202218687

(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 202218687 A

(43)公開日： 中華民國 111 (2022) 年 05 月 16 日

(21)申請案號：110133856 (22)申請日： 中華民國 110 (2021) 年 09 月 10 日

(51)Int. Cl.： *A61K48/00 (2006.01)* *A61K47/50 (2017.01)*
C12N15/113 (2010.01) *A61P21/00 (2006.01)*

(30)優先權：2020/09/11 美國 63/077,141
2021/06/24 美國 63/214,747
2021/08/06 美國 63/230,381

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

(72)發明人：李曉愷 LI, XIAOKAI (CN) ；裴 濤 PEI, TAO (US) ；艾騰 AI, TENG (CN) ；潘 蘇珊 PHAN, SUSAN (US) ；雷莫斯 亨特 蘇珊 RAMOS-HUNTER, SUSAN (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：66 項 圖式數：1 共 444 頁

(54)名稱

骨骼肌遞送載體及其使用方法

(57)摘要

本發明係關於在活體內特異性且有效地將有效負載引導至個體中之骨胳肌細胞的遞送載體。本文所揭示之遞送載體包括靶向配位體(諸如對包括 α-v-β-6 之整合素具有親和力之化合物)及藥物動力學/藥效學(PK/PD)調節劑，以促進有效負載遞送至細胞，包括遞送至骨骼肌細胞。適用於本文所揭示之遞送載體之有效負載包括 RNAi 劑，其可連接或結合至遞送載體，且在活體內遞送時，提供對骨骼肌細胞中之基因表現的抑制。亦描述包括骨胳肌細胞遞送載體之醫藥組合物，以及用於治療需要將治療有效負載遞送至骨胳肌細胞之各種疾病及病症的方法。

The present disclosure relates to delivery vehicles that specifically and efficiently direct payloads to skeletal muscle cells in a subject, in vivo. The delivery vehicles disclosed herein include targeting ligands (such as compounds that have affinity for integrins, including alpha-v-beta-6) and pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) modulators, to facilitate the delivery of payloads to cells, including to skeletal muscle cells. Suitable payloads for use in the delivery vehicles disclosed herein include RNAi agents, which can be linked or conjugated to the delivery vehicles, and when delivered in vivo, provide for the inhibition of gene expression in skeletal muscle cells. Pharmaceutical compositions that include the skeletal muscle cell delivery vehicle are also described, as well as methods of use for the treatment of various diseases and disorders where delivery of a therapeutic payload to a skeletal muscle cell is desirable.

指定代表圖：

表A：實例8之血清中之平均相對小鼠肌肉生長抑制素蛋白

組	第8天		第15天		第21天		第29天		第36天		第43天		第50天		第57天		第64天	
	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
1	1.018	0.066	0.901	0.138	1.074	0.122	1.033	0.059	1.010	0.134	1.021	0.092	1.029	0.120	0.930	0.079	0.899	0.116
2	0.496	0.037	0.219	0.039	0.153	0.026	0.105	0.014	0.107	0.021	0.126	0.016	0.125	0.022	0.096	0.016	0.092	0.011

【圖1】

【發明摘要】

【中文發明名稱】

骨骼肌遞送載體及其使用方法

【英文發明名稱】

SKELETAL MUSCLE DELIVERY VEHICLES AND METHODS OF USE THEREOF

【中文】

本發明係關於在活體內特異性且有效地將有效負載引導至個體中之骨胳肌細胞的遞送載體。本文所揭示之遞送載體包括靶向配位體(諸如對包括α-v-β-6之整合素具有親和力之化合物)及藥物動力學/藥效學(PK/PD)調節劑，以促進有效負載遞送至細胞，包括遞送至骨骼肌細胞。適用於本文所揭示之遞送載體之有效負載包括RNAi劑，其可連接或結合至遞送載體，且在活體內遞送時，提供對骨骼肌細胞中之基因表現的抑制。亦描述包括骨胳肌細胞遞送載體之醫藥組合物，以及用於治療需要將治療有效負載遞送至骨胳肌細胞之各種疾病及病症的方法。

【英文】

The present disclosure relates to delivery vehicles that specifically and efficiently direct payloads to skeletal muscle cells in a subject, *in vivo*. The delivery vehicles disclosed herein include targeting ligands (such as compounds that have affinity for integrins, including alpha-v-beta-6) and pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) modulators, to facilitate the delivery of payloads to cells, including to skeletal muscle cells. Suitable payloads for use in the delivery vehicles disclosed herein

include RNAi agents, which can be linked or conjugated to the delivery vehicles, and when delivered *in vivo*, provide for the inhibition of gene expression in skeletal muscle cells. Pharmaceutical compositions that include the skeletal muscle cell delivery vehicle are also described, as well as methods of use for the treatment of various diseases and disorders where delivery of a therapeutic payload to a skeletal muscle cell is desirable.

【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

骨骼肌遞送載體及其使用方法

【英文發明名稱】

SKELETAL MUSCLE DELIVERY VEHICLES AND METHODS OF USE THEREOF

【技術領域】

【0001】 本發明係關於用於在活體內遞送有效負載，諸如RNA干擾(RNAi)劑，例如雙股RNAi劑至骨骼肌細胞之遞送載體。使用本文所揭示之遞送載體遞送RNAi劑提供對在骨骼肌細胞中表現之基因的抑制。

【先前技術】

【0002】 在個體中活體內將治療性或診斷性有效負載引導至所關注之特定組織在醫學領域中繼續為一個巨大挑戰。此包括實現對多種疾病及病症所源自之骨骼肌細胞的特異性及選擇性遞送。不能選擇性且有效地將有效負載(諸如治療藥品)遞送至骨骼肌細胞中阻止多種疾病及病症得到適當治療及解決。

【0003】 基於寡核苷酸之藥劑，諸如反義寡核苷酸化合物(ASO)及雙股RNA干擾(RNAi)劑已展示出巨大前景及徹底改變醫學領域之潛能且提供有效治療選項。然而，長期以來遞送基於寡核苷酸之藥劑及尤其雙股治療RNAi劑在研發可行的治療藥劑中已成為挑戰。當嘗試實現基於寡核苷酸之藥劑特異性及選擇性遞送至非肝細胞(諸如骨骼肌細胞)時，情況尤其如此。

【0004】 儘管過去若干年已進行各種嘗試將基於寡核苷酸之藥劑引

導至骨骼肌細胞，例如使用膽固醇結合物(非特異性且具有分佈至各種非所需組織及器官之已知缺點)及脂質奈米粒子(LNP) (其已頻繁報導具有毒性問題)，但迄今為止均不能實現適合之遞送。因此，仍需要將基於寡核苷酸之藥劑及尤其RNAi劑特異性且有效地引導至骨胳肌細胞中的遞送載體。

【發明內容】

【0005】 本文揭示一種遞送載體，其將有效負載，諸如包括RNA干擾(RNAi)劑(在本文中亦稱為RNAi劑、RNAi觸發劑、或觸發劑；例如雙股RNAi劑)之基於寡核苷酸之藥劑，引導至骨胳肌細胞，且促進對骨胳肌細胞中存在之基因表現的選擇性及有效抑制。本文進一步揭示包括該遞送載體之組合物，該遞送載體包含用於抑制目標基因表現之RNAi劑，其中RNAi劑共價連接至對目標細胞上存在之細胞受體具有親和力之至少一種靶向配位體，及至少一種藥物動力學及/或藥效學(PK/PD)調節劑。本文所揭示之遞送載體可選擇性且有效地減少或抑制個體，例如人類或動物個體中之目標基因之表現。

【0006】 所描述之遞送載體可用於治療性治療(包括預防性、干預及預防性治療)病狀及疾病之方法中，該等病狀及疾病可至少部分地由目標基因表現之減少介導，包括例如肌肉萎縮症，包括杜興氏肌肉萎縮症(Duchenne Muscular Dystrophy)、貝氏肌肉萎縮症(Becker Muscular Dystrophy)、強直性肌肉萎縮症及面肩胛肱型(FSHD)。本文所揭示之包含RNAi劑之遞送載體可選擇性地減少個體之細胞中的目標基因表現。本文所揭示之方法包括使用此項技術中已知之任何適合方法，諸如靜脈內輸注、靜脈內注射或皮下注射向個體，例如人類或動物個體投與一或多種包

含RNAi劑之遞送載體。

〔0007〕 本文中亦描述包括遞送載體之醫藥組合物，該遞送載體包含能夠抑制目標基因表現之RNAi劑，其中該組合物進一步包括至少一種醫藥學上可接受之賦形劑。包括一或多種包含RNAi劑之遞送載體的醫藥組合物能夠選擇性且有效地減少或抑制活體內目標基因之表現。包括一或多種本文所述之包含RNAi劑之遞送平台的組合物可投與個體，諸如人類或動物個體，用於治療(包括防治性治療或抑制)可至少部分地由目標基因表現之減少介導的病狀及疾病，包括例如肌肉萎縮症。

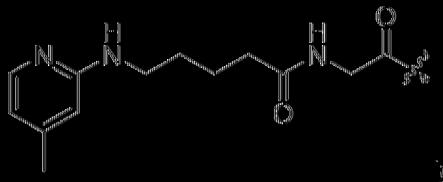
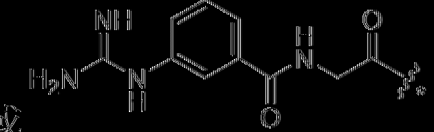
〔0008〕 本文所述之一個態樣為一種用於抑制骨骼肌細胞中表現之基因之表現的遞送載體，其包含：(a) RNAi劑，該RNAi劑包含：(i)包含17-49個核苷酸之反義股，其中至少15個核苷酸與在骨骼肌細胞中表現之基因之mRNA序列互補；及16-49個核苷酸長之有義股，其與反義股至少部分互補；(b)對骨骼肌細胞之表面上存在之受體具有親和力的靶向配位體；其中該靶向配位體為多肽；及(c) PK/PD調節劑；其中該RNAi劑共價連接至該靶向配位體及該PK/PD調節劑。

〔0009〕 在一些實施例中，靶向配位體對整合素受體具有親和力。在一些實施例中，靶向配位體對αvβ6整合素受體具有親和力。

〔0010〕 在一些實施例中，靶向配位體之多肽為式(P)之多肽：

$$Xaa^1G'DLXaa^2Xaa^3L-Xaa^4Xaa^5L \quad \ddagger$$

(P)

或其醫藥學上可接受之鹽，其中Xaa^1為視情況具有N端帽之L-精胺酸、 或 ，其中各‡指示與G'之連接點；G'為L-甘胺酸或N-甲基-L-甘胺酸；D為L-天冬胺酸(L-天冬

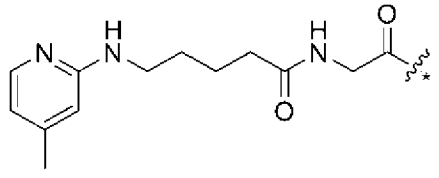
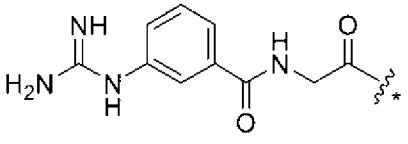
胺酸酯)；L為L-白胺酸；Xaa^2為L-α胺基酸、L-β胺基酸或α,α-二取代之胺基酸；Xaa^3為L-α胺基酸、L-β胺基酸或α,α-二取代之胺基酸；Xaa^4為L-α胺基酸、L-β胺基酸或α,α-二取代之胺基酸；Xaa^5為L-α胺基酸、L-β胺基酸或α,α-二取代之胺基酸；且~指示與RNAi劑之連接點。

【0011】 在一些實施例中，Xaa^2為L-丙胺酸或L-甘胺酸。在一些實施例中，Xaa^2為L-丙胺酸。

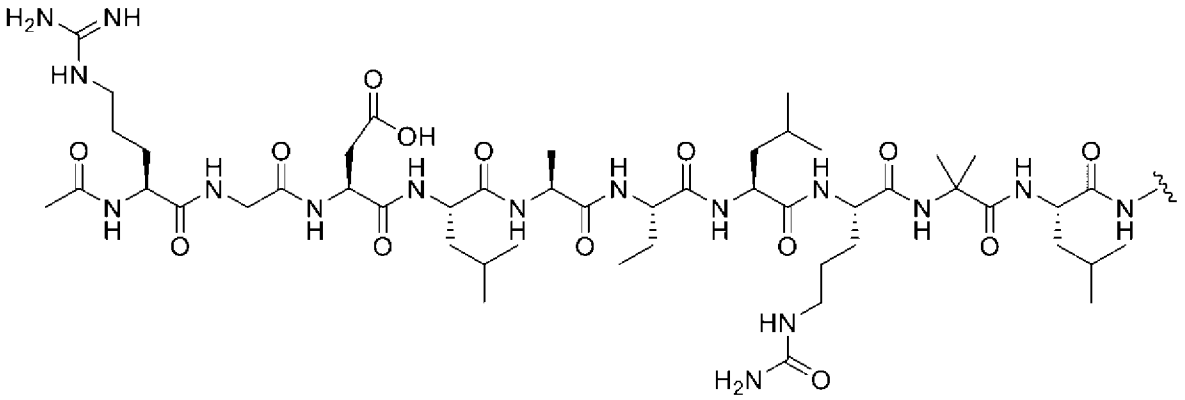
【0012】 在一些實施例中，Xaa^3為非標準胺基酸。在一些實施例中，Xaa^3為L-丙胺酸、L-甘胺酸、L-纈胺酸、L-白胺酸、L-異白胺酸或L-α-胺基-丁酸。在一些實施例中，Xaa^3為L-α-胺基-丁酸。

【0013】 在一些實施例中，Xaa^4為L-精胺酸、L-瓜胺酸或L-麩醯胺酸。在一些實施例中，Xaa^4為L-瓜胺酸。

【0014】 在一些實施例中，Xaa^5為L-甘胺酸、L-丙胺酸、L-纈胺酸、L-白胺酸、L-異白胺酸或α-胺基-異丁酸。在一些實施例中，Xaa^5為α-胺基-異丁酸。

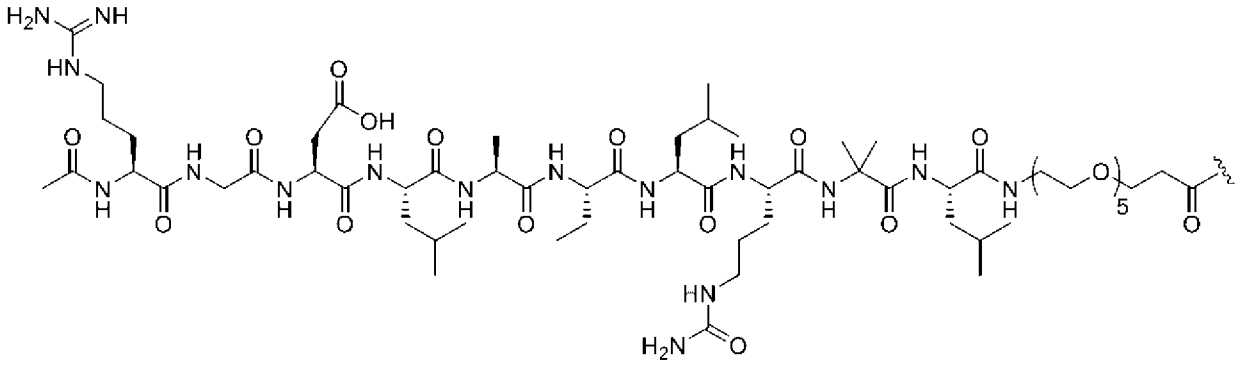
【0015】 在一些實施例中，Xaa^1為N-乙醯基-L-精胺酸。在一些實施例中，Xaa^1為，其中~*指示與G'之連接點。在一些實施例中，Xaa^1為，其中~*指示與G'之連接點。

【0016】 在一些實施例中，靶向配位體具有下式：



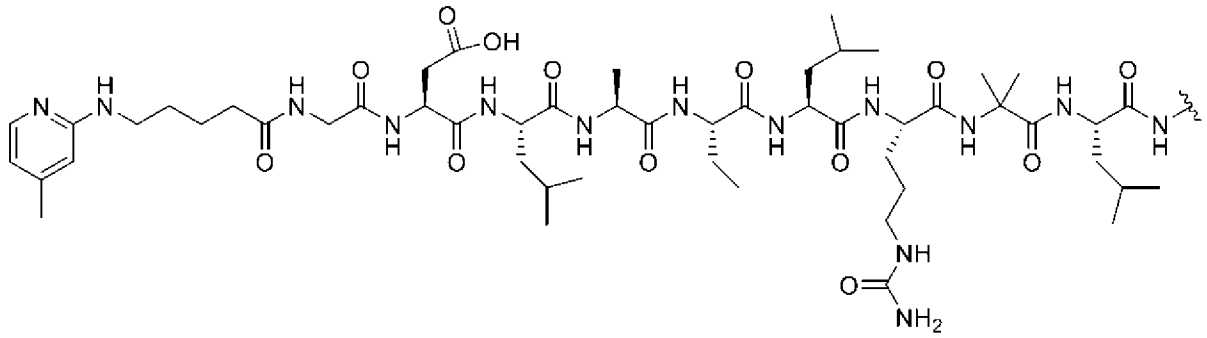
或其醫藥學上可接受之鹽，其中〰指示與遞送載體之其餘部分之連接點。

【0017】 在一些實施例中，靶向配位體具有下式：



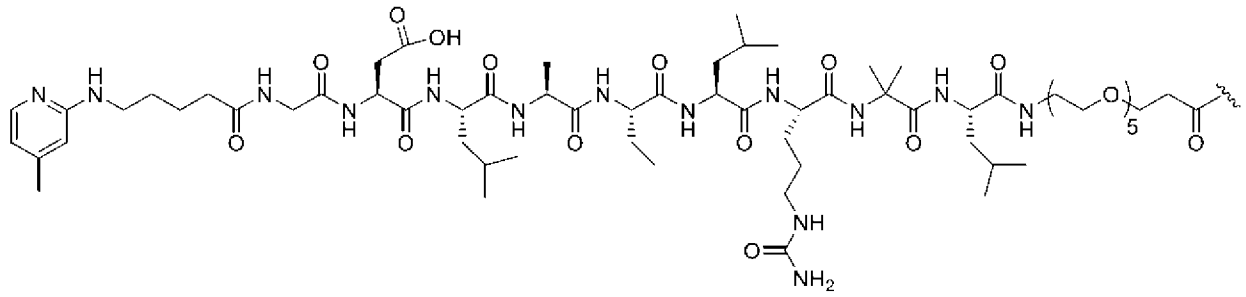
或其醫藥學上可接受之鹽，其中〰指示與遞送載體之其餘部分之連接點。

【0018】 在一些實施例中，靶向配位體具有下式：



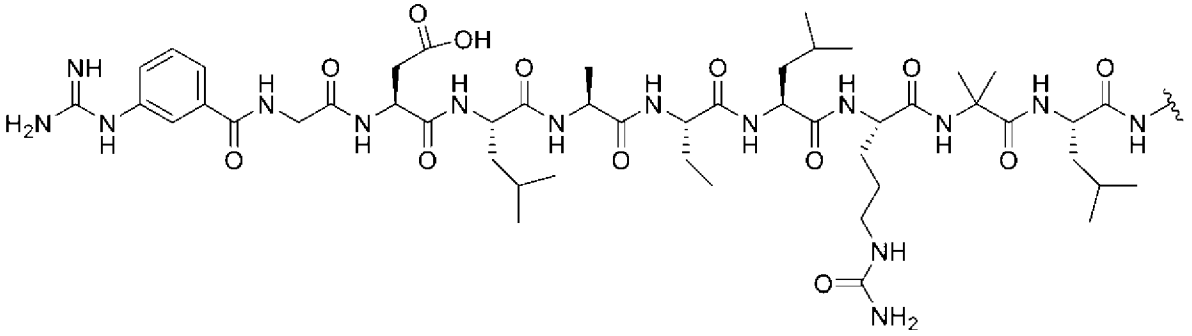
或其醫藥學上可接受之鹽，其中〰指示與遞送載體之其餘部分之連接點。

【0019】 在一些實施例中，靶向配位體具有下式：



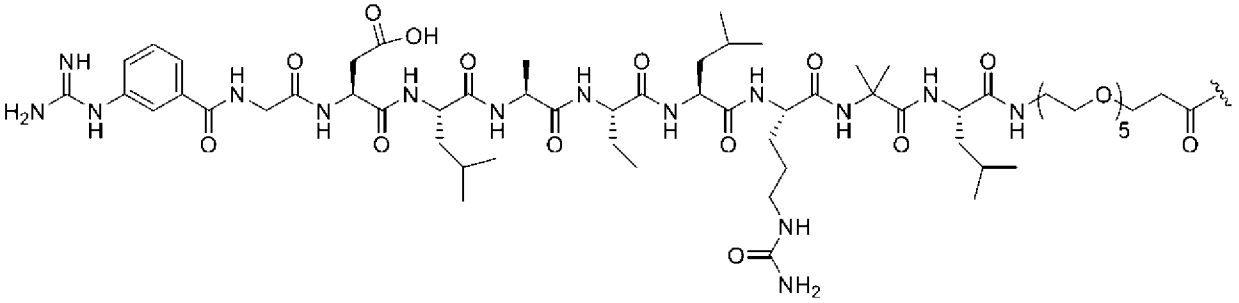
或其醫藥學上可接受之鹽，其中〰指示與遞送載體之其餘部分之連接點。

【0020】 在一些實施例中，靶向配位體具有下式：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中〰指示與遞送載體之其餘部分之連接點。

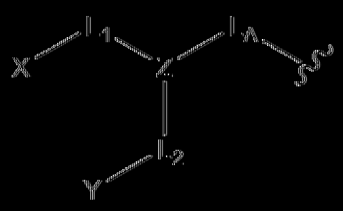
【0021】 在一些實施例中，靶向配位體具有下式：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中〰指示與遞送載體之其餘部分之連接點。

【0022】 在一些實施例中，PK/PD調節劑包含至少一個聚乙二醇(PEG)單元。在一些實施例中，PK/PD調節劑包含至少十個PEG單元。

【0023】 在一些實施例中，PK/PD調節劑為式(I)之PK/PD調節劑：



(I)

或其醫藥學上可接受之鹽，其中L_A為一鍵或將Z連接至該RNAi劑之二價部分；Z為CH、苯基或N；L_1及L_2各自獨立地為包含至少約5個PEG單元之連接子；X及Y各自獨立地為包含約10至約50個碳原子之脂質；且$\sim$指示與RNAi劑之連接點。

〔0024〕在一些實施例中，其中L_1及L_2各自獨立地包含約15至約100個PEG單元。在一些實施例中，L_1及L_2各自獨立地包含約20至約60個PEG單元。在一些實施例中，L_1及L_2各自獨立地包含約20至約30個PEG單元。在一些實施例中，L_1及L_2各自獨立地包含約40至約60個PEG單元。在一些實施例中，L_1及L_2中之一者包含約20至約30個PEG單元且另一者包含約40至約60個PEG單元。L_1及L_2中之每一者獨立地選自由組成之群表2中鑑別之部分。

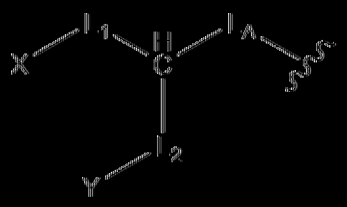
〔0025〕在一些實施例中，X及Y中之至少一者為不飽和脂質。在一些實施例中，X及Y中之至少一者為飽和脂質。在一些實施例中，X及Y中之至少一者為分支脂質。在一些實施例中，X及Y中之至少一者為直鏈脂質。在一些實施例中，X及Y中之至少一者為包含約10至約25個碳原子之脂質。在一些實施例中，X及Y中之至少一者為膽固醇基。在一些實施例中，X及Y中之至少一者係選自由表4中鑑別之部分組成之群。在一些實施例中，X及Y中之每一者獨立地選自由表4中鑑別之部分組成之群。

〔0026〕在一些實施例中，L_A係選自由表5中鑑別之部分組成之群。

[0027] 在一些實施例中，RNAi劑抑制人類基因之mRNA在骨骼肌細胞中的表現。

[0028] 在一些實施例中，醫藥學上可接受之鹽為鈉鹽。在一些實施例中，該醫藥學上可接受之鹽為鉀鹽。

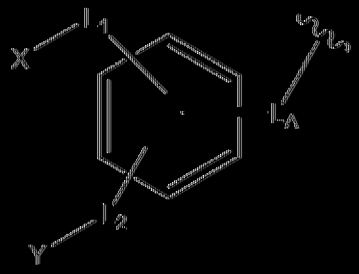
[0029] 在一些實施例中，PK/PD調節劑為式(Ia)之PK/PD調節劑：



(Ia)

或其醫藥學上可接受之鹽，其中L_A、L_1、L_2、X及Y如式(I)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例中所定義；且~~~指示與RNAi劑之連接點。

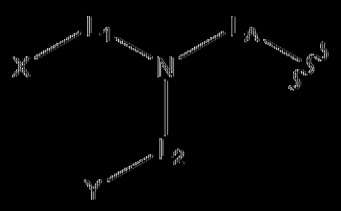
[0030] 在一些實施例中，PK/PD調節劑為式(Ib)之PK/PD調節劑：



(Ib)

[0031] 或其醫藥學上可接受之鹽，其中L_A、L_1、L_2、X及Y如式(I)或(Ia)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例中所定義，且~~~指示與RNAi劑之連接點。

[0032] 在一些實施例中，PK/PD調節劑為式(Ic)之PK/PD調節劑：



(Ic)

或其醫藥學上可接受之鹽，其中L_A、L_1、L_2、X及Y如式(I)、(Ia)或(Ib)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例中所定義，且~指示與RNAi劑之連接點。

[0033] 在一些實施例中，PK/PD調節劑為選自由表15中鑑別之脂質PK/PD調節劑組成之群的PK/PD調節劑。在一些實施例中，PK/PD調節劑為選自由表17中鑑別之脂質PK/PD調節劑組成之群的PK/PD調節劑。

[0034] 本發明之另一態樣提供一種醫藥組合物，其包含遞送載體或其醫藥學上可接受之鹽及醫藥賦形劑。

[0035] 本發明之另一態樣提供一種治療個體之骨骼肌細胞之疾病或病症的方法。

[0036] 本發明亦提供一種合成遞送載體或其醫藥學上可接受之鹽的方法。

[0037] 除非另外定義，否則本文所用之所有技術及科學術語均具有與一般技術者通常理解相同之含義。儘管類似或等效於本文所述之那些方法及材料之方法及材料可用於實踐或測試本發明，但下文描述適合方法及材料。本文中提及之所有公開案、專利申請案、專利及其他參考文獻均以全文引用的方式併入本文中。在有矛盾的情況下，將以本發明(包括定義)為準。另外，材料、方法及實例僅為說明性的且並不意欲為限制性的。

[0038] 本發明之其他目標、特徵、態樣及優勢將自以下實施方

式、附圖及申請專利範圍而變得顯而易見。

【圖式簡單說明】

【0039】 以下之圖以實例方式提供且不意欲限制所主張之發明之範疇。

【0040】 圖1為根據實例8之血清中之平均相對小鼠肌肉生長抑制素蛋白的表。

【實施方式】

相關申請案之交叉參考

【0041】 此PCT申請案主張於2020年9月11日申請之美國臨時申請案第63/077,141號、於2021年6月24日申請之美國臨時申請案第63/214,747號及於2021年8月6日申請之美國臨時申請案第63/230,381號之權益。此等文獻每一者以全文引用的方式併入本文中。

【0042】 **定義**

【0043】 如本文所用，術語「寡核苷酸」及「聚核苷酸」意謂所連接之核苷的聚合物，該等核苷之每一者可獨立地經修飾或未經修飾。

【0044】 如本文所用，「RNAi劑」(亦稱為「RNAi觸發劑」)意謂含有RNA或類RNA (例如經化學修飾之RNA)寡核苷酸分子之組合物，其能夠以序列特異性方式降低或抑制(例如在適當條件下降低或抑制)目標mRNA之信使RNA (mRNA)轉錄物的轉譯。如本文所用，RNAi劑可經由RNA干擾機制(亦即，經由與哺乳動物細胞之RNA干擾路徑機制(RNA誘導之沉默複合物或RISC)之相互相用誘導RNA干擾)或藉由任何替代機制或路徑來起作用。儘管咸信RNAi劑(如該術語在本文中所使用)主要經由RNA干擾機制起作用，但所揭示之RNAi劑受縛於或受限於任何特定路徑

或作用機制。本文所揭示之RNAi劑由有義股及反義股構成，且包括(但不限於)：短(或小)干擾RNA (siRNA)、雙股RNA (dsRNA)、微小RNA (miRNA)、短髮夾RNA (shRNA)及切丁酶受質(dicer substrate)。本文所述之RNAi劑之反義股與所靶向之mRNA至少部分互補。RNAi劑可包括一或多個經修飾之核苷酸及/或一或多個非磷酸二酯鍵聯。

【0045】 如本文所用，當提及既定基因之表現時，術語「沉默」、「降低」、「抑制」、「下調」或「阻斷基因表現」意謂如藉由基因在其中進行轉錄之細胞、細胞群、組織、器官或個體群中自基因轉錄之RNA含量或者自mRNA轉譯之多肽、蛋白質或蛋白質次單元之含量所量測，當用本文所述之RNAi劑治療細胞、細胞群、組織、器官或個體時，與未經歷該治療之第二細胞、細胞群、組織、器官或個體相比，基因之表現降低。

【0046】 如本文所用，術語「序列」及「核苷酸序列」意謂使用標準命名法用一系列字母描述的一系列或某種次序的核鹼基或核苷酸。

【0047】 如本文所用，「鹼基」、「核苷酸鹼基」或「核鹼基」係作為核苷酸組分之雜環嘧啶或嘌呤化合物，且包括主要嘌呤鹼基腺嘌呤及鳥嘌呤以及主要嘧啶鹼基胞嘧啶、胸腺嘧啶及尿嘧啶。核鹼基可進一步經修飾以包括(不限於)通用鹼基、疏水性鹼基、混雜鹼基、尺寸擴展鹼基及氟化鹼基。(參見例如Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine, Herdewijn, P.編輯 Wiley-VCH, 2008)。此類經修飾之核鹼基(包括含有經修飾核鹼基之胺基亞磷酸酯化合物)之合成係此項技術中已知的。

【0048】 如本文所用且除非另外指示，否則術語「互補」在用於相

對於第二核鹼基或核苷酸序列(例如RNAi劑反義股或單股反義寡核苷酸)描述第一核鹼基或核苷酸序列(例如RNAi劑有義股或所靶向之mRNA)時，意謂包括第一核苷酸序列之寡核苷酸或聚核苷酸在某些標準條件下與包括第二核苷酸序列之寡核苷酸或聚核苷酸雜交(在哺乳動物生理條件(或類似的活體外條件)下形成鹼基對氫鍵)且形成雙螺旋體或雙螺旋結構的能力。至少在滿足以上雜交要求之程度上，互補序列包括華特生-克里克鹼基對(Watson-Crick base pairs)或非華特生-克里克鹼基對且包括天然或經修飾核苷酸或核苷酸模擬物。序列一致性或互補性與修飾無關。舉例而言，出於判定一致性或互補性之目的，如本文所定義之a及Af與U (或T)互補，且與A一致。

【0049】 如本文所用，「完美互補」或「完全互補」意謂在核鹼基或核苷酸序列分子之雜交對中，第一寡核苷酸之連續序列中的所有(100%)鹼基將與第二寡核苷酸之連續序列中的相同數目個鹼基雜交。連續序列可包含第一或第二核苷酸序列的全部或一部分。

【0050】 如本文所用，「部分互補」意謂在核鹼基或核苷酸序列分子之雜交對中，第一寡核苷酸之連續序列中的至少70% (但並非所有)鹼基將與第二寡核苷酸之連續序列中的相同數目個鹼基雜交。連續序列可包含第一或第二核苷酸序列的全部或一部分。

【0051】 如本文所用，「實質上互補」意謂在核鹼基或核苷酸序列分子之雜交對中，第一寡核苷酸之連續序列中的至少85% (但並非所有)鹼基將與第二寡核苷酸之連續序列中的相同數目個鹼基雜交。連續序列可包含第一或第二核苷酸序列的全部或一部分。

【0052】 如本文所用，術語「互補」、「完全互補」、「部分互

補」及「實質上互補」係關於RNAi劑之有義股與反義股之間或RNAi劑之反義股與目標mRNA之序列之間的核鹼基或核苷酸匹配而使用。

【0053】 如本文所用，「基於寡核苷酸之藥劑」為含有約10-50 (例如10至48、10至46、10至44、10至42、10至40、10至38、10至36、10至34、10至32、10至30、10至28、10至26、10至24、10至22、10至20、10至18、10至16、10至14、10至12、12至50、12至48、12至46、12至44、12至42、12至40、12至38、12至36、12至34、12至32、12至30、12至28、12至26、12至24、12至22、12至20、12至18、12至16、12至14、14至50、14至48、14至46、14至44、14至42、14至40、14至38、14至36、14至34、14至32、14至30、14至28、14至26、14至24、14至22、14至20、14至18、14至16、16至50、16至48、16至46、16至44、16至42、16至40、16至38、16至36、16至34、16至32、16至30、16至28、16至26、16至24、16至22、16至20、16至18、18至50、18至48、18至46、18至44、18至42、18至40、18至38、18至36、18至34、18至32、18至30、18至28、18至26、18至24、18至22、18至20、20至50、20至48、20至46、20至44、20至42、20至40、20至38、20至36、20至34、20至32、20至30、20至28、20至26、20至24、20至22、22至50、22至48、22至46、22至44、22至42、22至40、22至38、22至36、22至34、22至32、22至30、22至28、22至26、22至24、24至50、24至48、24至46、24至44、24至42、24至40、24至38、24至36、24至34、24至32、24至30、24至28、24至26、26至50、26至48、26至46、26至44、26至42、26至40、26至38、26至36、26至34、26至32、26至30、26至28、28至50、28至48、28至46、28至44、28至42、28至40、28至38、28至36、28至34、28至32、to

28至30、30至50、30至48、30至46、30至44、30至42、30至40、30至38、30至36、30至34、30至32、32至50、32至48、32至46、32至44、32至42、32至40、32至38、32至36、32至34、34至50、34至48、34至46、34至44、34至42、34至40、34至38、34至36、36至50、36至48、36至46、36至44、36至42、36至40、36至38、38至50、38至48、38至46、38至44、38至42、38至40、40至50、40至48、40至46、40至44、40至42、42至50、42至48、42至46、42至44、44至50、44至48、44至46、46至50、46至48或48至50)個核苷酸或核苷酸鹼基對的核苷酸序列。在一些實施例中，基於寡核苷酸之藥劑具有與細胞內所表現之目標核酸或目標基因中之編碼序列至少部分互補的核鹼基序列。在一些實施例中，基於寡核苷酸之藥劑在遞送至表現基因之細胞後能夠抑制潛在基因之表現，且在本文中稱為「抑制表現之基於寡核苷酸之藥劑」。可活體外或活體內抑制基因表現。

【0054】「基於寡核苷酸之藥劑」包括(但不限於)：單股寡核苷酸、單股反義寡核苷酸、短干擾RNA (siRNA)、雙股RNA (dsRNA)、微小RNA (miRNA)、短髮夾RNA (shRNA)、核糖核酸酶、干擾RNA分子及切丁酶受質。在一些實施例中，基於寡核苷酸之藥劑為單股寡核苷酸，諸如反義寡核苷酸。在一些實施例中，基於寡核苷酸之藥劑為雙股寡核苷酸。在一些實施例中，基於寡核苷酸之藥劑為作為RNAi劑之雙股寡核苷酸。

【0055】如本文所用，術語「標準胺基酸」係指以下二十個(20)種胺基酸：丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸(天冬胺酸酯)、半胱胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸(麩胺酸酯)、甘胺酸、組胺酸、異白胺酸、白胺

酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。

【0056】 如本文所用，術語「非標準胺基酸」係指除如本文所定義之「標準胺基酸」以外的胺基酸。「非標準胺基酸」包括但不限於硒半胱胺酸、吡咯離胺酸、N-甲醯甲硫胺酸、羥脯胺酸、硒甲硫胺酸、α-胺基-異丁酸(Aib)、L-α-胺基-丁酸(Abu)、α,γ-二胺基丁酸、去氫丙胺酸、正白胺酸、別異白胺酸、t-白胺酸、α-胺基-正庚酸、α,β-二胺基丙酸、β-N-草醯基-α,β-二胺基丙酸、別蘇胺酸、高半胱胺酸、高絲胺酸、β-高丙胺酸(β3-hA)、異纈胺酸、正纈胺酸(Nva)、瓜胺酸(Cit)、鳥胺酸、α-甲基-天冬胺酸酯(αMeD)、α-甲基-白胺酸(αMeL)、N-甲基丙胺酸、N-甲基-甘胺酸($N_{Me}G$)、N-甲基白胺酸($N_{Me}L$)、O-環己基-丙胺酸(Cha)、N-乙基丙胺酸、N,N-ε-二甲基離胺酸($K_{(Me)2}$)、二甲基精胺酸($R_{(Me)2}$)、Dap(Ac)、正烷基化L-α胺基酸及以與天然存在之胺基酸類似之方式起作用之其他胺基酸類似物或胺基酸模擬物。

【0057】 如本文所用且如熟習此項技術者所瞭解，聚乙二醇(PEG)單元係指式-(CH_2CH_2O)-之重複單元。應瞭解，在本文所揭示之化學結構中，PEG單元可描繪為-(CH_2CH_2O)-、-(OCH_2CH_2)-或-(CH_2OCH_2)-。亦應瞭解，指示重複PEG單元之數目的編號可置放於描繪PEG單元之圓括號之任一側上。應進一步瞭解，末端PEG單元可藉由原子(例如氫原子)或一些其他部分封端。

【0058】 如本文所用，適用於核酸序列之術語「實質上一致」或「實質一致性」意謂核苷酸序列(或核苷酸序列之一部分)相較於參考序列具有至少約85%序列一致性或更高，例如至少90%、至少95%或至少99%

一致性。序列一致性之百分比係藉由在比較窗口內比較兩個最佳比對序列來測定。藉由如下步驟計算百分比：測定兩個序列中存在之相同類型的核酸鹼基的位置數以得到匹配位置數，將匹配位置數除以比較窗中之總位置數且將結果乘以100以得到序列一致性之百分比。本文中所揭示之發明涵蓋與本文中所揭示者實質上相同的核苷酸序列。

【0059】 如本文所用，術語「治療(treat)」、「治療(treatment)」及其類似術語意謂用於減輕或緩解個體中疾病之一或多種症狀之次數、嚴重度及/或頻率的方法或步驟。如本文所用，「治療」可包括個體中疾病之一或多種症狀之次數、嚴重度及/或頻率的預防性治療、管理、防治性治療及/或抑制或減少。

【0060】 如本文所用，當提及RNAi劑時，片語「引入細胞中」意謂將RNAi劑功能性遞送至細胞中。片語「功能性遞送」意謂以使RNAi劑能夠具有預期生物活性(例如，基因表現之序列特異性抑制)的方式將RNAi劑遞送至細胞中。

【0061】 如本文所用，術語「異構體」係指具有相同分子式，但在性質或其原子鍵結順序或其原子空間排列方面不同的化合物。原子空間排列不同之異構體稱為「立體異構體」。彼此不為鏡像之立體異構體稱為「非對映異構體」且為不可重疊之鏡像的立體異構體稱為「對映異構體」或有時「光學異構體」。鍵結於四個不相同取代基之碳原子稱為「對掌性中心」。

【0062】 如本文所用，除非在結構中特定鑑別為具有特定組態，否則對於其中存在不對稱中心且因此產生對映異構體、非對映異構體或其他立體異構組態之各結構，本文所揭示之各結構意欲表示所有此類可能的異

構體，包括其光學純及外消旋形式。舉例而言，本文所揭示之結構意欲涵蓋非對映異構體之混合物以及單一立體異構體。

【0063】 如在本文技術方案中所用，片語「由……組成」不包括技術方案中未說明的任何要素、步驟或成分。當用於本發明之技術方案時，片語「基本上由……組成」將技術方案之範疇限制於所指定材料或步驟及實質上不影響所主張發明之基礎及新穎特徵的材料或步驟。

【0064】 一般技術者將容易理解及瞭解，本文中所揭示之化合物及組合物可具有呈質子化或去質子化狀態之某些原子(例如，N、O或S原子)，視化合物或組合物置放之環境而定。因此，如本文所用，本文所揭示之結構設想，可將諸如OH、SH或NH之某些官能基質子化或去質子化。本文中之揭示內容意欲涵蓋所揭示之化合物及組合物而與其基於環境(諸如pH)之質子化狀態無關，如一般技術者將容易地理解。

【0065】 如本文所用，術語「脂質」係指可溶於非極性溶劑中之部分及分子。術語脂質包括包含極性水溶性頭基及疏水性尾部之兩親媒性分子。脂質可具有天然或合成來源。脂質之非限制性實例包括脂肪酸(例如飽和脂肪酸、單不飽和脂肪酸及多不飽和脂肪酸)、甘油脂(例如單醯基甘油、二醯基甘油及三醯甘油)、磷脂(例如磷脂醯乙醇胺、磷脂醯膽鹼及磷脂醯絲胺酸)、鞘脂(例如鞘磷脂)及膽固醇酯。如本文所用，術語「飽和脂質」係指無任何不飽和之脂質。如本文所用，術語「不飽和脂質」係指包含至少一(1)不飽和度之脂質。如本文所用，術語「分支脂質」係指包含超過一個直鏈之脂質，其中各直鏈共價連接至至少一個其他直鏈。如本文所用，術語「直鏈脂質」係指無任何分支之脂質。

【0066】 如本文所用，術語「連接」或「結合」在指代兩種化合物

或兩個分子之間的連接時意謂兩個分子藉由共價鍵接合或經由非共價鍵(例如氫鍵或離子鍵)締合。在一些實例中，在術語「連接」或「結合」係指兩個分子之間經由非共價鍵締合之情況下，在生理學上可接受之緩衝劑(例如緩衝生理鹽水)中兩個不同分子之間的締合具有小於1×10^{-4} M (例如小於1×10^{-5} M、小於1×10^{-6} M或小於1×10^{-7} M)之K_D。除非加以陳述，否則如本文所用之術語「連接」及「結合」可指第一化合物與第二化合物之間在存在或不存在任何插入原子或原子團的情況下的連接。

【0067】 如本文所用，連接基團為使一個分子或分子之一部分連接至另一至第二分子或分子之第二部分的一或多個原子。類似地，如此項技術中所用，術語骨架有時可與連接基團互換使用。連接基團可包含任何數目之原子或官能基。在一些實施例中，連接基團可能不促進任何生物或醫藥反應，且僅用於連接兩個生物活性分子。

【0068】 除非另外說明，否則如本文所用之符號意謂根據本文所述之發明之範疇任何基團可與其連接。

【0069】 如本文所用，術語「包括」在本文中用於意謂片語「包括(但不限於)」且可與該片語互換使用。除非上下文另外明確指示，否則術語「或」在本文中用於意謂術語「及/或」且可與術語「及/或」互換使用。

【0070】 如在本文技術方案中所用，片語「由……組成」不包括技術方案中未說明的任何要素、步驟或成分。當用於本發明之技術方案時，片語「基本上由……組成」將技術方案之範疇限制於所指定材料或步驟及實質上不影響所主張發明之基礎及新穎特徵的材料或步驟。

【0071】 經修飾之核苷酸

【0072】在一些實施例中，RNAi劑含有一或多個經修飾之核苷酸。如本文所用，「經修飾之核苷酸」為除核糖核苷酸(2'-羥基核苷酸)以外的核苷酸。在一些實施例中，至少50% (例如至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少97%、至少98%、至少99%或100%)的核苷酸為經修飾之核苷酸。如本文所用，經修飾之核苷酸可包括(但不限於)：去氧核糖核苷酸、核苷酸模擬物、無鹼基核苷酸(本文中表示為Ab)、2'-經修飾之核苷酸、3'至3'鍵聯(反向)核苷酸(本文中表示為invdN、invN、invn)、包含經修飾之核鹼基之核苷酸、橋接核苷酸、肽核酸(PNA)、2',3'-開環核苷酸模擬物(解鎖核鹼基類似物，本文中表示為N_{UNA}或NUNA)、鎖定核苷酸(本文中表示為N_{LNA}或NLNA)、3'-O-甲氧基(2'核苷間鍵聯)核苷酸(本文中表示為3'-OMen)、2'-F-阿糖核苷酸(本文中表示為NfANA或Nf_{ANA})、5'-Me、2'-氟核苷酸(本文中表示為5Me-Nf)、N-嗎啉基核苷酸、膦酸乙烯酯去氧核糖核苷酸(本文中表示為vpdN)、含有膦酸乙烯酯之核苷酸及含有膦酸環丙酯之核苷酸(cPrpN)。2'-經修飾之核苷酸(亦即在五員糖環之2'位置含有除羥基以外之基團的核苷酸)包括(但不限於) 2'-O-甲基核苷酸(本文中在核苷酸序列中表示為小寫字母『n』)、2'-去氧-2'-氟核苷酸(在本文中亦稱為2'-氟核苷酸，且在本文中表示為Nf)、2'-去氧核苷酸(在本文中表示為dN)、2'-甲氧基乙基(2'-O-2-甲氧基乙基)核苷酸(在本文中亦稱為2'-MOE，且在本文中表示為NM)、2'-胺基核苷酸及2'-烷基核苷酸。既定化合物之所有位置無需經均一修飾。相反，可將超過一種修飾併入單一RNAi劑中或甚至併入其單一核苷酸中。RNAi劑有義股及反義股可藉由此項技術中已知之方法合成及/或修飾。一個核苷酸上之修飾與另一個核苷酸上之修飾無關。

【0073】 經修飾之核鹼基包括合成及天然核鹼基，諸如5-取代之嘧啶、6-氮雜嘧啶及經N-2、N-6及O-6取代之嘌呤(例如2-胺基丙基腺嘌呤、5-丙炔基尿嘧啶或5-丙炔基胞嘧啶)、5-甲基胞嘧啶(5-me-C)、5-羥基甲基胞嘧啶、肌苷、黃嘌呤、次黃嘌呤、2-胺基腺嘌呤、腺嘌呤及鳥嘌呤之6-烷基(例如6-甲基、6-乙基、6-異丙基或6-正丁基)衍生物、腺嘌呤及鳥嘌呤之2-烷基(例如2-甲基、2-乙基、2-異丙基或2-正丁基)及其他烷基衍生物、2-硫代尿嘧啶、2-硫代胸腺嘧啶、2-硫代胞嘧啶、5-鹵代尿嘧啶、胞嘧啶、5-丙炔基尿嘧啶、5-丙炔基胞嘧啶、6-偶氮尿嘧啶、6-偶氮胞嘧啶、6-偶氮胸腺嘧啶、5-尿嘧啶(假尿嘧啶)、4-硫代尿嘧啶、8-鹵基、8-胺基、8-硫氫基、8-硫烷基、8-羥基及其他8-取代之腺嘌呤及鳥嘌呤、5-鹵基(例如5-溴)、5-三氟甲基及其他5-取代之尿嘧啶及胞嘧啶、7-甲基鳥嘌呤及7-甲基腺嘌呤、8-氮雜鳥嘌呤及8-氮雜腺嘌呤、7-去氮鳥嘌呤、7-去氮腺嘌呤、3-去氮鳥嘌呤及3-去氮腺嘌呤。

【0074】 在一些實施例中，RNAi劑之所有或實質上所有核苷酸為經修飾之核苷酸。如本文所用，所存在的實質上所有核苷酸均為經修飾之核苷酸的RNAi劑為在有義股及反義股中有四個或更少個(亦即0、1、2、3或4個)核苷酸為核糖核苷酸(亦即未經修飾)的RNAi劑。如本文所用，所存在的實質上所有核苷酸為經修飾之核苷酸的有義股為在有義股中有兩個或更少(亦即0、1或2個)核苷酸為未經修飾之核糖核苷酸的有義股。如本文所用，所存在的實質上所有核苷酸均為經修飾之核苷酸的反義有義股為在有義股中有兩個或更少個(亦即0、1或2個)核苷酸為未經修飾之核糖核苷酸的反義股。在一些實施例中，RNAi劑之一或多個核苷酸為未經修飾之核糖核苷酸。

【0075】 **經修飾之核苷間鍵聯**

【0076】 在一些實施例中，RNAi劑之一或多個核苷酸藉由非標準鍵聯或主鏈(亦即，經修飾之核苷間鍵聯或經修飾之主鏈)連接。經修飾之核苷間鍵聯或主鏈包括(但不限於)硫代磷酸酯基(本文中表示為小寫字母「s」)、對掌性硫代磷酸酯、硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、磷酸三酯、胺基烷基-磷酸三酯、膦酸烷基酯(例如膦酸甲酯或3'-伸烷基膦酸酯)、對掌性膦酸酯、亞膦酸酯、胺基磷酸酯(例如3'-胺基胺基磷酸酯、胺基烷基胺基磷酸酯或硫羰基胺基磷酸酯)、硫羰基烷基-膦酸酯、硫羰基烷基磷酸三酯、N-嗎啉基鍵聯、具有正常3'-5'鍵聯之硼烷磷酸酯、硼烷磷酸酯之2'-5'鍵聯之類似物或具有反向極性之硼烷磷酸酯，其中相鄰核苷單元對以3'-5'鍵聯至5'-3'或以2'-5'鍵聯至5'-2'。在一些實施例中，經修飾之核苷間鍵聯或主鏈缺乏磷原子。缺乏磷原子之經修飾之核苷間鍵聯包括(但不限於)短鏈烷基或環烷基糖間鍵聯、混合雜原子及烷基或環烷基糖間鍵聯，或一或多個短鏈雜原子或雜環糖間鍵聯。在一些實施例中，經修飾之核苷間主鏈包括但不限於矽氧烷主鏈、硫醚主鏈、亞碸主鏈、碸主鏈、甲醯基及硫甲醯基主鏈、亞甲基甲醯基及硫甲醯基主鏈、含有烯烴之主鏈、胺基磺酸酯主鏈、亞甲基亞胺基及亞甲基肼基主鏈、磺酸酯及磺醯胺主鏈、醯胺主鏈及其他具有混合N、O、S及CH_2組分之主鏈。

【0077】 在一些實施例中，RNAi劑之有義股可含有1、2、3、4、5或6個硫代磷酸酯鍵聯，RNAi藥劑之反義股可含有1、2、3、4、5或6個硫代磷酸酯鍵聯，或有義股及反義股二者皆可獨立地含有1、2、3、4、5或6個硫代磷酸酯鍵聯。在一些實施例中，RNAi劑之有義股可含有1、2、3或4個硫代磷酸酯鍵聯，RNAi劑之反義股可含有1、2、3或4個硫代磷酸

酯鍵聯，或有義股及反義股二者皆可獨立地含有1、2、3或4個硫代磷酸酯鍵聯。

【0078】 在一些實施例中，RNAi劑有義股含有至少兩個硫代磷酸酯核苷間鍵聯。在一些實施例中，至少兩個硫代磷酸酯核苷間鍵聯在來自有義股3'端之位置1-3處的核苷酸之間。在一些實施例中，一個硫代磷酸酯核苷間鍵聯位於有義股之5'端處，且另一硫代磷酸酯鍵聯位於有義股之3'端處。在一些實施例中，兩個硫代磷酸酯核苷間鍵聯位於有義股之5'端，且另一硫代磷酸酯鍵聯位於有義股之3'端。在一些實施例中，有義股不包括核苷酸之間的任何硫代磷酸酯核苷間鍵聯，但含有5'及3'端上之末端核苷酸之間的一個、兩個或三個硫代磷酸酯鍵聯且視情況存在反向無鹼基殘基端帽。在一些實施例中，靶向配位體經由硫代磷酸酯鍵聯連接至有義股。

【0079】 在一些實施例中，RNAi劑反義股含有四個硫代磷酸酯核苷間鍵聯。在一些實施例中，四個硫代磷酸酯核苷間鍵聯在自反義股之5'端之位置1-3處的核苷酸之間及在自5'端之位置19-21、20-22、21-23、22-24、23-25或24-26處的核苷酸之間。在一些實施例中，三個硫代磷酸酯核苷間鍵聯位於自反義股之5'端起之位置1-4之間，且第四個硫代磷酸酯核苷間鍵聯位於自反義股之5'端起之位置20-21之間。在一些實施例中，RNAi劑在反義股中含有至少三個或四個硫代磷酸酯核苷間鍵聯。

【0080】 在一些實施例中，RNAi劑含有一或多個經修飾之核苷酸及一或多個經修飾之核苷間鍵聯。在一些實施例中，2'-修飾之核苷與經修飾之核苷間鍵聯組合。

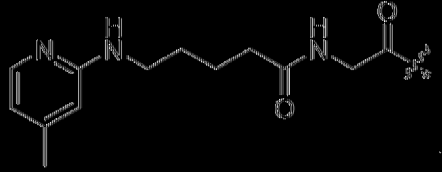
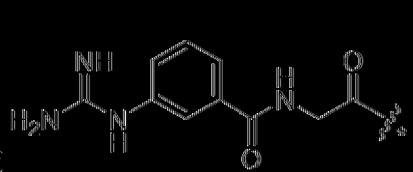
【0081】 靶向配位體及靶向基團

[0082] 靶向基團或靶向部分增強結合物或其所附接之RNAi劑的藥物動力學或生物分佈特性，以改良結合物或RNAi劑之細胞特異性(在一些情況下包括器官特異性)分佈及細胞特異性(或器官特異性)吸收。靶向基團對於其所針對之目標可為單價、二價、三價、四價或具有更高價數。代表性靶向基團包括(不限於)對細胞表面分子具有親和力之化合物、對細胞表面分子具有親和力之細胞受體配位體、半抗原、抗體、單株抗體、抗體片段及抗體模擬物。在一些實施例中，靶向基團使用連接子連接至RNAi劑，該連接子諸如PEG連接子或一個、兩個或三個無鹼基及/或核糖醇(無鹼基核糖)殘基，該等殘基在一些情況下可充當連接子。在一些實施例中，靶向基團包含整合素靶向配位體。

[0083] 在一些實施例中，本文所述之RNAi劑結合至靶向基團。在一些實施例中，靶向配位體增強RNAi劑結合至所關注細胞上之特定細胞受體的能力。在一些實施例中，結合至本文所述之RNAi劑的靶向配位體對於整合素受體具有親和力。在一些實施例中，適用於本文所揭示之RNAi劑的靶向配位體對整合素αvβ6具有親和力。靶向基團包含兩個或更多個靶向配位體。

[0084] 在一些實施例中，本文所揭示之RNAi劑連接至一或多種包括式(P)化合物之整合素靶向配位體：

$$Xaa^1GDLXaa^2Xaa^3LXaa^4Xaa^5L \quad (P)$$

或其醫藥學上可接受之鹽，其中Xaa^1為視情況具有N端胺之L-精胺酸、或，其中"指示與G'之連接點；G'為L-甘胺酸或N-甲基-L-甘胺酸；D為L-天冬胺酸(L-天冬胺

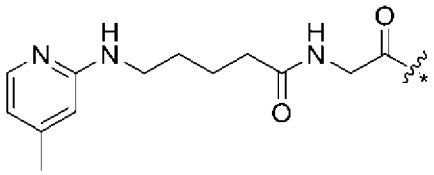
酸酯)；L為L-白胺酸；Xaa^2為L-α胺基酸、L-β胺基酸或α,α-二取代之胺基酸；Xaa^3為L-α胺基酸、L-β胺基酸或α,α-二取代之胺基酸；Xaa^4為L-α胺基酸、L-β胺基酸或α,α-二取代之胺基酸；Xaa^5為L-α胺基酸、L-β胺基酸或α,α-二取代之胺基酸；且§指示與RNAi劑之連接點。

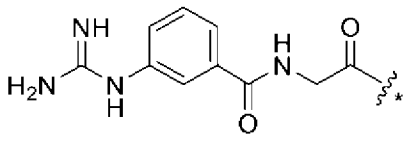
【0085】 在一些實施例中，Xaa^2為L-丙胺酸或L-甘胺酸。在一些實施例中，Xaa^2為L-丙胺酸。在一些實施例中，Xaa^2為L-甘胺酸。

【0086】 在一些實施例中，Xaa^3為非標準胺基酸。在一些實施例中，Xaa^3為L-丙胺酸、L-甘胺酸、L-纈胺酸、L-白胺酸、L-異白胺酸或L-α-胺基-丁酸。在一些實施例中，Xaa^3為L-α-胺基-丁酸。在一些實施例中，Xaa^3為L-丙胺酸。在一些實施例中，Xaa^3為L-甘胺酸。在一些實施例中，Xaa^3為L-纈胺酸。在一些實施例中，Xaa^3為L-白胺酸。在一些實施例中，Xaa^3為L-異白胺酸。

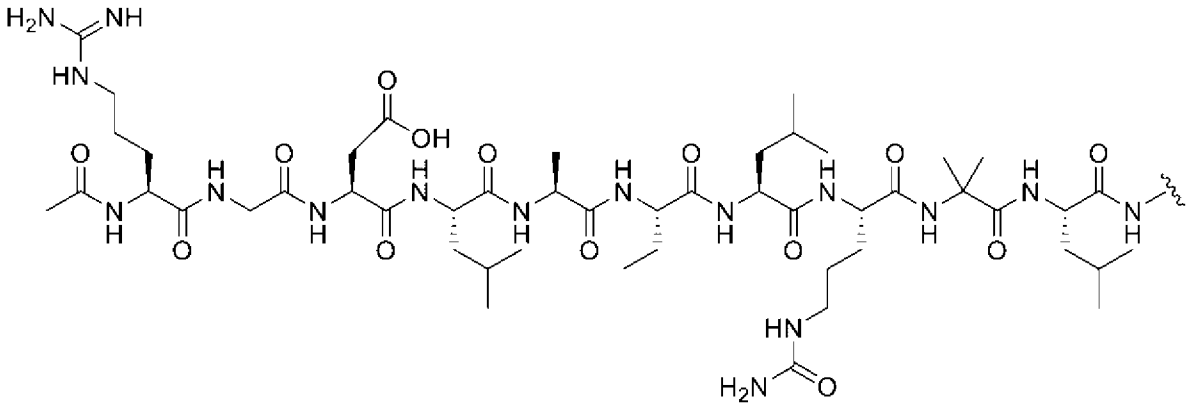
【0087】 在一些實施例中，Xaa^4為L-精胺酸、L-瓜胺酸或L-麩醯胺酸。在一些實施例中，Xaa^4為L-瓜胺酸。在一些實施例中，Xaa^4為L-精胺酸。在一些實施例中，Xaa^4為L-麩醯胺酸。

【0088】 在一些實施例中，Xaa^5為L-甘胺酸、L-丙胺酸、L-纈胺酸、L-白胺酸、L-異白胺酸或α-胺基-異丁酸。在一些實施例中，Xaa^5為α-胺基-異丁酸。在一些實施例中，Xaa^5為L-甘胺酸。在一些實施例中，Xaa^5為L-丙胺酸。在一些實施例中，Xaa^5為L-纈胺酸。在一些實施例中，Xaa^5為L-白胺酸。在一些實施例中，Xaa^5為L-異白胺酸。

【0089】 在一些實施例中，Xaa^1為N-乙醯基-L-精胺酸。在一些實施例中，Xaa^1為，其中§*指示與G'之連接點。在

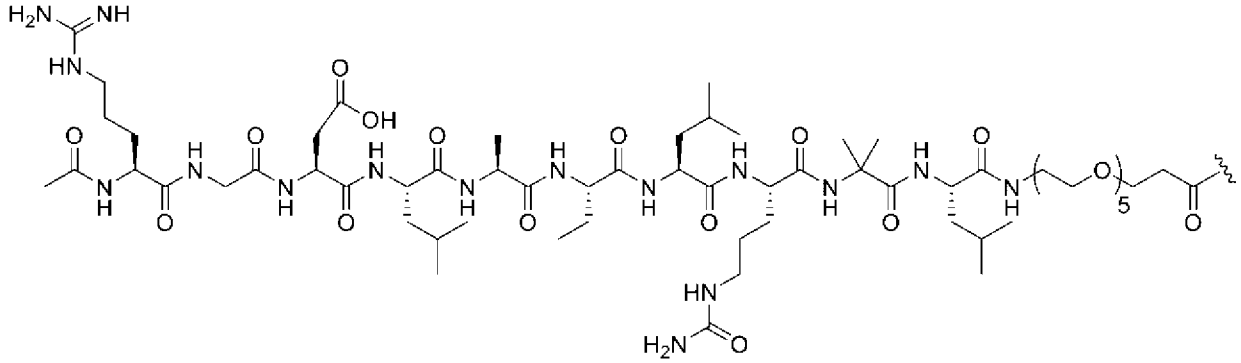
式P之一些實施例中，Xaa^1為 ，其中*指示與G'之連接點。

【0090】 在一些實施例中，靶向配位體具有下式：



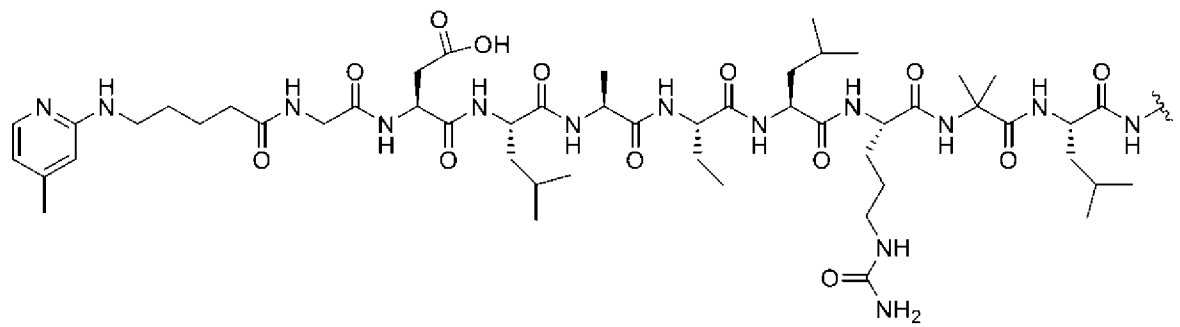
或其醫藥學上可接受之鹽，其中*指示與遞送載體之其餘部分之連接點。

【0091】 在一些實施例中，靶向配位體具有下式：



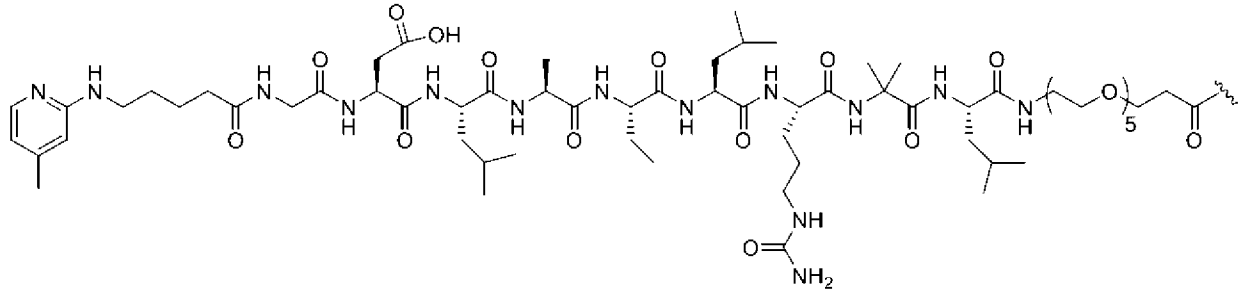
或其醫藥學上可接受之鹽，其中*指示與遞送載體之其餘部分之連接點。

【0092】 在一些實施例中，靶向配位體具有下式：



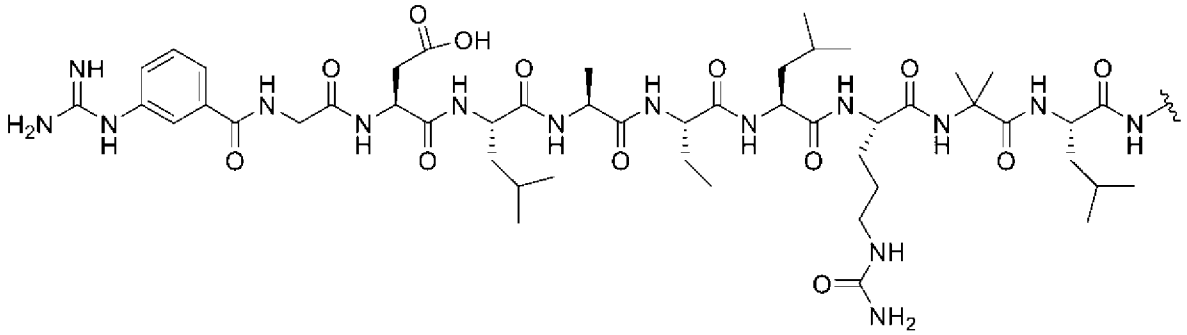
或其醫藥學上可接受之鹽，其中~~指示與遞送載體之其餘部分之連接點。

【0093】 在一些實施例中，靶向配位體具有下式：



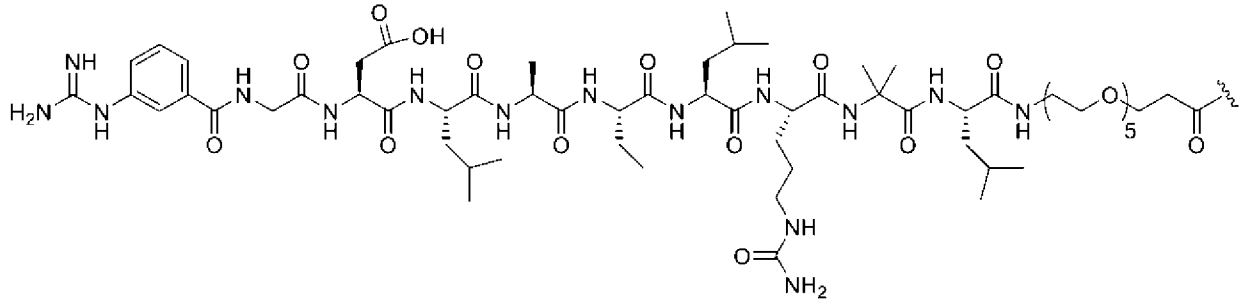
或其醫藥學上可接受之鹽，其中~~指示與遞送載體之其餘部分之連接點。

【0094】 在一些實施例中，靶向配位體具有下式：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中~~指示與遞送載體之其餘部分之連接點。

【0095】 在一些實施例中，靶向配位體具有下式：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中~~指示與遞送載體之其餘部分之連接點。

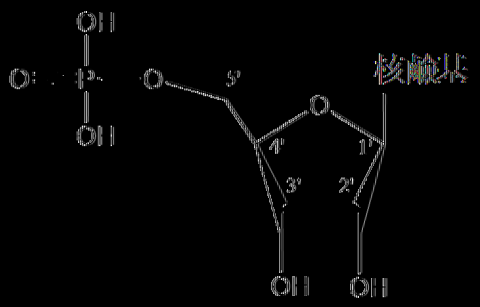
【0096】 RNAi劑可包含超過一個靶向配位體。在一些實施例中，RNAi劑包含1-20個靶向配位體。在一些實施例中，RNAi劑包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18或19個靶向配位體至2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20個靶向配位體。在一些實施例中，靶向配位體可結合在RNAi劑之有義股之5'或3'端處。在一些實施例中，靶向配位體可結合至RNAi劑上之內部核苷酸。

【0097】 在一些實施例中，RNAi劑包含靶向基團，其包括2個或更多個靶向配位體。在一些實施例中，靶向基團可結合至RNAi劑之有義股之5'或3'端。在一些實施例中，靶向基團可結合至RNAi劑上之內部核苷酸。在一些實施例中，靶向基團可由連接在一起之兩個靶向配位體組成，稱為「雙齒」靶向基團。在一些實施例中，靶向基團可由連接在一起之三個靶向配位體組成，稱為「三齒」靶向基團。在一些實施例中，靶向基團可由連接在一起之四個靶向配位體組成，稱為「四齒」靶向基團。

【0098】 在一些實施例中，RNAi劑可包含結合至有義股之3'或5'端之靶向基團，且另外包含結合至內部核苷酸之靶向配位體。在一些實施例中，三齒靶向基團結合至RNAi劑之有義股之5'端，且至少一個靶向配位體結合至有義股之內部核苷酸。在其他實施例中，三齒靶向基團結合至RNAi劑之有義股之5'端，且四個靶向配位體結合至有義股之內部核苷酸。

【0099】 如上文所提及，在一些實施例中，本文所揭示之RNAi劑可連接至RNAi劑之有義股或反義股之內部核苷酸上的一或多個靶向配位體及/或一或多個靶向基團，以促進活體內遞送RNAi劑。在一些實施例

中，靶向配位體或靶向基團連接或結合至RNAi劑之有義股之一或多個內部核苷酸。舉例而言，靶向配位體可連接至核糖環之2'位置、核糖環之3'位置、核糖環之G位置處之個別核苷酸或核苷酸之核鹼基、核糖環之4'位置、核苷酸之5'位置或核糖環上之氧原子。以下描繪假設的核糖核苷酸，其中碳經編號：



[0100] 在一典實施例中，為促進一或多個靶向配位體及/或靶向基團與內部核苷酸之鍵聯，將2'-O-炔丙基修飾之核苷酸併入至核苷酸序列(參見例如表23)。在合成各別股之後，2'-O-炔丙基修飾之核苷酸可使用如此項技術中已知之標準偶合技術在2'位置處連接或結合至靶向配位體及/或靶向基團。

[0101] 藥物動力學及/或藥效學調節劑

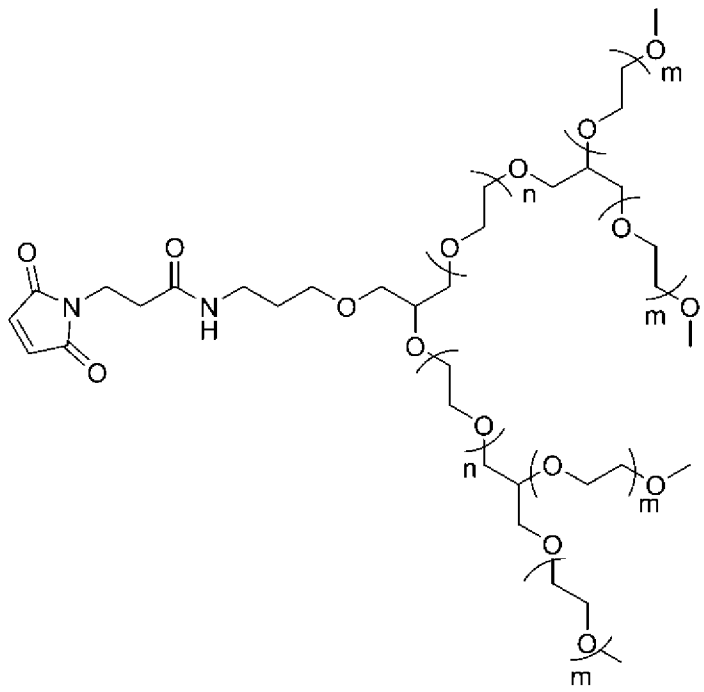
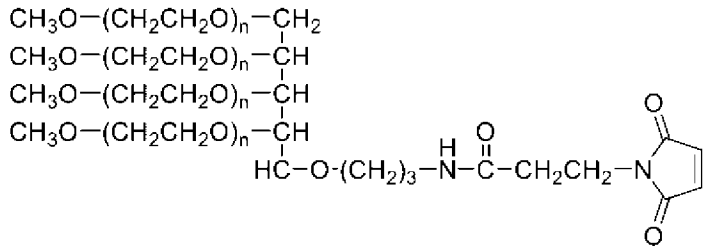
[0102] 本文所揭示之遞送載體包含連接至RNAi劑之藥物動力學及/或藥效學(在本文中亦稱為「PK/PD」)調節劑，以有助於將RNAi劑遞送至所需細胞或組織。可合成PK/PD調節劑前驅體，其具有反應性基團，諸如順丁烯二醯亞胺或疊氮基，以促進與RNAi劑上之一或多個連接基團的鍵聯。此項技術中通常已知將此類PK/PD調節劑前驅體連接至RNAi劑之化學反應合成。術語「PK/PD調節劑」與「脂質PK/PD調節劑」在本文中可互換地使用。

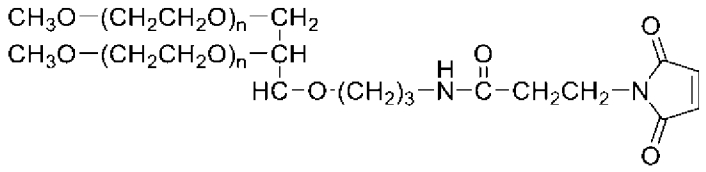
[0103] 在一典實施例中，PK/PD調節劑可包括如下分子，其為脂肪酸、脂質、白蛋白結合劑、抗體結合劑、聚酯、聚內烯酸酯、聚胺基酸

及具有約20-2000個PEG-(CH_2CH_2O)-單元之直鏈或分支鏈聚乙二醇(PEG)部分。

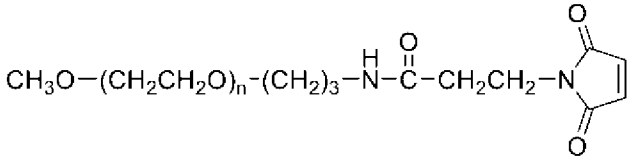
【0104】 表1顯示可用作連接至本文所揭示之RNAi劑之起始物質的某些示例性PK/PD調節劑前驅體。PK/PD調節劑前驅體可使用此項技術中任何已知方法共價附接至RNAi劑。在一些實施例中，含順丁烯二醯亞胺之PK/PD調節劑前驅體可與RNAi劑之有義股之3'端的含二硫鍵部分反應。

【0105】 表1：適合於連接至RNAi劑之示例性PK/PD調節劑前驅體

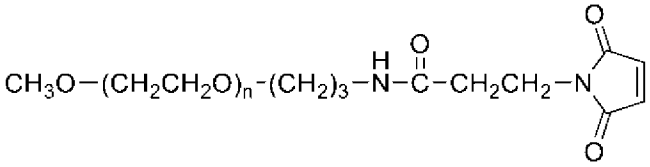
 PEG40K (2×2臂)， 其中n及m各自獨立地為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約40千道爾頓(kilodalton) NOF，Sunbright ® GL4-400MA
 PEG40K (4臂)， 其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約40千道爾頓 NOF，Sunbright® XY4-400MA



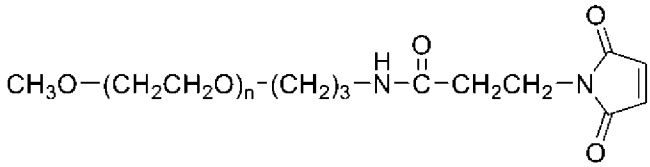
PEG40K (2臂)，
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約40千道爾頓
NOF，Sunbright® GL2-400MA



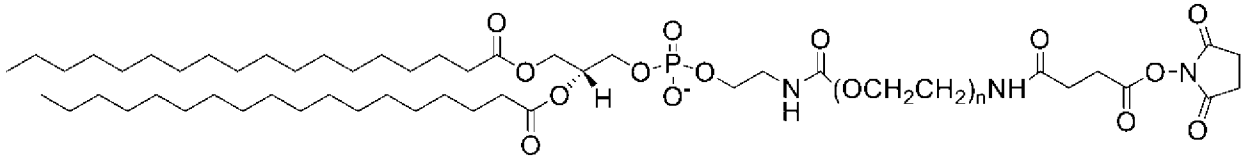
PEG40K，
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約40千道爾頓
NOF，Sunbright® ME-400MA



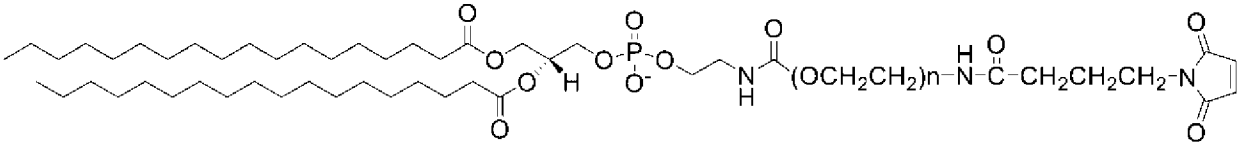
PEG10K，
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約10千道爾頓
NOF，Sunbright® ME-100MA



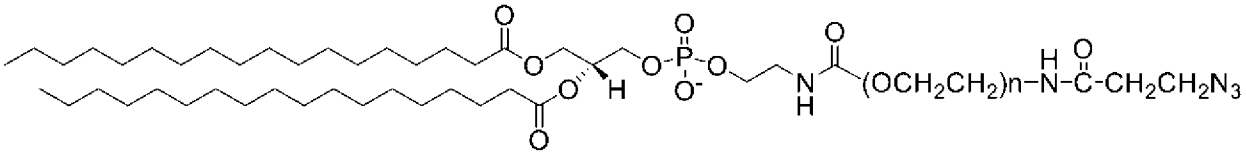
PEG5K,
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約5千道爾頓
NOF，Sunbright® ME-050MA



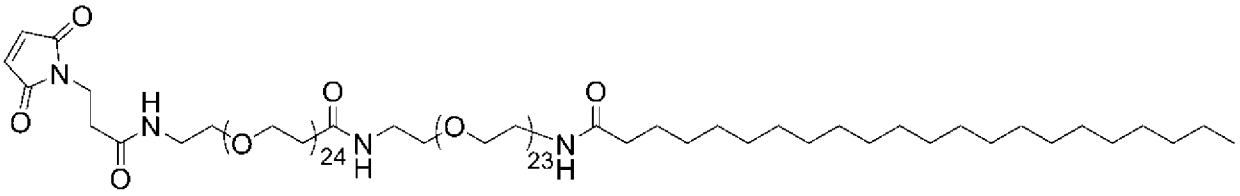
DSPE-PEG5K-NHS (Naonsoft Polymers™ #SKU 1544)
(1,2-二硬脂醯基-*sn*-甘油-3-磷酸乙醇胺-N-[丁二醯亞胺基(聚乙二醇)])，其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約5千道爾頓



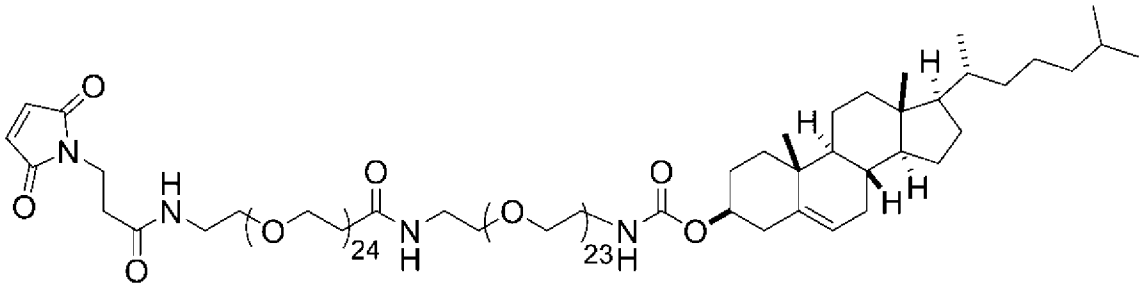
DSPE-PEG5K-MAL (Naonsoft Polymers™ SKU #2049)
1,2-二硬脂醯基-***sn***-甘油-3-磷酸乙醇胺-N-[順丁烯二醯亞胺(聚乙二醇)]，
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約5千道爾頓



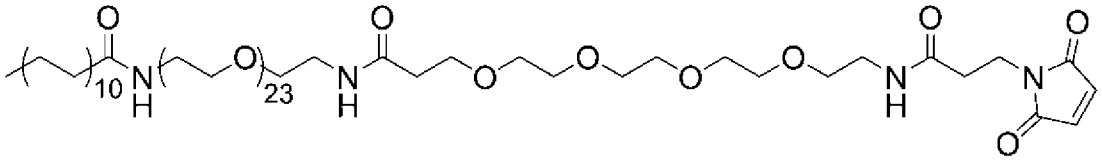
DSPE-PEG5K-N3 (Naonsoft Polymers™ SKU #2274)
1,2-二硬脂醯基-*sn*-甘油-3-磷酸乙醇胺-N-[疊氮基(聚乙二醇)]，其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約5千道爾頓



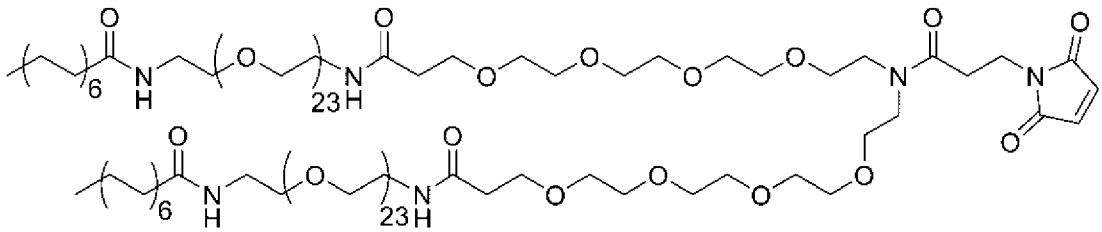
PEG47+C22



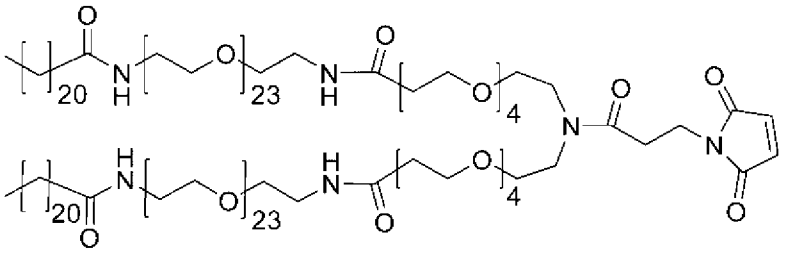
PEG47+CLS (膽固醇)



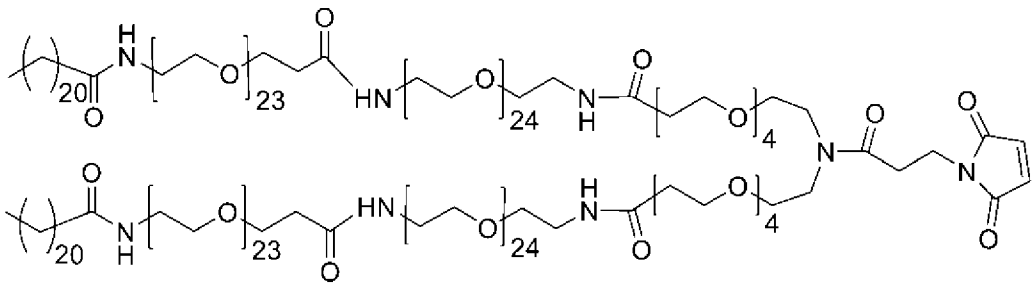
PEG23+C22



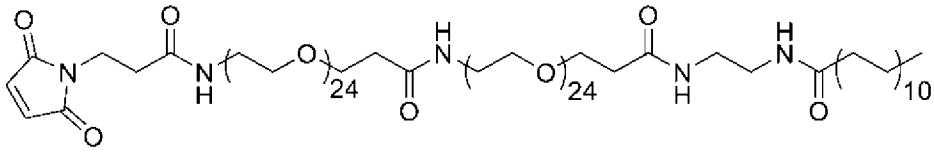
雙(PEG23+C14)



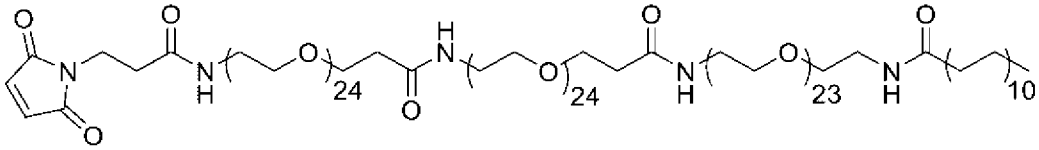
雙(PEG23+C22)



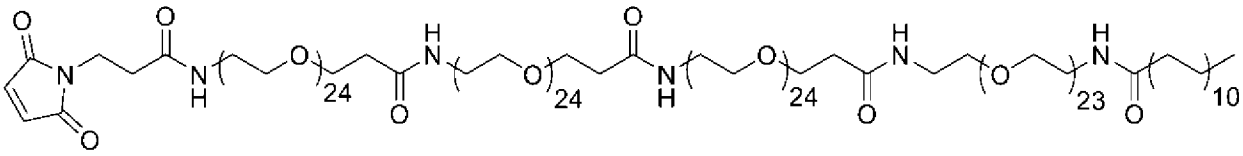
雙(PEG47+C22)



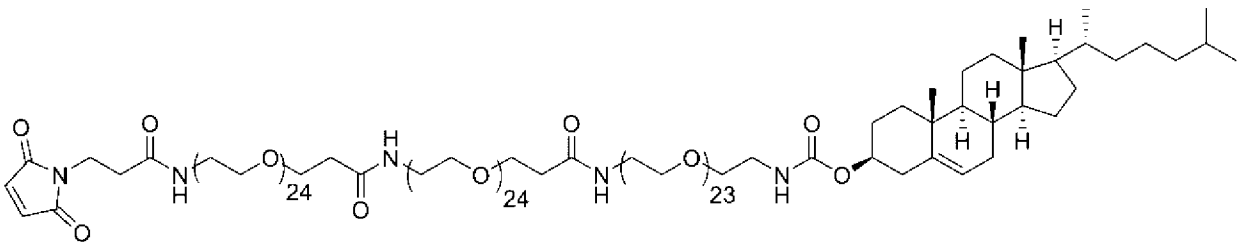
PEG48+C22



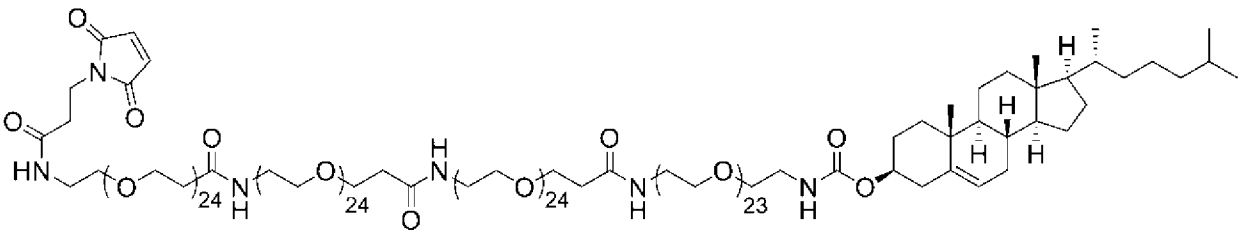
PEG71+C22



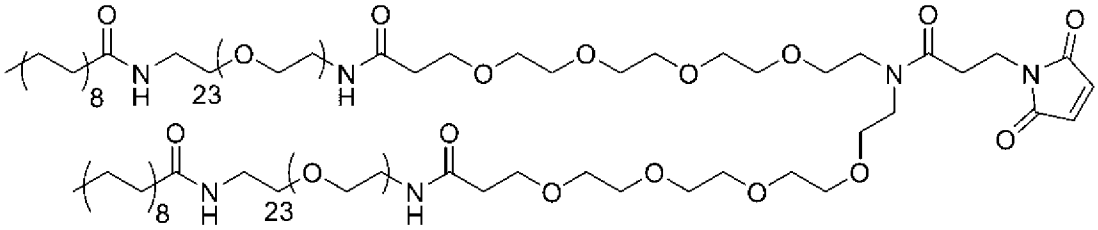
PEG95+C22



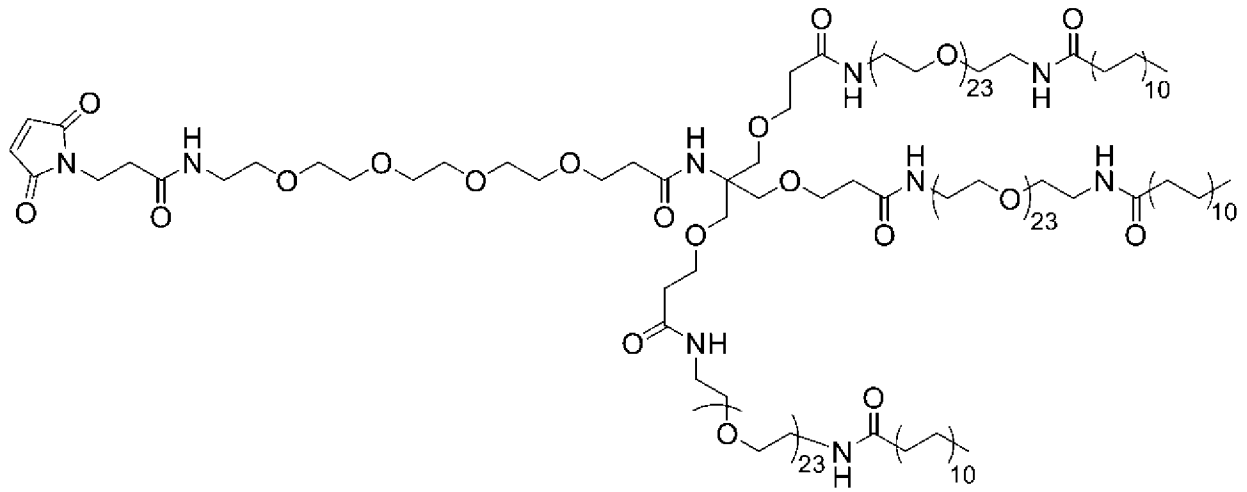
PEG71+CLS



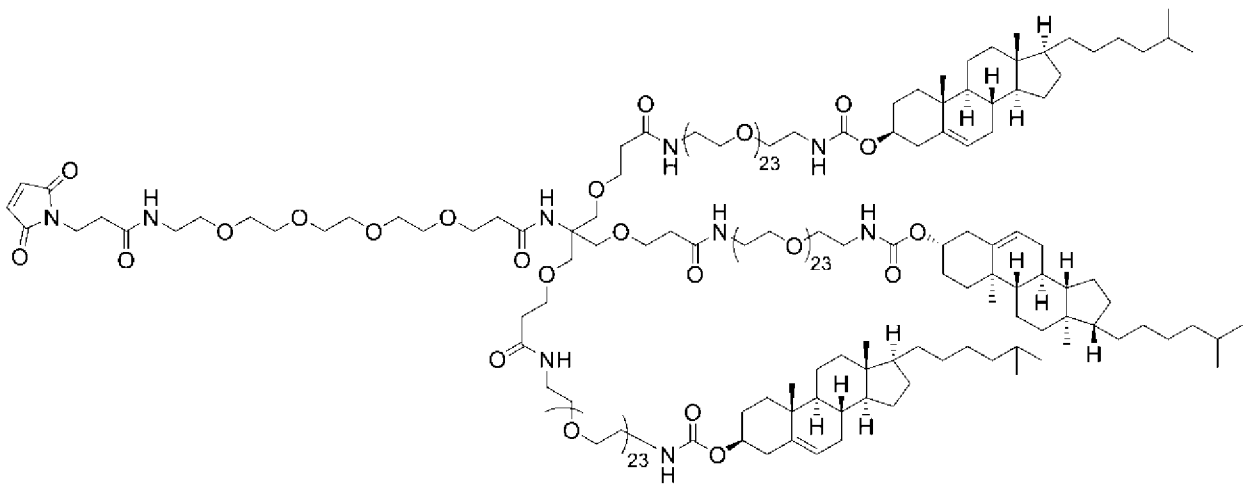
PEG95+CLS



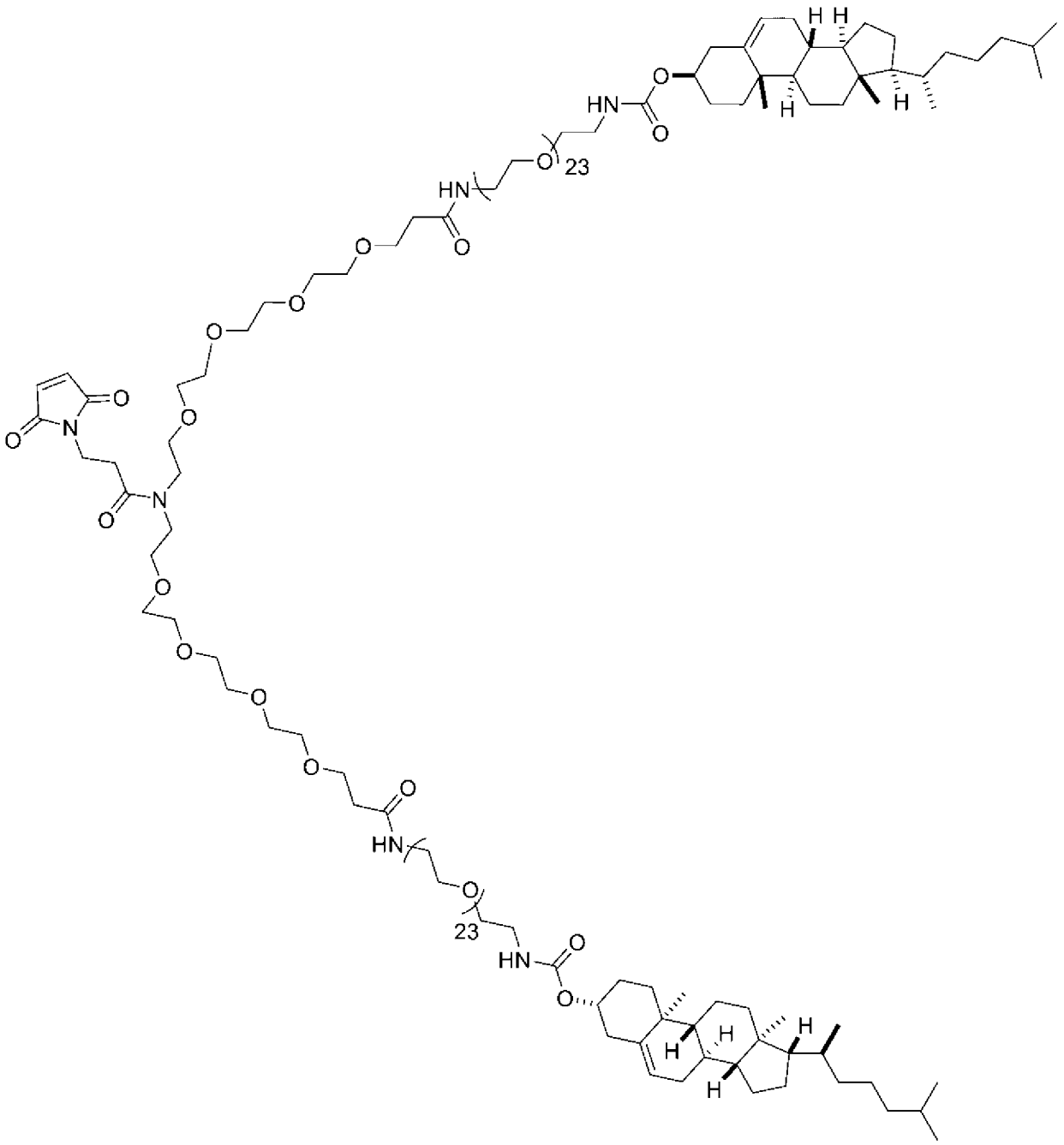
雙(PEG23+C18)



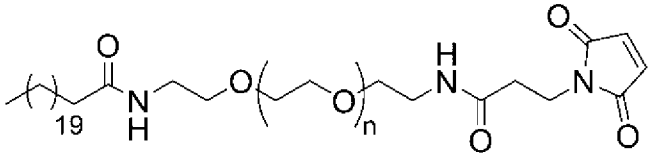
參(PEG23+C22)



參(PEG23+CLS)

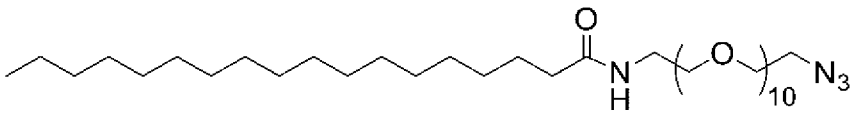


雙(PEG23+CLS)

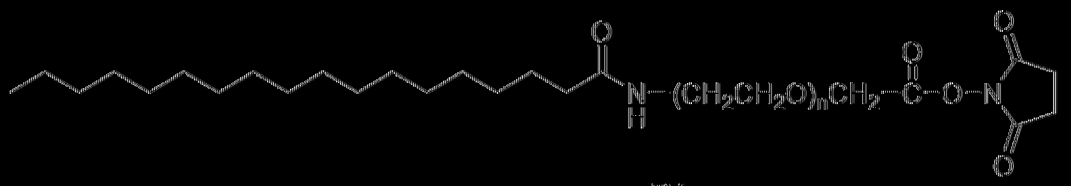


PEG5K+C22

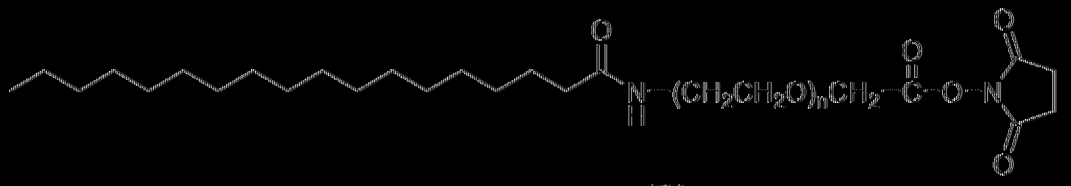
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約5千道爾頓



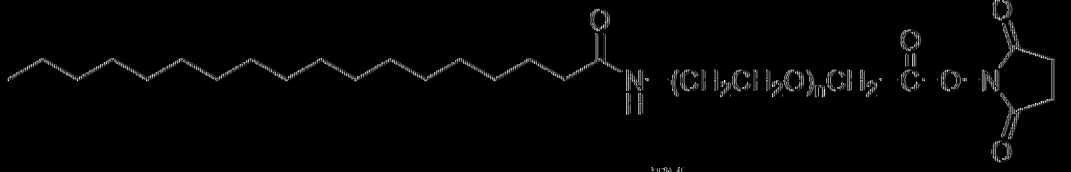
C18



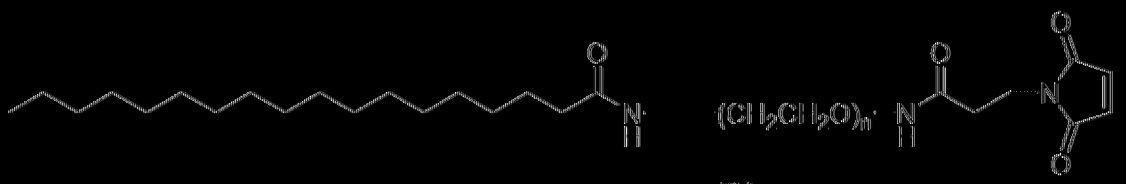
(NHS) PEG1K-C18 (Naonsoft Polymers™ SKU #10668 1000)
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約1千道爾頓



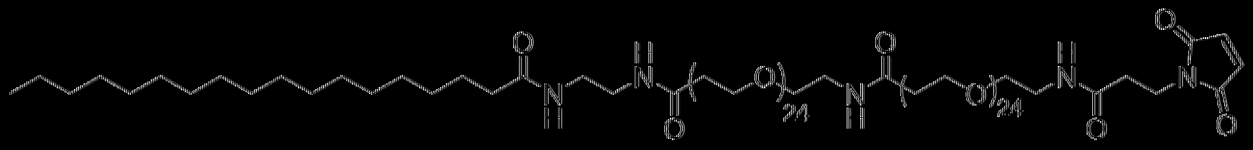
(NHS) PEG2K-C18 (Naonsoft Polymers™ SKU #10668 2000)
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約2千道爾頓



(NHS) PEG5K-C18 (Naonsoft Polymers™ SKU #10668 5000)
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約5千道爾頓

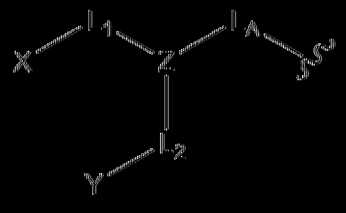


(MAL) PEG5K-C18 (Naonsoft Polymers™ SKU #10617)
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約5千道爾頓



PEG48-C18

[0106] 在一典實施例中，RNAi劑可結合至式(I)之脂質PK/PD調節劑：



(I)

或其醫藥學上可接受之鹽，其中L_A為一鍵或將Z連接至RNAi劑之二價部分；Z為CH、苯其或N；L_1及L_2各自獨立地為包含至少約5個紫乙二

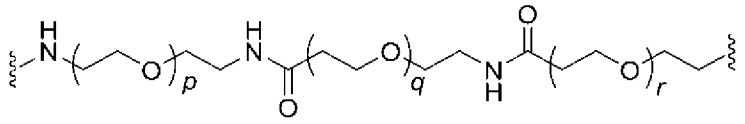
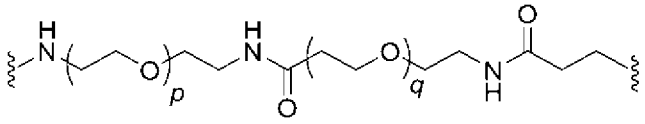
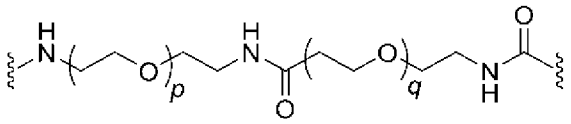
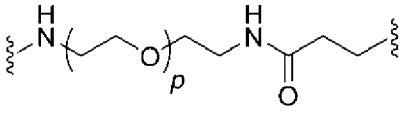
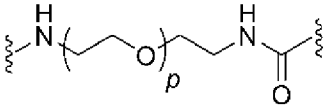
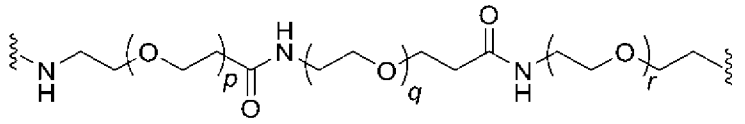
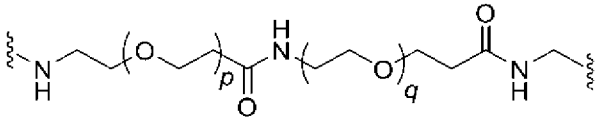
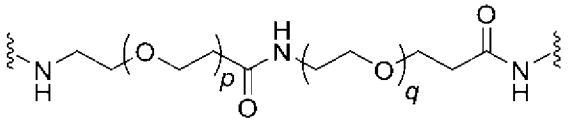
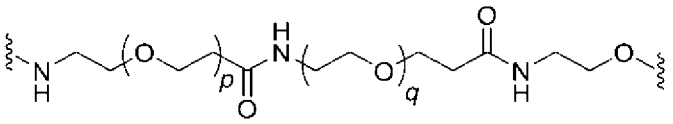
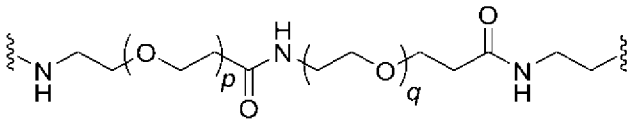
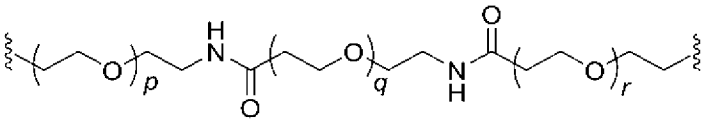
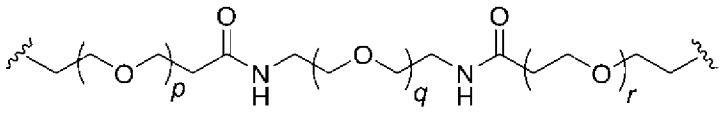
醇(PEG)單元之連接子；X及Y各自獨立地為包含約10至約50個碳原子之脂質；且⁑指示與RNAi劑之連接點。

【0107】 在一些實施例中，L_1及L_2各自獨立地包含約15至約100個PEG單元。在一些實施例中，L_1及L_2各自獨立地包含約20至約60個PEG單元。在一些實施例中，L_1及L_2各自獨立地包含約20至約30個PEG單元。在一些實施例中，L_1及L_2各自獨立地包含約40至約60個PEG單元。在一些實施例中，L_1及L_2中之一者包含約20至約30個PEG單元且另一者包含約40至約60個PEG單元。舉例而言，L_1及L_2可各自獨立地包含5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99或100個PEG單元。在一些實施例中，L_1及L_2中之每一者包含一或多個連接連接子中之兩個PEG單元的額外二價部分(例如-C(O)-、-N(H)-、-N(H)-C(O)-、-C(O)-N(H)-、$-S(O)_2-$、-S-及非PEG之其他二價部分)。舉例而言，L_1及L_2中之每一者包含結構 $-⁑-(PEG)—X'-X'—(PEG)-⁑-$ 或 $-⁑-(PEG)—X'—(PEG)-⁑-$，其中各X'獨立地為除PEG單元以外之二價部分，且各PEG為PEG單元。

【0108】 在一些實施例中，L_1及L_2中之每一者獨立地選自由表2中鑑別之部分組成之群。

【0109】 表2：本發明之示例L_1及L_2部分

名稱	結構

名稱	結構
連接子1	
連接子2	
連接子3	
連接子4	
連接子5	
連接子6	
連接子7	
連接子8	
連接子9	
連接子10	
連接子11	
連接子12	

其中，各p獨立地為1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、

13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30；各*q*獨立地為1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30；各*r*獨立地為1、2、3、4、5、6、7、8、9或10；且各指示與X、Y或Z之連接點，其限制條件為：

(i)在連接子1、6及11中，$p + q + r \geq 5$；

(ii)在連接子2、3、7、8、9及10中，$p + q \geq 5$；且

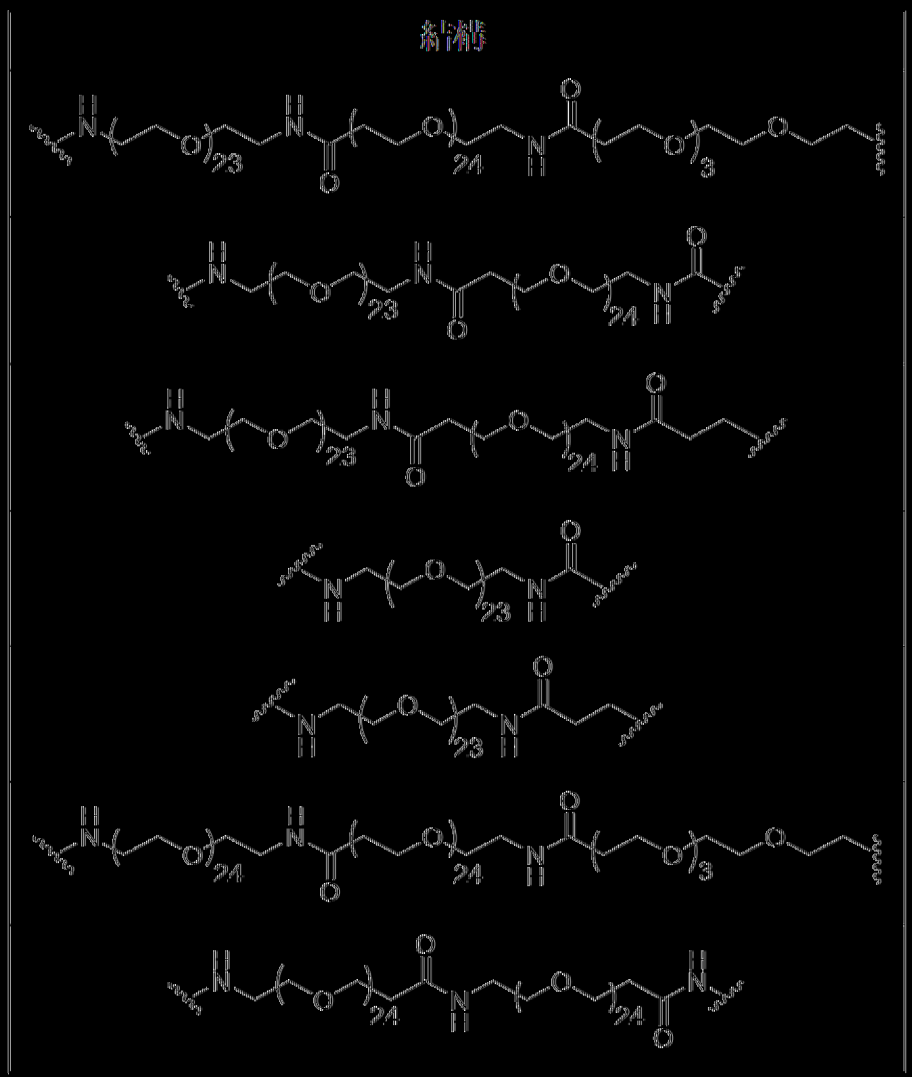
(iii)在連接子4及5中，$p \geq 5$。

【0110】 在一些實施例中，各*p*獨立地為20、21、22、23、24或25；各*q*獨立地為20、21、22、23、24或25；且各*r*獨立地為2、3、4、5或6。在一些實施例中，各*p*獨立地為23或24。在一些實施例中，各*q*獨立地為23或24。在一些實施例中，各*r*為4。

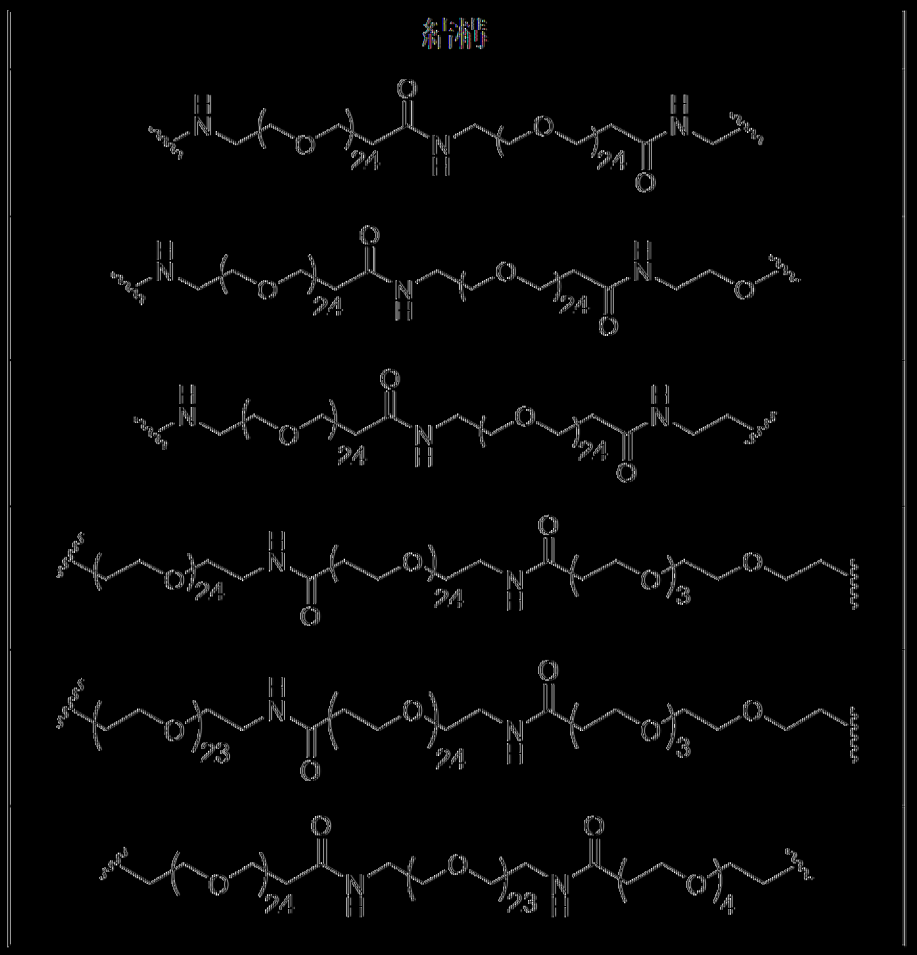
【0111】 在一些實施例中，L_1及L_2中之每一者獨立地選自由表3中鑑別之部分組成之群。

【0112】 表3：本發明之示例L_1及L_2部分

結構



結構



其中~指示與X、Y或Z之連接點。

[0113] 在一些實施例中，L_1與L_2相同。在其他實施例中，L_1與L_2不同。

[0114] 在一些實施例中，X及Y中之至少一者為不飽和脂質。在一些實施例中，X及Y中之每一者為不飽和脂質。在一些實施例中，X及Y中之至少一者為飽和脂質。在一些實施例中，X及Y中之每一者為飽和脂質。在一些實施例中，X及Y中之至少一者為分支脂質。在一些實施例中，X及Y中之每一者為分支脂質。在一些實施例中，X及Y中之至少一者為直鏈脂質。在一些實施例中，X及Y中之每一者為直鏈脂質。在一些實施例中，X及Y中之至少一者為膽固醇基。在一些實施例中，X及Y中之每一者為膽固醇基。在一些實施例中，X與Y相同。在其他實施例中，X與Y

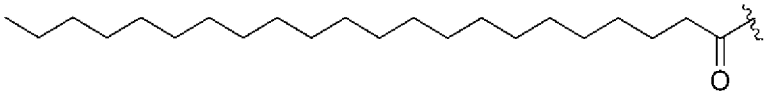
不同。

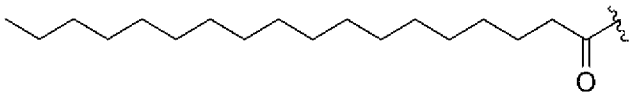
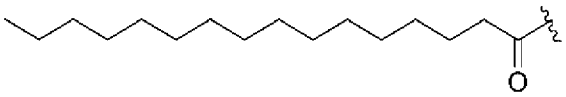
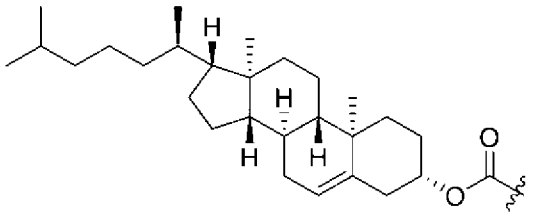
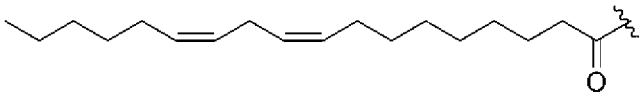
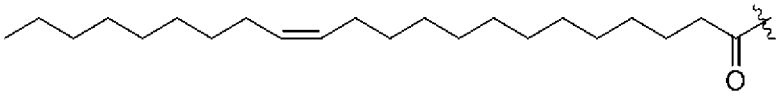
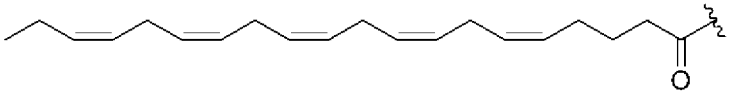
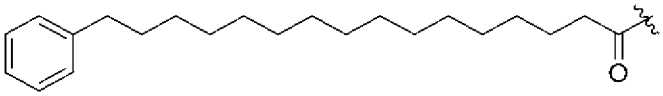
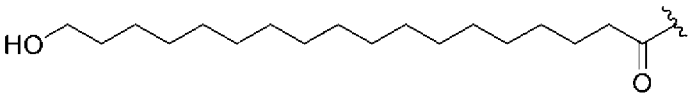
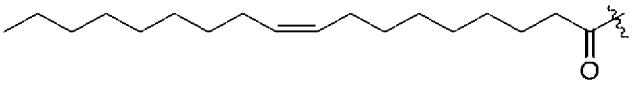
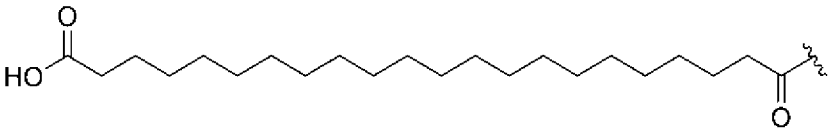
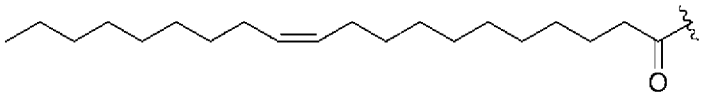
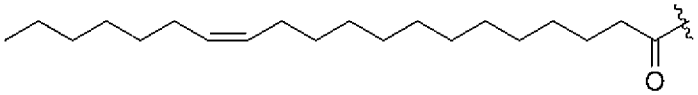
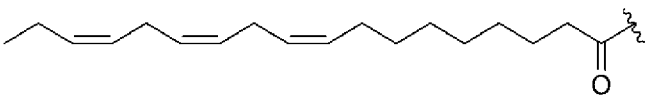
【0115】 在一些實施例中，X及Y中之至少一者包含約10至約45個碳原子。在一些實施例中，X及Y中之至少一者包含約10至約40個碳原子。在一些實施例中，X及Y中之至少一者包含約10至約35個碳原子。在一些實施例中，X及Y中之至少一者包含約10至約30個碳原子。在一些實施例中，X中之至少一者包含約10至約25個碳原子。在一些實施例中，X及Y中之至少一者包含約10至約20個碳原子。

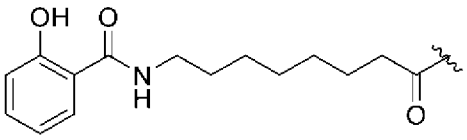
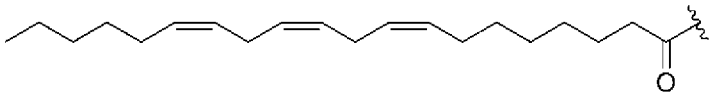
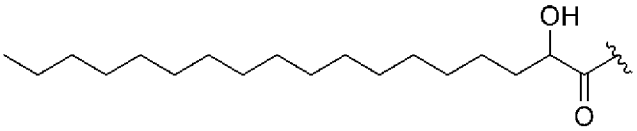
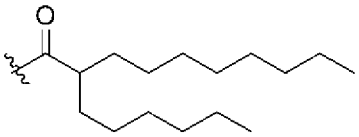
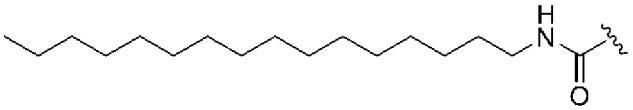
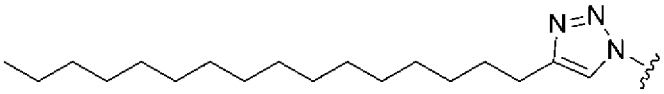
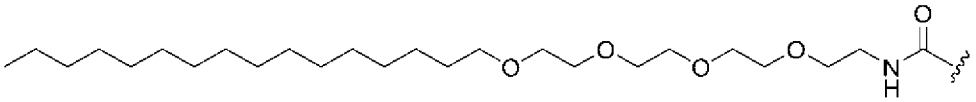
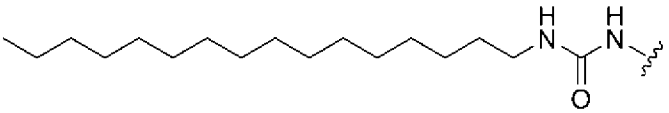
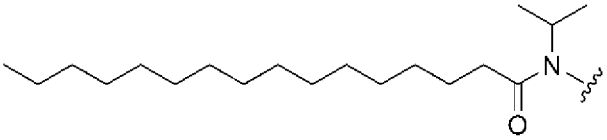
【0116】 在一些實施例中，X及Y各自獨立地包含約10至約45個碳原子。在一些實施例中，X及Y各自獨立地包含約10至約40個碳原子。在一些實施例中，X及Y各自獨立地包含約10至約35個碳原子。在一些實施例中，X及Y各自獨立地包含約10至約30個碳原子。在一些實施例中，X及Y各自獨立地包含約10至約25個碳原子。在一些實施例中，X及Y各自獨立地包含約10至約20個碳原子。舉例而言，X及Y可各自獨立地包含10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50個碳原子。

【0117】 在一些實施例中，X及Y中之至少一者係選自由表4中鑑別之部分組成之群。在一些實施例中，X及Y中之每一者獨立地選自由表4中鑑別之部分組成之群。

【0118】 表4：本發明之示例X及Y部分

名稱	結構
脂質1	

名稱	結構
脂質2	
脂質3	
脂質4 (膽固醇基)	
脂質5	
脂質6	
脂質7	
脂質8	
脂質9	
脂質10	
脂質11	
脂質12	
脂質14	
脂質15	

名稱	結構
脂質16	
脂質17	
脂質18	
脂質19	
脂質20	
脂質21	
脂質22	
脂質23	
脂質24	

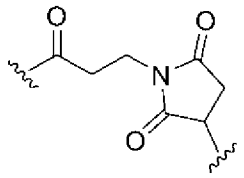
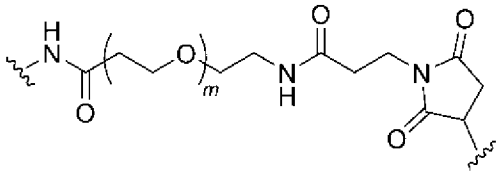
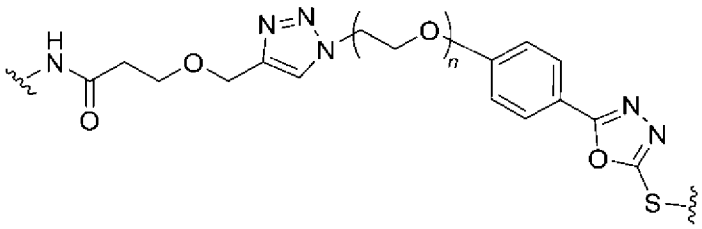
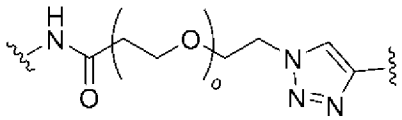
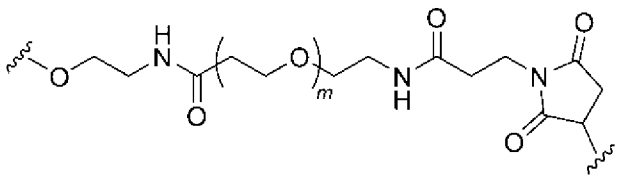
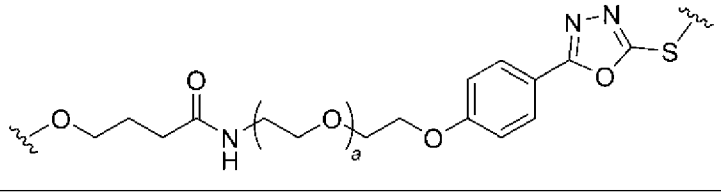
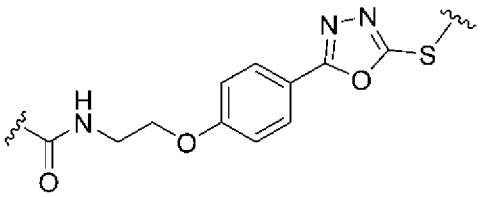
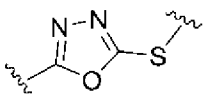
其中 指示與L_1或L_2之連接點。

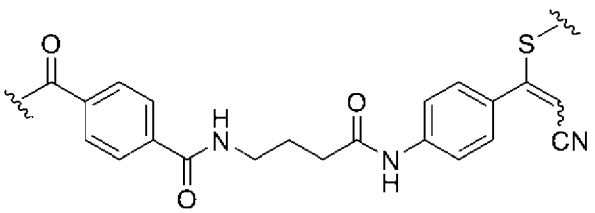
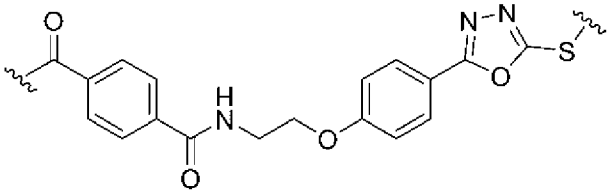
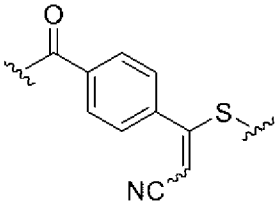
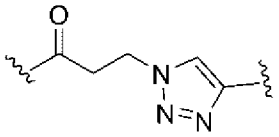
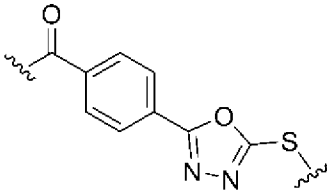
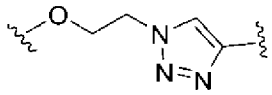
【0119】 在一些實施例中，L_A包含至少一個PEG單元。在一些實施例中，L_A不含任何PEG單元。在一些實施例中，L_A包含-C(O)-、-C(O)N(H)-、視情況經取代之烷氧基或視情況經取代之伸烷基雜環基。在一些實施例中，L_A為一鍵。

【0120】 在一些實施例中，L_A係選自由表5中鑑別之部分組成之

群。

【0121】 表5：本發明之示例L_A部分

名稱	結構
繫栓子1	
繫栓子2	
繫栓子3	
繫栓子4	
繫栓子5	
繫栓子6	
繫栓子7	
繫栓子8	

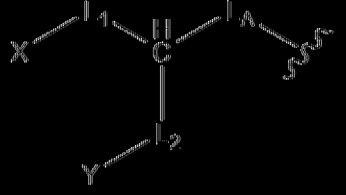
名稱	結構
繫栓子9	
繫栓子10	
繫栓子11	
繫栓子12	
繫栓子13	
繫栓子14	

其中，*m*、*n*、*o*及*a*中之每一者獨立地為1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30，且各～指示與Z或該RNAi劑之連接點。

【0122】 在一些實施例中，各*m*獨立地為1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、21、22、23或25；各*n*獨立地為2、3、4或5；各*a*獨立地為2、3或4；且各*o*獨立地為2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或13。在一些實施例中，各*m*獨立地為2、4、8或24。在一些實施例中，各*n*為3。在一些實施例中，各*o*獨立地為4、8或12。在一些實施例中，各*a*為

3。

[0123] 本發明之另一態樣提供式(Ia)之脂質PK/PD調節劑：



(Ia)

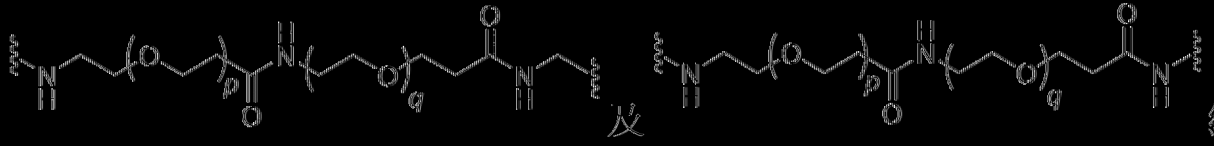
或其醫藥學上可接受之鹽，其中L_A、L_1、L_2、X及Y如式(I)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例中所定義；且~指示與RNAi劑之連接點。

[0124] 在一典實施例中，X及Y各自獨立地選自由如表4中所闡述之脂質3、脂質4、脂質、5、脂質6、脂質7、脂質10、脂質12及脂質19組成之群，其中各~指示與L_1或L_2之連接點。

[0125] 在一典實施例中，L_1及L_2中之每一者獨立地選自由如表2中所闡述之連接子2、連接子3、連接子4及連接子5組成之群，其中各~指示與X、Y或式(Ia)之CH之連接點。在一典實施例中，各p為23。在一典實施例中，各q為24。

[0126] 在一典實施例中，L_A係選自由如表5中所闡述之繫栓子2、繫栓子3及繫栓子4組成之群。在一典實施例中，各m獨立地為2、4、8或24。在一典實施例中，各n為4。在一典實施例中，各o獨立地為4、8或12。

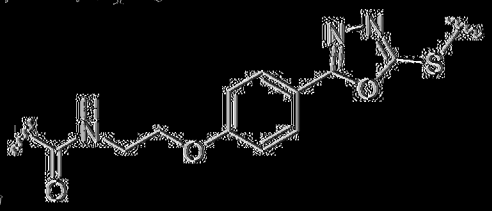
[0127] 在一典實施例中，L_1及L_2獨立地選自由

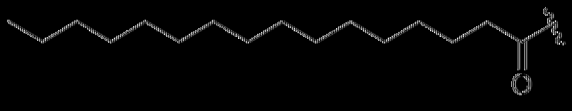


及

組成之群；其中，各p獨立地為20、21、22、23、24或25；各q獨立地為20、21、22、23、24或25；且各~指示與X、Y或式(Ia)之CH之連接點。在一

典實施例中，各p為24。在一典實施例中，各q為24。

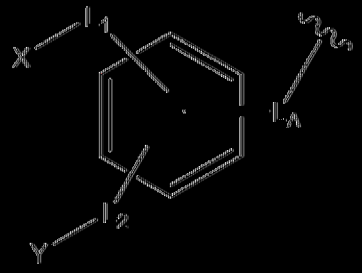
[0128] 在一典實施例中，L_A為  ，且各~指示與RNAi劑或式(Ia)之CH之連接點。

[0129] 在一典實施例中，X及Y中之每一者為  ；其中~指示與L_1或L_2之連接點。

[0130] 在一典實施例中，式(Ia)之脂質PK/PD調節劑係選自由以下組成之群：如表15中所闡述之LP 210a或LP 217a、或此等脂質PK/PD調節劑中之任一者的醫藥學上可接受之鹽，其中各L_{AA}為一鍵或將RNAi劑連接至脂質PK/PD調節劑之其餘部分的二價部分，且各~指示與RNAi劑之連接點。

[0131] 在一典實施例中，式(Ia)之脂質PK/PD調節劑係選自由以下組成之群：如表17中所闡述之LP 210b及LP 217b、或此等脂質PK/PD調節劑中之任一者的醫藥學上可接受之鹽，其中各~指示與RNAi劑之連接點。

[0132] 本發明之另一態樣提供式(IIb)之脂質PK/PD調節劑：



(IIb)

或其醫藥學上可接受之鹽，其中L_A、L_1、L_2、X及Y如式(I)或(Ia)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例中所定義，且~指示與RNAi劑之連接

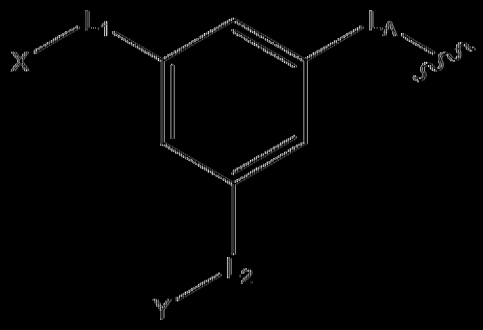
點。

[0133] 在一典實施例中，X及Y各自獨立地選自由如表4中所闡述之脂質3及脂質19組成之群，其中各~~指示與L_1或L_2之連接點。在一典實施例中，X及Y各為脂質3。在一典實施例中，X及Y中之每一者各為脂質19。

[0134] 在一典實施例中，L_1及L_2中之每一者獨立地選自由如表2中所闡述之連接子3、連接子5及連接子9組成之群，其中各~~指示與X、Y或式(IIb)之苯環之連接點。在一典實施例中，各p為23或24。在一典實施例中，各q為24。

[0135] 在一典實施例中，L_A係選自由如表5中所闡述之繫栓子5、繫栓子6、繫栓子7、繫栓子8及繫栓子14組成之群，其中各~~指示與RNAi劑或式(IIb)之苯環之連接點。在一典實施例中，各m為2或4。在一典實施例中，各a為3。

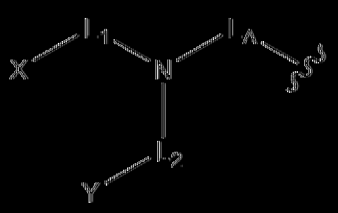
[0136] 本發明之另一態樣提供式(IIb1)之脂質PK/PD調節劑：



(IIb1)

或其醫藥學上可接受之鹽，其中L_A、L_1、L_2、X及Y如式(I)、(Ia)或(IIb)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例中所定義，且~~指示與RNAi劑之連接點。

[0137] 本發明之另一態樣提供式(Ic)之脂質PK/PD調節劑：



(Ic)

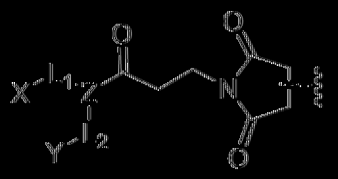
或其醫藥學上可接受之鹽，其中L_A、L_1、L_2、X及Y如式(I)、(Ia)、(Ib)或(Ib1)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例中所定義，且~指示與RNAi劑之連接點。

[0138] 在一典實施例中，X及Y各自獨立地選自由如表4中所闡述之脂質1、脂質2、脂質3、脂質5、脂質8、脂質9、脂質11、脂質12、脂質14、脂質15、脂質16、脂質17、脂質18、脂質19、脂質20、脂質21、脂質22、脂質23及脂質24組成之群，其中各~指示與L_1及L_2之連接點。在一典實施例中，X及Y中之每一者為脂質1、脂質2、脂質3、脂質5、脂質8、脂質9、脂質11、脂質12、脂質14、脂質15、脂質16、脂質17、脂質18、脂質19、脂質20、脂質21、脂質22、脂質23或脂質24。

[0139] 在一典實施例中，L_1及L_2中之每一者獨立地選自由如表2中所闡述之連接子1、連接子6、連接子10、連接子11及連接子12組成之群，其中各~指示與X、Y或式(Ic)之N之連接點。在一典實施例中，各p獨立地為23或24。在一典實施例中，各q獨立地為23或24。在一典實施例中，各r為4。

[0140] 在一典實施例中，L_A係選自由如表5中所闡述之繫栓子1、繫栓子9、繫栓子10、繫栓子11、繫栓子12及繫栓子13組成之群，其中各~指示與RNAi劑或式(Ic)之N之連接點。

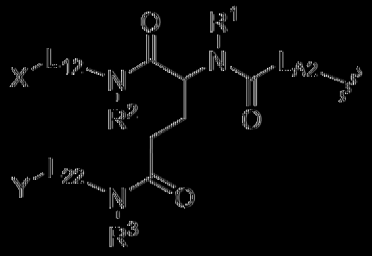
[0141] 本發明之另一態樣提供式(Id)之脂質PK/PD調節劑：



(Id)

或其醫藥學上可接受之鹽，其中X、L_1、L_2、X及Y如式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ib1)或(Ic)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例中所定義，且~指示與RNAi劑之連接點。

[0142] 本發明之另一態樣提供式(II)之脂質PK/PD調節劑：



(II)

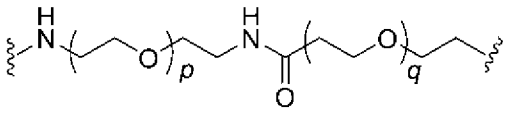
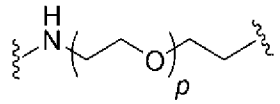
或其醫藥學上可接受之鹽，其中X及Y如式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ib1)、(Ic)或(Id)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義；L_{12}為L_1如式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ib1)、(Ic)或(Id)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義；L_{22}為L_2如式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ib1)、(Ic)或(Id)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義；L_{A2}為L_A如式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ib1)或(Ic)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義；R^1、R^2及R^3各自獨立地為氫或C_{1-6}烷基；~指示與RNAi劑之連接點。

[0143] 在一些實施例中；L_{A2}為一鍵或將RNAi劑連接至C(O)之二價部分；R^1、R^2及R^3各自獨立地為氫或C_{1-6}烷基；L_{12}及L_{22}各自獨立地為包含至少約5個PEG單元之連接子；X及Y各自獨立地為包含約10至約50個碳原子之脂質；~指示與RNAi劑之連接點。

[0144] 在一些實施例中，L_{12}及L_{22}中之每一者獨立地選自由表6中

鑑別之部分組成之群。

【0145】 表6：本發明之示例L_{12}及L_{22}部分

名稱	結構
連接子1-2	
連接子2-2	

其中，p及q各自獨立地為1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30；且各~~~~指示與X、Y、-NR^2-或-NR^3-之連接點，其限制條件為：

(i)在連接子1-2中，$p + q \geq 5$；且

(ii)在連接子2-2中，$p \geq 5$。

【0146】 在一些實施例中，各p獨立地為20、21、22、23、24或25。在一些實施例中，各q獨立地為20、21、22、23、24或25。在一些實施例中，各p獨立地為23或24。在一些實施例中，各p為23。在一些實施例中，各q為24。

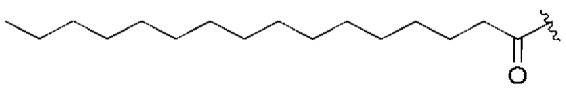
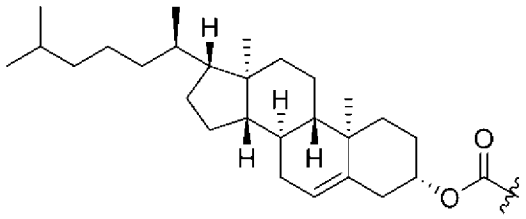
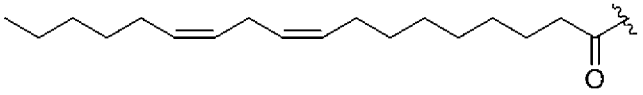
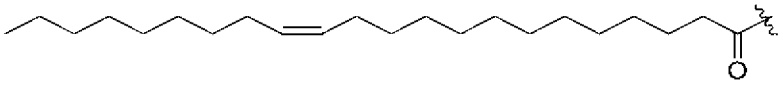
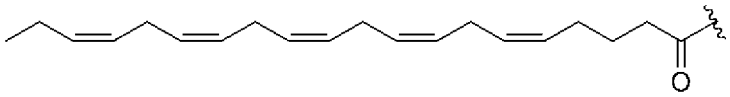
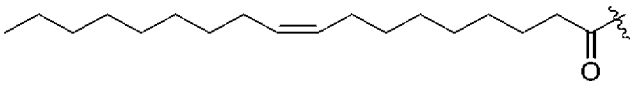
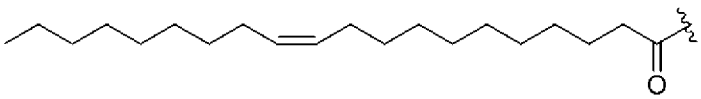
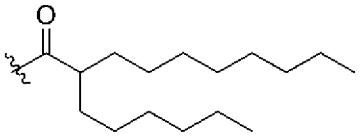
【0147】 在一些實施例中，L_{12}與L_{22}相同。在其他實施例中，L_{12}與L_{22}不同。

【0148】 在一些實施例中，X及Y中之至少一者係選自由表4中鑑別之部分組成之群，其中各~~~~指示與L_{12}或L_{22}之連接點。在一些實施例中，X及Y中之每一者獨立地選自由表4中鑑別之部分組成之群，其中各~~~~指示與L_{12}或L_{22}之連接點。

【0149】 在一些實施例中，X及Y中之至少一者係選自由表7中鑑別

之部分組成之群。在一些實施例中，X及Y中之每一者獨立地選自由表7中鑑別之部分組成之群。

【0150】 表7：式(**II**)之脂質PK/PD調節劑的示例X及Y部分

名稱	結構
脂質3	
脂質4	
脂質5	
脂質6	
脂質7	
脂質10	
脂質12	
脂質19	

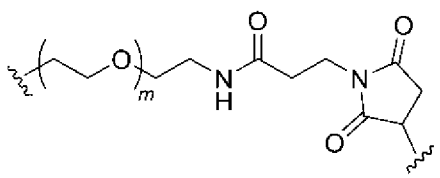
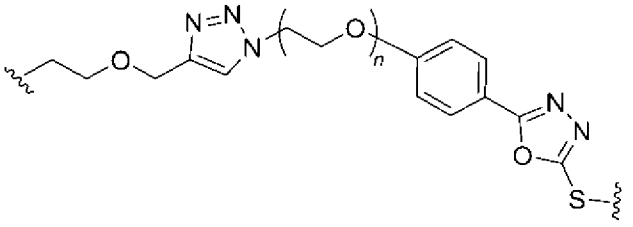
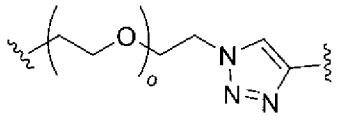
其中 指示與L_{21}或L_{22}之連接點。

【0151】 在一些實施例中，L_{A2}包含至少一個PEG單元。在一些實施例中，L_{A2}不含任何PEG單元。在一些實施例中，L_{A2}包含-C(O)-、-C(O)NH-、視情況經取代之烷氧基或視情況經取代之伸烷基雜環基。在一些實施例中，L_{A2}為一鍵。

【0152】 在一些實施例中，L_{A2}係選自由表8中鑑別之部分組成之

群。

【0153】 表8：本發明之示例L_{A2}部分

名稱	結構
繫栓子1-2	
繫栓子2-2	
繫栓子3-2	

其中*m*、*n*及*o*中之每一者獨立地為1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30，且各指示與RNAi劑或-C(O)-之連接點。

【0154】 在一些實施例中，*m*為1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、21、22、23或25。在一些實施例中，*m*為2、4、8或24。在一些實施例中，各*n*為2、3、4或5。在一些實施例中，*n*為4。在一些實施例中，*o*為2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或13。在一些實施例中，*o*為4、8或12。

【0155】 在一些實施例中，R^1、R^2及R^3中之每一者獨立地為氫或C_{1-3}烷基。在一些實施例中，R^1、R^2及R^3中之每一者為氫。

【0156】 在一些實施例中，式(**II**)之脂質PK/PD調節劑係選自由以下組成之群：如表15中所闡述之LP 38a、LP 39a、LP 43a、LP 44a、LP 45a、LP 47a、LP 53a、LP 54a、LP 55a、LP 57a、LP 58a、LP 59a、

LP 62a、LP 101a、LP 104a及LP 111a或此等脂質PK/PD調節劑中之任一者的醫藥學上可接受之鹽，其中各L_{AA}為一鍵或將RNAi劑連接至脂質PK/PD調節劑之其餘部分的二價部分，且各$\sim$指示與RNAi劑之連接點。

[0157] 在一典實施例中，式(III)之脂質PK/PD調節劑係選自由以下組成之群：如表17中所闡述之LP 38b、LP 39b、LP 41b、LP 42b、LP 43b、LP 44b、LP 45b、LP 47b、LP 53b、LP 54b、LP 55b、LP 57b、LP 58b、LP 59b、LP 60b、LP 62b、LP 101b、LP 104b、LP 106b、LP 107b、LP 108b、LP 109b及LP 111b或此等脂質PK/PD調節劑中之任一者的醫藥學上可接受之鹽，其中各$\sim$指示與RNAi劑之連接點。

[0158] 本發明之另一態樣提供式(III)之脂質PK/PD調節劑：



(III)

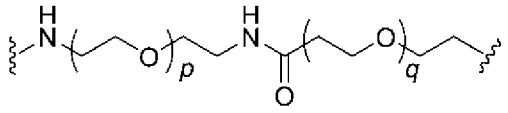
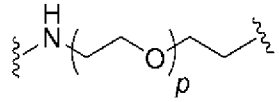
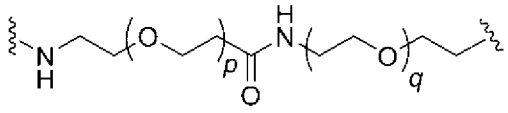
或其醫藥學上可接受之鹽，其中X及Y如式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ib1)、(Ic)、(Id)或(II)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義；L_{13}為如式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ib1)、(Ic)或(Id)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義的L_1或L_{13}為如式(II)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義的L_{12}；L_{23}為如式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ib1)、(Ic)或(Id)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義的L_2，或L_{23}為如式(II)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義的L_{22}；W_1為$C(O)NR_1$或$OCH_2CH_2NR_1C(O)$，其中R_1為氫或C_{1-6}烷基；W_2為$C(O)NR_2$或$OCH_2CH_2NR_2C(O)$，其中R_2為氫或C_{1-6}烷基；L_{A3}為如式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ib1)或(Ic)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義的L_A，或L_{A3}為如式(II)之脂質PK/PD調節劑之任一

個實施例所定義的L_{A2}；且~指示與RNAi劑之連接點。

【0159】 在一些實施例中，L_{A3}為一鍵或將RNAi劑連接至苯環之二價部分；W_1為-C(O)NR_1-或-$OCH_2CH_2NR_1C(O)$-，其中R_1為氫或C_{1-6}烷基；W_2為-C(O)NR_2-或-$OCH_2CH_2NR_2C(O)$-，其中R_2為氫或C_{1-6}烷基；L_{13}及L_{23}各自獨立地為包含至少約5個PEG單元之連接子；X及Y各自獨立地為包含約10至約50個碳原子之脂質；且~指示與RNAi劑之連接點

【0160】 在一些實施例中，L_{13}及L_{23}中之每一者獨立地選自由表9中鑑別之部分組成之群。

【0161】 表9：本發明之示例L_{13}及L_{23}部分

名稱	結構
連接子1-3	
連接子2-3	
連接子3-3	

其中，*p*及*q*各自獨立地為1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30；且各~指示與X、Y、W_1或W_2之連接點；其限制條件為：

(i)在連接子1-3及連接子3-3中，$p + q \geq 5$；且

(ii)在連接子2-3中，$p \geq 5$。

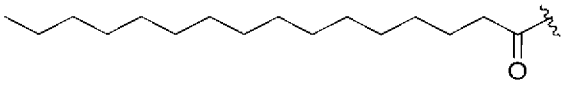
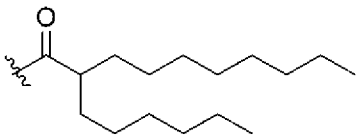
【0162】 在一些實施例中，各*p*獨立地為20、21、22、23、24或25。在一些實施例中，各*p*獨立地為23或24。在一些實施例中，各*p*為

23。在一些實施例中，各p為24。在一些實施例中，各q獨立地為20、21、22、23、24或25。在一些實施例中，各q為24。

【0163】 在一些實施例中，X及Y中之至少一者係選自由表4中鑑別之部分組成之群，其中各~指示與L_{13}或L_{23}之連接點。在一些實施例中，X及Y中之每一者獨立地選自由表4中鑑別之部分組成之群，其中各~指示與L_{13}或L_{23}之連接點。

【0164】 在一些實施例中，X及Y中之至少一者係選自由表10中鑑別之部分組成之群。在一些實施例中，X及Y中之每一者獨立地選自由表10中鑑別之部分組成之群。

【0165】 表10：式(**III**)之脂質PK/PD調節劑之示例X及Y部分

名稱	結構
脂質3	
脂質19	

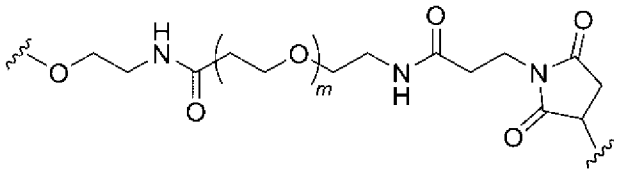
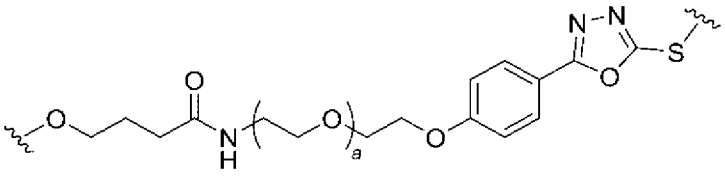
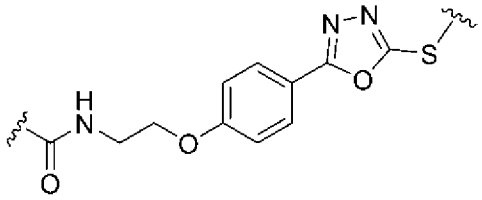
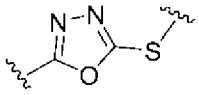
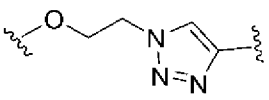
其中~指示與L_{13}或L_{23}之連接點。

【0166】 在一些實施例中，L_{A3}包含至少一個PEG單元。在一些實施例中，L_{A3}不含任何PEG單元。在一些實施例中，L_{A3}包含-C(O)-、-C(O)NH-、視情況經取代之烷氧基或視情況經取代之伸烷基雜環基。在一些實施例中，L_{A3}為一鍵。

【0167】 在一些實施例中，L_{A3}係選自由表11中鑑別之部分組成之群。

【0168】 表11：本發明之示例L_{A3}部分

名稱	結構

名稱	結構
繫栓子1-3	
繫栓子2-3	
繫栓子3-3	
繫栓子4-3	
繫栓子5-3	

其中，*m*及*a*中之每一者獨立地為1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30，且各≋指示與RNAi劑或式(**III**)之苯環之連接點。

【0169】 在一些實施例中，*m*為1、2、3、4、5、20、21、22、23或25。在一些實施例中，*m*為1、2、3、4或5。在一些實施例中，*m*為2或4。在一些實施例中，*a*為2、3、4或5。在一些實施例中，*a*為3。

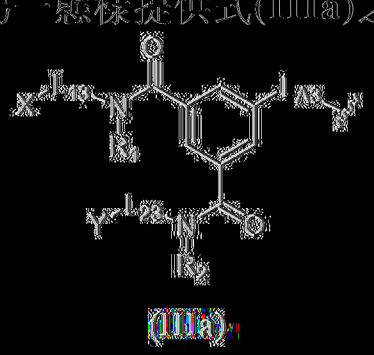
【0170】 在一些實施例中，R^1及R^2中之每一者獨立地為氫或C_{1-3}烷基(例如甲基、乙基或正丙基)。在一些實施例中，R^1與R^2均為氫。

【0171】 在一些實施例中，式(**III**)之脂質PK/PD調節劑係選自由以下組成之群：如表15中所闡述之LP 110a、LP 124a、LP 130a及LP 220a或此等脂質PK/PD調節劑中之任一者的醫藥學上可接受之鹽，其中各L_{AA}

為一鍵或將RNAi劑連接至脂質PK/PD調節劑之其餘部分的二價部分；且各~指示與RNAi劑之連接點。

[0172] 在一些實施例中，式(III)之脂質PK/PD調節劑係選自由以下組成之群：如表17中所闡述之LP 110b、LP 124b、LP 130b、LP 143b、LP 220b、LP 221b及LP 240b或此等脂質PK/PD調節劑中之任一者的醫藥學上可接受之鹽，其中各~指示與RNAi劑之連接點。

[0173] 本發明之另一態樣提供式(IIIa)之脂質PK/PD調節劑：



(IIIa)

或其醫藥學上可接受之鹽，其中X及Y如式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ib1)、(Ic)、(Id)、(II)或(III)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義；L_{13}為如式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ib1)、(Ic)或(Id)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義的L_1，L_{13}為如式(II)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義的L_{12}，或L_{13}如式(III)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例中所定義；L_{23}為如式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ib1)、(Ic)或(Id)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義的L_2，L_{23}為如式(II)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義的L_{22}，或L_{13}如式(III)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例中所定義；L_{A3}為如式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ib1)或(Ic)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義的L_A，L_{A3}為如式(II)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義的L_{A2}，或L_{A3}如式(III)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義；R_1及R_2中之每一者如式(II)或(III)之脂質PK/PD調節劑之任一個實

施例中所定義；且~指示與RNAi劑之連接點。

【0174】 在一些實施例中，L_{A3}為一鍵或將RNAi劑連接至苯環之二價部分；R_1及R_2各自獨立地為氫或C_{1-6}烷基(例如甲基、乙基、正丙基、正丁基或正戊基)；L_{13}及L_{23}各自獨立地為包含至少約5個PEG單元之連接子；X及Y各自獨立地為包含約10至約50個碳原子之脂質；且~指示與RNAi劑之連接點。

【0175】 在一些實施例中，L_{13}及L_{23}中之每一者係選自由如表9中所闡述之連接子1-3及連接子2-3組成之群，其中各~指示與式(**IIIa**)中之X、Y、-NR_1-或-NR_2-之連接點，其限制條件為：

(i)在連接子1-3中，$p + q \geq 5$；且

(ii)在連接子2-3中，$p \geq 5$。

【0176】 在一些實施例中，L_{13}及L_{23}中之一者為連接子1-3且另一者為連接子2-3。在一些實施例中，L_{13}及L_{23}中之每一者為連接子1-3。在一些實施例中，L_{13}及L_{23}中之每一者為連接子2-3。

【0177】 在一些實施例中，各p獨立地為23或24。在一些實施例中，各p為23。在一些實施例中，各p為24。在一些實施例中，q為24。

【0178】 在一些實施例中，X及Y中之至少一者係選自由如表10中所闡述之脂質3及脂質19組成之群，其中各~指示與式(**IIIa**)中之L_{13}或L_{23}之連接點。在一些實施例中，X及Y中之每一者獨立地選自由脂質3及脂質19組成之群。在一些實施例中，X及Y中之一者為脂質3且另一者為脂質19。在一些實施例中，X及Y中之每一者為脂質3。在一些實施例中，X及Y中之每一者為脂質19。

【0179】 在一些實施例中，L_{A3}係選自由如表11中所闡述之繫栓子

1-3、聚栓子2-3及聚栓子5-3組成之群，其中各§指示與RNAi劑或式(III-a)之苯環之連接點。在一典實施例中，L_{A3}為聚栓子1-3。在一典實施例中，L_{A3}為聚栓子2-3。在一典實施例中，L_{A3}為聚栓子5-3。

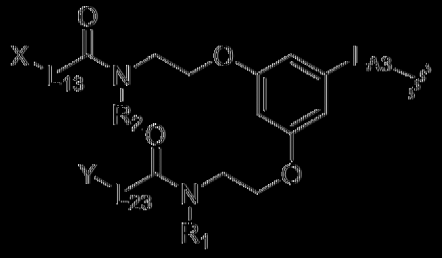
[0180] 在一典實施例中，*m*為1、2、3、4、5、20、21、22、23或25。在一典實施例中，*m*為1、2、3、4或5。在一典實施例中，*m*為2或4。在一典實施例中，*a*為2、3、4或5。在一典實施例中，*a*為3。

[0181] 在一典實施例中，R^1及R^2中之每一者獨立地為氫或C_{1-3}烷基。在一典實施例中，R^1及R^2中之每一者為氫。

[0182] 在一典實施例中，式(III-a)之脂質PK/PD調節劑係選自由以下組成之群：如表15中所闡述之LP 110a、LP 124a及LP 130a或此等脂質PK/PD調節劑中之任一者的醫藥學上可接受之鹽，其中各L_{AA}為一鍵或將RNAi劑連接至脂質PK/PD調節劑之其餘部分的二價部分；且各§指示與RNAi劑之連接點。

[0183] 在一典實施例中，式(III-a)之脂質PK/PD調節劑係選自由以下組成之群：如表17中所闡述之LP 110b、LP 124b、LP 130b、LP 143b及LP 240b或此等脂質PK/PD調節劑中之任一者的醫藥學上可接受之鹽，其中各§指示與RNAi劑之連接點。

[0184] 本發明之另一態樣提供式(III-b)之脂質PK/PD調節劑：



(III-b)

或其醫藥學上可接受之鹽，其中X及Y如式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ib1)、

(Ic)、**(Id)**、**(II)**、**(III)**或**(IIIa)**之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義；L_{13}為如式**(I)**、**(Ia)**、**(Ib)**、**(Ib1)**、**(Ic)**或**(Id)**之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義的L_1，L_{13}為如式**(II)**之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義的L_{12}，或L_{13}如式**(III)**或**(IIIa)**之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例中所定義；L_{23}為如式**(I)**、**(Ia)**、**(Ib)**、**(Ib1)**、**(Ic)**或**(Id)**之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義的L_2，L_{23}為如式**(II)**之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義的L_{22}，或L_{13}如式**(III)**或**(IIIa)**之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例中所定義；L_{A3}為如式**(I)**、**(Ia)**、**(Ib)**、**(Ib1)**或**(Ic)**之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義的L_A，L_{A3}為如式**(II)**之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義的L_{A2}，或L_{A3}如式**(III)**或**(IIIa)**之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義；R_1及R_2中之每一者如式**(II)**、**(III)**或**(IIIa)**之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例中所定義；且$\sim$指示與RNAi劑之連接點。

【0185】 在一些實施例中，L_{A3}為一鍵或將RNAi劑連接至苯環之二價部分；R_1及R_2各自獨立地選自氫或$C_{1\text{-}6}$烷基；L_{13}及L_{23}各自獨立地為包含至少約5個PEG單元之連接子；X及Y各自獨立地為包含約10至約50個碳原子之脂質；且$\sim$指示與RNAi劑之連接點。

【0186】 在一些實施例中，L_{13}及L_{23}中之每一者為如表9中所闡述之連接子3-3，其中各$\sim$指示與X、Y或-C(O)-之連接點，其限制條件為在連接子3-3中，$p + q \geq 5$。

【0187】 在一些實施例中，p為23或24。在一些實施例中，p為23。在一些實施例中，p為24。在一些實施例中，q為24。

【0188】 在一些實施例中，X及Y中之每一者為如表10中所闡述之

脂質3，其中各~指示與L_{13}或L_{23}之連接點。

[0189] 在一典實施例中，L_{A3}係選自由如表11中所闡述之繫栓子3-3及繫栓子4-3組成之群，其中各~指示與RNAi劑或式(IIIb)之苯環之連接點。在一典實施例中，L_{A3}為繫栓子3-3。在一典實施例中，L_{A3}為繫栓子4-3。

[0190] 在一典實施例中，R^1及R^2中之每一者獨立地為氫或C_{1-3}烷基。在一典實施例中，R^1及R^2中之每一者為氫。

[0191] 在一典實施例中，式(IIIb)之脂質PK/PD調節劑為如表15中所闡述之LP 220a或其醫藥學上可接受之鹽，其中L_{AA}為一鍵或將RNAi劑連接至脂質PK/PD調節劑之其餘部分的二價部分；且~指示與RNAi劑之連接點。

[0192] 在一典實施例中，式(IIIb)之脂質PK/PD調節劑係選自由以下組成之群：如表17中所闡述之LP 220b及LP 221b或此等脂質PK/PD調節劑中之任一者的醫藥學上可接受之鹽，其中各~指示與RNAi劑之連接點。

[0193] 本發明之另一態樣提供式(IV)之脂質PK/PD調節劑：



(IV)

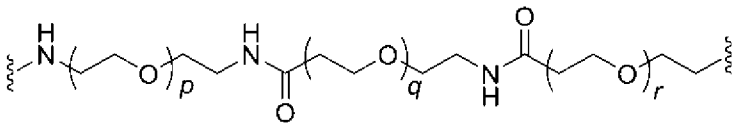
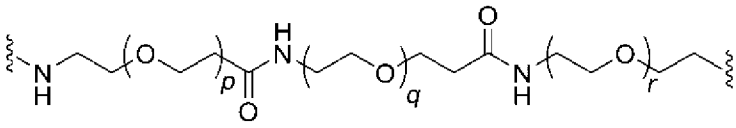
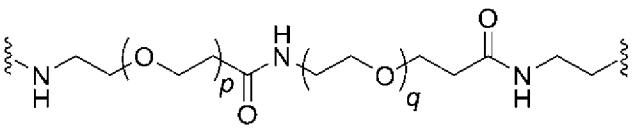
或其醫藥學上可接受之鹽，其中X及Y如式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ib1)、(Ic)、(Id)、(II)、(III)、(IIIa)或(IIIb)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義；L_{14}為如式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ib1)、(Ic)或(Id)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義的L_1，L_{14}為如式(II)之脂質PK/PD調節劑之

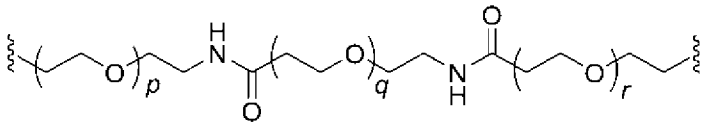
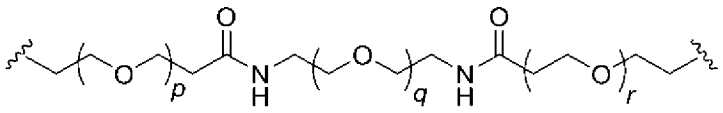
任一個實施例所定義的L_{12}，或L_{14}為如式(**III**)、(**IIIa**)或(**IIIb**)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例中所定義的L_{13}；L_{24}為如式(**I**)、(**Ia**)、(**Ib**)、(**Ib1**)、(**Ic**)或(**Id**)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義的L_2，L_{24}為如式(**II**)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義的L_{22}，或L_{24}為如式(**III**)、(**IIIa**)或(**IIIb**)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例中所定義的L_{23}；L_{A4}為如式(**I**)、(**Ia**)、(**Ib**)、(**Ib1**)或(**Ic**)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義的L_A，L_{A4}為如式(**II**)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義的L_{A2}，或L_{A4}為如式(**III**)、(**IIIa**)或(**IIIb**)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義的L_{A3}；且~~指示與RNAi劑之連接點。

【0194】 在一些實施例中，L_{A4}為一鍵或將RNAi劑連接至-C(O)-之二價部分；L_{14}及L_{24}各自獨立地為包含至少約5個PEG單元之連接子；X及Y各自獨立地為包含約10至約50個碳原子之脂質；且~~指示與RNAi劑之連接點。

【0195】 在一些實施例中，L_{14}及L_{24}中之每一者獨立地選自由表12中鑑別之部分組成之群。

【0196】 表12：本發明之示例L_{14}及L_{24}部分

名稱	結構
連接子1-4	
連接子2-4	
連接子3-4	

名稱	結構
連接子4-4	
連接子5-4	

其中各*p*獨立地為1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30；各*q*獨立地為1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30；各*r*獨立地為1、2、3、4、5、6、7、8、9或10；且各指示與X、Y或式(**IV**)之之連接點，其中各*指示與L_{14}或L_{24}之附接點；其限制條件為：

(i)在連接子1-4、連接子2-4及連接子4-4中，$p + q + r \geq 5$；且

(ii)在連接子3-4中，$p + q \geq 5$。

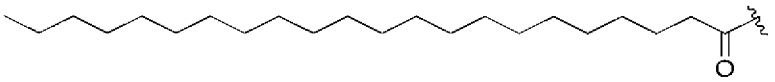
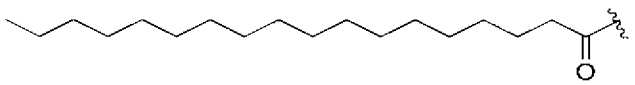
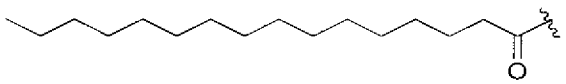
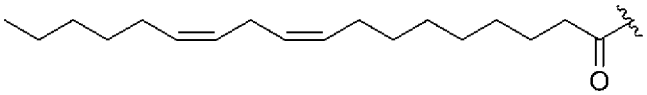
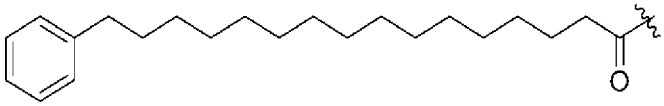
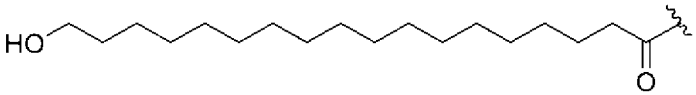
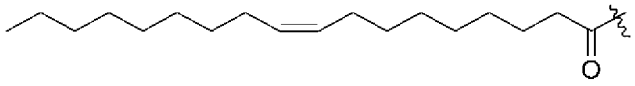
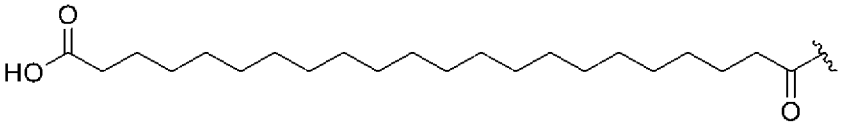
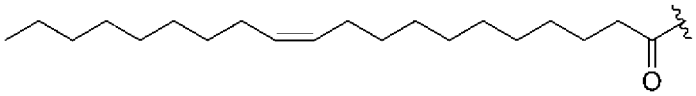
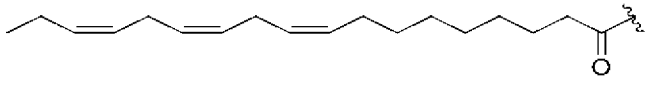
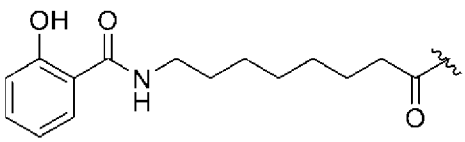
【0197】 在一些實施例中，各*p*獨立地為20、21、22、23、24或25。在一些實施例中，各*p*獨立地為23或24。在一些實施例中，各*p*為23。在一些實施例中，各*p*為24。在一些實施例中，各*q*獨立地為20、21、22、23、24或25。在一些實施例中，各*q*獨立地為23或24。在一些實施例中，各*q*為24。在一些實施例中，各*q*為23。在一些實施例中，*r*為2、3、4、5或6。在一些實施例中，各*r*為4。

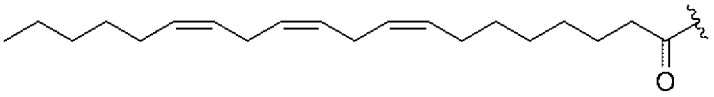
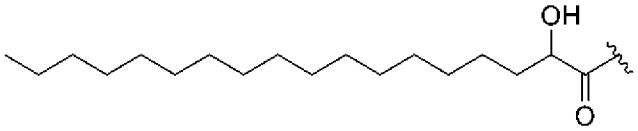
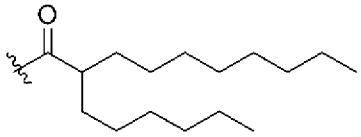
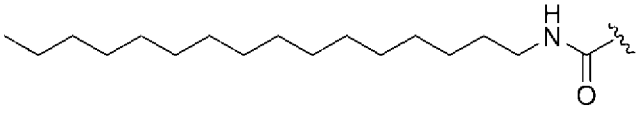
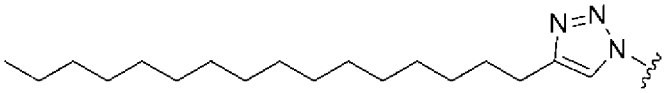
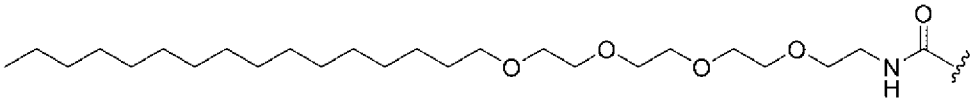
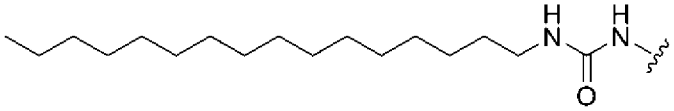
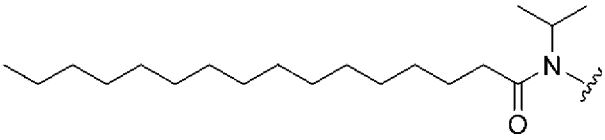
【0198】 在一些實施例中，X及Y中之至少一者係選自由表4中鑑別之部分組成之群，其中各指示與L_{14}或L_{24}之連接點。在一些實施例中，X及Y中之每一者獨立地選自由表4中鑑別之部分組成之群，其中各指示與

L_{14}或L_{24}之連接點。

【0199】 在一些實施例中，X及Y中之至少一者係選自由表13中鑑別之部分組成之群。在一些實施例中，X及Y中之每一者獨立地選自由表13中鑑別之部分組成之群。

【0200】 表13：式(**IV**)之脂質PK/PD調節劑之示例X及Y部分

名稱	結構
脂質1	
脂質2	
脂質3	
脂質5	
脂質8	
脂質9	
脂質10	
脂質11	
脂質12	
脂質15	
脂質16	

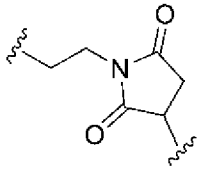
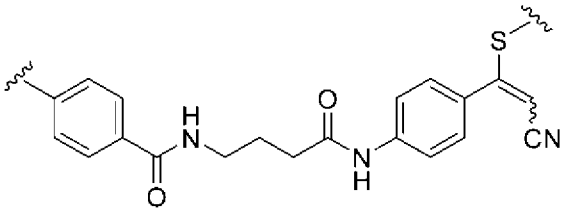
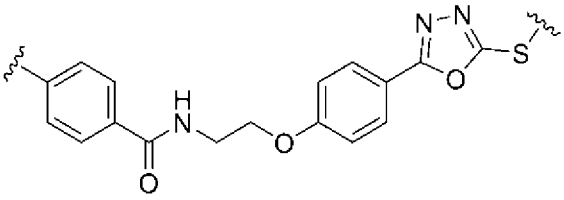
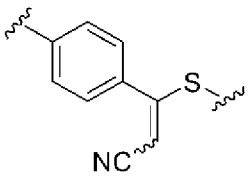
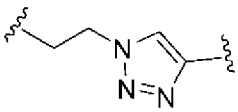
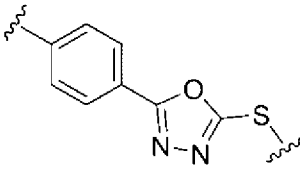
名稱	結構
脂質17	
脂質18	
脂質19	
脂質20	
脂質21	
脂質22	
脂質23	
脂質24	

其中 指示與L_{14}或L_{24}之連接點。

【0201】 在一些實施例中，L_{A4}包含至少一個PEG單元。在一些實施例中，L_{A4}不含任何PEG單元。在一些實施例中，L_{A4}包含-C(O)-、-C(O)NH-、視情況經取代之烷氧基或視情況經取代之伸烷基雜環基。在一些實施例中，L_{A4}為一鍵。

【0202】 在一些實施例中，L_{A4}係選自由表14中鑑別之部分組成之群。

【0203】 表14：本發明之示例L_{A4}部分

名稱	結構
繫栓子1-4	
繫栓子2-4	
繫栓子3-4	
繫栓子4-4	
繫栓子5-4	
繫栓子6-4	

其中各~~指示與RNAi劑或式(**IV**)之-C(O)-之連接點。

【0204】 在一些實施例中，式(**IV**)之脂質PK/PD調節劑係選自由以下組成之群：如表15中所闡述之LP 1a、LP 28a、LP 29a、LP 48a、LP 49a、LP 56a、LP 61a、LP 87a、LP 89a、LP 90a、LP 92a、LP 93a、LP 94a、LP 95a、LP 102a、LP 103a、LP 223a、LP 225a、LP 246a、LP 339a、LP 340a、LP 357a及LP 358a或此等脂質PK/PD調節劑中之任一者的醫藥學上可接受之鹽，其中各L_{AA}為一鍵或將RNAi劑連接至脂質PK/PD調節劑之其餘部分的二價部分；且各~~指示與RNAi劑之連接點。

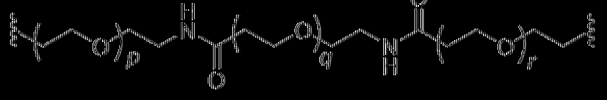
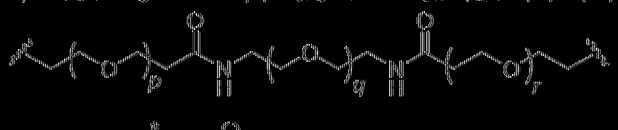
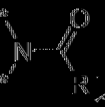
[0205] 在一典實施例中，式(IV)之肝質PK/PD調節劑係選自由以下組成之群：如表17中所闡述之LP 1b、LP 28b、LP 29b、LP 48b、LP 49b、LP 56b、LP 61b、LP 87b、LP 89b、LP 90b、LP 92b、LP 93b、LP 94b、LP 95b、LP 102b、LP 103b、LP 223b、LP 224b、LP 225b、LP 226b、LP 238b、LP 246b、LP 247b、LP 339b、LP 340b、LP 357b及LP 358b或此等肝質PK/PD調節劑中之任一者的醫藥學上可接受之鹽，其中各~指示與RNAi劑之連接點。

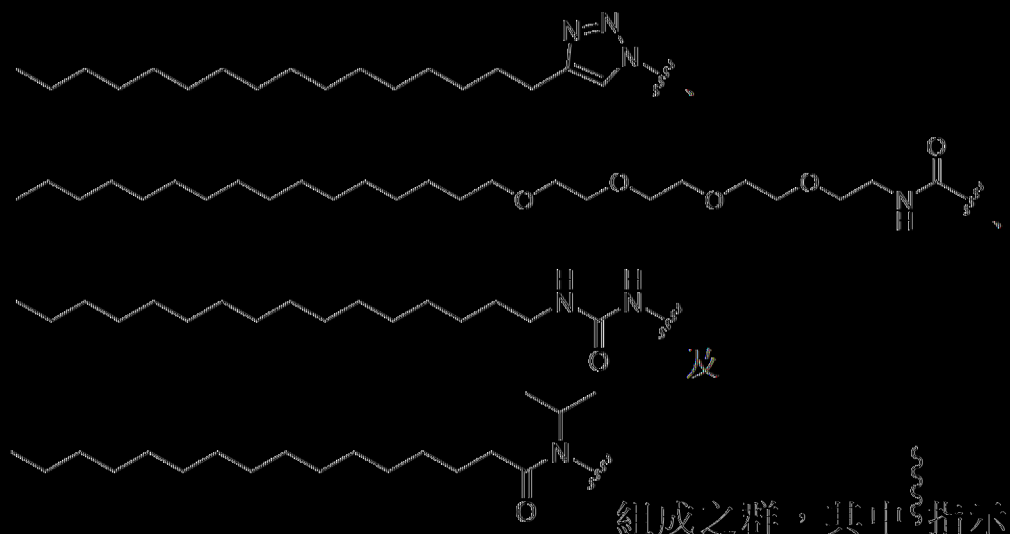
[0206] 本發明之另一態樣提供式(IVa)之化合物：



(IVa)

或其醫藥學上可接受之鹽，其中X及Y如式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ib1)、(Ic)、(II)、(III)、(IIIa)、(IIIb)或(IV)之化合物之任一個實施例所定義；L_{14}及L_{24}如式(IV)之化合物之任一個實施例中所定義；且R_7包含共於寡核苷酸之藥劑。

[0207] 在一典實施例中，R_7包含共於寡核苷酸之藥劑；L_{14}及L_{24}中之每一者獨立地選自由  及  組成之群，其中各~指示與式(IVa)之X、Y或  之連接點，各*指示與L_{14}或L_{24}之附接點，各p獨立地為20、21、22、23、24或25，各q獨立地為20、21、22、23、24或25，且各r獨立地為2、3、4、5或6；且X及Y中之每一者獨立地選自由



及

組成之群，其中§指示與L_{11}或L_{24}之連接點。

[0208] 在一典實施例中，各*p*獨立地為23或24。在一典實施例中，各*p*為23。在一典實施例中，各*p*為24。在一典實施例中，各*q*獨立地為23或24。在一典實施例中，各*q*為24。在一典實施例中，各*q*為23。在一典實施例中，各*r*為4。

[0209] 在一典實施例中，式(IVa)之化合物係選自由以下組成之群：如表16中所闡述之LP 339b、LP 340b、LP 357b及LP 358b或此等化合物中之任一者的醫藥學上可接受之鹽，其中各R_4包含其於寡核苷酸之藥劑。

[0210] 在本發明之另一態樣中，RNAi劑可結合至選自由表15中鑑別之脂質PK/PD調節劑組成之群的脂質PK/PD調節劑。

[0211] 表15：本發明之示例脂質PK/PD調節劑(化合物編號出現在結構之前)。

LP 1a



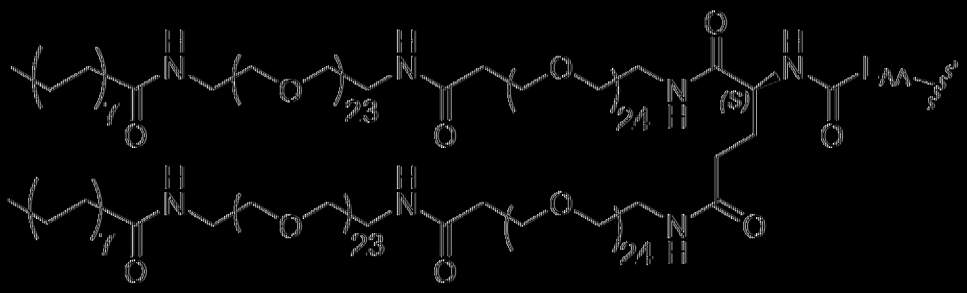
LP 28a



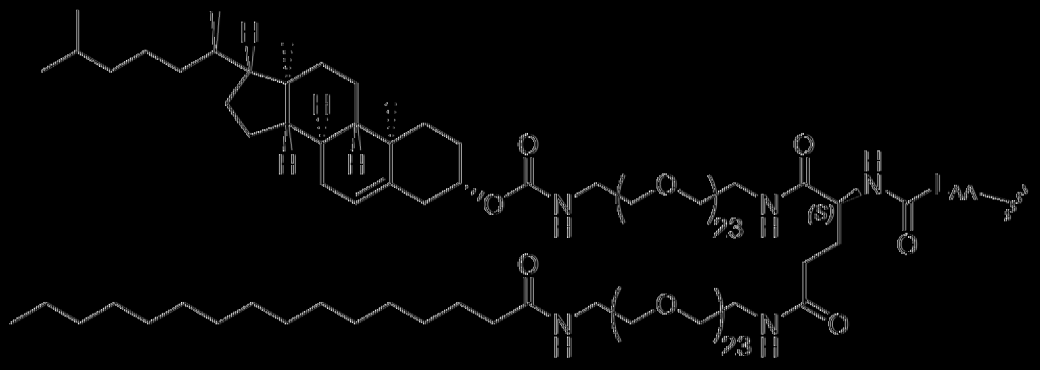
LP 29a



LP 38a



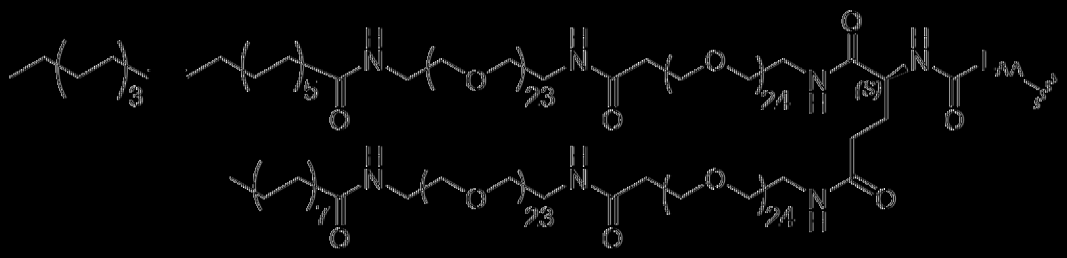
LP 39a



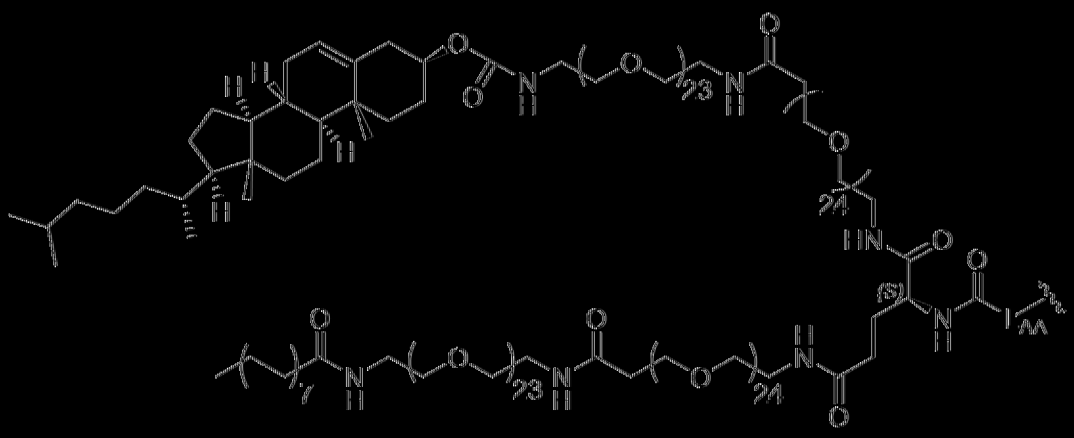
LP 43a



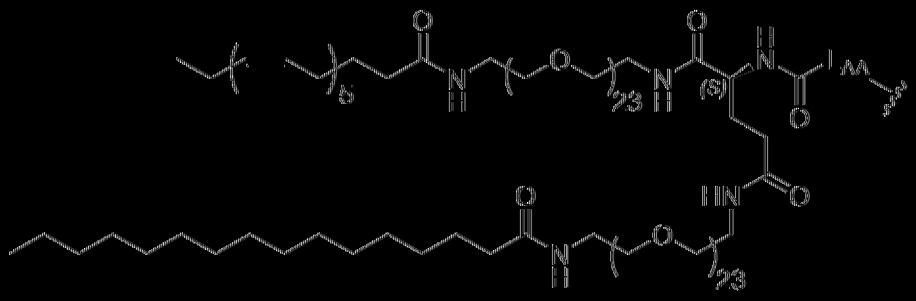
LP 44a



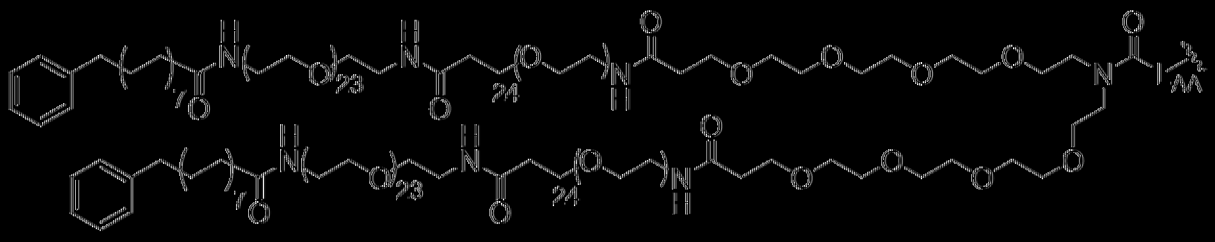
LP 45a



LP 47a



LP 48a



LP 49a



LP 53a



LP 54a



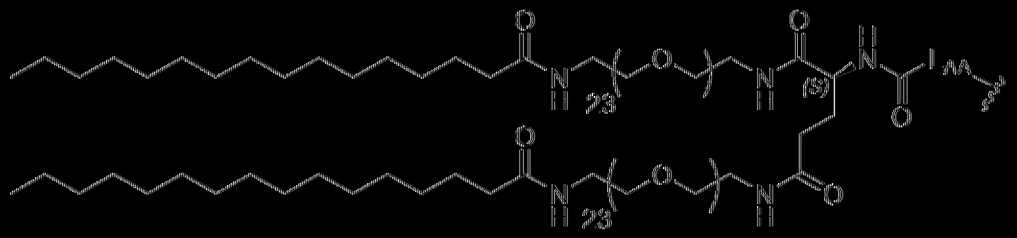
LP 55a



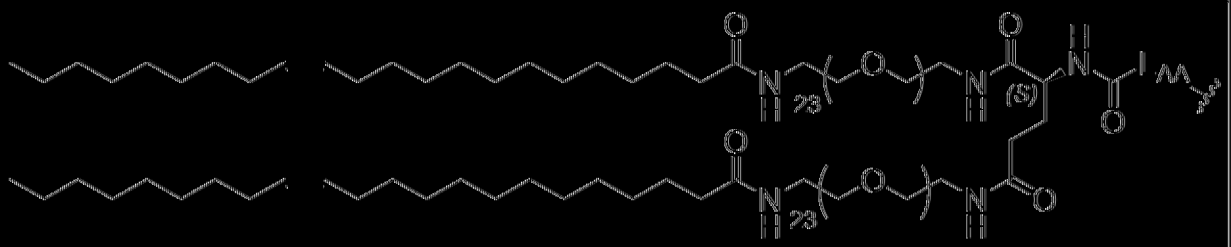
LP 56a



LP 57a



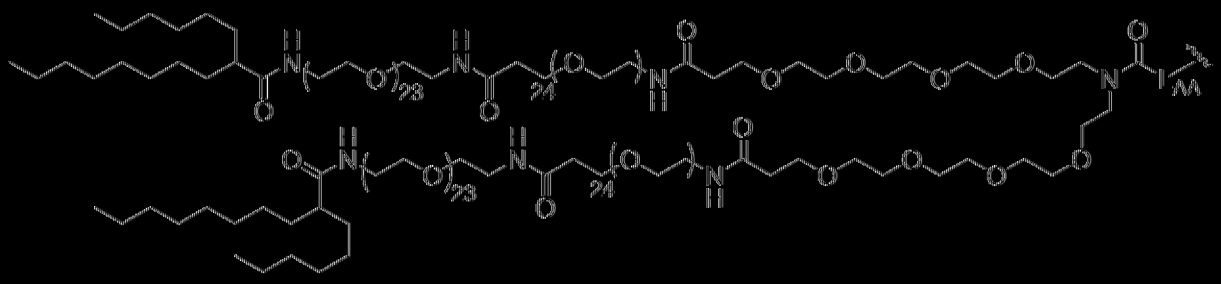
LP 58a



LP 59a



LP 61a



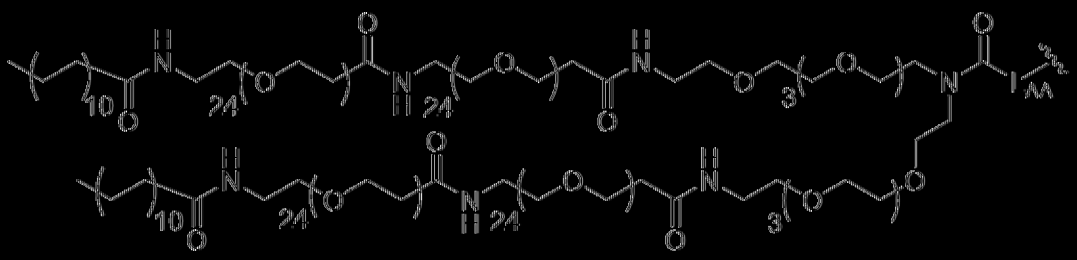
LP 62a



LP 87a



LP 89a



LP 90a



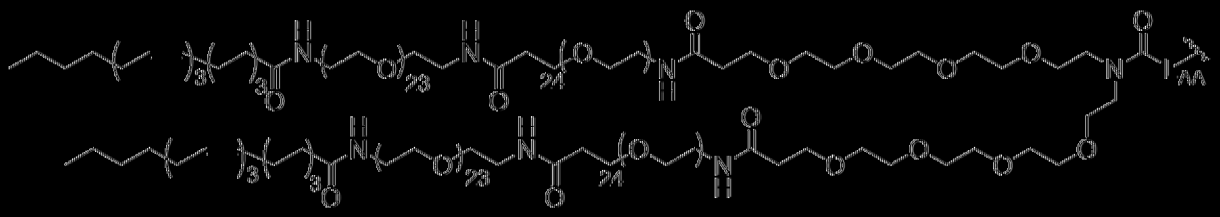
LP 92a



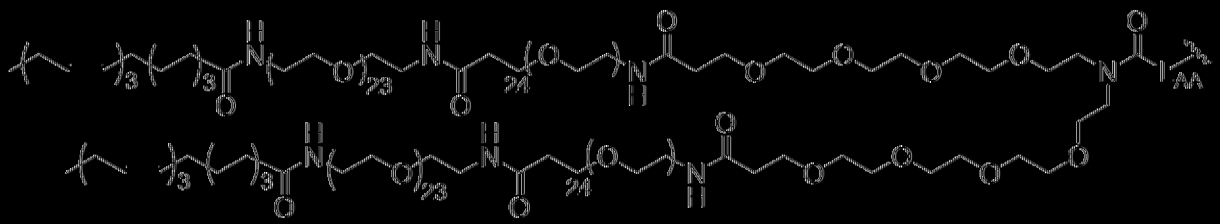
LP 93a



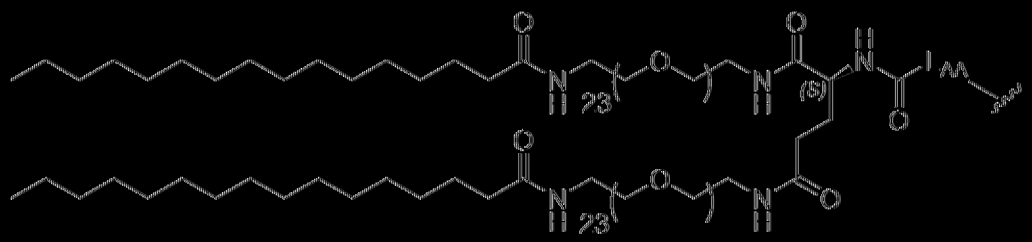
LP 94a



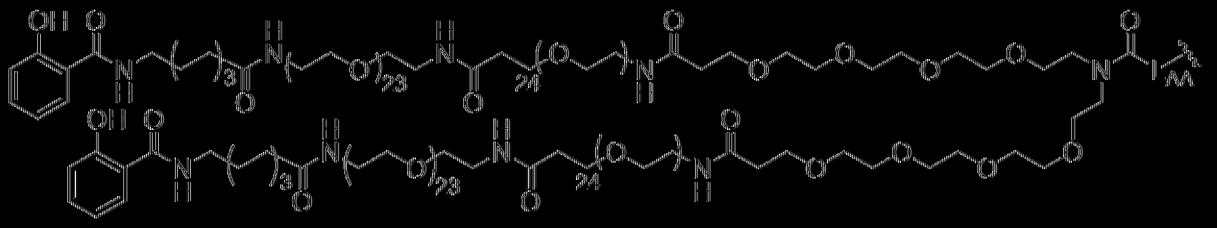
LP 95a



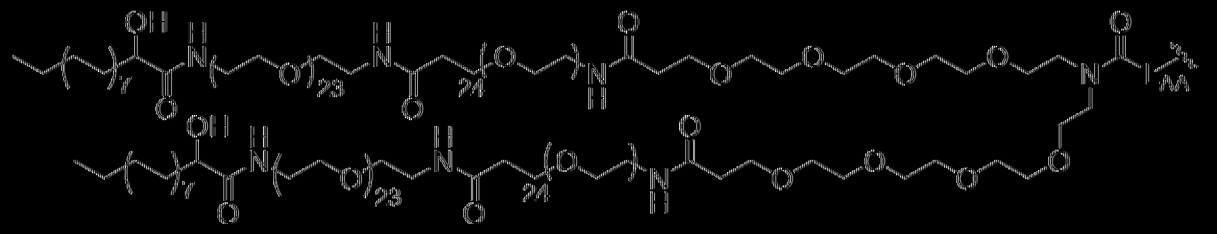
LP 101a



LP 102a



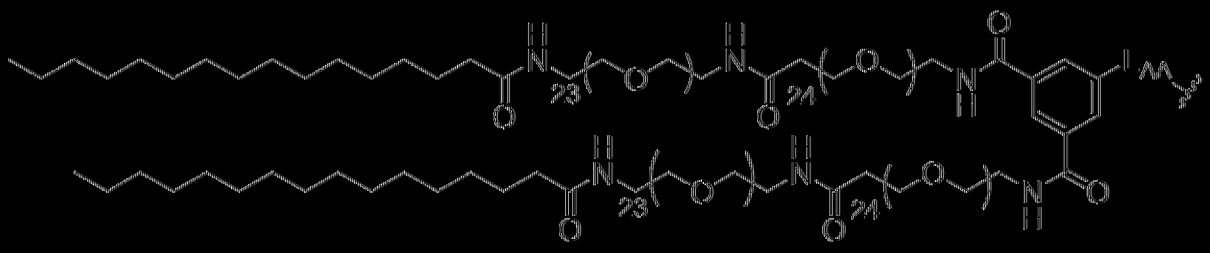
LP 103a



LP 104a



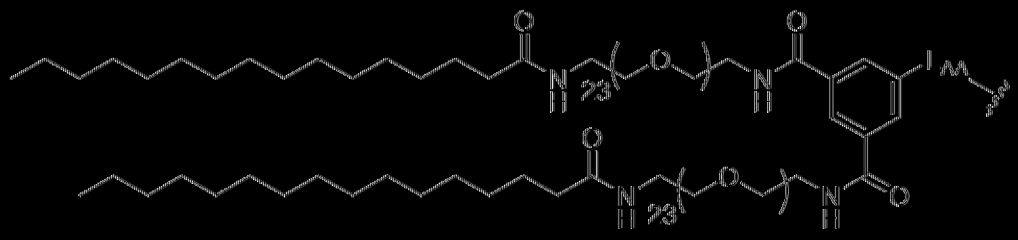
LP 110a



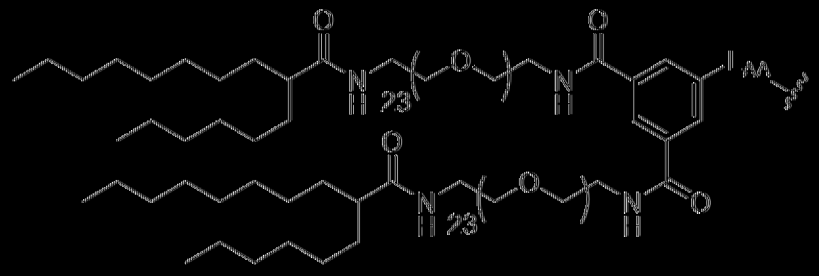
LP 111a



LP 124a



LP 130a



LP 210a



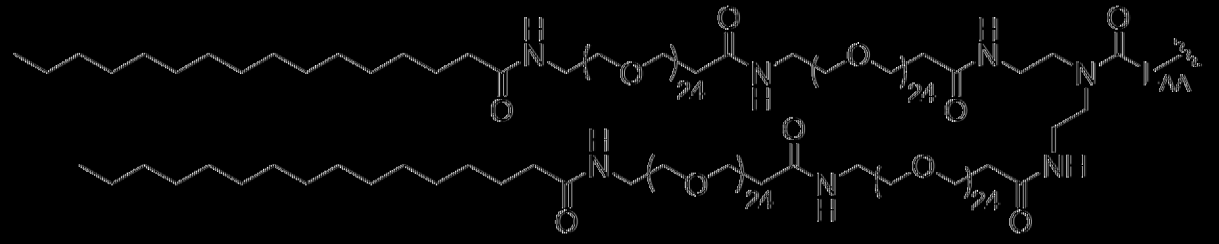
LP 217a



LP 220a



LP 223a



LP 225a



LP 246a



LP 339a



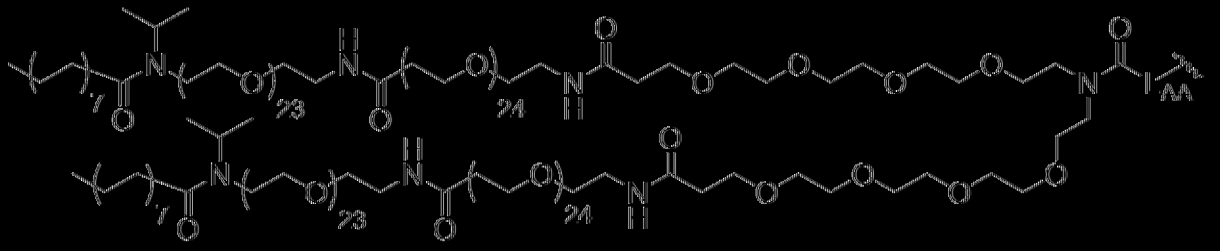
LP 340a



LP 357a



LP 358a



或此等脂質PK/PD調節劑中之任一者的醫藥學上可接受之鹽，其中各L_{AA}為如式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ib1)、(Ic)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例中所定義的L_A，L_{AA}為如式(II)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例中所定義的L_{A2}，L_{AA}為如式(III)、(IIIa)或(IIIb)之脂質PK/PD調節劑

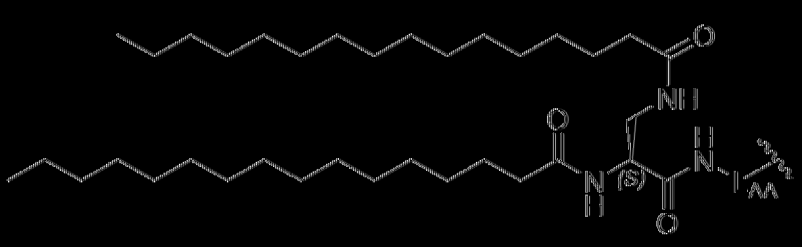
之任一個實施例中所定義的L_{A3}，或L_{AA}為如式(IV)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例中所定義的L_{A4}；且各~指示與RNAi劑之連接點。

[0212] 在一些實施例中，各L_{AA}為一鍵或將RNAi劑連接至脂質PK/PD調節劑之其餘部分的二價部分；且各~指示與RNAi劑之連接點。

[0213] 在本發明之另一態樣中，RNAi劑可結合至選自由表16中鑑別之脂質PK/PD調節劑組成之群的脂質PK/PD調節劑。

[0214] 表16：本發明之示例脂質PK/PD調節劑(化合物編號出現在結構之前)。

LP 5a



LP 33a



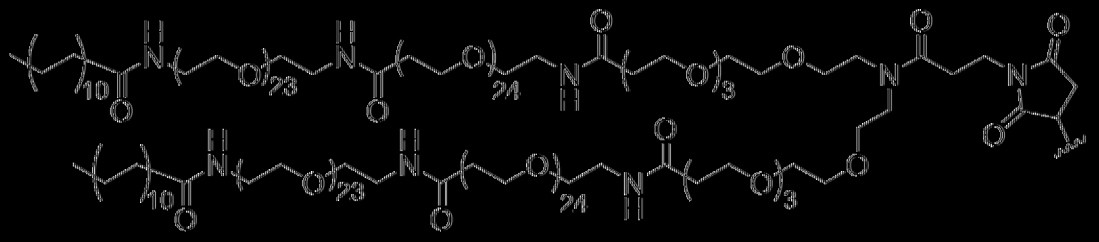
或此等脂質PK/PD調節劑中之任一者的醫藥學上可接受之鹽，其中各L_{AA}為如式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ib1)、(Ic)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例中所定義的L_A，L_{AA}為如式(II)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例中所定義的L_{A2}，L_{AA}為如式(III)、(IIIa)或(IIIb)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例中所定義的L_{A3}，或L_{AA}為如式(IV)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例中所定義的L_{A4}；且各~指示與RNAi劑之連接點。

[0215] 在一典實施例中，各L_{AA}為一鍵或將RNAi劑連接至脂質PK/PD調節劑之其餘部分的二價部分；且各$\sim$指示與RNAi劑之連接點。

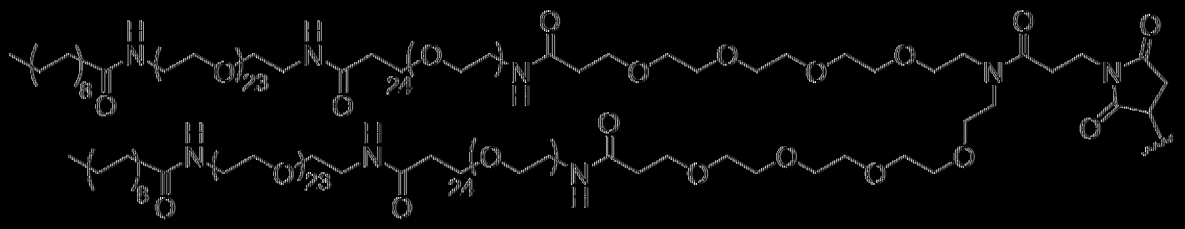
[0216] 在一典實施例中，RNAi劑可結合至選自由表17中鑑別之脂質PK/PD調節劑組成之群的脂質PK/PD調節劑。

[0217] 表17：本發明之示例脂質PK/PD調節劑(化合物編號出現在結構之前)。

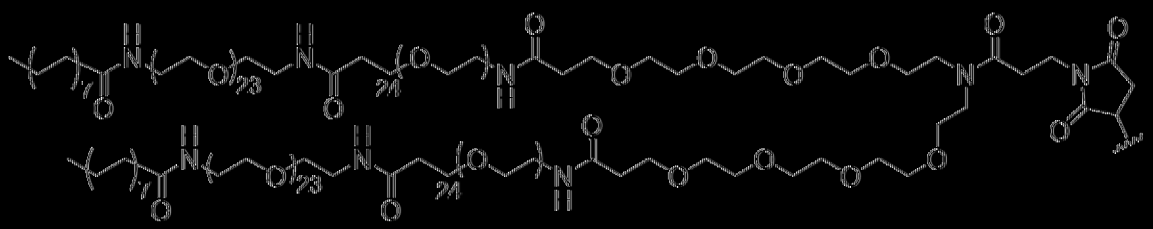
LP 1b



LP 28b



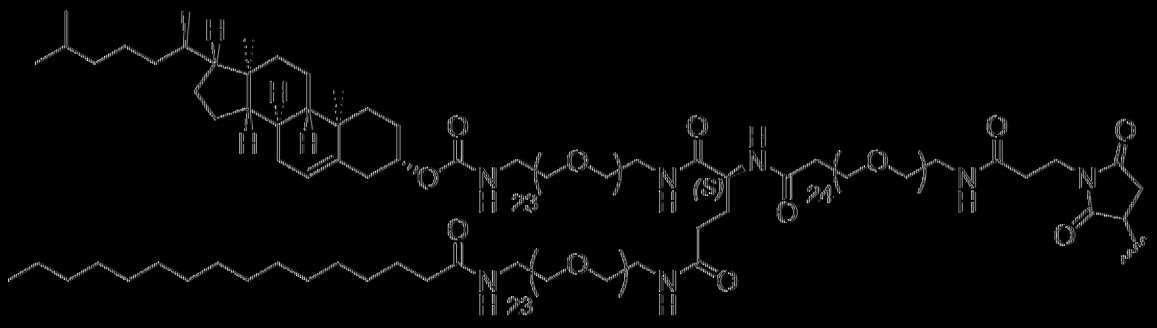
LP 29b



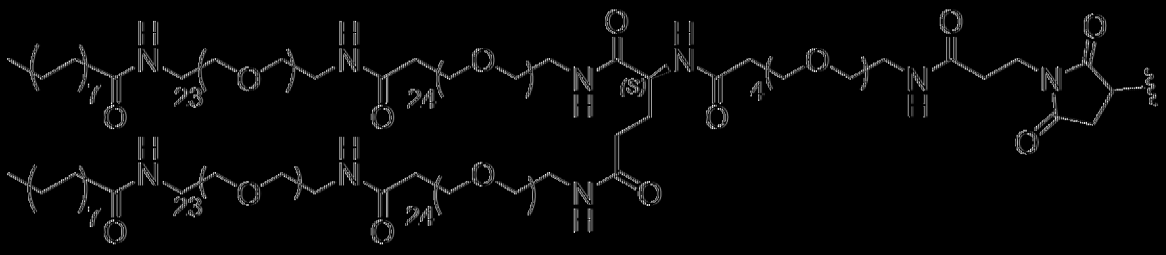
LP 38b



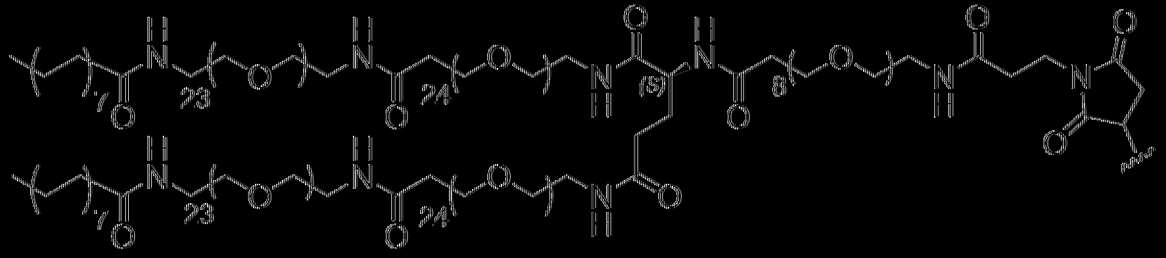
LP 39b



LP 41b



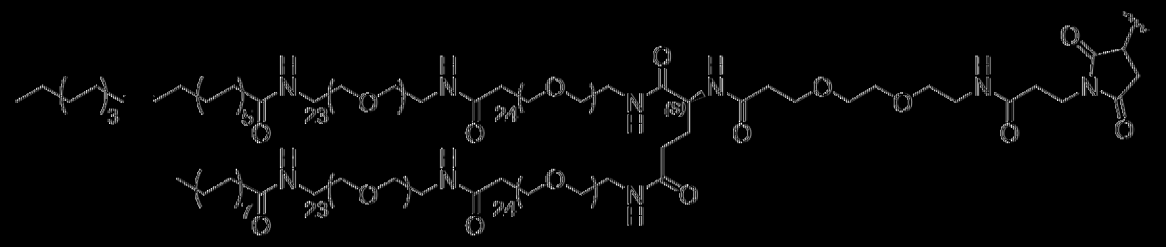
LP 42b



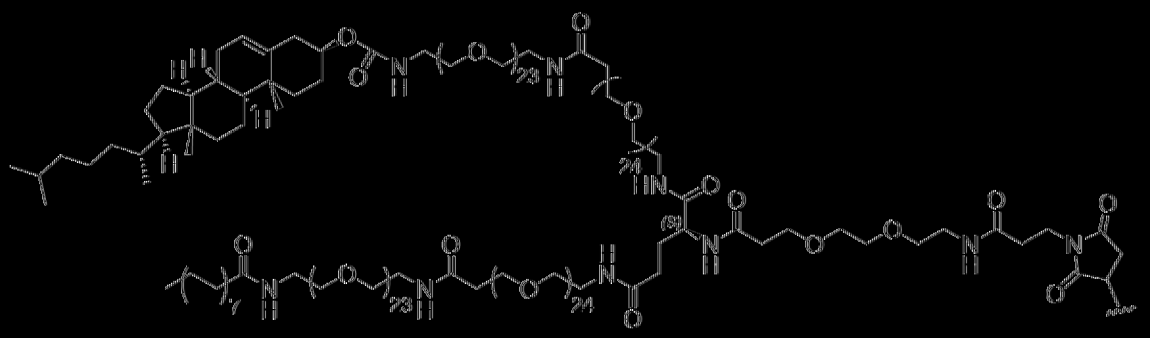
LP 43b



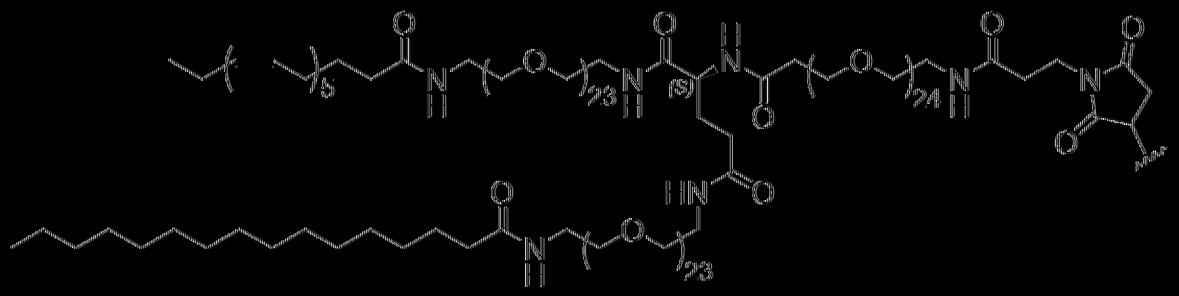
LP 44b



LP 45b



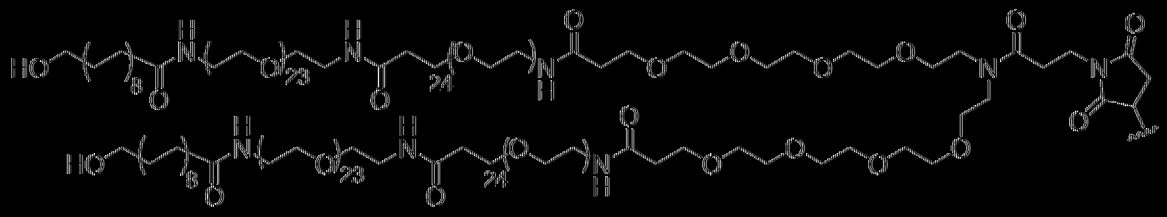
LP 47b



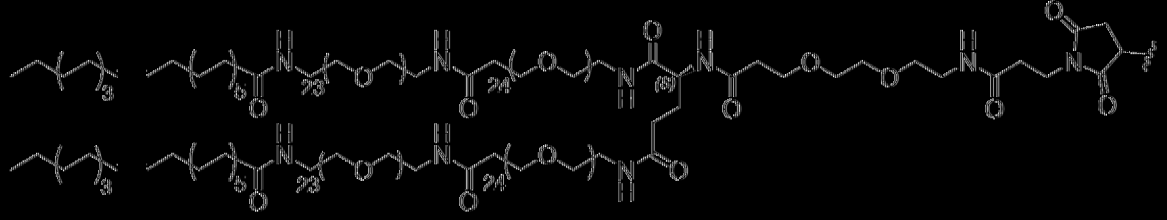
LP 48b



LP 49b



LP 53b



LP 54b



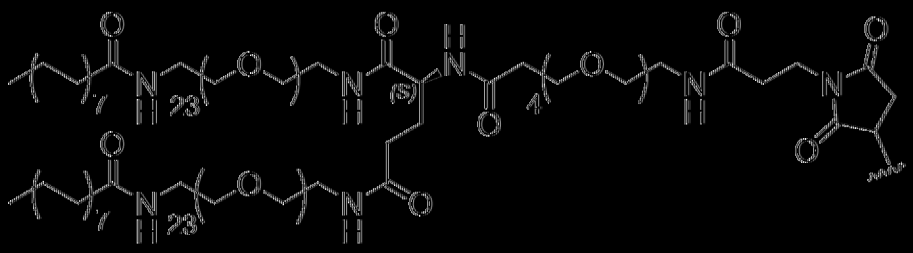
LP 55b



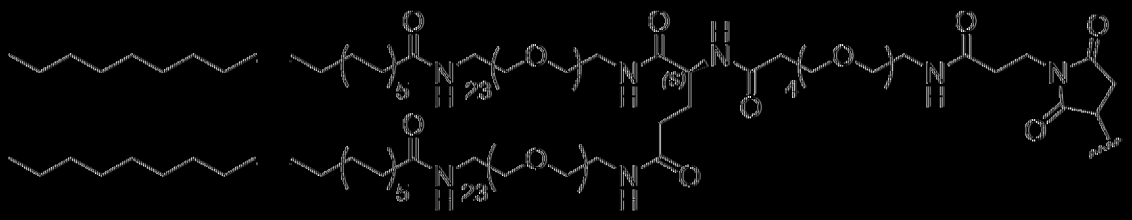
LP 56b



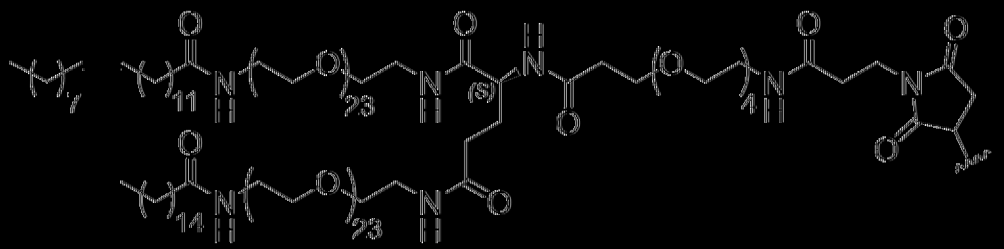
LP 57b



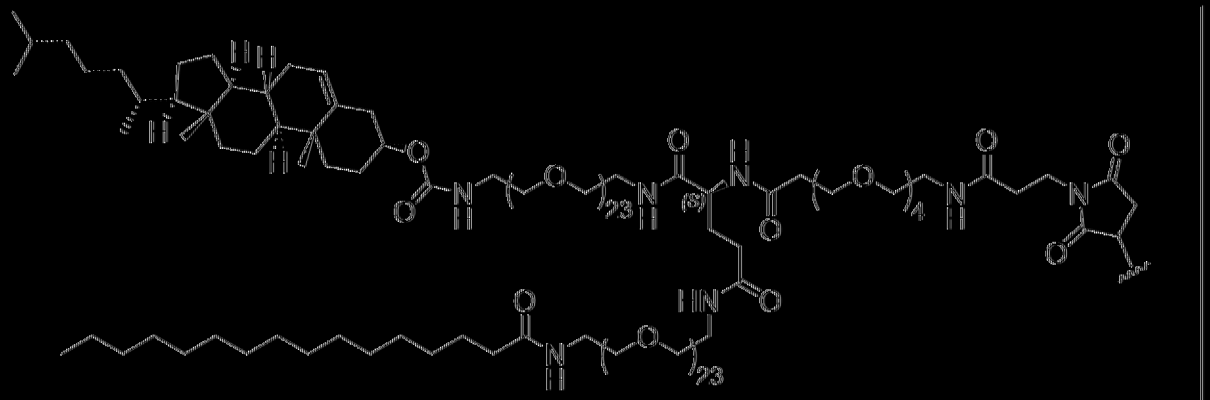
LP 58b



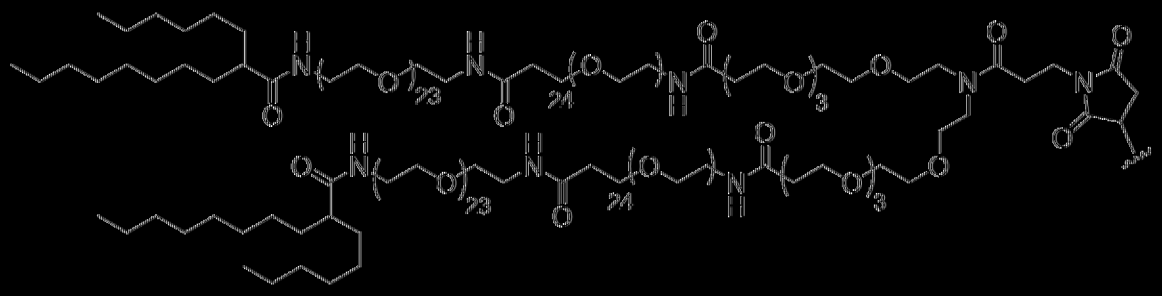
LP 59b



LP 60b



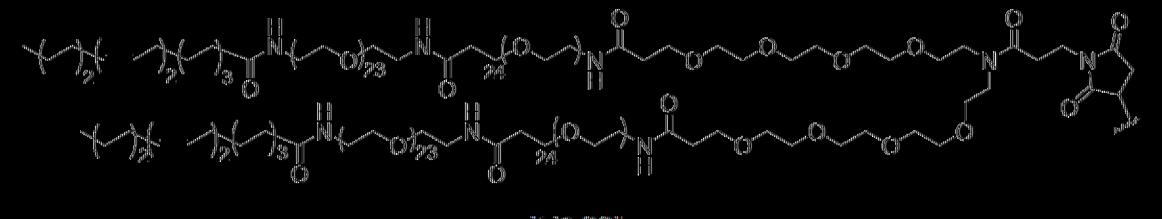
LP 61b



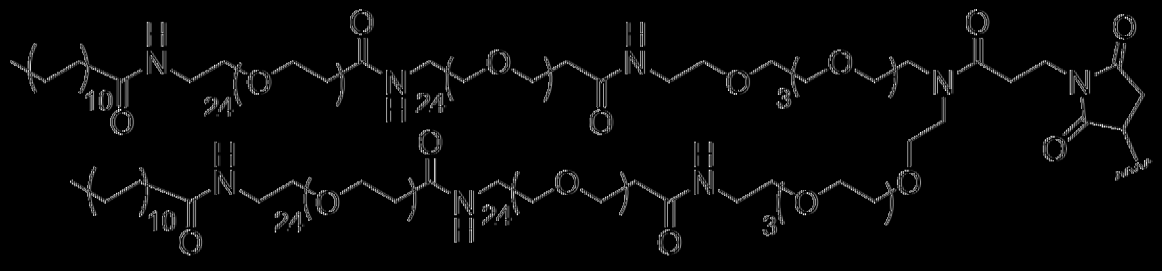
LP 62b



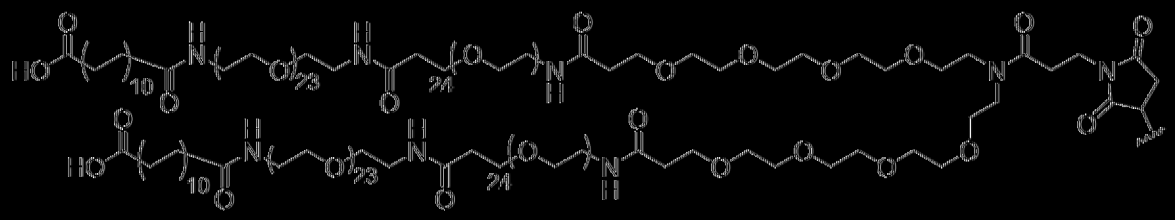
LP 87b



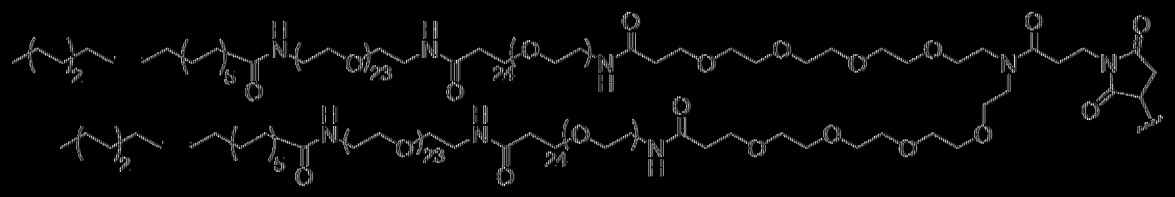
LP 89b



LP 90b



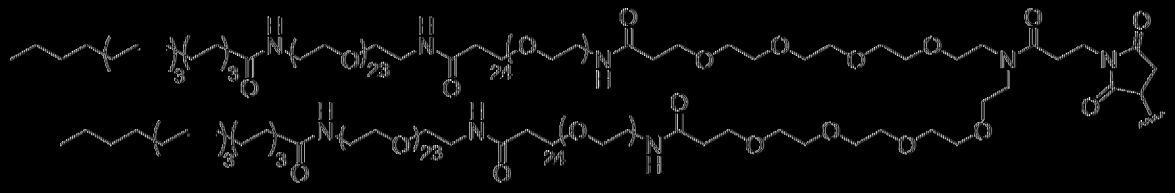
LP 92b



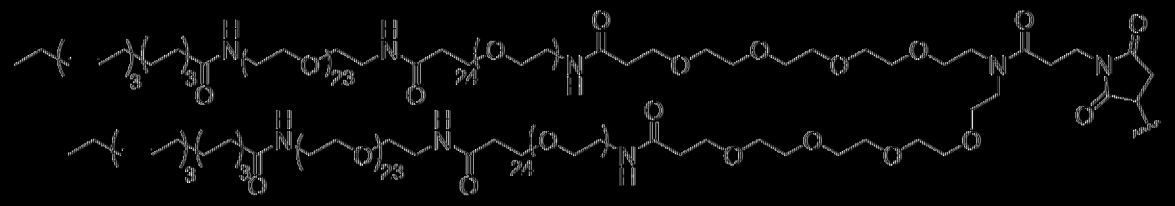
LP 93b



LP 94b



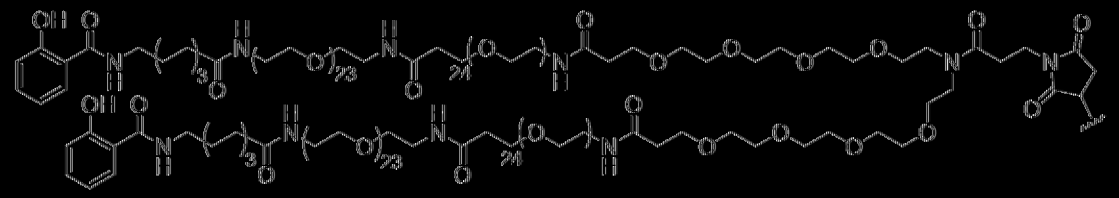
LP 95b



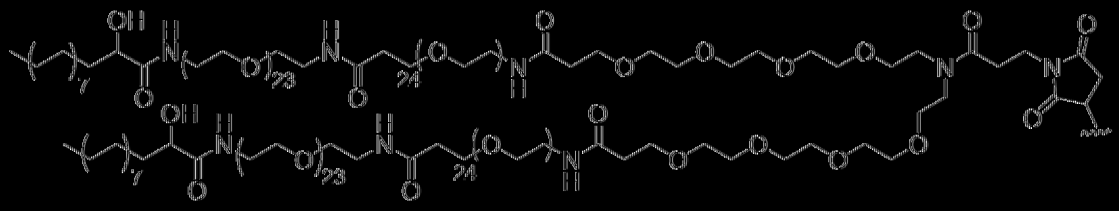
LP 101b



LP 102b



LP 103b



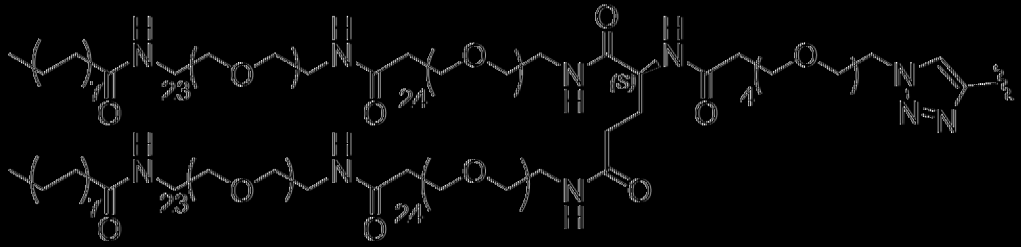
LP 104b



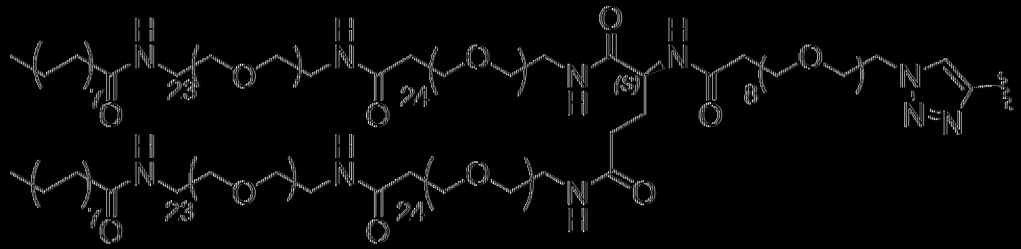
LP 106b



LP 107b



LP 108b



LP 109b



LP 110b



LP 111b



LP 124b



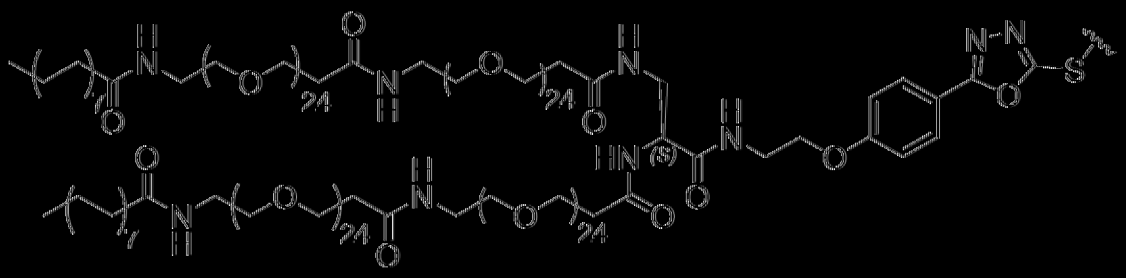
LP 130b



LP 143b



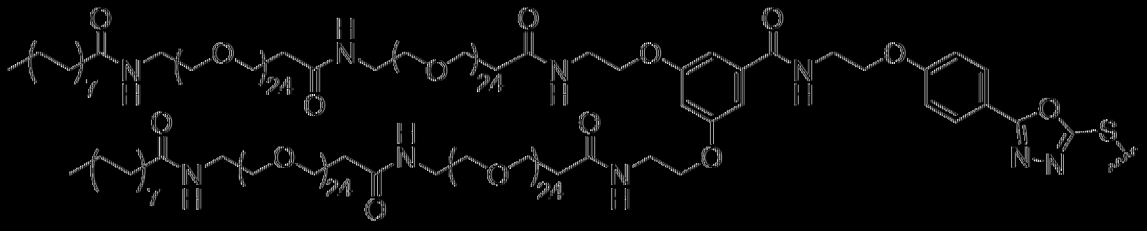
LP 210b



LP 217b



LP 220b



LP 221b



LP 223b



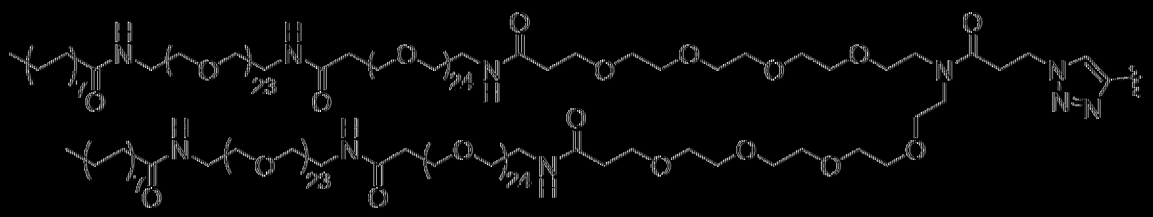
LP 224b



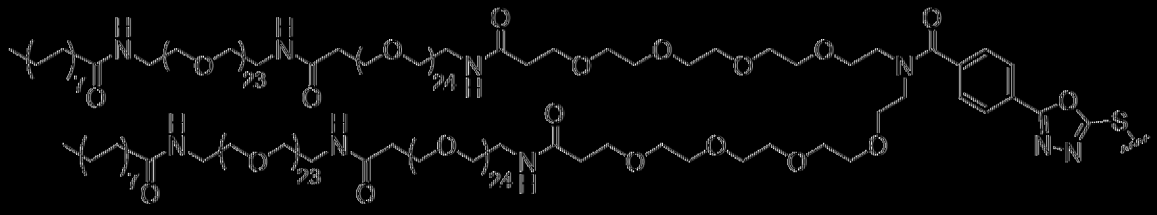
LP 225b



LP 226b



LP 238b



LP 240b



LP 246b



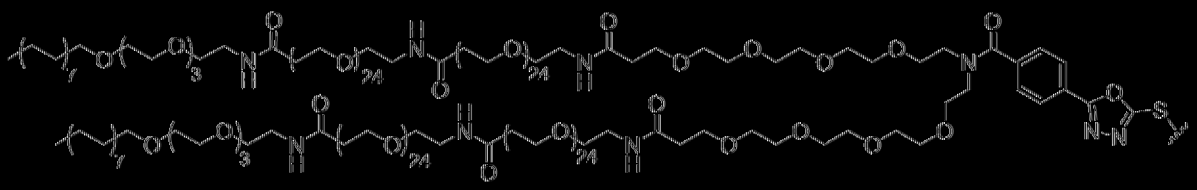
LP 247b



LP 339b



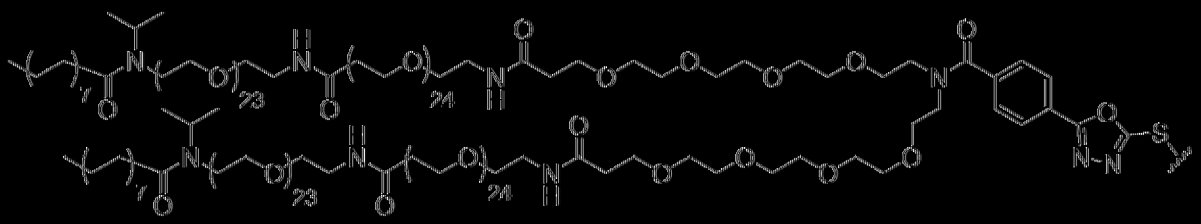
LP 340b



LP 357b



LP 358b



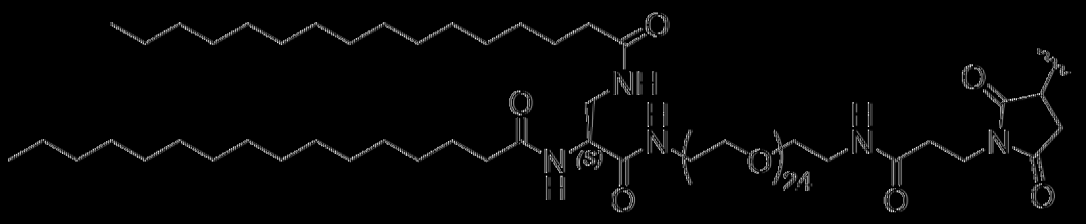
或此等脂質PK/PD調節劑中之任一者的醫藥學上可接受之鹽，其中

$^{5'}$指示與RNAi劑之連接點。

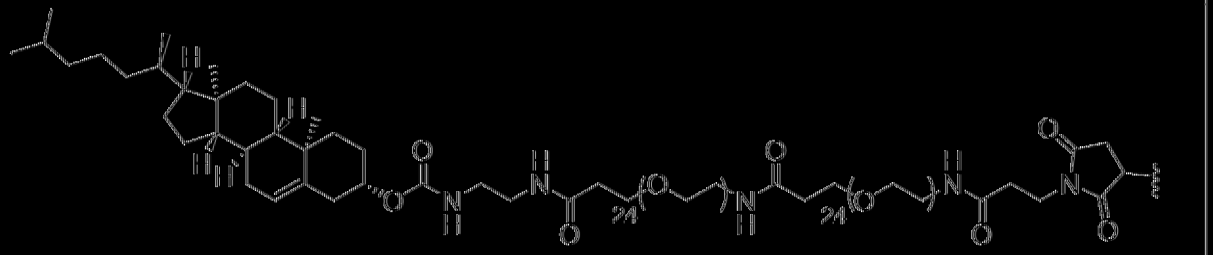
[0218] 在本發明之另一態樣中，RNAi劑可結合至選自由表1中鑑別之脂質PK/PD調節劑組成之群的脂質PK/PD調節劑。

[0219] 表18：本發明之示例脂質PK/PD調節劑(化合物編號出現在結構之前)。

LP 5b

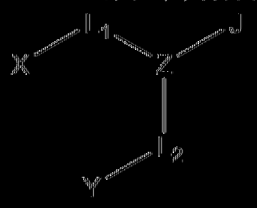


LP 33b



或此等脂質PK/PD調節劑中之任一者的醫藥學上可接受之鹽，其中斜體指示與RNAi劑之連接點。

[0220] 在一典實施例中，適合於連接於RNAi劑之脂質PK/PD調節劑前驅體可為式(V)之脂質PK/PD調節劑前驅體：



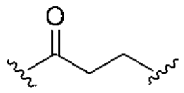
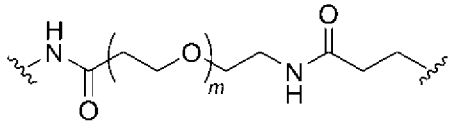
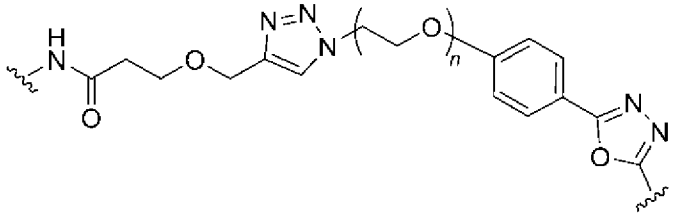
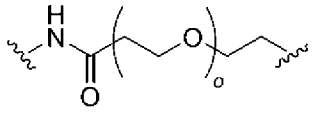
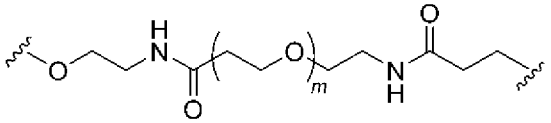
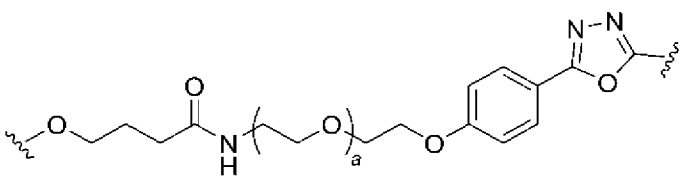
(V)

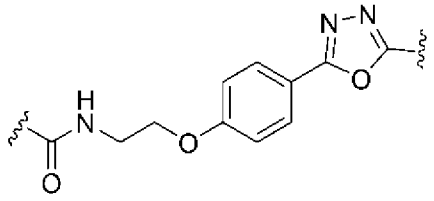
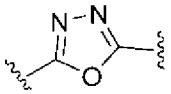
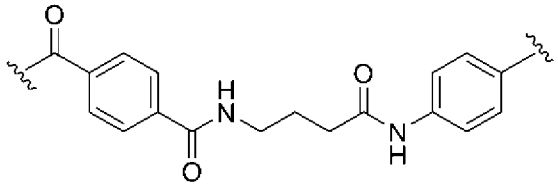
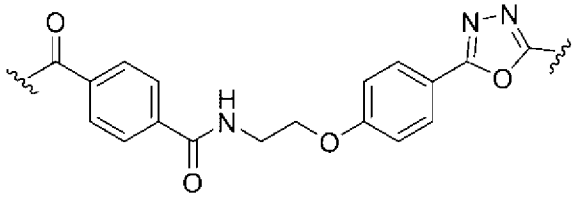
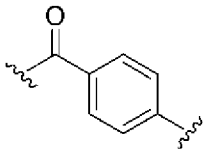
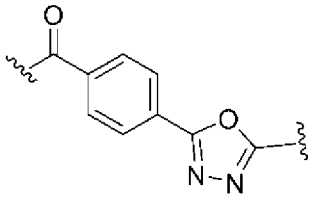
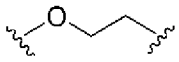
或其醫藥學上可接受之鹽，其中Z、L_1、L_2、X及Y如式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ib1)或(Ic)之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例所定義；J為L_{A5}-R_x；L_{A5}為一鍵或將R_x連接至Z之二價部分；且R_x為用於與RNAi劑結合之反應性部分。

【0221】 在一些實施例中，J為L_{A5}-R_X；L_{A5}為一鍵或將R_X連接至Z之二價部分；R_X為用於與RNAi劑結合之反應性部分；Z為CH、苯基或N；L_1及L_2各自獨立地為包含至少約5個PEG單元之連接子；且X及Y各自獨立地為包含約10至約50個碳原子之脂質。

【0222】 在一些實施例中，L_{A5}為如式**(I)**、**(Ia)**、**(Ib)**、**(Ib1)**或**(Ic)**之脂質PK/PD調節劑之任一個實施例中所定義的L_A。在一些實施例中，L_{A5}係選自由表19中鑑別之部分組成之群。

【0223】 表19：本發明之示例L_{A5}部分

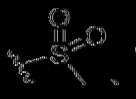
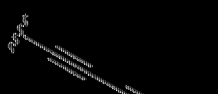
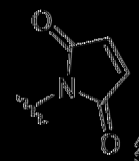
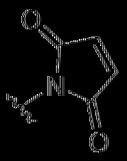
名稱	結構
繫栓子1-5	
繫栓子2-5	
繫栓子3-5	
繫栓子4-5	
繫栓子5-5	
繫栓子6-5	

繫栓子7-5	
繫栓子8-5	
繫栓子9-5	
繫栓子10-5	
繫栓子11-5	
繫栓子12-5	
繫栓子13-5	

其中*m*、*n*、*o*及*a*中之每一者獨立地為1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30且其中各指示與Z或R_X之連接點。

【0224】 在一些實施例中，各*m*獨立地為1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、21、22、23或25；各*n*獨立地為2、3、4或5；各*a*獨立地為2、3或4；且各*o*獨立地為2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或13。

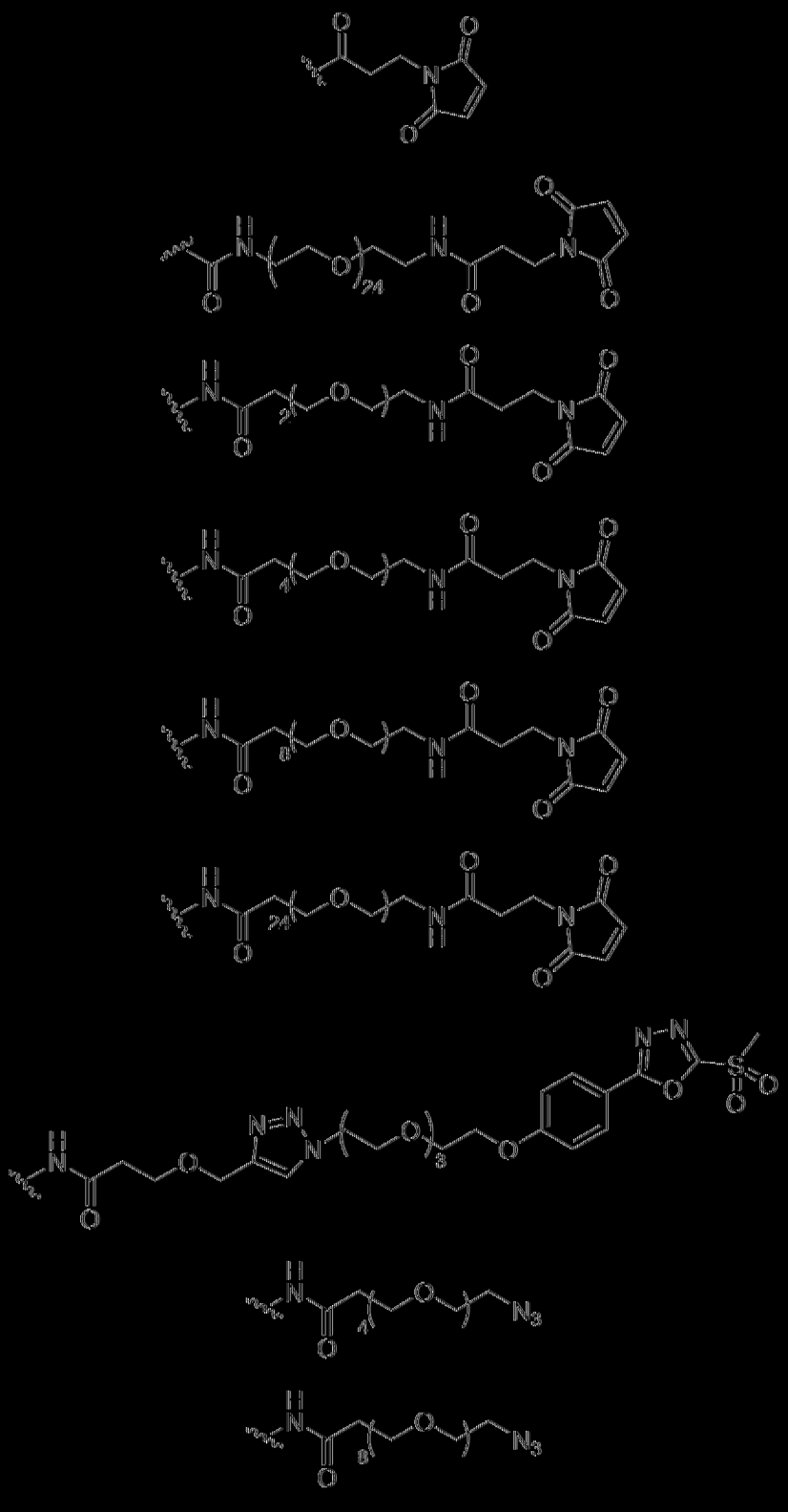
[0225] 在一些實施例中，各*m*獨立地為2、4、8或24。在一些實施例中，各*n*為4。在一些實施例中，各*o*獨立地為4、8或12。在一些實施例中，各*a*為3。

[0226] 在一些實施例中，R_x係選自由、、及組成之群，其中各指示與L_{AS}之連接點。在一些實施例中，R_x為。在一些實施例中，R_x為。在一些實施例中，R_x為。在一些實施例中，R_x為。

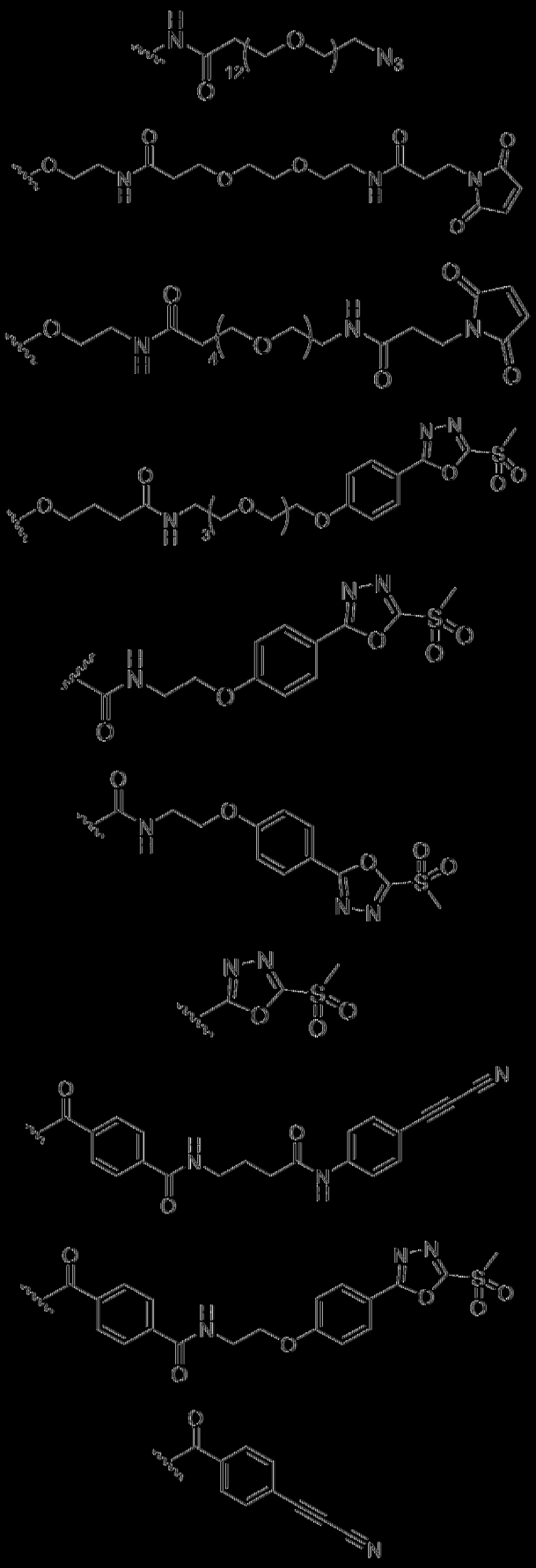
[0227] 在一些實施例中，J係選自由表20中鑑別之部分組成之群。

[0228] 表20：本發明之示例J部分

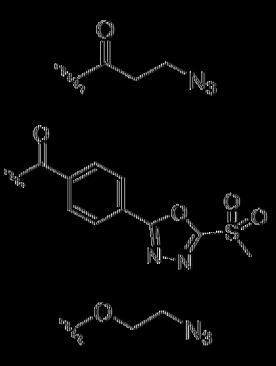
結構



續前

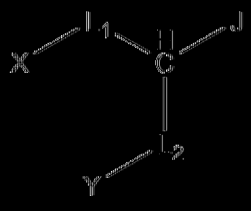


結構



其中各~指示與Z之連接點。

[0229] 本發明之另一態樣提供式(Va)之脂質PK/PD調節劑前驅體：



(Va)

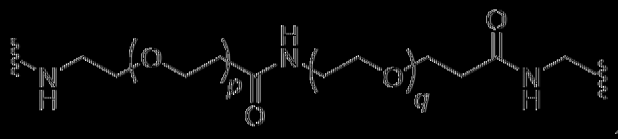
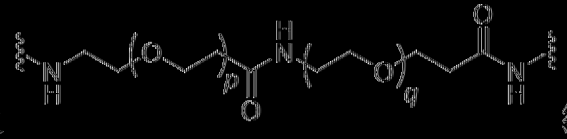
或其醫藥學上可接受之鹽，其中J、L_1、L_2、X及Y如式(V)之脂質PK/PD調節劑前驅體之任一個實施例中所定義。

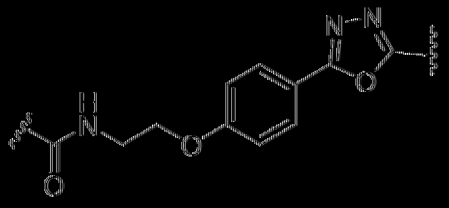
[0230] 在一典實施例中，X及Y各自獨立地選自由如表4中所闡述之脂質3、脂質4、脂質、5、脂質6、脂質7、脂質10、脂質12及脂質19組成之群，其中各~指示與L_1或L_2之連接點。

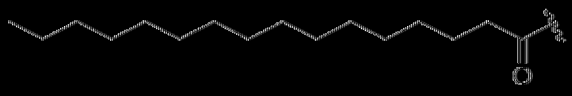
[0231] 在一典實施例中，L_1及L_2中之每一者獨立地選自由如表2中所闡述之連接子2、連接子3、連接子4及連接子5組成之群，其中各~指示與式(Va)之X、Y或CH之連接點。在一典實施例中，各*p*為23。在一典實施例中，各*q*為24。

[0232] 在一典實施例中，L_{A5}係選自由如表19中所闡述之繫栓子2-5、繫栓子3-5及繫栓子4-5組成之群，其中各~指示與R_x或式(Va)之CH

之連接點。在一典實施例中，*m*為2、4、8或24。在一典實施例中，*n*為4。在一典實施例中，*o*為4、8或12。

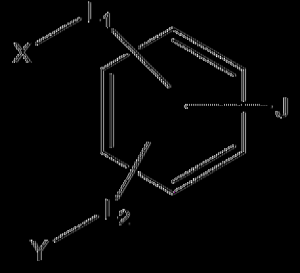
[0233] 在一典實施例中，L_1及L_2中之每一者獨立地選自由及組成之群；其中各*p*獨立地為20、21、22、23、24或25；各*q*獨立地為20、21、22、23、24或25；且各指示與式(Va)之X、Y或CII之連接點。在一典實施例中，各*p*為24。在一典實施例中，各*q*為24。

[0234] 在一典實施例中，L_{AS}為；其中各指示與R_x或式(Va)之CII之連接點。

[0235] 在一典實施例中，X及Y中之每一者為，其中指示與L_1或L_2之連接點。

[0236] 在一典實施例中，式(Va)之脂質PK/PD調節劑前驅體係選自由以下組成之群：如表21中所闡述之LP210-p或LP 217-p或此等脂質PK/PD調節劑前驅體中之任一者的醫藥學上可接受之鹽。

[0237] 本發明之另一態樣提供式(Vb)之脂質PK/PD調節劑前驅體：



(Vb)

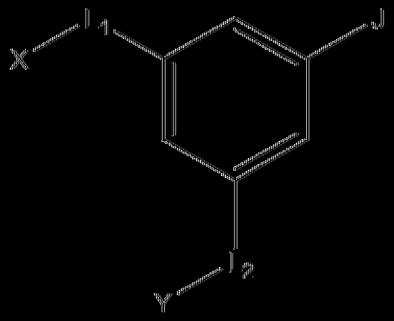
或其醫藥學上可接受之鹽，其中J、L_1、L_2、X及Y如式(V)或(Va)之脂質PK/PD調節劑前驅體之任一個實施例中所定義。

[0238] 在一典實施例中，X及Y各自獨立地選自由如表4中所闡述之脂質3及脂質19組成之群，其中各~指示與L_1或L_2之連接點。在一典實施例中，X及Y各為脂質3。在一典實施例中，X及Y各為脂質19。

[0239] 在一典實施例中，L_1及L_2中之每一者獨立地選自由如表2中所闡述之連接子3、連接子5及連接子9組成之群，其中各~指示與式(Vb)之X、Y或苯環之連接點。在一典實施例中，*p*為23或24。在一典實施例中，*q*為24。

[0240] 在一典實施例中，L_{A5}係選自由如表19中所闡述之繫栓子5-5、繫栓子6-5、繫栓子7-5、繫栓子8-5及繫栓子13-5組成之群，其中各~指示與R_x或式(Vb)之苯環之連接點。在一典實施例中，*m*為2或4。在一典實施例中，*a*為3。

[0241] 本發明之另一態樣提供式(Vb1)之脂質PK/PD調節劑前驅體：

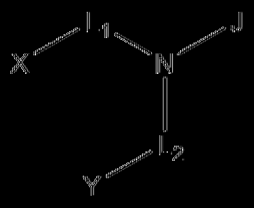


(Vb1)

或其醫藥學上可接受之鹽，其中J、L_1、L_2、X及Y如式(V)、(Va)或(Vb)之脂質PK/PD調節劑前驅體之任一個實施例中所定義。

[0242] 本發明之另一態樣提供式(Vc)之脂質PK/PD調節劑前驅

物：



(Vc)

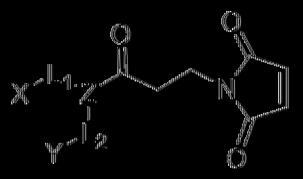
或其醫藥學上可接受之鹽，其中J、L_1、L_2、X及Y如式(V)、(Va)、(Vb)或(Vb1)之脂質PK/PD調節劑前驅體之任一個實施例中所定義。

〔0243〕在一典實施例中，X及Y各自獨立地選自由如表4中所闡述之脂質1、脂質2、脂質3、脂質5、脂質8、脂質9、脂質11、脂質12、脂質14、脂質15、脂質16、脂質17、脂質18、脂質19、脂質20、脂質21、脂質22、脂質23及脂質24組成之群，其中各~指示與L_1及L_2之連接點。在一典實施例中，X及Y中之每一者為脂質1、脂質2、脂質3、脂質5、脂質8、脂質9、脂質11、脂質12、脂質14、脂質15、脂質16、脂質17、脂質18、脂質19、脂質20、脂質21、脂質22、脂質23或脂質24。

〔0244〕在一典實施例中，L_1及L_2中之每一者獨立地選自由如表2中所闡述之連接子1、連接子6、連接子10、連接子11及連接子12組成之群，其中各~指示與式(Vc)之X、Y或N之連接點。在一典實施例中，*p*為23或24。在一典實施例中，*q*為24。在一典實施例中，*r*為4。

〔0245〕在一典實施例中，L_{A5}係選自由如表19中所闡述之繫栓子1-5、繫栓子9-5、繫栓子10-5、繫栓子11-5或繫栓子12-5組成之群，其中各~指示與RNAi劑或式(Vc)之N之連接點。

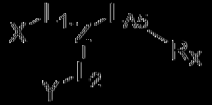
〔0246〕本發明之另一態樣提供式(Vd)之脂質PK/PD調節劑前驅物：



(Vd)

或其醫藥學上可接受之鹽，其中Z、L_1、L_2、X及Y如式(V)、(Va)、(Vb)、(Vb1)或(Vc)之脂質PK/PD調節劑前驅體之任一個實施例中所定義。

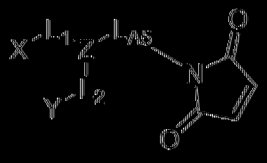
[0247] 本發明之另一態樣提供式(Ve)之脂質PK/PD調節劑前驅體：



(Ve)

或其醫藥學上可接受之鹽，其中Z、L_1、L_2、R_X、L_{A5}、X及Y如式(V)、(Va)、(Vb)、(Vb1)、(Vc)或(Vd)之脂質PK/PD調節劑前驅體之任一個實施例中所定義。

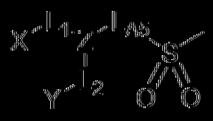
[0248] 本發明之另一態樣提供式(Vc1)之脂質PK/PD調節劑前驅體：



(Vc1)

或其醫藥學上可接受之鹽，其中Z、L_1、L_2、L_{A5}、X及Y如式(V)、(Va)、(Vb)、(Vb1)、(Vc)、(Vd)或(Ve)之脂質PK/PD調節劑前驅體之任一個實施例中所定義。

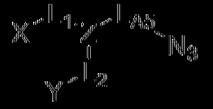
[0249] 本發明之另一態樣提供式(Vc2)之脂質PK/PD調節劑前驅體：



(Vc2)

或其醫藥學上可接受之鹽，其中Z、L_1、L_2、L_{A5}、X及Y如式(V)、(Va)、(Vb)、(Vb1)、(Vc)、(Vd)、(Ve)或(Ve1)之脂質PK/PD調節劑前驅體之任一個實施例中所定義。

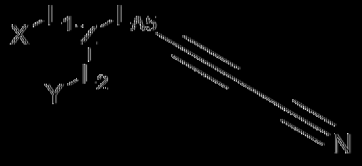
[0250] 本發明之另一態樣提供式(Vc3)之脂質PK/PD調節劑前驅體：



(Vc3)

或其醫藥學上可接受之鹽，其中Z、L_1、L_2、L_{A5}、X及Y如式(V)、(Va)、(Vb) (Vb1)、(Vc)、(Vd)、(Ve)、(Ve1)或(Ve2)之脂質PK/PD調節劑前驅體之任一個實施例中所定義。

[0251] 本發明之另一態樣提供式(Vc4)之脂質PK/PD調節劑前驅體：



(Vc4)

或其醫藥學上可接受之鹽，其中Z、L_1、L_2、L_{A5}、X及Y如式(V)、(Va)、(Vb)、(Vb1)、(Vc)、(Vd)、(Ve)、(Ve1)、(Ve2)或(Ve3)之脂質PK/PD調節劑前驅體之任一個實施例中所定義。

[0252] 在一典實施例中，脂質PK/PD調節劑前驅體可選自由表21中鑑別之脂質PK/PD調節劑前驅體組成之群。

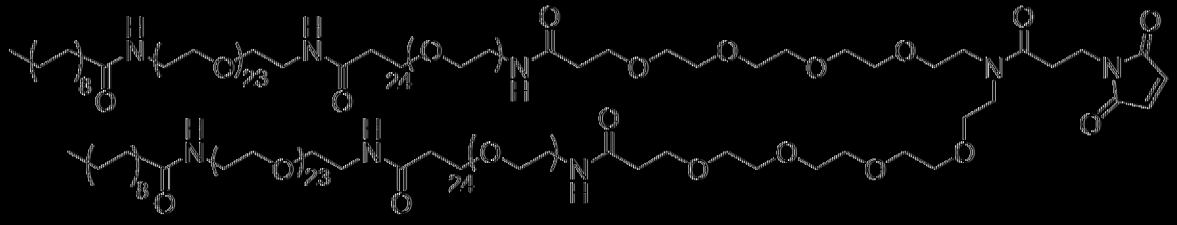
[0253] 表21：本發明之示例脂質PK/PD調節劑前驅體(化合物編

號出現在結構之前)。

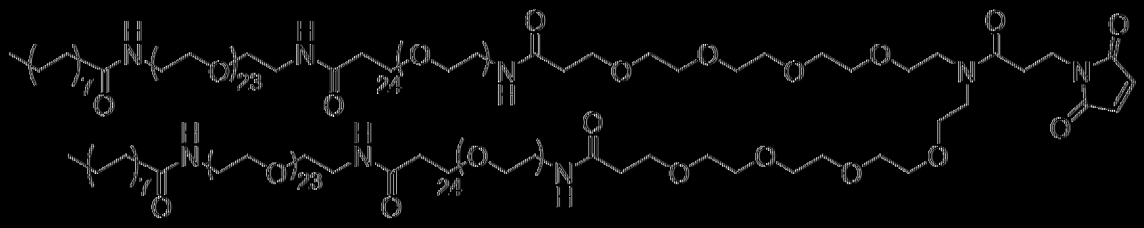
LP1-p



LP28-p



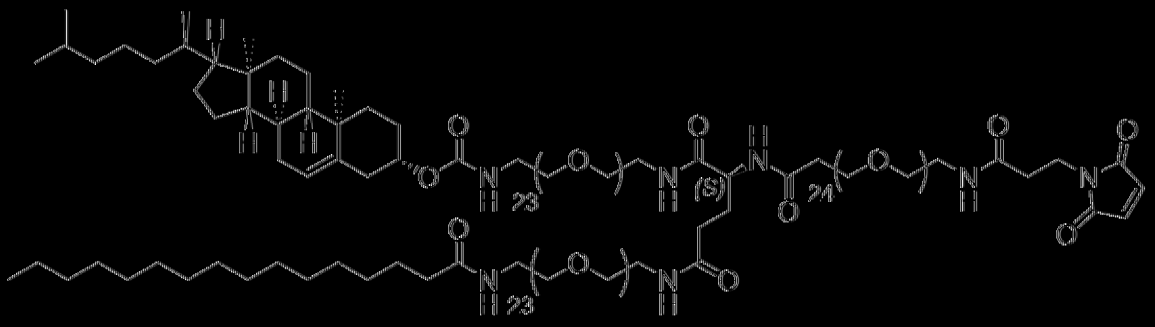
LP29-p



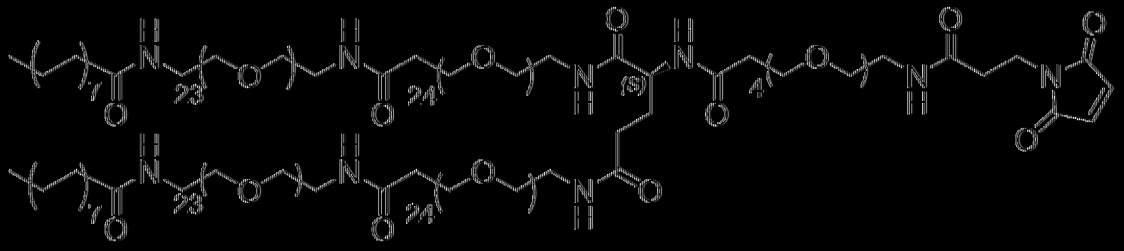
LP38-p



LP39-jp



LP41-jp



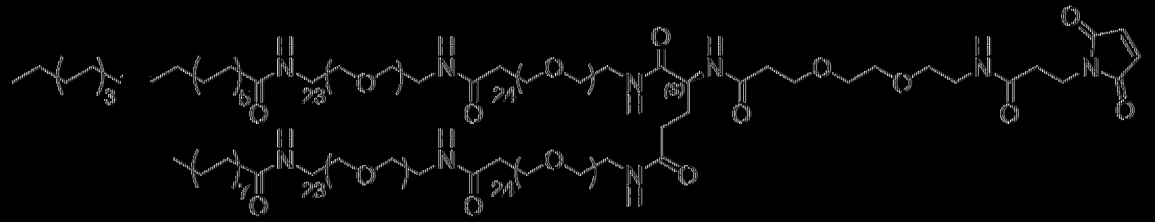
LP42-jp



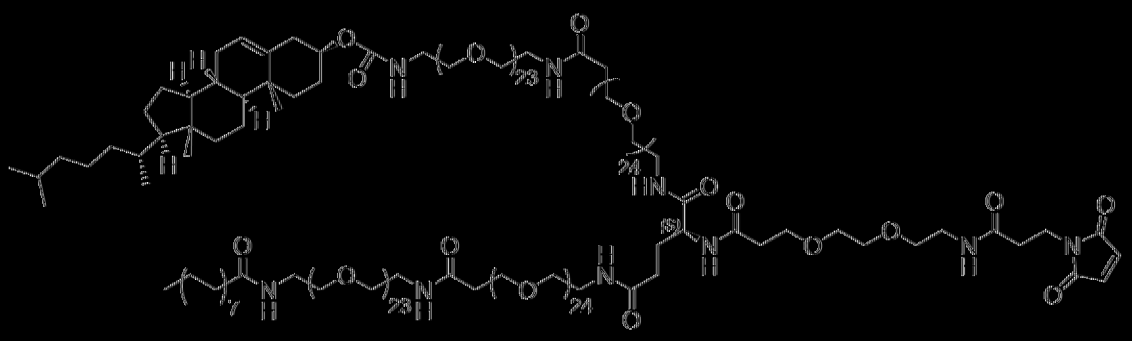
LP43-jp



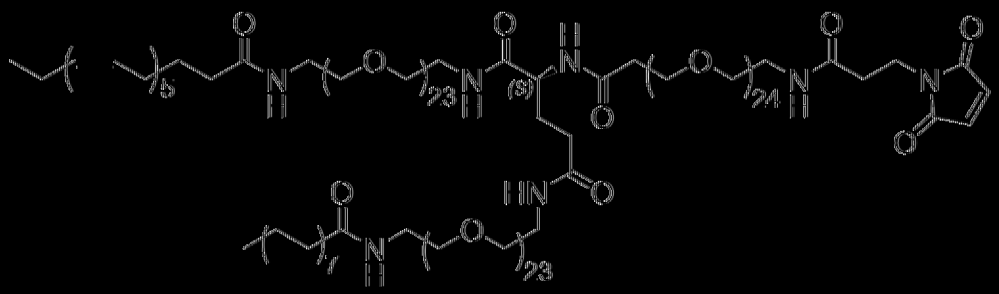
LP44-jp



LP45-p



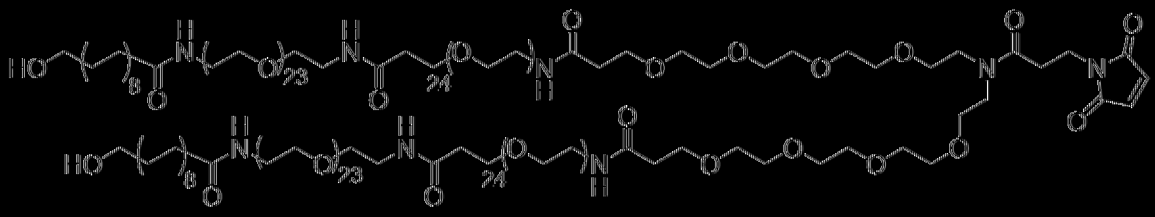
LP47-p



LP48-p



LP49-p



LP53-p



[LP54-p]



[LP55-p]



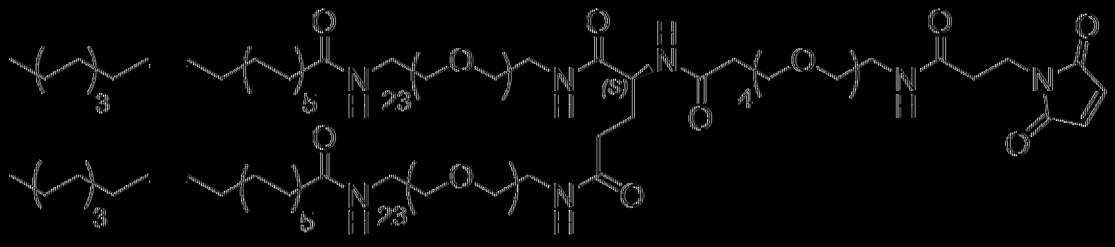
[LP56-p]



[LP57-p]



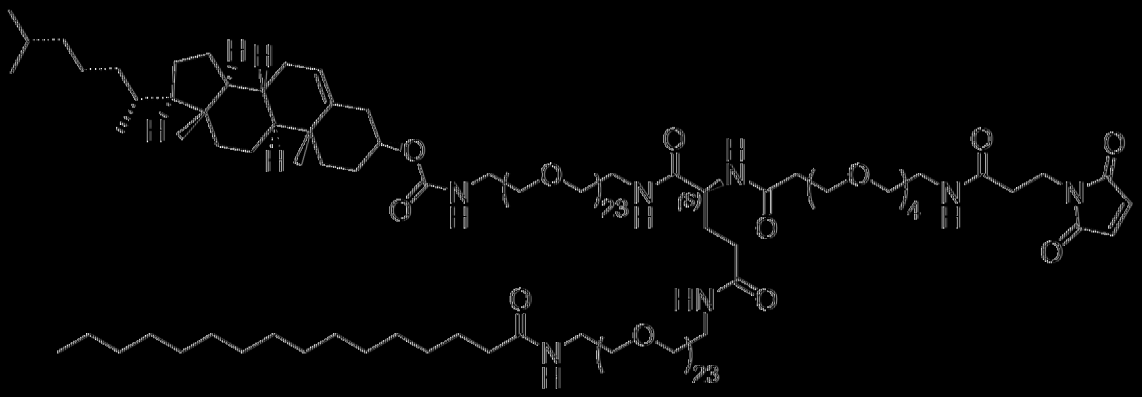
[LP58-p]



LP59-p



LP60-p



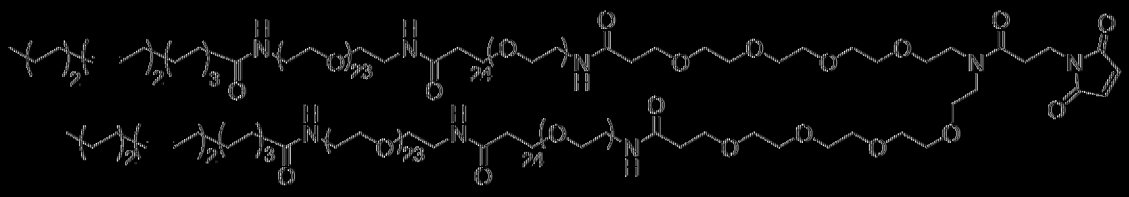
LP61-p



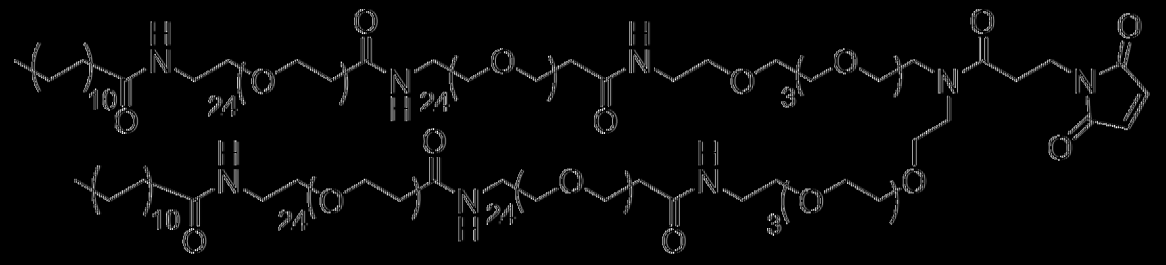
LP62-p



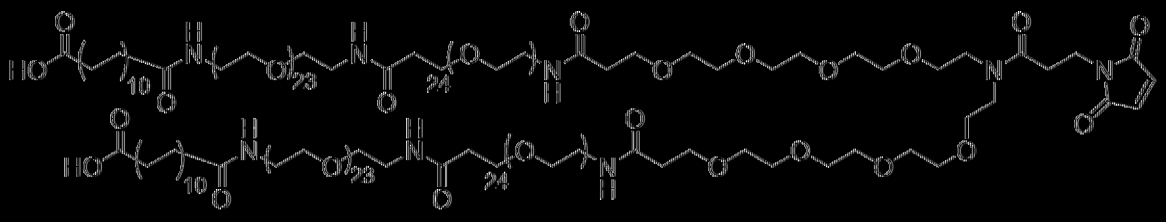
LP87-p



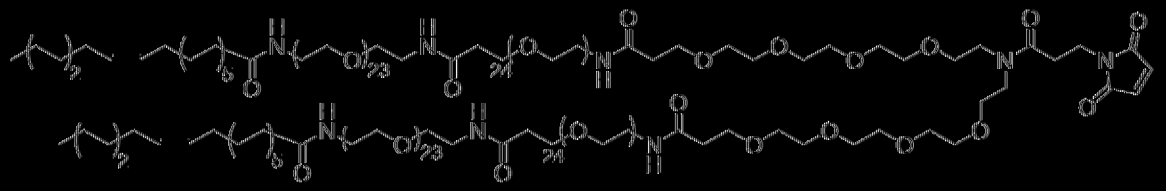
LP89-p



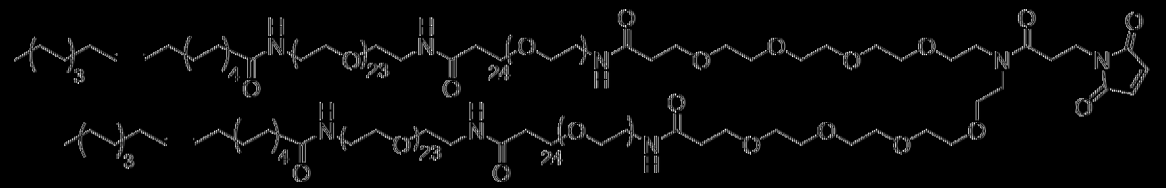
LP90-p



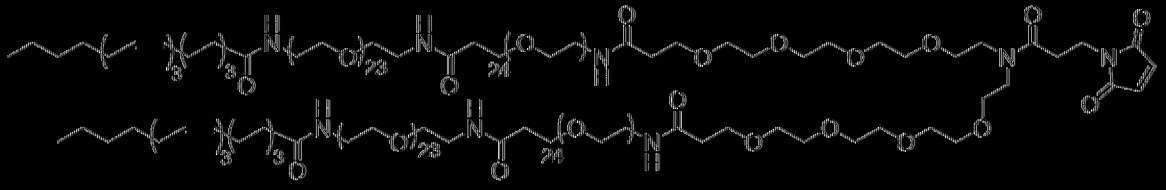
LP92-p



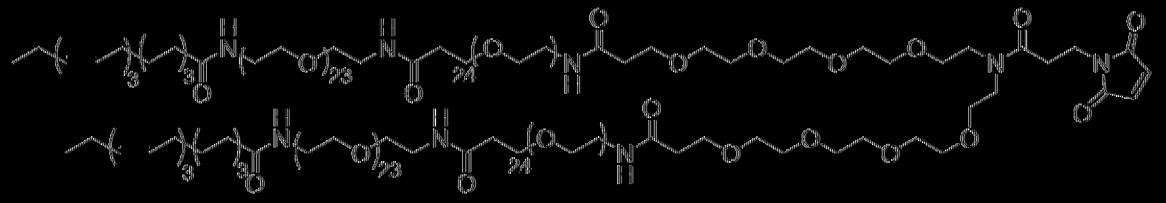
LP93-p



LP94-p



LP95-p



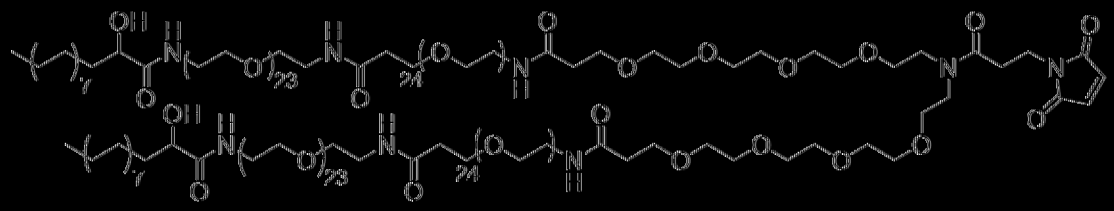
LP101-p



LP102-p



LP103-p



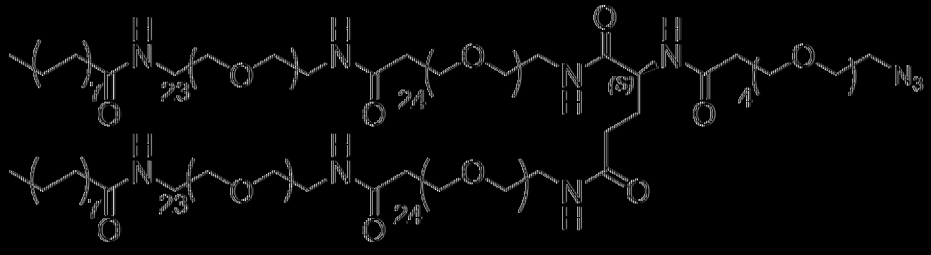
LP104-p



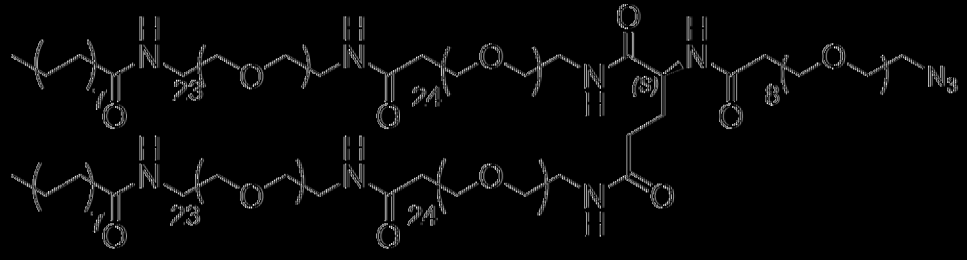
LP106-p



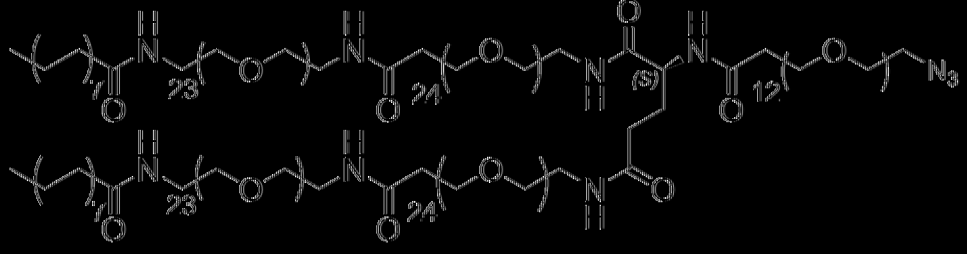
LP107-p



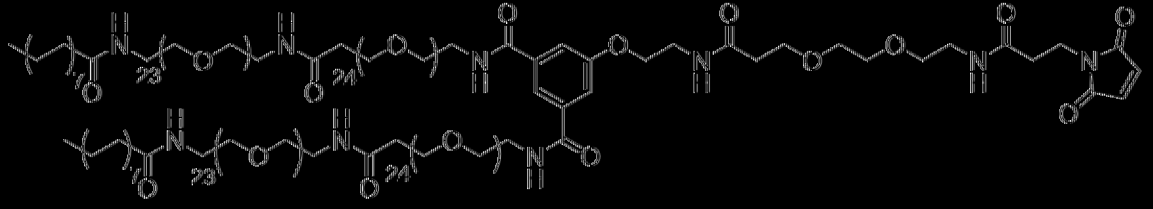
LP108-p



LP109-p



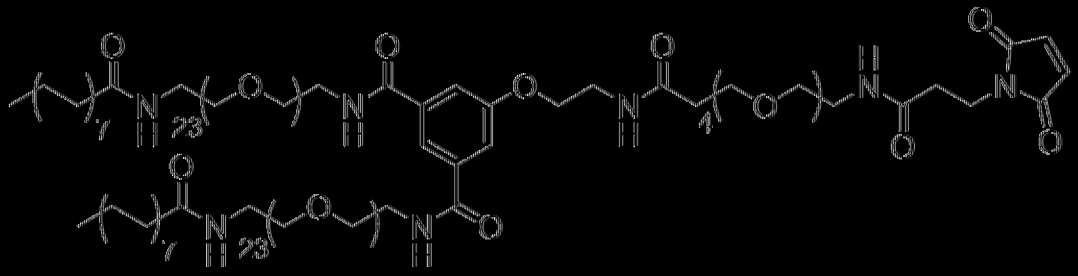
LP110-p



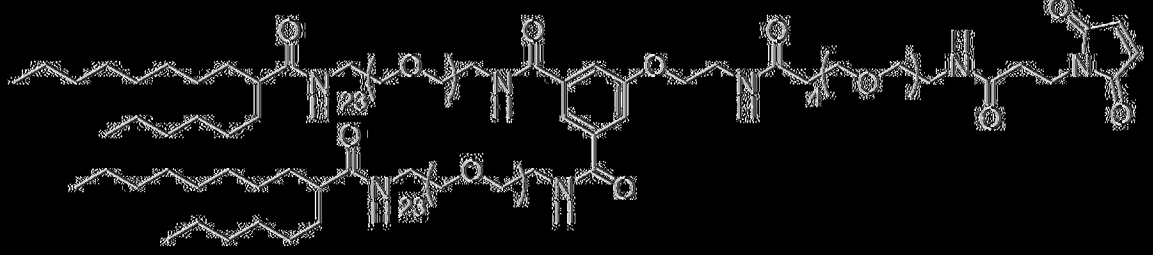
LP111-p



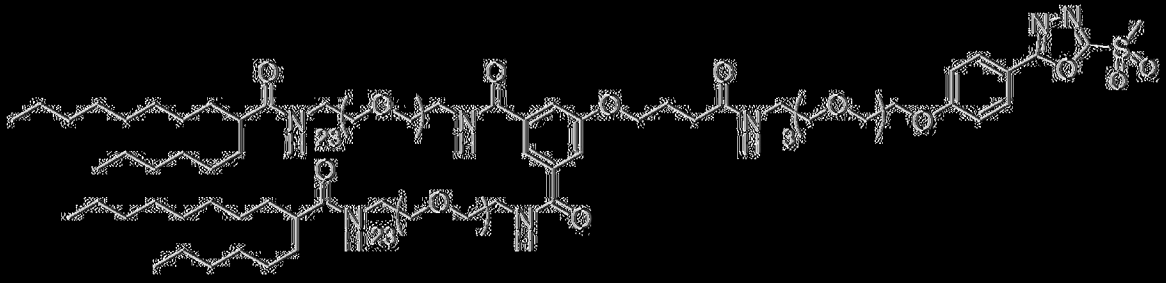
LP124-p



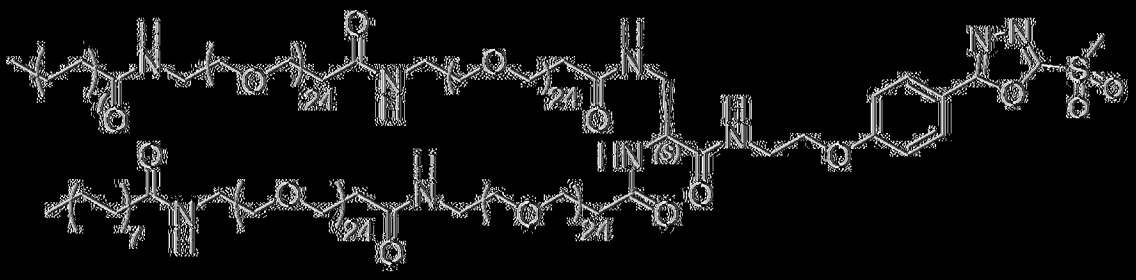
LP-130-1



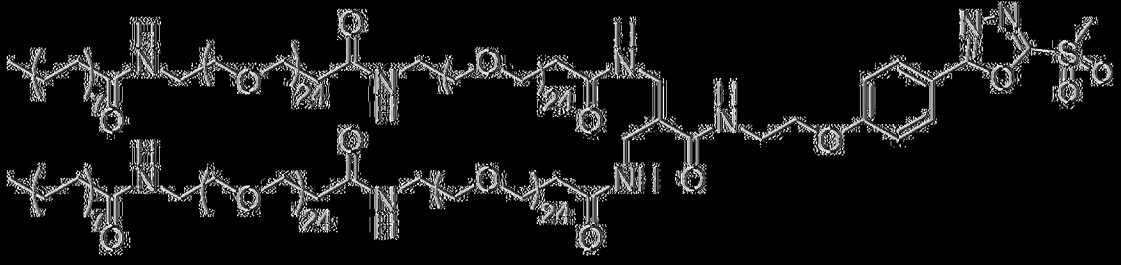
LP-143-1



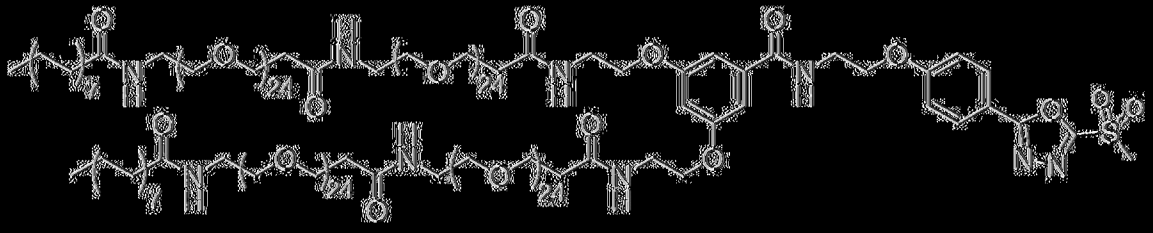
LP-210-1



LP-216-1



LP-220-1



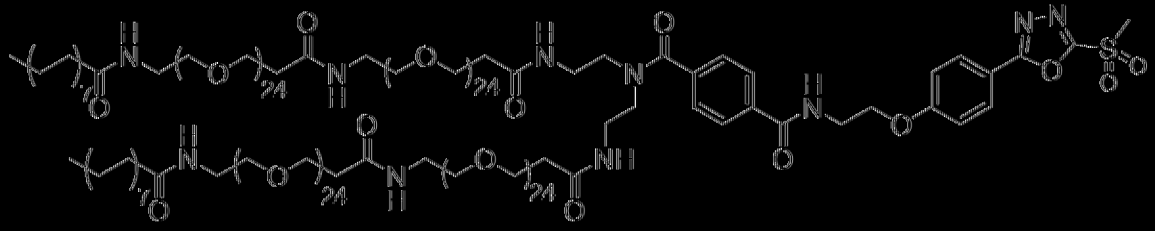
LP221-p



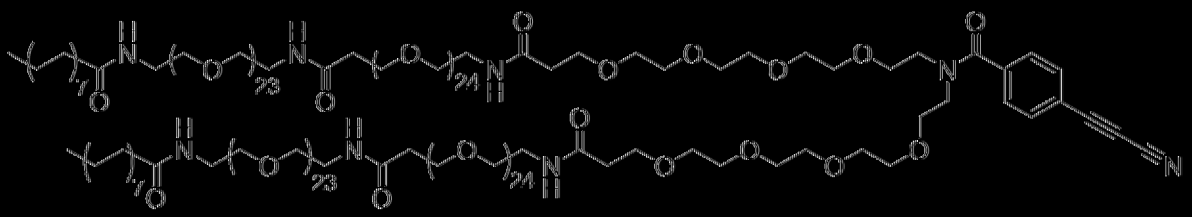
LP223-p



LP224-p



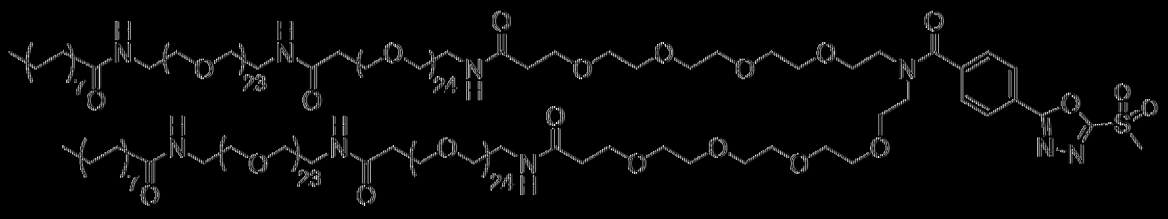
LP225-p



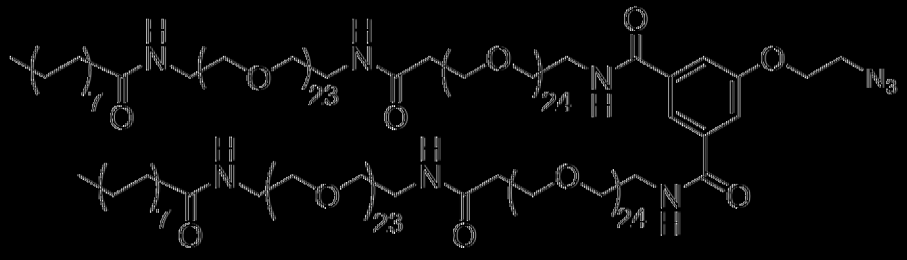
LP226-p



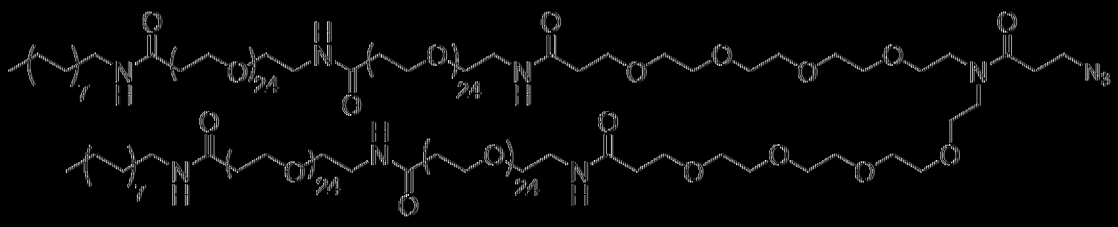
LP238-p



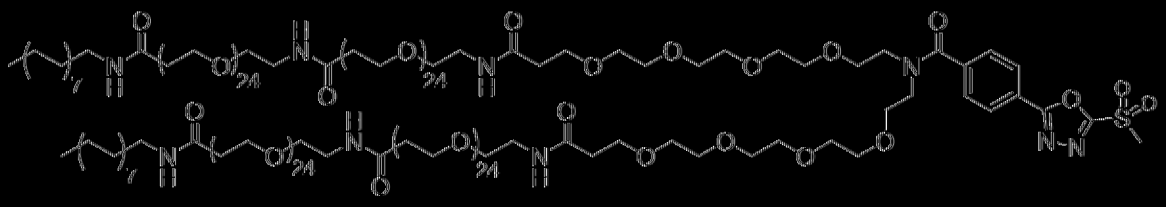
LP240-jp



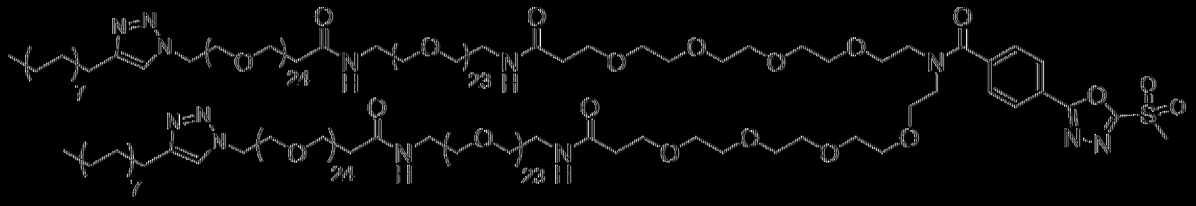
LP246-jp



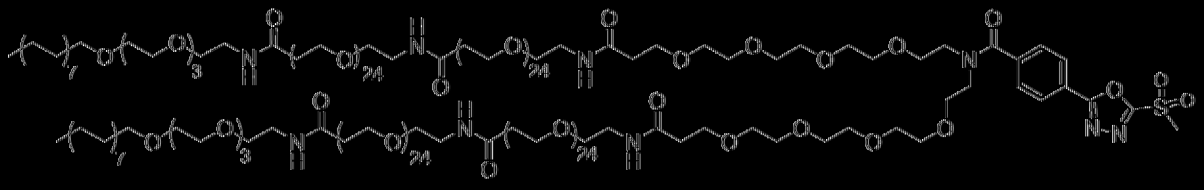
LP247-jp



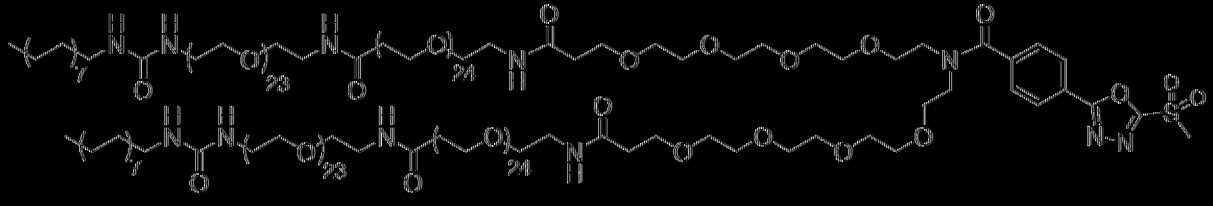
LP339-jp



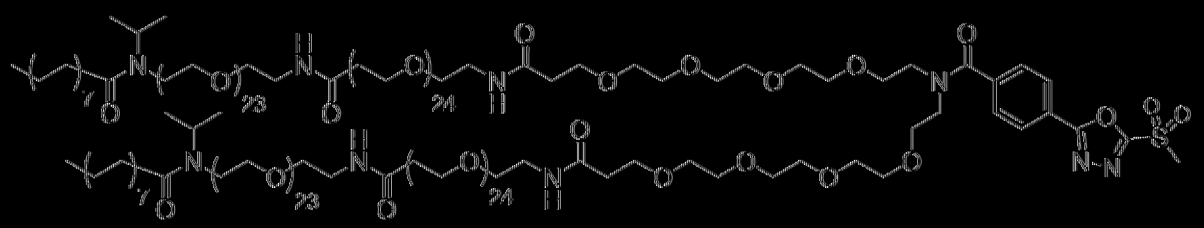
LP340-jp



LP357-jp



LP358-p

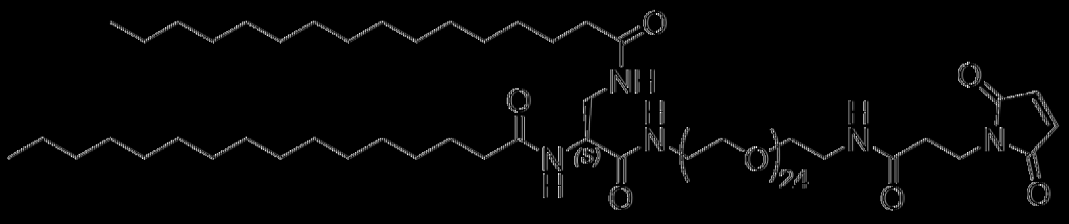


或此等脂質PK/PD調節劑中之任一者的醫藥學上可接受之鹽前驅體。

[0254] 在本發明之另一態樣中，脂質PK/PD調節劑前驅體可選自由表22中鑑別之脂質PK/PD調節劑前驅體組成之群。

[0255] 表22：本發明之示例脂質PK/PD調節劑前驅體(化合物名稱出現在結構之前)。

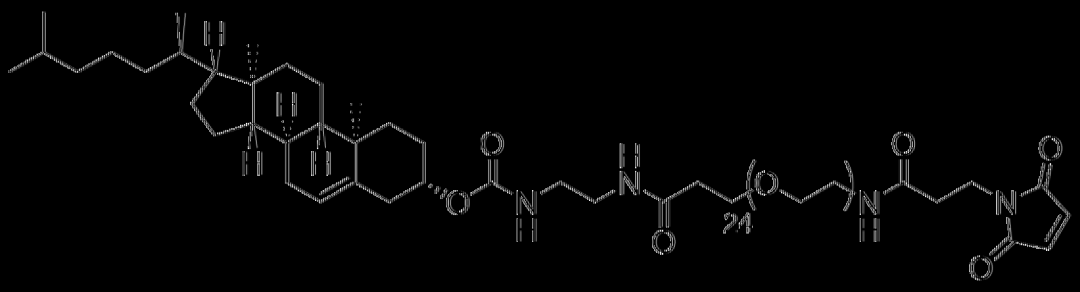
LP5-p



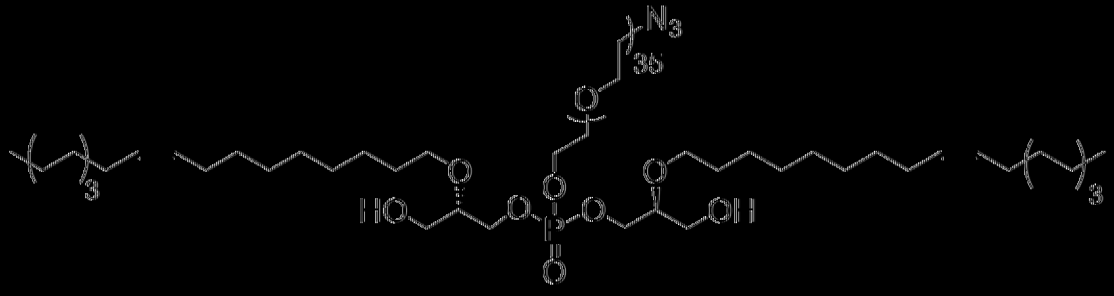
LP33-p



LP81-p



LP105-p

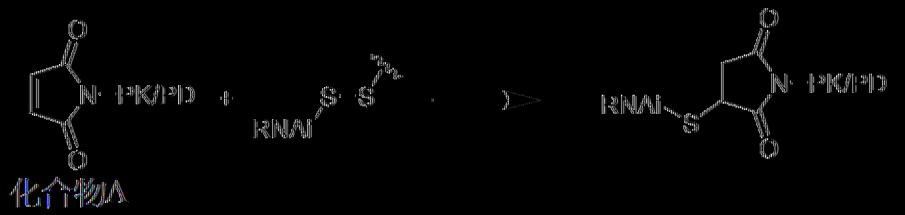


或此等脂質PK/PD調節劑中之任一者的醫藥學上可接受之鹽前驅體。

[0256] 在一些實施例中，遞送載體可包含一或多種PK/PD調節劑。在一些實施例中，遞送載體包含一種、兩種、三種、四種、五種、六種、七種或更多種PK/PD調節劑。

[0257] PK/PD調節劑前驅體可使用此項技術中任何已知之方法結

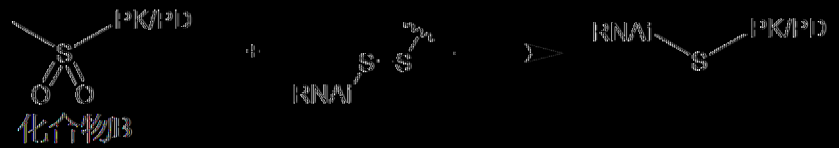
合至RNAi劑。在一些實施例中，包含順丁烯二醯亞胺部分之PK/PD調節劑前驅體可與包含二硫鍵聯之RNAi劑反應以形成包含PK/PD調節劑結合至RNAi劑之化合物。可使二硫化物還原，且藉助於麥可加成反應(Michael Addition reaction)添加至順丁烯二醯亞胺。以下展示示例反應流程：



化合物A

其中化合物A為包含順丁烯二醯亞胺部分之PK/PD調節劑前驅體，RNAi包含RNAi劑，且 指示與此項技術中已知之任何適合基團之連接點。在以上反應流程之一些實施例中， RNAi S S 附接於烷基，諸如己基(C_6H_{13})。

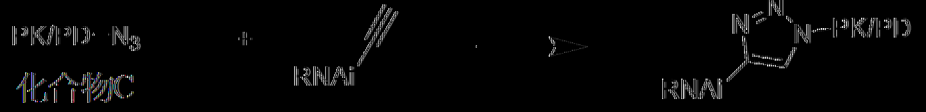
[0258] 在一些實施例中，PK/PD調節劑前驅體可包含碸部分且可與二硫化物反應。以下展示示例反應流程：



化合物B

其中化合物B為包含碸部分之PK/PD調節劑前驅體，RNAi包含RNAi劑，且 指示與此項技術中已知之任何適合基團之連接點。在以上反應流程之一些情況下， RNAi S S 附接於烷基，諸如己基(C_6H_{13})。

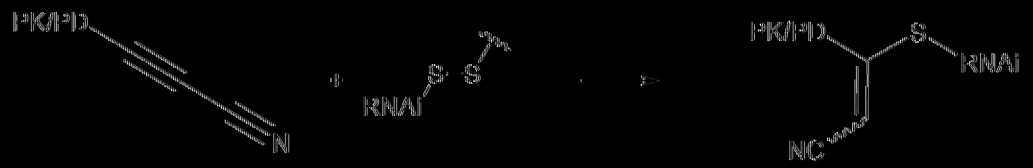
[0259] 在一些實施例中，根據以下通用反應流程，PK/PD調節劑前驅體可包含雜氫化物部分且與包含炔之反應RNAi劑以形成包含PK/PD調節劑結合至RNAi劑之化合物：



化合物C

其中化合物C為包含疊氮化物部分之PK/PD調節劑前驅體，且RNAi包含RNAi劑。

〔0260〕 在一典型實施例中，根據以下通用反應流程，PK/PD調節劑前驅體可包含炔部分且與包含二硫鍵之RNAi劑反應以形成包含PK/PD調節劑結合至RNAi劑之化合物：

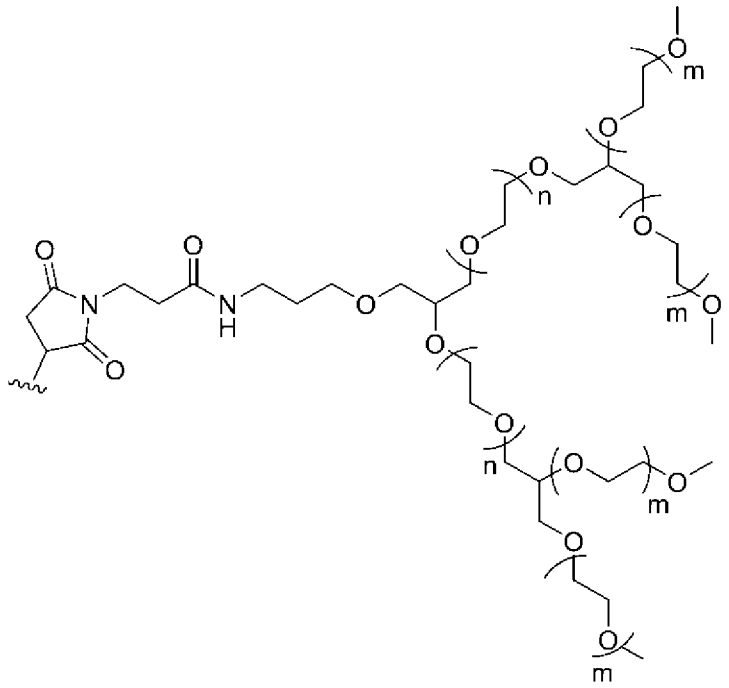


化合物D

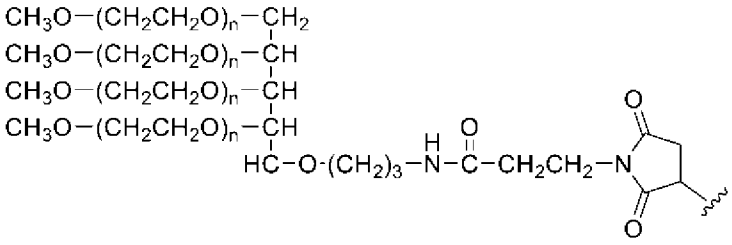
其中化合物D為包含炔之PK/PD調節劑前驅體，RNAi包含RNAi劑，且~指示與此項技術中已知之任何適合基團之連接點。在以上反應流程之一典型情況下，RNAi-S-S~附接於烷基，諸如己基(C_6H_{13})。

〔0261〕 在一典型實施例中，PK/PD調節劑可結合至有義股或反義股之5'端、有義股或反義股之3'端或RNAi劑之內部核苷酸。在一典型實施例中，RNAi劑用有義股之3'端處之含二硫鍵之部分合成，且PK/PD調節劑前驅體可使用以上所示之適當通用合成流程結合至有義股之3'端。

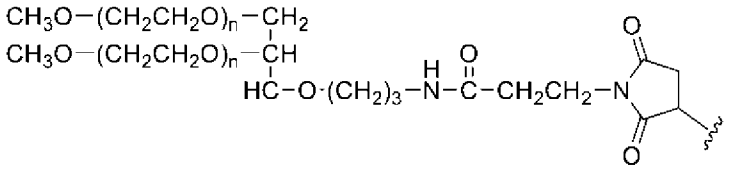
〔0262〕 以下展示共價連接至RNAi劑之PK/PD調節劑之實例：



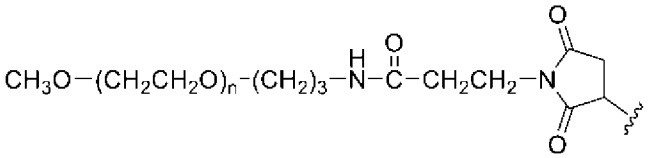
PEG40K (2×2臂)，
其中n及m各自獨立地為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約40千道爾頓



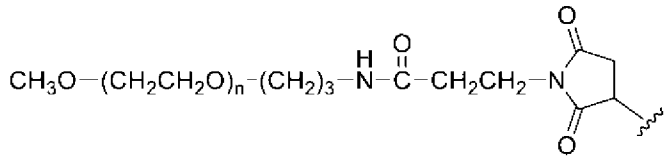
PEG40K (4臂)，
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約40千道爾頓



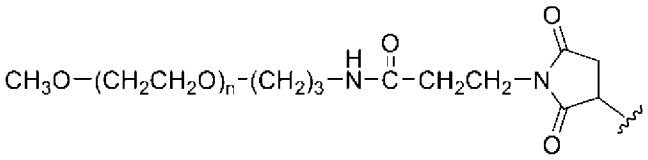
PEG40K (2臂)，
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約40千道爾頓



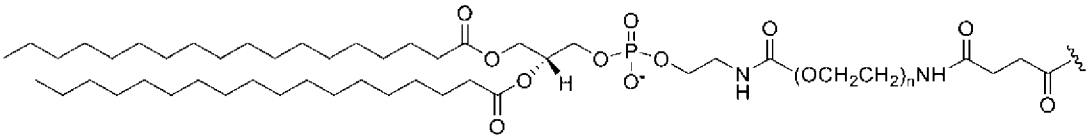
PEG40K，
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約40千道爾頓



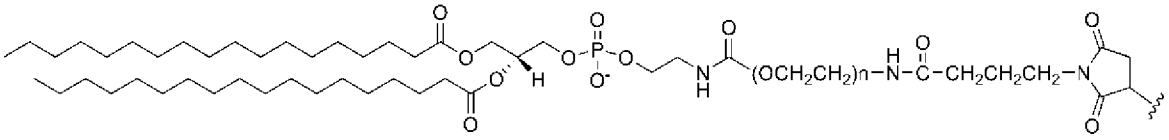
PEG10K，
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約10千道爾頓



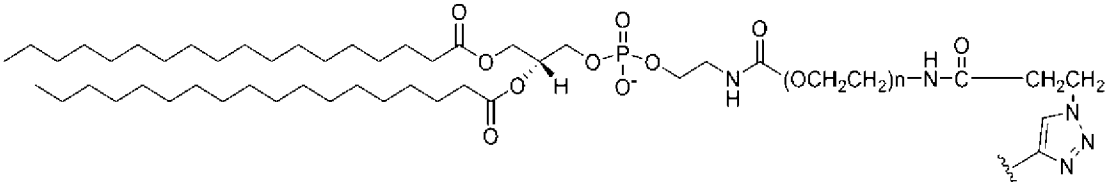
PEG5K，
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約5千道爾頓



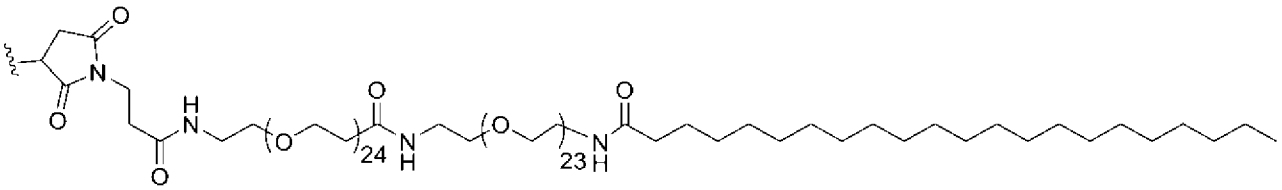
DSPE-PEG5K-NHS
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約5千道爾頓



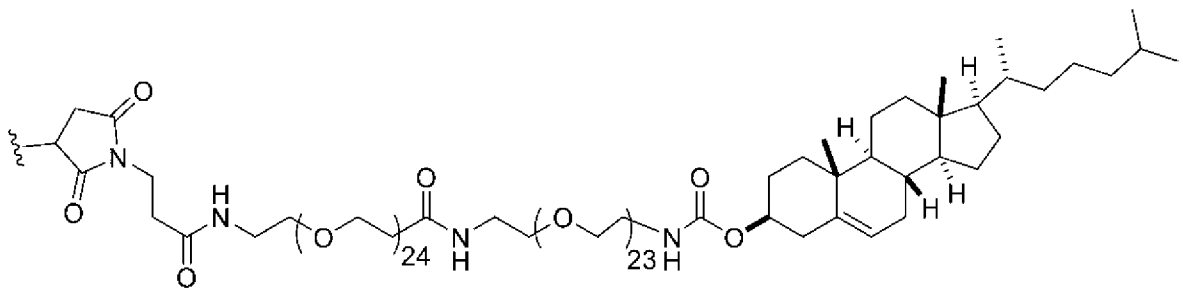
DSPE-PEG5K-MAL
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約5千道爾頓



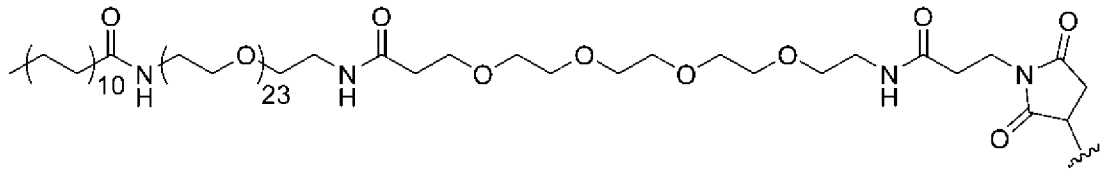
DSPE-PEG5K-N3
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約5千道爾頓



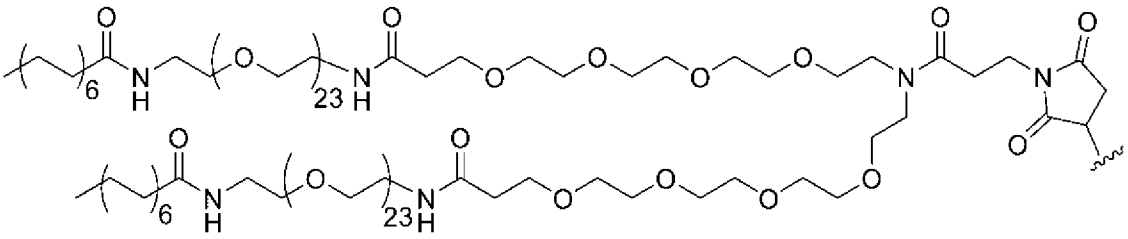
PEG47+C22



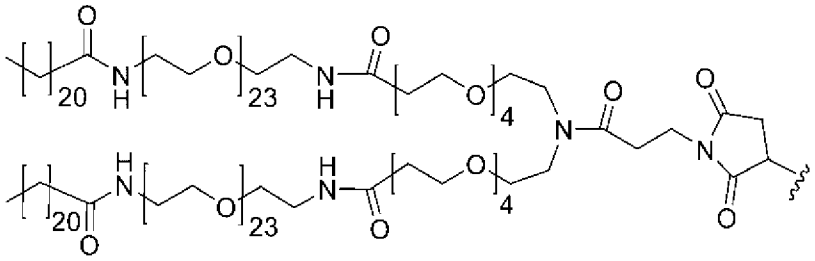
PEG47+CLS (膽固醇)



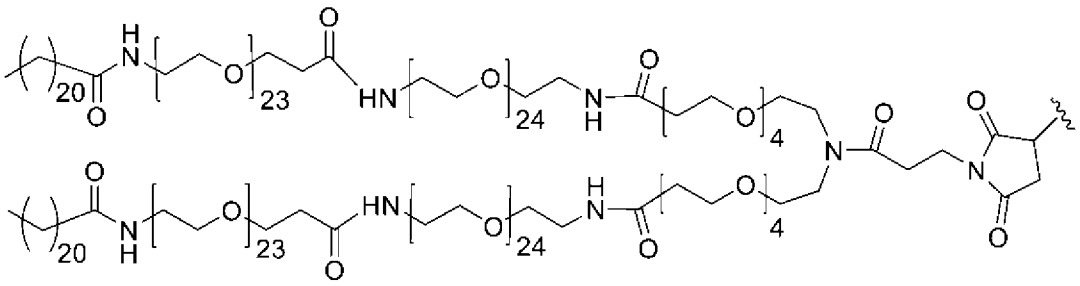
PEG23+C22



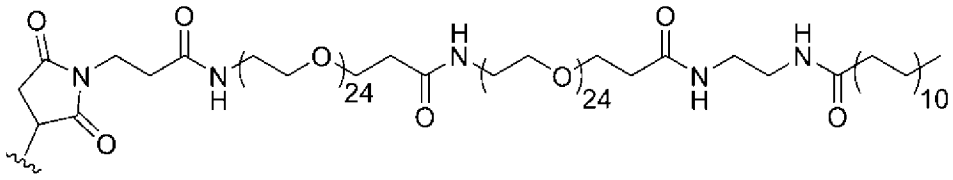
雙(PEG23+C14)



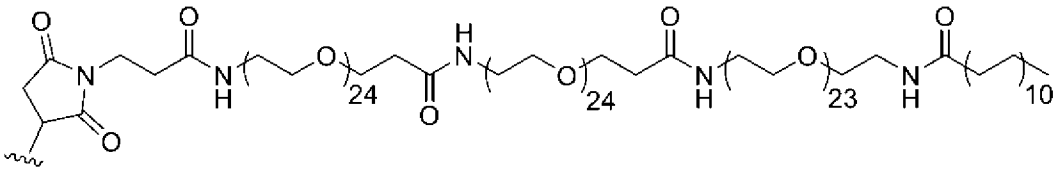
雙(PEG23+C22)



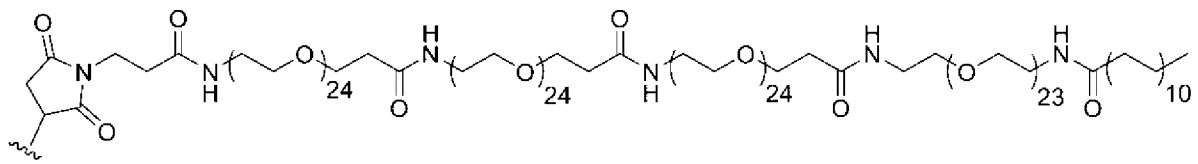
雙(PEG47+C22)



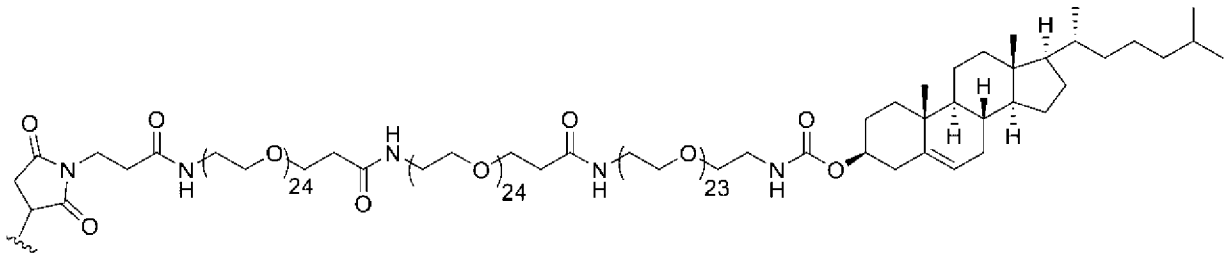
PEG48+C22



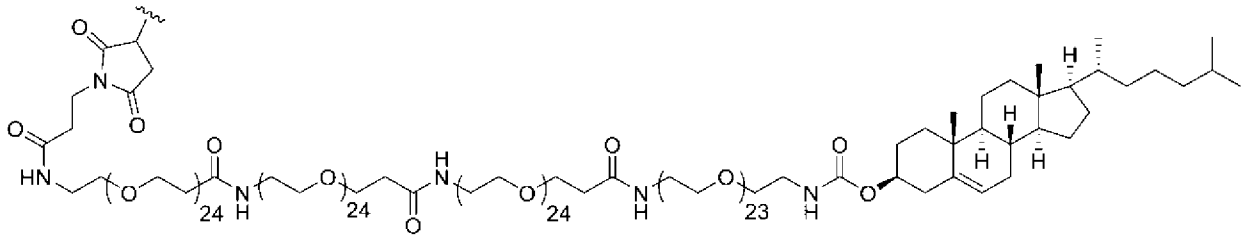
PEG71+C22



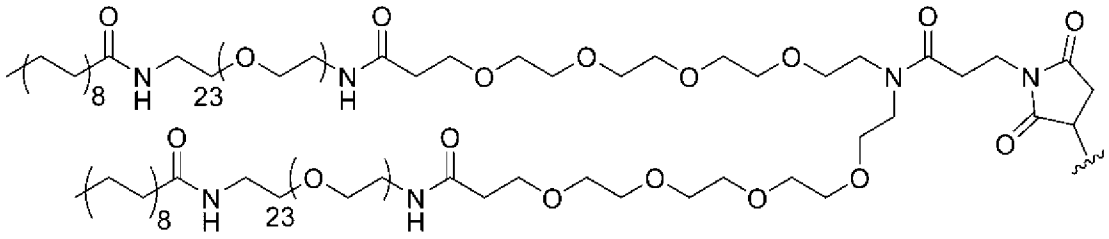
PEG95+C22



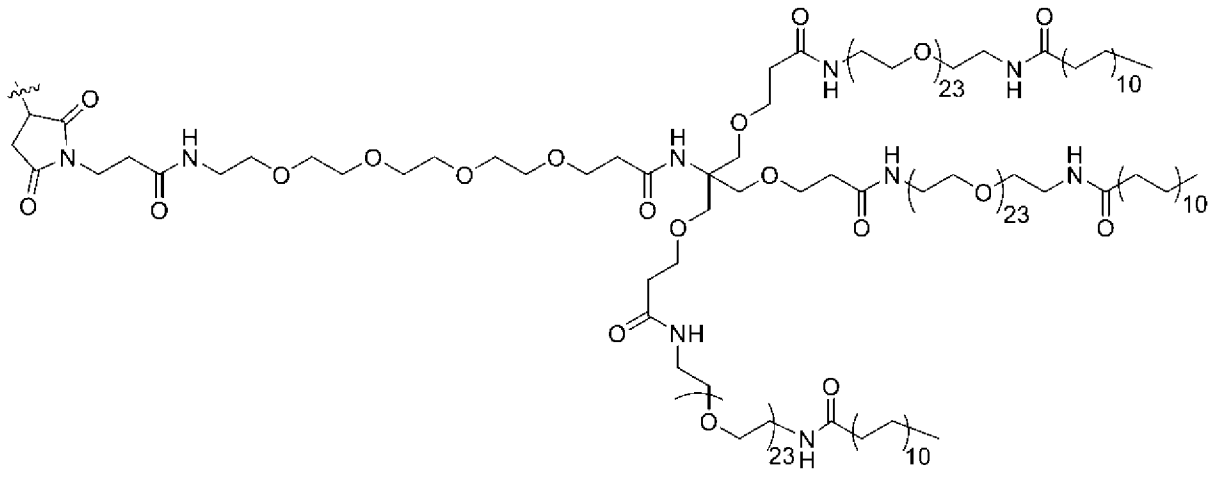
PEG71+CLS



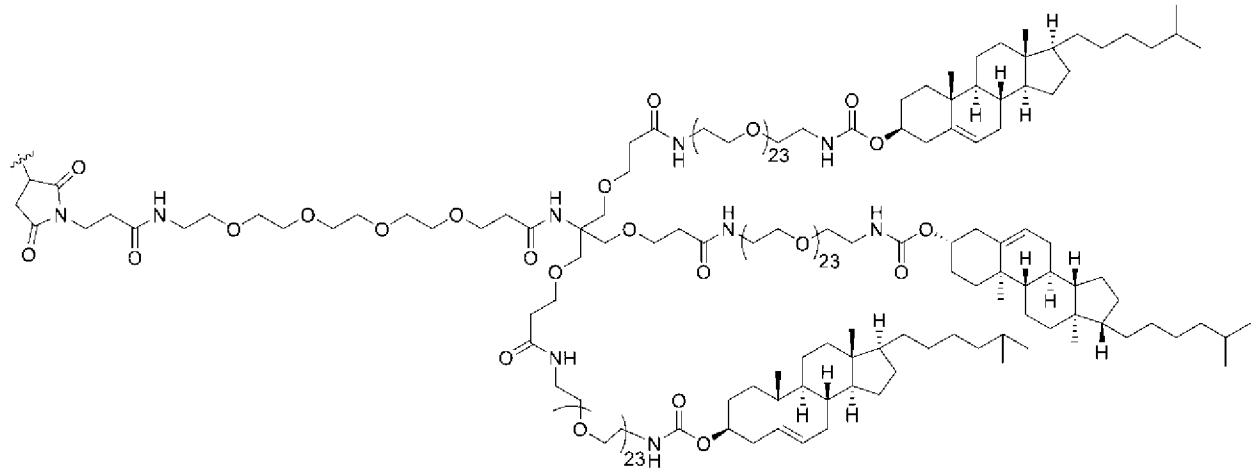
PEG95+CLS



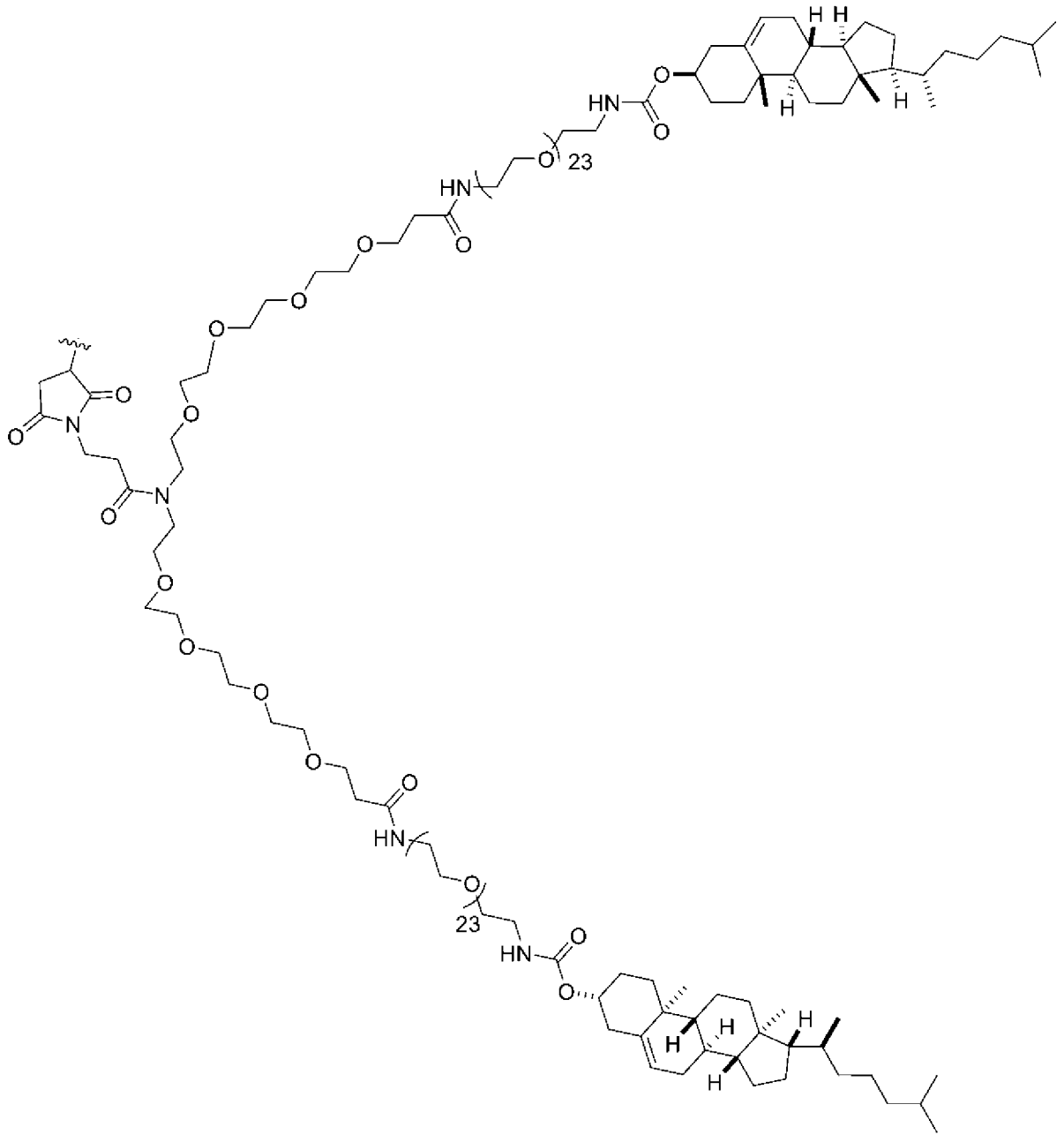
雙(PEG23+C18)



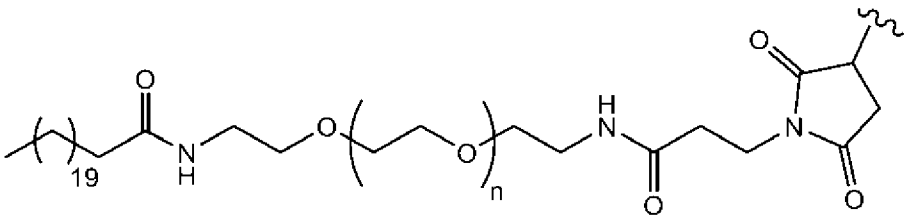
參(PEG23+C22)



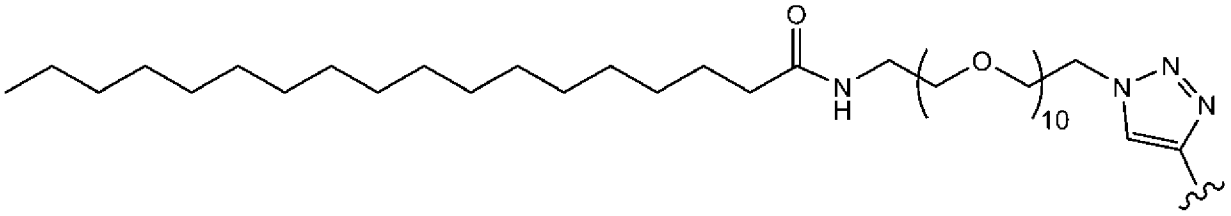
參(PEG23+CLS)



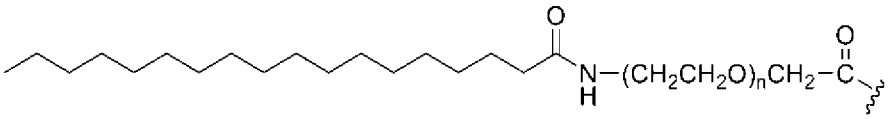
雙(PEG23+CLS)



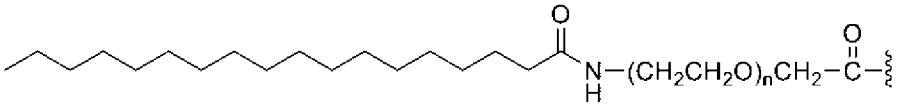
PEG5K+C22
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約5千道爾頓



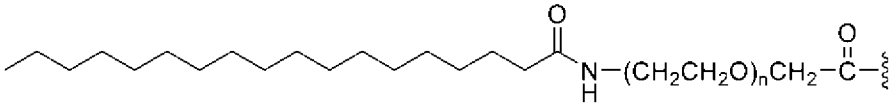
C18



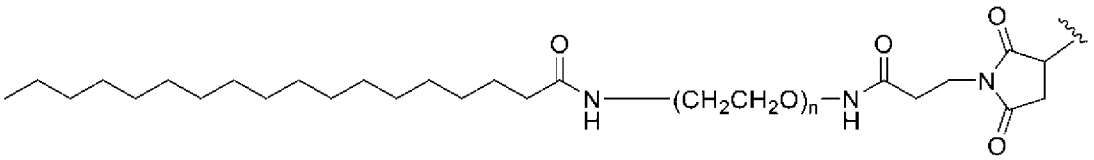
(NHS)-PEG1K+C18
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約1千道爾頓



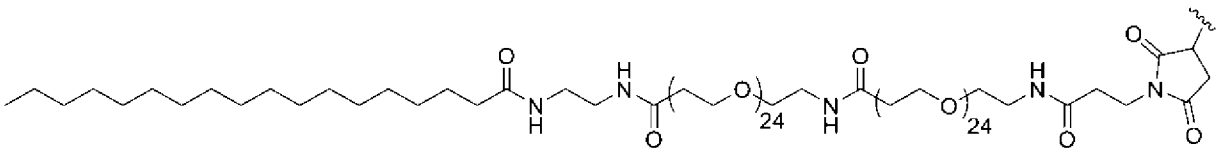
(NHS)-PEG2K+C18
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約2千道爾頓



(NHS)-PEG5K+C18
其中n為整数，且所有PEG單元總和之分子量為約5千道爾頓



(MAL)-PEG5K+C18
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約5千道爾頓



PEG48+C18

或此等PK/PD調節劑中之任一者的醫藥學上可接受之鹽，其中≋指示與RNAi劑之連接點。

【0263】 **連接基團及遞送劑**

【0264】 在一些實施例中，RNAi劑含有或結合至一或多個非核苷酸基團，包括(但不限於)連接基團或遞送劑。非核苷酸基團可增強RNAi劑之靶向、遞送或附接。連接基團之實例提供於表23中。非核苷酸基團可共價連接至有義股及/或反義股之3'端及/或5'端。在一些實施例中，RNAi劑含有連接至有義股之3'端及/或5'端的非核苷酸基團。在一些實施例中，非核苷酸基團連接至RNAi劑有義股之5'端。非核苷酸基團可直接或經由連接子/連接基團間接地連接至RNAi劑。在一些實施例中，非核苷酸基團經由不穩定、可裂解或可逆的鍵或連接子連接至RNAi劑。

【0265】 在一些實施例中，非核苷酸基團增強RNAi劑或其所附接之結合物的藥物動力學或生物分佈特性，以改良結合物之細胞特異性或組織特異性分佈及細胞特異性吸收。在一些實施例中，非核苷酸基團增強RNAi劑之胞吞作用。

【0266】 本文所述之RNAi劑可經合成為在5'端及/或3'端具有反應性基團，諸如胺基(在本文中亦稱為胺)。反應性基團隨後可用於使用此項技術中典型之方法附接靶向部分。

【0267】 舉例而言，在一些實施例中，本文所揭示之RNAi劑經合成為在RNAi劑之有義股的5'端處具有NH_2-C_6基團。末端胺基隨後可與例如包括對一或多種整合素(亦即，及整合素靶向配位體)或PK/PD調節劑具有親和力之化合物的基團反應形成結合物。在一些實施例中，本文所揭示之RNAi劑經合成為在RNAi劑之有義股的5'端處具有一或多個炔烴基團。末端炔基可隨後與例如包括靶向配位體之基團反應形成結合物。

【0268】 在一些實施例中，靶向基團包含整合素靶向配位體。在一

些實施例中，整合素靶向配位體包括對整合素α-v-β6具有親和力之化合物。使用整合素靶向配位體可促進細胞特異性靶向在各別表面上具有各別整合素之細胞，且整合素靶向配位體之結合可促進其所連接之RNAi劑進入諸如骨骼肌細胞之細胞。靶向配位體、靶向基團及/或PK/PD調節劑可使用此項技術中一般已知之方法附接至RNAi劑之3'及/或5'端，及/或RNAi劑上之內部核苷酸。在下文實例3中描述諸如整合素αvβ6之靶向配位體及靶向基團之製備。

【0269】 本發明之實施例包括用於在活體內將RNAi劑遞送至骨骼肌細胞之醫藥組合物。此類醫藥組合物可包括例如結合至包含對整合素αvβ6具有親和力之整合素靶向配位體之靶向基團的RNAi劑。在一些實施例中，靶向配位體由對整合素αvβ6具有親和力之化合物構成。

【0270】 在一些實施例中，本文所揭示之RNAi劑可減少以下組織中之一或多者中的基因表現：三頭肌、二頭肌、四頭肌、腓腸肌、比目魚肌、EDL (伸趾長肌)、TA (脛前肌)及/或子宮帽。

【0271】 在一些實施例中，RNAi劑經合成為具有連接基團，其可隨後促進RNAi劑共價連接至靶向配位體、靶向基團、PK/PD調節劑或另一類型之遞送聚合物或遞送載體。連接基團可連接至RNAi劑有義股或反義股之3'及/或5'端。在一些實施例中，連接基團連接至RNAi劑有義股。在一些實施例中，連接基團結合至RNAi劑有義股之5'端或3'端。在一些實施例中，連接基團結合至RNAi劑有義股之5'端。連接基團之實例包括但不限於：Alk-SMPT-C6、Alk-SS-C6、DBCO-TEG、Me-Alk-SS-C6及C6-SS-Alk-Me；反應性基團，諸如一級胺及炔烴、烷基、無鹼基殘基/核苷酸、胺基酸、三炔烴官能化基團、核糖醇及/或PEG單元。

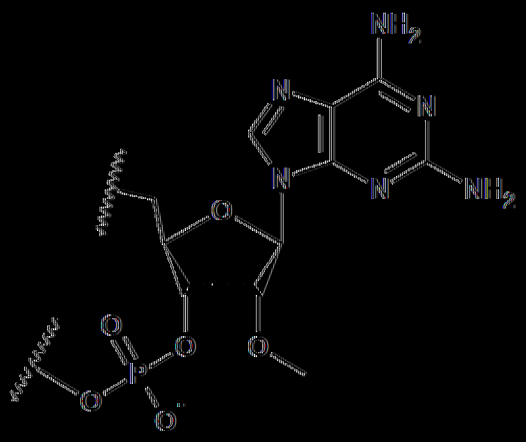
【0272】 連接子或連接基團為兩個原子之間的二價連接，其經由一或多個共價鍵將一個所關注的化學基團(諸如RNAi劑)或區段連接至另一所關注的化學基團(諸如靶向配位體、靶向基團、PK/PD調節劑或遞送劑)或區段。不穩定鍵聯含有不穩定鍵。鍵聯可視情況包括使兩個所接合原子之間的距離增加之間隔子。間隔子可進一步增加鍵聯的可撓性及/或長度。間隔子包括但不限於烷基、烯基、炔基、芳基、芳烷基、芳烯基及芳炔基；其各自可含有一或多個雜原子、雜環、胺基酸、核苷酸及醣類。間隔基團在此項技術中已熟知且前述清單不意欲限制本發明之範疇。

【0273】 在一些實施例中，靶向基團在不使用額外連接子之情況下連接至RNAi劑。在一些實施例中，靶向基團經設計成具有容易存在的連接子以促進與RNAi劑之鍵聯。在一些實施例中，當組合物中包括兩種或更多種RNAi劑時，兩種或更多種RNAi劑可使用相同連接子連接至其各別靶向基團。在一些實施例中，當組合物中包括兩種或更多種RNAi劑時，該兩種或更多種RNAi劑使用不同連接子連接至其對應靶向基團。

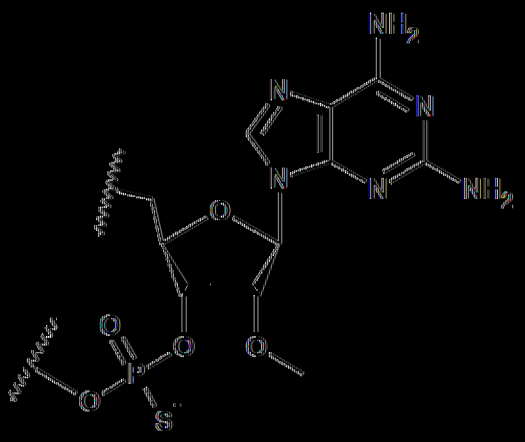
【0274】 在一些實施例中，連接基團可以合成方式結合至本文所述之RNAi劑之有義股的5'或3'端。在一些實施例中，連接基團以合成方式結合至RNAi劑之有義股之5'端。在一些實施例中，結合至RNAi劑之連接基團可為三炔烴連接基團。

【0275】 某些經修飾之核苷酸及連接基團之實例提供於表23中。

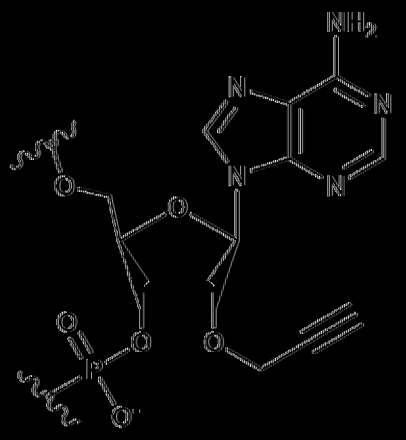
【0276】 表23.表示各種經修飾之核苷酸及連接基團的結構



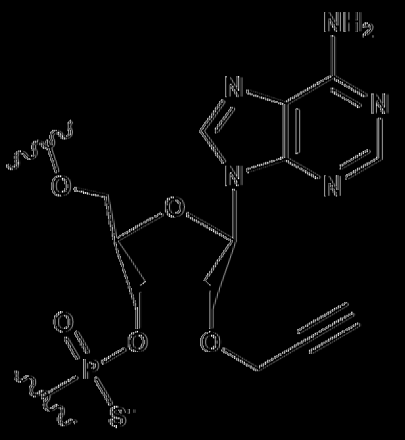
a_2N



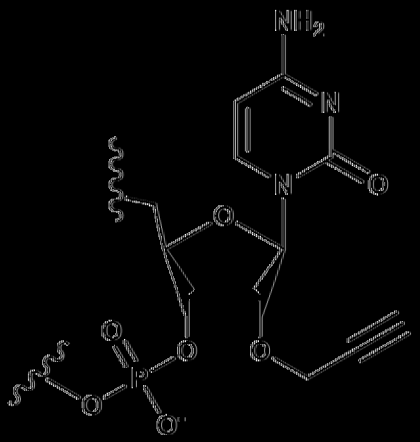
a_2Ns



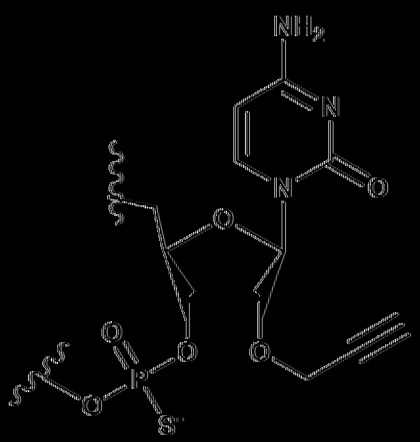
aAlk



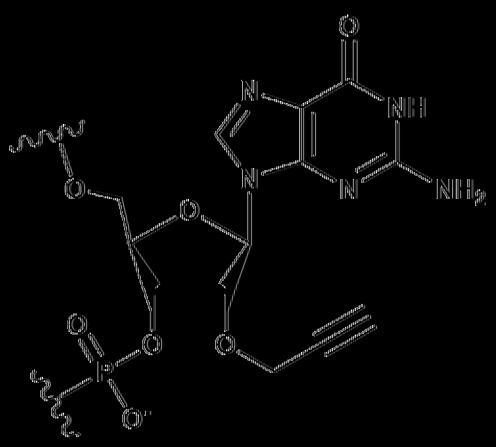
aAlks



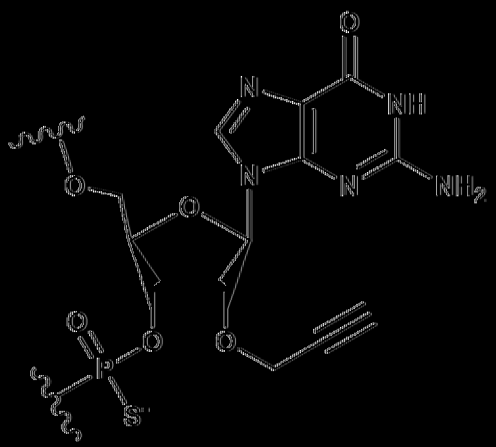
cAlk



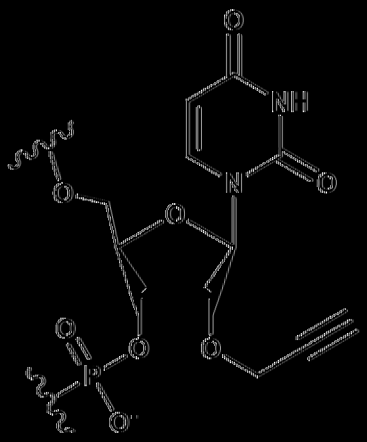
cAlks



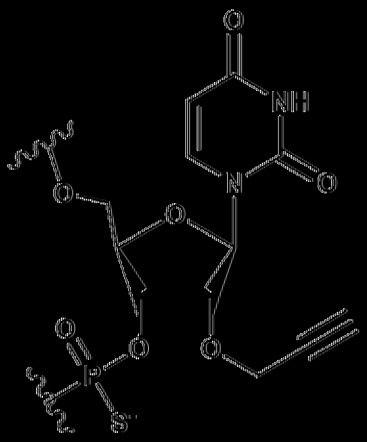
gAlk



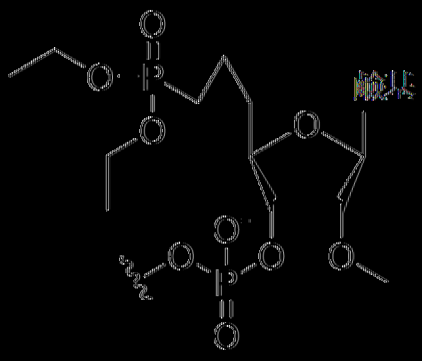
gAlks



uAlk



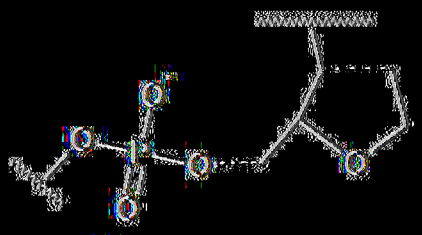
aAlks



cPrp

當位於寡核苷酸內部時：

連接至寡核苷酸之5'末端

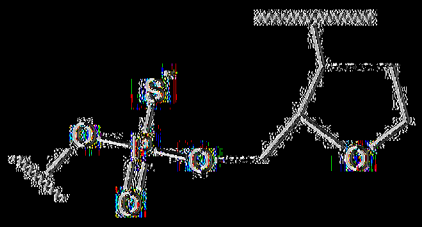


連接至寡核苷酸之3'末端

(invAb)

當位於寡核苷酸內部時：

連接至寡核苷酸之5'末端

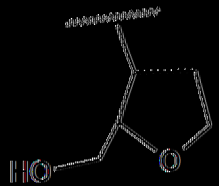


連接至寡核苷酸之3'末端

(invAb)s

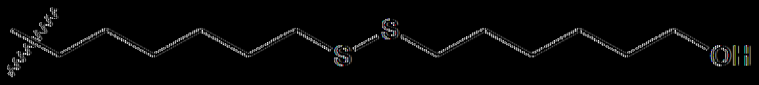
當位於寡核苷酸之3'端時：

連接至寡核苷酸之5'末端



(invAb)

當位於寡核苷酸之3'端時：



(C6-SS-C6)

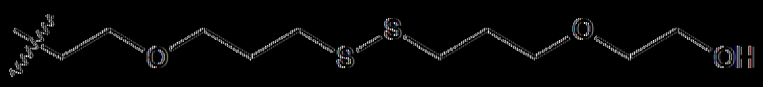
當位於寡核苷酸內部時：

連接至寡核苷酸之5'末端　　連接至寡核苷酸之3'末端



(C6-SS-C6)

當位於寡核苷酸之3'端時：



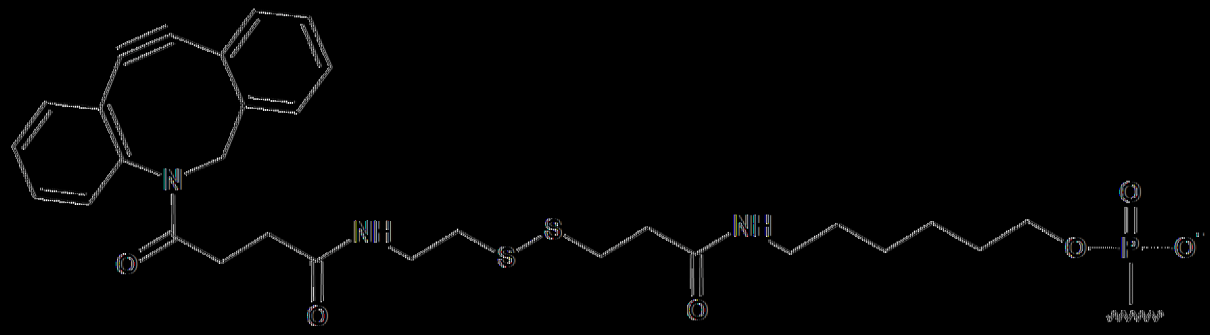
(6-SS-6)

當位於寡核苷酸內部時：

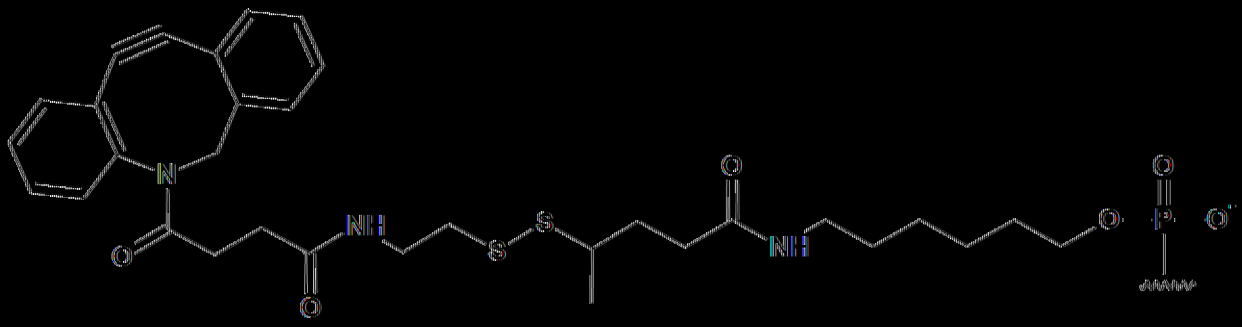
連接於寡核苷酸之5'末端　　連接於寡核苷酸之3'末端



(6-SS-6)



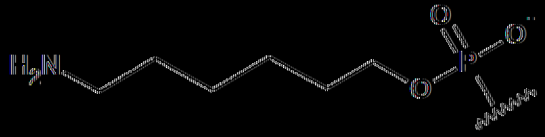
(C6-SS-Alk)或(Alk-SS-C6)



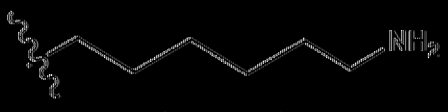
(C6-SS-Alk-Mc)



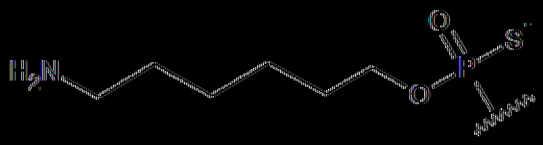
(PEG-C3-SS)



(NH2-C6)



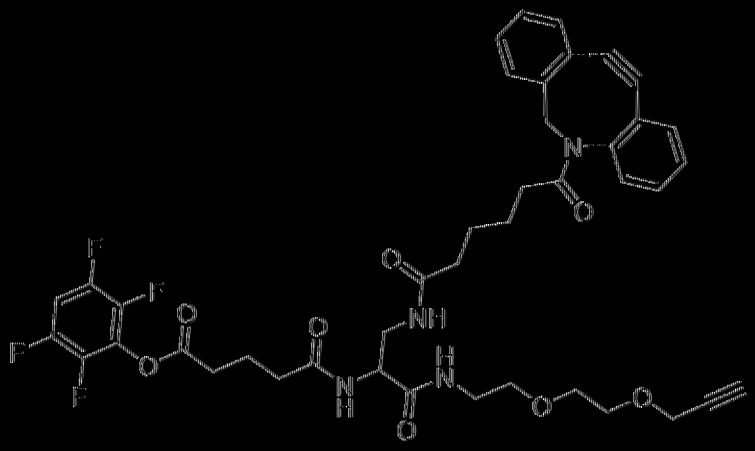
(C6-NH2)



(NH2-C6)s



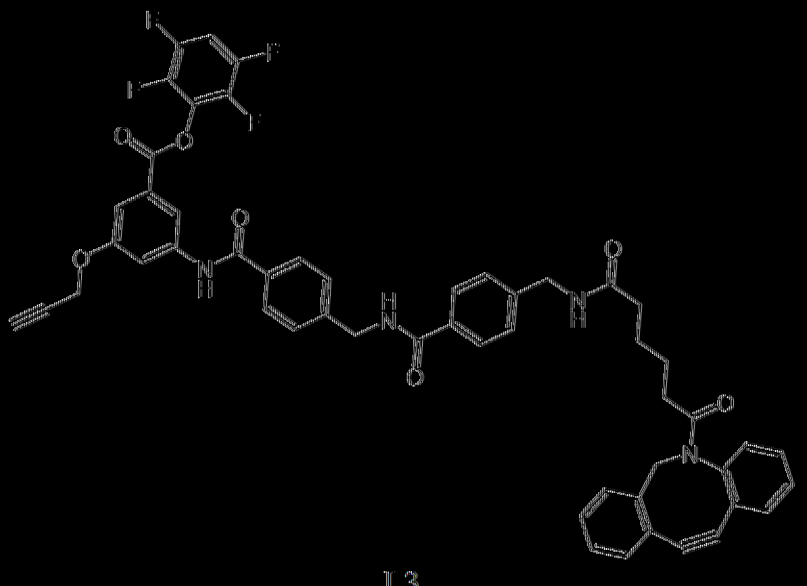
DBCO-NHS (BroadPharm® BP-22231)



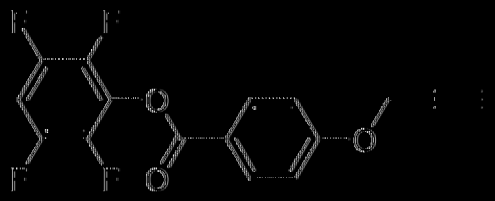
L1



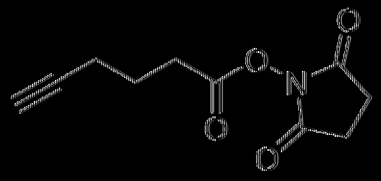
L2



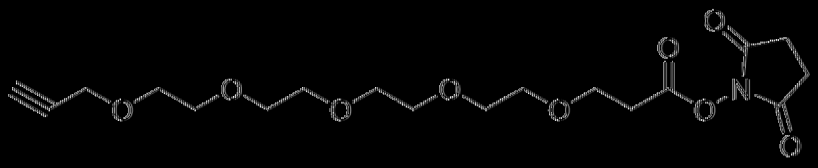
L3



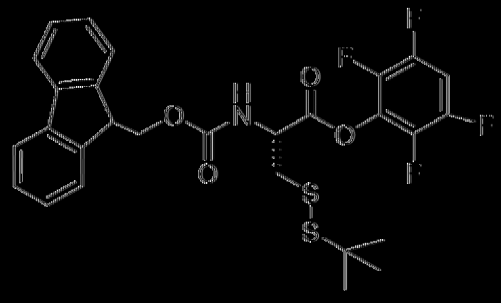
L4



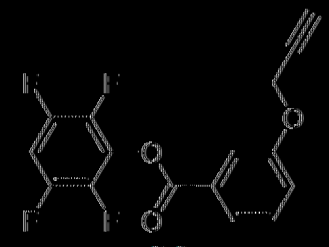
L5 (Activate Scientific® AS28942)



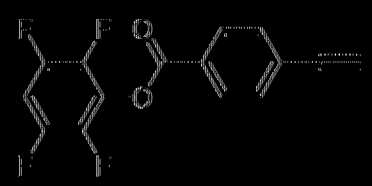
L6 (BroadPharm® BP-20907)



L7



1.8



1.9



1.10

[0277] 或者，可使用此項技術中已知的其他連接基團。

[0278] 另外或替代將RNAi劑連接至一或多個靶向配位體、靶向基團及/或PK/PD調節劑，在一些實施例中，遞送劑可用於將RNAi劑遞送至細胞或組織。遞送劑為可改良向細胞或組織遞送RNAi劑之化合物，且可包括但不限於以下各者或由以下各者組成：聚合物，諸如兩親聚合物、膜活性聚合物、肽、蜂毒素肽、蜂毒素樣肽(MLP)、脂質、可逆修飾之聚合物或肽或可逆修飾之膜活性多元胺。

[0279] 在一些實施例中，RNAi劑可與脂質、奈米粒子、聚合物、脂質體、微胞、DPC或此項技術中可利用之其他遞送系統組合。RNAi劑亦可以化學方式結合至靶向基團、脂質(包括(但不限於)膽固醇及膽固醇衍生物)、奈米粒子、聚合物、脂質體、微胞、DPC (參見例如WO 2000/053722、WO 2008/022309、WO 2011/104169及WO 2012/083185、WO 2013/032829、WO 2013/158141，其中每一者以引用之方式併入本文中)或此項技術中可用之其他遞送系統。

【0280】 **醫藥組合物**

【0281】 在一些實施例中，本發明提供醫藥組合物，該醫藥組合物包括一或多種包含本文所揭示之RNAi劑之遞送載體、由其組成或基本上由其組成。

【0282】 如本文所用，「醫藥組合物」包含藥理學有效量之活性醫藥成分(API)及視情況選用之一或多種醫藥學上可接受之賦形劑。醫藥學上可接受之賦形劑(賦形劑)為有意包括於藥物遞送系統中之除活性醫藥成分(API，治療性產品)外之物質。賦形劑在預定劑量下不發揮或不意欲發揮治療作用。賦形劑可用於a)在製造期間輔助加工藥物遞送系統，b)保護、支持或增強API之穩定性、生物可用性或患者接受性，c)有助於產品鑑別，及/或d)在儲存或使用期間增強API遞送之總體安全性、有效性之任何其他屬性。醫藥學上可接受之賦形劑可為或可不為惰性物質。

【0283】 賦形劑包括(但不限於)：吸收增強劑、抗黏劑、消泡劑、抗氧化劑、黏合劑、緩衝劑、載劑、包衣劑、顏料、遞送增強劑、遞送聚合物、葡聚糖、右旋糖、稀釋劑、崩解劑、乳化劑、增量劑、填充劑、調味劑、滑動劑、保濕劑、潤滑劑、油類、聚合物、防腐劑、生理鹽水、鹽、溶劑、糖類、懸浮劑、持續釋放基質、甜味劑、增稠劑、張力劑、媒劑、驅水劑及濕潤劑。

【0284】 本文所述之醫藥組合物可含有醫藥組合物中常見之其他額外組分。在一些實施例中，額外組分為醫藥學活性物質。醫藥學活性物質包括(但不限於)：止癢劑、收斂劑、局部麻醉劑或消炎劑(例如抗組胺劑、苯海拉明(diphenhydramine)等)、小分子藥物、抗體、抗體片段、適體及/或疫苗。

【0285】 醫藥組合物亦可含有防腐劑、增溶劑、穩定劑、潤濕劑、乳化劑、甜味劑、著色劑、氣味劑、用於改變滲透壓之鹽、緩衝劑、包衣劑或抗氧化劑。其亦可含有其他有已知治療益處之藥劑。

【0286】 醫藥組合物可視所需局部還是全身治療及待治療之區域而定以多種方式投與。可藉由此項技術中通常已知之任何方式進行投與，諸如(但不限於)局部(例如藉由經皮貼片)、經肺(例如藉由吸入或吹入粉劑或氣霧劑，包括藉由霧化器、氣管內、鼻內)、表皮、經皮、經口或非經腸。非經腸投與包括(但不限於)靜脈內、動脈內、皮下、腹膜內或肌肉內注射或輸注；皮下(例如經由植入裝置)、顱內、腦實質內、鞘內及室內投與。在一些實施例中，藉由皮下注射投與本文所述之醫藥組合物。醫藥組合物可例如以錠劑、包衣錠劑、糖衣藥丸、硬或軟明膠膠囊、溶液、乳液或懸浮液之形式經口投與。亦可經直腸進行投與，例如使用栓劑；局部或經皮投與，例如使用軟膏、乳膏、凝膠或溶液；或非經腸投與，例如使用可注射溶液。

【0287】 適於可注射使用之醫藥組合物包括無菌水溶液(在水溶性情況下)或分散液及用於臨時製備無菌可注射溶液或分散液之無菌粉末。對於靜脈內投與，適合之載劑包括生理鹽水、抑菌水、Cremophor® EL (BASF, Parsippany, N.J.)或磷酸鹽緩衝鹽水。其在製造及儲存條件下應為穩定的，且應抵抗微生物(諸如細菌及真菌)之污染作用。載劑可為含有例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇及液體聚乙二醇)及其適合混合物之溶劑或分散介質。舉例而言，可藉由使用包衣(諸如卵磷脂)、在分散液之情況下藉由維持所需粒徑及藉由使用界面活性劑來維持適當之流動性。在許多情況下，組合物中將較佳包括等滲劑，例如糖、多元醇(諸如

甘露醇、山梨糖醇)及氯化鈉。可注射組合物中之延長吸收可藉由在組合物中包括例如單硬脂酸鋁及明膠之吸收延遲劑來實現。

【0288】 無菌可注射溶液可藉由以下方法來製備：將所需量之活性化合物與上文所列舉之成分中之一種或組合一起併入適當溶劑中，視需要繼而進行過濾滅菌。一般地，分散液係藉由將活性化合物併入含有鹼性分散介質及來自上文所列舉之彼等成分之所需其他成分的無菌媒劑中來製備。在用於製備無菌可注射溶液之無菌粉末之情況下，製備方法包括真空乾燥及冷凍乾燥，其產生活性成分加來自其先前無菌過濾溶液之任何額外所需成分的粉末。

【0289】 適用於關節內投與之調配物可呈本文所述之任一種配位體之無菌水性製劑的形式，其可呈微晶形式，例如呈水性微晶懸浮液之形式。脂質調配物或生物可降解聚合物系統亦可用於呈遞用以關節內與經眼投與之本文所述之任一種配位體。

【0290】 活性化合物可用將防止化合物自體內快速消除之載劑製備，諸如控制釋放型調配物，包括植入物及微膠囊化遞送系統。可使用生物可降解的生物相容性聚合物，諸如乙烯乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、膠原蛋白、聚原酸酯及聚乳酸。用於製備此類調配物之方法為熟習此項技術者顯而易見的。脂質體懸浮液亦可用作醫藥學上可接受之載劑。此等物質可根據熟習此項技術者已知之方法製備，例如美國專利第4,522,811號中所描述。

【0291】 醫藥組合物可含有醫藥組合物中常見之其他額外組分。此類額外組分包括(但不限於)：止癢劑、收斂劑、局部麻醉劑或消炎劑(例如抗組胺劑、苯海拉明等)。如本文所用，「藥理學有效量」、「治療有

效量」或簡單地「有效量」係指產生藥理學、治療性或預防性結果之醫藥學活性劑之量。

【0292】 含有包含RNAi劑之遞送載體之藥物亦為本發明之一個目標，用於製造此類藥物之方法亦如此，該等方法包含使含有RNAi劑且在必要時含有一或多種具有已知治療益處之其他物質的一或多種遞送載體成為醫藥學上可接受之形式。

【0293】 所述的包含RNAi劑之遞送載體及包含本文所揭示之包含RNAi劑之遞送載體的醫藥組合物可封裝或包括於套組、容器、包裝或分配器中。包含RNAi劑之遞送載體及包括包含RNAi劑之遞送載體之醫藥組合物可封裝於預填充之注射器或小瓶中。

【0294】 治療方法及表現抑制

【0295】 本文所揭示之包含RNAi劑之遞送載體可用於治療患有將得益於RNAi劑投與之疾病或病症的個體(例如人類或其他哺乳動物)。在一些實施例中，本文所揭示之包含RNAi劑之遞送載體可用於治療將得益於mRNA及/或目標蛋白表現量減少及/或抑制的個體(例如人類)，例如已診斷患有或罹患與肌肉萎縮症相關之症狀的個體。

【0296】 在一些實施例中，向個體投與治療有效量之一或多種本文所揭示之包含RNAi劑之遞送載體。個體之治療可包括治療性及/或防治性治療。個體可為人類、患者或人類患者。個體可為成年人、青少年、兒童或嬰兒。本文所述之醫藥組合物可對人類或動物投與。

【0297】 本文所述之包含RNAi劑之遞送載體可用於治療患有與目標基因相關之疾病或病症或患有至少部分地由目標基因表現介導之疾病或病症之個體的至少一種症狀。在一些實施例中，包含RNAi劑之遞送載體

用於治療或管理患有將得益於目標mRNA減少或至少部分地由目標mRNA減少介導之疾病或病症之個體的臨床表現。向個體投與治療有效量的一或多種包含RNAi劑之遞送載體或包含本文所述之遞送載體的組合物。在一些實施例中，本文所揭示之方法包含向待治療之個體投與包含本文所述之包含RNAi劑之遞送載體的組合物。在一些實施例中，向個體投與防治有效量之任一種或多種所述的包含RNAi劑之遞送載體，從而藉由預防或抑制至少一個症狀來治療個體。

【0298】 在某些實施例中，本發明提供用於治療有需要之患者的至少部分地由目標基因表現介導之疾病、病症、病狀或病理學病況的方法，其中該等方法包括向該患者投與任一種本文所述之包含RNAi劑之遞送載體。

【0299】 在一些實施例中，遞送載體所投與之個體中的目標基因之基因表現量及/或mRNA含量相對於投與遞送載體之前的個體或未接受遞送載體之個體降低至少約30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、95%、96%、97%、98%、99%或超過99%。在個體之細胞、細胞群及/或組織中，個體中之基因表現量及/或mRNA含量可降低。

【0300】 在一些實施例中，遞送載體所投與之個體中的蛋白質含量相對於投與遞送載體之前的個體或未接受遞送載體之個體降低至少約30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或超過99%。在個體之細胞、細胞群、組織、血液及/或其他體液中，個體中之蛋白質含量可減少。

【0301】 mRNA含量及蛋白質含量之降低可藉由此項技術中已知之任何方法來評估。如本文所用，mRNA含量及/或蛋白質含量之減少或降低在本文中統稱為目標基因之減少或降低或目標基因表現之抑制或減少。本文所闡述之實例說明用於評定基因表現之抑制的已知方法。

【0302】 在一些實施例中，包含RNAi劑之遞送載體可用於製備供治療至少部分地由目標基因表現介導之疾病、病症或症狀用的醫藥組合物。在一些實施例中，至少部分地由目標基因表現介導之疾病、病症或症狀為肌肉萎縮症。

【0303】 在一些實施例中，治療個體之方法視個體之體重而定。在一些實施例中，包含RNAi劑之遞送載體可以每公斤個體體重約0.05 mg至約40.0 mg之劑量投與。在其他實施例中，包含RNAi劑之遞送載體可以每公斤個體體重約5 mg至約20 mg之劑量投與。

【0304】 在一些實施例中，包含RNAi劑之遞送載體可以分次劑量投與，意謂在短(例如小於24小時)時間段內向個體給予兩次劑量。在一些實施例中，在初次投藥中投與所需日劑量之大約一半，且在初次投藥之後大致四小時投與所需日劑量之剩餘大約一半。

【0305】 在一些實施例中，包含RNAi劑之遞送載體可一週投與一次(亦即，每週一次)。在其他實施例中，包含RNAi劑之遞送載體可兩週投與一次(每隔一週一次)。

【0306】 在一些實施例中，包含RNAi劑之遞送載體或含有包含RNAi劑之遞送載體的組合物可用於治療至少部分地由目標基因表現介導之疾病、病症或症狀。在一些實施例中，至少部分地由目標基因表現介導之疾病、病症或症狀為肌肉萎縮症。

【0307】 **細胞、組織及非人類生物體**

【0308】 涵蓋包括至少一種本文所述之RNAi劑之細胞、組織及非人類生物體。藉由此項技術中可利用之任何方式將RNAi劑遞送至細胞、組織或非人類生物體來製得細胞、組織或非人類生物體。在一些實施例中，細胞為哺乳動物細胞，包括(但不限於)人類細胞。

【0309】 上文所提供之實施例及項目現藉由以下非限制性實例說明。

【0310】 **實例**

【0311】 以下實例非限制性的且意欲說明本文所揭示之某些實施例。

【0312】 除非另外明確說明，否則用以指既定實例及/或反應流程之化合物僅僅在提及特定實例及/或反應流程時製成，而非本文所揭示之任何其他實例及/或反應流程。舉例而言，實例4中「合成LP1-p」之化合物1不同於且並非指實例4中「合成LP-5p」之化合物1。類似地，應瞭解，本文所揭示之特定化合物可藉由不同實例及/或反應流程中之不同編號鑑別。舉例而言，實例4中「合成LP223-p」之化合物12與實例4中「合成LP224-p」之化合物3相同。

【0313】 表24：實例中使用之一些常用縮寫

名稱	縮寫
三乙胺	TEA、NEt_3
二氯甲烷	DCM、CH_2Cl_2
乙酸乙酯	EA、EtOAc
己烷	Hex
甲醇	MeOH
乙腈	ACN、MeCN

三氟乙酸	TFA
乙酸	AcOH
芴基甲氧羰基	FMOC
三級丁氧羰基	BOC
二甲基甲醯胺	DMF
甲苯	PhMe、Tol.
1-乙基-3-(3-二甲基胺基丙基)碳化二亞胺	EDC
三異丙基矽烷	TIS、TIPS
四氟硼酸2-(1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基銨	TBTU
N,N-二異丙基乙胺	DIPEA、DIEA、*i*-Pr_2NEt
六氟磷酸2-(1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基鎓	HBTU
1-氰基-2-乙氧基-2-側氧基亞乙基胺氧基)二甲基胺基-N-嗎啉基-碳正離子六氟磷酸鹽	COMU
1-[雙(二甲胺基)亞甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化物六氟磷酸鹽	HATU
N-羥基丁二醯亞胺	NHS
二苯并環辛炔	DBCO
三(2-呋喃基)膦	TFP
四氫呋喃	THF
鹽酸	HCl
碘甲烷	MeI、CH_3I
4-二甲基胺基吡啶	DMAP
間氯過氧苯甲酸	mCPBA
二硫化碳	CS_2
氫氧化鈉	NaOH
當量	Eq、Equiv
無水	Anhyd
水溶液	Aq

【0314】 應瞭解，除非另外明確說明，否則在本文中之實例中使用術語「EDC」係指可商購之EDC鹽酸鹽。

【0315】 **實例1. RNAi劑及組合物之合成**

【0316】 以下描述合成本文所闡述之非限制性實例中所說明之某些RNAi劑及其結合物的通用程序。

【0317】 *RNAi劑之合成.* RNAi劑可使用此項技術中一般已知之方法合成。對於本文所闡述之實例中所說明之RNAi劑之合成，RNAi劑之有義股及反義股係根據基於寡核苷酸合成中所用之固相胺基亞磷酸酯技術合成。視規模而定，使用MerMade96E® (Bioautomation)、MerMade12® (Bioautomation)或Oligopilot 100 (GE Healthcare)。在由受控微孔玻璃(CPG，500 Å或600 Å，獲自Prime Synthesis, Aston, PA, USA)或聚苯乙烯(獲自Kinovate, Oceanside, CA, USA)製成的固體支撐物上進行合成。所有RNA及2'-修飾之RNA胺基亞磷酸酯均購自Thermo Fisher Scientific (Milwaukee, WI, USA)、ChemGenes (Wilmington, MA, USA)或Hongene Biotech (Morrisville, NC, USA)。特定言之，所使用之以下2'-O-甲基胺基亞磷酸酯包括以下：(5'-O-二甲氧基三苯甲基-N^6-(苯甲醯基)-2'-O-甲基-腺苷-3'-O-(2-氰基乙基-N,N-二異丙胺基)胺基亞磷酸酯、5'-O-二甲氧基-三苯甲基-N^4-(乙醯基)-2'-O-甲基-胞苷-3'-O-(2-氰基乙基-N,N-二異丙基-胺基)胺基亞磷酸酯、(5'-O-二甲氧基三苯甲基-N^2-(異丁醯基)-2'-O-甲基-鳥苷-3'-O-(2-氰基乙基-N,N-二異丙胺基)胺基亞磷酸酯及5'-O-二甲氧基三苯甲基-2'-O-甲基-尿苷-3'-O-(2-氰基乙基-N,N-二異丙胺基)胺基亞磷酸酯。2'-去氧-2'-氟-胺基亞磷酸酯及2'-O-炔丙基胺基亞磷酸酯攜有與2'-O-甲基胺基亞磷酸酯相同的保護基。5'-二甲氧基三苯甲基-2'-O-甲

基-肌苷-3'-O-(2-氰基乙基-N,N-二異丙胺基)胺基亞磷酸酯係購自Glen Research (Virginia)。反向無鹼基(3'-O-二甲氧基三苯甲基-2'-去氧核糖-5'-O-(2-氰基乙基-N,N-二異丙胺基)胺基亞磷酸酯係購自ChemGenes。使用之以下UNA胺基亞磷酸酯包括以下：5'-(4,4'-二甲氧基三苯甲基)-N6-(苯甲醯基)-2',3'-開環-腺苷、2'-苯甲醯基-3'-[(2-氰基乙基)-(N,N-二異丙基)]-胺基亞磷酸酯、5'-(4,4'-二甲氧基三苯甲基)-N-乙醯基-2',3'-開環-胞嘧啶、2'-苯甲醯基-3'-[(2-氰基乙基)-(N,N-二異丙基)]-胺基亞磷酸酯、5'-(4,4'-二甲氧基三苯甲基)-N-異丁醯基-2',3'-開環-鳥苷、2'-苯甲醯基-3'-[(2-氰基乙基)-(N,N-二異丙基)]-胺基亞磷酸酯及5'-(4,4'-二甲氧基-三苯甲基)-2',3'-開環-尿苷、2'-苯甲醯基-3'-[(2-氰基乙基)-(N,N-二異丙基)]-胺基亞磷酸酯。為引入硫代磷酸酯鍵聯，採用3-苯基1,2,4-二噻唑啉-5-酮(POS，獲自PolyOrg, Inc., Leominster, MA, USA)於無水乙腈中之100 mM溶液或氫化黃原素(TCI America, Portland, OR, USA)於吡啶中之200 mM溶液。

【0318】 亦商購TFA胺基連接胺基亞磷酸酯(ThermoFisher)以引入(NH2-C6)反應性基團連接子。將TFA胺基連接胺基亞磷酸酯溶解於無水乙腈(50 mM)中且添加分子篩(3Å)。5-苯甲硫基-1H-四唑(BTT，250 mM於乙腈中)或5-乙硫基-1H-四唑(ETT，250 mM於乙腈中)用作活化劑溶液。偶合時間為10分鐘(RNA)、90秒(2'O-Me)及60秒(2' F)。合成含三炔烴之胺基亞磷酸酯以引入各別(TriAlk#)連接子。當與本文中某些實例中所呈現之RNAi劑結合使用時，將含三炔烴之胺基亞磷酸酯溶解於無水二氯甲烷或無水乙腈(50 mM)中，而將所有其他胺基酸酯溶解於無水乙腈(50 mM)中，且添加分子篩(3Å)。5-苯甲硫基-1H-四唑(BTT，250 mM於

乙腈中)或5-乙硫基-1H-四唑(ETT，250 mM於乙腈中)用作活化劑溶液。偶合時間為10分鐘(RNA)、90秒(2'O-Me)及60秒(2' F)。

【0319】 對於一些RNAi劑，在有義股之3'末端處引入連接子，諸如C6-SS-C6或6-SS-6基團。商業上獲得具有各別連接子之預裝載樹脂。或者，對於一些有義股，使用dT樹脂且接著經由標準胺基亞磷酸酯合成添加各別連接子。

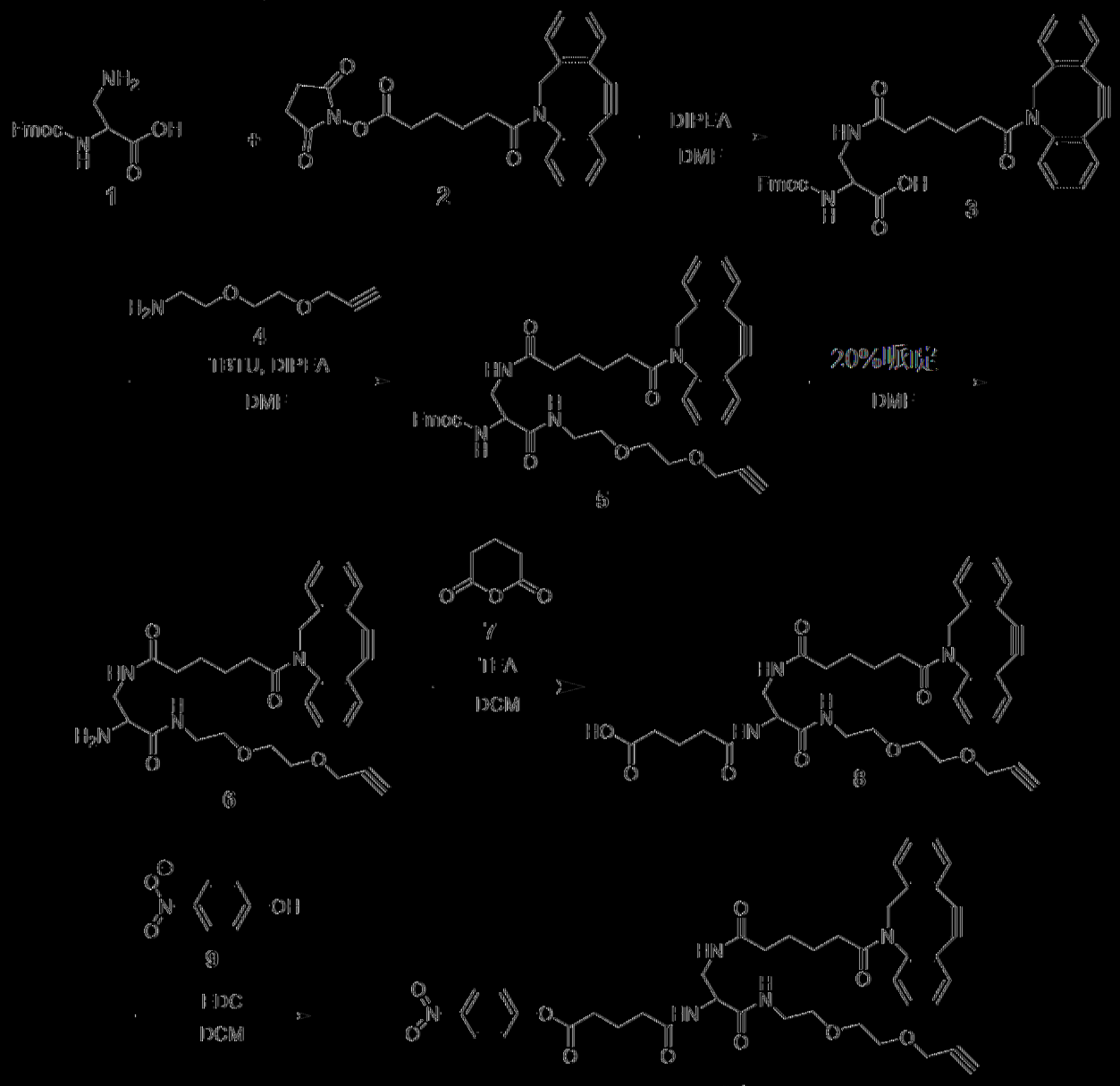
【0320】 *支撐物結合寡聚物之裂解及脫除保護基.*完成固相合成之後，在30℃下將經乾燥之固體支撐物用40重量(wt.)%甲胺水溶液與28%至31%氫氧化銨溶液(Aldrich)之1:1體積溶液處理1.5小時。將溶液蒸發且固體殘餘物於水中復原(參見下文)。

【0321】 *純化.* 藉由陰離子交換HPLC使用TSKgel® SuperQ-5PW 13μm管柱(可自Tosoh Biosciences獲得)及Shimadzu LC-8系統來純化粗寡聚物。緩衝液A為20 mM Tris、5 mM EDTA pH 9.0且含有20%乙腈，且緩衝液B與緩衝液A相同，且添加1.5 M氯化鈉。在260 nm下記錄UV跡線。彙集適當溶離份，接著在尺寸排阻HPLC上，使用裝填有Sephadex® G25細粒之GE Healthcare XK 16/40管柱，用100 mM碳酸氫銨pH 6.7及20%乙腈或過濾水之操作緩衝液來操作。

【0322】 *黏接.* 藉由將等莫耳RNA溶液(有義股及反義股)合併於1×PBS (磷酸鹽緩衝鹽水，1×，Corning®、Cellgro®)中來混合互補股以形成RNAi劑。將一些RNAi劑凍乾且儲存於−15℃至−25℃下。藉由經UV-Vis光譜儀量測1×PBS中之溶液吸光度來測定雙螺旋體濃度。隨後將260 nm溶液吸光度乘以換算因數及稀釋因數以測定雙螺旋體濃度。所用換算因數為0.037 mg/(mL·cm)或自以實驗方式測定之消光係數計算。

[0323] 實例2. 合成鏈聯其團

[0324] 合成L1



[0325] 將化合物1 (423 mg)及化合物2 (516 mg)一起溫合在DMF中，且添加DIPEA (0.26 ml)。將反應溫合物攪拌隔夜。產物經由正相管柱層析法分離，得到450 mg化合物3。

[0326] 將化合物3 (450 mg，1當量)及化合物4 (0.12 ml，1.2當量)、TBTU (248 mg，1.1當量)及DIPEA (0.183 ml，1.5當量)一起溫合在DMF中。將反應溫合物攪拌隔夜。產物經由正相管柱層析法分離，得到

化合物5。

[0327] 將化合物5用含20%哌啶之DMF處理半小時。產物經由正相管柱層析法分離，得到化合物6。

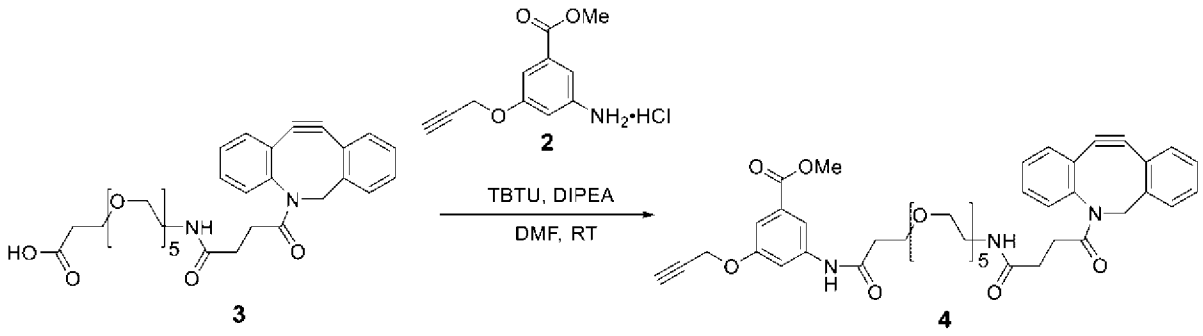
[0328] 將化合物6 (93 mg，1當量)及7 (25.9 mg，1.3當量)、TEA (0.045 ml，2當量)一起混合在DCM中。將反應混合物攪拌隔夜。向此混合物添加化合物9 (57mg)及EDC (72 mg)。將反應混合物攪拌隔夜。產物經由正相管柱層析法分離，得到化合物L1 (100 mg)。

[0329] 合成L2

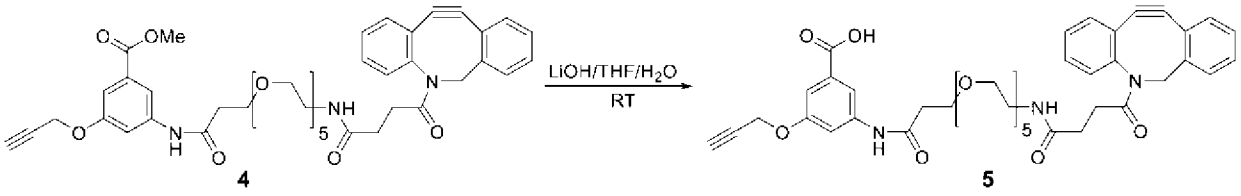


[0330] 在室溫下向化合物1 (1.69 g，6.3 mmol)及炔丙基溴(1.499 g，1.4 mL，d：1.57 g/mL，12.6 mmol)於丙酮(50 mL)中之溶液添加K_2CO_3 (3.477 g，25.2 mmol)。將反應混合物攪回流拌3小時(小時)。在起始物質耗盡後，將反應混合物真空濃縮，且用EA/乙烷/DCM (各30 mL)溶解且過濾。將母液濃縮，且殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相來純化且用乙烷中EtOAc (0-50%)之梯度溶離。產物產量：0.438 g (23%)。$C_{16}H_{18}NO_5$之[M+H]計算值: 304.12, 實驗值: 304.46。

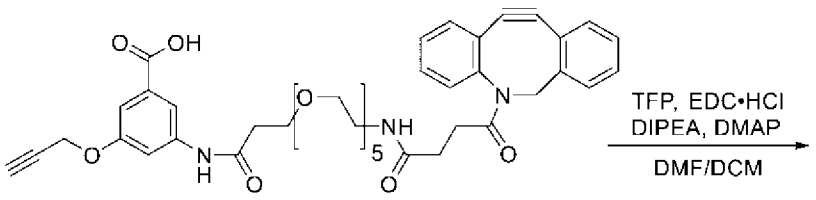
[0331] 在室溫下使以上反應之產物(438 mg)溶於4 M HCl之二噁烷溶液中，歷時5小時，且藉由LC-MS監測反應混合物，確轉化50%。將混合物短暫離心且過濾。接著，將2 mL TFA添加至固體中，且如藉由LC-MS監測，起始物質在2小時後耗盡。將混合物真空濃縮。化合物2產量：333 mg，固體，96%。$C_{11}H_{12}NO_3$之[M+H]計算值: 206.08, 實驗值: 206.26。



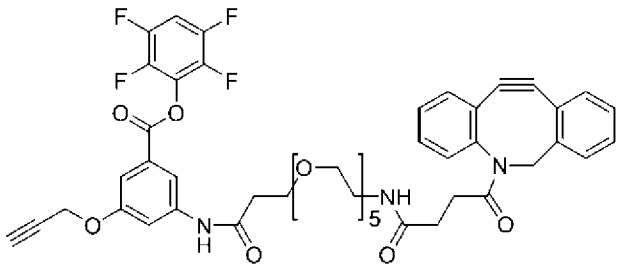
【0332】向TBTU (22.5 mg，0.07 mmol)、DBCO-PEG5-酸**3** (50 mg，0.084 mmol)、*N,N*-二異丙基乙胺(27 mg，36 μL，d = 0.742 g/mL，0.21 mmol)於DMF (0.8 mL)中之溶液添加**2** (16.8 mg，0.07 mmol)。將反應混合物在室溫下攪拌。在藉由LC-MS證實所有起始物質耗盡後，反應混合物藉由2 mL飽和$NaHCO_3$水溶液淬滅且用乙酸乙酯(10 mL × 3)萃取。將合併之有機層依次用HCl (水溶液)及鹽水洗滌，經Na_2SO_4乾燥，且真空濃縮。粗產物裝載至二氧化矽管柱且純化(MPA：DCM，MPB：DCM中10% MeOH，30分鐘(分鐘)內0-30%上升)，得到化合物**4**。產量：76.5 mg，99%。$C_{43}H_{50}N_3O_{11}$之[M+H]計算值: 784.34, 實驗值: 784.83。



【0333】使化合物**4**溶於0.3 mL THF/H_2O (2:1 v/v)中且將55.6 mg LiOH添加至反應混合物中。在室溫下攪拌隔夜後，反應混合物經短矽膠墊過濾。將濾液收集且真空濃縮。粗產物裝載至二氧化矽管柱且純化(MPA：DCM，MPB：DCM中10% MeOH，30分鐘內0-50%上升)，得到產物。產量：42.9 mg。$C_{42}H_{48}N_3O_{11}$之[M+H]計算值: 770.33, 實驗值: 770.91。



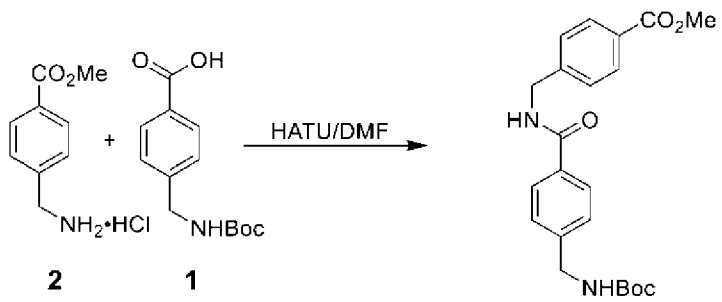
5



L2

【0334】 向**5** (43 mg，0.056 mmol)、2,3,5,6-四氟苯酚(46.5 mg，0.28 mmol)及*N*,*N*-二異丙基乙胺(144.5 mg，0.19 mL，d = 0.742 g/mL，1.12 mmol)於DCM (2 mL)中之溶液添加EDC鹽酸鹽(53.5 mg，0.28 mmol)。將反應混合物在室溫下攪拌。在藉由LC-MS證實所有起始物質耗盡後，將反應混合物藉由凍乾濃縮，且裝載至二氧化矽管柱且純化(MPA：DCM，MPB：DCM中20% MeOH，30分鐘內0-30%上升)，得到產物**L2**。產量：12 mg，23%。$C_{48}H_{48}F_4N_3O_{11}$之[M+H]計算值: 918.32，實驗值: 918.89。

【0335】 **合成L3**

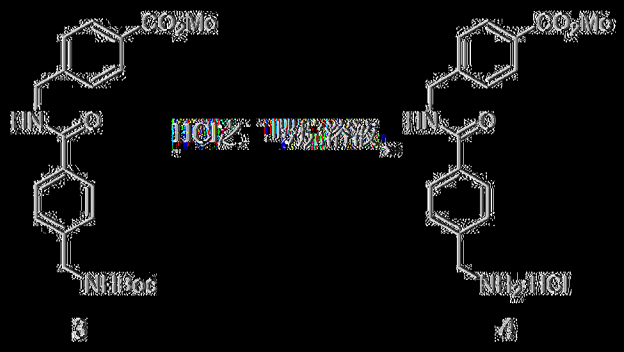


2 **1**

3

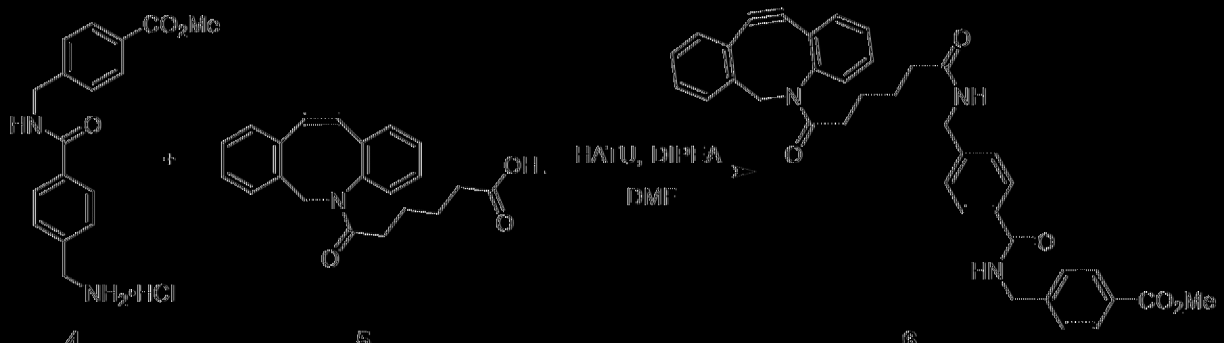
【0336】 向酸**1** (1.2461 g，4.9591 mmol)、HATU (2.2613 g，5.9509 mmol)及DIPEA (2.3030 g，3.1 mL，d = 0.742 g/mL，17.8527

mmol，3當量)於DMF (4 mL)中之溶液添加胺2 (1 g，4.9591 mmol)/DMF (1 mL)。將反應混合物在室溫下攪拌。在藉由LC-MS證實所有起始物質耗盡後，將反應混合物藉由凍乾濃縮，裝載至二氧化矽管柱，且純化(MPA：DCM，MPB：DCM中10% MeOH，30分鐘內0-30%上升)，得到化合物3。產量：1.3269 g，67%。$C_{22}H_{27}N_2O_5$之[M+H]計算值：399.19，實驗值：399.39。



3 4

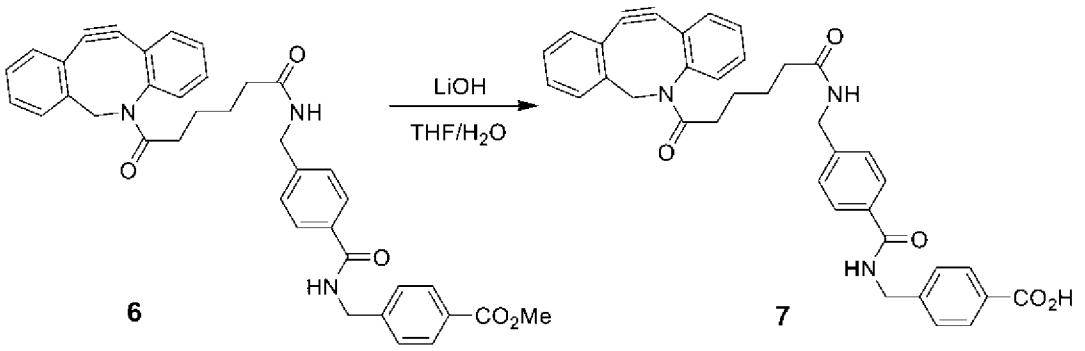
[0337] 向4 M HCl之二噁烷溶液添加化合物3 (1.3269 g)。在室溫下攪拌1小時後，起始物質完全耗盡。藉由簡單過濾得到呈白色固體狀之化合物4。產量，630 mg，63%。$C_{17}H_{19}N_2O_3$之[M+H]計算值：299.14，實驗值：299.34。



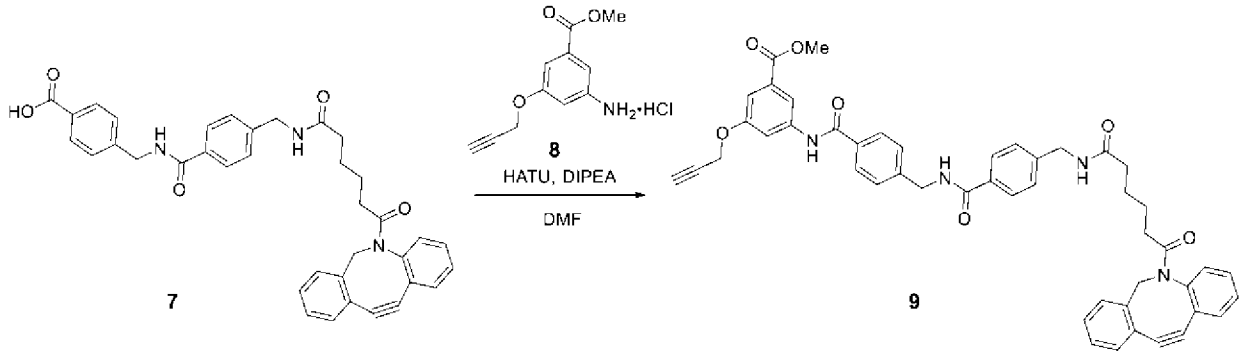
4 5 6

[0338] 向DBCO-酸5 (0.1993 g，0.5979 mmol)、HATU (0.2726 g，0.7175 mmol，1.2當量)、DIPEA (0.1851 g，0.249 mL，d：0.742 g/mL，1.435 mmol，2當量)於DMF (0.3 mL)中之溶液添加化合物4 (0.2 g，0.5979 mmol)/DMF(0.3 mL)。將反應混合物在室溫下攪拌。在藉由

LC-MS證實所有起始物質耗盡後，將反應混合物在凍乾下濃縮，裝載至二氧化矽管柱，且純化(MPA：DCM，MPB：DCM中20% MeOH，30分鐘內0-30%上升)，得到化合物**6**。產量：0.3297 g，90%。$C_{38}H_{36}N_3O_5$之[M+H]計算值: 614.26, 實驗值: 614.51。

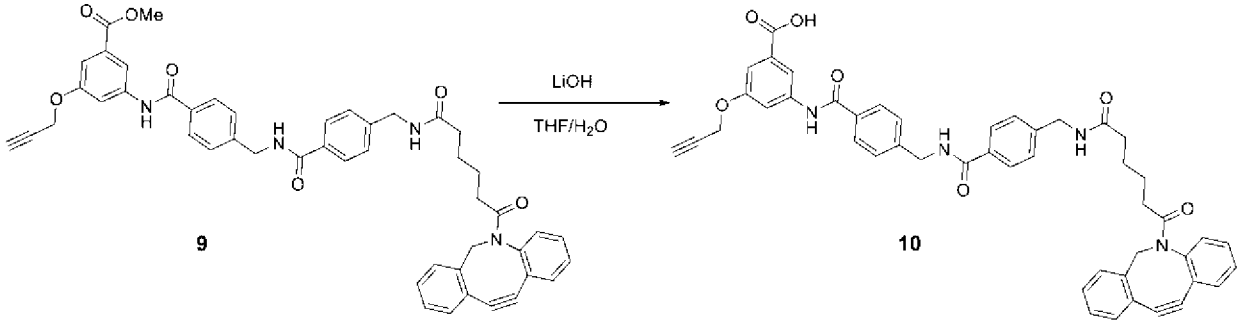


【0339】向化合物**6**於THF/水(4 mL，1:1 v/v)中之溶液添加LiOH (0.0387 g，1.6117 mmol)。將反應混合物在室溫下攪拌。在藉由LC-MS證實所有起始物質耗盡後，添加HCl (1.6 mmol，4M，0.4 mL)之二噁烷溶液以中和鹼。將反應混合物藉由凍乾濃縮，裝載至二氧化矽管柱，且純化(MPA：DCM，MPB：DCM中10% MeOH，30分鐘內0-50%上升)，得到化合物**7**。產量：0.2575 g，80%。$C_{37}H_{34}N_3O_5$之[M+H]計算值: 600.25, 實驗值: 600.46。

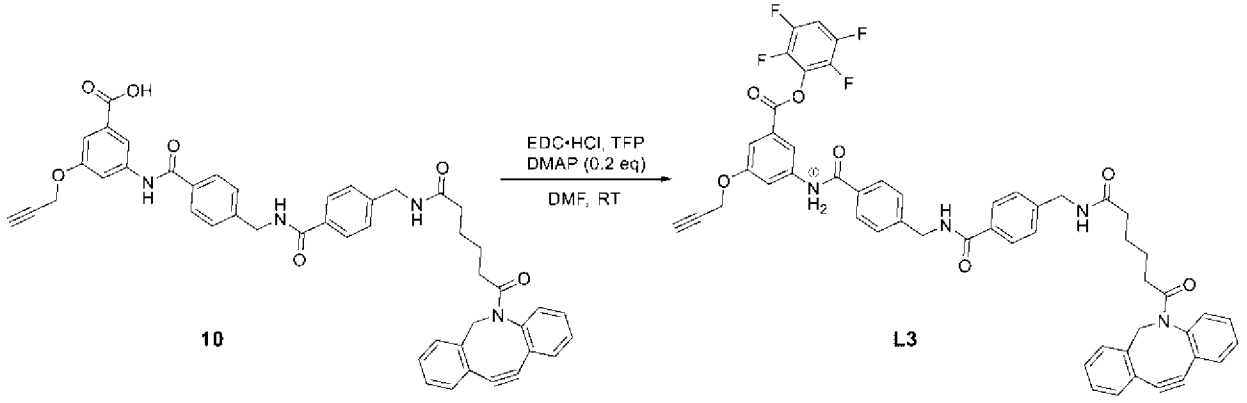


【0340】向酸**7** (0.1241 g，0.2069 mmol)、胺**8** (0.05 g，0.2069 mmol)及DIPEA (0.0961 g，0.129 mL，0.7448 mmol，3當量，d = 0.742 g/mL)於DMF (1.5 mL)中之溶液添加HATU (0.0943 g，0.2483

mmol)/DMF (0.5 mL)。將反應混合物在室溫下攪拌。在起始物質,耗盡之後，將反應混合物真空濃縮。在移除DMF後，使粗產物溶於5 mL DCM中且裝載於利用矽膠作為固定相之管柱(MPA：DCM；MPB：20% MeOH/DCM；30分鐘內0-100%上升)。化合物**9**產量：0.1109 g，68%。$C_{48}H_{43}N_4O_7$之[M+H]計算值: 787.31, 實驗值: 787.44。



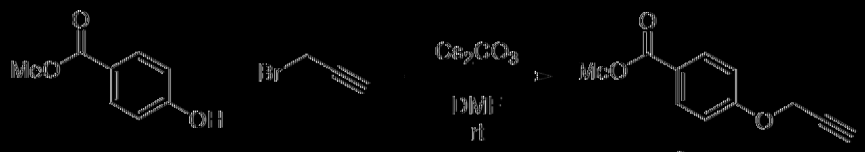
【0341】向DBCO-酯**9**於THF/水(1 mL，1:1 v/v)中之溶液添加LiOH (0.0169 g，0.7047 mmol)。將反應混合物在室溫下攪拌隔夜。在起始物質完全耗盡之後，殘餘物藉由HCl (水溶液)中和且真空濃縮。藉由CombiFlash®純化得到化合物**10**。(MPA：DCM；MPB：20% MeOH/DCM；30分鐘內0-100%上升)，產量：0.0321 g，固體，29%。$C_{47}H_{41}N_4O_7$之[M+H]計算值: 773.30, 實驗值: 773.49。



【0342】向酸**10** (0.0321 g，0.0415 mmol)、TFP (0.0103 g，1.5當量，0.0623 mmol)及DMAP (3 mg，0.0249 mmol)於DMF (0.5 mL)中之溶液添加EDC·HCl (0.0239 g，0.1246 mmol)。將反應混合物在室溫下攪

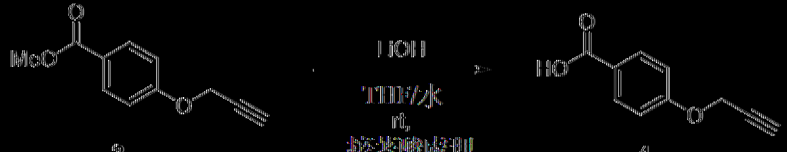
拌。在起始物質耗盡之後，將反應混合物真空濃縮。在移除DMF後，使粗產物溶於5 mL DCM中且裝載於利用矽膠作為固定相之管柱。(MPA：DCM；MPB：20% MeOH/DCM；30分鐘內0-100%上升)。L3產量：20 mg，油狀，50%。$C_{53}H_{41}F_2N_4O_7$之[M+H]計算值：921.29，實驗值：921.85。

[0343] 合成L4



1 2 3

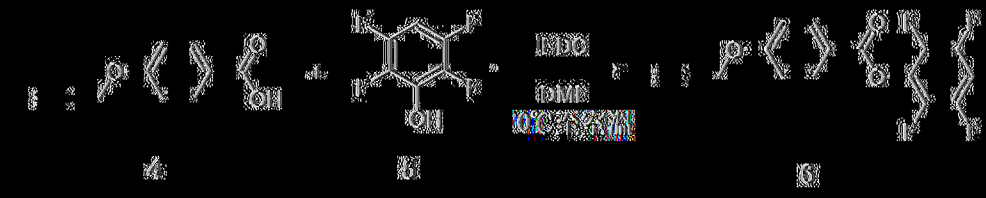
[0344] 在室溫下向化合物1 (3.00 g)於DMF中之溶液添加Cs_2CO_3 (7.71 g)。接著緩慢添加化合物2 (1.85 mL)。將所得反應混合物在N_2 (g)下攪拌隔夜。接著藉由LC-MS證實幾乎完全轉化成期望產物。將反應混合物用$NaHCO_3$ (10 mL)淬滅。將產物用EtOAc (5×10 mL)萃取且接著用水(3×8 mL)及鹽水(8 mL)洗滌。合併之有機相經Na_2SO_4乾燥，過濾，且濃縮。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用己烷至全EtOAc (0-30%)之梯度來純化，其中產物在14% B下溶離。將化合物3真空濃縮，得到白色固體。LC-MS: [M+H]+計算值191.06 m/z，觀測值191.23 m/z。



3 4

[0345] 在室溫下在正常大氣壓下向化合物3 (2.87 g)於1:1 THF/水中之溶液添加LiOH (1.08 g)。將反應混合物攪拌直至藉由LC-MS觀測到化合物3完全轉化。殘餘起始物質經由EtOAc萃取，且接著將水相用6 N HCl酸化至約pH 3。化合物4呈白色固體狀沈澱析出且真空乾燥且用水洗滌。歸因於其濕/黏性，需要溶劑將固體轉移至原地燒瓶；物質經由

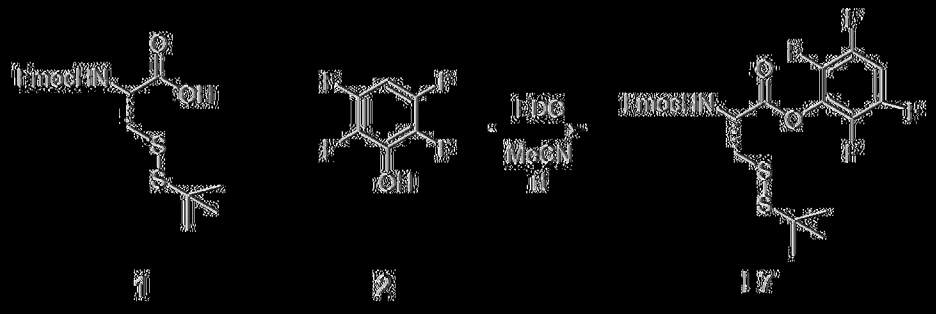
McOH及DCM轉移。歸因於在任一溶劑及組合中溶劑化不佳，物質無法經Na_2SO_4乾燥。將化合物4真空濃縮，得到白色蓬鬆結晶固體且未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+H]+計算值177.05 m/z, 觀測值177.19 m/z。



4 5 6

[0346] 在室溫下在N_2(g)下向化合物4 (1.00 g)及5 (1.04 g)於DMF (10.0 mL)中之溶液添加EDC (1.20 g)。將反應混合物攪拌直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。歸因於在攪拌隔夜後無法成功觀測到產物，將反應混合物用$NaHCO_3$淬滅。經由LC-MS證實所得沈澱含有起始物質且真空乾燥，管試再懸浮於McOH/DCM中，且接著真空濃縮。接著使混合物再溶於DMF中，經Na_2SO_4乾燥，真空過濾，且用DMF沖洗。將EDC再添加至DMF中之濾液(亦即，化合物4及5)中，且將所得混合物在室溫下攪拌隔夜。將反應混合物直接濃縮且與McOH及PhMe共沸以進行分離。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相來純化且用DCM中0-20% McOH溶離。L4在0% B下溶離，得到白色固體。LC-MS: [M+H]+計算值325.04 m/z, 觀測值325.35 m/z。

[0347] 合成L7

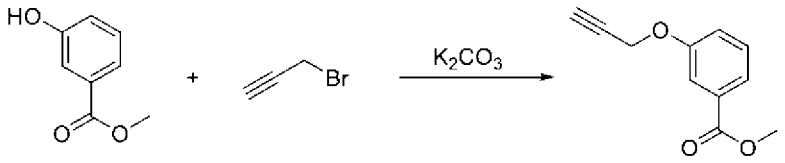


1 2 L7

[0348] 在環境條件下向化合物1 (0.300 g)及2 (0.231 g)於DMF中

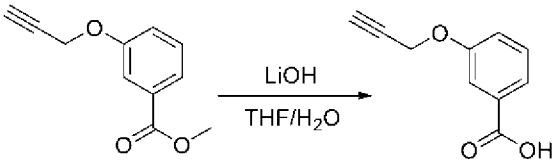
之溶液添加EDC (0.160 g)。將反應混合物攪拌2小時直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。接著濃縮反應混合物。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用己烷至EtOAc (0-30%)之梯度來純化，其中產物在10% B下溶離。將含產物之溶離份真空濃縮，得到呈白色油狀殘餘物之**L7**。產量：0.329 g (81.6%)。LC-MS: [M+H]+計算值580.12 m/z, 觀測值580.56 m/z。

【0349】 **合成L8**



1 **2** **3**

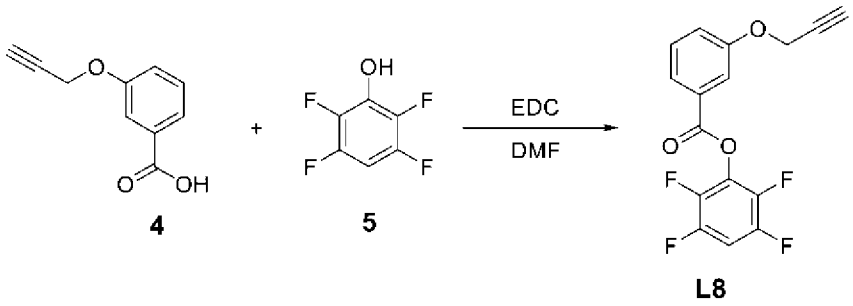
【0350】 在室溫下向化合物**1** (500 mg，3.286 mmol，1.0當量)及碳酸鉀(908 mg，6.572 mmol，2.0當量)於無水丙酮(5 mL)中之溶液添加化合物**2** (0.549 mL，4.929 mmol，1.5當量)。反應混合物保持在50℃下3小時。將反應混合物用飽和碳酸氫鈉溶液(5 mL)淬滅。將水相用乙酸乙酯(3×5 mL)萃取。合併之有機相經Na_2SO_4乾燥，且濃縮。產物**3**藉由CombiFlash®用己烷中5-10%乙酸乙酯溶離來純化。LC-MS: [M+H]+計算值191.06, 實驗值191.19。



3 **4**

【0351】 在室溫下向化合物**3** (584 mg，3.070 mmol，1.0當量)於THF (5 mL)及水(5 mL)中之溶液添加氫氧化鋰(220 mg，9.211 mmol，3.0當量)。反應混合物保持在40℃下1小時。將反應混合物用HCl溶液淬滅且pH調整至3.0。將水相用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取。合併之有機相經

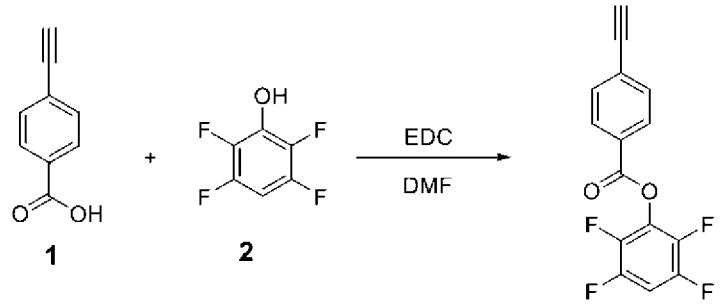
Na_2SO_4乾燥，且濃縮。產物**4**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+H]+計算值177.17, 實驗值177.37。



4 **5** **L8**

【0352】 在室溫下向化合物**4** (185 mg，1.050 mmol，1.0當量)、化合物**5** (218 mg，1.312 mmol，1.25當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液添加EDC HCl (251 mg，1.312 mmol，1.25當量)。反應混合物保持在室溫下2小時。將反應混合物用飽和碳酸氫鈉溶液(5 mL)淬滅。將水相用乙酸乙酯(3×5 mL)萃取。合併之有機相經Na_2SO_4乾燥，且濃縮。產物**L8**藉由CombiFlash®來純化且用己烷中5-10%乙酸乙酯溶離。LC-MS: [M+H]+計算值325.04, 實驗值325.26。

【0353】 **合成L9**



1 **2** **L9**

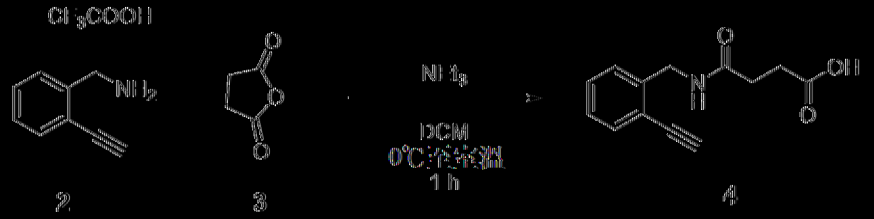
【0354】 在室溫下向化合物**1** (200 mg，1.368 mmol，1.0當量)、化合物2 (284 mg，1.710 mmol，1.25當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液添加EDC HCl (327 mg，1.710 mmol，1.25當量)。反應混合物保持在室溫下2小時。將反應混合物用飽和碳酸氫鈉溶液(5 mL)淬滅。將水相用乙酸乙酯(3×5 mL)萃取。合併之有機相經Na_2SO_4乾燥，且濃縮。產物**L9**藉由

CombiFlash®來純化，用己烷中5-10%乙酸乙酯溶離。LC-MS: [M+H]+計算值295.03，實驗值294.69。

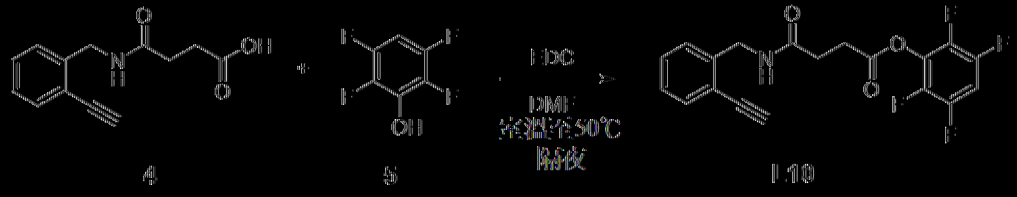
[0355] 合成L10



[0356] 在室溫下向化合物1 (0.200 g)於DCM中之溶液添加TFA (1.99 mL)。將反應混合物在室溫下攪拌1小時直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。反應混合物與PhMe共沸且真空濃縮，得到呈棕色油狀之2。產量：0.309 g (146%)。LC-MS: [M+H]+計算值132.07 m/z，觀測值132.10 m/z。



[0357] 在0℃下向化合物2 (0.212 g)於DCM中之溶液添加3 (0.0865 g)。將混合物攪拌1.5小時且接著升溫至室溫進行攪拌。在0.5小時之後，添加NEt_3，且在0.5小時內，藉由LC-MS證實完全轉化。將反應混合物濃縮。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相來純化，用DCM至DCM中20% MeOH (0-25% B)之梯度溶離。產物在9% B下溶離。濃縮得到呈紫色固體狀之4。產量：0.171 g (85.5%)。LC-MS: [M+H]+計算值232.09 m/z，觀測值232.28 m/z。

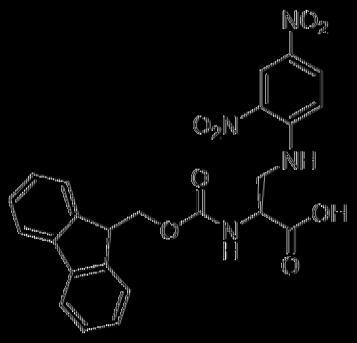


【0358】 在室溫下向化合物**4** (0.0400 g)及**5** (0.0316 g)於DMF中之溶液添加EDC (0.0398 g)。將反應混合物攪拌1小時直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。在1小時後，藉由LC-MS觀測到完全轉化。將反應混合物用$NaHCO_3$ (15 mL)淬滅。將產物用EtOAc (3×8 mL)萃取且用水(3×8 mL)洗滌。合併之有機相經Na_2SO_4乾燥，過濾，且濃縮。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相來純化且用DCM至20% MeOH/DCM (0-25% B)之梯度溶離。產物在6% B下溶離，得到呈白色固體狀之**L10**。產量：0.0255 g (38.9%)。LC-MS: [M+H]+計算值380.08 m/z, 觀測值380.35 m/z。

【0359】 **實例3.** ***靶向配位體之合成***

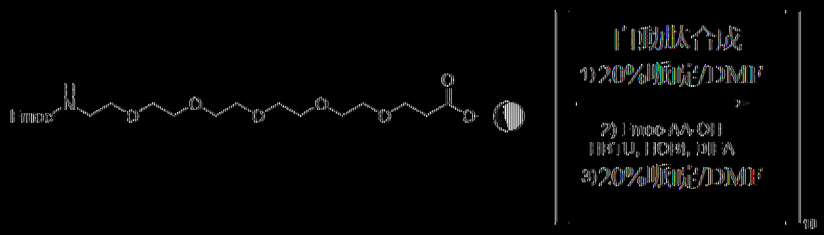
【0360】 使用標準肽合成來合成此實例中之肽。將ChemMatrix® Rink醯胺樹脂置放於燒結聚丙烯注射器中且在DCM中攪拌30分鐘，隨後使用。使用以下標準固相肽合成條件。藉由每1毫莫耳樹脂浸泡40 ml哌啶:DMF溶液(20:80 v/v) 20分鐘進行脫除保護基Fmoc。藉由用DMF中4莫耳當量Fmoc-胺基酸、4莫耳當量HBTU及10莫耳當量二異丙基乙胺以DMF中0.1 M濃度Fmoc-胺基酸浸泡樹脂40分鐘進行醯胺偶合。使用Fmoc-Dap(DNP)-OH將DNP發色團附接至樹脂，且自Dap α-胺合成肽。在TFA溶液中進行自樹脂之裂解，歷時2小時。經由加壓空氣使溶劑減少至10%初始體積且使用Et_2O沈澱。經由TFA及分析型HPLC-MS之微裂解驗證產物特性。接著肽在製備規模Shimadzu HPLC上使用Supelco Discovery® BIO大孔徑C18管柱(25 cm × 21 mm，10 um粒子，可自Sigma Aldrich獲得)用大約1 ml/min之線性梯度溶離而純化至>95%純度。使用配備有Waters®XBridge BEH130 C18管柱(250 mm×6.6 mm，5

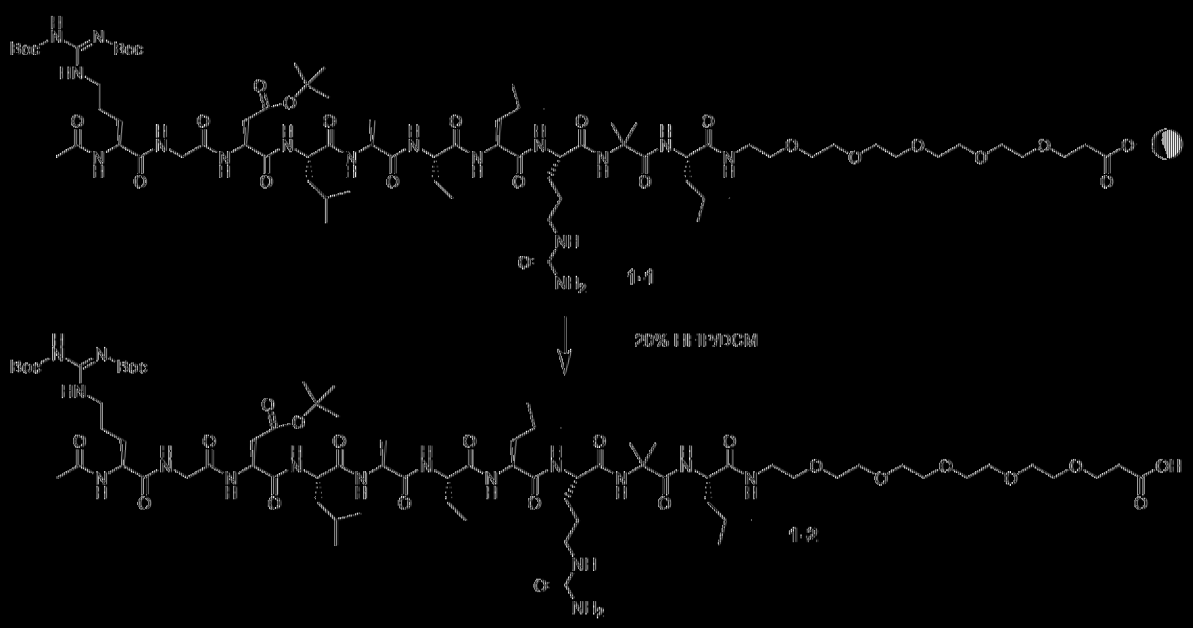
μm粒子)之分析型Shimadzu HPLC使用經50分鐘10-90% B溶劑評估純度。A溶劑表示H_2O:F_3CCO_2H 100:0.1 v/v，B溶劑表示CH_3CN: F_3CCO_2H 100:0.1 v/v。

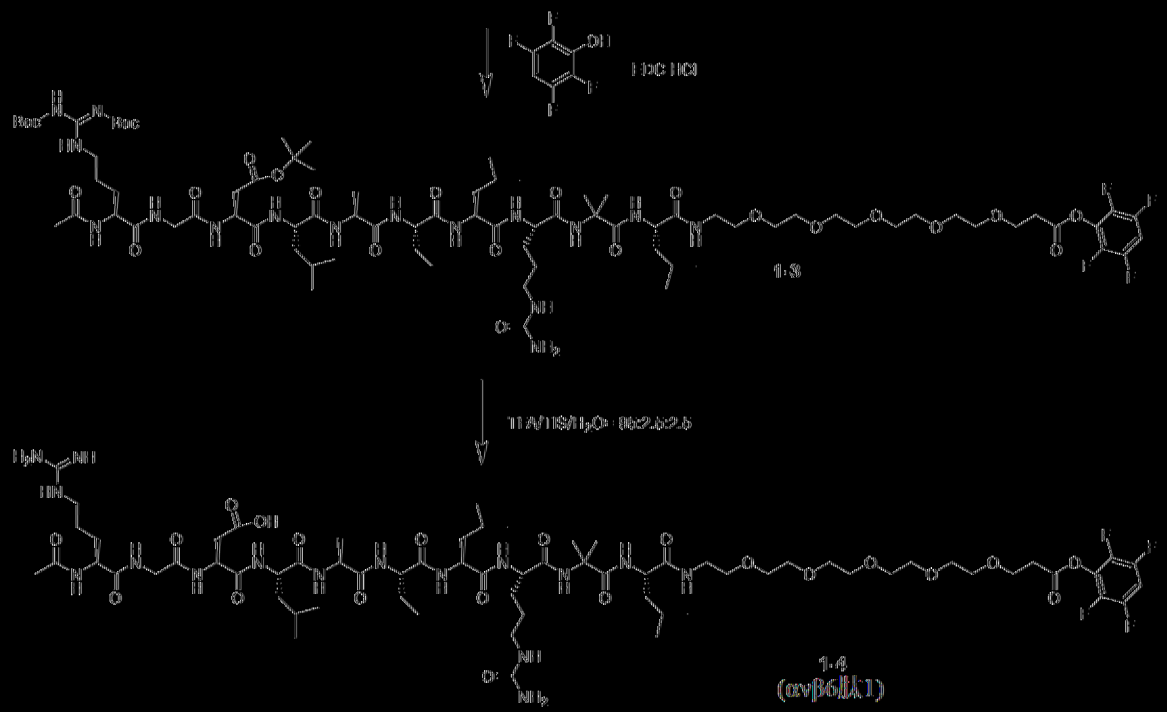


Fmoc-Dap(DNP)-OH

[0361] 合成αvβ6肽1



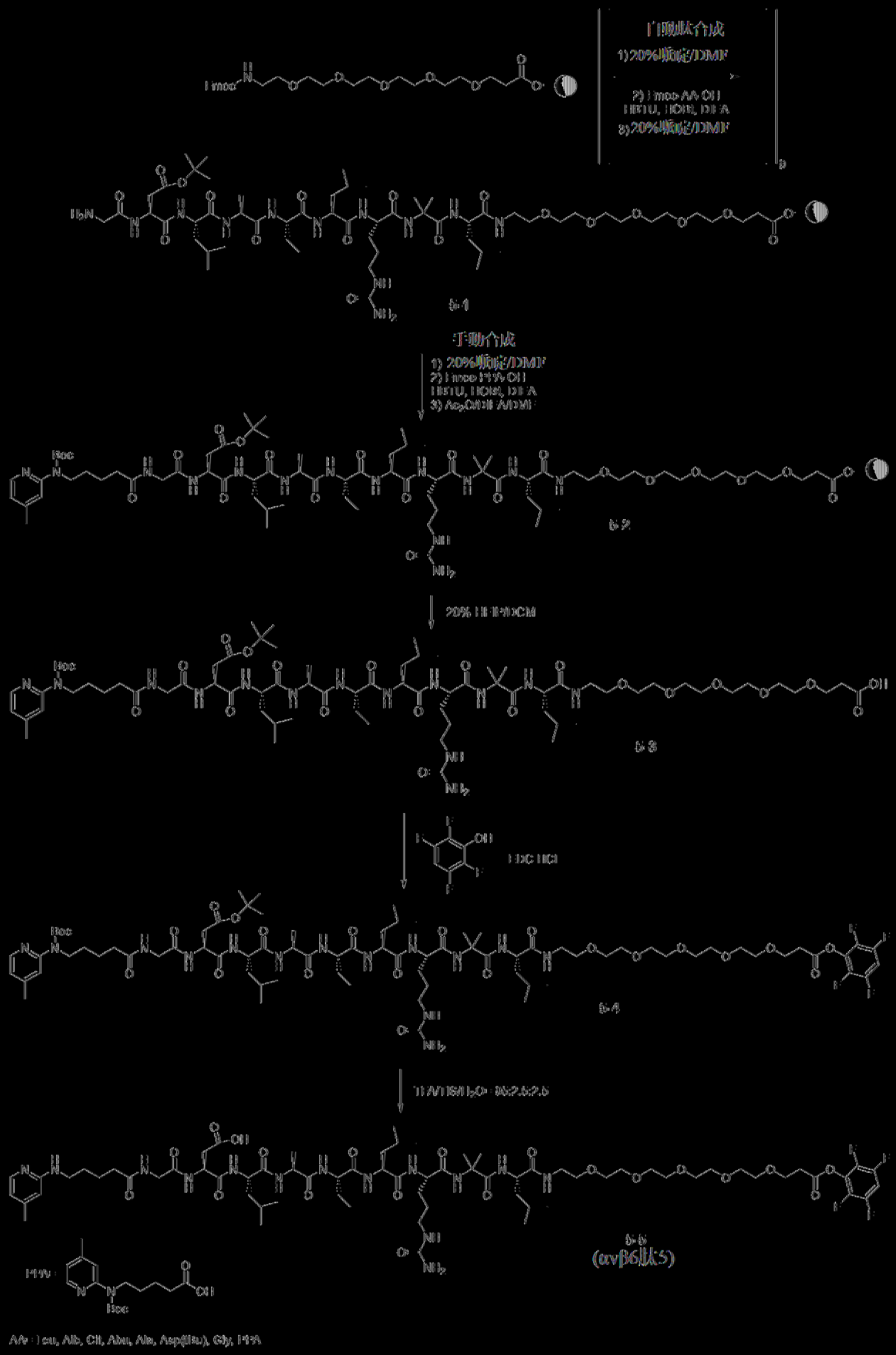




[0362] αvβ6肽1藉由修飾Arg-Gly-Asp(tBu)-Leu-Ala-Abu-Leu-Cit-Aib-Leu-Pegs-CO_2-2-Cl-Trt樹脂1-1製備，該樹脂係如上所述使用通用Fmoc肽化學在CS Bio肽合成儀上利用Fmoc-Pegs-CO_2H預負載之2-Cl-Trt樹脂(0.79 mmol/g)以4.1 mmol規模獲得。在自樹脂裂解之後，肽1-2轉化為四氟苯基酯1-3，且粗產物未經純化即用於下一步。

[0363] 藉由用脫除保護混合物TFA/TIS/H_2O：90:5:5 (80 mL)處理粗肽1-3 1.5小時進行最終脫除保護基。將反應混合物逐滴添加至甲基第三級丁基醚(700 mL)中，且藉由離心收集所得沈澱。用額外甲基第三級丁基醚(500 mL)洗滌球粒。殘餘物藉由逆相(RP)-HPLC (Phenomenex Gemini C18 250×50 mm，10微米，60 mL/min，含有0.1% TFA之水中30-45% ACN梯度，每次操作大約1公克粗物質)純化，得到4.25 g純肽1-4 (αvβ6肽1)。

[0364] 合成αvβ6肽5


Fmoc
1)20%哌啶/DMF
2) Fmoc-AA-OH
HBTU, HOBt, DIEA
3)20%哌啶/DMF
6-1
手動合成
1) 20%哌啶/DMF
2) Fmoc-PEA-OH
HBTU, HOBt, DIEA
3) Ac2O/DMF
6-2
20% HFIP/DCM
6-3
EDC HCl
6-4
TFA/TIS/H2O=95:2.5:2.5
6-5
(αvβ6肽5)
AA：Leu, Ala, Cit, Abu, Asn, Asp(tBu), Gly, PEA

【0365】 **αvβ6肽5**藉由修飾H-Gly-Asp(tBu)-Leu-Ala-Abu-Leu-Cit-Aib-Leu-Peg_5-CO_2-2-Cl-Trt樹脂**5-1**製備，該樹脂係使用通用Fmoc肽化學在Symphony肽合成儀上利用Fmoc-Peg_5-CO_2H預負載之2-Cl-Trt樹脂(0.85 mmol/g)以0.2 mmol規模獲得。藉由用3當量Fmoc-AA-OH、3當量HBTU及6當量DIEA處理樹脂2小時進行偶合步驟。在脫除保護基步驟中，依次用含20%哌啶之DMF處理樹脂5分鐘及20分鐘。在完成自動合成之後，肽樹脂**5-1**自Symphony反應容器轉移至SPPS容器以進行手動修飾，用DMF洗滌(6 mL-1分鐘×4次)且使用上文針對流程2步驟1所述之標準偶合程序與5-(N-Boc-胺基)-5-(4-甲基吡啶-2-基)戊酸偶合。

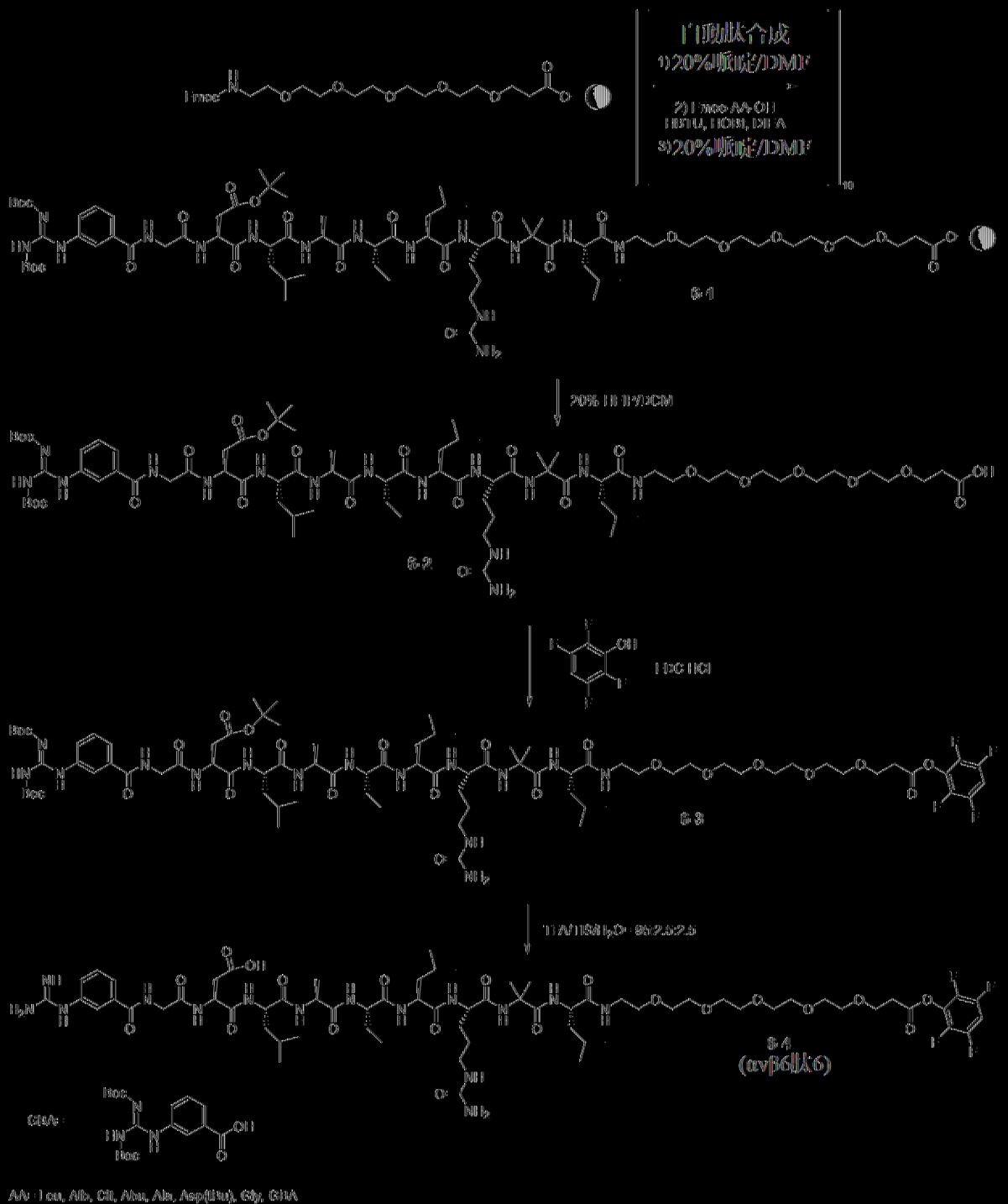
【0366】 用3份裂解溶液(含20%六氟異丙醇(HFIP)之DCM，6 ml)處理所得肽-樹脂**5-2** 3次，歷時15分鐘。將裂解之經保護之肽**5-3**之溶液用20 ml甲苯稀釋，濃縮且在真空下乾燥。藉由另外自產物蒸發甲苯來移除殘餘HFIP，在真空下乾燥產物2小時。

【0367】 將一部分粗肽**5-3** (133 mg)溶解於DCM (4 mL)中且冷卻至0℃。添加四氟苯酚(22 mg，0.133 mmol)及EDC鹽酸鹽(26 mg，0.133 mmol)，移除冷卻浴，且在室溫下攪拌反應混合物2小時。濃縮反應混合物且在真空下乾燥，粗肽在Combiflash®上使用系統DCM:DCM中20% MeOH，梯度0%-100%，25分鐘純化，獲得74 mg純肽**5-4**。

【0368】 藉由用脫除保護基混合物TFA/TIS/H_2O=95:2.5:2.5 (4 mL)處理經純化之肽**5-4** 1.5小時進行最終脫除保護基。濃縮反應混合物，且在真空下乾燥。殘餘甲苯藉由與甲苯共蒸發來移除。粗肽**5-5** (**αvβ6肽5**)藉由HPLC使用如下管柱純化：Syncronis™aQ 250×20 (Thermo Scientific)，H_2O (TFA 0.1%)中ACN (TFA 0.1%) 20-30%，25分鐘內。

條件：H_2O (TFA 0.1%)中ACN (TFA 0.1%) 35-60%，25分鐘內。產出55 mg。計算值分子量(MW) 1556.81，1/2M+ 778.40。實驗值：MS (ES，正離子)：1557.52 $[M+1]^+$；780.39 $[M+2]^{2+}$。

[0369] 合成αvβ6肽6



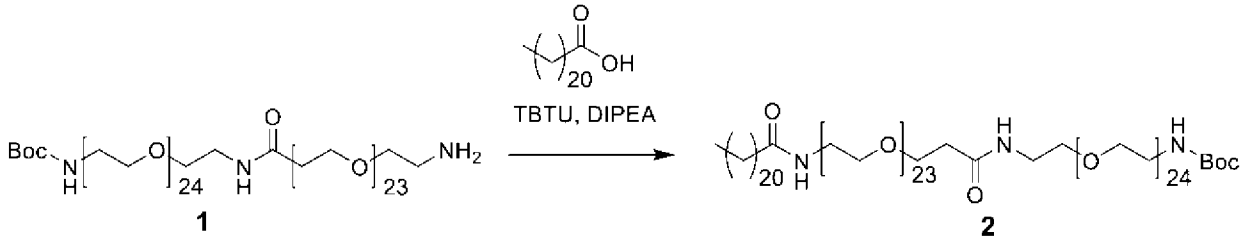
[0370] αvβ6肽6新引入修飾GBA-Gly-Asp(tBu)-Leu-Ala-Abu-Leu-

Cit-Aib-Leu-Peg_5-CO_2-2-Cl-Trt樹脂**6-1**製備，該樹脂係如上所述使用通用Fmoc肽化學在Symphony肽合成儀上利用Fmoc-Peg_5-CO_2H預負載之2-Cl-Trt樹脂(0.85 mmol/g)以0.2 mmol規模獲得。在自樹脂裂解之後，肽**6-2**轉化為四氟苯基酯**6-3**，且在Combiflash®上使用系統DCM:DCM中20% MeOH，梯度15%至100%，25分鐘純化，獲得160 mg純肽**6-3**。藉由用脫除保護基混合物TFA/TIS/H_2O= 90:5:5 (80 mL)處理粗肽**6-3** 1.5小時進行最終脫除保護基。將反應混合物逐滴添加至甲基三級丁基醚(700 mL)中，且藉由離心收集所得沈澱。用額外甲基三級丁基醚(500 mL)洗滌球粒。藉由HPLC純化使用如下條件來純化殘餘物：H_2O (TFA 0.1%)中ACN (TFA 0.1%) 27-57%，25分鐘。產量94 mg。計算值MW 1527.76, 1/2M=763.88。實驗值: MS (ES, 正離子): 1529.48 $[M+1]^+$; 765.39 $[M+2]^{2+}$。

【0371】 **實例4.** ***合成PK/PD調節劑前驅體***

【0372】 表1之一些PK/PD調節劑前驅體購自如表1中所指示之商業供應商。以下程序用於製備其餘PK/PD調節劑前驅體。

【0373】 **合成雙(PEG47+C22)**

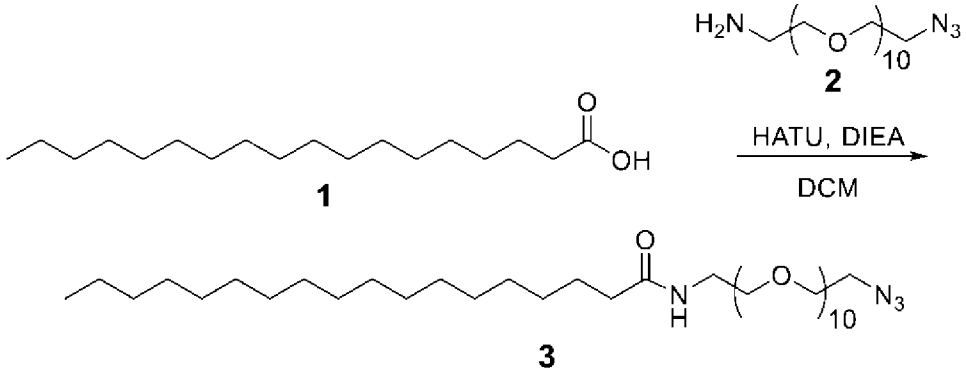


1 **2**

【0374】 將固體TBTU (1.68 g，5.22 mmol)添加至二十二酸(1.486 g，4.36 mmol)、經Boc保護之PEG-胺**1** (Quanta Biodesign Limited，10 g，4.35 mmol)及DIPEA (2.27 mL，13.03 mmol)之溶液。對反應混合物進行音波處理以溶解固體且在室溫下攪拌16小時。添加水(3 mL)，在真空

下移除溶劑。使所得殘餘物溶於氯仿(300 mL)中且用$NaHCO_3$ (2×75 mL)及鹽水(50 mL)洗滌。將產物**2**乾燥(Na_2SO_4)，真空濃縮，且在Combiflash®上使用系統DCM:DCM中20% MeOH，梯度0-80%，25分鐘來純化。產量10 g (88%)。計算值MW 2623.72, (M +2×18)/2=1329.86, (M +3H)/3=875.57 實驗值: MS (ES, 正離子): 1330.58 $[M+2NH_4]^{2+}$, 875.93 $[M+3H]^{3+}$。

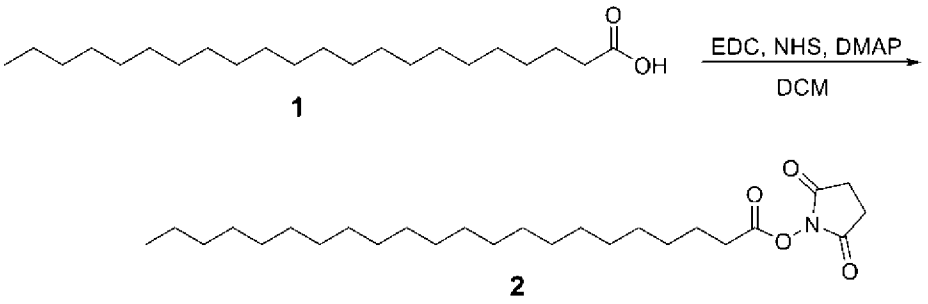
【0375】 **合成C18**



【0376】 使化合物**1** (Sigma S4751) (0.125 g)溶於DCM (2.0 mL)中。接著將HATU (0.249 g)及DIEA (0.263 mL)添加至混合物。將反應混合物攪拌15分鐘且添加0.265 g化合物**2** (BroadPharm® BP-22226)。將反應混合物攪拌1小時。

【0377】 接著將反應混合物用DCM (40mL)稀釋且用H_2O (2×7mL)洗滌，經Na_2SO_4乾燥，過濾且真空濃縮。有機層溶解於2 mL DCM中且在管柱(CombiFlash®，在DCM: 含20% MeOH之DCM中；RediSeprf Gold®管柱；經30分鐘0-40%移動相B)上純化。收集含有產物之溶離份且真空濃縮，得到化合物**3**。產量223 mg (56%)。

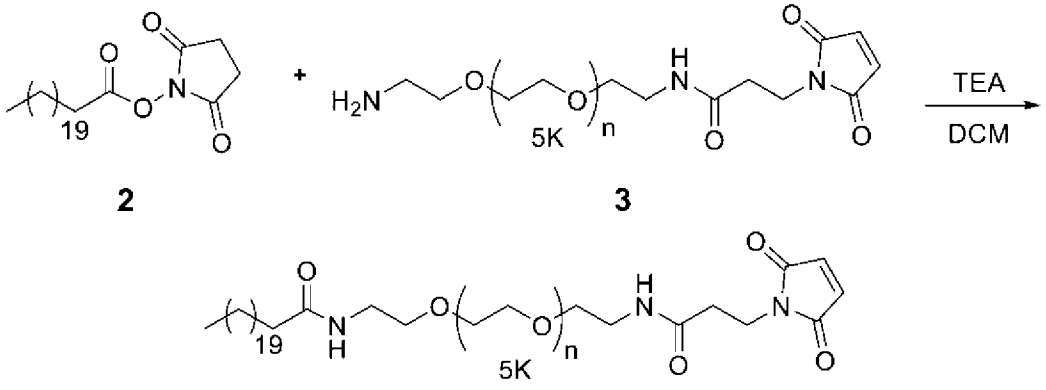
【0378】 **合成C22-PEG5K-Mal**



1

2

【0379】使化合物**1** (Sigma-Aldrich® 216941) (0.300 g)溶於4.5 mL DCM中。接著將EDC (Oakwood Chemical 024810) (0.211 g)添加至溶液。接著將NHS (Sigma-Aldrich® 130672) (0.203 g)添加至溶液。最終，添加DMAP (Sigma-Aldrich® 107700) (0.0215 g)。將反應混合物攪拌隔夜。將溶液用40 mL DCM稀釋，且用酸性H_2O (3×7 mL)洗滌，經Na_2SO_4乾燥，過濾且真空濃縮。濃縮產物乾式裝載(3 mL二氧化矽)至12 G Redi-Sep rf Gold®管柱，經25分鐘(移動相A:移動相B) Hex:EtOAc 0->50%中。收集含有產物**2**之溶離份且濃縮。產量283 g (73%)。



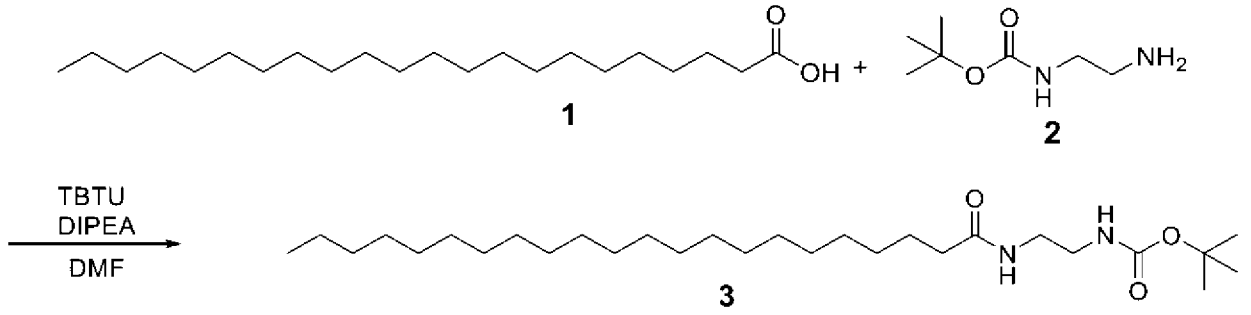
2

3

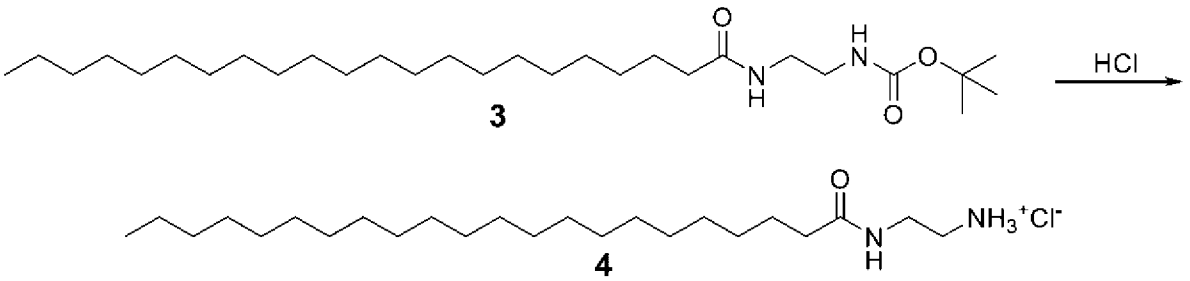
4

【0380】使化合物**3** (Creative PEGWorks PHB-942) (0.100 g)溶於2 mL DCM中。接著添加化合物**2** (0.0438 g)。接著將0.042 mL TEA添加至混合物。將反應混合物攪拌2小時。將反應混合物真空濃縮。接著濃縮物溶解於1 mL DCM中且裝載至4 G Redi-Sep rf Gold®管柱經20分鐘DCM:含有20% MeOH之DCM 0->100%中。收集含有產物**4**之溶離份且在旋轉式蒸發儀上濃縮。產量41 mg (38%)。

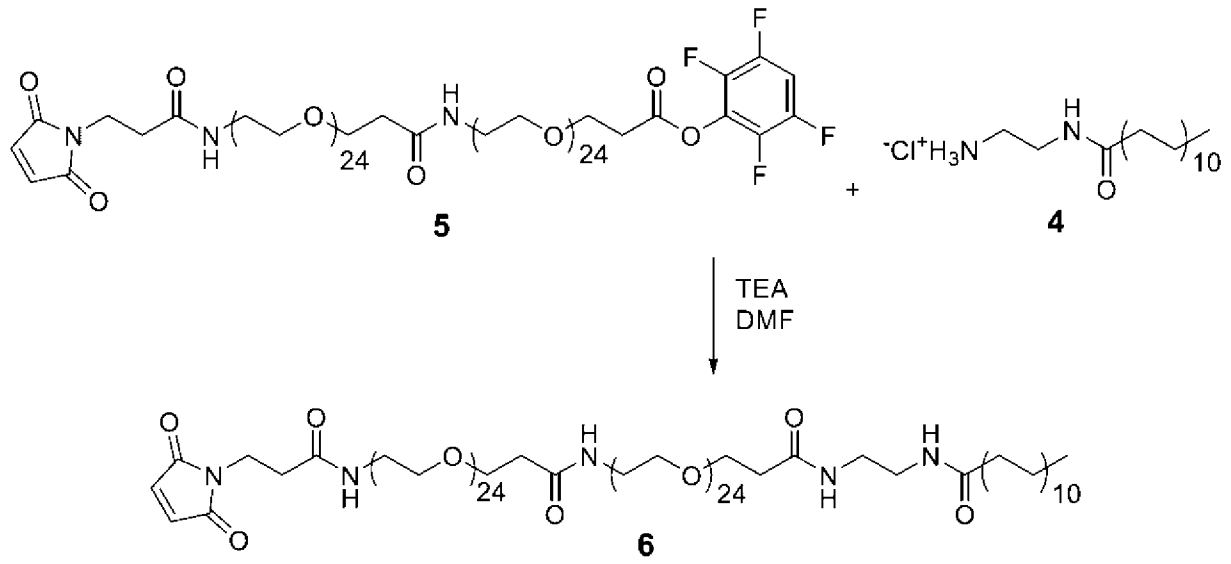
【0381】 **合成PEG48+C22**



【0382】 在室溫下向化合物**1** (350 mg，1.027 mmol，1.0當量)、化合物**2** (181 mg，1.130 mmol，1.1當量)及DIPEA (0.537 mL，3.082 mmol，3.0當量)於無水DMF (3 mL)中之溶液添加TBTU (396 mg，1.233 mmol，1.2當量)。反應混合物保持在室溫下2小時。將反應混合物用飽和$NaHCO_3$水溶液(20 mL)淬滅且將水相用二氯甲烷(3×10 mL)萃取。合併之有機相經無水Na_2SO_4乾燥，且濃縮。產物**3**藉由CombiFlash®來純化且用二氯甲烷中4-5%甲醇溶離。LC-MS: [M+H]+計算值483.44, 實驗值483.67。

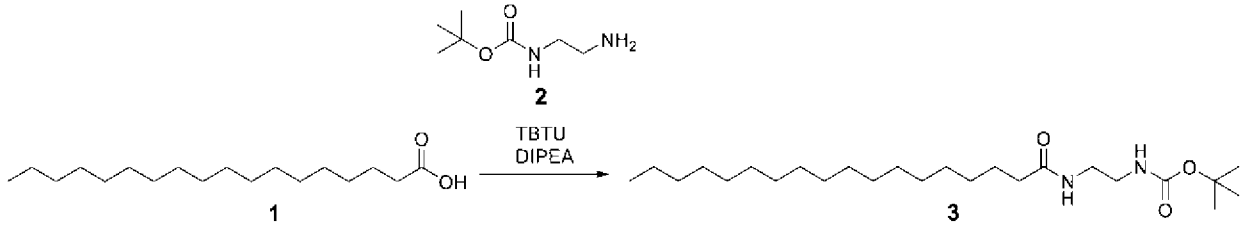


【0383】 在室溫下向化合物**3** (290 mg，0.600 mmol，1.0當量)於無水1,4-二噁烷(1 mL)中之溶液添加HCl之二噁烷溶液(0.751 mL，3.003 mmol，5.0當量)。反應混合物保持在室溫下3小時且真空移除溶劑。產物**4**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+H]+計算值383.39, 實驗值383.57。



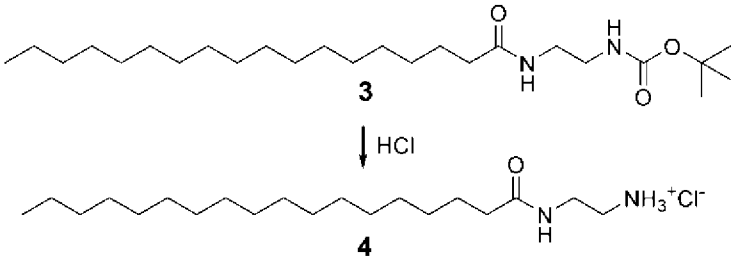
【0384】 在室溫下向化合物**5** (83 mg，0.0322 mmol，1.0當量)及化合物**4** (13.5 mg，0.322 mmol，1.0當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液添加TEA (0.014 mL，0.0967 mmol，3.0當量)。反應混合物保持在室溫下3小時且真空移除溶劑。產物**6**藉由CombiFlash®來純化且用二氯甲烷中10-15%甲醇溶離。LC-MS: [M+4H]+/4計算值698.18, 實驗值698.49, [M+3H]+/3計算值930.58, 實驗值930.61。

【0385】 **合成PEG48+C18**

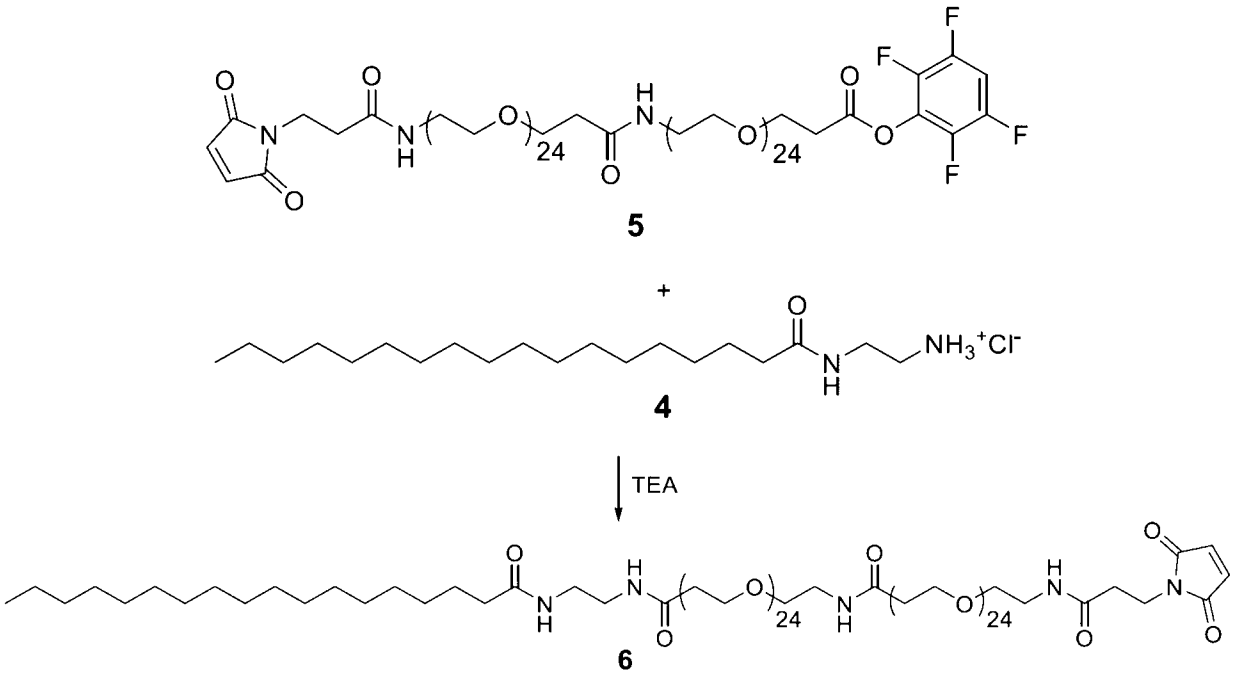


【0386】 在室溫下向化合物**1** (1437 mg，5.051 mmol，1.0當量)、化合物**2** (890 mg，5.556 mmol，1.1當量)及DIPEA (2.639 mL，15.154 mmol，3.0當量)於無水DMF (10 mL)中之溶液添加TBTU (1946 mg，6.061 mmol，1.2當量)。反應混合物保持在室溫下2小時。將反應混合物用飽和$NaHCO_3$水溶液(20 mL)淬滅且將水相用二氯甲烷(3×10 mL)萃取。合併之有機相經無水Na_2SO_4乾燥，且濃縮。產物**3**藉由CombiFlash®來純

化且用二氯甲烷中4-5%甲醇溶離。LC-MS: [M+H]+計算值427.38, 實驗值427.74。



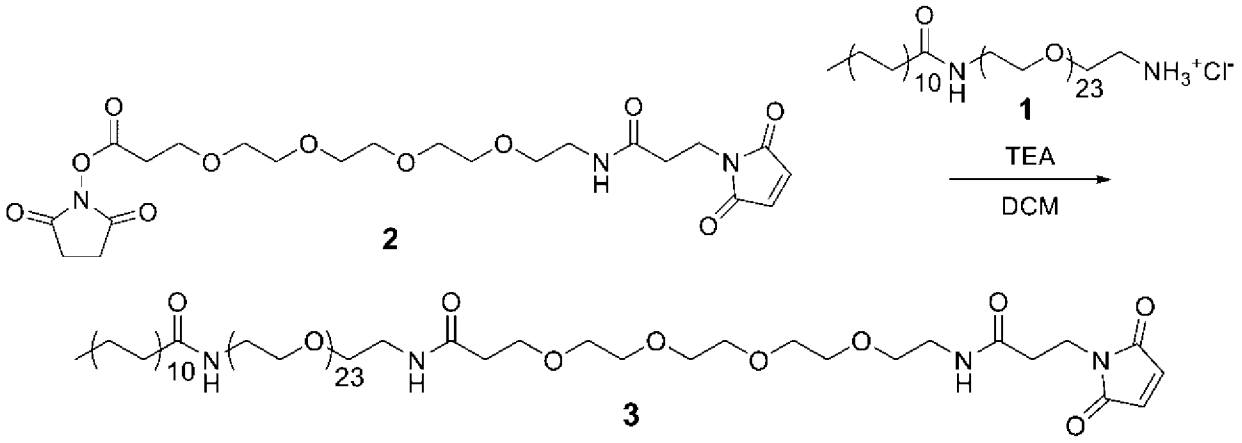
【0387】 在室溫下向化合物**3** (445 mg，1.042 mmol，1.0當量)於無水1,4-二噁烷(1 mL)中之溶液添加HCl之二噁烷溶液(1.304 mL，5.214 mmol，5.0當量)。反應混合物保持在室溫下3小時且真空移除溶劑。產物**4**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+H]+計算值327.33, 實驗值327.48。



【0388】 在室溫下向化合物**5** (90 mg，0.035 mmol，1.0當量)及化合物**4** (13.3 mg，0.0367 mmol，1.05當量)於無水DCM (2 mL)中之溶液添加TEA (0.015 mL，0.104 mmol，3.0當量)。反應混合物保持在室溫下1小時且真空移除溶劑。產物**6**藉由CombiFlash®來純化且用二氯甲烷中

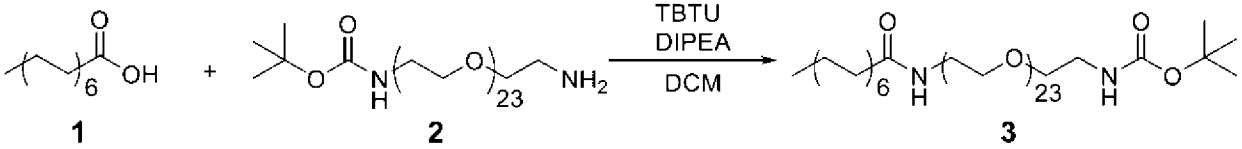
12-18%甲醇溶離。LC-MS: [M+3H]+/3計算值911.90, 實驗值912.65, [M+4H]+/4 684.17, 實驗值685.21。

【0389】 **合成PEG23+C22**



【0390】 在室溫下向化合物**1** (0.0700 g)於DCM中之溶液添加化合物**2** (0.0251 g)及TEA (0.0148 g)。將反應混合物攪拌0.5小時直至藉由LC-MS證實完全轉化。將反應混合物濃縮。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相來純化且用DCM至DCM中20% MeOH (0-100% B)之梯度溶離。產物在60% B下溶離。濃縮得到呈白色固體狀之**3**。LC-MS: [M+H]+計算值1794.16 m/z, 觀測值898.01 (+2/2) m/z。產量：0.0784 g (89.4%)。

【0391】 **合成雙(PEG23+C14)**

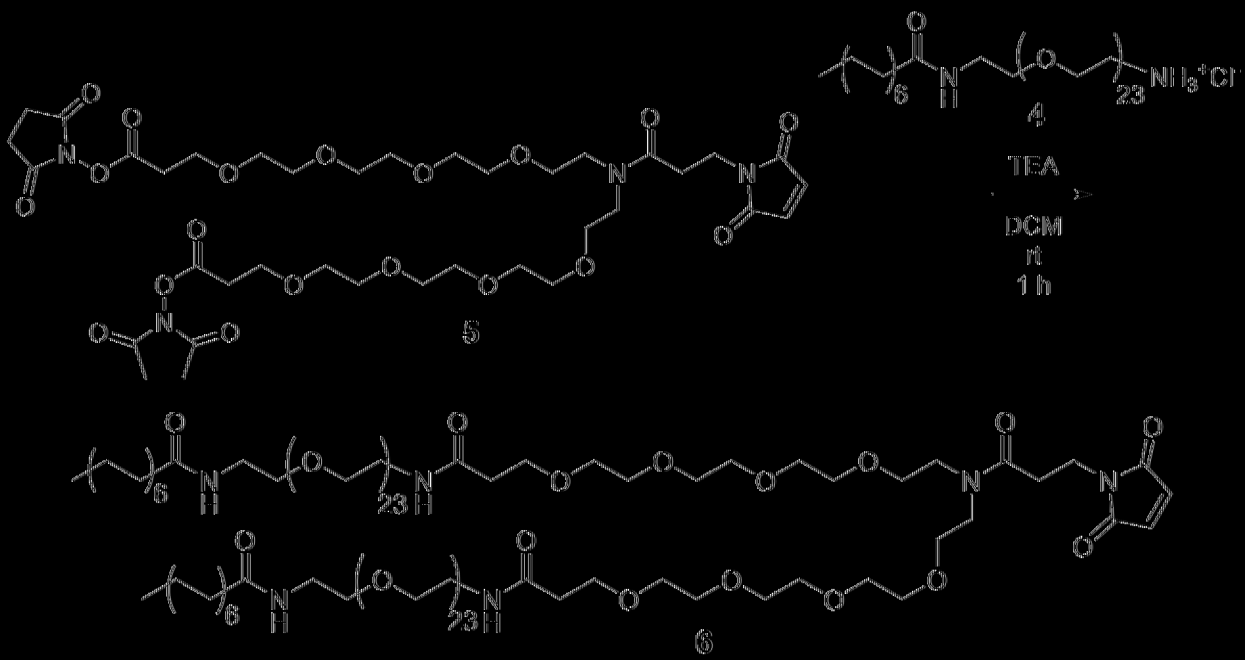


【0392】 在室溫下向化合物**1** (0.0430 g)及**2** (0.221 g)於DCM中之溶液添加TBTU (0.0725 g)且接著添加DIPEA (0.098 mL)。將反應混合物攪拌1小時直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。接著濃縮反應混合物。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用DCM至DCM中20% MeOH (0-100%)之梯度來純化，其中產物在31% B下溶離。將產物**3**真空

濃縮，得到白色固體。LC-MS: [M+H]+計算值1383.92 m/z, 觀測值693.02 (+2/2) m/z。產量：0.253 g (97.0%)。

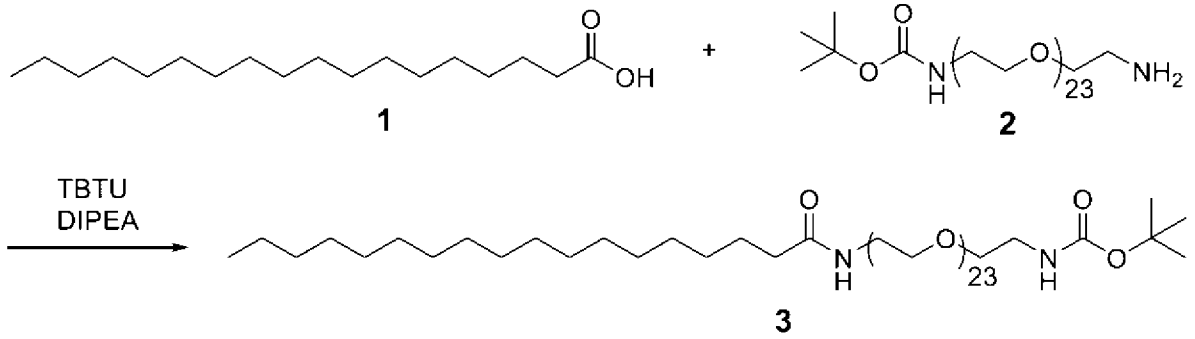


[0393] 在室溫下向化合物3 (0.253 g)添加4 M HCl (2.74 mL)之1,4-二噁烷溶液。將反應混合物在室溫下攪拌1小時直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。將反應混合物真空濃縮，得到呈白色固體狀之4。不需要進一步純化。LC-MS: [M+H]+計算值1319.85 m/z, 觀測值642.97 (+2/2) m/z。產量：0.241 g (99.7%.)。

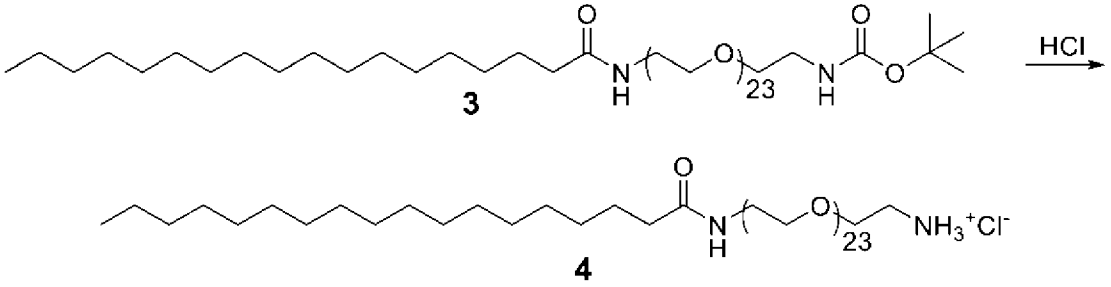


[0394] 在室溫下向化合物4 (0.169 g)於DCM中之溶液添加化合物5 (0.0500)，接著添加TEA (0.049 mL)。將混合物攪拌隔夜直至藉由LC-MS證實完全轉化。將反應混合物濃縮。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相來純化，用DCM至DCM中20% MeOH (0-100% B)之梯度溶離。產物在95% B下溶離。濃縮得到呈白色固體狀之6。LC-MS: [M+H]+計算值3195.02 m/z, 觀測值800.43 (+4/4) m/z。產量0.0674 (36.2%)。

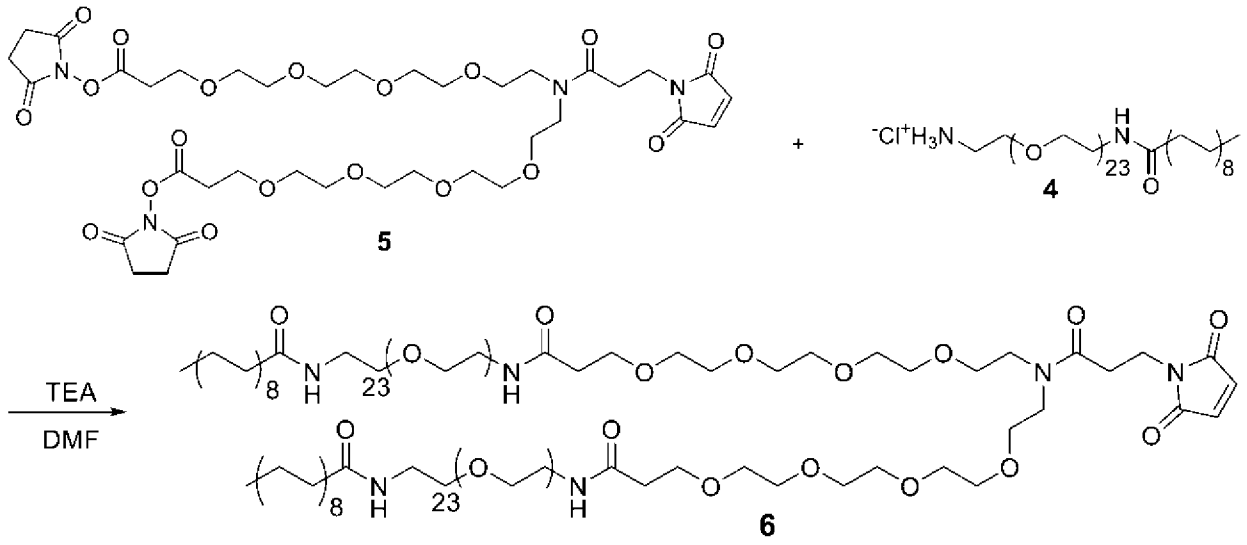
【0395】 **合成雙(PEG23+C18)**



【0396】 在室溫下向化合物**1** (130 mg，0.457 mmol，1.0當量)、化合物**2** (536 mg，0.457 mmol，1.0當量)及二異丙基乙胺(0.239 mL，1.370 mmol，3.0當量)於無水DMF (3 mL)中之溶液添加TBTU (176 mg，0.548 mmol，1.2當量)。反應混合物保持在室溫下2小時。將反應混合物用飽和$NaHCO_3$水溶液(5 mL)淬滅且將水相用乙酸乙酯(6×5 mL)萃取。合併之有機相經無水Na_2SO_4乾燥，且濃縮。產物藉由CombiFlash®來純化且用二氯甲烷中4-8%甲醇溶離。LC-MS: [M+H]+計算值1439.99, 實驗值1440.53。

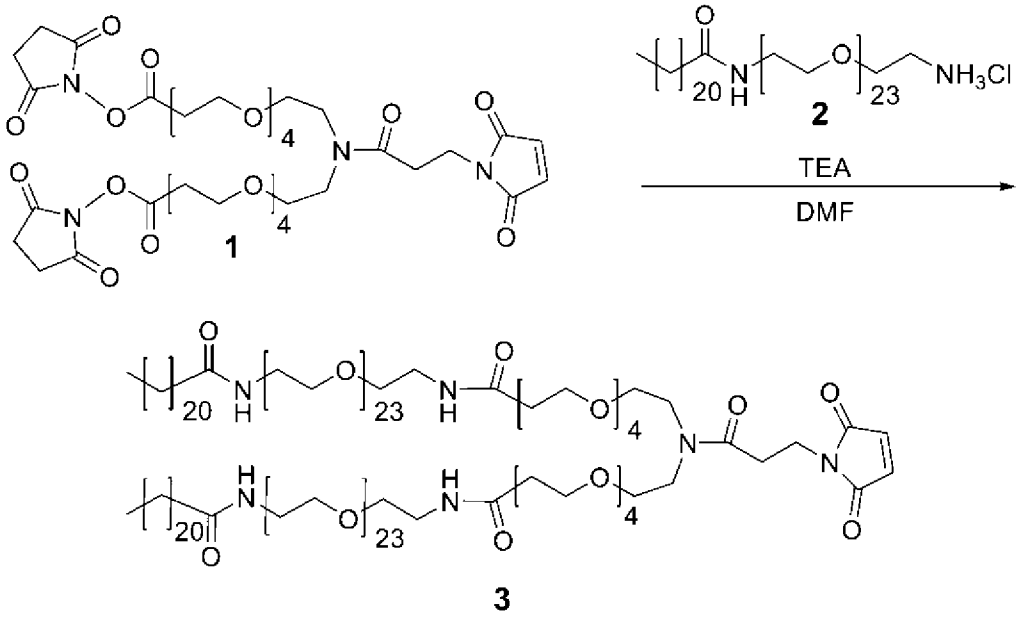


【0397】 在室溫下向化合物**3** (445 mg，0.309 mmol，1.0當量)於無水1,4-二噁烷(1 mL)中之溶液添加HCl之二噁烷溶液(0.386 mL，1.545 mmol，5.0當量)。反應混合物保持在室溫下3小時且真空移除溶劑。產物**4**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+2H]+/2計算值670.46, 實驗值670.93。



【0398】 在室溫下向化合物**1** (100 mg，0.116 mmol，1.0當量)及化合物**2** (352 mg，0.256 mmol，2.2當量)於無水DMF (5 mL)中之溶液添加TEA (0.082 mL，0.582 mmol，5.0當量)。反應混合物保持在室溫下3小時且真空移除溶劑。產物藉由CombiFlash®來純化且用二氯甲烷中10-17%甲醇溶離。LC-MS: [M+4H]+/4計算值827.53, 實驗值828.16, [M+3H]+/3計算值1103.05, 實驗值1104.21。

【0399】 **合成雙(PEG23+C22)**



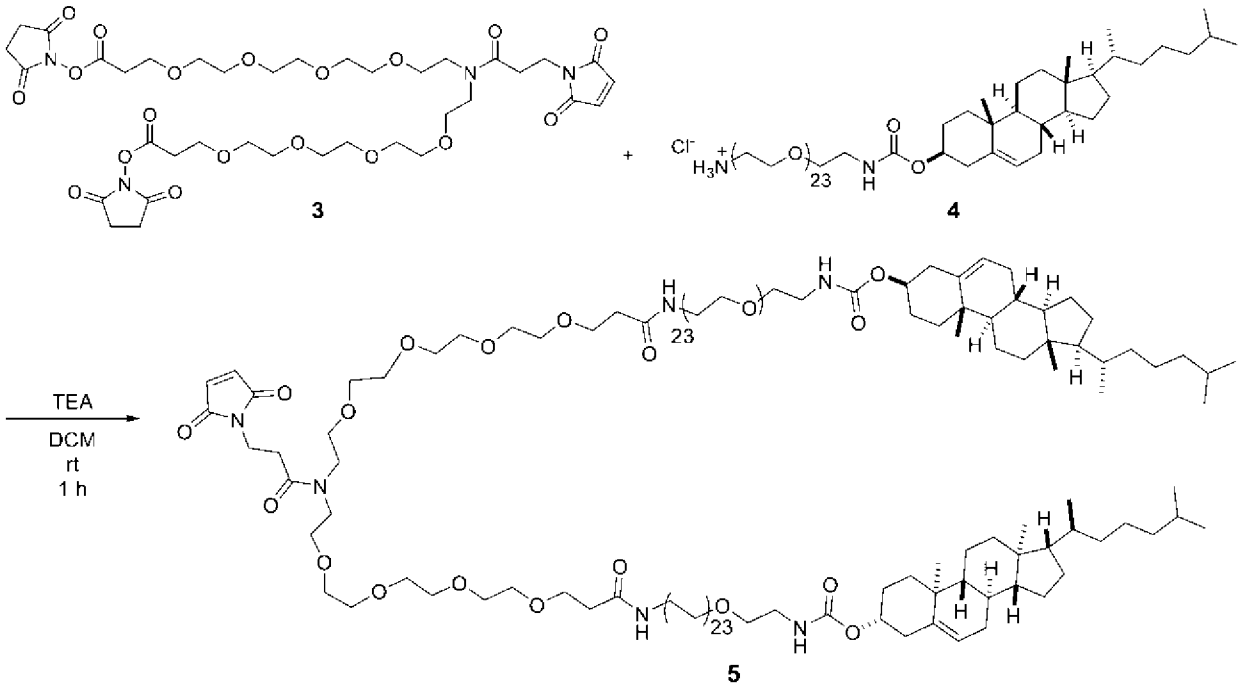
【0400】 將C22-PEG23-胺鹽酸鹽(**2**) (Quanta Biodesign Limited，183 mg，0.128 mmol)及雙-NHS酯**1** (BroadPharm，50 mg，0.058 mmol)

於DMF (5 mL)中之溶液在室溫下在TEA (50 uL，0.35 mmol)存在下攪拌3小時。將反應混合物濃縮且真空乾燥。殘餘DMF藉由在真空下甲苯共蒸發來移除，且產物3在Combiflash®上使用系統DCM:DCM中20% MeOH，梯度15-80%，25分鐘來純化。產量84 mg (45%)。計算值MW 3419.28, 1/2M+1709.64, (M+2x18)/2+1727.64, (M+18+2)/3+1146.42。實驗值: MS (ES, 正離子): 1727.73 $[M+2NH_4]^{2+}$, 1146.94 $[M+NH_4+2H]^{3+}$。

[0401] 合成雙(PEG23-CLS)

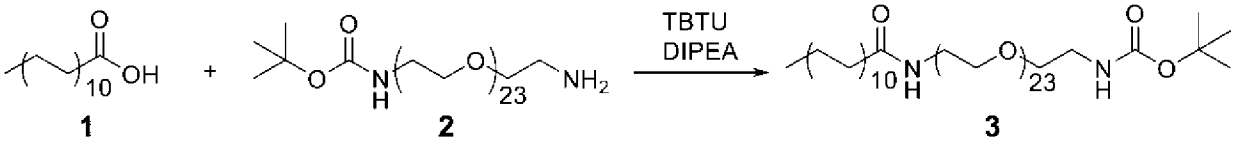


[0402] 在室溫下在正常大氣壓下向化合物1 (0.158 g)於1:1 THF/水中之溶液添加LiOH (0.0473 g)。將反應混合物在室溫下攪拌1小時且接著加熱至50℃且攪拌隔夜直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。將反應混合物用6 N HCl酸化至約pH 3。將產物用EtOAc (3×5 mL)萃取。合併之有機相經Na_2SO_4乾燥，過濾，且濃縮，提供呈白色固體狀之2。LC-MS: $[M+H]^+$計算值227.06 m/z, 觀測值227.06 m/z。產量：152 mg (102%)。



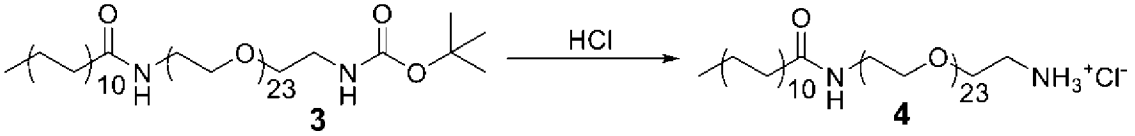
【0403】 在室溫下向化合物**4** (0.0709 g)於DCM中之溶液添加化合物**3** (0.0200 g)且接著添加TEA (0.019 mL)。將反應混合物攪拌直至藉由LC-MS證實完全轉化。將反應混合物濃縮。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相來純化且用DCM至DCM中20% MeOH (0-100% B)之梯度溶離。產物在82% B下溶離。濃縮得到呈白色固體狀之**5**。LC-MS: [M+H]+計算值3599.30 m/z, 觀測值1200.23 (+3/3) m/z。產量0.0211 g (25.2%)

【0404】 **合成參(PEG23+C22)**

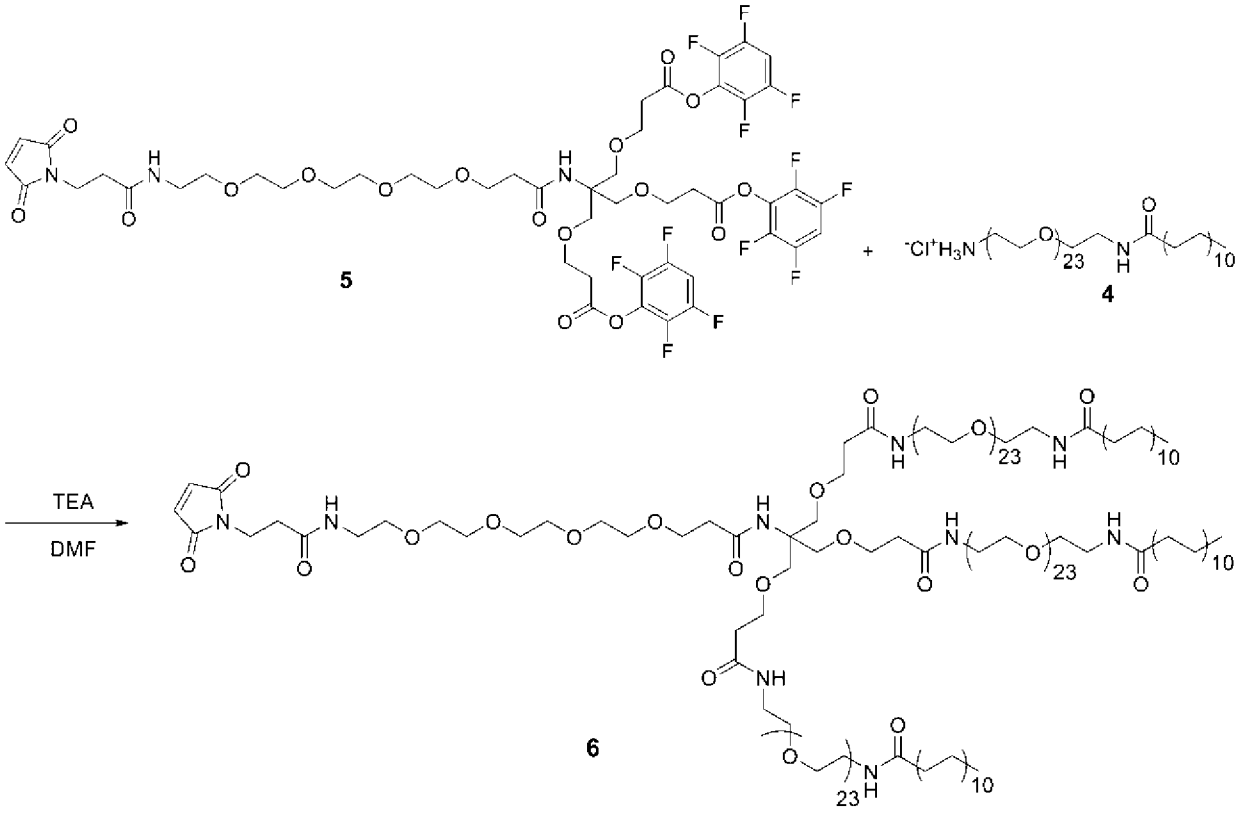


【0405】 在室溫下向化合物**1** (290 mg，0.851 mmol，1.0當量)、化合物**2** (999 mg，0.851 mmol，1.0當量)及二異丙基乙胺(0.445 mL，2.554 mmol，3.0當量)於無水DMF (3 mL)中之溶液添加TBTU (328 mg，1.021 mmol，1.2當量)。反應混合物保持在室溫下2小時。將反應混合物用飽和$NaHCO_3$水溶液(10 mL)淬滅且將水相用二氯甲烷(3×10 mL)萃取。

合併之有機相經無水Na_2SO_4乾燥，且濃縮。產物**3**藉由CombiFlash®來純化且用二氯甲烷中7-16%甲醇溶離。LC-MS: [M+H]+計算值1496.05, 實驗值1496.59。



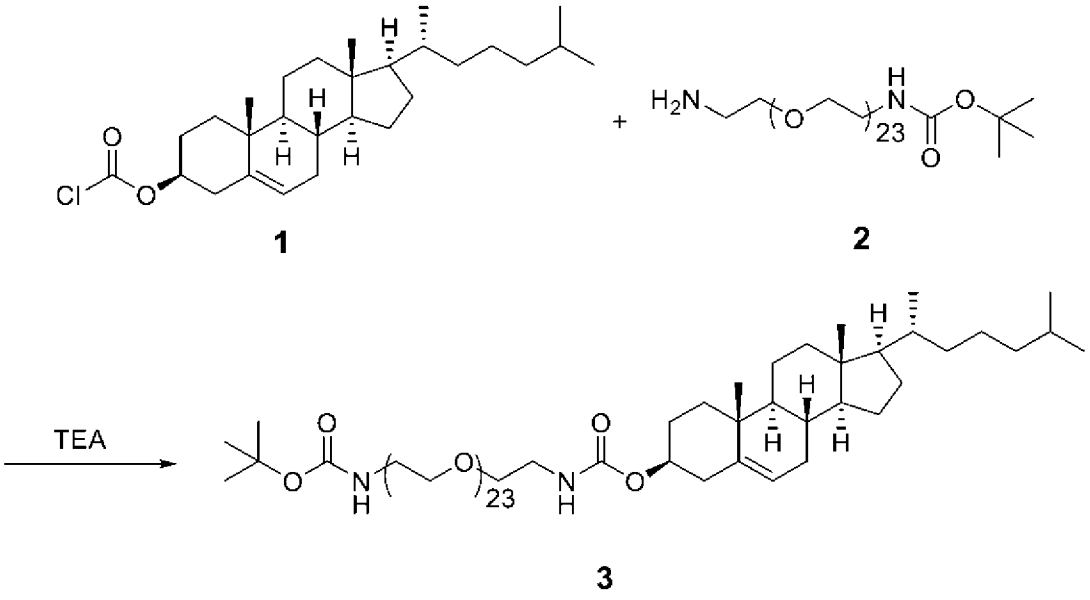
【0406】 在室溫下向化合物**1** (642 mg，0.429 mmol，1.0當量)於無水1,4-二噁烷(0.5 mL)中之溶液添加HCl之二噁烷溶液(2.146 mL，8.582 mmol，20當量)。反應混合物保持在室溫下30分鐘且真空移除溶劑。產物未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+H]+計算值1396.00, 實驗值1396.60。



【0407】 在室溫下向化合物**5** (24 mg，0.0203 mmol，1.0當量)及化合物**4** (94 mg，0.062 mmol，3.05當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液添加TEA (0.014 mL，0.101 mmol，5.0當量)。反應混合物保持在室溫下3小

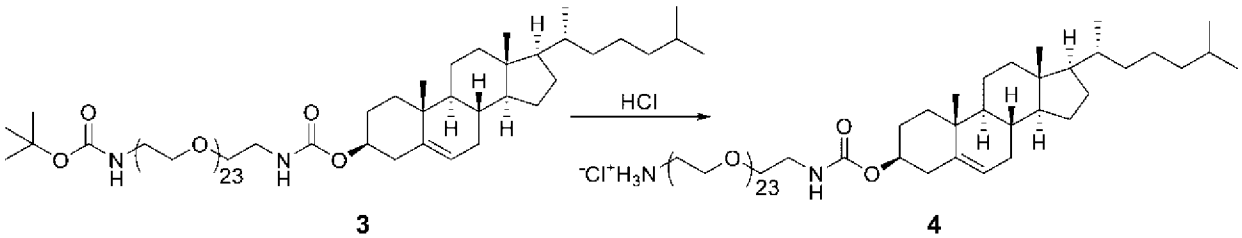
時且真空移除溶劑。產物**6**藉由CombiFlash®來純化且用二氯甲烷中13-16%甲醇溶離。LC-MS: [M+5H]/5 計算值974.25, 實驗值975.18。

【0408】 **合成參(PEG23+CLS)**



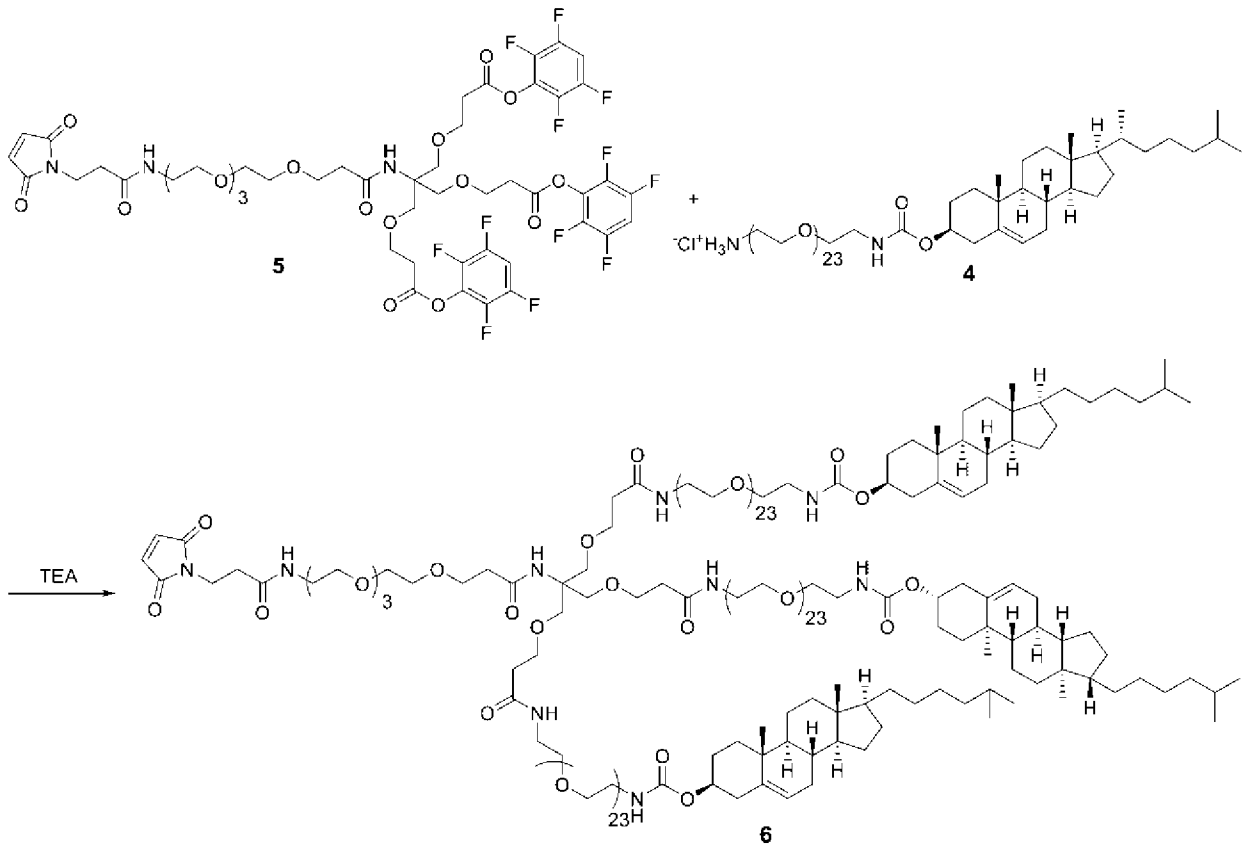
1 **2** **3**

【0409】 在室溫下向化合物**1** (100 mg，0.222 mmol，1.0當量)及化合物**2** (274 mg，0.233 mmol，1.05當量)於無水DCM (2 mL)中之溶液添加TEA (0.094 mL，0.668 mmol，3.0當量)。反應混合物保持在室溫下2小時且接著真空濃縮。產物**3**藉由CombiFlash®來純化且用二氯甲烷中8-15%甲醇溶離。LC-MS: [M+H2O]+計算值1603.17, 實驗值1603.18。



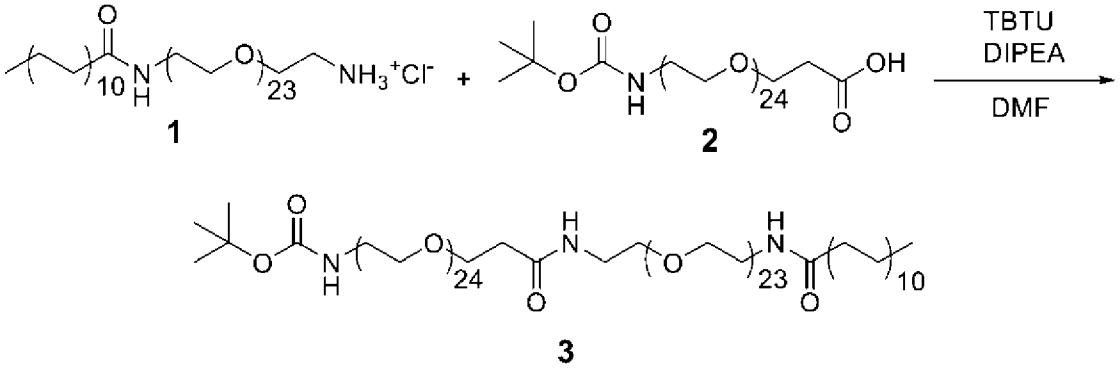
3 **4**

【0410】 在室溫下向化合物**3** (353 mg，0.222 mmol，1.0當量)於無水1,4-二噁烷(0.5 mL)中之溶液添加HCl之二噁烷溶液(1.11 mL，4.451 mmol，20當量)。反應混合物保持在室溫下30分鐘且真空移除溶劑。產物**4**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+H]+計算值1486.01, 實驗值1486.50。



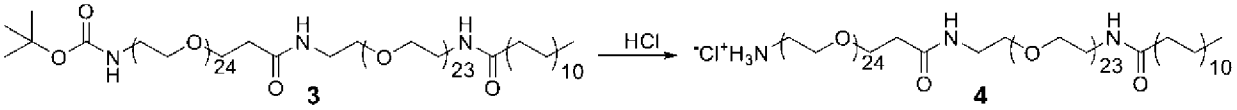
【0411】 在室溫下向化合物**5** (24 mg，0.0203 mmol，1.0當量)及化合物**4** (94 mg，0.062 mmol，3.05當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液添加TEA (0.014 mL，0.101 mmol，5.0當量)。反應混合物保持在室溫下3小時且真空移除溶劑。產物**6**藉由CombiFlash®來純化且用二氯甲烷中13-16%甲醇溶離。

【0412】 **合成PEG95+C22**



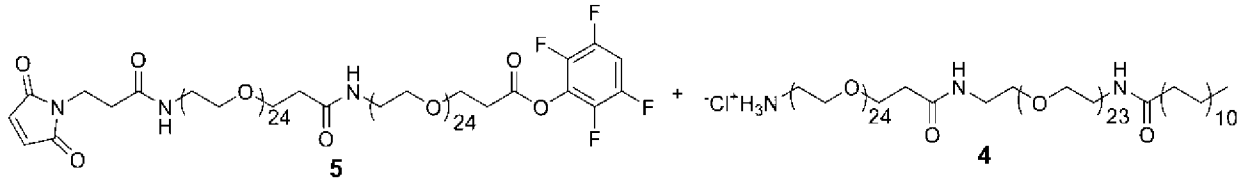
【0413】 在室溫下向化合物**1** (60 mg，0.0419 mmol，1.0當量)、化合物**2** (52 mg，0.0419 mmol，1.0當量)及DIPEA (0.022 mL，0.125

mmol，3.0當量)於無水DMF (3 mL)中之溶液添加TBTU (16 mg，0.0503 mmol，1.2當量)。反應混合物保持在室溫下2小時。將反應混合物濃縮。產物藉由CombiFlash®來純化且用二氯甲烷中6-8%甲醇溶離。LC-MS: [M+4H]+/4計算值656.66, 實驗值656.17。產量：0.063 g (57.3%)。

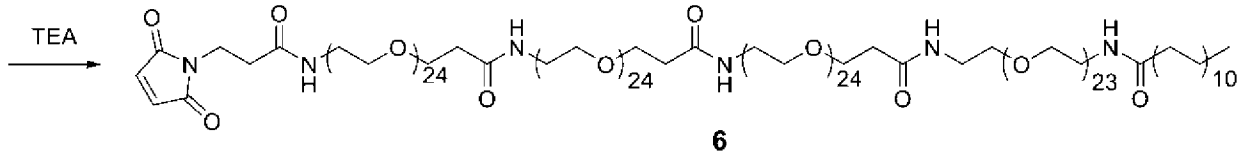


3　　4

【0414】 在室溫下向化合物**1** (60 mg，0.0229 mmol，1.0當量)於無水1,4-二噁烷(0.5 mL)中之溶液添加HCl之二噁烷溶液(0.286 mL，1.143 mmol，50當量)。反應混合物保持在室溫下30分鐘且真空移除溶劑。產物未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+3H]+/3計算值841.88, 實驗值841.48, [M+4H]+/4計算值631.66, 實驗值632.41。



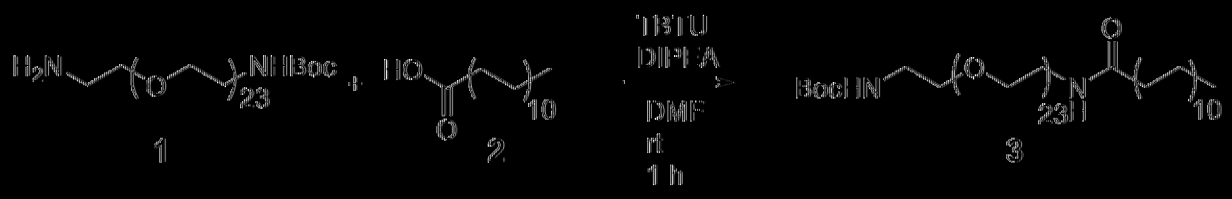
5　　4



6

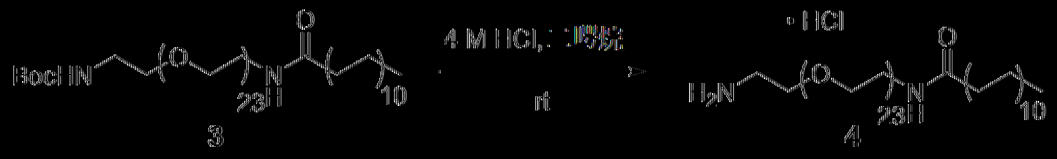
【0415】 在室溫下向化合物**5** (55 mg，0.0214 mmol，1.0當量)及化合物**4** (54.7 mg，0.0214 mmol，1.0當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液添加TEA (0.009 mL，0.0641 mmol，3.0當量)。反應混合物保持在室溫下2小時且真空移除溶劑。產物**6**藉由CombiFlash®來純化且用二氯甲烷中15-20%甲醇溶離。LC-MS: [M+5H]+/5計算值986.80, 實驗值987.19, [M+6H]+/6計算值822.50, 實驗值822.64。

【0416】 **合成PEG47+C22**



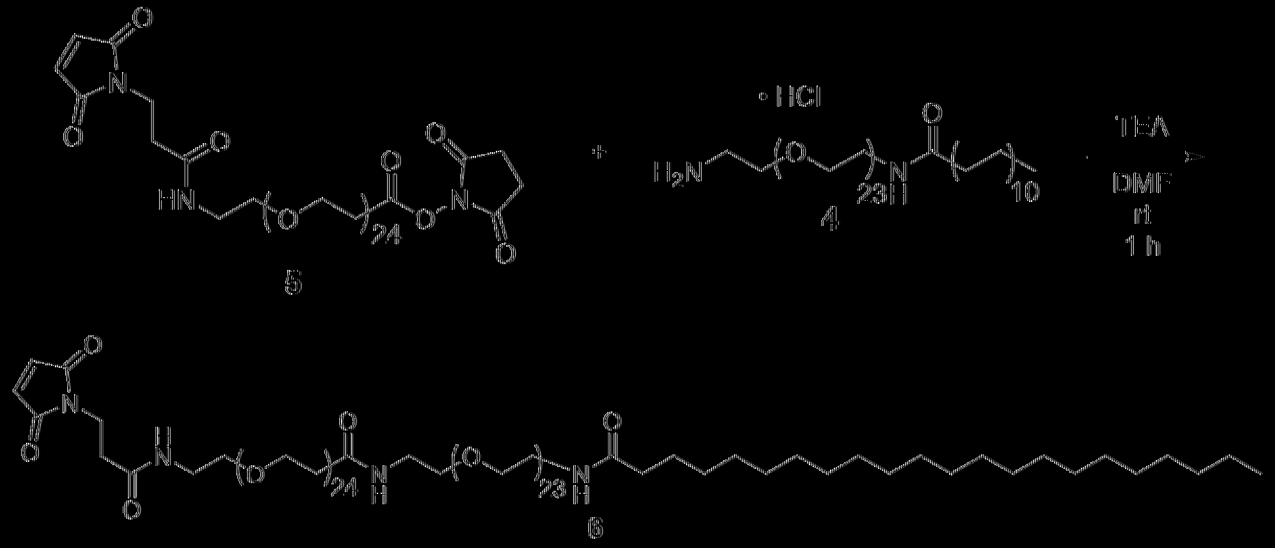
1 2 3

[0417] 在室溫下向化合物1 (0.200 g)及2 (0.0580 g)於DMF中之溶液添加TBTU (0.0657 g)，接著添加DIPEA (0.089 mL)。將反應混合物攪拌2小時直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。將反應混合物濃縮。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用DCM至DCM中20% MeOH (0-50%)之梯度來純化，其中產物在83% B下溶離。將產物真空濃縮，得到呈透明無色油狀之3。產量：0.161 g (63.0%)。LC-MS: [M+H]+計算值1495.05 m/z, 觀測值1494.30 m/z。



3 4

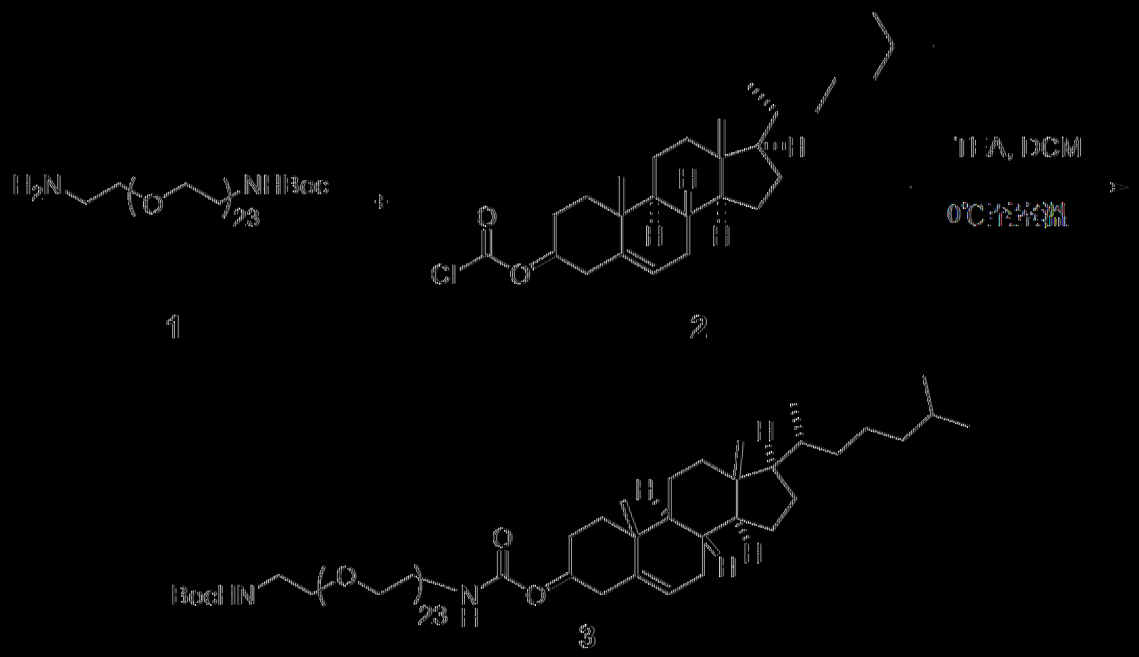
[0418] 在室溫下向化合物1 (0.161 g)添加4 M HCl之二噁烷溶液(0.805 mL)。將反應混合物在室溫下攪拌。在10分鐘後，經由LC-MS證實完全轉化。將反應混合物真空濃縮，得到呈白色固體狀之產物。不需要進一步純化。產量：0.156 g (101%)。LC-MS: [M+H]+計算值1396.00 m/z, 觀測值1396.48 m/z。



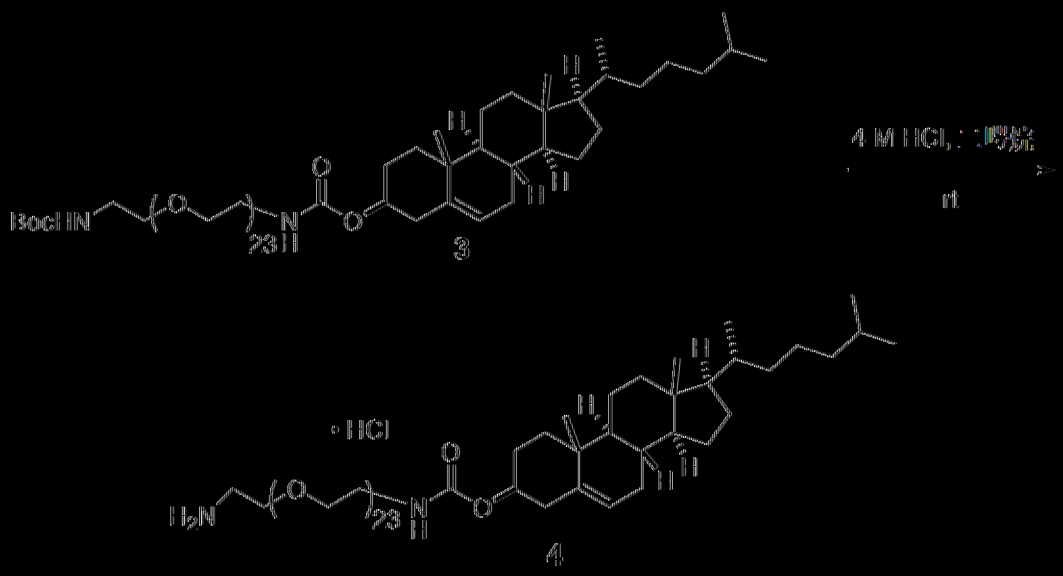
5 4 6

[0419] 在室溫下向化合物5 (0.152 g)及4 (0.156 g)於DMF中之溶液添加TEA (0.046 mL)。將反應混合物在室溫下攪拌。在1.5小時後，藉由LC-MS證實完全轉化。將反應混合物濃縮。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相來純化，用DCM至DCM中20% MeOH (0-100% B)之梯度溶離。產物在100% B下溶離。濃縮溶離份得到呈白色固體狀之6。產量：0.216 g (74.0%)。LC-MS: [M+H]+計算值2674.69 m/z, 6871.67 m/z (水加合物)；觀測值686.89 m/z。

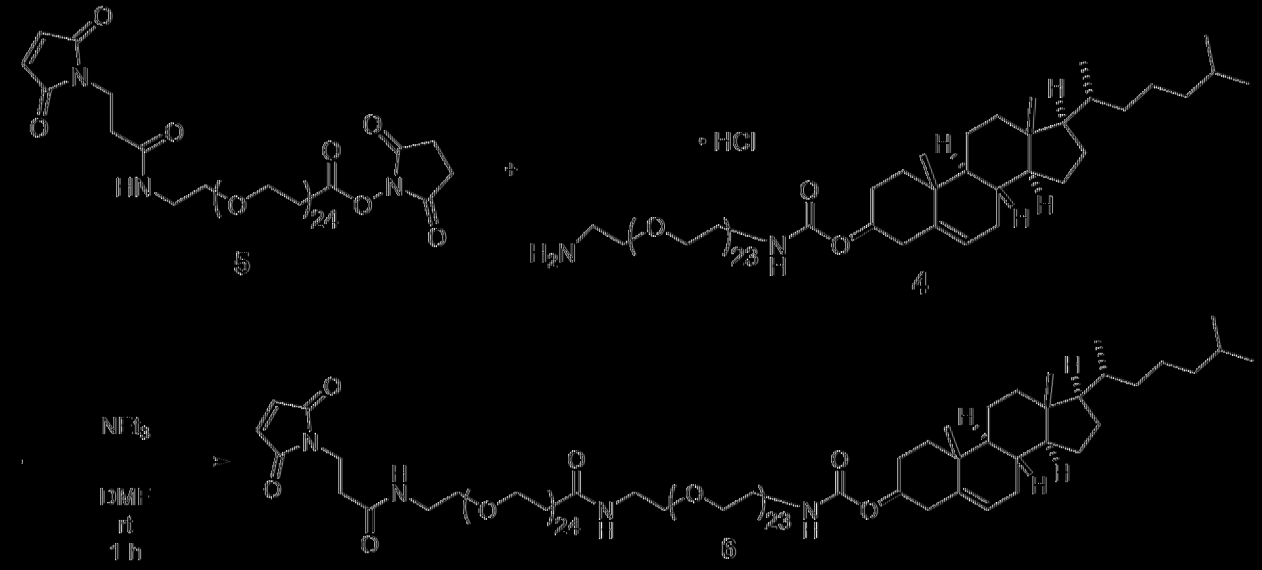
[0420] 合成PEG47-CLS



[0421] 在正常大氣壓下向冰水浴中0℃下化合物1 (0.200 g)及2 (0.0765 g)於DCM中之溶液添加TEA。將反應混合物在冰水浴中攪拌10分鐘，接著在室溫下攪拌2小時直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。將反應混合物濃縮以進行分離。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用DCM至20% MeOH/DCM (0-50%)之梯度來純化，其中產物在23% B下溶離。將產物3真空濃縮，得到白色固體。產量：0.156 g (57.8%)。LC-MS: [M+H]+計算值1586.06 m/z, 觀測值1604.14 m/z。



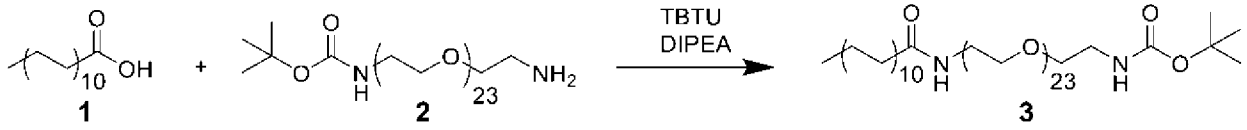
[0422] 在室溫下向化合物3 (0.161 g)添加4 M HCl之二㗁烷溶液(0.759 mL)。將反應混合物在室溫下攪拌。在10分鐘後，經由LC-MS證實完全轉化。將反應混合物真空濃縮，得到呈白色固體狀之4。不需要進一步純化。產量：0.157 g (102%)。LC-MS: [M+H]+計算值1486.01 m/z，觀測值1487.58 m/z。



[0423] 在室溫下向化合物5 (0.144 g)及4 (0.157 g)於DMF中之溶液添加NEt_3 (0.043 mL)。將反應混合物在室溫下攪拌。在1.5小時後，藉由LC-MS證實完全轉化。將反應混合物真空濃縮。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相來純化，用DCM至DCM中20% MeOH

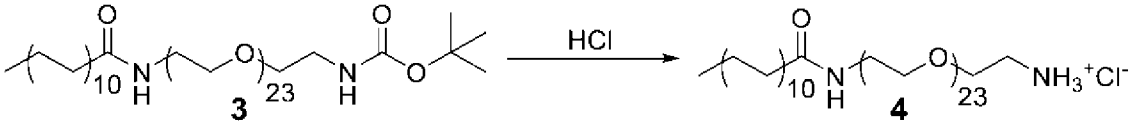
(0-100% B)之梯度溶離。產物在37% B下溶離。濃縮溶離份得到呈白色固體狀之**6**。產量：0.225 g (79.0%)。LC-MS: [M+H]+計算值2764.70 m/z, 710.17 m/z (水加合物)；觀測值709.46 m/z。

【0424】 **合成PEG71+C22**



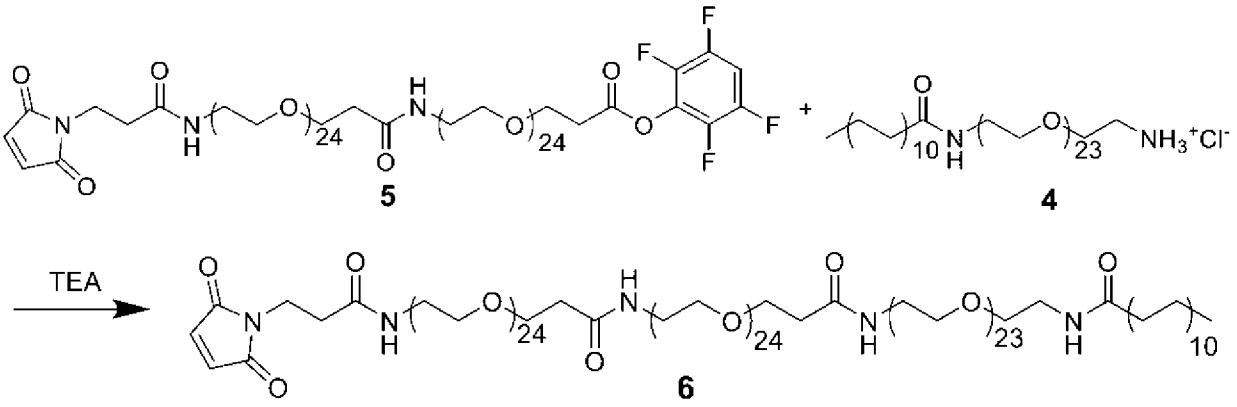
1 **2** **3**

【0425】 在室溫下向化合物**1** (50 mg，0.146 mmol，1.0當量)、化合物**2** (172 mg，0.146 mmol，1.0當量)及二異丙基乙胺(0.077 mL，0.440 mmol，3.0當量)於無水DMF (3 mL)中之溶液添加TBTU (56 mg，0.176 mmol，1.2當量)。反應混合物保持在室溫下2小時。將反應混合物用飽和$NaHCO_3$水溶液(10 mL)淬滅且將水相用二氯甲烷(3×10 mL)萃取。合併之有機相經無水Na_2SO_4乾燥，且濃縮。產物藉由CombiFlash®來純化且用二氯甲烷中6-8%甲醇溶離。LC-MS: [M+H]+計算值1496.05, 實驗值1496.23。



3 **4**

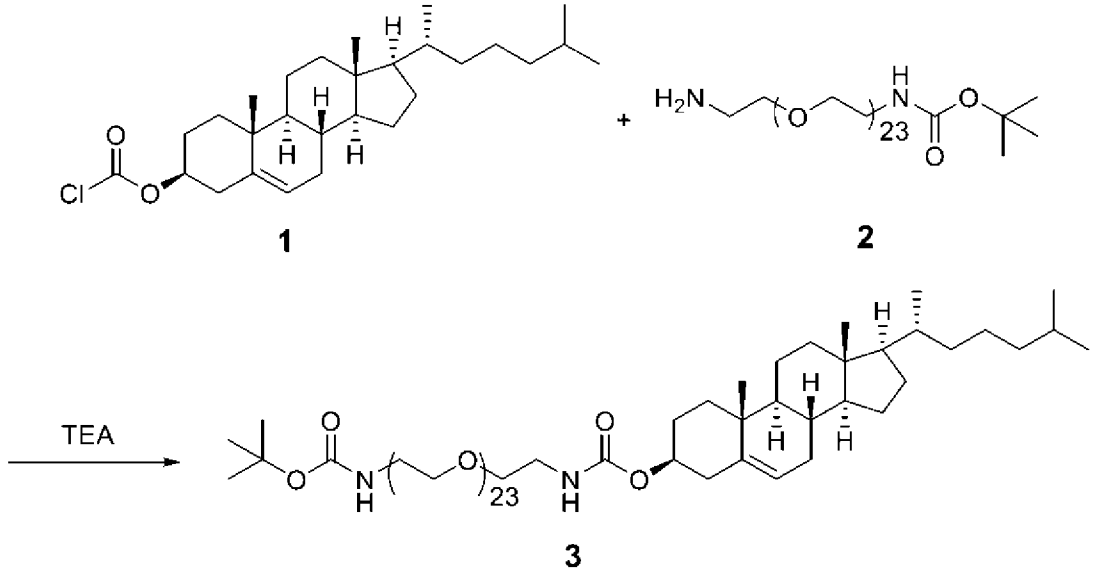
【0426】 在室溫下向化合物**1** (120 mg，0.0802 mmol，1.0當量)於無水1,4-二噁烷(0.5 mL)中之溶液添加HCl之二噁烷溶液(1.00 mL，4.010 mmol，50當量)。反應混合物保持在室溫下30分鐘且真空移除溶劑。產物未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+H]+計算值1396.00, 實驗值1396.60。



5 4 6

【0427】 在室溫下向化合物**5** (98 mg，0.0381 mmol，1.0當量)及化合物**4** (54.5 mg，0.0381 mmol，1.0當量)於無水DMF (5 mL)中之溶液添加TEA (0.016 mL，0.114 mmol，3.0當量)。反應混合物保持在室溫下3小時且真空移除溶劑。產物**6**藉由CombiFlash®來純化且用二氯甲烷中15-20%甲醇溶離。LC-MS: [M+4H]+/4計算值951.25, 實驗值952.14, [M+5H]+/5計算值761.20, 實驗值761.67。

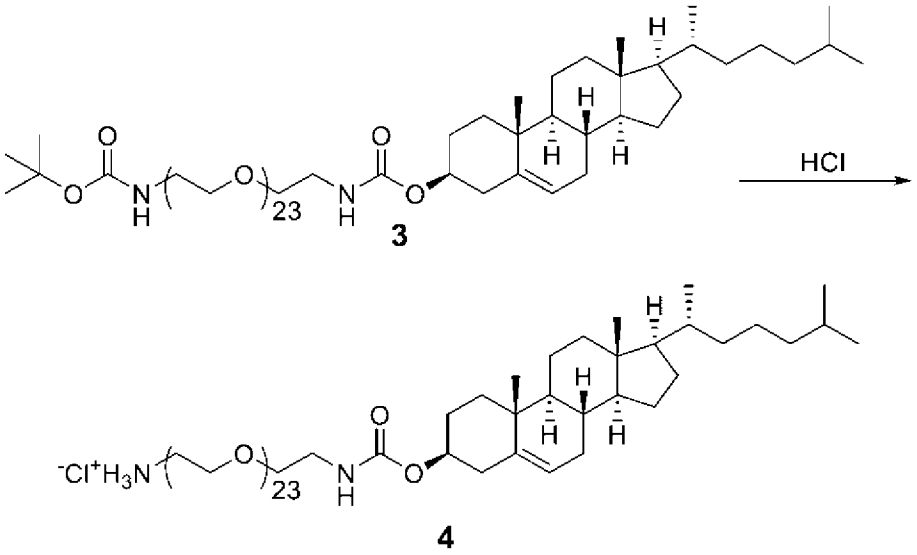
【0428】 **合成PEG71+CLS**



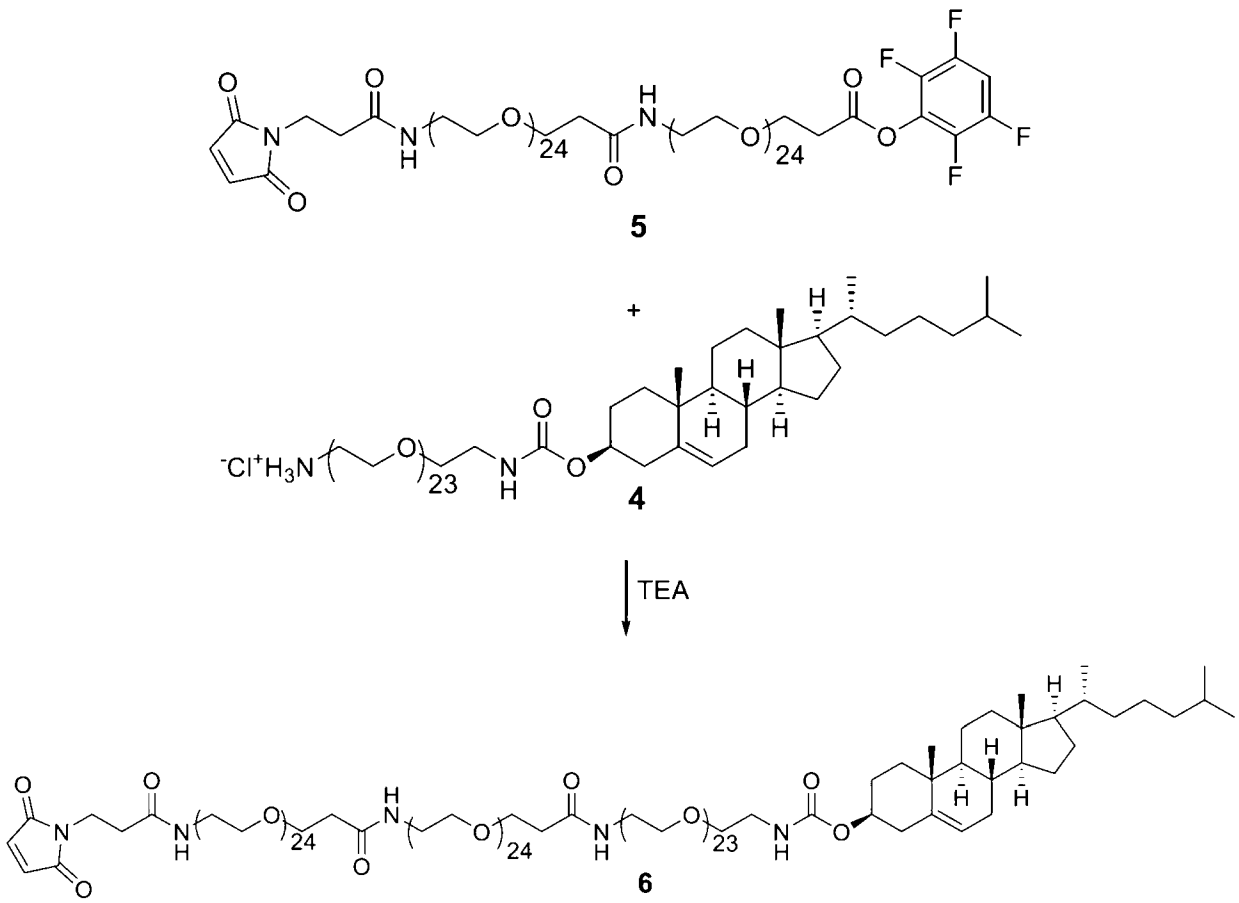
1 2 3

【0429】 在室溫下向化合物**1** (100 mg，0.222 mmol，1.0當量)及化合物**2** (274 mg，0.233 mmol，1.05當量)於無水DCM (2 mL)中之溶液添加TEA (0.094 mL，0.668 mmol，3.0當量)。反應混合物保持在室溫下2小時且將反應混合物濃縮。產物**3**藉由CombiFlash®來純化且用二氯甲烷

中8-15%甲醇溶離。LC-MS: [M+H_2O]+計算值1603.17, 實驗值1603.18。

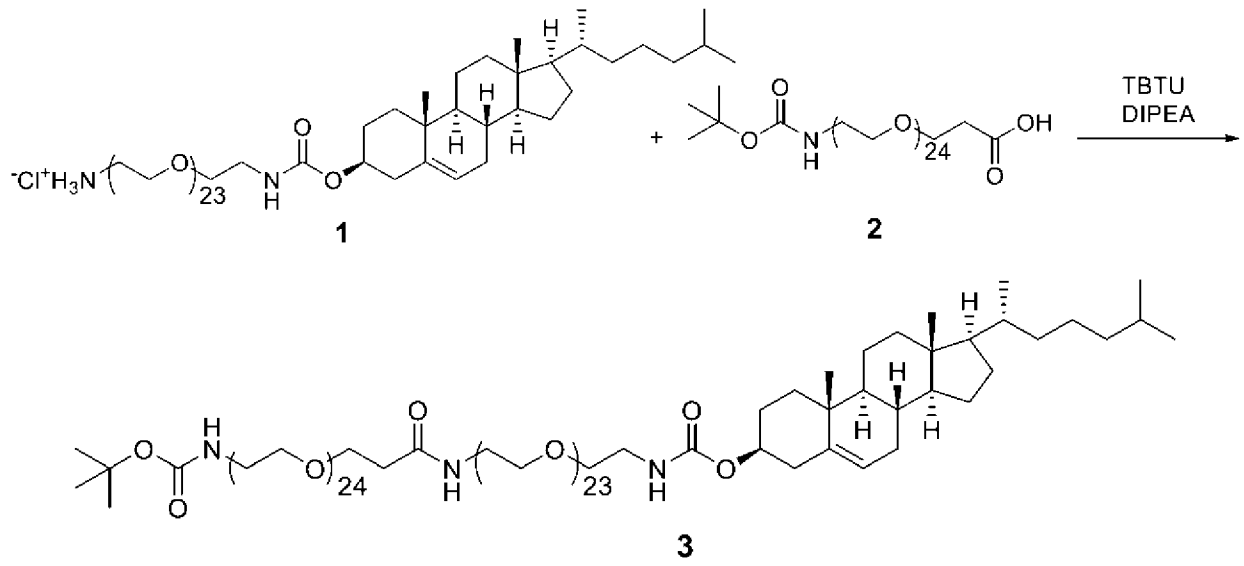


【0430】 在室溫下向化合物**3** (353 mg，0.222 mmol，1.0當量)於無水1,4-二噁烷(0.5 mL)中之溶液添加HCl之二噁烷溶液(1.11 mL，4.451 mmol，20當量)。反應混合物保持在室溫下30分鐘且接著真空移除溶劑。產物**4**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+H]+計算值1486.01, 實驗值1486.50。

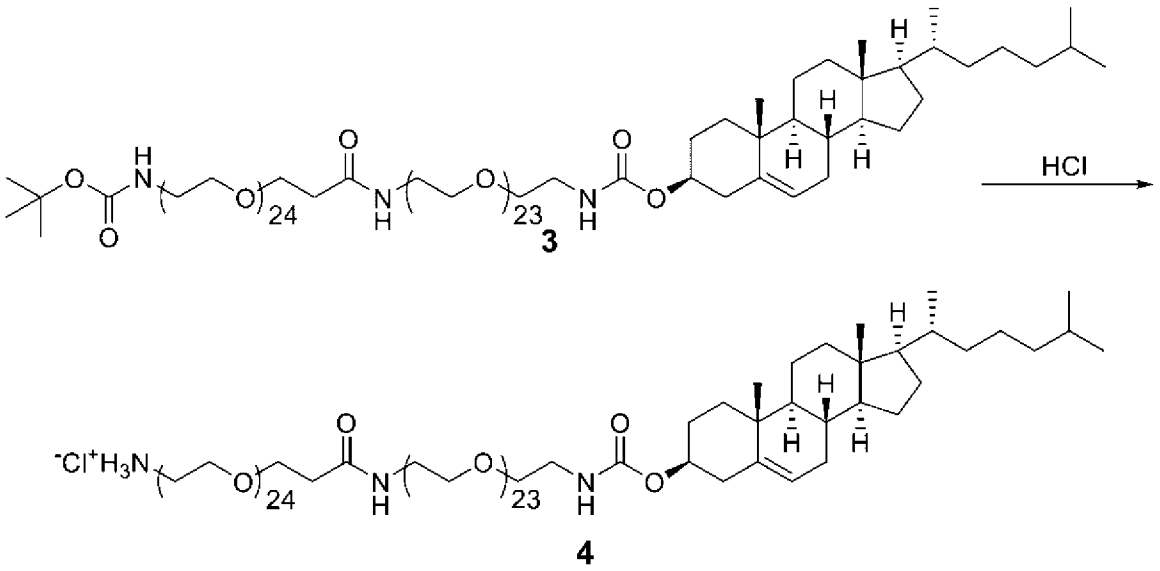


【0431】 在室溫下向化合物**5** (70 mg，0.0272 mmol，1.0當量)及化合物**4** (41.4 mg，0.0272 mmol，1.0當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液添加TEA (0.012 mL，0.0816 mmol，3.0當量)。反應混合物保持在室溫下3小時且接著真空移除溶劑。產物**6**藉由CombiFlash®來純化且用二氯甲烷中13-19%甲醇溶離。LC-MS: [M+4H]+/4計算值973.84, 實驗值974.58, [M+5H]+/5 779.27, 實驗值779.79。

【0432】 **合成PEG95+CLS**

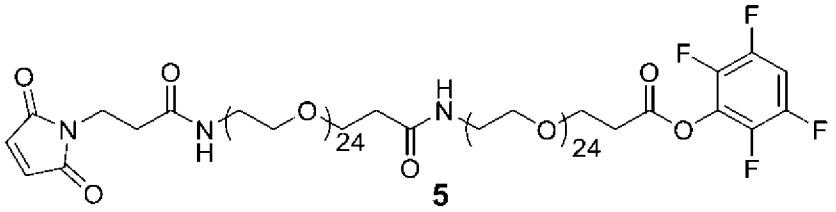


【0433】 在室溫下向化合物**1** (60 mg，0.0419 mmol，1.0當量)、化合物**2** (52 mg，0.0419 mmol，1.0當量)及DIPEA (0.022 mL，0.125 mmol，3.0當量)於無水DMF (3 mL)中之溶液添加TBTU (16 mg，0.0503 mmol，1.2當量)。反應混合物保持在室溫下2小時。接著將反應混合物真空濃縮。產物**3**藉由CombiFlash®來純化且用二氯甲烷中12-18%甲醇溶離。LC-MS: [M+4H]+/4 計算值679.18, 實驗值679.93, [M+3H]+/3 905.24, 實驗值905.81。產量：0.082 g (76.7%)。

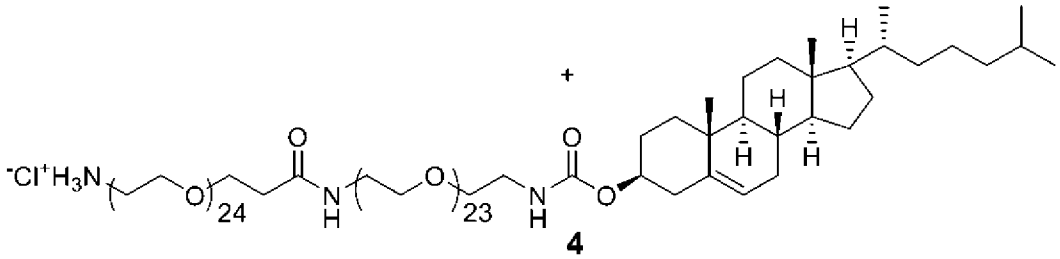


【0434】 在室溫下向化合物**3** (85 mg，0.0313 mmol，1.0當量)於無水1,4-二噁烷(0.3 mL)中之溶液添加HCl之二噁烷溶液(0.391 mL，1.565

mmol，50當量)。反應混合物保持在室溫下30分鐘且真空移除溶劑。產物**4**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+3H]+/3計算值871.89, 實驗值871.72, [M+4H]+/4 654.17, 實驗值654.97。

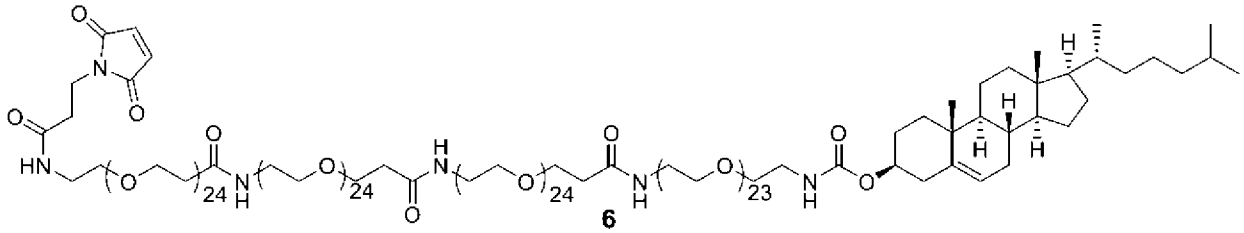


5



4

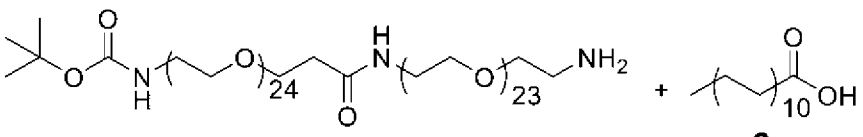
TEA



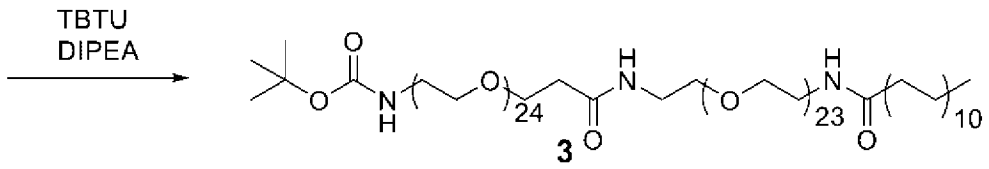
6

【0435】 在室溫下向化合物**5** (80 mg，0.0311 mmol，1.0當量)及化合物**4** (82 mg，0.0311 mmol，1.0當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液添加TEA (0.013 mL，0.0932 mmol，3.0當量)。反應混合物保持在室溫下3小時且接著真空移除溶劑。產物**6**藉由CombiFlash®來純化且用二氯甲烷中13-19%甲醇溶離。LC-MS: [M+4H]+/4計算值1255.76, 實驗值1255.57, [M+5H]+/5 1004.81, 實驗值1005.79。

【0436】 **合成LP1-p**

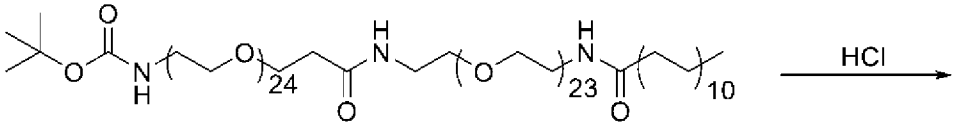


1 + **2**

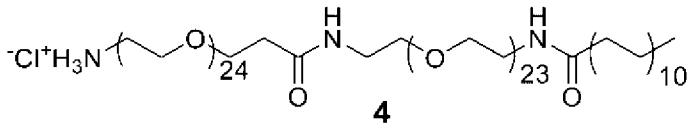


3

【0437】 在室溫下向化合物**1** (2630 mg，1.142 mmol，1.0當量)、化合物**2** (428 mg，1.256 mmol，1.1當量)及二異丙基乙胺(0.597 mL，3.427 mmol，3.0當量)於無水DMF (10 mL)中之溶液添加TBTU (440 mg，1.371 mmol，1.2當量)。反應混合物保持在室溫下2小時且接著濃縮。化合物**3**藉由CombiFlash®用DCM中12-17% MeOH溶離來純化。LC-MS: [M+4H]+/4計算值656.66, 實驗值656.65。

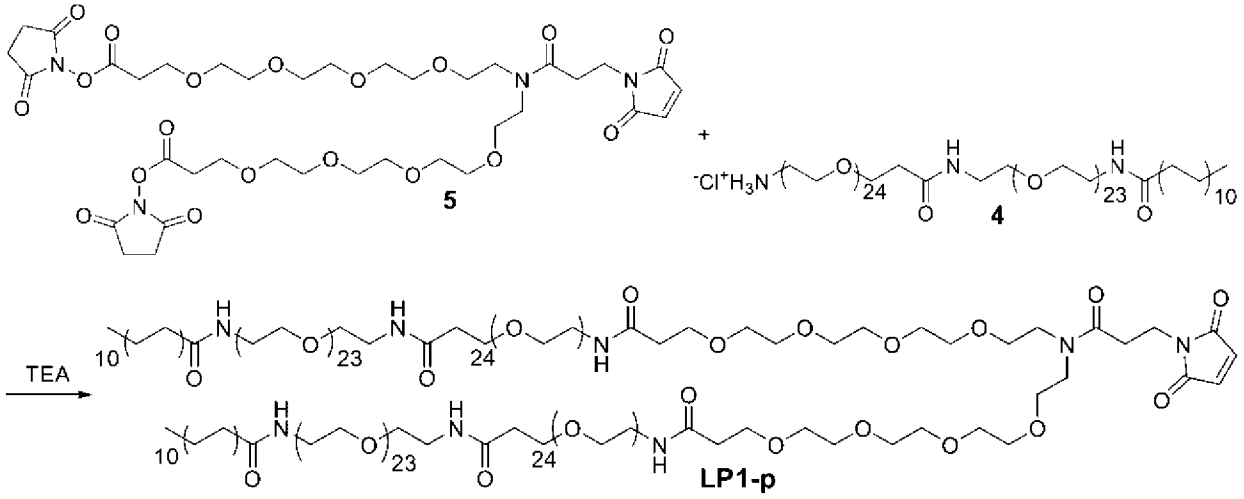


3



4

【0438】 在室溫下向化合物**3**固體(1150 mg，0.438 mmol，1.0當量)添加HCl之二噁烷溶液(5.478 mL，21.910 mmol，50當量)。反應混合物保持在室溫下30分鐘且接著濃縮。化合物**4**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+3H]+/3計算值841.88, 實驗值842.56, [M+4H]+/4計算值631.66, 實驗值632.41。



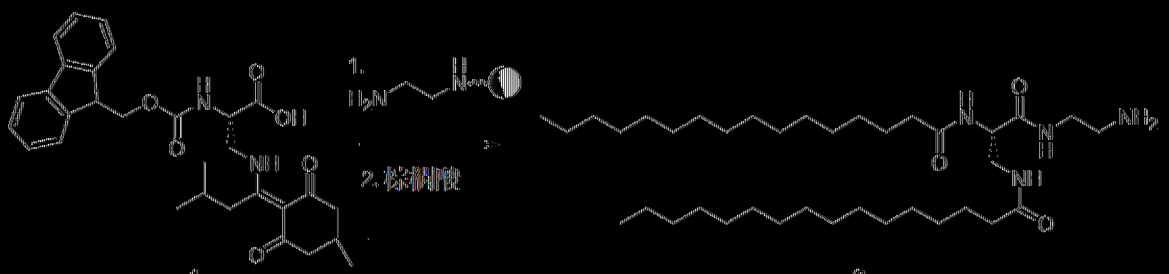
5

4

LP1-p

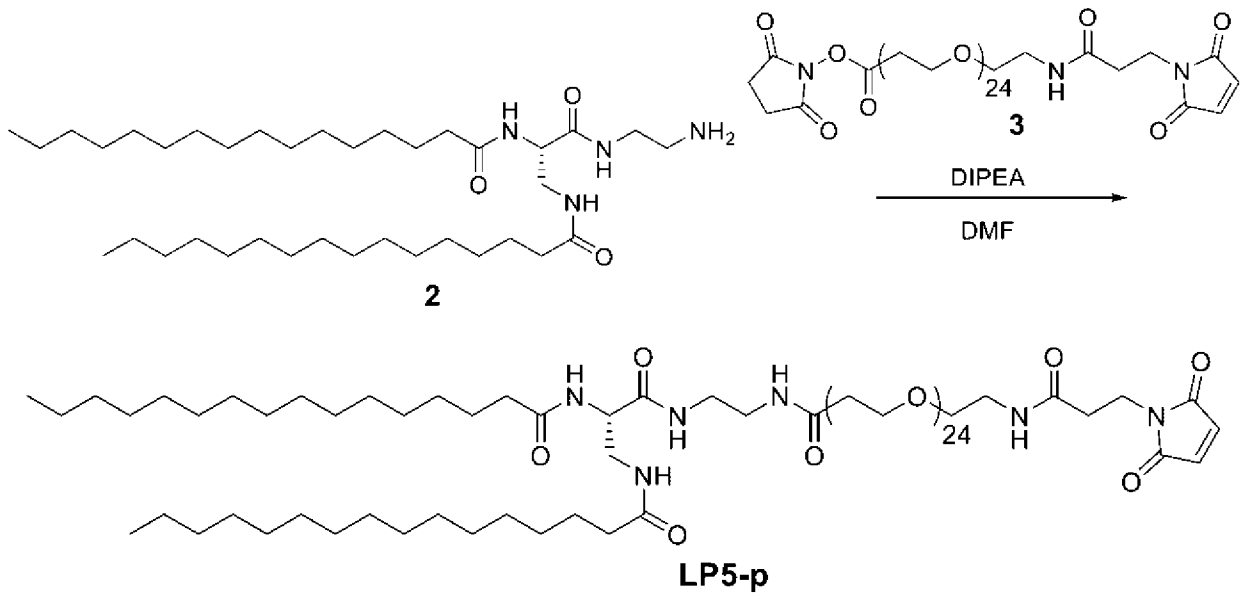
[0439] 在室溫下向化合物5 (175 mg，0.203 mmol，1.0當量)及化合物4 (1095 mg，0.427 mmol，2.1當量)於無水DCM (10 mL)中之溶液添加TEA (0.144 mL，1.018 mmol，5.0當量)。反應混合物保持在室溫下3小時且在真空下移除溶劑。LP1-p藉由CombiFlash®用DCM中10-17% MeOH溶離來純化。LC-MS: [M+6H]+/6計算值946.60, 實驗值947.10, [M+7H]+/7計算值811.51, 實驗值811.35。

[0440] 合成LP5-p



1 2

[0441] 用TBTU (4當量)處理含化合物1 (105 mg，0.198 mmol)之DMF且攪動5分鐘。隨後添加DIEA (8當量)且將混合物添加至預先膨脹之2-氯三苯甲基樹脂上的1莫耳當量之乙二胺。在攪動30分鐘之後，用DMF洗滌樹脂3次，且隨後用含2%肼之DMF處理10分鐘。使用與化合物1之偶合相同的程序重複棕櫚酸之偶合(202 mg，0.789 mmol)。完成後，將樹脂用3份DCM洗滌且用1% TFA於DCM中之溶液處理10分鐘。重複TFA處理且用3份DCM洗滌樹脂。移除所有揮發物，且粗化合物2未經進一步純化即使用。產量126 mg (81%)。



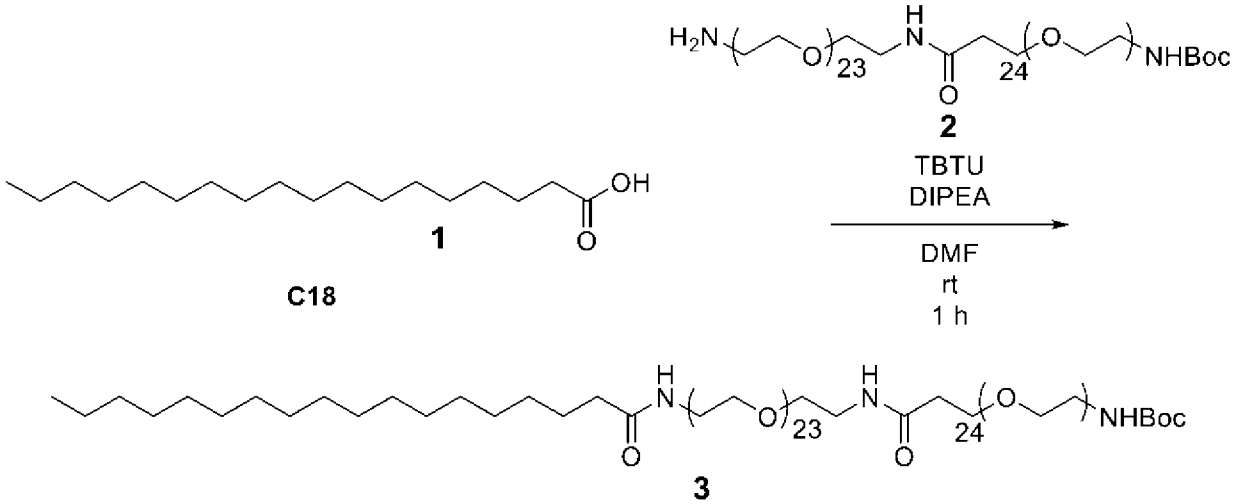
2

3

LP5-p

【0442】 向含有化合物**2** (23 mg，37 μmol)及DIEA (14.1 uL，81 μmol)於DMF (1 mL)中之混合物添加NHS-PEG24-MAL (化合物**3**，61.5 mg，0.0441 mmol)且將反應混合物攪拌30分鐘。在完成之後，將粗**LP5-p**乾式裝載至二氧化矽且用DCM中MeOH之梯度溶離來分離。產量15 mg (21%)。

【0443】 **合成LP28-p**



2

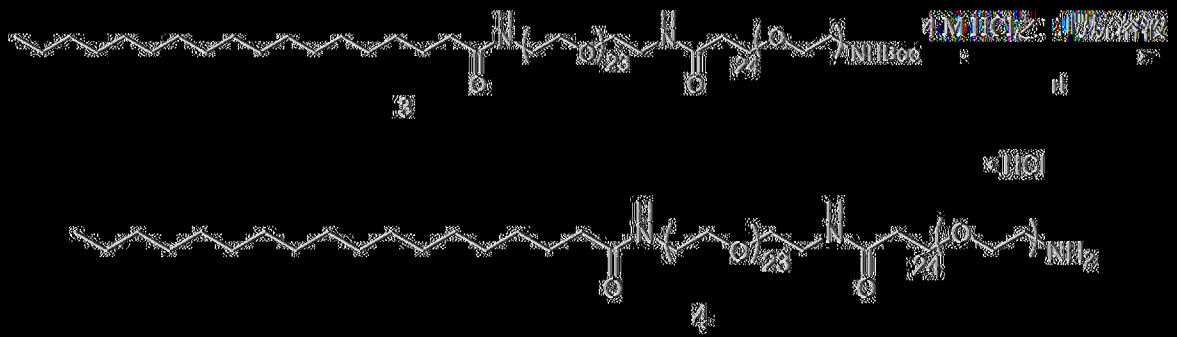
1

C18

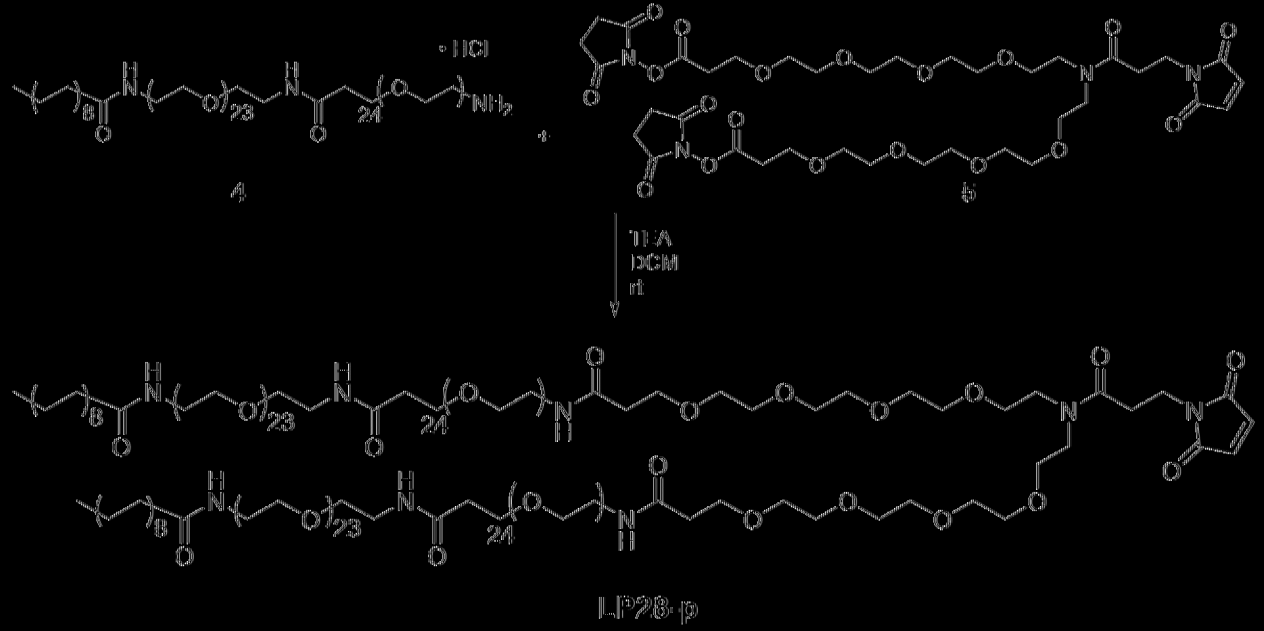
3

【0444】 在室溫下向化合物**1** (80 mg)及**2** (60.2 mg)於DMF中之溶液添加TBTU (90.3 mg)且接著DIPEA (0.147 mL)。將反應混合物攪拌直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。接著直接濃縮反應混合物。殘餘物藉由

CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用經20-30分鐘DCM中0-20% MeOH (0-80%，等度，且接著至100%)之梯度來純化，其中化合物3在68% B下溶離。將化合物3真空濃縮，得到白色油狀殘餘物。LC-MS: [M+H]+計算值2567.65 m/z, 觀測值1301.78 (+2/2, +H_2O) m/z。



[0445] 在室溫下向化合物3 (100.4 mg)添加4 M HCl/二㗁烷(14.3 mg)。將反應混合物在室溫下攪拌。將反應混合物攪拌隔夜直至經由LC-MS證實完全轉化。將反應混合物與PhMe共沸且真空濃縮隔夜，得到呈油狀之化合物4。LC-MS: [M+H]+計算值2467.60 m/z, 觀測值1243.32 m/z。

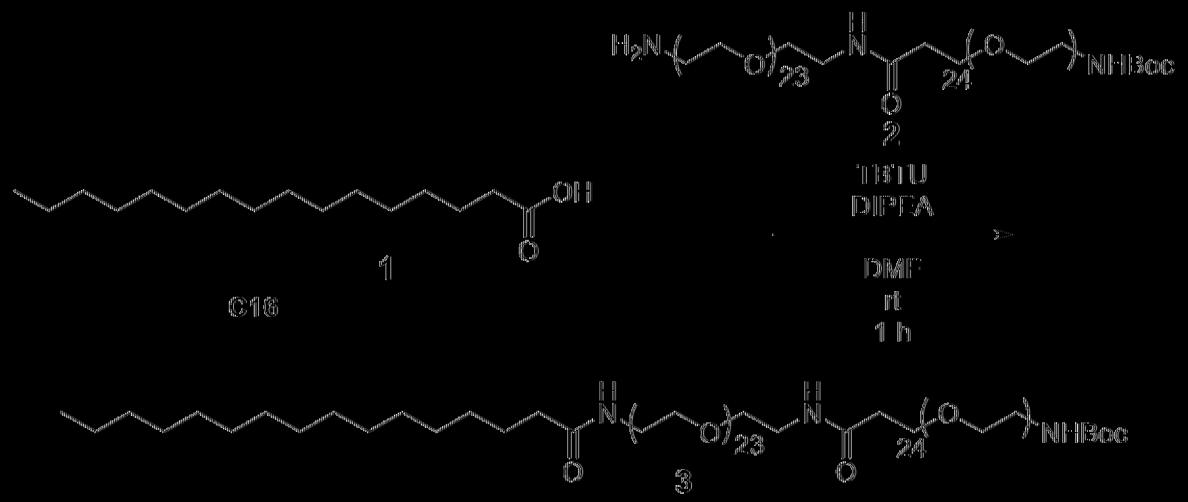


LP28-p

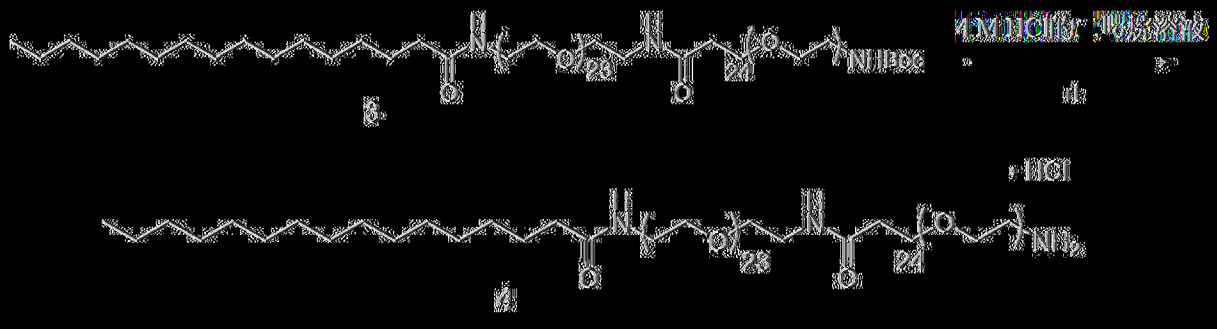
[0446] 製備化合物4 (97.9 mg)及TEA (0.016 mL)於無水DCM中之溶液且在充氮氣之氛圍下攪拌。接著將化合物5 (15.8 mg)添加至反應混

合物。將反應混合物在室溫下攪拌直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。接著直接濃縮反應混合物。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相來純化，利用DCM中0-20% MeOH (0-100% B)之梯度溶離。LP28-p在67% B下溶離。LC-MS: $[M+H]^+$計算值5562.48 m/z，觀測值1409.68 (+4/4, $+H_2O$) m/z。

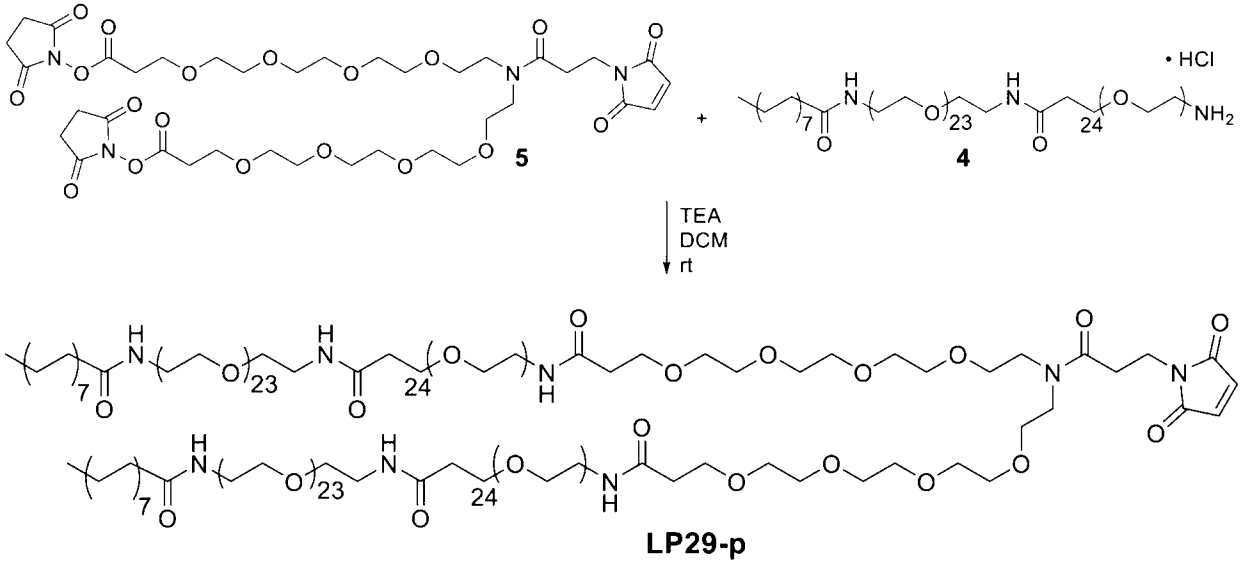
[0447] 合成LP29-p



[0448] 在室溫下向化合物1 (40 mg)及2 (334 mg)於DMF中之溶液添加TBTU (50.1 mg)，接著添加DIPEA (0.082 mL)。將反應混合物攪拌直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。接著直接濃縮反應混合物。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用經20-30分鐘DCM中0-20% MeOH (0-80%)之梯度來純化，其中化合物3在71% B下溶離。將化合物3真空濃縮，得到白色油狀殘餘物。LC-MS: $[M+H]^+$計算值2539.62 m/z，觀測值1288.21 (+2/2, $+H_2O$) m/z。



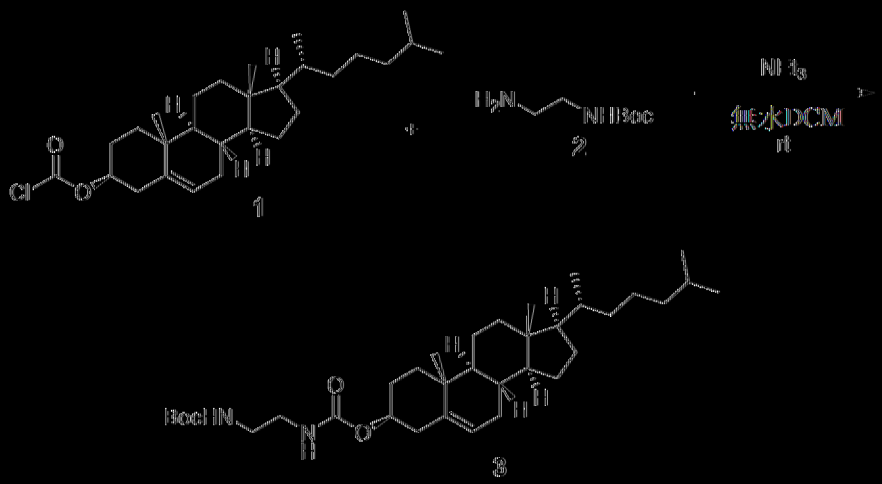
【0449】 在室溫下向化合物**3** (147 mg)添加4 M HCl/二噁烷(21.2 mg)。將反應混合物在室溫下攪拌。將反應混合物攪拌隔夜直至經由LC-MS證實完全轉化。將反應混合物與PhMe共沸且真空濃縮隔夜，得到呈油狀之化合物**4**。LC-MS: [M+H]+計算值2439.57 m/z, 觀測值611.16 (+4/4) m/z。



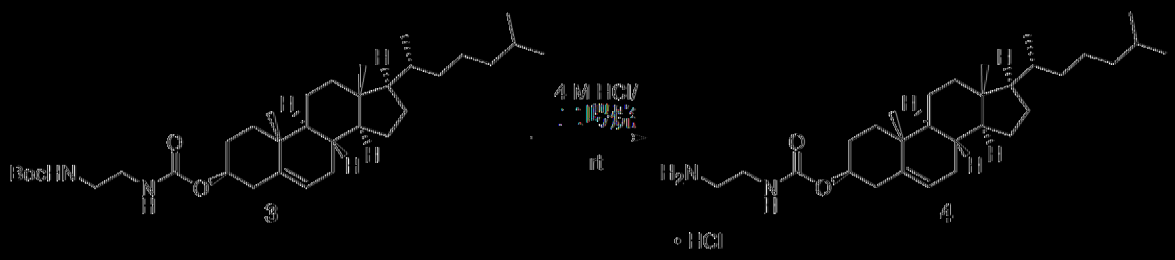
【0450】 製備化合物**4** (143 mg)及TEA (0.024 mL)於無水DCM中之溶液且在充氮氣之氛圍下攪拌。接著將化合物**5** (23.4 mg)添加至反應混合物。將反應混合物在室溫下攪拌直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。

【0451】 反應混合物接著直接濃縮。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相及用DCM中0-20% MeOH (0-100% B)之梯度溶離來純化。**LP29-p**在54% B下溶離。LC-MS: [M+H]+計算值5506.42 m/z, 觀測值1854.41 (+3/3, +H_2O) m/z。

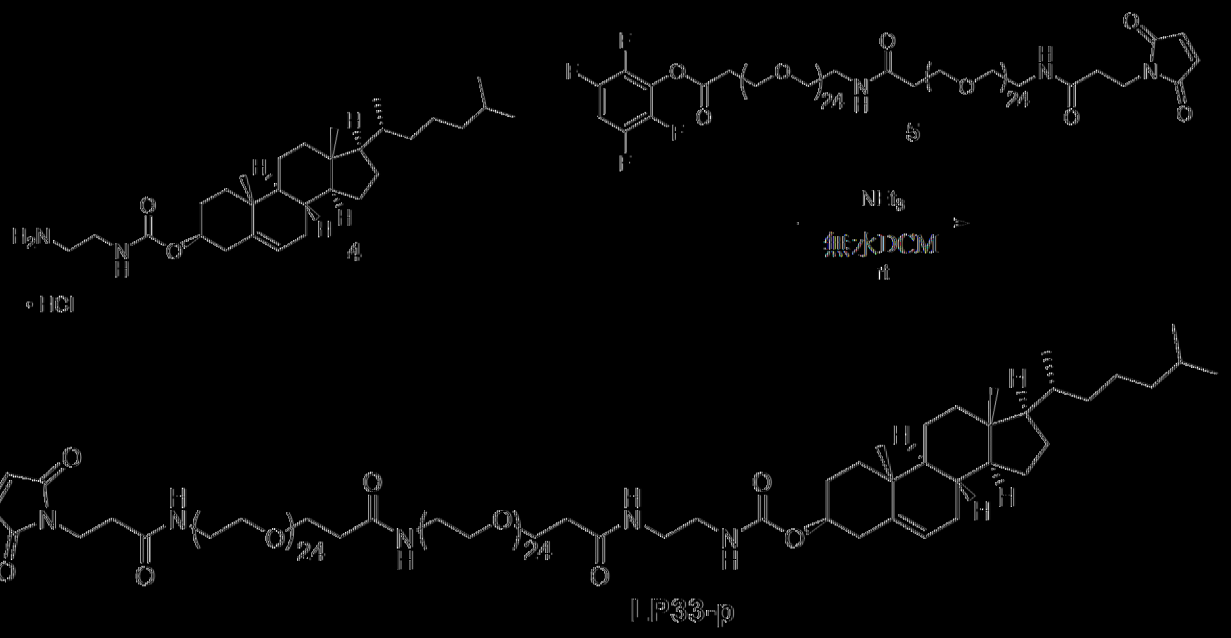
【0452】 **合成LP33-p**



[0453] 在室溫下向化合物1 (2.00 g，4.45 mmol)及2 (1.07 g，6.68 mmol)於無水DCM中之溶液添加NEt_3 (1.86 mL，13.4 mmol)。攪拌反應直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。接著直接濃縮反應混合物。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用經45分鐘DCM中0-20% MeOH (0-100%)之梯度來純化，其中化合物3在8% B下溶離。將化合物3濃縮，得到白色固體。LC-MS: $[M+H]^+$計算值573.46 m/z，觀測值573.60 m/z。

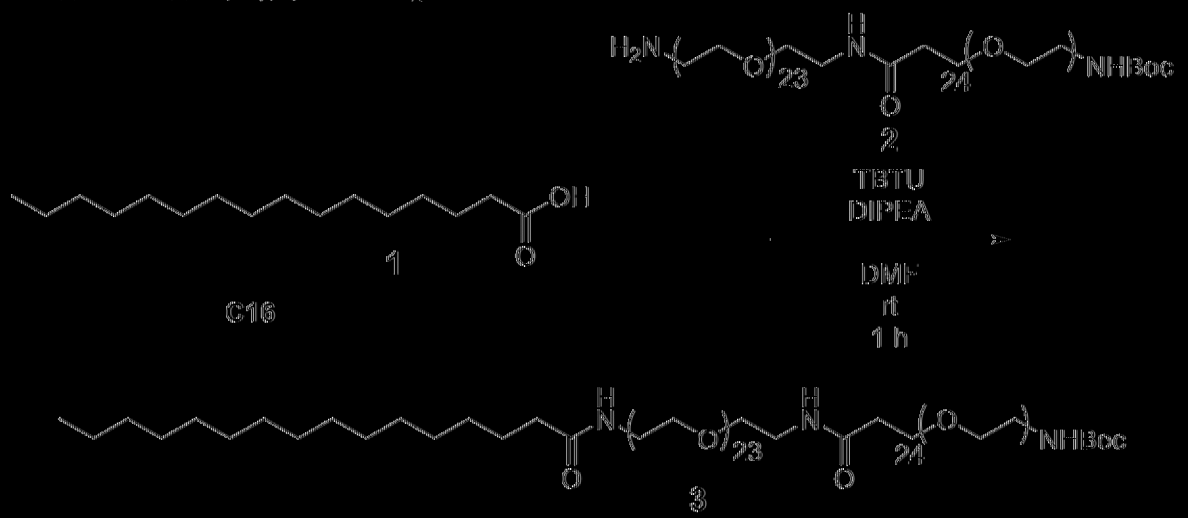


[0454] 在室溫下向化合物3 (317 mg，0.553 mmol)添加4 M HCl/二噁烷(1.383 mL)。將反應混合物在室溫下攪拌。將反應混合物攪拌隔夜直至經由LC-MS證實完全轉化。將反應混合物在高真空下濃縮隔夜，得到呈透明及無色油脂狀殘餘物之化合物4。LC-MS: $[M+H]^+$計算值473.40 m/z，觀測值473.58 m/z。



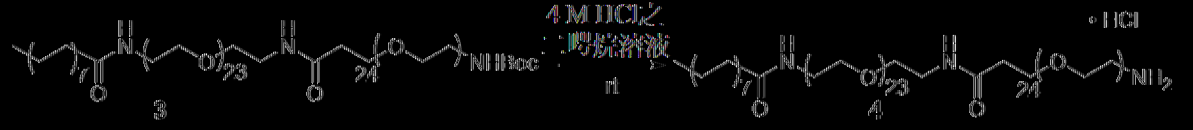
[0455] 在N_2(g)下向化合物4 (282 mg，0.553 mmol)及5 (1.35 g，0.526 mmol)於無水DCM中之溶液添加NEt_3 (0.386 mL)。將反應混合物攪拌直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。接著直接濃縮反應混合物。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用經45分鐘DCM中0-20% MeOH (0-100%)之梯度來純化，其中LP33-p在46% B下洗離。將LP33-p濃縮，得到白色固體。LC-MS: $[M+H]^+$計算值2879.76 m/z，觀測值960.98 (+3/3) m/z。

[0456] 合成LP38-p

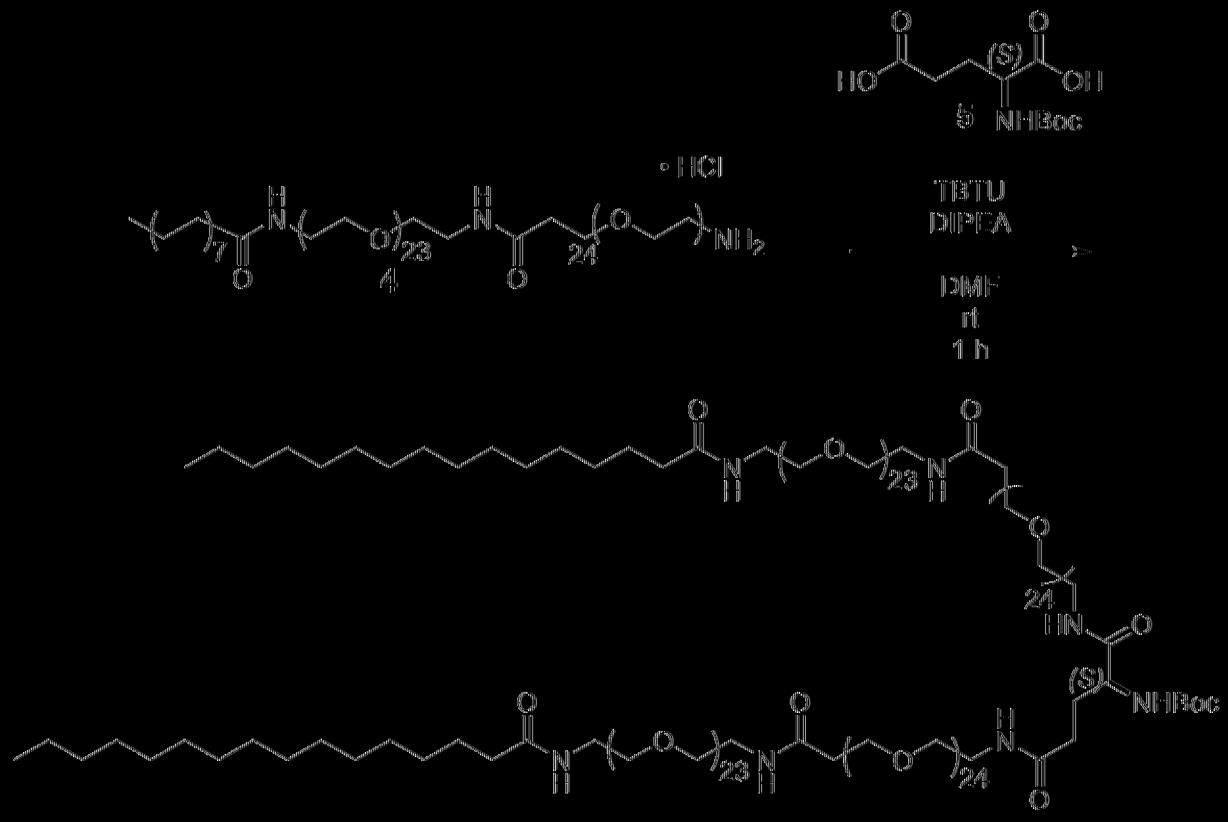


[0457] 在室溫下向化合物1 (35 mg)及2 (299 mg)於DMF中之溶液

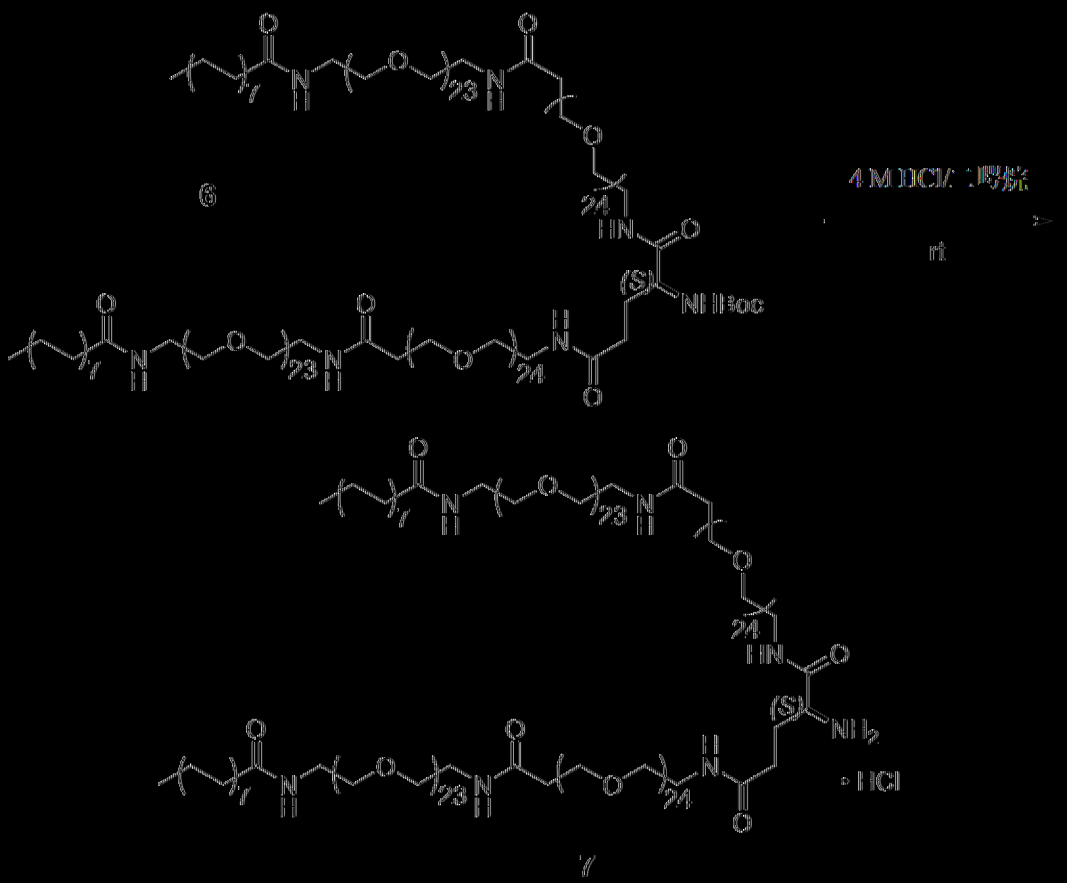
添加TBTU (43.8 mg)且接著添加DIPEA (0.071 mL)。將反應混合物攪拌直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。接著直接濃縮反應混合物。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用經20-30分鐘DCM中0-20% MeOH (0-100%)之梯度來純化，其中化合物3在56% B下溶離。將化合物3真空濃縮，得到白色油狀殘餘物。LC-MS: [M+H]+計算值2539.62 m/z，觀測值1288.07 (+2/2, $+H_2O$) m/z。



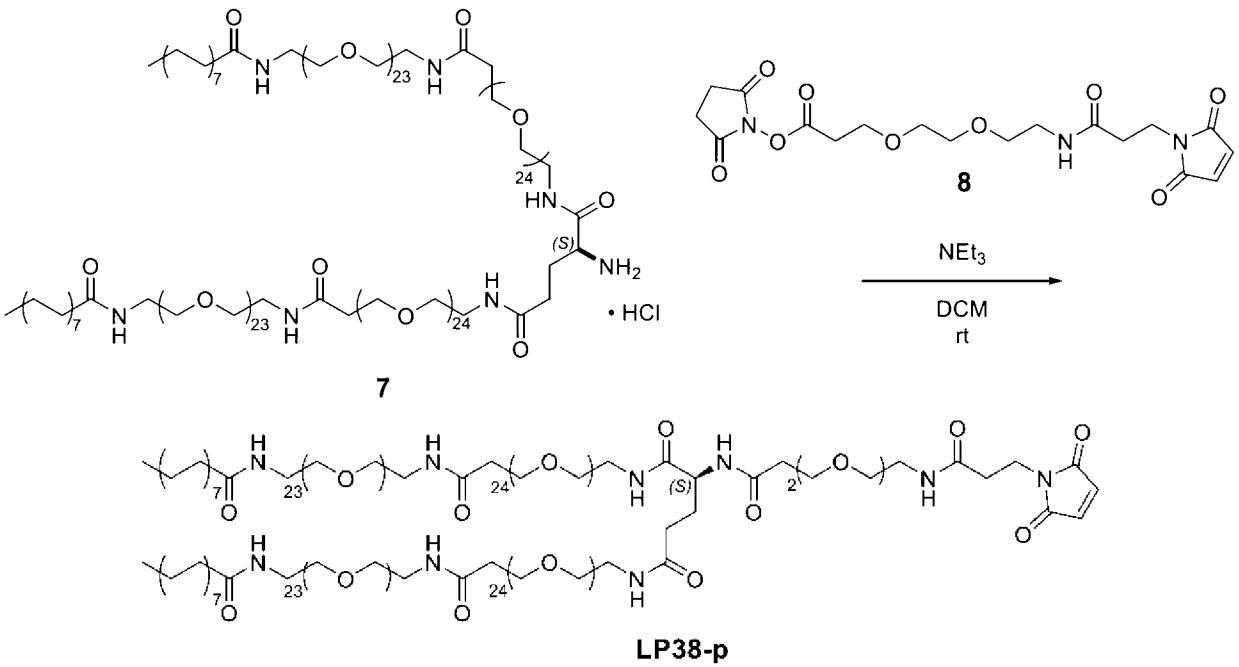
[0458] 在室溫下向化合物3 (186 mg)添加4 M HCl/二㗁烷(26.7 mg)。將反應混合物在室溫下攪拌。將反應混合物攪拌隔夜且真空經由LC-MS證實完全轉化。將反應混合物與PhMe共沸且真空濃縮隔夜，得到呈油狀之化合物4。LC-MS: [M+H]+計算值2439.57 m/z，觀測值1220.97 (+2/2) m/z。



[0459] 在室溫下向化合物4 (181 mg)、TBTU (24 mg)及DIEA (0.033 mL)於DMF中之溶液添加化合物5 (8.7 mg)。攪拌反應直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。接著直接濃縮反應混合物。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用經20-30分鐘DCM中0-20% MeOH (0-100%)之梯度來純化，其中化合物6在65% B下溶離。將化合物6真空濃縮，得到白色油狀殘餘物。LC-MS: $[M+H]^+$計算值5089.22 m/z，觀測值1036.24 (+5/5, $+H_2O$) m/z。

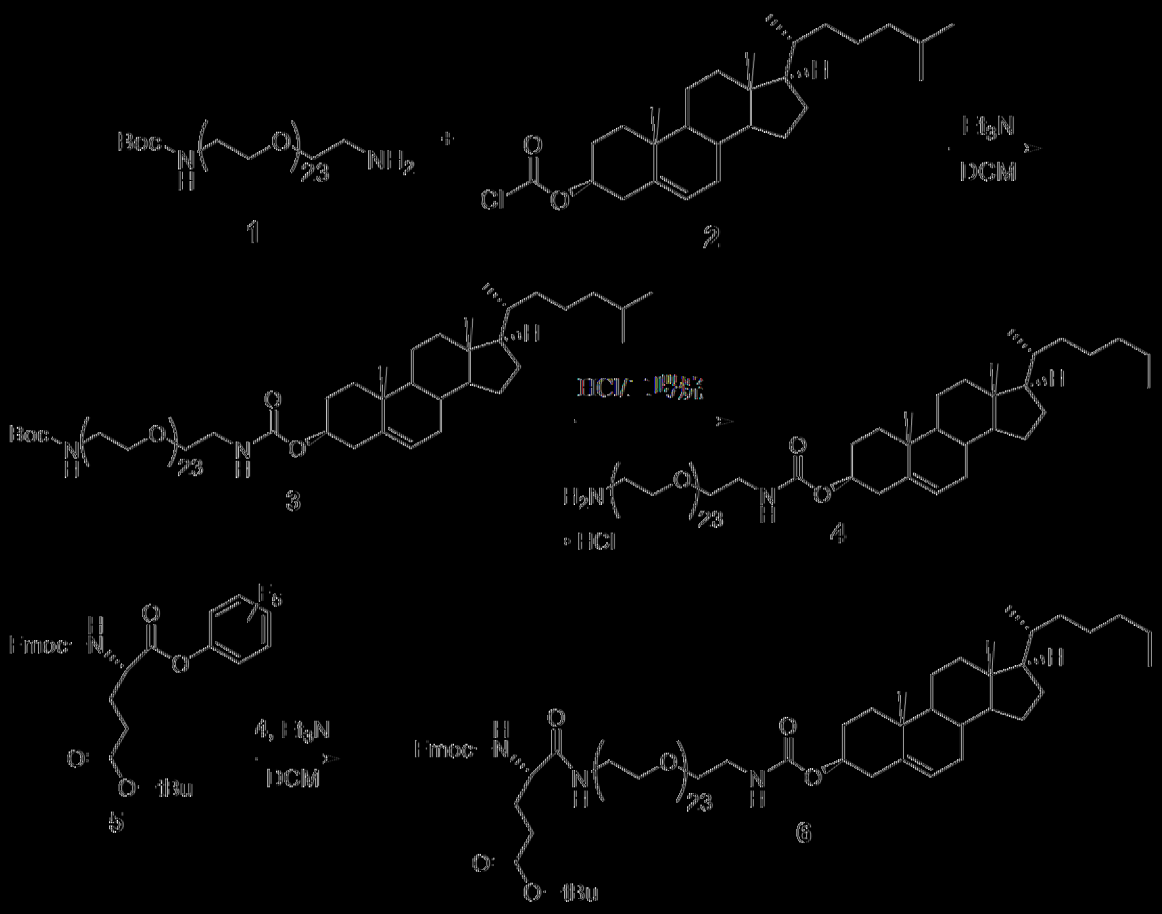


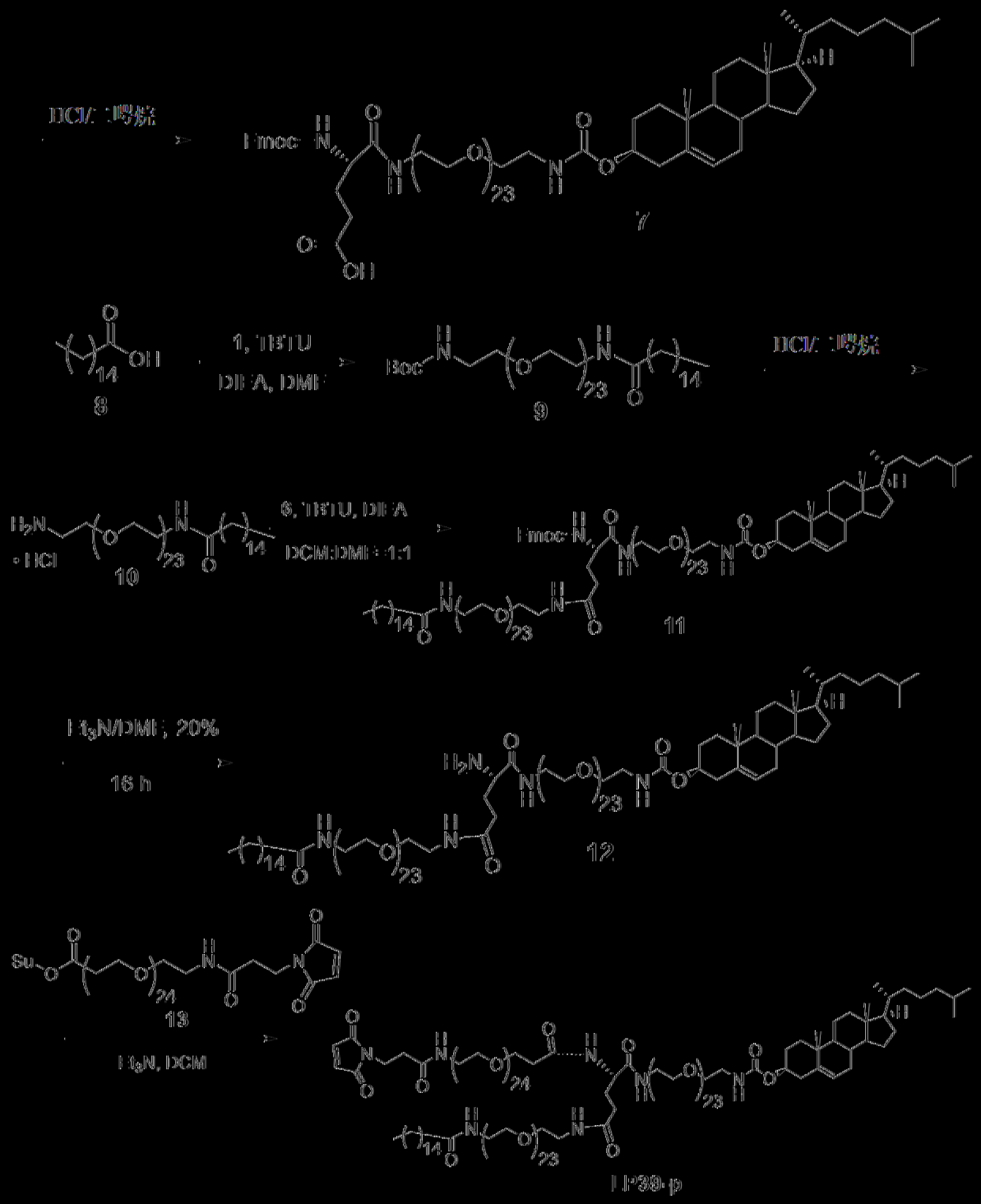
[0460] 在室溫下向化合物6 (130 mg)添加4 M HCl/二噁烷(9.3 mg)。將反應混合物在室溫下攪拌。將反應混合物攪拌隔夜直至經由LC-MS證實完全轉化。將反應混合物與PhMe共沸且真空濃縮隔夜，得到呈油狀之化合物7。LC-MS: $[M+H]^+$計算值4989.17 m/z，觀測值1248.58 (+4/4) m/z。



【0461】 在室溫下在充N_2(g)下製備化合物**7** (128 mg)及NEt_3 (0.018 mL)於無水DCM中之溶液。接著緩慢添加化合物**8** (10.3 mg)。將反應混合物攪拌直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。接著直接濃縮反應混合物。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用經30分鐘DCM中0-20% MeOH (0-100%)之梯度來純化，其中**LP38-p**在100% B下溶離。將**LP38-p**濃縮，得到白色固體。LC-MS: [M+H]+計算值5299.28 m/z, 觀測值1786.62 (+3/3, $+H_2O$) m/z。

【0462】 **合成LP39-p**


Boc
NH
O
23
NH2
1
Cl
O
2
Et3N
DCM
3
DCM, 室温
H2N
·HCl
4
Fmoc
NH
O
tBu
5
4, Et3N
DCM
6



[0463] 將經Boc保護之PEG_{23}-胺1 (Quanta Biodesign Limited，200 mg，0.17 mmol)與膽固醇氯甲酸酯2 (77 mg，0.17 mmol)及Et_3N (48 uL，0.341 mmol)一起在5 mL DCM中攪拌1.5小時。真空移除溶劑，將殘餘物與SiO_2 (1g)混合且裝載於CombiFlash®。化合物3使用系統DCM中0-20% MeOH，梯度0-80%，40分鐘來純化。計算值MW 1586.09，M+

18=1604.09, (M +2×18)/2=811.05 實驗值: MS (ES, 正離子): 1603.55 $[M^{+}NH_4]^{+}$, 811.07 $[M^{+2}NH_4]^{2+}$。

【0464】 產物**3**脫除Boc保護基且將所得鹽酸鹽**4** (62 mg，0.04 mmol)與五氟苯基酯**5** (24 mg，0.04 mmol)及Et_3N (14 uL，0.1 mmol)一起在DCM (5 mL)中攪拌1.5小時。真空移除溶劑，將殘餘物與SiO_2 (400 mg)混合且裝載於CombiFlash®。產物**6**使用系統DCM中0-20% MeOH，梯度0-70%，30分鐘來純化。產量57 mg。計算值MW 1893.44, M + 18=1911.44, (M +2×18)/2=964.72 實驗值: MS (ES, 正離子): 1911.00 $[M+NH_4]^{+}$, 964.46 $[M+2NH_4]^{2+}$。

【0465】 在室溫下將產物**6**用4M HCl之二噁烷溶液(10 mL)處理4小時。真空移除溶劑，甲苯自殘餘物蒸發2次，產物**7**經乾燥且直接用於下一步。

【0466】 將固體TBTU (50 mg，0.156 mmol)添加至經Boc保護之PEG_{23}-胺**1** (Quanta Biodesign Limited，152 mg，0.13 mmol)、棕櫚酸**8** (33 mg，0.13 mmol)及DIEA (68 uL，0.39 mmol)於DMF (9 mL)中之溶液。對反應混合物進行音波處理以溶解固體且在室溫下攪拌16小時。真空移除溶劑，甲苯自殘餘物蒸發兩次，使殘餘物溶於氯仿(50 mL)中，用$NaHCO_3$ (2×10 mL)及鹽水(10 mL)洗滌。化合物**9**經乾燥(Na_2SO_4)，真空濃縮，且在Combiflash® (SiO_2)上使用系統DCM:DCM中20% MeOH，梯度0-80%，20分鐘來純化。計算值MW 1411.85, M + 18=1429.85, (M +1+ 18)/2=715.43 實驗值: MS (ES, 正離子): 1429.24 $[M+NH_4]^{+}$, 715.41 $[M+H+NH_4]^{2+}$。

【0467】 在HCl/二噁烷溶液下**9**脫除Boc保護基且化合物**10**直接用於

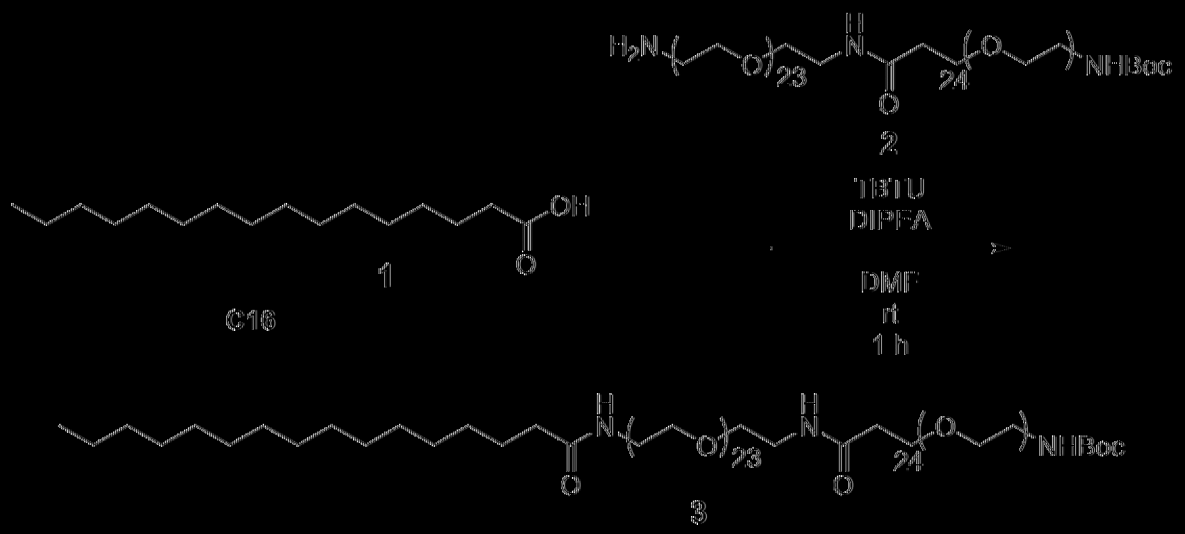
下一步。

【0468】 將衍生物**7** (60 mg，0.028 mmol)與鹽酸鹽**10** (42 mg，0.03 mmol)、TBTU (11 mg，0.034 mmol)及DIEA (18 uL，0.1 mmol)一起在DCM:DMF= 1:1 (8 mL)中攪拌3小時。真空移除溶劑，甲苯自殘餘物蒸發2次，且使固體懸浮於$CHCl_3$ (50 mL)中。將懸浮液用2% $NaHCO_3$及鹽水洗滌兩次。在真空濃縮之後，產物**11**在Combiflash®上(DCM中0-20% MeOH，梯度0-70%，35分鐘)來純化。

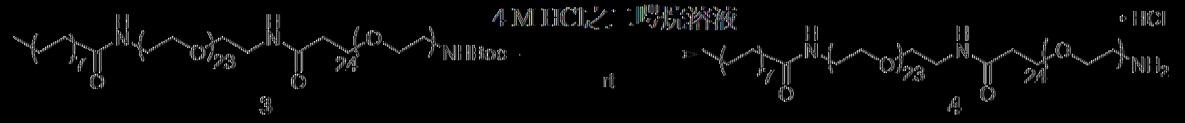
【0469】 將產物**11** (51 mg，0.0162 mmol)與含Et_3N之DMF (20%，3 mL)一起攪拌16小時，真空移除含Et_3N之溶劑，甲苯自殘餘物蒸發3次，獲得脫除保護基之胺**12**。計算值MW 2908.81, (M+1+18)/2=1463.91, (M +1+18 × 2)/3=981.94 實驗值: MS (ES, 正離子): 1463.69 $[M+ H +NH_4]^{2+}$, 981.99 $[M+H+2NH_4]^{3+}$。

【0470】 將胺**12** (47 mg，0.0162 mmol)與NHS酯**13** (21 mg，0.0147 mmol)及Et_3N (6 uL，0.041 mmol)於DCM (4 mL)中之混合物一起攪拌16小時。真空移除溶劑，且產物**LP39-p**在Combiflash®上使用系統DCM中0-20% MeOH，梯度0-100%，40分鐘來純化。計算值MW 4188.28, (M +2+18)/3=1402.76, (M +3+18×2)/4=1052.32 實驗值: MS (ES, 正離子): 1402.71 $[M+ 2H +NH_4]^{3+}$, 1052.32 $[M+3H+NH_4]^{4+}$。

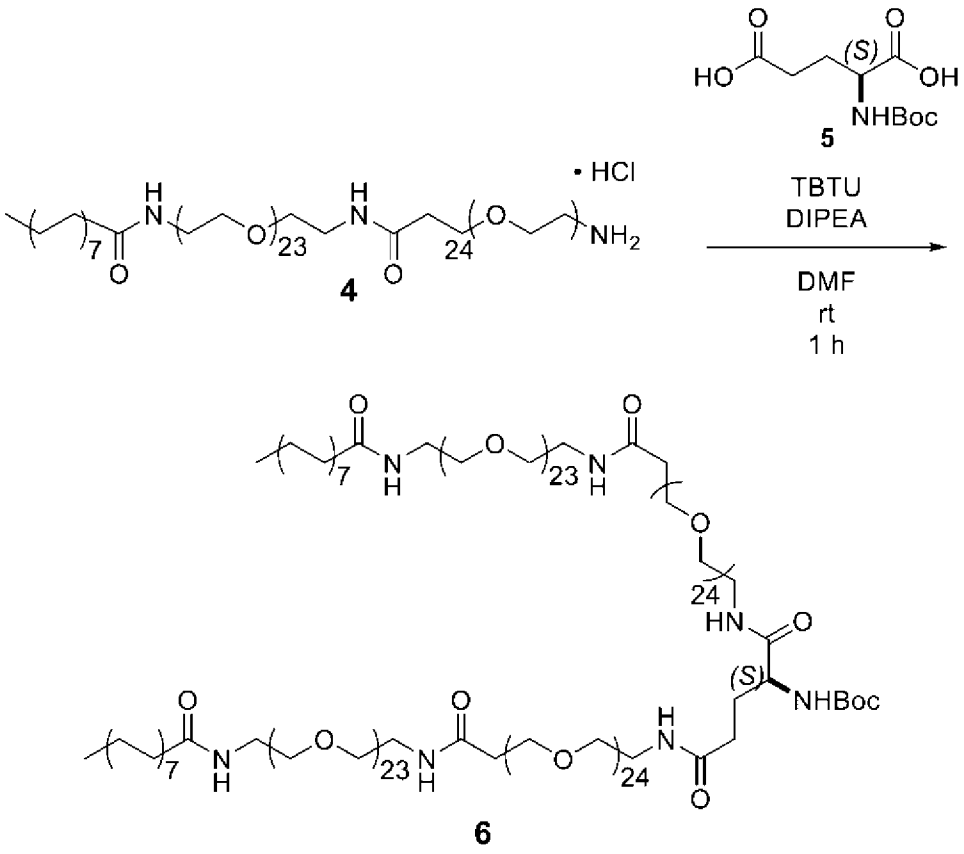
【0471】 **合成LP41-p**



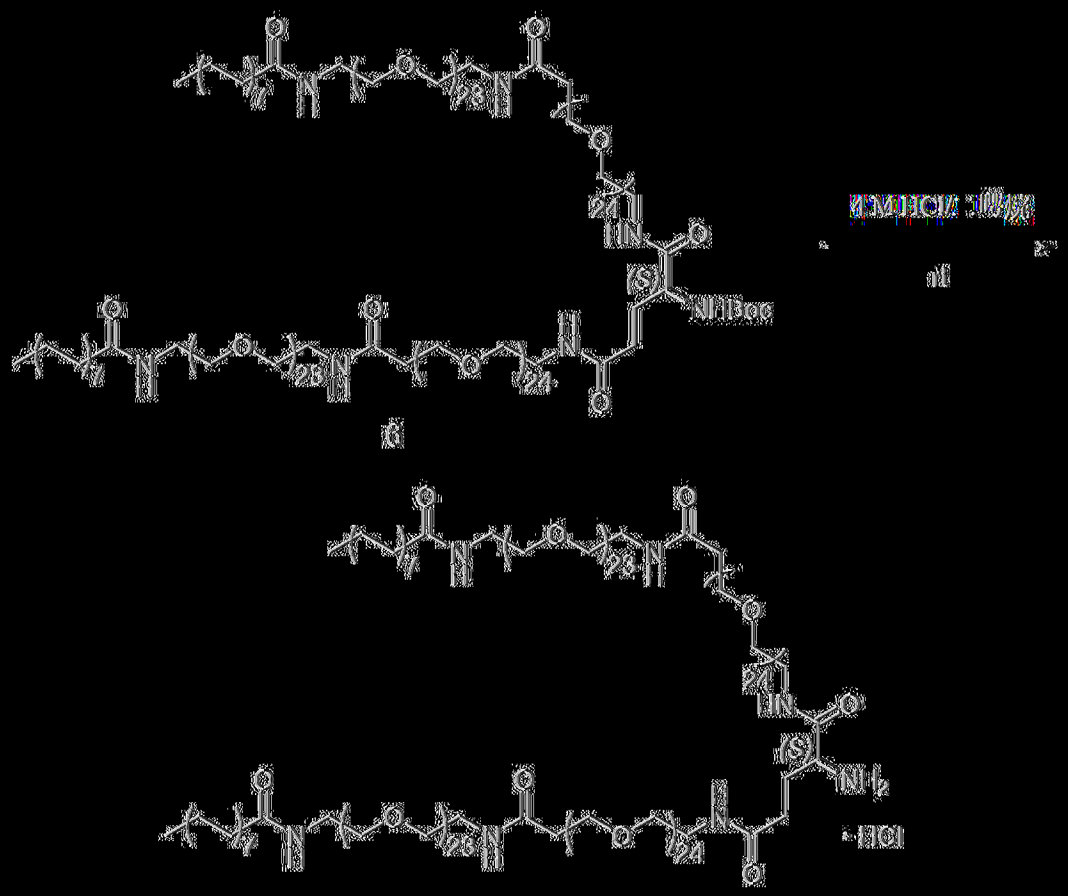
[0472] 在室溫下向化合物1 (40.0 mg)、TBTU (50.1 mg)及DIEA (0.098 mL)於DMF中之溶液添加化合物2 (298 mg)。將反應混合物攪拌直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。接著直接濃縮反應混合物。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用經20-30分鐘DCM中0-20% MeOH (10-100% B)之梯度來純化，其中化合物3在43% B下溶離。將化合物3真空濃縮，得到白色油狀殘餘物。LC-MS: [M+H]+計算值2539.62 m/z, 觀測值1287.83 (+2/2, -H2O) m/z。



[0473] 在室溫下向化合物1 (260 mg)添加4 M HCl/二噁烷(37.4 mg)。將反應混合物在室溫下攪拌。將反應混合物攪拌隔夜直至經由LC-MS證實完全轉化。將反應混合物與PhMe共沸且真空濃縮隔夜，得到呈油狀之化合物4。LC-MS: [M+H]+計算值2439.57 m/z, 觀測值1220.61 (+2/2) m/z。



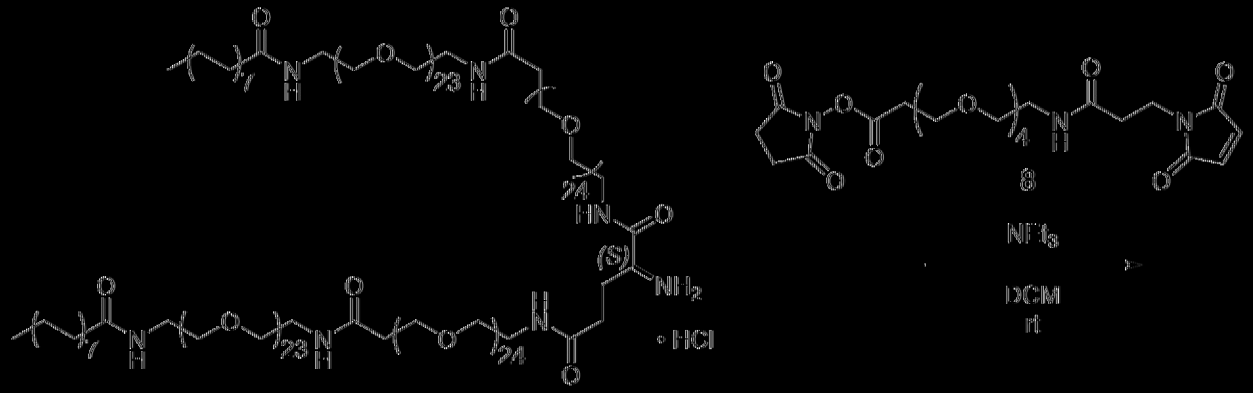
【0474】在室溫下向化合物**4** (253 mg)、TBTU (36.1 mg)及DIEA (0.045 mL)於DMF中之溶液添加化合物**5** (11.9 mg)。將反應混合物攪拌直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。接著直接濃縮反應混合物。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用經30分鐘DCM中0-20% MeOH (10-30，35，接著100%)之梯度來純化，其中化合物**6**在35% B下溶離。將化合物**6**真空濃縮，得到白色油狀殘餘物。LC-MS: [M+H]+計算值5089.22 m/z, 觀測值1715.43 (+3/3, +H2O) m/z。



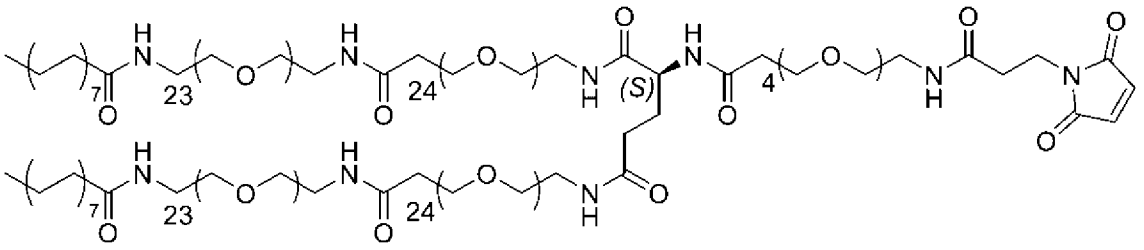
6

7

[0475] 在室溫下向化合物6 (35.4 mg)添加4 M HCl/二噁烷(2.5 mg)。將反應混合物在室溫下攪拌。將反應混合物攪拌隔夜直至經由LC-MS證實完全轉化。將反應混合物與PhMe/MeOH共沸且在高真空下濃縮隔夜，得到呈油狀之化合物7。LC-MS: [M+H]+計算值4989.17 m/z, 觀測值1676.42 (+HCl, +3/3) m/z。



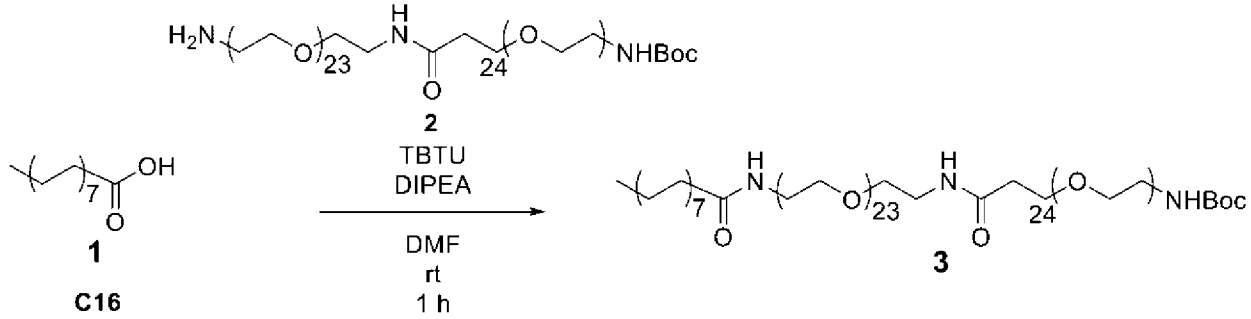
7



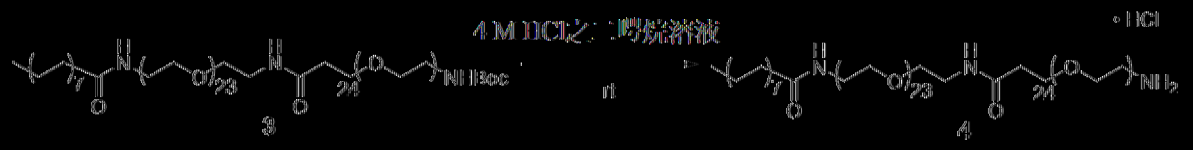
LP41-p

【0476】 在充N_2 (g)下在室溫下製備化合物**7** (35 mg)及NEt_3 (0.005 mL)於無水DCM中之溶液。接著緩慢添加化合物**8** (3.2 mg)。將反應混合物攪拌直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。接著直接濃縮反應混合物。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用經30分鐘0-20% MeOH/DCM (10至30%，40%，50%，70%，接著100% B)之梯度來純化，其中**LP41-p**在100% B下溶離。LC-MS: [M+H]+計算值5837.84 m/z, 觀測值1079.90 (+5/5) m/z。

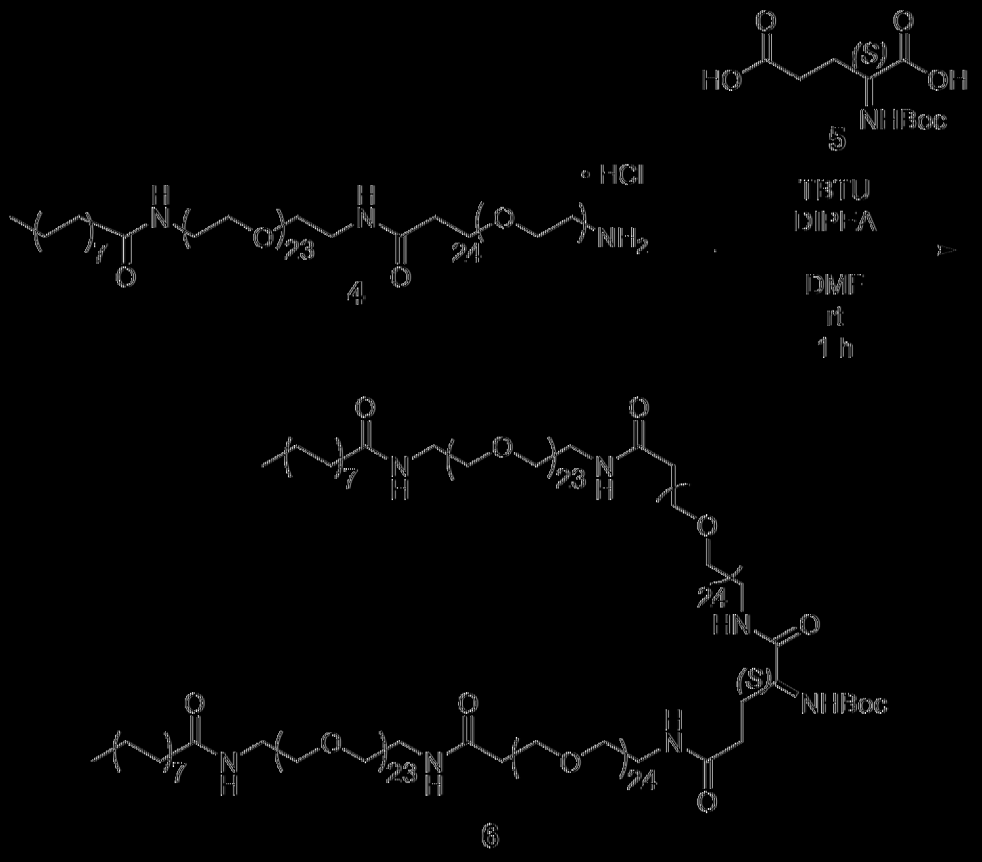
【0477】 **合成LP42-p**



【0478】 在室溫下向化合物**1** (40 mg)、TBTU (50.1 mg)及DIEA (0.098 mL)於DMF中之溶液添加化合物**2** (298 mg)。將反應混合物攪拌直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。接著直接濃縮反應混合物。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用經20-30分鐘DCM中0-20% MeOH (10-100% B)之梯度來純化，其中化合物**3**在43% B下溶離。將化合物**3**真空濃縮，得到白色油狀殘餘物。LC-MS: [M+H]+計算值2539.62 m/z, 觀測值1287.83 (+2/2, $+H_2O$) m/z。

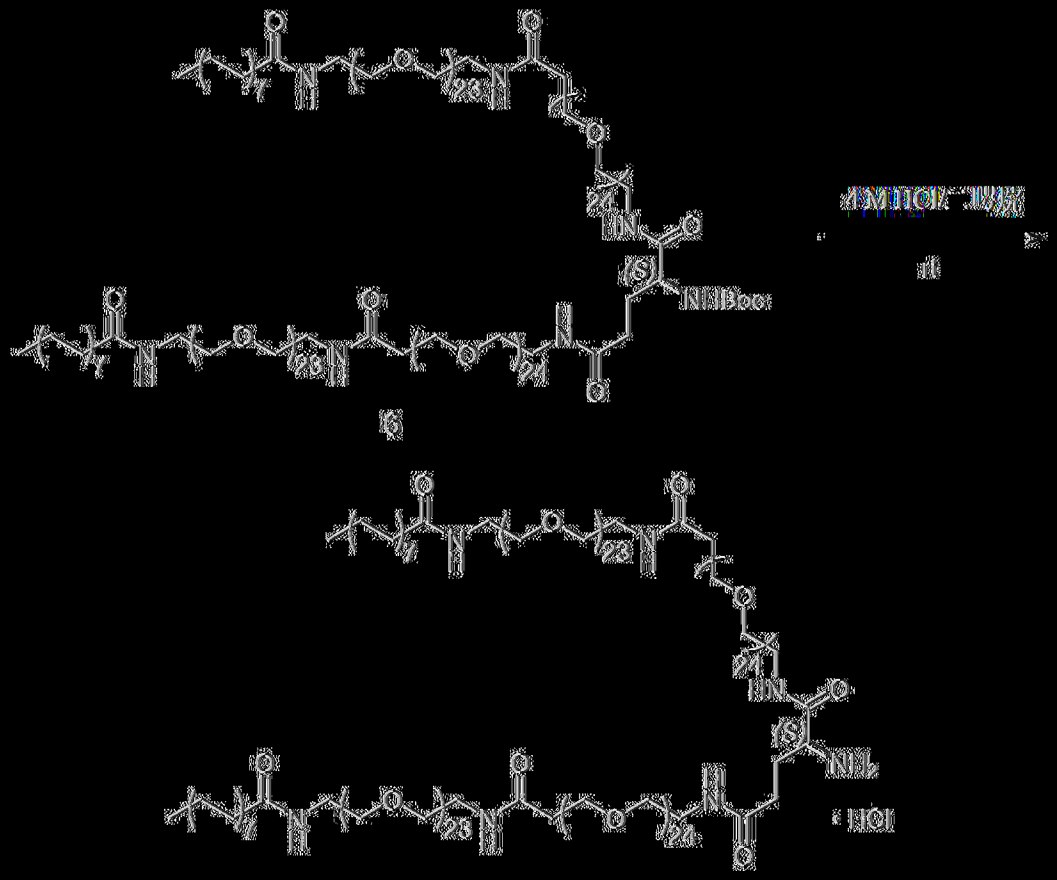


[0479] 在室溫下向化合物3 (260 mg)添加4 M HCl/二㗁烷(37.4 mg)。將反應混合物在室溫下攪拌。將反應攪拌隔夜且全經由LC-MS證實完全轉化。將反應混合物與PhMe共沸且真空濃縮隔夜，得到呈油狀之化合物4。LC-MS: [M+H]+計算值2439.57 m/z，觀測值1220.61 (+2/2) m/z。



[0480] 在室溫下向化合物4 (253 mg)、TBTU (36.1 mg)及DIEA (0.045 mL)於DMF中之溶液添加化合物5 (11.9 mg)。將反應混合物攪拌且全藉由LC-MS觀測到完全轉化。接著直接濃縮反應混合物。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用經30分鐘DCM中0-20% MeOH (10-30，35，接著100%)之梯度來純化，其中化合物6在35% B下溶離。將化合物6真空濃縮，得到白色油狀殘餘物。LC-MS: [M+H]+計算

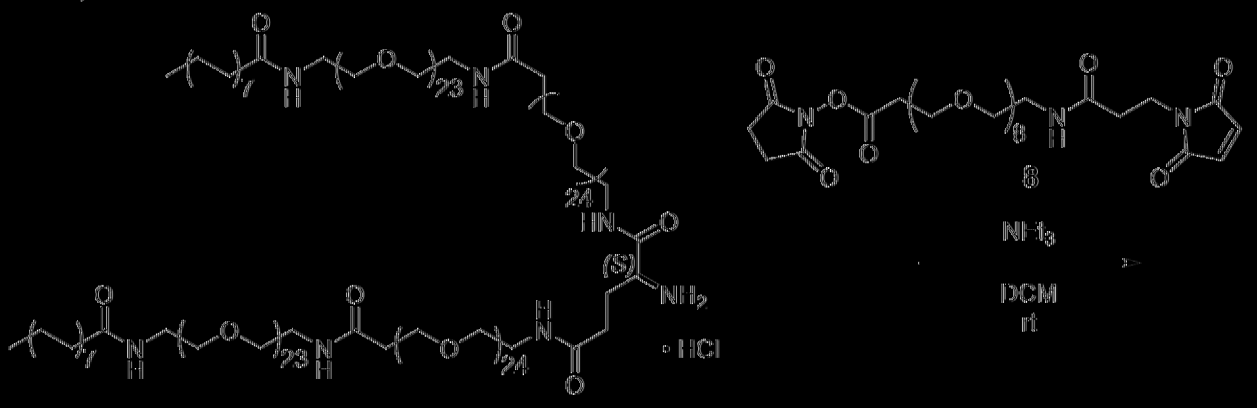
值5089.22 m/z, 觀測值1715.43 (+3/3, +H_2O) m/z。



6

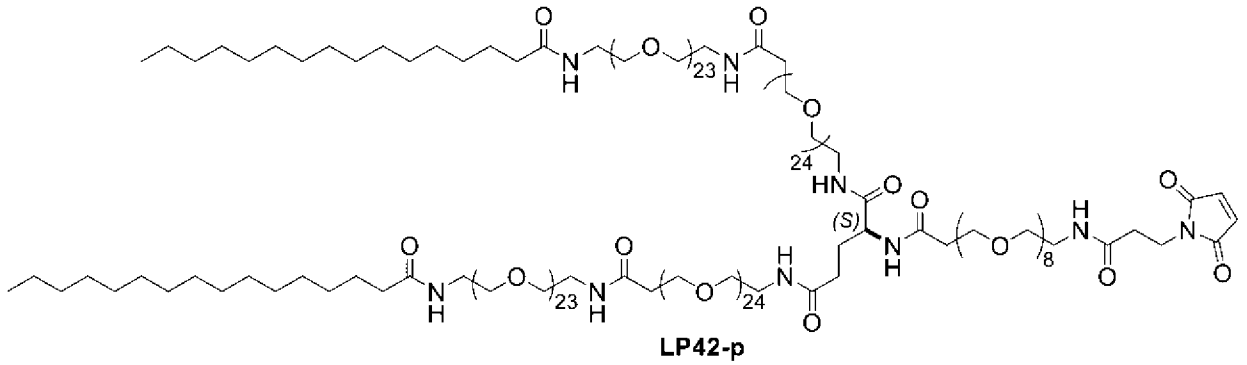
7

[0481] 在室溫下向化合物6 (28.2 mg)添加4 M HCl/二噁烷(2.0 mg)。將反應混合物在室溫下攪拌。將反應混合物攪拌隔夜直至經由LC-MS證實完全轉化。將反應混合物與PhMe/MeOH共沸且在高真空下濃縮隔夜，得到油狀物。LC-MS: [M+H]+計算值4989.17 m/z, 觀測值1000.21 (+5/5) m/z。



7

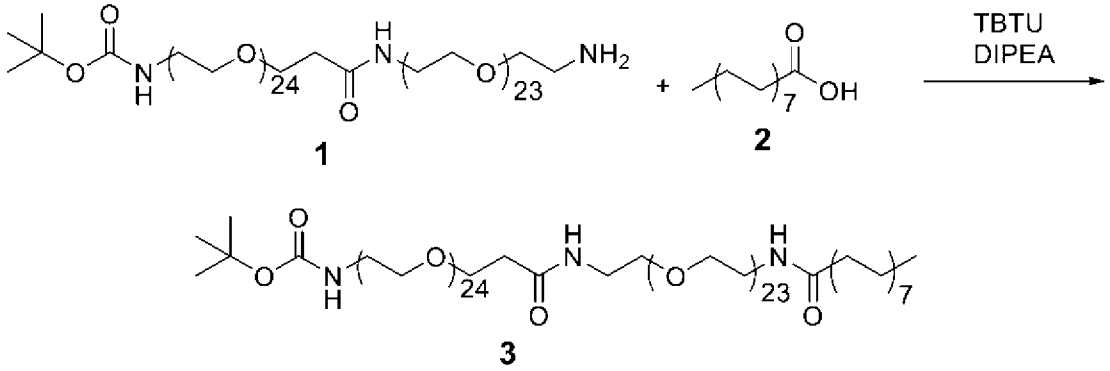
8



LP42-p

【0482】在充N_2(g)下在室溫下製備化合物**7** (27.9 mg)及NEt_3 (0.004 mL)於無水DCM中之溶液。接著緩慢添加化合物**8** (3.4 mg)。將反應混合物攪拌直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。接著直接濃縮反應混合物。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用經30分鐘DCM中0-20% MeOH (25至50%，接著100% B)之梯度來純化，其中在100% B下5分鐘後**LP42-p**在100% B下溶離。LC-MS: [M+H]+計算值5563.44 m/z, 觀測值946.45 (+6/6, +水) m/z。

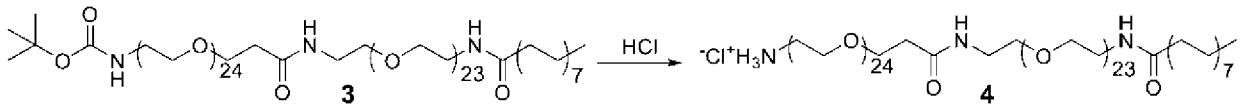
【0483】**合成LP43-p**



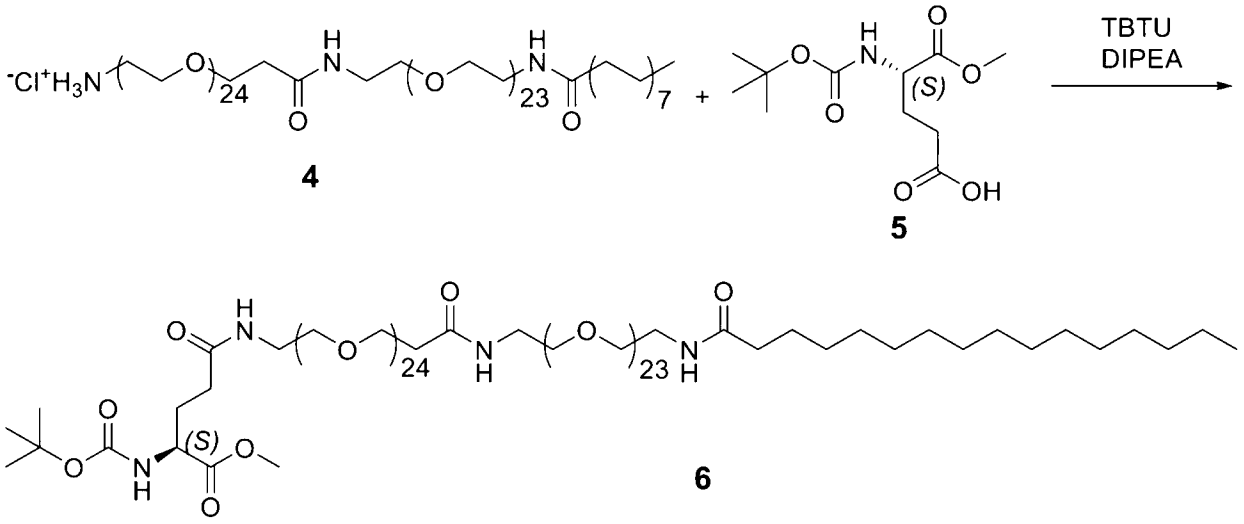
1 **2**

3

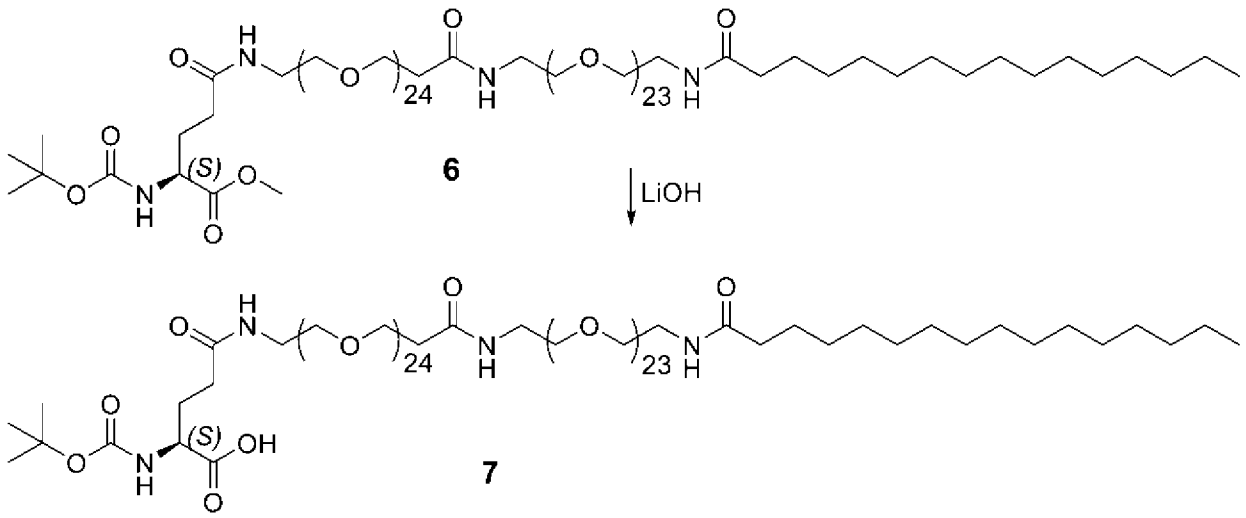
【0484】在室溫下向化合物**1** (3.0 g，1.303 mmol，1.0當量)、化合物**2** (0.401 g，1.564 mmol，1.2當量)及二異丙基乙胺(0.681 mL，3.91 mmol，3.0當量)於DMF (20 mL)中之溶液添加TBTU (0.502 g，1.564 mmol，1.2當量)。反應混合物保持在室溫下3小時。將反應混合物濃縮。化合物**3**藉由CombiFlash®用二氯甲烷中12-18%甲醇溶離來純化。結構藉由H-NMR證實。



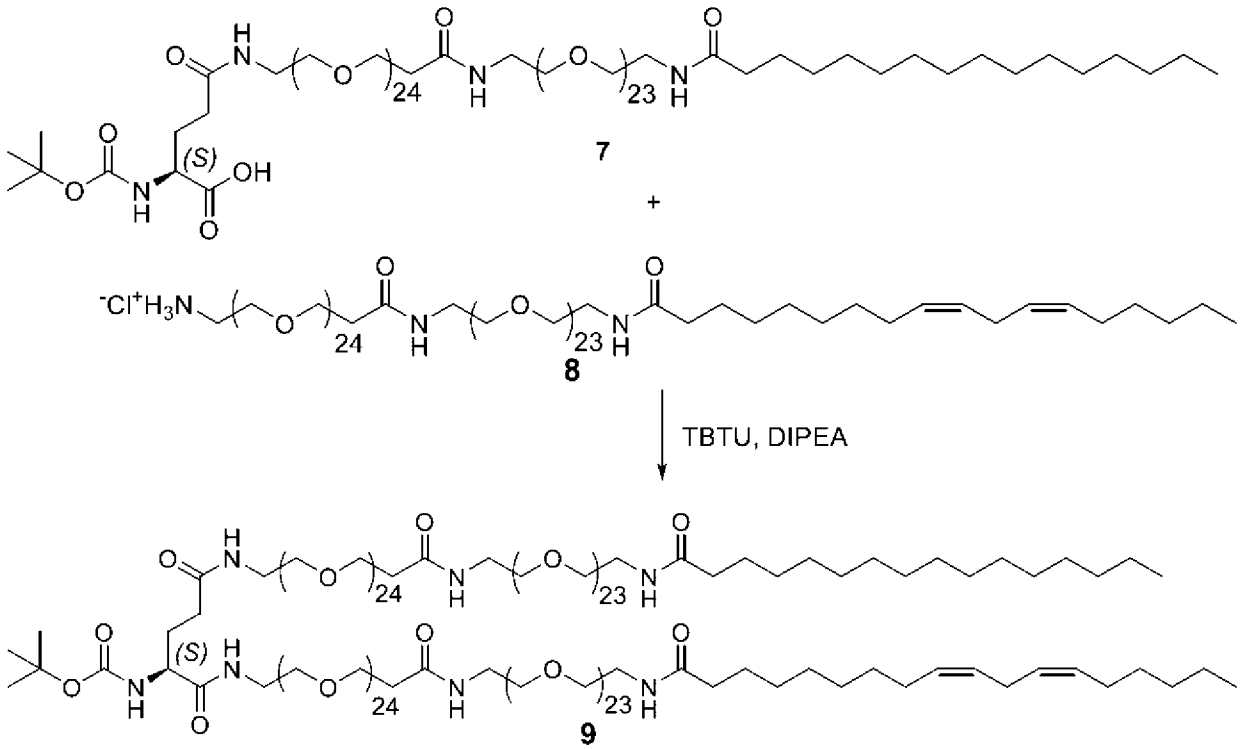
【0485】 在室溫下向化合物**3**固體(2060 mg，0.811 mmol，1.0當量)添加HCl之二噁烷溶液(4.055 mL，16.219 mmol，20當量)。反應混合物保持在室溫下1小時且在真空下移除溶劑。化合物**4**未經進一步純化直接使用。結構藉由H-NMR證實。



【0486】 在室溫下向化合物**4** (2030 mg，0.819 mmol，1.0當量)、化合物**5** (257 mg，0.983 mmol，1.2當量)及二異丙基乙胺(0.428 mL，2.459 mmol，3.0當量)於無水DMF (10 mL)中之溶液添加TBTU (315 mg，0.983 mmol，1.2當量)。反應混合物保持在室溫下隔夜。將反應混合物濃縮。化合物**6**藉由CombiFlash®用二氯甲烷中12-20%甲醇溶離來純化。LC-MS: [M+2H]/2, 計算值1341.84, 實驗值1342.69。

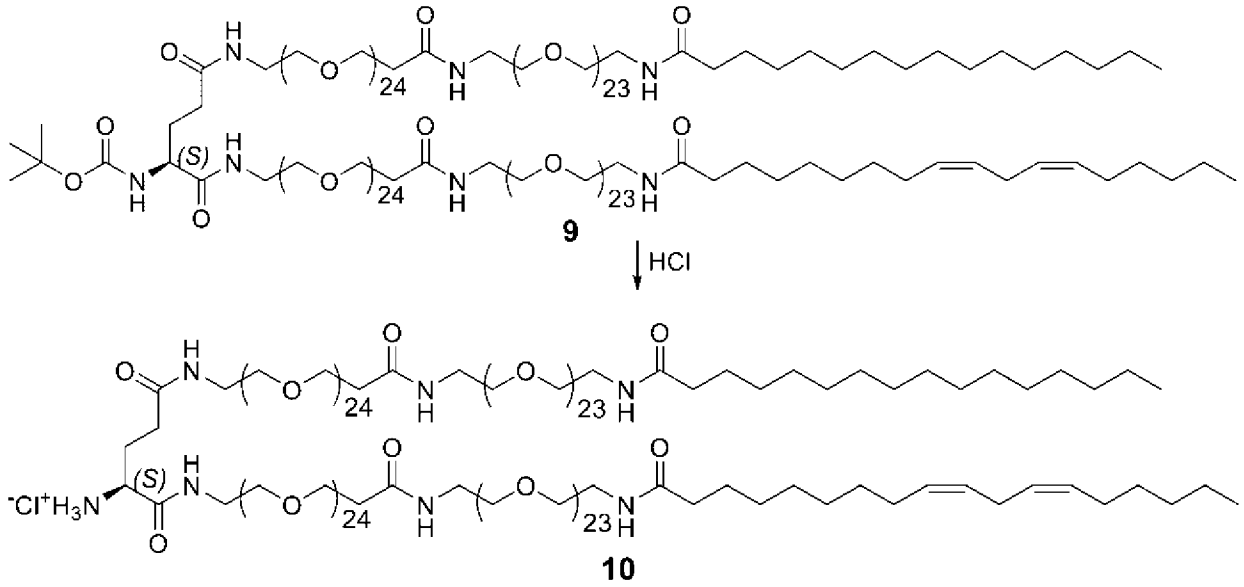


【0487】 在室溫下向化合物**6** (1430 mg，0.530 mmol，1.0當量)於THF (20 mL)及水(20 mL)中之溶液添加氫氧化鋰(63.8 mg，2.664 mmol，5.0當量)。反應混合物保持在室溫下3小時。將反應混合物用HCl溶液淬滅且pH調整至3.0。將水相用DCM (3×20 mL)萃取。合併之有機相經Na_2SO_4乾燥，且濃縮。化合物**7**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+2H]/2 計算值1334.83, 實驗值1335.49。

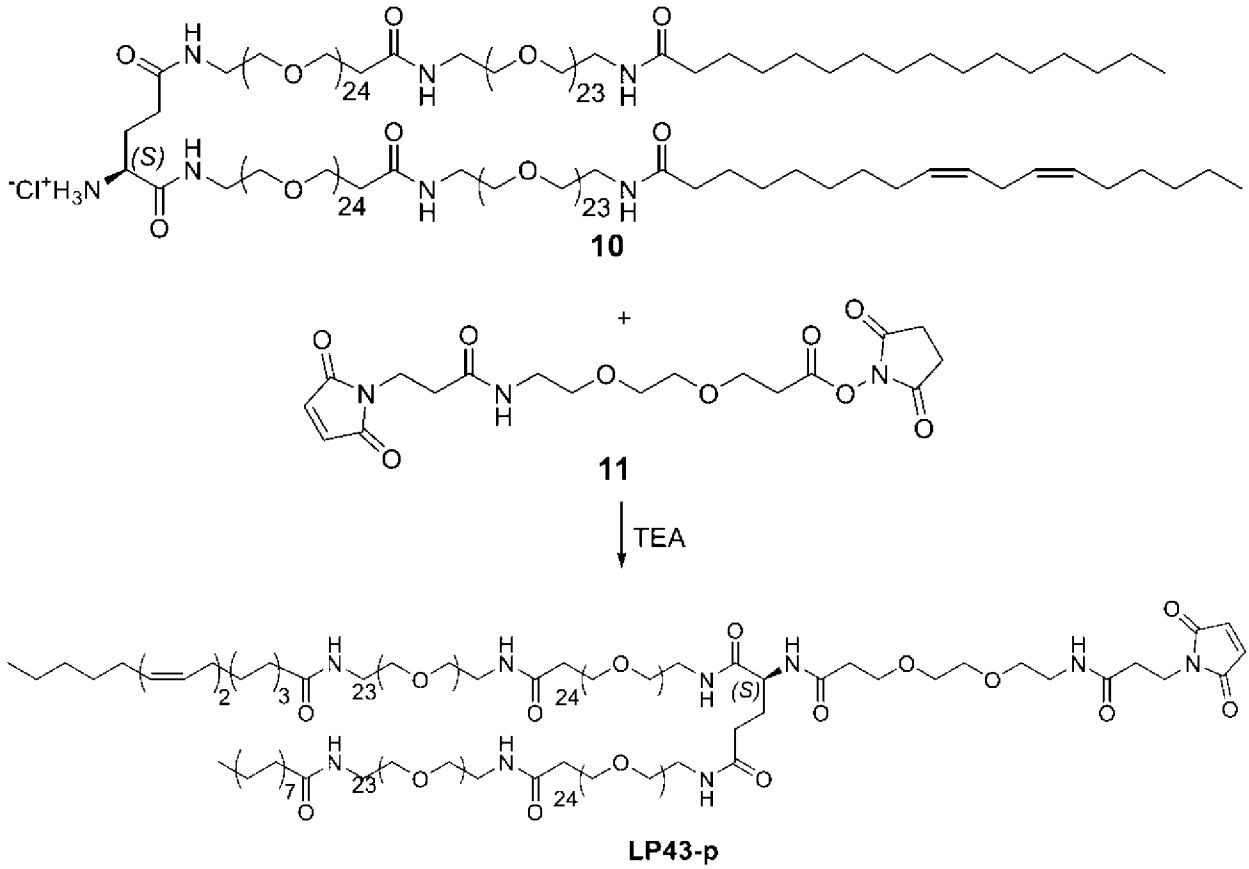


【0488】 在室溫下向化合物**7** (110 mg，0.0412 mmol，1.0當量)、

化合物**8** (103 mg，0.0412 mmol，1.00當量)及二異丙基乙胺(0.022 mL，0.123 mmol，3.0當量)於DMF (2 mL)中之溶液添加TBTU (15.9 mg，0.0495 mmol，1.2當量)。反應混合物保持在室溫下隔夜且接著濃縮。化合物**9**藉由CombiFlash®用二氯甲烷中16-20%甲醇溶離來純化。LC-MS: [M+5H]/5 計算值1023.44, 實驗值1024.00。

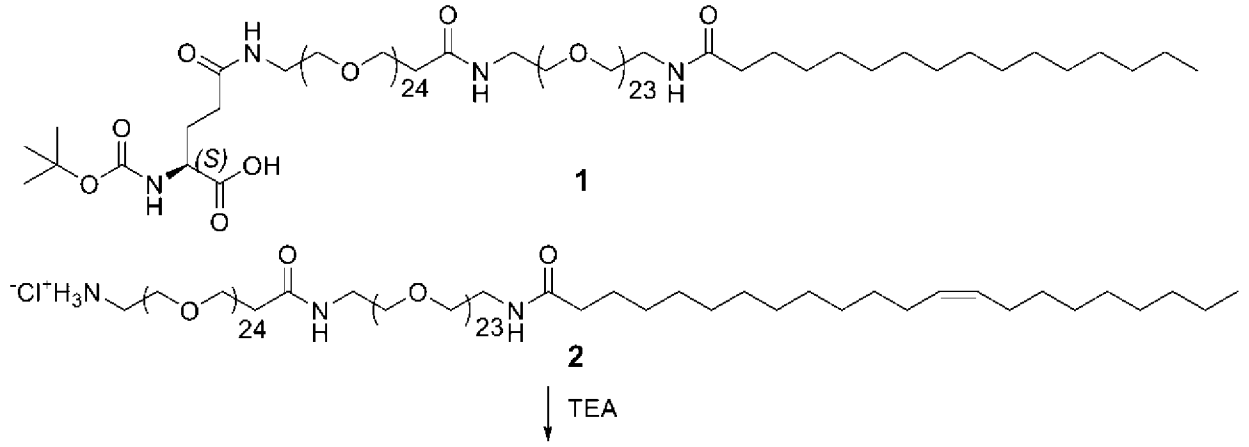


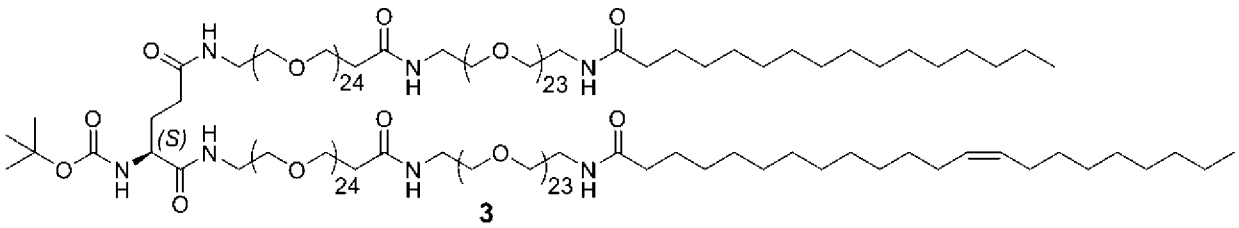
【0489】 在室溫下向化合物**9** (84 mg，0.0164 mmol，1.0當量)添加4M HCl之二噁烷溶液(0.205 mL，0.0821 mmol，50當量)。反應混合物保持在室溫下1小時且接著濃縮。化合物**10**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+5H]/5 計算值1003.44, 實驗值1004.07。



【0490】在室溫下向化合物**10** (125 mg，0.0247 mmol，1.0當量)及化合物**11** (116 mg，0.0272 mmol，1.10當量)於無水DCM (2 mL)中之溶液添加三乙胺(0.017 mL，0.123 mmol，5.0當量)。反應混合物保持在室溫下隔夜且接著濃縮。**LP43-p**藉由CombiFlash®用二氯甲烷中18-20%甲醇溶離來純化。LC-MS: [M+5H]/5 計算值1065.46, 實驗值1066.13。

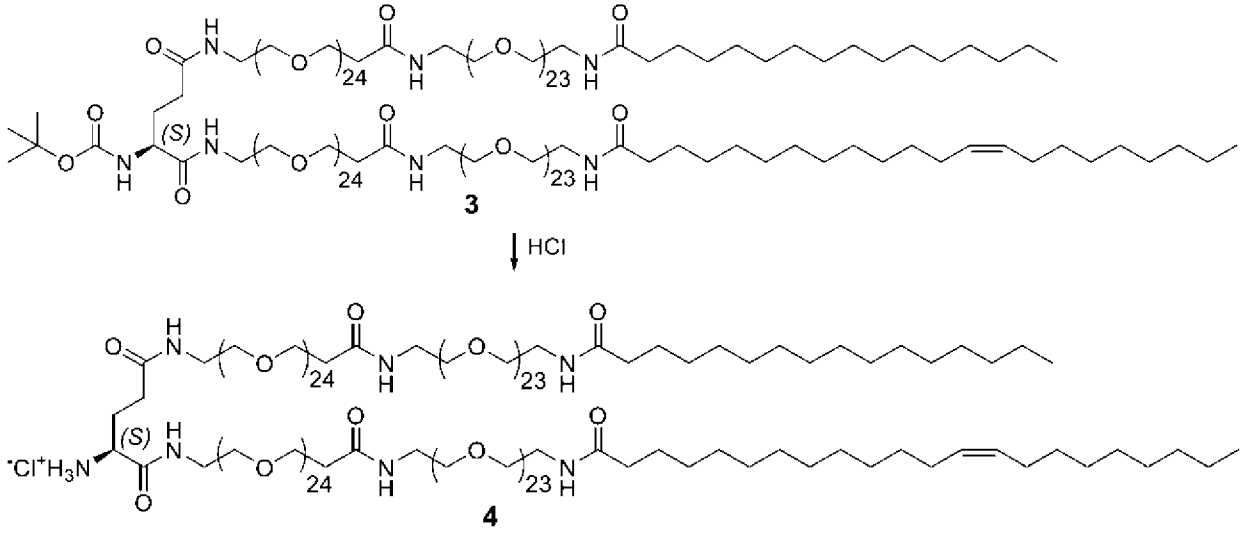
【0491】**合成LP44-p**





3

【0492】 化合物**1**如以上合成LP43-p中之步驟(合成LP43-p中之化合物**7**)中所示來合成。在室溫下向化合物**1** (135 mg，0.0506 mmol，1.0當量)、化合物**2** (129 mg，0.0506 mmol，1.00當量)及二異丙基乙胺(0.026 mL，0.151 mmol，3.0當量)於DMF (2 mL)中之溶液添加TBTU (19.5 mg，0.0607 mmol，1.2當量)。反應混合物保持在室溫下隔夜且接著濃縮。化合物**3**藉由CombiFlash®用二氯甲烷中12-20%甲醇溶離來純化。LC-MS: [M+5H]/5 計算值1035.06, 實驗值1035.40。

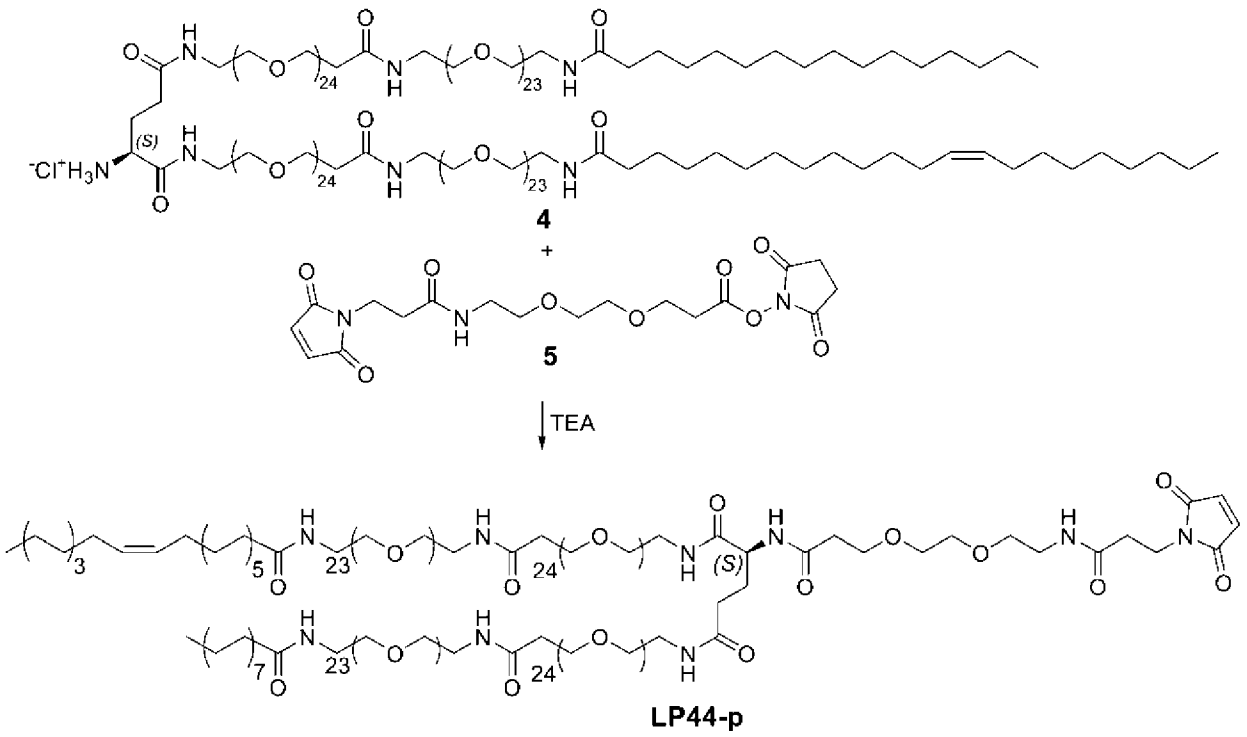


3

HCl

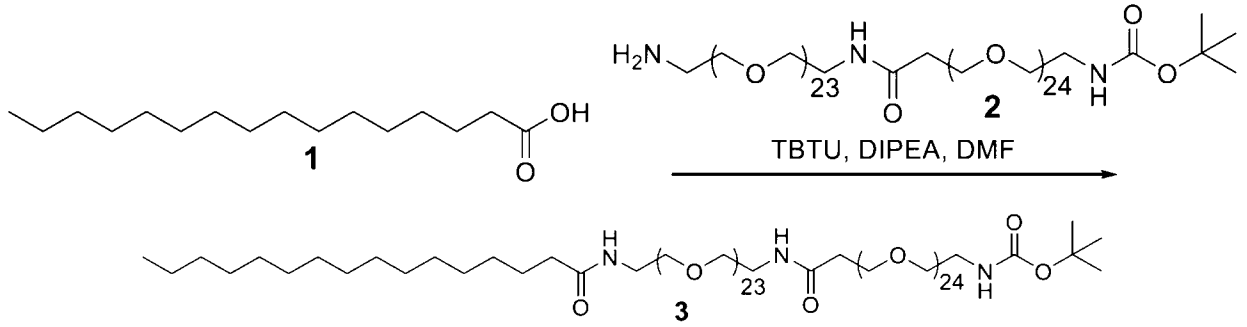
4

【0493】 在室溫下向化合物**3** (100 mg，0.0193 mmol，1.0當量)添加4M HCl之二噁烷溶液(0.242 mL，0.966 mmol，50當量)。反應混合物保持在室溫下1小時且接著濃縮。化合物**4**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+5H]/5 計算值1015.05, 實驗值1015.71。



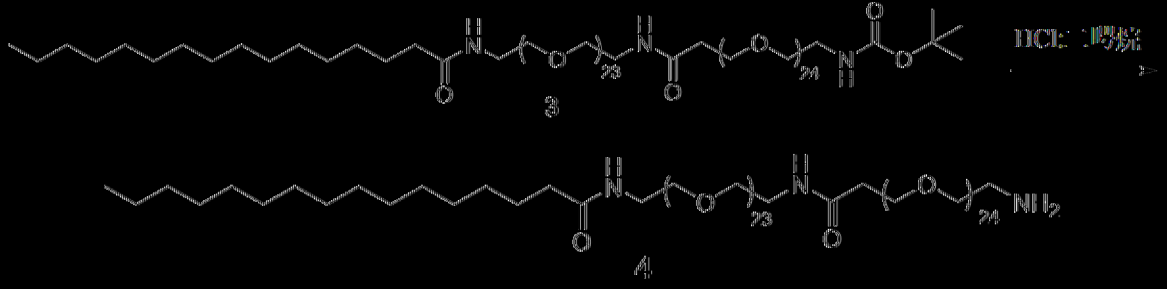
【0494】 在室溫下向化合物**4** (95 mg，0.0186 mmol，1.0當量)及化合物**5** (8 mg，0.0186 mmol，1.0當量)於無水DCM (2 mL)中之溶液添加三乙胺(0.013 mL，0.0930 mmol，5.0當量)。反應混合物保持在室溫下隔夜且接著在真空下移除溶劑。**LP44-p**藉由CombiFlash®用二氯甲烷中12-20%甲醇溶離來純化。LC-MS: [M+5H]/5計算值1077.74, 實驗值1079。

【0495】 **合成LP45-p**

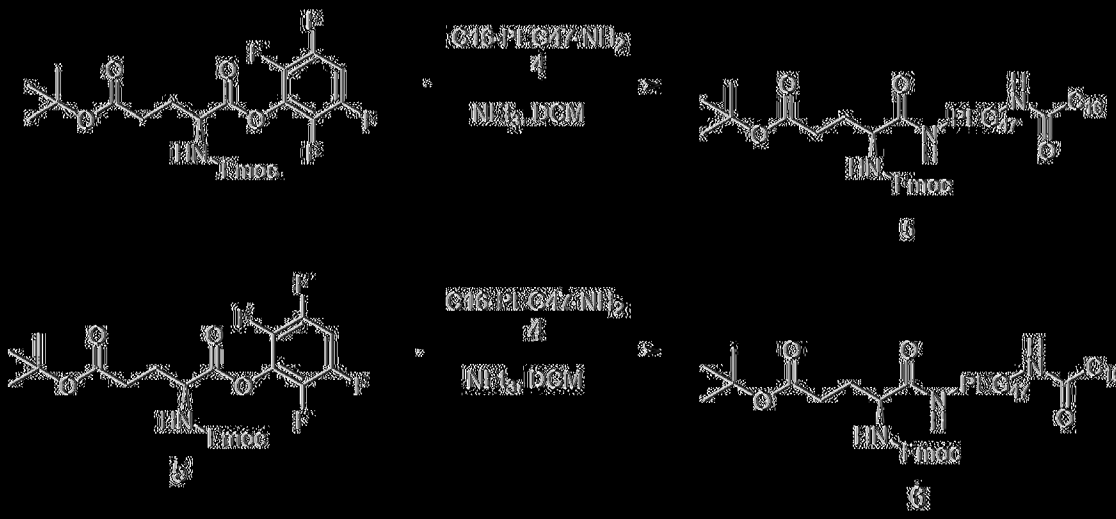


【0496】 向棕櫚酸**1** (30 mg，0.1170mmol)於具有Boc-PEG_{47}-NH_2 **2** (269mg，0.1170mmol)之DMF中之溶液(2.0mL)中添加TBTU (45.1mg，0.1404mmol)及DIPEA (60uL)。在攪拌反應混合物隔夜後，添加水且使用DCM:20% TFE萃取化合物**3**且經Na_2SO_4乾燥。在過濾後，真

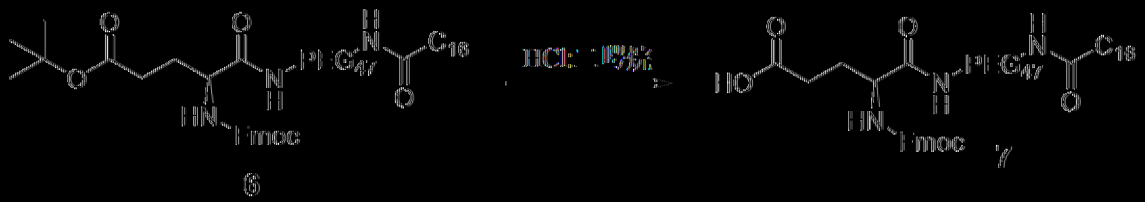
空移除溶劑至乾燥。粗化合物3藉由急驟層析法(DCM:20% MeOH)純化。



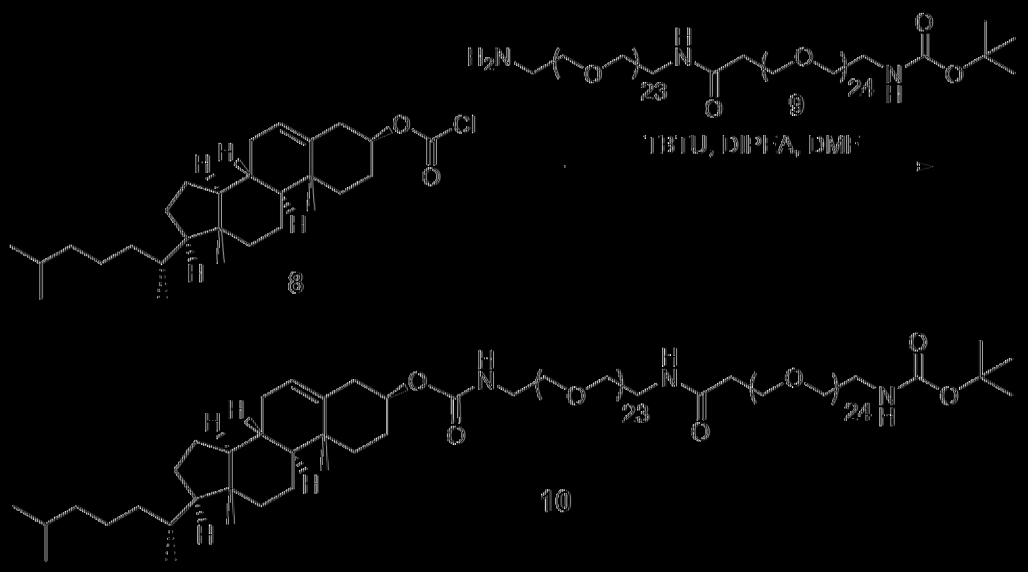
[0497] 向化合物3添加2mL 4N HCl:二噁烷且將反應混合物在無水條件下攪拌直至藉由LC-MS確定完成：C_{16}-PEG_{47}-NH_2之[M+H]+計算值2301 m/z，實驗值2302。



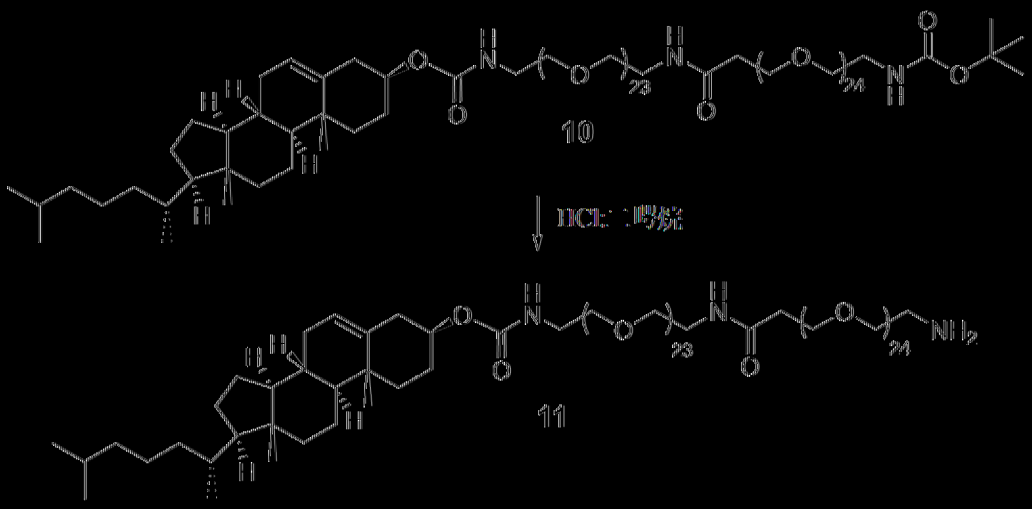
[0498] 向Fmoc-Glu(OtBu)-Opfp 5 (50 mg，0.0845 mmol)於C_{16}-PEG_{47}-NH_2 4 (206 mg，0.0.0845 mmol)中之溶液中添加NEt_3 (29 uL)，同時在DCM (5.0 mL)中攪拌。當確定反應混合物完成時，真空移除溶劑至乾燥。粗化合物6藉由急驟層析法(DCM:20% MeOH)純化。



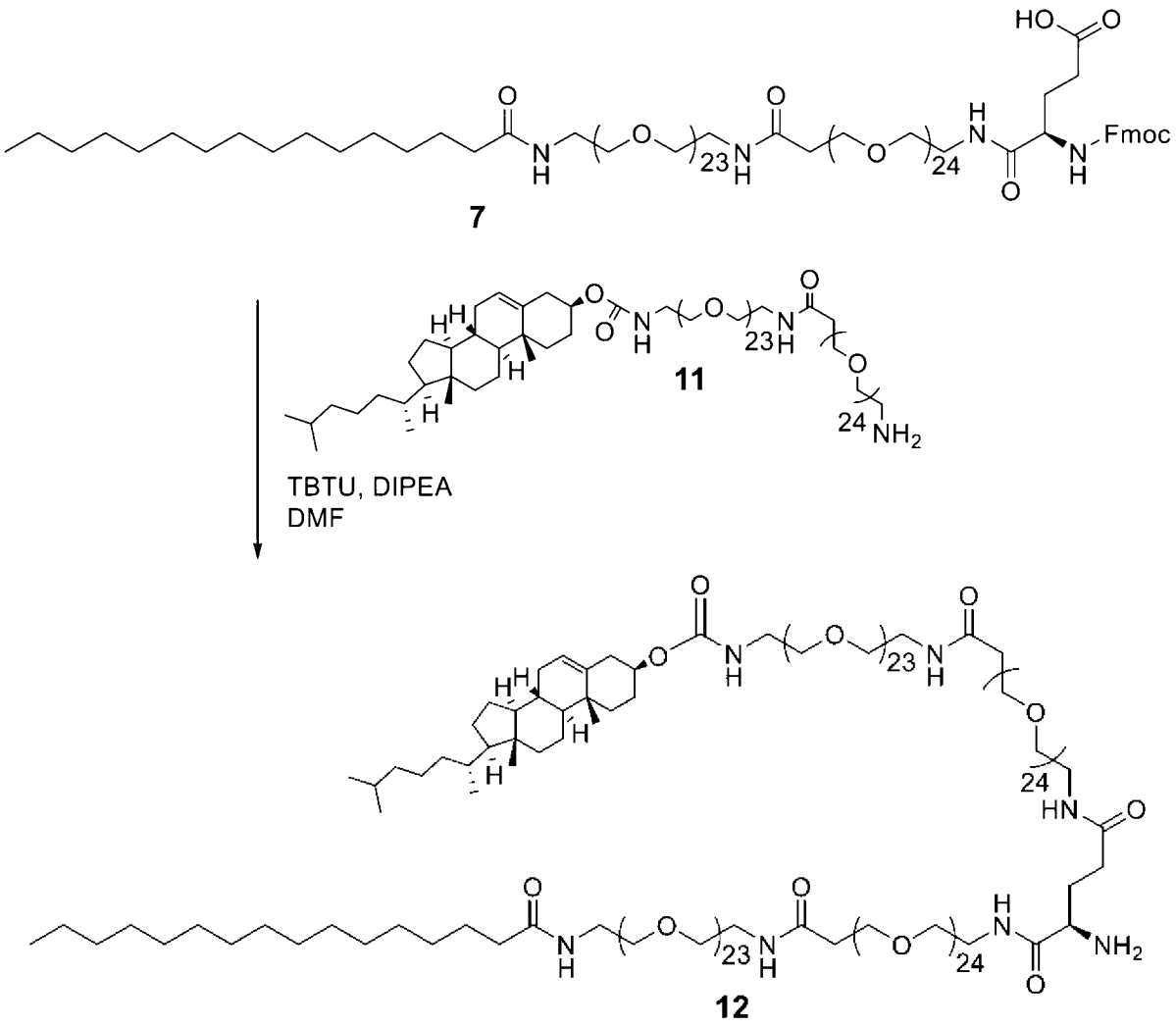
[0499] 向化合物6添加2 mL 4N HCl:二噁烷且在無水條件下攪拌直至藉由LC-MS確定完成：[M+H]+計算值2866.0 實驗值2867。



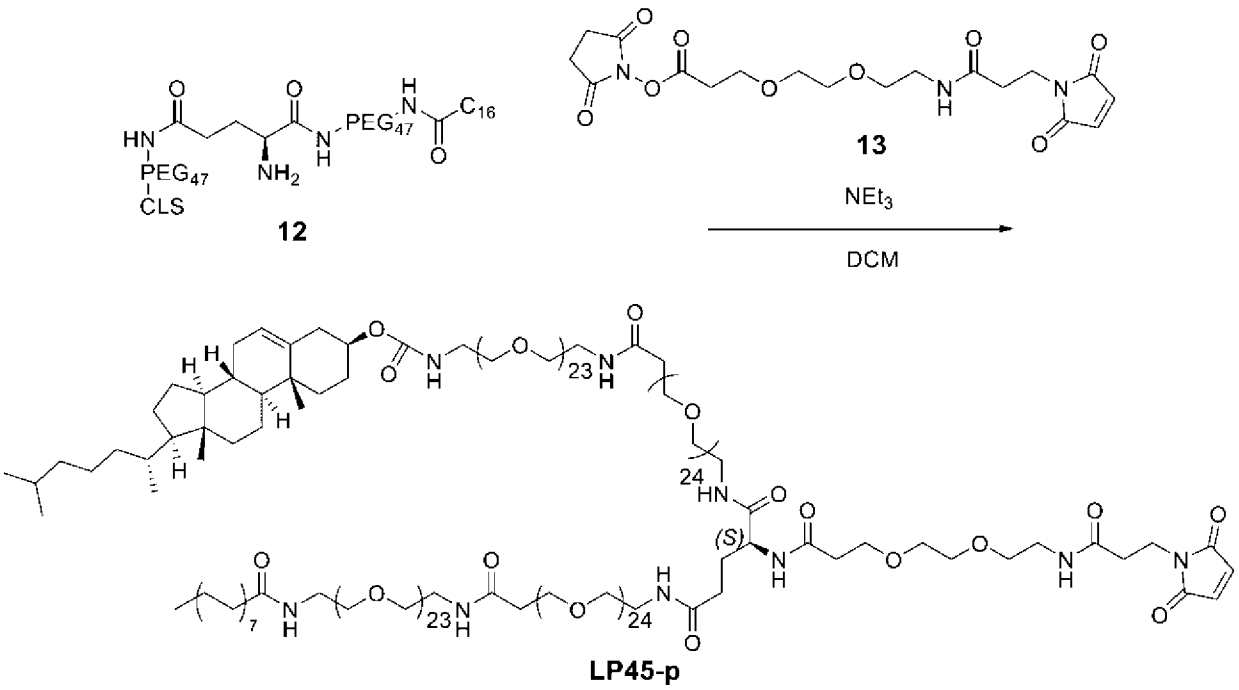
[0500] 在Boc-PEG$_{47}$-NH$_2$ 9 (269 mg，0.1170 mmol)與TBTU (45.1 mg，0.1404 mmol)及DIPEA (60 uL)之溶液中，在DMF (2.0 mL)中攪拌的同時，添加化合物8 (30 mg，0.1170 mmol)。在攪拌所得懸浮液隔夜後，添加1水且使用DCM:20% TFE萃取產物且經Na_2SO_4乾燥。在過濾後，真空移除溶劑至乾燥且化合物10藉由急驟層析法(DCM:20% MeOH)純化。[M+H]+計算值2614.32 m/z, 實驗值2615.32。



[0501] 向化合物10添加2mL 4N HCl:二噁烷。將反應混合物在無水條件下攪拌直至確定完成。產物11未經進一步純化即用於下一步。

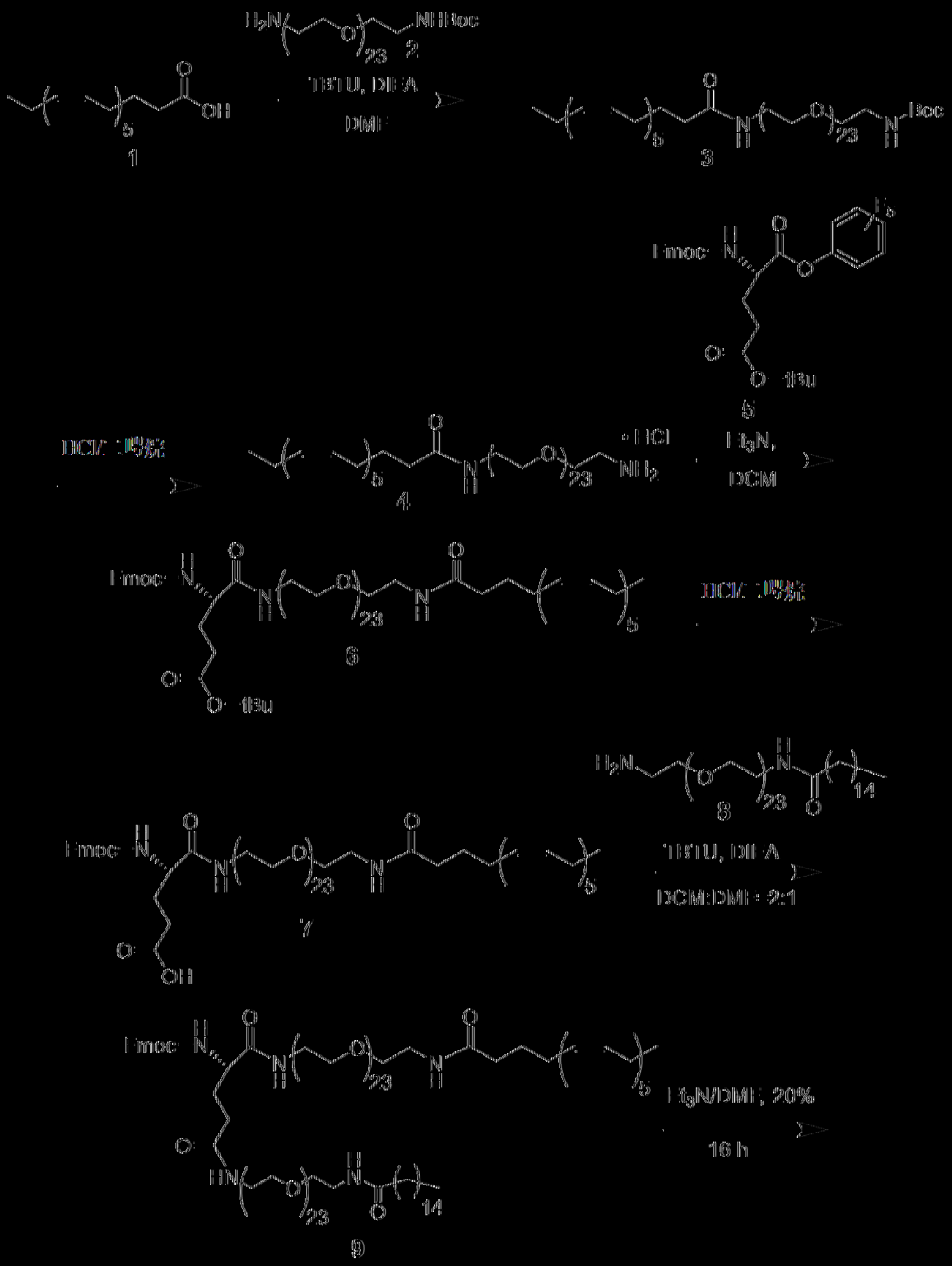


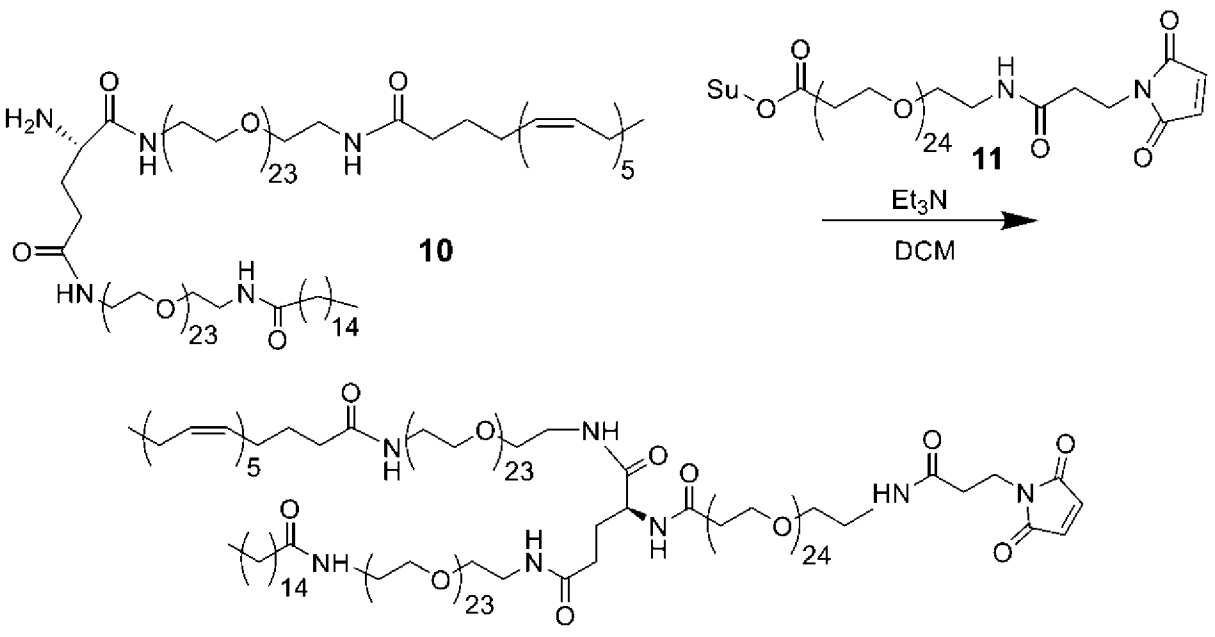
【0502】向化合物**7** (100 mg，0.0375 mmol)於具有化合物**11** (98 mg，0.1914 mmol)之DMF (5.0 mL)中之溶液中添加TBTU (14.4 mg，0.045 mmol)及DIPEA (20 uL)。在攪拌所得懸浮液隔夜後，添加水且使用DCM:20% TFE萃取且經Na_2SO_4乾燥。在過濾後，真空移除溶劑至乾燥且藉由急驟層析法(DCM:20% MeOH)純化。向此添加2mL 4N HCl:二噁烷且將反應混合物在無水條件下攪拌直至藉由LC-MS確定完成，得到化合物**12**。LC-MS: [M+H]+計算值 5134.26 m/z, 實驗值5135。



【0503】 在室溫下向化合物**13** (10 mg，0.0235 mmol，1.0當量)及化合物**12** (120 mg，0.0235 mmol，1.0當量)於無水DCM (2 mL)中之溶液添加三乙胺(17 uL，0.1175 mmol，5.0當量)。反應混合物保持在室溫下隔夜且在真空下移除溶劑。**LP45-p**藉由CombiFlash®用二氯甲烷中10-17%甲醇溶離來純化。LC-MS: 計算值[M+6H]+ 5474.38, 實驗值5475.01。

【0504】 **合成LP47-p**


H2N
NHBoc
23
2
1
5
OH
TBTU, DIEA
DMF
3
Fmoc
N
O
tBu
5
DCM:哌啶
·HCl
NH2
4
Et3N,
DCM
6
7
8
14
TBTU, DIEA
DCM:DMF = 2:1
Et3N/DMF, 20%
16 h
9
HN



【0505】將固體TBTU (50 mg，0.156 mmol)添加至經Boc保護之Peg23-胺**2** (Quanta Biodesign Limited，150 mg，0.13 mmol)、二十碳五烯酸**1** (39 mg，0.13 mmol)及DIEA (68 μL mL，0.39 mmol)於DMF (9 mL)中之溶液。對反應混合物進行音波處理以溶解固體且在室溫下攪拌16小時。真空移除溶劑，甲苯自殘餘物蒸發兩次，使殘餘物溶於氯仿(50 mL)中，用$NaHCO_3$ (2×10 mL)及鹽水(10 mL)洗滌。產物經乾燥(Na_2SO_4)，真空濃縮，且在Combiflash® (SiO_2)上使用系統DCM中0-20% MeOH，梯度0-80%，20分鐘純化。用4M HCl之二噁烷溶液移除Boc基團，獲得鹽酸鹽**4**。計算值MW 1357.76, (M +2)/2=679.88 實驗值: MS (ES, 正離子): 1358.29 [M+H]+, 679.77 [M+2H]2+。

【0506】將鹽酸鹽**4** (167 mg，0.123 mmol)與五氟苯基酯**5** (73 mg，0.123 mmol)及Et_3N (43 uL，0.31 mmol)一起在DCM (5 mL)中攪拌2小時。真空移除溶劑，將殘餘物與SiO_2 (1 g)混合且裝載於CombiFlash®。產物**6**使用系統DCM中0-20% MeOH，梯度0-50%，25分鐘來純化。產量169 mg。計算值MW 1765.23, M +18=1783.23, (M

+1+18)/2=892.12 實驗值: MS (ES, 正離子): 1782.78 [M+NH4]+, 891.97 [M+H+NH4]2+。

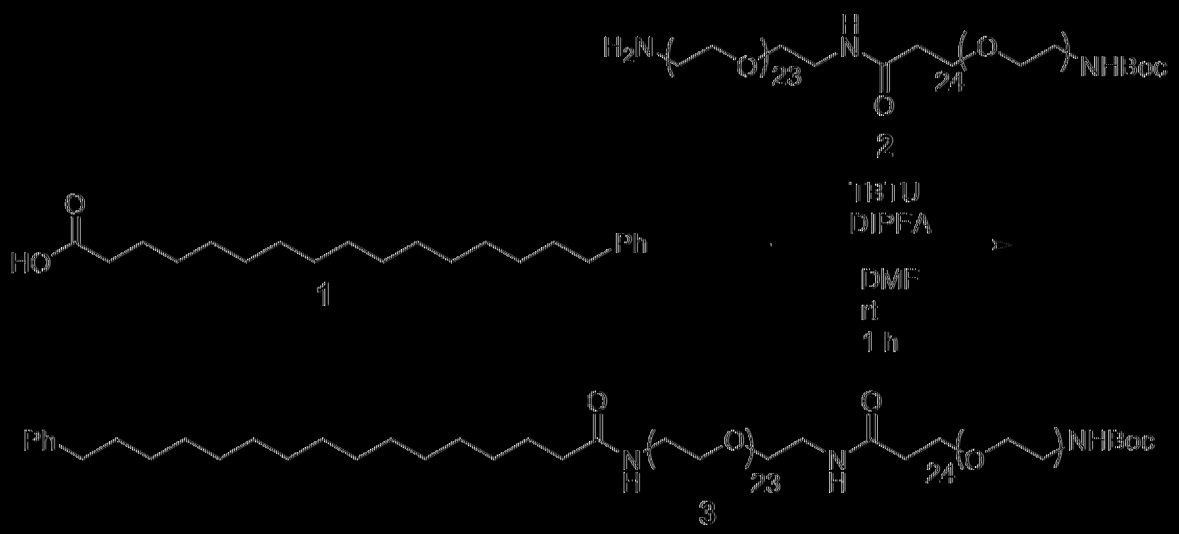
【0507】 將產物**6**用HCl之二噁烷溶液處理以獲得游離酸**7**且直接用於下一步。計算值MW 3002.84, (M +2×18)/2=1519.42, (M+3x18)/3=1018.95。實驗值: MS (ES, 正離子): 1519.39 [M+2NH_4]2+, 1019.17 [M+H+2NH4]3+。

【0508】 將衍生物**7** (47 mg，0.028 mmol)與鹽酸鹽**8** (42 mg，0.03 mmol)、TBTU (11 mg，0.034 mmol)及DIEA (18 uL，0.1 mmol)一起在DCM:DMF= 1:1 (8 mL)中攪拌3小時。真空移除溶劑，甲苯自殘餘物蒸發2次，且使固體懸浮於$CHCl_3$ (50 mL)中。將懸浮液用2% $NaHCO_3$及鹽水洗滌兩次，在真空濃縮後，產物**9**在Combiflash®上(DCM中0-20% MeOH，梯度0-70%，35分鐘)純化。

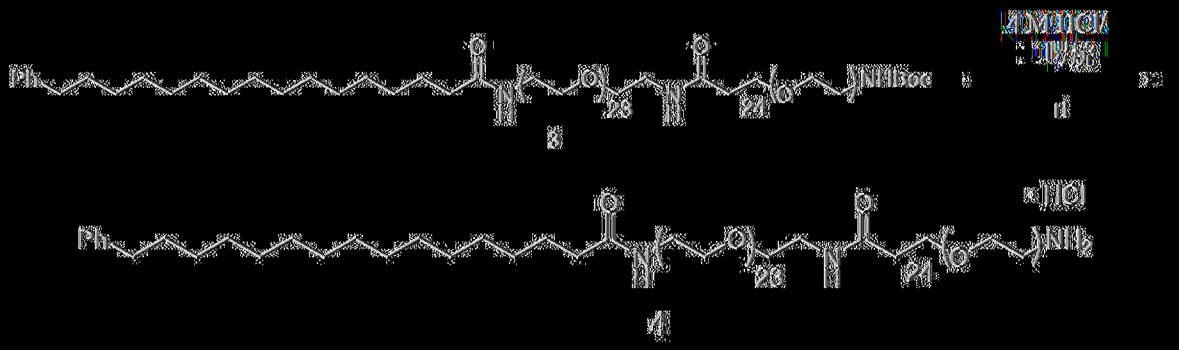
【0509】 將產物**9** (49 mg，0.0162 mmol)與含Et_3N之DMF (20%，3 mL)一起攪拌16小時，真空移除含Et_3N之溶劑，甲苯自殘餘物蒸發3次，獲得脫除保護基之胺**10**，其直接用於下一步。

【0510】 將胺**10** (45 mg，0.0162 mmol)與NHS酯**11** (21 mg，0.0147 mmol)及Et_3N (6 uL，0.041 mmol)於DCM (4 mL)中之混合物一起攪拌16小時。真空移除溶劑，且產物**LP47-p**在Combiflash®上使用系統DCM:DCM中20% MeOH，梯度0-100%，40分鐘來純化。計算值MW 4060.07, (M +3×18)/3=1371.36, (M+4×18)/4=1033.02 實驗值: MS (ES, 正離子): 1371.76 [M+3NH_4]$^{3+}$, 1033.70 [M+4NH_4]$^{4+}$。

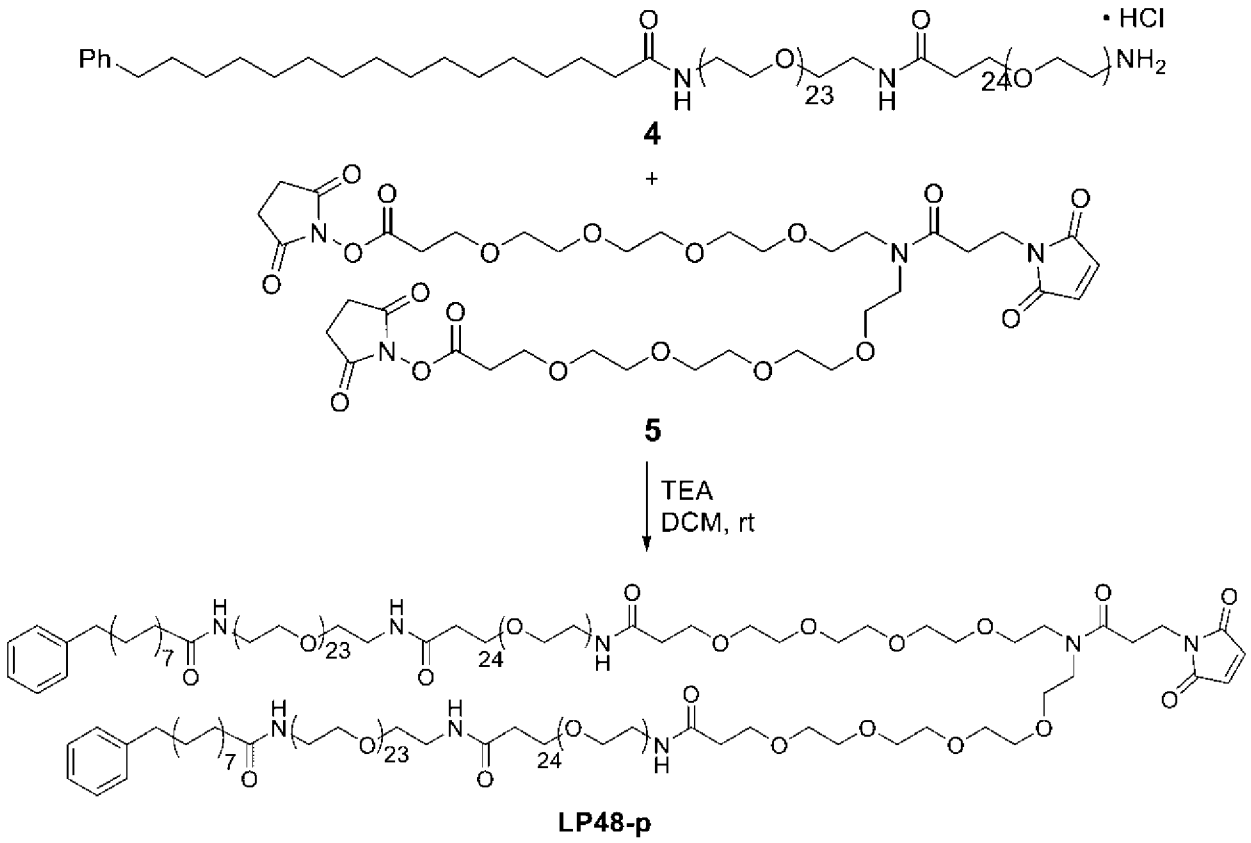
【0511】 **合成LP48-p**



[0512] 在室溫下向化合物1 (27.5 mg)、TBTU (26.6 mg)及DIEA (0.022 mL)於DMF中之溶液添加化合物2 (173 mg)。將反應混合物攪拌直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。接著直接濃縮反應混合物。殘餘物藉由CombiFlash®使用12 g矽膠管柱作為固定相，利用經20分鐘DCM中0-20% MeOH (10-100%)之梯度來純化，其中化合物3在66% B下溶離。將化合物3真空濃縮，得到白色油狀殘餘物。LC-MS: [M+H]+計算值2615.65 m/z, 觀測值1326.52 (+2/2, $+H_2O$) m/z。

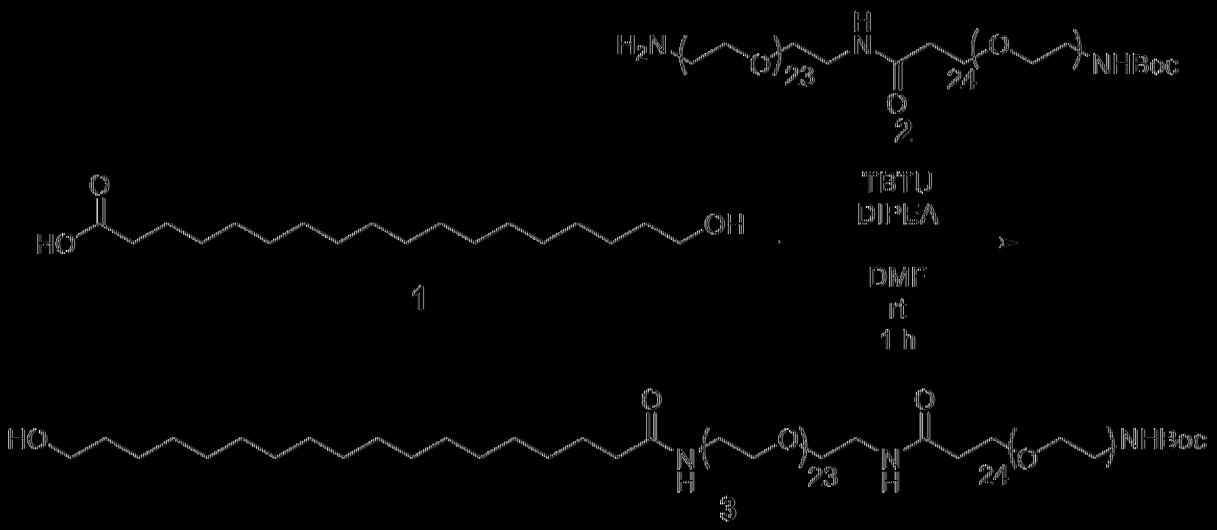


[0513] 在室溫下向化合物3 (56.7 mg)添加4 M HCl/二噁烷(7.9 mg)。將反應混合物在室溫下攪拌。將反應攪拌隔夜直至經由LC-MS證實完全轉化。將反應混合物與PhMe/MeOH共沸且在高真空下濃縮隔夜，得到呈白色固體狀之化合物4。LC-MS: [M+H]+計算值2515.60 m/z, 觀測值1259.91 (+2/2) m/z。



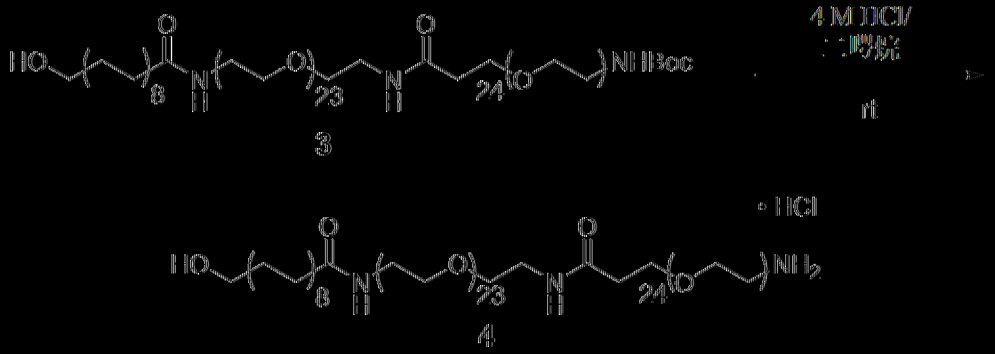
【0514】在充N_2(g)下在室溫下製備化合物**4** (55.4 mg)及NEt_3 (0.015 mL)於無水DCM中之溶液。接著緩慢添加化合物**5** (8.9 mg)。將反應混合物攪拌直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。接著直接濃縮反應混合物。殘餘物藉由CombiFlash®經由4 g矽膠管柱作為固定相，利用經20分鐘0-20% MeOH/DCM (10% B至100% B)之梯度來純化，其中**LP48-p**在100% B下溶離。將**LP48-p**濃縮，得到白色油狀殘餘物。LC-MS: [M+H]+計算值5558.48 m/z, 觀測值1152.98 (+5/5, +H_2O) m/z。

【0515】**合成LP49-p**



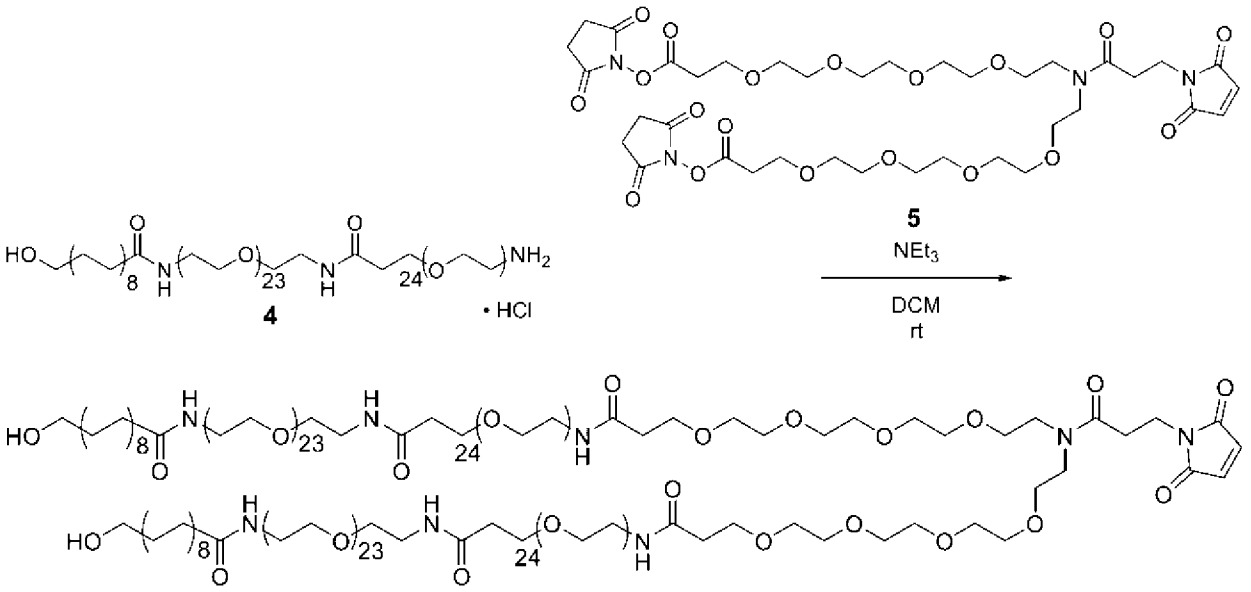
1 3

[0516] 在室溫下向化合物1 (31.3 mg)、TBTU (33.4 mg)及DIEA (0.023 mL)於DMF中之溶液添加化合物2 (199 mg)。將反應混合物攪拌直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。接著直接濃縮反應混合物。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用經30分鐘DCM中0-20% MeOH (10-100%)之梯度來純化，其中化合物3在57% B下溶離。將化合物3真空濃縮，得到白色油狀殘餘物。LC-MS: [M+H]+計算值2583.65 m/z, 觀測值1311.03 (+2/2, -H_2O) m/z。



3 4

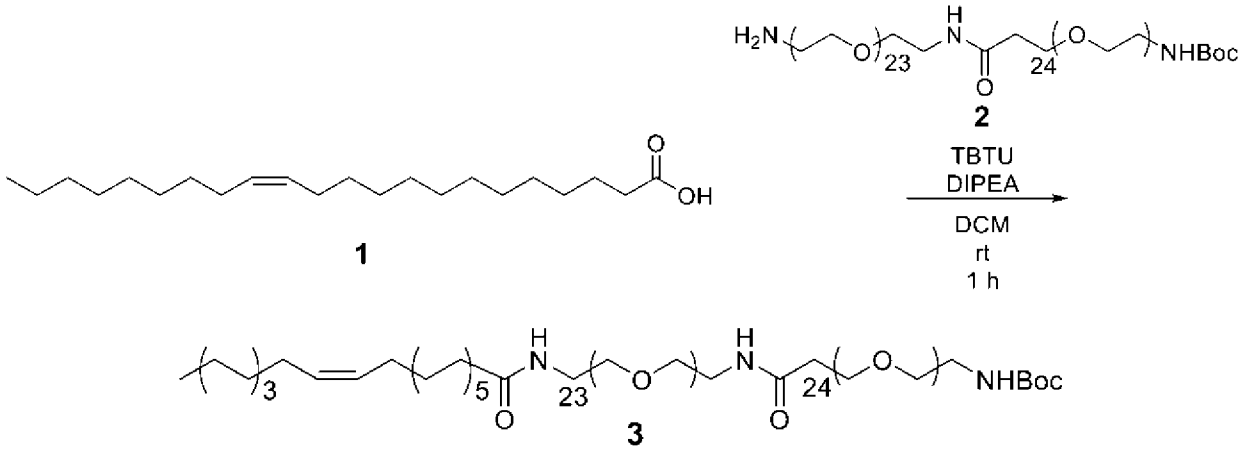
[0517] 在室溫下向化合物3 (70 mg)添加4 M HCl/二噁烷(9.9 mg)。將反應混合物在室溫下攪拌隔夜直至經由LC-MS證實完全轉化。將反應混合物與PhMe共沸且真空濃縮隔夜，得到呈油狀之化合物4。LC-MS: [M+H]+計算值2483.59 m/z, 觀測值841.32 (+2/2, -H_2O) m/z。



LP49-p

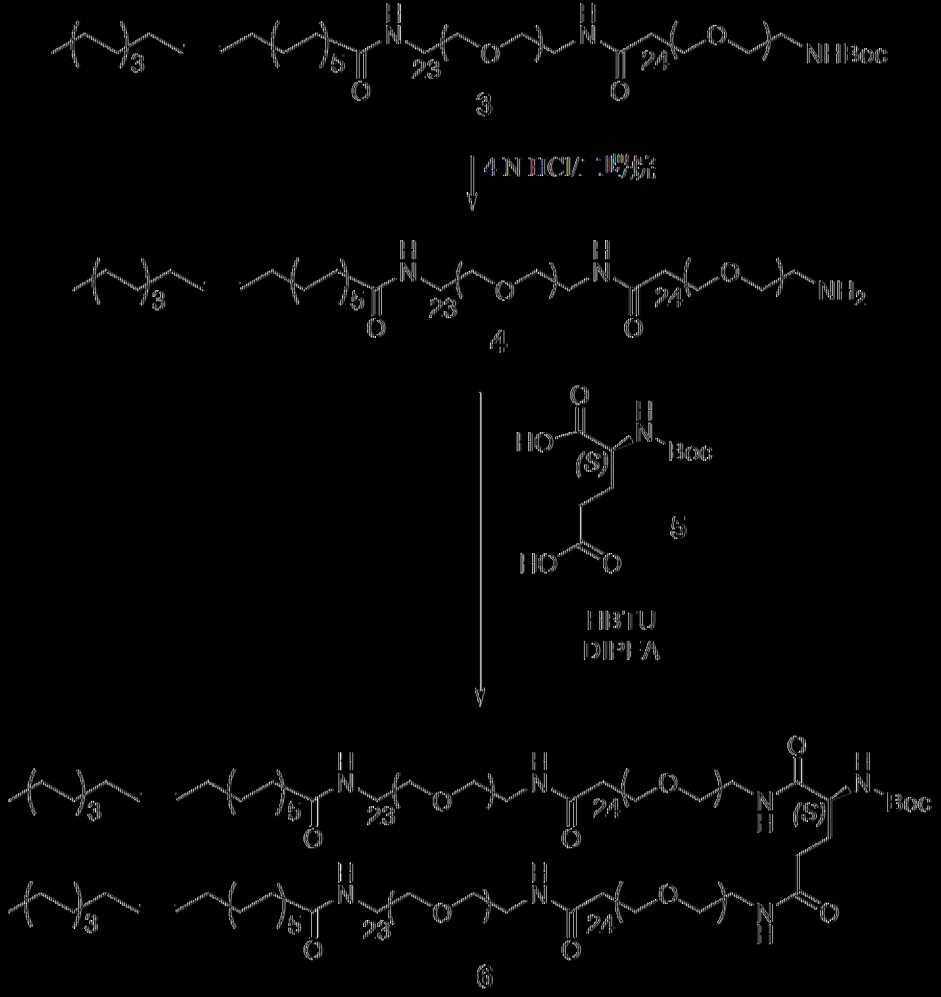
【0518】 在充N_2(g)下在室溫下製備化合物**4** (68.3 mg)及NEt_3 (13.7 mg)於無水DCM中之溶液。接著緩慢添加化合物**5** (11.2 mg)。將反應混合物攪拌直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。接著直接濃縮反應混合物。殘餘物藉由CombiFlash®經由4 g矽膠管柱作為固定相，利用經20分鐘DCM中0-20% MeOH (10% B至100% B)之梯度來純化，其中**LP49-p**在100% B下溶離。LC-MS: [M+H]+計算值5594.97 m/z, 觀測值1418.68 (+4/4, $+H_2O$) m/z。

【0519】 **合成LP53-p**



【0520】 在室溫下向化合物**1** (706 mg)及**2** (4.00 g)於DCM中之溶

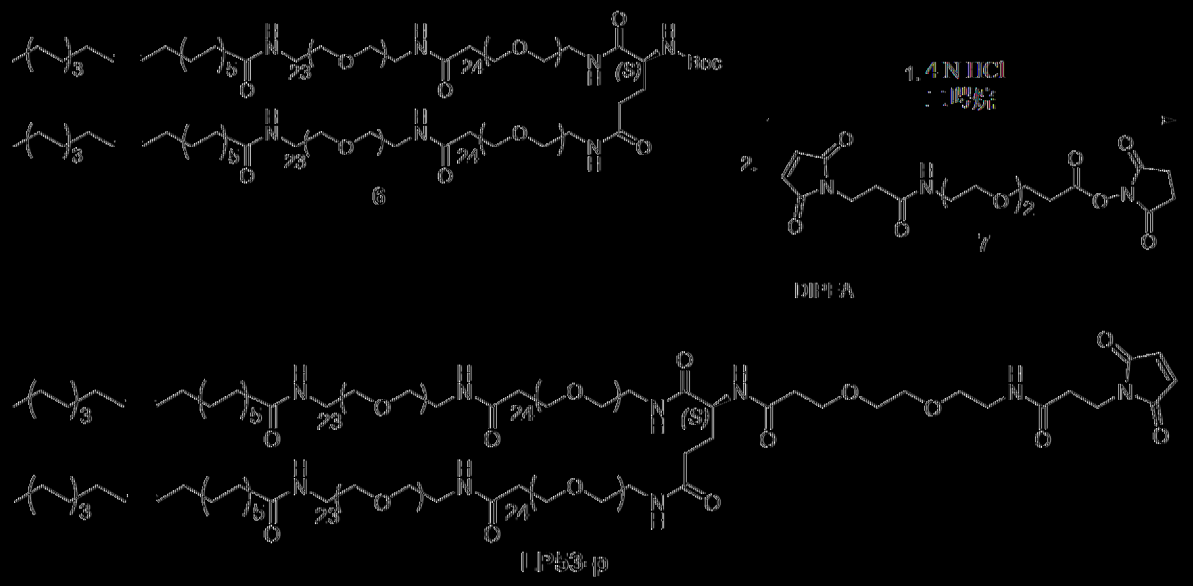
液添加TBTU (670 mg)，且接著添加DIPEA (0.908 mL)。將反應混合物攪拌直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。接著直接濃縮反應混合物以進行分離。殘餘物藉由CombiFlash®使用液體注射，利用經40分鐘DCM中0-20% MeOH (0-100%)之梯度來純化。將化合物3真空濃縮，得到白色油狀殘餘物。



[0521] 在室溫下向化合物3 (4.00 g)添加25 mL 4 M HCl/二噁烷。將反應混合物在室溫下攪拌1.5小時直至經由LC-MS證實完全轉化。接著將反應混合物真空濃縮。使殘餘物溶於DCM中，接著添加化合物5 (189 mg)、HBTU (588 mg)及DIPEA (0.797 mL)。將反應混合物在室溫下攪拌直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。

[0522] 將反應混合物直接濃縮。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽

膠作為固定相，利用DCM中0-20% MeOH (0-100% B)之梯度來純化，得到化合物6。

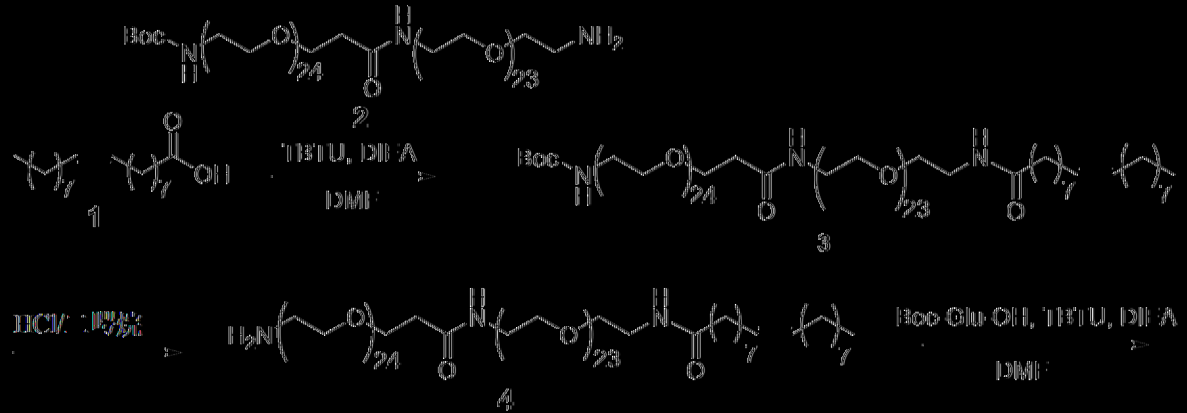


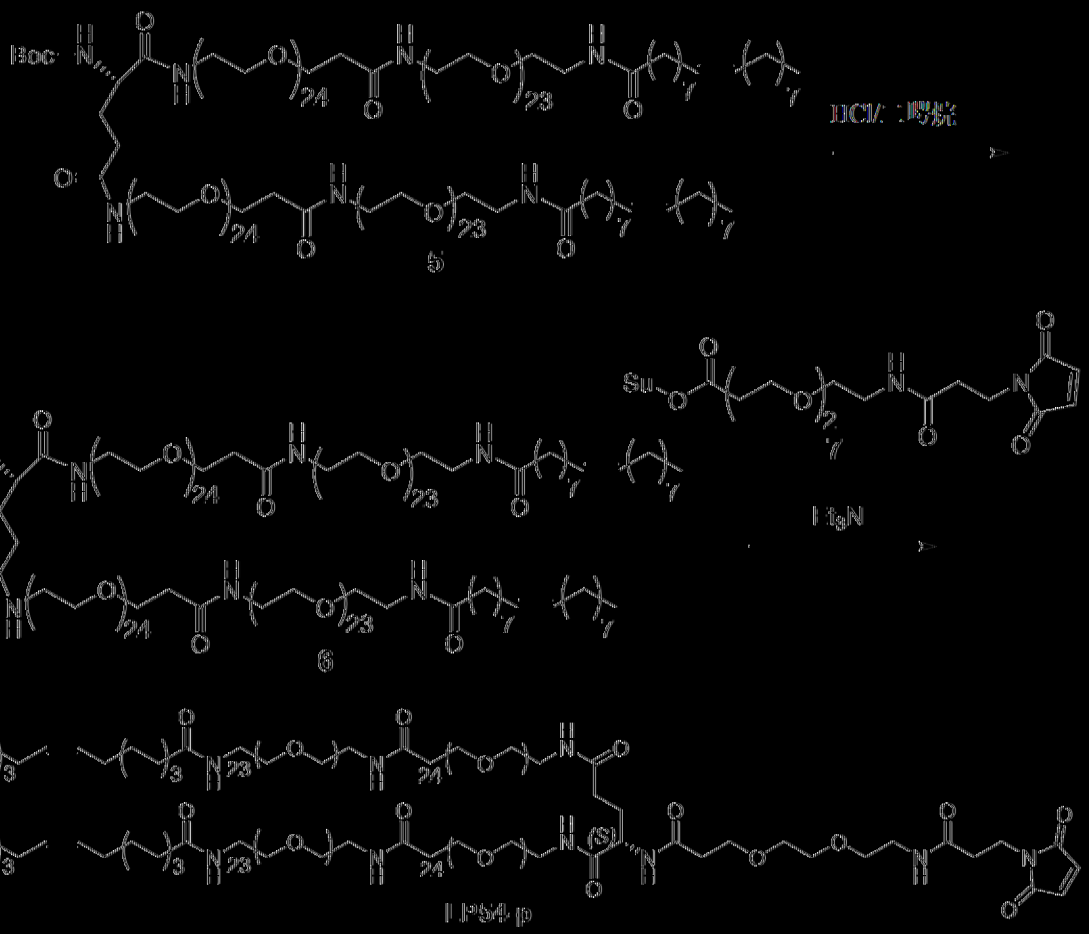
LP53-p

[0523] 在室溫下向化合物6 (2.00 g)添加20mL 4 M HCl/二噁烷。將反應混合物在室溫下攪拌1.5 h直至經由LC-MS證實完全轉化。將反應真空濃縮。使殘餘物溶於DCM中，接著添加化合物7 (170 mg)及DIPEA (148 mg)。將反應混合物在室溫下攪拌直至藉由TLC觀測到完全轉化。

[0524] 產物LP53-p藉由標準處理(1N HCl、飽和$NaHCO_3$、鹽水)萃取。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用DCM中0-20% MeOH (0-100% B)之梯度來純化。

[0525] 合成LP54-p





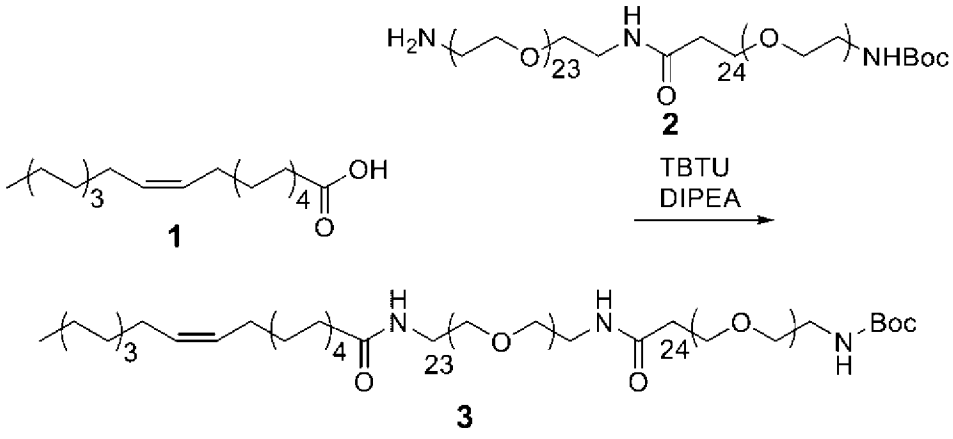
[0526] 將油酸1 (491 mg，1.736 mmol)與Boc-胺基-PEG47衍生物2、TBTU (670 mg，2.086 mmol)及DIEA (908 uL，5.21 mmol)一起在DMF (50 mL)中攪拌4小時。真空移除溶劑，且殘餘物蒸發甲苯3次且使殘餘物懸浮於$CHCl_3$ (150 mL)中。將所得懸浮液用H_2O、2% $NaHCO_3$兩次、鹽水洗滌，用無水Na_2SO_4處理。將混合物濃縮，得到產物3，將其真空乾燥。產量4.391 g。計算值MW 2566.24，(M+2×18)/2=1301.12，(M+3×18)/3=873.41 實驗值：MS (ES，正離子)：1301.79 $[M+2NH_4]^{2+}$，874.08 $[M+3NH_4]^{3+}$。

[0527] 藉由用冰冷4M HCl/二噁烷溶液(5 mL)處理，接著在室溫下攪拌1小時，將化合物3轉化成胺鹽酸鹽4。將反應混合物濃縮且真空乾燥，藉由與產物蒸發甲苯2次移除殘餘HCl。將所得胺鹽酸鹽4與Boc-Glu-OH (197 mg，0.796 mmol)、TBTU (594 mg，1.85 mmol)及DIEA (1

mL，5.74 mmol)一起在DMF:DCM=1:1 (60 mL)中攪拌16小時。真空移除溶劑，自殘餘物蒸發甲苯3次且使殘餘物懸浮於$CHCl_3$ (300 mL)中。將懸浮液用H_2O、2% $NaHCO_3$兩次、鹽水洗滌，經無水Na_2SO_4乾燥。產物**5**在Combiflash®上使用系統DCM中0-20% MeOH，梯度0-100%，45分鐘來純化。產量2.72 g。計算值MW 5143.46, (M +3×18)/3=1732.49, (M +4×18)/4=1303.87 實驗值: MS (ES, 正離子): 1733.46 $[M+3NH_4]^{3+}$, 1304.55 $[M+4NH_4]^{4+}$。

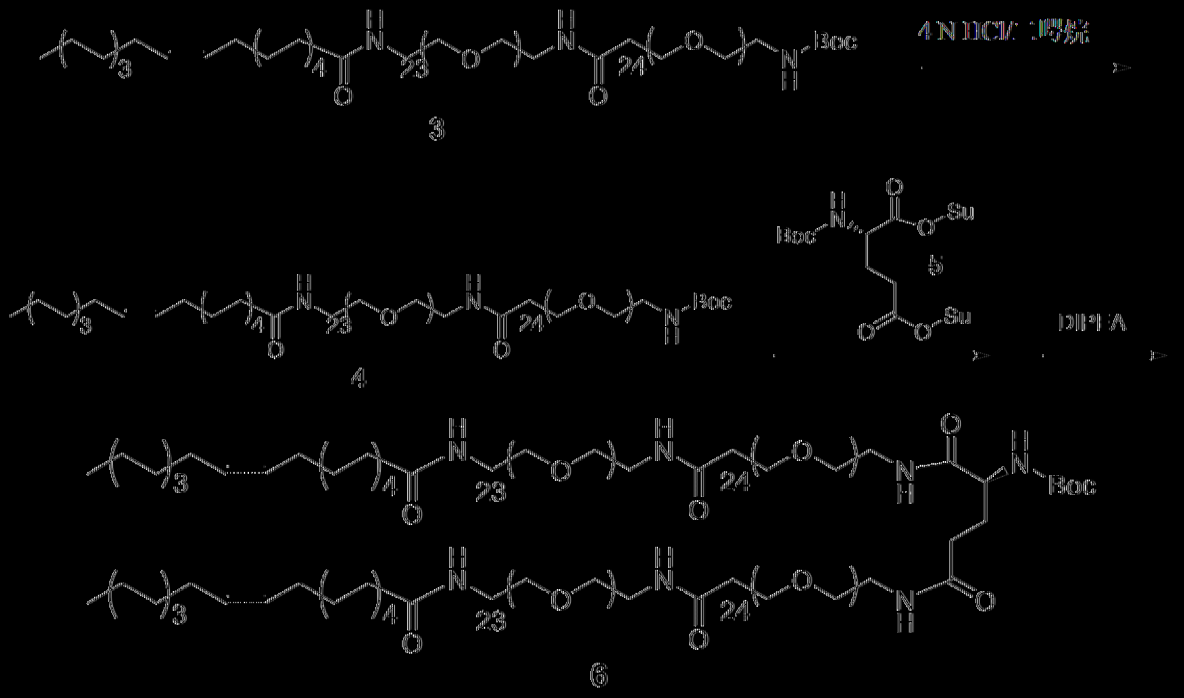
【0528】 將化合物**5** (2.72 g，0.529 mmol)在4M HCl/二噁烷溶液(30 mL)中攪拌1小時，真空移除溶劑，自殘餘物蒸發甲苯2次且將所得乾燥鹽酸鹽**6**與NHS-酯**7** (212 mg，0.5 mmol)及含Et_3N之DCM (45 mL)一起攪拌16小時。將反應混合物用$CHCl_3$稀釋3次，用H_2O及鹽水洗滌，乾燥(Na_2SO_4)，濃縮且產物**LP54-p**在Combiflash®上使用系統DCM中0-20% MeOH，梯度0-100%，55分鐘來純化。產量440 mg。計算值MW 5353.65, (M +3×18)/3=1802.55, (M +4×18)/4=1356.41 實驗值: MS (ES, 正離子): 1803.19 $[M+3NH_4]^{3+}$, 1357.24 $[M+4NH_4]^{4+}$。

【0529】 **合成LP55-p**



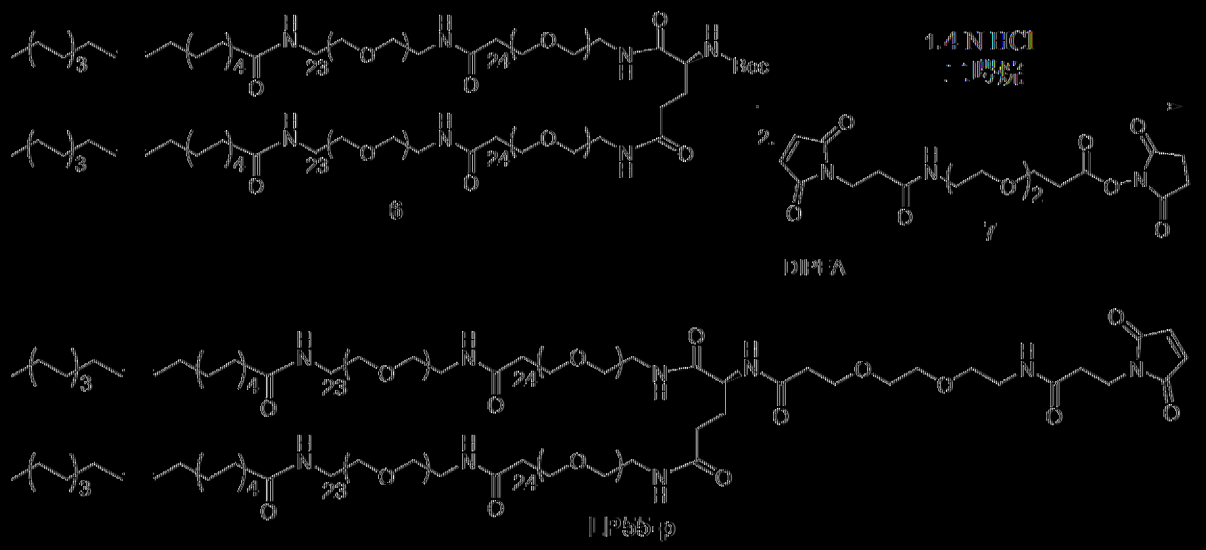
【0530】 在室溫下向化合物**1** (297 mg)及**2** (2.00 g)於DCM中之溶液添加TBTU (307 mg)且接著添加DIPEA (0.454 mL)。將反應混合物攪

拌直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。藉由標準處理(1N HCl、飽和$NaHCO_3$、鹽水洗滌)萃取產物且經Na_2SO_4乾燥。粗化合物3直接用於下一步。



[0531] 向化合物3 (2.00 g)添加20mL 4 M HCl/二噁烷在室溫下。將反應混合物在室溫下攪拌1.5小時直至經由LC-MS證實完全轉化。將反應混合物真空濃縮。使殘餘物溶於DCM中，接著添加DIPEA (0.0403 mL)。接著使用注射泵(在2-3小時內)緩慢添加化合物5 (DCM中160 mg)。將反應混合物在室溫下攪拌直至藉由TLC觀測到完全轉化。

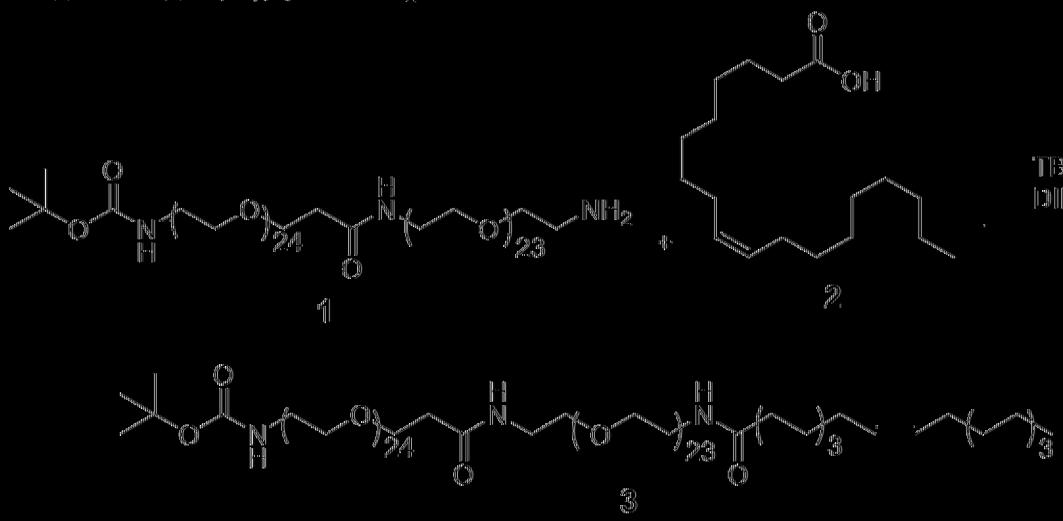
[0532] 使用標準處理(1N HCl、飽和$NaHCO_3$、鹽水)萃取產物。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用DCM中0-20% MeOH (0-100% B)之梯度來純化，得到化合物6。



[0533] 向化合物6 (1.22 g)添加10mL 4 M HCl/二噁烷在室溫下。將反應混合物在室溫下攪拌1.5 h直至經由LC-MS證實完全轉化。將反應混合物真空濃縮。使殘餘物溶於DCM中，接著化合物7 (105 mg)及DIPEA (148 mg)添加。將反應混合物在室溫下攪拌直至藉由TLC觀測到完全轉化。

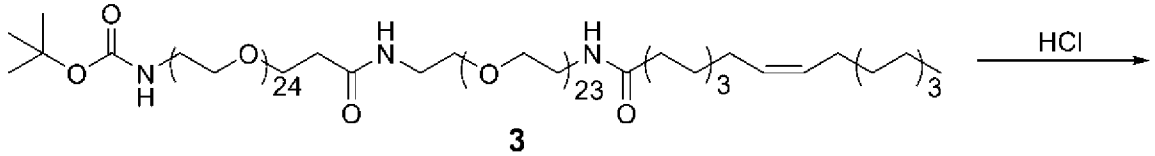
[0534] 使用標準處理(1N HCl、飽和$NaHCO_3$、鹽水)萃取產物LP55-p。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用DCM中0-20% MeOH (0-100% B)之梯度來純化。

[0535] 合成LP56-p

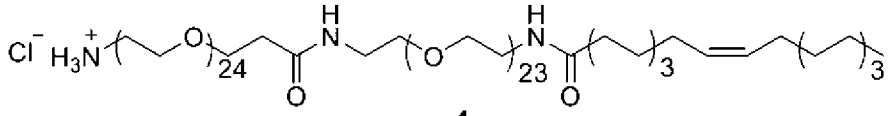


[0536] 在室溫下向化合物1 (150 mg，0.0652 mmol，1.0當量)、

化合物**2** (20 mg，0.0717 mmol，1.1當量)及二異丙基乙胺(0.034 mL，0.195 mmol，3.0當量)於無水DMF (3 mL)中之溶液添加TBTU (25.1 mg，0.0782 mmol，1.2當量)。反應混合物保持在室溫下2小時且接著濃縮。化合物**3**藉由CombiFlash®用二氯甲烷中12-18%甲醇溶離來純化。LC-MS: [M+2H]+/2計算值1283.32, 實驗值1283.87。

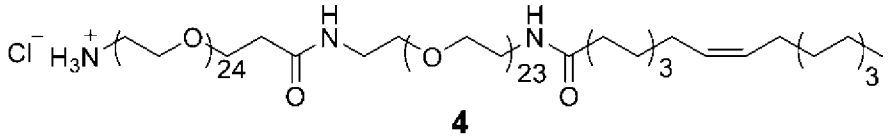


3



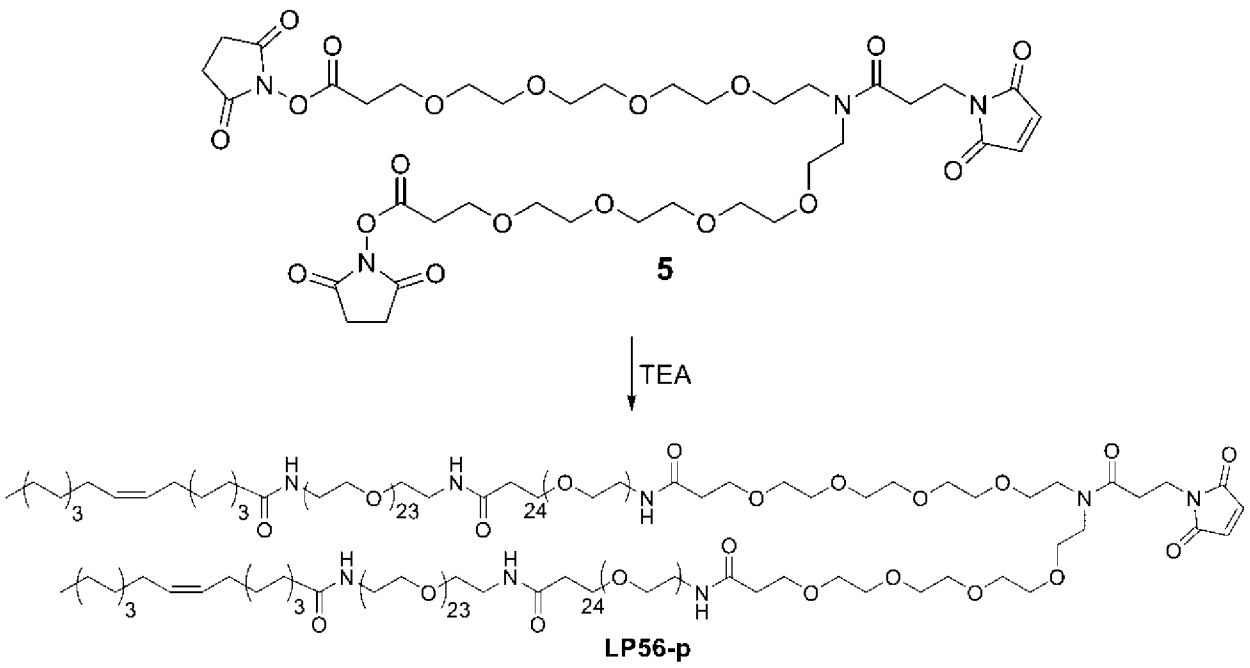
4

【0537】 在室溫下向化合物**3**固體(82 mg，0.0320 mmol，1.0當量)添加HCl之二噁烷溶液(0.4 mL，1.597 mmol，50當量)。反應混合物保持在室溫下30分鐘且在真空下移除溶劑。化合物**4**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+2H]+/2計算值1233.29, 實驗值1233.69。



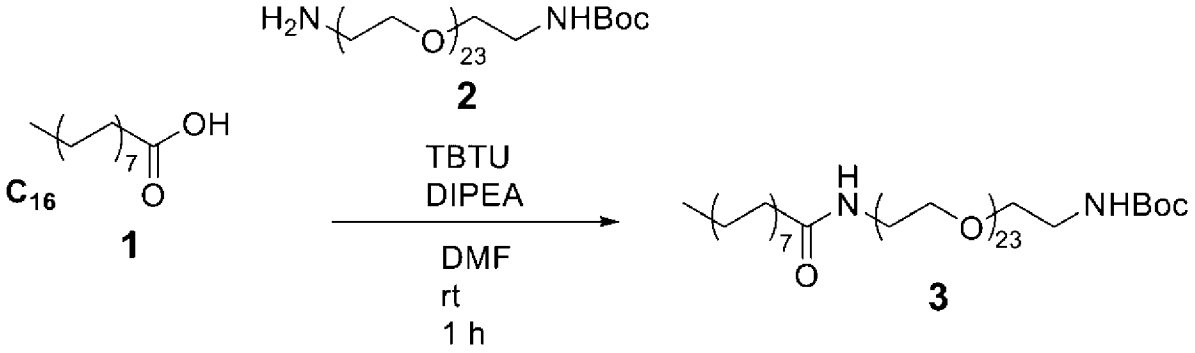
4

+



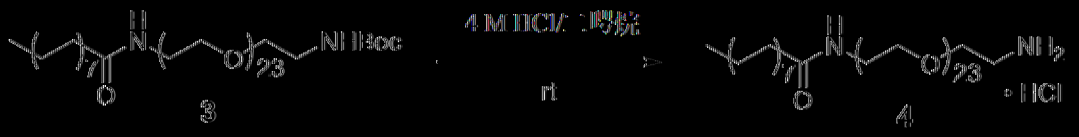
【0538】 在室溫下向化合物**5** (13 mg，0.0151 mmol，1.0當量)及化合物**4** (77.7 mg，0.0310 mmol，2.05當量)於無水DCM (2 mL)中之溶液添加三乙胺(0.011 mL，0.0757 mmol，5.0當量)。反應混合物保持在室溫下1小時且將溶劑濃縮。**LP56-p**藉由CombiFlash®用二氯甲烷中12-18%甲醇溶離來純化。LC-MS: [M+5H]+/5計算值1112.49, 實驗值1112.34, [M+6H]+/6計算值927.24, 實驗值927.97。

【0539】 **合成LP57-p**

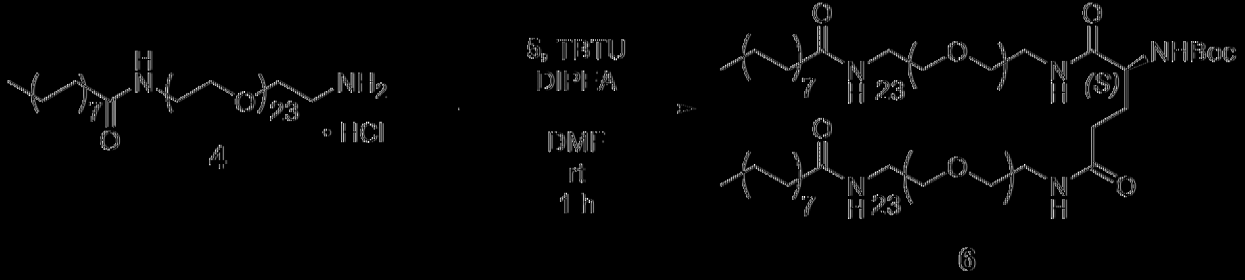


【0540】 在室溫下向化合物**1** (787 mg)、TBTU (985 mg)及DIEA (662 mg)於DMF中之溶液添加化合物**2** (3.06 g)。將反應混合物攪拌隔夜直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。接著將反應混合物用$NaHCO_3$洗滌且用

20% 三氟乙醇/DCM萃取。殘餘物藉由CombiFlash®使用80 g矽膠管柱作為固定相，利用經45分鐘DCM至DCM中20% MeOH (0-100%)之梯度來純化，其中化合物3在28% B下溶離。將化合物3真空濃縮，得到白色油狀殘餘物。LC-MS: [M+H]+計算值1411.95 m/z，觀測值724.80 (+2/2, +H_2O) m/z。

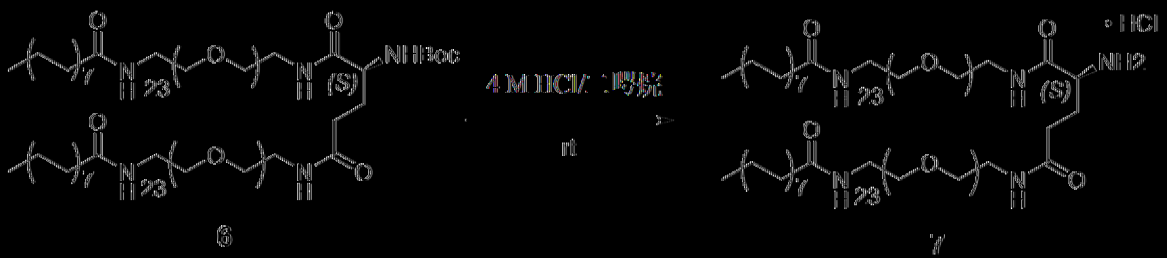


[0541] 在室溫下向化合物3 (1.27 g)添加4 M HCl/二噁烷(329 mg)。將反應混合物在室溫下攪拌直至經由LC-MS證實完全轉化。將反應混合物與PhMe/MeOH共沸且在高真空下濃縮隔夜，得到呈白色固體狀之化合物4。LC-MS: [M+H]+計算值1311.90 m/z，觀測值657.59 (+2/2) m/z。

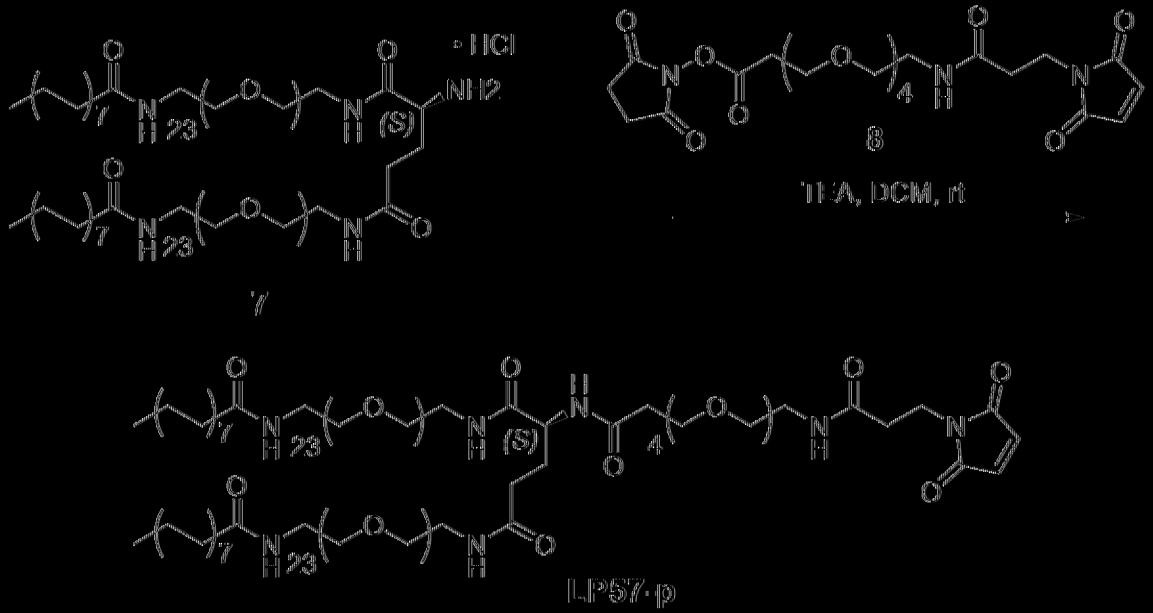


[0542] 在室溫下向化合物4 (1.22 g)、TBTU (348 mg)及DIEA (0.3825 mL)於DMF中之溶液添加化合物5 (109 mg)。將反應混合物攪拌直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。接著將反應混合物用$NaHCO_3$洗滌，用20% 2,2,2-三氟乙醇(TFE)/DCM萃取，用NH_4Cl溶液洗滌，經Na_2SO_4乾燥，過濾，且真空濃縮。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用經30分鐘DCM中0-20% MeOH (0-100%)之梯度來純化，其中化合物6在51% B下溶離。收集純淨及不純溶離份且濃縮。不純溶離份經由DCM至20% MeOH/DCM (0-100% B)再分離，其中化合物6在54% B下溶離且

呈純溶離份收集且濃縮。真空濃縮得到呈白色油狀殘餘物之化合物6。LC-MS: [M+H]+計算值2833.89 m/z, 觀測值727.56 (+4/4, +H2O) m/z。



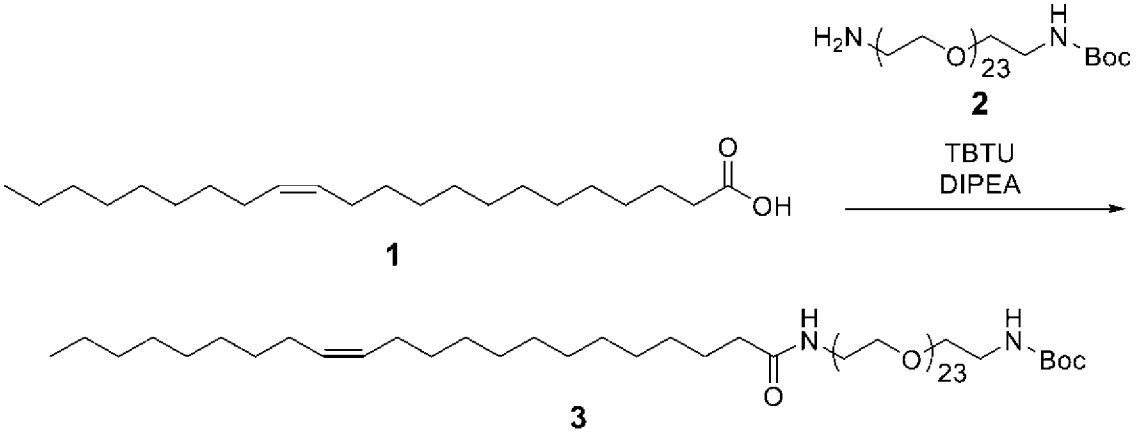
[0543] 在室溫下向化合物6 (130 mg)添加4 M HCl/二噁烷(16.7 mg)。將反應混合物在室溫下攪拌直至經由LC-MS證實完全轉化。將反應混合物與PhMe/MeOH共沸且在高真空下濃縮隔夜，得到呈白色固體狀之化合物7。LC-MS: [M+H]+計算值2769.81 m/z, 觀測值694.07 (+ HCl, +4/4) m/z。



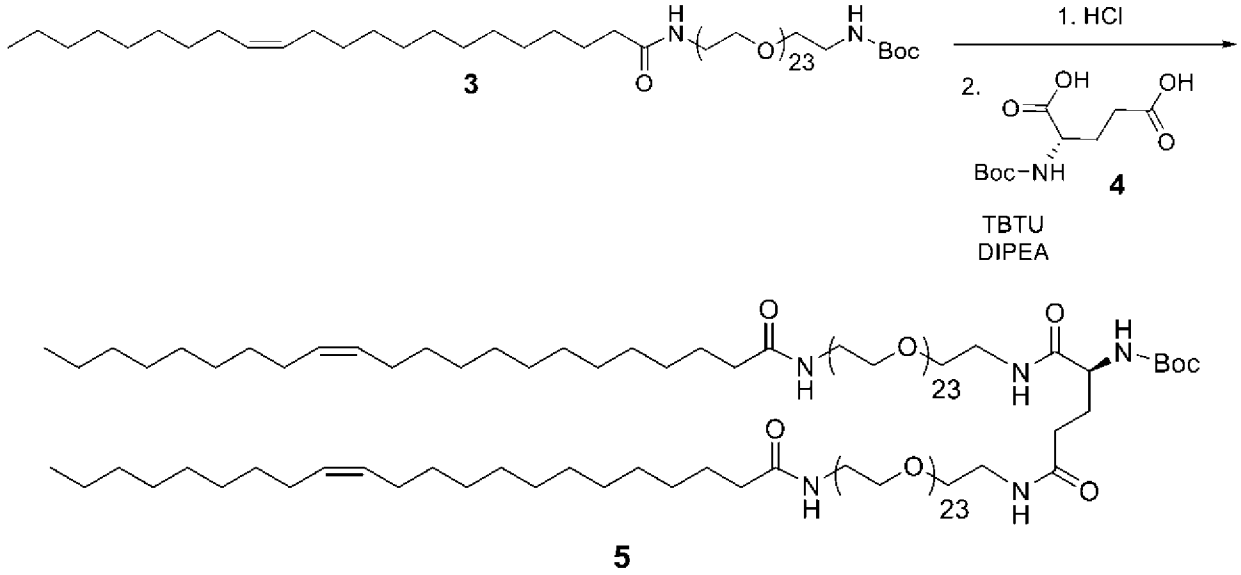
[0544] 在室溫下在充N2(g)下製備化合物7 (127 mg)及TEA (0.026 mL)於無水DCM中之溶液。接著緩慢添加化合物8 (24.8 mg)。將反應混合物攪拌直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。接著直接濃縮反應混合物。殘餘物藉由CombiFlash®經由12 g矽膠管柱作為固定相，利用經20分鐘DCM中0-20% MeOH (0% B至100% B)之梯度來純化，其中LP57-p在

100% B下溶離。LC-MS: [M+H]+計算值3132.00 m/z, 觀測值1584.89 (+3/3, +H_2O) m/z。

【0545】 **合成LP58-p**



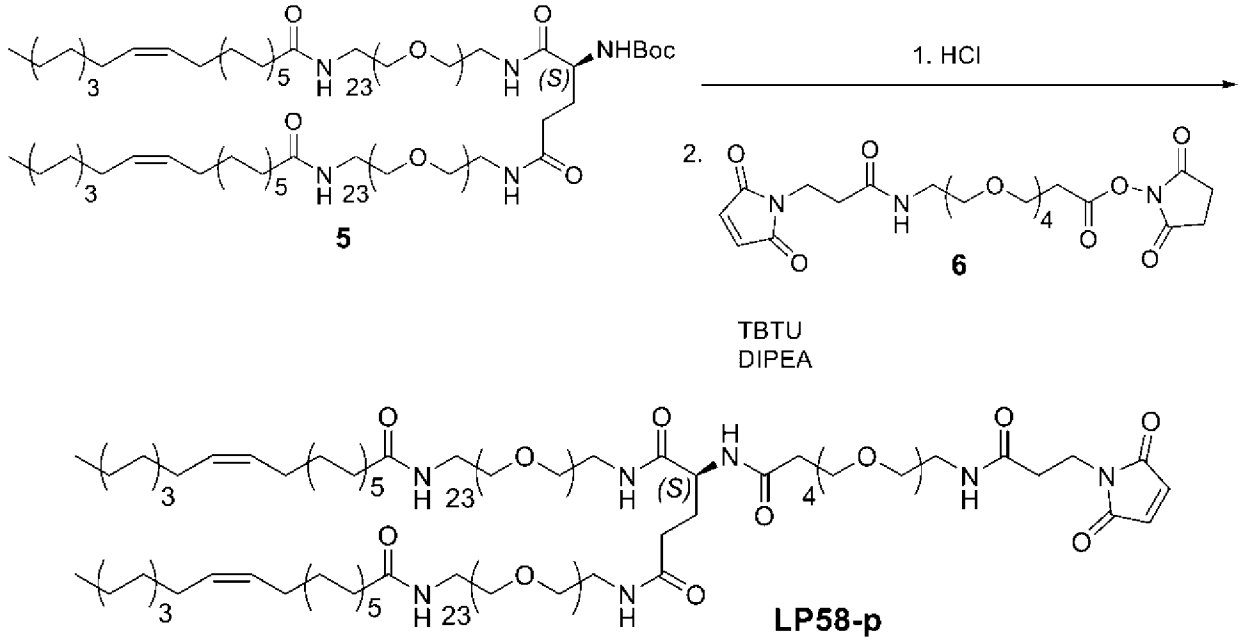
【0546】 在室溫下向化合物**1** (606 mg)及**2** (2.00 g)於DCM中之溶液添加TBTU (657 mg)且接著添加DIPEA (0.891 mL)。將反應混合物攪拌直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。接著直接濃縮反應混合物。殘餘物藉由CombiFlash®使用液體注射，利用經40分鐘DCM中0-20% MeOH (0-100%)之梯度來純化。將化合物**3**真空濃縮，得到白色油狀殘餘物。



【0547】 在室溫下向化合物**3** (2.20 g)添加5 mL 4 M HCl/二噁烷。將反應混合物在室溫下攪拌1.5小時直至經由LC-MS證實完全轉化。將反

應真空濃縮。使殘餘物溶於DCM中，接著添加化合物**4** (171 mg)、TBTU (567 mg)及DIPEA (0.770 mL)。將反應混合物在室溫下攪拌直至藉由TLC觀測到完全轉化。

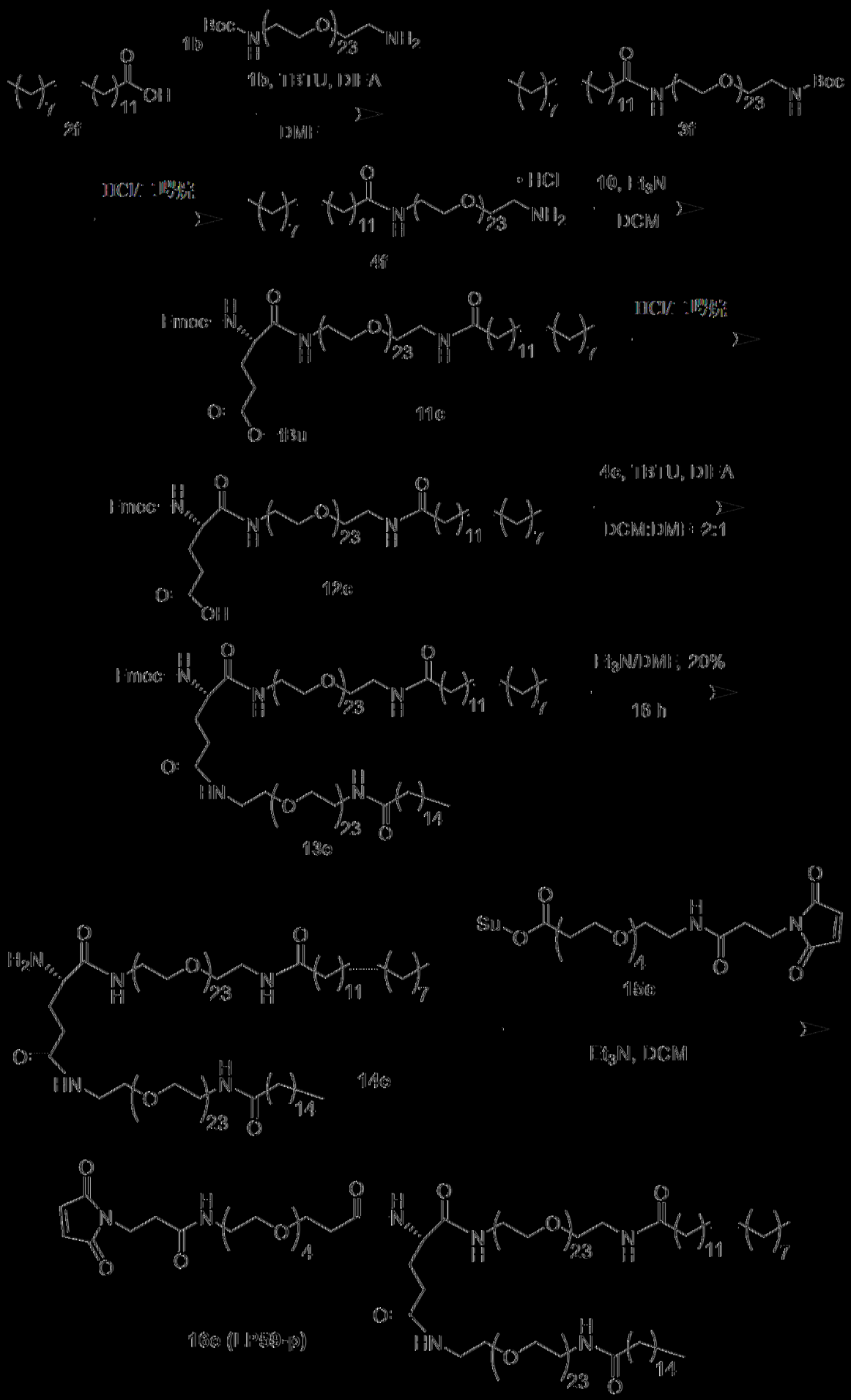
【0548】 使用標準處理(1N HCl、飽和$NaHCO_3$、鹽水)萃取產物。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用DCM中0-20% MeOH (0-100% B)之梯度來純化。



【0549】 在室溫下向化合物**5** (1.34 g)添加10 mL 4 M HCl/二噁烷。將反應混合物在室溫下攪拌1.5小時直至經由LC-MS證實完全轉化。將反應真空濃縮。使殘餘物溶於DCM中，接著添加化合物**6**、TBTU (172 mg)及DIPEA (0.234 mL)。將反應混合物在室溫下攪拌直至藉由TLC觀測到完全轉化。

【0550】 使用標準處理(1N HCl、飽和$NaHCO_3$、鹽水)萃取產物**LP58-p**。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用DCM中0-20% MeOH (0-100% B)之梯度來純化。

【0551】 **合成LP59-p**


1b
1b, TBTU, DIEA
DMF
2f
3f
DCM: 1吗啉
4f
10, Et3N
DCM
11c
12c
4e, TBTU, DIEA
DCM:DMF = 2:1
Et3N/DMF, 20%
16 h
13e
15e
Et3N, DCM
14e
16e (LP50-p)

【0552】 將芥子酸**2f** (587 mg，1.736 mmol)與Boc-胺基peg47衍生物**1b**、TBTU (670 mg，2.086 mmol)及DIEA (908 uL，5.21 mmol)一起在DMF (50 mL)中攪拌4小時。真空移除溶劑，自殘餘物蒸發甲苯3次，且使殘餘物懸浮於$CHCl_3$ (150 mL)中。將所得懸浮液用H_2O、2% $NaHCO_3$兩次、鹽水洗滌，且用無水Na_2SO_4處理。將產物**3f**分離，濃縮且真空乾燥。產量4.391 g。計算值MW 1494.00, M+18=1512.00, (M+2×18)/2=765.00。實驗值: MS (ES, 正離子): 1512.53 $[M+NH_4]^+$, 765.72 $[M+2NH_4]^{2+}$。

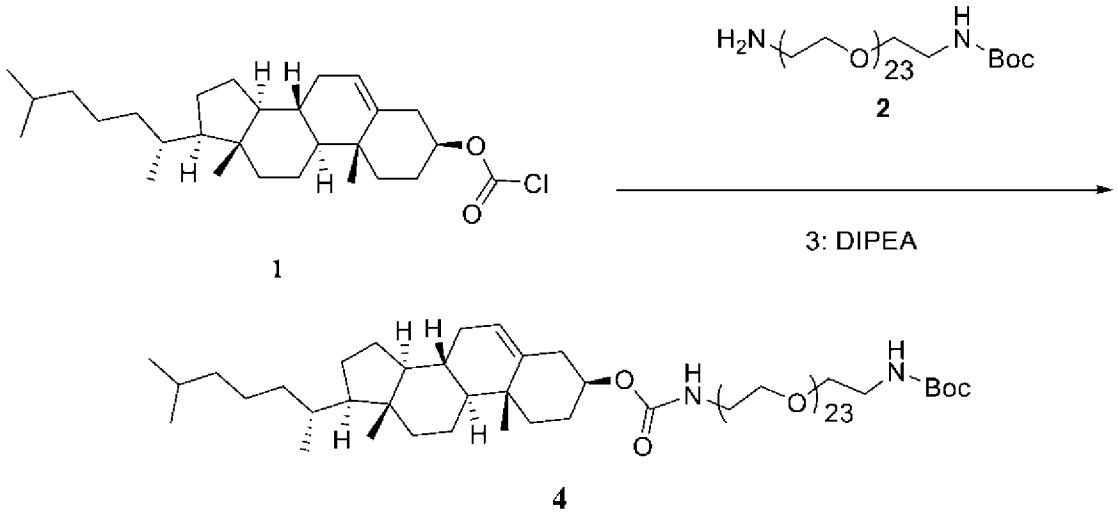
【0553】 將Boc保護基用4M HCl之二噁烷溶液移除以獲得鹽酸鹽**4f** (1.192 g，.834 mmol)，其未經純化直接用於下一步。將五氟苯基酯**10** (493 mg，0.834 mmol)及Et_3N (290 uL，2.084 mmol)在DCM (30 mL)中與鹽酸鹽**4f**混合。在攪拌2小時後，將反應混合物用$CHCl_3$ (150 mL)稀釋，用H_2O、3% $NaHCO_3$水溶液及鹽水洗滌。乾燥的產物**11c** 1.539 g直接用於以下步驟中。

【0554】 將化合物**11c** (1.539 g，0.834 mmol)在4M HCl/二噁烷溶液(20 mL)中攪拌4小時。真空移除溶劑，自殘餘物蒸發甲苯2次以獲得乾燥的脫除保護基之酸**12c** (1.52 g，0.827 mmol)。將此酸與胺鹽酸鹽**4c** (1.114 g，0.827 mmol，如以上合成LP39中所示合成)、TBTU (318.6 mg，0.992 mmol)及DIEA (532 uL，3.05 mmol)一起在DCM:DMF=1:2之混合物(30 mL)中攪拌16小時。真空移除溶劑，用甲苯額外蒸發3次來移除殘餘DMF。使殘餘物懸浮於$CHCl_3$ (150 mL)中，用H_2O、3% $NaHCO_3$兩次及鹽水洗滌。在經Na_2SO_4乾燥之後，將產物**13e**濃縮且在Combiflash®上使用系統DCM:DCM中20% MeOH，梯度0-100%，55分

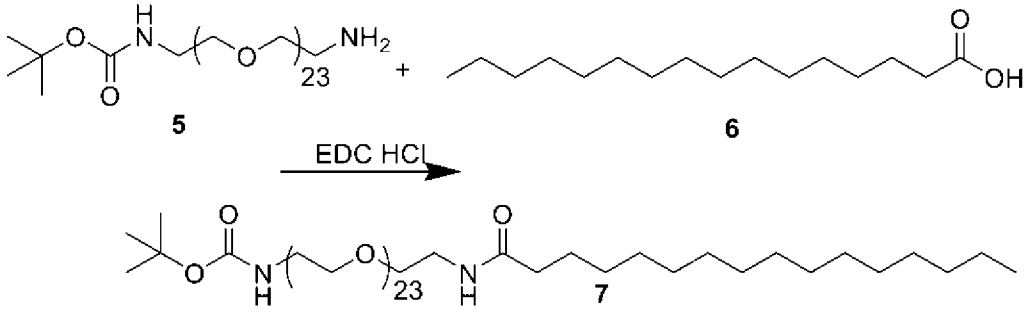
鐘來純化。產量1.429 g。計算值MW 3038.96, (M +2×18)/2=1537.48, (M +3×18)/3=1030.99 實驗值: MS (ES, 正離子): 1537.97 $[M+2NH_4]^{2+}$, 1031.66 $[M+3NH_4]^{3+}$。

【0555】 如以上針對LP39之程序中所述，使產物**13e**脫除保護基Fmoc。產物**14e**經乾燥且如以上針對LP39之程序中所述與NHS-酯**15c**反應。產物**16e** (**LP59-p**)使用CombiFlash®純化分離。計算值MW 3215.13, (M +2×18)/2=1625.57, (M +3×18)/4=1089.71。實驗值: MS (ES, 正離子): 1626.30 $[M+2NH_4]^{2+}$, 1090.58 $[M+3NH_4]^{3+}$。

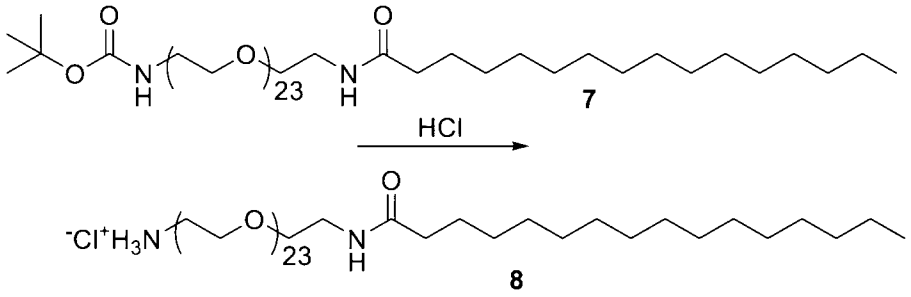
【0556】 **合成LP60-p**



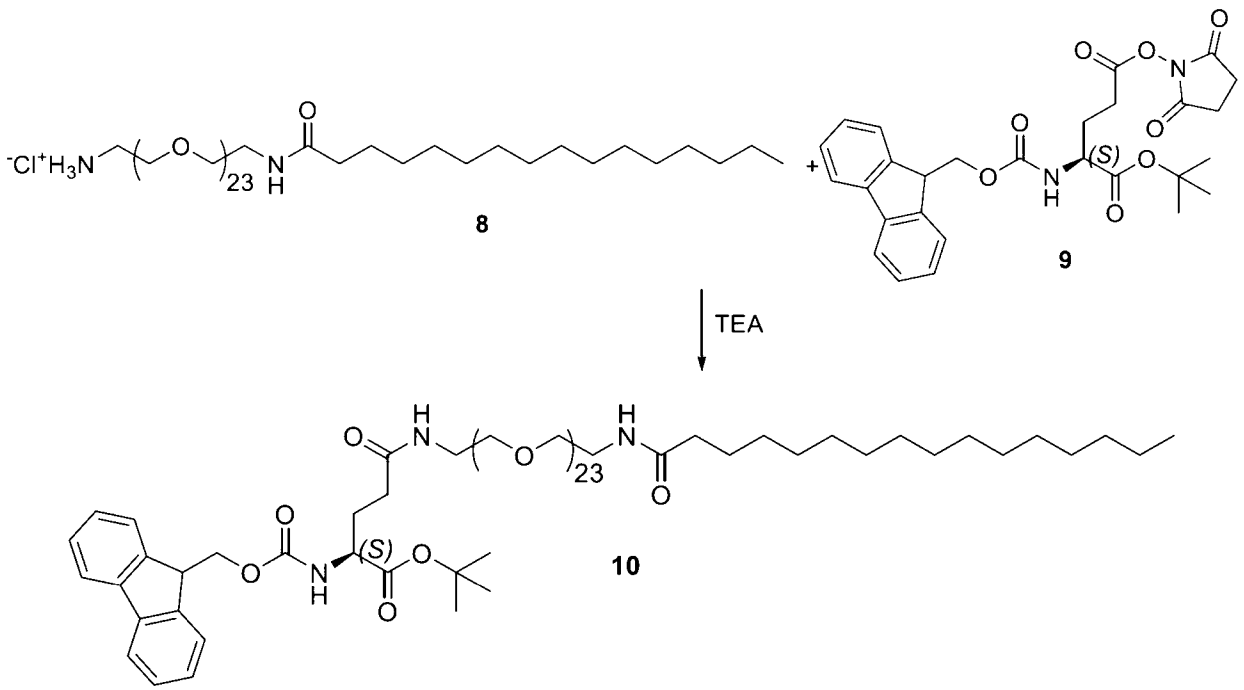
【0557】 向化合物**1** (278 mg)及**2** (1.00 g)於DCM中之溶液添加化合物**3** (DIPEA，0.223 mL)。將反應混合物攪拌直至藉由TLC觀測到**2**完全轉化。使用標準處理(1N HCl、飽和$NaHCO_3$、鹽水)萃取產物且經Na_2SO_4乾燥。粗化合物**4**直接用於下一步。



【0558】 在室溫下向化合物**5** (2500 mg，2.130 mmol，1.0當量)及化合物**6** (655 mg，2.556 mmol，1.2當量)於無水DCM (10 mL)中之溶液添加EDC HCl (630 mg，3.195 mmol，1.5當量)。反應混合物保持在室溫下隔夜。將反應混合物濃縮。產物藉由CombiFlash®用二氯甲烷中12-20%甲醇溶離來純化。LC-MS: [M+H]+計算值1411.95, 實驗值1413.64。

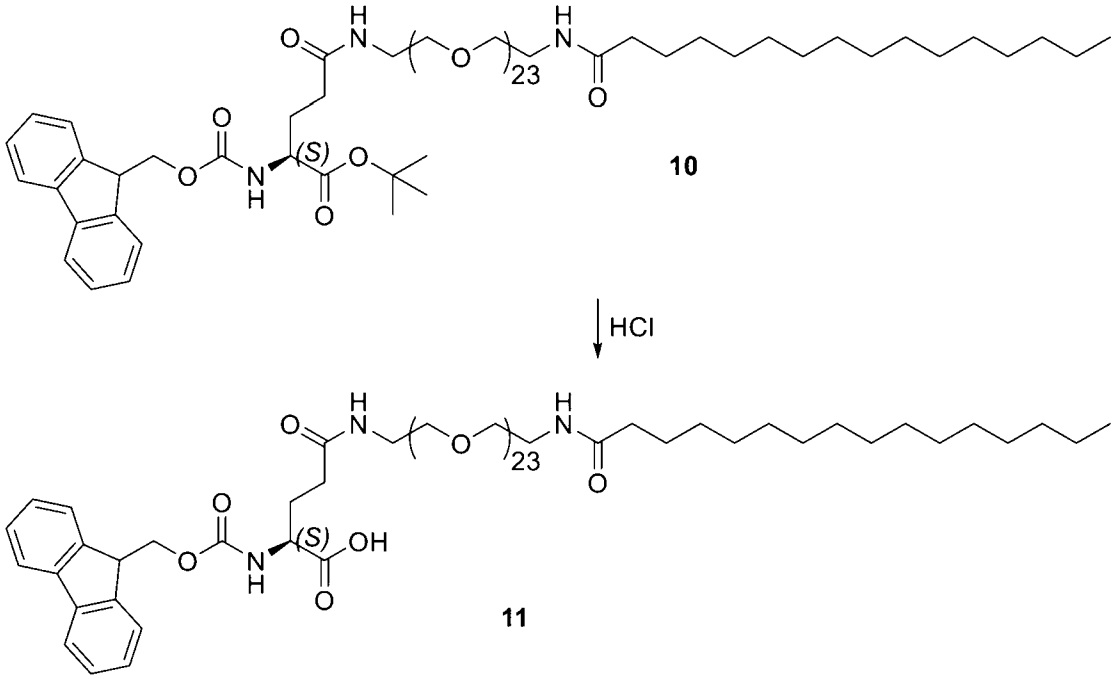


【0559】 在室溫下向化合物**7**固體(2100 mg，1.487 mmol，1.0當量)添加HCl之二噁烷溶液(7.438 mL，29.75 mmol，20當量)。反應混合物保持在室溫下1小時且將溶劑濃縮。化合物**8**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+H]+計算值1311.90, 實驗值1312.95。

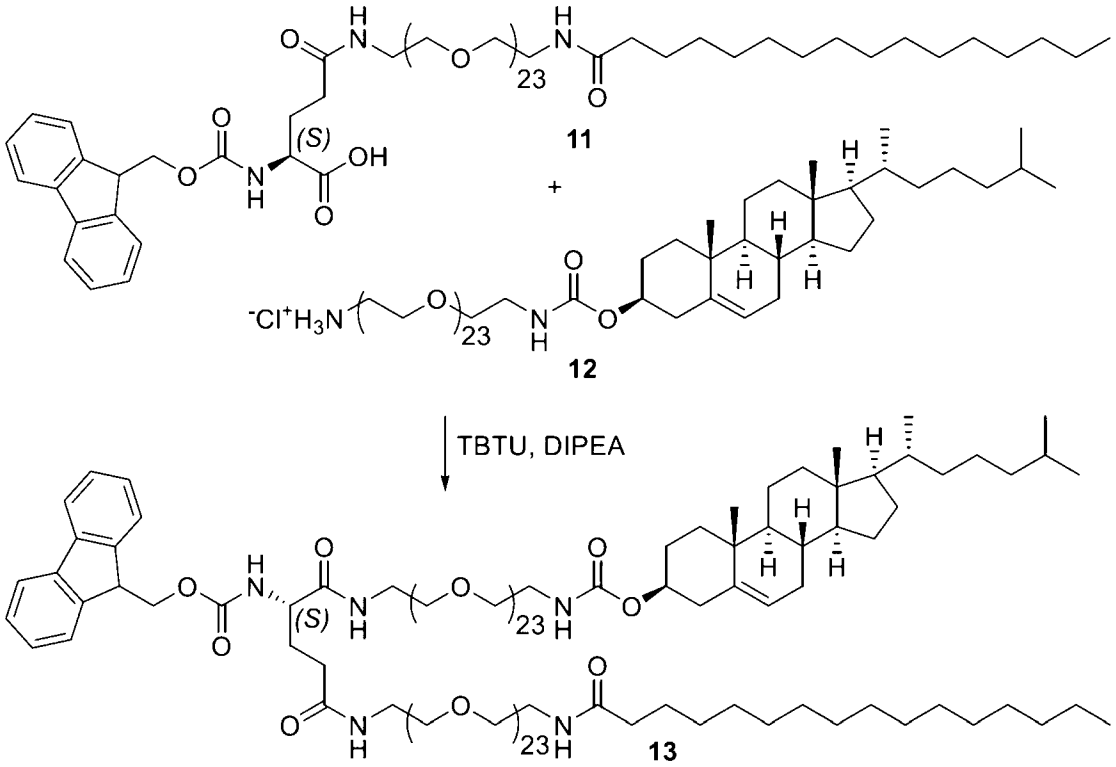


【0560】 在室溫下向化合物**8** (1210 mg，0.897 mmol，1.0當量)及化合物**9** (539 mg，1.032 mmol，1.15當量)於無水DCM (10 mL)中之溶液

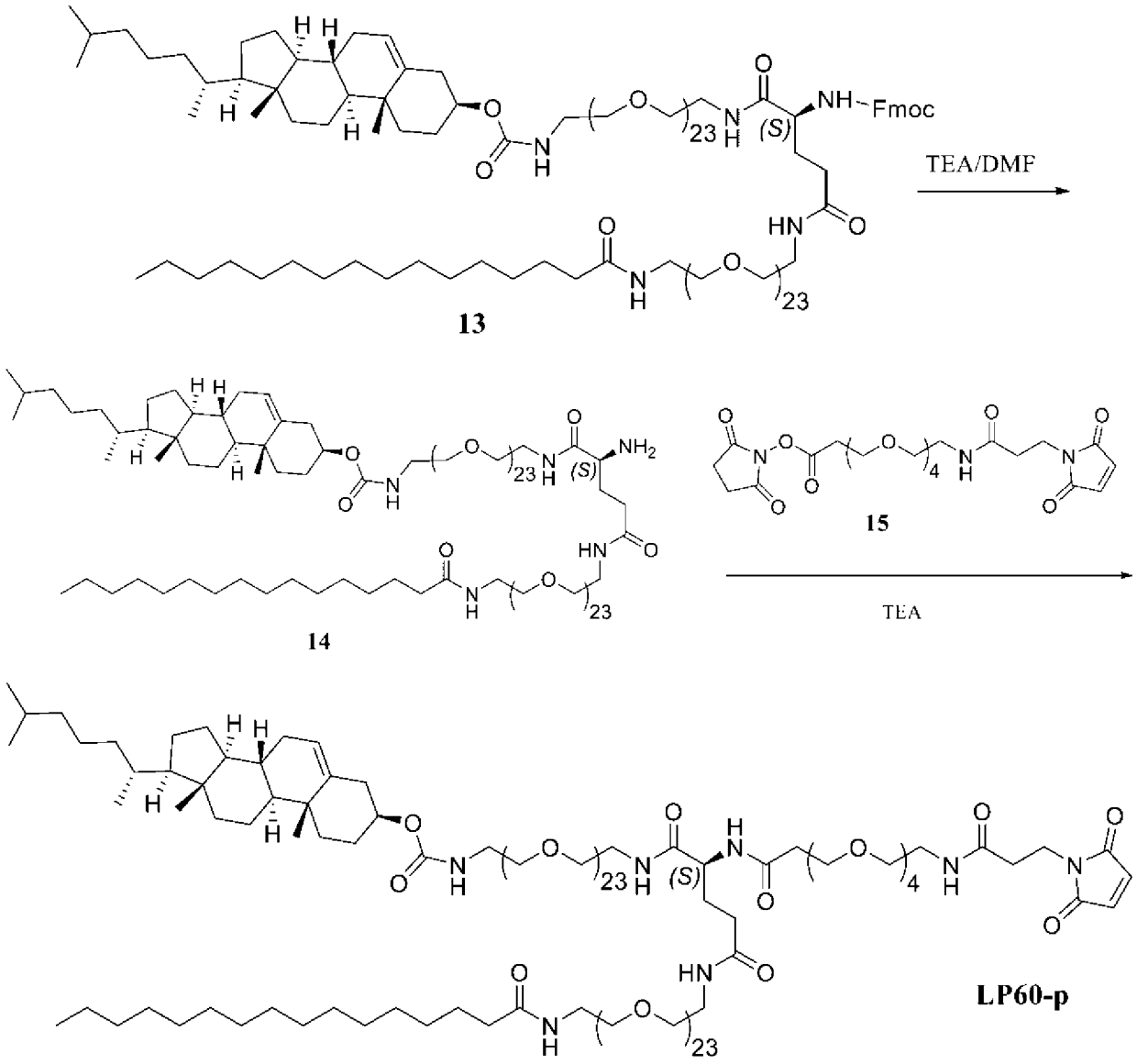
添加三乙胺(0.381 mL，2.692 mmol，3.0當量)。反應混合物保持在室溫下2小時。將有機相用飽和NH_4Cl及飽和$NaHCO_3$水溶液洗滌。有機相經Na_2SO_4乾燥且濃縮。化合物**10**藉由CombiFlash®且用二氯甲烷中12-20%甲醇溶離而分離。LC-MS: [M+H]+計算值1719.07, 實驗值1719.42。



【0561】在室溫下向化合物**10** (1100 mg，0.639 mmol，1.0當量)添加4M HCl之二噁烷溶液(3.199 mL，12.796 mmol，20當量)。反應混合物保持在室溫下8小時。將反應混合物濃縮。化合物**11**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+H]+ 計算值1663.01, 實驗值1664.00。



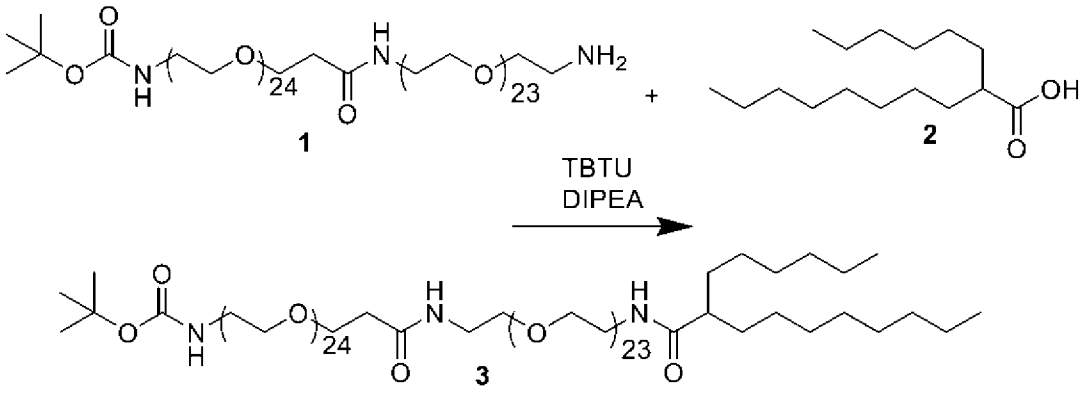
【0562】在室溫下向化合物**11** (1060 mg，0.637 mmol，1.0當量)、化合物**12** (970 mg，0.637 mmol，1.00當量)及二異丙基乙胺(0.444 mL，2.549 mmol，4.0當量)於DMF (10 mL)中之溶液添加TBTU (245 mg，0.764 mmol，1.2當量)。反應混合物保持在室溫下2小時。將反應混合物濃縮。將殘餘物用飽和氯化銨及碳酸氫鈉水溶液洗滌。化合物**13**藉由CombiFlash®用二氯甲烷中10-20%甲醇溶離來純化。LC-MS: [M+2H]/2計算值1565.50, 實驗值1567.13。



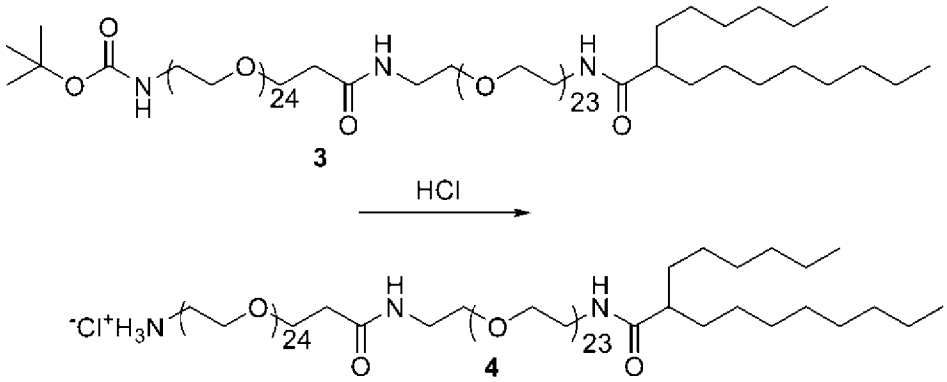
【0563】 在室溫下向化合物**13** (1.05 g)於4 mL DMF中之溶液添加1 mL TEA。將反應混合物攪拌隔夜且真空移除溶劑，得到化合物**14**。化合物**14**未經進一步純化即使用。

【0564】 在室溫下向化合物**14** (585 mg)於6 mL DCM中之溶液添加化合物**15** (124 mg)及TEA (0.085 mL)。將反應混合物攪拌隔夜。使用標準處理(1N HCl、飽和$NaHCO_3$、鹽水)萃取產物且經Na_2SO_4乾燥。**LP60-p**用管柱層析法進一步純化。

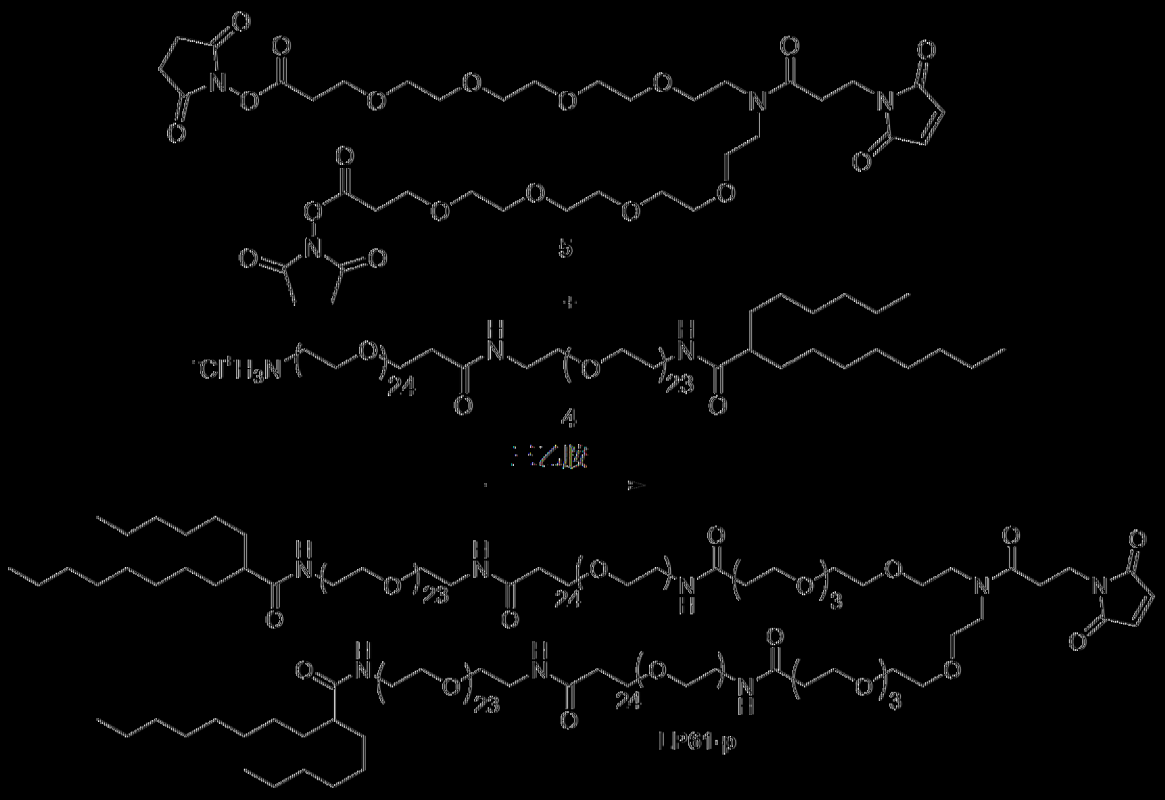
【0565】 **合成LP61-p**



【0566】在室溫下向化合物**1** (124 mg，0.0539 mmol，1.0當量)、化合物**2** (19.5 mg，0.0646 mmol，1.2當量)及二異丙基乙胺(0.028 mL，0.161 mmol，3.0當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液添加TBTU (20.8 mg，0.0646 mmol，1.2當量)。反應混合物保持在室溫下1小時。將反應混合物用飽和碳酸氫鈉水溶液淬滅。將水相用DCM (3×10 mL)萃取，且經合併之有機相經Na_2SO_4乾燥，且濃縮。化合物**3**藉由CombiFlash®用二氯甲烷中10-12%甲醇溶離來純化。LC-MS: [M+2H]+/2計算值1270.31, 實驗值1269.15。

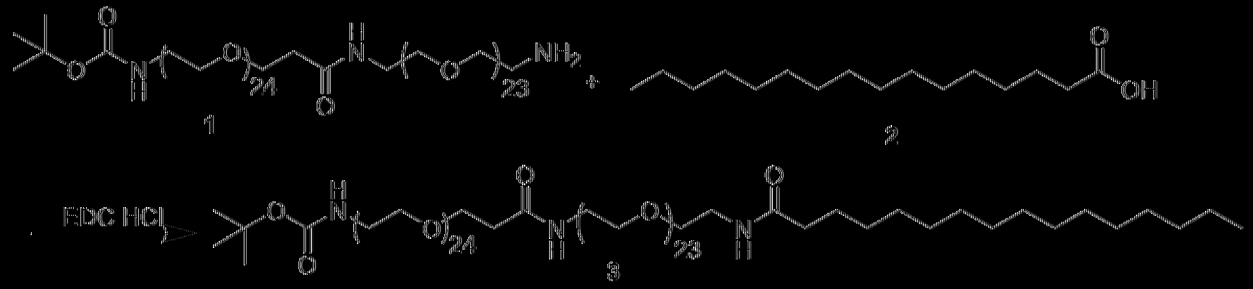


【0567】在室溫下向化合物**3** (56 mg，0.0220 mmol，1.0當量)添加4M HCl之二噁烷溶液(0.276 mL，1.102 mmol，50當量)。反應混合物保持在室溫下1小時且接著濃縮。化合物**4**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+2H]/2 計算值1220.28, 實驗值1221.63。



[0568] 在室溫下向化合物5 (10 mg，0.0116 mmol，1.0當量)及化合物6 (59.1 mg，0.0239 mmol，2.05當量)於無水DCM (2 mL)中之溶液添加三乙胺(0.008 mL，0.0931 mmol，5.0當量)。反應混合物保持在室溫下4小時且在真空下移除溶劑。LP61-p藉由CombiFlash®用二氯甲烷中12-15%甲醇溶離來純化。LC-MS：[M+6H]+/6計算值918.57，實驗值919.69。

[0569] 合成LP62-p

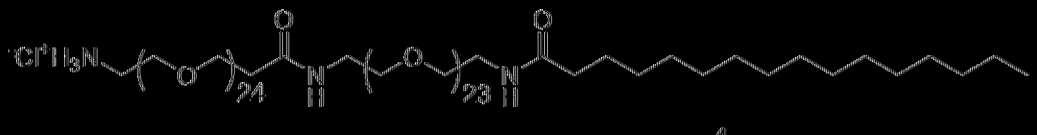


[0570] 在室溫下向化合物1 (1500 mg，0.651 mmol，1.0當量)及化合物2 (200 mg，0.782 mmol，1.2當量)於無水DCM (10 mL)中之溶液添加EDC HCl (192 mg，0.99 mmol，1.5當量)。反應混合物保持在室

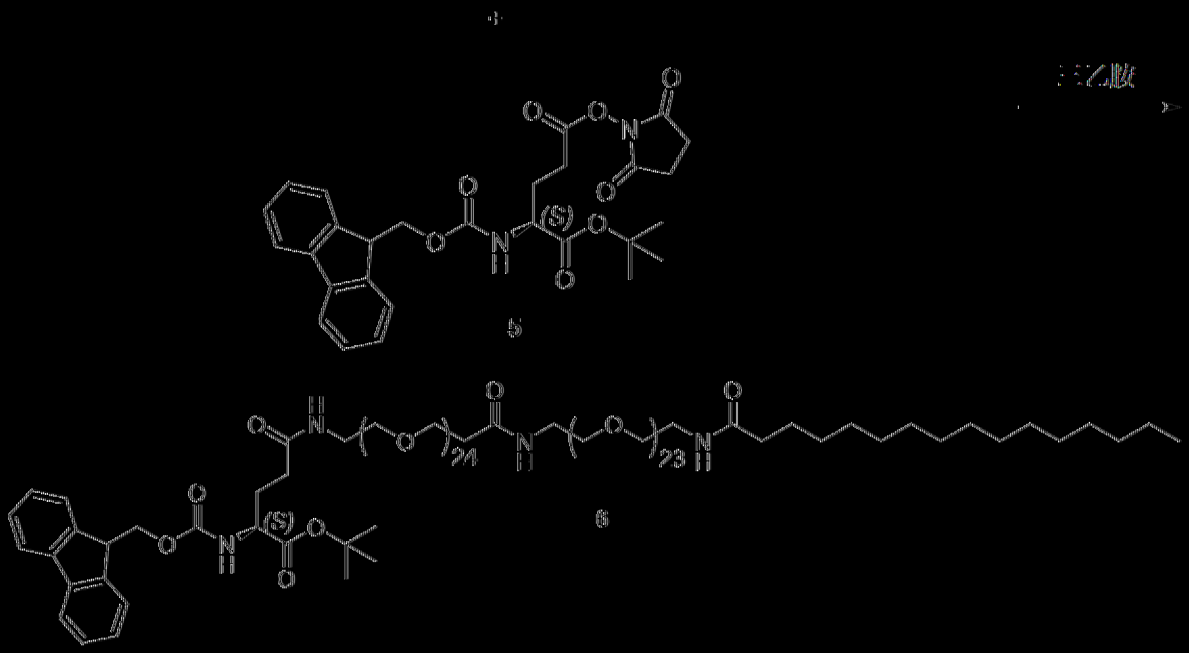
溫下隔夜且接著濃縮。化合物3藉由CombiFlash®用二氯甲烷中12-20%甲醇溶離來純化。LC-MS: [M+2H]+/2計算值127/0.31, 實驗值127/1.43。



[0571] 在室溫下向化合物3 (1300 mg，0.511 mmol，1.0當量)添加4M HCl之二噁烷溶液(6.397 mL，25.588 mmol，50當量)。反應混合物保持在室溫下1小時且接著濃縮。化合物4未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+2H]/2 計算值1220.28, 實驗值1221.87。



4

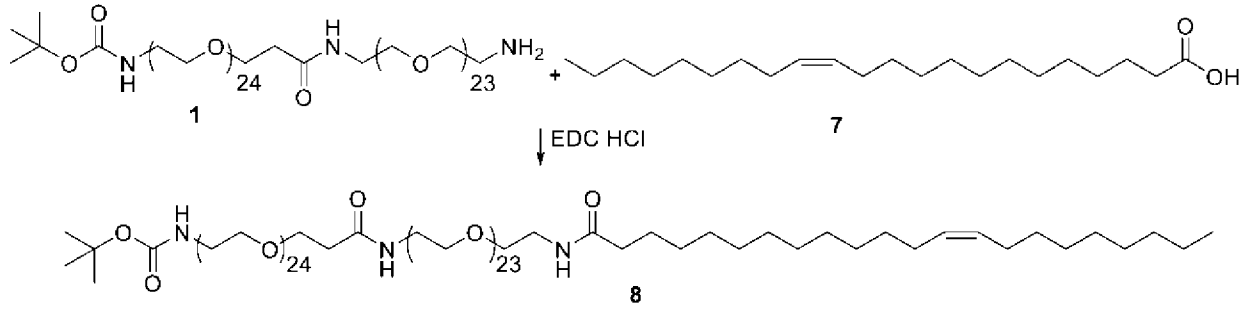


5

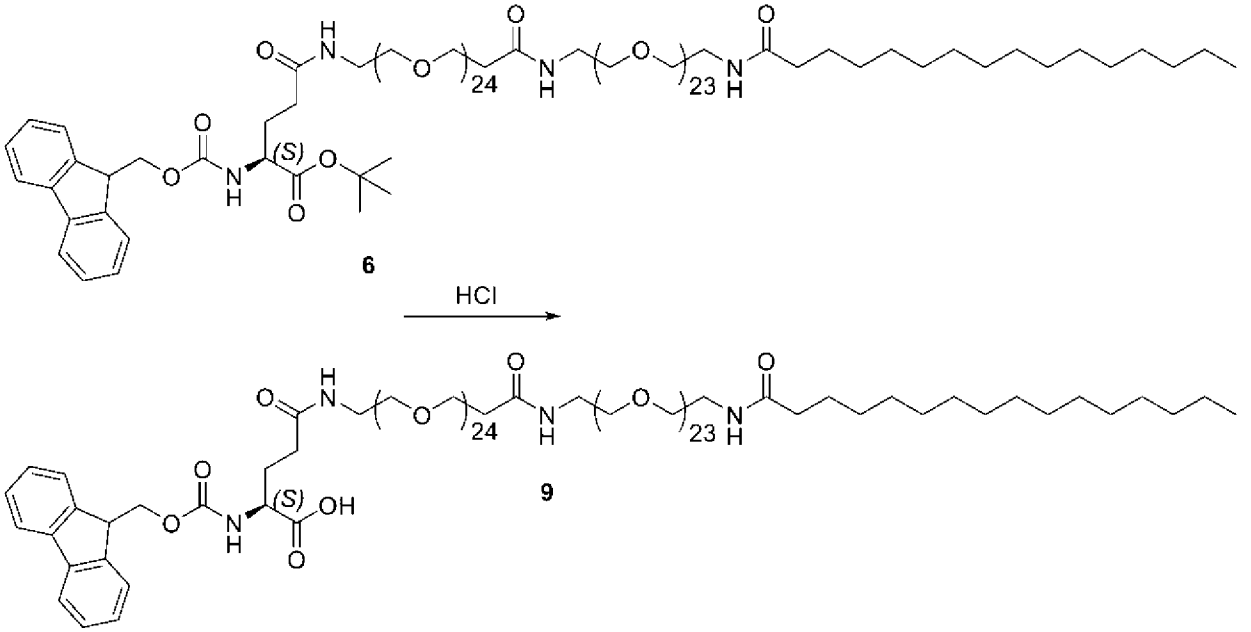
6

[0572] 在室溫下向化合物4 (1350 mg，0.5451 mmol，1.0當量)及化合物5 (327 mg，0.626 mmol，1.15當量)於無水DCM (10 mL)中之溶液添加三乙胺(0.231 mL，1.625 mmol，3.0當量)。反應混合物保持在室

溫下隔夜且接著濃縮。化合物**6**藉由CombiFlash®用二氯甲烷中12-20%甲醇溶離來純化。LC-MS: 計算值[M+3H]/3 949.58, 實驗值950.77。

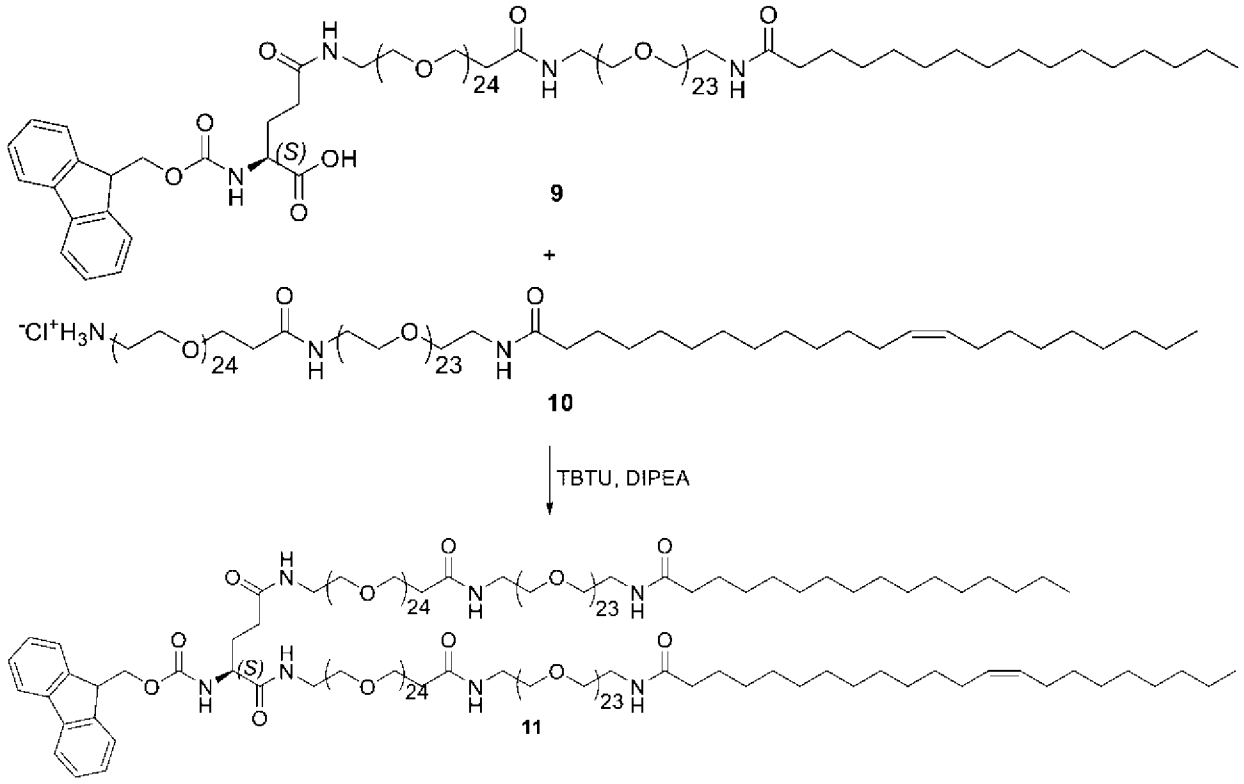


【0573】在室溫下向化合物**1** (1500 mg，0.6517 mmol，1.0當量)及化合物**7** (265 mg，0.782 mmol，1.2當量)於無水DCM (10 mL)中之溶液添加EDC HCl (192 mg，0.997 mmol，1.5當量)。反應混合物保持在室溫下3小時且接著濃縮。產物化合物**8**藉由CombiFlash®用二氯甲烷中12-20%甲醇溶離來純化。LC-MS: [M+2H]+/2計算值1311.35, 實驗值1311.87。

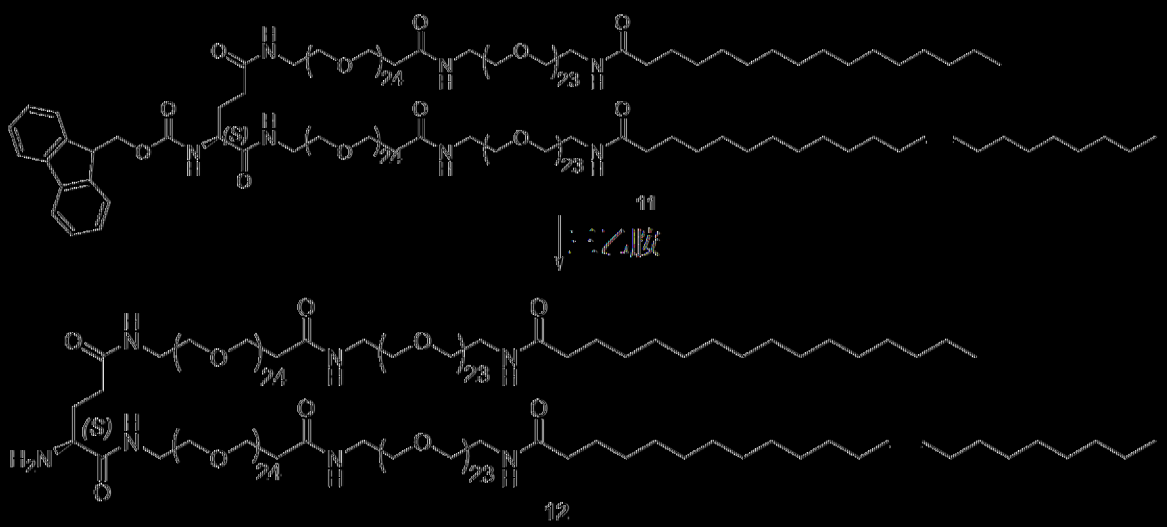


【0574】在室溫下向化合物**6** (1220 mg，0.428 mmol，1.0當量)添加4M HCl之二噁烷溶液(2.142 mL，8.568 mmol，20當量)。反應混合物保持在室溫下5小時。接著濃縮反應混合物。化合物**9**未經進一步純化直接

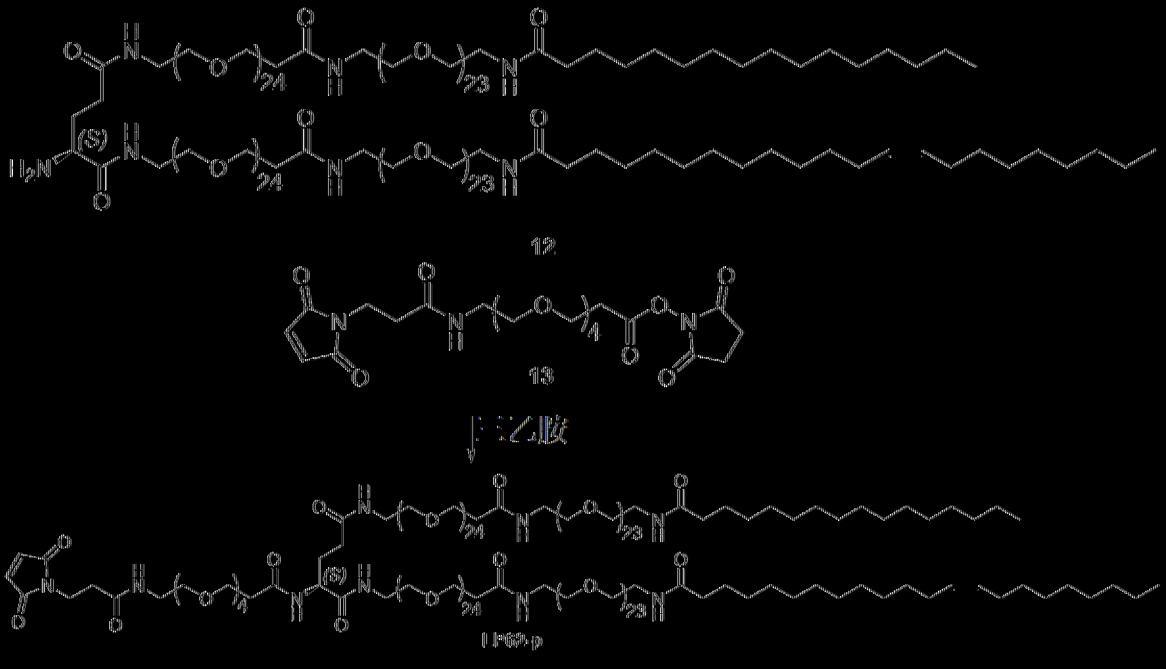
使用。LC-MS: [M+3H]/3 計算值930.89, 實驗值932.29。



【0575】 在室溫下向化合物**9** (800 mg，0.286 mmol，1.0當量)、化合物**10** (在習知脫除保護基條件下由化合物**8**製備；733 mg，0.286 mmol，1.00當量)及二異丙基乙胺(0.150 mL，0.859 mmol，3.0當量)於DMF (10 mL)中之溶液添加TBTU (110 mg，0.344 mmol，1.2當量)。反應混合物保持在室溫下3小時。接著濃縮反應混合物。化合物**11**藉由CombiFlash®用二氯甲烷中10-20%甲醇溶離來純化。LC-MS: [M+5H]/5 計算值1059.46, 實驗值1060.94。



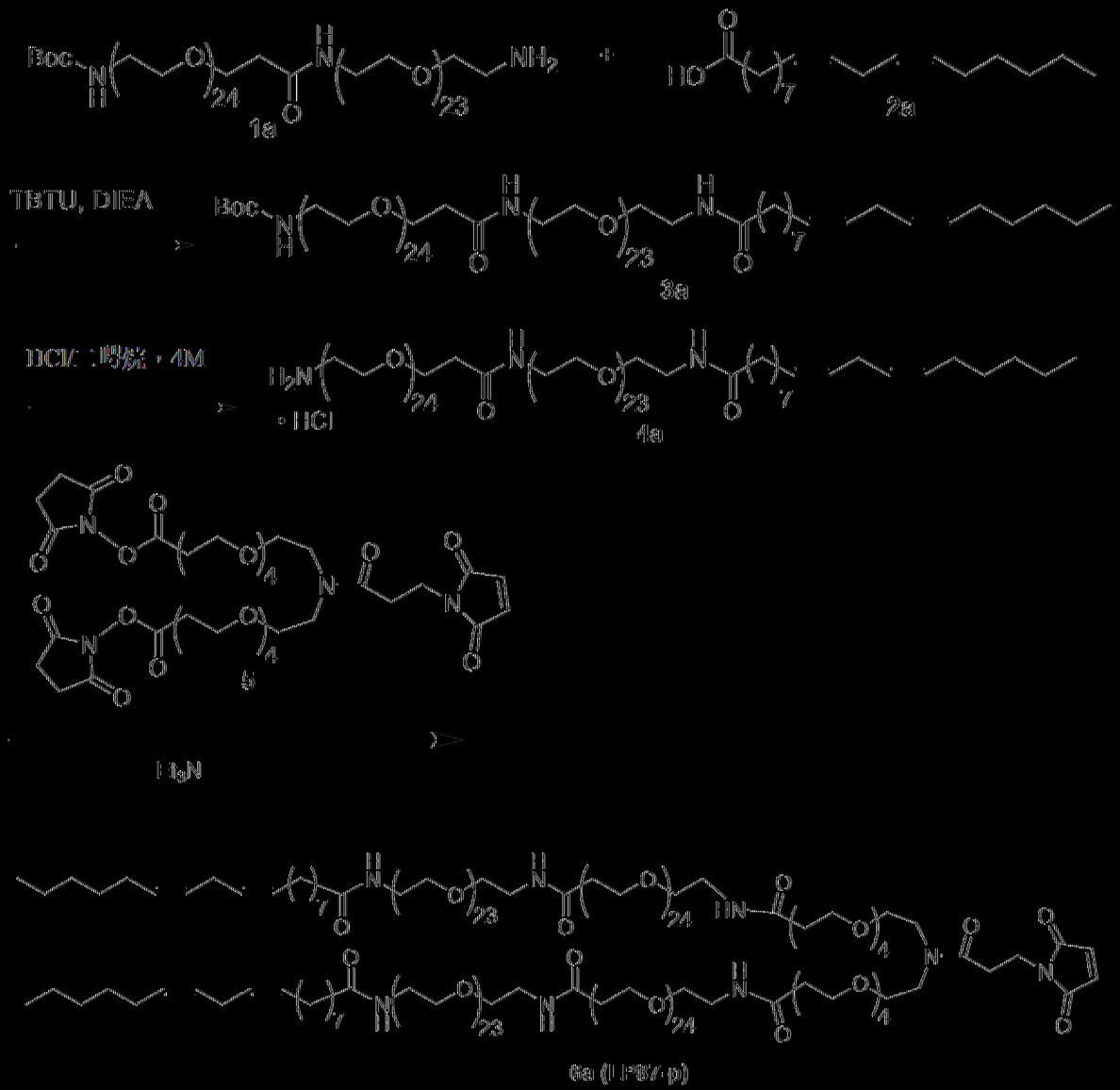
[0576] 在室溫下向化合物11 (914 mg，0.172 mmol，1.0當量)於無水DMF (4 mL)中之溶液添加二乙胺(1 mL)。反應混合物保持在室溫下隔夜且在真空下移除溶劑。化合物12未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+5H]/5 計算值1015.05, 實驗值1016.41。



[0577] 在室溫下向化合物12 (875 mg，0.172 mmol，1.0當量)及化合物13 (97.5 mg，0.189 mmol，1.1當量)於無水DCM (20 mL)中之溶液添加二乙胺(0.073 mL，0.517 mmol，3.0當量)。反應混合物保持在室溫下隔夜且將溶劑濃縮。LP62-p藉由CombiFlash®用二氯甲烷中12-20%

甲醇溶離來純化。LC-MS: [M+5H]/5計算值1094.68, 實驗值1095.98。

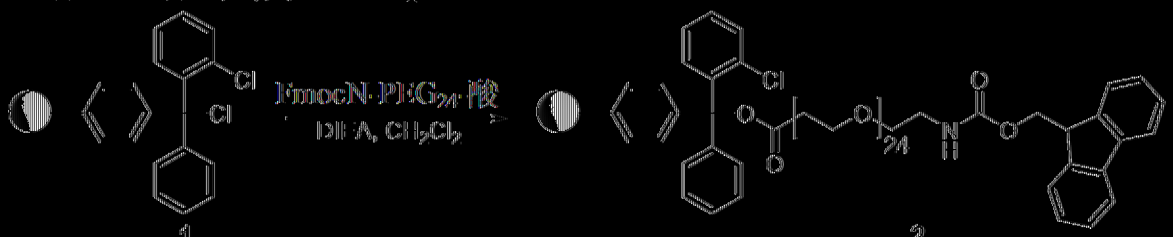
[0578] 合成LP87-p



[0579] 將固體TBTU (50 mg，0.156 mmol)添加至經Boc保護之PEG_{47}-胺1a (Quanta Biodesign Limited，300 mg，0.13 mmol)、亞油酸2a (37 mg，0.13 mmol)及DIEA (68 μL mL，0.39 mmol)於DMF (9 mL)中之溶液。對反應混合物進行音波處理以溶解固體且在室溫下攪拌16小時。真空移除溶劑，且自殘餘物蒸發甲苯兩次。使殘餘物溶於氯仿(50 mL)中，用$NaHCO_3$ (2×10 mL)及鹽水(10 mL)洗滌。產物經乾燥(Na_2SO_4)，真空濃縮，且在Combiflash® (SiO_2)上使用系統DCM中0-20%

MeOH，梯度0-80%，20分鐘來純化。計算值MW 2564.22，(M+2×18)/2=1300.1，(M+3×18)/3=872.74 實驗值：MS (ES，正離子)：1299.74 $[M+2NH_4]^{2+}$，873.04 $[M+3NH_4]^{3+}$。藉由用冰冷4M HCl/二噁烷溶液(5 mL)處理，接著在室溫下攪拌1小時，將化合物3a (195 mg，0.0764 mmol)轉化成胺鹽酸鹽4b。將反應混合物濃縮且真空乾燥，藉由自產物蒸發甲苯2次來移除殘餘HCl。使乾燥胺鹽酸鹽溶於無水DMF (5 mL)中，添加雙-NHS酯5 (28 mg，0.033mmol)及Et_3N (28 uL，0.198 mmol)且在室溫下攪拌3小時。真空移除溶劑，自殘餘物蒸發甲苯兩次且產物6a (LP87-p)在Combiflash®上使用系統DCM中0-20% MeOH，梯度0-100%，30分鐘來純化。計算值MW 5556.9，(M+3×18)/3=1870.50，(M+4×18)/4=1407.23 實驗值：MS (ES，正離子)：1870.50 $[M+3NH_4]^{3+}$，1407.40 $[M+4NH_4]^{4+}$。

[0580] 合成LP89-p



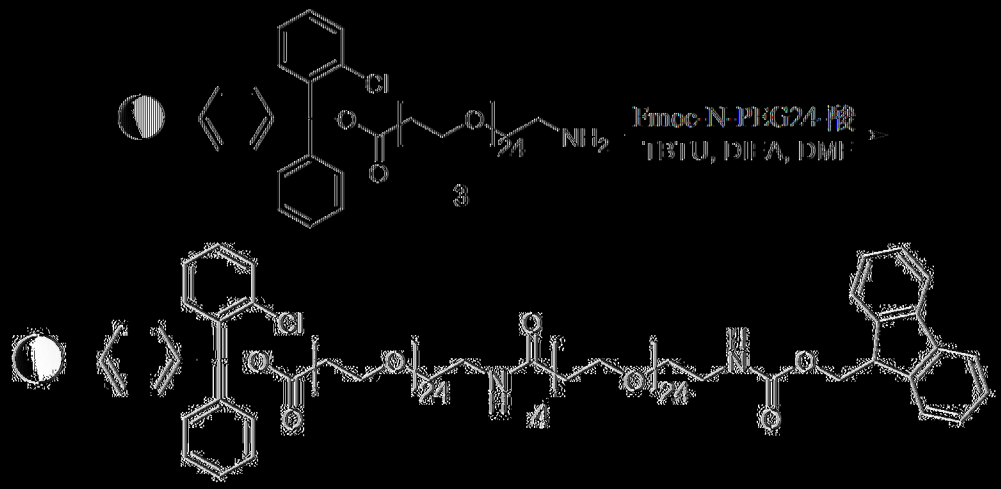
[0581] 向25 mL燒結肽合成容器添加2-氯三苯甲基氯樹脂1 (0.4589 g，1.46 mmol/g，0.670 mmol)。使樹脂在DCM中膨脹且排乾，接著添加Fmoc-N-醯胺基-PEG_{24}-酸(0.9170 g，0.670 mmol，1當量)及二異丙基乙胺(DIEA) (0.584 mL，3.35 mmol，5當量)。將燒瓶搖動1小時，接著添加甲醇(0.367 mL，0.8 mL/g樹脂)以將任何剩餘2-氯三苯甲基樹脂封端。在40分鐘後，將燒瓶排乾，且用DCM洗滌三次，用DMF洗滌兩次，用DCM洗滌兩次及用MeOH洗滌三次(每次洗滌大約5 mL)。樹脂在

高真空下乾燥隔夜。

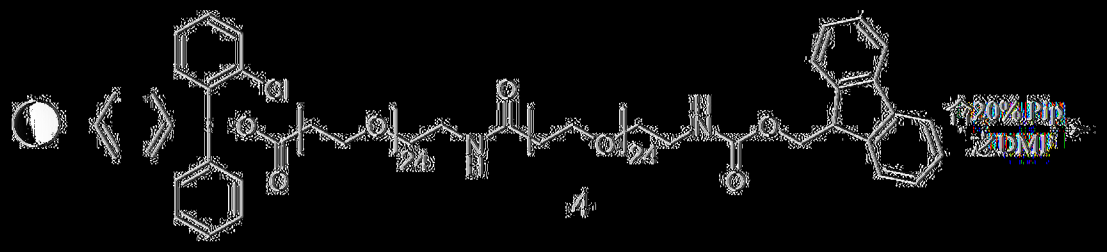
[0582] 樹脂負載：使11.5 mg樹脂懸浮於0.8 mL DMF中且膨脹15分鐘。添加0.2 mL哌啶且使混合物靜置15分鐘。使10倍稀釋物溶解於DMF中且獲得UV-vis光譜，A = 2.66（大約）。算得樹脂負載為0.297 mmol/g，對於0.273 mmol之規模，總共919 mg樹脂。

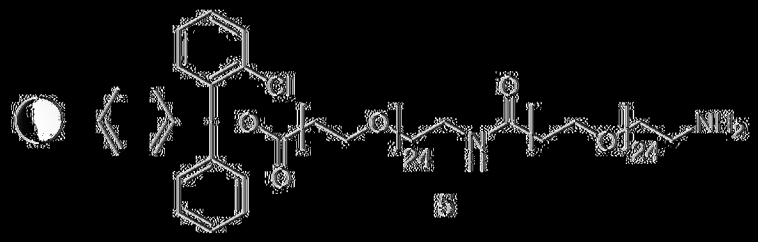


[0583] 使樹脂2懸浮於9.6 mL 1:1:2 DCM/DMF/哌啶中。在震盪30分鐘後，將溶液排乾，且樹脂用DMF (4×9.2 mL)洗滌。

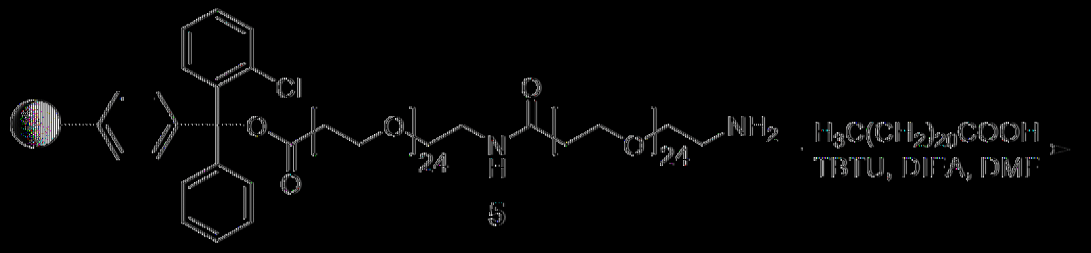


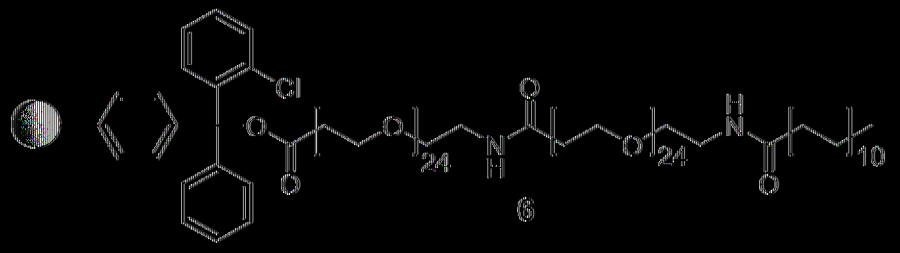
[0584] 將Fmoc-N-醯胺基-PEG24-酸(0.7473 g，0.5460 mmol，2當量)、TBTU (0.1753 g，0.5460 mmol，2當量)及DIEA (0.190 mL，1.092 mmol，4當量)組合在DMF (7.6 mL)中且混合2-3分鐘，然後將溶液添加至合成燒瓶中之樹脂中。將燒瓶震盪1小時，此後將黃橙色溶液自橙色樹脂排乾。將樹脂用DMF及MeOH (各3×8.6 mL)洗滌，接著在高真空下乾燥隔夜。1.277 g樹脂，理論1.227 g。在微裂解後藉由LC-MS觀測到產物質量。



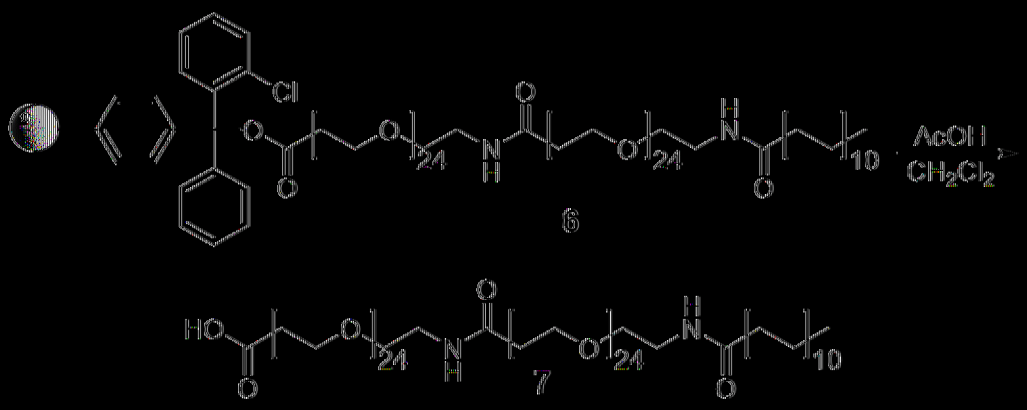


[0585] 將樹脂用含20%哌啶之DMF (12.3 mL)處理30分鐘，接著用DMF (4×12.3 mL)洗滌。



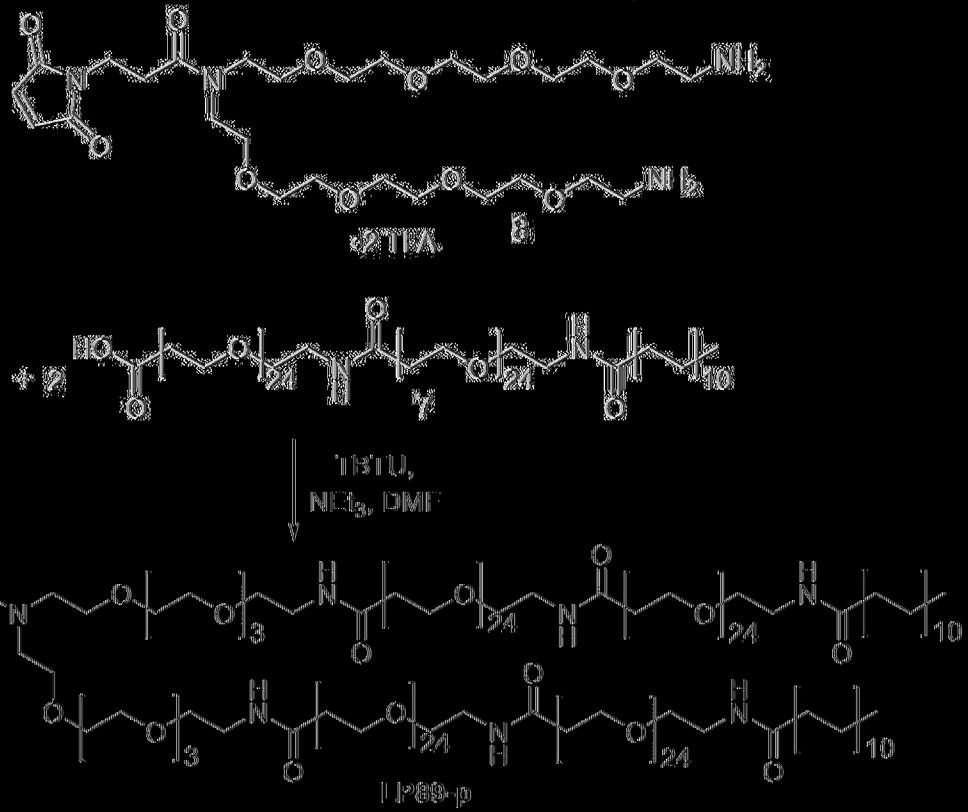


[0586] 使二十二酸(0.186 g，0.546 mmol，2.0當量)、TBTU (0.175 g，0.546 mmol，2當量)及DIEA (0.190 mL，1.092 mmol，4當量)溶於DMF (10.7 mL)中。將溶液添加至樹脂。將溶液小瓶用DMF沖洗且添加至樹脂(2×1 mL)。將混合物震盪75分鐘，接著排乾且用DMF、THF及MeOH (各3×13 mL)洗滌。樹脂在高真空下乾燥(90分鐘)。獲得1.351 g，理論1.254 g。在微裂解後在LC-MS中觀測到產物質量(且無起始物質質量)。



[0587] 將樹脂用DCM (11 mL)及AcOH (1.1 mL)處理30分鐘，接著排乾。此裂解重複總共4次，接著將樹脂用8 mL CH_2Cl_2、1 mL AcOH及1 mL 2,2,2-三氟乙醇處理，震盪30分鐘，且排乾。第二次重複此裂解。將來自所有裂解之溶液合併且濃縮，得到530.8 mg，其藉由管柱層析法來純化。

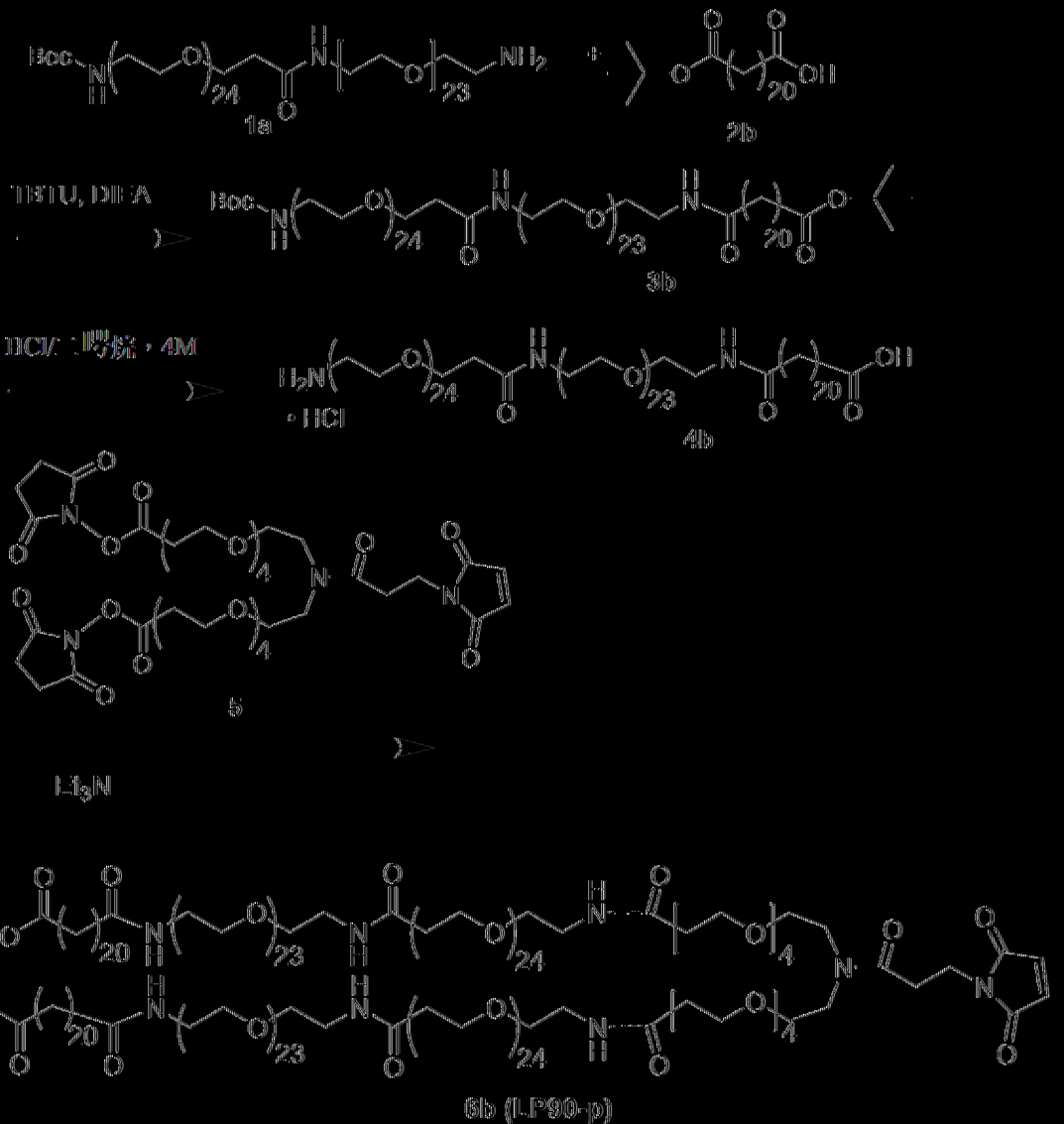
[0588] 將粗化合物裝載至二氧化矽管柱(24 g)且用CH_2Cl_2中0-20% MeOH溶離。將純淨溶離份合併，得到69.9 mg目標化合物。



[0589] 向小瓶添加N-mal-N-雙(PEG4)胺TFA鹽(10.7 mg，0.0128

mmol，1當量)、酸-PEG$_{24}$-醯胺基-PEG$_{24}$-C$_{22}$ (69.9 mg，0.02.69 mmol，2.1當量)、TBTU (10.3 mg，0.0320 mmol，2.5當量)、NEt$_3$ (5.4 uL，0.0385 mmol，3當量)及CH2Cl2 (1 mL)。將反應混合物攪拌24小時，接著添加NEt$_3$ (5.4 uL，0.0385 mmol，3當量)。在大約50小時後，將反應混合物濃縮且藉由管柱層析法，DCM中0-30% MeOH純化，獲得32.8 mg LP89-p (44%)。

[0590] 合成LP90-p



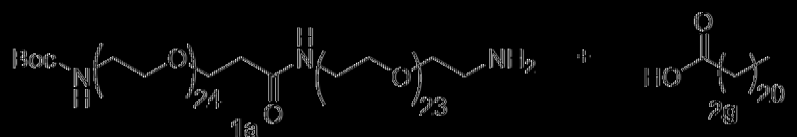
[0591] 將固體TBTU (50 mg，0.156 mmol)添加至經Boc保護之PEG-胺1a (Quanta Biodesign Limited，300 mg，0.13 mmol)、經甲保護

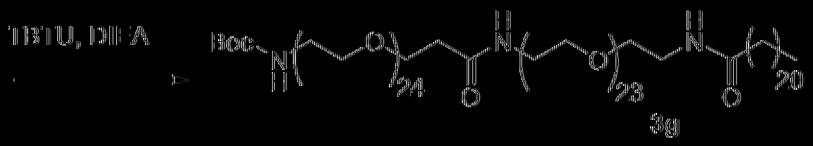
之二十二烷二酸**2b** (56 mg，0.13 mmol)及DIEA (68 μL mL，0.39 mmol)於DMF (9 mL)中之溶液。將反應混合物在室溫下攪拌16小時。真空移除溶劑且自殘餘物蒸發甲苯3次。使殘餘物溶解於DCM 30 (mL)中，與SiO_2 (1.6 g)混合，且裝載於CombiFlash®。產物使用系統DCM中0-20% MeOH，梯度0-100%，45分鐘來純化。計算值MW 2710.45, (M +2×18)/2=1373.22, (M +3×18)/3=921.48 實驗值: MS (ES, 正離子): 1373.18 $[M+2NH_4]^{2+}$, 921.37 $[M+3NH_4]^{3+}$。

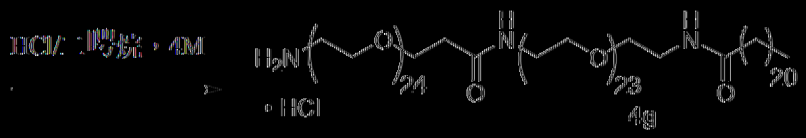
【0592】 藉由用冰冷4M HCl/二噁烷溶液(6 mL)處理，接著在室溫下攪拌4小時，使化合物**3b** (238 mg，0.088 mmol)轉化成胺基酸鹽酸鹽**4b**。將反應混合物濃縮且真空乾燥，藉由自殘餘物蒸發甲苯2次移除殘餘HCl。

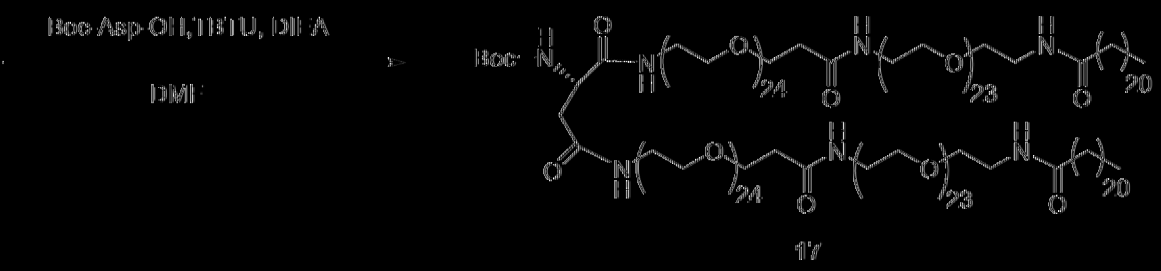
【0593】 使乾燥胺鹽酸鹽**4b**溶於無水DCM (5 mL)中，添加雙-NHS酯**5** (34.2 mg，0.04 mmol)及Et_3N (55 uL，0.4 mmol)且在室溫下攪拌3小時。真空移除溶劑，且產物**6b** (**LP90-p**)在Combiflash®上使用系統DCM中0-20% MeOH，梯度0-100%，40分鐘來純化。計算值MW 5737.13, (M +3×18)/3=1930.38, (M +4×18)/4=1452.28 實驗值: MS (ES, 正離子): 1930.45 $[M+3NH_4]^{3+}$, 1452.29 $[M+4NH_4]^{4+}$。

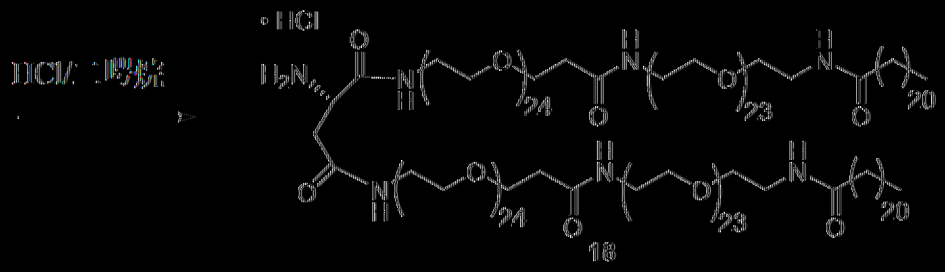
【0594】 **合成LP91-p**

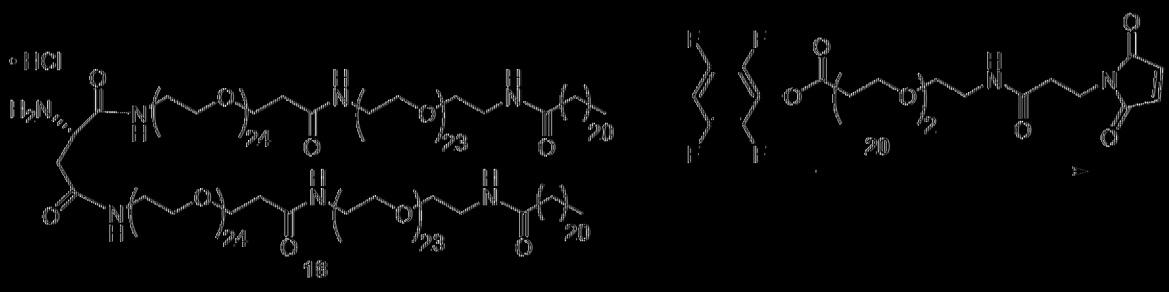












[0595] 將固體HBTU (335 mg，1.043 mmol)添加至經Boc保護之PEG$_{47}$-胺1a (2 g，0.869 mmol)、[illegible]酸2g (296 mg，0.87 mmol)及

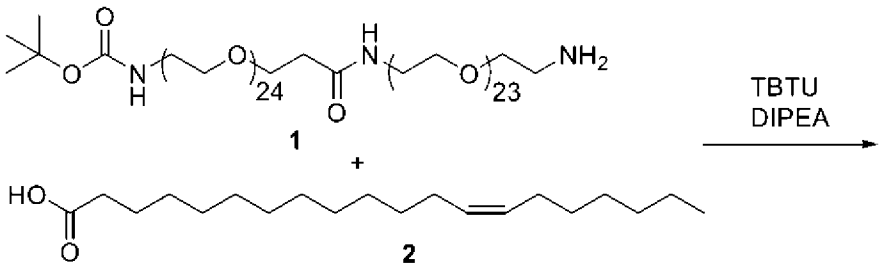
DIEA (454 μL mL，2.067 mmol)於DMF (16 mL)中之溶液。對反應混合物進行音波處理以溶解固體且在室溫下攪拌16小時。真空移除溶劑且自殘餘物蒸發甲苯兩次。使殘餘物溶於氯仿(150 mL)中且用$NaHCO_3$ (2×30 mL)及鹽水(30 mL)洗滌。產物**3g**經乾燥(Na_2SO_4)，真空濃縮，且在Combiflash® (SiO2)上使用系統DCM中0-20% MeOH，梯度0-80%，35分鐘來純化。計算值MW 2624.36, (M +2×18)/2=1330.18, (M +3×18)/4=892.79。實驗值: MS (ES, 正離子): 1330.58 $[M+2NH_4]^{2+}$, 893.21 $[M+3NH_4]^{3+}$。

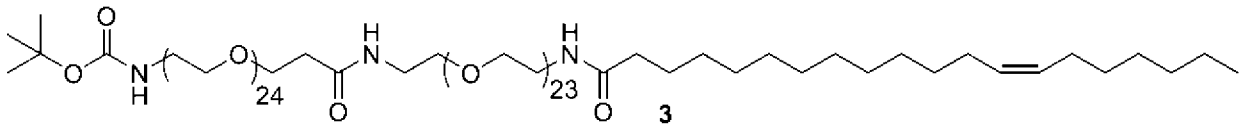
【0596】 藉由如以上針對LP39-p之程序中所述用4 M HCl之二噁烷溶液(10 mL)處理，使化合物**3g** (1.862 g)轉化成胺鹽酸鹽**4g**。

【0597】 如LP54-p之製備中所述，將乾燥鹽**4g**之等分試樣(227 mg，0.089 mmol))與Boc-Asp-OH (10 mg，0.043 mmol)、TBTU (32 mg，0.099 mmol)及DIEA (96 uL，0.55 mmol)組合，獲得化合物**17**，產量152 mg (0.029 mmol)。如以上合成LP54-p中所述如製備**14c**中，將此產物用HCl/二噁烷溶液處理，獲得鹽酸鹽**18** (產率100%)，直接用於以下步驟。計算值MW 5145.57, (M +3)/3=1716.19, (M +4)/4=1287.23。實驗值: MS (ES, 正離子): 1715.91 $[M+3H]^{3+}$, 1287.23 $[M+4H]^{4+}$。

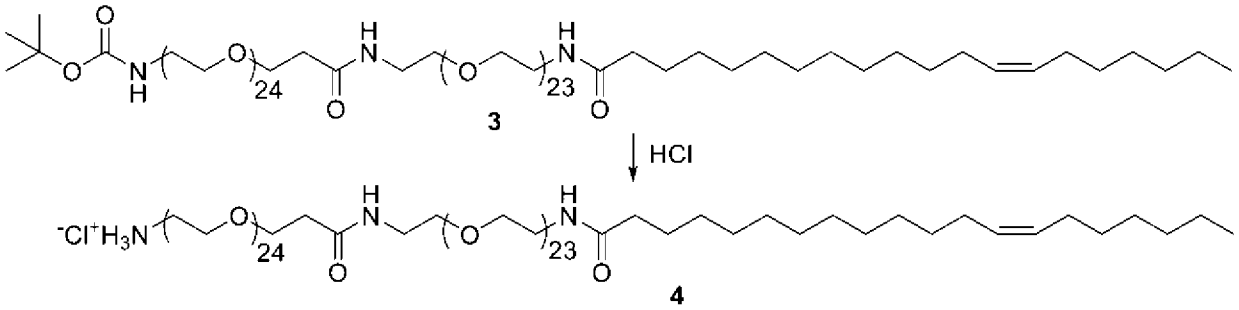
【0598】 如以上合成LP54-p中針對**16c**所述，將鹽酸鹽**18** (0.029 mmol)與四氟苯基酯**20** (Quanta Biodesign，15 mg，0.032 mmol)及Et_3N (12 uL，0.087 mmol)組合。產物**21** (**LP91-p**)在Combiflash®上純化。產量40 mg。計算值MW 5455.87, (M +4)/4=1364.97, (M +5)/5=1092.17。實驗值: MS (ES, 正離子): 1364.66 $[M+4H]^{4+}$, 1092.05 $[M+4H]^{4+}$。

【0599】 **合成LP92-p**

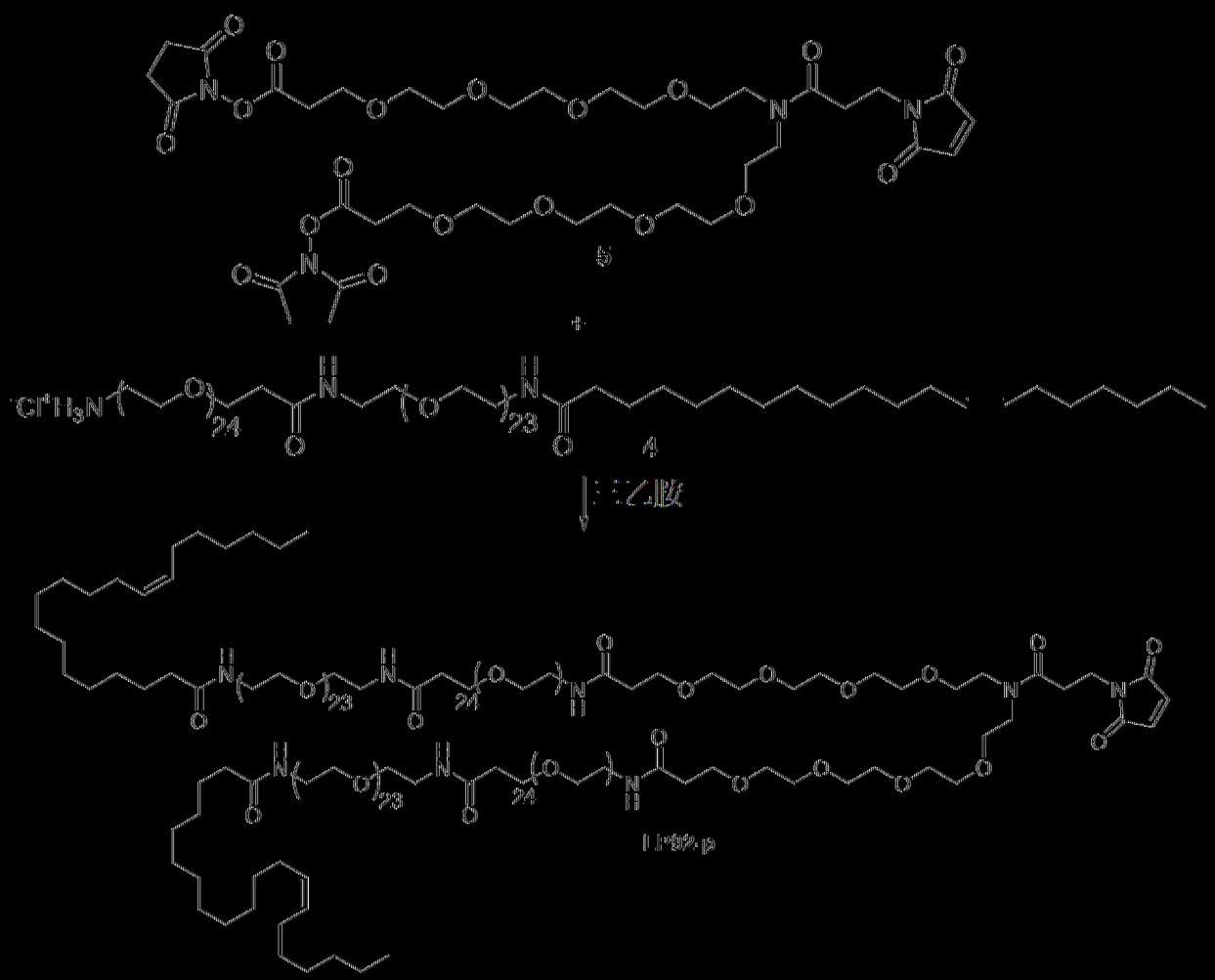




【0600】 在室溫下向化合物**1** (140 mg，0.0608 mmol，1.0當量)、化合物**2** (20.8 mg，0.0669 mmol，1.1當量)及二異丙基乙胺(0.032 mL，0.182 mmol，3.0當量)於無水DMF (3 mL)中之溶液添加TBTU (23.4 mg，0.073 mmol，1.2當量)。反應混合物保持在室溫下2小時。將反應混合物濃縮。化合物**3**藉由CombiFlash®用二氯甲烷中12-18%甲醇溶離來純化。LC-MS: [M+2H]+/2計算值1297.33, 實驗值1297.19。

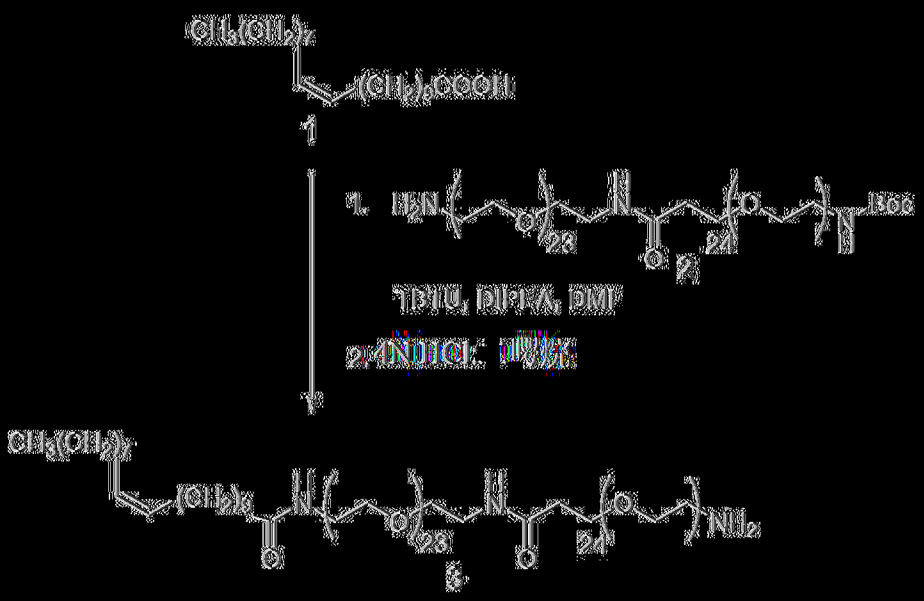


【0601】 在室溫下向化合物**3**固體(90 mg，0.0347 mmol，1.0當量)添加HCl之二噁烷溶液(0.434 mL，1.734 mmol，50當量)。反應混合物保持在室溫下30分鐘且接著濃縮。化合物**4**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+2H]+/2計算值1247.30, 實驗值1247.98。

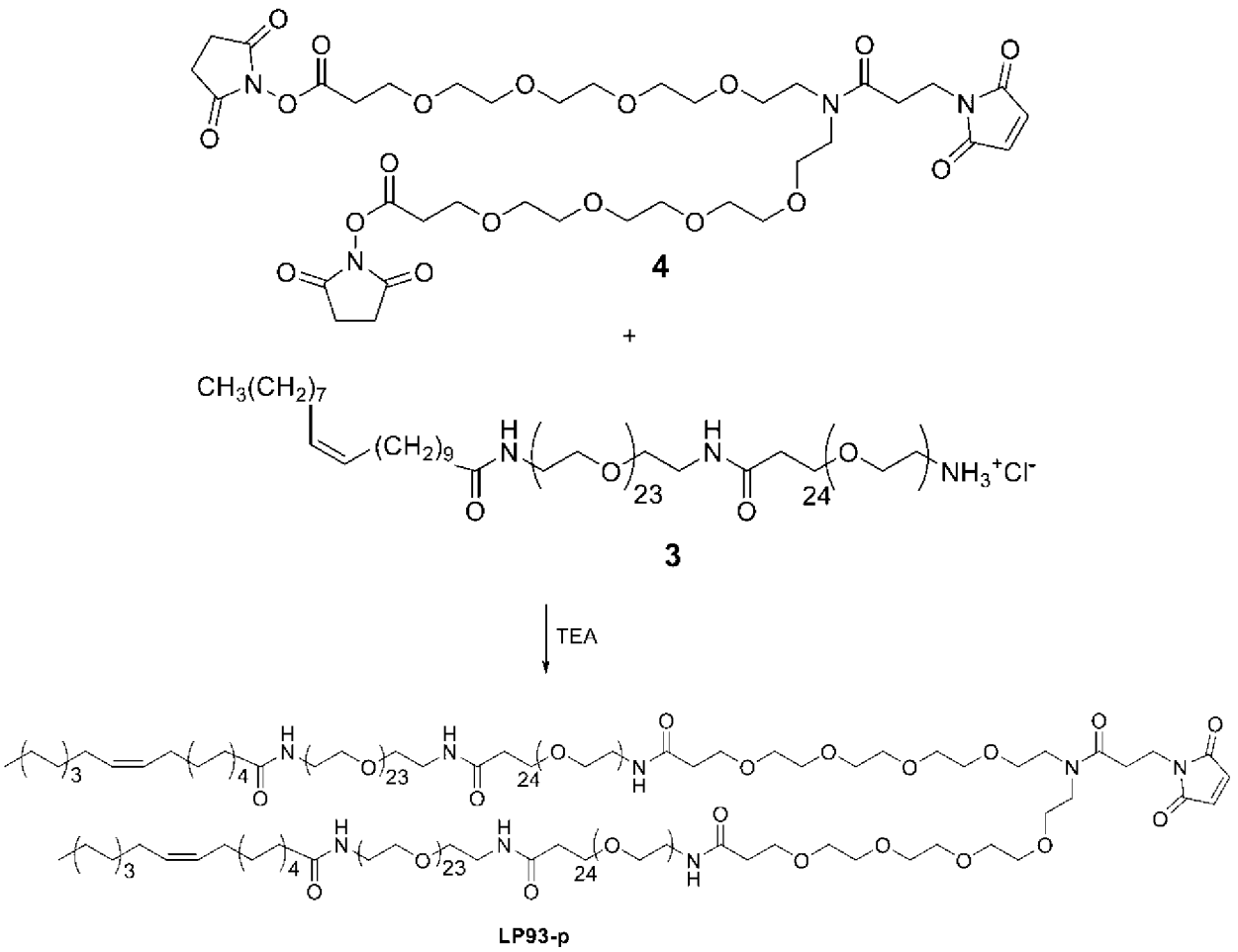


[0602] 在室溫下向化合物5 (14 mg，0.0163 mmol，1.0當量)及化合物4 (84.6 mg，0.0334 mmol，2.05當量)於無水DCM (2 mL)中之溶液添加三乙胺(0.012 mL，0.0815 mmol，5.0當量)。反應混合物保持在室溫下1小時且在真空下移除溶劑。LP92-p藉由CombiFlash®用二氯甲烷中12-18%甲醇溶離來純化。LC-MS: [M+5H]+/5計算值1123.70，實驗值1124.10，[M+6H]+/6計算值936.58，實驗值937.22。

[0603] 合成LP93-p

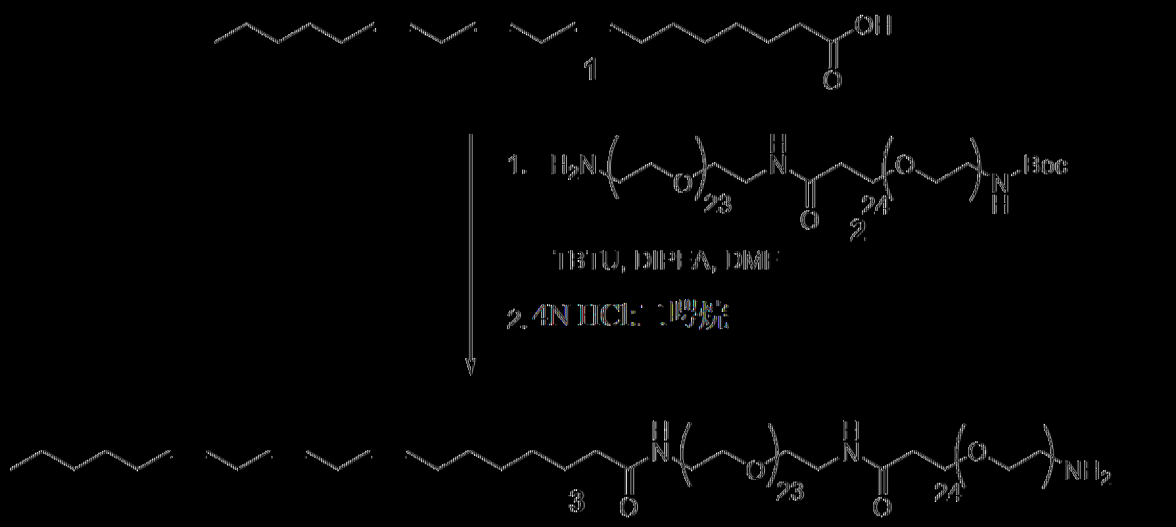


[0604] 向含順式-11-二十碳烯酸1 (30mg，0.0979mmol)的Boc-PEG47-NH2, 2, (223mg，0.1mmol)於DMF (2.0mL)中之溶液添加TBTU (37.2mg，0.115mmol)及DIPEA (50uL)。在攪拌所得懸浮液隔夜後，添加水。使用DCM:20% TFE萃取混合物且合併之有機相經Na_2SO_4乾燥。在過濾後，真空移除溶劑至乾燥且粗產物藉由急驟層析法(DCM中20% MeOH)純化。在無水條件下向產物添加2 mL 4N HCl:二噁烷且全藉由LC-MS確定完成脫除保護基: [M+H]+計算值 2550.28 m/z, 實驗值2551。

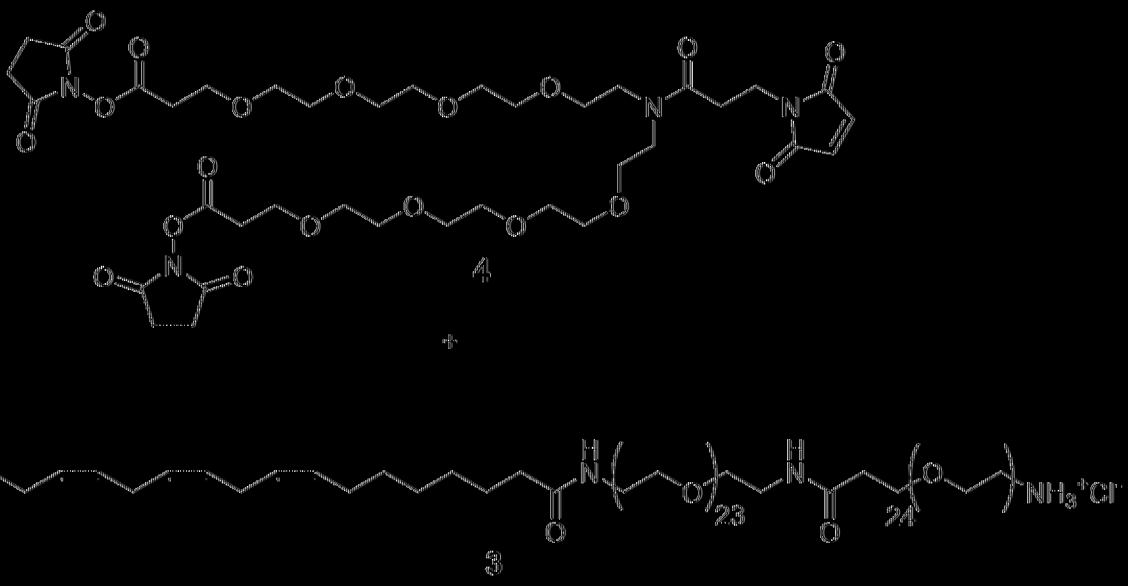


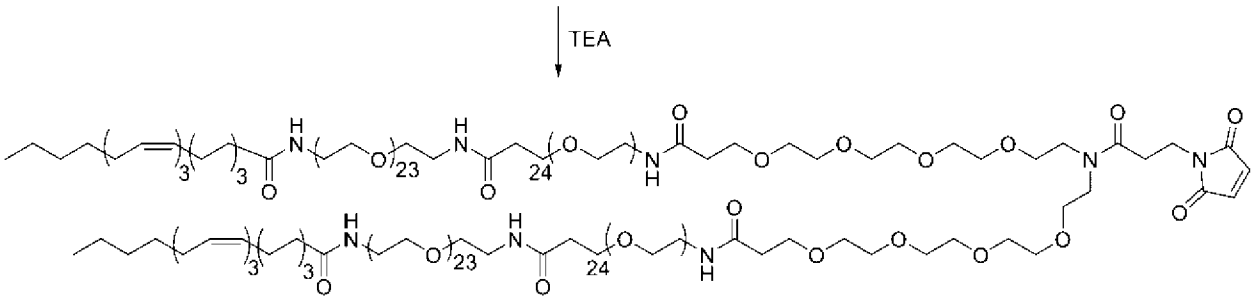
【0605】 在室溫下向化合物**4** (19mg，0.0221 mmol，1.0當量)及化合物**3** (16 mg，0.0454 mmol，2.05當量)於無水DCM (2 mL)中之溶液添加三乙胺(16 uL，0.1106 mmol，5.0當量)。反應混合物保持在室溫下隔夜且在真空下移除溶劑。**LP93-p**藉由CombiFlash®用二氯甲烷中10-17%甲醇溶離來純化。

【0606】 **合成LP94-p**



[060'] 向1-高-γ-胆麻酸1 (30mg，0.09'9mmol)於DMF (2.0mL)中之溶液添加Boc-PEG$_{4}$-NH$_2$ 2 (225 mg，0.1mmol)、TBTU (37.7mg，0.11'mmol)及DIPEA (50uL)。在搅拌所得懸浮液隔夜後，添加水。使用DCM:20% TFE萃取混合物且合併之有機相經Na_2SO_4乾燥。在過濾後，將溶劑濃縮至乾燥且粗產物藉由急驟層析法(DCM:20% MeOH)純化。在無水條件下向產物添加2mL 4N HCl/二噁烷且全藉由LC-MS確定完成脫除保護基: [M+H]+計算值2560.28 m/z, 實驗值2561.01。

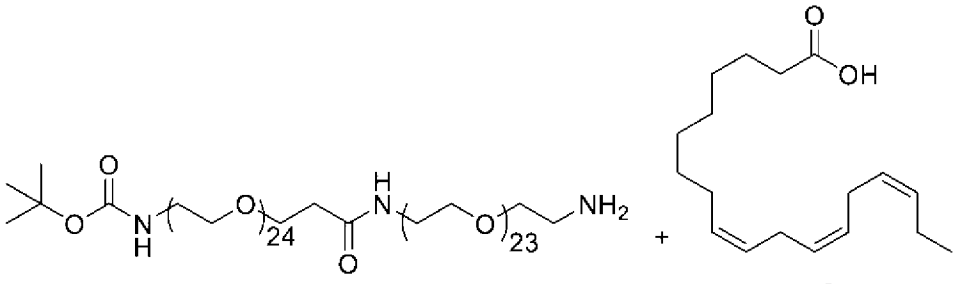




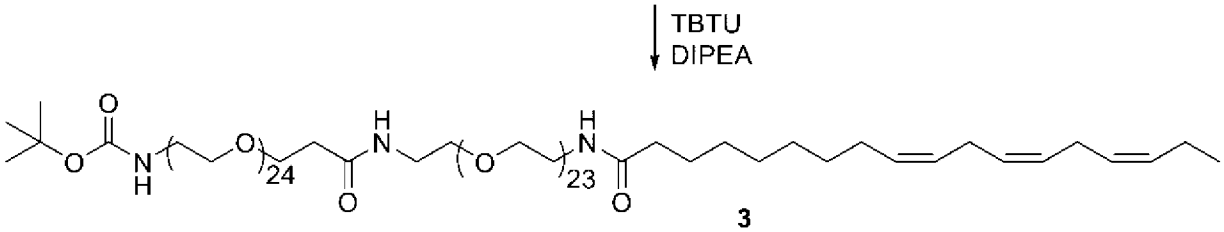
LP94-p

【0608】 在室溫下向化合物**4** (19mg，0.0221 mmol，1.0當量)及化合物**3** (112 mg，0.0454 mmol，2.05當量)於無水DCM (2 mL)中之溶液添加三乙胺(16 uL，0.1106 mmol，5.0當量)。反應混合物保持在室溫下隔夜且在真空下移除溶劑。**LP94-p**藉由CombiFlash®用二氯甲烷中10-17%甲醇溶離而分離。

【0609】 **合成LP95-p**

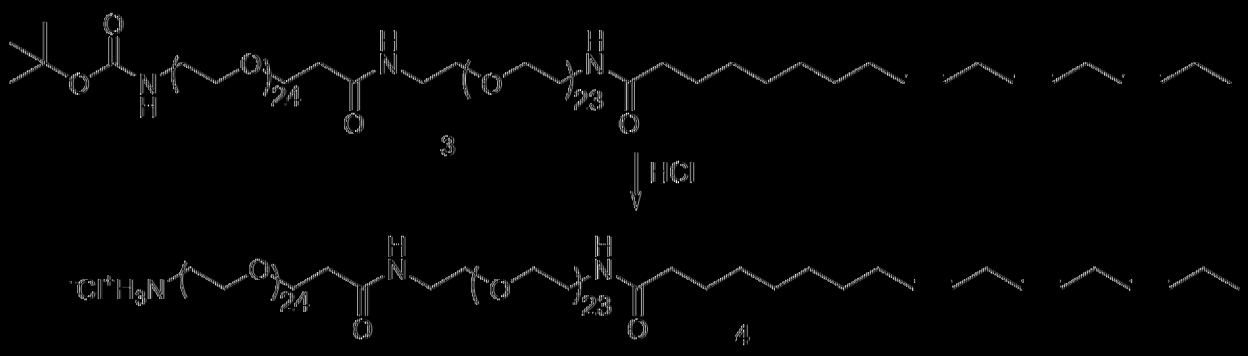


1 **2**

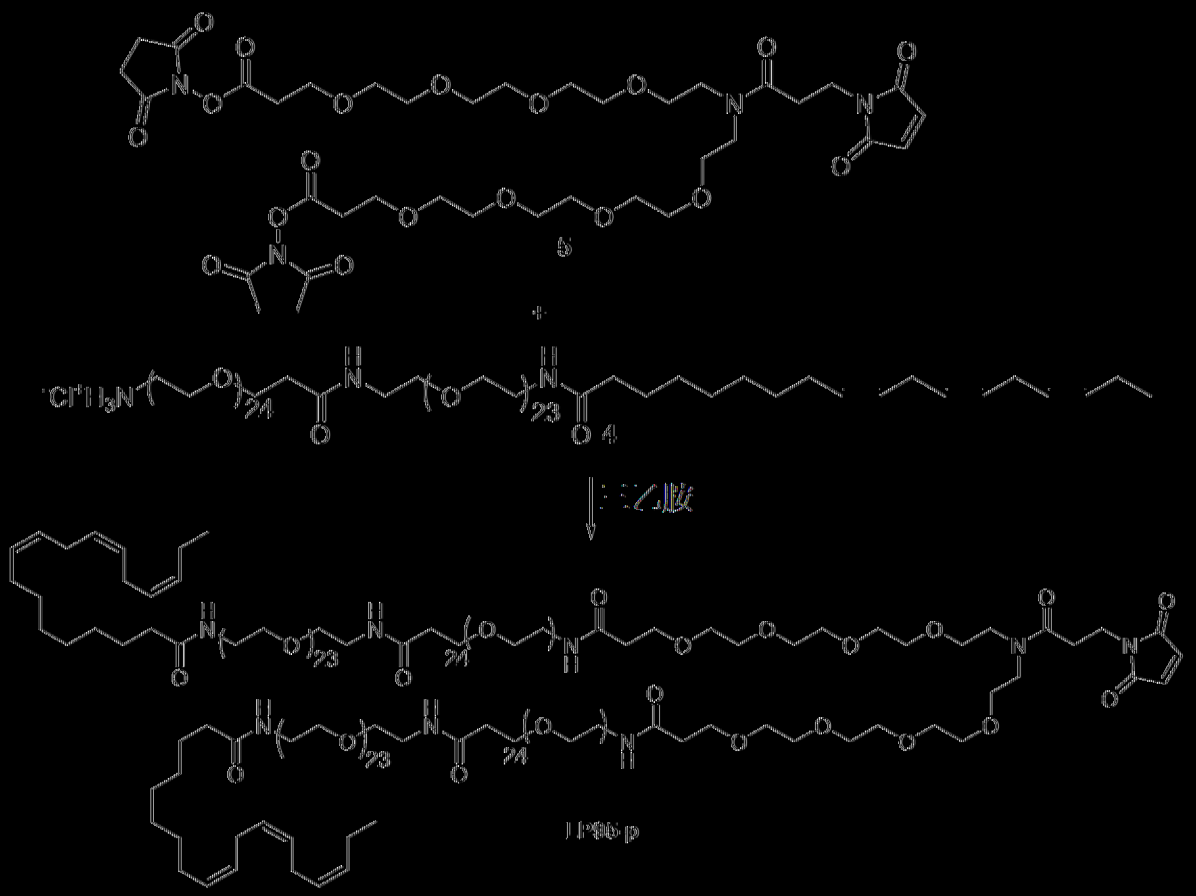


3

【0610】 在室溫下向化合物**1** (150 mg，0.0652 mmol，1.0當量)、化合物**2** (20 mg，0.0717 mmol，1.1當量)及二異丙基乙胺(0.034 mL，0.195 mmol，3.0當量)於無水DMF (3 mL)中之溶液添加TBTU (25.1 mg，0.0782 mmol，1.2當量)。反應混合物保持在室溫下2小時。接著濃縮反應混合物。化合物**3**藉由CombiFlash®用二氯甲烷中12-18%甲醇溶離來純化。LC-MS: [M+2H]+/2計算值1281.30, 實驗值1281.71。



[0611] 在室溫下向化合物3 (80 mg，0.0312 mmol，1.0當量)添加HCl之二噁烷溶液(0.390 mL，1.561 mmol，50當量)。反應混合物保持在室溫下30分鐘且在真空下移除溶劑。化合物4未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+2H]+/2計算值1231.27, 實驗值1231.65。



[0612] 在室溫下向化合物5 (13 mg，0.0151 mmol，1.0當量)及化合物4 (77.5 mg，0.0310 mmol，2.05當量)於無水DCM (2 mL)中之溶液添加三乙胺(0.011 mL，0.0757 mmol，5.0當量)。反應混合物保持在室溫下1小時且在真空下移除溶劑。LP95-p藉由CombiFlash®用二氯甲烷中

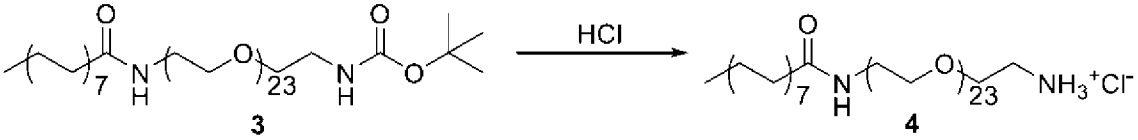
12-18%甲醇溶離來純化。LC-MS: [M+5H]+/5計算值1110.88, 實驗值1111.62, [M+6H]+/6計算值925.90, 實驗值926.41。

【0613】 **合成LP101-p**



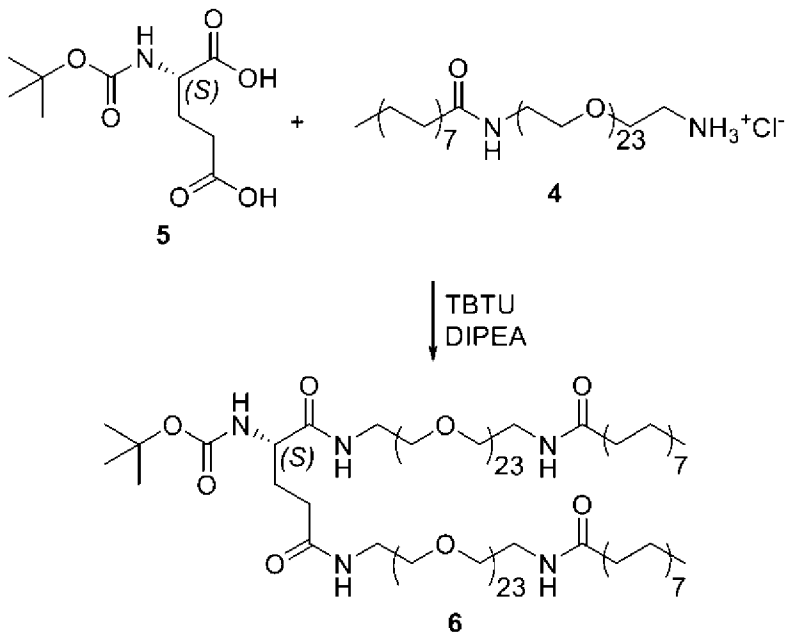
1 **2** **3**

【0614】 在室溫下向化合物**1** (250 mg，0.213 mmol，1.0當量)、化合物**2** (65 mg，0.255 mmol，1.20當量)及二異丙基乙胺(0.111 mL，0.629 mmol，3.0當量)於無水DMF (3 mL)中之溶液添加TBTU (102 mg，0.319 mmol，1.2當量)。反應混合物保持在室溫下隔夜。化合物**3**藉由CombiFlash®用二氯甲烷中6-12%甲醇溶離來純化。LC-MS: [M+H]+計算值1411.95, 實驗值1411.95。



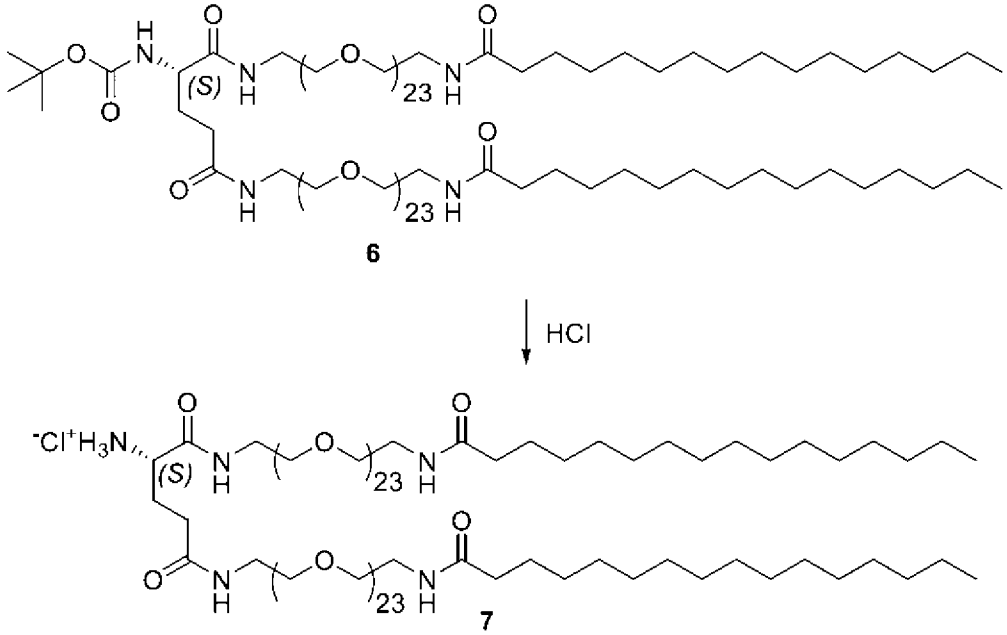
3 **4**

【0615】 在室溫下向化合物**3**固體(200 mg，0.141 mmol，1.0當量)添加HCl之二噁烷溶液(0.708 mL，2.833 mmol，20當量)。反應混合物保持在室溫下1小時且真空移除溶劑。產物未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+H]+計算值1311.90, 實驗值1312.32。



5 + 4 → 6

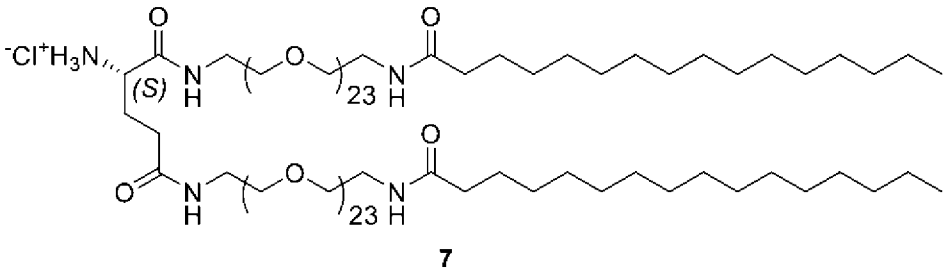
【0616】 在室溫下向化合物**5** (100 mg，0.0404 mmol，1.0當量)、化合物**4** (111 mg，0.0829 mmol，2.05當量)及二異丙基乙胺(35 mL，0.202 mmol，3.0當量)於無水DMF (3 mL)中之溶液添加TBTU (32.5 mg，0.101 mmol，2.5當量)。反應混合物保持在室溫下隔夜且接著濃縮。化合物**6**藉由CombiFlash®用二氯甲烷中6-10%甲醇溶離來純化。LC-MS: [M+2H]+/2計算值1417.44, 實驗值1418.19。



6 → 7

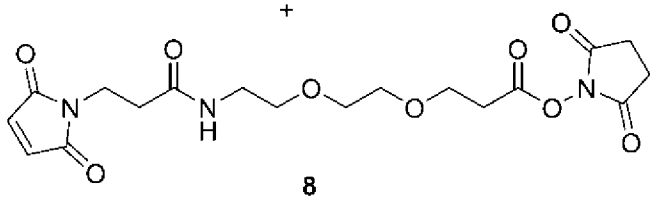
【0617】 在室溫下向化合物**6** (80 mg，0.0282 mmol，1.0當量)添加

4M HCl之二噁烷溶液(0.353 mL，1.411 mmol，50當量)。反應混合物保持在室溫下1小時且接著濃縮。化合物**7**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+2H]/2 計算值1367.41, 實驗值1368.26。

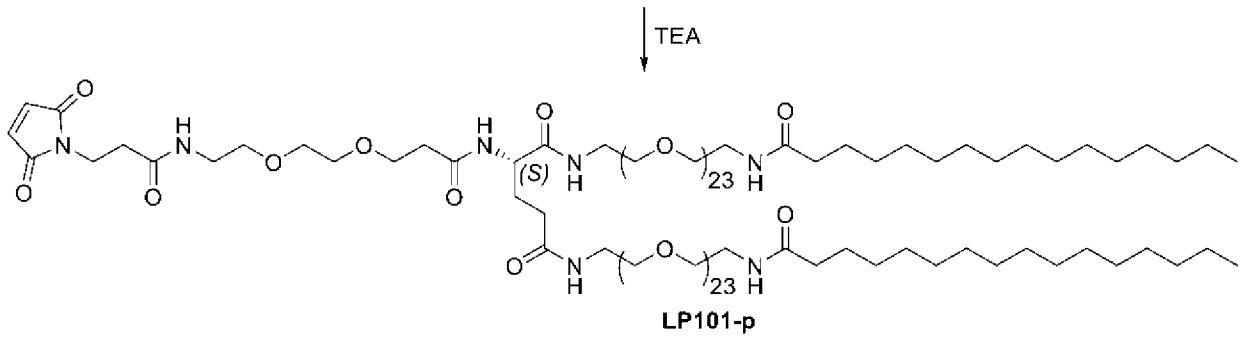


7

+



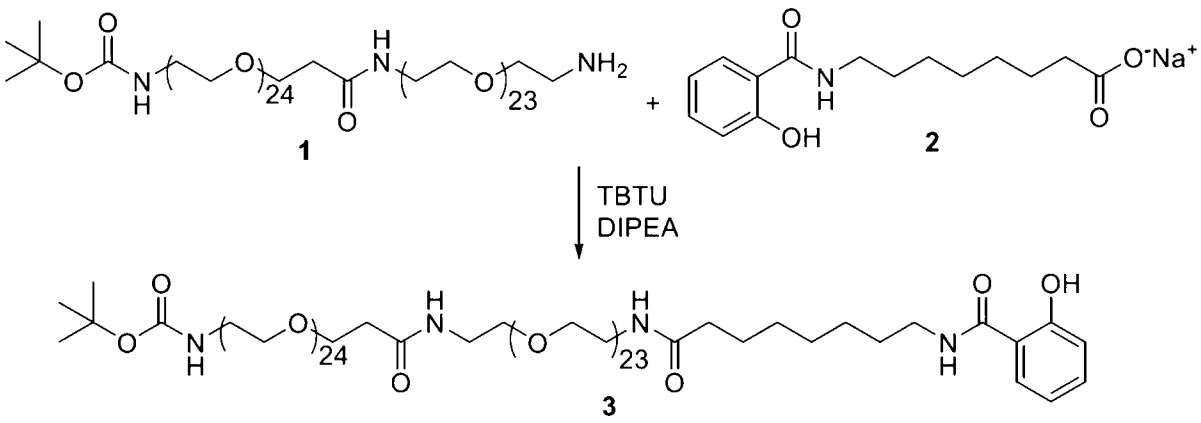
8



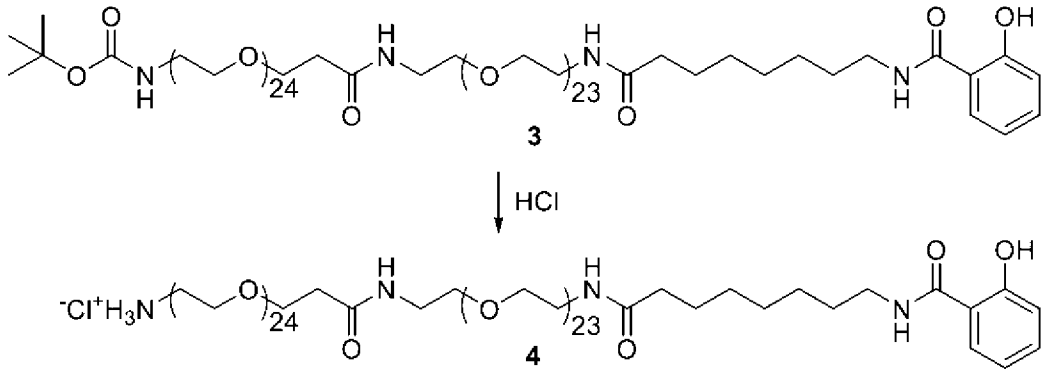
LP101-p

【0618】 在室溫下向化合物**7** (78 mg，0.0281 mmol，1.0當量)及化合物**8** (12 mg，0.0281 mmol，1.0當量)於無水DCM (2 mL)中之溶液添加三乙胺(0.020 mL，0.140 mmol，5.0當量)。反應混合物保持在室溫下隔夜且將溶劑濃縮。**LP101-p**藉由CombiFlash®用二氯甲烷中12-20%甲醇溶離而分離。LC-MS: 計算值[M+3H]/3 1015.31, 實驗值1015.71。

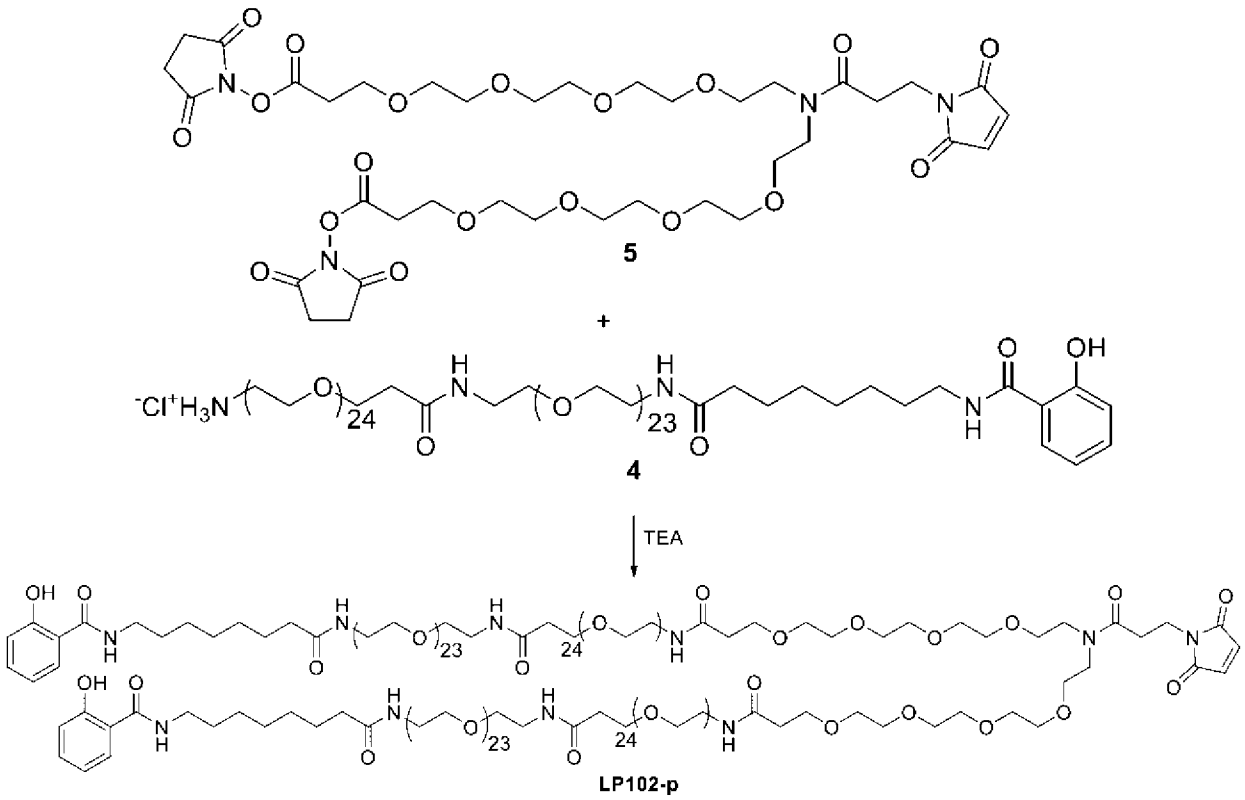
【0619】 **合成LP102-p**



【0620】在室溫下向化合物**1** (124 mg，0.0539 mmol，1.0當量)、化合物**2** (19.5 mg，0.0646 mmol，1.2當量)及二異丙基乙胺(0.028 mL，0.161 mmol，3.0當量)於無水DMF (2 mL)中之溶液添加TBTU (20.8 mg，0.0646 mmol，1.2當量)。反應混合物保持在室溫下1小時。將反應混合物用飽和碳酸氫鈉水溶液淬滅。將水相用DCM (3×10 mL)萃取，且經合併之有機相經Na_2SO_4乾燥，且濃縮。化合物**3**藉由CombiFlash®用二氯甲烷中10-12%甲醇溶離來純化。LC-MS: [M+2H]+/2計算值1281.76, 實驗值1282.19。

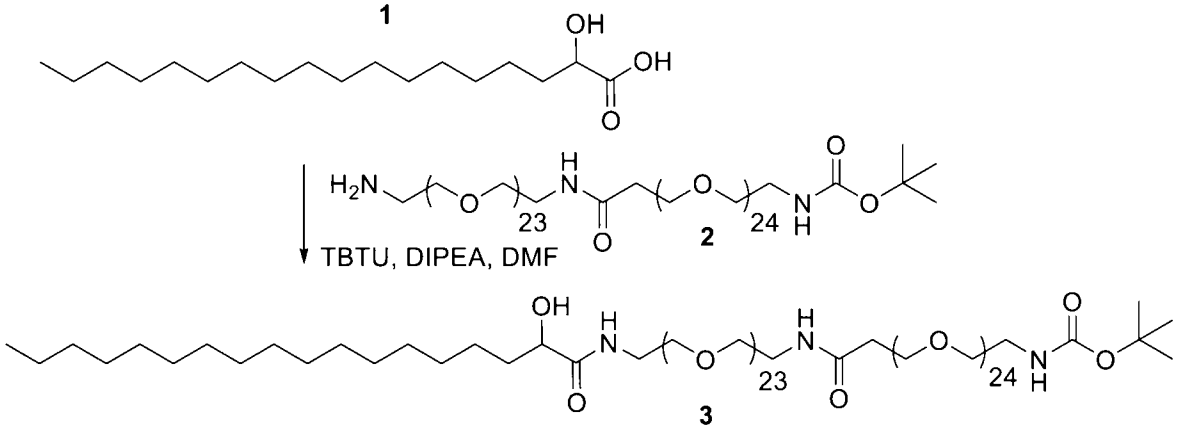


【0621】在室溫下向化合物**3** (66 mg，0.0257 mmol，1.0當量)添加4M HCl之二噁烷溶液(0.322 mL，1.287 mmol，50當量)。反應混合物保持在室溫下1小時且接著濃縮。化合物**4**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+2H]/2 計算值1231.75, 實驗值1232.01。



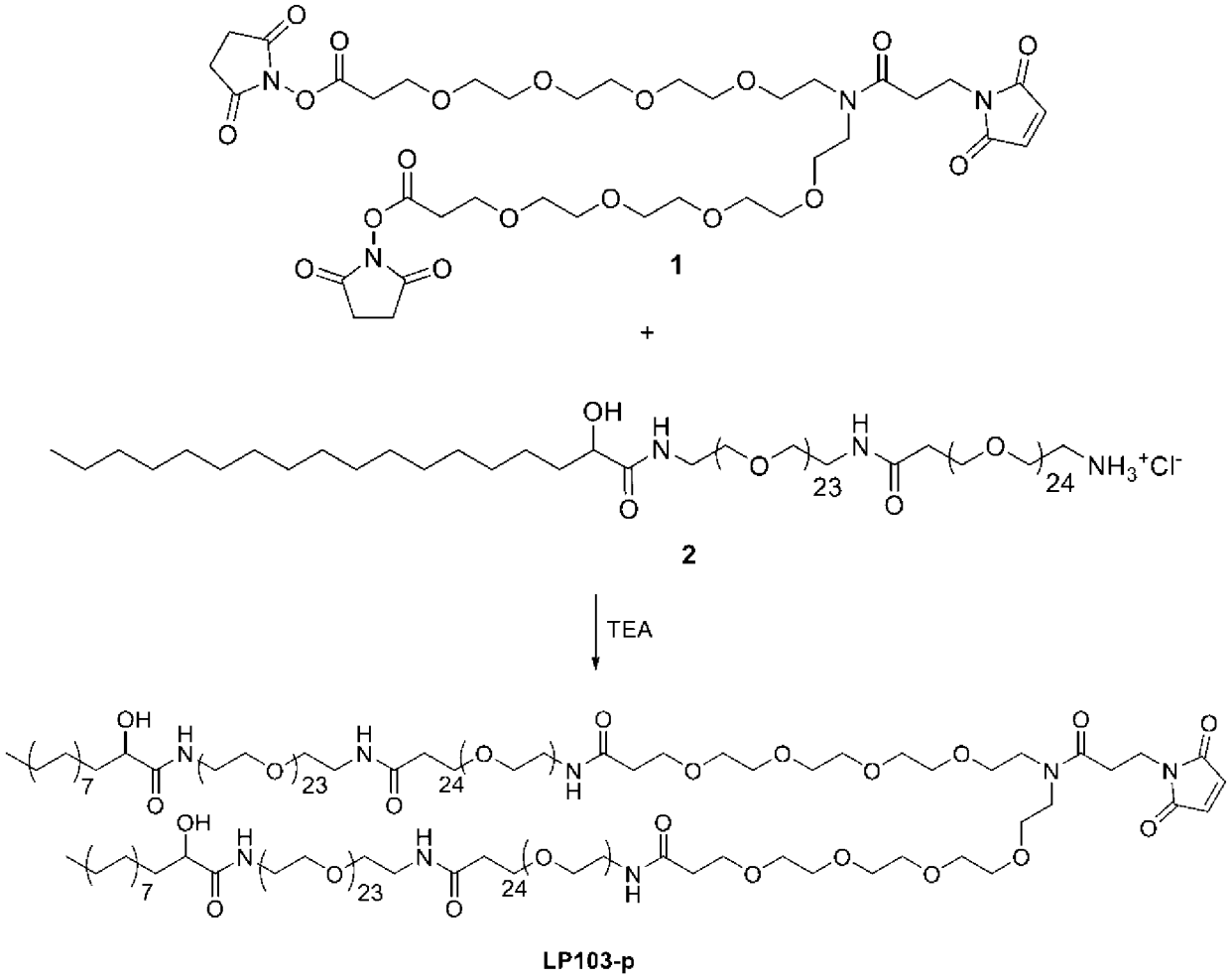
【0622】 在室溫下向化合物**5** (11 mg，0.0128 mmol，1.0當量)及化合物**4** (64 mg，0.0256 mmol，2.00當量)於無水DCM (2 mL)中之溶液添加三乙胺(0.009 mL，0.064 mmol，5.0當量)。反應混合物保持在室溫下1小時且將溶劑濃縮。**LP102-p**藉由CombiFlash®用二氯甲烷中12-18%甲醇溶離而分離。LC-MS: [M+6H]+/6計算值926.20, 實驗值926.41。

【0623】 **合成LP103-p**



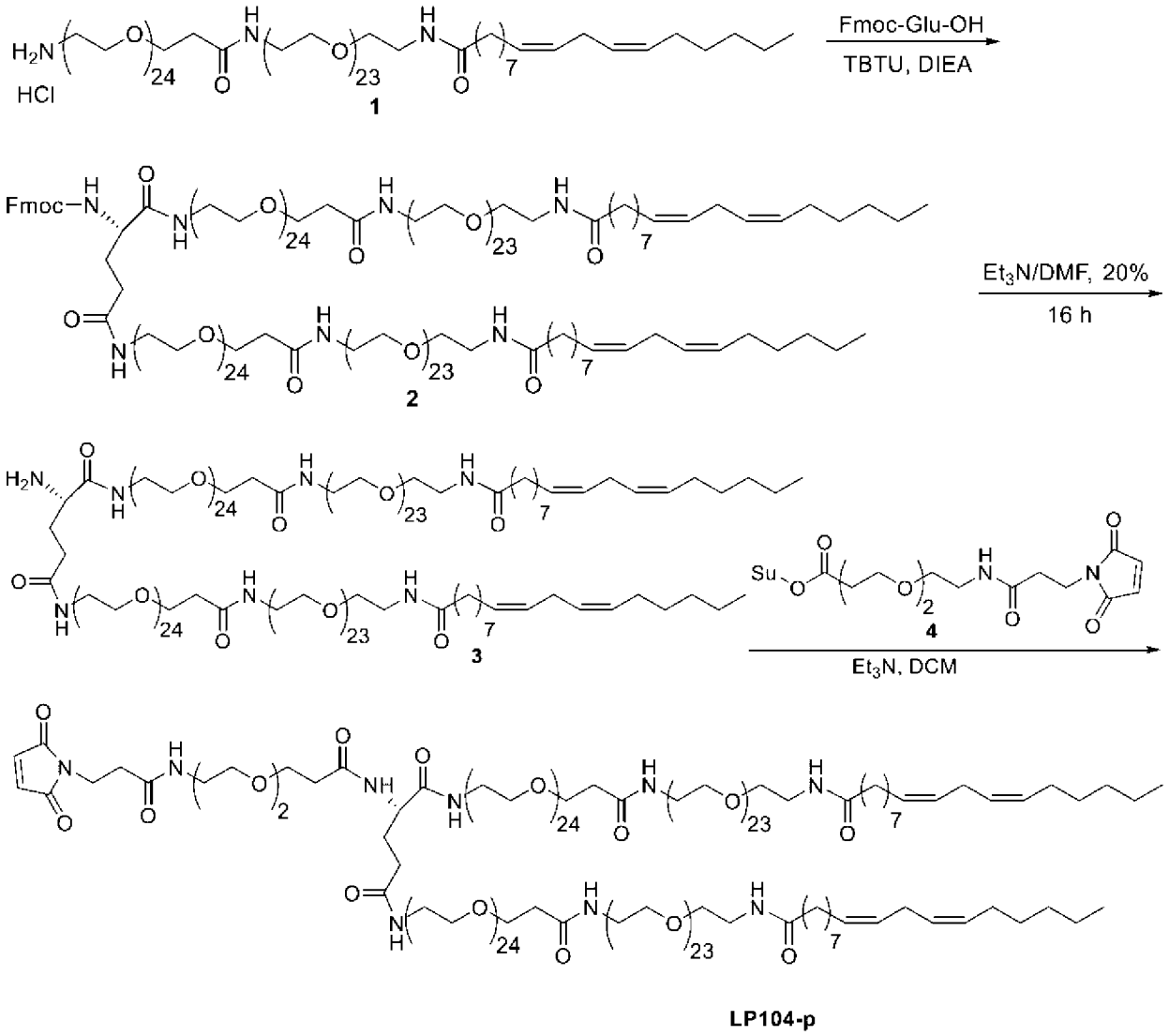
【0624】 向化合物**1** (35 mg，0.1170 mmol)於DMF (2.0mL)中之溶液添加Boc-PEG_{47}-NH_2 **2** (269 mg，0.1170 mmol)、TBTU (45.1 mg，

0.1404 mmol)及DIPEA (60 uL)。在攪拌所得懸浮液隔夜後，添加水。使用DCM:20% TFE萃取混合物且合併之有機相經Na_2SO_4乾燥。在過濾後，真空移除溶劑至乾燥且粗化合物**3**藉由急驟層析法(DCM:20% MeOH)純化。在無水條件下向產物添加2 mL 4N HCl:二噁烷直至藉由LC-MS確定完成脫除保護基: [M+H]+計算值2483.59 m/z, 實驗值2484.01。



【0625】 在室溫下向化合物**4** (10 mg，0.0116 mmol，1.0當量)及化合物**5** (59.3 mg，0.0239 mmol，2.05當量)於無水DCM (2 mL)中之溶液添加三乙胺(8 uL，0.0582 mmol，5.0當量)。反應混合物保持在室溫下隔夜且在真空下移除溶劑。**LP103-p**藉由CombiFlash®用二氯甲烷中10-17%甲醇溶離而分離。LC-MS: [M+6H]+/6計算值933, 實驗值934, [M+7H]+/7計算值800, 實驗值801。

【0626】 合成**LP104-p**

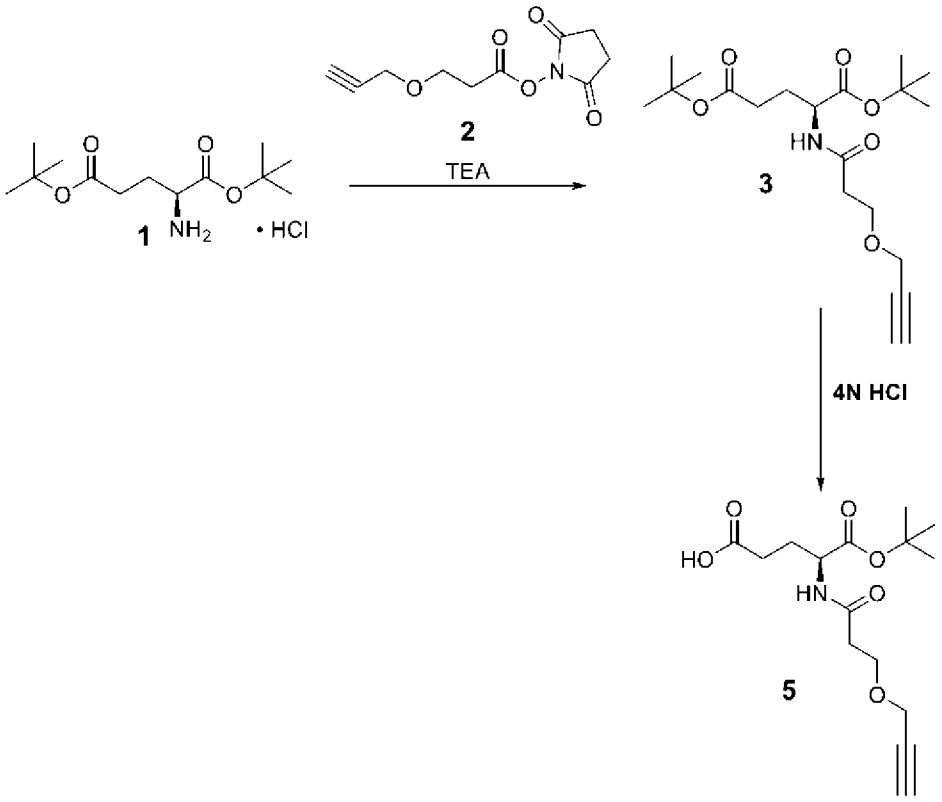


【0627】 如以上針對LP54-p之程序中所述，使化合物**1** (合成如以上針對LP87之程序中所示)與Fmoc-Glu-OH結合。計算值MW 5261.56, (M +3×18)/3=1771.86, (M +4×18)/4=1333.39 實驗值: MS (ES, 正離子): 1771.98 $[M+3NH_4]^{3+}$, 1333.57 $[M+4NH_4]^{4+}$。

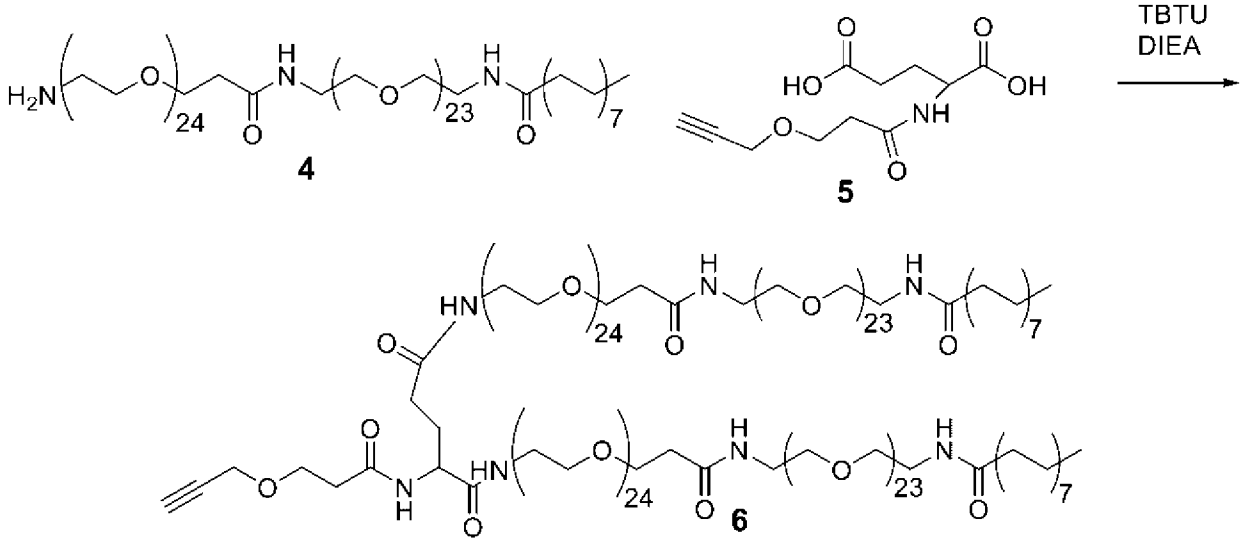
【0628】 如以上合成LP39-p中針對化合物11所述，使化合物**2**脫除保護基Fmoc。如以上針對合成LP39-p之程序中所述，使所得產物**3**與活化酯化合物**4**結合。在CombiFlash®純化之後分離**LP104-p**。計算值MW 5349.62, (M +3×18)/3=1801.21, (M +4×18)/4=1355.41 。實驗值: MS

(ES, 正離子): 1801.87 $[M+3NH_4]^{3+}$, 1355.92 $[M+4NH_4]^{4+}$。

【0629】 **合成LP106-p**

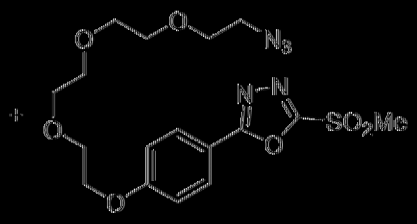


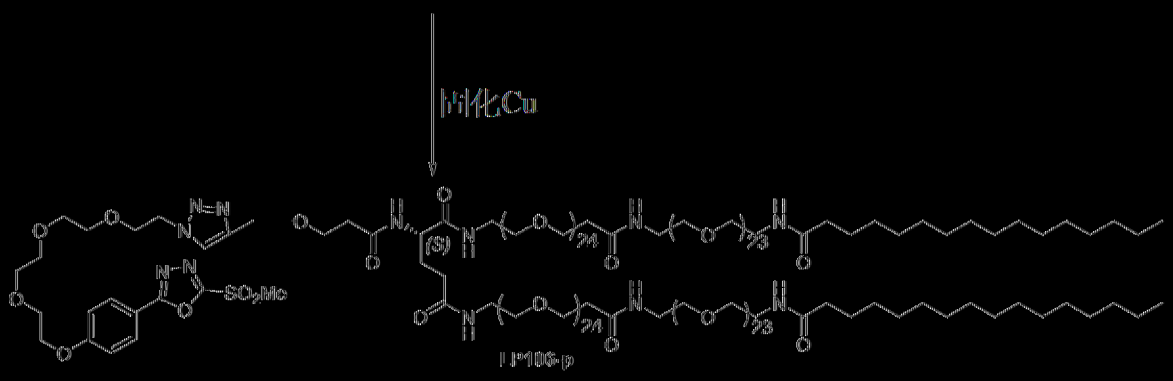
【0630】 向含化合物**1** (200 mg，0.676 mmol)之DCM (4 mL)添加TEA (218 uL，1.56 mmol)，接著添加化合物**2** (198 mg，0.879 mmol)且將混合物在室溫下攪拌1小時。在完成之後，移除所有揮發物且使用4N HCl將粗化合物**3**脫除保護基，得到酸**5**，其隨後未經進一步純化即使用。



|0631| 使粗化合物5 (60 mg，假設0.1014 mmol)溶於DMF (1 mL)中，用TBTU (71.6 mg，0.223 mmol)處理且攪拌5分鐘。隨後添加合化合物4 (668 mg，0.273 mmol)及DIEA (91.8 uL，0.527 mmol)之DMF (1 mL)且將混合物在室溫下攪拌16小時。完成後，移除所有揮發物且化合物6使用Phenomenex C18 Gemini®管柱(10u，50 mm×250 mm)用水(0.1% TFA)中MeOH (0.1% TFA)之梯度溶離而分離。



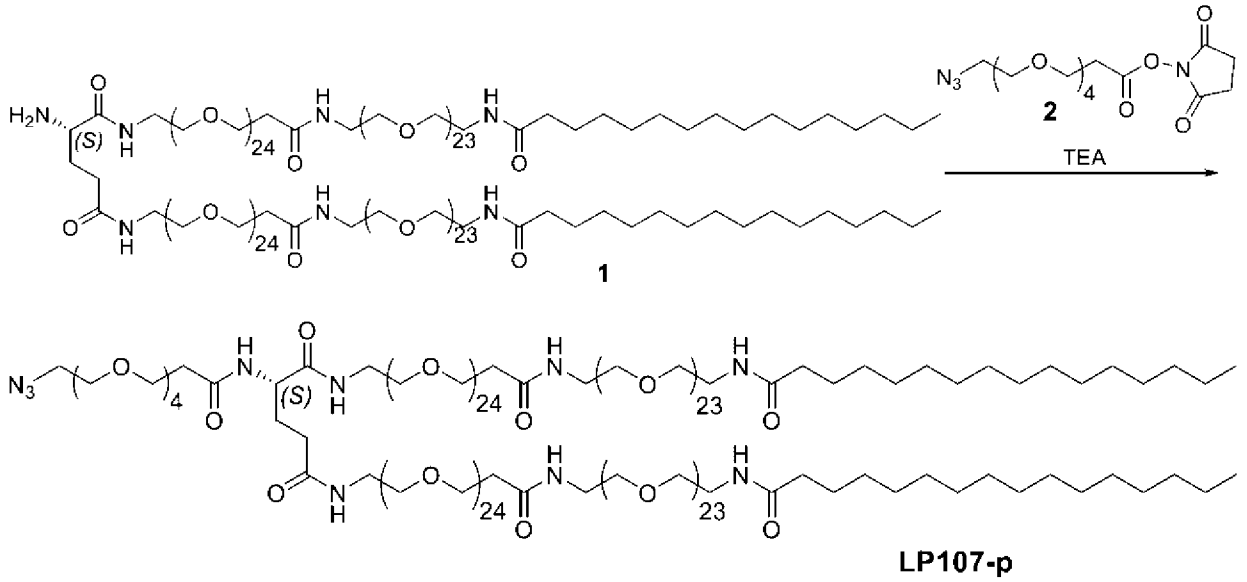




|0632| 使化合物6 (23.5 mg，0.0532 mmol)及化合物7 (29.9 mg，0.0586 mmol)溶於12.0 mL DMF中且將容器充以N_2，歷時5分鐘。接著，添加固化銅(337 mg，0.0532 mmol)及抗壞血酸鈉(31.6 mg，0.1597 mmol)且將反應混合物在40℃下攪拌隔夜。

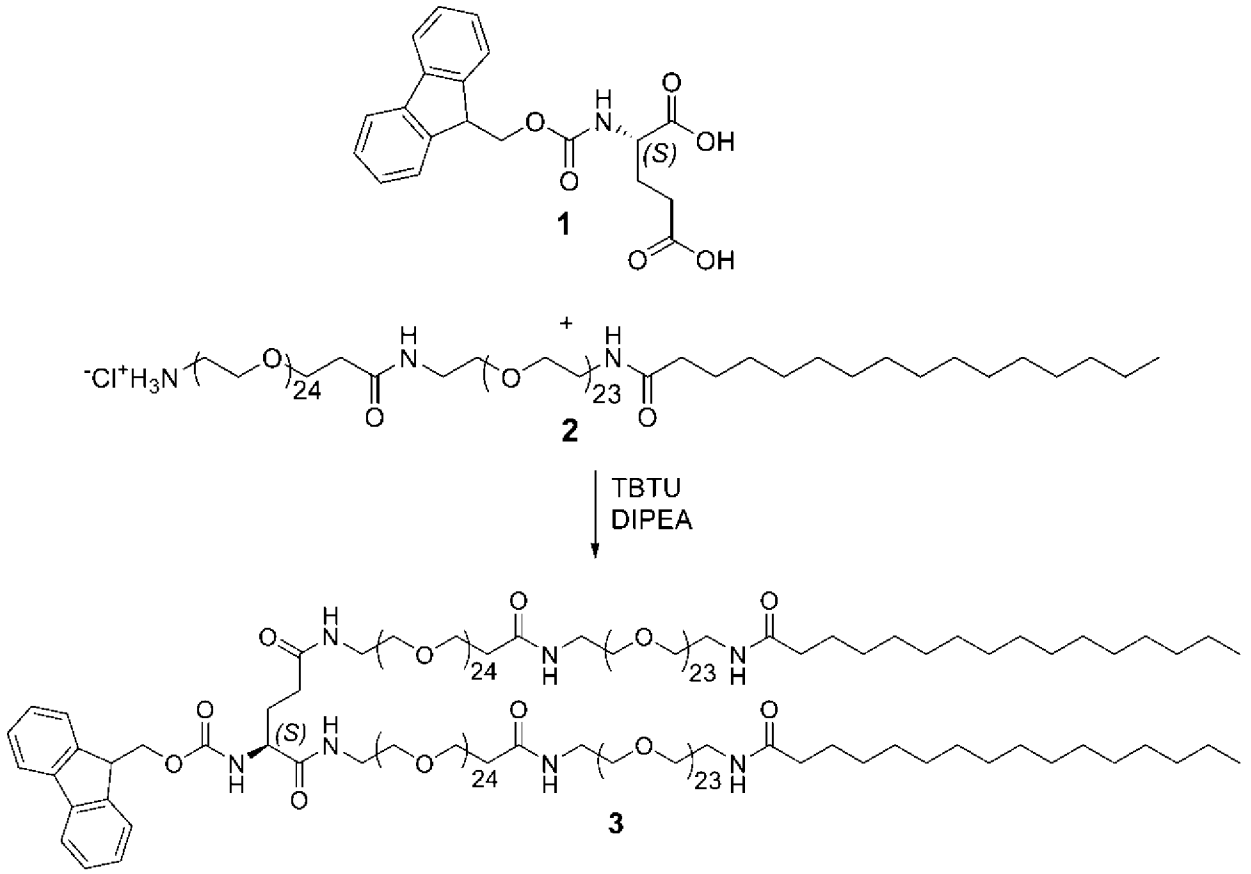
|0633| 濾出樹脂及其他固體。將濾液真空濃縮且藉由HPLC純化，得到LP106-p。

【0634】 合成**LP107-p**

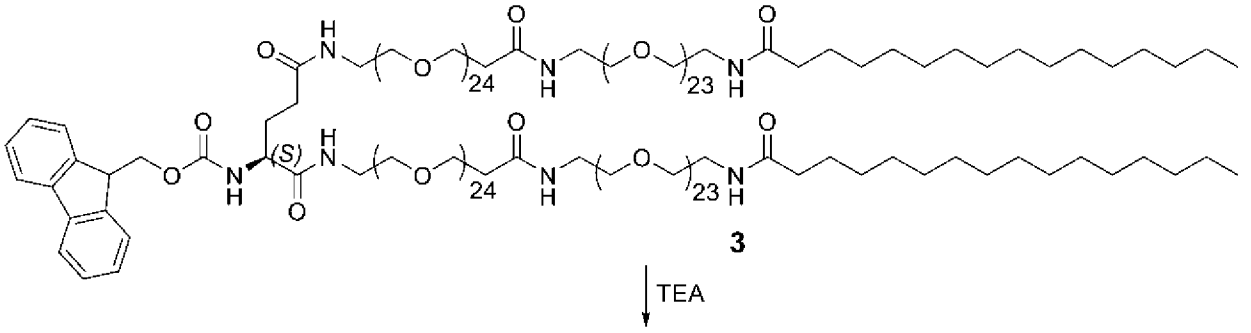


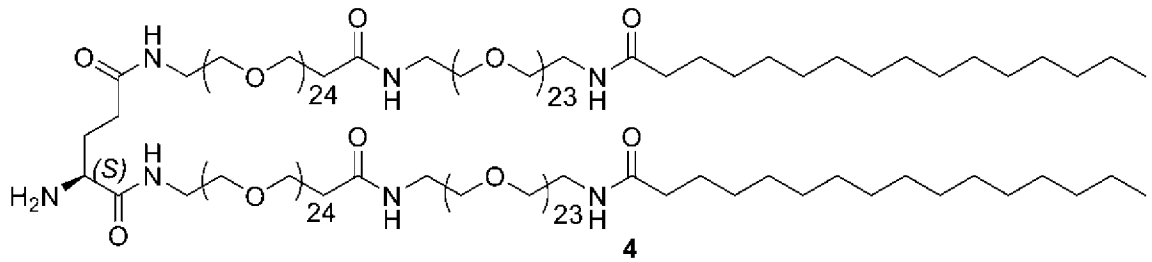
【0635】 使化合物**1** (982 mg，如以上針對LP38-p之程序中所示合成)溶於10 mL DCM中。添加化合物**2** (90 mg)及三乙胺(0.081 mL)。將反應混合物在室溫下攪拌5-8小時直至完成。使用1N HCl，接著飽和$NaHCO_3$萃取產物，接著用鹽水洗滌，且最終經Na_2SO_4乾燥。**LP107-p**使用管柱層析法進一步純化。

【0636】 合成**LP108-p**



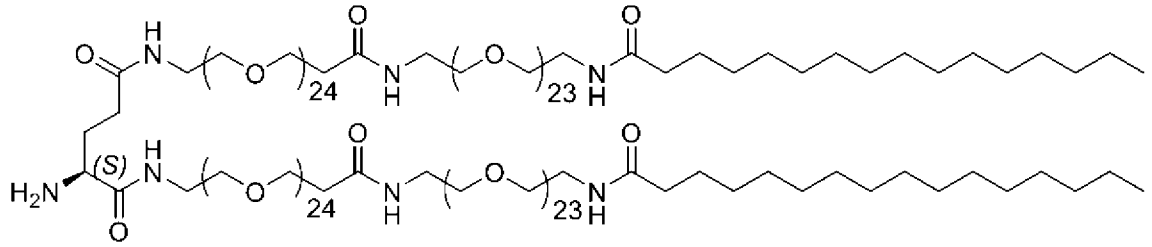
【0637】 在室溫下向化合物**1** (595 mg，1.610 mmol，1.0當量)、化合物**2** (8377 mg，3.382 mmol，2.10當量)及二異丙基乙胺(1.122 mL，6.443 mmol，4.0當量)於無水DMF (100 mL)中之溶液添加TBTU (1241 mg，3.865 mmol，2.4當量)。反應混合物保持在室溫下3小時。接著濃縮反應混合物。將殘餘物用飽和氯化銨及碳酸氫鈉水溶液洗滌。化合物**3**藉由CombiFlash®用二氯甲烷中12-20%甲醇溶離來純化。LC-MS: [M+5H]/5, 計算值1043.05, 實驗值1044.38。



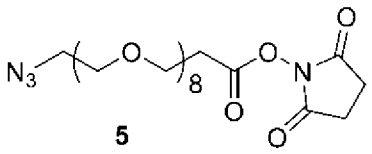


4

【0638】 在室溫下向化合物1 (104 mg，0.0199 mmol，1.0當量)於無水DMF (1.6 mL)中之溶液添加TEA (0.4 mL)。反應混合物保持在室溫下隔夜且在真空下移除溶劑。化合物**4**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+5H]/5 計算值998.63, 實驗值999.97。

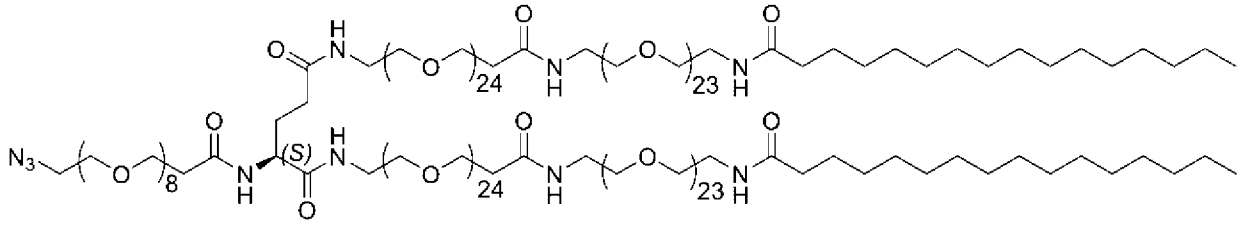


4



5

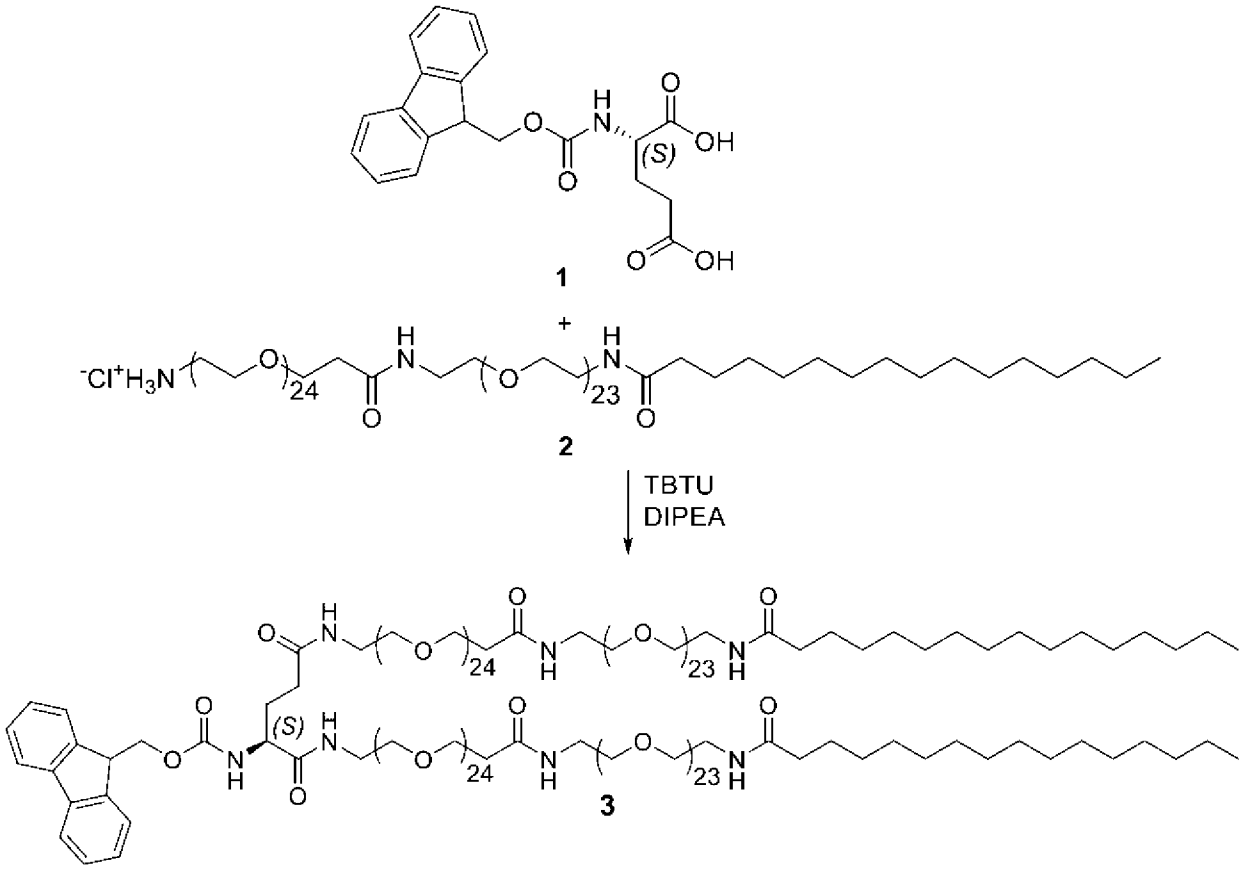
TEA



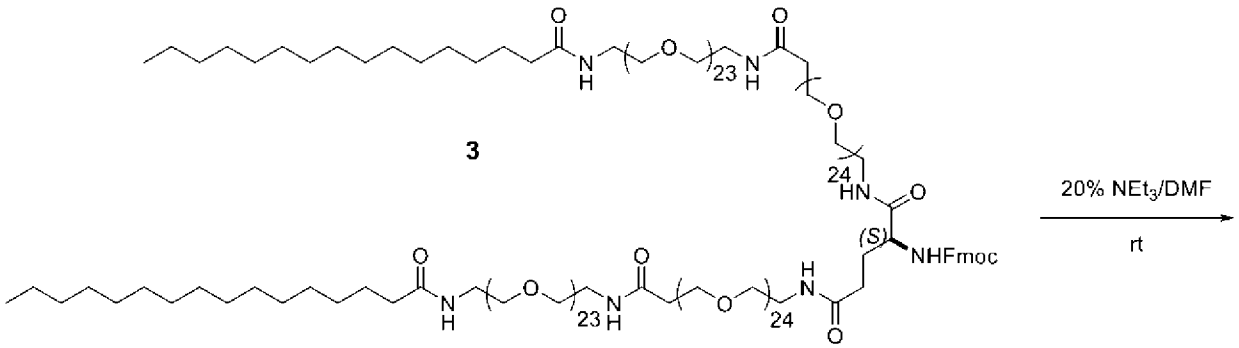
LP108-p

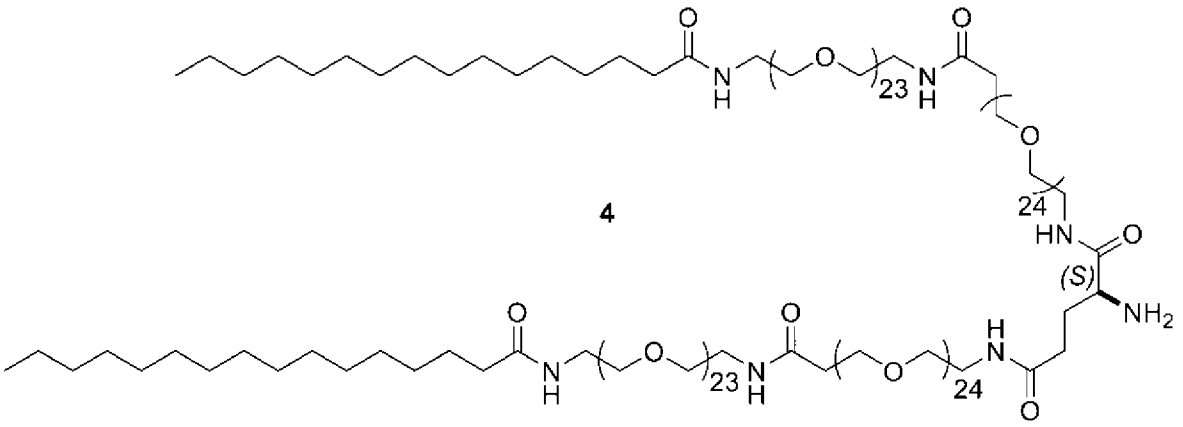
【0639】 在室溫下向化合物**4** (99 mg，0.198 mmol，1.0當量)及化合物**5** (134 mg，0.238 mmol，1.2當量)於無水DCM (3 mL)中之溶液添加三乙胺(0.006 mL，0.0397 mmol，2.0當量)。反應混合物保持在室溫下隔夜且在真空下移除溶劑。**LP108-p**藉由CombiFlash®用二氯甲烷中12-20%甲醇溶離而分離。LC-MS: [M+5H]/5 計算值1088.48, 實驗值1089.86。

【0640】 合成**LP109-p**

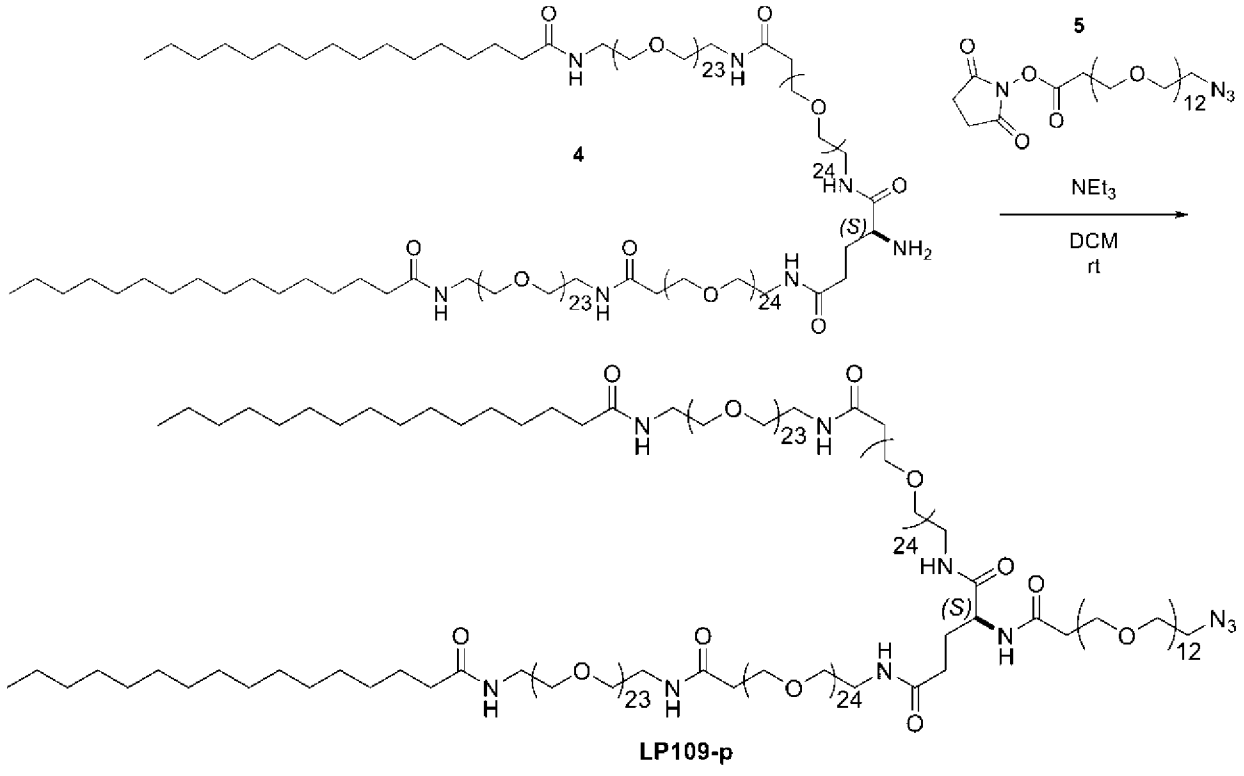


【0641】 在室溫下向化合物**1** (595 mg，1.610 mmol，1.0當量)、化合物**2** (8377 mg，3.382 mmol，2.10當量)及二異丙基乙胺(1.122 mL，6.443 mmol，4.0當量)於無水DMF (100 mL)中之溶液添加TBTU (1241 mg，3.865 mmol，2.4當量)。反應混合物保持在室溫下3小時。接著濃縮反應混合物。將殘餘物用飽和氯化銨及碳酸氫鈉水溶液洗滌。化合物**3**藉由CombiFlash®用二氯甲烷中12-20%甲醇溶離來純化。LC-MS: [M+5H]/5, 計算值1043.05, 實驗值1044.38。





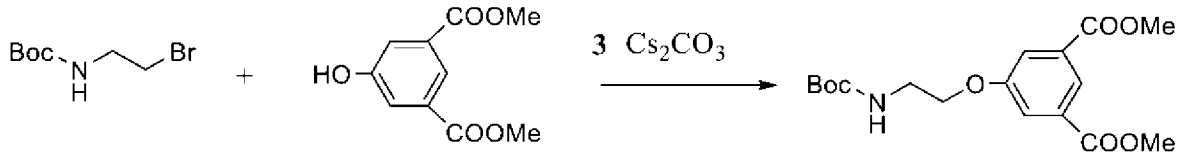
【0642】 在室溫下向化合物**3** (100 mg)添加含20% NEt_3 (0.053 mL)之DMF。將反應混合物在室溫下攪拌直至經由LC-MS證實完全轉化。將反應混合物與PhMe/MeOH共沸且在高真空下濃縮隔夜，獲得粗化合物**4**。LC-MS: [M+H]+計算值4989.17 m/z, 觀測值1262.31 (+4/4, $+H_2O$) m/z。



【0643】 在充N_2(g)下在室溫下製備化合物**4** (95.7 mg)及NEt_3於無水DCM (0.008 mL)中之溶液。接著緩慢添加化合物**5** (14.2 mg)。將反應混合物攪拌直至藉由LC-MS觀測到完全轉化。接著直接濃縮反應混合

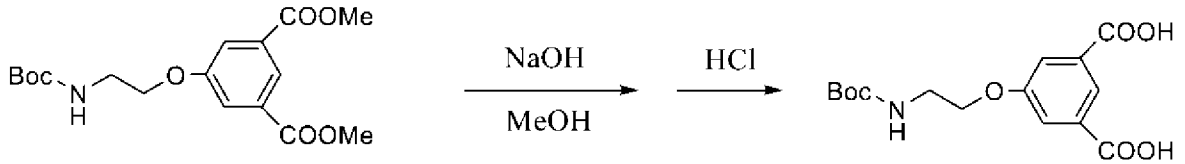
物。殘餘物藉由CombiFlash®經由12 g矽膠管柱作為固定相，利用經20分鐘DCM中0-20% MeOH (0% B至100% B)之梯度來純化，其中**LP109-p**在100% B下溶離，得到純淨及不純溶離份。收集兩個純淨溶離份且濃縮。將不純溶離份濃縮且再經受反應條件以推動進一步轉化。經由DCM中0-20% MeOH (0% B至100% B)之梯度分離，得到改善但略微不純**LP109-p**，在88% B下溶離。LC-MS: 計算值[M+H]+5614.51 m/z, 觀測值1422.64 (+4/4, $+H_2O$) m/z。

【0644】 **合成LP110-p**



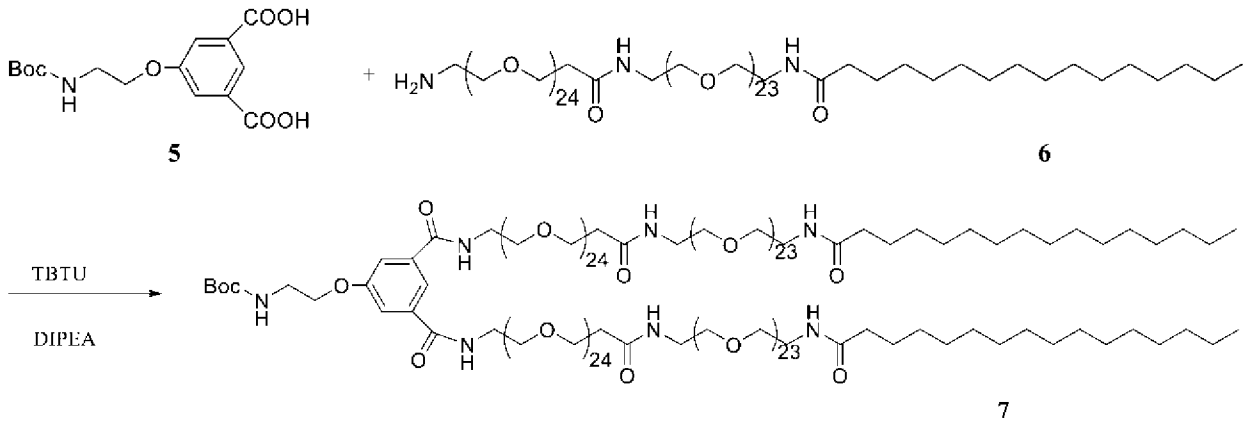
1 **2** **4**

【0645】 在室溫下向化合物**1** (4.00 g)於20 mL DMF中之溶液添加化合物**2** (4.50 g)及**3** (11.6 g)。將反應混合物攪拌隔夜。藉由標準處理(1N NaOH、鹽水)萃取產物且經乾燥Na_2SO_4。TLC顯示NaOH移除化合物**2**。化合物**4**直接用於下一步。



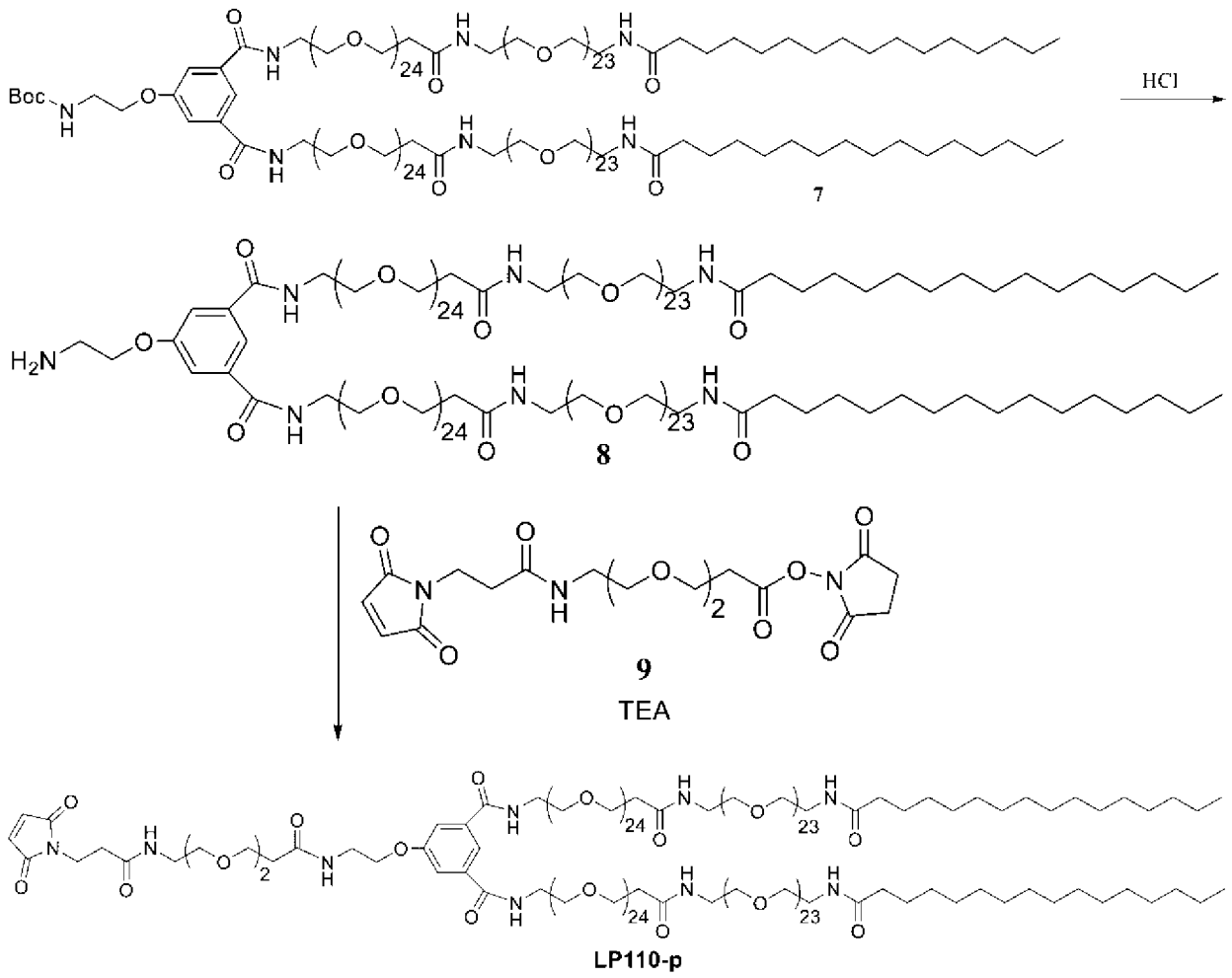
4 **5**

【0646】 在室溫下向化合物**4** (3.04 g)於100mL MeOH中之溶液添加NaOH (1.03 g)溶液。將反應混合物攪拌隔夜。將反應混合物濃縮以移除MeOH。將水相用乙酸乙酯萃取以移除任何未反應之起始物質。混合物酸化至pH 3，接著用乙酸乙酯萃取，使用Na_2SO_4乾燥，且濃縮，產生呈白色固體狀之化合物**5**。化合物**5**直接用於下一步。



【0647】 在室溫下向含化合物**1** (2.9 mg)之DCM添加2當量DIPEA (0.006 mL)。將化合物**6** (45 mg)、TBTU (6.3 mg)及2當量DIPEA (0.006 mL)在室溫下攪拌30分鐘。使用注射泵緩慢添加活化酸混合物至PEG溶液(在2-3小時內)。將反應混合物在室溫下攪拌。直至藉由TLC觀測到完全轉化。

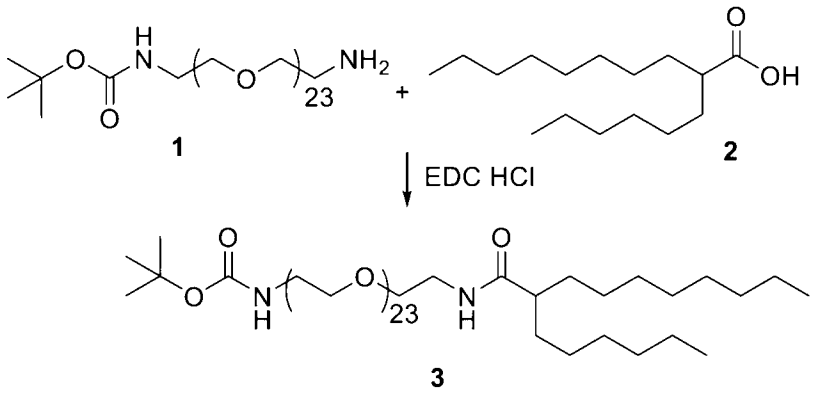
【0648】 使用標準處理(1N HCl、飽和$NaHCO_3$、鹽水)萃取產物。殘餘物藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用DCM中0-20% MeOH (0-100% B)之梯度來純化。



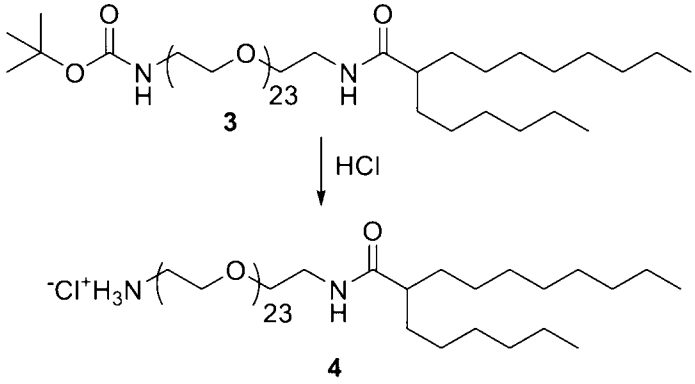
【0649】 在室溫下向化合物**7** (27 mg)添加1.5 mL 4 M HCl/二噁烷。將反應混合物在室溫下攪拌1.5小時直至經由LC-MS證實完全轉化。將反應混合物真空濃縮。使粗化合物**8**溶於DCM中，且添加化合物**9** (2.7 mg)及TEA (1.1 mg)。將反應混合物在室溫下攪拌直至藉由TLC觀測到完全轉化。

【0650】 **LP110-p**藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用DCM至DCM中20% MeOH (0-100% B)之梯度來純化。

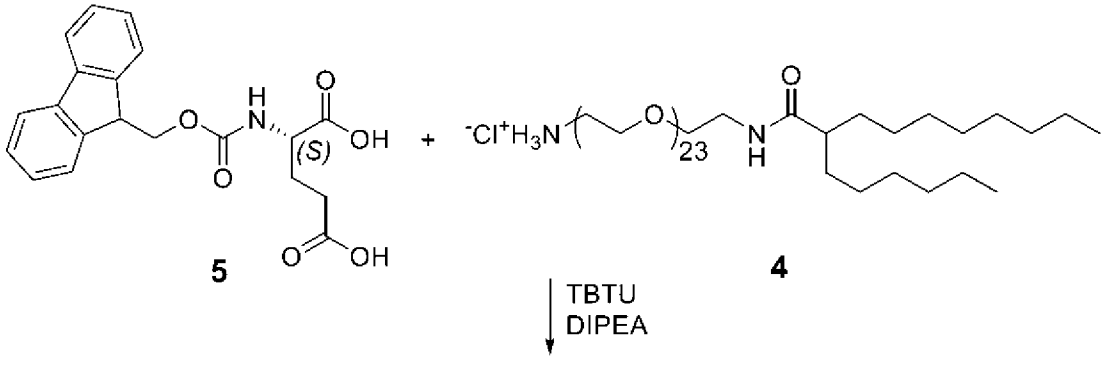
【0651】 **合成LP111-p**

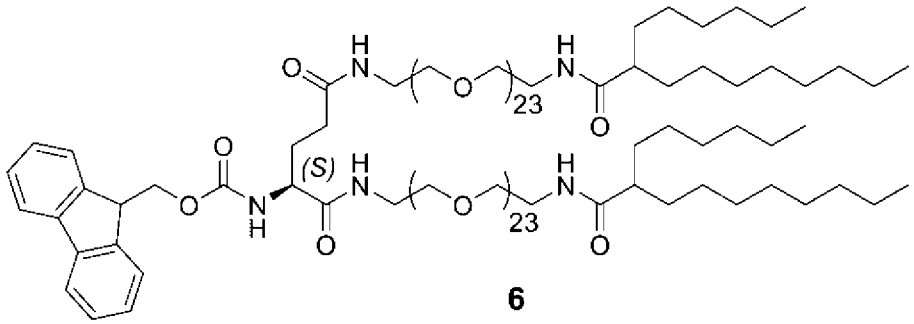


【0652】 在室溫下向化合物**1** (2500 mg，2.130 mmol，1.0當量)及化合物**2** (655 mg，2.556 mmol，1.2當量)於無水DCM (10 mL)中之溶液添加EDC HCl (630 mg，3.195 mmol，1.5當量)。反應混合物保持在室溫下隔夜。將反應混合物濃縮。化合物**3**藉由CombiFlash®用二氯甲烷中8-18%甲醇溶離來純化。LC-MS: [M+H]+計算值1411.95, 實驗值1412.80。



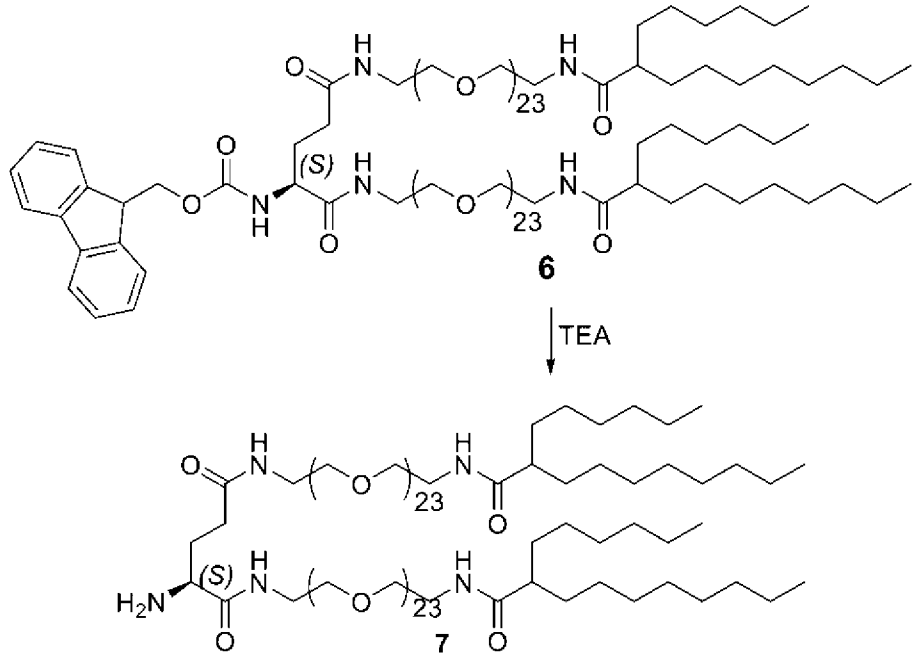
【0653】 在室溫下向化合物**3** (2400 mg，1.699 mmol，1.0當量)添加4M HCl之二噁烷溶液(8.499 mL，33.997 mmol，20當量)。反應混合物保持在室溫下1小時且接著濃縮。化合物**4**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+H]/+ 計算值1311.90, 實驗值1312.95。





6

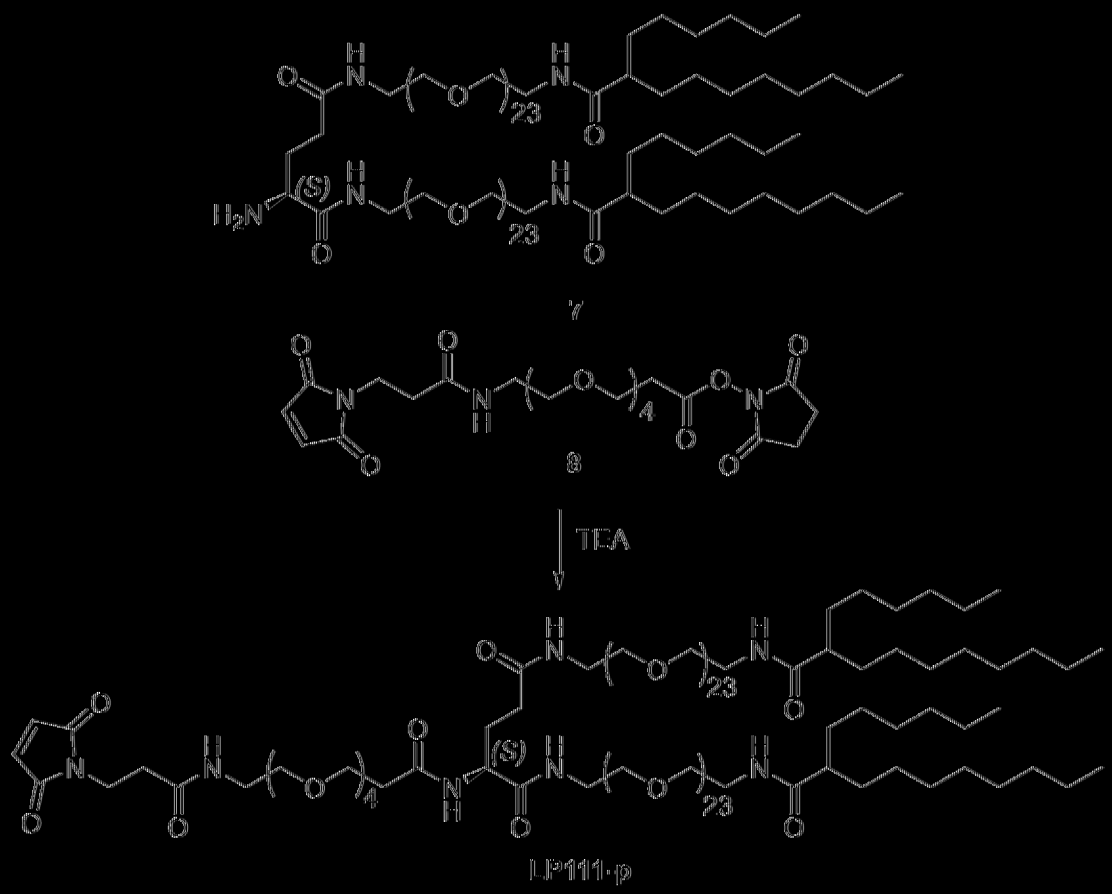
【0654】 在室溫下向化合物**5** (300 mg，0.812 mmol，1.0當量)、化合物**4** (2.299 g，1.705 mmol，2.10當量)及二異丙基乙胺(0.566 mL，3.248 mmol，4.0當量)於無水DMF (10 mL)中之溶液添加TBTU (625 mg，1.949 mmol，2.4當量)。反應混合物保持在室溫下1小時。接著濃縮反應混合物。將殘餘物用飽和氯化銨及碳酸氫鈉水溶液洗滌。化合物**6**藉由CombiFlash®用二氯甲烷中10-18%甲醇溶離來純化。LC-MS: [M+2H]/2, 計算值1478.45, 實驗值1479.89。



6

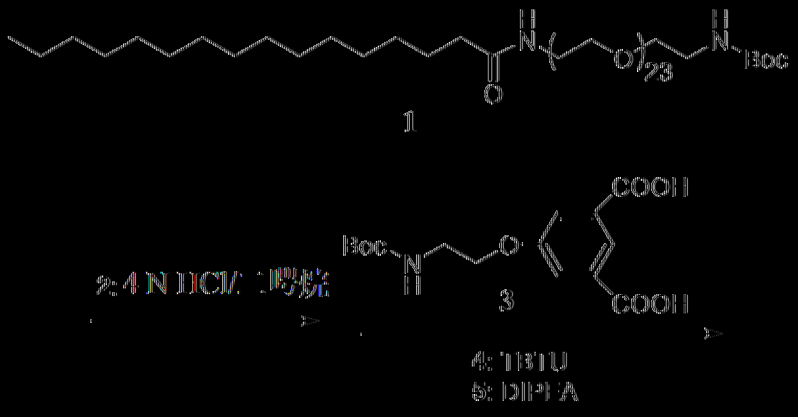
7

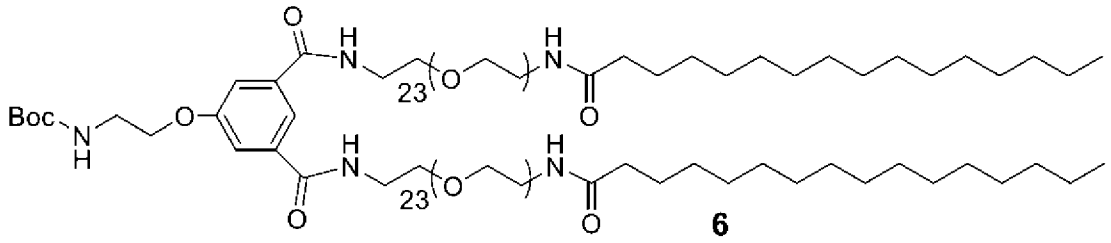
【0655】 在室溫下向化合物**6** (1690 mg，0.571 mmol，1.0當量)於無水DMF (8 mL)中之溶液添加三乙胺(2 mL)。反應混合物保持在室溫下隔夜且在真空下移除溶劑。化合物**7**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+2H]/2 計算值1367.41, 實驗值1368.88。



[0656] 在室溫下向化合物7 (1563 mg，0.571 mmol，1.0當量)及化合物2 (381 mg，0.743 mmol，1.3當量)於無水DCM (10 mL)中之溶液添加TEA (0.162 mL，1.143 mmol，2.0當量)。反應混合物保持在室溫下隔夜且在真空下移除溶劑。LP111-p藉由CombiFlash®用二氯甲烷中8-16%甲醇溶離來純化。LC-MS：計算值[M+3H]/3 1044.67，實驗值1046.18。

[0657] 合成LP124-p

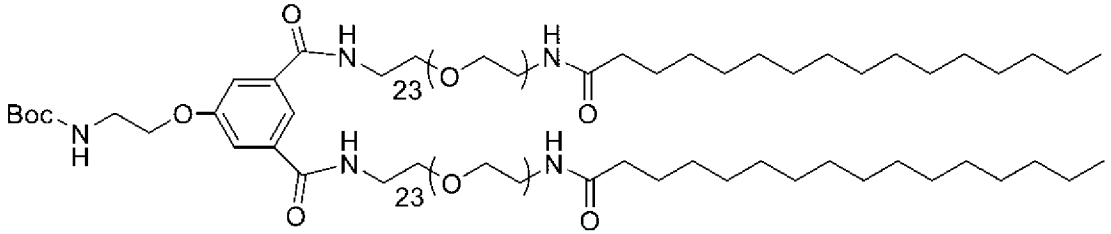




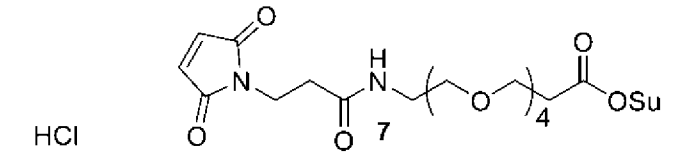
6

【0658】 在室溫下向化合物**1** (760 mg)添加2 mL 4 M HCl/二噁烷。將反應混合物在室溫下攪拌。將反應混合物攪拌1.5小時直至經由LC-MS證實完全轉化。將反應混合物真空濃縮。使殘餘物溶於DCM中，且添加化合物**3** (84.1 mg)、**4** (207 mg)及**5** (0.281 mL)。將反應混合物在室溫下攪拌直至藉由TLC觀測到完全轉化。

【0659】 藉由標準處理(1N HCl、飽和$NaHCO_3$、鹽水)萃取產物。化合物**6**藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用DCM中0-20% MeOH (0-100% B)之梯度來純化。



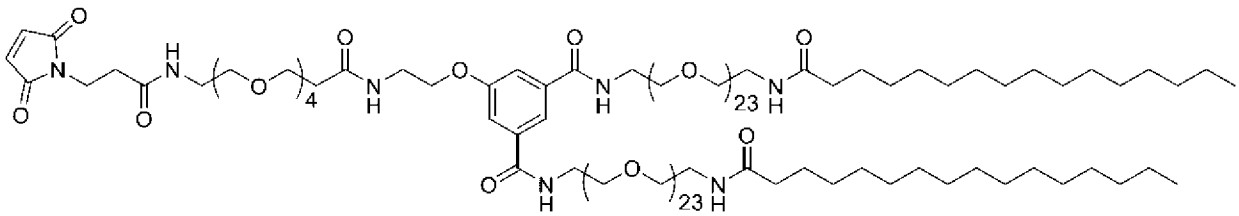
6



7

HCl

8: TEA



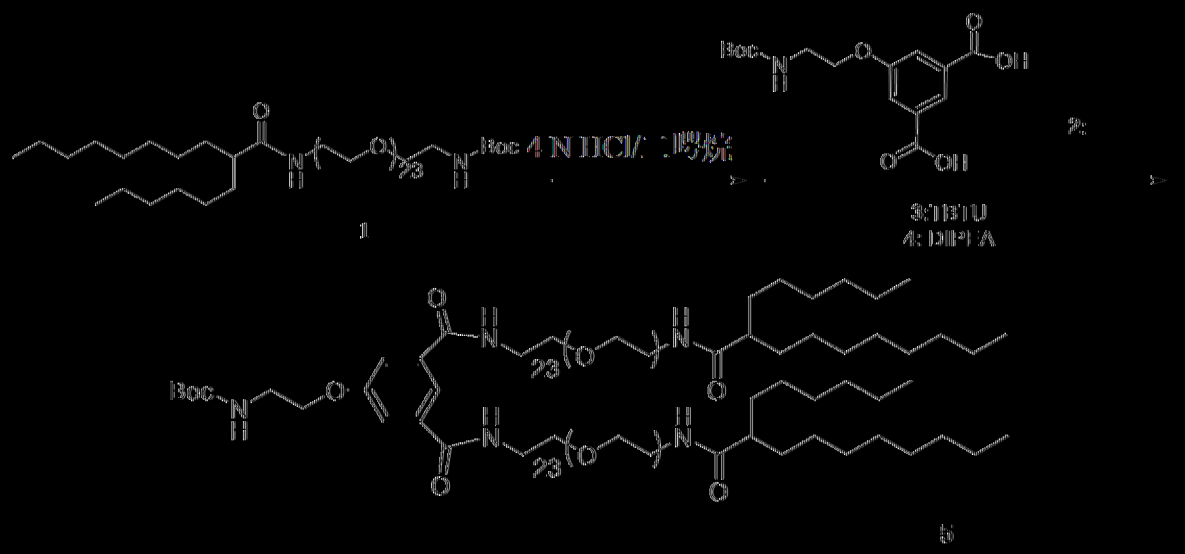
LP124-p

【0660】 在室溫下向化合物**6** (250 mg)添加4 mL 4 M HCl/二噁烷。將反應混合物在室溫下攪拌2小時直至經由LC-MS證實完全轉化。將

反應混合物真空濃縮。使殘餘物溶於DCM中，接著添加化合物7 (52.9 mg)及8 (0.036 mL)。將反應混合物在室溫下攪拌直至藉由TLC觀測到完全轉化。

[0661] LP124-p藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用DCM中0-20% MeOH (0-100% B)之梯度來純化。

[0662] 合成LP130-p

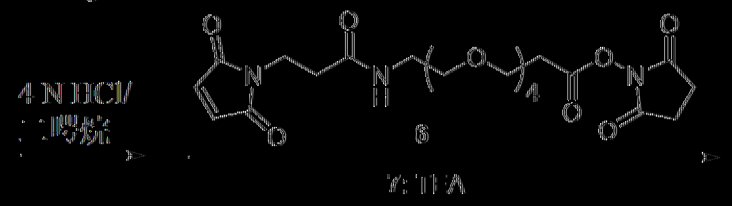


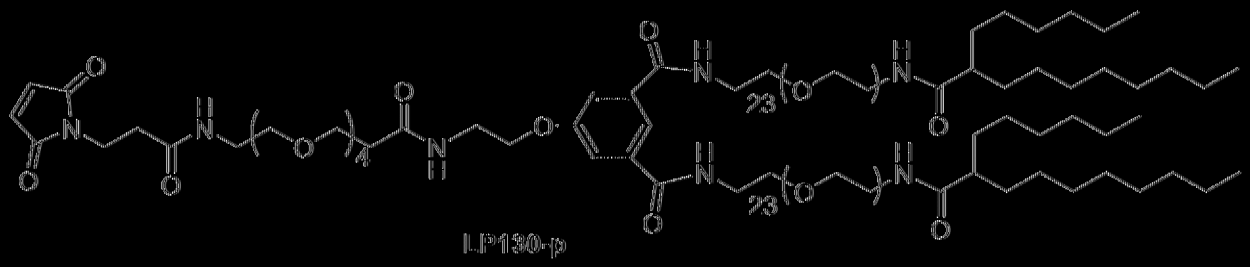
[0663] 在室溫下向化合物1 (1.89 g)添加15 mL 4 M HCl/二噁烷。將反應混合物在室溫下攪拌1.5小時直至經由LC-MS證實完全轉化。接著將反應混合物真空濃縮。使殘餘物溶於DCM中，且添加化合物2 (209 mg)、3 (516 mg)及4 (0.70 mL)。將反應混合物在室溫下攪拌直至藉由TLC觀測到完全轉化。

[0664] 藉由標準處理(1N HCl、飽和$NaHCO_3$、鹽水)萃取產物。化合物5藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用DCM中0-20% MeOH (0-100% B)之梯度來純化。



5





LP130-p

[0665] 在室溫下向化合物5 (800 mg)添加15 mL 4 N HCl/二噁烷。將反應混合物在室溫下攪拌2小時直至經由LC-MS證實完全轉化。接著將反應混合物真空濃縮。使殘餘物溶於DCM中，接著添加化合物2 (169 mg)及3 (0.116 mL)。將反應混合物在室溫下攪拌直至藉由TLC觀測到完全轉化。

[0666] LP130-p藉由CombiFlash®使用矽膠作為固定相，利用DCM至DCM中20% MeOH (0-100% B)之梯度來純化。

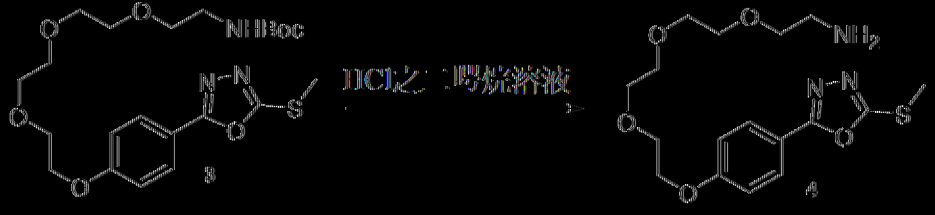
[0667] 合成LP143-p



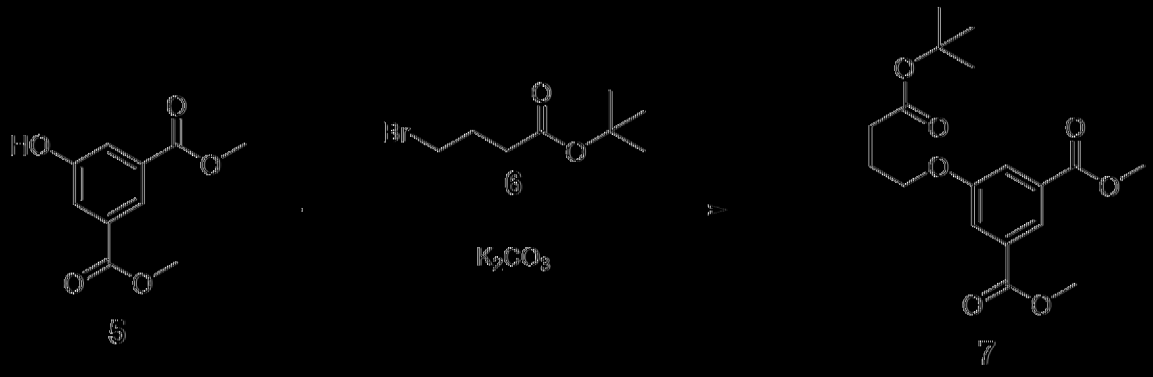
1 3

[0668] 在壓力容器中使化合物1 (500 mg)溶於10 mL無水THF中且添加K_2CO_3 (398 mg)。化合物2 (983 mg)作為於少量DMF中之溶液添

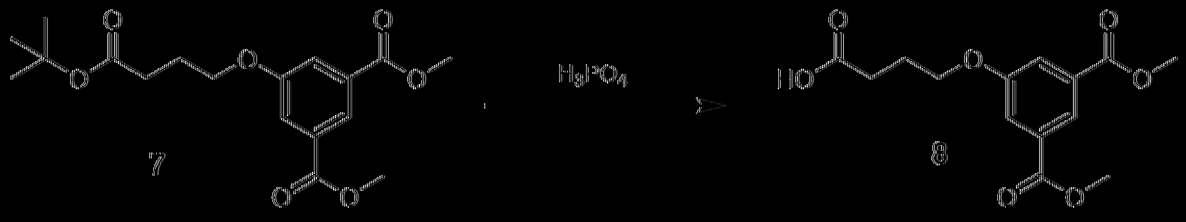
加H將容器蓋上蓋子H將反應混合物置於40℃下攪拌隔夜。接著，使反應混合物冷卻至室溫。濾出固體H將反應混合物真空濃縮。化合物3使用急驟層析法用己烷中0-100% EtOAc溶離來純化。



[0669] 使化合物3 (1070 mg)溶於4 mL 4 M HCl之二噁烷溶液中H攪拌直至移除所有Boc。接著濃縮反應混合物。化合物4使用急驟層析法用DCM中0-20% MeOH溶離來純化。

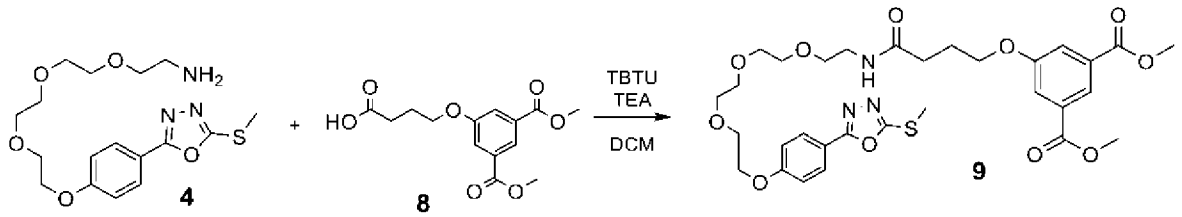


[0670] 在壓力容器中使化合物5 (1000 mg)溶於5 mL無水DMF中H添加K_2CO_3 (1.315 g)。接著，添加於少量DMF中之化合物6 (850 mg)H將反應混合物蓋上蓋子H在40℃下攪拌。接著，使反應混合物冷卻至室溫。濾出固體H接著將反應混合物真空濃縮。化合物7使用急驟層析法用己烷中0-100% EtOAc溶離來純化。

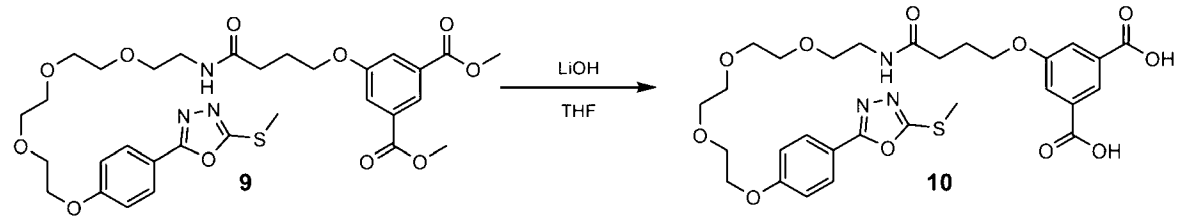


[0671] 將H_3PO_4 (0.594 mL)添加至攪拌的化合物7 (900 mg)於20 mL甲苯中之溶液。將反應混合物在室溫下攪拌隔夜。接著將反應混合物

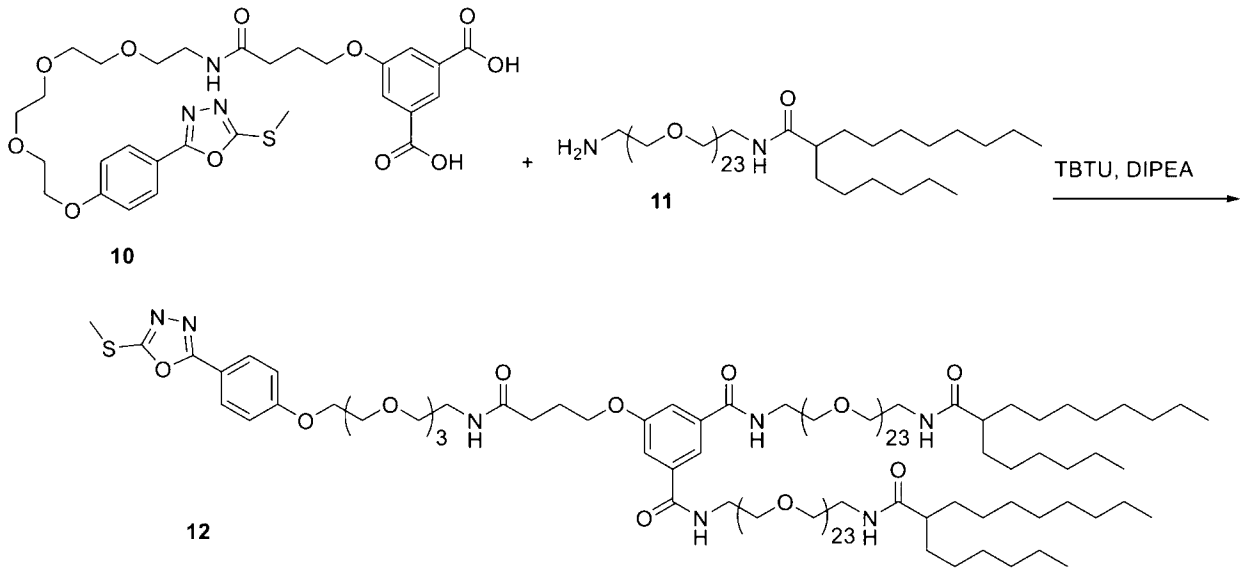
用水(30 mL)稀釋且用乙酸乙酯(30 mL)洗滌3次。合併之有機層經硫酸鈉乾燥且濃縮。



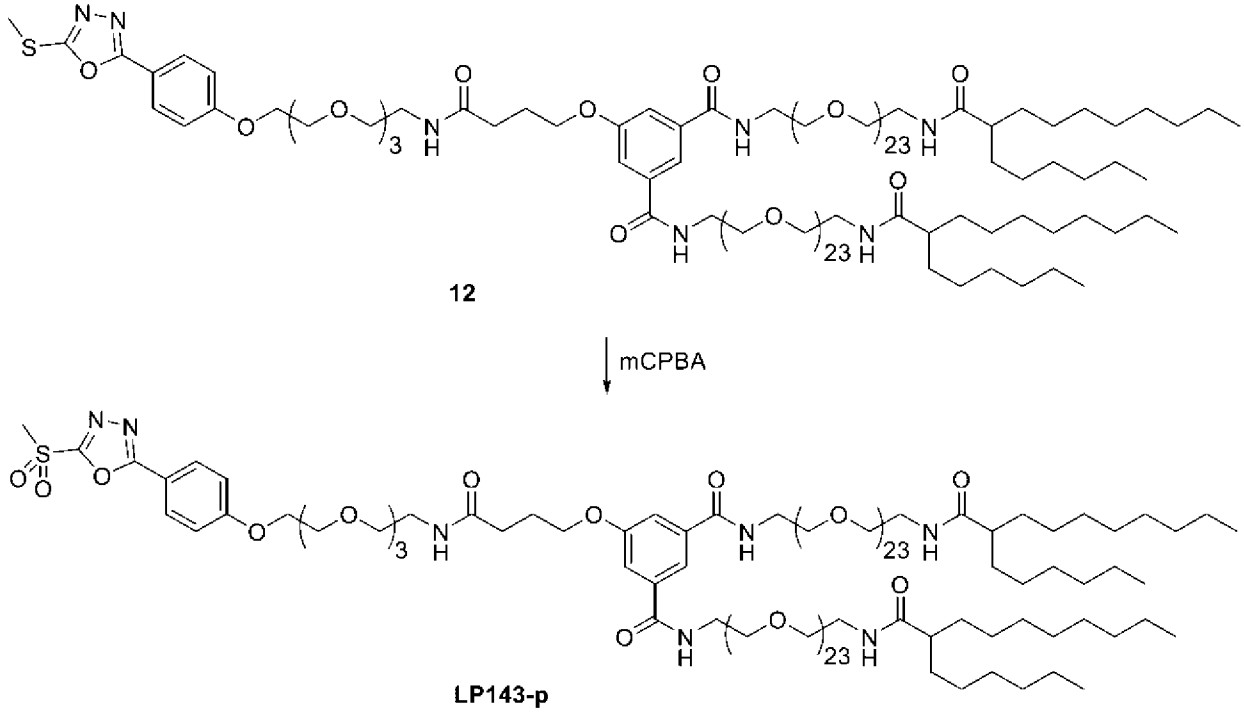
【0672】 使化合物**8** (100 mg)及TBTU (149 mg)溶於2mL DMF中且攪拌5分鐘。接著，將TEA (0.152 mL)及化合物**4** (142 mg)添加至混合物且將反應混合物在室溫下攪拌隔夜。將反應混合物用乙酸乙酯(10 mL)稀釋且用飽和氯化銨(3×10 mL)洗滌。有機層經硫酸鈉乾燥且濃縮。化合物**9**使用急驟層析法用0-100%己烷-乙酸乙酯且接著DCM/MeOH 0-20%溶離來純化。



【0673】 使化合物**9** (197 mg)溶於4 mL THF中。接著，添加LiOH (43 mg)及水(0.4 mL)。將反應混合物攪拌直至藉由LC-MS證實脫除保護基。將反應混合物用Amberlyst® 15淬滅。濾出Amberlyst且將反應混合物濃縮。化合物**10**使用急驟層析法用含0.1 % HOAc添加劑之己烷中0-100%乙酸乙酯溶離來純化。

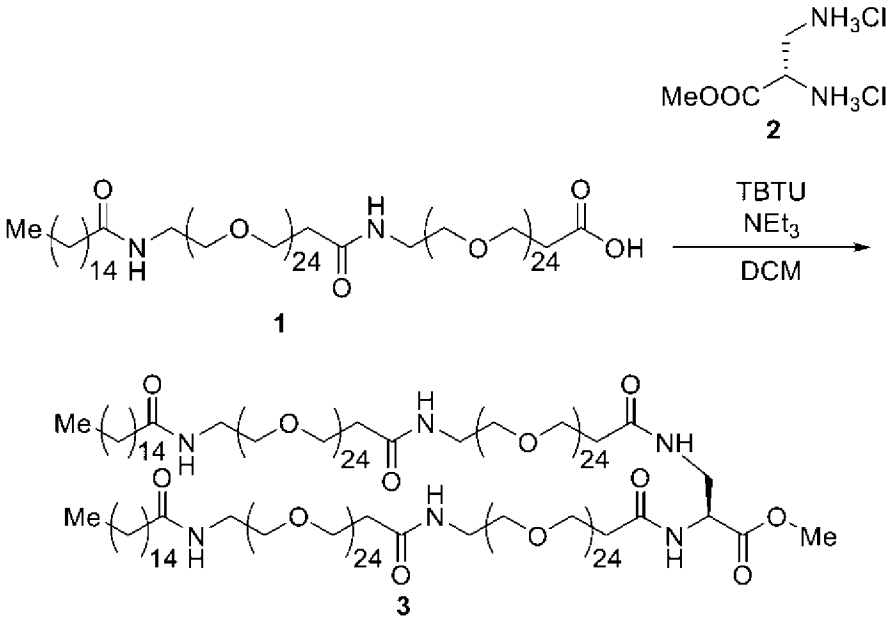


【0674】將化合物**10** (380 mg)與TBTU (424 mg)混合於4 mL DMF中，歷時五分鐘。接著，添加化合物**11** (2.12 g)，接著添加DIPEA (0.542 mL)。將反應混合物在室溫下攪拌且添加如下助促進劑：在2小時50% TBTU及50% DIPEA，在3小時25% TBTU及50% DIPEA，在4小時50% DIPEA，在5小時50% DIPEA。在6.5小時後淬滅反應混合物。將反應混合物用含20% TFE之DCM (15 mL)稀釋且用飽和氯化銨洗滌兩次(15 mL)。有機層經硫酸鈉乾燥且濃縮。接著化合物**12**藉由HPLC來純化。



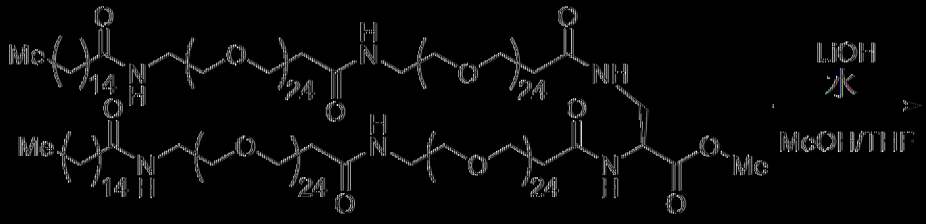
【0675】 在0℃下將mCPBA (70%純，12 mg)添加至攪拌的化合物**12** (28 mg)於1 mL DCM中之溶液。攪拌隔夜，使反應混合物升溫至室溫且經由LCMS監測。將混合物用含20% TFE之DCM (5 mL)稀釋，接著用飽和亞硫酸鈉(2×5 mL)洗滌且用飽和碳酸氫鈉(5 mL)洗滌一次。有機層經硫酸鈉乾燥。藉由LC-MS證實正確質量屬於**LP143-p**。

【0676】 **合成LP210-p**

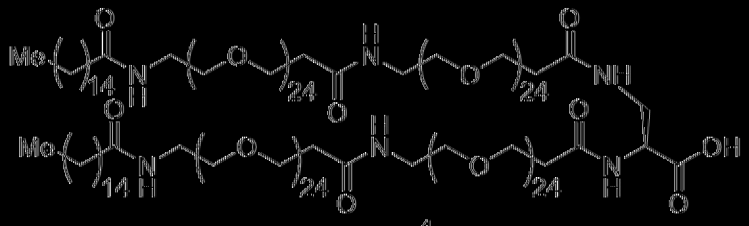


【0677】 使化合物**1** (0.2 g，0.08 mmol)及TBTU (0.0542 g，0.735 mmol)溶於DCM (5 mL)中且添加NEt_3 (0.0244 mL，0.175 mmol)。在另一小瓶中，將化合物**2** (0.007 g，0.037 mmol)及NEt_3 (0.0244 mL，0.175 mmol)一起攪拌於DCM (1 mL)中。將所得溶液攪拌10分鐘。在10分鐘後將化合物**2**溶液添加至化合物**1**溶液。將所得混合物攪拌90分鐘且接著藉由LC-MS檢查。將反應混合物用5 mL水淬滅且攪拌5分鐘。分離各層，且將有機層用飽和$NaHCO_3$(水溶液) (2×20 mL)、水(20 mL)、飽和NH_4Cl(水溶液) (2×20 mL)、飽和NaCl (水溶液) (2×20 mL)洗滌，經Na_2SO_4乾燥且濃縮，得到呈蠟狀灰白色固體狀之粗化合物**3** (約200 mg)。粗產物藉由矽膠層析法用DCM中0-20% MeOH溶離來純化。將純溶離份

合併，得到50 (27%產率)呈白色固體狀之化合物3。



3



4

[0678] 使化合物3 (0.05 g，0.010 mmol)溶於1:1 MeOH/THF (5 mL)中，且添加LiOH (0.042 g，1.74 mmol)及水(100 μL，5.55 mmol)。將反應混合物在室溫下攪拌隔夜且藉由LC-MS檢查。蒸發掉有機物且將所得懸浮液用大約10 mL水稀釋。將所得懸浮液用3 M HCl (水溶液)酸化至pH 1並用DCM (3×25 mL)萃取。將合併之有機物用鹽水洗滌，經Na_2SO_4乾燥，濃縮，且真空乾燥，得到49 mg (98%產率)呈灰白色固體狀之化合物4。產物未經進一步純化即使用。



4

5

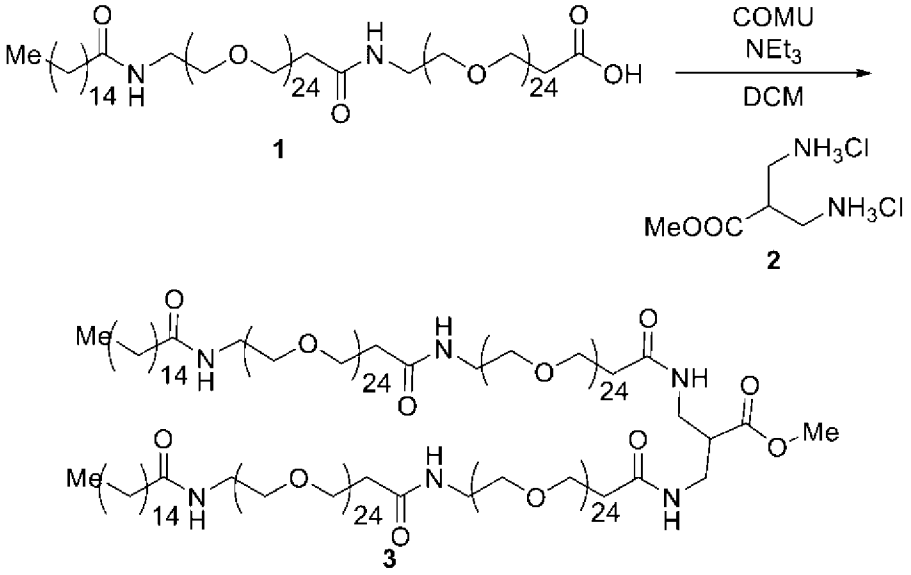


LP210-p

[0679] 使化合物4 (0.05 g，0.010 mmol)及COMU (0.0063 g，

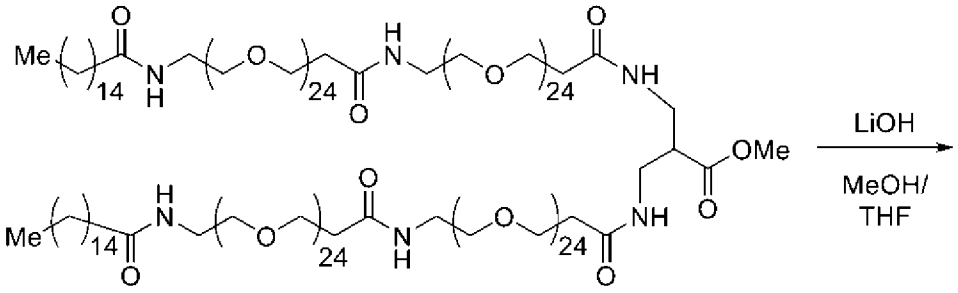
0.015 mmol)溶於DCM (1 mL)中且添加NEt_3 (13.7 μL，0.098 mmol)，將所得溶液攪拌10分鐘。在另一小瓶中，使化合物**5**溶於DCM (0.3 mL)中。在10分鐘後，將化合物**5**溶液添加至含有1807-019之溶液。將所得溶液攪拌2小時。將反應混合物用1 M HCl (水溶液) (10 mL)淬滅且有機層用10 mL DCM稀釋。分離各層，且將有機層用1M HCl (水溶液) (20 mL)、飽和$NaHCO_3$ (水溶液) (1×20 mL)、飽和NaCl (水溶液) (1×20 mL)進一步洗滌，經Na_2SO_4乾燥，濃縮，且真空乾燥，得到94 mg呈灰白色固體狀之粗**LP210-p**。粗產物藉由矽膠層析法用DCM中0-20% MeOH溶離來純化。將含有純**LP210-p**之溶離份合併且濃縮，得到7 mg (13.3%產率)。

【0680】 **合成LP217-p**

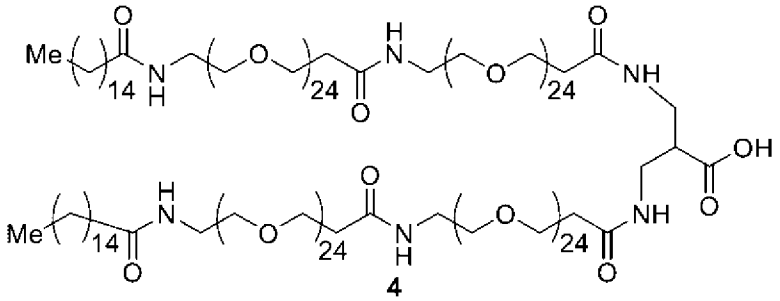


【0681】 使化合物**1** (0.265 g，0.105 mmol)及COMU (0.0542 g，0.735 mmol)溶於DCM (5 mL)中且添加NEt_3 (0.1 mL，0.74 mmol)。將所得溶液攪拌10分鐘。在10分鐘後，將化合物**2** (0.010 g，0.049 mmol)添加至反應。將所得混合物攪拌隔夜且藉由LC-MS檢查。將反應混合物用5 mL水淬滅且攪拌5分鐘。分離各層，且將有機層用飽和$NaHCO_3$(水溶液) (2×20 mL)、水(20 mL)、2 M HCl (水溶液) (2×20 mL)、飽和NaCl (水溶

液) (20 mL)洗滌，經Na_2SO_4乾燥，且濃縮，得到呈蠟狀灰白色固體狀之粗化合物**3** (約350 mg)。粗化合物**3**藉由矽膠層析法DCM中2-20% MeOH純化。將含有化合物之溶離份**3**合併，得到89 mg (36%產率)灰白色固體。

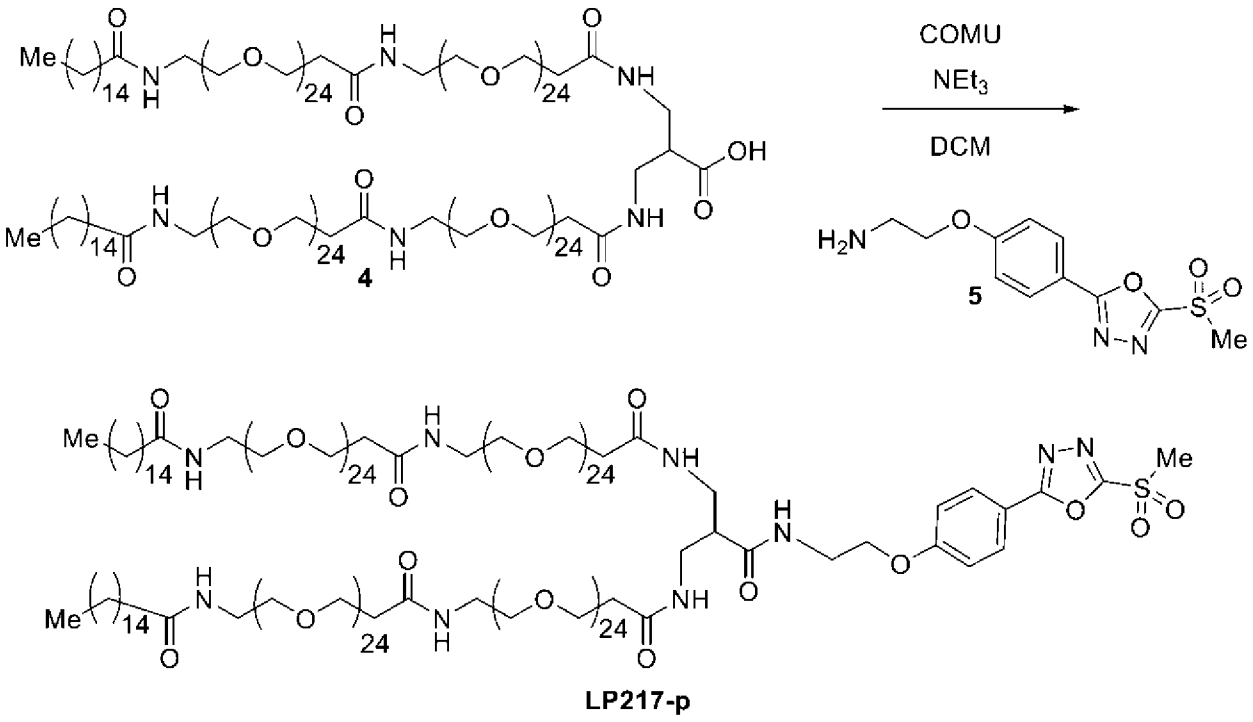


3



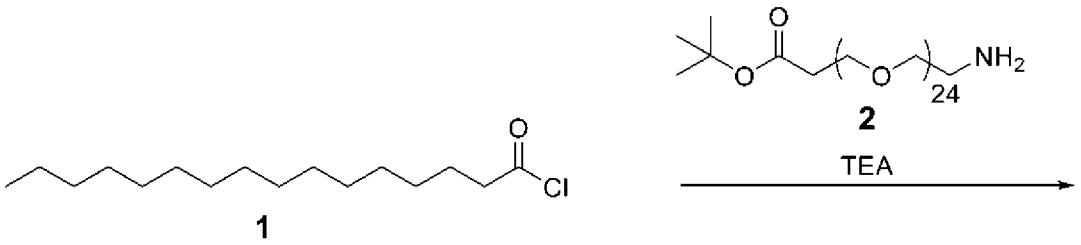
4

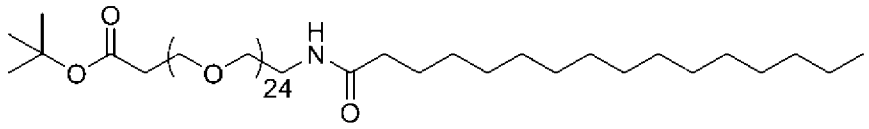
【0682】使化合物**3** (0.089 g，0.017 mmol)溶於1:1 MeOH/THF (5 mL)中且添加LiOH (0.042 g，1.74 mmol)及水(180 μL，9.85 mmol)。將反應混合物在室溫下攪拌隔夜且藉由LC-MS檢查。蒸發掉有機物且將所得懸浮液用大約10 mL水稀釋。將懸浮液用3 M HCl (水溶液)酸化至pH 1並用DCM (3×25 mL)萃取。將合併之有機層用鹽水洗滌，經Na_2SO_4乾燥，濃縮，且真空乾燥，得到81 mg (91%產率)呈灰白色固體狀之化合物**4**。產物未經進一步純化即使用。



【0683】 使化合物**4** (0.081 g，0.016 mmol)及COMU (0.010 g，0.024 mmol)溶於DCM (1 mL)中且添加NEt_3 (44.2 μL，0.32 mmol)。將所得溶液攪拌10分鐘。在另一小瓶中，使化合物**5**溶於DCM (0.3 mL)中。在10分鐘後，將化合物**5**溶液添加至含有化合物**4**之溶液。將所得混合物攪拌2小時。將反應混合物用1 M HCl (水溶液) (10 mL)淬滅且將有機層用10 mL DCM稀釋。分離各層，且有機層用1M HCl (水溶液) (20 mL)、飽和$NaHCO_3$ (水溶液) (1×20 mL)、飽和NaCl (水溶液) (1×20 mL)進一步洗滌，經Na_2SO_4乾燥，濃縮，且真空乾燥，得到94 mg呈灰白色固體狀之粗**LP217-p**。粗產物藉由矽膠層析法用DCM中0-20% MeOH來純化。將含有純**LP217-p**之溶離份合併且濃縮，得到24 mg (28%產率)。

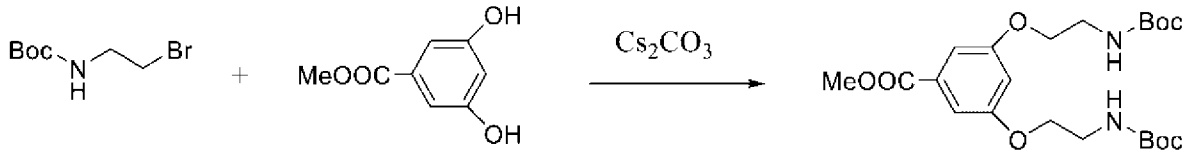
【0684】 **合成LP220-p**





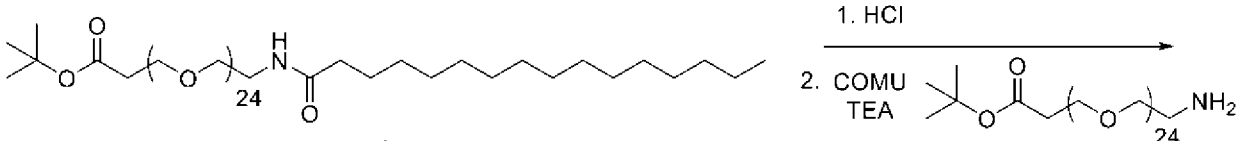
3

【0685】向化合物**2** (3.3381 mmol，4.0140 g)及TEA (4.0058 mmol，0.4054 g，0.558 mL)於DCM中之溶液添加化合物**1** (3.5050 mmol，0.9634 g，1.059 mL)。將反應混合物攪拌直至藉由LC-MS觀測到化合物**2**完全轉化。殘餘物藉由標準處理(1N HCl、飽和$NaHCO_3$、鹽水洗滌，且經Na_2SO_4乾燥)來純化。化合物**3**未經進一步純化即使用。產量：4.5 g。

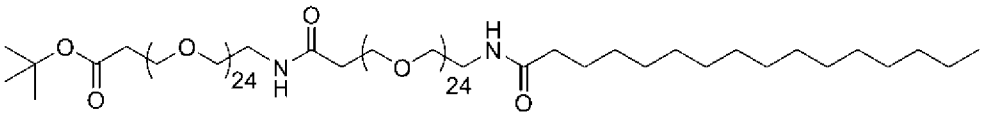


4 **5** **6**

【0686】在室溫下向化合物**5** (29.7354 mmol，5.0000 g)於50 mL DMF中之溶液添加化合物**4** (65.4178 mmol，13.7502 g)及Cs_2CO_3 (118.9414 mmol，38.7535 g)。將反應混合物在60℃下攪拌隔夜。反應混合物藉由標準處理(1N NaOH、鹽水洗滌，且經Na_2SO_4乾燥)來純化。化合物**6**藉由矽膠層析法來純化且濃縮，得到6.0 g。



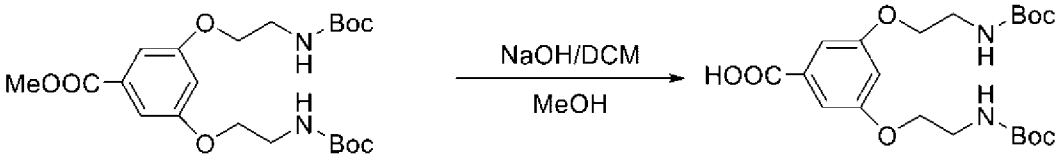
3 **2**



7

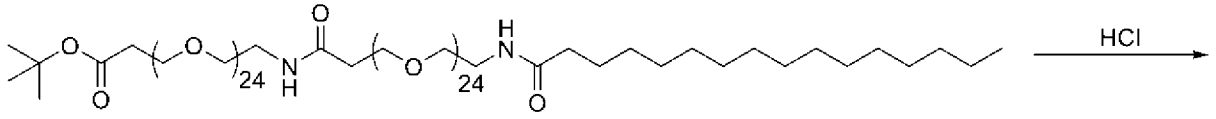
【0687】使化合物**3** (1.0500 mmol，1.5129 g)溶於8 mL 4N HCl/二噁烷中，且在室溫下攪拌5小時。在移除HCl後，添加含化合物**2** (1.0000 mmol，1.2020 g)、COMU (1.2000 mmol，0.5139 g)及TEA (3.0000

mmol，0.3035 g，0.418 mL)之DCM。將反應混合物攪拌直至藉由TLC觀測到化合物**2**完全轉化。殘餘物藉由標準處理(1N HCl、飽和$NaHCO_3$、鹽水洗滌，且經Na_2SO_4乾燥)來純化。化合物**7**藉由矽膠層析法來純化且濃縮，得到2.28 g。

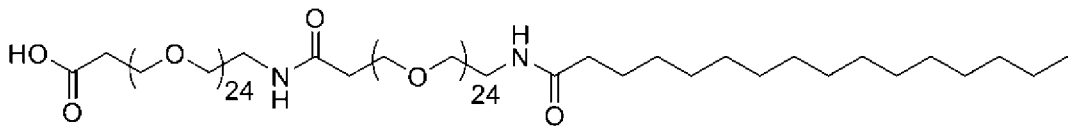


6 **8**

【0688】 在室溫下向NaOH於5 mL MeOH中之溶液添加含化合物**6** (1.0000 mmol，0.4545 g)之20 mL DCM。將反應混合物在室溫下攪拌隔夜。反應混合物酸化至pH 3。產物經Na_2SO_4乾燥，得到0.200 g化合物**8**，其未經進一步純化即使用。

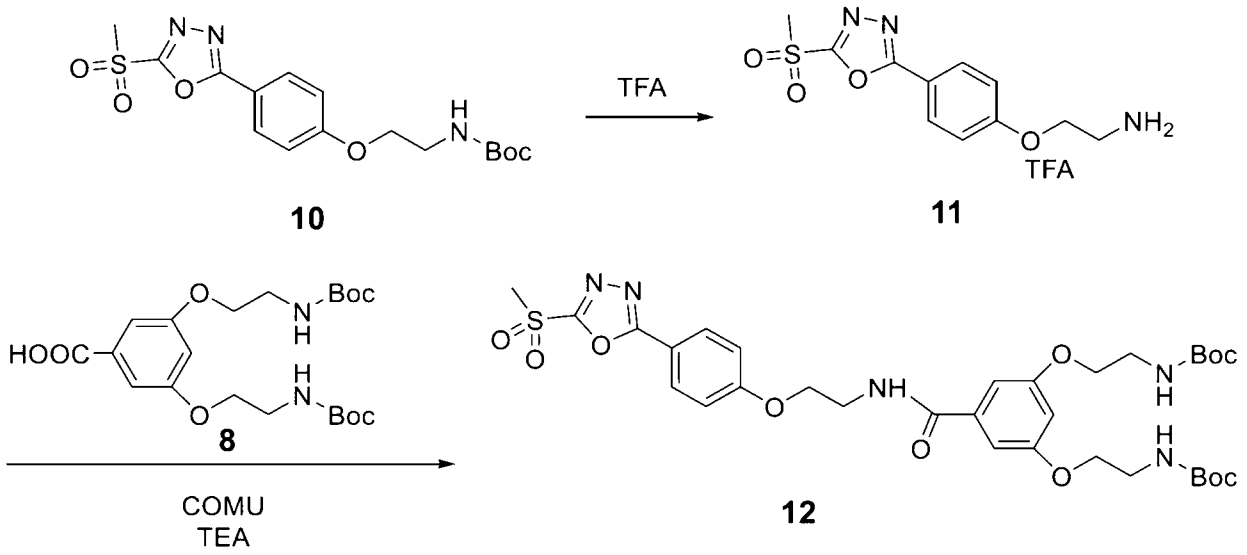


7

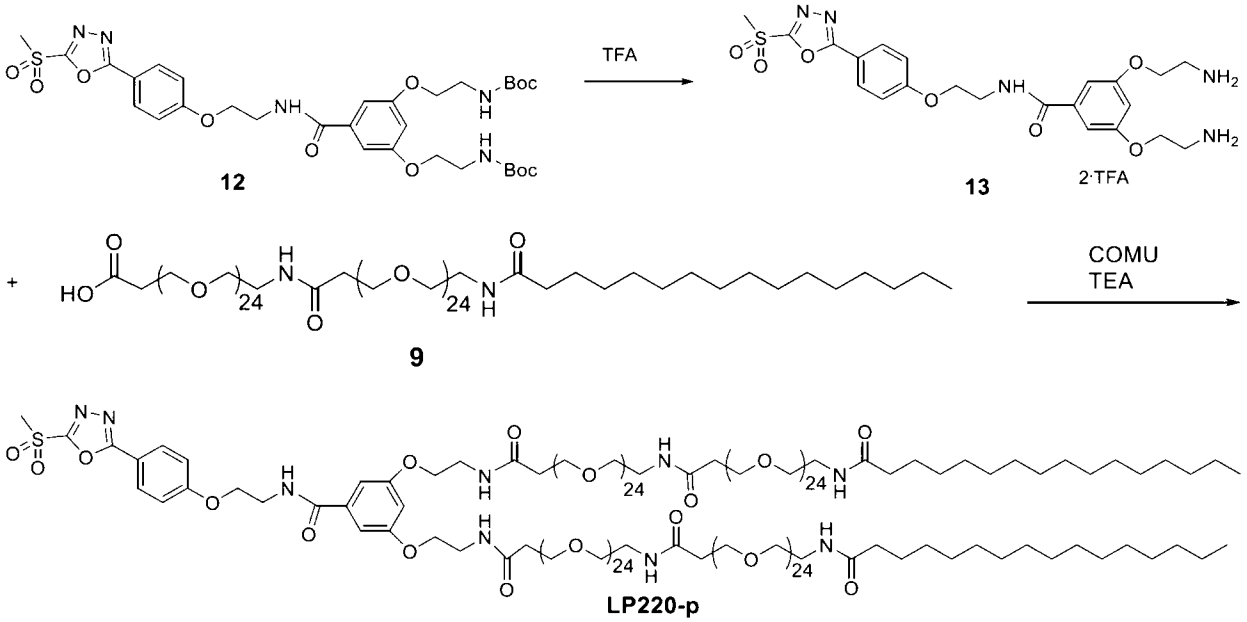


9

【0689】 在室溫下使化合物**7** (0.7707 mmol，1.9800 g)溶於10 mL 4N HCl/二噁烷中，隔夜。移除溶劑且產物置於真空下2小時，得到1.50 g化合物**9**，其未經進一步純化即使用。



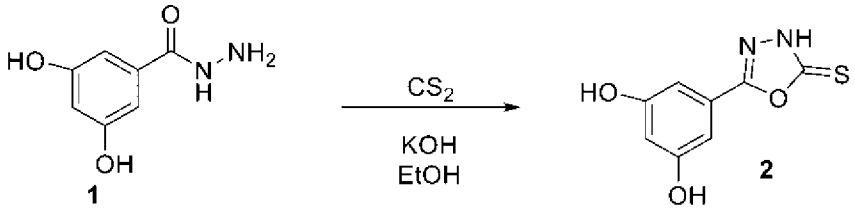
【0690】使化合物**10** (0.0782 mmol，0.0300 g)溶於1 mL DCM中，且添加0.5 mL TFA且將混合物攪拌2小時。移除TFA且將化合物**11**真空乾燥1小時。使化合物**8** (0.0822 mmol，0.0362 g)、COMU (0.0939 mmol，0.0402 g)及TEA (0.2347 mmol，0.0237 g，0.033 mL)溶於5 mL DCM中，歷時5分鐘，接著添加含化合物**11**之DCM。將反應混合物攪拌直至藉由TLC觀測到化合物**11**完全轉化。化合物**12**藉由矽膠層析法來純化，得到0.0135 g。



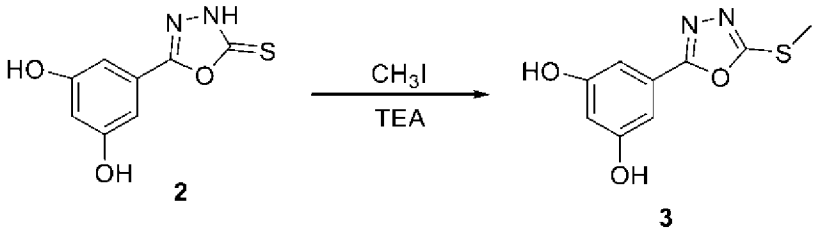
【0691】使化合物**12** (0.0191 mmol，0.0135 g)溶於1 mL DCM

中，添加0.5 mL TFA且將混合物攪拌1小時。移除TFA且將化合物**13**真空乾燥1小時。使化合物**9** (0.0398 mmol，0.1000 g)、COMU (0.0477 mmol，0.0204 g)及TEA (0.1194 mmol，0.0121 g，0.017 mL)溶於3 mL DCM中，歷時5分鐘，接著添加含化合物**13**之DCM。將混合物攪拌直至藉由TLC觀測到化合物**13**完全轉化。**LP220-p**藉由矽膠層析法來純化，得到0.0400 g。

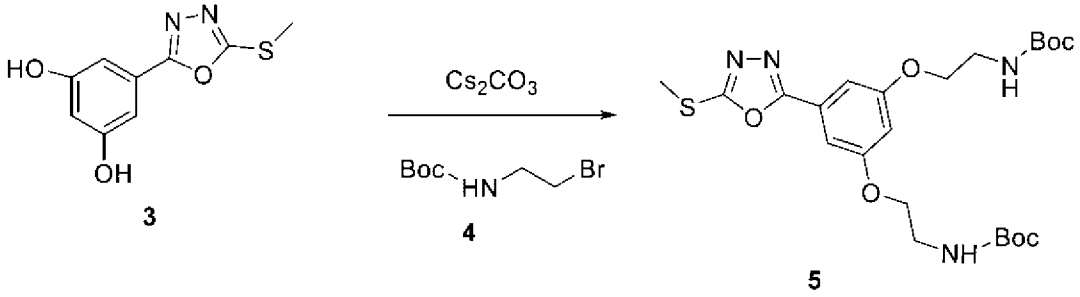
【0692】 **合成LP221-p**



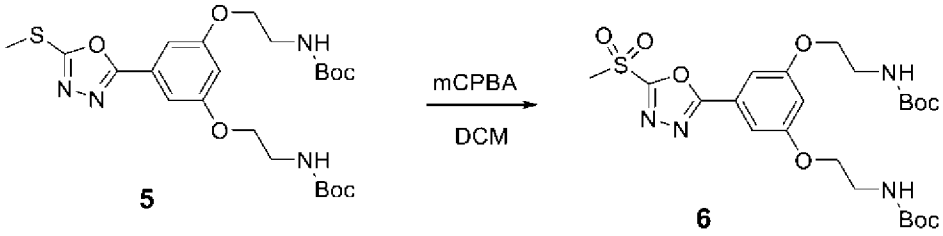
【0693】 將二硫化碳(75.0045 mmol，5.7101 g，4.532 mL)緩慢添加至化合物**1** (25 mmol，4.20 g)及氫氧化鉀於EtOH (150 mL)中之溶液。使反應混合物回流24小時。完成之後，在減壓下蒸發溶劑且使殘餘物溶於水中。使用HCl將水溶液酸化至pH 2。將產物用EtOAc萃取，且藉由矽膠層析法使用EtOAc/己烷來純化。在純化後，3.5 g獲得呈橙色固體狀之化合物**2**。



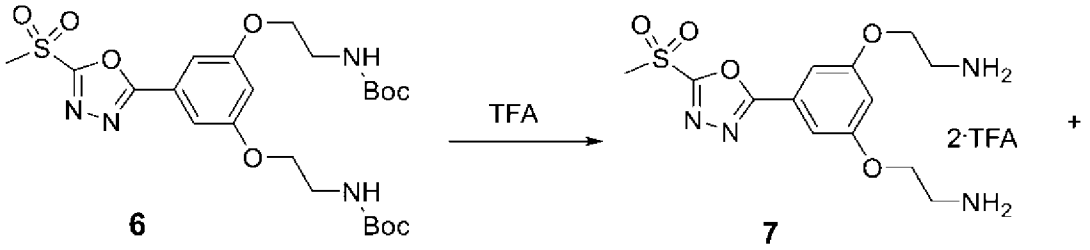
【0694】 使含化合物**2** (10.0000 mmol，2.1021 g)之THF (40 mL)冷卻至0℃。添加CH_3I (11.0000 mmol，1.5609 g，0.685 mL)，接著添加TEA (10.1000 mmol，1.0221 g，1.408 mL)。將反應混合物攪拌4小時。完成之後，溶劑藉由NH_4Cl淬滅。有機相用鹽水洗滌，乾燥，且藉由矽膠層析法來純化，得到1.5 g化合物**3**。

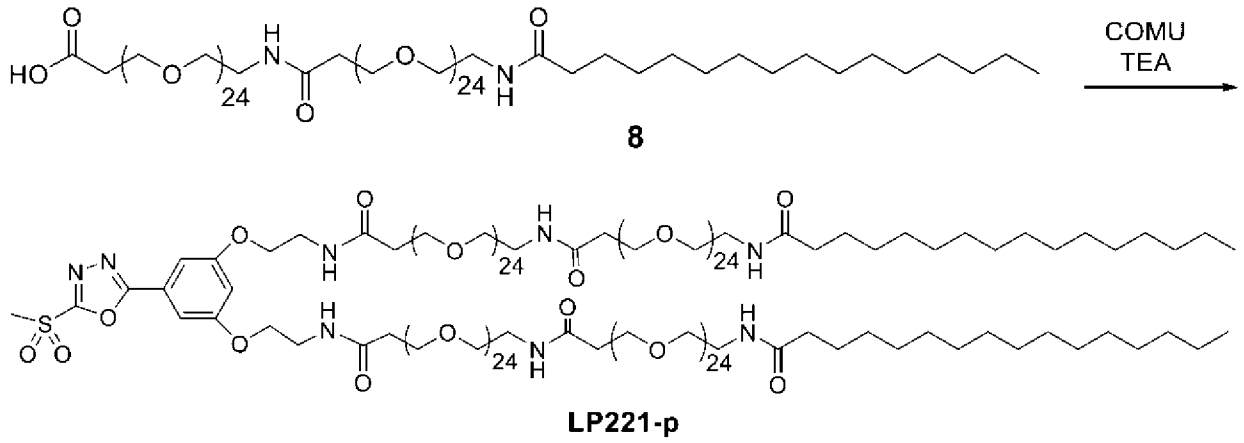


【0695】在室溫下向化合物**4** (6.8679 mmol，1.5391 g)於10 mL DMF中之溶液添加化合物**3** (3.1218 mmol，0.7000 g)及Cs_2CO_3 (9.3654 mmol，3.0514 g)。將反應混合物在60℃下攪拌隔夜。反應混合物藉由標準處理(1N NaOH、鹽水洗滌，且經Na_2SO_4乾燥)及矽膠層析法來純化，得到1.0 g化合物**5**。



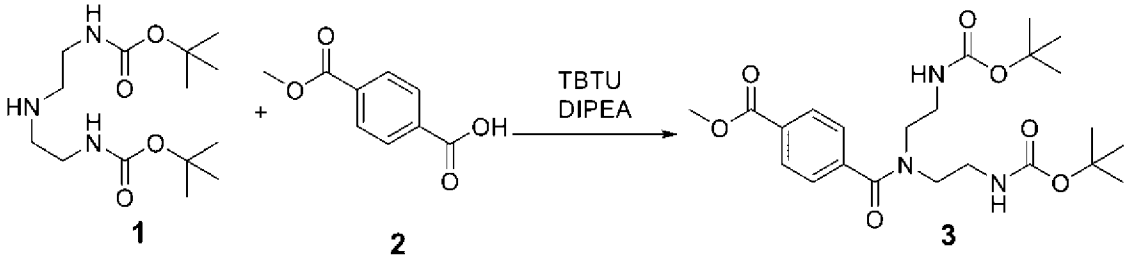
【0696】將化合物**5** (0.2000 mmol，0.1021 g)及mCPBA (0.9998 mmol，0.1725 g)於DCM中之混合物攪拌直至藉由TLC觀測到mCPBA完全轉化。反應混合物藉由標準處理(1N HCl、飽和$NaHCO_3$、鹽水洗滌，且經Na_2SO_4乾燥)及矽膠層析法來純化，得到0.05 g化合物**6**。





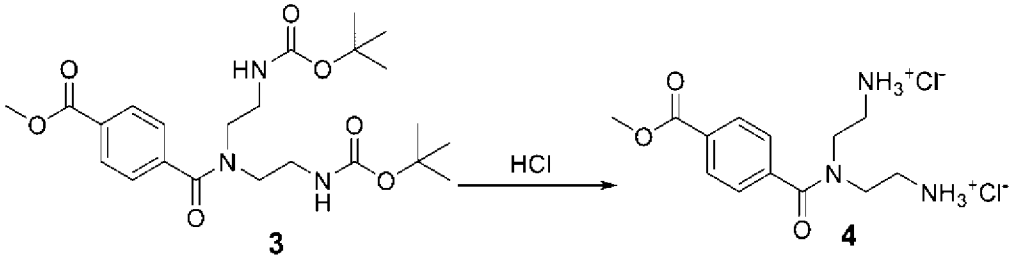
【0697】 使化合物6 (0.0191 mmol，0.0104 g)溶於1 mL DCM中，且添加0.5 mL TFA且將混合物攪拌1小時。移除所有TFA，且將化合物**7**真空乾燥1小時。使化合物**8** (0.0398 mmol，0.1000 g)、COMU (0.0477 mmol，0.0204 g)及TEA (0.1990 mmol，0.0201 g，0.028 mL)溶於3 mL DCM中，歷時5分鐘，接著添加含化合物**7**之DCM。將反應混合物攪拌直至藉由TLC觀測到化合物**7**完全轉化。殘餘物藉由矽膠層析法來純化，得到0.016 g **LP221-p**。

【0698】 **合成LP223-p**

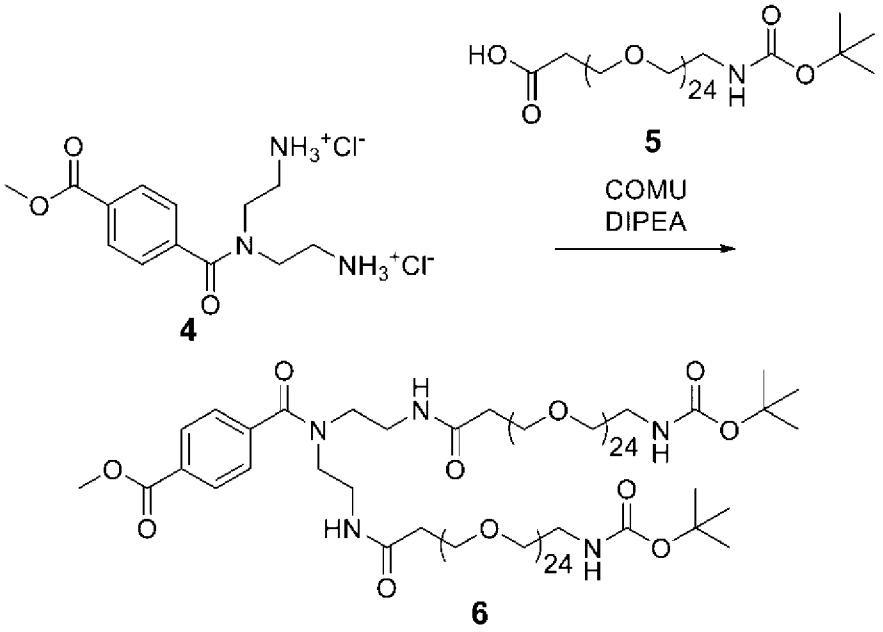


【0699】 在室溫下向化合物**1** (741 mg，2.442 mmol，1.0當量)、化合物**2** (528 mg，2.930 mmol，1.20當量)及二異丙基乙胺(1.276 mL，7.327 mmol，3.0當量)於無水DMF (10 mL)中之溶液添加TBTU (980 mg，3.052 mmol，1.25當量)。反應混合物保持在室溫下2小時。將有機相用飽和碳酸氫鈉水溶液(10 mL)淬滅且用EtOAc (2×10 mL)萃取。將有機相合併，經無水Na_2SO_4乾燥，且濃縮。化合物**3**藉由CombiFlash®來純

化且用己烷中40-80% EtOAc溶離。LC-MS: [M+H]+, 計算值466.25, 實驗值466.72。

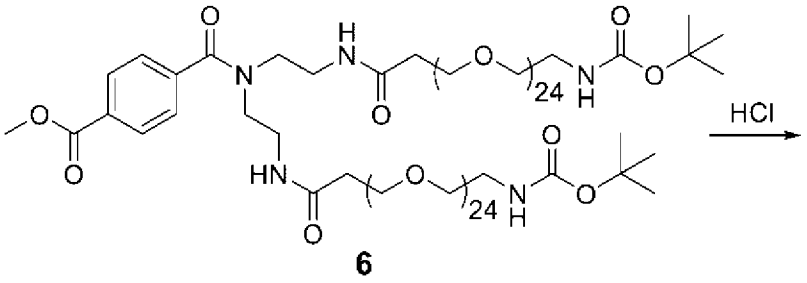


【0700】 在室溫下向化合物**3** (990 mg，2.126 mmol，1.0當量)添加4M HCl之二噁烷溶液(6.38 mL，25.518 mmol，12當量)。反應混合物保持在室溫下1小時且接著濃縮。化合物**4**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+H]/+ 計算值266.14, 實驗值266.43。

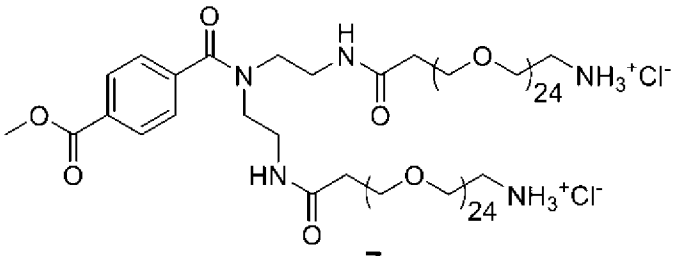


【0701】 在室溫下向化合物**4** (100 mg，0.295 mmol，1.0當量)、化合物**5** (755 mg，0.606 mmol，2.05當量)及二異丙基乙胺(0.257 mL，0.025 mmol，5.0當量)於無水DCM (10 mL)中之溶液添加COMU (278 mg，0.650 mmol，2.20當量)。反應混合物保持在室溫下1小時。將反應混合物用飽和氯化銨(10 mL)及碳酸氫鈉水溶液(10 mL)洗滌。有機相經無水Na2SO4乾燥且濃縮。化合物**6**藉由CombiFlash®用DCM中8-18%

MeOH溶離來純化。LC-MS: [M+3H]/3, 計算值907.86, 實驗值907.61。

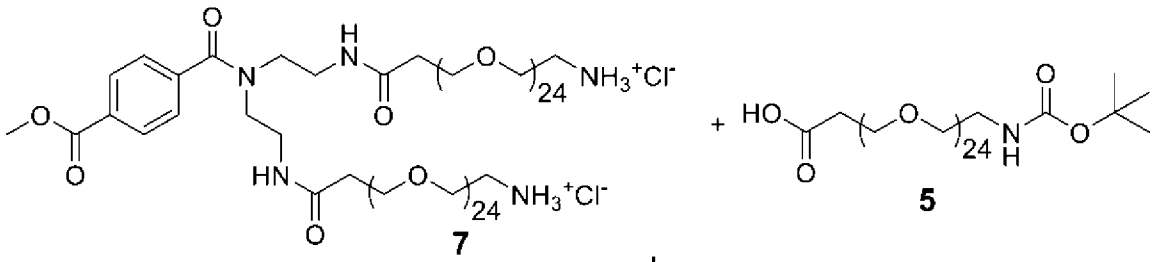


6



7

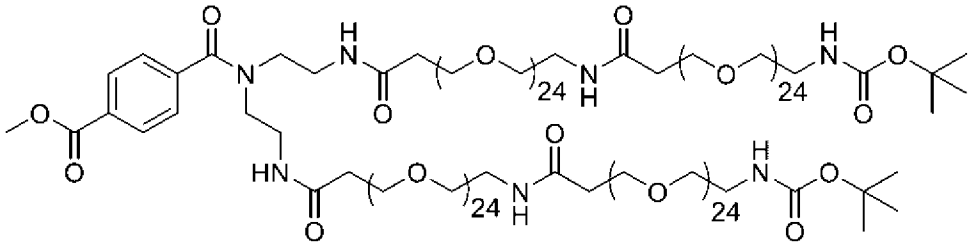
【0702】 在室溫下向化合物**6** (550 mg，0.202 mmol，1.0當量)添加4M HCl之二噁烷溶液(1.01 mL，4.040 mmol，20當量)。反應混合物保持在室溫下1小時且接著濃縮。化合物**7**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+H]/+ 計算值841.16, 實驗值842.20。



7

5

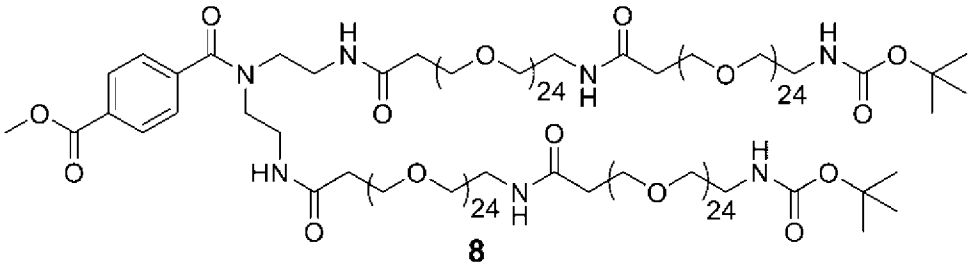




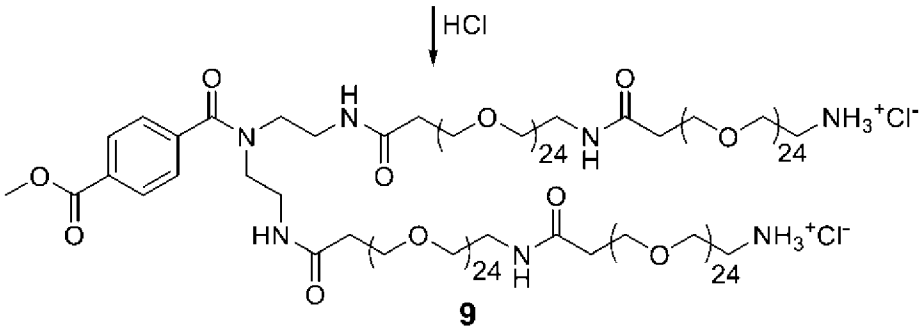
8

【0703】 在室溫下向化合物**1** (490 mg，0.188 mmol，1.0當量)、化合物**5** (482 mg，0.387 mmol，2.05當量)及二異丙基乙胺(0.164 mL，

0.944 mmol，5.0當量)於無水DCM (10 mL)中之溶液添加COMU (177 mg，0.415 mmol，2.20當量)。反應混合物保持在室溫下1小時。將反應混合物用飽和氯化銨 (10 mL)及碳酸氫鈉水溶液(10 mL)洗滌。有機相經無水Na_2SO_4乾燥且濃縮。化合物**8**藉由CombiFlash®用DCM中8-20% MeOH溶離來純化。LC-MS: [M+5H]/5, 計算值960.18, 實驗值961.74。

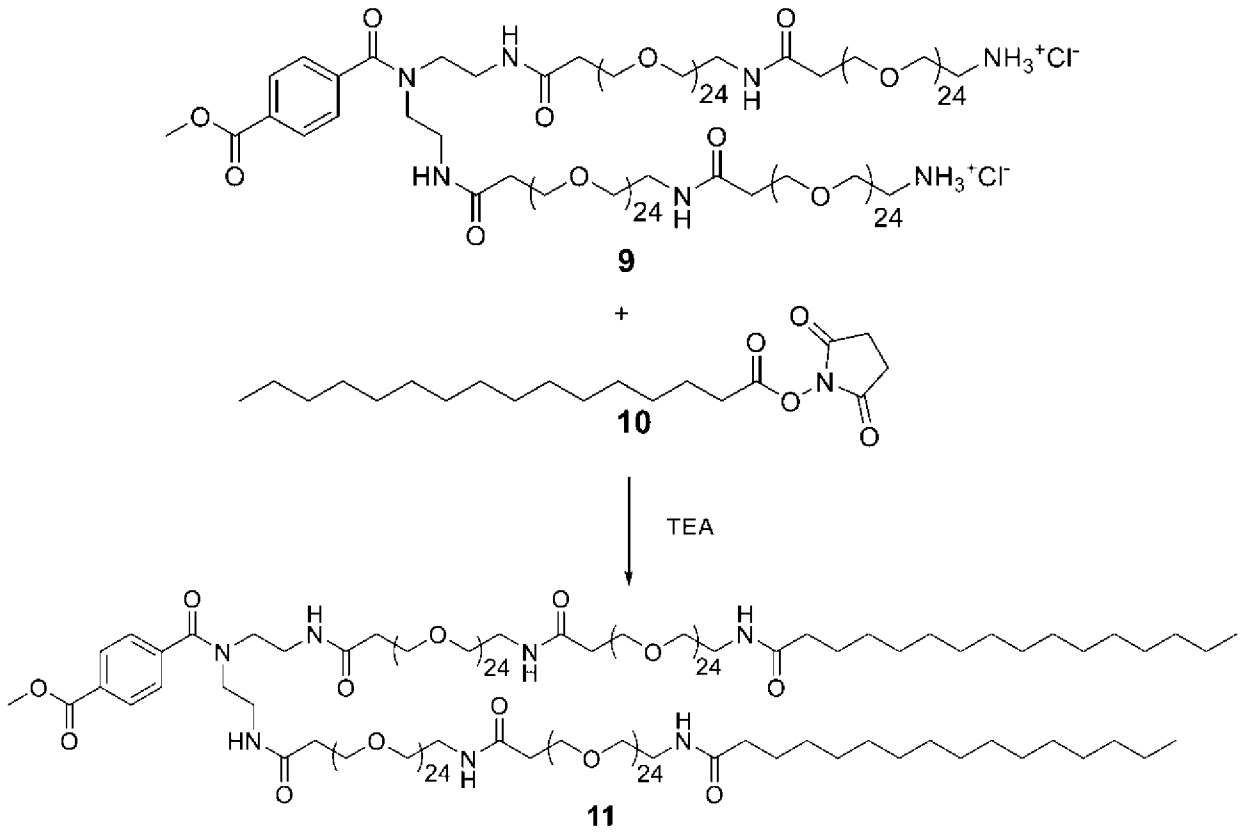


8

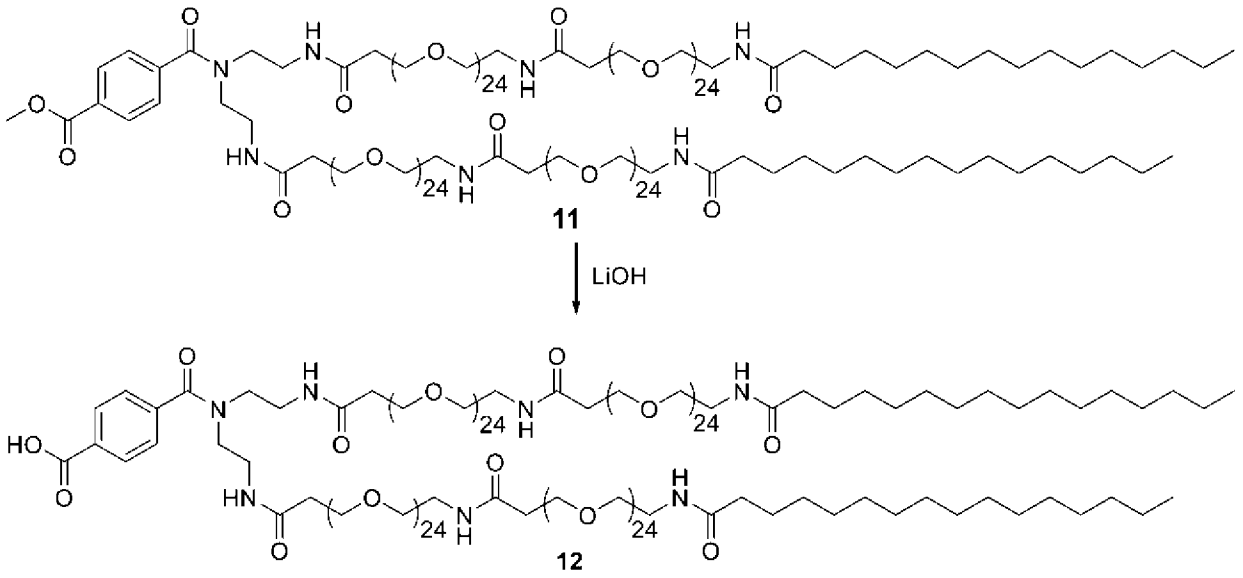


9

【0704】 在室溫下向化合物**1** (670 mg，0.134 mmol，1.0當量)添加4M HCl之二噁烷溶液(0.673 mL，2.691 mmol，20當量)。反應混合物保持在室溫下1小時且接著濃縮。化合物**9**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+5H]/5 計算值956.16, 實驗值957.66。

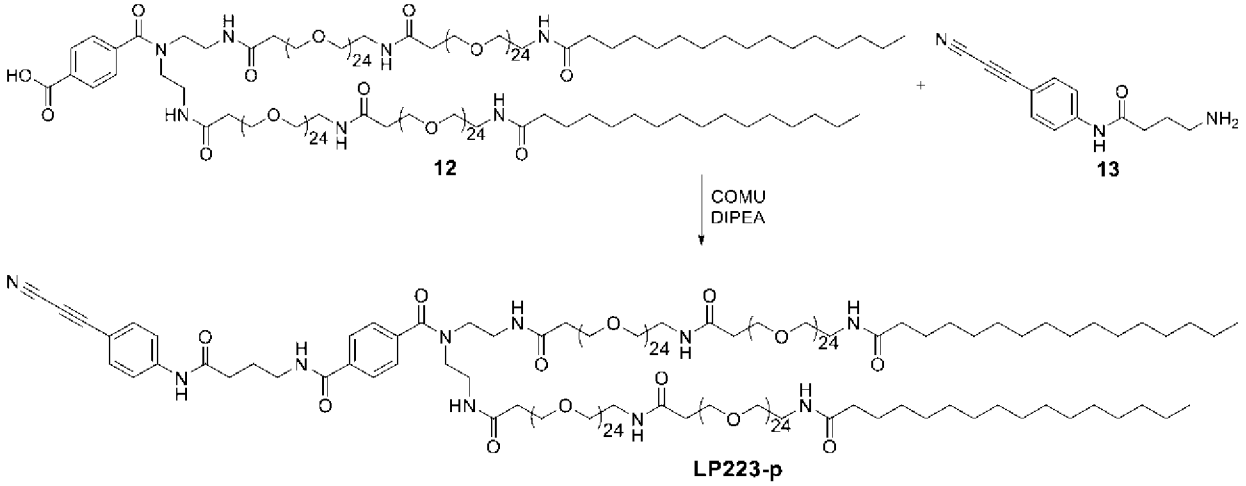


【0705】 在室溫下向化合物**9** (650 mg，0.134 mmol，1.0當量)及化合物**10** (106 mg，0.301 mmol，2.25當量)於無水DCM (20 mL)中之溶液添加TEA (0.095 mL，0.669 mmol，5.0當量)。反應混合物保持在室溫下2小時且將溶劑濃縮。化合物**11**藉由CombiFlash®用DCM中8-20% MeOH溶離而分離。LC-MS: [M+5H]/5計算值1051.45, 實驗值1053.44。



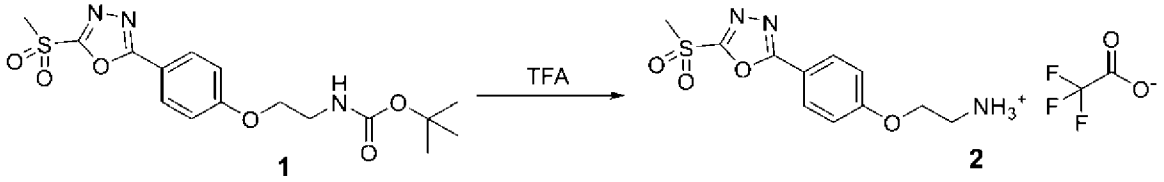
【0706】 在室溫下向化合物**11** (460 mg，0.0875 mmol，1.0當量)

於THF (5 mL)及水(5 mL)中之溶液添加LiOH (10.5 mg，0.437 mmol，5.0當量)。反應混合物保持在室溫下1小時。藉由添加HCl將反應混合物pH調至3.0並用DCM (2×10 mL)萃取。合併之有機相經無水Na_2SO_4乾燥且濃縮。化合物**12**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+5H]+/5計算值1048.65, 實驗值1050.68。



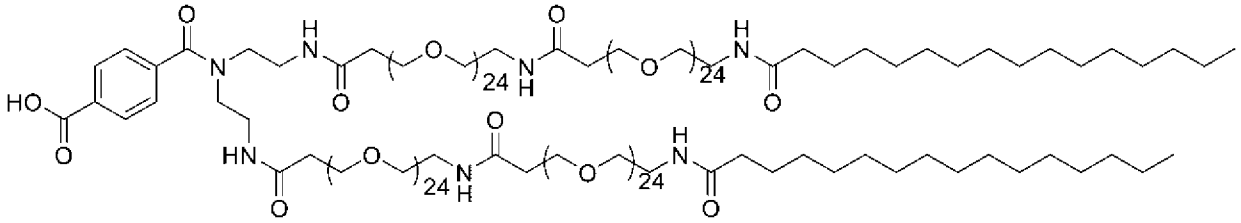
【0707】在室溫下向化合物**12** (100 mg，0.0191 mmol，1.0當量)、化合物**13** (4.8 mg，0.021 mmol，1.1當量)及二異丙基乙胺(0.010 mL，0.0572 mmol，3.0當量)於無水DCM (3 mL)中之溶液添加COMU (10.2 mg，0.0238 mmol，1.25當量)。反應混合物保持在室溫下1小時。將反應混合物用飽和碳酸氫鈉水溶液(5 mL)洗滌。有機相經無水Na_2SO_4乾燥且濃縮。**LP223-p**藉由CombiFlash®用DCM中8-20% MeOH溶離來純化。LC-MS: [M+5H]/5, 計算值1090.47, 實驗值1091.85。

【0708】**合成LP224-p**

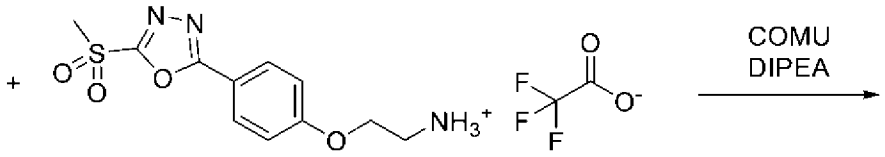


【0709】在室溫下向化合物**1** (12 mg，0.0313 mmol，1.0當量)於DCM (1 mL)中之溶液添加TFA (0.5 mL)。反應混合物保持在室溫下30分

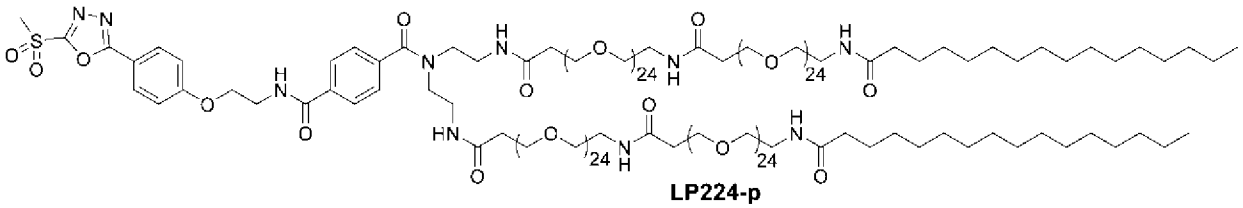
鐘且接著濃縮。化合物**2**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+H]+ 計算值284.06, 實驗值284.26。



3



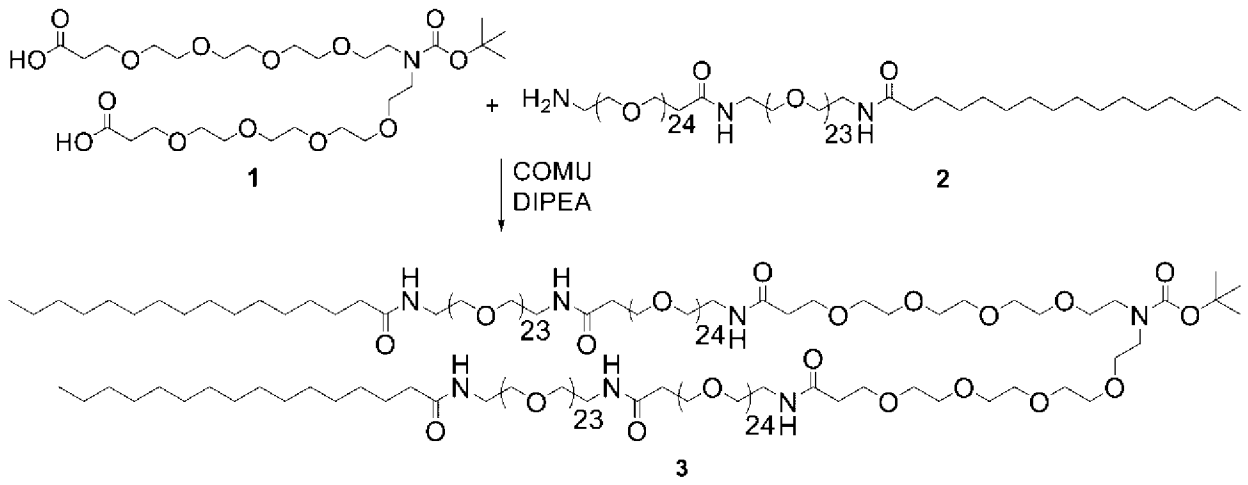
2



LP224-p

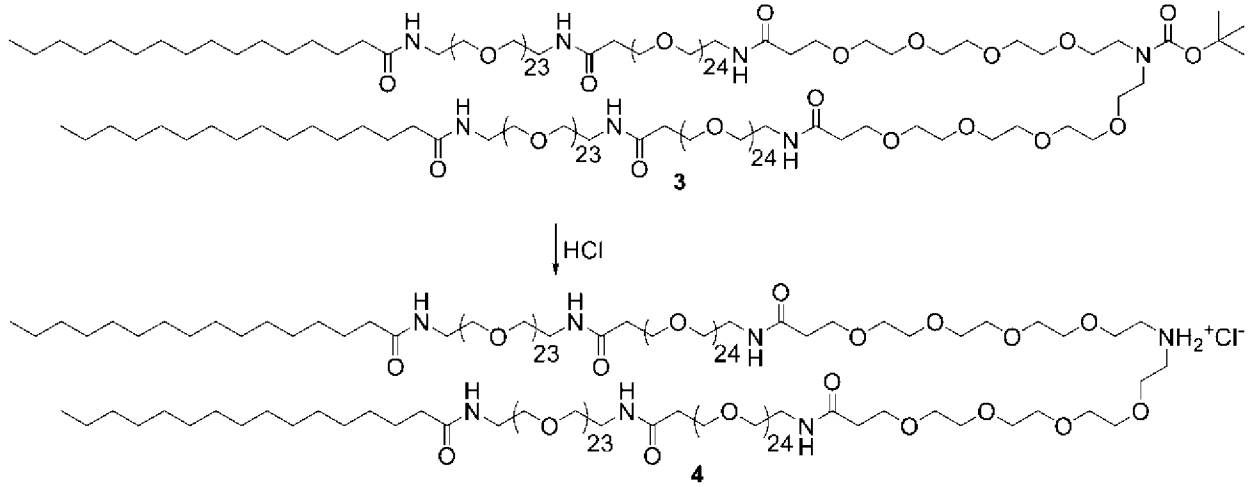
【0710】 在室溫下向化合物**3** (150 mg，0.0286 mmol，1.0當量，化合物**12**，來自**LP223-p**合成)、化合物**2** (12.5 mg，0.0315 mmol，1.1當量)及二異丙基乙胺(0.015 mL，0.0859 mmol，3.0當量)於無水DCM (3 mL)中之溶液添加COMU (15.3 mg，0.0358 mmol，1.25當量)。反應混合物保持在室溫下1小時。將反應混合物用飽和碳酸氫鈉水溶液(5 mL)洗滌。有機相經無水Na_2SO_4乾燥且濃縮。**LP224-p**藉由CombiFlash®用DCM中8-16% MeOH溶離來純化。LC-MS: [M+5H]/5, 計算值1101.66, 實驗值1103.13。

【0711】 **合成LP225-p**



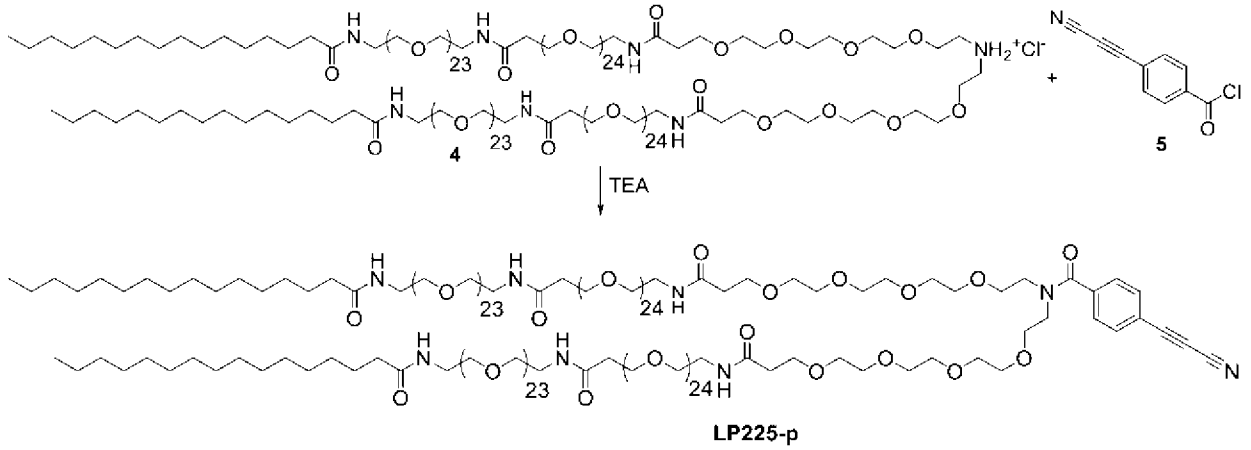
1 2 3

【0712】在室溫下向化合物**1** (80 mg，0.130 mmol，1.0當量)、化合物**2** (652 mg，0.267 mmol，2.05當量)及二異丙基乙胺(0.068 mL，0.391 mmol，3.0當量)於無水DCM (10 mL)中之溶液添加COMU (134 mg，0.312 mmol，2.40當量)。反應混合物保持在室溫下隔夜。化合物**3**藉由CombiFlash®用DCM中8-16% MeOH溶離來純化。LC-MS: [M+5H]/5, 計算值1091.89, 實驗值1093.41。



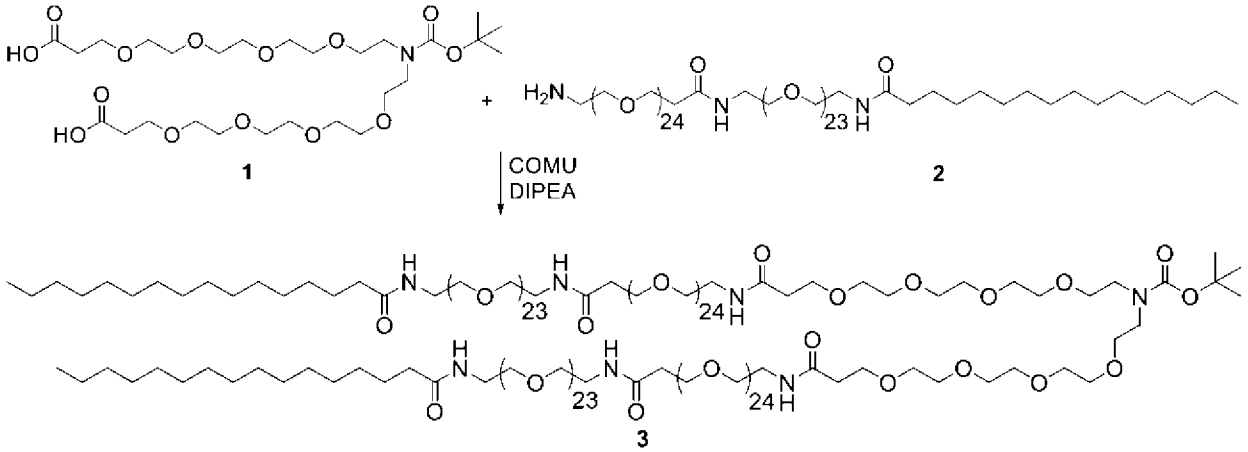
3 4

【0713】在室溫下向化合物**3** (340 mg，0.0623 mmol，1.0當量)添加4M HCl之二噁烷溶液(0.311 mL，1.245 mmol，20當量)。反應混合物保持在室溫下1小時且接著濃縮。化合物**4**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+5H]/5 計算值1071.88, 實驗值1073.36。

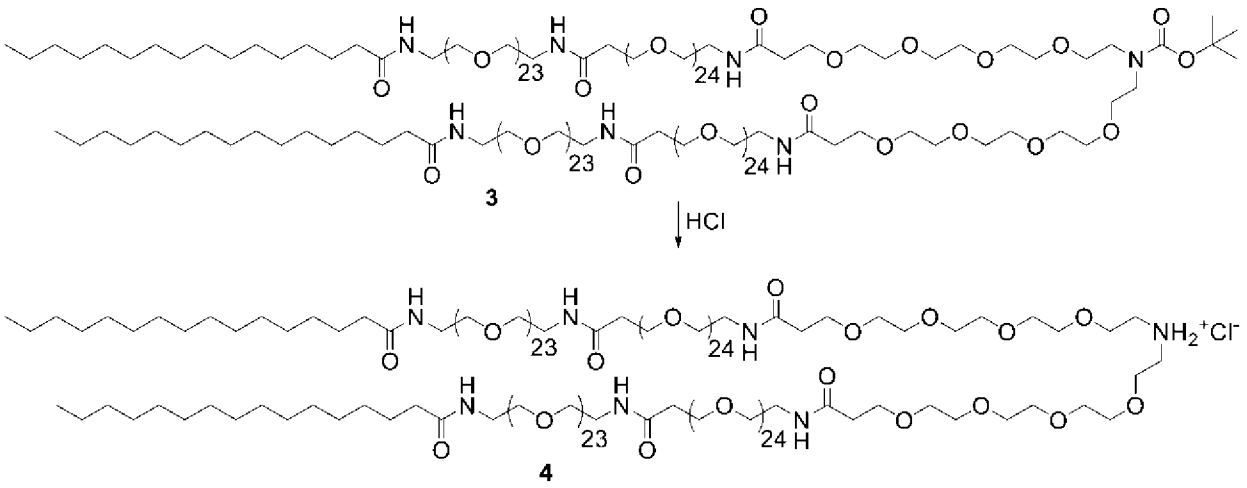


【0714】 在室溫下向化合物**4** (100 mg，0.0185 mmol，1.0當量)及化合物**5** (3.9 mg，0.0204 mmol，1.10當量)於無水DCM (2 mL)中之溶液添加TEA (0.008 mL，0.0556 mmol，3.0當量)。反應混合物保持在室溫下2小時且將溶劑濃縮。**LP225-p**藉由CombiFlash®用DCM中13-20% MeOH溶離而分離。LC-MS: [M+5H]/5計算值1102.48, 實驗值1104.45。

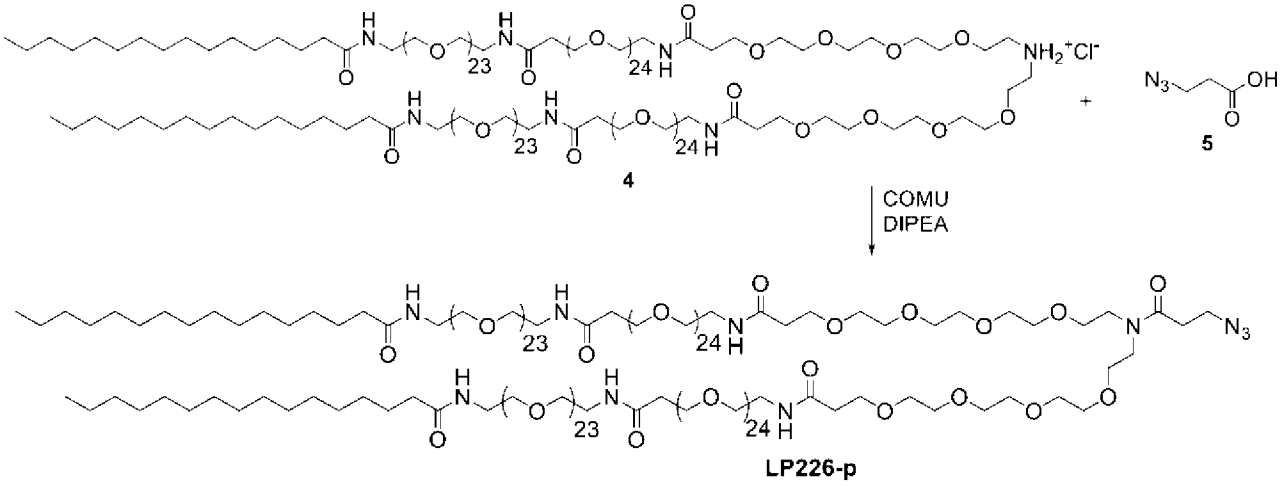
【0715】 **合成LP226-p**



【0716】 在室溫下向化合物**1** (80 mg，0.130 mmol，1.0當量)、化合物**2** (652 mg，0.267 mmol，2.05當量)及二異丙基乙胺(0.068 mL，0.391 mmol，3.0當量)於無水DCM (10 mL)中之溶液添加COMU (134 mg，0.312 mmol，2.40當量)。反應混合物保持在室溫下隔夜。化合物**3**藉由CombiFlash®用DCM中8-16% MeOH溶離來純化。LC-MS: [M+5H]/5, 計算值1091.89, 實驗值1093.41。

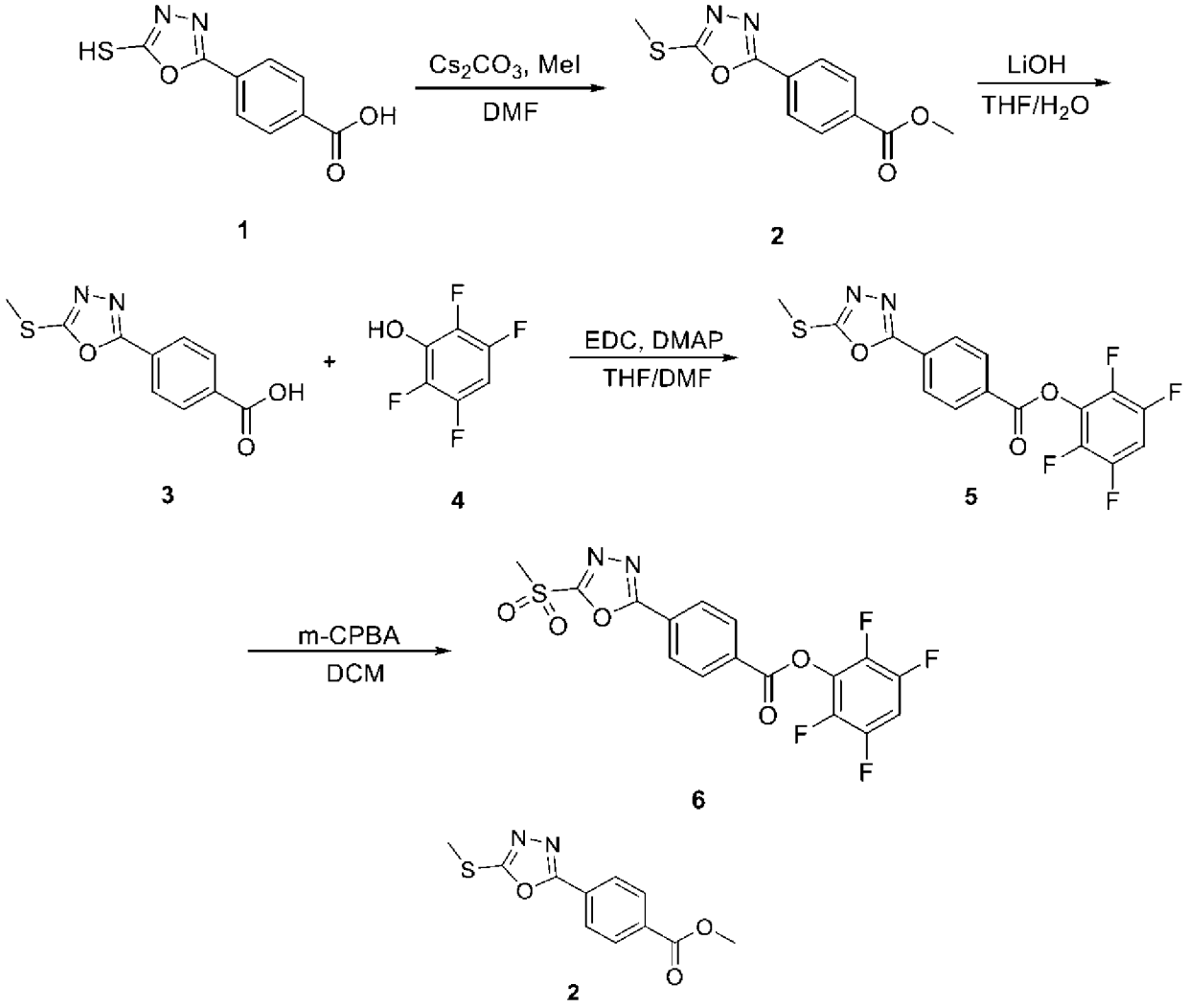


【0717】 在室溫下向化合物**3** (340 mg，0.0623 mmol，1.0當量)添加4M HCl之二噁烷溶液(0.311 mL，1.245 mmol，20當量)。反應混合物保持在室溫下1小時且接著濃縮。化合物**4**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+5H]/5 計算值1071.88, 實驗值1073.36。

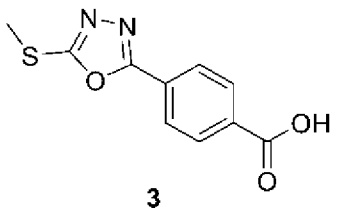


【0718】 在室溫下向化合物**4** (80 mg，0.0148 mmol，1.0當量)、化合物**5** (1.9 mg，0.0163 mmol，1.1當量)及二異丙基乙胺(0.008 mL，0.0445 mmol，3.0當量)於無水DCM (2 mL)中之溶液添加COMU (7.9 mg，0.0185 mmol，1.25當量)。反應混合物保持在室溫下1小時。將反應混合物用飽和碳酸氫鈉水溶液(5 mL)洗滌。有機相經無水Na_2SO_4乾燥且濃縮。**LP226-p**藉由CombiFlash®用DCM中15-20% MeOH溶離來純化。LC-MS: [M+5H]/5, 計算值1091.28, 實驗值1093.41。

【0719】 合成**LP238-p**

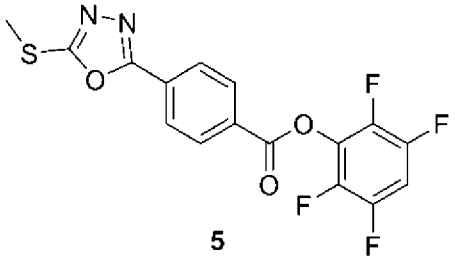


【0720】 在室溫下向化合物**1** (5.00 g，22.50 mmol)及Cs_2CO_3 (25.66 g，78.75 mmol)於無水DMF (80 mL)中之懸浮液中添加碘甲烷(4.20 mL，67.50 mmol)。將反應混合物在室溫下攪拌48小時。將反應混合物用水(200 mL)淬滅且將混合物用EtOAc (3×100 mL)萃取。將有機相合併且用水及鹽水洗滌。有機層經無水Na_2SO_4乾燥且濃縮。獲得呈淡黃色固體狀之化合物**2**，5.41 g，96%。化合物**2**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+H] 計算值251.05, 實驗值251.18。



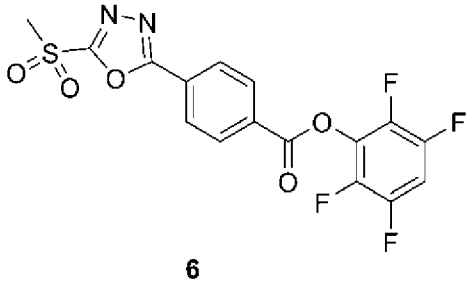
3

【0721】 在室溫下向化合物**2** (5.41 g，21.62 mmol)於THF/H2O (50 mL/50 mL)中之溶液添加LiOH (2.59 g，108.08 mmol)。將反應混合物在室溫下攪拌1小時。在真空移除THF後，藉由[C] HCl將pH調至約2。接著使用EtOAc (3×60 mL)進行萃取。將有機層合併，用鹽水洗滌，接著經無水Na_2SO_4乾燥，且濃縮。獲得呈灰白色固體狀之化合物**3**，5 g，98%。化合物**3**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+H]計算值237.03, 實驗值237.26。



5

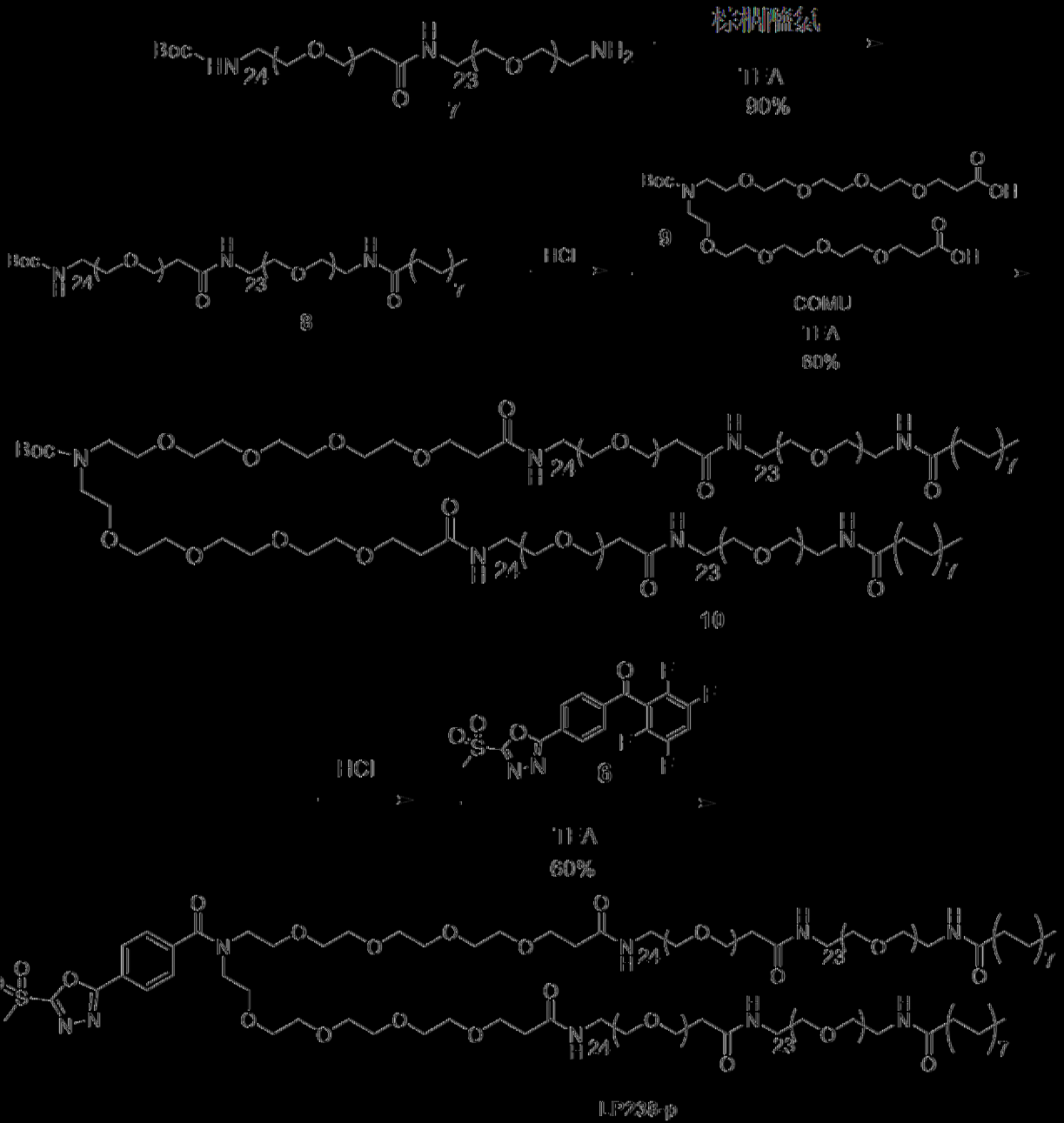
【0722】 在室溫下向化合物**3** (5.81 g，24.60 mmol)於THF/DMF (80 mL/20 mL)中之溶液添加EDC (7.07 g，36.90 mmol)、DMAP (0.30 g，2.46 mmol)及化合物**4** (6.13 g，36.90 mmol)。將反應混合物在室溫下攪拌隔夜。在真空移除溶劑後，將殘餘物裝載於120 g管柱上且化合物**5**用己烷中0-50% EtOAc溶離。獲得呈白色固體狀之化合物**5**，9.36 g，99%。LC-MS: [M+H]計算值385.03, 實驗值385.46。



6

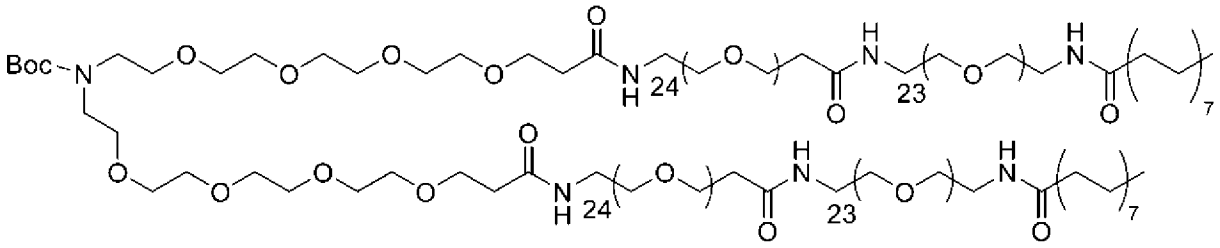
【0723】 在0℃下向化合物**5** (2.29 g，5.96 mmol)於DCM (110 mL)

中之溶液添加70% m-CPBA (5.14 g，27.79 mmol)。將反應混合物在室溫下攪拌6小時。在室溫下添加另外1.8 g m-CPBA。將反應混合物在室溫下攪拌隔夜。在過濾後，在真空下移除溶劑。殘餘物自DCM/EtOAc (50 mL/50 mL)再結晶兩次。獲得呈白色針狀晶體狀之化合物6，1.93 g，78%。LC-MS: [M+H]計算值417, 實驗值417。



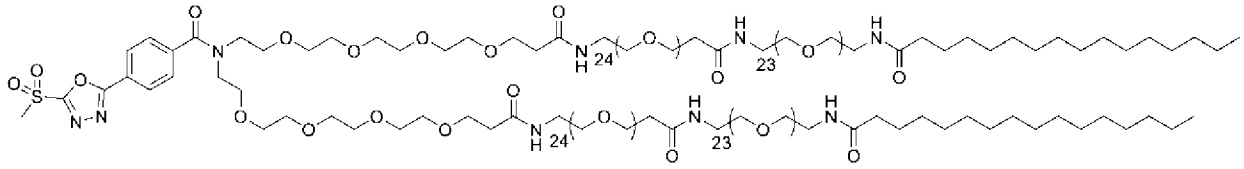
[0724] 在0℃下向化合物7 (10.00 g，4.34 mmol)於DCM (100 mL)中之溶液添加叔丁醇鉀(1.31 g，4.78 mmol)及TEA。將反應混合物在

室溫下攪拌隔夜且接著在真空下移除溶劑。殘餘物藉由矽膠層析法使用DCM中0-20% MeOH來純化。獲得呈白色固體狀之化合物**8**，10.0 g，90%。



10

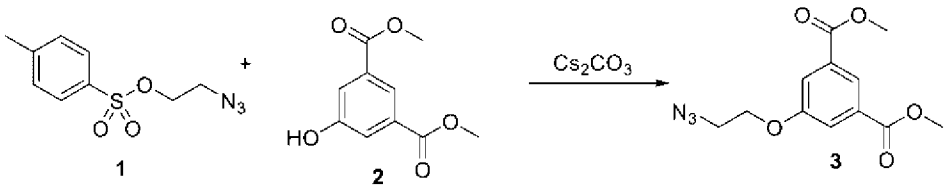
【0725】 使化合物**8** (9.56 g，3.76 mmol)溶於25 mL 4N HCl/二噁烷中且在室溫下攪拌1小時。移除所有溶劑且將殘餘物真空乾燥2小時。使殘餘物再溶於150 mL DCM中且添加TEA，接著添加化合物**9** (1.10 g，1.79 mmol)及COMU (1.69 g，3.94 mmol)。將反應混合物在室溫下攪拌隔夜。在標準處理(1N HCl、飽和碳酸氫鈉、鹽水洗滌)後，移除DCM。化合物**10**藉由120 g管柱使用DCM中0-20% MeOH來純化，獲得 5.90 g，60%。



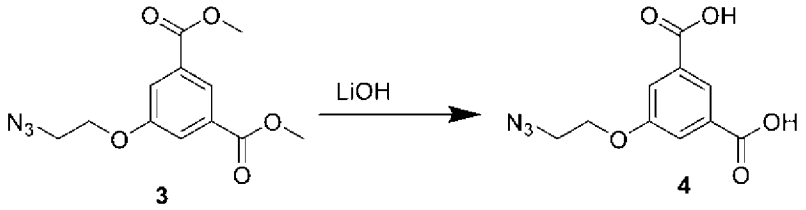
LP238-p

【0726】 使化合物**10** (4.50 g，0.82 mmol)溶於20 mL 4N HCl/二噁烷中且在室溫下攪拌1小時。移除所有溶劑且將殘餘物真空乾燥2小時。使殘餘物再溶於100 mL DCM中且TEA添加，接著添加化合物**6** (0.69 g，1.65 mmol)。將反應混合物在室溫下攪拌隔夜。藉由1H HCl洗滌移除TEA且將有機層濃縮。粗**LP238-p**藉由矽膠層析法使用DCM中0-20% MeOH來純化。獲得2.80 g (60%)呈淡黃色固體狀之**LP238-p**。

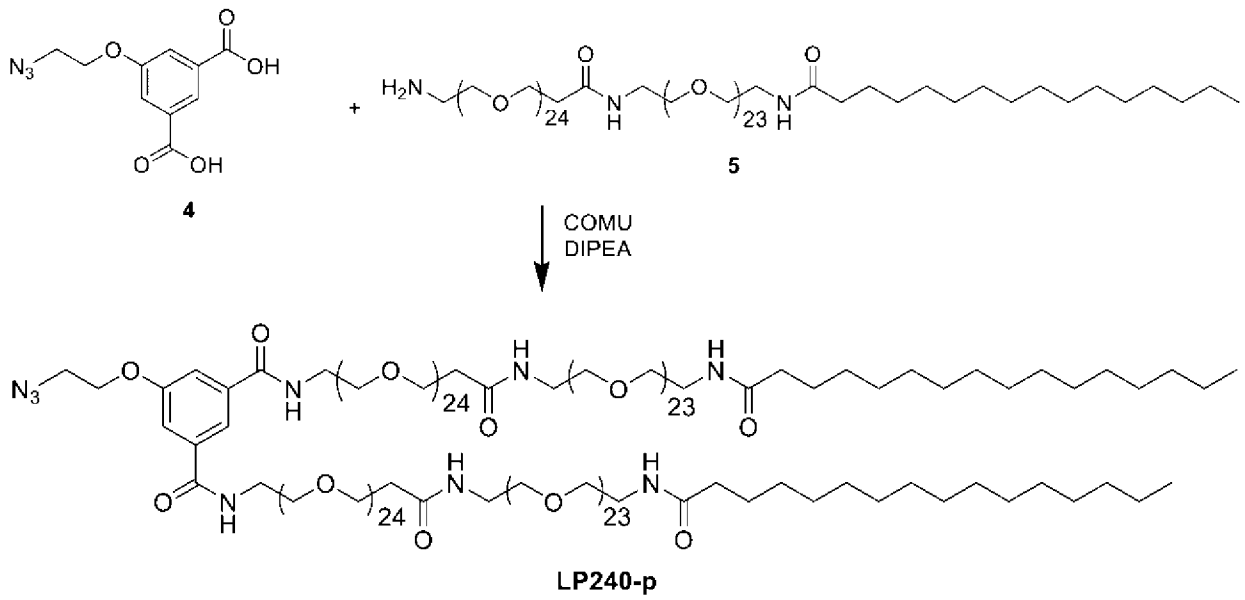
【0727】 **合成LP240-p**



【0728】在室溫下向化合物**1** (880 mg，3.647 mmol，1.0當量)及Cs_2CO_3 (1.782 g，5.471 mmol，1.50當量)於無水DMF (10 mL)中之懸浮液中添加化合物**2** (0.843 g，4.012 mmol，1.10當量)。反應混合物保持在室溫下3小時。將反應混合物用水(20 mL)淬滅且將混合物用乙酸乙酯(2×10 mL)萃取。將合併之有機相用鹽水(1×20 mL)及水(1×20 mL)洗滌。有機相經無水Na_2SO_4乾燥且濃縮。化合物**3**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+H]+ 計算值280.09, 實驗值280.39。

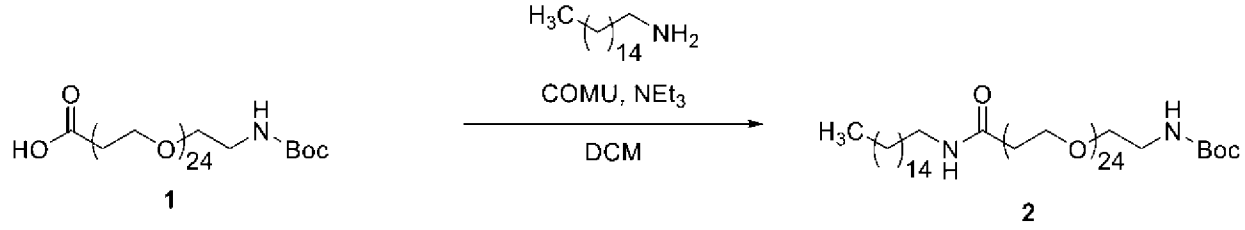


【0729】在室溫下向化合物**3** (1000 mg，3.581 mmol，1.0當量)於THF (10 mL)及水(10 mL)中之溶液添加LiOH (686 mg，19.978 mmol，8.0當量)。反應混合物保持在室溫下1小時。藉由添加HCl將反應混合物pH調至1.0。將產物用乙酸乙酯(2×10 mL)萃取。合併之有機相經無水Na_2SO_4乾燥且濃縮。化合物**4**未經進一步純化直接使用。LC-MS: [M+H]+計算值252.05, 實驗值251.31。



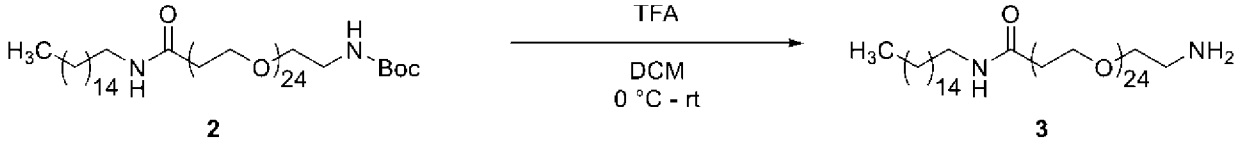
【0730】 在室溫下向化合物**4** (5 mg，0.0199 mmol，1.0當量)、化合物**5** (100 mg，0.0408 mmol，2.05當量)及二異丙基乙胺(0.017 mL，0.0995 mmol，5.0當量)於無水DCM (2 mL)中之溶液添加COMU (20.5 mg，0.0478 mmol，2.40當量)。反應混合物保持在室溫下隔夜。**LP240-p** 藉由CombiFlash®用DCM中8-20% MeOH溶離來純化。LC-MS: [M+5H]/5, 計算值1019.43, 實驗值1020.79。

【0731】 **合成LP246-p**



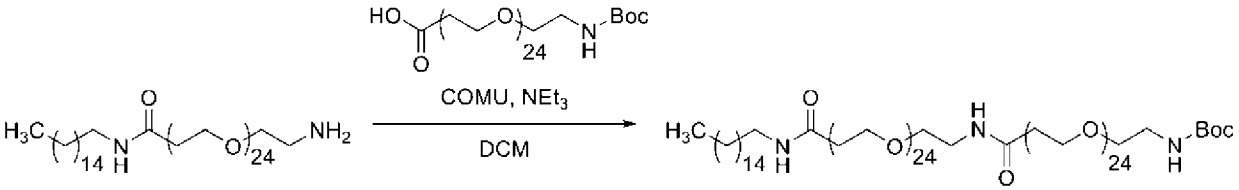
【0732】 使化合物**1** (0.5 g，0.401 mmol)及COMU (0.206 g，0.481 mmol)溶於DCM (10 mL)中且添加NEt_3 (0.168 mL，1.2 mmol)。將所得溶液攪拌10分鐘。在10分鐘後，將1-胺基十六烷(0.102 g，0.42 mmol)添加至化合物**1**及COMU之溶液。將所得溶液攪拌90分鐘且接著藉由LC-MS檢查。將反應混合物用5 mL水淬滅且攪拌5分鐘。分離各層且將有機層用1 M HCl (水溶液) (2×15 mL)、飽和$NaHCO_3$(水溶液) (2×20 mL)、水(20

mL)、飽和NaCl (水溶液) (2×20 mL)洗滌，經Na_2SO_4乾燥且濃縮，得到泡沫狀淡黃色固體。粗產物藉由矽膠層析法DCM中0-20% MeOH來純化。將化合物**2**純溶離份合併，得到515 mg (87%產率)白色固體。



2 **3**

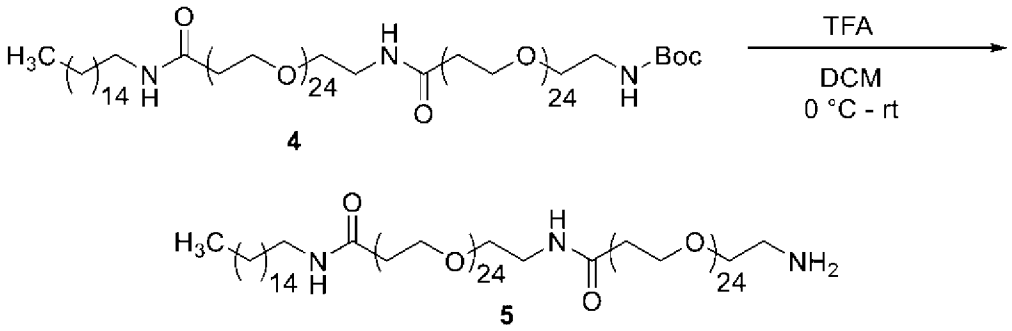
【0733】 使化合物**2** (0.515 g，0.35 mmol)溶於DCM (4 mL)中，冷卻至0℃，且添加TFA (1 mL，13 mmol)。在添加TFA後，使反應混合物升溫至室溫。將所得溶液攪拌90分鐘且接著藉由LC-MS分析。將反應混合物藉由添加飽和$NaHCO_{3(水溶液)}$淬滅直至未觀測到冒泡且攪拌5分鐘。分離各層，且將有機層用飽和$NaHCO_3$(水溶液) (2×20 mL)、水(20 mL)、飽和NaCl (水溶液) (20 mL)洗滌，經Na_2SO_4乾燥且濃縮，得到0.4674 g (97.4%產率)呈泡沫白色固體狀之化合物**3**。



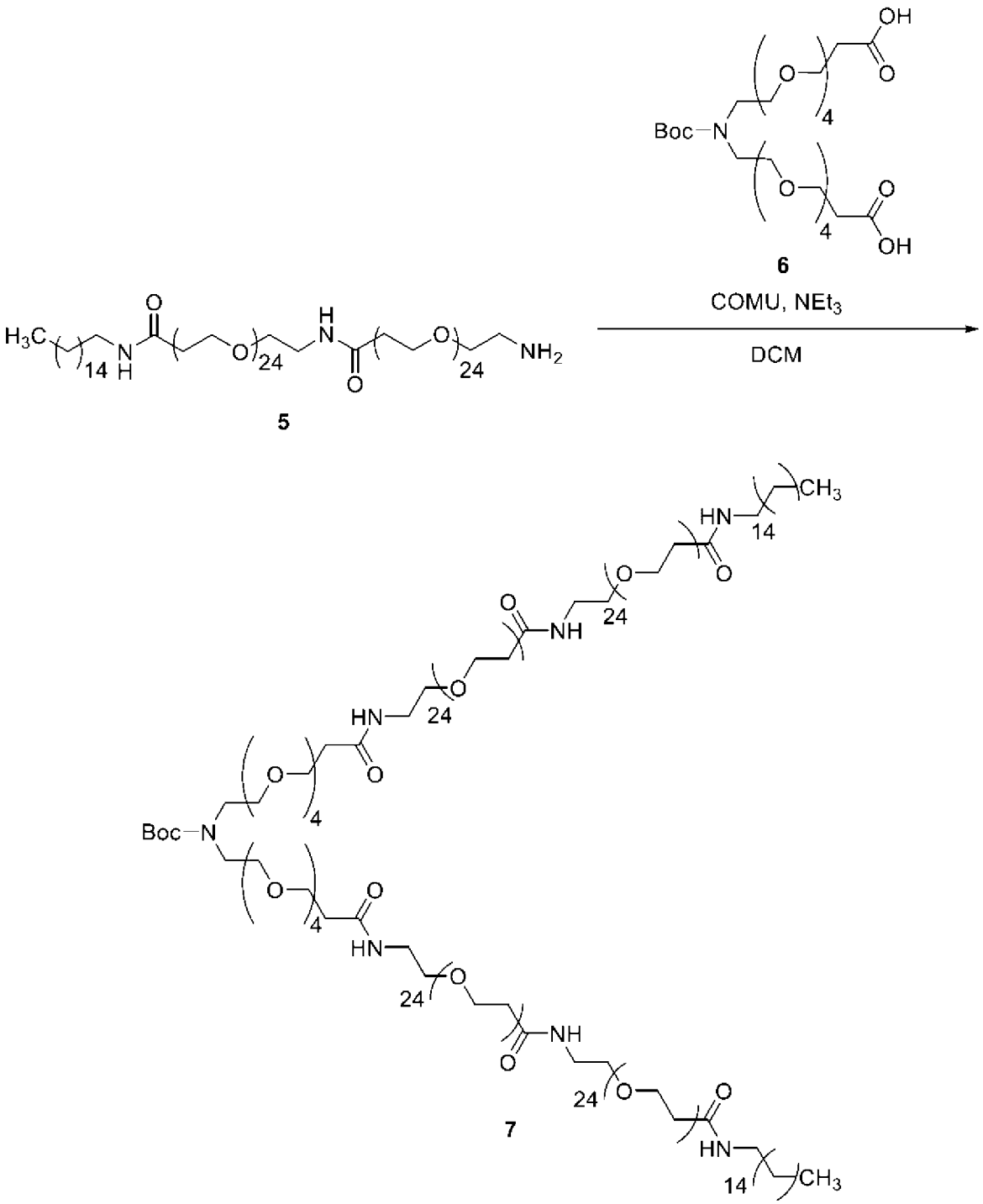
3 **4**

【0734】 使^{t}Boc-醯胺基-PEG_{24}-COOH (0.524 g，0.42 mmol)及COMU (0.180 g，0.42 mmol)溶於DCM (10 mL)中且添加NEt_3 (0.488 mL，3.5 mmol)。將所得溶液攪拌10分鐘。在10分鐘後，將化合物**3** (0.480 g，0.35 mmol)添加至tBoc-醯胺基-PEG_{24}-COOH之溶液。將所得溶液攪拌1小時且用LC-MS檢查。將反應混合物用5 mL水淬滅且攪拌5分鐘。分離各層，且將有機層用1 M HCl (1×15 mL)、飽和$NaHCO_3$(水溶液) (2×20 mL)、水(20 mL)、1 M HCl (1×20 mL)、飽和NaCl (水溶液) (2×20 mL)洗滌，經Na_2SO_4乾燥且濃縮，得到泡沫狀淡黃色固體(約900 mg)。粗產物藉由矽膠層析法用DCM中0-20% MeOH來純化。化合物**4**在

DCM中4% MeOH下溶離。將化合物**4**純溶離份合併，得到0.780 g (85.7%)淡粉色固體。

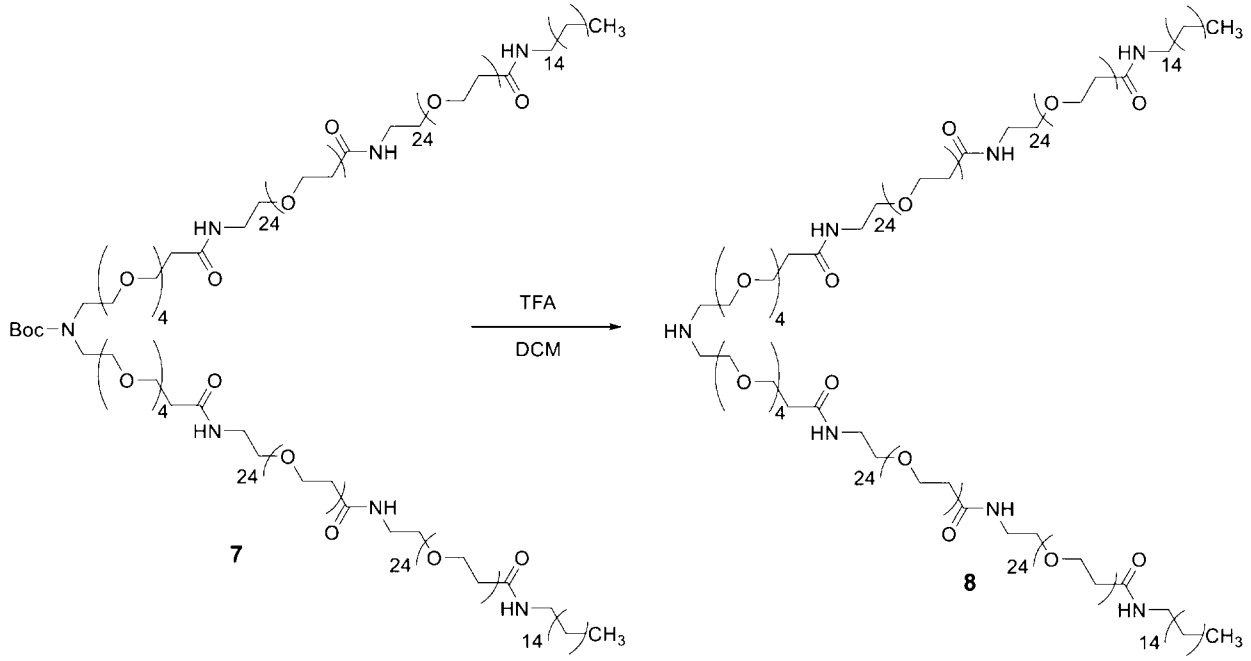


【0735】 使化合物**4** (0.78 g，0.3 mmol)溶於DCM (4 mL)中，冷卻至0℃，且添加TFA (1 mL，13 mmol)。在添加TFA後，使反應混合物升溫至室溫。將所得溶液攪拌3小時且藉由LC-MS檢查。將反應混合物藉由添加飽和$NaHCO_3$(水溶液)淬滅直至未觀測到冒泡且攪拌5分鐘。分離各層且將有機層用飽和$NaHCO_{3(水溶液)}$ (2×20 mL)、水(20 mL)、飽和NaCl (水溶液) (20 mL)洗滌，經Na_2SO_4乾燥且濃縮，得到0.741 g (98.9%產率)呈泡沫白色固體狀之化合物**5**。化合物**5**未經進一步純化即用於下一步。

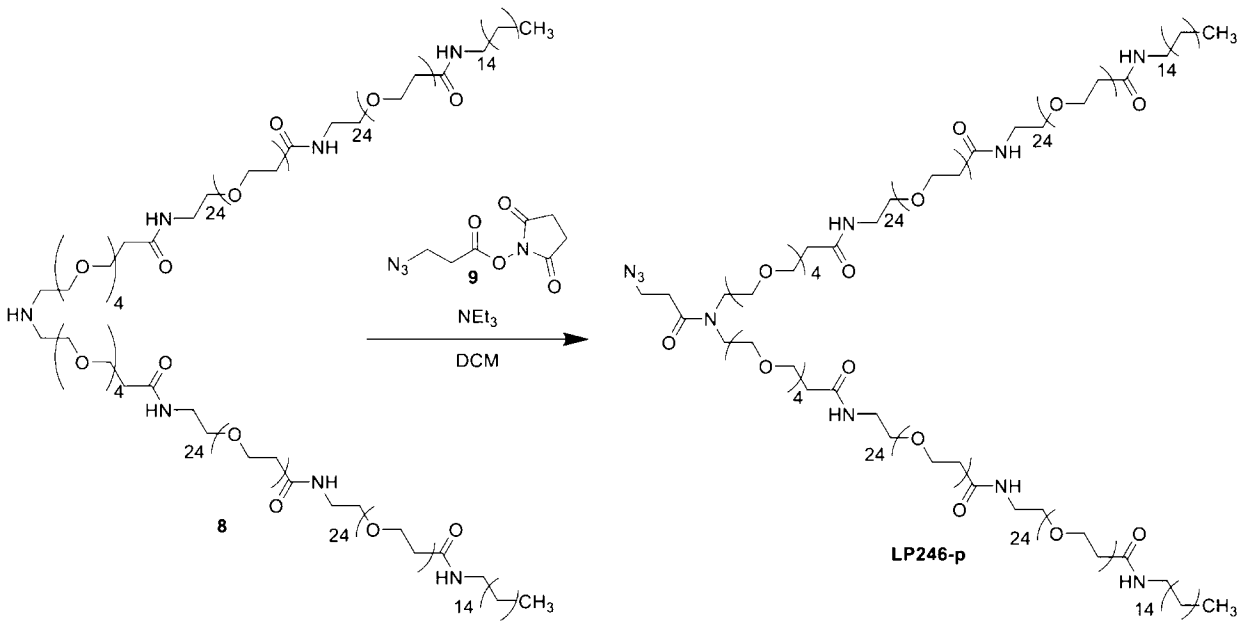


【0736】使*N*-Boc-*N*-雙-PEG_4-酸(化合物**6**，0.0339 g，0.055 mmol)及COMU (0.0473 g，0.11 mmol)溶於DCM (3 mL)中且添加NEt_3 (0.167 mL，1.20 mmol)。將所得溶液攪拌10分鐘。在10分鐘後，將化合物**5** (0.30 g，0.12 mmol)添加至化合物**6**溶液。將所得溶液攪拌1小時。將反應混合物濃縮且直接裝載至矽膠管柱上進行純化。粗產物藉由矽膠層析

法用DCM中0-20% MeOH來純化。化合物**7**開始用DCM中6% MeOH溶離。大部分純化合物**7**用DCM中12% MeOH溶離。將化合物**7**純溶離份合併，得到264 mg (86%產率)灰白色固體。

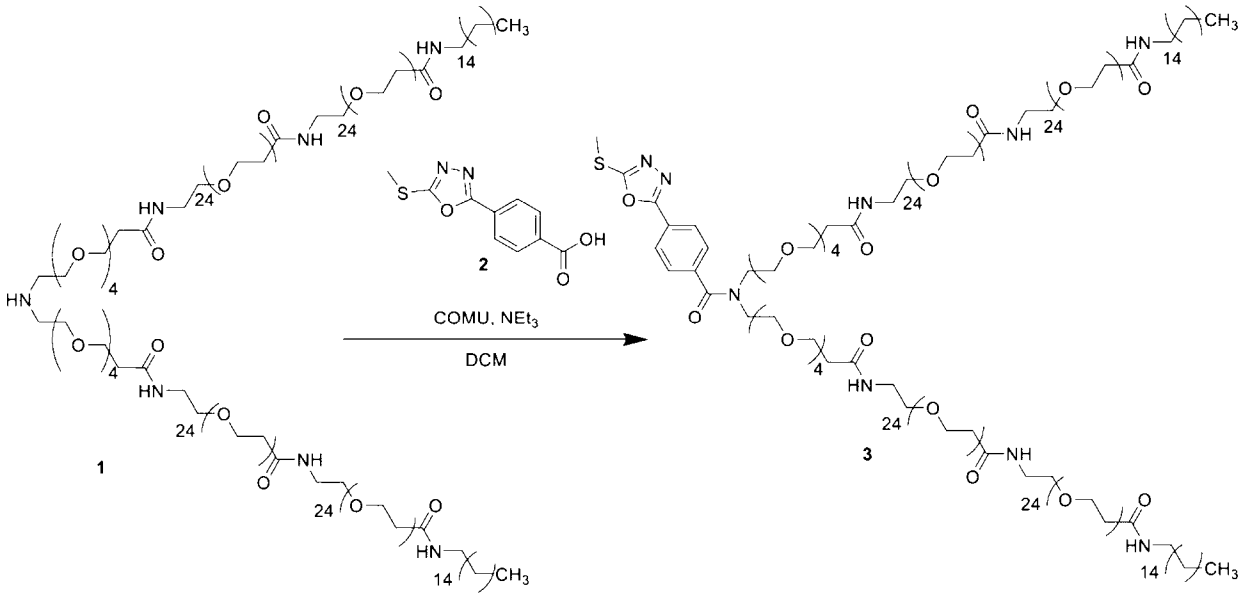


【0737】 使化合物**7** (100 mg，0.041 mmol)溶於DCM (2 mL)中且添加TFA (1 mL，8.64 mmol)。將反應混合物攪拌2小時且藉由LC-MS檢查。將反應混合物用飽和$NaHCO_3$ (水溶液)淬滅且用DCM稀釋。分離各層且將有機層用飽和NaCl (水溶液) (20 mL)洗滌，經Na_2SO_4乾燥且濃縮，得到0.09 g呈淡黃色固體狀之化合物**8** (86%產率)。化合物**8**未經進一步純化直接用於下一步。

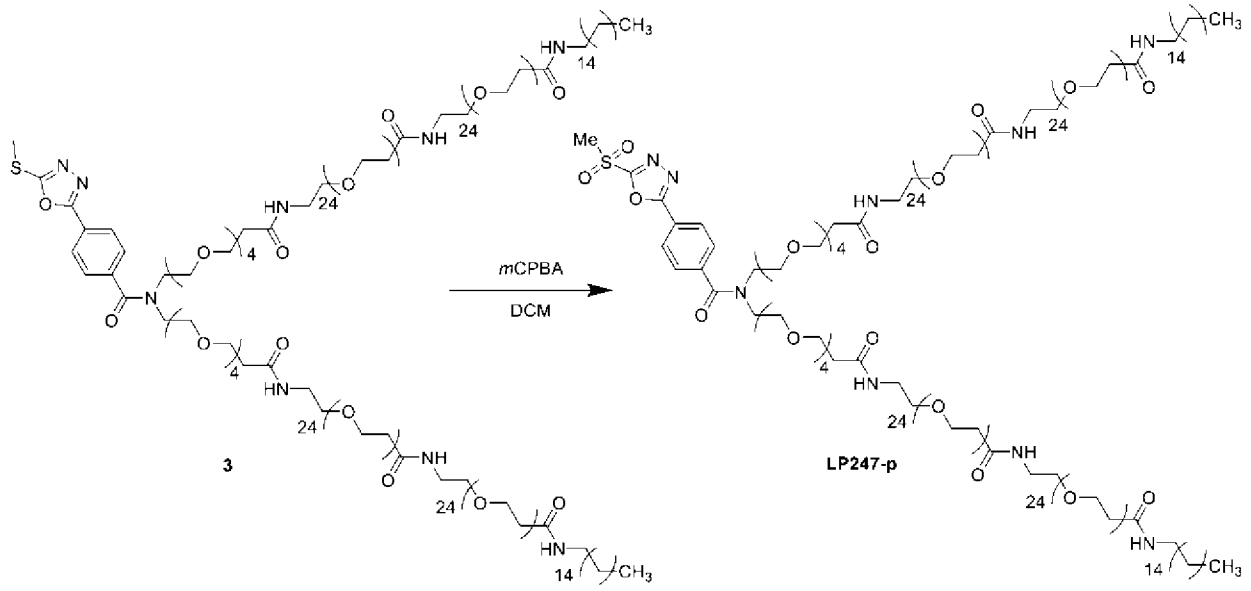


【0738】 使化合物**8** (0.090 g，0.016 mmol)溶於DCM (3 mL)中且添加NEt_3 (22.9 μL，0.164 mmol)，接著添加3-疊氮基丙酸酯NHS-酯(化合物**9**，0.0174 g，0.082 mmol)。將反應混合物攪拌4小時且藉由LC-MS檢查。將反應混合物濃縮且直接裝載至矽膠管柱上進行純化。粗產物藉由矽膠層析法(4 g Redisep rf Gold®管柱)用DCM中0-20% MeOH來純化。**LP246-p**用DCM中16% MeOH溶離。將**LP246-p**純溶離份合併，得到0.019 g灰白色固體(20.7%產率)。

【0739】 **合成LP247-p**



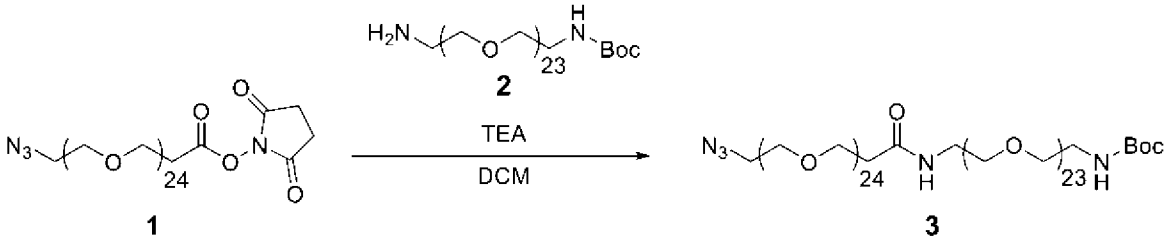
【0740】使化合物**2** (11.2 mg，0.047 mmol)及COMU (20 mg，0.047 mmol)溶於DCM (3 mL)中且添加NEt_3 (16.7 μL，0.12 mmol)。將所得溶液攪拌10分鐘。在10分鐘後，將化合物**1** (130 mg，0.024 mmol，化合物**8**，來自合成**LP246-p**)於DCM (2 mL)中之溶液添加至化合物**2**/COMU之溶液中。將所得溶液攪拌1小時且藉由LC-MS檢查。將反應混合物用5 mL水淬滅且攪拌5分鐘。分離各層，且將有機層用1 M HCl (水溶液) (1×15 mL)、飽和$NaHCO_3$(水溶液) (3×20 mL)、飽和NaCl (水溶液) (20 mL)洗滌，經Na_2SO_4乾燥且濃縮，得到澄清液體。粗產物藉由矽膠層析法(4 g Redisep rf Gold®管柱)用DCM中0-20% MeOH來純化。化合物**3**用DCM中12% MeOH溶離。將化合物**3**純溶離份合併，得到0.086 g (63.6%產率)灰白色固體。



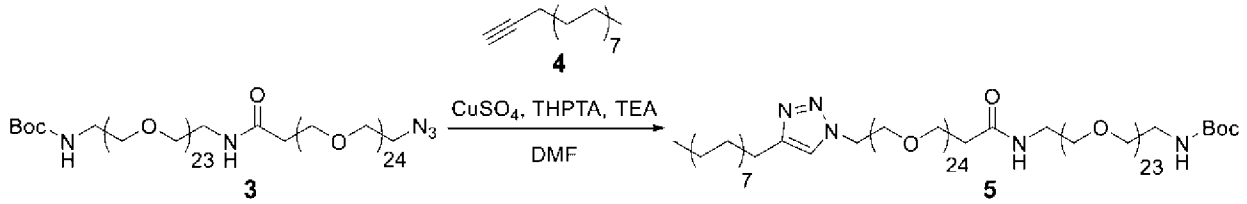
【0741】使化合物**3** (0.086 g，0.015 mmol)溶於DCM (3 mL)中且添加mCPBA (0.0131 g，0.076 mmol)。將所得溶液攪拌隔夜。將反應混合物濃縮且直接裝載至矽膠管柱上。粗產物藉由矽膠層析法(4 g Redisep rf Gold®管柱)利用DCM中0-20% MeOH來純化。**LP247-p**用DCM中12% MeOH溶離。將**LP247-p**純溶離份合併，得到0.041 mg (47.4%產率)灰白

色固體。

【0742】 **合成LP339-p**

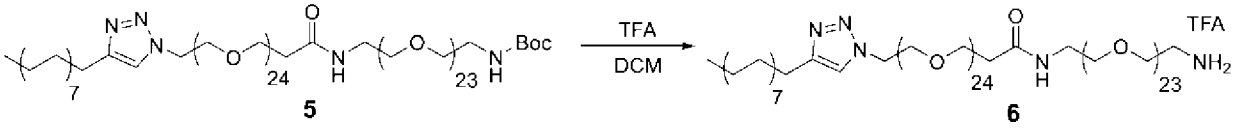


【0743】 使Boc-醯胺基-PEG_{23}-胺**2** (8.00 g，6.82 mmol)溶於DCM (250 mL)中且添加三乙胺(2.85 mL，20.45 mmol)，接著添加疊氮基-PEG_{24}-NHS 酯**1** (9.95 g，7.84 mmol)。將反應混合物在室溫下攪拌。在2小時後，如藉由LC-MS所確定，無起始物質剩餘。將反應混合物濃縮且直接裝載至矽膠管柱上進行純化。粗產物藉由矽膠層析法用2% MeOH:98% DCM至20% MeOH:80% DCM來純化。將含有產物之溶離份合併，得到14.3公克(90%產率)呈白色固體狀之化合物**3**。



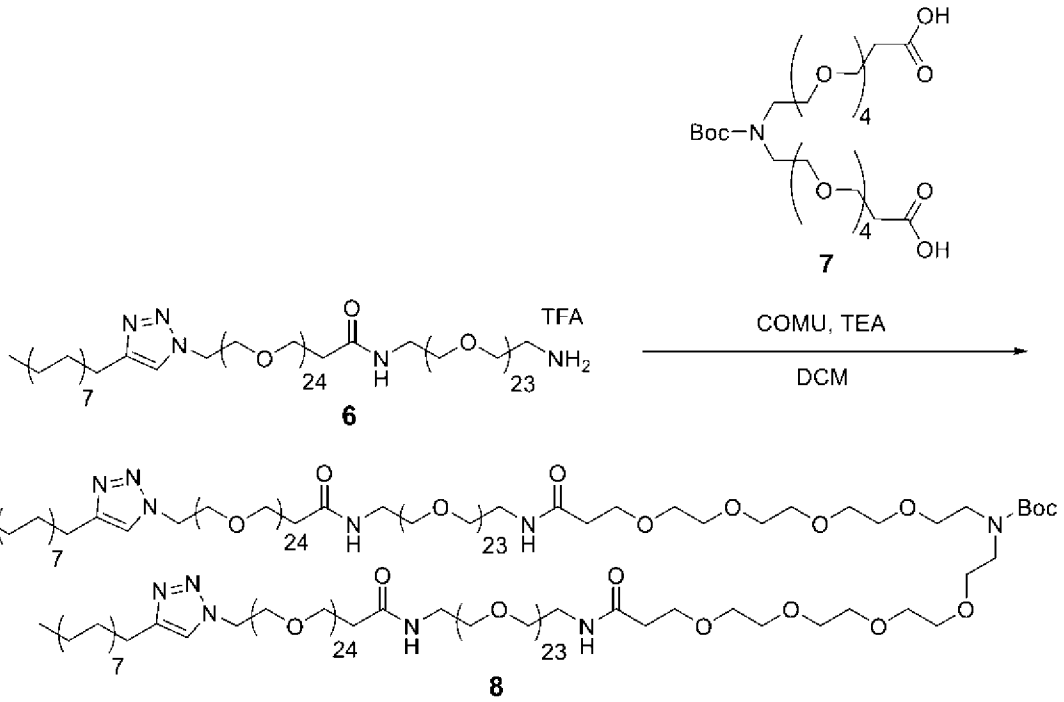
【0744】 使*N*-Boc-PEG_{23}-醯胺基-PEG_{24}-疊氮化物**3** (10.0 g，4.296 mmol)、1-十八炔**4** (1.183 g，4.726 mmol)、五水合硫酸銅(0.268 g，1.074 mmol)、參((1-羥基-丙基-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)胺(THPTA) (0.653 g，1.504 mmol)及抗壞血酸鈉(1.872 g，9.451 mmol)溶於DMF (500 mL)中且添加三乙胺(0.290 mL，2.148 mmol)。將反應混合物加熱至60℃。在2小時後，藉由LC-MS未觀測到起始物質。將反應混合物濃縮，且將殘餘物用二氯甲烷稀釋且經燒結漏斗過濾。將濾液濃縮且直接裝載至矽膠管柱上進行純化。粗產物藉由矽膠層析法用0% MeOH:100%

DCM至20% MeOH:80% DCM來純化。產物在8% MeOH/92% DCM下溶離。將純溶離份合併，得到9.5 g (86%產率)呈淡黃色固體狀之化合物**5**。



5 **6**

【0745】使*N*-Boc-PEG_{23}-醯胺基-PEG_{24}-三唑-C_{16} **5** (0.358 g，0.139 mmol)溶於DCM (4 mL)中且添加三氟乙酸(0.9 mL，11.8 mmol)。在1小時後，藉由LC-MS未觀測到起始物質。將反應混合物濃縮且真空乾燥若干小時，得到0.325 mg (90.9%產率)呈淡黃色固體狀之化合物**6**。產物未經進一步純化直接用於下一反應。



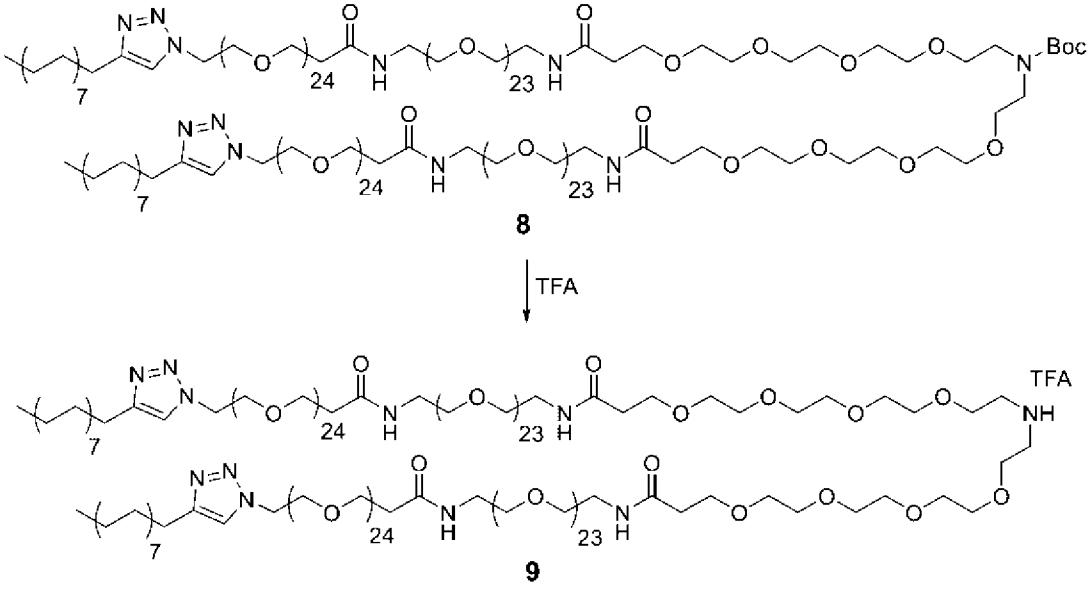
7

6

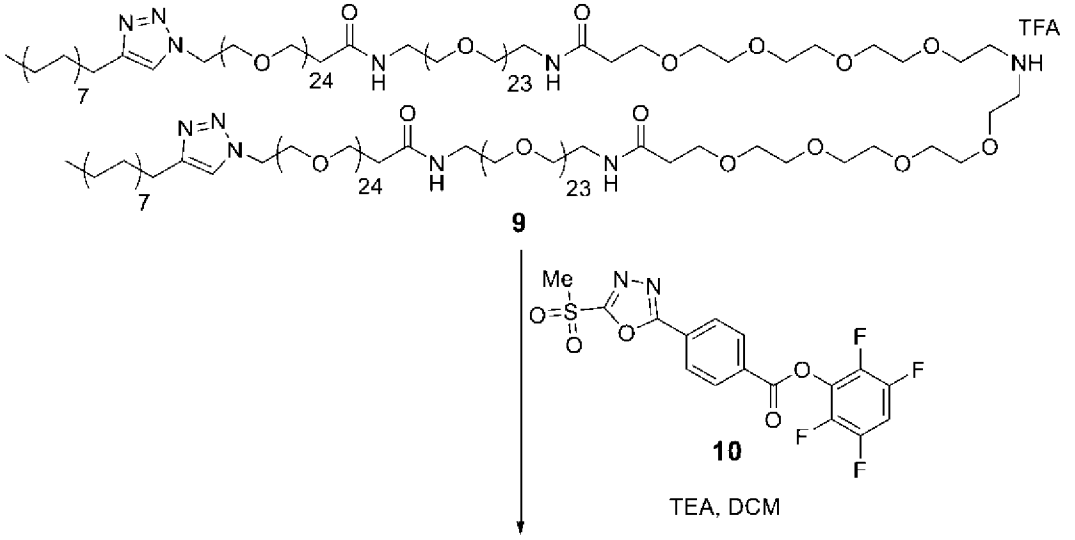
8

【0746】使*N*-Boc-*N*-雙-PEG_4-酸**7** (0.0372 g，0.061 mmol)及COMU (0.052 g，0.121 mmol)溶於DCM (5 mL)中且添加TEA (0.395 mL，2.84 mmol)。將所得溶液攪拌10分鐘。在另一小瓶中，攪拌胺基-PEG_{23}-醯胺基-PEG_{24}-三唑-C_{16} **6**之TFA鹽(0.325 g，0.126 mmol)於DCM (5 mL)及TEA (0.5 mL，3.60 mmol)中之溶液。將*N*-Boc-*N*-雙-PEG_4-酸**7**之溶液添加至胺基-PEG_{23}-醯胺基-PEG_{24}-三唑-C_{16} **6**之溶液中。將反應混

合物攪拌隔夜。將反應混合物濃縮且直接裝載至矽膠管柱上進行純化。粗產物藉由矽膠層析法用4% MeOH:96% DCM至20% MeOH:80% DCM來純化。將純溶離份合併，得到89 mg (26.5%產率)呈淡黃色固體狀之化合物**8**。



【0747】 使*N*-Boc-雙-PEG$_4$-醯胺基-PEG$_{23}$-醯胺基-PEG$_{24}$-三唑-C$_{16}$ **8** (5.9 g，1.066 mmol)溶於DCM (100 mL)中且添加TFA (20 mL，262.3 mmol)。在2小時後，藉由LC-MS未觀測到起始物質。將反應混合物濃縮，得到呈稠黃色液體狀之化合物**9**。化合物**9**未經進一步純化直接用於下一步。

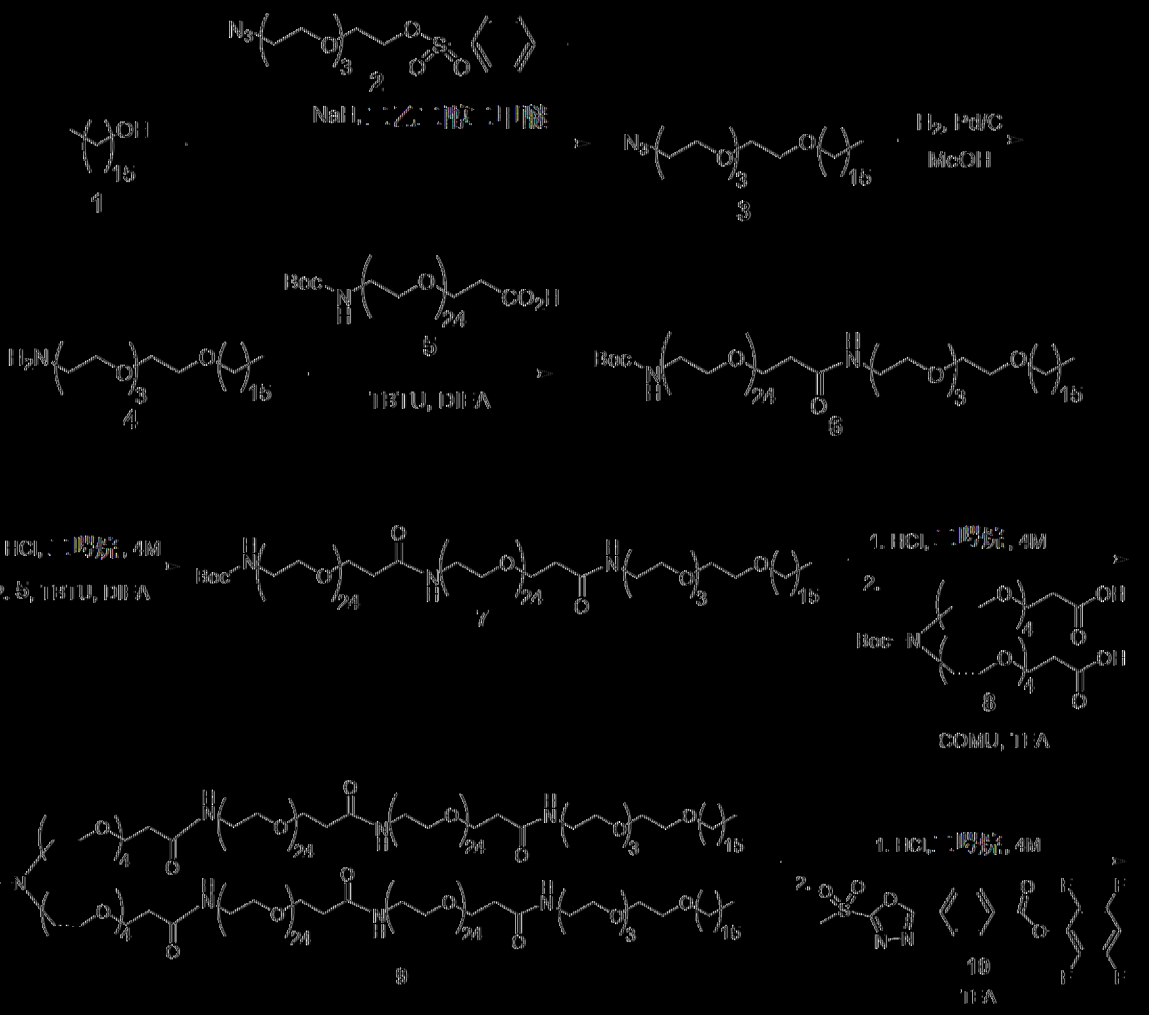


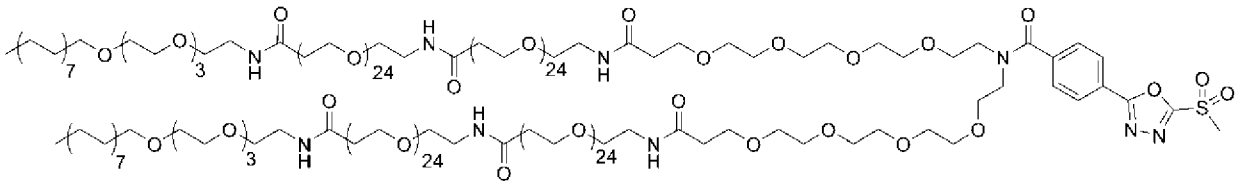


LP339-p

[0748] 使胺基-雙-PEG$_4$-醯胺基-PEG$_{23}$-醯胺基-PEG$_{24}$-琥珀-C$_{16}$ 9之TFA鹽(5.89 g，1.066 mmol)溶於THF (100 mL)及TEA (1.5 mL，10.66 mmol)中且添加TFP-酯 10 (1.33 g，3.20 mmol)。在22小時後，LC-MS指示95%轉化成產物。將反應混合物濃縮，再懸浮於甲苯中，且在純化前再次濃縮。粗產物藉由矽膠層析法用5% MeOH:95% DCM至20% MeOH:80% DCM來純化。產物用8% MeOH:92% DCM溶離。將純溶離份合併且得到3.000 g (49.5%產率)呈米色固體狀之LP339-p。

[0749] 合成LP340-p





LP340-p

【0750】將氫化鈉於礦物油中之60%分散液(1.93 g，48.21mmol)裝載於乾燥1 L圓底燒瓶中，用MTBE洗滌且懸浮於無水二噁烷(200 mL)中。乾燥添加十六醇**1** (11.2 g，46,2 mmol)且在50℃下攪拌1小時。添加Peg3-甲苯磺酸酯**2** (15 g，40.17 mmol)，且將反應混合物在105℃下加熱17小時。反應混合物在冰浴中冷卻且添加H_2O (125 mL)。將混合物用MTBE萃取，且將有機層用H_2O、鹽水洗滌，且經Na_2SO_4乾燥。化合物**3**在Combiflash®上使用220 g SiO_2管柱來純化，溶離劑：溶劑A-己烷，溶劑B-EtOAc；B= 0-30%，50分鐘。產量，11.1 g，64%。計算值MW 443.67 實驗值: MS (ES, 正離子): 444.67 $[M+H]^+$, 461.5 $[M+NH_4]^+$, 466.54 $[M+Na]^+$。

【0751】在1個大氣壓氫氣氛圍下將疊氮化物**3** (11.1 g，25 mmol)與Pd/C 10% (1g)一起在MeOH (70 mL)中攪拌17小時。將反應混合物過濾，濃縮，且真空乾燥。化合物**4**在Combiflash®上使用80 g SiO_2管柱來純化，溶離劑：溶劑A-DCM，溶劑B-DCM中20% MeOH；B= 50分鐘內0-50%。產量4.66 g。計算值: MW 417.7。實驗值: MS (ES, 正離子): 418.1 $[M+H]^+$。

【0752】將TBTU (4.8 g，14.9 mmol)添加至胺**4** (5.94 g，14.2 mmol)、Boc-(Peg 24)-酸**5** (16.95 g，13.6 mmol)及DIEA (7.1 mL，40.8 mmol)於DMF (100 mL)中之懸浮液。將反應混合物攪拌3小時，濃縮，且藉由與甲苯共蒸發3次來移除殘餘DMF。使粗化合物**6**溶於$CHCl_3$ (500

mL)中，用1% HCl、$NaHCO_3$、鹽水洗滌，經Na_2SO_4乾燥，且未經進一步純化直接用於下一步。計算值: MW 1646.14。實驗值: MS (ES, 正離子): 1646.99 $[M+H]^+$, 1664.99 $[M+NH_4]^+$。

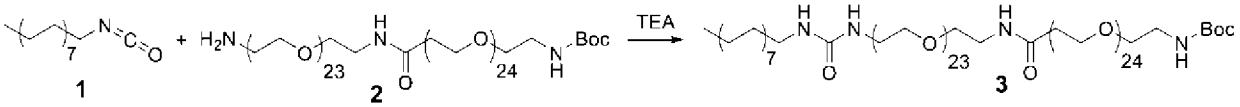
【0753】 將化合物**6** (10.14 g，6.16 mmol)在4M HCl之二噁烷溶液(45 mL)中攪拌50分鐘。將反應混合物濃縮且藉由與甲苯共蒸發2次使殘餘物乾燥。使所得脫除保護基之Peg-胺鹽酸鹽溶於DMF (60 ml)中，接著添加DIEA (4.29 mL，24.6 mmol)及酸**5** (7.674 g，6.157 mmol)，接著添加TBTU (2.175 g，6.77 mmol)。將反應混合物攪拌4小時。將反應混合物濃縮且藉由與甲苯共蒸發3次使殘餘物乾燥。使產物化合物**7**溶於$CHCl_3$ (500 mL)中，用1% HCl、$NaHCO_3$、鹽水洗滌，且經Na_2SO_4乾燥。化合物**7**未經進一步純化直接用於下一步。計算值: MW 2774.49。實驗值: MS (ES, 正離子): 1405.24 $[M+2NH_4]^{2+}$, 1397.20 $[M+H+Na]^{2+}$, 1388.67 $[M+2H]^{2+}$。

【0754】 將化合物**7** (15.22 g，5.49 mmol)在4M HCl之二噁烷溶液(55 mL)中攪拌50分鐘。將反應混合物濃縮且藉由與甲苯共蒸發2次使殘餘物乾燥。使所得脫除保護基之Peg-胺鹽酸鹽溶於DCM (100 mL)中。將Boc-胺基-雙(Peg4-酸) **8** (1.68 g，2.74 mmol)在DCM (15 mL)中與TEA (2.2 mL，15.8 mmol)及COMU (2.47 g，5.76 mmol)一起攪拌3分鐘，且接著添加至脫除保護基之Peg-胺鹽酸鹽之溶液中。將反應混合物攪拌3小時且移除溶劑。使殘餘物溶於氯仿(300 mL)中，用1% HCl、$NaHCO_3$、鹽水洗滌，且經Na_2SO_4乾燥。化合物**9**在Combiflash®上使用SiO_2管柱(220 g)來純化，溶離劑溶劑A-DCM，溶劑B-DCM中20% MeOH；B= 50分鐘內0-100%。產量9.75 g，(60%)。計算值: MW 5926.42。實驗值:

MS (ES, 正離子): 1483.26 $[M+3H+NH_4]^{4+}$, 1458.53.74 $[M+4H]^{4+}$, 1186.91 $[M+5H]^{+5}$。

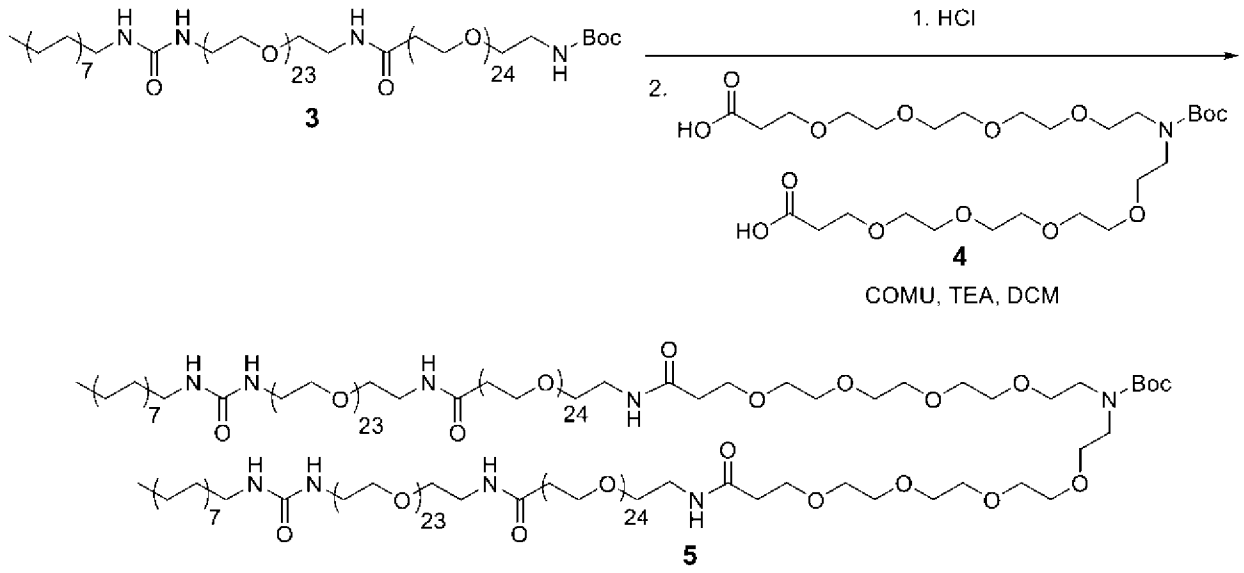
【0755】 將化合物**9** (9.75 g，1.644 mmol)在4M HCl之二噁烷溶液(60 mL)中攪拌50分鐘。將反應混合物濃縮且藉由與甲苯共蒸發2次使殘餘物乾燥。使所得胺鹽酸鹽溶於THF (150 mL)中且添加TEA (1.38 mL，9.86 mmol)，接著添加碸-TFP酯**10** (1.711 g，4.11 mmol)。將反應混合物攪拌16小時，且真空移除溶劑。使殘餘物溶於氯仿(300 mL)中，用1% HCl、鹽水洗滌，且經Na_2SO_4乾燥。**LP340-p**在Combiflash®上使用SiO_2管柱(120 g)來純化，溶離劑溶劑A-DCM，溶劑B-DCM中20% MeOH；B= 60分鐘內0-100%。產量7.58 g，(75%)。計算值: MW 6077.54。實驗值: MS (ES, 正離子): 1534.03 $[M+H+Na+2NH_4]^{4+}$, 1227.47 $[M+2H+Na+2NH_4]^{5+}$。

【0756】 **合成LP357-p**

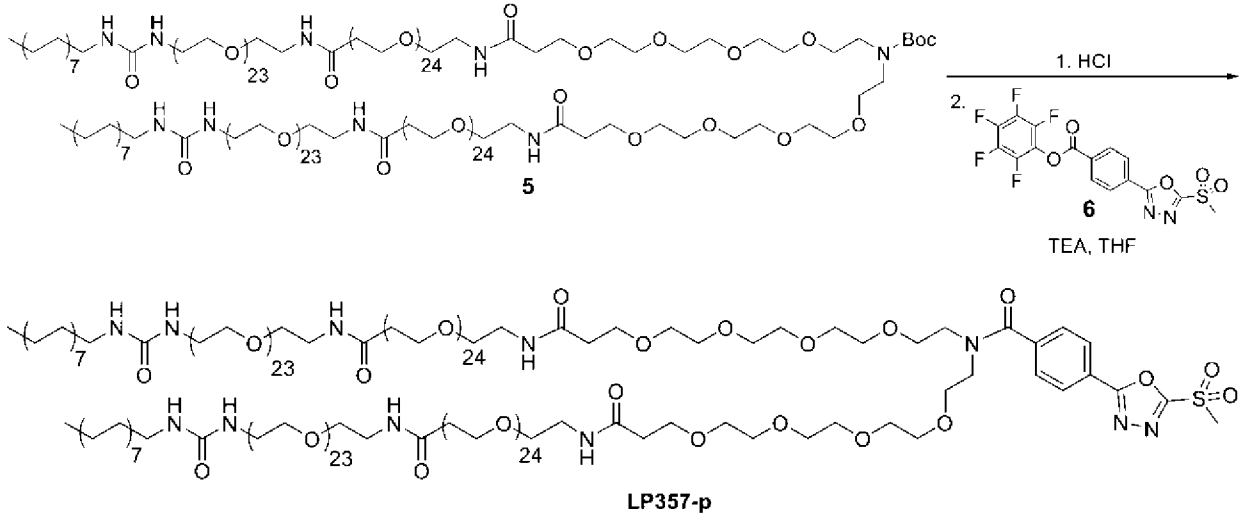


1 2 3

【0757】 使Boc-PEG47-NH2 **2** (1 g，0.435 mmol，1.0當量)溶於20 mL DCM中。添加十六烷基異氰酸酯**1** (140 mg，0.522 mmol，1.2當量)及TEA (2.0當量)且將反應混合物在室溫下攪拌12小時。移除DCM且經由24g管柱純化使用0-20% MeOH/DCM作為移動相來純化化合物**3**，0.967g (86.5 %)。



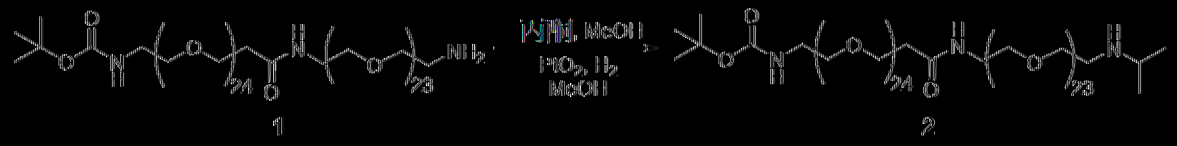
【0758】使化合物**3** (0.967 g，0.376 mmol)溶於15 mL 4N HCl/二噁烷中且在室溫下攪拌1小時。移除HCl/二噁烷且使所得脫除保護基之胺溶於DCM中。添加化合物**4** (110 mg，0.179 mmol)、COMU (169 mg，0.394 mmol)及TEA (10.0當量)且將反應混合物在室溫下攪拌隔夜。真空移除溶劑。化合物**5** (0.8 g，80.9%產率)藉由24g管柱使用0-20% MeOH/DCM作為移動相來純化。



【0759】使化合物**5** (0.95 g，0.172 mmol)溶於15 mL 4N HCl/二噁烷中且在室溫下攪拌1小時。真空移除HCl/二噁烷。使所得脫除保護基之胺溶於THF中，接著添加化合物**6** (0.15 g，0.345 mmol)及TEA (10.0當量)。將反應混合物在室溫下攪拌隔夜。在真空下移除溶劑。**LP357-p**

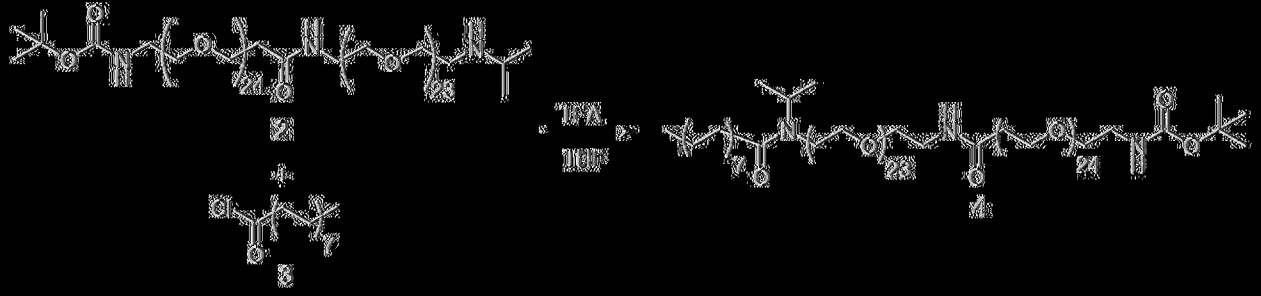
(0.6 g，61%)藉由24g管柱使用0-20% MeOH/DCM作為移動相來純化。

[0760] 合成LP358-p

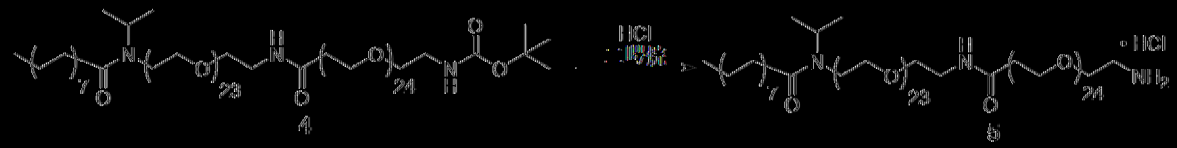


1 2

[0761] 將PtO_2 (0.3986 g)添加至化合物1 (4.00 g)於無水MeOH及內酮中之溶液中。將反應混合物在氫氣氛圍下攪拌兩天。使用Celite®及二氧化矽將鉑催化劑濾出。溶液接著真空濃縮，得到化合物2，其未經純化直接用於下一步。產量：3.99 g。

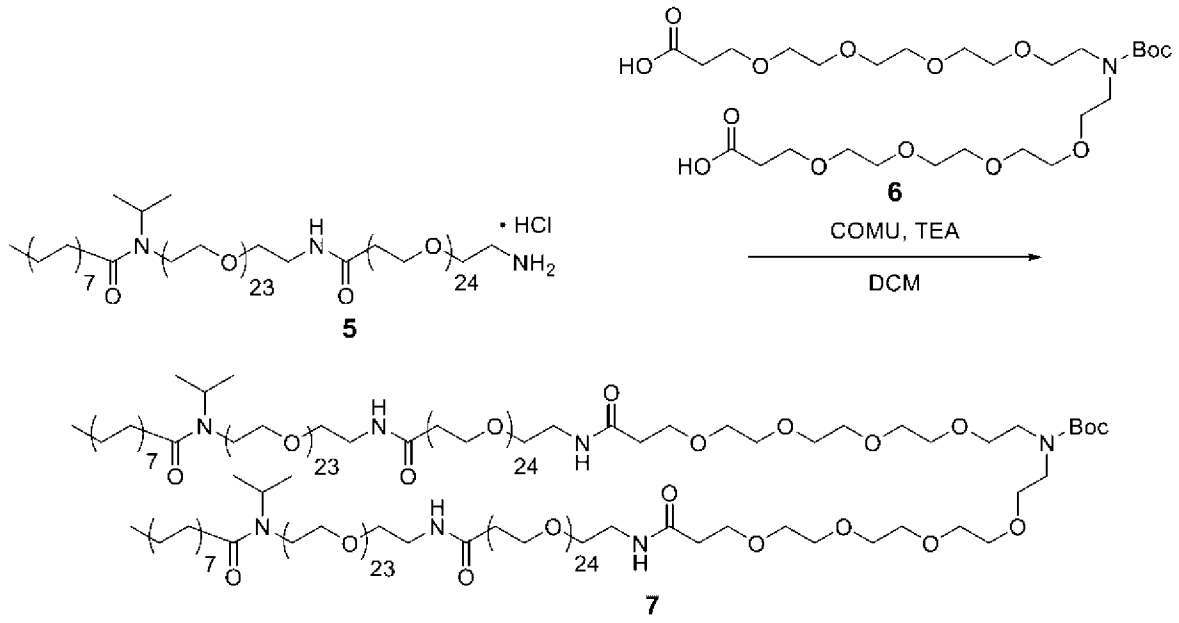


[0762] 將化合物2 (4.07g)添加至化合物3 (0.53g)及TEA (0.53g)於THF中之溶液中。將反應混合物攪拌直至藉由LC-MS及/或TLC觀測到2完全轉化。將反應混合物用MeOH淬滅。粗產物在CombiFlash®系統上經由DCM液體裝載(80 g管柱，DCM (A)至20% MeOH (B)溶劑系統，梯度：經60分鐘5% B至100% B)來純化。化合物4在25% B下溶離。產量：2.92 g。

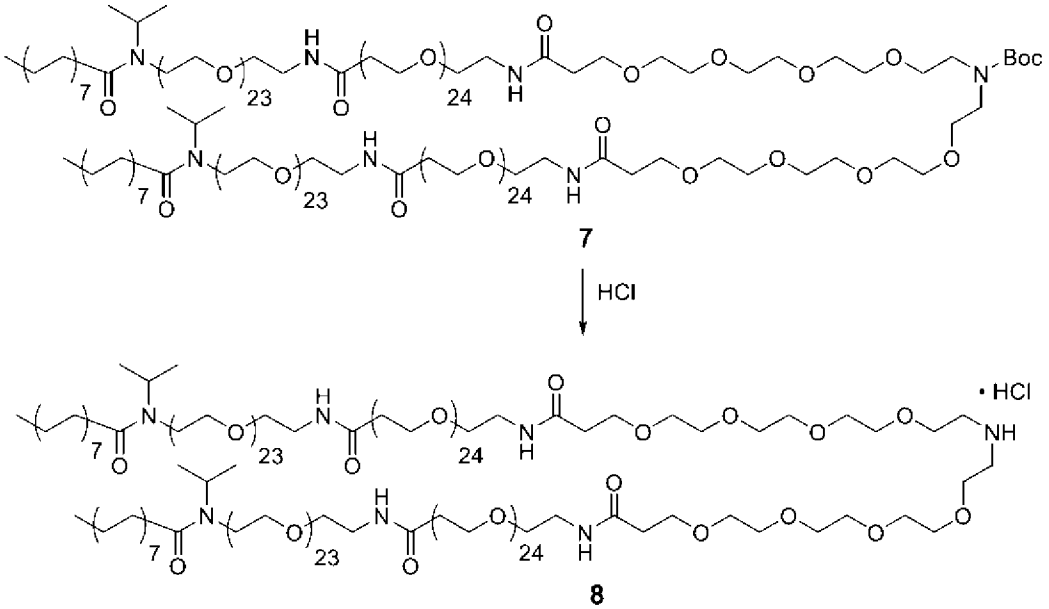


4 5

[0763] 在室溫下使化合物4 (2.92 g)溶於HCl之二噁烷溶液(4M) (24.9 mL)中。將反應混合物攪拌直至經由LCMS觀測到化合物4完全轉化。將反應混合物真空濃縮，得到呈白色粉末狀之化合物5。化合物5未經進一步純化直接用於下一步。

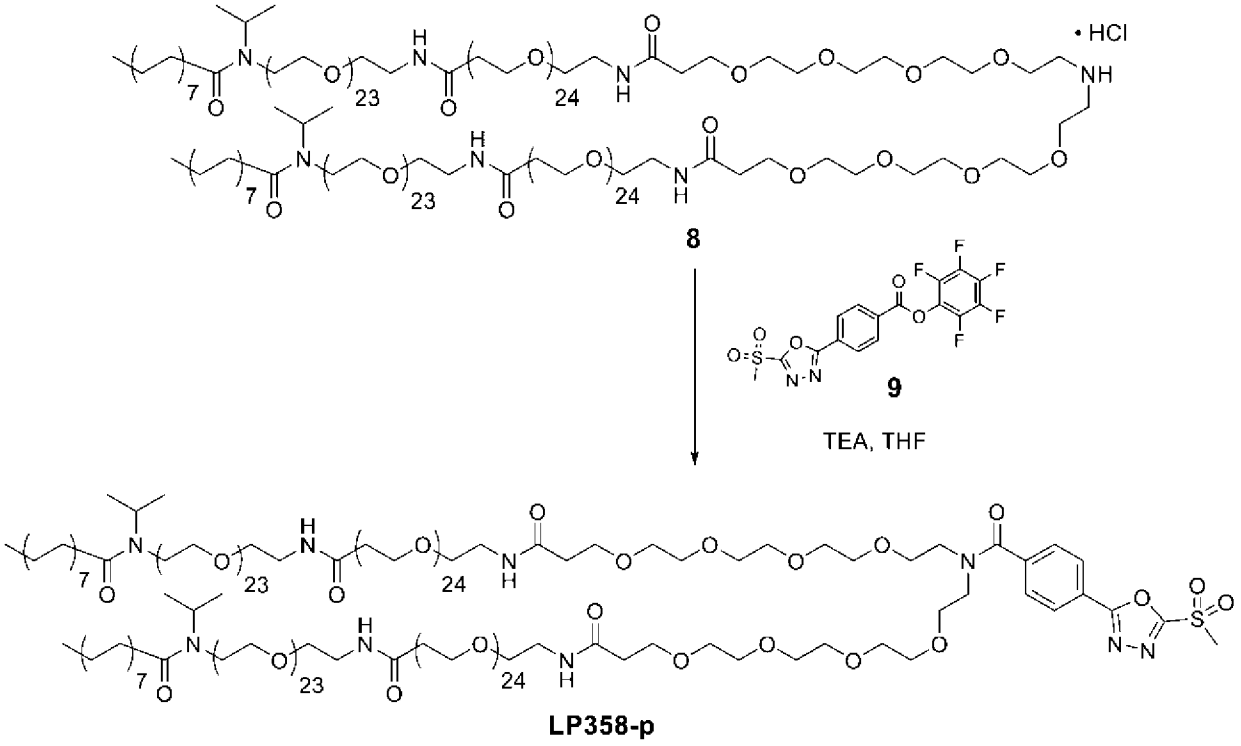


【0764】 在室溫下將化合物**6** (0.32 g)及**5** (2.81 g)、COMU (1.07 g)及TEA (2.08 mL)在DCM中攪拌隔夜。監測pH以確保HCl經中和且反應混合物保持鹼性。將反應混合物用1N HCl、飽和$NaHCO_3$及鹽水洗滌，且真空移除DCM。化合物**7**經由80 g管柱(溶劑系統：DCM (A)及20% MeOH (B)，梯度：5% B 5分鐘，經60分鐘5% B至100% B)來純化。化合物**7**在45% B下溶離。產量2.26 g。



【0765】 在室溫下使化合物**7** (2.26 g)溶於HCl之二噁烷溶液(4M) (25.5 mL)中。將反應混合物攪拌直至經由LCMS觀測到化合物**7**完全轉

化。將反應混合物真空濃縮，得到呈白色粉末狀之化合物**8**。化合物**8**未經進一步純化直接用於下一步。



【0766】 使化合物**8** (2.22 g)及TEA (1.42 mL)溶於50 mL無水THF中，且添加化合物**9** (0.35 g)。將反應混合物攪拌12小時。將反應混合物濃縮且粗**LP358-p**藉由二氧化矽分兩部分(12及24公克管柱)使用兩種溶劑系統(EtOAc/己烷接著MeOH/DCM。第1梯度(EtOAc/己烷)：0% B 3分鐘，經10分鐘0% B至100% B。第2梯度(DCM/MeOH)：5% B 5分鐘，15% B 5分鐘，經20分鐘15% B至100% B)來純化。在第二梯度期間產物**LP358-p**在30% B下溶離。在第一梯度期間回收碸試劑(亦即，化合物**9**)。產量1.92 g。

【0767】 **實例5.** ***連接子及靶向配位體與RNAi劑之結合***

【0768】 **A. 活化酯連接子之結合**

【0769】 使用以下程序將具有如以上表23中所示之結構DBCO-NHS或L1-L10之連接基團結合至具有胺官能化之有義股，諸如如以上表23中

所示之C6-NH2、NH2-C6或(NH2-C6)s的RNAi劑。將藉由凍乾乾燥之經黏接之RNAi劑以25 mg/mL溶解於DMSO及10%水(v/v%)中。接著將50至100當量TEA及3當量活化酯連接子添加至溶液中。使溶液反應1-2小時，同時藉由RP-HPLC-MS (移動相A 100 mM HFIP、14 mM TEA；移動相B：乙腈，在Waters™ XBridge C18管柱上，Waters Corp.)監測。

【0770】 接著藉由添加12 mL乙腈及0.4 mL PBS使產物沈澱，且將固體離心成球粒。接著將球粒再溶解於0.4 mL 1×PBS及12 mL乙腈中。所得球粒在高真空下乾燥一小時。

【0771】 **B. 靶向配位體與DBCO連接子之結合**

【0772】 使用以下程序將疊氮化物官能化之靶向配位體連接至諸如DBCO-NHS、L1或L2之DBCO官能化之連接子。該程序選擇性地靶向L1或L2之連接子之DBCO部分，使得靶向配位體不與炔丙基反應。

【0773】 將包含具有共價連接之DBCO部分之RNAi劑的固體RNAi球粒以50 mg/mL溶解於50/50 DMSO/水中。接著添加每DBCO部分1.5當量疊氮化物配位體。使反應混合物進行30-60分鐘。藉由RP-HPLC-MS (移動相A 100 mM HFIP、14 mM TEA；移動相B：乙腈，在Waters™ XBridge C18管柱上，Waters Corp.)監測反應混合物。藉由添加12 mL乙腈、0.4 mL PBS使產物沈澱，且將固體離心成球粒。將球粒再溶解於0.4 mL 1×PBS中且接著添加12 mL乙腈。在高真空下乾燥球粒。

【0774】 **C. 靶向配位體與炔丙基連接子之結合**

【0775】 在黏接之前或之後，5'或3'三齒炔烴官能化有義股結合至αvβ6整合素配位體。以下實例描述αvβ6整合素配位體與黏接之雙螺旋體之結合：在去離子水中製備0.5 M參(3-羥丙基三唑基甲基)胺(THPTA)、

0.5 M五水合硫酸Cu(II) ($Cu(II)SO_4 \cdot 5H_2O$)及2 M抗壞血酸鈉溶液之儲備溶液。製備75 mg/mL αvβ6整合素配位體之DMSO溶液。在含有三炔烴官能化之雙螺旋體(3 mg，75 μL，去離子水中40 mg/mL，約15,000 g/mol)之1.5 mL離心管中，添加25 μL之1 M Hepes pH 8.5緩衝液。渦旋後，添加35 μL DMSO，且使溶液渦旋。將αvβ6整合素配位體添加至反應(6當量/雙螺旋體，2當量/炔烴，約15 μL)中且使溶液渦旋。使用pH紙檢測pH，且確認pH為約8。在另一1.5 mL離心管中，將50 μL之0.5 M THPTA與10 μL之0.5 M $Cu(II)SO_4 \cdot 5H_2O$混合，渦旋，且在室溫下培育5分鐘。在5分鐘之後，將THPTA/Cu溶液(7.2 μL，6當量5:1 THPTA:Cu)添加至反應小瓶中，且渦旋。緊接著，將2 M抗壞血酸鹽(5 μL，每雙螺旋體50當量，每炔烴16.7)添加至反應小瓶中，且渦旋。一旦反應完成(通常在0.5-1小時內完成)，即刻藉由非變性陰離子交換層析純化反應混合物。

【0776】 **D. 靶向配位體與胺官能化之有義股的結合**

【0777】 可使用以下程序將活化酯官能化之靶向配位體，諸如αvβ6肽1、肽5或肽6結合至包含胺，諸如如表23中所示之C6-NH2、NH2-C6或(NH2-C6)s的胺官能化之RNAi劑。

【0778】 將經黏接之凍乾RNAi劑以25 mg/mL溶解於DMSO及10%水(v/v%)中。接著將50-100當量TEA及3當量活化酯靶向配位體添加至混合物中。將反應混合物攪拌1-2小時，同時藉由RP-HPLC-MS (移動相A：100 mM HFIP、14 mM TEA；移動相B：乙腈；管柱：Waters™ XBridge C18)監測。在反應混合物完成之後，添加12 mL乙腈，隨後添加0.4 mL PBS，且接著將混合物離心。接著收集固體球粒且溶解於0.4 mL 1×PBS中且接著添加12 mL乙腈。收集所得球粒且真空乾燥1小時。

【0779】 **實例6. PK/PD調節劑前驅體之結合**

【0780】 在黏接之前或之後以及在結合一或多種靶向配位體之前或之後，一或多種PK/PD調節劑前驅體可連接至本文所揭示之RNAi劑。以下描述用於將PK/PD調節劑前驅體連接至本文描繪之實例中所闡述之構築體的通用結合方法。

【0781】 **A. 含順丁烯二醯亞胺之PK/PD調節劑之結合**

【0782】 以下描述用於將含順丁烯二醯亞胺之PK/PD調節劑前驅體連接至RNAi劑之(C6-SS-C6)或(6-SS-6)官能化有義股的通用方法，該方法藉由採取二硫鍵之二硫蘇糖醇還原，隨後各別含順丁烯二醯亞胺之PK/PD調節劑前驅體之硫醇-麥可加成：在小瓶中，官能化有義股以50 mg/mL溶解於殺菌水中。接著添加各20當量0.1 M Hepes pH 8.5緩衝液及二硫蘇糖醇。使混合物反應一小時，隨後使結合物在乙腈及PBS中沈澱，且將固體離心成球粒。

【0783】 以30 mg/mL之固體濃度使球粒溶於DMSO/水之70/30混合物中。接著，以1.5當量添加含順丁烯二醯亞胺之PK/PD調節劑前驅體。使混合物反應30分鐘。在AEX-HPLC (移動相A：25 mM TRIS pH=7.2、1 mM EDTA、50%乙腈；移動相B：25 mM TRIS pH=7.2、1 mM EDTA、500 mM NaBr、50%乙腈；固相TSKgel®-30；1.5 cm×10 cm)上純化產物。藉由旋轉式蒸發器移除溶劑，且使用2×10 mL與殺菌水之交換用3K旋轉管柱去鹽。固體產物使用凍乾進行乾燥且儲存以便後續使用。

【0784】 **B. 含碸之PK/PD調節劑前驅體之結合**

【0785】 在小瓶中，官能化有義股以50 mg/mL溶解於殺菌水中。接著添加各20當量0.1 M Hepes pH 8.5緩衝液及二硫蘇糖醇。使混合物反

應一小時，隨後使結合物在乙腈及PBS中沈澱，且將固體離心成球粒。

【0786】 以30 mg/mL之固體濃度使球粒溶於DMSO/水之70/30混合物中。接著，以1.5當量添加含碸之PK/PD調節劑前驅體。用N_2吹掃小瓶，且在攪拌的同時加熱至40℃。使混合物反應一小時。在AEX-HPLC(移動相A：25 mM TRIS pH=7.2、1 mM EDTA、50%乙腈；移動相B：25 mM TRIS pH=7.2、1 mM EDTA、500 mM NaBr、50%乙腈；固相TSKgel®-30；1.5 cm×10 cm)上純化產物。藉由旋轉式蒸發器移除溶劑，且使用2×10 mL與殺菌水之交換用3K旋轉管柱去鹽。固體產物使用凍乾進行乾燥且儲存以便後續使用。

【0787】 **C. 含疊氮化物之PK/PD調節劑前驅體之結合**

【0788】 將裝載有Cu(I)之1莫耳當量之TG-TBTA樹脂稱量至玻璃小瓶中。用N_2吹掃小瓶15分鐘。接著，將官能化有義股溶解於另一小瓶中殺菌水中，濃度為100 mg/mL。隨後向小瓶中添加兩當量含疊氮化物之PK/PD調節劑前驅體(DMF中50 mg/mL)。接著添加TEA、DMF及水直至最終反應條件為33 mM TEA、60% DMF及20 mg/mL結合產物。接著經由注射器將溶液轉移至具有樹脂之小瓶中。移除N_2吹掃，且將小瓶密封且在40℃下移動至攪拌盤中。使混合物反應16小時。使用0.45 μm過濾器濾出樹脂。

【0789】 使用AEX純化(移動相A：25 mM TRIS pH=7.2、1 mM EDTA、50%乙腈；移動相B：25 mM TRIS pH=7.2、1 mM EDTA、500 mM NaBr、50%乙腈；固相TSKgel®-30；1.5 cm×10 cm)來純化產物。使用旋轉式蒸發器移除乙腈，且使用2×10 mL與殺菌水之交換用3K旋轉管柱去鹽。固體產物使用凍乾進行乾燥且儲存以便後續使用。

【0790】 **D. 含炔之PK/PD調節劑前驅體之結合**

【0791】 以下描述用於將含活化炔之脂質PK/PD調節劑前驅體連接至RNAi劑之(C6-SS-C6)或(6-SS-6)官能化有義股的通用方法，該方法藉由採取二硫鍵之二硫蘇糖醇還原，隨後加成至含炔之PK/PD調節劑前驅體：在小瓶中，將10 mg包含(C6-SS-C6)或(6-SS-6)官能化有義股之siRNA以50 mg/mL溶解於殺菌水中。接著添加各20當量0.1 M Hepes pH 8.5緩衝液及二硫蘇糖醇(殺菌水中1M)。使混合物反應一小時，接著在Waters™ XBridge BEH C4管柱上使用100 mM HFIP及14 mM TEA之移動相A及乙腈之移動相B使用下式來純化，其中% B指示移動相B之量，而剩餘部分為移動相A。

時間	%B
0	3
8	70
10	90
11	90
11.1	3
13	3

【0792】 藉由添加12 mL乙腈及0.4 mL 1×PBS使產物沈澱一次，且將所得固體離心成球粒。將球粒再溶解於0.4 mL 1×PBS及12 mL乙腈中。在高真空下乾燥球粒一小時。

【0793】 在小瓶中以30 mg/mL之固體濃度使球粒溶於DMSO/水之70/30混合物中。接著，以相對於siRNA 2當量添加含炔之脂質PK/PD調節劑前驅體。接著添加10當量TEA。使用N2吹掃小瓶，且在攪拌的同時將反應混合物加熱至40℃。使混合物反應一小時。使用陰離子交換HPLC使用TSKgel®-30填充管柱(Tosoh Bioscience)，1.5 cm×10 cm，使用25 mM TRIS pH=7.2、1 mM EDTA、50%乙腈之移動相A及25 mM TRIS pH=7.2、1 mM EDTA、500 mM NaBr、50%乙腈之移動相B使用下式來

純化，其中% B指示移動相B之量，而剩餘部分為移動相A。

時間	%B
4	10
7	80
10.5	80
11	10
14	10

【0794】 收集含有產物之溶離份，且使用旋轉式蒸發器移除乙腈。使用2×10 mL與殺菌水之交換用3K旋轉管柱將產物去鹽。接著產物使用凍乾進行乾燥且儲存以便後續使用。

【0795】 **實例7.食蟹獼猴中靶向MSTN之RNAi觸發劑之活體內投與**

【0796】 以下實例展示本發明之遞送載體之效用。雖然以下實例包括包含用於抑制肌肉生長抑制素之RNAi劑的遞送載體，但經考慮遞送載體可用於阻斷骨骼肌細胞中存在之所關注之其他基因的基因表現。

【0797】 根據固相上之胺基亞磷酸酯技術，根據此項技術中已知及寡核苷酸合成中常用之通用程序，如本文中之實例1中所闡述，合成包括有義股及反義股之肌肉生長抑制素RNAi劑。此實例及以下實例中使用之RNAi劑具有如下文表25中所指示之結構。

【0798】 表25：以下實例中使用之雙螺旋體

雙螺旋體名稱	結構(5'->3')	SEQ ID NO
AD06568	AS：usGfsusUfaCfagcaaGfaUfcAfuGfaCfsc	1
	SS：(NH2-C6)s(invAb)sggucaugaUfCfUfugcuguaacas(invAb)(C6-SS-C6)dT	2
AD06570	AS：usCfsasUfcUfuCfcAfaAfgAfgCfcAfuCfsg	3
	SS：(NH2-C6)s(invAb)scgauggcuCfUfUfuggaagaugas(invAb)(C6-SS-C6)dT	4
AD06326	AS：usGfsusUfaCfagcaaGfaUfcAfuGfgCfsc	5
	SS：(NH2-C6)s(invAb)sggccaugaUfCfUfugcuguaacas(invAb)(C6-SS-C6)dT	6

【0799】 其中在以上表25中，a、c、g、i及u分別表示2'-O-甲基腺苷、胞苷、鳥苷、肌苷及尿苷；Af、Cf、Gf及Uf分別表示2'-氟腺苷、胞

苷、鳥苷及尿苷；s表示硫代磷酸酯鍵聯；(invAb)表示反向無鹼基去氧核糖殘基(參見表23)；dT表示2'-去氧胸苷-3'-磷酸；(C6-SS-C6)參見表23；(NH2-C6)s參見表23。

【0800】 在研究第1天，根據以下給藥組，向食蟹獼猴(長尾獼猴(Macaca fascicularis))靈長類動物(在本文中稱為「食蟹獼猴」)注射等滲鹽水(載體對照)或10 mg/kg (mpk)在等滲鹽水中調配之包含如本文所述之RNAi劑的本發明之遞送載體：

【0801】 表26：實例7之用於食蟹獼猴之給藥組

組	包含RNAi劑之本發明之遞送載體及劑量	給藥方案
1	等滲鹽水	在第1天單次注射
2	αvβ6肽1-Mstn(AD6568)-PEG40K (2×2臂)	在第1天單次注射
3	αvβ6肽1-Mstn(AD6570)-PEG40K (2×2臂)	在第1天單次注射

【0802】 合成具有經引導以靶向*MSTN*基因之核苷酸序列的實例7中之RNAi劑，且在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團(NH_2-C_6)s以有助於與小分子靶向配位體αvβ6肽1之結合。肌肉生長抑制素RNAi劑進一步在有義股之3'末端包括二硫化物官能基(C6-SS-C6)以有助於與PK/PD調節劑前驅體之結合。各種PK/PD調節劑連接至有義股之3'末端，如上文表26中所指定。

【0803】 對各組(n=3)中之三(3)隻食蟹獼猴進行給藥。在第-14天、第-7天及第1天(給藥前)取得血清樣品。接著根據如表26中所闡述之各別組投與猴。接著在第8天、第15天、第22天及第29天收集血清。對血清樣品進行ELISA分析以測定血清中食蟹獼猴肌肉生長抑制素之量。血清樣品中之平均肌肉生長抑制素展示於下表27中。

【0804】 表27：實例7之血清中之平均食蟹獼猴肌肉生長抑制素蛋白，相對於第1天正規化

	第8天		第15天		第22天		第29天	
組ID	平均肌肉生長抑制素	標準偏差(+/-)	平均肌肉生長抑制素	標準偏差(+/-)	平均肌肉生長抑制素	標準偏差(+/-)	平均肌肉生長抑制素	標準偏差(+/-)
第1組，動物1	1.038	0.005	0.914	0.009	1.090	0.019	0.845	0.002
第1組，動物2	0.908	0.005	0.795	0.042	0.828	0.006	0.862	0.002
第1組，動物3	0.936	0.018	0.866	0.060	0.739	0.025	0.813	0.012
第2組，動物1	0.701	0.014	0.720	0.051	0.785	0.005	0.738	0.010
第2組，動物2	0.859	0.024	0.966	0.054	0.830	0.037	0.865	0.017
第2組，動物3	0.684	0.020	0.709	0.041	0.805	0.005	0.756	0.022
第3組，動物1	0.770	0.005	0.800	0.043	0.748	0.006	0.685	0.031
第3組，動物2	0.745	0.021	0.675	0.038	0.649	0.002	0.723	0.010
第3組，動物3	0.927	0.007	0.813	0.029	0.824	0.012	0.814	0.008

【0805】 實例8.小鼠中靶向Mstn之RNAi觸發劑之活體內投與

【0806】 根據固相上之胺基亞磷酸酯技術，根據此項技術中已知及寡核苷酸合成中常用之通用程序，如本文中之實例1中所闡述，合成包括有義股及反義股之肌肉生長抑制素RNAi劑。在研究第1、8、15及43天，根據以下給藥組，向小鼠注射等滲鹽水(載體對照)或3 mg/kg (mpk)在等滲鹽水中調配之包含如本文所述之RNAi劑的本發明之遞送載體：

【0807】 表28：實例8之用於小鼠之給藥組

組	包含RNAi劑之本發明之遞送載體及劑量	給藥方案
1	等滲鹽水(IV)	在第1、8、15及43天注射
2.	肽1-AD06326-PEG40K (4臂) (IV)	在第1、8、15及43天注射

【0808】 如表28中所示，第1組及第2組經靜脈內給藥。合成具有經引導以靶向*MSTN*基因之核苷酸序列的實例8中之RNAi劑，且在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團(NH_2-C_6)s以有助於與αvβ6肽1之結合。肌肉生長抑制素RNAi劑進一步包括PEG 40K (4臂) PK/PD調節劑，其連接至有義股之3'末端。

【0809】 對各組(n=4)中之四(4)隻小鼠進行給藥。在第1、8、15、21、29、36、43、50、57及64天對小鼠抽血，且分離血清。進行ELISA

分析以測定各血清樣品中肌肉生長抑制素之相對量。血清樣品中之平均肌肉生長抑制素展示於圖1之表A中。

【0810】 實例9.小鼠中靶向Mstn之RNAi觸發劑之活體內投與

【0811】 根據固相上之胺基亞磷酸酯技術，根據此項技術中已知及寡核苷酸合成中常用之通用程序，如本文中之實例1中所闡述，合成包括有義股及反義股之肌肉生長抑制素RNAi劑。在研究第1天，根據以下給藥組，向小鼠注射等滲鹽水(載體對照)或3 mg/kg (mpk)在等滲鹽水中調配之包含如本文所述之RNAi劑的本發明之遞送載體：

【0812】 表29：實例9之用於小鼠之給藥組

組	**包含RNAi劑之本發明之遞送載體及劑量**	**給藥方案**
1	載體對照	在第1天單次注射
2.	Pep1-AD06326-PEG40K (4臂)	在第1天單次注射

【0813】 合成具有經引導以靶向*MSTN*基因之核苷酸序列的實例9中之RNAi劑，且在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團(NH_2-C_6)s以有助於與avB6肽1之結合。肌肉生長抑制素RNAi劑進一步包括PEG40K (4臂) PK/PD調節劑，其使用實例6中所述之方法連接至有義股之3'末端。

【0814】 對各組(n=4)中之四(4)隻小鼠進行給藥。在第8天、第15天及第22天對小鼠抽血且接著收集血清。對血清樣品進行ELISA分析以測定血清中小鼠肌肉生長抑制素之量。血清樣品中之平均肌肉生長抑制素展示於下表30中。

【0815】 表30：實例9之各組之血清中的平均相對*MSTN*

組	描述	第8天		第15天		第22天	
		平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
1	載體對照	1.133	0.083	1.292	0.068	1.213	0.093
2	Pep1-AD06326-PEG40K (4臂)	0.539	0.066	0.380	0.039	0.302	0.006

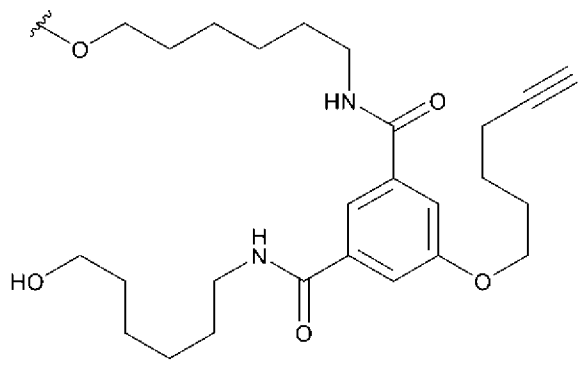
【0816】 實例10.小鼠中靶向MSTN之RNAi觸發劑之活體內投與

【0817】 根據固相上之胺基亞磷酸酯技術，根據此項技術中已知及寡核苷酸合成中常用之通用程序，如本文中之實例1中所闡述，合成包括有義股及反義股之肌肉生長抑制素RNAi劑。此實例及以下實例中使用之RNAi劑具有如下文表31中所指示之結構。

【0818】 表31：以下實例中使用之雙螺旋體

雙螺旋體名稱	結構(5'->3')	SEQ ID NO
AD06569	AS：cPrpusGfsusUfaCfagcaaGfaUfcAfuGfaCfsc	7
	SS：(NH2-C6)s(invAb)sggucaugaUfCfUfugcuguaacas(invAb)(C6-SS-C6)dT	8
AD07724	AS：cPrpusGfsusUfaCfagcaaGfaUfcAfuGfaCfsc	9
	SS：(NH2-C6)s(invAb)sggucaugaUfCfUfugcuguaacas(invAb)uAlkdT	10
AD07909	AS：cPrpusGfsusUfaCfagcaaGfaUfcAfuGfaCfsc	11
	SS：(NH2-C6)s(invAb)sggucaugaUfCfUfugcuguaacas(invAb)uAlk	12
AD07910	AS：cPrpusGfsusUfaCfagcaaGfaUfcAfuGfaCfsc	13
	SS：(NH2-C6)s(invAb)sggucaugaUfCfUfugcuguaacaAlks(invAb)	14
AD08257	AS：cPrpusGfuUfacagcaaGfaUfcsAfsusGfsasCfsc	15
	SS：(NH2-C6)s(invAb)sggucaugaUfCfUfugcuguaacas(invAb)(LA2)	16

其中在以上表31中，AS表示反義股，SS表示有義股；a、c、g、i及u分別表示2'-O-甲基腺苷、胞苷、鳥苷、肌苷及尿苷；Af、Cf、Gf及Uf分別表示2'-氟腺苷、胞苷、鳥苷及尿苷；s表示硫代磷酸酯鍵聯；(invAb)表示反向無鹼基去氧核糖殘基(參見表23)；dT表示2'-去氧胸苷-3'-磷酸；cPrp表示膦酸環丙酯，參見表23；aAlk表示2'-O-炔丙基腺苷-3'-磷酸，參見表23；cAlk表示2'-O-炔丙基胞苷-3'-磷酸，參見表23；gAlk表示2'-O-炔丙基鳥苷-3'-磷酸，參見表23；tAlk表示2'-O-炔丙基-5-甲基尿苷-3'-磷酸，參見表23；uAlk表示2'-O-炔丙基尿苷-3'-磷酸，參見表23；(C6-SS-C6)參見表23；(NH2-C6)s參見表23；且LA2具有以下結構：



，其中~指示與RNAi劑其餘部分之連接點。

【0819】 在研究第1天，根據以下給藥組，向小鼠注射等滲鹽水(載體對照)或2 mg/kg (mpk)在等滲鹽水中調配之包含如本文所述之RNAi劑的本發明之遞送載體，其中AD06569具有以上表31中所示之結構：

【0820】 表32：實例10之用於小鼠之給藥組

組	包含RNAi劑之本發明之遞送載體及劑量	給藥方案
1	鹽水	在第1天單次注射
2	2 mpk AD06569-LP1	在第1天單次注射
4	2 mpk avb6-Pep1-AD06569-nEm	在第1天單次注射
5	2 mpk avb6-Pep1-AD06569-LP1b	在第1天單次注射
6	2 mpk avb6-Pep1-AD06569-LP29b	在第1天單次注射
7	2 mpk avb6-Pep1-AD06569-LP33b	在第1天單次注射

【0821】 合成具有靶向*MSTN*基因之核苷酸序列的RNAi劑AD06569，且在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團(NH_2-C6)s以有助於與靶向配位體avB6肽1之結合。亦合成在3'末端具有(C6-SS-C6)基團之RNAi劑以有助於與脂質PK/PD調節劑前驅體之結合。

【0822】 第4-7組包含根據以上實例5中所述之程序與有義股之5'末端結合的αvβ6整合素配位體肽1。第2及4-7組中之每一者包含脂質PK/PD調節劑，其結構如上文所示，根據以上實例6中所述之程序與有義股之3'末端結合。

【0823】 對各組(n=4)中之四(4)隻小鼠進行給藥。在第1天、第8天、第15天及第22天對小鼠抽血且收集血清。在研究第22天處死小鼠，

且自腓腸肌及三頭肌分離總肌肉生長抑制素mRNA。自右前肢收穫三頭肌。將各樣品速凍於percellys管中，且儲存於-80℃冷凍機中直至完成分析為止。藉由關於小鼠肌肉生長抑制素之ELISA分析在血清中測定相對*MSTN*表現。血清中之平均相對肌肉生長抑制素表現展示於下表33中。

【0824】 表33：實例10的小鼠之自血清之平均相對*MSTN*表現

組	第8天		第15天		第22天	
	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
1. 鹽水	0.795	0.126	0.893	0.108	0.940	0.058
2. AD06569-LP1b	0.620	0.074	0.435	0.028	0.417	0.033
4. avb6-Pep1-AD06569-nEm	0.725	0.033	0.677	0.041	0.754	0.092
5. avb6-Pep1-AD06569-LP1b	0.370	0.031	0.261	0.021	0.247	0.028
6. avb6-Pep1-AD06569-LP29b	0.435	0.101	0.304	0.075	0.326	0.043
7. avb6-Pep1-AD06569-LP33b	0.456	0.042	0.271	0.021	0.296	0.031

【0825】 在TaqMan分析中使用自腓腸肌及三頭肌收集之組織測定彼等組織中*MSTN*之相對量。下表34展示分析結果。

【0826】 表34：實例10之給藥組中三頭肌及腓腸肌中之相對表現。

組	三頭肌			腓腸肌		
	相對表現	低誤差	高誤差	相對表現	低誤差	高誤差
1. 鹽水	1.000	0.105	0.118	1.000	0.092	0.101
2. AD06569-LP1b	0.171	0.067	0.110	0.175	0.041	0.053
4. avb6-Pep1-AD06569-nEm	0.462	0.041	0.046	0.446	0.063	0.073
5. avb6-Pep1-AD06569-LP1b	0.118	0.020	0.023	0.099	0.017	0.021
6. avb6-Pep1-AD06569-LP29b	0.174	0.034	0.042	0.126	0.045	0.070
7. avb6-Pep1-AD06569-LP33b	0.132	0.035	0.049	0.119	0.026	0.033

【0827】 實例11.小鼠中靶向Mstn之RNAi觸發劑之活體內投與

【0828】 在研究第1天，根據以下給藥組，向小鼠注射等滲鹽水(載體對照)或2 mg/kg (mpk)在等滲鹽水中調配之包含如本文所述之RNAi劑的本發明之遞送載體，其中AD06569具有以上表31中所示之結構：

【0829】 表35：實例11之用於小鼠之給藥組

組	包含RNAi劑之本發明之遞送載體及劑量	給藥方案
1	鹽水	在第1天單次注射
2	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP38b	在第1天單次注射

3	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP101b	在第1天單次注射
4	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP41b	在第1天單次注射
5	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP104b	在第1天單次注射
6	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP53b	在第1天單次注射
7	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP43b	在第1天單次注射
8	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP44b	在第1天單次注射
9	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP102b	在第1天單次注射
10	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP103b	在第1天單次注射

【0830】合成具有靶向*MSTN*基因之核苷酸序列的RNAi劑AD06569，且在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團(NH2-C6)s以有助於與靶向配位體之結合。亦合成在3'末端具有(C6-SS-C6)基團之RNAi劑以有助於與脂質PK/PD調節劑前驅體之結合。

【0831】第2-10組包含根據以上實例5中所述之程序與有義股之5'末端結合的αvβ6整合素配位體肽1。第2-10組中之每一者包含脂質PK/PD調節劑，其結構如上文所示，根據以上實例6中所述之程序與有義股之3'末端結合。

【0832】對各組(n=4)中之四(4)隻小鼠進行給藥。在第1天、第8天、第15天及第22天對小鼠抽血且收集血清。在研究第22天處死小鼠，且自腓腸肌及三頭肌分離總肌肉生長抑制素mRNA。自右前肢收穫三頭肌。將各樣品速凍於percellys管中，且儲存於-80℃冷凍機中直至完成分析為止。藉由關於小鼠肌肉生長抑制素之ELISA分析在血清中測定相對*MSTN*表現。血清中之平均相對肌肉生長抑制素表現展示於下表36中。

【0833】表36：實例11的小鼠之自血清之平均相對*MSTN*表現

組	**第8天**		**第15天**		**第22天**	
	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
1. 鹽水	0.978	0.132	1.220	0.077	1.035	0.112
2. Avb6-Pep1-AD06569-LP38b	0.462	0.016	0.378	0.048	0.278	0.011
3. Avb6-Pep1-AD06569-LP101b	0.413	0.022	0.344	0.050	0.245	0.053
4. Avb6-Pep1-AD06569-LP41b	0.375	0.052	0.316	0.041	0.231	0.013
5. Avb6-Pep1-AD06569-LP104b	0.339	0.028	0.289	0.040	0.186	0.028
6. Avb6-Pep1-AD06569-LP53b	0.422	0.016	0.374	0.022	0.256	0.045

7. Avb6-Pep1-AD06569-LP43b	0.356	0.056	0.316	0.067	0.209	0.042
8. Avb6-Pep1-AD06569-LP44b	0.369	0.014	0.315	0.037	0.233	0.014
9. Avb6-Pep1-AD06569-LP102b	0.623	0.016	0.660	0.032	0.473	0.019
10. Avb6-Pep1-AD06569-LP103b	0.382	0.022	0.340	0.062	0.211	0.032

【0834】 在TaqMan分析中使用自腓腸肌及三頭肌收集之組織測定彼等組織中*MSTN*之相對量。下表37展示分析結果。

【0835】 表37：實例11之給藥組中三頭肌及腓腸肌中之相對表現

組	三頭肌			腓腸肌		
	相對表現	低誤差	高誤差	相對表現	低誤差	高誤差
1. 鹽水	1.000	0.140	0.162	1.000	0.082	0.089
2. Avb6-Pep1-AD06569-LP38b	0.306	0.093	0.134	0.215	0.059	0.082
3. Avb6-Pep1-AD06569-LP101b	0.288	0.043	0.050	0.130	0.020	0.023
4. Avb6-Pep1-AD06569-LP41b	0.238	0.042	0.051	0.140	0.037	0.051
5. Avb6-Pep1-AD06569-LP104b	0.187	0.034	0.042	0.126	0.017	0.019
6. Avb6-Pep1-AD06569-LP53b	0.249	0.042	0.051	0.123	0.028	0.036
7. Avb6-Pep1-AD06569-LP43b	0.196	0.040	0.051	0.111	0.036	0.054
8. Avb6-Pep1-AD06569-LP44b	0.238	0.037	0.044	0.144	0.009	0.010
9. Avb6-Pep1-AD06569-LP102b	0.526	0.076	0.089	0.326	0.024	0.026
10. Avb6-Pep1-AD06569-LP103b	0.239	0.050	0.064	0.133	0.012	0.013

【0836】

【0837】 實例12.小鼠中靶向Mstn之RNAi觸發劑之活體內投與

【0838】 在研究第1天，根據以下給藥組，向小鼠注射等滲鹽水(載體對照)或2 mg/kg (mpk)在等滲鹽水中調配之包含如本文所述之RNAi劑的本發明之遞送載體，其中AD06569具有以上表31中所示之結構：

【0839】 表38：實例12之用於小鼠之給藥組

組	包含RNAi劑之本發明之遞送載體及劑量	給藥方案
1	鹽水	在第1天單次注射
2	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP38b	在第1天單次注射
3	2 mpk Avb6-Pep5-AD06569-LP38b	在第1天單次注射
4	2 mpk Avb6-Pep6-AD06569-LP38b	在第1天單次注射
5	2 mpk Avb6-Pep6-AD06569-LP33b	在第1天單次注射
6	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP54b	在第1天單次注射
7	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP93b	在第1天單次注射

【0840】 合成具有靶向*MSTN*基因之核苷酸序列的RNAi劑

AD06569，且在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團(NH2-C6)s以有助於與靶向配位體之結合。亦合成在3'末端具有(C6-SS-C6)基團之RNAi劑以有助於與脂質PK/PD調節劑前驅體之結合。

【0841】 第2及6-7組包含根據以上實例5中所述之程序與有義股之5'末端結合的αvβ6整合素配位體肽1。第3組包含根據以上實例5中所述之程序與有義股之5'末端結合的αvβ6整合素配位體肽5。第4及5組包含根據以上實例5中所述之程序與有義股之5'末端結合的αvβ6整合素配位體肽6。第2-7組中之每一者包含脂質PK/PD調節劑，其結構如上文所示，根據以上實例6中所述之程序與有義股之3'末端結合。

【0842】 對各組(n=4)中之四(4)隻小鼠進行給藥。在第1天、第8天、第15天及第22天對小鼠抽血且收集血清。在研究第22天處死小鼠，且自腓腸肌及三頭肌分離總肌肉生長抑制素mRNA。自右前肢收穫三頭肌。將各樣品速凍於percellys管中，且儲存於-80℃冷凍機中直至完成分析為止。藉由關於小鼠肌肉生長抑制素之ELISA分析在血清中測定相對*MSTN*表現。血清中之平均相對肌肉生長抑制素表現展示於下表39中。

【0843】 表39：實例12的小鼠之自血清之平均相對*MSTN*表現

組	第8天		第15天		第22天	
	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
1. 鹽水	1.017	0.062	0.950	0.062	1.064	0.086
2. Avb6-Pep1-AD06569-LP38b	0.432	0.061	0.280	0.036	0.303	0.029
3. Avb6-Pep5-AD06569-LP38b	0.412	0.083	0.300	0.044	0.365	0.073
4. Avb6-Pep6-AD06569-LP38b	0.371	0.061	0.260	0.019	0.274	0.035
5. Avb6-Pep6-AD06569-LP33b	0.345	0.055	0.198	0.028	0.223	0.018
6. Avb6-Pep1-AD06569-LP54b	0.468	0.053	0.274	0.034	0.266	0.011
7. Avb6-Pep1-AD06569-LP93b	0.550	0.256	0.388	0.217	0.352	0.060

【0844】 在TaqMan分析中使用自腓腸肌及三頭肌收集之組織測定彼等組織中*MSTN*之相對量。下表40展示分析結果。

【0845】 表40：實例12之給藥組中三頭肌及腓腸肌中之相對表現

組	三頭肌			腓腸肌		
	相對表現	低誤差	高誤差	相對表現	低誤差	高誤差
1. 鹽水	1.000	0.145	0.169	1.000	0.106	0.119
2. Avb6-Pep1-AD06569-LP38b	0.296	0.038	0.043	0.186	0.017	0.019
3. Avb6-Pep5-AD06569-LP38b	0.224	0.027	0.031	0.132	0.018	0.021
4. Avb6-Pep6-AD06569-LP38b	0.193	0.017	0.019	0.117	0.015	0.017
5. Avb6-Pep6-AD06569-LP33b	0.177	0.018	0.020	0.091	0.011	0.012
6. Avb6-Pep1-AD06569-LP54b	0.217	0.030	0.035	0.145	0.024	0.029
7. Avb6-Pep1-AD06569-LP93b	0.291	0.040	0.046	0.196	0.040	0.050

【0846】 實例13.小鼠中靶向Mstn之RNAi觸發劑之活體內投與

【0847】 在研究第1天，根據以下給藥組，向小鼠注射等滲鹽水(載體對照)或2 mg/kg (mpk)在等滲鹽水中調配之包含如本文所述之RNAi劑的本發明之遞送載體，其中AD06569具有以上表31中所示之結構：

【0848】 表41：實例13之用於小鼠之給藥組

組	包含RNAi劑之本發明之遞送載體及劑量	給藥方案
1	鹽水	在第1天單次注射
2	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP38b	在第1天單次注射
3	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP42b	在第1天單次注射
4	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP61b	在第1天單次注射
5	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP48b	在第1天單次注射
6	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP49b	在第1天單次注射
7	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP47b	在第1天單次注射
8	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP45b	在第1天單次注射

【0849】 合成具有靶向*MSTN*基因之核苷酸序列的RNAi劑AD06569，且在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團(NH2-C6)s以有助於與靶向配位體之結合。亦合成在3'末端具有(C6-SS-C6)基團之RNAi劑以有助於與脂質PK/PD調節劑前驅體之結合。

【0850】 第2-8組包含根據以上實例5中所述之程序與有義股之5'末端結合的αvβ6整合素配位體肽1。第2-8組中之每一者包含脂質PK/PD調節劑，其結構如上文所示，根據以上實例6中所述之程序與有義股之3'末端結合。

【0851】 對各組(n=4)中之四(4)隻小鼠進行給藥。在第1天、第8天、第15天及第22天對小鼠抽血且收集血清。在研究第22天處死小鼠，且自腓腸肌及三頭肌分離總肌肉生長抑制素mRNA。自右前肢收穫三頭肌。將各樣品速凍於percellys管中，且儲存於-80℃冷凍機中直至完成分析為止。藉由關於小鼠肌肉生長抑制素之ELISA分析在血清中測定相對*MSTN*表現。血清中之平均相對肌肉生長抑制素表現展示於下表42中。

【0852】 表42：實例13的小鼠之自血清之平均相對*MSTN*表現

組	第8天		第15天		第22天	
	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
1. 鹽水	0.949	0.058	0.916	0.086	1.118	0.117
2. Avb6-Pep1-AD06569-LP38b	0.441	0.050	0.320	0.017	0.289	0.036
3. Avb6-Pep1-AD06569-LP42b	0.508	0.064	0.354	0.020	0.372	0.045
4. Avb6-Pep1-AD06569-LP61b	0.299	0.060	0.220	0.030	0.203	0.031
5. Avb6-Pep1-AD06569-LP48b	0.378	0.039	0.298	0.021	0.295	0.020
6. Avb6-Pep1-AD06569-LP49b	0.344	0.038	0.244	0.014	0.236	0.021
7. Avb6-Pep1-AD06569-LP47b	0.408	0.038	0.335	0.043	0.336	0.060
8. Avb6-Pep1-AD06569-LP45b	0.357	0.047	0.280	0.016	0.244	0.021

【0853】 在TaqMan分析中使用自腓腸肌及三頭肌收集之組織測定彼等組織中*MSTN*之相對量。下表43展示分析結果。

【0854】 表43：實例13之給藥組中三頭肌及腓腸肌中之相對表現

組	三頭肌			腓腸肌		
	相對表現	低誤差	高誤差	相對表現	低誤差	高誤差
1. 鹽水	1.000	0.093	0.103	1.000	0.200	0.250
2. Avb6-Pep1-AD06569-LP38b	0.194	0.017	0.019	0.150	0.015	0.016
3. Avb6-Pep1-AD06569-LP42b	0.216	0.016	0.018	0.189	0.022	0.024
4. Avb6-Pep1-AD06569-LP61b	0.115	0.019	0.023	0.104	0.023	0.029
5. Avb6-Pep1-AD06569-LP48b	0.166	0.024	0.028	0.125	0.008	0.009
6. Avb6-Pep1-AD06569-LP49b	0.111	0.013	0.014	0.107	0.009	0.010
7. Avb6-Pep1-AD06569-LP47b	0.171	0.028	0.033	0.148	0.023	0.027
8. Avb6-Pep1-AD06569-LP45b	0.131	0.025	0.031	0.086	0.014	0.017

【0855】 實例14.小鼠中靶向Mstn之RNAi觸發劑之活體內投與

【0856】 在研究第1天，根據以下給藥組，向小鼠注射等滲鹽水(載

體對照)或1.5 mg/kg (mpk)在等滲鹽水中調配之包含如本文所述之RNAi劑的本發明之遞送載體，其中AD06569具有以上表31中所示之結構：

【0857】 表44：實例14之用於小鼠之給藥組

組	包含RNAi劑之本發明之遞送載體及劑量	給藥方案
1	鹽水	在第1天單次注射
3	1.5 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP33b	在第1天單次注射
4	1.5 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP39b	在第1天單次注射
5	1.5 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP41b	在第1天單次注射
6	1.5 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP57b	在第1天單次注射
7	1.5 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP58b	在第1天單次注射
8	1.5 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP59b	在第1天單次注射
9	1.5 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP60b	在第1天單次注射
10	1.5 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP62b	在第1天單次注射

【0858】 合成具有靶向*MSTN*基因之核苷酸序列的RNAi劑AD06569，且在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團(NH2-C6)s以有助於與靶向配位體之結合。亦合成在3'末端具有(C6-SS-C6)基團之RNAi劑以有助於與脂質PK/PD調節劑前驅體之結合。

【0859】 第3-10組包含根據以上實例5中所述之程序與有義股之5'末端結合的αvβ6整合素配位體肽1。第2-10組中之每一者包含脂質PK/PD調節劑，其結構如上文所示，根據以上實例6中所述之程序與有義股之3'末端結合。

【0860】 對各組(n=4)中之四(4)隻小鼠進行給藥。在第1天、第8天、第15天及第22天對小鼠抽血且收集血清。在研究第22天處死小鼠，且自腓腸肌及三頭肌分離總肌肉生長抑制素mRNA。自右前肢收穫三頭肌。將各樣品速凍於percellys管中，且儲存於-80℃冷凍機中直至完成分析為止。藉由關於小鼠肌肉生長抑制素之ELISA分析在血清中測定相對*MSTN*表現。血清中之平均相對肌肉生長抑制素表現展示於下表45中。

【0861】 表45：實例14的小鼠之自血清之平均相對*MSTN*表現

組	第8天		第15天		第22天	
	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
1. 鹽水	1.177	0.088	1.174	0.178	1.023	0.065
3. mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP33b	0.443	0.056	0.287	0.048	0.269	0.056
4. mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP39b	0.557	0.182	0.466	0.229	0.410	0.245
5. mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP41b	0.523	0.072	0.396	0.073	0.343	0.075
6. mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP57b	0.508	0.030	0.409	0.041	0.343	0.026
7. mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP58b	0.452	0.043	0.313	0.030	0.288	0.013
8. mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP59b	0.466	0.043	0.278	0.033	0.252	0.026
9. mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP60b	0.535	0.018	0.319	0.018	0.292	0.029
10. mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP62b	0.435	0.052	0.346	0.045	0.258	0.042

【0862】 在TaqMan分析中使用自腓腸肌及三頭肌收集之組織測定彼等組織中*MSTN*之相對量。下表46展示分析結果。

【0863】 表46：實例14之給藥組中三頭肌及腓腸肌中之相對表現

組	三頭肌			腓腸肌		
	相對表現	低誤差	高誤差	相對表現	低誤差	高誤差
1. 鹽水	1.000	0.040	0.042	1.000	0.042	0.044
3. mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP33b	0.259	0.055	0.070	0.129	0.034	0.045
4. mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP39b	0.539	0.149	0.206	0.311	0.081	0.109
5. mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP41b	0.425	0.030	0.032	0.235	0.043	0.053
6. mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP57b	0.442	0.039	0.043	0.241	0.021	0.023
7. mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP58b	0.244	0.045	0.055	0.160	0.033	0.041
8. mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP59b	0.259	0.040	0.047	0.138	0.022	0.026
9. mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP60b	0.334	0.046	0.054	0.179	0.022	0.025
10. mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP62b	0.297	0.050	0.060	0.193	0.050	0.068

【0864】 實例15.小鼠中靶向Mstn之RNAi觸發劑之活體內投與

【0865】 在研究第1天，根據以下給藥組，向小鼠注射等滲鹽水(載體對照)或2 mg/kg (mpk)在等滲鹽水中調配之包含如本文所述之RNAi劑的本發明之遞送載體，其中AD06569具有以上表31中所示之結構：

【0866】 表47：實例15之用於小鼠之給藥組

組	包含RNAi劑之本發明之遞送載體及劑量	給藥方案
1	鹽水	在第1天單次注射
2	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP41b	在第1天單次注射
3	2 mpk Avb6-Pep6-AD06569-LP41b	在第1天單次注射
4	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP106b	在第1天單次注射

5	2 mpk Avb6-Pep6-AD06569-LP106b	在第1天單次注射

【0867】合成具有靶向*MSTN*基因之核苷酸序列的RNAi劑AD06569，且在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團(NH2-C6)s以有助於與靶向配位體之結合。亦合成在3'末端具有(C6-SS-C6)基團之RNAi劑以有助於與脂質PK/PD調節劑前驅體之結合。

【0868】第2及4組包含根據以上實例5中所述之程序與有義股之5'末端結合的αvβ6整合素配位體肽1。第3及5組包含根據以上實例5中所述之程序與有義股之5'末端結合的αvβ6整合素配位體肽6。第2及4組包含脂質PK/PD調節劑，其結構如上文，根據以上實例6中所述之程序與有義股之3'末端結合。

【0869】對各組(n=4)中之四(4)隻小鼠進行給藥。在第1天、第8天、第15天及第22天對小鼠抽血且收集血清。在研究第22天處死小鼠，且自腓腸肌及三頭肌分離總肌肉生長抑制素mRNA。自右前肢收穫三頭肌。將各樣品速凍於percellys管中，且儲存於-80℃冷凍機中直至完成分析為止。藉由關於小鼠肌肉生長抑制素之ELISA分析在血清中測定相對*MSTN*表現。血清中之平均相對肌肉生長抑制素表現展示於下表48中。

【0870】表48：實例15的小鼠之自血清之平均相對*MSTN*表現

組	第8天		第15天		第22天	
	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
1. 鹽水	1.020	0.048	1.358	0.040	1.412	0.082
2. Avb6-Pep1-AD06569-LP41b	0.535	0.297	0.594	0.354	0.552	0.424
3. Avb6-Pep6-AD06569-LP41b	0.411	0.069	0.407	0.037	0.319	0.035
4. Avb6-Pep1-AD06569-LP106b	0.413	0.022	0.419	0.038	0.341	0.027
5. Avb6-Pep6-AD06569-LP106b	0.418	0.043	0.454	0.039	0.327	0.058

【0871】在TaqMan分析中使用自腓腸肌及三頭肌收集之組織測定

彼等組織中*MSTN*之相對量。下表49展示分析結果。

【0872】 表49：實例15之給藥組中三頭肌及腓腸肌中之相對表現

組	三頭肌			腓腸肌		
	相對表現	低誤差	高誤差	相對表現	低誤差	高誤差
1. 鹽水	1.000	0.180	0.219	1.000	0.109	0.123
2. Avb6-Pep1-AD06569-LP41b	0.260	0.123	0.233	0.188	0.107	0.250
3. Avb6-Pep6-AD06569-LP41b	0.194	0.019	0.021	0.103	0.013	0.015
4. Avb6-Pep1-AD06569-LP106b	0.203	0.020	0.022	0.122	0.015	0.017
5. Avb6-Pep6-AD06569-LP106b	0.210	0.037	0.045	0.117	0.018	0.021

【0873】 實例16.小鼠中靶向Mstn之RNAi觸發劑之活體內投與

【0874】 在研究第1天，根據以下給藥組，向小鼠注射等滲鹽水(載體對照)或2 mg/kg (mpk)在等滲鹽水中調配之包含如本文所述之RNAi劑的本發明之遞送載體，其中AD06569具有以上表31中所示之結構：

【0875】 表50：實例16之用於小鼠之給藥組

組	包含RNAi劑之本發明之遞送載體及劑量	給藥方案
1	鹽水	在第1天單次注射
2	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP38b	在第1天單次注射
3	2 mpk Avb6-Pep1-AD07724-LP107b	在第1天單次注射
4	2 mpk Avb6-Pep1-AD07724-LP108b	在第1天單次注射
5	2 mpk Avb6-Pep1-AD07724-LP109b	在第1天單次注射
6	2 mpk Avb6-Pep6-AD06569-LP33b	在第1天單次注射
7	2 mpk Avb6-Pep6-AD06569-LP81b	在第1天單次注射
8	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP110b	在第1天單次注射
9	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP111b	在第1天單次注射

【0876】 合成具有靶向*MSTN*基因之核苷酸序列的RNAi劑AD06569及AD07724，且在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團(NH2-C6)s以有助於與靶向配位體之結合。亦合成在3'末端具有(C6-SS-C6)基團之AD06569以有助於與脂質PK/PD調節劑前驅體之結合。合成具有末端uAlk (參見表23)殘基之AD07724，以有助於與脂質PK/PD調節劑前驅體之結合。

【0877】 第2-9組包含根據以上實例5中所述之程序與有義股之5'末

端結合的αvβ6整合素配位體肽1。第2-9組中之每一者包含脂質PK/PD調節劑，其結構如上文所示，根據以上實例6中所述之程序與有義股之3'末端結合。

【0878】 對各組(n=4)中之四(4)隻小鼠進行給藥。在第1天、第8天、第15天及第22天對小鼠抽血且收集血清。在研究第22天處死小鼠，且自腓腸肌及三頭肌分離總肌肉生長抑制素mRNA。自右前肢收穫三頭肌。將各樣品速凍於percellys管中，且儲存於-80℃冷凍機中直至完成分析為止。藉由關於小鼠肌肉生長抑制素之ELISA分析在血清中測定相對*MSTN*表現。血清中之平均相對肌肉生長抑制素表現展示於下表51中。

【0879】 表51：實例16的小鼠之自血清之平均相對*MSTN*表現

組	第8天		第15天		第22天	
	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
1. 鹽水	1.071	0.061	0.988	0.086	1.170	0.088
2. Avb6-Pep1-AD06569-LP38b	0.500	0.017	0.254	0.026	0.315	0.026
3. Avb6-Pep1-AD07724-LP107b	0.804	0.026	0.595	0.061	0.753	0.008
4. Avb6-Pep1-AD07724-LP108b	0.877	0.052	0.626	0.041	0.732	0.053
5. Avb6-Pep1-AD07724-LP109b	0.859	0.100	0.610	0.059	0.709	0.079
6. Avb6-Pep6-AD06569-LP33b	0.326	0.040	0.187	0.025	0.207	0.034
7. Avb6-Pep6-AD06569-LP81b	0.352	0.013	0.218	0.025	0.235	0.014
8. Avb6-Pep1-AD06569-LP110b	0.476	0.045	0.306	0.023	0.317	0.040
9. Avb6-Pep1-AD06569-LP111b	0.422	0.021	0.220	0.028	0.250	0.039

【0880】 在TaqMan分析中使用自腓腸肌及三頭肌收集之組織測定彼等組織中*MSTN*之相對量。下表52展示分析結果。

【0881】 表52：實例16之給藥組中三頭肌及腓腸肌中之相對表現

組	三頭肌			腓腸肌		
	相對表現	低誤差	高誤差	相對表現	低誤差	高誤差
1. 鹽水	1.000	0.031	0.032	1.000	0.216	0.276
2. Avb6-Pep1-AD06569-LP38b	0.193	0.028	0.032	0.109	0.008	0.008
3. Avb6-Pep1-AD07724-LP107b	0.506	0.045	0.050	0.347	0.047	0.055
4. Avb6-Pep1-AD07724-LP108b	0.441	0.046	0.052	0.269	0.049	0.060
5. Avb6-Pep1-AD07724-LP109b	0.447	0.057	0.065	0.284	0.066	0.086
6. Avb6-Pep6-AD06569-LP33b	0.101	0.017	0.020	0.064	0.011	0.013

7. Avb6-Pep6-AD06569-LP81b	0.103	0.014	0.017	0.062	0.009	0.011
8. Avb6-Pep1-AD06569-LP110b	0.193	0.023	0.026	0.105	0.015	0.017
9. Avb6-Pep1-AD06569-LP111b	0.129	0.024	0.029	0.094	0.016	0.019

【0882】 **實例17.小鼠中靶向Mstn之RNAi觸發劑之活體內投與**

【0883】 在研究第1天，根據以下給藥組，向小鼠注射等滲鹽水(載體對照)或2 mg/kg (mpk)在等滲鹽水中調配之包含如本文所述之RNAi劑的本發明之遞送載體，其中AD06569具有以上表31中所示之結構。

【0884】 表53：實例17之用於小鼠之給藥組

組	包含RNAi劑之本發明之遞送載體及劑量	給藥方案
1	鹽水	在第1天單次注射
2	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP38b	在第1天單次注射
3	2 mpk Avb6-Pep1-AD07724-LP108b	在第1天單次注射
4	2 mpk Avb6-Pep1-AD07909-LP108b	在第1天單次注射
5	2 mpk Avb6-Pep1-AD07910-LP108b	在第1天單次注射
6	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP143b	在第1天單次注射
7	2 mpk Avb6-Pep6-AD06569-LP143b	在第1天單次注射
8	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP57b	在第1天單次注射
9	2 mpk Avb6-Pep6-AD06569-LP130b	在第1天單次注射
10	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP124b	在第1天單次注射

【0885】 合成具有靶向*MSTN*基因之核苷酸序列的RNAi劑AD06569、AD07724、AD07909及AD07910，且在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團(NH2-C6)s以有助於與靶向配位體之結合。亦合成在3'末端具有(C6-SS-C6)基團之AD06569以有助於與脂質PK/PD調節劑前驅體之結合。合成具有含末端炔之核苷酸的AD07724、AD07909及AD07910 (參見表23)以有助於與脂質PK/PD調節劑前驅體之結合。

【0886】 第2-6、8及10組包含根據以上實例5中所述之程序與有義股之5'末端結合的αvβ6整合素配位體肽1。第7及9組包含根據以上實例5中所述之程序與有義股之5'末端結合的αvβ6整合素配位體肽6。第2-10組中之每一者包含脂質PK/PD調節劑，其結構如上文所示，根據以上實例6中所述之程序與有義股之3'末端結合。

【0887】 對各組(n=4)中之四(4)隻小鼠進行給藥。在第1天、第8天、第15天及第22天對小鼠抽血且收集血清。在研究第22天處死小鼠，且自腓腸肌及三頭肌分離總肌肉生長抑制素mRNA。自右前肢收穫三頭肌。將各樣品速凍於percellys管中，且儲存於-80℃冷凍機中直至完成分析為止。藉由關於小鼠肌肉生長抑制素之ELISA分析在血清中測定相對*MSTN*表現。血清中之平均相對肌肉生長抑制素表現展示於下表54中。

【0888】 表54：實例17的小鼠之自血清之平均相對*MSTN*表現

組	第8天		第15天		第22天	
	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
1. 鹽水	1.087	0.059	1.011	0.075	1.036	0.095
2. Avb6-Pep1-AD06569-LP38b	0.453	0.020	0.317	0.030	0.272	0.018
3. Avb6-Pep1-AD07724-LP108b	0.833	0.029	0.574	0.056	0.586	0.057
4. Avb6-Pep1-AD07909-LP108b	0.792	0.108	0.587	0.062	0.543	0.077
5. Avb6-Pep1-AD07910-LP108b	0.585	0.022	0.347	0.035	0.347	0.070
6. Avb6-Pep1-AD06569-LP143b	0.495	0.060	0.331	0.043	0.283	0.054
7. Avb6-Pep6-AD06569-LP143b	0.406	0.003	0.286	0.024	0.255	0.048
8. Avb6-Pep1-AD06569-LP57b	0.437	0.064	0.265	0.037	0.241	0.022
9. Avb6-Pep6-AD06569-LP130b	0.443	0.032	0.269	0.010	0.212	0.008
10. Avb6-Pep1-AD06569-LP124b	0.406	0.040	0.257	0.027	0.212	0.026

【0889】 在TaqMan分析中使用自腓腸肌及三頭肌收集之組織測定彼等組織中*MSTN*之相對量。下表55展示分析結果。

【0890】 表55：實例17之給藥組中三頭肌及腓腸肌中之相對表現

組	三頭肌			腓腸肌		
	相對表現	低誤差	高誤差	相對表現	低誤差	高誤差
1. 鹽水	1.000	0.124	0.141	1.000	0.109	0.122
2. Avb6-Pep1-AD06569-LP38b	0.263	0.035	0.040	0.175	0.014	0.015
3. Avb6-Pep1-AD07724-LP108b	0.435	0.021	0.022	0.317	0.023	0.025
4. Avb6-Pep1-AD07909-LP108b	0.477	0.044	0.049	0.328	0.037	0.041
5. Avb6-Pep1-AD07910-LP108b	0.229	0.029	0.033	0.130	0.037	0.051
6. Avb6-Pep1-AD06569-LP143b	0.228	0.045	0.056	0.170	0.032	0.039
7. Avb6-Pep6-AD06569-LP143b	0.194	0.042	0.053	0.135	0.031	0.041
8. Avb6-Pep1-AD06569-LP57b	0.156	0.012	0.013	0.084	0.019	0.024
9. Avb6-Pep6-AD06569-LP130b	0.183	0.046	0.061	0.112	0.035	0.052
10. Avb6-Pep1-AD06569-LP124b	0.166	0.031	0.039	0.100	0.019	0.023

【0891】 實例18.小鼠中靶向Mstn之RNAi觸發劑之活體內投與

【0892】 在研究第1天，根據表56中闡述之以下給藥組，向小鼠注射等滲鹽水(載體對照)或1 mg/kg (mpk)在等滲鹽水中調配之包含如本文所述之RNAi劑的本發明之遞送載體，其中AD06569具有以上表31中所示之結構。

【0893】 表56：實例18之用於小鼠之給藥組

組	包含RNAi劑之本發明之遞送載體及劑量	給藥方案
1	鹽水	在第1天單次注射
2	1 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP29b	在第1天單次注射
3	1 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP217b	在第1天單次注射
4	1 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP220b	在第1天單次注射
5	1 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP221b	在第1天單次注射
6	1 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP223b	在第1天單次注射
7	1 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP224b	在第1天單次注射
8	1 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP225b	在第1天單次注射
9	1 mpk Avb6-Pep1-AD08257-LP226b	在第1天單次注射

【0894】 合成具有靶向*MSTN*基因之核苷酸序列之RNAi劑AD06569及AD08257。AD0659在有義股之5'末端包括官能化胺反應基(NH2-C6)s以有助於與靶向配位體之結合。亦合成在3'末端具有(C6-SS-C6)基團之AD06569以有助於與脂質PK/PD調節劑前驅體之結合。AD08257在有義股之5'末端包括(NH2-C6)s基團以有助於與靶向配位體之結合。亦合成在3'末端具有LA2基團之AD08257以有助於與脂質PK/PD調節劑前驅體之結合。

【0895】 第2-9組包含根據以上實例5中所述之程序與有義股之5'末端結合的αvβ6整合素配位體肽1。第2-9組中之每一者包含脂質PK/PD調節劑，其結構如上文所示，根據以上實例6中所述之程序與有義股之3'末端結合。

【0896】 對各組(n=4)中之四(4)隻小鼠進行給藥。在第1天、第8天、第15天及第22天對小鼠抽血且收集血清。在研究第22天處死小鼠，

且自三頭肌分離總肌肉生長抑制素mRNA。自右前肢收穫三頭肌。將各樣品速凍於percellys管中，且儲存於-80℃冷凍機中直至完成分析為止。藉由關於小鼠肌肉生長抑制素之ELISA分析在血清中測定相對*MSTN*表現。血清中之平均相對肌肉生長抑制素表現展示於下表57中。

【0897】 表57：實例18的小鼠之自血清之平均相對MSTN表現

組	第8天		第15天		第22天	
	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
1. 鹽水	0.902	0.078	0.989	0.071	0.969	0.100
2. Avb6-Pep1-AD06569-LP29b	0.468	0.070	0.314	0.032	0.265	0.016
3. Avb6-Pep1-AD06569-LP217b	0.457	0.029	0.366	0.054	0.298	0.027
4. Avb6-Pep1-AD06569-LP220b	0.453	0.018	0.330	0.011	0.277	0.035
5. Avb6-Pep1-AD06569-LP221b	0.619	0.039	0.567	0.072	0.443	0.067
6. Avb6-Pep1-AD06569-LP223b	0.490	0.027	0.353	0.022	0.273	0.017
7. Avb6-Pep1-AD06569-LP224b	0.467	0.074	—	—	0.298	0.021
8. Avb6-Pep1-AD06569-LP225b	0.445	0.023	—	—	0.233	0.070
9. Avb6-Pep1-AD08257-LP226b	0.527	0.042	0.444	0.067	0.356	0.074

【0898】 在TaqMan分析中使用自三頭肌收集之組織測定彼等組織中*MSTN*之相對量。下表58展示分析結果。

【0899】 表58：實例18之給藥組中三頭肌中之相對表現。

組	三頭肌		
	相對表現	低誤差	高誤差
1. 鹽水	1.000	0.047	0.050
2. Avb6-Pep1-AD06569-LP29b	0.239	0.038	0.045
3. Avb6-Pep1-AD06569-LP217b	0.310	0.041	0.047
4. Avb6-Pep1-AD06569-LP220b	0.264	0.022	0.024
5. Avb6-Pep1-AD06569-LP221b	0.410	0.070	0.084
6. Avb6-Pep1-AD06569-LP223b	0.265	0.037	0.043
7. Avb6-Pep1-AD06569-LP224b	0.314	0.052	0.062
8. Avb6-Pep1-AD06569-LP225b	0.281	0.044	0.052
9. Avb6-Pep1-AD08257-LP226b	0.243	0.044	0.054

【0900】 實例19.小鼠中靶向Mstn之RNAi觸發劑之活體內投與

【0901】 在研究第1天，根據表59中闡述之給藥組，向小鼠注射等滲鹽水(載體對照)、0.75 mg/kg (mpk)在等滲鹽水中調配之包含如本文所述之RNAi劑的本發明之遞送載體或2 mpk在等滲鹽水中調配之包含如本

文所述之RNAi劑的本發明之遞送載體，其中AD06569具有以上表31中所示之結構。

【0902】 表59：實例19之用於小鼠之給藥組

組	包含RNAi劑之本發明之遞送載體及劑量	給藥方案
1	鹽水	在第1天單次注射
2	0.75 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP29b	在第1天單次注射
3	0.75 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP210b	在第1天單次注射
4	0.75 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP220b	在第1天單次注射
5	0.75 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP238b	在第1天單次注射
6	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP29b	在第1天單次注射
7	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP210b	在第1天單次注射
8	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP220b	在第1天單次注射
9	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP238b	在第1天單次注射

【0903】 合成具有靶向*MSTN*基因之核苷酸序列的RNAi劑AD06569，且在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團(NH2-C6)s以有助於與靶向配位體之結合。亦合成在3'末端具有(C6-SS-C6)基團之AD06569以有助於與脂質PK/PD調節劑前驅體之結合。

【0904】 第2-9組包含根據以上實例5中所述之程序與有義股之5'末端結合的αvβ6整合素配位體肽1。第2-9組中之每一者包含脂質PK/PD調節劑，其結構如上文所示，根據以上實例6中所述之程序與有義股之3'末端結合。

【0905】 對各組(n=4)中之四(4)隻小鼠進行給藥。在第1天、第8天、第15天及第22天對小鼠抽血且收集血清。在研究第22天處死小鼠，且自腓腸肌及三頭肌分離總肌肉生長抑制素mRNA。自右前肢收穫三頭肌。將各樣品速凍於percellys管中，且儲存於-80℃冷凍機中直至完成分析為止。藉由關於小鼠肌肉生長抑制素之ELISA分析在血清中測定相對*MSTN*表現。血清中之平均相對肌肉生長抑制素表現展示於下表60中。

【0906】 表60：實例19的小鼠之自血清之平均相對MSTN表現

組	第8天		第15天		第22天	
	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
1. 鹽水	0.966	0.094	0.903	0.033	1.065	0.089
2. 0.75 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP29b	0.518	0.048	0.398	0.049	0.391	0.039
3. 0.75 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP210b	0.478	0.093	0.421	0.023	0.444	0.008
4. 0.75 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP220b	0.447	0.050	0.343	0.059	0.323	0.055
5. 0.75 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP238b	0.510	0.034	0.373	0.029	0.412	0.044
6. 2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP29b	0.479	0.028	0.329	0.031	0.310	0.023
7. 2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP210b	0.444	0.026	0.305	0.049	0.295	0.033
8. 2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP220b	0.453	0.055	0.296	0.023	0.285	0.028
9. 2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP238b	0.410	0.073	0.304	0.027	0.290	0.021

【0907】 在TaqMan分析中使用自腓腸肌及三頭肌收集之組織測定彼等組織中*MSTN*之相對量。下表61展示分析結果。

【0908】 表61：實例19之給藥組中三頭肌及腓腸肌中之相對表現

組	三頭肌			腓腸肌		
	相對表現	低誤差	高誤差	相對表現	低誤差	高誤差
1. 鹽水	1.000	0.034	0.036	1.000	0.034	0.035
2. 0.75 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP29b	0.350	0.091	0.122	0.251	0.070	0.096
3. 0.75 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP210b	0.278	0.049	0.059	0.199	0.027	0.031
4. 0.75 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP220b	0.211	0.023	0.026	0.155	0.017	0.019
5. 0.75 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP238b	0.304	0.024	0.027	0.214	0.015	0.017
6. 2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP29b	0.170	0.046	0.063	0.119	0.023	0.028
7. 2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP210b	0.223	0.055	0.073	0.149	0.041	0.056
8. 2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP220b	0.208	0.023	0.026	0.136	0.023	0.028
9. 2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP238b	0.225	0.029	0.033	0.138	0.027	0.033

【0909】 實例20.小鼠中靶向Mstn之RNAi觸發劑之活體內投與

【0910】 在研究第1天，根據表62中闡述之給藥組，向小鼠注射等滲鹽水(載體對照)、0.75 mg/kg (mpk)在等滲鹽水中調配之包含如本文所述之RNAi劑的本發明之遞送載體或2 mpk在等滲鹽水中調配之包含如本文所述之RNAi劑的本發明之遞送載體，其中AD06569具有以上表31中所示之結構。

【0911】 表62：實例20之用於小鼠之給藥組

組	包含RNAi劑之本發明之遞送載體及劑量	給藥方案
1	鹽水	在第1天單次注射
2	0.75 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP29b	在第1天單次注射

3	0.75 mpk Avb6-Pep1-AD08257-LP240b	在第1天單次注射
4	0.75 mpk Avb6-Pep1-AD08257-LP246b	在第1天單次注射
5	0.75 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP247b	在第1天單次注射
6	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP29b	在第1天單次注射
7	2 mpk Avb6-Pep1-AD08257-LP240b	在第1天單次注射
8	2 mpk Avb6-Pep1-AD08257-LP246b	在第1天單次注射
9	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP247b	在第1天單次注射

【0912】 合成具有靶向*MSTN*基因之核苷酸序列之RNAi劑AD06569及AD08257。AD0659在有義股之5'末端包括官能化胺反應基(NH2-C6)s以有助於與靶向配位體之結合。亦合成在3'末端具有(C6-SS-C6)基團之AD06569以有助於與脂質PK/PD調節劑前驅體之結合。AD08257在有義股之5'末端包括(NH2-C6)s基團以有助於與靶向配位體之結合。亦合成在3'末端具有LA2基團之AD08257以有助於與脂質PK/PD調節劑前驅體之結合。

【0913】 第2-9組包含根據以上實例5中所述之程序與有義股之5'末端結合的αvβ6整合素配位體肽1。第2-9組中之每一者包含脂質PK/PD調節劑，其結構如上文所示，根據以上實例6中所述之程序與有義股之3'末端結合。

【0914】 對各組(n=4)中之四(4)隻小鼠進行給藥。在第1天、第8天、第15天及第22天對小鼠抽血且收集血清。在研究第22天處死小鼠，且自腓腸肌及三頭肌分離總肌肉生長抑制素mRNA。自右前肢收穫三頭肌。將各樣品速凍於percellys管中，且儲存於-80℃冷凍機中直至完成分析為止。藉由關於小鼠肌肉生長抑制素之ELISA分析在血清中測定相對*MSTN*表現。血清中之平均相對肌肉生長抑制素表現展示於下表63中。

【0915】 表63：實例20的小鼠之自血清之平均相對MSTN表現

組	第8天		第15天		第22天	
	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
1. 鹽水	1.112	0.078	1.193	0.044	1.204	0.084
2. 0.75 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP29b	0.642	0.078	0.440	0.039	0.408	0.042
3. 0.75 mpk Avb6-Pep1-AD08257-LP240b	0.662	0.121	0.488	0.028	0.444	0.070
4. 0.75 mpk Avb6-Pep1-AD08257-LP246b	0.614	0.082	0.479	0.078	0.418	0.051
5. 0.75 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP247b	0.612	0.051	0.460	0.060	0.447	0.019
6. 2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP29b	0.449	0.033	0.332	0.034	0.285	0.012
7. 2 mpk Avb6-Pep1-AD08257-LP240b	0.482	0.061	0.398	0.037	0.355	0.050
8. 2 mpk Avb6-Pep1-AD08257-LP246b	0.558	0.038	0.427	0.041	0.382	0.019
9. 2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP247b	0.555	0.071	0.407	0.027	0.370	0.033

【0916】 在TaqMan分析中使用自腓腸肌及三頭肌收集之組織測定彼等組織中*MSTN*之相對量。下表64展示分析結果。

【0917】 表64：實例20之給藥組中三頭肌及腓腸肌中之相對表現

組	三頭肌			腓腸肌		
	相對表現	低誤差	高誤差	相對表現	低誤差	高誤差
1. 鹽水	1.000	0.102	0.114	1.000	0.118	0.134
2. 0.75 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP29b	0.272	0.055	0.069	0.220	0.043	0.053
3. 0.75 mpk Avb6-Pep1-AD08257-LP240b	0.358	0.055	0.065	0.256	0.041	0.049
4. 0.75 mpk Avb6-Pep1-AD08257-LP246b	0.280	0.080	0.113	0.206	0.063	0.091
5. 0.75 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP247b	0.271	0.032	0.037	0.189	0.023	0.027
6. 2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP29b	0.196	0.014	0.015	0.135	0.019	0.022
7. 2 mpk Avb6-Pep1-AD08257-LP240b	0.210	0.033	0.040	0.135	0.034	0.046
8. 2 mpk Avb6-Pep1-AD08257-LP246b	0.228	0.034	0.041	0.163	0.045	0.062
9. 2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP247b	0.183	0.024	0.028	0.138	0.035	0.047

【0918】 實例21.小鼠中靶向Mstn之RNAi觸發劑之活體內投與

【0919】 在研究第1天，根據以下給藥組，向小鼠注射等滲鹽水(載體對照)、2 mg/kg (mpk)在等滲鹽水中調配之包含如本文所述之RNAi劑的本發明之遞送載體或2 mpk在等滲鹽水中調配之對照遞送載體，其中AD06569具有以上表31中所示之結構：

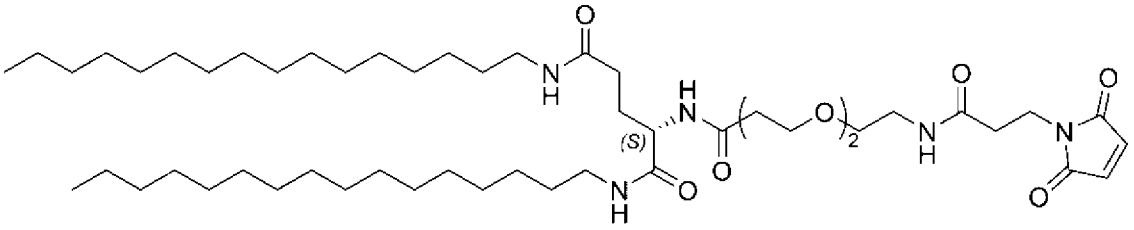
【0920】 表65：實例21之用於小鼠之給藥組

組	包含RNAi劑之本發明之遞送載體及劑量	給藥方案
1	鹽水	在第1天單次注射
2	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-LP29b	在第1天單次注射
3	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-nEm	在第1天單次注射

4	2 mpk AD06569	在第1天單次注射
5	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-雙-C16	在第1天單次注射
6	2 mpk Avb6-Pep1-AD06569-雙-PEG47	在第1天單次注射

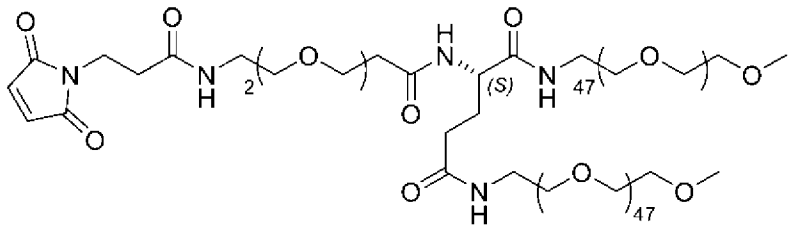
【0921】合成具有靶向*MSTN*基因之核苷酸序列的RNAi劑AD06569，且在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團(NH_2-C_6)s以有助於與靶向配位體之結合。亦合成在3'末端具有(C6-SS-C6)基團之AD06569以有助於與脂質PK/PD調節劑前驅體之結合。

【0922】第2、3、5及6組包含根據以上實例5中所述之程序與有義股之5'末端結合的αvβ6整合素配位體肽1。第2組包含PK/PD調節劑，其結構如上文所示，根據以上實例6中所述之程序與有義股之3'末端結合。第3組包括根據以上實例6中所述之程序與有義股之3'末端結合的加帽順丁烯二醯亞胺。第4族包括無靶向配位體或PK/PD調節劑之RNAi劑。第5組包括具有雙C16之無PEG部分與脂質相鄰的PK/PD調節劑。根據以上實例6中所述之程序，第5組之RNAi劑之有義股的3'末端與具有以下結構之含順丁烯二醯亞胺之PK/PD調節劑前驅體結合：



。

第6組包括無脂質部分且具有雙PEG47部分之PK/PD調節劑。根據以上實例6中所述之程序，第6組之RNAi劑之有義股的3'末端與具有以下結構之含順丁烯二醯亞胺之PK/PD調節劑前驅體結合：



。

【0923】 對各組(n=4)中之四(4)隻小鼠進行給藥。在第1天、第8天、第15天及第22天對小鼠抽血且收集血清。在研究第22天處死小鼠。藉由關於小鼠肌肉生長抑制素之ELISA分析在血清中測定相對*MSTN*表現。血清中之平均相對肌肉生長抑制素表現展示於下表66中。

【0924】 表66：實例21的小鼠之自血清之平均相對*MSTN*表現

組	第8天		第15天		第22天	
	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
1. 鹽水	1.091	0.177	1.200	0.052	1.001	0.075
2. Avb6-Pep1-AD06569-LP29b	0.492	0.073	0.353	0.055	0.289	0.026
3. Avb6-Pep1-AD06569-nEm	0.857	0.182	0.634	0.123	0.587	0.087
4. AD06569	1.361	0.226	1.276	0.039	1.211	0.197
5. Avb6-Pep1-AD06569-雙-C16	0.634	0.060	0.470	0.091	0.379	0.072
6. Avb6-Pep1-AD06569-雙-PEG47	0.752	0.059	0.585	0.094	0.516	0.082

【0925】 如表66中所示，第2組之與脂質部分(亦即，LP 29b)相鄰之雙PEG部分顯示相比於第3組之加帽順丁烯二醯亞胺、第4組之「裸」RNAi劑、第5組之無PEG之PK/PD調節劑及第6組之無脂質之PK/PD調節劑提高的*MSTN*基因表現阻斷。

【0926】 實例22.食蟹獼猴中靶向MSTN之RNAi觸發劑之活體內投與

【0927】 根據固相上之胺基亞磷酸酯技術，根據此項技術中已知及寡核苷酸合成中常用之通用程序，如本文中之實例1中所闡述，合成包括有義股及反義股之肌肉生長抑制素RNAi劑。在研究第1、7及28天，根據以下給藥組，向食蟹獼猴(長尾獼猴)靈長類動物(在本文中稱為「食蟹獼猴」)注射10 mg/kg (mpk)在等滲鹽水中調配之包含如本文所述之RNAi劑的本發明之遞送載體：

【0928】 表67：實例22之用於食蟹獼猴之給藥組。

組	包含RNAi劑之本發明之遞送載體或對照及劑量	給藥方案
1	10 mpk αvβ6肽1-Mstn(AD06569)-LP29b	在第1、7及28天注射

【0929】 合成具有經引導以靶向*MSTN*基因之核苷酸序列的實例22中之RNAi劑，且在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團(NH_2-C_6)s以有助於與靶向配位體αvβ6肽1之結合。RNAi劑進一步在有義股之3'末端包括二硫化物官能基(C6-SS-C6)以有助於與上文所示之結構LP 29b之PK/PD調節劑之結合。

【0930】 對各組(n=2)中之兩(2)隻食蟹獼猴進行給藥。在第-28天、第-21天、第-14天、第-7天及第1天(給藥前)取得血清樣品。接著根據如表22中所闡述之各別組投與猴。接著在第8天、第15天、第22天、第29天、第36天、第43天、第50天、第57天、第64天、第71天、第78天、第85天、第99天、第113天及第134天收集血清。對血清樣品進行ELISA分析以測定血清中食蟹獼猴肌肉生長抑制素之量。第1組之血清樣品中之平均肌肉生長抑制素展示於下表68中。

【0931】 表68：實例22之第1組中血清中之平均食蟹獼猴肌肉生長抑制素蛋白，相對於第1天正規化

第-28天		**第-21天**		**第-14天**		**第-7天**		**第1天**	
平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
1.160	0.041	1.135	0.064	1.045	0.051	1.085	0.056	1.000	0.000
第8天		**第15天**		**第22天**		**第29天**		**第36天**	
平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
0.891	0.006	0.620	0.192	0.385	0.126	0.321	0.074	0.281	0.083
第43天		**第50天**		**第57天**		**第64天**		**第71天**	
平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
0.231	0.058	0.250	0.033	0.213	0.020	0.282	0.042	0.228	0.018
第78天		**第85天**		**第99天**		**第113天**		**第134天**	
平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
0.256	0.038	0.255	0.045	0.356	0.053	0.322	0.037	0.542	0.072

【0932】 如表68中所示，可使用本文所述之化合物實現目標基因穩

固及持久之基因表現阻斷。

【0933】 實例23.食蟹獼猴中靶向MSTN之RNAi觸發劑之活體內投與

【0934】 根據固相上之胺基亞磷酸酯技術，根據此項技術中已知及寡核苷酸合成中常用之通用程序，如本文中之實例1中所闡述，合成包括有義股及反義股之肌肉生長抑制素RNAi劑。在研究第1天，根據以下給藥組，向食蟹獼猴(長尾獼猴)靈長類動物(在本文中稱為「食蟹獼猴」)注射5 mg/kg、10 mg/kg (mpk)或20 mg/kg (mpk)在等滲鹽水中調配之包含如本文所述之RNAi劑的本發明之遞送載體：

【0935】 表69：實例23之用於食蟹獼猴之給藥組。

組	包含RNAi劑之本發明之遞送載體或對照及劑量	給藥方案
1	5 mpk αvβ6肽1-Mstn(AD06569)-LP29b	在第1天單次注射
2	10 mpk αvβ6肽1-Mstn(AD06569)-LP29b	在第1天單次注射
3	20 mpk αvβ6肽1-Mstn(AD06569)-LP29b	在第1天單次注射

【0936】 合成具有經引導以靶向*MSTN*基因之核苷酸序列的實例21中之RNAi劑，且在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團(NH_2-C6)s以有助於與靶向配位體αvβ6肽1之結合。肌肉生長抑制素RNAi劑進一步在有義股之3'末端包括二硫化物官能基(C6-SS-C6)以有助於與上文所示之結構LP29b之PK/PD調節劑之結合。

【0937】 對各組(n=2)中之兩(2)隻食蟹獼猴進行給藥。在第-14天、第-7天及第1天(給藥前)取得血清樣品。接著根據如表24中所闡述之各別組投與猴。接著在第8天、第15天、第22天、第29天、第36天、第43天、第50天、第57天、第64天、第71天、第92天、第106天及第120天收集血清。對血清樣品進行ELISA分析以測定血清中食蟹獼猴肌肉生長抑制素之量。血清樣品中之平均肌肉生長抑制素展示於下表70中。

【0938】 表70：實例23之給藥組之血清中的平均食蟹獼猴肌肉生長抑制素蛋白，相對於第1天正規化

	第-14天		第-7天		第1天		第8天	
	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
第1組(5 mpk)	1.079	0.003	1.002	0.008	1.000	0.000	0.886	0.283
第2組(10 mpk)	0.668	0.049	0.890	0.217	1.000	0.000	0.614	0.106
第3組(20 mpk)	0.950	0.101	0.868	0.161	1.000	0.000	0.474	0.046
	第15天		第22天		第29天		第36天	
	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
第1組(5 mpk)	0.842	0.014	0.856	0.035	0.706	0.183	0.791	0.035
第2組(10 mpk)	0.700	0.175	0.542	0.165	0.620	0.032	0.500	0.072
第3組(20 mpk)	0.540	0.150	0.328	0.027	0.298	0.053	0.227	0.023
	第43天		第50天		第57天		第64天	
	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
第1組(5 mpk)	0.811	0.120	0.575	0.109	0.866	0.003	0.922	0.037
第2組(10 mpk)	0.545	0.001	0.539	0.029	0.661	0.037	0.635	0.035
第3組(20 mpk)	0.308	0.061	0.263	0.017	0.343	0.035	0.319	0.009
	第71天		第92天		第106天		第120天	
	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
第1組(5 mpk)	0.717	0.090	0.922	0.196	1.033	0.281	0.772	0.163
第2組(10 mpk)	0.462	0.036	0.553	0.052	0.801	0.021	0.559	0.085
第3組(20 mpk)	0.316	0.001	0.471	0.026	0.510	0.057	0.353	0.014

【0939】 如表70中可見，發現本發明之遞送載體之劑量增加的劑量-反應作用。

【0940】 **實例24. 大鼠中靶向MSTN之RNAi觸發劑之活體內投與**

【0941】 在研究第1天，根據以下給藥組，向大鼠注射等滲鹽水(載體對照)或1 mg/kg (mpk)在等滲鹽水中調配之包含如本文所述之RNAi劑的本發明之化合物，其中AD06569具有以上表31中所示之結構。

【0942】 表71. 實例24之用於大鼠之給藥組

組	包含RNAi劑之本發明之化合物及劑量	給藥方案
1	鹽水	在第1天單次注射
2	1 mpk avb6-Pep1-AD06569-LP238b	在第1天單次注射
3	1 mpk avb6-Pep1-AD06569-LP357b	在第1天單次注射
4	1 mpk avb6-Pep1-AD06569-LP358b	在第1天單次注射
5	1 mpk avb6-Pep1-AD06569-LP241b	在第1天單次注射
6	1 mpk avb6-Pep1-AD06569-LP339b	在第1天單次注射

7	1 mpk avb6-Pep1-AD06569-LP340b	在第1天單次注射
8	1 mpk avb6-Pep1-AD06569-LP247b	在第1天單次注射
9	1 mpk avb6-Pep1-AD06569-nEm	在第1天單次注射

【0943】合成具有靶向*MSTN*基因之核苷酸序列的RNAi劑AD06569，且在有義股之5'末端包括官能化胺反應性基團(NH2-C6)s以有助於與小分子靶向配位體化合物45b之結合。亦合成在3'末端具有(C6-SS-C6)基團之RNAi劑以有助於與脂質PK/PD調節劑前驅體之結合。

【0944】第2-9組包含根據以上實例5中所述之程序與有義股之5'末端結合的αvβ6整合素配位體肽1。第2-8組中之每一者包含脂質PK/PD調節劑，其結構如上文所示，根據以上實例6中所述之程序與有義股之3'末端結合。第3組包括根據以上實例6中所述之程序與有義股之3'末端結合的加帽順丁烯二醯亞胺。

【0945】對各組(n=4)中之四(4)隻大鼠進行給藥。在第1天、第8天、第15天及第22天對大鼠抽血且收集血清。在研究第22天處死大鼠，且自腓腸肌及三頭肌分離總肌肉生長抑制素mRNA。自右前肢收穫三頭肌。將各樣品速凍於percellys管中，且儲存於-80℃冷凍機中直至完成分析為止。藉由關於大鼠肌肉生長抑制素之ELISA分析在血清中測定相對*MSTN*表現。血清中之平均相對肌肉生長抑制素表現展示於下表72中。

【0946】表72：實例24的大鼠之自血清之平均相對MSTN表現\

組	第8天		第15天		第22天	
	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
1. 鹽水	1.000	0.068	1.000	0.038	1.000	0.087
2. 1 mpk avb6-Pep1-AD06569-LP238b	0.804	0.012	0.679	0.129	0.785	0.017
3. 1 mpk avb6-Pep1-AD06569-LP357b	0.665	0.061	0.718	0.024	0.814	0.031
4. 1 mpk avb6-Pep1-AD06569-LP358b	0.683	0.063	0.747	0.143	0.792	0.104
5. 1 mpk avb6-Pep1-AD06569-LP241b	0.723	0.052	0.826	0.066	0.862	0.086
6. 1 mpk avb6-Pep1-AD06569-LP339b	0.749	0.044	0.898	0.082	0.889	0.054
7. 1 mpk avb6-Pep1-AD06569-LP340b	0.764	0.184	0.726	0.129	0.729	0.155
8. 1 mpk avb6-Pep1-AD06569-LP247b	0.803	0.082	0.709	0.091	0.691	0.050
9. 1 mpk avb6-Pep1-AD06569-nEm	0.825	0.086	0.778	0.124	0.836	0.110

【0947】 在TaqMan分析中使用自腓腸肌及三頭肌收集之組織測定彼等組織中*MSTN*之相對量。下表73展示分析結果。

【0948】 表73：實例24之給藥組中三頭肌及腓腸肌中之相對表現

組	三頭肌			腓腸肌		
	相對表現	低誤差	高誤差	相對表現	低誤差	高誤差
1. 鹽水	1.000	0.884	7.639	1.000	0.109	0.123
2. 1 mpk avb6-Pep1-AD06569-LP238b	2.650	1.962	7.558	0.709	0.073	0.081
3. 1 mpk avb6-Pep1-AD06569-LP357b	1.055	0.826	3.809	0.768	0.164	0.208
4. 1 mpk avb6-Pep1-AD06569-LP358b	1.603	1.249	5.654	0.740	0.140	0.173
5. 1 mpk avb6-Pep1-AD06569-LP241b	3.585	2.698	10.907	0.927	0.107	0.121
6. 1 mpk avb6-Pep1-AD06569-LP339b	7.246	1.597	2.049	0.710	0.134	0.165
7. 1 mpk avb6-Pep1-AD06569-LP340b	7.104	1.987	2.759	0.708	0.124	0.150
8. 1 mpk avb6-Pep1-AD06569-LP247b	5.038	0.471	0.520	0.719	0.103	0.121
9. 1 mpk avb6-Pep1-AD06569-nEm	5.698	1.786	2.602	0.676	0.141	0.178

相等物及範疇

【0949】 在申請專利範圍中，除非相反地指示或另外自上下文顯而易見，否則諸如「一(a/an)」及「該/該等」之冠詞可意謂一個或超過一個。除非相反地指示或另外自上下文顯而易見，否則若一個、超過一個或所有群組成員存在於、用於給定產物或方法中或以其他方式與給定產物或方法有關，則在群組的一或多個成員之間包括「或」之申請專利範圍或描述視為滿足。本發明包括組中恰好一個成員存在於、用於給定產物或方法中或以其他方式與給定產物或方法相關之實施例。本發明包括超過一個或所有的群組成員存在於、用於給定產物或方法中或以其他方式與給定產物或方法有關的實施例。

【0950】 此外，本發明涵蓋其中來自一或多條所列技術方案之一或多個限制、要素、條款及描述性術語經引入另一條技術方案中的所有變化、組合及排列。舉例而言，依附於另一技術方案之任何技術方案可經修改以包括在依附於同一基本技術方案之任何其他技術方案中可見的一或多

個限制。在要素如所列，例如呈馬庫什(Markush)組格式呈現之情況下，亦揭示要素之各子組，且可自該組移除任何要素。應瞭解，一般而言，在本發明或本發明之態樣稱為包含具體要素及/或特徵時，本發明或本發明態樣之某些實施例由此類要素及/或特徵組成或基本上由此類要素及/或特徵組成。出於簡單之目的，彼等實施例尚未具體地以同樣的話闡述於本文中。亦應注意，術語「包含」及「含有」意欲為開放性的且容許包括額外要素或步驟。在給出範圍之情況下，包括端點。此外，除非另外指示或另外自上下文及一般技術者的理解顯而易見，否則表示為範圍之值可在本發明之不同實施例中採用所述範圍內之任何特定值或子範圍，除非上下文另外明確規定，否則達到該範圍下限之單位的十分之一。

【0951】 本申請案提及各種頒予之專利、公開之專利申請案、期刊文章及其他出版物，以上所有者均以引用之方式併入本文中。若任何併入之參考文獻與本說明書之間存在衝突，則應以本說明書為準。另外，本發明之屬於先前技術之任何特定實施例可明確地自申請專利範圍中之任一或多項排除。因為此類實施例被認為是一般技術者所已知，故可排除其，即使未在本文中明確地闡述該排除。本發明之任何特定實施例可出於任何原因自任何技術方案排除，無論是否與先前技術之存在相關。

其他實施例

【0952】 應理解，雖然本發明已結合其具體實施方式來進行描述，但前述描述意欲說明且不限制本發明之範疇，本發明之範疇由所附申請專利範圍之範疇界定。其他態樣、優點及修改屬於以下申請專利範圍之範疇內。

【序列表】

<110> 美商愛羅海德製藥公司(Arrowhead Pharmaceuticals Inc.)

<120> 骨骼肌遞送載體及其使用方法

<130> 267602-496700

<150> 63/077,141
<151> 2020-09-11

<150> 63/214,747
<151> 2021-06-24

<150> 63/230,381
<151> 2021-08-06

<160> 16

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> AD06568反義股

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(4)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (2)..(2)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (3)..(3)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (4)..(4)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (5)..(5)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (6)..(6)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (7)..(11)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (12)..(12)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (13)..(13)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (14)..(14)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (15)..(15)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (16)..(16)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (17)..(17)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (18)..(18)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (19)..(19)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (20)..(21)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (20)..(20)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (21)..(21)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<400> 1
uguuacagca agaucaugac c 21

<210> 2
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> AD06568有義股

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(2)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 具有硫代磷酸酯鍵聯之5'末端(NH2-C6)修飾

<220>

<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 反向無鹼基去氧核糖殘基

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> n爲a、c、g、t或u

<220>
<221> modified_base
<222> (2)..(9)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (10)..(12)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (13)..(22)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (22)..(23)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (23)..(23)
<223> 反向無鹼基去氧核糖殘基

<220>
<221> modified_base
<222> (23)..(24)
<223> C6-SS-C6連接之核苷

<220>
<221> misc_feature
<222> (23)..(23)
<223> n爲a、c、g、t或u

<220>
<221> modified_base
<222> (24)..(24)
<223> 2'-去氧胸苷-3'-磷酸

<400> 2

nggucaugau cuugcuguaa cant 24

<210> 3
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> AD06570反義股

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(4)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (2)..(2)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (3)..(3)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (4)..(4)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (5)..(5)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (6)..(6)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (7)..(7)

<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (8)..(8)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (9)..(9)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (10)..(10)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (11)..(11)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (12)..(12)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (13)..(13)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (14)..(14)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (15)..(15)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (16)..(16)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (17)..(17)

<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (18)..(18)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (19)..(19)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (20)..(21)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (20)..(20)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (21)..(21)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<400> 3
ucaucuucca aagagccauc g 21

<210> 4
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> AD06570有義股

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 具有硫代磷酸酯鍵聯之5'末端(NH2-C6)修飾

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(2)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 反向無鹼基去氧核糖殘基

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> n爲a、c、g、t或u

<220>
<221> modified_base
<222> (2)..(9)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (10)..(12)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (13)..(22)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (22)..(23)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (23)..(23)
<223> 反向無鹼基去氧核糖殘基

<220>
<221> modified_base
<222> (23)..(24)
<223> C6-SS-C6連接之核苷

<220>
<221> misc_feature
<222> (23)..(23)
<223> n爲a、c、g、t或u

<220>
<221> modified_base
<222> (24)..(24)
<223> 2'-去氧胸苷-3'-磷酸

<400> 4
ncgauggcuc uuuggaagau gant 24

<210> 5
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> AD06326反義股

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(4)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (2)..(2)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (3)..(3)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (4)..(4)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (5)..(5)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (6)..(6)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base

<222> (7)..(11)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (12)..(12)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (13)..(13)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (14)..(14)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (15)..(15)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (16)..(16)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (17)..(17)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (18)..(18)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (19)..(19)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (20)..(21)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base

<222> (20)..(20)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (21)..(21)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<400> 5
uguuacagca agaucauggc c 21

<210> 6
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> AD06326反義股

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(2)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 反向無鹼基去氧核糖殘基

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 具有硫代磷酸酯鍵聯之5'末端(NH2-C6)修飾

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> n爲a、c、g、t或u

<220>
<221> modified_base
<222> (2)..(9)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (10)..(12)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (13)..(22)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (22)..(23)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (23)..(23)
<223> 反向無鹼基去氧核糖殘基

<220>
<221> modified_base
<222> (23)..(24)
<223> C6-SS-C6連接之核苷

<220>
<221> misc_feature
<222> (23)..(23)
<223> n爲a、c、g、t或u

<220>
<221> modified_base
<222> (24)..(24)
<223> 2'-去氧胸苷-3'-磷酸

<400> 6
nggccaugau cuugcuguaa cant 24

<210> 7
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> AD06569反義股

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 5'末端膦酸環丙酯

<220>

<221> modified_base
<222> (1)..(4)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (2)..(2)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (3)..(3)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (4)..(4)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (5)..(5)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (6)..(6)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (7)..(11)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (12)..(12)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (13)..(13)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>

<221> modified_base
<222> (14)..(14)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (15)..(15)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (16)..(16)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (17)..(17)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (18)..(18)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (19)..(19)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (20)..(21)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (20)..(20)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (21)..(21)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<400> 7
uguuacagca agaucaugac c 21

<210> 8
<211> 24

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> AD06569有義股

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 具有硫代磷酸酯鍵聯之5'末端(NH2-C6)修飾

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 反向無鹼基去氧核糖殘基

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(2)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> n爲a、c、g、t或u

<220>
<221> modified_base
<222> (2)..(9)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (10)..(12)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (13)..(22)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (22)..(23)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (23)..(23)

<223> 反向無鹼基去氧核糖殘基

<220>
<221> modified_base
<222> (23)..(24)
<223> C6-SS-C6連接之核苷

<220>
<221> misc_feature
<222> (23)..(23)
<223> n爲a、c、g、t或u

<220>
<221> modified_base
<222> (24)..(24)
<223> 2'-去氧胸苷-3'-磷酸

<400> 8
nggucaugau cuugcuguaa cant 24

<210> 9
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> AD07724反義股

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 5'末端膦酸環丙酯

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(4)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (2)..(2)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (3)..(3)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (4)..(4)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (5)..(5)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (6)..(6)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (7)..(11)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (12)..(12)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (13)..(13)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (14)..(14)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (15)..(15)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (16)..(16)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (17)..(17)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (18)..(18)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (19)..(19)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (20)..(21)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (20)..(20)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (21)..(21)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<400> 9
uguuacagca agaucaugac c 21

<210> 10
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> AD07724有義股

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 具有硫代磷酸酯鍵聯之5'末端(NH2-C6)修飾

<220>
<221> modified_base

<222> (1)..(2)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 反向無鹼基去氧核糖殘基

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> n爲a、c、g、t或u

<220>
<221> modified_base
<222> (2)..(9)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (13)..(22)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (22)..(23)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (23)..(23)
<223> 反向無鹼基去氧核糖殘基

<220>
<221> misc_feature
<222> (23)..(23)
<223> n爲a、c、g、t或u

<220>
<221> modified_base
<222> (24)..(24)
<223> 2'-O-炔丙基尿苷-3'-磷酸

<220>
<221> modified_base
<222> (25)..(25)
<223> 2'-去氧胸苷-3'-磷酸

<400> 10
nggucaugau cuugcuguaa canut

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

<220>
<223> AD07909反義股

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 5'末端膦酸環丙酯

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(4)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (2)..(2)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (3)..(3)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (4)..(4)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (5)..(5)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (6)..(6)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (7)..(11)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (12)..(12)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (13)..(13)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (14)..(14)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (15)..(15)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (16)..(16)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (17)..(17)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (18)..(18)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (19)..(19)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (20)..(21)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (20)..(20)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (21)..(21)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<400> 11
uguuacagca agaucaugac c 21

<210> 12
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> AD07909有義股

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 具有硫代磷酸酯鍵聯之5'末端(NH2-C6)修飾

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(2)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 反向無鹼基去氧核糖殘基

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> n爲a、c、g、t或u

<220>
<221> modified_base
<222> (2)..(9)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>

<221> modified_base
<222> (10)..(12)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (13)..(22)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (22)..(23)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (23)..(23)
<223> 反向無鹼基去氧核糖殘基

<220>
<221> misc_feature
<222> (23)..(23)
<223> n爲a、c、g、t或u

<220>
<221> modified_base
<222> (24)..(24)
<223> 2'-O-炔丙基尿苷-3'-磷酸

<400> 12
nggucaugau cuugcuguaa canu 24

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

<220>
<223> AD07910反義股

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 5'末端膦酸環丙酯

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(4)

<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (2)..(2)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (3)..(3)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (4)..(4)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (5)..(5)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (6)..(6)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (7)..(11)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (12)..(12)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (13)..(13)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (14)..(14)

<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (15)..(15)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (16)..(16)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (17)..(17)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (18)..(18)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (19)..(19)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (20)..(21)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (20)..(20)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (21)..(21)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<400> 13
uguuacagca agaucaugac c 21

<210> 14
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> AD07910有義股

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 具有硫代磷酸酯鍵聯之5'末端(NH2-C6)修飾

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(2)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 反向無鹼基去氧核糖殘基

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> n爲a、c、g、t或u

<220>
<221> modified_base
<222> (2)..(9)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (10)..(12)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (13)..(21)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (22)..(23)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (22)..(22)
<223> 2'-O-炔丙基腺苷-3'-磷酸

<220>
<221> modified_base
<222> (23)..(23)
<223> 反向無鹼基去氧核糖殘基

<220>
<221> misc_feature
<222> (23)..(23)
<223> n爲a、c、g、t或u

<400> 14
nggucaugau cuugcuguaa can 23

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

<220>
<223> AD08257反義股

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 5'末端膦酸環丙酯

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(2)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (2)..(2)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (3)..(3)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base

<222> (4)..(4)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (5)..(11)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (12)..(12)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (13)..(13)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (14)..(14)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (15)..(21)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (15)..(15)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (16)..(16)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (17)..(17)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (18)..(18)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base

<222> (19)..(19)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (20)..(20)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (21)..(21)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<400> 15
uguuacagca agaucaugac c 21

<210> 16
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> AD08257有義股

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 具有硫代磷酸酯鍵聯之5'末端(NH2-C6)修飾

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(2)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (1)..(1)
<223> 反向無鹼基去氧核糖殘基

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> n爲a、c、g、t或u

<220>
<221> modified_base
<222> (2)..(9)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (10)..(12)
<223> 2'-氟相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (13)..(22)
<223> 2'-O-甲基相應之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (22)..(23)
<223> 硫代磷酸酯連接之核苷

<220>
<221> modified_base
<222> (23)..(23)
<223> 反向無鹼基去氧核糖殘基

<220>
<221> modified_base
<222> (23)..(23)
<223> 3'末端LA2修飾

<220>
<221> misc_feature
<222> (23)..(23)
<223> n爲a、c、g、t或u

<400> 16
nggucaugau cuugcuguaa can 23

[(發明申請專利範圍)]

[(請求項1)]

一種用於抑制在骨骼肌細胞中表現之基因之表現的遞送載體，其包含：

(a) RNAi劑，該RNAi劑包含：

(i) 包含17-49個核苷酸之反義股，其中至少15個核苷酸與在骨骼肌細胞中表現之基因之mRNA序列互補，

(ii) 16-49個核苷酸長之有義股，其與該反義股至少部分互補；

(b) 對骨骼肌細胞之表面上存在之受體具有親和力的靶向配位體，其中該靶向配位體為多肽；及

(c) PK/PD調節劑；

其中該RNAi劑共價連接至該靶向配位體及該PK/PD調節劑。

[(請求項2)]

如請求項1之遞送載體，其中該靶向配位體對整合素受體具有親和力。

[(請求項3)]

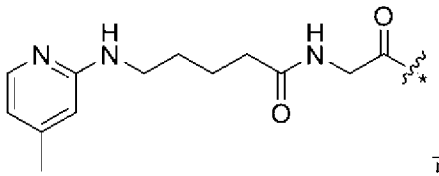
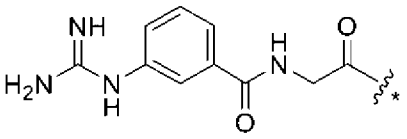
如請求項1至2中任一項之遞送載體，其中該靶向配位體對αvβ6整合素受體具有親和力。

[(請求項4)]

如請求項1至3中任一項之遞送載體，其中該靶向配位體之該多肽為式(P)之多肽：

$$Xaa^1GDDLXaa^2Xaa^3L\text{-}Xaa^4Xaa^5L \quad (P)$$

或其醫藥學上可接受之鹽，其中

Xaa[1]為視情況具有N端帽之L-精胺酸、或，其中各*指示與G'之連接點；

G'為L-甘胺酸或N-甲基-L-甘胺酸；

D為L-天冬胺酸(L-天冬胺酸酯)；

L為L-白胺酸；

Xaa[2]為L-α胺基酸、L-β胺基酸或α,α-二取代之胺基酸；

Xaa[3]為L-α胺基酸、L-β胺基酸或α,α-二取代之胺基酸；

Xaa[4]為L-α胺基酸、L-β胺基酸或α,α-二取代之胺基酸；

Xaa[5]為L-α胺基酸、L-β胺基酸或α,α-二取代之胺基酸；且

*指示與該RNAi劑之連接點。

【請求項5】

如請求項4之遞送載體，其中Xaa[2]為L-丙胺酸或L-甘胺酸。

【請求項6】

如請求項4之遞送載體，其中Xaa[2]為L-丙胺酸。

【請求項7】

如請求項4至6中任一項之遞送載體，其中Xaa[3]為非標準胺基酸。

【請求項8】

如請求項4至7中任一項之遞送載體，其中Xaa[3]為L-丙胺酸、L-甘胺酸、L-纈胺酸、L-白胺酸、L-異白胺酸或L-α-胺基-丁酸。

【請求項9】

如請求項4至7中任一項之遞送載體，其中Xaa[3]為L-α-胺基-丁酸。

【請求項10】

如請求項4至7中任一項之遞送載體，其中Xaa^4為L-精胺酸、L-瓜胺酸或L-麩醯胺酸。

【請求項11】

如請求項4至9中任一項之遞送載體，其中Xaa^4為L-瓜胺酸。

【請求項12】

如請求項4至11中任一項之遞送載體，其中Xaa^5為L-甘胺酸、L-丙胺酸、L-纈胺酸、L-白胺酸、L-異白胺酸或α-胺基-異丁酸。

【請求項13】

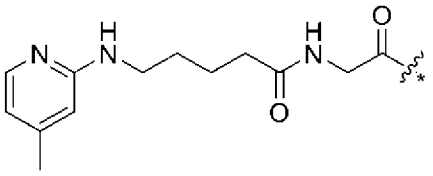
如請求項4至11中任一項之遞送載體，其中Xaa^5為α-胺基-異丁酸。

【請求項14】

如請求項4至13中任一項之遞送載體，其中Xaa^1為N-乙醯基-L-精胺酸。

【請求項15】

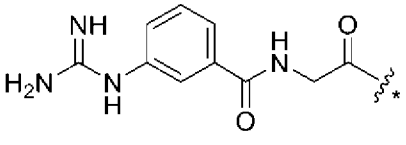
如請求項4至13中任一項之遞送載體，其中Xaa^1為



，其中*指示與G'之連接點。

【請求項16】

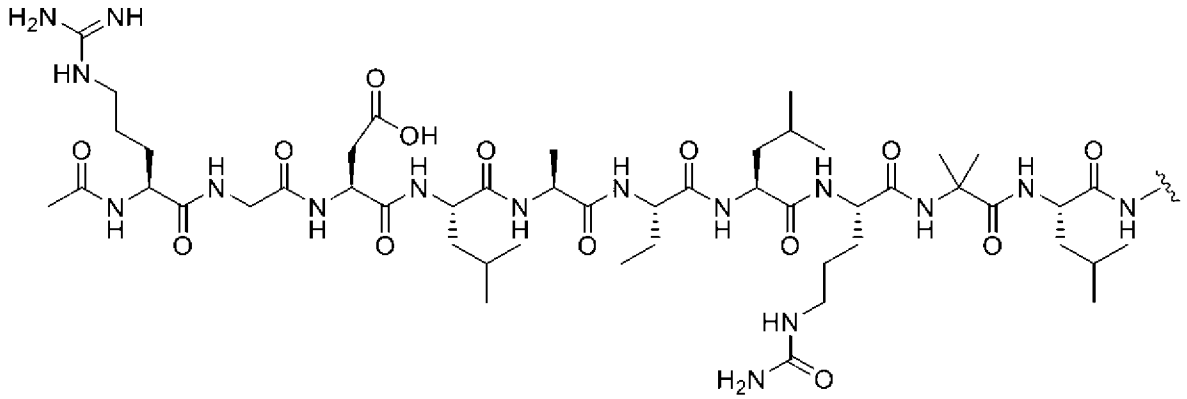
如請求項4至13中任一項之遞送載體，其中Xaa^1為



，其中*指示與G'之連接點。

【請求項17】

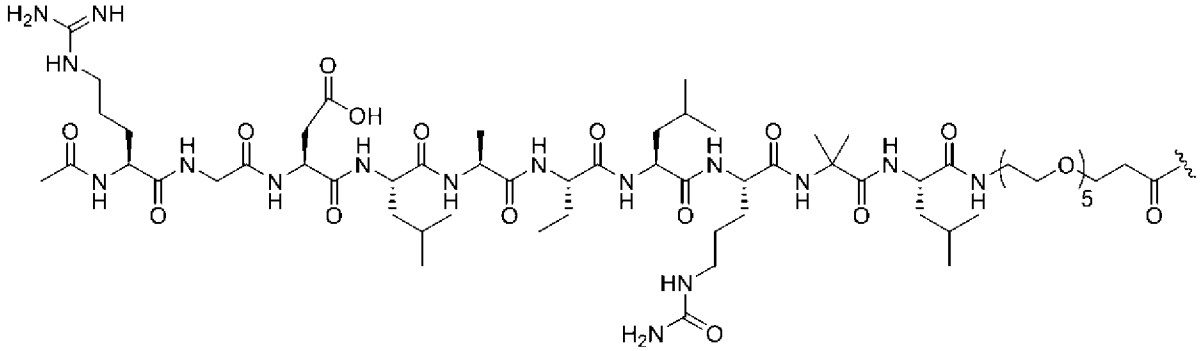
如請求項1之遞送載體，其中該靶向配位體具有下式：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中〰指示與該遞送載體之其餘部分之連接點。

【請求項18】

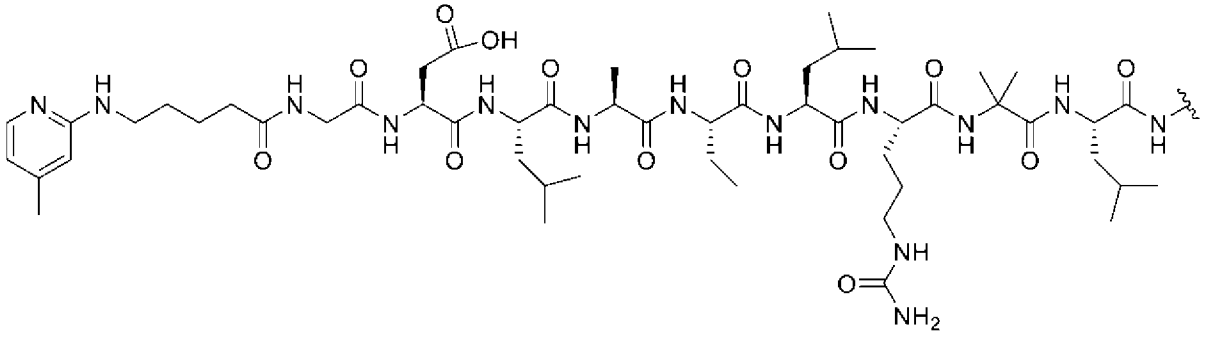
如請求項1之遞送載體，其中該靶向配位體具有下式：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中〰指示與該遞送載體之其餘部分之連接點。

【請求項19】

如請求項1之遞送載體，其中該靶向配位體具有下式：

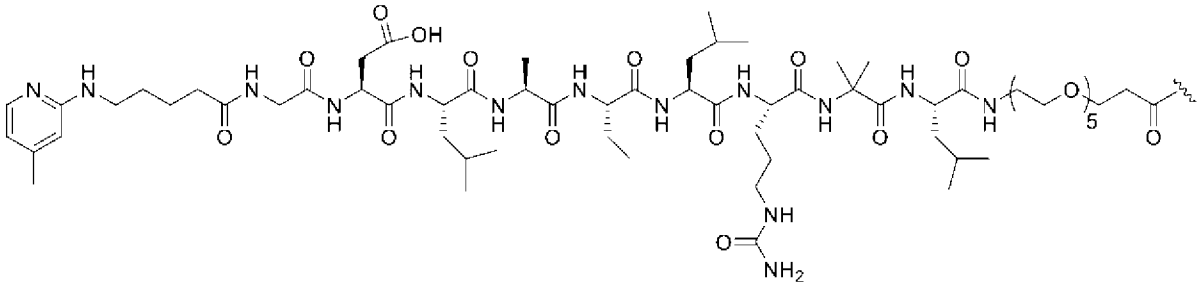


或其醫藥學上可接受之鹽，其中〰指示與該遞送載體之其餘部分之連

接點。

【請求項20】

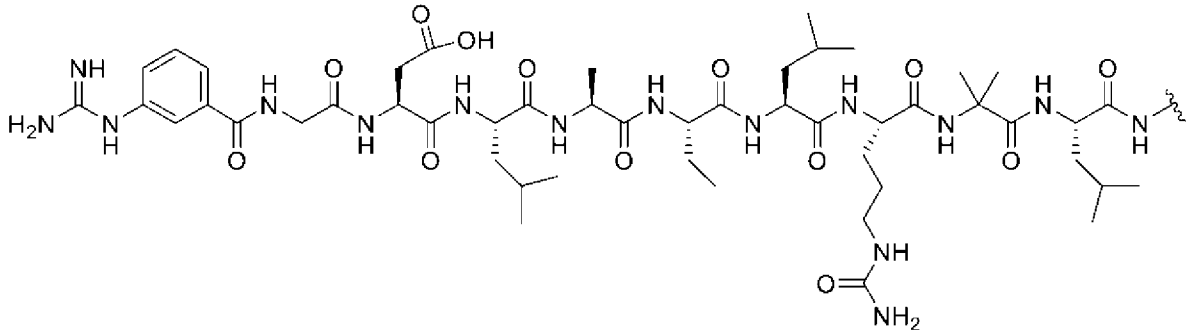
如請求項1之遞送載體，其中該靶向配位體具有下式：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中〰指示與該遞送載體之其餘部分之連接點。

【請求項21】

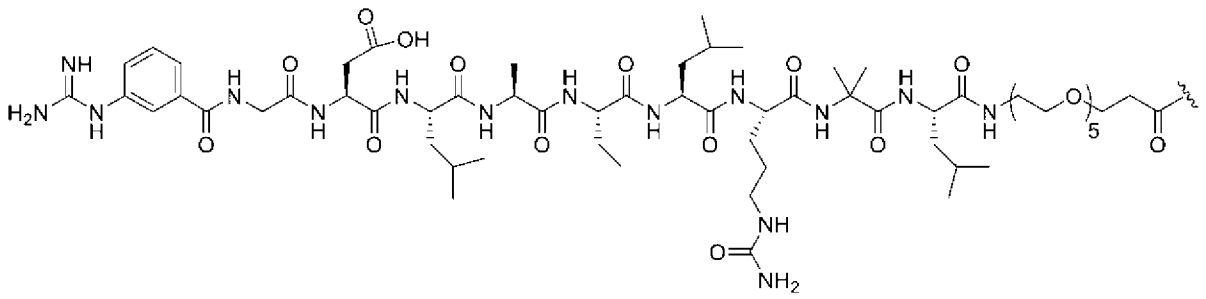
如請求項1之遞送載體，其中該靶向配位體具有下式：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中〰指示與該遞送載體之其餘部分之連接點。

【請求項22】

如請求項1之遞送載體，其中該靶向配位體具有下式：



或其醫藥學上可接受之鹽，其中〰指示與該遞送載體之其餘部分之連

接點。

【請求項23】

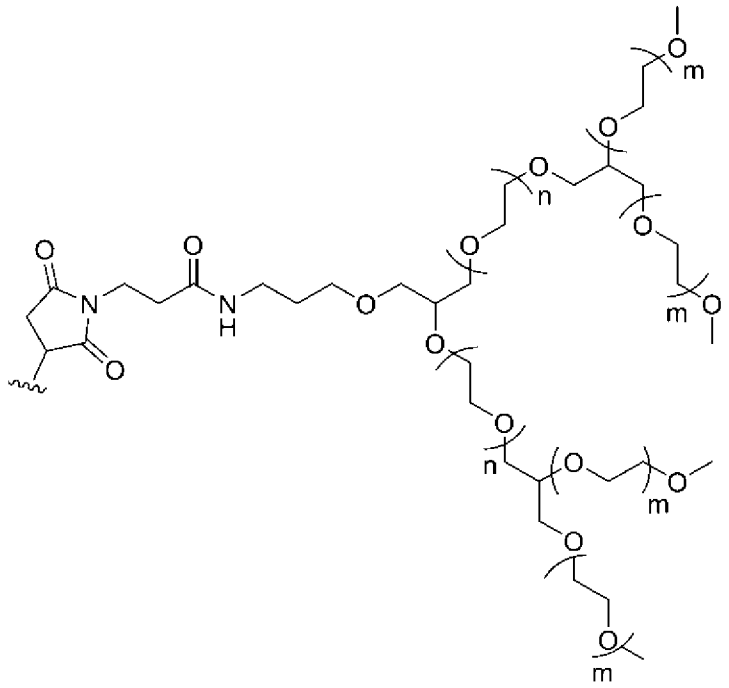
如請求項1至22中任一項之遞送載體，其中該PK/PD調節劑包含至少一個聚乙二醇(PEG)單元。

【請求項24】

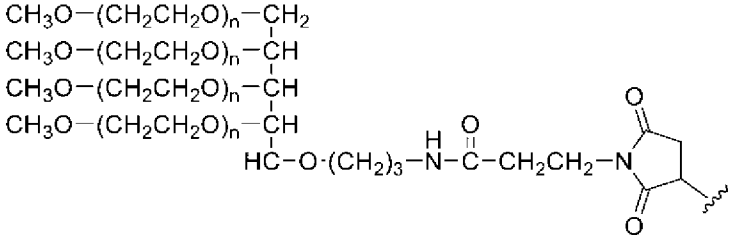
如請求項1至22中任一項之遞送載體，其中該PK/PD調節劑包含至少十個PEG單元。

【請求項25】

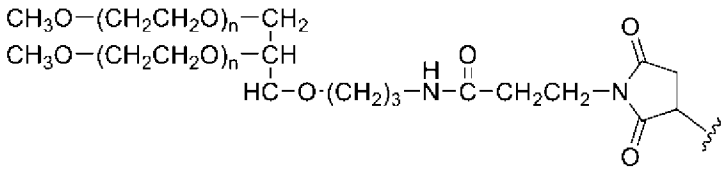
如請求項24之遞送載體，其中該PK/PD調節劑為：



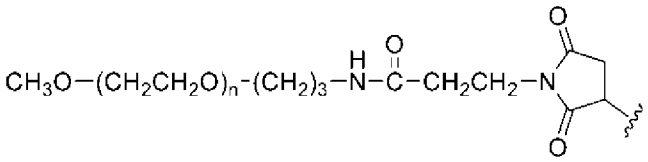
PEG40K (2×2臂)，
其中n及m各自獨立地為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約40千道爾頓



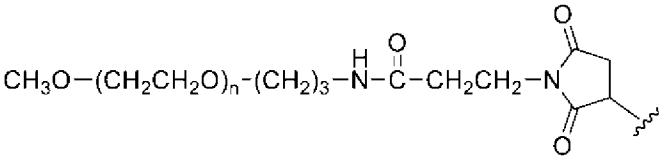
PEG40K (4臂)，
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約40千道爾頓



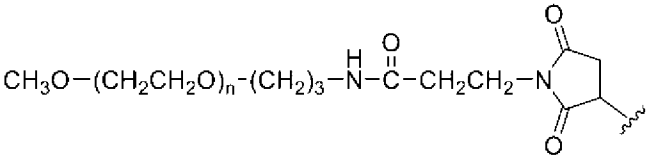
PEG40K (2臂)，
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約40千道爾頓



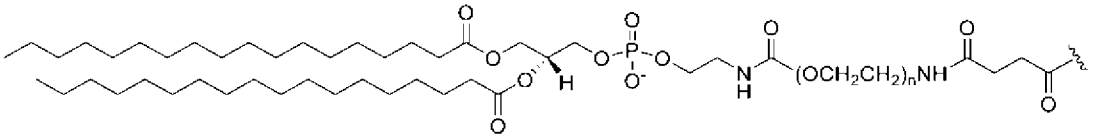
PEG40K，
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約40千道爾頓



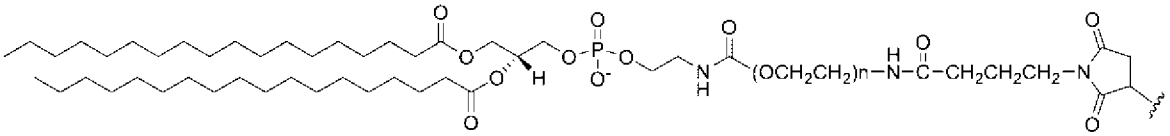
PEG10K，
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約10千道爾頓



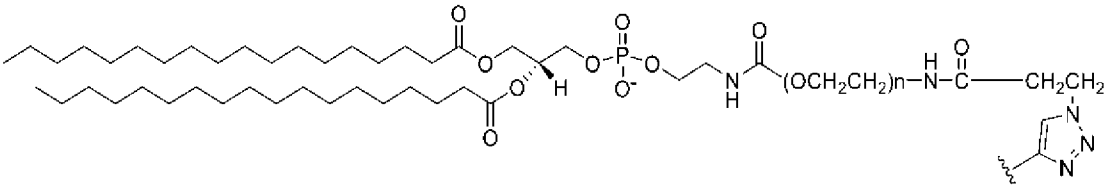
PEG5K，
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約5千道爾頓



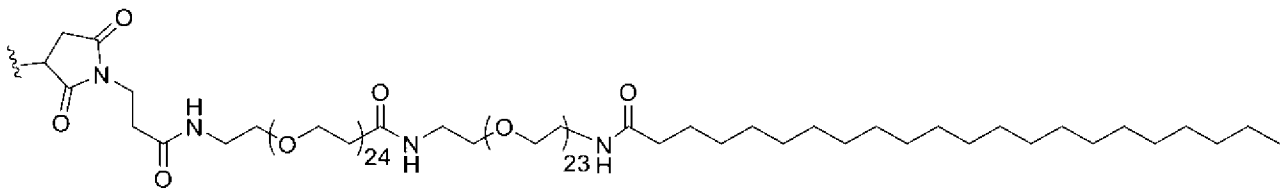
DSPE-PEG5K-NHS
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約5千道爾頓



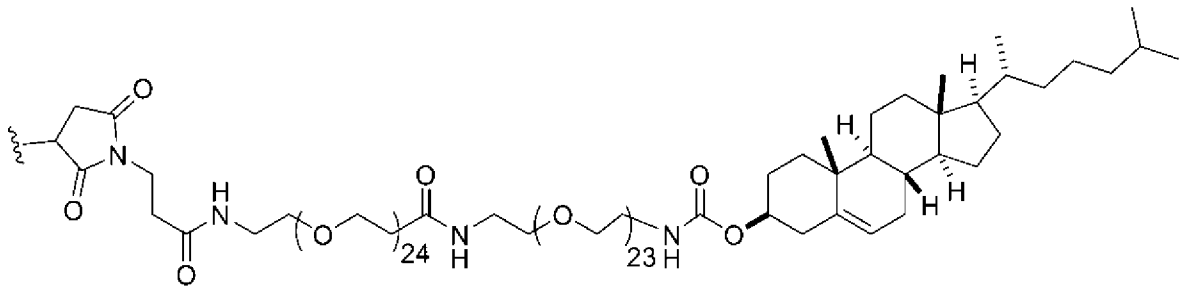
DSPE-PEG5K-MAL
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約5千道爾頓



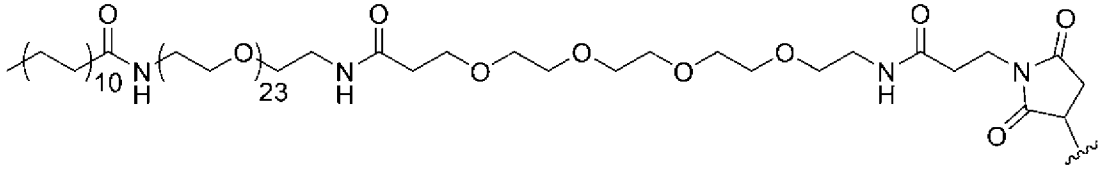
DSPE-PEG5K-N3
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約5千道爾頓



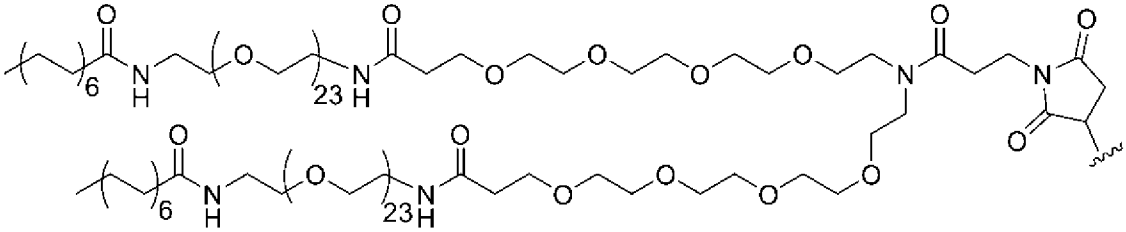
PEG47+C22



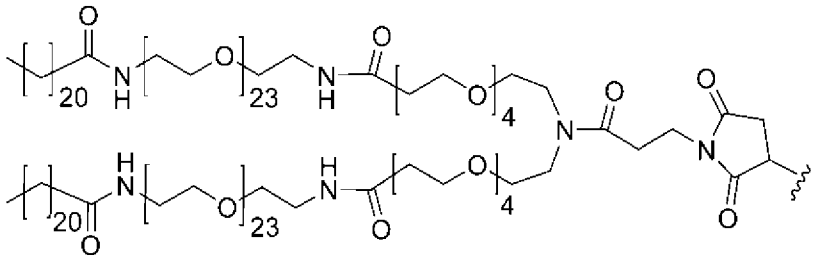
PEG47+CLS (膽固醇)



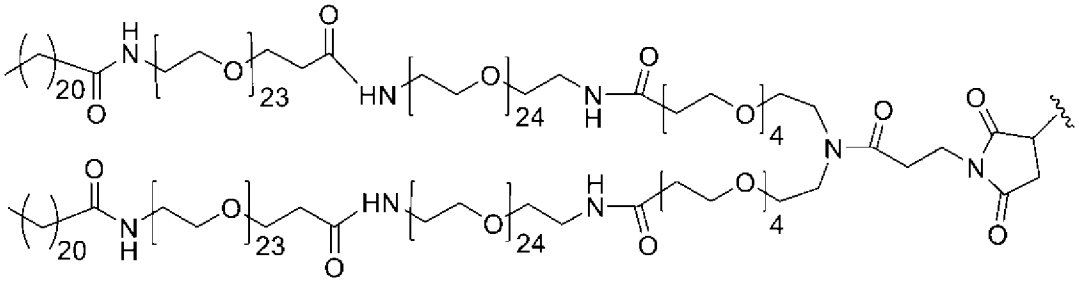
PEG23+C22



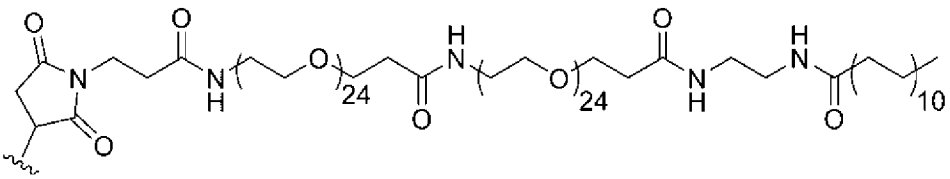
雙(PEG23+C14)



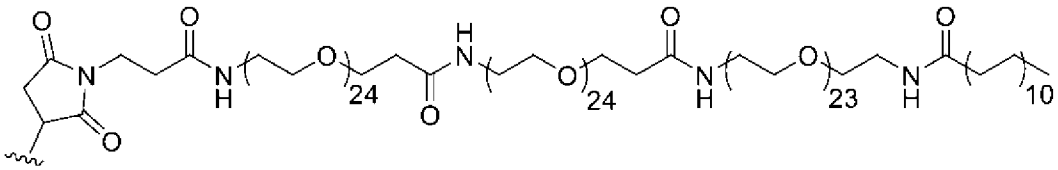
雙(PEG23+C22)



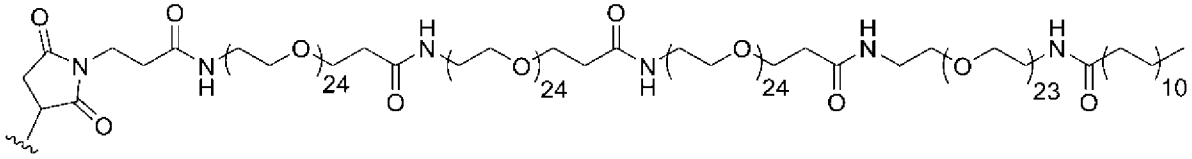
雙(PEG47+C22)



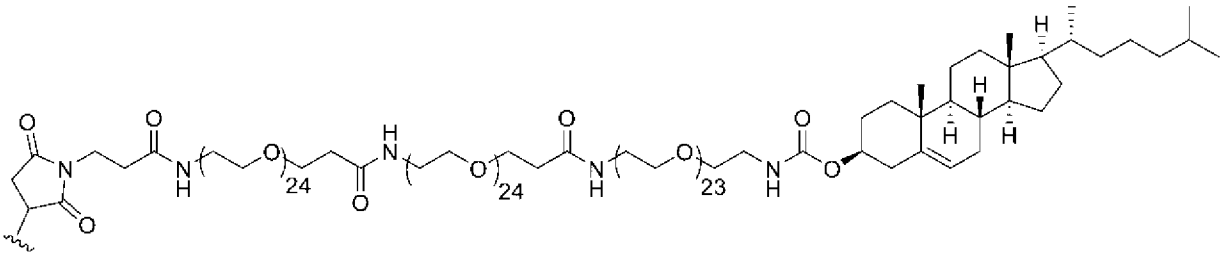
PEG48+C22



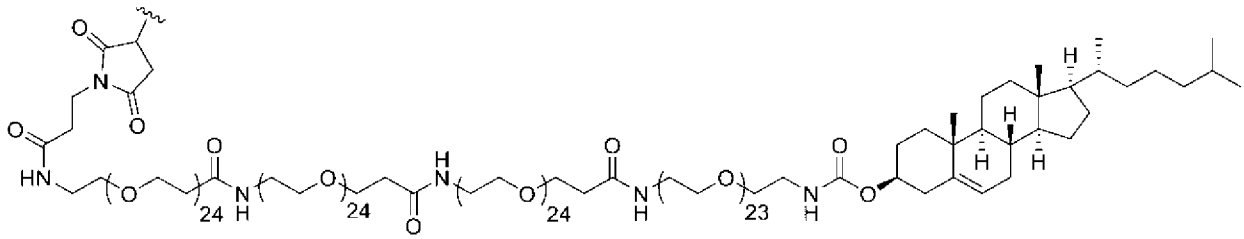
PEG71+C22



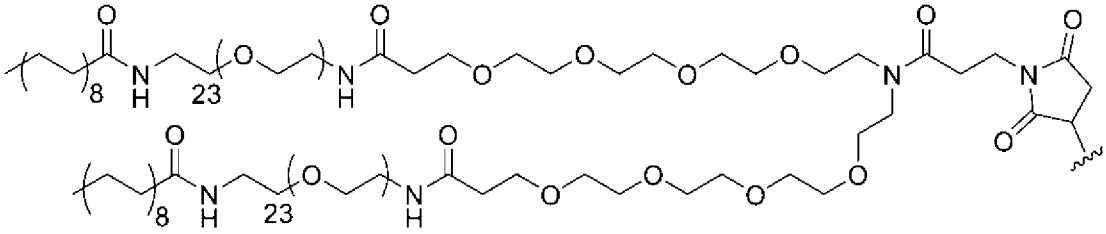
PEG95+C22



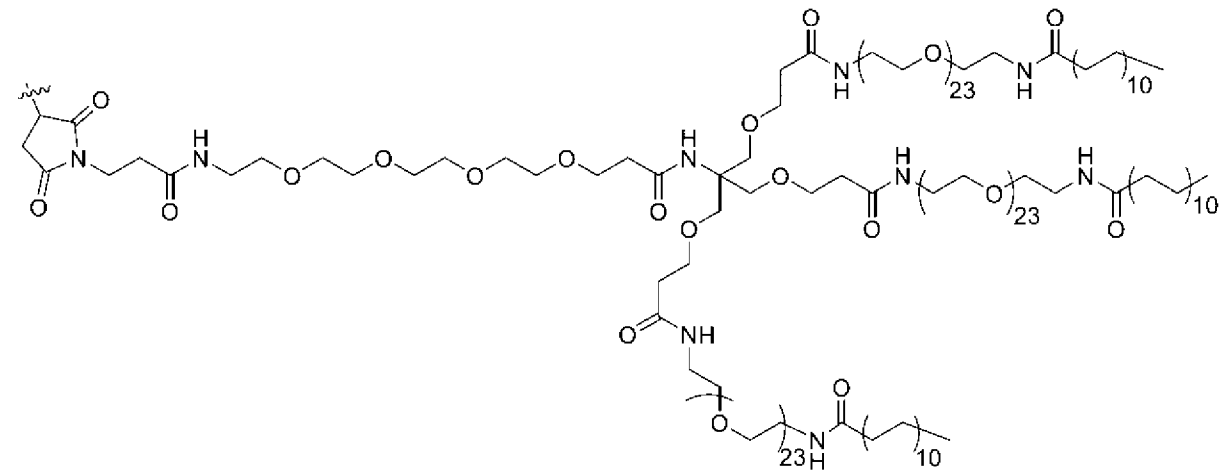
PEG71+CLS



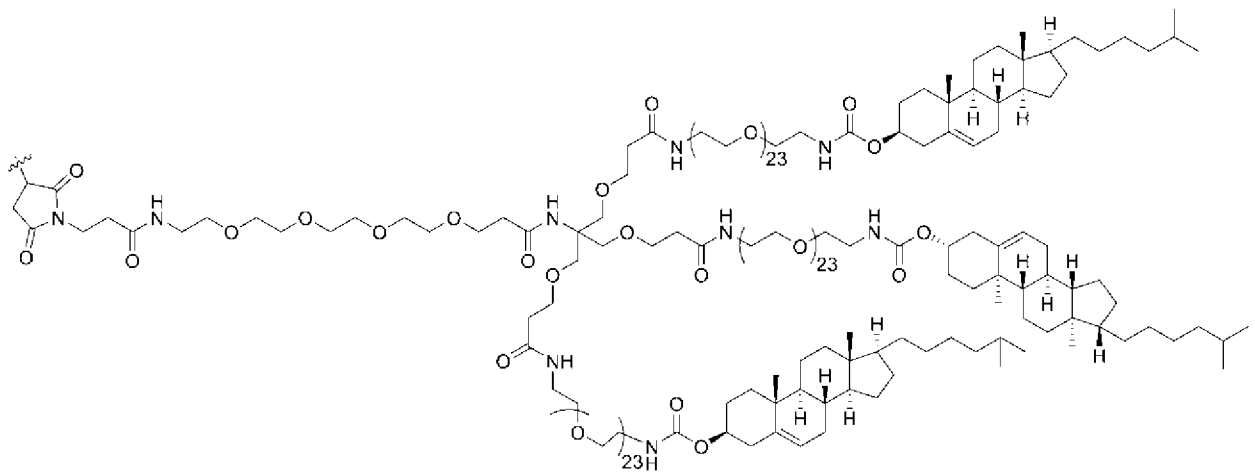
PEG95+CLS



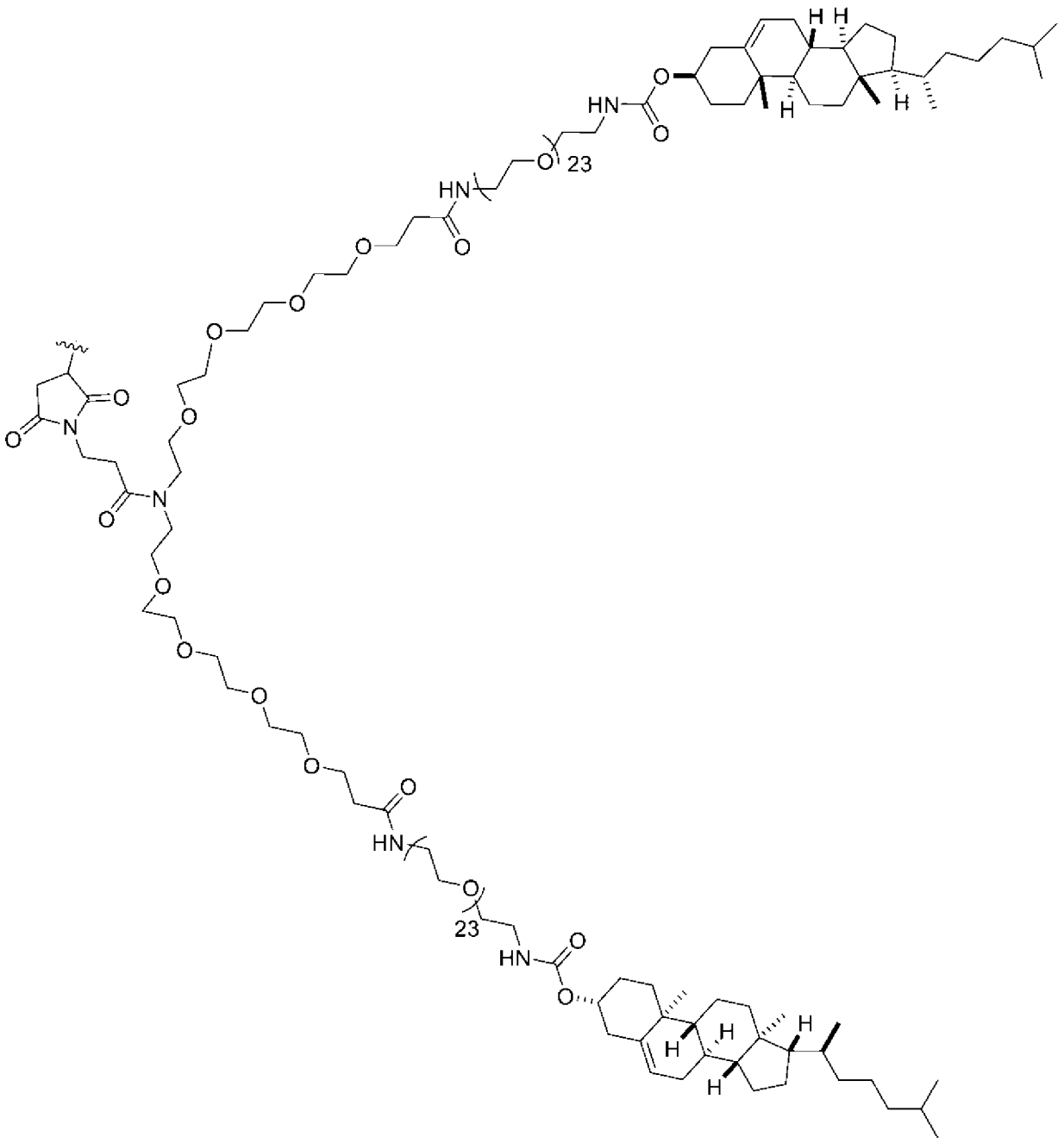
雙(PEG23+C18)



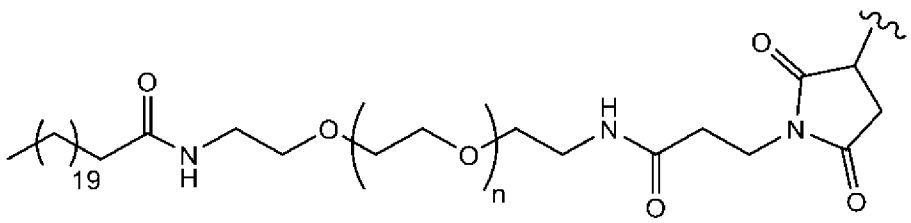
參(PEG23+C22)



參(PEG23+CLS)

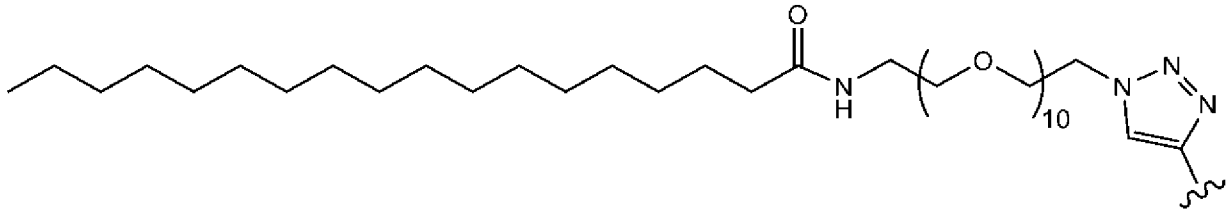


雙(PEG23+CLS)

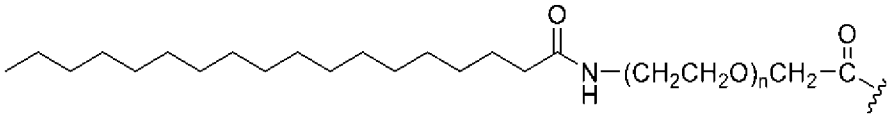


PEG5K+C22

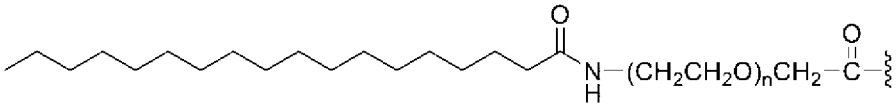
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約5千道爾頓



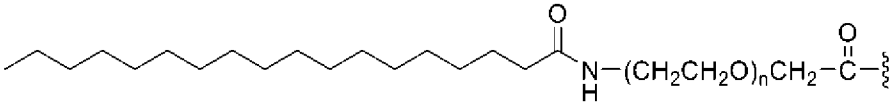
C18



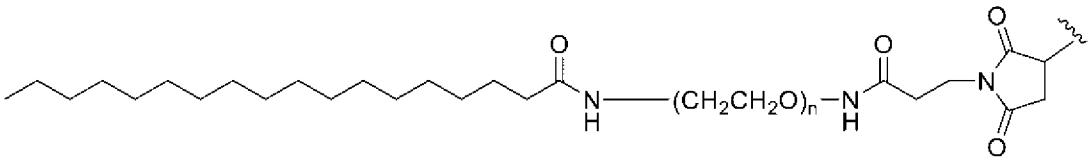
(NHS)-PEG1K+C18
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約1千道爾頓



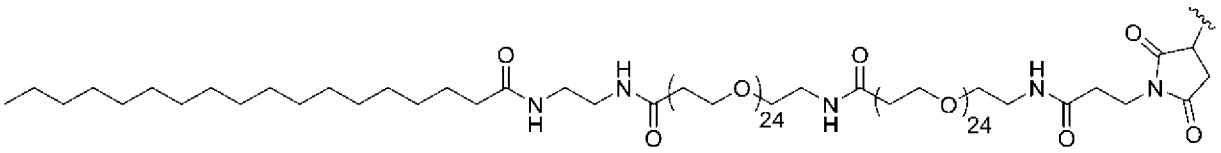
(NHS)-PEG2K+C18
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約2千道爾頓



(NHS)-PEG5K+C18
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約5千道爾頓



(MAL)-PEG5K+C18
其中n為整數，且所有PEG單元總和之分子量為約5千道爾頓

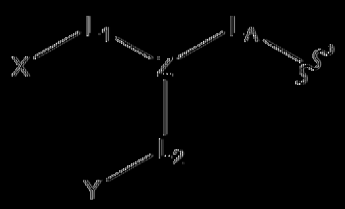


PEG48+C18

或此等PK/PD調節劑中之任一者的醫藥學上可接受之鹽，其中~~指示與該RNAi劑之連接點。

【請求項26】

如請求項1至22中任一項之遞送載體，其中該PK/PD調節劑為式(I)之PK/PD調節劑：



(I)

或其醫藥學上可接受之鹽，其中

L_A為一鍵或將Z連接至該RNAi劑之二價部分；

Z為CH、苯其或N；

L_1及L_2各自獨立地為包含至少約5個PEG單元之連接子；

X及Y各自獨立地為包含約10至約50個碳原子之脂質；且

指示與該RNAi劑之連接點。

[請求項27]

如請求項26之遞送載體，其中L_1及L_2各自獨立地包含約15至約100個PEG單元。

[請求項28]

如請求項26或27之遞送載體，其中L_1及L_2各自獨立地包含約20至約60個PEG單元。

[請求項29]

如請求項26至28中任一項之遞送載體，其中L_1及L_2各自獨立地包含約20至約30個PEG單元。

[請求項30]

如請求項26至28中任一項之遞送載體，其中L_1及L_2各自獨立地包含約40至約60個PEG單元。

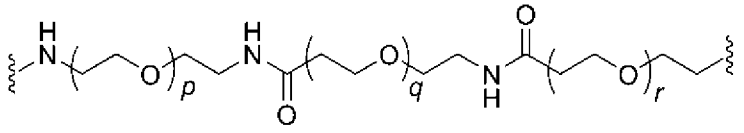
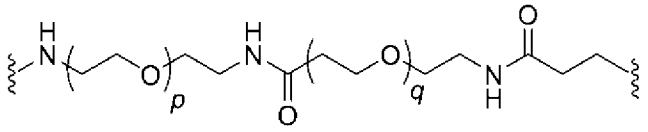
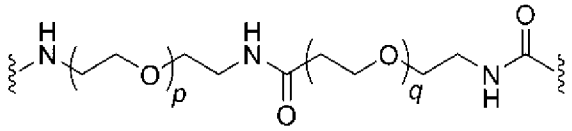
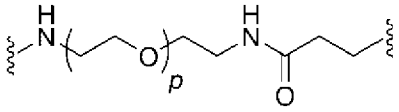
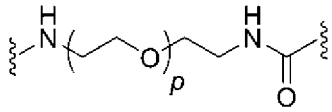
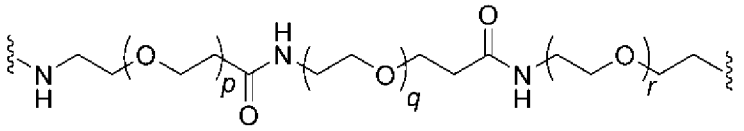
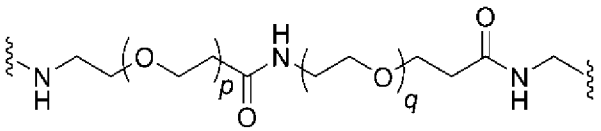
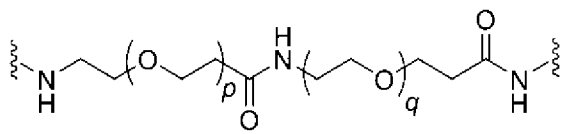
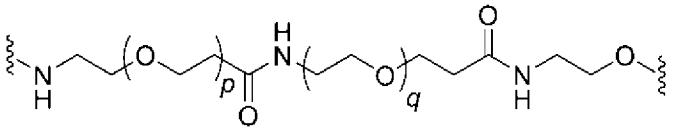
[請求項31]

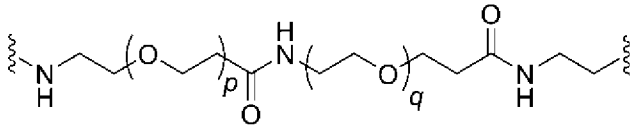
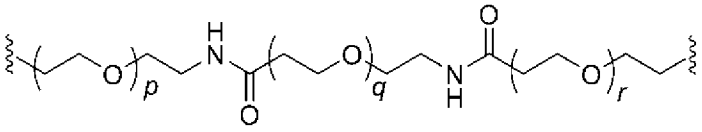
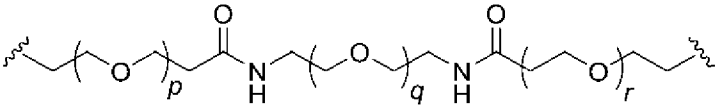
如請求項26之遞送載體，其中L_1及L_2中之一者包含約20至約30個

PEG單元且另一者包含約40至約60個PEG單元。

【請求項32】

如請求項26之遞送載體，其中L_1及L_2中之每一者獨立地選自由以下組成之群：

名稱	結構
連接子1	
連接子2	
連接子3	
連接子4	
連接子5	
連接子6	
連接子7	
連接子8	
連接子9	

名稱	結構
連接子10	
連接子11	
連接子12	

其中，

各*p*獨立地為1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30；

各*q*獨立地為1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30；

各*r*獨立地為1、2、3、4、5、6、7、8、9或10；且

各指示與X、Y或Z之連接點；其限制條件為

(i)　在連接子1、6及11中，$p + q + r \geq 5$；

(ii)　在連接子2、3、7、8、9及10中，$p + q \geq 5$；且

(iii)　在連接子4及5中，$p \geq 5$。

【請求項33】

如請求項32之遞送載體，其中

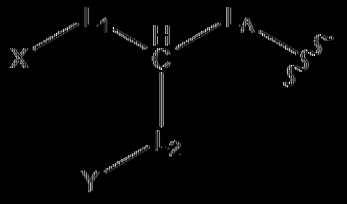
各*p*獨立地為20、21、22、23、24或25；

各*q*獨立地為20、21、22、23、24或25；且

各*r*獨立地為2、3、4、5或6。

【請求項34】

如請求項26之遞送載體，其中該式(I)之PK/PD調節劑為式(Ia)之PK/PD調節劑：

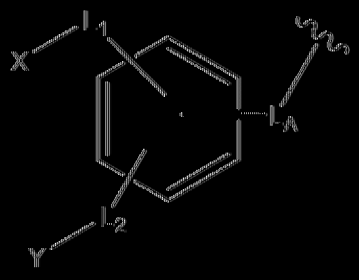


(Ia)

或其醫藥學上可接受之鹽。

【請求項35】

如請求項26之遞送載體，其中該式(I)之PK/PD調節劑為式(Ib)之PK/PD調節劑：

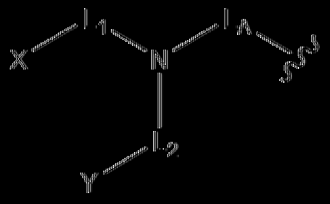


(Ib)

或其醫藥學上可接受之鹽。

【請求項36】

如請求項26之遞送載體，其中該式(I)之PK/PD調節劑為式(Ic)之PK/PD調節劑：



(Ic)

或其醫藥學上可接受之鹽。

【請求項37】

如請求項26至36中任一項之遞送載體，其中X及Y中之至少一者為不飽和脂質。

【請求項38】

如請求項26至37中任一項之遞送載體，其中X及Y中之至少一者為飽和脂質。

【請求項39】

如請求項26至38中任一項之遞送載體，其中X及Y中之至少一者為分支脂質。

【請求項40】

如請求項26至39中任一項之遞送載體，其中X及Y中之至少一者為直鏈脂質。

【請求項41】

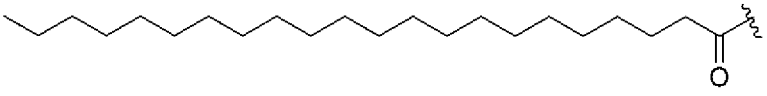
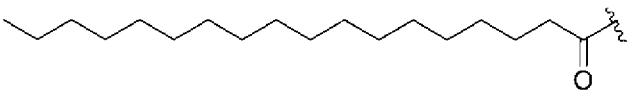
如請求項26至40中任一項之遞送載體，其中X及Y中之至少一者為包含約10至約25個碳原子之脂質。

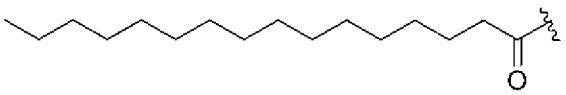
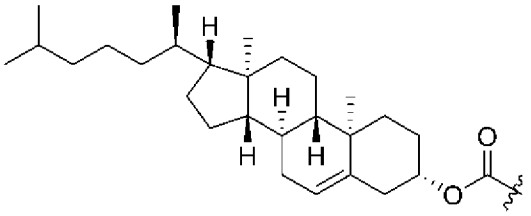
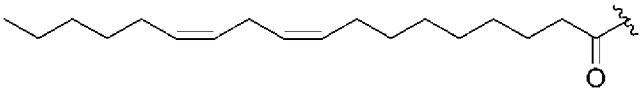
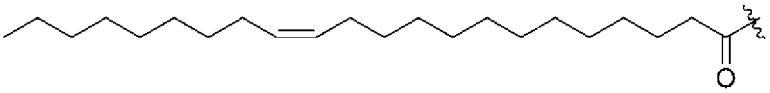
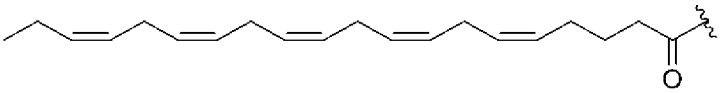
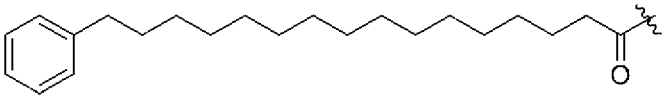
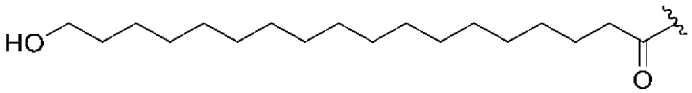
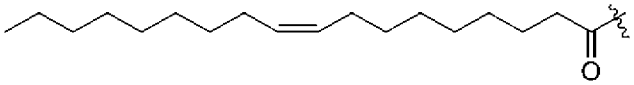
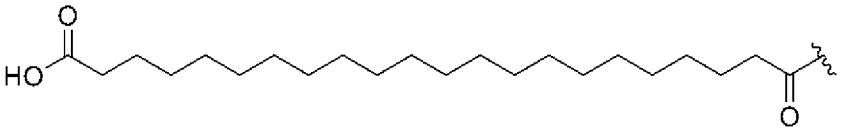
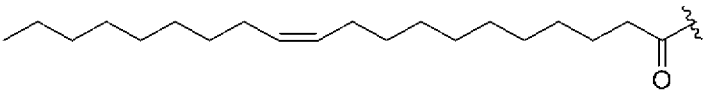
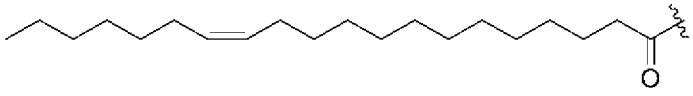
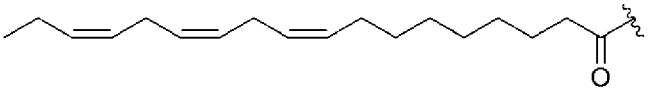
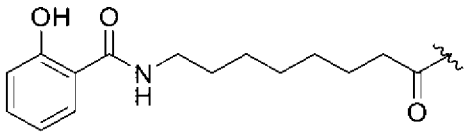
【請求項42】

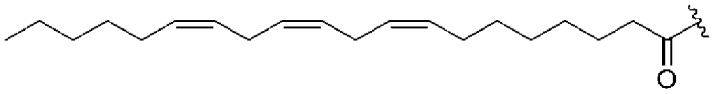
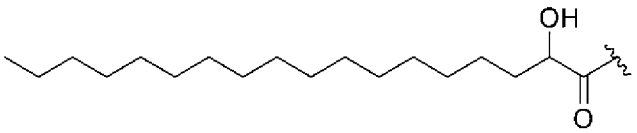
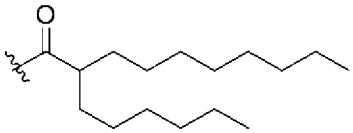
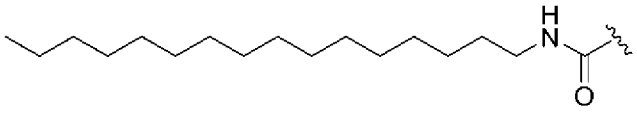
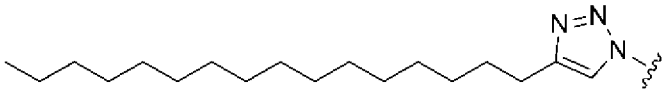
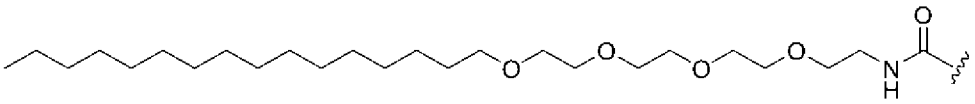
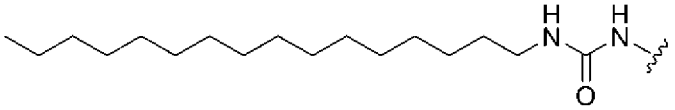
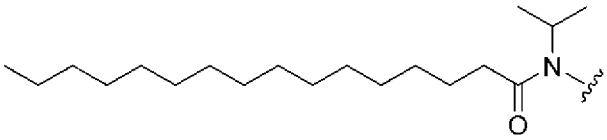
如請求項26至41中任一項之遞送載體，其中X及Y中之至少一者為膽固醇基。

【請求項43】

如請求項26至36中任一項之遞送載體，其中X及Y中之至少一者係選自由以下組成之群：

名稱	結構
脂質1	
脂質2	

名稱	結構
脂質3	
脂質4	
脂質5	
脂質6	
脂質7	
脂質8	
脂質9	
脂質10	
脂質11	
脂質12	
脂質14	
脂質15	
脂質16	

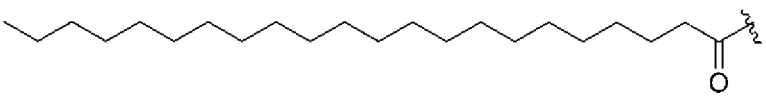
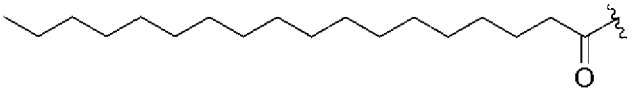
名稱	結構
脂質17	
脂質18	
脂質19	
脂質20	
脂質21	
脂質22	
脂質23	
脂質24	

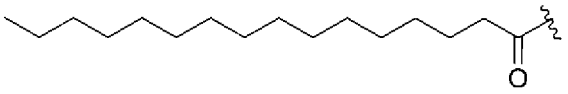
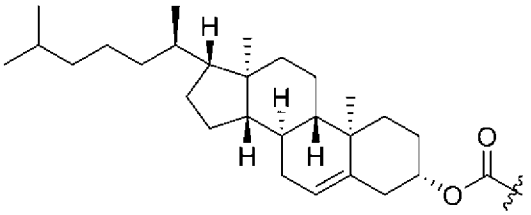
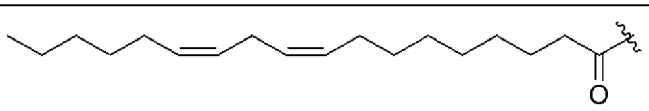
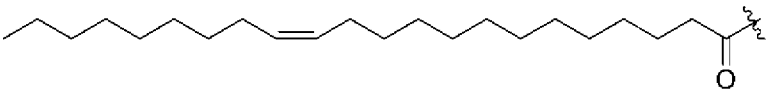
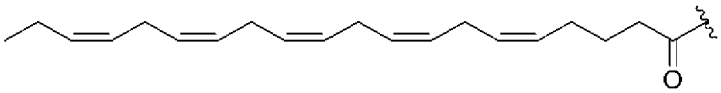
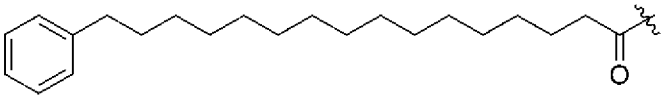
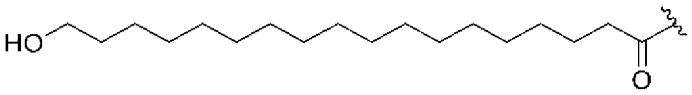
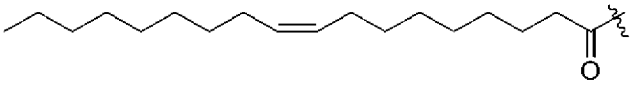
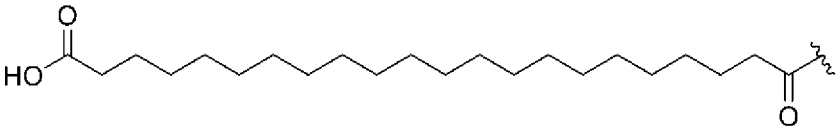
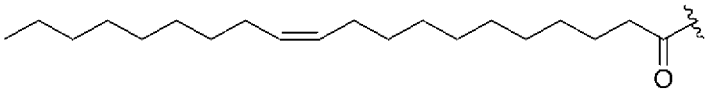
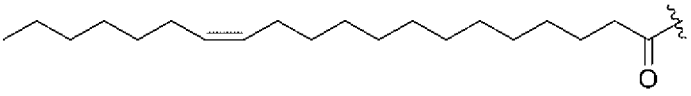
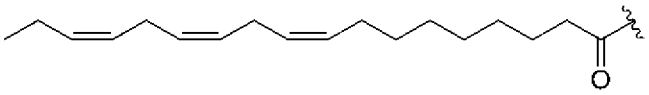
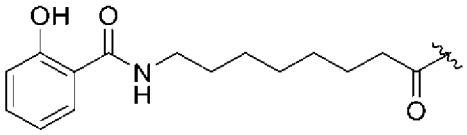


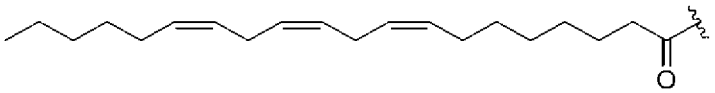
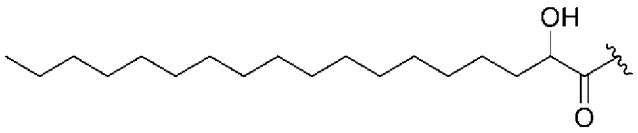
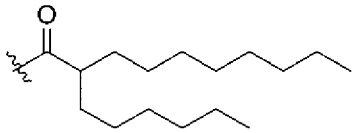
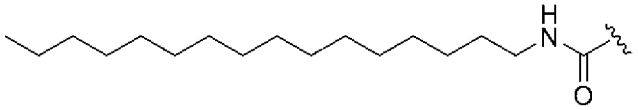
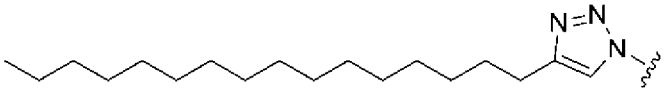
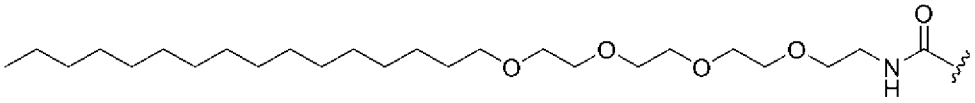
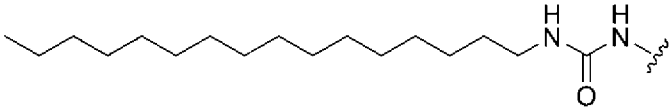
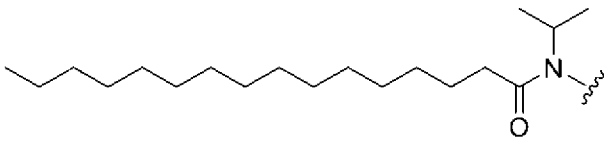
其中指示與L_1或L_2之連接點。

【請求項44】

如請求項26至36中任一項之遞送載體，其中X及Y兩者均各自獨立地選自由以下組成之群：

名稱	結構
脂質1	
脂質2	

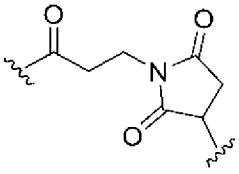
名稱	結構
脂質3	
脂質4	
脂質5	
脂質6	
脂質7	
脂質8	
脂質9	
脂質10	
脂質11	
脂質12	
脂質14	
脂質15	
脂質16	

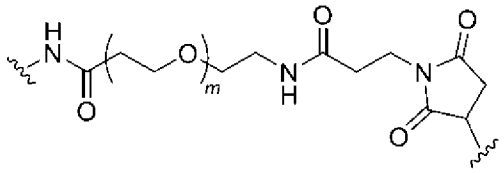
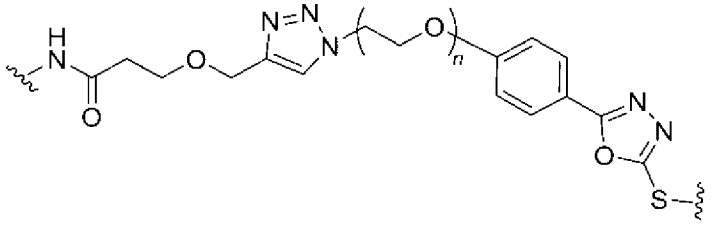
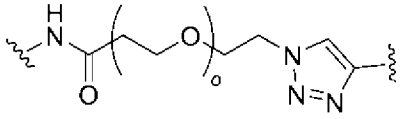
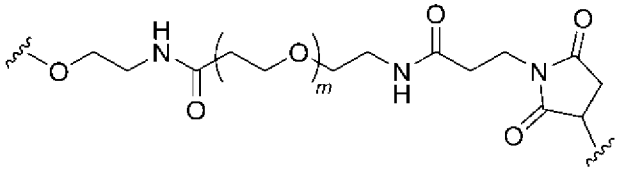
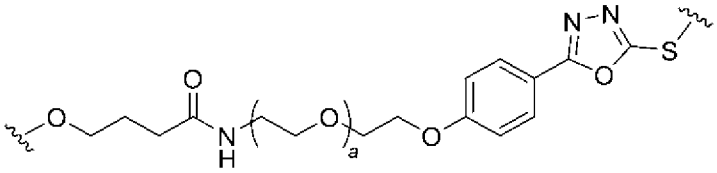
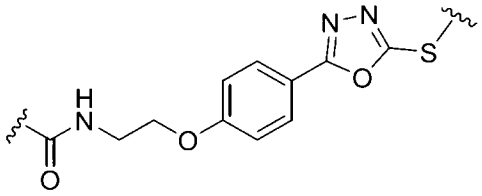
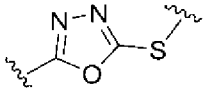
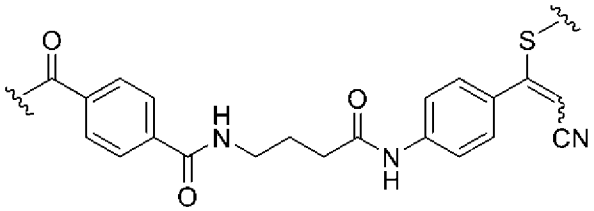
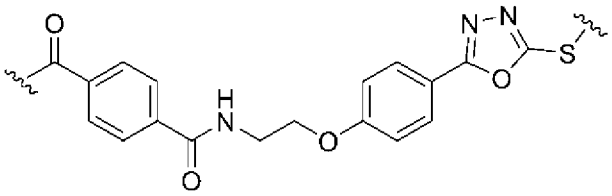
名稱	結構
脂質17	
脂質18	
脂質19	
脂質20	
脂質21	
脂質22	
脂質23	
脂質24	

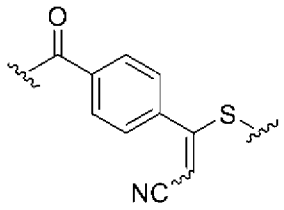
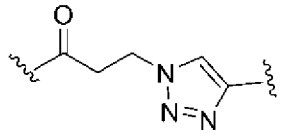
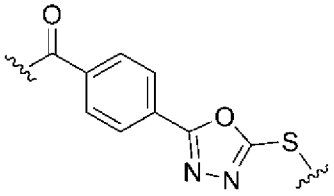
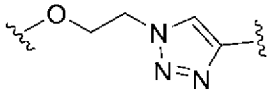
其中 指示與L_1或L_2之連接點。

【請求項45】

如請求項26之遞送載體，其中L_A係選自由以下組成之群：

名稱	結構
繫栓子1	

繫栓子2	
繫栓子3	
繫栓子4	
繫栓子5	
繫栓子6	
繫栓子7	
繫栓子8	
繫栓子9	
繫栓子10	

繫栓子11	
繫栓子12	
繫栓子13	
繫栓子14	

其中，*m*、*n*、*o*及*a*中之每一者獨立地為1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30，且各$\sim$指示與Z或該RNAi劑之連接點。

【請求項46】

如請求項45之遞送載體，其中，

各*m*獨立地為1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、21、22、23、24或25；

各*n*獨立地為2、3、4或5；

各*a*獨立地為2、3或4；且

各*o*獨立地為2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或13。

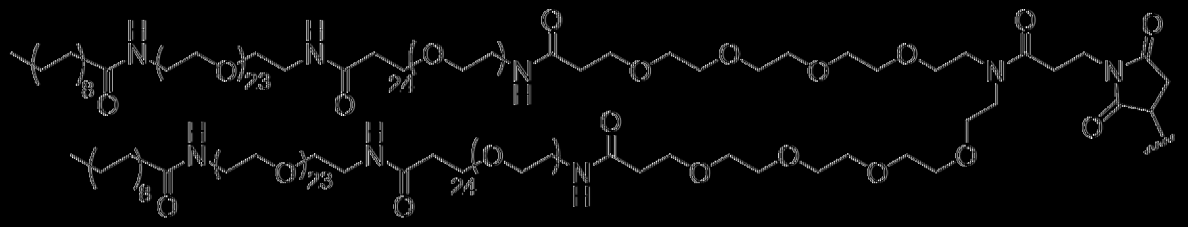
【請求項47】

如請求項1至22之遞送載體，其中該PK/PD調節劑係選自由以下組成之群：

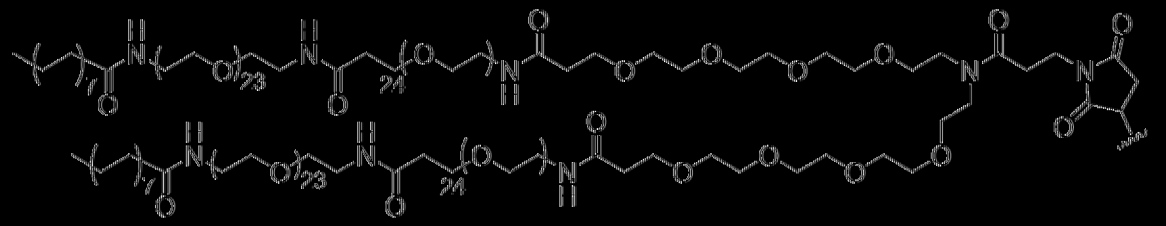
LP 11b



LP 28b



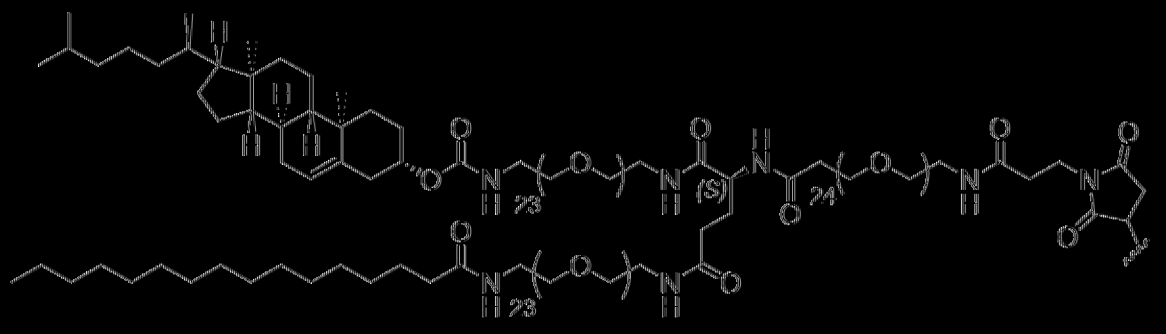
LP 29b



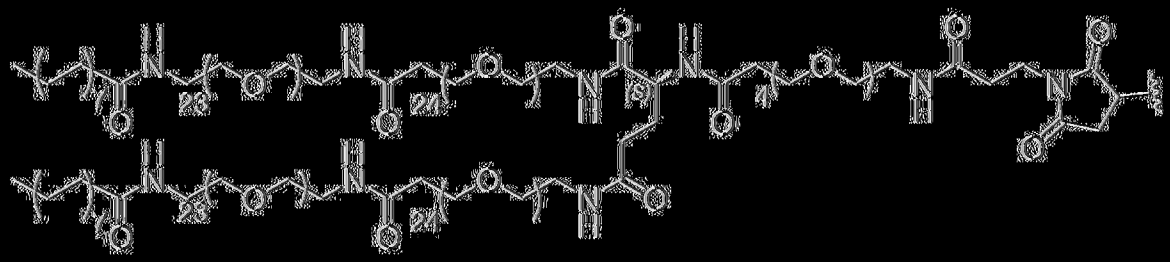
LP 38b



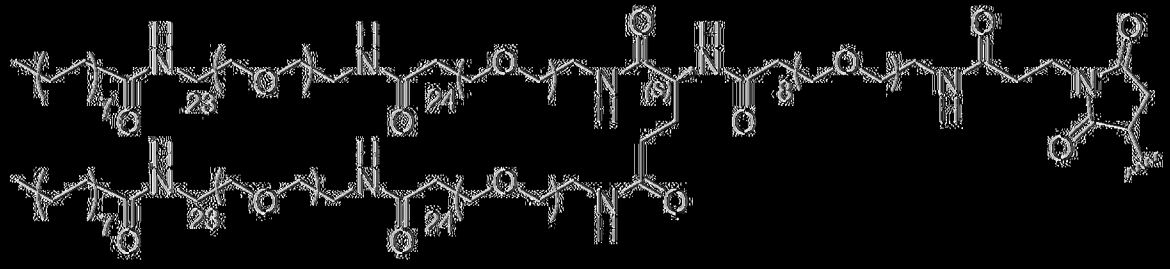
LP 39b



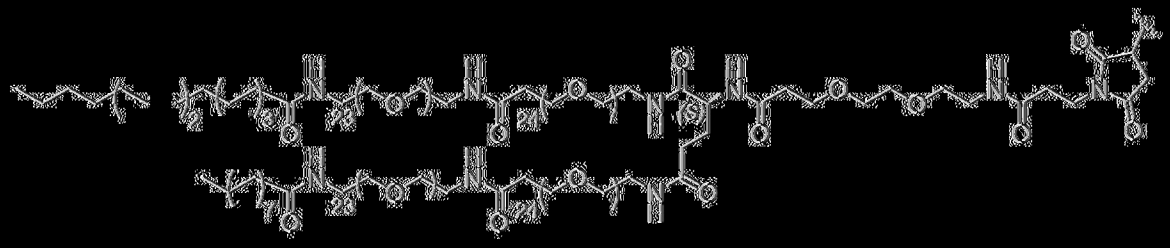
LP 41b



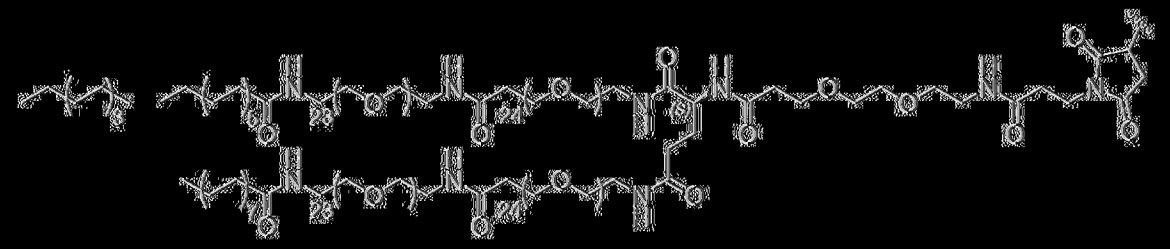
LDP-426b



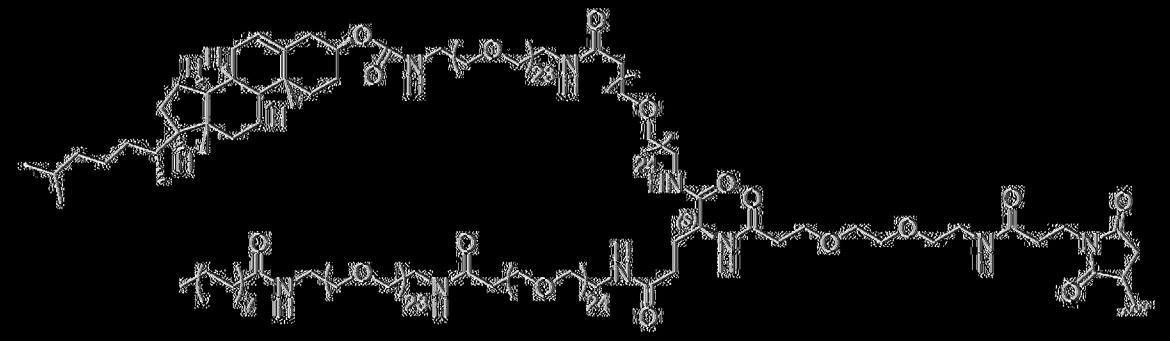
LDP-436b



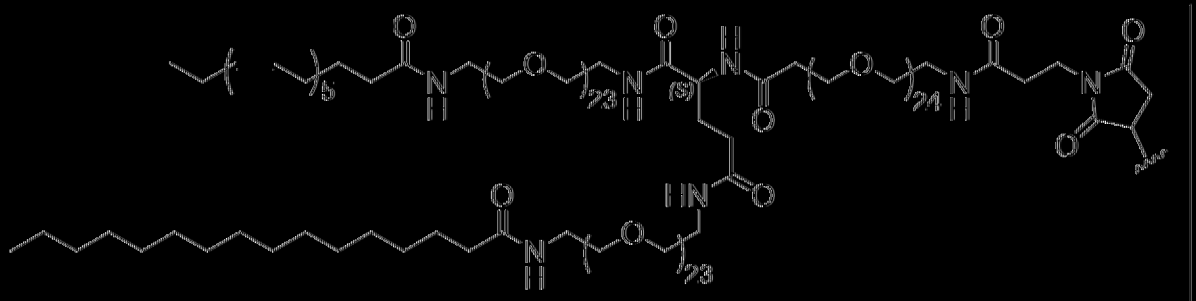
LDP-446b



LDP-456b



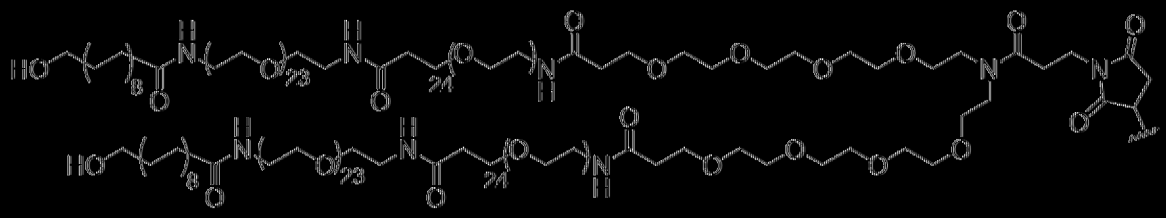
LDP-496b



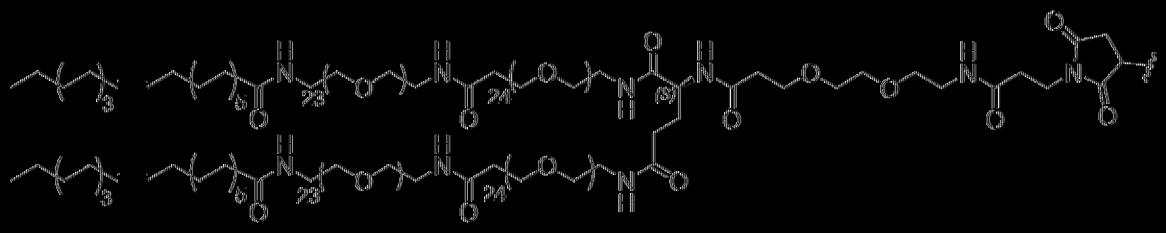
LP 48b



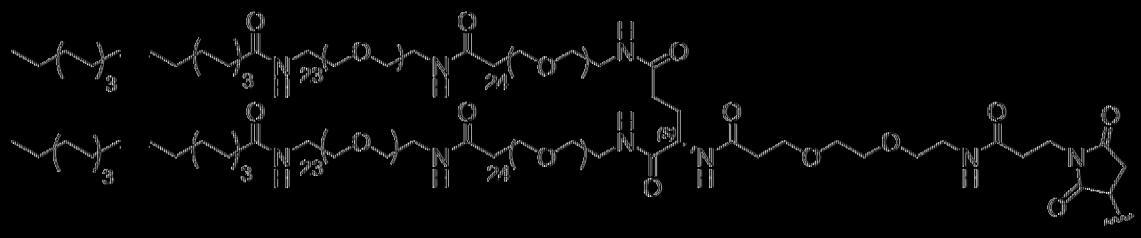
LP 49b



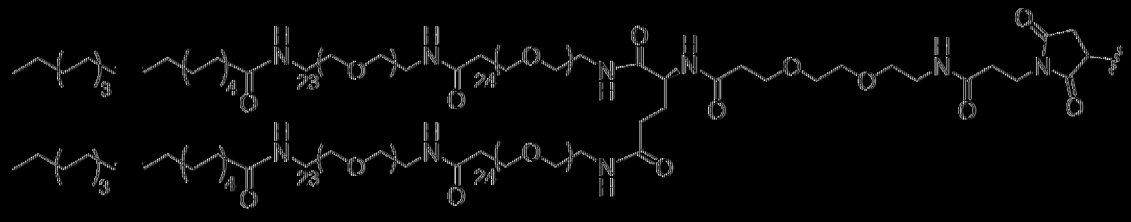
LP 53b



LP 54b



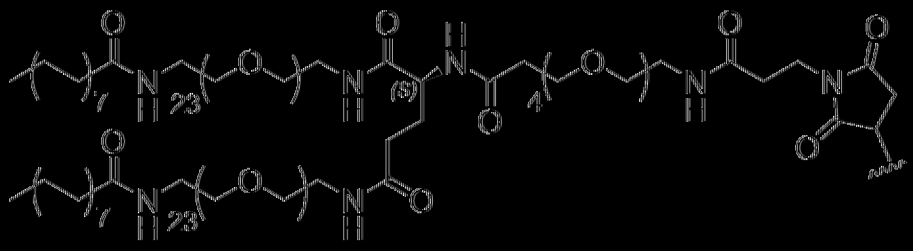
LP 55b



LP 56b



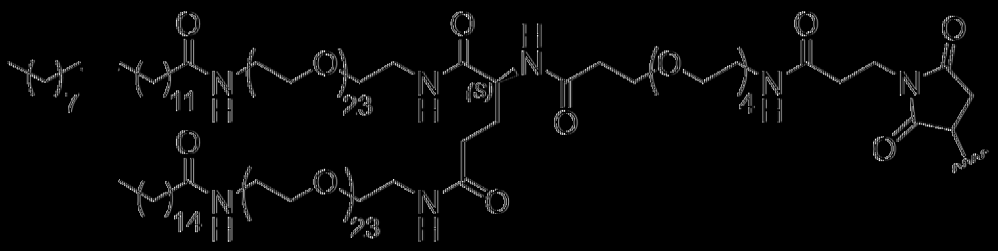
LP 57b



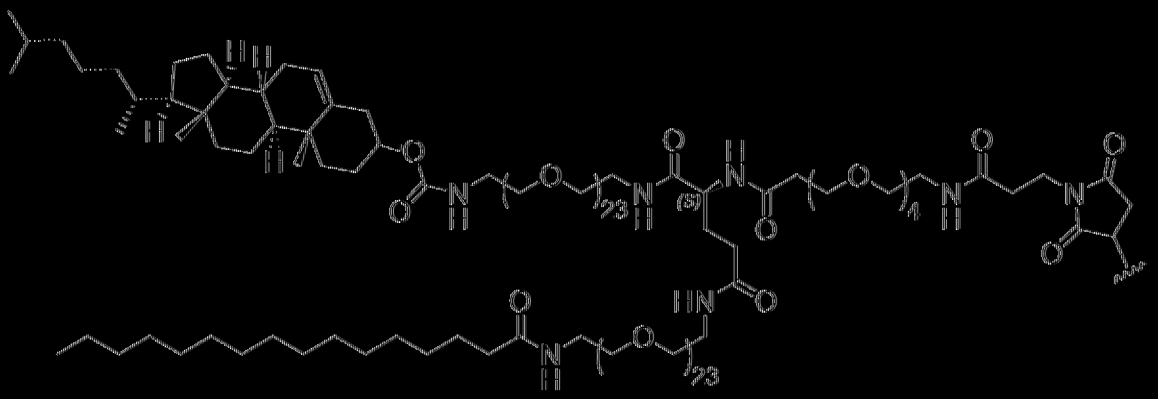
LP 58b



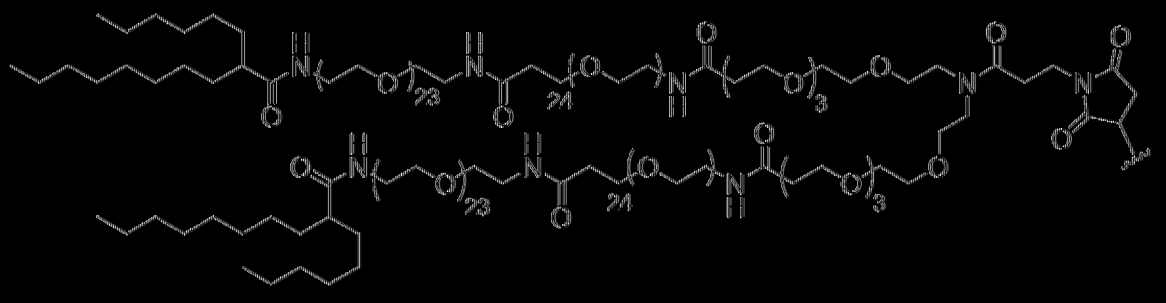
LP 59b



LP 60b



LP 61b



LP 62b



LP 87b



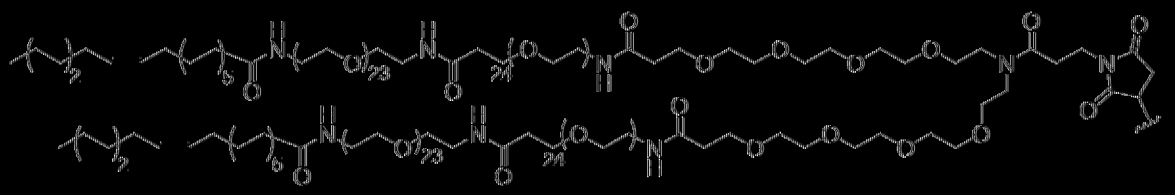
LP 89b



LP 90b



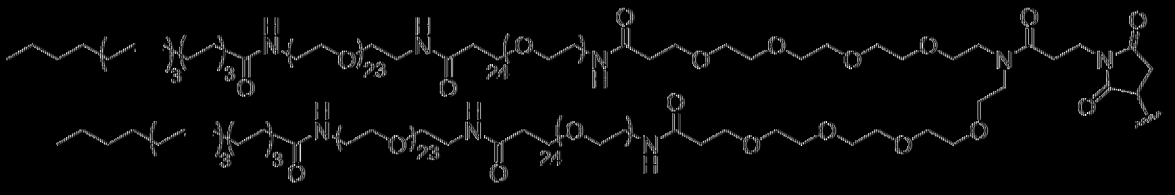
LP 92b



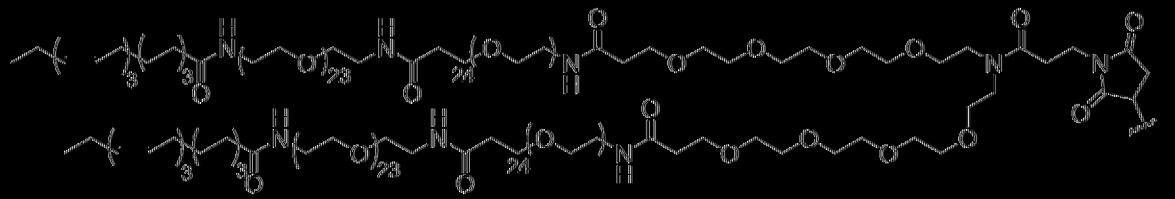
LP 93b



LP 94b



LP 95b



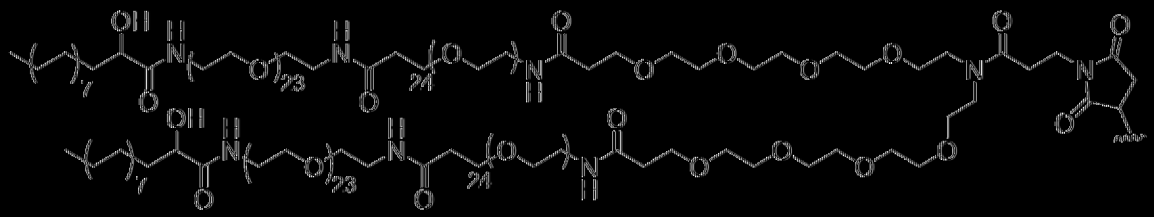
LP 101b



LP 102b



LP 103b



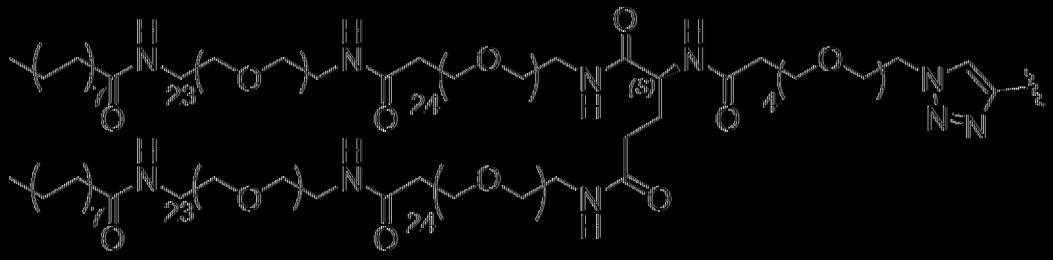
LP 104b



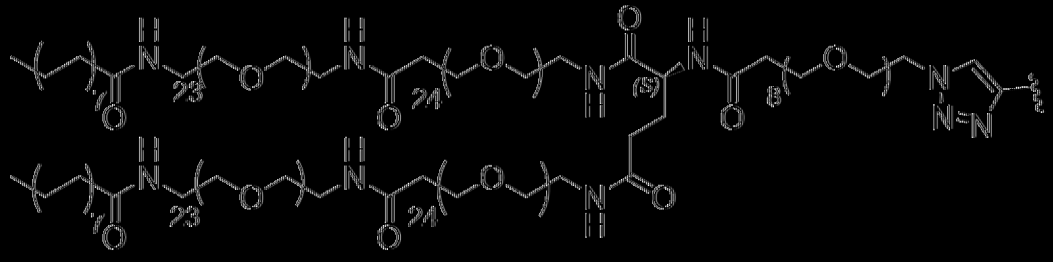
LP 106b



LP 107b



LP 108b



LP 109b



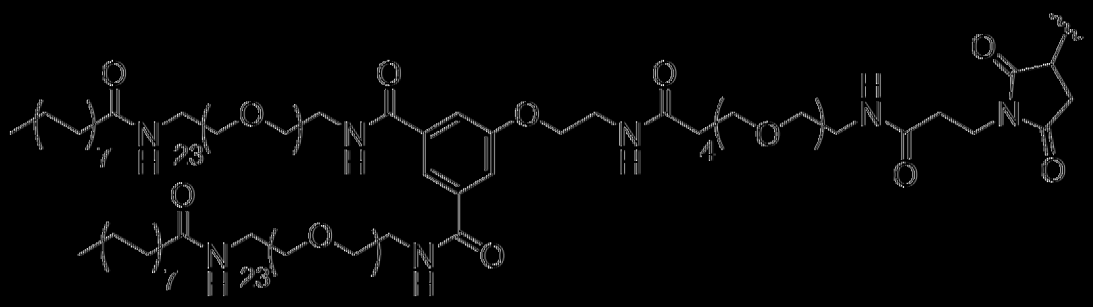
LP 110b



LP 111b



LP 124b



LP 130b



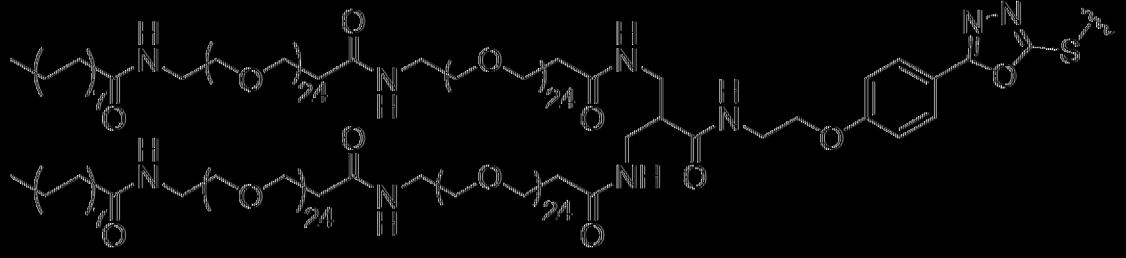
LP 143b



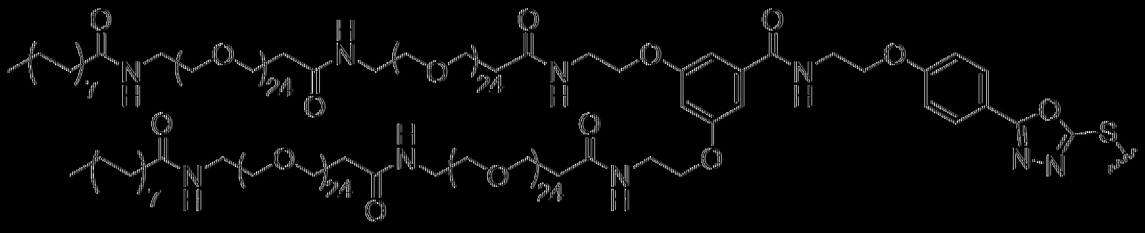
LP 210b



LP 217b



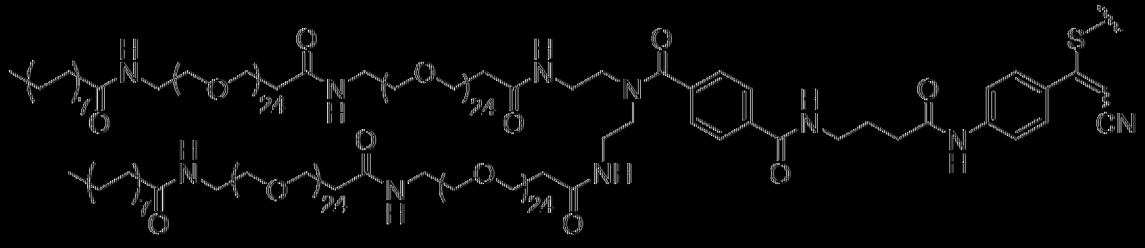
LP 220b



LP 221b



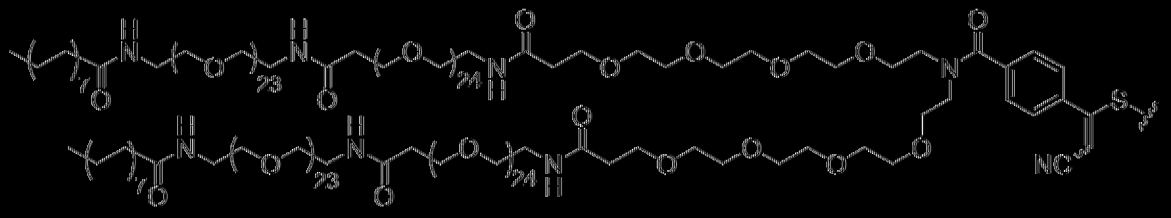
LP 223b



LP 224b



LP 225b



LP 226b



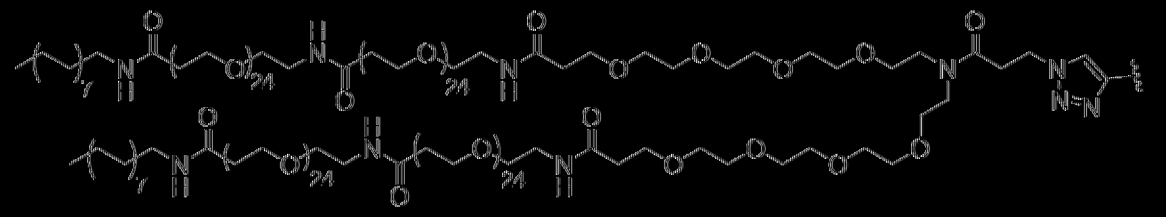
LP 238b



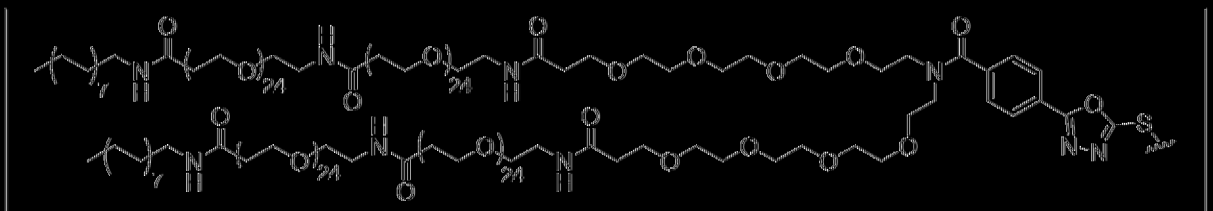
LP 240b



LP 246b



LP 247b



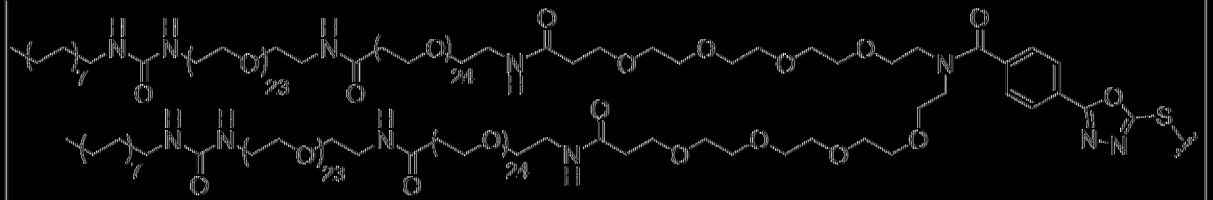
LP 339b



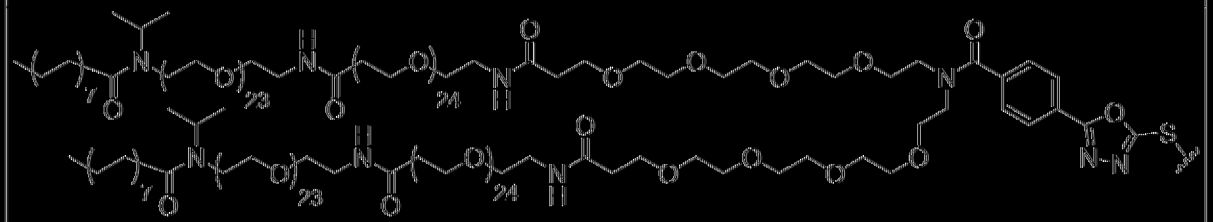
LP 340b



LP 357b



LP 358b



或此等PK/PD調節劑中之任一者的醫藥學上可接受之鹽，其中各 $\sim\!\!\sim$ 指示與該RNAi劑之連接點。

[請求項48]

如請求項1至47中任一項之遞送載體，其中該RNAi劑抑制骨骼肌細胞中人類基因之mRNA的表現。

[請求項49]

如請求項4至48中任一項之遞送載體，其中該醫藥學上可接受之鹽為鈉鹽。

【請求項50】

如請求項4至48中任一項之遞送載體，其中該醫藥學上可接受之鹽為鉀鹽。

【請求項51】

一種組合物，其包含如請求項1至50中任一項之遞送載體。

【請求項52】

一種醫藥組合物，其包含如請求項51之組合物及醫藥賦形劑。

【請求項53】

如請求項52之醫藥組合物，其中該醫藥賦形劑係選自注射用水及鹽水溶液。

【請求項54】

如請求項53之醫藥組合物，其中該醫藥賦形劑為鹽水溶液。

【請求項55】

一種治療骨胳肌細胞之疾病或病症之方法，其包含向有需要之個體投與如請求項51之組合物或如請求項52至54中任一項之醫藥組合物。

【請求項56】

如請求項55之方法，其中該疾病或病症為肌肉萎縮症。

【請求項57】

如請求項56之方法，其中該肌肉萎縮症係選自由以下組成之群：杜興氏肌肉萎縮症(Duchenne muscular dystrophy)、強直性肌肉萎縮症、貝氏肌肉萎縮症(Becker muscular dystrophy)、肢帶型肌肉萎縮症、面肩胛

肱型肌肉萎縮症、先天性肌肉萎縮症、眼咽型肌肉萎縮症、遠端型肌肉萎縮症及艾-德二氏肌肉萎縮症(Emery-Dreifuss muscular dystrophy)。

【請求項58】

一種如請求項1至50中任一項之遞送載體、如請求項51之組合物或如請求項52至54中任一項之醫藥組合物的用途，其用於將RNAi劑遞送至骨骼肌細胞。

【請求項59】

如請求項58之用途，其中該骨骼肌細胞在個體內。

【請求項60】

如請求項59之用途，其中該個體為人類個體。

【請求項61】

如請求項58至60中任一項之用途，其中該RNAi劑抑制該骨胳肌細胞中之目標基因之表現達至少約50%。

【請求項62】

如請求項61之用途，其中該目標基因係肌肉生長抑制素(Mstn.)。

【請求項63】

一種如請求項1至50中任一項之遞送載體、如請求項51之組合物或如請求項52至54中任一項之醫藥組合物的用途，其用於製備供治療疾病或病症用之藥劑。

【請求項64】

如請求項63之用途，其中該疾病或病症為肌肉萎縮症。

【請求項65】

如請求項64之用途，其中該肌肉萎縮症係選自由以下組成之群：杜

興氏肌肉萎縮症、強直性肌肉萎縮症、貝氏肌肉萎縮症、肢帶型肌肉萎縮症、面肩胛肱型肌肉萎縮症、先天性肌肉萎縮症、眼咽型肌肉萎縮症、遠端型肌肉萎縮症及艾-德二氏肌肉萎縮症。

【請求項66】

一種製造如請求項1至50中任一項之遞送載體的方法，該方法包含：

(i)合成該有義股；

(ii)合成該反義股；

(iii)黏接該有義股及該反義股；

(iv)在黏接該有義股及該反義股之前或之後，將該靶向配位體結合至該有義股或該反義股；以及

(v)在黏接該有義股及該反義股之前或之後，及在將該靶向配位體結合至該有義股或該反義股之前或之後，將該PK/PD調節劑結合至該有義股或該反義股。

【發明圖式】

表A：氨氮之二次方立方根與人類活動之線性回歸結果

編號	第3天		第15天		第21天		第29天		第36天		第43天		第50天		第57天		第64天	
	立方	誤差值	立方	誤差值	立方	誤差值	立方	誤差值	立方	誤差值	立方	誤差值	立方	誤差值	立方	誤差值	立方	誤差值
1	-0.18	0.066	0.90	0.38	-0.74	0.22	-0.033	0.059	-0.10	0.34	-0.02	0.092	-0.029	0.20	0.930	0.079	0.899	0.16
2	0.496	0.037	0.219	0.039	0.53	0.026	0.05	0.04	0.07	0.02	0.26	0.06	0.25	0.022	0.096	0.06	0.092	0.04

（下轉）