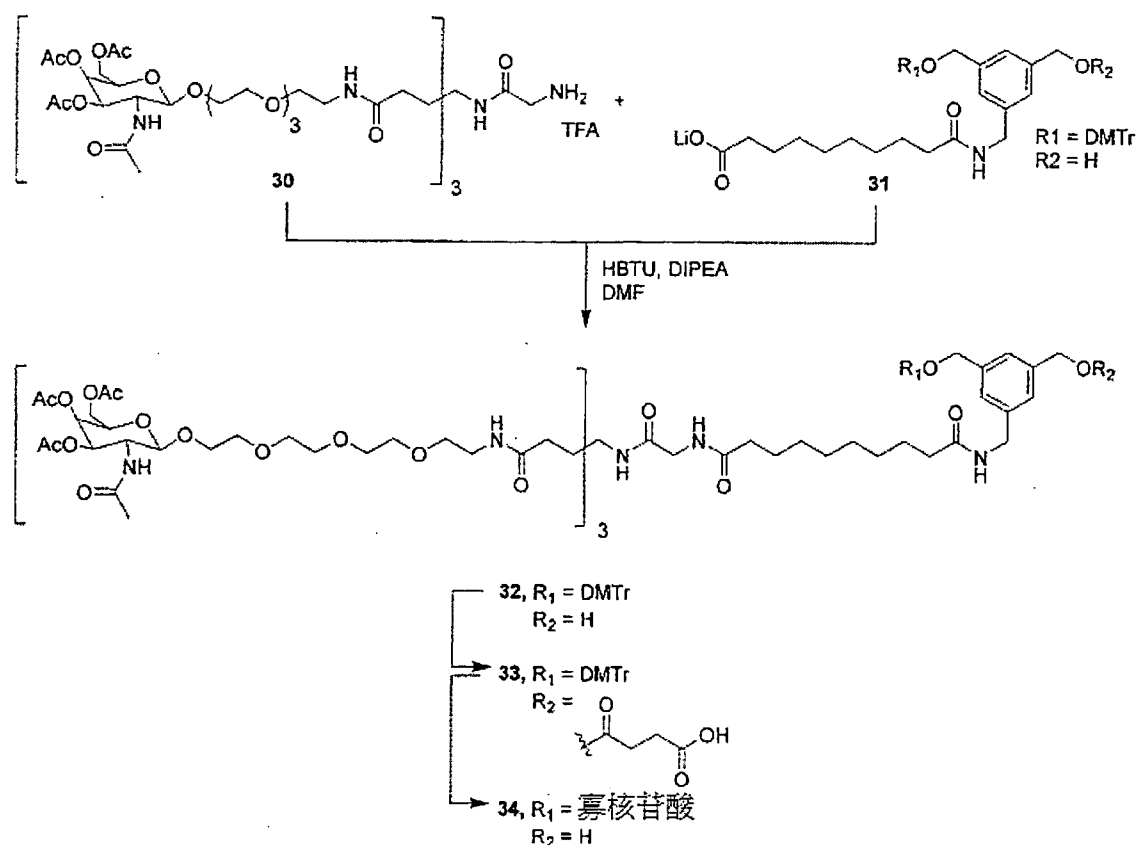
##### 流程 6.



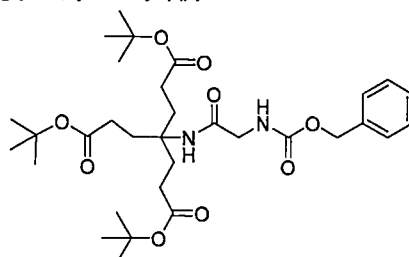
流程 7.



流程 8.



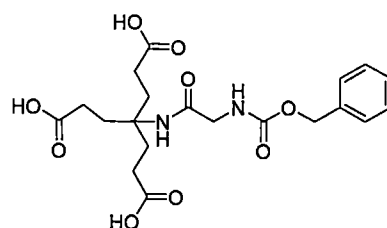
步驟 1. 製備 4-(2-(((苯甲氧基)羰基)胺基)乙醯胺基)-4-(3-(第三丁氧基)-3-側氧基丙基)庚二酸二第三丁酯 **21**



【0235】 將 4-胺基-4-(3-(第三丁氧基)-3-側氧基丙基)庚二酸二第三丁酯(25 g, 60 mmol)及 Z-甘胺酸(18.9 g, 90.2 mmol)於 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (300 mL)中之溶液連續用 EDC (23 g, 120 mmol)、二異丙基乙胺(32 mL, 180 mmol)及 DMAP (催化 17 mg)處理。攪拌(16 小時)後，將反應混合物傾倒至 NaHCO<sub>3</sub> (飽和水溶液)中，用 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 萃取，用鹽水洗滌，乾燥(MgSO<sub>4</sub>)，過濾且濃縮，得到呈非晶固體狀之 4-(2-(((苯甲氧基)羰基)胺基)乙醯胺基)-4-(3-(第三丁氧基)-3-側氧基丙基)庚二酸二第三丁酯 **21** 且未經進一步處理即使用(36 g, 定量)。R<sub>f</sub> (0.85, 10% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)。

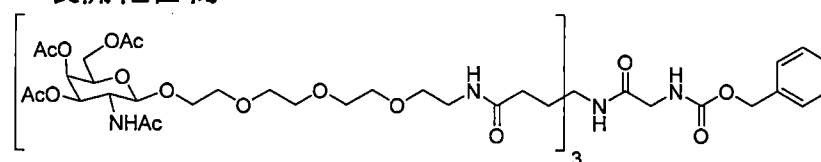
步驟 2. 製備 4-(2-(((苯甲氧基)羰基)胺基)乙醯胺基)-4-(2-羧基乙基)庚

## 二酸 22



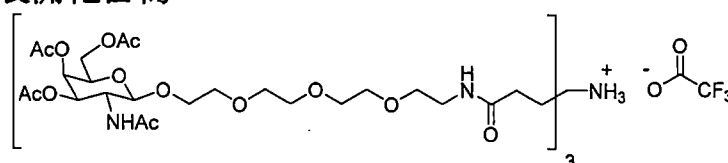
【0236】 攪拌 4-(2-(((苯甲氧基)羰基)胺基)乙醯胺基)-4-(3-(第三丁氧基)-3-側氧基丙基)庚二酸二第三丁酯 **21** (59.3 mmol, 36 g) 於純甲酸(150 mL)中之溶液 72 小時。結束後，甲酸在減壓下移除且粗固體高真空乾燥隔夜，得到呈無色固體狀之 **22** (15.9 g, 61%)。Rf (0.15, 10% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)。

### 步驟 3. 製備化合物 23



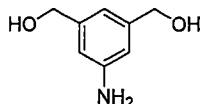
【0237】 將 **22** (6.2 g, 14.1 mmol) 及 2-(2-(2-(2-(((2R,3R,4R,5R,6R)-3-乙醯胺基-4,5-二乙醯氧基-6-(乙醯氧基甲基)四氫-2H-嘓喃-2-基)氧基)乙氧基)乙氧基)乙-1-胺鎗 2,2,2-三氟乙酸鹽(35 g, 56.5 mmol) 於 DMF (250 mL) 中之溶液用 BOP (25 g, 56.5 mmol)，接著 *N,N*-二異丙基乙胺(29 mL, 170 mmol) 處理。攪拌隔夜後，混合物濃縮至乾且進行層析(100% CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 至 15% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)，得到化合物 **23** (24.6 g, 89%)。Rf (0.55, 15% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)。

### 步驟 4. 製備化合物 24



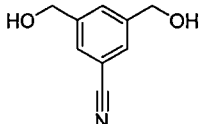
【0238】 化合物 **23** (24.6 g) 溶於 MeOH (200 mL) 及 TFA (1.5 mL) 中且用氫氣淨化。添加鈀/木炭(1 g, 10% w/w 濕基) 且接著反應混合物用氫氣淨化且劇烈攪拌隔夜。結束後，反應用氫氣淨化，經由矽藻土過濾且用 MeOH 清洗。將濾液濃縮且藉由在矽膠 60 上，進行管柱層析法(梯度：5% → 10% → 20% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) 來純化，得到呈淺棕色黏性油狀之 **24** (23 g)。Rf (0.32, 10% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)。

步驟 5. 製備(5-胺基-1,3-伸苯基)二甲醇 **26**



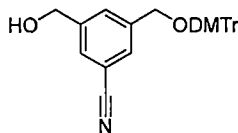
【0239】 在氮氣氛圍下使氫化鋰鋁(13.6 g, 358 mmol)於無水四氫呋喃(450 mL)中之懸浮液達至回流且用二甲基-5-胺基間苯二甲酸酯 **25** (20 g, 96 mmol)於無水四氫呋喃(350 mL)中之溶液逐滴處理。添加結束後，將混合物加熱至回流，又歷時 2 小時。結束後，溶液冷卻至室溫且藉由緩慢添加 MeOH (27 mL)、接著水(40 mL)來淬滅。攪拌 2 小時後，混合物過濾，濃縮且自 EtOAc 再結晶，得到呈灰白色結晶狀之(5-胺基-1,3-伸苯基)二甲醇 **26** (10.2 g, 70%)。Rf 0.5 (15% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)。

步驟 6. 製備 3,5-雙(羥基甲基)苯甲腈 **27**



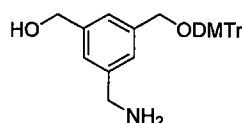
【0240】 使 **26** (5 g, 33 mmol)於 2N 鹽酸(100 mL)中之溶液冷卻至 0 °C 且用亞硝酸鈉(3.53 g, 36 mmol)於水(50 mL)中之冷溶液處理。反應混合物維持於溫度 ≤ 5 °C 下，歷時 30 分鐘，接著用氰化銅(I)(3.19 g, 35.6 mmol)及氰化鈉(3.53 g, 72 mmol)於水(50 mL)中之溶液一次性處理。在室溫下攪拌隔夜後，混合物過濾，用二氯甲烷(3×100 mL)萃取，濃縮且未經進一步純化即使用。獲得呈黃色固體狀之二醇 3,5-雙(羥基甲基)苯甲腈 **27** (2.19 g, 41%)。Rf 0.75 (15% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)。

步驟 7. 製備 3-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-5-(羥基甲基)苯甲腈 **28**



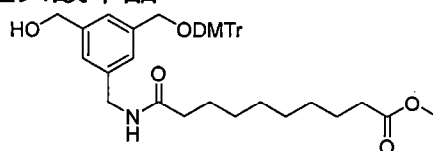
【0241】 將 3,5-雙(羥基甲基)苯甲腈 **27** (538 mg, 3.3 mmol)於吡啶(14 mL)中之溶液用 4,4'-二甲氧基三苯甲基氯(1.17 g, 3.46 mmol)處理且在室溫下攪拌隔夜。一旦結束，將混合物濃縮且分散於乙醚(25 mL)中，過濾且濃縮。粗產物藉由矽膠 60 之管柱層析法(梯度：10%至 50% EtOAc-己烷)來純化，得到呈黃色固體狀之 **28** (725 mg, 47%)。Rf 0.5 (1:1 EtOAc-己烷)。

**步驟 8. 製備(3-(胺基甲基)-5-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)苯基)甲醇 29**



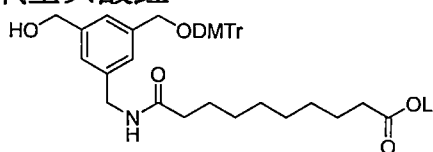
【0242】 使 **28** (100 mg, 0.22 mmol) 於甲基四氫呋喃(5 mL)中之溶液冷卻至 0℃ 且用氫化鋰鋁(0.64 mmol = 0.28 mL 2.3M 之 MeTHF 溶液)緩慢處理。攪拌一小時後，反應藉由添加甲醇(1 mL)、接著水(0.3 mL)來淬滅且攪拌 30 分鐘。混合物過濾且濃縮，得到(3-(胺基甲基)-5-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)苯基)甲醇 **29** (78 mg, 77%)。R<sub>f</sub> 0.15 (10% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)。

**步驟 9. 製備 10-((3-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-5-(羥基甲基)苯基)胺基)-10-側氧基癸酸甲酯 30**



【0243】 將(3-(胺基甲基)-5-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-甲基)苯基)甲醇 **29** (78 mg, 0.17 mmol) 及癸二酸單甲酯(38 mg, 0.17 mmol) 於二氯甲烷(5 mL)中之溶液連續用 EDC (48 mg, 0.25 mmol)、DMAP (催化 5 mg) 及二異丙基乙胺(57 μL, 0.33 mmol)處理。攪拌(3.5 小時)後，將反應混合物傾倒至飽和碳酸氫鈉溶液(50 mL)中。將碳酸氫鈉溶液用二氯甲烷(3×50 mL)萃取，用鹽水(50 mL)洗滌，經硫酸鎂乾燥，過濾且濃縮至乾。粗物質藉由矽膠 60 上管柱層析法(梯度：2%至 5% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)來純化，得到呈黃色油狀之 10-((3-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-5-(羥基甲基)苯基)胺基)-10-側氧基癸酸甲酯 **30** (57 mg, 53%)。R<sub>f</sub> 0.45 (10% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)。

**步驟 10. 製備 10-((3-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-5-(羥基甲基)苯基)胺基)-10-側氧基癸酸鋰 31**



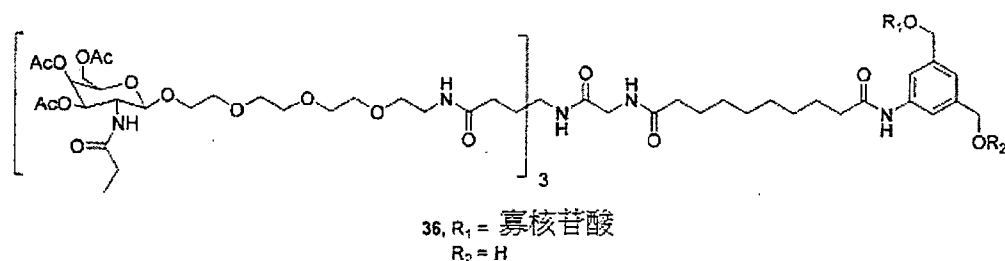
【0244】 使化合物 **30** (188 mg, 0.28 mmol) 溶於四氫呋喃(5 mL)中且用 LiOH (7 mg, 0.30 mmol) 於水(1 mL)中之溶液處理。結束後，四氫呋喃真

空移除且將剩餘水性混合物冷凍且凍乾，得到呈無色固體狀之 10-((3-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-5-(羥基甲基)苯甲基)胺基)-10-側氧基癸酸鋰 **31** (180 mg, 99%)。Rf 0.45 (10% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)。

### 步驟 11. 製備化合物 **32**、**33** 及 **34**

【0245】 化合物 **32**、**33** 及 **34** 係分別根據用於合成化合物 **19**、**20** 及 **1** 之相同程序製備。

### 實例 3. 合成結合物 **36**

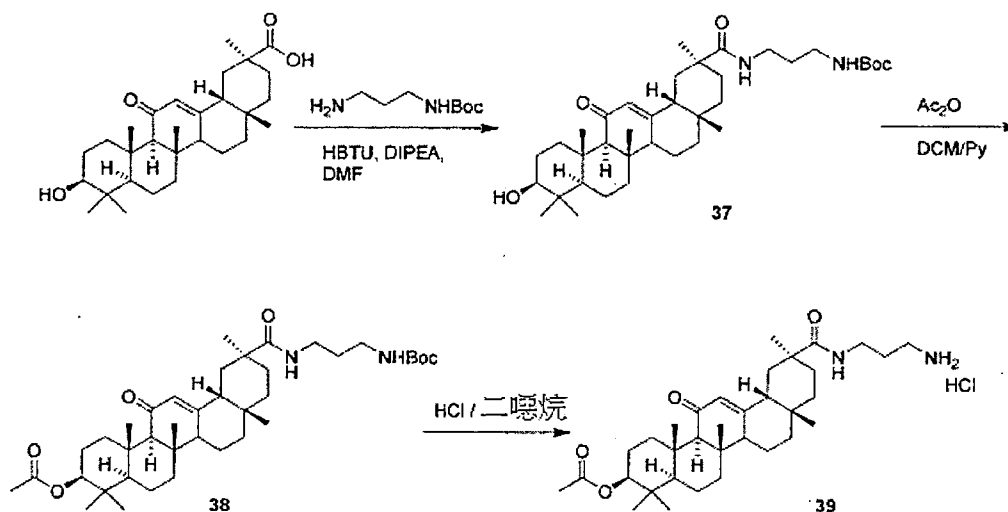


### 步驟 1. 製備結合物 **36**

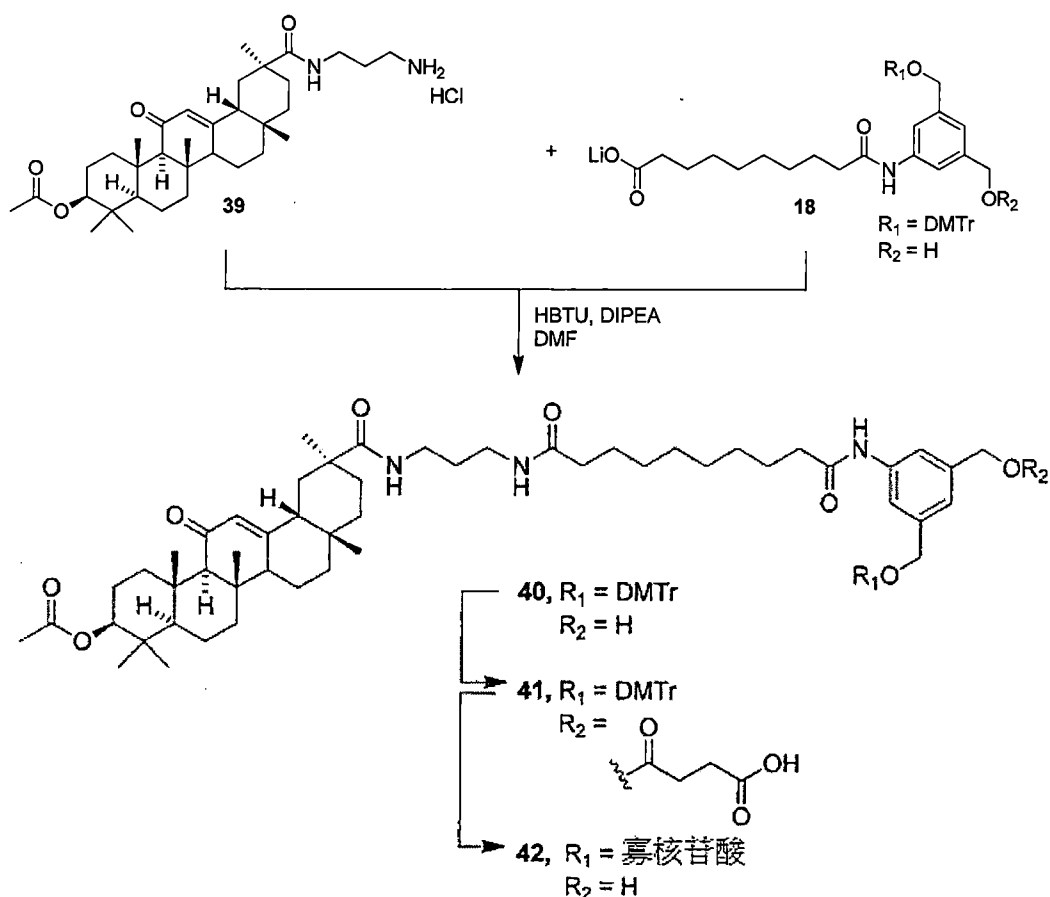
【0246】 結合物 **36** 係使用與用於合成化合物 **34** 一致之程序及所有對應中間物製備。唯一例外為合成化合物 **6**，其中丙酸酐用於代替乙酸酐。

### 實例 4. 合成結合物 **42**

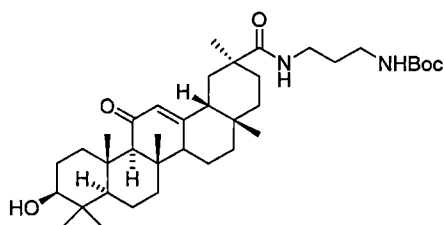
#### 流程 9.



#### 流程 10.

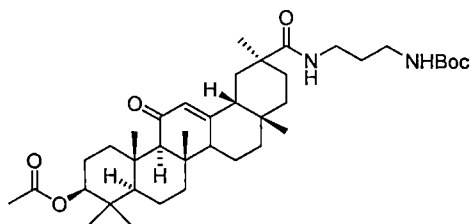


### 步驟 1. 製備化合物 37



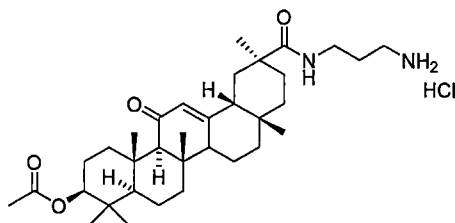
【0247】 向 18 $\beta$ -甘草次酸(2.5 g, 5.3 mmol)、(3-胺基丙基)胺基甲酸第三丁酯(1.1 g, 6.4 mmol)及 HBTU (3.0 g, 8.0 mmol)於 *N,N*-二甲基甲醯胺 (20 mL)中之溶液添加二異丙基乙胺(2.75 mL, 15.9 mmol)。溶液在室溫下攪拌隔夜。結束後，溶液真空濃縮至乾。殘餘物藉由矽膠 60 上管柱層析法(梯度: 2%至 5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)來純化，得到呈無色固體狀之產物(2.1 g, 63%)。

### 步驟 2. 製備化合物 38



【0248】 向 **37** (2.1 g, 3.3 mmol) 及三乙胺 (3.5 mL, 10 mmol) 於二氯甲烷 (25 mL) 中之溶液添加乙酸酐 (850  $\mu$ L, 5.3 mmol) 及 DMAP (5 mg)。溶液在室溫下攪拌隔夜。結束後，溶液濃縮至乾且溶解於乙酸乙酯 (100 mL) 中，用水 (100 mL) 洗滌，經硫酸鎂乾燥，過濾且濃縮至乾，得到淺棕色泡沫 (1.9 g, 85%)。

### 步驟 3. 製備化合物 **39**



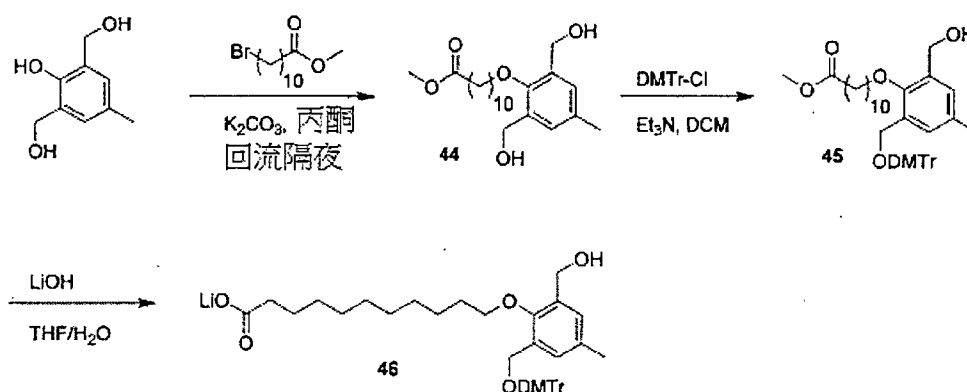
【0249】 向 **38** (1.5 g, 2.3 mmol) 於無水二噁烷 (25 mL) 中之溶液添加 2M 氯化氫之二噁烷溶液 (25 mL)。溶液在室溫下攪拌隔夜，接著真空濃縮至乾，得到淡棕色固體 (1.3 g, 96%)。

### 步驟 4. 製備化合物 **40**、**41** 及 **42**

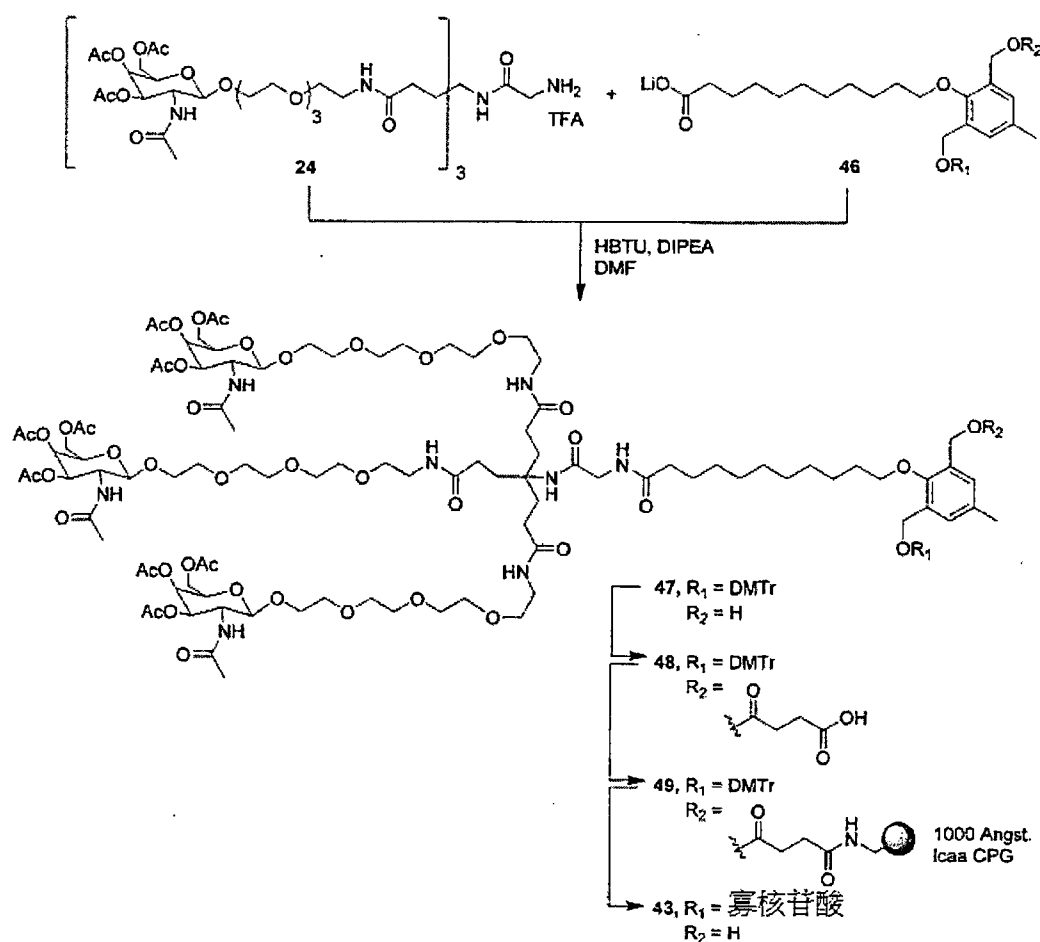
【0250】 化合物 **40**、**41** 及 **42** 係分別根據用於合成化合物 **19**、**20** 及 **1** 之相同程序製備。

### 實例 5. 合成結合物 **43**

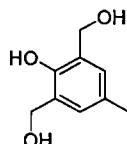
#### 流程 11.



#### 流程 12.

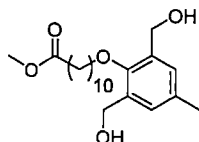


### 步驟 1. 製備 11-(2,6-雙(羥基甲基)-4-甲基苯氧基)十一烷酸甲酯 44



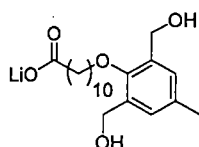
【0251】 使 2,6-雙(羥基甲基)-對甲酚(2.7 g, 16.3 mmol)、11-溴十一烷酸甲酯(5.0 g, 17.9 mmol)及碳酸鉀(4.5 g, 32.6 mmol)於丙酮(100 mL)中之溶液回流 16 小時。結束後，溶液真空濃縮至乾，懸浮於乙酸乙酯(150 mL)中且用水(2×100 mL)及鹽水(100 mL)洗滌。乙酸乙酯層經硫酸鎂乾燥，過濾且真空濃縮至乾。殘餘物藉由矽膠 60 上管柱層析法(梯度 100% Hex → 50% EtOAc/Hex)來純化，得到呈無色油狀之 11-(2,6-雙(羥基甲基)-4-甲基苯氧基)十一烷酸甲酯 44 (1.6 g, 27%)。

步驟 2. 製備 11-(2-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-6-(羥基甲基)-4-甲基苯氧基)十一烷酸甲酯 45



【0252】 向 11-(2,6-雙(羥基甲基)-4-甲基苯氧基)十一烷酸甲酯 **44** (1.5 g, 4.1 mmol) 於無水吡啶(20 mL)中之溶液添加 4,4'-二甲氧基三苯甲基氯(1.4 g, 4.1 mmol)。溶液在室溫下攪拌隔夜。結束後，溶液真空濃縮至乾且藉由在矽膠 60 上，進行管柱層析法( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中 0.5% 至 1% MeOH)來純化，得到呈淺黃色固體狀之 11-(2-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-6-(羥基甲基)-4-甲基苯氧基)十一烷酸甲酯 **45** (1.1 g, 40%)。

步驟 3. 製備 11-(2-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-6-(羥基甲基)-4-甲基苯氧基)十一烷酸鋰 **46**



【0253】 向 11-(2-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-6-(羥基甲基)-4-甲基苯氧基)十一烷酸甲酯 **45** (1.1 g, 1.7 mmol) 於無水四氫呋喃(40 mL)及水(10 mL)中之溶液添加氫氧化鋰(44 mg, 1.8 mmol)。溶液真空濃縮以移除所有四氫呋喃。剩餘水溶液在液氮上速凍，接著凍乾隔夜，得到呈淺粉色固體狀之 11-(2-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-6-(羥基甲基)-4-甲基苯氧基)十一烷酸鋰 **46** (1.1 g, 94%)。

步驟 4. 製備化合物 **47**

【0254】 向 **10** (1.33 g, 0.66 mmol)、**46** (0.5 g, 0.73 mmol)、HBTU (400 mg, 1 mmol) 於 *N,N*-二甲基甲醯胺(25 mL)中之溶液添加二異丙基乙胺(0.35 mL, 2 mmol)。溶液在室溫下攪拌隔夜(18 小時)。結束後，溶劑真空移除且殘餘物藉由矽膠管柱層析法(梯度: 100%  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  -  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中 5% - 10% - 15% MeOH)來純化，得到呈無色固體狀之 **47** (710 mg, 41%)。

步驟 5. 製備化合物 **48**

【0255】 向 **47** (0.71 g, 0.3 mmol)、三乙胺(0.4 mL, 3.0 mmol)及聚苯乙烯-DMAP (3 mmol/g 負載, 200 mg, 0.6 mmol) 於二氯甲烷(15 mL)中之溶液添加丁二酸酐(60 mg, 0.6 mmol)。溶液在室溫下攪拌隔夜且在結束後過

濾且真空濃縮至乾。殘餘物藉由矽膠 60 上管柱層析法(梯度  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中 5%至 20% MeOH)來純化，得到呈淺黃色固體狀之 **48** (570 mg, 70%)。  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  7.91 (m, 1H), 7.86-7.76 (m, 6H), 7.45-7.40 (m, 2H), 7.36-7.14 (m, 10H), 7.10 (s, 1H), 6.91 (d,  $J = 8.9$  Hz, 4H), 5.21 (d,  $J = 3.3$  Hz, 3H), 5.01 (s, 2H), 4.97 (dd,  $J = 11.2, 3.4$  Hz, 3H), 4.56 (d,  $J = 8.5$  Hz, 3H), 4.06-3.98 (m, 11H), 3.93-3.84 (m, 3H), 3.81-3.72 (m, 3H), 3.74 (s, 6H), 3.65-3.46 (m, 38H), 3.40-3.35 (m, 6H), 3.20-3.16 (m, 6H), 2.56-2.44 (m, 4H), 2.33 (s, 3H), 2.15-2.08 (m, 2H), 2.10 (s, 9H), 2.04-1.96 (m, 6H), 1.89 (s, 9H), 1.82-1.76 (m, 4H), 1.77 (s, 9H), 1.54-1.34 (m, 4H), 1.28-1.10 (m, 12H),

#### 步驟 6. 製備化合物 49

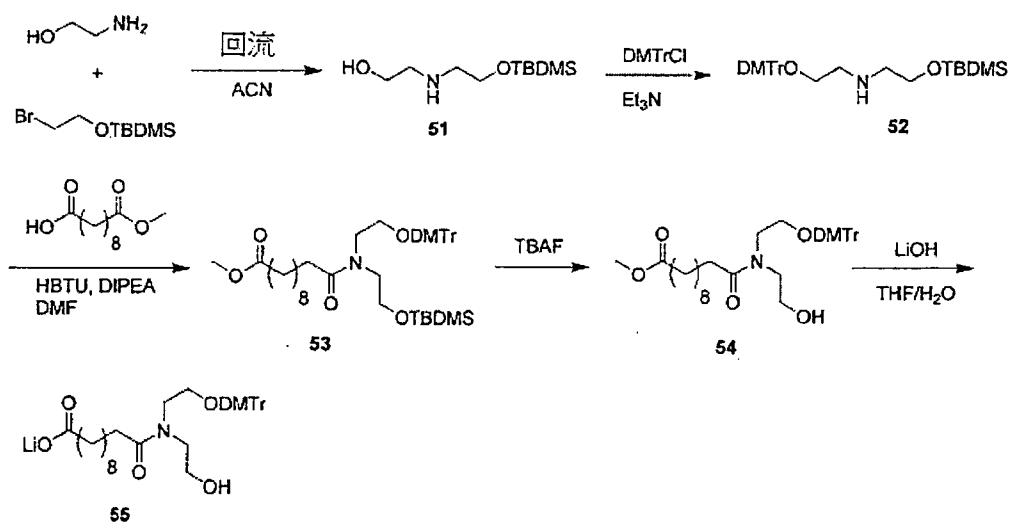
【0256】 向 **48** (100 mg, 40  $\mu\text{mol}$ )、*N*-羥基丁二醯亞胺(30 mg/mL 乙腈溶液, 50  $\mu\text{L}$ , 13  $\mu\text{mol}$ )、*N,N'*-二異丙基碳化二亞胺(40  $\mu\text{L}$ , 264  $\mu\text{mol}$ )及吡啶(50  $\mu\text{L}$ )於二氯甲烷(2 mL)及乙腈(3 mL)中之溶液添加 1000 Å lcaa CPG (主要合成, 920 mg)。溶液在室溫下在迴轉震盪器上攪拌隔夜。反應溶液之 TLC 分析展示僅部分消耗活化之 *N*-羥基丁二酸酯，因此添加額外 CPG (500 mg)。溶液再次攪拌隔夜。結束後，CPG 過濾且用二氯甲烷(25 mL)、乙腈(25 mL)及四氫呋喃(25 mL)洗滌。CPG 上未反應之胺殘基藉由添加含乙酸酐之乙腈(3 mL)與含 10% *N*-甲基咪唑/10%吡啶之四氫呋喃(3 mL)的 1:1 溶液來乙醯化(封端)。懸浮液靜置 2 小時，接著過濾且用等份四氫呋喃(25 mL)、乙腈(25 mL)及二氯甲烷(25 mL)清洗。負載之 CPG **49** 在高真空下乾燥隔夜。使用標準 DMT 負載分析法( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中 3%三氯乙酸, UV-VIS,  $A_{504}$ )，測得配位體負載效率為 22  $\mu\text{mol/g}$ 。

#### 步驟 7. 製備結合物 43

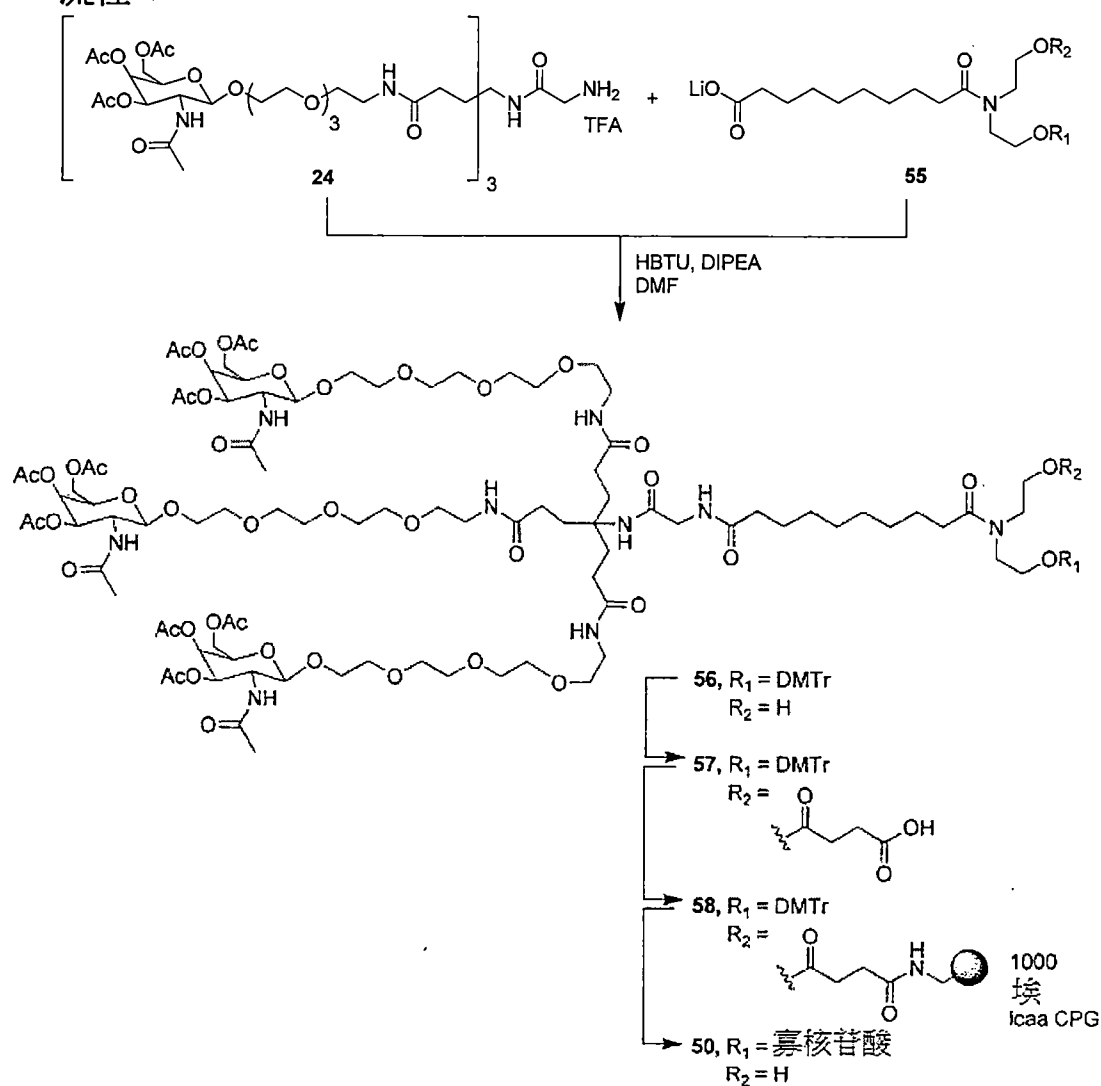
【0257】 所得 GalNAc 負載之 CPG 固體支撐物 **49** 用於使用標準程序之自動化寡核苷酸合成中。脫除核苷酸保護基，接著自固體支撐物移除(同時脫除半乳胺糖乙酸酯保護基)，得到 GalNAc-寡核苷酸結合物 **43**。

#### 實例 6. 合成結合物 50

##### 流程 13.

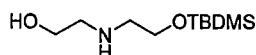


流程 14.



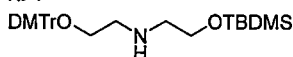
步驟 1. 製備 2-((2-((第三丁基二甲基甲矽烷基)氧基)乙基)胺基)乙-1-醇

51



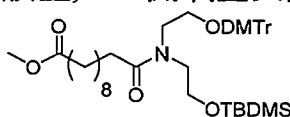
【0258】 使乙醇胺(77 mL, 1.25 mol)及(2-溴乙氧基)-第三丁基二甲基矽烷(15 g, 62.7 mmol)於無水乙腈(200 mL)中之溶液回流 3 小時。結束後，反應冷卻至室溫，用水(400 mL)稀釋且用乙酸乙酯(3×150 mL)萃取。合併之乙酸乙酯萃取物經硫酸鎂乾燥，過濾且真空濃縮至乾。殘餘物藉由經二氧化矽墊過濾，首先用 50% 乙酸乙酯/己烷，接著 50% MeOH/EtOAc 來純化，得到呈淺黃色油狀之 **51** (14 g, 100%)。

步驟 2. 製備 2-(雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-N-(2-((第三丁基二甲基甲矽烷基)氧基)乙基)乙-1-胺 **52**



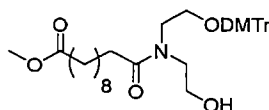
【0259】 向 2-((2-((第三丁基二甲基甲矽烷基)氧基)乙基)胺基)乙-1-醇 **51** (14 g, 64 mmol)及三乙胺(17.5 mL, 128 mmol)於無水二氯甲烷(250 mL)中之溶液添加 4,4'-二甲氧基三苯甲基氯(24 g, 70 mmol)。溶液在室溫下攪拌隔夜，接著真空濃縮至乾。殘餘物溶於乙酸乙酯(300 mL)中且用水(250 mL)及鹽水(250 mL)洗滌。乙酸乙酯經硫酸鎂乾燥，過濾且真空濃縮至乾。藉由矽膠 60 上管柱層析法(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 中 1%至 5% MeOH)來純化，得到呈淺黃色黏性油狀之 **52** (13 g, 39%)。

步驟 3. 製備 10-((2-(雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)乙基)(2-((第三丁基二甲基甲矽烷基)氧基)乙基)胺基)-10-側氧基癸酸甲酯 **53**



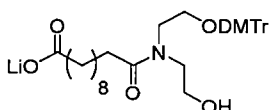
【0260】 將 2-(雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-N-(2-((第三丁基二甲基甲矽烷基)氧基)乙基)乙-1-胺 **52** (5.4 g, 10.3 mmol)、癸二酸單甲酯(2.2 g, 10.3 g)、HBTU (4.9 g, 12.9 mmol)、DIPEA (5.3 mL, 30.9 mmol)於 *N,N*-二甲基甲醯胺(100 mL)中之溶液在室溫下攪拌 3 小時。結束後，將溶液傾倒至水(400 mL)中且用乙酸乙酯(1×500 mL)萃取。乙酸乙酯萃取物用鹽水(2×250 mL)洗滌，經硫酸鎂乾燥，過濾且真空濃縮至乾。藉由矽膠 60 上管柱層析法(己烷中 10%至 25% 乙酸乙酯)來純化，得到呈黏性黃色油狀之 **53** (6.5 g, 87%)。

**步驟 4. 製備 10-((2-(雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)乙基)(2-羥基乙基)胺基)-10-側氧基癸酸甲酯 **54****



【0261】 向 10-((2-(雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)乙基)(2-((第三丁基二甲基甲矽烷基)氧基)乙基)胺基)-10-側氧基癸酸甲酯 **53** (2.0 g, 2.8 mmol) 及三乙胺(1 mL)於無水四氫呋喃(20 mL)中之溶液添加 TBAF (1M THF 溶液, 3.4 mL, 3.3 mmol)。溶液攪拌 6 小時, 但藉由 TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 中 5% MeOH) 觀測到僅部分轉化。添加額外 1.7 mL TBAF 且溶液在室溫下攪拌隔夜。結束後, 溶液真空濃縮且藉由在矽膠 60 上, 進行管柱層析法(己烷中 10%至 50% EtOAc, 接著 100% EtOAc)來純化, 得到呈黏性無色油狀之 **54** (0.5 g, 29%)。

**步驟 5. 製備 10-((2-(雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)乙基)(2-羥基乙基)胺基)-10-側氧基癸酸鋰 **55****



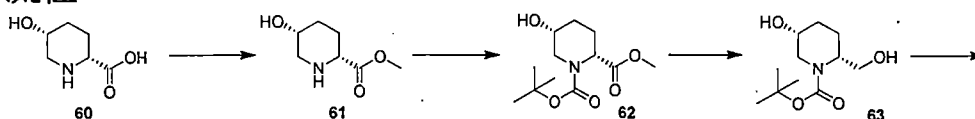
【0262】 向 10-((2-(雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)乙基)(2-羥基乙基)胺基)-10-側氧基癸酸甲酯 **54** (0.5 g, 0.83 mmol)於 THF (40 mL)中之溶液添加水(10 mL)及氫氧化鋰(24 mg, 1.0 mmol)。溶液在室溫下攪拌隔夜, 接著真空濃縮以移除 THF。剩餘水溶液在液氮上速凍且凍乾, 得到呈無色固體狀之 **55** (485 mg, 95%)。

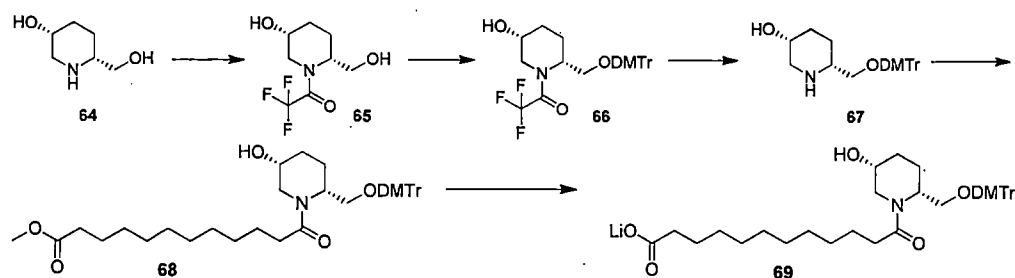
**步驟 6. 製備化合物 **56**、**57**、**58** 及 **50****

【0263】 化合物 **56**、**57**、**58** 及 **50** 係分別使用與用於合成化合物 **47**、**48**、**49** 及 **43** 之程序一致之程序製備。

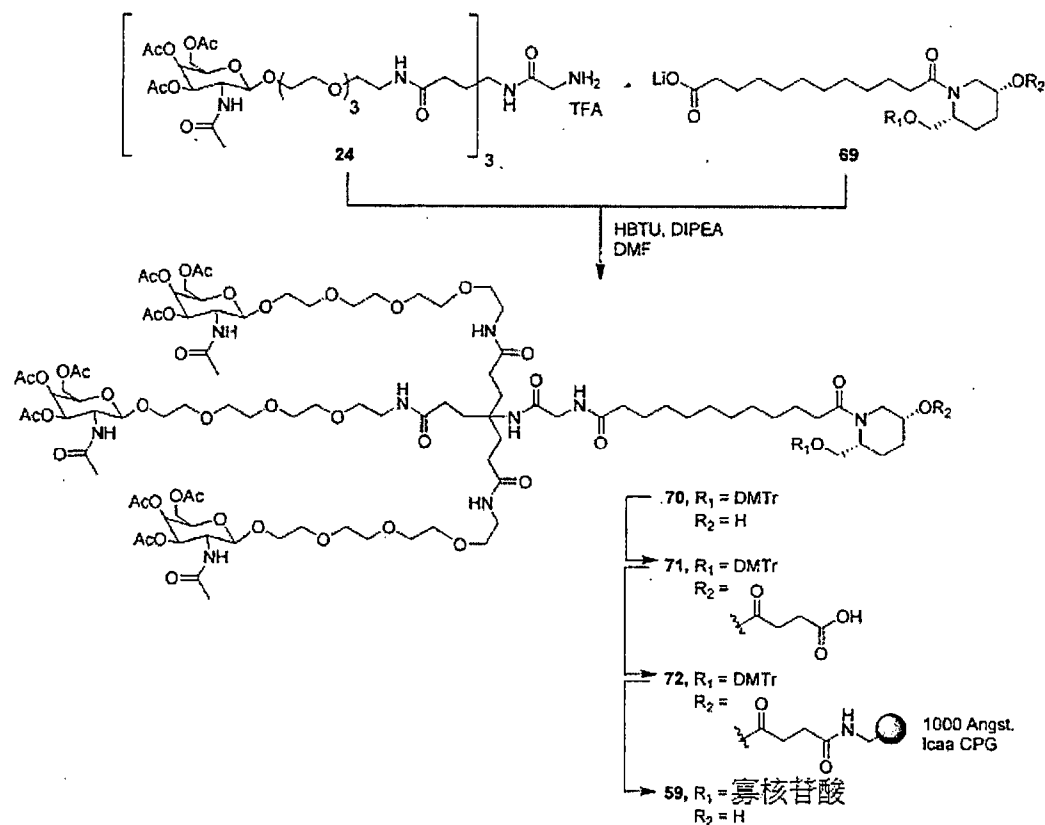
**實例 7. 合成結合物 **59****

**流程 15.**

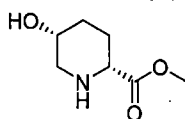




### 流程 16.

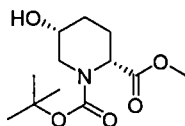


### 步驟 1. 製備(2R,5R)-5-羥基哌啶-2-甲酸甲酯 61



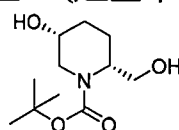
【0264】 將(2R,5R)-5-羥基哌啶-2-甲酸 60 (3.5 g, 24.1 mmol) 在 MeOH (50 mL) 中攪拌。HCl (g) 鼓泡穿過溶液 2 分鐘且反應在回流下攪拌 1.5 小時。反應真空濃縮，得到(2R,5R)-5-羥基哌啶-2-甲酸甲酯 61，產率定量，其未經進一步純化即使用。

### 步驟 2. 製備(2R,5R)-5-羥基哌啶-1,2-二甲酸 1-(第三丁基)酯 2-甲酯 62



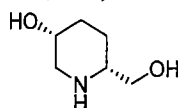
【0265】 將(2R,5R)-5-羥基哌啶-2-甲酸甲酯 **61** (24.1 mmol)及 TEA (7.2 mL, 53.02 mmol)在室溫下在 DCM (100 mL)中攪拌。二第三丁基-二碳酸酯(5.7 g, 26.5 mmol)分部分添加且反應攪拌 2 小時。將反應物用 DCM (100 mL)稀釋且依序用 1 M HCl (2×75 mL)、飽和 NaHCO<sub>3</sub> (2×75 mL)、H<sub>2</sub>O (2×75 mL)及飽和 NaCl 溶液(2×75 mL)洗滌。分離有機物，乾燥(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)且真空濃縮，得到(2R,5R)-5-羥基哌啶-1,2-二甲酸 1-(第三丁基)酯 2-甲酯 **62** (5.53 g, 88%)，其未經進一步純化即使用。

步驟 3. 製備(2R,5R)-5-羥基-2-(羥基甲基)哌啶-1-甲酸第三丁酯 **63**



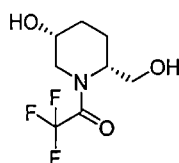
【0266】 將(2R,5R)-1-(第三丁氧基羰基)-5-羥基哌啶-2-甲酸 **62** (5.53 g, 21.4 mmol)在 THF 中在 0°C 下攪拌。經 1 小時，逐滴添加 LiBH<sub>4</sub> (3.0 M THF 溶液)(8.9 mL, 27.7 mmol)。使反應升溫至室溫且繼續攪拌 16 小時。將反應用 1M NaOH 淬滅，真空移除 THF 且水溶液用 EtOAc (10×100 mL)澈底萃取。將合併之有機物用 H<sub>2</sub>O (50 mL)、飽和 NaCl 溶液(2×50 mL)洗滌，乾燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)且真空濃縮，得到(2R,5R)-5-羥基-2-(羥基甲基)哌啶-1-甲酸第三丁酯 **63** (2.4 g, 49.0 %)，其未經進一步純化即使用。

步驟 4. 製備(3R,6R)-6-(羥基甲基)哌啶-3-醇 **64**



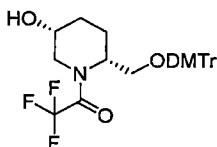
【0267】 將(2R,5R)-5-羥基-2-(羥基甲基)哌啶-1-甲酸第三丁酯 **63** (2.4 g, 10.4 mmol)在 Et<sub>2</sub>O 中在室溫下攪拌。HCl (g)鼓泡 45 秒且反應在室溫下攪拌 45 分鐘。反應真空濃縮且在高真空下乾燥，得到(3R,6R)-6-(羥基甲基)哌啶-3-醇 **64**。產物未經進一步純化即使用。

步驟 5. 製備 2,2,2-三氟-1-((2R,5R)-5-羥基-2-(羥基甲基)哌啶-1-基)乙-1-酮 **65**



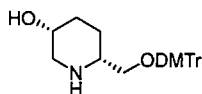
【0268】 來自前面反應之粗(3R,6R)-6-(羥基甲基)哌啶-3-醇 **64** 在含 TEA (3.5 mL, 25.2 mmol)之 MeCN (50 mL)中在室溫下攪拌。添加三氟乙酸乙酯(3 mL, 25.2 mmol)且反應在室溫下攪拌 16 小時，接著真空濃縮，得到 2,2,2-三氟-1-((2R,5R)-5-羥基-2-(羥基甲基)哌啶-1-基)乙-1-酮 **65**。產物未經進一步純化即使用。

步驟 6. 製備 1-((2R,5R)-2-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-5-羥基哌啶-1-基)-2,2,2-三氟乙-1-酮 66



【0269】 來自前面反應之粗 2,2,2-三氟-1-((2R,5R)-5-羥基-2-(羥基甲基)哌啶-1-基)乙-1-酮 **65** 在含 TEA 之 DCM (50 mL)中在室溫下攪拌。一次性添加 4,4'-二甲氧基三苯甲基氯(DMTrCl) (3.87 g, 11.44 mmol)且反應在室溫下攪拌 3 小時。將反應物用 DCM (50 mL)稀釋且依序用飽和 NaHCO<sub>3</sub> (2×75 mL)、H<sub>2</sub>O (2×75 mL)及飽和 NaCl 溶液(2×75 mL)洗滌。分離有機物，乾燥(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)，真空濃縮且藉由管柱層析法(100%己烷 - 60% EtOAc/己烷) (0.1 % TEA)來純化，得到 1-((2R,5R)-2-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-5-羥基哌啶-1-基)-2,2,2-三氟乙-1-酮 **66** (3.14 g, 57%)。

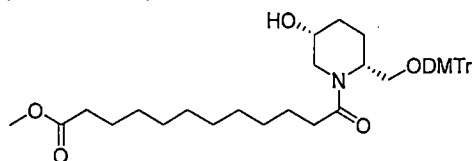
步驟 7. 製備(3R,6R)-6-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-哌啶-3-醇 67



【0270】將 1-((2R,5R)-2-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-5-脛基哌啶-1-基)-2,2,2-三氟乙-1-酮 **66** (3.14 g, 6.0 mmol) 在 MeOH (50 mL) 中在室溫下攪拌。添加 KOH (672 mg, 12 mmol) 且反應在室溫下攪拌 16 小時。添加額外 KOH (300 mg, 6 mmol) 且繼續再攪拌 24 小時。反應真空濃縮，溶解於 DCM (150 mL) 中，用 H<sub>2</sub>O (4×50 mL) 洗滌，乾燥(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)且真空濃縮，得到(3R,6R)-6-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)哌啶-3-醇 **67** (2.34 g, 90%)，其未經進一步純化即使用。

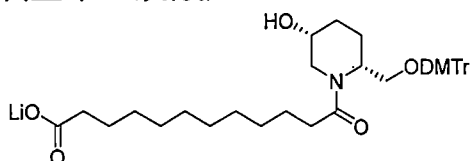
**步驟 8. 製備 12-((2R,5R)-2-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)-甲氧基)甲基)-5-**

**羥基哌啶-1-基)-12-側氧基十二烷酸甲酯 68**



【0271】 將(3R,6R)-6-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)哌啶-3-醇 **67** (2.34 g, 5.34 mmol)在 DCM (75 mL)中在室溫下攪拌。添加三乙胺(2.2 mL, 16.2 mmol)、HATU (3.5 g, 9.2 mmol)及 12-甲氧基-12-側氧基十二烷酸 (1.32 g, 5.4 mmol)且反應在室溫下攪拌 3 小時。所得固體沈澱藉由過濾來移除，真空濃縮濾液且殘餘物藉由管柱層析法(2.5% MeOH/DCM, 0.1% TEA)來純化，得到 12-((2R,5R)-2-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-5-羥基哌啶-1-基)-12-側氧基十二烷酸甲酯 **68**，產率定量。

**步驟 9. 製備 12-((2R,5R)-2-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-甲基)-5-羥基哌啶-1-基)-12-側氧基十二烷酸鋰 69**



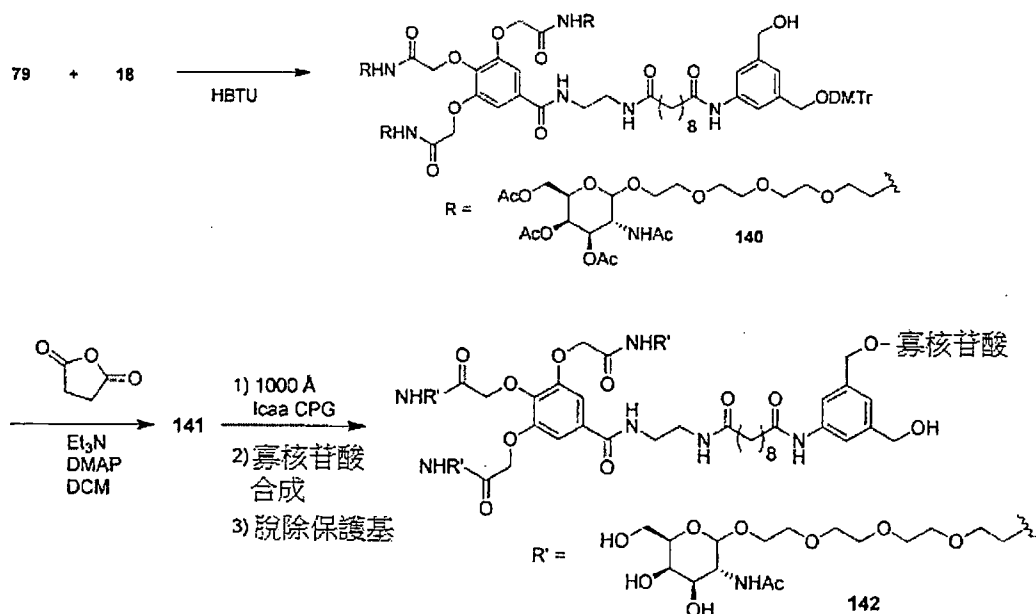
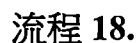
【0272】 將 12-((2R,5R)-2-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-5-羥基哌啶-1-基)-12-側氧基十二烷酸甲酯 **68** (5.4 mmol)及 LiOH (140 mg, 5.94 mmol)在 THF:H<sub>2</sub>O (1:1, 100 mL)中在室溫下攪拌 48 小時。真空移除 THF，將水溶液冷凍且凍乾，得到 12-((2R,5R)-2-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-5-羥基哌啶-1-基)-12-側氧基十二烷酸鋰 **69** (3.2 g, 91 %)，其未經額外純化即用於隨後反應中。

**步驟 10. 製備化合物 70、71、72 及 59**

【0273】 化合物 **70**、**71**、**72** 及 **59** 係分別使用與用於合成化合物 **47**、**48**、**49** 及 **43** 之程序一致之程序製備。

**實例 8. 合成結合物 142**

**流程 17.**



**步驟 1. 製備 3,4,5-三乙醯氧基苯甲酸 73**

【0274】 沒食子酸(20 g)於吡啶(50 mL)及乙酸酐(50 mL)中形成溶液。溶液在室溫下攪拌隔夜，接著傾倒至冰水(1 L)中。用濃鹽酸使溶液呈

酸性，有無色固體沈澱。固體經由過濾收集且用水(5×100 mL)洗滌。濕固體在液氮上冷凍且凍乾，得到 3,4,5-三乙醯氧基苯甲酸(26 g, 75%)。

**步驟 2. 製備三乙酸 5-((2-((2-側氧基-2-苯基-1λ<sup>2</sup>-乙基)胺基)乙基)胺甲醯基)苯-1,2,3-三基酯 74**

【0275】 向 3,4,5-三乙醯氧基苯甲酸(10 g, 33.8 mmol)、N-苯甲氧羰基-1,2-二胺基乙烷鹽酸鹽(5.3 g, 33.8 mmol)及 HBTU (13.5 g, 35.5 mmol)於 DMF (200 mL)中之溶液添加 DIPEA (17.5 mL, 101 mmol)。溶液攪拌 16 小時，接著用乙酸乙酯(250 mL)稀釋，用鹽水(3×200 mL)洗滌，經硫酸鎂乾燥，過濾且真空濃縮至乾。粗產物藉由矽膠管柱層析法(梯度 DCM 中 1%至 5% MeOH)來純化，得到呈灰白色固體狀之三乙酸 5-((2-((2-側氧基-2-苯基-1λ<sup>2</sup>-乙基)胺基)乙基)胺甲醯基)苯-1,2,3-三基酯(5.5 g)。

**步驟 3. 製備 3,4,5-三羥基-N-(2-((2-側氧基-2-苯基-1λ<sup>2</sup>-乙基)胺基)乙基)苯甲醯胺 75**

【0276】 將三乙酸 5-((2-((2-側氧基-2-苯基-1λ<sup>2</sup>-乙基)胺基)乙基)胺甲醯基)苯-1,2,3-三基酯(5 g, 1.1 mmol)於 1:1 MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 mL)中之溶液在室溫下攪拌 3 天。結束後，移除溶劑，得到呈無色固體狀之 3,4,5-三羥基-N-(2-((2-側氧基-2-苯基-1λ<sup>2</sup>-乙基)胺基)乙基)苯甲醯胺(4 g, 定量)。

**步驟 4. 製備 2,2',2''-((5-((2-((2-側氧基-2-苯基-1λ<sup>2</sup>-乙基)胺基)乙基)胺甲醯基)苯-1,2,3-三基)三(氧基))三乙酸三甲酯 76**

【0277】 將 3,4,5-三羥基-N-(2-((2-側氧基-2-苯基-1λ<sup>2</sup>-乙基)胺基)乙基)苯甲醯胺(4 g, 11.6 mmol)、溴乙酸甲酯(7.7 g, 46.4 mmol)及碳酸鉀(9.6 g, 69.4 mmol)於 DMF (100 mL)中之溶液在 60°C 下攪拌隔夜。結束後，溶液冷卻至室溫，用乙酸乙酯(200 mL)稀釋，用水(200 mL)、鹽水(3×100 mL)洗滌，經硫酸鎂乾燥，過濾且真空濃縮至乾。粗產物藉由矽膠管柱層析法(梯度 DCM 中 2%至 10% MeOH)來純化，得到呈米色固體狀之 2,2',2''-((5-((2-((2-側氧基-2-苯基-1λ<sup>2</sup>-乙基)胺基)乙基)胺甲醯基)苯-1,2,3-三基)三(氧基))-三乙酸三甲酯(5 g, 79%)

**步驟 5. 製備 2,2',2''-((5-((2-((2-側氧基-2-苯基-1λ<sup>2</sup>-乙基)胺基)乙基)-胺甲醯基)苯-1,2,3-三基)三(氧基))三乙酸 77**

【0278】 將 2,2',2''-((5-((2-((2-側氧基-2-苯基-1 $\lambda^2$ -乙基)胺基)乙基)-胺甲醯基)苯-1,2,3-三基)三(氧基))三乙酸三甲酯(5 g, 9.2 mmol)及 1M NaOH (30 mL)於甲醇(100 mL)中之溶液在室溫下攪拌 2 小時。結束後，反應濃縮以移除甲醇且用水(75 mL)稀釋。混合物冷卻至 0°C，用 2M HCl 酸化且用乙酸乙酯(5×150 mL)萃取。合併之乙酸乙酯萃取物經硫酸鎂乾燥，過濾且真空濃縮至乾，得到呈無色固體狀之 2,2',2''-((5-((2-((2-側氧基-2-苯基-1 $\lambda^2$ -乙基)胺基)乙基)-胺甲醯基)苯-1,2,3-三基)三(氧基))三乙酸(2.3 g, 50%)。

#### 步驟 6. 製備化合物 78

【0279】 化合物 78 係使用與用於化合物 13 之程序一致的程序，自化合物 9 (2.75 g, 4.3 mmol)及 77 (0.5 g, 0.96 mmol)製備。產率：600 mg。

#### 步驟 7. 製備化合物 79

【0280】 化合物 79 係使用與用於化合物 14 之程序一致的程序，自化合物 78 (0.6 g)製備。產率：500 mg。

#### 步驟 8. 製備化合物 140

【0281】 化合物 140 係使用與用於化合物 19 之程序一致的程序，自化合物 79 (500 mg, 0.25 mmol)及化合物 18 (175 mg, 0.25 mmol)製備。產率：250 mg, 44%。

#### 步驟 9. 製備化合物 141

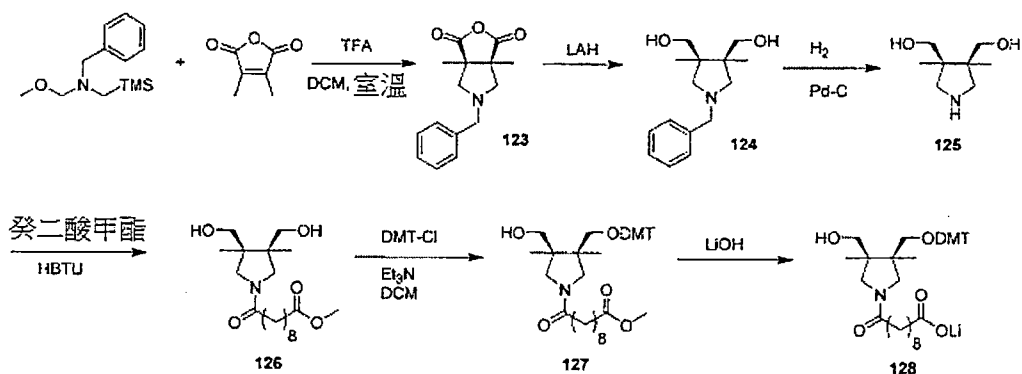
【0282】 化合物 141 係使用與用於化合物 20 之程序一致的程序，自化合物 140 (250 mg, 0.11 mmol)製備。產率：200 mg。

#### 步驟 10. 製備結合物 142

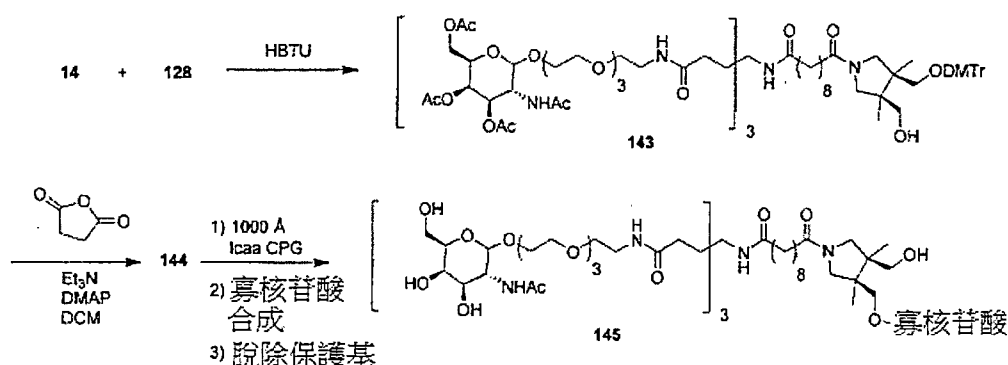
【0283】 結合物 142 係使用與用於化合物 1 之程序一致的程序，自化合物 141 (200 mg)及 1000A lcaa CPG (1.8 g)製備。產率：1.9 g, 22  $\mu$ mol/g CPG 負載。所得 GalNAc 負載之 CPG 固體支撐物用於使用標準程序之自動化寡核苷酸合成。脫除核苷酸保護基，接著自固體支撐物移除(同時脫除半乳糖乙酸酯保護基)，得到 GalNAc-寡核苷酸結合物 142。

#### 實例 9. 合成結合物 145

#### 流程 19.



## 流程 20.



### 步驟 1. 製備(3aR,6aS)-5-苯甲基-3a,6a-二甲基四氫-1H-呋喃并[3,4-c]吡咯-1,3(3aH)-二酮 123

【0284】 向 3,4-二甲基呋喃-2,5-二酮(3 g, 24 mmol)及 N-苯甲基-1-甲氧基-N-((三甲基甲矽烷基)甲基)甲胺(7 g, 29.8 mmol)於二氯甲烷(75 mL)中之冷卻溶液(0°C)中緩慢添加三氟乙酸(75  $\mu$ L)。攪拌隔夜，使得當冰浴熔融時，溶液緩慢升溫至室溫。反應混合物濃縮至乾，溶於乙酸乙酯(100 mL)中，用飽和碳酸氫鈉(2×100 mL)洗滌，經硫酸鎂乾燥，過濾且濃縮至乾。藉由矽膠管柱層析法(梯度：己烷中 20%乙酸乙酯至 100%乙酸乙酯)來純化，得到呈黃色油狀之(3aR,6aS)-5-苯甲基-3a,6a-二甲基四氫-1H-呋喃并[3,4-c]吡咯-1,3(3aH)-二酮(3.5 g, 56%)。

### 步驟 2. 製備((3R,4S)-1-苯甲基-3,4-二甲基吡咯啉-3,4-二基)二甲醇 124

【0285】 分三部分向(3aR,6aS)-5-苯甲基-3a,6a-二甲基四氫-1H-呋喃并[3,4-c]吡咯-1,3(3aH)-二酮(3.5 g, 13.4 mmol)於無水乙醚(50 mL)中之冷卻(0°C)溶液緩慢添加氫化鋰鋁球粒(1.5 g, 40 mmol)。溶液攪拌隔夜，當冰浴熔融時，緩慢升溫至室溫。結束後，反應冷卻至 0°C 且先後用 1.5 mL 5M

NaOH 及 1.5 mL 水非常緩慢地淬滅。攪拌 30 分鐘，接著添加硫酸鎂且過濾。將濾液濃縮，得到呈無色油狀之((3R,4S)-1-苯甲基-3,4-二甲基吡咯啉-3,4-二基)二甲醇(2.7 g)。

**步驟 3. 製備((3R,4S)-3,4-二甲基吡咯啉-3,4-二基)二甲醇 125**

【0286】 向((3R,4S)-1-苯甲基-3,4-二甲基吡咯啉-3,4-二基)二甲醇(10 g, 40 mmol)於甲醇(10 mL)中之溶液添加 10%鈰/活性碳(濕, 1 g)。溶液在氫氣氛圍下劇烈攪拌 16 小時。結束後，溶液經矽藻土過濾，且濃縮至乾，得到呈無色固體狀之((3R,4S)-3,4-二甲基吡咯啉-3,4-二基)二甲醇(5.5 g, 86%)。

**步驟 4. 製備 10-((3R,4S)-3,4-雙(羥基甲基)-3,4-二甲基吡咯啉-1-基)-10-側氧基癸酸甲酯 126**

【0287】 化合物 126 係使用與用於化合物 17 之程序一致的程序，自化合物 125 (1.3 g, 8.2 mmol)及癸二酸單甲酯(1.8 g, 8.2 mmol)製備。產率：1.8 g, 61%。

**步驟 5. 製備 10-((3R,4S)-3-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(羥基甲基)-3,4-二甲基吡咯啉-1-基)-10-側氧基癸酸甲酯 127**

【0288】 化合物 127 係使用與用於化合物 18 之程序一致的程序，自化合物 126 (1.8 g, 5.0 mmol)及 4,4'-二甲氧基三苯甲基氯(1.7 g, 5.0 mmol)製備。產率：1.4 g, 42%。

**步驟 6. 製備 10-((3R,4S)-3-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(羥基甲基)-3,4-二甲基吡咯啉-1-基)-10-側氧基癸酸鋰 128**

【0289】 向化合物 127 (3.0 g, 4.6 mmol)於 THF (50 mL)及水(50 mL)中之溶液添加氫氧化鋰(121 mg, 5.0 mmol)。溶液在室溫下攪拌 4 小時，接著濃縮以移除 THF。將剩餘水溶液凍乾隔夜，得到淺粉色固體(2.9 g, 定量)。

**步驟 7. 製備化合物 143**

【0290】 化合物 143 係使用與用於化合物 19 之程序一致的程序，自化合物 128 (270 mg, 0.42 mmol)及化合物 14 (800 mg, 0.42 mmol)製備。產率：900 mg, 87%。

**步驟 8. 製備化合物 144**

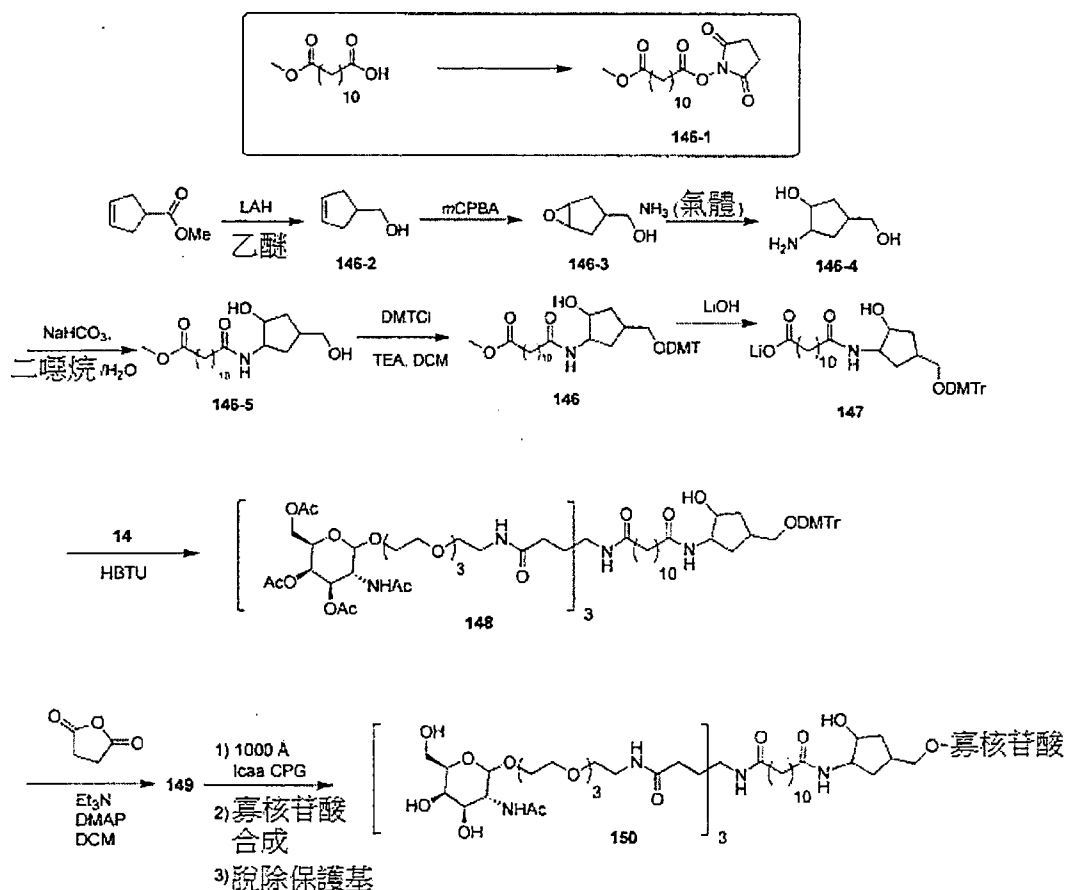
【0291】 化合物 **144** 係使用與用於化合物 **20** 之程序一致的程序，自化合物 **143** (500 mg, 0.2 mmol) 製備。產率：200 mg。

#### 步驟 9. 製備結合物 **145**

【0292】 結合物 **145** 係使用與用於化合物 **1** 之程序一致的程序，自化合物 **144** (200 mg) 及 1000A lcaa CPG (1.8 g) 製備。產率：1.9 g, 20  $\mu\text{mol/g}$  CPG 負載。所得 GalNAc 負載之 CPG 固體支撐物用於使用標準程序之自動化寡核苷酸合成。脫除核苷酸保護基，接著自固體支撐物移除(同時脫除半乳糖糖乙酸酯保護基)，得到 GalNAc-寡核苷酸結合物 **145**。

#### 實例 10. 合成結合物 **150**

##### 流程 21.



#### 步驟 1. 製備 **146-1**

【0293】 向十二烷二酸之單甲酯(12.2 g, 50.0 mmol)於二氯甲烷(300 mL)中之溶液添加 N-羥基丁二醯亞胺(6.10 g, 53.0 mmol)及 1-乙基-3-(3-二甲基胺基丙基)碳化二亞胺鹽酸鹽(EDC) (10.52 g, 55.0 mmol)。將混濁混合

物在室溫下攪拌隔夜且反應變成清澈溶液。TLC 指示反應結束。將有機物用飽和  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (300 mL) 及鹽水 (100 mL) 洗滌。將有機層分離，經  $\text{MgSO}_4$  乾燥且濃縮至乾，得到呈白色固體狀之純十二烷二酸 1-(2,5-二側氧基吡咯啉-1-基) 酯 12-甲酯 **146-1** (16.7 g, 97.8%)。

#### 步驟 2. 製備環戊-3-烯-1-基甲醇 **146-2**

【0294】 在  $0^\circ\text{C}$  下在氮氣下，經 5 小時向氫化鋰鋁 (15.2 g, 0.40 mol) 於無水乙醚 (1 L) 中之懸浮液逐滴添加環戊-3-烯甲酸甲酯 (50 g, 0.40 mol) 於乙醚 (300 mL) 中之溶液。懸浮液在室溫下攪拌隔夜。TLC 指示反應結束。反應再冷卻至  $0^\circ\text{C}$ 。逐滴添加  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  飽和溶液 (32 mL) 以淬滅反應。添加結束後，將混合物再攪拌 3 小時且經由矽藻土墊過濾。蒸發溶劑得到呈無色液體狀之環戊-3-烯基甲醇 **146-2** (37.3 g, 95 %)。

#### 步驟 3. 製備(6-氧雜雙環[3.1.0]己烷-3-基)甲醇 **146-3**

【0295】 在  $0^\circ\text{C}$  下向環戊-3-烯基甲醇 **146-2** (4.0 g, 41 mmol) 於二氯甲烷 (150 mL) 中之溶液分部分添加 3-氯過苯甲酸 (10 g, 45 mmol, 77% 純度)。反應攪拌隔夜。添加二氯甲烷 (150 mL)。將有機物用硫代硫酸鈉 (12 g 於 10 mL 水中) 洗滌，接著用飽和  $\text{NaHCO}_3$  (40 mL) 洗滌。重複此，直至所有剩餘 3-氯過苯甲酸均洗去。有機物經  $\text{MgSO}_4$  乾燥。蒸發溶劑，得到呈黃色油狀之順式-與反式-6-氧雜雙環[3.1.0]己烷-3-基甲醇 **146-3** 之混合物 (2.6 g, 57%)。GC-MS:  $m/z$  114 (5) ( $\text{M}^+$ ), 95 (15), 88 (100), 81 (15)。

#### 步驟 4. 製備 2-胺基-4-(羥基甲基)環戊-1-醇 **146-4**

【0296】 在  $0^\circ\text{C}$  下向 6-氧雜雙環[3.1.0]己烷-3-基甲醇 **146-3** (2.0 g, 17.6 mmol) 於甲醇 (20 mL) 中之溶液通氨氣 10 分鐘。將反應在室溫下攪拌隔夜。TLC 指示反應未結束。移除甲醇且添加  $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$  (50 mL) 且此在室溫下攪拌一週。TLC 證實反應結束。藉由與乙醇共沸來移除水，得到呈黃色油狀之 2-胺基-4-(羥基甲基)環戊醇 **146-4** (2.1 g, 91%)。

#### 步驟 5. 製備 12-(2-羥基-4-(羥基甲基)環戊基胺基)-12-側氧基十二烷酸甲酯 **146-5**

【0297】 化合物 **146-5** 係使用與合成 12-(2-(第三丁氧基羰基胺基)乙基胺基)-12-側氧基十二烷酸酯 (3-2) 中所述相同之程序，自 2-胺基-4-(羥基甲

基)環戊醇 **146-4** 及十二烷二酸 1-(2,5-二側氧基吡咯啉-1-基)酯 12-甲酯 **146-1** 製備。獲得呈灰白色固體狀之 12-(2-羥基-4-(羥基甲基)環戊基胺基)-12-側氧基十二烷酸甲酯 **146-5**，產率 87.4%。

#### 步驟 6. 製備化合物 147

【0298】 化合物 **147** 係使用與用於化合物 **18** 之程序一致的程序，自化合物 **146** (1.4 g, 2.33 mmol) 定量製備。

#### 步驟 7. 製備化合物 148

【0299】 化合物 **148** 係使用與用於化合物 **19** 之程序一致的程序，自化合物 **147** (150 mg, 0.23 mmol) 及化合物 **14** (431 mg, 0.23 mmol) 製備。產率：460 mg, 84%。

#### 步驟 8. 製備化合物 149

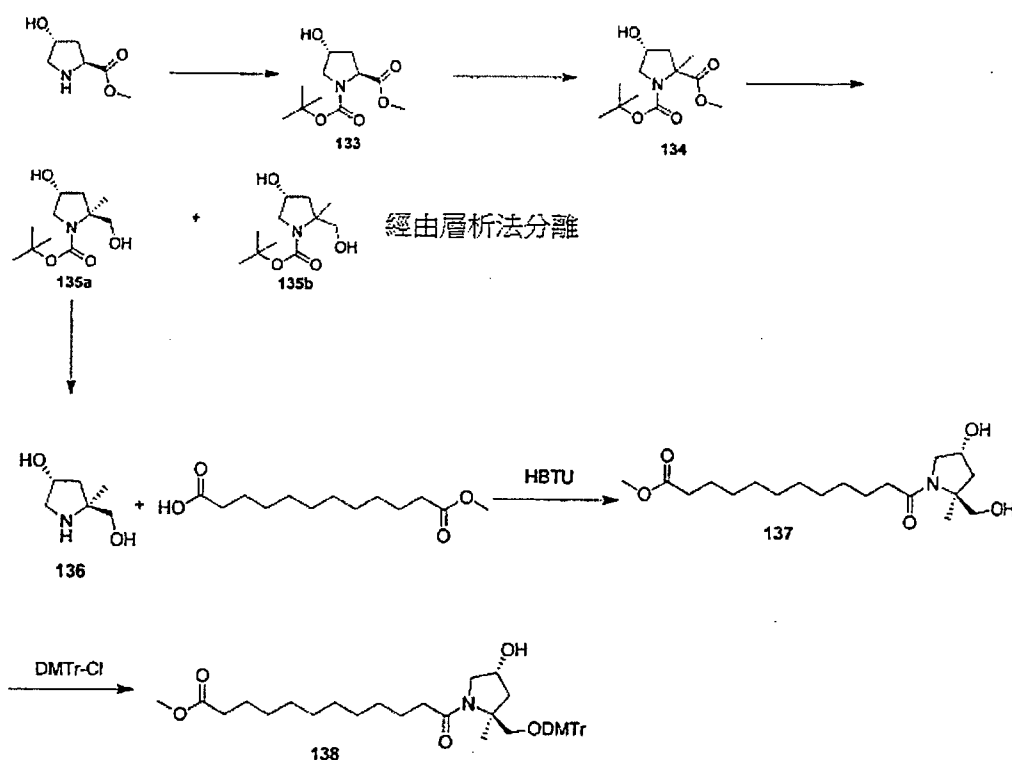
【0300】 化合物 **149** 係使用與用於化合物 **20** 之程序一致的程序，自化合物 **148** (460 mg, 0.19 mmol) 製備。產率：436 mg, 91%。

#### 步驟 9. 製備結合物 150

【0301】 化合物 **150** 係使用與用於化合物 **1** 之程序一致的程序，自化合物 **149** (436 mg) 及 1000A lcaa CPG (2.62 g) 製備。產率：2.7 g, 21.3  $\mu$ mol/g CPG 負載。所得 GalNAc 負載之 CPG 固體支撐物用於使用標準程序之自動化寡核苷酸合成。脫除核苷酸保護基，接著自固體支撐物移除(同時脫除半乳糖乙酸酯保護基)，得到 GalNAc-寡核苷酸結合物 **150**。

#### 實例 11. 合成結合物 153、158、163、168 及 173

#### 流程 22.



**步驟 1. 製備(2S,4R)-4-羥基吡咯啉-1,2-二甲酸 1-(第三丁基) 2-甲酯 (133)**

【0302】 將(2S,4R)-4-羥基吡咯啉-2-甲酸甲酯(25.9 g, 46 mmol)、BOC 酸酐(65.9 g, 302.5 mmol)及 TEA (42 ml, 302.5 mmol)在室溫下在 DCM 中攪拌 16 小時。有機物依序用 1M HCl (×2)、飽和 NaHCO<sub>3</sub> (×2)、H<sub>2</sub>O 及鹽水洗滌，乾燥且真空濃縮，得到(2S,4R)-4-羥基吡咯啉-1,2-二甲酸 1-(第三丁基) 酯 2-甲酯(133) (58.1 g, 85%)。

**步驟 2. 製備(4R)-4-羥基-2-甲基吡咯啉-1,2-二甲酸 1-(第三丁基)酯 2-甲酯(134)**

【0303】 在-40℃下將(2S,4R)-4-羥基吡咯啉-1,2-二甲酸 1-(第三丁基) 酯 2-甲酯(133) (5 g, 20.4 mmol)及 MeI (12 g, 84.5 mmol)在無水 THF 中攪拌。逐滴添加 LDA (2.0 M THF 溶液) (37.5 mL, 75 mmol)。使反應升溫至室溫且攪拌 4 小時，接著用飽和 NH<sub>4</sub>Cl 淬滅。將反應物用 EtOAc 萃取，用 H<sub>2</sub>O 及鹽水洗滌，乾燥(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)且真空濃縮。殘餘物藉由管柱層析法 50:50 EtOAc//己烷來純化，得到呈外消旋混合物形式之(4R)-4-羥基-2-甲基吡咯啉-1,2-二甲酸 1-(第三丁基)酯 2-甲酯(134)(3.6 g, 68%)

**步驟 3. 製備(2S,4R)-4-羥基-2-(羥基甲基)-2-甲基吡咯啉-1-甲酸第三丁酯(135a)**

【0304】 在 N<sub>2</sub> 下將(4R)-4-羥基-2-甲基吡咯啉-1,2-二甲酸 1-(第三丁基)酯 2-甲酯(134) (19 g, 73.5 mmol)在無水 THF 中攪拌。逐滴添加 LiBH<sub>4</sub> 溶液(48 ml, 96 mmol)且反應在室溫下攪拌 48 小時。將反應用 1M NaOH 淬滅, THF 真空移除且剩餘物用 EtOAc (4×100 ml)萃取。將有機物用 H<sub>2</sub>O 及鹽水洗滌, 乾燥(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)且真空濃縮。殘餘物藉由管柱層析法(5% MeOH/DCM)來純化, 得到作為主產物之(2S,4R)-4-羥基-2-(羥基甲基)-2-甲基吡咯啉-1-甲酸第三丁酯(135a)(8 g, 47%)。結構係根據參考文獻分配。

**步驟 4. 製備(3R,5S)-5-(羥基甲基)-5-甲基吡咯啉-3-醇鹽酸鹽(136)**

【0305】 在室溫下將(2S,4R)-4-羥基-2-(羥基甲基)-2-甲基吡咯啉-1-甲酸第三丁酯(135a) (8 g, 34.6 mmol)在 EtOAc 中攪拌且施加氣體 HCl 約兩分鐘。反應攪拌一小時, 接著真空濃縮且在高真空下乾燥, 以定量方式得到(3R,5S)-5-(羥基甲基)-5-甲基吡咯啉-3-醇鹽酸鹽(136)。

**步驟 5. 製備 12-((2S,4R)-4-羥基-2-(羥基甲基)-2-甲基吡咯啉-1-基)-12-側氧基十二烷酸甲酯(137)**

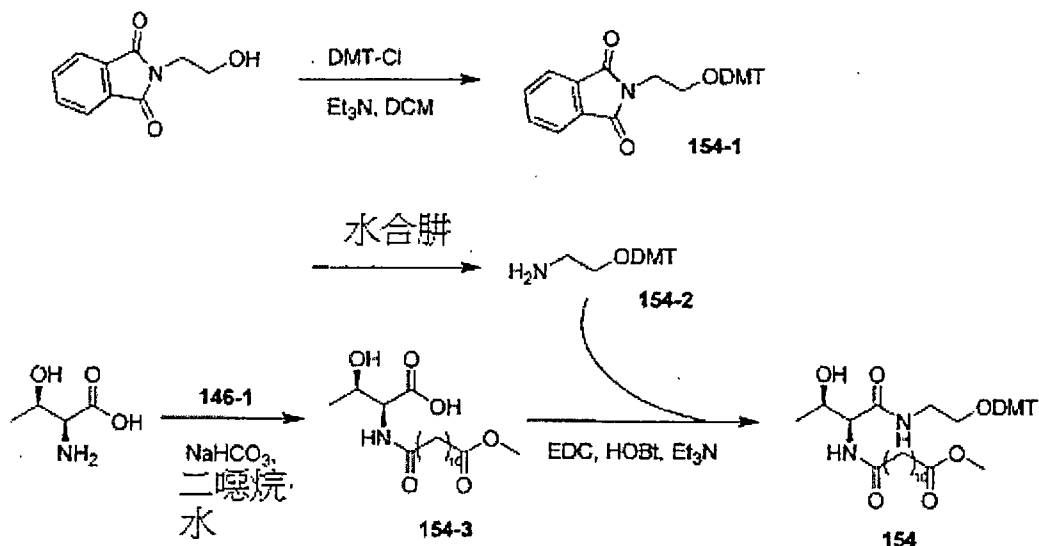
【0306】 在室溫下將(3R,5S)-5-(羥基甲基)-5-甲基吡咯啉-3-醇鹽酸鹽(136) (7.9 g, 47.4 mmol)、12-甲氧基-12-側氧基十二烷酸(11.5 g, 47.4 mmol)、HBTU (36 g, 76 mmol)及 TEA (20 mL, 142.2 mmol)在 DCM 中攪拌 16 小時。藉由過濾移除沈澱且有機物用 1M HCl (×2)、飽和 NaHCO<sub>3</sub> (×2)、H<sub>2</sub>O 及鹽水洗滌。乾燥後, 有機物真空濃縮且藉由管柱層析法(5% MeOH/DCM)來純化, 得到 12-((2S,4R)-4-羥基-2-(羥基甲基)-2-甲基吡咯啉-1-基)-12-側氧基十二烷酸甲酯(137) (3.1 g, 18.3 %)。

**步驟 6. 製備 12-((2S,4R)-2-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羥基-2-甲基吡咯啉-1-基)-12-側氧基十二烷酸甲酯(138)**

【0307】 在室溫下將 12-((2S,4R)-4-羥基-2-(羥基甲基)-2-甲基吡咯啉-1-基)-12-側氧基十二烷酸甲酯(137) (3.1 g, 9.0 mmol)、DMTr-Cl (2.8 g, 8.2 mmol)及 TEA (1.1 ml, 8.2 mmol)在 DCM 中攪拌 16 小時。反應真空濃縮且殘餘物藉由管柱層析法(5% MeOH/DCM, 0.1% TEA)來純化, 得到

12-((2S,4R)-2-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羥基-2-甲基吡咯啉-1-基)-12-側氧基十二烷酸甲酯(**138**) (2.7 g, 45.5 mmol)。

### 流程 23



### 步驟 7. 製備化合物 154-1

【0308】 在 0°C 下在氮氣下向 *N*-(2-羥基乙基)鄰苯二甲醯亞胺(4.80 g, 25.0 mmol)及 4,4'-二甲氧基三苯甲基氯(8.8 g, 26.0 mmol)於二氯甲烷(200 mL)中之溶液逐滴添加三乙胺(10.4 mL, 74.6 mmol)。反應混合物在室溫下攪拌 3 小時。TLC 指示反應結束。有機層用鹽水(100 mL)洗滌，經 MgSO<sub>4</sub> 乾燥，且濃縮至乾。此未經純化直接用於下一反應。

### 步驟 8. 製備化合物 154-2

【0309】 在室溫下將以上獲得之 2-(2-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)乙基)異吲哚啉-1,3-二酮(**154-1**)及單水合肼(3.6 mL, 74 mmol)在乙醇(100 mL)中攪拌隔夜。TLC 指示反應結束。沈澱濾出。蒸發濾液。殘餘物溶於乙酸乙酯(100 mL)中。有機溶液用 10% NaOH、水及鹽水洗滌，且經 MgSO<sub>4</sub> 乾燥。蒸發溶劑得到呈黃色液體狀之 2-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)乙胺(**154-2**)(8.11 g, 兩步產率 89.3%)。此未經進一步純化即用於下一反應。

### 步驟 9. 製備化合物 154-3

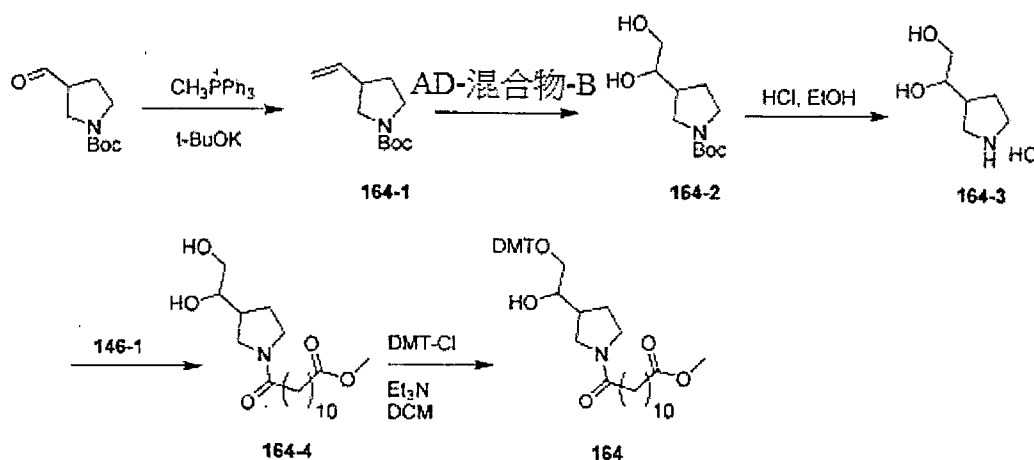
【0310】 向 L-蘇胺酸(1.19 g, 10.0 mmol)及 NaHCO<sub>3</sub> (2.3 g, 27 mmol) 於水(20 mL)及二噁烷(10 mL)中之溶液逐滴添加含十二烷二酸 1-(2,5-二側氧基吡咯啉-1-基)酯 12-甲酯 **146-1** (3.1 g, 9.1 mmol)之二噁烷(10 mL)。將反

應混合物在室溫下攪拌隔夜。添加 4N HCl (10 mL)。沈澱藉由過濾來收集且用水(3×10 mL)洗滌。固體在乾燥器中經 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 乾燥，得到呈灰白色固體狀之(2S,3R)-3-羥基-2-(12-甲氧基-12-側氧基十二烷醯胺基)丁酸 **154-3** (2.84 g, 82.2%)。LC-MS (ESI): *m/z*: 346 (100), (M + H<sup>+</sup>)。

#### 步驟 10. 製備化合物 154

【0311】 在室溫下將(2S,3R)-3-羥基-2-(12-甲氧基-12-側氧基十二烷醯胺基)丁酸 **154-3** (2.47 g, 7.15 mmol)、2-(雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)乙胺 **154-2** (2.60 g, 7.15 mmol)、EDC (1.64 g, 8.58 mmol)、1-羥基苯并三唑(HOBT) (1.16 g, 8.58 mmol)及 TEA (2.4 mL, 17.2 mmol)在二氯甲烷(72 mL)中攪拌 2 小時。添加水(30 mL)。有機層分離且用鹽水(2×30 mL)洗滌。蒸發溶劑，接著進行管柱層析法(30%乙酸乙酯/己烷-50%乙酸乙酯/己烷)，得到呈蠟狀黃色半固體狀之 12-((2S,3R)-1-(2-(雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)乙基胺基)-3-羥基-1-側氧基丁烷-2-基胺基)-12-側氧基十二烷酸甲酯 **154** (2.60 g, 52.6%)。<sup>1</sup>HNMR (400MHz, 丙酮-d<sub>6</sub>, ppm): δ 7.51 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H), 7.45-7.49 (m, 2H), 7.28-7.36 (m, 6H), 7.21 (tt, *J* = 7.2, 1.2 Hz, 1H), 7.08 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 6.88 (dt, *J* = 8.9, 2.5 Hz, 4H), 4.39 (dd, *J* = 8.2, 3.0 Hz, 1H), 4.20-4.27 (m, 1H), 3.78 (s, 6H), 3.60 (s, 1H), 3.35-3.52 (m, 2H), 3.07-3.16 (m, 2H), 2.23-2.37 (m, 4H), 1.53-1.65 (m, 4H), 1.23-1.36 (m, 12H), 1.10 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H)。

#### 流程 24



#### 步驟 11. 製備化合物 164-1

【0312】 向第三丁醇鉀(14.6 g, 130 mmol)於 THF (120 mL)/乙醚(360 mL)中之懸浮液添加溴化甲基三苯基鏷(46.6 g, 130 mmol)。使混合物回流 2 小時，且接著冷卻至 0℃。逐滴添加含 2-甲醯基吡咯啉-1-甲酸第三丁酯(13.0 g, 65.2 mmol)之乙醚(50 mL)。將反應混合物在 0℃下攪拌，且接著藉由添加水(250 mL)淬滅。分離有機層且將水層用乙醚(250 mL)萃取。合併之萃取物經  $\text{MgSO}_4$  乾燥。蒸發溶劑，接著進行管柱層析法純化(5%乙酸乙酯/己烷)，得到呈無色液體狀之 3-乙基吡咯啉-1-甲酸第三丁酯 **164-1** (11.5 g, 89.4%)。GC-MS:  $m/z$ : 197 (2) ( $\text{M}^+$ ), 141 (40), 124 (30), 57 (100)。

#### 步驟 12. 製備化合物 164-2

【0313】 向 *t*-BuOH (140 mL)及水(70 mL)之混合物中饋入 AD-混合物- $\beta$  (47.4 g)及甲磺醯胺(2.89 g, 30.4 mmol)。混合物在室溫下攪拌 30 分鐘且接著冷卻至 0℃。添加 3-乙基吡咯啉-1-甲酸第三丁酯 **164-1** (6.00 g, 30.4 mmol)。反應在室溫下攪拌隔夜。使反應混合物冷卻至 0℃。添加硫代硫酸鈉五水合物(96 g, 387 mmol)且使溫度升溫至室溫。添加水(700 mL)且將混合物用乙酸乙酯(500 mL)萃取。萃取物用水(2×50 mL)及鹽水(50 mL)洗滌，且經  $\text{MgSO}_4$  乾燥。蒸發溶劑，接著進行管柱層析法(2%甲醇/二氯甲烷-7%甲醇/二氯甲烷)，得到呈淡棕色油狀之 3-(1,2-二羥基乙基)吡咯啉-1-甲酸第三丁酯 **164-2** (5.4 g, 77%)。

#### 步驟 13. 製備化合物 164-3

【0314】 向 3-(1,2-二羥基乙基)吡咯啉-1-甲酸第三丁酯 **164-2** (3.1 g, 13.4 mmol)於乙醇(10 mL)中之溶液添加 3N HCl (30 mL, 90 mmol)。將反應混合物在室溫下攪拌隔夜。TLC 指示反應結束。將乙醇蒸發。添加甲苯且蒸發。此重複三次，得到呈棕色油狀之 1-(吡咯啉-3-基)乙-1,2-二醇鹽酸鹽 **164-3** (2.0 g, 89%)。LC-MS (ESI):  $m/z$ : 132 (100), ( $\text{M} + \text{H}^+$ , 游離胺)。

#### 步驟 14 製備化合物 164-4

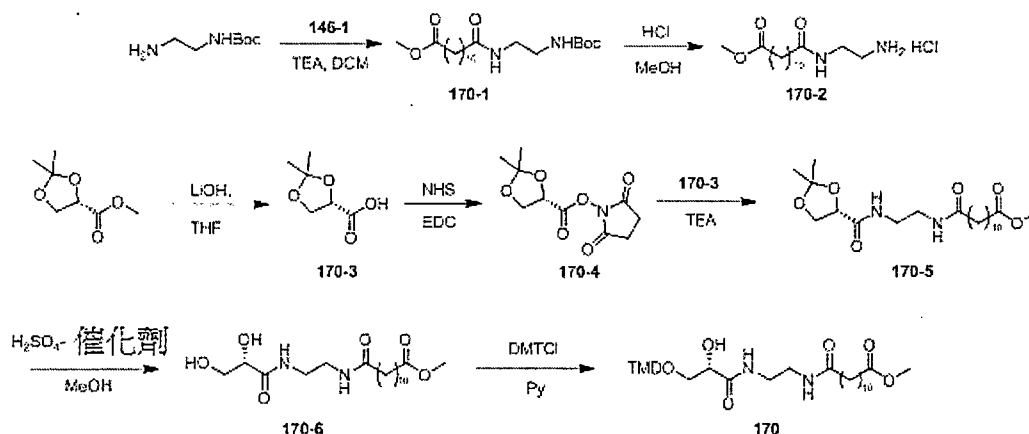
【0315】 分部分向 1-(吡咯啉-3-基)乙-1,2-二醇鹽酸鹽 **164-2** (2.0 g, 12 mmol)於水(30 mL)中之溶液添加  $\text{NaHCO}_3$  (3.7 g, 44 mmol)。接著添加二噁烷(20 mL)。向以上溶液中添加含十二烷二酸 1-(2,5-二側氧基吡咯啉-1-基)酯 12-甲酯 **146-1** (3.7 g, 11 mmol)之二噁烷(30 mL)。將反應混合物攪拌隔

夜。將此用乙酸乙酯(3×100 mL)萃取。合併之萃取物用 0.5N HCl (50 mL) 及鹽水(50 mL)洗滌，且經 MgSO<sub>4</sub> 乾燥。

### 步驟 15. 製備化合物 164

【0316】 此物質係使用與合成 2-(2-(雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)乙基)異吡啶-1,3-二酮 **138** 中所述相同之程序，自 12-(3-(1,2-二羥基乙基)吡咯啉-1-基)-12-側氧基十二烷酸甲酯 **164-4** 及 4,4-二甲氧基三苯甲基氯(1 當量)製備。產物藉由管柱層析法(1.5%甲醇/二氯甲烷)來純化。獲得呈黃色油狀之 12-(3-(2-(雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-1-羥基乙基)吡咯啉-1-基)-12-側氧基十二烷酸甲酯 **164**，51%產率。<sup>1</sup>HNMR (400MHz, 丙酮-d<sub>6</sub>, ppm): δ 7.49-7.54 (m, 2H), 7.35-7.40 (m, 4H), 7.28-7.34 (m, 2H), 7.19-7.25 (m, 1H), 6.86-6.91 (m, 4H), 4.11-4.20 (m, 1H), 3.79 (s, 6H), 3.68-3.77 (m, 1H), 3.60 (s, 3H), 3.29-3.59 (m, 3H), 3.06-3.20 (m, 3H), 2.33-2.55 (m, 1H), 2.29 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.19 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 1.65-2.0 (m, 2H), 1.51-1.62 (m, 4H), 1.26-1.35 (m, 12H)。

### 流程 25



### 步驟 16. 製備化合物 170-1

【0317】 在室溫下向 2-氨基乙基胺基甲酸第三丁酯(2.88 g, 18.0 mmol)及三乙胺(2.98 g, 29.4 mmol)於二氯甲烷(100 mL)中之溶液逐滴添加含十二烷二酸 1-(2,5-二側氧基吡咯啉-1-基)酯 12-甲酯(**146-1**) (5.09 g, 14.9 mmol)之二氯甲烷(50 mL)。將反應混合物攪拌隔夜且 TLC 指示反應結束。添加 100 mL 鹽水且分離有機層。有機層用 0.5N HCl (150 mL)、鹽水(2×100 mL)洗滌且經 MgSO<sub>4</sub> 乾燥。蒸發溶劑，得到呈白色固體狀之純 12-(2-(第三

丁氧基羰基胺基)乙基胺基)-12-側氧基十二烷酸甲酯 **170-1** (5.85 g, 100%)。

#### 步驟 17. 製備化合物 170-2

【0318】 在 0°C 下向 12-(2-(第三丁氧基羰基胺基)乙基胺基)-12-側氧基十二烷酸酯 **170-1** (5.55 g, 14.4 mmol) 於甲醇(100 mL)中之溶液逐滴添加亞硫醯氯(3.3 mL, 45.5 mmol)。接著將反應在室溫下攪拌隔夜。TLC 指示反應結束。溶劑及揮發性有機物蒸發。接著殘餘物與庚烷共蒸發兩次，得到呈白色固體狀之 12-(2-胺基乙基胺基)-12-側氧基十二烷酸甲酯鹽酸鹽 **170-2**，定量。LC-MS (ESI):  $m/z$ : 287 (100), ( $M + H^+$ , 游離胺)。

#### 步驟 18. 製備化合物 170-3

【0319】 將(-)-(S)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊環-4-甲酸甲酯(5.01 g, 31.2 mmol)及 LiOH·H<sub>2</sub>O (2.55 g, 60.8 mmol) 在 THF (50 mL) 及水(50 mL) 中攪拌隔夜。TLC 指示反應結束。THF 蒸發且水溶液用 1N HCl 酸化至 pH = 1。將此用乙酸乙酯(5×50 mL)萃取。合併之萃取物經 MgSO<sub>4</sub> 乾燥。蒸發溶劑，得到呈淡黃色液體狀之(S)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊環-4-甲酸 **170-3** (2.93 g, 64.3%)。

#### 步驟 19. 製備化合物 170-4

【0320】 化合物 **170-4** 係使用與合成十二烷二酸 1-(2,5-二側氧基吡咯啶-1-基)酯 12-甲酯 **146-1** 中所述相同之程序，自(S)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊環-4-甲酸 **170-3** 及 N-羥基丁二醯亞胺合成，產率 86%。獲得呈白色固體狀之(S)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊環-4-甲酸 2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯 **170-4**，產率 86%。

#### 步驟 20. 製備化合物 170-5

【0321】 在 0°C 下經 4 小時向 12-(2-胺基乙基胺基)-12-側氧基十二烷酸甲酯鹽酸鹽 **170-2** (14.4 mmol) 及(S)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊環-4-甲酸 2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯 **170-4** (3.80 g, 15.6 mmol) 於二氯甲烷(100 mL)中之懸浮液中添加含三乙胺(6 mL, 43.0 mmol)之二氯甲烷(25 mL)。接著反應混合物在室溫下攪拌隔夜。LC-MS 指示起始物質 **170-2** 完全轉化。將有機層用鹽水(50 mL)、1N HCl (50 mL)、鹽水(50 mL)洗滌，經 MgSO<sub>4</sub> 乾燥且濃縮至乾，得到呈白色固體狀之(S)-12-(2-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊環-4-甲醯胺基)

乙基胺基)-12-側氧基十二烷酸甲酯 **170-5** (5.93 g, 99.3%)。

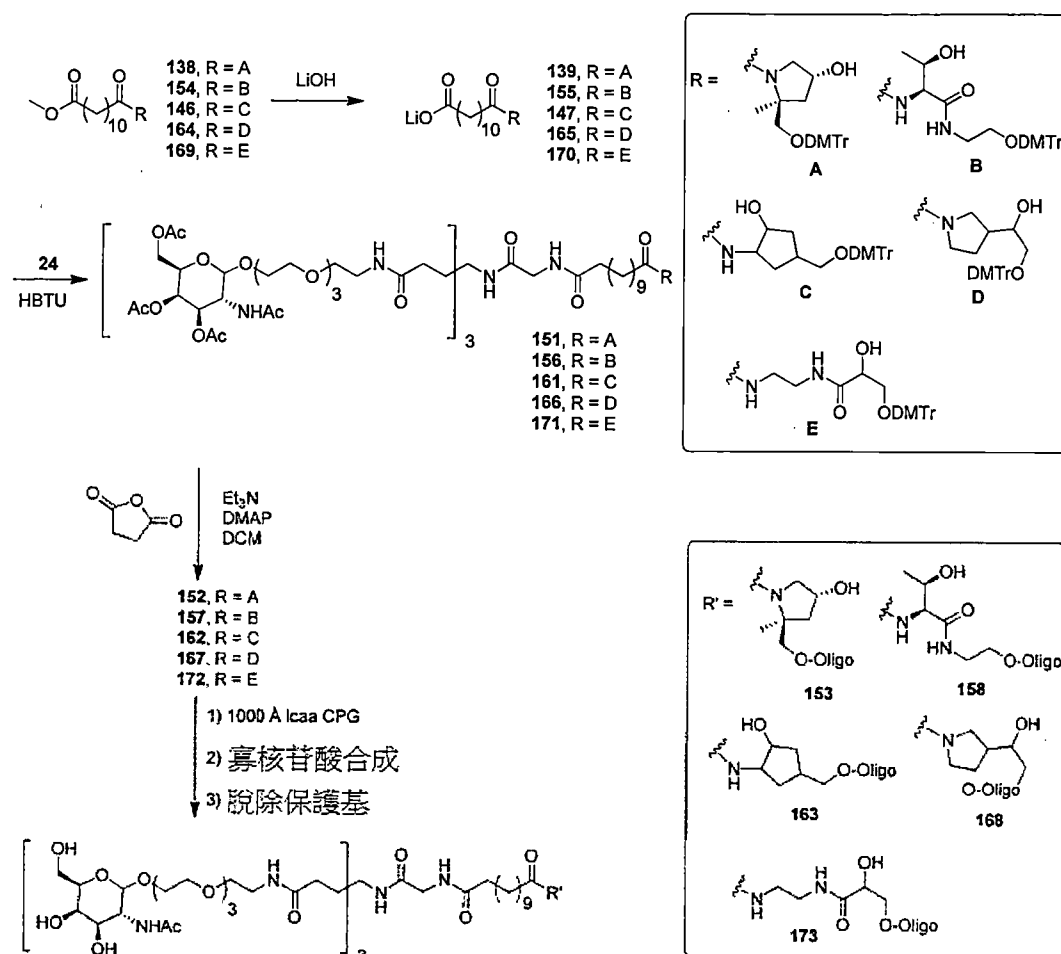
#### 步驟 21. 製備化合物 **170-6**

【0322】 向(S)-12-(2-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊環-4-甲醯胺基)乙基胺基)-12-側氧基十二烷酸甲酯 **170-5** (5.93 g, 14.3 mmol)之溶液添加一滴濃硫酸。使此回流 6 小時，且接著冷卻至室溫。固體經由過濾收集且用冷甲醇洗滌兩次。固體在空氣中乾燥(3.32 g)。自母液獲得第二批(0.42 g)，得到呈白色結晶狀之(S)-12-(2-(2,3-二羥基丙醯胺基)乙基胺基)-12-側氧基十二烷酸甲酯 **170-6** (共 3.74 g, 69.4%)。LC-MS (ESI):  $m/z$ : 375 (100), (M + H<sup>+</sup>). <sup>1</sup>HNMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm):  $\delta$  7.79 (br, 2H), 5.49 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 4.66 (t, J = 5.8 Hz, 1H), 3.83-3.88 (m, 1H), 3.55-3.61 (m, 4H), 3.41-3.47 (m, 1H), 3.05-3.15 (m, 4H), 2.29 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.03 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 1.42-1.52 (m, 4H), 1.18-1.29 (m, 12H)。

#### 步驟 22. 製備化合物 **170**

【0323】 在氮氣下向(S)-12-(2-(2,3-二羥基丙醯胺基)乙基胺基)-12-側氧基十二烷酸甲酯 **170-6** (2.99 g, 7.99 mmol)於無水吡啶(57.5 mL)中之溶液一次性添加 4,4'-二甲氧基三苯甲基氯(2.84 g, 8.38 mmol)。將反應在室溫下攪拌 2 天。添加甲醇(5 mL)以淬滅反應。蒸發吡啶。添加甲苯，且接著蒸發。此重複三次。添加水(100 mL)且將此用乙酸乙酯(5×250 mL)萃取。合併萃取物且經 MgSO<sub>4</sub> 乾燥。蒸發溶劑，接著進行管柱層析法(1%甲醇/二氯甲烷-3%甲醇/二氯甲烷)，得到呈黏性油狀之(S)-12-(2-(3-(雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-2-羥基丙醯胺基)乙基胺基)-12-側氧基十二烷酸甲酯 **170** (1.70 g, 31.4%)。 <sup>1</sup>HNMR (400MHz, 丙酮-d<sub>6</sub>, ppm):  $\delta$  7.64-7.70 (br, 1H), 7.47-7.51 (m, 2H), 7.33-7.37 (m, 4H), 7.26-7.32 (m, 2H), 7.20 (dt, J = 7.3, 2.1 Hz, 1H), 7.11 (br, 1H), 6.86 (d, J = 8.7 Hz, 4H), 4.84 (br, 1H), 4.21 (dd, J = 5.1, 3.8 Hz, 1H), 3.78 (s, 6H), 3.60 (s, 1H), 3.25-3.42 (m, 6H), 2.28 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 1.48-1.62 (m, 4H), 1.21-1.34 (m, 12H)。

#### 流程 26.



### 步驟 23. 製備化合物 139、155、160、165 及 170

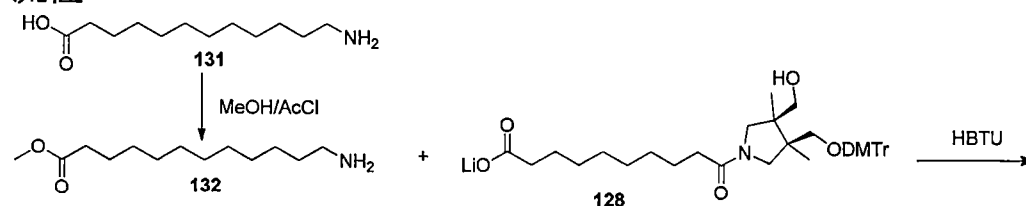
【0324】 化合物 139、155、160、165 及 170 係使用與用於化合物 18 之程序一致的程序，自化合物 138、154、159、164 及 169 製備。

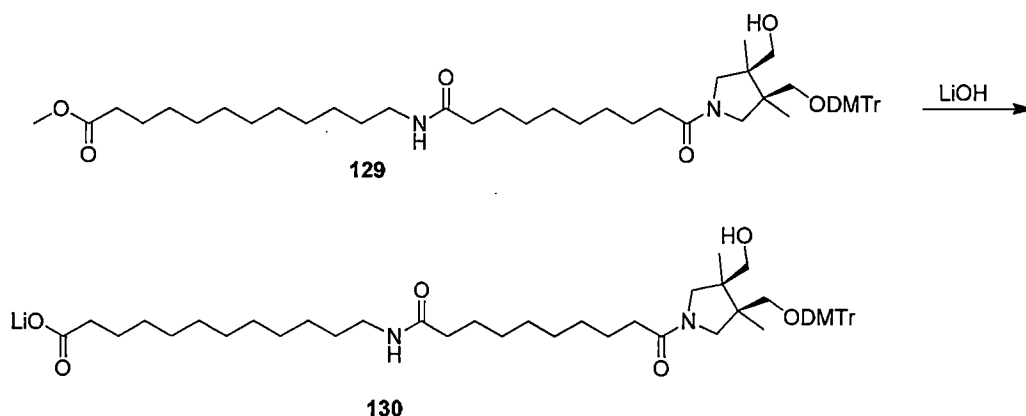
### 步驟 24. 製備結合物 153、158、163、168 及 173

【0325】 結合物 153、158、163、168 及 173 係使用與用於化合物 1 之程序一致的程序，自化合物 139、154、159、164 及 169 製備。

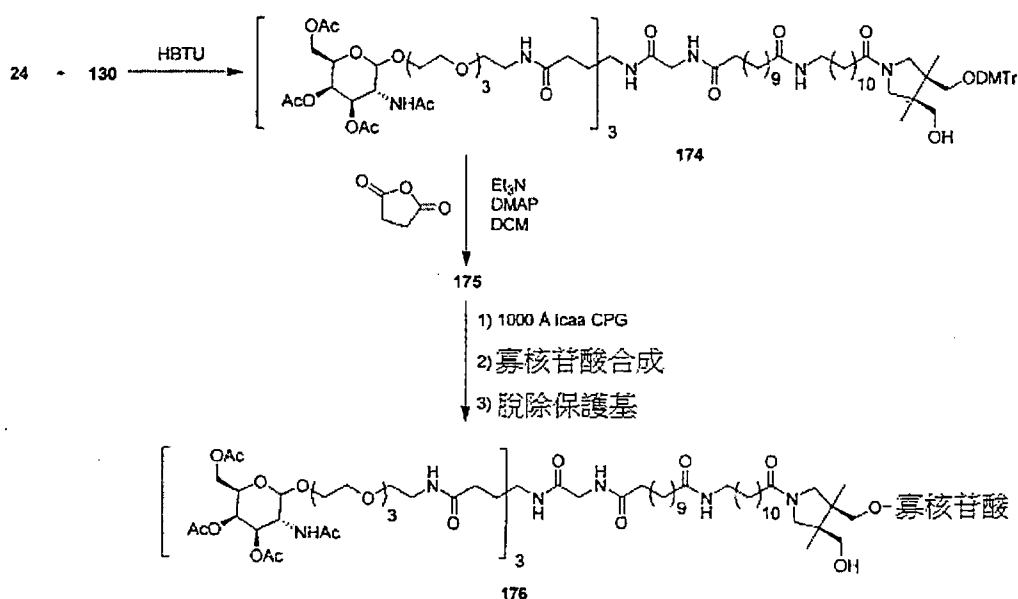
### 實例 12. 合成結合物 176

#### 流程 27.





### 流程 28.



### 步驟 1. 製備 12-胺基十二烷酸甲酯 132

【0326】 在室溫下將 12-胺基十一烷酸(131) (10 g, 4.64 mmol)在 MeOH 中攪拌。逐滴添加乙酐氯(856  $\mu\text{L}$ , 12 mmol)且反應攪拌 1.5 小時。溶劑真空移除，殘餘物溶解於 MTBE 中且在冰箱中冷卻隔夜。所得沈澱藉由過濾來收集，用冰冷 MTBE 洗滌且在高真空下乾燥，得到 12-胺基十二烷酸甲酯 132。

步驟 2. 製備 12-(12-(10-((3R,4S)-3-((雙(4-甲氧基苯基)-(苯基)甲氧基)甲基)-4-(羥基甲基)-3,4-二甲基吡咯啶-1-基)-10-側氧基癸醯胺基)十二烷醯胺基)十二烷酸甲酯 129

【0327】 在室溫下將 10-((3R,4S)-3-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(羥基甲基)-3,4-二甲基吡咯啶-1-基)-10-側氧基癸酸鋰(128) (2 g, 3.1

mmol)、12-胺基十二烷酸甲酯(**132**) (778 mg, 3.1 mmol)、HBTU (1.2 g, 3.1 mmol)及 TEA (1.4 mL, 10 mmol)在 DCM 中攪拌隔夜。沈澱藉由過濾來移除, 真空濃縮濾液且殘餘物藉由管柱層析法(5% MeOH, DCM)來純化。TLC 展示兩個具有一致質量之接近之跑動點, 其分配為幾何異構體且彙集在一起, 以定量方式得到 12-(12-(10-((3R,4S)-3-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(羥基甲基)-3,4-二甲基吡咯啶-1-基)-10-側氧基癸醯胺基)十二烷醯胺基)十二烷酸甲酯(**129**)。

**步驟 3. 製備 12-(12-(10-((3R,4S)-3-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)-甲氧基)甲基)-4-(羥基甲基)-3,4-二甲基吡咯啶-1-基)-10-側氧基癸醯胺基)-十二烷醯胺基)十二烷酸鋰 **130****

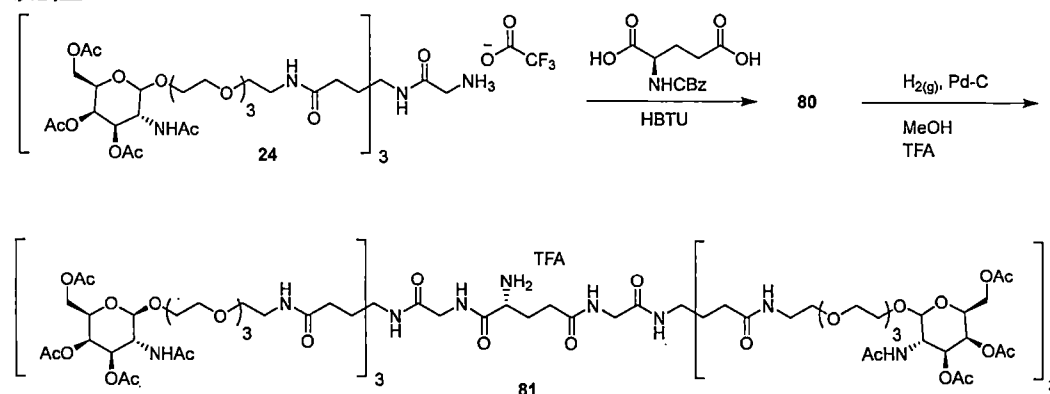
【0328】 將 12-(12-(10-((3R,4S)-3-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(羥基甲基)-3,4-二甲基吡咯啶-1-基)-10-側氧基癸醯胺基)十二烷醯胺基)十二烷酸甲酯(**129**) (3.1 mmol)在含 LiOH (88 mg, 3.7 mmol)之 THF:H<sub>2</sub>O (50:50)中在室溫下攪拌隔夜。反應藉由 TLC 證實且 THF 真空移除。水溶液在液氮中冷凍且凍乾 48 小時, 得到 12-(12-(10-((3R,4S)-3-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(羥基甲基)-3,4-二甲基吡咯啶-1-基)-10-側氧基癸醯胺基)十二烷醯胺基)十二烷酸鋰 **130**, 定量。

**步驟 4. 製備結合物 **176****

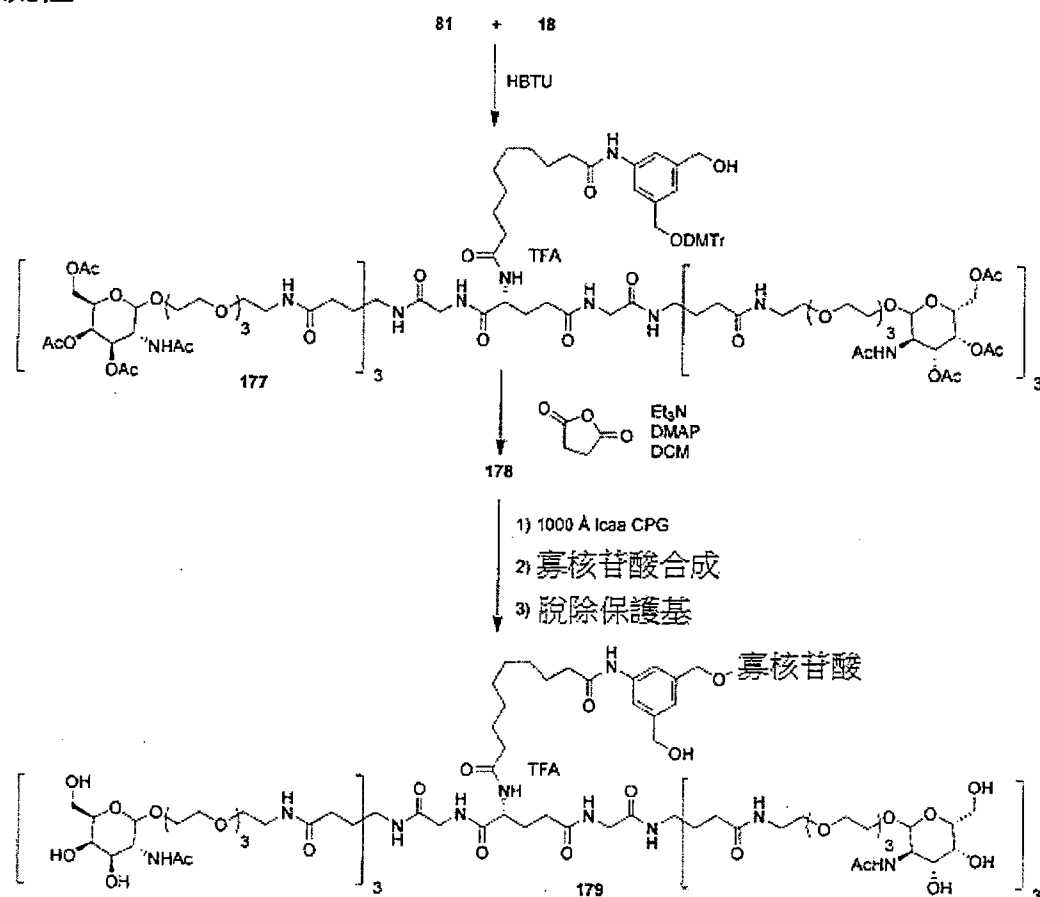
【0329】 結合物 **176** 係使用與用於化合物 **1** 之程序一致的程序, 自化合物 **24** 及 **130** 製備。

**實例 13. 合成結合物 **179****

**流程 29.**



流程 30.



步驟 1. 製備化合物 80

【0330】 在室溫下將化合物 **24** (2 g, 0.86 mmol)、N-苯甲氧羰基-L-麩胺酸(120 mg, 0.43 mmol)、HBTU (326 mg, 0.86 mmol)及 TEA (353  $\mu$ L, 2.6 mmol)在 DCM 中攪拌隔夜。混合物真空濃縮且藉由管柱層析法來純化，得到化合物 **80** (2.88 g, 83%)。

步驟 2. 製備化合物 81

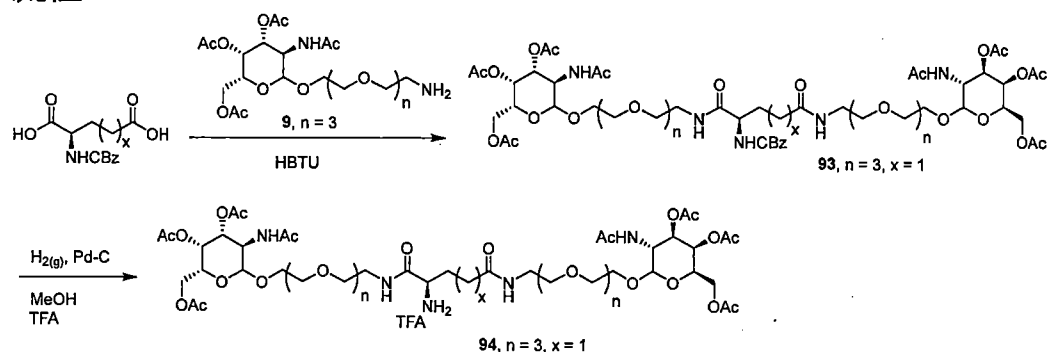
【0331】 化合物 **81** 係使用與用於化合物 **14** 之程序一致的程序，自化合物 **80** (670 mg, 0.17 mmol)製備。化合物呈粗物質用於隨後反應中且產率定量。

步驟 3. 製備結合物 179

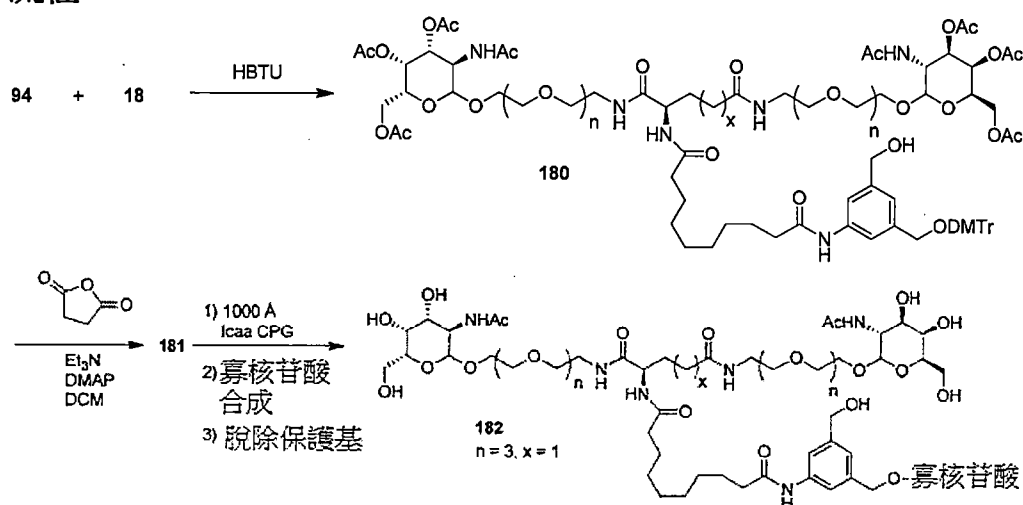
【0332】 結合物 **179** 係使用與用於化合物 **1** 之程序一致的程序，自化合物 **18** 及 **81** 製備。

實例 14. 合成結合物 182

### 流程 31.



### 流程 32.



### 步驟 1. 製備化合物 93

【0333】 化合物 93 係使用與用於化合物 89 之程序一致的程序，自(2-側氧基-2-苯基-1 $\lambda^2$ -乙基)-D-麩胺酸(2.25 g, 8.1 mmol)及 9 (13 g, 21 mmol)製備。產率：11.2 g。

### 步驟 2. 製備化合物 94

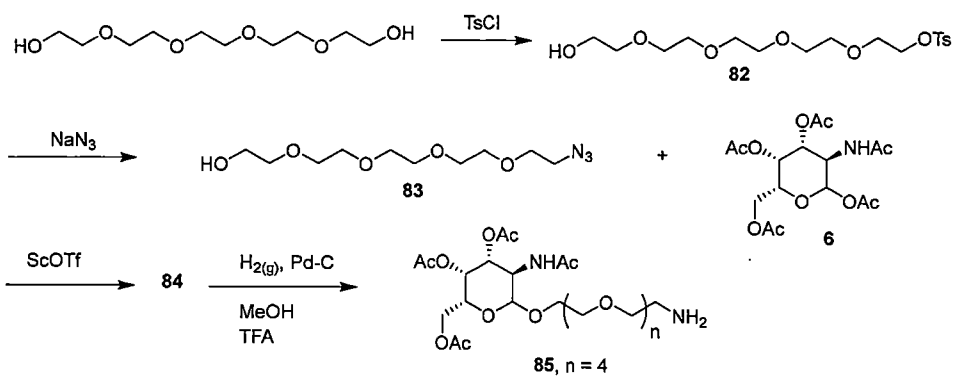
【0334】 化合物 94 係使用與用於化合物 90 之程序一致的程序，自化合物 93 (11.1 g)製備。產率：10.2 g。

### 步驟 3. 製備結合物 182

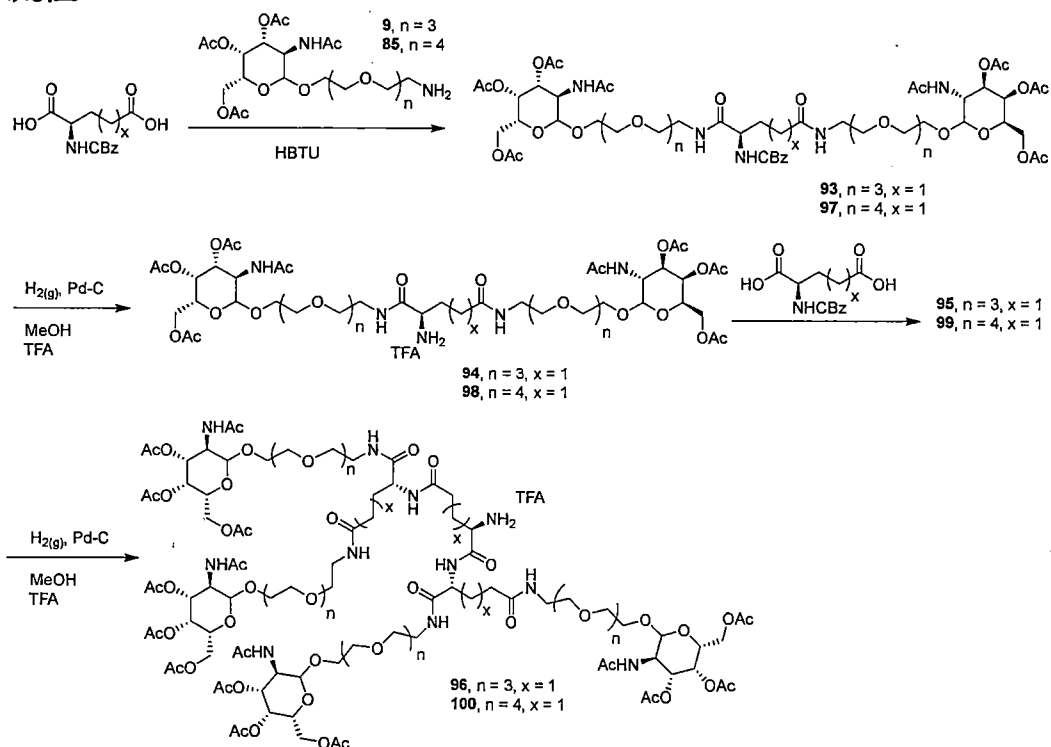
【0335】 結合物 182 係使用與用於化合物 1 之程序一致的程序，自化合物 18 及 94 製備。

### 實例 15. 合成結合物 185 及 188

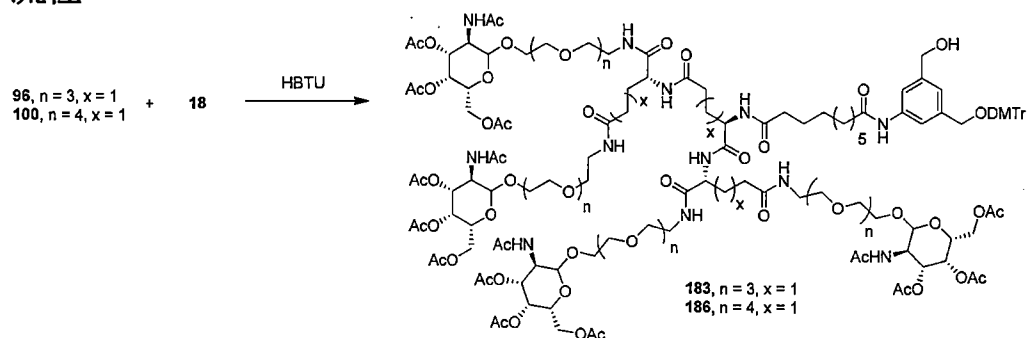
### 流程 33.

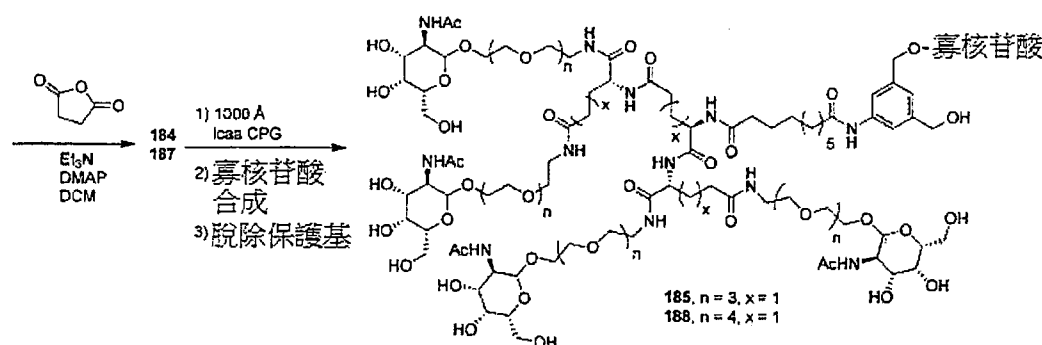


## 流程 34.



## 流程 35.





### 步驟 1. 製備 4-甲基苯磺酸 14-羥基-3,6,9,12-四氧雜十四烷酯 **82**

【0336】 將五乙二醇(35 g, 147 mmol)、TEA (41 mL, 294 mmol)及三甲胺-HCl (1.4 g, 14.7 mmol)於 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (600 mL)中之溶液用甲苯磺醯氯(29.4 g, 154 mmol)處理。攪拌(18 小時)後，反應混合物用 H<sub>2</sub>O-鹽水(1:1)洗滌，乾燥(MgSO<sub>4</sub>)，過濾，濃縮且進行層析法，得到呈淺黃色油狀之 **82** (24.6 g, 43%)。R<sub>f</sub> 0.8 (10% CH<sub>3</sub>OH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)。

### 步驟 2. 14-疊氨基-3,6,9,12-四氧雜十四烷-1-醇 **83**

【0337】 14-疊氨基-3,6,9,12-四氧雜十四烷-1-醇(**83**)係使用與用於化合物 **4** 之程序一致的程序，自 **82** (24.6 g, 62.7mmol)及疊氮化鈉(7.13 g, 110mmol)製備。產率：14.8 g, 90%。

### 步驟 3. 製備化合物 **84**

【0338】 將 GalNAc **6** (12.2 g, 31.4mmol)及 HO-PEG-N<sub>3</sub> **83** (9.2 g, 35mmol)於 1,2-二氯乙烷(150 mL)中之溶液用 Sc(OTf)<sub>3</sub> (771 mg, 1.6mmol)處理。攪拌(85°C, 2 小時)後，反應冷卻(室溫)，藉由添加 TEA (40 mL)淬滅且濃縮。粗物質進行層析法，得到呈淺黃色泡沫狀之 **84** (11.16 g, 60%)。R<sub>f</sub> 0.7 (10% CH<sub>3</sub>OH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)。

### 步驟 4. 製備化合物 **85**

【0339】 將 **84** (11.16 g, 18.8 mmol)及 Pd/C (1.1 g, 10% - 濕載體)於 EtOAc (120 mL)中之溶液用 TFA (4.32 mL, 56.5 mmol)處理且用 H<sub>2</sub>淨化。劇烈攪拌(4.5 小時)後，反應用 N<sub>2</sub>淨化，經由矽藻土過濾且濃縮。粗物質進行層析法，得到呈無色泡沫狀之 **85** (5.77 g, 45%)。R<sub>f</sub> 0.5 (10% CH<sub>3</sub>OH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)。

### 步驟 5. 製備化合物 **95**

【0340】 化合物 **95** 係使用與用於化合物 **91** 之程序一致的程序，自(2-側氧基-2-苯基-1 $\lambda^2$ -乙基)-D-麩胺酸(1.04 g, 3.7 mmol)及化合物 **94** (10.2 g)製備。產率：7.2 g。

#### 步驟 6. 製備化合物 **96**

【0341】 化合物 **96** 係使用與用於化合物 **92** 之程序一致的程序，自化合物 **95** (11.1 g)製備。產率：6.5 g。

#### 步驟 7. 製備化合物 **97**

【0342】 化合物 **97** 係使用與用於化合物 **89** 之程序一致的程序，自(2-側氧基-2-苯基-1 $\lambda^2$ -乙基)-D-麩胺酸(2 g, 7.1 mmol)及 **85** (12.1 g, 17.8 mmol)製備。產率：10 g，定量。

#### 步驟 8. 製備化合物 **98**

【0343】 化合物 **98** 係使用與用於化合物 **90** 之程序一致的程序，自化合物 **97** (10 g, 7.2 mmol)製備。產率：3.5 g，36%。

#### 步驟 9. 製備化合物 **99**

【0344】 化合物 **99** 係使用與用於化合物 **91** 之程序一致的程序，自(2-側氧基-2-苯基-1 $\lambda^2$ -乙基)-D-麩胺酸(350 mg, 1.25 mmol)及化合物 **98** (2.86 mg, 2.5 mmol)定量製備。

#### 步驟 10. 製備化合物 **100**

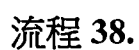
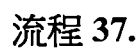
【0345】 化合物 **100** 係使用與用於化合物 **92** 之程序一致的程序，自化合物 **99** (3.2 g, 1.25 mmol)定量製備。

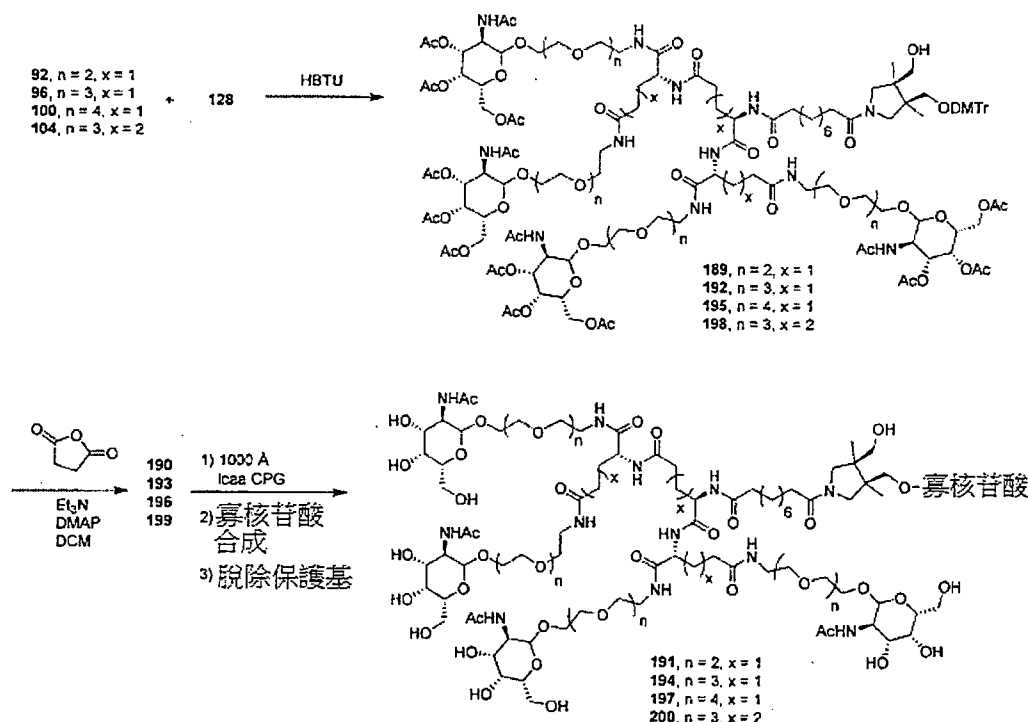
#### 步驟 11. 製備結合物 **185** 及 **188**

【0346】 結合物 **185** 及 **188** 係使用與用於化合物 **1** 之程序一致的程序，自化合物 **18** 及 **96** 或 **18** 及 **100** 製備。

#### 實例 16. 合成結合物 **191**、**194**、**197** 及 **200**

#### 流程 36.





### 步驟 1. 製備 2-(2-(2-疊氨基乙氧基)乙氧基)乙-1-醇 86

【0347】 向 2-(2-(2-氯乙氧基)乙氧基)乙-1-醇(13 g, 77 mmol)於水(200 mL)中之溶液添加疊氮化鈉(10 g, 154 mmol)。將反應物加熱至 100℃，歷時 18 小時。反應冷卻至室溫且傾倒至 1L 分液漏斗中且用二氯甲烷(3×200 mL)萃取。合併之二氯甲烷萃取物經硫酸鎂乾燥，過濾且濃縮至乾，得到呈無色油狀之 2-(2-(2-疊氨基乙氧基)乙氧基)乙-1-醇(11.7 g)。

### 步驟 2. 製備化合物 87

【0348】 化合物 87 係使用與用於化合物 84 之程序一致的程序，自 86 (4.95 g, 28.3 mmol)及 6 (10 g, 25.7 mmol)製備。產率：10 g，77%。

### 步驟 3. 製備化合物 88

【0349】 化合物 88 係使用與用於化合物 85 之程序一致的程序，自 87 (10 g, 19.8 mmol)製備。產率：7.63 g，65%。

### 步驟 4. 製備化合物 89

【0350】 將 88 (2 g, 3.38 mmol)及 Z-麩胺酸(427 mg, 1.52mmol)於 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 mL)中之溶液用 HBTU (1.41 g, 3.7 mmol)及亨尼格鹼(Hünig's base) (1.77 mL, 10.1 mmol)處理。攪拌(18 小時)後，混合物濃縮且進行層析法，得到呈無色泡沫狀之 89 (871 mg, 48%)。R<sub>f</sub> 0.5 (10% CH<sub>3</sub>OH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)。

**步驟 5. 製備化合物 90**

【0351】 將 **89** (870 mg, 0.72 mmol) 及 Pd/C (90 mg, 10% - 濕載體) 於 EtOAc (10 mL) 中之溶液用 TFA (84  $\mu$ L, 1.1 mmol) 處理且用 H<sub>2</sub> 淨化。劇烈攪拌(2 小時)後，反應物用 N<sub>2</sub> 淨化，經由矽藻土過濾且濃縮。粗物質未經進一步處理即使用且得到呈無色泡沫狀之 **90** (850 mg, 定量)。Rf 0.25 (10% CH<sub>3</sub>OH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)。

**步驟 6. 製備化合物 91**

【0352】 將 **90** (850 mg, 0.72 mmol) 及 Z-麩胺酸(91 mg, 0.32 mmol) 於 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 mL) 中之溶液用 HBTU (300 mg, 0.79 mmol) 及亨尼格鹼(502  $\mu$ L, 2.9 mmol) 處理。攪拌(1.5 小時)後，混合物用 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 稀釋且用 NaHCO<sub>3</sub> (飽和水溶液) 洗滌，乾燥(MgSO<sub>4</sub>)，過濾且濃縮。粗物質進行層析法，得到呈無色泡沫狀之 **91** (590 mg, 76%)。Rf 0.5 (10% CH<sub>3</sub>OH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)。

**步驟 7. 製備化合物 92**

【0353】 將 **91** (590 mg, 0.25 mmol) 及 Pd/C (100 mg, 10% - 濕載體) 於 CH<sub>3</sub>OH (30 mL) 中之溶液用 TFA (29  $\mu$ L, 0.37 mmol) 處理且用 H<sub>2</sub> 淨化。攪拌(3 小時)後，混合物用 N<sub>2</sub> 淨化，接著經矽藻土過濾且濃縮。粗物質未經進一步處理即使用且得到呈無色泡沫狀之 **92** (600 mg, 定量)。Rf 0.1 (10% CH<sub>3</sub>OH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)。

**步驟 8. 製備化合物 101**

【0354】 化合物 **101** 係使用與用於化合物 **89** 之程序一致的程序，自 (R)-2-((2-側氧基-2-苯基-112-乙基)胺基)己二酸(2.51 g, 8.6 mmol) 及 **9** (11 g, 17.2 mmol) 製備。產率：4.2 g, 37%。

**步驟 9. 製備化合物 102**

【0355】 化合物 **102** 係使用與用於化合物 **90** 之程序一致的程序，自化合物 **101** (4.2 g, 3.2 mmol) 製備。產率：2.1 g, 47%。

**步驟 10. 製備化合物 103**

【0356】 化合物 **103** 係使用與用於化合物 **91** 之程序一致的程序，自 (R)-2-((2-側氧基-2-苯基-112-乙基)胺基)己二酸(265 mg, 0.9 mmol) 及化合物 **102** (2.1 g, 1.8 mmol) 製備。產率：(560 mg, 24 %)。

### 步驟 11. 製備化合物 104

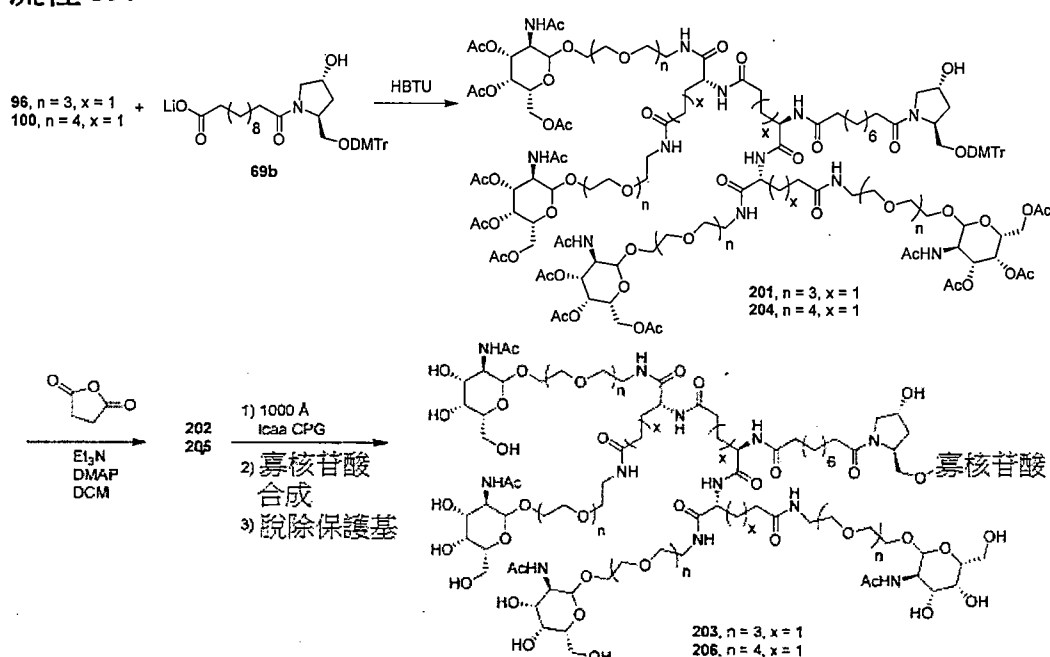
【0357】 化合物 104 係使用與用於化合物 92 之程序一致的程序，自化合物 103 (560 mg) 定量製備。化合物未經純化即使用。

### 步驟 12. 製備結合物 191、194、197 及 200

【0358】 結合物 191、194、197 及 200 係使用與用於化合物 1 之程序一致的程序，自化合物 128 及 92、96、100 或 104 製備。

### 實例 17. 合成結合物 203 及 206

#### 流程 39.



### 步驟 1. 製備化合物 69b

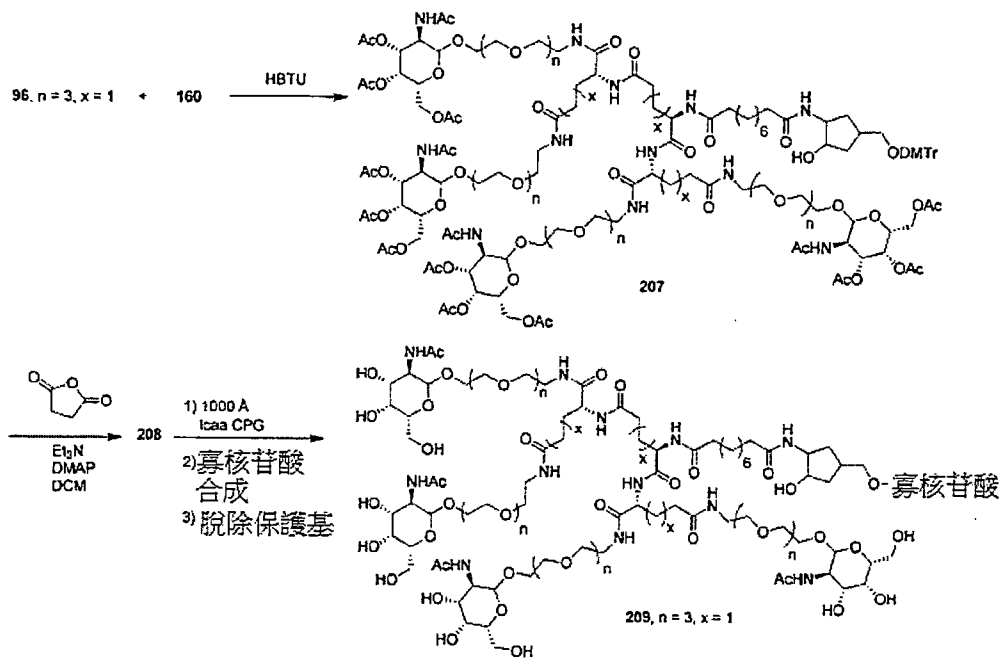
【0359】 化合物 69b 係使用與用於化合物 69 之程序一致的程序，自 (2S,4R)-4-羥基吡咯啉-2-甲酸製備。

### 步驟 2. 製備結合物 203 及 206

【0360】 結合物 203 及 206 係使用與用於化合物 1 之程序一致的程序，自化合物 96 及 100 製備。

### 實例 18. 合成結合物 207

#### 流程 40.

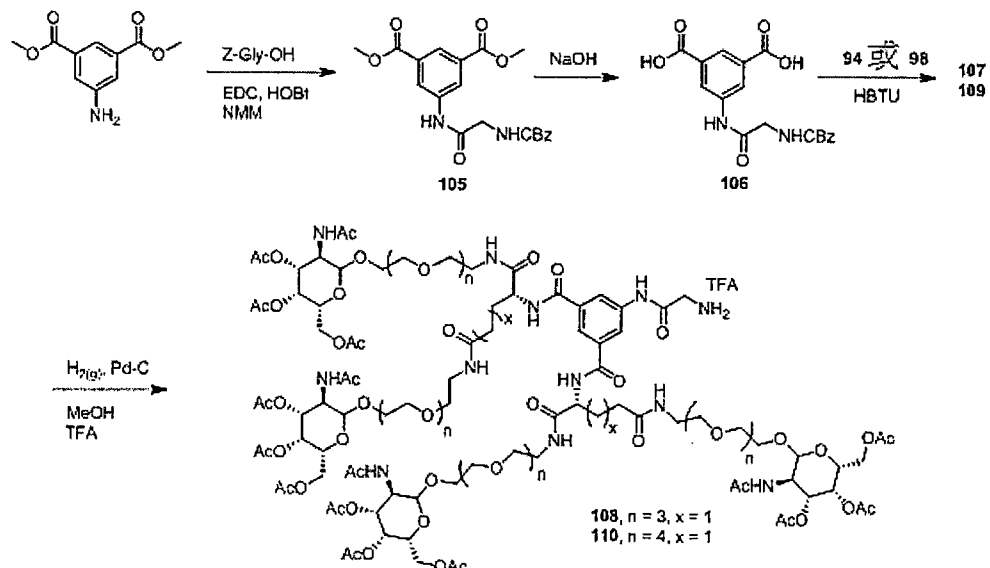


### 步驟 1. 製備結合物 209

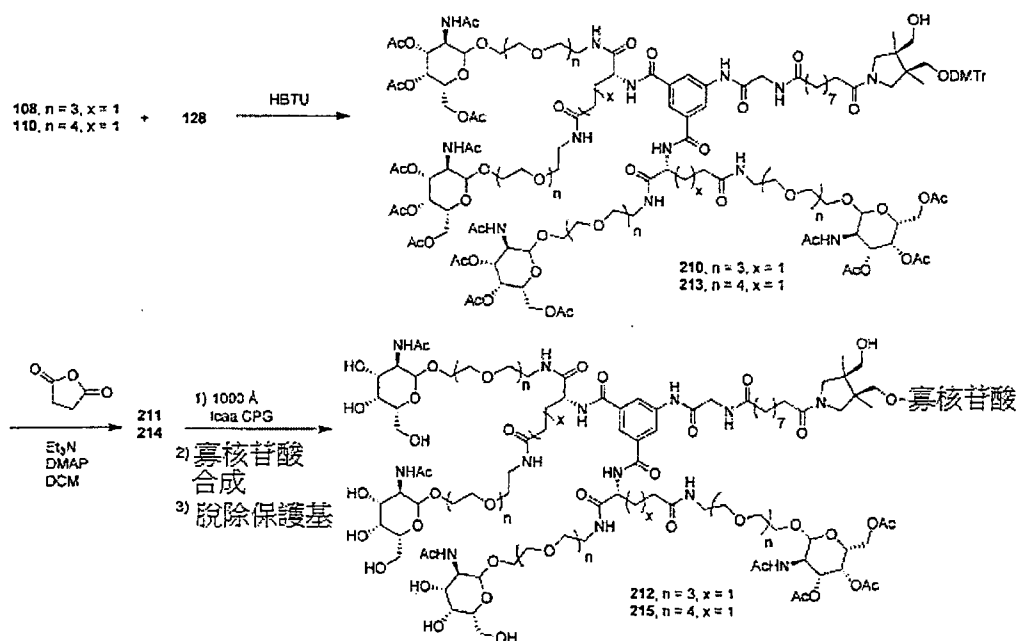
【0361】 結合物 209 係使用與用於化合物 1 之程序一致的程序，自化合物 96 及 160 製備。

### 實例 19. 合成結合物 212 及 215

#### 流程 41.



#### 流程 42.



### 步驟 1. 製備 5-(2-((2-側氧基-2-苯基-1 $\lambda^2$ -乙基)胺基)乙醯胺基)間苯二甲酸二甲酯 105

【0362】 將 5-胺基間苯二甲酸二甲酯(5 g, 24 mmol)、Z-Gly-OH (5 g, 24 mmol)、EDC (5 g, 26.3 mmol)、HOBT (3.6 g, 26.3 mmol)、NMM (2.9 mL, 26.3 mmol)於 DMF (50 mL)中之溶液在室溫下攪拌隔夜。結束後，將反應混合物用乙酸乙酯(250 mL)稀釋且用 1M HCl (2 $\times$ 100 mL)、飽和碳酸氫鈉(1 $\times$ 100 mL)及鹽水(2 $\times$ 100 mL)每一者洗滌。經硫酸鎂乾燥，過濾且濃縮至乾，得到呈無色固體狀之 5-(2-((2-側氧基-2-苯基-1 $\lambda^2$ -乙基)胺基)乙醯胺基)間苯二甲酸二甲酯(7.2 g, 79%)。

### 步驟 2. 製備 5-(2-((2-側氧基-2-苯基-1 $\lambda^2$ -乙基)胺基)乙醯胺基)間苯二甲酸 106

【0363】 向 5-(2-((2-側氧基-2-苯基-1 $\lambda^2$ -乙基)胺基)乙醯胺基)間苯二甲酸甲酯(7.2 g)於甲醇(25 mL)及 THF (25 mL)中之溶液添加 1M NaOH (25 mL)。將溶液在室溫下攪拌 2 小時，接著濃縮以移除 THF 及 MeOH。將剩餘水溶液用水(75 mL)稀釋，在冰水浴上冷卻且用 6M HCl 酸化至 pH = 1。將固體過濾且用水(3 $\times$ 100 mL)洗滌。固體凍乾，得到 5-(2-((2-側氧基-2-苯基-1 $\lambda^2$ -乙基)胺基)乙醯胺基)-間苯二甲酸(6.9 g, 定量)。

### 步驟 3. 製備化合物 107

【0364】 化合物 **107** 係使用與用於化合物 **95** 之程序一致的程序，自 5-(2-((2-側氧基-2-苯基-1 $\lambda^2$ -乙基)胺基)乙醯胺基)間苯二甲酸 **106** (200 mg, 0.54 mmol)及 **94** (1.7 g, 1.3 mmol)製備。產率：600 mg。

#### 步驟 4. 製備化合物 **108**

【0365】 化合物 **108** 係使用與用於化合物 **96** 之程序一致的程序，自化合物 **107** (600 mg)製備。產率：650 mg，定量。

#### 步驟 5. 製備化合物 **109**

【0366】 化合物 **109** 係使用與用於化合物 **99** 之程序一致的程序，自 5-(2-((2-側氧基-2-苯基-1 $\lambda^2$ -乙基)胺基)乙醯胺基)間苯二甲酸 **106** (180 mg, 0.48 mmol)及 **98** (1.5 g, 1.1 mmol)製備。產率：900 mg。

#### 步驟 6. 製備化合物 **110**

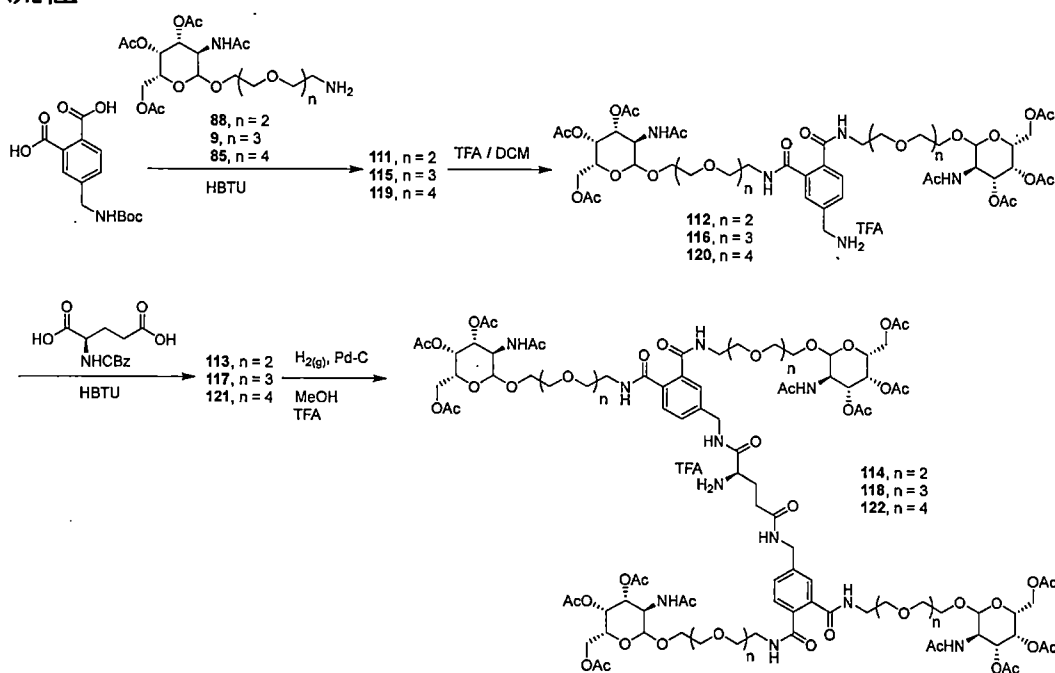
【0367】 化合物 **110** 係使用與用於化合物 **100** 之程序一致的程序，自化合物 **109** (900 mg)製備。產率：920 mg，定量。

#### 步驟 7. 製備結合物 **212** 及 **215**

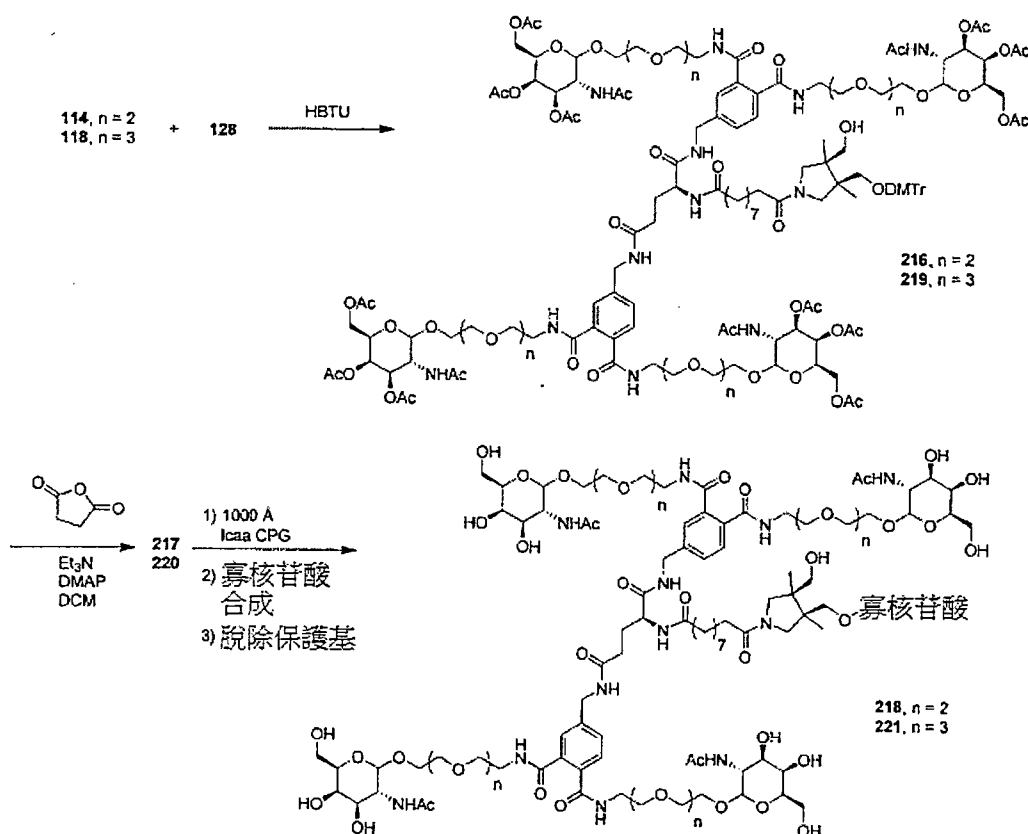
【0368】 結合物 **212** 及 **215** 係使用與用於化合物 **1** 之程序一致的程序，自化合物 **128** 及 **108** 或 **110** 製備。

### 實例 20. 合成結合物 **218** 及 **221**

#### 流程 43.



流程 44.



步驟 1. 製備化合物 111

【0369】 化合物 111 係使用與用於化合物 89 之程序一致的程序，自 4-(((第三丁氧基羰基)胺基)甲基)鄰苯二甲酸(1.13 g, 3.84 mmol)及 88 (5 g, 8.44 mmol)製備。產率：2.21 g, 49%。

步驟 2. 製備化合物 112

【0370】 將 111 (2.21 g, 1.87 mmol)於  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (40 mL)中之溶液用 TFA (5 mL)緩慢處理。攪拌(2 小時)後，混合物濃縮且進行層析法，得到呈無色泡沫狀之 112 (1.08 g, 47%)。Rf 0.1 (10%  $\text{CH}_3\text{OH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )。

步驟 3. 製備化合物 113

【0371】 化合物 113 係使用與用於化合物 91 之程序一致的程序，自化合物 112 (1.08 g, 0.88 mmol)及(2-側氧基-2-苯基-1 $\lambda^2$ -乙基)-D-麩胺酸(112 mg, 0.39 mmol)製備。產率：600 mg, 62%。

步驟 4. 製備化合物 114

【0372】 化合物 114 係使用與用於化合物 92 之程序一致的程序，自

化合物 113 製備。

#### 步驟 5. 製備化合物 115

【0373】 化合物 115 係使用與用於化合物 93 之程序一致的程序，自 4-(((第三丁氧基羰基)胺基)甲基)鄰苯二甲酸(3.94 g, 13.3 mmol)及 9 (18.2 g, 29.4 mmol)製備。產率：9.02 g, 53%。

#### 步驟 6. 製備化合物 116

【0374】 化合物 116 係使用與用於化合物 112 之程序一致的程序，自化合物 115 (8 g, 6.3 mmol)製備。產率：3.23 g, 39%。

#### 步驟 7. 製備化合物 117

【0375】 化合物 117 係使用與用於化合物 95 之程序一致的程序，自化合物 116 (3.23 g, 2.45 mmol)及(2-側氧基-2-苯基-1 $\lambda^2$ -乙基)-D-麩胺酸(192 mg, 1.1 mmol)製備。產率：2.22 g, 34%。

#### 步驟 8. 製備化合物 118

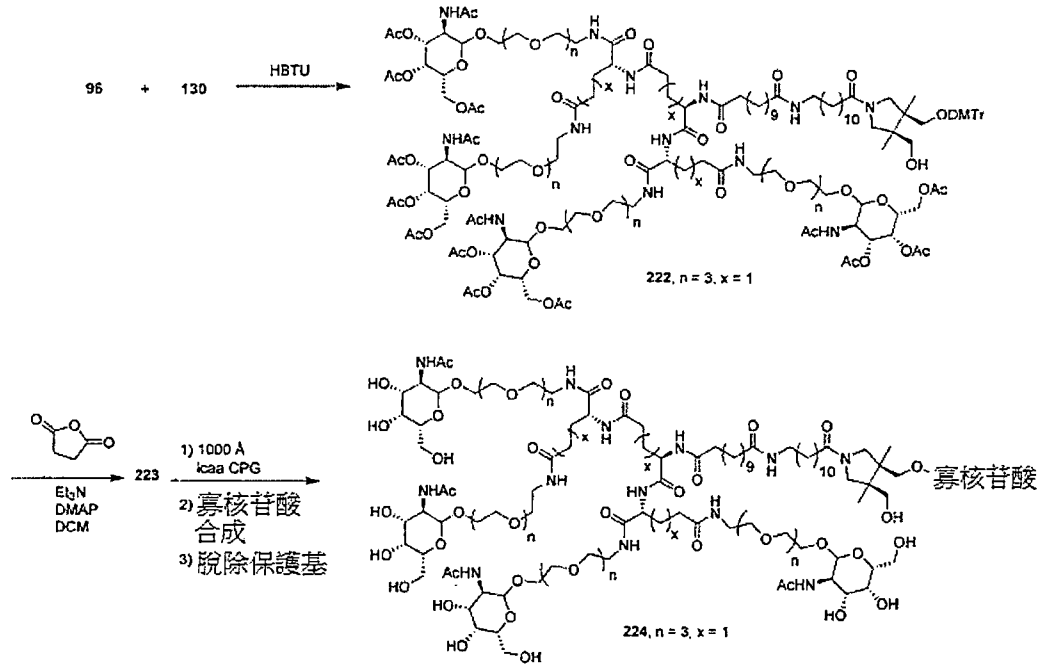
【0376】 化合物 118 係使用與用於化合物 96 之程序一致的程序，自化合物 117 (2.22 g, 0.84 mmol)製備。產率：2.02 g, 91%。

#### 步驟 9. 製備結合物 218 及 221

【0377】 結合物 218 及 221 係使用與用於化合物 1 之程序一致的程序，自化合物 128 及 114 或 118 製備。

#### 實例 21. 合成結合物 224

流程 45.

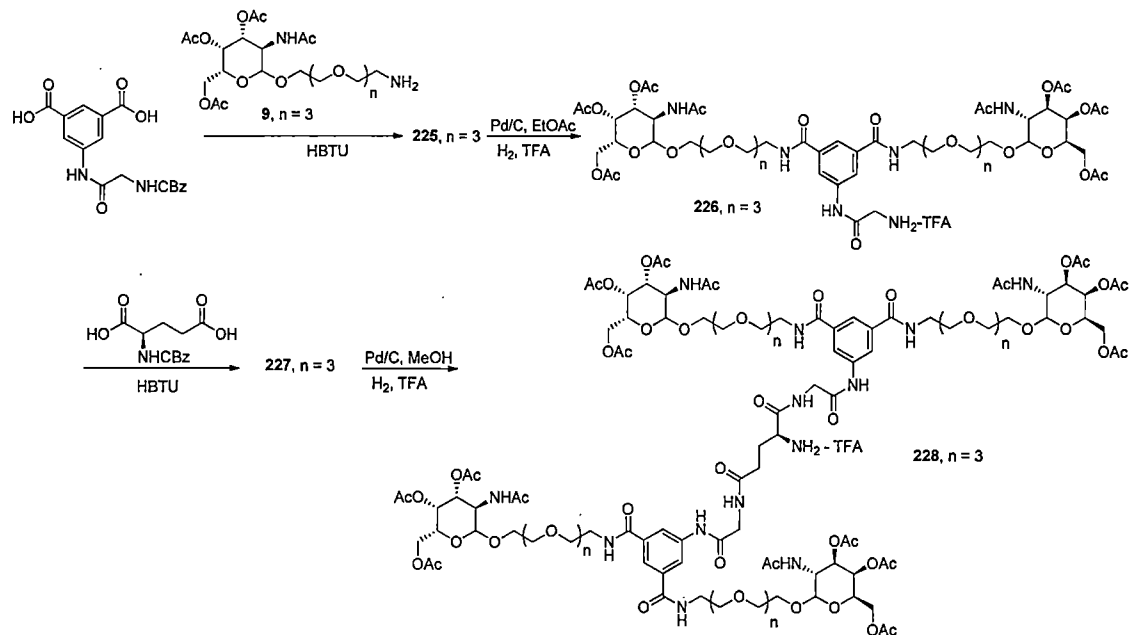


### 步驟 1. 製備化合物 224

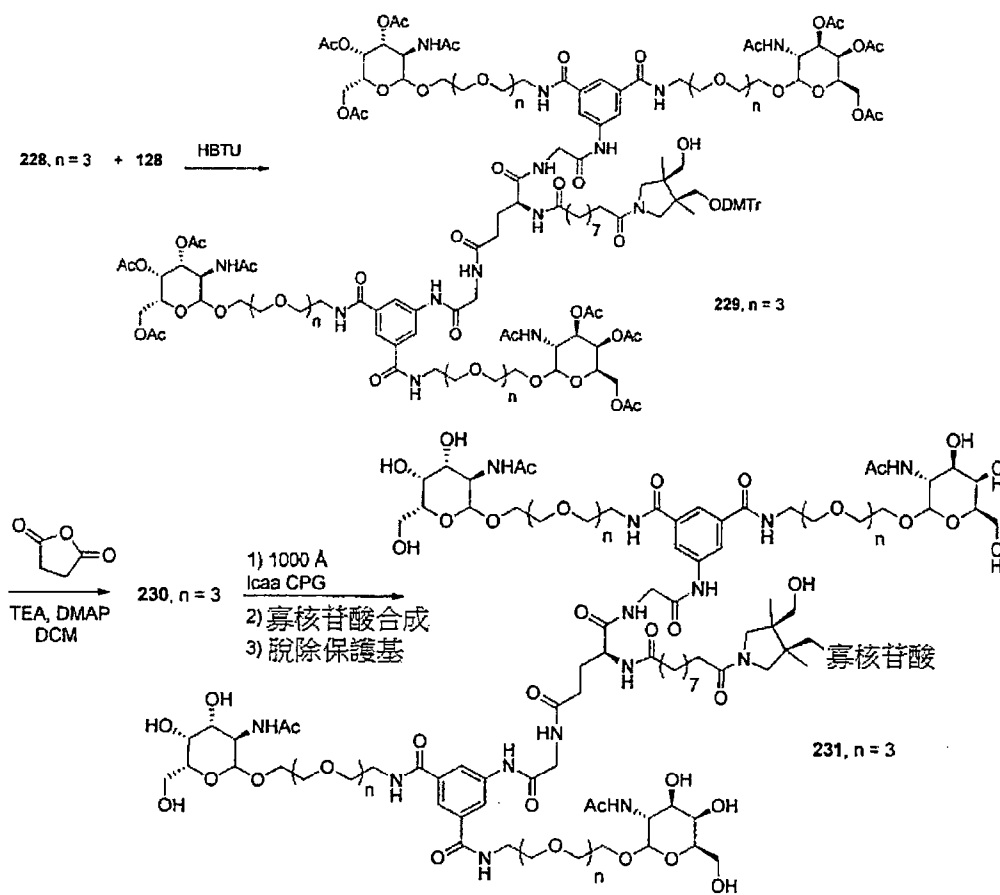
【0378】 結合物 224 係使用與用於化合物 1 之程序一致的程序，自化合物 96 及 130 製備。

### 實例 22 合成結合物 231

### 流程 46



### 流程 47



### 步驟 1 製備化合物 225

【0379】 化合物 225 係使用與用於 89 之程序一致的程序，自 5-(2-胺基乙醯胺基)間苯二甲酸 106 (560 mg, 1.5 mmol) 及 9 (2.24 g, 3.6 mmol) 製備。產率 1.6 g, 80%。

### 步驟 2 製備化合物 226

【0380】 化合物 226 以與 14 相同之方式製備。產率 1.22 g, 78%。

### 步驟 3 製備化合物 227

【0381】 化合物 227 以與 89 相同之方式，自 Z-麩胺酸 (108 mg, 0.38 mmol) 及 226 (1.22 g, 0.92 mmol) 製備。產率 471 mg, 45%。

### 步驟 4 製備化合物 228

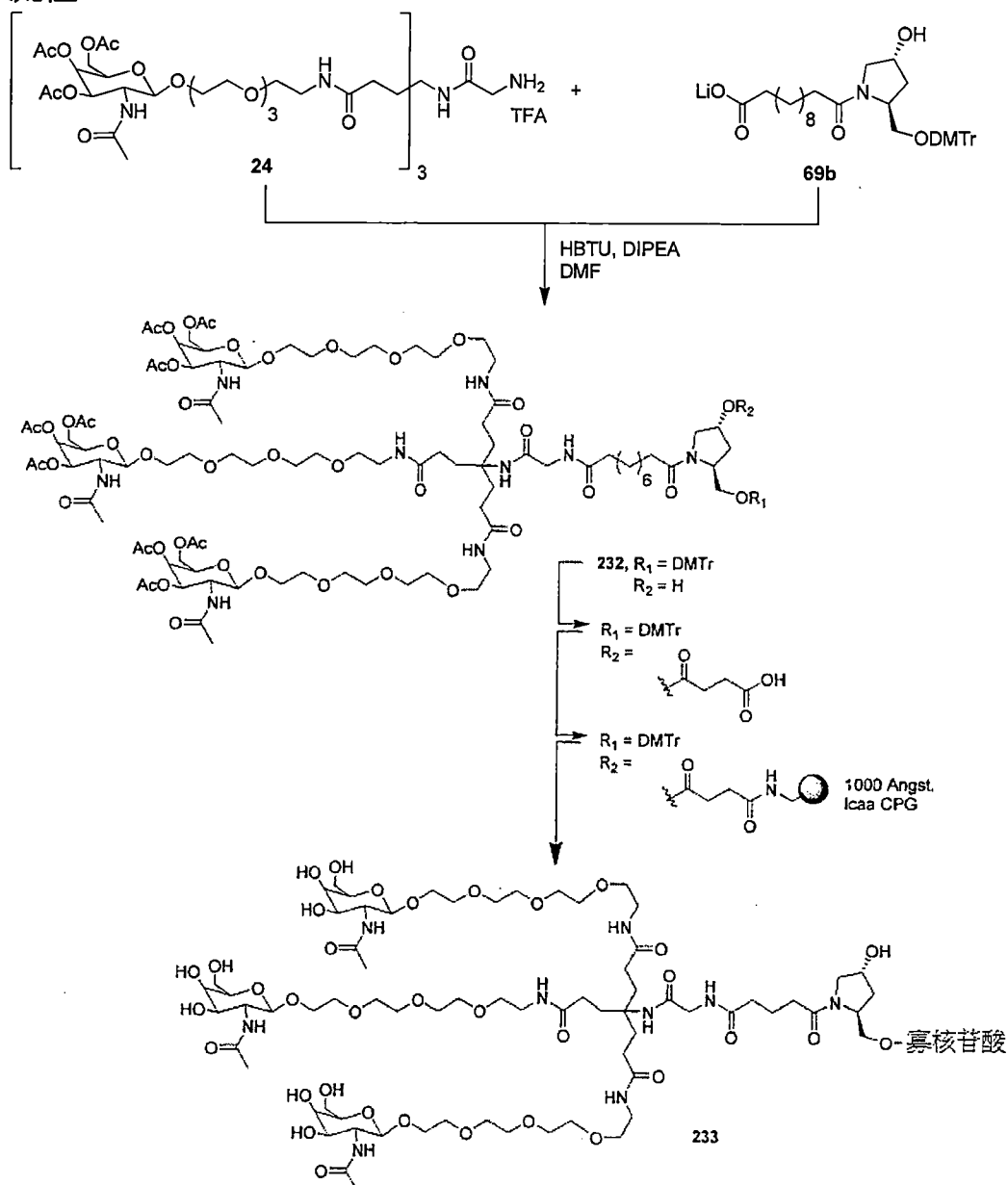
【0382】 化合物 228 以與 14 相同之方式製備。產率 460 mg, 定量。

### 步驟 5 製備化合物 229

【0383】 化合物 229 係以與 89 相同之方式製備，自 228 (460 mg, 0.17 mmol) 及 128 (125 mg, 0.19 mmol) 製備。產率 365 mg, 66%。

【0384】 結合物 231 係使用與用於化合物 1 之程序一致的程序製備。

## 流程 48

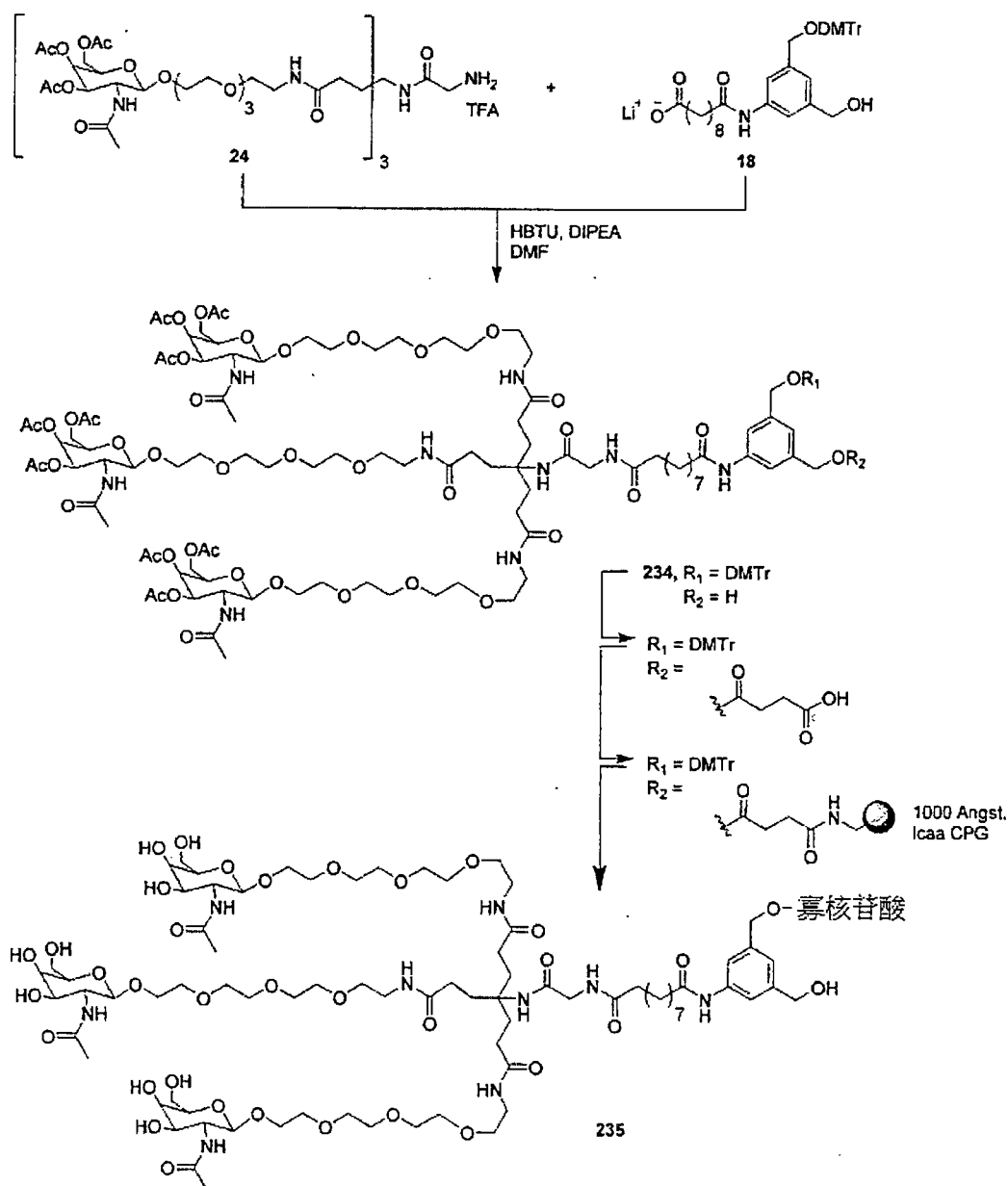


【0385】 化合物 **232** 係使用與用於化合物 **19** 之程序一致的程序，自化合物 **24** (650 mg, 0.33 mmol) 及化合物 **69b** (175 mg, 0.33 mmol) 製備。產率：380 mg, 47%。

### 步驟 2. 製備化合物 233

### 實例 24. 合成結合物 235

## 流程 49



### 步驟 1. 製備化合物 234

【0387】 化合物 **234** 係使用與用於化合物 **19** 之程序一致的程序，自化合物 **24** (1.1 g, 0.55 mmol) 及化合物 **18** (175 mg, 0.33 mmol) 製備。產率：685 mg, 51%。

### 步驟 2. 製備化合物 235

【0388】 化合物 **235** 係使用與用於化合物 **1** 之程序一致之程序，自化合物 **234** 製備。

#### 實例 25. GalNAc-siTTR 結合物之活體外與活體內評估

GalNAc-siTTR 結合物之水合：

【0389】 具有化合物 **1** 之結構的 GalNAc-siTTR 結合物採用如下寡核苷酸與 siRNA 序列，以 5' 至 3' 書寫。有義鏈：A\*a\*CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(GalNAc) (SEQ ID NO: 31)。反義鏈：u\*U\*aUaGaGcAagaAcAcUgUu\*u\*u (SEQ ID NO: 32)。其中加劃線之大寫字母為 2'-O 甲基糖修飾，且小寫字母為 2'-氟糖修飾。星號(\*)表示硫代磷酸酯(PS)鍵。在用於研究之前，結合物在 PBS 中水合，且使用 NanoDrop 儀器進行 A260 量測來定量。

GalNAc-siTTR 結合物之活體內比較：

【0390】 使用標準程序，自 C57 Bl/6 雌性小鼠分離初級肝細胞。一旦分離，肝細胞於含有 10% FBS 之 Williams 培養基 E (WME) 中以  $2.75 \times 10^4$  個細胞/孔塗鋪於 96 孔 Primaria 盤上。4 小時後且對於剩餘實驗部分，培養基轉換成無 FBS 之 WME。第二天，將 90  $\mu$ L 新鮮 WME 施用於細胞。siRNA 結合物儲備液在 PBS 中製備，濃度為 100  $\mu$ g/mL。在 WME 中連續稀釋(1:2) (50  $\mu$ L 結合物稀釋液 + 50  $\mu$ L WME)。接著 10  $\mu$ L 各結合物稀釋液一式三份轉移至 Primaria 盤，使得在肝細胞上結合物之最終濃度為 5、2.5、1.25、0.625、0.312、0.156 及 0.078  $\mu$ g/mL。PBS 於 WME 中之連續稀釋液充當陰性對照。將細胞在 37°C 及 5% CO<sub>2</sub> 下培育 24 小時。接著移除轉染培養基且藉由添加 200  $\mu$ L 1xLWR (含有 0.5 mg/mL 蛋白酶 K)，使細胞溶解。將盤冷凍-解凍(60 min 循環，-80°C/52°C)，以幫助細胞溶解。接著使用 QuantiGene 2.0 分析法，根據製造商之說明書，分析所得溶解產物之小鼠 TTR 與 GAPD mRNA 含量。測定相對於 GAPD mRNA 標準化的 TTR mRNA 之相對濃度，且繪圖。用結合物處理之細胞展現標靶 mRNA 顯著敲減。

GalNAc-siTTR 結合物之活體外比較：

【0391】 磁性 C57BL/6 小鼠(n = 4)用 PBS 或 GalNAc-siTTR 結合物(分別在 PBS 中稀釋至 0.1 mg/mL 或 0.2 mg/mL，使得動物接受 1 mg/kg 或 2

mg/kg 劑量之結合物)皮下(肩胛區)處理。在第 2 天、第 4 天、第 5 天、第 7 天、第 8 天、第 9 天、第 11 天、第 14 天、第 21 天(割尾)及第 28 天(終末)收集血液且藉由 ELISA 分析所得血漿之 TTR 蛋白。將相對於 PBS 對照之 TTR 血漿蛋白值列表(表 1 及 2；參見圖 7 及 8)。用結合物處理之細胞展現標靶 mRNA 及蛋白質顯著敲減。

**【符號說明】**

無

【補充序列表】

<110> 帕提瓦生物療法股份有限公司

<120> 靶向組合物

<130> 08155.056TW1

<140> 106112079

<141> 2017-04-11

<150> 62/438,310

<151> 2016-12-22

<150> 62/417,156

<151> 2016-11-03

<150> 62/321,034

<151> 2016-04-11

<160> 32

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 1

agguauguug cccguuuguu u

21

<210> 2

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 2  
acaaacgggc aacauaccuu u 21

<210> 3  
<211> 21  
<212> RNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 3  
gcucaguuua cuagugccau u 21

<210> 4  
<211> 21  
<212> RNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 4  
uggcacuagu aaacugagcu u 21

<210> 5  
<211> 21  
<212> RNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 5  
ccgugugcac uucgcuucau u 21

<210> 6  
<211> 21  
<212> RNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 6  
ugaagcgaag ugcacacggu u 21

<210> 7  
<211> 21  
<212> RNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 7  
gcucaguua cuagugccau u 21

<210> 8  
<211> 21  
<212> RNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 8  
uggcacuagu aaacugagcu u 21

<210> 9  
<211> 21  
<212> RNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 9  
ccgugugcac uucguucau u 21

<210> 10  
<211> 21  
<212> RNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 10  
ugaagcgaag ugcacacggu u 21

<210> 11  
<211> 21  
<212> RNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 11  
cuggcucagu uuacuagugu u 21

<210> 12  
<211> 21  
<212> RNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 12  
cacuaguaaa cugagccagu u 21

<210> 13  
<211> 21  
<212> RNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 13  
ccgugugcac uucgcuucau u 21

<210> 14  
<211> 21  
<212> RNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 14  
ugaagcgaag ugcacacggu u 21

<210> 15  
<211> 21  
<212> RNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 15  
gcucaguuua cuagugccau u 21

<210> 16  
<211> 21  
<212> RNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 16  
uggcacuagu aaacugagcu u 21

<210> 17  
<211> 21  
<212> RNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 17  
agguauguug cccguuuguu u 21

<210> 18  
<211> 21  
<212> RNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 18  
acaaacgggc aacauaccuu u 21

<210> 19  
<211> 21  
<212> RNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 19  
gccgauccau acugcggaau u 21

<210> 20  
<211> 21  
<212> RNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 20  
uuccgcagua uggaucggcu u 21

<210> 21  
<211> 21  
<212> RNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 21  
gccgauccau acugcggaau u 21

<210> 22  
<211> 21  
<212> RNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 22  
uuccgcagua uggaucggcu u 21

<210> 23  
<211> 21  
<212> RNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 23  
gccgauccau acugcggaau u 21

<210> 24  
<211> 21  
<212> RNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 24  
uuccgcagua uggaucggcu u 21

<210> 25  
<211> 21  
<212> RNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 25  
gccgauccau acugcggaau u 21

<210> 26  
<211> 21  
<212> RNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 26  
uuccgcagua uggaucggcu u 21

<210> 27  
<211> 21  
<212> RNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 27  
gcucaguuuu cuagugccau u 21

<210> 28  
<211> 21  
<212> RNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 28  
uggcacuagu aaacugagcu u 21

<210> 29  
<211> 21  
<212> RNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 29  
cuggcucagu uuacuagugu u 21

<210> 30  
<211> 21  
<212> RNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 30  
cacuaguaaa cugagccagu u 21

<210> 31  
<211> 21  
<212> RNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

<400> 31  
aacaguguuc uugcucuaua a 21

<210> 32

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成寡核苷酸

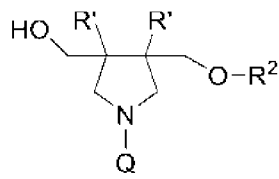
<400> 32

uuauagagca agaacacugu uuu

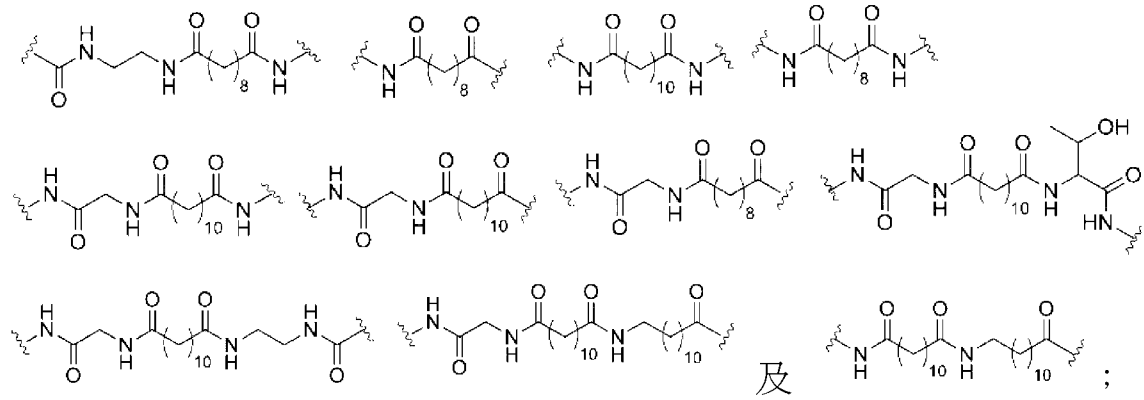
23

申請專利範圍

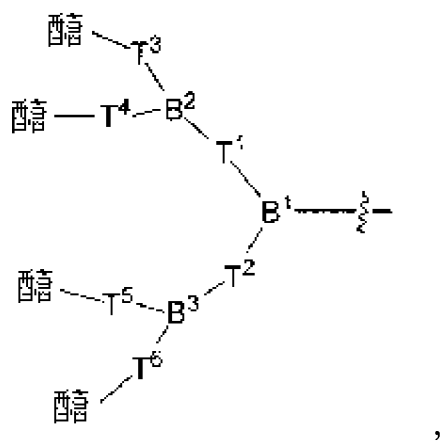
1. 一種具下式之化合物或其鹽，



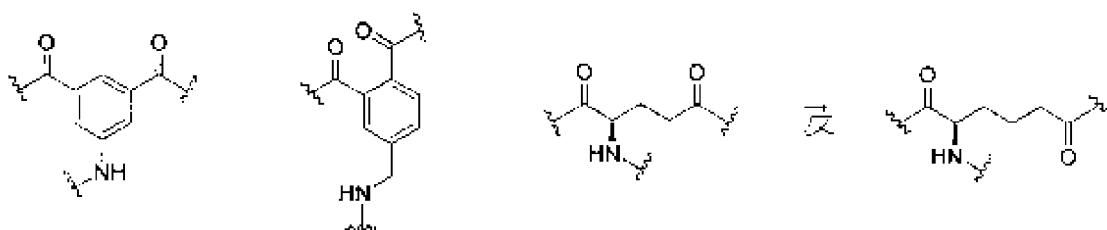
其中 Q 為-L<sup>1</sup>-R<sup>1</sup>；  
L<sup>1</sup> 為二價、有分支或未分支、飽和或不飽和烴鏈，其具有 1 至 14 個碳原子，其中該烴鏈中之該等碳原子中的一或多個視情況經-NR<sup>X</sup>-C(=O)-或-C(=O)-NR<sup>X</sup>-置換，且其中 R<sup>X</sup> 為氫或(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基，且其中該烴鏈視情況經側氧基(=O)取代；或 L<sup>1</sup> 係選自由以下組成之群：



R<sup>1</sup> 具有下式：

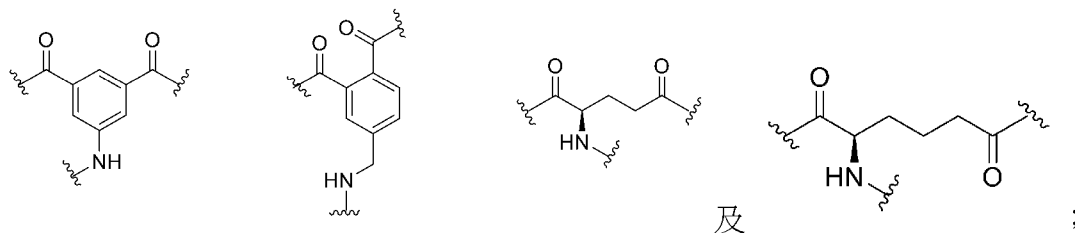


其中：  
B<sup>1</sup> 為 CH；  
B<sup>2</sup> 係選自由以下組成之群：



;

B<sup>3</sup> 係選自由以下組成之群：

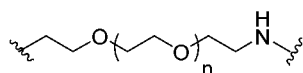


;

T<sup>1</sup> 為有分支或未分支、飽和或不飽和烴鏈，其具有 1 至 20 個碳原子，其中該烴鏈中之該等碳原子中的一或多個視情況經-NR<sup>x</sup>-C(=O)-或-C(=O)-NR<sup>x</sup>-置換，且其中 R<sup>x</sup> 為氫或(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基，且其中該烴鏈視情況經側氧基(=O)取代，其係共價鍵結至 B<sup>1</sup>；

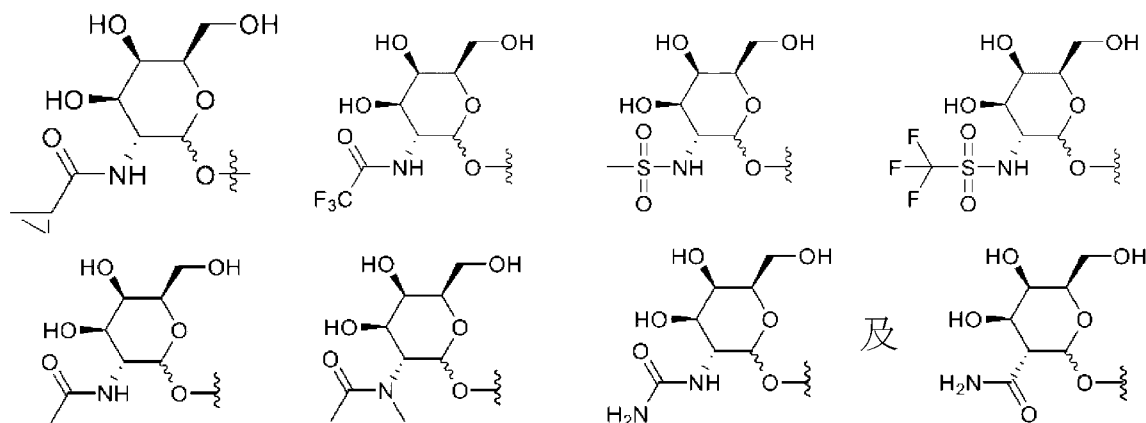
T<sup>2</sup> 為有分支或未分支、飽和或不飽和烴鏈，其具有 1 至 20 個碳原子，其中該烴鏈中之該等碳原子中的一或多個視情況經-NR<sup>x</sup>-C(=O)-或-C(=O)-NR<sup>x</sup>-置換，且其中 R<sup>x</sup> 為氫或(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基，且其中該烴鏈視情況經側氧基(=O)取代，其係共價鍵結至 B<sup>1</sup>；

T<sup>3</sup>、T<sup>4</sup>、T<sup>5</sup> 及 T<sup>6</sup> 各獨立地選自由以下組成之群：



n = 1、2 或 3；

各醣獨立地選自由以下組成之群：

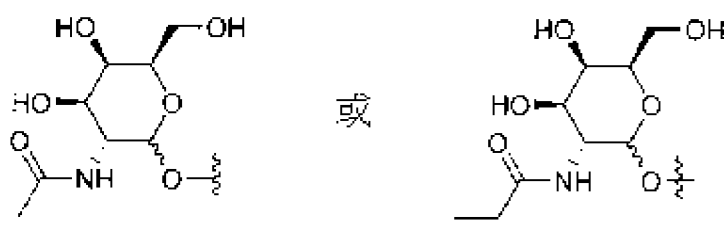


;

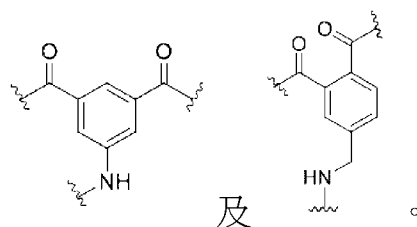
$R^2$  為 siRNA 取代基；且

$R^1$  為  $C_{1-9}$  烷基、 $C_{2-9}$  烯基或  $C_{2-9}$  炔基；其中該  $C_{1-9}$  烷基、 $C_{2-9}$  烯基或  $C_{2-9}$  炔基視情況經鹵基或羥基取代。

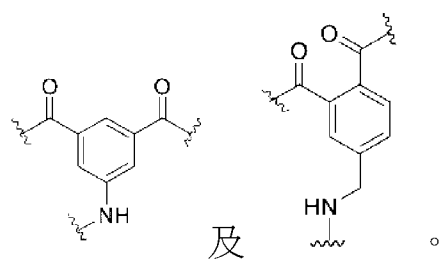
2. 如請求項 1 之化合物或其鹽，其中  $L^1$  經由 -NH-、-O-、-S-、-(C=O)-、-(C=O)-NH-、-NH-(C=O)、-(C=O)-O-、-NH-(C=O)-NH- 或 -NH-(SO<sub>2</sub>)- 連接至  $R^1$ 。
3. 如請求項 1 之化合物或其鹽，其中各醣獨立地為：



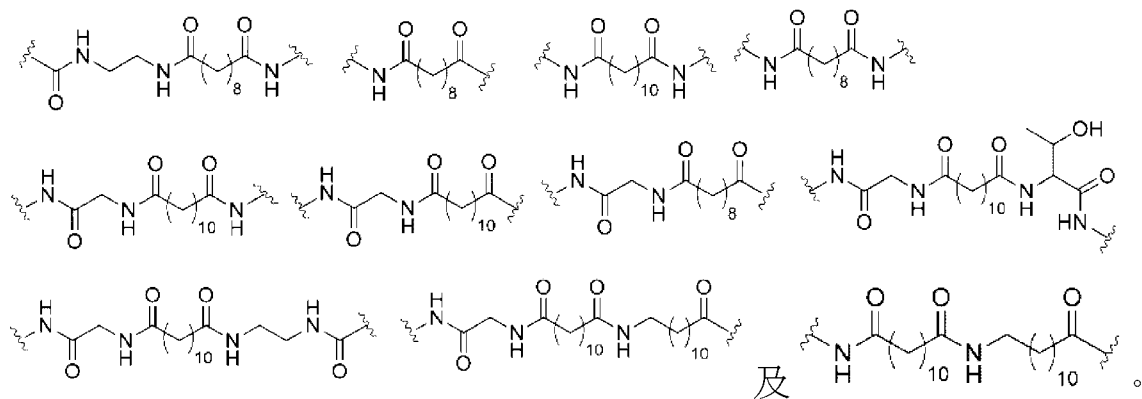
4. 一種醫藥組合物，其包含如請求項 1 之化合物或其鹽，及醫藥學上可接受之載劑。
5. 一種如請求項 1 之化合物或其鹽之用途，其係用於製備將 siRNA 遞送至有需要之動物肝臟之醫藥品。
6. 如請求項 1 之化合物或其鹽，其中  $n=1$ 。
7. 如請求項 1 之化合物或其鹽，其中  $n=2$ 。
8. 如請求項 1 之化合物或其鹽，其中  $n=3$ 。
9. 如請求項 1 之化合物或其鹽，其中  $B^2$  係選自由以下組成之群：



10. 如請求項 1 之化合物或其鹽，其中  $B^3$  係選自由以下組成之群：



11. 如請求項 1 之化合物或其鹽，其中  $L^1$  係選自由以下組成之群：



The chemical structure shows a complex dendritic molecule. It features three acetyl-protected sugar units (likely mannose or glucose derivatives) at the periphery, each linked via a poly(ethylene glycol) (PEG) chain to a central core. The central core contains a long alkyl chain ending in a DMT (dimethyltetrahydropyran) group, and a variable group  $X^d$ . Below the main structure, two definitions for  $X^d$  are provided:

- $X^d = \text{NH}$
- $X^d = \text{N}(\text{CH}_3)_2$

圖 1

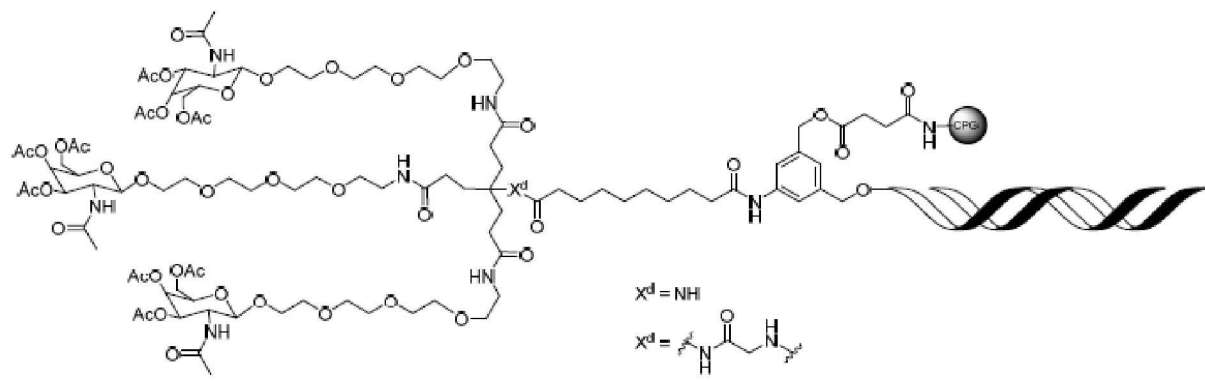


圖 2



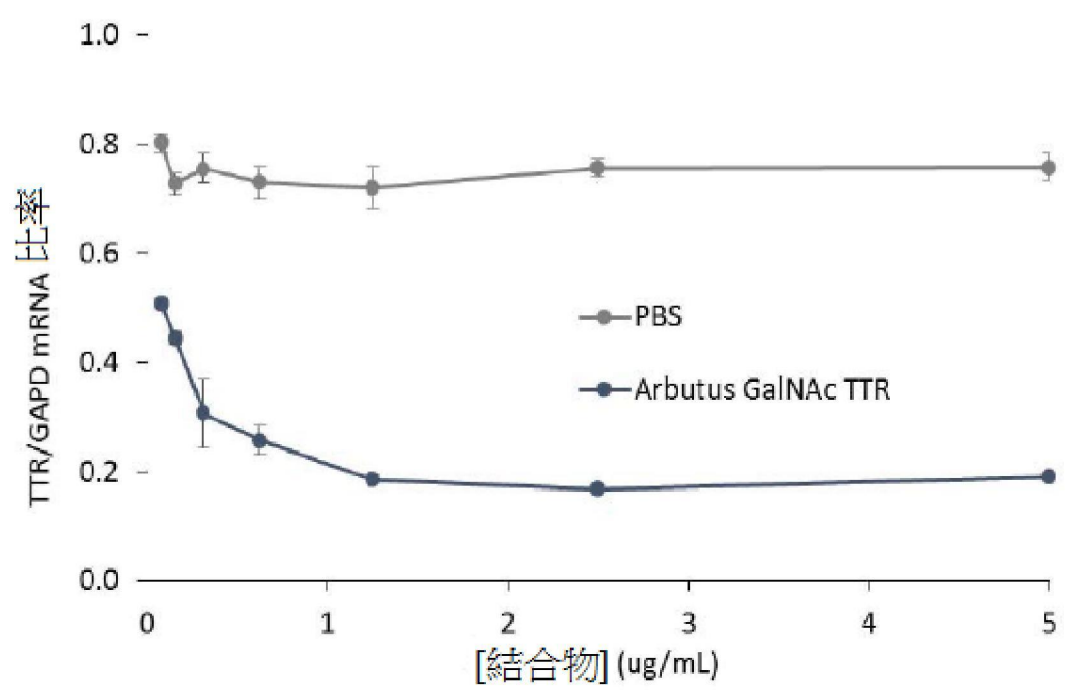


圖 4

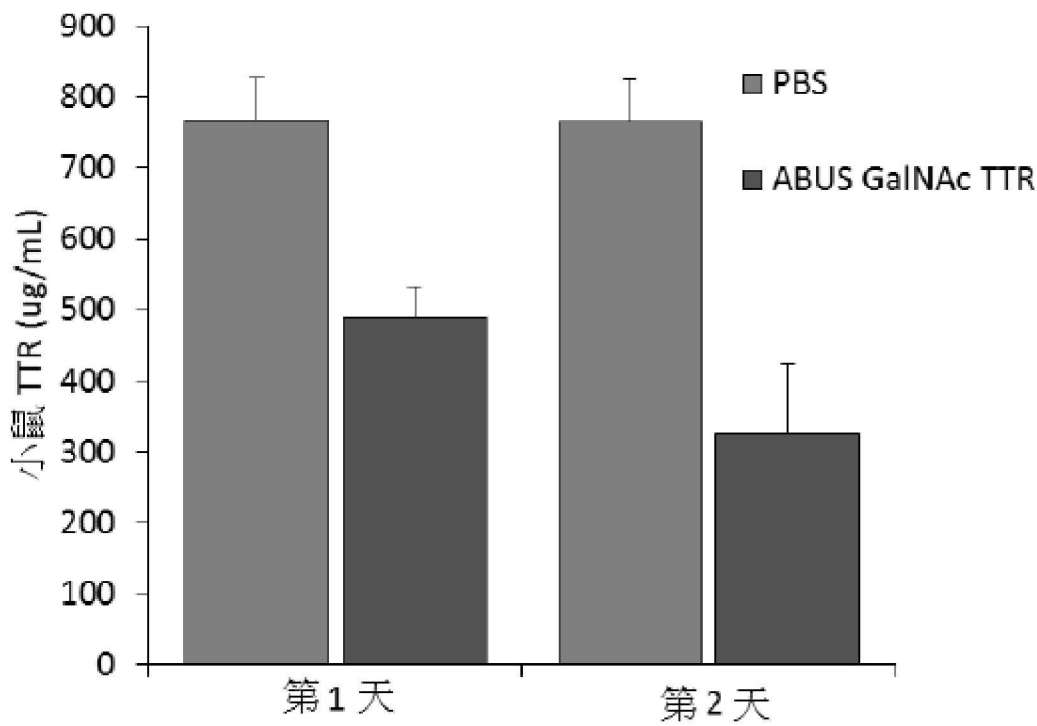


圖 5

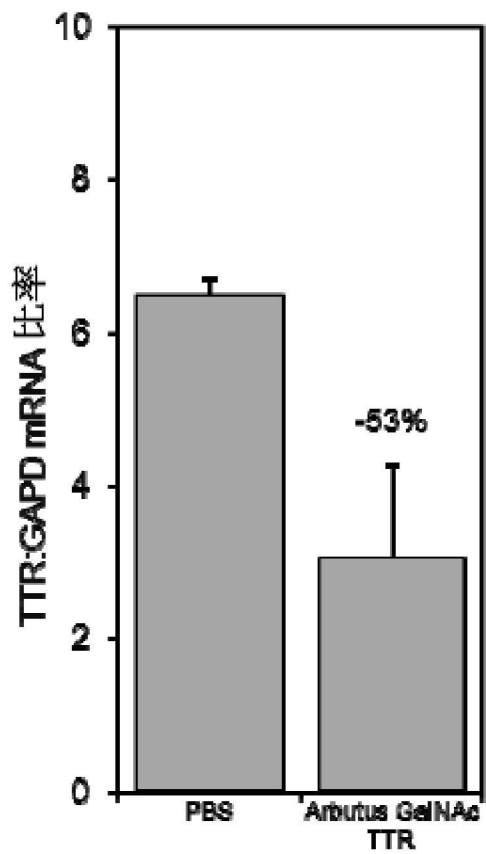


圖 6

| 結合物編號 | 第2天   | 第4天   | 第5天  | 第7天   | 第8天  | 第9天  | 第11天  | 第14天  | 第21天  | 第28天  |
|-------|-------|-------|------|-------|------|------|-------|-------|-------|-------|
| 1     | 37.7  | 37.2  | ND   | 45.6  | ND   | ND   | 55.0  | 75.4  | 76.5  | ND    |
| 34    | 58.1  | 56.5  | ND   | 84.5  | ND   | ND   | 90.2  | ND    | ND    | ND    |
| 36    | 55.1  | 54.1  | ND   | 69.9  | ND   | ND   | 97.8  | 104.3 | 95.6  | ND    |
| 42    | 100.9 | 112.8 | ND   | 119.1 | ND   | ND   | 118.8 | ND    | ND    | ND    |
| 43    | 63.3  | 68.5  | ND   | 83.8  | ND   | ND   | 98.4  | 94.8  | 112.8 | ND    |
| 142   | 61.6  | ND    | 65.1 | 64.9  | ND   | 73.5 | ND    | 88.6  | 99.3  | ND    |
| 145   | 34.1  | ND    | 16.9 | 19.8  | ND   | 25.2 | ND    | 45.1  | 74.3  | ND    |
| 153   | 42.0  | ND    | 26.3 | 25.3  | ND   | 31.2 | ND    | 50.3  | 70.7  | ND    |
| 158   | 43.4  | ND    | 41.6 | 53.5  | 50.1 | ND   | ND    | 82.6  | 103.2 | ND    |
| 168   | 56.6  | ND    | 50.7 | 63.8  | 60.0 | ND   | ND    | 92.7  | 104.9 | ND    |
| 173   | 48.5  | ND    | 56.9 | 55.4  | 56.6 | ND   | ND    | 87.4  | 84.2  | ND    |
| 176   | 29.6  | ND    | 12.3 | 14.5  | ND   | 20.5 | ND    | ND    | ND    | ND    |
| 179   | 56.9  | 63.9  | ND   | 72.9  | ND   | ND   | 75.1  | ND    | 91.3  | 100.9 |
| 182   | 61.8  | ND    | 57.2 | 64.9  | ND   | 65.4 | ND    | 89.0  | 100.1 | ND    |
| 185   | 64.1  | ND    | 67.7 | 67.7  | ND   | 68.9 | ND    | 89.6  | 83.3  | ND    |
| 191   | 35.8  | ND    | ND   | 26.4  | ND   | 32.0 | ND    | 44.9  | 73.1  | ND    |
| 194   | 40.6  | ND    | 17.6 | 18.6  | ND   | 20.3 | ND    | ND    | ND    | ND    |
| 197   | 41.6  | ND    | 24.4 | 27.1  | ND   | 31.9 | ND    | ND    | ND    | ND    |
| 200   | 41.5  | ND    | 24.4 | 31.0  | ND   | 33.5 | ND    | ND    | ND    | ND    |
| 203   | 53.6  | ND    | 34.1 | 46.0  | ND   | 47.3 | ND    | ND    | ND    | ND    |
| 206   | 41.6  | ND    | 41.7 | 50.8  | ND   | 50.9 | ND    | 67.8  | 84.3  | ND    |
| 212   | 44.6  | ND    | 23.3 | 29.7  | ND   | 28.2 | ND    | ND    | ND    | ND    |
| 215   | 42.1  | ND    | 22.3 | 27.7  | ND   | 29.5 | ND    | ND    | ND    | ND    |
| 231   | 42.9  | ND    | ND   | 37.6  | ND   | 46.5 | ND    | 53.0  | 76.1  | ND    |

圖 7

| 結合物編號 | 第2天   | 第4天   | 第5天  | 第7天   | 第8天  | 第9天  | 第11天  | 第14天 | 第21天 | 第28天  |
|-------|-------|-------|------|-------|------|------|-------|------|------|-------|
| 1     | 21.2  | 13.9  | ND   | 24.5  | ND   | ND   | 36.5  | 54.3 | 71.5 | ND    |
| 34    | 48.9  | 45.3  | ND   | 59.2  | ND   | ND   | 87.9  | ND   | ND   | ND    |
| 36    | 34.4  | 33.3  | ND   | 40.2  | ND   | ND   | 66.4  | 78.0 | 84.4 | ND    |
| 42    | 103.9 | 106.5 | ND   | 131.6 | ND   | ND   | 130.9 | ND   | ND   | ND    |
| 43    | 31.6  | 32.2  | ND   | 40.6  | ND   | ND   | 65.3  | 69.6 | 98.3 | ND    |
| 142   | 41.1  | ND    | 39.1 | 43.0  | ND   | 53.3 | ND    | 84.5 | 95.6 | ND    |
| 145   | 13.5  | ND    | 4.7  | 5.7   | ND   | 6.2  | ND    | 14.7 | 42.2 | ND    |
| 153   | 22.5  | ND    | 8.7  | 8.7   | ND   | 11.1 | ND    | 23.2 | 46.8 | ND    |
| 158   | 29.1  | ND    | 21.4 | 27.5  | 27.8 | ND   | ND    | 56.5 | 79.4 | ND    |
| 168   | 32.4  | ND    | 22.6 | 33.6  | 28.7 | ND   | ND    | 56.3 | 83.7 | ND    |
| 173   | 28.7  | ND    | 22.6 | 23.5  | 22.8 | ND   | ND    | 54.8 | 82.2 | ND    |
| 176   | 17.0  | ND    | 4.4  | 5.3   | ND   | 6.2  | ND    | ND   | ND   | ND    |
| 179   | 48.0  | 34.9  | ND   | 39.7  | ND   | ND   | 58.9  | ND   | 89.1 | 101.6 |
| 182   | 40.4  | ND    | 36.7 | 38.5  | ND   | 47.7 | ND    | 64.9 | 87.7 | ND    |
| 185   | 38.4  | ND    | 46.3 | 51.1  | ND   | 52.1 | ND    | 69.4 | 85.8 | 90.5  |
| 191   | 19.2  | ND    | ND   | 10.2  | ND   | 11.8 | ND    | 21.4 | 45.3 | ND    |
| 194   | 20.3  | ND    | 5.9  | 6.5   | ND   | 6.2  | ND    | ND   | ND   | ND    |
| 197   | 24.6  | ND    | 9.3  | 8.6   | ND   | 10.1 | ND    | ND   | ND   | ND    |
| 200   | 31.6  | ND    | 10.9 | 14.2  | ND   | 12.6 | ND    | ND   | ND   | ND    |
| 203   | 28.7  | ND    | 17.6 | 21.3  | ND   | 26.3 | ND    | ND   | ND   | ND    |
| 206   | 24.0  | ND    | 21.3 | 19.0  | ND   | 21.1 | ND    | 45.1 | 65.2 | 90.6  |
| 212   | 30.5  | ND    | 10.4 | 10.8  | ND   | 11.0 | ND    | ND   | ND   | ND    |
| 215   | 24.2  | ND    | 9.5  | 10.9  | ND   | 10.4 | ND    | ND   | ND   | ND    |

圖 8