



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201735952 A

(43)公開日：中華民國 106 (2017) 年 10 月 16 日

(21)申請案號：106106457

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 02 月 24 日

(51)Int. Cl.：

A61K47/55 (2017.01)

C07K7/08 (2006.01)

A61K39/385 (2006.01)

A61K39/39 (2006.01)

(30)優先權：2016/02/26

澳大利亞

2016900701

(71)申請人：布萊博 瑪格蕾特 安(紐西蘭) BRIMBLE, MARGARET ANNE (NZ)

紐西蘭

登巴 彼得 羅德艾瑞克(紐西蘭) DUNBAR, PETER RODERICK (NZ)

紐西蘭

威廉斯 傑佛瑞 馬丁(紐西蘭) WILLIAMS, GEOFFREY MARTYN (NZ)

紐西蘭

凡登 丹尼爾(紐西蘭) VERDON, DANIEL (NZ)

紐西蘭

奧克蘭聯合服務公司(紐西蘭) AUCKLAND UNISERVICES LIMITED (NZ)

紐西蘭

(72)發明人：布萊博 瑪格蕾特 安 BRIMBLE, MARGARET ANNE (NZ)；登巴 彼得 羅德
艾瑞克 DUNBAR, PETER RODERICK (NZ)；威廉斯 傑佛瑞 馬丁 WILLIAMS,
GEOFFREY MARTYN (NZ)；凡登 丹尼爾 VERDON, DANIEL (NZ)

(74)代理人：陳翠華

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：120 項 圖式數：6 共 318 頁

(54)名稱

胺基酸及肽共軛物以及共軛過程

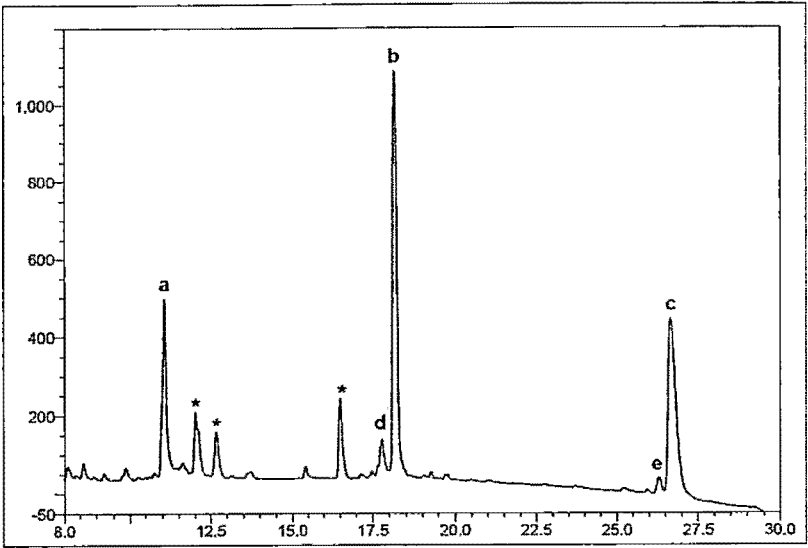
AMINO ACID AND PEPTIDE CONJUGATES AND CONJUGATION PROCESS

(57)摘要

本發明是有關於胺基酸及肽共軛物、製備胺基酸及肽共軛物之方法、藉由該等方法生產之共軛物以及包含該等共軛物之醫藥組成物。本發明亦意欲涵蓋在受試者中引起免疫反應之方法及對受試者進行接種之方法、該等共軛物用於其之用途、以及該等共軛物在製造用於其之藥物中之用途。

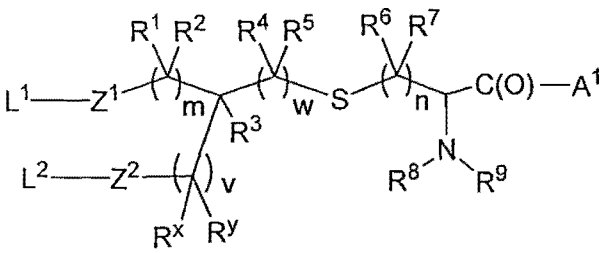
The invention relates to amino acid and peptide conjugates, methods for making amino acid and peptide conjugates, conjugates produced by the methods, and pharmaceutical compositions comprising the conjugates. Methods of eliciting immune responses in a subject and methods of vaccinating a subject, uses of the conjugates for the same, and uses of the conjugates in the manufacture of medicaments for the same are also contemplated.

指定代表圖：



第 1 圖

特徵化學式：



(I)

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】 胺基酸及肽共軛物以及共軛過程／AMINO ACID AND PEPTIDE CONJUGATES AND CONJUGATION PROCESS

【技術領域】

【0001】 本發明是有關於胺基酸及肽共軛物、製備胺基酸及肽共軛物之方法、藉由該等方法生產之共軛物、包含該等共軛物之醫藥組成物、在受試者中引起免疫反應之方法及對受試者進行接種之方法、該等共軛物用於其之用途以及該等共軛物在製造用於其之藥物中之用途。本發明亦是有關於製備可用於合成本發明之胺基酸及肽共軛物之化合物之方法以及是有關於此等化合物。

【先前技術】

【0002】 合成肽疫苗通常包含蛋白質抗原之免疫原性部分之合成複本 (synthetic copy)。此疫苗開發方法具有諸多優點，包括易於合成、避免潛在之毒性生物副產物以及表徵 (characterisation) 簡便。

【0003】 開發肽疫苗之關鍵問題在於作為唯一疫苗組份之肽展現不出免疫原性。通常需要在疫苗中包含佐劑，用以活化先天免疫系統之組份 (例如弗氏佐劑 (Freund's adjuvant))。

【0004】 肽疫苗設計中之另一替代策略是發明其中所關注的肽表位共價聯接至適宜佐劑的自佐 (self-adjuvanting) 疫苗。與抗原與外部佐劑之簡單共製劑相比，此等自佐疫苗可具有增強之抗原攝入 (uptake)、呈現 (presentation) 及樹突細胞成熟。

【0005】 已開發數種自佐疫苗，但該等疫苗之製備會很複雜。

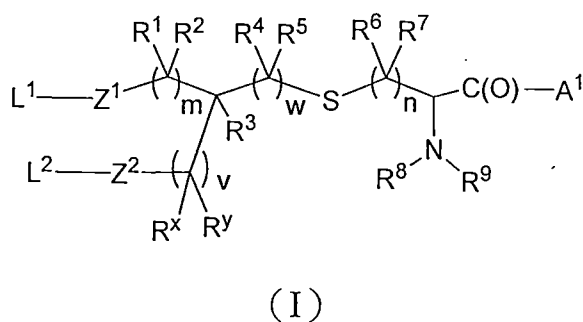
【0006】 對新的自佐疫苗以及製造自佐疫苗之新方法之需要不斷增長。本發明之目的係在一定程度上滿足該等需要；及／或至少為公眾提供有用的選擇。

【0007】 自以下僅藉由舉例說明給出之描述可明瞭本發明之其他目的。

【0008】 本說明書中包含的對文獻、法案、材料、裝置、物件等之任何討論僅係出於為本發明提供背景之目的。不應將其視為承認任何或所有該等事項形成先前技術基礎之一部分或係在優先日期之前存在的與本發明相關之領域中之常見一般知識。

【發明內容】

【0009】 在一個方面中，本發明總體上係在於一種式（I）之胺基酸或肽共軛化合物：



其中

m 及 w 分別獨立地為0至7之整數且 v 為0至5之整數，

其限制條件係為：

m 、 v 與 w 之和至少為3；且

m與w之和為0至7；

n為1或2；

Z^1 及 Z^2 分別獨立地選自由
O-、-NR-、-S-、-S(O)-、-SO₂-、-C(O)O-、-OC(O)-、-C(O)
NR-、-NRC(O)-、-C(O)S-、-SC(O)-、-OC(O)O-、-NRC(O)
O-、-OC(O)NR-及-NRC(O)NR-組成之群組；

R^1 、 R^2 、 R^x 、 R^y 、 R^4 、 R^5 、 R^6 及 R^7 在m、v、w及n之每一情形下
皆分別獨立地為氫或C1-6脂族基；

R 、 R^3 及 R^8 分別獨立地為氫或C1-6脂族基；

R^9 為氫、C1-6脂族基、胺基保護基、 L^3 -C(O)-或 A^2 ；

L^1 及 L^2 分別獨立地選自C5-21脂族基或C4-20雜脂族基；

L^3 為C1-21脂族基或C2-20雜脂族基；

A^1 為胺基酸、肽、OH、OP¹、NH₂或NHP²，其中P¹為羧基保護
基，且其中P²為羧醯胺（carboxamide）保護基；

A^2 為胺基酸或肽；

其中 R 、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^x 、 R^y 、 L^1 、
 L^2 及 L^3 其中之任一者中存在之任一脂族基或雜脂族基視需要經取
代；

或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物。

【0010】 除非另有規定或上下文另有說明，否則本文中所描述之實施
態樣或優選態樣其中之任一者可關於單獨的本文中方面中之任一者或與本
文中所描述任何一或多個實施態樣或優選態樣組合。

【0011】 在多個不同實施態樣中，

R^1 、 R^2 、 R^x 、 R^y 、 R^4 、 R^5 、 R^6 及 R^7 在m、v、w、及n之每一情形下皆分別獨立地為氫、C1-6烷基、C2-6烯基、C2-6炔基或C3-6環烷基；

R 、 R^3 及 R^8 分別獨立地為氫、C1-6烷基、C2-6烯基、C2-6炔基或C3-6環烷基；

R^9 為氫、C1-6烷基、C2-6烯基、C2-6炔基、C3-6環烷基、胺基保護基、 $L^3-C(O)$ 或 A^2 ；

L^1 及 L^2 分別獨立地選自C5-21烷基、C5-21烯基、C5-21炔基或C4-20雜烷基；

L^3 為C1-21烷基、C5-21烯基、C5-21炔基、C3-6環烷基或C2-20雜烷基；

A^1 為胺基酸、肽、OH、 OP^1 、 NH_2 或 NHP^2 ，其中 P^1 為羧基保護基，且其中 P^2 為羧醯胺保護基；

A^2 為胺基酸或肽；

其中 R 、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^x 、 R^y 、 L^1 、 L^2 及 L^3 其中之任一者中存在之任一烷基、烯基、炔基、環烷基或雜烷基視需要經取代。

【0012】 在多個不同實施態樣中，

R^1 、 R^2 、 R^x 、 R^y 、 R^4 、 R^5 、 R^6 及 R^7 在m、v、w、及n之每一情形下皆分別獨立地為氫、C1-6烷基、C2-6烯基或C3-6環烷基；

R 、 R^3 及 R^8 分別獨立地為氫、C1-6烷基、C2-6烯基或C3-6環烷基；

R^9 為氫、C1-6烷基、C2-6烯基、C3-6環烷基、胺基保護基、 $L^3-C(O)$

或A²；

L¹及L²分別獨立地選自C5-21烷基、C5-21烯基或C4-20雜烷基；

L³為C1-21烷基、C5-21烯基、C3-6環烷基或C2-20雜烷基；

A¹為胺基酸、肽、OH、OP¹、NH₂或NHP²，其中P¹為羧基保護基，
且其中P²為羧醯胺保護基；

A²為胺基酸或肽；

其中R、R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹、R^x、R^y、L¹、L²
及L³其中之任一者中存在之任一烷基、烯基、環烷基或雜烷基視需要經
取代。

【0013】 在多個不同實施態樣中，

R¹、R²、R^x、R^y、R⁴、R⁵、R⁶及R⁷在m、v、w、及n之每一情形下
皆分別獨立地為氫、C1-6烷基或C3-6環烷基；

R、R³及R⁸分別獨立地為氫、C1-6烷基或C3-6環烷基；

R⁹為氫、C1-6烷基、C3-6環烷基、胺基保護基、L³-C(O)或A²；

L¹及L²分別獨立地選自C5-21烷基、C5-21烯基或C4-20雜烷基；

L³為C1-21烷基、C2-21烯基、C3-6環烷基或C2-20雜烷基；

A¹為胺基酸、肽、OH、OP¹、NH₂或NHP²，其中P¹為羧基保護基，
且其中P²為羧醯胺保護基；

A²為胺基酸或肽；

其中R、R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹、R^x、R^y、L¹、L²
及L³其中之任一者中存在之任一烷基、烯基、環烷基或雜烷基視需要經
取代。

【0014】 在多個不同實施態樣中，

R¹、R²、R^x、R^y、R⁴、R⁵、R⁶及R⁷在m、v、w、及n之每一情形下皆分別獨立地為氫、C1-6烷基或C3-6環烷基；

R、R³及R⁸分別獨立地為氫、C1-6烷基或C3-6環烷基；

R⁹為氫、C1-6烷基、C3-6環烷基、胺基保護基、L³-C(O)或A²；

L¹及L²分別獨立地選自C5-21烷基或C4-20雜烷基；

L³為C1-21烷基、C3-6環烷基或C2-20雜烷基；

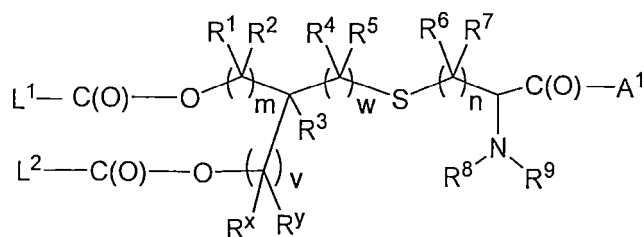
A¹為胺基酸、肽、OH、OP¹、NH₂或NHP²，其中P¹為羧基保護基，且其中P²為羧酞胺保護基；

A^2 為胺基酸或肽；

其中R、R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹、R^x、R^y、L¹、L²及L³其中之任一者中存在之任一烷基、環烷基或雜烷基視需要經取代。

【0015】 在多個不同實施態樣中， Z^1 及 Z^2 分別獨立地選自由 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)NR-$ 及 $-C(O)S-$ 組成之群組。

【0016】 在多個不同實施態樣中，該式(I)之化合物為式(IA)之化合物：



(IA) .

【0017】 在多個不同實施態樣中，v為0至4、0至3或0至2，或v為0或1，

舉例而言為0。

【0018】 在某些實施態樣中， v 為0至3。在例示性實施態樣中， v 為0。

【0019】 在多個不同實施態樣中， m 及 w 分別獨立地為0至6、0至5、0至4、0至3、0至2、1至7、1至6、1至5、1至4、1至3或1至2。

【0020】 在多個不同實施態樣中， m 及 w 分別獨立地為0至5。

【0021】 在某些實施態樣中， m 及 w 分別獨立地為1至4。

【0022】 在多個不同實施態樣中， m 為1至6，例如2至6、1至5或2至5。在多個不同實施態樣中， m 為1至5。在多個不同實施態樣中， m 為1至3。在例示性實施態樣中， m 為2。

【0023】 在多個不同實施態樣中， w 為1或2。在例示性實施態樣中， w 為1。

【0024】 在多個不同實施態樣中， m 與 w 之和為0至6、0至5、0至4、0至3、1至7、1至6、1至5、1至4、1至3、2至7、2至6、2至5、2至4或2至3。

【0025】 在多個不同實施態樣中， m 與 w 之和為2至7。

【0026】 在某些實施態樣中， m 與 w 之和為2至5。

【0027】 在例示性實施態樣中， m 與 w 之和為3。

【0028】 在多個不同實施態樣中， v 為0至3； m 及 w 分別獨立地為0至5；且 m 與 w 之和為2至7。

【0029】 在多個不同實施態樣中， v 為1或0； m 及 w 分別獨立地為0至5；且 m 與 w 之和為2至7。

【0030】 在多個不同實施態樣中， v 為1或0； m 及 w 分別獨立地為1至4；且 m 與 w 之和為2至7。

【0031】 在多個不同實施態樣中， v 為1或0； m 及 w 分別獨立地為1至4；且 m 與 w 之和為2至5。

【0032】 在某些實施態樣中， v 為1或0； m 為1至6；且 w 為1或2。在某些實施態樣中， v 為1或0； m 為1至5；且 w 為1或2。

【0033】 在某些實施態樣中， v 為0或1； m 為1至3；且 w 為1或2。

【0034】 在例示性實施態樣中， v 為0； m 為2；且 w 為1。

【0035】 在例示性實施態樣中， n 為1。

【0036】 在某些實施態樣中， L^1 及 L^2 分別獨立地為C5-21脂族基，例如C9-21脂族基、C11-21脂族基、或C11-、C13-、C15-、C17-或C19-脂族基。

【0037】 在某些實施態樣中， L^1 及 L^2 分別獨立地為C5-21烷基。

【0038】 在多個不同實施態樣中， L^1 及 L^2 分別獨立地為C9-21烷基。在另一實施態樣中， L^1 及 L^2 分別獨立地為C11-21烷基。

【0039】 在多個不同例示性實施態樣中， L^1 及 L^2 分別獨立地為C11、C13、C15、C17或C19烷基，較佳地為正烷基。

【0040】 在多個不同特別意欲涵蓋之實施態樣中， L^1 及 L^2 分別獨立地為C15烷基。

【0041】 在多個不同實施態樣中， L^1 及 L^2 分別獨立地包含9至21個碳原子之直鏈。

- 【0042】 在例示性實施態樣中， L^1 及 L^2 分別獨立地為C15直鏈烷基。
- 【0043】 在一些實施態樣中， L^3 為C1-21烷基。
- 【0044】 在多個不同實施態樣中， L^3 為甲基或C15直鏈烷基。
- 【0045】 在例示性實施態樣中， L^3 為甲基（亦即， R^9 為乙醯基）。
- 【0046】 在一些實施態樣中，該胺基保護基為Boc、Fmoc、Cbz（苄氧羰基）、Nosyl（鄰-或對-硝基苯基磺醯基）、Bpoc（2-(4-聯苯基)異丙氧羰基）及Dde（1-(4,4-二甲基-2,6-二氧亞己基)乙基）。
- 【0047】 在多個不同實施態樣中，該胺基保護基為Boc或Fmoc。
- 【0048】 在一些實施態樣中，該胺基保護基為Fmoc。
- 【0049】 在一些實施態樣中，該羧基保護基為第三丁基、苄基或烯丙基。
- 【0050】 在多個不同實施態樣中，該羧醯胺保護基為Dmcp或三苯甲基。
- 【0051】 在多個不同實施態樣中， R^1 及 R^2 在m之每一情形下皆分別獨立地為C1-6烷基或氫。在多個不同特別意欲涵蓋之實施態樣中， R^1 及 R^2 在m之每一情形下皆分別為氫。
- 【0052】 在多個不同實施態樣中， R^3 為C1-6烷基或氫。在多個不同特別意欲涵蓋之實施態樣中， R^3 為氫。
- 【0053】 在多個不同實施態樣中， R^4 及 R^5 在w之每一情形下皆分別獨立地為C1-6烷基或氫，較佳為氫。在多個不同特別意欲涵蓋之實施態樣中， R^4 及 R^5 在w之每一情形下皆分別為氫。

【0054】 在多個不同實施態樣中， R^x 及 R^y 在 v 之每一情形下皆分別獨立地為C1-6烷基或氫。在多個不同特別意欲涵蓋之實施態樣中， R^x 及 R^y 在 v 之每一情形下皆分別為氫。

【0055】 在多個不同實施態樣中， R^6 及 R^7 在 n 之每一情形下皆分別獨立地為C1-6烷基或氫。在多個不同特別意欲涵蓋之實施態樣中， R^6 及 R^7 分別為氫。

【0056】 在多個不同實施態樣中， R^8 獨立地為C1-6烷基或氫。在例示性實施態樣中， R^8 為氫。

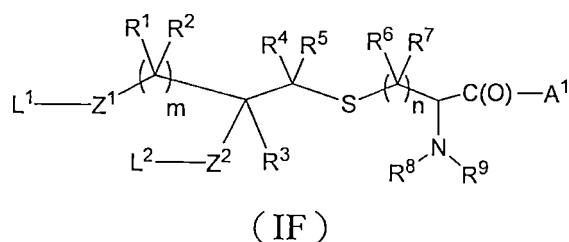
【0057】 在多個不同實施態樣中， R^9 為C1-6烷基、氫、胺基保護基、 $L^3-C(O)$ 或 A^2 。在例示性實施態樣中， R^9 為氫、胺基保護基、 $L^3-C(O)$ 或 A^2 。

【0058】 在多個不同實施態樣中， R^8 為氫且 R^9 為氫、胺基保護基、 $L^3-C(O)$ 或 A^2 。

【0059】 在多個不同實施態樣中， R^8 及 R^9 分別為氫；或 R^9 為 $L^3-C(O)$ 或 A^2 。

【0060】 在多個不同例示性實施態樣中， R^8 為氫且 R^9 為 $L^3-C(O)$ 。在多個不同特別意欲涵蓋之實施態樣中， R^9 為 $L^3-C(O)$ ，其中 L^3 為甲基。

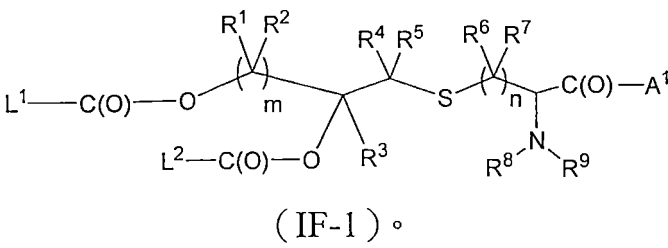
【0061】 在多個不同實施態樣中，該式(I)之化合物為式(IF)之化合物：



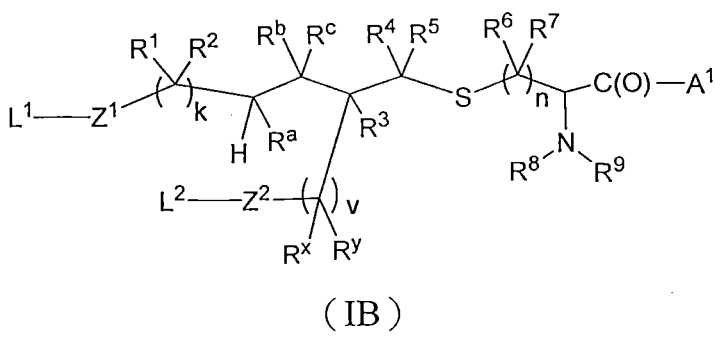
其中 m 為2至6之整數，較佳為2；且

其餘變量係如該式 (I) 之化合物或其任何實施態樣中所定義。

【0062】 在多個不同實施態樣中，該式 (IF) 之化合物為式 (IF-1) 之化合物：

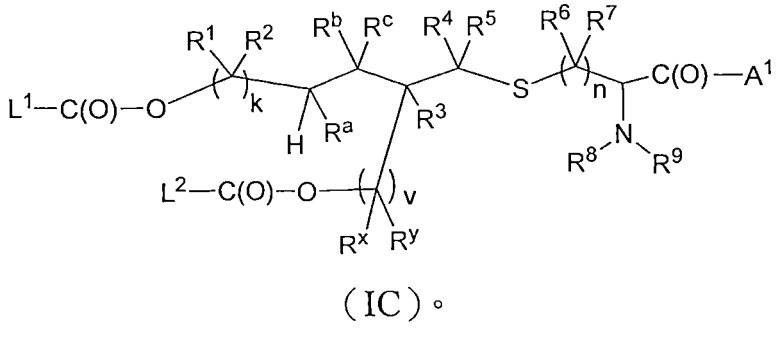


【0063】 在多個不同實施態樣中，該式 (I) 之化合物為式 (IB) 之化合物：



其中
k為0至4之整數；且
R^a、R^b及R^c分別獨立地為氫或C1-6脂族基。

【0064】 在多個不同實施態樣中，該式 (IB) 之化合物為式 (IC) 之化合物：



【0065】 在多個不同實施態樣中，k為0至3、0至2、0至1、1至4、1至3或1至2，或k為0或1。

【0066】 在某些實施態樣中，k為0至3。

【0067】 在某些實施態樣中，k為0或1。

【0068】 在例示性實施態樣中，k為0。

【0069】 在某些實施態樣中，k等於v。

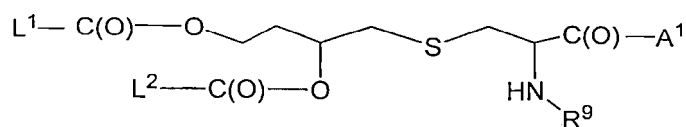
【0070】 在多個不同實施態樣中，R^a、R^b及R^c分別獨立地為氫、C1-6烷基、C2-6烯基、C2-6炔基或C3-6環烷基。

【0071】 在多個不同實施態樣中，R^a、R^b及R^c分別獨立地為氫、C1-6烷基、C2-6烯基或C3-6環烷基。

【0072】 在多個不同實施態樣中，R^a、R^b及R^c分別獨立地為氫、C1-6烷基或C3-6環烷基。

【0073】 在多個不同實施態樣中，R^a、R^b及R^c分別獨立地選自氫或C1-6烷基，較佳為氫。在例示性實施態樣中，R^a、R^b及R^c分別為氫。

【0074】 在多個不同實施態樣中，該式(I)之化合物為式(ID)之化合物：



(ID)。

【0075】 在某些實施態樣中，該化合物為式(ID)之化合物，其中L¹及L²分別為C15直鏈烷基。

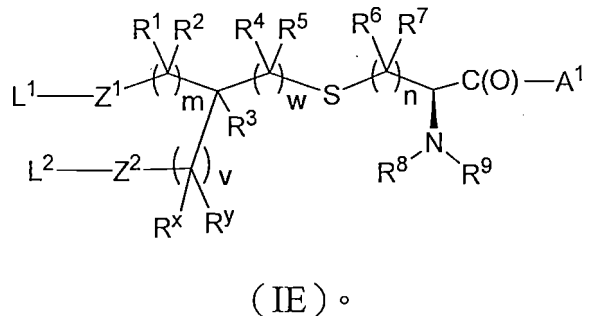
【0076】 在多個不同實施態樣中， L^1 及 L^2 分別獨立地為C11-21烷基； m 為2； v 為0； w 為1； R^1 及 R^2 在每一情形下皆分別為氫； R^3 為氫；且 R^4 及 R^5 分別為氫。

【0077】 在多個不同實施態樣中， n 為1； R^6 、 R^7 及 R^8 分別為氫；且 R^9 為氫、胺基保護基、 $L^3-C(O)$ 或 A^2 。

【0078】 在多個不同實施態樣中， n 為1； R^6 、 R^7 及 R^8 分別為氫；且 R^9 為氫、胺基保護基或 $L^3-C(O)$ ，其中 L^3 為C15直鏈烷基或甲基。

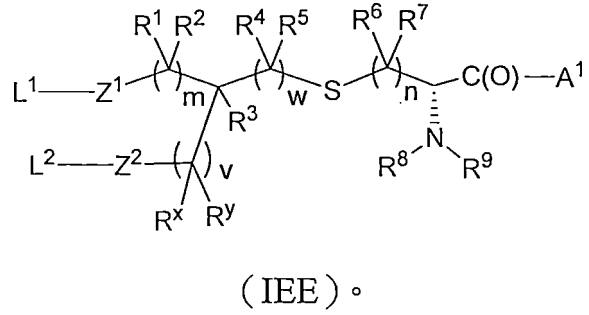
【0079】 在多個不同實施態樣中， L^1 及 L^2 分別獨立地為C11-21烷基； m 為2； v 為0； w 為1； R^1 及 R^2 在每一情形下皆分別為氫； R^3 為氫； R^4 及 R^5 分別為氫； n 為1； R^6 、 R^7 及 R^8 分別為氫；且 R^9 為氫、胺基保護基或 $L^3-C(O)$ ，其中 L^3 為C15直鏈烷基或甲基。

【0080】 在多個不同實施態樣中，該式 (I) 之化合物具有式 (IE)：



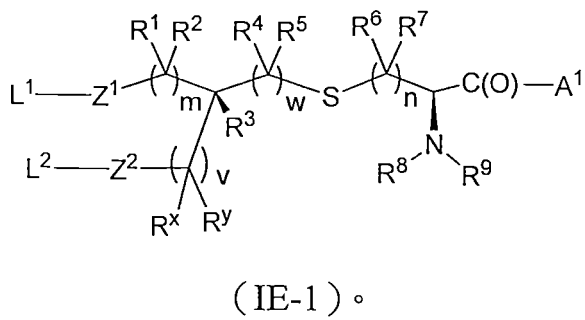
(IE)。

【0081】 在多個不同實施態樣中，該式 (I) 之化合物具有式 (IEE)：

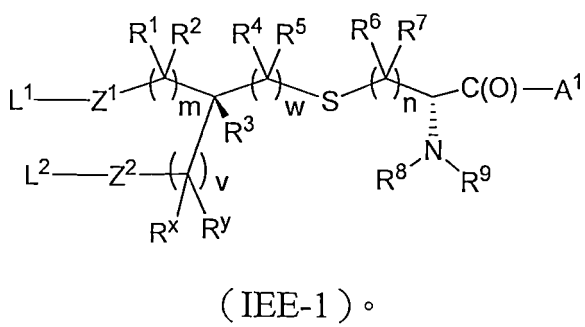


(IEE)。

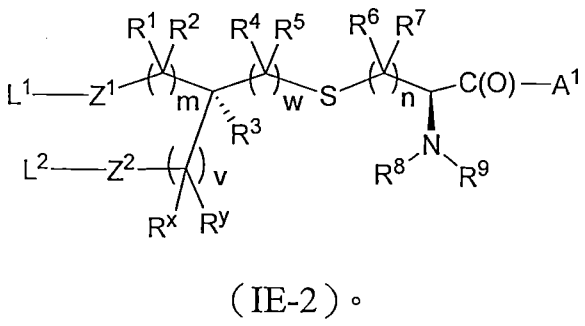
【0082】 在多個不同實施態樣中，該式(I)之化合物具有式(IE-1)：



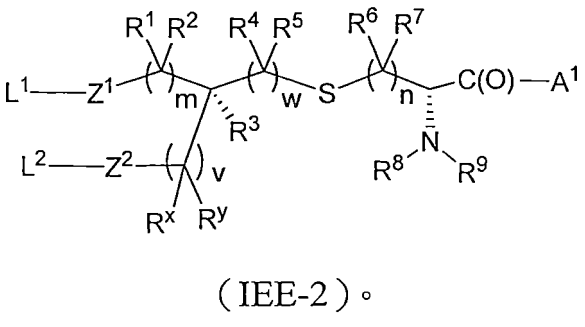
【0083】 在多個不同實施態樣中，該式(I)之化合物具有式(IEE-1)：



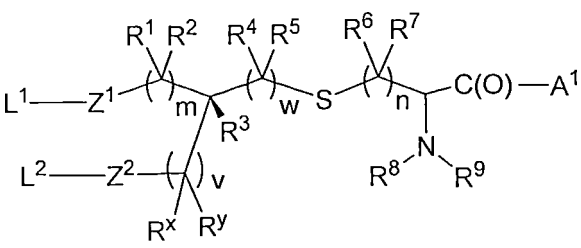
【0084】 在多個不同實施態樣中，該式(I)之化合物具有式(IE-2)：



【0085】 在多個不同實施態樣中，該式(I)之化合物具有式(IEE-2)：

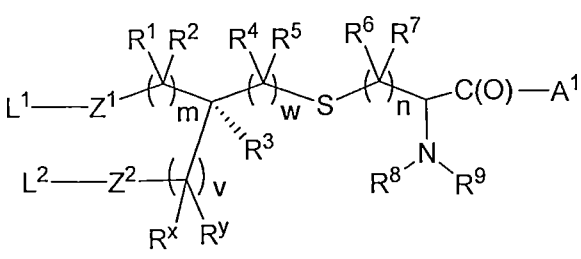


【0086】 在多個不同實施態樣中，該式(I)之化合物具有式(IEE-3)：



(IEE-3)。

【0087】 在多個不同實施態樣中，該式(I)之化合物具有式(IEE-4)：



(IEE-4)。

【0088】 在多個不同實施態樣中，與脂質部分共軛的該胺基酸或肽共軛物之胺基酸為半胱胺酸殘基。

【0089】 熟習此項技術者將理解，在某些實施態樣中，L¹-Z¹-及L²-Z²-部分可為脂肪酸基團，例如脂肪酸酯。在多個不同實施態樣中，該等部分可為飽和或不飽和的脂肪酸酯。在一些實施態樣中，脂肪酸為飽和的。

【0090】 在多個不同實施態樣中，該脂肪酸為C4-22脂肪酸。在一些實施態樣中，該脂肪酸為C6-22脂肪酸。

【0091】 在某些實施態樣中，該脂肪酸為C10-22脂肪酸。在某些特別意欲涵蓋之實施態樣中，該脂肪酸為C12-22脂肪酸。在多個不同例示性實施態樣中，該脂肪酸為C12、C14、C16、C18或C20脂肪酸。

【0092】 在一些實施態樣中，該脂肪酸為月桂酸、肉豆蔻酸、棕櫚酸、硬脂酸、花生酸、棕櫚油酸、油酸、反油酸、亞油酸、α-亞麻酸及花生四烯

酸。

【0093】 在多個不同實施態樣中，該脂肪酸為月桂酸、肉豆蔻酸、棕櫚酸或硬脂酸。

【0094】 在某些例示性實施態樣中，該脂肪酸為棕櫚酸（且 L^1-Z^1 -及 L^2-Z^2 -部分分別為棕櫚酰基）。

【0095】 在多個不同實施態樣中，該式（I）之化合物為胺基酸共軛物。

【0096】 在一些實施態樣中， A^1 為OH、 OP^1 、 NH_2 或 NHP^2 及／或 R^9 為氫、C1-6烷基、C3-6環烷基、胺基保護基或 $L^3-C(O)$ 。

【0097】 在一些實施態樣中， A^1 為 OP^1 或OH及／或 R^9 為氫、胺基保護基或 $L^3-C(O)$ 。

【0098】 在多個不同實施態樣中， A^1 為OH、 OP^1 、 NH_2 或 NHP^2 且 R^9 為氫、C1-6烷基、C3-6環烷基、胺基保護基或 $L^3-C(O)$ 。

【0099】 在多個不同實施態樣中， A^1 為OH或 OP^1 ，且 R^9 為氫、胺基保護基或 $L^3-C(O)$ 。

【0100】 在多個不同實施態樣中， R^9 為氫、胺基保護基或 $L^3-C(O)$ 。
在一些實施態樣中， R^9 為氫或 $L^3-C(O)$ 。

【0101】 在多個不同實施態樣中，該式（I）之化合物為肽共軛物。

【0102】 在多個不同實施態樣中， A^1 及／或 A^2 為胺基酸或肽。

【0103】 在一些實施態樣中， A^1 及／或 A^2 為肽。

- 【0104】 在一個實施態樣中， A^1 及／或 A^2 為包含表位之肽。
- 【0105】 在一些實施態樣中， A^1 及／或 A^2 為包含肽表位之肽。
- 【0106】 在另一實施態樣中， A^1 及／或 A^2 為肽，其中該肽包含肽表位。
- 【0107】 在一些實施態樣中， A^1 及／或 A^2 為經表位取代之肽。
- 【0108】 在一些實施態樣中，該表位係經由連接基結合至肽。
- 【0109】 在某些實施態樣中， A^1 為肽。
- 【0110】 在某些例示性實施態樣中， A^1 為肽且 R^9 不為 A^2 （亦即， R^9 不為胺基酸或肽）。
- 【0111】 在多個不同實施態樣中，該肽包含表位。
- 【0112】 在多個不同實施態樣中，該表位為肽表位。
- 【0113】 在某些實施態樣中，該表位係經由連接基偶合或結合。
- 【0114】 在多個不同實施態樣中，與脂質部分共軛的該肽共軛物之胺基酸為N端胺基酸殘基。
- 【0115】 在多個不同實施態樣中， A^1 為絲胺酸或包含絲胺酸作為第一N端胺基酸殘基之肽。
- 【0116】 在一些實施態樣中， A^1 為包含絲胺酸作為第一N端胺基酸殘基之肽。
- 【0117】 在多個不同實施態樣中，該肽共軛物包含一或多個增溶基。
- 【0118】 在一些實施態樣中，該增溶基包含在肽鏈中含有二或更多個

親水性胺基酸殘基之胺基酸序列。

【0119】 在多個不同實施態樣中，該增溶基為在肽鏈中含有二或更多個連續親水性胺基酸殘基之序列的胺基酸序列。

【0120】 在多個不同實施態樣中，該二或更多個親水性胺基酸殘基與該絲胺酸殘基相毗鄰。

【0121】 在一些實施態樣中， A^1 及／或 A^2 為包含增溶基之肽。

【0122】 在多個不同實施態樣中， A^1 及／或 A^2 為包含增溶基之肽，該增溶基包含在肽鏈中含有二或更多個親水性胺基酸殘基之胺基酸序列。

【0123】 在某些實施態樣中， A^1 為包含增溶基之肽，該增溶基包含在肽鏈中含有二或更多個親水性胺基酸殘基之胺基酸序列。

【0124】 在一些實施態樣中， A^1 為包含絲胺酸作為第一N端胺基酸殘基並包含增溶基之肽，該增溶基包含在肽鏈中含有二或更多個與絲胺酸毗鄰之親水性胺基酸殘基的胺基酸序列。

【0125】 在一些實施態樣中，該化合物包含連接子（linker）或其一或多個胺基酸。在一些實施態樣中，該肽包含連接子或其一或多個胺基酸。

【0126】 在一些實施態樣中，該肽包含肽表位，該肽表位經由連接子結合至與脂質部分結合之胺基酸。

【0127】 在一些實施態樣中，該肽包含二或更多個表位。

【0128】 在一些實施態樣中，該肽包含肽抗原。

【0129】 在一些實施態樣中，該連接子為長度為約2至20個、2至18個、2至16個、2至14個、2至12個、2至10個或2至8個胺基酸之胺基酸序列。

【0130】 在一些實施態樣中，該式(I)之化合物包含3或更多個、4或更多個或5或更多個連續胺基酸。

【0131】 在多個不同實施態樣中，該肽共軛物為脂肽。

【0132】 在一些實施態樣中，該式(I)之化合物為自佐肽。

【0133】 在一些實施態樣中， A^1 及／或 A^2 分別獨立地為包含約8至220個、8至200個、8至175個、8至150個、8至125個、8至100個、8至90個、8至80個、8至70個、8至60個、8至50個、8至40個、8至30個、8至25個、8至20個或8至15個胺基酸之肽。在一個例示性實施態樣中， A^1 及 A^2 分別獨立地為包含約8至60個胺基酸之肽。

【0134】 在其他實施態樣中， A^1 及／或 A^2 分別獨立地為包含約8至220個、8至200個、8至175個、8至150個、8至125個、8至100個、8至90個、8至80個、8至70個、8至60個、8至50個、8至40個、8至30個、8至25個、8至20個或8至15個胺基酸之肽。

【0135】 在其他實施態樣中， A^1 及／或 A^2 分別獨立地為包含約5至150個、5至125個、5至100個、5至75個、5至60個、5至50個、5至40個、5至30個、5至25個、5至20個、8至150個、8至125個、8至100個、8至75個、8至60個、8至50個、8至40個、8至30個、8至25個或8至20個胺基酸之肽。

【0136】 在一些實施態樣中， A^1 及／或 A^2 分別獨立地為肽，其中該肽包含8至60個胺基酸。

【0137】 在一些實施態樣中， A^1 及／或 A^2 分別獨立地為包含肽表位或經肽表位取代之肽，其中該肽表位包含8至60個胺基酸。

【0138】 適宜之肽表位包括但並不僅限於在2015年12月22日提出申

請之WO 2016/103192中所描述之彼等，WO 2016/103192之全文併入本文中供參考。

【0139】 在多個不同實施態樣中，該肽包含一或多個EBV LMP2表位、基本上由其組成或由其組成。在多個不同實施態樣中，該一或多個EBV LMP2表位為MHCI表位。在多個不同實施態樣中，該肽包含一或多個選自由SEQ ID NO 76至SEQ ID NO 101其中之任一者組成之群組之EBV LMP2表位。在多個不同實施態樣中，該肽包括包含8或更多個來自SEQ ID NO 1至SEQ ID NO 75其中之任一者之胺基酸序列之連續胺基酸或由其組成之肽。在多個不同實施態樣中，該肽包括包含12或更多個來自SEQ ID NO 1至SEQ ID NO 75其中之任一者之胺基酸序列之連續胺基酸或由其組成之肽。在多個不同實施態樣中，該肽包括包含15或更多個來自SEQ ID NO 1至SEQ ID NO 75其中之任一者之胺基酸序列之連續胺基酸或由其組成之肽，或包含20或更多個來自SEQ ID NO 1至SEQ ID NO 75其中之任一者之胺基酸序列之連續胺基酸或由其組成之肽。

【0140】 在多個不同實施態樣中，該肽包括重組肽，該重組肽包含12或更多個來自SEQ ID NO 1至SEQ ID NO 75其中之任一者之胺基酸序列之連續胺基酸或由其組成。在多個不同實施態樣中，該重組肽包含15或更多個來自SEQ ID NO 1至SEQ ID NO 75其中之任一者之胺基酸序列之連續胺基酸或由其組成，或包含20或更多個來自SEQ ID NO 1至SEQ ID NO 75其中之任一者之胺基酸序列之連續胺基酸或由其組成。

【0141】 在多個不同實施態樣中，該肽包含胺基酸序列、由該胺基酸序列組成或基本上由該胺基酸序列組成，該胺基酸序列係選自由SEQ ID NO 1至SEQ ID NO 75其中之任一者組成之群組。

【0142】 在多個不同實施態樣中，該肽包含胺基酸序列、由該胺基酸序列組成或基本上由該胺基酸序列組成，該胺基酸序列係選自由下列組成之群組

【0143】 (a) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 Xaa₁Xaa₂Xaa₃Xaa₄DRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHGDNDGL [SEQ ID NO:1]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基酸，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，Xaa₃不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₄不存在或為一或多個親水性胺基酸，

【0144】 (b) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 Xaa₁Xaa₂Xaa₃DRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHGDNDGL [SEQ ID NO:2]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基酸，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₃不存在或為1至10個親水性胺基酸，

【0145】 (c) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 Xaa₁Xaa₂DRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHGDNDGL [SEQ ID NO:3]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基酸，且Xaa₂不存在或為1至4個親水性胺基酸，

【0146】 (d) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 SKKKKDRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHGDNDGL [SEQ ID NO:4]之連續胺基酸殘基，

【0147】 (e) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 DRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHGDNDGL [SEQ ID NO:5]之連續胺基酸殘基，

【0148】 (f) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
Xaa₁Xaa₂Xaa₃Xaa₄SLYLGLQHDGNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEA [SEQ
ID NO:6]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基酸，Xaa₂
不存在或為親水性胺基酸，Xaa₃不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₄不存在或
為一或多個親水性胺基酸，

【0149】 (g) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
Xaa₁Xaa₂Xaa₃SLYLGLQHDGNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEA [SEQ ID
NO:7]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基酸，Xaa₂不
存在或為親水性胺基酸，且Xaa₃不存在或為1至10個親水性胺基酸，

【0150】 (h) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
Xaa₁Xaa₂SLYLGLQHDGNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEA [SEQ ID NO:8]
之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基酸，且Xaa₂不存在
或為1至4個親水性胺基酸，

【0151】 (i) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
SKKKKSLYLGLQHDGNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEA [SEQ ID NO:9]之
連續胺基酸殘基，

【0152】 (j) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
SLYLGLQHDGNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEA [SEQ ID NO:10]之連續胺
基酸殘基，

【0153】 (k) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
Xaa₁Xaa₂Xaa₃Xaa₄SDYQPLGTQDQSLYLGLQHDGNDGL [SEQ ID NO:11]
之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基酸，Xaa₂不存在或

為親水性胺基酸，Xaa₃不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₄不存在或為一或多個親水性胺基酸，

【0154】 (1) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 Xaa₁Xaa₂Xaa₃SDYQPLGTQDQSLYLGLQHGDNDGL [SEQ ID NO:12]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基酸，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₃不存在或為1至10個親水性胺基酸，

【0155】 (m) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 Xaa₁Xaa₂SDYQPLGTQDQSLYLGLQHGDNDGL [SEQ ID NO:13]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基酸，且Xaa₂不存在或為1至4個親水性胺基酸，

【0156】 (n) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 SKKKKSDYQPLGTQDQSLYLGLQHGDNDGL [SEQ ID NO:14]之連續胺基酸殘基，

【0157】 (o) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 SDYQPLGTQDQSLYLGLQHGDNDGL [SEQ ID NO:15]之連續胺基酸殘基，

【0158】 (p) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 Xaa₁Xaa₂Xaa₃Xaa₄DRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHGDNDGLPPPPYSPRD DSSQHIYEEA [SEQ ID NO:16]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基酸，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，Xaa₃不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₄不存在或為一或多個親水性胺基酸，

【0159】 (q) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 Xaa₁Xaa₂Xaa₃DRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHGDNDGLPPPPYSPRDDSS

QHIYEEA [SEQ ID NO:17]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基酸，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₃不存在或為1至10個親水性胺基酸，

【0160】 (r) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
Xaa₁Xaa₂DRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHDGNDGLPPPPYSPRDDSSQHI
YEEA [SEQ ID NO:18]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性
胺基酸，且Xaa₂不存在或為1至4個親水性胺基酸，

【0161】 (s) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
SKKKKDRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHDGNDGLPPPPYSPRDDSSQHIY
EEA [SEQ ID NO:19]之連續胺基酸殘基，

【0162】 (t) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
DRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHDGNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEA
[SEQ ID NO:20]之連續胺基酸殘基，

【0163】 (u) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
Xaa₁Xaa₂Xaa₃Xaa₄LLWTLVLLICSSCSCPLSKILLARLFLYALALL [SEQ
ID NO:21]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基酸，Xaa₂
不存在或為親水性胺基酸，Xaa₃不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₄不存在或
為一或多個親水性胺基酸，

【0164】 (v) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
Xaa₁Xaa₂Xaa₃LLWTLVLLICSSCSCPLSKILLARLFLYALALL [SEQ ID
NO:22]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基酸，Xaa₂不
存在或為親水性胺基酸，且Xaa₃不存在或為1至10個親水性胺基酸，

【0165】 (w) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
Xaa₁Xaa₂LLWTLVLLICSSCSSLKILLARFLYALALL [SEQ ID
NO:23]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基酸，且Xaa₂
不存在或為1至4個親水性胺基酸，

【0166】 (x) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
SKKKKLLWTLVLLICSSCSSLKILLARFLYALALL [SEQ ID
NO:24]之連續胺基酸殘基，

【0167】 (y) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
LLWTLVLLICSSCSSLKILLARFLYALALL [SEQ ID NO:25]之連續
胺基酸殘基，

【0168】 (z) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
Xaa₁Xaa₂Xaa₃Xaa₄LMLLWTLVLLICSSCSSLKILLARFLYALALLL
A [SEQ ID NO:26]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基
酸，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，Xaa₃不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₄
不存在或為一或多個親水性胺基酸，

【0169】 (aa) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
Xaa₁Xaa₂Xaa₃LMLLWTLVLLICSSCSSLKILLARFLYALALLLA
[SEQ ID NO:27]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基
酸，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₃不存在或為1至10個親水性胺基
酸，

【0170】 (bb) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
Xaa₁Xaa₂LMLLWTLVLLICSSCSSLKILLARFLYALALLLA [SEQ

ID NO:28]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基酸，且Xaa₂不存在或為1至4個親水性胺基酸，

【0171】 (cc) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 SKKKKLMLLWTLVLLICSSCSSLPLSKILLARLFLYALALLLA [SEQ ID NO:29]之連續胺基酸殘基，

【0172】 (dd) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 LMLLWTLVLLICSSCSSLPLSKILLARLFLYALALLLA [SEQ ID NO:30]之連續胺基酸殘基，

【0173】 (ee) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 Xaa₁Xaa₂Xaa₃Xaa₄LMLLWTLVLLICSSCSSLPLSKILL [SEQ ID NO:31]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基酸，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，Xaa₃不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₄不存在或為一或多個親水性胺基酸，

【0174】 (ff) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 Xaa₁Xaa₂Xaa₃LMLLWTLVLLICSSCSSLPLSKILL [SEQ ID NO:32]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基酸，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₃不存在或為1至10個親水性胺基酸，

【0175】 (gg) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 Xaa₁Xaa₂LMLLWTLVLLICSSCSSLPLSKILL [SEQ ID NO:33]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基酸，且Xaa₂不存在或為1至4個親水性胺基酸，

【0176】 (hh) 8 或 更 多 個 來 自 序 列

SKKKKLMLLWTLVVLLICSSCSSLPLSKILL [SEQ ID NO:34]之連續胺基酸殘基，

【0177】 (ii) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 LMLLWTLVVLLICSSCSSLPLSKILL [SEQ ID NO:35]之連續胺基酸殘基，

【0178】 (jj) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 Xaa₁Xaa₂Xaa₃Xaa₄LLICSSCSSLPLSKILLARLFLYALALLLA [SEQ ID NO:36]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基酸，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，Xaa₃不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₄不存在或為一或多個親水性胺基酸，

【0179】 (kk) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 Xaa₁Xaa₂Xaa₃LLICSSCSSLPLSKILLARLFLYALALLLA [SEQ ID NO:37]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基酸，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₃不存在或為1至10個親水性胺基酸，

【0180】 (ll) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 Xaa₁Xaa₂LLICSSCSSLPLSKILLARLFLYALALLLA [SEQ ID NO:38]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基酸，且Xaa₂不存在或為1至4個親水性胺基酸，

【0181】 (mm) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 SKKKKLLICSSCSSLPLSKILLARLFLYALALLLA [SEQ ID NO:39]之連續胺基酸殘基，

【0182】 (nn) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 LLICSSCSSLPLSKILLARLFLYALALLLA [SEQ ID NO:40]之連續胺基酸

殘基，

【0183】 (oo) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
Xaa₁Xaa₂Xaa₃Xaa₄LNLTTMFLLMLLWTLVVLLICSSCSCPLSKILLARLFL
YALALLLLASALIAGGSI [SEQ ID NO:41]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不
存在或為S或親水性胺基酸，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，Xaa₃不存在或
為親水性胺基酸，且Xaa₄不存在或為一或多個親水性胺基酸，

【0184】 (pp) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
Xaa₁Xaa₂Xaa₃LNLTTMFLLMLLWTLVVLLICSSCSCPLSKILLARLFLYAL
ALLLLASALIAGGSI [SEQ ID NO:42]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在
或為S或親水性胺基酸，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₃不存在或為
1至10個親水性胺基酸，

【0185】 (qq) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
Xaa₁Xaa₂LNLTTMFLLMLLWTLVVLLICSSCSCPLSKILLARLFLYALALL
LLASALIAGGSI [SEQ ID NO:43]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S
或親水性胺基酸，且Xaa₂不存在或為1至4個親水性胺基酸，

【0186】 (rr) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
SKKKKLNLTTMFLLMLLWTLVVLLICSSCSCPLSKILLARLFLYALALL
LASALIAGGSI [SEQ ID NO:44]之連續胺基酸殘基，

【0187】 (ss) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
LNLTTMFLLMLLWTLVVLLICSSCSCPLSKILLARLFLYALALLLLASALI
AGGSI [SEQ ID NO:45]之連續胺基酸殘基，

【0188】 (tt) 8 或 更 多 個 來 自 序 列

Xaa₁Xaa₂Xaa₃Xaa₄FLLMLLWTLVVLLICSSCSCPLSKILLARLFLYALALLLLASA [SEQ ID NO:46]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基酸，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，Xaa₃不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₄不存在或為一或多個親水性胺基酸，

【0189】 (uu) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 Xaa₁Xaa₂Xaa₃FLLMLLWTLVVLLICSSCSCPLSKILLARLFLYALALLLLASA [SEQ ID NO:47]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基酸，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₃不存在或為1至10個親水性胺基酸，

【0190】 (vv) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 Xaa₁Xaa₂FLLMLLWTLVVLLICSSCSCPLSKILLARLFLYALALLLLASA [SEQ ID NO:48]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基酸，且Xaa₂不存在或為1至4個親水性胺基酸，

【0191】 (ww) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 SKKKKFLLMLLWTLVVLLICSSCSCPLSKILLARLFLYALALLLLASA [SEQ ID NO:49]之連續胺基酸殘基，

【0192】 (xx) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 FLLMLLWTLVVLLICSSCSCPLSKILLARLFLYALALLLLASA [SEQ ID NO:50]之連續胺基酸殘基，

【0193】 (yy) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 Xaa₁Xaa₂Xaa₃Xaa₄LQGIYVLVMLVLLILAYRRRWRRLTVCGGIMFLACVLVLIVDAVLQLSPLL [SEQ ID NO:51]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或

為S或親水性胺基酸，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，Xaa₃不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₄不存在或為一或多個親水性胺基酸，

【0194】 (zz) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
Xaa₁Xaa₂Xaa₃LQGIYVLVMLVLLILAYRRRWRLTVCGGIMFLACVLVLIV
DAVLQLSPLL [SEQ ID NO:52]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S
或親水性胺基酸，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₃不存在或為1至10
個親水性胺基酸，

【0195】 (aaa) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
Xaa₁Xaa₂LQGIYVLVMLVLLILAYRRRWRLTVCGGIMFLACVLVLIVDAV
LQLSPLL [SEQ ID NO:53]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水
性胺基酸，且Xaa₂不存在或為1至4個親水性胺基酸，

【0196】 (bbb) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
SKKKKLQGIYVLVMLVLLILAYRRRWRLTVCGGIMFLACVLVLIVDAV
LQLSPLL [SEQ ID NO:54]之連續胺基酸殘基，

【0197】 (ccc) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
LQGIYVLVMLVLLILAYRRRWRLTVCGGIMFLACVLVLIVDAVLQLSPL
L [SEQ ID NO:55]之連續胺基酸殘基，

【0198】 (ddd) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
Xaa₁Xaa₂Xaa₃Xaa₄SGNRTYGPVFM(C)(S)LGGLLTMVAGAVWLTVMSTNL
LSAWILTAGFLIFLIGFA [SEQ ID NO:56]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存
在或為S或親水性胺基酸，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，Xaa₃不存在或為
親水性胺基酸，且Xaa₄不存在或為一或多個親水性胺基酸，

【0199】 (eee) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
Xaa₁Xaa₂Xaa₃SGNRTYGPVFM(C)(S)LGGLLTMVAGAVWLTVMSENTLLSA
WILTAGFLIFLIGFA [SEQ ID NO:57]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或
為S或親水性胺基酸，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₃不存在或為1
至10個親水性胺基酸，

【0200】 (fff) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
Xaa₁Xaa₂SGNRTYGPVFM(C)(S)LGGLLTMVAGAVWLTVMSENTLLSAWILT
AGFLIFLIGFA [SEQ ID NO:58]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S
或親水性胺基酸，且Xaa₂不存在或為1至4個親水性胺基酸，

【0201】 (ggg) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
SKKKKSGNRTYGPVFM(C)(S)LGGLLTMVAGAVWLTVMSENTLLSAWILT
AGFLIFLIGFA [SEQ ID NO:59]之連續胺基酸殘基，

【0202】 (hhh) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
SGNRTYGPVFM(C)(S)LGGLLTMVAGAVWLTVMSENTLLSAWILTAGFLIF
LIGFA [SEQ ID NO:60]之連續胺基酸殘基，

【0203】 (iii) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
Xaa₁Xaa₂Xaa₃Xaa₄SNEPPPPYEDPYWGNGDRHSDYQPLGTQDQSLYLGL
QHDGNDGLPP [SEQ ID NO:61]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S
或親水性胺基酸，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，Xaa₃不存在或為親水性胺
基酸，且Xaa₄不存在或為一或多個親水性胺基酸，

【0204】 (jjj) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
Xaa₁Xaa₂Xaa₃SNEPPPPYEDPYWGNGDRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHD

GNDGLPP [SEQ ID NO:62]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基酸，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₃不存在或為1至10個親水性胺基酸，

【0205】 (kkk) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 Xaa₁Xaa₂SNEPPPPYEDPYWGNGDRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHHDGN DGLPP [SEQ ID NO:63]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基酸，且Xaa₂不存在或為1至4個親水性胺基酸，

【0206】 (ll l) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 SKKKKSNEPPPPYEDPYWGNGDRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHHDGND GLPP [SEQ ID NO:64]之連續胺基酸殘基，

【0207】 (mmm) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 SNEPPPPYEDPYWGNGDRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHHDGNDGLPP [SEQ ID NO:65]之連續胺基酸殘基，

【0208】 (nn n) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 Xaa₁Xaa₂Xaa₃Xaa₄GNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEAGRGSMNPVCLPVIV APYLFWLAAIAAS [SEQ ID NO:66]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基酸，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，Xaa₃不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₄不存在或為一或多個親水性胺基酸，

【0209】 (ooo) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 Xaa₁Xaa₂Xaa₃GNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEAGRGSMNPVCLPVIVAPY LFWLAAIAAS [SEQ ID NO:67]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性胺基酸，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₃不存在或為1至10

個親水性胺基酸，

【0210】 (ppp) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
Xaa₁Xaa₂GNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEAGRGSMNPVCLPVIVAPYLFW
LAAIAAS [SEQ ID NO:68]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親
水性胺基酸，且Xaa₂不存在或為1至4個親水性胺基酸，

【0211】 (qqq) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
SKKKKGNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEAGRGSMNPVCLPVIVAPYLFW
LAAIAAS [SEQ ID NO:69]之連續胺基酸殘基，

【0212】 (rrr) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
GNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEAGRGSMNPVCLPVIVAPYLFWLAAIAA
S [SEQ ID NO:70]之連續胺基酸殘基，

【0213】 (sss) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
Xaa₁Xaa₂Xaa₃Xaa₄AAIAASCFTASVSTVVTATGLALSLLLLAAVASSYAAA
QRKLLTPVTVLT [SEQ ID NO:71]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為
S或親水性胺基酸，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，Xaa₃不存在或為親水性
胺基酸，且Xaa₄不存在或為一或多個親水性胺基酸，

【0214】 (ttt) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
Xaa₁Xaa₂Xaa₃AAIAASCFTASVSTVVTATGLALSLLLLAAVASSYAAAQRK
LLTPVTVLT [SEQ ID NO:72]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或
親水性胺基酸，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₃不存在或為1至10個
親水性胺基酸，

【0215】 (uuu) 8 或 更 多 個 來 自 序 列

Xaa₁Xaa₂AAIAASCFTASVSTVVTATGLALSLLLLAAVASSYAAAQRKLLTP
VTVLT [SEQ ID NO:73]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S或親水性
胺基酸，且Xaa₂不存在或為1至4個親水性胺基酸，

【0216】 (vvv) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
SKKKKAAIAASCFTASVSTVVTATGLALSLLLLAAVASSYAAAQRKLLTP
VTVLT [SEQ ID NO:74]之連續胺基酸殘基，

【0217】 (www) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
AAIAASCFTASVSTVVTATGLALSLLLLAAVASSYAAAQRKLLTPVTVLT
[SEQ ID NO:75]之連續胺基酸殘基，

【0218】 (xxx) SEQ ID NO: 1至SEQ ID NO: 75其中之任一者之序
列，

【0219】 (yyy)8或更多個來自下列其中之任一者之序列之連續胺基
酸殘基

ESNEEPPPPY [SEQ ID NO: 76]，

SNEEPPPPY [SEQ ID NO: 77]，

HSDYQPLGT [SEQ ID NO: 78]，

PLGTQDQSL [SEQ ID NO: 79]，

PLGTQDQSLY [SEQ ID NO: 80]，

PLGTQDQSLY [SEQ ID NO: 80]，

LGTQDQSLY [SEQ ID NO: 81]，

GTQDQSLYL [SEQ ID NO: 82]，

GTQDQSLYL [SEQ ID NO: 83]，

GTQDQSLYLG [SEQ ID NO: 84] ,
 QSLYLGLQH [SEQ ID NO: 85] ,
 SLYLGLQHD [SEQ ID NO: 86] ,
 SLYLGLQHD [SEQ ID NO: 86] ,
 GLQHDGNDGL [SEQ ID NO: 87] ,
 GNDGLPPPPY [SEQ ID NO: 88] ,
 GLPPPPYSP [SEQ ID NO: 89] ,
 GLPPPPYSPR [SEQ ID NO: 90] ,
 GLPPPPYSPR [SEQ ID NO: 90] ,
 PRDDSSQHIY [SEQ ID NO: 91] ,
 RDDSSQHIY [SEQ ID NO: 92] ,
 HIYEEAGRG [SEQ ID NO: 93] ,
 ILLARLFLY [SEQ ID NO: 94] ,
 SSCSSCPLSKI [SEQ ID NO: 95] ,
 LLWTLVVLL [SEQ ID NO: 96] ,
 FLYALALL [SEQ ID NO: 97] ,
 CLGGLLTMV [SEQ ID NO: 98] ,
 LIVDAVLQL [SEQ ID NO: 99] ,
 LTAGFLIFL [SEQ ID NO: 100] ,
 TVCGGIMFL [SEQ ID NO: 101] ,

【0220】 (zzz) SEQ ID NO: 76至SEQ ID NO: 101其中之任一者之序

列，

【0221】 (aaaa) 或者以上 (a) 至 (zzz) 中之二或更多者之任一組合。

【0222】 在一個例示性實施態樣中，該肽包含一或多個衍生自潛伏膜蛋白2 (Latent Membrane Protein 2, LMP2)、例如衍生自全長EBV LMP2 (胺基酸1-497) 之表位。在一個特別意欲涵蓋之實施態樣中，該肽包含胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成，該胺基酸序列選自由下列組成之群組：8或更多個來自SEQ ID NO: 4、5、9、10、14、15、19、20、24、25、29、30、34、35、39、40、44、45、49、50、54、55、59、60、64、65、69、70、74或75其中之任一者之連續胺基酸殘基。

【0223】 在另一特別意欲涵蓋之實施態樣中，該肽包含胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成，該胺基酸序列選自由下列組成之群組：12或更多個來自SEQ ID NO: 4、5、9、10、14、15、19、20、24、25、29、30、34、35、39、40、44、45、49、50、54、55、59、60、64、65、69、70、74或75其中之任一者之連續胺基酸殘基。

【0224】 在另一特別意欲涵蓋之實施態樣中，該肽包含胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成，該胺基酸序列選自由下列組成之群組：15或更多個、18或更多個、20或更多個或者25或更多個來自SEQ ID NO: 4、5、9、10、14、15、19、20、24、25、29、30、34、35、39、40、44、45、49、50、54、55、59、60、64、65、69、70、74或75其中之任一者之連續胺基酸殘基。

【0225】 在一個實施態樣中，該肽包含胺基酸序列、基本上由該胺基

酸序列組成或由該胺基酸序列組成，該胺基酸序列選自由下列組成之群組：SEQ ID NO: 4、5、9、10、14、15、19、20、24、25、29、30、34、35、39、40、44、45、49、50、54、55、59、60、64、65、69、70、74或75其中之任一者。

【0226】 在另一特別意欲涵蓋之實施態樣中，該肽包含胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成，該胺基酸序列選自由下列組成之群組：15或更多個、18或更多個、20或更多個或者25或更多個來自SEQ ID NO: 1至SEQ ID NO: 75其中之任一者之胺基酸殘基。

【0227】 在一個實施態樣中，該肽包含選自由SEQ ID NO: 1至SEQ ID NO: 75其中之任一者組成之群組之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成。

【0228】 在一個實施態樣中，該肽包含選自由SEQ ID NO: 76至SEQ ID NO: 101其中之任一者組成之群組之胺基酸序列。在一個實例中，該肽包含選自由SEQ ID NO: 76至SEQ ID NO: 93其中之任一者組成之群組之胺基酸序列。

【0229】 在一個實施態樣中，該肽包含選自由SEQ ID NO: 76至SEQ ID NO: 101其中之任何二或更多者組成之群組之胺基酸序列。在一個實例中，該肽包含選自由SEQ ID NO: 76至SEQ ID NO: 93其中之任何二或更多者組成之群組之胺基酸序列。

【0230】 在多個不同實施態樣中，該包含選自由下列組成之群組之胺基酸序列、由該胺基酸序列組成或基本上由該胺基酸序列組成：

【0231】 (a) 8 或 更 多 個 來 自 序 列

Xaa₁Xaa₂Xaa₃Xaa₄GARGPESRLLEFYLA MPFATPMEAE LARRSLAQDAPPL [SEQ ID NO:102]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，Xaa₃不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₄不存在或為一或多個親水性胺基酸，

【0232】 (b) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 Xaa₁Xaa₂Xaa₃GARGPESRLLEFYLA MPFATPMEAE LARRSLAQDAPPL [SEQ ID NO:103]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₃不存在或為1至10個親水性胺基酸，

【0233】 (c) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 Xaa₁Xaa₂GARGPESRLLEFYLA MPFATPMEAE LARRSLAQDAPPL [SEQ ID NO:104]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S，且Xaa₂不存在或為1至4個親水性胺基酸，

【0234】 (d) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 SKKKKGARGPESRLLEFYLA MPFATPMEAE LARRSLAQDAPPL [SEQ ID NO:105]之連續胺基酸殘基，

【0235】 (e) SEQ ID NO: 102至SEQ ID NO: 105其中之任一者之序列，

【0236】 (f) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 GARGPESRLLEFYLA MPFATPMEAE LARRSLAQDAPPL [SEQ ID NO:106]之連續胺基酸殘基，

【0237】 (g) SEQ ID NO: 106之序列，

【0238】 (h) 8或更多個來自序列LAMPFATPM [SEQ ID NO:107]之

連續胺基酸殘基，

【0239】 (i) SEQ ID NO: 107之序列，

【0240】 (j) 8或更多個來自序列FATPMEAEL [SEQ ID NO:108]之連續胺基酸殘基，

【0241】 (k) SEQ ID NO: 108之序列，

【0242】 (l) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 Xaa₁Xaa₂Xaa₃Xaa₄VPGVLLKEFTVSGNILTIRLTAADHR [SEQ ID NO:109]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，Xaa₃不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₄不存在或為一或多個親水性胺基酸，

【0243】 (m) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 Xaa₁Xaa₂Xaa₃VPGVLLKEFTVSGNILTIRLTAADHR [SEQ ID NO:110]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₃不存在或為1至10個親水性胺基酸，

【0244】 (n) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 Xaa₁Xaa₂VPGVLLKEFTVSGNILTIRLTAADHR [SEQ ID NO:111]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S，且Xaa₂不存在或為1至4個親水性胺基酸，

【0245】 (o) 8 或 更 多 個 來 自 序 列 SKKKKVPGVLLKEFTVSGNILTIRLTAADHR [SEQ ID NO:112]之連續胺基酸殘基，

【0246】 (p) SEQ ID NO: 109至SEQ ID NO: 112其中之任一者之序列，

【0247】 (q) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
VPGVLLKEFTVSGNILTIRLTAADHR [SEQ ID NO:113]之連續胺基酸殘基，

【0248】 (r) SEQ ID NO: 113之序列，

【0249】 (s) 8或更多個來自序列EFTVSGNIL [SEQ ID NO:114]之連續胺基酸殘基，

【0250】 (t) SEQ ID NO: 114之序列，

【0251】 (u) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
Xaa₁Xaa₂Xaa₃Xaa₄LQQLSLLMWITQCFLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID
NO:115]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，Xaa₃不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₄不存在或為一或多個親水性胺基酸，

【0252】 (v) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
Xaa₁Xaa₂Xaa₃LQQLSLLMWITQCFLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID NO:116]
之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₃不存在或為1至10個親水性胺基酸，

【0253】 (w) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
Xaa₁Xaa₂LQQLSLLMWITQCFLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID NO:117]之連續
胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S，且Xaa₂不存在或為1至4個親水性胺
基酸，

【0254】 (x) 8 或 更 多 個 來 自 序 列
SKKKKLQQLSLLMWITQCFLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID NO:118]之連續
胺基酸殘基，

【0255】 (y) SEQ ID NO: 115至SEQ ID NO: 118其中之任一者之序列，

【0256】 (z) 8或更多個來自序列LQQLSLLMWITQCFLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID NO:119]之連續胺基酸殘基，

【0257】 (aa) SEQ ID NO: 119之序列，

【0258】 (bb) 8或更多個來自序列SLLMWITQCFLPVF [SEQ ID NO:120]之連續胺基酸殘基，

【0259】 (cc) SEQ ID NO: 120之序列，

【0260】 (dd) 8或更多個來自序列SLLMWITQC [SEQ ID NO:121]之連續胺基酸殘基，

【0261】 (ee) SEQ ID NO: 121之序列，

【0262】 (ff) 或者以上(a)至(ee)中之二或更多者之任何組合。

【0263】 在一個例示性實施態樣中，該肽表位衍生自NY-ESO-1。在一個特別意欲涵蓋之實施態樣中，該肽包含胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成，該胺基酸序列選自由8或更多個來自SEQ ID NO: 106、107、108、113、114、119、120及121其中之任一者之連續胺基酸殘基組成之群組。

【0264】 在一個實施態樣中，該肽包含選自由SEQ ID NO: 106、107、108、113、114、119、120及121其中之任一者組成之群組之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成。

【0265】 在一個實施態樣中，該肽包含選自由SEQ ID NO: 106、113及119其中之任一者組成之群組之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成。

【0266】 在一個實施態樣中，該肽包含選自由SEQ ID NO: 105、112及118其中之任一者組成之群組之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成。

【0267】 在多個不同實施態樣中，該肽包含一或多個卵白蛋白蛋白質（ovalbumin protein）表位、基本上由其組成或由其組成。在多個不同實施態樣中，該一或多個卵白蛋白蛋白質為MHCI表位。在多個不同實施態樣中，該一或多個卵白蛋白蛋白質為MHCII表位。

【0268】 在多個不同實施態樣中，該肽包含下列、基本上由其組成或由其組成：

【0269】 （ a ） 8 或 更 多 個 來 自 序 列 Xaa₁Xaa₂Xaa₃Xaa₄KISQAVHAAHAEINEAGRESIINFTEWT [SEQ ID NO:124]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，Xaa₃不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₄不存在或為一或多個親水性胺基酸，

【0270】 （ b ） 8 或 更 多 個 來 自 序 列 Xaa₁Xaa₂Xaa₃KISQAVHAAHAEINEAGRESIINFTEWT [SEQ ID NO:125]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S，Xaa₂不存在或為親水性胺基酸，且Xaa₃不存在或為1至10個親水性胺基酸，

【0271】 （ c ） 8 或 更 多 個 來 自 序 列 Xaa₁Xaa₂

KISQAVHAAHAEINEAGRESIINFTEWT [SEQ ID NO:126]之連續胺基酸殘基，其中Xaa₁不存在或為S，且Xaa₂不存在或為1至4個親水性胺基酸，

【0272】 (d) 8 或更多個來自序列SKKKKKISQAVHAAHAEINEAGRESIINFTEWT [SEQ ID NO:127]之連續胺基酸殘基，

【0273】 (e) SEQ ID NO: 124至SEQ ID NO: 127其中之任一者之序列，

【0274】 (f) 8 或更多個來自序列KISQAVHAAHAEINEAGRESIINFTEWT [SEQ ID NO:128]之連續胺基酸殘基，

【0275】 (g) SEQ ID NO: 128之序列，

【0276】 (h) 8或更多個來自序列SIINFTEW [SEQ ID NO: 129]之連續胺基酸殘基，

【0277】 (i) SEQ ID NO: 129之序列，

【0278】 (j) 8或更多個來自序列ISQAVHAAHAEINEAGR [SEQ ID NO: 130]之連續胺基酸殘基，

【0279】 (k) SEQ ID NO: 130之序列，

【0280】 (l) 或者以上(a)至(k)中之任何二或更多者之任何組合。

【0281】 在多個不同實施態樣中，該肽包含一或多個選自由SEQ ID NO: 124至SEQ ID NO: 130其中之任一者組成之群組之卵白蛋白蛋白質表

位。在多個不同實施態樣中，該肽包括包含8或更多個來自SEQ ID NO: 124至SEQ ID NO: 130其中之任一者之胺基酸序列之連續胺基酸或由其組成的肽。

【0282】 在多個不同實施態樣中，該肽包含選自由SEQ ID NO: 124至SEQ ID NO: 130其中之任一者組成之群組之胺基酸序列、由該胺基酸序列組成或基本上由該胺基酸序列組成。

【0283】 在一個實施態樣中，該肽共軛物包含二或更多個表位，例如二或更多個肽表位。

【0284】 在一些實施態樣中，該肽共軛物包含抗原肽。

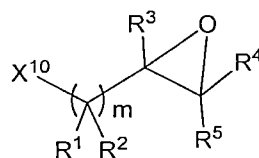
【0285】 在特別意欲涵蓋之實施態樣中，該肽為合成肽。

【0286】 在多個不同實施態樣中，該式(I)之化合物為分離的式(I)之化合物。

【0287】 在多個不同實施態樣中，該式(I)之化合物為純的、經純化的或實質純的式(I)之化合物。

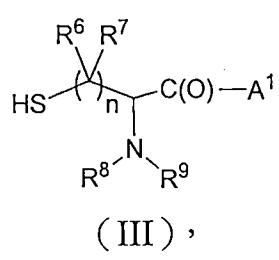
【0288】 在另一方面中，本發明總體上係在於一種製備式(XV)之化合物之方法，該方法包含使

式(XVI)之環氧化物：

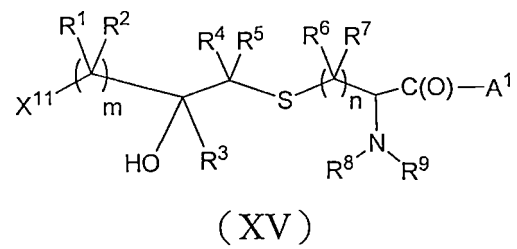


(XVI)；以及

式(III)之包含硫醇之含胺基酸共軛配偶體：



在有效地使該環氧化物與該含胺基酸共軛配偶體共軛並提供該式 (XV) 之化合物之條件下反應：



其中

X^{10} 為 L^1-Z^1- 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NHR$ 、 $HNRC(O)O-$ 、 $P^{10}-O-$ 、 $P^{11}-S-$ 、 $P^{12}-NR-$ 或 $P^{12}-NRC(O)O-$ ；

X^{11} 為 X^{10} 或當 X^{10} 為 $P^{10}-O-$ 、 $P^{11}-S-$ 、 $P^{12}-NR-$ 或 $P^{12}-NRC(O)O-$ 且所述條件有效地移除 P^{10} 、 P^{11} 或 P^{12} 時為 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NHR$ 、或 $HNRC(O)O-$ ；

P^{10} 、 P^{11} 及 P^{12} 分別獨立地為保護基；

m 為 2 至 6 之整數；且

n 、 L^1 、 Z^1 、 R 、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 及 A^1 係如該式 (I) 之化合物或其任何實施態樣中所定義；或其鹽或溶劑合物。

【0289】 在多個不同實施態樣中， m 為 2 至 5、2 至 4 或 2 至 3。在例示性實施態樣中， m 為 2。

【0290】 在多個不同實施態樣中， X^{10} 為 L^1-Z^1- 或 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NHR$ 、 $P^{10}-O-$ 、 $P^{11}-S-$ 或 $P^{12}-NR-$ ；且 X^{11} 為 X^{10} 或 $-OH$ 、 $-SH$ 或 $-NHR$ 。

【0291】 在多個不同實施態樣中， X^{10} 為 L^1-Z^1- 、 $-OH$ 或 $P^{10}-O-$ ；且 X^{11} 為 X^{10} 或 $-OH$ 。

【0292】 在多個不同實施態樣中， X^{10} 為 $L^1-C(O)O-$ 、 OH 或 $P^{10}-O-$ ；且 X^{11} 為 $L^1-C(O)O-$ 、 $P^{10}-O-$ 或 OH 。

【0293】 在多個不同實施態樣中， X^{10} 為 $L^1-C(O)O-$ 或 $P^{10}-O-$ ；且 X^{11} 為 $L^1-C(O)O-$ 、 $P^{10}-O-$ 或 OH 。

【0294】 在例示性實施態樣中， X^{10} 為 $P^{10}-O-$ ；且 X^{11} 為 $P^{10}-O-$ 或 OH 。

【0295】 在多個不同實施態樣中， R^9 不為氫及／或 A^1 不為 OH 。

【0296】 在多個不同實施態樣中，該含胺基酸共軛配偶體為包含15個或更少、14個或更少、13個或更少、12個或更少、11個或更少、10個或更少、9個或更少、8個或更少、7個或更少、6個或更少、5個或更少、4個或更少或者3個或更少的胺基酸殘基之含肽共軛配偶體。

【0297】 在多個不同實施態樣中，該含胺基酸共軛配偶體之C端係由羧基保護基或羧基胺保護基保護及／或該含胺基酸共軛配偶體之 $N\alpha$ -胺基係由胺基保護基保護。

【0298】 在例示性實施態樣中， R^9 為胺基保護基。

【0299】 在多個不同實施態樣中， A^1 為 OP^1 或 NHP^2 。在某些實施態樣中， A^1 為 OP^1 。

【0300】 在例示性實施態樣中， R^9 為胺基保護基以及 A^1 為 OP^1 。

【0301】 在多個不同實施態樣中，該方法包含使環氧化物與含胺基酸共軛配偶體在例如強酸等酸之存在下反應。

【0302】 在某些實施態樣中，該酸包括氫氯酸、硫酸或其混合物。

【0303】 在某些實施態樣中，該酸包括路易斯酸（lewis acid），例如三氟化硼（BF₃）。

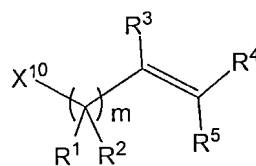
【0304】 在其他實施態樣中，該方法包含使環氧化物與含胺基酸共軛配偶體在中性條件下反應。

【0305】 在多個不同實施態樣中，中性條件包含質子溶劑，例如醇，如乙醇。

【0306】 在其他實施態樣中，該方法包含使環氧化物與含胺基酸共軛配偶體在例如弱鹼等鹼之存在下反應。

【0307】 在一些實施態樣中，該鹼為有機鹼，例如三乙胺。

【0308】 在多個不同實施態樣中，該方法包含藉由使式（XVII）之烯烴：

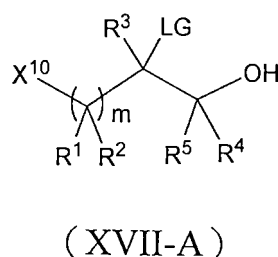


（XVII）

【0309】 在有效地環氧化該烯烴之條件下與氧化劑反應而提供該環氧化物。

【0310】 在多個不同實施態樣中，該氧化劑為過氧化物，例如有機過氧化物，如間-氯過氧苯甲酸，或為有機N-氧化物，例如吡啶N-氧化物。

【0311】 在多個不同實施態樣中，該方法包含藉由使式 (XVII-A) 之化合物（其中LG為離去基）：



在有效地進行環氧化之條件下與鹼反應而提供該環氧化物。

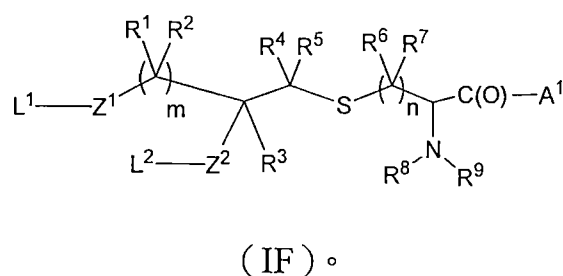
【0312】 在多個不同實施態樣中，該式 (XVII-A) 之化合物係自L-天冬胺酸製備。

【0313】 在多個不同實施態樣中，該方法更包含提供該式 (XVI) 之環氧化物之單個立體異構體或富立體異構 (stereoisomerically enriched) 混合物。

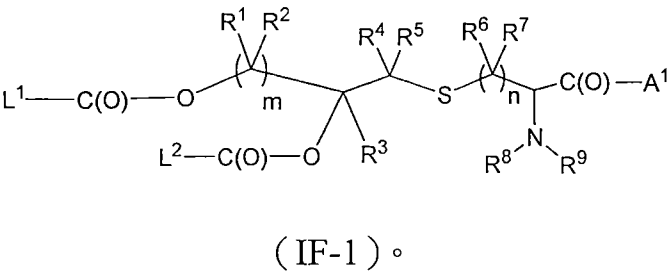
【0314】 在多個不同實施態樣中，提供該式 (XVI) 之環氧化物之單個立體異構體或富立體異構混合物包含解析該環氧化物之外消旋混合物。

【0315】 在多個不同實施態樣中，該方法包含提供該式 (XVII-A) 之化合物之單個立體異構體或富立體異構混合物。

【0316】 在多個不同實施態樣中，該方法包含藉由一或多個額外合成步驟將該式 (XV) 之化合物轉化為本發明之式 (IF) 之胺基酸或肽共軛物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物：



【0317】 在多個不同實施態樣中，該方法包含藉由一或多個額外合成步驟將該式 (XV) 之化合物轉化為本發明之式 (IF-1) 之胺基酸或肽共軛物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物：

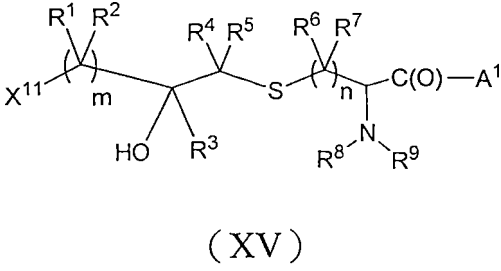


【0318】 在多個不同實施態樣中，該一或多個合成步驟包含將與聯接 R^3 之碳結合之羥基轉化為 L^2-Z^2- 。

【0319】 在多個不同實施態樣中，該一或多個合成步驟包含將該式 (XV) 之化合物醃化以使 $L^2-C(O)-$ 替代該與聯接 R^3 之碳結合之羥基之氫原子。

【0320】 在多個不同實施態樣中， X^{11} 為 $P^{10}-O-$ 或 OH ；且該一或多個合成步驟包含將該式 (XV) 之化合物醃化以使 $L^1-C(O)-$ 替代 X^{11} 之 P^{10} 或羥基之氫原子；及／或將該式 (XV) 之化合物醃化以使 $L^2-C(O)-$ 替代該與聯接 R^3 之碳結合之羥基之氫原子。

【0321】 在另一方面中，本發明總體上係在於一種式 (XV) 之化合物：



其中

X^{11} 為 L^1-Z^1- 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NHR$ 、 $HNRC(O)O-$ 、 $P^{10}-O-$ 、 $P^{11}-S-$ 、 $P^{12}-NR-$ 或 $P^{12}-NRC(O)O-$ ；

P^{10} 、 P^{11} 及 P^{12} 分別獨立地為保護基；

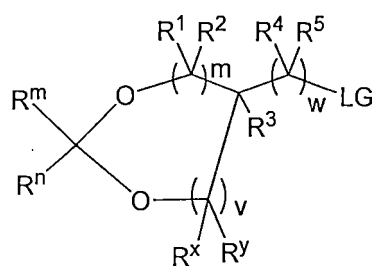
m 為 2 至 6 之整數；且

n 、 L^1 、 Z^1 、 R 、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 及 A^1 係如該式 (I) 之化合物或其任何實施態樣中所定義；或其鹽或溶劑合物。

【0322】 在另一方面中，本發明總體上係在於式 (XV) 或 (XVI) 之化合物在合成本發明之式 (IF) 之胺基酸或肽共軛物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物中之用途。

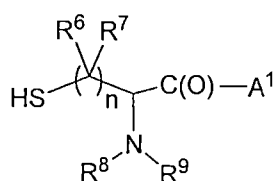
【0323】 在另一方面中，本發明總體上係在於一種製作式 (XX) 之化合物之方法，該方法包含使

式 (XXI) 之化合物：



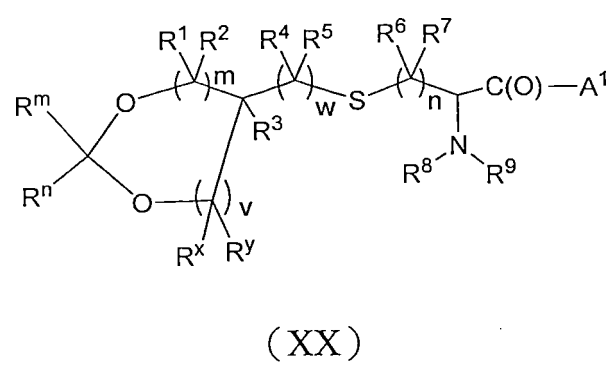
(XXI)；及

式 (III) 之含硫醇之含胺基酸之共軛配偶體：



(III)，

在有效地使式 (XXI) 之化合物與含胺基酸共軛配偶體共軛並提供式 (XX) 之化合物之條件下反應：



其中

R^m 及 R^n 分別獨立地為氫、C1-6烷基、芳基或雜芳基；

LG為離去基；

m 及 w 分別獨立地為0至7之整數且 v 為0至5之整數，

其限制條件係：

m 、 v 及 w 之和至少為3；且

m 與 w 之和為0至7；且

n 、 R^x 、 R^y 、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 及 A^1 係如該式 (I) 之化合物或其任何實施態樣中所定義；或其鹽或溶劑合物。

【0324】 在多個不同實施態樣中， R^m 及 R^n 分別獨立地選自氫、C1-6烷基或芳基。

【0325】 在某些實施態樣中， R^m 為氫、C1-6烷基或芳基；且 R^n 為C1-6烷基或芳基。

【0326】 在多個不同實施態樣中，該離去基為鹵代基（例如氯代、溴

代或碘代)或磺酸酯基(例如甲苯磺酸酯基或甲磺酸酯基)。

【0327】 在多個不同實施態樣中， m 及 v 使得該化合物包含5員至7員環縮醛。

【0328】 在某些實施態樣中，該環縮醛為6員環縮醛。

【0329】 在多個不同實施態樣中，該環縮醛為5員環縮醛且 w 為大於1之整數。

【0330】 在多個不同實施態樣中， m 為2且 v 為1。

【0331】 在多個不同實施態樣中， R^9 不為氫及／或 A^1 不為OH。

【0332】 在多個不同實施態樣中，該含胺基酸共軛配偶體為包含15個或更少、14個或更少、13個或更少、12個或更少、11個或更少、10個或更少、9個或更少、8個或更少、7個或更少、6個或更少、5個或更少、4個或更少或者3個或更少之胺基酸殘基之含肽共軛配偶體。

【0333】 在多個不同實施態樣中，該含胺基酸共軛配偶體之C端係由羧基保護基或羧醯胺保護基保護及／或該含胺基酸共軛配偶體之 $N\alpha$ -胺基係由胺基保護基保護。

【0334】 在例示性實施態樣中， R^9 為胺基保護基。

【0335】 在多個不同實施態樣中， A^1 為 OP^1 或 NHP^2 。在某些實施態樣中， A^1 為 OP^1 。

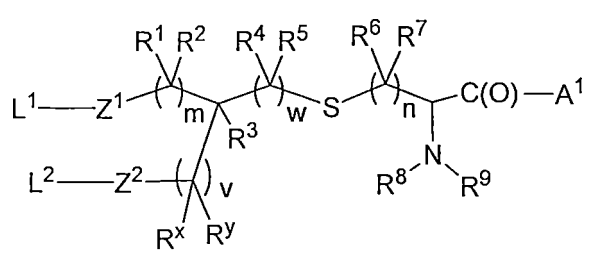
【0336】 在例示性實施態樣中， R^9 為胺基保護基且 A^1 為 OP^1 。

【0337】 在多個不同實施態樣中，該方法包含使該式(XXI)之化合物與該式(III)之含胺基酸共軛配偶體在鹼之存在下反應。

【0338】 在多個不同實施態樣中，該鹼包含有機胺，例如三乙胺、N-甲基嗎啉或柯林鹼。

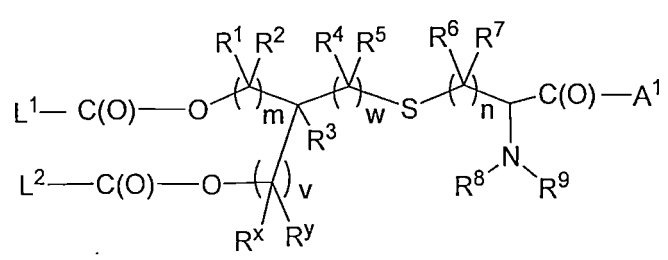
【0339】 在多個不同實施態樣中，該式 (XXI) 之環縮醛係以單個立體異構體或富立體異構混合物之形式提供。

【0340】 在多個不同實施態樣中，該方法包含藉由一或多個額外合成步驟將該式 (XX) 之化合物轉化為本發明之式 (I) 之胺基酸或肽共軛物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物：



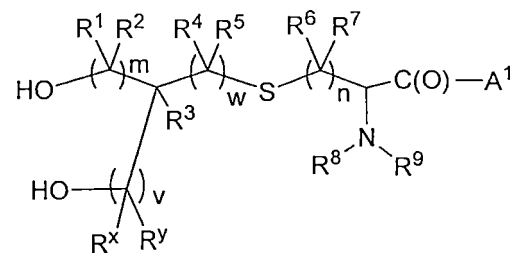
(I)。

【0341】 在多個不同實施態樣中，該方法包含藉由一或多個額外合成步驟將該式 (XX) 之化合物轉化為本發明之式 (IA) 之胺基酸或肽共軛物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物：



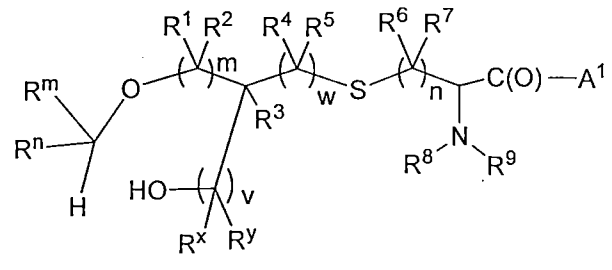
(IA)。

【0342】 在多個不同實施態樣中，該一或多個合成步驟包含移除該式 (XX) 之化合物中之縮醛以提供式 (XXIII-1) 之化合物：

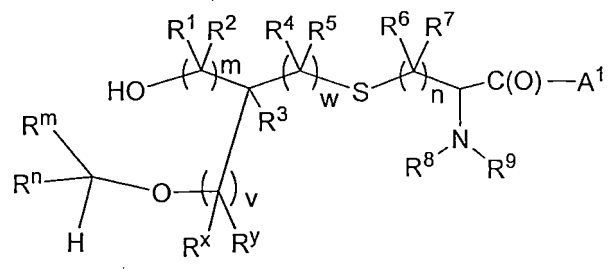


(XXIII-1)。

【0343】 在多個不同實施態樣中，其中R^m為視需要經取代之芳基，例如苯基或經甲氧基取代之苯基，該方法包含移除該式 (XX) 之化合物中之縮醛以提供式 (XXIII-2) 或 (XXIII-3) 之化合物：



(XXIII-2)



(XXIII-3)。

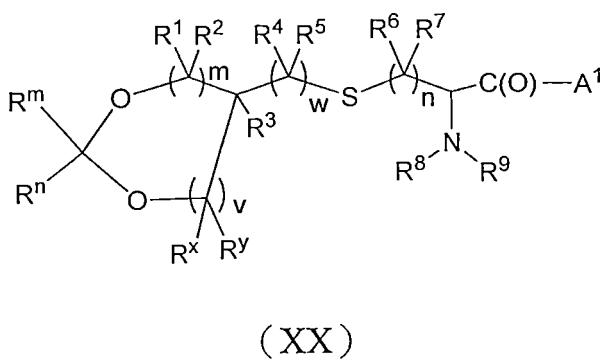
【0344】 在多個不同實施態樣中，該一或多個合成步驟包含將該式 (XXIII-1) 之化合物中與聯接R¹及R²之碳結合之羥基轉化為L¹-Z¹-，及或將該與聯接R^x及R^y之碳結合之羥基轉化為L²-Z²。

【0345】 在多個不同實施態樣中，該一或多個合成步驟包含將該式 (XXIII-2) 之化合物中與聯接R^x及R^y之碳結合之羥基轉化為L²-Z²-，移除該R^mRⁿCH-基以提供羥基，以及將該羥基轉化為L¹-Z¹；或

將該式 (XXIII-2) 之化合物中與聯接 R^x 及 R^y 之碳結合之羥基轉化為 L^1-Z^1- ，移除該 R^mR^nCH- 基以提供羥基，以及將該羥基轉化為 L^2-Z^2- 。

【0346】 在多個不同實施態樣中，將所述羥基轉化為 L^1-Z^1- 或 L^2-Z^2- 包含進行醯化以使 $L^1-C(O)-$ 或 $L^2-C(O)-$ 替代該羥基之氫原子。

【0347】 在另一方面中，本發明總體上係在於一種式 (XX) 之化合物：



其中

R^m 及 R^n 分別獨立地為氫、C1-6烷基、芳基或雜芳基；

m 及 w 分別獨立地為0至7之整數且 v 為0至5之整數，

其限制條件係：

m 、 v 及 w 之和至少為3；且

m 與 w 之和為0至7；且

n 、 R^x 、 R^y 、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 及 A^1 係如該式 (I) 之化合物或其任何實施態樣中所定義；或其鹽或溶劑合物。

【0348】 在另一方面中，本發明總體上係在於式 (XX) 或 (XXI) 之化合物在合成本發明之式 (IA) 之胺基酸或肽共軛物或其醫藥上可接受

之鹽或溶劑合物中之用途。

【0349】 在另一方面中，本發明總體上係在於一種製備本發明之式 (I) 之胺基酸或肽共軛物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物之方法，該方法包含使

包含碳碳雙鍵之第一含脂質共軛配偶體，

包含碳碳雙鍵之第二含脂質共軛配偶體，以及

包含硫醇之含胺基酸共軛配偶體

在有效地使該第一含脂質共軛配偶體及該第二含脂質共軛配偶體共軛至該含胺基酸共軛配偶體並提供該式 (I) 之胺基酸或肽共軛物或其鹽或溶劑合物的條件下反應，

其中在該胺基酸或肽共軛物中，來自該含胺基酸共軛配偶體之硫醇之硫原子共軛至來自該第一含脂質共軛配偶體之碳碳雙鍵之碳原子，而來自該第一含脂質共軛配偶體之碳碳雙鍵之碳原子共軛至來自該第二含脂質共軛配偶體之碳碳雙鍵之碳原子。

【0350】 在一個實施態樣中，該含胺基酸共軛配偶體為含肽共軛配偶體，且該等含脂質共軛配偶體偶合至該含肽共軛配偶體之肽。

【0351】 在一些實施態樣中，該等含脂質共軛配偶體共軛至該含胺基酸共軛配偶體之胺基酸或該含肽共軛配偶體之肽。

【0352】 在某些實施態樣中，該等含脂質共軛配偶體共軛至該含胺基酸共軛配偶體之胺基酸。

【0353】 相應地，在另一方面中，本發明總體上係在於一種製備本發

明之式 (I) 之肽共軛物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物之方法，該方法包含使

包含碳碳雙鍵之第一含脂質共軛配偶體，

包含碳碳雙鍵之第二含脂質共軛配偶體，以及

包含硫醇之含肽共軛配偶體

在有效地使該第一含脂質共軛配偶體及該第二含脂質共軛配偶體共軛至該含肽共軛配偶體並提供該式 (I) 之肽共軛物或其鹽或溶劑合物的條件下反應，

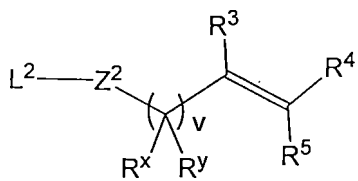
其中在該肽共軛物中，來自該含肽共軛配偶體之硫醇之硫原子共軛至來自該第一含脂質共軛配偶體之碳碳雙鍵之碳原子，而來自該第一含脂質共軛配偶體之碳碳雙鍵之碳原子共軛至來自該第二含脂質共軛配偶體之碳碳雙鍵之碳原子。

【0354】 在多個不同實施態樣中，該共軛物為脂肽，因而該方法係為了製備脂肽。

【0355】 在多個不同實施態樣中，該第一含脂質共軛配偶體及該第二含脂質共軛配偶體具有相同的結構（亦即，該第一含脂質共軛配偶體與該第二含脂質共軛配偶體係完全相同的）。

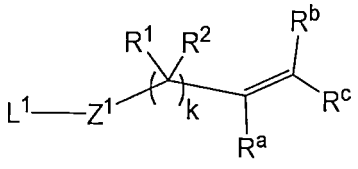
【0356】 在多個不同實施態樣中，該方法包含使該硫醇之硫原子共軛至該第一含脂質共軛配偶體之碳碳雙鍵之碳原子且然後使來自與該硫醇共軛之碳碳雙鍵之碳原子共軛至該第二含脂質共軛配偶體之碳碳雙鍵之碳原子。

【0357】 在多個不同實施態樣中，該第一含脂質共軛配偶體為式 (IIA) 之化合物：



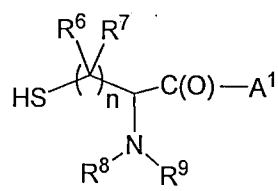
(IIA)；

該第二含脂質共軛配偶體為式 (IIB) 之化合物：



(IIB)；且

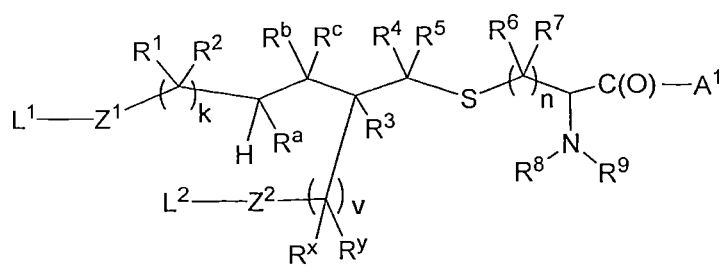
該含胺基酸共軛配偶體包含式 (III) 之結構：



(III)；且

其中R^a、R^b、R^c、L¹、L²、Z¹、Z²、R¹、R²、R^x、R^y、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹、A¹、k、v及n係如該式 (I) 之化合物或其任何實施態樣中所定義。

【0358】 在多個不同實施態樣中，該胺基酸或肽共軛物為式 (IB) 之化合物：



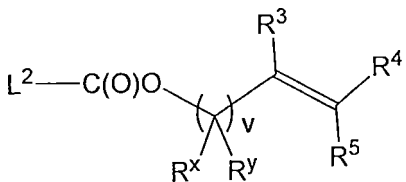
(IB)

其中 R^a 、 R^b 、 R^c 、 L^1 、 L^2 、 Z^1 、 Z^2 、 R^1 、 R^2 、 R^x 、 R^y 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 A^1 、 k 、 v 及 n 係如該式(I)之化合物或其任何實施態樣中所定義。

【0359】 在多個不同實施態樣中，該等含脂質共軛配偶體對於該含胺基酸共軛配偶體係化學計量過量的。

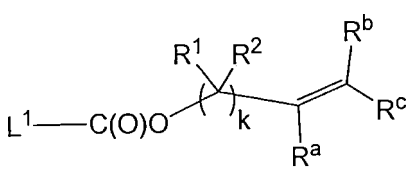
【0360】 在多個不同實施態樣中，該等含脂質共軛配偶體（合併）與該含胺基酸共軛配偶體之莫耳比為至少7:1。

【0361】 在多個不同實施態樣中，該第一含脂質共軛配偶體為式 (IIA-1) 之化合物：



(IIA-1)；

該第二含脂質共軛配偶體為式 (IIB) 之化合物：



(IIB)；

該含胺基酸共軛配偶體包含式 (III) 之結構：

[illegible]

60

【0367】 在多個不同實施態樣中，該含胺基酸共軛配偶體為半胱胺酸、經保護之半胱胺酸（包括N α -胺及／或羧基保護半胱胺酸）或包含半胱胺酸殘基（包括N α -胺及／或羧基保護半胱胺酸殘基）之肽，例如N端半胱胺酸殘基（N α -胺保護半胱胺酸殘基）。

【0368】 在一些實施態樣中，該包含使棕櫚酸乙烯酯與例如Fmoc-Cys-OH、Boc-Cys-OH、Fmoc-Cys-OP1或Boc-Cys-OP1等N α -胺基保護半胱胺酸反應。在一些實施態樣中，該N α -胺基保護半胱胺酸之羧基被保護。

【0369】 在一個實施態樣中，有效地使該等含脂質共軛配偶體共軛至該含胺基酸共軛配偶體之條件包含一或多個自由基之產生。在一個實施態樣中，有效地使該等含脂質共軛配偶體共軛至該含肽共軛配偶體之條件包含一或多個自由基之產生。

【0370】 在一些實施態樣中，一或多個自由基之產生係以熱及／或光化學方式引發。在某些實施態樣中，一或多個自由基之產生係藉由自由基引發劑之熱及／或光化學降解而引發。在例示性實施態樣中，一或多個自由基之產生係藉由熱引發劑之熱降解或光起始劑之光化學降解而引發。

【0371】 在一些實施態樣中，自由基引發劑之熱降解包含在適宜之溫度下加熱反應混合物。在一些實施態樣中，在約40°C至約200°C、約50°C至約180°C、約60°C至約150°C、約65°C至約120°C、約70°C至約115°C、約75°C至約110°C或約80°C至約100°C之溫度下加熱反應混合物。在其他實施態樣中，在至少約40°C、至少約50°C、至少約60°C或至少約65°C之溫度下加熱反應混合物。在一個特別意欲涵蓋之實施態樣中，在約90°C之溫度下加熱反應混合物。

【0372】 在一些實施態樣中，自由基引發劑之光化學降解包含用紫外光進行輻照，該紫外光較佳具有與自然存在之胺基酸之側鏈相容之頻率。在一個特別意欲涵蓋之實施態樣中，紫外光具有約365奈米之波長。在例示性實施態樣中，自由基引發劑之光化學降解在約環境溫度下進行。

【0373】 在一個特別意欲涵蓋之實施態樣中，熱引發劑為2,2'-偶氮二異丁腈（AIBN）。在一個特別意欲涵蓋之實施態樣中，光起始劑為2,2-二甲氧基-2-苯基苯乙酮（DMPA）。

【0374】 在某些實施態樣中，反應係在液體介質中進行。在一個實施態樣中，液體介質包含溶劑。在一個實施態樣中，溶劑係選自由N-甲基吡咯啉酮（NMP）、二甲基亞砜（DMSO）、N,N-二甲基甲醯胺（DMF）、二氯甲烷（DCM）、1,2-二氯乙烷及其混合物組成之群組。在一個特別意欲涵蓋之實施態樣中，溶劑包含NMP、DMF、DMSO或其混合物。

【0375】 在一個特別意欲涵蓋之實施態樣中，溶劑包含DMSO或NMP。在一個例示性實施態樣中，溶劑包含NMP。

【0376】 在一些實施態樣中，反應係在一或多種添加劑之存在下進行，該一或多種添加劑抑制副產物之形成及／或改善期望之式（I）之產物化合物之產率或向該期望之式（I）之產物化合物之轉化。

【0377】 在多個不同實施態樣中，一或多種添加劑為外源硫醇、酸、有機矽烷或其任何二或更多者之組合。

【0378】 在一些例示性實施態樣中，外源或外生硫醇係選自由還原型麩胱甘肽（GSH）、2,2'-(乙烯二氧)雙乙硫醇（DODT）、1,4-二硫代蘇糖醇（DTT）、蛋白質及位阻硫醇組成之群組。在一個特別意欲涵蓋之實施態樣

中，外源或外生硫醇為DTT。在一些實施態樣中，外源或外生硫醇為位阻硫醇，例如第三丁基硫醇。

【0379】 在多個不同實施態樣中，酸添加劑為強無機或有機酸。在多個不同實施態樣中，酸為強有機酸。在多個不同實施態樣中，酸為三氟乙酸（TFA）。

【0380】 在多個不同實施態樣中，有機矽烷為三烷基矽烷，例如三異丙基矽烷（TIPS）。

【0381】 在一些實施態樣中，一或多種添加劑係選自由TFA、第三丁基硫醇、TIPS及其任何二或更多者之組合組成之群組。

【0382】 在某些實施態樣中，一或多種添加劑為酸與外源硫醇、例如TFA與第三丁基硫醇之組合。

【0383】 在其他實施態樣中，一或多種添加劑為酸與有機矽烷、例如TFA與TIPS之組合。

【0384】 在其他實施態樣中，一或多種添加劑為外源硫醇與有機矽烷及視需要酸之組合，例如t-BuSH與TIPS及TFA之組合。

【0385】 在一些實施態樣中，反應進行之持續時間為約5分鐘至約48小時、5分鐘至約24小時、約5分鐘至約12小時、約5分鐘至約6小時、約5分鐘至約3小時、5分鐘至2小時或者約5分鐘至約1小時。在例示性實施態樣中，反應進行之持續時間為約5分鐘至約1小時。在一些實施態樣中，反應進行到直至該等共軛配偶體其中之一至少消耗約70%、80%、90%、95%、97%、99%或100%為止。

【0386】 在某些實施態樣中，反應係在實質無氧之條件下進行。

【0387】 在多個不同實施態樣中，該含胺基酸共軛配偶體為含肽共軛配偶體。

【0388】 在一個實施態樣中，該含胺基酸共軛配偶體包含表位。在一個實施態樣中，該含肽共軛配偶體包含表位，例如肽表位。

【0389】 在一個實施態樣中，該含胺基酸共軛配偶體包含二或更多個表位。在一個實施態樣中，該含肽共軛配偶體包含二或更多個表位。

【0390】 在一個實施態樣中，該含胺基酸共軛配偶體係由肽組成。

【0391】 在一個實施態樣中，該含胺基酸共軛配偶體係由含有肽表位之肽組成。在一個實施態樣中，該含肽共軛配偶體係由肽組成。在一個實施態樣中，該含肽共軛配偶體係由含有肽表位之肽組成。

【0392】 在一些實施態樣中，該含胺基酸共軛配偶體包含表位，該表位與該共軛配偶體之胺基酸結合。在一些實施態樣中，該含肽共軛配偶體包含表位，該表位與該含肽共軛配偶體之肽結合。在一些實施態樣中，該表位係經由連接基與肽結合。

【0393】 在一些實施態樣中，該含胺基酸共軛配偶體包含肽表位，該肽表位經由連接基與該共軛配偶體之胺基酸結合。在一些實施態樣中，該含肽共軛配偶體包含肽表位，該肽表位經由連接基與該肽結合。

【0394】 在一些實施態樣中，該含胺基酸共軛配偶體及／或該含肽共軛配偶體包含抗原肽。

【0395】 在一個實施態樣中，該含胺基酸共軛配偶體及／或肽共軛物包含合成肽。在一些實施態樣中，該合成肽係藉由包含固相肽合成（solid phase peptide synthesis，SPPS）之方法製備之肽。

【0396】 在多個不同實施態樣中，該方法包含將該胺基酸共軛物之胺基酸或該肽共軛物之胺基酸偶合至胺基酸或肽之胺基酸以提供肽共軛物。

【0397】 在多個不同實施態樣中，該方法包含將該胺基酸共軛物之胺基酸偶合至胺基酸或肽之胺基酸以提供肽共軛物。

【0398】 在多個不同實施態樣中，該肽包含表位。在多個不同實施態樣中，該表位為肽表位。

【0399】 在一些實施態樣中，該方法更包含將該胺基酸共軛物之胺基酸偶合至胺基酸或肽以提供肽共軛物。

【0400】 在一些實施態樣中，偶合肽包含分別地偶合一或多個胺基酸及／或一或多個肽。

【0401】 在一些實施態樣中，該方法更包含將該胺基酸共軛物之胺基酸或該肽共軛物之胺基酸偶合至胺基酸或肽，以便提供包含連接基或其一或多個胺基酸之肽共軛物。

【0402】 在一些實施態樣中，該方法更包含將該包含連接基或其一或多個胺基酸之肽共軛物之胺基酸偶合至胺基酸或肽，以便提供包含肽表位之肽共軛物，該肽表位經由連接基結合至與脂質部分共軛之胺基酸。

【0403】 在一些實施態樣中，該肽共軛物之與脂質部分共軛之胺基酸係為N端胺基酸殘基。

【0404】 在一些實施態樣中，該方法更包含將該胺基酸共軛物之胺基酸或該肽共軛物之胺基酸偶合至胺基酸或肽，以便提供包含肽表位之肽共軛物。

【0405】 在一些實施態樣中，該方法更包含將表位偶合至該胺基酸共軛物之胺基酸或該肽共軛物之胺基酸。

【0406】 在一些實施態樣中，該方法更包含將肽表位偶合至該胺基酸共軛物之胺基酸或該肽共軛物之胺基酸。

【0407】 在一些實施態樣中，該表位係經由連接基偶合或結合。

【0408】 在一些實施態樣中，該方法更包含將表位偶合至該肽共軛物之肽。

【0409】 在一些實施態樣中，該方法更包含將肽表位偶合至該肽共軛物之肽。

【0410】 在一些實施態樣中，該表位係經由連接基與肽結合。

【0411】 在多個不同實施態樣中，該含胺基酸共軛配偶體係由胺基酸組成，例如由半胱胺酸（包括N α -胺基及／或C端經保護半胱胺酸）組成。

【0412】 在多個不同實施態樣中，該含胺基酸共軛配偶體之C端係由保護基保護及／或該含胺基酸共軛配偶體之N α -胺基係由保護基保護。

【0413】 在多個不同實施態樣中，該胺基酸之C端之羧基係由羧基保護基或羧基保護基保護及／或該胺基酸之N α -胺基係由胺基保護基保護。

【0414】 在多個不同實施態樣中，該胺基酸之C端之羧基係由羧基保護基保護及／或該胺基酸之N α -胺基係由胺基保護基保護。

【0415】 在一些實施態樣中，該肽之C端之羧基係由羧基保護基保護及／或該肽之N α -胺基係由胺基保護基保護。

【0416】 在一些實施態樣中，該含硫醇之胺基酸殘基為末端胺基酸殘

基。在一些實施態樣中，該含硫醇之胺基酸殘基為N端殘基。

【0417】 在一些實施態樣中， A^1 及／或 R^9 為不同於胺基酸或肽之基團，且該方法包含偶合胺基酸或肽以使用該胺基酸或肽替代 A^1 及／或 R^9 。

【0418】 在一些實施態樣中， A^1 為不同於胺基酸或肽之基團，且該方法包含偶合胺基酸或肽以便使該胺基酸或肽替代 A^1 。

【0419】 在一些實施態樣中， A^1 為OH、 OP^1 、 NH_2 或 NHP^2 及／或 R^9 為氫、胺基保護基或 $L^3-C(O)$ ，且該方法包含偶合胺基酸或肽以便使該胺基酸或肽替代 A^1 及／或 R^9 。

【0420】 在一些實施態樣中， A^1 為OH、 OP^1 、 NH_2 或 NHP^2 且 R^9 為氫、胺基保護基或 $L^3-C(O)$ ，且該方法包含偶合胺基酸或肽以便使該胺基酸或肽替代 A^1 及／或 R^9 。

【0421】 在一些實施態樣中，偶合肽包含分別地偶合一或多個胺基酸及／或一或多個肽。

【0422】 在一些實施態樣中，偶合胺基酸或肽提供含肽表位之肽共軛物。在一些實施態樣中，偶合胺基酸或肽提供含連接基或其一或多個胺基酸之肽共軛物。在一些實施態樣中，偶合胺基酸或肽提供含肽表位之肽共軛物，該肽表位經由連接基結合至與脂質部分共軛之胺基酸。

【0423】 在一些實施態樣中，與脂質部分共軛的該含硫醇之胺基酸之 $N\alpha$ -胺基被醯化。在一些實施態樣中，含硫醇之該含胺基酸共軛配偶體中之 R^9 為 $L^3-C(O)-$ 。

【0424】 在某些實施態樣中，該方法更包含醯化與脂質部分共軛的該胺基酸共軛物之胺基酸或該肽共軛物之胺基酸殘基之 $N\alpha$ -胺基。在某些實施

態樣中，該方法更包含用例如乙醯（acetyl）等C2-20脂肪酸醯化N α -胺基。

【0425】 在一些實施態樣中，R⁹為氫或胺基保護基，且該方法更包含醯化該胺基酸共軛物或肽共軛物，以便使L³-C(O)替代R⁹處之氫或胺基保護基。

【0426】 在一些實施態樣中，醯化該胺基酸共軛物或肽共軛物以便使L³-C(O)替代R⁹處胺基保護基係包含移除R⁹處之胺基保護基，以在R⁹處提供氫。

【0427】 在某些實施態樣中，該含胺基酸共軛配偶體之胺基酸包含硫醇。在某些實施態樣中，該含肽共軛配偶體之肽之胺基酸殘基包含硫醇。

【0428】 在某些實施態樣中，該硫醇為半胱胺酸殘基之硫醇。

【0429】 在某些實施態樣中，該半胱胺酸殘基為末端殘基。在某些實施態樣中，該半胱胺酸殘基為N端殘基。

【0430】 在一些實施態樣中，該半胱胺酸殘基之胺基被醯化。

【0431】 在一個實施態樣中，該胺基被C2-20脂肪酸醯化。

【0432】 在一個例示性實施態樣中，該C2-20脂肪酸為乙醯或棕櫚醯。在另一例示性實施態樣中，該C2-20脂肪酸為乙醯。

【0433】 在一些實施態樣中，該含胺基酸共軛配偶體及／或肽共軛物包含8至220個、8至200個、8至175個、8至150個、8至125個、8至100個、8至90個、8至80個、8至70個、8至60個、8至50個、8至40個、8至30個、8至25個、8至20個或8至15個胺基酸。在一些實施態樣中，該含肽共軛配偶體包含8至220個、8至200個、8至175個、8至150個、8至125個、8至100個、8

至90個、8至80個、8至70個、8至60個、8至50個、8至40個、8至30個、8至25個、8至20個或8至15個胺基酸。

【0434】 在一個例示性實施態樣中，該含胺基酸共軛配偶體及／或肽共軛物包含含有8至60個胺基酸之肽。在一個例示性實施態樣中，該肽包含8至60個胺基酸。

【0435】 在其他實施態樣中，該含胺基酸共軛配偶體及／或肽共軛物包含5至220個、8至220個、5至175個、8至175個、8至150個、10至150個、15至125個、20至100個、20至80個、20至60個、25至100個、25至80個、25至60個、30至80個、40至60個或50至60個胺基酸。在其他實施態樣中，該含肽共軛配偶體包含5至220個、8至220個、5至175個、8至175個、8至150個、10至150個、15至125個、20至100個、20至80個、20至60個、25至100個、25至80個、25至60個、30至80個、40至60個或50至60個胺基酸。

【0436】 在其他實施態樣中，該含胺基酸共軛配偶體及／或肽共軛物包含5至150個、5至125個、5至100個、5至75個、5至60個、5至50個、5至40個、5至30個、5至25個、5至20個、8至150個、8至125個、8至100個、8至75個、8至60個、8至50個、8至40個、8至30個、8至25個或8至20個胺基酸。在其他實施態樣中，該含肽共軛配偶體包含5至150個、5至125個、5至100個、5至75個、5至60個、5至50個、5至40個、5至30個、5至25個、5至20個、8至150個、8至125個、8至100個、8至75個、8至60個、8至50個、8至40個、8至30個、8至25個或8至20個胺基酸。

【0437】 在多個不同實施態樣中，該含胺基酸共軛配偶體為短肽。在一些實施態樣中，該短肽包含少於10個、9個、8個、7個、6個、5個、4個或3個胺基酸。

【0438】 在一個實施態樣中，該含胺基酸共軛配偶體及／或肽共軛物包含一或多個增溶基。在一個實施態樣中，該含肽共軛配偶體包含一或多個增溶基。

【0439】 在某些實施態樣中，該增溶基為在肽鏈中包含二或更多個親水性胺基酸殘基之胺基酸序列。在某些實施態樣中，該增溶基為在肽鏈中包含二或更多個連續親水性胺基酸殘基之胺基酸序列。在一個實施態樣中，該等親水性胺基酸殘基為陽離子胺基酸殘基。在一個實施態樣中，該等陽離子胺基酸殘基為精胺酸或離胺酸殘基。在一個特別意欲涵蓋之實施態樣中，該等陽離子胺基酸殘基為離胺酸殘基。在一個實施態樣中，該序列包含2至20個、2至15個、2至10個、3至7個或3至5個胺基酸。在一個實施態樣中，該增溶基為三-、四-、五-、六-或七-離胺酸序列。在一個特別意欲涵蓋之實施態樣中，該增溶基為四離胺酸序列。

【0440】 在一些實施態樣中，該肽共軛物及／或含胺基酸共軛配偶體包含絲胺酸殘基，該絲胺酸殘基毗鄰與脂質部分共軛之胺基酸殘基。在一個特別意欲涵蓋之實施態樣中，該含肽共軛配偶體之肽包含絲胺酸殘基，該絲胺酸殘基毗鄰與脂質部分共軛之胺基酸殘基。在一個例示性實施態樣中，與脂質部分共軛之胺基酸殘基為N端。在一個特別意欲涵蓋之實施態樣中，該肽更包含毗鄰該絲胺酸殘基之二或更多個親水性胺基酸殘基之連續序列。

【0441】 在某些實施態樣中，該肽共軛物及／或含胺基酸共軛配偶體包含毗鄰該絲胺酸殘基之二或更多個親水性胺基酸殘基之連續序列。

【0442】 在某些實施態樣中，該肽共軛物及／或含胺基酸共軛配偶體僅包含天然存在之胺基酸。在某些實施態樣中，該含肽共軛配偶體僅包含

天然存在之胺基酸。在其他實施態樣中，該肽中75%或以上、80%或以上、85%或以上、90%或以上、95%或以上、97%或以上或者99%或以上之胺基酸殘基為天然存在之胺基酸。

【0443】 在其他實施態樣中，該肽共軛物及／或含胺基酸共軛配偶體中75%或以上、80%或以上、85%或以上、90%或以上、95%或以上、97%或以上或者99%或以上之胺基酸殘基為天然存在之胺基酸。

【0444】 在例示性實施態樣中，該肽共軛物及／或含胺基酸共軛配偶體包含含有肽表位之肽。在例示性實施態樣中，該含肽共軛配偶體之肽包含一或多個肽表位。

【0445】 在多個不同實施態樣中，該肽包含一或多個EBV LMP2表位、基本上由其組成或由其組成。在多個不同實施態樣中，該一或多個EBV LMP2表位為MHCI表位。在多個不同實施態樣中，該肽包含一或多個選自由SEQ ID NO 76至SEQ ID NO 101其中之任一者組成之群組之EBV LMP2表位。在多個不同實施態樣中，該肽包括包含12或更多個來自SEQ ID NO 1至SEQ ID NO 75其中之任一者之胺基酸序列之連續胺基酸或由其組成之肽。在多個不同實施態樣中，該肽包括包含15或更多個來自SEQ ID NO 1至SEQ ID NO 75其中之任一者之胺基酸序列之連續胺基酸或由其組成之肽，或包含20或更多個來自SEQ ID NO 1至SEQ ID NO 75其中之任一者之胺基酸序列之連續胺基酸或由其組成之肽。

【0446】 在多個不同實施態樣中，該肽包括重組肽，該重組肽包含12或更多個來自SEQ ID NO 1至SEQ ID NO 75其中之任一者之胺基酸序列之連續胺基酸或由其組成。在多個不同實施態樣中，該重組肽包含15或更多個來自SEQ ID NO 1至SEQ ID NO 75其中之任一者之胺基酸序列之連續胺

基酸或由其組成，或包含20或更多個來自SEQ ID NO 1至SEQ ID NO 75其中之任一者之胺基酸序列之連續胺基酸或由其組成。

【0447】 在一個例示性實施態樣中，該肽表位係衍生自NY-ESO-1。在一個特別意欲涵蓋之實施態樣中，該肽包含選自由8或更多個來自SEQ ID NO: 106、107、108、113、114、119、120及121其中之任一者之連續胺基酸殘基組成之群組之胺基酸序列、基本上由其組成或由其組成。

【0448】 在多個不同實施態樣中，該肽包含一或多個NY-ESO-1表位、基本上由其組成或由其組成。在多個不同實施態樣中，該一或多個NY-ESO-1表位為MHCI表位。在多個不同實施態樣中，該肽包含選自由8或更多個來自SEQ ID NO: 106、107、108、113、114、119、120及121其中之任一者之連續胺基酸殘基組成之群組之胺基酸序列、基本上由其組成或由其組成。在多個不同實施態樣中，該肽包括包含12或更多個來自SEQ ID NO: 106、107、108、113、114、119、120及121其中之任一者之胺基酸序列之連續胺基酸或由其組成之肽。在多個不同實施態樣中，該肽包括包含15或更多個來自SEQ ID NO: 106、107、108、113、114、119、120及121其中之任一者之胺基酸序列之連續胺基酸或由其組成之肽，或包含20或更多個來自SEQ ID NO: 106、107、108、113、114、119、120及121其中之任一者之胺基酸序列之連續胺基酸或由其組成之肽。

【0449】 在一個特別意欲涵蓋之實施態樣中，該含肽共軛配偶體之胺基酸之反應性功能基未被保護。

【0450】 在某些實施態樣中，該肽共軛物之一或多個胺基酸之一或多個反應性功能基未被保護。

【0451】 在某些實施態樣中，該胺基酸共軛物之胺基酸之一或多個反應性功能基未被保護。

【0452】 在某些實施態樣中，該含胺基酸共軛配偶體之一或多個胺基酸之一或多個反應性功能基未被保護。

【0453】 在某些實施態樣中，該含胺基酸共軛配偶體包含肽，其中該肽之胺基酸之側鏈之反應性功能基未被保護，除待反應之硫醇以外之任何硫醇除外。

【0454】 在某些特別意欲涵蓋之實施態樣中，該含肽共軛配偶體之肽之胺基酸之反應性功能基未被保護。

【0455】 在某些特別意欲涵蓋之實施態樣中，該含肽共軛配偶體之肽之胺基酸之反應性功能基未被保護，除待反應之硫醇以外之任何硫醇除外。

【0456】 熟習此項技術者將理解，該肽共軛物及／或含肽共軛配偶體之肽可如本文中所述視需要經取代、修飾或結合至如本文中所述之多種其他部分，以提供該肽共軛物及／或含肽共軛配偶體。

【0457】 在一些實施態樣中，該方法包含

藉由固相肽合成（SPPS）合成肽之胺基酸序列；

藉由固相肽合成將胺基酸共軛物之胺基酸或肽共軛物之胺基酸偶合至該固相結合肽，以便提供包含肽表位之肽共軛物、包含連接基或其一或多個胺基酸之肽共軛物、或包含經由連接基結合至與脂質部分共軛之胺基酸之肽表位的肽共軛物。

【0458】 在一些實施態樣中，該方法包含

使該等含脂質共軛配偶體與含胺基酸共軛配偶體反應以提供胺基酸或肽共軛物；

藉由固相肽合成（SPPS）合成肽之胺基酸序列；

藉由固相肽合成將該胺基酸共軛物之胺基酸或該肽共軛物之胺基酸偶合至該固相結合肽，以便提供包含肽表位之肽共軛物、包含連接基或其一或多個胺基酸之肽共軛物、或包含經由連接基結合至與脂質部分共軛之胺基酸之肽表位的肽共軛物。

【0459】 在一些實施態樣中，該方法更包含醯化該胺基酸共軛物之胺基酸或該等肽共軛物其中之任一者之與脂質部分共軛之胺基酸之N α -胺基。

【0460】 在一些實施態樣中，該方法包含自固相載體裂解該肽共軛物。

【0461】 在一些實施態樣中，該方法包含

藉由固相肽合成（SPPS）合成該含肽共軛配偶體之肽之胺基酸序列；以及

根據本文中所述實施態樣其中之任一者使該等含脂質共軛配偶體與含肽共軛物配偶體反應。

【0462】 在例示性實施態樣中，該方法包含

藉由SPPS合成該含肽共軛配偶體之肽之胺基酸序列，

自固相載體裂解該肽；以及

根據本文中所述實施態樣其中之任一者使該等含脂質共軛配偶體與含肽共軛物配偶體反應。

【0463】 在一個實施態樣中，該含肽共軛配偶體在與含脂質共軛配偶體反應之前未經純化。

【0464】 在一些實施態樣中，一或多個保護基在將肽自固相載體裂解時被移除。在某些實施態樣中，該肽中存在的所有保護基皆被移除。

【0465】 在一個實施態樣中，SPPS為Fmoc-SPPS。

【0466】 在一些實施態樣中，具有該待反應硫醇之該含肽共軛配偶體之肽中之胺基酸殘基為N端胺基酸殘基，且該方法包含在自固相裂解肽之前對N端胺基進行醯化。在特別意欲涵蓋之實施態樣中，該N端殘基為半胱胺酸殘基。

【0467】 在一個實施態樣中，該方法更包含自反應介質分離該肽共軛物並視需要純化該肽共軛物。

【0468】 在另一方面中，本發明總體上係在於一種製備肽共軛物之方法，該方法包含

提供本發明之式(I)之胺基酸或肽共軛物或其鹽或溶劑合物，以及

將該胺基酸共軛物之胺基酸或該肽共軛物之胺基酸偶合至胺基酸或肽之胺基酸以提供肽共軛物。

【0469】 在多個不同實施態樣中，該產物肽共軛物為本發明之式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽。

【0470】 在多個不同實施態樣中，該胺基酸共軛物之胺基酸係在降低該胺基酸之 α -碳處之差向異構之條件偶合。在多個不同實施態樣中，該等條件使得按莫耳計少於約35%、30%、25%、20%、15%、10%、5%、3%、2%

或1%之胺基酸被差向異構。在多個不同實施態樣中，降低差向異構之條件包括使用PyBOP作為偶合劑。在多個不同實施態樣中，該等條件包括使用PyBOP及2,4,6-三甲基吡啶。

【0471】 在另一方面中，本發明總體上係在於本發明之式(I)之胺基酸或肽共軛物或其鹽或溶劑合物在合成免疫原性肽共軛物中之用途。

【0472】 在多個不同實施態樣中，該免疫原性肽共軛物為本發明之式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽。

【0473】 在另一方面中，本發明總體上係在於一種藉由本發明之方法生產的本發明之胺基酸共軛物或肽共軛物。

【0474】 在另一方面中，本發明總體上係在於一種藉由本發明之方法生產的肽共軛物。

【0475】 在另一方面中，本發明總體上係在於一種組成物，該組成物包含本發明之式(I)之胺基酸或肽共軛物或其鹽或溶劑合物。

【0476】 在多個不同實施態樣中，該組成物包含分離的、純的、經純化的或實質上經純化的式(I)之化合物或其鹽或溶劑合物。

【0477】 在多個不同實施態樣中，該組成物包含按重量計至少約60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%或99%之式(I)之化合物或其鹽或溶劑合物。

【0478】 在多個不同實施態樣中，該組成物不含或實質上不含除式(I)之化合物以外之含胺基酸或肽化合物。

【0479】 在另一方面中，本發明總體上係在於一種醫藥組成物，該醫

藥組成物包含有效量的本發明之式 (I) 之肽共軛化合物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物以及醫藥上可接受之載劑。

【0480】 在多個不同實施態樣中，所主張之醫藥組成物包含有效量的二或更多種本發明之式 (I) 之肽共軛化合物。

【0481】 在一個實施態樣中，該醫藥組成物為免疫原性組成物。

【0482】 在一個實施態樣中，該醫藥組成物不包含外來佐劑。

【0483】 在一些實施態樣中，該醫藥組成物為疫苗。

【0484】 在一個實施態樣中，該醫藥組成物包含有效量的二或更多種本發明之肽共軛物，例如該醫藥組成物包含有效量的三或更多種本發明之肽共軛物。

【0485】 在一個實施態樣中，該醫藥組成物包含有效量的一或多種本發明之肽共軛物以及一或多種本文中所述之肽或其任何組合。舉例而言，該醫藥組成物包含有效量的二或更多種本發明之肽共軛物以及一或多種本文中所述之肽，或有效量的一或多種本發明之肽共軛物以及二或更多種本文中所述之肽。

【0486】 在另一方面中，本發明總體上係在於一種在受試者中進行接種或引起免疫反應之方法，包含施予該受試者有效量的一或多種本發明之式 (I) 之肽共軛化合物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物、或有效量的本發明之醫藥組成物。

【0487】 在另一方面中，本發明總體上係在於一或多種本發明之式 (I) 之肽共軛化合物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物或本發明之醫藥組成物在製造用於在受試者中進行接種或引起免疫反應之藥物中之用途。

【0488】 在另一方面中，本發明總體上係在於一或多種本發明之式(I)之肽共軛化合物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物或本發明之醫藥組成物用於在受試者中進行接種或引起免疫反應。

【0489】 在另一方面中，本發明總體上係在於一或多種本發明之式(I)之肽共軛化合物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物或本發明之醫藥組成物用於在受試者中接種或引起免疫反應之用途。

【0490】 在多個不同實施態樣中，該方法、用途、一或多種化合物或醫藥組成物係用於在受試者中引起免疫反應。

【0491】 在多個不同實施態樣中，該方法、用途、一或多種化合物或醫藥組成物係用於對受試者進行接種。

【0492】 在一些實施態樣中，該方法包含施予該受試者有效量的一或多種如本文中所述之肽以及一或多種本發明之肽共軛物或二或更多種本發明之肽共軛物，例如一或多種肽與一或多種肽共軛物之組合。

【0493】 在一些實施態樣中，一或多種如本文中所述之肽以及一或多種本發明之肽共軛物或二或更多種本發明之肽共軛物，例如一或多種肽與一或多種肽共軛物之組合，係用於在受試者中進行接種或引起免疫反應或用於製造用於在受試者中接種或引起免疫反應之藥物。

【0494】 在一些實施態樣中，使用或施與二或更多種肽共軛物。

【0495】 在一些實施態樣中，二或更多種肽共軛物、或一或多種肽以及一或多種肽共軛物係同時、依序或分開使用或施與。

【0496】 本文中所述之化合物中可能存在不對稱中心。該等不對稱中心可命名為(R)或(S)，此端視手性碳原子處三維空間中取代基之構型而

定。該等化合物之所有立體化學異構形式，包括立體異構、對映異構及差向異構形式、以及d-異構體及l-異構體、及其混合物（包括立體化學異構體之富對映異構及富立體異構混合物）皆在本發明之範圍內。

【0497】 單種對映異構體可自市售對映純起始材料以合成方式製備或藉由製備對映異構混合物並將該混合物解析為單種對映異構體而製備。解析方法包含將該對映異構混合物轉化為非對映異構體之混合物並藉由例如重結晶或層析法以及業內習知之任何其他適宜方法等分離該等非對映異構體。具有所規定之立體化學結構之起始材料可商購或可製得且必要時藉由業內習知之技術解析。

【0498】 本文中所述化合物亦可以作為構象異構體或幾何異構體存在，包括順式(cis)、反式(trans)、同側(syn)、反側(anti)、E型(entgegen, E)及Z型(zusammen, Z)異構體。所有此等異構體及其混合物皆在本發明之範圍內。

【0499】 所述化合物之任何互變異構體或其混合物亦在本發明之範圍內。熟習此項技術者將理解，很多種功能基及其他結構可展現出互變異構。實例包括但並不僅限於酮-烯醇、亞胺-烯胺以及硫酮／烯硫醇(thioketone／enethiol)互變異構。

【0500】 本文中所述之化合物亦可作為同位素分子(isotopologue)及同分異構體(isotopomer)存在，其中該等化合物中之一或多個原子用不同之同位素替代。適宜之同位素包括，例如 ^1H 、 ^2H (D)、 ^3H (T)、 ^{12}C 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{16}O 及 ^{18}O 。對熟習此項技術者將明瞭將此等同位素納入本文中所述化合物中之程序。本文中所述化合物之同位素分子及同分異構體亦在本發明之範圍內。

【0501】 亦在本發明之範圍內者係本文中所述化合物之鹽，包括醫藥上可接受之鹽。此等鹽包括酸加成鹽、鹼加成鹽、及鹼性含氮基之四級鹽。

【0502】 酸加成鹽可藉由使呈自由鹼形式之化合物與無機或有機酸反應而製備。無機酸之實例包括但並不僅限於氫氯酸、氫溴酸、硝酸、硫酸及磷酸。有機酸之實例包括但並不僅限於乙酸、三氟乙酸、丙酸、琥珀酸、乙醇酸、乳酸、蘋果酸、酒石酸、檸檬酸、抗壞血酸、馬來酸、富馬酸、丙酮酸、天冬胺酸、谷胺酸、硬脂酸、水楊酸、甲烷磺酸、苯磺酸、羥乙基磺酸、磺胺酸、己二酸、丁酸及特戊酸。

【0503】 鹼加成鹽可藉由使呈自由酸形式之化合物與無機或有機鹼反應而製備。無機鹼加成鹽之實例包括鹼金屬鹽、鹼土金屬鹽或其他生理上可接受之金屬鹽，例如鋁鹽、鈣鹽、鋰鹽、鎂鹽、鉀鹽、鈉鹽或鋅鹽。有機鹼加成鹽之實例包括胺鹽，例如三甲胺、二乙胺、乙醇胺、二乙醇胺及乙二胺之鹽。

【0504】 化合物中鹼性含氮基之四級鹽可藉由例如使該等化合物與烷基鹵化物（如甲基、乙基、丙基及丁基氯化物、溴化物及碘化物）、硫酸二烷基酯（例如硫酸二甲酯、硫酸二乙酯、硫酸二丁酯及硫酸二戊酯）等反應而製備。

【0505】 本文中所述之化合物可所為與各種不同溶劑之溶劑合物而形成或存在。若溶劑為水，則該溶劑合物可被稱為水合物，例如單水合物、二水合物或三水合物。本文中所述化合物之所有溶劑化形式及非溶劑化形式皆在本發明之範圍內。

【0506】 本文中各式中所用一般化學術語具有其常用含義。

【0507】 術語「脂族基 (aliphatic)」意欲包括飽和的及不飽和的、非芳族、直鏈、支鏈、無環及環狀烴。熟習此項技術者將理解，脂族基包括，舉例而言，烷基、烯基、炔基、環烷基及環烯基，以及其混雜體，例如(環烷基)烷基、(環烯基)烷基及(環烷基)烯基。在多個不同實施態樣中，脂族基包含1至12個、1至8個、1至6個或1至4個碳原子。在一些實施態樣中，脂族基包含5至21個、9至21個或11至21個碳原子，例如11、13、15、17或19個碳原子。在一些實施態樣中，脂族基為飽和的。

【0508】 術語「雜脂族基 (heteroaliphatic)」意欲包括其中一或多個鏈及／或環碳原子獨立地被雜原子（較佳地選自氧、氮及硫之雜原子）替代的脂族基。在一些實施態樣中，雜脂族基為飽和的。雜脂族基包括直鏈或支鏈雜烷基、雜烯基及雜炔基。

【0509】 術語「烷基 (alkyl)」意欲包括飽和直鏈及支鏈烴基。在一些實施態樣中，烷基具有1至12個、1至10個、1至8個、1至6個或1至4個碳原子。在一些實施態樣中，烷基具有5至21個、9至21個或11至21個碳原子，例如11、13、15、17或19個碳原子。直鏈烷基之實例包括但並不僅限於甲基、乙基、正丙基、正丁基、正戊基、正己基、正庚基及正辛基。支鏈烷基之實例包括但並不僅限於異丙基、異丁基、第二丁基、第三丁基、新戊基、異戊基及2,2-二甲基丙基。

【0510】 術語「烯基 (alkenyl)」意欲包括在兩個碳原子之間具有至少一個雙鍵之直鏈及支鏈烷基。在一些實施態樣中，烯基具有2至12個、2至10個、2至8個、2至6個或2至4個碳原子。在一些實施態樣中，烯基具有5至21個、9至21個或11至21個碳原子，例如11、13、15、17或19個碳原子。在一些實施態樣中，烯基具有一、二或三個碳碳雙鍵。烯基之實例包括但

並不僅限於乙烯基、烯丙基、 $-\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_3)$ 、 $-\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ 及 $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}(\text{CH}_3)$ 。

【0511】 術語「炔基 (alkynyl)」意欲包括在兩個碳原子之間具有至少一個三鍵之直鏈及支鏈烷基。在一些實施態樣中，炔基具有2至12個、2至10個、2至8個、2至6個或2至4個碳原子。在一些實施態樣中，炔基具有一、二或三個碳碳三鍵。實例包括但並不僅限於 $-\text{C}\equiv\text{CH}$ 、 $-\text{C}\equiv\text{CH}_3$ 、 $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}_3$ 及 $-\text{C}\equiv\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ 。

【0512】 術語「雜烷基 (heteroalkyl)」意欲包括其中一或多個鏈碳原子被較佳為選自由氧、氮及硫組成之群組之雜原子的雜原子替代的烷基。在一些實施態樣中雜烷基為飽和的。雜烷基包括，舉例而言，聚乙二醇基及聚乙二醇醚基等。

【0513】 術語「環烷基 (cycloalkyl)」意欲包括 單-、二-或三環烷基。在一些實施態樣中，環烷基在該（等）環中具有3至12個、3至10個、3至8個、3至6個、3至5個碳原子。在一些實施態樣中，環烷基具有5或6個環碳原子。單環環烷基之實例包括但並不僅限於環丙基、環丁基、環戊基、環己基、環庚基及環辛基。在一些實施態樣中，環烷基具有3至8個、3至7個、3至6個、4至6個、3至5個或4至5個環碳原子。二-及三環環系統包括橋聯、螺及稠環烷基環系統。二-及三環環環烷基系統包括但並不僅限於二環[2.1.1]己基、二環[2.2.1]庚基、金剛烷基 (adamantyl) 及癸基 (decalinyl)。

【0514】 術語「環烯基 (cycloalkenyl)」意欲包括在兩個碳原子之間具有至少一個雙鍵之非芳族環烷基。在一些實施態樣中，環烯基具有一、二或三個雙鍵。在一些實施態樣中，環烯基在該（等）環中具有4至14個、5至14個、5至10個、5至8個或5至6個碳原子。在一些實施態樣中，環烯基

具有5、6、7或8個環碳原子。環烯基之實例包括環己烯基、環戊烯基、環己二烯基、丁二烯基、戊二烯基及己二烯基。

【0515】 術語「芳基 (aryl)」意欲包括不含任何環雜原子之環芳族烴基。芳基包括單環、二環及三環系統。芳基之實例包括但並不僅限於苯基、萘基、並環庚三烯基、聯苯基、葑基、菲基、蒽基、茛基、二氫茛基、並環戊二烯基及蒾基。在一些實施態樣中，芳基在該（等）環中具有6至14個、6至12個或6至10個碳原子。在一些實施態樣中，芳基為苯基或蒾基。芳基包括芳族-脂族稠環系統。實例包括但並不僅限於二氫茛基及四氫蒾基。

【0516】 術語「雜環基 (heterocyclyl)」意欲包括含有3或更多個其中一或多個為雜原子的環原子的非芳族環系統。在一些實施態樣中，雜原子為氮、氧或硫。在一些實施態樣中，雜環基含有一、二、三或四個雜原子。在一些實施態樣中，雜環基包括具有3至16個、3至14個、3至12個、3至10個、3至8個或3至6個環原子之單-、二-及三環環。雜環基包括部分不飽和及飽和之環系統，例如咪唑啉基及咪唑啉基。雜環基包括含有雜原子之稠環及橋聯環系統，例如奎寧環基 (quinclidyl)。雜環基包括但並不僅限於氮雜丙啶基、氮雜啶基 (azetidiny)、氮雜環庚烷基 (azepanyl)、二氮雜環庚烷基 (diazepanyl)、1,3-二噁烷基 (1,3-dioxanyl)、1,3-二氧環戊烷基 (1,3-dioxolanyl)、異噁唑啉基 (isoxazolidiny)、嗎啉基、哌嗪基 (piperaziny)、哌啶基 (piperidiny)、哌喃基、吡啶基、吡咯啉基、吡咯啶基、四氫呋喃基、四氫噻吩基、噻二唑啶基 (thiadiazolidiny) 及三噻烷基 (trithianyl)。

【0517】 術語「雜芳基 (heteroaryl)」意欲包括含有5或更多個其中一或多個為雜原子之環原子的芳族環系統。在一些實施態樣中，雜原子為

氮、氧或硫。在一些實施態樣中，雜芳基包括具有5至16個、5至14個、5至12個、5至10個、5至8個或5至6個環原子之單-、二-及三環環系統。雜芳基包括但並不僅限於吡咯基、吡唑基、三唑基、四唑基、噁唑基、異噁唑基、噻唑基、吡啶基、噻嗪基 (pyridazinyl)、嘧啶基、吡嗪基 (pyrazinyl)、苯硫基、苯並噻吩基、呋喃基、苯並呋喃基、吡啶基、氮雜吡啶基 (azaindolyl) (吡咯吡啶基 (pyrrolopyridinyl))、吡唑基、苯並咪唑基、吡唑吡啶基 (pyrazolopyridinyl)、三唑吡啶基 (triazolopyridinyl)、苯並三唑基、苯並噁唑基、苯並噻唑基、咪唑吡啶基、異噁唑吡啶黃嘌呤基 (isoxazolopyridinylxanthinyl)、胍基 (guaninyl)、喹啉基、異喹啉基、四氫喹啉基、喹噁啉基 (quinoxalinyl) 及喹唑啉基。雜芳基包括其中所有環皆為芳族之稠環系統，例如吡啶基，以及其中該等環中僅一個環為芳族之稠環系統，例如2,3-二氫吡啶基。

【0518】 術語「鹵代 (halo)」或「鹵素 (halogen)」意欲包括F、Cl、Br及I。

【0519】 術語「雜原子 (heteroatom)」意欲包括氧、氮、硫或磷。在一些實施態樣中，雜原子選自由氧、氮及硫組成之群組。

【0520】 本文中所用術語「經取代 (substituted)」意指所指基團中之一或多個氫原子經一或多個獨立選擇之適宜取代基替代，其限制條件為不超過連接該(等)取代基之每一原子之常價，以及取代產生穩定之化合物。在多個不同實施態樣中，本文中所述化合物中之可選取代基包括但並不僅限於鹵代、CN、NO₂、OH、NH₂、NHR¹⁰、NR¹⁰R²⁰、C1-6鹵代烷基、C1-6鹵代烷氧基、C(O)NH₂、C(O)NHR¹⁰、C(O)NR¹⁰R²⁰、SO₂R¹⁰、OR¹⁰、SR¹⁰、S(O)R¹⁰、C(O)R¹⁰及C1-6脂族基；其中R¹⁰及R²⁰分別獨立地為C1-6脂族基，

例如C1-6烷基。

【0521】 本文中所用術語「羧基保護基 (carboxyl protecting group)」意指能夠輕易地移除以提供羧基之OH基並且在合成程序期間保護羧基免於發生不期望之反應的基團。此類保護基在由T. W. Greene等人編輯之《有機合成 (Organic Synthesis)》(John Wiley & Sons, 1999)中之保護基 (Protective Groups) 中以及Fernando Albericio (與Albert Isidro-Llobet 及 Mercedes Alvarez一起) 之「胺基酸保護基 (Amino Acid-Protecting Groups)」化學評論 (Chemical Reviews) 2009 (109) 2455-2504中予以描述。實例包括但並不僅限於烷基及矽烷基，例如甲基、乙基、第三丁基、甲氧基甲基、2,2,2-三氯乙基、苄基、二苯基甲基、三甲基矽烷基及第三丁基二甲基矽烷基等。

【0522】 本文中所用術語「胺保護基 (amine protecting group)」意指能夠輕易地移除以提供胺基之NH₂基並且在合成程序期間保護胺基免於發生不期望之反應的基團。此類保護基在由T. W. Greene等人編輯之《有機合成 (Organic Synthesis)》(John Wiley & Sons, 1999)中之保護基 (Protective Groups) 中以及Fernando Albericio (與Albert Isidro-Llobet 及 Mercedes Alvarez一起) 之「胺基酸保護基 (Amino Acid-Protecting Groups)」化學評論 (Chemical Reviews) 2009 (109) 2455-2504中予以描述。實例包括但並不僅限於醯基及醯氧基，例如乙醯基、氯乙醯基、三氯乙醯基、鄰硝基苯基乙醯基、鄰硝基苯氧基乙醯基、三氟乙醯基、乙醯乙醯基、4-氯丁醯基、異丁醯基、皮考啞基 (picolinoyl)、胺基己醯基、苯甲醯基、甲氧基-羰基、9-芴基甲氧基羰基、2,2,2-三氟乙氧基羰基、2-三甲基矽烷基乙氧基-羰基、第三丁氧基羰基、苄氧羰基、對硝基苄氧羰基、2,4-二氯-苄氧羰基等。其他

實例包括Cbz（羧基苄基）、Nosyl（鄰-或對-硝基苯基磺醯基）、Bpoc（2-(4-聯苯基)異丙氧基羰基）及Dde（1-(4,4-二甲基-2,6-二氧亞己基)乙基）。

【0523】 本文中所用術語「羧醯胺保護基（carboxamide protecting group）」意指能夠輕易地移除以提供羧醯胺基之NH₂基並且在合成程序期間保護羧醯胺基免於發生不期望之反應的基團。此類保護基在由T. W. Greene等人編輯之《有機合成（Organic Synthesis）》（John Wiley & Sons, 1999）中之保護基（Protective Groups）中以及Fernando Albericio（與Albert Isidro-Llobet 及 Mercedes Alvarez 一起）之「胺基酸保護基（Amino Acid-Protecting Groups）」化學評論（Chemical Reviews）2009 (109) 2455-2504中予以描述。實例包括但並不僅限於9-咕噸基（9-xanthenyl, Xan）、三苯甲基（Trt）、甲基三苯甲基（Mtt）、環丙基二甲基甲醇基（cyclopropyldimethylcarbonyl, Cpd）及二甲基環丙基甲基（Dmcp）。

【0524】 本文中所用術語「及／或（and／or）」意指「及（and）」或者「或（or）」或者二者。

【0525】 名詞後之術語「（等）（s）」意欲涵蓋單數及複數形式或同時涵蓋二者。

【0526】 本說明書中所用術語「包含（comprising）」意指「至少部分由.....組成（consisting at least in part of）」。當解釋本說明書中包括術語「包含（comprising）」之每一陳述時，亦可能存在除由該術語修飾之彼或彼等特徵之外的特徵。例如「包含（comprise及comprises）」等相關術語應以相同的方式理解。「含有（containing）」亦以相同的方式理解。

【0527】 據言本發明亦可以總體上係在於本申請案之說明書中單獨

提及或指示之部件、要素及特徵，或者以所述部件、要素或特徵之二或更多者之任何或所有組合共同地提及或指示之部件、要素及特徵，且當本文中提及具有與本發明所涉及之技術中已知的等效值的整數時，此等已知的等效值被視為如同個別列出一樣納入本文中。

【0528】 提及本文中所揭露數值之範圍（例如1至10）亦納入提及在彼範圍內之所有有理數（例如1、1.1、2、3、3.9、4、5、6、6.5、7、8、9及10）以及亦提及在彼範圍內之任何有理數範圍（例如2至8、1.5至5.5以及3.1至4.7），且因此本文中所明確揭示之所有範圍之所有子範圍皆特此明確地被揭示。該等僅係具體意欲涵蓋者之實例，且在所列舉之最低值與最高值之間的數值之所有可能組合皆被認為以類似方式明確地在此申請案中闡明。

【0529】 儘管上文對本發明進行了大致界定，但熟習此項技術者將明瞭，本發明並不僅限於此，且本發明亦包括以下說明內容給出實例的實施態樣。

【圖式簡單說明】

【0530】 將參照附圖對本發明進行描述，其中：

【0531】 圖1為在365奈米下輻照由AcCSKKKKKNLVPC(tBu)VATV 1、棕櫚酸乙烯酯（70當量）以及DMPA組成之溶液後反應混合物之HPLC層析圖。峰a（11.05分鐘）：殘餘起始肽1；b（18.58分鐘）：單棕櫚醯化肽2；c（26.66分鐘）：雙棕櫚醯化肽3；e、f：2及3之亞磺；*：DMPA光起始劑之副產物。柱：Phenomenex Gemini C18（3 μ ，110埃，4.6 x 150毫米）；溶析液A，水／0.1％TFA；溶析液B：MeCN／0.1％TFA；梯度：5-95％B，經30分鐘 @

1毫升／分鐘。

【0532】 圖2為來自圖1之峰b之低解析度質譜： m/z (ESI) 999.9 [M+2H⁺]。

【0533】 圖3為來自圖1之峰c之低解析度質譜： m/z (ESI) 1141.3 [M+2H⁺]。

【0534】 圖4A至4C為顯示如本文中實例中所述之使用肽共軛物及HekBlue™之TLR促效分析之結果的圖。A：由促效劑520、550、530、540、510或PBS在HEK-Blue™-mTLR2細胞（左）及HEK-Blue™-hTLR2細胞（右）中引發的SEAP產生情況。B：由促效劑520（灰色條）及530（黑色條）在HEK-Blue™-mTLR2細胞（左）及HEK-Blue™-hTLR2細胞（右）中引發之SEAP產生情況。C：由促效劑550（灰色條）及530（黑色條）在HEK-Blue™-mTLR2細胞（左）及HEK-Blue™-hTLR2細胞（右）中引發之SEAP產生情況。

【0535】 圖4D及4E為顯示響應於D：促效劑521（黑色條）、551（交叉影線條）及511（灰色條）；E：促效劑552（交叉影線條）、512（黑色條）及500（灰色條）之T細胞殖株活化之圖。

【0536】 圖5為雙棕櫚醯化肽3之¹H NMR譜。

【0537】 圖6A及6B為顯示使用如實例8中所述在表4中列出之Pam1Cys-SKKKK-NH₂ 以及 (R)- 及 (S)- Pam2Cys-SKKKK、Pam3Cys-SKKKK、及homoPam2Cys-SKKKK構建體在多種不同濃度下在HEK-Blue™-mTLR2（圖6A）及HEK-Blue™-hTLR2（圖6B）細胞中之TLF促效分析之結果：10⁻⁶莫耳／升（黑色條）、10⁻⁷莫耳／升（深灰色條）、10⁻⁸

莫耳／升（中灰色條）、 10^{-9} 莫耳／升（斜交叉影線條）、 10^{-10} 莫耳／升（淡灰色條）、及 10^{-11} 莫耳／升（方影線條）。

【實施方式】

【0538】 本發明提供本文中所定義之式（I）之胺基酸及肽共軛化合物。發明者有利地發現此等共軛物具有令人驚訝的免疫原活性。

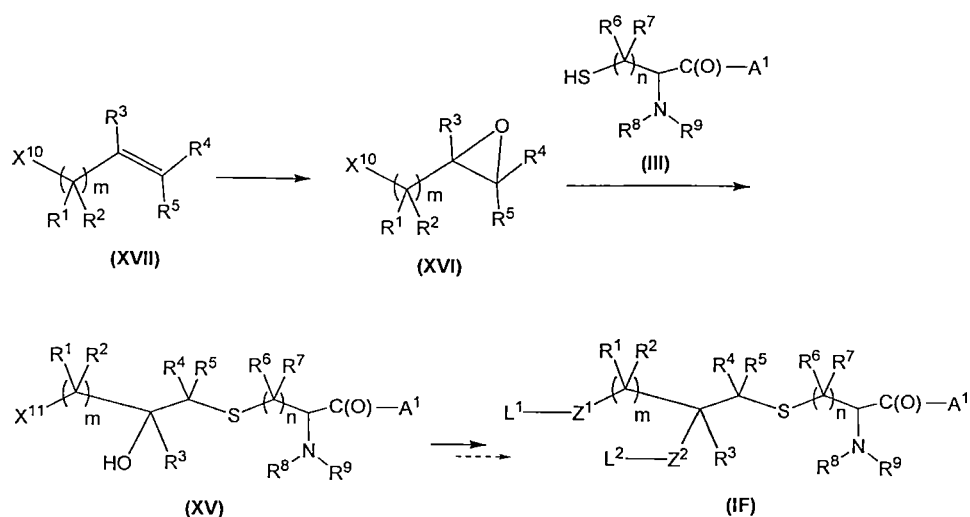
【0539】 式（I）之胺基酸及肽共軛化合物可使用本文所述方法及程序製備。

【0540】 該等方法中使用之起始材料及／或中間物可使用習知合成化學技術（例如大致描述於Louis F Fieser and Mary F, *Reagents for Organic Synthesis* v. 1-19, Wiley, New York (1967-1999 ed.)或*Beilsteins Handbuch der organischen Chemie*, 4, Aufl. Ed. Springer-Verlag Berlin（包括附錄（亦可經由Beilstein在線資料庫獲得）中之方法）製備，或者在一些實施態樣中可商購。

【0541】 該等化合物之製備可涉及多種不同化學基之保護及去保護。對保護及去保護之需要以及適宜保護基之選擇可容易地由熟習此項技術者確定。用於進行保護及去保護之保護基及方法在業內為人熟知（參見例如T. W. Greene and P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd Ed., Wiley & Sons, Inc., New York (1999)）。

【0542】 如示意圖A1中所示以及下文所述，式（IF）之化合物為其中w為1、v為0且m為2至6、較佳2之式（I）之化合物，其可經由涉及將環氧化物共軛至含胺基酸共軛配偶體之方法製備。

示意圖A1：經由共軛至環氧化物製備式（IF）之化合物。



【0543】 本發明提供一種製備式 (XV) 之方法，包含使式 (XVI) 之環氧化物與式 (III) 之包含硫醇之含胺基酸共軛配偶體在藉由硫醇與環氧化物共軛而有效地提供該式 (XV) 之化合物之條件下反應。

【0544】 與環氧化物反應之該含胺基酸共軛配偶體可係由例如Nα-胺經保護及／或C端經保護之半胱胺酸等胺基酸組成。或者，含胺基酸共軛配偶體可包含肽，例如短肽。在此等實施態樣中，該含胺基酸共軛配偶體可包含約15個胺基酸殘基或更少，例如5、4或3個胺基酸殘基。該含胺基酸共軛配偶體之Nα-胺基較佳經保護或者經取代(即，不呈自由胺-NH₂基形式)以防止在共軛反應期間發生反應。該含胺基酸共軛配偶體之C端亦可經保護。

【0545】 該式 (XVI) 之化合物中之X¹⁰可為經保護之羥基、硫醇、胺或胺基甲酸酯基(分別為P¹⁰-O-、P¹¹-S-、P¹²-NR-或P¹²-NRC(O)O-)，隨後可由其形成L¹-Z¹-及L²-Z²-。當X¹⁰為經保護基時，該保護基可在共軛反應中移除以提供式 (XV) 之化合物，其中X¹¹為對應之去保護基。舉例而言，當X¹⁰為P¹⁰-O-基時，共軛可在式 (XV) 之化合物中提供相應之羥基作為X¹¹。

【0546】 式 (XVI) 之環氧化物在聯接 R^3 之碳原子處包含立體源中心。因而，在反應中可使用環氧化物之單一立體異構體或環氧化物之富立體異構混合物來控制式 (XV) 之化合物以及隨後形成之產物（包括式 (IF) 之化合物）中之聯接 R^3 之碳原子之立體化學結構 (stereochemistry)。業內習知多種用以提供環氧化物之對映純或富對映異構之混合物之方法。在多個不同實施態樣中，提供式 (XVI) 之環氧化物之單一立體異構體或富立體異構混合物包含對環氧化物之外消旋混合物進行解析。舉例而言，藉由動力水解對外消旋環氧化物混合物進行解析，如Jacobsen *et al*, *Science*, 1997, 277, 936-938所述。

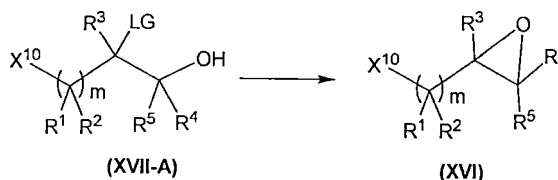
【0547】 該式 (XVI) 之環氧化物可藉由使式 (XVII) 之烯烴與氧化劑在有效地環氧化該烯烴之條件下反應而提供。業內習知數種用於環氧化烯烴之方法。在某些實施態樣中，環氧化藉由使烯烴與作為氧化劑之過氧化物或有機N-氧化物反應而進行。適宜過氧化物之實例包括有機過氧化物，例如間-氯過氧苯甲酸。N-氧化物之實例包括，舉例而言，吡啶N-氧化物等。熟習此項技術者將明瞭其他適宜之氧化劑。反應可在包含例如二氯甲烷等適宜溶劑之液體反應介質中進行。式 (XVII) 之烯烴可商購或使用標準合成化學技術自商購前驅體製備。

【0548】 熟習此項技術者將瞭解，某些 X^{10} 基團可能易於在環氧化反應中氧化，例如當 X^{10} 包含胺基（其可形成N-氧化物）或硫醚基（其可形成例如亞砷或砷）時。可在反應期間對此等基團進行保護，以防止氧化，或可在合成順序中已進行環氧化反應後之適宜點上將其還原回為期望的基團。

【0549】 或者，式 (XVI) 之環氧化物可藉由用在適宜溶劑中之鹼處

理式 (XVII-A) 之化合物 (其中 LG 為適宜之離去基, 例如鹵素) 以置換該離去基, 如示意圖 A2 中所示。

示意圖 A2. 經由離去基置換進行環氧化。



【0550】 式 (XVII-A) 之化合物可商購或可自商購前驅體製備。有利地, 在一些實施態樣中, 式 (XVII-A) 之化合物可自對映純 α -胺基酸製備。環氧化反應以立體專一性方式進行, 聯接 R^3 之碳處之立體化學結構發生反轉。

【0551】 例如, 如圖 A2-1 中所示, 式 (XVII-A1) 之化合物可自 L-天冬胺酸製備, 式 (XVII-A1) 之化合物對應於其中 m 為 2 且每一 R^1 及 R^2 以及 R^3 、 R^4 及 R^5 為氫、 X^{10} 為 $-OH$ 且 LG 為溴代的式 (XVII-A) 之化合物 (參見 Volkman, R. A. et al. *J. Org. Chem.*, **1992**, 57, 4352-4361)。

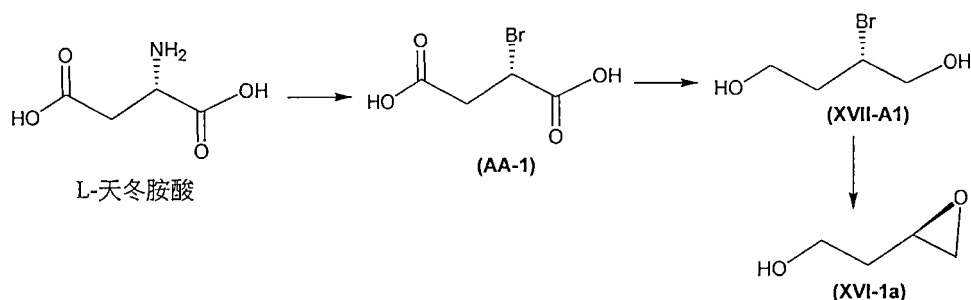
【0552】 可在 -10°C 至 0°C 之溫度下在溴化鈉之存在下藉由例如用亞硝酸鈉及例如硫酸等強酸處理 (以原位產生硝酸) 而將 L-天冬胺酸轉化為溴代琥珀酸 (AA-1)。該反應以立體專一性方式進行, 立體化學結構整體保留。

【0553】 將溴代琥珀酸 (AA-1) 還原為溴二醇 (XVII-A1) 可使用適宜還原劑進行, 例如藉由在 -78°C 用在 THF 中之硼烷或硼烷-二甲基硫醚錯合物處理, 允許反應混合物升溫至室溫。用以提供式 (XVI-1a) 之化合物之環氧化可藉由使溴二醇 (XVII-A1) 與例如碳酸鉀等鹼在二氯甲烷中在室溫下反應而進行。如上所述, 該反應以立體專一性方式進行, 立體化學結構

整體反轉。

【0554】 環氧化物 (XVI-1a) 之相反對映異構體可藉由相同程序自 D-天冬胺酸製備。

示意圖A2-1. 自L-天冬胺酸製備對映純環氧化物。



【0555】 再次參照示意圖A1，式 (XV) 之化合物可隨後藉由一或多個合成步驟轉化為式 (IF) 之胺基酸或肽共軛物。在該一或多個步驟中，與聯接 R^3 之碳結合之羥基被轉化為 L^2-Z^2 -基。

【0556】 若 X^{11} 不為 L^1-Z^1 ，那麼該一或多個步驟亦包含將 X^{11} 轉化為 L^1-Z^1 。 L^1-Z^1 -及 L^2-Z^2 -基可同時或以任何順序依序引入。

【0557】 在某些實施態樣中，該一或多個步驟包含醯化該式 (XV) 之化合物以使 $L^2-C(O)$ -替代與聯接 R^3 之碳結合之羥基之氫原子。

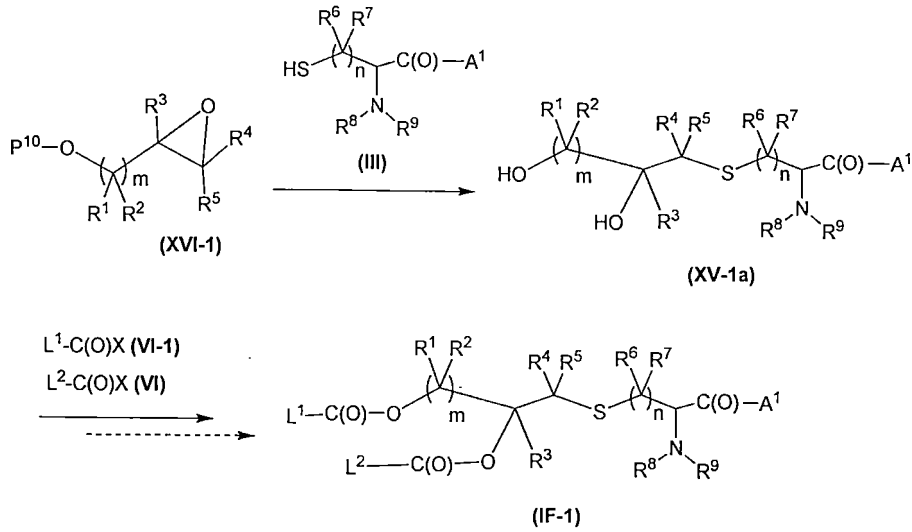
【0558】 在例示性實施態樣中， X^{10} 為 $P^{10}-O$ -或OH；且 X^{11} 為 $P^{10}-O$ -或OH。

【0559】 在多個不同實施態樣中， X^{11} 為 $P^{10}-O$ -或OH；且該一或多個合成步驟包含醯化該式 (XV) 之化合物以用 $L^1-C(O)$ -替代 P^{10} 或 X^{11} 之羥基之氫原子；及／或用 $L^2-C(O)$ -替代與聯接 R^3 之碳結合之羥基之氫原子。

【0560】 在某些實施態樣中，如下文在示意圖A3中所示以及該等實例中所述，該方法包含使具有經保護羥基之式 (XVI-1) 之環氧化物與式 (III)

之含胺基酸共軛配偶體反應以提供式 (XV-1a) 之化合物。

示意圖A3：經由環氧化物共軛製備雙酯共軛物。



【0561】 共軛反應可在酸性條件下藉由使該環氧化物與硫醇在例如氫氯酸、硫酸或其混合物等酸之存在下反應而進行。該反應可在包含例如二氯甲烷等適宜溶劑之液體反應介質中在約-10°C至約50°C、例如0°C至40°C之溫度下進行。

【0562】 羥基保護基 P^{10} 經選擇以使其可在有效共軛之條件移除且因此在此在共軛反應期間移除而提供期望之式 (XV-1a) 之二醇。適宜之保護基對熟習此項技術者而言將是顯而易見的且可包括，舉例而言，對酸不穩定的矽烷基保護基。

【0563】 或者，共軛反應可使用其中 X^{10} 為羥基之式 (XVI) 之環氧化物進行，例如式 (XVI-1a) 之環氧化物。

【0564】 式 (XV-1a) 之二醇可藉由與其中 X 為OH或適宜離去基（例如鹵化物基，例如氯代或溴代）之式 (VI-1) 及 (VI) 之化合物在對於酯化有效之條件下反應而轉化為式 (IF-1) 之化合物。

【0565】 對酯化有效之條件端視式 (IV) 及／或 (VI-1) 之化合物之性質而定。舉例而言，在X為OH時，該反應可在例如DMAP等鹼以及例如N,N'-二異丙基碳化二亞胺 (DIC) 等活化劑之存在下在包含例如THF等適宜溶劑之液體介質中進行。

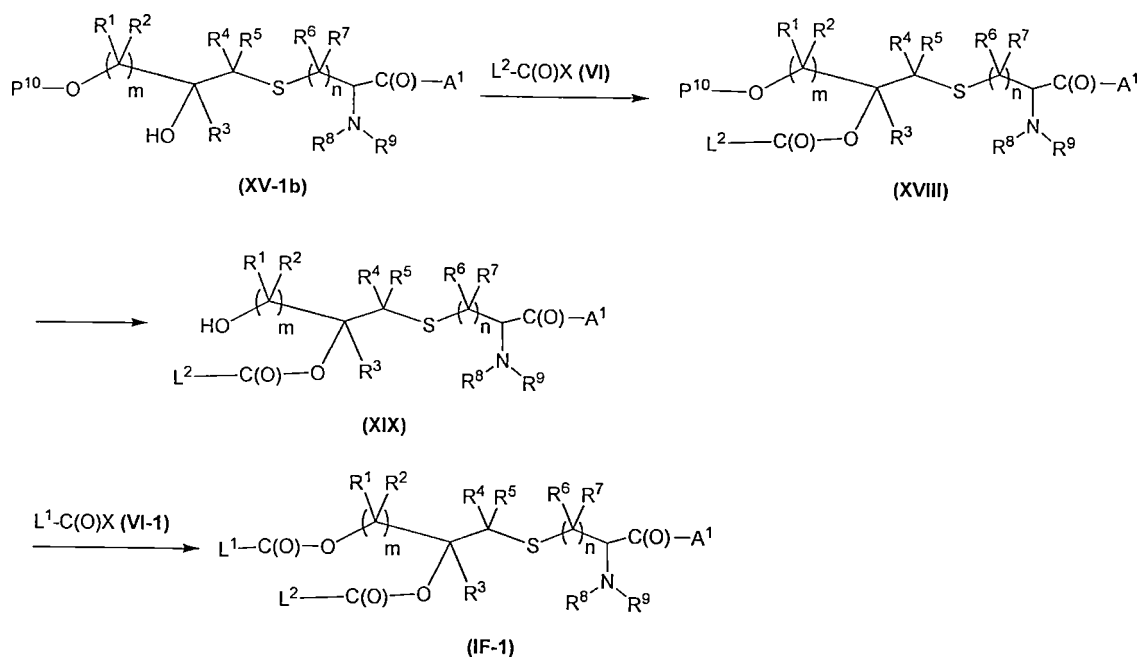
【0566】 在多個不同實施態樣中，式 (VI) 之化合物與式 (VI-1) 之化合物完全相同。例如，式 (VI) 之化合物及式 (VI-1) 之化合物可分別為棕櫚酸。在此等實施態樣中，式 (XV-1a) 之二醇至式 (IF-1) 之化合物之轉化可在一個步驟中完成。

【0567】 在某些實施態樣中，可藉由下列引入不同之 L^1 及 L^2 基：使該二醇與化學計量之量之式 (VI-1) 或 (VI) 之化合物反應以酯化該兩種醇中反應性更強之醇，且然後使所得酯與式 (VI) 或 (VI-1) 中之另一者反應以酯化該二醇之第二醇。

【0568】 在其他實施態樣中，該方法包含使式 (XVI-1) 之環氧化物與式 (III) 之含胺基酸共軛配偶體反應以提供式 (XV-1b) 之化合物，如下面的示意圖A4中所示。在此等實施態樣中，羥基保護基 P^{10} 係穩定的且在共軛反應條件下不會被移除。

【0569】 式 (XV-1b) 之經保護醇容易得到式 (IF-1) 之化合物，其中 L^1 與 L^2 不同。使用式 (XV-1b) 之化合物而非式 (XV-1a) 之二醇來獲得此等化合物在某些實施態樣中可能更方便，例如在其中式 (XV-1a) 之二醇之各醇之間選擇性差之情形中。

示意圖A4：經由式 (XV-1b) 之化合物製備雙酯共軛物。



【0570】 式 (XV-1b) 之β-氫硫基羥基 (β-sulfanyhydroxyl) 可在有效酯化之條件下用式 (VI) 之化合物醯化以提供經保護之酯 (XVIII)，然後移除保護基P¹⁰以提供式 (XIX) 之醇。移除保護基之條件端視所用保護基而定。舉例而言，可使用稀氟化氫移除矽烷基保護基，例如第三丁基二甲基矽烷基 (TBDMS)、第三丁基二苯基矽烷基 (TBDPS) 等。然後可用式 (VI-1) 之化合物在有效酯化之條件下醯化式 (XIX) 之醇，以提供期望之式 (IF-1) 之化合物。

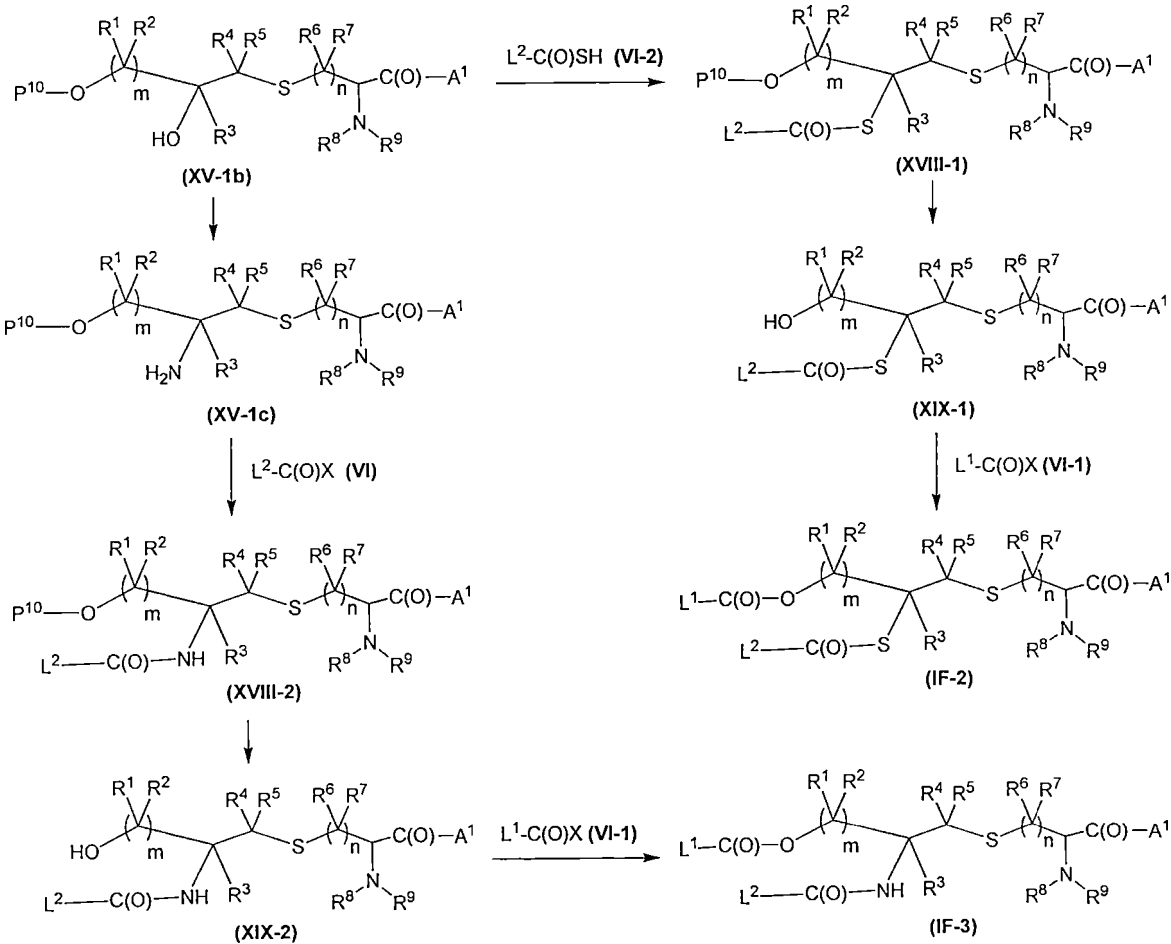
【0571】 熟習此項技術者將明瞭，羥基，例如式 (XV-1a)、(XV-1b) 及 (XIX) 之化合物中之彼等羥基，可轉化為多種其他功能基，例如硫醇及胺，以提供除酯外的具有L¹-Z¹-及L²-Z²-基之化合物。

【0572】 舉例而言，可使用式 (XV-1b) 之化合物製備式 (IF-1) 之化合物之硫酯及醯胺類似物，如下面示意圖A5中所示。要製備醯胺類似物 (IF-3)，式 (XV-1b) 之化合物中之羥基可首先轉化為疊氮化物且然後還原為相應之胺。該反應可於經修改之光延 (Mitsunobu) 條件 (例如L. Rokhum et al, J. Chem. Sci, **2012**, 124, 687-691) 下使用PPh₃、I₂、咪唑及NaN₃進行，

以提供該疊氮化物，且然後使用PPh₃以將疊氮化物還原為胺。或者，該疊氮化物可藉由首先將羥基轉化為例如甲苯磺醯基或甲磺醯基等適宜離去基且然後用NaN₃處理而獲得。

【0573】 用式（VI）之化合物對胺進行醯化提供式（XVIII-2）之醯胺。醯化反應可在例如DMAP等鹼以及例如DIC等活化劑之存在下在例如THF等適宜溶劑中藉由使式（VI）之羧酸反應而進行。保護基P¹⁰之去保護及所得醇（XIX-2）之酯化提供式（IF-3）之化合物。

示意圖A5. 經由式（XV-1b）之化合物製備硫酯及醯胺。



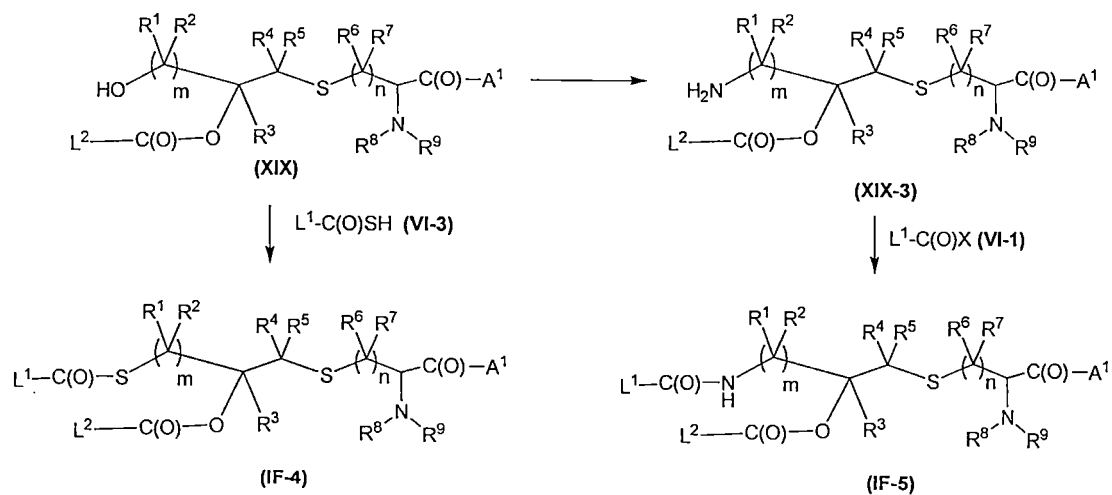
【0574】 硫酯類似物（IF-2）可藉由下列製備：首先使式（XV-1b）之化合物於光延條件（例如PPh₃、偶氮二甲酸二乙酯（DEAD））下反應並

用例如硫代棕櫚酸等期望之式 (VI-2) 之硫代酸捕捉以提供式 (XVIII-1) 之化合物 (參見, 例如 O. Schulze et al, Carbohydrate Res., 2004, 339, 1787-1802)。保護基 P^{10} 之去保護以及所得醇 (XIX-1) 之酯化提供式 (IF-2) 之化合物。

【0575】 雙酯 (IF-1) 之硫酯及醯胺類似物亦可自式 (XIX) 之化合物製備, 如示意圖A6中所示。可藉由類似於上文針對將式 (XV-1b) 轉化為式 (XVIII-1) 之化合物所述方法之方法將式 (XIX) 之化合物轉化為式 (IF-4) 之化合物。

【0576】 類似地, 可藉由類似於上文針對將式 (XV-1b) 轉化為式 (XVIII-2) 之化合物所述方法之方法將式 (XIX) 之化合物轉化為式 (IF-5) 之化合物。

示意圖A6. 經由式 (XIX) 之化合物製備硫酯及醯胺。



【0577】 雙酯 (IF-1) 之更多其他類似物可藉由用式 (XIX-1) 或 (XIX-2) 之化合物替代示意圖A6中之式 (XIX) 之化合物且然後遵照所述合成順序而製備。

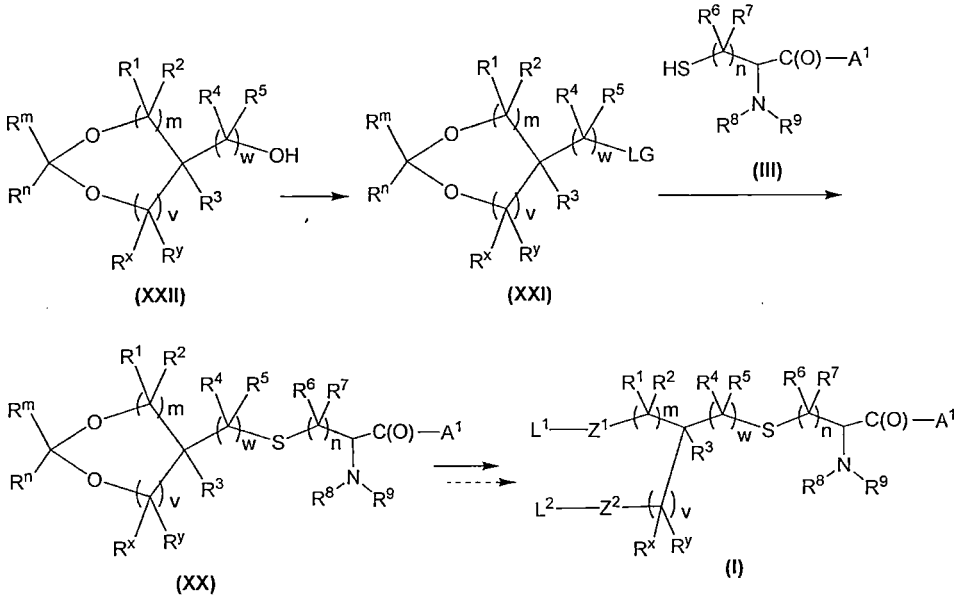
【0578】 熟習此項技術者將明瞭, 可藉由類似方法製備無數其他式

(IF) 之化合物。

【0579】 式 (VI)、(VI-1)、(VI-2) 及 (VI-3) 之化合物可商購或使用標準合成化學技術自商購前驅體製備。

【0580】 式 (I) 之化合物亦可藉由包含共軛含胺氨基酸共軛配偶體與縮醛之方法製備，如示意圖B1中所示。

示意圖B1. 經由縮醛 (XXI) 製備式 (I) 之化合物。



【0581】 本發明提供一種製備式 (XX) 之化合物之方法，該方法包含使式 (III) 之含胺氨基酸共軛配偶體與其中LG為適宜離去基的式 (XXI) 之縮醛在有效地提供式 (I) 之化合物之條件下反應。在該反應中，式 (III) 之化合物之硫醇替代式 (XXI) 之縮醛中之離去基 (LG)。適宜之離去基包括但並不僅限於鹵代（例如氯代、溴代或碘代）或磺酸酯基（例如甲苯磺酸酯基或甲磺酸酯基）。其他適宜之離去基對熟習此項技術者而言將是顯而易見的。

【0582】 式 (XXI) 之化合物中之縮醛環之大小可有所變化。縮醛環可包含5至7個環原子（即可為5至7員環縮醛）。在某些實施態樣中，環縮醛

為6員的。將理解，當環縮醛為5員環縮醛時，為了提供式(I)之化合物，w至少為2（因而m、v及w之和至少為3）。

【0583】 與縮醛反應之含胺基酸共軛配偶體可由例如N α -胺經保護及／或C端經保護之半胱胺酸等胺基酸組成。或者，該含胺基酸共軛配偶體可包含肽，例如短肽。在此等實施態樣中，該含胺基酸共軛配偶體可包含約15個胺基酸殘基或更少，例如5、4或3個胺基酸殘基。該含胺基酸共軛配偶體之N α -胺基較佳經保護或者經取代（即，不呈自由胺-NH₂基形式）以防止在共軛反應期間發生反應。該含胺基酸共軛配偶體之C端亦可經保護。

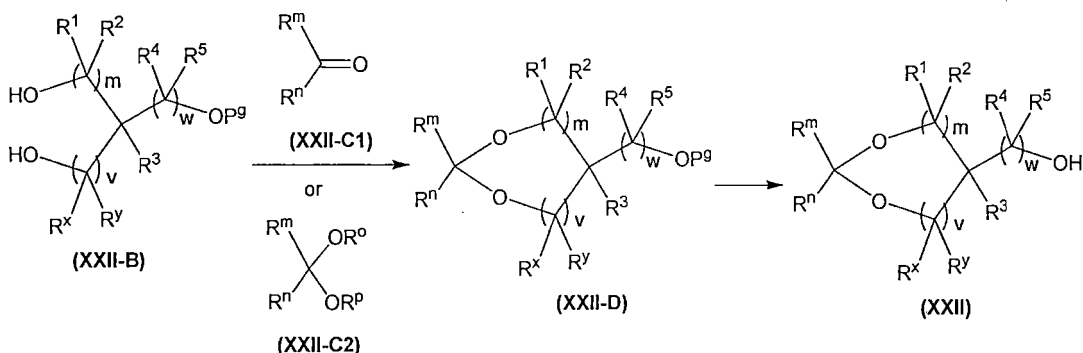
【0584】 共軛反應可在鹼之存在下進行。舉例而言，該反應可在有機胺之存在下在例如DMF等適宜溶劑中在約50°C之溫度下進行。適宜之有機胺包括但並僅限於三乙胺、N-甲基嗎啉、柯林鹼等。

【0585】 式(XXI)之化合物可藉由使立體異構純的式(XXII)之化合物或該化合物之富立體異構的混合物反應而以立體異構純的形式或富立體異構混合物而提供。有利地，式(XXII)之立體異構純化合物容易商購，例如(4R)-或(4S)-(2,2-二甲基-1,3-二噁烷-4-基)-甲醇。

【0586】 其他式(XXII)之化合物可藉由業內習知之常規方法製備。如示意圖B1-1中所示，其中P^g為適宜羥基保護基之式(XXII-B)之化合物可與式(XXII-C1)之化合物反應以提供式(XXII-D)之縮醛，該縮醛然後可藉由移除保護基P^g而轉化為式(XXII)之化合物。或者，該式(XXII-B)之化合物可與其中R^o及R^p分別獨立地為C1-4烷基之式(XXII-C2)之無環縮醛反應。乙醯化反應可使用例如樟腦磺酸等酸在例如二氯甲烷等適宜溶劑中進行。

【0587】 移除保護基P^g之條件端視所用保護基而定。舉例而言，可藉由在例如THF等適宜溶劑中使用例如四丁基氟化銨（TBAF）等氟源進行處理來移除矽烷基醚保護基，例如TBDMS。參見，例如C. R. Reddy et al, (Tetrahedron Letters, **2010**, 51(44) 5840-5842)；及 Sauret-Cladière et al (Tetrahedron Asymmetry, **1997**, 8(3), 417-423)。

示意圖B1-1. 式（XXII）之化合物之製備。



【0588】 再次參照示意圖B1，式（XXI）之化合物可自式（XXII）之化合物藉由與離去基之適宜前驅體反應而製備。舉例而言，甲苯磺酸酯或甲磺酸酯離去基可藉由在鹼及適宜溶劑之存在下與對甲苯磺醯氯或甲烷磺醯氯反應而製備，且碘代離去基可藉由與PPh₃及I₂反應而製備。

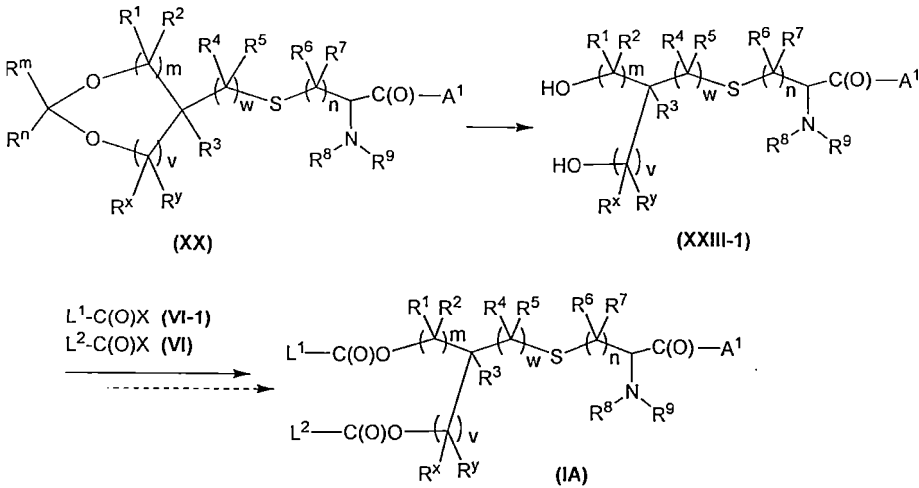
【0589】 隨後可藉由一或多個合成步驟將式（XX）之化合物轉化為式（I）之化合物，例如式（IA）之化合物。

【0590】 該一或多個合成步驟可包含移除該縮醛以提供式（XXIII-1）之二醇。式（XXIII-1）之化合物中與聯接R¹及R²之碳結合之羥基可轉化為L¹-Z¹，及／或與聯接R^x及R^y之碳結合之羥基可轉化為L²-Z²。

【0591】 舉例而言，如示意圖B2中所示，式（XX）之化合物中之縮醛可藉由在例如二氯甲烷等溶劑中用例如對甲苯磺酸等酸處理而移除以提供式（XXIII-1）之二醇。以與針對將式（XV-1a）之化合物轉化為式（IF-1）

之化合物所述類似的方式，可經由一或多個醯化步驟將式 (XXIII-1) 之二醇轉化為式 (IA) 之雙酯化合物。

示意圖B2. 式 (IA) 之雙酯共軛物之製備。

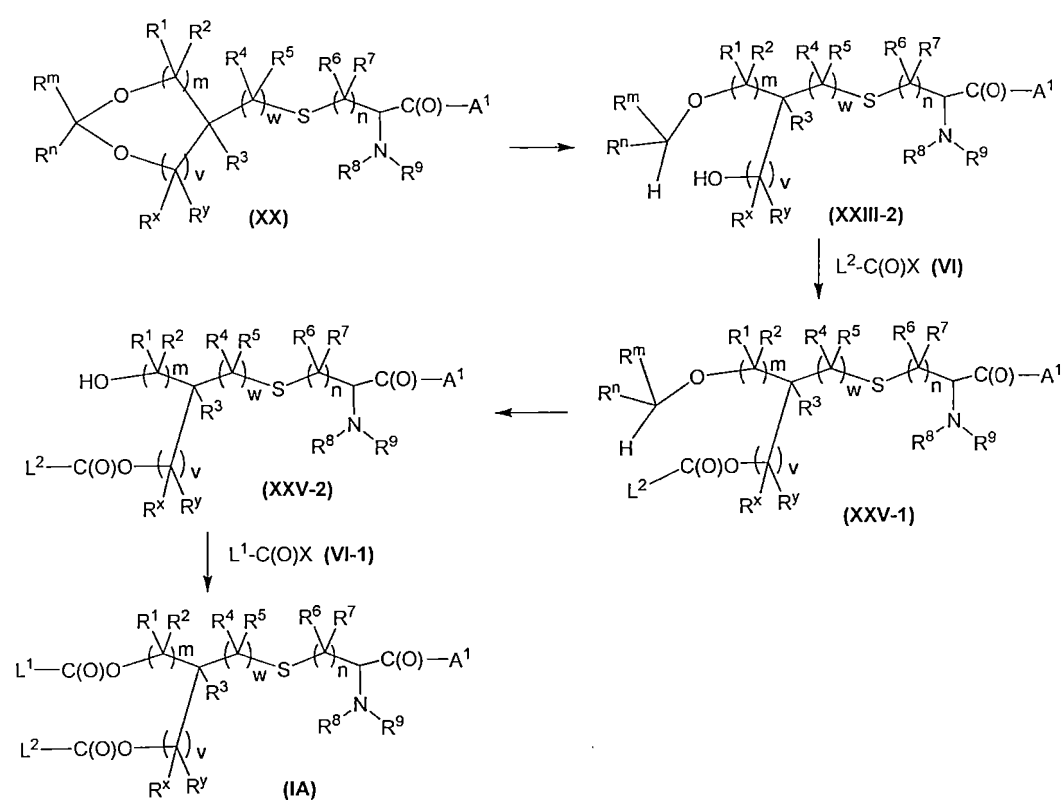


【0592】 或者，在其中 R^m 為例如苯基或經甲氧基取代之苯基等視需要經取代之芳基的多個不同實施態樣中，該一或多個合成步驟可包含移除縮醛以提供式 (XXIII-2) 或 (XXIII-3) 之化合物。該一或多個合成步驟可包含將式 (XXIII-2) 之化合物中與聯接 R^x 及 R^y 之碳結合之羥基轉化為 L^2-Z^2- ，移除 R^mR^nCH- 基以提供羥基，及將羥基轉化為 L^1-Z^1- ；或將式 (XXIII-2) 之化合物中與聯接 R^x 及 R^y 之碳結合之羥基轉化為 L^1-Z^1- ，移除 R^mR^nCH- 基以提供羥基，及將羥基轉化為 L^2-Z^2- 。此等方法有利地允許引入不同的 L^1-Z^1 基及 L^2-Z^2 -基。

【0593】 如示意圖B3中所示，式 (XX) 之化合物中之縮醛可藉由例如用如二異丁基氫化鋁 (DIBAL) 等適宜還原劑處理而移除。然後可用式 (VI) 之化合物醯化所得之式 (XXIII-2) 之化合物，以引入期望之 $L^2-C(O)O-$ 基。移除 R^mR^nCH- 基以提供式 (XXV-2) 之化合物可藉由氫解 (例如針對苄基或對甲氧基苄基) 或任何其他適於 R^mR^nCH- 基之性質之方法進行。然後可藉由用式 (IV-1) 之化合物醯化而將式 (XXV-2) 之化合物轉化為式 (IA)

之化合物。醯化步驟可如本文中針對式 (IF-1) 之化合物之製備所述進行。

示意圖B3. 經由式 (XXIII-2) 之化合物之雙酯共軛物。



【0594】 對於熟習此項技術者將顯而易見的是，式 (IA) 之化合物可自式 (XXIII-3) 之化合物藉由分別用式 (XXIII-3)、(VI-1) 及 (VI) 之化合物替代示意圖B3中式 (XXIII-2)、(VI) 及 (VI-1) 之化合物、且然後遵照所述合成順序而製備。

【0595】 移除縮醛或R^mRⁿCH-基而產生之羥基，例如式 (XXIII-1)、(XXIII-2)、(XXIII-3) 及 (XXV-2) 之化合物中之彼等羥基，可轉化為多種其他功能基，例如硫醇及胺，以提供具有其他Z¹及Z²基之式 (I) 之化合物。

【0596】 將理解，式 (IA) 之雙酯化合物之醯胺及硫酯類似物可藉由類似於上文針對式 (IF-1) 之雙酯化合物之醯胺及硫酯類似物所述之彼等方法之方法而製備。

【0597】 本發明亦提供一種經由硫醇-烯反應 (thiol-ene reaction) 製備式 (I) 之化合物之方法。該方法包含使包含碳碳雙鍵之第一含脂質共軛配偶體、包含碳碳雙鍵之第二含脂質共軛配偶體以及包含硫醇之含胺基酸共軛配偶體在有效地使該第一及第二含脂質共軛配偶體共軛至該含胺基酸共軛配偶體之條件下反應。每一含脂質共軛配偶體皆包含脂質部分並且因此反應中向該式 (I) 之化合物提供脂質部分，一個脂質部分包含 L^1 ，另一脂質部分包含 L^2 。

【0598】 該硫醇-烯反應涉及在非芳族碳碳雙鍵上加成硫醇 (即碳碳雙鍵之氫硫醇化)。該反應經由自由基機制進行。反應中有三個明顯之階段：引發、偶合及終止。

【0599】 通常，自由基產生得到親電子性含硫自由基 (thiyl radical)，其在烯烴之烯基間擴展，形成以碳為中心之自由基且自另一硫醇分子之鏈轉移將該自由基淬滅在碳上而得到最終產物。

【0600】 雖然不希望受理論之限制，但發明者相信在本發明之方法中，硫醇共軛至該第一含脂質共軛配偶體之碳碳雙鍵之碳原子而形成以碳為中心之自由基，且然後此以碳為中心之自由基不是被淬滅，而是與該第二含脂質共軛配偶體之碳碳雙鍵之碳原子共軛而提供式 (I) 之化合物。

【0601】 因此該方法提供式 (I) 之胺基酸及肽共軛物，其中來自該硫醇之硫原子共軛至來自該第一含脂質共軛配偶體之碳碳雙鍵之碳原子，而來自該第一含脂質共軛配偶體之碳碳雙鍵之碳原子共軛至來自該第二含脂質共軛配偶體之碳碳雙鍵之碳原子。

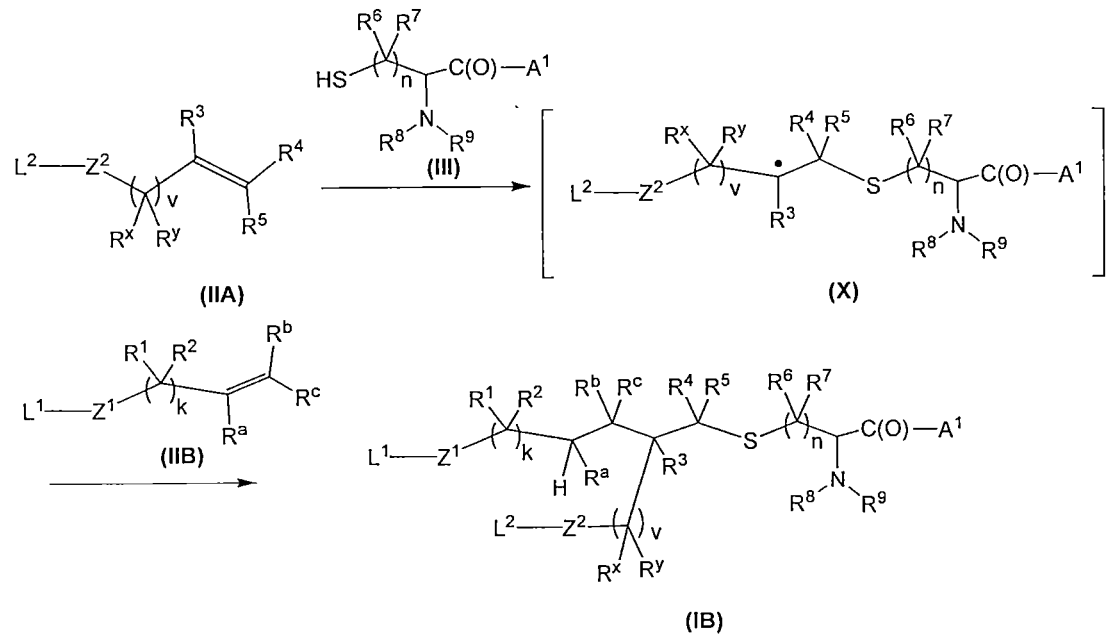
【0602】 該第一及第二含脂質共軛配偶體可相同或不同。熟習此項技

術者將瞭解，使不同的含脂質共軛配偶體同時反應可提供（可能多達四種不同的）式（I）之化合物之混合物。因此，在某些例示性實施態樣中，該第一及第二含脂質共軛配偶體相同。

【0603】 硫醇烯反應對於該第一含脂質共軛配偶體之碳碳雙鍵之哪一碳原子共軛至硫醇並且亦對於該第二含脂質共軛配偶體之碳碳雙鍵之哪一碳原子共軛至該第一含脂質共軛配偶體之碳碳雙鍵之哪一碳原子而言具有位置選擇性。熟習此項技術者將瞭解，在反應中可能形成多種位置異構體。

【0604】 在某些實施態樣中，該方法包含使式（IIA）之第一含脂質共軛配偶體及式（IIB）之第二含脂質共軛配偶體與含硫醇之含胺基酸共軛配偶體（III）在有效地提供式（IB）之化合物之條件下反應（示意圖C1）。

示意圖C1. 經由硫醇烯反應製備（式IB）之化合物。



【0605】 有效地形成式（IB）之化合物之條件可變化。在多個不同實施態樣中，有效地形成式（IB）之化合物之條件可包含用對於硫醇化學計量過量之含脂質共軛配偶體進行反應，例如含脂質共軛配偶體（IIA）及（IIB）

(組合)對含胺基酸共軛配偶體之化學計量比為至少7:1，例如8:1、9:1、10:1、20:1、30:1、40:1、50:1、60:1或70:1。

【0606】 該含胺基酸共軛配偶體至該式(IB)之產物化合物之轉化程度可變化。較佳地，至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%或70%之該含胺基酸共軛配偶體轉化為該式(IB)之化合物。轉化可藉由HPLC確定。

【0607】 如上所述，雖然不希望受理論之限制，但發明者相信，在此等條件下，式(IA)之烯烴與式(III)之硫醇之反應導致式(X)之以碳為中心之自由基之形成，該自由基用該式(IIB)之第二烯烴捕捉而非藉由自該式(III)之另一分子之硫醇提取質子而淬滅，以提供期望之胺基酸或肽共軛物。

【0608】 該反應可導致產生立體異構體之混合物，因為可能由於反應過程中產生之自由基中間體而無法控制或影響結合 R^3 之碳原子與結合 R^b 及 R^c 之碳原子之間之鍵形成之立體化學結構。該反應通常產生針對結合 R^3 之碳原子之差向異構體之混合物。

【0609】 在某些實施態樣中，含脂質共軛配偶體中之 Z^1 及 Z^2 分別為 $-C(O)O-$ ，且該硫醇烯方法中形成之式(I)之化合物為本文中所定義之式(IC)之化合物。

【0610】 在例示性實施態樣中，本發明之硫醇烯方法包含使包含式(III)之結構之含胺基酸共軛配偶體與為乙烯基酯之式(IIA)及(IIB)之含脂質共軛配偶體反應而提供式(ID)之化合物。該反應可例如按下面的實例中所述藉由輻照包含該含胺基酸共軛配偶體；含脂質共軛配偶體；例

如DMPA等光起始劑之反應混合物而進行。可包含一或多種添加劑來減少副產物之形成，例如位阻硫醇（例如第三丁基硫醇）、酸（例如TFA）或有機矽烷（例如三異丙基矽烷）或其任何二或更多者之組合。該反應可在例如NMP等適宜溶劑中在環境溫度下進行適宜之時間，例如30分鐘。

【0611】 該反應通常藉由在反應混合物中產生一或多種自由基而引發。在該方法中可藉由任何業內習知方法產生一或多種自由基。自由基可係以熱及／或光化學方式產生。可使用一或多種自由基引發劑來引發自由基之產生。適宜自由基引發劑包括熱引發劑及光起始劑。

【0612】 自由基藉由加熱自熱引發劑產生。熱引發劑之降解率及所產生之自由基之形成端視引發劑以及加熱引發劑之溫度而定。較高之溫度通常造成更快之分解。熟習此項技術者不經過度實驗便將能夠選擇適合加熱引發劑之溫度。

【0613】 多種熱引發劑於市面有售。熱引發劑之實例包括但並不僅限於過氧苯甲酸第三戊酯、1,1'-偶氮雙(環己烷腈)，2,2'-偶氮雙異丁腈（AIBN）、過氧化苯甲醯、第三丁基過氧化氫、過氧乙酸第三丁酯、過氧化第三丁醯、過氧苯甲酸第三丁酯、過氧化異丙基碳酸第三丁酯、過氧化月桂醯、過乙酸及過硫酸鉀。

【0614】 自由基可藉由用光輻照自光起始劑產生。所需用以引發光起始劑降解及自由基形成之光之頻率端視引發劑而定。許多光起始劑可用紫外光引發。

【0615】 可使用特定波長或波長範圍之光來選擇性輻照引發劑，其中該等含脂質共軛配偶體或例如含肽共軛配偶體等含胺基酸共軛配偶體包含

光敏基團。在某些實施態樣中，使用約365奈米之頻率。此頻率之光一般與自然存在之胺基酸之側鏈相容。

【0616】 許多不同的光起始劑於市面有售。光起始劑之實例包括但並不僅限於苯乙酮、大茴香偶姻、蔥醌、蔥醌-2-磺酸、苯偶醌、苯偶姻、苯偶姻乙基醚、苯偶姻異丁基醚、苯偶姻甲基醚、二苯甲酮、3,3',4,4'-二苯甲酮四甲酸二酐、4-聯苯基苯甲酮、2-苄基-2-(二甲基胺基)-4'-嗎啉並苯丁酮、4'-雙(二乙基胺基)二苯甲酮、4,4'-雙(二甲基胺基)二苯甲酮、樟腦醌、2-氯硫雜蔥-9-酮、二苯並環庚烯酮、2,2-二乙氧基苯乙酮、4,4'-二羥基二苯甲酮、2,2-二甲氧基-2-苯基苯乙酮 (DMPA)、4-(二甲基胺基)二苯甲酮、4,4'-二甲基苯偶醌、2,5-二甲基二苯甲酮、3,4-二甲基二苯甲酮、4'-乙氧基苯乙酮、2-乙基蔥醌、3'-羥基苯乙酮、4'-羥基苯乙酮、3-羥基二苯甲酮、4-羥基二苯甲酮、1-羥基環己基苯基酮、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2-甲基二苯甲酮、3-甲基二苯甲酮、苯甲醌基甲酸甲酯、2-甲基-4'-(甲基硫代)-2-嗎啉並苯丙酮、菲醌、4'-苯氧基苯乙酮及硫雜蔥-9-酮。

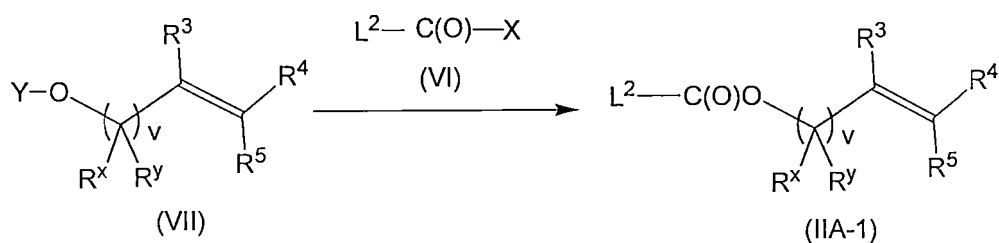
【0617】 熟習此項技術者將能夠考量例如該等含脂質共軛配偶體、例如含肽共軛配偶體等含胺基酸共軛配偶體以及反應混合物中存在之任何其他組份而選擇適用於該方法之自由基引發劑。在一些實施態樣中，引發劑以相對於包含硫醇之起始材料自約20:1至約0.05:1、約10:1至約0.05:1、約5:1至約0.05:1、約3:1至約0.5:1之化學計量比存在於反應中。

【0618】 該等含脂質共軛配偶體以及例如含肽共軛配偶體等含胺基酸共軛配偶體可使用習知合成化學技術（例如大致描述於Louis F Fieser and Mary F, *Reagents for Organic Synthesis* v. 1-19, Wiley, New York (1967-1999 ed.) 或 *Beilsteins Handbuch der organischen Chemie*, 4, Aufl. Ed.

Springer-Verlag Berlin (包括附錄(亦可經由Beilstein在線資料庫獲得))中之方法)製備,或在一些實施態樣中,可商購。

【0619】舉例而言,式(IIA-1)之含脂質共軛配偶體化合物可藉由使其中X為OH或適宜離去基之式(VI)之化合物與其中Y為H、金屬或類金屬或醯基(例如烷基羰基)之式(VII)之化合物在有效地酯化(或在Y為醯基之情形下轉酯化)之條件下反應而製備(示意圖C2)。

示意圖C2. 式(IIA-1)之化合物之製備。



【0620】業內習知用於酯化(或轉酯化)之方法。舉例而言,當X為氯代且Y為H時,反應可在例如吡啶或三乙胺等鹼之存在下在適宜溶劑中進行。該醯基氯可原位轉化為更具反應性之物質(例如使用碘化鈉轉化為對應之碘化物)。反應進行之溫度端視該酸物質及所用溶劑之反應性而定。

【0621】舉例而言,可藉由使用酸或金屬催化劑用乙酸乙烯酯(其本身藉由乙酸與乙炔或乙酸與乙烯經適宜催化劑反應而以工業方式生產)轉酯化生成式(IIA-1)之乙烯基酯。參見,例如EP0376075A2及S. K. Karmee, *J. Oil Palm Res.*, **2012**, 1518-1523。

【0622】式(IIA-1)之乙烯基酯亦可藉由在催化劑(通常為鈮或鈦錯合物)之存在下向末端炔烴加入羧酸而製備。參見,例如V. Cadierno, J. Francos, J. Gimeno *Organometallics*, **2011**, 30, 852-862; S. Wei, J. Pedroni, A. Meissner, A. Lumbroso, H.-J. Drexler, D. Heller, B. Breit, *Chem. Eur. J.*, **2013**,

19, 12067-12076。亦可使非末端炔烴反應。參見，例如N. Tsukada, A. Takahashi, Y. Inoue, *Tetrahedron Lett.*, **2011**, 52, 248-250以及M. Rotem, Y. Shvo, *J. Organometallic Chem.* **1993**, 448, 159-204。

【0623】 用於製備式 (IIA-1) 之乙烯基酯之其他實例包括：使二乙烯汞與芳族及脂族酸反應[參見，例如D. J. Foster, E. Tobler, *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, 83, 851]；在AgF之存在下使芳烴羧酸與三甲氧基(乙烯基)矽烷進行Cu(II)催化之酯化[參見，例如F. Luo, C. Pan, P. Qian, J. Cheng, *Synthesis* **2010**, 2005]；使用由2莫耳-%之[AuCl(PPh₃)]及2莫耳-% 之AgOAc組成之催化劑系統自乙酸酯至一級及二級醇並且亦至羧酸之乙烯基轉移反應[參見，例如A. Nakamura, M. Tokunaga, *Tetrahedron Lett.* **2008**, 49, 3729]；以及Ir錯合物([Ir(cod)Cl]₂ / P(OMe)₃)催化之反乙烯化[參見，例如H. Nakagawa, Y. Okimoto, S. Sakaguchi, Y. Ishii, *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 103]。

【0624】 其他用於製備式 (II-A) 之化合物之適宜方法對於熟習此項技術者而言將係顯而易見的。

【0625】 當式 (IIA-1) 之化合物與(IIB-1)之化合物不同時，式 (IIB-1) 之含脂質共軛配偶體化合物可藉由類似方式製備。

【0626】 多種式 (VI) 之化合物於市面有售。其他的可使用標準合成化學技術自市售前驅體製備。舉例而言，其中X為氯代之式 (VI) 之化合物可在適宜溶劑或溶劑之混合物中用亞硫醯氯處理相應之羧酸而製備。

【0627】 類似地，式 (VII) 之化合物亦於市面有售或可使用標準合成化學技術自市售前驅體製備。

【0628】 該等含脂質共軛配偶體及例如含肽共軛配偶體等含胺基酸

共軛配偶體以及反應混合物中存在之任何其他組份引入反應釜中之順序可變化。反應可係以一鍋程序（one-pot procedure）形式進行。

【0629】 該反應中該等含脂質共軛配偶體與例如含肽共軛配偶體等含胺基酸共軛配偶體之比率可變化。在一些實施態樣中，合併之第一含脂質共軛配偶體及第二含脂質共軛配偶體（即總和）與含胺基酸共軛配偶體之莫耳比為至少7:1，例如8:1、9:1、10:1、20:1、30:1、40:1、50:1、60:1或70:1。

【0630】 該反應可在任何適宜溫度下進行。在一些實施態樣中，該反應在約-25°C至約200°C、約-10°C至約150°C、約0°C至約125°C、約環境溫度至約100°C之溫度下進行。在一些實施態樣中，反應在小於約200°C、小於約175°C、小於約150°C、小於約125°C或小於約100°C之溫度下進行。

【0631】 在一些實施態樣中，反應在高於環境溫度之溫度下進行。在一個實施態樣中，反應在40至200°C、50至150°C、60至100°C、65至90°C或70至80°C之溫度下進行。在一些實施態樣中，反應在大於40°C、大於50°C、大於75°C、大於100°C或大於150°C之溫度下進行。

【0632】 進行反應之溫度可端視反應中如何產生自由基而定。所用溫度可經選擇以控制反應速率。溫度在反應過程期間可調整以控制反應之速率。

【0633】 若自由基以熱方式（例如使用熱引發劑）產生，則反應一般將在高於環境溫度之溫度下進行。溫度將端視自其產生自由基之物質之反應性而定。

【0634】 若自由基係以光化學方式產生，則反應將有利地在環境溫度

下進行。在某些實施態樣中，可能期望冷卻反應混合物以減緩反應速率或相反地加熱反應混合物以增加反應速率。

【0635】 熟習此項技術者將能夠根據起始材料以及其他存在之反應物之反應性選擇適於進行該方法之溫度。

【0636】 反應進行之溫度可藉由用業內習知之適宜方法加熱或冷卻反應混合物而加以控制。舉例而言，可藉由使用在反應釜內之換熱器、環繞反應釜之加熱套或藉由將反應釜浸入熱液體（例如油或沙浴）中向反應混合物施加熱。在某些例示性實施態樣中，藉由微波輻照加熱反應混合物。

【0637】 可藉由任何適宜方式監測反應之進程，例如藉由薄層層析（TLC）或高效液相層析（HPLC）。可允許反應進行至實質結束，按起始材料其中之至少一者之消耗監測。在一些實施態樣中，允許反應進行1分鐘至7天、5分鐘至72小時、10分鐘至48小時、10分鐘至24小時之時間。在其他實施態樣中，允許反應進行小於72小時、小於48小時、小於24小時、小於12小時、小於6小時、小於4小時、小於2小時或小於1小時之時間。

【0638】 在一些實施態樣中，反應進行至直至至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約97%、至少約99%之該含胺氨基酸共軛配偶體已被消耗。起始材料之消耗可藉由例如HPLC等任何適宜方法監測。

【0639】 反應混合物可藉由例如使用磁性或機械攪拌器等任何業內習知適宜方法混合。所用方法可端視反應進行之規模而定。

【0640】 反應一般在液體反應介質中進行。液體反應介質可包含溶劑。適宜溶劑之實例可包括N-甲基吡咯啉酮（NMP）、二甲基甲醯胺、二氯

甲烷、1,2-二氯乙烷、氯仿、四氯化碳、水、甲醇、乙醇、二甲基亞碲、三氟乙酸、乙酸、乙腈及其混合物。

【0641】 溶劑可根據起始材料以及例如自由基引發劑等其他存在之反應物之溶解性進行選擇。在一些實施態樣中，該等含脂質共軛配偶體為疏水性的。含胺基酸共軛配偶體之疏水性或親水性可端視例如含肽共軛配偶體之肽之胺基酸序列而變化。含肽共軛配偶體中存在增溶基可增加在例如水等極性溶劑中之溶解度。熟習此項技術者將不進行過度實驗便能夠選擇適宜之溶劑。

【0642】 反應可在實質無氧之條件下進行。氧可能淬滅在反應中形成之自由基。反應混合物可用實質上無氧之惰性氣體（例如氮或氬）進行脫氣，以在產生自由基前移除任何溶解之氧。或者，反應混合物之各個組份可於在反應釜中合併之前用實質上無氧之惰性氣體進行脫氣。反應可在實質上無氧之惰性氣體氣氛下進行。

【0643】 本發明之方法可在環境壓力下進行。

【0644】 在本發明之硫醇烯方法中，可在反應混合物中包含抑制不期望之副產物之形成及／或改善期望產物之產率或至期望產物之轉化之添加劑。一或多種添加劑可為外源硫醇、酸、有機矽烷或其任何二或更多者之組合。

【0645】 發明者已發現，在一些實施態樣中，在反應混合物中包含外源或外生硫醇作為添加劑會降低不期望之副產物之形成。在一些實施態樣中，外源硫醇可增加期望之硫醇烯反應之效率或轉化率。適宜外源硫醇之實例包括但並不僅限於還原型麩胱甘肽、DODT、DTT、蛋白質、位阻硫醇

等。

【0646】 在一些實施態樣中，外源硫醇為DTT。

【0647】 在其他實施態樣中，外源硫醇為位阻硫醇。適宜位阻外源硫醇之非限制性實例包括第三丁基硫醇及1-甲基丙基硫醇。

【0648】 雖然不希望受理論限制，但發明者相信，在某些實施態樣中，例如第三丁基硫醇等外源硫醇可提供質子來淬滅在式(X)之化合物與式(IIb)之烯烴之擴展中產生之自由基中間體，以提供期望之式(IIb)之化合物且所得含硫自由基能藉由自式(III)之含胺氨基酸共軛配偶體產生另一莫耳之含硫自由基而使反應擴大。

【0649】 將顯而易見的是，外源硫醇在某些實施態樣中亦能夠藉由提供式(X)之質子自由基而過早淬滅反應。在此等實施態樣中，可選擇外源硫醇及其用量，以便最優化式(IIb)之化合物之產率或至式(IIb)之化合物之轉化(藉由HPLC確定)。

【0650】 在多個不同實施態樣中，外源硫醇以相對於含胺氨基酸共軛配偶體為約200:1至約0.05:1、100:1至0.05:1、80:1至0.05:1、60:1至0.05:1、40:1至0.05:1、20:1至約0.05:1、10:1至約0.5:1、5:1至約1:1或3:1至約1:1之化學計量比存在於反應中。在某些實施態樣中，例如t-BuSH等位阻硫醇以相對於含胺氨基酸共軛配偶體為約100:1至0.05:1、例如約80:1、約40:1或約3:1之化學計量比存在於反應中。

【0651】 在一些實施態樣中包含酸亦可減少不期望之副產物之形成。酸可為強無機酸，例如HCl，或有機酸，例如TFA。在某些實施態樣中，添加劑為TFA。雖然不希望受理論限制，但發明者相信，降低反應混合物之

pH可產生例如離胺酸等原本可能參與單個電子轉移並在反應中形成自由基物質的殘基之富電子側鏈之質子化。在多個不同實施態樣中，反應混合物包含約0.01至25、0.01至15、0.01至10或1至10% v/v之酸添加劑。在某些實施態樣中，反應混合物包含1-10% v/v之TFA，例如5% v/v之TFA。

【0652】 發明者已發現，在一些實施態樣中在反應混合物中同時包含第三丁基硫醇及TFA作為添加劑可減少不期望之副產物之形成並增加起始材料向期望之產物之轉化。因此，在某些例示性實施態樣中，反應混合物包含酸與外源硫醇之組合，例如強有機酸與位阻硫醇之組合，例如TFA與第三丁基硫醇之組合。

【0653】 硫醇烯反應中亦可包含有機矽烷作為添加劑。有機矽烷為基於自由基之還原劑，其活性可藉由改變矽原子上之取代基而進行調整。在多個不同實施態樣中，有機矽烷為式(R^q)₃SiH之化合物，其中R^q在每一情形下皆獨立地為氫或有機基團，例如烷基或芳基，其限制條件為至少一個R^q不為氫。有機矽烷之實例包括但並不僅限於三乙基矽烷（TES）、三苯基矽烷、二苯基矽烷、三異丙基矽烷（TIPS）等。在多個不同實施態樣中，有機矽烷為三烷基矽烷，例如三異丙基矽烷或三乙基矽烷。

【0654】 雖然不希望受理論限制，但發明者相信，如同外源硫醇一樣，在某些實施態樣中，例如三異丙基矽烷等有機矽烷可用作氫供體以提供期望之式（IB）之化合物並促進反應之擴大。

【0655】 在多個不同實施態樣中，有機矽烷以相對於含胺基酸共軛配偶體為約200:1至約0.05:1、100:1至0.05:1、80:1至0.05:1、60:1至0.05:1、40:1至0.05:1、20:1至0.05:1、10:1至0.5:1、5:1至約1:1或3:1至約1:1之化學計量比存在於反應中。在某些實施態樣中，例如三異丙基矽烷等三烷基矽烷以相

對於含胺基酸共軛配偶體為約100:1至0.05:1、例如約80:1或約40:1之化學計量比存在於反應中。

【0656】 有機矽烷可係以與外源硫醇組合之形式用作添加劑。或者，可使用有機矽烷代替外源硫醇。亦可存在酸，例如三氟乙酸。發明者已發現，在某些實施態樣中，在反應中使用三異丙基矽烷以及三氟乙酸但不使用任何外源硫醇與當使用三異丙基矽烷、t-BuSH及三氟乙酸之組合時相比可提供更高的向期望之式（IB）之化合物之轉化。

【0657】 添加劑之用量一般足以使不期望副產物之形成最小化，同時不會對該方法中之反應或任何可選後續步驟造成不利影響。

【0658】 在反應中形成之產物以及向期望產物之轉化可藉由例如HPLC確定。

【0659】 該等含脂質共軛配偶體及例如含肽共軛配偶體等含胺基酸共軛配偶體在反應混合物中之濃度亦可分別影響反應。熟習此項技術者將不經過度實驗便能夠改變反應混合物中該等含脂質共軛配偶體及含肽共軛配偶體之濃度以例如最優化產率及純度。

【0660】 在一些實施態樣中，包含硫醇之起始材料係以約0.05 mM至約1 M、約0.5 mM至約1 M、約1 mM至約1 M之濃度存在。在一些實施態樣中，濃度為至少約0.05 mM、0.5 mM或1 mM。

【0661】 在一些實施態樣中，包含烯烴之起始材料之濃度為至少約0.05 mM、0.5 mM或1 mM。

【0662】 在一些實施態樣中，該胺基酸共軛物或肽共軛物係在反應後自反應介質分離並視需要經純化。可使用業內習知之任何適宜方法、例如

藉由沉澱將共軛物自反應介質分離。

【0663】 在一些實施態樣中，胺基酸或肽共軛物係在將其自反應介質中分離後進行純化。舉例而言，可藉由HPLC使用一或多種適宜溶劑對共軛物進行純化。

【0664】 本發明亦提供一種製備肽共軛物之方法，該方法包含提供本發明之式(I)之胺基酸或肽共軛物或者其鹽或溶劑合物，以及將該胺基酸共軛物之胺基酸或該肽共軛物之胺基酸偶合至胺基酸或肽之胺基酸以提供肽共軛物。

【0665】 藉由本發明之方法所產生之肽共軛物及／或該含肽共軛配偶體及／或在本發明之方法中偶合之肽可包含合成肽。合成肽可使用固相肽合成(SPPS)製備。

【0666】 固相肽合成(SPPS)之基本原理係為向經由連接分子錨固至通常為樹脂顆粒之固相載體之生長中之多肽鏈逐步添加胺基酸，其允許一旦多肽鏈完成便進行裂解及純化。簡言之，固相樹脂載體與起始胺基酸經由連接分子彼此聯接。此等樹脂-連接子-酸基質於市面有售。

【0667】 偶合至樹脂之胺基酸在其N α -端被化學保護基保護。

【0668】 該胺基酸亦可具有側鏈保護基。此類保護基於在待偶合之胺基酸之羧基與聯接樹脂之肽鏈之未保護之N α -胺基之間形成新肽鍵之過程期間防止發生不期望或有害之反應。

【0669】 待偶合之胺基酸與肽鏈之N端胺基酸之未經保護之N α -胺基反應，使肽鏈之鏈長度增加一個胺基酸之長度。待偶合之胺基酸之羧基可

用適宜之化學活化劑活化以促進與肽鏈之 $N\alpha$ -胺基之反應。然後移除肽鏈之N端胺基酸之 $N\alpha$ -保護基，為與下一胺基酸殘基偶合做準備。此技術由許多重複步驟組成，使得有可能實現自動化，這很具有吸引力。熟習此項技術者將理解，肽可偶合至固相結合之胺基酸或肽而非單獨的胺基酸之 $N\alpha$ -胺基，例如在需要會聚肽合成（convergent peptide synthesis）時。

【0670】 當達成期望之胺基酸序列時，在連接分子處將肽自固相載體裂解。

【0671】 固相肽合成可使用連續流方法或間歇流方法進行。連續流允許經由分光光度計實時監測反應進程，但具有兩個明顯劣勢——與樹脂上之肽接觸之反應物被稀釋，且規模由於固相樹脂之物理尺寸限制而更受限。間歇流在過濾反應釜中發生，且因為反應物易得到且可手動或自動添加而非常有用。

【0672】 通常使用兩類保護基來保護 $N\alpha$ -胺基末端：「Boc」（第三丁氧羰基）及「Fmoc」（9-芴甲氧羰基）。用於Boc法之試劑相對廉價，但它們具有高度腐蝕性且需要昂貴之設備及採取更嚴格的預防措施。使用雖然更貴但腐蝕性更低之試劑的Fmoc法通常較佳。

【0673】 對於固相肽合成，有許多種固體載體相可用。用於合成之固相載體可為合成樹脂、合成聚合物膜或適用於合成目的之矽或矽酸鹽表面（例如可控孔度玻璃）。一般使用樹脂，通常為聚苯乙烯懸浮液、或聚苯乙烯-聚乙二醇、或例如聚醯胺等聚合物載體。用適合於Boc化學結構之連接子功能化之樹脂之實例包括PAM樹脂、脲樹脂SS、苯酚樹脂、溴化王氏樹脂（Wang resin）及溴化PPOA樹脂。適於Fmoc化學結構之樹脂之實例包括胺基-甲基聚苯乙烯樹脂、AMPB-BHA樹脂、西貝爾醯胺（Sieber amide）樹

脂、林克酸（Rink acid）樹脂、Tentagel S AC樹脂、2-氯三苯甲基氯樹脂、2-氯三苯甲基醇樹脂、TentaGel S Trt-OH樹脂、Knorr-2-氯三苯甲基樹脂、肼-2-氯三苯甲基樹脂、ANP樹脂、Fmoc光敏（photolabile；photolabile）樹脂、HMBA-MBHA樹脂、TentaGel S HMB樹脂、Aromatic Safety Catch樹脂、BAI樹脂及Fmoc-羥胺2氯三苯甲基樹脂。其他樹脂包括PL Cl-Trt樹脂、PL-肼樹脂及PL-HMBA樹脂。樹脂一般可互換。

【0674】 對於每一樹脂，文獻中習知用於聯接起始單體或亞單元之適宜偶合條件。

【0675】 固相載體之製備包括將載體溶解在適宜溶劑（例如二甲基甲醯胺）中。固相在溶解期間通常增加，此又增加可用於進行肽合成之表面積。

【0676】 然後將連接分子聯接至載體，以將肽鏈連接至固相載體。連接分子一般經設計，以使最終的裂解在C端提供自由酸或醯胺。連接子一般不具有樹脂專一性。連接子之實例包括肽酸，例如4-羥基甲基苯氧基乙醯基-4'-甲基二苯甲基胺（HMP），或肽醯胺，例如二苯甲基胺衍生物。

【0677】 該肽序列之第一胺基酸可在該連接子聯接至固相載體後聯接至該連接子或使用包含該肽序列之第一胺基酸之連接子聯接至該固相載體。包含胺基酸之連接子於市面有售。

【0678】 下一步係將該第一胺基酸之N α -胺基去保護。對於Fmoc SPPS，N α -胺基之去保護可用弱鹼處理（例如哌嗪或哌啶）進行。側鏈保護基可藉由適度酸解（例如三氟乙酸（TFA））移除。對於Boc SPPS，N α -胺基之去保護可使用例如三氟乙酸進行。

【0679】 在去保護後，藉由肽鍵之形成進行胺基酸擴鏈或偶合。此過程需要活化待偶合之胺基酸之C- α -羧基。此可使用例如原位試劑、預形成對稱酸酐、活性酯、醯基鹵或經胺基甲酸乙酯保護之N-羧基酸酐等完成。原位法允許同時活化及偶合。偶合劑包括碳二亞胺衍生物，例如N,N'-二環己基碳二亞胺或N,N'-二異丙基碳二亞胺。偶合劑亦包括苯並三唑之脲鎗（uronium）或鎂鹽衍生物。此等脲鎗及鎂鹽之實例包括HBTU（O-(1H-苯並三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎗六氟磷酸鹽）、BOP（苯並三唑-1-基-氧-三-(二甲基胺基)-鎂六氟磷酸鹽）、PyBOP（苯並三唑-1-基-氧-三吡咯啶並鎂六氟磷酸鹽）、PyAOP、HCTU（O-(1H-6-氯-苯並三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲鎗六氟磷酸鹽）、TCTU（O-(1H-6-氯苯並三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲鎗四氟硼酸鹽）、HATU（O-(7-氮雜苯並三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲鎗六氟磷酸鹽）、TATU（O-(7-氮雜苯並三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲鎗四氟硼酸鹽）、TOTU（O-[氰基(乙氧基羰基)亞甲基胺基]-N,N,N',N''-四甲基脲鎗四氟硼酸鹽）及HAPyU（O-(苯並三唑-1-基)氧雙-(吡咯啶)-脲鎗六氟磷酸鹽）。在一些實施態樣中，偶合劑為HBTU、HATU、BOP或PyBOP。

【0680】 在已合成期望之胺基酸序列後，將肽自樹脂裂解。此過程中使用之條件端視肽之胺基酸組成及側鏈保護基之敏感度而定。一般而言，裂解在含有複數種清除劑之環境中進行，以淬滅自保護基及連接子產生之反應性陽碳離子。常用裂解劑包括，舉例而言，三氟乙酸及氟化氫（HF）。在一些實施態樣中，當肽係經由連接子結合至固相載體時，藉由自連接子裂解肽將肽鏈自固相載體裂解。

【0681】 用於將肽自樹脂裂解之條件可伴隨移除一或多個側鏈保護基。

【0682】 在SPPS中使用保護基相沿成習。常用保護基之實例包括但並不僅限於乙醯胺基甲基 (Acm)、乙醯基 (Ac)、金剛烷氧基 (AdaO)、苯甲醯基 (Bz)、苄基 (Bzl)、2-溴苄基、苄氧基 (BzlO)、苄氧基羰基 (Z)、苄氧基甲基 (Bom)、2-溴苄氧基羰基 (2-Br-Z)、第三丁氧基 (tBuO)、第三丁氧基羰基 (Boc)、第三丁氧基甲基 (Bum)、第三丁基 (tBu)、第三丁硫基 (tButhio)、2-氯苄氧基羰基 (2-Cl-Z)、環己氧基 (cHxO)、2,6-二氯苄基 (2,6-DiCl-Bzl)、4,4'-di甲氧基二苯甲基 (Mbh)、1-(4,4-二甲基-2,6-二氧-亞環己基)3-甲基-丁基 (ivDde)、4-{N-[1-(4,4-二甲基-2,6-二氧-亞環己基)3-甲基丁基]-胺基}苄氧基 (ODmab)、2,4-二硝基苯基 (Dnp)、苄基甲氧基羰基 (Fmoc)、甲醯基 (For)、伸三甲苯基-2-磺醯基 (mesitylene-2-sulfonyl, Mts)、4-甲氧基苄基 (MeOBzl)、4-甲氧基-2,3,6-三甲基-苯磺醯基 (Mtr)、4-甲氧基三苯甲基 (Mmt)、4-甲基苄基 (MeBzl)、4-甲基三苯甲基 (Mtt)、3-硝基-2-吡啶氧硫基 (Npys)、2,2,4,6,7-五甲基二氫苯並呋喃-5-磺醯基 (Pbf)、2,2,5,7,8-五甲基-色烷-6-磺醯基 (Pmc)、甲苯磺醯基 (Tos)、三氟乙醯基 (Tfa)、三甲基乙醯胺基甲基 (Tacm)、三苯甲基 (Trt) 及咕噸基 (Xan)。

【0683】 當該肽之一或多個胺基酸側鏈含有例如額外之羧基、胺基、羥基或硫醇基等功能基時，可能需要額外的保護基。舉例而言，若使用Fmoc策略，則可使用Mtr、Pmc、Pbf來保護Arg；可使用Trt、Tmob來保護Asn及Gln；可使用Boc來保護Trp及Lys；可使用tBu來保護Asp、Glu、Ser、Thr及Tyr；以及可使用Acm、tBu、tButhio、Trt及Mmt來保護Cys。熟習此項技術者將理解，有許多其他適宜之組合。

【0684】 業內習知上文所概述之用於SPPS之方法。參見，例如 Atherton and Sheppard, 「Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical

Approach,」 New York: IRL Press, 1989 ; Stewart and Young: 「Solid-Phase Peptide Synthesis 2nd Ed.,」 Rockford, Illinois: Pierce Chemical Co., 1984 ; Jones, 「The Chemical Synthesis of Peptides,」 Oxford: Clarendon Press, 1994 ; Merrifield, *J. Am. Soc.* 85:2146-2149 (1963) ; Marglin, A. and Merrifield, R.B. *Annu. Rev. Biochem.* 39:841-66 (1970) ; 及 Merrifield R.B. *JAMA*. 210(7):1247-54 (1969) ; 以及「Solid Phase Peptide Synthesis – A Practical Approach」 (W.C. Chan and P.D. White, eds. Oxford University Press, 2000) 。用於肽或多肽之自動合成之設備容易自例如 Perkin Elmer / Applied Biosystems (Foster City, CA) 等供應商購得且可根據製造商之指示進行操作。

【0685】 於自樹脂裂解後，可例如藉由離心或過濾等將肽自反應介質分離。然後隨後可例如藉由HPLC使用一或多種適宜溶劑對肽進行純化。

【0686】 有利地，發明者已發現，在一些實施態樣中，該含肽共軛配偶體在該肽自樹脂裂解後不經純化便可用於本發明之方法中。

【0687】 發明者亦有利地發現，在一些實施態樣中，本發明之硫醇烯方法可使用含肽共軛配偶體進行，其中該肽不含有N α -胺基保護基或任何側鏈保護基。該反應一般對於硫醇與非芳族碳碳雙鍵之反應具有選擇性。

【0688】 在本發明之方法中可能必須要用保護基保護該含肽共軛配偶體中（例如在肽之半胱胺酸殘基中）存在之硫醇基，以防止不期望之競爭反應。硫醇基可用保護基保護，該保護基在用於移除肽中存在之一或多個其他保護基之條件下或用於在將肽自樹脂裂解之條件下不會被移除。

【0689】 通常，該肽將使用具有適宜保護基之胺基酸合成。熟習此項技術者將能夠不經過度實驗便可選擇合適之保護基。

【0690】 除含脂質共軛配偶體之待反應之碳碳雙鍵外，該含胺基酸共軛配偶體及／或含脂質共軛配偶體可包含一或多個不飽和碳碳鍵。熟習此項技術者將理解，在此等實施態樣中硫醇對於待反應之碳碳雙鍵之選擇性可舉例而言端視該碳碳雙鍵相對於該一或多個額外不飽和碳碳鍵之空間位阻（steric）及／或電子環境而定。在某些實施態樣中，該待反應之碳碳雙鍵相對於該含胺基酸共軛配偶體及含脂質共軛配偶體中之任何其他不飽和碳碳鍵被活化。在某些實施態樣中，該待反應之碳碳雙鍵相對於該含肽共軛配偶體及含脂質共軛配偶體中之任何其他不飽和碳碳鍵被活化。

【0691】 在一些實施態樣中，該包含硫醇之含胺基酸共軛配偶體之胺基酸之N α -胺基被醯化，例如乙醯化。在一些實施態樣中，本發明之方法可包含醯化、例如乙醯化該包含待反應之碳碳雙鍵或硫醇之含胺基酸共軛配偶體之胺基酸之N α -胺基。

【0692】 在已藉由SPPS合成該含肽共軛配偶體時，醯化可在自樹脂裂解之前或之後進行。在一些實施態樣中，具有待反應之硫醇之含肽共軛配偶體之胺基酸殘基為N端胺基酸殘基，例如半胱胺酸，且該方法包含在裂解肽之前醯化該N端胺基。

【0693】 在一些實施態樣中，該方法更包含醯化、例如乙醯化該胺基酸共軛物之胺基酸或該肽共軛物之胺基酸殘基的與脂質部分偶合之N α -胺基。

【0694】 胺基酸之N α -胺基之醯化可藉由使胺基酸或肽與醯化劑在鹼之存在下在例如DMF等適宜溶劑中進行。醯化劑之非限制實例包括醯基鹵，例如醯基氯，如乙醯氯，以及包括酸酐，例如乙酸酐。此等試劑可購得或可藉由業內習知之方法製備。適宜鹼之非限制實例包括三乙胺、二異

丙基乙胺、4-甲基嗎啉等。

【0695】 在其他實施態樣中，合成該含肽共軛配偶體之肽包括將在 $N\alpha$ -胺基處醯化、例如乙醯化且包含待反應之硫醇的胺基酸或含胺基酸之肽偶合至一或多個胺基酸及／或一或多個肽。

【0696】 在一些實施態樣中，該方法包含將該胺基酸共軛物之胺基酸偶合至胺基酸或肽以提供肽共軛物。在一些實施態樣中，該方法包含將該胺基酸共軛物之胺基酸偶合至藉由固相肽合成與固相樹脂載體結合之胺基酸或肽。在一些實施態樣中，該方法包含將該胺基酸共軛物之胺基酸偶合至藉由固相肽合成與固相樹脂載體結合之肽。該方法可包含藉由固相肽合成而合成與固相樹脂載體結合之肽。

【0697】 在一些實施態樣中，該方法更包含將該胺基酸共軛物之胺基酸或該肽共軛物之胺基酸偶合至胺基酸或肽以提供包含肽表位之肽共軛物。在一些實施態樣中，待偶合之肽包含肽表位。在有的實施態樣中，在偶合時形成肽表位。偶合可如本文中所述藉由固相肽合成進行。

【0698】 在一些實施態樣中，該方法包含將該胺基酸共軛物之胺基酸偶合至藉由固相肽合成與固相樹脂載體結合之肽，以提供包含肽表位之肽共軛物。

【0699】 在一個實施態樣中，該待偶合之肽共軛物之肽結合至固相樹脂載體，且該方法包含將待偶合之肽共軛物之胺基酸偶合至胺基酸或肽，以提供包含肽表位之肽共軛物。

【0700】 在另外供選擇之實施態樣中，該方法包含將該肽共軛物之胺基酸偶合至藉由固相肽合成與固相樹脂載體結合之胺基酸或肽，以提供包

含肽表位之肽共軛物。

【0701】 在一些實施態樣中，該方法更包含將例如肽表位等表位偶合至該胺基酸共軛物或肽共軛物。當該方法包含偶合肽表位時，偶合可如本文中所述藉由固相肽合成進行。

【0702】 在某些實施態樣中，例如肽表位等表位係經由連接基偶合或結合。在某些實施態樣中，該連接基為胺基序列，例如具有二或更多個、三或更多個或者四或更多個連續胺基酸之序列。在某些實施態樣中，連接子包含約2至20個、2至18個、2至16個、2至14個、2至12個、2至10個、4至20個、4至18個、4至16個、4至14個、4至12個或4至10個胺基酸。

【0703】 熟習此項技術者將理解本文中所述之將胺基酸或肽偶合至另一胺基酸或肽可包含在一個偶合配偶體之該胺基酸或該肽之胺基酸之N α 端與另一偶合配偶體之該胺基酸或該肽之胺基酸之C端之間形成肽鍵。

【0704】 在一些實施態樣中，本發明之方法包含藉由SPPS合成該含肽共軛配偶體之肽之胺基酸序列；且使該含肽共軛配偶體反應。

【0705】 在一些實施態樣中，本發明之方法包含藉由SPPS合成該含肽共軛配偶體之肽之胺基酸序列；且使該等含脂質共軛配偶體與該含肽共軛配偶體反應。

【0706】 在一些實施態樣中，藉由SPPS合成之該含肽共軛配偶體之肽之胺基酸序列包含將胺基酸或肽偶合至與固相樹脂載體結合之胺基酸或肽，以提供該肽之胺基酸序列或其一部分。在某些實施態樣中，該含肽共軛配偶體之整個肽之胺基酸序列係藉由SPPS合成。

【0707】 舉例而言，該含肽共軛配偶體可在與固相樹脂載體結合之情

形下在該硫醇烯方法中與該等含脂質共軛配偶體反應。或者，該肽可在例如與該等含脂質共軛配偶體反應之前自固相樹脂載體裂解，並視需要進行純化。

【0708】 該肽共軛物及／或例如含肽共軛配偶體等含胺基酸共軛配偶體可包含一或多個增溶基。該一或多個增溶基增加例如該含肽共軛配偶體在例如水等極性溶劑中之溶解度。在例示性實施態樣中，該增溶基不會對該肽共軛物之生物活性產生不利影響。

【0709】 增溶基之存在可有利於作為醫藥組成物之該肽共軛物之配製及／或給藥。

【0710】 在一些實施態樣中，該增溶基結合至該肽共軛物及／或含肽共軛配偶體之肽。在一些實施態樣中，該增溶基結合至該含肽共軛配偶體之肽。在一些實施態樣中，該肽共軛物之肽及／或該含肽配偶體之肽包含增溶基。在一些實施態樣中，該含肽配偶體之肽包含增溶基。

【0711】 在一些實施態樣中，增溶基結合至肽鏈中胺基酸之側鏈。在一些實施態樣中，增溶基結合至肽鏈之C端或N端。在一些實施態樣中，增溶基結合於肽鏈中兩個胺基酸殘基之間。在一些實施態樣中，增溶基結合至肽鏈中一個胺基酸殘基之N α -a胺基以及肽鏈中另一胺基酸殘基之羧基。

【0712】 適宜增溶基之實例包括但並不僅限於親水性胺基酸序列或聚乙二醇（PEG）。

【0713】 在一個實施態樣中，該增溶基為在肽鏈中包含二或更多個親水性胺基酸殘基之親水性胺基酸序列。在一些實施態樣中，該增溶基為在肽鏈中包含二或更多個連續親水性胺基酸殘基之胺基酸序列。此等增溶基

可係藉由SPPS向肽鏈中添加該增溶基之每一胺基酸而形成。

【0714】 在另一實施態樣中，該增溶基為聚乙二醇。在一些實施態樣中，該聚乙二醇結合至肽鏈中一個胺基酸殘基之N α -胺基以及肽鏈中另一胺基酸殘基之羧基。

【0715】 在一些實施態樣中，該聚乙二醇包含約1至約100個、約1至約50個、約1至約25個、約1至約20個、約1至約15個、約1至約15個、約1至約10個、約2至約10個或約2至約4個乙二醇單體單元。用於將聚乙二醇偶合至肽之方法為人習知。

【0716】 在一些實施態樣中，該肽共軛物及／或含肽共軛配偶體包含抗原，例如抗原肽。在一個實施態樣中，該肽共軛物或含肽共軛配偶體之肽為抗原或者包含抗原；或者抗原視需要經由連接子結合至肽。在一些實施態樣中，該含肽共軛配偶體包含抗原，例如抗原肽。在一個實施態樣中，該含肽共軛配偶體之肽為抗原或者包含抗原；或者抗原視需要經由連接子結合至肽。

【0717】 在一個實施態樣中，該抗原包含含有表位之肽。在一個實施態樣中，該含表位之肽為含表位之糖肽。在一個實施態樣中，該抗原包含含有表位之糖肽。

【0718】 在一些實施態樣中，該肽共軛物及／或含肽共軛配偶體包含表位。在一些實施態樣中，該肽共軛物及／或含肽共軛配偶體之肽包含表位。在一些實施態樣中，該含肽共軛配偶體包含表位。在一些實施態樣中，該含肽共軛配偶體之肽包含表位。

【0719】 在一些實施態樣中，該肽共軛物及／或含肽共軛配偶體包含

二或更多個表位，舉例而言，該肽共軛物及／或含肽共軛配偶體之肽包含二或更多個表位。

【0720】 在一些實施態樣中，該肽共軛物及／或含肽共軛配偶體為或包含含有表位之糖肽。在一些實施態樣中，該肽共軛物及／或含肽共軛配偶體之肽為糖肽。在一些實施態樣中，該肽共軛物及／或含肽共軛配偶體包含含有表位之糖肽，該表位結合至該肽共軛物及／或含肽共軛配偶體之肽。在一些實施態樣中，該含肽共軛配偶體為或者包含含有表位之糖肽。在一些實施態樣中，該含肽共軛配偶體之肽為糖肽。在一些實施態樣中，該含肽共軛配偶體包含含有表位之糖肽，該表位結合至該含肽共軛配偶體之肽。

【0721】 在一些實施態樣中，該肽共軛物及／或含肽共軛配偶體包含溶蛋白性裂解位點。在一些實施態樣中，該肽共軛物及／或含肽共軛配偶體之肽包含溶蛋白性裂解位點。在一些實施態樣中，該含肽共軛配偶體包含溶蛋白性裂解位點。在一些實施態樣中，該含肽共軛配偶體之肽包含溶蛋白性裂解位點。

【0722】 在一些實施態樣中，該肽共軛物及／或含肽共軛配偶體之肽包含一或多個連接基。在一些實施態樣中，該含肽共軛配偶體之肽包含一或多個連接基。

【0723】 在一些實施態樣中，該肽共軛物及／或含肽共軛配偶體包含連接基。在一些實施態樣中，該含肽共軛配偶體包含連接基。

【0724】 在一些實施態樣中，該肽共軛物及／或含肽共軛配偶體包含表位，該表位經由連接基結合至該肽共軛物及／或含肽共軛配偶體之肽。

在一些實施態樣中，該含肽共軛配偶體包含表位，該表位經由連接基結合至該含肽共軛配偶體之肽。

【0725】 連接基之實例包括但並不僅限於胺基酸序列（例如，肽）、聚乙二醇、烷基胺基酸等。在一些實施態樣中，連接子為或包含溶蛋白性裂解位點。在一些實施態樣中，連接子為或包含增溶基。

【0726】 在一些實施態樣中，連接子結合於肽鏈中兩個胺基酸殘基之間。

【0727】 在一些實施態樣中，連接基結合至該肽共軛物及／或含肽共軛配偶體中一個胺基酸殘基之 $N\alpha$ -胺基以及該含肽共軛配偶體中另一胺基酸殘基之羧基。在一些實施態樣中，連接基結合至該含肽共軛配偶體中一個胺基酸殘基之 $N\alpha$ -胺基以及該含肽共軛配偶體中另一胺基酸殘基之羧基。

【0728】 在某些實施態樣中，連接基可在活體內自其所結合之胺基酸裂解。在某些實施態樣中，連接基可在活體內藉由水解裂解。在某些實施態樣中，連接基可在活體內藉由酶促水解裂解。連接基可藉由任何業內習知方法引入。

【0729】 該方法可更包含將表位偶合至該胺基酸共軛物之胺基酸或該肽共軛物之肽。該表位可如上所述經由連接基結合。在一些實施態樣中，該表位為肽表位。在一些實施態樣中，該方法包含偶合含有表位之糖肽。

【0730】 將理解，在某些合意之實施態樣中，本發明之肽共軛物藉由抗原呈現細胞來維持合適之攝入、處理及呈現。合意地，該含脂質共軛物不干擾抗原呈現細胞對共軛物內存在之任何抗原肽之呈現。本文中呈現之實例確定，本發明之共軛物係藉由與非共軛之相關肽相容之抗原呈現細胞

呈現。

【0731】 合成肽之身份之確認可方便地藉由例如胺基酸分析、質譜分析、埃德曼降解 (Edman degradation) 等達成。

【0732】 本發明之方法可更包含將該胺基酸共軛物自液體反應介質分離。或者，本發明之方法可更包含將該肽共軛物自液體反應介質分離。可使用業內習知之任何適宜分離方法，例如沉澱及過濾。共軛物可隨後藉由HPLC使用一或多種溶劑進行純化。

【0733】 本發明亦係有關於藉由本發明之方法製備之胺基酸共軛物及肽共軛物。

【0734】 本發明亦係有關於一種式 (I) 之化合物，其為胺基酸共軛物。

【0735】 本發明亦係有關於一種式 (I) 之化合物，其為肽共軛物。

【0736】 該肽共軛物可為純的或經純化的、或實質純的。

【0737】 本文中所述「經純化的 (purified)」不需要絕對純度；而是，其意欲作為相對術語，其中相關材料比其之前所在環境中更純。實際上，材料已通常例如經分餾以移除各種其他組份，且所得材料已實質上保留其所需之一或多種生物活性。術語「實質上經純化的 (substantially purified)」係指材料至少約60%無、較佳至少約75%無、以及最佳至少約90%無、至少約95%無、至少約98%無、或更多無其他它們在製造期間可能與之相關之組份。

【0738】 術語「 α -胺基酸 (α -amino acid)」或「胺基酸 (amino acid)」係指同時含有與命名為「 α -碳」之碳結合之胺基及羧基之分子。適宜胺基酸

包括但並不限於天然存在之胺基酸之D-異構體與L-異構體二者，以及藉由有機合成或其他代謝途徑製備之非天然存在之胺基酸。除非上下文另有具體規定，否則本文中所用術語胺基酸意欲包含胺基酸類似物。

【0739】 在某些實施態樣中，該含肽共軛配偶體僅包含天然胺基酸。術語「天然存在之胺基酸 (naturally occurring amino acid)」係指自然界中合成之肽中常見之二十種胺基酸其中之任一者，該二十種胺基酸按一個字母縮寫習知為A、R、N、C、D、Q、E、G、H、I、L、K、M、F、P、S、T、W、Y及V。

【0740】 術語「胺基酸類似物 (amino acid analog)」或「非天然存在之胺基酸 (non-naturally occurring amino acid)」係指在結構上類似於胺基酸且可替代胺基酸的分子。胺基酸類似物包括但不限於在結構上完全類似於如本文中所定義的胺基酸之化合物，除外情形為在胺基與羧基之間包含一或多個額外之亞甲基（例如 α -胺基 β -羧酸），或者用類似的反應性基團取代胺基或羧基（例如用二級或三級胺取代一級胺，或用酯或羧醯胺取代羧基）。

【0741】 除非另外指出，否則在實踐本文中所述方法時可採用在本技藝內之分子生物學、微生物學、細胞生物學、生物化學及免疫學之常規技術。此等技術在文獻中有全面闡釋，例如分子選殖：實驗室手冊，第二版（Molecular Cloning: A Laboratory Manual, second edition）（Sambrook等人，1989）；寡核苷酸合成（Oligonucleotide Synthesis）（M.J. Gait編輯，1984）；動物細胞培養（Animal Cell Culture）（R.I. Freshney編輯，1987）；實驗免疫學手冊（Handbook of Experimental Immunology）（D.M. Weir及C.C. Blackwell編輯）；哺乳動物細胞之基因轉移載體（Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells）（J.M. Miller及M.P. Calos編輯，1987）；當代分子生物學實驗室操作

指南(Current Protocols Current Protocols in Molecular Biology)(F.M. Ausubel 等人編輯，1987)；PCR：聚合醯鏈反應(PCR: The Polymerase Chain Reaction)(Mullis等人編輯，1994)；當代免疫學實驗室操作指南(Current Protocols in Immunology)(J.E. Coligan等人編輯，1991)；免疫分析手冊(The Immunoassay Handbook)(David Wild編輯，斯托克頓出版社(Stockton Press)，紐約，1994)；抗體：實驗室手冊(Antibodies: A Laboratory Manual)(Harlow等人，1987)；以及免疫分析方法(Methods of Immunological Analysis)(R. Masseyeff、W.H. Albert及N.A. Staines編輯，Weinheim: VCH Verlags gesellschaft mbH, 1993)。

【0742】 本文中所用術語「肽(peptide)」等係指任何長度之胺基酸殘基之任何聚合物。該聚合物可為線性的或非線性的(例如具支鏈的)，其可包含經修飾之胺基酸或胺基酸類似物。該術語亦涵蓋天然地或藉由干預經修飾之胺基酸聚合物，例如藉由二硫鍵形成、糖基化、脂化、乙醯化、磷醯化、或任何其他修飾或操控進行修飾，例如與標記或生物活性組份共軛。

【0743】 發明者已發現，本發明之肽共軛物具有免疫活性。

【0744】 細胞介導之免疫性主要由T-淋巴細胞介導。病原性抗原表達於抗原呈現細胞(例如巨噬細胞、B-淋巴細胞及樹突細胞)之表面上，結合至主要的組織相容性MHC I類或MHC II類分子。偶合至MCH II類之病原性抗原之呈現活化輔助細胞(CD4+)T細胞反應。當T細胞結合至抗原-MHC II錯合物時，CD4+ T細胞釋放細胞因子並增殖。

【0745】 結合至MHC I類分子之病原性抗原之呈現活化細胞毒性(CD8+) T細胞反應。當T細胞結合至該抗原-MHC I複合物時，CD8+細胞分

泌穿孔素及其他傳遞質 (mediator)，導致靶細胞死亡。雖然不希望受任何理論限制，但是申請者相信，在某些實施態樣中，當被CD4+細胞識別之一或多個表位之存在時CD8+細胞之反應增強。

【0746】 業內習知用於評估及監測細胞介導之反應之起始或進展。方便之例示性方法包括彼等方法，其中對一或多個與細胞介導之反應相關之細胞因子之存在或水平進行評估，例如本文中確定之彼等細胞因子。類似地，用於評估或監測細胞介導之反應之起始或進展之基於細胞之方法可以在本發明中使用，且可包括細胞增殖或活化分析，包括目標在於確定一或多個例如T淋巴細胞等免疫細胞群之活化或擴增之分析。

【0747】 在某些實施態樣中，本發明之方法同時引起細胞介導之免疫反應及體液反應。

【0748】 體液免疫反應藉由B細胞產生之分泌抗體介導。分泌抗體結合至入侵病原體之表面上呈現之抗原，標記它們以進行破壞。

【0749】 同樣，業內習知用以評估及監測體液反應之起始及進展之方法。該等方法包括抗體結合分析、酶聯免疫吸附測定 (ELISA)、皮膚點刺試驗等。

【0750】 雖然不希望受理論限制，但發明者相信，該等肽共軛物在一些實施態樣中刺激T樣受體 (Toll like receptor, TLR)。

【0751】 T樣受體 (TLR) 為高度保守之樣式識別受體 (PRR)，識別病原相關分子樣式並向細胞傳遞危險信號 (Kawai, T., Akira, S., *Immunity* 2011, 34, 637-650)。TLR2為在包括樹突細胞、巨噬細胞及淋巴細胞在內之多種不同細胞類型上表達之細胞表面受體 (Coffman, R. L., Sher, A., Seder,

R. A., *Immunity* **2010**, 33, 492-503)。

【0752】 TLR2識別許多種微生物組份，包括脂多糖、肽聚糖及脂磷壁酸。其在各TLR中係獨特的，因為其與TLR1或TLR6形成異二聚體；與其他PRR形成複合物之能力可以解釋TLR2之促效劑之廣範圍 (Feldmann, M., Steinman, L., *Nature* **2005**, 435, 612-619)。當配體結合及異二聚體化時，經由MyD88途徑發生信號傳導，導致NF κ B活化及隨後炎症及效應細胞因子之生成。

【0753】 衍生自細菌細胞壁組份之二-及三醯化脂肽已作為TLR2促效劑得到深入研究 (Eriksson, E. M. Y., Jackson, D. C., *Curr. Prot. and Pept. Sci.* **2007**, 8, 412-417)。已報導脂肽促進樹突細胞成熟，引起細胞表面上共刺激分子之上調以及增強之抗原呈現。亦已報導脂肽刺激巨噬細胞釋放細胞因子並促進包括B細胞及CD8⁺ T細胞在內之淋巴細胞之活化。

【0754】 在一些實施態樣中，該肽共軛物具有TLR2促效劑活性。在一些實施態樣中，該肽共軛物具有與Pam3CSK4相當之TLR2促效劑活性。在一些實施態樣中，該肽共軛物之TLR2促效劑活性為Pam3CSK4之至少約50%、約60%、約70%、約80%、約90%。在一些實施態樣中，例如在其中調節後免疫反應較為合意之實施態樣中，該肽共軛物具有小於Pam3CSK4之TLR2促效劑活性。舉例而言，該肽共軛物之TLR2促效劑活性比Pam3CSK4的小約50%、小約40%、小約30%、小約20%或小約10%。

【0755】 在一些實施態樣中，該肽共軛物及／或含肽共軛配偶體之肽包含絲胺酸胺基酸殘基，該殘基毗鄰脂質部分經由其共軛至肽之胺基酸。在一些實施態樣中，該絲胺酸結合至該胺基酸之C端。絲胺酸胺基酸殘基在此位置之存在可增強TLR2結合。

【0756】 如熟習此項技術者在閱讀本揭示案時將理解，該肽共軛物可包含表位，包括例如二或更多個表位。該表位可經由連接基偶合或結合至該肽。在一些實施態樣中，該表位為肽表位。熟習此項技術者將理解，在本發明中可採用許多種肽表位。

抗原

【0757】 將理解，例如腫瘤抗原或來自多種致病生物之抗原等許多種抗原已被表徵且適用於本發明中。本發明意欲涵蓋所有能夠引起免疫反應之抗原，不論其目前是否被表徵。

【0758】 因此，端視所選抗原而定，本發明之共軛物可應用於許多種免疫療法中，包括但並不僅限於在免疫抑制期間或之後感染性疾病之治療及預防、癌症之治療及預防以及病毒再活化之治療，例如在已進行骨髓移植或造血幹細胞移植之患者中。

【0759】 本發明亦意欲涵蓋包含一或多個胺基酸取代、例如一或多個保守胺基酸取代之抗原。

【0760】 「保守胺基酸取代 (conservative amino acid substitution)」係其中胺基酸殘基用另一具有化學上類似或經衍生之側鏈之殘基替代的取代。舉例而言，業內已定義具有類似側鏈之胺基酸殘基之家族。該等家族包括，舉例而言，具有鹼性側鏈之胺基酸（例如，離胺酸、精胺酸、組胺酸）、具有酸性側鏈之胺基酸（例如，天冬胺酸、谷胺酸）、具有不帶電荷之極性側鏈之胺基酸（例如，甘胺酸、天冬醯胺酸、谷胺醯胺、絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸、半胱胺酸）、具有非極性側鏈之胺基酸（例如，丙胺酸、纈胺酸、亮胺酸、異亮胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸、甲硫胺酸、色胺酸）、具

有 β -分支側鏈之胺基酸（例如，蘇胺酸、纈胺酸、異亮胺酸）及具有芳族側鏈之胺基酸（例如，酪胺酸、苯丙胺酸、色胺酸、組胺酸）。胺基酸類似物（例如，磷醯化或糖基化胺基酸）亦涵蓋在本發明中，經非天然存在之胺基酸取代之肽同樣涵蓋在本發明中，非天然存在之胺基酸包括但並不僅限於N-烷基化胺基酸（例如N-甲基胺基酸）、D-胺基酸、 β -胺基酸及 γ -胺基酸。

【0761】 抗原之片段及變異體亦特別意欲涵蓋在內。

【0762】 肽之「片段（fragment）」為肽之子序列，執行酶活性或結合活性所需之功能及／或提供肽之三維結構，例如多肽之三維結構。

【0763】 本文中所用術語「變異體（variant）」指肽序列，例如包括不同於具體確定之序列之肽序列，其中缺失、取代或增加一或多個胺基酸殘基。變異體為天然存在之變異體，或非天然存在之變異體。變異體來自同一物種或來自其他物種，且可涵蓋同系物、旁系同源物（paralogue）及直系同源物（orthologue）。在某些實施態樣中，包括肽在內之肽之變異體具有與野生型肽相同或類似之生物活性。關於肽之術語「變異體」涵蓋本文中所定義之肽之所有形式。

【0764】 熟習此項技術者將理解，本發明之共軛物在某些實施態樣中特別適於刺激T細胞反應，例如在包括癌症在內之腫瘤病之治療中。包含一或多個腫瘤抗原之本發明之共軛物特別意欲涵蓋在內。將理解，預期用於製備本發明之肽共軛物之腫瘤抗原一般將包含一或多個肽。在本發明之某些實施態樣中，包括例如本發明之醫藥組成物在內，可存在一或多種額外腫瘤抗原，其中該一或多種腫瘤抗原不包含肽。腫瘤抗原通常分類為獨特抗原或共享抗原，後一類包括分化抗原、癌症專一性抗原及過表達抗原。每一類抗原之實例皆可以用於本發明中。下文討論在例如免疫治療或者抗

包括癌症在內之腫瘤病之預防接種等治療中使用之代表性腫瘤抗原。特別意欲涵蓋包含使用彼等免疫方法製備之一或多種抗原之化合物、疫苗及組成物。

【0765】 在某些實施態樣中，腫瘤抗原為含肽腫瘤抗原，例如多肽腫瘤抗原或糖肽腫瘤抗原。在某些實施態樣中，腫瘤抗原為含糖腫瘤抗原，例如糖脂腫瘤抗原或神經節苷脂腫瘤抗原。在某些實施態樣中，腫瘤抗原為表達含多肽腫瘤抗原之含多核苷酸腫瘤抗原，例如RNA載體構建體或DNA載體構建體，如質體DNA。

【0766】 適用於本發明之腫瘤抗原涵蓋許多種分子，例如 (a) 含肽腫瘤抗原，包括肽表位（其長度可介於例如8至20個胺基酸，但是超出此範圍之長度亦常見）、脂多肽及糖肽，(b) 含糖腫瘤抗原，包括多糖、黏蛋白、神經節苷脂、糖脂及糖肽，包括以及 (c) 表達抗原多肽之多核苷酸。同樣，熟習此項技術者將認識到，在本發明之共軛物或組成物中存在之腫瘤抗原通常將包含肽。然而，本發明意欲涵蓋其中一或多種共軛物包含本身不含肽但例如結合至含胺基酸或含肽共軛配偶體之腫瘤抗原的本發明之實施態樣。類似地，本發明意欲涵蓋其中存在一或多種本身不含肽之腫瘤抗原的本發明之組成物。

【0767】 在某些實施態樣中，腫瘤抗原為，舉例而言 (a) 與腫瘤細胞相關之全長分子，(b) 其同系物及修飾形式，包括具有缺失、增加及／或經取代部分之分子，以及 (c) 其片段，其限制條件為所述片段保留抗原性或免疫原性。在某些實施態樣中，腫瘤抗原以重組形式提供。在某些實施態樣中，腫瘤抗原包括例如被CD8⁺淋巴細胞識別之I類限制性抗原或被CD4⁺淋巴細胞識別之II類限制性抗原。在某些實施態樣中，腫瘤抗原包括

包含被CD8+淋巴細胞識別之I類限制性抗原或被CD4+淋巴細胞識別之II類限制性抗原的合成肽。

【0768】 共享腫瘤抗原一般被視作由於允許在發育上被抑制之基因之去抑制而被腫瘤表達的內源未突變序列。因此，共享抗原由於在正常組織中無表達而通常被視為優於過度表達或與分化相關之抗原。並且，該等抗原可在許多癌症患者中被靶向。舉例而言，癌症睪丸抗原NY-ESO-1存在於大部分患有許多腫瘤之患者以及相當規模的少數患有其他腫瘤之患者中。在另一實例中，乳腺分化腫瘤抗原NYBR-1及NYBR-1.1見於一部分乳腺癌患者中。因而共享腫瘤抗原代表有吸引力的開發靶。

【0769】 本文特別意欲涵蓋在本發明之共軛物中使用共享腫瘤抗原，例如癌症睪丸抗原，包括NY-ESO-1、CTSP-1、CTSP-2、CTSP-3、CTSP-4、SSX2,及SCP1，以及乳腺癌抗原NYBR-1及NYBR-1.1。

【0770】 在一個例示性實施態樣中，該含肽共軛配偶體或該肽共軛物之肽包含一或多個衍生自NY-ESO-1之表位。在一個實施態樣中，該肽包含一或多個衍生自NY-ESO-1殘基79至116之表位。在一個實施態樣中，該肽包含一或多個衍生自NY-ESO-1殘基118至143之表位。在一個實施態樣中，該肽包含一或多個衍生自NY-ESO-1殘基153至180之表位。

【0771】 在一個特別意欲涵蓋之實施態樣中，該含肽共軛配偶體或該肽共軛物之肽包含選自由來自SEQ ID NO: 1至SEQ ID NO: 20其中之任一者之8或更多個連續的、10或更多個連續的、12或更多個連續的、15或更多個連續的、20或更多個連續或25或更多個連續的胺基酸組成之群組之胺基酸序列、基本上由其組成或由其組成。

【0772】 在多個不同實施態樣中，該肽包含一個以上選自由SEQ ID NO: 1至SEQ ID NO: 20其中之任一者組成之群組之胺基酸序列。在一個實施態樣中，該肽包含一或多個選自由SEQ ID NO: 4至7、12、13及18至20組成之群組之胺基酸序列。

【0773】 類似地，95%之前列腺癌細胞中存在前列腺癌疫苗 Sipuleucel-T (APC8015, Provenge™)，其包含抗原前列腺酸性磷酸酶 (PAP)。至少部分因為在相當大比例之前列腺癌患者中之此療效潛力，美國食品及藥物管理局 (FDA) 於2010年批准Sipuleucel-T用於治療無症狀的激素難治性前列腺癌。本發明特別意欲涵蓋前列腺酸性磷酸酶抗原在本發明之共軛物中之使用。

【0774】 獨特抗原被視為個人所特有或被小部分癌症患者所共有且通常源於導致獨特蛋白質序列之突變的那些抗原。獨特腫瘤抗原之代表性實例包括突變Ras抗原及突變p53抗原。已閱讀本說明書之熟習此項技術者將理解，本發明之方法使得能夠容易地製備包含一或多個獨特腫瘤抗原之共軛物，舉例而言以引起對一或多個獨特腫瘤抗原的專一性T細胞反應，例如在患者專一性療法之準備中。

【0775】 因此，代表性腫瘤抗原包括但並不僅限於 (a) 抗原，例如 RAGE、BAGE、GAGE及 MAGE家族多肽，如GAGE-1、GAGE-2、MAGE-1、MAGE-2、MAGE-3、MAGE-4、MAGE-5、MAGE-6及MAGE-12 (其可用於例如處理黑素瘤、肺部腫瘤、頭頸腫瘤、非小細胞肺癌、乳腺癌、胃腸及膀胱腫瘤)，(b) 突變抗原，例如p53 (與各種實體瘤相關，例如結腸直腸癌、肺癌、頭頸癌)、p21/Ras (例如與黑素瘤、胰腺癌及結腸直腸癌相關)、CDK4 (例如與黑素瘤相關)、MUM1 (例如與黑素瘤相關)、天冬胺酸專一

性半胱胺酸蛋白酶-8 (caspase-8, 例如與頭頸癌相關)、CIA 0205 (例如與膀胱癌相關)、HLA-A2-R1701、 β 連環蛋白 (例如與黑素瘤相關)、TCR (例如與T細胞非霍奇金淋巴瘤相關)、BCR-abl (例如與慢性骨髓性白血病相關)、磷酸丙糖異構酶、MA 0205、CDC-27及LDLR-FUT, (c) 過度表達抗原, 例如半乳凝素4 (例如與結腸直腸癌相關)、半乳凝素9 (例如與霍奇金氏病相關)、蛋白酶 3 (例如與慢性骨髓性白血病相關)、維爾姆氏腫瘤抗原-1 (WT 1, 例如與各種白血病相關)、碳酸酐酶 (例如與腎癌相關)、醛縮酶A (例如與肺癌相關)、黑色素瘤優先表達抗原 (PRAME, 例如與黑素瘤相關)、HER-2/neu (例如與乳腺、結腸、肺及卵巢癌相關)、 α -甲胎蛋白 (例如與肝細胞癌相關)、KSA (例如與結腸直腸癌相關)、胃泌素 (例如與胰腺及胃癌相關)、端粒酶催化蛋白MUC-1 (例如與乳腺及卵巢癌相關)、G-250 (例如與腎細胞癌相關)、p53 (例如與乳腺、結腸癌相關)、及癌胚抗原 (例如與乳腺癌、肺癌、及如結腸直腸癌等胃腸道癌相關), (d) 共享抗原, 例如黑素瘤-黑色素細胞分化抗原例如MART-1/Melan A、gp100、MC1R、黑色素細胞-刺激激素受體、絡胺酸酶、絡胺酸酶相關蛋白-1/TRP1及絡胺酸酶相關蛋白-2/TRP2 (例如與黑素瘤相關), (e) 前列腺相關抗原例如PAP、前列腺血清抗原 (PSA)、PSMA、PSH-P1、PSM-P1、PSM-P2, 例如與前列腺癌相關, (f) 免疫球蛋白個體基因型 (例如與骨髓瘤及B細胞淋巴瘤相關), 及 (g) 其他腫瘤抗原, 例如多肽抗原及含糖抗原, 包括 (i) 糖肽, 例如sialyl Tn及sialyl Le.sup.x (例如與乳腺癌及結腸直腸癌相關), 以及各種黏蛋白; 糖肽係偶合至載體蛋白 (例如MUC-1偶合至KLH); (ii) 脂多肽 (例如MUC-1連接至脂質部分); (iii) 多糖 (例如Globo H合成六糖), 其係偶合至載體蛋白 (例如至KLH), (iv) 神經節苷脂, 例如GM2、GM12、GD2、GD3 (例如與腦腫瘤、肺癌、黑素瘤相關), 其亦偶合至載體蛋白 (例

如KLH)。

【0776】 其他可以用於本發明中之代表性腫瘤抗原包括TAG-72 (參見例如美國專利第5,892,020號); 人腫瘤抗原 (參見例如美國專利第5,808,005號); 來自骨癌細胞之TP1及TP3抗原 (參見例如美國專利第5,855,866號); 來自腺癌之湯姆森-佛裏奇 (Thomsen-Friedenreich, TF) 抗原 (參見例如美國專利第5,110,911號); 來自人前列腺癌之KC-4抗原 (參見例如美國專利第4,743,543號); 人結腸直腸癌抗原 (參見例如美國專利第4,921,789號); 來自囊腺癌之CA125抗原 (參見例如美國專利第4,921,790號); 來自人乳腺癌之DF3抗原 (參見例如美國專利第4,963,484號及5,053,489號); 人乳腺腫瘤抗原 (參見例如美國專利第4,939,240號); 人黑素瘤之p97抗原 (參見例如美國專利第4,918,164號); 癌或血清類黏蛋白相關抗原 (CORA) (參見例如美國專利第4,914,021號); 人乳腺癌之糖肽MSA乳腺癌糖肽中之T及Tn半抗原; MFGM乳腺癌抗原; DU-PAN-2胰腺癌抗原; CA125卵巢癌抗原; YH206肺癌抗原、 α 甲胎蛋白 (AFP) 肝細胞癌抗原; 癌胚抗原 (CEA) 腸癌抗原; 上皮腫瘤抗原 (ETA) 乳腺癌抗原; 絡胺酸酶; raf癌基因產物; gp75; gp100; EBV-LMP 1 & 2; EBV-EBNA 1, 2 & 3C; HPV-E4、6、7; CO17-1A; GA733; gp72; p53; 蛋白酶 3; 端粒酶; 及黑素瘤神經節苷脂。該等及其他腫瘤抗原不管目前是否表徵皆意欲涵蓋用於本發明中。

【0777】 在某些實施態樣中, 腫瘤抗原為衍生自突變或改變之細胞組份。改變之細胞組份之代表性實例包括但並不僅限於ras、p53、Rb、由維爾姆氏腫瘤基因 (Wilms' tumour gene) 編碼之改變之蛋白質、泛素、黏蛋白、由DCC、APC及MCC基因編碼之蛋白質、以及受體或受體樣結構例如neu、

甲狀腺激素受體、血小板衍生生長因子（PDGF）受體、胰島素受體、表皮生長因子（EGF）受體、及群落刺激因子（CSF）受體。

【0778】 本發明中使用之含多核苷酸抗原包括編碼例如彼等上文所列者之多肽腫瘤抗原之多核苷酸。在某些實施態樣中，含多核苷酸抗原包括但並不僅限於DNA或RNA載體構建體，例如質體載體（例如pCMV），其能夠活體內表達多肽腫瘤抗原。

【0779】 本發明亦意欲涵蓋包含病毒抗原之共軛物之製備，該等病毒抗原能夠在正或已經被免疫抑制之患者、例如已進行骨髓移植、造血幹細胞移植或者在其他方面經受免疫抑制之患者中引起有效之抗病毒免疫性。

【0780】 類似地，衍生自例如人乳頭瘤病毒、甲型肝炎病毒及乙型肝炎病毒等與癌發生率增加相關或者被報告致癌的病毒之抗原意欲用於本發明中。

【0781】 舉例而言，在某些實施態樣中，腫瘤抗原包括但並不僅限於p15、Hom/Mel-40、H-Ras、E2A-PRL、H4-RET、IGH-IGK、MYL-RAR、愛潑斯坦-巴爾病毒（Epstein Barr virus）抗原、包括E6及E7在內之人乳頭瘤病（HPV）抗原、乙型及丙型肝炎病毒抗原、人T細胞親淋巴病毒抗原、TSP-180、p185erbB2、p180erbB-3、c-met、mn-23H1、TAG-72-4、CA 19-9、CA 72-4、CAM 17.1、NuMa、K-ras、p16、TAGE、PSCA、CT7、43-9F、5T4、791 Tgp72、beta-HCG、BCA225、BTAA、CA 125、CA 15-3 (CA 27.29\BCAA)、CA 195、CA 242、CA-50、CAM43、CD68\KP1、CO-029、FGF-5、Ga733 (EpCAM)、HTgp-175、M344、MA-50、MG7-Ag、MOV18、NB/70K、NY-CO-1、RCAS1、SDCCAG16、TA-90 (Mac-2結合蛋白\親環素C相關蛋白)、TAAL6、TAG72、TLP、TPS等。

【0782】 在某些實施態樣中，腫瘤抗原包括在腫瘤形成中涉及之病毒蛋白，例如來自愛潑斯坦-巴爾病毒、包括E6及E7在內之人乳頭瘤病毒(HPV)及乙型肝炎和丙型肝炎、以及人T細胞親淋巴病毒之抗原。

【0783】 將理解，此類病毒蛋白以及各種其他病毒蛋白亦可為T細胞活性之靶，例如在抗病毒疾病之治療中。事實上，本發明可用於任何其中已知T細胞活性在免疫性中起作用之感染（實際上所有的病毒感染以及許多細菌感染，如肺結核）。本文中所述感染性疾病僅係以舉例說明之方式提供，絕不意欲限制本發明之範圍。將理解，本發明可用於治療各種其他疾病及病症。

【0784】 下面討論用於抵抗致病生物之接種預防之代表性抗原。特別意欲涵蓋包含一或多種使用彼等免疫方法製備之抗原之化合物、疫苗及組成物。

肺結核抗原

【0785】 將理解，許多種結核分枝桿菌（*M. tuberculosis*）抗原已被表徵且適用於本發明中。意欲涵蓋所有無論目前是否被表徵皆能夠引起免疫反應之結核分枝桿菌抗原。

【0786】 適用之例示性結核分枝桿菌抗原包括早分泌抗原靶(ESAT)-6、Ag85A、Ag85B (MPT59)、Ag85B、Ag85C、MPT32、MPT51、MPT59、MPT63、MPT64、MPT83、MPB5、MPB59、MPB64、MTC28、Mtb2、Mtb8.4、Mtb9.9、Mtb32A、Mtb39、Mtb41、TB10.4、TB10C、TB11B、TB12.5、TB13A、TB14、TB15、TB15A、TB16、TB16A、TB17、TB18、TB21、TB20.6、TB24、TB27B、TB32、TB32A、TB33、TB38、TB40.8、TB51、TB54、TB64、CFP6、

CFP7、CFP7A、CFP7B、CFP8A、CFP8B、CFP9、CFP10、CFP11、CFP16、CFP17、CFP19、CFP19A、CFP19B、CFP20、CFP21、CFP22、CFP22A、CFP23、CFP23A、CFP23B、CFP25、CFP25A、CFP27、CFP28、CFP28B、CFP29、CFP30A、CFP30B、CFP50、CWP32、hspX (α -結晶)、APA、結核菌素純化蛋白衍生物 (PPD)、ST-CF、PPE68、LppX、PstS-1、PstS-2、PstS-3、HBHA、GroEL、GroEL2、GrpES、LHP、19kDa脂蛋白、71kDa、RD1-ORF2、RD1-ORF3、RD1-ORF4、RD1-ORF5、RD1-ORF8、RD1-ORF9A、RD1-ORF9B、Rv1984c、Rv0577、Rv1827、BfrB、Tpx、Rv1352、Rv1810、PpiA、Cut2、FbpB、FbpA、FbpC、DnaK、FecB、Ssb、RplL、FixA、FixB、AhpC2、Rv2626c、Rv1211、Mdh、Rv1626、Adk、ClpP、SucD (Belisle等, 2005; US 7,037,510; US 2004/0057963; US 2008/0199493; US 2008/0267990)、或上述抗原其中之任一者之至少一個抗原部分或T細胞表位。

肝炎抗原

【0787】 許多肝炎抗原已被表徵且適用於本發明。例示性丙型肝炎抗原包括C-p22、E1-gp35、E2-gp70、NS1-p7、NS2-p23、NS3-p70、NS4A-p8、NS4B-p27、NS5A-p56/58、及NS5B-p68，該等抗原連同自其衍生之一或多個抗原部分或表位（無論單獨還是組合）皆分別適合應用於本發明中。意欲涵蓋所有無論目前是否被表徵皆能夠引起免疫反應之肝炎抗原。

流感抗原

【0788】 許多流感抗原已被表徵且適用於本發明。適用於本發明之例示性流感抗原包括PB、PB2、PA、血凝素 (HA) 或神經胺糖酸苷酶 (NA) 蛋白中之任一者、NP、M及NS，該等抗原連同自其衍生之一或多個抗原部

分或表位（無論單獨還是組合）皆分別適合應用於本發明中。意欲涵蓋所有無論目前是否被表徵皆能夠引起免疫反應之流感抗原。

炭疽抗原

【0789】 許多炭疽桿菌 (*B. anthracis*) 抗原已被認定為用於疫苗開發之潛在候選者且可用於本發明中。舉例而言，PA83為此一種用於疫苗開發之抗原。目前，僅有一種FDA批准的針對炭疽之疫苗，稱為「炭疽吸附疫苗 (Anthrax Vaccine Adsorbed)」(AVA) 或BioThrax®。此疫苗係衍生自吸附至鋁佐劑之炭疽桿菌之無包膜菌株之不含細胞之上清液。PA為AVA中之主要免疫原。適用於本發明之其他例示性炭疽抗原包括保護抗原 (PA或PA63)、LF及EF (蛋白質)、聚- γ -(D-麩胺酸鹽) 莢膜、芽孢抗原 (內芽孢專一性組份)、BclA (外孢壁專一性蛋白)、BxpB (芽孢相關蛋白) 及分泌蛋白。所有能夠引起免疫反應之炭疽抗原連同自其衍生之一或多個抗原部分或表位，無論目前是否被表徵，皆意欲涵蓋在內。

土拉菌病抗原

【0790】 許多土拉文氏桿菌 (*F. tularensis*) 抗原已被認定為用於疫苗開發之潛在候選者且可用於本發明中。舉例而言，AcpA及IglC為適用於疫苗開發之抗原。其他適用於本發明之例示性土拉菌病抗原包括O-抗原、CPS、外膜蛋白 (例如FopA)、脂蛋白 (例如Tul4)、分泌蛋白及脂多糖。能夠引起免疫反應之所有土拉菌病抗原連同自其衍生之一或多個抗原部分或表位，無論目前是否被表徵，皆意欲涵蓋在內。

布氏桿菌病抗原

【0791】 許多土布氏桿菌 (*B. abortus*) 抗原已被認定為用於疫苗開

發之潛在候選者且可用於本發明中。舉例而言，Omp16為此一種用於疫苗開發之抗原。適用於本發明之其他例示性布氏桿菌病抗原包括O-抗原、脂多糖、外膜蛋白（例如Omp16）、分泌蛋白、核糖體蛋白（例如L7及L12）、細菌鐵蛋白、p39（推定周質結合蛋白）、groEL（熱休克蛋白）、二氧四氫喋啶合成酶、BCSP31表面蛋白、PAL16.5 OM脂蛋白、過氧化氫酶、26 kDa 周、31 kDa Omp31、28 kDa Omp、25 kDa Omp及10 kDa Om脂蛋白。能夠引起免疫反應之所有布氏桿菌病抗原連同自其衍生之一或多個抗原部分或表位，無論目前是否被表徵，皆意欲涵蓋在內。

腦膜炎抗原

【0792】 許多腦膜炎雙球菌（*N. meningitidis*）抗原已被認定為用於疫苗開發之潛在候選者且可用於本發明中。舉例而言，Cys6、PorA、PorB、FetA及ZnuD為適用於疫苗開發之抗原。其他適用於本發明之例示性腦膜炎抗原包括O-抗原、因子H結合蛋白（fHbp）、TbpB、NspA、NadA、外膜蛋白、B組CPS、分泌蛋白及脂多糖。能夠引起免疫反應之所有腦膜炎抗原連同自其衍生之一或多個抗原部分或表位，無論目前是否被表徵，皆意欲涵蓋在內。

登革熱抗原

【0793】 許多黃病毒抗原已被認定為用於疫苗開發以治療登革熱之潛在候選者且可用於本發明中。舉例而言，登革熱病毒包膜蛋白E1至E4及膜蛋白M1至M4為適用於疫苗開發之抗原。其他適用於本發明之例示性登革熱抗原包括C、preM、1、2A、2B、3、4A、4B及5。能夠引起免疫反應之所有登革熱抗原連同自其衍生之一或多個抗原部分或表位，無論目前是否被表徵，皆意欲涵蓋在內。

伊波拉病毒抗原

【0794】 許多伊波拉病毒抗原已被認定為用於疫苗開發以治療伊波拉病毒感染之潛在候選者且可用於本發明中。舉例而言，絲狀病毒科紮伊爾伊波拉病毒（*Filoviridae* Zaire ebolavirus）及蘇丹伊波拉病毒（Sudan ebolavirus）病毒體纖突糖肽前體抗原，分別為ZEBOV-GP及SEBOV-GP，適用於疫苗開發。其他適用於本發明之例示性伊波拉病毒抗原包括NP、vp35、vp40、GP、vp30、vp24及L。能夠引起免疫反應之所有伊波拉病毒抗原連同自其衍生之一或多個抗原部分或表位，無論目前是否被表徵，皆意欲涵蓋在內。

西尼羅河病毒抗原

【0795】 許多西尼羅河病毒抗原已被認定為用於疫苗開發以治療感染之潛在候選者且可用於本發明中。舉例而言，來自西尼羅河病毒（WNV）之黃病毒包膜抗原（E）為在WNV病毒體上表達之非毒性蛋白（WNVE）且可適用於疫苗開發。其他適用於本發明之例示性WNV抗原包括Cp、Prm、NS1、NS2A、NS2B、NS3、NS4A、NS4B及NS5。

【0796】 能夠引起免疫反應之所有西尼羅河病毒抗原連同自其衍生之一或多個抗原部分或表位，無論目前是否被表徵，皆意欲涵蓋在內。

【0797】 上文所列或提及之抗原為例示性的，而非限制本發明。

【0798】 本發明亦涉及一種醫藥組成物，其包含有效量之本發明之肽共軛物或者其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物以及醫藥上可接受之載劑。

【0799】 該等醫藥組成物可包含有效量之二或更多種本發明之肽共軛物之組合。在一些實施態樣中，醫藥組成物可包含一或多種本發明之肽

共軛物以及一或多種本文中所述之肽。

【0800】 術語「醫藥上可接受之載劑 (pharmaceutically acceptable carrier)」係指可與本發明之肽共軛物或其醫藥上可接受鹽或溶劑合物一起施予受試者的載劑 (佐劑或媒劑)。

【0801】 可用於本發明中之醫藥上可接受之載劑包括但並不僅限於離子交換劑、氧化鋁、硬脂酸鋁、卵磷脂、例如d- α -生育酚聚乙二醇1000琥珀酸酯等自乳化藥物傳遞系統 (SEDDS)、例如聚山梨醇酯 (Tween) 等以藥物劑型或其他類似聚合物傳遞基質使用之表面活性劑、例如人血清蛋白等血清蛋白、緩衝物質例如磷酸鹽、甘胺酸、山梨酸、山梨酸鉀、飽和植物脂肪油之部分甘油酯混合物、水、鹽或電解質，例如硫酸魚精蛋白、磷酸氫二那、磷酸氫鉀、氯化鈉、鋅鹽、膠體二氧化矽、三矽酸鎂、聚乙烯吡咯啶酮、纖維素系物質、聚乙二醇、羧基甲基纖維素鈉、聚丙烯酸酯、石蠟、聚乙烯-聚丙烯嵌段聚合物、聚乙二醇及羊毛脂。有利地，亦可使用環糊精來增強傳遞，例如使用 α -、 β -、及 γ -環糊精或經化學修飾之衍生物，例如包括2-及3-羥基丙基- β -環糊精在內之羥基烷基環糊精。油溶液或懸浮液亦可含有長鏈醇稀釋劑或分散劑、或羧基甲基纖維素或類似分散劑，該等試劑常用於調配醫藥上可接受之劑型，例如乳液或懸浮液。

【0802】 調配該等組成物，以允許其藉由任何選擇途徑施予受試者，包括但並不僅限於口服或胃腸外 (包括局部、皮下、肌肉內及靜脈內) 給藥。

【0803】 舉例而言，組成物可用根據預期給藥途徑及標準醫藥實踐選擇之醫藥上可接受之適宜載劑 (包括賦形劑、稀釋劑、輔助劑及其組合) 調配。舉例而言，組成物可作為粉末、液體、片劑或膠囊口服，或作為軟

膏、霜劑或洗劑局部用藥。適宜之調配物可視需要含有另外之試劑，包括乳化劑、抗氧化劑、矯味劑或著色劑，且可適合於立即釋放、延遲釋放、緩釋、持續釋放、脈衝釋放或控釋。

【0804】 可對組成物進行調配以優化生物可利用率、免疫原性，或將血漿、血液或組織濃度維持在免疫原性或治療性範圍內，包括較長的時間。舉例而言，亦可使用受控傳遞製劑來最優化作用位點之抗原濃度。

【0805】 可對組成物進行調配以達成定期給藥，例如提供連續曝露。業內習知用於引起有益免疫反應之策略，例如彼等採用一或多種「加強」接種之策略，且可採用此等策略。

【0806】 組成物可經由胃腸外途徑給藥。胃腸外劑型之實例包括活性劑之水溶液、等滲鹽水或5%葡萄糖、或其他醫藥上可接受之習知賦形劑。舉例而言，可使用環糊精或熟習此項技術者習知之其他增溶劑作為遞送治療劑之醫藥賦形劑。

【0807】 適用於口服之劑型之實例包括但並不僅限於片劑、膠囊、錠劑或類似劑型，或任何液體劑型，例如糖漿劑、水溶液、乳液等，該等劑型能夠提供治療有效量之組成物。膠囊可含有任何醫藥上可接受之標準材料，例如明膠或纖維素。片劑可根據常規程序藉由壓制活性成份與固體載劑及潤滑劑之混合物而調配。固體載劑之實例包括澱粉及糖膨潤土。活性成份亦可係以含有例如乳糖或甘露糖醇等結合劑、常規填充劑及壓片劑之硬殼片劑或膠囊之形式給藥。

【0808】 適用於經皮給藥之劑型之實例包括但並不僅限於經皮貼劑、經皮繃帶等。

【0809】 適用於組成物之局部給藥之劑型之實例包括任何洗劑、條形劑、噴霧劑、軟膏、糊劑、乳膏、凝膠等，無論其係直接施用至皮膚抑或經由墊、貼劑等間接施用至皮膚。

【0810】 適用於組成物之栓劑給藥之劑型之實例包括任何插入身體孔道中之固體劑型，特別是從直腸、陰道及尿道插入之彼等固體劑型。

【0811】 適用於組成物之注射之劑型之實例包括經由推注遞送，例如藉由靜脈注射、皮下、真皮下及肌肉內給藥或口腔內給藥單次或多次給藥。

【0812】 適用於組成物之儲庫（depot）給藥之劑型之實例包括肽共軛物之丸劑或其中肽共軛物被裹置在生物可降解聚合物、微乳液、脂質體之基質中或者被裝入微膠囊的固體形式。

【0813】 用於組成物之輸液裝置之實例包括用以提供所需數目之劑量或穩態給藥之輸液泵，且包括可植入藥泵。

【0814】 用於組成物之可植入輸液裝置之實例包括其中肽共軛物被囊封在或分散於例如矽酮、矽酮橡膠、矽橡膠或類似聚合物等生物可降解聚合物或合成聚合物內。

【0815】 適用於組成物之穿黏膜遞送之劑型之實例包括灌腸劑儲液、陰道栓、衛生棉條、乳膏、凝膠、糊劑、泡沫、噴霧液、粉末及類似調配物，除活性成份外還含有業內習知之合適載劑。此等劑型包括適合吸入或吹入組成物之形式，該等組成物包括包含在醫藥上可接受之水性或有機溶劑、或其混合物中之溶液及／或懸浮液及／或粉末之組成物。組合物之穿黏膜給藥可利用任何黏膜，但通常利用鼻、口、陰道及直腸組織。該等組成物之適用於經鼻用藥之調配物可係以例如噴鼻劑、滴鼻劑等液體形式

給藥，或用霧化器藉由氣溶膠給藥，包括聚合物顆粒之水性或油性溶液在內。調配物可製備為例如在鹽水中之水溶液，採用苧基醇或其他適宜防腐劑、用以增強生物可利用率之吸收促進劑、氟碳及／或其他業內習知之增溶劑或分散劑之溶液。

【0816】 該等組成物之適用於口腔或舌下給藥之劑型之實例包括錠劑、片劑等。該等組成物之適用於眼部給藥之劑型之實例包括插入劑及／或在醫藥上可接受之水性或有機溶劑中之含組成物之溶液及／或懸浮液。

【0817】 包括疫苗在內之組成物之調配物之實例可見於例如 Sweetman, S. C. (編輯). Martindale. 藥物參考大全，第33版，醫藥出版社，芝加哥，2002，2483頁 (Sweetman, S. C. (Ed.). Martindale. The Complete Drug Reference, 33rd Edition, Pharmaceutical Press, Chicago, 2002, 2483 pp.); Aulton, M. E. (編輯) Pharmaceutics. 劑型設計科學. 丘姬兒利文斯通出版社，愛丁堡，2000，734頁 (Aulton, M. E. (Ed.) Pharmaceutics. The Science of Dosage Form Design. Churchill Livingstone, Edinburgh, 2000, 734 pp.); 以及 Ansel, H. C., Allen, L. V. 及 Popovich, N. G. 醫藥劑型及藥物遞送系統，第7版，立賓科特1999，676頁 (Ansel, H. C., Allen, L. V. and Popovich, N. G. Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7th Ed., Lippincott 1999, 676 pp.)。製造藥物遞送系統中採用之賦形劑描述於熟習此項技術者熟知之各種出版物中，包括，舉例而言，Kibbe, E. H. 醫藥賦形劑手冊，第3版，美國製藥協會，華盛頓，2000，665頁 (Kibbe, E. H. Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd Ed., American Pharmaceutical Association, Washington, 2000, 665 pp)。美國藥典亦提供緩釋劑型之實例，包括彼等調配為片劑或膠囊之緩釋劑型。參見，舉例而言，美國藥典23／

國家處方集18, 美國藥典委員會公司, 馬裏蘭州羅克維爾市, 1995 (The United States Pharmacopeia 23/National Formulary 18, The United States Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville MD, 1995)(以下為「美國藥典(the USP)」), 其亦描述了用以確定緩釋及延遲釋放片劑及膠囊之藥物釋放能力之具體測試法。美國藥典針對緩釋及延遲釋放物件之藥物釋放測試係基於在經過的測試時間內藥物自劑量單位之溶解。關於各種測試儀器及程序之描述可見於美國藥典。有關緩釋劑型之分析之進一步指導已由美國食品藥品管理局提供(參見工業指導。緩釋口服劑型: 體外/活體內相關之開發、評價及應用。馬裏蘭羅克維爾: 藥品評價及研究中心, 食品及藥品管理局, 1997 (Guidance for Industry. Extended release oral dosage forms: development, evaluation, and application of in vitro/in vivo correlations. Rockville, MD: Center for Drug Evaluation and Research, Food and Drug Administration, 1997))。

【0818】 雖然組成物可包含一或多種外來佐劑, 但有利地, 在一些實施態樣中此並非必須。在一些實施態樣中, 肽共軛物包含表位且係自佐的。

【0819】 本發明提供一種在受試者中進行接種或引起免疫反應之方法, 包含施予該受試者有效量的本發明之肽共軛物。本發明亦是有關於本發明之肽共軛物在受試者中進行接種或引起免疫反應之用途, 以及本發明之肽共軛物在製造用於在受試者中接種或引起免疫反應之藥物中之用途。

【0820】 本發明亦提供一種在受試者中進行接種或引起免疫反應之方法, 包含施予該受試者有效量的本發明之醫藥組成物。本發明亦是有關於本發明之醫藥組成物在受試者中進行接種或引起免疫反應之用途, 以及本發明之一或多種肽共軛物在製造用於在受試者中接種或引起免疫反應之

藥物中之用途。

【0821】 本文中意欲涵蓋在受試者中施與或使用一或多種本文所述肽及／或一或多種本發明之肽共軛物、例如一或多種本文所述之肽與一或多種肽共軛物一起以進行接種或引起免疫反應。

【0822】 當施與或使用二或更多種肽共軛物、或者一或多種肽與一或多種肽共軛物時，該等二或更多種肽共軛物、或者一或多種肽與一或多種肽共軛物可同時、依序或分開施與或使用。

【0823】 「受試者 (subject)」係指為哺乳動物之脊椎動物，例如人。哺乳動物包括但並不僅限於人、家畜、運動動物、寵物、靈長類、小鼠及大鼠。

【0824】 「有效量 (effective amount)」係足以達成有益或所需的包括臨床結果在內之結果之量。有效量可藉由多種給藥途徑以一或多次給藥施與。

【0825】 除其他因素外，有效量將端視所治療之疾病、疾病嚴重程度、受試者之年齡及相對健康狀況、所施用化合物之藥效、給藥方式以及期望之治療而變化。熟習此項技術者將能夠根據該等任何其他相關因素而確定適宜之劑量。

【0826】 組成物之療效可在體外亦可在活體內進行評估。舉例而言，可在體外或活體內測試組成物引起細胞介導之免疫反應之能力。對於活體內研究，可將組成物餵食或注射入動物（例如小鼠）體內，然後評估其在引起免疫反應上之效果。基於結果，可確定適宜之劑量範圍及給藥途徑。

【0827】 組成物可係以單劑量或多劑量方案形式給藥。多劑量可用於

初級免疫方案及／或加強免疫方案中。

【0828】 在某些實施態樣中，引起免疫反應包含提高或增強免疫反應。在例示性實施態樣中，引起免疫反應包含引起體液及細胞介導之反應。

【0829】 在某些實施態樣中，引起免疫反應提供免疫性。

【0830】 引起免疫反應是為了治療疾病或病症。熟習此項技術者將理解，本文中所述肽共軛物端視例如表位之性質而定而用於治療多種疾病及病症。

【0831】 在一些實施態樣中，該等疾病或病症選自與本文中所述各種抗原相關之彼等。

【0832】 在一些實施態樣中，該疾病或病症係感染性疾病、癌、或骨髓移植後或出於任何其他原因而引起極深免疫抑制後之病毒再活化。

【0833】 本文中所用術語「治療(treatment)」及例如「治療(treating)」及「治療(treat)」等相關術語一般係涉及人或非人受試者之治療，其中達成某些期望之治療效果。舉例而言，治療效果可係疾病或病症之抑制、緩解、轉佳、終止或預防。

【0834】 該等組成物可用於引起全身及／或黏膜免疫。全身及／或黏膜免疫力增強可反映為TH1及／或TH2免疫反應增強。免疫反應增強可包括IgG1及／或IgG2a及／或IgA之生成增加。

實例

1. 實例1

【0835】 此實例描述經由硫醇烯反應製備本發明之肽共軛物3。

1.1 一般詳情及方法

【0836】 經保護胺基酸及偶合劑係購自GL-Biochem（上海）。固載合成中所用樹脂係用連接子及來自Rapp Polymere GmbH（圖賓根）之肽序列之第一（C端）殘基衍生出之tentagel樹脂，且其他溶劑及反應劑係自Sigma（密蘇裏州聖路易斯）及Novabiochem獲得。

【0837】 下文所述肽合成使用標準重複Fmoc固相肽合成技術在Tribute肽合成儀（Protein Technologies International, Tucson, AZ）上進行。

【0838】 以0.1毫莫耳規模進行之典型去保護及偶合循環需要用在DMF中之20%哌啶處理兩次（4毫升x5分鐘），然後用DMF洗滌樹脂，以自與樹脂結合之胺基酸移除Fmoc保護基。在單獨的容器中，將Fmoc胺基酸（0.5毫莫耳）及偶合劑（1-[雙（二甲基胺基）亞甲基]-1H-1,2,3-三唑並[4,5-b]吡啶鎘3-氧化物六氟磷酸酯（HATU）（0.45毫莫耳）溶於DMF（1.5毫升）中並添加鹼（4-甲基嗎啉（NMM），1毫莫耳）。混合1分鐘後，將此溶液轉移至樹脂，在室溫（RT）下攪拌1小時，排乾並洗滌。

【0839】 藉由下列達成肽之裂解（0.1毫莫耳規模）：將樹脂懸浮於5毫升含有5%（v/v）乙二硫醇（EDT）之三氟乙酸（TFA）中，並於室溫下搖動3小時。然後添加三異丙基矽烷（TIPS）至1%（v/v）並且在將TFA排入冷凍二乙醚（40毫升）之前再繼續搖動5分鐘。藉由離心將沉澱之材料製成丸劑，棄掉醚，將丸劑用醚（25毫升）洗滌一次，並風乾或凍乾。

【0840】 使用Dionex Ultimate 3000 HPLC體系以210奈米或225奈米之紫外檢測進行反相（RP）-HPLC。對於半製備純化，將肽試樣注入在由溶析液A（水／0.1% TFA）與溶析液B（MeCN／0.1%TFA）之適宜混合物中

平衡之反相Phenomenex Gemini C18柱（5 μ ，110埃，10x250毫米）中，然後產生溶析液B之增大之梯度，以洗提構成組份。類似地，使用Phenomenex Gemini C18柱（3 μ ，110埃；4.6x150毫米）進行分析性HPLC。

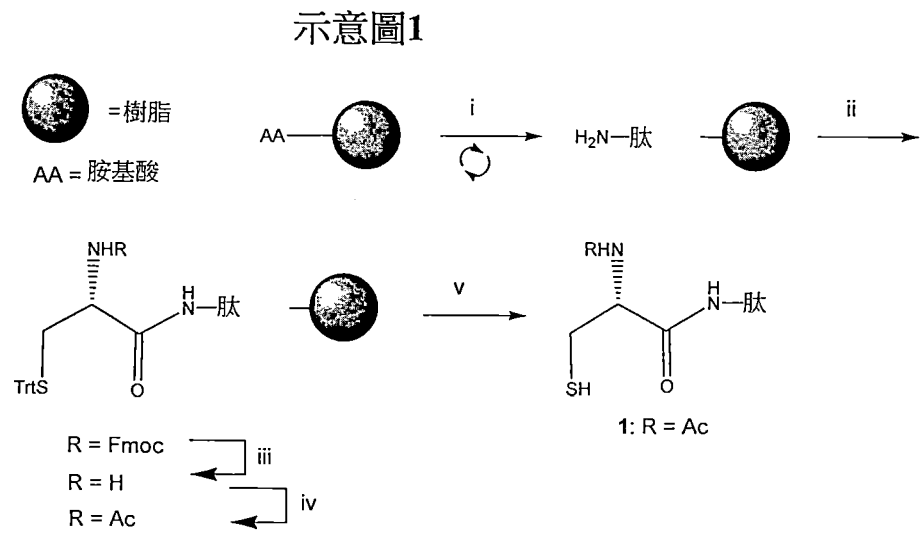
【0841】 使用Agilent Technologies 6120四極質譜儀獲得低解析度質譜。

【0842】 使用在400MHz下針對¹H NMR以及在100MHz下針對¹³C NMR運行之Bruker BRX400分光儀獲得NMR譜。

1.2 肽合成

【0843】 如上文一般詳情中所述及下文所繪示合成肽1（序列在表1中給出）（示意圖1）。

【0844】 該肽為習知CMV pp65 肽（NLVPMVATV [SEQ ID No: 122] ）之組合，其中甲硫胺酸殘基用Cys(*t*Bu)殘基替代以避免在硫醇烯反應期間在此位置發生不期望之副反應，並且在N端用聚離胺酸增溶標記物及自由硫醇基進行衍生化。



(i) 重複Fmoc-SPPS；(ii) Fmoc-Cys(Trt)-OH、HATU、NMM、DMF；(iii)

20%哌啶／DMF；(iv) Ac₂O／NMM、DMF；(v) TFA／EDT。

【0845】 在使用重複Fmoc-SPPS將肽序列合成至倒數第二個胺基酸後，藉由與在DMF中之Fmoc-Cys(Trt)-OH、HATU及4-甲基嗎啉反應將Fmoc-半胱胺酸作為樹脂上之肽之N端殘基引入。使用在DMF中之20%哌啶移除Fmoc基。

【0846】 藉由用在DMF（2毫升）中之20%乙酸酐與4-甲基嗎啉（1毫莫耳）之混合物處理而將所得胺基轉化為乙醯胺。

【0847】 用TFA／EDT將肽自樹脂裂解並且其在醚中沉澱後，將固體溶於1:1水／MeCN中並凍乾。然後藉由RP-HPLC對肽進行純化，以得到>95%之材料。

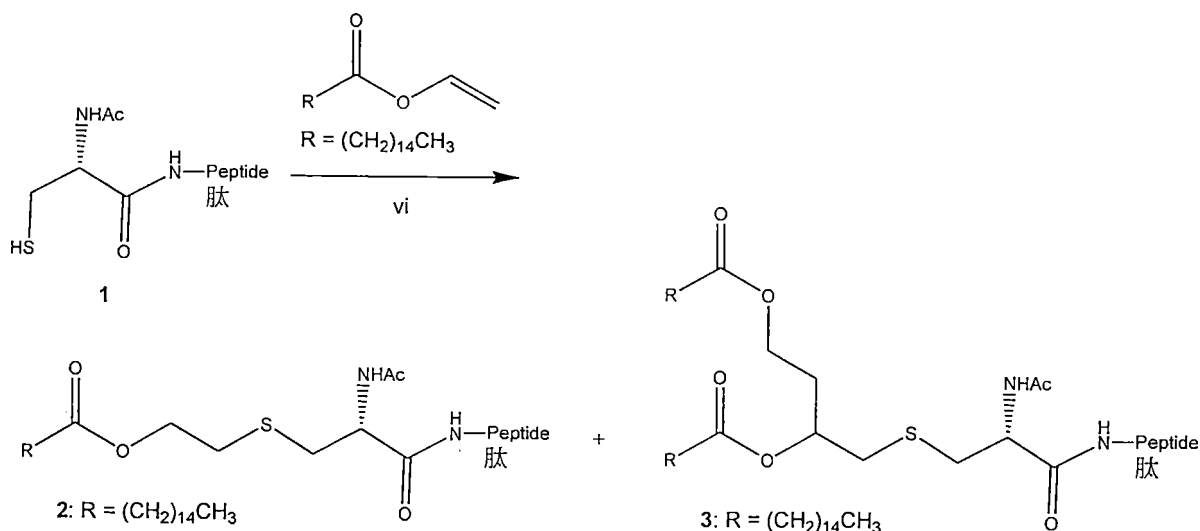
表1. 肽1

	序列	<i>m/z</i>	<i>SEQ ID No.</i>
1	Ac-CSKKKKNLVPC(<i>t</i> Bu)VATV	999.9 [M+2H ⁺]	123

1.3 肽共軛物合成

【0848】 如下文所述及所示經由硫醇烯反應自肽1合成肽共軛物3(示意圖2)。

示意圖2



(vi) 棕櫚酸乙烯酯、DMPA、tBuSH、NMP，365奈米，基於HPLC 83%之轉化率 (49% **2**；34% **3**)。

【0849】 秤取肽底物**1** (1.7毫克，1微莫耳) 及棕櫚酸乙烯酯 (20毫克，70微莫耳，70當量)，放入裝配有磁力攪拌器之小聚丙烯瓶中，加入100微升脫氣NMP，隨後加入0.5微莫耳DMPA及3微莫耳^tBuSH (藉由添加10微升6.5毫克DMPA及17微升^tBuSH在0.5毫升脫氣NMP中之溶液而加入)。用氮氣沖洗容器並在365奈米下輻照30分鐘，同時激烈攪拌混合物。

【0850】 藉由HPLC對反應混合物之試樣進行之分析 (參見圖1) 顯示一些殘餘起始材料 (峰a) 及單棕櫚醯化肽**2**及雙棕櫚醯化肽**3** (分別為峰b及c) 二者之形成。

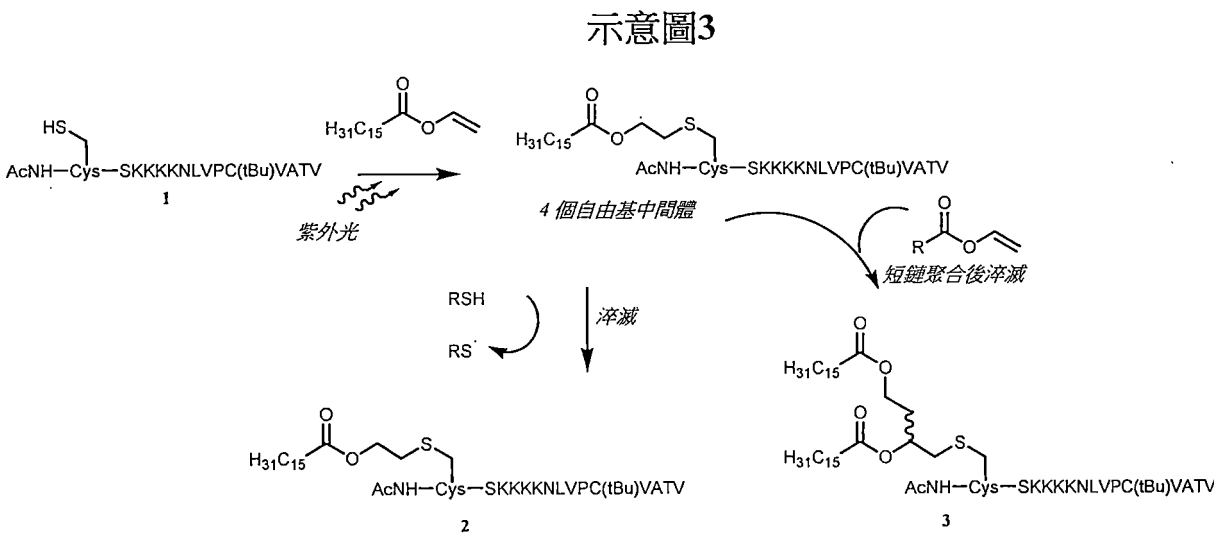
【0851】 加入水及乙腈 (分別為200微升)，凍乾所得混合物並藉由半製備RP-HPLC分離各組份。

1.4 肽共軛物**3**之分析

【0852】 來自圖1之峰b及峰c之低解析度質譜分別顯示於圖2及圖3中。

【0853】 峰c之質譜證實了向肽底物中引入第二個2-(棕櫚醯氧基)乙基 (M+282)。

【0854】 雖然不希望受理論約束，但是據信在輻照含有硫醇化肽之反應混合物後，所產生之含硫自由基隨後與棕櫚酸乙烯酯之分子反應而提供自由基中間體4（示意圖3），該自由基中間體隨後或者 (i) 被淬滅而得到單棕櫚醯化產物2，或者 (ii) 與棕櫚酸乙烯酯之另一分子反應而得到更多非極性雙棕櫚醯化產物3。兩個路徑被認為具有競爭性，本實驗中使用之棕櫚酸乙烯酯之濃度（70當量）有利於短鏈聚合（telomerisation）而提供3。未觀察到更高階之擴展（即增加兩個以上之棕櫚酸乙烯酯分子並未再產生產物）。



【0855】 產物2及產物3之一些氧化很明顯（圖1之峰e及峰f，皆為M+16），推測係在新形成之硫醚上發生。此可係由於難以自所用小規模系統排除氧所致。該等氧化物能容易地還原至對應之硫醚。

2. 實例2

【0856】 此實例研究：

【0857】 1. 本發明之鼠類及人TLR2促效作用，在兩種變異中——homoPam2Cys(NH₂)-SKKKK及homoPam2Cys(NHAc)-SKKKK——與習知TLR2促效劑Pam1Cys-SKKK、Pam2Cys-SKKKK及Pam3Cys-SKKKK相比。在所有情形中，促效劑皆內部製備並如針對實例1所述經由半製備HPLC分離，除了購自InvivoGen之Pam3Cys-SKKK之外。此外，相對於Pam3Cys-SKKKK評估當與短肽表位共軛時TLR2促效作用之保留。在此實例中，如針對本發明3所述生成homoPam2Cys(NHAc)-SKKK-‘NLV’（如實例1中所述藉由半製備HPLC分離），除了共軛物肽序列為NLVPMVATVK(Ac)之外。亦製備匹配之Pam2Cys-SKKKK-NLVPMVATVK(Ac)。

【0858】 2. 共軛短合成肽及長合成肽至同源CD8⁺ T細胞殖株之釋放及呈現。在此實例中，如針對本發明3所述生成homoPam2Cys(NHAc)-SKKK-‘NLV’（如實例1中所述藉由半製備HPLC分離），除了共軛肽序列為NLVPMVATVK(Ac)而非NLVP(Tbu)VATVK(Ac)之外，旨在保留肽之T細胞識別。釋放及呈現與由肽匹配之Pam1Cys-SKKKK及Pam2Cys-SKKKK構建體引發之釋放及呈現進行比較。

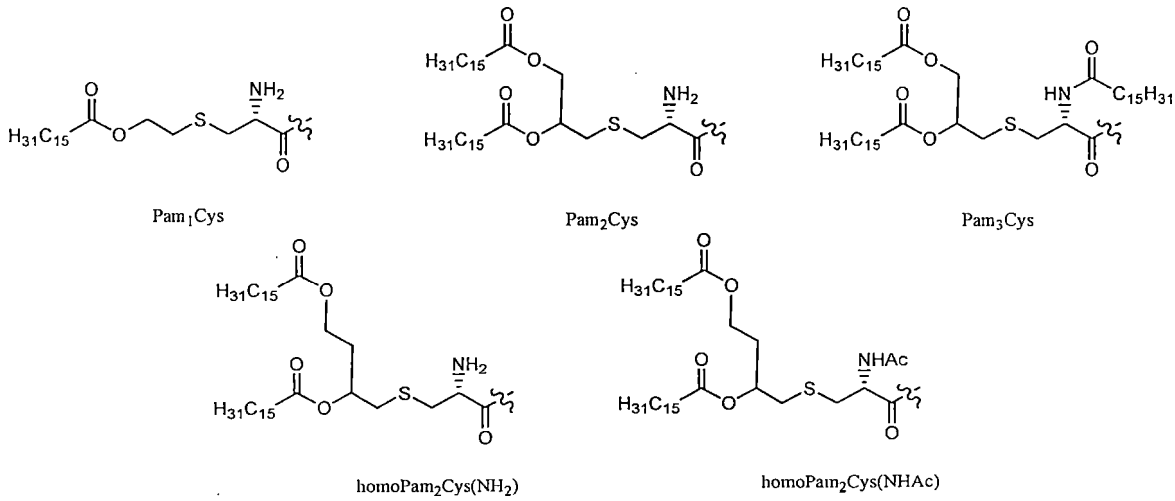
【0859】 3. 共軛長合成肽至同源CD8⁺ T細胞殖株之加工及呈現。如針對本發明3所述生成homoPam2Cys(NHAc)-SKKK-‘VPG’（如實例1中所述藉由半製備HPLC分離），除了共軛肽序列為VPGVLLKEFTVSGNILTIRLTAADHR（SEQ ID No: 113）之外。將來自此較長序列內之HLA-A2-限制表位EFTVSGNIL（SEQ ID No: 114）之加工及呈現與僅有長肽時觀察到的由肽匹配Pam1Cys-SKKKK構建體引發之加工及呈現進行比較。

【0860】 在研究TLR2促效作用及至CD8+ T細胞之肽加工及呈現中利用之所有構建體皆如下表2中命名：

表2. 肽共軛物

編號	脂質／連接子組份	肽	肽SEQ ID No.
500	-	VPGVLLKEFTVSGNILTIRLTAADHR	113
510	Pam1Cys-SKSKK	-	
511	Pam1Cys-SKSKK	NLVPMVATVK(Ac)	122
512	Pam1Cys-SKSKK	VPGVLLKEFTVSGNILTIRLTAADHR	113
520	Pam2Cys-SKSKK	NA	
521	Pam2Cys-SKSKK	NLVPMVATVK(Ac)	122
530	Pam3Cys-SKSKK	-	
540	Homo-Pam2Cys(NH ₂)-SKSKK	-	
550	Homo-Pam2Cys(NHAc)-SKSKK	-	
551	Homo-Pam2Cys(NHAc)-SKSKK	NLVPMVATVK(Ac)	122
552	Homo-Pam2Cys(NHAc)-SKSKK	VPGVLLKEFTVSGNILTIRLTAADHR	113

示意圖3A. 表2中所提及之Pam1Cys、Pam2Cys、Pam3Cys、homoPam2Cys(NH₂)及homoPam2Cys(NHAc)之結構。



2.1 使用HekBlue細胞之Toll樣受體2（TLR2）促效作用

【0861】 HEK-Blue™ 檢 測 介 質 、 HEK-Blue™-hTLR2 及 HEK-Blue™-mTLR2購自Invivogen。該等HEK-Blue細胞分別藉由報告基因

SEAP（分泌型胚胎鹼性磷酸酶）與人TLR2或者鼠類TLR2二者之共轉染產生。SEAP報告基因受併合至五個AP-1及五個NFkB結合位點之IFN- β 最小啟動子之控制。根據製造商之說明對細胞進行培養。

【0862】 在進行分析之日，將TLR促效劑**510**、**520**、**530**、**540**、**550**或PBS（負性對照）以指定濃度添加入96孔板中20微升體積之不含內毒素之水中。將HEK-Blue™-hTLR2或HEK-Blue™-mTLR2細胞以約 2.78×10^5 個細胞／毫升懸浮於HEK-Blue™檢測介質中，並將180微升細胞懸浮液添加至每一孔（約 5×10^4 個細胞）。將細胞在37°C下在5% CO₂中培養10至12小時。使用EnSpire酶標儀（plate reader）（PerkinElmer）在635奈米處定量SEAP表達。數據以背景減除後三個複孔之平均+/- SD ABS或mABS(635奈米)值表示。

2.2.1 結果

【0863】 在 HEK-Blue™-mTLR2 及 HEK-Blue™-hTLR2 二者中，homoPam2Cys(NHAc)-SKKKK皆在 ≥ 1 nM下引發與所測試之最強效促效劑（Pam2Cys-SKKKK）相等的SEAP生成，且在亞奈莫耳濃度下生成情況相當（圖4A）。在兩個系統中，都證明homoPam2Cys(NHAc)-SKKKK為比Pam3Cys-SKKKK 或 homoPam2Cys(NH₂)-SKKKK 更強效之促效劑。homoPam2Cys(NH₂)-SKKKK在HEK-Blue™-mTLR2中引發之SEAP生成與Pam3Cys-SKKKK相等，在HEK-Blue™-hTLR2中生成情況相當（圖4A）。已證明homoPam2Cys(NHAc／NH₂)-SKKKK二者皆為比Pam1Cys-SKKKK更強效之TLR2促效劑。重要的是，Pam1Cys-SKKKK在亞奈莫耳濃度下在HEK-Blue™-mTLR2 中 無 活 性 ， 不 像 Pam1Cys-SKKKK ， homoPam2Cys(NHAc ／ NH₂)-SKKKK 在 至 亞 奈 莫 耳 濃 度 時 在 HEK-Blue™-mTLR2及-hTLR2中皆具有活性（圖4A），從而有可能在未來應

用在轉基因鼠類模型中。該等數據表明 homoPam2Cys(NHAc / NH₂)-SKKKK 展現出與已知強效 TLR1 / 2 及 TLR2 / 6 促效劑 Pam3Cys 及 Pam2Cys 相當之生物功能及活性。

【0864】 在 HEK-Blue™-mTLR2 及 -hTLR2 二者中，與未共軛之 Pam3Cys-SKKKK 相比，肽 NLVPMVATVK(Ac) 與 Pam2Cys-SKKKK 之共軛皆引發促效作用之相對損失（圖4B）。尚未明確確定此是否係由構建體聚集引起。相比之下，肽 NLVPMVATVK(Ac) 與 homoPam2Cys(NHAc)-SKKKK 之共軛並未造成促效作用之任何損失，且 homoPam2Cys(NHAc)-SKKKK-NLVPMVATVK(Ac) 仍為比 Pam3Cys-SKKKK 更強效之促效劑，尤其是在奈莫耳濃度下（圖4C）。該等數據表明，當偶合至疏水性肽負荷（cargo）時，homoPam2Cys 比 Pam2Cys 更強地保留溶解性及生物活性，且可能與該等構建體之相對活體內生物可利用率有一定關聯。

2.2 肽加工及呈現至 CD8+ T 細胞殖株

【0865】 在所有肽加工及呈現分析中皆使用經愛潑斯坦-巴爾病毒轉化之 TLR2+ HLA-A2+ 類淋巴母細胞 B 細胞系（LCL）作為抗原呈現細胞。將 LCL 以所需濃度按指示在 RF10 + 肽 / 構建體中培養 16 小時。未經處理之 LCL 僅在 RF10 中培養。端視分析之性質以及每一處理所需之 LCL 之數目而定，LCL / 構建體培養在 96 孔板（U 形底，BD Biosciences）中或在 48 孔板（平底，BD Biosciences）中進行。培養後，用 RPMI 1640 徹底洗滌 LCL，以移除未結合之構建體 / 肽。

【0866】 為了能夠進行流式細胞術檢測，CD8+ T 細胞殖株在種到 APC 孔中之前按照製造商之規程用 0.5 μM CellTrace™ Violet（「CTV」）（Life Technologies™）進行預染色。將裝入的經洗滌 LCL 及 CTV-染色 T 細胞殖株

一式二份以4:1 (LCL: T細胞) 之比率種在96孔板之孔 (U形底) 中 (所用細胞之典型數目為 1.25×10^4 個細胞 / 毫升 T細胞及 5×10^4 個細胞 / 毫升 APC)。種入後，將板輕輕離心 ($\leq 300 \times g$, 3分鐘)，以允許立即相互作用，並且在標準細胞培養箱 (cell culture incubator) 中培養26小時。

【0867】 為了檢測 T細胞活化，用抗 CD8:AlexaFluor700 及抗 CD137:PE抗體 (二者皆來自Biolegend) 對試樣進行染色。將試樣在暗處在冰上培養30分鐘，然後用洗滌緩衝液洗滌兩次，以移除未結合之抗體。在進行採集的前一刻立刻將DAPI (1微克 / 最終濃度) 加至每一試樣中，以允許活 / 死排除。

【0868】 資料採集使用帶有FACSDiva軟體之BD FACSAria II進行，且資料分析使用FlowJo軟體 (Treestar) 進行。資料以CD137表現陽性之活選殖 (clonal) 細胞之平均% + SD表示 (圖4D至圖4E)。

2.2.1 結果

【0869】 在 由 LCL 內 化 及 肽 呈 現 後 ， homoPam2Cys(NHAc)-SKKKK-NLV (551) 引發之T細胞殖株活化與具有 NLV 之 Pam2Cys-SKKKK (521) 相當，且引發優於具有 NLV 之 Pam1Cys-SKKKK (511) 之T細胞殖株活化 (圖4D)。圖4D中之虛線及實線分別代表背景T細胞殖株活化及藉由與負載有10萘莫耳自由NLV肽之LCL共培養引發之活化。由於肽NLVPMVATVK(Ac)代表整個T細胞表位，因而在此系統中不需要肽加工，且T細胞活化藉由構建體內化、肽釋放以及運輸 (trafficking) 入LCL之MHC I路徑中而確定。

【0870】 在 藉 由 LCL 之 內 化 及 表 位 呈 現 後 ，

homoPam2Cys(NHAc)-SKKKK-VPG (552) 引發之T細胞殖株活化優於具有VPG之Pam1Cys-SKKKK (512)，且兩種構建體皆優於單獨之VPG肽 (500) (圖4E)。由於最小表位EFTVSGNIL經由例如肽酶活性自長肽VPGVLLKEFTVSGNILTIRLTAAADHR內釋放對於T細胞活化而言係必須的，該等資料表明，長合成肽共軛至homoPam2Cys部分改善TLR2+抗原呈現細胞之表位加工及呈現，推斷此係通過在表面TLR1／2或TLR2／6結合後將肽靶向內／溶酶體路徑實現，且該等資料表明，共軛可能改善同源T細胞對肽表位之活體內識別。圖4E中之虛線代表背景T細胞殖株活化。

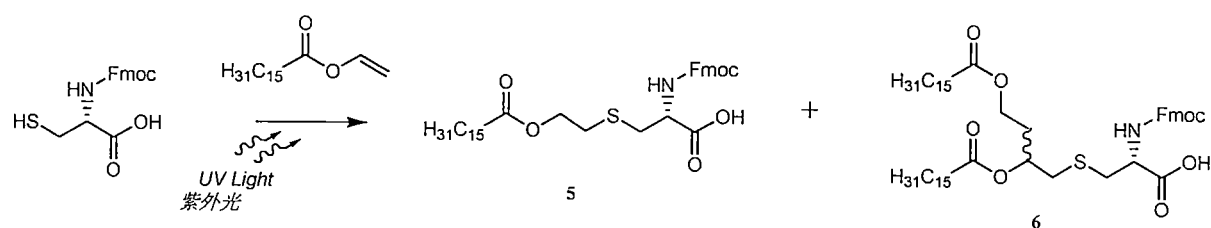
3. 實例3

【0871】 此實例展示經由硫醇烯反應製備本發明之胺基酸共軛物6。

3.1 方法

【0872】 在365奈米下輻照總體積為1毫升之由Fmoc-Cys-OH (3.4毫克，10微莫耳)、棕櫚酸乙烯酯 (141毫克，500微莫耳) 及DMPA (0.5毫克，2微莫耳) 溶入CH₂Cl₂ (約850微升) 中構成之溶液60分鐘，產生由作為主要組份之單棕櫚醯化Fmoc-Cys 5及作為次要組份之Fmoc-Cys 6組成之產物混合物 (m/z ESI, 908.5 [M+H]) (示意圖4)。溶劑蒸發後，每一組份可藉由在矽土上柱層析分離，首先用4:1己烷／乙酸乙酯洗提，然後切換為2:1己烷／乙酸乙酯，最後用1:1己烷／乙酸乙酯洗提。此產生5 (4.6毫克，75%) 及6 (0.9毫克，10%)。

示意圖4



【0873】 此合成方法很有用，因為起始材料廉價，反應可大規模進行，且產物相對容易分離。

【0874】 然而，至6之轉化（藉由HPLC）低，且反應機制決定了新形成之手性中心可能在新形成之手性中心處提供差向異構體之混合物。

4. 實例4

【0875】 此實例展示本發明之胺基酸共軛物6之合成。

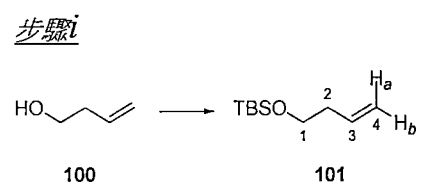
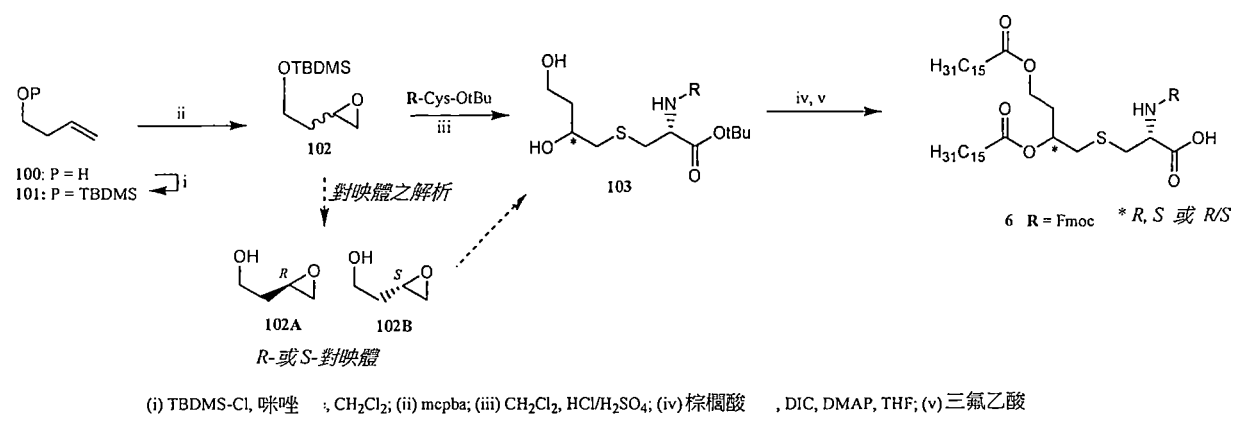
4.1 方法

【0876】 然後自容易獲得之3-丁烯醇進行化學合成，如示意圖5中所概示。

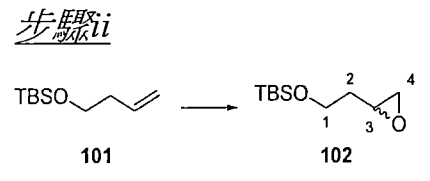
【0877】 藉由與具有期望保護基之受保護半胱胺酸反應，所產生之雙棕櫚醯化產物6可具有不同的N端保護基。

【0878】 環氧化物可分解（例如藉由動力水解：M. Tokunaga, J. F. Larrow, F. Kakiuchi, E. N. Jacobsen, *Science*, **1997**, 277, 936-938）而提供首選非對映異構體。

示意圖5



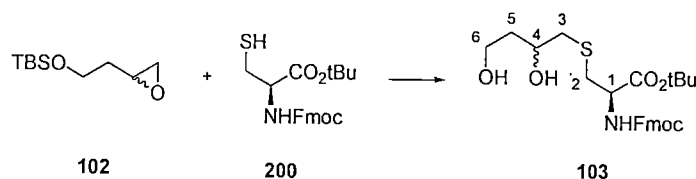
【0879】 向第三丁基二甲基氯矽烷(10.60克, 70毫莫耳)及咪唑(4.77克, 40毫莫耳)在CH₂Cl₂ (200毫升)中之室溫攪拌溶液中, 經10分鐘滴加3-丁烯-1-醇**100**(5.98毫升, 69毫莫耳)。將反應混合物在室溫下攪拌90分鐘。然後用Et₂O (150毫升)稀釋混合物並用水(3 × 100毫升)及鹽水(50毫升)洗滌。將有機層經無水MgSO₄乾燥並真空濃縮。藉由經由矽膠過濾純化粗製品, 得到無色液體**101** (11.99克, 91%)。



【0880】 室溫下攪拌烯烴**101** (2.00克, 10.74毫莫耳)在CH₂Cl₂ (10毫升)中之溶液。經30分鐘向攪拌溶液中滴加經無水Na₂SO₄乾燥之*m*CPBA (2.78克, 16.12毫莫耳)在CH₂Cl₂ (25毫升)中之溶液。將反應混合物在室溫下攪拌18小時。然後將混合物用Et₂O (70毫升)稀釋, 經由Celite®墊過濾並用飽和Na₂S₂O₃水溶液(30毫升)、2M NaOH水溶液(30毫升)及鹽水(30毫升)洗滌。將有機層經無水MgSO₄乾燥並真空濃縮。藉由快速柱

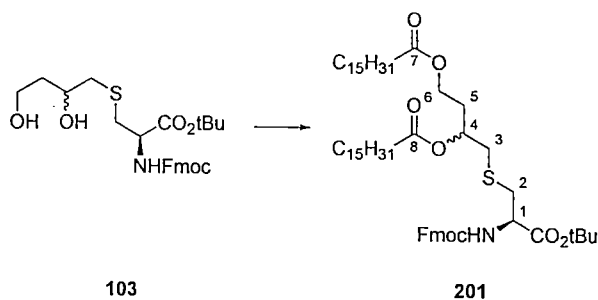
層析（石油醚-EtOAc，3:1）純化粗製品，得到無色油**102**（1.85克，85%）。

步驟iii



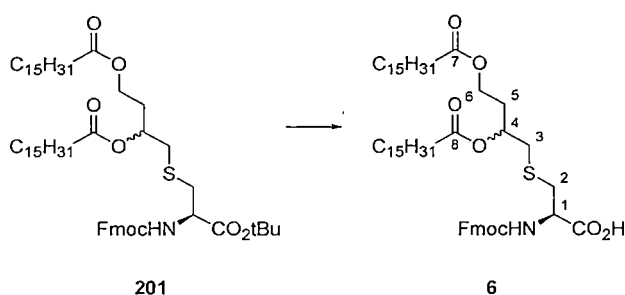
【0881】 在0°C下將硫醇**200**（0.53克，1.34毫莫耳）在CH₂Cl₂（4毫升）中及新鮮製備之甲醇、濃氫氯酸及濃硫酸之混合物（100:7:1，2毫升）中之溶液攪拌30分鐘。然後向混合物中加入環氧化物**102**，並將所得溶液在40°C下回流19小時。然後將混合物用CH₂Cl₂（30毫升）稀釋，經由Celite®墊過濾並用鹽水（30毫升）洗滌。將水層用CH₂Cl₂（3 × 30毫升）提取並將合併後之有機提取物經無水MgSO₄乾燥並真空濃縮。藉由快速柱層析（己烷-EtOAc，1:3）純化粗製品，得到無色油**103**（0.50克，77%）。

步驟iv



【0882】 向二醇**103**（0.327克，0.67毫莫耳）及棕櫚酸（0.516克，2.01毫莫耳）在THF（9毫升）之室溫攪拌溶液中加入二異丙基碳二亞胺（0.414毫升，2.68毫莫耳）及4-二甲基胺基吡啶（0.01克，0.07毫莫耳）。將反應混合物在室溫下攪拌19小時。將混合物用EtOAc（30毫升）稀釋，經由Celite®床過濾並真空濃縮。藉由快速柱層析（CH₂Cl₂）純化粗製品，得到黃色油**201**（0.301克，47%）。

步驟



【0883】 在室溫下將二酯**201**（0.35克，0.364毫莫耳）在三氟乙酸中之溶液攪拌1小時，之後真空濃縮混合物。藉由快速柱層析（己烷-EtOAc，9:1 → 0:1）純化粗製品，得到無色油**6**（0.33克，定量產率）。

【0884】 Fmoc-Cys-OH描述於以下文獻中：H.-K. Cui, Y. Guo, Y. He, F.-L. Wang, H.-H. Chang, Y. J. Wang, F.-M. Wu, C.-L. Tian, L. Lu, *Angew. Chem. Int. Eng.*, **2013**, 52(36), 9558-9562。

4.2 胺基酸共軛物**6**之分析

【0885】 藉由上文在4.1節中所述方法合成之胺基酸共軛物**6**具有與如實例3中所述藉由輻照Fmoc-半胱胺酸及棕櫚酸乙烯酯之溶液而獲得之**6**相同之分析特性（質譜相同）。

【0886】 雙棕櫚醯化Fmoc-Cys **6**之¹H NMR 譜顯示於圖5中。表徵資料如下：¹H NMR (400 Mhz, CDCl₃) δ 7.75 (2H, d, Fmoc Ar-H), 7.60 (2H, d, Fmoc Ar-H), 7.39 (2H, t, Fmoc Ar-H), 7.31 (2H, t, Fmoc Ar-H), 5.75 (1H, 寬d, NH), 5.06 (1H, m, H-2'), 4.66 (1H, m, H-1), 4.40 (2H, d, CH₂ (Fmoc)), 4.26 (1H, t, CH (Fmoc)), 4.11 (2H, m, H-4'), 3.13 (1H, 2x dd, H-2), 3.06 (1H, 2x dd, H-2), 2.76 (2H, m, H-1'), 2.28 (4H, m, H-1''), 2.03, (1H, m, H-3'), 1.94 (1H, m, H-3'), 1.59 (4H, m, H-2''), 1.24 (48H, m, 14xCH₂ (棕櫚醯基)), 0.88 (6H, t, 2xCH₃ (棕櫚醯基)). MS (ESI-TOF): *m/z* [M+H] 908.6065; C₅₄H₈₆NO₈S需要

[M+H] 908.6069。

4.3 對映體純環氧化物102A及102B之製備及用途

【0887】 非對映異構純胺基酸共軛物6可使用自對映異構純之起始材料以立體專一性方式生成之對映純環氧化物102A或對映純環氧化物102B製備。所得對映純環氧化物可與硫醇200以上文第4.1節步驟(iii)中所述類似之程序反應或與二硫化物804如下文所述反應，以提供對應之非對映異構純二醇103A或103B，然後可如本文中所述將其轉化為對應之非對映異構純共軛物6A或6B。

【0888】 對映純環氧化物102A及對映純環氧化物102B分別自L-天冬胺酸及D-天冬胺酸按照Volkman, R. A. et al. *J. Org. Chem.*, **1992**, *57*, 4352-4361中針對自L-天冬胺酸製備(R)-(2-羥乙基)呋烷(102A)所述之程序製備。

(S)-2-溴代琥珀酸

【0889】 向溴化鈉(15.46克, 150.24毫莫耳)在6N H₂SO₄(33毫升)中之0°C溶液中加入L-天冬胺酸(5.00克, 37.56毫莫耳)。經90分鐘向所得混合物中分批加入亞硝酸鈉(3.11克, 45.07毫莫耳)。再將反應混合物在0°C下攪拌2小時。然後用H₂O(17毫升)稀釋混合物並用Et₂O(100毫升)提取。水層用鹽水(20毫升)稀釋並再用Et₂O(3 × 100毫升)提取。經無水Na₂SO₄乾燥合併之有機提取物並真空濃縮，以得到白色固體標題化合物(2.98克, 41%)。粗製品不經進一步純化使用於隨後之合成步驟中。 $[\alpha]_D^{19.7}$ -71.5 (c 0.46, 在EtOAc中) (lit -73.5 (c 6.0, 在EtOAc中); δ_H (400 MHz; DMSO) 12.8 (2H, br s, 2 × CO₂H), 4.54 (1H, dd, *J* = 8.5, 6.4 Hz, H-1), 3.10 (1H, dd, *J* = 17.2,

8.6 Hz, H-2), 2.90 (1H, dd, $J = 17.1, 6.4$ Hz, H-2); δ_c (100 MHz; DMSO) 171.0 (C, CO₂H), 170.1 (C, CO₂H), 40.5 (CH, C-1), 39.5 (CH₂, C-2). 光譜資料與文獻中所報告一致。

(*R*)-2-溴代琥珀酸

【0890】 (*R*)-2-溴代琥珀酸按照上文針對(*S*)-2-溴代琥珀酸之製備所述之程序製備，但是使用D-天冬胺酸而非L-天冬胺酸。 $[\alpha]_D^{20.2} +66.5$ (c 0.2，在EtOAc中)。其餘之光譜資料與對於(*S*)-2-溴代琥珀酸所觀察到之光譜資料完全相同。

(*S*)-2-溴代-1,4-丁二醇

【0891】 經90分鐘向(*S*)-2-溴代琥珀酸(2.98克，15.20毫莫耳)在THF(35毫升)中之-78°C溶液中滴加BH₃•DMS錯合物(4.33毫升，45.61毫莫耳)。將反應在-78°C下攪拌2小時，然後升溫至室溫並再攪拌60小時。然後將反應冷卻至0°C並緩慢添加MeOH(15毫升)。然後真空濃縮混合物並用MeOH(15毫升)稀釋殘餘物。重複此過程3次，得到黃色油標題化合物(2.55克，定量產率)。粗製品不經進一步純化使用於後續合成步驟中。 $[\alpha]_D^{19.6} -36.8$ (c 0.5，在CHCl₃中); δ_H (400 MHz, CDCl₃) 4.34 (1H, dq, $J = 7.7, 5.3$ Hz, H-2), 3.92-3.78 (4H, m, H-1, H-4), 2.40 (2H, br s, 2 × OH), 2.20-2.06 (2H, m, H-3); δ_c (100 MHz; CDCl₃) 67.1 (CH₂, C-1), 60.1 (CH₂, C-4), 55.2 (CH, C-2), 37.8 (CH₂, C-3). 光譜資料與文獻中報告的一致。

(*R*)-2-溴代-1,4-丁二醇

【0892】 (*R*)-2-溴代-1,4-丁二醇按照上文所述用於製備(*S*)-2-溴代-1,4-丁二醇之程序製備，但是使用(*R*)-2-溴代琥珀酸而非(*S*)-2-溴代琥珀酸。

$[\alpha]_D^{21.3} +20.0$ (c 0.17, 在 CHCl_3 中)。其餘之光譜資料與對於(*S*)-2-溴代-1,4-丁二醇所觀察到之光譜資料完全相同。

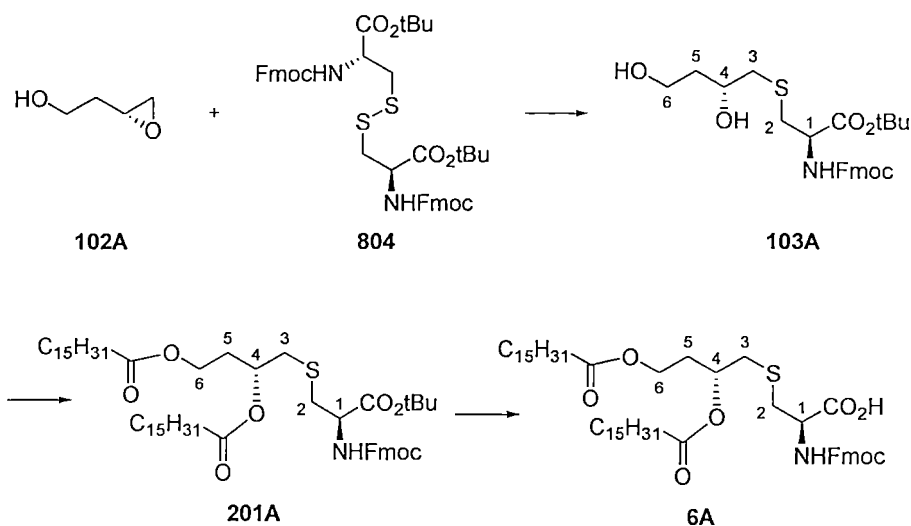
(*R*)-(2-羥乙基)呔烷 (102A)

【0893】 向(*S*)-2-溴代-1,4-丁二醇 (2.31克, 13.76毫莫耳) 在 CH_2Cl_2 (46毫升) 中之室溫溶液中添加 Cs_2CO_3 (8.74克, 24.77毫莫耳)。將所得混合物在室溫下攪拌72小時。然後經由Celite®墊過濾反應並真空濃縮, 得到定量轉化之黃色油標題化合物。粗製材料不經進一步純化使用於隨後之合成步驟中。 $[\alpha]_D^{22.9} +35.0$ (c 0.61 在 CHCl_3 中); δ_{H} (400 MHz; CDCl_3) 3.83-3.79 (2H, m, H-1), 3.12-3.08 (1H, m, H-3), 2.81 (1H, dd, $J = 4.8, 4.1$ Hz, H-4), 2.60 (1H, dd, $J = 4.8, 2.8$ Hz, H-4), 2.03-1.95 (1H, m, H-2), 1.78 (1H, t, $J = 5.4$ Hz, OH), 1.71 (1H, dq, $J = 14.6, 5.9$ Hz, H-2); δ_{C} (100 MHz; CDCl_3) 60.0 (CH_2 , C-1), 50.5 (CH, C-3), 46.5 (CH_2 , C-4), 34.6 (CH_2 , C-2). 光譜資料與文獻中所報告之一致。

(*S*)-(2-羥乙基)呔烷 (102B)

【0894】 (*S*)-(2-羥乙基)呔烷 (102B) 按照上文所述用於製備(*R*)-(2-羥乙基)呔烷 (102A) 之程序製備, 但是使用(*R*)-2-溴代-1,4-丁二醇而非(*S*)-2-溴代-1,4-丁二醇。 $[\alpha]_D^{22.9} -35.2$ (c 0.23, 在 CHCl_3 中)。其餘之光譜資料與對於(*S*)-2-溴代-1,4-丁二醇所觀察到之光譜資料完全相同。

非對映異構純6A之製備



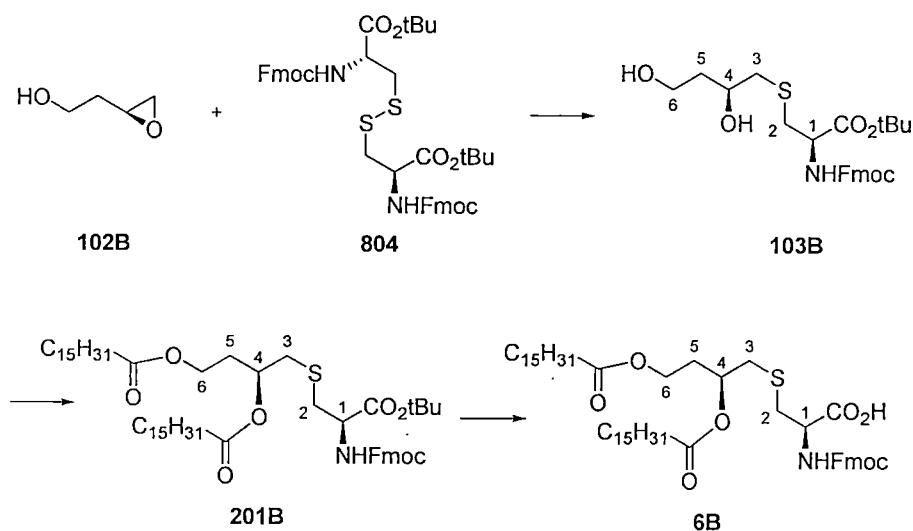
【0895】 向二硫化物**804** (1.59克, 2.06毫莫耳) 在 CH_2Cl_2 (10毫升) 中之 0°C 攪拌溶液中, 添加鋅粉末 (0.94克, 14.42毫莫耳) 及新鮮製備的甲醇、濃氫氯酸與濃硫酸之混合物 (100:7:1, 5毫升)。將所得混合物在 0°C 下攪拌30分鐘, 之後添加環氧化物**102A** (0.73克, 8.24毫莫耳)。將反應混合物在 55°C 下攪拌17小時。然後將反應混合物用 CH_2Cl_2 (30毫升) 稀釋, 經由Celite[®]墊過濾並用鹽水 (50毫升) 洗滌。水層用 CH_2Cl_2 (3×50 毫升) 提取, 並將合併之有機提取物經無水 MgSO_4 乾燥並真空濃縮。藉由快速柱層析 (己烷-EtOAc, 1:3) 純化粗製品, 得到無色油**103A** (1.72克, 88%)。

【0896】 R_f 0.15 (己烷-EtOAc 1:3); $[\alpha]_D^{20.2} -3.5$ (c 0.32, 在 CHCl_3 中); ν_{max} (純淨的)/ cm^{-1} 3347, 2976, 1703, 1518, 1449, 1413, 1369, 1335, 1249, 1151; δ_{H} (400 MHz; CDCl_3) 7.77 (2H, d, $J = 7.5$, FmocH), 7.61 (2H, d, $J = 7.2$ Hz, FmocH), 7.40 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, FmocH), 7.32 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, FmocH), 5.81 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, NH), 4.53-4.50 (1H, m, H-1), 4.40 (2H, d, $J = 6.8$ Hz, FmocCH₂), 4.23 (1H, t, $J = 7.0$ Hz, FmocCH), 3.94-3.88 (1H, m, H-4), 3.85-3.81 (2H, m, H-6), 3.03 (1H, dd, $J = 14.0, 4.2$ Hz, H-2), 2.94 (1H, dd, $J = 14.3, 6.1$ Hz, H-2), 2.82 (1H, dd, $J = 14.0, 2.9$ Hz, H-3), 2.56 (1H, dd, $J = 14.0, 9.0$ Hz, H-3), 1.74-1.71 (1H, m, H-5), 1.50 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); δ_{C} (100 MHz;

CDCl₃) 141.3 (C, Fmoc), 127.8 (CH, Fmoc), 127.1 (CH, Fmoc), 125.1 (CH, Fmoc), 120.0 (CH, Fmoc), 83.1 (C, C(CH₃)₃), 69.9 (CH, C-4), 67.2 (CH₂, FmocCH₂), 61.2 (CH₂, C-6), 54.7 (CH, C-1), 47.1 (CH, FmocCH), 41.2 (CH₂, C-3), 37.5 37.5 (CH₂, C-5), 35.7 (CH₂, C-2), 28.0 (3 × CH₃, C(CH₃)₃); **HRMS** (ESI⁺) [M + Na]⁺ 510.1921 C₂₆H₃₃NNaO₆S計算值 510.1921.

【0897】 然後按照與上文在第4.1節步驟iv及v中所述彼等程序類似之程序將非對映異構純二醇**103A**轉化至非對映異構純共軛物**6A**。

非對映異構純**6B**之製備



【0898】 向二硫化物**804** (2.01克, 2.53毫莫耳) 在CH₂Cl₂ (14毫升) 中之0℃攪拌溶液中, 添加鋅粉末 (1.15克, 17.51毫莫耳) 及新鮮製備的甲醇、濃氫氯酸與濃硫酸之混合物 (100:7:1, 7毫升)。將所得混合物在0℃下攪拌30分鐘, 之後添加環氧化物**102B** (0.89克, 10.11毫莫耳)。將反應混合物在55℃下攪拌17小時。然後將反應混合物用CH₂Cl₂ (30毫升) 稀釋, 經由Celite®墊過濾並用鹽水 (50毫升) 洗滌。水層用CH₂Cl₂ (3 × 50毫升) 提取, 並將合併之有機提取物經無水MgSO₄乾燥並真空濃縮。藉由快速柱層析 (己烷-EtOAc, 3:1) 純化粗製品, 得到無色油**103B** (2.17克, 88%)。

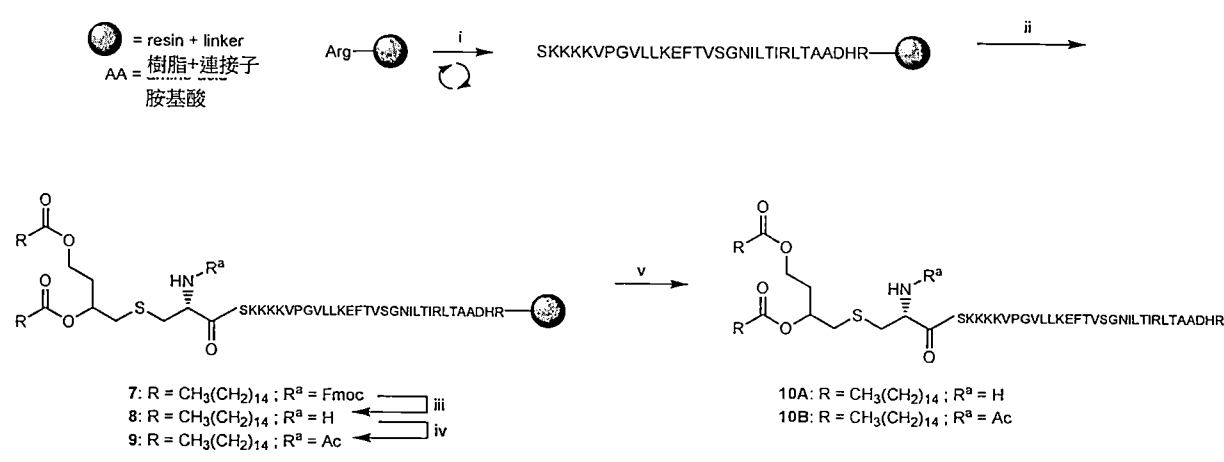
【0899】 R_f 0.15 (己烷-EtOAc 1:3); $[\alpha]_D^{22} +8.5$ (c 0.3, 在 $CHCl_3$ 中); ν_{max} (純淨的)/ cm^{-1} 3347, 2976, 1703, 1518, 1449, 1413, 1369, 1335, 1249, 1151; δ_H (400 MHz; $CDCl_3$) 7.77 (2H, d, $J = 7.5$ Hz, FmocH), 7.61 (2H, d, $J = 7.4$ Hz, FmocH), 7.40 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, FmocH), 7.32 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, FmocH), 5.74 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, NH), 4.51-4.47 (1H, m, H-1), 4.42-4.39 (2H, m, FmocCH₂), 4.24 (1H, t, $J = 7.0$ Hz, FmocCH), 3.93 (1H, br s, H-4), 3.85-3.81 (2H, m, H-6), 3.31 (1H, br s, OH-4), 3.00-2.78 (2H, m, H-2), 2.80 (1H, dd, $J = 13.5, 3.2$ Hz, H-3), 2.55 (1H, dd, $J = 13.8, 8.4$ Hz, H-3), 2.36 (1H, br s, OH-6), 1.73 (2H, q, $J = 5.3$, H-5), 1.50 (9H, s, $C(CH_3)_3$); δ_C (100 MHz; $CDCl_3$) 141.3 (C, Fmoc), 127.8 (CH, Fmoc), 127.1 (CH, Fmoc), 125.1 (CH, Fmoc), 120.0 (CH, Fmoc), 83.1 (C, $C(CH_3)_3$), 69.9 (CH, C-4), 67.2 (CH₂, FmocCH₂), 61.2 (CH₂, C-6), 54.7 (CH, C-1), 47.1 (CH, FmocCH), 41.2 (CH₂, C-3), 37.5 37.5 (CH₂, C-5), 35.7 (CH₂, C-2), 28.0 (3 \times CH₃, $C(CH_3)_3$); **HRMS** (ESI+) $[M + Na]^+$ 510.1921 $C_{26}H_{33}NNaO_6S$ 計算值 510.1921.

【0900】 然後按照與上文在第4.1節步驟iv及v中所述彼等程序類似之程序將非對映異構純二醇**103B**轉化至非對映異構純共軛物**6B**。

5. 實例

【0901】 如下面所述及所繪示使用**6**製備包含肽序列 SKKKKVPGVLLKEFTVSGNILTIRLTAAADHR [SEQ ID No: 112]之本發明之肽共軛物**10A**及**10B**(示意圖6)。

示意圖6



(i) 重複Fmoc-SPPS ; (ii) 雙棕櫚醯化Fmoc-Cys-OH **6**, PyBOP, 柯林鹼, DMF ; (iii) 20%哌啶 / DMF ; (iv) Ac₂O / NMM, DMF ; (v) TFA / EDT.

【0902】 所期望之肽序列使用如先前所述標準重複Fmoc SPPS技術合成。

【0903】 偶合倒數第二個胺基酸殘基後，然後使用在DMF中之PyBOP（苯並三唑-1-基-氧-三吡咯啶並磷六氟磷酸鹽）及柯林鹼用胺基酸共軛物**6**衍生化結合樹脂之肽鏈。用於胺基酸共軛物之偶合之條件降低該胺基酸之α-碳在活化時差向異構之傾向。胺基酸共軛物（0.075毫莫耳）與PyBOP（0.1毫莫耳）合並且溶於DMF（0.3毫升）中。添加純淨之2,4,6-三甲基吡啶（0.1毫莫耳）。混合30秒後，將溶液轉移至0.025毫莫耳之樹脂中，然後搖動90分鐘，排乾並洗滌（DMF）。

【0904】 然後使用在DMF中之20%哌啶移除Fmoc基團以提供**8**。

【0905】 然後藉由用在DMF（2毫升）中之20%乙酸酐與4-甲基嗎啉（1毫莫耳）之混合物將肽**8**轉化至對應之乙醯胺**9**。

【0906】 或者，將肽**8**自樹脂裂解，以提供對應之肽共軛物**10A**。在室溫下將在含有5%（v/v）乙二硫醇之1毫升三氟乙酸中之樹脂（0.015毫莫耳）搖動3小時。然後將上清液經由燒結礦排入冷凍二乙醚（10毫升）中。

然後再用1毫升TFA洗滌樹脂，亦將其添加至醚中。藉由離心將沉澱之材料丸粒化並用醚（5毫升）洗滌丸粒一次，然後溶於1:1 MeCN／水（+0.1%tfa）中並凍乾。

【0907】 使用相同程序將肽9自樹脂裂解。

【0908】 使用Phenomenex Gemini C18（5 μ ，110埃）10x250毫米柱用溶析液A及溶析液B藉由半製備HPLC進行10A及10B之純化，溶析液A為水（+0.1%tfa），溶析液B為MeCN（+0.1%tfa）。將粗製肽試樣注入柱後，產生經30分鐘5%B至95%B之梯度，流速為4毫升／分鐘，並且將期望之產物材料在自柱洗提出時收集並冷凍乾燥。

【0909】 10A: m/z (ESI) 1363.8 [M+3H⁺]. HPLC 分析：柱：Phenomenex Proteo C12（4 μ ，90埃，4.6 x 250毫米）；溶析液A，水／0.1%TFA；溶析液B：MeCN／0.1%TFA；梯度：5-95%B，經30分鐘 @ 1毫升／分鐘。保留時間：23.4分鐘。

【0910】 10B: m/z (ESI) 1377.7 [M+3H⁺]. HPLC 分析：柱：Phenomenex Proteo C12（4 μ ，90埃，4.6 x 250毫米）；溶析液A，水／0.1%TFA；溶析液B：MeCN／0.1%TFA；梯度：5-95%B，經30分鐘 @ 1毫升／分鐘。保留時間：25.2分鐘。

6. 實例6

【0911】 如下表2中所概述，在各種不同條件下按照以下一般程序進行肽1與棕櫚酸乙烯酯之硫醇烯反應。

6.1 肽1之合成

【0912】 如下所述製備肽1。

【0913】 使胺基甲基聚苯乙烯樹脂（100毫克，0.1毫莫耳，負荷1.0毫莫耳／克）與Fmoc-Val-HMPP（HMPP = 羥甲基苯氧基乙酸）（105毫克，0.2毫莫耳）及DIC（31微升，0.2毫莫耳）在二氯甲烷與DMF之混合物（2毫升，1.9:0.1 v/v）中在室溫下反應1小時。偶合之結束使用卡瑟測試（Kaiser test）監測，並且在偶合不徹底時用新鮮製備之試劑重複偶合程序。肽序列其餘部分之固相肽合成使用Tribute肽合成儀（Protein technologies Inc.）進行，對於每一偶合步驟係使用HATU／DIPEA在室溫下進行40分鐘，且對於每一Fmoc去保護步驟使用在DMF中之20%哌啶溶液（v/v）在室溫下以5分鐘重複進行兩次。

【0914】 在合成肽序列後，使用在DMF（v/v）中之20%乙酸酐溶液及DIPEA（0.25毫升）在室溫下15分鐘完成N端乙醯化。

【0915】 藉由在室溫下用TFA／TIPS／H₂O／DODT（10毫升，94:1:2.5:2.5 v/v/v/v）處理2小時裂解樹脂結合肽。用氮氣流蒸發TFA後，在冷二乙醚中沉澱肽，藉由離心分離，用冷二乙醚洗滌兩次，溶於含有0.1% TFA之乙腈:水（1:1, v/v）中，並凍乾以提供粗製肽。

【0916】 藉由RP-HPLC使用半製備Gemini C-18柱（phenomenex, 5 μ 10.0 x 250毫米）進行純化得到肽1（74毫克，43%，以0.1毫莫耳規模計），[(M+2H)²⁺，計算值858.5，實測值858.6 Da]。

6.2 硫醇烯反應之一般程序

【0917】 儲液1：在脫氣N-甲基-2-吡咯啉酮（0.5毫升）中之DMPA（6.5毫克，25.3微莫耳）。

【0918】 儲液2：在脫氣N-甲基-2-吡咯啉酮中之棕櫚酸乙烯酯（需要

的濃度)

【0919】 將肽1 (1.71毫克, 1.0微莫耳) 溶於儲液1 (10微升, 0.5微莫耳) 中, 隨後添加第三丁基硫醇及/或三異丙基矽烷、以及三氟乙酸 (5% v/v) 及儲液2。在室溫下使用紫外燈以365奈米之波長輻照反應混合物, 之後以30分鐘之間隔移取試樣進行LC-MS分析。藉由用Milli-Q水淬滅製備分析試樣並使用Gemini C-18柱 (Phenomenex, 5 μ 4.6 x 150毫米) 進行分析。

表3：使用DMPA^b作為自由基引發劑在NMP^a中進行肽10與棕櫚酸乙烯酯1之共軛

條目	棕櫚酸乙烯酯 ^c 1 (當量)	^t BuSH ^c (當量)	TIPS ^c (當量)	轉化 ^f (%)	產物 ^f
1	7	0	0	58	2 (84%) 3 (16%)
2	7	3	0	69	2 (97%) 3 (3%)
3	70	3	0	84	2 (65%) 3 (35%)
4	70	80	0	93	2 (76%) 3 (24%)
5	70	80	40	94	2 (88%) 3 (12%)
6	70	40	40	88	2 (95%) 3 (5%)
7	70	80	80	94	2 (95%) ^g 3 (5%)
8	70	0	80	78	2 (67%) 3 (33%)
9	7	80	80	60	2 (98%) 3 (2%)
10	20	80	80	81	2 (>99%) 3 (<1%)
11	35	80	80	92	2 (97%) 3 (3%)
12	100	80	80	90	2 (95%) 3 (5%)
13 ^d	70	80	80	26	2 (>99%) 3 (<1%)

14 ^e	70	80	80	91	2 (96%) 3 (4%)
-----------------	----	----	----	----	-------------------

^a 30分鐘反應時間，5% TFA／最終反應體積；^b 相對於肽1為0.5莫耳當量；^c 相對於肽1之莫耳當量；^d 二甲基亞碲作為溶劑；^e *N,N'*-二甲基甲醯胺作為溶劑；^f 肽1、單加合物2及雙加合物3之轉化係基於在210奈米下對應之峰在RP-HPLC圖形上之整合。2及3之相對量以百分比形式引述；^g RP-HPLC純化後72%之分離產率。

7. 實例7

【0920】 此實例展示了自各種起始材料合成本發明之胺基酸共軛物。

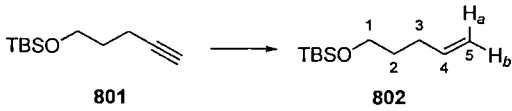
7.1 自醇800合成胺基酸共軛物806

步驟i



【0921】 向4-戊炔-1-醇800（5毫升，53.72毫莫耳）在CH₂Cl₂（150毫升）中之室溫攪拌溶液中，添加咪唑（3.66克，53.72毫莫耳）及第三丁基二甲基氯矽烷（8.10克，53.72毫莫耳）。將反應混合物在室溫下攪拌24小時。然後用Et₂O（200毫升）稀釋混合物並用水（3 × 100毫升）及鹽水（100毫升）洗滌。將有機層經無水Na₂SO₄乾燥並真空濃縮。藉由經由矽膠過濾純化粗製品，得到無色液體標題化合物801（10.64克，定量產率）。炔烴801不經表徵使用於隨後合成步驟中。

步驟ii



【0922】 向炔烴**801** (14.08克, 70.00毫莫耳) 在己烷 (150毫升) 中之室溫攪拌溶液中添加喹啉 (11.75毫升, 100.00毫莫耳) 及林德拉催化劑 (Lindlar's catalyst) (1.408克)。將反應混合物連接至充滿H₂之球形大燒瓶 (1大氣壓) 並且在室溫下攪拌5小時。然後將混合物經由Celite®墊過濾並真空濃縮。藉由快速柱層析 (石油醚-EtOAc, 9:1) 純化粗製品, 得到無色液體標題化合物**802** (14.09克, 99%)。

【0923】 R_f 0.88 (石油醚-EtOAc 9:1); δ_H (400 MHz; $CDCl_3$) 5.82 (1H, ddt, $J = 17.0, 10.2, 6.7$ Hz, H-4), 5.02 (1H, d, $J = 17.1$ Hz, H_a -5), 4.95 (1H, d, $J = 10.4$ Hz, H_b -5), 3.62 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, H-1), 2.10 (2H, q, $J = 7.2$ Hz, H-3), 1.61 (2H, p, $J = 7.0$ Hz, H-2), 0.90 (9H, s, $SiC(CH_3)_3$), 0.05 (6H, s, $Si(CH_3)_2$); δ_C (100 MHz; $CDCl_3$) 138.6 (CH, C-4), 114.5 (CH_2 , C-5), 62.6 (CH_2 , C-1), 32.0 (CH_2 , C-2), 30.5 (CH_2 , C-3), 26.0 ($3 \times CH_3$, $SiC(CH_3)_3$), 18.4 (C, $SiC(CH_3)_3$), -5.3 ($2 \times CH_3$, $Si(CH_3)_2$). 光譜資料與文獻中所報告一致。

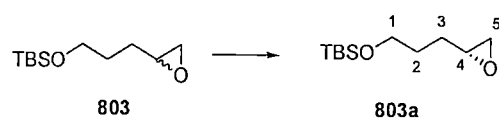


【0924】 向烯烴**802**（8.646克，43.16毫莫耳）在CH₂Cl₂（100毫升）中之室溫攪拌溶液中添加*m*CPBA（8.191克，47.47毫莫耳）。將反應混合物在室溫下攪拌15小時。然後將混合物經由Celite®過濾，用Et₂O（100毫升）稀釋並用飽和NaHCO₃水溶液（3 × 100毫升）及鹽水（100毫升）洗滌。將有機層經無水Na₂SO₄乾燥並真空濃縮。藉由快速柱層析（石油醚-EtOAc，9:1）純化粗製品，得到無色液體**標題化合物803**（8.09克，87%）。

【0925】 R_f 0.51 (石油醚-EtOAc 9:1); δ_H (400 MHz; $CDCl_3$) 3.70-3.60

(2H, m, H-1), 2.96-2.92 (1H, m, H-4), 2.75 (1H, dd, $J = 5.0, 4.0$ Hz, H-5), 2.47 (1H, dd, $J = 5.0, 2.8$ Hz, H-5), 1.73-1.53 (4H, m, H-2, H-3), 0.89 (9H, s, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.04 (6H, s, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); δ_{C} (100 MHz; CDCl_3) 62.7 (CH_2 , C-1), 52.2 (CH , C-4), 47.1 (CH_2 , C-5), 29.1 (CH_2 , C-2), 29.0 (CH_2 , C-3), 25.9 ($3 \times \text{CH}_3$, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.3 (C, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), -5.3 ($2 \times \text{CH}_3$, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$). 光譜資料與文獻中所報告一致。

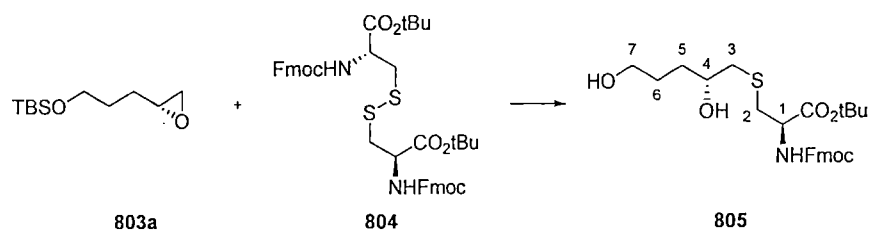
步驟iv



【0926】 向外消旋環氧化物 **803** (8.272 克, 38.24 毫莫耳)、 (R,R) -(+)- N,N' -雙(3,5-二-第三丁基亞水楊基)-1,2-環己烷二胺基鈷(II) (0.121 克, 0.19 毫莫耳) 及冰乙酸 (0.04 毫升, 0.76 毫莫耳) 在 THF (0.35 毫升) 中之 0°C 攪拌溶液中滴加水 (0.38 毫升)。將反應混合物在室溫下攪拌 48 小時。然後將混合物真空濃縮。藉由快速柱層析 (石油醚-EtOAc, 9:1) 純化粗製品, 得到黃色油標題化合物 **803a** (4.12 克, 49%)。

【0927】 R_f 0.51 (石油醚-EtOAc 9:1); $[\alpha]_{\text{D}}^{21.4} +4.65$ (c 1.15, 在 CHCl_3 中); δ_{H} (400 MHz; CDCl_3) 3.70-3.60 (2H, m, H-1), 2.96-2.92 (1H, m, H-4), 2.75 (1H, dd, $J = 5.0, 4.0$ Hz, H-5), 2.47 (1H, dd, $J = 5.0, 2.8$ Hz, H-5), 1.73-1.53 (4H, m, H-2, H-3), 0.89 (9H, s, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.04 (6H, s, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); δ_{C} (100 MHz; CDCl_3) 62.7 (CH_2 , C-1), 52.2 (CH , C-4), 47.1 (CH_2 , C-5), 29.1 (CH_2 , C-2), 29.0 (CH_2 , C-3), 25.9 ($3 \times \text{CH}_3$, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.3 (C, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), -5.3 ($2 \times \text{CH}_3$, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$). 光譜資料與文獻中所報告一致。

步驟v

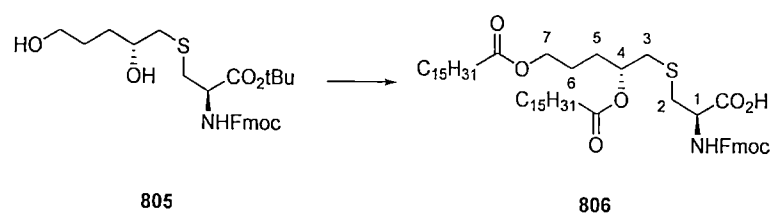


【0928】 向商購二硫化物**804**（0.751克，0.94毫莫耳）在CH₂Cl₂（5毫升）中之0℃攪拌溶液中添加鋅粉（0.508克，7.78毫莫耳）及新鮮製備之甲醇、濃氫氯酸與濃硫酸之混合物（100:7:1，2毫升）。將所得反應混合物在0℃下攪拌30分鐘。然後將混合物在65℃下攪拌5分鐘，之後添加環化合物**803a**（0.839克，3.88毫莫耳）。將反應混合物在65℃下攪拌19小時。然後將混合物用EtOAc（50毫升）稀釋，經由Celite®墊過濾並用鹽水（50毫升）洗滌。用EtOAc（3 × 50毫升）提取水層，並將合併之有機提取物經無水Na₂SO₄乾燥並真空濃縮。藉由快速柱層析（己烷-EtOAc，1:3）純化粗製品，得到無色油標題化合物**805**（0.568克，60%）。

【0929】 R_f 0.34 (己烷-EtOAc 1:3); [α]_D^{21.0} -26.7 (c 0.03，在CHCl₃中); ν_{max}(純淨的)/cm⁻¹ 3321, 2931, 1706, 1532, 1450, 1369, 1248, 1152, 1050; δ_H (400 MHz; CHCl₃) 7.76 (2H, d, *J* = 7.5 Hz, FmocH), 7.61 (2H, d, *J* = 7.2 Hz, FmocH), 7.40 (2H, t, *J* = 7.4 Hz, FmocH), 7.31 (2H, t, *J* = 7.4 Hz, FmocH), 5.90 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, NH), 4.51 (1H, dd, *J* = 12.3, 5.2 Hz, H-1), 4.39 (2H, d, *J* = 7.1 Hz, FmocCH₂), 4.23 (1H, t, *J* = 7.1 Hz, FmocCH), 3.73-3.58 (3H, m, H-4, H-7), 3.03 (1H, dd, *J* = 13.9, 4.4 Hz, H-2), 2.95 (1H, dd, *J* = 13.9, 5.7 Hz, H-2), 2.80 (1H, dd, *J* = 13.6, 2.9 Hz, H-3), 2.53 (1H, dd, *J* = 13.6, 8.9 Hz, H-3), 1.72-1.61 (4H, m, H-5, H-6), 1.49 (9H, s, C(CH₃)₃); δ_C (100 MHz; CHCl₃) 169.8 (C, CO₂tBu), 156.1 (C, FmocCO), 143.9 (C, Fmoc), 141.1 (C, Fmoc), 127.9 (CH, Fmoc), 127.2 (CH, Fmoc), 125.3 (CH, Fmoc), 120.1 (CH, Fmoc),

83.2 (C, C(CH₃)₃), 70.1 (CH, C-4), 67.3 (CH₂, FmocCH₂), 62.8 (CH₂, C-7), 54.7 (CH, C-1), 47.2 (CH, FmocCH), 41.2 (CH₂, C-3), 35.5 (CH₂, C-2), 33.4 (CH₂, C-5), 29.2 (CH₂, C-6), 28.1 (3 × CH₃, C(CH₃)₃); **HRMS** (ESI+) [M + Na]⁺ 524.2077 C₂₇H₃₅NNaO₆S之計算值 524.2075.

步驟vi



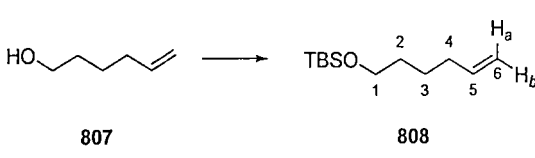
【0930】 向二醇**805** (0.114克, 0.243毫莫耳) 及棕櫚酸 (0.18克, 0.702毫莫耳) 在THF (3毫升) 中之室溫攪拌溶液中添加*N,N'*-二異丙基碳化二亞胺 (0.145克, 0.936毫莫耳) 及4-二甲基胺基吡啶 (0.011克, 0.094毫莫耳)。將所得反應混合物在室溫下攪拌17小時。然後將混合物經由Celite®墊過濾、用EtOAc (30毫升) 稀釋、用1M檸檬酸 (30毫升) 及鹽水 (30毫升) 洗滌並真空濃縮。然後將殘餘物再次溶解於TFA (3毫升) 中並於室溫下攪拌45分鐘。再次真空濃縮反應混合物。藉由快速柱層析(己烷-EtOAc, 9:1 → 0:1) 純化粗製品, 得到無色油 標題化合物**806** (0.220克, 98%)。

【0931】 *R*_f 0.15 (石油醚-EtOAc 1:1); [*α*]_D^{21.3} +10.0 (c 0.08, 在CHCl₃ 中); *v*_{max}(純淨的)/cm⁻¹ 2919, 2851, 1723, 1521, 1521, 1221, 1108, 1054; *δ*_H (400 MHz; CHCl₃) 7.76 (2H, d, *J* = 7.5 Hz, FmocH), 7.62 (2H, d, *J* = 7.4 Hz, FmocH), 7.39 (2H, t, *J* = 7.4 Hz, FmocH), 7.30 (2H, td, *J* = 11.2, 0.9 Hz, FmocH), 5.78 (1H, d, *J* = 7.6 Hz, NH), 5.04-4.95 (1H, m, H-4), 4.60 (1H, dd, *J* = 12.2, 5.2 Hz, H-1), 4.38 (2H, d, *J* = 7.2 Hz, FmocCH₂), 4.24 (2H, t, *J* = 7.1 Hz, FmocCH), 4.13-3.99 (2H, m, H-7), 3.16 (1H, dd, *J* = 13.9, 4.5 Hz, H-2), 3.04

(1H, dd, $J = 14.0, 5.3$ Hz, H-2), 2.78-2.70 (2H, m, H-3), 2.34-2.25 (4H, m, $2 \times$ PamCH_{2 α} 烷基), 1.74-1.56 (8H, m, $2 \times$ PamCH_{2 β} 烷基, H-5, H-6), 1.32-1.22 (48H, m, $24 \times$ PamCH₂烷基), 0.88 (6H, t, $J = 6.9$ Hz, $2 \times$ PamCH₃烷基); δ_c (100 MHz; CHCl₃) 174.3 (C, CO₂H), 174.0 (C, PamCO₂), 173.5 (C, PamCO₂), 156.0 (C, FmocCO), 143.7 (C, Fmoc), 141.3 (C, Fmoc), 127.8 (CH, Fmoc), 127.1 (CH, Fmoc), 121.2 (CH, Fmoc), 120.0 (CH, Fmoc), 72.1 (CH, C-4), 67.5 (CH₂, FmocCH₂), 63.8 (CH₂, C-7), 53.6 (CH, C-1), 47.1 (CH, FmocCH), 36.5 (CH₂, C-3), 34.6 (CH₂, PamCH_{2 α} 烷基), 34.5 (CH₂, PamCH_{2 α} 烷基), 34.3 (CH₂, C-2), 31.9 ($2 \times$ CH₂, PamCH₂烷基), 29.7-29.2 ($21 \times$ CH₂, PamCH₂烷基, C-5), 25.0 ($2 \times$ CH₂, PamCH_{2 β} 烷基), 24.6 (CH₂, C-6), 22.7 ($2 \times$ CH₂, PamCH₂烷基), 14.1 ($2 \times$ CH₃, PamCH₃ 烷基); **HRMS** (ESI+) $[M + Na]^+$ 944.6045 C₅₅H₈₇NNaO₈S之計算值 944.6028.

7.1.2 自醇807合成胺基酸共軛物811

步驟i

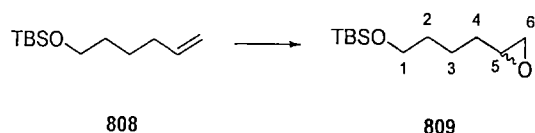


【0932】 向5-己烯-1-醇807 (5.00毫升, 41.64毫莫耳) 在CH₂Cl₂ (150毫升) 中之室溫攪拌溶液中, 添加咪唑 (2.86克, 43.06毫莫耳) 及第三丁基二甲基氯矽烷 (6.34克, 42.06毫莫耳)。將反應混合物在室溫下攪拌19小時。然後用EtOAc (400毫升) 稀釋混合物, 用水 (200毫升) 及鹽水 (200毫升) 洗滌, 經無水Na₂SO₄乾燥並真空濃縮。藉由快速柱層析 (石油醚) 純化粗製品, 得到無色油標題化合物808 (8.846克, 定量產率)。

【0933】 R_f 0.90 (石油醚-EtOAc 9:1); δ_H (400 MHz; CDCl₃) 5.81 (1H,

ddt, $J = 17.1, 10.1, 6.7$ Hz, H-5), 5.00 (1H, dq, $J = 17.2, 1.7$ Hz, H_a-6), 4.94 (1H, d, $J = 10.5$ Hz, H_b-6), 3.61 (2H, t, $J = 6.2$ Hz, H-1), 2.06 (2H, q, $J = 7.1$ Hz, H-4), 1.59-1.50 (2H, m, H-2), 1.47-1.39 (2H, m, H-3), 0.89 (9H, s, SiC(CH₃)₃), 0.05 (6H, s, Si(CH₃)₂); δ_c (100 MHz; CDCl₃) 139.0 (CH, C-5), 114.3 (CH₂, C-6), 63.1 (CH₂, C-1), 33.5 (CH₂, C-4), 32.3 (CH₂, C-2), 26.0 (3 \times CH₃, SiC(CH₃)₃), 25.2 (CH₂, C-3), 18.4 (C, SiC(CH₃)₃), -5.3 (2 \times CH₃, Si(CH₃)₂). 光譜資料與文獻中所報告一致。

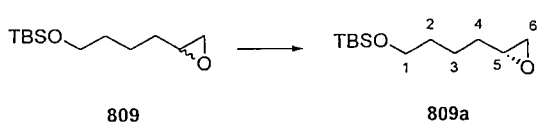
步驟ii



【0934】 向烯烴**808** (7.58克, 35.35毫莫耳) 在CH₂Cl₂ (150毫升) 中之室溫攪拌溶液中分批添加*m*CPBA (9.15克, 53.05毫莫耳)。將反應混合物在室溫下攪拌18小時。然後用Et₂O (200毫升) 稀釋混合物, 經由Celite®過濾, 用2M NaOH水溶液 (200毫升) 及鹽水 (200毫升) 洗滌, 經無水Na₂SO₄乾燥並真空濃縮。藉由快速柱層析 (石油醚-EtOAc, 9:1) 純化粗製品, 得到無色油標題化合物**809** (6.91克, 85%)。

【0935】 R_f 0.60 (石油醚-EtOAc 9:1); δ_H (400 MHz; CDCl₃) 3.61 (2H, t, $J = 6.0$ Hz, H-1), 2.93-2.88 (2H, m, H-5), 2.74 (1H, dd, $J = 5.0, 4.0$ Hz, H-6), 2.46 (1H, dd, $J = 5.0, 3.0$ Hz, H-6), 1.63-1.46 (6H, m, H-2, H-3, H-4), 0.89 (9H, s, SiC(CH₃)₃), 0.04 (6H, s, Si(CH₃)₂); δ_c (100 MHz; CDCl₃) 63.0 (CH₂, C-1), 52.3 (CH, C-5), 47.1 (CH₂, C-6), 32.6 (CH₂, C-4), 32.3 (CH₂, C-2), 26.0 (3 \times CH₃, SiC(CH₃)₃), 22.3 (CH₂, C-3), 18.4 (C, SiC(CH₃)₃), -5.3 (2 \times CH₃, Si(CH₃)₂). 光譜資料與文獻中所報告一致。

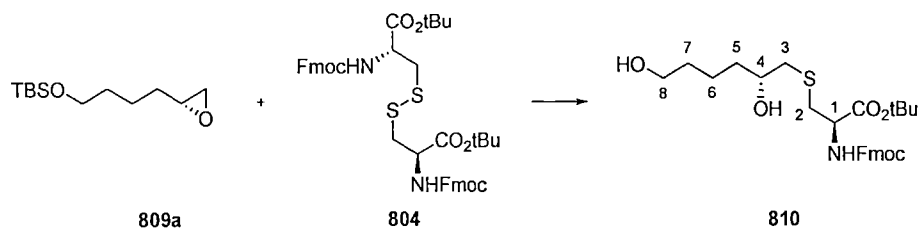
步驟iii



【0936】 向外消旋環氧化物 **809** (5.887 克 , 25.56 毫莫耳) 、
(*R,R*)-(+)-*N,N'*-雙(3,5-二-第三丁基亞水楊基)-1,2-環己烷二胺基鈷(II) (0.083
克 , 0.13毫莫耳) 及冰乙酸 (0.03毫升 , 0.51毫莫耳) 在THF (0.3毫升) 中
之0℃攪拌溶液中滴加水 (0.253毫升) 。將反應混合物在室溫下攪拌48小時。
然後真空濃縮混合物。藉由快速柱層析 (石油醚-EtOAc , 9:1) 純化粗製品 ,
得到黃色油標題化合物**809a** (2.913克 , 49%) 。

【0937】 R_f 0.60 (石油醚-EtOAc 9:1); $[\alpha]_D^{20.4} +5.0$ (c 0.02 , 在CHCl₃
中); δ_H (400 MHz; CDCl₃) 3.61 (2H, t, $J = 6.0$ Hz, H-1), 2.93-2.88 (2H, m,
H-5), 2.74 (1H, dd, $J = 5.0, 4.0$ Hz, H-6), 2.46 (1H, dd, $J = 5.0, 3.0$ Hz, H-6),
1.63-1.46 (6H, m, H-2, H-3, H-4), 0.89 (9H, s, SiC(CH₃)₃), 0.04 (6H, s,
Si(CH₃)₂); δ_C (100 MHz; CDCl₃) 63.0 (CH₂, C-1), 52.3 (CH, C-5), 47.1 (CH₂,
C-6), 32.6 (CH₂, C-4), 32.3 (CH₂, C-2), 26.0 (3 \times CH₃, SiC(CH₃)₃), 22.3 (CH₂,
C-3), 18.4 (C, SiC(CH₃)₃), -5.3 (2 \times CH₃, Si(CH₃)₂). 光譜資料與文獻中所報
告一致。

步驟iv

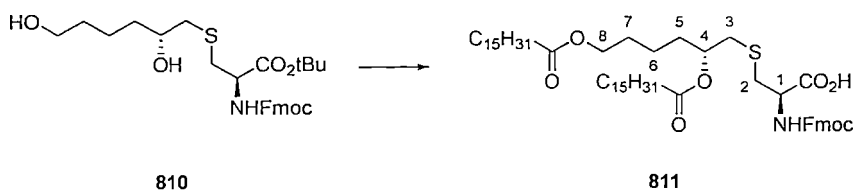


【0938】 向二硫化物**804** (0.500克 , 0.649毫莫耳) 在CH₂Cl₂ (5毫升)
中之0℃攪拌溶液中添加鋅粉 (0.300克 , 4.54毫莫耳) 及新鮮製備之甲醇、

濃氫氯酸與濃硫酸之混合物 (100:7:1, 2毫升)。將所得反應混合物在0°C下攪拌30分鐘。然後將混合物在65°C下攪拌5分鐘, 之後添加環氧化物**809a** (0.600克, 2.60毫莫耳)。將反應混合物在65°C下攪拌19小時。然後將混合物用EtOAc (50毫升) 稀釋, 經由Celite®墊過濾並用鹽水 (50毫升) 洗滌。用EtOAc (3 × 50毫升) 提取水層, 並將合併之有機提取物經無水Na₂SO₄乾燥並真空濃縮。藉由快速柱層析 (己烷-EtOAc, 4:1 → 1:3) 純化粗製品, 得到無色油標題化合物**810** (0.553克, 83%)。

【0939】 R_f 0.39 (己烷-EtOAc 1:3); $[\alpha]_D^{21.2}$ -25.0 (c 0.07 在CHCl₃中); ν_{\max} (純淨的)/cm⁻¹ 3343, 2934, 2862, 1705, 1513, 1450, 1369, 1344, 1248, 1152; δ_H (400 MHz; CHCl₃) 7.76 (2H, d, J = 7.5 Hz, FmocH), 7.61 (2H, d, J = 7.0 Hz, FmocH), 7.40 (2H, t, J = 7.4 Hz, FmocH), 7.30 (2H, td, J = 11.2, 1.1 Hz, FmocH), 5.88 (1H, d, J = 7.8 Hz, NH), 4.52 (1H, dd, J = 12.5, 5.2 Hz, H-1), 4.39 (2H, d, J = 8.1 Hz, FmocCH₂), 4.23 (1H, t, J = 7.1 Hz, FmocCH), 3.70-3.59 (3H, m, H-4, H-8), 3.03 (1H, dd, J = 13.7, 4.7 Hz, H-2), 2.94 (1H, dd, J = 13.7, 5.4 Hz, H-2), 2.80 (1H, dd, J = 13.6, 3.4 Hz, H-3), 2.51 (1H, dd, J = 13.4, 8.7 Hz, H-3), 1.60-1.38 (15H, m, H-5, H-6, H-7, C(CH₃)₃); δ_C (100 MHz; CHCl₃) 169.7 (C, CO₂tBu), 156.0 (C, FmocCO), 143.8 (C, Fmoc), 141.3 (C, Fmoc), 127.8 (CH, Fmoc), 127.1 (CH, Fmoc), 125.2 (CH, Fmoc), 120.0 (CH, Fmoc), 83.1 (C, C(CH₃)₃), 69.8 (CH, C-4), 67.2 (CH₂, FmocCH₂), 62.5 (CH₂, C-8), 54.6 (CH, C-1), 47.1 (CH, FmocCH), 41.1 (CH₂, C-3), 35.8 (CH₂, C-5), 35.4 (CH₂, C-2), 32.4 (CH₂, C-7), 28.0 (3 × CH₃, C(CH₃)₃), 21.9 (CH₂, C-6); HRMS (ESI+) [M + Na]⁺ 538.2226 C₂₈H₃₇NNaO₆S計算值 538.2234.

步驟v



【0940】 向二醇**810**（0.190克，0.370毫莫耳）及棕櫚酸（0.284克，1.10毫莫耳）在THF（3毫升）中之室溫攪拌溶液中添加*N,N'*-二異丙基碳化二亞胺（0.226克，1.47毫莫耳）及4-二甲基胺基吡啶（0.018克，0.147毫莫耳）。將反應混合物在室溫下攪拌17小時。然後將混合物經由Celite®墊過濾，用EtOAc（50毫升）稀釋，用1M檸檬酸（30毫升）及鹽水（30毫升）洗滌並真空濃縮。然後將殘餘物再溶解於TFA（3毫升）中並於室溫下攪拌45分鐘。再次真空濃縮反應混合物。藉由快速柱層析（己烷-EtOAc，9:1 → 0:1）純化粗製品，得到無色油**標題化合物811**（0.301克，定量產率）。

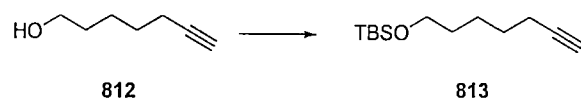
【0941】 R_f 0.20 (石油醚-EtOAc 1:1); $[\alpha]_D^{21.2} +10.0$ (c 0.07 在CHCl₃ 中); ν_{max} (純淨的)/cm⁻¹ 3331, 2917, 2850, 1728, 1692, 1532, 1467, 1451, 1244, 1221, 1198, 1175; δ_H (400 MHz; CHCl₃) 7.76 (2H, d, J = 7.5 Hz, FmocH), 7.62 (2H, d, J = 7.2 Hz, FmocH), 7.40 (2H, t, J = 7.4 Hz, FmocH), 7.30 (2H, td, J = 11.2, 1.0 Hz, FmocH), 5.82 (1H, d, J = 7.9 NH), 5.03-4.92 (1H, m, H-4), 4.71-4.60 (1H, m, H-1), 4.40 (2H, d, J = 7.0 Hz, FmocCH₂), 4.24 (1H, t, J = 7.1 Hz, FmocCH), 4.11-4.00 (2H, m, H-8), 3.15 (1H, dd, J = 13.9, 4.4 Hz, H-2), 3.04 (1H, dd, J = 13.8, 5.8 Hz, H-2), 2.78-2.65 (2H, m, H-3), 2.31 (2H, t, J = 7.6 Hz, PamCH_{2 α} 烷基), 2.28 (2H, t, J = 7.6 Hz, PamCH_{2 α} 烷基), 1.74-1.55 (8H, m, 2 × PamCH_{2 β} 烷基, H-5, H-7), 1.45-1.17 (50H, m, 24 × PamCH₂烷基, H-6), 0.88 (6H, t, J = 6.8 Hz, 2 × PamCH₃烷基); δ_C (100 MHz; CHCl₃) 174.3 (C, CO₂H), 174.0 (C, PamCO₂), 173.9 (C, PamCO₂), 156.1 (C, FmocCO), 143.7 (C, Fmoc), 141.3 (C, Fmoc), 127.8 (CH, Fmoc), 127.1 (CH, Fmoc), 125.2 (CH,

Fmoc), 120.0 (CH, Fmoc), 72.4 (CH, C-4), 67.4 (CH₂, FmocCH₂), 64.0 (CH₂, C-8), 53.6 (CH, C-1), 47.1 (CH, FmocCH), 36.6 (CH₂, C-3), 34.6 (CH₂, PamCH₂ α 烷基), 34.5 (CH₂, PamCH₂ α 烷基), 34.4 (CH₂, C-2), 32.7 (CH₂, C-5), 32.0 (2 \times CH₂, PamCH₂烷基), 29.7-29.3 (20 \times CH₂, PamCH₂烷基), 28.3 (CH₂, C-7), 25.0 (2 \times CH₂, PamCH₂ β 烷基), 25.0 (2 \times CH₂, PamCH₂ β 烷基), 22.7 (2 \times CH₂, PamCH₂烷基), 21.7 (CH₂, C-6), 14.4 (2 \times CH₃, PamCH₃烷基); HRMS (ESI⁺) [M + Na]⁺ 958.6239 C₅₆H₈₉NNaO₈S計算值 958.6238.

7.1.3 自烯炔814合成胺基酸共軛物820

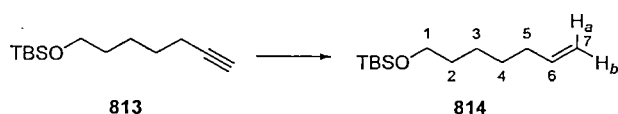
A) 自醇812合成烯炔814

步驟i



【0942】 向6-庚炔-1-醇**812** (3.33毫升, 26.75毫莫耳) 在CH₂Cl₂ (80毫升) 中之室溫攪拌溶液中, 添加咪唑 (1.76克, 27.01毫莫耳) 及第三丁基二甲基氯矽烷 (4.07克, 27.01毫莫耳)。將反應混合物在室溫下攪拌24小時。然後用Et₂O (100毫升) 稀釋混合物並用水 (3 \times 100毫升) 及鹽水 (100毫升) 洗滌。將有機層經無水Na₂SO₄乾燥並真空濃縮。藉由經由矽膠過濾純化粗製品, 得到無色液體炔炔**813** (5.68克, 定量產率)。炔炔**813**不經表徵使用於隨後合成步驟中。

步驟ii



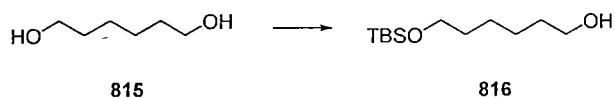
【0943】 向炔炔**813** (5.34克, 25.18毫莫耳) 在己烷 (140毫升) 中之

室溫攪拌溶液中添加喹啉（4.18毫升，35.26毫莫耳）及林德拉催化劑（0.53克）。將反應混合物連接至充滿H₂之球形大燒瓶（1大氣壓）並且在室溫下攪拌2小時。然後將混合物經由Celite®墊過濾並真空濃縮。藉由快速柱層析（石油醚-EtOAc，9:1）純化粗製品，得到無色液體**標題化合物814**（5.34克，定量產率）。

【0944】 R_f 0.91 (石油醚-EtOAc 9:1); δ_H (400 MHz; $CDCl_3$) 5.81 (1H, ddt, $J = 17.0, 10.3, 6.7$ Hz, H-6), 4.99 (1H, dd, $J = 17.0$ Hz, H_a -7) 4.93 (1H, dd, $J = 10.1$ Hz, H_b -7), 3.60 (2H, t, $J = 6.6$ Hz, H-1), 2.05 (2H, q, $J = 7.0$ Hz, H-5), 1.56-1.31 (6H, m, H-2, H-3, H-4), 0.89 (9H, s, $SiC(CH_3)_3$), 0.05 (6H, s, $Si(CH_3)_2$); δ_C (100 MHz; $CDCl_3$) 139.1 (CH, C-6), 114.2 (CH_2 , C-7), 63.2 (CH_2 , C-1), 33.8 (CH_2 , C-5), 33.7 (CH_2 , C-4), 28.7 (CH_2 , C-3), 26.0 ($3 \times CH_3$, $SiC(CH_3)_3$), 25.3 (CH_2 , C-2), 18.4 (C, $SiC(CH_3)_3$), -5.3 ($2 \times CH_3$, $Si(CH_3)_2$). 光譜資料與文獻中所報告一致。

B) 自醇815合成烯烴814

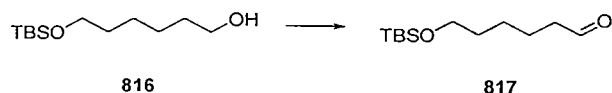
步驟



【0945】 向1,6-己二醇(**815**)(16.00克, 135.39毫莫耳)在CH₂Cl₂(150毫升)中之室溫攪拌溶液中, 添加咪唑(9.22克, 135.39毫莫耳)及第三丁基二甲基氯矽烷(20.41克, 135.39毫莫耳)。將反應混合物在室溫下攪拌19小時。然後將混合物過濾, 用H₂O(100毫升)及鹽水(100毫升)洗滌, 經無水Na₂SO₄乾燥並真空濃縮。藉由快速柱層析(石油醚-EtOAc, 4:1)純化粗製品, 得到無色液體標題化合物**816**(25.13克, 80%)。醇**816**不經表徵便

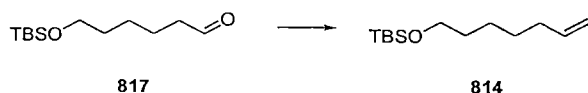
用於隨後合成步驟中。

步驟ii



【0946】 向醇**816** (4.90克, 21.10毫莫耳) 在 CH_2Cl_2 (11毫升) 中之 0°C 攪拌溶液中添加二甲基亞碲 (11.08毫升, 154.05毫莫耳)、 Et_3N (14.71毫升, 105.52毫莫耳) 及三氧化硫吡啶錯合物 (9.89克, 63.31毫莫耳)。將反應混合物攪拌30分鐘。然後將混合物用水 (20毫升) 淬滅並用 EtOAc (2×50 毫升) 提取。將合併之有機提取物用水 (50毫升) 及鹽水 (50毫升) 洗滌, 經無水 Na_2SO_4 乾燥並真空濃縮。藉由快速柱層析 (石油醚- EtOAc , 9:1) 純化粗製品, 得到無色油標題化合物**817** (4.71克, 97%)。醛**817** 不經表徵便用於隨後合成步驟中。

步驟iii

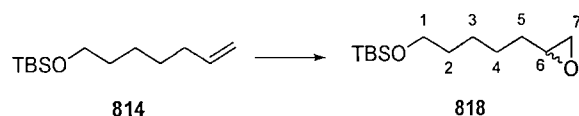


【0947】 向甲基三苯基溴化磷 (4.60克, 12.89毫莫耳) 在THF (30 毫升) 中之 -78°C 攪拌溶液中滴加正丁基鋰 (7.16毫升, 1.8 M, 12.89毫莫耳)。將所得反應物升溫至室溫並且攪拌1小時。然後將反應混合物冷卻至 -78°C 並滴加在THF (6毫升) 中之醛**817** (2.56克, 11.21毫莫耳)。將反應混合物在 -78°C 下攪拌3小時且然後升溫至室溫, 並再攪拌15小時。接著將混合物用飽和 NH_4Cl 水溶液 (10毫升) 淬滅並用 EtOAc (3×70 毫升) 提取。將合併之有機提取物用水 (2×50 毫升) 及鹽水 (50毫升) 洗滌, 經無水 Na_2SO_4 乾燥並真空濃縮。藉由快速柱層析 (石油醚- EtOAc , 99:1) 純化粗製品, 得到無色液體標題化合物**814** (2.50克, 98%)。

【0948】 R_f 0.91 (石油醚-EtOAc 9:1); δ_H (400 MHz; $CDCl_3$) 5.81 (1H, ddt, $J = 17.0, 10.3, 6.7$ Hz, H-6), 4.99 (1H, dd, $J = 17.0$ Hz, H $_a$ -7) 4.93 (1H, dd, $J = 10.1$ Hz, H $_b$ -7), 3.60 (2H, t, $J = 6.6$ Hz, H-1), 2.05 (2H, q, $J = 7.0$ Hz, H-5), 1.56-1.31 (6H, m, H-2, H-3, H-4), 0.89 (9H, s, SiC(CH $_3$) $_3$), 0.05 (6H, s, Si(CH $_3$) $_2$); δ_C (100 MHz; $CDCl_3$) 139.1 (CH, C-6), 114.2 (CH $_2$, C-7), 63.2 (CH $_2$, C-1), 33.8 (CH $_2$, C-5), 33.7 (CH $_2$, C-4), 28.7 (CH $_2$, C-3), 26.0 (3 \times CH $_3$, SiC(CH $_3$) $_3$), 25.3 (CH $_2$, C-2), 18.4 (C, SiC(CH $_3$) $_3$), -5.3 (2 \times CH $_3$, Si(CH $_3$) $_2$). 光譜資料與文獻中所報告一致。

C) 自烯烴814合成胺基酸共軛物820

步驟

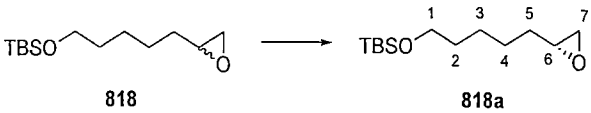


【0949】 向烯烴**814** (4.30克, 18.40毫莫耳) 在 CH_2Cl_2 (40毫升) 中之室溫攪拌溶液中添加 *m*CPBA (4.46克, 25.84毫莫耳)。將反應混合物在室溫下攪拌7小時。然後將混合物經由Celite[®]過濾, 用 Et_2O (60毫升) 稀釋, 並用飽和 $NaHCO_3$ 水溶液 (3 \times 100毫升) 及鹽水 (100毫升) 洗滌。將有機層經無水 Na_2SO_4 乾燥並真空濃縮。藉由快速柱層析 (石油醚-EtOAc, 9:1) 純化粗製品, 得到無色液體標題化合物**818** (4.30克, 96%)。

【0950】 R_f 0.63 (石油醚-EtOAc 9:1); δ_H (400 MHz; $CDCl_3$) 3.60 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, H-1), 2.92-2.88 (1H, m, H-6), 2.74 (1H, t, $J = 4.5$ Hz, H-7), 2.46 (1H, dd, $J = 5.0, 2.8$ Hz, H-7), 1.56-1.36 (8H, m, H-2, H-3, H-4, H-5), (9H, s, SiC(CH $_3$) $_3$), 0.04 (6H, s, Si(CH $_3$) $_2$); δ_C (100 MHz; $CDCl_3$) 63.1 (CH $_2$, C-1), 52.3 (CH, C-6), 47.1 (CH $_2$, C-7), 32.8 (CH $_2$, C-5), 32.5 (CH $_2$, C-2), 26.0 (3 \times CH $_3$,

SiC(CH₃)₃), 25.8 (CH₂, C-4), 25.7 (CH₂, C-3), 18.4 (C, SiC(CH₃)₃), -5.3 (2 × CH₃, Si(CH₃)₂). 光譜資料與文獻中所報告一致。

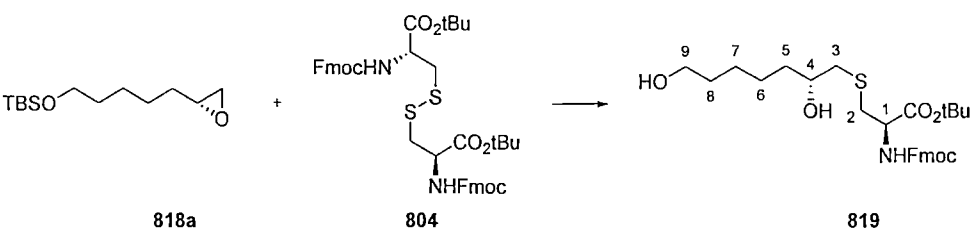
步驟ii



【0951】 向外消旋環氧化物**818**(2.23克, 9.13毫莫耳)、(R,R)-(+)-N,N'-雙(3,5-二-第三丁基亞水楊基)-1,2-環己烷二胺基鈷(II) (0.03克, 0.05毫莫耳) 及冰乙酸 (0.01毫升, 0.18毫莫耳) 在THF (0.1毫升) 中之0℃攪拌溶液中滴加水 (0.09毫升)。將反應混合物在室溫下攪拌48小時。然後真空濃縮混合物。藉由快速柱層析 (石油醚-EtOAc, 9:1) 純化粗製品, 得到黃色油標題化合物**818a** (1.09克, 49%)。

【0952】 R_f 0.63 (石油醚-EtOAc 9:1); [α]_D^{21.3} +4.2 (c 0.90, 在CHCl₃ 中); δ_H (400 MHz; CDCl₃) 3.60 (2H, t, J = 6.5 Hz, H-1), 2.92-2.88 (1H, m, H-6), 2.74 (1H, t, J = 4.5 Hz, H-7), 2.46 (1H, dd, J = 5.0, 2.8 Hz, H-7), 1.56-1.36 (8H, m, H-2, H-3, H-4, H-5), (9H, s, SiC(CH₃)₃), 0.04 (6H, s, Si(CH₃)₂); δ_C (100 MHz; CDCl₃) 63.1 (CH₂, C-1), 52.3 (CH, C-6), 47.1 (CH₂, C-7), 32.8 (CH₂, C-5), 32.5 (CH₂, C-2), 26.0 (3 × CH₃, SiC(CH₃)₃), 25.8 (CH₂, C-4), 25.7 (CH₂, C-3), 18.4 (C, SiC(CH₃)₃), -5.3 (2 × CH₃, Si(CH₃)₂). 光譜資料與文獻中所報告一致。

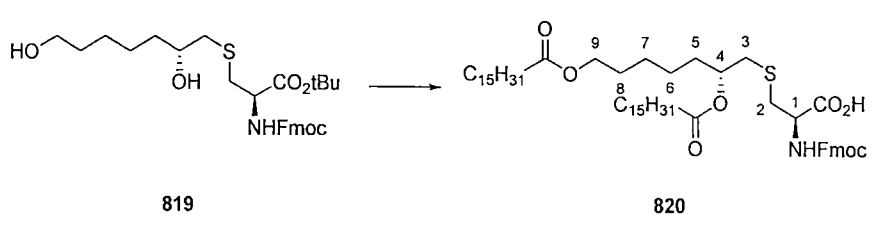
步驟iii



【0953】 向二硫化物**804** (0.30克, 0.375毫莫耳) 在CH₂Cl₂ (1毫升) 中之0°C攪拌溶液中添加鋅粉 (0.20克, 3.01毫莫耳) 及新鮮製備之甲醇、濃氫氯酸與濃硫酸之混合物 (100:7:1, 1毫升)。將所得反應混合物在0°C下攪拌30分鐘之後添加環氧化物**818a** (0.344克, 1.13毫莫耳)。將反應混合物在70°C下攪拌17小時。然後將混合物用EtOAc (30毫升) 稀釋, 經由Celite® 墊過濾並用鹽水 (30毫升) 洗滌。用EtOAc (3 × 30毫升) 提取水層, 並將合併之有機提取物經無水MgSO₄乾燥並真空濃縮。藉由快速柱層析 (己烷-EtOAc, 1:3) 純化粗製品, 得到無色油**標題化合物819** (0.350克, 88%)。

【0954】 R_f 0.4 (己烷-EtOAc 1:3); [α]_D^{20.8} -20.0 (c 0.03 在EtOAc中); ν_{max}(純淨的)/cm⁻¹ 3365, 3933, 1703, 1514, 1450, 1369, 1343, 1248, 1151, 1046; δ_H (400 MHz; MeOD) 7.79 (2H, d, *J* = 7.5 Hz, FmocH), 7.68 (2H, d, *J* = 7.4 Hz, FmocH), 7.39 (2H, t, *J* = 7.4 Hz, FmocH), 7.31 (2H, t, *J* = 4.7 Hz, FmocH), 4.34 (2H, d, *J* = 7.1 Hz, FmocCH), 4.28 (1H, dd, *J* = 8.2, 5.1 Hz, H-1), 4.23 (1H, t, *J* = 7.0 Hz, FmocCH₂), 3.72-3.61 (1H, m, H-4), 3.57-3.79 (2H, m, H-9), 3.01 (1H, dd, *J* = 13.8, 5.0 Hz, H-2), 2.86 (1H, dd, *J* = 13.7, 8.3 Hz, H-2), 2.69 (1H, dd, *J* = 13.4, 4.9 Hz, H-3), 2.60 (1H, dd, *J* = 13.4, 7.0 Hz, H-3), 1.57-1.34 (17H, m, H-5, H-6, H-7, H-8, C(CH₃)₃); δ_C (100 MHz; MeOD) 171.8 (C, CO₂tBu), 158.1 (C, FmocCO), 145.3 (C, Fmoc), 142.6 (C, Fmoc), 128.8 (CH, Fmoc), 128.2 (CH, Fmoc), 126.4 (CH, Fmoc), 121.0 (CH, Fmoc), 83.3 (C, C(CH₃)₃), 71.9 (CH, C-4), 68.2 (CH₂, FmocCH₂), 62.9 (CH₂, C-9), 56.5 (CH, C-1), 50.2 (CH, FmocCH), 40.8 (CH₂, C-3), 37.3 (CH₂, C-5), 35.5 (CH₂, C-2), 33.6 (CH₂, C-8), 28.3 (3 × CH₃, C(CH₃)₃), 26.9 (CH₂, C-7), 26.6 (CH₂, C-6); HRMS (ESI+) [M + Na]⁺ 552.2390 C₂₉H₃₉NNaO₆S計算值 552.2393.

步驟iv



【0955】 向二醇**819**（0.168克，0.317毫莫耳）及棕櫚酸（0.244克，0.951毫莫耳）在THF（4.6毫升）中之室溫攪拌溶液中添加*N,N'*-二異丙基碳化二亞胺（0.191克，1.269毫莫耳）及4-二甲基胺基吡啶（0.016克，0.127毫莫耳）。將反應混合物在室溫下攪拌17小時。然後將混合物經由Celite®墊過濾，用EtOAc（30毫升）稀釋，用1M檸檬酸（30毫升）及鹽水（30毫升）洗滌並真空濃縮。然後將殘餘物再溶解於TFA（3毫升）中並於室溫下攪拌45分鐘。再次真空濃縮反應混合物。藉由快速柱層析（己烷-EtOAc，9:1 → 0:1）純化粗製品，得到無色油**標題化合物820**（0.301克，定量產率）。

【0956】 R_f 0.21 (石油醚-EtOAc 1:1); $[\alpha]_D^{20.8} +7.5$ (c 0.24, 在CHCl₃中); ν_{max} (純淨的)/cm⁻¹ 3319, 2919, 2851, 1722, 1521, 1471, 1450, 1221, 1055; δ_H (400 MHz; CDCl₃) 7.76 (2H, d, J = 7.6 Hz, FmocH), 7.61 (2H, d, J = 7.3 Hz, FmocH), 7.40 (2H, t, J = 7.7 Hz, FmocH), 7.30 (2H, td, J = 11.2, 1.1 Hz, FmocH), 5.82, (1H, d, J = 7.7 Hz, NH), 5.00-4.94 (1H, m, H-4), 4.64 (1H, dd, J = 12.3, 5.6 Hz, H-1), 4.40 (2H, d, J = 7.1 Hz, FmocCH), 4.24 (1H, t, J = 7.1 Hz, FmocCH₂), 4.10-4.00 (2H, m, H-9), 3.14 (1H, dd, J = 13.8, 4.3 Hz, H-2), 3.04 (1H, dd, J = 13.8, 5.6 Hz, H-2), 2.76-2.67 (2H, m H-3), 2.31 (2H, t, J = 7.6 Hz, PamCH_{2α}烷基), 2.28 (2H, t, J = 7.6 Hz, PamCH_{2α}烷基), 1.65-1.56 (8H, m, 2 × PamCH_{2β}烷基, H-8, H-5), 1.39-1.18 (52H, m, 24 × PamCH₂烷基, H-6, H-7), 0.88 (6H, t, J = 6.9 Hz, 2 × PamCH₃烷基); δ_C (100 MHz; CDCl₃) 174.4 (C,

CO₂H), 156.1 (C, FmocCO), 143.7 (C, Fmoc), 141.3 (C, Fmoc), 127.8 (CH, Fmoc), 127.1 (CH, Fmoc), 125.2 (CH, Fmoc), 120.0 (CH, Fmoc), 72.4 (CH, C-4), 67.5 (CH₂, FmocCH₂), 64.2 (CH₂, C-9), 53.6 (CH, C-1), 47.1 (CH, FmocCH), 36.5 (CH₂, C-3), 34.6 (CH₂, C-2), 34.3 (2 × CH₂, PamCH_{2α}烷基), 33.0 (CH₂, C-5), 31.9 (2 × CH₂, PamCH₂烷基) 29.7-28.4 (21 × CH₂, PamCH₂烷基, C-8), 25.5 (CH₂, C-7), 25.0 (2 × CH₂, PamCH_{2β}烷基), 24.8 (CH₂, C-6), 22.7 (2 × CH₂, PamCH₂烷基), 14.1 (2 × CH₃, PamCH₃烷基); **HRMS** (ESI+) [M + Na]⁺ 972.6358 C₅₇H₉₁NNaO₈S計算值 972.6392.

8. 實例8

【0957】 此實例展示Pam2Cys-SKKKK、homoPam2Cys-SKKKK及Pam3Cys-SKKKK之(R)-及(S)-構建體之TLR促效作用。

8.1 方法

【0958】 使用與本文實例(實例4及5)中所述方法類似之方法內部生產Pam2Cys-SKKKK、homoPam2Cys-SKKKK及Pam3Cys-SKKKK之對映純差向異構(R)-及(S)-變體。此外，製備配對之SKKKK.NH₂與SKKKK.NAc促效劑組，旨在評估C端修飾對h-Pam-2-Cys及Pam-2-Cys之TLR促效作用之影響。製備之促效劑列於表4中。

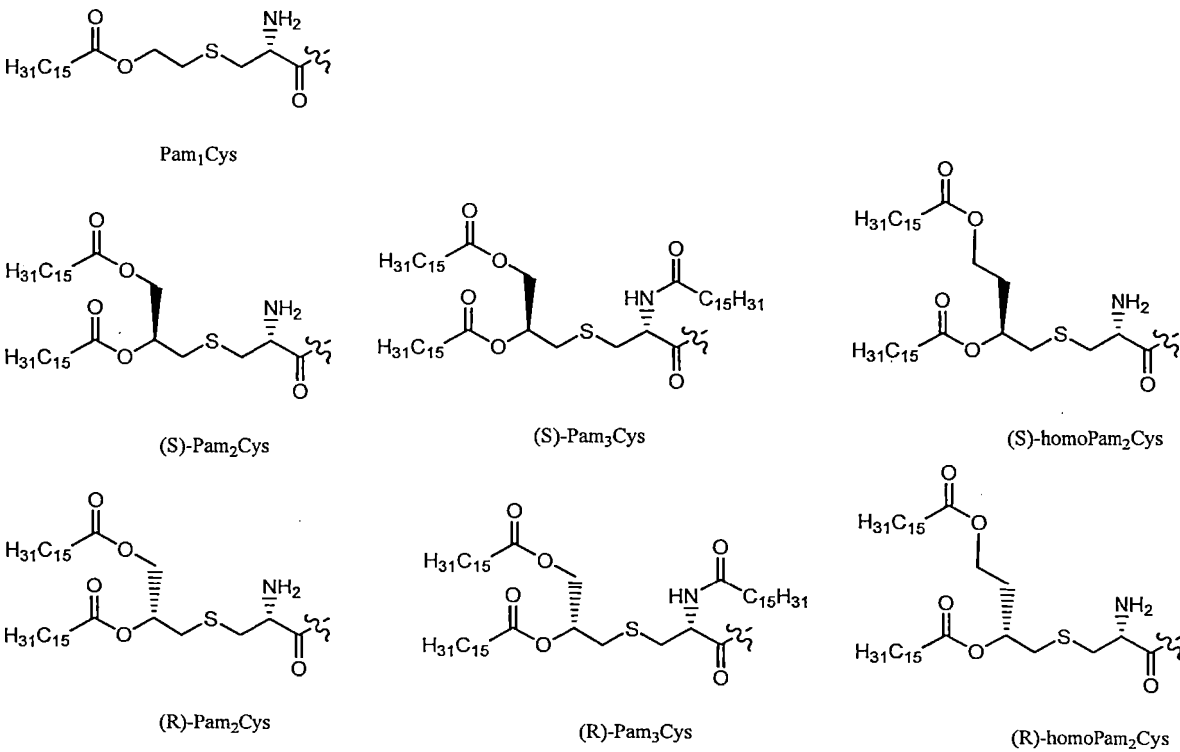
【0959】 藉由按照與實例2之第2.1節中所述程序類似之程序經6-log₁₀稀釋系列(10⁻⁶ M至10⁻¹¹ M)在HEK-Blue™-mTLR2(圖6A)及HEK-Blue™-hTLR2(圖6B)細胞中研究表4中促效劑之TLR2促效作用。僅在10⁻⁶及10⁻⁹ M下測試(R/S)-Pam-1-Cys-NH₂。數據以背景減除後三個複孔之+/- SD平均吸光度(635奈米)值表示，其中虛線代表僅用介質處理之

孔中之吸光度。

表4. 對映純TLR促效劑

促效劑	圖6A及6B中之標記
Pam1Cys-SK KKK-NH ₂	Pam ₁ C
(R)-Pam2Cys-SK KKK-NH ₂	(R) Pam ₂ C-NH ₂
(S)-Pam2Cys-SK KKK-NH ₂	(S) Pam ₂ C-NH ₂
(R)-Pam2Cys-SK KKK-NHAc	(R) Pam ₂ C-NAc
(S)-Pam2Cys-SK KKK-NHAc	(S) Pam ₂ C-NAc
(R)-homo-Pam2Cys-SK KKK-NH ₂	(R) hPam ₂ C-NH ₂
(S)-homoPam2Cys-SK KKK-NH ₂	(S) hPam ₂ C-NH ₂
(R)-homoPam2Cys-SK KKK-NHAc	(R) hPam ₂ C-NAc
(S)-homoPam2Cys-SK KKK-NHAc	(S) hPam ₂ C-NAc
(R)-Pam3Cys-SK KKK-NH ₂	(R) Pam ₃ C
(S)-Pam3Cys-SK KKK-NH ₂	(S) Pam ₃ C

示意圖7. 表4中所提及Pam1Cys-、(R)-及(S)-Pam2Cys-、(R)-及(S)-Pam3Cys-以及(R)-及(S)-homoPam2Cys-之結構。



8.2 結果

8.2.1 *m*TLR2 and *h*TLR2之構建體生物活性

【0960】 Pam1Cys-SKKKK-NH₂在10⁻⁶ M下展現出對hTLR2之促效作用，但在10⁻⁹ M下無促效作用，並且在任何濃度下皆不展現對mTLR2之促效作用。相比之下，所有測試之Pam2Cys、homoPam2Cys及Pam3Cys構建體皆對mTLR2及hTLR2二者展示促效作用。通常，差向異構體-及C端匹配之homoPam2Cys及Pam2Cys構建體在各稀釋系列中展現出相當之促效作用強度及模式，且對於mTLR2及hTLR2二者而言為比差向異構體-匹配之Pam3Cys顯著更強效之促效劑（在比Pam3Cys低 ≥ 10 -倍之濃度下引起NF κ B生成）。

8.2.2 (R)-與(S)-立體化學結構之效果對比

【0961】 在所有測試之構建體組中，對於mTLR2及hTLR2二者，配對之(R)-變體皆展現出比(S)-變體更強效之促效作用。對於mTLR2及hTLR2二者，(R)-Pam3Cys皆在比(S)-Pam3Cys低大約 ≥ 10 -倍之濃度下維持NF κ B生成。對於mTLR2及hTLR2二者，(R)-homoPam2Cys皆在比(S)-homoPam2Cys低大約 ≥ 10 -倍之濃度下維持NF κ B生成，不管是否進行了C端修飾。對於mTLR2及hTLR2二者，(R)-Pam2Cys皆在比(S)-Pam2Cys低大約 ≥ 100 -倍之濃度下維持NF κ B生產，不管是否進行了C端修飾。有趣的是，雖然(R)-homoPam2Cys與(R)-Pam2Cys在mTLR2及hTLR2二者中在log₁₀稀釋系列中是相當之促效劑，但是在mTLR2及hTLR2中，(S)-homoPam2Cys皆為比(S)-Pam2Cys更強效之促效劑，在低大約 ≥ 10 -100-倍之濃度下引起NF κ B之生成。(S)-Pam2Cys展現出與(S)-Pam3Cys類似之促效作用強度及模式。

8.2.3 C端-NH₂及-NAc之效果

【0962】 當比較差向異構體匹配之具有C端-NH₂與C端-NAc之

homoPam2Cys-SK KKK時，對於mTLR2或HTLR2皆未觀察到差異促效作用。當比較差向異構體匹配之具有C端-NH₂與C端-NAc之Pam2Cys-SK KKK時，對於hTLR2未觀察到差異促效作用。當比較具有C端-NH₂與C端-NAc之(S)-Pam2Cys-SK KKK時，對於mTLR2未觀察到差異促效作用。當針對mTLR2對(R)-Pam2Cys-SK KKK-NH₂與(R)-Pam2Cys-SK KKK-NAc進行比較時，僅在10⁻¹⁰及10⁻¹¹ M下觀察到NK_kB生成。

9. 實例9

【0963】 如下面所述及所繪示使用 6 製備包含肽序列 SK KKKKISQAVHAAHAEINEAGRESIINF EKLTEWT [SEQ ID No: 127]之本發明之共軛物821及822（示意圖8）。

【0964】 肽 序 列
SK KKKKISQAVHAAHAEINEAGRESIINF EKLTEWT (SEQ ID No: 127)
包含兩個免疫原性肽表位（以粗體字型加底線表示），藉由單個E聯接，衍生自卵清蛋白（OVA）蛋白質（雞蛋蛋白之主要構成成份）。OVA在例如小鼠中用作模式抗原，因為腫瘤細胞能夠被加工／轉染而表達OVA。

【0965】 表位之詳細情況如下：

【0966】 SIINF EKL: H-K2^b限制的（鼠類MHC I類），被CD8⁺ T細胞識別。OVA胺基酸257-264。

【0967】 ISQAVHAAHAEINEAGR: I-Ad限制的（小鼠MHC II類），被CD4⁺ T細胞識別。OVA胺基酸323-339。

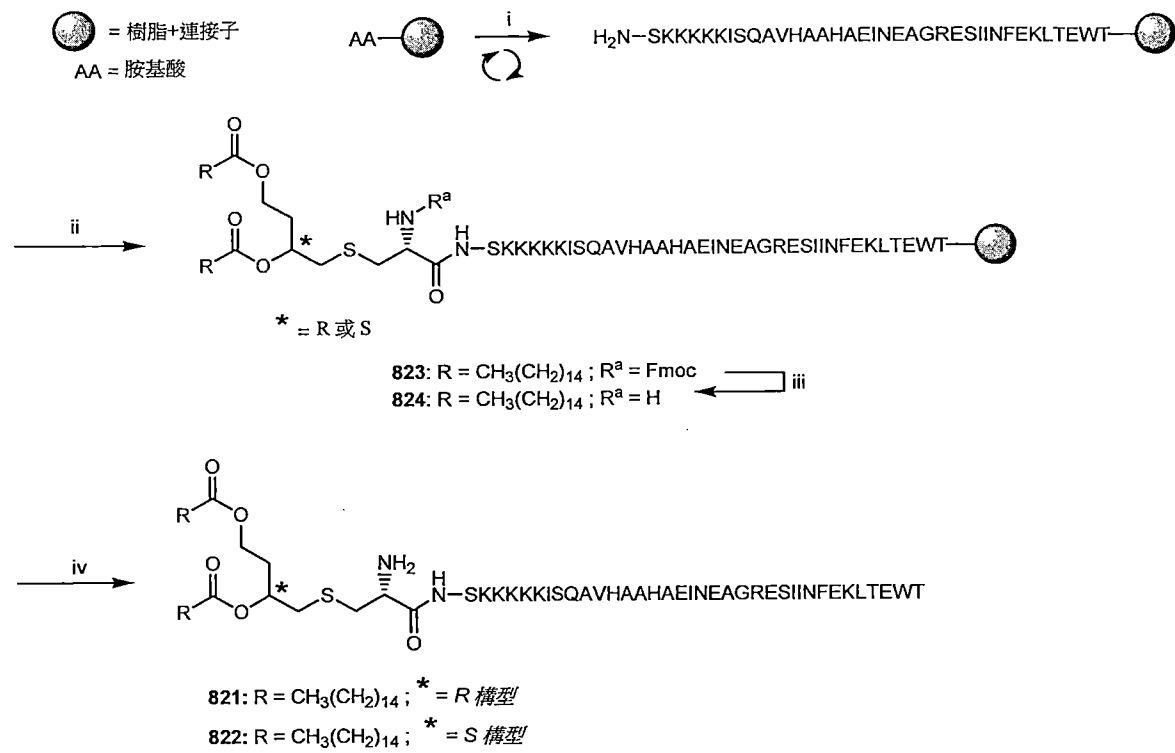


示意圖8. (i) 重複Fmoc-SPPS；(ii) (R)-或(S)-雙棕櫚醯化Fmoc-Cys-OH 6，PyBOP，柯林鹼，DMF；(iii) 20%哌啶／DMF；(iv) TFA／EDT／水

【0968】 使用如前所述標準重複Fmoc SPPS技術合成期望之肽序列。

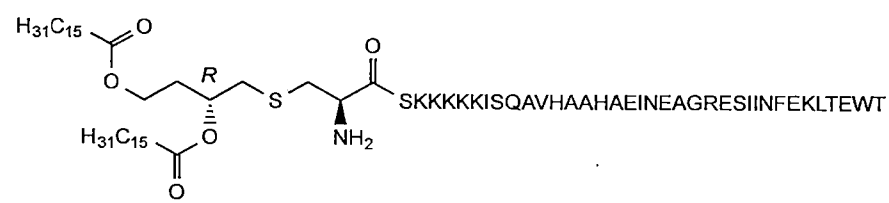
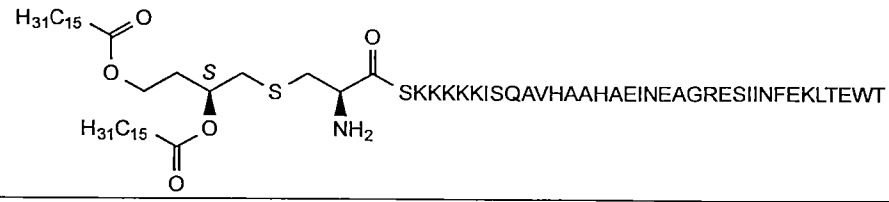
【0969】 偶合倒數第二個胺基酸殘基後，然後使用在DMF中之PyBOP（苯並三唑-1-基-氧三吡咯啶並磷六氟磷酸鹽）及柯林鹼用胺基酸共軛物6之期望非對映異構體對該結合樹脂之肽鏈進行衍生化。胺基酸共軛物之偶合條件降低胺基酸之 α -碳在活化時差向異構之傾向。將胺基酸共軛物（0.032毫莫耳）與PyBOP（0.033毫莫耳）合併，並且溶於DMF（0.25毫升）中。添加純淨之2,4,6-三甲基吡啶（0.05毫莫耳）。混合30秒後，將溶液轉移至0.016毫莫耳之樹脂，然後搖動90分鐘，排乾並洗滌（DMF），得到823。

【0970】 然後使用在DMF中之20%哌啶移除Fmoc基，以提供824。

【0971】 將肽824自樹脂裂解，以提供在指定位置具有R構型之肽共軛物821（示意圖8）或者在指定位置具有S構型之肽共軛物822。在室溫下

將在1.5毫升含有2.5% (v/v) 乙二醇及2.5% v/v水之三氟乙酸中之樹脂(0.016毫莫耳) 搖動2小時。然後將上清液經由燒結礦排入冷凍二乙醚(10毫升) 中。然後再用1毫升TFA洗滌樹脂，亦將其添加至醚中。藉由離心將沉澱之材料丸粒化並用醚(5毫升) 洗滌丸粒一次，然後溶於1:1 MeCN／水(+0.1%tfa) 中並凍乾。

【0972】 使用Phenomenex Gemini C18 (5μ, 110埃) 10x250毫米管柱用溶析液A及溶析液B藉由半製備HPLC進行**821**及**822**之純化，溶析液A為水(+0.1%tfa)，溶析液B為MeCN (+0.1%tfa)。將粗製肽試樣注入柱上後，產生以下梯度：經3分鐘5%B至45%B，隨後經16分鐘45%B至65%B，流速為4毫升／分鐘。收集自柱洗提出之期望之產物材料並冷凍乾燥。

編號	結構
821	
822	

821: *m/z* (ESI) 1191.5 [M+4H⁺]. HPLC分析：柱：Phenomenex Gemini C18 (3μ, 110埃, 4.6 x 150毫米)；溶析液A，水／0.1%TFA；溶析液B：MeCN／0.1%TFA；梯度：5-95%B，經30分鐘 @ 1毫升／分鐘。保留時間：20.9分鐘。

822: *m/z* (ESI) 1191.5 [M+4H⁺]. HPLC分析：柱：Phenomenex Gemini C18 (3μ, 110埃, 4.6 x 150毫米)；溶析液A，水／0.1%TFA；溶析液B：MeCN／0.1%TFA；梯度：5-95%B，經30分鐘 @ 1毫升／分鐘。保留

時間：20.8分鐘。

【0973】 本發明之範圍並不意欲僅限於上述之實例。如熟習此項技術者所理解，在不背離本發明之情形下可進行許多變動。

【符號說明】

【生物材料寄存】

國內寄存資訊【請依寄存機構、日期、號碼順序註記】

國外寄存資訊【請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記】

【序列表】(請換頁單獨記載)

【序列表】

<110> Auckland UniServices Limited
Brimble, Margaret A
Dunbar, Peter R
Williams, Geoffrey M

<120> 胺基酸及肽共軛物及共軛過程(AMINO ACID AND PEPTIDE CONJUGATES AND CONJUGATION PROCESS)

<130> 849864

<150> AU 2016900701

<151> 2016-02-26

<160> 130

<170> PatentIn 3.5 版

<210> 1

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 合成肽序列

<220>

<221> MISC_特徵

<222> (1)..(1)

<223> Xaa1 不存在或為 S 或親水性胺基酸

<220>

<221> MISC_特徵

<222> (2)..(2)

<223> Xaa2 不存在或為親水性胺基酸

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (3)..(3)
<223> Xaa3 不存在或為親水性胺基酸

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (4)..(4)
<223> Xaa4 不存在或為一或多個親水性胺基酸

<400> 1

Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Arg His Ser Asp Tyr Gln Pro Leu Gly Thr Gln
1 5 10 15

Asp Gln Ser Leu Tyr Leu Gly Leu Gln His Asp Gly Asn Asp Gly Leu
20 25 30

<210> 2
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> Xaa1 不存在或為 S 或親水性胺基酸

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (2)..(2)

<223> Xaa2 不存在或為親水性胺基酸

<220>

<221> MISC_特徵

<222> (3)..(3)

<223> Xaa3 不存在或來自 1 至 10 個親水性胺基酸

<400> 2

Xaa	Xaa	Xaa	Asp	Arg	His	Ser	Asp	Tyr	Gln	Pro	Leu	Gly	Thr	Gln	Asp
1				5					10					15	

Gln	Ser	Leu	Tyr	Leu	Gly	Leu	Gln	His	Asp	Gly	Asn	Asp	Gly	Leu
			20				25						30	

<210> 3

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 合成肽序列

<220>

<221> MISC_特徵

<222> (1)..(1)

<223> Xaa1 不存在或為 S 或親水性胺基酸

<220>

<221> MISC_特徵

<222> (2)..(2)

<223> Xaa2 不存在或來自 1 至 4 個親水性胺基酸

<400> 3

Xaa Xaa Asp Arg His Ser Asp Tyr Gln Pro Leu Gly Thr Gln Asp Gln
1 5 10 15

Ser Leu Tyr Leu Gly Leu Gln His Asp Gly Asn Asp Gly Leu
20 25 30

 $\langle 210 \rangle$ 4

<211> 33

<212> PRT

<213> 人工的

 $\langle 220 \rangle$

<223> 合成肽序列

<400> 4

Ser Lys Lys Lys Lys Asp Arg His Ser Asp Tyr Gln Pro Leu Gly Thr
1 5 10 15

Gln Asp Gln Ser Leu Tyr Leu Gly Leu Gln His Asp Gly Asn Asp Gly
20 25 30

Leu

<210> 5

<211> 28

<212> PRT

<213> 人工的

 $\langle 220 \rangle$

<223> 合成肽序列

<400> 5

Asp Arg His Ser Asp Tyr Gln Pro Leu Gly Thr Gln Asp Gln Ser Leu
1 5 10 15

Tyr Leu Gly Leu Gln His Asp Gly Asn Asp Gly Leu
20 25

<210> 6
<211> 37
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> Xaa1 不存在或為 S 或親水性胺基酸

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (2)..(2)
<223> Xaa2 不存在或為親水性胺基酸

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (3)..(3)
<223> Xaa3 不存在或為親水性胺基酸

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (4)..(4)
<223> Xaa4 不存在或為一或多個親水性胺基酸

<400> 6

Xaa Xaa Xaa Xaa Ser Leu Tyr Leu Gly Leu Gln His Asp Gly Asn Asp
1 5 10 15

Gly Leu Pro Pro Pro Pro Tyr Ser Pro Arg Asp Asp Ser Ser Gln His
20 25 30

Ile Tyr Glu Glu Ala
35

<210> 7
<211> 36
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> Xaa1 不存在或為 S 或親水性胺基酸

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (2)..(2)
<223> Xaa2 不存在或為親水性胺基酸

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (3)..(3)
<223> Xaa3 不存在或來自 1 至 10 個親水性胺基酸

<400> 7

Xaa Xaa Xaa Ser Leu Tyr Leu Gly Leu Gln His Asp Gly Asn Asp Gly
1 5 10 15

Leu Pro Pro Pro Pro Tyr Ser Pro Arg Asp Asp Ser Ser Gln His Ile
20 25 30

Tyr Glu Glu Ala
35

<210> 8
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> Xaa1 不存在或為 S 或親水性胺基酸

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (2)..(2)
<223> Xaa2 不存在或來自 1 至 4 個親水性胺基酸

<400> 8

Xaa Xaa Ser Leu Tyr Leu Gly Leu Gln His Asp Gly Asn Asp Gly Leu
1 5 10 15

Pro Pro Pro Pro Tyr Ser Pro Arg Asp Asp Ser Ser Gln His Ile Tyr
20 25 30

Glu Glu Ala
35

<210> 9
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 9

Ser Lys Lys Lys Lys Ser Leu Tyr Leu Gly Leu Gln His Asp Gly Asn
1 5 10 15

Asp Gly Leu Pro Pro Pro Pro Tyr Ser Pro Arg Asp Asp Ser Ser Gln
20 25 30

His Ile Tyr Glu Glu Ala
35

<210> 10
<211> 33
<212> PRT
<213> 人工的

<220>

<223> 合成肽序列

<400> 10

Ser Leu Tyr Leu Gly Leu Gln His Asp Gly Asn Asp Gly Leu Pro Pro
1 5 10 15

Pro Pro Tyr Ser Pro Arg Asp Asp Ser Ser Gln His Ile Tyr Glu Glu
20 25 30

Ala

<210> 11
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> Xaa1 不存在或為 S 或親水性胺基酸

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (2)..(2)
<223> Xaa2 不存在或為親水性胺基酸

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (3)..(3)

<223> Xaa3 不存在或為親水性胺基酸

<220>

<221> MISC_特徵

<222> (4)..(4)

<223> Xaa4 不存在或為一或多個親水性胺基酸

<400> 11

Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Ser	Asp	Tyr	Gln	Pro	Leu	Gly	Thr	Gln	Asp	Gln	Ser
1				5					10					15	

Leu	Tyr	Leu	Gly	Leu	Gln	His	Asp	Gly	Asn	Asp	Gly	Leu
			20					25				

<210> 12

<211> 28

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 合成肽序列

<220>

<221> MISC_特徵

<222> (1)..(1)

<223> Xaa1 不存在或為 S 或親水性胺基酸

<220>

<221> MISC_特徵

<222> (2)..(2)

<223> Xaa2 不存在或為親水性胺基酸

<220>

<221> MISC_特徵

<222> (3)..(3)
<223> Xaa3 不存在或來自 1 至 10 個親水性胺基酸

<400> 12

Xaa Xaa Xaa Ser Asp Tyr Gln Pro Leu Gly Thr Gln Asp Gln Ser Leu
1 5 10 15

Tyr Leu Gly Leu Gln His Asp Gly Asn Asp Gly Leu
20 25

<210> 13
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> Xaa1 不存在或為 S 或親水性胺基酸

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (2)..(2)
<223> Xaa2 不存在或來自 1 至 4 個親水性胺基酸

<400> 13

Xaa Xaa Ser Asp Tyr Gln Pro Leu Gly Thr Gln Asp Gln Ser Leu Tyr
1 5 10 15

Leu Gly Leu Gln His Asp Gly Asn Asp Gly Leu
20 25

<210> 14
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 14

Ser Lys Lys Lys Lys Ser Asp Tyr Gln Pro Leu Gly Thr Gln Asp Gln
1 5 10 15

Ser Leu Tyr Leu Gly Leu Gln His Asp Gly Asn Asp Gly Leu
20 25 30

<210> 15
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 15

Ser Asp Tyr Gln Pro Leu Gly Thr Gln Asp Gln Ser Leu Tyr Leu Gly
1 5 10 15

Leu Gln His Asp Gly Asn Asp Gly Leu
20 25

<210> 16
<211> 51
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> misc_特徵
<222> (1)..(4)
<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 16

Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Asp	Arg	His	Ser	Asp	Tyr	Gln	Pro	Leu	Gly	Thr	Gln
1				5					10					15	

Asp	Gln	Ser	Leu	Tyr	Leu	Gly	Leu	Gln	His	Asp	Gly	Asn	Asp	Gly	Leu
			20					25						30	

Pro	Pro	Pro	Pro	Tyr	Ser	Pro	Arg	Asp	Asp	Ser	Ser	Gln	His	Ile	Tyr
			35					40					45		

Glu	Glu	Ala
		50

<210> 17
<211> 50
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> misc_特徵
<222> (1)..(3)
<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 17

Xaa Xaa Xaa Asp Arg His Ser Asp Tyr Gln Pro Leu Gly Thr Gln Asp
1 5 10 15

Gln Ser Leu Tyr Leu Gly Leu Gln His Asp Gly Asn Asp Gly Leu Pro
20 25 30

Pro Pro Pro Tyr Ser Pro Arg Asp Asp Ser Ser Gln His Ile Tyr Glu
35 40 45

Glu Ala
50

<210> 18
<211> 49
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>

<221> misc_特徵
<222> (1)..(2)
<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 18

Xaa Xaa Asp Arg His Ser Asp Tyr Gln Pro Leu Gly Thr Gln Asp Gln
1 5 10 15

Ser Leu Tyr Leu Gly Leu Gln His Asp Gly Asn Asp Gly Leu Pro Pro
20 25 30

Pro Pro Tyr Ser Pro Arg Asp Asp Ser Ser Gln His Ile Tyr Glu Glu
35 40 45

Ala

<210> 19
<211> 52
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 19

Ser Lys Lys Lys Lys Asp Arg His Ser Asp Tyr Gln Pro Leu Gly Thr
1 5 10 15

Gln Asp Gln Ser Leu Tyr Leu Gly Leu Gln His Asp Gly Asn Asp Gly
20 25 30

Leu Pro Pro Pro Pro Tyr Ser Pro Arg Asp Asp Ser Ser Gln His Ile
35 40 45

Tyr Glu Glu Ala
50

<210> 20
<211> 47
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 20

Asp Arg His Ser Asp Tyr Gln Pro Leu Gly Thr Gln Asp Gln Ser Leu
1 5 10 15

Tyr Leu Gly Leu Gln His Asp Gly Asn Asp Gly Leu Pro Pro Pro Pro
20 25 30

Tyr Ser Pro Arg Asp Asp Ser Ser Gln His Ile Tyr Glu Glu Ala
35 40 45

<210> 21
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工的

<220>

<223> 合成肽序列

<220>

<221> misc_特徵

<222> (1)..(4)

<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 21

Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Leu Trp Thr Leu Val Val Leu Leu Ile Cys Ser
1 5 10 15

Ser Cys Ser Ser Cys Pro Leu Ser Lys Ile Leu Leu Ala Arg Leu Phe
20 25 30

Leu Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Leu
35 40

<210> 22

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 合成肽序列

<220>

<221> misc_特徵

<222> (1)..(3)

<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 22

Xaa Xaa Xaa Leu Leu Trp Thr Leu Val Val Leu Leu Ile Cys Ser Ser
1 5 10 15

Cys Ser Ser Cys Pro Leu Ser Lys Ile Leu Leu Ala Arg Leu Phe Leu
20 25 30

Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Leu
35

<210> 23
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> misc_特徵
<222> (1)..(2)
<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 23

Xaa Xaa Leu Leu Trp Thr Leu Val Val Leu Leu Ile Cys Ser Ser Cys
1 5 10 15

Ser Ser Cys Pro Leu Ser Lys Ile Leu Leu Ala Arg Leu Phe Leu Tyr
20 25 30

Ala Leu Ala Leu Leu Leu
35

<210> 24
<211> 41
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 24

Ser Lys Lys Lys Lys Leu Leu Trp Thr Leu Val Val Leu Leu Ile Cys
1 5 10 15

Ser Ser Cys Ser Ser Cys Pro Leu Ser Lys Ile Leu Leu Ala Arg Leu
20 25 30

Phe Leu Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Leu
35 40

<210> 25
<211> 36
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 25

Leu Leu Trp Thr Leu Val Val Leu Leu Ile Cys Ser Ser Cys Ser Ser
1 5 10 15

Cys Pro Leu Ser Lys Ile Leu Leu Ala Arg Leu Phe Leu Tyr Ala Leu
20 25 30

Ala Leu Leu Leu
35

<210> 26
<211> 44
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> misc_特徵
<222> (1)..(4)
<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 26

Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Met Leu Leu Trp Thr Leu Val Val Leu Leu Ile
1 5 10 15

Cys Ser Ser Cys Ser Ser Cys Pro Leu Ser Lys Ile Leu Leu Ala Arg
20 25 30

Leu Phe Leu Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Leu Leu Ala
35 40

<210> 27
<211> 43

<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> misc_特徵
<222> (1)..(3)
<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 27

Xaa Xaa Xaa Leu Met Leu Leu Trp Thr Leu Val Val Leu Leu Ile Cys
1 5 10 15

Ser Ser Cys Ser Ser Cys Pro Leu Ser Lys Ile Leu Leu Ala Arg Leu
20 25 30

Phe Leu Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Leu Leu Ala
35 40

<210> 28
<211> 42
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> misc_特徵
<222> (1)..(2)

<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 28

Xaa Xaa Leu Met Leu Leu Trp Thr Leu Val Val Leu Leu Ile Cys Ser
1 5 10 15

Ser Cys Ser Ser Cys Pro Leu Ser Lys Ile Leu Leu Ala Arg Leu Phe
20 25 30

Leu Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Leu Leu Ala
35 40

<210> 29
<211> 45
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 29

Ser Lys Lys Lys Lys Leu Met Leu Leu Trp Thr Leu Val Val Leu Leu
1 5 10 15

Ile Cys Ser Ser Cys Ser Ser Cys Pro Leu Ser Lys Ile Leu Leu Ala
20 25 30

Arg Leu Phe Leu Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Leu Leu Ala
35 40 45

<210> 30
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 30

Leu Met Leu Leu Trp Thr Leu Val Val Leu Leu Ile Cys Ser Ser Cys
1 5 10 15

Ser Ser Cys Pro Leu Ser Lys Ile Leu Leu Ala Arg Leu Phe Leu Tyr
20 25 30

Ala Leu Ala Leu Leu Leu Leu Ala
35 40

<210> 31
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> misc_特徵
<222> (1)..(4)
<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 31

Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Met Leu Leu Trp Thr Leu Val Val Leu Leu Ile
1 5 10 15

Cys Ser Ser Cys Ser Ser Cys Pro Leu Ser Lys Ile Leu Leu
20 25 30

<210> 32
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> misc_特徵
<222> (1)..(3)
<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 32

Xaa Xaa Xaa Leu Met Leu Leu Trp Thr Leu Val Val Leu Leu Ile Cys
1 5 10 15

Ser Ser Cys Ser Ser Cys Pro Leu Ser Lys Ile Leu Leu
20 25

<210> 33
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工的

<220>

<223> 合成肽序列

<220>

<221> misc_特徵

<222> (1)..(2)

<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 33

Xaa Xaa Leu Met Leu Leu Trp Thr Leu Val Val Leu Leu Ile Cys Ser
1 5 10 15

Ser Cys Ser Ser Cys Pro Leu Ser Lys Ile Leu Leu
20 25

<210> 34

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 合成肽序列

<400> 34

Ser Lys Lys Lys Lys Leu Met Leu Leu Trp Thr Leu Val Val Leu Leu
1 5 10 15

Ile Cys Ser Ser Cys Ser Ser Cys Pro Leu Ser Lys Ile Leu Leu
20 25 30

<210> 35

<211> 26

<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 35

Leu Met Leu Leu Trp Thr Leu Val Val Leu Leu Ile Cys Ser Ser Cys
1 5 10 15

Ser Ser Cys Pro Leu Ser Lys Ile Leu Leu
20 25

<210> 36
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> misc_特徵
<222> (1)..(4)
<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 36

Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Leu Ile Cys Ser Ser Cys Ser Ser Cys Pro Leu
1 5 10 15

Ser Lys Ile Leu Leu Ala Arg Leu Phe Leu Tyr Ala Leu Ala Leu Leu
20 25 30

Leu Leu Ala
35

<210> 37
<211> 34
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> misc_特徵
<222> (1)..(3)
<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 37

Xaa Xaa Xaa Leu Leu Ile Cys Ser Ser Cys Ser Ser Cys Pro Leu Ser
1 5 10 15

Lys Ile Leu Leu Ala Arg Leu Phe Leu Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Leu
20 25 30

Leu Ala

<210> 38
<211> 33
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> misc_特徵
<222> (1)..(2)
<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 38

Xaa Xaa Leu Leu Ile Cys Ser Ser Cys Ser Ser Cys Pro Leu Ser Lys
1 5 10 15

Ile Leu Leu Ala Arg Leu Phe Leu Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Leu Leu
20 25 30

Ala

<210> 39
<211> 36
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 39

Ser Lys Lys Lys Lys Leu Leu Ile Cys Ser Ser Cys Ser Ser Cys Pro
1 5 10 15

Leu Ser Lys Ile Leu Leu Ala Arg Leu Phe Leu Tyr Ala Leu Ala Leu
20 25 30

Leu Leu Leu Ala
35

<210> 40
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 40

Leu Leu Ile Cys Ser Ser Cys Ser Ser Cys Pro Leu Ser Lys Ile Leu
1 5 10 15

Leu Ala Arg Leu Phe Leu Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Leu Leu Ala
20 25 30

<210> 41
<211> 61
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> misc_特徵
<222> (1)..(4)

<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 41

Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Asn Leu Thr Thr Met Phe Leu Leu Met Leu Leu
1 5 10 15

Trp Thr Leu Val Val Leu Leu Ile Cys Ser Ser Cys Ser Ser Cys Pro
20 25 30

Leu Ser Lys Ile Leu Leu Ala Arg Leu Phe Leu Tyr Ala Leu Ala Leu
35 40 45

Leu Leu Leu Ala Ser Ala Leu Ile Ala Gly Gly Ser Ile
50 55 60

- <210> 42
- <211> 60
- <212> PRT
- <213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

- <220>
- <221> misc_特徵
- <222> (1)..(3)
- <223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 42

Xaa Xaa Xaa Leu Asn Leu Thr Thr Met Phe Leu Leu Met Leu Leu Trp
1 5 10 15

Thr Leu Val Val Leu Leu Ile Cys Ser Ser Cys Ser Ser Cys Pro Leu
20 25 30

Ser Lys Ile Leu Leu Ala Arg Leu Phe Leu Tyr Ala Leu Ala Leu Leu
35 40 45

Leu Leu Ala Ser Ala Leu Ile Ala Gly Gly Ser Ile
50 55 60

<210> 43
<211> 59
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> misc_特徵
<222> (1)..(2)
<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 43

Xaa Xaa Leu Asn Leu Thr Thr Met Phe Leu Leu Met Leu Leu Trp Thr
1 5 10 15

Leu Val Val Leu Leu Ile Cys Ser Ser Cys Ser Ser Cys Pro Leu Ser
20 25 30

Lys Ile Leu Leu Ala Arg Leu Phe Leu Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Leu
35 40 45

Leu Ala Ser Ala Leu Ile Ala Gly Gly Ser Ile
50 55

<210> 44
<211> 62
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 44

Ser Lys Lys Lys Lys Leu Asn Leu Thr Thr Met Phe Leu Leu Met Leu
1 5 10 15

Leu Trp Thr Leu Val Val Leu Leu Ile Cys Ser Ser Cys Ser Ser Cys
20 25 30

Pro Leu Ser Lys Ile Leu Leu Ala Arg Leu Phe Leu Tyr Ala Leu Ala
35 40 45

Leu Leu Leu Leu Ala Ser Ala Leu Ile Ala Gly Gly Ser Ile
50 55 60

<210> 45
<211> 57
<212> PRT
<213> 人工的

<220>

<223> 合成肽序列

<400> 45

Leu Asn Leu Thr Thr Met Phe Leu Leu Met Leu Leu Trp Thr Leu Val
1 5 10 15

Val Leu Leu Ile Cys Ser Ser Cys Ser Ser Cys Pro Leu Ser Lys Ile
20 25 30

Leu Leu Ala Arg Leu Phe Leu Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Leu Ala
35 40 45

Ser Ala Leu Ile Ala Gly Gly Ser Ile
50 55

<210> 46

<211> 48

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 合成肽序列

<220>

<221> misc_特徵

<222> (1)..(4)

<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 46

Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Leu Leu Met Leu Leu Trp Thr Leu Val Val Leu
1 5 10 15

Leu Ile Cys Ser Ser Cys Ser Ser Cys Pro Leu Ser Lys Ile Leu Leu
20 25 30

Ala Arg Leu Phe Leu Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Leu Leu Ala Ser Ala
35 40 45

<210> 47
<211> 47
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> misc_特徵
<222> (1)..(3)
<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 47

Xaa Xaa Xaa Phe Leu Leu Met Leu Leu Trp Thr Leu Val Val Leu Leu
1 5 10 15

Ile Cys Ser Ser Cys Ser Ser Cys Pro Leu Ser Lys Ile Leu Leu Ala
20 25 30

Arg Leu Phe Leu Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Leu Leu Ala Ser Ala
35 40 45

<210> 48
<211> 46
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> misc_特徵
<222> (1)..(2)
<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 48

Xaa Xaa Phe Leu Leu Met Leu Leu Trp Thr Leu Val Val Leu Leu Ile
1 5 10 15

Cys Ser Ser Cys Ser Ser Cys Pro Leu Ser Lys Ile Leu Leu Ala Arg
20 25 30

Leu Phe Leu Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Leu Leu Ala Ser Ala
35 40 45

<210> 49
<211> 49
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 49

Ser Lys Lys Lys Lys Phe Leu Leu Met Leu Leu Trp Thr Leu Val Val
1 5 10 15

Leu Leu Ile Cys Ser Ser Cys Ser Ser Cys Pro Leu Ser Lys Ile Leu
20 25 30

Leu Ala Arg Leu Phe Leu Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Leu Leu Ala Ser
35 40 45

Ala

<210> 50
<211> 44
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 50

Phe Leu Leu Met Leu Leu Trp Thr Leu Val Val Leu Leu Ile Cys Ser
1 5 10 15

Ser Cys Ser Ser Cys Pro Leu Ser Lys Ile Leu Leu Ala Arg Leu Phe
20 25 30

Leu Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Leu Leu Ala Ser Ala
35 40

<210> 51
<211> 55
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> misc_特徵
<222> (1)..(4)
<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 51

Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Gln Gly Ile Tyr Val Leu Val Met Leu Val Leu
1 5 10 15

Leu Ile Leu Ala Tyr Arg Arg Arg Trp Arg Arg Leu Thr Val Cys Gly
20 25 30

Gly Ile Met Phe Leu Ala Cys Val Leu Val Leu Ile Val Asp Ala Val
35 40 45

Leu Gln Leu Ser Pro Leu Leu
50 55

<210> 52
<211> 54
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> misc_特徵
<222> (1)..(3)
<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 52

Xaa Xaa Xaa Leu Gln Gly Ile Tyr Val Leu Val Met Leu Val Leu Leu
1 5 10 15

Ile Leu Ala Tyr Arg Arg Arg Trp Arg Arg Leu Thr Val Cys Gly Gly
20 25 30

Ile Met Phe Leu Ala Cys Val Leu Val Leu Ile Val Asp Ala Val Leu
35 40 45

Gln Leu Ser Pro Leu Leu
50

<210> 53
<211> 53
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>

<221> misc_特徵
<222> (1)..(2)
<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 53

Xaa Xaa Leu Gln Gly Ile Tyr Val Leu Val Met Leu Val Leu Leu Ile
1 5 10 15

Leu Ala Tyr Arg Arg Arg Trp Arg Arg Leu Thr Val Cys Gly Gly Ile
20 25 30

Met Phe Leu Ala Cys Val Leu Val Leu Ile Val Asp Ala Val Leu Gln
35 40 45

Leu Ser Pro Leu Leu
50

<210> 54
<211> 56
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 54

Ser Lys Lys Lys Lys Leu Gln Gly Ile Tyr Val Leu Val Met Leu Val
1 5 10 15

Leu Leu Ile Leu Ala Tyr Arg Arg Arg Trp Arg Arg Leu Thr Val Cys
20 25 30

Gly Gly Ile Met Phe Leu Ala Cys Val Leu Val Leu Ile Val Asp Ala
35 40 45

Val Leu Gln Leu Ser Pro Leu Leu
50 55

<210> 55
<211> 51
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 55

Leu Gln Gly Ile Tyr Val Leu Val Met Leu Val Leu Leu Ile Leu Ala
1 5 10 15

Tyr Arg Arg Arg Trp Arg Arg Leu Thr Val Cys Gly Gly Ile Met Phe
20 25 30

Leu Ala Cys Val Leu Val Leu Ile Val Asp Ala Val Leu Gln Leu Ser
35 40 45

Pro Leu Leu
50

<210> 56
<211> 56

<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> misc_特徵
<222> (1)..(4)
<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 56

Xaa Xaa Xaa Xaa Ser Gly Asn Arg Thr Tyr Gly Pro Val Phe Met Cys
1 5 10 15

Ser Leu Gly Gly Leu Leu Thr Met Val Ala Gly Ala Val Trp Leu Thr
20 25 30

Val Met Ser Asn Thr Leu Leu Ser Ala Trp Ile Leu Thr Ala Gly Phe
35 40 45

Leu Ile Phe Leu Ile Gly Phe Ala
50 55

<210> 57
<211> 55
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> misc_特徵
<222> (1)..(3)
<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 57

Xaa Xaa Xaa Ser Gly Asn Arg Thr Tyr Gly Pro Val Phe Met Cys Ser
1 5 10 15

Leu Gly Gly Leu Leu Thr Met Val Ala Gly Ala Val Trp Leu Thr Val
20 25 30

Met Ser Asn Thr Leu Leu Ser Ala Trp Ile Leu Thr Ala Gly Phe Leu
35 40 45

Ile Phe Leu Ile Gly Phe Ala
50 55

<210> 58
<211> 54
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> misc_特徵
<222> (1)..(2)
<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 58

Xaa Xaa Ser Gly Asn Arg Thr Tyr Gly Pro Val Phe Met Cys Ser Leu
1 5 10 15

Gly Gly Leu Leu Thr Met Val Ala Gly Ala Val Trp Leu Thr Val Met
20 25 30

Ser Asn Thr Leu Leu Ser Ala Trp Ile Leu Thr Ala Gly Phe Leu Ile
35 40 45

Phe Leu Ile Gly Phe Ala
50

- <210> 59
- <211> 57
- <212> PRT
- <213> 人工的

- <220>
- <223> 合成肽序列

<400> 59

Ser Lys Lys Lys Lys Ser Gly Asn Arg Thr Tyr Gly Pro Val Phe Met
1 5 10 15

Cys Ser Leu Gly Gly Leu Leu Thr Met Val Ala Gly Ala Val Trp Leu
20 25 30

Thr Val Met Ser Asn Thr Leu Leu Ser Ala Trp Ile Leu Thr Ala Gly
35 40 45

Phe Leu Ile Phe Leu Ile Gly Phe Ala
50 55

<210> 60
<211> 52
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 60

Ser Gly Asn Arg Thr Tyr Gly Pro Val Phe Met Cys Ser Leu Gly Gly
1 5 10 15

Leu Leu Thr Met Val Ala Gly Ala Val Trp Leu Thr Val Met Ser Asn
20 25 30

Thr Leu Leu Ser Ala Trp Ile Leu Thr Ala Gly Phe Leu Ile Phe Leu
35 40 45

Ile Gly Phe Ala
50

<210> 61
<211> 51
<212> PRT
<213> 人工的

<220>

<223> 合成肽序列

<220>

<221> misc_特徵

<222> (1)..(4)

<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 61

Xaa Xaa Xaa Xaa Ser Asn Glu Glu Pro Pro Pro Pro Tyr Glu Asp Pro
1 5 10 15

Tyr Trp Gly Asn Gly Asp Arg His Ser Asp Tyr Gln Pro Leu Gly Thr
20 25 30

Gln Asp Gln Ser Leu Tyr Leu Gly Leu Gln His Asp Gly Asn Asp Gly
35 40 45

Leu Pro Pro
50

<210> 62

<211> 50

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 合成肽序列

<220>

<221> misc_特徵

<222> (1)..(3)

<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 62

Xaa Xaa Xaa Ser Asn Glu Glu Pro Pro Pro Pro Tyr Glu Asp Pro Tyr
1 5 10 15

Trp Gly Asn Gly Asp Arg His Ser Asp Tyr Gln Pro Leu Gly Thr Gln
20 25 30

Asp Gln Ser Leu Tyr Leu Gly Leu Gln His Asp Gly Asn Asp Gly Leu
35 40 45

Pro Pro
50

- <210> 63
- <211> 49
- <212> PRT
- <213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

- <220>
- <221> misc_特徵
- <222> (1)..(2)
- <223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 63

Xaa Xaa Ser Asn Glu Glu Pro Pro Pro Pro Tyr Glu Asp Pro Tyr Trp
1 5 10 15

Gly Asn Gly Asp Arg His Ser Asp Tyr Gln Pro Leu Gly Thr Gln Asp
20 25 30

Gln Ser Leu Tyr Leu Gly Leu Gln His Asp Gly Asn Asp Gly Leu Pro
35 40 45

Pro

<210> 64
<211> 52
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 64

Ser Lys Lys Lys Lys Ser Asn Glu Glu Pro Pro Pro Pro Tyr Glu Asp
1 5 10 15

Pro Tyr Trp Gly Asn Gly Asp Arg His Ser Asp Tyr Gln Pro Leu Gly
20 25 30

Thr Gln Asp Gln Ser Leu Tyr Leu Gly Leu Gln His Asp Gly Asn Asp
35 40 45

Gly Leu Pro Pro
50

<400> 66

Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Asn Asp Gly Leu Pro Pro Pro Pro Tyr Ser Pro
1 5 10 15

Arg Asp Asp Ser Ser Gln His Ile Tyr Glu Glu Ala Gly Arg Gly Ser
20 25 30

Met Asn Pro Val Cys Leu Pro Val Ile Val Ala Pro Tyr Leu Phe Trp
35 40 45

Leu Ala Ala Ile Ala Ala Ser
50 55

- <210> 67
- <211> 54
- <212> PRT
- <213> 人工的

- <220>
- <223> 合成肽序列

- <220>
- <221> misc_特徵
- <222> (1)..(3)
- <223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 67

Xaa Xaa Xaa Gly Asn Asp Gly Leu Pro Pro Pro Pro Tyr Ser Pro Arg
1 5 10 15

Asp Asp Ser Ser Gln His Ile Tyr Glu Glu Ala Gly Arg Gly Ser Met
20 25 30

Asn Pro Val Cys Leu Pro Val Ile Val Ala Pro Tyr Leu Phe Trp Leu
35 40 45

Ala Ala Ile Ala Ala Ser
50

<210> 68
<211> 53
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> misc_特徵
<222> (1)..(2)
<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 68

Xaa Xaa Gly Asn Asp Gly Leu Pro Pro Pro Pro Tyr Ser Pro Arg Asp
1 5 10 15

Asp Ser Ser Gln His Ile Tyr Glu Glu Ala Gly Arg Gly Ser Met Asn
20 25 30

Pro Val Cys Leu Pro Val Ile Val Ala Pro Tyr Leu Phe Trp Leu Ala
35 40 45

Ala Ile Ala Ala Ser
50

<210> 69
<211> 56
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 69

Ser Lys Lys Lys Lys Gly Asn Asp Gly Leu Pro Pro Pro Pro Tyr Ser
1 5 10 15

Pro Arg Asp Asp Ser Ser Gln His Ile Tyr Glu Glu Ala Gly Arg Gly
20 25 30

Ser Met Asn Pro Val Cys Leu Pro Val Ile Val Ala Pro Tyr Leu Phe
35 40 45

Trp Leu Ala Ala Ile Ala Ala Ser
50 55

<210> 70
<211> 51
<212> PRT
<213> 人工的

<220>

<223> 合成肽序列

<400> 70

Gly Asn Asp Gly Leu Pro Pro Pro Pro Tyr Ser Pro Arg Asp Asp Ser
1 5 10 15

Ser Gln His Ile Tyr Glu Glu Ala Gly Arg Gly Ser Met Asn Pro Val
20 25 30

Cys Leu Pro Val Ile Val Ala Pro Tyr Leu Phe Trp Leu Ala Ala Ile
35 40 45

Ala Ala Ser
50

<210> 71
<211> 54
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> misc_特徵
<222> (1)..(4)
<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 71

Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Ala Ile Ala Ala Ser Cys Phe Thr Ala Ser Val
1 5 10 15

Ser Thr Val Val Thr Ala Thr Gly Leu Ala Leu Ser Leu Leu Leu Leu
20 25 30

Ala Ala Val Ala Ser Ser Tyr Ala Ala Ala Gln Arg Lys Leu Leu Thr
35 40 45

Pro Val Thr Val Leu Thr
50

<210> 72
<211> 53
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> misc_特徵
<222> (1)..(3)
<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 72

Xaa Xaa Xaa Ala Ala Ile Ala Ala Ser Cys Phe Thr Ala Ser Val Ser
1 5 10 15

Thr Val Val Thr Ala Thr Gly Leu Ala Leu Ser Leu Leu Leu Leu Ala
20 25 30

Ala Val Ala Ser Ser Tyr Ala Ala Ala Gln Arg Lys Leu Leu Thr Pro
35 40 45

Val Thr Val Leu Thr
50

<210> 73
<211> 52
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> misc_特徵
<222> (1)..(2)
<223> Xaa 可為任何天然存在之胺基酸

<400> 73

Xaa Xaa Ala Ala Ile Ala Ala Ser Cys Phe Thr Ala Ser Val Ser Thr
1 5 10 15

Val Val Thr Ala Thr Gly Leu Ala Leu Ser Leu Leu Leu Ala Ala
20 25 30

Val Ala Ser Ser Tyr Ala Ala Ala Gln Arg Lys Leu Leu Thr Pro Val
35 40 45

Thr Val Leu Thr
50

<210> 74
<211> 55
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 74

Ser Lys Lys Lys Lys Ala Ala Ile Ala Ala Ser Cys Phe Thr Ala Ser
1 5 10 15

Val Ser Thr Val Val Thr Ala Thr Gly Leu Ala Leu Ser Leu Leu Leu
20 25 30

Leu Ala Ala Val Ala Ser Ser Tyr Ala Ala Ala Gln Arg Lys Leu Leu
35 40 45

Thr Pro Val Thr Val Leu Thr
50 55

<210> 75
<211> 50
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 75

Ala Ala Ile Ala Ala Ser Cys Phe Thr Ala Ser Val Ser Thr Val Val
1 5 10 15

Thr Ala Thr Gly Leu Ala Leu Ser Leu Leu Leu Leu Ala Ala Val Ala
 20 25 30

Ser Ser Tyr Ala Ala Ala Gln Arg Lys Leu Leu Thr Pro Val Thr Val
 35 40 45

Leu Thr
 50

<210> 76
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 76

Glu Ser Asn Glu Glu Pro Pro Pro Pro Tyr
1 5 10

<210> 77
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 77

Ser Asn Glu Glu Pro Pro Pro Pro Tyr
1 5

<210> 78
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 78

His Ser Asp Tyr Gln Pro Leu Gly Thr
1 5

<210> 79
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 79

Pro Leu Gly Thr Gln Asp Gln Ser Leu
1 5

<210> 80
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 80

Pro Leu Gly Thr Gln Asp Gln Ser Leu Tyr
1 5 10

<210> 81
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 81

Leu Gly Thr Gln Asp Gln Ser Leu Tyr
1 5

<210> 82
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 82

Gly Thr Gln Asp Gln Ser Leu Tyr Leu
1 5

<210> 83
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 83

Gly Thr Gln Asp Gln Ser Leu Tyr Leu
1 5

<210> 84
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 84

Gly Thr Gln Asp Gln Ser Leu Tyr Leu Gly
1 5 10

<210> 85
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 85

Gln Ser Leu Tyr Leu Gly Leu Gln His
1 5 \

<210> 86
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 86

Ser Leu Tyr Leu Gly Leu Gln His Asp
1 5

<210> 87
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 87

Gly Leu Gln His Asp Gly Asn Asp Gly Leu
1 5 10

<210> 88
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工的

<220>

<223> 合成肽序列

<400> 88

Gly Asn Asp Gly Leu Pro Pro Pro Pro Tyr
1 5 10

<210> 89

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 合成肽序列

<400> 89

Gly Leu Pro Pro Pro Pro Tyr Ser Pro
1 5

<210> 90

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 合成肽序列

<400> 90

Gly Leu Pro Pro Pro Pro Tyr Ser Pro Arg
1 5 10

<210> 91

<211> 10

<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 91

Pro Arg Asp Asp Ser Ser Gln His Ile Tyr
1 5 10

<210> 92
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 92

Arg Asp Asp Ser Ser Gln His Ile Tyr
1 5

<210> 93
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 93

His Ile Tyr Glu Glu Ala Gly Arg Gly
1 5

<210> 94
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 94

Ile Leu Leu Ala Arg Leu Phe Leu Tyr
1 5

<210> 95
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 95

Ser Ser Cys Ser Ser Cys Pro Leu Ser Lys Ile
1 5 10

<210> 96
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 96

Leu Leu Trp Thr Leu Val Val Leu Leu
1 5

<210> 97

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 合成肽序列

<400> 97

Phe Leu Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Leu
1 5

<210> 98

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 合成肽序列

<400> 98

Cys Leu Gly Gly Leu Leu Thr Met Val
1 5

<210> 99

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 合成肽序列

<400> 99

Leu Ile Val Asp Ala Val Leu Gln Leu
1 5

<210> 100

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 合成肽序列

<400> 100

Leu Thr Ala Gly Phe Leu Ile Phe Leu
1 5

<210> 101

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 合成肽序列

<400> 101

Thr Val Cys Gly Gly Ile Met Phe Leu
1 5

<210> 102
<211> 42
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> Xaa1 不存在或為 S

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (2)..(2)
<223> Xaa2 不存在或為親水性胺基酸

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (3)..(3)
<223> Xaa3 不存在或為親水性胺基酸

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (4)..(4)
<223> Xaa4 不存在或為一或多個親水性胺基酸

<400> 102

Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Ala Arg Gly Pro Glu Ser Arg Leu Leu Glu Phe
1 5 10 15

Tyr Leu Ala Met Pro Phe Ala Thr Pro Met Glu Ala Glu Leu Ala Arg
20 25 30

Arg Ser Leu Ala Gln Asp Ala Pro Pro Leu
35 40

<210> 103
<211> 41
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> Xaa1 不存在或為 S

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (2)..(2)
<223> Xaa2 不存在或為親水性胺基酸

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (3)..(3)
<223> Xaa3 不存在或來自 1 至 10 個親水性胺基酸

<400> 103

Xaa Xaa Xaa Gly Ala Arg Gly Pro Glu Ser Arg Leu Leu Glu Phe Tyr
1 5 10 15

Leu Ala Met Pro Phe Ala Thr Pro Met Glu Ala Glu Leu Ala Arg Arg
20 25 30

Ser Leu Ala Gln Asp Ala Pro Pro Leu
35 40

<210> 104
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> Xaa1 不存在或為 S

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (2)..(2)
<223> Xaa2 不存在或來自 1 至 4 個親水性胺基酸

<400> 104

Xaa Xaa Gly Ala Arg Gly Pro Glu Ser Arg Leu Leu Glu Phe Tyr Leu
1 5 10 - 15

Ala Met Pro Phe Ala Thr Pro Met Glu Ala Glu Leu Ala Arg Arg Ser
20 25 30

Leu Ala Gln Asp Ala Pro Pro Leu
35 40

<210> 105
<211> 43
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 105

Ser Lys Lys Lys Lys Gly Ala Arg Gly Pro Glu Ser Arg Leu Leu Glu
1 5 10 15

Phe Tyr Leu Ala Met Pro Phe Ala Thr Pro Met Glu Ala Glu Leu Ala
20 25 30

Arg Arg Ser Leu Ala Gln Asp Ala Pro Pro Leu
35 40

<210> 106
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 106

Gly Ala Arg Gly Pro Glu Ser Arg Leu Leu Glu Phe Tyr Leu Ala Met
1 5 10 15

Pro Phe Ala Thr Pro Met Glu Ala Glu Leu Ala Arg Arg Ser Leu Ala
20 25 30

Gln Asp Ala Pro Pro Leu
35

<210> 107
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 107

Leu Ala Met Pro Phe Ala Thr Pro Met
1 5

<210> 108
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 108

Phe Ala Thr Pro Met Glu Ala Glu Leu
1 5

<210> 109
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> Xaa1 不存在或為 S

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (2)..(2)
<223> Xaa2 不存在或為親水性胺基酸

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (3)..(3)
<223> Xaa3 不存在或為親水性胺基酸

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (4)..(4)
<223> Xaa4 不存在或為一或多個親水性胺基酸

<400> 109

Xaa Xaa Xaa Xaa Val Pro Gly Val Leu Leu Lys Glu Phe Thr Val Ser
1 5 10 15

Gly Asn Ile Leu Thr Ile Arg Leu Thr Ala Ala Asp His Arg
20 25 30

<210> 110
<211> 29
<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 合成肽序列

<220>

<221> MISC_特徵

<222> (1)..(1)

<223> Xaa1 不存在或為 S

<220>

<221> MISC_特徵

<222> (2)..(2)

<223> Xaa2 不存在或為親水性胺基酸

<220>

<221> MISC_特徵

<222> (3)..(3)

<223> Xaa3 不存在或來自 1 至 10 個親水性胺基酸

<400> 110

Xaa	Xaa	Xaa	Val	Pro	Gly	Val	Leu	Leu	Lys	Glu	Phe	Thr	Val	Ser	Gly
1			5				10						15		

Asn	Ile	Leu	Thr	Ile	Arg	Leu	Thr	Ala	Ala	Asp	His	Arg
		20				25						

<210> 111

<211> 28

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 合成肽序列

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> Xaa1 不存在或為 S

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (2)..(2)
<223> Xaa2 不存在或來自 1 至 4 個親水性胺基酸

<400> 111

Xaa Xaa Val Pro Gly Val Leu Leu Lys Glu Phe Thr Val Ser Gly Asn
1 5 10 15

Ile Leu Thr Ile Arg Leu Thr Ala Ala Asp His Arg
20 25

<210> 112
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 112

Ser Lys Lys Lys Lys Val Pro Gly Val Leu Leu Lys Glu Phe Thr Val
1 5 10 15

Ser Gly Asn Ile Leu Thr Ile Arg Leu Thr Ala Ala Asp His Arg
20 25 30

<210>	113
<211>	26
<212>	PRT
<213>	人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 113

Val Pro Gly Val Leu Leu Lys Glu Phe Thr Val Ser Gly Asn Ile Leu
1 5 10 15

Thr Ile Arg Leu Thr Ala Ala Asp His Arg
20 25

<210>	114
<211>	9
<212>	PRT
<213>	人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 114

Glu Phe Thr Val Ser Gly Asn Ile Leu
1 5

<210>	115
<211>	32
<212>	PRT
<213>	人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> Xaa1 不存在或為 S

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (2)..(2)
<223> Xaa2 不存在或為親水性胺基酸

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (3)..(3)
<223> Xaa3 不存在或為親水性胺基酸

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (4)..(4)
<223> Xaa4 不存在或為一或多個親水性胺基酸

<400> 115

Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Gln Gln Leu Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr Gln
1 5 10 15

Cys Phe Leu Pro Val Phe Leu Ala Gln Pro Pro Ser Gly Gln Arg Arg
20 25 30

<210> 116
<211> 31
<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 合成肽序列

<220>

<221> MISC_特徵

<222> (1)..(1)

<223> Xaa1 不存在或為 S

<220>

<221> MISC_特徵

<222> (2)..(2)

<223> Xaa2 不存在或為親水性胺基酸

<220>

<221> MISC_特徵

<222> (3)..(3)

<223> Xaa3 不存在或來自 1 至 10 個親水性胺基酸

<400> 116

Xaa Xaa Xaa Leu Gln Gln Leu Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr Gln Cys
1 5 10 15

Phe Leu Pro Val Phe Leu Ala Gln Pro Pro Ser Gly Gln Arg Arg
20 25 30

<210> 117

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 合成肽序列

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> Xaa1 不存在或為 S

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (2)..(2)
<223> Xaa2 不存在或來自 1 至 4 個親水性胺基酸

<400> 117

Xaa Xaa Leu Gln Gln Leu Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr Gln Cys Phe
1 5 10 15

Leu Pro Val Phe Leu Ala Gln Pro Pro Ser Gly Gln Arg Arg
20 25 30

<210> 118
<211> 33
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 118

Ser Lys Lys Lys Lys Leu Gln Gln Leu Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr
1 5 10 15

Gln Cys Phe Leu Pro Val Phe Leu Ala Gln Pro Pro Ser Gly Gln Arg
20 25 30

Arg

<210> 119
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 119

Leu Gln Gln Leu Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr Gln Cys Phe Leu Pro
1 5 10 15

Val Phe Leu Ala Gln Pro Pro Ser Gly Gln Arg Arg
20 25

<210> 120
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 120

Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr Gln Cys Phe Leu Pro Val Phe
1 5 10

<210> 121
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 121

Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr Gln Cys
1 5

<210> 122
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 122

Asn Leu Val Pro Met Val Ala Thr Val
1 5

<210> 123
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 123

Cys Ser Lys Lys Lys Lys Asn Leu Val Pro Cys Val Ala Thr Val
1 5 10 15

<210> 124
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> Xaa1 不存在或為 S

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (2)..(2)
<223> Xaa2 不存在或為親水性胺基酸

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (3)..(3)
<223> Xaa3 不存在或為親水性胺基酸

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (4)..(4)
<223> Xaa4 不存在或為一或多個親水性胺基酸

<400> 124

Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Ile Ser Gln Ala Val His Ala Ala His Ala Glu
1 5 10 15

Ile Asn Glu Ala Gly Arg Glu Ser Ile Ile Asn Phe Glu Lys Leu Thr
20 25 30

Glu Trp Thr
35

<210> 125
<211> 34
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> Xaa1 不存在或為 S

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (2)..(2)
<223> Xaa2 不存在或為親水性胺基酸

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (3)..(3)
<223> Xaa3 不存在或來自 1 至 10 個親水性胺基酸

<400> 125

Xaa Xaa Xaa Lys Ile Ser Gln Ala Val His Ala Ala His Ala Glu Ile
1 5 10 15

Asn Glu Ala Gly Arg Glu Ser Ile Ile Asn Phe Glu Lys Leu Thr Glu
20 25 30

Trp Thr

<210> 126
<211> 33
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (1)..(1)
<223> Xaa1 不存在或為 S

<220>
<221> MISC_特徵
<222> (2)..(2)
<223> Xaa2 不存在或來自 1 至 4 個親水性胺基酸

<400> 126

Xaa Xaa Lys Ile Ser Gln Ala Val His Ala Ala His Ala Glu Ile Asn
1 5 10 15

Glu Ala Gly Arg Glu Ser Ile Ile Asn Phe Glu Lys Leu Thr Glu Trp
20 25 30

Thr

<210> 127
<211> 36
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 127

Ser Lys Lys Lys Lys Lys Ile Ser Gln Ala Val His Ala Ala His Ala
1 5 10 15

Glu Ile Asn Glu Ala Gly Arg Glu Ser Ile Ile Asn Phe Glu Lys Leu
20 25 30

Thr Glu Trp Thr
35

<210> 128
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 128

Lys Ile Ser Gln Ala Val His Ala Ala His Ala Glu Ile Asn Glu Ala
1 5 10 15

Gly Arg Glu Ser Ile Ile Asn Phe Glu Lys Leu Thr Glu Trp Thr
20 25 30

<210> 129
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 129

Ser Ile Ile Asn Phe Glu Lys Leu
1 5

<210> 130
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成肽序列

<400> 130

Ile Ser Gln Ala Val His Ala Ala His Ala Glu Ile Asn Glu Ala Gly
1 5 10 15

Arg

發明摘要

※ 申請案號：106106457

※ 申請日：106/02/24

※IPC 分類：**A61K 47/55** (2017.01)
C07K 7/08 (2006.01)
A61K 39/385 (2006.01)
A61K 39/39 (2006.01)

【發明名稱】胺基酸及肽共軛物以及共軛過程／AMINO ACID AND PEPTIDE CONJUGATES AND CONJUGATION PROCESS

【中文】

本發明是有關於胺基酸及肽共軛物、製備胺基酸及肽共軛物之方法、藉由該等方法生產之共軛物以及包含該等共軛物之醫藥組成物。本發明亦意欲涵蓋在受試者中引起免疫反應之方法及對受試者進行接種之方法、該等共軛物用於其之用途、以及該等共軛物在製造用於其之藥物中之用途。

【英文】

The invention relates to amino acid and peptide conjugates, methods for making amino acid and peptide conjugates, conjugates produced by the methods, and pharmaceutical compositions comprising the conjugates. Methods of eliciting immune responses in a subject and methods of vaccinating a subject, uses of the conjugates for the same, and uses of the conjugates in the manufacture of medicaments for the same are also contemplated.

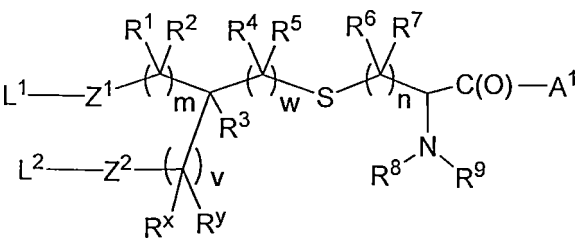
【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（1）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

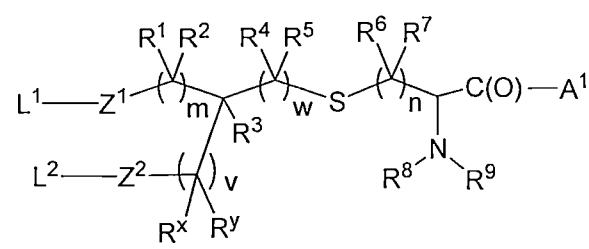
【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：



(I)

申請專利範圍

1. 一種式 (I) 之化合物，



(I)

其中

m 及 w 分別獨立地為0至7之整數且 v 為0至5之整數，

其限制條件係為：

m 、 v 與 w 之和至少為3；以及

m 與 w 之和為0至7；

n 為1或2；

Z^1 及 Z^2 別 獨 立 地 選 自 由

O--- 、 ---NR--- 、 ---S--- 、 ---S(O)--- 、 $\text{---SO}_2\text{---}$ 、 ---C(O)O--- 、 ---OC(O)--- 、 ---C(O)NR--- 、 ---NRC(O)--- 、 ---C(O)S--- 、 ---SC(O)--- 、 ---OC(O)O--- 、 ---NRC(O)O--- 、 ---OC(O)NR--- 及 ---NRC(O)NR--- 組成之群組；

R^1 、 R^2 、 R^x 、 R^y 、 R^4 、 R^5 、 R^6 及 R^7 在 m 、 v 、 w 及 n 之每一情形下

皆分別獨立地為氫或C1-6脂族基；

R 、 R^3 及 R^8 分別獨立地為氫或C1-6脂族基；

R^9 為氫、C1-6脂族基、胺基保護基、 $\text{L}^3\text{---C(O)---}$ 或 A^2 ；

L^1 及 L^2 分別獨立地選自C5-21脂族基或C4-20雜脂族基；

L^3 為C1-21脂族基或C2-20雜脂族基；

A^1 為胺基酸、肽、OH、 OP^1 、 NH_2 或 NHP^2 ，其中 P^1 為羧基保護基，且其中 P^2 為羧醯胺（carboxamide）保護基；

A^2 為胺基酸或肽；

其中R、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^x 、 R^y 、 L^1 、 L^2 及 L^3 其中之任一者中存在之任一脂族基或雜脂族基視需要經取代；

或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物。

2. 如請求項1所述之化合物，其中

R^1 、 R^2 、 R^x 、 R^y 、 R^4 、 R^5 、 R^6 及 R^7 在m、v、w、及n之每一情形下皆分別獨立地為氫、C1-6烷基或C3-6環烷基；

R、 R^3 及 R^8 分別獨立地為氫、C1-6烷基或C3-6環烷基；

R^9 為氫、C1-6烷基、C3-6環烷基、胺基保護基、 $L^3-C(O)$ 或 A^2 ；

L^1 及 L^2 分別獨立地選自C5-21烷基、C5-21烯基或C4-20雜烷基；

L^3 為C1-21烷基、C2-21烯基、C3-6環烷基或C2-20雜烷基；

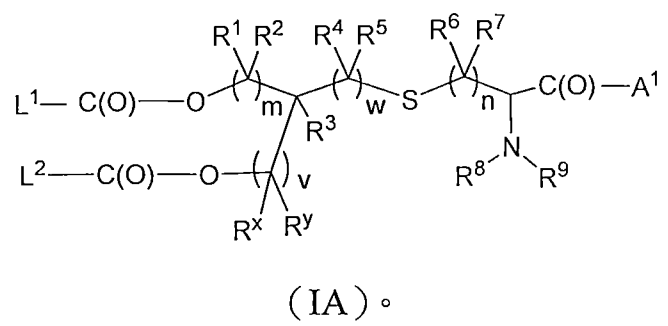
A^1 為胺基酸、肽、OH、 OP^1 、 NH_2 或 NHP^2 ，其中 P^1 為羧基保護基，且其中 P^2 為羧醯胺保護基；

A^2 為胺基酸或肽；

其中R、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^x 、 R^y 、 L^1 、 L^2 及 L^3 其中之任一者中存在之任一烷基、烯基、環烷基或雜烷基視需要經取代。

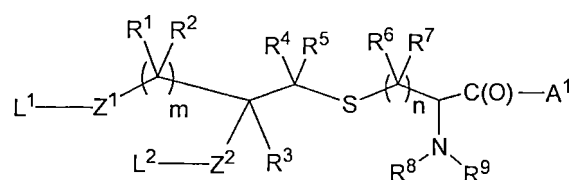
3. 如請求項1或2所述之化合物，其中 Z^1 及 Z^2 分別獨立地選自由 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)NR-$ 及 $-C(O)S-$ 組成之群組。

4. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中該化合物為式 (IA) 之化合物：



- 5. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中v為0至3。
- 6. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中v為0。
- 7. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中m及w分別獨立地為0至5。
- 8. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中m及w分別獨立地為1至4。
- 9. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中m與w之和為2至7。
- 10. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中m與w之和為2至5。
- 11. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中m與w之和為3。
- 12. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中m為1至3。
- 13. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中m為2。
- 14. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中w為1或2。
- 15. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中w為1。
- 16. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中n為1。
- 17. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中L¹及L²分別獨立地為C5-21
烷基。
- 18. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中L¹及L²分別獨立地為C15直
鏈烷基。

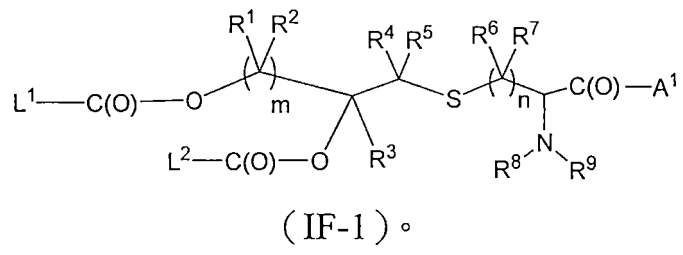
19. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中 L^3 為甲基或C15直鏈烷基。
20. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中 L^3 為甲基。
21. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中該胺基保護基為第三丁氧羰基（Boc）或9-芴甲氧羰基（Fmoc）。
22. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中 R^1 及 R^2 在m之每一情形下皆分別獨立地為C1-6烷基或氫，較佳為氫。
23. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中 R^3 為C1-6烷基或氫，較佳為氫。
24. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中 R^4 及 R^5 在w之每一情形下皆分別獨立地為C1-6烷基或氫，較佳為氫。
25. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中 R^x 及 R^y 在v之每一情形下皆分別獨立地為C1-6烷基或氫，較佳為氫。
26. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中 R^6 及 R^7 在n之每一情形下皆分別獨立地為C1-6烷基或氫，較佳為氫。
27. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中 R^8 獨立地為C1-6烷基或氫，較佳為氫。
28. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中 R^9 為C1-6烷基、氫、胺基保護基、 $L^3-C(O)$ 或 A^2 ，較佳為氫、胺基保護基、 $L^3-C(O)$ 或 A^2 。
29. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中該化合物為式（IF）之化合物：



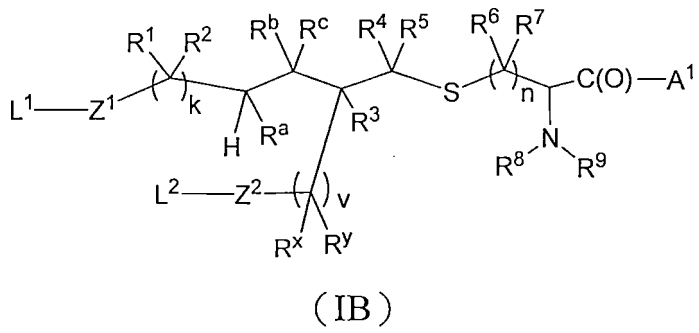
(IF)

其中m為2至6之整數且其餘變量係如前述請求項中任一項中所定義。

30. 如請求項29所述之化合物，其中該化合物為式 (IF-1) 之化合物：

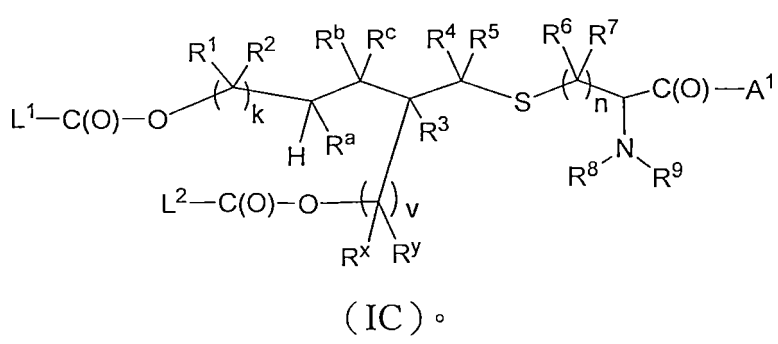


31. 如請求項1至28中任一項所述之化合物，其中該化合物為式 (IB) 之化合物：

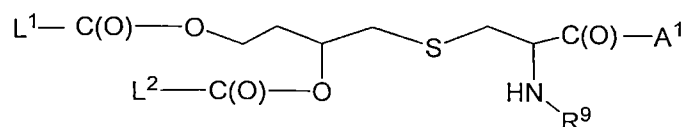


其中
k為0至4之整數；且
 R^a 、 R^b 及 R^c 分別獨立地為氫或C1-6脂族基。

32. 如請求項31所述之化合物，其中該式 (IB) 之化合物為式 (IC) 之化合物：

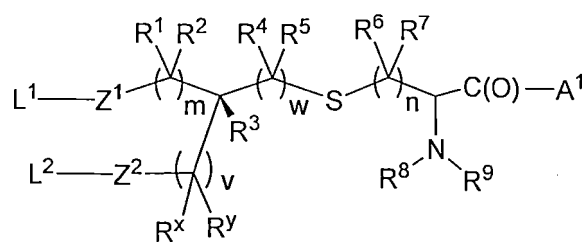


33. 如請求項31或32所述之化合物，其中k為0至3。
34. 如請求項31至33中任一項所述之化合物，其中k為0。
35. 如請求項31至34中任一項所述之化合物，其中R^a、R^b及R^c分別獨立地為氫、C1-6烷基或C3-6環烷基，較佳為氫。
36. 如請求項31至35中任一項所述之化合物，其中R^a、R^b及R^c分別獨立地選自氫或C1-6烷基，較佳為氫。
37. 如前述請求項中之任一項所述之化合物，其中該化合物為式(ID)之化合物：



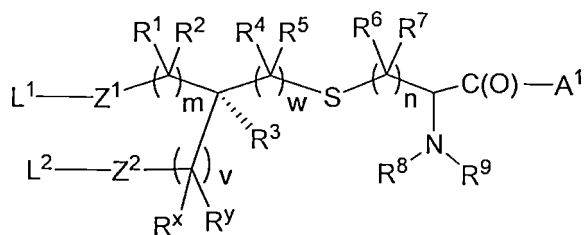
(ID) .

38. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中該式 (I) 之化合物具有式 (IEE-3)：



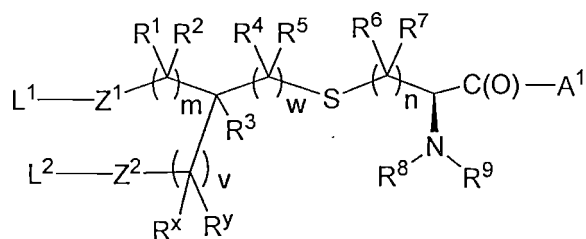
(IEE-3) .

39. 如請求項1至37中任一項所述之化合物，其中該式(I)之化合物具有式(IEE-4)：



(IEE-4)。

40. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中該式(I)之化合物具有式(IE)：



(IE)。

41. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中A¹為OH、OP¹、NH₂或NHP²且R⁹為氫、C1-6烷基、C3-6環烷基、胺基保護基或L³-C(O)。
42. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中A¹為OH或OP¹，且R⁹為氫、胺基保護基、或L³-C(O)。
43. 如請求項1至40中任一項所述之化合物，其中A¹及／或A²為胺基酸或肽。
44. 如請求項1至40及43中任一項所述之化合物，其中該肽包含表位。
45. 如請求項44所述之化合物，其中該表位為肽表位。
46. 如請求項44或45所述之化合物，其中該表位係經由連接基偶合或結合。
47. 如請求項1至40及43至46中之任一項所述之化合物，其中與脂質部分共軛的該肽共軛物之胺基酸為N端胺基酸殘基。
48. 如請求項1至40及43至47中任一項所述之化合物，其中A¹為絲胺酸或包含絲胺酸作為第一N端胺基酸殘基之肽。
49. 如請求項1至40及43至48中任一項所述之化合物，其中A¹及／或A²為包含增溶基之肽。
50. 如請求項49所述之化合物，其中該增溶基包含在肽鏈中含有二或更多個

親水性胺基酸殘基之胺基酸序列。

51. 如請求項50所述之化合物，其中該二或更多個親水性胺基酸殘基與該絲胺酸殘基相毗鄰。
52. 如請求項1至40及43至51中任一項所述之化合物，其中該肽包含胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成，該胺基酸序列係選自由8或更多個來自SEQ ID NO 1至121其中之任一者之胺基酸序列之連續胺基酸組成之群組。
53. 如前述請求項中任一項所述之化合物，其中該等可選取代基選自由鹵素、CN、NO₂、OH、NH₂、NHR¹⁰、NR¹⁰R²⁰、C1-6鹵代烷基、C1-6鹵代烷氧基、C(O)NH₂、C(O)NHR¹⁰、C(O)NR¹⁰R²⁰、SO₂R¹⁰、OR¹⁰、SR¹⁰、S(O)R¹⁰、C(O)R¹⁰及C1-6脂族基組成之群組；其中R¹⁰及R²⁰分別獨立地為C1-6脂族基，例如C1-6烷基。
54. 一種製備如前述請求項中任一項所述之式(I)之胺基酸或肽共軛物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物的方法，該方法包含使
 - 包含碳碳雙鍵之第一含脂質共軛配偶體，
 - 包含碳碳雙鍵之第二含脂質共軛配偶體，以及
 - 包含硫醇之含胺基酸共軛配偶體
 在有效地使該第一含脂質共軛配偶體及該第二含脂質共軛配偶體共軛至該含胺基酸共軛配偶體並提供該式(I)之胺基酸或肽共軛物或其鹽或溶劑合物的條件下反應，
 - 其中在該胺基酸或肽共軛物中，來自該含胺基酸共軛配偶體之硫醇之硫原子共軛至來自該第一含脂質共軛配偶體之碳碳雙鍵之碳原子，而

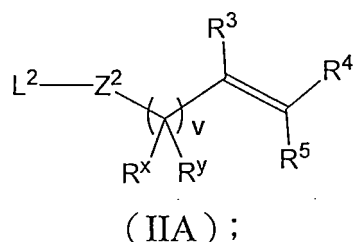
來自該第一含脂質共軛配偶體之碳碳雙鍵之碳原子共軛至來自該第二含脂質共軛配偶體之碳碳雙鍵之碳原子。

55. 如請求項54所述之方法，其中該第一含脂質共軛配偶體及該第二含脂質共軛配偶體具有相同的結構。

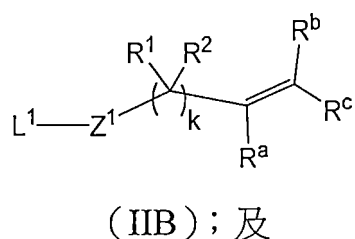
56. 如請求項54或55所述之方法，其中該方法包含使該硫醇之硫原子共軛至該第一含脂質共軛配偶體之碳碳雙鍵之碳原子且然後使來自與該硫醇共軛之碳碳雙鍵之碳原子共軛至該第二含脂質共軛配偶體之碳碳雙鍵之碳原子。

57. 如請求項54至56中任一項所述之方法，其中：

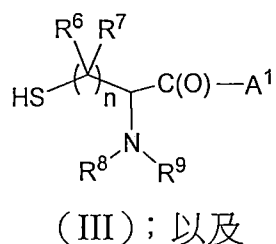
該第一含脂質共軛配偶體為式 (IIA) 之化合物：



該第二含脂質共軛配偶體為式 (IIB) 之化合物：



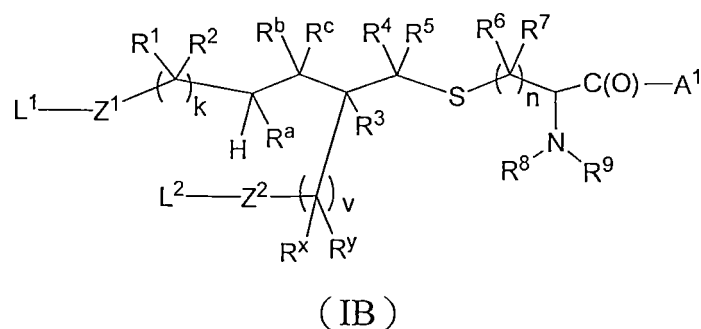
該含胺基酸共軛配偶體包含式 (III) 之結構：



其中 R^a 、 R^b 、 R^c 、 L^1 、 L^2 、 Z^1 、 Z^2 、 R^1 、 R^2 、 R^x 、 R^y 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、

R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 A^1 、 k 、 v 及 n 係如前述請求項中任一項中所定義。

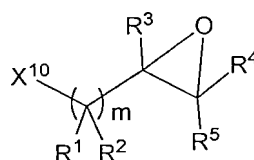
58. 如請求項54至57中任一項所述之方法，其中該胺基酸或肽共軛物為式 (IB) 之化合物：



- 其中 R^a 、 R^b 、 R^c 、 L^1 、 L^2 、 Z^1 、 Z^2 、 R^1 、 R^2 、 R^x 、 R^y 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 A^1 、 k 、 v 及 n 係如前述請求項中之任一項中所定義。
59. 如請求項54至58中任一項所述之方法，該等含脂質共軛配偶體對於該含胺基酸共軛配偶體係化學計量過量的。
60. 如請求項54至59中任一項所述之方法，其中該等有效地使該含脂質共軛配偶體共軛至該含胺基酸共軛配偶體之條件包含藉由熱引發劑之熱降解或光起始劑之光化學降解引發而產生一或多個自由基。
61. 如請求項60所述之方法，其中該熱引發劑為偶氮二異丁腈 (AIBN) 或該光起始劑為2,2-二甲氧基-2-苯基苯乙酮 (DMPA)。
62. 如請求項60或61所述之方法，其中該自由基引發劑之光化學降解包含用紫外光輻照，該紫外光較佳具有與天然存在之胺基酸之側鏈相容之頻率，較佳約365奈米。
63. 如請求項54至62中任一項所述之方法，其中該反應係在包含溶劑之液體介質中進行，其中該溶劑包括N-甲基吡咯啶酮 (NMP)、N,N-二甲基甲醯胺 (DMF)、二甲基亞砷 (DMSO) 或其混合物。

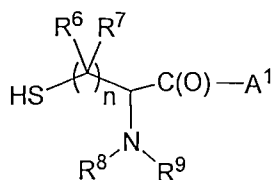
64. 如請求項63所述之方法，其中該溶劑包括N-甲基吡咯啉酮。
65. 如請求項54至64中任一項所述之方法，其中該反應係在一或多種添加劑之存在下進行，該一或多種添加劑抑制副產物之形成及／或改善該式(I)化合物之產率或向該式(I)化合物之轉化。
66. 如請求項65所述之方法，其中該一或多種添加劑為外源硫醇、酸、有機矽烷或其二或更多者之組合。
67. 如請求項66所述之方法，其中該外源硫醇為位阻硫醇，例如第三丁基硫醇。
68. 如請求項66或67所述之方法，其中該酸為強有機酸，例如三氟乙酸(TFA)。
69. 如請求項66至68中任一項所述之方法，其中該有機矽烷為三烷基矽烷，例如三異丙基矽烷(TIPS)。
70. 如請求項66至69中任一項所述之方法，其中該胺基酸共軛物或肽共軛物係於該反應後自該反應介質中分離並視需要經純化。
71. 一種製備式(XV)之化合物之方法，該方法包含使

式(XVI)之環氧化物：



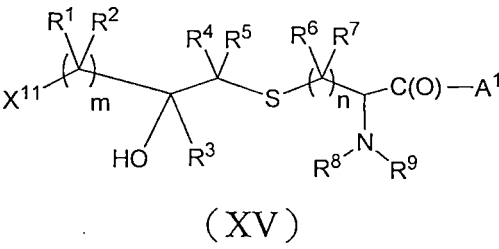
(XVI)；以及

式(III)之包含硫醇之含胺基酸共軛配偶體：



(III),

在有效地使該環氧化物與該含胺基酸共軛配偶體共軛並提供該式 (XV) 之化合物之條件下反應：



其中

X^{10} 為 L^1-Z^1 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NHR$ 、 $HNRC(O)O-$ 、 $P^{10}-O-$ 、 $P^{11}-S-$ 、 $P^{12}-NR-$ 或 $P^{12}-NRC(O)O-$ ；

X^{11} 為 X^{10} 或當 X^{10} 為 $P^{10}-O-$ 、 $P^{11}-S-$ 、 $P^{12}-NR-$ 或 $P^{12}-NRC(O)O-$ 且所述條件有效地移除 P^{10} 、 P^{11} 或 P^{12} 時為 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NHR$ 、或 $HNRC(O)O-$ ；

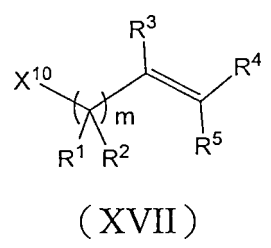
P^{10} 、 P^{11} 及 P^{12} 分別獨立地為保護基；

m 為 2 至 6 之整數；以及

n 、 L^1 、 Z^1 、 R 、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 及 A^1 係如前述請求項中任一項所述之式 (I) 之化合物中所定義；或其鹽或溶劑合物。

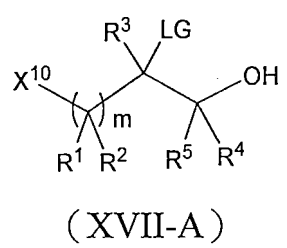
72. 如請求項 71 所述之方法，其中 X^{10} 為 $L^1-C(O)O-$ 、 OH 或 $P^{10}-O-$ ；且 X^{11} 為 $L^1-C(O)O-$ 、 $P^{10}-O-$ 或 OH 。
73. 如請求項 71 或 72 所述之方法，其中該方法包含使該環氧化物與含胺基酸共軛配偶體在酸之存在下反應。
74. 如請求項 71 至 73 中之任一項所述之方法，其中該方法包含藉由使式

(XVII) 之烯烴：



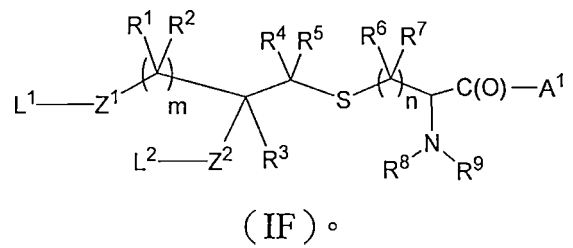
與氧化劑在有效地環氧化該烯烴之條件下反應而提供該環氧化物。

75. 如請求項71至73中任一項所述之方法，其中該方法包含藉由使式 (XVII-A) 之化合物：



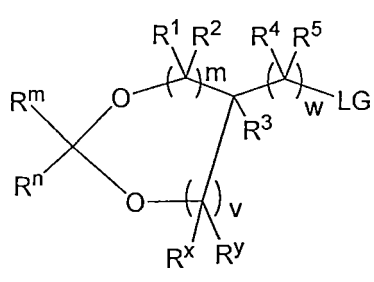
與鹼在有效地進行環氧化之條件下反應而提供該環氧化物，其中 LG為離去基。

76. 如請求項71至75中任一項所述之方法，其中該方法包含藉由一或多個額外合成步驟將該式 (XV) 之化合物轉化為根據前述請求項中任一項所述之式 (IF) 之胺基酸或肽共軛物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物：



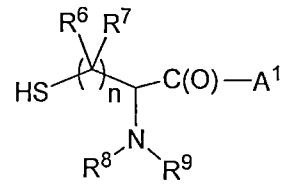
77. 如請求項76所述之方法，其中X¹¹為P¹⁰-O-或OH；且該一或多個合成步驟包含醯化該式 (XV) 之化合物以用L¹-C(O)-替代P¹⁰或X¹¹之羥基之氫原子；及／或醯化該式 (XV) 之化合物以用L²-C(O)-替代與聯接R³之碳結合之羥基之氫原子。

78. 一種製備式 (XX) 之化合物之方法，該方法包含使
式 (XXI) 之化合物：



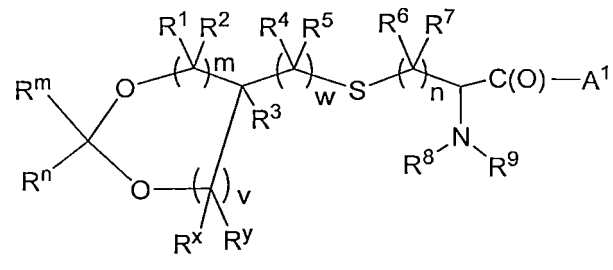
(XXI)；以及

式 (III) 之包含硫醇之含胺氨基酸共軛配偶體：



(III)，

在有效地使該式 (XXI) 之化合物與該含胺氨基酸共軛配偶體共軛並
提供該式 (XX) 之化合物之條件下反應：



(XX)

其中

R^m 及 R^n 分別獨立地為氫、C1-6烷基、芳基或雜芳基；

LG為離去基；

m 及 w 分別獨立地為0至7之整數且 v 為0至5之整數，

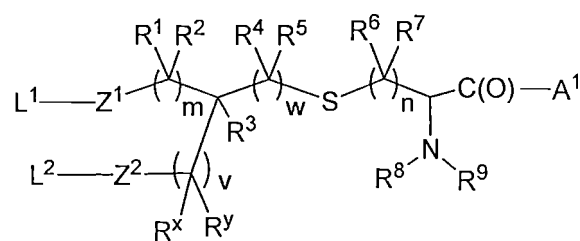
其限制條件係：

m 、 v 及 w 之和至少為3；以及

m與w之和為0至7；以及

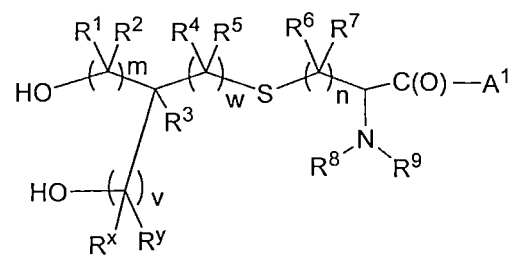
n、R^x、R^y、R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹及A¹係如前述請求項中任一項所述之式(I)之化合物中所定義；或其鹽或溶劑合物。

79. 如請求項78所述之方法，其中R^m及Rⁿ分別獨立地選自氫、C1-6烷基或芳基。
80. 如請求項78或79所述之方法，其中R^m為氫、C1-6烷基或芳基；以及Rⁿ為C1-6烷基或芳基。
81. 如請求項78至80中任一項所述之方法，其中m及v使得該化合物包含5至7員環狀縮醛。
82. 如請求項81所述之方法，其中該環狀縮醛為6員環狀縮醛。
83. 如請求項78至82中任一項所述之方法，其中該方法包含使該式(XXI)之化合物與該式(III)之含胺氨基酸共軛配偶體在鹼之存在下反應。
84. 如請求項78至83中之任一項所述之方法，其中該方法包含藉由一或多個額外合成步驟將該式(XX)之化合物轉化為根據前述請求項中任一項所述之式(I)之胺基酸或肽共軛物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物：



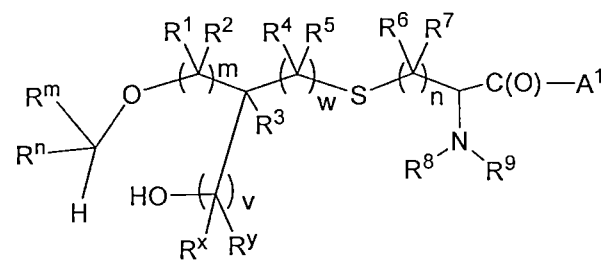
(I)。

85. 如請求項84所述之方法，其中該一或多個合成步驟包含移除該式(XX)之化合物中之該縮醛以提供式(XXIII-1)之化合物：

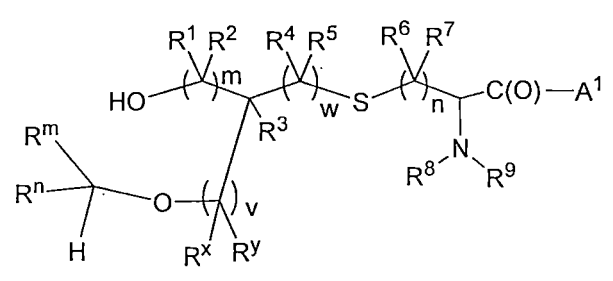


(XXIII-1)。

86. 如請求項84所述之方法，其中R^m為視需要經取代之芳基，例如苯基或經烷氧基取代之苯基，且該方法包含移除該式 (XX) 之化合物中之該縮醛以提供式 (XXIII-2) 或 (XXIII-3) 之化合物：



(XXIII-2)



(XXIII-3)。

87. 如請求項85所述之方法，其中該一或多個合成步驟包含將該式 (XXIII-1) 之化合物中與聯接R¹及R²之碳結合之羥基轉化為L¹-Z¹-，及／或將與聯接R^x及R^y之碳結合之羥基轉化為L²-Z²。

88. 如請求項86所述之方法，其中該一或多個合成步驟包含將該式 (XXIII-2) 之化合物中與聯接R^x及R^y之碳原子結合之羥基轉化為L²-Z²-，移除該R^mRⁿCH-基以提供羥基，並將該羥基轉化為L¹-Z¹；或

將該式 (XXIII-2) 之化合物中與聯接 R^x 及 R^y 之碳原子結合之羥基轉化為 L^1-Z^1 ，移除該 R^mR^nCH -基以提供羥基，並將該羥基轉化為 L^2-Z^2 。

89. 如請求項87或88所述之方法，其中將該羥基轉化為 L^1-Z^1 -或 L^2-Z^2 -係進行醯化以使 $L^1-C(O)$ -或 $L^2-C(O)$ -替代該羥基之氫原子。
90. 如請求項54至89中任一項所述之方法，其中該含胺基酸共軛配偶體為含肽共軛配偶體。
91. 如請求項90所述之方法，其中該含肽共軛配偶體包含表位。
92. 如請求項54至91中任一項所述之方法，其中該含胺基酸共軛配偶體係由肽組成。
93. 如請求項54至92中任一項所述之方法，其中該含胺基酸共軛配偶體為包含15個或更少、14個或更少、13個或更少、12個或更少、11個或更少、10個或更少、9個或更少、8個或更少、7個或更少、6個或更少、5個或更少、4個或更少或者3個或更少之胺基酸殘基之含肽共軛配偶體。
94. 如請求項54至89中任一項所述之方法，其中該含胺基酸共軛配偶體係由胺基酸組成。
95. 如請求項54至94中任一項所述之方法，該含胺基酸共軛配偶體之C端係由保護基保護及／或該含胺基酸共軛配偶體之 $N\alpha$ -胺基係由保護基保護。
96. 如請求項54至93及95中之任一項所述之方法，其中該包含硫醇之胺基酸殘基為N端胺基酸殘基。
97. 如請求項54至96中任一項所述之方法，其中該硫醇為半胱胺酸殘基之硫醇。

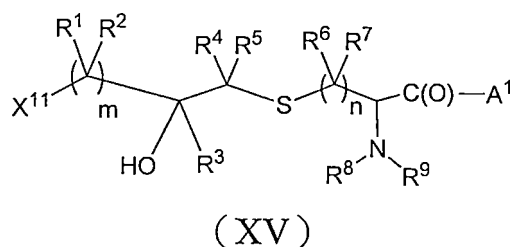
98. 如請求項54至97中任一項所述之方法，其中該包含硫醇之含胺基酸共軛配偶體中之 R^9 為 $L^3-C(O)-$ 。
99. 如請求項54至70、76、77及84至98中任一項所述之方法，其中該方法包含使該式(I)之胺基酸共軛物之胺基酸或該式(I)之肽共軛物之胺基酸偶合至胺基酸或肽之胺基酸以提供肽共軛物。
100. 一種製備肽共軛物之方法，該方法包含
提供如請求項1至53中任一項所述之式(I)之胺基酸或肽共軛物或其鹽或溶劑合物，以及
將該胺基酸共軛物之胺基酸或該肽共軛物之胺基酸偶合至胺基酸或肽之胺基酸以提供肽共軛物。
101. 如請求項99或100所述之方法，其中該方法包含將該胺基酸共軛物之胺基酸偶合至胺基酸或肽之胺基酸以提供肽共軛物。
102. 如請求項99至101中任一項所述之方法，其中該方法包含將該胺基酸共軛物之胺基酸或該肽共軛物之胺基酸偶合至胺基酸或肽以提供包含肽表位之肽共軛物。
103. 如請求項99至102中任一項所述之方法，其中該方法包含將表位偶合至該胺基酸共軛物之胺基酸或該肽共軛物之胺基酸。
104. 如請求項100或101所述之方法，其中該肽包含表位。
105. 如請求項91、103及104中任一項所述之方法，其中該表位為肽表位。
106. 如請求項105所述之方法，其中該表位係經由連接基偶合或結合。
107. 如請求項99至106中任一項所述之方法，其中與該等脂質部分共軛之該肽共軛物之胺基酸為N端胺基酸殘基。

108. 如請求項54至70、76、77及84至107中任一項所述之方法，其中該方法更包含醯化與該等脂質部分共軛的該胺基酸共軛物之胺基酸或該肽共軛物之胺基酸殘基之N α -胺基。
109. 如請求項108所述之方法，其中該胺基係用例如乙醯等C2-20脂肪酸醯化。
110. 如請求項54至109中任一項所述之方法，其中該肽共軛物或含胺基酸共軛配偶體包含一或多個增溶基。
111. 如請求項110所述之方法，其中該增溶基為在肽鏈中含有由二或更多個連續親水性胺基酸殘基組成之序列的胺基酸序列。
112. 如請求項54至110中任一項所述之方法，其中該肽共軛物或含胺基酸共軛配偶體包含毗鄰與該等脂質部分共軛之胺基酸殘基的絲胺酸殘基。
113. 一種藉由如請求項54至112中任一項所述之方法製備的如請求項1至53中任一項所述之式(I)之胺基酸或肽共軛物或其鹽或溶劑合物。
114. 一種醫藥組成物，包含有效量的如請求項1至53及113中任一項所述之肽共軛化合物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物以及醫藥上可接受之載劑。
115. 如請求項114所述之醫藥組成物，包含有效量的二或更多種如請求項1至53及113中任一項所述之肽共軛化合物。
116. 一種在受試者中接種或引起免疫反應之方法，包含施予該受試者有效量的一或多種如請求項1至53及113中任一項所述之肽共軛化合物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物、或有效量的如請求項114或115所述之醫藥組成物。

117. 一種如請求項1至53及113中任一項所述之一或多種肽共軛化合物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物或如請求項114或115所述之醫藥組成物在製造用於在受試者中接種或引起免疫反應之藥物中之用途。

118. 一種如請求項1至53及113中任一項所述之一或多種肽共軛化合物或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物或如請求項114或115所述之醫藥組成物用於在受試者中進行接種或引起免疫反應之用途。

119. 一種式 (XV) 之化合物：



其中

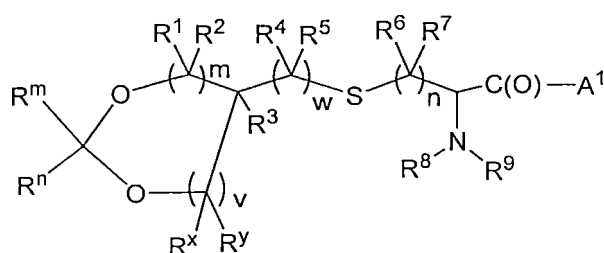
X^{11} 為 L^1-Z^1- 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NHR$ 、 $HNRC(O)O-$ 、 $P^{10}-O-$ 、 $P^{11}-S-$ 、 $P^{12}-NR-$ 或 $P^{12}-NRC(O)O-$ ；

P^{10} 、 P^{11} 及 P^{12} 分別獨立地為保護基；

m 為 2 至 6 之整數；且

n 、 L^1 、 Z^1 、 R 、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 及 A^1 係如前述請求項中任一項所述之式 (I) 化合物中所定義；或其鹽或溶劑合物。

120. 一種式 (XX) 之化合物：



(XX)

其中：

R^m 及 R^n 分別獨立地為氫、C1-6烷基、芳基或雜芳基；m及w分別獨立地為0至7之整數且v為0至5之整數，

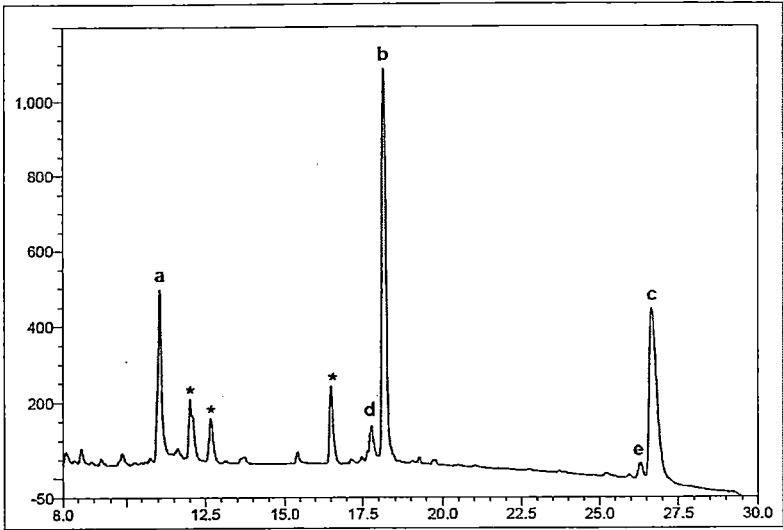
其限制條件係：

m、v及w之和至少為3；以及

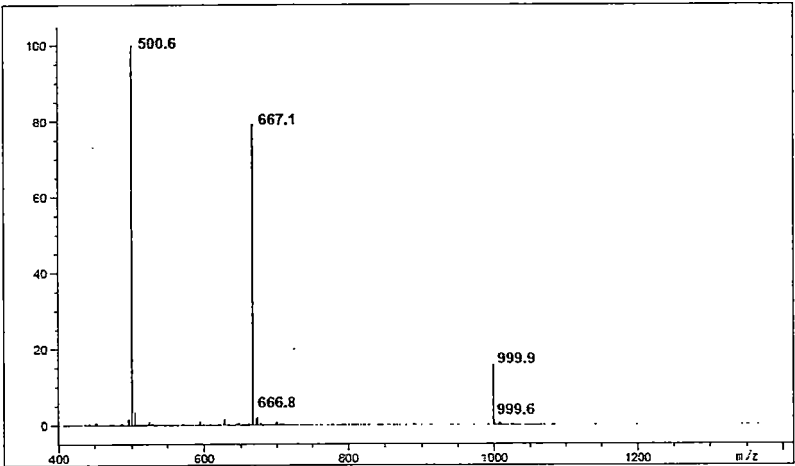
m與w之和為0至7；以及

n、 R^x 、 R^y 、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 及 A^1 係如前述請求項中任一項所述之式(I)之化合物中所定義；或其鹽或溶劑合物。

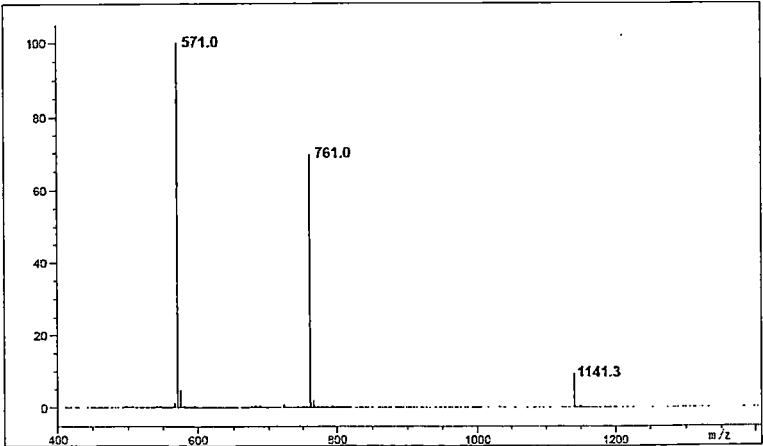
圖式



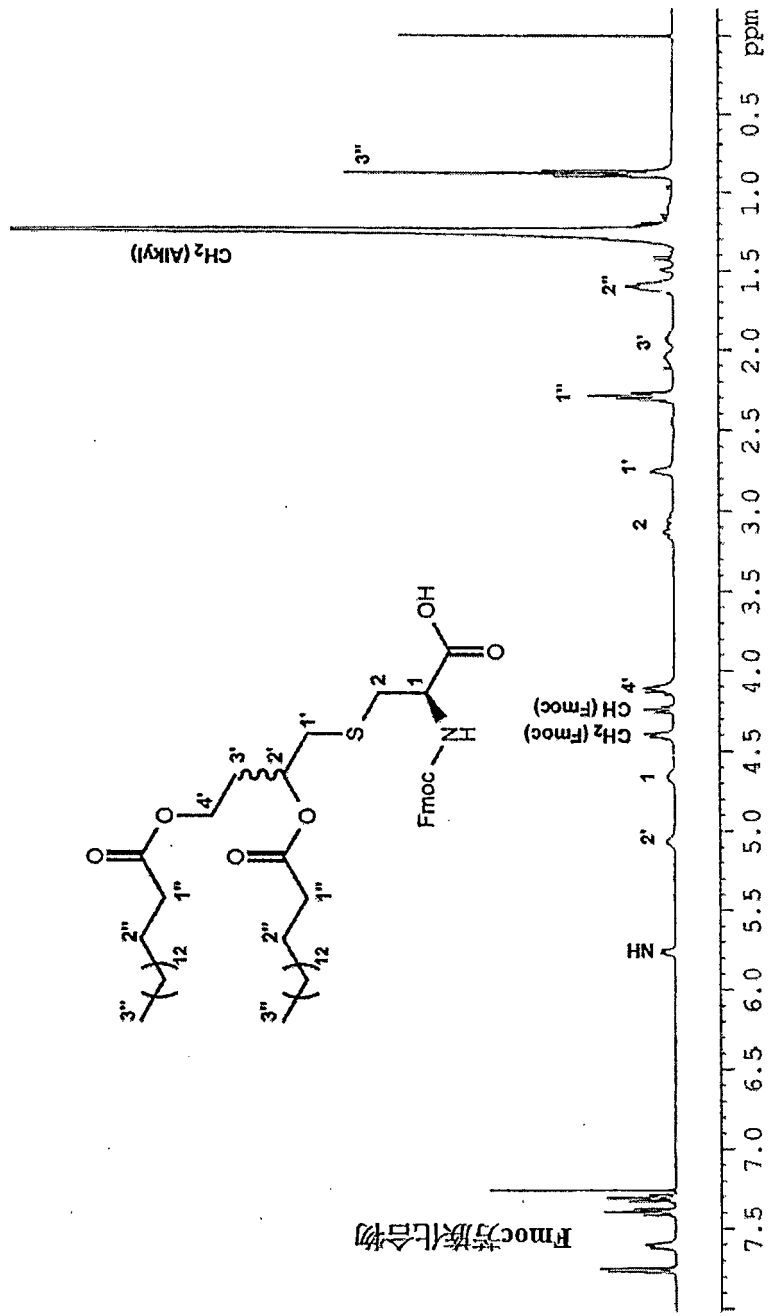
第 1 圖



第 2 圖



第 3 圖



第5圖

