

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項 ☐ 第一款或 ☐ 第二款規定之事實，其事實發生日期為：。

☒ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

☒ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 美國、 2006/12/28、 60/882,461
2. 美國、 2007/11/30、 60/991,300

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

☐ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

☐ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

發明領域

- 本發明提供附接至藥物及配體且可於活體內裂解之鏈
 5 接劑及可裂解基質。該等鏈接劑及可裂解基質可用於形成
 本發明之胞毒素之前藥及綴合物，以及其它診斷部分及治
 療部分。

【先前技術】

發明背景

- 10 多種治療劑特別為可有效用於癌症化學治療之治療劑
 於活體內經常具有急性毒性，特別為骨髓毒性及黏膜毒性
 以及具有慢性心臟毒性及神經毒性。如此高毒性限制其用
 途。發展出更為安全更特異性之治療劑，特別抗腫瘤劑，
 為對抗腫瘤細胞有較高功效以及此等產物之不良效應(毒
 15 性、摧毀非腫瘤細胞等)數目的減少及嚴重度的減輕所需。
 若干既有治療劑之另一項困難為其於血漿中之安定性並非
 最佳。添加官能基來穩定化此等化合物，導致活性的顯著
 降低。如此期望識別可穩定化合物同時維持可接受的治療
 活性水平之方式。
- 20 數十年來積極從事研究更加具有選擇性之胞毒劑，限
 制劑量的毒性(亦即胞毒素對正常組織產生非期望的活性)
 乃癌症治療失敗的重大起因之一。舉例言之，CC-1065及路
 卡黴素類(duocarmycins)已知為極為強力的胞毒素。

CC-1065首度係於1981年由普強公司(Upjohn Company)

分離自捷倫鏈絲菌(*Streptomyces zelensis*) (Hanka等人, *J. Antibiot.* 31:1211 (1978); Martin等人, *J. Antibiot.* 33:902 (1980); Martin等人, *J. Antibiot.* 34:1119 (1981), 發現於活體內及於實驗動物皆有強力抗腫瘤活性及抗微生物活性(Li
 5 等人, *癌症研究* 42:999 (1982))。CC-1065結合至小溝內之雙股B-DNA (Swenson等人, *癌症研究* 42:2821 (1982)), 序列偏好為5'-d (A/GNTTA)-3'及5'-d (AAAAA)-3', 且藉存在於分子之CPI左單元來烷化3'-腺嘌呤之N3位置(Hurley等人, *科學* 226:843 (1984))。儘管CC-1065具有強力廣效之抗
 10 癌活性, 但因CC-1065造成實驗動物之延遲死亡, 故無法用於人類。

多種CC-1065及路卡黴素之類似物及衍生物為技藝界所已知。曾經綜論有關其中多種化合物之結構式、合成及性質之研究。例如參考Boger等人, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 35:1438 (1996); 及Boger等人, *Chem. Rev.* 97:787
 15 (1997)。

於京和製箱工業公司(Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.)之一個小組製備多種CC-1065衍生物。例如參考美國專利案5,101,038; 5,641,780; 5,187,186; 5,070,092; 5,703,080;
 20 5,070,092; 5,641,780; 5,101,038; 及5,084,468; 及PCT公告申請案WO 96/10405及歐洲公告申請案0 537 575 A1。

普強公司(法瑪西亞普強(Pharmacia Upjohn))積極製備CC-1065之衍生物。例如參考美國專利案5,739,350; 4,978,757; 5,332,837; 及4,912,227。

研究焦點集中於發展成前藥形式之新穎治療劑，前藥形式為可於活體內經由其結構式之某種化學修改或酶修改而被轉成藥物(活性治療化合物)之化合物。用於降低毒性目的，此項轉化較佳係侷限於作用部位或標靶組織部位，而非循環系統或非標靶組織。但即使前藥也有問題，例如由於存在有酶而於前藥達到病人體內期望的作用部位之前分解前藥或活化前藥，導致於血液中及血清中之安定性低。

必治妥梅爾施貴寶公司(Bristol-Myers Squibb)說明特定溶小體酶可裂解之抗腫瘤藥物綴合物。例如參考美國專利案6,214,345。此專利案提供胺基苄氧羰基。

西雅圖基因公司(Seattle Genetics)具有公告之申請案美國專利申請案 2003/0096743 及美國專利申請案 2003/0130189，說明於藥物遞送劑中之對胺基苄基醚類。此等申請案所述之鏈接劑係限於胺基苄基醚組成物。

其它基團也被描述為鏈接劑。例如參考de Groot等人，J. Med. Chem. 42, 5277 (1999); de Groot等人，J. Org. Chem. 43, 3093 (2000); de Groot等人，J. Med. Chem. 66, 8815 (2001); WO 02/083180; Carl等人，J. Med. Chem. Lett. 24, 479 (1981); Dubowchik等人，Bioorg & Med. Chem. Lett. 8, 3347 (1998)。此等鏈接劑包括胺基苄基醚間隔劑、延長電子串級及環化間隔劑系統、環化消除間隔劑諸如w-胺基胺基羰基及對胺基苄氧羰基鏈接劑。

胞毒素藥物之安定性，包括活體內安定性仍屬有待解決之重大議題。此外，多種化合物之毒性讓其變成較為無

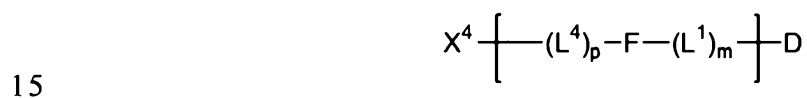
用，故須可降低藥物毒性之組成物，諸如形成可裂解之前藥。因此儘管有技藝界之進展，仍然需要發展用於哺乳動物特別為人類之治療用之改良治療劑，更特別為具有高作用專一性、低毒性、及比較具有類似結構式之已知化合物改良之血中安定性之更加特異性胞毒素。本發明可滿足此等需求。

【發明內容】

發明概要

本發明係關於藥物-配體綴合物，此處該藥物及該配體係透過胜肽基鏈接劑或其它鏈接劑來鏈接，以及關於藥物-酶可裂解基質綴合物。此等綴合物為強力胞毒素，可以活性形式被選擇性遞送至感興趣之作用部位，然後裂解來釋放活性藥物。

一個實施例為一種下式化合物



其中

L^1 為自我犧牲性鏈接劑；

m 為整數 0、1、2、3、4、5 或 6；

F 為包含如下結構式之鏈接劑：

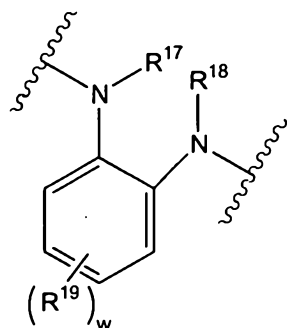


其中

AA¹為分別選自於由天然胺基酸及非天然 α -胺基酸所組成之組群之一個或多個成員；

c為1至20之整數；

L²為自我犧牲性鏈接劑且包含



5

其中各個R¹⁷、R¹⁸及R¹⁹分別係選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、及經取代或未經取代之芳基，

及w為0至4之整數；

10

o為1；

L⁴為一鏈接劑成員；

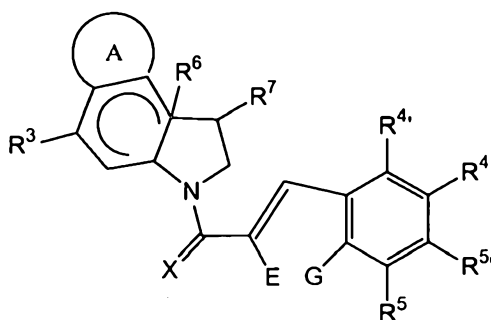
p為0或1；

X⁴為選自於經保護之反應性官能基、未經保護之反應性官能基、可檢測標記、及靶定劑所組成之組群中之一員；

15

以及

D包含結構式：



其中環系A為選自於經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、及經取代或未經取代之雜環烷基中之一員；

5 E及G為分別選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、雜原子、單鍵中之一員，或E與G接合來形成選自於經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基及經取代或未經取代之雜環烷基中之一員；

X為選自於O、S及NR²³中之一員；

10 R²³為選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基及醯基中之一員；

R³為OR¹¹，

其中R¹¹為選自於由H、經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之雜烷基、未經取代之雜烷基、一磷酸酯類、
15 二磷酸酯類、三磷酸酯類、磺酸酯類、醯基、C(O)R¹²R¹³、C(O)OR¹²、C(O)NR¹²R¹³、P(O)(OR¹²)₂、C(O)CHR¹²R¹³、SR¹²及SiR¹²R¹³R¹⁴所組成之組群中之一員，

其中R¹²、R¹³及R¹⁴為分別選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、及經取代或未經取代之芳基中之一員，其中R¹²及R¹³與其附接之氮原子或碳原子
20 共同視需要可接合來形成有4員至6員且視需要含有兩個或多個雜原子之一經取代或未經取代之雜環烷基環系；

R⁴、R^{4'}、R⁵、及R^{5'}為分別選自於由H、經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之芳基、未經取代之芳基、經取

- 代之雜芳基、未經取代之雜芳基、經取代之雜環烷基、未經取代之雜環烷基、鹵素、 NO_2 、 $\text{NR}^{15}\text{R}^{16}$ 、 $\text{NC(O)}\text{R}^{15}$ 、 $\text{OC(O)}\text{NR}^{15}\text{R}^{16}$ 、 $\text{OC(O)}\text{OR}^{15}$ 、 $\text{C(O)}\text{R}^{15}$ 、 SR^{15} 、 OR^{15} 、 $\text{CR}^{15}=\text{NR}^{16}$ 、及 $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 所組成之組群之一員，或任何相鄰成對之 R^4 、 $\text{R}^{4'}$ 、 R^5 、及 $\text{R}^{5'}$ 連同其附接之碳原子接合來形成有4員至6員之經取代或未經取代之環烷基環系或雜環烷基環系；

其中

n 為1至20之整數；

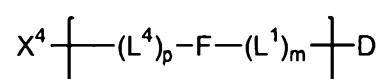
- 10 R^{15} 及 R^{16} 分別選自H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、經取代或未經取代之雜環烷基、及經取代或未經取代之胍基，其中 R^{15} 及 R^{16} 連同其附接之氮原子視需要可接合來形成有4員至6員且視需要可含兩個或多個雜原子之一經取代或未經取代之雜環烷基環系；

R^6 為單鍵，單鍵可存在或不存在，以及當單鍵存在時， R^6 與 R^7 接合而形成環丙基環；以及

R^7 為 $\text{CH}_2\text{-X}^1$ 或與 R^6 接合於該環丙基環中之 $\text{-CH}_2\text{-}$ ，其中 X^1 為離去基，

- 20 其中 L^1 若存在時， R^{11} 鏈接該藥物至 L^1 ，或鏈接至F；或其藥學上可接受之鹽。

另一個實施例為一種下式化合物

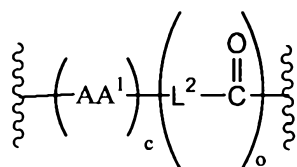


其中

L^1 為自我犧牲性鏈接劑；

m 為整數 0、1、2、3、4、5 或 6；

F 為包含如下結構式之鏈接劑：



5

其中

AA^1 為分別選自於由天然胺基酸及非天然 α -胺基酸所組成之組群之一個或多個成員；

c 為 1 至 20 之整數；

10 L^2 為自我犧牲性鏈接劑；

o 為 0 或 1；

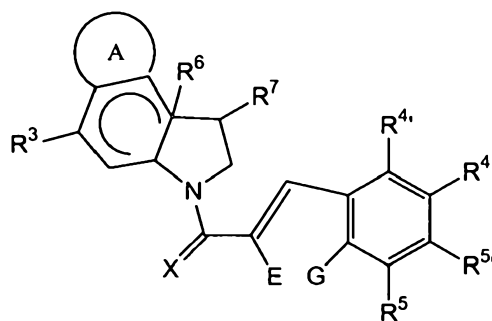
L^4 為一鏈接劑成員；

p 為 0 或 1；

15 X^4 為選自於經保護之反應性官能基、未經保護之反應性官能基、可檢測標記、及靶定劑所組成之組群中之一員；

以及

D 包含結構式：



其中環系A為選自於經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、及經取代或未經取代之雜環烷基中之一員；

5 E及G為分別選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、雜原子、單鍵中之一員，或E與G接合來形成選自於經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基及經取代或未經取代之雜環烷基中之一員；

X為選自於O、S及NR²³中之一員；

10 R²³為選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基及醯基中之一員；

R³為OR¹¹，

15 其中R¹¹為選自於由H、經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之雜烷基、未經取代之雜烷基、一磷酸酯類、二磷酸酯類、三磷酸酯類、磺酸酯類、醯基、C(O)R¹²R¹³、C(O)OR¹²、C(O)NR¹²R¹³、P(O)(OR¹²)₂、C(O)CHR¹²R¹³、SR¹²及SiR¹²R¹³R¹⁴所組成之組群中之一員，

20 其中R¹²、R¹³及R¹⁴為分別選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、及經取代或未經取代之芳基中之一員，其中R¹²及R¹³與其附接之氮原子或碳原子共同視需要可接合來形成有4員至6員且視需要含有兩個或多個雜原子之一經取代或未經取代之雜環烷基環系；

R⁴、R^{4'}、R⁵、及R^{5'}為分別選自於由H、經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之芳基、未經取代之芳基、經取

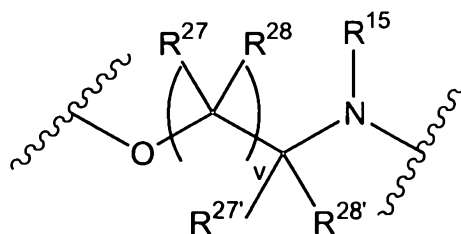
- 代之雜芳基、未經取代之雜芳基、經取代之雜環烷基、未經取代之雜環烷基、鹵素、 NO_2 、 $\text{NR}^{15}\text{R}^{16}$ 、 $\text{NC(O)}\text{R}^{15}$ 、 $\text{OC(O)}\text{NR}^{15}\text{R}^{16}$ 、 $\text{OC(O)}\text{OR}^{15}$ 、 $\text{C(O)}\text{R}^{15}$ 、 SR^{15} 、 OR^{15} 、 $\text{CR}^{15}=\text{NR}^{16}$ 、及 $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 所組成之組群之一員，或任何相鄰成對之 R^4 、 $\text{R}^{4'}$ 、 R^5 、及 $\text{R}^{5'}$ 連同其附接之碳原子接合來形成有4員至6員之經取代或未經取代之環烷基環系或雜環烷基環系；

其中

n 為1至20之整數；

- 10 R^{15} 及 R^{16} 分別選自H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、經取代或未經取代之雜環烷基、及經取代或未經取代之胍基，其中 R^{15} 及 R^{16} 連同其附接之氮原子視需要可接合來形成有4員至6員且視需要可含兩個或多個雜原子之一經取代或未經取代之雜環烷基環系；

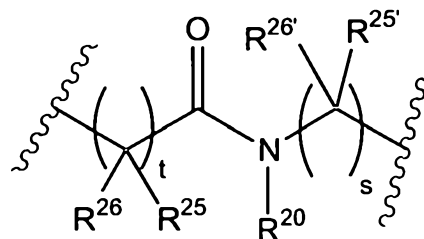
其中 R^4 、 $\text{R}^{4'}$ 、 R^5 、及 $\text{R}^{5'}$ 中之至少一者將該藥物鏈接至 L^1 (若存在時)，或鏈接至F且包含



其中 v 為1至6之整數；及

- 20 R^{27} 、 $\text{R}^{27'}$ 、 R^{28} 、及 $\text{R}^{28'}$ 各自分別係選自H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、及經取代或

L^4 為一鏈接劑成員，其中 L^4 包含



直接附接至 $(AA^1)_c$ 之N-端，其中

- R^{20} 為選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、及鹼基中之一員，

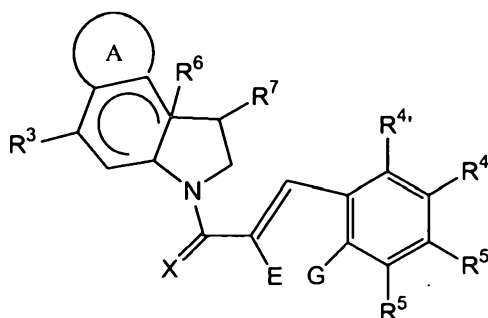
各個 R^{25} 、 $R^{25'}$ 、 R^{26} 、及 $R^{26'}$ 分別係選自H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、及經取代或未經取代之雜環烷基；

- 及 s 及 t 分別為1至6之整數；

p 為1；

X^4 為選自於經保護之反應性官能基、未經保護之反應性官能基、可檢測標記、及靶定劑所組成之組群中之一員；以及

- D包含結構式：



其中環系A為選自於經取代或未經取代之芳基、經取代

或未經取代之雜芳基、及經取代或未經取代之雜環烷基中之一員；

- E及G為分別選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、雜原子、單鍵中之一員，或E
5 與G接合來形成選自於經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基及經取代或未經取代之雜環烷基中之一員；

X為選自於O、S及NR²³中之一員；

- R²³為選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或
10 未經取代之雜烷基及醯基中之一員；

R³為選自於由(=O)、SR¹¹、NHR¹¹及OR¹¹所組成之組群中之一員，

其中

- R¹¹為選自於由H、經取代之烷基、未經取代之烷基、
15 經取代之雜烷基、未經取代之雜烷基、一磷酸酯類、二磷酸酯類、三磷酸酯類、磺酸酯類、醯基、C(O)R¹²R¹³、C(O)OR¹²、C(O)NR¹²R¹³、P(O)(OR¹²)₂、C(O)CHR¹²R¹³、SR¹²及SiR¹²R¹³R¹⁴所組成之組群中之一員，其中

- R¹²、R¹³及R¹⁴為分別選自於H、經取代或未經取代之烷
20 基、經取代或未經取代之雜烷基、及經取代或未經取代之芳基中之一員，其中R¹²及R¹³與其附接之氮原子或碳原子共同視需要可接合來形成有4員至6員且視需要含有兩個或多個雜原子之一經取代或未經取代之雜環烷基環系；

R⁴、R^{4'}、R⁵、及R^{5'}為分別選自於由H、經取代之烷基、

未經取代之烷基、經取代之芳基、未經取代之芳基、經取代之雜芳基、未經取代之雜芳基、經取代之雜環烷基、未經取代之雜環烷基、鹵素、 NO_2 、 $\text{NR}^{15}\text{R}^{16}$ 、 $\text{NC(O)}\text{R}^{15}$ 、 $\text{OC(O)}\text{NR}^{15}\text{R}^{16}$ 、 $\text{OC(O)}\text{OR}^{15}$ 、 $\text{C(O)}\text{R}^{15}$ 、 SR^{15} 、 OR^{15} 、 $\text{CR}^{15}=\text{NR}^{16}$ 、及 $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 所組成之組群之一員，或任何相鄰成對之 R^4 、 $\text{R}^{4'}$ 、 R^5 、及 $\text{R}^{5'}$ 連同其附接之碳原子接合來形成有4員至6員之經取代或未經取代之環烷基環系或雜環烷基環系；

其中

10 n 為1至20之整數；

R^{15} 及 R^{16} 分別選自H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、經取代或未經取代之雜環烷基、及經取代或未經取代之胍基，其中 R^{15} 及 R^{16} 連同其附接之氮原子視需要可接合來形成有4員至6員且視需要可含兩個或多個雜原子之一經取代或未經取代之雜環烷基環系；

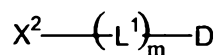
R^6 為單鍵，單鍵可存在或不存在，以及當單鍵存在時， R^6 與 R^7 接合而形成環丙基環；以及

20 R^7 為 $\text{CH}_2\text{-X}^1$ 或與 R^6 接合於該環丙基環中之 $\text{-CH}_2\text{-}$ ，其中 X^1 為離去基，

其中 R^4 、 $\text{R}^{4'}$ 、 R^5 、 $\text{R}^{5'}$ 、 R^{15} 或 R^{16} 中之至少一者將該藥物鏈接至 L^1 (若存在時)，或鏈接至F；

或其藥學上可接受之鹽。

又一個實施例為一種具有如下結構式之化合物：

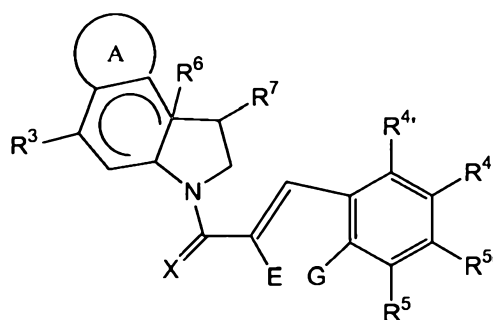


其中 L^1 為自我犧牲性間隔劑；

m 為0、1、2、3、4、5或6之整數；

X^2 為可裂解基質；及

5 D 包含結構式：



其中環系A為選自於經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、及經取代或未經取代之雜環烷基中之一員；

10 E 及 G 為分別選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、雜原子、單鍵中之一員，或 E 與 G 接合來形成選自於經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基及經取代或未經取代之雜環烷基中之一員；

15 X 為選自於O、S及 NR^{23} 中之一員；

R^{23} 為選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基及醯基中之一員；

R^3 為選自於由(=O)、 SR^{11} 、 NHR^{11} 及 OR^{11} 所組成之組群中之一員，

20 其中

R^{11} 為選自於由H、經取代之烷基、未經取代之烷基、
經取代之雜烷基、未經取代之雜烷基、一磷酸酯類、二磷
酸酯類、三磷酸酯類、磺酸酯類、醯基、 $C(O)R^{12}R^{13}$ 、
 $C(O)OR^{12}$ 、 $C(O)NR^{12}R^{13}$ 、 $P(O)(OR^{12})_2$ 、 $C(O)CHR^{12}R^{13}$ 、 SR^{12}
5 及 $SiR^{12}R^{13}R^{14}$ 所組成之組群中之一員，其中

R^{12} 、 R^{13} 及 R^{14} 為分別選自於H、經取代或未經取代之烷
基、經取代或未經取代之雜烷基、及經取代或未經取代之
芳基中之一員，其中 R^{12} 及 R^{13} 與其附接之氮原子或碳原子共
同視需要可接合來形成有4員至6員且視需要含有兩個或多
10 個雜原子之一經取代或未經取代之雜環烷基環系；

R^6 為單鍵，單鍵可存在或不存在，以及當單鍵存在時，
 R^6 與 R^7 接合而形成環丙基環；以及

R^7 為 CH_2-X^1 或與 R^6 接合於該環丙基環中之 $-CH_2-$ ，其中
 X^1 為離去基，

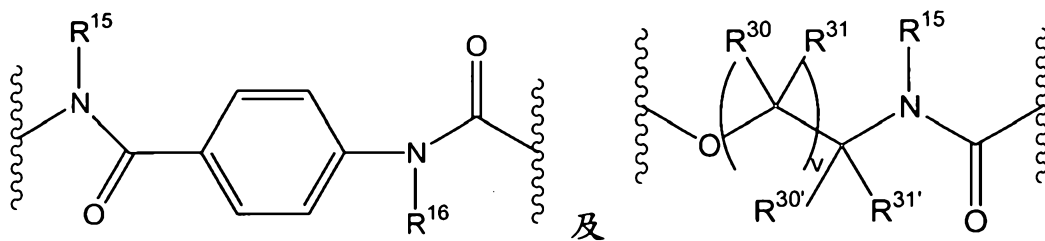
15 R^4 、 $R^{4'}$ 、 R^5 、及 $R^{5'}$ 為分別選自於由H、經取代之烷基、
未經取代之烷基、經取代之芳基、未經取代之芳基、經取
代之雜芳基、未經取代之雜芳基、經取代之雜環烷基、未
經取代之雜環烷基、鹵素、 NO_2 、 $NR^{15}R^{16}$ 、 $NC(O)R^{15}$ 、
 $OC(O)NR^{15}R^{16}$ 、 $OC(O)OR^{15}$ 、 $C(O)R^{15}$ 、 SR^{15} 、 OR^{15} 、
20 $CR^{15}=NR^{16}$ 、及 $O(CH_2)_nN(CH_3)_2$ 所組成之組群之一員，或任
何相鄰成對之 R^4 、 $R^{4'}$ 、 R^5 、及 $R^{5'}$ 連同其附接之碳原子接合
來形成有4員至6員之經取代或未經取代之環烷基環系或雜
環烷基環系；

其中

n為1至20之整數；

R^{15} 及 R^{16} 分別選自H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、經取代或未經取代之雜環烷基、
5 及經取代或未經取代之胍基，其中 R^{15} 及 R^{16} 連同其附接之氮原子視需要可接合來形成有4員至6員且視需要可含兩個或多個雜原子之一經取代或未經取代之雜環烷基環系；

其中成員 R^4 、 $R^{4'}$ 、 R^5 、及 $R^{5'}$ 中之至少一者鏈接該藥物至 L^1 (若存在時)，或鏈接至 X^2 且係選自於由下列基團所組
10 成之組群



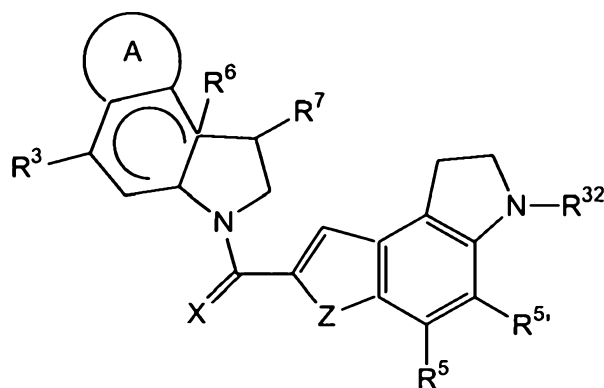
其中

R^{30} 、 $R^{30'}$ 、 R^{31} 、及 $R^{31'}$ 分別係選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、經取代或未經
15 取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、及經取代或未經取代之雜環烷基；及

v為1至6之整數；

或其藥學上可接受之鹽。

另一個實施例為一種具有如下結構式之化合物：



其中環系A為選自於經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、及經取代或未經取代之雜環烷基中之一員；

5 Z及X各自分別為選自於O、S及NR²³中之一員；

R²³為選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基及醯基中之一員；

R³為選自於由(=O)、SR¹¹、NHR¹¹及OR¹¹所組成之組群中之一員，

10 R¹¹為選自於由H、經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之雜烷基、未經取代之雜烷基、一磷酸酯類、二磷酸酯類、三磷酸酯類、磺酸酯類、醯基、C(O)R¹²R¹³、C(O)OR¹²、C(O)NR¹²R¹³、P(O)(OR¹²)₂、C(O)CHR¹²R¹³、SR¹²及SiR¹²R¹³R¹⁴所組成之組群中之一員，其中

15 R¹²、R¹³及R¹⁴為分別選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、及經取代或未經取代之芳基中之一員，其中R¹²及R¹³與其附接之氮原子或碳原子共同視需要可接合來形成有4員至6員且視需要含有兩個或多個雜原子之一經取代或未經取代之雜環烷基環系；

R^6 為單鍵，單鍵可存在或不存在，以及當單鍵存在時， R^6 與 R^7 接合而形成環丙基環；

R^7 為 CH_2-X^1 或與 R^6 接合於該環丙基環中之 $-CH_2-$ ，

X^1 為離去基；以及

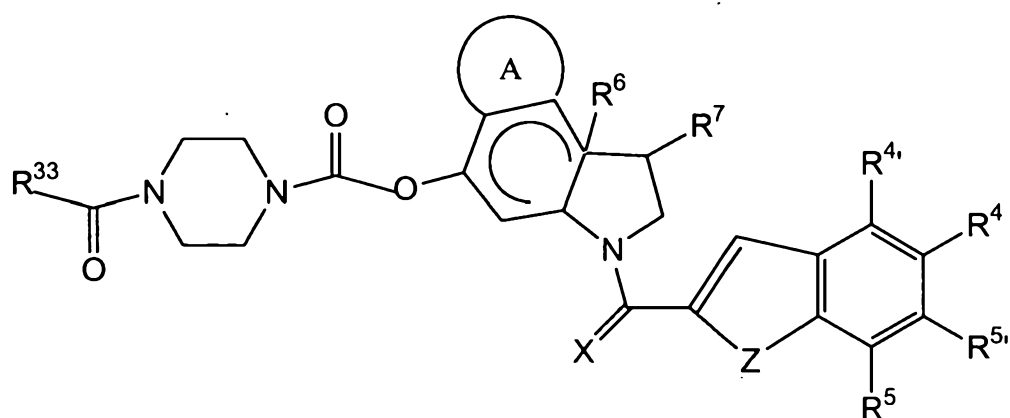
- 5 R^5 、 $R^{5'}$ 、及 R^{32} 為分別選自於由H、經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之芳基、未經取代之芳基、經取代之雜芳基、未經取代之雜芳基、經取代之雜環烷基、未經取代之雜環烷基、鹵素、 NO_2 、 $NR^{15}R^{16}$ 、 $NC(O)R^{15}$ 、 $OC(O)NR^{15}R^{16}$ 、 $OC(O)OR^{15}$ 、 $C(O)R^{15}$ 、 SR^{15} 、 OR^{15} 、
10 $CR^{15}=NR^{16}$ 、及 $O(CH_2)_nN(CH_3)_2$ 所組成之組群之一員；

n 為1至20之整數；

- R^{15} 及 R^{16} 分別選自H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、經取代或未經取代之雜環烷基、
15 及經取代或未經取代之胍基，其中 R^{15} 及 R^{16} 連同其附接之氮原子視需要可接合來形成有4員至6員且視需要可含兩個或多個雜原子之一經取代或未經取代之雜環烷基環系；

或其藥學上可接受之鹽。

又一個實施例為一種具有如下結構式之化合物：



其中環系A為選自於經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、及經取代或未經取代之雜環烷基中之一員；

Z及X各自分別為選自於O、S及NR²³中之一員；

5 R²³為選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基及醯基中之一員；

R⁴、R^{4'}、R⁵、R^{5'}、及R³³為分別選自於由H、經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之芳基、未經取代之芳基、經取代之雜芳基、未經取代之雜芳基、經取代之雜環烷基、
10 未經取代之雜環烷基、鹵素、NO₂、NR¹⁵R¹⁶、NC(O)R¹⁵、OC(O)NR¹⁵R¹⁶、OC(O)OR¹⁵、C(O)R¹⁵、SR¹⁵、OR¹⁵、CR¹⁵=NR¹⁶、及O(CH₂)_nN(CH₃)₂所組成之組群之一員，或任何相鄰成對之R⁴、R^{4'}、R⁵、及R^{5'}連同其附接之碳原子接合來形成有4員至6員之經取代或未經取代之環烷基環系或雜
15 環烷基環系；

其中

n為1至20之整數；

R¹⁵及R¹⁶分別選自H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、經取代或未經取代之雜環烷基、
20 及經取代或未經取代之胍基，其中R¹⁵及R¹⁶連同其附接之氮原子視需要可接合來形成有4員至6員且視需要可含兩個或多個雜原子之一經取代或未經取代之雜環烷基環系；

其中R³³包含一個或多個可裂解基；

R^6 為單鍵，單鍵可存在或不存在，以及當單鍵存在時，

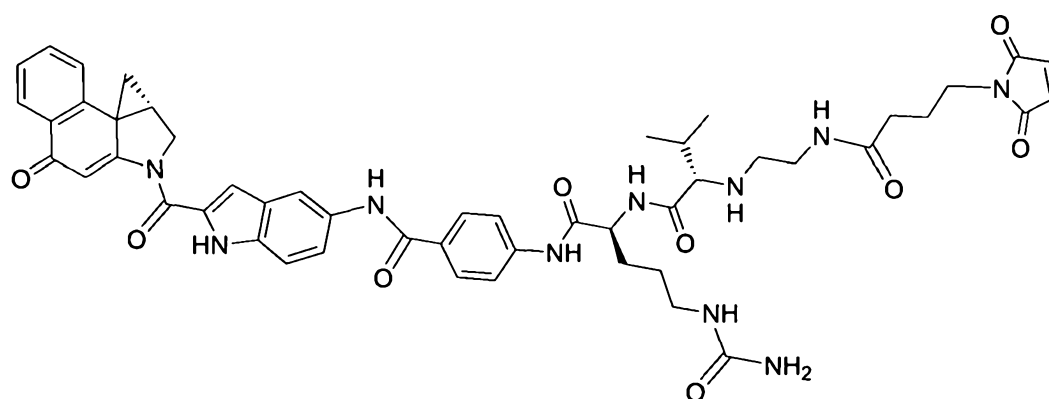
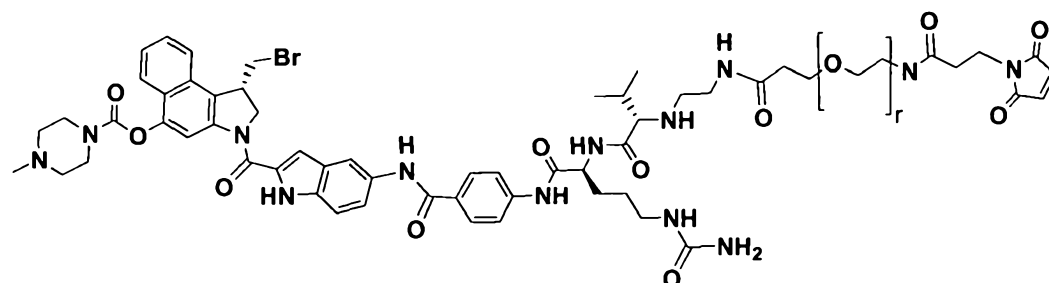
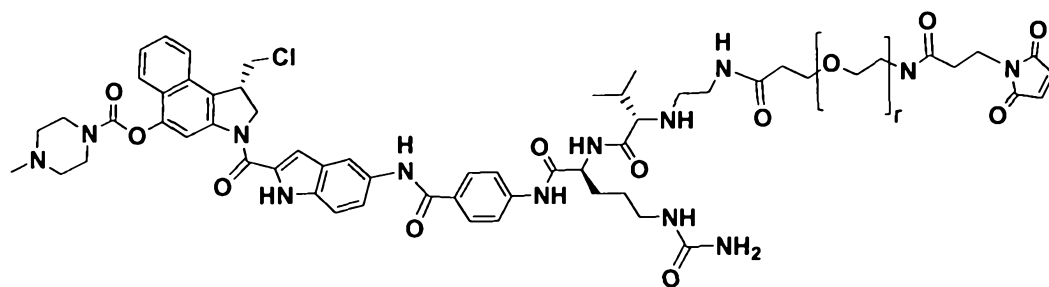
R^6 與 R^7 接合而形成環丙基環；以及

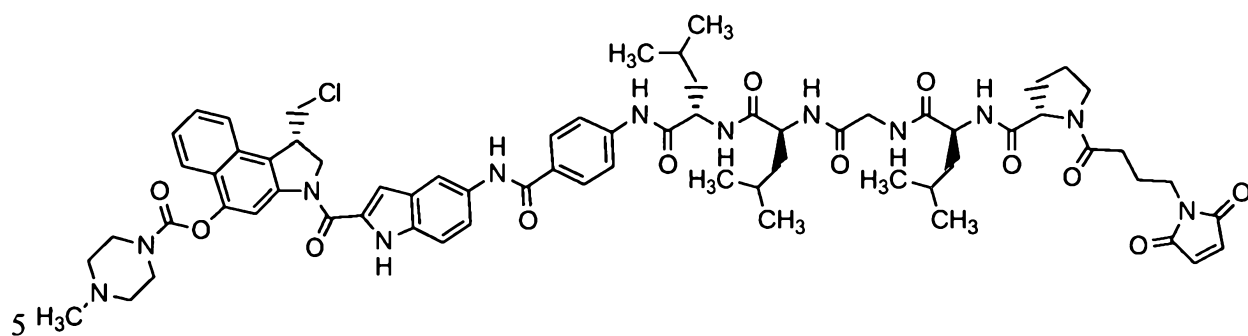
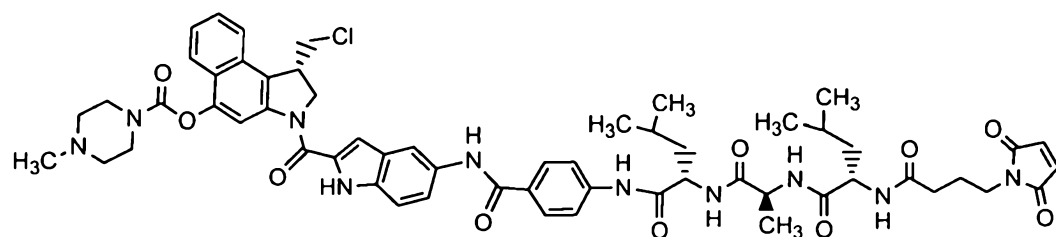
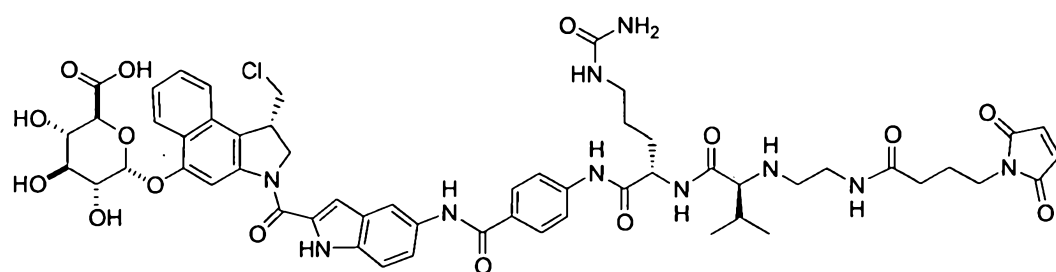
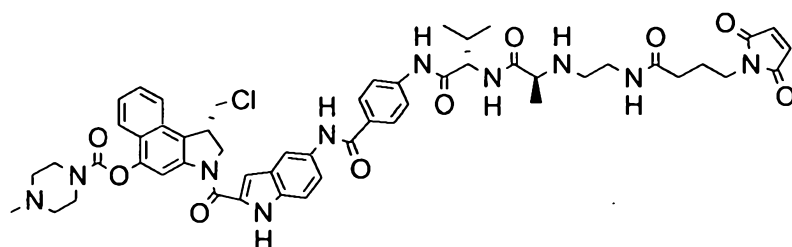
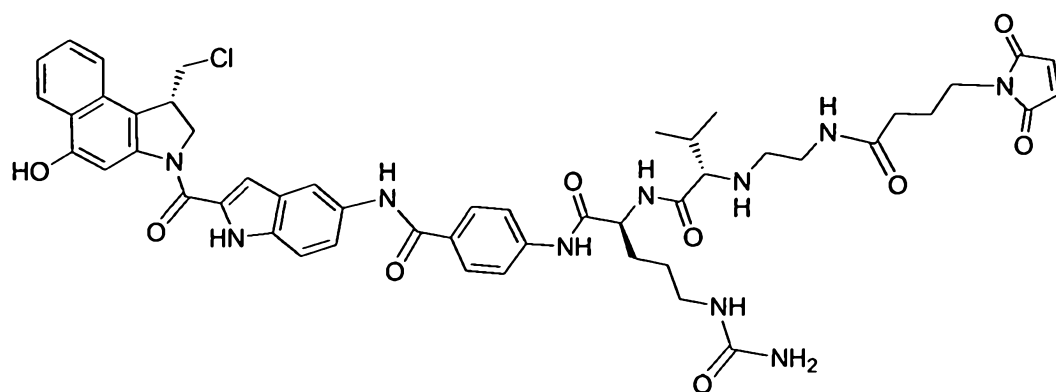
R^7 為 CH_2-X^1 或與 R^6 接合於該環丙基環中之 $-CH_2-$ ，其中

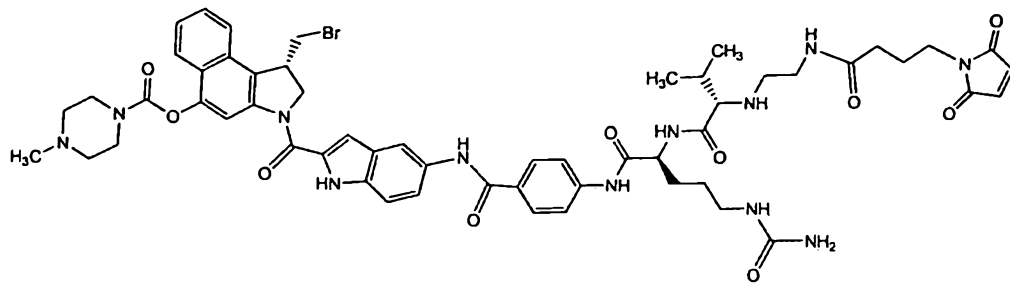
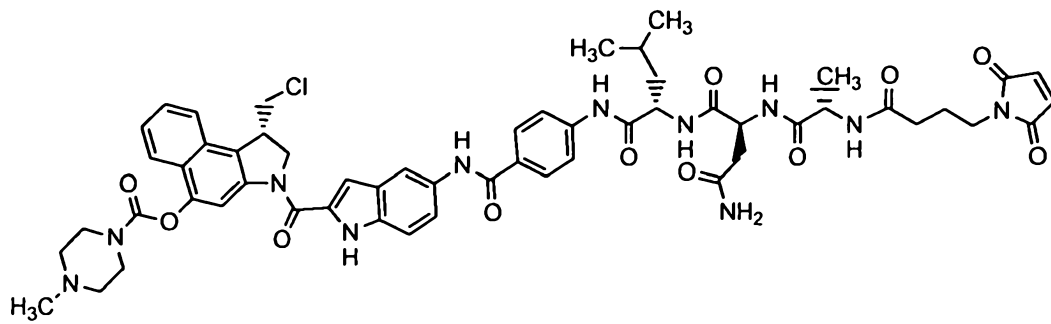
X^1 為離去基；

5 或其藥學上可接受之鹽。

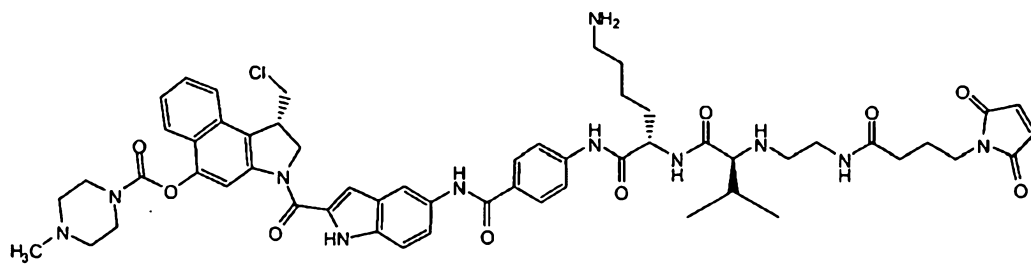
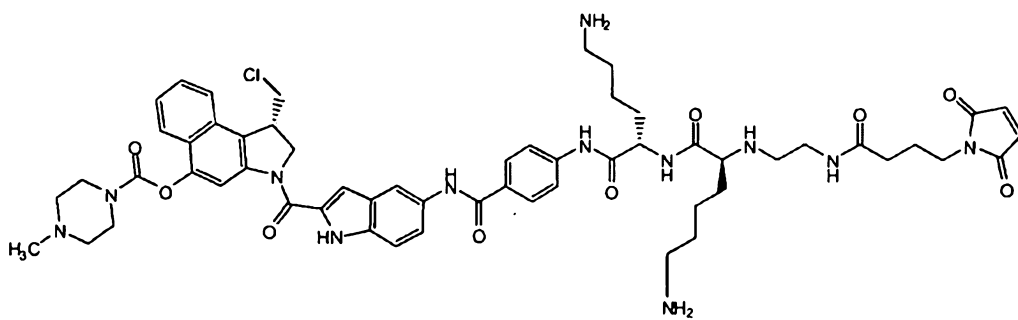
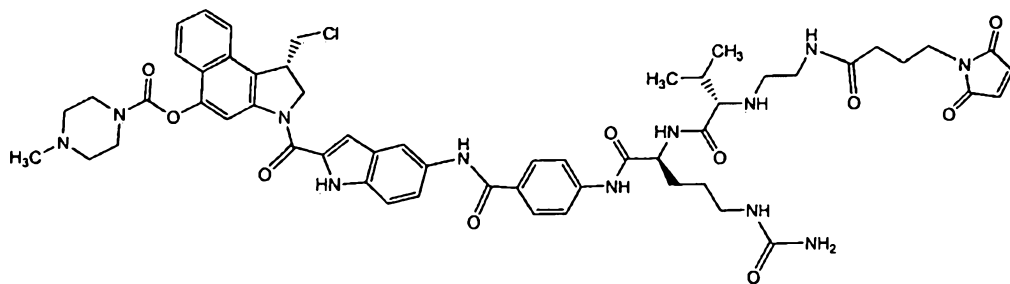
另一個實施例為一種化合物，其係選自於：

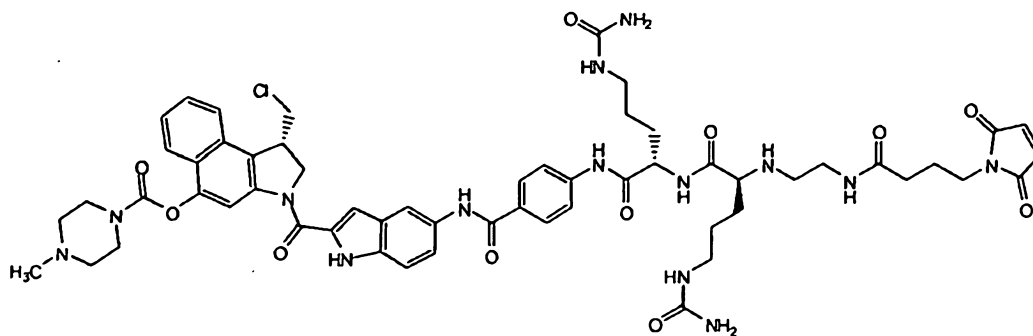






及





其中 r 為0至24之範圍之整數。

此等化合物中之任一者皆可用作為藥物-配體綴合物
或用來形成藥物-配體綴合物。

- 5 於又另一個面相中，本發明係關於藥學調配物。此種調配物典型包含本發明之綴合化合物及藥學上可接受之載劑。

- 於又另一個面相中，本發明提供使用本發明之綴合化合物之方法。例如，本發明提供一種殺滅一細胞之方法，
10 其中本發明之綴合化合物以足夠殺死該細胞之數量投予該細胞。於一較佳實施例中，該細胞為腫瘤細胞。於另一個實施例中，本發明提供一種於一哺乳動物體延遲或停止腫瘤之生長之方法，其中本發明之綴合化合物係以足夠延遲或停止腫瘤生長之數量投予該個體。

- 15 其它本發明之面相優點及目的由後文詳細說明部分之綜述將更為彰顯。

圖式簡單說明

- 本發明之非限制性且非排它性實施例係參照下列各圖作說明。於附圖中，除非另行規定，否則類似的元件符號
20 係指各幅圖間類似的部件。

欲求更明白瞭解本發明，將參照後文詳細說明部分結合附圖研讀作說明，附圖中：

第1-3圖為第一活體內調查研究中，平均腫瘤體積、中間腫瘤體積、及中間%體重變化分別相對於投藥後日數之線圖；

第4-6圖為第二活體內調查研究中，平均腫瘤體積、中間腫瘤體積、及中間%體重變化分別相對於投藥後日數之線圖；

第7圖為於LNCaP細胞及786-O細胞中匹配多種抗體-毒素綴合物及所得EC₅₀值之邏輯曲線；

第8圖為第三活體內調查研究中，平均腫瘤體積相對於投藥後日數之線圖；

第9圖為第三活體內調查研究中中間體重變化相對於投藥後日數之線圖；

第10圖為第四活體內調查研究中，平均腫瘤體積相對於投藥後日數之線圖；

第11圖為第四活體內調查研究中中間體重變化相對於投藥後日數之線圖；

第12圖為第五活體內調查研究中，平均腫瘤體積相對於投藥後日數之線圖；

第13圖為第六活體內調查研究中，平均腫瘤體積相對於投藥後日數之線圖；

第14圖為第七活體內調查研究中，平均腫瘤體積相對於投藥後日數之線圖；

第15圖為第八活體內調查研究中，平均腫瘤體積相對於投藥後日數之線圖；及

第16圖為第九活體內調查研究中，平均腫瘤體積相對於投藥後日數之線圖。

5 【實施方式】

較佳實施例之詳細說明

縮寫

「Ala」表示丙胺酸。

「Boc」表示第三丁氧羰基。

10 「CPI」表示環丙烷并吡咯并吡啶。

「Cbz」表示苄基酯基。

「DCM」表示二氯甲烷。

「DDQ」表示2,3-二氯-5,6-二氰基-1,4-苯醌。

「DIPEA」表示二異丙基乙胺。

15 「DMDA」表示N,N'-二甲基伸乙基二胺。

「RBF」表示圓底瓶。

「DMF」表示N,N-二甲基甲醯胺。

「HATU」表示N-[[[(二甲基胺基)-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶-1-基]亞甲基]-N-甲基六氟磷酸N-氧化物甲銨。

20 符號「E」表示酶可裂解基。

「EDCI」表示1-(3-二甲基胺基丙基)-3-乙基甲二噠亞胺。

「FMOC」表示9-芴基甲氧基羰基。

「HOAt」表示7-吡啶-1-羥基苯并三唑。

「Leu」表示白胺酸。

「PABA」表示對羥基苯甲酸。

「PEG」表示聚乙二醇。

「DBU」表示1,8-二吡二環(5.4.0)十一碳-7-烯。

5 「DIEA」表示二異丙基乙基胺。

「PMB」表示對甲氧基苄基。

「TBAF」表示氟化四丁基銨。

「TBSO」表示第三丁基二甲基矽烷基醚。

「TEA」表示三乙基胺。

10 「TFA」表示三氟乙酸。

「EDC」表示(1-乙基-3-(3-二甲基胺基丙基)甲二噠亞
胺鹽酸鹽)

「TBTU」表示(2-(1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基四
氟硼酸脲鎢)。

15 「HOBT」表示N-羥基苯并三唑。

符號「Q」表示治療劑、診斷劑、或可檢測標記。

定義

除非另行定義，否則此處使用之全部技術術語及科學
術語皆具有本案所屬業界之熟諳技藝人士通用瞭解的相同
20 定義。通常於此處所使用之名稱以及於後文說明之細胞培
養、分子遺傳學、有機化學及核酸化學及雜交中之實驗室
程序皆為技藝界所眾所周知且通用者。使用標準技術進行
核酸合成及胜肽合成。大致上，酶催化反應及純化步驟係
根據製造商之規格進行。技術及程序通常係根據技藝界之

習知方法及本文件全文所提供之各參考文獻進行(大致上參考 Sambrook 等人, 分子轉殖: 實驗室手冊, 第2版(1989年)冷泉港實驗室出版社, 紐約, 冷泉港, 該文以引用方式併入此處)。此處所使用之命名以及後文說明之分析化學及有機合成之實驗室程序為技藝界眾所周知及通用者。標準技術或其修改係用於化學合成及化學分析。

「治療劑」一詞係用來表示當一種化合物以治療有效量存在時, 該化合物可對哺乳動物產生期望的療效。用於治療腫瘤, 期望該治療劑可進入標靶細胞。

「細胞毒素」一詞意圖表示對癌細胞具有期望之胞毒性之治療劑。胞毒性一詞表示該藥劑可中止細胞的生長或殺滅細胞。胞毒素之實例包括但非限於康柏抑制素(combretastatins)、路卡黴素、CC-1065抗腫瘤抗生素、蒽環素(anthracyclines)及相關化合物。其它胞毒素包括真菌毒素、蓖麻毒蛋白及其類似物、硝黴素(calicheamycins)、阿黴素(doxorubicin)及美坦素(maytansinoids)。

「前藥」及「藥物綴合物」二詞於此處互換使用。二術語皆係指當仍然呈綴合形式時對細胞相對無害, 但經由位於標靶細胞內部或標靶細胞附近之條件例如酵素可被選擇性分解成為藥理活性形式之化合物。

「標記物」一詞意圖表示可用於腫瘤及其它醫療病情之特徵化之化合物, 例如可用於診斷、腫瘤之進行及由腫瘤細胞所分泌之各項因子之檢定分析之化合物。標記物被視為屬於「診斷劑」之一個子集。

「選擇性」一詞結合酶催化裂解使用，表示鏈接劑部分之裂解速率係高於具有隨機胺基酸序列之胜肽之裂解速率。

「靶定基」及「靶定劑」等詞意圖表示一個部分，該部分(1)可導引其所附接之實體(例如治療劑或標記物)至標靶細胞，例如導引至特定類型的腫瘤細胞；或(2)可能於標靶組織例如腫瘤被活化。靶定基或靶定劑可為小分子，意圖包括非胜肽類及胜肽類二者。靶定基也可為巨分子，包括醣類、凝集素、受體、受體之配體、蛋白質諸如BSA、抗體等。於本發明之較佳實施例中，靶定基為抗體或抗體片段，更佳為單株抗體或單株抗體片段。

「自我犧牲性間隔劑」係指雙官能化學部分其可共價鏈接兩個化學部分成為一個正常穩定之三連分子。若鍵結至第一部分之第一鍵結裂解，則該自我犧牲性間隔劑可自動由第二部分分離。

「可檢測標記」一詞意圖表示具有可檢測之物理性質及化學性質之部分。

「可裂解基團」一詞意圖表示於活體內不安定之部分。較佳「可裂解基團」允許經由從綴合物之其餘部分裂解該標記物或治療劑而讓標記物或治療劑活化。就工作上的定義，鏈接劑較佳於活體內可藉生物環境裂解。裂解也可由於但非限制性例如酶催化、還原、pH等方法。較佳可裂解基團經選擇，讓期望的作用部位出現活化，該期望作用部位可位於或接近於標靶細胞(例如腫瘤細胞)或組織之

位置，諸如於治療劑或標記物活性位置。此種裂解可為酶催化裂解，酶催化可裂解基團之實例包括羧基端附接至鏈接劑之天然胺基酸或以天然胺基酸為端基之胜肽。雖然裂解速率提升的程度對本發明並無特殊限制，但可裂解鏈接劑之較佳實例為其中至少約10%可裂解基係於投藥後的24小時內於血流中裂解，最佳至少為35%。

「配體」一詞表示特異性結合或反應性關聯或錯合受體、酶基質、抗原決定部位、或標靶細胞或標靶組織上之其它結合部位之任何分子。配體之實例包括抗體及其片段(例如單株抗體或其片段)、酶(例如纖維素分解酶)、生物反應改性劑(例如介白素、干擾素、紅血球生成素、或群落刺激因子)、胜肽激素、及其抗原結合片段。

「環化反應」一詞當用來表示胜肽鏈接劑、胍鏈接劑、或雙硫鏈接劑之環化時，指示該鏈接劑環化成為一環，且起始藥物-配體複體之分離。環化率可於非原位測定，當至少形成90%、95%、或100%產物時反應完成。

「多肽」、「胜肽」及「蛋白質」等詞於此處互換用來表示胺基酸殘基之聚合物。該術語可應用至其中一個或多個胺基酸殘基為相對應之天然胺基酸之化學模擬物之胺基酸，該術語也可應用至天然胺基酸聚合物及非天然胺基酸聚合物。此等術語也涵蓋「抗體」一詞。

「胺基酸」一詞係指天然胺基酸及合成胺基酸，以及以類似於天然胺基酸之方式發揮功能之胺基酸類似物及胺基酸模擬物。天然胺基酸為基因密碼所編碼之胺基酸，以

及後來經過改性之該等胺基酸，例如羥基脯胺酸、 γ -羧基麩胺酸及O-磷醯絲胺酸。胺基酸類似物係指具有與天然胺基酸相同之基本化學結構式之化合物，亦即有鍵結至氫之 α 碳、羧基、胺基及R基，例如高絲胺酸、正白胺酸、蛋胺酸亞砷、蛋胺酸甲基銻。此等類似物具有改性R基(例如正白胺酸)或改性胜肽主鏈，但仍然保有與天然胺基酸相同的基本化學結構式。一種有用之胺基酸特別為瓜胺酸，瓜胺酸為精胺酸之前驅物，且涉及肝臟中尿素的形成。胺基酸模擬物係指具有與胺基酸之化學通式結構式不同之結構式，但以類似於天然胺基酸之方式發揮功能之化學化合物。「非天然胺基酸」一詞意圖表示前述20種天然胺基酸之「D」立體化學形式。進一步須瞭解非天然胺基酸一詞係指天然胺基酸之同系物及天然胺基酸之合成改性形式。合成改性形式包括但非限於具有至多2個碳原子縮短或延長之伸烷基鏈之胺基酸、包含視需要可經取代之芳基之胺基酸、及包含鹵化基團較佳為鹵化烷基及芳基之胺基酸。當附接至本發明之鏈接劑或綴合物時，胺基酸係呈「胺基酸支鏈」形式，此處胺基酸之羧酸基已經以酮基(C(O))置換。如此，例如丙胺酸支鏈為-C(O)-CH(NH₂)-CH₃等。

20 胺基酸及胜肽可藉封阻基保護。封阻基為保護胺基酸或胜肽之N-端避免發生非期望之反應而可用於藥物-配體綴合物合成時之原子或化學部分。整個合成期間須維持附接至N-端，而於藥物綴合物之合成完成後，可藉可選擇性達成封阻基之移除之化學或其它條件移除。適合用於N-端

保護之封阻基為胜肽化學界眾所周知。封阻基之實例包括但非限於氫、D-胺基酸、及苯甲酯基(Cbz)氯。

「核酸」一詞係指去氧核糖核苷酸或核糖核苷酸及呈單股或雙股形式之聚合物。該術語涵蓋含有已知之核苷酸
5 類似物或改性主鏈殘基或鍵聯之核酸，該等殘基或鍵聯為合成、天然、及非天然，具有類似於所述核酸之相似結合性質，且係以類似於所述核苷酸之方式代謝。此等類似物之實例包括但非限於硫代磷酸酯類、胺基代磷酸酯類、甲基磷
10 酸酯類、對掌-甲基磷酯類、2-O-甲基核糖核苷酸類、胜肽-核酸(PNA)。

除非另行指示，否則特定核酸序列也涵蓋保守改性變化(例如簡併性密碼子取代)及互補序列及外顯指示之序列。特別簡併性密碼子取代可經由其中一個或多個選定的(或全部)密碼子之第三位置經以混合鹼殘基及/或去氧肌
15 殘基取代，產生序列來達成(Batzer等人，核酸研究19:5081 (1991)；Ohtsuka等人，J. Biol. Chem. 260:2605-2608 (1985)；Rossolini等人，分子細胞探針8:91-98 (1994))。核酸一詞係與基因、cDNA、mRNA、寡核苷酸及多核苷酸互換使用。

20 符號  無論係用作為鍵結或用來表示垂直於一鍵結，係指示所顯示之部分附接至分子其餘部分、固體撐體等之該點。

「烷基」一詞其本身或作為另一個取代基之一部分，除非另行陳述，否則表示具有所示碳原子數(亦即C₁-C₁₀表

示1至10個碳原子)可為完全飽和、一元不飽和或多元不飽和且可包括二價基團及多價基團之直鏈烴基或分支鏈烴基或環狀烴基或其組合。飽和烴基之實例包括但非限於下列基團諸如甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、第三丁基、異丁基、第二丁基、環己基、(環己基)甲基、環丙基甲基、其同系物及其異構物例如正戊基、正己基、正庚基、正辛基等。不飽和烷基為有一個或多個雙鍵或參鍵之基團。不飽和烷基之實例包括但非限於乙烯基、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-丁炔基及其高碳同系物及異構物。除非另行指示，否則「烷基」一詞也表示包括如後文於進一步細節中定義之烷基衍生物，諸如「雜烷基」。限於烴基之烷基定名為「同烷基」(homoalkyl)。

「伸烷基」一詞其本身或作為另一個取代基之一部分表示衍生自烷之二價基團，例如但非限於 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ ，進一步包括如後文描述為「伸雜烷基」之基團。典型地，烷基(或伸烷基)有1至24個碳原子，本發明中以有10個或以下之碳原子之伸烷基為佳。「低碳烷基」或「低碳伸烷基」為短鏈烷基或伸烷基，通常有8個或以下之碳原子。

「雜烷基」一詞其本身或與另一個術語之組合，除非另行陳述，否則表示安定直鏈烴基或分支鏈烴基或環狀烴基或其組合，包含所述碳原子數及選自於O、N、Si及S所

組成之組群中之至少一個雜原子，以及其中該氮原子、碳原子及硫原子視需要可經氧化，及氮雜原子視需要可經第四化。雜原子O、N、S及Si可位於雜烷基之內部位置，或位於烷基附接至分子其餘部分之位置。雜烷基之實例包括

5 但非限於 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{S}(\text{O})-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})_2-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{N}-\text{OCH}_3$ 、及 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$ 。

至多2個雜原子可連續，例如 $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{OCH}_3$ 及

10 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ 。同理，「雜伸烷基」一詞其本身或作為另一個取代基之一部分，表示衍生自雜烷基之二價基團。例如但非限於 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 及 $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 。用於雜伸烷基，雜原子可占據鏈終端之任一者或二者(例如伸烷基氧基、伸烷基二氧基、

15 伸烷基胺基、伸烷基二胺基等)。「雜烷基」及「雜伸烷基」等詞涵蓋聚(乙二醇)及其衍生物(例如參考Shearwater聚合物目錄，2001)。又復，對伸烷基及雜伸烷基鏈接基，並無任何鏈接基之方向係由鏈接基化學式寫成之方向指示。例如式 $-\text{C}(\text{O})_2\text{R}'$ -表示 $-\text{C}(\text{O})_2\text{R}'$ -及 $-\text{R}'\text{C}(\text{O})_2-$ 二者。

20 組合「烷基」及「雜烷基」等詞使用之「低碳」一詞表示含有1至6個碳原子。

「烷氧基」、「烷基胺基」、「烷基磺醯基」、及「烷硫基」或(硫烷氧基)等詞係以習知定義使用，表示透過氧原子、胺基、 SO_2 基或硫原子而附接至分子其餘部分之該等烷基。「芳

基磺醯基」一詞表示透過SO₂基而附接至分子其餘部分之芳基，「氫硫基」一詞表示SH基。

大致上，「醯基取代基」也係選自於前述組群。如此處使用，「醯基取代基」表示附接至羰基碳且滿足羰基碳之價數其係直接或間接附接至本發明化合物之多環核之基團。

「環烷基」及「雜環烷基」等詞其本身為與其它術語組合，除非另行陳述，否則分別表示經取代或未經取代之烷基及經取代或未經取代之「雜烷基」之環狀版本。此外，至於雜環烷基，雜原子可占據雜環附接至分子其餘部分之位置。環烷基之實例包括但非限於環戊基、環己基、1-環己烯基、3-環己烯基、環庚基等。雜環烷基之實例包括但非限於1-(1,2,5,6-四氫吡啶基)、1-哌啶基、2-哌啶基、3-哌啶基、4-咪啉基、3-咪啉基、四氫呋喃-2-基、四氫呋喃-3-基、四氫噻吩-2-基、四氫噻吩-3-基、1-哌嗪基、2-哌嗪基等。環狀結構式之雜原子及碳原子視需要可經氧化。

「鹵」或「鹵素」等詞其本身或作為另一個取代基之一部分，除非另行陳述，否則表示氟、氯、溴或碘原子。此外，諸如「鹵烷基」等詞表示包括一鹵烷基及多鹵烷基。例如「鹵(C₁-C₄)烷基」一詞表示包括但非限於三氟甲基、2,2,2-三氟乙基、4-氯丁基、3-溴丙基等。

「芳基」一詞，除非另行陳述，否則表示經取代或未經取代之多元不飽和芳香族烴取代基，其可為單環或多環(較佳為1環至3環)且其可共同稠合或共價鏈接。「雜芳基」一詞表示含有選自於N、O及S之1個至4個雜原子之芳基(或

芳香環)，其中該氮原子、碳原子及硫原子視需要可經氧化，及氮原子視需要可經第四化。雜芳基可透過雜原子而附接至分子之其餘部分。芳基及雜芳基之非限制性實例包括苯基、1-萘基、2-萘基、4-聯苯基、1-吡咯基、2-吡咯基、
 5 3-吡咯基、3-吡唑基、2-咪唑基、4-咪唑基、吡咭基、2-噁唑基、4-噁唑基、2-苯-4-噁唑基、5-噁唑基、3-異噁唑基、4-異噁唑基、5-異噁唑基、2-噻唑基、4-噻唑基、5-噻唑基、2-呋喃基、3-呋喃基、2-噻吩基、3-噻吩基、2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、2-嘧啶基、4-嘧啶基、5-苯并噻唑基、
 10 嘌呤基、2-苯并咪唑基、5-吡嗪基、1-異喹啉基、5-異喹啉基、2-喹啉基、5-喹啉基、3-喹啉基、及6-喹啉基。前述芳基環系及雜芳基環系各自之取代基係選自於後文說明之可接受之取代基之組群。「芳基」及「雜芳基」也涵蓋其中一個或多個芳香環系係稠合至或以其它方式鍵結至芳基
 15 系或雜芳基系之環系。

簡言之，「芳基」一詞當用來與其它術語組合(例如芳氧基、芳硫基、芳基烷基)時，包括如前文定義之芳基環及雜芳基環。如此，「芳基烷基」表示包括其中芳基係附接至烷基之該等基團(例如苄基、苯乙基、吡啶基甲基等)，包括
 20 其中一個碳原子(例如亞甲基)已經由例如氧原子所置換之該等烷基(例如苯氧基甲基、2-吡啶氧基甲基、3-(1-萘氧基)丙基等)。

前述術語(例如「烷基」、「雜烷基」、「芳基」及「雜芳基」)各自包括指示基團之經取代形式及未經取代形式二

者。較佳各類基團之較佳取代基提供如下。

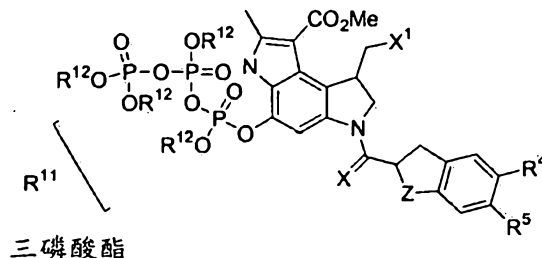
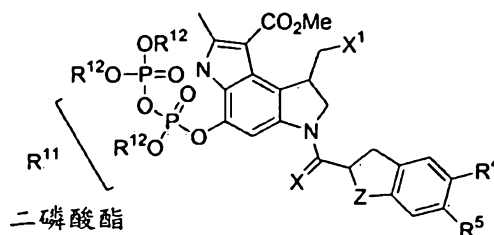
烷基及雜烷基(包括通常指伸烷基、烯基、雜伸烷基、雜烯基、炔基、環烷基、雜環烷基、環烯基、及雜環烯基之該等基團)之取代基分別通稱為「烷基取代基」及「雜烷基取代基」，可為選自於但非限於下列之多個基團中之一者或多者： $-OR'$ 、 $=O$ 、 $=NR'$ 、 $=N-OR'$ 、 $-NR'R''$ 、 $-SR'$ 、-鹵素、 $-SiR'R''R'''$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-CO_2R'$ 、 $-CONR'R''$ 、 $-OC(O)NR'R''$ 、 $-NR''C(O)R'$ 、 $-NR'-C(O)NR''R'''$ 、 $-NR''C(O)_2R'$ 、 $-NR-C(NR'R''R''')=NR'''$ 、 $-NR-C(NR'R'')=NR'''$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-S(O)_2NR'R''$ 、 $-NRSO_2R'$ 、 $-CN$ 及 $-NO_2$ ，其數目係於0至 $(2m'+1)$ 之範圍，此處 m' 為此種基團中之碳原子總數。 R' 、 R'' 、 R''' 及 R'''' 各自較佳分別表示氫、經取代或未經取代之雜烷基、經取代或未經取代之芳基例如經以1至3個鹵素取代之芳基、經取代或未經取代之烷基、烷氧基或硫烷氧基或芳基烷基。當本發明化合物包括多於一個R基時，各個R基係分開選擇，例如當存在有多於一個R基時分別選擇為各個 R' 、 R'' 、 R''' 及 R'''' 基。當 R' 及 R'' 係附接至同一個氮原子時， R' 及 R'' 係與氮原子組合來形成5-員、6-員或7-員環。舉例言之， $-NR'R''$ 表示包括但非限於1-吡咯啉基及4-咪啉基。由前文取代基之討論，熟諳技藝人士須瞭解「烷基」一詞表示包括碳原子鍵結至氫基以外之基團之基團，諸如鹵烷基(例如 $-CF_3$ 及 $-CH_2CF_3$)及酯基(例如 $-C(O)CH_3$ 、 $-C(O)CF_3$ 、 $-C(O)CH_2OCH_3$ 等)。

類似對烷基說明之取代基，芳基取代基及雜芳基取代基分別通稱為「芳基取代基」及「雜芳基取代基」，且可變化及選自於例如：鹵素、 $-OR'$ 、 $=O$ 、 $=NR'$ 、 $=N-OR'$ 、 $-NR'R''$ 、 $-SR'$ 、-鹵素、 $-SiR'R''R'''$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-CO_2R'$ 、
 5 $-CONR'R''$ 、 $-OC(O)NR'R''$ 、 $-NR''C(O)R'$ 、 $-NR'-C(O)NR''R'''$ 、 $-NR''C(O)_2R'$ 、 $-NR-C(NR'R'')=NR'''$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-S(O)_2NR'R''$ 、 $-NRSO_2R'$ 、 $-CN$ 及 $-NO_2$ 、 $-R'$ 、 $-N_3$ 、 $-CH(Ph)_2$ 、氟(C_1-C_4)烷氧基及氟(C_1-C_4)烷基，其數目係由0至芳香環系之開放價數總數之範圍；以及此處
 10 R' 、 R'' 、 R''' 及 R'''' 較佳分別係選自氫、(C_1-C_8)烷基及雜烷基、未經取代之芳基及雜芳基、(未經取代之芳基)-(C_1-C_4)烷基及(未經取代之芳基)氧基-(C_1-C_4)烷基。當本發明化合物包括多於一個R基時，例如當多於一個R基存在時，各個R基係分開選擇為各個 R' 、 R'' 、 R''' 及 R'''' 基。

15 芳基環或雜芳基環之相鄰原子上的2個芳基取代基視需要可經以式 $-T-C(O)-(CRR')_q-U$ 置換，其中T及U分別為 $-NR-$ 、 $-O-$ 、 $-CRR'-$ 或單鍵，及q為0至3之整數。另外，於芳基環或雜芳基環之相鄰原子上的兩個取代基視需要可經以式 $-A-(CH_2)_r-B$ 取代基置換，其中A及B分別為 $-CRR'-$ 、
 20 $-O-$ 、 $-NR-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2NR'-$ 或單鍵，及r為1至4之整數。如此所形成之新環的單鍵中之一者視需要可經以雙鍵置換。另外，芳基環或雜芳基環之相鄰原子上之取代基中之二者視需要可經以式 $-(CRR')_s-X-(CR''R''')$ _d-取代基置換，此處s及d分別為0至3之整數，及X為 $-O-$ 、

-NR'-、-S-、-S(O)-、-S(O)₂-、或-S(O)₂NR'-。取代基R、R'、R''及R'''較佳分別係選自於氫或經取代之(C₁-C₆)烷基或未經取代之(C₁-C₆)烷基。

如此處使用，「二磷酸酯」一詞包括但非限於含有2個磷酸基之磷酸酯。「三磷酸酯」一詞包括但非限於含有3個磷酸基之磷酸酯。例如有二磷酸酯或三磷酸酯之特定藥物包括：



如此處使用，「雜原子」一詞包括氧(O)、氮(N)、硫(S)及矽(Si)。

符號「R」為通用縮寫，表示選自於經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、及經取代或未經取代之雜環基之取代基。

「藥學上可接受之載劑」一詞如此處使用表示涉及攜帶或轉運化學劑之藥學上可接受之材料、組成物或載媒劑，諸如液體或固體填充劑、稀釋劑、賦形劑、溶劑或囊

封材料。藥學上可接受之載劑包括藥學上可接受之鹽類。

「藥學上可接受之鹽類」一詞包括活性化合物之鹽類，依據此處所述化合物中出現之特定取代基而定，該鹽類可使用相對無毒之酸或鹼製備。當本發明化合物含有相對酸性官能基時，鹼加成鹽可經由中性形式之此等化合物與足量之期望鹼，淨接觸或於適當惰性溶劑內接觸獲得。藥學上可接受之鹼加成鹽之實例包括鈉、鉀、鈣、銨、有機胺、或鎂鹽等鹽。當本發明化合物含有相對鹼性官能基時，經由中性形式之此等化合物與足量期望酸，淨接觸或於適當惰性溶劑內接觸獲得酸加成鹽。藥學上可接受之酸加成鹽之實例包括衍生自下列無機酸之酸加成鹽，例如鹽酸、氫溴酸、硝酸、碳酸、一氫碳酸、磷酸、一氫磷酸、二氫磷酸、硫酸、一氫硫酸、氫碘酸、或亞磷酸等；以及包括衍生自下列相對無毒有機酸之鹽類，例如乙酸、丙酸、異丁酸、順丁烯二酸、丙二酸、苯甲酸、丁二酸、辛二酸、反丁烯二酸、乳酸、扁桃酸、鄰苯二甲酸、苯磺酸、對甲苯磺酸、檸檬酸、酒石酸、甲磺酸等。也包括胺基酸鹽類諸如天冬酸鹽等及有機酸鹽類例如葡萄糖醛酸或半乳糖醛酸等(例如參考Berge等人，「藥學鹽類」，製藥科學期刊，1977, 66, 1-19)。若干特定本發明化合物含有鹼性官能基及酸性官能基二者，允許化合物被轉成鹼加成鹽或酸加成鹽。

中性形式之化合物較佳係經由鹽與鹼或與酸接觸，以習知方式分離親代化合物而再生。親代形式之化合物就某些物理性質諸如於極性溶劑之溶解度而言係與各種鹽形式

不同，但否則用於本發明之目的，鹽形式係相當於化合物之親代形式。

除了鹽形式之外，本發明提供呈原藥形式之化合物。此處所述化合物原藥為於生理條件下容易進行化學變化來提供本發明化合物之該等化合物。此外，於活體外環境下，藉化學方法或生物化學方法，可將原藥轉成本發明化合物。例如，當原藥置於經皮貼片貯器內部時使用適當酶或化學劑可將原藥緩慢轉成本發明化合物。

若干本發明化合物可以未經溶劑合形式及溶劑合形式包括水合形式存在。大致上，溶劑合形式係相當於未經溶劑合形式且係涵蓋於本發明之範圍。若干本發明化合物可以多晶形式或非晶形式存在。通常全部物理形式對本發明之期望用途皆為相當且意圖涵蓋於本發明之範圍。

若干本發明化合物具有非對稱碳原子(光學中心)或雙鍵；外消旋物、非對映異構物、幾何異構物及個別異構物皆係涵蓋於本發明之範圍。

本發明化合物也於組成此等化合物之一個或多個原子含有非天然比例之原子同位素。例如，化合物可經以放射性同位素例如氚(^3H)、碘-125 (^{125}I)、或碳-14 (^{14}C)標記。本發明化合物之全部同位素變化，包括放射性或非放射性意圖皆涵蓋於本發明之範圍。

「附接部分」或「用來附接一靶定基之部分」等詞意圖表示允許靶定基附接至鏈接劑之一部分。典型鏈接劑供舉例說明之用包括但非限於烷基、胺基烷基、胺基羰基烷

基、羧基烷基、羥基烷基、烷基-順丁烯二醯亞胺、烷基-N-羥基丁二醯亞胺、聚(乙二醇)-順丁烯二醯亞胺及聚(乙二醇)-N-羥基丁二醯亞胺，全部皆可進一步經取代。鏈接劑也可具有實際上附接至該靶定基之附接部分。

- 5 如此處使用，「離去基」一詞係指於反應中由酶基質所裂解之酶基質之一部分。

「抗體」一詞如此處使用包括完整抗體或其任何抗原結合片段(亦即「抗原結合部」或其單鏈。「抗體」一詞係指包含至少兩個重(H)鏈及兩個輕(L)鏈由雙硫鍵所互連之糖蛋白或其抗原結合部。任何重鏈係由一重鏈可變區(V_H)及一重鏈恆定區所組成。重鏈恆定區係由三個功能部位 C_{H1} 、 C_{H2} 及 C_{H3} 所組成且可為 μ 、 δ 、 γ 、 α 或 ϵ 同基因型。各個輕鏈係由一輕鏈可變區(V_L)及一輕鏈恆定區所組成。輕鏈恆定區包含一個功能部位 C_L ，該功能部位可為 κ 或 λ 同基因型。 V_H 區及 V_L 區再進一步劃分為高度可變區，定名為互變決定區(CDR)分散有較為保守區，定名為框架區(FR)。各個 V_H 及各個 V_L 係由三個CDR及四個FR，以如下順序由胺基端排列至羧基端所組成：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重鏈可變區及輕鏈可變區含有一個可與抗原交互作用之結合功能部位。抗體之恆定區可媒介免疫球蛋白與宿主組織或因子之結合，包括免疫系統之各種細胞(例如效應物細胞)及典型補體系統之第一組件(C1q)。

10

15

20

如此處使用，抗體之「抗體片段」或「抗原結合部」(或

單純稱作為「抗體部」)等詞係指保有可與抗原特異性結合能力之抗體之一個或多個片段。業已顯示抗體之抗原結合功能可由全長抗體之片段來執行。涵蓋於抗體之「抗體片段」或「抗原結合部」等詞內部之結合片段之實例包括：

- 5 (i) Fab片段，亦即由 V_L 、 V_H 、 C_L 及 C_{H1} 功能部位所組成之一價片段；(ii) $F(ab')_2$ 片段，包含兩個Fab片段於樞紐區藉一個雙硫橋來鏈接之二價片段；(iii)由 V_H 及 C_{H1} 功能部位所組成之Fd片段；(iv)由抗體單臂之 V_L 及 V_H 功能部位所組成之Fv片段；(v)由 V_H 功能部位所組成之dAb片段(Ward等人，
 - 10 (1989)自然341:544-546)；及(vi)隔離之互補決定區(CDR)。
- 此外，雖然Fv片段之兩個功能部位亦即 V_L 及 V_H 係藉分開的基因所編碼，但 V_L 及 V_H 可使用重組法接合，藉合成鏈接劑接合，讓其變成單一蛋白質鏈，其中 V_L 區與 V_H 區配對來形成一價分子(稱作為單鏈Fv (scFv)；例如參考Bird等人，
- 15 (1988)科學242:423-426；及Huston等人，(1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883)。此種單鏈抗體也意圖涵蓋於抗體之「抗原結合部」之術語。此等抗體片段係使用熟諳技藝人士已知之習知技術獲得，片段經篩檢供以完好抗體之相同方式利用。

- 20 如此處使用，「單株抗體」一詞係指單一分子組成之抗體分子之製備。單株抗體組成物顯示對特定抗原決定部位之單一結合特異性及親和力。

用於單株抗體或多株抗體之製備。可使用技藝界已知之任一種技術(例如參考Kohler & Milstein，自然

256:495-497 (1975); Kozbor等人, 今日免疫學4:72 (1983); Cole等人, 77-96頁, 單株抗體與癌症治療, Alan R. Liss, Inc. (1985))。

單株抗體之製法為熟諳技藝人士所已知。近親交配之
5 小鼠(例如BALB/C小鼠)或兔種系以蛋白質使用標準輔劑諸
如弗氏(Freund's)輔劑及標準免疫接種方案來免疫接種。動
物對免疫原製劑及免疫反應係採測試血液, 測定對 β 亞單
元之反應性力價監視。當獲得對免疫原之適當高抗體力價
時, 由動物採血, 製備抗血清。若有所需可對抗血清進行
10 進一步分選來富含對該蛋白質具有反應性之抗體。

可藉多種熟諳技藝人士熟知之方法獲得單株抗體。簡
言之, 得自以期望抗原免疫接種動物之脾臟細胞經制動
化, 通常係與骨髓瘤細胞融合來制動化(例如參考Kohler &
Milstein, Eur. J. Immunol. 6:511-519 (1976))。另一種制動化
15 方法包括使用伊士坦巴爾病毒(EB病毒(Epstein Barr
Virus)、致癌基因或反錄病毒或其它技藝界眾所周知之方法
來轉形。

於較佳實施例中, 抗體為嵌合型抗體或人化抗體。本
發明之嵌合型抗體或人化抗體可基於鼠單株抗體之序列而
20 製備。重鏈及輕鏈免疫球蛋白之編碼DNA可得自感興趣之
鼠融合瘤, 且使用標準分子生物學技術, 經工程處理來含
有非鼠(例如人)免疫球蛋白序列。舉例言之, 為了形成嵌合
型抗體, 使用技藝界已知方法, 鼠可變區可鏈接至人恆定
區(例如參考美國專利案4,816,567核發給Cabilly等人)。欲形

成人化抗體，鼠CDR區可使用技藝界已知方法，插入人框架內部(例如參考美國專利案5,225,539核發給Winter，及核發給Queen等人之美國專利案5,530,101；5,585,089；5,693,762及6,180,370)。

5 於另一個較佳實施例中，抗體為人抗體。此種人抗體可經由免疫接種基因轉殖或染色體轉殖小鼠而產生，其中內生性鼠免疫球蛋白基因經過鈍化，而導入外生性人免疫球蛋白基因。此種小鼠為技藝界所已知(例如參考美國專利案5,545,806；5,569,825；5,625,126；5,633,425；5,789,650；
10 5,877,397；5,661,016；5,814,318；5,874,299；及5,770,429；全部皆核發給Lonberg及Kay；美國專利案5,939,598；6,075,181；6,114,598；6,150,584及6,162,963核發給Kucherlapati等人；及核發給Ishida等人之PCT公告案WO 02/43478)。人抗體也可使用篩檢人免疫球蛋白基因存庫之
15 噬菌體表現方法製備。此種分離人抗體用之噬菌體表現方法也為業界所已知(例如參考美國專利案5,223,409；5,403,484；及5,571,698核發給Ladner等人；美國專利案5,427,908及5,580,717核發給Dower等人；美國專利案5,969,108及6,172,197核發給McCafferty等人；及美國專利
20 案5,885,793；6,521,404；6,544,731；6,555,313；6,582,915及6,593,081核發給Griffiths等人)。

如此處使用，「固體撐體」表示實質上不溶於所選用之溶劑系統，或容易(例如藉沉澱)由可溶於其中之選定的溶劑系統分離之一種材料。實施本發明有用之固體撐體包括被

活化或可活化來允許選定之種類結合至固體撐體之組群。
固體撐體也可為本發明之個別化合物或多於一種化合物結合至其上之基材，例如晶片、晶圓或孔。

如此處使用，「反應性官能基」一詞係指下列基團包括

5 但非限於烯烴類、炔類、醇類、酚類、醚類、氧化物類、
鹵化物類、醛類、酮類、羧酸類、酯類、醯胺類、氰酸酯類、異氰酸酯類、硫氰酸酯類、異硫氰酸酯類、胺類、肼類、胂類、醯肼類、重氮類、重氮鎗類、硝類、腈類、硫醇類、硫化物類、二硫化物類、亞碲類、碲類、磺酸類、
10 亞磺酸類、縮醛類、縮酮類、酞類、硫酸酯類、磺烷酸類、
異腈類、肼類、醯亞胺類、醯亞胺酸酯類、硝酮類、羥基胺類、肟類、羥肟酸類、硫羥肟酸類、丙二烯類、原酸酯類、亞硫酸酯類、烯胺類、炔胺類、脲類、假脲類、半縮脲類、甲二醯亞胺類、胺基甲酸酯類、亞胺類、疊氮化物類、偶氮化合物、氧化亞氮化合物、及亞硝化合物。反應性官能基也包括用來製備生物綴合物之該等反應性官能基，例如N-羥基丁二醯亞胺酯類、順丁烯二醯亞胺類等(例如參考Hermanson，生物綴合技術，學術出版社，聖地牙哥，1996年)。此等官能基各自之製法為技藝界眾所周知，其應
15 用於特定用途或改性用於特定用途係屬於熟諳技藝人士之技巧範圍(例如參考Sandler及Karo編輯，有機官能基之製備，學術出版社，聖地牙哥，1989年)。反應性官能基可經保護或未經保護。

本發明化合物可製備成單一異構物(例如對映異構

物、順式異構物、反式異構物、位置異構物、非對映異構物)，或製備成異構物之混合物。於較佳實施例中，化合物係製備成實質上單一異構物。實質上異構純質化合物之製法為技藝界所已知。例如對映異構豐富混合物及純質對映異構化合物可經由使用對映異構純質之合成中間物組合留下對掌中心之立體化學不變或導致其完全轉化之反應來製備。另外，終產物或合成途徑沿線之各個中間物可被光學分割成為單一立體異構物。反轉或留下不變的特定立體中心之技術以及立體異構物混合物之光學分割技術為技藝界眾所周知，屬於熟諳技藝人士選用於特定情況之適當方法之技巧範圍。大致上參考Furniss等人(編輯)，弗革氏(VOGEL's)實用有機化學百科第5版，隆曼科技公司(Longman Scientific and Technical Ltd.)，伊賽斯，1991年，809-816頁；及Heller, Acc. Chem. Res. 23:128 (1990)。

15 鏈接劑

本發明提供藥物-配體綴合物，此處藥物係透過化學鏈接劑而鏈接至配體。於若干實施例中，鏈接劑為胜肽鏈接劑，於此處顯示為 $(L^4)_p-F-(L^1)_m$ 。其它鏈接劑包括烴鏈接劑及雙硫鏈接劑，於此處分別顯示為 $(L^4)_p-H-(L^1)_m$ 或 $(L^4)_p-J-(L^1)_m$ 。除了鏈接劑係附接至藥物之外，本發明也提供適合附接至大致上任一種分子之可裂解鏈接劑臂。本發明之鏈接劑臂面相於此處係就其附接至治療部分舉例說明。但熟諳技藝人士顯然易知，鏈接劑可附接至多個不同種類，包括但非限於診斷劑、分析劑、生物分子、靶定劑、

可檢測標記等。

胜肽鏈接劑及其它鏈接劑之用於藥物-配體綴合物係說明於美國臨時專利申請案 60/295,196 ; 60/295,259 ; 60/295,342 ; 60/304,908 ; 60/572,667 ; 60/661,174 ; 5 60/669,871 ; 60/720,499 ; 60/730,804 ; 及 60/735,657 及美國專利申請案 10/160,972 ; 10/161,234 ; 11/134,685 ; 11/134,826 ; 及 11/398,854 及美國專利案 6,989,452 及 PCT 專利申請案 PCT/US2006/37793 , 各案以引用方式併入此處。

於一個面相中，本發明係有關可用於將靶定基附接至治療劑及標記物之鏈接劑。於另一個面相中，本發明提供可對化合物提供安定性，降低活體內毒性或以其它方式有利於化合物之藥力學、生物利用率及/或藥效學等方面之鏈接劑。通常較佳於此等實施例中，一旦藥物被遞送至其作用部位，鏈接劑經過裂解，釋放活性藥物。如此於本發明10 之一個實施例中，本發明之鏈接劑為無殘料，一旦鏈接劑由治療劑或與標記物移除(例如於活化期間移除)不會留下鏈接劑存在的蹤跡。

於本發明之另一個實施例中，鏈接劑之特徵為可於標靶細胞內部或附近的位置被裂解，諸如於治療作用部位或標記物活性部位被裂解。此種裂解本質上可為酶催化作用。此項特徵可輔助減少治療劑或標記物之系統性活化，降低毒性及系統性副作用。較佳酶催化裂解之可裂解基包括胜肽鍵、酯鍵聯及雙硫鍵聯。於其它實施例中，對 pH 敏感之鏈接劑可透過 pH 的改變來裂解。20

本發明之一重要面相為可控制鏈接劑之裂解速度。經常期望鏈接劑快速裂解。但於若干實施例中，以較緩慢裂解之鏈接劑為佳。舉例言之，於持續釋放配方中或於有快速釋放組分及緩慢釋放組分二者之配方中，提供可較為緩慢裂解之鏈接劑為佳。WO 02/096910提供有胍鏈接劑之若干特定配體藥物之複體。但無法依據期望之環化速率來「微調」鏈接劑組成，所述特定化合物以比對多種藥物-鏈接劑綴合物較佳的速率之更緩慢速率而從藥物裂解配體。相反地，本發明之胍鏈接劑提供一定範圍之環化速率，由極快至極慢，藉此允許基於期望之環化速率來選用特定胍鏈接劑。舉例言之，使用裂解時可製造單一5員環之胍鏈接劑，可達成極為快速環化。鎖定目標遞送胞毒劑至細胞之較佳環化速率可使用下述胍鏈接劑達成，該胍鏈接劑於裂解時，由具有兩個於偕位置(geminal position)之甲基之鏈接劑製造兩個5員環或單一6員環。偕-二甲基效應顯示比較於偕位置不含兩個甲基之單一6員環，可加速環化反應速率。如此係來自於環中應變的解除。但偶爾取代基可能減慢反應，而非讓反應加速。但經常延遲的理由可追蹤至立體封阻。如實例2.4所示，偕二甲基取代比較偕碳為CH₂時，允許遠更快速的環化反應。

但主要發現，於若干實施例中，以較為緩慢裂解之鏈接劑為佳。舉例言之，於持續釋放配方中，或於有快速釋放組分及緩慢釋放組分之配方中，可提供較為緩慢裂解之鏈接劑。於若干實施例中，使用胍鏈接劑可達成緩慢環化

速率，當裂解時產生單一6員環(不含偕二甲基取代)或單一7員環。

鏈接劑也用來穩定化治療劑或標記物，免於於血循環中分解。此項特徵提供顯著效果，原因在於此種穩定化可延長附接劑或標記物之血循環半生期。鏈接劑也用來衰減附接劑或標記物之活性，故當綴合物於血循環中相當良性，於期望的作用部位活化後具有期望的效果，例如毒性。對治療劑綴合物，此種鏈接劑特徵可用來改良治療劑之治療指數。

- 10 安定基團較佳經選擇可限制治療劑或標記物被可能存在於血液中或非標靶組織中之酶所清除與代謝；安定基團進一步選擇可限制治療劑或標記物被轉運入細胞。安定基團係用來阻斷治療劑或標記物的分解；也可用來提供治療劑或標記物之其它特性。安定基團也可呈調配形式或非調配形式改良治療劑或標記物於儲存期間之安定性。
- 15

- 理想上，安定基團若用來保護治療劑或標記物免於分解，則也可安定化治療劑或標記物，當將治療劑或標記物於37°C之人血中儲存2小時測試時，獲得於給定之檢定分析條件下，治療劑或標記物被存在於人血中之酶裂解量低於20%，較佳低於10%，更佳低於5%，及又更佳低於2%。
- 20

本發明亦係關於含有此等鏈接劑之綴合物。更特別，本發明係關於可用於治療疾病，特別用於癌症化學治療之前藥。特別，使用此處所述鏈接劑，相對於具有類似結構式之前藥，提供顯示高度作用特異性、較低毒性、血中改

良安定性之前藥。

如此處所述，本發明之鏈接劑可存在於胞毒性綴合物之多個位置。

如此，提供一種鏈接劑其含有多個基團中之任一者作為鏈之一部分，該鏈於活體內例如於血流中將以比較缺乏此種基團之構成體更快的速率裂解。也提供鏈接劑臂與治療劑或診斷劑之綴合物。鏈接劑可用來形成治療劑之前藥類似物，且將治療劑或診斷劑可逆性鏈接至靶定劑、可檢測標記或固體撐體。鏈接劑可結合成包括本發明之胞毒素之複體。

除了可裂解胜肽、胍或雙硫基之外，一個或多個自我犧牲性鏈接基 L^1 視需要可導入於胞毒素與靶定劑間。此等鏈接基也可描述為間隔基且含有至少兩個反應性官能基。典型地，間隔基之一個化學官能基鍵結至治療劑例如胞毒素之一個化學官能基，而間隔基之另一個化學官能基用來鍵結至靶定劑或可裂解鏈接劑之一個化學官能基。間隔基之化學官能基之實例包括羥基、巰基、羰基、羧基、胺基、酮基及肟基。

L^1 表示之自我犧牲性鏈接劑一般為經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基或經取代或未經取代之雜烷基。於一個實施例中，烷基或芳基包含1至20個碳原子。也包含聚乙二醇部分。

間隔劑之實例例如包括6-胺基己醇、6-巰基己醇、10-羥基癸酸、甘胺酸及其它胺基酸、1,6-己二醇、 β -丙胺酸、

2-氨基乙醇、肼胺(2-氨基乙硫醇)、5-氨基戊酸、6-氨基己酸、3-順丁烯二醯亞胺基苯甲酸、酞、 α -經取代之酞類、羰基、胺醛酯、核酸類、胜肽類等。

間隔劑可用來將額外分子量及化學官能基導入胞毒素-靶定劑複體。大致上，額外質量及官能度將影響複體之血清半生期及其它性質。如此透過間隔基的小心選擇，可製造具有一定範圍之血清半生期之胞毒素複體。

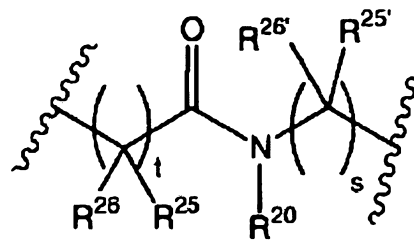
直接位置相鄰於藥物部分之間隔劑也標示為 $(L^1)_m$ ，其中 m 為選自於0、1、2、3、4、5及6之整數。當存在有多個 L^1 間隔劑時，可使用相同或相異之間隔劑。 L^1 可為任一種自我犧牲性基團。

L^4 為一鏈接劑部分，其利用含有該部分之鏈接劑來對綴合物提供較高溶解度或降低聚積性質，或修飾綴合物之水解速率。 L^4 鏈接劑無需為自我犧牲性。於一個實施例中， L^4 部分為經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之芳基、未經取代之芳基、經取代之雜烷基或未經取代之雜烷基，其中任一者可為直鏈、分支鏈或環狀。取代基例如為低碳(C^1 - C^6)烷基、烷氧基、烷硫基、烷基胺基或二烷基胺基。於若干實施例中， L^4 包含無環部分。於另一實施例中， L^4 包含任何帶正電或帶負電胺基酸聚合物，諸如聚離胺酸或聚精胺酸。 L^4 可包含聚合物，諸如聚乙二醇部分。此外， L^4 鏈接劑例如可包含聚合物組分及小型化學部分。

於較佳實施例中， L^4 包含聚乙二醇(PEG)部分。 L^4 之PEG部分長1個至50個單元。較佳，PEG有1-12個重複單元，

更佳3-12個重複單元，更佳2-6個重複單元，或甚至更佳3-5個重複單元，及最佳4個重複單元。 L^4 可單獨由PEG部分所組成，或也可含有額外經取代或未經取代之烷基或雜烷基。可將PEG組合成為 L^4 部分之一部分來提升複體之水中溶解度。此外，PEG部分可降低於藥物綴合至抗體時可能出現的聚積程度。

於若干實施例中， L^4 包含



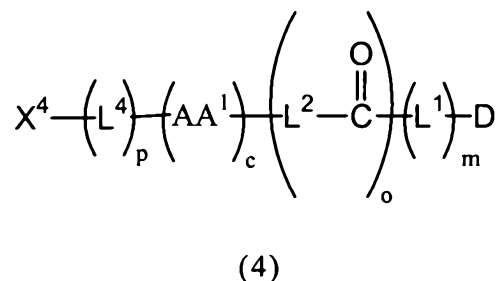
直接附接至 $(AA^1)_c$ 之N-端。 R^{20} 為選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基及鹽基中之一員。各個 R^{25} 、 $R^{25'}$ 、 R^{26} 、及 $R^{26'}$ 分別係選自H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、及經取代或未經取代之雜環烷基；及s及t分別為1至6之整數。較佳 R^{20} 、 R^{25} 、 $R^{25'}$ 、 R^{26} 、及 $R^{26'}$ 為疏水性。於若干實施例中， R^{20} 為H或烷基(較佳為未經取代之低碳烷基)。於若干實施例中， R^{25} 、 $R^{25'}$ 、 R^{26} 、及 $R^{26'}$ 分別為H或烷基(較佳為未經取代之 C^1 至 C^4 烷基)。於若干實施例中， R^{25} 、 $R^{25'}$ 、 R^{26} 、及 $R^{26'}$ 分皆為H。於若干實施例中，t為1及s為1或2。

20 胜肽鏈接劑(F)

如前文討論，本發明之胜肽鏈接劑可以下式表示： $(L^4)_p$

—F—(L¹)_m，此處F表示包含胜肽部分之鏈接劑部分。於一個實施例中，F部包含任選的額外自我犧牲性鏈接劑L²及羰基。於另一個實施例中，F部包含胺基及任選的間隔基L³。

如此，於一個實施例中，包含胜肽鏈接劑之綴合物包含式4結構式：

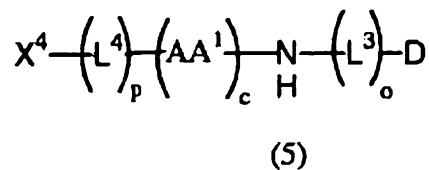


於本實施例中，L¹為如前文說明之自我犧牲性鏈接劑，及L⁴為如前文說明之較佳提供較高溶解度或降低聚集性質或修飾水解速率之一部分。L²表示自我犧牲性鏈接劑。此外，m為0、1、2、3、4、5或6；及o及p分別為0或1。AA¹表示一個或多個天然胺基酸及/或非天然α-胺基酸；c為1至20之整數。於若干實施例中，c係於0至5之範圍，或c為2或3。

於上式4本發明之胜肽鏈接劑中，AA¹於其胺基端係直接鏈接至L⁴；或當L⁴不存在時，直接鏈接至X⁴基(亦即靶定劑、可檢測標記、經保護之反應性官能基或未經保護之反應性官能基)。於若干實施例中，當L⁴存在時，L⁴不包含直接附接至(AA¹)_c之N-端之羧酸鹽基。如此，並非必要如同美國專利案6,214,345之胜肽鏈接劑所需，本實施例並非必要有羧酸鹽基單元直接存在以L⁴或X⁴與AA¹間。

於另一個實施例中，包含胜肽鏈接劑之綴合物包含式5

結構式：



於本實施例中， L^4 為如前文說明之較佳提供較高溶解度或降低聚集性質或修飾水解速率之一部分； L^3 為間隔基包含第一胺基或第二胺基或羧基官能基， L^3 之胺與D之旁出羧基官能基形成醯胺鍵結，或 L^3 之羧基與D之旁出胺官能基形成醯胺鍵結；及o及p分別為0或1。 AA^1 表示一個或多個天然胺基酸及/或非天然 α -胺基酸；c為1至20之整數。於本實施例中， L^1 為不存在(亦即通式中之m為0)。

於上式5本發明之胜肽鏈接劑中， AA^1 於其胺基端係直接鏈接至 L^4 ；或當 L^4 不存在時，直接鏈接至 X^4 基(亦即靶定劑、可檢測標記、經保護之反應性官能基或未經保護之反應性官能基)。於若干實施例中，當 L^4 存在時， L^4 不包含直接附接至 $(AA^1)_c$ 之N-端之羧酸醯基。如此，並非必要如同美國專利案6,214,345之胜肽鏈接劑所需，本實施例並非必要有羧酸醯基單元直接存在以 L^4 或 X^4 與 AA^1 間。

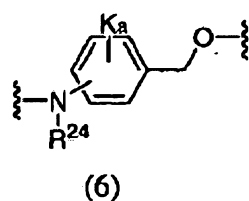
自我犧牲性鏈接劑 L^2

自我犧牲性鏈接劑 L^2 為雙官能化學部分，其可將兩個間隔之化學部分共同共價鏈接成為一個正常為穩定之三連分子，利用酶催化裂解而由該三連分子中釋放隔開的化學部分中之一者；以及於該酶催化裂解之後，由分子自發裂解來釋放出隔開的化學部分中之另一者。根據本發明，自

我犧牲性間隔劑於其末端之一係共價鏈接至胜肽部分，而
 另一端係共價鏈接至藥物部分之化學反應性位置，該藥物
 部分衍生可抑制藥理活性，因而將胜肽部分及藥物部分隔
 開且共同共價鏈接成為一個三連分子，該三連分子於無標
 5 靶酶之存在下為安定且為藥理惰性，但於共價鏈接間隔劑
 部分與胜肽部分之鍵結可藉此種標靶酶催化裂解，藉此執
 行由該三連分子釋放胜肽部分。此種酶催化裂解又將活化
 間隔劑部分之自我犧牲特性，起始共價鏈接間隔劑部分至
 藥物部分之該鍵結的自發裂解，藉此執行藥物以藥理活性
 10 形式的釋放。

自我犧牲性鏈接劑 L^2 可為任一種自我犧牲基團。較佳
 L^2 為經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之雜烷基、
 未經取代之雜烷基、未經取代之雜環烷基、經取代之雜環
 烷基、經取代及未經取代之芳基、及經取代及未經取代之
 15 雜芳基。

一種特佳自我犧牲性間隔劑 L^2 可以式6表示：

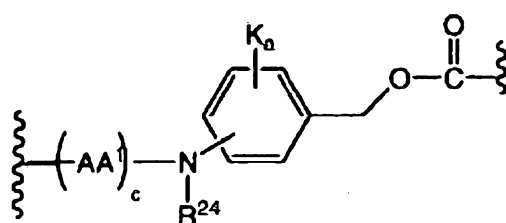


胺基苄基之芳香環可經以一個或多個「K」基取代。「K」
 基為芳香環上置換附接至構成環結構的四個未經取代之碳
 20 中之一者之氫之取代基。「K」基可為單原子諸如鹵素，或
 可為多原子基團例如烷基、雜烷基、胺基、硝基、羥基、
 烷氧基、鹵烷基、及氰基。各個K分別係選自於由下列基團

所組成之組群：經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之雜烷基、未經取代之雜烷基、經取代之芳基、未經取代之芳基、經取代之雜芳基、未經取代之雜芳基、經取代之雜環烷基、未經取代之雜環烷基、鹵素、 NO_2 、 $\text{NR}^{21}\text{R}^{22}$ 、
 5 $\text{NR}^{21}\text{COR}^{22}$ 、 $\text{CONR}^{21}\text{R}^{22}$ 、 OCOR^{21} 、及 OR^{21} ，其中 R^{21} 及 R^{22} 分別係選自於H、經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之雜烷基、未經取代之雜烷基、經取代之芳基、未經取代之芳基、經取代之雜芳基、未經取代之雜芳基、經取代之雜環烷基、及未經取代之雜環烷基。K取代基之實例包
 10 括但非限於F、Cl、Br、I、 NO_2 、OH、 OCH_3 、 NHCOCH_3 、 $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、 NHCOCF_3 及甲基。至於「 K_a 」，a為0、1、2、3或4之整數。於一個較佳實施例中，a為0。

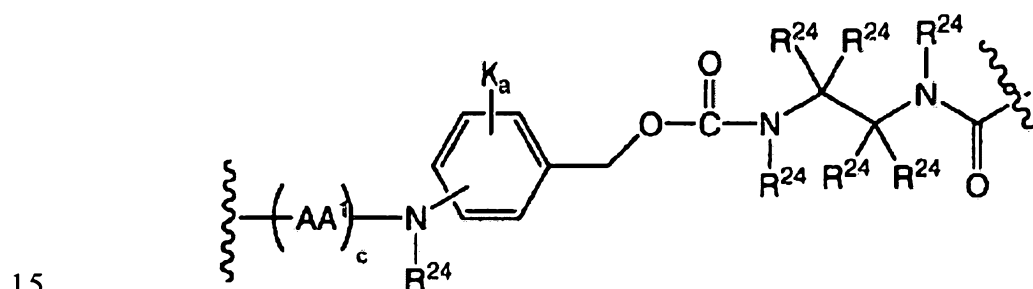
上示結構式之醚氧原子係連接至羰基。由 NR^{24} 官能基進入芳香環內部之線指示胺基官能基係形成於形成開環且
 15 未由 $-\text{CH}_2-\text{O}-$ 基團所取代之5個碳原子中之任一個碳原子。較佳，X之 NR^{24} 官能基係共價鍵結至芳香環或於相對於 $-\text{CH}_2-\text{O}-$ 基之對位。 R^{24} 為選自於由H、經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之雜烷基、及未經取代之雜烷基所組成之組群。於一個特定實施例中， R^{24} 為氫。

20 於一個實施例中，本發明提供上式(4)胜肽鏈接劑，其中F包含結構式：



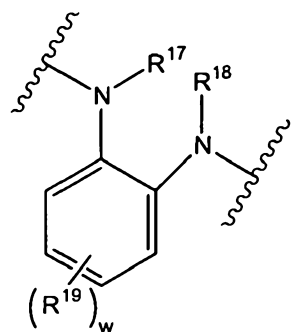
此處 R^{24} 為選自於由H、經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之雜烷基、及未經取代之雜烷基所組成之組群。各個K分別係選自於由下列基團所組成之組群：經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之雜烷基、未經取代之雜烷基、經取代之芳基、未經取代之芳基、經取代之雜芳基、未經取代之雜芳基、經取代之雜環烷基、未經取代之雜環烷基、鹵素、 NO_2 、 $\text{NR}^{21}\text{R}^{22}$ 、 $\text{NR}^{21}\text{COR}^{22}$ 、 $\text{OCONR}^{21}\text{R}^{22}$ 、 OCOR^{21} 、及 OR^{21} ，其中 R^{21} 及 R^{22} 分別係選自於H、經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之雜烷基、未經取代之雜烷基、經取代之芳基、未經取代之芳基、經取代之雜芳基、未經取代之雜芳基、經取代之雜環烷基、及未經取代之雜環烷基；及a為0、1、2、3或4之整數。

於另一個實施例中，上式(4)胜肽鏈接劑包含具如下結構式之 $-\text{F}-(\text{L}^1)_m-$ ：



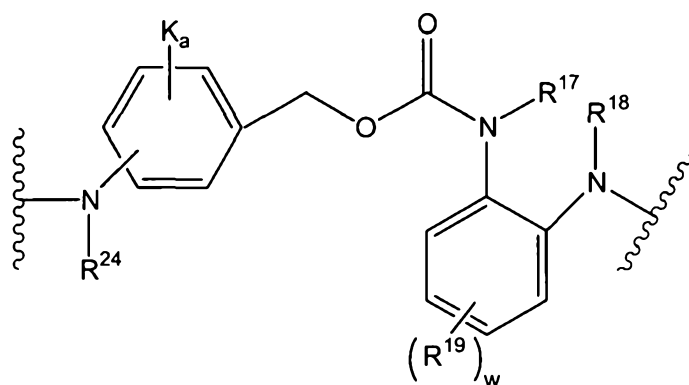
此處各個 R^{24} 為選自於由H、經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之雜烷基、及未經取代之雜烷基所組成之組群。

於若干實施例中，自我犧牲性間隔劑 L^1 或 L^2 包括



此處 R^{17} 、 R^{18} 及 R^{19} 各自分別係選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、及經取代或未經取代之芳基，及 w 為0至4之整數。於若干實施例中， R^{17} 及 R^{18} 分別為H或烷基(較佳為未經取代之 C_{1-4} 烷基)。較佳 R^{17} 及 R^{18} 為 C_{1-4} 烷基，諸如甲基或乙基。於若干實施例中， w 為0。雖然不欲受任何特定理論所限，實驗上發現本特定自我犧牲性間隔劑相對快速環化。

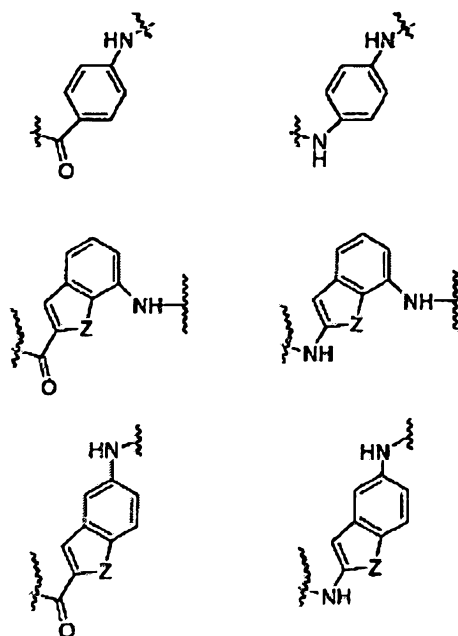
於若干實施例中， L^1 或 L^2 包括



間隔基 L^3

間隔基 L^3 之特徵在於包含第一胺或第二胺或羧基官能基，且 L^3 基之胺與D之旁出羧基官能基形成醯胺鍵結，或 L^3 之羧基與D之旁出胺官能基形成醯胺鍵結。 L^3 可選自於由經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、或

經取代或未經取代之雜環烷基所組成之組群。於較佳實施例中， L^3 包含芳香族基。更佳 L^3 包含苯甲酰基、苯胺基或吲哚基。可用作為 $-L^3-NH-$ 間隔劑之結構式之非限制性實例包括下列結構式：

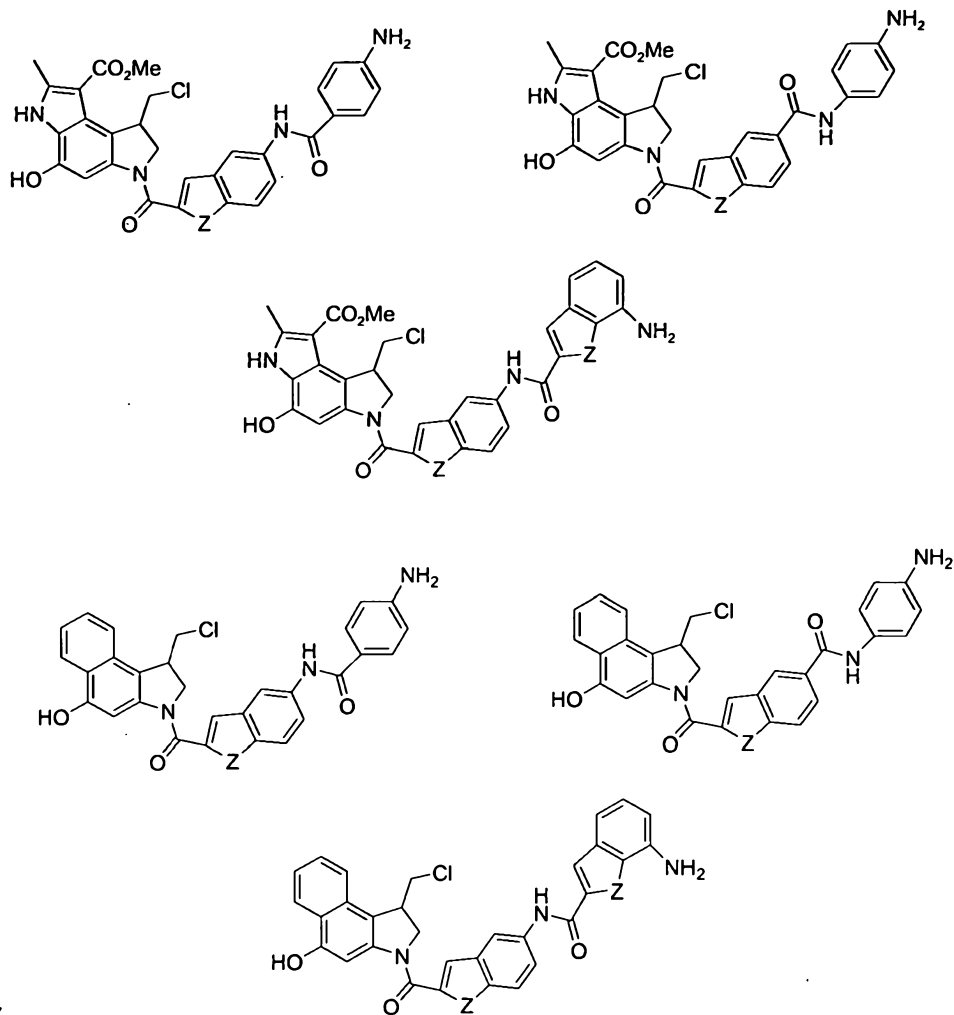


5

此處 Z 為選自於 O 、 S 及 NR^{23} 中之一員，以及此處 R^{23} 為選自於 H 、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、及鹽基中之一員。

當含有 L^3 之本發明之鏈接劑裂解時， L^3 部分維持附接至藥物 D 。如此， L^3 部分經選擇讓其附接至 D 之存在不會顯著變更 D 之活性。於另一個實施例中，部分藥物 D 本身係作為 L^3 間隔劑。例如於一個實施例中，藥物 D 為其中部分藥物用作為 L^3 間隔劑功能之路卡黴素衍生物。此種實施例之非限制性實例包括其中 $NH_2-(L^3)-D$ 具有選自於下列所組成之組群之結構式：

15



及

此處 Z 為選自於 O、S 及 NR^{23} 中之一員，以及此處 R^{23} 為選自於 H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、及醯基中之一員；及此處於各個結構式上之 NH_2 基團與 $(\text{AA}^1)_c$ 反應而形成 $-(\text{AA}^1)_c\text{-NH-}$ 。

胜肽序列 AA^1

基團 AA^1 表示單一胺基酸或藉醯胺鍵結接合之多個胺基酸。胺基酸可為天然胺基酸及/或非天然 α -胺基酸。

10 胜肽序列 $(\text{AA}^1)_c$ 於功能上為單一胺基酸 ($c=1$ 時) 或藉醯胺鍵接合之多個胺基酸之醯胺化殘基。本發明之胜肽經選擇可指導藉酵素而酶催化裂解胜肽位於生物系統中之感興

趣位置。舉例言之，使用靶定劑而靶定於一個細胞之綴合物，然後藉細胞攝取，對該綴合物而言，胜肽係選擇可藉一種或多種溶小體蛋白酶裂解之胜肽，讓胜肽於溶小體內
 部作細胞內裂解。胜肽內部之胺基酸數目係於1至20之範圍；但更佳為2-8個胺基酸、2-6個胺基酸或2、3或4個胺基
 酸組成(AA¹)_c。對於被特定酶或酶類別裂解為敏感之胜肽序列為技藝界眾所周知。

可於血清、肝臟、腸藉酶裂解之多種胜肽序列為技藝界所已知。本發明之胜肽序列之實例包括可藉蛋白酶裂解之胜肽序列。討論焦點集中於使用蛋白酶敏感性序列係為了清晰說明而非限制本發明。

當裂解胜肽之酶為蛋白酶時，鏈接劑通常包括含有蛋白酶之裂解辨識序列之一種胜肽。蛋白酶之裂解辨識序列為蛋白質裂解期間由蛋白酶所辨識之特定胺基酸序列。多個蛋白酶裂解位置為技藝界所已知，此等及其它裂解位置係含括於鏈接劑部分。例如參考Matayoshi等人，科學247:954 (1990); Dunn等人，Meth. Enzymol. 241:254 (1994); Seidah等人，Meth. Enzymol. 244:175 (1994); Thornberry, Meth. Enzymol. 244:615 (1994); Weber等人，Meth. Enzymol. 244:595 (1994); Smith等人，Meth. Enzymol. 244: 412 (1994); Bouvier等人，Meth. Enzymol. 248:614 (1995), Hardy等人，發展中之類澱粉蛋白前驅物、老化與阿茲海默氏病，編者Masters等人，190-198頁(1994年)。

胜肽序列(AA¹)_c之胺基酸係基於其適合由特定分子諸

如腫瘤關聯蛋白酶進行選擇性酶催化裂解之適宜性質而選用。所使用之胺基酸可為天然胺基酸或非天然胺基酸。其可呈L組態或D組態。於一個實施例中，使用至少三種不同胺基酸。於另一個實施例中，只使用兩種胺基酸。

5 於較佳實施例中，胜肽序列(AA¹)_n係基於由溶小體蛋白酶裂解之能力而選擇，溶小體蛋白酶之非限制性實例包括組織蛋白酶B、C、D、H、L及S。較佳胜肽序列(AA¹)_n可於試管內由組織蛋白酶B裂解，但可使用技藝界已知之試管內蛋白酶裂解檢定分析測試。

10 於另一個實施例中，胜肽序列(AA¹)_n係基於其被腫瘤相關蛋白酶裂解之能力而選擇，該種蛋白酶諸如於胞外出現於腫瘤細胞附近之蛋白酶，其非限制性實例包括席梅特(thimet)寡胜肽酶(TOP)及CD10。胜肽由TOP或CD10裂解之能力可使用技藝界已知之試管內蛋白酶裂解檢定分析測
15 試。

 適合用於本發明之綴合物之胜肽序列之適當但非限制性實例包括Val-Cit、Cit-Cit、Val-Lys、Phe-Lys、Lys-Lys、Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp、Cit、Phe-Ala、Phe-N⁹-tosyl-Arg、Phe-N⁹-nitro-Arg、Phe-Phe-Lys、
20 D-Phe-Phe-Lys、Gly-Phe-Lys、Leu-Ala-Leu、Ile-Ala-Leu、Val-Ala-Val、Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ. ID NO: 1)、β-Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ. ID NO: 2)、Gly-Phe-Leu-Gly (SEQ. ID NO: 3)、Val-Ala、Leu-Leu-Gly-Leu (SEQ. ID NO: 14)、Leu-Asn-Ala、及Lys-Leu-Val。較佳胜肽序列為Val-Cit及

Val-Lys。

於另一個實施例中，位置最接近藥物部分之胺基酸係選自於由下列所組成之組群：Ala、Asn、Asp、Cit、Cys、Gln、Glu、Gly、Ile、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、
5 Trp、Tyr、及Val。於又另一個實施例中，位置最接近藥物部分之胺基酸係選自於由下列所組成之組群：Ala、Asn、Asp、Cys、Gln、Glu、Gly、Ile、Leu、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、Tyr及Val。

蛋白酶已經暗示涉及癌症的轉移。蛋白酶尿激酶合成的增加係與多種癌症轉移能力的增高有關。尿激酶活化由
10 胞質素原形成胞質素，胞質素原獨特係位在於胞外空間，其活化造成胞內基質中的蛋白質分解，藉此轉移中的腫瘤細胞入侵。胞質素也活化膠原蛋白酶，如此促進於毛細管周圍及淋巴系統的基底膜中的膠原蛋白分解，允許腫瘤細
15 胞入侵標靶組織(Dano等人，Adv. Cancer.Res., 44:139 (1985))。如此，於本發明範圍內可利用藉尿激酶裂解之胜肽序列作為鏈接劑。

本發明也提供對於藉胰蛋白酶裂解敏感之胜肽序列的使用。人肥大細胞表現至少四種不同的胰蛋白酶分別標示
20 為 $\alpha\beta$ I、 β II及 β III。此種酶並非受血液血漿蛋白酶抑制劑控制，而於試管內只裂解少數生理酶基質。絲胺酸蛋白酶之胰蛋白酶家族暗示涉及多種牽涉肥大細胞之過敏病及發炎病，原因在於胰蛋白酶濃度升高出現於患有此等病症病人之生物體液中。但胰蛋白酶於疾病之病理生理方面所

扮演的確切角色仍然有待闡釋。胰蛋白酶之生物功能及相對應之生理結果之範圍實質上係由其酶基質之特異性來界定。

胰蛋白酶為前尿激酶胞質素原活化劑(uPA)之強力活化劑，uPA為與腫瘤轉移及腫瘤入侵相關聯之一種蛋白酶之酶原形式。胞質素原串級的活化，導致胞外基質的摧毀，可供細胞外滲及細胞遷移，乃前尿激酶胞質素原活化劑(uPA)於Pro-Arg-Phe-Lys (SEQ. ID NO: 4)之P4-P1序列被胰蛋白酶活化之函數(Stack等人，生物化學期刊 269(13):9416-9419 (1994))。血管活性腸肽乃暗示於血管滲透度調節之神經肽，該肽也藉胰蛋白酶裂解，主要係裂解於Thr-Arg-Leu-Arg (SEQ. ID NO: 5)序列(Tam等人，Am.J. Respir. Cell Mol. Biol. 3:27-32 (1990))。G-蛋白質偶合之受體PAR-2可藉胰蛋白酶於Ser-Lys-Gly-Arg (SEQ. ID NO: 6)序列裂解及活化，來驅動纖維母細胞的增生，而凝血酶活化受體PAR-1係藉胰蛋白酶於Pro-Asn-Asp-Lys (SEQ. ID NO: 7)序列鈍化(Molino等人，生物化學期刊 272(7):4043-4049 (1997))。總而言之，此項證據提示胰蛋白酶對於因疾病結果導致組織重新塑型方面扮演關鍵性角色。此點係與若干肥大細胞所媒介之病症之深奧變化符合一致。慢性氣喘及其它長期呼吸道疾病之一項正字標記為下方組織的纖維變性及增厚，可能係由於其生理標靶被胰蛋白酶活化的結果。同理，一系列報告顯示血管新生與肥大細胞密度、胰蛋白酶活性及多種癌症之預後不良有關

(Coussens 等人，基因與發育 13(11):1382-97 (1999)；Takanami 等人，癌症 88(12):2686-92 (2000)；Toth-Jakatics 等人，人類病理學 31(8):955-960 (2000)；Ribatti 等人，國際癌症期刊 85(2):171-5(2000))。

5 技藝界已知多種方法來評估是否有特定蛋白酶可裂解選定之胜肽序列。舉例言之，7-胺基-4-甲基香豆素(AMC)螢光產生性胜肽酶基質之使用為測定蛋白酶特異性已經明確確立之方法(Zimmerman, M.等人，分析生物化學(1977)78:47-51)。醯基苯胺鍵結之特異性裂解，釋放出螢光產生性
10 AMC離去基，允許簡單測定個別酶基質之裂解速率。更為晚近，AMC胜肽酶基質存庫之陣列(Lee, D.等人，(1999)生物有機及藥物化學函件 9:1667-72)及位置掃描存庫(Rano, T.A.等人，(1997)化學與生物學 4:149-55)已經被用來於單一實驗中藉由抽樣寬廣範圍之酶基質而快速得知蛋白酶之N
15 端特異性之輪廓資料。如此，熟諳技藝人士方便評估胜肽序列陣列，判定其於本發明之用途，而未訴諸不必要的實驗。

 本發明之藥物-配體綴合物視需要可含有兩個或多個鏈接劑。此等鏈接劑可相同或相異，例如胜肽鏈接劑可用
20 來將藥物連接至配體；而第二胜肽鏈接劑可將診斷劑附接至該複體。額外鏈接劑之其它用途包括將分析劑、生物分子、靶定劑及可檢測標記鏈接至藥物-配體複體。

 也屬於本發明之範圍為多價本發明化合物，例如包括本發明化合物之二聚體、三聚體、四聚體、或更高階同系

物或其反應性類似物。多價本發明化合物可由單一本發明化合物或多種本發明化合物組裝而得。舉例言之，二元體構成體可為「均二元體」或「雜二元體」。此外，其中本發明化合物或其反應性類似物係附接至寡聚物框架或聚合物框架(例如聚離胺酸、葡萄糖聚糖、羥乙基纖維素等)之多價構成體係屬於本發明之範圍。框架較佳為多官能(亦即有反應性位置陣列可供附接本發明化合物)。此外，框架可衍生自單一本發明化合物或多種本發明化合物。

此外，本發明包括經過官能化而獲得水中溶解度比經過類似官能化之類似化合物提升之化合物。如此，此處所述之任一種取代基可以水中溶解度提升之類似化合物置換。舉例言之，於本發明之範圍例如以二醇置換羥基，或以第四胺、羥基胺或類似之具有更高水溶性部分置換胺係屬於本發明之範圍。於較佳實施例中，經由以提升親代化合物之水中溶解度之部分來取代於對此處所示化合物對離子通道之活性並非必要的位置，可提供額外水中溶解度。提升有機化合物之水中溶解度之方法為技藝界眾所周知。此種方法包括但非限於以持久帶電部分，例如第四胺或於生理相關pH時帶電基團例如羧酸、胺，官能化有機核。其它方法包括將含羥基基團或含胺基基團例如醇類、多元醇類、多醚類等附接至有機核。代表性實例包括但非限於聚離胺酸、聚伸乙基亞胺、聚(乙二醇)及聚(丙二醇)。此等化合物之適當官能化化學及策略為業界已知。例如參考Dunn, R.L.等人編輯，聚合物藥物及藥物遞送系統，ACS研討會系

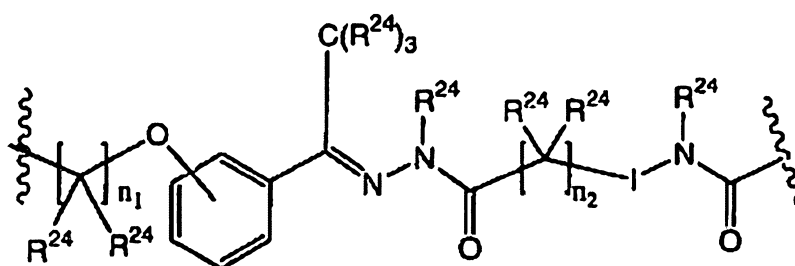
列469集，美國化學會，華盛頓特區，1991年。

脍鏈接劑(H)

於第二實施例中，本發明之綴合物包含脍自我犧牲性鏈接劑，其中該綴合物具有結構式



其中D、 L^1 、 L^4 及 X^4 係如前文定義且如此處進一步說明，H為包含如下結構式之鏈接劑：



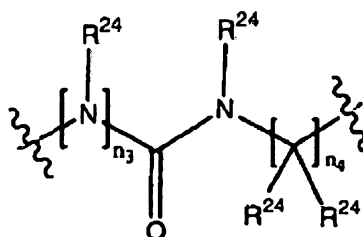
其中

10 n_1 為1-10之整數；

n_2 為0、1或2；

各個 R^{24} 為分別選自於由H、經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之雜烷基、及未經取代之雜烷基所組成之組群中之一員；及

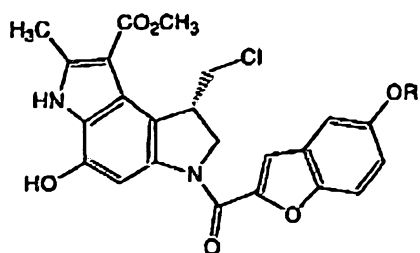
15 I為鍵結(亦即主鏈碳與相鄰氮間之鍵結)或：



其中 n_3 為0或1，但限制條件為當 n_3 為0時， n_2 非為0；以及

n_4 為1、2或3，

其中當I為鍵結時， n_1 為3及 n_2 為1，D不可為



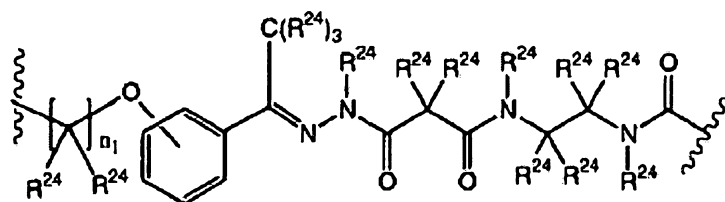
此處R為Me或 $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NMe}_2$ 。

於一個實施例中，苯環上之取代為對位取代。於較佳實施例中， n_1 為2、3或4或 n_1 為3。於較佳實施例中， n_2 為1。

- 5 於較佳實施例中，I為鍵結(亦即主鏈碳與相鄰氮間之鍵結)。於一個面相中，例如當 n_3 為0及 n_4 為2時，肼鏈接劑H當裂解時可形成6-員自我犧牲性鏈接劑。於另一面相中，當裂解時肼鏈接劑H可形成兩個5-員自我犧牲性鏈接劑。於又另一個面相中，當裂解時，H形成一個5-員自我犧牲性鏈接劑，H形成一個7-員自我犧牲性鏈接劑或H形成一個5-員自我犧牲性鏈接劑及一個6-員自我犧牲性鏈接劑。裂解速率受到裂解時所形成之環大小的影響。如此，依據期望裂解速率而定，可選用裂解時所期望形成之適當大小之環。

5員肼鏈接劑

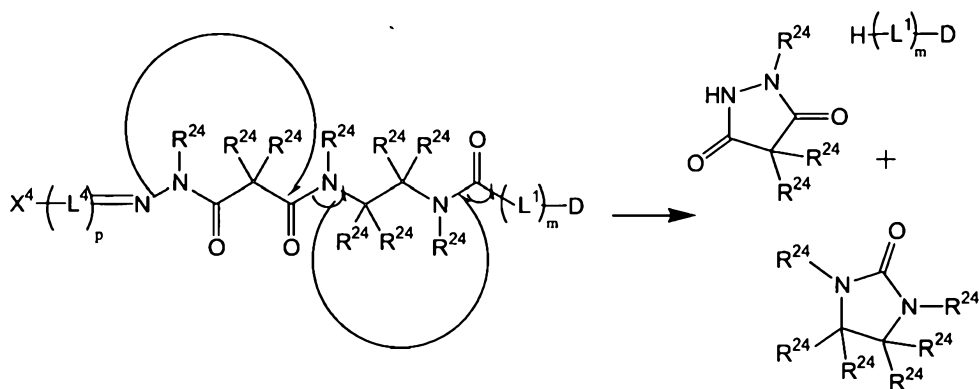
- 15 於一個實施例中，肼鏈接劑包含5-員肼鏈接劑，其中H包含結構式：



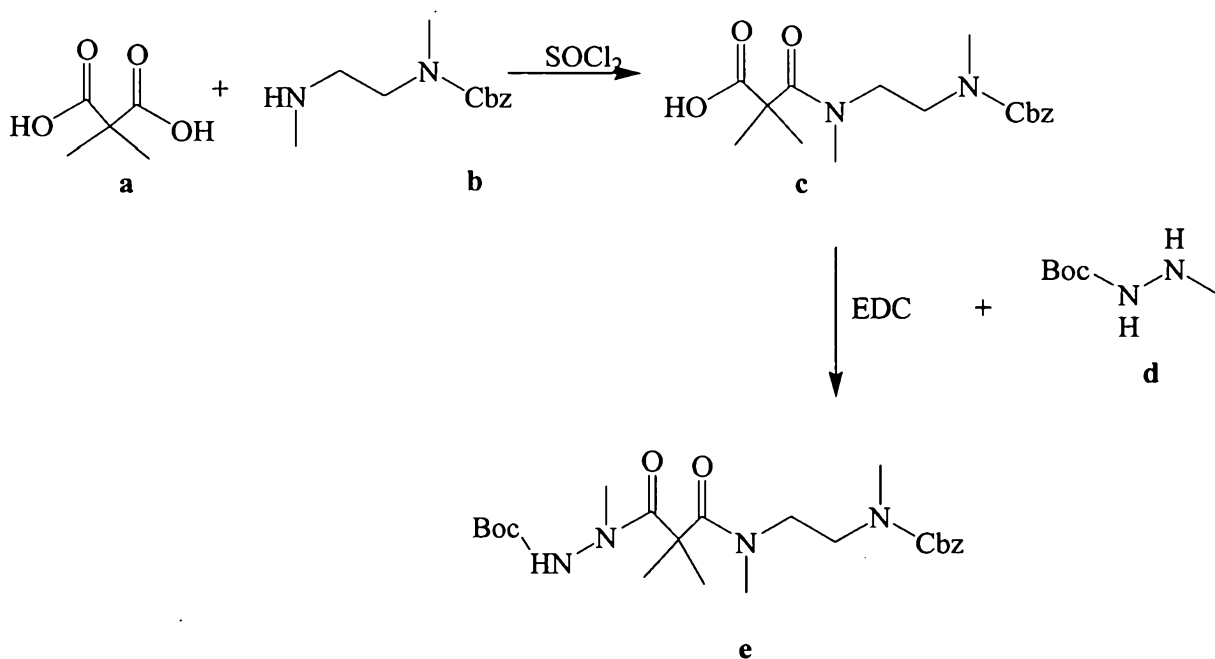
於較佳實施例中， n_1 為2、3或4。於另一較佳實施例中， n_1 為3。於如上結構式中，各個 R^{24} 為分別選自於由H、經取

代之烷基、未經取代之烷基、經取代之雜烷基、及未經取代之雜烷基所組成之組群中之一員。於一個實施例中，各個 R^{24} 分別為H或 C_1 - C_6 烷基。於另一個實施例中，各個 R^{24} 分別為H或 C_1 - C_3 烷基，更佳為H或 CH_3 。於另一個實施例中，至少一個 R^{24} 為甲基。於另一個實施例中，各個 R^{24} 為H。各個 R^{24} 經選擇來調整化合物之立體效應及變更溶解度。

5員肼鏈接劑可進行將藥物與鏈接劑分離之一項或多項環化反應，例如可以如下反應式說明：



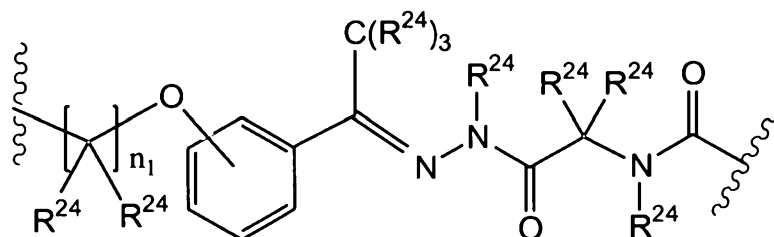
10 本發明之5員鏈接劑製備用之合成途徑實例為：



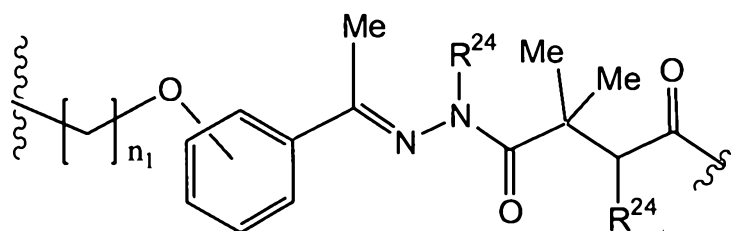
經Cbz保護之DMDA b與2,2-二甲基-丙二酸a於含亞磺
 醯氯之溶液中反應形成Cbz-DMDA-2,2-二甲基丙二酸c。化
 合物c以Boc-N-甲基肼d，於EDC存在下反應而形成
 DMDA-2,2-二甲基丙二酸-Boc-N-甲基肼e。

5 6員肼鏈接劑

於一個實施例中，肼鏈接劑包含5-員肼鏈接劑，其中H
 包含結構式：



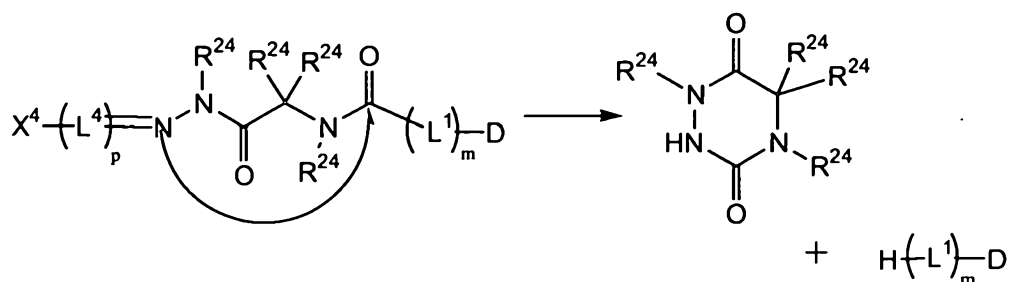
- 於較佳實施例中， n_1 為3。於如上結構式中，各個 R^{24}
 10 為分別選自於由H、經取代之烷基、未經取代之烷基、經取
 代之雜烷基、及未經取代之雜烷基所組成之組群中之一
 員。於一個實施例中，各個 R^{24} 分別為H或 C_1 - C_6 烷基。於另
 一個實施例中，各個 R^{24} 分別為H或 C_1 - C_3 烷基，更佳為H或
 CH_3 。於另一個實施例中，至少一個 R^{24} 為甲基。於另一個
 15 實施例中，各個 R^{24} 為H。各個 R^{24} 經選擇來調整化合物之立
 體效應及變更溶解度。於一較佳實施例，H包含結構式：



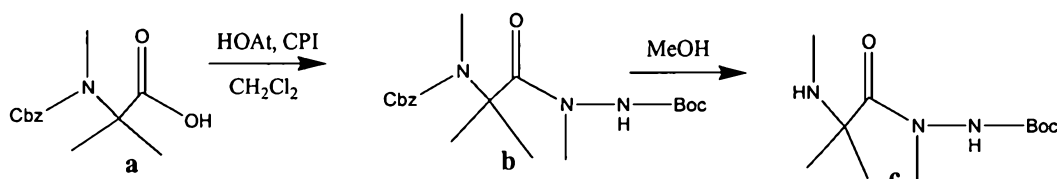
於一個實施例中，H包含偕二甲基取代。如上結構式之
 一個實施例中，各個 R^{24} 分別為H或經取代之烷基或未經取

代之烷基。

6員胼鏈接劑可進行將藥物與鏈接劑分離之環化反應，例如可以如下反應式說明：



5 本發明之6員鏈接劑製備用之合成途徑實例為：

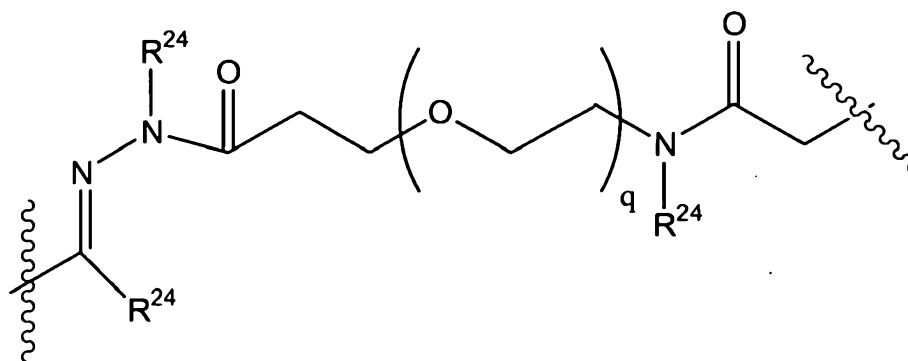


經Cbz保護之二甲基苯胺a於與二氯甲烷之溶液中，與HOAt及CPI反應來形成經Cbz保護之二甲基丙胺酸胼b。胼b係藉甲醇作用而脫去保護，形成化合物c。

10 其它胼鏈接劑

本發明涵蓋7員鏈接劑。該鏈接劑無法如同5員鏈接劑或6員鏈接劑般快速環化，但對若干藥物-配體綴合物而言為較佳。同理，胼鏈接劑可包含兩個6員環，或胼鏈接劑可包含一個6員環化產物及一個5員環化產物。也涵蓋一個5員及一個7員鏈接劑以及一個6員及一個7員鏈接劑。

另一種胼結構式H具有下式：

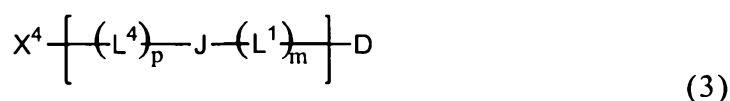


此處q為0、1、2、3、4、5或6；以及

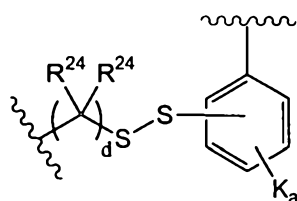
各個R²⁴為分別選自於由H、經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之雜烷基、及未經取代之雜烷基所組成之
5 組群中之一員。此種肼結構式可形成5員環、6員環或7員環，可添加額外組分來形成多個環。

雙硫鏈接劑(J)

於又另一個實施例中，鏈接劑包含可酶催化裂解之雙
硫基。於一個實施例中，本發明提供一種具有根據式3之結
10 構式之胞毒性藥物-配體化合物：



其中D、L¹、L⁴及X⁴係如前文定義且進一步如此處說
明，以及J為包含具有如下結構式之基團之雙硫鏈接劑：



15 其中

各個R²⁴為分別選自於由H、經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之雜烷基、及未經取代之雜烷基所組成之

組群中之一員；

各個K為分別選自於由經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之雜烷基、未經取代之雜烷基、經取代之芳基、未經取代之芳基、經取代之雜芳基、未經取代之雜芳基、
5 經取代之雜環烷基、未經取代之雜環烷基、鹵素、 NO_2 、 $\text{NR}^{21}\text{R}^{22}$ 、 $\text{NR}^{21}\text{COR}^{22}$ 、 $\text{OCONR}^{21}\text{R}^{22}$ 、 OCOR^{21} 、及 OR^{21} 所組成之組群中之一員，

其中

R^{21} 及 R^{22} 分別係選自於由H、經取代之烷基、未經取代
10 之烷基、經取代之雜烷基、未經取代之雜烷基、經取代之芳基、未經取代之芳基、經取代之雜芳基、未經取代之雜芳基、經取代之雜環烷基、及未經取代之雜環烷基所組成之組群；

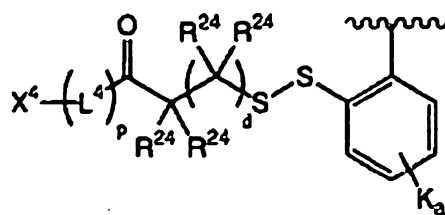
a為整數0、1、2、3或4；及

15 d為整數0、1、2、3、4、5或6。

雙硫鏈接劑之芳香環可經以一個或多個「K」基取代。
「K」基係取代於芳香環上，置換附接至構成環結構式之一部分之四個未經取代之碳中之一者之氫。「K」基可為單原子諸如鹵素，或可為多原子基諸如烷基、雜烷基、胺基、
20 硝基、羥基、烷氧基、鹵烷基、及氰基。K取代基之實例分別包括但非限於F、Cl、Br、I、 NO_2 、OH、 OCH_3 、 NHCOCH_3 、 $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、 NHCOCF_3 及甲基。至於「Ka」，a為0、1、2、3或4之整數。於一特定實施例中，a為0。

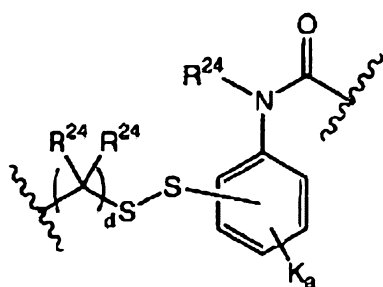
於較佳實施例中，鏈接劑包含下式酶催化可裂解雙硫

基：

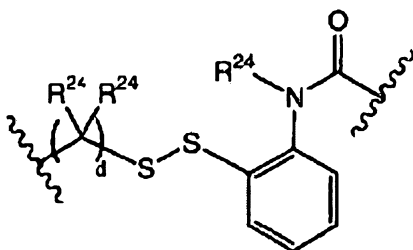


於此實施例中， L^4 、 X^4 、 p 及 R^{24} 之身分係如前文說明， d 為0、1、2、3、4、5或6。於特定實施例中， d 為1或2。

5 更特定雙硫鏈接劑顯示於下式：

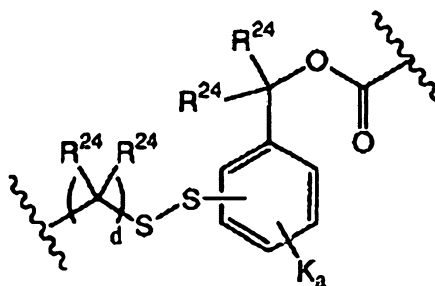


本實施例之特定實例如下：

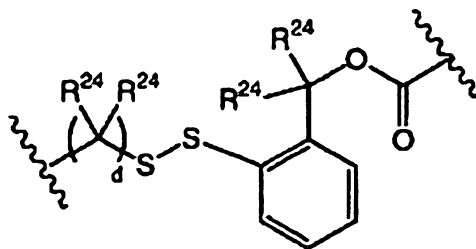


較佳 d 為1或2。

10 另一個雙硫鏈接劑顯示於下式：



本實施例之特定實例如下：

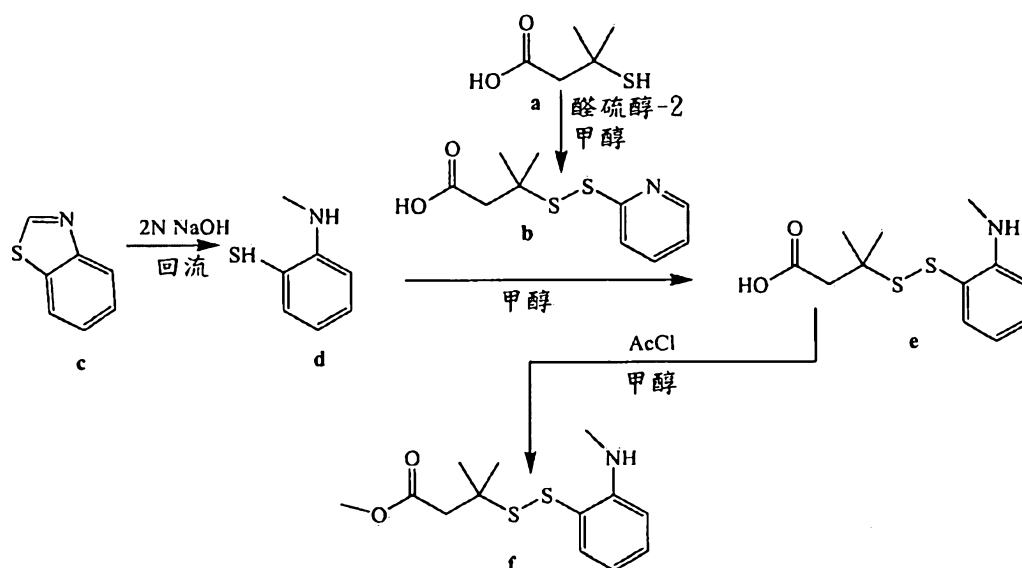


較佳d為1或2。

於多個實施例中，雙硫基位於胺基之鄰位。於另一個特定實施例中，a為0。於較佳實施例中，R²⁴分別係選自於

5 H及CH₃。

製備本發明之雙硫鏈接劑之合成途徑實例如下：



3-巯基丙酸a與醛硫醇-2反應來形成3-甲基碘化苯并噻唑鎗b。3-甲基碘化苯并噻唑鎗c與氫氧化鈉反應形成化合物d。含甲醇之化合物d溶液進一步與化合物b反應來形成化合物e。化合物e藉乙醯氯及甲醇作用脫保護來形成化合物f。

藥物-可裂解基質綴合物

藥物於本文中係以「D」表示，藥物可於本文中提供為藥物-可裂解基質綴合物之一部分，此處藥物視需要可透過

自我犧牲性鏈接劑 L^1 而鏈接至可裂解基質 X^2 。此綴合物可為前藥。藥物典型具有期望之生物活性，且含有鏈接至可裂解基質之反應性官能基。期望之生物活性包括於動物體包括人體診斷、治療、減輕、處理或預防疾病。較佳反應性官能基包括第一胺或第二胺、羥基、巰基、羧基、醛及酮。更佳反應性官能基包括羥基、第一胺或第二胺、巰基及羧酸官能基。又更佳反應性官能基包括羥基、第一胺或第二胺及羧酸官能基。藥物典型含有至少一個，但可有2、3、4、5、6或多個反應性官能基。

10 藥物-可裂解基質綴合物可有效用於相對應之藥物為有效之用途，但因具有將藥物運送至特別感興趣之期望細胞(例如腫瘤細胞)之能力，也可能具有優異功效。例如，藥物可選擇於腫瘤細胞部位藉綴合至腫瘤特異性可裂解基質而被活化。此等腫瘤特異性藥物-可裂解基質綴合物具有來自於可裂解基質之特異性之腫瘤特異性。當該可裂解基質15 偏好於腫瘤細胞內部或周圍裂解時出現該特異性。實例包括對腫瘤特異性酶或天然或人工與腫瘤相關聯之酶有高度選擇性之酶基質之綴合物。此等酶係以有效量存在於腫瘤附近來於腫瘤附近產生胞毒性濃度之自由態藥物。

20 於另一辦法中，稱作抗體導向酶前藥治療(ADEPT)，酶係附接至對腫瘤抗原有特異性之抗體，藉此將該酶導向至腫瘤細胞部位。然後藥物綴合至可藉附接至該腫瘤特異性抗體之酶裂解之一酶基質。如此，此等藥物-可裂解基質綴合物具有透過酶附接至腫瘤特異性抗體，讓酶定位腫瘤

細胞位置所得之腫瘤特異性。

藥物-可裂解基質複體之一項優勢為比相對應之自由態藥物之毒性低；此外，因特異性增高將導致較高百分比之複體存在於腫瘤部位，故複體之特異性允許比較自由態

5 藥物使用較低總濃度。

於一個實施例中，本發明提供具有根據式2結構式之胞毒性藥物-可裂解基質化合物：



符號 L^1 表示自我犧牲性間隔劑，此處 m 為整數0、1、2、
10 3、4、5或6。較佳 M 為0、1或2。

符號 X^2 表示可裂解酶基質，較佳為酶可裂解之酶基質。

藥物

藥物於本文中「D」表示，於本文中提供作為藥物-配體綴合物之一部分，此處藥物係經由胜肽鏈接劑或其它
15 鏈接劑而鏈接至配體，或藥物係呈與可裂解酶基質之綴合物。藥物必須具有期望之生物活性，且含有反應性官能基俾便鏈接至配體。期望之生物活性包括於動物體諸如人體診斷、治癒、減輕、處理或預防疾病。如此只要具有所需反應性官能基，則「藥物」一詞係指於官方美國藥典、官
20 方美國順勢療法藥典或官方國家處方集或其任何補遺中識別為藥物之化學品。藥物實例陳述於醫師參考手冊(PDR)及美國食品藥物管理局(FDA)所制訂與維持之橙皮書。新藥持續被發現與被發展，本發明提供此等新藥也併入本發明之藥物-配體複體中。

較佳官能基包括第一或第二胺、羥基、巰基、羧基、
 醛及酮。更佳官能基包括羥基、第一或第二胺、巰基、及
 羧酸官能基。又更佳官能基包括羥基、第一胺及第二胺及
 羧酸官能基。藥物必須至少有一個官能基，但可有2、3、4、
 5 5、6或以上官能基。此外，自我犧牲性間隔劑^{L1}可併入至
 藥物之反應性官能基與胜肽鏈接劑或其它鏈接劑或可裂解
 酶基質間。

藥物-配體綴合物可有效用於相對應之藥物為有效之
 尋常目的，但由於至少某些配體特有的能力，可具有優異
 10 功效來將藥物轉運至特別有利之期望的細胞。

藥物實例包括蛋白質、胜肽、及含有欲鏈接至配體之
 官能基之小型分子藥物。更特別此等藥物例如包括酶抑制
 劑，諸如二氫葉酸還原酶抑制劑、胸腺苷酸合成酶抑制劑、
 DNA插層劑、DNA裂解劑、拓撲異構酶抑制劑、蒽環素
 15 (anthracycline) 家族藥物、長春花藥物、米妥黴素類
 (mitomycins)、布里歐黴素類(bleomycins)、胞毒素核苷、
 喋啶家族藥物、伸二炔類、鬼臼毒素、分化誘導劑及紫杉
 醇類(taxols)。

較佳本發明藥物包括可用於癌症治療之胞毒藥物及其
 20 它具有期望之生物活性之小分子、蛋白質或多肽，諸如毒
 素。藥物經由綴合至腫瘤特異性配體而被選定於腫瘤細胞
 活化。此等腫瘤特定藥物-配體綴合物具有因配體之特異性
 所產生之腫瘤特異性。其實例為對腫瘤特異性酶有高度選
 擇性之酶基質之藥物-配體綴合物，此處此等酶係以足量存

在於腫瘤附近來於腫瘤附近產生胞毒性濃度之自由態藥物。此等腫瘤特異性藥物-配體複體之一項優勢為對人血清中之伺機性蛋白酶為安定。藥物-配體複體之另一項優勢為比相對應之自由態藥物毒性更低；此外，因特異性增高將導致較高百分比之複體存在於腫瘤部位，故複體之特異性將允許比較自由態藥物使用較低總濃度。

胞毒素

本發明有用之胞毒性藥物例如包括路卡黴素類及CC-1065及其類似物，包括路卡黴素之CBI (1,2,9,9a-四氫環丙烷[c]苯并[e]吲哚-4-酮)-系類似物、MCBI (7-甲氧基-1,2,9,9a-四氫環丙烷[c]苯并[e]吲哚-4-酮)-系類似物、及CCBI (7-氰基-1,2,9,9a-四氫環丙烷[c]苯并[e]吲哚-4-酮)-系類似物及CC-1065、阿黴素及阿黴素綴合物諸如味啉基-阿黴素及氰基味啉基-阿黴素、朵拉抑制素類(dolastatins)諸如朵拉抑制素-10、康柏抑制素、硝黴素、美坦辛(maytansine)、美坦辛類似物、DM-1、歐瑞抑制素(auristatin)E、歐瑞抑制素EB (AEB)、歐瑞抑制素EFP (AEFP)、一甲基歐瑞抑制素E (MMAE)、5-苯甲醯基戊酸-AE酯(AEVB)、管溶解素類(tubulysins)、戴索拉左(disorazole)、伊普席隆(epothilones)、太平洋紫杉醇(Paclitaxel)、紅豆杉醇(docetaxel)、SN-38、妥普堤肯(Topotecan)、萊左辛(rhizoxin)、伊基諾黴素(echinomycin)、秋水仙素、文普拉斯丁(vinblastin)、文戴辛(vindesine)、伊斯塔慕斯丁(estrामustine)、西馬朵丁(cemadotin)、伊魯色洛冰(eleutherobin)、胺甲喋呤

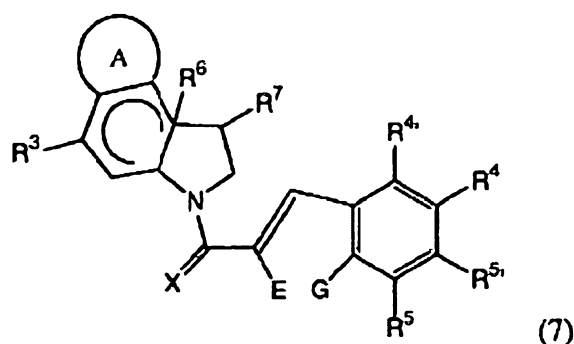
(methotrexate)、美索特林(methopterin)、二氯胺甲喋呤、5-
 氟尿嘧啶、6-巰基喋呤、胞嘧啶阿拉伯糖苷、美法蘭
 (melphalan)、路羅辛(leurosine)、路羅西丁(leurosideine)、
 放線黴素(actinomycin)、道諾魯冰心(daunorubicin)及道諾魯
 5 冰心綴合物、米妥黴素(mitomycin)C、米妥黴素A、卡米諾
 黴素(carminomycin)、胺基喋呤(aminopterin)、塔里索黴素
 (tallysomycin)、鬼臼毒素及鬼臼毒素衍生物諸如伊妥普賽
 (etoposide)或磷酸伊妥普賽、文克里斯丁(vincristine)、紫杉
 醇、紫杉 $\frac{1}{2}$ (taxotere)、維生素A酸、丁酸、N⁸-乙醯基精脒、
 10 喜樹鹼及其類似物。其它已知藥物也可經改性來提供綴合
 至此處所述鏈接劑之一官能基。此種化學改性為技藝界所
 已知。

較佳用於本發明之胞毒素包括：路卡黴素類、CC-1065
 及其CCBI系類似物及MCBI系類似物、味啉基-阿黴素、氯
 15 基味啉基-阿黴素、朵拉抑制素-10、康柏抑制素、硝黴素、
 美坦辛、DM-1、歐瑞抑制素E、AEB、AEFP、MMAE、
 管溶解素A、戴索拉左、伊普席隆A及伊普席隆B。

特佳本發明之胞毒素為強力活性路卡黴素衍生物及
 CC-1065。親代藥劑為格外強力之抗腫瘤抗生素，可透過可
 20 逆性立體選擇性控制序列選擇性DNA烷化來衍生其生物功
 效(Boger等人，J. Org. Chem. 55:4499 (1990)；Boger等人，
 J. Am. Chem. Soc. 112:8961 (1990)；Boger等人，J. Am.
 Chem. Soc. 113:6645 (1991)；Boger等人，J. Am. Chem. Soc.
 115:9872 (1993)；Boger等人，Bioorg. Med. Chem. Lett.

2:759 (1992))。於最初揭示路卡黴素類之後，有全面性研究致力於闡明路卡黴素類之DNA烷化選擇性及其結構起源。

本發明之特佳面相提供具有根據式7之結構式之一種胞毒性化合物：



5

其中環系A為選自於經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、及經取代或未經取代之雜環烷基中之一員。環系之實例包括苯基及吡咯。

符號E及G分別係選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、雜原子、單鍵或E與G視需要可接合來形成選自於經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、及經取代或未經取代之雜環烷基中之一員。

符號X表示選自於O、S及NR²³中之一員。R²³為選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基及醯基中之一員。

符號R³表示選自於(=O)、SR¹¹、NHR¹¹及OR¹¹中之一員，其中R¹¹為選自於由H、經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之雜烷基、未經取代之雜烷基、一磷酸酯類、二磷酸酯類、三磷酸酯類、磺酸酯類、醯基、C(O)R¹²R¹³、

20

$C(O)OR^{12}$ 、 $C(O)NR^{12}R^{13}$ 、 $P(O)(OR^{12})_2$ 、 $C(O)CHR^{12}R^{13}$ 、 SR^{12} 或 $SiR^{12}R^{13}R^{14}$ 所組成之組群中之一員。符號 R^{12} 、 R^{13} 及 R^{14} 為分別選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、及經取代或未經取代之芳基中之一員，其中 R^{12} 及 R^{13} 與其附接之氮原子或碳原子共同視需要可接合來形成有4員至6員且視需要含有兩個或多個雜原子之一經取代或未經取代之雜環烷基環系。 R^{12} 、 R^{13} 或 R^{14} 中之一者或多者可包含於其結構式內之一個可裂解基團。

R^4 、 $R^{4'}$ 、 R^5 、及 $R^{5'}$ 為分別選自於由H、經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之芳基、未經取代之芳基、經取代之雜芳基、未經取代之雜芳基、經取代之雜環烷基、未經取代之雜環烷基、鹵素、 NO_2 、 $NR^{15}R^{16}$ 、 $NC(O)R^{15}$ 、 $OC(O)NR^{15}R^{16}$ 、 $OC(O)OR^{15}$ 、 $C(O)R^{15}$ 、 SR^{15} 、 OR^{15} 、 $CR^{15}=NR^{16}$ 、及 $O(CH_2)_nN(CH_3)_2$ 所組成之組群之一員，或任何相鄰成對之 R^4 、 $R^{4'}$ 、 R^5 、及 $R^{5'}$ 連同其附接之碳原子接合來形成有4員至6員之經取代或未經取代之環烷基環系或雜環烷基環系。 R^{15} 及 R^{16} 分別選自H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、經取代或未經取代之雜環烷基、及經取代或未經取代之胍基，其中 R^{15} 及 R^{16} 連同其附接之氮原子視需要可接合來形成有4員至6員且視需要可含兩個或多個雜原子之一經取代或未經取代之雜環烷基環系。一個結構式實例為苯胺。

R^4 、 $R^{4'}$ 、 R^5 、 $R^{5'}$ 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{15} 及 R^{16} 視需要可

含有於其結構式內之一個或多個可裂解基團，諸如可裂解鏈接劑或可裂解酶基質。可裂解基團之實例包括但非限於胜肽類、胺基酸類、胍類、雙硫化合物類及頭孢子菌素(cephalosporin)衍生物。

- 5 於若干實施例中， R^4 、 $R^{4'}$ 、 R^5 、 $R^{5'}$ 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{15} 及 R^{16} 中之至少一者用來將藥物接合至如此處所述之本發明之鏈接劑或酶可裂解酶基質，例如將藥物接合至 L^1 (若存在時)或接合至F、H、J或 X^2 。

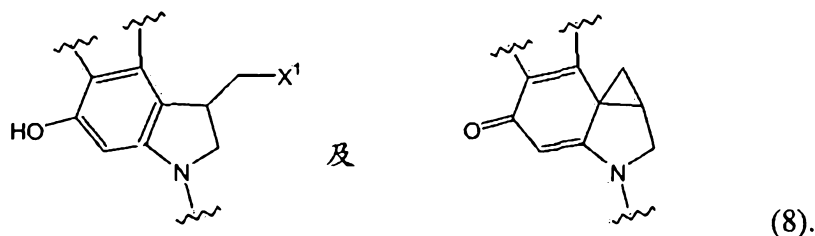
- 於又另一個具體實施例中， R^4 、 $R^{4'}$ 、 R^5 、 $R^{5'}$ 、 R^{11} 、
10 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{15} 及 R^{16} 中之至少一者載有適合用於綴合化合物之反應性基團。於又另一個具體實施例中， R^4 、 $R^{4'}$ 、 R^5 、 $R^{5'}$ 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{15} 及 R^{16} 分別係選自於H、經取代之烷基及經取代之雜烷基，具有於烷基部分或雜烷基部分之游離端之一個反應性官能基。 R^4 、 $R^{4'}$ 、 R^5 、 $R^{5'}$ 、 R^{11} 、 R^{12} 、
15 R^{13} 、 R^{15} 及 R^{16} 中之一者或多者可綴合至另一種化合物，例如靶定劑、可檢測標記、固體撐體等。

- R^6 為單鍵，單鍵可存在或不存在。當存在有 R^6 時， R^6 與 R^7 接合而形成環丙基環。 R^7 為 CH_2-X^1 或 $-CH_2-$ 。當 R^7 為 $-CH_2-$ 時， R^7 為環丙烷環中之一組分。符號 X^1 表示離去基諸
20 如鹵素例如Cl、Br或F。 R^6 與 R^7 之組合係以不違反化學價之原理之方式解譯。

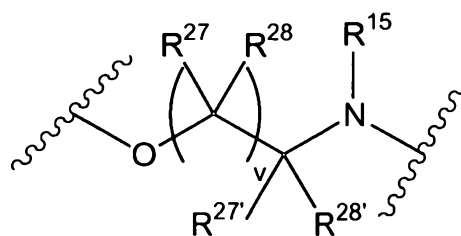
X^1 可為任一種離去基。有用之離去基包括但非限於鹵素類、疊氮化物類、磺酸酯類(例如烷基磺醯基、芳基磺醯基)、氧鎗離子、烷基過氯酸酯類、胺基烷磺酸酯類、烷基氟磺

酸酯類及氟化化合物(例如三氟甲烷磺酸酯類、壬烷磺酸酯類、甲苯磺酸酯類)等。特定可用作為離去基之鹵素為F、Cl及Br。適合用於特定反應條件集合之此等及其它離去基之選擇係屬於熟諳技藝人士之技巧範圍(例如參考March J, 進階有機化學, 第2版, 約翰威利父子公司, 1992年; Sandler SR, Karo W, 有機官能基之製備, 第2版, 學術出版公司, 1983年; 及Wade LG, 有機合成方法大成, 約翰威利父子公司, 1980年)。

6員環內部之曲線指示環有一個或多個不飽和度, 環可為芳香族。如此, 諸如下式環結構式及相關結構式係屬於式(8)之範圍:



於若干實施例中, R^4 、 $R^{4'}$ 、 R^5 及 $R^{5'}$ 中之至少一者將該藥物鏈接至 L^1 (若存在時)或鏈接至F、H、J或 X^2 , 且包括



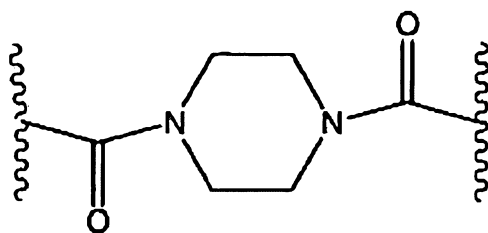
15

此處 v 為1至6之整數; 以及各個 R^{27} 、 $R^{27'}$ 、 R^{28} 、及 $R^{28'}$ 分別係選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、及經取代或未經取代之雜環烷基。於若干實施例中, R^{27} 、 $R^{27'}$ 、 R^{28} 、及 $R^{28'}$ 皆為H。於若干實施例中,

20

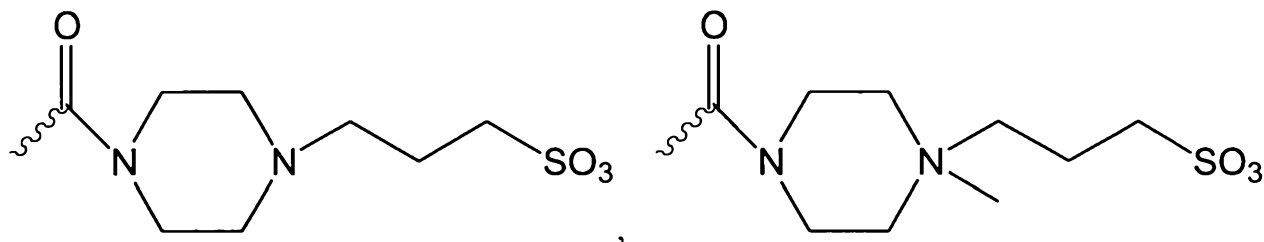
v 為 1 至 3 之整數(較佳為 1)。此單元可用來將芳基取代基與藥物分離，藉此對抗或防止產生屬於多重抗藥性之酶基質之化合物。

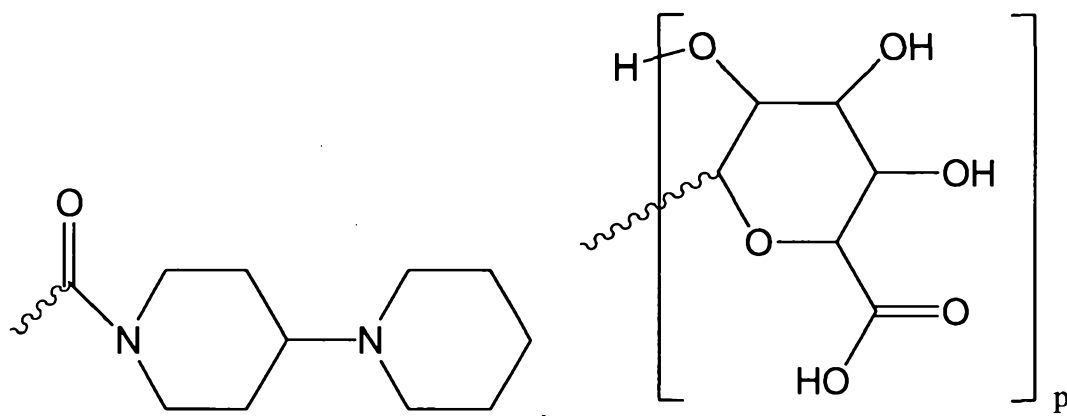
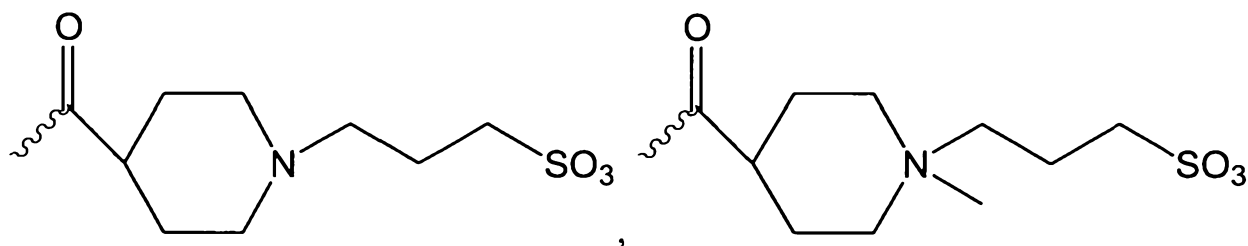
於一個實施例中， R^{11} 包括一部分 X^5 ，該 X^5 不會自我環化且將藥物鏈接至 L^1 (若存在時)或鏈接至 F、H、J 或 X^2 。 X^5 部分較佳可使用酶裂解，且當裂解後產生活性藥物。舉個實例， R^{11} 具有如下結構式(右側係耦接至藥物之其餘部分)：



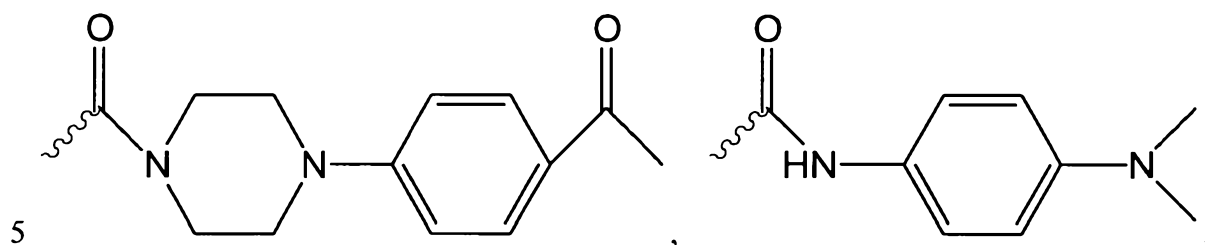
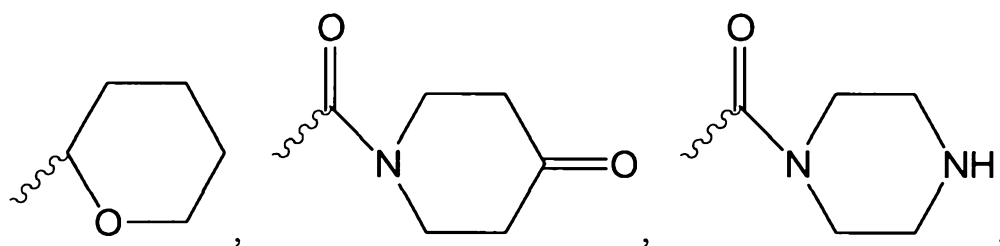
於具體實施例中，式 7 之環系 A 為經取代或未經取代之苯環。如此處定義章節陳述，環系 A 可經以一個或多個芳基取代基取代。於若干實施例中，苯環係經以一個 CN 部分或甲氧基部分取代。

於若干實施例中， R^4 、 $R^{4'}$ 、 R^5 及 $R^{5'}$ 中之至少一者將該藥物鏈接至 L^1 (若存在時)或鏈接至 F、H、J 或 X^2 ，及 R^3 係選自於 SR^{11} 、 NHR^{11} 及 OR^{11} 。 R^{11} 係選自於 $-SO(OH)_2$ 、 $-PO(OH)_2$ 、 $-AA_n$ 、 $-Si(CH_3)_2C(CH_3)_3$ 、 $-C(O)OPhNH(AA)_m$ ，





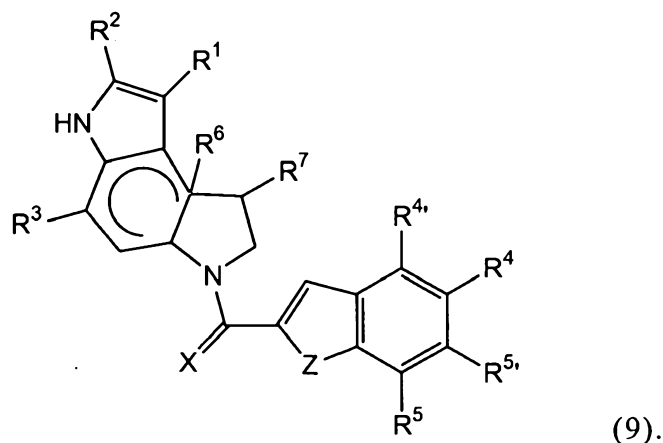
或任何其它糖或糖類之組合物，



及其藥學上可接受之鹽，此處 n 為1至10之範圍之任何整數， m 為1至4之範圍之任何整數， p 為1至6之範圍之任何整數，及AA為任何天然胺基酸或非天然胺基酸。於若干實施例中， AA_n 或 AA_m 係選自於前文對胜肽鏈接劑(F)所述之相同胺基酸序列，視需要係與 R^4 、 $R^{4'}$ 、 R^5 或 $R^{5'}$ 之鏈接劑部分

中所使用之胺基酸序列相同。於至少若干實施例中， R^3 可於活體內裂解來提供活性藥物化合物。於至少若干實施例中， R^3 提高活體內化合物之溶解度。於若干實施例中，活性藥物於血中濃度之降低速率實質上係比 R^3 裂解來提供活性藥物之速率更快。此點特別可用於活性藥物之毒性實質上高於前藥形式之毒性之情況。於其它實施例中， R^3 裂解來提供活性藥物之速率係比活性藥物於血中濃度之降低速率更快。

於另一個具體實施例中，本發明提供一種具有根據式9結構式之化合物：



於本實施例中，取代基 R^3 、 R^4 、 $R^{4'}$ 、 R^5 、 $R^{5'}$ 、 R^6 、 R^7 及X之身分實質上係如上對式7所述以及對特定實施例之偏好所述。符號Z為分別選自於O、S及 NR^{23} 中之一員。符號 R^{23} 表示選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、及經取代或未經取代之醯基中之一員。各個 R^{23} 係獨立選擇。符號 R^1 表示H、經取代或未經取代之低碳烷基或 $C(O)R^8$ 或 CO_2R^8 。 R^8 為選自於經取代之烷基、未經取代之烷基、 NR^9R^{10} 、 NR^9NHR^{10} 及 OR^9 中之一員。 R^9 及 R^{10}

分別係選自於H、經取代或未經取代之烷基及經取代或未經取代之雜烷基。 R^2 為H或經取代或未經取代之低碳烷基。大致上較佳當 R^2 為經取代之烷基時， R^2 非為全氟烷基例如 CF_3 。於一個實施例中， R^2 為經取代之烷基，其中該取代非為鹵素。於另一個實施例中， R^2 為未經取代之烷基。

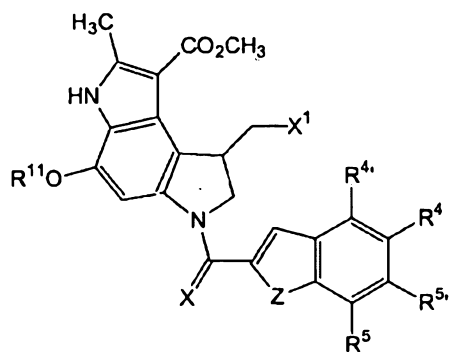
於若干實施例中， R^1 為酯部分諸如 CO_2CH_3 。於若干實施例中， R^2 為低碳烷基，其可經取代或未經取代。目前較佳低碳烷基為 CH_3 。於若干較佳實施例中， R^1 為 CO_2CH_3 及 R^2 為 CH_3 。

於若干實施例中， R^4 、 $R^{4'}$ 、 R^5 及 $R^{5'}$ 為分別選自於H、鹵素、 NH_2 、 OMe 、 $O(CH_2)_2N(R^{29})_2$ 及 NO_2 中之一員。各個 R^{29} 分別為H或低碳烷基(例如甲基)。

於若干實施例中，藥物係選擇讓離去基 X^1 為選自於由鹵素、烷基磺醯基、芳基磺醯基及疊氮基所組成之組群中之一員。於若干實施例中， X^1 為F、Cl或Br。

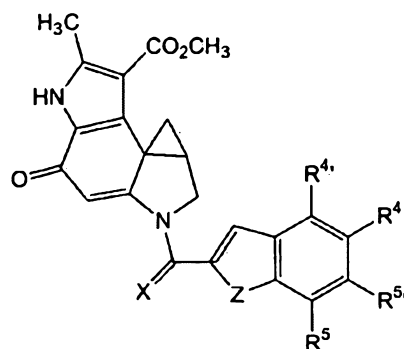
於若干實施例中，Z為O或NH。於若干實施例中，X為O。

於另一個具體實施例中，本發明提供具有根據式10或11之結構式之化合物：



(10)

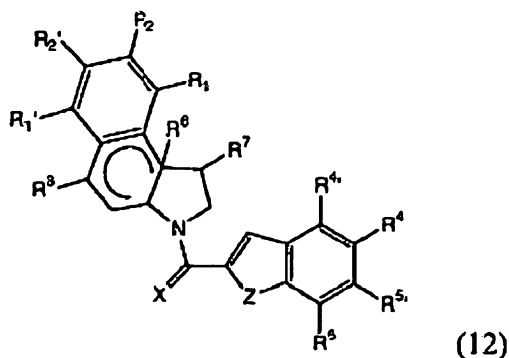
及



(11)

另一種較佳式7路卡黴素類似物之結構式為其中環系A為未經取代或經取代之苯環之結構式。當環系A為吡咯時於前文對式7結構式所述藥物分子上之較佳取代基亦屬環系A為未經取代或經取代之苯環時之較佳取代基。

5 舉例言之，於較佳實施例中，藥物(D)包含結構式(12)：



於本結構式中， R^3 、 R^6 、 R^7 、X係如前文對式7所述。此外，Z為選自於O、S及 NR^{23} 中之一員，其中 R^{23} 為選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基及醯基中之一員；

10 及醯基中之一員；

R^1 為H、經取代或未經取代之低碳烷基、 $C(O)R^8$ 或 CO_2R^8 ，其中 R^8 為選自於 NR^9R^{10} 及 OR^9 中之一員，其中 R^9 及 R^{10} 為分別選自於H、經取代或未經取代之烷基及經取代或未經取代之雜烷基中之一員；

15 $R^{1'}$ 為H、經取代或未經取代之低碳烷基或 $C(O)R^8$ ，其中 R^8 為選自於 NR^9R^{10} 及 OR^9 中之一員，其中 R^9 及 R^{10} 為分別選自於H、經取代或未經取代之烷基及經取代或未經取代之雜烷基中之一員；

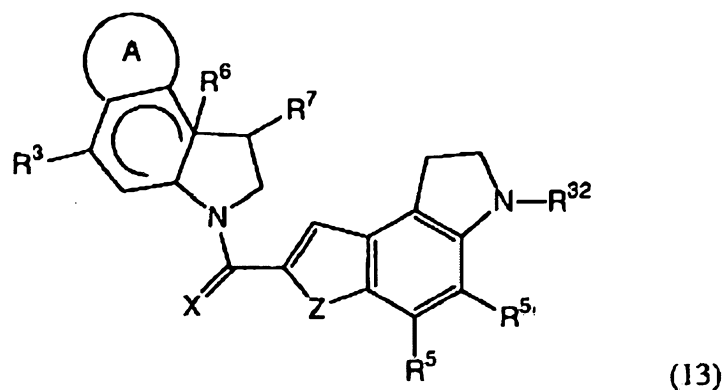
R^2 為H或經取代或未經取代之低碳烷基或未經取代之雜烷基或氰基或烷氧基；以及 $R^{2'}$ 為H或經取代或未經取代

20 雜烷基或氰基或烷氧基；以及 $R^{2'}$ 為H或經取代或未經取代

之低碳烷基或未經取代之雜烷基。

R^4 、 $R^{4'}$ 、 R^5 、 $R^{5'}$ 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{15} 或 R^{16} 中之至少一者將藥物鏈接至 L^1 (若存在時)或鏈接至F、H、J或 X^2 。

另一個藥物(D)之實施例包含結構式(13)，此處 R^4 及 $R^{4'}$ 已經接合而形成雜環烷基：



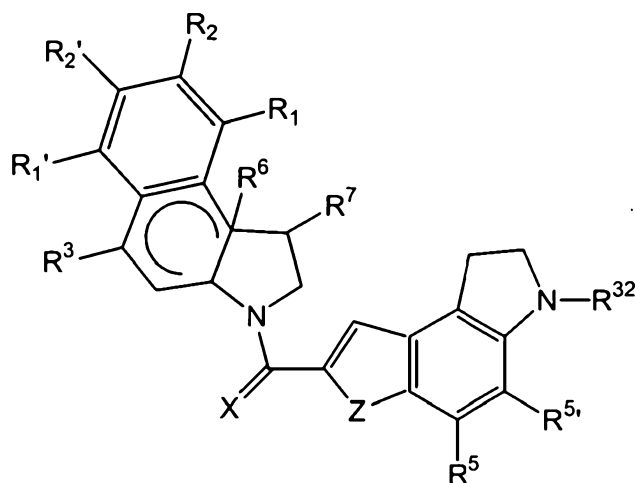
於本結構式中， R^3 、 R^5 、 $R^{5'}$ 、 R^6 、 R^7 、X係如前文對式7所述。此外，Z為選自於O、S及 NR^{23} 中之一員，其中 R^{23} 為選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基及醯基中之一員；

R^{32} 係選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、經取代或未經取代之雜環烷基、鹵素、 NO_2 、 $NR^{15}R^{16}$ 、 $NC(O)R^{15}$ 、 $OC(O)NR^{15}R^{16}$ 、 $OC(O)OR^{15}$ 、 $C(O)R^{15}$ 、 SR^{15} 、 OR^{15} 、 $CR^{15}=NR^{16}$ 、及 $O(CH_2)_nN(CH_3)_2$ ，此處n為1至20之整數。 R^{15} 及 R^{16} 分別選自H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、經取代或未經取代之雜環烷基、及經取代或未經取代之胍基，其中 R^{15} 及 R^{16} 連同其附接之氮原子視需要可接合來形成有4員至6員且視需要可含兩個或多個

雜原子之一經取代或未經取代之雜環烷基環系。 R^{32} 視需要可含有於其結構式內之一個或多個可裂解基團，諸如可裂解鏈接劑或可裂解酶基質。可裂解基團之實例包括但非限於胜肽類、胺基酸類、胍類、雙硫化合物類及頭孢子菌素
5 衍生物。此外，文中對 R^4 、 $R^{4'}$ 、 R^5 、 $R^{5'}$ 、 R^{15} 及 R^{16} 所述之取代基之任一種選擇也適用於 R^{32} 。

R^5 、 $R^{5'}$ 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{15} 、 R^{16} 或 R^{32} 中之至少一者將藥物鏈接至 L^1 (若存在時)或F、H、J或 X^2 。於至少若干實施例中， R^{32} 將藥物鏈接至 L^1 (若存在時)或鏈接至F、H、J
10 或 X^2 。

本化合物之一個較佳實施例為：



R^1 為H、經取代或未經取代之低碳烷基、 $C(O)R^8$ 或 CO_2R^8 ，其中 R^8 為選自於 NR^9R^{10} 及 OR^9 中之一員，其中 R^9 及
15 R^{10} 為分別選自於H、經取代或未經取代之烷基及經取代或未經取代之雜烷基中之一員；

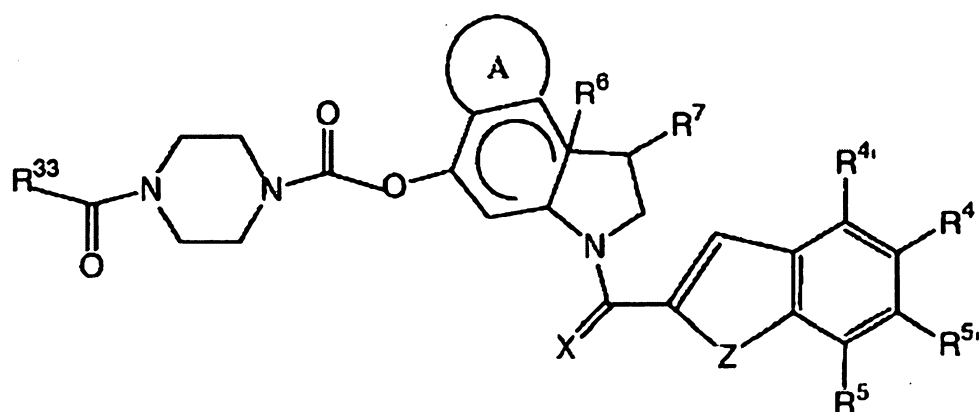
$R^{1'}$ 為H、經取代或未經取代之低碳烷基或 $C(O)R^8$ ，其中 R^8 為選自於 NR^9R^{10} 及 OR^9 中之一員，其中 R^9 及 R^{10} 為分別

選自於H、經取代或未經取代之烷基及經取代或未經取代之雜烷基中之一員；

R^2 為H或經取代或未經取代之低碳烷基或未經取代之雜烷基或氰基或烷氧基；以及 $R^{2'}$ 為H或經取代或未經取代

5 之低碳烷基或未經取代之雜烷基。

又一個實施例具有下式：



於本結構式中，A、 R^6 、 R^7 、X、 R^4 、 $R^{4'}$ 、 R^5 及 $R^{5'}$ 係如前文對式7所述。此外，Z為選自於O、S及 NR^{23} 中之一員，

10 其中 R^{23} 為選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基及鹼基中之一員；

R^{33} 係選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、經取代或未經取代之雜環烷基、鹵素、 NO_2 、 $NR^{15}R^{16}$ 、 $NC(O)R^{15}$ 、

15 $OC(O)NR^{15}R^{16}$ 、 $OC(O)OR^{15}$ 、 $C(O)R^{15}$ 、 SR^{15} 、 OR^{15} 、 $CR^{15}=NR^{16}$ 、及 $O(CH_2)_nN(CH_3)_2$ ，此處n為1至20之整數。 R^{15}

及 R^{16} 分別選自H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、經取代或未經取代之雜環烷基、及經取

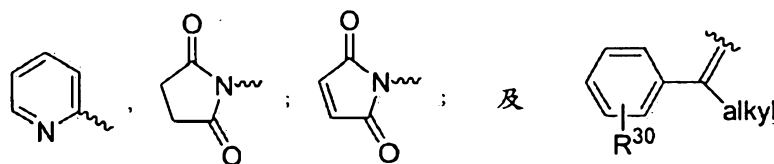
代或未經取代之胜肽基，其中 R^{15} 及 R^{16} 連同其附接之氮原子視需要可接合來形成有4員至6員且視需要可含兩個或多個雜原子之一經取代或未經取代之雜環烷基環系。 R^{33} 將藥物鏈接至 L^1 (若存在時)或鏈接至F、H、J或 X^2 。

- 5 較佳，A為經取代或未經取代之苯基或經取代或未經取代之吡咯。此外，文中對 R^{11} 所述之取代基之任一種選擇也適用於 R^{33} 。

配體

- X^4 表示選自於由經保護之反應性官能基、未經保護之反應性官能基、可檢測標記及靶定劑所組成之組群。較佳配體為靶定劑，諸如抗體及其片段。

- 於若干實施例中，基團 X^4 可被描述為選自於 R^{29} 、 $COOR^{29}$ 、 $C(O)NR^{29}$ 及 $C(O)NNR^{29}$ 中之一員，其中 R^{29} 為選自於經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、及經取代或未經取代之雜芳基中之一員。於又另一個具體實施例中， R^{29} 為選自於下列中之一員：H；OH； $NHNH_2$ ；



- 此處 R^{30} 表示以反應性官能基為端基之經取代或未經取代之烷基、以官能基為端基之經取代或未經取代之雜芳基。如上結構式係作為反應性保護基，其可與例如靶定劑(諸如抗體)之胺基酸之支鏈反應，藉此將該靶定劑鏈接至該

鏈接劑-藥物部分。

靶定劑

本發明之鏈接劑臂及胞毒素可鏈接至靶定劑，該靶定劑選擇性遞送一個有效負載至身體之細胞、器官或區域。

- 5 靶定劑例如為抗體(例如嵌合型抗體、人化抗體及人抗體)、受體之配體、凝集素類、醣類、抗體等為技藝界所已知，可非限制性用於實施本發明。其它靶定劑包括不包括特定分子辨識部分之一類化合物，包括巨分子諸如聚(乙二醇)、多醣、聚胺基酸等，其增加胞毒素之分子量。額外分子量
- 10 影響胞毒素之藥力學，例如血清半生期。

於一具體實施例中，本發明提供具有靶定劑之胞毒素、鏈接劑或胞毒素-鏈接劑綴合物，該靶定劑為生物分子例如抗體、受體、胜肽、凝集素、醣類、核酸或其組合。

- 可用於實施本發明之生物分子可衍生自任何來源。生物分子可由天然來源分離，或可藉合成方法製造。蛋白質
- 15 可為天然蛋白質或突變蛋白質。突變可藉熟諳技藝人士已知之化學突變發生、位置導向突變發生或其它誘導突變之手段執行。可用於實施本發明之蛋白質例如包括酶、抗原、抗體及受體。抗體可為多株抗體或單株抗體，但最佳為單
- 20 株抗體。胜肽及核酸可分離自天然來源，或可為全部合成或部分合成來源。

於較佳實施例中，靶定劑為抗體或抗體片段，靶定劑係基於其對感興趣之標靶細胞上或感興趣之標靶位置所表現之抗原之特異性而選用。已經識別寬廣多種腫瘤特異性

抗原或其它疾病特異性抗原，該等抗原之抗體已經使用或已經提示用於治療此等腫瘤或其它疾病。技藝界已知之抗體可用於本發明之綴合物，特別用於治療標靶抗原相關聯之疾病。本發明之抗體-鏈接劑-藥物綴合物可鎖定目標之標

5 靶抗原(及其相關疾病)之非限制性實例包括：Her2 (乳癌)、CD20 (淋巴瘤)、EGFR (實體腫瘤)、CD22 (淋巴瘤，包括非何杰金氏淋巴瘤)、CD5 2 (慢性淋巴細胞性白血病)、CD33 (急性骨髓性白血病)、CD4 (淋巴瘤、自體免疫病，包括類風濕性關節炎)、CD30 (淋巴瘤，包括非何杰金氏淋
10 巴瘤)、Muc18 (黑素瘤)、接合素類(實體腫瘤)、PSMA (攝護腺癌、良性攝護腺肥大)、CEA (大腸直腸癌)、CD11a (乾癬)、CD80 (乾癬)、CD23 (氣喘)、CD40L (免疫血小板減少性紫癜)、CTLA4 (T細胞淋巴瘤)及BLys (自體免疫病包括系統性紅斑性狼瘡)。

15 於其中識別部分為蛋白質或抗體之該等實施例中，蛋白質可繫至表面或自我組裝單層(SAM)組件，或蛋白質藉蛋白質表面上可用之任一個反應性胜肽殘基而經由間隔臂連接。於較佳實施例中，反應性基團為胺或羧酸根。於特
20 佳實施例中，反應性基團為離胺酸殘基之 ϵ -胺基。此外，此等分子可藉非特異性交互作用(例如化學吸附、物理吸附)而吸附至酶基質或SAM表面。

屬於抗體之辨識部分可用來辨識被分析物，被分析物為蛋白質、胜肽、核酸、醣類或小分子諸如藥物、除草劑、殺蟲劑、工業用化學品及戰劑。對特定分子提引出抗體之

方法為熟諳技藝人士眾所周知。參考美國專利案
5/147,786，1992年9月15日核發給Feng等人；美國專利案
5/334,528，1994年8月2日核發給Stanker等人；美國專利案
5/686,237，1997年11月11日核發給Al-Bayati, M.A.S.；及美
5 國專利案5/573,922，1996年11月12日核發給Hoess等人。抗
體附接至表面之方法亦屬技藝界已知。參考Delamarche等
人，Langmuir 12:1944-1946 (1996)。

靶定劑可藉任一種可用之反應性基團附接至本發明之
鏈接劑。舉例言之，胜肽可透過胺基、羧基、巰基或羥基
10 而附接。此等基團可駐在胜肽終端或駐在胜肽鏈內部之一
個位置。核酸可經由鹼基上之反應性基團(例如環外胺)或糖
部分上可用之羥基(例如3'-羥基或5'-羥基)而附接。胜肽及
核酸鏈可進一步於一個或多個位置衍生來允許適當反應性
基團附接至鏈。參考Chrissey等人，核酸研究24:3031-3039
15 (1996)。

當胜肽或核酸為全部合成分子或部分合成分子時，反
應性基團或經過遮蔽之反應性基團可於合成過程結合入其
中。多種適合結合於胜肽及核酸二者之反應性基團之衍生
單體為熟諳技藝人士所已知。例如參考胜肽：分析，合成，
20 生物學，第2卷：「胜肽合成之特殊方法」，Gross, E.及
Melenhofer, J.編輯，學術出版社，紐約 (1980年)。多種有
用之單體為市面上可得(美占公司(Bachem)，西革瑪公司
(Sigma)等)。然後此種經遮蔽之基團於合成後被解除遮蔽，
此時變成可供與本發明化合物之組分反應。

核酸靶定劑例如包括調適體(aptamers)、反訊息化合物與核酸形成三重螺旋體。典型地，糖殘基之羥基、來自於鹼殘基之胺基、或核苷酸之磷酸氧被用作為所需化學官能基，來將基於核苷酸之靶定劑偶合至胞毒素。但熟諳技藝人士瞭解其它「非天然」反應性官能基可藉習知技術附接至核酸。例如，糖殘基之羥基可使用技藝界眾所周知之技術而轉換成為巯基或胺基。

調適體(或核酸抗體)為可與特定分子標靶結合之單股DNA或雙股DNA或單股RNA分子。通常，調適體係經由結合至於血液中循環標靶匯集物，經由抑制分子標靶例如蛋白質之作用來發揮功能。調適體具有化學官能基，如此可如此處所述而共價鍵結至胞毒素。

雖然寬廣多種分子標靶可與調適體形成非共價關聯但為特異性關聯，包括小分子藥物、代謝物、輔因子、毒素、基於醣之藥物、基於核苷酸之藥物、糖蛋白等，但通常分子標靶將包含蛋白質或胜肽，包括血清蛋白、激肽、廿烷類、細胞表面分子等。調適體之實例包括吉里(Gilead's)抗凝血酶抑制劑GS 522及其衍生物(吉里科學，加州福斯特城)。也參考Macaya等人，Proc.Natl.Acad. Sci. USA 90:3745-9 (1993)；Bock等人，自然(倫敦) 355:564-566 (1992)及Wang等人，Biochem. 32:1899-904 (1993)。

給定生物分子之特定調適體可使用技藝界已知之技術識別。例如參考Toole等人(1992) PCT公告案WO 92/14843；Tuerk及Gold (1991) PCT公告案WO 91/19813；Weintraub及

Hutchinson (1992) PCT 公告案 92/05285；及 Ellington 及 Szostak，自然 346:818 (1990)。簡言之，此等技術典型係涉及分子標靶與寡核苷酸之隨機混合物錯合。調適體-分子標靶複體由未經複合之寡核苷酸分離。調適體由分離之複體
5 中回收及擴增。此種循環重複進行來識別出對分子標靶具有最高親和力之該等調適體分子。

對於由於基因之不當表現所導致之疾病，特異性預防或減少基因的表現代表理想治療。原則上，經由與 mRNA 中可接近之序列、或前 mRNA 處理所必需之轉錄本內部之一
10 一序列、或基因本身內部之一序列互補的單股去氧核苷酸或核糖去氧核苷酸之雜交，可抑制、減少、或關閉特定基因產物的製造。此種基因控制模式通稱為反訊息抑制或反基因抑制。經由綴合至烷化劑之核酸，諸如本發明之烷化劑之核酸，可提供額外效率。

15 反訊息化合物為設計用來結合且除去或防止負責生成特定蛋白質之 mRNA 的製造。反訊息化合物包括反訊息 RNA 或反訊息 DNA、單股或雙股寡核苷酸或其類似物，其可特定雜交至個別 mRNA，防止該 mRNA 之轉錄及/或 RNA 處理，及/或防止編碼多肽的轉譯，藉此執行個別編碼多肽
20 數量的減少。(Ching 等人，Proc.Natl. Acad. Sci. U.S.A. 86:10006-10010 (1989)；Broder 等人，Ann. Int. Med. 113:604-618 (1990)；Loreau 等人，FEBS 函件 274:53-56 (1990)；Holcenberg 等人，WO91/11535；WO91/09865；WO91/04753；WO90/13641；WO91/13080、WO 91/06629、

及EP 386563)。由於其優異的標靶敏感度及選擇性，反訊息寡核苷酸可用於將治療劑諸如本發明之胞毒素遞送至期望之分子標靶。

其它文獻報告透過三重螺旋的形成，核酸可結合至二
5 倍體DNA，且抑制轉錄及/或DNA合成。三重螺旋化合物(也稱作為三股藥物)為結合至雙股DNA序列之寡核苷酸，意圖選擇性抑制致病基因的轉錄，致病基因諸如為病毒基因諸如HIV病毒及單純疱疹病毒及致癌基因，亦即三重螺旋化合物可停止於細胞核之蛋白質製造。此等藥物可直接結合至
10 細胞基因體中之雙股DNA來形成三重螺旋，且防止細胞製造標靶蛋白質。例如參考PCT公告案WO 92/10590、WO 92/09705、WO 91/06626及美國專利案5,176,996。如此，本發明之胞毒素也可綴合至形成三重螺旋之核酸序列。

核酸(例如反訊息化合物及三重螺旋藥物)之部位特異
15 性不會受到磷酸二酯鍵聯之改性，或受到寡核苷酸終端之化學改性之顯著影響。結果，此等核酸可經過化學改性；提升總結合安定性，提高對化學分解之安定性，提高寡核苷酸轉運入細胞內部之速率，及對分子提供化學反應性。組成反訊息治療中 useful 之各種核酸之大致辦法已經由van
20 der Krol等人，生物技術6:958-976 (1988)及Stein等人，癌症研究48:2659-2668 (1988)所綜述。因此，於一具體實施例中，本發明之胞毒素係藉磷酸二酯鍵聯改性來綴合至核酸。

此外，本發明之調適體、反訊息化合物及載有胞毒素之三重螺旋藥物也包括核苷酸取代、添加、刪除或轉位，

只要保有與相關標靶序列特異性雜交或結合作為寡核苷酸之功能性質即可。舉例言之，若干實施例採用比較其天然磷酸二酯對偶，對於被磷酸酶分解更具有抗性之硫代磷酸類似物，如此預期於活體內將有較高持久性與較大強度(例如參考Campbell等人，生物化學生物物理方法期刊20:259-267 (1990))。寡核苷酸之醯胺代磷酸酯衍生物也已知可結合至互補多核苷酸，有額外配合共價附接配體之能力，適合用於本發明方法。例如參考Froehler等人，核酸研究16(11):4831 (1988)。

- 10 於若干實施例中，調適體、反訊息化合物及三重螺旋藥物將包含O-甲基核糖核苷酸(EP公告案360609)。嵌合型寡核苷酸也可使用(Dagle等人，核酸研究18:4751 (1990))。用於若干用途，反訊息寡核苷酸及三重螺旋包含聚醯胺核酸(Nielsen等人，科學254:1497 (1991)及PCT公告案WO
- 15 90/15065)或其它陽離子衍生物(Letsinger等人，J. Am. Chem. Soc. 110:4470-4471 (1988))。其它用途可利用寡核苷酸，其中磷酸二酯鍵聯中之一者或多者已經以生物電等排體基諸如長2-4個原子之核苷間鍵聯取代，如PCT公告案WO 92/05186及91/06556所述，或以甲醯縮醛基取代(Matteucci
- 20 等人，J. Am. Chem. Soc. 113:7767-7768 (1991))或以醯胺基取代(Nielsen等人，科學254:1497-1500 (1991))。

此外，核苷酸類似物例如其中糖或鹼經過化學改性之核苷酸類似物可用於本發明。嘌呤類及嘧啶類之「類似」形式為技藝界通常已知，其中多種係用作為化學治療劑。

舉例說明但非排它之表單包括4-乙醯基胞嘧啶、5-(羧基羥基甲基)尿嘧啶、5-氟尿嘧啶、5-溴尿嘧啶、5-羧基氨基甲基-2-硫尿嘧啶、5-羧基氨基甲基尿嘧啶、二氫尿嘧啶、肌苷、N⁶-異戊烯基腺嘌呤、1-甲基腺嘌呤、1-甲基假尿嘧啶、1-甲基鳥嘌呤、1-甲基肌苷、2,2-二甲基鳥嘌呤、2-甲基腺嘌呤、2-甲基鳥嘌呤、3-甲基胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、N⁶-甲基腺嘌呤、7-甲基鳥嘌呤、5-甲基氨基甲基尿嘧啶、5-甲氧基氨基甲基-2-硫尿嘧啶、 β -D-甘露糖基奎辛(queosine)、5'-甲氧基羧基甲基尿嘧啶、5-甲氧基尿嘧啶、2-甲硫基-N⁶-異戊烯基腺嘌呤、尿嘧啶-5-氧基乙酸甲酯、尿嘧啶-5-氧基乙酸(v)、偉伯妥索辛(wybutoxosine)、假尿嘧啶、奎辛、2-硫胞嘌呤、5-甲基-2-硫尿嘧啶、2-硫尿嘧啶、4-硫尿嘧啶、5-甲基尿嘧啶、N-尿嘧啶-5-氧基乙酸甲酯、尿嘧啶-5-氧基乙酸(v)、假尿嘧啶、奎辛、2-硫胞嘌呤、及2,6-二氨基嘌呤。此外，習知鹼基為鹵化鹼基。此外，鹼基上之2'-呋喃糖位置可有未帶電之龐大基團取代。未帶電之龐大基團實例包括分支烷基、糖及分支糖。

終端改性也提供胞毒素綴合至核酸、改性細胞型特异性、藥力學、核通透性及寡核苷酸藥劑之絕對細胞攝取速率之有用程序。舉例言之，於5'端基與3'端基之取代陣列包括反應性基團為已知，允許胞毒素的共價附接。例如參考寡去氧核苷酸：基因表現之反訊息抑制劑，(1989年)，Cohen編輯，CRC出版社；癌症及愛滋病之反訊息核酸治療透視，(1991年)，Wickstrom編輯，威利-里斯公司；基因調節：反

訊息RNA及DNA之生物學，(1992年)，Erickson及Izant編輯，拉文出版社；及反訊息RNA及DNA，(1992年)，Murray編輯，威利-里斯公司。有關反訊息化合物之大致方法可參考反訊息RNA及DNA，(1988年)，D. A. Melton編輯，冷泉港實驗室，冷泉港，紐約)。

於至少一個實施例中，抗體之C端藉導入半胱胺酸殘基來改性，如美國臨時專利申請案60/957,271所述，該案以引用方式併入此處。此種改性包括但非限於於全長重鏈序列之C端或接近C端置換既有之胺基酸殘基，以及含半胱胺酸之延長導入全長重鏈序列之C端。於一個實施例中，含半胱胺酸之延長包含丙胺酸-丙胺酸-半胱胺酸(由N端至C端)之序列。

於至少若干實施例中，存在有C端半胱胺酸改性，提供化合物之綴合位置，諸如治療劑或標記分子。特別，由於C端半胱胺酸改性，存在有反應性硫醇基可用來採用鏈接劑而綴合至化合物，如前文詳細說明。以此種方式，抗體綴合至配對分子，允許對特定附接位置提高控制。此外，經由將附接位置導入C端或導入C端附近，綴合可最佳化，因而減少或消除抗體功能性質的干擾，允許簡化綴合物製備上之分析及品質管制。

可檢測標記

結合本發明化合物及本發明方法使用之特定標記或可檢測標記並非本發明之關鍵性面相，只要其不會顯著干擾本發明化合物之活性或用途即可。可檢測基團可為任一種

具有可檢測之物理性質或化學性質之材料。此種可檢測標記於免疫檢定分析業界已經有明確發展，通常任何可用於此種方法之標記皆適用於本發明。如此，標記為藉光譜、光化學、生物化學、免疫化學、電學、光學或化學手段而可檢測之任一種組成物。本發明之有用標記包括磁珠(例如戴納珠(DYNABEADS))、螢光染料(例如螢光素異硫氰酸酯，德州紅，若丹明等)、放射性標記(例如 ^3H 、 ^{125}I 、 ^{35}S 、 ^{14}C 、或 ^{32}P)、酶(例如辣根過氧化酶、鹼性磷酸酶及其它ELISA中常用之酶)、及比色標記諸如膠體金珠或彩色玻璃珠或彩色塑膠珠(例如聚苯乙烯、聚丙烯、膠乳等)。

標記可根據技藝界眾所周知之方法而直接或間接偶合至本發明化合物。如前文指示，可使用寬廣多種標記，標記之選擇係依據要求之靈敏度、與化合物綴合之容易程度、安定性要求、可用的設備儀器、及廢棄物之相關規定來決定。

當本發明化合物係綴合至可檢測標記時，該標記較佳為選自於由放射性同位素、螢光劑、螢光劑前驅物、發色物質、酶及其組合所組成之組群中之一員。各種基團綴合至抗體之方法為技藝界眾所周知。例如，經常綴合至抗體之可檢測標記為酶，諸如辣根過氧化酶、鹼性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶及葡萄糖氧化酶。

非放射性標記常係藉間接手段來附接。通常配體分子(例如生物素)係共價鍵結至綴合物的一個組分。然後配體結合至另一個分子(例如鏈絲菌抗生物素)分子，該分子為具有

可檢測特性，或共價鍵結至信號系統，諸如可檢測酶、螢光化合物或化學冷光化合物。

本發明之綴合物之組分也直接綴合至信號產生性化合物，例如經由綴合酶或螢光發色團。作為標記之感興趣之酶主要為水解酶，特別為磷酸酶、酯酶及糖苷酶或氧化酶特別為過氧化酶。螢光化合物包括螢光素及其衍生物、若丹明及其衍生物、丹磺醯基、繖形酮等。化學冷光化合物包括蟲螢光素及2,3-二氫酞吡二酮類例如路敏諾(luminal)。有關有用之各種標記系統或信號產生性系統之綜論可參考美國專利案4,391,904。

檢測標記之手段為熟諳技藝人士眾所周知。如此例如當標記為放射性標記時，檢測手段包括閃爍計數器或照相底片例如於自動放射性攝影。當標記為螢光標記時，可以適當光波長激發該螢光發色團，及檢測所產生之螢光。螢光可以目測檢測，可利用照相底片檢測，或使用電子檢測器諸如電荷耦合裝置(CCD)或光倍增器等檢測。同理，酶標記可經由提供該酶之適當酶基質，及檢測所得反應產物來檢測。最後，單純比色標記可單純藉觀察標記的相關色彩來檢測。如此於各種浸桿檢定分析中，綴合的金常顯示桃色，而綴合之金銀珠顯示金銀珠之色彩。

螢光標記於目前具有要求處理上小心且適合高通量目測技術之優點(光學分析包括於包含電腦之積分系統中將影像數位化進行分析)。較佳標記典型有下列一項或多項特性：高敏感度、高穩定度、低背景、低環境敏感度及高標

記特異性。多種螢光標記於市面上可得自西革瑪化學公司(密蘇里州聖路易)、分子探針公司(Molecular Probes)(俄勒岡州猶金市)、R&D系統公司(明尼蘇達州米拿波里)、法瑪西亞LKB生技公司(Pharmacia LKB Biotechnology)(紐澤西州匹茲卡威)、康泰克實驗室公司(CLONTECH Laboratories, Inc.)(加州保羅奧圖)、肯金公司(Chem Genes Corp.)、亞利敘化學公司(Aldrich Chemical Company)(威斯康辛州密瓦基)、革蘭研究公司(Glen Research, Inc.)、GIBCO BRL生命技術公司(GIBCO BRL Life Technologies, Inc.)(麻里蘭州蓋色堡)、福卡化學生化分析公司(Fluka Chemica-Biochemika Analytika)(福卡化學公司(Fluka Chemie AG)、瑞士巴赫)及應用生物系統公司(Applied Biosystems)(加州福斯特城)及熟諳技藝人士已知之多個其它商業來源。此外，熟諳技藝人士瞭解如何選擇特定用途之適當螢光基團，若非商業上易得，則可合成所需螢光基團，或合成改性市售螢光化合物來達到期望之螢光標記。

除了小分子螢光基團之外，天然螢光蛋白質及此等蛋白質之工程加工類似物也可用於本發明。此等蛋白質例如包括腔腸動物之綠螢光蛋白質(Ward等人，photochem. Photobiol. 35:803-808 (1982); Levine等人，Comp. Biochem. Physiol., 72B:77-85 (1982))、得自費氏弧菌(*Vibrio fischeri*)菌株之黃螢光蛋白質(Baldwin等人，Biochemistry 29:5509-15 (1990))、得自雙鞭毛藻(共生蟲藻屬(*Symbiodinium* sp.))之蟲藻葉綠素(Morris等人，植物分子生

物學 24:673:77 (1994))、得自海洋青藻菌諸如群落球菌 (Synechococcus) 之藻膽蛋白質，例如藻紅蛋白及藻青蛋白 (Wilbanks 等人，J. Biol. Chem. 268:1226-35 (1993)) 等。

通常於胞毒素與靶定劑(或其它作用劑)之間以及任選
5 地，間隔基之間形成鍵聯之前，將活化化學官能基中之至少一個官能基。熟諳技藝人士瞭解多種化學官能基，包括羥基、胺基及羧基可使用多種標準方法及條件活化。例如胞毒素或靶定劑之羥基可經由使用光氣處理來形成相對應之氯甲酸酯或經由使用對硝基苯基氯甲酸酯處理來形成相對應之碳酸酯而被活化。
10

於一具體實施例中，本發明使用包括羧基官能基之靶定劑。羧基例如可經由轉化成相對應之醯基鹵或活性酯來活化。本反應可如 March，參見上文 388-389 頁所述，於多種條件下進行。於一具體實施例中，醯基鹵可透過含羧基基團與草醯氯反應而製備。活化劑與胞毒素或胞毒素-鏈接劑臂之組合反應來形成本發明之綴合物。熟諳技藝人士瞭解使用含羧基靶定劑僅供舉例說明之用，又多種其它官能基之作用劑也可綴合至本發明之鏈接劑。
15

反應性官能基

20 為了求清晰，後文之討論焦點將集中於本發明之胞毒素與靶定劑之綴合。焦點舉例說明本發明之一個實施例，而熟諳技藝人士由該實施例方便推論。但本發明絕非受集中討論單一實施例所限。

本發明化合物之實例有一個反應性官能基，其通常係

位在經取代或未經取代之烷基鏈或雜烷基鏈，協助其附接至另一個化合物。反應性基團之方便位置為鏈之終端位置。

實施本發明有用之反應性基團及反應類別為生物綴合物化學業界人士眾所周知。反應性官能基可經保護或未經保護，經保護之基團本質可藉有機合成業界人士已知方法改變。目前可用於反應性胞毒素類似物之有利反應類別為於相對溫和條件下可進行之反應。此等反應包括但非限於親和取代(例如胺類及醇類與醯基鹵、活性酯反應)、親電子取代(例如烯胺反應)及加成至碳-碳鍵及碳-雜原子多重鍵結(例如麥可(Michael)反應，迪爾斯-阿爾德(Diels-Alder)加成反應)。此等及其它有用之反應討論於例如 March，進階有機化學，第3版，約翰威利父子公司，紐約，1985年；Hermanson，生物綴合物技術，學術出版社，聖地牙哥，1996年；及 Feeney 等人，蛋白質改性；化學系列進展，198集，美國化學會，華盛頓特區，1982年。

反應類別例如包括羧基與多種衍生物之反應，包括但非限於N-羥基丁二醯亞胺酯類、N-羥基苯并三唑酯類、酸鹵類、醯基咪唑類、硫酯類、對硝基苯酯類、烷酯類、烯酯類、炔酯類、及芳香酯類。羥基可轉成酯類、醚類、醛類等。鹵烷基可經由與例如胺、羧酸根陰離子、硫氫陰離子、碳氫陰離子、或烷氧陰離子反應而轉化成新的類別。親二烯基團(例如順丁烯二醯亞胺)參與迪爾斯-阿爾德反應。醛基或酮基可轉成亞胺類、肟類、半縮脲類或肟類或透過葛利納(Grignard)加成反應或烷基鋰加成反應來轉

化。磺醯鹵易與胺類反應例如形成磺醯胺。胺基或氫硫基例如經醯化、烷化或氧化。烯類可使用烷化加成、醯化、麥可加成等而轉成一系列之新化合物。環氧化物易與胺類及羥基化合物反應。

- 5 熟諳技藝人士瞭解其中多種鍵聯可以多種方式且使用多種條件製造。有關酯類之製備，例如參考March，參見上文1157頁；有關硫酯類，參考March，參見上文362-363,491,720-722,829,941及1172頁；有關碳酸酯類，參考March，參見上文346-347頁；有關胺基甲酸酯類，參考March，參見上文1156-57頁；有關醯胺類，參考March，參見上文1152頁；有關脲類及硫脲類，參考March，參見上文1174頁；有關縮醛類及縮酮類，參考Greene等人，參見上文178-210頁及March，參見上文1146頁；有關醯氧基烷基衍生物，參考前藥：局部及眼部藥物遞送，K.B. Sloan編輯，15 馬瑟戴克公司(Marcel Dekker, Inc.)，紐約，1992年；有關烯醇酯類，參考March，參見上文1160頁；有關N-磺醯亞胺酸酯類，參考Bundgaard等人，J. Med. Chem., 31:2066 (1988)；有關酞類，參考March，參見上文355-56, 636-37, 990-91及1154頁；有關N-醯基醯胺類，參考March，參見上20 文379頁；有關N-曼尼克(Mannich)鹼類，參考March，參見上文800-02及828頁；有關羥基甲基酮酯類，參考Petracek等人，Annals NY Acad. Sci., 507:353-54 (1987)；有關雙硫類，參考March，參見上文1160頁；及有關膦酸酯類及醯胺代膦酸酯類。

反應性官能基可為未經保護，且選擇讓其不會參與或不會干擾反應。另外，反應性官能基可藉保護基來保護免於參與反應。熟諳技藝人士瞭解如何保護特定官能基免於干擾選定之反應條件集合。有用之保護基之實例參考

5 Greene等人，有機合成保護基，約翰威利父子公司，紐約，1991年。

典型地，使用標準化學技術，透過個別之化學官能基，靶定劑共價鍵聯至胞毒素。任選地，鏈接劑或藥劑透過一個或多個間隔基而耦接至該藥劑。當組合使用時，間隔基

10 可相同或相異。

通常於胞毒素與靶定劑(或其它作用劑)之間以及任選地，間隔基之間形成鍵聯之前，將活化化學官能基中之至少一個官能基。熟諳技藝人士瞭解多種化學官能基，包括羥基、胺基及羧基可使用多種標準方法及條件活化。於一

15 具體實施例中，本發明包含羧基官能基作為反應性官能基。羧基可如前文說明經活化。

可裂解基質

本發明之可裂解基質係以「 X^2 」表示。較佳可裂解基質為可藉酶的作用裂解之可裂解酶基質。較佳酶係偏好直接或間接與欲治療的腫瘤細胞或其它標靶細胞相關。酶可由欲治療之腫瘤細胞或其它標靶細胞產生。例如，可裂解基質可為偏好由腫瘤細胞或其它標靶細胞周圍或內部之酶裂解之胜肽。此外或另外，酶可附接至特異性結合至腫瘤細胞之靶定劑，諸如腫瘤抗原之特異性抗體。

20

適合偶合至前述藥物之酶可裂解基質之實例，可參考 PCT 專利申請案 WO 00/33888、WO 01/95943、WO 01/95945、WO 02/00263、及 WO 02/100353，各案以引用方式併入此處。揭示可裂解胜肽附接至藥物。該胜肽係可藉

5 與腫瘤相關之酶裂解，諸如楚奧酶(trouase) (諸如席梅特(thimet)寡胜肽酶)、CD10(奈普利溶解素(neprilysin))、基質金屬蛋白酶(例如 MMP2 或 MMP9)、II 型穿膜絲胺酸蛋白酶(諸如海普素(Hepsin)、睪素(testisin)、TMPRSS4、或基質酶(matriptase)/MT-SP1)或組織蛋白酶。於本實施例中，前

10 藥包括前述藥物、胜肽、安定基或任選地藥物與胜肽間之鏈接基團。安定基附接至胜肽末端，來保護前藥免於前藥到達腫瘤或其它標靶細胞之前被分解。適當安定基團之實例包括非胺基酸，諸如丁二酸、二乙醇酸、順丁烯二酸、聚乙二醇、焦麩胺酸、乙酸、萘基羧酸、對苯二甲酸及戊

15 二酸衍生物；以及非遺傳編碼胺基酸或附接至天冬酸之 β -羧基之胜肽 N 端或麩胺酸之 γ -羧基之胜肽 N 端之天冬酸或麩胺酸。

胜肽典型包括 3-12 個(或更多個)胺基酸。特定胺基酸之選擇至少部分係依據用來裂解胜肽之酶及胜肽於活體內之

20 安定性而選用。適當可裂解胜肽為 β -AlaLeuAlaLeu (SEQ.ID NO.2)。此胜肽與安定基團組合來形成丁二醯基- β -AlaLeuAlaLeu。其它適當可裂解胜肽之實例係提供於前文引述之參考文獻。

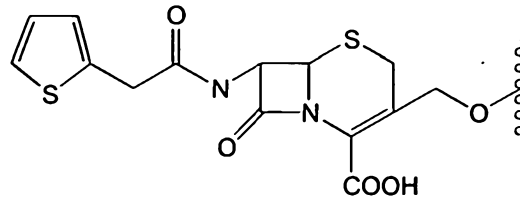
舉例說明，CD10 也稱作為奈普利溶解素、中性胜肽內

切酶(NEP)及常見急性淋巴母細胞性白血病原(CALLA)屬於II型細胞表面鋅依賴型金屬蛋白酶。適合用於CD10之可裂解酶基質包括LeuAlaLeu及IleAlaLeu。其它已知用於CD10之酶基質包括長度至多為50個胺基酸之胜肽，但催化效率將隨著酶基質之變大而降低。

另一個說明例係基於基質金屬蛋白酶(MMP)。可能經過最佳特徵化之蛋白質分解酶與腫瘤相關，與MMP於腫瘤顯微環境下之活化有明確交互關係。特別，可溶性基質酶MMP2(明膠酶A)及MMP9(明膠酶B)經徹底研究，顯示於組織重新塑型期間包括腫瘤生長期間被選擇性活化。經設計來可藉MMP2及MMP9裂解之胜肽序列已經經設計且測試用於葡萄聚糖與胺甲喋呤之綴合物(Chau等人，生物綴合物化學15:931-941 (2004))；PEG(聚乙二醇)與阿黴素(Bae等人，藥物Exp. Clin. Res. 29:15-23 (2004))；及白蛋白與阿黴素(Kratz等人，Bioorg. Med. Chem. Lett. 11:2001-2006 (2001))。用於MMP之適當序列之實例包括但非限於ProValGlyLeuIleGly (SEQ. ID NO.8)、GlyProLeuGlyVal (SEQ. ID NO.9)、GlyProLeuGlyIleAlaGlyGln (SEQ. ID NO.10)、ProLeuGlyLeu (SEQ. ID NO.11)、GlyProLeuGlyMetLeuSerGln (SEQ. ID NO.12) 及 GlyProLeuGlyLeuTrpAlaGln (SEQ. ID NO.13)。(例如參考文引用之參考文獻及Kline等人，Mol. Pharmaceut. 1:9-22 (2004)及Liu等人，癌症研究60:6061-6067 (2000))。也可使用其它可裂解之酶基質。

又另一個實例為II型穿膜絲胺酸蛋白酶。本組酶例如包括海普素、畢素及TMPRSS4。GlnAlaArg為可用於基質酶/MT-SP1 (於卵巢癌及乳癌中過度表現)之一種酶基質序列，而LeuSerArg可用於海普素(於攝護腺癌及其它類型腫瘤之過度表現)。(例如參考Lee等人，J. Biol. Chem. 275:36720-36725及Kurachi及Yamamoto，蛋白質分解酶手冊，第2期，第2版(Barrett AJ, Rawlings ND&Woessner JF，編輯)，1699-1702頁(2004年))。也可使用其它可裂解酶基質。

另一型可裂解基質之配置包括製備可裂解變成與腫瘤或與細胞相結合之可裂解基質之一種分開酶。例如，一種酶可偶合至腫瘤特異性抗體(或其它可能附接至腫瘤或附接至其它標靶細胞，諸如受體配體之其它實體)，然後將酶-抗體綴合物提供予病人。酶-抗體綴合物被導向至或結合至與腫瘤相關聯之抗原。隨後，藥物-可裂解基質綴合物呈前藥而提供予病人。藥物只有在腫瘤附近，指示藥物-可裂解基質綴合物與腫瘤相關之酶交互作用，故可裂解基質被裂解，而藥物被釋放。例如，美國專利案4,975,278；5,587,161；5,660,829；5,773,435；及6,132,722揭示此種配置，各案全文以引用方式併入此處。適當酶及酶基質之實例包括但非限於 β -內醯胺酶及頭孢子菌素衍生物、羧基胜肽酶G2及麩胺酸及天冬酸葉酸衍生物。於一個實施例中，酶-抗體綴合物包括抗體或抗體片段，其係基於對感興趣之標靶細胞上或標靶位置之抗原之特異性而選定。抗體之討論提供於前文。適當頭孢子菌素-可裂解基質之實例為

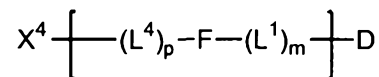


綴合物之實例

本發明之鏈接劑及可裂解基質可用於含有路卡黴素或 CBI 類似物作為胞毒劑之綴合物中。本發明之綴合物之實例之進一步細節說明如下。除非另行指示，否則取代基係如前文有關胞毒素、鏈接劑及可裂解基質之相關章節中定義。

A. 鏈接劑綴合物

適當綴合物之一個實例為一種下式化合物

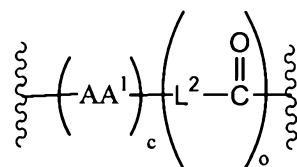


10 其中

L^1 為自我犧牲性鏈接劑；

m 為整數 0、1、2、3、4、5 或 6；

F 為包含如下結構式之鏈接劑：

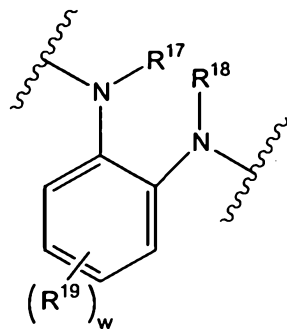


15 其中

AA^1 為分別選自於由天然胺基酸及非天然 α -胺基酸所組成之組群之一個或多個成員；

c 為 1 至 20 之整數；

L^2 為自我犧牲性鏈接劑且包含



其中各個 R^{17} 、 R^{18} 及 R^{19} 分別係選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、及經取代或未經取代之芳基，

5 及 w 為0至4之整數；

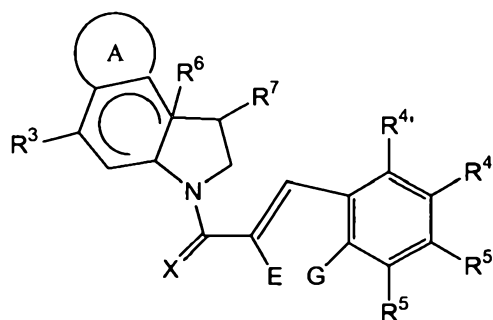
o 為1；

L^4 為一鏈接劑成員；

p 為0或1；

X^4 為選自於經保護之反應性官能基、未經保護之反應性官能基、可檢測標記、及靶定劑所組成之組群中之一員；
以及

D包含結構式：



其中環系A為選自於經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、及經取代或未經取代之雜環烷基中之一員；
15

E及G為分別選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、雜原子、單鍵中之一員，或E與G接合來形成選自於經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基及經取代或未經取代之雜環烷基中之一員；

X為選自於O、S及NR²³中之一員；

R²³為選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基及醯基中之一員；

R³為OR¹¹，

其中R¹¹為選自於由H、經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之雜烷基、未經取代之雜烷基、一磷酸酯類、二磷酸酯類、三磷酸酯類、磺酸酯類、醯基、C(O)R¹²R¹³、C(O)OR¹²、C(O)NR¹²R¹³、P(O)(OR¹²)₂、C(O)CHR¹²R¹³、SR¹²及SiR¹²R¹³R¹⁴所組成之組群中之一員，

R⁴、R^{4'}、R⁵、及R^{5'}為分別選自於由H、經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之芳基、未經取代之芳基、經取代之雜芳基、未經取代之雜芳基、經取代之雜環烷基、未經取代之雜環烷基、鹵素、NO₂、NR¹⁵R¹⁶、NC(O)R¹⁵、OC(O)NR¹⁵R¹⁶、OC(O)OR¹⁵、C(O)R¹⁵、SR¹⁵、OR¹⁵、CR¹⁵=NR¹⁶、及O(CH₂)_nN(CH₃)₂所組成之組群之一員，或任何相鄰成對之R⁴、R^{4'}、R⁵、及R^{5'}連同其附接之碳原子接合來形成有4員至6員之經取代或未經取代之環烷基環系或雜環烷基環系；

其中

n為1至20之整數；

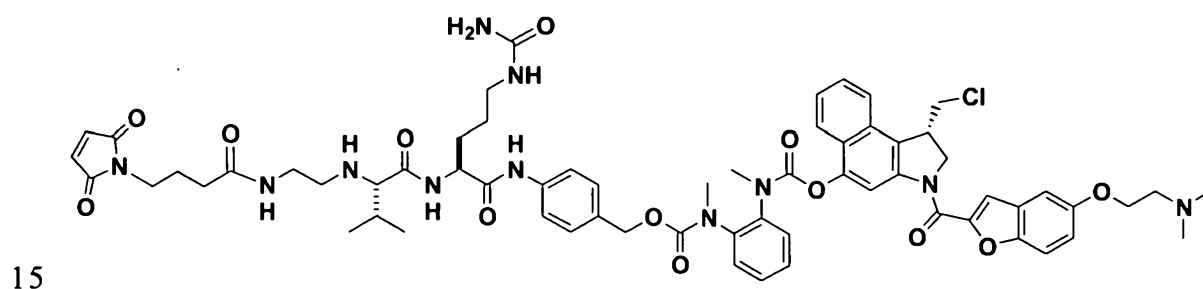
R¹⁵及R¹⁶分別選自H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、經取代或未經取代之雜環烷基、
5 及經取代或未經取代之胍基，其中R¹⁵及R¹⁶連同其附接之氮原子視需要可接合來形成有4員至6員且視需要可含兩個或多個雜原子之一經取代或未經取代之雜環烷基環系；

R⁶為單鍵，單鍵可存在或不存在，以及當單鍵存在時，R⁶與R⁷接合而形成環丙基環；以及

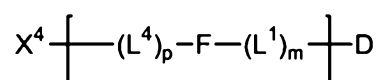
10 R⁷為CH₂-X¹或與R⁶接合於該環丙基環中之-CH₂-，其中X¹為離去基，

其中L¹若存在時，R¹¹鏈接該藥物至L¹，或鏈接至F。

於若干實施例中，藥物具有如上結構式(9)或(12)。適合用作為綴合物之化合物特例為



另一型綴合物之實例為一種下式化合物

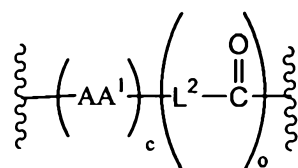


其中

L¹為自我犧牲性鏈接劑；

20 m為整數0、1、2、3、4、5或6；

F為包含如下結構式之鏈接劑：



其中

AA¹為分別選自於由天然胺基酸及非天然 α -胺基酸所

5 組成之組群之一個或多個成員；

c為1至20之整數；

L²為自我犧牲性鏈接劑；

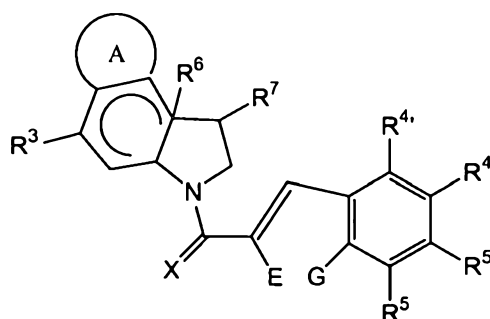
o為0或1；

L⁴為一鏈接劑成員；

10 p為0或1；

X⁴為選自於經保護之反應性官能基、未經保護之反應性官能基、可檢測標記、及靶定劑所組成之組群中之一員；
以及

D包含結構式：



15

其中環系A為選自於經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、及經取代或未經取代之雜環烷基中之一員；

E及G為分別選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、雜原子、單鍵中之一員，或E與G接合來形成選自於經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基及經取代或未經取代之雜環烷基中之一員；

X為選自於O、S及NR²³中之一員；

R²³為選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基及醯基中之一員；

R³為OR¹¹，

其中R¹¹為選自於由H、經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之雜烷基、未經取代之雜烷基、一磷酸酯類、二磷酸酯類、三磷酸酯類、磺酸酯類、醯基、C(O)R¹²R¹³、C(O)OR¹²、C(O)NR¹²R¹³、P(O)(OR¹²)₂、C(O)CHR¹²R¹³、SR¹²及SiR¹²R¹³R¹⁴所組成之組群中之一員，

其中R¹²、R¹³及R¹⁴為分別選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、及經取代或未經取代之芳基中之一員，其中R¹²及R¹³與其附接之氮原子或碳原子共同視需要可接合來形成有4員至6員且視需要含有兩個或多個雜原子之一經取代或未經取代之雜環烷基環系；

R⁴、R^{4'}、R⁵、及R^{5'}為分別選自於由H、經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之芳基、未經取代之芳基、經取代之雜芳基、未經取代之雜芳基、經取代之雜環烷基、未經取代之雜環烷基、鹵素、NO₂、NR¹⁵R¹⁶、NC(O)R¹⁵、OC(O)NR¹⁵R¹⁶、OC(O)OR¹⁵、C(O)R¹⁵、SR¹⁵、OR¹⁵、

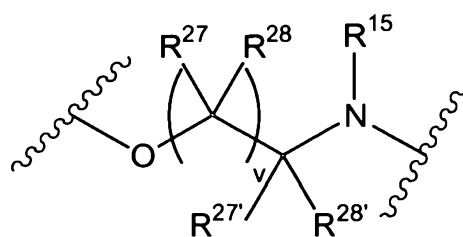
$\text{CR}^{15}=\text{NR}^{16}$ 、及 $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 所組成之組群之一員，或任何相鄰成對之 R^4 、 $\text{R}^{4'}$ 、 R^5 、及 $\text{R}^{5'}$ 連同其附接之碳原子接合來形成有4員至6員之經取代或未經取代之環烷基環系或雜環烷基環系；

5 其中

n 為1至20之整數；

R^{15} 及 R^{16} 分別選自H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、經取代或未經取代之雜環烷基、
10 及經取代或未經取代之胍基，其中 R^{15} 及 R^{16} 連同其附接之氮原子視需要可接合來形成有4員至6員且視需要可含兩個或多個雜原子之一經取代或未經取代之雜環烷基環系；

其中 R^4 、 $\text{R}^{4'}$ 、 R^5 、及 $\text{R}^{5'}$ 中之至少一者將該藥物鏈接至 L^1 (若存在時)，或鏈接至F且包含



15

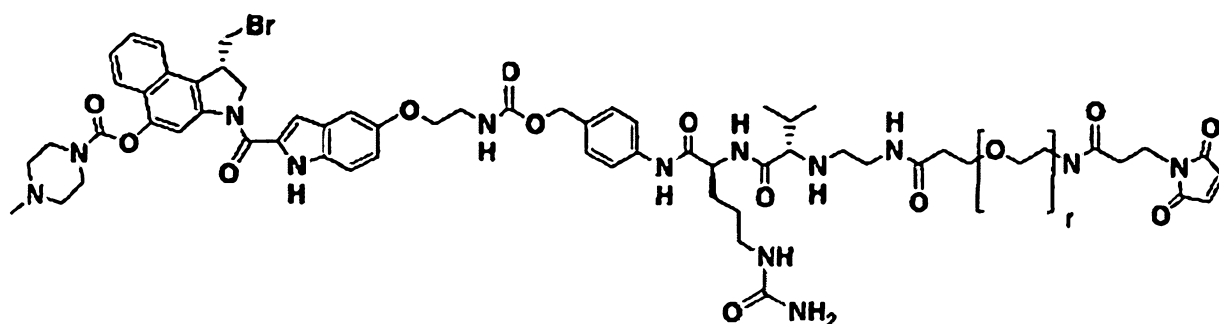
其中 v 為1至6之整數；及

R^{27} 、 $\text{R}^{27'}$ 、 R^{28} 、及 $\text{R}^{28'}$ 各自分別係選自H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、及經取代或
20 未經取代之雜環烷基；

R^6 為單鍵，單鍵可存在或不存在，以及當單鍵存在時， R^6 與 R^7 接合而形成環丙基環；以及

R^7 為 CH_2-X^1 或與 R^6 接合於該環丙基環中之 $-CH_2-$ ，其中 X^1 為離去基。

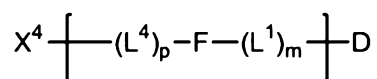
於若干實施例中，藥物具有如上結構式(9)或(12)。適合用作為綴合物之化合物特例為



5

此處 r 為 0 至 24 之範圍之整數。

另一型綴合物之實例為一種下式化合物

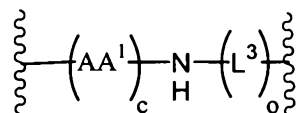


其中

10 L^1 為自我犧牲性鏈接劑；

m 為整數 0、1、2、3、4、5 或 6；

F 為包含如下結構式之鏈接劑：



其中

15 AA^1 為分別選自於由天然胺基酸及非天然 α -胺基酸所組成之組群之一個或多個成員；

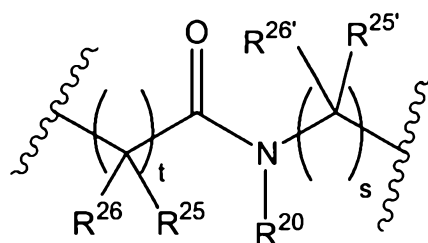
c 為 1 至 20 之整數；

L^3 為包含第一胺或第二胺或羧基官能基之一間隔基；

其中若存在有 L^3 ，則 m 為0以及 L^3 之胺基與D之旁出羧基官能基形成一醯胺鍵結，或 L^3 之羧基與D之旁出胺基官能基形成一醯胺鍵結；

o 為0或1；

5 L^4 為一鏈接劑成員，其中 L^4 包含



直接附接至 $(AA^1)_c$ 之N-端，其中

R^{20} 為選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、及醯基中之一員，

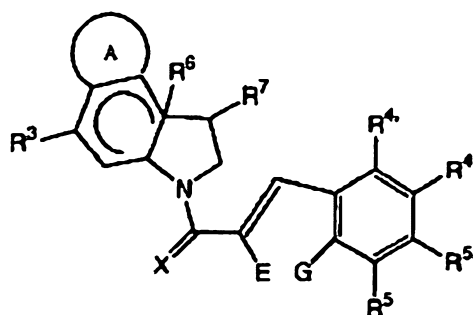
10 各個 R^{25} 、 $R^{25'}$ 、 R^{26} 、及 $R^{26'}$ 分別係選自H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、及經取代或未經取代之雜環烷基；

及 s 及 t 分別為1至6之整數；

15 p 為1；

X^4 為選自於經保護之反應性官能基、未經保護之反應性官能基、可檢測標記、及靶定劑所組成之組群中之一員；
以及

D包含結構式：



其中環系A為選自於經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、及經取代或未經取代之雜環烷基中之一員；

- 5 E及G為分別選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、雜原子、單鍵中之一員，或E與G接合來形成選自於經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基及經取代或未經取代之雜環烷基中之一員；

X為選自於O、S及NR²³中之一員；

- 10 R²³為選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基及醯基中之一員；

R³為選自於由(=O)、SR¹¹、NHR¹¹及OR¹¹所組成之組群中之一員，

其中

- 15 R¹¹為選自於由H、經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之雜烷基、未經取代之雜烷基、一磷酸酯類、二磷酸酯類、三磷酸酯類、磺酸酯類、醯基、C(O)R¹²R¹³、C(O)OR¹²、C(O)NR¹²R¹³、P(O)(OR¹²)₂、C(O)CHR¹²R¹³、SR¹²及SiR¹²R¹³R¹⁴所組成之組群中之一員，其中

- 20 R¹²、R¹³及R¹⁴為分別選自於H、經取代或未經取代之烷

基、經取代或未經取代之雜烷基、及經取代或未經取代之芳基中之一員，其中 R^{12} 及 R^{13} 與其附接之氮原子或碳原子共同視需要可接合來形成有4員至6員且視需要含有兩個或多個雜原子之一經取代或未經取代之雜環烷基環系；

- 5 R^4 、 $R^{4'}$ 、 R^5 、及 $R^{5'}$ 為分別選自於由H、經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之芳基、未經取代之芳基、經取代之雜芳基、未經取代之雜芳基、經取代之雜環烷基、未經取代之雜環烷基、鹵素、 NO_2 、 $NR^{15}R^{16}$ 、 $NC(O)R^{15}$ 、 $OC(O)NR^{15}R^{16}$ 、 $OC(O)OR^{15}$ 、 $C(O)R^{15}$ 、 SR^{15} 、 OR^{15} 、
10 $CR^{15}=NR^{16}$ 、及 $O(CH_2)_nN(CH_3)_2$ 所組成之組群之一員，或任何相鄰成對之 R^4 、 $R^{4'}$ 、 R^5 、及 $R^{5'}$ 連同其附接之碳原子接合來形成有4員至6員之經取代或未經取代之環烷基環系或雜環烷基環系；

其中

- 15 n 為1至20之整數；

- R^{15} 及 R^{16} 分別選自H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、經取代或未經取代之雜環烷基、及經取代或未經取代之胍基，其中 R^{15} 及 R^{16} 連同其附接之
20 氮原子視需要可接合來形成有4員至6員且視需要可含兩個或多個雜原子之一經取代或未經取代之雜環烷基環系；

R^6 為單鍵，單鍵可存在或不存在，以及當單鍵存在時， R^6 與 R^7 接合而形成環丙基環；以及

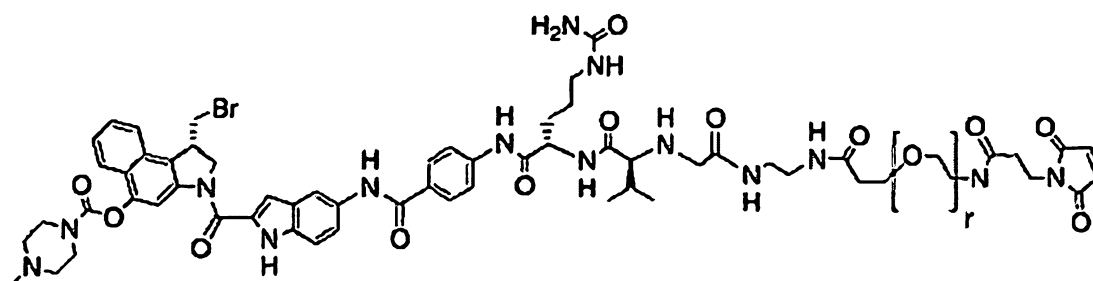
R^7 為 CH_2-X^1 或與 R^6 接合於該環丙基環中之 $-CH_2-$ ，其中

X^1 為離去基，

其中 R^4 、 $R^{4'}$ 、 R^5 、 $R^{5'}$ 、 R^{15} 或 R^{16} 中之至少一者將該藥物鏈接至 L^1 (若存在時)，或鏈接至 F。

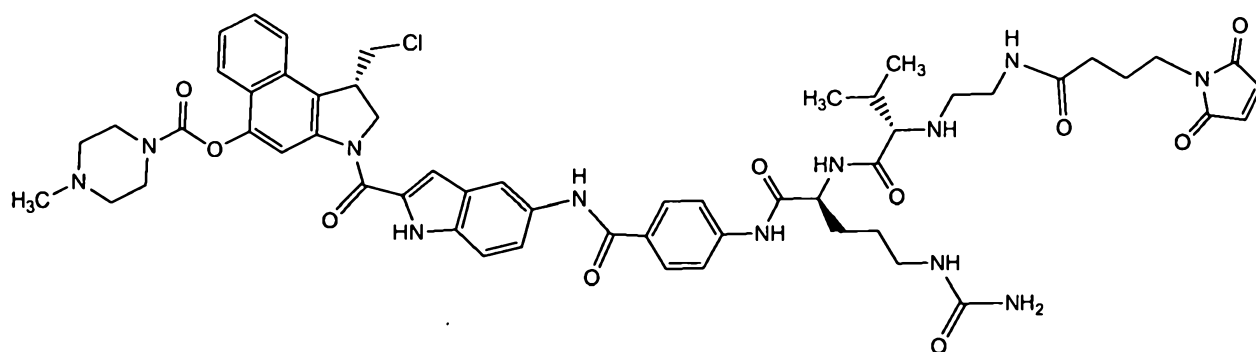
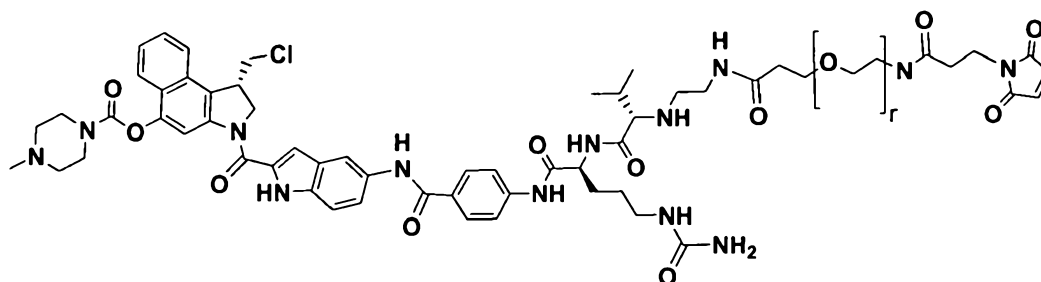
於若干實施例中，藥物具有如上結構式(9)或(12)。適

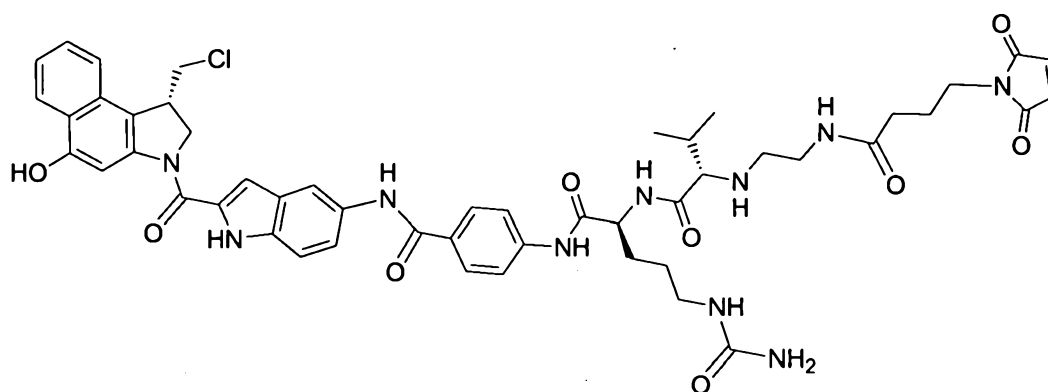
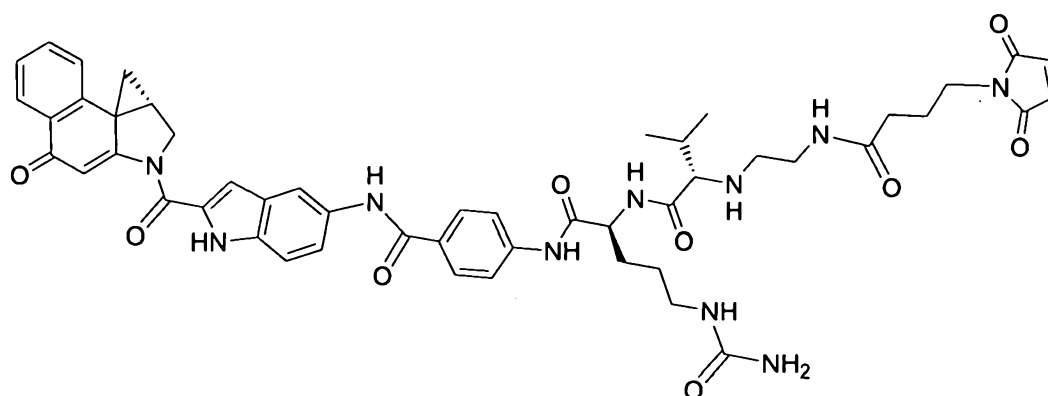
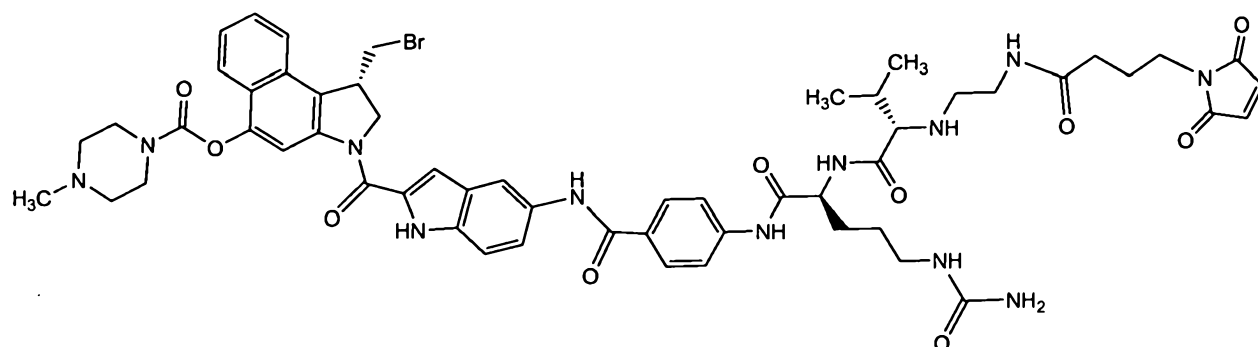
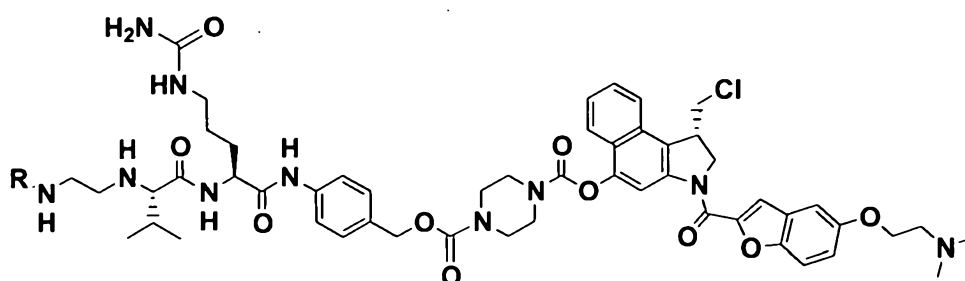
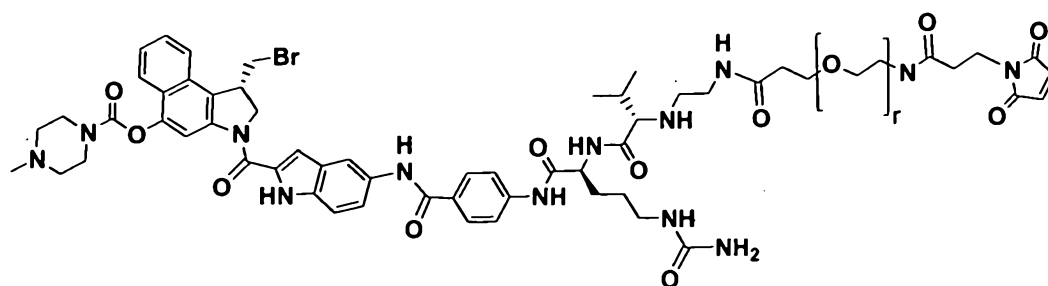
5 合用作為綴合物之化合物特例為

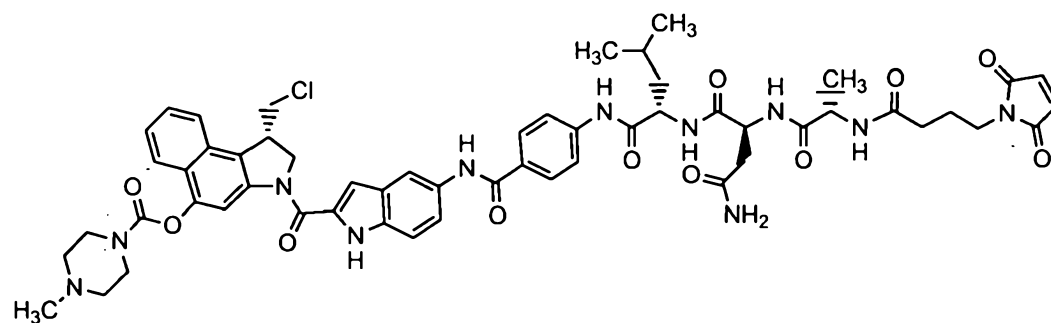


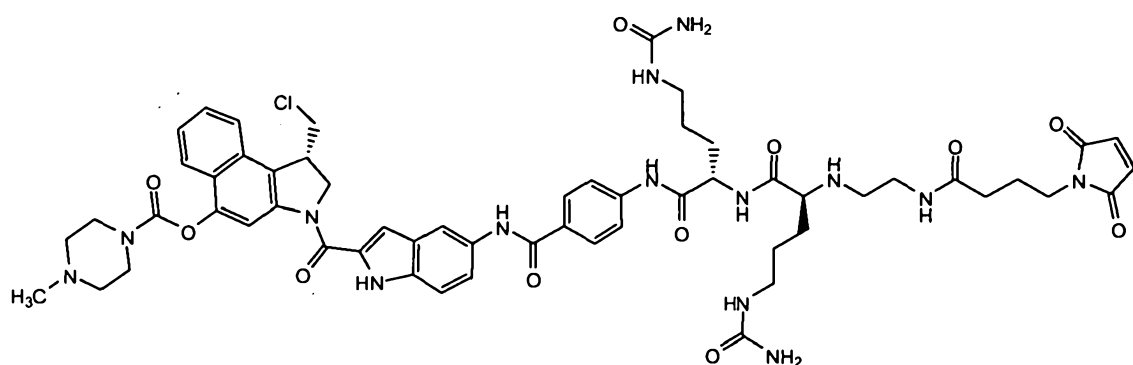
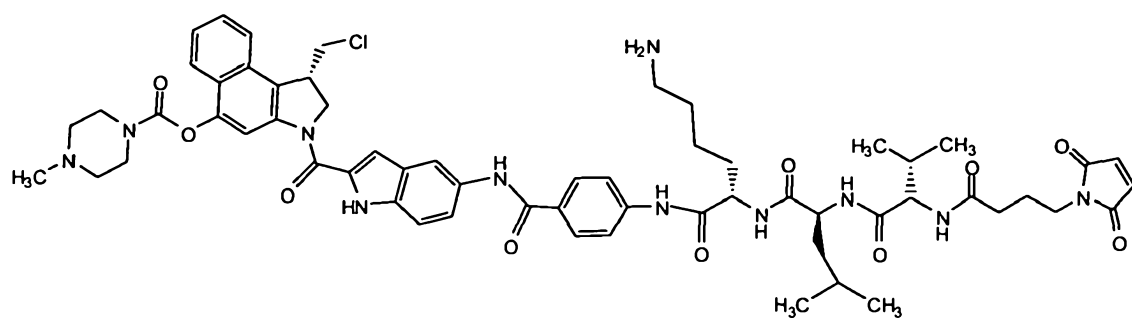
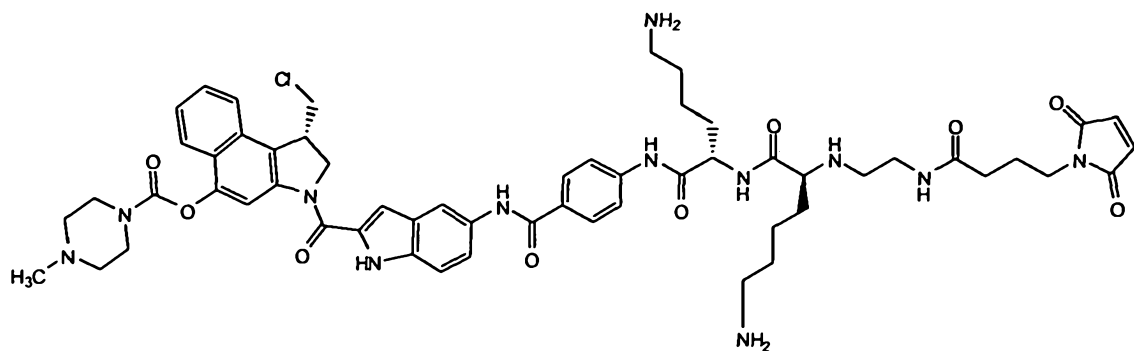
此處 r 為 0 至 24 之範圍之整數。

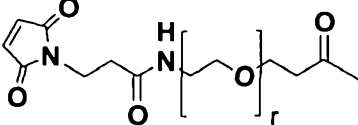
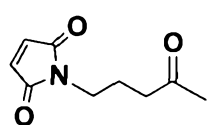
適合用作為綴合物之化合物之其它實例包括：







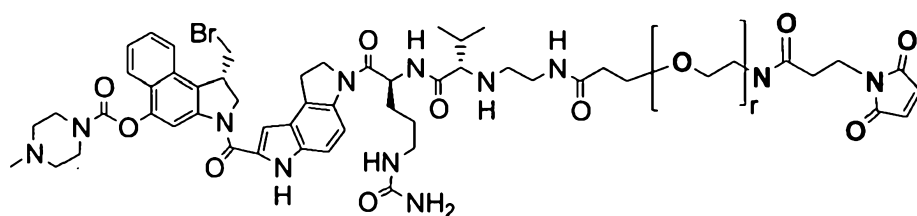


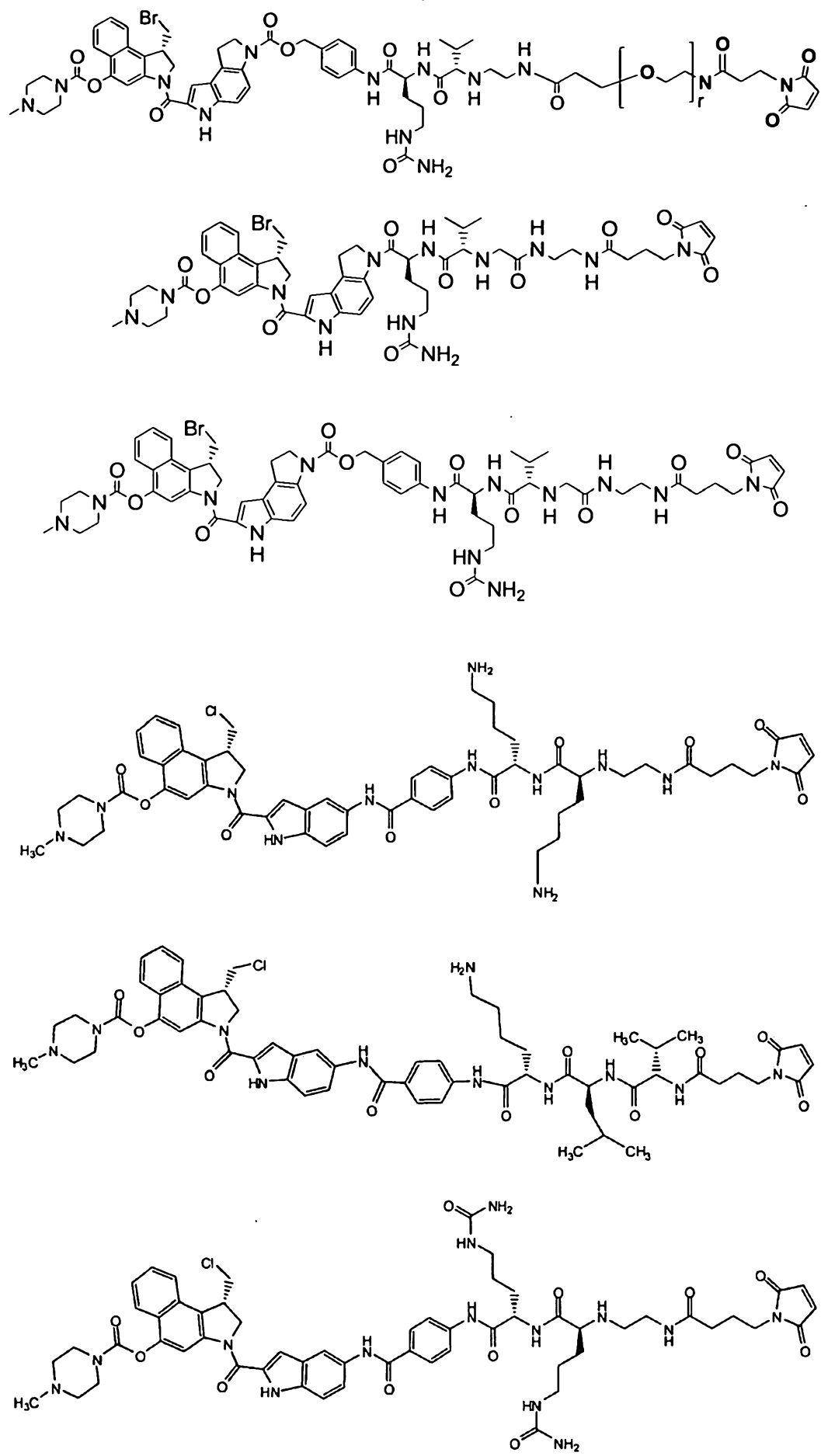
此處R為  或  , 及r為0至

24之範圍之整數。

綴合物也可使用具有結構式(13)之藥物形成, 諸如下列

5 化合物:



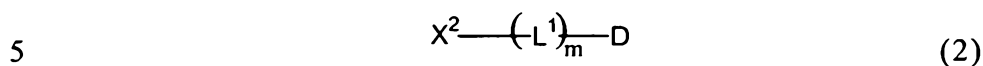


5

此處r為0至24之範圍之整數。

A. 可裂解鏈接劑綴合物

適當綴合物之一個實例為一種具有如下結構式之化合物：

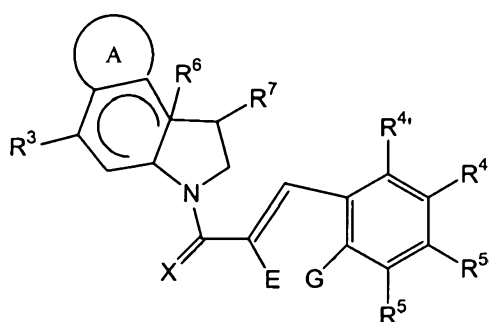


其中 L^1 為自我犧牲性間隔劑；

m為0、1、2、3、4、5或6之整數；

X^2 為可裂解基質；及

D包含結構式：



其中環系A為選自於經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、及經取代或未經取代之雜環烷基中之一員；

E及G為分別選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、雜原子、單鍵中之一員，或E與G接合來形成選自於經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基及經取代或未經取代之雜環烷基中之一員；

X為選自於O、S及 NR^{23} 中之一員；

R^{23} 為選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或

未經取代之雜烷基及醯基中之一員；

R^3 為選自於由(=O)、 SR^{11} 、 NHR^{11} 及 OR^{11} 所組成之組群中之一員，

其中

- 5 R^{11} 為選自於由H、經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之雜烷基、未經取代之雜烷基、一磷酸酯類、二磷酸酯類、三磷酸酯類、磺酸酯類、醯基、 $C(O)R^{12}R^{13}$ 、 $C(O)OR^{12}$ 、 $C(O)NR^{12}R^{13}$ 、 $P(O)(OR^{12})_2$ 、 $C(O)CHR^{12}R^{13}$ 、 SR^{12} 及 $SiR^{12}R^{13}R^{14}$ 所組成之組群中之一員，其中
- 10 R^{12} 、 R^{13} 及 R^{14} 為分別選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、及經取代或未經取代之芳基中之一員，其中 R^{12} 及 R^{13} 與其附接之氮原子或碳原子共同視需要可接合來形成有4員至6員且視需要含有兩個或多個雜原子之一經取代或未經取代之雜環烷基環系；
- 15 R^6 為單鍵，單鍵可存在或不存在，以及當單鍵存在時， R^6 與 R^7 接合而形成環丙基環；以及

R^7 為 CH_2-X^1 或與 R^6 接合於該環丙基環中之 $-CH_2-$ ，其中 X^1 為離去基，

R^4 、 $R^{4'}$ 、 R^5 、及 $R^{5'}$ 為分別選自於由H、經取代之烷基、
- 20 未經取代之烷基、經取代之芳基、未經取代之芳基、經取代之雜芳基、未經取代之雜芳基、經取代之雜環烷基、未經取代之雜環烷基、鹵素、 NO_2 、 $NR^{15}R^{16}$ 、 $NC(O)R^{15}$ 、 $OC(O)NR^{15}R^{16}$ 、 $OC(O)OR^{15}$ 、 $C(O)R^{15}$ 、 SR^{15} 、 OR^{15} 、 $CR^{15}=NR^{16}$ 、及 $O(CH_2)_nN(CH_3)_2$ 所組成之組群之一員，或任

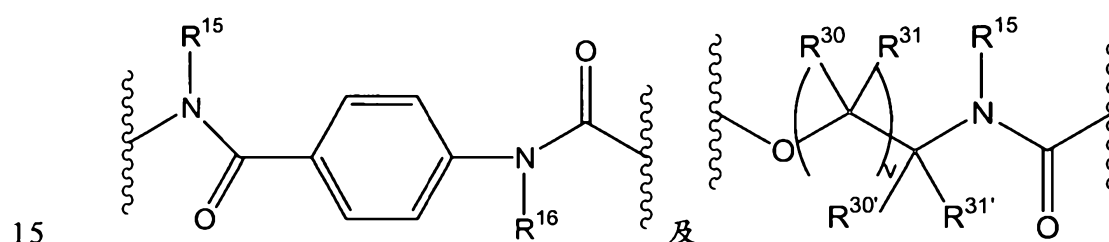
何相鄰成對之 R^4 、 $R^{4'}$ 、 R^5 、及 $R^{5'}$ 連同其附接之碳原子接合來形成有4員至6員之經取代或未經取代之環烷基環系或雜環烷基環系；

其中

5 n 為1至20之整數；

R^{15} 及 R^{16} 分別選自H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、經取代或未經取代之雜環烷基、及經取代或未經取代之胍基，其中 R^{15} 及 R^{16} 連同其附接之
10 氮原子視需要可接合來形成有4員至6員且視需要可含兩個或多個雜原子之一經取代或未經取代之雜環烷基環系；

其中成員 R^4 、 $R^{4'}$ 、 R^5 、及 $R^{5'}$ 中之至少一者鏈接該藥物至 L^1 (若存在時)，或鏈接至 X^2 且係選自於由下列基團所組成之組群



其中

R^{30} 、 $R^{30'}$ 、 R^{31} 、及 $R^{31'}$ 分別係選自於H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、及經取代或未
20 經取代之雜環烷基；及

v 為1至6之整數。

人。此等投藥途徑包括但非限於吸入、經皮、口服、直腸、經黏膜、經腸道、及經腸道外投藥，包括肌肉注射、皮下注射、及靜脈注射。較佳本發明之綴合物係經腸道外投予，更佳係經靜脈內投予。

- 5 如此處使用，「投予」或「投藥」等詞意圖涵蓋直接或間接遞送化合物至其期望之作用部位之全部手段。

此處所述化合物或其藥學上可接受之鹽及/或水合物可單獨投予或組合本發明之其它化合物投予，及/或與其它治療劑組合成混合液投予。當然，可與本發明化合物共同
10 投予之治療劑之選擇部分係依據欲處理之病情決定。

例如，當投予患有經由仰賴自體誘導劑之有機體引發疾病狀態之病人時，本發明化合物可呈含有用來治療該疾病常見相關之疼痛、感染或其它症狀及副作用之藥劑之混合液投藥。此等藥劑包括止痛劑、抗生素等。

- 15 當投予接受癌症治療之病人時，化合物可於含抗癌劑及/或補助增強劑之混合液投予。化合物也可呈含有可治療放射性治療之副作用之藥劑諸如止吐劑、輻射保護劑等之混合液投予。

可與本發明化合物共同投予之補助增強劑例如包括三
20 環抗鬱劑(例如伊米普明(imipramine)、戴希普明(desipramine)、阿米崔泰林(amitriptyline)、可羅米普明(clomipramine)、萃米普明(trimipramine)、朵西平(doxepin)、諾崔泰林(nortriptyline)、普崔泰林(protriptyline)、阿莫薩平(amoxapine)、及馬普泰林(maprotiline)；非三環抗鬱劑(例

如色塔林(sertraline)、塔左東(trazodone)、及西塔洛潘(citalopram))； Ca^{+2} 拮抗劑(例如凡拉帕米(verapamil)、尼菲帝平(nifedipine)、尼左帝平(nitrendipine)、及卡羅凡林(caroverine))；親兩性素(amphotericin)；萃帕拉諾(triparanol) 5 類似物(例如塔莫西芬(tamoxifen)；抗心律不整藥(例如奎寧)；抗高血壓藥(例如利血平(reserpine))；硫醇排空劑(例如布席歐寧(buthionine)及舒服希敏(sulfoximine))；及甲醯四氫葉酸鈣。

本發明之活性化合物可本身投予，或呈藥學組成物形式投予，其中活性化合物混合一種或多種藥學上可接受之載劑、賦形劑或稀釋劑。根據本發明使用之藥學組成物典型係以習知方式調配，使用一種或多種包含賦形劑及輔劑之生理上可接受之載劑，該等載劑協助將活性化合物加工成為製劑且可供藥用。適當配方係依據選用之投藥途徑決定。 10 15

供經黏膜投藥，適合欲穿透之障壁之穿透劑可用於配方中。此等穿透劑為技藝界一般已知。

用於經口投藥，方便經由活性化合物與技藝界眾所周知之藥學上可接受之載劑組合來調配。此等載劑允許本發明化合物調配成為錠劑、丸劑、糖衣錠、膠囊劑、液劑、明膠劑、糖漿劑、料漿、懸浮液劑等，供欲治療之病人口服攝食。口服用藥物製劑之獲得方式係由固體賦形劑獲得，固體賦形劑視需要可研磨其獲得之混合物，若有所需於添加適當輔劑之後加工處理所得顆粒混合物來獲得錠劑 20

或糖衣錠芯。適當賦形劑特別為填充劑諸如糖類，包括乳糖、蔗糖、甘露糖醇或山梨糖醇；纖維素製劑例如玉米澱粉、小麥澱粉、稻米澱粉、馬鈴薯澱粉、明膠、西黃蓍膠、
 5 或聚乙烷基吡咯啉酮(PVP)。若有所需，可使用崩散劑，諸如交聯聚乙烷基吡咯啉酮、瓊脂、或褐藻酸或其鹽諸如褐藻酸鈉。

糖衣錠芯被提供以適當包衣。用於此項目的，可使用濃縮糖溶液，其視需要可含有阿拉伯膠、滑石、聚乙烷基
 10 吡咯啉酮、卡伯普(carbopol)凝膠、聚乙二醇及/或二氧化鈦、清漆溶液及適當有機溶劑或溶劑混合物。可添加染料及顏料至錠劑或糖衣錠包衣來識別及特徵化不同的活性化化合物劑量之組合。

可口服使用之藥學組成物包括明膠製成之推送-嵌合
 15 膠囊劑以及明膠與塑化劑製成之軟性密封膠囊劑，塑化劑諸如為甘油或山梨糖醇。推送-嵌合膠囊劑可含有活性成分填充劑諸如乳糖、黏結劑諸如澱粉及/或潤滑劑諸如滑石或硬脂酸鎂及任選地安定劑之組合。於軟膠囊劑中，活性化
 20 合物可溶解或懸浮於適當液體，諸如脂肪油類、液體石蠟或液體聚乙二醇。此外，可添加安定劑。全部口服投藥配方須呈適合用於此種投藥途徑之劑量。

供經頻投予，組成物須呈以習知方式配方之錠劑或頻用錠形式。

用於藉吸入投予，根據本發明所使用之化合物可方便

地使用適當推進劑例如二氯二氟乙烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳、或其它適當氣體，由加壓包裝或由霧化器，呈氣霧劑噴霧形式遞送。於加壓氣霧劑之情況下，劑量單元可藉設置一閥來遞送經過計量之數量決定劑量單位。例如明膠所製成之供吸入器或吹入器使用之膠囊及卡匣可使用化合物與適當粉末基劑諸如為乳糖或澱粉之粉狀混合物調配。

化合物可調配供藉注射進行腸道外投藥，例如藉大劑量注射或藉連續輸注投藥。注射方式為本發明組成物之較佳投藥方法。注射配方可呈含添加保藏劑之單位劑型例如包裝於安瓿劑或包裝於多劑量容器。組成物可呈懸浮液劑、溶液劑或乳液劑於油性或水性載媒劑形式，組成物可含有配方劑，諸如可添加懸浮劑、安定劑及/或分散劑，諸如交聯聚乙烷基吡咯啉酮、瓊脂或褐藻酸或諸如褐藻酸之鹽。

腸道外投藥用之藥學調配物包括呈水溶性形式之活性化合物之水溶液。此外，可將活性化合物之懸浮液製備成適當油性注射懸浮液。適當親脂溶劑或親脂載媒劑包括脂肪油類諸如蓖麻油或合成脂肪酸酯類，諸如油酸乙酯或三酸甘油酯類或微脂粒。水性注射懸浮液劑含有物質，可提高懸浮液之黏度，諸如羧甲基纖維素鈉、山梨糖醇或葡萄糖。任選地，懸浮液劑也含有適當安定劑，安定劑可提高化合物之溶解度，允許製備高度濃縮溶液。用於注射，本發明藥劑可調配成水性溶液，較佳係調配於生理上可相

容之緩衝液諸如漢克氏溶液、林格氏溶液、或生理食鹽水緩衝液。

另外，活性成分可呈粉末形式供於使用前以適當載媒劑例如無菌無熱原水調配。

- 5 化合物也可調配成直腸用組成物諸如栓劑或滯留浣腸劑，例如其中含有習知栓劑基劑諸如可可脂或其它甘油酯類。

- 10 除了先前說明之調配物之外，化合物也可調配成長效製劑。此種長時間作用之調配物可藉植入或藉經皮遞送(例如皮下遞送或肌肉遞送)、肌肉注射或經皮貼片投予。如此，例如，化合物可使用適當聚合物料或斥水性材料(例如於可接受之油之乳液劑)或離子交換樹脂或呈極微溶性衍生物例如極微溶性鹽調配。

- 15 藥學組成物也包含適當固相或凝膠相載劑或賦形劑。此等載劑或賦形劑之實例包括但非限於碳酸鈉、磷酸鈣、各種糖類、澱粉類、纖維素衍生物、明膠及聚合物諸如聚乙二醇。

- 20 較佳藥學組成物為調配供注射用之組成物，諸如靜脈注射，以100%重量比總藥學組成物為基準，包括約0.01%至約100%重量比藥物綴合物。藥物綴合物可為抗體-胞毒素-綴合物，此處抗體經選定來靶定於特定癌症。

存庫

於本發明範圍內也包含胞毒素、胞毒素-鏈接劑及胞毒素之藥劑-鏈接劑綴合物之存庫、本發明之鏈接劑之存庫及

本發明之胞毒素-可裂解基質之存庫。存庫之實例包括至少10種化合物，更佳至少100種化合物，又更佳至少1000種化合物，及又更佳至少100,000種化合物。存庫係呈方便查詢特定性質之形式，例如查詢胞毒性、鏈接劑或基質藉酶或
5 其它裂解劑裂解等性質之形式。其形式例如包括晶片格式、微陣列等。

並列合成或組合合成之主要目的係生成多樣化分子其全部共享一個共通特徵之存庫，該共通特徵於本文說明中稱作為鷹架。經由於鷹架分子之可變部分各自取代不同部
10 分，於存庫中可探勘之空間量成長。理論及近代藥物化學提倡一種構想，占據空間作為決定一給定化合物作為對抗一給定生物標靶之效率之關鍵因素。經由形成分子存庫，其探索大量百分比之靶定空間，發展高度有效領先化合物之機率大增。

15 並列合成通常係於固相撐體諸如聚合物樹脂上進行。鷹架或其它適當中間物可藉化學鏈接劑裂解繫結至樹脂。進行反應來修飾鷹架同時鷹架繫結至粒子。反應物及/或反應條件之變化產生結構之多樣性，此乃各個存庫之正字標記。

20 「小型」分子(具有分子量200-1000之非寡聚物)之並列合成於1990年之前罕見嘗試進行合成。例如參考Camps等人，Annals de Chimie, 70:848 (1990)。晚近Ellmann揭示11種苯并二吡啶類似物連同若干前列腺素及 β -轉模擬物之經過固相支載之並列(也稱作為「綜合」)合成。此等揭示舉

例說明於美國專利案5,288,514。小分子之並列合成之另一項相關揭示可參考美國專利案5,324,483。本專利案揭示於16個不同鷹架中各自並列合成4至40種化合物。Chen等人也於聚合物撐體上使用多步驟式方法，應用有機合成策略來發展合成之非胜肽存庫(Chen等人，J. Am. Chem. Soc., 116:2661-2662 (1994))。

一旦製備獨特化合物存庫，使用自動誘導劑存庫作為起點且使用此處所述方法，可製備免疫綴合物或抗體存庫。

套件組

10 於另一面相中，本發明提供含有一種或多種本發明化合物或組成物及該化合物或組成物之使用指南之套件組。於一具體實施例中，本發明提供將本發明之鏈接劑臂綴合至另一個分子之套件組。套件組包括鏈接劑及附接鏈接劑至特定官能基之指南。套件組也包括或另外，包括胞毒性

15 藥物、靶定劑、可檢測標記、可裂解基質、藥學鹽類或藥學緩衝劑中之一者或多者。套件組也包括一容器及任選地一種或多種小瓶、試管、燒瓶、瓶子、或注射器。其它套件組形式為熟諳技藝人士顯然易知且係屬於本發明之範圍。

20 純化

於另一個具體實施例中，本發明提供一種分離本發明之配體-胞毒素或可裂解基質-胞毒素之分子標靶之方法，該分子標靶係結合至可裂解基質 X^2 或配體 X^4 。該方法較佳包含包括標靶之細胞製劑與制動化合物接觸，藉此形成受體

與制動化合物間之複合物。

本發明之胞毒素可藉技藝界瞭解之任一種手段制動於親和撐體上。另外，胞毒素可使用本發明之可裂解基質或鏈接劑中之一者或多者來制動。

- 5 於又另一個具體實施例中，本發明提供一種親和純化基體。

本發明之標靶分離方法典型係利用一項或多項親和層析技術。親和層析術允許利用對某些所支載之化學結構式有高度選擇性之辨識位置，來有效分離各種化合物，諸如
10 生物分子或生物聚合物。參考文獻充斥著有關親和層析術主題之文章單篇及書籍，包括親和層析術撐體、交聯成員、配體及其製備及其使用之文章。該等參考文獻例如包括：
Ostrove, Methods Enzymol. 182:357-72 (1990); Ferment, Bioeng. 70:199-209 (1990)。Huang等人，J. Chromatogr.
15 492:431-69 (1989)；「藉肝素-西法羅斯親和層析術純化酶」，J. Chromatogr., 184:335-45 (1980)；Farooqi, Enzyme Eng., 4:441-2 (1978)；Nishikawa, Chem. Technol., 5(9):564-71 (1975)；Guilford等人，於 PRACT.HIGH PERFORM. LIQ. CHROMATOGR., Simpson (編輯)，193-206
20 (1976)；Nishikawa, Proc. Int. Workshop Technol. Protein Sep. Improv.，血漿分選，Sandberg (編輯)，422-35；(1977)「酶之親和層析術」，親和層析術，Proc. Int. Symp. 25-38, (1977) (Pub.1978)；及親和層析術：實用辦法，Dean等人(編輯)，IRL出版社，英國牛津(1985年)。熟諳技藝人士利用本發明

材料發展特殊親和層析術方法有大量指南。

於本方法中，可使用多種化學結構式之親和層析術介質來作為撐體。例如，瓊脂糖凝膠及交聯瓊脂糖凝膠由於其親水性，讓其相對不含非特異性結合故也可作為撐體材料。其它有用之撐體例如包括具有經過控制孔隙之玻璃(CPG)珠粒、纖維素顆粒、聚丙烯醯胺、凝膠珠粒及由葡萄糖及表氯醇所製造之西法戴斯(Sephadex)凝膠珠粒。

藥物綴合物使用方法

除了前文說明之組成物及構成體之外，本發明也提供可利用本發明化合物及綴合物實施之多種方法。使用本發明之藥物-配體綴合物及藥物-可裂解基質綴合物之方法包括：殺死或抑制腫瘤細胞或癌細胞之生長或複製；治療癌症；治療前期癌症；殺死或抑制可表現自體免疫抗體之細胞之生長或複製；治療自體免疫病；治療傳染病；預防腫瘤細胞或癌細胞的增生；預防癌症；預防可表現自體免疫抗體之細胞繁殖；預防自體免疫病；及預防傳染病。此等用法包含對有需要之動物諸如哺乳動物或人類，投予有效量之藥物-配體綴合物或藥物-可裂解基質綴合物。於若干實施例中，酶可分開投予，故酶變成與腫瘤或標靶細胞結合。

本發明之藥物-配體綴合物或藥物-可裂解基質複合物例如可用於動物體，治療例如癌症、自體免疫病及傳染病。經由對個體以藥學上可接受之方式提供腫瘤治療用組成物及方法，係經由以藥學上有效量之本發明組成物對個體以藥學上可接受之方式提供該組成物。

本發明特別可用於動物體治療癌症，以及用於抑制腫瘤細胞或癌細胞的增生。癌症或癌前病變包括但非限於腫瘤、腫瘤轉移或以未經控制之細胞生長為特徵之任一種疾病或病症可經由投予本發明之藥物-配體綴合物或藥物-可裂解基質複合物來治療或預防。該複合物遞送藥物至腫瘤細胞或癌細胞。

於使用藥物-配體複合物之一個實例中，配體特異性結合或關聯癌細胞相關抗原或腫瘤細胞相關抗原。由於藥物與配體的緊密接合，藥物可經由受體所媒介的吞噬作用而被吞噬入腫瘤細胞或癌細胞內部。抗原可附接至腫瘤細胞或癌細胞，或抗原可為與腫瘤細胞或癌細胞結合之胞外基質蛋白質。一旦綴合物位在細胞內部，鏈接劑被腫瘤細胞或癌細胞相關之蛋白酶水解裂解，藉此釋放藥物。釋放出之藥物可自由擴散且誘導胞毒活性。於另一個實施例中，藥物係由腫瘤細胞或癌細胞外側之藥物-配體複合物裂解，隨後藥物穿透細胞。

配體可結合至腫瘤細胞或癌細胞、於腫瘤細胞或癌細胞表面上之腫瘤細胞抗原或癌細胞抗原或屬於腫瘤細胞或癌細胞相關胞外基質蛋白質之腫瘤細胞抗原或癌細胞抗原。配體可對特定腫瘤細胞類型或癌細胞類型設計。因此，經由配體的選擇可改變可有效治療之腫瘤類別或癌症類別。

於使用藥物-可裂解基質複合物之一個實施例中，可裂解基質係藉與腫瘤或其它標靶細胞相關聯之酶(或其它可

裂解該基質之實體)來裂解。一旦與酶接觸，可裂解基質藉酶裂解，藉此釋放藥物。然後釋放出之藥物可自由擴散及誘導胞毒活性。可裂解基質可於腫瘤或標靶細胞內部或外部裂解。藉由可裂解基質及相關酶之選擇，可改變可有效

5 治療之腫瘤或癌症類別。

可由綴合物所靶定之癌前病變之代表性實例包括但非限於：化生、過度增生、發育異常、大腸直腸息肉、光化角化症、光化口唇炎、人乳突瘤病毒、白斑、扁平苔蘚及波恩氏病(Bowen's disease)。

10 可由該等綴合物鎖定目標之癌症或腫瘤之代表例包括但非限於肺癌、大腸癌、攝護腺癌、淋巴瘤、黑素瘤、乳癌、卵巢癌、睪丸癌、中樞神經系統癌、腎上腺癌、腎癌、胰癌、胃癌、口腔癌、鼻咽癌、子宮頸癌、及白血病。熟諳技藝人士顯然易知用於綴合物中之特定配體或可裂解基質

15 可選擇讓其將該藥物靶定於欲使用該藥物治療之腫瘤組織。

於一實施例中，本發明提供一種殺死細胞之方法。該方法包括對該細胞投予足夠殺死該細胞之數量之本發明化合物。於一具體實施例中，該化合物係投予有此種細胞之

20 個體。於又一具體實施例中，該投藥係用來延遲或中止包括該細胞之腫瘤(例如細胞可為腫瘤細胞)之腫瘤之生長。用於延遲生長之投藥，細胞生長速率須比投藥前之生長速率至少低10%。較佳，生長速率須延遲至少20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、或完全停止。

有效劑量

適合用於本發明之藥學組成物包括其中含有治療有效量，亦即可有效達成其期望目的之數量之活性成分之組成物。對特定應用之實際有效量將依據欲治療之病症決定。

- 5 有效量之決定係屬於熟諳技藝人士之技巧範圍，特別係鑑於此處揭示之細節。

對此處所述任何化合物，治療有效量初步係由細胞培養檢定分析測定。目標血漿濃度為可抑制細胞生長或細胞分裂之活性化合物之濃度。於較佳實施例中，細胞活性為
10 至少抑制25%。目前以可誘導抑制細胞活性至少約50%、75%、或甚至90%或以上之活性化合物之目標血漿濃度為佳。病人體內細胞活性之抑制百分比可經監視來評估所達成之血漿藥物濃度之適宜性，劑量可向上或向下調整來達成期望之抑制百分比。

- 15 如業界眾所周知，供人體使用之治療有效量也可由動物模型測定。例如，供人類使用劑量可經調配來達成於動物體內有效之循環濃度。人體劑量可經由監視細胞抑制作用且如前文說明上下調整劑量來調整。

治療有效劑量也可由已知具有類似之藥理活性之化合物用於人體之資料決定。應用劑量可基於投予化合物比較
20 已知化合物之相對生物利用率及強度調整。

基於前文說明之方法及熟諳技藝人士眾所周知之其它方法，調整劑量來於人體達成最大功效，係於熟諳技藝人士之技巧範圍。

於局部投藥之情況下，投予藥物之系統循環濃度並無特殊重要性。於此種情況下，化合物經投予來於局部區域達成可有效獲得期望結果之濃度。

供預防及/或治療與異常細胞增生相關疾病之用途，以
5 約0.001 μ M至20 μ M之投藥化合物之循環濃度為佳，以約
0.01 μ M至約5 μ M為更佳。

此處所述化合物之經口投藥之病人劑量典型係於約1
毫克/日至約10,000毫克/日，更典型係由約10毫克/日至約
1000毫克/日，及最典型係由約50毫克/日至約500毫克/日之
10 範圍。以病人體重表示，典型劑量範圍係於由約0.01至約
150毫克/千克/日，更典型由約0.1至約15毫克/千克/日，及
最典型由約1至約10毫克/千克/日，例如約5毫克/千克/日或3
毫克/千克/日之範圍。

於至少若干實施例中，延遲或抑制腫瘤生長之病人劑
15 量為1微莫耳/千克/日或以下。例如病人劑量為0.9、0.6、
0.5、0.45、0.3、0.2、0.15、或0.1微莫耳/千克/日或以下(述
及藥物莫耳數)藥物或藥物綴合物，諸如抗體-藥物綴合物。
較佳，當以每日劑量投予經歷至少5日時間時，藥物或藥物
綴合物可抑制腫瘤生長。於至少若干實施例中，腫瘤為SCID
20 小鼠之人型腫瘤。舉例言之SCID小鼠可為CB17.SCID小鼠
(得自塔克尼(Taconic)，紐約州德國鎮)。

至於其它投藥模式，劑量及間隔可個別調整來獲得對
欲治療的臨床適應症為有效之投藥藥物之血漿濃度。例
如，於一個實施例中，根據本發明化合物可以相對高濃度

每日投藥多次。另外，更期望以最低有效濃度且使用較不頻繁之投藥計劃來投予本發明化合物。如此將提供識別個別疾病嚴重程度之治療計劃。

5 利用此處教示，可規劃有效治療計劃，其不會造成實質毒性，但又可全然有效治療該特定病人所表現之臨床症狀。此種計劃涉及考量下列因素來小心選擇活性化合物，該等因素諸如化合物強度、相對生物利用率、病人體重、是否存在有副作用及副作用嚴重程度、選用藥劑之較佳投藥模式、及毒性輪廓資料。

10 本發明化合物組成物及方法將藉下列實例進一步舉例說明。此等實例係供舉例說明而非圍限本案所請求專利之發明。

實例

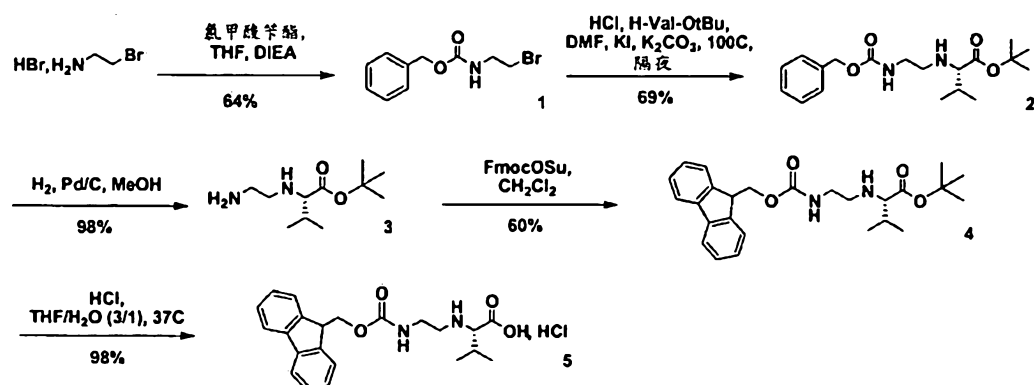
材料及方法

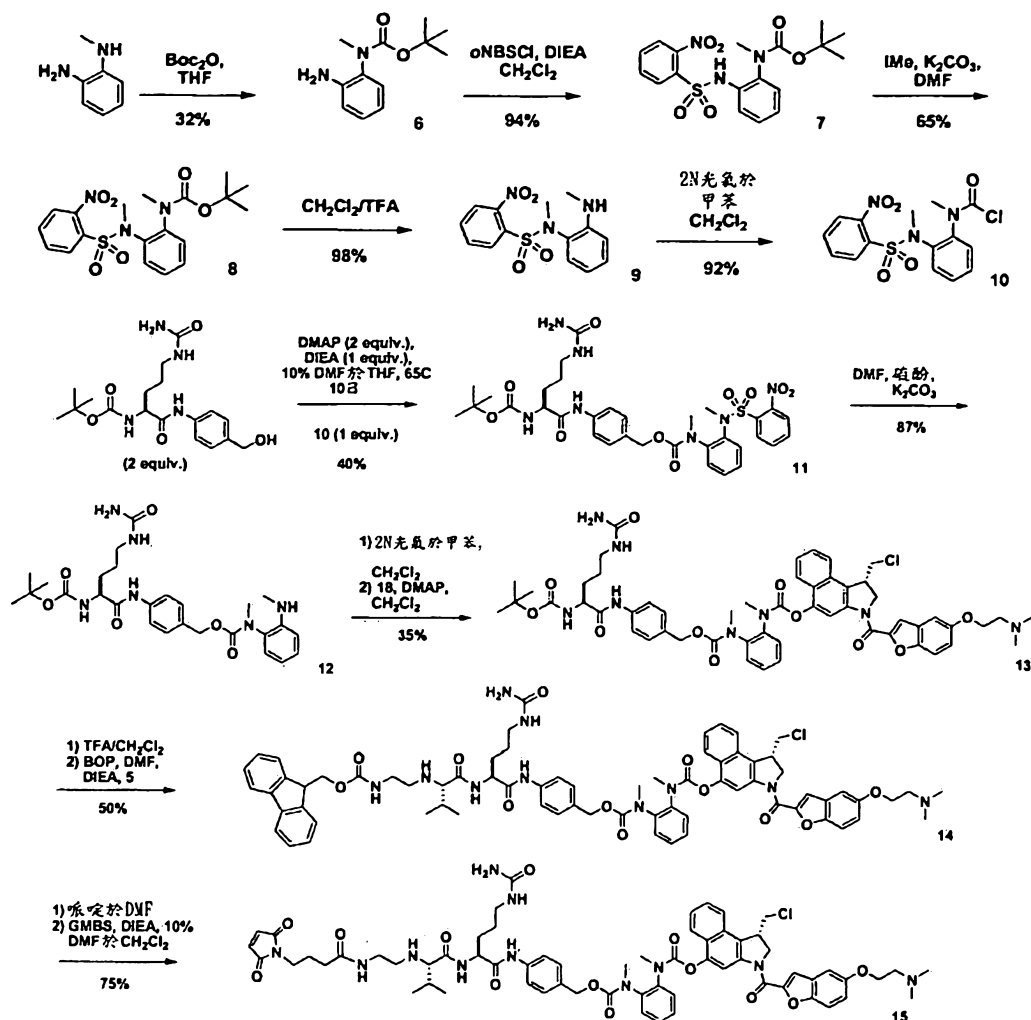
15 下列實例中，除非另行陳述，否則溫度係以攝氏度數(°C)表示；操作係於室溫或周圍溫度(典型於約18-25°C之範圍)進行；溶劑之蒸發係使用旋轉蒸發器於減壓(典型為4.5-30毫米汞柱)，浴溫至多為60°C進行；反應過程典型係藉TLC追蹤，反應時間僅供舉例說明之用；熔點係未經校正；
20 產物具有滿意的¹H-NMR資料及/或微分析資料；產率係僅供舉例說明之用；也使用下列習知縮寫：mp (熔點)；L (升)；mL (毫升)；mmol (毫莫耳)；g (克)；mg (毫克)；min (分鐘)；LC-MS (液相層析術-質譜術)；及h (小時)。

¹H-NMR光譜係於凡瑞恩(Varian)水星(Mercury) 300

MHz光譜儀測定，且與所指定之結構式符合一致。化學移位係以距四甲基矽烷下野之每百萬份之份數(ppm)表示。質譜資料係記錄於柏金艾瑪(Perkin Elmer)賽克斯(Sciex) API 365質譜儀上。元素分析係由羅博森微里特實驗室 (Robertson Microlit Laboratories)，紐澤西州麥迪遜進行。急速層析術用之矽氧凝膠為E.默克(E. Merck)等級(230-400篩號)。反相分析HPLC係於HP 1100或凡瑞恩普史塔(ProStar) 210儀器附有費諾米涅司(Phenomenex)路納(Luna) 5微米 C-18(2) 150 毫米 x 4.6 毫米管柱或凡瑞恩微索伯 (Microsorb)-MV 0.1微米 C-18 150毫米 x 4.6毫米管柱進行。使用1毫升/分鐘流速，使用0%至50%緩衝液B梯度經15分鐘，或10%至100%緩衝液B梯度經10分鐘，使用紫外光於254奈米檢測。緩衝液A 20 mM甲酸銨+20%乙腈或0.1%三氟乙酸於乙腈；緩衝液B 20 mM甲酸銨+80%乙腈或0.1%水性三氟乙酸。反相製備性HPLC係於凡瑞恩普史塔215儀器具有瓦特氏(Waters) δ 派克(Delta Pak)15微米 C-18 300毫米 x 7.8毫米管柱進行。

實例1





化合物1之合成：於2-溴乙基胺溴化物(5克，24.4毫莫耳)於DMF (50毫升)之溶液內添加二異丙基乙基胺(8.5毫升，48.8毫莫耳)及氯甲酸苄酯(3.48毫升，24.4毫莫耳)。如此所得混合物於室溫攪拌2小時。反應混合物經濃縮，殘餘物經由於矽氧凝膠上使用乙酸乙酯/己烷類(3/7)梯度，藉急速層析術純化，獲得化合物1呈油(4克，64%)。 ^1H NMR (CDCl_3) δ 3.54 (bs, 2H), 3.61 (bs, 2H), 5.12 (s, 2H), 7.36 (m, 5H)。

10 化合物2之合成：於化合物1 (3.34克，12.99毫莫耳)及纈胺酸第三丁酯(3.27克，15.59毫莫耳)於DMF(50毫升)之溶

液內，添加碳酸鉀(5.39克，38.97毫莫耳)及碘化鉀(2.59克，15.59毫莫耳)。如此所得混合物於100°C攪拌隔夜。反應混合物經濃縮，殘餘物於矽氧凝膠以乙酸乙酯/己烷(2/8)梯度，藉急速層析術純化，獲得化合物2呈油(3.12克，69%)。

- 5 ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.92 (m, 6H), 1.46 (s, 9H), 1.86 (m, 1H), 2.53 (m, 1H), 2.80 (m, 2H), 3.18 (m, 1H), 3.31 (m, 1H), 5.10 (s, 2H), 5.25 (bs, 1H), 7.36 (m, 5H); LC-MS (ESI) 296 ($\text{M}+\text{H}-$ 第三丁基 $^+$), 352 ($\text{M}+\text{H}^+$)。

- 10 化合物3之合成：化合物2 (3.4克，9.72毫莫耳)及鈹/木炭(200毫克)於甲醇(30毫升)之溶液置於室溫於氫氣大氣壓下。如此所得混合物於室溫攪拌2小時。鈹經過濾，反應混合物經濃縮至乾，獲得化合物3呈油(2.1克，98%)。 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0.94 (m, 6H), 1.47 (s, 9H), 1.63 (bs, 2H), 1.90 (m, 1H), 2.47 (m, 1H), 2.73 (m, 2H)。

- 15 化合物4之合成：於化合物3 (2.1克，9.72毫莫耳)於二氯甲烷(30毫升)之溶液內，於0°C添加FmocOSu (N-(9-芴基甲氧羰基氧基)丁二醯亞胺(3.28克9.72，毫莫耳)。如此所得混合物於0°C攪拌2小時。混合物經濃縮至乾，然後殘餘物於矽氧凝膠藉急速層析術純化，使用100%二氯甲烷，接著
20 為0.5%甲醇於二氯甲烷，及最終為1%甲醇於二氯甲烷作為梯度，獲得化合物4呈無色油(2.55克，60%)。 ^1H -NMR (CDCl_3) δ 1.03 (d, 3H), 1.14 (d, 3H), 1.52 (s, 9H), 2.28 (m, 1H), 3.14 (m, 2H), 3.46 (m, 2H), 3.89 (d, 1H), 4.24 (m, 1H), 4.44 (m, 2H), 7.29 (m, 2H), 7.40 (m, 2H), 7.64 (m, 2H), 7.80 (d, 2H);

LC-MS (ESI) 383 ($M+H$ -第三丁基⁺), 440 ($M+H^+$), 462 ($M+Na^+$), 478 ($M+K^+$)。

化合物5之合成：於化合物4 (177毫克，0.4毫莫耳)於四氫呋喃-水(3/1，8毫升)之溶液內，通入氯化氫氣5分鐘。

5 反應混合物於37°C攪拌隔夜，然後混合物濃縮至乾，獲得化合物5呈固體(168毫克，98%)，其未經進一步純化即用於次一步驟。¹H-NMR ($CDCl_3$) δ 1.04 (d, 3H), 1.14 (d, 3H), 2.32 (m, 1H), 3.18 (m, 2H), 3.46 (m, 2H), 3.95 (d, 1H), 4.22 (m, 1H), 4.42 (m, 2H), 7.29 (m, 2H), 7.39 (m, 2H), 7.64 (m, 2H), 7.79 (d, 2H); LC-MS (ESI) 383 ($M+H^+$), 405 ($M+Na^+$)。

化合物6之合成：於N-甲基-1,2-伸乙基二胺(2毫升，17.6毫莫耳)於THF (15毫升)之溶液內添加二碳酸二第三丁酯(3.32克，15.2毫莫耳)。如此所得混合物於室溫攪拌隔夜。溶劑經去除，殘餘物於矽氧凝膠使用30%乙酸乙酯於己烷類梯度，藉急速層析術純化，獲得化合物6呈無色油(1.12克，32%)。¹H NMR ($CDCl_3$) δ 1.46 (bs, 9H), 3.15 (s, 3H), 3.73 (bs, 2H), 6.75 (d, 2H), 7.06 (m, 2H)。

化合物7之合成：於化合物6 (777毫克，3.05毫莫耳)於二氯甲烷(30毫升)之溶液內，於0°C添加2-硝基苯磺醯氯(811毫克，3.66毫莫耳)及二異丙基乙基胺(796微升，4.57毫莫耳)。如此所得混合物於室溫攪拌隔夜。去除溶劑，殘餘物於矽氧凝膠使用10%乙酸乙酯於己烷類梯度，藉急速層析術純化，獲得化合物7呈黃色固體(1.17克，94%)。¹H NMR ($CDCl_3$) δ 1.49 (bs, 9H), 2.47及2.61 (2bs, 3H), 7.05

(bd, 1H), 7.27 (m, 2H), 7.56-7.92 (m, 5H)。

化合物8之合成：於化合物7 (326毫克，0.8毫莫耳)於DMF (5毫升)之溶液內添加碳酸鉀(164毫克，1.19毫莫耳)及甲基碘(148微升，2.39毫莫耳)。如此所得混合物於室溫
5 攪拌隔夜。去除溶劑，殘餘物於矽氧凝膠使用10%乙酸乙酯於己烷類作梯度，藉急速層析術純化，獲得化合物8呈黃色固體(370毫克，65%)。¹H NMR (CD₃OD) δ 1.35及1.52 (2s, 9H), 3.16及3.21 (2s, 3H), 3.26及3.29 (2s, 3H), 6.93 (d, 1H), 7.20 (m, 1H), 7.6 (m, 2H), 7.68-7.80 (m, 4H); LC-MS (ESI)
10 444 (M+Na⁺), 460 (M+K⁺)。

化合物9之合成：於化合物8 (355毫克，0.85毫莫耳)於二氯甲烷(5毫升)之溶液內於室溫添加三氟乙酸(5毫升)。反應混合物攪拌30分鐘，然後分溶於乙酸乙酯(100毫升)及飽和碳酸氫鈉銨(200毫升)。有機層以食鹽水(100毫升)洗滌，
15 硫酸鈉脫水及濃縮，獲得自由態胺(化合物9)，呈白色固體(270毫克，98%)。¹H NMR (CDCl₃) δ 2.68 (s, 3H), 3.30 (s, 3H), 6.56 (m, 2H), 6.88 (m, 1H), 7.20 (m, 1H), 7.48 (m, 1H), 7.57 (m, 1H), 7.65 (m, 2H)。

化合物10之合成：於化合物9 (270毫克，0.84毫莫耳)
20 於二氯甲烷(10毫升)之溶液內，於0°C添加2N光氣於甲苯(440微升，2.5毫莫耳)。混合物攪拌30分鐘，及濃縮至乾，獲得化合物10呈白色固體(297毫克，92%)，其未經進一步純化即用於次一步驟。¹H NMR (CDCl₃) δ 3.25及3.30 (2s, 3H), 3.34及3.44 (2s, 3H), 6.98 (m, 1H), 7.25-7.40 (m, 2H),

7.45 (m, 1H), 7.55-7.80 (m, 4H); LC-MS (ESI) 384 (M+H⁺), 407 (M+Na⁺), 422 (M+K⁺)。

化合物11之合成：於化合物10 (120毫克，0.31毫莫耳) 於 10% DMF 於 THF 之 溶液 (3 毫升) 之 溶液 內，添加
 5 Boc-Cit-PABOH ((S)-1-(4-(羥基甲基)苯基胺基)-1-酮基-5-
 脲基戊烷-2-基胺基甲酸第三丁酯，238毫克，0.62毫莫耳)，
 N,N-二甲基胺基吡啶(76毫克，0.62毫莫耳)及二異丙基乙基
 胺(55微升，0.31毫莫耳)。如此所得混合物於65°C 攪拌10
 日。去除溶劑，殘餘物於矽氧凝膠使用5%甲醇於二氯甲烷
 10 為梯度，藉急速層析術純化，獲得化合物11呈固體(90毫
 克，40%)。¹H NMR (CD₃OD) δ 1.43 (bs, 9H), 1.56-1.70 (m,
 3H), 1.79 (m, 1H), 3.06-3.27 (m, 8H), 4.17 (2m, 1H), 5.04及
 5.17 (2bs, 2H), 6.89及6.95 (2d, 1H), 7.15-7.26 (m, 2H),
 7.37-7.72 (m, 8H), 7.80 (m, 1H); LC-MS (ESI) 729 (M+H⁺),
 15 751 (M+Na⁺), 767 (M+K⁺)。

化合物12之合成：於化合物11 (84毫克，0.11毫莫耳) 於DMF (2毫升)之溶液內添加碳酸鉀(48毫克，0.33毫莫耳) 及硫酚(60微升，0.55毫莫耳)。如此所得混合物於室溫攪拌
 2小時。去除溶劑，殘餘物於矽氧凝膠以5%甲醇於二氯甲
 20 烷為梯度，藉急速層析術純化，獲得化合物12呈固體(55毫
 克，87%)。¹H NMR (CD₃OD) δ 1.44 (bs, 9H), 1.56-1.70 (m,
 3H), 1.78 (m, 1H), 2.76 (bs, 3H), 3.05-3.20 (m, 5H), 4.17 (bs,
 1H), 4.99 (bs, 2H), 6.62 (m, 2H), 6.93 (m, 1H), 7.15 (m, 2H),
 7.40-7.60 (m, 3H); LC-MS (ESI), 566 (M+Na⁺), 581

(M+K⁺)。

化合物13之合成：於化合物12 (65毫克，0.12毫莫耳) 於二氯甲烷(3毫升)之溶液內添加2N光氣於甲苯(180微升，0.36毫莫耳)。如此所得混合物於0℃攪拌1小時。然後混合物濃縮至乾，獲得油(72毫克，100%)，其未經進一步純化即用於次一步驟。

於該油(72毫克，0.12毫莫耳)於5% N-甲基吡咯啉酮於二氯甲烷(1毫升)之溶液內，添加化合物18 (參考如下實例2) (25毫克，0.06毫莫耳)及N,N-二甲基胺基吡啶(22毫克，0.18毫莫耳)。如此所得混合物於室溫攪拌隔夜。溶劑經蒸發去除，殘餘物藉半製備性HPLC純化，獲得化合物13呈油(15毫克，35%)。 ¹H NMR (CD₃OD) δ 1.42 (bs, 9H), 1.45-1.80 (m, 4H), 2.97 (bs, 6H), 3.10-3.36 (m, 7H), 3.57 (bs, 3H), 3.98 (bs, 1H), 4.10-4.35 (m, 4H), 4.50-4.75 (m, 3H), 5.15 (bs, 2H), 7.16-7.95 (m, 16H), 8.2 (d, 1H); LC-MS (ESI), 1034 (M+H⁺), 1056 (M+Na⁺), 1073 (M+K⁺)。

化合物14之合成：於化合物13 (13毫克，0.011毫莫耳) 於二氯甲烷(0.5毫升)之溶液內於室溫添加三氟乙酸(0.5毫升)。如此所得混合物於室溫攪拌30分鐘。然後混合物經濃縮至乾獲得油，其未經進一步純化即用於次一步驟。

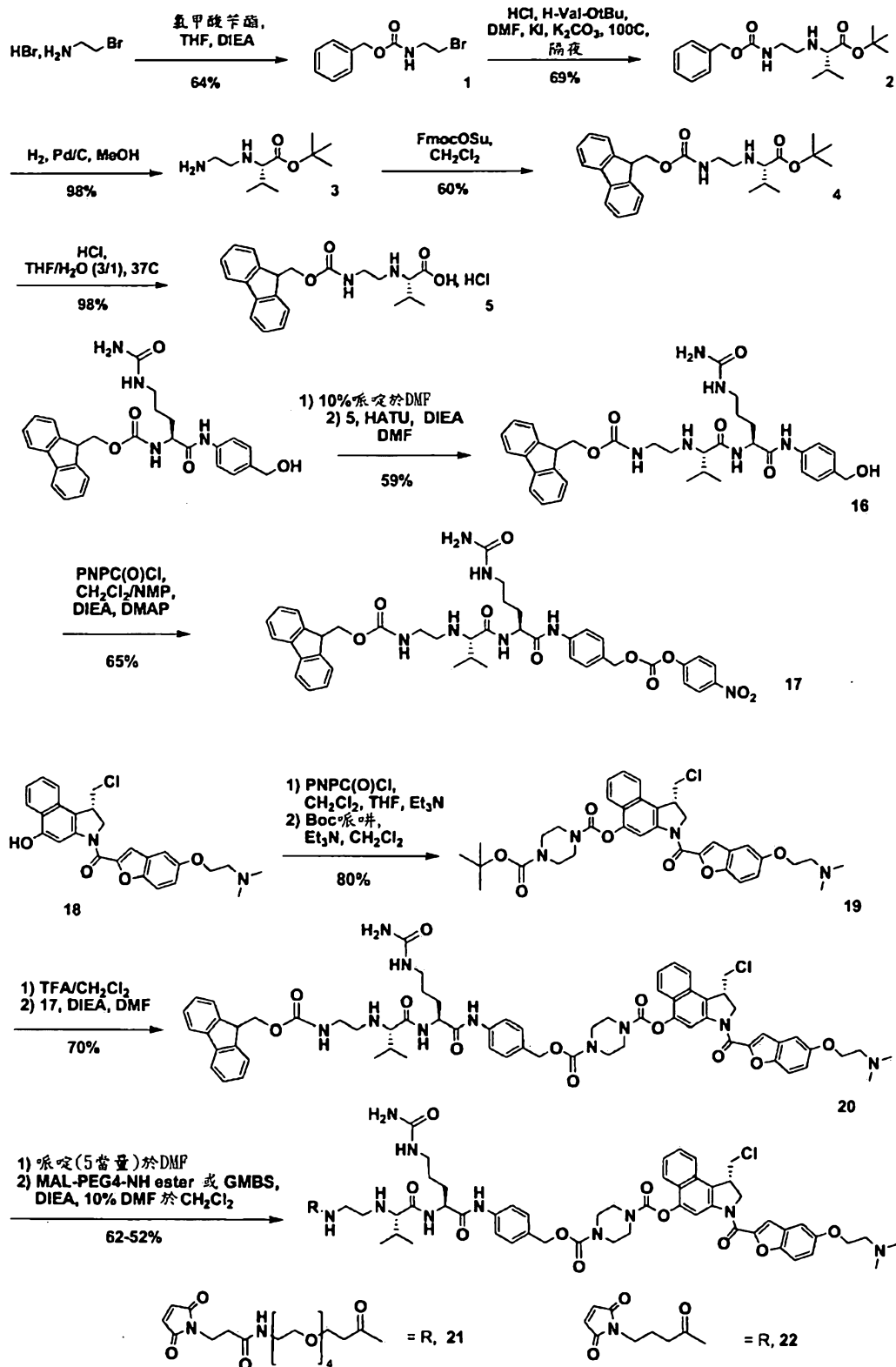
於TFA鹽化胺於二氯甲烷(0.5毫升)之溶液內，添加化合物5 (5毫克，0.012毫莫耳)，苯并三唑-1-基-氧基-參-(二甲基胺基)-六氟磷酸鎂(BOP) (6毫克，0.013毫莫耳)及二異丙基乙基胺(8微升，0.044毫莫耳)。如此所得混合物於室溫

攪拌1小時。蒸發去除溶劑，殘餘物藉半製備性HPLC純化，獲得化合物14呈油(9毫克，50%)。¹H NMR (CD₃OD) δ 1.03 及 1.10 (2m, 6H), 1.60 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 2.20 (m, 1H), 2.99 (s, 6H), 3.04-3.50 (m, 11H), 3.60 (bs, 3H), 3.8 (bs, 1H), 4.00 (bs, 1H), 4.20-4.45 (m, 6H), 4.50-4.75 (m, 4H), 5.15 (bs, 2H), 7.20-7.70 (m, 22H), 7.77 (d, 2H), 7.90 (bs, 2H); LC-MS (ESI), 1300 (M+H⁺)。

化合物15之合成：於化合物14 (9毫克，0.006毫莫耳) 於DMF (0.5毫升)之溶液內，於室溫添加哌啶(6微升，0.06毫莫耳)。如此所得混合物於室溫攪拌1小時。然後混合物經濃縮至乾獲得油，其未經進一步純化即用於次一步驟。

於該油於10%DMF於二氯甲烷之溶液(1毫升)之溶液內，添加N-{γ-順丁烯二醯亞胺基丁醯氧基}丁二醯亞胺酯(GMBS) (3.5毫克，0.012毫莫耳)及二異丙基乙基胺(2微升，0.012毫莫耳)。如此所得混合物於室溫攪拌1小時。溶劑經蒸發，殘餘物藉半製備性HPLC純化，獲得化合物15呈油(6.5毫克，75%)。¹H NMR (CD₃OD) δ 1.04-1.13 (m, 6H), 1.65 (m, 2H), 1.75 (m, 1H), 1.90 (m, 3H), 2.23 (m, 3H), 2.98 及 3.01 (2s, 6H), 3.05-3.25 (m, 6H), 3.60 (m, 2H), 3.45-3.55 (m, 6H), 3.64 (t, 2H), 3.80 (m, 2H), 4.05 (m, 1H), 4.35 (bs, 1H), 4.41 (m, 2H), 4.55 (m, 2H), 4.80 (m, 1H), 5.15 (bs, 2H), 6.78 (s, 2H), 7.22 (dd, 2H), 7.35-7.65 (m, 11H), 7.90-8.00 (m, 3H), 7.77 (d, 2H), 7.90 (bs, 2H); LC-MS (ESI), 1243 (M+H⁺)。

實例2



化合物16之合成：於Fmoc-Cit-PABOH (2克，3.98毫莫

耳)於DMF (45毫升)之溶液內，於室溫添加哌啶(5毫升)。如

此所得混合物於室溫攪拌1小時。混合物濃縮至乾，然後殘餘物於矽氧凝膠藉急速層析術純化，使用100%二氯甲烷，接著為10%甲醇於二氯甲烷及最終30%甲醇於二氯甲烷為梯度，獲得H-Cit-PABOH呈無色油(1克，90%)。

5 於H-Cit-PABOH (80毫克，0.28毫莫耳)於DMF (4毫升)之溶液內，添加化合物5 (100毫克，0.24毫莫耳)(參考實例1之製備)，HATU (100毫克，0.26毫莫耳)及二異丙基乙基胺(125微升，0.84毫莫耳)。如此所得混合物於室溫攪拌1小時。蒸發去除溶劑，殘餘物藉半製備性HPLC純化，獲得化
10 合物16呈油(119毫克，66%)。¹H NMR (CD₃OD) δ 1.03-1.11 (2d, 6H), 1.58 (m, 2H), 1.77 (m, 1H), 1.88 (m, 1H), 2.23 (m, 1H), 3.05-3.20 (m, 4H), 3.44 (m, 2H), 3.83 (d, 1H), 4.21 (m, 1H), 4.39 (m, 2H), 4.54 (bs, 2H), 4.60 (m, 1H), 7.30 (m, 4H), 7.37 (m, 2H), 7.51 (m, 2H), 7.62 (m, 2H), 7.77 (m, 2H), 8.80
15 (d, 1H), 10.05 (s, 1H); LC-MS (ESI), 646 (M+H⁺), 668 (M+Na⁺), 684 (M+K⁺)。

化合物17之合成：於化合物16 (190毫克，0.25毫莫耳)於10% NMP於二氯甲烷(4毫升)之溶液內，添加二異丙基乙基胺(131微升，0.75毫莫耳)，N,N-二甲基胺基吡啶(15毫
20 克，0.12毫莫耳)及氯甲酸4-硝基苯酯(101毫克，0.5毫莫耳)。如此所得混合物於室溫攪拌1小時。蒸發去除溶劑，殘餘物藉半製備性HPLC純化，獲得化合物17呈油(151毫克，65%)。(CD₃OD) δ 1.04-1.11 (2d, 6H), 1.59 (m, 2H), 1.79 (m, 1H), 1.89 (m, 1H), 2.24 (m, 1H), 3.05-3.20 (m, 4H), 3.44

(m, 2H), 3.83 (d, 1H), 4.20 (m, 1H), 4.39 (m, 2H), 4.60 (m, 1H), 5.22 (bs, 1H), 7.29 (m, 2H), 7.39 (m, 4H), 7.60 (m, 4H), 7.75 (d, 2H), 8.81 (d, 1H), 10.05 (s, 1H); LC-MS (ESI), 811 ($M+H^+$), 833 ($M+Na^+$), 848 ($M+K^+$)。

- 5 化合物19之合成：於化合物18 (50毫克，0.11毫莫耳) 於40% THF於二氯甲烷(8毫升)之溶液內，於0°C添加氯甲酸4-硝基苯酯(87毫克，0.43毫莫耳)及三乙基胺(88微升，0.64毫莫耳)。所得混合物讓其溫熱至室溫及攪拌隔夜。蒸發去除溶劑，殘餘物經由於醚中沉澱分離，接著過濾，獲得
- 10 PNPC-118呈黃色固體(60毫克，90%)。

- 於PNPC-18(60毫克，0.095毫莫耳)於二氯甲烷(5毫升)之溶液內，添加化合物boc哌啡(71毫克，0.38毫莫耳)及三乙基胺(53微升，0.38毫莫耳)。如此所得混合物於室溫攪拌隔夜。溶劑經蒸發去除，殘餘物藉半製備性HPLC純化，獲
- 15 得化合物18，呈油(77毫克，90%)。LC-MS (ESI), 678 ($M+H^+$), 700 ($M+Na^+$), 716 ($M+K^+$)

- 化合物20之合成：於化合物19 (28毫克，0.035毫莫耳) 於二氯甲烷(0.5毫升)之溶液內，於室溫加入三氟乙酸(0.5毫升)。如此所得混合物於室溫攪拌30分鐘。然後混合物經
- 20 濃縮至乾，獲得油，其未經進一步純化即用於次一步驟。

 於該油於DMF (1毫升)之溶液內添加化合物17 (28毫克，0.035毫莫耳)及二異丙基乙基胺(18微升，0.105毫莫耳)。如此所得混合物於室溫攪拌隔夜。溶劑經蒸發去除，殘餘物藉半製備性HPLC純化，獲得化合物20呈油(36毫

克，70%)。¹H NMR (CD₃OD) δ 1.03-1.10 (2d, 6H), 1.58 (m, 2H), 1.77 (m, 1H), 1.87 (m, 1H), 2.23 (m, 1H), 2.97 (bs, 6H), 3.05-3.20 (m, 4H), 3.30-3.85 (m, 14H), 3.97 (m, 1H), 4.19-4.41 (m, 6H), 4.60 (m, 2H), 4.69 (m, 1H), 5.11 (bs, 2H), 7.16 (dd, 1H), 7.27-7.38 (m, 7H), 7.45 (m, 1H), 7.51-7.63 (m, 7H), 7.76 (d, 2H), 7.85 (d, 2H), 8.24 (bs, 1H), 8.79 (d, 1H), 10.00 (s, 1H); LC-MS (ESI), 1248 (M+H⁺)。

化合物21之合成：於化合物20 (36毫克，0.024毫莫耳) 於DMF (1毫升)之溶液內，於室溫加入哌啶(12微升，0.12毫莫耳)。如此所得混合物於室溫攪拌1小時。然後混合物經濃縮至乾，獲得油，其未經進一步純化即用於次一步驟。

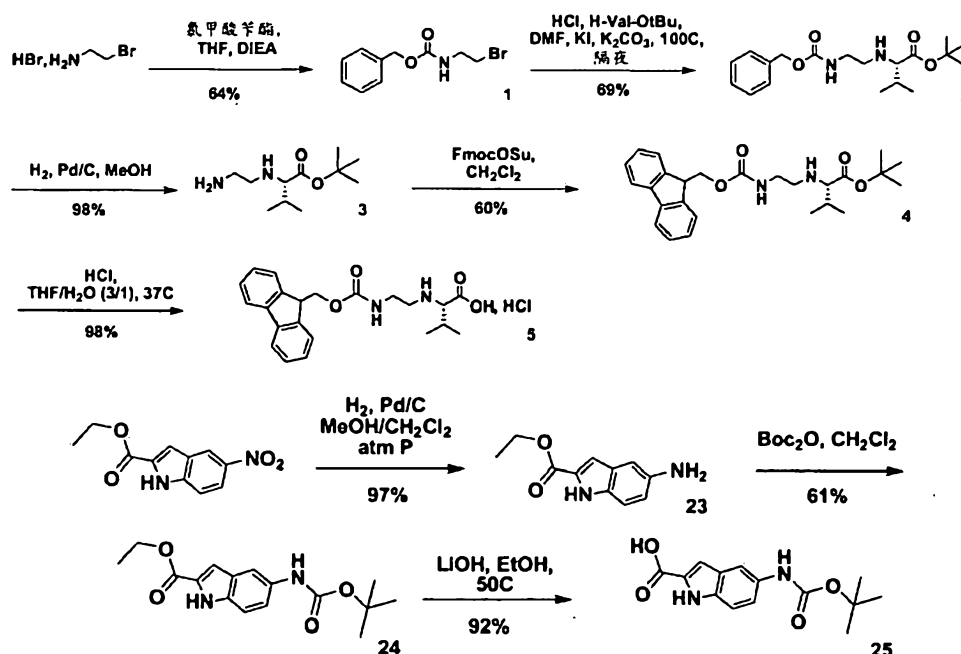
於該油於10% DMF於二氯甲烷(1毫升)之溶液內添加MAL-PEG₄-NH酯(19毫克，0.037毫莫耳)及二異丙基乙基胺(8.5微升，0.048毫莫耳)。如此所得混合物於室溫攪拌1小時。溶劑經蒸發去除，殘餘物藉半製備性HPLC純化，獲得化合物21呈油(25毫克，62%)。¹H NMR (CD₃OD) δ 1.06-1.12 (2d, 6H), 1.59 (m, 2H), 1.78 (m, 1H), 1.89 (m, 1H), 2.24 (m, 1H), 2.44 (t, 2H), 2.50 (t, 2H), 2.99 (bs, 6H), 3.05-3.20 (m, 4H), 3.46-3.85 (m, 34H), 3.99 (m, 1H), 4.25 (m, 1H), 4.35 (m, 2H), 4.59-4.73 (m, 3H), 5.13 (bs, 2H), 6.79 (s, 2H), 7.18 (dd, 1H), 7.31 (d, 1H), 7.36 (m, 2H), 7.47 (m, 1H), 7.58 (m, 5H), 7.89 (m, 2H), 8.24 (bs, 1H), 8.79 (d, 1H); LC-MS (ESI), 1423 (M+H⁺)。

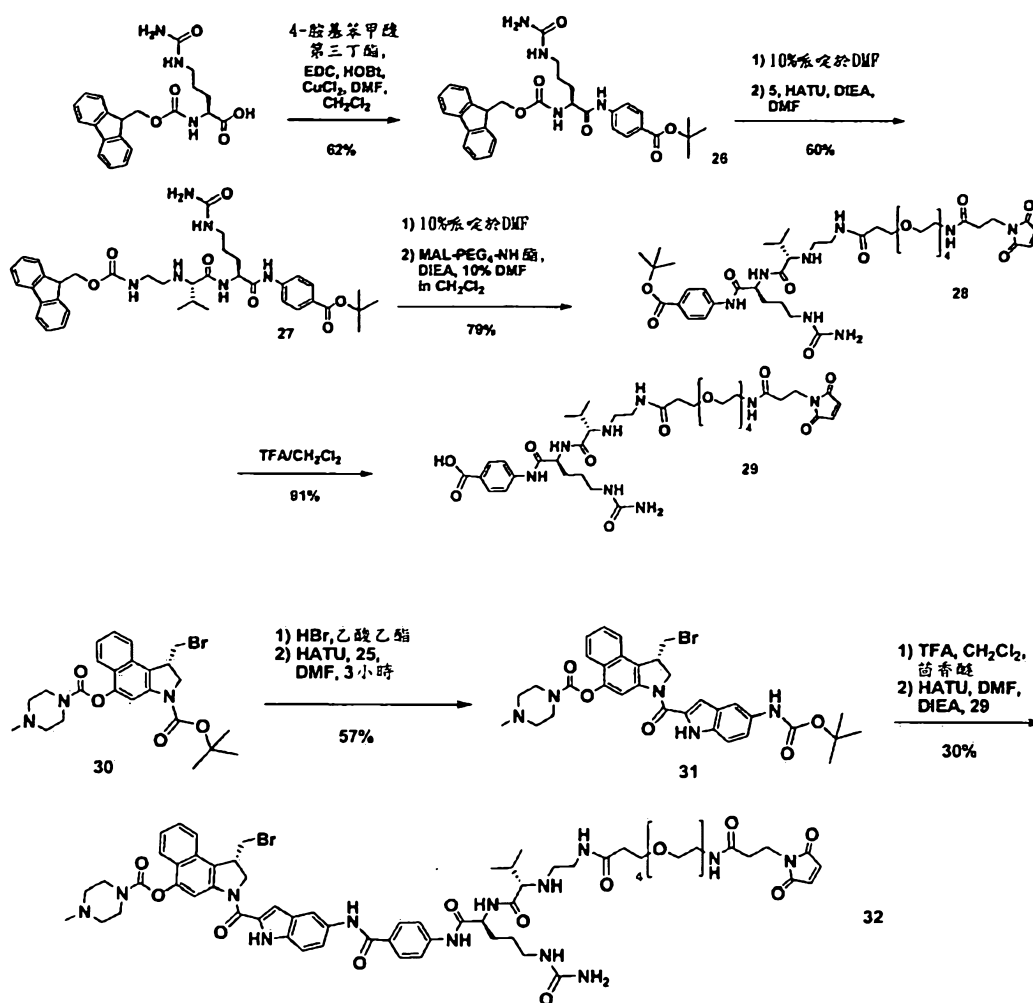
化合物22之合成：於化合物20 (26毫克，0.017毫莫耳)

於DMF (1毫升)之溶液內，於室溫加入哌啶(9微升，0.088毫莫耳)。如此所得混合物於室溫攪拌1小時。然後混合物經濃縮至乾，獲得油，其未經進一步純化即用於次一步驟。

於該油於10% DMF於二氯甲烷(1毫升)之溶液內添加
 5 GMBS (7.5毫克，0.025毫莫耳)及二異丙基乙基胺(6微升，0.034毫莫耳)。如此所得混合物於室溫攪拌1小時。溶劑經蒸發去除，殘餘物藉半製備性HPLC純化，獲得化合物22呈油(13毫克，52%)。δ 1.07-1.13 (2d, 6H), 1.60 (m, 2H), 1.78 (m, 1H), 1.90 (m, 3H), 2.24 (m, 3H), 3.00 (bs, 6H), 3.05-3.24
 10 (m, 4H), 3.42-3.74 (m, 16H), 3.78-3.90 (m, 4H), 4.00 (m, 1H), 4.34 (m, 1H), 4.39 (m, 2H), 4.60 (m, 1H), 4.80 (m, 2H), 5.14 (bs, 2H), 6.81 (s, 2H), 7.22 (dd, 1H), 7.37 (m, 3H), 7.50 (m, 1H), 7.60 (m, 5H), 7.92 (m, 2H), 8.24 (bs, 1H), 8.79 (d, 1H), 10.05 (s, 1H); LC-MS (ESI), 1191 (M+H⁺)。

15 實例3





化合物23之合成：5-硝基吡啶-2羧酸乙酯(2克，8.5毫莫耳)及鈀/炭(200毫克)於50%甲醇於二氯甲烷(100毫升)之溶液於室溫置於氫氣大氣壓下。如此所得混合物於室溫攪拌2小時。鈀經過濾去除，反應混合物濃縮至乾，獲得化合物23呈無色油(1.68克，97%)。¹H NMR (CD₃OD) δ 1.38 (t, 3H), 4.34 (q, 2H), 6.86 (dd, 1H), 6.95 (d, 1H), 6.98 (d, 1H), 7.25 (d, 1H)。

化合物24之合成：於化合物23 (300毫克，1.47毫莫耳)於二氯甲烷(5毫升)之溶液內添加Boc₂O (385毫克，1.76毫莫耳)。如此所得混合物於室溫攪拌2小時。反應混合物經濃

縮，殘餘物於矽氧使用10%乙酸乙酯於己烷類為梯度，藉急速層析術純化，獲得化合物24呈白色固體(272毫克，61%)。 ^1H NMR (CD_3OD) δ 1.39 (t, 3H), 1.52 (s, 9H), 4.37 (q, 2H), 7.07 (s, 1H), 7.23 (dd, 1H), 7.34 (d, 1H), 7.68 (bs, 1H)。

5 化合物25之合成：化合物24 (100毫克，0.33毫莫耳)於乙醇(3毫升)之溶液內添加LiOH (12毫克，0.49毫莫耳)於水(1毫升)之溶液。如此所得混合物於50°C於室溫攪拌2小時。反應混合物濃縮至乾獲得油。殘餘物溶解於水及以10% HCl酸化至pH 3，接著以乙酸乙酯萃取。有機溶液以硫酸鈉脫水，過濾及濃縮至乾獲得化合物25，呈無色油(85毫克，92%)。 ^1H NMR (CD_3OD) δ 1.51 (s, 9H), 7.07 (d, 1H), 7.23 (dd, 1H), 7.33 (d, 1H), 7.68 (bs, 1H)。

15 化合物26之合成：於Fmoc-Cit-OH (206毫克，0.52毫莫耳)於30% DMF於二氯甲烷之溶液(3毫升)之溶液內，於室溫添加EDU(120毫克，0.62毫莫耳)、HOBt (84毫克，0.62毫莫耳)及4-胺基苯甲酸第三丁酯(120毫克，0.62毫莫耳)。如此所得混合物攪拌10分鐘，然後添加氯化銅(84毫克，0.62毫莫耳)至混合物。混合物攪拌隔夜。混合物濃縮至乾，然後殘餘物於矽氧凝膠使用5%甲醇於二氯甲烷為梯度，藉急速層析術純化，獲得化合物26呈無色油(184毫克，62%)。 ^1H NMR (CD_3OD) δ 1.53-1.58 (m, 2H), 1.57 (s, 9H), 1.71 (m, 1H), 1.82 (m, 1H), 3.08 (m, 1H), 3.19 (m, 1H), 4.21 (m, 1H), 4.28 (m, 1H), 4.38 (m, 2H), 7.28-7.39 (m, 3H), 7.49 (m, 2H), 7.56-7.86 (m, 5H), 7.89 (m, 2H); LC-MS (ESI), 573 ($\text{M}+\text{H}^+$),

595 (M+Na⁺), 611 (M+K⁺)。

化合物27之合成：於化合物26 (1克，1.75毫莫耳)於DMF (18毫升)之溶液內，於室溫加入哌啶(2毫升)。如此所得混合物於室溫攪拌1小時。混合物經濃縮至乾，然後殘餘物使用100%二氯甲烷，接著5%甲醇於二氯甲烷及最後20%甲醇於二氯甲烷為梯度，藉急速層析術純化，獲得無色油(561毫克，92%)。

於油(561毫克，1.6毫莫耳)於DMF (10毫升)之溶液內，於室溫添加二異丙基乙基胺(679微升，3.9毫莫耳)、化合物5 (509毫克，1.3毫莫耳) (參考實例1之製備)及HATU (494毫克，1.3毫莫耳)。如此所得混合物於室溫攪拌3小時。混合物濃縮至乾，然後殘餘物於矽氧凝膠以5%甲醇於二氯甲烷為梯度，藉急速層析術純化，獲得化合物27呈無色油(691毫克，65%)。¹H NMR (CD₃OD) δ 1.36 (dd, 6H), 1.58-1.62 (m, 2H), 1.6 (s, 9H), 1.71 (m, 1H), 1.82 (m, 1H), 2.00 (m, 1H), 2.65 (m, 2H), 3.2-3.3 (m, 4H), 3.70 (m, 1H), 4.21 (m, 1H), 4.28 (m, 2H), 4.38 (m, 2H), 4.60 (m, 1H), 7.28-7.39 (m, 4H), 7.60-7.70 (m, 4H), 7.8 (d, 2H), 7.89 (d, 2H); LC-MS (ESI), 716 (M+H⁺), 737 (M+Na⁺), 753 (M+K⁺)。

化合物28之合成：於化合物27 (300毫克，0.45毫莫耳)於DMF (9毫升)之溶液內，於室溫添加哌啶(1毫升)。如此所得混合物於室溫攪拌1小時。然後混合物濃縮至乾，獲得油，油於醚(20毫升)中裂解。材料經過濾獲得白色固體(186毫克，84%)。

於自由態胺(32毫克，0.065毫莫耳)於二氯甲烷(1毫升)之溶液內添加MAL-PEG₄-NH酯(50毫克，0.097毫莫耳)。如此所得混合物於室溫攪拌4小時。蒸發去除溶劑，殘餘物藉半製備性HPLC純化，獲得化合物28呈油(47毫克，95%)。

- 5 ¹H NMR (CD₃OD) δ 1.10及1.15 (2d, 6H), 1.58-1.62 (m, 2H), 1.6 (s, 9H), 1.75 (m, 1H), 1.90 (m, 1H), 2.25 (m, 1H), 2.45 (t, 2H), 2.5 (t, 2H), 3.10-3.25 (m, 4H), 3.30 (m, 2H), 3.45-3.65 (m, 16H), 3.75 (m, 4H), 3.85 (d, 1H), 4.65 (m, 1H), 6.80 (s, 2H), 7.67 (d, 2H), 7.90 (d, 2H), 8.80 (d, 1H), 10.20 (s, 1H);
- 10 LC-MS (ESI), 891 (M+H⁺), 913 (M+Na⁺), 929 (M+K⁺)。

- 化合物29之合成：於化合物28 (47毫克，0.062毫莫耳)於二氯甲烷(0.5毫升)之溶液內，於室溫加入三氟乙酸(0.5毫升)。如此所得混合物於室溫攪拌30分鐘。然後混合物濃縮至乾，獲得化合物29呈油，其未經進一步純化即用於次
- 15 一步驟(40毫克，92%)。 ¹H NMR (CD₃OD) δ 1.10 and 1.15 (2d, 6H), 1.60 (m, 2H), 1.80 (m, 1H), 1.90 (m, 1H), 2.25 (m, 1H), 2.45 (t, 2H), 2.5 (t, 2H), 3.10-3.25 (m, 4H), 3.30 (m, 2H), 3.45-3.65 (m, 16H), 3.75 (m, 4H), 3.85 (d, 1H), 4.65 (m, 1H), 6.80 (s, 2H), 7.67 (d, 2H), 7.95 (d, 2H), 8.80 (d, 1H);
- 20 LC-MS (ESI), 836 (M+H⁺), 858 (M+Na⁺), 874 (M+K⁺)。

化合物31之合成：於化合物30 (100毫克，0.2毫莫耳)於乙酸乙酯(2毫升)之溶液內，於室溫添加濃氫溴酸於乙酸乙酯溶液(3毫升)。於1小時後完成Boc脫保護。沉澱材料經過過濾出(定量產率)。然後TFA鹽化胺溶解於DMF (3毫升)。

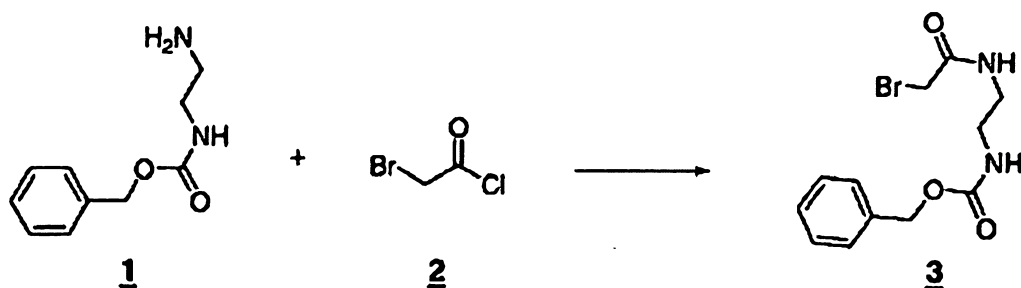
於此溶液內添加化合物25 (55毫克，0.2毫莫耳)、二異丙基
乙基胺(173微升，1毫莫耳)及HATU (79毫克，0.2毫莫耳)。
如此所得混合物於室溫攪拌3小時。溶劑經蒸發去除，殘餘
物藉半製備性HPLC純化，獲得化合物31呈白色固體(86毫
5 克，57%)。 ^1H NMR (CD_3OD) δ 1.54 (s, 9H), 2.91 (s, 3H),
3.10-3.60 (m, 8H), 3.72 (m, 1H), 3.97 (m, 1H), 4.30-4.60 (m,
3H), 6.94 (bs, 1H), 7.05 (m, 1H), 7.12 (d, 1H), 7.45 (m, 2H),
7.68 (d, 1H), 7.75 (bs, 1H), 7.86 (d, 1H), 8.23 (bs, 1H);
LC-MS (ESI), 562 ($\text{M}+\text{H}-100^+$), 606 ($\text{M}+\text{H}-56^+$), 662 ($\text{M}+\text{H}^+$),
10 685 ($\text{M}+\text{Na}^+$), 701 ($\text{M}+\text{K}^+$)。

化合物32之合成：於化合物31 (30毫克，0.039毫莫耳)
於二氯甲烷(0.5毫升)之溶液內，於室溫添加茴香醚(100微
升)及三氟乙酸(0.4毫升)。如此所得混合物於室溫攪拌30分
鐘。然後混合物經濃縮至乾獲得油，其未經進一步純化即
15 用於次一步驟。

於該油於DMF (1毫升)之溶液內，添加化合物29 (36毫
克，0.039毫莫耳)、二異丙基乙基胺(40微升，0.23毫莫耳)
及HATU (15毫克，0.039毫莫耳)。如此所得混合物於室溫
攪拌1小時。溶劑經蒸發去除，殘餘物藉半製備性HPLC純
20 化，獲得化合物32呈油(36毫克，60%)。 ^1H NMR (CD_3OD) δ
1.09及1.15 (2d, 6H), 1.62 (m, 2H), 1.81 (m, 1H), 1.93 (m,
1H), 2.27 (m, 1H), 2.45 (t, 2H), 2.51 (t, 2H), 2.98 (s, 3H),
3.13-3.25 (m, 4H), 3.47-3.62 (m, 24H), 3.76 (m, 4H), 3.82
(m, 1H), 3.85 (d, 1H), 4.20 (m, 1H), 4.55-4.70 (m, 4H), 6.79

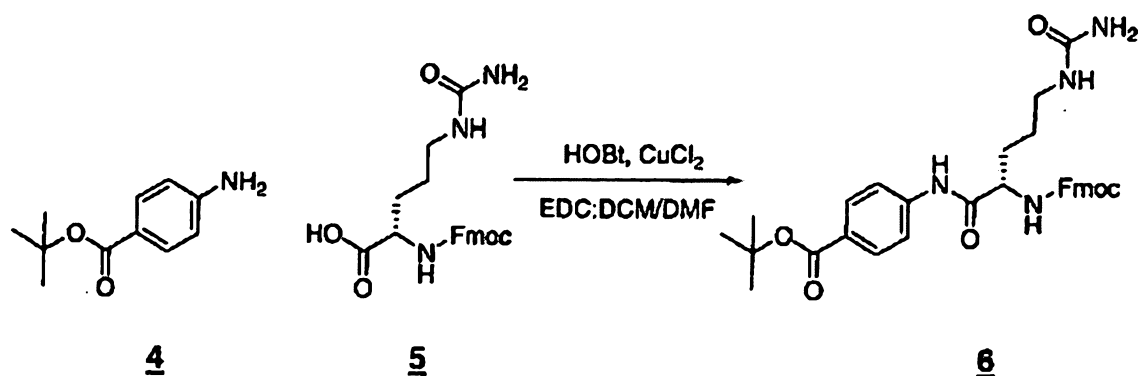
(s, 2H), 7.06 (s, 1H), 7.36 (bs, 1H), 7.43-7.54 (m, 2H), 7.72-7.81 (m, 3H), 7.91 (m, 3H), 8.05 (s, 1H), 8.25 (bs, 1H), 8.82 (d, 1H), 10.25 (s, 1H); LC-MS (ESI), 691 ($M+2H^+$)/2, 1381 ($M+H^+$), 1419 ($M+K^+$)。

5 實例4

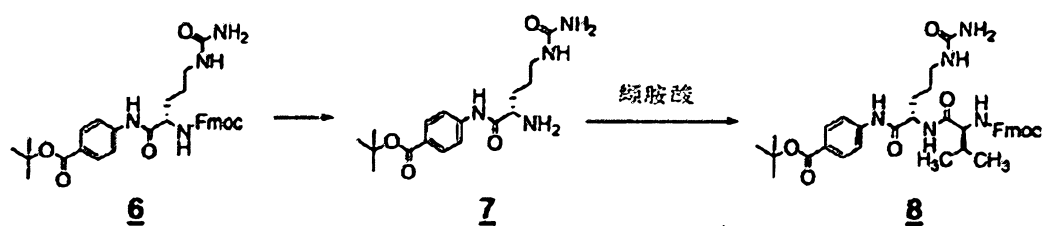


化合物3之合成：溴乙醯氯2 (240微升，2.86毫莫耳)於0°C逐滴添加至2-氨基乙基氨基甲酸苄酯1 (500毫克，2.6毫莫耳)及TEA (800微升，5.7毫莫耳)於10毫升二氯甲烷之溶液。讓反應混合物攪拌2小時，溫度徐緩升高至室溫。溶劑經蒸發去除，接著進行水性後續處理及以乙酸乙酯萃取。有機層以10%檸檬酸、水及飽和碳酸氫鈉及食鹽水洗滌，以無水硫酸鈉脫水，獲得化合物3 (260毫克，32%產率)。

MS: $M^{+1} = 315.3$. H^1 NMR ($CDCl_3$): 7.37 ppm (5H), 5.11ppm (2H), 3.83 ppm (2H), 3.40 ppm (4H)。

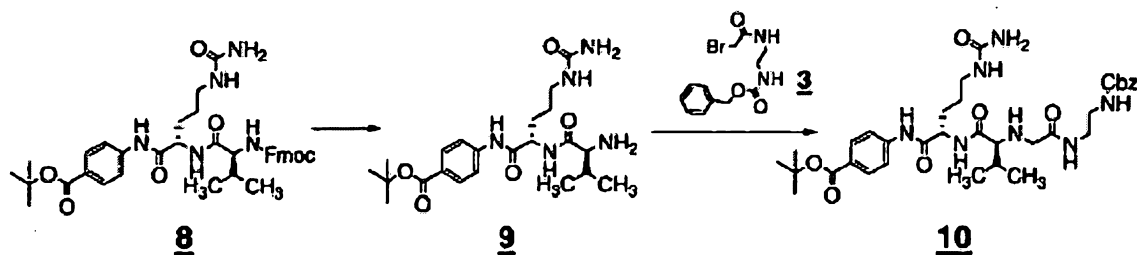


化合物6之合成：1.5克Fmoc-瓜胺酸5 (0.0038莫耳)、0.88克4-胺基苯甲酸第三丁酯4 (0.0045莫耳)、0.6克HOBt (0.0045莫耳)、0.68克EDC (0.0043莫耳)及催化量之氯化銅於DCM/DMF (2:1)混合物9毫升中攪拌隔夜。去除溶劑，產物藉矽氧凝膠急速管柱層析術使用5-10% MeOH於DCM純化，獲得化合物6 (1.54克，71%產率)。MS: $M^{+1} = 573.9$ 。



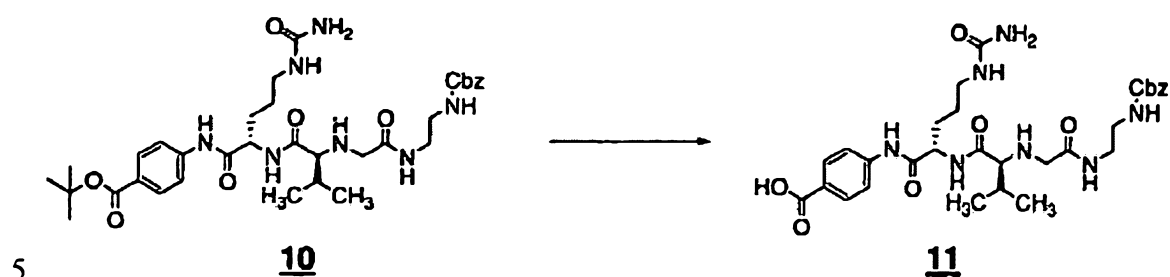
化合物8之合成：化合物6 (300毫克，0.66毫莫耳)之Fmoc保護基之脫保護係使用5%吡啶於DMF以20分鐘時間進行。溶劑經蒸發去除，粗產物固體使用乙醚清洗，獲得230毫克化合物7 (99%產率)。MS: $M^{+1} = 352$

230毫克化合物7 (0.65毫莫耳)與Fmoc-缬胺酸333毫克 (0.98毫莫耳)及188毫克EDC (0.98毫莫耳)於DMF及DCM反應，於矽氧凝膠以5-10% MeOH於DCM純化後，獲得240毫克化合物8 (55%產率)。MS: $M^{+1} = 673$ 。



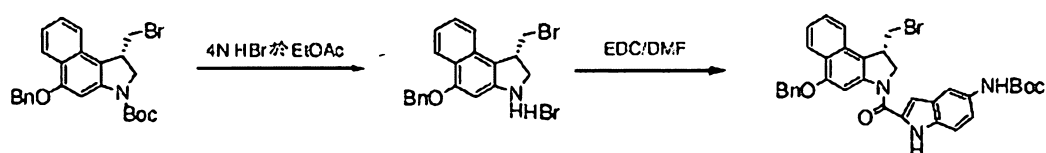
化合物10之合成：500毫克化合物8 (0.75毫莫耳)使用吡啶於DMF脫保護獲得化合物9，於去除溶劑後以乙醚清洗。

化合物9未經進一步純化與235毫克化合物3 (0.75毫莫耳)於125毫克KI (0.75毫莫耳)及313微升三乙基胺存在下於40°C反應2小時。粗產物反應混合物經濃縮，藉反相HPLC純化獲得300毫克化合物10，55.8%產率。MS: $M^{[+1]} = 685$ 。



化合物11之合成：化合物10 (300毫克)使用HCL-EA脫保護3小時。溶劑經蒸發，產物於高度減壓下乾燥，獲得化合物11。MS: $M^{[+1]} = 628$. . H^1 NMR (DMSO): 10.45 ppm (1H), 8.8 ppm (1H), 8.5 (1H), 7.88 ppm (2H), 7.75 ppm (2H), 7.3 ppm (5H), 6.1 (1H), 5.5 (2H), 4.99 (2H), 4.5 ppm (1H), 3.7-3.4 (3H), 3.2-2.9 (5H), 2.16 (1H), 1.45 (2H). 1.1 (3H), 0.92 ppm (3H)

10



化合物14之合成：化合物12 (42毫克，0.09毫莫耳)於4N HBr於EtOAc (5毫升)之溶液於25°C攪拌45分鐘。溶劑經去除，於高度減壓下進一步乾燥4小時。於殘餘物於DMF (2毫升)添加5-(胺基-第三丁氧羰基)-吡啶-2-羧酸(39.2毫克，0.14毫莫耳)及BOP (71毫克，0.16毫莫耳)，接著添加DIPEA (83微升，0.48毫莫耳)。反應混合物於25°C攪拌20分鐘及通

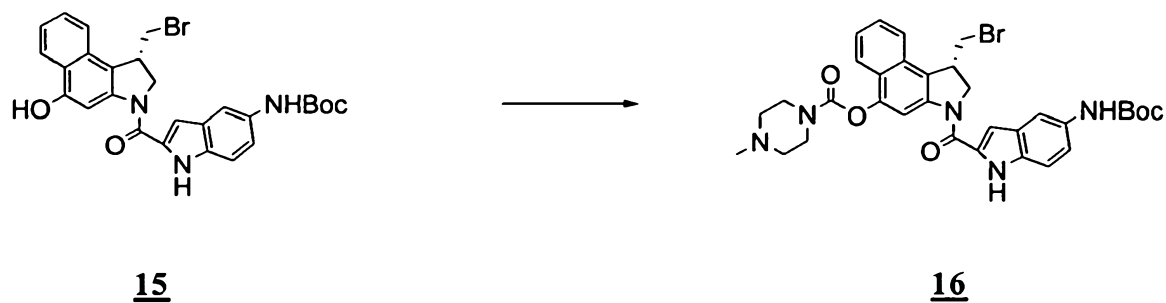
15

過矽氧凝膠短管柱。溶劑經去除，粗產物於矽氧凝膠以20% EtOAc於己烷洗提層析，獲得化合物14 (49毫克，88%)。

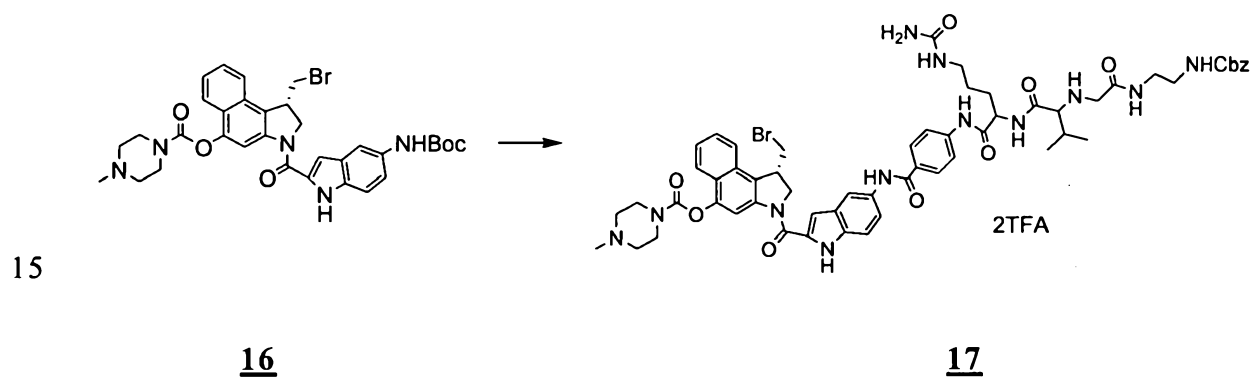
^1H NMR DMSO- d_6) δ 11.63 (s, 1H), 9.18 (br s, 1H), 8.19 (d, 1H, $J=8.4$ Hz), 8.09 (br s, 1H), 7.90 (d, 1H, $J=8.4$ Hz), 7.79 (br s, 1H), 7.53-7.58 (m, 3H), 7.39-7.43 (m, 3H), 7.28-7.35 (m, 3H), 7.11 (s, 1H), 5.29 (s, 2H), 4.80 (t, 1H, 11.2 Hz), 4.54 (dd, 1H, 8.8 Hz), 4.31 (m, 1H), 3.92 (dd, 1H, $J=10.2$ Hz), 3.82 (dd, 1H, $J=10.7$ Hz), 1.47 (s, 9H)。



10 化合物15之合成：化合物14 (49毫克，0.08毫莫耳)及10% Pd-C (35毫克)於MeOH/ CH_2Cl_2 (1/2，10毫升)之混合物於減壓下除氣40秒。所得混合物置於氬氣氣氛下，於25℃攪拌7小時。反應混合物經西萊特 (Celite) 過濾 (MeOH/ CH_2Cl_2 洗滌)。溶劑於減壓下去除。於矽氧凝膠以2% MeOH於DCM洗提之層析術獲得化合物15 (40.6毫克，97%)。 ^1NMR DMSO- d_6) δ 11.59(s, 1H), 10.43 (s, 1H), 9.18 (br s, 1H), 8.09 (d, 1H, $J=8.2$ Hz), 7.93 (br s, 1H), 7.81 (d, 1H, $J=8.2$ Hz), 7.78 (br s, 1H), 7.49 (t, 1H, $J=8.4$ Hz), 7.27-7.35 (m, 3H), 7.08 (s, 1H), 4.80 (t, 1H, 11.2 Hz), 4.54 (dd, 1H, 8.8 Hz), 4.31 (m, 1H), 3.92 (dd, 1H, $J=10.2$ Hz), 3.82 (dd, 1H, $J=10.7$ Hz), 1.47 (s, 9H)。

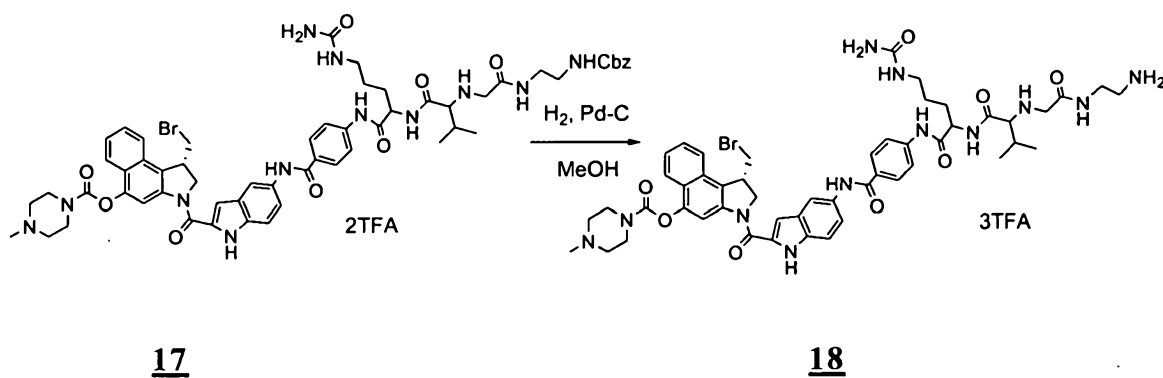


化合物16之合成：化合物15 (36毫克，0.07毫莫耳)、4-甲基-1-哌啶羧基氯鹽酸鹽(20毫克，0.10毫莫耳)、丙烯醇 (0.1毫升)及無水吡啶(63微升)於CH₂Cl₂ (7毫升)之溶液混合物於室溫攪拌16小時。未去除溶劑，粗產物於矽氧凝膠層析，以2%-10% MeOH於CH₂Cl₂洗提，獲得化合物16 (32.4毫克，73%)。¹NMR DMSO-d₆) δ 11.59(s, 1H), 9.18 (br s, 1H), 8.09 (d, 1H, J=8.2 Hz), 7.93 (br s, 1H), 7.81 (d, 1H, J=8.2 Hz), 7.78 (br s, 1H), 7.49 (t, 1H, J=8.4 Hz), 7.27-7.35 (m, 3H), 7.08 (s, 1H), 4.80 (t, 1H, 11.2 Hz), 4.54 (dd, 1H, 8.8 Hz), 4.31 (m, 1H), 3.92 (dd, 1H, J=10.2 Hz), 3.82 (dd, 1H, J=10.7 Hz), 3.77 (br s, 2H), 3.47 (br s, 2H), 3.37 (br s, 2H), 2.63 (s, 3H), 2.38 (br s, 2H), 1.47 (s, 9H)。

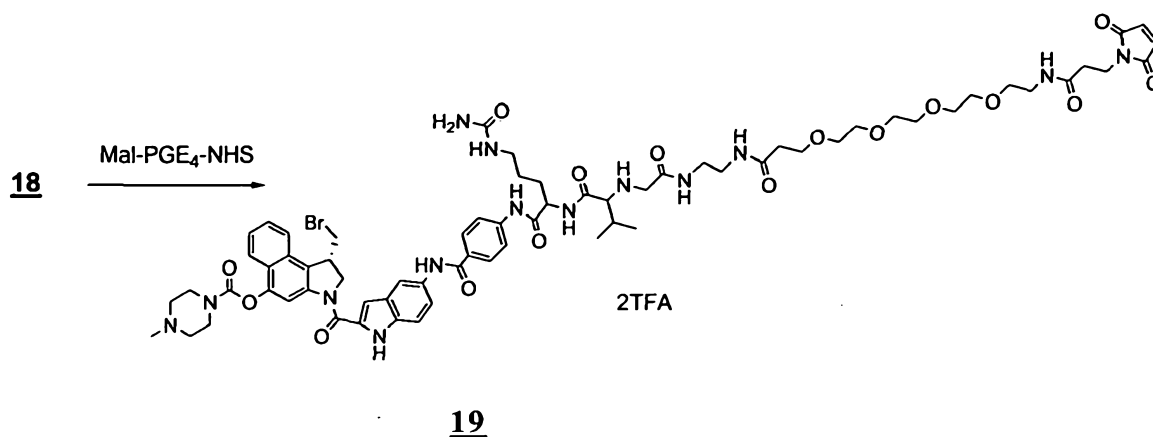


化合物17之合成：化合物16 (32毫克，0.05毫莫耳)於4N HBr於EtOAc (4毫升)之溶液於25℃攪拌45分鐘。溶劑經去

除且進一步於高度真空下乾燥4小時。於殘餘物於DMF (2
 毫升), 添加化合物11 (48.2毫克, 0.07毫莫耳)及苯并三唑-1-
 基-氧基-參-(二甲基胺基)-六氟磷酸鹽(BOP) (34.5毫克,
 0.08毫莫耳), 接著添加DIPEA (68微升), 反應混合物於25
 5 °C 攪拌25分鐘。於減壓下去除溶劑, 產物藉製備性HPLC純
 化(西梅萃普(SymmetrPrep) C18, 7微米, 19 x 150毫米管
 柱), 以10毫升/分鐘(0.01% TFA於水/乙腈)以下述梯度洗
 提: 10%乙腈5分鐘, 10%至50%乙腈15分鐘, 維持50%乙腈
 5分鐘, 50%至100%乙腈5分鐘來獲得化合物17 (42.1毫克,
 10 64%)。MS: $C_{58}H_{67}BrN_{12}O_{10}$ (M+H) m/z之計算值1171.43, 實
 測值1172.40。



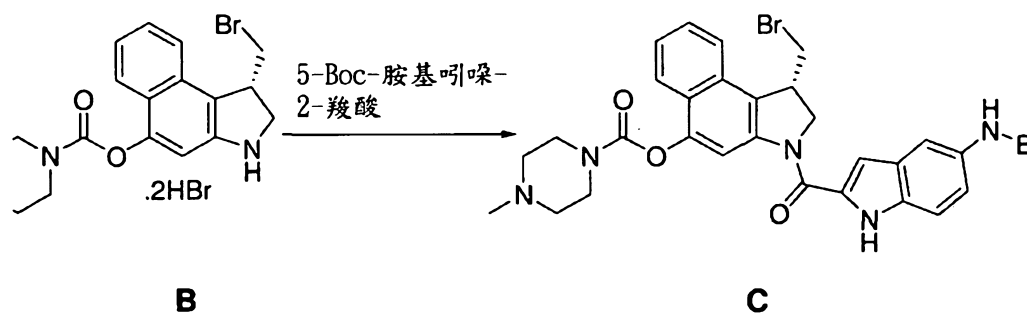
化合物18之合成: 於化合物17 (33.6毫克, 0.025毫莫耳)
 15 於MeOH (5毫升)之溶液內添加10% Pd-C (28毫克), 混合物
 以氫氣除氣。反應混合物以氫氣沖洗, 然後於氫氣氣氛下
 攪拌。反應完成時(40分鐘), 反應混合物經過濾及濃縮獲得
 化合物18 (31.5毫克, 96%)。MS: $C_{50}H_{61}BrN_{12}O_8$ (M+H) m/z
 之計算值1037.39, 實測值1038.20。



化合物19之合成：化合物18 (31.5毫克，0.024毫莫耳)

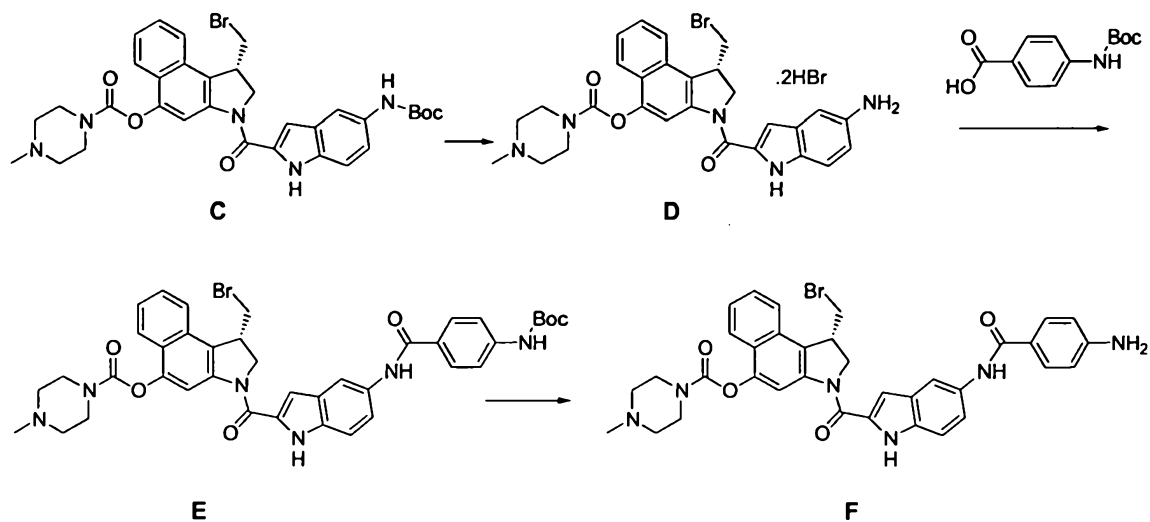
於DMF (2毫升)之溶液內添加Mal-PEG4-NHS酯(42毫克，
 5 0.08毫莫耳)於DCM (0.5毫升)。反應混合物於25°C攪拌1小
 時。終產物藉製備性HPLC純化(西梅萃普C18，7微米，19 x
 150毫米管柱)，以10毫升/分鐘(0.01% TFA於水/乙腈)以下
 述梯度洗提：10%乙腈5分鐘，10%至50%乙腈15分鐘，維
 持50%乙腈5分鐘，50%至100%乙腈5分鐘來獲得化合物19
 10 (29.7毫克，77%)。MS: $\text{C}_{68}\text{H}_{87}\text{BrN}_{14}\text{O}_{16}$ (M+H) m/z之計算值
 1435.56，實測值1437.00。

實例5



54毫克(0.107毫莫耳)化合物A於氫溴酸-乙酸乙酯攪拌
 15 30分鐘，蒸發去除溶劑獲得化合物B，於高度減壓下乾燥。
 33.3毫克(0.053毫莫耳)B與5-Boc-胺基吲哚-2-羧酸29.6毫克

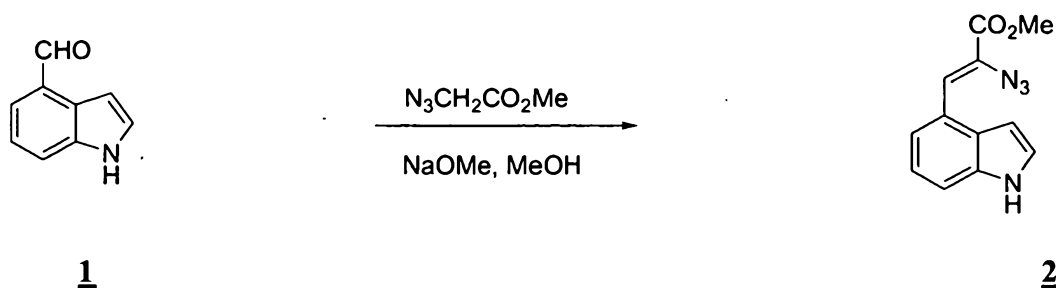
(0.107毫莫耳)於EDC 22.6毫克(0.118毫莫耳)存在下，於1.5毫升DMF反應2小時獲得C。化合物C藉矽氧凝膠管柱層析術5-10% MeOH/DCM純化，獲得21毫克(60%產率)化合物C。MS $M^{[+1]} = 662$, $M^{[+Na]} = 685$, $M^{[+K]} = 701$ 。



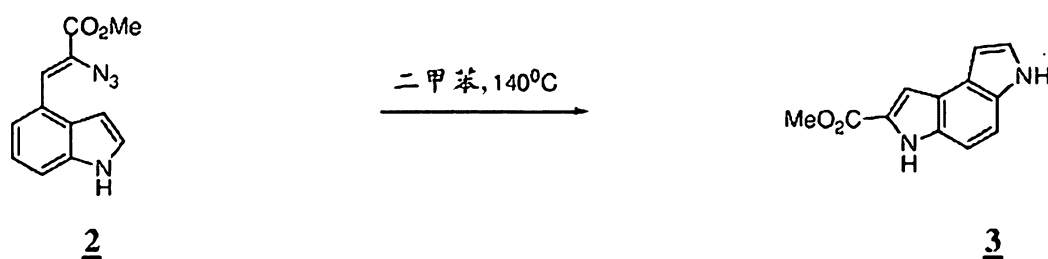
21毫克(0.032毫莫耳)化合物C以HBr-乙酸乙酯溶液處理30分鐘，蒸發去除溶劑，殘餘物於高度減壓下脫水，然後與11.4毫克(0.032毫莫耳) Boc-4-胺基苯甲酸，於18.3毫克(0.053毫莫耳) HATU、10微升三乙基胺(0.63毫莫耳)存在下於2毫升無水DMF於室溫反應4小時。溶劑經蒸發去除，藉反相HPLC純化，獲得14毫克(0.018毫莫耳)，56%產率化合物E。 $M^{[+1]} = 782$ 。

化合物E之Boc保護係於HBr-乙酸乙酯溶液進行，藉反相HPLC純化，獲得12毫克化合物F。98%產率。 $M^{[+1]} = 681.8$

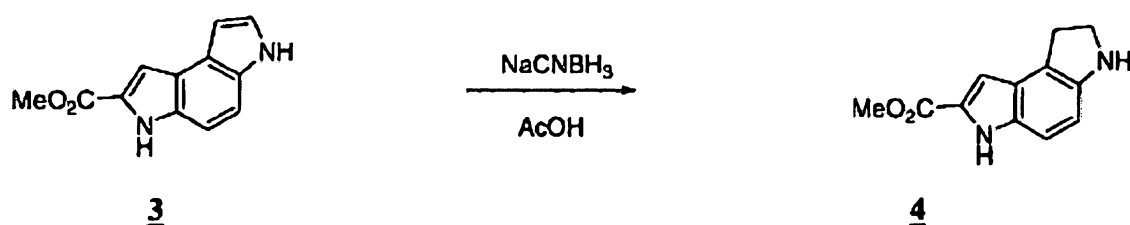
15 實例6



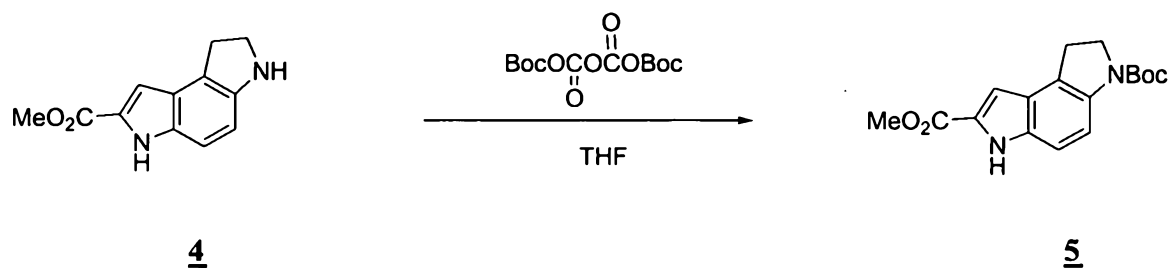
化合物2. 於吡啶-4-羧醛(1, 583毫克, 4毫莫耳)及疊氮乙酸甲酯(460毫克, 4毫莫耳)於無水甲醇(20毫升)之溶液內, 於-25°C(乾冰/四氯化碳)於氮氣下逐滴添加甲氧化鈉於
 5 甲醇(6.9毫升25% NaOMe, 32毫莫耳)。反應混合物溫熱至0
 °C及攪拌3.5小時。反應混合物倒入水(120毫升)內, 以乙酸
 乙酯(2 x 60毫升)萃取。組合萃取物以飽和水性氯化鈉(60
 毫升)洗滌及脫水(硫酸鎂)。溶劑於減壓下去除獲得2 (890
 毫克, 91%)。¹HNMR (CDCl₃) δ 8.28 (br s, 1H), 8.06 (d, 1H,
 J=7.6 Hz), 7.45 (s, 1H), 7.42 (d, 1H, J=7.6 Hz), 7.30 (t, 1H,
 10 J=3.2 Hz), 7.26 (s, 1H), 6.73 (br s, 1H), 3.96 (s, 3H)。



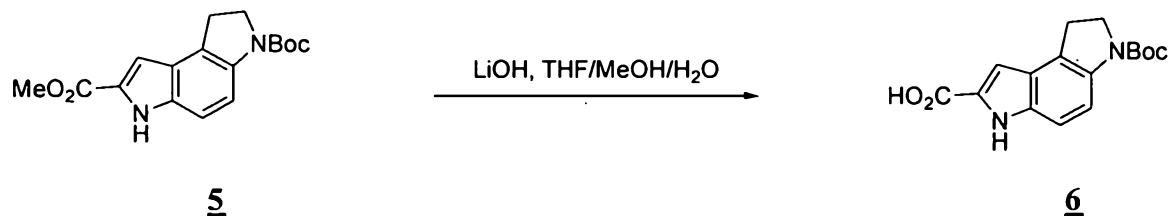
化合物3. 2-疊氮基-3-(1H-吡啶-4-基)丙烯酸甲酯(2, 890毫克, 3.68毫莫耳)於無水二甲苯類(100毫升)之懸浮液於氮下回流1小時。於減壓下去除溶劑, 殘餘物通過矽氧凝
 15 膠管柱(30% EtOAc-己烷), 獲得3 (663毫克, 85%)。¹HNMR (CDCl₃) δ 8.97 (br s, 1H), 8.36 (br s, 1H), 7.47 (d, 1H, J=2 Hz), 7.40 (d, 1H, J=9.2 Hz), 7.26 (t, 1H, J=2.8 Hz), 7.22 (d, 1H, J=9.2 Hz), 6.82 (t, 1H, J=2.4 Hz), 3.95 (s, 3H)。



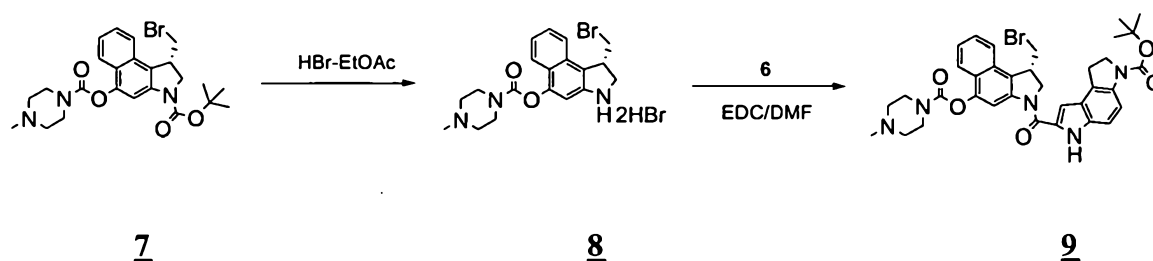
化合物4. 吡咯并[3,2-e]吲哚-2-羧酸甲酯(3, 663毫克, 3.1毫莫耳)於冰醋酸(9毫升)之溶液內於氮下於15°C添加氯基硼氫化鈉(600毫克, 9.5毫莫耳), 反應混合物攪拌2.5小時(13-18°C)。反應混合物倒入水(60毫升)內, 小心添加固體碳酸鈉調整至pH 8-9。水性混合物以EtOAc (3 x 60毫升)萃取, 組合萃取物經脫水(硫酸鎂)。溶劑於減壓下去除。急速層析術(矽氧凝膠, 20% EtOAc-己烷)獲得化合物4 (562毫克, 84%)。¹H NMR (CDCl₃) δ 8.85 (br s, 1H), 7.15 (d, 1H, J=8.4 Hz), 7.04 (s, 1H), 6.89 (d, 1H, J=8.4 Hz), 3.94 (s, 3H), 3.68 (t, 2H, J=8.4 Hz), 3.24 (t, 2H, J=8.4 Hz)。



化合物5. 1,2-二氫-3H-吡咯并[3,2-e]吲哚-7-羧酸甲酯(4, 450毫克, 1.42毫莫耳)於無水THF (8毫升)之溶液於25°C於氮下使用二碳酸二第三丁酯(621克, 2.8毫莫耳)處理。反應混合物攪拌16小時, 然後於減壓下去除溶劑。急速層析術(矽氧凝膠, 30% EtOAc-己烷)獲得化合物5 (551毫克, 84%)。¹H NMR (CDCl₃) δ 8.78 (br s, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.25 (d, 1H, J=8.5 Hz), 7.07 (s, 1H), 4.12 (br s, 2H), 3.94 (s, 3H), 3.27 (t, 2H, J=8.8 Hz), 1.57 (s, 9H)。

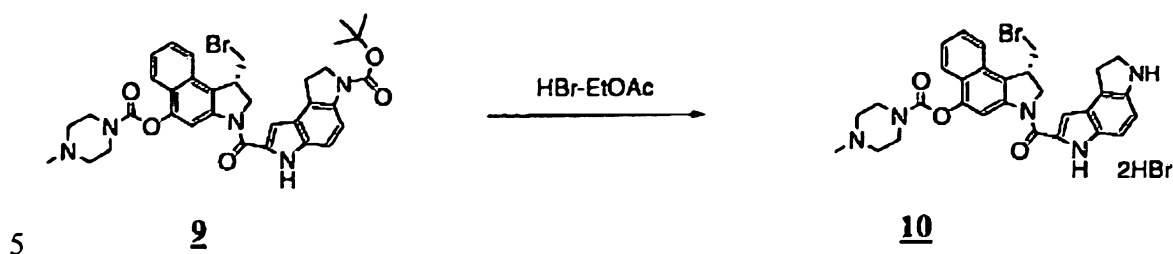


化合物6. LiOH水溶液(2.2毫升4.0 M溶液, 8.7毫莫耳)添加至3-(第三丁氧羰基)-1,2-二氫-3H-吡咯并[3,2-e]吲哚-7-羧酸甲酯(5, 551毫克, 1.74毫莫耳)於60毫升THF/MeOH/H₂O (3:2:1)之漿液, 反應混合物於25°C攪拌14
 5 小時。反應混合物以水(30毫升)稀釋, 然後以2N鹽酸調整至pH 4, 產生白色沉澱。固體藉過濾收集, 以水(10毫升)洗滌。固體於高度減壓下乾燥, 獲得化合物6 (524毫克, 99%)。¹HNMR (DMSO-*d*₆) δ 12.93 (br s, 1H), 11.69 (s, 1H), 7.80 (br s, 1H), 7.20 (d, 1H, J=8.8 Hz), 6.91 (s, 1H), 3.96 (t,
 10 2H, J=8.8 Hz), 3.18 (t, 2H, J=8.8 Hz), 1.48 (s, 9H)。



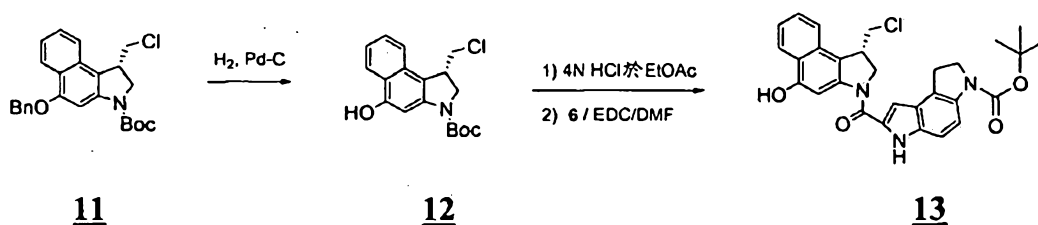
化合物9. 化合物7 (48毫克, 0.1毫莫耳)於4N HBr於EtOAc (5毫升)之溶液於25°C於氮下攪拌45分鐘。去除溶劑, 於高度減壓下進一步乾燥4小時。於該殘餘物內加入
 15 3-(第三丁氧羰基)-1,2-二氫-3H-吡咯并[3,2-e]吲哚-7-羧酸(6, 36.24毫克, 0.12毫莫耳)。添加EDC (22.9毫克, 0.12毫莫耳)於DMF (3毫升)之溶液, 反應混合物於25°C攪拌6小時。去除溶劑。粗產物於矽氧凝膠層析, 使用3-10% MeOH
 20 於CH₂Cl₂洗提, 獲得化合物9 (26毫克, 40%)。¹HNMR (DMSO-*d*₆) δ 11.69 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 8.01 (d, 1H, J=8.4 Hz), 7.81 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.59 (t, 1H, J=7.6 Hz), 7.49 (t,

1H, J=7.6 Hz), 7.29 (d, 1H, J=9.2 Hz), 7.07 (s, 1H), 4.87 (t, 1H, 10 Hz), 4.54 (d, 1H, 8.8 Hz), 4.43 (br s, 1H), 3.89-4.03 (m, 4H), 3.76 (br s, 2H), 3.46 (br s, 2H), 3.26 (m, 2H), 2.46 (br s, 2H), 2.38 (br s, 2H), 2.24 (s, 3H), 1.49 (s, 9H)。



化合物10. 化合物9 (26毫克, 0.04毫莫耳)於4N HBr於EtOAc (5毫升)之溶液於25℃於氮下攪拌45分鐘。去除溶劑, 進一步於減壓下乾燥14小時, 獲得化合物10 (27.7毫克, 98%)。¹HNMR (DMSO-*d*₆) δ12.09 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.03 (d, 1H, J=8.4 Hz), 7.92 (d, 1H, J=8.8 Hz), 7.63 (t, 1H, J=7.6 Hz), 7.49-7.55 (m, 2H), 7.34 (d, 1H, J=8.8 Hz), 7.32 (s, 1H), 4.91 (t, 1H, 10.8 Hz), 4.54 (d, 1H, 10.8 Hz), 4.47 (br s, 1H), 3.84-3.99 (m, 4H), 3.27-3.50 (m, 10H), 2.88 (s, 3H)。

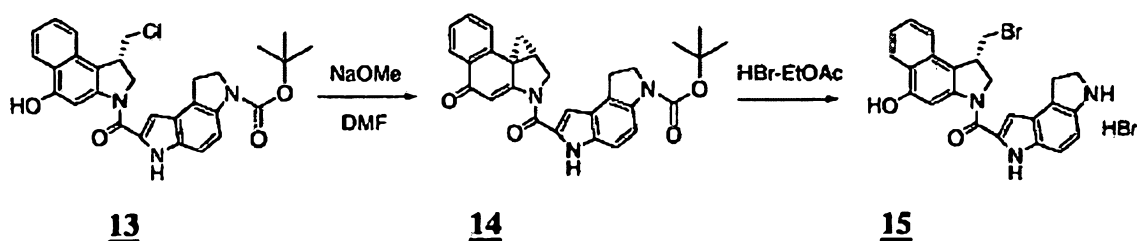
10



15 化合物12. 化合物11 (20毫克, 0.05毫莫耳)及10% Pd-C (15毫克) MeOH/CH₂Cl₂ (1/2, 10毫升)之溶液於減壓下除氣40秒。所得混合物置於氫氣氣氛下及於25℃攪拌7小時。反應混合物經西萊特過濾(CH₂Cl₂洗滌)。於減壓下去除溶劑。於矽氧凝膠使用EtOAc/Hex (2/8)洗提層析, 獲得化合物12

(15.4 毫克, 98%)。 ^1NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 10.36 (s, 1H), 8.04 (d, 1H, $J=8.2$ Hz), 7.72 (d, 1H, $J=8.2$ Hz), 7.61 (br s, 1H), 7.45 (t, 1H, $J=8.4$ Hz), 7.261 (t, 1H, $J=8.4$ Hz), 4.06 (m, 4H), 3.73 (br s, 1H), 1.52 (s, 9H)。

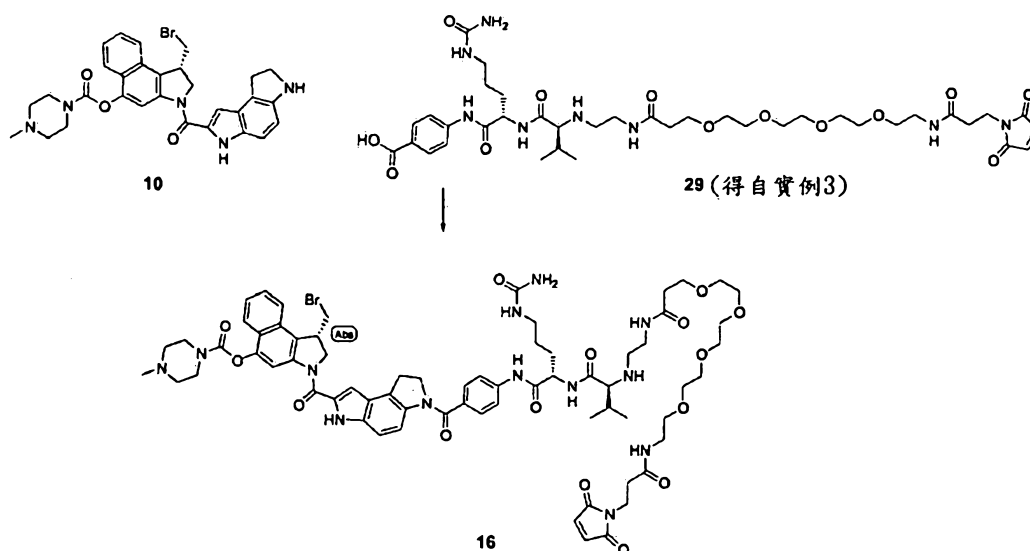
5 化合物 **13**。化合物 **12** (14 毫克, 0.04 毫莫耳) 於 4N HCl 於 EtOAc (3 毫升) 之溶液於 25°C 於氮下攪拌 30-45 分鐘。去除溶劑, 於高度減壓下進一步乾燥 14 小時。於該殘餘物內加入 3-(第三丁氧羰基)-1,2-二氫-3H-吡咯并[3,2-e]吲哚-7-羧酸 (6, 15.1 毫克, 0.05 毫莫耳)。添加 EDC (9.6 毫克, 0.05 毫莫耳) 於 DMF (2 毫升) 之溶液, 反應混合物於 25°C 攪拌 15 小時。去除溶劑。粗產物於矽氧凝膠層析, 使用 3-10% MeOH 於 CH_2Cl_2 洗提, 獲得化合物 **13** (18.6 毫克, 86%)。 $^1\text{HNMR}$ (CDCl_3) δ 9.45 (s, 1H), 8.31 (s, 1H), 8.29 (d, 1H, $J=8.4$ Hz), 8.02 (s, 2H), 7.63 (d, 1H, $J=8.4$ Hz), 7.54 (t, 1H, $J=6.8$ Hz), 7.43 (t, 1H, $J=6.8$ Hz), 7.29 (d, 1H, $J=8.0$ Hz), 6.89 (s, 1H), 4.75 (d, 1H, 10.8 Hz), 4.64 (t, 1H, 8.8 Hz), 4.12 (br s, 2H), 4.03 (t, 1H, $J=8.8$ Hz), 3.93 (dd, 1H, $J=11.2$ Hz), 3.42 (t, 1H, $J=10.8$ Hz), 3.22-3.31 (m, 2H), 1.61 (s, 9H)。



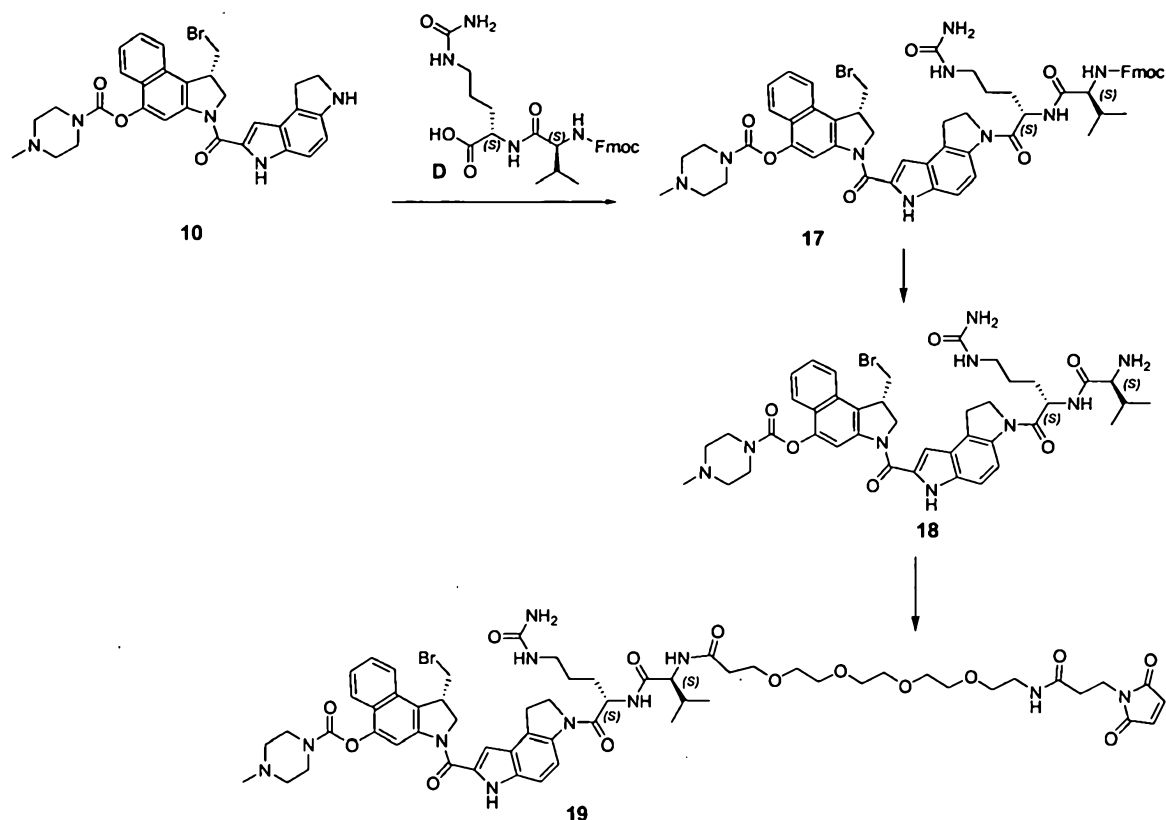
20 化合物 **14**。於化合物 **13** (19 毫克, 0.04 毫莫耳) 於 DMF (3 毫升) 之溶液內於 0°C -5°C 添加甲氧化鈉 (0.5M 於 MeOH, 79 微升, 0.04 毫莫耳) 及攪拌 5 分鐘。於反應混合物加水 (20 毫

升)，水性混合物以EtOAc (2 x 10毫升)萃取。組合萃取物經脫水(硫酸鎂)。於減壓下去除溶劑，粗產物於矽氧凝膠層析，以10% MeOH於CH₂Cl₂洗提，獲得化合物14 (15.3毫克，87%)。¹NMR (CDCl₃) δ 9.24 (br s, 1H), 8.25 (dd, 1H, J=9.2, 1.6 Hz), 8.02 (s, 1H), 7.54 (tt, 1H, J=7.6, 1.6 Hz), 7.43 (tt, 1H, J=7.6, 1.6 Hz), 7.28 (d, 1H, J=9.2 Hz), 7.20 (s, 1H), 6.94 (d, 1H, J=7.6 Hz), 6.88 (s, 1H), 4.49 (m, 2H), 4.12 (br s, 2H), 3.26 (m, 2H), 2.92 (m, 1H), 1.76 (dd, 2H, J=7.6 Hz), 1.61 (s, 9H)。

化合物15. 化合物14 (6.4毫克，0.013毫莫耳)於4N HBr於EtOAc (3毫升)之溶液於25°C於氮下攪拌30分鐘。於減壓下去除溶劑，於高度減壓下進一步乾燥14小時，獲得化合物15 (7.1毫克，99%)。¹HNMR (DMSO-*d*₆) δ 12.16 (s, 1H), 10.45 (s, 1H), 8.11 (d, 1H, J=8.4 Hz), 7.94 (br s, 1H), 7.83 (d, 1H, J=8.0 Hz), 7.51 (m, 2H), 7.34 (m, 2H), 7.27 (s, 1H), 4.81 (t, 1H, 10.8 Hz), 4.48 (d, 1H, 10.8 Hz), 4.28 (br s, 1H), 3.77-3.91 (m, 4H), 3.41- 3.48 (m, 2H)。



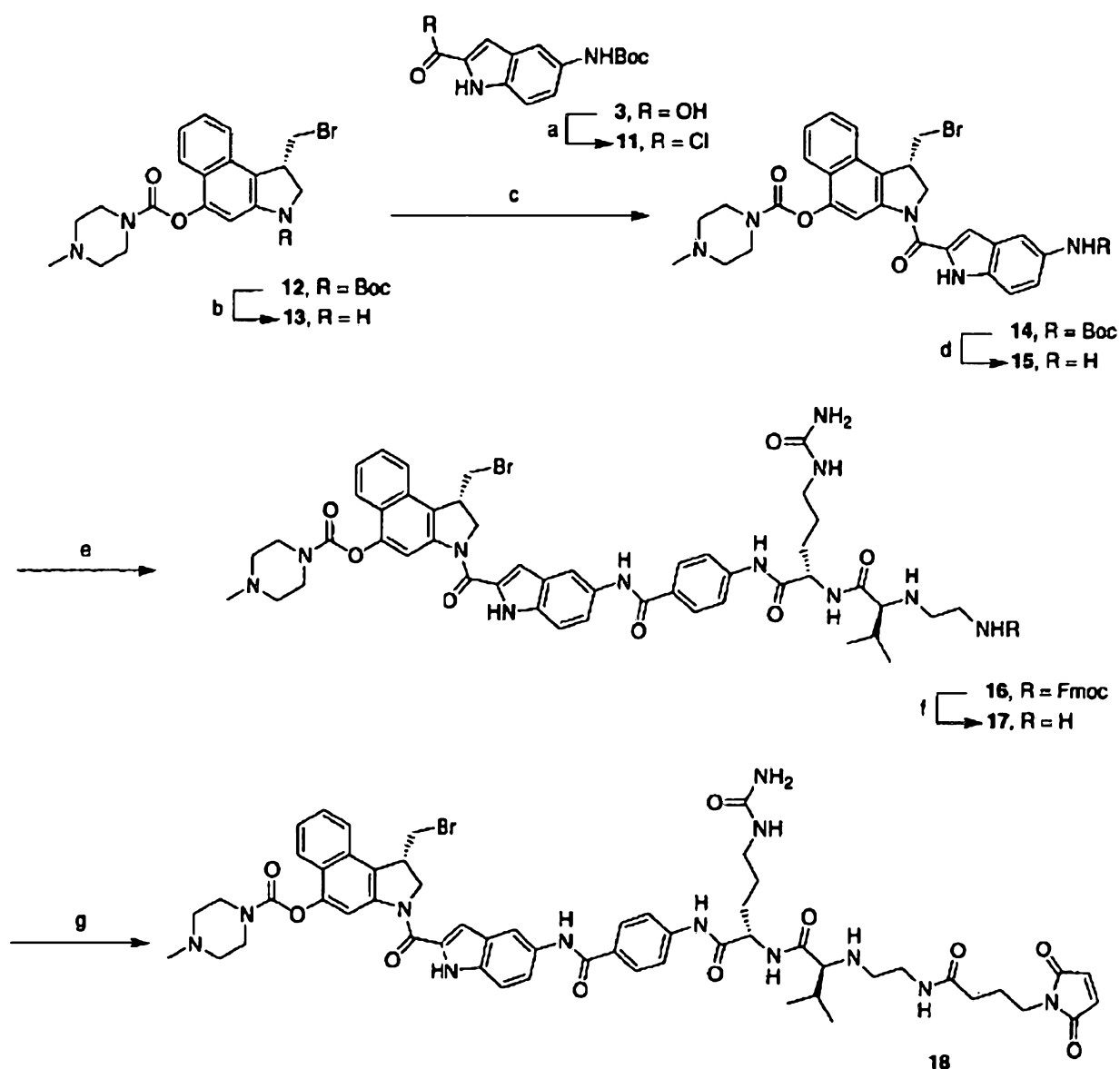
化合物**16**. 化合物**10** (0.033毫莫耳, 2HBr鹽)與實例3之化合物**29** (45毫克, 0.054毫莫耳)於2.5毫升DMF, 於HATU (20毫克, 0.054毫莫耳)及TEA (15-20微升)存在下反應50分鐘。溶劑經蒸發去除, 粗產物藉反相HPLC純化, 獲得10毫克化合物**16** (21%產率)。MS:1405.6, 1427.8及1444.6。



化合物**19**. 化合物**10** (25毫克, 0.033毫莫耳, 2HBr鹽)與實例5之化合物D (21.5毫克, 0.043毫莫耳)於2.5毫升DMF, 於HATU (16.5毫克, 0.0433毫莫耳)及TEA (10-15微升)存在下反應45分鐘。溶劑經蒸發去除, 粗產物藉反相HPLC純化, 獲得25毫克化合物**17** (71%產率)。MS:1067.0。化合物**17** (0.0187毫莫耳)以5%哌啶於DMF (3毫升)以45分鐘時間脫保護。溶劑經蒸發去除, 殘餘物以乙醚洗滌獲得化合物**18** (MS:845.2)。於0.00935毫莫耳化合物**18**於3毫升

DMF之溶液內，添加Mal-dPEG4-NHS酯(10毫克，0.019毫莫耳)於DCM 1毫升，接著添加TEA (5微升)。30分鐘後，溶劑經蒸發去除，粗產物藉反相HPLC純化，獲得5.2毫克純化合物19 (MS:1243.2，1266.8及1281.2)。

5 實例7



a SOCl_2 , CH_2Cl_2 100% b TFA, CH_2Cl_2 100% c 11, 吡啶, CH_2Cl_2 67% d TFA, 茴香醚, CH_2Cl_2 100% e 10, HATU, DMF, DIEA 69% f 吡啶, DMF於 CH_2Cl_2 , DIEA, N-丁二醯亞胺基-4-順丁烯二醯亞胺基丁酸酯 53%

化合物11：化合物3 (236毫克，0.86毫莫耳)於甲苯溶液 (10毫升)之溶液內添加1-甲基-2-吡咯啉酮(502微升，5.13毫莫耳)。如此所得混合物冷卻至0℃。然後添加亞磺醯氯(502微升，2.58毫莫耳)於甲苯(4毫升)，所得溶液於0℃攪拌10分鐘。去除溶劑，產物未經進一步純化即用於次一步驟(252毫克，100%)。

化合物13：於化合物12 (137毫克，0.27毫莫耳)於二氯甲烷(3毫升)之溶液內添加TFA (6毫升)。所得溶液攪拌20分鐘。溶劑於減壓下與甲苯共同蒸發兩次。殘餘物(171毫克，100%)未經進一步純化即用於次一步驟。

化合物14：於化合物13 (171毫克，0.27毫莫耳)於二氯甲烷(6毫升)之溶液內，於0℃添加吡啶(0.6毫升)及化合物11 (159毫克，0.54毫莫耳)。如此所得混合物於0℃攪拌1小時。溶劑經蒸發去除，殘餘物藉半製備性HPLC純化，獲得化合物14呈白色固體(152毫克，72%)。 ^1H NMR (CD_3OD) δ 1.54 (s, 9H), 2.91 (s, 3H), 3.00-3.60 (m, 8H), 3.72 (m, 1H), 3.99 (m, 1H), 4.31-4.50 (m, 3H), 6.94 (s, 1H), 7.05 (m, 1H), 7.13 (d, 1H), 7.45 (m, 2H), 7.68 (d, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.86 (d, 1H), 8.23 (s, 1H); LC-MS (ES^+) 563 ($\text{M}+\text{H}-\text{Boc}$) $^+$, 607 ($\text{M}+\text{H}-56$) $^+$, 663 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 686 ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$, 701 ($\text{M}+\text{K}$) $^+$ 。

化合物15：於化合物14 (198毫克，0.25毫莫耳)於二氯甲烷(2毫升)之溶液內添加茴香醚(0.2毫升)及TFA (0.8毫升)。所得溶液攪拌20分鐘。溶劑於減壓下與甲苯共同蒸發兩次。殘餘物(201毫克，100%)未經進一步純化即用於次一

步驟。

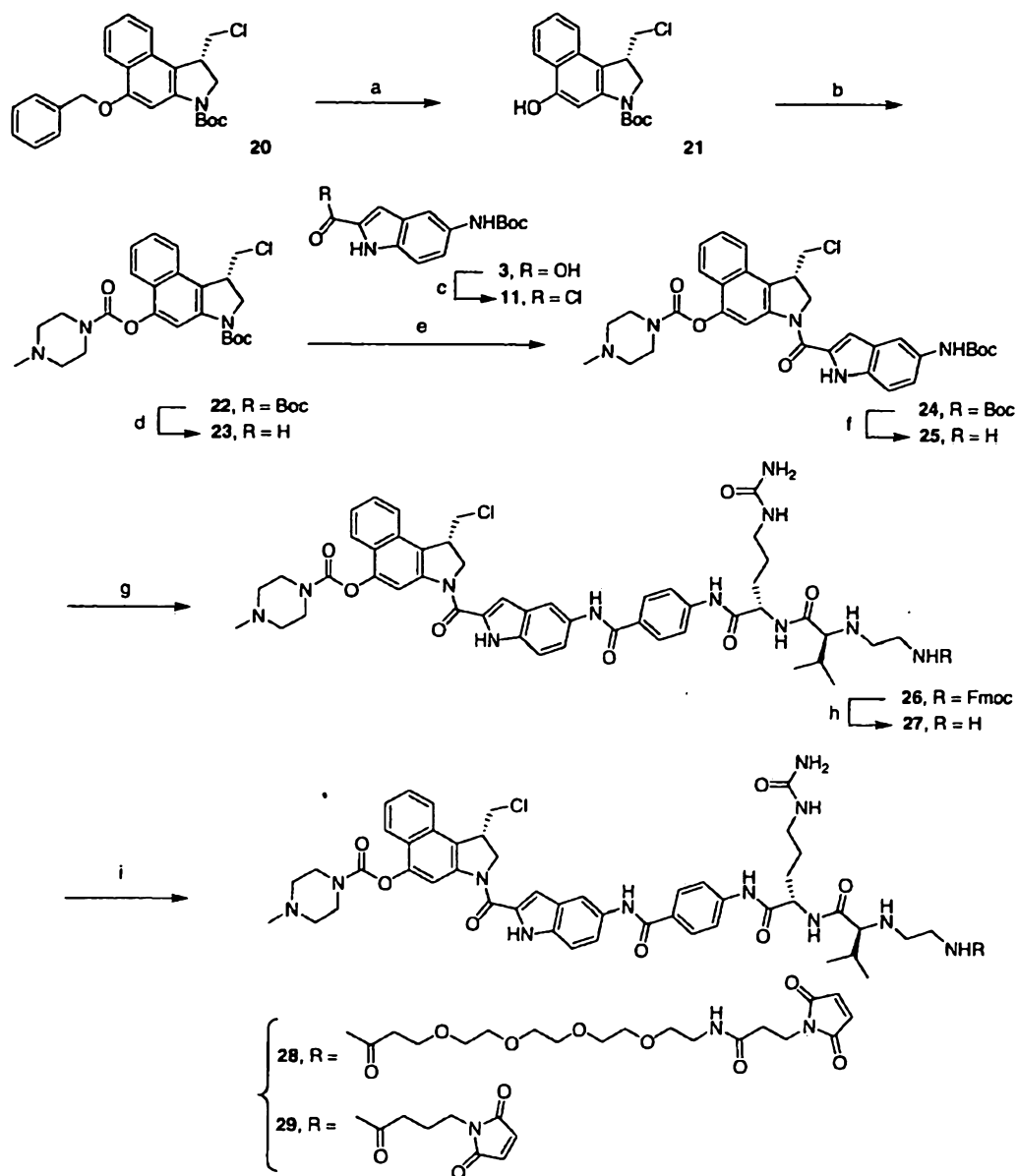
化合物16：於化合物15 (143毫克，0.25毫莫耳)於DMA (3毫升)於室溫添加化合物10 (197毫克，0.25毫莫耳)、二異丙基乙基胺(218微升，1.25毫莫耳)及HATU (95毫克，0.25毫莫耳)。如此所得混合物攪拌2小時。溶劑經蒸發去除，殘餘物藉半製備性HPLC純化，獲得化合物16呈白色固體 (252毫克，69%)。 ^1H NMR (CD_3OD) δ 1.06 (d, 3H), 1.14 (d, 3H), 1.60 (m, 2H), 1.81 (m, 1H), 1.90 (m, 1H), 2.25 (m, 1H), 2.91 (s, 3H), 3.05-3.25 (m, 6H), 3.40-3.70 (m, 8H), 3.70 (d, 1H), 3.85 (d, 1H), 4.00 (m, 1H), 4.19 (t, 1H), 4.30-4.50 (m, 5H), 4.65 (m, 1H), 7.02 (s, 1H), 7.28-7.50 (m, 8H), 7.60 (m, 2H), 7.70 (d, 2H), 7.76 (d, 2H), 7.87 (m, 3H), 8.03 (s, 1H), 8.25 (bs, 1H); LC-MS (ES^+) 1203 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 1227 ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$, 1243 ($\text{M}+\text{K}$) $^+$ 。

化合物17：參考實例3中化合物28之製備有關Fmoc脫保護之概略程序。化合物16 (235毫克，0.16毫莫耳)脫保護，獲得161毫克化合物17 (98%)。殘餘物未經進一步純化即用於次一步驟。LC-MS (ES^+) 983 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 1005 ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$, 1021 ($\text{M}+\text{K}$) $^+$ 。

化合物18：於化合物17 (48毫克，0.049毫莫耳)於20% DMF於二氯甲烷(1毫升)之溶液內，於室溫添加二異丙基乙基胺(34微升，0.19毫莫耳)及N-丁二醯亞胺基-4-順丁烯二醯亞胺基丁酸酯(21毫克，0.073毫莫耳)。如此所得混合物攪拌2小時。溶劑經蒸發去除，殘餘物藉半製備性HPLC純化，

獲得化合物18呈白色固體(36毫克, 53%)。 ^1H NMR (CD_3OD)
 δ 1.10 (d, 3H), 1.15 (d, 3H), 1.61 (m, 2H), 1.80 (m, 1H), 1.91
(m, 3H), 2.25 (m, 3H), 3.01 (s, 3H), 3.12-3.24 (m, 6H),
3.47-3.65 (m, 10H), 3.84 (d, 1H), 3.90 (dd, 1H), 4.34 (m, 1H),
5 4.62-4.80 (m, 4H), 6.82 (s, 2H), 7.17 (s, 1H), 7.46 (d, 2H),
7.50 (m, 1H), 7.60 (m, 1H), 7.76 (d, 2H), 7.93 (m, 4H), 8.07
(s, 1H), 8.25 (bs, 1H); LC-MS (ES^+) 574 ($\text{M}+2\text{H}/2$) $^+$, 1148
($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 1168 ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$, 1186 ($\text{M}+\text{K}$) $^+$ 。

實例8



- a H₂, Pd/C, 甲醇, CH₂Cl₂ 98% b 丙烯醇, 吡啶, CH₂Cl₂ 4-甲基哌啶-1-羧基氯 72% c SOCl₂, CH₂Cl₂ 100% d TFA, CH₂Cl₂ 100% e 11, 吡啶, CH₂Cl₂ 67% f TFA, 茴香醚, CH₂Cl₂, 100% g 10, HATU DMF, DIEA 69% h 哌啶, DMF 68% i 20% DMF於CH₂Cl₂, DIEA, MAL-dPEG₄-NHS酯(28, 60%)或N-丁二醯亞胺基-4-順丁烯二醯亞胺基丁酸酯(29, 51%)

化合物21：化合物20 (520毫克，1.22毫莫耳)及鈀/炭 (100毫克)於甲醇及二氯甲烷(2毫克及4毫升)之溶液置於室溫於大氣壓氫氣氣氛下。如此所得混合物於室溫攪拌隔
10 夜。鈀經過濾，所得溶液濃縮至乾，獲得灰色固體(400毫克，98%)。¹H NMR (CD₃OD) δ 1.59 (bs, 9H), 3.52 (m, 1H),

3.89-4.00 (m, 2H), 4.07 (m, 1H), 4.18 (m, 1H), 7.26 (m, 1H),
7.45 (m, 1H), 7.55 (bs, 1H), 7.65 (d, 1H), 8.13 (d, 1H)。

化合物22：於化合物21 (400毫克，1.20毫莫耳)於二氯
甲烷(10毫升)之溶液內，添加丙烯醇(1毫升)、吡啶(1毫升，
5 1.2毫莫耳)及4-甲基-1-哌啶羰基氯(364毫克，1.8毫莫耳)。
如此所得混合物於室溫攪拌隔夜。溶劑經蒸發去除，殘餘
物藉半製備性HPLC純化，獲得化合物22呈白色固體(509毫
克，72%)。¹H NMR (DMSO-d₆) δ 1.50 (s, 9H), 2.21 (s, 3H),
2.36 (s, 2H), 2.42 (s, 2H), 3.42 (s, 2H), 3.78 (s, 2H), 3.90 (m,
10 1H), 3.98 (m, 1H), 4.08 (m, 2H), 4.14 (m, 1H), 4.22 (m, 1H),
7.42 (t, 1H), 7.58 (t, 1H), 7.82 (d, 1H), 7.88 (m, 1H), 7.92 (d,
1H); LC-MS (ES⁺), 460 (M+H)⁺, 483 (M+Na)⁺, 499 (M+K)⁺。

化合物23. 於化合物22 (250毫克，0.43毫莫耳)於二氯
甲烷(3毫升)之溶液內添加TFA (6毫升)。所得溶液攪拌20分
15 鐘。溶劑於減壓下與甲苯共同蒸發兩次。殘餘物(256毫克，
100%)未經進一步純化即用於次一步驟。LC-MS (ES⁺) 360
(M+H)⁺, 383 (M+Na)⁺, 399 (M+K)⁺。

化合物24：於化合物23 (256毫克，0.43毫莫耳)於二氯
甲烷(8毫升)之溶液內，於0°C添加吡啶(1.6毫升)及化合物11
20 (252毫克，0.86毫莫耳) (參考實例7)。如此所得混合物於0
°C攪拌1小時。溶劑經蒸發去除，殘餘物藉半製備性HPLC
純化，獲得化合物24呈白色固體(213毫克，67%)。¹H NMR
(CD₃OD) δ 1.54 (s, 9H), 2.87 (s, 3H), 3.00-3.60 (m, 8H),
3.79 (m, 1H), 3.89 (m, 1H), 4.31-4.48 (m, 3H), 6.91 (s, 1H),

7.08 (m, 2H), 7.43 (m, 2H), 7.65 (d, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.84 (d, 1H), 8.23 (s, 1H); LC-MS (ES^+) 518 ($M+H-Boc$)⁺, 562 ($M+H-56$)⁺, 619 ($M+H$)⁺, 641 ($M+Na$)⁺, 657 ($M+K$)⁺。

化合物25：於化合物24 (50毫克，0.08毫莫耳)於二氯
 5 甲烷(2毫升)之溶液內添加茴香醚(0.2毫升)及TFA (0.8毫
 升)。所得溶液攪拌20分鐘。溶劑於減壓下與甲苯共同蒸發
 兩次。殘餘物(60毫克，100%)未經進一步純化即用於次一
 步驟。¹H NMR (CD_3OD) δ 3.01 (s, 3H), 3.40-3.60 (bs, 4H),
 3.79 (m, 2H), 4.02 (m, 2H), 4.32 (m, 2H), 4.73-4.90 (m, 3H),
 10 7.26 (m, 2H), 7.51 (m, 1H), 7.63 (m, 2H), 7.77 (d, 1H), 7.94
 (d, 1H), 8.30 (s, 1H)。

化合物26：於化合物25 (60毫克，0.08毫莫耳)於DMA (2
 毫升)於室溫添加化合物10 (53毫克，0.08毫莫耳)、二異丙
 基乙基胺(59微升，0.4毫莫耳)及HATU (26毫克，0.08毫莫
 15 耳)。如此所得混合物攪拌2小時。溶劑經蒸發去除，殘餘
 物藉半製備性HPLC純化，獲得化合物26呈白色固體(66毫
 克，69%)。¹H NMR (CD_3OD) δ 1.06 (d, 3H), 1.14 (d, 3H),
 1.60 (m, 2H), 1.82 (m, 1H), 1.95 (m, 1H), 2.25 (m, 1H), 2.95
 (s, 3H), 3.05-3.25 (m, 6H), 3.40-3.70 (m, 8H), 3.85 (d, 1H),
 20 3.90 (m, 1H), 4.06 (m, 1H), 4.20 (m, 1H), 4.30-4.70 (m, 6H),
 7.02 (s, 1H), 7.28-7.50 (m, 8H), 7.60 (m, 2H), 7.70 (d, 2H),
 7.76 (m, 2H), 7.87 (m, 3H), 8.03 (s, 1H), 8.25 (bs, 1H);
 LC-MS (ES^+) 580 ($M+2H/2$)⁺, 1159 ($M+H$)⁺。

化合物27：參考實例3中化合物28之製備有關Fmoc脫

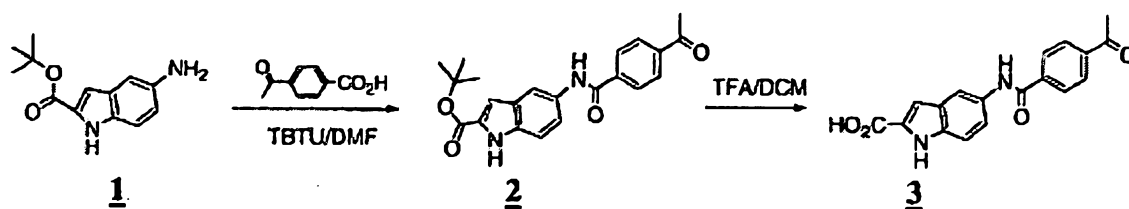
保護之概略程序。化合物26 (66毫克, 0.05毫莫耳)脫保護, 獲得44毫克化合物27 (98%)。殘餘物未經進一步純化即用於次一步驟。LC-MS (ES^+) 937 ($\text{M}+\text{H}$)⁺, 959 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺。

化合物28: 於化合物27 (23毫克, 0.024毫莫耳)於20%
5 DMF於二氯甲烷(1毫升)之溶液內, 於室溫添加二異丙基乙
基胺(16微升, 0.09毫莫耳)及MAL-dPEG₄-NHS酯(18毫克,
0.036毫莫耳)。如此所得混合物攪拌2小時。溶劑經蒸發去
除, 殘餘物藉半製備性HPLC純化, 獲得化合物28呈白色固
體(23毫克, 60%)。¹H NMR (CD_3OD) δ 1.09 (d, 3H), 1.15 (d,
10 3H), 1.60 (m, 2H), 1.82 (m, 1H), 1.95 (m, 1H), 2.30 (m, 1H),
2.45 (t, 2H), 2.51 (t, 2H), 2.97 (s, 3H), 3.10-3.25 (m, 6H),
3.46-3.70 (m, 24H), 3.75 (t, 4H), 3.85 (d, 1H), 3.90 (m, 1h),
4.10 (m, 1H), 4.50-4.70 (m, 4H), 6.78 (s, 2H), 7.04 (s, 1H),
7.34 (m, 2H), 7.45 (m, 1H), 7.50 (m, 1H), 7.71-7.79 (m, 2H),
15 7.90 (m, 3H), 8.04 (s, 1H), 8.25 (bs, 1H); LC-MS (ES^+) 668
($\text{M}+2\text{H}/2$)⁺。

化合物29: 於化合物27 (31毫克, 0.033毫莫耳)於20%
DMF於二氯甲烷(1毫升)之溶液內, 於室溫添加二異丙基乙
基胺(22微升, 0.13毫莫耳)及N-丁二醯亞胺基-4-順丁烯二醯
20 亞胺基丁酸酯(14毫克, 0.049毫莫耳)。如此所得混合物攪
拌2小時。溶劑經蒸發去除, 殘餘物藉半製備性HPLC純化
獲得化合物29呈白色固體(32毫克, 51%)。¹H NMR (CD_3OD)
 δ 1.09 (d, 3H), 1.15 (d, 3H), 1.62 (m, 2H), 1.84 (m, 1H), 1.92
(m, 3H), 2.25 (m, 3H), 2.97 (s, 3H), 3.12-3.25 (m, 6H),

3.39-3.68 (m, 10H), 3.85 (d, 1H), 3.93 (dd, 1H), 4.08 (m, 1H),
 4.50-4.67 (m, 4H), 6.80 (s, 2H), 7.03 (s, 1H), 7.34 (m, 2H),
 7.44 (m, 1H), 7.50 (m, 1H), 7.72 (d, 2H), 7.77 (d, 1H), 7.90
 (m, 3H), 8.04 (s, 1H), 8.25 (bs, 1H); LC-MS (ES^+) 552
 5 ($\text{M}+2\text{H}/2$)⁺。

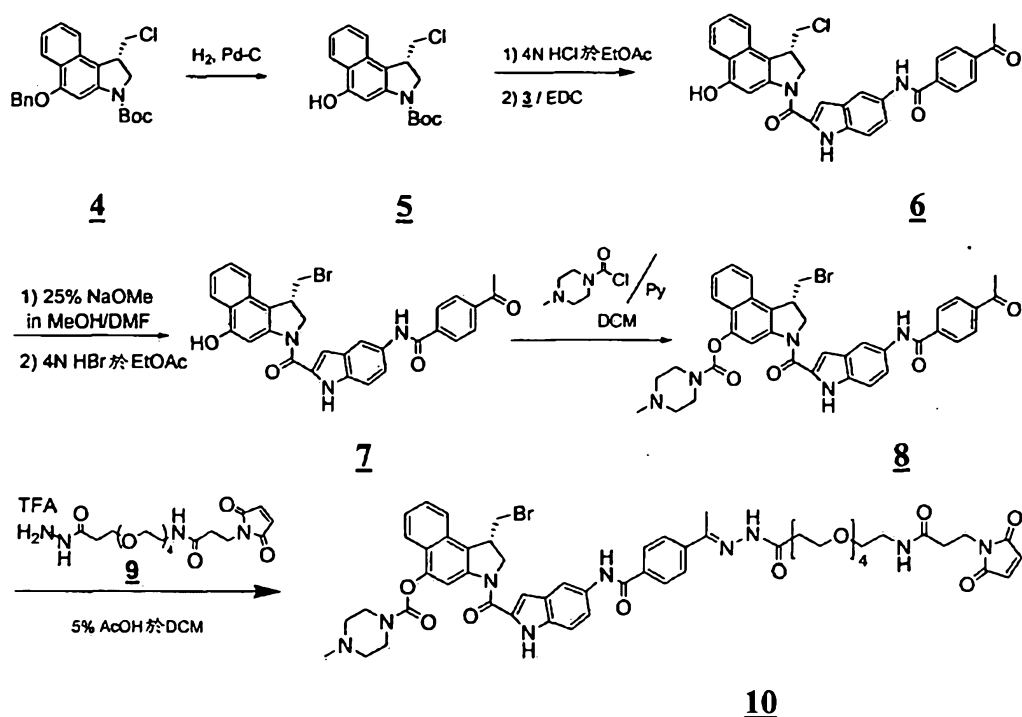
實例9



5-(4-乙醯基苄醯胺基)-1H-吲哚-2-羧酸第三丁酯(2). 5-
 胺基-1H-吲哚-2-羧酸第三丁酯(220毫克, 0.94毫莫耳), 4-
 10 乙醯基苯甲酸(155毫克, 0.94毫莫耳)及TBTU (303毫克,
 0.94毫莫耳)於DMF (6毫升)之溶液於4°C以二異丙基乙基胺
 (329微升, 1.89毫莫耳)處理, 於0-5°C攪拌40分鐘。於減壓
 下去除溶劑。粗產物於矽氧凝膠層析, 以1% MeOH於
 CH₂Cl₂洗提, 獲得化合物2 (350毫克, 98%)。¹HNMR
 15 DMSO-d₆) δ 11.66 (bs, 1H), 10.34 (s, 1H), 8.09 (d, 1H, J=8.8
 Hz), 8.07 (s, 4H), 7.55 (d, 1H, J=8.8 Hz), 7.41 (d, 1H, J=8.8
 Hz), 7.03 (s, 1H), 2.63 (s, 3H), 1.56 (s, 9H)。

5-(4-乙醯基苄醯胺基)-1H-吲哚-2-羧酸(3). 化合物2
 (350毫克, 0.92毫莫耳)於二氯甲烷(4毫升)之溶液以TFA (4
 20 毫升)處理及於室溫攪拌15分鐘。溶劑經去除, 殘餘物進一
 步於高度減壓下乾燥, 獲得化合物3, 幾乎呈定量產率。
¹HNMR DMSO-d₆) δ 12.92 (bs, 1H), 11.74 (bs, 1H), 10.33 (s,

1H), 8.04 (d, 1H, J=8.8 Hz), 8.06 (s, 4H), 7.52 (d, 1H, J=8.8 Hz), 7.38 (d, 1H, J=8.8 Hz), 7.06 (s, 1H), 2.63 (s, 3H)。



- seco-CBI-Boc(5).**化合物4 (100毫克, 0.24毫莫耳)及10% Pd-C (35毫克)於MeOH/CH₂Cl₂ (1/2, 10毫升)之溶液於減壓下除氣40秒。所得混合物置於氫氣氣氛下及於25°C攪拌7小時。反應混合物經西萊特過濾(二氯甲烷洗滌)。溶劑於減壓下去除。於矽氧凝膠層析, 以EtOAc/Hex (2/8)洗提, 獲得化合物5 (77毫克, 98%)。¹NMR DMSO-d₆) δ 10.36 (s, 1H), 8.04 (d, 1H, J=8.2 Hz), 7.72 (d, 1H, J=8.2 Hz), 7.61 (br s, 1H), 7.45 (t, 1H, J=8.4 Hz), 7.261 (t, 1H, J=8.4 Hz), 4.06 (m, 4H), 3.73 (m, 1H), 1.52 (s, 9H)。

- seco-CBI (Cl)-吲哚(6).**化合物5 (35毫克, 0.1毫莫耳)於4N HCl於EtOAc (5毫升)之溶液於25°C於氮下攪拌30-45分鐘。溶劑經去除, 進一步於高度減壓下乾燥4小時。於殘

餘物添加5-(4-乙醯基苄醯胺基)-1H-吡啶-2-羧酸(3, 117毫克, 0.44毫莫耳)及EDC於DMF (5毫升), 反應混合物於室溫攪拌5小時。於高度減壓下去除溶劑。於矽氧凝膠層析, 以2-8% MeOH-CH₂Cl₂洗提, 獲得化合物6 (118.3毫克, 50%)。

5 ¹HNMR DMSO-d₆) δ11.73 (s, 1H), 10.43 (s, 1H), 10.36 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 8.08 (s, 5H), 7.92 (s, 1H), 7.83 (d, 1H, J=8.4 Hz), 7.55 (t, 1H, J=8.4 Hz), 7.51 (t, J=8.4 Hz, 1H), 7.45 (d, J=8.4 Hz, 1H), 7.19 (s, 1H), 4.80 (t, J=10.8 Hz, 1H), 4.55 (d, 1H, J=10.8Hz), 4.22 (m, 1H), 4.0 (dd, 1H, J=10.8
10 Hz), 3.86 (dd, J=11 Hz, 1H), 2.63 (s, 3H)。

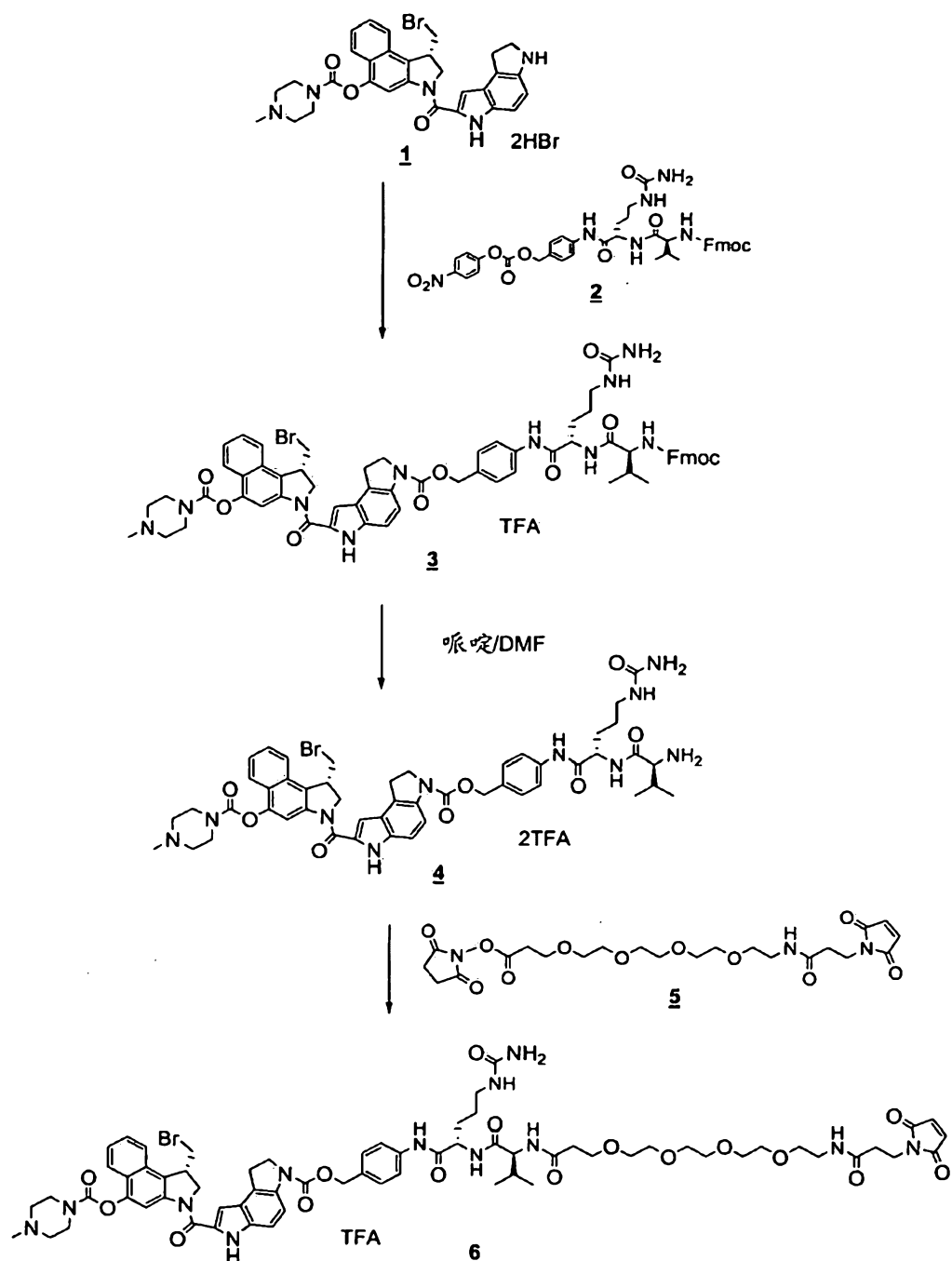
seco-CBI (Br)-吡啶(7)。於化合物6 (35.5毫克, 0.066毫莫耳)於無水DMF (1毫升)之溶液內, 於0°C添加60% NaH (5.3毫克, 0.13毫莫耳)及攪拌15-30分鐘。於高度減壓下去除溶劑。粗產物於矽氧凝膠層析, 以3% MeOH於CH₂Cl₂洗
15 提, 獲得環丙烷(31毫克, 94%)。所得環丙烷以4N HBr於乙酸乙酯(3毫升)處理, 反應混合物攪拌15分鐘。於減壓下去除溶劑。於矽氧凝膠層析, 以2-8% MeOH-CH₂Cl₂洗提, 獲得化合物7 (34.5毫克, 96%)。 ¹HNMR DMSO-d₆) δ11.73 (s, 1H), 10.43 (s, 1H), 10.36 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 8.08 (s, 5H),
20 7.92 (s, 1H), 7.83 (d, 1H, J=8.4 Hz), 7.55 (t, 1H, J=8.4 Hz), 7.51 (t, J=8.4 Hz, 1H), 7.45 (d, J=8.4 Hz, 1H), 7.19 (s, 1H), 4.80 (t, J=10.8 Hz, 1H), 4.55 (d, 1H, J=10.8Hz), 4.26 (m, 1H), 4.0 (dd, 1H, J=10.8 Hz), 3.86 (dd, J=11 Hz, 1H), 2.63 (s, 3H)。

胺基甲酸酯(8). 化合物7 (34毫克, 0.06毫莫耳)、4-甲基-1-哌啶-羰基氯鹽酸鹽(15.9毫克, 0.08毫莫耳)、丙烯醇(80微升)及無水吡啶(80微升)於二氯甲烷(5毫升)之溶液於室溫攪拌16小時。粗產物之純化係於矽氧凝膠上以2%至10%MeOH於CH₂Cl₂洗提進行獲得化合物8 (41.3毫克, 78%)。 ¹H NMR DMSO-d₆) δ 11.73 (s, 1H), 10.38 (s, 1H), 8.18 (bs, 2H), 8.08 (s, 4H), 8.02 (d, 1H, J=8.4 Hz), 7.83 (d, J=8.4 Hz, 1H), 7.60 (t, 1H, J=8.4 Hz), 7.56 (d, J=8.4 Hz, 1H), 7.50 (t, J=8.4 Hz, 1H), 7.47 (d, 1H, J=8.4 Hz), 7.24 (s, 1H), 4.89 (t, J=10.8 Hz, 1H), 4.58 (d, 1H, J=10.8 Hz), 4.45 (m, 1H), 3.97 (dd, 1H, J=10.8 Hz), 3.91 (dd, J=11 Hz, 1H), 3.77 (bs, 2H), 3.47 (bs, 2H), 2.63 (s, 3H), 2.47 (bs, 2H), 2.40 (bs, 2H), 2.25 (s, 3H)。

化合物10：於化合物8 (11.35毫克, 0.016毫莫耳)及化合物9 (17毫克, 0.032毫莫耳)於5%乙酸於無水二氯甲烷(2毫升, 經分子篩預先乾燥)之溶液於25°C攪拌10-15分鐘。溶劑經去除, 進一步於高度真空乾燥隔夜。藉分析HPLC²⁾(諾瓦派克(Nova Pak) C18, 5微米, 3.9 x 150毫米管柱), 以1毫升/分鐘(乙腈/20 mM甲酸銨, pH 7)使用梯度: 10%至100%甲酸銨10分鐘(滯留時間: 6.93分鐘)洗提, 檢查脛之形成。脛10最後藉製備性HPLC純化(西梅萃普C18, 7微米, 19 x 150毫米管柱), 以10毫升/分鐘(乙腈/20 mM甲酸銨, pH 7)以梯度: 10%至70%乙腈20分鐘, 維持70%乙腈3分鐘, 70%至100%乙腈7分鐘(滯留時間: 26.1分鐘)洗提, 獲得化合物10

(14.7毫克，82%)。MS: $C_{55}H_{62}BrN_9O_{12}$ (M+H) m/z之計算值1121.04，實測值1121.1。

實例10



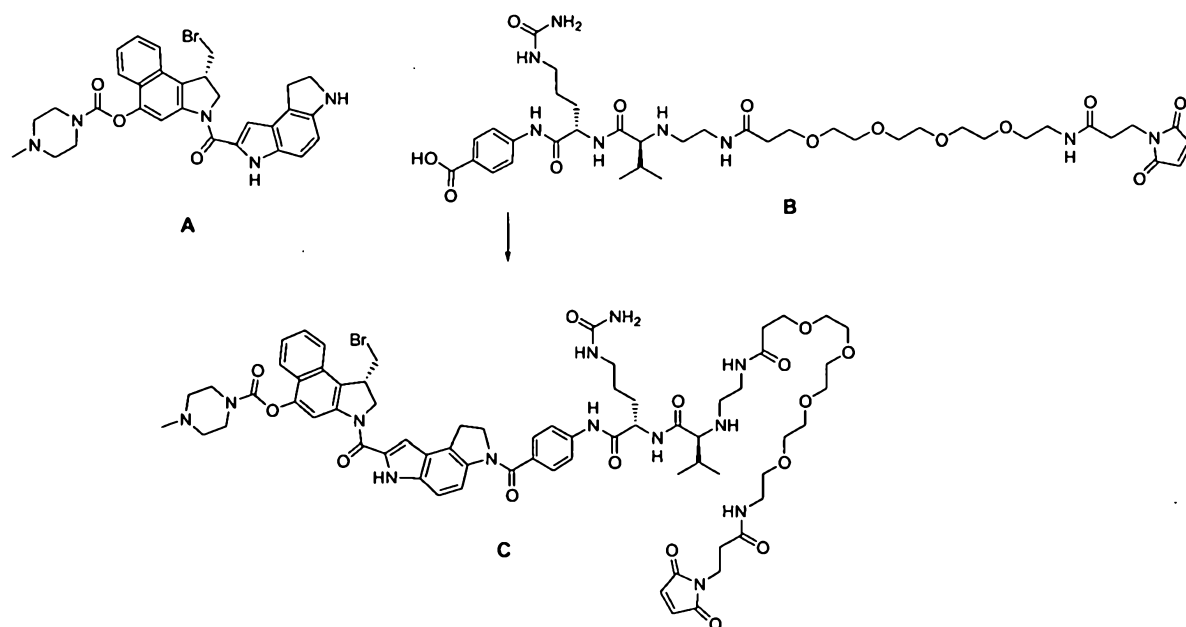
- 5 化合物(3). 氫溴酸鹽1 (12毫克，0.016毫莫耳) (參考實例6化合物10)及化合物2 (25毫克，0.032毫莫耳)於DMF (1.5毫升)之溶液以二異丙基乙基胺(1微升，0.064毫莫耳)處

理，於25°C於氮下攪拌48小時。溶劑經去除，粗產物藉製備性HPLC純化獲得化合物3 (6.4毫克，30%)。MS: $C_{64}H_{67}BrN_{10}O_{10}$ (M+H) m/z 之計算值1216.18，實測值1216.40。

5 化合物(4). 於TFA鹽3 (6.4毫克，4.9微莫耳)於DMF (1毫升)之溶液內添加哌啶(50微升)，反應混合物於25°C於氮下攪拌15分鐘。去除溶劑，粗產物藉製備性HPLC純化，獲得化合物4 (3.8毫克，66%)。MS: $C_{64}H_{67}BrN_{10}O_{10}$ (M+H) m/z 之計算值994.94，實測值994.80。

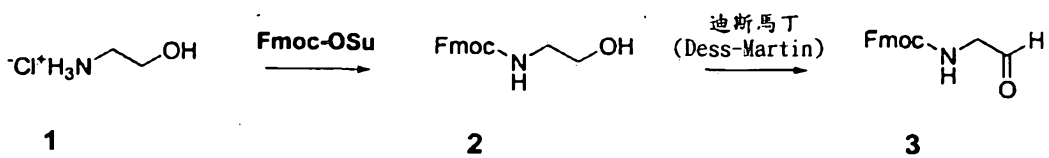
10 化合物(6). 於TFA鹽4(3.8毫克，3.2微莫耳)於DMF (1毫升)之溶液內添加化合物5 (3.3毫克，6.4微莫耳)及哌啶(10微升)，反應混合物於25°C於氮下攪拌30分鐘。去除溶劑，粗產物藉製備性HPLC純化，獲得化合物6 (3.4毫克，71%)。MS: $C_{67}H_{83}BrN_{12}O_{16}$ (M+H) m/z 之計算值1393.35，實測值1393.60。

實例11



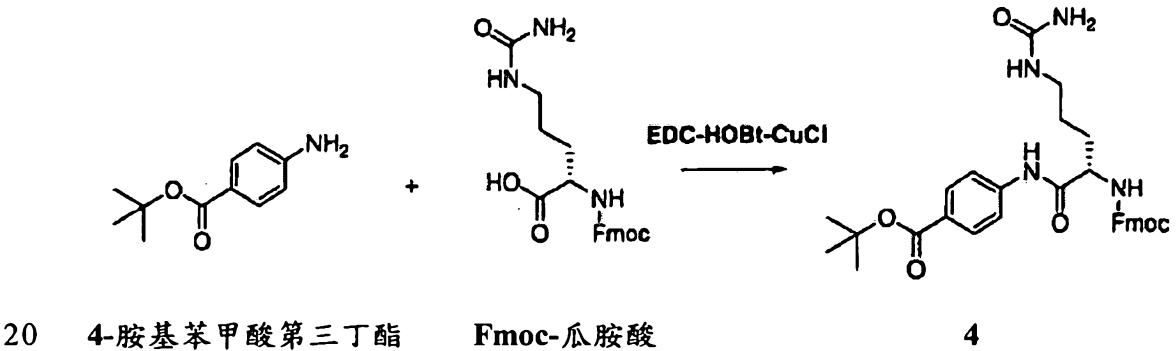
化合物A (0.033毫莫耳，2HBr鹽) (參考實例6化合物10) 與化合物B (45毫克，0.054毫莫耳)於2.5毫升DMF於HATU (20毫克，0.054毫莫耳)及TEA (15-20微升)存在下反應50分鐘。溶劑經蒸發去除，粗產物藉反相HPLC純化，獲得10毫克化合物C (21%產率)。MS:1405.6,1427.8及1444.6。

實例12



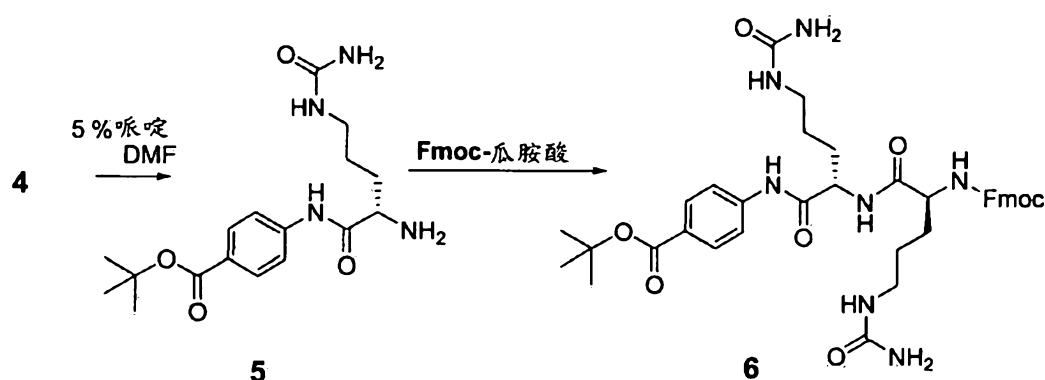
2之合成：1.44克(0.015莫耳) 2-氨基乙醇鹽酸鹽(1)，5.0克(0.018莫耳) Fmoc-丁二醯亞胺(2)溶解於圓底瓶中之20毫升乙腈及20毫升10%水性碳酸鉀溶液，於室溫攪拌30分鐘。反應以10%檸檬酸溶液淬熄及濃縮去除乙腈。水層以30毫升乙酸乙酯萃取三次，有機層以20毫升食鹽水洗兩次。雖然化合物夠純，但以矽氧凝膠使用2-5% MeOH於DCM純化，獲得2.5克化合物2，64%產率。

3之合成：1.3克(4.58毫莫耳)化合物2於圓底瓶內於50毫升二氯甲烷，於2.5克(5.6毫莫耳)迪斯馬丁試劑存在下攪拌2小時。粗產物反應混合物以矽氧凝膠純化，以20-50%乙酸乙酯洗提。獲得1.06克醛3，82%產率。MS⁺1= 281.8



4之合成：1.5克(3.77毫莫耳) Fmoc-瓜胺酸溶解於圓底瓶內之3毫升DMF，其中添加0.87克(4.5毫莫耳) EDC、0.61克(4.5毫莫耳) HOBt。然後加入6毫升DCM，接著添加0.88克(4.5毫莫耳) 4-胺基苯甲酸第三丁酯及催化量之氯化銅。

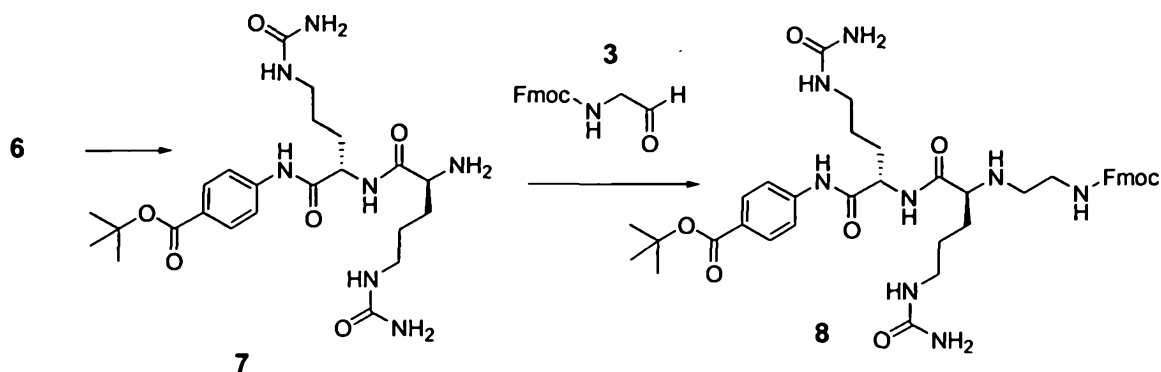
- 5 反應混合物攪拌隔夜。蒸發去除溶劑，粗產物於矽氧凝膠以5%至10% MeOH於DCM純化，獲得2克化合物4，92%產率。 $M^{+1}=574$



- 5及6之合成：205毫克(0.36毫莫耳)化合物4以3毫升2.5%吡啶於DMF溶液處理30分鐘。反應混合物濃縮至乾，以己烷類(20-30毫升)清洗兩次，然後以乙醚(20-30毫升)清洗兩次。自由態胺5於高度減壓下乾燥，未經任何進一步純化即於次一步驟反應。 $M^{+1}=352.2$

- 167毫克(0.42毫莫耳) Fmoc-瓜胺酸溶解於6毫升DMF。添加160毫克(0.42毫莫耳) HATU。如上製備之化合物5 (0.35毫莫耳)溶解於2毫升DMF，添加至前述溶液Fmoc-瓜胺酸及HATU。146微升(1.05毫莫耳)三乙基胺添加至反應混合物，讓其攪拌1.5小時。溶劑經蒸發去除，粗產物藉反相HPLC純化獲得199毫克化合物6，78%產率。 $M^{+1}=731.2$,

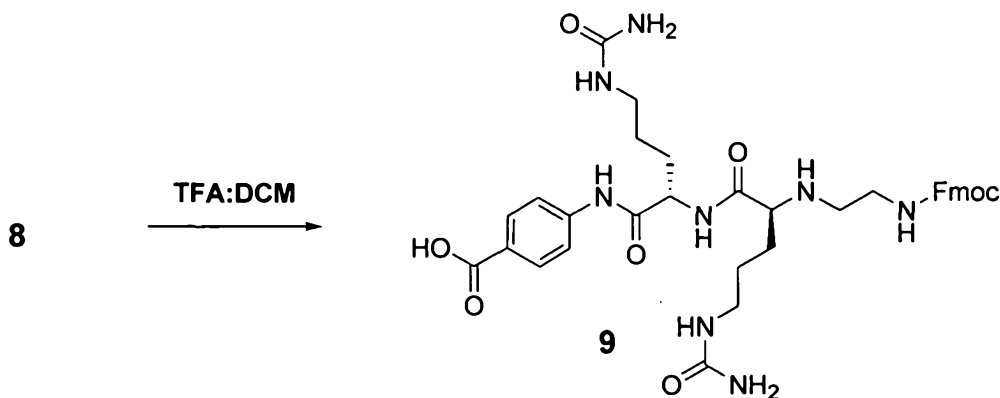
$M^{+Na} = 753.4$ 及 $M^{+K} = 769.0$ 。



7及8之合成：280毫克(0.38毫莫耳)化合物6於類似化合物5之合成之3毫升2.5%吡啶中脫保護獲得化合物7。

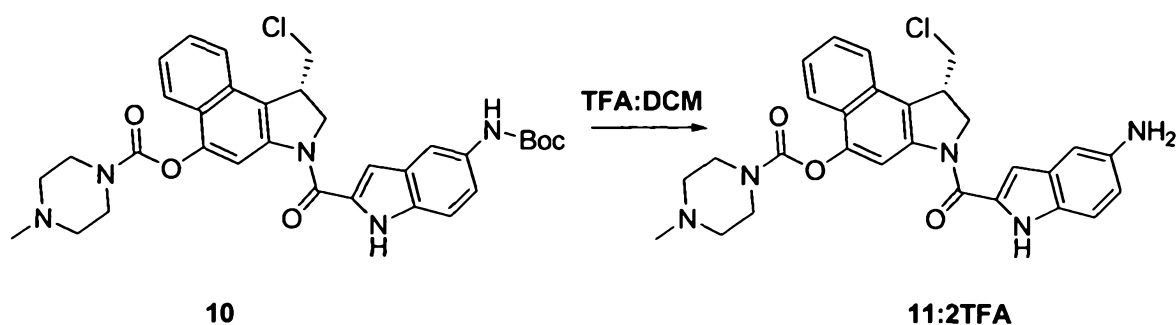
5 $M^{+1} = 509$

化合物8係使用如上製備之化合物7藉化合物3之還原胺化反應合成。0.38毫莫耳化合物7於圓底瓶內溶解於6毫升甲醇，以冰浴冷卻至 0°C ，接著添加250毫克(3.0毫莫耳)乙酸鈉。120毫克(0.43毫莫耳)化合物3添加至如上燒瓶內，所得反應混合物於 0°C 攪拌30分鐘。然後加入68毫克(1.0毫莫耳)氰基硼氫化鈉。讓反應混合物於冰浴溫度攪拌20分鐘，然後於室溫攪拌1小時。反應混合物經濃縮，藉反相HPLC純化，獲得150毫克期望產物8，51%產率。 $M^{+1} = 774.4$

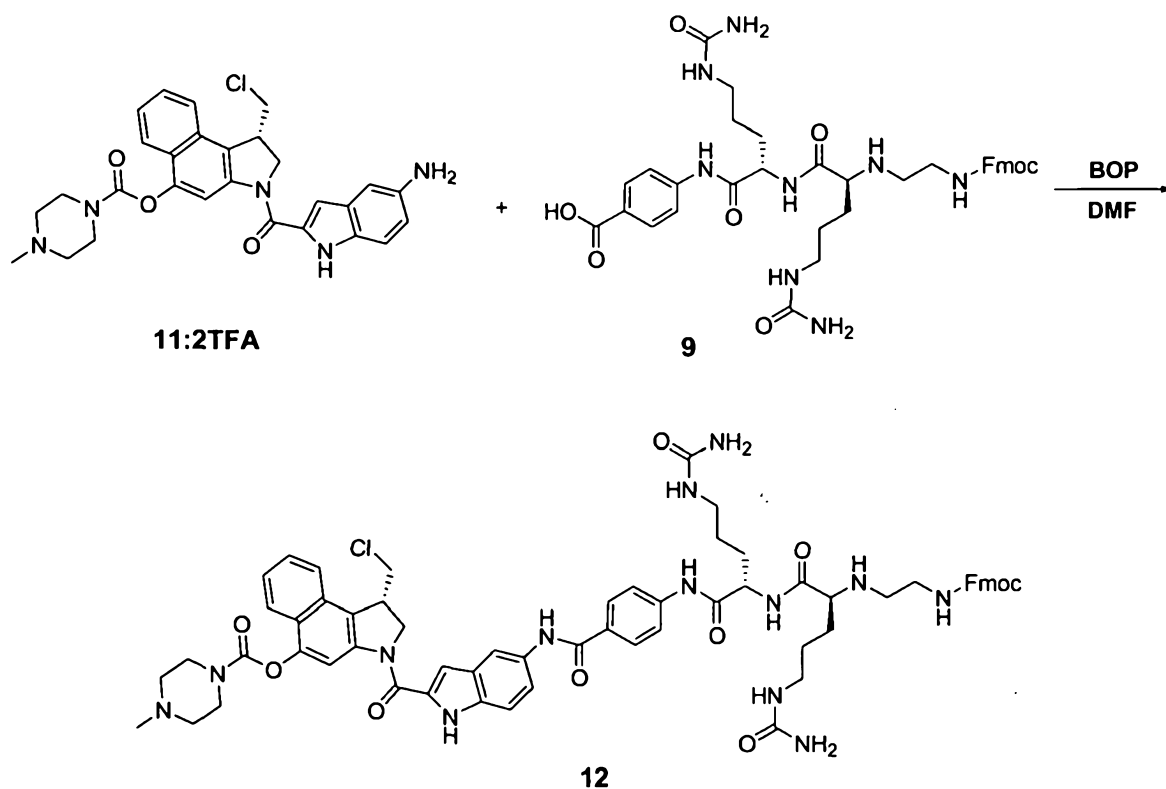


15 酸9之合成：33毫克(0.045毫莫耳) 8以3毫升DCM:TFA之2:1混合物處理25分鐘。蒸發去除溶劑，殘餘物以乙醚滴

定兩次，拋棄醚層。所得酸9於高度減壓下乾燥數小時且繼續進行次一步驟。 $M^{+1}=718$

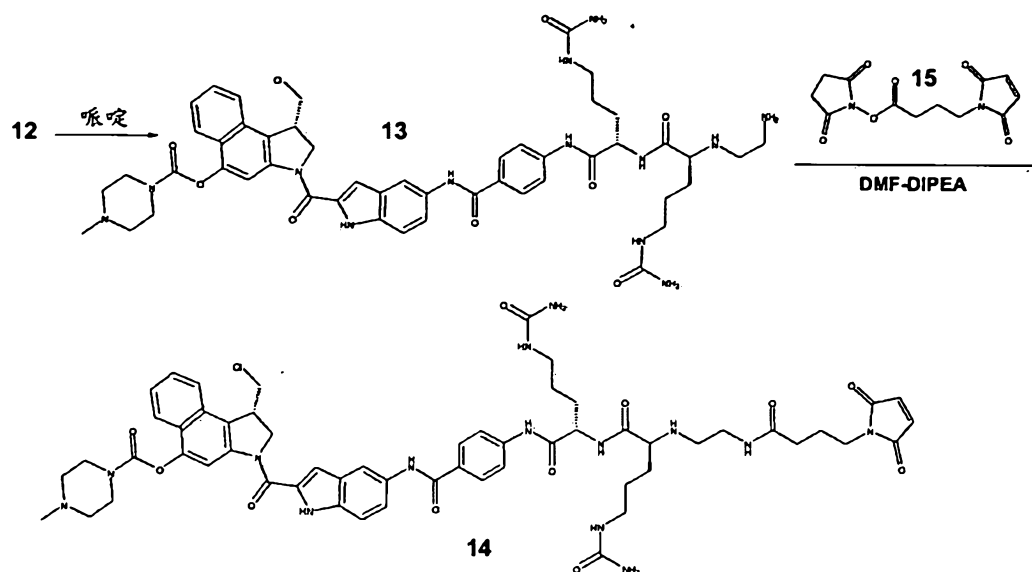


11之合成：20毫克(0.032毫莫耳)10以3毫升DCM:TFA
5 之2:1混合物處理5分鐘。蒸發去除溶劑，殘餘物以乙醚滴
定兩次，拋棄醚層。所得胺11之TFA鹽於高度減壓下乾燥數
小時且繼續進行次一步驟。 $M^{+1}=519$



12之合成：如上製備之胺11:2TFA溶解於3毫升DMF，
10 移具有含有酸9之燒瓶內，接著添加20毫克(0.045毫莫

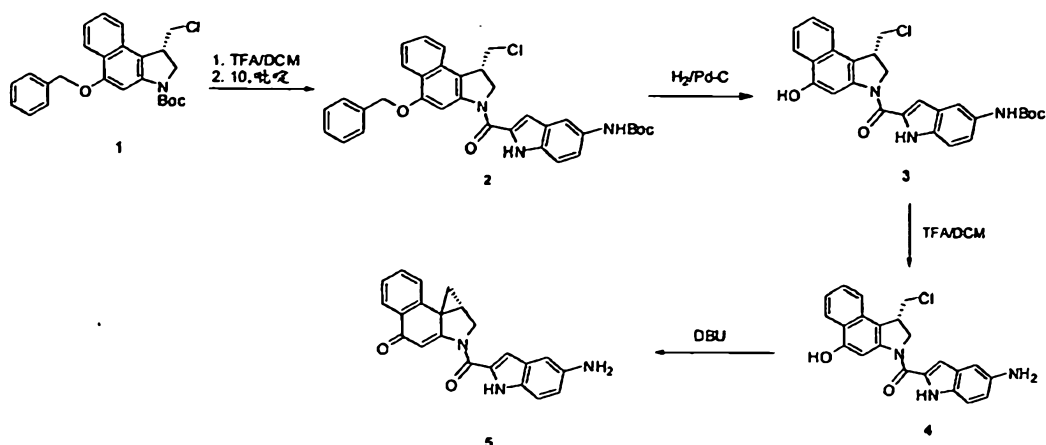
耳)BOP及100微升二異丙基胺，於室溫攪拌2小時。粗產物反應混合物藉反相HPLC濃縮及純化，獲得35毫克期望化合物12，89%產率。 $MS^{+1}=1217.6$, $m/2z = 609.2$



5 13及終化合物14之合成：35毫克(0.029毫莫耳)12以4毫升含100微升哌啶之DMF處理15分鐘。蒸發去除溶劑，所得胺13以10毫升己烷類滴定，接著以10毫升乙醚滴定(2次)，於高度減壓下乾燥，未經任何進一步純化即繼續進行次一步驟。 $M^{+1}=996.0$, $m/2z=498$

10 0.029毫莫耳如上製備之13溶解於2毫升DMF，接著添加17毫克(0.06毫莫耳)市售15及32微升二異丙基胺。所得反應混合物於室溫攪拌1小時。溶劑經蒸發去除，粗產物使用乙腈及水含0.1% TFA，藉反相HPLC純化，獲得21毫克化合物14 (MED-2500)呈其TFA鹽，52%產率。 $MS:M^{+1}=1159.47$,
15 $m/2z=580.2$

實例13



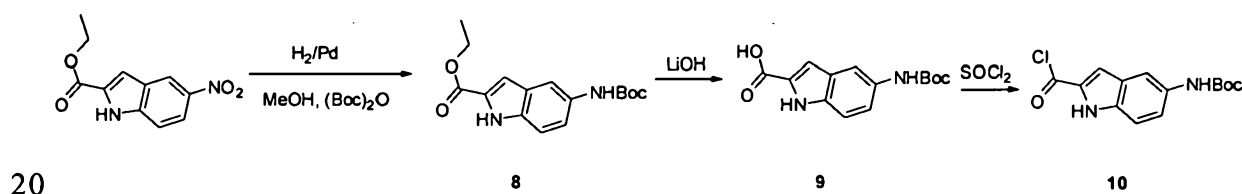
化合物2之合成：化合物1 (350毫克，0.82毫莫耳)於二氯甲烷(3毫升)之溶液內添加TFA (6毫升)。所得溶液攪拌20分鐘。溶劑於減壓下與甲苯共同蒸發(兩次)。殘餘物未經進一步純化即用於次一步驟。於此Boc經過脫保護材料(0.82毫莫耳)於二氯甲烷(8毫升)之溶液內，於0℃添加吡啶(2毫升)及化合物10 (0.98毫莫耳，參見下文)。如此所得混合物於0℃攪拌1小時。蒸發去除溶劑，殘餘物於矽氧凝膠藉急速層析術純化且使用5%甲醇於二氯甲烷洗提，獲得化合物2，呈白色泡沫體(417毫克，90%)。¹H NMR (CD₃OD) δ 1.55 (s, 9H), 3.46 (t, 1H), 3.90 (dd, 1H), 4.15 (t, 1H), 4.65 (t, 1H), 4.8 (d, 1H), 5.27 (m, 2H), 6.55 (bs, 1H), 7.03 (d, 1H), 7.18 (dd, 1H), 7.34-7.41 (m, 5H), 7.43-7.56 (m, 3H), 7.70 (d, 1H), 7.85 (bs, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.34 (d, 2H), 9.65 (bs, 1H); LC-MS (ES⁺) 582 (M+H)⁺; 604 (M+Na)⁺。

化合物3之合成：化合物2 (315毫克，0.6毫莫耳)及鈀/炭(100毫克)於甲醇/二氯甲烷(6毫升)之溶液於室溫置於大氣壓之氫氣下。如此所得混合物於室溫攪拌隔夜。過濾去除鈀，反應混合物濃縮至乾，獲得化合物3，呈白色泡沫體

(175毫克, 66%)。¹H NMR (CD₃OD) δ 1.52 (s, 9H), 3.46 (t, 1H), 3.90 (dd, 1H), 4.00 (t, 1H), 4.50-4.60 (m, 2H), 6.98 (s, 1H), 7.20 (d, 1H), 7.30-7.45 (m, 4H), 7.60 (d, 1H), 7.70 (d, 1H), 7.85 (bs, 1H), 8.20 (d, 1H); LC-MS (ES⁺) 436 (M+H-56)⁺; 493 (M+H)⁺。

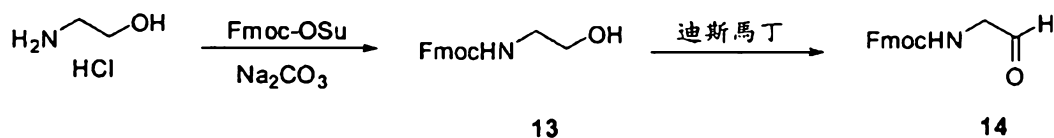
化合物4之合成：於化合物3 (350毫克)於二氯甲烷(3毫升)之溶液內添加TFA (3毫升)。所得溶液攪拌20分鐘。於減壓下與甲苯(兩次)共同蒸發去除溶劑獲得化合物4。該固體未經進一步純化即用於次一步驟。

化合物5之合成：於化合物4 (300毫克, 0.59毫莫耳)於乙腈(10毫升)之懸浮液內添加DBU(440微升, 2.96毫莫耳)。所得溶液攪拌30分鐘。於減壓下蒸發去除溶劑。反應混合物溶解於二氯甲烷(50毫升), 以飽和碳酸氫鈉洗滌。有機層以食鹽水洗滌, 以無水硫酸鈉脫水, 過濾及於減壓下濃縮, 獲得化合物5, 呈黃色固體(200毫克, 90%)。¹H NMR (CD₃OD) δ 3.55 (m, 1H), 3.75 (m, 2H), 4.45 (m, 2H), 5.49 (s, 1H), 6.85 (dd, 1H), 6.97-7.01 (m, 2H), 7.15 (d, 1H), 7.25 (d, 1H), 7.40 (t, 1H), 7.60 (t, 1H), 8.10 (d, 1H); LC-MS (ES⁺) 356 (M+H)⁺; 379 (M+Na)⁺; 394 (M+K)⁺。



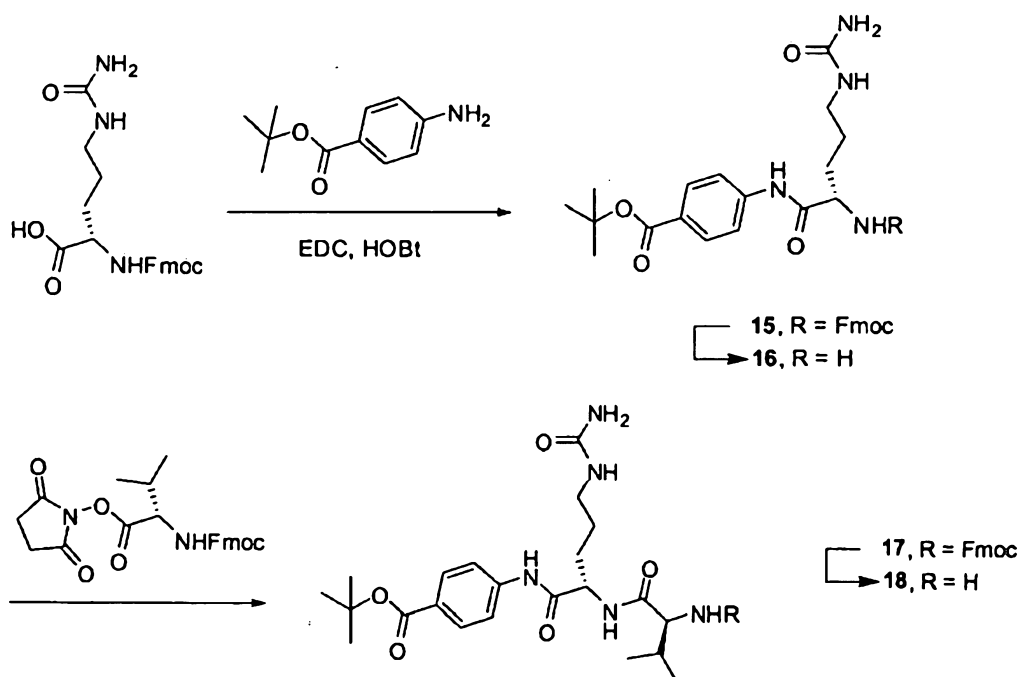
化合物10之合成：於5-硝基吲哚-2-羧酸乙酯(阿果斯公司(Acros), 10克, 42.7毫莫耳), 二碳酸二第三丁酯(10.24

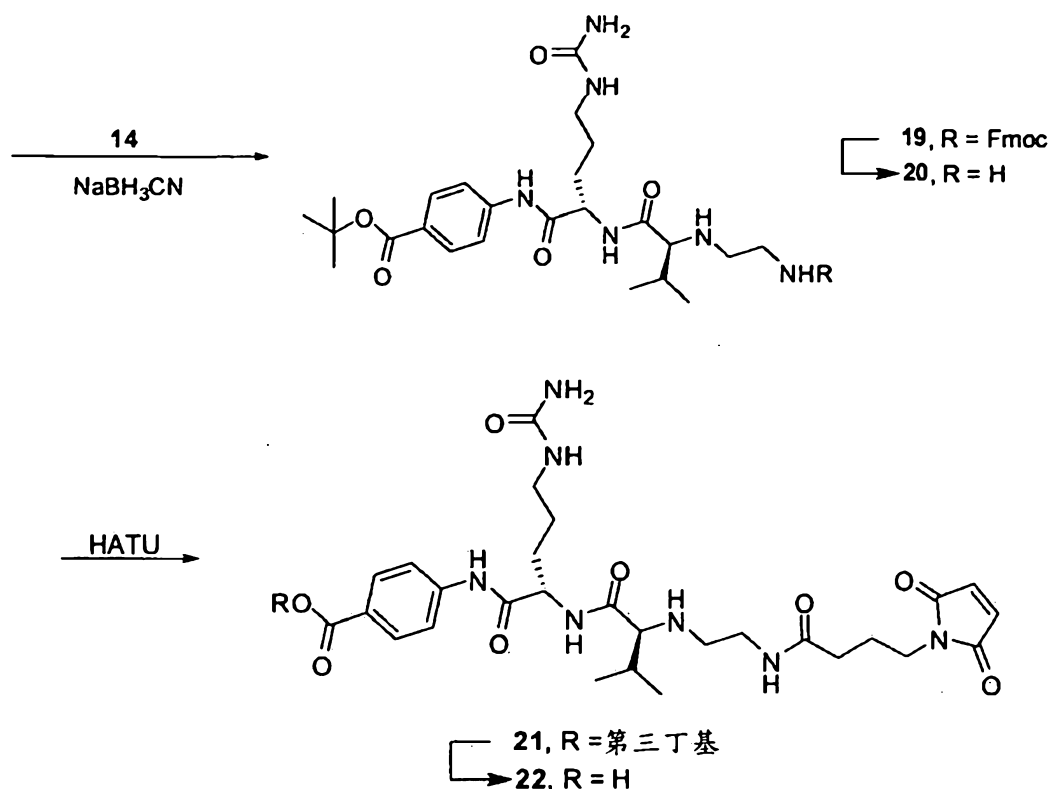
克，46.97毫莫耳)於無水甲醇(阿果斯，100毫升)之懸浮液內添加鈹(亞利敘公司(Aldrich)，10%於活性碳上，400毫克)。反應混合物於室溫於氫氣氣氛下攪拌3小時。當氫氣不再被消耗時反應完成。反應混合物經過濾，濾液經濃縮及於高度減壓下乾燥，獲得黃色殘餘物8無需經過進一步純化。於黃色殘餘物8於甲醇(150毫升)之溶液內，添加氫氧化鋰於水溶液(150毫升，0.57M)。反應混合物於60°C加熱隔夜。基於HPLC分析完成水解。反應混合物以水(300毫升)稀釋，於高度減壓下濃縮去除甲醇。所得溶液以EtOAc (2 x 150毫升)萃取。水層藉加入KHSO₄溶液至pH=4。所得混合物再度以EtOAc (3 x 150毫升)萃取。有機層經組合，以無水硫酸鎂脫水及於減壓下濃縮，獲得褐色固體9(9.7克，82%)。化合物9未經進一步純化即用於次一步驟。於化合物9 (2.16克，7.84毫莫耳)於無水DCM (阿果斯，60毫升)及1-甲基-2-吡咯啉酮(福卡公司(Fluka)，5.03毫升，52.32毫莫耳)之溶液內添加SOCl₂ (亞利敘公司，1.9毫升，26.16毫莫耳)。反應混合物於0°C攪拌0.5小時及於室溫攪拌0.5小時。反應混合物經濃縮及於高度減壓下乾燥隔夜獲得10。小量10以甲醇及三乙基胺處理來形成甲酯，其用於HPLC分析來檢查乙醯氯之形成完全。



化合物14之合成：於2-氨基乙醇鹽酸鹽(亞利敘公司，5克，51.25毫莫耳)於乙腈(80毫升)及碳酸鈉(亞利敘公司，

10%，80 毫升)之懸浮液內，添加 Fmoc-OSu (巴坎公司 (BaChem)，17.28 克，51.25 毫莫耳)。反應混合物於室溫攪拌 2 小時，HPLC 分析顯示反應完成。反應混合物以水(500 毫升)稀釋，藉過濾收集粗產物。固體溶解於 EtOAc (500 毫
 5 升)，所得有機層以鹽酸溶液(1%，2x150 毫升)、飽和碳酸氫鈉溶液(2x150 毫升)及食鹽水(1x150 毫升)洗滌。有機層經濃縮獲得白色固體 13 (13.9 克，95%)，未經進一步純化即用於次一步驟。於化合物 13 (13.9 克，49.12 毫莫耳)於無水 DCM (阿果斯，150 毫升)之溶液內，添加迪斯馬丁過碘烷(27.08
 10 克，63.85 毫莫耳)。反應混合物於室溫攪拌 4 小時。HPLC 顯示反應完成。反應混合物載荷至急速管柱層析上且使用 10-50%EtOAc 於己烷純化，獲得白色固體 14(12.1 克)。



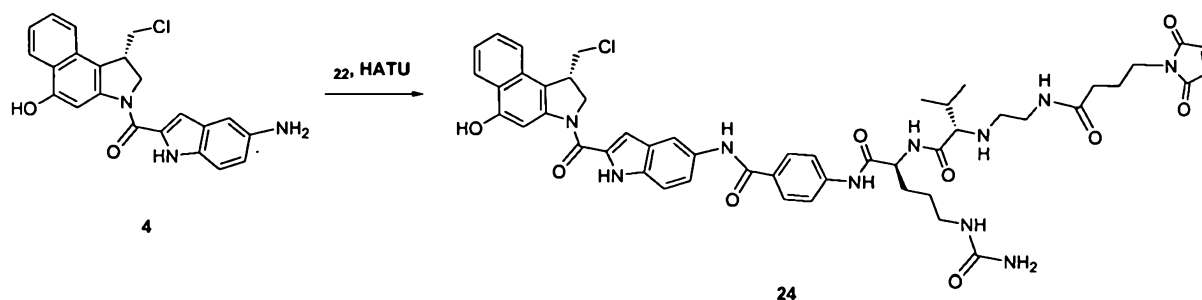
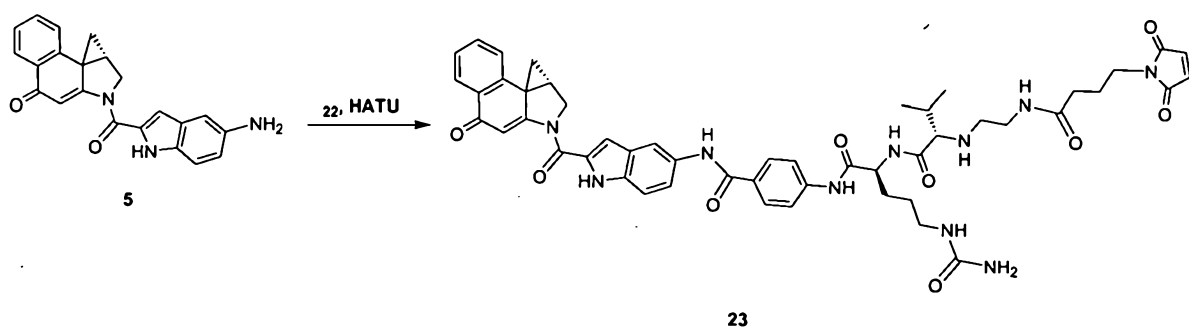


化合物22之合成：於N α -Fmoc-L-瓜胺酸(福卡公司，10克，25.16毫莫耳)，4-胺基苯甲酸第三丁酯(福卡公司，5.84克，30.2毫莫耳)，N-(3-二甲基胺基丙基)-N'-乙基甲二醯亞胺鹽酸鹽(福卡公司，5.79克，30.2毫莫耳)，1-羥基苯并三唑(坎英派公司(Chem-Impex)，4.08克，30.2毫莫耳)於無水DMF(阿果斯，100毫升)之溶液內，添加CuCl₂(亞利敘，4.05克，30.2毫莫耳)。反應混合物於室溫攪拌隔夜。HPLC分析顯示反應完成。反應混合物經濃縮及使用乙酸乙酯及水後續處理。有機層以食鹽水洗滌及濃縮，獲得褐色殘餘物15呈粗產物。於前述粗產物15於無水DMF(阿果斯，140毫升)之溶液內，添加哌啶(亞利敘，7毫升)。反應混合物於室溫攪拌15分鐘。HPLC分析顯示反應完成。反應混合物經濃縮，殘餘物於120克康比富萊西(CombiFlash)管柱以0-20%

甲醇於DCM純化。期望產物於14%甲醇於DCM洗提。期望
產物之洗提分經組合及於高度減壓下濃縮，獲得褐色固體
16(7.34克，83.3%)。於16(6.6克，18.86毫莫耳)於無水DMF
(阿果斯，100毫升)及1-甲基-2-吡咯啉酮(福卡，25毫升，
5 188.6毫莫耳)之溶液內，添加Fmoc-Val-OSu (巴坎，8.23克，
18.89毫莫耳)。反應混合物於室溫攪拌2小時。HPLC分析顯
示反應完成。於反應混合物內添加哌啶(亞利敘，7毫升)。
反應混合物於室溫攪拌0.5小時。HPLC分析顯示Fmoc保護
基完全去除。反應混合物經濃縮，殘餘物於120克康比富萊
10 西管柱以0-20%甲醇於DCM純化。期望產物之洗提分經組
合及於高度減壓下濃縮，獲得黃色固體18 (7.4克，87%)。
於18 (7.4克，16.48毫莫耳)及14 (4.63克，16.48毫莫耳)於無
水甲醇(亞利敘，175毫莫耳)之溶液內，添加乙酸鈉(亞利
敘，20克)。反應混合物於0°C攪拌1.5小時。於此反應混合
15 物內添加NaBH₃CN(亞利敘，1.55克，24.72毫莫耳)。反應
混合物於室溫攪拌隔夜。HPLC分析顯示反應完成。反應混
合物經濃縮，然後使用乙酸乙酯及水後續處理。有機層經
組合，以食鹽水洗滌及濃縮。殘餘物於120克康比富萊西管
柱以0-10%甲醇於DCM純化。組合期望產物之洗提分且於
20 高度減壓下濃縮，獲得褐色固體19 (7.1克，60%)。

於19 (6.7克，9.38毫莫耳)於無水DMF (阿果斯，120毫
升)之溶液內，添加哌啶(亞利敘，6毫升)。反應混合物於室
溫攪拌0.5小時。HPLC分析顯示反應完成。反應混合物經
濃縮，殘餘物以乙腈及水凍乾，未經純化獲得黃色固體20。

於化合物20 (假設8.40毫莫耳)，蘋果鹽亞胺基丁酸(亞
 利敘，1.85克，10.08毫莫耳)，O-(7-吡啶并三唑-1-基)-
 N,N,N',N'-四甲基脲鎘(亞利敘，3.83克，10.08毫莫耳)於無
 水DMF (阿果斯，50毫升)之溶液內，添加N,N-二異丙基乙
 5 基胺(亞利敘)來調整反應混合物之pH超過8。反應混合物於
 室溫攪拌0.5小時。HPLC分析顯示反應完成。反應混合物
 經濃縮，殘餘物於120克康比富萊西管柱以10-20%甲醇於
 DCM純化。期望產物於14-16%甲醇於DCM洗提。期望產物
 之洗提分經組合及於高度減壓下濃縮，獲得白色固體21
 10 (4.7克，85%)。於21 (4.7克，7.17毫莫耳)於無水DCM (阿果
 斯，30毫升)之溶液內，添加TFA (費雪公司(Fisher)，30毫
 升)。反應混合物於室溫攪拌0.5小時。HPLC分析顯示反應
 完成。反應混合物經濃縮，以乙腈及水凍乾獲得白色固體
 22 (4.9克，TFA鹽)。



15

化合物**24**之合成：於22(50毫克，0.083毫莫耳)於無水DMF (阿果斯，1毫升)之溶液內，添加O-(7-吡啶基三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎧(亞利敘，28.4毫克，0.075毫莫耳)。藉添加DIEA (亞利敘)將反應混合物之pH調整至超過8。反應混合物於室溫攪拌0.5小時，HPLC分析顯示反應完成。添加4 (68.2毫克，0.14毫莫耳)，反應混合物之pH值再度藉添加DIEA調整至超過8。反應混合物於室溫攪拌0.5小時，HPLC分析顯示偶合反應完成。反應混合物於高度減壓下濃縮，殘餘物與PBS緩衝液(媒體科技公司(Mediatech, Inc)，pH=7.4，10毫升)共同攪拌0.5小時。懸浮液經過濾，收集之固體溶解於甲醇。所得溶液使用矽氧凝膠濃縮，料漿於4克康比富萊西管柱上以10-20%甲醇於DCM純化。正確洗提分經濃縮及於乙腈及水凍乾，獲得白色粉末化合物**24** (45毫克，45%)。¹H NMR (CD₃OD) δ 1.10 (d, 3H), 1.15 (d, 3H), 1.62 (m, 2H), 1.89-1.94 (m, 4H), 2.25 (m, 3H), 3.80 (m, 2H), 3.50 (t, 2H), 3.60 (m, 3H), 3.84 (d, 1H), 4.00 (dd, 1H), 4.20 (m, 1H), 4.65 (m, 1H), 4.72 (m, 2H), 6.83 (s, 2H), 7.18 (s, 1H), 7.37 (t, 2H), 7.50 (m, 3H), 7.75-7.81 (m, 3H), 7.97 (d, 2H), 8.06 (s, 1H), 8.20 (d, 1H), 8.83 (d, 1H); LC-MS (ES⁺) 976 (M+H)⁺, 999 (M+Na)⁺。

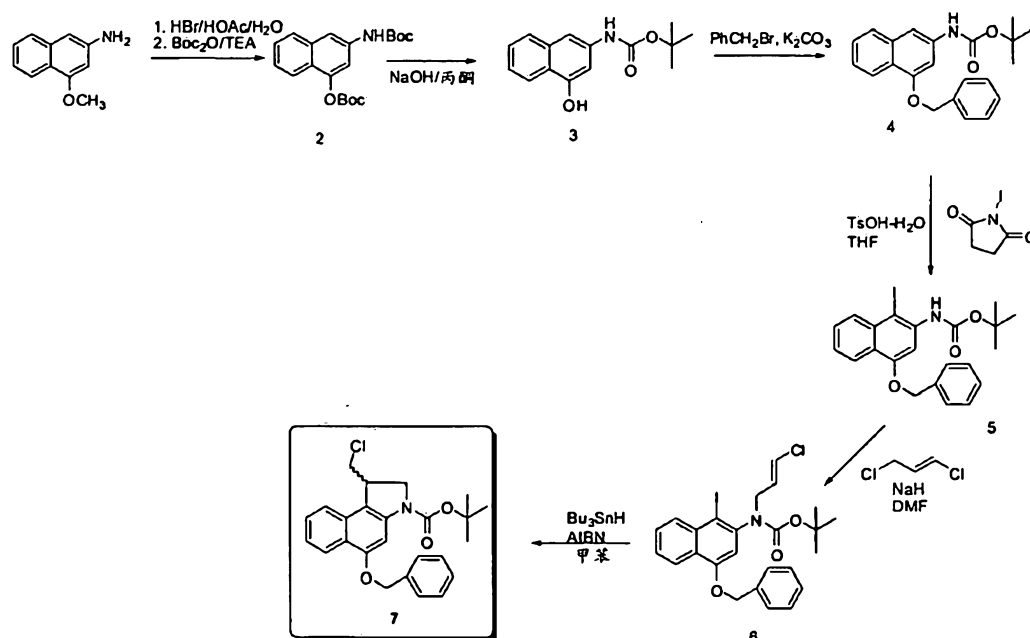
化合物**23**之合成：於22(500毫克，0.7毫莫耳)於DMF (6毫升)之溶液內，於室溫添加二異丙基乙基胺(250微升，1.4毫莫耳)及HATU (279毫克，0.73毫莫耳)。如此所得混合物攪拌30分鐘。蒸發去除溶劑，殘餘物於矽氧凝膠上藉急速

層析術純化，以15%甲醇於二氯甲烷洗提，獲得期望化合物。此固體(81毫克)於室溫徐緩添加至5(40毫克，0.11毫莫耳)於20% 1-甲基-2-吡咯啉酮於二氯甲烷(2毫升)之溶液。如此所得混合物攪拌2小時。期望化合物藉添加6毫升二氯甲

5 烷沉澱。黃色固體經過濾，乾燥，未經進一步純化即用於次一步驟(86毫克，82%)。否則殘餘物藉半製備性HPLC純化(20 M 甲酸銨緩衝溶液，pH=7及乙腈)，獲得化合物23呈白色固體。¹H NMR (CD₃OD) δ 1.02 (d, 6H), 1.62 (m, 2H), 1.70 (t, 1H), 1.75-1.95 (m, 5H), 2.05 (m, 1H), 2.25 (t, 3H),

10 3.80 (m, 2H), 3.10-3.30 (m, 4H), 3.35 (m, 2H), 3.55 (t, 2H), 4.55 (2s, 1H), 4.60-4.70 (m, 2H), 6.77 (s, 2H), 7.07 (s, 1H), 7.15-7.20 (m, 2H), 7.40-7.50 (m, 3H), 7.60 (m, 1H), 7.75 (d, 2H), 7.95 (d, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.15 (d, 1H); LC-MS (ES⁺) 940 (M+H)⁺, 962 (M+Na)⁺。

15 實例14：



化合物3之合成：4-甲氧基-2-萘基胺(230毫克，1.33毫莫耳)於冰醋酸(9.6毫升)及氫溴酸於水(16毫升，48%)之溶液於氮下回流4小時。小量試樣(0.1毫升)以乙酸乙酯(0.5毫升)稀釋，然後加水(0.5毫升)及三乙基胺(0.1毫升)。有機層之TLC (20:1 DCM/甲醇)未顯示起始物料及顯示一個新的遠更低點($R_f=0.1$)。於減壓下去除溶劑，產物於高度減壓下乾燥，獲得中間物4-羥基-2-萘基胺，其未經進一步純化即用於次一步驟。於4-羥基-2-萘基胺於二噁咄(10毫升)之溶液內，添加TEA (1毫升)及二碳酸二第三丁酯(1.149克，5.27毫莫耳)。反應混合物於氮下回流4小時。TLC (4:1 己烷/乙酸乙酯)顯示不含起始物料及顯示一個較高點($R_f=0.55$)。反應混合物以乙酸乙酯(50毫升)稀釋，以水洗滌。水層以乙酸乙酯(2 x 50毫升)萃取，有機層經組合及以食鹽水洗滌。有機層以無水硫酸鈉脫水，過濾及於減壓下濃縮，獲得N-(第三丁氧羰基)-4-O-(第三丁氧羰基)-2-萘基胺(2，80%產率)呈油。於化合物2於丙酮(10毫升)之溶液內添加氫氧化鈉於水溶液(10毫升，1M)。反應混合物於室溫攪拌隔夜。TLC (4:1 己烷/乙酸乙酯)顯示不含起始物料及一個新的較低點。反應混合物以乙酸乙酯(50毫升)萃取，以水洗滌。水層以乙酸乙酯(2 x 50毫升)萃取，有機層以食鹽水洗滌，以無水硫酸鈉脫水及濃縮。殘餘物於10克矽氧凝膠管柱以10-20%乙酸乙酯於己烷純化，獲得化合物3 (181毫克，53%)呈油。

化合物4之合成：化合物3 (5克，19.3毫莫耳)於無水

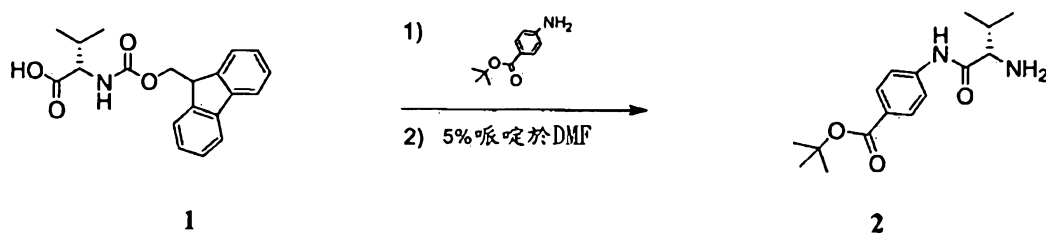
DMF (50毫升)之溶液於氮氣氣氛下以苺基溴(4克，23.1莫耳)，碳酸鉀(3.7克，27莫耳)及四丁基碘化銨(70毫克，0.01毫莫耳)處理。反應混合物於室溫攪拌8小時。反應混合物於減壓下濃縮。層析分離(4 x 10厘米 SiO₂，10-20% EtOAc-
 5 己烷梯度洗提)獲得純質化合物4 (5.48克，83%)呈乳酪色粉末。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz, ppm) 8.22 (d, 1H J=8.1 Hz, C5-H), 7.68 (d, 1H, J=8.2 Hz, C8-H), 7.3-7.5 (m, 8H, C1-H, C6-H, C7-H, CH₂C₆H₅), 7.06 (d, 1H, J=1.1 Hz, C3-H), 6.62 (br s, 1H, NH), 5.23 (s, 2H, OCH₂(C₆H₅), 1.55 (s, 9H,
 10 OC(CH₃)₃)。

化合物5之合成：於裝配有攪棒及橡皮隔膜之1000毫升圓底瓶內，組合化合物4 (13克，0.0372莫耳)及THF (300毫升)。澄清黃色溶液於氮氣氣氛下以乾冰浴冷卻至-20℃。添加對甲苺磺酸(0.10克，0.0005莫耳)至反應，反應攪拌10分
 15 鐘。N-碘丁二醯亞胺(10克，0.0446莫耳)溶解MTHF (50毫升)，藉套管添加至反應(約1小時)。溶液於冰浴冷卻2小時，轉成褐色。移開冰浴，讓其於氮氣下溫熱至室溫1.5小時。TLC (2:1己烷/DCM)顯示不起始物料及新的較高點。反應以飽和碳酸氫鈉(200毫升)淬熄，形成白色固體。溶液攪拌10
 20 分鐘後，添加EtOAc (200毫升)及水(100毫升)至反應。水層以EtOAc (2 x 100毫升)萃取，有機層經組合及以食鹽水(100毫升)萃取。有機層以硫酸鎂脫水，過濾及於減壓下濃縮成深紅褐色固體。固體藉管柱層析術純化，使用2:1己烷/DCM作洗提劑，獲得化合物5 (14克，79%)，呈褐色固體。

化合物6之合成：於裝配有攪棒及氮氣進氣口之250毫升圓底瓶內組合化合物5 (8.4克，0.0177莫耳)及無水DMF (125毫升)。黃褐色溶液於氮氣氣氛下以冰/鹽浴冷卻至0℃。一次添加NaH (60%，2.22克，0.0554莫耳)至反應。溶液轉混濁，形成氣體。反應於冰浴中攪拌15分鐘，然後移開冰浴，溶液又攪拌15分鐘。藉注射器添加順/反-1,3-二氯丙烯(5.3毫升，0.0571莫耳)至反應。反應於氮下於室溫攪拌3小時且轉成混濁褐色。TLC (4:1 己烷/EtOAc)顯示不含起始物料及新的較低點。反應以250毫升水淬熄。水層以乙酸乙酯(3 x 100毫升)萃取，有機層以食鹽水(2 x 50毫升)洗滌。有機層以硫酸鎂脫水，過濾及於減壓下濃縮成褐色油。產物藉管柱層析術純化，使用1:1 DCM/己烷作為洗提劑，獲得(E/Z-4-(苄氧基)-1-碘萘-2-基(3-氯丙烯基)胺基甲酸第三丁酯(6) (9克，93%)，呈黃色油。

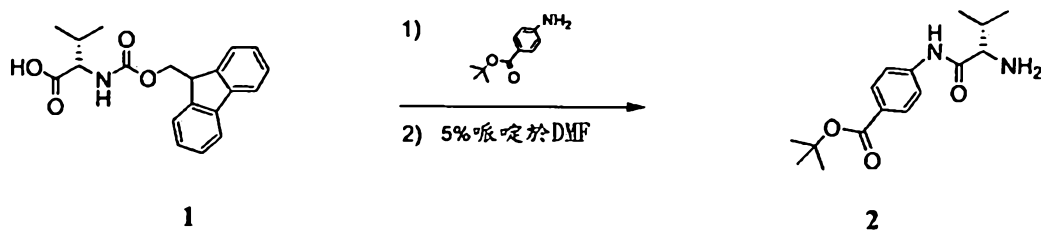
15 化合物7之合成：於裝配有攪棒、溫度探針、回流冷凝器及氮氣進氣口之500毫升三頸圓底瓶內，組合化合物6 (9克，0.0164莫耳)、甲苯(200毫升)、2,2'-偶氮貳(2-甲基丙腈)(0.15克，0.0009莫耳)及氫化三丁基錫(1.5毫升，0.0056莫耳)(藉注射器)組合。氮氣通過溶液15分鐘，然後反應於氮氣下加熱至80℃。於80℃加熱15分鐘後，藉注射器添加氫化三丁基錫(1.5毫升，0.0056莫耳)至反應。又加熱15分鐘後藉注射器添加氫化三丁基錫(1.5毫升，0.0056莫耳)至反應。又經15分鐘後藉注射器添加氫化三丁基錫(1.0毫升，0.0037莫耳)至反應。氫化三丁基錫之總添加量為5.5毫升、

0.0204莫耳。反應於80°C加熱30分鐘，然後讓其冷卻至室溫。TLC (10% EtOAc/己烷)未顯示起始物料及新的較高點。溶液於減壓下濃縮成黃色油。油藉管柱層析術純化，使用100%己烷至5%乙酸乙酯/己烷至10%乙酸乙酯/己烷作洗提劑，獲得淺黃色固體。固體由己烷再結晶(100毫升，45°C 30分鐘，於冰箱冷卻2小時，藉過濾收集，於減壓下乾燥)獲得化合物7 (4.16克，60%產率)呈白色固體。

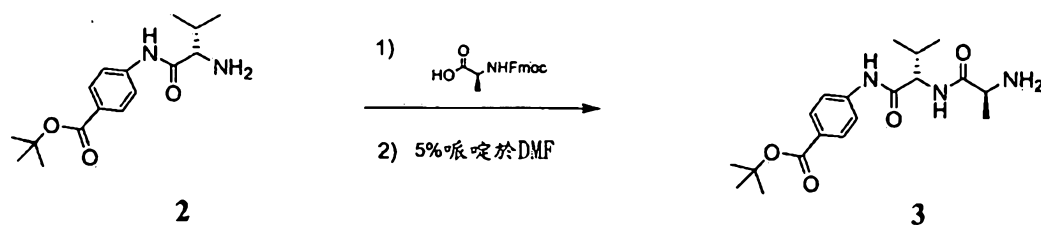


外消旋化合物7溶解於DCM (50毫克，1毫升)。然後溶液以己烷(9毫升)稀釋。然後溶液載荷至開羅賽爾OD製備管柱(10微米，20 x 250毫米)，使用己烷/異丙醇(99:1，15毫升/分鐘)分離。分析管柱(開羅賽爾OD，0.46 x 25厘米，20微米)獲得化合物1之滯留時間10.6分鐘(99:1己烷/IPA，1毫升/分鐘，15分鐘回合)。NMR(1H, CDCl₃, 400 MHz): d 1.61 (9H, s, C-(CH₃)₃); 3.44 (1H, t, J = 25 Hz, CH-CH₂-N); 3.9-4.0 (2H, m, Cl-CH₂-CH); 4.12 (1H, t, J = 26 Hz, CH-CH₂-N); 4.25 (1H, m, CH₂-CH-CH₂); 5.26 (2H, s, O-CH₂-C₆H₅); 7.2-7.5 (8H, m, O-CH₂-C₆H₅, C₁₀H₅); 7.63 (1H, d, J = 21 Hz, C₁₀H₅); 8.3 (1H, d, J = 21 Hz, C₁₀H₅)

實例15：

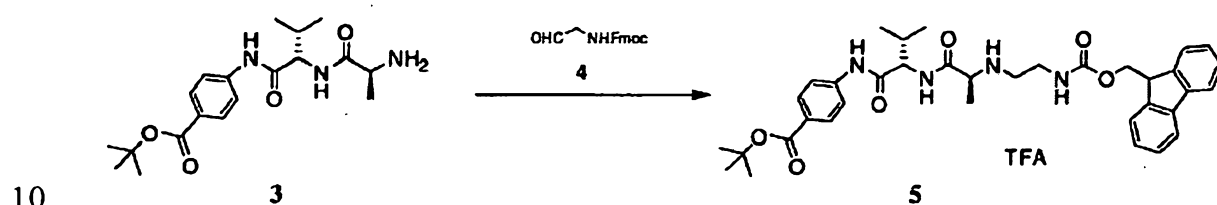


化合物2之合成：於Fmoc-Val-OH (200毫克，0.59毫莫耳)及4-胺基苯甲酸第三丁酯(114毫克，0.59毫莫耳)於5% DMF於DCM之溶液(5毫升)之溶液內，於室溫加入HATU (224毫克，0.59毫莫耳)，接著加入二異丙基乙基胺(410微升，2.36毫莫耳)。反應混合物攪拌30分鐘。蒸發去除溶劑，殘餘物於矽氧凝膠藉急速管柱層析術純化，以5%甲醇於二氯甲烷洗提。所得產物溶解於5%吡啶於DMF，於室溫攪拌10分鐘。於減壓下去除溶劑。粗產物藉半製備性HPLC純化，獲得化合物2 (149毫克，87%)。¹H NMR (DMSO-d₆) δ 8.2 (br, s, 1H), 7.91(d, 2H), 7.75 (d, 2H), 3.54 (m, 1H), 2.33 (m, 1H), 2.12 (br, 2H), 1.47 (s, 9H), 1.10 (m, 3H), 0.94 (m, 3H). C₁₆H₂₄N₂O₃ (MS: 292.18), 實測值M+1=293.31。



化合物3之合成：化合物2 (149毫克，0.51毫莫耳)，Fmoc-Ala-OH (159毫克，0.51毫莫耳)，HATU (194毫克，0.51毫莫耳)及二異丙基乙基胺(355微升，2.04毫莫耳)於5% DMF於DCM之溶液(4毫升)之溶液攪拌30分鐘。於減壓下蒸

發去除溶劑，殘餘物於矽氧凝膠藉急速管柱層析術純化，以5%甲醇於二氯甲烷洗提。所得產物直接接受Fmoc保護基之脫保護，脫保護係於室溫於5%哌啶於DMF進行10分鐘。於減壓下去除溶劑。粗產物藉半製備性HPLC純化，獲得化合物3 (146毫克，79%)。¹H NMR (DMSO-d₆) δ 8.2 (br, s, 1H), 8.09 (br, 1H), 7.91(d, 2H), 7.75 (d, 2H), 3.75 (m, 1H), 3.54 (m, 1H), 2.33 (m, 1H), 2.25 (br, 2H), 1.47 (s, 9H), 1.29 (d, 3H), 1.12 (m, 3H), 0.96 (m, 3H). C₁₉H₂₉N₃O₄ (MS: 363.22), 實測值M+1=264.01。



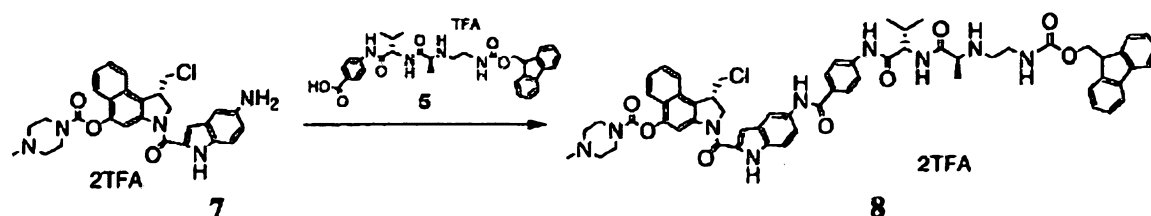
化合物5之合成：於化合物3 (146毫克，0.4毫莫耳)及乙酸鈉(98.4毫克，1.2毫莫耳)於無水甲醇(5毫升)之溶液內，於0-5°C添加化合物4 (135毫克，0.48毫莫耳)。反應混合物維持攪拌20分鐘。添加氰基硼氫化鈉(76毫克，1.2毫莫耳)至前述溶液。所得反應混合物又攪拌10分鐘，讓其溫熱至室溫1小時。然後反應溶液經濃縮，藉半製備性HPLC純化獲得化合物5 (230毫克，77%)。¹H NMR (DMSO-d₆) δ 8.2 (br, s, 1H), 8.09 (br, 1H), 7.91(d, 2H), 7.84 (d, 2H), 7.75 (d, 2H), 7.55 (d, 2H), 7.38 (m, 2H), 7.28 (m, 2H), 4.73 (d, 2H), 4.45 (m, 1H), 3.75 (m, 1H), 3.54 (m, 1H), 3.08 (t, 2H), 2.81 (t, 2H), 2.33 (m, 1H), 2.20-2.25 (br, 2H), 1.47 (s, 9H), 1.29 (d, 3H), 1.13 (m, 3H), 0.92 (m, 3H). C₃₆H₄₄N₄O₆ (MS:

15

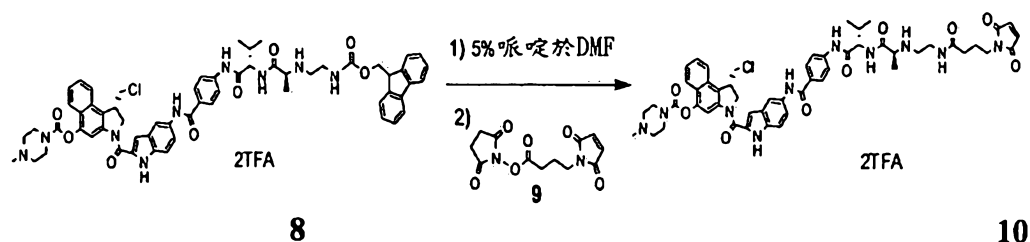
20

628.33), 實測值 $M+1=629.45$ 。

化合物5之合成：化合物5 (72毫克, 0.11毫莫耳)之溶液與TFA/DCM (1:2, 2毫升)組合15分鐘。溶劑藉於減壓下蒸發去除, 進一步於高度真空乾燥, 準備用於次一反應(76.8毫克, 98.4%)。¹H NMR (DMSO- d_6) δ 11.55 (br, s, 1H), 8.2 (br, s, 1H), 8.09 (br, 1H), 7.91(d, 2H), 7.84 (d, 2H), 7.75 (d, 2H), 7.55 (d, 2H), 7.38 (m, 2H), 7.28 (m, 2H), 4.73 (d, 2H), 4.45 (m, 1H), 3.75 (m, 1H), 3.54 (m, 1H), 3.08 (t, 2H), 2.81 (t, 2H), 2.33 (m, 1H), 2.20-2.25 (br, 2H), 1.29 (d, 3H), 1.11 (m, 3H), 0.95 (m, 3H). $C_{32}H_{36}N_4O_6$ (MS: 572.26), 實測值 $M+1=573.38$ 。

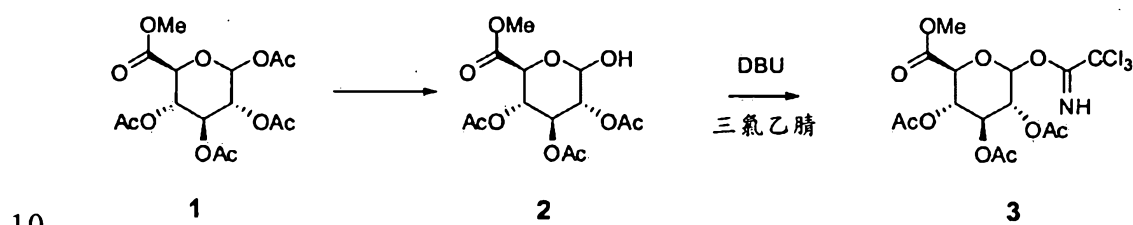


化合物8之合成：於化合物7 (25毫克, 0.033毫莫耳), 化合物5及HATU (13毫克, 0.033毫莫耳)於DMF (1.5毫升)之溶液內, 於室溫添加二異丙基乙基胺(23微升, 0.13毫莫耳)。反應混合物攪拌30分鐘。於減壓下去除溶劑。粗產物直接藉半製備性HPLC純化, 獲得化合物8 (33.3毫克, 76%)。 $C_{60}H_{62}ClN_9O_8$ (MS: 1077.44), 實測值 $M+1=1078.31$ 。



化合物10之合成：化合物8 (33毫克，0.025毫莫耳)使用5%哌啶於DMF (1毫升)於室溫脫保護10分鐘。反應混合物於減壓下濃縮，粗產物以醚(5毫升x 2)清洗，未經進一步純化。所得產物與化合物9 (11毫克，0.038毫莫耳)於二異丙基乙基胺(6.6微升，0.038毫莫耳)及DMF (1毫升)存在下反應3小時。反應混合物經濃縮及藉半製備性HPLC純化，獲得化合物10 (24毫克，75%)。C₅₃H₅₉ClN₁₀O₉ (MS: 1014.42)，實測值M+1=1015.02。

實例16：

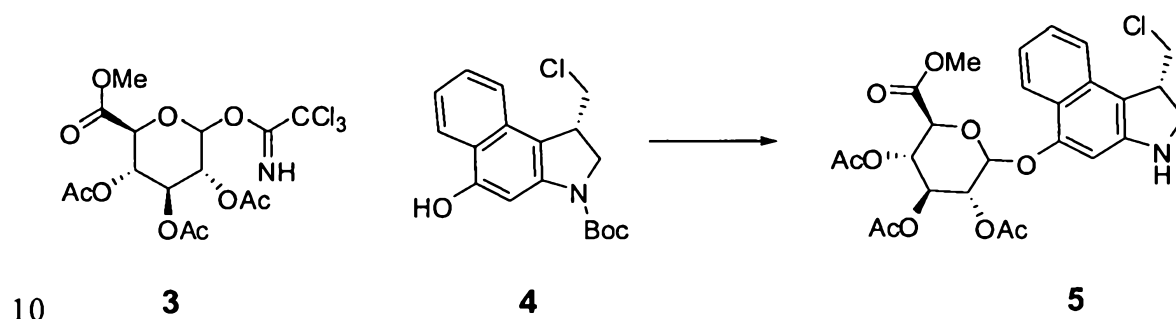


化合物2之合成：1克(2.66毫莫耳)1,2,3,4-四-O-乙醯基-β-D-葡萄糖醛酸甲酯化合物(1)於圓底瓶內溶解於1毫升DMF及4毫升THF。400微升苄基胺添加至燒瓶內，反應混合物攪拌隔夜。溶劑經蒸發去除，產物以矽氧凝膠使用10%至50%乙酸乙酯於己烷類純化。獲得600毫克化合物(2)呈淺綠色油。67%產率。NMR: H1 NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ7.5 (d, 1H), δ5.3 (m, 1H), δ5.28(m, 1H), δ4.9 (t, 1H), δ4.74 (m, 1H), δ4.38 (d, 1H), δ3.6(s, 3H), δ1.99-1.96 (3s, 9H)

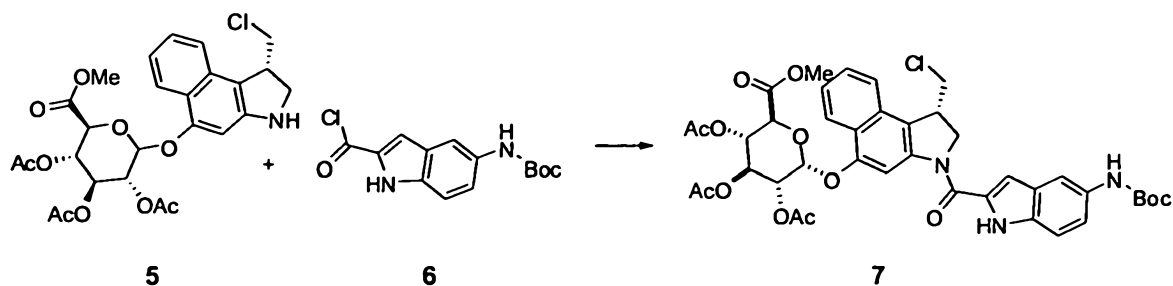
化合物3之合成：600毫克(1.79毫莫耳)化合物(2)溶解於圓底瓶之無水二氯甲烷。添加66.5微升(0.45毫莫耳)DBU，接著添加1.26毫升(12.7毫莫耳)三氯乙腈。讓反應混合物攪拌1-2小時。使用鉬代磷酸染色劑藉TLC監視反應。反應完

成後蒸發去除溶劑，產物以矽氧凝膠純化。矽氧凝膠管柱內填充0.1%TEA於己烷類。產物以5%至50%乙酸乙酯於己烷類洗提獲得600毫克(70%產率)化合物(3)。 $M^{+1} = 477.0$
 $M^{+[Na]} = 499.0$. H1 NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 10.08 (s, 1H), δ 6.48 (寬, 1H), δ 5.43 (t, 1H), δ 5.20 (m, 2H), δ 4.32 (d, 1H), δ 3.63 (s, 3H, Me), δ 1.98-1.96 (9H, 3 x AcO)。

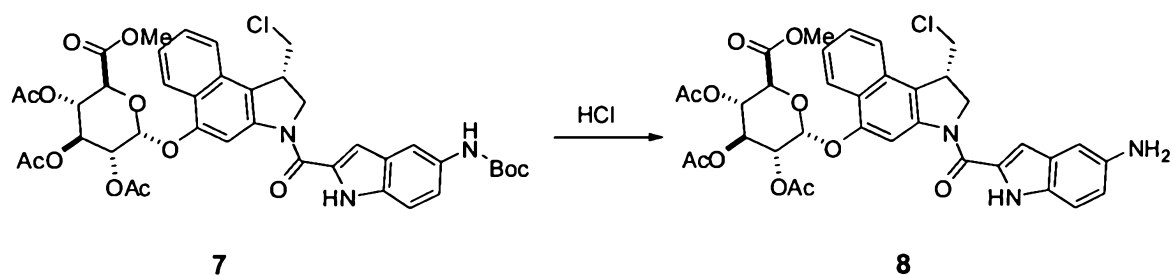
C13 NMR (100 MHz, DMSO- d_6): δ 170.2, 170.1, 169.8, 167.4, 158.2, 92.3, 90.5, 70.5, 69.5, 68.9, 53.48, 21.0, 20.8, 20.8,



化合物5之合成：344毫克(0.72毫莫耳)化合物3及200毫克(0.6毫莫耳)化合物4溶解於含無水分子篩之圓底瓶之無水DCM。燒瓶置於-10℃之氯化鈉/冰浴上。於-10℃添加30微升(0.24毫莫耳)醚酸硼三氟乙酯至該反應混合物。讓溫度徐緩升高至-5℃，於此溫度攪拌1小時，然後於0℃攪拌半小時。於0℃添加3當量226微升(1.8毫莫耳)三氟醚酸硼，讓溫度升高至室溫。持續攪拌2小時。蒸發去除溶劑，產物藉反相HPLC純化，獲得250毫克(0.45毫莫耳)化合物(5)(75%產率，以化合物4為基準)。 $M^{+1}=550.0$

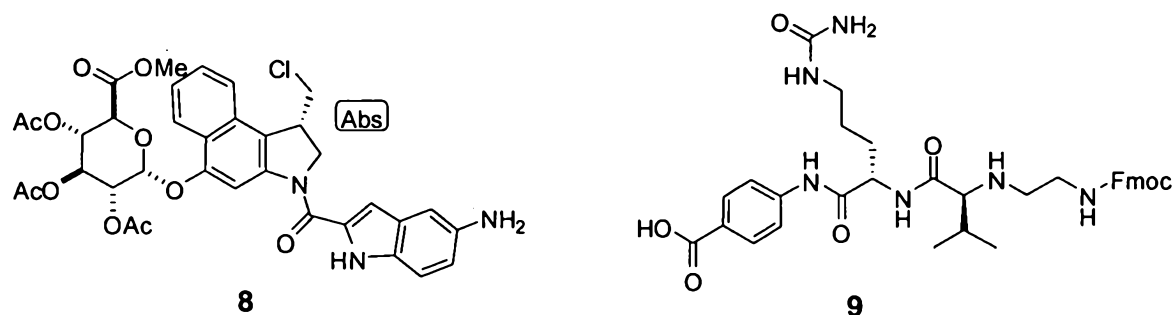


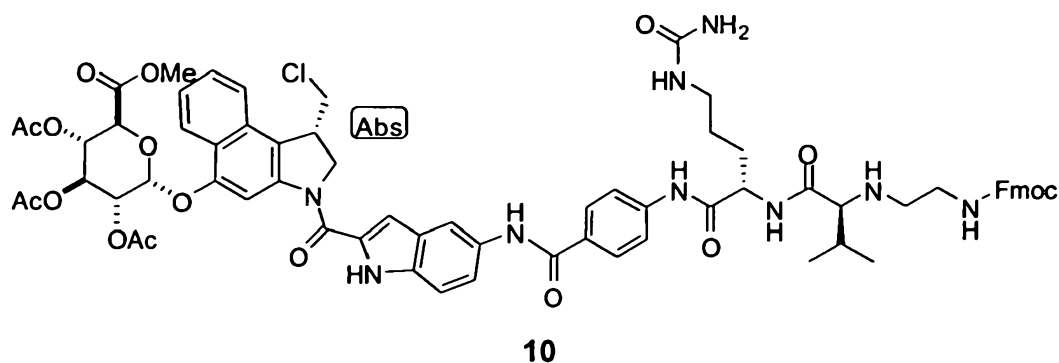
化合物7之合成：於20毫克(0.07毫莫耳)化合物6於2毫升無水DCM之溶液內，於0℃添加32毫克(0.048毫莫耳)化合物5於2毫升無水DCM之溶液，接著於0℃添加400微升吡啶。反應混合物於此溫度攪拌15分鐘。產物藉反相HPLC純化，獲得33毫克化合物7 (84%產率)。M⁺=808及M⁺[Na]=830



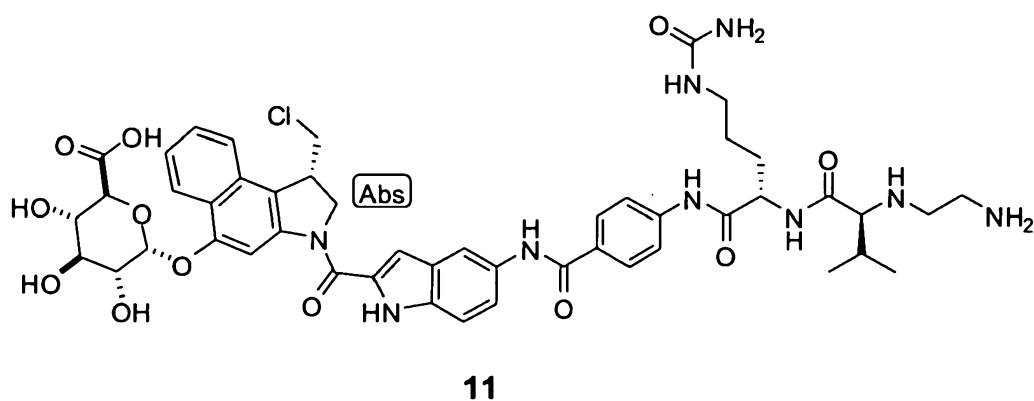
化合物8之合成：化合物8係使用4莫耳濃度鹽酸溶液於二噁呋製備成其鹽酸鹽，或使用33% TFA溶液於DCM製備成其TFA鹽。藉HPLC監視反應至反應完成。蒸發去除溶劑，產物於高度真空下乾燥隔夜且就此用於次一步驟。

M⁺=708.2



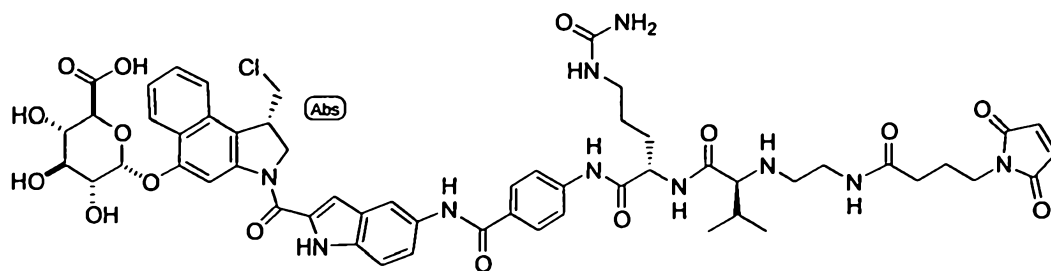


- 化合物**10**之合成：31毫克(0.04毫莫耳)化合物9於2毫升DMF於圓底瓶內使用15.5毫克(0.04毫莫耳) HATU及DIPEA (足量確保pH為7.0，21微升，0.12毫莫耳)預先鈍化20分鐘。
- 5 然後30毫克(0.036毫莫耳)化合物8之TFA鹽於1毫升DMF之溶液添加至如上燒瓶內，接著添加14微升(0.08毫莫耳)DIPEA。讓反應混合物攪拌3小時，接著蒸發去除溶劑，藉反相HPLC純化，獲得31毫克期望化合物**10**之TFA鹽，59%產率。 $M^{+1}=1348.8$



10

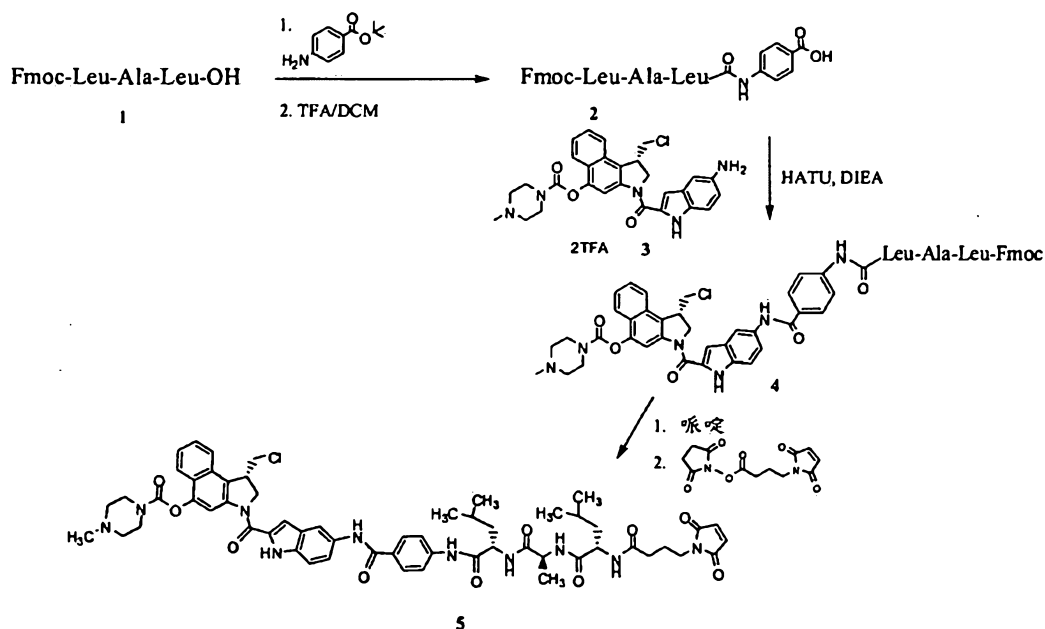
化合物**11**之合成：30毫克化合物**10** (0.02毫莫耳)經由於2.5毫升甲醇及4微升2N NaOH溶液中脫保護5小時。反應混合物以乙酸中和及通過反相HPLC，獲得17毫克(0.014毫莫耳)化合物**11**之雙TFA鹽。 $M^{+1}=986.6$



12

化合物12之合成：17毫克化合物11之雙TFA鹽(0.014毫莫耳)與5.1毫克(0.018毫莫耳)市售N-丁二醯亞胺基4-順丁烯二醯亞胺基丁酸酯於3毫升DMF及12.2微升(0.07毫莫耳)DIPEA反應1小時。溶劑經蒸發，藉反相製備性HPLC純化後，獲得14毫克(0.011毫莫耳)期望化合物12之TFA鹽(76%產率)。M⁺=1151.8

實例17：



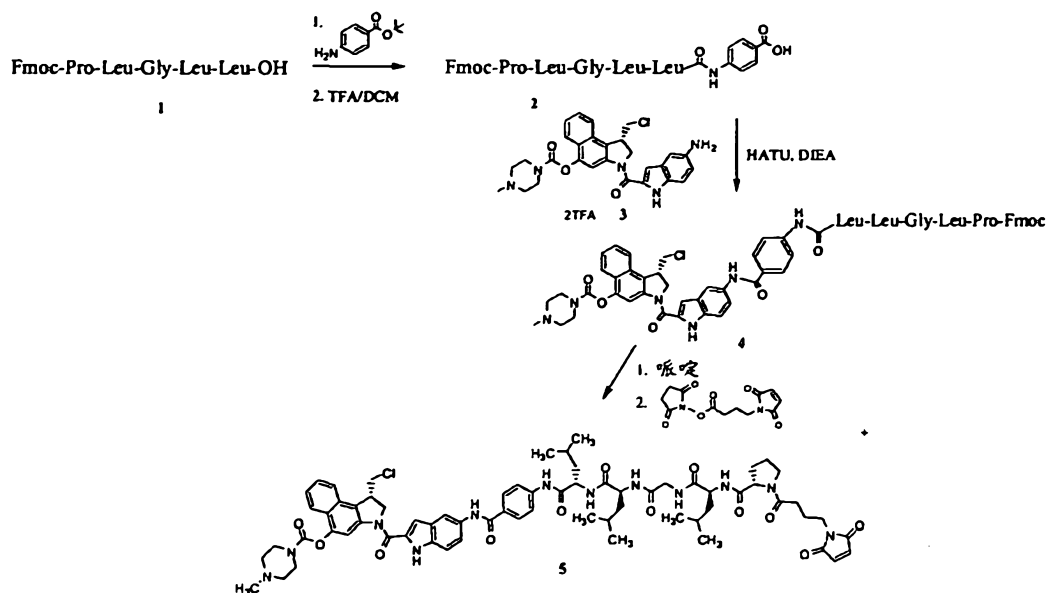
10 化合物2之合成：於Fmoc-Leu-Ala-Leu-OH (200毫克，0.37毫莫耳)及4-胺基苯甲酸第三丁酯(114毫克，0.59毫莫耳)於5% DMF於DCM之溶液(5毫升)之溶液內，於室溫添加

HATU (224毫克, 0.59毫莫耳), 接著添加二異丙基乙基胺 (410微升, 2.36毫莫耳)。反應混合物攪拌30分鐘。蒸發去除溶劑, 殘餘物於矽氧凝膠藉急速層析術純化, 以5%甲醇於二氯甲烷洗提。所得產物溶解於DMC/TFA (1:1, 10毫
5 升), 混合物於室溫攪拌90分鐘。於減壓下去除溶劑。粗產物以醚沉澱來獲得化合物2 (206毫克, 80%)。

化合物4之合成: 於化合物2 (20.6毫克)於DMF之溶液內添加HATU (10.3毫克), 所得反應混合物於室溫攪拌10分鐘接著於室溫添加化合物3 (20毫克)及二異丙基乙基胺(23
10 微升)。反應混合物攪拌60分鐘。於減壓下去除溶劑。粗產物直接接受半製備性HPLC純化, 獲得化合物4 (28毫克, 76%)。

化合物5之合成: 化合物4 (28毫克)使用5%哌啶於DMF (1毫升)於室溫脫保護10分鐘。反應混合物於減壓下濃縮, 粗產物以醚(5毫升x 2)清洗而未經進一步純化。所得產物與
15 N-丁二醯亞胺基-6-順丁烯二醯亞胺基己酸酯(10毫克), 於二異丙基乙基胺(12微升)及DMF (1毫升)存在下反應3小時。反應混合物經濃縮及藉半製備性HPLC純化, 獲得化合物5 (17毫克)。(MS:1100), 實測值M+1=1101

20 實例18:



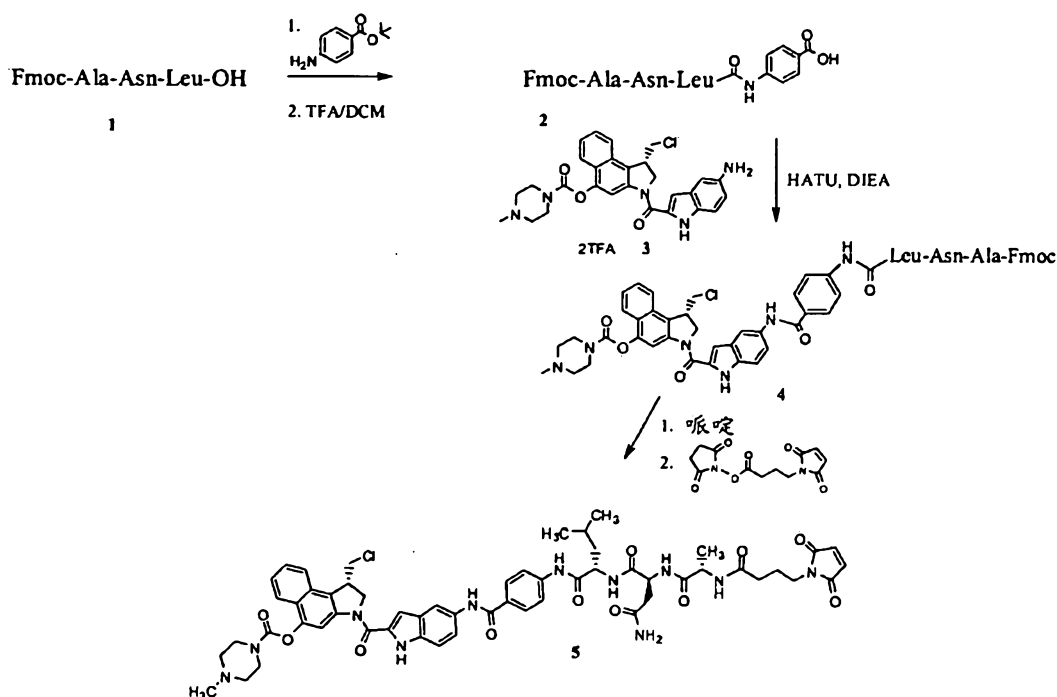
化合物2之合成：於Fmoc-Pro-Leu-Gly-Leu-Leu-OH (200毫克，0.27毫莫耳)及4-氨基苯甲酸第三丁酯(114毫克，0.59毫莫耳)於5% DMF於DCM之溶液(5毫升)之溶液內，於室溫添加HATU (224毫克，0.59毫莫耳)，接著添加二異丙基乙基胺(410微升，2.36毫莫耳)。反應混合物攪拌30分鐘。蒸發去除溶劑，殘餘物於矽氧凝膠藉急速層析術純化，以5%甲醇於二氯甲烷洗提。所得產物溶解於DMC/TFA (1:1，10毫升)，混合物於室溫攪拌90分鐘。於減壓下去除溶劑。粗產物以醚沉澱來獲得化合物2 (190毫克)。

化合物4之合成：於化合物2 (42毫克，0.049毫莫耳)於DMF之溶液內添加HATU (20毫克)，所得反應混合物於室溫攪拌10分鐘接著於室溫添加化合物3 (40毫克)及二異丙基乙基胺(35微升)。反應混合物攪拌60分鐘。於減壓下去除溶劑。粗產物直接接受半製備性HPLC純化，獲得化合物4 (33毫克)。

化合物5之合成：化合物4 (33毫克)使用5%哌啶於DMF

(1毫升)於室溫脫保護10分鐘。反應混合物於減壓下濃縮，粗產物以醚(5毫升x 2)清洗而未經進一步純化。所得產物與N-丁二醯亞胺基-6-順丁烯二醯亞胺基己酸酯(10毫克)，於二異丙基乙基胺(12微升)及DMF (1毫升)存在下反應3小時。反應混合物經濃縮及藉半製備性HPLC純化，獲得化合物5 (15毫克)。(MS:1296)，實測值M+1=1297

實例19：



化合物2之合成：於Fmoc-Ala-Asn-Leu-OH (200毫克，0.37毫莫耳)及4-胺基苯甲酸第三丁酯(114毫克，0.59毫莫耳)於5% DMF於DCM之溶液(5毫升)之溶液內，於室溫添加HATU (224毫克，0.59毫莫耳)，接著添加二異丙基乙基胺(410微升，2.36毫莫耳)。反應混合物攪拌30分鐘。蒸發去除溶劑，殘餘物於矽氧凝膠藉急速層析術純化，以5%甲醇於二氯甲烷洗提。所得產物溶解於DMC/TFA (1:1，10毫

升)，混合物於室溫攪拌90分鐘。於減壓下去除溶劑。粗產物以醚沉澱來獲得化合物2 (190毫克，72%)。

化合物4之合成：於化合物2 (20毫克)於DMF之溶液內添加HATU (13毫克)，所得反應混合物於室溫攪拌10分鐘接著於室溫添加化合物3 (25毫克)及二異丙基乙基胺(22微升)。反應混合物攪拌60分鐘。於減壓下去除溶劑。粗產物直接接受半製備性HPLC純化，獲得化合物4 (21毫克，60%)。

化合物5之合成：化合物4 (23毫克)使用5%哌啶於DMF (1毫升)於室溫脫保護10分鐘。反應混合物於減壓下濃縮，粗產物以醚(5毫升x 2)清洗而未經進一步純化。所得產物與N-丁二醯亞胺基-6-順丁烯二醯亞胺基己酸酯(8毫克)，於二異丙基乙基胺(12微升)及DMF (1毫升)存在下反應3小時。反應混合物經濃縮及藉半製備性HPLC純化，獲得化合物5 (10毫克)。(MS:1101)，實測值M+1=1102。

15 實例20：藥物-鏈接劑分子與抗體之綴合

用於脘鏈接劑。本實例說明將本發明之藥物-綴合物分子(視需要包括其它基團，諸如間隔劑、反應性官能基等)綴合至作為靶定劑之抗體X⁴之反應條件及方法。該等條件及方法僅供舉例說明之用而非限制性。技藝界已知其它綴合藥物-鏈接劑分子至抗體之辦法。此處所述綴合方法係基於抗體之離胺酸與2-亞胺基噻啉反應，接著藥物-配體分子與活性順丁烯二醯亞胺基反應，來將自由態硫醇基導入抗體。最初欲綴合之抗體經緩衝液交換入含50 mM NaCl、2 mM DTPA、pH 8.0且濃縮至5-10毫克/毫升之0.1M磷酸鹽緩

衝液內。經由添加2-亞胺基噻啉至抗體來達成硫醇化。欲
添加之2-亞胺基噻啉量係於初步實驗決定，且因各種抗體
而異。於初步實驗中，滴定遞增數量之2-亞胺基噻啉添加
至抗體，於室溫於抗體培養1小時後，使用西法戴斯G-25
5 管柱將抗體脫鹽進入50 mM HEPES緩衝液pH 6.0，經由與
二硫基二吡啶(DTDP)反應來快速測定導入之硫醇基數目。
硫醇基與DTDP反應，導致釋放出硫吡啶，硫吡啶係於324
奈米檢測。使用蛋白質濃度0.5-1.0毫克/毫升之樣本。於280
奈米之吸光比用來準確測定樣本中之蛋白質濃度，然後一
10 整份各樣本(0.9毫升)與0.1毫升DTDP (5 mM於乙醇之備料
溶液)於室溫培養10分鐘。單獨緩衝液加DTDP之空白樣本
也一起培養。經10分鐘後，測定於324奈米之吸光比，使用
硫吡啶之消光係數 19800M^{-1} 來定量所存在之硫醇數目。

典型地期望每個抗體含三個硫醇基之硫醇化程度。舉
15 例言之，使用一種特定抗體，經由添加15倍莫耳過量之2-
亞胺基噻啉，接著於室溫培養1小時可達成此項目的。因此
欲綴合之抗體於2-亞胺基噻啉以期望之莫耳比培養，然後
脫鹽入綴合緩衝液(50 mM HEPES緩衝液pH 6.0含有5 mM
甘胺酸，3%甘油及2mM DTPA)。硫醇化材料維持於冰上，
20 同時如前文說明定量所導入之硫醇數。

證實所導入之硫醇數目後，以每個硫醇3倍莫耳過量，
添加含活性順丁烯二醯亞胺基之藥物-鏈接劑分子。綴合反
應係於綴合緩衝液內進行，綴合緩衝液也含有終濃度5%乙
二醇二甲醚(或適當替代溶劑)。常見，藥物-鏈接劑備用溶

液溶解於90%乙二醇二甲醚，10%二甲亞砜。為了添加抗體，備用溶液直接添加至硫醇化抗體，該抗體經過充分添加乙二醇二甲醚來調整終濃度至5%；或培養溶液預先於含有終濃度10%乙二醇二甲醚之綴合緩衝液內稀釋，接著添加至等體積硫醇化抗體。

綴合反應以攪拌於室溫培養2小時。培養後，反應混合物於14000 RPM離心15分鐘，若未即刻純化，則將pH調整至pH 7.2。使用多種方法經由層析術達成綴合物之純化。綴合物可使用尺寸排除層析術於西法克(Sephacryl) S200上進行，管柱係預先使用含5mM甘胺酸、50mM NaCl及3%甘油之50mM HEPES緩衝液pH 7.2平衡。於線性流速28厘米/小時進行層析術。收集含有綴合物之洗提分，經過匯集及純化。另外，經由離子交換層析術可達成純化。條件因抗體而異，且必須對各個情況為最佳化。舉例言之，抗體-藥物綴合物反應混合物施用至預先於50mM HEPES、5mM甘胺酸、3%甘油、pH 6.0平衡之SP-西法羅斯(Sepharose)管柱。抗體綴合物使用0-1 M NaCl於平衡緩衝液梯度洗提。匯集含綴合物之洗提分，pH調整至7.2，樣本視需要可經濃縮。

用於胜肽鏈接劑：本實例說明將本發明之藥物-綴合物分子(視需要包括其它基團，諸如間隔劑、反應性官能基等)綴合至作為靶定劑之抗體X⁴之反應條件及方法。該等條件及方法僅供舉例說明之用而非限制性。技藝界已知其它綴合藥物-鏈接劑分子至抗體之辦法。此處所述綴合方法係基於抗體之離胺酸與2-亞胺基噻啉反應，接著藥物-配體分子

與活性順丁烯二醯亞胺基反應，來將自由態硫醇基導入抗體。最初欲綴合之抗體經緩衝液交換入含50 mM NaCl、2 mM DTPA、pH 8.0且濃縮至5-10毫克/毫升之0.1M磷酸鹽緩衝液內。經由添加2-亞胺基噻啉至抗體來達成硫醇化。欲
5 添加之2-亞胺基噻啉量係於初步實驗決定，且因各種抗體而異。於初步實驗中，滴定遞增數量之2-亞胺基噻啉添加至抗體，於室溫於抗體培養1小時後，使用西法戴斯G-25管柱將抗體脫鹽進入50 mM HEPES緩衝液pH 6.0，經由與二硫基二吡啶(DTDP)反應來快速測定導入之硫醇基數目。
10 硫醇基與DTDP反應，導致釋放出硫吡啶，硫吡啶係於324奈米檢測。使用蛋白質濃度0.5-1.0毫克/毫升之樣本。於280奈米之吸光比用來準確測定樣本中之蛋白質濃度，然後一整份各樣本(0.9毫升)與0.1毫升DTDP (5 mM於乙醇之備料溶液)於室溫培養10分鐘。單獨緩衝液加DTDP之空白樣本
15 也一起培養。經10分鐘後，測定於324奈米之吸光比，使用硫吡啶之消光係數 19800M^{-1} 來定量所存在之硫醇數目。

典型地期望每個抗體含三個硫醇基之硫醇化程度。舉例言之，使用一種特定抗體，經由添加15倍莫耳過量之2-亞胺基噻啉，接著於室溫培養1小時可達成此項目的。因此
20 欲綴合之抗體於2-亞胺基噻啉以期望之莫耳比培養，然後脫鹽入綴合緩衝液(50 mM HEPES緩衝液pH 6.0含有5 mM甘胺酸，0.5%普維隆(povidone)(10k)及2mM DTPA)。硫醇化材料維持於冰上，同時如前文說明定量所導入之硫醇數。

證實所導入之硫醇數目後，以每個硫醇3倍莫耳過量，

添加含活性順丁烯二醯亞胺基之藥物-鏈接劑分子。綴合反應係於綴合緩衝液內進行，綴合緩衝液也含有終濃度5% DMSO (或適當替代溶劑)。常見，藥物-鏈接劑備用溶液溶解於100%二甲亞砜。為了添加抗體，備用溶液直接添加至

5 硫醇化抗體，該抗體經過充分添加DMSO來調整終濃度至10%；或培養溶液預先於含有終濃度10% DMSO之綴合緩衝液內稀釋，接著添加至等體積硫醇化抗體。

綴合反應以攪拌於室溫培養2小時。培養後，反應混合物經離心及通過0.2微米過濾器過濾。綴合物之純化係使用

10 多種方法經由層析術達成。綴合物之純化係使用尺寸排除層析術於西法克S200管柱純化，該管柱預先使用含5mM甘胺酸、50mM NaCl及0.5%普維隆(10k)之50mM HEPES緩衝液pH 7.2平衡。於線性流速28厘米/小時進行層析術。含綴合物之洗提分經收集、匯集及濃縮。另外，經離子交換層

15 析術達成純化。條件係因抗體而異，且對各個情況必須為最佳化。舉例言之，抗體-藥物綴合物反應混合物施用至預先於50mM HEPES、5mM甘胺酸、0.5%普維隆(10k)、pH 5.5平衡之SP-西法羅斯管柱。抗體綴合物使用0-1 M NaCl於平衡緩衝液梯度於pH 5.5洗提。含綴合物之相關洗提分經匯集

20 及對配方緩衝液透析(使用含5mM甘胺酸、100 mM NaCl及0.5%普維隆(10k)之50mM HEPES緩衝液pH 7.2)。

實例21：活體研究

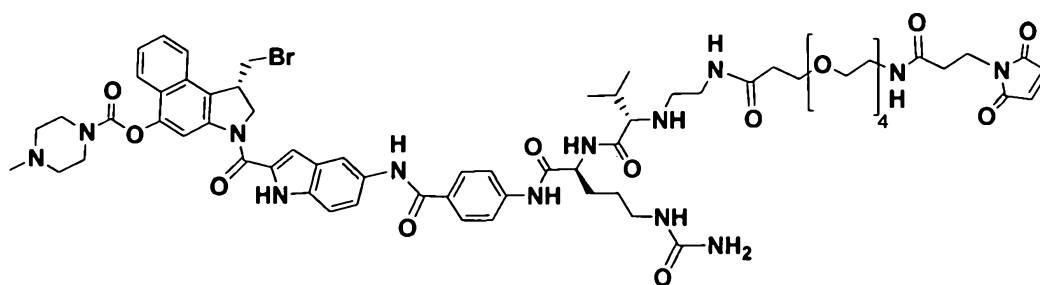
A. 化合物A-G

786-O (ATCC存取號碼CRL-1932)細胞使用標準實驗

室程序於試管內擴增。6至8週齡之雄CB17.SCID小鼠(塔克尼, 紐約哈德遜)每頭小鼠以250萬個786-O細胞於0.2毫升PBS/梅萃吉爾(Matrigel)(1:1)皮下植入右脅腹。小鼠經稱重, 植入後每週兩次使用電子測微器來測量腫瘤的三圍。

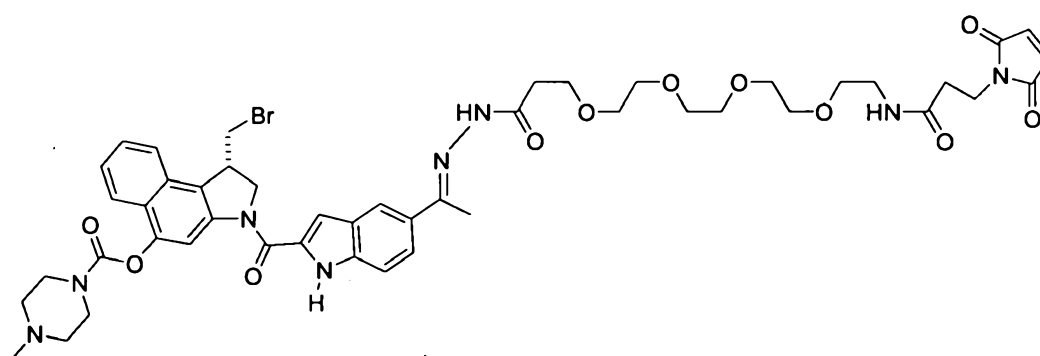
- 5 腫瘤體積係以高x寬x長計算。腫瘤平均為200立方毫米之小鼠隨機分配入各個處理組。小鼠於第0日於腹內使用PBS載媒劑、胞毒素-綴合同基因型對照抗體或胞毒素-綴合抗-CD70 HuMAb 2H5給藥。每組含7頭小鼠。

研究下列胞毒素：

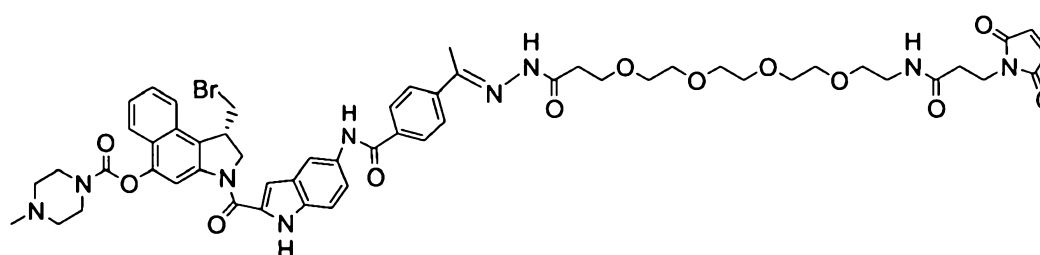


10

化合物A

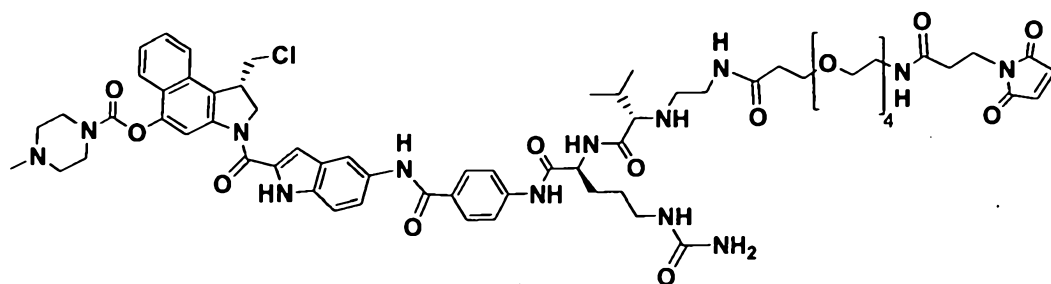


化合物B

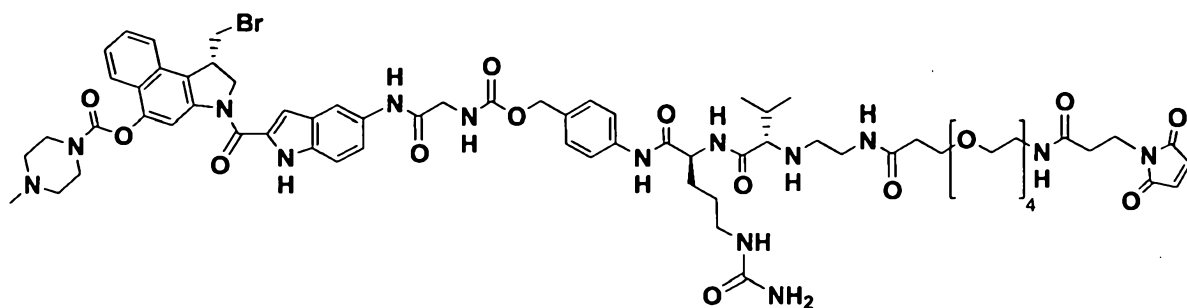


15

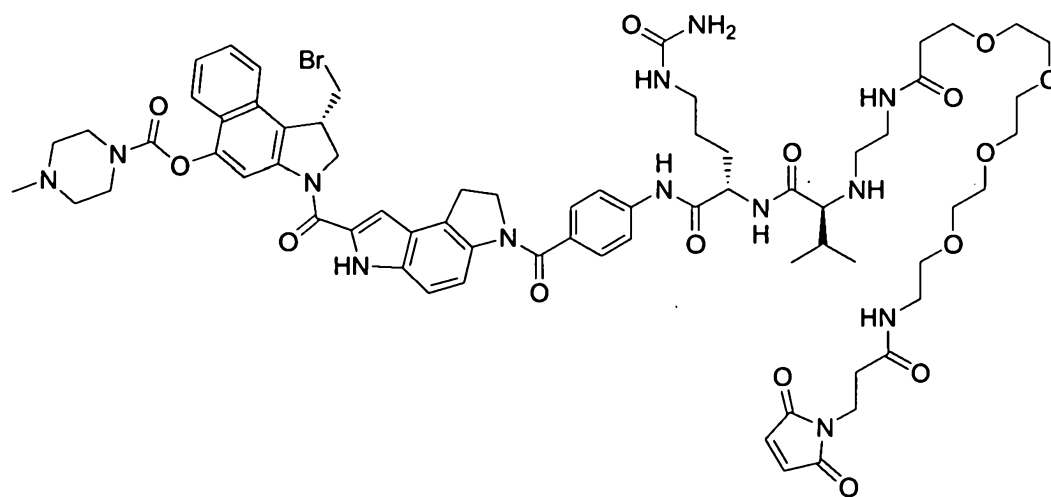
化合物C



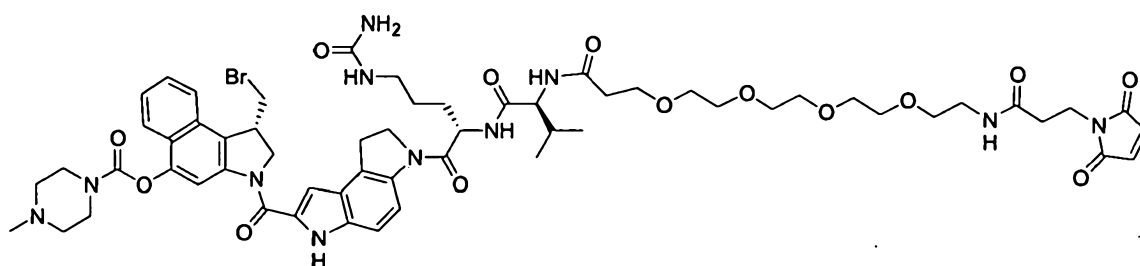
化合物D



化合物E



化合物F



化合物G

表1為基於毒素(化合物A-G)之毫莫耳數各給藥組別之摘要。

表1. 研究摘要

組別		劑量(毒素微莫耳)
1	載媒劑IP SD	匹配0.1體積
2	CD70.1 0.1 IP SD	0.1
3	CD70.1- Cmpd A IP SD	0.1
4	CD70.1- Cmpd A IP SD	0.01
5	CD70.1- Cmpd B IP SD	0.1
6	CD70.1- Cmpd C IP SD	0.1
7	CD70.1- Cmpd C IP SD	0.01
8	CD70.1- Cmpd D IP SD	0.1
9	CD70.1- Cmpd D IP SD	0.01
10	CD70.1- Cmpd E IP SD	0.1
11	CD70.1- Cmpd F IP SD	0.1
12	CD70.1- Cmpd G IP SD	0.1

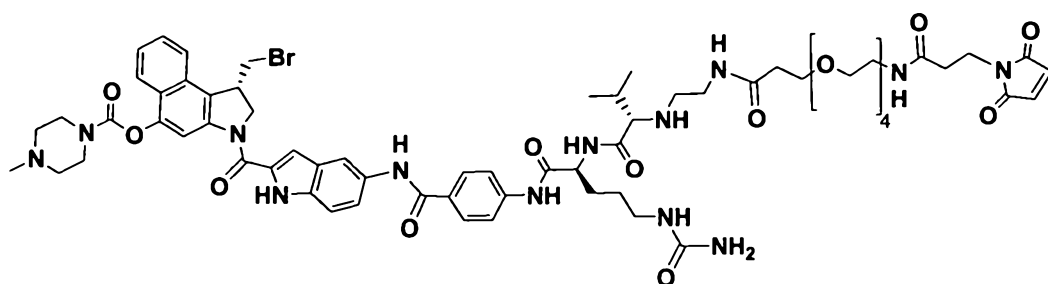
5 第1圖顯示平均腫瘤體積相對於給藥後日數，第2圖顯示中間腫瘤體積相對於給藥後日數。基於此等實驗，效果顯然係以如下順序遞減化合物D>化合物A>化合物F>化合物B>化合物C>化合物E>裸CD70.1/化合物G。第3圖顯示體重變化百分比相對於給藥後之日數。

10 B. 化合物A、F、H-J

786-O (ATCC存取號碼CRL-1932)細胞使用標準實驗室程序於試管內擴增。6至8週齡之雄CB17.SCID小鼠(塔克

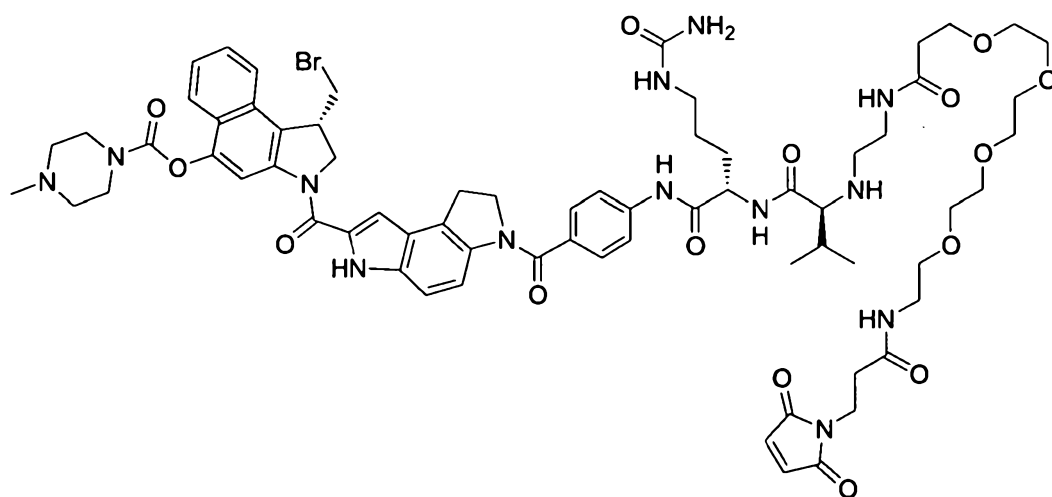
尼，紐約哈德遜)每頭小鼠以250萬個786-O細胞於0.2毫升PBS/梅萃吉爾 (1:1)皮下植入右脅腹。小鼠經稱重，植入後每週兩次使用電子測微器來測量腫瘤的三圍。腫瘤體積係以高x寬x長計算。腫瘤平均為200立方毫米之小鼠隨機分配入各個處理組。小鼠於第0日於腹內使用PBS載媒劑、胞毒素-綴合同基因型對照抗體或胞毒素-綴合抗-CD70 HuMAb 2H5給藥。每組含8頭小鼠。

研究下列胞毒素：

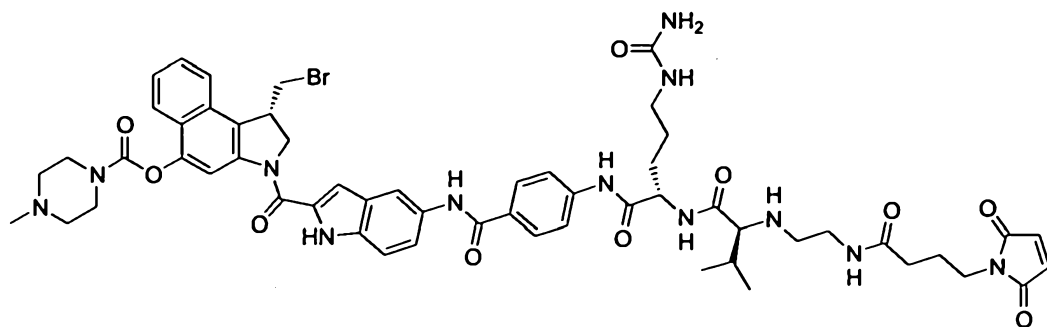


10

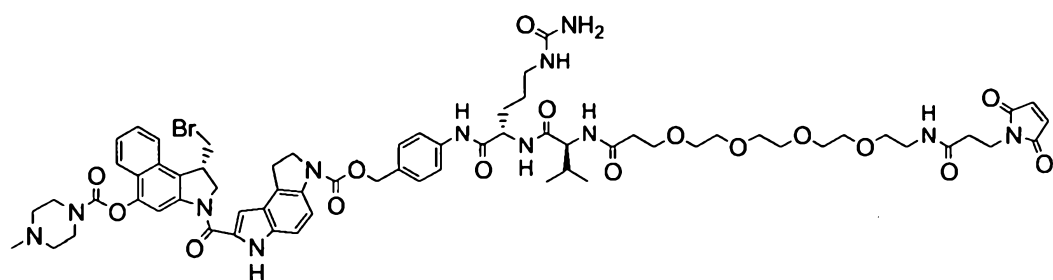
化合物A



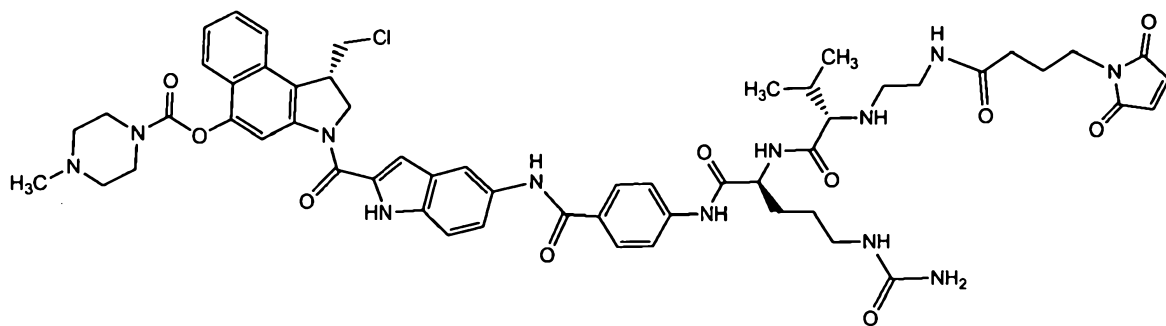
化合物F



化合物H



化合物I



化合物J

5

表2為基於毒素(化合物A、F、H-J)之毫莫耳數各給藥組別之摘要。

表2. 研究摘要

組別		劑量(毒素微莫耳)
13	載媒劑IP SD	
14	CD70.1 0.1 IP SD	0.03
15	CD70.1- Cmpd A IP SD	0.005
16	CD70.1- Cmpd A IP SD	0.01
17	CD70.1- Cmpd A IP SD	0.03
18	CD70.1- Cmpd H IP SD	0.005
19	CD70.1- Cmpd H IP SD	0.01
20	CD70.1- Cmpd H IP SD	0.03
21	CD70.1- Cmpd I IP SD	0.01
22	CD70.1- Cmpd F IP SD	0.01
23	CD70.1- Cmpd J IP SD	0.005
24	CD70.1- Cmpd J IP SD	0.01
25	CD70.1- Cmpd J IP SD	0.03

第4圖顯示平均腫瘤體積相對於給藥後日數，第5圖顯示中間腫瘤體積相對於給藥後日數。基於此等實驗，效果顯然係以如下順序遞減化合物J/化合物C>化合物H>化合物G/化合物I>裸CD70.1。第6圖顯示體重變化百分比相對於給藥後之日數。

實例22：

於LNCaP細胞及786-O細胞之腫瘤活化活性

得自ATCC之黏附細胞LNCaP(攝護腺癌)及786-O(腎細胞癌)根據ATCC的指示，於含10%熱鈍化胎牛血清(FCS)之

RPMI培養基內培養。研究當天，使用胰蛋白酶溶液讓細胞由孔板脫落。收集之細胞經洗滌對LNCaP細胞及786-O細胞分別以0.25細胞/毫升或 0.1×10^6 細胞/毫升再懸浮於含10%FCS之RPMI。100微升細胞懸浮液添加至96孔孔板，孔板培養3小時讓細胞黏附。於此培養後，特異性抗體-胞毒素綴合物之1:3一連串稀釋液，始於300 nM胞毒素(實例21化合物J)添加至各孔。然後孔板培養48小時，脈衝式施以10微升100微西弗/毫升 ^3H -胸腺苷，又培養72小時。孔板使用96孔收穫機(Harvester)(派克儀器公司(Packard Instruments))收穫且於派克頂計數(Top Count)計數器計算數目。四參數邏輯曲線代入摻混之 ^3H -胸腺苷呈藥物莫耳濃度之函數，使用Prism軟體來測定 EC_{50} 值。匹配各抗體-胞毒素綴合物之邏輯曲線及於LNCaP細胞及786-O細胞之所得 EC_{50} 值分別顯示於第7圖。

15 於SCID小鼠對LNCaP/攝護腺間質共同培養腫瘤之功效

LNCaP異種移植片研究進行如下：120頭CB17.SCID小鼠各自於脅腹區以2百萬LNCaP細胞及1百萬攝護腺間質細胞(型錄號碼CC-2508，康布克生科渥克維爾公司(Cambrex Bio Science Walkersville, Inc.)，馬里蘭州渥克維爾)再懸浮於0.2毫升PBS/梅萃吉爾(1:1)(BD生科公司(BD Bioscience))皮下注射。小鼠經稱重，植入後每週一次使用電子測微器測量腫瘤三圍。腫瘤體積係以高 $\times$ 寬 $\times$ 長/2計算。具有腫瘤體積平均50立方毫米之小鼠於第1日隨機分配成16個處理組，每組7頭小鼠，於第0日，根據表1所述給藥計算，使用

載媒劑、抗體或抗體-胞毒素綴合物經靜脈處理小鼠。於第62日結束研究。

表3：SCID小鼠之給藥

	劑量(毒素微莫耳，抗體毫克/千克)
載媒劑IP SD	
抗-PSMA IP SD	30
抗-RG-1 IP SD	30
抗-EDB IP SD	30
抗-CD70-毒素IP SD	0.03,0.1,0.3
抗-PSMA-毒素IP SD	0.03,0.1,0.3
抗-RG-1-毒素IP SD	0.03,0.1,0.3
抗-EDB-毒素IP SD	0.03,0.1,0.3

- 5 第8圖顯示所研究的16個不同組別中各組7頭小鼠之腫瘤體積增加之中間值。如左上圖指示，抗-RG-1及抗-ED-B裸抗體對腫瘤生長不具有抑制功效。抗-PSMA裸抗體有若干抗腫瘤生長功效。但當胞毒素綴合至抗-PSMA抗體時，抗腫瘤效果顯著增高。當先前對非內化抗原為無效之抗體
- 10 綴合至胞毒素時，觀察到類似於綴合抗體對內化抗原之抗腫瘤活性。此等結果確定胞毒素之抗腫瘤活性可藉對非內化抗原之抗體以及對內化抗原之抗體諸如PSMA來媒介。

- 第9圖顯示於所研究之16個不同組別中各組7頭小鼠之中間體重變化。因LNCaP腫瘤造成小鼠之惡病體質，預期
- 15 治療無效(導致無法控制之腫瘤生長)，導致體重喪失。於使

用載媒劑或裸抗體處理之小鼠觀察到此項結果。推定係由於腫瘤成長的緣故。當用於本研究之小鼠研究模型為免疫缺損模型時，無法預期透過強勁的ADCC反應來控制腫瘤的生長，諸如回應於使用裸抗-PSMA抗體治療產生強勁ADCC反應。相反地，使用抗體藥物綴合物處理小鼠恰在給藥之後有最低體重，指示所試驗之全部劑量0.03-0.3之耐受性皆良好。實際上綴合物組之小鼠體重增加，指示腫瘤生長經控制，惡病體質減輕。

於SCID小鼠對LNCaP腫瘤之功效

- 10 LNCaP異種移植片研究進行如下：120頭CB17.SCID小鼠各自於脅腹區以250萬LNCaP細胞再懸浮於0.2毫升PBS/梅萃吉爾(1:1)(BD生科公司)皮下注射。小鼠經稱重，植入後每週一次使用電子測微器測量腫瘤三圍。腫瘤體積係以高x寬x長/2計算。具有腫瘤體積平均80立方毫米之小鼠於
- 15 第1日隨機分配成13個處理組，每組7頭小鼠，於第0日，根據表2所述給藥計算，使用載媒劑、抗體或抗體-胞毒素綴合物經靜脈處理小鼠。於第55日結束研究。

表4：SCID小鼠之給藥

	劑量(毒素微莫耳，抗體毫克/千克)
載媒劑IP SD	
抗-CD70 IP SD	30
抗-PSMA IP SD	30
抗-RG-1 IP SD	30
抗-CD70-毒素IP SD	0.03,0.1,0.3
抗-PSMA-毒素IP SD	0.03,0.1,0.3
抗-RG-1-毒素IP SD	0.03,0.1,0.3

第10圖顯示所研究的13個不同組別之各組8頭小鼠之腫瘤體積平均增加。類似LNCaP/間質研究模型，抗-RG-1裸抗體對腫瘤生長不具有抑制功效。抗-PSMA裸抗體有若干抗腫瘤生長功效。當胞毒素綴合時，抗-PSMA抗體之抗腫瘤功效顯著增高。當非內化抗-RG-1抗體綴合至胞毒素時，觀察到類似的但出乎意外的抗腫瘤活性。此等結果進一步驗證胞毒素之抗腫瘤活性可藉對非內化抗原之抗體媒介。

第11圖顯示於所研究之16個不同組別之各組中，7頭小鼠之中間體重變化。如前文指出，LNCaP腫瘤造成小鼠之惡病體質。再度，此種惡病體質導致使用載媒劑或裸抗體處理小鼠之體重損失，推定係由於腫瘤生長的增加，且無法達到對內化抗體之強勁ADCC反應之故。相反地，使用抗體藥物綴合物處理小鼠恰在給藥之後有最低體重，指示所試驗之全部劑量0.03-0.3之耐受性皆良好。實際上綴合物組

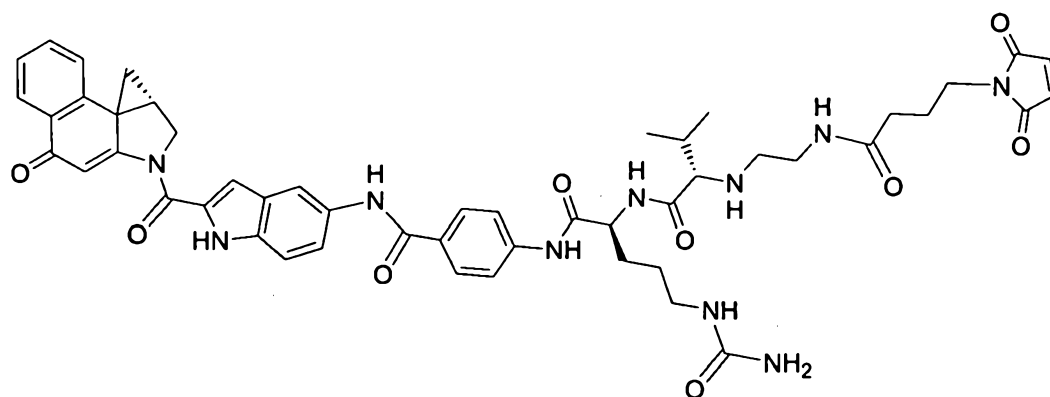
之小鼠體重增加，指示腫瘤生長經控制，惡病體質減輕。

於SCID小鼠對大型LNCaP腫瘤之功效

其次於有極大型LNCaP細胞腫瘤異種移植片之SCID小鼠，驗證抗-PSMA-胞毒素之活性。LNCaP細胞(250萬於0.1
5 毫升PBS+0.1毫升梅萃吉爾/小鼠)皮下注射雄SCID小鼠，當
腫瘤達到310立方毫米的平均大小時，各組8頭小鼠藉腹內
注射0.1或0.3微莫耳/千克體重之單劑抗-PSMA-胞毒素處
理。此外，對照組單獨注射載媒劑。整個研究過程中，進
行至給藥後約60日，記錄小鼠之腫瘤體積及重量。第12圖
10 所示結果驗證單劑抗-PSMA-2460綴合物即使始於極大型
腫瘤仍然對小鼠有效。

實例23：藉抗-CD70-胞毒素於活體內抑制腫瘤的生長

本實例驗證於兩個腎癌之異種移植片研究模型中，抗
-CD70-胞毒素之功效。胞毒素綴合物包含CD70抗體鏈接至
15 如下胞毒素化合物：



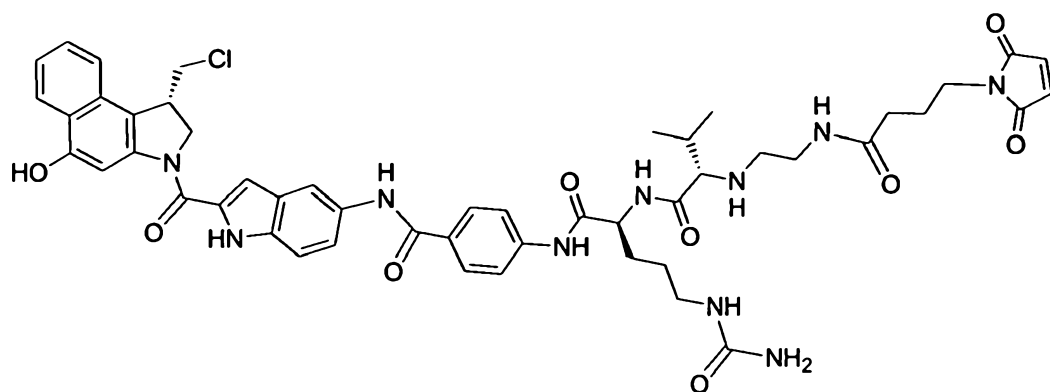
於載有A498腫瘤異種移植片之SCID小鼠驗證抗
-CD70-胞毒素之活性。A498細胞(5百萬於0.1毫升PBS及0.1
毫升梅萃吉爾/小鼠)皮下植入SCID小鼠，當腫瘤達到110立

方毫米的平均大小時，各組8頭小鼠藉腹內注射0.1微莫耳/千克體重之單劑抗-CD70-胞毒素。此外，對照組單獨注射載媒劑。整個研究過程記錄小鼠之腫瘤體積(LWH/2)及重量，於給藥後進行約60日。結果顯示於第13圖。此等結果指示抗-CD70-胞毒素綴合物可有效對抗腎癌。

欲驗證抗-CD70-胞毒素對Caki-1細胞異種移植片之活性，250萬個Caki-1細胞於0.1毫升PBS及0.1毫升梅萃吉爾/小鼠皮下植入SCID小鼠，當腫瘤達到平均尺寸130立方毫米時，每組8頭小鼠藉皮下注射單劑抗-CD70-胞毒素於0.03、0.1、或0.3微莫耳/千克體重處理。此外，對照組單獨注射載媒劑或以0.1及0.3注射微莫耳/千克劑量注射鏈接至胞毒素之同基因型對照抗體。整個研究過程記錄腫瘤體積(LWH/2)及小鼠體重，於給藥後進行61日。結果顯示於第14圖。結果驗證單獨抗-CD70抗體及同基因型對照抗體於本實驗中對腫瘤生長之功效極低，而經抗-CD70-胞毒素處理小鼠明白顯示劑量相依性抗腫瘤功效。

實例24：藉抗-CD70-胞毒素於活體內抑制腫瘤生長

本實例驗證於兩個腎癌異種移植片研究模型亦即於SCID小鼠之786-O細胞及裸大鼠之Caki-1細胞中，抗-CD70-胞毒素之功效。胞毒素綴合物包含CD70抗體鏈接至下列胞毒素化合物：



於載有 786-O 腫瘤異種移植片之 SCID 小鼠驗證抗-CD70-胞毒素之活性。786-O 細胞(250 萬於 0.1 毫升 PBS 及 0.1 毫升梅萃吉爾/小鼠)皮下植入 SCID 小鼠，當腫瘤達到 170 立方毫米的平均大小時，各組 6 頭小鼠藉腹內注射 0.005 微莫耳/千克體重之單劑抗-CD70-胞毒素。此外，對照組單獨注射載媒劑。整個研究過程記錄小鼠之腫瘤體積(LWH/2)及重量。結果顯示於第 15 圖。此等結果指示抗-CD70-胞毒素綴合物可有效對抗腎癌。

為了驗證該項功效可於多個種屬觀察得，試驗於裸大鼠之異種移植片研究模型。於本研究模型中，裸大鼠皮下植入 Caki-1 細胞(1 千萬於 0.2 毫升 PRMI-1640/大鼠)，當腫瘤達到平均尺寸 100 立方毫米時，各組大鼠藉皮下注射單劑抗-CD70-胞毒素於 0.3 微莫耳/千克體重處理。此外，對照組單獨注射載媒劑、單獨抗-CD70 抗體或同基因型對照抗體-胞毒素綴合物於 0.3 微莫耳/千克體重呈單劑注射。實驗過程記錄腫瘤體積(LW²/2)及大鼠體重。結果顯示於第 16 圖。此等結果顯示單獨 CD70 抗體對腫瘤生長功效低，同基因型抗體對腫瘤生長不具任何功效。但抗-CD70-胞毒素綴合物顯示顯著抗腫瘤效果。達成腫瘤的退行。因此，抗-CD70-胞毒

素綴合物於多個種屬顯示抗腫瘤功效。

本說明書中所述或所指稱之各個專利申請案、專利案、公告案及其它專利文件全文以引用方式併入此處至彷彿個別專利申請案、專利案、公告案及其它專利文件係特別及個別指示以引用方式併入此處。本專利申請案也以引用方式併入美國臨時專利申請案60/882,461。

雖然本發明已經參照其特定實施例作說明，但熟諳技藝人士須瞭解未悖離本發明之精髓及範圍及隨附之申請專利範圍，可做出多項變化且可以相當例取代。此外，可做多項修改來調整特定情況、材料、組成物、方法、方法步驟適合本發明之目的、精髓及範圍。全部此等修改意圖皆涵蓋於隨附之申請專利範圍之範圍內。

【圖式簡單說明】

第1-3圖為第一活體內調查研究中，平均腫瘤體積、中間腫瘤體積、及中間%體重變化分別相對於投藥後日數之線圖；

第4-6圖為第二活體內調查研究中，平均腫瘤體積、中間腫瘤體積、及中間%體重變化分別相對於投藥後日數之線圖；

第7圖為於LNCaP細胞及786-O細胞中匹配多種抗體-毒素綴合物及所得EC₅₀值之邏輯曲線；

第8圖為第三活體內調查研究中，平均腫瘤體積相對於投藥後日數之線圖；

第9圖為第三活體內調查研究中中間體重變化相對於

投藥後日數之線圖；

第10圖為第四活體內調查研究中，平均腫瘤體積相對於投藥後日數之線圖；

第11圖為第四活體內調查研究中中間體重變化相對於
5 投藥後日數之線圖；

第12圖為第五活體內調查研究中，平均腫瘤體積相對於投藥後日數之線圖；

第13圖為第六活體內調查研究中，平均腫瘤體積相對於投藥後日數之線圖；

10 第14圖為第七活體內調查研究中，平均腫瘤體積相對於投藥後日數之線圖；

第15圖為第八活體內調查研究中，平均腫瘤體積相對於投藥後日數之線圖；及

15 第16圖為第九活體內調查研究中，平均腫瘤體積相對於投藥後日數之線圖。

【主要元件符號說明】

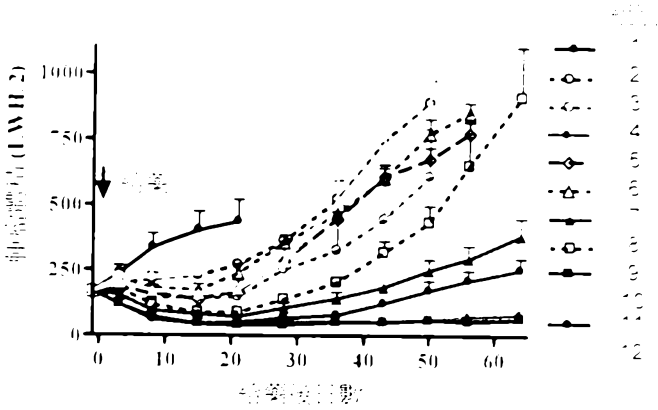
(無)

五、中文發明摘要：

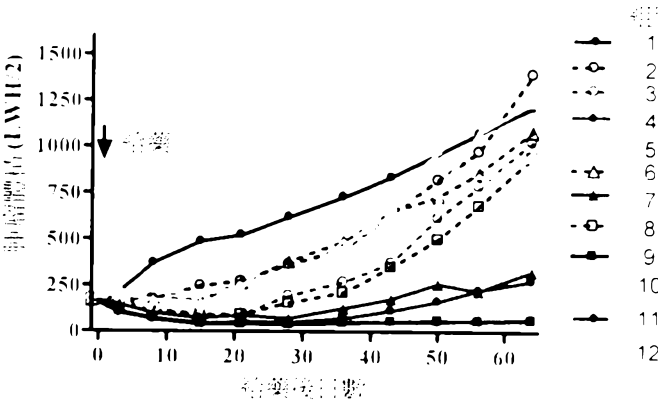
本揭示提供屬於強力胞毒素之藥物-配體綴合物及藥物-可裂解基質綴合物。本揭示也針對含有該藥物-配體綴合物之組成物及使用該等組成物之治療方法。

六、英文發明摘要：

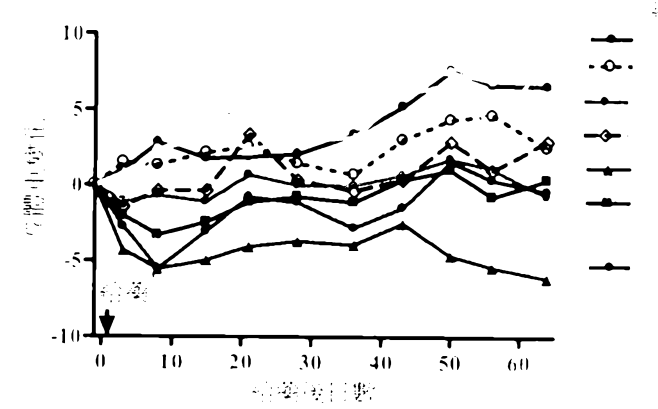
The present disclosure provides drug-ligand conjugates and drug-cleavable substrate conjugates that are potent cytotoxins. The disclosure is also directed to compositions containing the drug-ligand conjugates, and to methods of treatment using them.



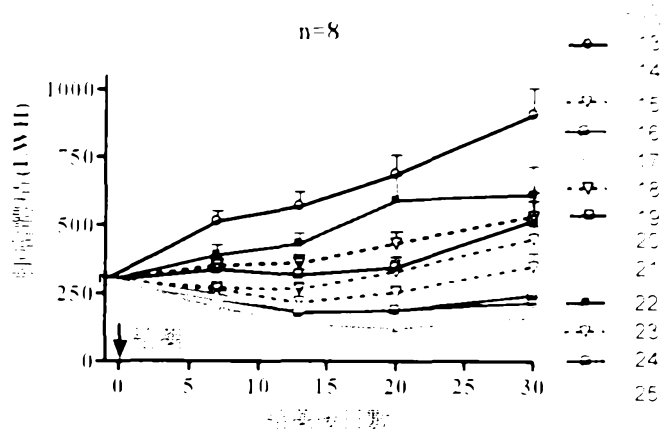
第 1 圖



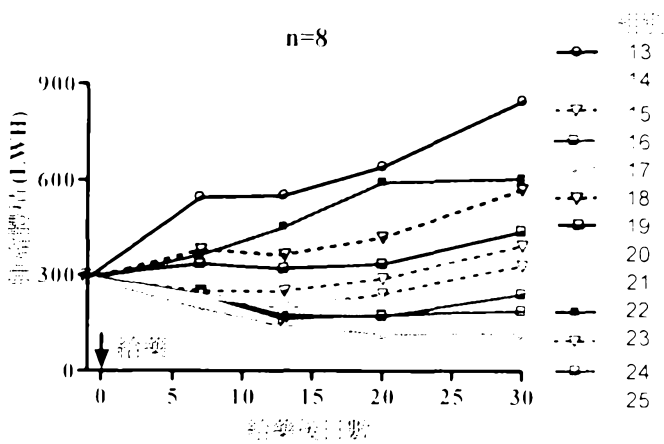
第 2 圖



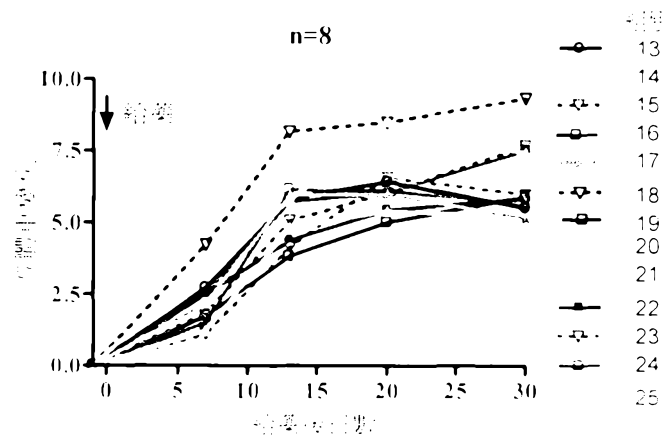
第 3 圖



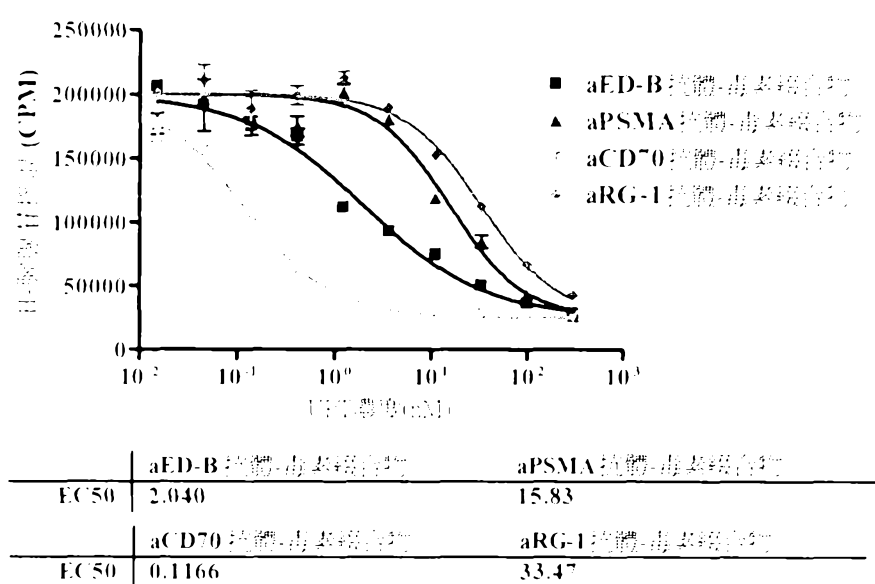
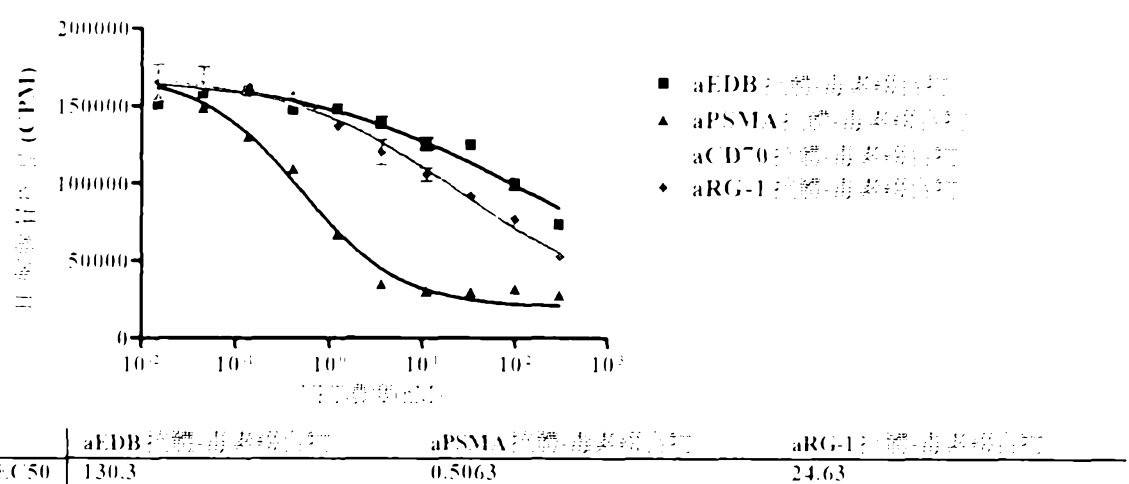
第4圖



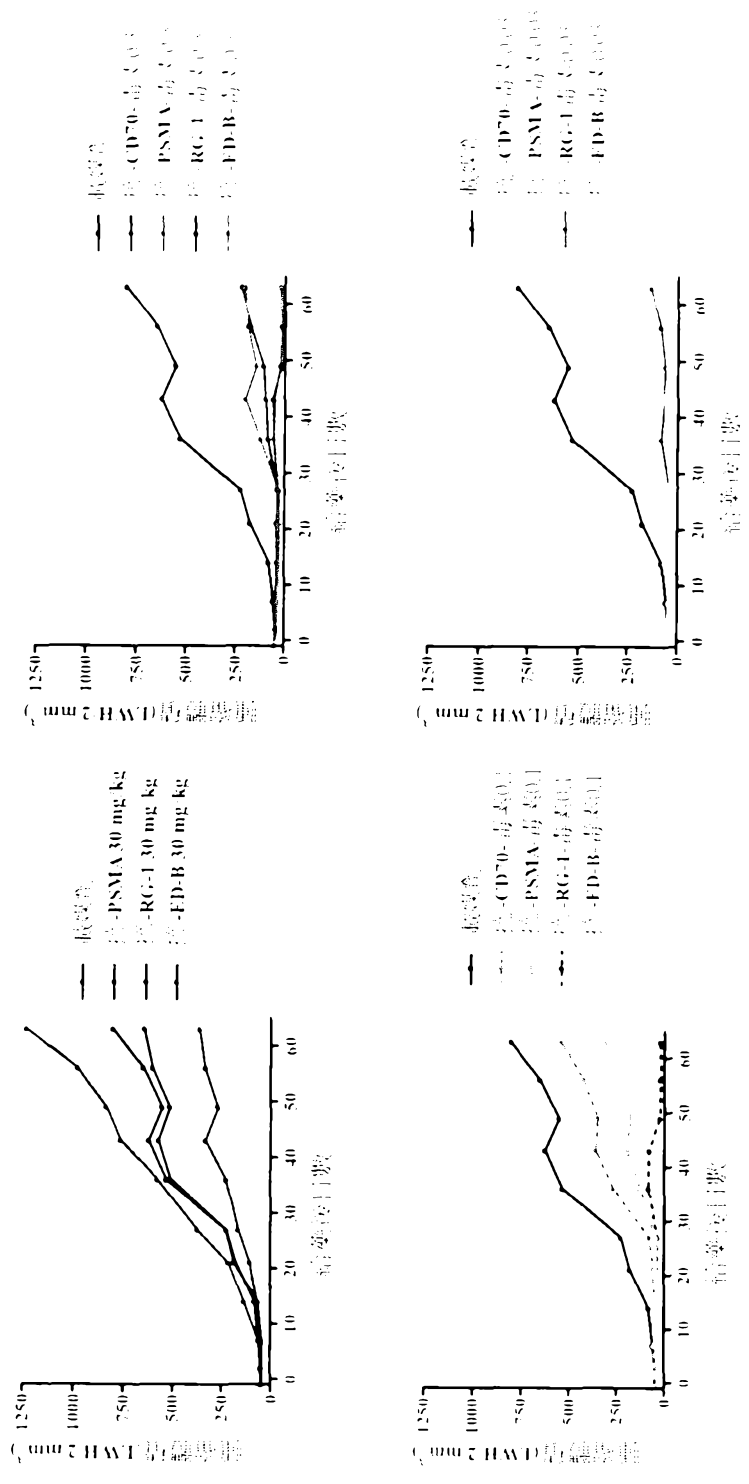
第5圖

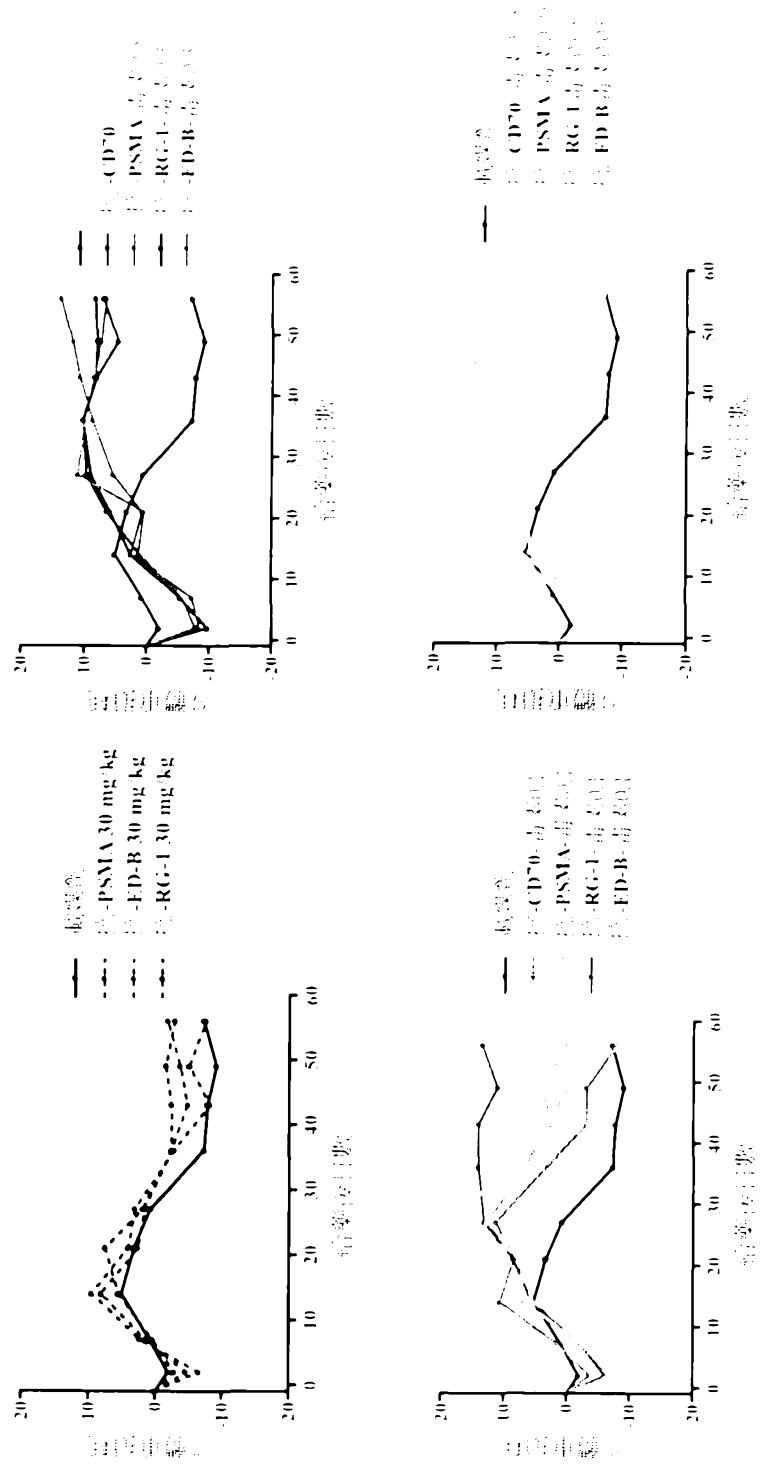


第6圖

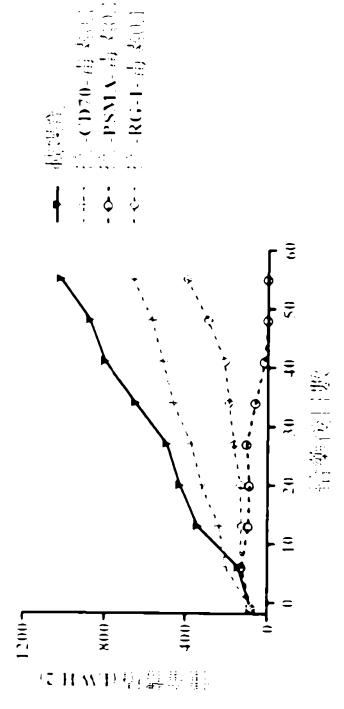
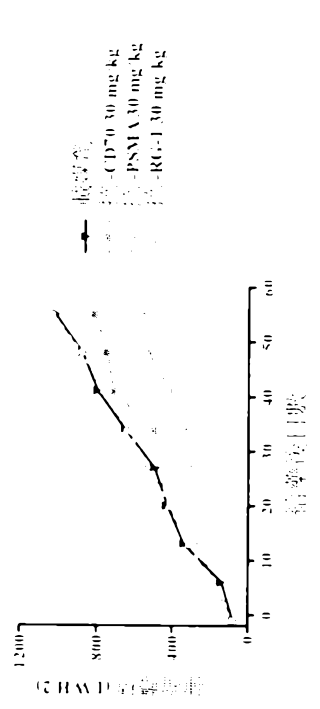
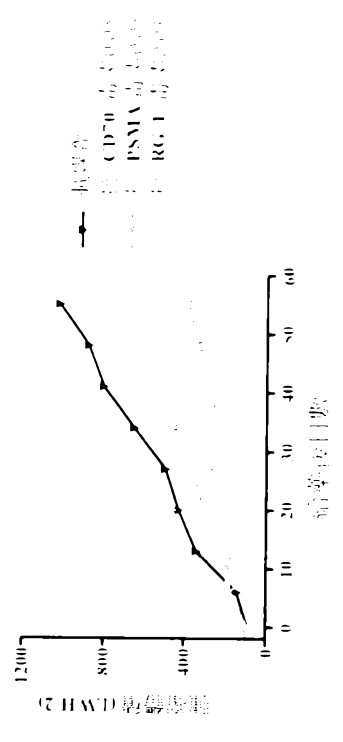
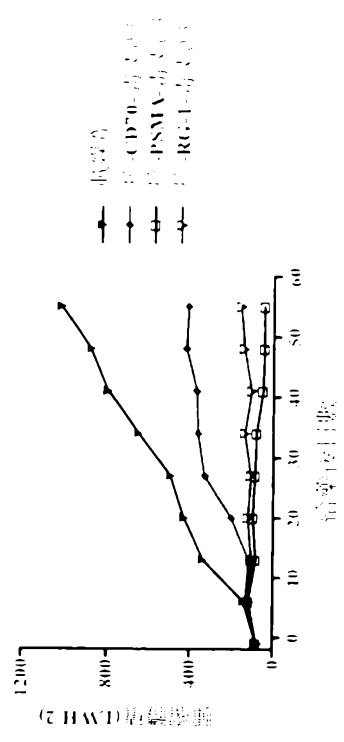


第 7 圖

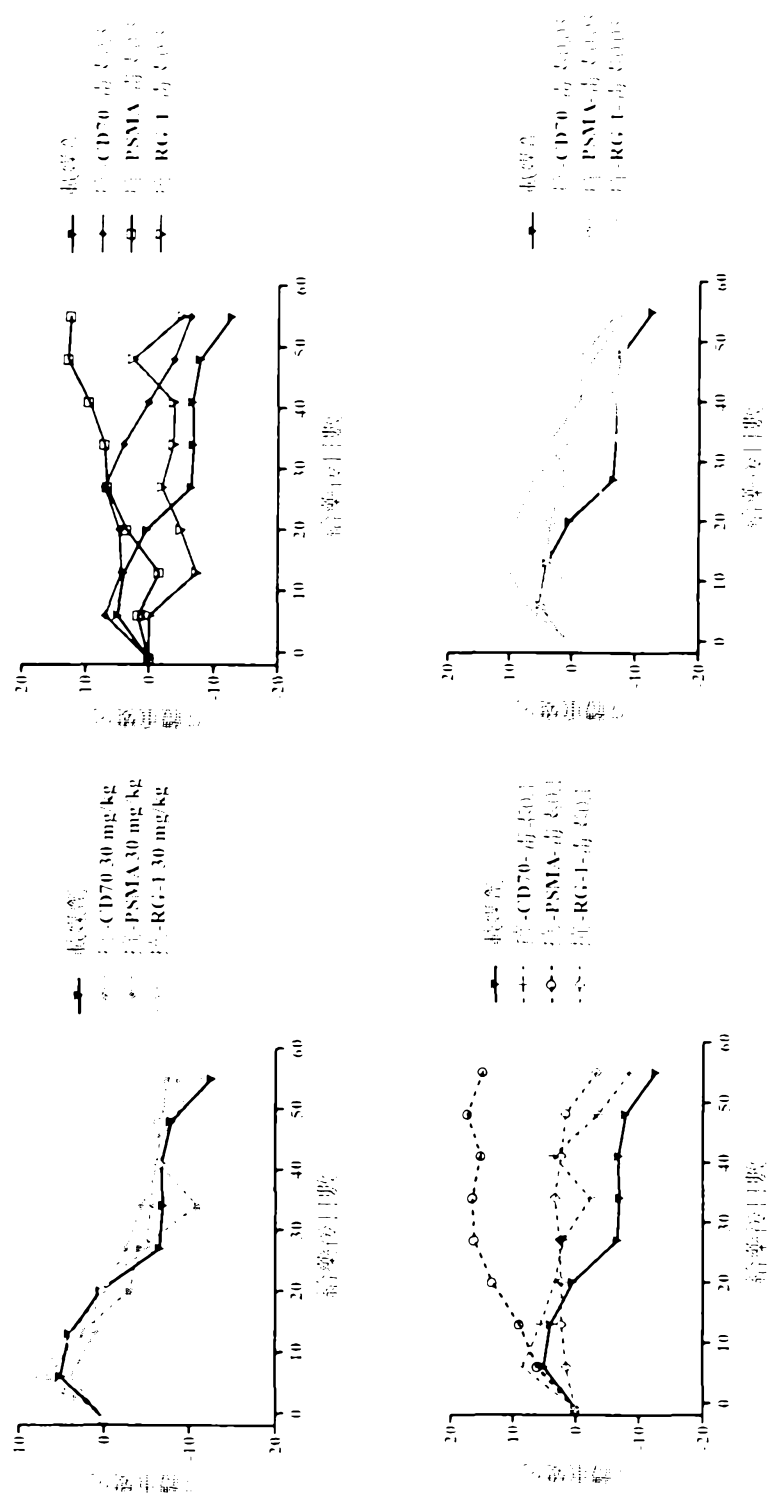




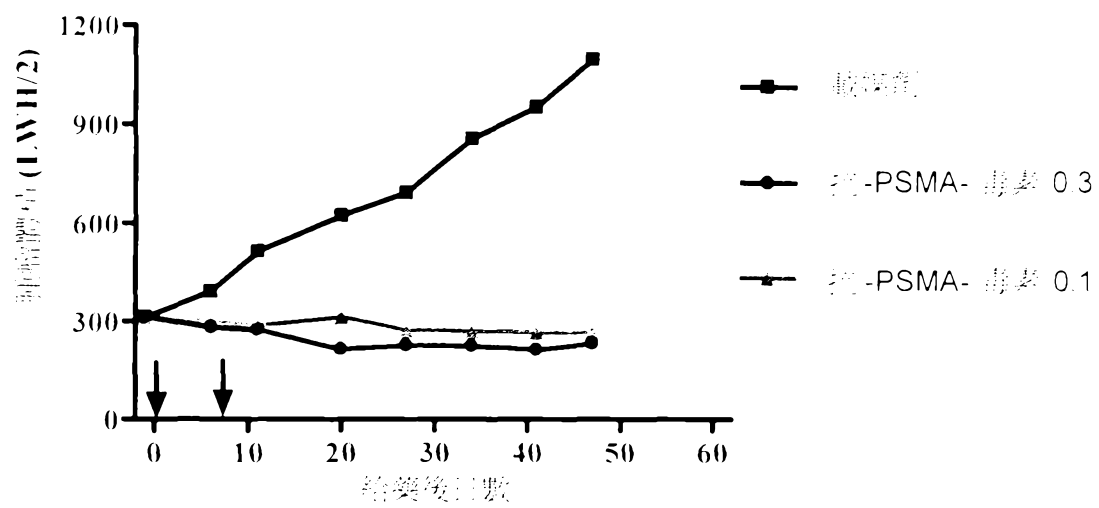
第9圖



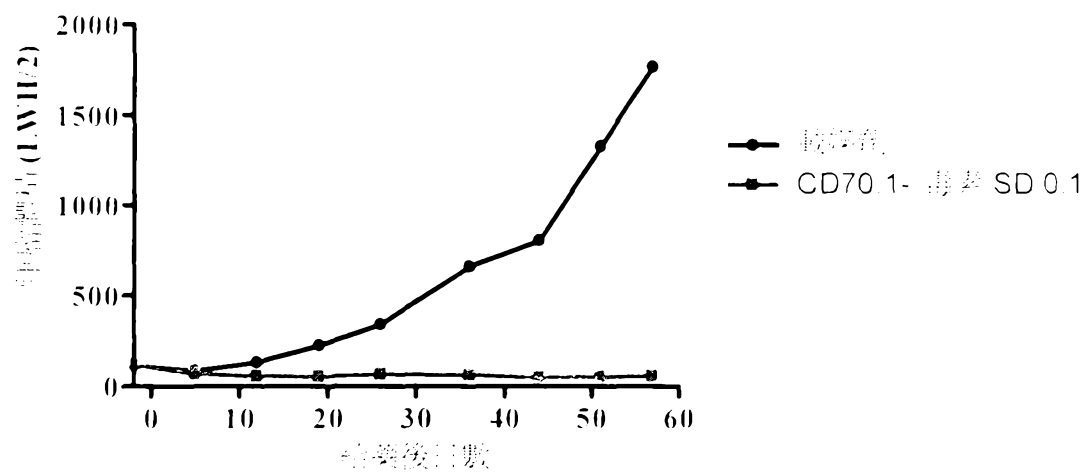
第 10 周



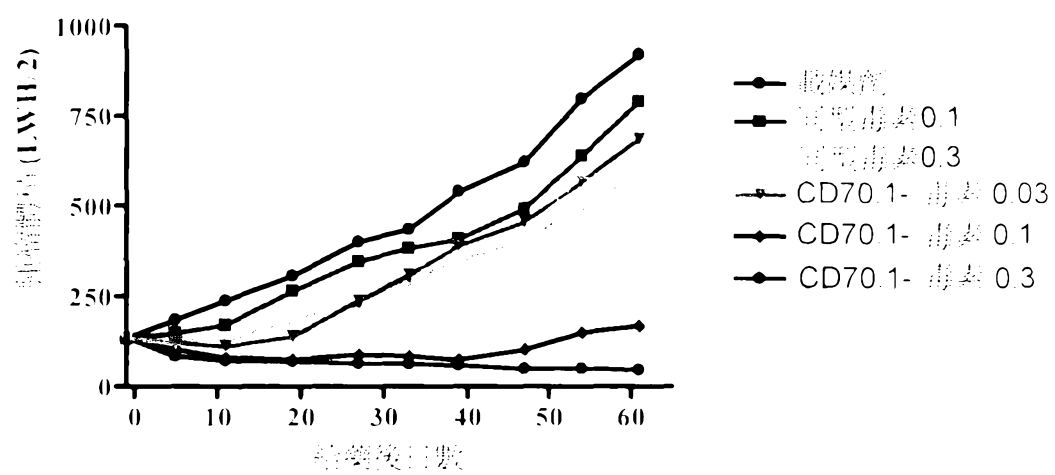
第 11 回



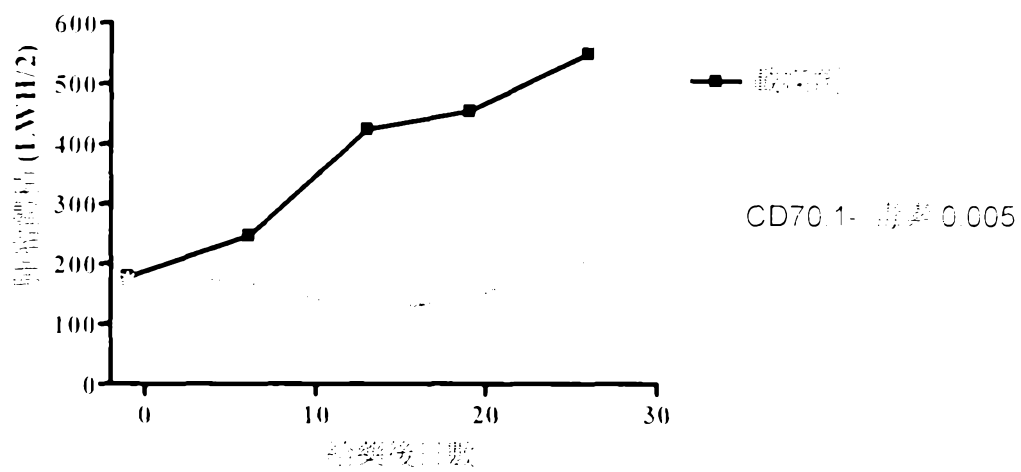
第 12 圖



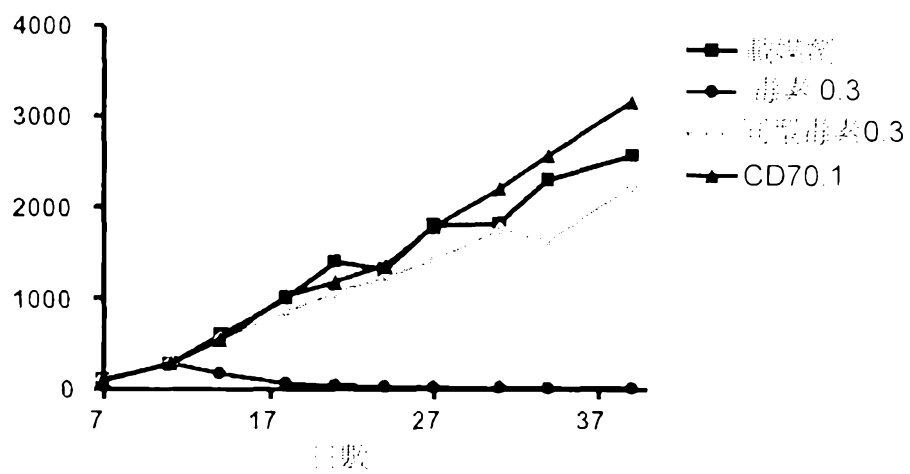
第 13 圖



第 14 圖



第 15 圖



第 16 圖

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (12) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無)

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

公告本

發明專利說明書

107年6月18日修正替換頁

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：96150517

※申請日期：96.12.27

※IPC 分類：

A61K 31/546 (2006.01)

A61K 47/48 (2006.01)

C07D 403/02 (2006.01)

C07D 405/02 (2006.01)

C07D 501/34 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

化學鏈接劑與可裂解基質以及其之綴合物

CHEMICAL LINKERS AND CLEAVABLE SUBSTRATES AND CONJUGATES THEREOF

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

梅達雷克斯有限責任公司 / MEDAREX, L.L.C.

代表人：(中文/英文)

克利 利亞 / KERLEY, LEAH

住居所或營業所地址：(中文/英文)

美國紐澤西州普林斯頓市第 206 號州線路

Route 206 and Province Line Road, Princeton, NJ 08540, U.S.A.

國 籍：(中文/英文)

美國 / U. S. A.

三、發明人：(共 6 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 蘇菲 比萊爾 / SUFI, BILAL
2. 蓋拉懷斯 文生 / GUERLAVAIS, VINCENT
3. 陳良 / CHEN, LIANG
4. 干渥 聖吉夫 / GANGWAR, SANJEEV
5. 張謙 / ZHANG, QIAN
6. 巴斯摩爾 大衛 B. / PASSMORE, DAVID B.

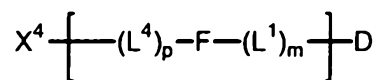
國 籍：(中文/英文)

1. 巴基斯坦 / PAKISTAN
2. 法國 / FRANCE
- 3.-6. 美國 / U. S. A.

十、申請專利範圍：

(102)年6月7日修正本

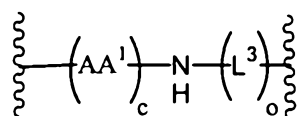
1. 一種下式化合物



其中

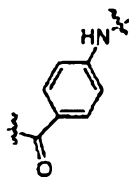
5 m 為 0；

F 為包含如下結構式之鏈接劑(linker)：



其中

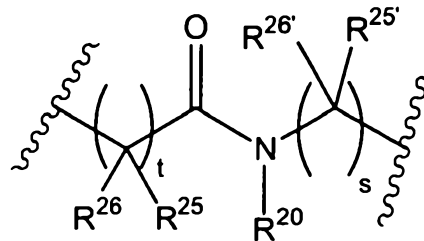
10 (AA¹)_c 為選自於由 Val-Cit、Val-Lys、Phe-Lys、Lys-Lys、Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp、Cit、Phe-Ala、Phe-N⁹-tosyl-Arg、Phe-N⁹-nitro-Arg、Phe-Phe-Lys、D-Phe-Phe-Lys、Gly-Phe-Lys、Leu-Ala-Leu、Ile-Ala-Leu、Val-Ala-Val、Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ. ID NO: 1)、β-Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ. ID NO: 2) 及 Gly-Phe-Leu-Gly (SEQ. ID NO: 3) 所組成之組群中之一胜肽序列；

-L³-NH- 為具有下式之一間隔基(spacer group)

20 其中 L³ 之羧基與 D 之旁出(pendant)胺基官能基形成一醯胺鍵結；

o 為 0 或 1；

L^4 為一鏈接劑成員，其中 L^4 包含



直接附接至 $(AA^1)_c$ 之 N-端，其中

5 R^{20} 為選自於 H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、及醯基中之一員，

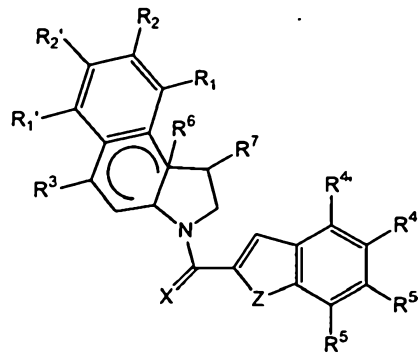
各個 R^{25} 、 $R^{25'}$ 、 R^{26} 、及 $R^{26'}$ 分別係選自 H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、及
10 經取代或未經取代之雜環烷基；

及 s 及 t 分別為 1 至 6 之整數；

p 為 1；

X^4 為選自於 R^{29} 、 $COOR^{29}$ 、 $C(O)NR^{29}$ 及 $C(O)NNR^{29}$ 中之一員，其中 R^{29} 為選自於經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、經取代或未經取代之
15 雜芳基、N-羥基丁二醯亞胺酯類、及順丁烯二醯亞胺類中之一員；以及

D 包含結構式：



其中 X 為 O；

Z 為 NR^{23} ；

5 R^{23} 為選自於 H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基及鹽基中之一員；

R^1 為 H、經取代或未經取代之 $\text{C}_1\text{-C}_8$ 烷基、 $\text{C}(\text{O})\text{R}^8$ 或 CO_2R^8 ，其中 R^8 為選自於 NR^9R^{10} 及 OR^9 中之一員；

其中

10 R^9 及 R^{10} 分別為選自於 H、經取代或未經取代之烷基及經取代或未經取代之雜烷基中之成員；

$\text{R}^{1'}$ 為 H、經取代或未經取代之 $\text{C}_1\text{-C}_8$ 烷基或 $\text{C}(\text{O})\text{R}^8$ ，其中 R^8 為選自於 NR^9R^{10} 及 OR^9 中之一員；

其中

15 R^9 及 R^{10} 分別為選自於 H、經取代或未經取代之烷基及經取代或未經取代之雜烷基中之成員；

R^2 為 H、或經取代或未經取代之 $\text{C}_1\text{-C}_8$ 烷基或未經取代之雜烷基或氰基或烷氧基；以及

$\text{R}^{2'}$ 為 H、或經取代或未經取代之 $\text{C}_1\text{-C}_8$ 烷基或未經取代之雜烷基；

20 R^3 為選自於由 $(=\text{O})$ 、 SR^{11} 、 NHR^{11} 及 OR^{11} 所組成之

組群中之一員，

其中

R^{11} 為選自於由 H、經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之雜烷基、未經取代之雜烷基、一磷酸酯類 (monophosphates)、二磷酸酯類、三磷酸酯類、磺酸酯類 (sulfonates)、鹽基、 $C(O)R^{12}R^{13}$ 、 $C(O)OR^{12}$ 、 $C(O)NR^{12}R^{13}$ 、 $P(O)(OR^{12})_2$ 、 $C(O)CHR^{12}R^{13}$ 、 SR^{12} 及 $SiR^{12}R^{13}R^{14}$ 所組成之組群中之一員，其中

R^{12} 、 R^{13} 及 R^{14} 為分別選自於 H、經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之雜烷基、及經取代或未經取代之芳基中之一員，其中 R^{12} 及 R^{13} 與其附接之氮原子或碳原子共同視需要可接合來形成有 4 員至 6 員且視需要含有兩個或多個雜原子之一經取代或未經取代之雜環烷基環系；

R^4 、 $R^{4'}$ 、 R^5 、及 $R^{5'}$ 為分別選自於由 H、經取代之烷基、未經取代之烷基、經取代之芳基、未經取代之芳基、經取代之雜芳基、未經取代之雜芳基、經取代之雜環烷基、未經取代之雜環烷基、鹵素、 NO_2 、 $NR^{15}R^{16}$ 、 $NHC(O)R^{15}$ 、 $OC(O)NR^{15}R^{16}$ 、 $OC(O)OR^{15}$ 、 $C(O)R^{15}$ 、 SR^{15} 、 OR^{15} 、 $CR^{15}=NR^{16}$ 、及 $O(CH_2)_nN(CH_3)_2$ 所組成之組群之一員，或任何相鄰成對之 R^4 、 $R^{4'}$ 、 R^5 、及 $R^{5'}$ 連同其附接之碳原子接合來形成有 4 員至 6 員之經取代或未經取代之環烷基環系或雜環烷基環系；

其中

n 為 1 至 20 之整數；

R^{15} 及 R^{16} 分別選自 H、經取代或未經取代之烷基、
經取代或未經取代之雜烷基、經取代或未經取代之芳
基、經取代或未經取代之雜芳基、經取代或未經取代之
5 雜環烷基、及經取代或未經取代之胜肽基(peptidyl)，其
中 R^{15} 及 R^{16} 連同其附接之氮原子視需要可接合來形成有
4 員至 6 員且視需要可含兩個或多個雜原子之一經取代
或未經取代之雜環烷基環系；

10 R^6 為單鍵，單鍵可存在或不存在，以及當單鍵存在
時， R^6 與 R^7 接合而形成環丙基環；以及

R^7 為 CH_2-X^1 或與 R^6 接合於該環丙基環中之 $-CH_2-$ ，
其中

X^1 為離去基，

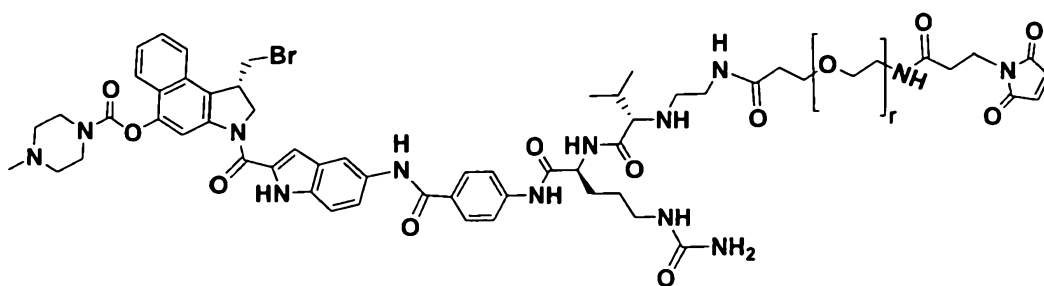
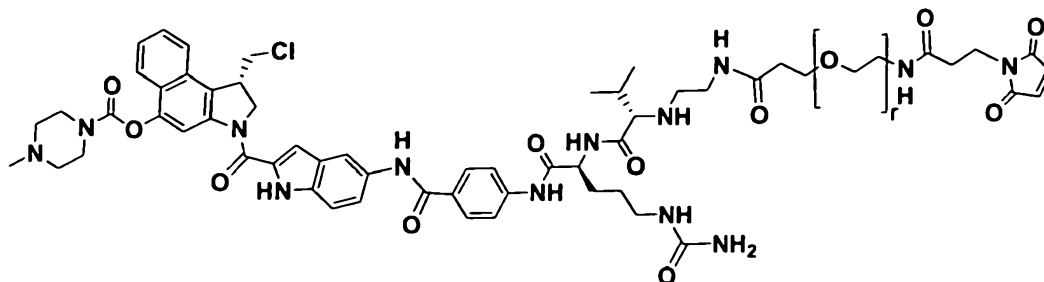
15 其中 R^4 、 $R^{4'}$ 、 R^5 、 $R^{5'}$ 、 R^{15} 或 R^{16} 中之至少一者將該
藥物鏈接至 L^1 (若存在時)，或鏈接至 F；

或其藥學上可接受之鹽。

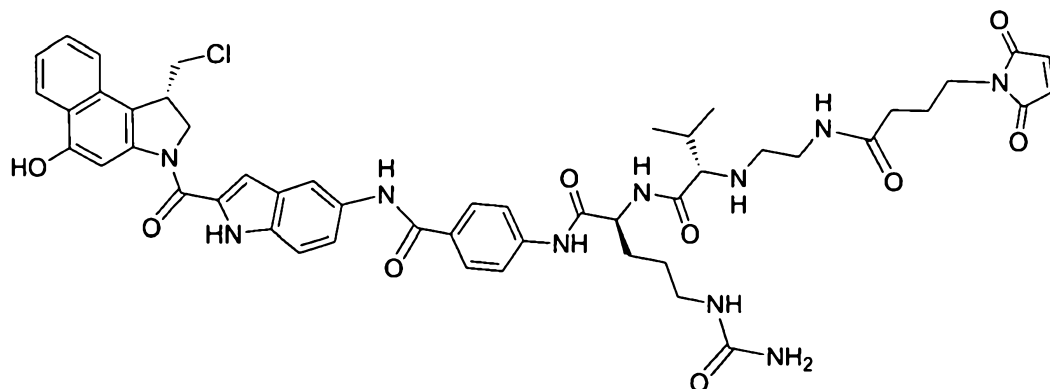
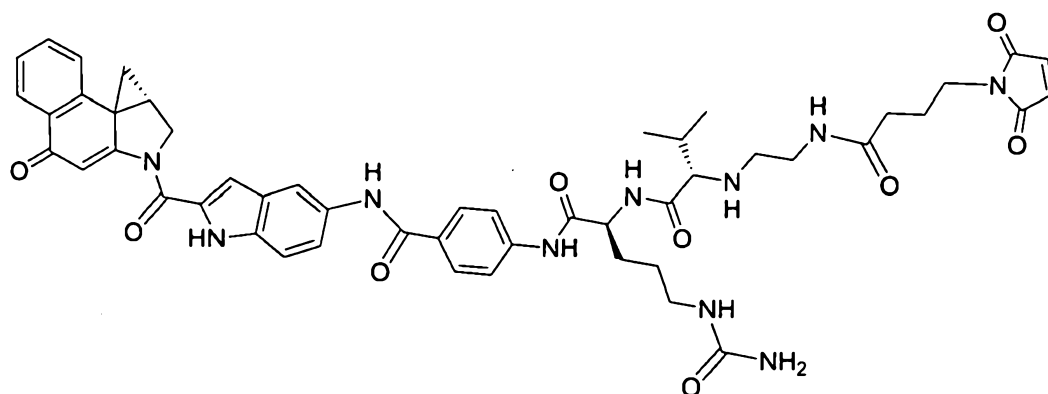
2. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其中 $(AA^1)_c$ 為 Val-Cit
或 Val-Lys。
3. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其中 R^{25} 、 $R^{25'}$ 、 R^{26} 、
20 及 $R^{26'}$ 分別為 H 或 C_1 - C_8 烷基。
4. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其中 s 及 t 分別為 1 或 2。
5. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其中 R^{20} 為 H 或 C_1 - C_8 烷
基。
6. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其中 R^{29} 係選自於由 N-

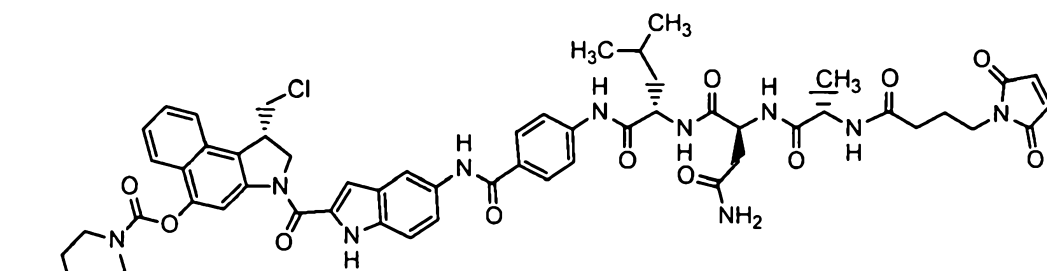
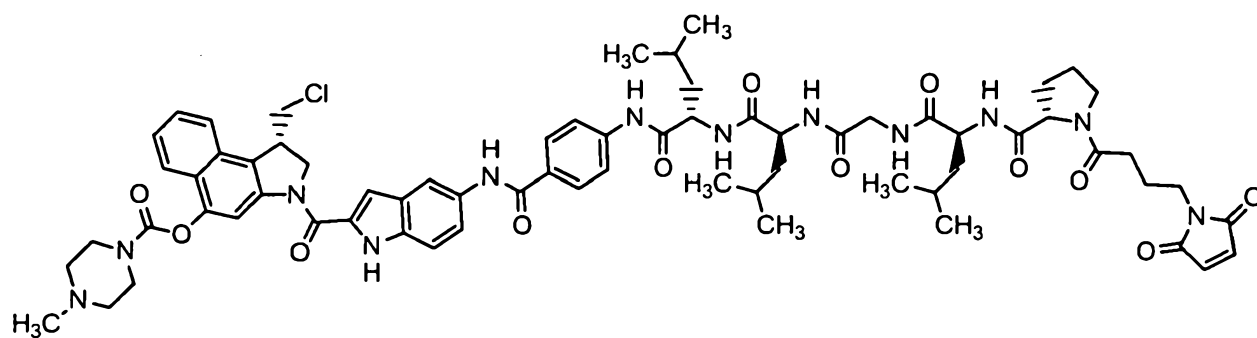
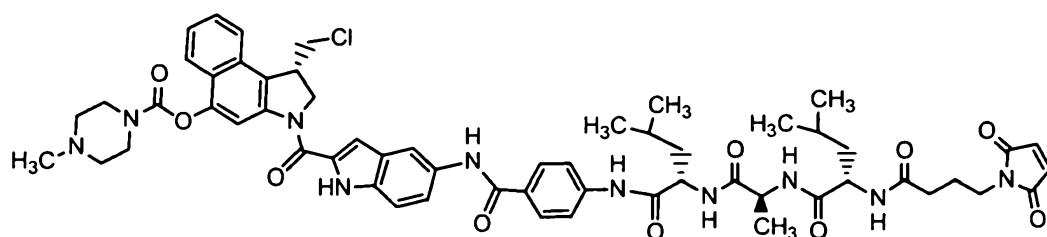
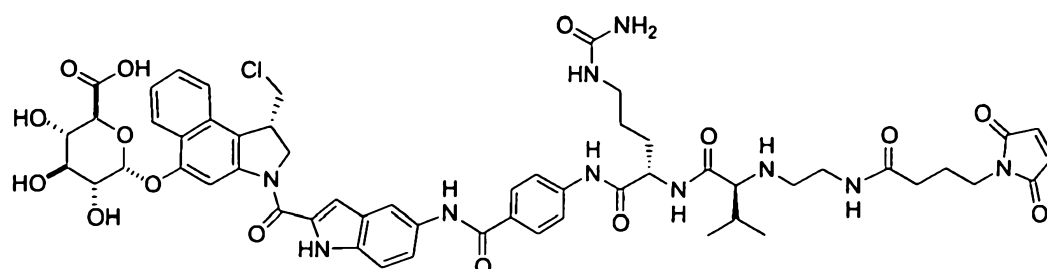
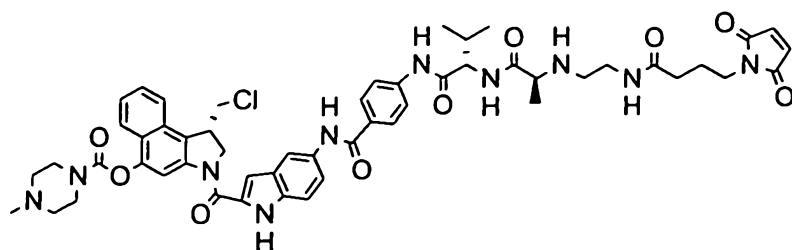
羥基丁二醯亞胺酯類、及順丁烯二醯亞胺類所組成之組群。

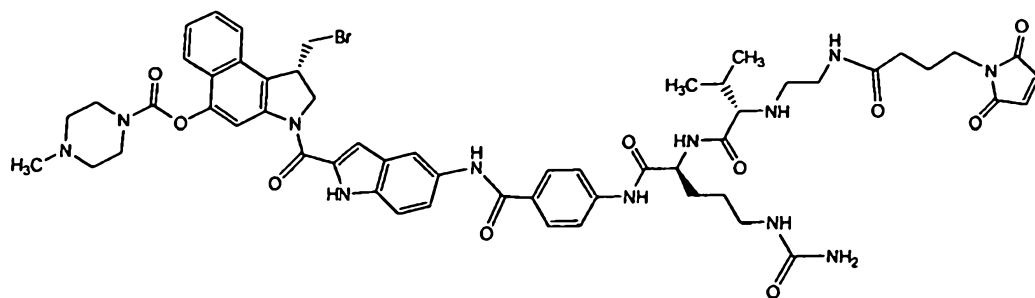
7. 一種化合物，其係選自於：



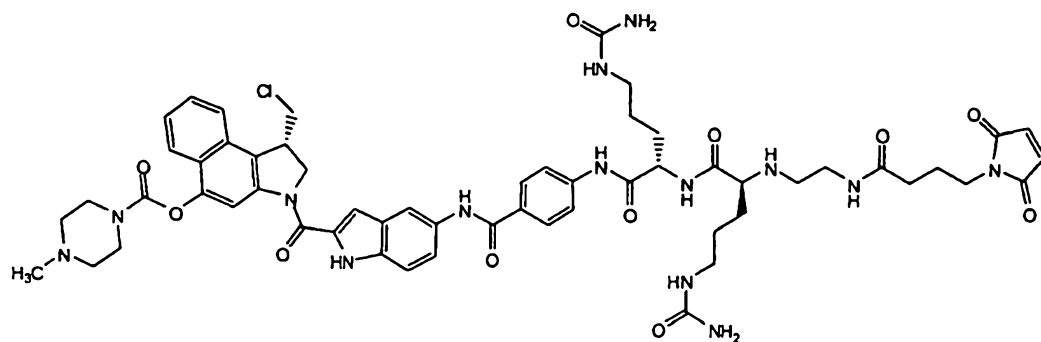
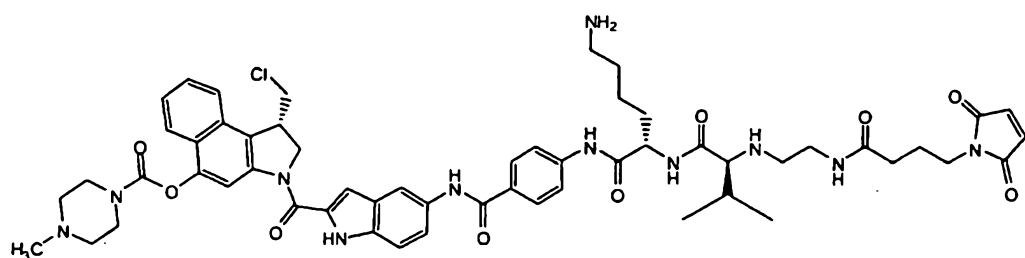
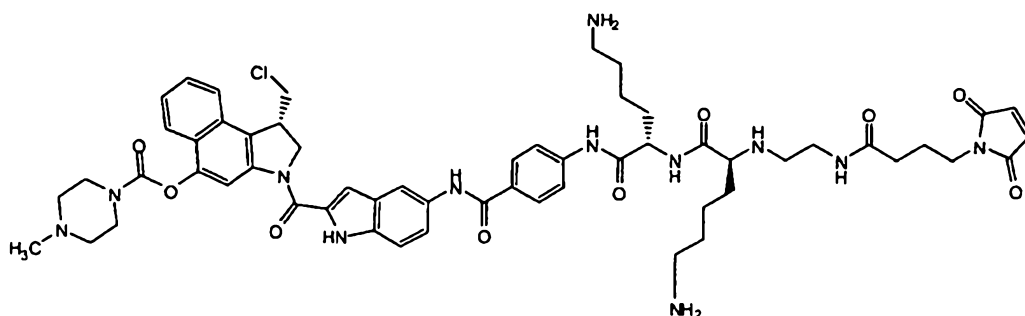
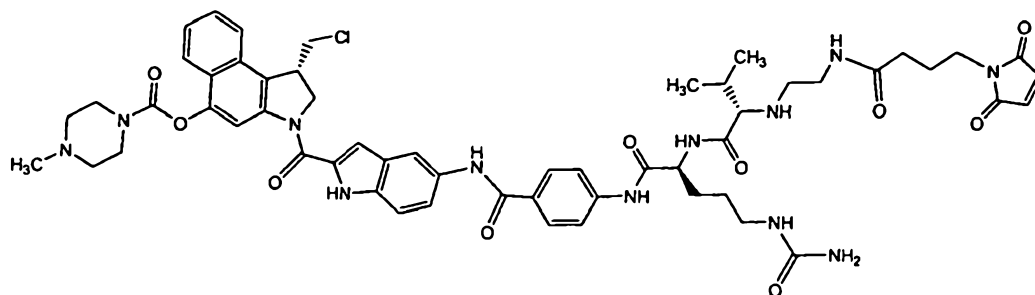
5







及



其中r為0至24之範圍之整數。