



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0130157

(43) 공개일자 2024년08월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 47/64 (2017.01) A61P 35/00 (2006.01)

C07K 14/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 47/64 (2017.08)

A61P 35/00 (2018.01)

(21) 출원번호 10-2024-7020055

(22) 출원일자(국제) 2022년11월16일

심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2024년06월17일

(86) 국제출원번호 PCT/US2022/079973

(87) 국제공개번호 WO 2023/091957

국제공개일자 2023년05월25일

(30) 우선권주장

63/280,409 2021년11월17일 미국(US)

(71) 출원인

싸이브렉사 4, 인크.

미국 06511 코네티컷 뉴 하벤 윈체스터 애비뉴

395 사이언스 파크 5

(72) 발명자

매과이어, 로버트 존

미국 06511 코네티컷 뉴 하벤 윈체스터 애비뉴

395 사이언스 파크 5

셴저리, 요한나 마리

미국 06511 코네티컷 뉴 하벤 윈체스터 애비뉴

395 사이언스 파크 5

(74) 대리인

양영준, 이상남

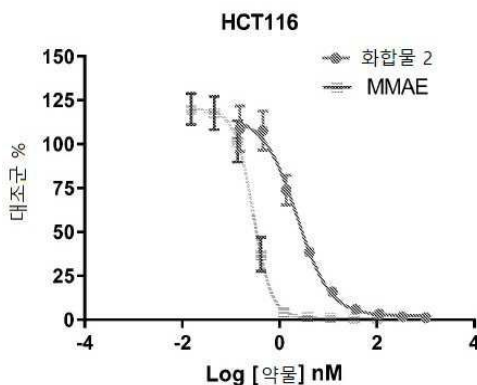
전체 청구항 수 : 총 75 항

(54) 발명의 명칭 치료제로서의 펩티드 튜블린 억제제의 펩티드 접합체

(57) 요약

본 발명은 질환 이를 테면, 암의 치료에 유용한 펩티드 튜블린 억제제의 펩티드 접합체 (가령, 모노메틸 아우리스타틴)에 관계한다.

대표도 - 도1a



	IC50
화합물 2	2.278
MMAE	0.2882

(52) CPC특허분류

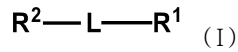
C07K 14/001 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

화학식 (I)의 화합물:



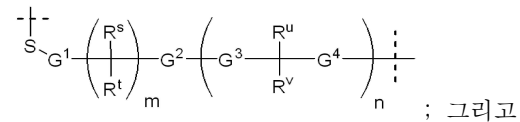
또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염에 있어서, 이때:

R¹은 펩티드이며;

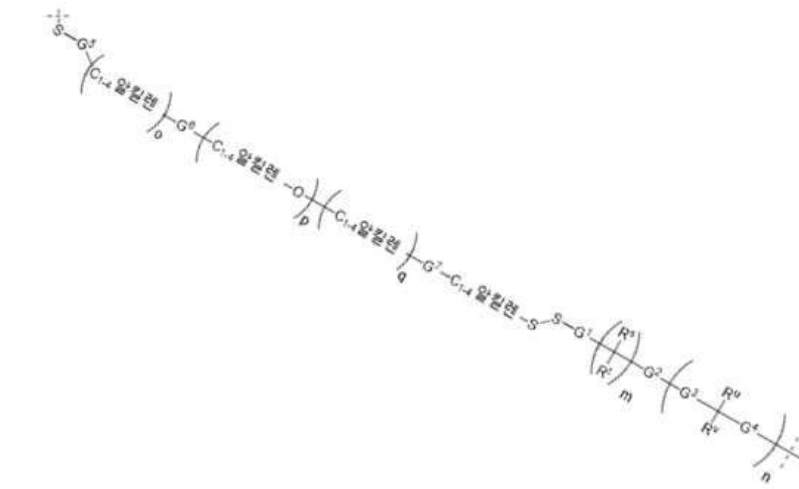
R^2 은 아우리스타틴 화합물의 라디칼이며; 그리고

L은 링커로써, 다음으로부터 선택된 구조를 보유하는 링커이며:

i)



ii)



이때 상기 링커의 말단 S 원자는 상기 펩티드의 시스테인 잔기와 결합하여, 이황화 결합을 형성하고; 그리고 이때:

G¹은 결합, C₆₋₁₀ 아릴, C₃₋₁₄ 사이클로알킬, 5-14개 구성원의 헤테로아릴, 및 4-14개 구성원의 헤테로사이클로알킬로부터 선택되며, 이때 G¹의 전술한 C₆₋₁₀ 아릴, C₃₋₁₄ 사이클로알킬, 5-14개 구성원의 헤테로아릴, 및 4-14개 구성원의 헤테로사이클로알킬은 할로, C₁₋₆ 알킬, C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알키닐, C₁₋₆ 할로알킬, CN, NO₂, OR^a, SR^a, C(O)R^b, C(O)NR^cR^d, C(O)OR^a, OC(O)R^b, OC(O)NR^cR^d, C(=NR^c)NR^cR^d, NR^cC(=NR^c)NR^cR^d, NR^cR^d, NR^cC(O)R^b, NR^cC(O)OR^a, NR^cC(O)NR^cR^d, NR^cS(O)R^b, NR^cS(O)₂R^b, NR^cS(O)₂NR^cR^d, S(O)R^b, S(O)NR^cR^d, S(O)₂R^b, 및 S(O)₂NR^cR^d로부터 독립적으로 치환된 1개, 2개, 3개, 4개, 또는 5개의 치환체로 각각 임의선택적으로 치환되며, 이때 G¹의 전술한 C₁₋₆ 알킬,

C₂₋₆ 알케닐, 및 C₂₋₆ 알킬닐 치환체는 CN, NO₂, OR^a, SR^a, C(O)R^b, C(O)NR^cR^d, C(O)OR^a, OC(O)R^b, OC(O)NR^cR^d, C(=NR^e)NR^cR^d, NR^cC(=NR^e)NR^cR^d, NR^cR^d, NR^cC(O)R^b, NR^cC(O)OR^a, NR^cC(O)NR^cR^d, NR^cS(O)R^b, NR^cS(O)₂R^b, NR^cS(O)₂NR^cR^d, S(O)R^b, S(O)NR^cR^d, S(O)₂R^b, 및 S(O)₂NR^cR^d로부터 독립적으로 치환된 1개, 2개, 또는 3개의 치환체로 임의선택적으로 치환되며;

G²는 -NR^GC(O)-, -NR^G-, -O-, -S-, -C(O)O-, -OC(O)-, -NR^GC(O)-, -OC(O)NR^G-, 및 -S(O₂)-로부터 선택되며;

G³은 C₆₋₁₀ 아릴, C₃₋₁₄ 사이클로알킬, 5-14개 구성원의 헤테로아릴, 및 4-14개 구성원의 헤테로사이클로알킬로부터 선택되며, 이때 G³의 전술한 C₆₋₁₀ 아릴, C₃₋₁₄ 사이클로알킬, 5-14개 구성원의 헤테로아릴, 및 4-14개 구성원의 헤테로사이클로알킬은 할로, C₁₋₆ 알킬, C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알킬닐, C₁₋₆ 할로알킬, CN, NO₂, OR^{a1}, SR^{a1}, C(O)R^{b1}, C(O)NR^{c1}R^{d1}, C(O)OR^{a1}, OC(O)R^{b1}, OC(O)NR^{c1}R^{d1}, C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}, NR^{c1}C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}, NR^{c1}R^{d1}, NR^{c1}C(O)R^{b1}, NR^{c1}C(O)OR^{a1}, NR^{c1}C(O)NR^{c1}R^{d1}, NR^{c1}S(O)R^{b1}, NR^{c1}S(O)₂R^{b1}, NR^{c1}S(O)₂NR^{c1}R^{d1}, S(O)R^{b1}, S(O)NR^{c1}R^{d1}, S(O)₂R^{b1}, 및 S(O)₂NR^{c1}R^{d1}로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 3개, 4개, 또는 5개 치환체로 각각 임의선택적으로 치환되며, 이때 G³의 전술한 C₁₋₆ 알킬, C₂₋₆ 알케닐, 및 C₂₋₆ 알킬닐 치환체는 CN, NO₂, OR^{a1}, SR^{a1}, C(O)R^{b1}, C(O)NR^{c1}R^{d1}, C(O)OR^{a1}, OC(O)R^{b1}, OC(O)NR^{c1}R^{d1}, C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}, NR^{c1}C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}, NR^{c1}R^{d1}, NR^{c1}C(O)R^{b1}, NR^{c1}C(O)OR^{a1}, NR^{c1}C(O)NR^{c1}R^{d1}, NR^{c1}S(O)R^{b1}, NR^{c1}S(O)₂R^{b1}, NR^{c1}S(O)₂NR^{c1}R^{d1}, S(O)R^{b1}, S(O)NR^{c1}R^{d1}, S(O)₂R^{b1}, 및 S(O)₂NR^{c1}R^{d1}로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 또는 3개 치환체로 임의선택적으로 치환되며;

G⁴는 -C(O)-, -NR^GC(O)-, -NR^G-, -O-, -S-, -OC(O)-, -NR^GC(O)-, 및 -S(O₂)-로부터 선택되며;

G⁵는 결합, C₆₋₁₀ 아릴, C₃₋₁₄ 사이클로알킬, 5-14개 구성원의 헤테로아릴, 및 4-14개 구성원의 헤테로사이클로알킬로부터 선택되며, 이때 G⁵의 전술한 C₆₋₁₀ 아릴, C₃₋₁₄ 사이클로알킬, 5-14개 구성원의 헤테로아릴, 및 4-14개 구성원의 헤테로사이클로알킬은 할로, C₁₋₆ 알킬, C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알킬닐, C₁₋₆ 할로알킬, CN, NO₂, OR^a, SR^a, C(O)R^b, C(O)NR^cR^d, C(O)OR^a, OC(O)R^b, OC(O)NR^cR^d, C(=NR^e)NR^cR^d, NR^cC(=NR^e)NR^cR^d, NR^cR^d, NR^cC(O)R^b, NR^cC(O)OR^a, NR^cC(O)NR^cR^d, NR^cS(O)R^b, NR^cS(O)₂R^b, NR^cS(O)₂NR^cR^d, S(O)R^b, S(O)NR^cR^d, S(O)₂R^b, 및 S(O)₂NR^cR^d로부터 독립적으로 치환된 1개, 2개, 3개, 4개, 또는 5개의 치환체로 각각 임의선택적으로 치환되며, 이때 G⁵의 전술한 C₁₋₆ 알킬, C₂₋₆ 알케닐, 및 C₂₋₆ 알킬닐 치환체는 CN, NO₂, OR^a, SR^a, C(O)R^b, C(O)NR^cR^d, C(O)OR^a, OC(O)R^b, OC(O)NR^cR^d, C(=NR^e)NR^cR^d, NR^cC(=NR^e)NR^cR^d, NR^cR^d, NR^cC(O)R^b, NR^cC(O)OR^a, NR^cC(O)NR^cR^d, NR^cS(O)R^b, NR^cS(O)₂R^b, NR^cS(O)₂NR^cR^d, S(O)R^b, S(O)NR^cR^d, S(O)₂R^b, 및 S(O)₂NR^cR^d로부터 독립적으로 치환된 1개, 2개, 또는 3개의 치환체로 임의선택적으로 치환되며;

G⁶은 -NR^GC(O)-, -NR^G-, -O-, -S-, -C(O)O-, -OC(O)-, -NR^GC(O)-, -OC(O)NR^G-, 및 -S(O₂)-로부터 선택되며;

G⁷은 -NR^GC(O)-, -NR^G-, -O-, -S-, -C(O)O-, -OC(O)-, -NR^GC(O)-, -OC(O)NR^G-, 및 -S(O₂)-로부터 선택되며;

R^s 및 R^t는 각각 H, 할로, C₁₋₆ 알킬, 및 C₁₋₆ 할로알킬로부터 독립적으로 치환되며;

또는 R^s 및 R^t 각각은 이들이 부착되어 있는 C 원자와 함께, C₃₋₆ 사이클로알킬 고리를 형성하고;

R^u 및 R^v 은 H, 할로, C_{1-6} 알킬, 및 C_{1-6} 할로알킬로부터 독립적으로 치환되며;

각 R^6 는 H 및 C_{1-4} 알킬로부터 독립적으로 선택되며;

R^a , R^b , R^c , R^d , R^{a1} , R^{b1} , R^{c1} , 및 R^{d1} 은 각각 H, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐, 및 C_{2-6} 알키닐로부터 독립적으로 선택되며, 이때 R^a , R^b , R^c , R^d , R^{a1} , R^{b1} , R^{c1} , 및 R^{d1} 의 전술한 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, 및 C_{2-6} 알키닐은 할로, C_{1-4} 알킬, C_{1-4} 할로알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, CN, OR^{a2} , SR^{a2} , $C(O)R^{b2}$, $C(O)NR^{c2}R^{d2}$, $C(O)OR^{a2}$, $OC(O)R^{b2}$, $OC(O)NR^{c2}R^{d2}$, $NR^{c2}R^{d2}$, $NR^{c2}C(O)R^{b2}$, $NR^{c2}C(O)NR^{c2}R^{d2}$, $NR^{c2}C(O)OR^{a2}$, $C(=NR^{e2})NR^{c2}R^{d2}$, $NR^{c2}C(=NR^{e2})NR^{c2}R^{d2}$, $S(O)R^{b2}$, $S(O)NR^{c2}R^{d2}$, $S(O)_2R^{b2}$, $NR^{c2}S(O)_2R^{b2}$, $NR^{c2}S(O)_2NR^{c2}R^{d2}$, 및 $S(O)_2NR^{c2}R^{d2}$ 로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 3개, 4개, 또는 5개 치환체로 임의선택적으로 치환되며;

R^{a2} , R^{b2} , R^{c2} , 및 R^{d2} 는 각각 H, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐, 및 C_{2-6} 알키닐로부터 독립적으로 선택되며, 이때 R^{a2} , R^{b2} , R^{c2} , 및 R^{d2} 의 전술한 C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐, 및 C_{2-6} 알키닐은 OH, CN, 아미노, 할로, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알콕시, C_{1-6} 할로알킬, 및 C_{1-6} 할로알콕시로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 또는 3개 치환체로 임의선택적으로 치환되며;

R^e , R^{e1} , 및 R^{e2} 는 각각 H 및 C_{1-4} 알킬로부터 독립적으로 선택되며;

m은 0, 1, 2, 3, 또는 4이며; 그리고

n은 0 또는 1이며;

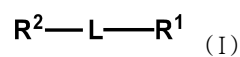
o는 0 또는 1이며;

p는 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6이며; 그리고

q는 0 또는 1이다.

청구항 2

화학식 (I)의 화합물:

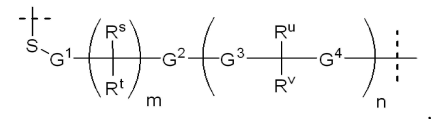


또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염에 있어서, 이때:

R^1 은 펩티드이며;

R^2 는 아우리스타틴 화합물의 라디칼이며; 그리고

L은 다음의 구조를 갖는 링커이며:



이때 상기 링커의 S 원자는 상기 펩티드의 시스테인 잔기와 결합하여, 이황화 결합을 형성하고; 그리고 이때:

G^1 은 결합, C_{6-10} 아릴, C_{3-14} 사이클로알킬, 5-14개 구성원의 헤테로아릴, 및 4-14개 구성원의 헤테로사이클로알킬로부터 선택되며, 이때 G^1 의 전술한 C_{6-10} 아릴, C_{3-14} 사이클로알킬, 5-14개 구성원의 헤테로아릴, 및 4-14개 구성원의 헤테로사이클로알킬은 할로, C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, C_{1-6} 할로알킬, CN, NO_2 , OR^a , SR^a ,

$C(O)R^b$, $C(O)NR^cR^d$, $C(O)OR^a$, $OC(O)R^b$, $OC(O)NR^cR^d$, $C(=NR^e)NR^cR^d$, $NR^cC(=NR^e)NR^cR^d$, NR^cR^d , $NR^cC(O)R^b$, $NR^cC(O)OR^a$, $NR^cC(O)NR^cR^d$, $NR^cS(O)R^b$, $NR^cS(O)_2R^b$, $NR^cS(O)_2NR^cR^d$, $S(O)R^b$, $S(O)NR^cR^d$, $S(O)_2R^b$, 및 $S(O)_2NR^cR^d$ 로부터 독립적으로 치환된 1개, 2개, 3개, 4개, 또는 5개의 치환체로 각각 임의선택적으로 치환되며, 이때 G^1 의 전술한 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, 및 C_{2-6} 알키닐 치환체는 CN , NO_2 , OR^a , SR^a , $C(O)R^b$, $C(O)NR^cR^d$, $C(O)OR^a$, $OC(O)R^b$, $OC(O)NR^cR^d$, $C(=NR^e)NR^cR^d$, $NR^cC(=NR^e)NR^cR^d$, NR^cR^d , $NR^cC(O)R^b$, $NR^cC(O)OR^a$, $NR^cC(O)NR^cR^d$, $NR^cS(O)R^b$, $NR^cS(O)_2R^b$, $NR^cS(O)_2NR^cR^d$, $S(O)R^b$, $S(O)NR^cR^d$, $S(O)_2R^b$, 및 $S(O)_2NR^cR^d$ 로부터 독립적으로 치환된 1개, 2개, 또는 3개의 치환체로 임의선택적으로 치환되며;

R^s 및 R^t 는 각각 H, 할로, C_{1-6} 알킬, 및 C_{1-6} 할로알킬로부터 독립적으로 치환되며;

G^2 는 $-NR^G C(O)-$, $-NR^G-$, $-O-$, $-S-$, $-C(O)O-$, $-OC(O)-$, $-NR^G C(O)-$, $-OC(O)NR^G-$, 및 $-S(O_2)-$ 로부터 선택되며;

G^3 은 C_{6-10} 아릴, C_{3-14} 사이클로알킬, 5-14개 구성원의 헤테로아릴, 및 4-14개 구성원의 헤테로사이클로알킬로부터 선택되며, 이때 G^3 의 전술한 C_{6-10} 아릴, C_{3-14} 사이클로알킬, 5-14개 구성원의 헤테로아릴, 및 4-14개 구성원의 헤테로사이클로알킬은 할로, C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, C_{1-6} 할로알킬, CN , NO_2 , OR^{a1} , SR^{a1} , $C(O)R^{b1}$, $C(O)NR^{c1}R^{d1}$, $C(O)OR^{a1}$, $OC(O)R^{b1}$, $OC(O)NR^{c1}R^{d1}$, $C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}C(O)R^{b1}$, $NR^{c1}C(O)OR^{a1}$, $NR^{c1}C(O)NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}S(O)R^{b1}$, $NR^{c1}S(O)_2R^{b1}$, $NR^{c1}S(O)_2NR^{c1}R^{d1}$, $S(O)R^{b1}$, $S(O)NR^{c1}R^{d1}$, $S(O)_2R^{b1}$, 및 $S(O)_2NR^{c1}R^{d1}$ 로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 3개, 4개, 또는 5개 치환체로 각각 임의선택적으로 치환되며, 이때 G^3 의 전술한 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, 및 C_{2-6} 알키닐 치환체는 CN , NO_2 , OR^{a1} , SR^{a1} , $C(O)R^{b1}$, $C(O)NR^{c1}R^{d1}$, $C(O)OR^{a1}$, $OC(O)R^{b1}$, $OC(O)NR^{c1}R^{d1}$, $C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}C(O)R^{b1}$, $NR^{c1}C(O)OR^{a1}$, $NR^{c1}C(O)NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}S(O)R^{b1}$, $NR^{c1}S(O)_2R^{b1}$, $NR^{c1}S(O)_2NR^{c1}R^{d1}$, $S(O)R^{b1}$, $S(O)NR^{c1}R^{d1}$, $S(O)_2R^{b1}$, 및 $S(O)_2NR^{c1}R^{d1}$ 로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 또는 3개 치환체로 임의선택적으로 치환되며;

R^u 및 R^v 은 H, 할로, C_{1-6} 알킬, 및 C_{1-6} 할로알킬로부터 독립적으로 치환되며;

G^4 는 $-C(O)-$, $-NR^G C(O)-$, $-NR^G-$, $-O-$, $-S-$, $C(O)O-$, $-OC(O)-$, $-NR^G C(O)-$, 및 $-S(O_2)-$ 로부터 선택되며;

각 R^G 는 H 및 C_{1-4} 알킬로부터 독립적으로 선택되며;

R^a , R^b , R^c , R^d , R^{a1} , R^{b1} , R^{c1} , 및 R^{d1} 은 각각 H, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐, 및 C_{2-6} 알키닐로부터 독립적으로 선택되며, 이때 R^a , R^b , R^c , R^d , R^{a1} , R^{b1} , R^{c1} , 및 R^{d1} 의 전술한 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, 및 C_{2-6} 알키닐은 할로, C_{1-4} 알킬, C_{1-4} 할로알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, CN , OR^{a2} , SR^{a2} , $C(O)R^{b2}$, $C(O)NR^{c2}R^{d2}$, $C(O)OR^{a2}$, $OC(O)R^{b2}$, $OC(O)NR^{c2}R^{d2}$, $NR^{c2}R^{d2}$, $NR^{c2}C(O)R^{b2}$, $NR^{c2}C(O)NR^{c2}R^{d2}$, $NR^{c2}C(O)OR^{a2}$, $C(=NR^{e2})NR^{c2}R^{d2}$, $NR^{c2}C(=NR^{e2})NR^{c2}R^{d2}$, $S(O)R^{b2}$, $S(O)NR^{c2}R^{d2}$, $S(O)_2R^{b2}$, $NR^{c2}S(O)_2R^{b2}$, $NR^{c2}S(O)_2NR^{c2}R^{d2}$, 및 $S(O)_2NR^{c2}R^{d2}$ 로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 3개, 4개, 또는 5개 치환체로 임의선택적으로 치환되며;

R^{a2} , R^{b2} , R^{c2} , 및 R^{d2} 는 각각 H, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐, 및 C_{2-6} 알키닐로부터 독립적으로 선택되며, 이때 R^{a2} , R^{b2} , R^{c2} , 및 R^{d2} 의 전술한 C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐, 및 C_{2-6} 알키닐은 OH, CN, 아미노, 할로, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알콕시, C_{1-6} 할로알킬, 및 C_{1-6} 할로알콕시로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 또는

3개 치환체로 임의선택적으로 치환되며;

R^e , R^{e1} , 및 R^{e2} 는 각각 H 및 C_{1-4} 알킬로부터 독립적으로 선택되며;

m은 0, 1, 2, 3, 또는 4이며; 그리고

n은 0 또는 1이다.

청구항 3

청구항 1 또는 2에 있어서, 이때 R^1 은 5 내지 50개의 아미노산을 보유하는 펩티드인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 4

청구항 1 또는 2에 있어서, 이때 R^1 은 산성 또는 저산소 맨틀을 갖는 세포막을 통해 R^2L -을 선택적으로 전달할 수 있는 펩티드인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 5

청구항 1 또는 2에 있어서, 이때 R^1 은 약 6.0 미만의 pH를 갖는 산성 또는 저산소 맨틀을 갖는 세포막을 통해 R^2L -을 선택적으로 전달할 수 있는 펩티드인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 6

청구항 1 또는 2에 있어서, 이때 R^1 은 다음의 서열들 중 적어도 하나의 서열을 포함하는 펩티드인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염:

ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG (서열 식별 번호. 1; Pv1),

AEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLALLVDADEC (서열 식별 번호. 2; Pv2), 그리고

ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADEC (서열 식별 번호. 3; Pv3).

청구항 7

청구항 1 또는 2에 있어서, 이때 R^1 은 적어도 다음의 서열을 포함하는 펩티드인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염:

ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG (서열 식별 번호. 1; Pv1).

청구항 8

청구항 1 또는 2에 있어서, 이때 R^1 은 적어도 다음의 서열을 포함하는 펩티드인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염:

AEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLALLVDADEC (서열 식별 번호. 2; Pv2).

청구항 9

청구항 1 또는 2에 있어서, 이때 R^1 은 적어도 다음의 서열을 포함하는 펩티드인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염:

ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADEC (서열 식별 번호. 3; Pv3).

청구항 10

청구항 1-9 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 R^2 는 모노메틸 아우리스타틴 화합물의 라디칼인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 11

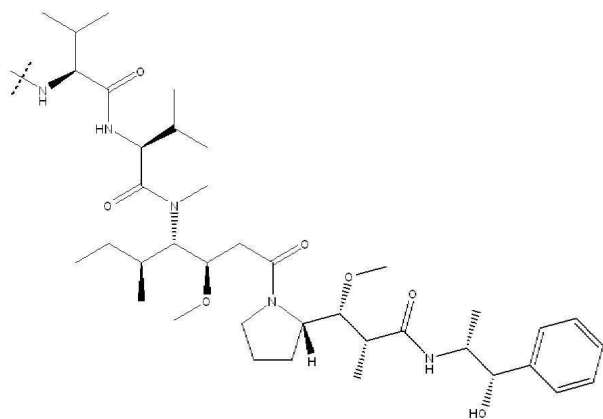
청구항 1-9 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 R^2 는 모노메틸 아우리스타틴 E의 라디칼인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 12

청구항 1-9 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 R^2 는 모노메틸 아우리스타틴 F의 라디칼인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

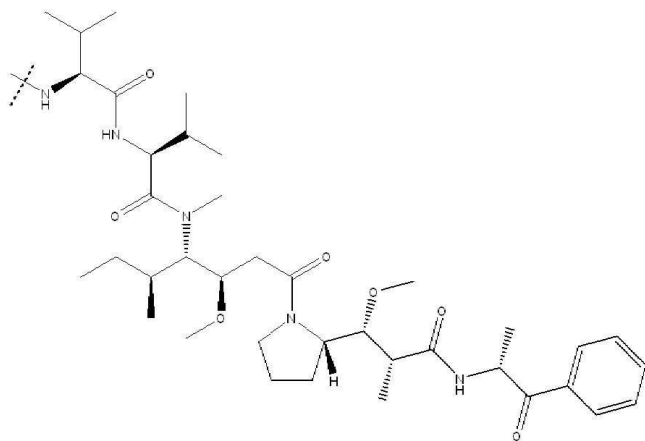
청구항 13

청구항 1-9 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 R^2 는 다음의 구조를 갖는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염:



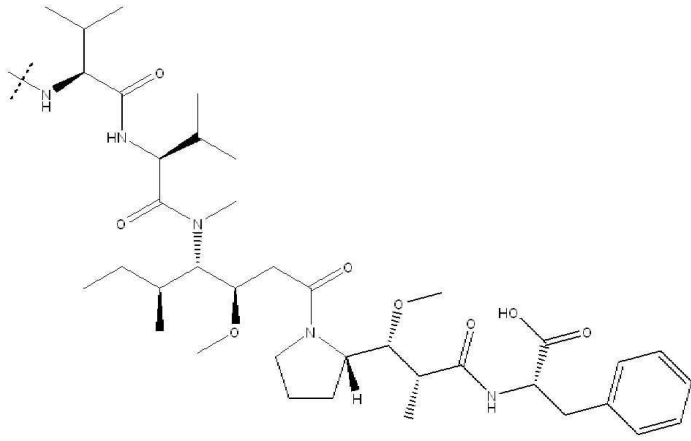
청구항 14

청구항 1-9 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 R^2 는 다음의 구조를 갖는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염:



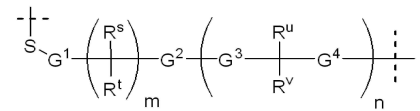
청구항 15

청구항 1-9 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 R^2 는 다음의 구조를 갖는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염:



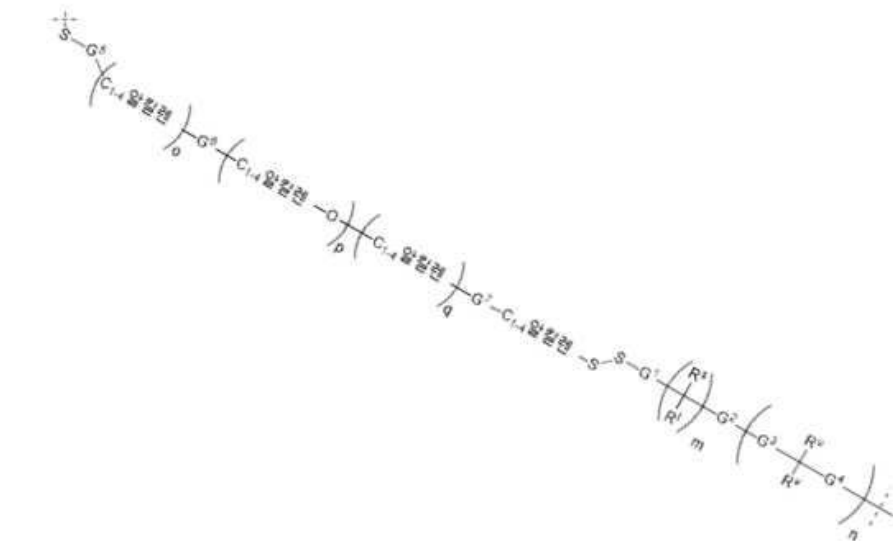
청구항 16

청구항 1 또는 3-15 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 L은 다음의 구조를 갖는 링커인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염:



청구항 17

청구항 1 또는 3-15 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 L은 다음의 구조를 갖는 링커인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염:



청구항 18

청구항 1-17 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 G^1 은 결합, C_{6-10} 아릴, C_{3-14} 사이클로알킬, 5-14개 구성원의 헤테로아릴, 및 4-14개 구성원의 헤테로사이클로알킬로부터 선택되는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 19

청구항 1-17 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 G^1 은 결합, 페닐, 및 C_{4-6} 사이클로알킬로부터 선택되는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 20

청구항 1-17 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 G^1 은 결합 및 C_{3-14} 사이클로알킬로부터 선택되는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 21

청구항 1-17 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 G^1 은 결합인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 22

청구항 1-17 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 G^1 은 C_{3-14} 사이클로알킬인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 23

청구항 1-17 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 G^1 은 시클로펜틸 또는 시클로헥실이며, 이때 전술한 시클로펜틸 및 시클로헥실은 각각 임의선택적으로 페닐기와 융합된, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 24

청구항 1-17 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 G^1 은 페닐인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 25

청구항 1-24 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 각각 R^s 및 R^t 는 H 및 C_{1-6} 알킬로부터 독립적으로 선택된, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 26

청구항 1-24 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 각각 R^s 및 R^t 는 H 및 이소프로필로부터 독립적으로 선택된, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 27

청구항 1-24 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 각각 R^s 및 R^t 는 H, 메틸, 및 이소프로필로부터 독립적으로 선택되는, 화합물.

청구항 28

청구항 1 및 3-24 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 R^s 및 R^t 는 이들이 부착되어 있는 C 원자와 함께 시클로부틸 고리를 형성하는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 29

청구항 1-28 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 m은 0, 1, 또는 2인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 30

청구항 1-28 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 m은 0인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 31

청구항 1-28 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 m은 2인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 32

청구항 1-31 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 G^2 는 $-OC(O)-$ 및 $-OC(O)NR^6-$ 로부터 선택되는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 33

청구항 1-31 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 G^2 는 $-OC(O)-$ 인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 34

청구항 1-33 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 G^3 는 C_{6-10} 아릴 및 5-14개 구성원의 헤테로아릴로부터 선택되는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 35

청구항 1-33 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 G^3 는 C_{6-10} 아릴인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 36

청구항 1-33 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 G^3 는 페닐인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 37

청구항 1-36 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 R^u 및 R^v 는 각각 H인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 38

청구항 1-37 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 G^4 는 $-OC(O)-$ 인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 39

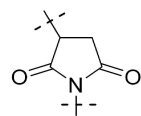
청구항 1-38 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 n 은 0인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 40

청구항 1-38 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 n 은 1인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 41

청구항 1 및 3-40 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 G^5 는 다음 그룹인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염:



청구항 42

청구항 1 및 3-41 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 G^6 는 $-NR^6C(O)-$ 인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 43

청구항 1 및 3-42 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 G^7 는 $-NR^6C(O)-$ 인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 44

청구항 1 및 3-43 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 o는 1인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 45

청구항 1 및 3-44 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 p는 3인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 46

청구항 1 및 3-44 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 p는 5인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 47

청구항 1 및 3-46 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 q는 1인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 48

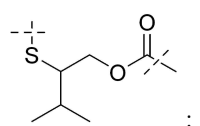
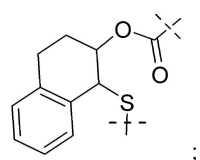
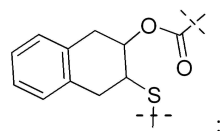
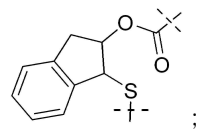
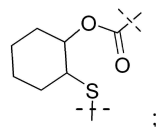
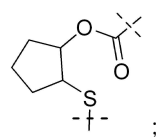
청구항 1-47 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 각 R^G 는 H 및 메틸로부터 독립적으로 선택된, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

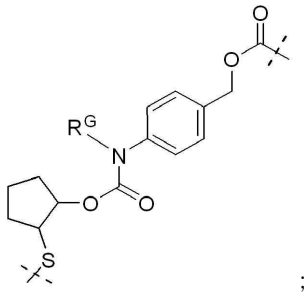
청구항 49

청구항 1-47 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 각 R^G 는 H인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

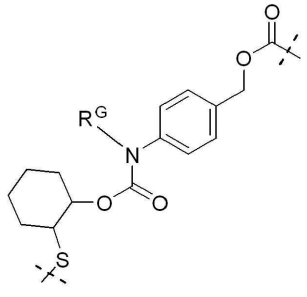
청구항 50

청구항 1-15 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 L은 다음 구조 중 하나를 보유하는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염:

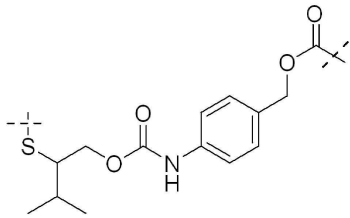




;



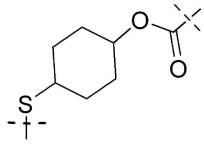
; 또는



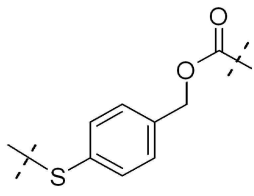
.

청구항 51

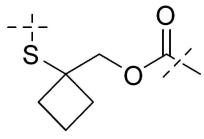
청구항 1 및 3-15 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 L은 다음 구조들 중 하나를 보유하는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염:



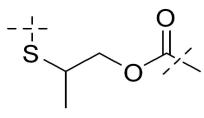
;



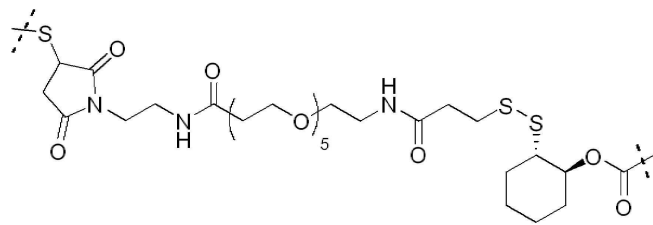
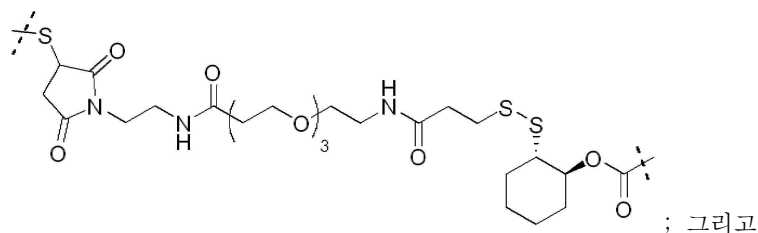
;



;

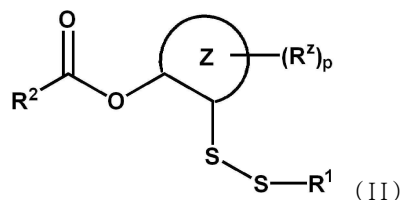


;



청구항 52

청구항 1 또는 2에 있어서, 화학식 (II):



또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염에 있어서, 이때:

R^1 은 펩티드이며;

R^2 는 아우리스타틴 화합물의 라디칼이며;

고리 Z는 단환식 C₅₋₇ 사이클로알킬 고리 또는 단환식 5-7개 구성원의 헤테로사이클로알킬 고리이며;

각 R^Z 는 할로, C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, C_{1-6} 할로알킬, CN, NO_2 , OR^a , SR^a , $C(O)R^b$, $C(O)NR^cR^d$, $C(O)OR^a$, $OC(O)R^b$, $OC(O)NR^cR^d$, NR^cR^d , $NR^cC(O)R^b$, $NR^cC(O)OR^a$, 및 $NR^cC(O)NR^cR^d$ 로부터 독립적으로 선택되며;

또는 2개의 인접 R^Z 는 이들이 부착되어 있는 원자들과 함께, 융합된 단환식 C_{5-7} 사이클로알킬 고리, 융합된 단환식 5-7개 구성원의 헤테로사이클로알킬 고리, 융합된 C_{6-10} 아릴 고리, 또는 융합된 6-10개 구성원의 헤테로아릴 고리를 형성하며, 이들 각각은 C_{1-6} 알킬, 할로, CN, NO_2 , OR^a , SR^a , $C(O)R^b$, $C(O)NR^cR^d$, $C(O)OR^a$, $OC(O)R^b$, $OC(O)NR^cR^d$, NR^cR^d , $NR^cC(O)R^b$, $NR^cC(O)OR^a$, 및 $NR^cC(O)NR^cR^d$ 로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 또는 3개 치환체로 임의선택적으로 치환되며;

R^a, R^b, R^c, 및 R^d는 각각 H, C₁₋₄ 알킬, C₂₋₄ 알케닐, C₂₋₄ 알킬닐로부터 독립적으로 선택되며, 각각은 할로, OH, CN, 및 NO₂로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 또는 3개 치환체로 임의선택적으로 치환되며; 그리고

p 는 0, 1, 2, 또는 3이다.

청구항 53

청구항 52에 있어서, 이때 R¹은 서열 식별 번호:1, 서열 식별 번호: 2, 또는 서열 식별 번호: 3의 서열을 포함하는 펩티드인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 54

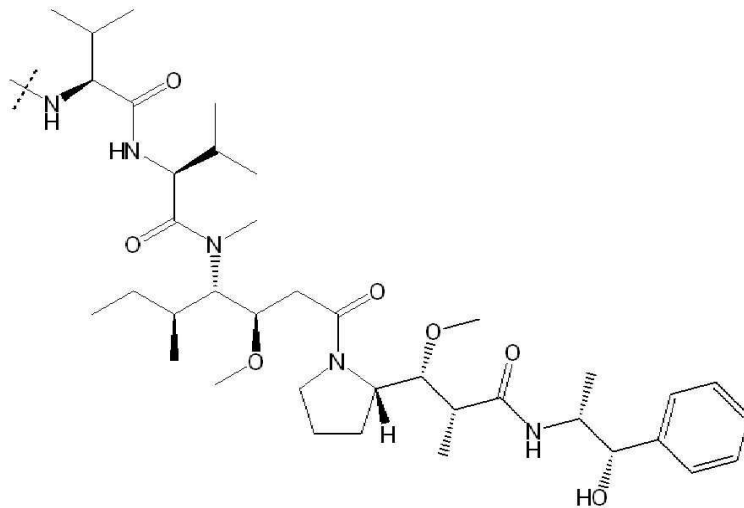
청구항 52에 있어서, 이때 R^1 은 Pv1, Pv2, 또는 Pv3인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 55

청구항 52-54 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 R^1 은 R^1 의 시스테인 잔기를 통하여 코어에 부착되며, 이때 화학식 II의 이황화물 모이어티의 황 원자들 중 하나는 상기 시스테인 잔기로부터 파생된, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

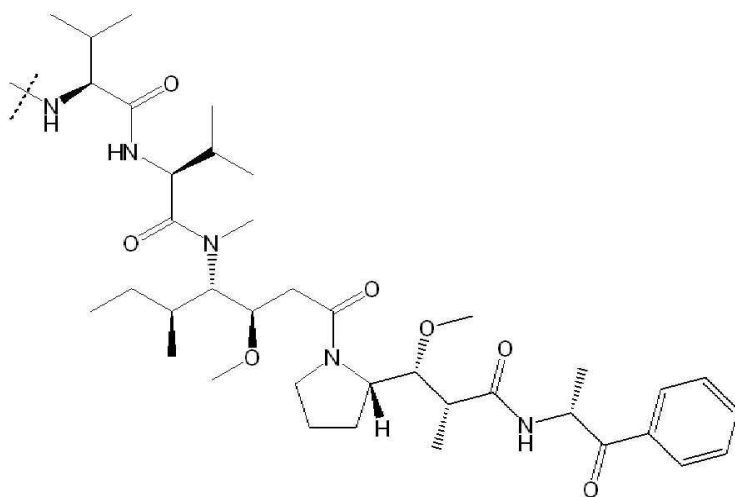
청구항 56

청구항 52-55 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 R^2 는 다음의 구조를 갖는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염:



청구항 57

청구항 52-56 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 R^2 는 다음의 구조를 갖는, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염:



청구항 58

청구항 52-57 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 R^2 는 N 원자를 통하여 코어에 부착된, 화합물 또는 이의 약제학

적으로 수용가능한 염.

청구항 59

청구항 52-58 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 고리 Z는 단환식 C_{5-7} 사이클로알킬 고리인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 60

청구항 52-58 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 고리 Z는 시클로펜틸고리인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 61

청구항 52-58 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 고리 Z는 시클로헥실 고리인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 62

청구항 52-61 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 2개의 인접 R^Z 는 이들이 부착되어 있는 원자들과 함께, 융합된 단환식 C_{5-7} 사이클로알킬 고리, 융합된 단환식 5-7개 구성원의 헤테로사이클로알킬 고리, 융합된 C_{6-10} 아릴 고리, 또는 융합된 6-10개 구성원의 헤테로아릴 고리를 형성하고, 이들 각각은 C_{1-4} 알킬, 할로, CN, NO_2 , OR^a , SR^a , $C(O)R^b$, $C(O)NR^cR^d$, $C(O)OR^a$, $OC(O)R^b$, $OC(O)NR^cR^d$, NR^cR^d , $NR^cC(O)R^b$, $NR^cC(O)OR^a$, 및 $NR^cC(O)NR^cR^d$ 로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 또는 3개 치환체로 임의선택적으로 치환된, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 63

청구항 52-62 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 p는 0인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 64

청구항 52-62 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 p는 1인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 65

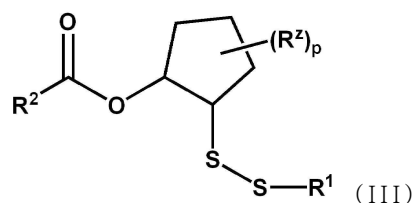
청구항 52-62 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 p는 2인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

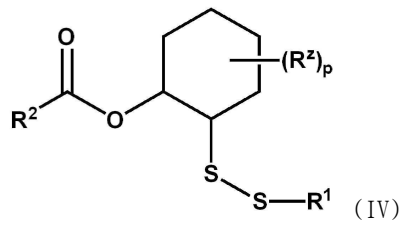
청구항 66

청구항 52-62 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 p는 3인, 화합물 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

청구항 67

청구항 52-66 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 화합물은 화학식 (III) 또는 화학식 (IV)을 보유하는 화합물:

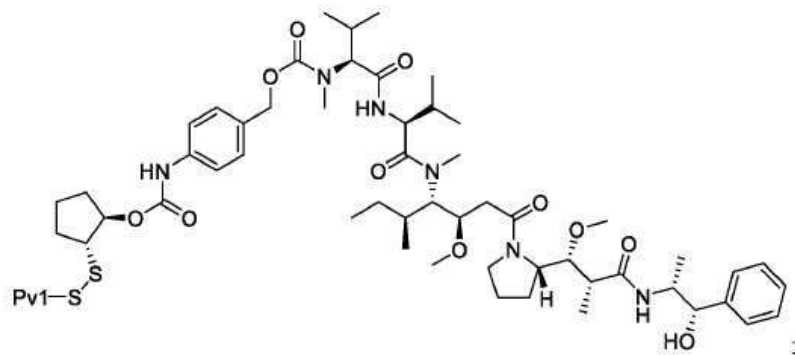
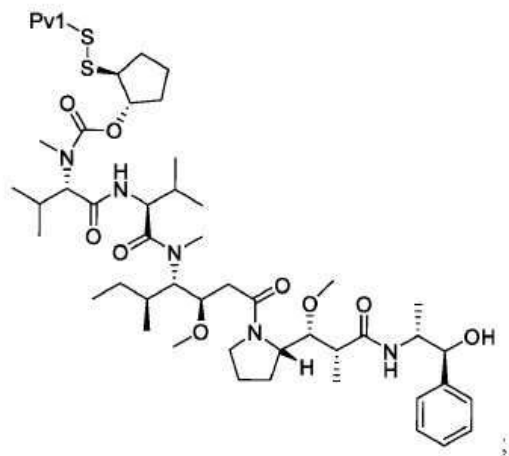
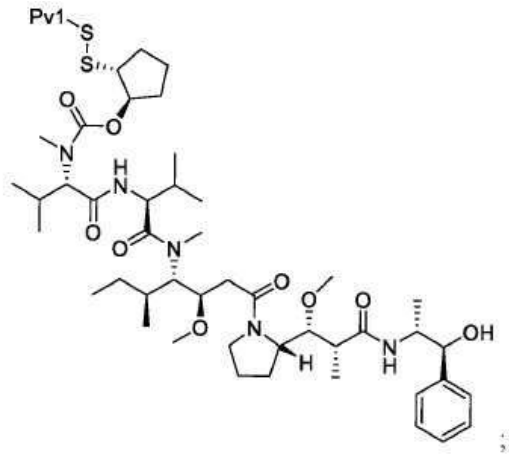


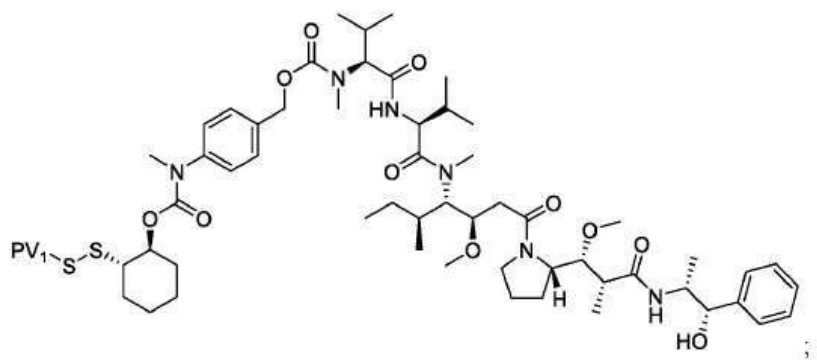
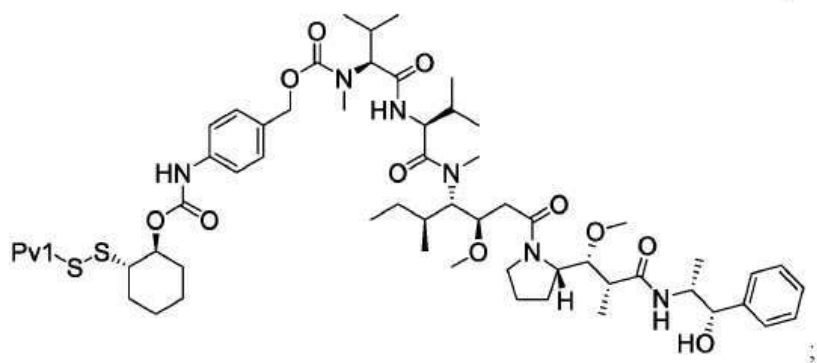
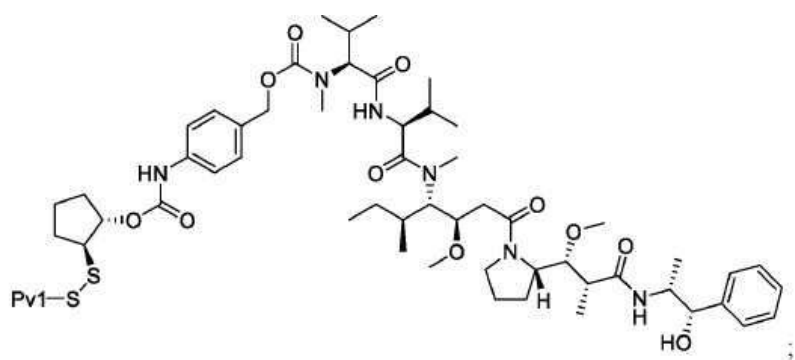


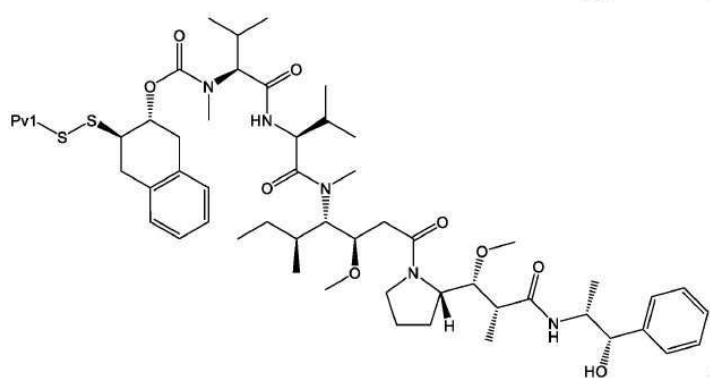
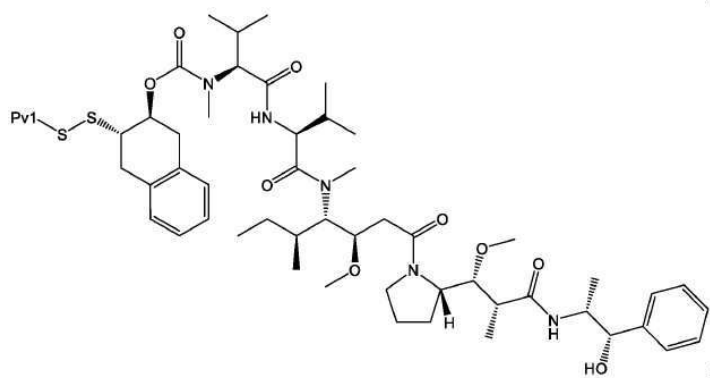
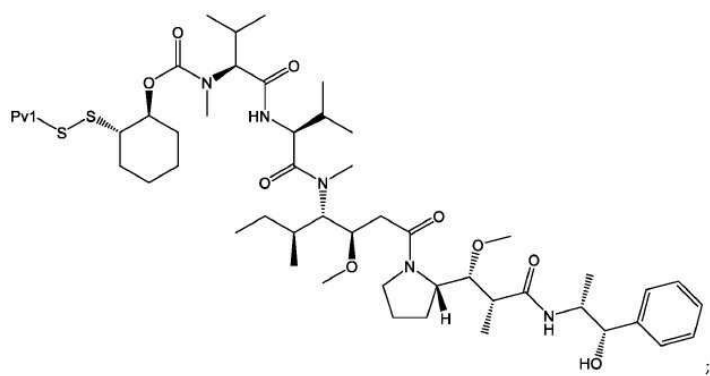
또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염.

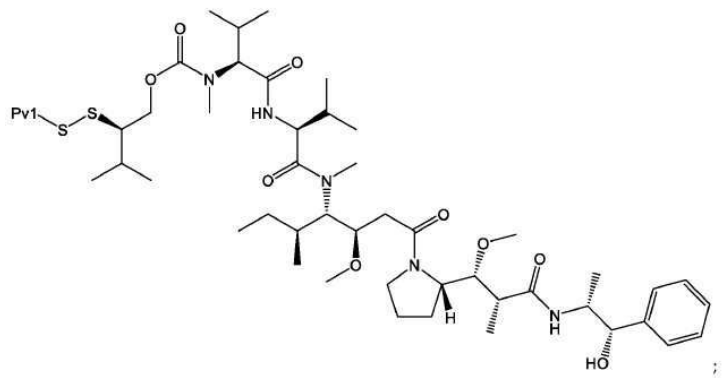
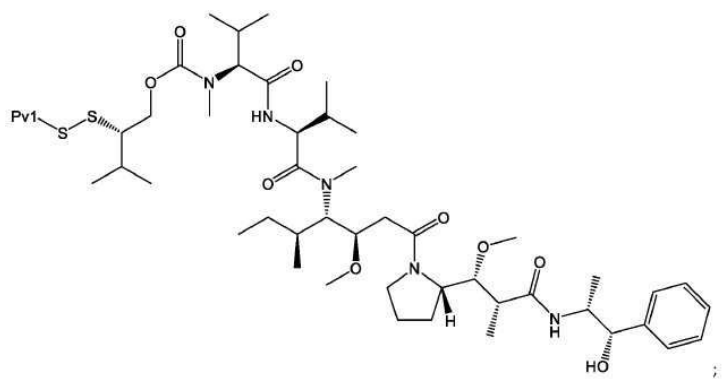
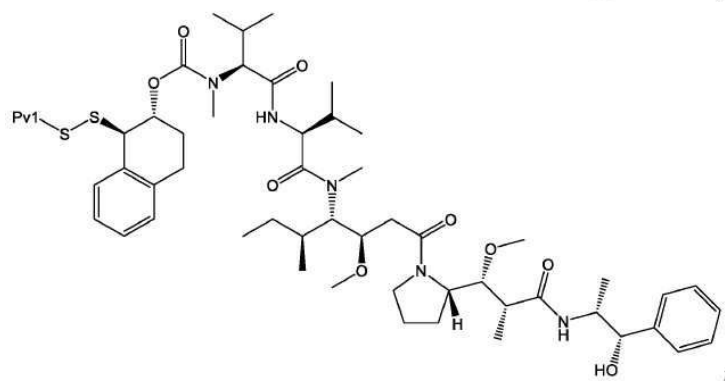
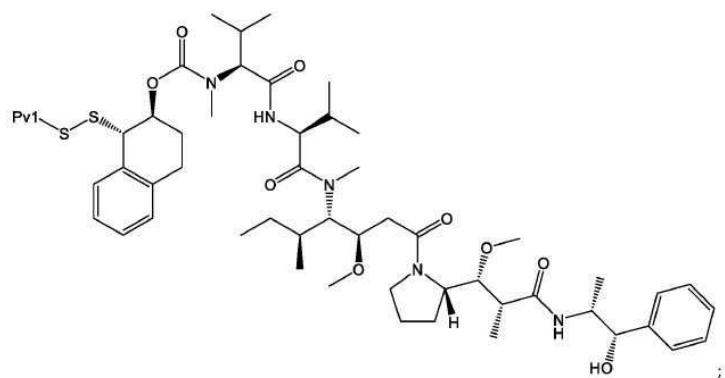
청구항 68

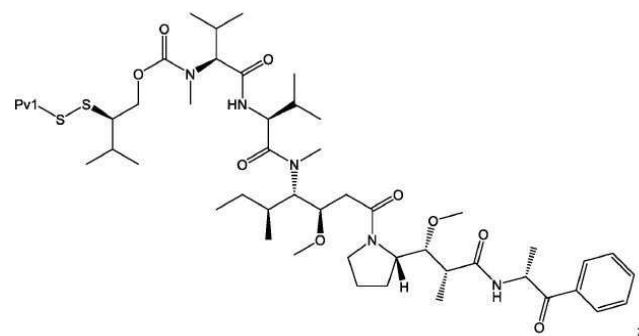
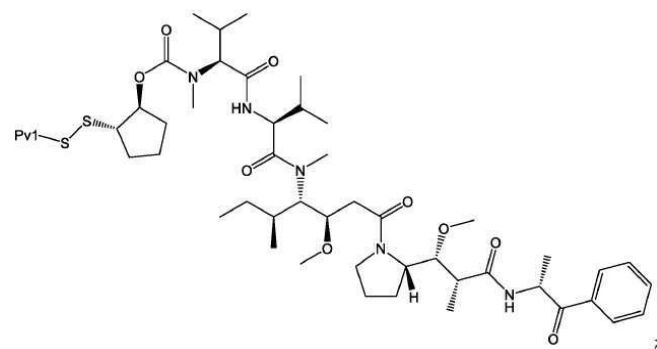
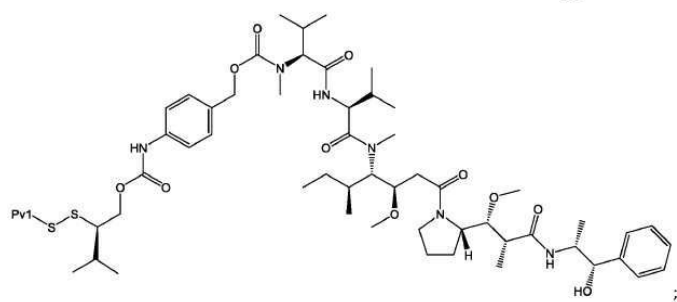
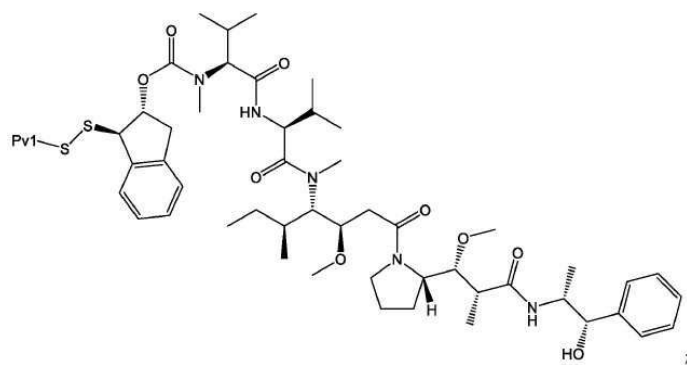
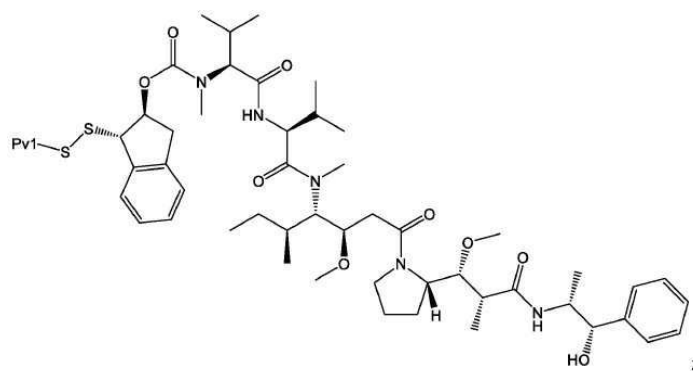
청구항 1 또는 2에 있어서, 이때 상기 화합물은 다음중 하나로부터 선택되는, 화합물:

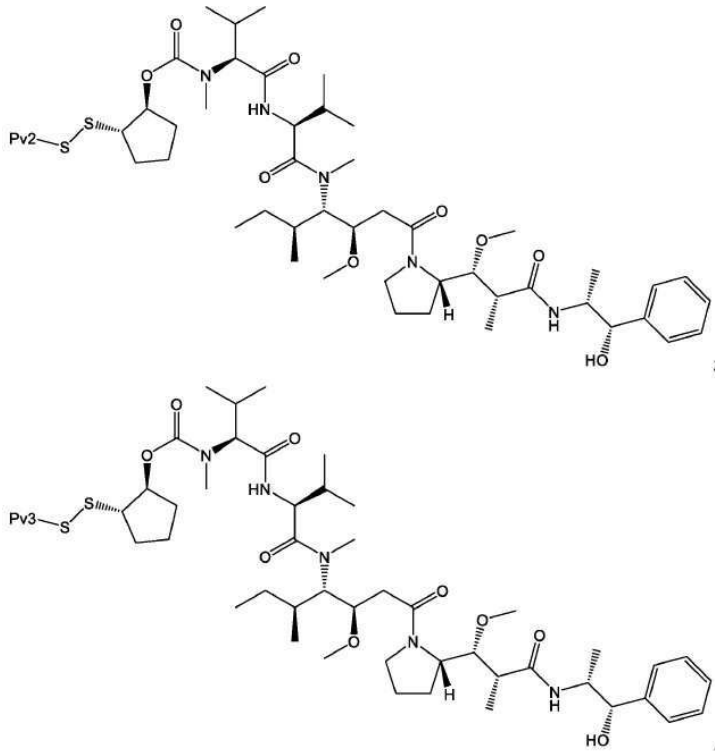












또는 전술한 것들 중 임의의 화합물의 약제학적으로 수용가능한 염에서 선택되며,
이때:

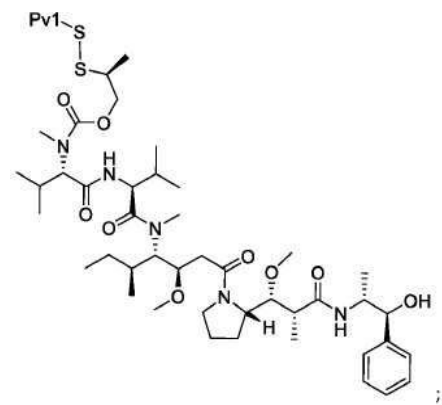
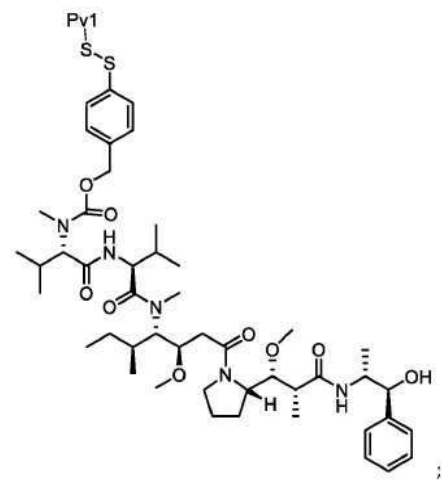
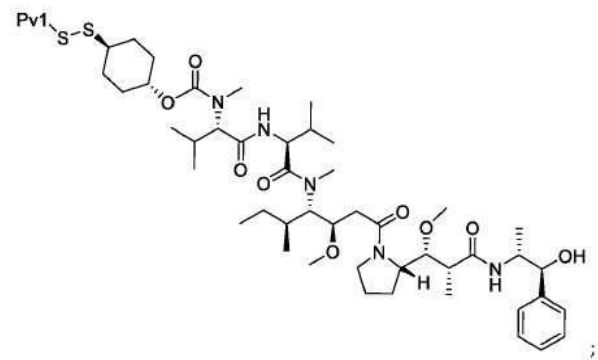
Pv1은 서열: ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLDLLWCG (서열 식별 번호:1)이며;

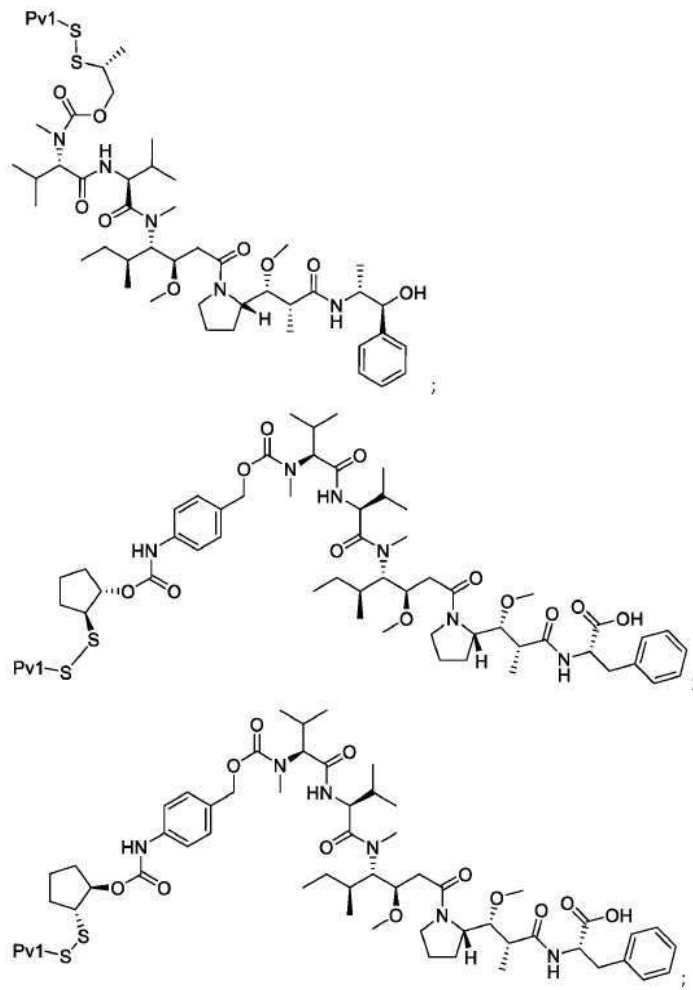
Pv2는 서열: AEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLALLVDADECG (서열 식별 번호:2)이며; 그리고

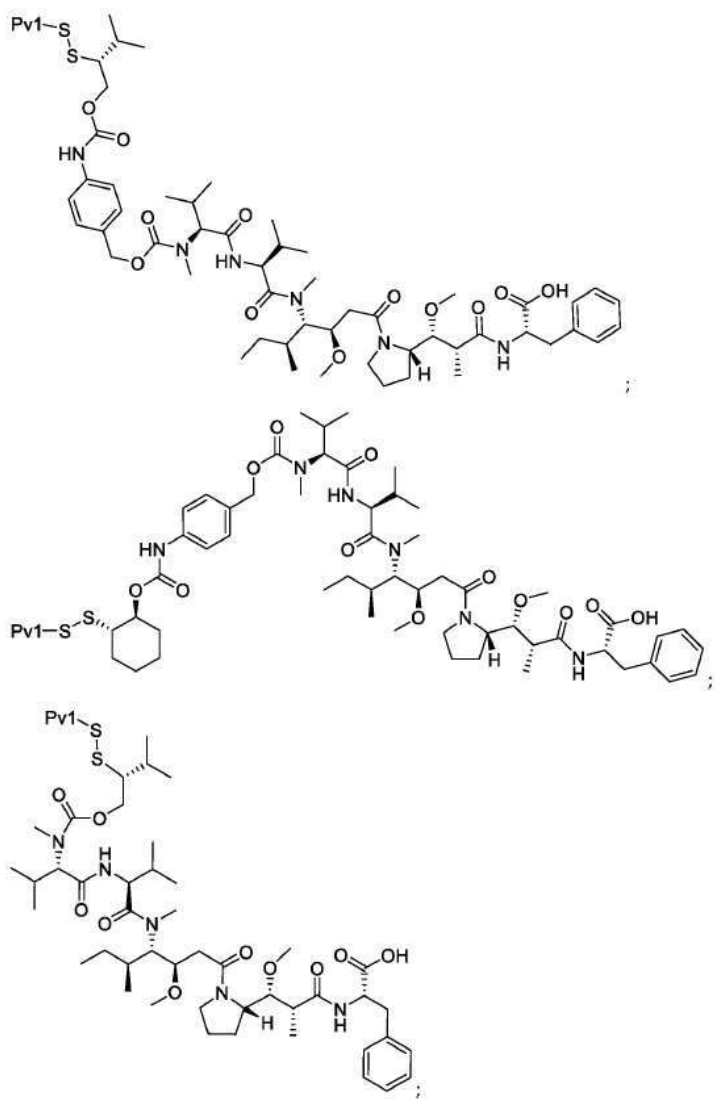
Pv3은 서열: ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLDLLWDADECG (서열 식별 번호:3)이다.

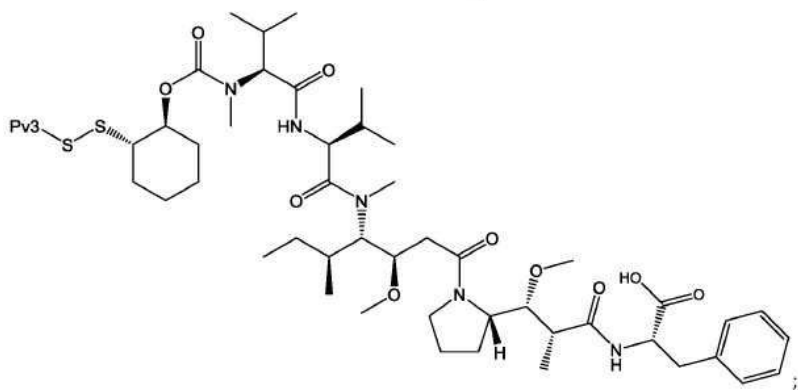
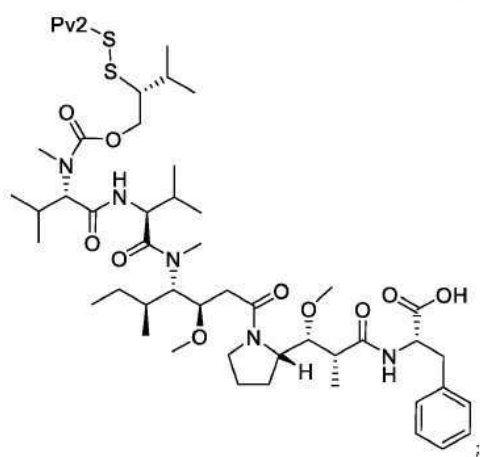
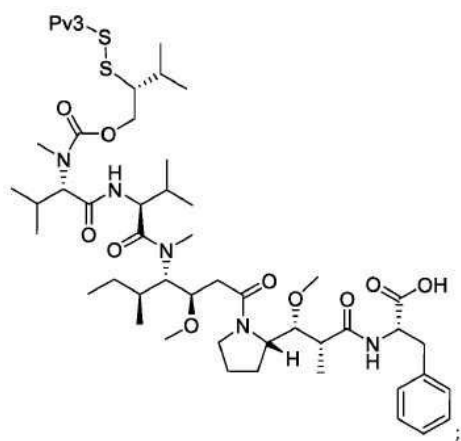
청구항 69

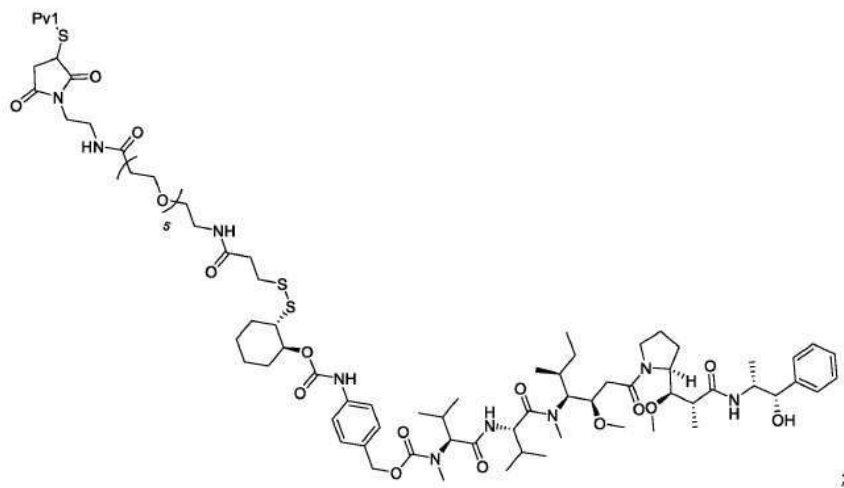
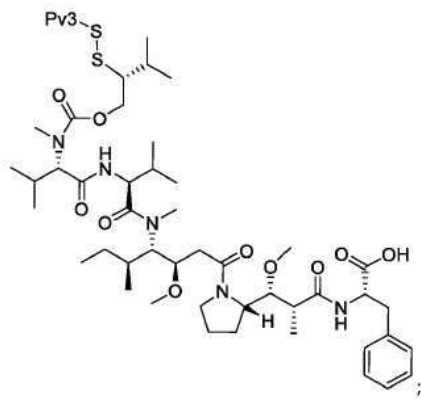
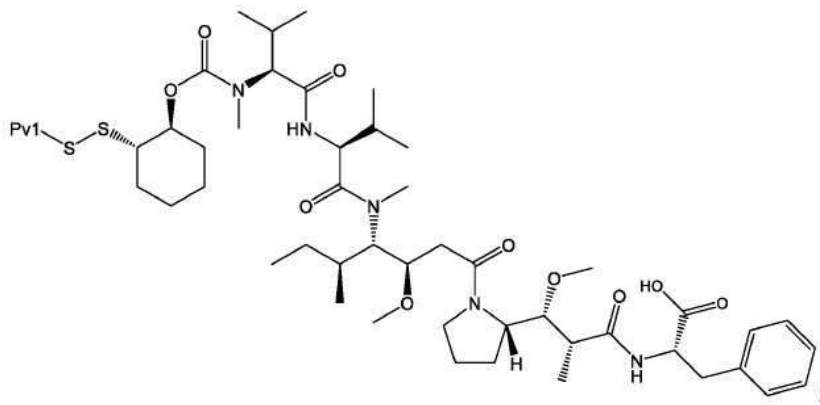
청구항 1에 있어서, 이때 상기 화합물은 다음으로부터 선택된, 화합물:

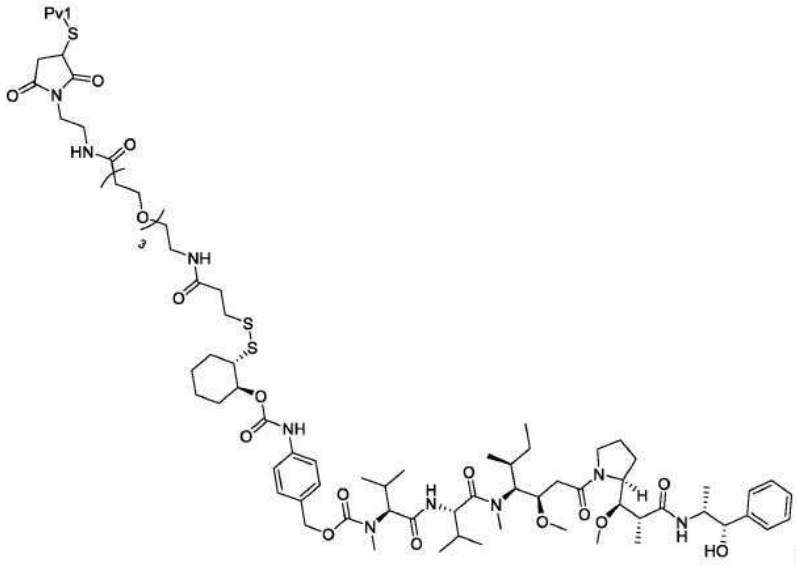












또는 전술한 것들 중 임의의 화합물의 약제학적으로 수용가능한 염에서 선택되며, 이때:

Pv1은 서열: ADDQNPPWRYLDLLFPTDTLLLDLLWCG (서열 식별 번호:1)이며;

Pv2는 서열: AEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADECG (서열 식별 번호:2)이며; 그리고

Pv3은 서열: ADDQNPPWRYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG (서열 식별 번호:3)이다.

청구항 70

청구항 1-69 중 임의의 한 항의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염을 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 71

암 치료를 요하는 환자에서 암을 치료하는 방법에 있어서, 청구항 1-69 중 임의의 한 항에 따른 화합물, 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염의 치료요법적으로 효과량을 상기 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 72

청구항 71에 있어서, 이때 상기 암은 방광암, 골암, 신경교종, 유방암, 자궁경부암, 대장암, 대장암, 자궁내막암, 상피암, 식도암, Ewing 육종, 췌장암, 담낭암, 위암, 위장 종양, 두경부암, 장 암, Kaposi 육종, 신장암, 후두암, 간암, 폐암, 흑색종, 전립선암, 직장암, 신장의 투명 세포 암종, 피부암, 위암, 고환암, 갑상선암 및 자궁암으로부터 선택되는, 방법.

청구항 73

청구항 71에 있어서, 이때 상기 암은 폐 암, 결장직장 암, 및 전립선 암으로부터 선택된, 방법.

청구항 74

청구항 73에 있어서 이때 상기 폐암은 비-소세포 폐 암인, 방법.

청구항 75

청구항 71에 있어서, 이때 상기 암은 Hodgkin 림프종, 역형성 대세포 림프종(ALCL), 미만성 거대 B세포 림프종(DLBCL), 난소 암, 요로상피 암, 비-소세포 폐 암(NSCLC), 삼중-음성 유방암, 편평 비-소세포 폐암(sqNSCLC), 편평 두경부 암, 비-Hodgkin 림프종, 췌장 암, 만성 골수성 백혈병(CML), 급성 골수성 백혈병(AML), 나팔관 암 및 복막 암으로부터 선택된, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 발명의 분야

[0002] 본 발명은 질환, 이를 테면, 암 치료에 유용한 펩티드 튜블린 억제제의 펩티드 접합체, 이를 테면, 모노메틸 아우리스타틴에 관계한다.

[0003] 서열 목록

[0004] 본 출원은 "43236-0020W01_SL_ST26.XML" 제목의 XML 파일로 전자적으로 제출된 서열 목록을 함유하고 있다. 이 XML 파일은 2022년 11월 15일자로 생성된 것으로, 크기는 436,177 바이트이다. XML 파일의 자료는 전체 내용이 본원의 참조자료에 편입되어 있다.

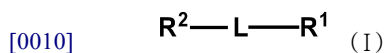
배경 기술**[0005] 본 발명의 배경**

[0006] 암은 세포 성장의 비정상적인 조절을 특징으로 하는 질환군이다. 미국에서만 연간 암 발병률이 160만 명을 초과하는 것으로 추산된다. 암을 치료하기 위해 수술, 방사선, 화학요법, 호르몬이 사용되지만, 이는 여전히 U.S.에서 두 번째로 큰 사망 원인이다. 매년 약 600,000명의 미국인이 암으로 사망할 것으로 추산된다.

[0007] 약제의 전신 투여에 의한 인간의 암 치료는 종종 암세포의 특징인 조절되지 않는 복제를 늦추거나 종결시키는 기능을 한다. 펩티드 튜블린 억제제 이를 테면, 돌라스타틴, 돌라스타틴-파생된아우리스타틴, 모노메틸 아우리스타틴 (가령, 모노메틸 아우리스타틴 E 및 모노메틸 아우리스타틴 F), 그리고 튜부리신은 튜블린 중합을 억제하고, 광범위한 암 세포들의 어레이에 높은 효능을 나타낼 수 있는 항유사분열제의 일종이다. 종종 세포독성이 높기 때문에, 펩티드 튜블린 억제제, 이를 테면, 상기 모노메틸 아우리스타틴을 표적-벗어난 효과를 감소시키기 위해, 중앙 표적화 제제 이를 테면, 항체들에 접합시켜왔었다. 그렇게 하더라도, 펩티드 튜블린 억제제 (가령, 모노메틸 아우리스타틴)의 항체 약물 접합체들은 호중구감소증, 신경병증, 혈소판 감소증, 및 안구 독성을 비롯한 몇몇 심각한 부작용을 나타낼 수 있다. 따라서, 펩티드 튜블린 억제제 화합물들을 병든 조직으로 좀더 선택적인 전달을 할 필요가 있다.

발명의 내용**해결하려는 과제****[0008] 요약**

[0009] 본 명세서는 *그중에서도*, 화학식 (I)의 화합물:



[0011] 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염을 제공하며, 이때 구성 변수들은 여기에서 정의된다.

[0012] 본 명세서는 본 명세서의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염, 그리고 적어도 하나의 약제학적으로 수용가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물을 더 제공한다.

[0013] 본 명세서는 질환 또는 병태 (가령, 암)의 치료를 요하는 인간 또는 기타 포유류에게 본 명세서의 화합물의 치료요법적으로 효과량을 투여함으로써, 이를 치료하는 방법을 또한 제공한다. 일부 구체예들에서, 상기 질환 또는 병태는 산성 또는 저산소성 병든 조직을 특징으로 한다.

[0014] 본 명세서는 치료에 사용하기 위한 의약품 제조에 본원에 기술된 화합물의 용도를 또한 제공한다. 본 명세서는 요법에 사용하기 위한 본원에 기술된 화합물들을 또한 제공한다.

[0015] 본 명세서는 이들 방법에서 본 명세서의 화합물들 및 중간생성물들을 합성하는 방법들을 또한 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0016] 도 1A에서는 표시된 농도의 화합물 2 또는 접합안된 MMAE과 함께 4일간 항온처리한 후, 시험관내 HCT116 결장직장 세포들의 성장 지연 플롯을 도시한다.

도 1B에서는 표시된 농도의 화합물 2 또는 접합안된 MMAE과 함께 4일간 항온처리한 후, 시험관내 PC3 전립선 세포들의 성장 지연 플롯을 도시한다.

도 1C에서는 표시된 농도의 화합물 2 또는 접합안된 MMAE과 함께 4일간 항온처리한 후, 시험관내 NCI-H1975 NSCLC 세포들의 성장 지연 플롯을 도시한다.

도 1D에서는 표시된 농도의 화합물 2 또는 접합안된 MMAE과 함께 4일간 항온처리한 후, 시험관내 NCI-H292 NSCLC 세포들의 성장 지연 플롯을 도시한다.

도 2A에서는 표시된 농도의 화합물 2 또는 접합안된 MMAE과 함께 24h 항온처리한 후, 시험관내 HCT116 결장직장 세포들의 세포 주기 분석을 도시한다.

도 2B에서는 화합물 2의 표시된 분량투여와 함께 24h 항온처리한 후, 시험관내 HCT116 결장직장 세포들의 세포 주기 분석을 도시한다.

도 3에서는 랫에서 화합물 2의 10mg/kg 단일 IV 분량투여-후, 화합물 2 및 방출된 MMAE 2의 혈장 농도의 플롯 (데이터는 평균±SD로 표현됨)을 보여준다.

도 4A에서 HCT116 결장직장 종양을 보유하고 있는 암컷 누드(nude) 마우스에게 0.5mg/kg MMAE 또는 3mg/kg의 화합물 2를 단일 복막내 주사한-후 LCMS로 측정하였을 때, 마우스 종양에서 접합안된 MMAE의 수준을 플롯한 것을 보여준다.

도 4B에서 HCT116 결장직장 종양을 보유하고 있는 암컷 누드 마우스에게 0.5mg/kg MMAE 또는 3mg/kg의 화합물 2를 단일 복막내 주사한-후 LCMS로 측정하였을 때, 마우스 근육에서 접합안된 MMAE의 수준을 플롯한 것을 보여준다.

도 4C에서 HCT116 결장직장 종양을 보유하고 있는 암컷 누드 마우스에게 0.5mg/kg MMAE 또는 3mg/kg의 화합물 2를 단일 복막내 주사한-후 LCMS로 측정하였을 때, 마우스 골수에서 접합안된 MMAE의 수준을 플롯한 것을 보여준다.

도 5A는 HCT116 HER2 음성 결장직장 옆구리 종양을 보유하고 있는 누드 마우스에서 0.25mg/kg MMAE 또는 40mg/kg의 화합물 1 (7mg/kg MMAE 등가물)의 분량투여로부터 결과되는 평균 종양 부피를 플롯한 것을 보여준다. 동물들에게 총 2일 동안, 1일 1회 복강내 투여하였다.

도 5B에서는 0.25mg/kg MMAE 또는 40mg/kg의 화합물 1 (7mg/kg MMAE 등가물)로 분량투여된 HCT116 HER2 음성 결장직장 옆구리 종양을 보유하고 있는 누드 마우스의 체중 변화율을 플롯한 것을 보여준다.

도 6A에서는 PC3 전립선 선암종 옆구리 종양을 보유하고 있는 누드 마우스에게 20mg/kg의 화합물 2를 분량투여한 후 평균 종양 부피를 플롯한 것을 보여준다. 동물에게 3주 동안 1일 1회, 주당 2회 복강내 투여하였다.

도 6B는 실시예 F의 연구에서 동물들의 체중 변화율을 도시하고 있다. 데이터는 평균±SEM로 나타낸다.

도 7A에서는 NCI-H1975 비-소세포 폐 암 옆구리 종양을 보유하고 있는 누드 마우스에서 10mg/kg 또는 20mg/kg의 화합물 2를 분량투여한 후 평균 종양 부피를 플롯한 것을 보여준다. 동물에게 3주 동안 1일 1회, 주당 2회 복강내 투여하였다.

도 7B에서는 실시예 G의 연구에서 동물들의 체중 변화율을 도시하고 있다. 데이터는 평균±SEM로 나타낸다.

도 8에서는 10mg/kg의 화합물 1 및 화합물 2를 4 연속일 동안 1일 1회 분량투여된 누드 마우스의 체중을 플롯한 것을 나타낸다.

도 9A에서는 HCT116 결장직장 종양을 보유하고 있는 암컷 누드 마우스에게 화합물 7 또는 화합물 13을 단일 10mg/kg IP 분량투여한-후 종양에서 펩티드 농도를 플롯한 것을 나타낸다 (데이터는 평균±SEM로 나타낸다).

도 9B에서는 HCT116 결장직장 종양을 보유하고 있는 암컷 누드 마우스에게 화합물 7 또는 화합물 13을 단일 10mg/kg IP 분량투여한-후 종양에서 MMAE 농도를 플롯한 것을 나타낸다 (데이터는 평균±SEM로 나타낸다).

도 10A에서는 HT-29 결장직장 암 옆구리 종양을 보유하고 있는 누드 마우스에게 5mg/kg의 화합물 13을 분량투여한 후 결과되는 평균 종양 부피를 플롯한 것을 보여준다. 동물들에게 0-3일, 5일 및 16-19일차 시점에 1일 1회 복막내로 분량투여되었다.

도 10B에서는 실시예 J의 연구에서 동물들의 체중 변화율을 도시하고 있다. 데이터는 평균±SEM로 나타낸다.

도 11A에서는 HT-29 결장직장 암 옆구리 종양을 보유하고 있는 누드 마우스에게 40mg/kg 및 80mg/kg의 화합물 7을 분량투여한-후, 결과되는 평균 종양 부피를 플롯한 것을 보여준다. 동물들에게 2주에 걸쳐 4 연속일 동안 1

일 1회 복막내로 분량투여되었다.

도 11B에서는 실시예 K의 연구에서 동물들의 체중 변화율을 도시하고 있다. 데이터는 평균±SEM로 나타낸다.

도 12A에서는 HCT116 결장직장 종양을 보유하고 있는 암컷 누드 마우스에게 화합물 13, 화합물 1, 또는 화합물 2를 단일 10mg/kg 복막내 분량투여한-후 결과되는 종양에서 펩티드 농도를 플롯한 것을 나타낸다 (데이터는 평균±SEM로 나타낸다).

도 12B에서는 HCT116 결장직장 종양을 보유하고 있는 암컷 누드 마우스에게 화합물 13, 화합물 1, 또는 화합물 2를 단일 10mg/kg 복막내 분량투여한-후 결과되는 종양에서 MMAE 농도를 플롯한 것을 나타낸다 (데이터는 평균±SEM로 나타낸다).

도 13A에서는 HCT116 결장직장 종양을 보유하고 있는 암컷 누드 마우스에게 화합물 13, 화합물 7, 화합물 5, 또는 화합물 6을 단일 10mg/kg 복막내 주사한 후, ELISA 및 LCMS로 측정하였을 때 마우스 종양에서 펩티드 수준을 플롯한 것을 나타낸다 (데이터는 평균±SEM로 나타낸다).

도 13B에서는 HCT116 결장직장 종양을 보유하고 있는 암컷 누드 마우스에게 화합물 13, 화합물 7, 화합물 5, 또는 화합물 6을 단일 10mg/kg 복막내 주사한 후, ELISA 및 LCMS로 측정하였을 때 마우스 종양에서 접합안된 MMAE의 수준을 플롯한 것을 나타낸다 (데이터는 평균±SEM로 나타낸다).

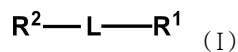
도 14A에서는 HCT116 결장직장 암 옆구리 종양을 보유하고 있는 누드 마우스에게 1mg/kg, 5mg/kg 및 10mg/kg의 화합물 5를 분량투여한-후, 결과되는 평균 종양 부피를 플롯한 것을 보여준다. 동물들에게 4 연속일 동안 1일 1회 복막내로 분량투여되었다.

도 14B에서는 실시예 N의 연구에서 동물들의 체중 변화율을 도시하고 있다. 데이터는 평균±SEM로 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

상세한 설명

화학식 (I)의 화합물:



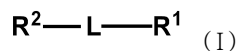
또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염이 이 본원에서 제공되며, 이때:

R^1 은 펩티드이며;

R^2 는 펩티드 튜블린 억제제의 라디칼이며; 그리고

L 링커이며, 이 링커는 모이어티 R^1 및 R^2 에 공유적으로 연계된다.

화학식 (I)의 화합물:



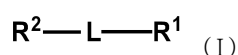
또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염이 본원에서 제공되며, 이때:

R^1 은 5 내지 50개의 아미노산을 보유하는 펩티드이며;

R^2 는 펩티드 튜블린 억제제의 라디칼이며; 그리고

L은 링커이며, 이 링커는 모이어티 R^1 및 R^2 에 공유적으로 연계된다.

화학식 (I)의 화합물:



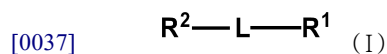
또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염이 본원에서 또한 제공되며, 이때:

[0033] R^1 은 산성 또는 저산소 맨틀을 갖는 세포막을 통해 R^2L -을 선택적으로 전달할 수 있는 펩티드이며;

[0034] R^2 는 펩티드 튜블린 억제제의 라디칼이며; 그리고

[0035] L은 링커이며, 이 링커는 모이어티 R^1 및 R^2 에 공유적으로 연계된다.

[0036] 화학식 (I)의 화합물:



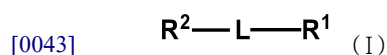
[0038] 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염이 본원에서 제공되며, 이때:

[0039] R^1 은 펩티드이며;

[0040] R^2 은 아우리스타틴 화합물의 라디칼이며; 그리고

[0041] L은 링커이며, 이 링커는 모이어티 R^1 및 R^2 에 공유적으로 연계된다.

[0042] 화학식 (I)의 화합물:



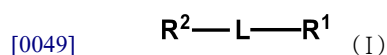
[0044] 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염이 본원에서 제공되며, 이때:

[0045] R^1 은 5 내지 50개의 아미노산을 보유하는 펩티드이며;

[0046] R^2 은 아우리스타틴 화합물의 라디칼이며; 그리고

[0047] L은 링커이며, 이 링커는 모이어티 R^1 및 R^2 에 공유적으로 연계된다.

[0048] 화학식 (I)의 화합물:



[0050] 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염이 본원에서 또한 제공되며, 이때:

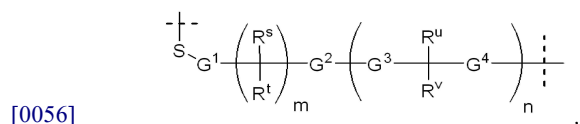
[0051] R^1 은 산성 또는 저산소 맨틀을 갖는 세포막을 통해 R^2L -을 선택적으로 전달할 수 있는 펩티드이며;

[0052] R^2 은 아우리스타틴 화합물의 라디칼이며; 그리고

[0053] L은 링커이며, 이 링커는 모이어티 R^1 및 R^2 에 공유적으로 연계된다.

[0054] 일부 구체예들에서, 상기 아우리스타틴 화합물은 모노메틸 아우리스타틴 화합물이다.

[0055] 일부 구체예들에서, L은 다음의 구조를 갖는 링커이며:



[0057] 이때 상기 링커의 S 원자는 상기 펩티드의 시스테인 잔기와 결합하여, 이황화 결합을 형성하고; 그리고 이때:

[0058] G^1 은 결합, C_{6-10} 아릴, C_{3-14} 사이클로알킬, 5-14개 구성원의 헤테로아릴, 및 4-14개 구성원의 헤테로사이클로알킬로부터 선택되며, 이때 G^1 의 전술한 C_{6-10} 아릴, C_{3-14} 사이클로알킬, 5-14개 구성원의 헤테로아릴, 및 4-14개 구성원의 헤테로사이클로알킬은 할로, C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, C_{1-6} 할로알킬, CN, NO_2 , OR^a , SR^a , $C(O)R^b$, $C(O)NR^cR^d$, $C(O)OR^a$, $OC(O)R^b$, $OC(O)NR^cR^d$, $C(=NR^e)NR^cR^d$, $NR^cC(=NR^e)NR^cR^d$, NR^cR^d , $NR^cC(O)R^b$, $NR^cC(O)OR^a$,

$\text{NR}^c\text{C}(\text{O})\text{NR}^c\text{R}^d$, $\text{NR}^c\text{S}(\text{O})\text{R}^b$, $\text{NR}^c\text{S}(\text{O})_2\text{R}^b$, $\text{NR}^c\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^c\text{R}^d$, $\text{S}(\text{O})\text{R}^b$, $\text{S}(\text{O})\text{NR}^c\text{R}^d$, $\text{S}(\text{O})_2\text{R}^b$, 및 $\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^c\text{R}^d$ 로부터 독립적으로 치환된 1개, 2개, 3개, 4개, 또는 5개의 치환체로 각각 임의선택적으로 치환되며, 이때 G^1 의 전술한 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, 및 C_{2-6} 알키닐 치환체는 CN , NO_2 , OR^a , SR^a , $\text{C}(\text{O})\text{R}^b$, $\text{C}(\text{O})\text{NR}^c\text{R}^d$, $\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$, $\text{OC}(\text{O})\text{R}^b$, $\text{OC}(\text{O})\text{NR}^c\text{R}^d$, $\text{C}(=\text{NR}^e)\text{NR}^c\text{R}^d$, $\text{NR}^c\text{C}(=\text{NR}^e)\text{NR}^c\text{R}^d$, NR^cR^d , $\text{NR}^c\text{C}(\text{O})\text{R}^b$, $\text{NR}^c\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$, $\text{NR}^c\text{C}(\text{O})\text{NR}^c\text{R}^d$, $\text{NR}^c\text{S}(\text{O})\text{R}^b$, $\text{NR}^c\text{S}(\text{O})_2\text{R}^b$, $\text{NR}^c\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^c\text{R}^d$, $\text{S}(\text{O})\text{R}^b$, $\text{S}(\text{O})\text{NR}^c\text{R}^d$, $\text{S}(\text{O})_2\text{R}^b$, 및 $\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^c\text{R}^d$ 로부터 독립적으로 치환된 1개, 2개, 또는 3개의 치환체로 임의선택적으로 치환되며;

[0059] R^s 및 R^t 는 각각 H, 할로, C_{1-6} 알킬, 및 C_{1-6} 할로알킬로부터 독립적으로 치환되며;

[0060] G^2 는 $-\text{NR}^G\text{C}(\text{O})-$, $-\text{NR}^G-$, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$, $-\text{OC}(\text{O})-$, $-\text{NR}^G\text{C}(\text{O})-$, $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}^G-$, 및 $-\text{S}(\text{O}_2)-$ 로부터 선택되며;

[0061] G^3 은 C_{6-10} 아릴, C_{3-14} 사이클로알킬, 5-14개 구성원의 헤테로아릴, 및 4-14개 구성원의 헤테로사이클로알킬로부터 선택되며, 이때 G^3 의 전술한 C_{6-10} 아릴, C_{3-14} 사이클로알킬, 5-14개 구성원의 헤테로아릴, 및 4-14개 구성원의 헤테로사이클로알킬은 할로, C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, C_{1-6} 할로알킬, CN , NO_2 , OR^{a1} , SR^{a1} , $\text{C}(\text{O})\text{R}^{b1}$, $\text{C}(\text{O})\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$, $\text{C}(\text{O})\text{OR}^{a1}$, $\text{OC}(\text{O})\text{R}^{b1}$, $\text{OC}(\text{O})\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$, $\text{C}(=\text{NR}^{e1})\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$, $\text{NR}^{c1}\text{C}(=\text{NR}^{e1})\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$, $\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$, $\text{NR}^{c1}\text{C}(\text{O})\text{R}^{b1}$, $\text{NR}^{c1}\text{C}(\text{O})\text{OR}^{a1}$, $\text{NR}^{c1}\text{C}(\text{O})\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$, $\text{NR}^{c1}\text{S}(\text{O})\text{R}^{b1}$, $\text{NR}^{c1}\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{b1}$, $\text{NR}^{c1}\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$, $\text{S}(\text{O})\text{R}^{b1}$, $\text{S}(\text{O})\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$, $\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{b1}$, 및 $\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$ 로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 3개, 4개, 또는 5개 치환체로 각각 임의선택적으로 치환되며, 이때 G^3 의 전술한 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, 및 C_{2-6} 알키닐 치환체는 CN , NO_2 , OR^{a1} , SR^{a1} , $\text{C}(\text{O})\text{R}^{b1}$, $\text{C}(\text{O})\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$, $\text{C}(\text{O})\text{OR}^{a1}$, $\text{OC}(\text{O})\text{R}^{b1}$, $\text{OC}(\text{O})\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$, $\text{C}(=\text{NR}^{e1})\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$, $\text{NR}^{c1}\text{C}(=\text{NR}^{e1})\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$, $\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$, $\text{NR}^{c1}\text{C}(\text{O})\text{R}^{b1}$, $\text{NR}^{c1}\text{C}(\text{O})\text{OR}^{a1}$, $\text{NR}^{c1}\text{C}(\text{O})\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$, $\text{NR}^{c1}\text{S}(\text{O})\text{R}^{b1}$, $\text{NR}^{c1}\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{b1}$, $\text{NR}^{c1}\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$, $\text{S}(\text{O})\text{R}^{b1}$, $\text{S}(\text{O})\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$, $\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{b1}$, 및 $\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{c1}\text{R}^{d1}$ 로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 또는 3개 치환체로 임의선택적으로 치환되며;

[0062] R^u 및 R^v 은 H, 할로, C_{1-6} 알킬, 및 C_{1-6} 할로알킬로부터 독립적으로 치환되며;

[0063] G^4 는 $-\text{C}(\text{O})-$, $-\text{NR}^G\text{C}(\text{O})-$, $-\text{NR}^G-$, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$, $-\text{OC}(\text{O})-$, $-\text{NR}^G\text{C}(\text{O})-$, 및 $-\text{S}(\text{O}_2)-$ 로부터 선택되며;

[0064] 각 R^G 는 H 및 C_{1-4} 알킬로부터 독립적으로 선택되며;

[0065] R^a , R^b , R^c , R^d , R^{a1} , R^{b1} , R^{c1} , 및 R^{d1} 은 각각 H, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐, 및 C_{2-6} 알키닐로부터 독립적으로 선택되며, 이때 R^a , R^b , R^c , R^d , R^{a1} , R^{b1} , R^{c1} , 및 R^{d1} 의 전술한 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, 및 C_{2-6} 알키닐은 할로, C_{1-4} 알킬, C_{1-4} 할로알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, CN , OR^{a2} , SR^{a2} , $\text{C}(\text{O})\text{R}^{b2}$, $\text{C}(\text{O})\text{NR}^{c2}\text{R}^{d2}$, $\text{C}(\text{O})\text{OR}^{a2}$, $\text{OC}(\text{O})\text{R}^{b2}$, $\text{OC}(\text{O})\text{NR}^{c2}\text{R}^{d2}$, $\text{NR}^{c2}\text{R}^{d2}$, $\text{NR}^{c2}\text{C}(\text{O})\text{R}^{b2}$, $\text{NR}^{c2}\text{C}(\text{O})\text{NR}^{c2}\text{R}^{d2}$, $\text{NR}^{c2}\text{C}(\text{O})\text{OR}^{a2}$, $\text{C}(=\text{NR}^{e2})\text{NR}^{c2}\text{R}^{d2}$, $\text{NR}^{c2}\text{C}(=\text{NR}^{e2})\text{NR}^{c2}\text{R}^{d2}$, $\text{S}(\text{O})\text{R}^{b2}$, $\text{S}(\text{O})\text{NR}^{c2}\text{R}^{d2}$, $\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{b2}$, $\text{NR}^{c2}\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{b2}$, $\text{NR}^{c2}\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{c2}\text{R}^{d2}$, 및 $\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{c2}\text{R}^{d2}$ 로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 3개, 4개, 또는 5개 치환체로 임의선택적으로 치환되며;

[0066] R^{a2} , R^{b2} , R^{c2} , 및 R^{d2} 는 각각 H, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐, 및 C_{2-6} 알키닐로부터 독립적으로 선택되며, 이때 R^{a2} , R^{b2} , R^{c2} , 및 R^{d2} 의 전술한 C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐, 및 C_{2-6} 알키닐은 OH, CN, 아미노, 할로, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알콕시, C_{1-6} 할로알킬, 및 C_{1-6} 할로알콕시로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 또는 3개 치환체로 임의선택적으로 치환되며;

$C(=NR^c)NR^dR^d$, $NR^cC(=NR^c)NR^dR^d$, NR^cR^d , $NR^cC(O)R^b$, $NR^cC(O)OR^a$, $NR^cC(O)NR^dR^d$, $NR^cS(O)R^b$, $NR^cS(O)_2R^b$, $NR^cS(O)_2NR^dR^d$, $S(O)R^b$, $S(O)NR^dR^d$, $S(O)_2R^b$, 및 $S(O)_2NR^dR^d$ 로부터 독립적으로 치환된 1개, 2개, 또는 3개의 치환체로 임의선택적으로 치환되며;

[0082] G^2 는 $-NR^G C(O)-$, $-NR^G-$, $-O-$, $-S-$, $-C(O)O-$, $-OC(O)-$, $-NR^G C(O)-$, $-OC(O)NR^G-$, 및 $-S(O_2)-$ 로부터 선택되며;

[0083] G^3 은 C_{6-10} 아릴, C_{3-14} 사이클로알킬, 5-14개 구성원의 헤테로아릴, 및 4-14개 구성원의 헤테로사이클로알킬로부터 선택되며, 이때 G^3 의 전술한 C_{6-10} 아릴, C_{3-14} 사이클로알킬, 5-14개 구성원의 헤테로아릴, 및 4-14개 구성원의 헤테로사이클로알킬은 할로, C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, C_{1-6} 할로알킬, CN, NO_2 , OR^{a1} , SR^{a1} , $C(O)R^{b1}$, $C(O)NR^{c1}R^{d1}$, $C(O)OR^{a1}$, $OC(O)R^{b1}$, $OC(O)NR^{c1}R^{d1}$, $C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}C(O)R^{b1}$, $NR^{c1}C(O)OR^{a1}$, $NR^{c1}C(O)NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}S(O)R^{b1}$, $NR^{c1}S(O)_2R^{b1}$, $NR^{c1}S(O)_2NR^{c1}R^{d1}$, $S(O)R^{b1}$, $S(O)NR^{c1}R^{d1}$, $S(O)_2R^{b1}$, 및 $S(O)_2NR^{c1}R^{d1}$ 로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 3개, 4개, 또는 5개 치환체로 각각 임의선택적으로 치환되며, 이때 G^3 의 전술한 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, 및 C_{2-6} 알키닐 치환체는 CN, NO_2 , OR^{a1} , SR^{a1} , $C(O)R^{b1}$, $C(O)NR^{c1}R^{d1}$, $C(O)OR^{a1}$, $OC(O)R^{b1}$, $OC(O)NR^{c1}R^{d1}$, $C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}C(O)R^{b1}$, $NR^{c1}C(O)OR^{a1}$, $NR^{c1}C(O)NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}S(O)R^{b1}$, $NR^{c1}S(O)_2R^{b1}$, $NR^{c1}S(O)_2NR^{c1}R^{d1}$, $S(O)R^{b1}$, $S(O)NR^{c1}R^{d1}$, $S(O)_2R^{b1}$, 및 $S(O)_2NR^{c1}R^{d1}$ 로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 또는 3개 치환체로 임의선택적으로 치환되며;

[0084] G^4 는 $-C(O)-$, $-NR^G C(O)-$, $-NR^G-$, $-O-$, $-S-$, $-OC(O)-$, $-NR^G C(O)-$, 및 $-S(O_2)-$ 로부터 선택되며;

[0085] G^5 는 결합, C_{6-10} 아릴, C_{3-14} 사이클로알킬, 5-14개 구성원의 헤테로아릴, 및 4-14개 구성원의 헤테로사이클로알킬로부터 선택되며, 이때 G^5 의 전술한 C_{6-10} 아릴, C_{3-14} 사이클로알킬, 5-14개 구성원의 헤테로아릴, 및 4-14개 구성원의 헤테로사이클로알킬은 할로, C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, C_{1-6} 할로알킬, CN, NO_2 , OR^a , SR^a , $C(O)R^b$, $C(O)NR^cR^d$, $C(O)OR^a$, $OC(O)R^b$, $OC(O)NR^cR^d$, $C(=NR^e)NR^cR^d$, $NR^cC(=NR^e)NR^cR^d$, NR^cR^d , $NR^cC(O)R^b$, $NR^cC(O)OR^a$, $NR^cC(O)NR^cR^d$, $NR^cS(O)R^b$, $NR^cS(O)_2R^b$, $NR^cS(O)_2NR^cR^d$, $S(O)R^b$, $S(O)NR^cR^d$, $S(O)_2R^b$, 및 $S(O)_2NR^cR^d$ 로부터 독립적으로 치환된 1개, 2개, 3개, 4개, 또는 5개의 치환체로 각각 임의선택적으로 치환되며, 이때 G^5 의 전술한 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, 및 C_{2-6} 알키닐 치환체는 CN, NO_2 , OR^a , SR^a , $C(O)R^b$, $C(O)NR^cR^d$, $C(O)OR^a$, $OC(O)R^b$, $OC(O)NR^cR^d$, $C(=NR^e)NR^cR^d$, $NR^cC(=NR^e)NR^cR^d$, NR^cR^d , $NR^cC(O)R^b$, $NR^cC(O)OR^a$, $NR^cC(O)NR^cR^d$, $NR^cS(O)R^b$, $NR^cS(O)_2R^b$, $NR^cS(O)_2NR^cR^d$, $S(O)R^b$, $S(O)NR^cR^d$, $S(O)_2R^b$, 및 $S(O)_2NR^cR^d$ 로부터 독립적으로 치환된 1개, 2개, 또는 3개의 치환체로 임의선택적으로 치환되며;

[0086] G^6 은 $-NR^G C(O)-$, $-NR^G-$, $-O-$, $-S-$, $-C(O)O-$, $-OC(O)-$, $-NR^G C(O)-$, $-OC(O)NR^G-$, 및 $-S(O_2)-$ 로부터 선택되며;

[0087] G^7 은 $-NR^G C(O)-$, $-NR^G-$, $-O-$, $-S-$, $-C(O)O-$, $-OC(O)-$, $-NR^G C(O)-$, $-OC(O)NR^G-$, 및 $-S(O_2)-$ 로부터 선택되며;

[0088] R^s 및 R^t 는 각각 H, 할로, C_{1-6} 알킬, 및 C_{1-6} 할로알킬로부터 독립적으로 치환되며;

[0089] 또는 R^s 및 R^t 각각은 이들이 부착되어 있는 C 원자와 함께, C_{3-6} 사이클로알킬 고리를 형성하고;

[0090] R^u 및 R^v 은 H, 할로, C_{1-6} 알킬, 및 C_{1-6} 할로알킬로부터 독립적으로 치환되며;

- [0091] 각 R^G 는 H 및 C_{1-4} 알킬로부터 독립적으로 선택되며;
- [0092] R^a , R^b , R^c , R^d , R^{a1} , R^{b1} , R^{c1} , 및 R^{d1} 은 각각 H, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐, 및 C_{2-6} 알키닐로부터 독립적으로 선택되며, 이때 R^a , R^b , R^c , R^d , R^{a1} , R^{b1} , R^{c1} , 및 R^{d1} 의 전술한 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, 및 C_{2-6} 알키닐은 할로, C_{1-4} 알킬, C_{1-4} 할로알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, CN, OR^{a2} , SR^{a2} , $C(O)R^{b2}$, $C(O)NR^{c2}R^{d2}$, $C(O)OR^{a2}$, $OC(O)R^{b2}$, $OC(O)NR^{c2}R^{d2}$, $NR^{c2}R^{d2}$, $NR^{c2}C(O)R^{b2}$, $NR^{c2}C(O)NR^{c2}R^{d2}$, $NR^{c2}C(O)OR^{a2}$, $C(=NR^{e2})NR^{c2}R^{d2}$, $NR^{c2}C(=NR^{e2})NR^{c2}R^{d2}$, $S(O)R^{b2}$, $S(O)NR^{c2}R^{d2}$, $S(O)_2R^{b2}$, $NR^{c2}S(O)_2R^{b2}$, $NR^{c2}S(O)_2NR^{c2}R^{d2}$, 및 $S(O)_2NR^{c2}R^{d2}$ 로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 3개, 4개, 또는 5개 치환체로 임의선택적으로 치환되며;
- [0093] R^{a2} , R^{b2} , R^{c2} , 및 R^{d2} 는 각각 H, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐, 및 C_{2-6} 알키닐로부터 독립적으로 선택되며, 이때 R^{a2} , R^{b2} , R^{c2} , 및 R^{d2} 의 전술한 C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐, 및 C_{2-6} 알키닐은 OH, CN, 아미노, 할로, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알콕시, C_{1-6} 할로알킬, 및 C_{1-6} 할로알콕시로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 또는 3개 치환체로 임의선택적으로 치환되며;
- [0094] R^e , R^{e1} , 및 R^{e2} 는 각각 H 및 C_{1-4} 알킬로부터 독립적으로 선택되며;
- [0095] m은 0, 1, 2, 3, 또는 4이며;
- [0096] n은 0 또는 1이며;
- [0097] o는 0 또는 1이며;
- [0098] p는 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6이며; 그리고
- [0099] q는 0 또는 1이다.
- [0100] 화학식 (I)의 화합물:
- [0101] R^2-L-R^1 (I)
- [0102] 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염이 본원에서 제공되며, 이때:
- [0103] R^1 은 펩티드이며;
- [0104] R^2 은 아우리스타틴 화합물의 라디칼이며; 그리고
- [0105] L은 다음의 구조를 갖는 링커이며:
- [0106]
$$\begin{array}{c} \text{---} \text{S} \text{---} \text{G}^1 \left(\begin{array}{c} \text{R}^s \\ | \\ \text{R}^t \end{array} \right)_m \text{---} \text{G}^2 \left(\begin{array}{c} \text{R}^u \\ | \\ \text{R}^v \end{array} \right)_n \text{---} \end{array}$$
- [0107] 이때 상기 링커의 S 원자는 상기 펩티드의 시스테인 잔기와 결합하여, 이황화 결합을 형성하고; 그리고 이때:
- [0108] G^1 은 결합, C_{6-10} 아릴, C_{3-14} 사이클로알킬, 5-14개 구성원의 헤테로아릴, 및 4-14개 구성원의 헤테로사이클로알킬로부터 선택되며, 이때 G^1 의 전술한 C_{6-10} 아릴, C_{3-14} 사이클로알킬, 5-14개 구성원의 헤테로아릴, 및 4-14개 구성원의 헤테로사이클로알킬은 할로, C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, C_{1-6} 할로알킬, CN, NO_2 , OR^a , SR^a , $C(O)R^b$, $C(O)NR^cR^d$, $C(O)OR^a$, $OC(O)R^b$, $OC(O)NR^cR^d$, $C(=NR^e)NR^cR^d$, $NR^cC(=NR^e)NR^cR^d$, NR^cR^d , $NR^cC(O)R^b$, $NR^cC(O)OR^a$, $NR^cC(O)NR^cR^d$, $NR^cS(O)R^b$, $NR^cS(O)_2R^b$, $NR^cS(O)_2NR^cR^d$, $S(O)R^b$, $S(O)NR^cR^d$, $S(O)_2R^b$, 및 $S(O)_2NR^cR^d$ 로부터 독립적으로

치환된 1개, 2개, 3개, 4개, 또는 5개의 치환체로 각각 임의선택적으로 치환되며, 이때 G^1 의 전술한 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, 및 C_{2-6} 알키닐 치환체는 CN , NO_2 , OR^a , SR^a , $C(O)R^b$, $C(O)NR^cR^d$, $C(O)OR^a$, $OC(O)R^b$, $OC(O)NR^cR^d$, $C(=NR^e)NR^cR^d$, $NR^cC(=NR^e)NR^cR^d$, NR^cR^d , $NR^cC(O)R^b$, $NR^cC(O)OR^a$, $NR^cC(O)NR^cR^d$, $NR^cS(O)R^b$, $NR^cS(O)_2R^b$, $NR^cS(O)_2NR^cR^d$, $S(O)R^b$, $S(O)NR^cR^d$, $S(O)_2R^b$, 및 $S(O)_2NR^cR^d$ 로부터 독립적으로 치환된 1개, 2개, 또는 3개의 치환체로 임의선택적으로 치환되며;

[0109] R^s 및 R^t 는 각각 H, 할로, C_{1-6} 알킬, 및 C_{1-6} 할로알킬로부터 독립적으로 치환되며;

[0110] G^2 는 $-NR^G C(O)-$, $-NR^G-$, $-O-$, $-S-$, $-C(O)O-$, $-OC(O)-$, $-NR^G C(O)-$, $-OC(O)NR^G-$, 및 $-S(O_2)-$ 로부터 선택되며;

[0111] G^3 은 C_{6-10} 아릴, C_{3-14} 사이클로알킬, 5-14개 구성원의 헤테로아릴, 및 4-14개 구성원의 헤테로사이클로알킬로부터 선택되며, 이때 G^3 의 전술한 C_{6-10} 아릴, C_{3-14} 사이클로알킬, 5-14개 구성원의 헤테로아릴, 및 4-14개 구성원의 헤테로사이클로알킬은 할로, C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, C_{1-6} 할로알킬, CN , NO_2 , OR^{a1} , SR^{a1} , $C(O)R^{b1}$, $C(O)NR^{c1}R^{d1}$, $C(O)OR^{a1}$, $OC(O)R^{b1}$, $OC(O)NR^{c1}R^{d1}$, $C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}C(O)R^{b1}$, $NR^{c1}C(O)OR^{a1}$, $NR^{c1}C(O)NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}S(O)R^{b1}$, $NR^{c1}S(O)_2R^{b1}$, $NR^{c1}S(O)_2NR^{c1}R^{d1}$, $S(O)R^{b1}$, $S(O)NR^{c1}R^{d1}$, $S(O)_2R^{b1}$, 및 $S(O)_2NR^{c1}R^{d1}$ 로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 3개, 4개, 또는 5개 치환체로 각각 임의선택적으로 치환되며, 이때 G^3 의 전술한 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, 및 C_{2-6} 알키닐 치환체는 CN , NO_2 , OR^{a1} , SR^{a1} , $C(O)R^{b1}$, $C(O)NR^{c1}R^{d1}$, $C(O)OR^{a1}$, $OC(O)R^{b1}$, $OC(O)NR^{c1}R^{d1}$, $C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}C(=NR^{e1})NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}C(O)R^{b1}$, $NR^{c1}C(O)OR^{a1}$, $NR^{c1}C(O)NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}S(O)R^{b1}$, $NR^{c1}S(O)_2R^{b1}$, $NR^{c1}S(O)_2NR^{c1}R^{d1}$, $S(O)R^{b1}$, $S(O)NR^{c1}R^{d1}$, $S(O)_2R^{b1}$, 및 $S(O)_2NR^{c1}R^{d1}$ 로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 또는 3개 치환체로 임의선택적으로 치환되며;

[0112] R^u 및 R^v 은 H, 할로, C_{1-6} 알킬, 및 C_{1-6} 할로알킬로부터 독립적으로 치환되며;

[0113] G^4 는 $-C(O)-$, $-NR^G C(O)-$, $-NR^G-$, $-O-$, $-S-$, $-C(O)O-$, $-OC(O)-$, $-NR^G C(O)-$, 및 $-S(O_2)-$ 로부터 선택되며;

[0114] 각 R^G 는 H 및 C_{1-4} 알킬로부터 독립적으로 선택되며;

[0115] R^a , R^b , R^c , R^d , R^{a1} , R^{b1} , R^{c1} , 및 R^{d1} 은 각각 H, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐, 및 C_{2-6} 알키닐로부터 독립적으로 선택되며, 이때 R^a , R^b , R^c , R^d , R^{a1} , R^{b1} , R^{c1} , 및 R^{d1} 의 전술한 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, 및 C_{2-6} 알키닐은 할로, C_{1-4} 알킬, C_{1-4} 할로알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, CN , OR^{a2} , SR^{a2} , $C(O)R^{b2}$, $C(O)NR^{c2}R^{d2}$, $C(O)OR^{a2}$, $OC(O)R^{b2}$, $OC(O)NR^{c2}R^{d2}$, $NR^{c2}R^{d2}$, $NR^{c2}C(O)R^{b2}$, $NR^{c2}C(O)NR^{c2}R^{d2}$, $NR^{c2}C(O)OR^{a2}$, $C(=NR^{e2})NR^{c2}R^{d2}$, $NR^{c2}C(=NR^{e2})NR^{c2}R^{d2}$, $S(O)R^{b2}$, $S(O)NR^{c2}R^{d2}$, $S(O)_2R^{b2}$, $NR^{c2}S(O)_2R^{b2}$, $NR^{c2}S(O)_2NR^{c2}R^{d2}$, 및 $S(O)_2NR^{c2}R^{d2}$ 로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 3개, 4개, 또는 5개 치환체로 임의선택적으로 치환되며;

[0116] R^{a2} , R^{b2} , R^{c2} , 및 R^{d2} 는 각각 H, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐, 및 C_{2-6} 알키닐로부터 독립적으로 선택되며, 이때 R^{a2} , R^{b2} , R^{c2} , 및 R^{d2} 의 전술한 C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐, 및 C_{2-6} 알키닐은 OH, CN, 아미노, 할로, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알콕시, C_{1-6} 할로알킬, 및 C_{1-6} 할로알콕시로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 또는 3개 치환체로 임의선택적으로 치환되며;

[0117] R^e , R^{e1} , 및 R^{e2} 는 각각 H 및 C_{1-4} 알킬로부터 독립적으로 선택되며;

- [0118] m 은 0, 1, 2, 3, 또는 4이며; 그리고
- [0119] n 은 0 또는 1이다.
- [0120] 일부 구체예들에서, L 의 왼쪽은 R^1 에 부착되고, L 의 오른쪽은 R^2 에 부착된다.
- [0121] 본원에서 이용된 바와 같이, "펩티드"는 자연-발생적 아미노산 잔기들과 임의선택적으로 하나 또는 그 이상의 비-자연-발생적 아미노산으로 구성된 10-50개 아미노산 서열을 포함하는 표적화 모이어티를 지칭한다. 일부 구체예들에서, 상기 R^1 의 펩티드는 20 내지 40개, 20 내지 30개 아미노산, 또는 30 내지 40개 잔기의 펩티드이다. 본 발명의 화합물에 사용하기에 적합한 펩티드는 환경적 pH 변화에 반응하여 형태적 변화 또는 이차 구조의 변화를 통해 세포막을 가로질러 삽입될 수 있는 펩티드들이다. 이러한 방식으로, 상기 펩티드는 산성 조건을 표적으로 삼고, 낮은 세포외 pH에 반응하여 세포막을 통해 극성의 세포-불침투성 분자를 선택적으로 전위시킬 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 펩티드는 약 6.0 미만의 pH를 보유하는 산성 또는 저산소 맨틀을 갖는 세포막을 통해 접합된 모이어티 (가령, R^2L^-)를 선택적으로 전달할 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 펩티드는 약 6.5 미만의 pH를 보유하는 산성 또는 저산소 맨틀을 갖는 세포막을 통해 접합된 모이어티 (가령, R^2L^-)를 선택적으로 전달할 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 펩티드는 약 5.5 미만의 pH를 보유하는 산성 또는 저산소 맨틀을 갖는 세포막을 통해 접합된 모이어티 (가령, R^2L^-)를 선택적으로 전달할 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 펩티드는 약 5.0 내지 약 6.0의 pH를 보유하는 산성 또는 저산소 맨틀을 갖는 세포막을 통해 접합된 모이어티 (가령, R^2L^-)를 선택적으로 전달할 수 있다.
- [0122] 특정 구체예들에서, 상기 R^1 의 펩티드에는 세포막을 통해 전달될 페이로드 모이어티 (가령, R^2L^-)에 대한 부착 부위를 형성할 수 있는 시스테인 잔기가 내포되어 있다. 일부 구체예들에서, R^1 은 R^1 의 시스테인 잔기를 통하여 L 에 부착된다. 일부 구체예들에서, 상기 시스테인 잔기의 황 원자는 이 이황화 결합-함유하는 화합물의 이황화 결합의 일부를 형성할 수 있다.
- [0123] pH에 따라 형태학적으로 변할 수 있고, 세포막을 통과하여 삽입될 수 있는 적합한 펩티드들이 설명되어 있다. 적합한 펩티드들이 예를 들면, 미국 특허 8,076,451, 9,289,508, 10,933,069, 그리고 U.S. 출원 공고 번호 2021/0009536 및 2021/0009719 (이들 각각은 그 전문이 본 명세서에 편입된다)에 기술되어 있다. 기타 적합한 펩티드들은 예를 들면, Weerakkody, *et al.*, PNAS 110 (15), 5834-5839 (April 9, 2013)에서 기술되어 있으며, 이것은 그 전문이 본 명세서의 참고자료에 편입된다.
- [0124] 일부 구체예들에서, R^1 은 다음의 서열들 중 적어도 하나의 서열을 포함하는 펩티드이다:
- [0125] ADDQNPNWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG (서열 식별 번호. 1; Pv1),
- [0126] AEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADECG (서열 식별 번호. 2; Pv2), 그리고
- [0127] ADDQNPNWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG (서열 식별 번호. 3; Pv3);
- [0128] Ac-AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG (서열 식별 번호. 4; Pv4);
- [0129] AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTC (서열 식별 번호. 5; Pv5); 그리고
- [0130] AAEQNPIYWWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG (서열 식별 번호. 6; Pv6);
- [0131] 이때 R^1 은 R^1 의 시스테인 잔기를 통하여 L 에 부착된다.
- [0132] 일부 구체예들에서, R^1 은 다음의 서열들 중 적어도 하나의 서열을 포함하는 펩티드이다:
- [0133] ADDQNPNWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG (서열 식별 번호. 1; Pv1),
- [0134] AEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADECG (서열 식별 번호. 2; Pv2), 그리고
- [0135] ADDQNPNWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG (서열 식별 번호. 3; Pv3); 그리고
- [0136] AAEQNPIYWWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG (서열 식별 번호. 6; Pv6);

- [0137] 이때 R^1 은 R^1 의 시스템인 잔기를 통하여 L에 부착된다.
- [0138] 일부 구체예들에서, R^1 은 서열 ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG (서열 식별 번호. 1; Pv1)을 포함하는 펩티드이다.
- [0139] 일부 구체예들에서, R^1 은 서열 AEQNPIYWARYADWLFTTPLLDDALLVDADECG (서열 식별 번호. 2; Pv2)을 포함하는 펩티드이다.
- [0140] 일부 구체예들에서, R^1 은 서열 ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG (서열 식별 번호. 3; Pv3)을 포함하는 펩티드이다.
- [0141] 일부 구체예들에서, R^1 은 서열 Ac-AAEQNPYIYWARYADWLFTTPLLDDALLVDADEGTCG (서열 식별 번호. 4; Pv4)을 포함하는 펩티드이다.
- [0142] 일부 구체예들에서, R^1 은 서열 AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLDDALLVDADEGTC (서열 식별 번호. 5; Pv5)을 포함하는 펩티드이다.
- [0143] 일부 구체예들에서, R^1 은 서열 AAEQNPIYWWARYADWLFTTPLLDDALLVDADEGTCG (서열 식별 번호. 6; Pv6)을 포함하는 펩티드이다.
- [0144] 일부 구체예들에서, R^1 은 서열 ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG (서열 식별 번호. 1; Pv1)로 구성된 펩티드이다.
- [0145] 일부 구체예들에서, R^1 은 서열 AEQNPIYWARYADWLFTTPLLDDALLVDADECG (서열 식별 번호. 2; Pv2)로 구성된 펩티드이다.
- [0146] 일부 구체예들에서, R^1 은 서열 ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG (서열 식별 번호. 3; Pv3)로 구성된 펩티드이다.
- [0147] 일부 구체예들에서, R^1 은 서열 Ac-AAEQNPYIYWARYADWLFTTPLLDDALLVDADEGTCG (서열 식별 번호. 4; Pv4)로 구성된 펩티드이다.
- [0148] 일부 구체예들에서, R^1 은 서열 AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLDDALLVDADEGTC (서열 식별 번호. 5; Pv5)로 구성된 펩티드이다.
- [0149] 일부 구체예들에서, R^1 은 서열 AAEQNPIYWWARYADWLFTTPLLDDALLVDADEGTCG (서열 식별 번호. 6; Pv6)로 구성된 펩티드이다.
- [0150] 일부 구체예들에서, R^1 은 표 1에 나타난 서열 식별 번호:7 내지 서열 식별 번호:311로부터 선택된 적어도 하나의 서열을 포함하는 펩티드이다.
- [0151] 일부 구체예들에서, R^1 은 표 1에 나타난 서열 식별 번호:7 내지 서열 식별 번호:311로부터 선택된 적어도 하나의 서열로 구성된 펩티드이다.

[0152] 표 1. 추가적인 R¹ 서열들

서열 식별 번호	서열
7	AEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLALLVDADEGT
8	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLALLVDADEGT
9	AEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLALLVDADEGT
10	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLALLVDADEGTCG
11	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLALLVDADEGTCG
12	ACEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLALLVDADEGTG
13	ACEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLALLVDADEGT
14	AKEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLALLVDADEGT
15	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLALLVDADEGKCG
16	AKEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLALLVDADECT
17	ACEQNPIYWARYANWLFTTPLLLNLALLVDADEGTG
18	ACEQNPIYWARYAKWLFTTPLLLKLALLVDADEGTG
19	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLALLVNANQGT
20	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLALALLVDADEGT
21	AAEQNPIYWARYAAWLFTTPLLLDLALLVDADEGT
22	AAEQNPIYWARYADWLFTTALLLDLALLVDADEGT
23	AAEQNPIYWARYADWLFTPLLLLELALLVDADEGT
24	AAEQNPIWARYAEWLFTTPLLLDLALLVDADEGT
25	AAEQNPHYWARYADWLFTDLPLLLDLALLVDADEGT
26	GEQNPIYWAQYADWLFTTPLLLDLALLVDADEGTCG
27	GGEQNPIYWARYADWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
28	GGEQNPIYWARYADWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
29	GGEQNPIYWARYDAWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
30	GGEQNPIYWARYADWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
31	AAEQNPIYWARYADWLFTGLLLDLALLVDADEGT
32	DDDEDNPIYWARYADWLFTPLLLHALLVDADECT
33	DDDEDNPIYWARYAHLFTPLLLHALLVDADEGCT
34	DDDEDNPIYWARYAHLFTPLLLHALLVNADECT
35	DDDEDNPIYWARYAHLFTPLLLHALLVNANECT
36	AEQNPIYWARYADFLFTTPLLLDLALLVDADET
37	AEQNPIYFARYADWLFTTPLLLDLALLVDADEGT
38	AEQNPIYFARYADFLFTTPLLLDLALLVDADET
39	AKEDQNPYWARYADWLFTTPLLLDLALLVDG

[0153]

40	ACEDQNPYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDG
41	AEDQNPYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDCG
42	AEDQNPYWARYADWLFTTPLLLLELALLVECG
43	AKEDQNPYWRAYADLFTPLTLLDLLALWDG
44	ACEDQNPYWRAYADLFTPLTLLDLLALWDG
45	ACDDQNPWRAYDLLFPTDLLLLDLLW
46	TEDADVLLALDLLLLPTTFLWD
47	AEQNPIYWARYADWLFTTPL
48	AEQNPIYWARYADWLFTTPCL
49	ACEQNPIYWARYADWLFTTPL
50	AEQNPIYFARYADWLFTTPL
51	KEDQNPWARYADLLFPTTLAW
52	ACEDQNPWARYADLLFPTTLAW
53	ACEDQNPWARYADWLFTPLLLLD
54	ACEEQNPWARYAELLFPTTLAW
55	ACEEQNPWARYAEWLFTPLLLLE
56	ACEEQNPWARYLEWLFTPTETLLLEL
57	GGEQNPIY WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGT
58	ACEQNPIY WARYADWLFTTPLLLLDLALLV
59	WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGTCG
60	WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGCT
61	GGEQNPIY WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGTCG
62	ACEQNPIY WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGT
63	AKEQNPIY WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGT
64	AKEQNPIY WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADECT
65	AAEQNPIY WARYADWLFTTALLLDLALLV DADEGT
66	CAEQNPIY WARYADWLFTTGLLLDLALLV DADEGT
67	AEQNPIY WARYADFLTTALLLDLALLV DADE_T
68	AEQNPIY FARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGT
69	AEQNPIY FARYADFLTTTPLLLLDLALLW DADE_T
70	AKEDQNP_Y WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DG ____
71	ACEDQNP_Y WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DG ____
72	AEDQNP_Y WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DG ____
73	AEDQNP_Y WARYADWLFTTPLLLLELALLV ECG ____
74	AKEDQNP_Y WRAYAD_LFT_PLTLLDLLALW DG ____
75	ACEDQNP_Y WRAYAD_LFT_PLTLLDLLALW DG ____

[0154]

76	AKEDQNDP_Y WARYADWLFTTPLLDDLALLV G _____
77	TEDADVLLALDLLLLPTTFLWDAYRAWYPNQECA
78	GGEQNPIY WARYADWLFTTPLLDDLALLV DADEGT
79	AEQNPIY WARYADWLFTTPL
80	AEQNPIY WARYADWLFTTPCL
81	ACEQNPIY WARYADWLFTTPL
82	ACEQNPIY FARYADWLFTTPL
83	ACDDQNP WRAYDLLFPTDTLLDLDLW
84	ACEEQNP WRAYLELLFPTETLLELLW
85	ACDDQNP WARYLDWLFPTDTLLDDL
86	CDNNNP WRAYDLLFPTDTLLLDW
87	ACEEQNP WARYLEWLFPTETLLEL
88	ACEDQNP WARYADWLFPTTLLLD
89	ACEEQNP WARYAEWLFPTTLLLE
90	ACEDQNP WARYADLLFPTTLAW
91	ACEDQNP WARYAELLFPTTLW
92	KEDQNP WARYADLLFPTTLW
93	DDDEDNP IYWARYAHWLFTTPLLHLHGALLVDADECT
94	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLHLHGALLVDADECT
95	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLHLHGALLVNADECT
96	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLHLHGALLVNANECT
97	DDDEDNPIYWARYADWLFTTPLLHLHGALLVDADECT
98	ACEQNPIYWARYADWLFTTPLLDDLALLVDADEGTG
99	ACEQNPIYWARYADWLFTTPLLDDLALLVDADET
100	ACEQNPIYWARYADWLFTTPLLDDLALLVDADEGT
101	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLDDLALLVDADEGTGCG
102	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLDDLALLVDADEGTGCG
103	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLDDLALLVDADEGTGCG
104	AAEQNPIYWARYAEWLFTTPLLDDLALLVDADEGTGCG
105	AAEQNPIYWARYAEWLFTTPLLLELALLVDADEGTGCG
106	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLDDLALLVDADEGTGCG
107	GGEQNPIYWAQYADWLFTTPLLDDLALLVDADEGTGCG
108	GGEQNPIYWAQDYADWLFTTPLLDDLALLVDADEGTGCG
109	AAEQNPIYWARYAADWLFTTPLLDDLALLVDADEGTGCG
110	ACEQNPIYWARYANWLFTTPLLDDLALLVDADEGTG
111	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLHLHGALLVNANECT

[0155]

112	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLHLGALLVNADECT
113	DDDEDNPIYWARYADWLFTTPLLHLGALLVDADECT
114	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLHLGALLVDADECT
115	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLHLGALLVDADECT
116	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLHLALLVNANQGT
117	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLHLALLVDADEGTCG
118	AAEQNPIYWARYAEWLFTTPLLHLALLVDADEGTCG
119	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLHLALLVDADEGTCG
120	GGEQNPIYWAQYADWLFTTPLLHLALLVDADEGTCG
121	GGEQNPIYWAQYADWLFTTPLLHLALLVDADEGTCG
122	GGEQNPIYWAQYADWLFTTPLLHLALLVDADEGTCG
123	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLHLALLVNANQGT
124	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLHLGALLVNADECT
125	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLHLGALLVNANECT
126	ACEQNPIYWARYAKWLFTTPLLHLALLVDADEGTCG
127	GGEQNPIYWAQYADWLFTTPLLHLALLVDADEGTCG
128	GGEQNPIYWAQYADWLFTTPLLHLALLVDADEGTCG
129	GGEQNPIYWAQYADWLFTTPLLHLALLVDADEGTCG
130	AAEQNPIYWARYAHLFTTPLLHLALLVDADEGTCG
131	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLHLALLVDADEGT
132	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLHLALLVDADEGTCG
133	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLHLALLVDADEGTCG
134	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLHLALLVDADEGT
135	AEQNPIYWARYAHLFTTPLLHLALLVDADEGTCG
136	GGEQNPIYWAQYADWLFTTPLLHLALLVDADEGTCG
137	GGEQNPIYWAQYADWLFTTPLLHLALLVDADEGTCG
138	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLHLALLVDADEGTCG
139	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLHLALLVDADEGTCG
140	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLHLALLVDADEGTCG EGTK(로타민)C(팔로이딘)G
141	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLHLALLVDADEGTCG
142	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLHLALLVDADEGTCG
143	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLHLALLVDADEGTC(팔로이딘)G
144	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLHLALLVDADEGTCG
145	ACEQNPIYWARYADWLFTTPLLHLALLVDADEGT
146	ACEQNPIYWARYADWLFTTPLLHLALLVDADEGT
147	ACEQNPIYWARYADWLFTTPLLHLALLVDADEGT

[0156]

148	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLALLVNANQGT
149	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLLHGALLVNADECT
150	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLLHGALLVNAECT
151	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLALLVDADEGTCG
152	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLALLVDADEGTC(팔로이딘)G
153	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLEALLVDADEGKCG
154	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLALLVDADEGKCG
155	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLLBGALLVDADECT
156	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLLDGALLVDADECT
157	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLLBGALLVNADECT
158	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLLBGALLVNAECT
159	DDDEDNPIYWARYADWLFTTPLLLIBGALLVDADECT
160	DDDEDNPIYWARYADWFTTPLLLHGALLVDADECT
161	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLLDGALLVDADECT
162	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLLHGALLVDADECT
163	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLLHGALLVNADECT
164	DDDEDNPIYWARYHWLFTTPLLLHGALLVNAECT
165	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLLHGALLVNAECT
166	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLLHGALLVNAECT
167	DDDEDNPIYWARYADWLFTTPLLLHGALLVDADECT
168	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLLHGALLVDADECT
169	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLLDGALLVDADECT
170	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLALLVNANQGT
171	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLLHGALLVNADECT
172	DDDEDNPIYWARYADWLFTTPLLLHGALLVDADECT
173	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLLHGALLVDADECT
174	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLLDGALLVDADECT
175	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLLHGALLVNAECT
176	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLLDGALLVDADECT
177	DDDEDNPIYWARYADWLFTTPLLLHGALLVDADECT
178	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLLHGALLVDADECT
179	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLLHGALLVNAECT
180	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLLHGALLVNAECT
181	AAEQNPIYWARYADWLFTGLLLDLALLVDADEGT
182	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLALLVDADEGTCG
183	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLALLVDADEGTCG

[0157]

184	GGEQNPIYWAQYDAWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
185	GGEQNPIYWAQDYAWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
186	AAEQNPIYWARYAAWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
187	GGEQNPIYWARYADWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
188	GGEQNPIYWARYADWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
189	GGEQNPIYWARYADWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
190	GGEQNPIYWARYADWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
191	GGEQNPIYWAQYADWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
192	GGEQNPIYWAQYDAWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
193	GGEQNPIYWAQDYAWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
194	GGEQNPIYWAQYDAWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
195	GGEQNPIYWAQDYAWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
196	GGEQNPIYWAQYADWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
197	AAEQNPIYWARYAAWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
198	GGEQNPIYWAQDYAWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
199	GGEQNPIYWAQYDAWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
200	GGEQNPIYWAQYADWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
201	AAEQNPIYWARYAAWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
202	AAEQNPIYWARYADWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
203	EGTK(리다린)C(팔로이딘)G
204	AAEQNPIYWARYADWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
205	ACEQNPIYWARYADWLFTPLLLDLALLVDADEGTG
206	AAEQNPIYWARYADWLFTPLLLDLALLVDADEGTC(팔로이딘)G
207	AAEQNPIYWARYADWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
208	AAEQNPIYWARYADWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
209	AAEQNPIYWARYADWLFTPLLLDLALLVDADEGT
210	AAEQNPIYWARYAAWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
211	GGEQNPIYWAQYDAWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
212	GGEQNPIYWAQDYAWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
213	GGEQNPIYWARYADWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
214	AAEQNPIYWARYAEWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
215	AAEQNPIYWARYAEWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
216	AAEQNPIYWARYADWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
217	AAEQNPIYWARYADWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
218	AAEQNPIYWARYAEWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
219	AAEQNPIYWARYADWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG

[0158]

220	ACEQNPIYWARYAKWLFTTPLLLKLALLVDADEGTG
221	ACEQNPIYWARYANWLFTTPLLLNLALLVDADEGTG
222	AAEQNPIYWARYADWLFTTALLLDLALLVDADEGT
223	AEQNPIYFARYADLLFPTTLAW
224	AEQNPIYWARYADLLFPTTLAF
225	AEQNPIYWARYADLLFPTTLAW
226	ACEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADET
227	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGT
228	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTGCG
229	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCKG
230	AKEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADECT
231	CCTCTTACCTCAGTTACA
232	D-Arg8 D-Arg8-CCTCTTACCTCAGTTACA
233	D-Lys4 D-Lys4-CCTCTTACCTCAGTTACA
234	S-S-CCTCTTACCTCAGTTACA
235	S-S-CCTCTGACCTCATTTACA
236	D-Arg8-Deca D-Arg8-Deca-CCTCTTACCTCAGTTACA
237	D-Arg8-Deca-미스매치 D-Arg8-Deca-CCTCTGACCTCATTTACA
238	S-S-CCTCTTACCTCAGTTACA
239	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTGCG
240	AEDQNPIYWARYDWLFTTPLLLLDLALLVDCG
241	AEDQNPIYWARYADWLFTTPLLLELALLVECG
242	AEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGCT
243	ACEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADET
244	AE-QN-PI YWARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGT-COOH
245	AEDQN-P- YWARYADWLFTTPLLLLDLALLV D---G--COOH
246	AEDQNDP-YWARYADWLFTTPLLLLDLALLV----G--COOH
247	AEQNPI YWARYADFLFTTPLLLLDLALLV DADET-COOH
248	AEQNPI YFARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADET-COOH
249	AEQNPI YFARYADFLFTTPLLLLDLALLW DADET-COOH
250	AE-QN-PI YWARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGCT-COOH
251	AEDQN-PI YWARYADWLFTTPLLLLDLALLV DC--G-T-COOH
252	AEDQNPI YWARYADWLFTTPLLLELALLV EC--G-T-COOH
253	퀵레이트-ACEEQNPWARYLEWLFPETLLEL
254	AEQNPIY WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGT-COOH
255	AKEDQNPI WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DG-COOH

[0159]

256	AKEDQNDPY WARYADWLFTTPLLLLDLALLV G-COOH
257	AEQNPI YWARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGC-비오틴-T-COO H
258	AEDQNP YWARYADWLFTTPLLLLDLALLV DC-비오틴-G-COOH
259	AEDQNP YWARYADWLFTTPLLLELALLV EC-비오틴-G-COOH
260	ACEQNPIY WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGT
261	ACEDQNPY WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DG
262	ACEDQNPY WRAYADLFTPLTLLDALLW DG
263	ACDDQNP WRAYDLLFPTDTLLLDLLW
264	WRAYLELLFPTETLLELLW
265	WARYLDWLFTDTLLLDL
266	WRAYDLLFPTDTLLLDW
267	WARYLEWLFTETLLEL
268	WAQYLELLFPTETLLEW
269	WRAYLELLFPTETLLEW
270	WARYADWLFTPLLLD
271	WARYAEWLFTPLLLLE
272	ACEDQNP WARYADLLFPTTLAW
273	ACEEQNP WARYAELLFPTTLAW
274	Ac-TEDAD VLLALDLLLLPTTFLWDAYRAW YPNQECA-Am
275	CDDDDDNPNY WARYANWLFTTPLLLNGALLV EAEET
276	CDDDDDNPNY WARYAPWLFTTPLLLPGALLV EAEET
277	Ac-AEQNPIY WARYADWLFTTPLLLDLALLVDADEGCT
278	Ac-AEQNPIY WARYADWLFTTPLLLDLALLVDADEGTG
279	ACEQNPIY WARYANWLFTTPLLLNLALLVDADEGT
280	Ac-AAEQNPIY WARYADWLFTTPLLLLELALLVDADEGTKCG
281	DDDEDNPIY WARYADWLFTTPLLLHGALLVDADET
282	CDDDEDNPIY WARYAHWLFTTPLLLHGALLVDADET
283	DDDEDNPIY WARYAHWLFTTPLLLHGALLVDADEGT
284	DDDEDNPIY WARYAHWLFTTPLLLHGALLVNADEGT
285	DDDEDNPIY WARYAHWLFTTPLLLHGALLVNANEGT
286	AKEDQNDPY WARYADWLFTTPLLLDLALLVG
287	AEDQNPY WARYADWLFTTPLLLELALLVCG
288	AKDDQNP WRAYDLLFPTDTLLLDLLWC
289	ACEEQNP WRAYLELLFPTETLLELLW
290	ACDDQNP WARYLDWLFTDTLLLDL
291	CDNNNP WRAYLDLLFPTDTLLLDW

292	CEEQPPWAQYLELLFPTETLLEW
293	EEQPPWRAYLELLFPTETLLEW
294	CDDDDDNPNY WARYANWLFTTPLLLNGALLVEAEET
295	CDDDDDNPNY WARYAPWLFTTPLLLPGALLVEAEE
296	AEQNPIY FARYADLLFPTTLAW
297	AEQNPIY WARYADLLFPTTLAF
298	AEQNPIY WARYADLLFPTTLAW
299	KEDQNP WARYADLLFPTTLW
300	ACEEQNPQAEYAEWLFTPLLLLE
301	AAEEQNP WARYLEWLFTETLLEL
302	AKEEQNP WARYLEWLFTETLLEL
303	AAEQNPIY WARYADWLFTTPLLLDLALLVDADEGTGG
304	XXEXNPIY WAXXXXLFTXXLLXXXALLVXAXXXTXG
305	DAAEQNPIY WARYADWLFTPLLLDLALLVDADEGTKGG
306	GGEQNPIY WARYADWLFTPLLLDLALLVDADEGTGG
307	XXEXNPIY WAXXXXLFTXXLLXXXALLVXAXXXTXG
308	DGGEQNDPIY WARYADWLFTPLLLDLALLVDADEGCTXGG
309	AAEQNPIY WARYADWLFTPLLLDLALLVDADEGTCG
310	AEDQNPY WARYDWLFTPLLLDLALLVDCG
311	GLAGLAGLLGLEGLGLPLGLEGLWLGLELEGN

본 발명에 유용한 언급된 임의의 펩티드는 비-시스테인 잔기를 시스테인으로 대체하거나, N-말단 또는 C-말단에 시스테인 잔기를 첨부함으로써 시스테인 잔기를 포함하도록 변형될 수 있다.

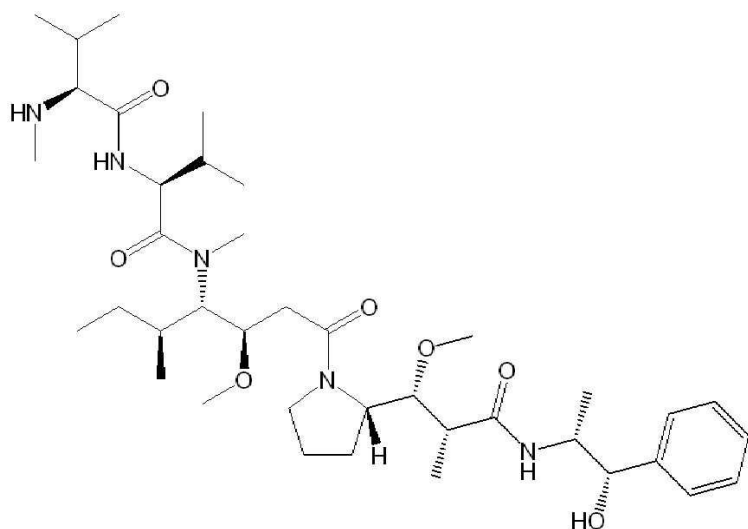
[0163] 일부 구체예들에서, 상기 R^1 의 펩티드는 입체형태학적으로 제한된 펩티드이다. 입체형태학적으로 제한된 펩티드에는 예를 들면, 거대고리의 펩티드 및 스테이플화된 펩티드가 내포될 수 있다. 스테이플화된 펩티드는 두 개의 아미노산 측쇄 사이의 공유 결합에 의해 구속되어, 펩티드 거대고리를 형성하는 펩티드이다. 입체형태학적으로 제한된 펩티드는 예를 들면, Guerlavais et al., Annual Reports in Medicinal Chemistry 2014, 49, 331-345; Chang et al., Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (2013), 110(36), E3445-E3454; Tesauro et al., Molecules 2019, 24, 351-377; Dougherty et al., Journal of Medicinal Chemistry (2019), 62(22), 10098-10107; 그리고 Dougherty et al., Chemical Reviews (2019), 119(17), 10241-10287, 이들 각각은 전문이 본원의 참고자료에 편입된다.

[0164] 일부 구체예들에서, R^1 은 10 내지 50개의 아미노산을 보유하는 펩티드이다. 일부 구체예들에서, R^1 은 20 내지 40개의 아미노산을 보유하는 펩티드이다. 일부 구체예들에서, R^1 은 20 내지 40개의 아미노산을 보유하는 펩티드이다. 일부 구체예들에서, R^1 은 10 내지 20개의 아미노산을 보유하는 펩티드이다. 일부 구체예들에서, R^1 은 20 내지 30개의 아미노산을 보유하는 펩티드이다. 일부 구체예들에서, R^1 은 30 내지 40개의 아미노산을 보유하는 펩티드이다.

[0165] 용어 "펩티드 튜블린 억제제" (가령, R^2)는 적어도 2개 아미노산을 포함하고, 튜블린 중합화의 억제제인 화합물들을 지칭한다. 일부 구체예들에서, 상기 펩티드 튜블린 억제제는 소분자 펩티드 튜블린 억제제이다. 일부 구체예들에서, 상기 펩티드 튜블린 억제제는 1500Da 미만이다. 일부 구체예들에서, 상기 펩티드 튜블린 억제제는 아우리스타틴 화합물, 돌라스타틴, 또는 튜부리신, 또는 이의 유도체들이다.

[0166] 적합한 아우리스타틴 화합물들 (가령, R^2)에는 항-튜블린 활성 (가령, 튜블린 중합화의 억제)을 나타내는 아우리스타틴 유도체들이 내포된다. 아우리스타틴 화합물들은 당업계에서 공지되어 있으며 항체-약물 접합체의 일부로 사용되어 왔다. 예를 들면, S.O. Doronina and P.D. Senter in Cytotoxic Payloads for Antibody-Drug Conjugates (Royal Society for Chemistry, 2019), Chapter 4: Auristatin Payloads for Antibody-Drug Conjugates, p73-99; N. Joubert, A. Beck, C. Dumontet, C. Denevault-Sabourin, Pharmaceuticals, 2020, 13, 245; J.D. Bargh, A. Isidrio-Llobet, J.S. Parker, D.R. Spring, Chem. Soc. Rev., 2019, 48, 4361-4374; 및 Kostova, V., Désos, P., Starck, J.-B., Kotschy, A., The Chemistry Behind ADCs, Pharmaceuticals 2021, 14, 442; Mckertish et al., Biomedicines, 2021, 9(8):872, pp. 1-25 참고하며, 이들 각각은 이의 전문이 참고자료에 편입되어 있다.

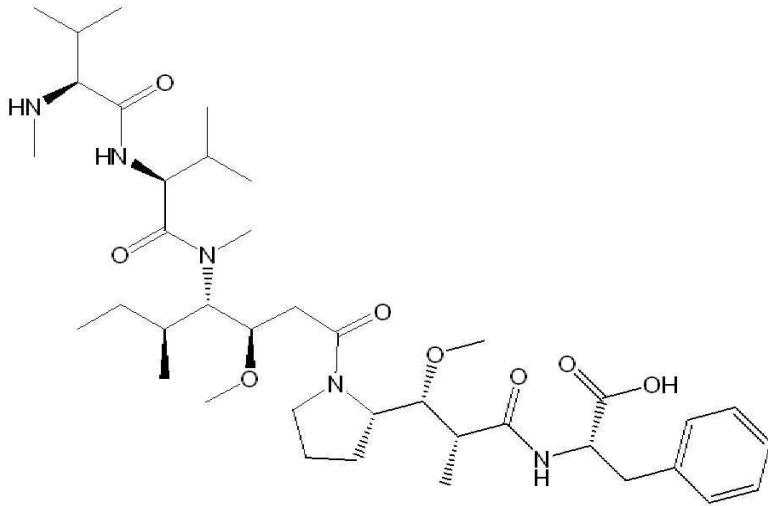
[0167] 일부 구체예들에서, 상기 아우리스타틴은 모노메틸 아우리스타틴이다. 아우리스타틴의 두 가지 주요 클래스가 있다: 모노메틸 아우리스타틴 E-유형 분자들 및 모노메틸 아우리스타틴 F 화합물들. 모노메틸 아우리스타틴 E의 구조는 하기에 나타낸다:



[0168]

[0169] 모노메틸 아우리스타틴 E는 "MMAE"로 또한 불릴 수 있다.

[0170] 모노메틸 아우리스타틴 F의 구조는 하기에 나타낸다:



[0171]

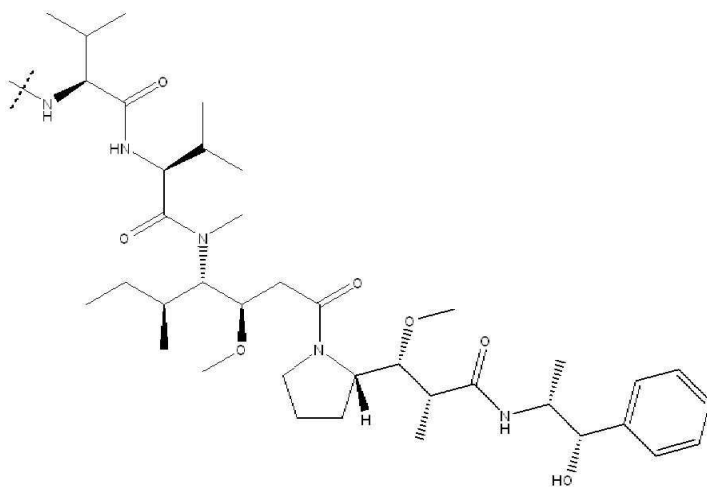
[0172] 모노메틸 아우리스타틴 F는 "MMAF"로 또한 지칭될 수 있다.

[0173] 일부 구체예들에서, R^2 는 모노메틸 아우리스타틴 화합물의 라디칼이다.

[0174] 일부 구체예들에서, R^2 는 모노메틸 아우리스타틴 E의 라디칼이다.

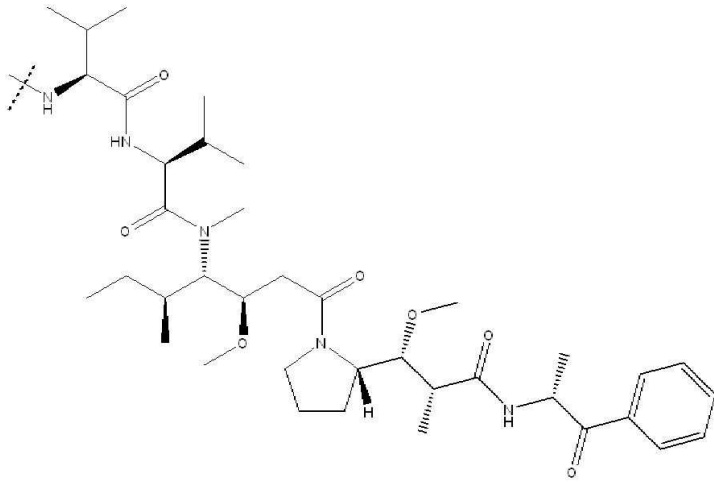
[0175] 일부 구체예들에서, R^2 는 모노메틸 아우리스타틴 F의 라디칼이다.

[0176] 일부 구체예들에서, R^2 는 다음 구조를 갖는다:



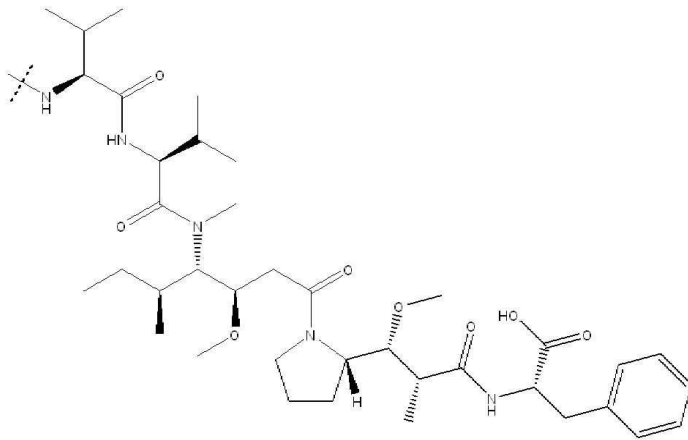
[0177]

[0178] 일부 구체예들에서, R^2 는 다음 구조를 갖는다:



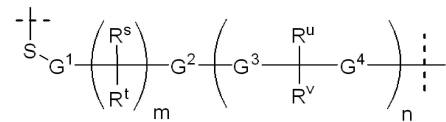
[0179]

[0180] 일부 구체예들에서, R^2 는 다음 구조를 갖는다:



[0181]

[0182] 일부 구체예들에서, L은 R^1 과 R^2 를 공유적으로 연결시키는 연계 모이어티이며, 이를 떼면, 병든 조직의 세포 내부와 같은 산성 또는 저산소성 조직 근처에 R^2 를 함유하는 모이어티를 방출시키는 기능을 한다.



[0183]

일부 구체예들에서, L은 다음의 구조를 갖는 링커이다:

[0199] 일부 구체예들에서, G^2 는 $-OC(O)-$ 및 $-OC(O)NR^G-$ 로부터 선택된다.

[0200] 일부 구체예들에서, G^2 는 $-OC(O)-$ 이다.

[0201] 일부 구체예들에서, G^3 는 C_{6-10} 아릴 및 5-14개 구성원의 헤테로아릴로부터 선택된다.

[0202] 일부 구체예들에서, G^3 는 C_{6-10} 아릴이다.

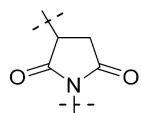
[0203] 일부 구체예들에서, G^3 는 페닐이다.

[0204] 일부 구체예들에서, R^u 및 R^v 는 각각 H이다.

[0205] 일부 구체예들에서, G^4 는 $-OC(O)-$ 이다.

[0206] 일부 구체예들에서, G^5 는 4-14개 구성원의 헤테로사이클로알킬이며, 이때 G^5 의 전술한 4-14개 구성원의 헤테로사이클로알킬은 할로, C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, C_{1-6} 할로알킬, CN, NO_2 , OR^a , SR^a , $C(O)R^b$, $C(O)NR^cR^d$, $C(O)OR^a$, $OC(O)R^b$, $OC(O)NR^cR^d$, $C(=NR^e)NR^cR^d$, $NR^cC(=NR^e)NR^cR^d$, NR^cR^d , $NR^cC(O)R^b$, $NR^cC(O)OR^a$, $NR^cC(O)NR^cR^d$, $NR^cS(O)R^b$, $NR^cS(O)_2R^b$, $NR^cS(O)_2NR^cR^d$, $S(O)R^b$, $S(O)NR^cR^d$, $S(O)_2R^b$, 및 $S(O)_2NR^cR^d$ 로부터 독립적으로 치환된 1개, 2개, 3개, 4개, 또는 5개의 치환체로 각각 임의선택적으로 치환되며, 이때 G^5 의 전술한 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, 및 C_{2-6} 알키닐 치환체는 CN, NO_2 , OR^a , SR^a , $C(O)R^b$, $C(O)NR^cR^d$, $C(O)OR^a$, $OC(O)R^b$, $OC(O)NR^cR^d$, $C(=NR^e)NR^cR^d$, $NR^cC(=NR^e)NR^cR^d$, NR^cR^d , $NR^cC(O)R^b$, $NR^cC(O)OR^a$, $NR^cC(O)NR^cR^d$, $NR^cS(O)R^b$, $NR^cS(O)_2R^b$, $NR^cS(O)_2NR^cR^d$, $S(O)R^b$, $S(O)NR^cR^d$, $S(O)_2R^b$, 및 $S(O)_2NR^cR^d$ 로부터 독립적으로 치환된 1개, 2개, 또는 3개의 치환체로 임의선택적으로 치환된다.

[0207] 일부 구체예들에서, G^5 는 다음의 그룹이다:



[0208]

[0209] 일부 구체예들에서, G^6 는 $-NR^G C(O)-$ 이다.

[0210] 일부 구체예들에서, G^7 는 $-NR^G C(O)-$ 이다.

[0211] 일부 구체예들에서, n은 0이다. 일부 구체예들에서, n은 1이다.

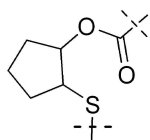
[0212] 일부 구체예들에서, o는 0이다. 일부 구체예들에서, o는 1이다.

[0213] 일부 구체예들에서, p는 2, 3, 4, 또는 5이다. 일부 구체예들에서, p는 3, 4, 또는 5이다. 일부 구체예들에서, p는 3이다. 일부 구체예들에서, p는 4이다. 일부 구체예들에서, p는 5이다.

[0214] 일부 구체예들에서, q는 0이다. 일부 구체예들에서, q는 1이다.

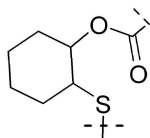
[0215] 일부 구체예들에서, 각 R^G 는 H 및 메틸로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구체예들에서, 각각 R^G 는 H이다. 일부 구체예들에서, 각각 R^G 는 메틸이다.

[0216] 일부 구체예들에서, L은 다음의 구조를 갖는다:



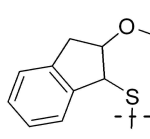
[0217]

[0218] 일부 구체예들에서, L은 다음의 구조를 갖는다:



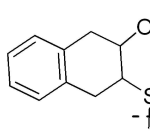
[0219]

[0220] 일부 구체예들에서, L은 다음의 구조를 갖는다:



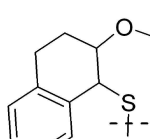
[0221]

[0222] 일부 구체예들에서, L은 다음의 구조를 갖는다:



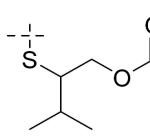
[0223]

[0224] 일부 구체예들에서, L은 다음의 구조를 갖는다:



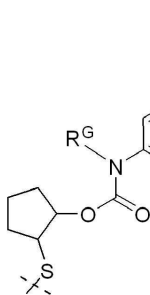
[0225]

[0226] 일부 구체예들에서, L은 다음의 구조를 갖는다:



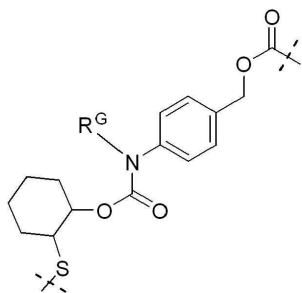
[0227]

[0228] 일부 구체예들에서, L은 다음의 구조를 갖는다:



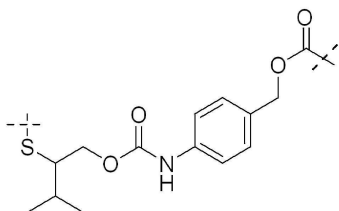
[0229]

[0230] 일부 구체예들에서, L은 다음의 구조를 갖는다:



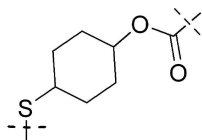
[0231]

일부 구체예들에서, L은 다음의 구조를 갖는다:



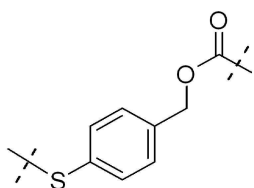
[0233]

일부 구체예들에서, L은 다음의 구조를 갖는다:



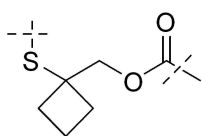
[0235]

일부 구체예들에서, L은 다음의 구조를 갖는다:



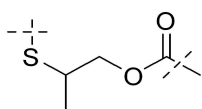
[0237]

일부 구체예들에서, L은 다음의 구조를 갖는다:



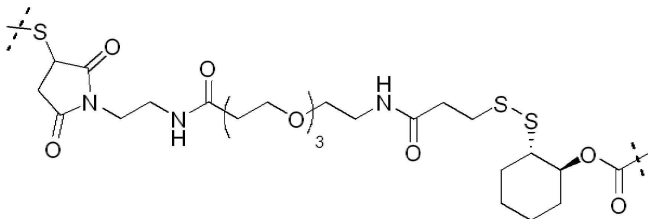
[0239]

일부 구체예들에서, L은 다음의 구조를 갖는다:



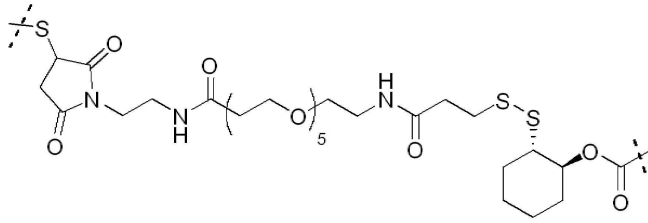
[0241]

일부 구체예들에서, L은 다음의 구조를 갖는다:



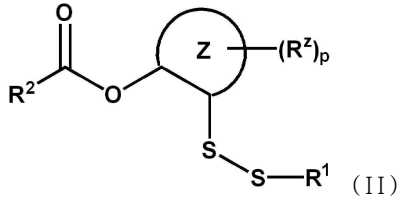
[0243]

일부 구체예들에서, L은 다음의 구조를 갖는다:



[0245]

[0246] 일부 구체예들에서, 본 발명의 화합물은 화학식 (II)의 화합물:



[0247]

[0248] 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염이며, 이때:

[0249] R^1 은 펩티드이며;

[0250] R^2 는 펩티드 튜블린 억제제의 라디칼이며;

[0251] 고리 Z는 단환식 C_{5-7} 사이클로알킬 고리 또는 단환식 5-7개 구성원의 헤테로사이클로알킬 고리이며;

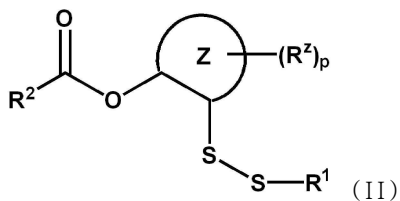
[0252] 각 R^Z 는 할로, C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, C_{1-6} 할로알킬, CN, NO_2 , OR^a , SR^a , $C(O)R^b$, $C(O)NR^cR^d$, $C(O)OR^a$, $OC(O)R^b$, $OC(O)NR^cR^d$, NR^cR^d , $NR^cC(O)R^b$, $NR^cC(O)OR^a$, 및 $NR^cC(O)NR^cR^d$ 로부터 독립적으로 선택되며;

[0253] 또는 2개의 인접 R^Z 는 이들이 부착되어 있는 원자들과 함께, 융합된 단환식 C_{5-7} 사이클로알킬 고리, 융합된 단환식 5-7개 구성원의 헤테로사이클로알킬 고리, 융합된 C_{6-10} 아릴 고리, 또는 융합된 6-10개 구성원의 헤테로아릴 고리를 형성하며, 이들 각각은 C_{1-6} 알킬, 할로, CN, NO_2 , OR^a , SR^a , $C(O)R^b$, $C(O)NR^cR^d$, $C(O)OR^a$, $OC(O)R^b$, $OC(O)NR^cR^d$, NR^cR^d , $NR^cC(O)R^b$, $NR^cC(O)OR^a$, 및 $NR^cC(O)NR^cR^d$ 로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 또는 3개 치환체로 임의선택적으로 치환되며;

[0254] R^a , R^b , R^c , 및 R^d 는 각각 H, C_{1-4} 알킬, C_{2-4} 알케닐, C_{2-4} 알키닐로부터 독립적으로 선택되며, 각각은 할로, OH, CN, 및 NO_2 로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 또는 3개 치환체로 임의선택적으로 치환되며; 그리고

[0255] p는 0, 1, 2, 또는 3이다.

[0256] 일부 구체예들에서, 본 발명의 화합물은 화학식 (II)의 화합물:



[0257]

[0258] 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염이며, 이때:

[0259] R^1 은 펩티드이며;

[0260] R^2 은 아우리스타틴 화합물의 라디칼이며;

[0261] 고리 Z는 단환식 C_{5-7} 사이클로알킬 고리 또는 단환식 5-7개 구성원의 헤테로사이클로알킬 고리이며;

[0262] 각 R^Z 는 할로, C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, C_{1-6} 할로알킬, CN, NO_2 , OR^a , SR^a , $C(O)R^b$, $C(O)NR^cR^d$, $C(O)OR^a$, $OC(O)R^b$, $OC(O)NR^cR^d$, NR^cR^d , $NR^cC(O)R^b$, $NR^cC(O)OR^a$, 및 $NR^cC(O)NR^dR^e$ 로부터 독립적으로 선택되며;

[0263] 또는 2개의 인접 R^Z 는 이들이 부착되어 있는 원자들과 함께, 융합된 단환식 C_{5-7} 사이클로알킬 고리, 융합된 단환식 5-7개 구성원의 헤테로사이클로알킬 고리, 융합된 C_{6-10} 아릴 고리, 또는 융합된 6-10개 구성원의 헤테로아릴 고리를 형성하며, 이들 각각은 C_{1-6} 알킬, 할로, CN, NO_2 , OR^a , SR^a , $C(O)R^b$, $C(O)NR^cR^d$, $C(O)OR^a$, $OC(O)R^b$, $OC(O)NR^cR^d$, NR^cR^d , $NR^cC(O)R^b$, $NR^cC(O)OR^a$, 및 $NR^cC(O)NR^dR^e$ 로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 또는 3개 치환체로 임의선택적으로 치환되며;

[0264] R^a , R^b , R^c , 및 R^d 는 각각 H, C_{1-4} 알킬, C_{2-4} 알케닐, C_{2-4} 알키닐로부터 독립적으로 선택되며, 각각은 할로, OH, CN, 및 NO_2 로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 또는 3개 치환체로 임의선택적으로 치환되며; 그리고

[0265] p는 0, 1, 2, 또는 3이다.

[0266] 화학식 (II)의 화합물들의 일부 구체예들에서, R^1 은 서열 식별 번호:1, 서열 식별 번호: 2, 또는 서열 식별 번호: 3의 서열이다.

[0267] 화학식 (II)의 화합물들의 일부 구체예들에서, R^1 은 Pv1, Pv2, 또는 Pv3이다.

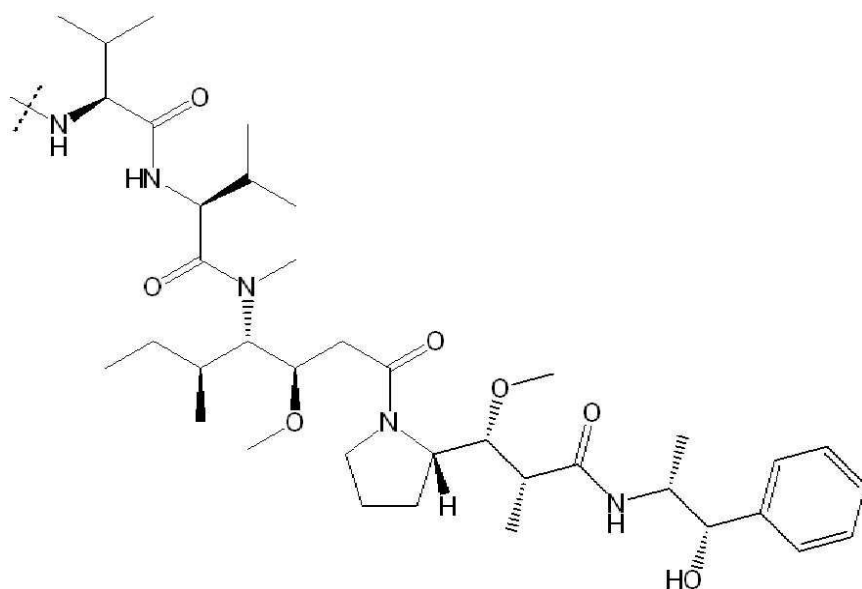
[0268] 화학식 (II)의 화합물들의 일부 구체예들에서, R^1 은 R^1 의 시스테인 잔기를 통하여 코어에 부착되며, 이때 화학식 II의 이황화물 모이어티의 황 원자들 중 하나는 상기 시스테인 잔기로부터 파생된다.

[0269] 화학식 (II)의 화합물들의 일부 구체예들에서, R^2 는 모노메틸 아우리스타틴 화합물의 라디칼이다.

[0270] 화학식 (II)의 화합물들의 일부 구체예들에서, R^2 는 모노메틸 아우리스타틴 E의 라디칼이다.

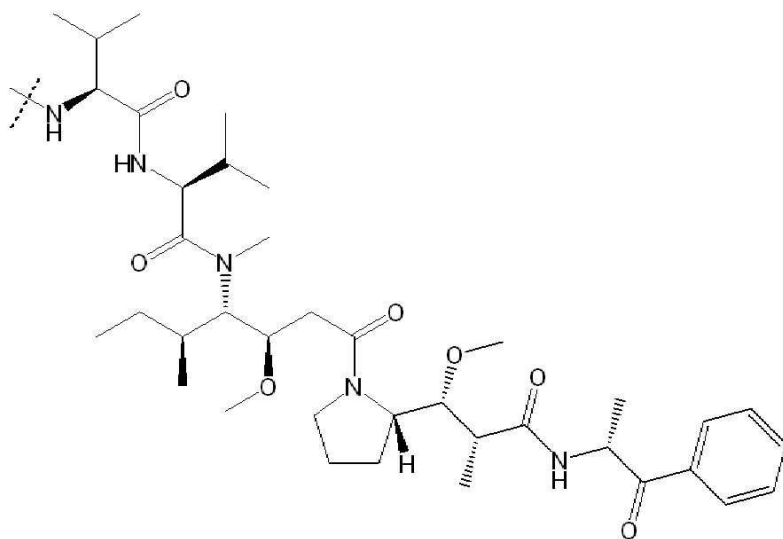
[0271] 화학식 (II)의 화합물들의 일부 구체예들에서, R^2 는 모노메틸 아우리스타틴 F의 라디칼이다.

[0272] 화학식 (II)의 화합물들의 일부 구체예들에서, R^2 는 다음의 구조를 갖는다:



[0273]

[0274] 화학식 (II)의 화합물들의 일부 구체예들에서, R^2 는 다음의 구조를 갖는다:



[0275]

[0276]

[0277]

[0278]

[0279]

화학식 (II)의 화합물들의 일부 구체예들에서, 고리 Z는 단환식 C₅₋₇ 사이클로알킬 고리이다.

화학식 (II)의 화합물들의 일부 구체예들에서, 고리 Z는 시클로펜틸고리이다.

화학식 (II)의 화합물들의 일부 구체예들에서, 고리 Z는 시클로헥실 고리이다.

화학식 (II)의 화합물들의 일부 구체예들에서, 2개의 인접 R^Z는 이들이 부착되어 있는 원자들과 함께, 융합된 단환식 C₅₋₇ 사이클로알킬 고리, 융합된 단환식 5-7개 구성원의 헤테로사이클로알킬 고리, 융합된 C₆₋₁₀ 아릴 고리, 또는 융합된 6-10개 구성원의 헤테로아릴 고리를 형성하고, 이들 각각은 C₁₋₄ 알킬, 할로, CN, NO₂, OR^a, SR^a, C(O)R^b, C(O)NR^cR^d, C(O)OR^a, OC(O)R^b, OC(O)NR^cR^d, NR^cR^d, NR^cC(O)R^b, NR^cC(O)OR^a, 및 NR^cC(O)NR^dR^d로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 또는 3개 치환체로 임의선택적으로 치환된다.

[0280]

[0281]

[0282]

[0283]

[0284]

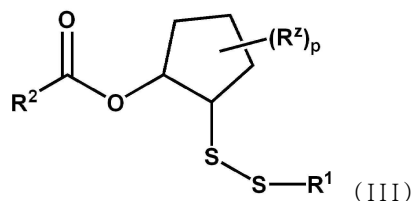
화학식 (II)의 화합물들의 일부 구체예들에서, p는 0이다.

화학식 (II)의 화합물들의 일부 구체예들에서, p는 1이다.

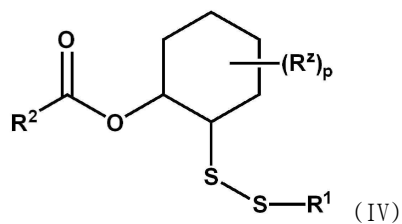
화학식 (II)의 화합물들의 일부 구체예들에서, p는 2이다.

화학식 (II)의 화합물들의 일부 구체예들에서, p는 3이다.

일부 구체예들에서, 본 발명의 화합물은 화학식 (III) 또는 화학식 (IV)의 화합물:



[0285]



[0286]

[0287]

[0288]

또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염이며, 이때 R¹, R², R^Z, 및 p는 본원에서 정의된 바와 같다.

화학식 (III) 및 화학식 (IV)의 화합물들의 일부 구체예들에서, R¹은 서열 식별 번호:1, 서열 식별 번호: 2, 또는 서열 식별 번호: 3의 서열이다.

[0289] 화학식 (III) 및 화학식 (IV)의 화합물들의 일부 구체예들에서, R^1 은 Pv1, Pv2, 또는 Pv3이다.

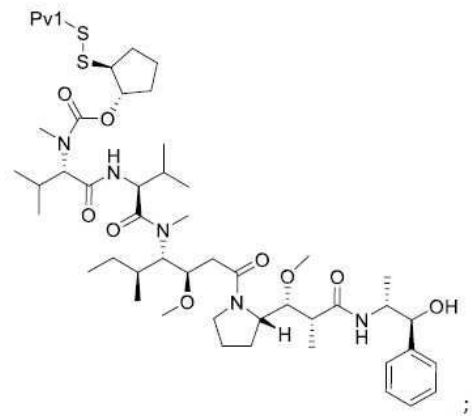
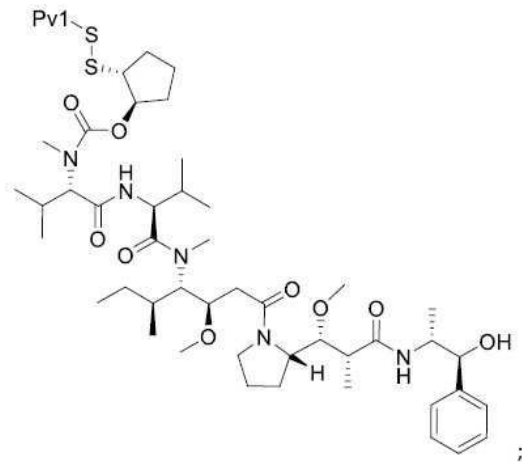
[0290] 화학식 (III) 및 화학식 (IV)의 화합물들의 일부 구체예들에서, R^1 은 R^1 의 시스테인 잔기를 통하여 코어에 부착되며, 이때 화학식 (III) 및 화학식 (IV)의 이황화물 모이어티의 황 원자들 중 하나는 상기 시스테인 잔기로부터 파생된다.

[0291] 화학식 (III) 및 화학식 (IV)의 화합물들의 일부 구체예들에서, R^2 은 모노메틸 아우리스타틴 화합물의 라디칼이다.

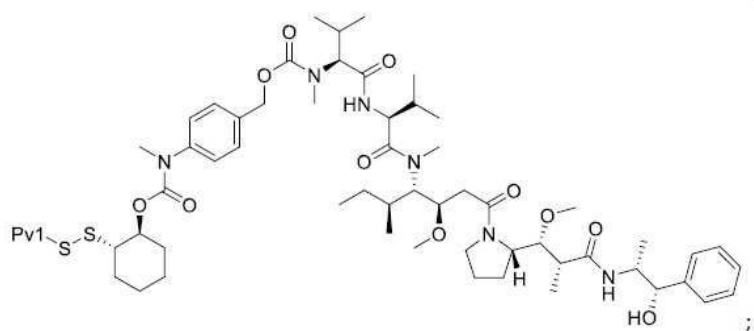
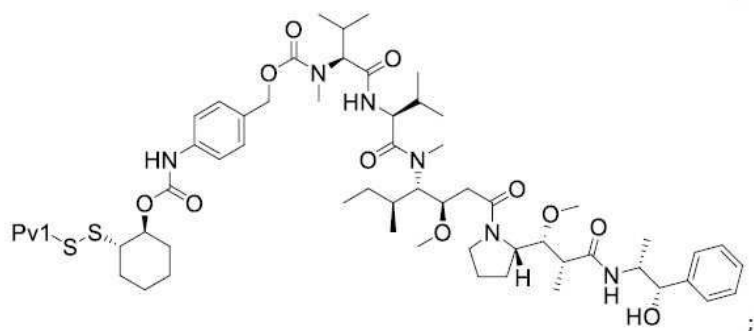
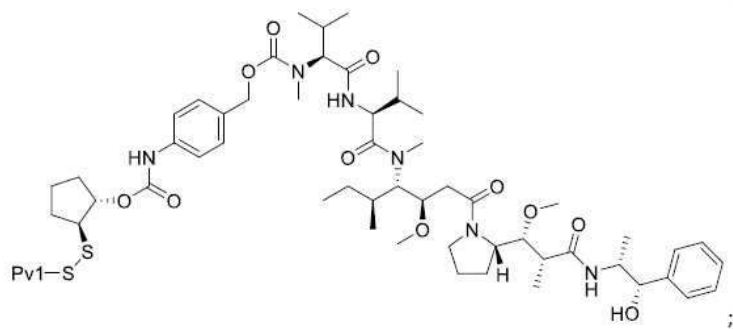
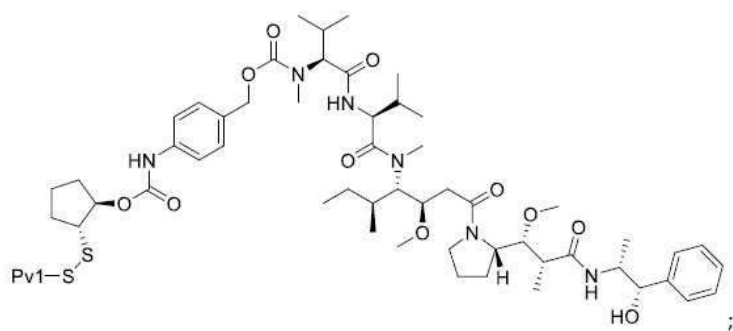
[0292] 화학식 (III) 및 화학식 (IV)의 화합물들의 일부 구체예들에서, R^2 는 모노메틸 아우리스타틴 E의 라디칼이다.

[0293] 화학식 (III) 및 화학식 (IV)의 화합물들의 일부 구체예들에서, R^2 는 모노메틸 아우리스타틴 F의 라디칼이다.

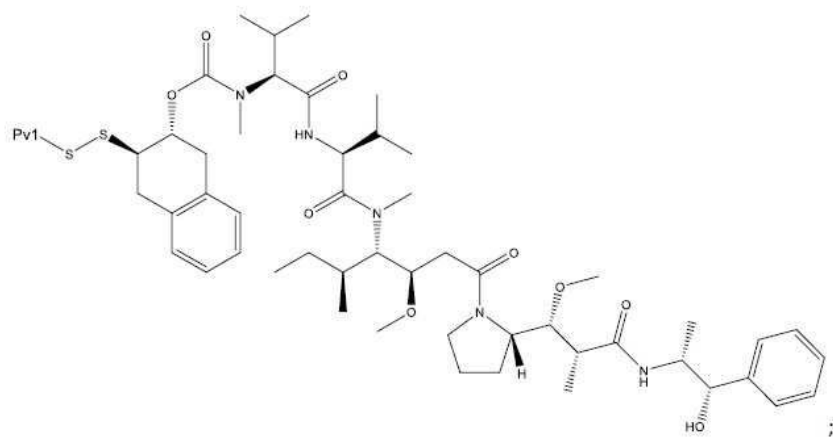
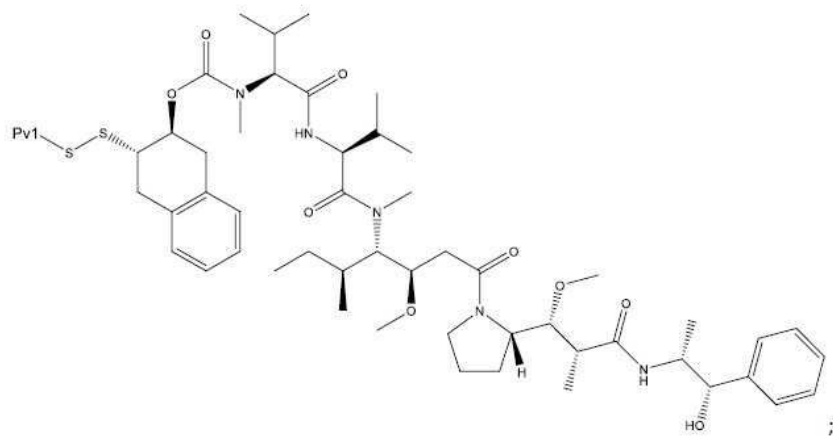
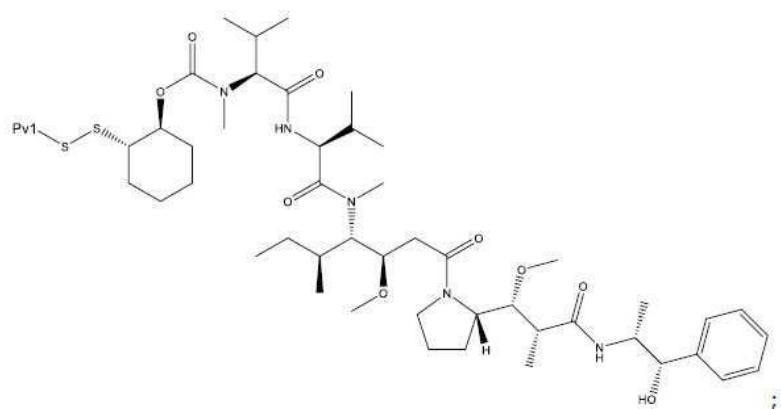
[0294] 일부 구체예들에서, 상기 화학식 (I)의 화합물은



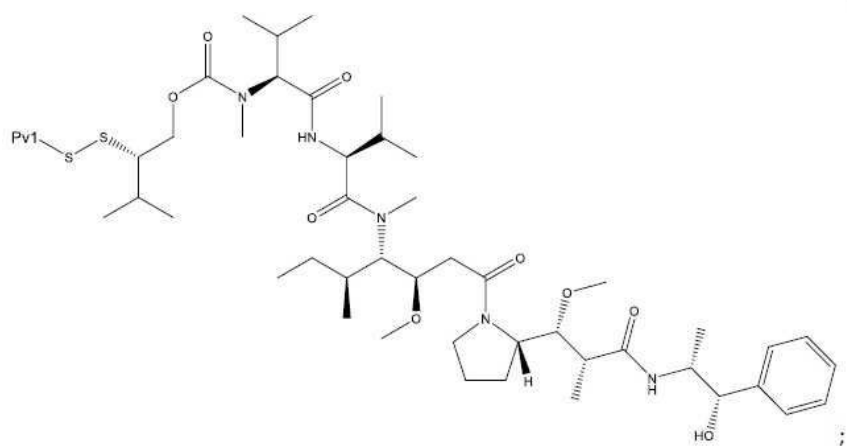
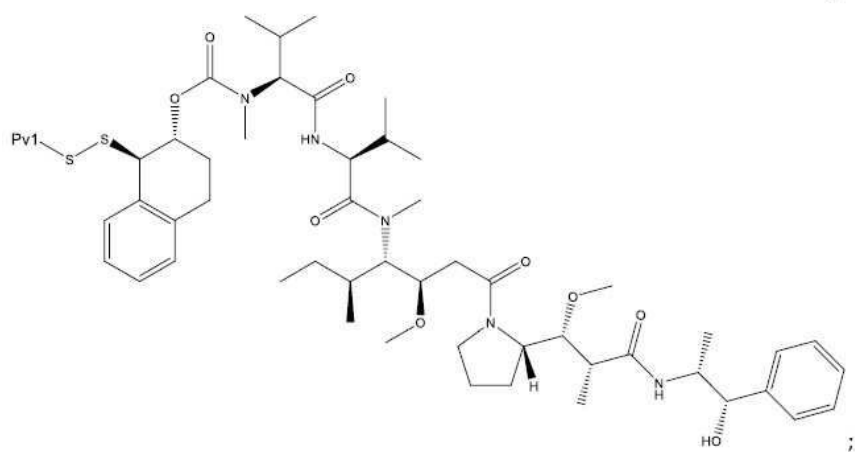
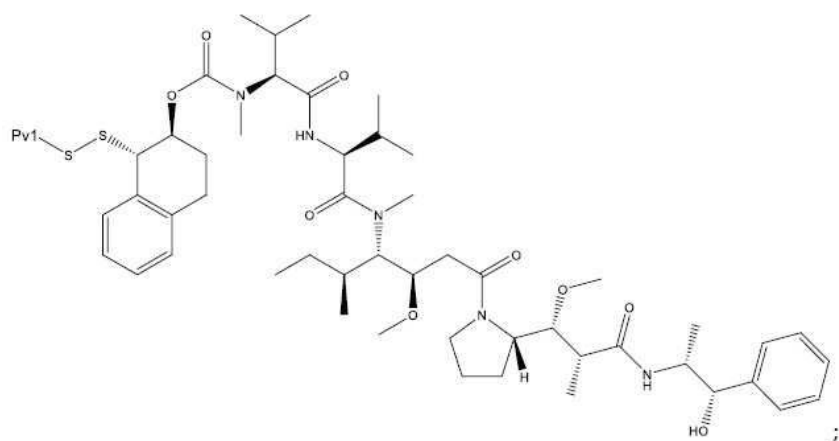
[0295]



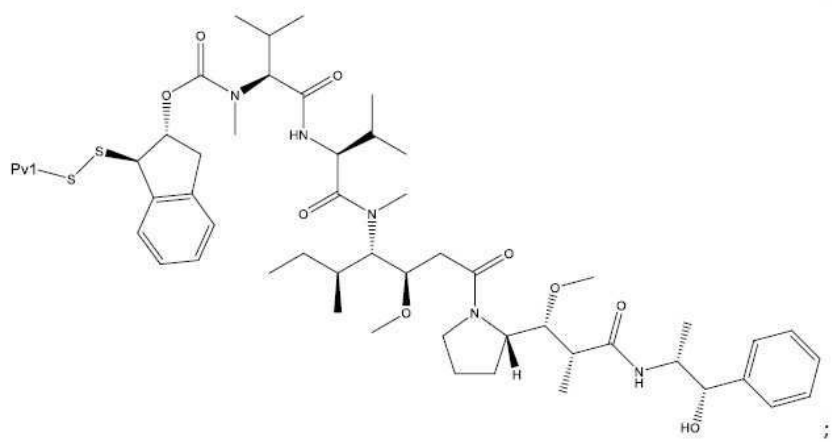
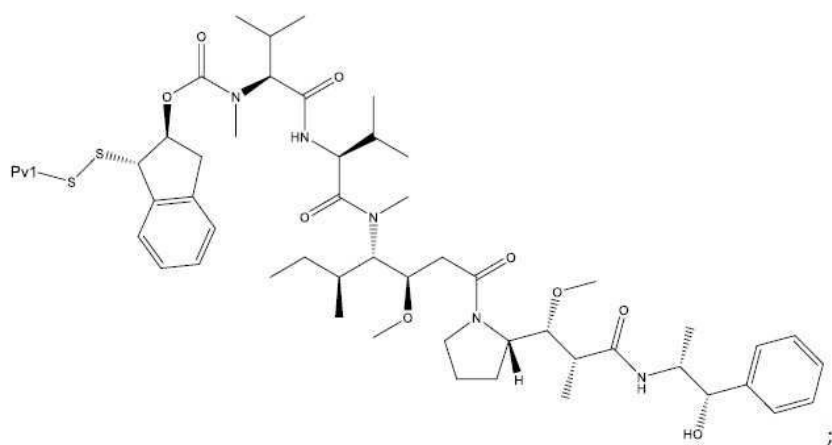
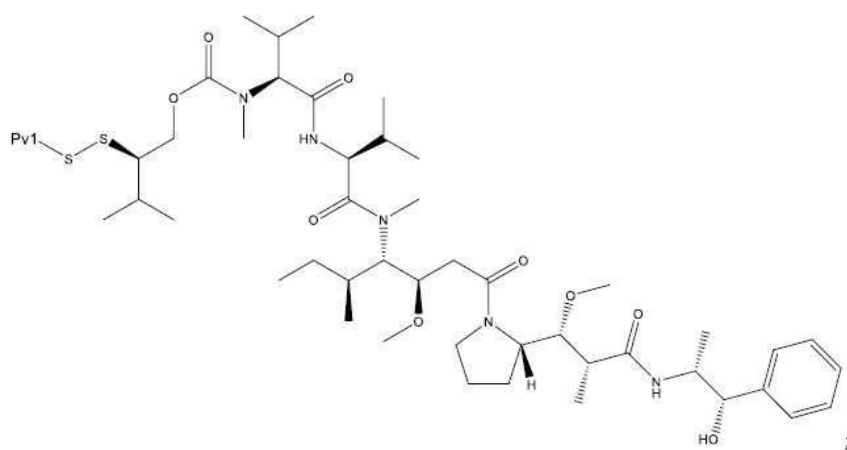
[0296]



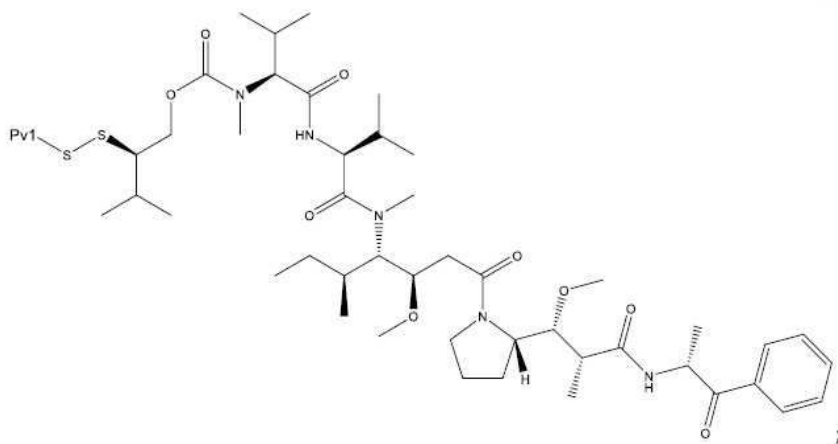
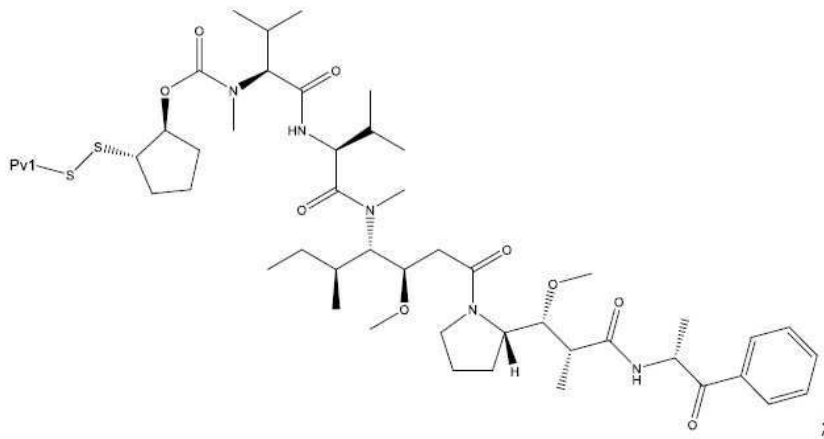
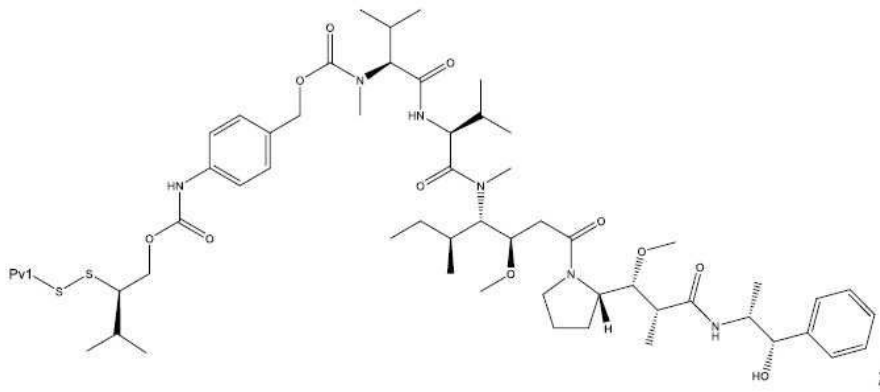
[0297]



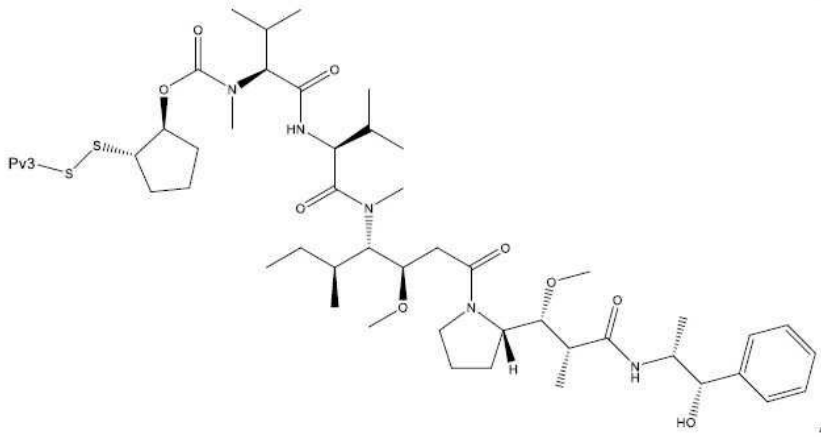
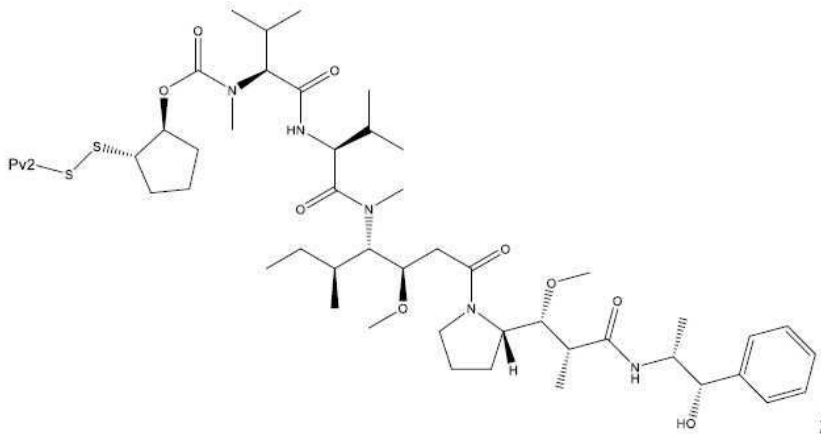
[0298]



[0299]



[0300]



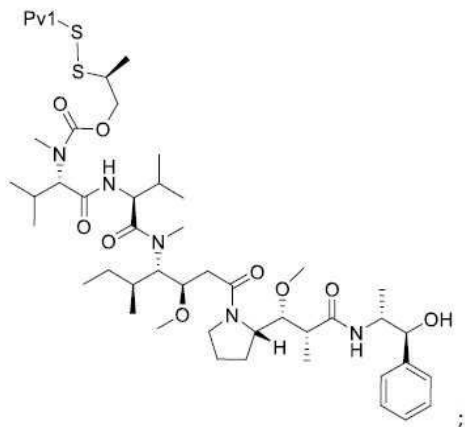
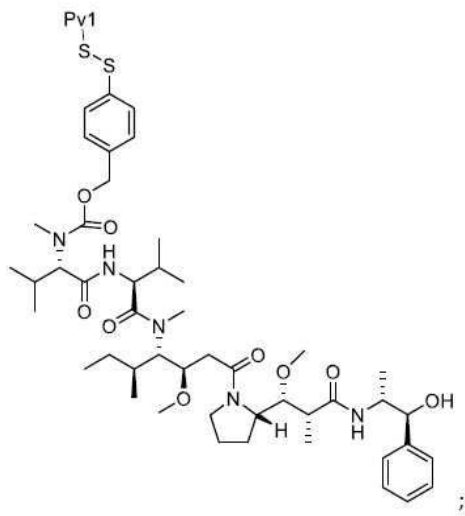
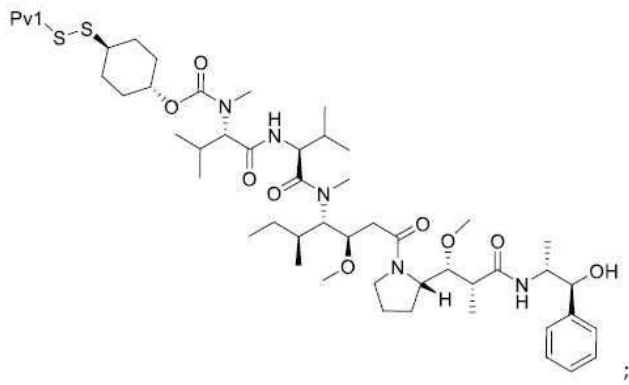
[0301]

[0302] 또는 전술한 것들 중 임의의 화합물의 약제학적으로 수용가능한 염으로부터 선택되며, 이때: Pv1은 서열: ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG (서열 식별 번호:1)이며;

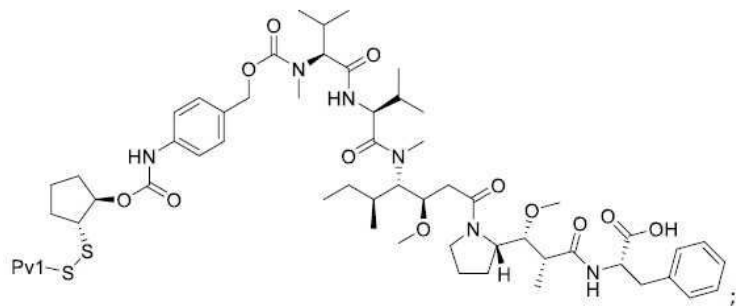
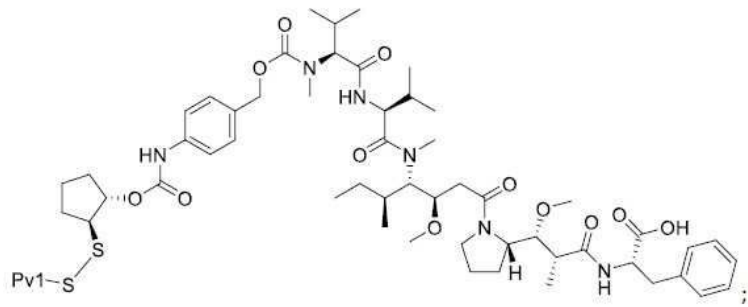
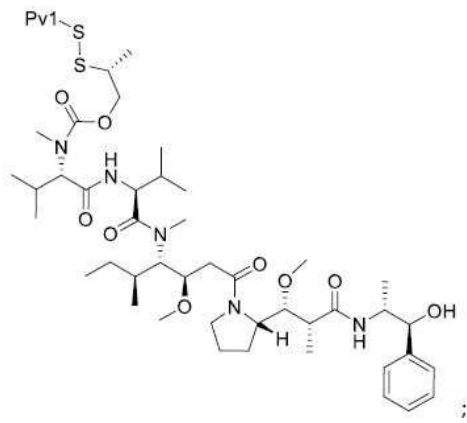
[0303] Pv2는 서열: AEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLALLVDADECG (서열 식별 번호:2)이며; 그리고

[0304] Pv3은 서열:ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG (서열 식별 번호:3)이다.

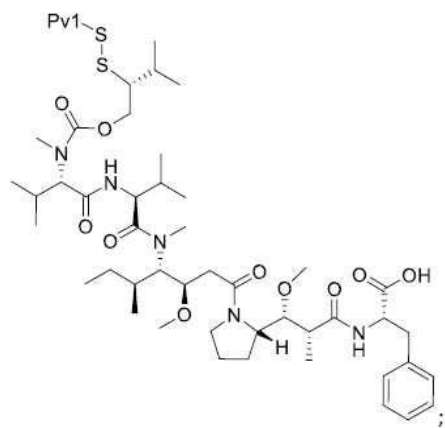
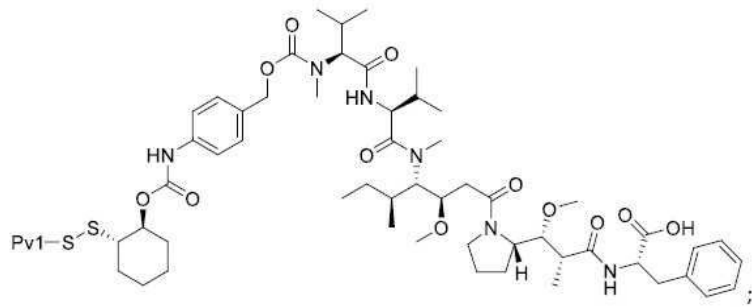
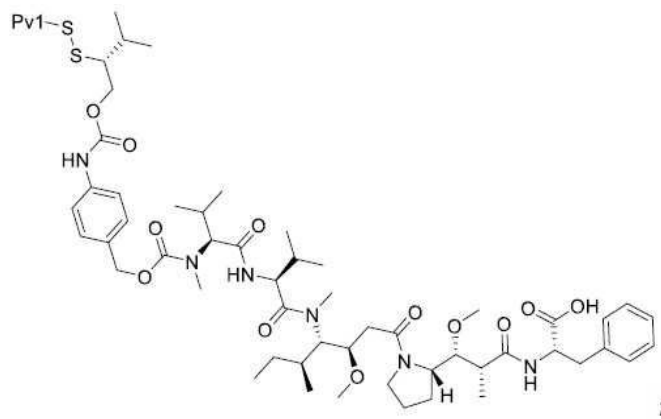
[0305] 일부 구체예들에서, 상기 화학식 (I)의 화합물은



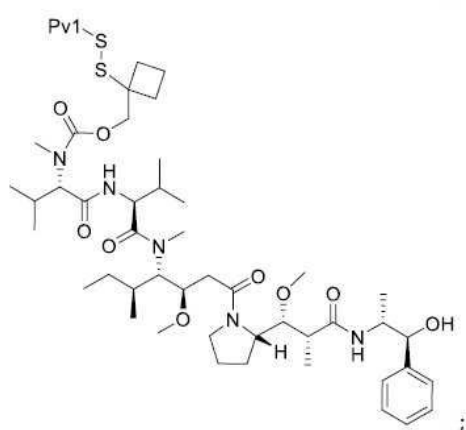
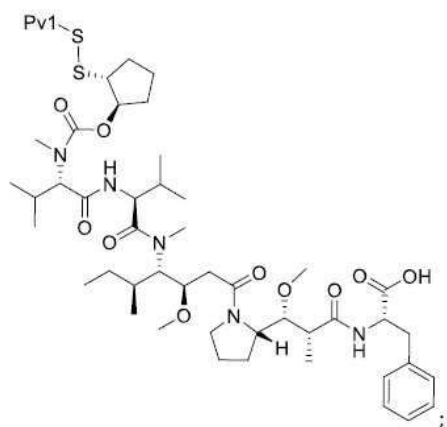
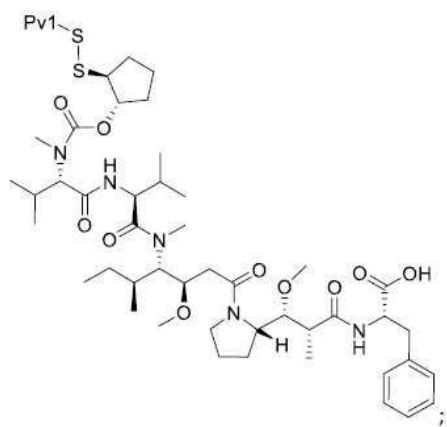
[0306]



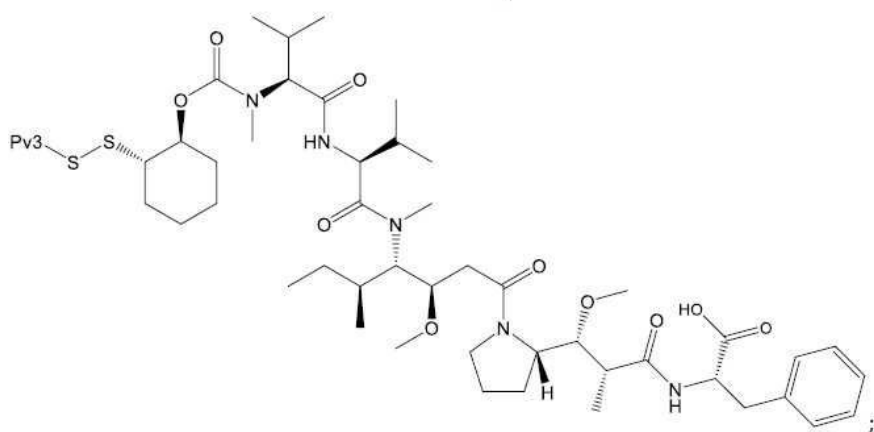
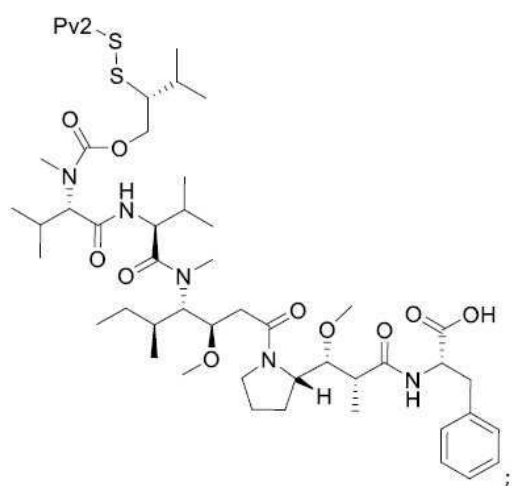
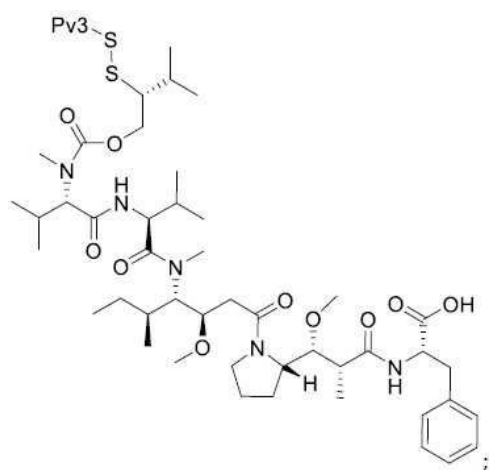
[0307]



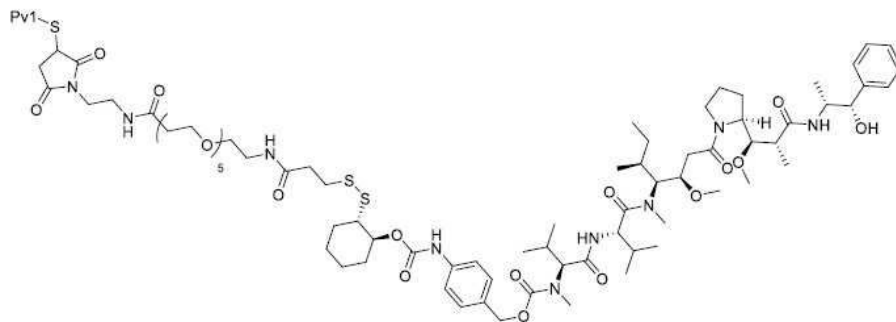
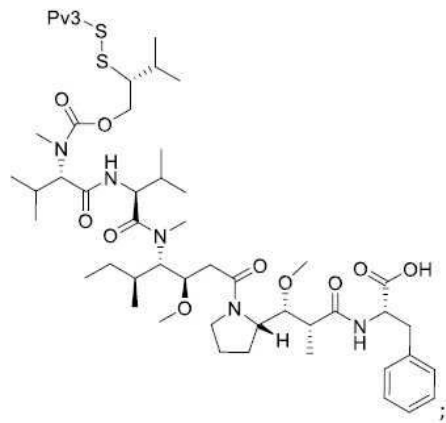
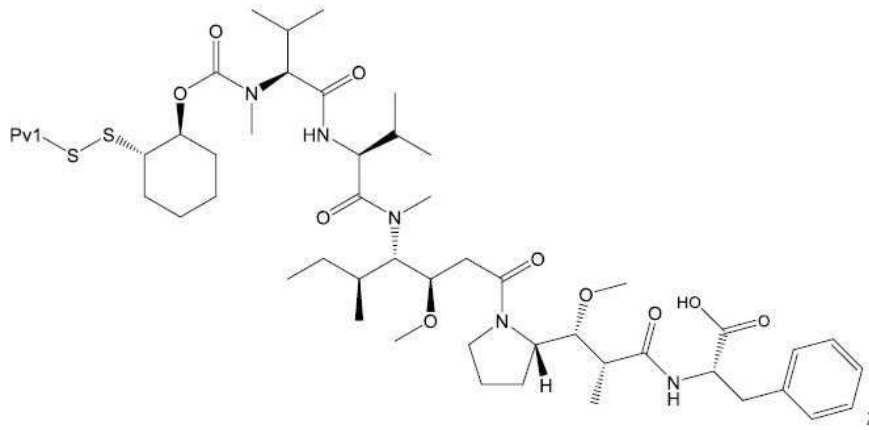
[0308]



[0309]

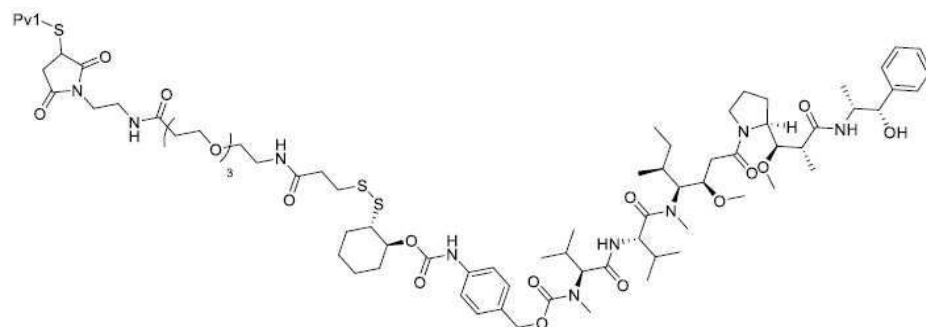


[0310]



[0311]

;



[0312]

;

[0313] 또는 전술한 것들 중 임의의 화합물의 약제학적으로 수용가능한 염에서 선택되며, 이때:

[0314] Pv1은 서열: ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLDLLWCG (서열 식별 번호:1)이며;

[0315] Pv2는 서열: AEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLALLVDADECG (서열 식별 번호:2)이며; 그리고

[0316] Pv3은 서열: ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLDLLWDADECG (서열 식별 번호:3)이다.

[0317] 본 발명의 분자들은 예를 들면, 프로브 이를 테면, 형광단, 방사능동위원소, 및 이와 유사한 것들로 태그될 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 프로브는 형광 프로브, 이를 테면, LICOR이다. 형광 프로브에는 광 여기

(excitation)시, 빛을 다시 방출할 수 있는 임의의 모이어티(가령, 형광단)이 내포될 수 있다.

- [0318] 상기 아미노산은 다음과 같이 IUPAC 약어로 표시된다: 알라닌(Ala; A), 아르기닌(Arg; R), 아스파라긴(Asn; N), 아스파르트산(Asp; D), 시스테인(Cys; C), 글루타민(Gln; Q), 글루탐산(Glu; E), 글리신(Gly; G), 히스티딘(His; H), 이소류신(Ile; I), 류신(Leu; L), 리신(Lys; K), 메티오닌(Met; M), 페닐알라닌(Phe; F), 프롤린(Pro; P), 세린(Ser; S), 트레오닌(Thr; T), 트립토판(Trp; W), 티로신(Tyr; Y), 발린(Val; V).
- [0319] 용어 "Pv1"은 ADDQNPNRAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG를 의미하고, 이는 서열 식별 번호. 1의 펩티드이다.
- [0320] 용어 "Pv2"는 AEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLALLVDADECG를 의미하고, 이는 서열 식별 번호. 2의 펩티드이다.
- [0321] 용어 "Pv3"은 ADDQNPNRAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG를 의미하고, 이는 서열 식별 번호. 3의 펩티드이다.
- [0322] 용어 "Pv4"는 Ac-AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLALLVDADEGTCG를 의미하고, 이는 서열 식별 번호. 4의 펩티드이다.
- [0323] 용어 "Pv5"는 AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLALLVDADEGTC를 의미하고, 이는 서열 식별 번호. 5의 펩티드이다.
- [0324] 용어 "Pv6"은 AAEQNPIYWWARYADWLFTTPLLLDLALLVDADEGTCG를 의미하고, 이는 서열 식별 번호. 6 펩티드이다. 본 발명의 화합물들에서, 상기 펩티드 R¹은 시스테인 모이어티에 의해 이황화물 링커에 부착된다.
- [0325] 용어 "산성 및/또는 저산소증의 맨틀"이란 pH가 7.0 미만, 바람직하게는 6.5 미만인 문제의 병든 조직 내 세포 환경을 의미한다. 산성 또는 저산소성 맨틀은 더욱 바람직하게는 pH 약 5.5를 가지며, 가장 바람직하게는 pH 약 5.0을 가진다. 화학식 (I)의 화합물은 산성 및/또는 저산소성 맨틀을 갖는 세포막을 pH 의존적 방식으로 통과하여, R²L을 세포에 삽입시키고, 이때 상기 링커의 이황화 결합이 절단되어, 유리 R²L (또는 R²L*, 여기서 L*은 분해의 산물임)이 전달된다. 상기 화학식 (I)의 화합물들은 pH 의존적이므로, 세포를 둘러싸고 있는 산성 또는 저산소 맨틀이 있는 경우에만 이들 화합물이 세포막을 통해 선호적으로 삽입되며, 산성 또는 저산소성 맨틀이 없는 "정상" 세포의 세포막을 가로지르는 것은 아니다.
- [0326] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "pH-감응성" 또는 "pH-의존적"이란 상기 펩티드 R¹을 지칭하거나, 상기 펩티드 R¹ 또는 본 발명의 화합물들이 세포 막을 가로질러 삽입되는 방식을 지칭하며, 이것은 상기 펩티드가 중성 pH에서 막 지질 이중층보다 산성 또는 저산소성 맨틀을 갖는 세포막 지질 이중층에 더 높은 친화력을 갖는다는 것을 의미한다. 따라서, 본 발명의 화합물은 세포막 지질 이중층이 산성 또는 저산소성 맨틀을 가질 때 ("병에 걸린" 세포), R²L을 세포 내부에 삽입하기 위해 우선적으로 세포막을 통해 삽입되지만 (따라서 상기에서 기술된 바와 같이 R²H를 전달하고), 그러나 맨틀 (세포막 지질 이중층의 환경)이 산성이거나 저산소성 상태가 아닌 경우 ("정상" 세포인 경우) 세포막을 통해 삽입되지 않는다. 이러한 선호되는 삽입은 막 삽입을 용이하게 하는 상기 펩티드 R¹이 나선형 입체형태를 형성하여 달성되는 결과인 것으로 여겨진다.
- [0327] 명확성을 위해 별도의 구체예들의 맥락에서 설명된 본 발명의 특정 특징들은 또한 단일 구체예와 조합하여 제공될 수 있음을 추가로 이해한다 (한편, 구체예들은 마치 다중 종속적 형태로 쓰여진 것처럼 복잡되도록 의도된다). 반대로, 간결함을 위해, 단일 구체예의 맥락에서 설명된 본 발명의 다양한 특징은 또한 개별적으로 또는 임의의 적절한 하위조합으로 또한 제공될 수 있다. 예를 들면, 이것은 상기 화학식 (I)의 화합물들의 구체예들이 임의의 적합한 조합으로 복잡될 수 있는 것으로 기술된 특징으로 간주된다.
- [0328] 본 명세서의 도처에서, 상기 화합물의 특정한 속성들이 그룹 또는 범위로 개시되어 있다. 이러한 명세에는 그러한 그룹 및 범위의 구성원의 각각의 모든 개별 하위 조합이 내포되는 것으로 구체적으로 의도된다. 예를 들면, 용어 "C₁₋₆ 알킬"은 메틸, 에틸, C₃ 알킬, C₄ 알킬, C₅ 알킬 및 C₆ 알킬을 개별적으로 기술하는 것으로 특별히 의도된다 (이에 제한을 두지 않는다).
- [0329] 용어 "n-개 구성원의" (여기서 n은 정수이며)이란 일반적으로 모이어티에서 고리-형성 원자들의 수가 n개 인, 모이어티의 고리 형성-원자 수를 나타낸다. 예를 들면, 피페리딘은 6-개 구성원의 헤테로사이클로알킬 고리의 예시이며, 피라졸일은 5-개 구성원의 헤테로아릴 고리의 예시이며, 피리딘은 6-개 구성원의 헤테로아릴 고리의 예시이며, 그리고 1,2,3,4-테트라히드로-타프탈렌은 10-개 구성원의 사이클로알킬기의 예시이다.
- [0330] 본 명세서의 도처에서, 2가 연결기를 정의하는 변수가 설명될 수 있다. 각각 연계 치환체에는 연계 치환기의 정

방향 및 역방향 형태들이 모두 내포되는 것으로 구체적으로 의도된다. 예를 들면, $-NR(CR'R'')_n-$ 에는 $-NR(CR'R'')_n-$ 및 $-(CR'R'')_nNR-$ 이 모두 내포되며, 각 형태를 개별적으로 기술하고자 한다. 구조에 연계 그룹이 필요한 경우, 해당 그룹에 대해 나열된 Markush 변수는 연계 그룹으로 이해한다. 예를 들면, 구조에 연계 그룹이 필요하고, 해당 변수에 대한 Markush 그룹 정의에 "알킬" 또는 "아릴"이 나열되어 있는 경우, "알킬" 또는 "아릴"은 각각 연결 알킬렌 그룹 또는 아릴렌 그룹을 나타내는 것으로 이해된다.

[0331] 용어 "치환된"이란 원자 또는 원자 그룹이 공식적으로 다른 그룹에 부착된 "치환체"로서, 수소를 대체한다는 의미이다. 달리 표시되지 않는 한, "치환된"이라는 용어는 치환이 허용되는 경우, 임의의 치환 수준, 가령, 1-치환, 2-치환, 3-치환, 4-치환 또는 5-치환을 의미한다. 상기 치환체는 독립적으로 선택되며, 치환체는 화학적으로 접근가능한 임의의 위치에 있을 수 있다. 주어진 원자에서의 치환은 원자가에 의해 제한된다는 것을 이해해야 한다. 주어진 원자에서의 치환으로 인해, 화학적으로 안정한 분자가 생성되는 것으로 이해되어야 한다. 구절 "임의선택적으로 치환된"이란 치환안되거나, 치환된 것을 의미한다. "치환된"이라는 용어는 수소 원자가 제거되고, 치환체로 대체되는 것을 의미한다. 단일 2가 치환체, 가령, 옥소는 두 개의 수소 원자를 대체할 수 있다.

[0332] 용어 " C_{n-m} "는 끝점을 포함하는 범위를 나타내며, 여기서 n 과 m 은 정수로서 탄소수를 나타낸다. 예시에는 C_{1-4} , C_{1-6} 및 이와 유사한 것들이 있다.

[0333] 단독으로 또는 다른 용어와 조합하여 사용되는 용어 "알킬"은 직쇄 또는 분지쇄일 수 있는 포화 탄화수소 그룹을 지칭한다. 용어 " C_{n-m} 알킬"이란 n 내지 m 개의 탄소 원자를 갖는 알킬기를 지칭한다. 알킬 그룹은 공식적으로 하나의 C-H 결합이 화합물의 나머지 부분에 대한 알킬 그룹의 부착 지점으로 대체된 알칸에 해당된다. 일부 구체예들에서, 알킬 그룹은 1 내지 6개의 탄소 원자, 1 내지 4개의 탄소 원자, 1 내지 3개의 탄소 원자, 또는 1 내지 2개의 탄소 원자를 함유한다. 알킬 모이어티의 예시에는 화학그룹, 이를 테면, 메틸, 에틸, n -프로필, 이소프로필, n -부틸, $tert$ -부틸, 이소부틸, sec -부틸; 더 고차의 상동체 이를 테면, 2-메틸-1-부틸, n -펜틸, 3-펜틸, n -헥실, 1,2,2-트리메틸프로필 및 이와 유사한 것들이 내포되나, 이에 국한되지 않는다.

[0334] 단독으로 또는 다른 용어와 조합하여 사용되는 용어 "알케닐"은 하나 또는 그 이상의 이중 탄소-탄소 결합을 갖는 알킬 그룹에 상응하는 직쇄 또는 분지형 탄화수소 그룹을 의미한다. 알케닐 그룹은 공식적으로 하나의 C-H 결합이 화합물의 나머지 부분에 대한 알케닐 그룹의 부착 지점으로 대체된 알칸에 해당된다. 용어 " C_{n-m} 알케닐"이란 n 내지 m 개의 탄소를 갖는 알케닐 그룹을 지칭한다. 일부 구체예들에서, 상기 알케닐 모이어티는 2 내지 6개, 2 내지 4개, 또는 2 내지 3개 탄소 원자를 함유한다. 실시예 알케닐 그룹에는 에테닐, n -프로페닐, 이소프로페닐, n -부테닐, sec -부테닐 및 이와 유사한 것들이 내포되지만, 이에 국한되지는 않는다.

[0335] 단독으로 또는 다른 용어와 조합하여 사용되는 용어 "알키닐"은 하나 또는 그 이상의 삼중 탄소-탄소 결합을 갖는 알킬 그룹에 상응하는 직쇄 또는 분지형 탄화수소 그룹을 의미한다. 알키닐 그룹은 공식적으로 하나의 C-H 결합이 화합물의 나머지 부분에 대한 알킬 그룹의 부착 지점으로 대체된 알킨에 해당한다. 용어 " C_{n-m} 알키닐"이란 n 내지 m 개의 탄소를 갖는 알키닐 그룹을 의미한다. 실시예 알키닐 그룹의 예시에는 에티닐, 프로핀-1-일, 프로핀-2-일 및 이와 유사한 것들이 내포되지만, 이에 국한되지는 않는다. 일부 구체예들에서, 상기 알키닐 모이어티는 2 내지 6개, 2 내지 4개, 또는 2 내지 3개의 탄소 원자를 함유한다.

[0336] 단독으로 또는 다른 용어와 조합하여 사용되는 용어 "알킬렌"은 2가 알킬 연결기를 의미한다. 알킬렌 그룹은 공식적으로 두 개의 C-H 결합이 화합물의 나머지 부분에 대한 알킬렌 그룹의 부착 지점으로 대체된 알칸에 해당한다. 용어 " C_{n-m} 알킬렌"이란 n 내지 m 개의 탄소 원자를 갖는 알킬렌 그룹을 지칭한다. 알킬렌 그룹의 예시에는 에탄-1,2-디일, 에탄-1,1-디일, 프로판-1,3-디일, 프로판-1,2-디일, 프로판-1,1-디일, 부탄-1,4-디일, 부탄-1,3-디일, 부탄-1,2-디일, 2-메틸-프로판-1,3-디일 및 이와 유사한 것들이 내포되지만, 이에 국한되지는 않는다.

[0337] 용어 "아미노"란 화학식 $-NH_2$ 의 그룹을 지칭한다.

[0338] 단독으로 또는 다른 용어와 조합하여 사용되는 용어 "카르보닐"은 $-C(=O)-$ 그룹을 의미하며 $C(0)$ 로도 표기될 수 있다.

[0339] "시아노" 또는 "니트릴"이라는 용어는 $-C\equiv N$ 으로도 쓸 수 있는 공식 $-C\equiv N$ 그룹을 나타낸다.

[0340] 단독으로 또는 다른 용어와 조합하여 사용되는 용어 "할로" 또는 "할로겐"은 플루오로, 클로로, 브로모 및 요오

드를 의미한다. 일부 구체예들에서, "할로"란 F, Cl, 또는 Br로부터 선택된 할로젠 원자를 지칭한다. 일부 구체예들에서, 할로 그룹은 F이다.

[0341] 본원에 사용된 용어 "할로알킬"은 하나 또는 그 이상의 수소 원자가 할로젠 원자로 대체된 알킬기를 의미한다. 용어 " C_{n-m} 할로알킬"이란 n 내지 m 개 탄소원자를 갖는 C_{n-m} 알킬 그룹을 지칭하며, 적어도 한 개 내지 최대 $\{2(n$ 내지 $m)+1\}$ 할로젠 원자를 갖고, 이들은 동일하거나 또는 상이할 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 할로젠 원자는 플루오르 원자다. 일부 구체예들에서, 상기 할로알킬 그룹은 1 내지 6개 또는 1 내지 4개의 탄소 원자를 갖는다. 실시예 할로알킬 그룹에는 CF_3 , C_2F_5 , CHF_2 , CH_2F , CCl_3 , $CHCl_2$, C_2Cl_5 및 이와 유사한 것들이 내포된다. 일부 구체예들에서, 상기 할로알킬 그룹은 플루오르알킬 그룹이다.

[0342] 고리-형성하는 N 원자와 관련하여, 용어 "산화된"이란 고리-형성하는 N-산화물을 의미한다.

[0343] 고리-형성하는 S 원자와 관련하여, 용어 "산화된"이란 고리-형성하는 설폰일 또는 고리-형성하는 설피닐을 의미한다.

[0344] "방향족"이라는 용어는 방향족 특성을 갖는 하나 또는 그 이상의 다중불포화 고리를 갖는 카르보사이클 또는 헤테로사이클을 의미한다 (즉, $(4n + 2)$ 비-편재화된 π (pi) 전자를 가지며, 여기서 n 은 정수임).

[0345] 단독으로 또는 다른 용어와 조합하여 사용되는 용어 "아릴"은 단환식 또는 다환식 (가령, 2개의 융합된 고리를 가짐)일 수 있는 방향족 탄화수소 그룹을 의미한다. 용어 " C_{n-m} 아릴"은 n 내지 m 개의 고리 탄소 원자를 갖는 아릴 그룹을 지칭한다. 아릴 그룹에는 가령, 페닐, 나프틸, 및 이와 유사한 것들이 내포된다. 일부 구체예들에서, 아릴 그룹은 6 내지 약 10개의 탄소 원자를 보유한다. 일부 구체예들에서, 아릴 그룹은 6개의 탄소 원자를 보유한다. 일부 구체예들에서, 아릴 그룹은 10개의 탄소 원자를 보유한다. 일부 구체예들에서, 상기 아릴 그룹은 페닐이다.

[0346] 단독으로 또는 다른 용어와 조합하여 사용되는 용어 "헤테로아릴" 또는 "헤테로방향족"은 황, 산소 및 질소로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 헤테로원자 고리 구성원을 갖는 단환식 또는 다환식 방향족 헤테로사이클을 의미한다. 일부 구체예들에서, 상기 헤테로아릴 고리는 질소, 황 및 산소로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 3개 또는 4개의 헤테로원자 고리 구성원을 보유한다. 일부 구체예들에서, 헤테로아릴 모이어티에서 임의의 고리-형성하는 N은 N-산화물일 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 헤테로아릴은 탄소 원자 및 질소, 황 및 산소로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 3개 또는 4개의 헤테로원자 고리 구성원이 내포되어 있는 5-14개의 고리 원자를 보유한다. 일부 구체예들에서, 상기 헤테로아릴은 탄소 원자 및 질소, 황 및 산소로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 3개 또는 4개의 헤테로원자 고리 구성원이 내포되어 있는 5-10개의 고리 원자를 보유한다. 일부 구체예들에서, 상기 헤테로아릴은 5-6개의 고리 원자 및 질소, 황 및 산소로부터 독립적으로 선택된 1 또는 2개의 헤테로원자 고리 구성원을 보유한다. 일부 구체예들에서, 상기 헤테로아릴은 5-개 구성원의 또는 6-개 구성원의 헤테로아릴 고리이다. 기타 구체예들에서, 상기 헤테로아릴은 8-개 구성원의, 9-개 구성원의 또는 10-개 구성원의 융합된 이환식 헤테로아릴 고리이다.

[0347] 5-개 구성원의 헤테로아릴 고리는 5개 고리 원자를 보유하는 헤테로아릴 그룹이며, 이때 하나 또는 그 이상의 (가령, 1개, 2개, 또는 3개) 고리 원자는 N, O 및 S로부터 독립적으로 선택된다.

[0348] 6-개 구성원의 헤테로아릴 고리는 6개 고리 원자를 보유하는 헤테로아릴 그룹이며, 이때 하나 또는 그 이상의 (가령, 1개, 2개, 또는 3개) 고리 원자는 N, O 및 S로부터 독립적으로 선택된다.

[0349] 단독으로 또는 다른 용어와 조합하여 사용되는 용어 "사이클로알킬"은 고리화된 알킬 및 알케닐 그룹을 비롯한, 비-방향족 탄화수소 고리 시스템(단환식, 이환식 또는 다환식)을 의미한다. 용어 " C_{n-m} 사이클로알킬"이란 n 내지 m 개의 고리 구성원 탄소 원자를 보유한 사이클로알킬을 지칭한다. 사이클로알킬 그룹에는 단환식- 또는 다환식 (가령, 2개, 3개 또는 4개의 융합된 고리) 그룹 및 스피로환식이 내포되어 있을 수 있다. 사이클로알킬 그룹은 3개, 4개, 5개, 6개 또는 7개의 고리-형성하는 탄소 (C_{3-7})를 보유할 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 사이클로알킬 그룹은 3개 내지 6개의 고리 구성원, 3개 내지 5개의 고리 구성원, 또는 3개 내지 4개의 고리 구성원을 보유한다. 일부 구체예들에서, 상기 사이클로알킬 그룹은 단환식이다. 일부 구체예들에서, 상기 사이클로알킬 그룹은 단환식 또는 이환식이다. 일부 구체예들에서, 상기 사이클로알킬 그룹은 C_{3-6} 단환식 사이클로알킬 그룹이다. 사이클로알킬 그룹의 고리-형성하는 탄소 원자는 옥소 또는 술피도 그룹을 형성하도록 임의선택적으로 산화될 수 있다. 사이클로알킬 그룹에는 사이클로알킬리덴이 또한 내포된다. 일부 구체예들에서, 사이클로알킬

은 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸 또는 시클로헥실이다. 사이클로알킬의 정의에는 상기 사이클로알킬 고리, 가령, 시클로펜탄, 시클로헥산의 벤조 또는 티에닐 유도체들 및 이와 유사한 것들에 융합된 (즉, 이와 결합을 갖는) 하나 또는 그 이상의 방향족 고리를 보유한 모이어티들이 또한 내포된다. 사이클로알킬 그룹 함유하는 융합된 방향족 고리는 상기 융합된 방향족 고리의 고리-형성하는 원자가 내포된 임의의 고리-형성하는 원자를 통하여 부착될 수 있다. 사이클로알킬 그룹의 예시에는 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로헥실, 시클로헵틸, 시클로펜테닐, 시클로헥세닐, 시클로헥사디에닐, 및 이와 유사한 것들이 내포된다. 일부 구체예들에서, 상기 사이클로알킬 그룹은 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 또는 시클로헥실이다.

[0350] 단독으로 또는 다른 용어와 조합하여 사용되는 용어 "헤테로사이클로알킬"이란 비-방향족 고리 또는 고리 시스템을 지칭하며, 이들은 상기 고리 구조의 일부분으로 하나 또는 그 이상의 알케닐렌 그룹을 임의선택적으로 함유할 수 있고, 질소, 황, 산소 및 인으로부터 독립적으로 선택된 적어도 하나의 헤테로원자 고리 구성원을 보유하며, 4-10개의 고리 구성원, 4-7개의 고리 구성원, 또는 4-6개의 고리 구성원을 갖는다. 용어 "헤테로사이클로알킬"에는 단환식 4-, 5-, 6- 및 7-개 구성원의 헤테로사이클로알킬 그룹이 내포된다. 헤테로사이클로알킬 그룹에는 일환식 또는 이환식 (가령, 두 개의 융합된 또는 다리연결된 고리를 갖는) 또는 스피로환식 고리 시스템이 내포되어 있을 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 헤테로사이클로알킬 그룹은 질소, 황 및 산소로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 또는 3개의 헤테로원자를 갖는 단환식 그룹이다. 헤테로사이클로알킬 그룹의 고리-형성하는 탄소 원자 및 헤테로 원자들은 임의선택적으로 산화되어 옥소 또는 술피도 그룹 또는 기타 산화된 링키지 (가령, C(O), S(O), C(S) 또는 S(O)₂, N-산화물, 등등,)를 형성할 수 있고, 또는 질소 원자는 4차화될 수 있다. 상기 헤테로사이클로알킬 그룹은 고리-형성하는 탄소 원자 또는 고리-형성하는 헤테로원자를 통하여 부착된다. 일부 구체예들에서, 상기 헤테로사이클로알킬 그룹은 0 내지 3개의 이중 결합을 함유한다. 일부 구체예들에서, 상기 헤테로사이클로알킬 그룹은 0 내지 2개의 이중 결합을 함유한다. 헤테로사이클로알킬의 정의에는 상기 헤테로사이클로알킬 고리, 가령, 피페리딘, 몰포린, 아제핀, 등등의 벤조 또는 티에닐 유도체들에 융합된 (즉, 이와 결합을 갖는) 하나 또는 그 이상의 방향족 고리를 보유한 모이어티들이 또한 내포된다. 헤테로사이클로알킬 그룹 함유하는 융합된 방향족 고리는 상기 융합된 방향족 고리의 고리-형성하는 원자를 비롯한 임의의 고리-형성하는 원자를 통하여 부착될 수 있다. 헤테로사이클로알킬 그룹의 예시에는 2-피롤리디닐, 몰포리닐, 아제티디닐, 테트라히드로푸라닐, 테트라히드로피라닐, 및 피페라지닐이 내포된다.

[0351] 특정 부분에서, 상기 정의 또는 구체예들은 특이적 고리 (가령, 아제티딘 고리, 피리딘 고리, 등등,)를 지칭한다. 달리 명시되지 않는 한, 이들 고리는 원자의 원자수를 초과하지 않는 한, 임의의 고리 구성원에 부착될 수 있다. 예를 들면, 아제티딘 고리는 해당 고리의 임의의 위치에 부착될 수 있는 반면, 아제티딘-3-일 고리는 3-위치에 부착된다.

[0352] 본원에 기술된 화합물들은 비대칭 (가령, 하나 또는 그 이상의 입체중심을 보유하는)일 수 있다. 거울상 이성질체 및 부분입체 이성질체와 같은 모든 입체 이성질체는 달리 표시되지 않는 한, 의도된다. 비대칭적으로 치환된 탄소 원자를 함유하는 본 발명의 화합물들은 광학적으로 활성 또는 라세미 형태로 분리될 수 있다. 광학적으로 비-활성인 출발 물질로부터 광학 활성 형태를 만드는 방법은 당분야에 공지되어 있는데, 예를 들어, 라세미 혼합물의 분할 또는 입체선택적 합성에 의해 만들어질 수 있다. 올레핀의 많은 기타 이성질체, C=N 이중 결합 등이 또한 본 명세서에 기재된 화합물에 존재할 수 있고, 이러한 모든 안정한 이성질체가 본 명세서에 고려된다. 본 발명의 화합물들의 시스(*cis*) 및 트랜스(*trans*) 기타 이성질체가 기술되며, 이성질체의 혼합물로서 또는 분리된 이성질체 형태로서 분리될 수 있다.

[0353] 화합물의 라세미 혼합물의 분리는 당업계에 공지된 임의의 다양한 방법에 의해 수행될 수 있다. 한 가지 방법에는 광학 활성, 염-형성 유기산인 키랄 분해 산을 사용한 분별 재결정화가 내포된다. 분별 재결정 방법에 적합한 분해제에는 예를 들면, 광학적으로 활성 산, 이를 테면, 타르타르산, 디아세틸타르타르산, 디벤조일타르타르산, 만델산, 말산, 락트산의 D 및 L 형태, 및 다양한 광학 활성 캄포선포산, 이를 테면, α-캄포선포산이다. 분별 재결정화 방법에 적합한 기타 분해제는 입체이성질체적으로 순수한 형태의 α-메틸벤질아민 (가령, S-형태 및 R-형태, 또는 부분입체이성질체적으로 순수한 형태), 2-페닐글리시놀, 노르에페드린, 에페드린, N-메틸에페드린, 시클로헥실에틸아민, 1,2-디아미노시클로헥산, 및 이와 유사한 것들이다.

[0354] 라세미 혼합물의 분해는 광학 활성 분해제 (가령, 디니트로벤조일페닐글리신)로 채워진 컬럼에서 용리하여 또한 수행할 수도 있다. 적합한 용리 용매 조성물은 당업자에 의해 결정될 수 있다.

[0355] 일부 구체예들에서, 본 발명의 화합물들은 (R)-배열 형태를 갖는다. 기타 구체예들에서, 상기 화합물들은 (S)-배열 형태를 갖는다. 하나 이상의 키랄 중심을 갖는 화합물들에서, 달리 명시되지 않는 한, 이 화합물의 각 키

랄 중심은 독립적으로 (R) 또는 (S)일 수 있다.

- [0356] 본 발명의 화합물들에는 호변이성질체 형태가 또한 내포될 수 있다. 호변이성체 형태는 단일 결합과 인접한 이중 결합이 동시에 이동하면서 양성자의 이동으로 인해 발생된다. 호변이성질체 형태에는 동일한 실험식 및 총 전하를 갖는 이성질체 양성자와 상태인 프로토티로픽(prototropic) 호변이성질체가 내포된다. 프로토티로픽 호변이성질체의 예시에는 케톤-에놀 쌍, 아마이드-이미드산 쌍, 락탐-락탐 쌍, 에나민-이민 쌍 및 환상 형태가 내포되며, 여기에서 양성자는 헤테로고리 시스템의 두 개 이상의 위치를 차지할 수 있는데, 가령, 1H 및 3H-이미다졸, 1H, 2H 및 4H-1,2,4-트리아졸, 1H 및 2H-이소인돌 그리고 1H 및 2H-피라졸이다. 호변이성질체 형태는 평형 상태에 있거나, 또는 적절한 치환에 의해 한 가지 형태로 입체적으로 고정될 수 있다.
- [0357] 본 발명의 화합물들은 또한 중간생성물 또는 최종 화합물에서 발생하는 원자의 모든 동위원소를 내포할 수 있다. 동위원소에는 원자 번호는 같지만, 질량이 상이한 원자들이 내포된다. 예를 들면, 수소 동위 원소에는 삼중 수소와 중수소가 내포된다. 본 발명의 화합물의 하나 또는 그 이상의 구성원자는 천연 또는 비-천연 풍도(abundance)의 원자의 동위원소로 대체되거나, 치환될 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 화합물에는 적어도 하나의 중수소 원자를 내포한다. 예를 들면, 본 명세서의 화합물에서 한 개 또는 그 이상의 수소 원자는 중수소로 대체되거나, 치환될 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 화합물에는 두 개 또는 그 이상의 중수소 원자가 내포된다. 일부 구체예들에서, 상기 화합물에는 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개, 또는 12개의 중수소 원자가 내포된다. 동위원소를 유기 화합물에 내포시키는 합성 방법들은 당업계에 공지되어 있다(Deuterium Labeling in Organic Chemistry by Alan F. Thomas (New York, N.Y., Appleton-Century-Crofts, 1971; The Renaissance of H/D Exchange by Jens Atzrodt, Volker Derdau, Thorsten Fey and Jochen Zimmermann, Angew. Chem. Int. Ed. 2007, 7744-7765; The Organic Chemistry of Isotopic Labelling by James R. Hanson, Royal Society of Chemistry, 2011). 동위원소로 라벨된 화합물들은 NMR 분광법, 대사 실험 및/또는 분석과 같은 다양한 연구에 사용할 수 있다.
- [0358] 중수소와 같은 더 무거운 동위원소로 치환하면, 더 큰 대사 안정성, 예를 들면, 생체 내 반감기 증가 또는 투여 분량 필요량의 사항 감소로 인해, 특정 치료요법 이점을 얻을 수 있고, 이로써 일부 상황에서 선호될 수 있다(A. Kerekes et.al. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 201-210; R. Xu et.al. *J. Label Compd. Radiopharm.* **2015**, *58*, 308-312).
- [0359] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "화합물"은 묘사된 구조의 모든 입체이성질체, 기하이성질체, 호변이성질체 및 동위원소를 포함하는 것을 의미한다. 이 용어는 또한 본 발명의 화합물이 제조되는 방법, 예를 들어, 합성, 생물학적 공정 (가령, 대사 또는 효소 전환), 또는 이들의 조합을 통해 관계없이 언급되는 것을 의미한다.
- [0360] 모든 화합물 및 이의 약학적으로 허용되는 염은 물 및 용매(가령, 수화물 및 용매화물)와 같은 다른 물질과 함께 발견되거나 분리될 수 있다. 고체 상태인 경우, 본원에 기술된 화합물 및 이의 염은 다양한 형태로 나타날 수 있으며, 가령, 수화물을 비롯한 용매화물의 형태를 취할 수 있다. 상기 화합물은 다형체 또는 용매화물과 같은 임의의 고체 상태 형태일 수 있으므로, 달리 명확하게 나타내지 않는 한, 본 명세서에서 화합물 및 이의 염에 대한 언급은 화합물의 임의의 고체 상태 형태를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.
- [0361] 일부 구체예들에서, 본 발명의 상기 화합물, 또는 이의 염들은 실질적으로 분리된다. "실질적으로 분리된다(substantially isolated)"란 화합물이 당해 화합물이 형성되었거나, 또는 탐지되었는 환경으로부터 적어도 부분적으로 또는 실질적으로 분리된다는 것을 의미한다. 부분적 분리는 가령, 본 발명의 화합물이 풍부한 조성물이 내포되어 있을 수 있다. 실질적 분리란 화합물 또는 이의 염 중량의 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 97%, 또는 적어도 약 99%를 함유하는 본 발명의 조성물들을 내포한다.
- [0362] 구절 "약제학적으로 수용가능한"이란 건전한 의학적 판단의 범위 내에서 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응 또는 기타 문제 또는 합병증 없이, 그리고 합당한 위해율로 인간 및 동물 조직과의 접촉에 사용하기에 적합한 화합물, 물질, 조성물, 및/또는 투여 형태를 지칭한다.
- [0363] "주변 온도" 및 "실온"이라는 표현은 본원에서 사용된 바와 같이, 본 기술 분야에서 이해되고, 일반적으로 온도, 가령, 반응 온도, 즉, 반응이 수행되는 실내 온도, 가령, 약 20℃ 내지 약 30℃의 온도를 지칭한다.
- [0364] 본 발명에는 본원에서 기술된 화합물들의 약제학적으로 수용가능한 염 또한 내포된다. 용어 "약학적으로 허용되는 염"이란 존재하는 산 또는 염기 부분을 그의 염 형태로 전환시킴으로써 모 화합물이 변형된 개시된 화합물의 유도체를 지칭한다. 약학적으로 허용되는 염의 예에는 염기성 잔기들의 무기산 또는 유기산염, 이를 테면,

아민; 산성 잔기들의 알칼리 또는 유기산염, 이를 테면, 카르복실산; 그리고 이와 유사한 것들이 내포되나, 이에 국한되지 않는다. 본 발명의 약학적으로 허용되는 염에는 가령, 비-독성 무기산 또는 유기산으로부터 형성된 모 화합물의 무독성 염이 내포된다. 본 발명의 약제학적으로 수용가능한 염은 염기성 또는 산성 부분을 포함하는 모 화합물로부터 전통적인 화학적 방법으로 합성될 수 있다. 일반적으로, 이러한 염은 이들 화합물의 유리산 또는 염기 형태를 물 또는 유기 용매 중 화학양론적 양의 적절한 염기 또는 산과 반응시키거나, 두 가지의 혼합물 중에서 반응시켜 제조할 수 있다; 일반적으로 에테르, 에틸 아세테이트, 알코올 (가령, 메탄올, 에탄올, 이소프로판올 또는 부탄올) 또는 아세토니트릴(MeCN)과 같은 비수성 매질이 바람직하다. 적합한 염들의 목록은 *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 17th Ed., (Mack Publishing Company, Easton, 1985), p. 1418, *Berge et al., J. Pharm. Sci.*, **1977**, 66(1), 1-19, 그리고 *Stahl et al., Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, (Wiley, 2002)에서 찾아볼 수 있다. 일부 구체예들에서, 본원에 기술된 화합물들에는 N-산화물 형태들이 내포되어 있다.

[0365] 합성

[0366] 본 발명의 화합물들 및 이의 염들은 공지된 유기 합성 기술을 사용하여 제조될 수 있고, 이를 테면, 하기 반응식과 같은 임의의 수많은 가능한 합성 경로에 따라 합성될 수 있다.

[0367] 본 발명의 화합물을 제조하기 위한 반응은 유기 합성 분야의 당업자가 쉽게 선택할 수 있는 적합한 용매에서 수행될 수 있다. 적합한 용매는 반응이 수행되는 온도, 가령, 용매의 동결 온도 내지 용매의 끓는 온도 범위일 수 있는 온도에서 출발 물질 (반응물), 중간체 또는 생성물과 실질적으로 비-반응성일 수 있다. 주어진 반응은 하나의 용매 또는 하나 이상의 용매의 혼합물에서 수행될 수 있다. 특정 반응 단계에 따라, 특정 반응 단계에 적합한 용매는 숙련된 기술자에 의해 선택될 수 있다.

[0368] 본 발명의 화합물의 제조는 다양한 화학 그룹의 보호 및 탈보호가 관련되어 있을 수 있다. 보호 및 탈보호의 필요성, 그리고 적절한 보호기의 선택은 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 보호 그룹의 화학에 대해서는 가령, Kocienski, *Protecting Groups*, (Thieme, 2007); Robertson, *Protecting Group Chemistry*, (Oxford University Press, 2000); Smith *et al.*, *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, 6th Ed. (Wiley, 2007); Petursson *et al.*, "Protecting Groups in Carbohydrate Chemistry," *J. Chem. Educ.*, 1997, 74(11), 1297; 및 Wuts *et al.*, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th Ed., (Wiley, 2006)에서 기술되어 있다.

[0369] 반응은 당업계에 공지된 임의의 적합한 방법에 따라 모니터링될 수 있다. 예를 들면, 생성물 형성은 핵자기공명 분광법 (가령, ¹H 또는 ¹³C), 적외선 분광법, 분광광도법 (가령, UV-가시광선), 질량 분석법과 같은 분광학 수단이나 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC) 또는 박층 크로마토그래피(TLC)와 같은 크로마토그래피 방법으로 모니터링할 수 있다.

[0370] 화학식 (I)의 화합물들은 가령, 하기에 기술된 공정을 사용하여 제조될 수 있다.

[0371] 상기 펩티드 R¹은 Merrifield in J.A.C.S., Vol. 85, pgs. 2149-2154 (1963)에서 처음 기술된 고형-상 합성 방법을 이용하여 제조될 수 있지만, 다른 공지된 방법도 또한 사용될 수 있다. Merrifield 기술은 잘 알려져 있으며, 펩티드를 준비하는 일반적인 방법이다. 고체-상 펩티드 합성에 유용한 기술은 Bodanszky의 "Principles of Peptide Synthesis"(Springer Verlag 1984) 텍스트와 같은 여러 책에 설명되어 있다. 이 합성 방법은 고체 지지 입자에 공유 결합으로 결합된 성장하는 펩티드 사슬에 보호된 아미노산의 단계적 첨가와 관련있다. 이 과정을 통해, 시약과 부산물들을 여과하여 제거하고, 따라서, 중간생성물들을 정제할 필요는 없다. 이 방법의 일반적인 개념은 공유 결합에 의해 사슬의 첫 번째 아미노산을 고체 중합체에 부착하고, 이어서 원하는 서열이 조립될 때까지 연속적인 보호된 아미노산을 한 번에 하나씩 단계적으로 첨가하는 것에 달려 있다. 마지막으로, 상기 보호된 펩티드는 고체 지지체로부터 제거되고, 보호 그룹은 절단된다.

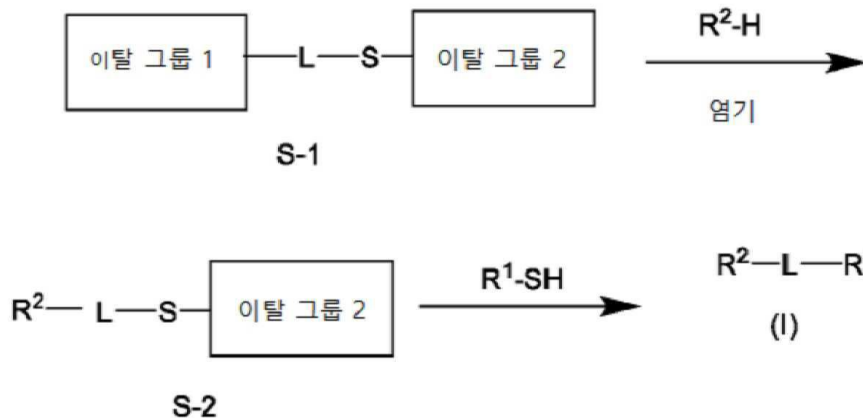
[0372] 상기 아미노산들은 임의의 적합한 중합체에 부착될 수 있다. 상기 중합체는 사용된 용매에 불용성이어야 하며, 즉시 여과할 수 있는 안정적인 물리적 형태를 가져야 하고, 첫 번째 보호된 아미노산이 공유 결합에 의해 단단히 연결될 수 있는 작용기를 함유해야 한다. 다양한 중합체들이 이러한 목적에 적합한데, 이를 테면, 셀룰로오스, 폴리비닐알코올, 폴리메틸메타크릴레이트, 폴리스티렌이 적합하다.

[0373] 본원에서 제공된 각종 링커의 준비는 U.S. 특허 번호 10,933,069, 및 U.S. 출원 공고 번호 2021/0009536 및

2021/0009719에서 기술되어 있다.

[0374] 본 발명의 화합물은 하기 일반 반응식에 따라 제조될 수 있다:

[0375] 계획 1:



[0376] L은 화합물 S-1의 S 원자가 L과 이황화 결합을 형성하는 티올-함유하는 모이어티이다. 측면에 직교 이탈 그룹이 있는 화합물 S-1은 친핵성 R²H 화합물과 반응하여 화합물 S-2를 생성할 수 있다. 그 다음, 화합물 S-2는 이황화물 교환 반응에 참여하는 티올 함유하는 펩티드 (R¹-SH)와 반응하여 화학식 (I)의 화합물을 생성할 수 있다.

[0378] 이용 방법

[0379] 상기 화학식 (I)의 화합물들을 질환, 이를 테면, 암 또는 신경퇴행성 질환의 치료에 용도를 제공한다 본 발명의 또다른 측면은 산성 또는 저산소성 병든 조직이 연루된 질환, 이를 테면, 암의 치료에 화학식 (I)의 화합물들의 용도다. 저산소증 및 산증은 암을 비롯한 많은 질환의 진행을 나타내는 생리학적 마커다. 암에서, 저산소증은 고형 종양 내에서 산성 환경을 조성하는 메커니즘 중 하나다. 결과적으로, 세포 내에서 정상적인 pH를 유지하려면 수소 이온을 세포에서 제거해야 한다 (가령, 양성자 펌프에 의해). 이러한 수소 이온 유출의 결과로, 암 세포는 정상 세포와 비교했을 때, 세포막 지질 이중층을 가로지르는 pH 구배가 증가하게 되고, 세포의 환경에서는 더 낮은 pH를 갖게 된다. 세포독성제의 효능 및 치료 지수를 개선하기 위한 한 가지 접근법은 이러한 생리학적 특성을 활용하여, 건강한 조직의 저산소 세포에 화합물을 선택적으로 전달하는 것이다.

[0380] 이러한 치료 방법들에서, 화학식 (I)의 화합물 또는 약제학적으로-수용가능한 이의 염의 치료요법적-효과량은 단일 제제로 투여하거나, 암의 경우 전리 방사선이나 세포 독성 제제와 같은 다른 형태의 치료법과 함께 투여할 수 있다. 병용 요법에서, 상기 화학식 (I)의 화합물은 당업자가 이해하는 바와 같이, 화학식 I의 화합물은 다른 치료 양식 이전, 동시에 또는 이후에 투여될 수 있다. 어느 치료 방법이건 (단일 제제 또는 다른 형태의 치료법과의 병용), 이들은 여러 번 투여하거나, 일정 기간에 걸쳐 치료하는 과정으로 투여될 수 있다.

[0381] 본 명세서의 화합물들을 이용하여 치료가능한 암의 예시에는 다음의 것들이 내포되나, 이에 국한되지 않는다: 방광암, 골암, 신경교종, 유방암, 자궁경부암, 결장직장암, 결장직장암, 자궁내막암, 상피암, 식도암, 유인 욕 종, 췌장암, 담낭암, 위암, 위장 종양, 두경부암, 장 암, Kaposi 욕종, 신장암, 후두암, 간암, 폐암, 흑색종, 전립선암, 직장암, 신장의 투명 세포 암종, 피부암, 위암, 고환암, 갑상선암 및 자궁암. 일부 구체예들에서, 상기 암은 폐 암, 결장직장 암, 및 전립선 암으로부터 선택된다. 일부 구체예들에서, 상기 폐 암은 비-소세포 폐 암이다.

[0382] 본 명세서의 화합물들을 이용하여 치료가능한 암의 예시에는 Hodgkin 림프종, 역형성 대세포 림프종(ALCL), 미만성 거대 B세포 림프종(DLBCL), 난소 암, 요로상피 암, 비-소세포 폐 암(NSCLC), 삼중-음성 유방암, 편평 비-소세포 폐암(sqNSCLC), 편평 두경부 암, 비-Hodgkin 림프종, 췌장 암, 만성 골수성 백혈병(CML), 급성 골수성 백혈병(AML), 나팔관 암 및 복막 암이 또한 내포된다.

[0383] 본 명세서의 화합물들을 이용하여 치료가능한 암의 예시에는 다음의 것들이 내포되나, 이에 국한되지 않는다: 결장직장 암, 위 암, 골암, 췌장암, 피부암, 머리 또는 목의 암, 피부 또는 안내(intraocular) 악성 흑색종, 자궁암, 난소 암, 직장암, 항문 부위 암, 위암, 고환암, 자궁암, 나팔관 암종, 자궁 내막 암종, 내막 암, 자궁경부 암종, 질 암종, 외음부의 암종, Hodgkin 질환, 비-Hodgkin 림프종, 식도의 암, 소장암의 암, 내분비 계의 암,

갑상선의 암, 부갑상선의 암, 부신의 암, 연조직의 육종, 요도암, 음경의 암, 급성 골수성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병을 포함한 만성 또는 급성 백혈병, 소아의 고형 종양, 림프구 림프종, 방광의 암, 신장 또는 요관의 암, 신장 골반의 암종, 중추 신경계의 신생물 (CNS), 원발성 CNS 림프종, 종양 혈관신생, 척추 측 종양, 뇌간 신경 교종, 뇌하수체 선종, Kaposi 육종, 표피 암, 편평 상피 세포 암, T-세포 림프종, 식면에 의해 유도된 암을 포함하는 환경적으로 유발된 암 및 전술한 암의 조합.

[0384] 일부 구체예들에서, 본 명세서의 화합물들로 치료가능한 암에는 방광암, 골암, 신경교종, 유방암 (가령, 삼중-음성 유방암), 자궁경부암, 결장암, 결장직장암, 자궁내막암, 상피암, 식도암, Ewing 육종, 췌장암, 담낭암, 위암, 위장관 종양, 두경부암(상부 호흡소화암), 장암, Kaposi 육종, 신장암, 후두암, 간암 (가령, 간 세포 암종), 폐암 (가령, 비-소세포 폐암, 선암종), 흑색종, 전립선암, 직장암, 신장 투명 세포 암종, 피부암, 위암, 고환암, 갑상선암 및 자궁암이 내포된다.

[0385] 일부 구체예들에서, 본 명세서의 화합물들로 치료가능한 암에는 흑색종 (가령, 전이성 악성 흑색종), 신장암 (가령, 투명 세포 암종), 전립선암 (가령, 호르몬 불응성 전립선 선암종), 유방암, 삼중-음성 유방암, 결장암 및 폐암 (가령, 비-소세포 암 및 소세포 폐암)이 내포된다. 추가로, 본 명세서에는 본 명세서의 화합물들을 사용하여 성장이 억제될 수 있는 난치성 또는 재발성 악성종양이 내포된다.

[0386] 일부 구체예들에서, 본 명세서의 화합물들을 이용하여 치료가능한 암에는 다음이 내포되나, 이에 국한되지 않는다: 고형 종양(가령, 전립선암, 결장암, 식도암, 내막암, 난소암, 자궁암, 신장암, 간암, 췌장암, 위암, 유방암, 폐암, 두경부암, 갑상선암), 교모세포종, 육종, 방광암, 등), 혈액암(가령, 림프종, 급성 림프구성 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML), DLBCL, 맨틀 세포 림프종과 같은 백혈병), 비-Hodgkin 림프종 (재발 또는 불응성 NHL 및 재발성 여포를 비롯한), Hodgkin 림프종 또는 다발성 골수종) 및 전술한 암들의 조합.

[0387] 특정 구체예들에서, 화학식 (I)의 화합물 또는 약제학적으로-수용가능한 이의 염은 화학요법제, 표적화된 암 치료법, 면역요법 또는 방사선 요법과 함께 사용할 수 있다. 상기 제제는 단일 투약형으로 본 화합물과 조합될 수 있거나, 또는 상기 제제는 별개의 투약형으로 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다. 일부 구체예들에서, 화학요법제, 표적화된 암 요법, 면역요법 또는 방사선 요법은 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 제약상 허용되는 염과 함께 투여될 때, 해당 미세소관 표적화 제제 (가령, R²-H)와 병용투여했을 때와 비교하였을 때 감소된 골수 독성을 나타내는 등 환자에게 독성이 덜하다.

[0388] 적합한 화학요법적 또는 기타 항-암 제제에는 예를 들면, 알킬화 제제 (질소 무스타드, 에틸렌이민 유도체, 알킬 술포네이트, 니트로조우레아 및 트리아젠을 포함하나, 이에 국한되지 않음) 이를 테면, 우라실 무스타드, 크로로메틴, 사이클로포스파미드 (CytosanTM), 이포스파미드, 멜팔란, 클로람부칠(chlorambucil), 피프브로만 (pipobroman), 트리에틸렌-멜라민, 트리에틸렌티오포스포라민, 부술헌(busulfan), 카르무스틴(carmustine), 로무스틴(lomustine), 스트렙토조신(streptozocin), 다카르바진(dacarbazine), 그리고 테모졸로미드 (temozolomide)가 포함된다.

[0389] 본 발명의 화합물들과 조합하여 사용하기에 적합한 다른 제제는 다음을 포함한다: 임의선택적으로 카르무스틴 (BCNU) 및 시스플라틴과 같은 기타 화학요법 약물과 함께 다카르바진 (DTIC); DTIC, BCNU, 시스플라틴 및 탐옥시펜으로 구성된 "Dartmouth 섭생"; 시스플라틴, 빈블라스틴 및 DTIC의 조합; 또는 테모졸로미드 (temozolomide). 본 발명에 따른 화합물들은 사이토킨 이를 테면, 인터페론 알파, 인터루킨 2, 그리고 종양 괴사 인자 (TNF)를 포함하는 면역요법 약물과 또한 조합될 수 있다.

[0390] 적합한 화학요법적 또는 기타 항-암 제제에는 예를 들면, 항대사산물 (엽산 길항제, 피리미딘 유사체, 퓨린 유사체 및 아데노신 데아미나제 억제제를 포함하나, 이에 국한되지 않음), 이를 테면, 메토트렉세이트, 5-플루오르우라실, 플록시루이딘, 씨타라빈, 6-메틸갑토피린, 6-티오구아닌, 플루다라빈 포스페이트, 펜토스타틴, 그리고 겐시타빈이 포함된다.

[0391] 적합한 화학요법적 또는 기타 항-암 제제에는 예를 들면, 특정 천연 산물 및 이의 유도체들(가령, 빈카 알칼로이드, 항종양 항생제, 효소, 림포킨 및 에피포도틸라톡신), 이를 테면, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신, 블레오마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 독소루비신, 에피루비신, 이다루비신, 아라-C, 파클리탁셀 (TAXOLTM), 미트라마이신, 데옥시코포르마이신, 미토마이신-C, L-아스파라기나아제, 인터페론 (특히, IFN- α), 에토포사이드 및 테니포사이드가 더 포함된다.

- [0392] 본 발명의 화합물들과 병용 투여될 수 있는 기타 세포독성 제제에는 예를 들면, 나벨벤(navelbene), CPT-11, 아나스트라졸(anastrozole), 레트로졸(letrozole), 카페시타빈(capecitabine), 랄록시펜(reloxafine), 시클로포스 파미드, 이포스파미드(ifosamide) 및 드롤록사핀(droloxafine)이 내포된다.
- [0393] 이를 테면, 에피도필로톡신과 같은 세포독성 제제; 항신생물 효소; 토포이소머라제 억제제; 프로카르바진; 미톡산트론; 시스-플라틴 및 카보플라틴과 같은 백금 배위 복합체; 생물학적 반응 조절제; 성장 억제제; 항호르몬 치료제; 류코보린(leucovorin); 테가푸르(tegafur); 및 조절 성장 인자가 또한 적합하다.
- [0394] 기타 항-암 제제(들)에는 항체 치료요법제, 이를 테면, 트라스투주맙(trastuzumab) (Herceptin), 공동자극 분자들, 이를 테면, CTLA-4, 4-1BB, 및 PD-1 항체, 또는 사이토킨 (IL-10, TGF- α , 등등)에 대한 항체들이 포함된다.
- [0395] 기타 항-암 제제에는 CCR2 및 CCR4를 포함하여 케모킨 수용체에 대한 길항제와 같은 면역 세포 이동을 차단하는 것이 또한 포함된다.
- [0396] 기타 항-암 제제에는 이를 테면, 어쥬번트 또는 채택성 T-세포 전달과 같은 면역계를 강화하는 것도 포함된다.
- [0397] 본 발명의 화합물과 조합하여 투여될 수 있는 항-암 백신에는 예를 들어 수지상 세포, 합성 펩티드, DNA 백신 및 재조합 바이러스가 내포된다.
- [0398] 본 발명의 화합물들과 조합하여 사용하기에 기타 적합한 제제에는 폐암 및 기타 고형 종양에 이용되는 백금-제더블렛(doublets) (시스플라틴 또는 카보플라틴 + 잼시타빈; 시스플라틴 또는 카보플라틴 + 도세탁셀; 시스플라틴 또는 카보플라틴 + 파클리탁셀; 시스플라틴+페메트렉세드) 또는 잼시타민 + 파클리탁셀 결합된 입자 (Abraxane®)와 같은 화학요법 조합이 내포된다.
- [0399] 본 발명의 화합물들은 유방암 및 기타 종양 치료용 항-호르몬 제제와 조합하는 것이 효과적일 수 있다. 적합한 예로는 탐옥시펜 및 토레미펜을 포함하나 이에 국한되지 않는 항-에스트로겐 제제, 레트로졸, 아나스트로졸 및 엑세메스탄을 포함하나 이에 국한되지 않는 아로마타제 억제제, 아드레노코르티코스테로이드 (이를 테면, 프레드니손), 프로게스틴 (이를 테면, 메가스트롤 아세테이트) 그리고 에스트로겐 수용체 길항제 (이를 테면, 풀베스트란트)이다. 전립선암 및 기타 암 치료에 사용되는 적절한 항-호르몬 제제는 본 발명의 화합물들과 함께 사용할 수도 있다. 여기에는 플루타미드, 비칼루타미드 및 닐루타미드를 포함하나 이에 국한되지 않는 항-안드로겐, 류프롤리드, 고세렐린, 트립토텐린 및 히스트렐린을 포함한 황체형성 호르몬-방출 호르몬 (LHRH) 유사체들, LHRH 길항제 (이를 테면, 데가렐릭스), 안드로겐 수용체 차단제 (이를 테면, 엔잘루타미드) 그리고 안드로겐 생성을 억제하는 제제 (이를 테면, 아비라테론)이 내포된다.
- [0400] 본 발명의 화합물들은 특히 표적 치료에 대한 원발성 또는 후천적 내성이 발생된 환자를 위한 막 수용체 키나제에 대항하는 다른 제제와 조합되거나, 순차적으로 투여될 수 있다. 이들 치료요법적 제제에는 EGFR, Her2, VEGFR, c-Met, Ret, IGFR1, 또는 Flt-3에 대항하고, 그리고 암-연합된 융합 단백질 키나제 이를 테면, Bcr-Abl 및 EML4-Alk에 대항하는 억제제 또는 항체들이 포함된다. EGFR에 대한 억제제는 제피티닙 및 엘로티닙을 포함하고, EGFR/Her2에 대한 억제제는 다코미티닙(dacomitinib), 아파티닙(afatinib), 라피티닙(lapatinib) 및 네라티닙(neratinib)이 내포되지만, 이에 국한되지는 않는다. EGFR에 대한 항체는 세툽시맙(cetuximab), 파니투무맙(panitumumab) 및 네시투무맙(necitumumab)이 내포되지만, 이에 국한되지는 않는다. c-Met 억제제는 본 발명의 화합물들과 조합하여 사용할 수 있다. 이것들에는 오나르툼주맙(onartumzumab), 비탄트닙(tivantnib), 그리고 INC-280이 내포된다. Abl (또는 Bcr-Abl)에 대한 제제에는 이마티닙(imatinib), 다사티닙(dasatinib), 닐로티닙(nilotinib) 및 포나티닙(ponatinib)이 포함되며, Alk (또는 EML4-ALK)에 대한 제제에는 크리조티닙(crizotinib)이 포함된다.
- [0401] 혈관신생 억제제는 본 발명의 화합물들과 함께, 일부 종양에서 효과적일 수 있다. 여기에는 VEGF 또는 VEGFR에 대한 항체 또는 VEGFR의 키나제 억제제가 내포된다. VEGF에 대한 항체 또는 기타 치료요법적 단백질에는 베바시주맙(bevacizumab) 및 애플리베르셉트(afibercept)가 내포된다. VEGFR 키나아제 억제제 및 기타 항-혈관신생 억제제에는 수니티닙(sunitinib), 소라페닙(sorafenib), 악시티닙(axitinib), 세디라닙(cediranib), 파조파닙(pazopanib), 레고라페닙(regorafenib), 브리바닙(brivanib) 및 반데타닙(vandetanib)이 내포되나, 이에 국한되지 않는다.
- [0402] 세포 내 신호전달 경로의 활성화는 암에서 빈번하며, 이러한 경로의 성분을 표적으로 하는 제제는 효능을 향상시키고, 내성을 감소시키기 위해 수용체 표적화 제제와 복합되었다. 본 발명의 화합물들과 조합될 수 있는 제제

의 예로는 PI3K-AKT-mTOR 경로의 억제제, Raf-MAPK 경로의 억제제, JAK-STAT 경로의 억제제, 단백질 샤페론(chaperones) 및 세포 주기 진행의 억제제가 포함된다.

[0403] PI3 키나제에 대항하는 제제에는 토피라라리십(topilralisib), 이델라리십(idelalisib), 부파리십(buparlisib)이 내포되나, 이에 국한되지 않는다. 라파마이신(rapamycin), 시롤리무스(sirolimus), 템시롤리무스(temsirolimus) 및 에베로리무스(everolimus)와 같은 mTOR 억제제는 본 발명의 화합물들과 조합될 수 있다. 기타 적합한 예로는 베무라페닙(vemurafenib) 및 다브라페닙(dabrafenib) (Raf 억제제) 및 트라메티닙(trametinib), 셀루메티닙(selumetinib) 그리고 GDC-0973 (MEK 억제제)이 내포되지만, 이에 국한되지는 않는다. 하나 또는 그 이상의 JAKs (이를 테면, 룩소리티닙(ruxolitinib), 바리씨티닙(baricitinib), 토파씨티닙(tofacitinib)), Hsp90 (이를 테면, 타네스피미신(tanespimycin)), 사이클린 의존적 키나제 (이를 테면, 팔보씨클립(palbociclib)), HDACs (이를 테면, 파노비노스태트(panobinostat)), PARP (이를 테면, 올라파리브(olaparib)), 그리고 프로테아좀 (이를 테면, 보르테조미브(bortezomib), 카르필조미브(carfilzomib))의 억제제는 본 발명의 화합물들과 또한 조합될 수 있다. 본 발명의 화합물과 조합될 수 있는 PARP 억제제의 추가 예는 탈라조파립(talazoparib)이다.

[0404] 대부분의 이러한 화학요법 제제의 안전하고 효과적인 투여 방법은 당업자에게 공지되어 있다. 추가로, 그들의 투여는 표준 문헌에 설명되어 있다. 예를 들면, 다수의 화학요법 제제의 투여는 "Physicians 'Desk Reference" (PDR, 예를 들어, 1996 edition, Medical Economics Company, Montvale, NJ)(이의 내용은 여기에 설명된 것처럼 참고자료에 편입됨)에 설명되어 있다.

[0405] 화합물 (치료제, 활성 성분, 약물, 등등)의 "치료요법적으로 효과량"이라는 문구는 치료 또는 치료가 필요한 대상체에게 투여되어, 치료할 장애 또는 병태에 대해 임상적으로 허용되는 기준에 따라 증상을 완화하거나, 병태를 호전시키거나, 질환 상태의 발병을 늦추는 상기 화합물의 양을 지칭한다. 예를 들자면, 치료요법적으로 효과량은 시험관내 분석, 생체내 동물 분석 또는 임상 시험에서 원하는 치료 효과를 갖는 것으로 입증된 양일 수 있다. 상기 치료요법적으로 효과량은 수많은 다른 요인들 중에서 특정 투약 형태, 투여 방법, 치료 프로토콜, 치료할 특정 질환 또는 병태, 이익/위험 비율, 등등에 따라 달라질 수 있다.

[0406] 진술한 치료요법적으로 효과량은 임상 시험, 동물 모델 또는 시험관 내 세포 배양 분석을 통해 얻을 수 있다. 인간의 사용에 적합한 효과량은 동물 모델 또는 시험관 내 세포 배양 분석을 통해 결정된 유효량으로부터 산출될 수 있다는 것은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들자면, Reagan-Shaw et al., FASEB J. 2008: 22(3) 659-61에서 보고된 바와 같이, " $\mu\text{g/ml}$ " (시험관내 세포 배양 분석에 근거한 효과량) = " $\text{mg}/\text{체중kg}/\text{일}$ " (마우스의 경우 효과량). 더욱이, 인간의 경우 상기 효과량은 마우스의 신진대사 속도가 인간보다 6배 빠르다는 사실을 바탕으로, 마우스의 효과량으로부터 산출해낼 수 있다.

[0407] 세포독성제와 조합하여 화학식 (I)의 화합물을 사용한 치료의 예로서, 화학식 (I)의 화합물의 치료요법적-효과량은 치료요법적-효과량의 전리 방사선 또는 세포독성제가 연루된 치료 요법의 일부분으로써 암을 앓고 있는 환자에게 투여될 수 있다. 치료 요법의 내용에서, 용어 "치료요법적-효과"적인 양이란 병용 요법에서 효과를 의미하는 것으로 이해되어야 한다. 암 치료 분야의 숙련자는 최적의 치료 결과를 달성하기 위해 투여량을 조정하는 방법을 이해할 것이다.

[0408] 유사하게, 비-암성 질환 또는 병태 (이를 테면, 심혈관 질환)의 치료를 위한 본 발명의 화합물들의 적절한 투여 용량은 의료 분야의 당업자가 용이하게 결정할 수 있다.

[0409] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "치료하는"에는 화합물 또는 조성물을 투여받지 않은 대상체와 비교하여, 관련된 대상체에서 산성 또는 저산소성 질환 조직과 관련된 질환, 이를 테면, 암, 뇌졸중, 심근경색, 장기 신경퇴행성 질환의 증상의 빈도를 감소시키거나, 발병을 지연시키거나, 증상의 진행을 감소시키는 화합물 또는 조성물의 투여가 내포된다. 여기에는 대상체의 병태를 개선하거나 안정화하는 방식 (가령, 종양 성장의 퇴행, 암 또는 심근 경색, 뇌졸중, 또는 이와 유사한 심혈관 질환에서 심근 허혈 재관류 손상의 감소 또는 개선)으로 증상, 임상 징후 또는 상태의 근본적인 병리를 역전, 감소 또는 정지시키는 것이 내포될 수 있다. "억제하는" 또는 "감소시키는"이라는 용어는 암에서 치료되지 않은 대조군 집단과 비교하여, 집단에서 종양 성장을 억제하거나 감소시키는 (가령, 종양의 크기를 감소시키는) 방법과 관련하여 사용된다.

[0410] 본 명세서에서 언급된 모든 공개 (특허 포함)는 공개에서 설명된 예를 들면, 구조체들과 방법을 설명하고 공개하는 것을 목적으로 이들의 전문이 본 명세서의 참고자료에 편입되며, 이는 본 명세서에서 기술하는 것과 관련하여 이용될 수 있다. 본 명세서에서 논의된 공개는 본 출원 출원일 이전에 이들의 공개만을 위하여 제공된다.

- [0411] 여기에는 여러 유형의 범위가 공개되어 있다. 모든 유형의 범위가 공개되거나 청구되는 경우, 이 범위의 끝점은 물론 모든 하위-범위 및 포함된 하위-범위의 조합을 포함하여, 해당 범위가 합리적으로 포함할 수 있는 가능한 각 숫자를 개별적으로 공개하거나 주장하려는 의도가 있다. 예를 들어, 활성 성분의 치료요법적으로 효과량의 범위가 개시되거나 청구되는 경우, 그 의도는 본원의 개시와 일치하면서 그러한 범위가 포괄할 수 있는 모든 가능한 수를 개별적으로 개시하거나 청구하는 것이다. 예를 들면, 화합물의 치료요법적 효과량은 약 1mg/kg 내지 약 50mg/kg (대상체의 체중)의 범위 안에 있을 수 있다는 것을 개시한다.
- [0412] 제형, 투약형 및 투여
- [0413] 본 발명의 약제학적 조성물을 제조하기 위해, 화학식 (I)의 화합물 또는 약제학적으로-수용가능한 이의 염은 통상적인 제약 배합 기술에 따라 제약 담체와 친밀한 혼합물로 활성 성분으로서 조합되며, 이 담체는 투여를 위해 원하는 조제물 형태, 예를 들어, 경구 또는 비경구에 따라 매우 다양한 형태를 취할 수 있다. 경구 투여 형태의 조성물을 제조할 때, 임의의 일반적인 약제학적 매질, 이를 테면, 예를 들면, 현탁액, 엘릭서 및 용액과 같은 경구 액체 제제의 경우 물, 글리콜, 오일, 알코올, 향미제, 방부제, 착색제 및 이와 유사한 것들; 또는 분말, 캡슐제, 및 정제의 경구용 고형 조제물의 경우에는 전분, 당, 희석제, 과립화제, 활택제, 결합제, 붕괴제 등의 담체가 사용될 수 있다. 투여가 용이하기 때문에, 정제와 캡슐은 가장 유리한 경구 투약 단위 형태를 나타내며, 이 경우 고체 약학적 담체가 분명히 사용된다. 원하는 경우, 정제는 표준 기술에 의해 당 코팅되거나 장용 코팅될 수 있다. 비경구용의 경우, 담체는 일반적으로 멸균수로 구성되지만, 예를 들어 용해도를 돕거나 보존 목적으로 다른 성분이 포함될 수도 있다. 주사 가능한 현탁액도 제조될 수 있으며, 이 경우 적절한 액체 담체, 현탁 화제, 및 이와 유사한 것들 등이 사용될 수 있다. 제약 및 의학 분야의 숙련자는 치료할 특정 질병 또는 상태에 대한 본 발명의 제약 조성물의 적합한 투여량을 쉽게 결정할 수 있을 것이다.
- [0414] 실시예들
- [0415] 질량 분광분석 방법
- [0416] 질량 분광분석법은 6130B Quadrupole MS가 포함된 Agilent 1260 Infinity II 및 6125B Quadrupole MS가 포함된 Agilent 1290 Infinity II에서 측정되었다.
- [0417] 대안으로, Maldi-TOF(매트릭스-보조 레이저 탈착/이온화-Time of Flight) 질량 분석법을 Applied Biosystems Voyager System 6268에서 측정했다. 샘플은 AB Science 플레이트(Part# V700666)에서 α-시아노 하이드록시 신남산의 매트릭스로 준비되었다.
- [0418] ESI (전기분무 이온화) 질량 분광분석법은 1946 MSD가 포함된 Agilent 1100 시리즈 LC-MS 또는 Waters Xevo Qtof 고분해능 MS에서 측정되었으며, 둘 다 질량/전하 중($m/z=3$)을 제공한다.
- [0419] HPLC 방법
- [0420] HPLCs는 Agilent 1260 Infinity II 기계에서 기록되었다. HPLC 방법은 아래의 각 예에서 필요에 따라 더 자세히 설명된다.
- [0421] 링커의 제조
- [0422] 본원에서 제공된 각종 링커의 준비는 U.S. 특허 번호 10,933,069, 및 U.S. 출원 공고 번호 2021/0009536 및 2021/0009719에서 기술되어 있다. 예를 들면, 다음 링커의 합성은 U.S. 출원 공고 번호 2021/0009719에 설명되어 있다.

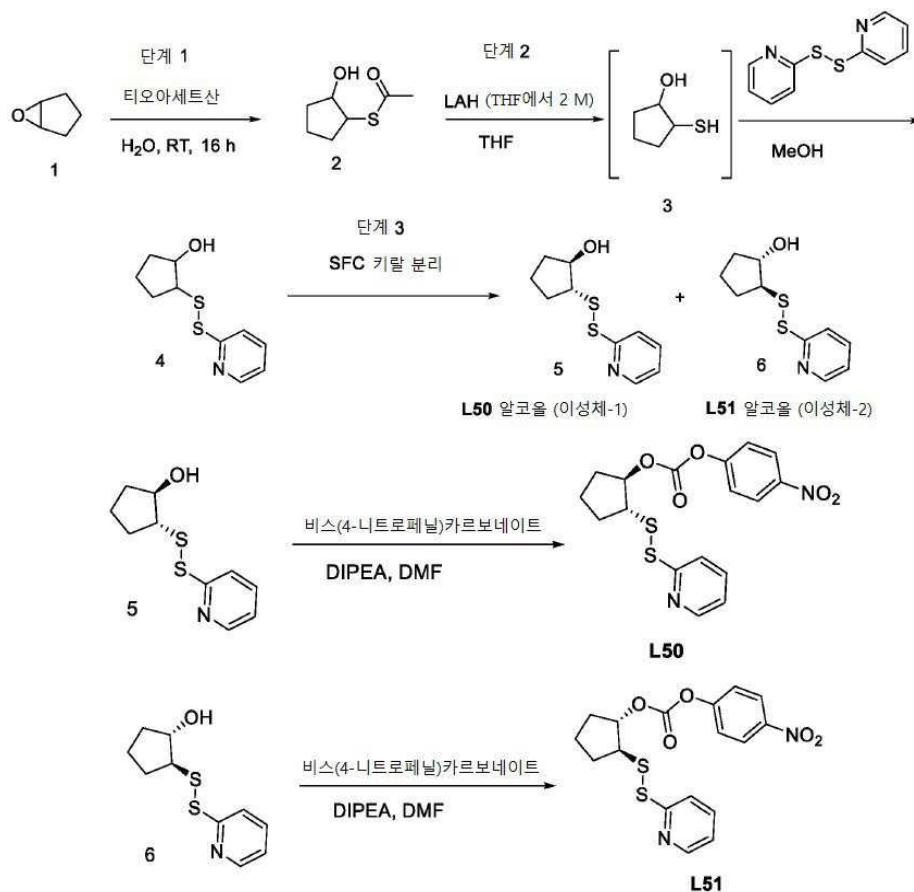
링크어 이름	구조
L31	
L55*	
L56*	
L61*	
L62*	
L65	
L64	

[0423]

[0424]

*상대적 입체화학이 표시된다. 자세한 내용은 U.S. 출원 공고 번호 2021/0009719 참고.

[0425] 링커 화합물 L50 및 L51의 합성



[0426]

[0427] 단계 1: S-(2-하이드록시시클로펜틸) 에탄티오에이트의 합성

[0428] 물(50ml)에서 6-옥사비사이클로 [3.1.0] 헥산 (5g, 59.4mmol)의 교반된 용액으로 RT에서 티오아세트산 (4.98g, 65.4mmol)을 추가하였다. 상기 반응 혼합물은 RT에서 18h 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 포화된 NaHCO_3 의 수성 용액으로 켄칭시켰고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 상기 유기층은 Na_2SO_4 상에서 건조되었으며, 기화되어 S-(2-하이드록시 시클로펜틸) 에탄티오에이트 (6.1g, 38.1mmol, 64.0% 수율) (무색 액체)를 얻었다. 이 미정제 산물을 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[0429] 단계 2: 2-메르캅토사이클로펜탄-1-올의 합성

[0430] 0°C에서 THF (60ml) 안에 S-(2-하이드록시시클로펜틸) 에탄티오에이트 (6.1g, 38.1mmol)의 용액으로 THF (28.6ml, 57.1mmol) 안에 LAH의 2.0M 용액을 점적 추가하였다. 상기 반응 혼합물은 RT에서 3h 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 0°C로 냉각시켰고, 1.5 N HCl의 수성 용액으로 켄칭시켰고, DCM으로 추출하였다. 상기 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조시켰고, 증발시켜 2-메르캅토사이클로펜탄-1-올 (5g, 42.3mmol, 111% 수율) (무색 액체)를 얻었다. 이 미정제 산물을 정제 없이 다음 단계에 사용하였다. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 4.90 (s, 1H), 3.78 (s, 1H), 2.93-2.87 (m, 1H), 2.44-2.42 (m, 1H), 2.19-2.05 (m, 1H), 1.96-1.88 (m, 1H), 1.69-1.67 (m, 2H), 1.50-1.35 (m, 2H).

[0431] 단계 3: 2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로펜탄-1-올

[0432] 메탄올 (60ml) 안에 2-메르캅토사이클로펜탄-1-올 (5g, 42.3mmol)의 교반된 용액으로 1,2-디(피리딘-2-일) 디설파판 (13.98g, 63.5mmol)를 0°C에서 추가하였다. 상기 반응 혼합물을 RT에서 18h 동안 교반시켰다. 상기 반응 혼합물을 증발 건조시켰다. 얼음 냉각수를 추가하였고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 상기 유기층을 분리시켰고, 염수로 세척하였고, Na_2SO_4 상에서 건조시켰고, 증발시켜 미정제 잔유물을 얻었다. 상기 미정제 잔유물을 섬광 컬럼 크로마토그래피를 통하여 석유 에테르에서 10% 에틸 아세테이트를 이용하여 정제하여, 2-(피

리딘-2-일디설파닐)시클로펜탄-1-올(라셈체 혼합물로써)을 얻었다. LCMS: $C_{10}H_{13}NOS_2$ 에 대한 $[M + H]^+$ 계산치, 227.04; 발견치 228.1 (M+H). SFC 키랄 순도: 컬럼: Lux A1; 공-용매: 40% MeOH; 유속: 4mL/min; RT (min): 2.98; 면적%: 49.92; RT (min): 4.26; 면적%: 48.79. HPLC: 컬럼: Atlantis dC18 (250X4.6)mm, 5 μ m; 이동상: A:0.1% TFA in H_2O ; 이동상: B: ACN에서 0.1% TFA; 유동:1.0mL/min; RT (min): 5.76; 순도 (Max): 99.41%

[0433] 이성질체 (1R,2R)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로펜탄-1-올 (L-50 알코올) & (1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로펜탄-1-올 (L-51 알코올)의 SFC 분리

[0434] 상기 이성질체는 라셈체 2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로펜탄-1-올의 SFC 정제로 분리되었다. 획득한 SFC 분획 이성질체-1 (첫 번째 용출 피크)을 30℃에서 감압하에서 농축시켜, (1R,2R)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로펜탄-1-올 (L-50 알코올) (1.2g, 5.18mmol, 12.25% 수율) (무색 오일)을 얻었다. 절대 입체화학은 Yamshita H., Bull.Chem.Soc.Jpn.,61, 1213-1220 (1988)에서 제시된 바와 같이 지정되었다. LCMS: $C_{10}H_{13}NOS_2$ 에 대한 $[M + H]^+$ 계산치, 227.04; 발견치 228.1 (M+H). HPLC: 컬럼: X-Bridge C8 (50 x 4.6)mm, 3.5 μ m; 이동상: A: H_2O 에서 0.1% TFA; 이동상: B: ACN에서 0.1% EwingFA; 유동: 2.0mL/min; RT (min): 2.71; 순도 (Max): 98.19%. SFC 키랄 순도: 컬럼: Lux A1; 공-용매: 40% MeOH; 유속: 40mL/min; RT (min): 2.94; 면적%: 100.0. ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8.55 (s, 1H), 7.65-7.61 (m, 1H), 7.54-7.51 (m, 1H), 7.21-7.17 (m, 1H), 4.05-4.04 (m, 1H), 3.03 (t, J = 8.00 Hz, 1H), 2.12-2.05 (m, 2H), 1.72-1.64 (m, 5H).

[0435] 링커 L50에 대한 전구체 합성

[0436] DMF (10ml)에서 (1R,2R)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로펜탄-1-올 (1.1g, 4.84mmol)의 교반된 용액으로 비스 (4-니트로페닐)카르보네이트 (2.94g, 9.68mmol) 및DIPEA (2.51ml, 14.52mmol)을에서 교반하였다. 상기 반응 혼합물은 RT에서 18h 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 얼음 냉각수로 희석시켰고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 상기 유기층을 염수로 세척하였고, Na_2SO_4 상에서 건조시켜, 미정제 잔유물을 얻었다. 상기 미정제 산물을 H_2O 및 ACN에서 0.1% $HCOOH$ 를 이용하여 역상 크로마토그래피로 정제시켰다. 상기 산물 분획을 감압 하에서 농축시켜 순수 산물을 얻었고, 이를 동결건조시켜 4-니트로페닐 ((1R,2R)-2-(피리딘-2-일 디설파닐)시클로펜틸)카르보네이트 (1.7g, 4.32mmol, 89% 수율) (연한 황색 검(gum))을 얻었다. LCMS: $C_{17}H_{16}N_2O_5S_2$ 에 대한 $[M + H]^+$ 계산치, 392.05; 발견치 392.9 (M+H). HPLC: 컬럼: X-Bridge C8 (50 x 4.6)mm, 3.5 μ m; 이동상: A: H_2O 에서 0.1% TFA; 이동상: B: ACN에서 0.1% TFA; 유동: 2.0mL/min; RT (min): 5.01; 순도 (Max): 99.73%. SFC 키랄 순도: 컬럼: YMC 아틸로스-SA; 공-용매: 30% IPA; 유속: 3mL/min; RT (min): 4.26; 면적%: 99.95. ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 400 MHz, $CDCl_3$: δ 8.50 (s, 1H), 8.29-8.27 (m, 2H), 7.71-7.65 (m, 2H), 7.39-7.36 (m, 2H), 7.14-7.11 (m, 1H), 5.25 (t, J = 3.20 Hz, 1H), 3.60-3.55 (m, 1H), 2.30-2.27 (m, 2H), 2.03-1.79 (m, 3H), 1.70-1.69 (m, 1H).

[0437] 링커 L51에 대한 전구체 합성

[0438] DMF (10ml)에서 (1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로펜탄-1-올 (1.1g, 4.84mmol)의 교반된 용액으로 비스 (4-니트로페닐)카르보네이트 (2.94g, 9.68mmol) 및DIPEA (2.51ml, 14.52mmol)을 RT에서 교반하였다. 상기 반응 혼합물은 RT에서 18h 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 얼음 냉각수로 희석시켰고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 상기 유기층을 염수로 세척하였고, Na_2SO_4 상에서 건조시켜, 미정제 잔유물을 얻었다. 상기 미정제 산물을 H_2O 및 ACN에서 0.1% $HCOOH$ 를 이용하여 역상 크로마토그래피로 정제시켰다. 상기 산물 분획을 감압 하에서 농축시켜, 순수 산물을 얻고, 이를 동결건조시켜 4-니트로페닐 ((1S,2S)-2-(피리딘-2-일 디설파닐)시클로펜틸) 카르보네이트 (1.7g, 4.24mmol, 88% 수율) (연한 황색 검 화합물)을 얻었다. LCMS: $C_{17}H_{16}N_2O_5S_2$ 에 대한 $[M + H]^+$ 계산치, 392.05; 발견치, 392.8 (M+H). HPLC: 컬럼: X-Bridge C8 (50 x 4.6)mm, 3.5 μ m; 이동상: A: H_2O 에서 0.1% TFA; 이동상: B: ACN에서 0.1% TFA; 유속: 2.0mL/min; RT (min): 5.01; 순도 (Max): 97.86%. SFC 키랄 순도: 컬럼: YMC 아틸로스-SA; 공-용매: 30% IPA; 유속: 3mL/min; RT (min): 3.56; 면적%: 99.74. ^1H NMR (400

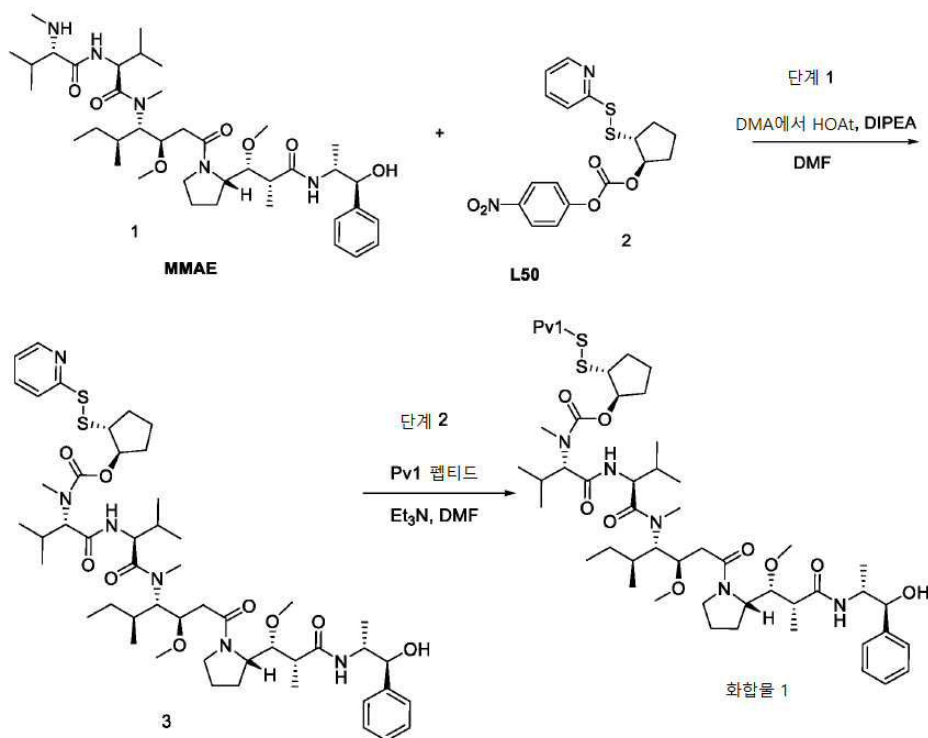
MHz, CDCl_3): δ 400 MHz, CDCl_3 : δ 8.50 (s, 1H), 8.29-8.27 (m, 2H), 7.71-7.65 (m, 2H), 7.39-7.36 (m, 2H), 7.14-7.11 (m, 1H), 5.25 (t, $J = 3.20$ Hz, 1H), 3.60-3.55 (m, 1H), 2.30-2.27 (m, 2H), 2.03-1.79 (m, 3H), 1.70-1.69 (m, 1H).

[0439] 링커 L51의 대안적 합성

[0440] 링커 L51은 국제 출원 WO 2022/150596에 개시된 효소적 키랄 분해 공정에 따라 제조될 수 있으며, 이는 그 전문이 본원에 편입된다 (예를 들면, WO 2022/150596의 실시예 11을 참고).

[0441] 본 명세서의 화합물들의 합성

[0442] 실시예 1: 화합물 1의 합성



[0443]

[0444] 단계 1: (1R,2R)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로펜틸((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트 (3)의 합성

[0445] DMF (1mL)에서 (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸아미노)부탄아미도)부탄아미드 (150mg, 0.209mmol)의 교반된 용액으로 4-니트로페닐 ((1R,2R)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로펜틸)카르보네이트 (L50) (98mg, 0.251mmol)를 0°C에 추가하였다. 그 다음, DMA (0.104mL, 0.104mmol) 및 DIPEA (0.054mL, 0.313mmol)에서 1-하이드록시-7-아자벤조트리아졸의 1M 용액을 추가하였고, 상기 반응 혼합물을 RT에서 18h 동안 교반시켰다. 상기 반응 혼합물을 H_2O 및 ACN에서 0.1% HCOOH 를 이용하여 예비로 정제시켰다. 상기 산물 분획을 동결건조시켜, (1R,2R)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로펜틸((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트 (138mg, 0.140mmol, 67.1% 수율) (백색 고체)를 얻었다. LCMS: $\text{C}_{50}\text{H}_{78}\text{N}_6\text{O}_9\text{S}_2$ 에 대한 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 계산치, 970.53; 발견치, 971.3 (M+H). HPLC: 컬럼: X-Bridge C8 (50X4.6)mm, 3.5 μm ; 이동상: A: H_2O 에서 0.1% TFA; 이동상: B: ACN에서 0.1% TFA; 유동: 2.0mL/min; RT (min): 5.49; 순도 (Max): 98.69%.

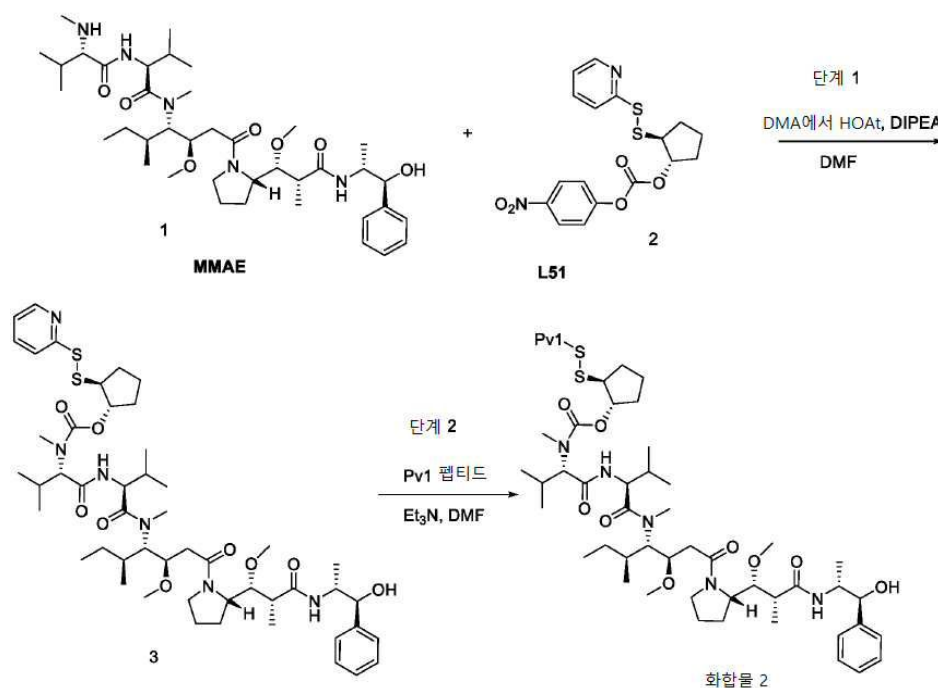
[0446] 단계 2: 화합물 1의 합성

[0447]

DMF (1.5ml)에서 (1R,2R)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로펜틸((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트 (115mg, 0.118mmol)의 교반된 용액으로 Pv1 펩티드 (425.6mg, 0.130mmol) 및 트리에틸아민 (0.02ml, 0.141mmol)를 0℃에서 추가하였다. 상기 반응 혼합물을 RT에서 3h 동안 교반시켰다. 상기 반응 혼합물을 H₂O 및 ACN에서 0.1% TFA를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 산물 분획을 동결건조시켜, 화합물 1(205mg, 0.049mmol, 41.5% 수율) (백색 고체)을 얻었다. 상기 획득된 산물은 디-TFA 염이다. LCMS: C₁₉₇H₂₉₉F₆N₄₁O₅₂S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 4135.15; 발견치, 1380.3 (M+3)/3. HPLC: 컬럼: Atlantis dC18 (250X4.6)mm, 5 μm; 이동상: A: H₂O에서 0.1% TFA; 이동상: B: ACN에서 0.1% TFA; 유동:1.0mL/min; RT (min): 12.29; 순도 (Max): 99.69%

[0448]

실시예 2: 화합물 2의 합성



[0449]

[0450]

단계 1: (1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로펜틸((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트

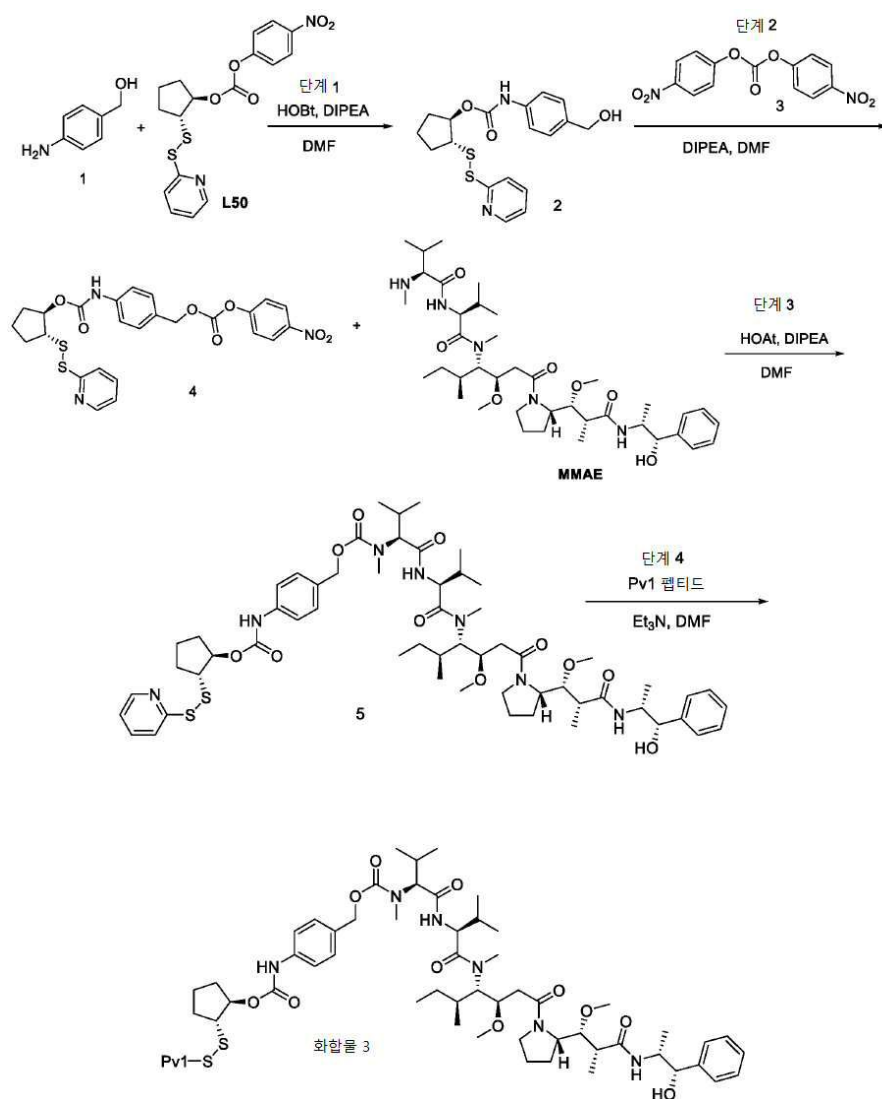
[0451]

DMF (1mL)에서 (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸아미노)부탄아미도)부탄아미드 (180mg, 0.251mmol)의 교반된 용액으로 4-니트로페닐 ((1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로펜틸)카르보네이트 (L51) (118mg, 0.301mmol)를 0℃에서 추가하였다. 그 다음, DMA (0.125ml, 0.125mmol) 및 DIPEA (0.066ml, 0.376mmol)에서 1-하이드록시-7-아자벤조트리아졸의 1M 용액을 추가하였고, 상기 반응 혼합물을 RT에서 16h 동안 교반시켰다. 상기 반응 혼합물을 H₂O 및 ACN에서 0.1% HCOOH를 이용하여 예비로 정제시켰다. 상기 산물 분획을 동결건조시켜, (1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로펜틸((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트 (200mg, 0.251mmol, 79% 수율) (백색 고체)을 얻었다. LCMS: C₅₀H₇₈N₆O₉S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 970.53; 발견치, 971.4 (M+H). 컬럼: X-Bridge C8 (50X4.6)mm, 3.5 μm; 이동상: A: H₂O에서 0.1% TFA; 이동상: B: ACN에서 0.1% TFA; 유동:2.0mL/min; RT (min): 5.48; 순도 (Max): 95.59%.

[0452] 단계 2: 화합물 2의 합성

[0453] DMF (2ml)에서 (1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥틸((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트 (200mg, 0.206mmol)의 교반된 용액으로 Pv1 펩티드 (742.9mg, 0.226mmol) 및 트리에틸아민 (0.035ml, 0.247mmol)을 0℃에서 추가하였다. 상기 반응 혼합물을 RT에서 1h 30 min 동안 교반시켰다. 상기 반응 혼합물을 H₂O 및 ACN에서 0.1% TFA를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제하였다. 상기 산물 분획을 동결건조시켜, 화합물 2 (410mg, 0.099mmol, 48% 수율) (백색 고체)를 얻었다. 상기 획득된 산물은 디-TFA 염이다. LCMS: C₁₉₇H₂₉₉F₆N₄₁O₅₂S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 4135.15; 발견치, 1380.0 (M+3)/3. HPLC: 컬럼: Atlantis dC18 (250X4.6)mm, 5 μm; 이동상: A: H₂O에서 0.1% TFA; 이동상: B: ACN에서 0.1% TFA; 유동:1.0mL/min; RT (min):11.94; 순도 (Max): 99.66%

[0454] 실시예 3: 화합물 3의 합성



[0455]

[0456] 단계 1: (1R,2R)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥틸(4-하이드록시메틸)페닐)카르바메이트의 합성

[0457] DMF (1ml)에서 (4-아미노페닐) 메탄올 (120mg, 0.974mmol) 및 4-니트로페닐((1R,2R)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥틸)카르보네이트 (L50) (382mg, 0.974mmol)의 교반된 용액을 얼음을 이용하여 냉각시켰다. 상기 용액으로 HOBt (65.8mg, 0.487mmol) 및 DIPEA (0.338ml, 1.949mmol)를 추가하였다. 상기 반응 혼합물은 RT에서 18h 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 얼음 냉각수로 희석시켰고, 에틸 아세테이트로 추출하였고, 염수로 세척하였다. 상기 유기층을 농축시켜, 미정제 잔유물을 얻었다. 상기 미정제 잔유물을 섬광 컬럼 크로마토그래피에

서 석유 에테르에 40% 에틸 아세테이트를 이용하여 정제시켜, (1R,2R)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥틸(4-(하이드록시메틸)페닐)카르바메이트 (350mg, 0.876mmol, 90% 수율) (갈색 검)을 얻었다. LCMS: $C_{18}H_{20}F_6N_2O_3S_2$ 에 대한 $[M + H]^+$ 계산치, 376.09; 발견치, 377.6 (M+H). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 9.61 (s, 1H), 8.45 (d, J = 4.80 Hz, 1H), 7.79-7.77 (m, 2H), 7.39-7.22 (m, 2H), 7.19-7.14 (m, 3H), 5.08 (t, J = 5.60 Hz, 1H), 5.00 (s, 1H), 4.41 (d, J = 5.60 Hz, 2H), 3.51-3.34 (m, 1H), 2.17-2.00 (m, 2H), 1.78-1.67 (m, 4H).

[0458] 단계 2: (1R,2R)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥틸(4-(((4-니트로페녹시)카르보닐)옥시)메틸)페닐)카르바메이트의 합성

[0459] DMF (5ml)에서 (1R,2R)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥틸(4-(하이드록시메틸)페닐)카르바메이트 (0.35g, 0.930mmol)의 교반된 용액으로 비스(4-니트로페닐)카르보네이트 (1.131g, 3.72mmol) 및 DIPEA (0.242ml, 1.394mmol)를 RT에서 추가하였다. 상기 반응 혼합물은 RT에서 18h 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 얼음 냉각수로 희석시켰고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 상기 유기층을 염수로 세척하였고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 감압 하에서 농축시켜 미정제 잔유물을 얻었다. 상기 미정제 잔유물을 섬광 컬럼 크로마토그래피에서 석유 에테르에 20% 에틸 아세테이트를 이용하여 정제시켜, (1R,2R)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥틸(4-(((4-니트로페녹시)카르보닐)옥시)메틸)페닐)카르바메이트 (420mg, 0.740mmol, 80% 수율) (갈색 검)을 얻었다. LCMS: $C_{25}H_{23}N_3O_7S_2$ 에 대한 $[M + H]^+$ 계산치, 541.10; 발견치, 542.1 (M+H). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 9.78 (s, 1H), 8.45 (d, J = 5.20 Hz, 1H), 8.33-8.31 (m, 2H), 7.79-7.77 (m, 2H), 7.59-7.56 (m, 2H), 7.49-7.47 (m, 2H), 7.39-7.37 (m, 2H), 7.24-7.21 (m, 1H), 5.23 (s, 2H), 5.03 (t, J = 2.40 Hz, 1H), 3.52-3.51 (m, 1H), 2.20-2.10 (m, 2H), 1.78-1.68 (m, 4H).

[0460] 단계 3: 4-((((1R,2R)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥틸)옥시)카르보닐)아미노)벤질((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트의 합성

[0461] DMF (1ml)에서 (S)-N-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸아미노)부탄아미도)부탄아미드 (MMAE) (150mg, 0.209mmol)의 교반된 용액으로 (1R,2R)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥틸(4-(((4-니트로페녹시)카르보닐)옥시)메틸)페닐)카르바메이트 (113mg, 0.209mmol)의 교반된 용액으로 DMA (0.104ml, 0.104mmol) 및 DIPEA (0.054ml, 0.313mmol)에서 1-하이드록시-7-아자벤조트리아졸의 1M 용액을 0°C에서 추가하였다. 상기 반응 혼합물은 RT에서 18h 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 H_2O 및 ACN에서 0.1% HCOOH를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 산물 분획을 동결건조시켜, 4-((((1R,2R)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥틸)옥시)카르보닐)아미노)벤질((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트 (150mg, 0.133mmol, 63.6% 수율) (백색 고체)를 얻었다. LCMS: $C_{58}H_{85}N_7O_{11}S_2$ 에 대한 $[M + H]^+$ 계산치, 1119.57; 발견치, 1121.4 (M+H). HPLC: 컬럼: Atlantis dC18 (250X4.6)mm, 5 μ m; 이동상: A: H_2O 에서 0.1% TFA; 이동상: B: ACN에서 0.1% TFA; 유동: 1.0mL/min; RT (min): 13.61; 순도 (Max): 99.26%.

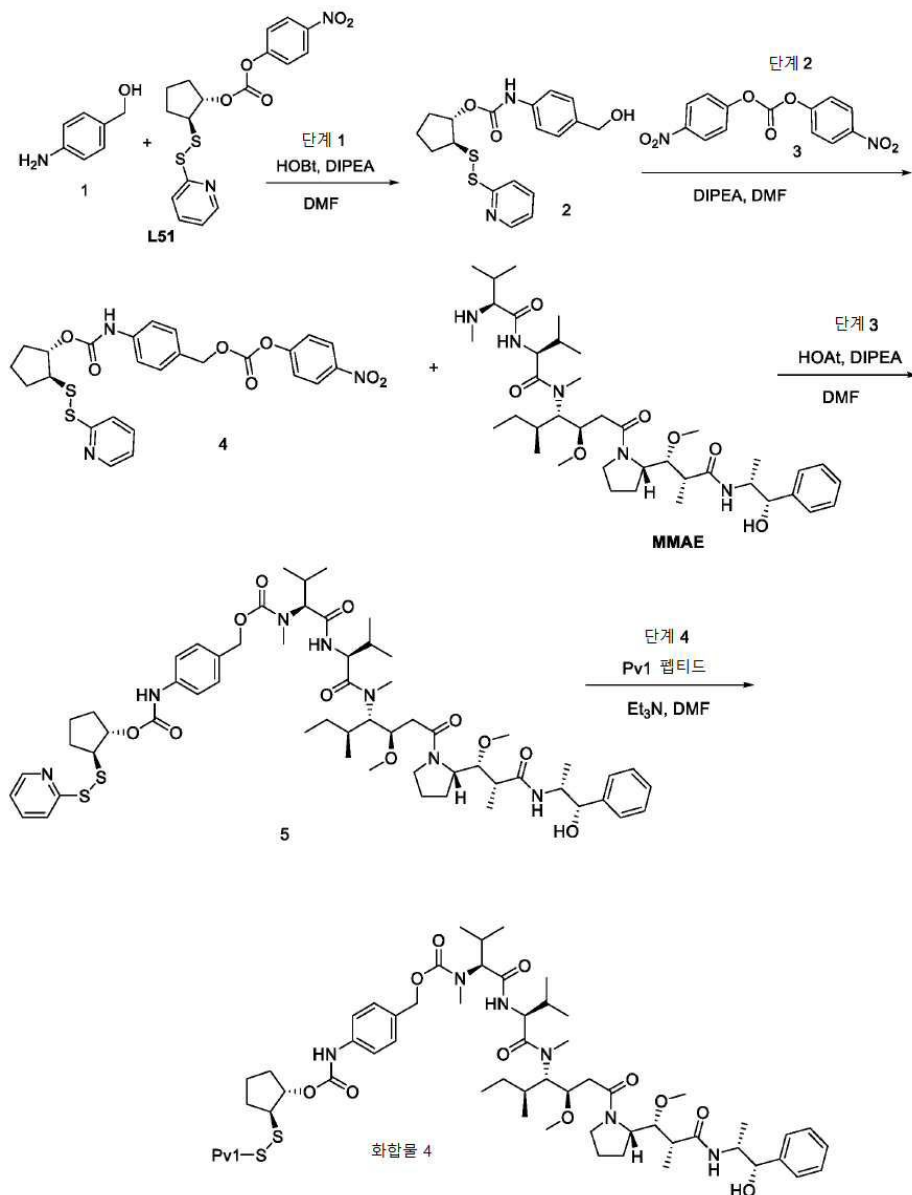
[0462] 단계 4: 화합물 3의 합성

[0463] DMF (0.5ml)에서 4-((((1R,2R)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥틸)옥시)카르보닐)아미노)벤질((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트 (60mg, 0.054mmol)의 교반된 용액으로 Pv1 펩티드 (176mg, 0.054mmol) 및 트리에틸아민 (8.96 μ l, 0.064mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 혼합물은 RT에서 18h 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 H_2O 및 ACN에서 0.1% TFA를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 산물 분획을 동결건조시켜, 화합물 3 (65mg, 0.015mmol, 27.8% 수율) (백색 고체)를 얻었다. 상기 획득된 산물은 디-TFA 염이었다. LCMS: $C_{205}H_{306}N_{42}O_{54}S_2$ 에 대한 $[M + H]^+$ 계산치, 4284.19; 발견치, 1430.2 (M+3)/3. HPLC: 컬럼:

Atlantis dC18 (250X4.6)mm, 5 μ m; 이동상: A: H₂O에서 0.1% TFA; 이동상: B: ACN에서 0.1% TFA; 유동: 1.0mL/min; RT (min): 12.20; 순도 (Max): 99.84%.

[0464]

실시예 4: 화합물 4의 합성



[0465]

[0466]

단계 1: (1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로펜틸(4-(하이드록시메틸)페닐)카르바메이트의 합성

[0467]

DMF (2.5ml)에서 (1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로펜틸-2-(4-니트로페닐)아세테이트 (L-51) (380mg, 0.974mmol) 및 (4-아미노페닐)메탄올 (120mg, 0.974mmol)의 교반된 용액을 0℃로 냉각시켰다. 그 다음, 0℃에서 DIPEA (0.339ml, 1.949mmol)를 추가하였고, 이어서 HOBt (74.6mg, 0.487mmol)를 추가하였다. 상기 반응 혼합물은 RT에서 18h 동안 교반하였다. 얼음-냉각수를 상기 반응 혼합물에 추가하였고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 상기 에틸 아세테이트 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 감압 하에서 농축시켜 미정제 잔유물을 얻었다. 상기 미정제 산물을 섬광 컬럼 크로마토그래피에서 석유 에테르에 50% EtOAc를 용리액으로 이용하여 정제하였다. 상기 산물 분획물을 감압하에서 증발시켜 (1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로펜틸(4-(하이드록시메틸)페닐)카르바메이트 (304mg, 0.798mmol, 82% 수율) (갈색 검의)를 얻었다. LCMS: C₁₈H₂₀F₆N₂O₃S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 376.09; 발견치, 377.1 (M+H). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 9.61 (s, 1H), 8.45 (d, J = 4.80 Hz, 1H), 7.79-7.77 (m, 2H), 7.39-7.22 (m, 2H), 7.19-7.14 (m, 3H), 5.08 (t, J = 5.60 Hz, 1H), 5.00 (s, 1H), 4.41 (d, J = 5.60 Hz, 2H), 3.51-3.34 (m, 1H), 2.17-2.00 (m, 2H), 1.78-1.67 (m, 4H).

[0468] 단계 2: (1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설펜닐)시클로펜틸(4-(((4-니트로페녹시)카르보닐)옥시)메틸)페닐)카르바메이트의 합성

[0469] DMF (5ml)에서 (1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설펜닐)시클로펜틸(4-(하이드록시메틸)페닐)카르바메이트 (300mg, 0.797mmol) 및비스(4-니트로페닐)카르보네이트 (970mg, 3.19mmol)의 용액으로 DIPEA (0.208ml, 1.195mmol)를 0℃에서 추가하였고, 상기 반응 혼합물은 RT에서 18h 동안 교반하였다. 얼음-냉각수를 상기 반응 혼합물에 추가하였고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 상기 에틸 아세테이트 층을 차가운 물, 염수로 세척하였고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰고, 감압 하에서 농축시켜, 상기 미정제 산물을 얻었다. 상기 미정제 산물을 섬광 컬럼 크로마토그래피에서 석유 에테르에 25% 에틸 아세테이트 용리액으로 이용하여 정제하였다. 상기 산물 분획을 감압 하에서 농축시켜, (1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설펜닐)시클로펜틸(4-(((4-니트로페녹시)카르보닐)옥시)메틸)페닐)카르바메이트 (330mg, 0.599mmol, 75% 수율) (황색의 끈적한 고체)를 얻었다. LCMS: C₂₅H₂₃N₃O₇S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 541.10; 발견치, 542.0 (M+H). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 9.78 (s, 1H), 8.45 (d, J = 5.20 Hz, 1H), 8.31-8.33 (m, 2H), 7.81-7.77 (m, 1H), 7.57 (d, J = 8.80 Hz, 2H), 7.48 (d, J = 8.40 Hz, 2H), 7.38 (d, J = 8.40 Hz, 2H), 7.24-7.21 (m, 1H), 5.23 (s, 2H), 5.03 (t, J = 2.40 Hz, 1H), 3.54-3.49 (m, 1H), 2.20-2.10 (m, 2H), 1.80-1.67 (m, 4H).

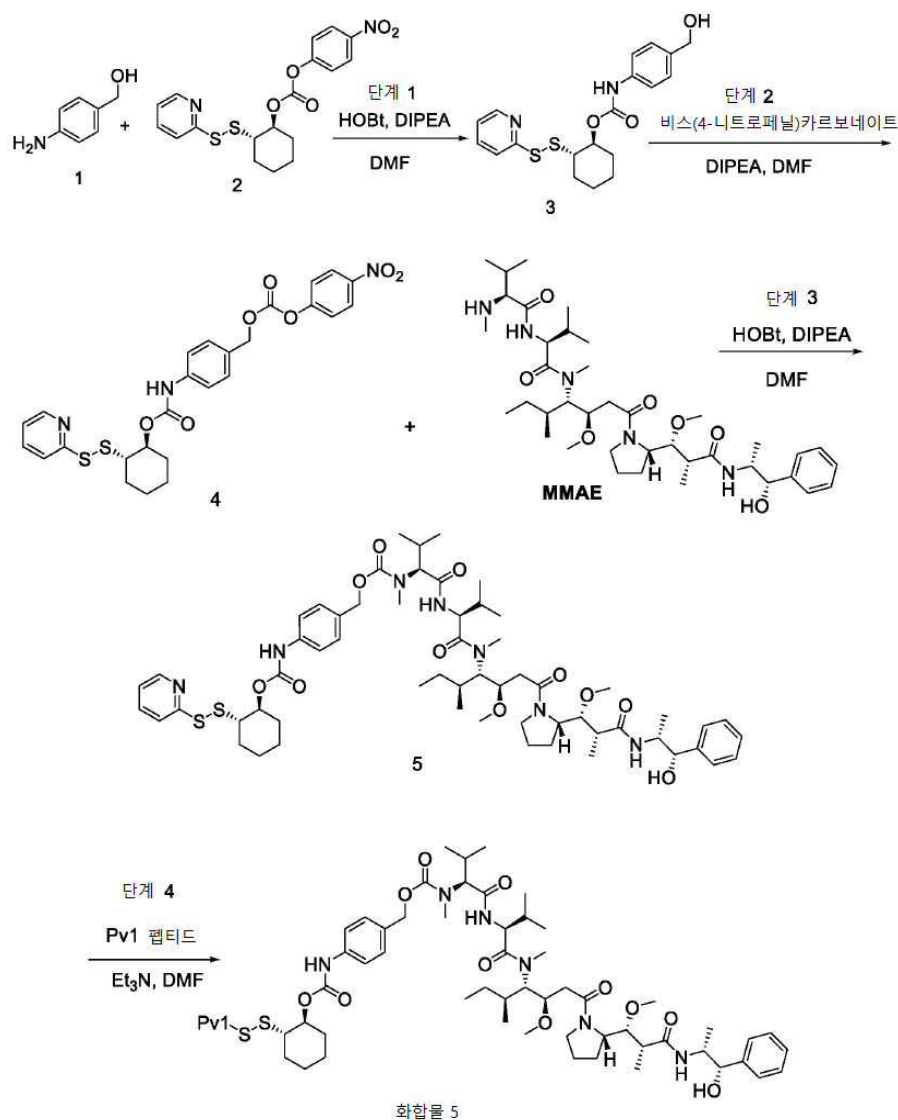
[0470] 단계 3: 4-((((1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설펜닐)시클로펜틸)옥시)카르보닐)아미노)벤질((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트의 합성

[0471] DMF (1ml)에서 (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸아미노)부탄아미도)부탄아미드 (150mg, 0.209mmol) 및 (1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설펜닐)시클로펜틸(4-(((4-니트로페녹시)카르보닐)옥시)메틸)페닐)카르바메이트 (113mg, 0.209mmol)의 교반된 용액으로 DMA (0.104ml, 0.104mmol) 및 DIPEA (0.055ml, 0.313mmol)에서 1-하이드록시-7-아자벤조트리아졸의 1M 용액을 0℃에서 추가하였다. 상기 반응 혼합물은 RT에서 18h 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 H₂O 및 ACN에서 0.1% HCOOH를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 산물 분획을 동결건조시켜, 4-((((1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설펜닐)시클로펜틸)옥시)카르보닐)아미노)벤질((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트 (150mg, 0.129mmol, 61.9% 수율) (백색 고체)를 얻었다. LCMS: C₅₈H₈₅N₇O₁₁S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 1119.57; 발견치, 1120.6 (M+H). HPLC: 컬럼: Atlantis dC18 (250X4.6)mm, 5 μm; 이동상: A: H₂O에서 0.1% TFA; 이동상: B: ACN에서 0.1% TFA; 유동: 1.0mL/min; RT (min): 13.60; 순도 (Max): 96.55%.

[0472] 단계 4: 화합물 4의 합성

[0473] DMF (0.75ml)에서 4-((((1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설펜닐)시클로펜틸)옥시)카르보닐)아미노)벤질((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트 (70mg, 0.062mmol) 및 Pv1 펩티드 (203.2mg, 0.062mmol)의 교반된 용액으로 트리에틸아민 (10.45 μl, 0.074mmol)를 0℃에서 추가하였다. 상기 반응 혼합물을 RT에서 26h 동안 교반시켰다. 상기 반응 혼합물을 H₂O 및 ACN에서 0.1% TFA를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 산물 분획을 동결건조시켜, 화합물 4 (41mg, 9.56 μmol, 15.4% 수율) (백색 고체)를 얻었다. 상기 획득된 산물은 디-⁺TFA 염이다. LCMS: C₂₀₅H₃₀₆N₄₂O₅₄S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 4284.19; 발견치, 1430.1 (M+3)/3. HPLC: 컬럼: Atlantis dC18 (250X4.6)mm, 5 μm; 이동상: A: H₂O에서 0.1% TFA; 이동상: B: ACN에서 0.1% TFA; 유동: 1.0mL/min; RT (min): 12.33; 순도 (Max): 99.61%.

[0474] 실시예 5: 화합물 5의 합성



[0475]

[0476] 단계 1: (1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥실(4-(하이드록시메틸)페닐)카르바메이트의 합성

[0477] DMF (1ml)에서 (4-아미노페닐) 메탄올 (20mg, 0.162mmol) 및 4-니트로페닐 ((1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥실)카르보네이트 (79mg, 0.195mmol)의 교반된 용액을 얼음을 이용하여 냉각시켰다. DIPEA (0.057ml, 0.325mmol) 및 1H-벤조[d][1,2,3] 트리아졸-1-올 (10.97mg, 0.081mmol)을 추가하였고, 상기 반응 혼합물은 RT에서 36h 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 물로 희석시켰고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 상기 유기층을 염수로 세척하였고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰고, 농축시켜, 미정제 잔유물을 얻었다. 상기 미정제 잔유물을 섬광 컬럼 크로마토그래피에서 석유 에테르에 75-80% 에틸 아세테이트를 용리액으로 이용하여 정제하였다. 상기 산물 분획을 증발시켜, (1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥실(4-(하이드록시메틸)페닐)카르바메이트 (40mg, 0.090mmol, 55.4% 수율)(든적거리는 고체로)를 수득하였다. LCMS: C₁₉H₂₂N₂O₃S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 390.11; 발견치, 391.1 (M+H). HPLC: 컬럼: X-Bridge C8 (50X4.6)mm, 3.5 μm; 이동상: A: H₂O에서 0.1% TFA; 이동상: B: ACN에서 0.1% TFA; 유동: 2.0mL/min; RT (min): 3.80; 순도 (Max): 87.78%.

[0478] 단계 2: (1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥실(4-(((4-니트로페녹시)카르보닐)옥시)메틸)페닐)카르바메이트의 합성

[0479] DMF (1ml)에서 (1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥실(4-(하이드록시메틸)페닐)카르바메이트 (20mg, 0.051mmol)의 교반된 용액으로 비스(4-니트로페닐)카르보네이트 (62.3mg, 0.205mmol) 및 DIPEA (0.013ml, 0.077mmol)를 0℃에서 추가하였다. 상기 반응 혼합물은 RT에서 18h 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물에, 얼음

냉각수를 추가하였고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 상기 에틸 아세테이트 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시켰고, 감압 하에서 농축시켜, 상기 미정제 산물을 얻었다. 상기 미정제 산물을 섬광 컬럼 크로마토그래피에서 15% 에틸 아세테이트 및 석유 에테르를 용리액으로 이용하여 정제하였다. 상기 산물 분획을 감압 하에서 농축시켜, (1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥실(4-(((4-니트로페녹시)카르보닐)옥시)메틸)페닐)카르바메이트 (12mg, 0.021mmol, 40.3% 수율) (끈적거리는 고체의)를 얻었다. LCMS: C₂₆H₂₅N₃O₇S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 555.11; 발견치, 555.9 (M+H).

[0480]

단계 3: (4-((((1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥실)옥시)카르보닐)아미노)벤질((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트의 합성

[0481]

DMF (0.8ml)에서 (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸아미노)부탄아미노)부탄아미드 (15.51mg, 0.022mmol) 및 (1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥실(4-(((4-니트로페녹시)카르보닐)옥시)메틸)페닐)카르바메이트 (12mg, 0.022mmol)의 용액을 얼음을 이용하여 냉각시켰다. 여기에 DIPEA (5.66 μl, 0.032mmol) 및 DMA (10.80 μl, 10.80 μmol)에서 1-하이드록시-7-아자벤조트리아졸의 1M 용액을 추가하였고, 상기 반응 혼합물을 RT에서 16h 동안 교반시켰다. 상기 반응 혼합물을 H₂O 및 ACN에서 0.1% HCOOH를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 산물 분획을 동결건조시켜, 4-((((1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥실)옥시)카르보닐)아미노)벤질((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트 (15mg, 0.013mmol, 60.5% 수율) (백색 고체)를 얻었다. LCMS: C₅₉H₈₇N₇O₁₁S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 1133.59; 발견치, 1135.1 (M+H). HPLC: 컬럼: Atlantis dC18 (250X4.6)mm, 5 μm; 이동상: A: H₂O에서 0.1% TFA; 이동상: B: ACN에서 0.1% TFA; 유동: 1.0mL/min; RT (min): 15.62; 순도 (Max): 98.83%.

[0482]

단계 4: 화합물 5의 합성

[0483]

DMF (0.5ml)에서 4-((((1R,2R)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥실)옥시)카르보닐)아미노)벤질((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트 (15mg, 0.013mmol) 및 Pv1 펩티드 (47.7mg, 0.015mmol)의 용액을 얼음을 이용하여 냉각시켰다. 여기에 트리에틸아민 (2.211 μl, 0.016mmol)을 추가하였고, 상기 반응 혼합물을 RT에서 4h 동안 교반시켰다. 상기 반응 혼합물을 H₂O 및 ACN에서 0.1% TFA를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 산물 분획을 동결건조시켜, 화합물 5 (42mg, 9.58 μmol, 72.5% 수율) (백색 고체)를 얻었다. 상기 획득된 산물은 디-TFA 염이다. LCMS: C₂₀₆H₃₀₈N₄₂O₅₄S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 4298.21; 발견치, 1435.0 (M+3)/3. HPLC: 컬럼: Atlantis dC18 (250X4.6)mm, 5 μm; 이동상: A: H₂O에서 0.1% TFA; 이동상: B: ACN에서 0.1% TFA; 유동: 1.0mL/min; RT (min): 12.93; 순도 (Max): 98.12%.

Synthesis of Compound 6:

The synthesis proceeds through five stages:

- Stage 1:** N-(4-methylphenyl)acetamide (**1**) reacts with LAH in THF at 0°C to room temperature for 2 hours to yield N-(4-hydroxyphenyl)acetamide (**2**).
- Stage 2:** Compound **2** reacts with 2-((cyclohexylmethyl)thio)pyridine (**3**) in DMF using HOBt and DIPEA to form compound **4**.
- Stage 3:** Compound **4** reacts with 4-nitrobenzoic acid in DMF using DIPEA to form compound **5**.
- Stage 4:** Compound **5** reacts with MMAE (Methotrexate) in DMF using HOBt and DIPEA to form compound **6**.
- Stage 5:** Compound **6** reacts with PV1-pyrene (**PV1 페티드**) in DMF using Et₃N to form the final conjugate.

화합물 6

[0485]

[0486]

[0487]

[0488]

[0489]

- 94 -

증발시켜, (1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥실(4-(하이드록시메틸)페닐)(메틸)카르바메이트 (40mg, 0.057mmol, 26.1% 수율) (황색 액체의)를 얻었다. LCMS: $C_{20}H_{24}N_2O_3S_2$ 에 대한 $[M + H]^+$ 계산치, 404.12; 발견치, 405.1 (M+H).

[0490] 단계 3: (1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥실 메틸(4-(((4-니트로페녹시)카르보닐)옥시)메틸)페닐)카르바메이트의 합성

[0491] DMF (1ml)에서 (1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥실(4-(하이드록시메틸)페닐)(메틸)카르바메이트 (40mg, 0.099mmol)의 교반된 용액에 비스(4-니트로페닐)카르보네이트 (120mg, 0.396mmol) 및 DIPEA (0.035ml, 0.198mmol)를 0℃에서 추가하였다. 상기 반응 혼합물을 RT에서 6h 동안 교반시켰다. 상기 반응 혼합물을 얼음 냉각수로 희석시켰고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 상기 유기층을 염수로 세척하였고, Na_2SO_4 상에서 건조시켰고, 감압 하에서 농축시켜, 미정제 잔유물을 얻었다. 상기 미정제 잔유물을 섬광 컬럼 크로마토그래피를 이용하여 정제하였다. 상기 산물을 석유 에테르에 20% 에틸 아세테이트로 용리시켰다. 상기 산물 분획을 증발시켜, (1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥실 메틸(4-(((4-니트로페녹시)카르보닐)옥시)메틸)페닐)카르바메이트 (25mg, 0.044mmol, 44.3% 수율) (무색의 끈적거리는 고체)를 얻었다. LCMS: $C_{27}H_{27}N_3O_7S_2$ 에 대한 $[M + H]^+$ 계산치, 569.13; 발견치, 570.1 (M+H).

[0492] 단계 4: 4-(메틸((((1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥실)옥시)카르보닐)아미노)벤질((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트의 합성

[0493] DMF (1ml)에서 (S)-N-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸아미노)부탄아미도)부탄아미드 (25mg, 0.035mmol) 및 (1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥실 메틸(4-(((4-니트로페녹시)카르보닐)옥시)메틸)페닐)카르바메이트 (19.83mg, 0.035mmol)의 교반된 용액으로 DIPEA (9.12 μ l, 0.052mmol) 및 DMA (0.017ml, 0.017mmol)에서 1-하이드록시-7-아자벤조트리아졸의 1M 용액을 0℃에서 추가하였다. 상기 반응 혼합물은 RT에서 18h 동안 교반하였다. 상기 미정제 반응 혼합물을 H_2O 및 ACN에서 0.1% $HCOOH$ 를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 산물 분획을 동결건조시켜, 4-(메틸((((1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥실)옥시)카르보닐)아미노)벤질((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트 (33mg, 0.026mmol, 74.8% 수율) (백색 고체)을 얻었다. LCMS: $C_{60}H_{89}N_7O_{11}S_2$ 에 대한 $[M + H]^+$ 계산치, 1147.61; 발견치, 1149.6 (M+H).

[0494] 단계 5: 화합물 6의 합성

[0495] DMF (1ml)에서 (1R,2R)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥실(4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-sec-부틸)-12-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-2-옥소에틸)-5,8-디이소프로필-4,10-디메틸-3,6,9-트리옥소-2,13-디옥사-4,7,10-트리아자테트라데실)페닐)(메틸)카르바메이트 (23mg, 0.020mmol) 및 PV1 펩티드 (72.2mg, 0.022mmol)의 용액을 얼음을 이용하여 냉각시켰다. 여기에 트리에틸아민 (2.432mg, 0.024mmol)을 추가하였다. 상기 반응 혼합물은 RT에서 4h 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 H_2O 및 ACN에서 0.1% TFA를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 산물 분획을 동결건조시켜, 화합물 6 (45mg, 10.03 μ mol, 50.1% 수율) (백색 고체)을 얻었다. 상기 획득된 산물은 디-TFA 염이다. LCMS: $C_{207}H_{310}N_{42}O_{54}S_2$ 에 대한 $[M + H]^+$ 계산치, 4312.22; 발견치, 1437.7 (M-3)/3. HPLC: 컬럼: Atlantis dC18 (250X4.6)mm, 5 μ m; 이동상: A: H_2O 에서 0.1% TFA; 이동상: B: ACN에서 0.1% TFA; 유동: 1.0mL/min; RT (min): 12.66; 순도 (Max): 96.18%.

[0496] 하기 표 2의 화합물은 상기 실시예에 기술된 절차를 사용하여 제조되었다.

[0497] 표 2.

실사예	구조
7	
8	

[0498]

실시예	구조
9	
10	
11	

[0499]

실시예	구조
12	
13	
14	

[0500]

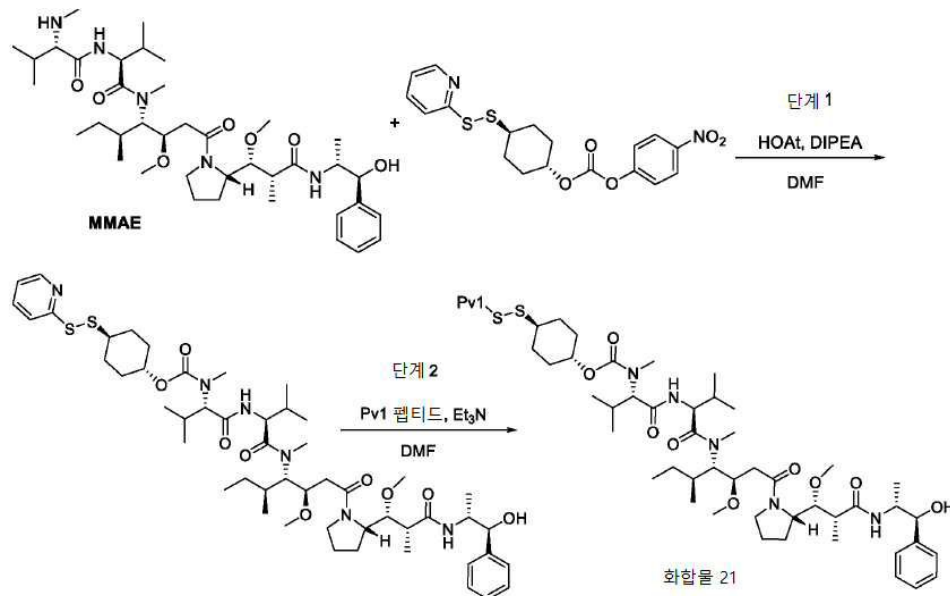
실시예	구조
15	
16	
17	

[0501]

실시예	구조
18	
19	
20	

[0502]

[0503] 실시예 21: 화합물 21의 합성



[0504]

[0505] 단계 1: 트랜스-4-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥실((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트의 합성

[0506]

DMF (0.5ml)에서 (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸아미노)부탄아미도)부탄아미드 (20mg, 0.028mmol) 및 4-니트로페닐 (트랜스-4-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥실)카르보네이트 (11.32mg, 0.028mmol)의 교반된 용액으로 0℃에서 DIPEA (7.3 μL, 0.042mmol)를 추가하고, 이어서 DMA (13.92 μL, 13.92 μmol)에서 1-하이드록시-7-아자벤조트리아졸을 첨가하였다. 상기 반응 혼합물은 RT에서 18h 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 H₂O 및 ACN에서 0.1% HCOOH를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 예비 분획을 동결건조시켜, 다음을 얻었다: 트랜스-4-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥실((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트 (19mg, 0.019mmol, 69.2% 수율) (백색 고체). LCMS: C₅₁H₈₀N₆O₉S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 985.34; 발견치, 985.3.

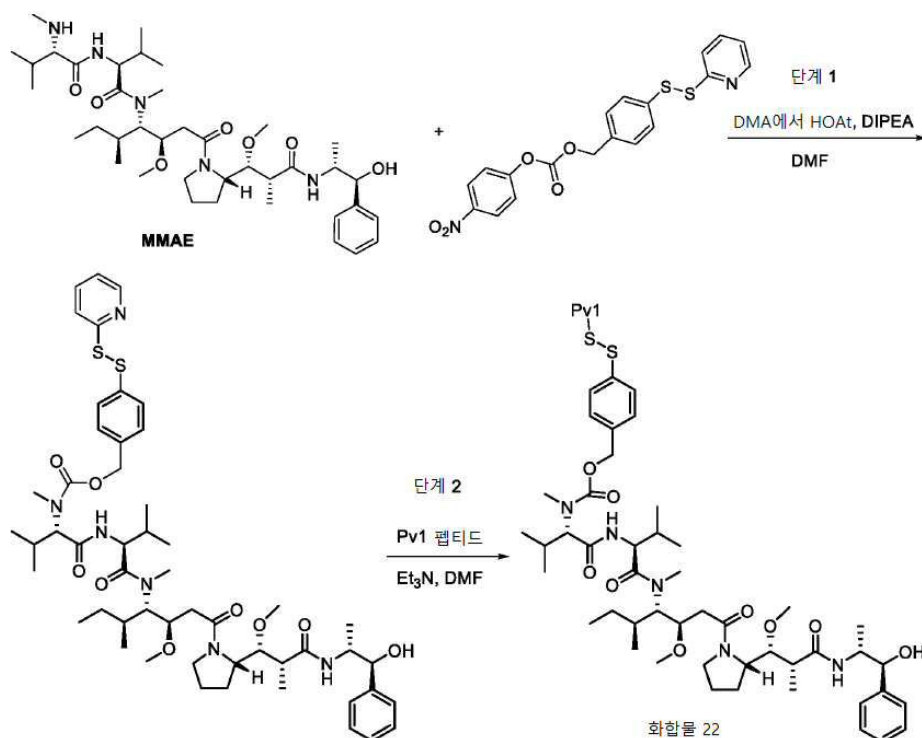
[0507]

단계 2: 화합물 21의 합성

[0508]

DMF (0.5ml)에서 트랜스-4-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥실((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트 (19mg, 0.019mmol)의 용액을 0℃로 냉각시켰다. Piv1 펩티드 (69.54mg, 0.021mmol) 및 트리에틸아민 (3.22 μL, 0.023mmol)을 추가하였고, 상기 반응 혼합물을 RT에서 1h 동안 교반시켰다. 상기 반응 혼합물을 H₂O 및 ACN에서 0.1% TFA를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 예비 분획을 동결건조시켜, 화합물 21 (80mg, 0.019mmol, 99.9% 수율) (백색 고체)을 얻었다. 상기 획득된 산물은 다-TFA 염이었다. LCMS: C₁₉₈H₃₀₁N₄₁O₅₂S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 4151.941; 발견치, 1384.8 [(M+3)/3]; HPLC: 컬럼 Atlantis dC18 (250 X4.6)mm, 5 μm, 이동상 A: MilliQ 물에서 0.1% TFA, 이동상 B: ACN; 유동: 1.0mL/min; RT (min): 11.826; 순도 (Max): 99.71%.

[0509] 실시예 22: 화합물 22의 합성



[0510]

[0511] 단계 1: 4-(피리딘-2-일디설파닐)벤질((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트

[0512]

DMF (1ml)에서 (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)-N,3-디메틸-2-((메틸아미노)부탄아미도)부탄아미드 (50mg, 0.069mmol) 및 4-니트로페닐 4-(피리딘-2-일디설파닐)벤질카르보네이트 (37.52mg, 0.090mmol)의 교반된 용액으로 0℃에서 DIPEA (24.13 μL, 0.014mmol)를 추가하고, 이어서 DMA (0.47ml, 0.035mmol)에서 1-하이드록시-7-아자벤조트리아졸을 추가하였다. 상기 반응 혼합물은 RT에서 18h 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 H₂O 및 ACN에서 0.1% HCOOH를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 예비 분획을 동결건조시켜, 다음을 얻었다: 4-(피리딘-2-일디설파닐)벤질((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트 (22mg, 0.022mmol, 31.80% 수율) (백색 고체). LCMS: C₅₂H₇₆N₆O₉S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 993.333; 발견치, 994.5.

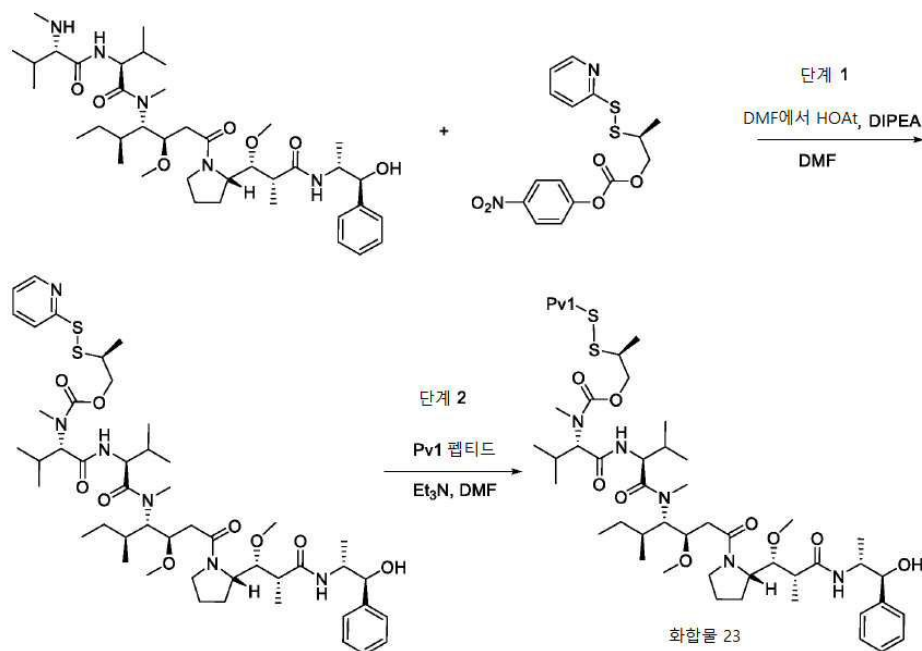
[0513]

단계 2: 화합물 22의 합성

[0514]

DMF (1ml)에서 4-(피리딘-2-일디설파닐)벤질((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트 (22mg, 0.022mmol)의 용액을 0℃로 냉각시켰다. Pv1 펩티드 (80mg, 0.024mmol) 및 트리에틸아민 (12.34 μL, 0.088mmol)을 추가하였고, 상기 반응 혼합물을 RT에서 4h 동안 교반시켰다. 상기 반응 혼합물을 H₂O 및 ACN에서 0.1% TFA를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 예비 분획을 동결건조시켜, 화합물 22 (40mg, 0.022mmol, 43.41% 수율) (백색 고체)을 얻었다. 상기 획득된 산물은 디-TFA 염이다. LCMS: C₁₉₉H₂₉₇N₄₁O₅₂S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 4159.920; 발견치, 1385.1 [(M-3)/3]; HPLC: 컬럼 X-Bridge C8(50X4.6)mm, 3.5 μm, 이동상:A:물에서 0.1% TFA, 이동상:B: ACN에서 0.1% TFA, 유동:2.0mL/min; RT (min): 5.52; 순도 (Max): 99.147%.

[0515] 실시예 23: 화합물 23의 합성



[0516]

[0517]

단계 1: (S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)프로필 ((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트

[0518]

DMF (1ml)에서 (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸아미노)부탄아미도)부탄아미드 (50mg, 0.069mmol) 및 (S)-4-니트로페닐 (2-(피리딘-2-일디설파닐)프로필) 카르보네이트 (30.61mg, 0.090mmol)의 교반된 용액으로 0℃에서 DIPEA (24.13 μL, 0.014mmol)를 추가하였고, 이어서 DMA (0.47ml, 0.035mmol)에서 1-하이드록시-7-아자벤조트리아졸을 추가하였다. 상기 반응 혼합물은 RT에서 18h 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 H₂O 및 ACN에서 0.1% HCOOH를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 예비 분획을 동결건조시켜, 다음을 얻었다: (S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)프로필 ((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트 (40mg, 0.041mmol, 60.77% 수율) (백색 고체). LCMS: C₄₈H₇₆N₆O₉S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 945.289; 발견치, 945.5.

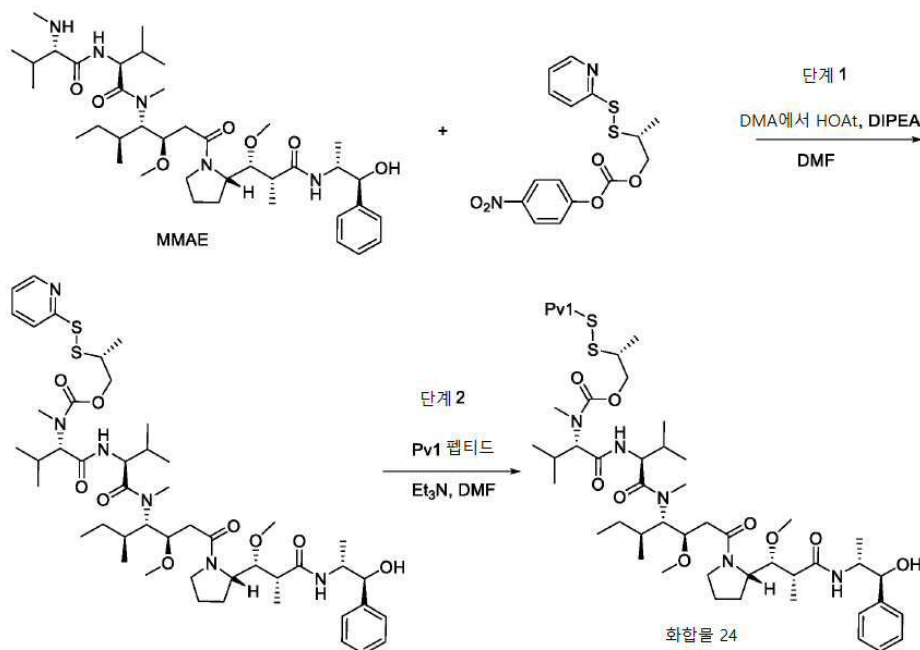
[0519]

단계 2: 화합물 23의 합성

[0520]

DMF (1ml)에서 (S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)프로필 ((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트 (40mg, 0.042mmol)의 용액을 0℃로 냉각시켰다. Pvl 펩티드 (152mg, 0.046mmol) 및 트리에틸아민 (23.59 μL, 0.169mmol)을 추가하였고, 상기 반응 혼합물을 RT에서 4h 동안 교반시켰다. 상기 반응 혼합물을 H₂O 및 ACN에서 0.1% TFA를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 예비 분획을 동결건조시켜, 화합물 23 (126.3mg, 0.030mmol, 72.59% 수율) (백색 고체)을 얻었다. 상기 획득된 산물은 디-TFA 염이다. LCMS: C₁₉₅H₂₉₇N₄₁O₅₂S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 4111.876; 발견치, 1371.1 [(M+3)/3]; HPLC: 컬럼 X-Bridge C8(50X4.6)mm, 3.5 μm, 이동상:A: 물에서 0.1% TFA, 이동상:B: ACN에서 0.1% TFA, 유동: 2.0mL/min; RT (min): 5.43; 순도 (Max): 98.857%.

[0521] 실시예 24: 화합물 24의 합성



[0522]

[0523] 단계 1: (R)-2-(피리딘-2-일디설파닐)프로필 ((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트

[0524]

DMF (1ml)에서 (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸아미노)부탄아미도)부탄아미드 (50mg, 0.069mmol) 및 (R)-4-니트로페닐 (2-(피리딘-2-일디설파닐)프로필) 카르보네이트 (30.619mg, 0.083mmol)의 교반된 용액으로 0℃에서 DIPEA (24.13 μL, 0.014mmol)를 첨가하였고, 이어서 DMA (0.47ml, 0.035mmol)에서 1-하이드록시-7-아자벤조트리아졸을 첨가하였다. 상기 반응 혼합물은 RT에서 18h 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 H₂O 및 ACN에서 0.1% HCOOH를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 예비 분획을 동결건조시켜, 다음을 얻었다: (R)-2-(피리딘-2-일디설파닐)프로필 ((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트 (40mg, 0.042mmol, 60.77% 수율) (백색 고체). LCMS: C₄₈H₇₆N₆O₉S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 945.289; 발견치, 946.4.

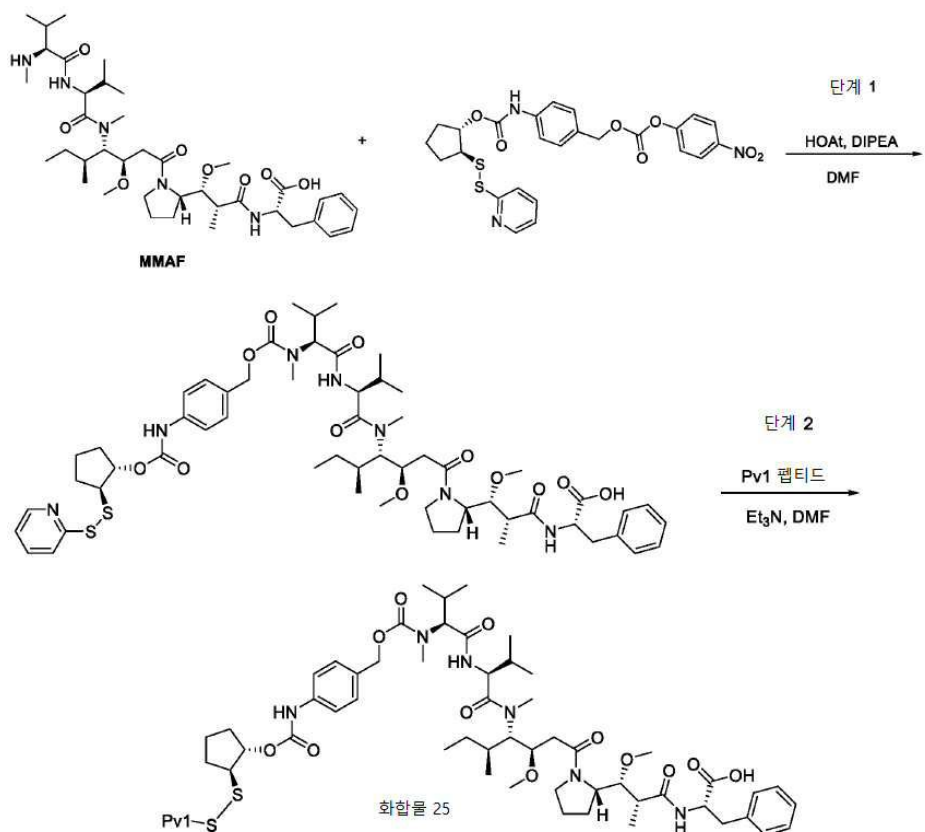
[0525]

단계 2: 화합물 24의 합성

[0526]

DMF (1ml)에서 (R)-2-(피리딘-2-일디설파닐)프로필 ((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트 (40mg, 0.042mmol)의 용액을 0℃로 냉각시켰다. Pv1 펩티드 (138.73mg, 0.042mmol) 및 트리에틸아민 (11.79 μL, 0.084mmol)을 첨가하였고, 반응 혼합물을 RT에서 2h 동안 교반시켰다. 상기 반응 혼합물을 H₂O 및 ACN에서 0.1% TFA를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 예비 분획을 동결건조시켜, 화합물 24 (40mg, 0.01mmol, 22.98% 수율) (백색 고체)을 얻었다. 상기 획득된 산물은 디-TFA 염이다. LCMS: C₁₉₅H₂₉₇N₄₁O₅₂S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 4111.876; 발견치, 1369.1 [(M-3)/3]; HPLC: 컬럼 X-Bridge C8(50X4.6)mm, 3.5 μm, 이동상:A:물에서 0.1% TFA, 이동상:B: ACN에서 0.1% TFA, 유동:2.0mL/min; RT (min): 5.43; 순도 (Max): 98.413%.

[0527] 실시예 25: 화합물 25의 합성



[0528]

[0529]

단계 1: ((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸(((4-(((1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥틸)옥시)카르보닐)아미노)벤질)옥시)카르보닐)아미노)부탄아미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노일)-L-페닐알라닌

[0530]

DMF (1ml)에서 ((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸아미노)부탄아미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노일)-L-페닐알라닌 (100mg, 0.137mmol) 및 (1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥틸(4-(((4-니트로페녹시)카르보닐)옥시)메틸)페닐)카르바메이트 (74mg, 0.137mmol)의 교반된 용액으로 0℃에서 DIPEA (0.036ml, 0.205mmol)을 첨가하였고, 이어서 DMA (0.068ml, 0.068mmol)에서 1-하이드록시-7-아자벤조트리아졸을 첨가하였다. 상기 반응 혼합물은 RT에서 18h 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 H₂O 및 ACN에서 0.1% HCOOH를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 예비 분획을 동결건조시켜, 다음을 얻었다: ((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸(((4-(((1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥틸)옥시)카르보닐)아미노)벤질)옥시)카르보닐)아미노)부탄아미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노일)-L-페닐알라닌 (80mg, 0.066mmol, 51.61% 수율) (백색 고체). LCMS: C₅₈H₈₃N₇O₁₂S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 1134.459; 발견치, 1134.5.

[0531]

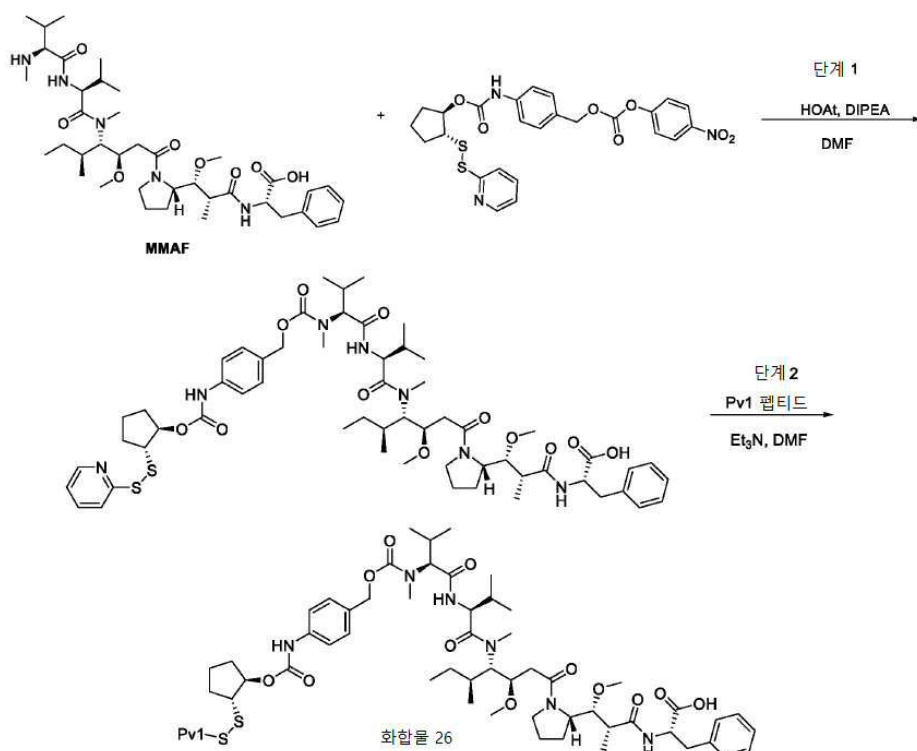
단계 2: 화합물 25의 합성

[0532]

DMF (1ml)에서 ((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸(((4-(((1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥틸)옥시)카르보닐)아미노)벤질)옥시)카르보닐)아미노)부탄아미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노일)-L-페닐알라닌 (50mg, 0.044mmol)의 용액을 0℃로 냉각시켰다. PV1 펩티드 (145mg, 0.044mmol) 및 트리에틸아민 (7.37 μl, 0.053mmol)을 첨가하였고, 상기 반응 혼합물은 RT에서 18h 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 H₂O 및 ACN에서 0.1% TFA를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 예비 분획을 동결건조시켜, 화합물 25 (40mg, 0.01mmol, 21.10% 수율) (백색 고체)을 얻었다. 상기 획득된 산물은 디-TFA 염이다. LCMS: C₂₀₅H₃₀₄N₄₂O₅₅S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 4301.046; 발견치, 1434.8 [(M+3)/3]; HPLC: 컬럼 Atlantis dC18 (250 X4.6)mm, 5 μm, 이동상 A: MilliQ 물에서 0.1%

TFA, 이동상 B: ACN; 유동: 1.0mL/min; RT (min): 12.056; 순도 (Max): 99.47%.

[0533] 실시예 26: 화합물 26의 합성



[0534]

[0535] 단계 1: ((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸(((4-(((1R,2R)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥틸)옥시)카르보닐)아미노)벤질)옥시)카르보닐)아미노)부탄아미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노일)-L-페닐알라닌

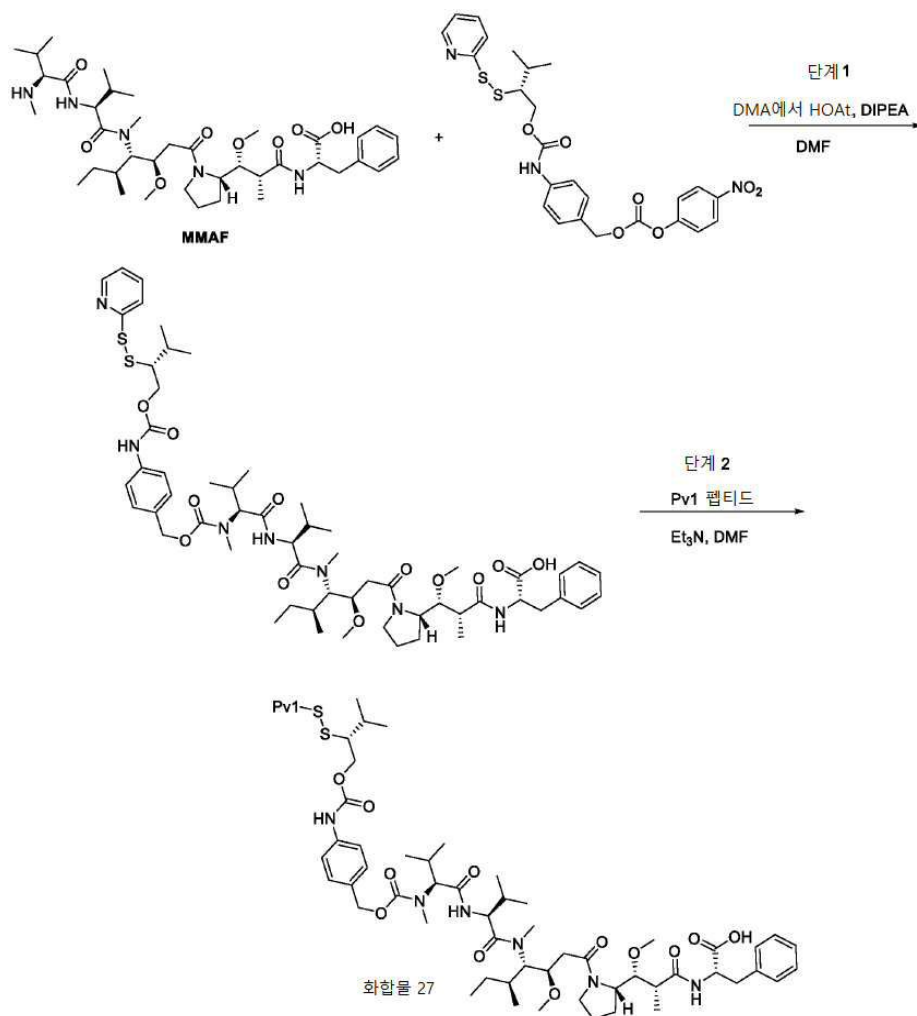
[0536] DMF (1mL)에서 ((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸아미노)부탄아미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노일)-L-페닐알라닌 (40mg, 0.054mmol) 및 (1R,2R)-2-(피리딘-2-일 디설파닐)시클로헥틸(4-(((4-니트로페녹시)카르보닐)옥시)메틸)페닐)카르바메이트 (29.59mg, 0.054mmol)의 교반된 용액으로 0℃에서 DIPEA (14.20 μL, 0.082mmol)을 첨가하였고, 이어서 DMA (2.73 μL, 0.027mmol)에서 1-하이드록시-7-아자벤조트리아졸을 첨가하였다. 상기 반응 혼합물은 RT에서 18h 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 H₂O 및 ACN에서 0.1% HCOOH를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 예비 분획을 동결건조시켜, 다음을 얻었다: ((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸(((4-(((1R,2R)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥틸)옥시)카르보닐)아미노)벤질)옥시)카르보닐)아미노)부탄아미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노일)-L-페닐알라닌 (35mg, 0.031mmol, 56.46% 수율) (백색 고체). LCMS: C₅₈H₈₃N₇O₁₂S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 1134.459; 발견치, 1133.8.

[0537] 단계 2: 화합물 26의 합성

[0538] DMF (1mL)에서 ((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸(((4-(((1R,2R)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥틸)옥시)카르보닐)아미노)벤질)옥시)카르보닐)아미노)부탄아미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노일)-L-페닐알라닌 (35mg, 0.031mmol)의 용액을 0℃로 냉각시켰다. PV1 펩티드 (101.15mg, 0.031mmol) 및 트리에틸아민 (5.16 μL, 0.037mmol)을 첨가하였고, 상기 반응 혼합물은 RT에서 18h 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 H₂O 및 ACN에서 0.1% TFA를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 예비 분획을 동결건조시켜, 화합물 26 (15mg, 0.003mmol, 11.30% 수율) (백색 고체)을 얻었다. 상기 획득된 산물은 디-TFA 염이다. LCMS: C₂₀₅H₃₀₄N₄₂O₅₅S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 4301.046; 발견치, 1434.5 [(M+3)/3]; HPLC: 컬럼 Atlantis dC18 (250 X4.6)mm, 5 μm, 이동상 A: MilliQ 물에

서 0.1% TFA, 이동상 B: ACN; 유동: 1.0mL/min; RT (min): 12.243; 순도 (Max): 99.10%.

[0539] 실시예 27: 화합물 27의 합성



[0540]

[0541]

단계 1: ((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸(((4-(((R)-3-메틸-2-(피리딘-2-일디설파닐)부톡시)카르보닐)아미노)벤질)옥시)카르보닐)아미노)부탄아미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노일)-L-페닐알라닌

[0542]

DMF (1mL)에서 ((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸아미노)부탄아미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노일)-L-페닐알라닌 (40mg, 0.054mmol) 및 (R)-3-메틸-2-(피리딘-2-일 디설파닐)부틸 (4-(((4-니트로페톡시)카르보닐)옥시)메틸)페닐)카르바메이트 (1) (29.70mg, 0.054mmol)의 교반된 용액으로 0℃에서 DIPEA (10.59 μL, 0.082mmol)를 추가하였고, 이어서 DMA (3.71 μL, 0.027mmol)에서 1-하이드록시-7-아자벤조트리아졸을 추가하였다. 상기 반응 혼합물은 RT에서 18h 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 H₂O 및 ACN에서 0.1% HCOOH를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 예비 분획을 동결건조시켜, 다음을 얻었다: ((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸(((4-(((R)-3-메틸-2-(피리딘-2-일디설파닐)부톡시)카르보닐)아미노)벤질)옥시)카르보닐)아미노)부탄아미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노일)-L-페닐알라닌 (35mg, 0.029mmol, 56.36% 수율) (백색 고체). LCMS: C₅₈H₈₅N₇O₁₂S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 1136.475; 발견치, 1136.5.

[0543]

단계 2: 화합물 27의 합성

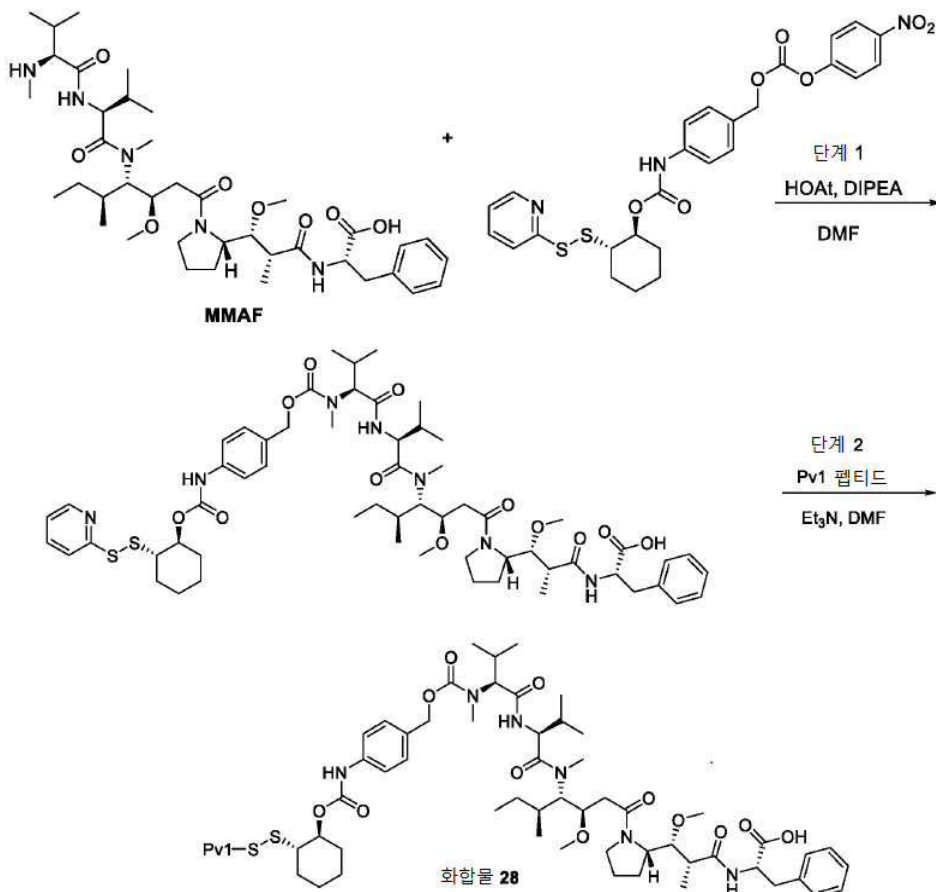
[0544]

DMF (1mL)에서 ((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸(((4-(((R)-3-메틸-2-(피리딘-2-일디설파닐)부톡시)카르보닐)아미노)벤질)옥시)카르보닐)아미노)부탄아미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노일)-L-페닐알라닌 (35mg, 0.031mmol)의 용액을 0℃로

냉각시켰다. Pv1 펩티드 (100.9mg, 0.031mmol) 및 트리에틸아민 (5.15 μ l, 0.037mmol)을 추가하였고, 상기 반응 혼합물은 RT에서 18h 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 H₂O 및 ACN에서 0.1% TFA를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 예비 분획을 동결건조시켜, 화합물 27 (64mg, 0.014mmol, 47.22% 수율) (백색 고체)을 얻었다. 상기 획득된 산물은 디-TFA 염이다. LCMS: C₂₀₅H₃₀₆N₄₂O₅₅S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 4303.062; 발견치, 1435.4 [(M+3)/3]; HPLC: 컬럼 X-Bridge C8(50X4.6)mm, 3.5 μ m, 이동상:A:물에서 0.1% TFA, 이동상:B: ACN에서 0.1% TFA, 유동:2.0mL/min; RT (min): 5.83; 순도 (Max): 96.842%.

[0545]

실시예 28: 화합물 28의 합성



[0546]

[0547]

단계 1: ((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸(((4-(((1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설펜닐)시클로헥실)옥시)카르보닐)아미노)벤질)옥시)카르보닐)아미노)부탄아미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노일)-L-페닐알라닌

[0548]

DMF (1ml)에서 ((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸 아미노)부탄아미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노일)-L-페닐알라닌 (51mg, 0.069mmol) 및 (1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설펜닐)시클로헥실(4-(((4-니트로페녹시)카르보닐)옥시)메틸)페닐)카르바메이트 (38.71mg, 0.069mmol)의 교반된 용액으로 0°C에서 DIPEA (18.10 μ l, 0.104mmol)을 첨가하였고, 이어서 DMA (3.48 μ l, 0.034mmol)에서 1-하이드록시-7-아자벤조트리아졸을 첨가하였다. 상기 반응 혼합물은 RT에서 18h 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 H₂O 및 ACN에서 0.1% HCOOH를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 예비 분획을 동결건조시켜, 다음을 얻었다: ((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸(((4-(((1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설펜닐)시클로헥실)옥시)카르보닐)아미노)벤질)옥시)카르보닐)아미노)부탄아미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노일)-L-페닐알라닌 (33mg, 0.029mmol, 41.23% 수율) (백색 고체). LCMS: C₅₉H₈₅N₇O₁₂S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 1148.486; 발견치, 1148.5.

[0549]

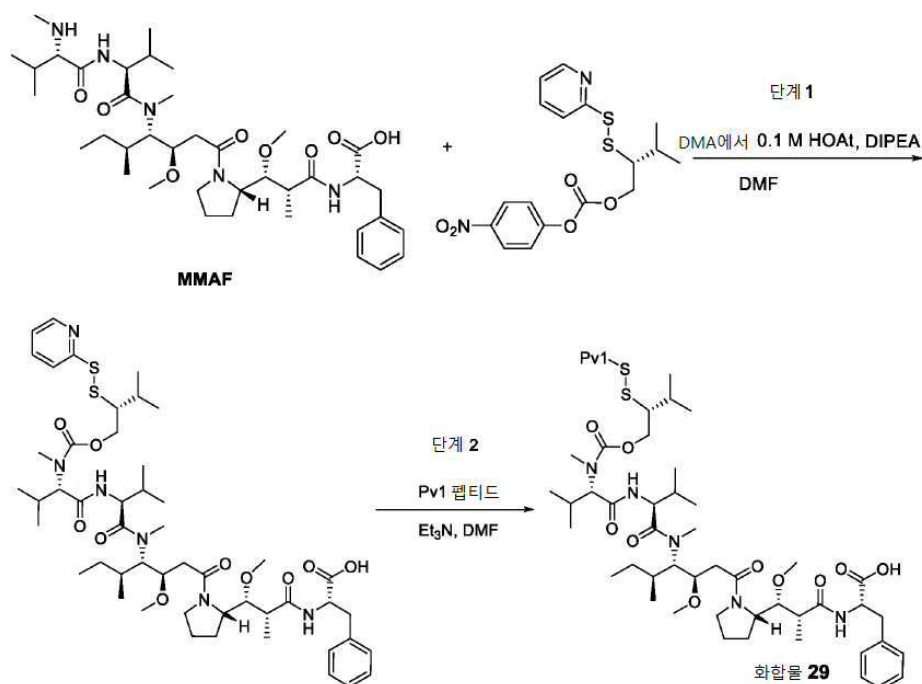
단계 2: 화합물 28의 합성

[0550]

DMF (1ml)에서 ((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸(((4-(((1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로헥실)옥시)카르보닐)아미노)벤질)옥시)카르보닐)아미노)부탄아미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노일)-L-페닐알라닌 (33mg, 0.029mmol)의 용액을 0℃로 냉각하였다. Pv1 펩티드 (103.63mg, 0.031mmol) 및 트리에틸아민 (4.80 μl, 0.034mmol)을 첨가하였고, 상기 반응 혼합물은 RT에서 18h 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 H₂O 및 ACN에서 0.1% TFA를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 예비 분획을 동결건조시켜, 화합물 28 (75mg, 0.017mmol, 60.49% 수율) (백색 고체)을 얻었다. 상기 획득된 산물은 디-TFA 염이다. LCMS: C₂₀₆H₃₀₆N₄₂O₅₅S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 4315.073; 발견치, 1439.3 [(M+3)/3]; HPLC: 컬럼 Atlantis dC18 (250 X4.6)mm, 5 μm, 이동상 A: MilliQ 물에서 0.1% TFA, 이동상 B: ACN; 유동: 1.0mL/min; RT (min): 12.516; 순도 (Max): 99.59%.

[0551]

실시예 29: 화합물 29의 합성



[0552]

[0553]

단계 1: ((2R,3R)-3-((R)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸(((R)-3-메틸-2-(피리딘-2-일디설파닐)부톡시)카르보닐)아미노)부탄아미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노일)-L-페닐알라닌

[0554]

DMF (1ml)에서 ((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸아미노)부탄아미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노일)-L-페닐알라닌 (230mg, 0.314mmol) 및 (R)-3-메틸-2-(피리딘-2-일디설파닐)부틸 (4-니트로페닐)카르보네이트 (124mg, 0.314mmol)의 교반된 용액으로 0℃에서 DIPEA (0.11ml, 0.628mmol)을 첨가하였고, 이어서 DMA (0.157ml, 0.157mmol)에서 1-하이드록시-7-아자벤조트리아졸을 첨가하였다. 상기 반응 혼합물은 RT에서 18h 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 H₂O 및 ACN에서 0.1% HCOOH를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 예비 분획을 동결건조시켜, 다음을 얻었다: ((2R,3R)-3-((R)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸(((R)-3-메틸-2-(피리딘-2-일 디설파닐)부톡시)카르보닐)아미노)부탄아미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노일)-L-페닐알라닌 (150mg, 0.148mmol, 48.35% 수율) (백색 고체). LCMS: C₅₀H₇₈N₆O₁₀S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 987.326; 발견치, 986.4 (M-H)

[0555]

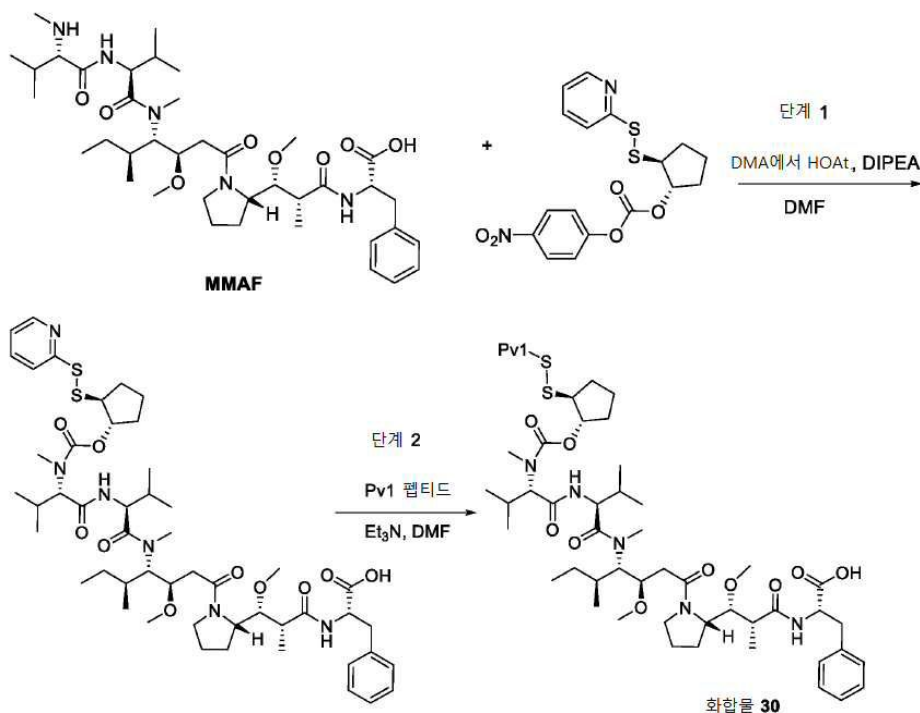
단계 2: 화합물 29의 합성

[0556]

DMF (1ml)에서 ((2R,3R)-3-((R)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸(((R)-3-메틸-2-(피리딘-2-일디설파닐)부톡시)카르보닐)아미노)부탄아미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노일)-L-페닐알라닌 (150mg, 0.152mmol)의 용액으로 0℃로 냉각시켰다. Pv1 펩티드

(498mg, 0.152mmol) 및 트리에틸아민 (41.8 μ l, 0.304mmol)을 첨가하였고, 상기 반응 혼합물을 RT에서 3h 동안 교반시켰다. 상기 반응 혼합물을 H₂O 및 ACN에서 0.1% TFA를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 예비 분획을 동결건조시켜, 화합물 29 (425mg, 0.101mmol, 67.34% 수율) (백색 고체)를 얻었다. 상기 획득된 산물은 디-TFA 염이다. LCMS: C₁₉₇H₂₉₉N₄₁O₅₃S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 4153.913; 발견치, 1385.7 [(M+3)/3]; HPLC: 컬럼 Atlantis dC18 (250 X4.6)mm, 5 μ m, 이동상 A: MilliQ 물에서 0.1% TFA, 이동상 B: ACN; 유동: 1.0mL/min; RT (min): 12.257; 순도 (Max): 98.793%.

[0557] 실시예 30: 화합물 30의 합성



[0558]

[0559] 단계 1: ((2R,3R)-3-((R)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸(((1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로펜틸)옥시)카르보닐)아미노)부탄아미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노일)-L-페닐알라닌

[0560]

DMF (1ml)에서 ((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸아미노)부탄아미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노일)-L-페닐알라닌 (56mg, 0.076mmol) 및 4-니트로페닐 ((1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로펜틸)카르보네이트 (35.84mg, 0.092mmol)의 교반된 용액으로 0°C에서 DIPEA (20.42 μ l, 0.115mmol)를 추가하였고, 이어서 DMA (5.20 μ l, 0.038mmol)에서 1-하이드록시-7-아자벤조트리아졸을 추가하였다. 상기 반응 혼합물은 RT에서 18h 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 H₂O 및 ACN에서 0.1% HCOOH를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 예비 분획을 동결건조시켜, 다음을 얻었다: ((2R,3R)-3-((R)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸(((1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로펜틸)옥시)카르보닐)아미노)부탄아미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노일)-L-페닐알라닌 (2) (45mg, 0.041mmol, 59.69% 수율) (백색 고체). LCMS: C₅₀H₇₆N₆O₁₀S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 985.310; 발견치, 983.4 (M-H)

[0561]

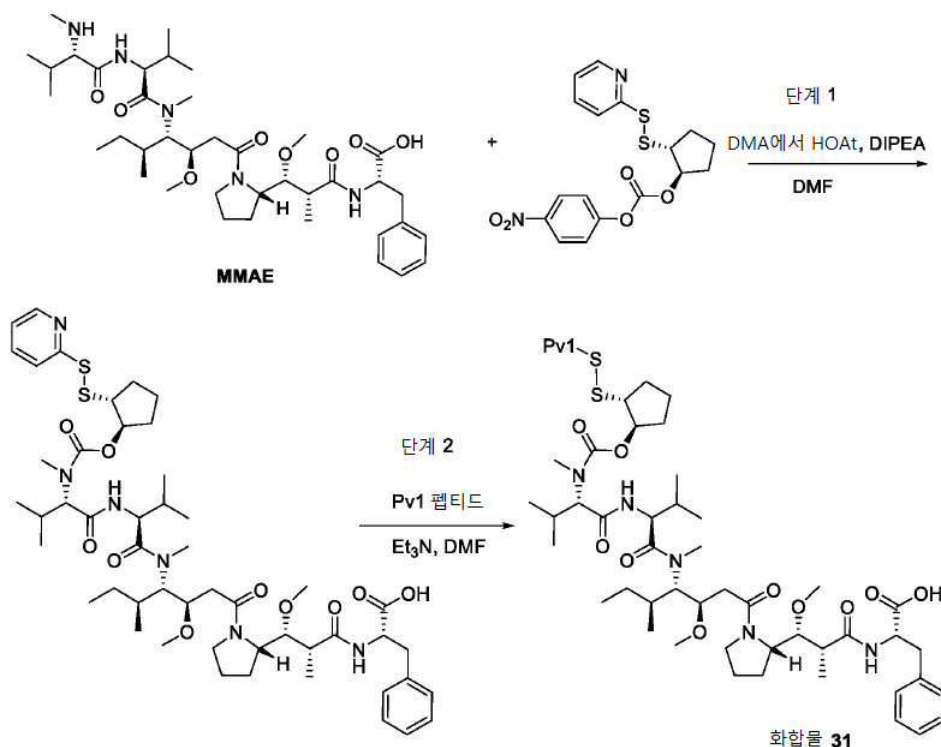
단계 2: 화합물 30의 합성

[0562]

DMF (1ml)에서 ((2R,3R)-3-((R)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸(((1S,2S)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로펜틸)옥시)카르보닐)아미노)부탄아미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노일)-L-페닐알라닌 (43mg, 0.044mmol)의 용액을 0°C로 냉각시켰다. Pvl 펩티드 (143mg, 0.044mmol) 및 트리에틸아민 (12.16 μ l, 0.087mmol)을 추가하였고, 상기 반응 혼합물을 RT에서 3h 동안 교반시켰다. 상기 반응 혼합물을 H₂O 및 ACN에서 0.1% TFA를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 예비 분획을 동결건조시켜, 화합물 30 (102mg, 0.024mmol, 56.29% 수율) (백색 고체)를 얻었다. 상기 획득된 산

물은 디-TFA 염이다. LCMS: $C_{197}H_{297}N_{41}O_{53}S_2$ 에 대한 $[M + H]^+$ 계산치, 4151.897; 발견치, 1383.1 $[(M-3)/3]$; HPLC: 컬럼 X-Bridge C8(50X4.6)mm, 3.5 μ m, 이동상:A:물에서 0.1% TFA, 이동상:B:ACN에서 0.1% TFA, 유동:2.0mL/min; RT (min): 5.596; 순도 (Max): 98.55%

[0563] 실시예 31: 화합물 31의 합성



[0564]

[0565] 단계 1: ((2R,3R)-3-((R)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸(((1R,2R)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로펜틸)옥시)카르보닐)아미노)부탄아미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노일)-L-페닐알라닌

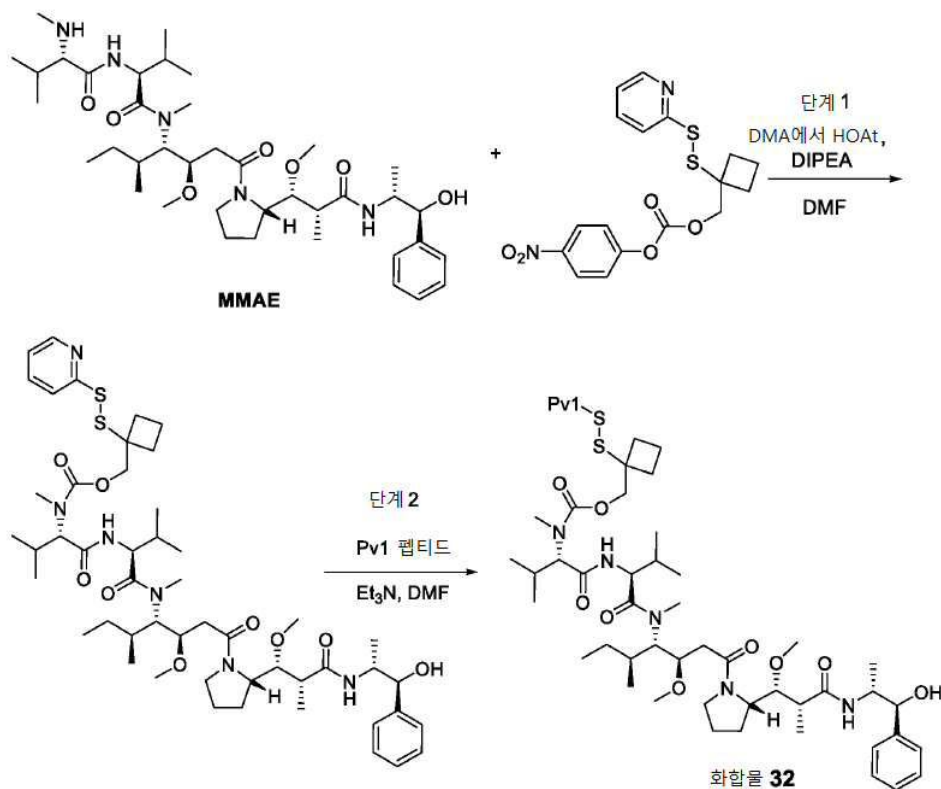
[0566] DMF (1ml)에서 ((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸아미노)부탄아미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노일)-L-페닐알라닌 (56mg, 0.076mmol) 및 (4-니트로페닐 ((1R,2R)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로펜틸)카르보네이트 (35.84mg, 0.092mmol)의 교반된 용액으로 0°C에서 DIPEA (20.42 μ l, 0.115mmol)를 첨가하고, 이어서 DMA (5.20 μ l, 0.038mmol)에서 1-하이드록시-7-아자벤조트리아졸을 첨가하였다. 상기 반응 혼합물은 RT에서 18h 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 H_2O 및 ACN에서 0.1% HCOOH를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 예비 분획을 동결건조시켜, 다음을 얻었다: ((2R,3R)-3-((R)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸(((1R,2R)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로펜틸)옥시)카르보닐)아미노)부탄아미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노일)-L-페닐알라닌 (28mg, 0.028mmol, 37.14% 수율) (백색 고체). LCMS: $C_{50}H_{76}N_{6}O_{10}S_2$ 에 대한 $[M + H]^+$ 계산치, 985.310; 발견치, 984.4 (M-H)

[0567] 단계 2: 화합물 31의 합성

[0568] DMF (1ml)에서 ((2R,3R)-3-((R)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸(((1R,2R)-2-(피리딘-2-일디설파닐)시클로펜틸)옥시)카르보닐)아미노)부탄아미도)부탄아미도)-3-메톡시-5-메틸헵타노일)피롤리딘-2-일)-3-메톡시-2-메틸프로파노일)-L-페닐알라닌(25mg, 0.025mmol)의 용액을 0°C로 냉각시켰다. Pvl 펩티드 (83mg, 0.025mmol) 및 트리에틸아민 (2.56 μ l, 0.025mmol)을 첨가하였고, 상기 반응 혼합물을 RT에서 3h 동안 교반시켰다. 상기 반응 혼합물을 H_2O 및 ACN에서 0.1% TFA를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 예비 분획을 동결건조시켜, 화합물 31 (70mg, 0.017mmol, 66.44% 수율) (백색 고체)를 얻었다. 상기 획득된 산물은 디-TFA 염이다. LCMS: $C_{197}H_{297}N_{41}O_{53}S_2$ 에 대한 $[M + H]^+$ 계산치, 4151.897; 발견치, 1384.9 $[(M+3)/3]$; HPLC: 컬

럼 Atlantis dC18 (250 X4.6)mm, 5 μ m, 이동상 A: MilliQ 물에서 0.1% TFA, 이동상 B: ACN; 유동: 1.0mL/min; RT (min): 12.134; 순도 (Max): 98.998%

[0569] 실시예 32: 화합물 32의 합성



[0570]

[0571] 단계 1: (1-(피리딘-2-일디설파닐)시클로부틸)메틸 ((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트

[0572]

DMF (1ml)에서 (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)-N,3-디메틸-2-((S)-3-메틸-2-(메틸아미노)부탄아미도)부탄아미드 (50mg, 0.069mmol) 및 4-니트로페닐 ((1-(피리딘-2-일디설파닐)시클로부틸)메틸)카르보네이트 (2) (36.55mg, 0.083mmol)의 교반된 용액으로 0°C에서 DIPEA (24.13 μ L, 0.014mmol)를 첨가하고, 이어서 DMA (0.47ml, 0.035mmol)에서 1-하이드록시-7-아자벤조트리아졸을 첨가하였다. 상기 반응 혼합물은 RT에서 18h 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 H₂O 및 ACN에서 0.1% HCOOH를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 예비 분획을 동결건조시켜, 다음을 얻었다: (1-(피리딘-2-일디설파닐)시클로부틸)메틸 ((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트 (35mg, 0.034mmol, 49.45% 수율) (백색 고체). LCMS: C₅₀H₇₇N₇O₁₁S₂에 대한 [M + H]⁺ 계산치, 1016.324; 발견치, 1015.0 (M-H)

[0573]

단계 2: 화합물 32의 합성

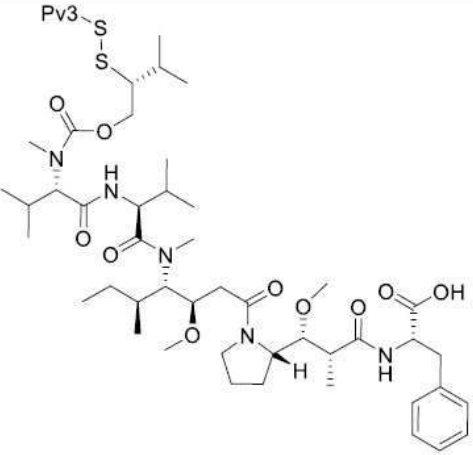
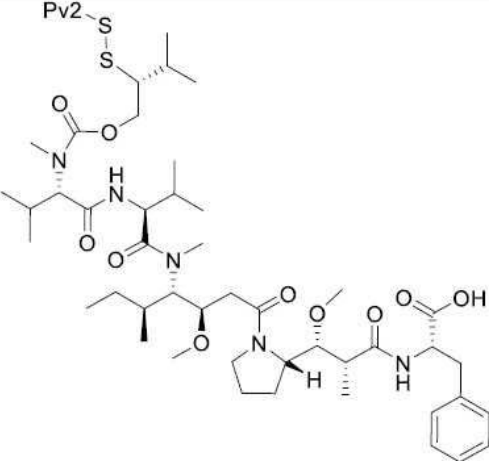
[0574]

DMF (1ml)에서 (1-(피리딘-2-일디설파닐)시클로부틸)메틸 ((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((R)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-하이드록시-1-페닐프로판-2-일)아미노)-1-메톡시-2-메틸-3-옥소프로필)피롤리딘-1-일)-3-메톡시-5-메틸-1-옥소헵탄-4-일)(메틸)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)(메틸)카르바메이트 (35mg, 0.034mmol)의 용액을 0°C로 냉각시켰다. Pv1 랩티드 (112.9mg, 0.034mmol) 및 트리에틸아민 (9.6 μ L, 0.068mmol)을 첨가하였고, 상기 반응 혼합물을 RT에서 4h 동안 교반시켰다. 상기 반응 혼합물을 H₂O 및 ACN에서 0.1% TFA를 이용하여 예비 HPLC에 의해 정제시켰다. 상기 예비 분획을 동결건조시켜, 화합물 32

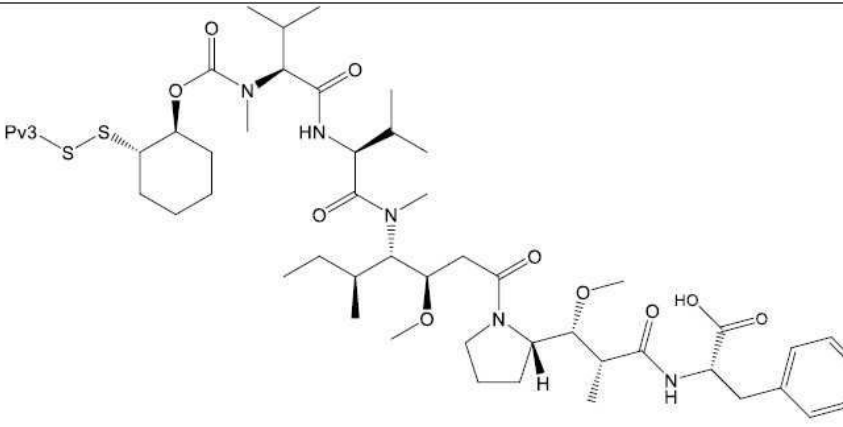
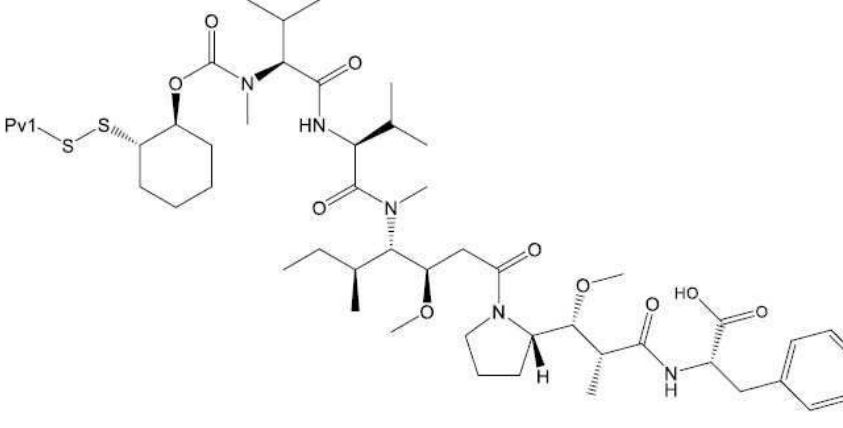
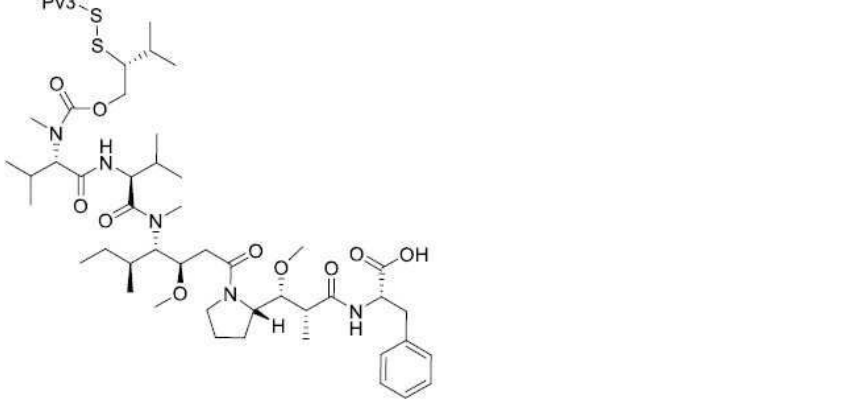
(82mg, 0.020mmol, 57.45% 수율) (백색 고체)를 얻었다. 상기 획득된 산물은 디-TFA 염이다. LCMS: $C_{197}H_{299}N_{41}O_{52}S_2$ 에 대한 $[M + H]^+$ 계산치, 4137.914; 발견치, 1378.1 $[(M-3)/3]$; HPLC: 컬럼 X-Bridge C8(50X4.6)mm, 3.5 μm , 이동상:A:물에서 0.1% TFA, 이동상:B:ACN에서 0.1% TFA, 유동:2.0mL/min; RT (min): 5.53; 순도 (Max): 98.659%

[0575] 하기 표 3의 화합물은 상기 실시예에 기술된 절차를 사용하여 제조되었다.

[0576] 표 3.

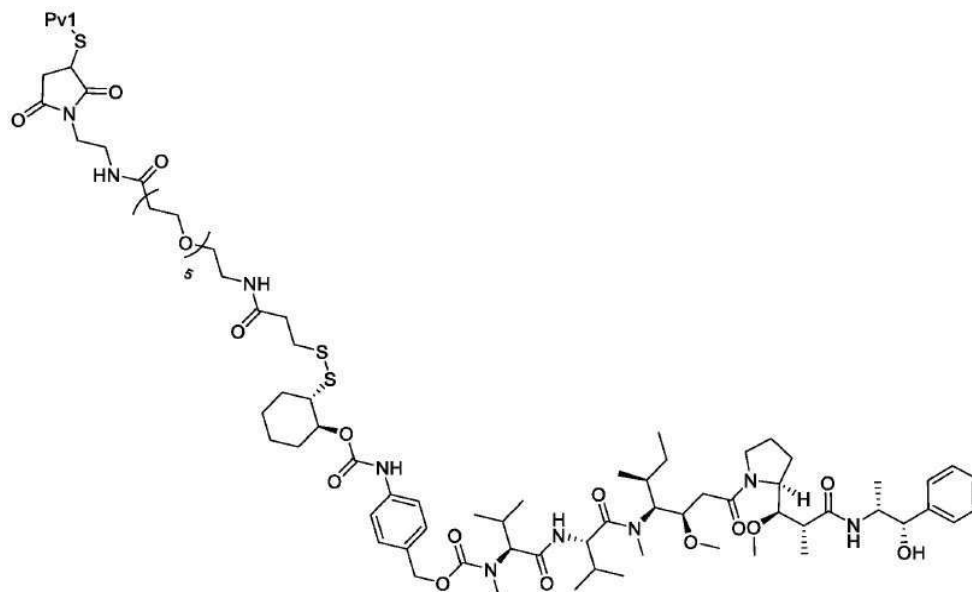
실시예	구조
33	
34	

[0577]

35	
36	
37	

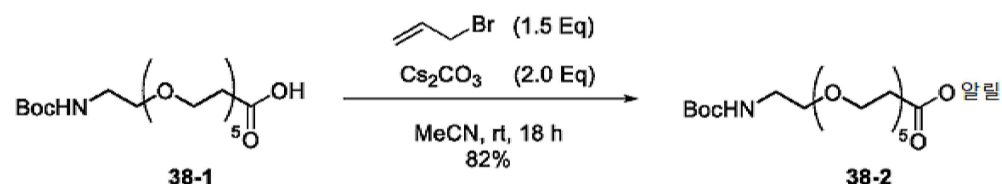
[0578]

[0579] 실시예 38: 화합물 38의 합성



[0580]

[0581] 단계 1: 알릴 2,2-디메틸-4-옥소-3,8,11,14,17,20-헥사옥사-5-아자트리코산-23-오에이트 (38-2)의 합성

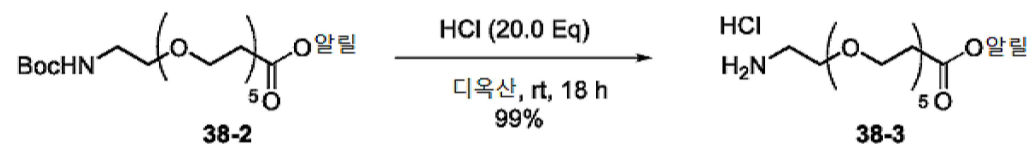


[0582]

[0583] 아세트니트릴 (50mL)에서 38-1 (2.00g, 1.0 Eq, 4.88mmol)의 용액으로 탄산 세슘 (3.18g, 2.0 Eq, 9.77mmol) 및 알릴 브로마이드 (630 μ L, 1.50 Eq, 7.33mmol)를 추가하였다. 상기 반응 혼합물을 실온에서 18h 동안 교반시켰다. 남아있는 탄산 세슘을 여과로 걸러내었고, 상기 용매를 진공 하에서 제거하였다. 섬광 크로마토그래피에 의한 정제 (EtOAc/시클로헥산, 2CV의 경우 0%, 10CV의 경우 0% ~ 100%)를 하면 상기 표제 화합물 (1.80g, 82%) (백색 고체)이 수득되었다. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) 6.75 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 5.95 - 5.85 (m, 1H), 5.34 - 5.24 (m, 1H), 5.22 - 5.16 (m, 1H), 4.55 (dt, J = 5.3, 1.6 Hz, 2H), 3.64 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 3.54 - 3.50 (m, 16H) 3.4 (t, J = 6.1 Hz, 2H), 3.05 (q, J = 6.0 Hz, 2H), 2.57 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 1.37 (s, 9H).

[0584]

단계 2: 알릴 1-아미노-3,6,9,12,15-펜타옥사옥타데칸-18-오에이트 염산염 (38-3)의 합성

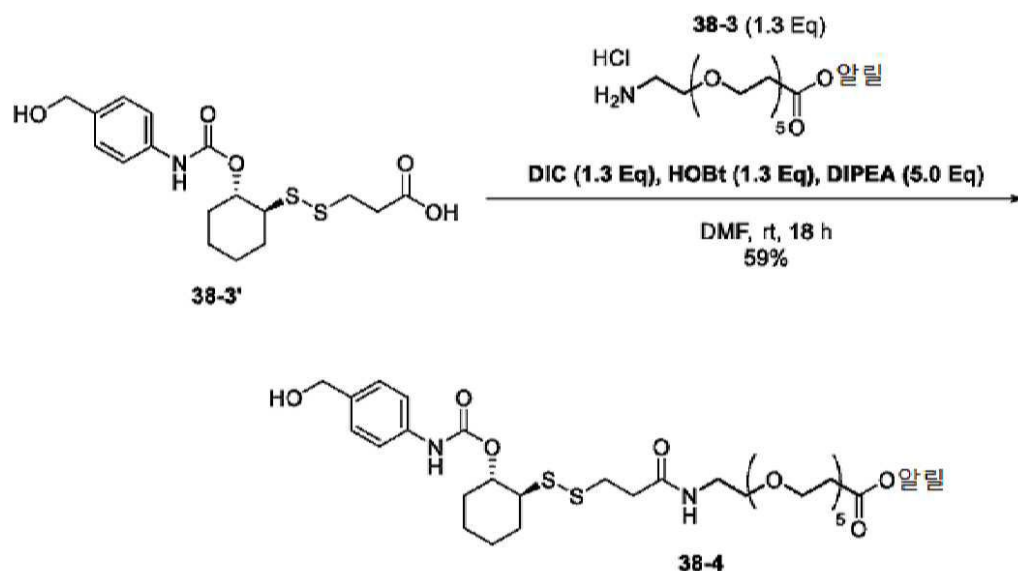


[0585]

[0586] 디옥산 (20mL)에서 38-2 (1.80g, 1.0 Eq, 4.00mmol)의 용액으로 디옥산 (20.0mL, 20.0 Eq, 80.0mmol)에서 4N HCl를 추가하였고, 이 반응물을 실온에서 18h 동안 교반시켰다. 상기 반응물을 진공 하에서 농축시켰고, 상기 잔유물을 디에틸 에테르로 분쇄시켜, 상기 표제 화합물 (1.55g, 99%) (무색 오일)을 얻었다. ^1H NMR (400 MHz, MeOD- d_4) δ 5.95 (ddt, J = 17.2, 10.5, 5.6 Hz, 1H), 5.37 - 5.27 (m, 1H), 5.24 - 5.20 (m, 1H), 4.61 (dt, J = 5.6, 1.5 Hz, 2H), 3.68 - 3.62 (m, 20H), 3.17 - 3.11 (m, 2H), 2.64 (t, J = 6.0 Hz, 2H).

[0587]

단계 3: 알릴 1-(((1S,2S)-2-(((4-(하이드록시메틸)페닐)카르바모일)옥시)시클로헥실)디설파닐)-3-옥소-7,10,13,16,19-펜타옥사-4-아자도코산-22-오에이트 (38-4)의 합성



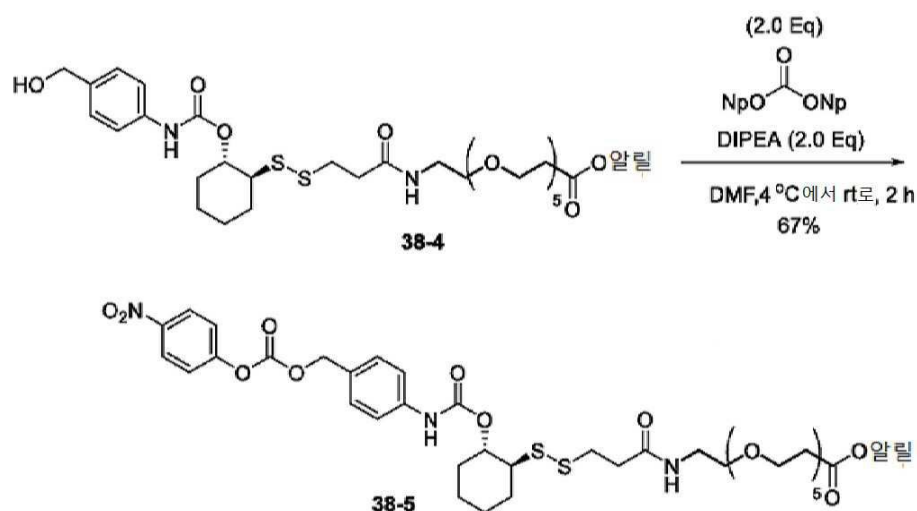
[0588]

[0589]

무수 DMF (10mL)에서 **38-3'** (500mg, 1.0 Eq, 1.30mmol)의 용액으로 1H-벤조[d][1,2,3]트리아졸-1-올 (228mg, 1.3 Eq, 1.69mmol), N,N'-디이소프로필카르보디이미드 (262 μ L, 1.3 Eq, 1.69mmol) 및 N-에틸-N-이소프로필프로판-2-아민 (838mg, 5.0 Eq, 6.49mmol)를 추가하였다. 상기 혼합물을 10 min 동안 교반시켰다. 그 다음, DMF (10mL)에서 알릴 1-아미노-3,6,9,12,15-펜타옥사옥타데칸-18-오에이트 염산염 **38-3** (651mg, 1.3 Eq, 1.69mmol)을 추가하였고, 상기 용액을 실온에서 18h 동안 교반을 지속하였다. 상기 혼합물을 역상 크로마토그래피 (메탄올/물(0.1% 포름산), 2CV의 경우 5%, 12CV의 경우 5% ~ 95%, 2CV의 경우 95%)로 정제시켜, 상기 표제 화합물 (545mg, 59%) (백색 고체)을 얻었다. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.58 (s, 1H), 7.97 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 7.41 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.24 - 7.16 (m, 2H), 5.90 (ddt, J = 17.3, 10.6, 5.4 Hz, 1H), 5.38 - 5.12 (m, 2H), 4.67 - 4.58 (m, 1H), 4.55 (dt, J = 5.4, 1.5 Hz, 2H), 4.43 - 4.37 (m, 2H), 3.64 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 3.52 - 3.44 (m, 16H), 3.38 (t, J = 5.9 Hz, 2H), 3.21 - 3.13 (m, 2H), 2.92 - 2.81 (m, 3H), 2.59 - 2.53 (m, 2H), 2.44 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.16 - 2.00 (m, 2H), 1.77 - 1.26 (m, 6H). LC-MS (ESI+) [$\text{C}_{33}\text{H}_{53}\text{N}_2\text{O}_{11}\text{S}_2$] $^+$ [M + H] $^+$ 에 대해 산출된 정확한 질량: 717, 발견치: 717.

[0590]

단계 4: 알릴 1-(((1S,2S)-2-(((4-(((4-니트로페녹시)카르보닐)옥시)메틸)페닐)카르바모일)옥시)시클로헥실)디설파닐)-3-옥소-7,10,13,16,19-펜타옥사-4-아자도코산-22-오에이트 (**38-5**)의 합성



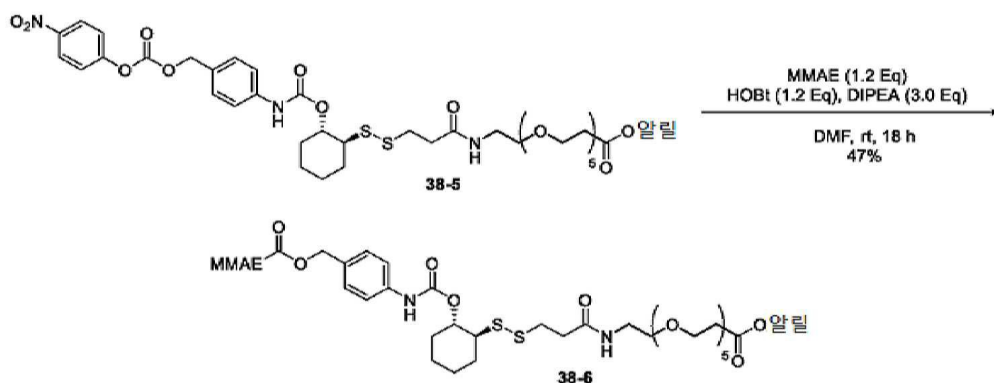
[0591]

[0592]

무수 DMF (15mL)에서 **38-4** (540mg, 1.0 Eq, 753 μ mol)의 용액으로 4°C에서 비스(4-니트로페닐)카르보네이트 (458mg, 2.0 Eq, 1.51mmol) 및 디이소프로필에틸아민 (388 μ L, 3.0 Eq, 2.26 mmol)을 첨가하였다. 상기 혼합물을 실온으로 가온되도록 하였고, 18h 동안 교반시켰다. 상기 혼합물을 역상 크로마토그래피 (메탄올/물(0.1%

포름산), 2CV의 경우 5%, 12CV의 경우 5% ~ 95%, 2CV의 경우 95%)로 정제시켜, *상기 표제 화합물* (444mg, 67%) (백색 고체)을 얻었다. ^1H NMR (400 MHz, MeOD-d_4) δ 8.37 – 8.26 (m, 2H), 7.55 – 7.43 (m, 4H), 7.42 – 7.34 (m, 2H), 5.93 (ddt, J = 17.2, 10.8, 5.5 Hz, 1H), 5.34 – 5.27 (m, 1H), 5.26 – 5.23 (m, 2H), 5.22 – 5.18 (m, 1H), 4.74 – 4.64 (m, 1H), 4.60 – 4.56 (m, 2H), 3.73 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 3.61 – 3.56 (m, 16H), 3.49 (t, J = 5.3 Hz, 2H), 2.95 (td, J = 7.2, 1.8 Hz, 2H), 2.88 – 2.79 (m, 1H), 2.61 – 2.55 (m, 4H), 2.23 – 2.12 (m, 2H), 1.82 – 1.38 (m, 6H), 3개의 양성자는 아마도 메탄올 신호에 의해 보호될 것이다. LC-MS (ESI+) $[\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{N}_3\text{O}_{15}\text{S}_2]^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 에 대해 산출된 정확한 질량: 882, 발견치: 882.

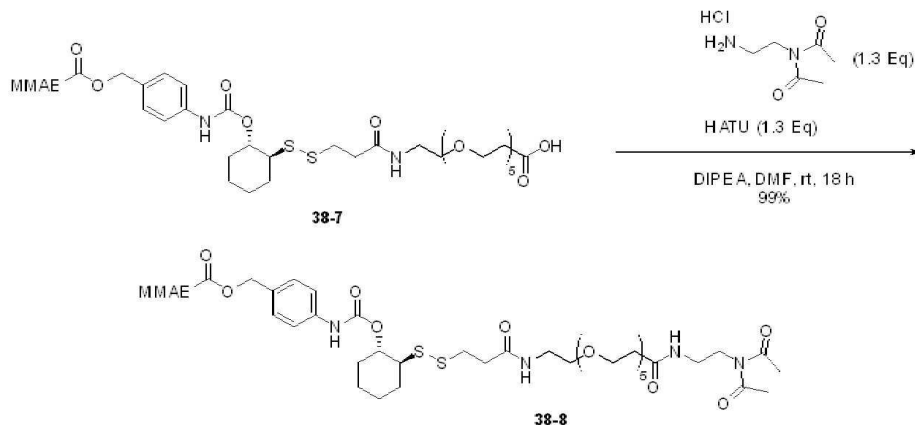
[0593] 단계 5: 화합물 38-6의 합성



[0594]

[0595] DMF (4mL)에서 **38-5** (400mg, 1.0 Eq, 454 μmol)의 용액으로 HOBt (93.1mg, 1.2 Eq, 544 μmol), DIPEA (234 μL , 3.0 Eq, 1.36mmol), MMAE (391mg, 1.2 Eq, 544 μmol) 및 3Å 분자체(molecular sieves)를 추가하였다. 이 반응물은 실온에서 18h 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 역상 크로마토그래피 (메탄올/물(0.1% 포름산), 2CV의 경우 5%, 12CV의 경우 5% ~ 95%, 2CV의 경우 95%)로 정제시켜, *상기 표제 화합물* (313mg, 47%) (숨털같은 백색 고체)을 얻었다. LC-MS (ESI+) $[\text{C}_{73}\text{H}_{118}\text{N}_7\text{O}_{19}\text{S}_2]^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 에 대해 산출된 정확한 질량: 1461, 발견치: 1461.

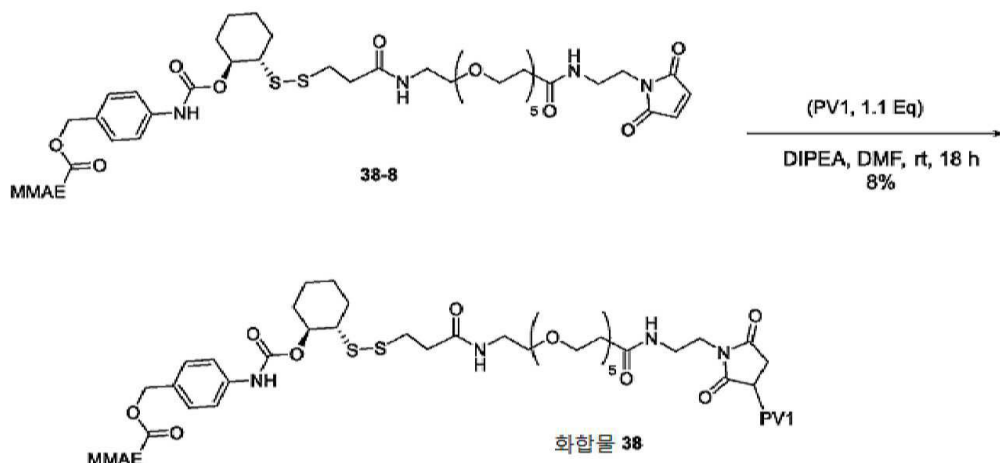
[0596] 단계 7: 화합물 38-8의 합성



[0597]

[0598] DMF (5mL)에서 **38-7** (60mg, 1.0 Eq, 42 μmol)의 용액으로 HATU (21mg, 1.3 Eq, 55 μmol) 및 디이소프로필에틸아민 (29 μL , 4.0 Eq, 0.17mmol)을 첨가하였다. 실온에서 15min 교반 후, DMF (5mL)에서 1-(2-아미노에틸)-1H-피롤-2,5-디온 염산염 (9.7mg, 1.3 Eq, 55 μmol)의 용액을 첨가하였고, 상기 혼합물 실온에서 18h 동안 교반시켰다. 상기 반응물을 역상 크로마토그래피 (아세토니트릴/물(0.1% 포름산), 2CV의 경우 5%, 12CV의 경우 5% ~ 95%, 2CV의 경우 95%)로 정제시켜, *상기 표제 화합물* (백색 고체) (65mg, 99%)을 얻었다. LC-MS (ESI+) $[\text{C}_{76}\text{H}_{120}\text{N}_9\text{O}_{20}\text{S}_2]^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 에 대해 산출된 정확한 질량: 1542.8, 발견치: 1543.3

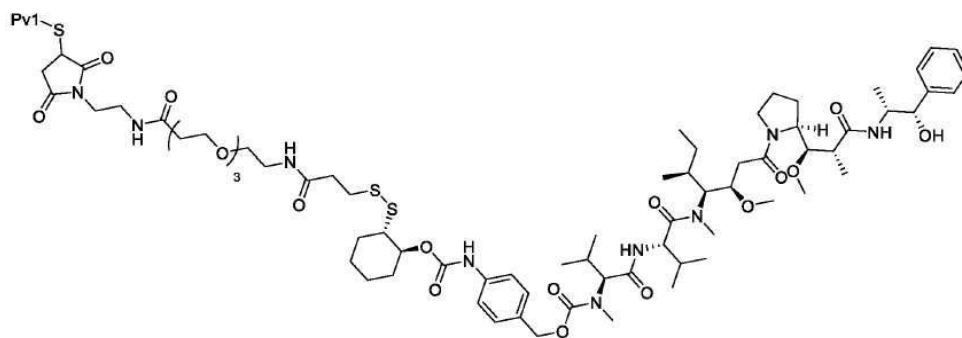
[0599] 단계 8: 화합물 38의 합성



[0600]

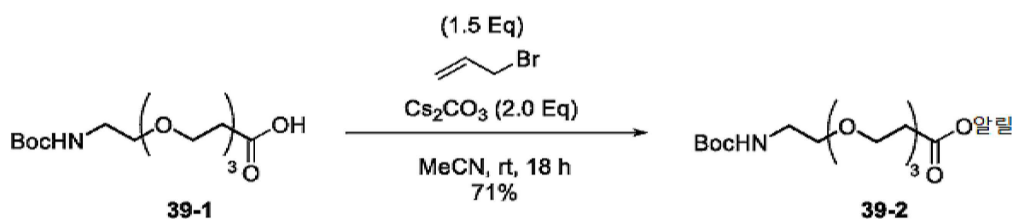
[0601] DMF (3mL)에서 38-8 (65mg, 1.0 Eq, 42 μ mol)의 용액으로 Pv1 (150mg, 1.1 Eq, 46 μ mol) 및 디이소프로필에틸아민 (51 μ L, 7.0 Eq, 0.29mmol)을 첨가하였다. 상기 혼합물 실온에서 18h 동안 교반시켰고, 역상 크로마토그래피 (아세토니트릴/물(0.1% 포름산), 2CV의 경우 5%, 12CV의 경우 5% ~ 95%, 2CV의 경우 95%)에 의해 정제시켜, 화합물 38 (백색 고체) (16mg, 8%)을 얻었다. HPLC: 96% @220 nm. LC-MS (ESI-) [$C_{228}H_{341}N_{44}O_{64}S_3$] $^{3-}$ [M - 3H] $^{3-}$ 에 대해 산출된 정확한 질량: 1605.8, 발견치:1605.9. [$C_{228}H_{340}N_{44}O_{64}S_3$] $^{4-}$ [M - 4H] $^{4-}$ 에 대해 산출된 정확한 질량: 1204.1, 발견치:1204.1

[0602] 실시예 39: 화합물 39의 합성



[0603]

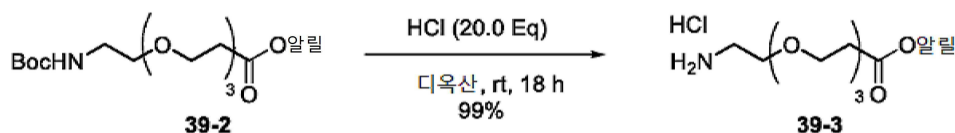
[0604] 단계 1: 알릴 2,2-디메틸-4-옥소-3,8,11,14-테트라옥사-5-아자헵타데칸-17-오에이트 (39-2)의 합성



[0605]

[0606] 아세토니트릴 (50mL)에서 39-1 (2.00g, 1.0 Eq, 6.23mmol)의 용액으로 탄산 세슘 (4.06g, 2.0 Eq, 12.5mmol) 및 알릴 브로마이드 (803 μ L, 1.5 Eq, 9.35mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 실온에서 18h 동안 교반시켰다. 남아있는 탄산 세슘을 여과로 걸러내었고, 상기 용매를 진공 하에서 제거하였다. 섬광 크로마토그래피에 의한 정제 (EtOAc/시클로헥산, 2CV의 경우 0%, 10CV의 경우 0% ~ 100%)시켜, 상기 표제 화합물 (1.60g, 71%) (백색 분말)을 얻었다. ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5.91 (ddt, J = 17.2, 10.4, 5.7 Hz, 1H), 5.37 - 5.18 (m, 2H), 5.11 - 4.73 (br s, 1H), 4.59 (dt, J = 5.7, 1.4 Hz, 2H), 3.77 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.68 - 3.58 (m, 8H), 3.53 (dd, J = 5.5, 4.7 Hz, 2H), 3.30 (t, J = 5.1 Hz, 2H), 2.63 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 1.43 (s, 9H).

[0607] 단계 2: 알릴 3-(2-(2-(2-아미노에톡시)에톡시)에톡시)프로판오에이트 염산염 (39-3)의 합성

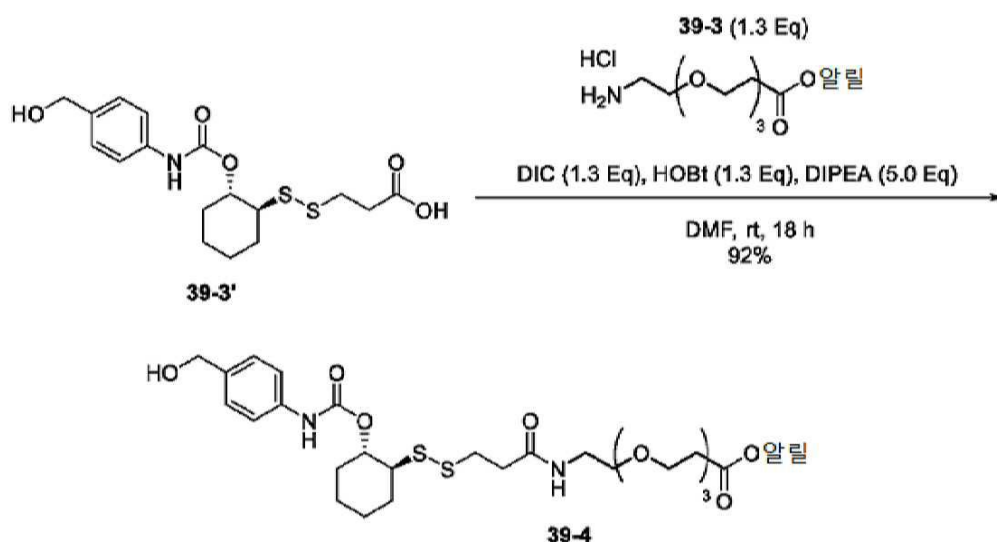


[0608]

[0609] 디옥산 (20mL)에서 39-2 (1.60g, 1.00 Eq, 4.23mmol)의 용액으로 디옥산 (22.1mL, 20.0 Eq, 88.5mmol)에서 4N HCl를 추가하였고, 이 반응물을 실온에서 18h 동안 교반시켰다. 상기 반응물을 진공 하에서 농축시켰고, 상기 잔유물을 디에틸 에테르로 분쇄시켜, 상기 표제 화합물 (1.32g, 99%) (무색 오일)을 얻었다. ^1H NMR (400 MHz, MeOD- d_4) 5.99 - 5.89 (m, 1H), 5.32 (dq, J = 17.2, 1.6 Hz, 1H), 5.22 (dq, J = 10.5, 1.4 Hz, 1H), 4.60 (dt, J = 5.6, 1.5 Hz, 2H), 3.78 - 3.74 (m, 2H), 3.72 - 3.69 (m, 2H) 3.67 - 3.65 (m, 6H), 3.64 - 3.62 (m, 4H), 3.14 - 3.11 (m, 2H), 2.63 (t, J = 6.0 Hz, 2H).

[0610]

단계 3: 알릴 1-(((1S,2S)-2-(((4-(하이드록시메틸)페닐)카르바모일)옥시)시클로헥실)디설파닐)-3-옥소-7,10,13-트리옥사-4-아자헥사데칸-16-오에이트 (39-4)의 합성

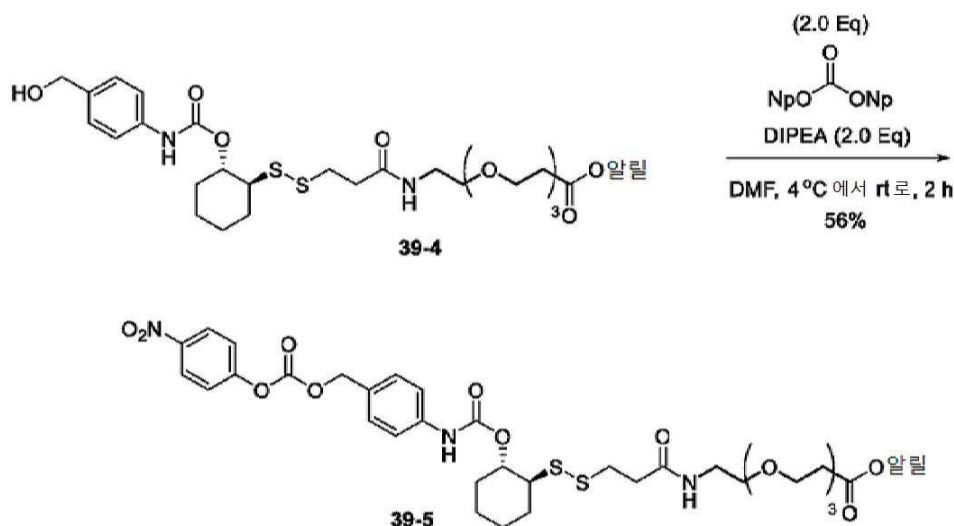


[0611]

[0612] 무수 DMF (10mL)에서 39-3' (500mg, 1.0 Eq, 1.30mmol)의 용액으로 1H-벤조[d][1,2,3]트리아졸-1-올 (228mg, 1.3 Eq, 1.69mmol), N,N'-디이소프로필카르보다이미드 (262 μL , 1.3 Eq, 1.69mmol) 및 디이소프로필에틸아민 (838mg, 5.0 Eq, 6.49mmol)를 추가하였다. 상기 혼합물을 10 min 동안 교반시켰다. 그 다음, DMF (10mL)에서 알릴 3-(2-(2-(2-아미노에톡시)에톡시)에톡시)프로판오에이트 염산염 (502mg, 1.3 Eq, 1.69mmol)을 추가하였고, 상기 용액을 실온에서 18h 동안 교반을 지속하였다. 상기 혼합물을 역상 크로마토그래피 (메탄올/물(0.1% 포름산), 2CV의 경우 5%, 12CV의 경우 5% ~ 95%, 2CV의 경우 95%)로 정제시켜, 상기 표제 화합물 (747mg, 92%) (백색 고체)을 얻었다. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.97 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 7.41 (m, 2H), 7.21 - 7.19 (m, 2H), 5.90 (ddt, J = 17.2, 10.6, 5.3 Hz, 1H), 5.34 - 5.17 (m, 2H), 5.07 - 5.02 (m, 1H), 4.65 - 4.57 (m, 1H), 4.55 (dt, J = 5.3, 1.6 Hz, 2H), 4.43 - 4.48 (m, 2H), 3.63 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 3.53 - 3.43 (m, 8H), 3.38 (t, J = 5.9 Hz, 2H), 3.22 - 3.13 (m, 3H), 2.92 - 2.83 (m, 3H), 2.57 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 2.44 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.17 - 1.99 (m, 2H), 1.77 - 1.28 (m, 6H). LC-MS (ESI+) $[\text{C}_{29}\text{H}_{45}\text{N}_9\text{O}_9\text{S}_2]^+ [\text{M} + \text{H}]^+$ 에 대해 산출된 정확한 질량: 629, 발견치: 629.

[0613]

단계 4: 알릴 1-(((1S,2S)-2-(((4-(((4-니트로페녹시)카르보닐)옥시)메틸)페닐)카르바모일)옥시)시클로헥실)디설파닐)-3-옥소-7,10,13-트리옥사-4-아자헥사데칸-16-오에이트 (5)의 합성



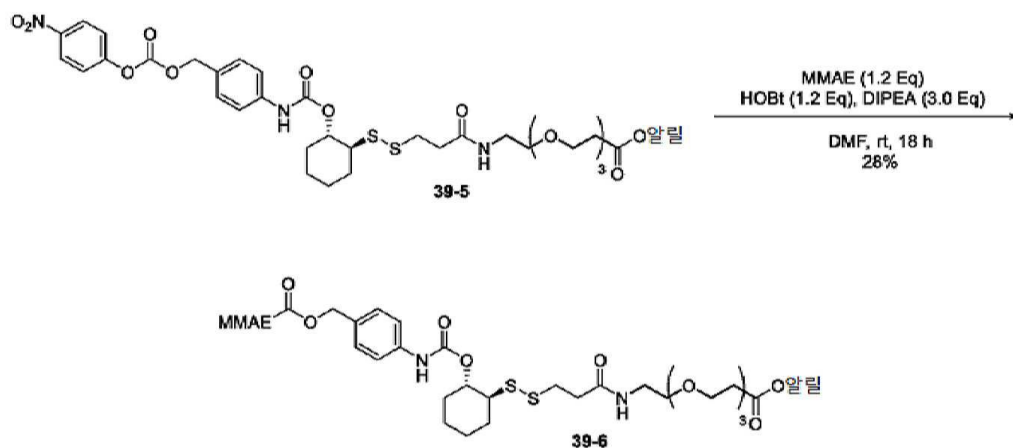
[0614]

[0615]

무수 DMF (15mL)에서 **39-4** (740mg, 1.0 Eq, 1.18mmol)의 용액으로 4°C에서 비스(4-니트로페닐)카르보네이트 (716mg, 2.0 Eq, 2.35mmol) 및 디이소프로필에틸아민 (607 μ L, 3.0 Eq, 3.53 mmol)을 추가하였다. 상기 혼합물을 실온으로 가온되도록 하였고, 18h 동안 교반시켰다. 상기 혼합물을 역상 크로마토그래피 (메탄올/물(0.1% 포름산), 2CV의 경우 5%, 12CV의 경우 5% ~ 95%, 2CV의 경우 95%)로 정제시켜, **상기 표제 화합물**(520mg, 56%) (백색 고체)을 얻었다. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.35 - 8.27 (m, 2H), 7.97 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 7.60 - 7.54 (m, 2H), 7.53 - 7.48 (m, 2H), 7.40 - 7.36 (m, 2H), 5.89 (ddt, J = 17.3, 10.6, 5.3 Hz, 1H), 5.32 - 5.25 (m, 1H), 5.24 - 5.21 (m, 2H), 5.21 - 5.17 (m, 1H), 4.69 - 4.59 (m, 1H), 4.55 (dt, J = 5.3, 1.6 Hz, 2H), 3.63 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 3.51 - 3.43 (m, 8H), 3.37 (t, J = 5.9 Hz, 2H), 3.22 - 3.12 (m, 3H), 2.88 (t, J = 6.9 Hz, 3H), 2.56 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 2.44 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.17 - 2.02 (m, 2H), 1.75 - 1.31 (m, 6H). LC-MS (ESI+) [$\text{C}_{36}\text{H}_{48}\text{N}_3\text{O}_{13}\text{S}_2$] $^+$ [M + H] $^+$ 에 대해 산출된 정확한 질량: 794, 발견치: 794.

[0616]

단계 5: 39-6의 합성

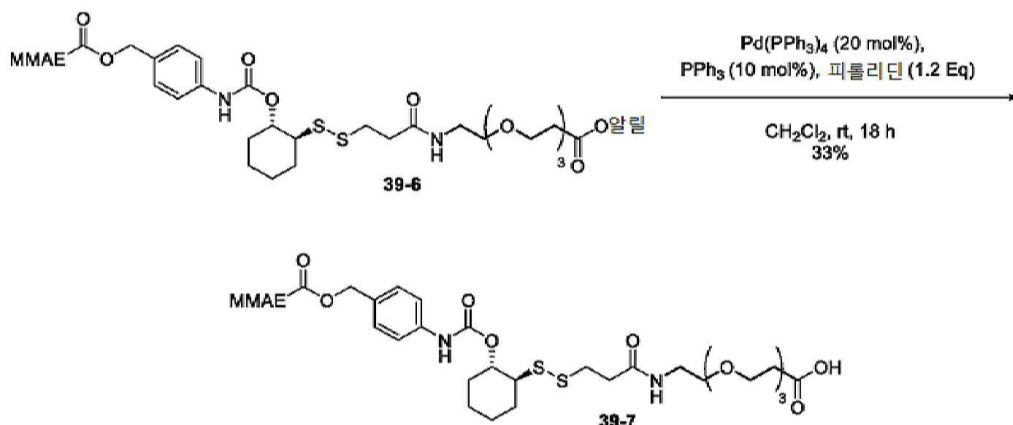


[0617]

[0618]

DMF (4mL)에서 **39-5** (420mg, 1.0 Eq, 529 μ mol)의 용액으로 HOBt (109mg, 1.2 Eq, 635 μ mol), 디이소프로필에틸아민 (273 μ L, 3.0 Eq, 1.59mmol), MMAE (456mg, 1.2 Eq, 635 μ mol) 및 3Å 분자체를 추가하였다. 이 반응물은 실온에서 18h 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 역상 크로마토그래피 (메탄올/물(0.1% 포름산), 2CV의 경우 5%, 12CV의 경우 5% ~ 95%, 2CV의 경우 95%)로 정제시켜, **상기 표제 화합물** (313mg, 28%) (숨티같은 백색 고체)을 얻었다. LC-MS (ESI+) [$\text{C}_{69}\text{H}_{110}\text{N}_7\text{O}_{17}\text{S}_2$] $^+$ [M + H] $^+$ 에 대해 산출된 정확한 질량: 1372.7, 발견치: 1372.9.

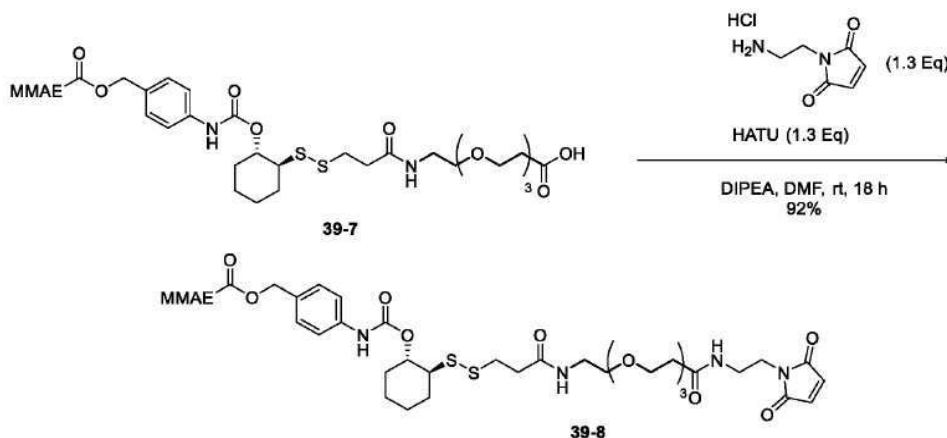
[0619] 단계 6: 39-7의 합성



[0620]

[0621] 건 CH_2Cl_2 (2mL)에서 39-6 (200mg, 1.0 Eq, 146 μmol)의 용액으로 트리페닐포스핀 (3.8mg, 10mol-%, 15 μmol)을 추가하였다. 상기 용액에 질소를 2분 동안 퍼지하였고, 그 다음 $\text{Pd(PPh}_3)_4$ (33.7mg, 20mol-%, 29.1 μmol) 및 피롤리딘 (14 μL , 1.2 Eq, 175 μmol)을 추가하였다. 상기 혼합물을 실온에서 18h 동안 교반되도록 하였다. 상기 반응물을 진공 하에서 농축시켰고, 상기 잔유물을 역상 크로마토그래피 (메탄올/물(0.1% 포름산), 2CV의 경우 5%, 12CV의 경우 5% ~ 95%, 2CV의 경우 95%)로 정제시켜, 상기 표제 화합물 (64mg, 33%) (숨틸같은 황색 고체)를 얻었다. ^1H NMR 스펙트럼은 해석하기에는 너무 복잡하다. LC-MS (ESI+) $[\text{C}_{66}\text{H}_{106}\text{N}_7\text{O}_{17}\text{S}_2]^+ [\text{M} + \text{H}]^+$ 에 대해 산출된 정확한 질량: 1332.7, 발견치:1332.5.

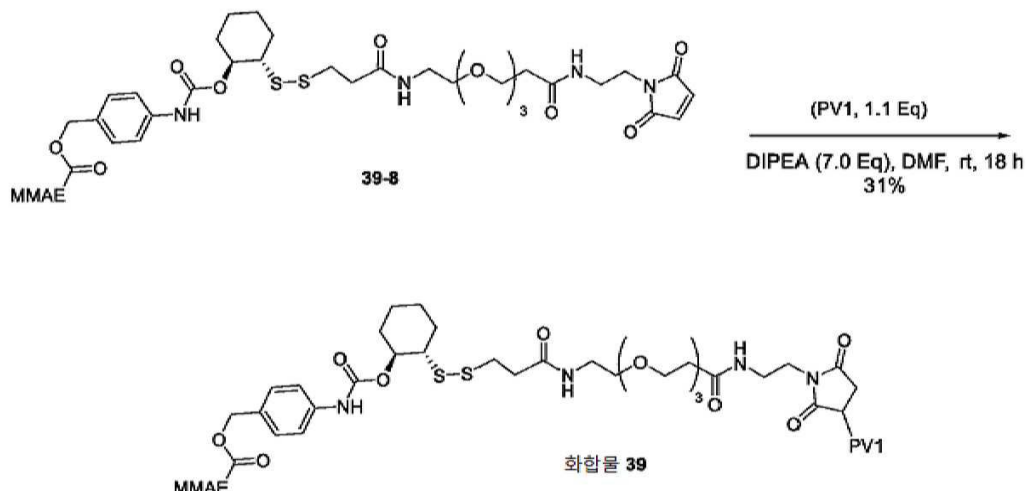
[0622] 단계 7: 39-8의 합성



[0623]

[0624] DMF (4mL)에서 39-7 (60mg, 1.0 Eq, 45 μmol)의 용액으로 HATU (22mg, 1.3 Eq, 59 μmol) 및 디이소프로필에틸아민 (31 μL , 4.0 Eq, 0.18mmol)을 첨가하였다. 실온에서 15min 교반 후, DMF (4mL)에서 1-(2-아미노에틸)-1H-피롤-2,5-디온 염산염 (10mg, 1.3 Eq, 59 μmol)의 용액을 첨가하였고, 상기 혼합물 실온에서 18h 동안 교반시켰다. 상기 반응물을 역상 크로마토그래피 (아세트니트릴/물(0.1% 포름산), 2CV의 경우 5%, 12CV의 경우 5% ~ 95%, 2CV의 경우 95%)로 정제시켜, 상기 표제 화합물 (백색 고체) (60mg, 92%)을 얻었다. LC-MS (ESI+) $[\text{C}_{72}\text{H}_{112}\text{N}_9\text{O}_{18}\text{S}_2]^+ [\text{M} + \text{H}]^+$ 에 대해 산출된 정확한 질량: 1454.7, 발견치: 1454.8.

[0625] 단계 8: 화합물 39의 합성



[0626]

[0627] DMF (3mL)에서 39-8 (60mg, 1.0 Eq, 41 μ mol)의 용액으로 Pv1 (150mg, 1.1 Eq, 45 μ mol) 및 디이소프로필에틸아민 (50 μ L, 7.0 Eq, 0.29mmol)을 첨가하였다. 상기 혼합물 실온에서 18h 동안 교반시켰고, 역상 크로마토그래피 (아세트니트릴/물(0.1% 포름산), 2CV의 경우 5%, 12CV의 경우 5% ~ 95%, 2CV의 경우 95%)으로 정제시켜, 상기 표제 화합물 (백색 고체) (60mg, 31%)를 얻었다. HPLC: 99% @220 nm. LC-MS (ESI+) $[C_{224}H_{333}N_{44}O_{62}S_3]^{3-}$ [M - H]⁻에 대해 산출된 정확한 질량: 1576.5, 발견치: 1576.2. $[C_{224}H_{332}N_{44}O_{62}S_3]^{4-}$ [M - H]⁻에 대해 산출된 정확한 질량: 1182.1, 발견치: 1182.8

[0628] 실시예 A: 암 세포에서 시험관내 성장 지연 분석

[0629] 세포들 (HCT116 결장직장 세포들, PC3 전립선 세포들, NCI-H1975 NSCLC 세포들, 및 NCI-H292 NSCLC 세포들)을 10% FBS를 함유하는 성장 배지 내 96-웰 흑색 벽으로 된-투명 바닥 플레이트(Griener)에 웰당 3000개 세포로 플레이트링했다. 세포들을 실온에서 60분 동안 부착되도록 둔 후, 37°C, 5% CO₂ 인큐베이터로 보냈다. 24시간 후, 배지를 제거하였고, 다양한 약물 농도를 함유한 새로운 성장 배지로 교체했다. 각각 약물 농도를 3중으로 추가하였다. 약물처리 안된 대조군은 성장 배지만을 함유하고 있었다. 세포들을 상기 인큐베이터로 돌려보냈다. 약물 첨가한 후 96-시간 시점에서, 세포를 4% 파라포름알데히드로 20분간 고정시켰고, Hoechst를 이용하여 1 μ g/mL에서 착색시켰다. 플레이트는 Cytation 5 자동 이미저(BioTek)에서 이미지화되었으며, CellProfiler(<http://cellprofiler.org>)를 사용하여 세포 수를 산출했다. 세포 성장 지연 백분율을 계산하였고, GraphPad Prism을 사용하여 데이터를 표시했다.

[0630] 도 1A에서는 표시된 농도의 화합물 2 또는 접합안된 MMAE과 함께 4일간 항온처리한 후, 시험관내 HCT116 결장직장 세포들의 성장 지연 플롯을 도시한다.

[0631] 도 1B에서는 표시된 농도의 화합물 2 또는 접합안된 MMAE과 함께 4일간 항온처리한 후, 시험관내 PC3 전립선 세포들의 성장 지연 플롯을 도시한다.

[0632] 도 1C에서는 표시된 농도의 화합물 2 또는 접합안된 MMAE과 함께 4일간 항온처리한 후, 시험관내 NCI-H1975 NSCLC 세포들의 성장 지연 플롯을 도시한다.

[0633] 도 1D에서는 표시된 농도의 화합물 2 또는 접합안된 MMAE과 함께 4일간 항온처리한 후, 시험관내 NCI-H292 NSCLC 세포들의 성장 지연 플롯을 도시한다.

[0634] 다음 표는 표시된 예시 화합물로 처리한 후, HCT116 결장직장 세포의 4-일 성장 억제(IC₅₀)를 보여준다.

실시예 번호.	IC ₅₀ (nM)
1	2.0
2	1.9
3	2.8
4	3.0
5	10.4
6	7.8
7	12.1
8	ND
9	ND
10	1.1
11	6.3
12	1.4
13	1.6
14	ND
15	ND
16	1.7
17	4.3
18	5.6
19	4.2
20	0.7
21	ND
22	ND
23	ND
24	ND
25	165
26	155
27	158
28	297
29	322
30	750

[0635]

31	733
32	ND
33	291
34	285
35	2825
36	1107
37	291
38	ND
39	ND

[0636]

ND = 결정되지 않음

[0637]

실시예 B: 암 세포들에서 시험관내 세포 주기 정지 기능 분석

[0638] MMAE 및 화합물 2로 세포 항온처리 및 프로피듐 요오드화물로 착색

[0639] HCT116 세포를 6-웰 조직 배양 플레이트에 웰당 500,000개 세포(2mL의 DMEM)로 시딩하였고, 37℃에서 5% CO₂ 인큐베이터에서 하룻밤 동안 항온처리했다. DMEM + 4% DMSO에 10X 농도로 만든 MMAE와 화합물 2의 희석액 200 μL를 6-웰 플레이트의 적절한 웰에 첨가하였고, 플레이트를 24 시간 동안 항온처리했다. HCT116 세포를 MMAE 또는 화합물 2에 노출시킨 후, 프로피듐 요오드화물 착색 및 유세포 분석을 위해 세포를 수확했다. 각 웰에서 배지를 수거하였고, 원뿔형 15mL 원심분리 튜브로 옮겨 비-부착성 세포를 수거했다. PBS(1mL)를 세척 웰에 첨가한 후, 15mL 튜브로 옮겼다. Tryp-LE(1mL)를 각 웰에 첨가하였고, 세포가 웰 표면에서 들어올려질 때까지 플레이트를 37℃에서 5% CO₂ 인큐베이터에서 5분간 항온처리했다. DMEM + 10% 소 태아 혈청(1mL) 용액을 각 웰에 첨가했다. 웰을 분쇄하였고, 세포를 튜브로 옮겼다. DMEM + 10% 소 태아 혈청 (1mL) 용액을 웰에 첨가하였고, 세포 수거를 확보했다. 이것들을 다시 15mL 튜브로 옮겼다. Bio-Rad TC20 세포 계수기에서 트립판 블루 배제를 통해 각 샘플의 세포 수와 생존력을 평가했다. 세포를 1200rpm에서 5분 동안 원심분리했다 상등액을 따라내었고, 세포를 프로피듐 요오드화물로 착색하기 위해 1 X 10⁶ 개 세포/mL로 PBS에 재현탁시켰다.

[0640] 유동 세포계측법을 통한 프로피듐 요오드화물-착색된 세포 분석

[0641] 세포 착색 조건

프로피듐 요오드화물	최종 농도 - 300μg/mL
RNase	최종 농도 - 50μg/mL

[0642]

[0643] 각 세포 현탁액의 분취량(1mL)을 딥-웰 폴리프로필렌 플레이트로 옮겼다. 상기 플레이트를 1200rpm에서 5분 동안 원심분리했다. 상청액을 따라내었고, 세포를 330 μL의 차가운 PBS에 재현탁시켰다. 670 μL의 차가운 에탄올을 각 웰의 측면에 천천히 첨가했다. 착색-전 3시간 동안 얼음 위에서 세포를 고정하기 위해 세포를 부드럽게 분쇄하여 균일한 67% 에탄올을 얻었다. 고정 후, 상기 플레이트를 1200rpm에서 5분 동안 원심분리하였고 에탄올:PBS를 따라냈다. 세포를 PBS에서 300 μg/mL의 RNase 및 50 μg/mL의 프로피듐 요오드화물의 용액 200 μL에 재현탁시켰다. 상기 플레이트를 밀봉하였고, 암실에서 37℃에서 30분 동안 또는 실온에서 밤새 항온처리한 후, 이들 세포를 재현탁하였고, 유세포 분석을 위해 작은 부피의 폴리프로필렌 플레이트로 옮겼다. 프로피듐 요오드화물-착색된 세포들은 BD Accuri 유세포 분석기를 사용하여 분석되었다. 각 샘플에 대해 세 개의 플롯이 생성되었다:

[0644] 도 2A에서는 표시된 농도의 화합물 2 또는 접합안된 MMAE과 함께 24h 항온처리한 후, 시험관내 HCT116 결장직장 세포들의 세포 주기 분석을 도시한다.

[0645] 도 2B에서는 화합물 2의 표시된 분량투여와 함께 24h 항온처리한 후, 시험관내 HCT116 결장직장 세포들의 세포 주기 분석을 도시한다.

[0646] 세포들은 G2/M에서 용량 반응성 축적을 나타내며, MMAE의 경우 IC₅₀은 2.6nM이고, 화합물 2의 경우 IC₅₀은 19.6nM이다.

[0647] 실시예 C: 랫 모델에서 화합물 2의 혈장 약동학

[0648] 동물 분량투여(Dosing)

[0649] 암컷 Sprague Dawley 랫들을 배송-전, Envigo Labs에서 경정맥 캐놀러 삽입 및 혈관 접근 버튼(VAB, Instech Labs Cat # VABR1B/22) 삽입을 받았다. 자식, 알루미늄 캡(Instech Labs Cat # Cat #VABRC)을 사용하여 경정맥 카테터의 접근 포트를 보호하였고, 동물을 연구-전 4-5일 동안 옥수수 속대 위에 케이지당 2마리씩 수용할 수 있었다. 랫에게 구연산염 완충액에 5% 만니톨의 비히클에 준비된 10mg/kg의 화합물 2를 단일 정맥 분량투여를 했다. 화합물 투여-후 2min, 30min, 1시간, 2시간, 4시간, 7시간 및 24시간 시점에서, 공급받은 랫으로부터 혈액(250 μL)을 K2EDTA 충전 마이크로테이너에 채혈했다. 원심분리로 혈장을 분리하였고, 100 μL 분취량을 드라이 아이스 위에서 96-웰 폴리프로필렌 플레이트로 옮겼다. 샘플은 LC-MS/MS에 의한 정량화를 위해 처리될 때까지 -80℃에서 보관되었다.

[0650] 혈장 접합체 농도의 LC-MS/MS 결정

[0651] 각 샘플(이중 블랭크(D-BLK), 블랭크(BLK), 표준품(STDs), 품질 대조군(QCs) 또는 매트릭스 샘플)의 20 μL 용량

을 물에 4% 인산 20 μ L이 함유된 깨끗한 1mL 96-웰 단백질 침전 플레이트에 추가했다. 강화된 샘플들을 700rpm에서 2분간 와동시킨 후, 1분간 1500rpm에서 원심분리하여 모든 액체를 플레이트 바닥에 통합시켰다. 20 μ L의 작업 내부 표준(WIS)을 각 매트릭스 샘플에 추가한 다음, 180 μ L의 아세토니트릴:포름산(500:500:1, v:v:v)을 추가했다. 샘플을 700rpm에서 2분간 와동시켰고, 4°C에서 10분간 3000rpm으로 원심분리했다. 50 μ L 부피의 상층액을 깨끗한 LoBind 0.700-mL 96-웰 폴리프로필렌 수집 플레이트로 옮긴 후, 100 μ L의 물:아세토니트릴:포름산(900:100:1, v:v:v)을 첨가했다. 최종 샘플을 700rpm에서 2분 동안 와동시켰고, 분석을 위해 5 μ L를 LC-MS/MS 시스템으로 주입했다.

[0652] 혈장 MMAE 농도의 LC-MS/MS

[0653] 각 매트릭스 샘플의 25 μ L 부피를 96-웰 폴리프로필렌 플레이트의 웰에 추가한 다음, 150 μ L의 포름산 암모늄 완충액(pH 6.9)과 25 μ L의 작업 내부 표준(WIS)을 추가했다. 이중 블랭크 대조군의 경우, WIS는 25 μ L의 물:아세토니트릴:포름산(500:500:1, v:v:v)으로 대체되었다. 강화된 샘플을 700rpm에서 2분 동안 와동시켰다. 음압 매니폴드에서 작업하면서, 200 μ L의 강화된 매트릭스 샘플을 지원되는 액체 추출 플레이트에 추가했고, 샘플을 최대 1분 동안 650-700 torr의 음압 하에서 플레이트 프릿을 통해 여과되도록 하였다. 샘플들이 5분 동안 상기 플레이트에 완전히 흡수되도록 두었다. 용리 전, 2-mL 96-웰 TrueTaper 플레이트를 수집 플레이트로 사용하기 위해 진공 매니폴드 내에 배치했다. 1000 μ L 부피의 MTBE를 원래 샘플 플레이트에 첨가하였고, 상기 용매를 중력 하에서 5분 동안 흐르도록 두었다. 10-30개의 섹션에 대해, 또는 샘플이 이들 웰에서 완전히 비워질 때까지 ~650 torr의 음압을 적용시켰다. 수집된 용출액을 40°C에서 가열된 질소 기류 하에서 증발시켰다. 샘플을 100 μ L의 아세토니트릴:물:200mM 포름산 암모늄(90:5:5, v:v:v)에서 재구성하였고, 실리콘 캡 매트릭스로 덮었다. 최종 샘플을 900rpm에서 2분간 와동시킨 후, 4°C에서 5분간 3000rpm으로 원심분리했다. 분석은 10 μ L 샘플을 LC-MS/MS 시스템에 주입하여 수행되었다.

[0654] 도 3에서는 랫에서 화합물 2의 10mg/kg 단일 IV 분량투여-후, 화합물 2 및 방출된 MMAE 2의 혈장 농도의 플롯(데이터는 평균 $\pm$ SD로 표현됨)을 보여준다. 도 3에 도시된 바와 같이, MMAE 탄두(warhead)의 0.02%가 순환계에 서 24h 후에 방출되었다. 도 3에서는 화합물 2는 혈장에서 적어도 24h 동안 안정하다는 것을 입증한다.

[0655] 실시예 D: 마우스 모델에서 화합물 2의 조직 약동학

[0656] 동물 분량투여(Dosing)

[0657] 6-주령 암컷 무흉선 누드 *Foxn*^{nu} 마우스를 Taconic Labs(Cat# NCRNU-F)에서 구입하여, 일회용 케이지 시스템(Innovive)의 Alpha-Dri 침구 위에 케이지당 5 마리씩 사육했다. 결장직장에서 유래된 인간 HCT116 암세포를 Phenol Red-없는 Matrigel에 1:1로 희석하였고, 100 μ L 중 2.5×10^6 세포 밀도로 각 마우스의 왼쪽 옆구리에 피하 이식했다. 이종이식편이 최소 부피 300mm³에 도달했을 때, 마우스에게 시트레이트에서 5% 만니톨의 비히클로 제조된 0.5mg/kg MMAE 또는 3mg/kg 화합물 2를 단일 복강내 주사했다. 종양, 대퇴사두근 및 골수 샘플은 화합물 투여-후 4, 24 및 48시간 시점에 먹이를 먹고 마취된 마우스로부터 수집되었다. 조직의 MMAE 농도는 LCMS를 통해 결정되었다.

[0658] 혈장 및 조직 MMAE 농도의 LC-MS/MS 결정

[0659] 혈장 MMAE

[0660] 0.700mL 96-웰 LoBind 폴리프로필렌 플레이트 위에 놓인 96-웰 단백질 침전 플레이트의 웰로 내부 표준(MMAE-D8)을 함유하는 75 μ L 용량의 아세토니트릴:포름산(1000:1, v:v). 이중 블랭크 및 캐리오버 샘플 웰에는 내부 표준 없이 75 μ L의 아세토니트릴:포름산(1000:1, v:v)이 주입되었다. 각 매트릭스 샘플의 25 μ L 용량을 내부 표준을 함유하는 플레이트 웰에 추가했다. 강화된 샘플을 700rpm에서 1분간 와동시켰고, 4°C에서 2분간 3000rpm으로 원심분리했다. 상기 단백질 침전 플레이트는 폐기되었다. 50 μ L 부피의 이동상 A (아세토니트릴:물:200mM 포름산암모늄(90:5:5, v:v:v))를 실리콘 캡 매트릭스로 덮인 96-웰 폴리프로필렌 수집 플레이트에 첨가했다. 최종 샘플을 700rpm에서 2분 동안 와동시켰고, LC-MS/MS 시스템 상에 2 μ L 샘플을 주입하여 분석을 수행했다.

[0661] 종양 및 근육 MMAE

[0662] 젖은 얼음 위에 보관된 해동된 조직 샘플을 조직 중량을 기준으로 PBS를 사용하여 100mg/mL로 조정했다. 샘플을 Precellys Evolution 기계에서 7200rpm으로 2 x 30초 주기 동안 균질화시켰으며, 각 주기 사이에 10초의 휴지 시간을 두었다. 균질액을 4°C에서 5분 동안 14,000rpm으로 원심분리하였고, 상층액을 깨끗한 2mL LoBind

Eppendorf 튜브로 옮겼다. 100 μ L 부피의 균질액을 깨끗한 2mL 96-웰 폴리프로필렌 플레이트에 추가한 다음 75 μ L의 포름산암모늄 완충액(pH 6.9) 및 25 μ L의 작업 내부 표준(WIS)을 추가했다. 이중 블랭크 대조군에는 내부 표준 없이, 물:아세트니트릴:포름산(1:1:0.001, v:v:v) 75 μ L가 주입되었다. 강화된 샘플을 실리콘 캡 매트릭스로 덮고, 700rpm에서 2분 동안 와동시켰다. 음압 매니폴드에서 작업하면서, 200 μ L의 강화된 매트릭스 샘플을 지원 액체 추출(SLE) 플레이트에 추가했고, 샘플을 최대 1-분 동안 ~650-700 torr의 음압으로 플레이트 프릿을 통해 여과되도록 하였다. 샘플들이 5분 동안 상기 SLE 플레이트에 완전히 흡수되도록 두었다. 샘플 용리-전, 2-mL 96-웰 TrueTaper 수집 플레이트를 수집 용기로 진공 매니폴드 내에 배치했다. 샘플을 40°C의 가열된 질소 유동 하에서 증발시켰고, 150 μ L의 아세트니트릴:물:200mM 포름산 암모늄 (90:5:5, v:v:v)에서 재구성했다. 상기 수집 플레이트를 실리콘 캡 매트릭스로 덮고, 900rpm에서 2분 동안 와동시켰다. 최종 샘플을 4°C에서 5분 동안 3000rpm으로 원심분리시켰으며, LC-MS/MS 시스템에 2 μ L 샘플을 주입하여 분석을 수행하였다.

[0663] 골수 MMAE

[0664] 젖은 얼음 위에 보관된 해동된 골수 샘플 펠릿을 얼음-냉각된 RIPA 완충액을 사용하여 최종 농도 1.0×10^7 로 조정했다. 샘플을 Precellys Evolution 기계에서 7200rpm으로 2 x 30초 주기 동안 균질화시켰으며, 각 주기 사이에 10초의 휴지 시간을 두었다. 골수 세포 균질액을 4°C에서 5분 동안 14,000rpm으로 원심분리하였고, 상층액을 깨끗한 2mL LoBind Eppendorf 튜브로 옮겼다. 각 골수 세포 균질액 200 μ L를 깨끗한 2mL의 96-웰 폴리프로필렌 플레이트의 웰에 추가한 후, 175 μ L의 포름산 암모늄 완충액(pH 6.9) 및 25 μ L의 작업 내부 표준물질(WIS)을 추가했다. 이중 블랭크 대조군에는 내부 표준 없이, 175 μ L의 물:아세트니트릴(1:1, v:v:v)만 제공받았다. 강화된 샘플을 실리콘 캡 매트릭스로 덮고, 700rpm에서 2분 동안 와동시켰다. 음압 매니폴드에서 작업하면서, 400 μ L의 강화된 매트릭스 샘플을 지원 액체 추출(SLE) 플레이트에 추가했고, 샘플을 최대 1-분 동안 ~650-700 torr의 음압으로 플레이트 프릿을 통해 여과되도록 하였다. 샘플들이 5분 동안 상기 SLE 플레이트에 완전히 흡수되도록 두었다. 샘플 용리-전, 2-mL 96-웰 TrueTaper 수집 플레이트를 수집 용기로 진공 매니폴드 내에 배치했다. 900 μ L의 MTBE:에틸 아세테이트(1:1, v:v)를 시스템에 적용하였고, 상기 용매가 중력 하에서 5분 동안 유동되도록 용리시켰다. ~650 torr의 음압을 10-30초 동안, 또는 웰이 완전히 비워질 때까지 적용시켰다. 상기 용리 과정을 반복하였다. 샘플을 40°C의 가열된 질소 흐름 하에서 증발시켰고, 25 μ L의 물:아세트니트릴:포름산(900:100:1, v:v:v)에서 재구성했다. 상기 수집 플레이트를 실리콘 캡 매트릭스로 덮고, 900rpm에서 2분 동안 와동시켰다. 최종 샘플을 4°C에서 5분 동안 3000rpm으로 원심분리시켰으며, LC-MS/MS 시스템에 2 μ L을 주입하여 분석을 수행하였다.

[0665] 도 4A에서 HCT116 결장직장 종양을 보유하고 있는 암컷 누드(nude) 마우스에게 0.5mg/kg MMAE 또는 3mg/kg 화합물 2를 단일 복막내 주사한-후 LCMS로 측정하였을 때, 마우스 종양에서 접합안된 MMAE의 수준을 플롯한 것을 보여준다.

[0666] 도 4B에서 HCT116 결장직장 종양을 보유하고 있는 암컷 누드 마우스에게 0.5mg/kg MMAE 또는 3mg/kg의 화합물 2를 단일 복막내 주사한-후 LCMS로 측정하였을 때, 마우스 근육에서 접합안된 MMAE의 수준을 플롯한 것을 보여준다.

[0667] 도 4C에서 HCT116 결장직장 종양을 보유하고 있는 암컷 누드 마우스에게 0.5mg/kg MMAE 또는 3mg/kg의 화합물 2를 단일 복막내 주사한-후 LCMS로 측정하였을 때, 마우스 골수에서 접합안된 MMAE의 수준을 플롯한 것을 보여준다.

[0668] 접합되지 않은 MMAE 탄두를 분량투여하면, 모든 조직에 걸쳐 MMAE가 무차별적으로 분포된다. 대조적으로, 화합물 2를 분량투여하면, MMAE는 종양에 효율적으로 전달되지만 건강한 조직에는 전달되지 않아, MMAE 탄두가 종양에 선택적으로 전달되었다.

[0669] 실시예 E: HCT116 결장직장 이종이식편 모델에서 화합물 1의 효과

[0670] 6-주령 암컷 무흉선 누드 *Foxn^{nu}* 마우스를 Taconic Labs(Cat# NCRNU-F)에서 구입하여, 일회용 케이지 시스템의 Alpha-Dri 침구 위에 케이지당 5 마리씩 사육했다. 결장직장에서 유래된 인간 HCT116 세포를 Phenol Red-없는 Matrigel에 1:1로 희석하였고, 100 μ L 중 2.5×10^6 세포 밀도로 각 마우스의 왼쪽 옆구리에 피하 이식했다. 이종 이식편의 평균 부피가 100-200mm³에 도달하면 마우스를 무작위로 그룹으로 나누고, 아래 표에 설명된 대로 처리했다. 마우스에게 비히클, 0.25mg/kg MMAE 또는 40mg/kg 화합물 1 (7mg/kg 접합안된 MMAE에 등가물)의 복강내(IP) 분량투여로 투여하였다. 분량투여는 0.1mg/ μ L DMSO 스탁을 구연산염 완충액의 5% 만니톨로 희석하여 준비

하였고, 12mL/kg (25g의 마우스당 300 μ L)의 부피로 2회 분량투여했다. 이종이식편 종양을 캘리퍼로 측정하였고, 타원체 부피에 대한 방정식을 사용하여 부피를 산출했다: 부피 = $\pi/6 \times (\text{길이}) \times (\text{폭})^2$. 사망, 종양 크기가 2000mm³ 초과하거나, 체중이 >20% 손실된 경우, 해당 동물을 연구에서 제외시켰다. 아래 표는 다양한 치료군의 분량투여 일정을 보여준다.

그룹	치료	분량투여	분량투여 일정	투여 경로	마우스 숫자
1	비히클 (구연산염 완충액 중 5% 만니톨)	NA	QDx2	i.p.	8
2	MMAE	0.25 mg/kg	QDx2	i.p.	8
3	화합물 1	40 mg/kg	QDx2	i.p.	8

[0671]

[0672]

도 5A는 HCT116 HER2 음성 결장직장 옆구리 종양을 보유하고 있는 누드 마우스에서 0.25mg/kg MMAE 또는 40mg/kg의 화합물 1 (7mg/kg MMAE 등가물)의 분량투여로부터 결과되는 평균 종양 부피를 플롯한 것을 보여준다. 동물들에게 총 2일 동안, 1일 1회 복강내 투여하였다.

[0673]

도 5B에서는 0.25mg/kg MMAE 또는 40mg/kg의 화합물 1 (7mg/kg MMAE 등가물)로 분량투여된 HCT116 HER2 음성 결장직장 옆구리 종양을 보유하고 있는 누드 마우스의 체중 변화율을 플롯한 것을 보여준다.

[0674]

접합안된 MMAE를 분량투여받은 동물들은 체중의 급격한 감소를 경험했으며, 6일차 시점에 이 연구에서 제외되었다. 대조적으로, 화합물 1을 분량투여받은 동물들은 체중 변화를 경험하지 않았다. 이들 데이터는 화합물 1이 전-임상 결장직장암 모델에서 강력한 항-종양 활성 및 안전성을 입증한다는 것을 실증한다.

[0675]

실시예 F: PC3 전립선 이종이식편 모델에서 화합물 2의 효과 (도 6과 함께)

[0676]

6-주령 암컷 무흉선 누드 *Foxn*^{nu} 마우스를 Taconic Labs(Cat# NCRNU-F)에서 구입하여, 일회용 케이지 시스템의 Alpha-Dri 침구 위에 케이지당 5 마리씩 사육했다. 전립선에서 유래된 인간 PC3 세포를 Phenol Red-없는 Matrigel에 1:1로 희석하였고, 100 μ L 중 2.5x10⁶ 세포 밀도로 각 마우스의 왼쪽 옆구리에 피하 이식했다. 이종 이식편의 평균 부피가 100-200mm³에 도달하면 마우스를 무작위로 그룹으로 나누고, 아래 표에 설명된 대로 처리했다. 마우스에게 비히클 또는 20mg/kg의 화합물 2를 복강내(IP) 분량투여로 투여하였다. 분량투여는 구연산염 완충액 중 5% 만니톨에 0.1mg/ μ L DMSO 스톱을 희석하여 준비되었으며, 12mL/kg (25g의 마우스당 300 μ L)의 부피로 3주 동안 QDx2/주 투여되었다. 이종이식편 종양을 캘리퍼로 측정하였고, 타원체 부피에 대한 방정식을 사용하여 부피를 산출했다: 부피 = $\pi/6 \times (\text{길이}) \times (\text{폭})^2$. 사망, 종양 크기가 2000mm³ 초과하거나, 체중의 >20% 손실로 인한 경우, 해당 동물을 연구에서 제외시켰다. 아래 표는 다양한 치료군의 분량투여 일정을 보여준다.

그룹	치료	분량투여	분량투여 일정	투여 경로	마우스 숫자
1	비히클 (구연산염 완충액 중 5% 만니톨)	NA	QDx2/wk x 3 wks	i.p.	5
2	화합물 2	20 mg/kg	QDx2/wk x 3 wks	i.p.	5

[0677]

[0678]

도 6A에서는 PC3 전립선 선암종 옆구리 종양을 보유하고 있는 누드 마우스에게 20mg/kg의 화합물 2를 분량투여한 후 평균 종양 부피를 플롯한 것을 보여준다. 동물에게 3주 동안 1일 1회, 주당 2회 복강내 투여하였다.

[0679]

도 6B는 본 연구에서 동물의 체중 변화율을 도시한다. 데이터는 평균 $\pm$ SEM로 나타낸다.

[0680] 이들 데이터는 화합물 2가 전-임상 전립선 모델에서 강력한 항-종양 활성 및 안전성을 입증한다는 것을 실증한다. 화합물 2를 분량투여받은 동물들은 체중 변화를 경험하지 않았다.

[0681] **실시예 G: NCI-H1975 비-소세포 폐 이종이식편 모델에서 화합물 2의 효과**

[0682] 6-주령 암컷 무흉선 누드 *Foxn^{nu}* 마우스를 Taconic Labs(Cat# NCRNU-F)에서 구입하여, 일회용 케이지 시스템의 Alpha-Dri 침구 위에 케이지당 5 마리씩 사육했다. 비-소세포 폐 암에서 유래된 인간 NCI-H1975 세포를 Phenol Red-없는 Matrigel에 1:1로 희석하였고, 100 μ L 중 5×10^6 세포 밀도로 각 마우스의 왼쪽 옆구리에 피하 이식했다. 이종이식편의 평균 부피가 100-200mm³에 도달하면 마우스를 무작위로 그룹으로 나누고, 아래 표에 설명된 대로 처리했다. 마우스에게 비히클 또는 10mg/kg 또는 20mg/kg의 화합물 2를 복강내(IP) 분량투여로 투여하였다. 분량투여는 구연산염 완충액 중 5% 만니톨에 0.1mg/ μ L DMSO 스톱을 희석하여 준비되었으며, 12mL/kg (25g의 마우스당 300 μ L)의 부피로 3주 동안 QDx2/주 투여되었다. 이종이식편 종양을 캘리퍼로 측정하였고, 타원체 부피에 대한 방정식을 사용하여 부피를 산출했다: 부피 = $\pi/6 \times (\text{길이}) \times (\text{폭})^2$. 사망, 종양 크기가 2000mm³ 초과하거나, 체중의 >20% 손실로 인한 경우, 해당 동물을 연구에서 제외시켰다. 아래 표는 다양한 치료군의 분량투여 일정을 보여준다.

그룹	치료	분량투여	분량투여 일정	투여 경로	마우스 숫자
1	비히클 (구연산염 완충액 중 5% 만니톨)	NA	QDx2/wk x 3 wks	i.p.	5
2	화합물 2	10 mg/kg	QDx2/wk x 3 wks	i.p.	5
2	화합물 2	20 mg/kg	QDx2/wk x 3 wks	i.p.	5

[0683]

[0684] 도 7A에서는 NCI-H1975 비-소세포 폐 암 옆구리 종양을 보유하고 있는 누드 마우스에서 10mg/kg 또는 20mg/kg의 화합물 2를 분량투여한 후 평균 종양 부피를 플롯한 것을 보여준다. 동물에게 3주 동안 1일 1회, 주당 2회 복강내 투여하였다.

[0685] 도 7B는 본 연구에서 동물의 체중 변화율을 도시한다. 데이터는 평균 $\pm$ SEM로 나타낸다.

[0686] 이들 데이터는 화합물 2가 전-임상 비-소세포 폐 암 모델에서 강력한 항-종양 활성 및 안전성을 입증한다는 것을 실증한다. 화합물 2를 분량투여받은 동물들은 체중 변화를 경험하지 않았다.

[0687] **실시예 H: 누드 마우스에서 화합물 2의 안전성**

[0688] 6-주령 암컷 무흉선 누드 *Foxn^{nu}* 마우스를 Taconic Labs(Cat# NCRNU-F)에서 구입하여, 일회용 케이지 시스템의 Alpha-Dri 침구 위에 케이지당 3 마리씩 사육했다. 마우스에게 비히클 또는 10mg/kg 또는 20mg/kg의 화합물 2를 복강내(IP) 분량투여로 투여하였다. 분량투여는 구연산염 완충액 중 5% 만니톨에 0.1mg/ μ L DMSO 스톱을 희석하여 준비되었으며, 12mL/kg (25g의 마우스당 300 μ L)의 부피로 매일 4-연속 일 동안 투여되었다. 아래 표는 다양한 치료군의 분량투여 일정을 보여준다.

그룹	치료	분량투여	분량투여 일정	투여 경로	마우스 숫자
1	비히클 (구연산염 완충액 중 5% 만니톨)	NA	QDx4	i.p.	3
2	화합물 1	10 mg/kg	QDx4	i.p.	3
3	화합물 2	10 mg/kg	QDx4	i.p.	3

[0689]

[0690]

도 8에서는 10mg/kg의 화합물 1 및 화합물 2를 4 연속일 동안 1일 1회 분량투여된 누드 마우스의 체중을 플롯한 것을 나타낸다.

[0691]

화합물 1 및 화합물 2를 분량투여받았던 동물들은 체중 변화를 나타내지 않았으며, 이는 마우스에서 이들 접합체의 안전성을 입증한다.

[0692]

실시예 I: 마우스 모델에서 화합물 13 및 화합물 7의 조직 역동학

[0693]

동물 분량투여(Dosing)

[0694]

6-주령 암컷 무흉선 누드 *Foxn^{nu}* 마우스를 Taconic Labs(Cat# NCRNU-F)에서 구입하여, 일회용 케이지 시스템(Innovive)의 Alpha-Dri 침구 위에 케이지당 5 마리씩 사육했다. 결장직장에서 유래된 인간 HCT116 암세포를 Phenol Red-없는 Matrigel에 1:1로 희석하였고, 100 μ L 중 2.5×10^6 세포 밀도로 각 마우스의 왼쪽 옆구리에 피하 이식했다. 이종이식편이 최소 부피 300mm³에 도달했을 때, 마우스에게 시트레이트에서 5% 만니톨의 비히클로 제조된 10mg/kg의 화합물 13 또는 화합물 7을 단일 복강내 주사했다. 화합물 투여-후, 2, 4, 8 및 24시간에 먹이를 먹었고, 마취된 마우스로부터 종양을 수거하였다. 종양 내 MMAE 농도는 LCMS에 의해 결정되었고, 펩티드 농도는 ELISA에 의해 결정되었다.

[0695]

조직 MMAE 농도의 LC-MS/MS 결정

[0696]

젖은 얼음 위에 보관된 해동된 조직 샘플을 조직 중량을 기준으로 PBS를 사용하여 100mg/mL로 조정했다. 샘플을 Precellys Evolution 기계에서 7200rpm으로 2 x 30초 주기 동안 균질화시켰으며, 각 주기 사이에 10초의 휴지 시간을 두었다. 균질액을 4°C에서 5분 동안 14,000rpm으로 원심분리하였고, 상층액을 깨끗한 2mL LoBind Eppendorf 튜브로 옮겼다. 100 μ L 부피의 균질액을 깨끗한 2mL 96-웰 폴리프로필렌 플레이트에 추가한 다음 75 μ L의 포름산암모늄 완충액(pH 6.9) 및 25 μ L의 작업 내부 표준(WIS)을 추가했다. 이중 블랭크 대조군에는 내부 표준 없이, 물:아세트오니트릴:포름산(1:1:0.001, v:v:v) 75 μ L가 주입되었다. 강화된 샘플을 실리콘 캡 매트릭스로 덮고, 700rpm에서 2분 동안 와동시켰다. 음압 매니폴드에서 작업하면서, 200 μ L의 강화된 매트릭스 샘플을 지원 액체 추출(SLE) 플레이트에 추가했고, 샘플을 최대 1-분 동안 ~650-700 torr의 음압으로 플레이트 프릿을 통해 여과되도록 하였다. 샘플들이 5분 동안 상기 SLE 플레이트에 완전히 흡수되도록 두었다. 샘플 용리-전, 2-mL 96-웰 TrueTaper 수집 플레이트를 수집 용기로 진공 매니폴드 내에 배치했다. 샘플을 40°C의 가열된 질소 유동 하에서 증발시켰고, 150 μ L의 아세트오니트릴:물:200mM 포름산 암모늄 (90:5:5, v:v:v)에서 재구성했다. 상기 수집 플레이트를 실리콘 캡 매트릭스로 덮고, 900rpm에서 2분 동안 와동시켰다. 최종 샘플을 4°C에서 5분 동안 3000rpm으로 원심분리시켰으며, LC-MS/MS 시스템에 2 μ L을 주입하여 분석을 수행하였다.

[0697]

총 펩티드 조직 농도의 ELISA 측정

[0698]

96-웰 플레이트를 0.2M 탄산-중탄산염 완충액(pH 9.4)에서 제조된 0.1 μ M BSA 표지 펩티드 100 μ L/웰로 코팅하였고, 4°C에서 밤새 항온처리했다. 플레이트를 ELISA 세척 완충액(PBS + 0.05% Tween 20)으로 4회 세척했고, 차단 완충액(PBS + 5% 분유 + 0.05% Tween 20)(300 μ L/웰)을 사용하여 실온에서 2시간 동안 항온처리했고, ELISA 세척 완충액으로 4회 다시 세척했다. 동시에, 2x 화합물 7/화합물 13 표준(각각의 조직 매트릭스에서) 또는 항체 희석제(PBS + 2% 분유 + 0.05% Tween 20)로 희석된 샘플 종양 균질액을 1-10ng/mL의 Pv1 펩티드에 특이적인 일차 항체를 실온에서 30분 동안 사전-항온처리하였다. 사전-항온처리된 샘플을 사전-코팅된, 사전-차단된 분석 플레이트에 100 μ L/웰로 첨가하였고, 실온에서 1시간 동안 항온처리하였다. 플레이트를 ELISA 세척 완충액으로 4회 세척하였고, 100 μ L/웰의 2차 염소 항-마우스 IgG HRP 항체(항체 희석제 중 1:5,000)와 함께 실온에서 1시

간 동안 항온처리하였다. 플레이트를 ELISA 세척 완충액으로 4회 세척하고 1분 동안 가볍게 흔들면서 실온에서 100 μ L/웰의 SuperSignal 기질과 함께 항온처리하였다. BioTek Cytation 5 플레이트 판독기의 플레이트에서 발광성을 판독했다.

[0699] 도 9A에서는 HCT116 결장직장 종양을 보유하고 있는 암컷 누드 마우스에게 화합물 7 또는 화합물 13을 단일 10mg/kg IP 분량투여한-후 종양에서 펩티드 농도를 플롯한 것을 나타낸다 (데이터는 평균 $\pm$ SEM로 나타낸다).

[0700] 도 9B에서는 HCT116 결장직장 종양을 보유하고 있는 암컷 누드 마우스에게 화합물 7 또는 화합물 13을 단일 10mg/kg IP 분량투여한-후 종양에서 MMAE 농도를 플롯한 것을 나타낸다 (데이터는 평균 $\pm$ SEM로 나타낸다).

[0701] 데이터는 두 접합체 모두 종양에 유사하게 삽입되는 반면, 화합물 13은 더 불안정하여 화합물 7에 비해 종양에서 30-40X 더 많은 탄두를 방출한다는 것을 보여준다.

[0702] **실시예 J: HT-29 결장직장 이종이식편 모델에서 화합물 13의 효과**

[0703] 6-주령 암컷 무흉선 누드 *Foxn^{nu}* 마우스를 Taconic Labs(Cat# NCRNU-F)에서 구입하여, 일회용 케이지 시스템의 Alpha-Dri 침구 위에 케이지당 5 마리씩 사육했다. 결장직장암에서 유래된 인간 HT-29 세포를 Phenol Red-없는 Matrigel에 1:1로 희석하였고, 100 μ L 중 2.5×10^6 세포 밀도로 각 마우스의 왼쪽 옆구리에 피하 이식했다. 이종 이식편의 평균 부피가 100-200mm³에 도달하면 마우스를 무작위로 그룹으로 나누고, 아래 표에 설명된 대로 처리했다. 마우스에게 비히클 또는 5mg/kg의 화합물 13을 복강내(IP) 분량투여로 투여하였다. 분량투여는 0.1mg/ μ L DMSO 스톱을 구연산염 완충액의 5% 만니톨로 희석하여 준비하였고, 12mL/kg (25g의 마우스당 300 μ L)의 부피로 0-3 일차, 5일차 및 16-19일차 시점에 분량투여했다. 이종이식편 종양을 캘리퍼로 측정하였고, 타원체 부피에 대한 방정식을 사용하여 부피를 산출했다: 부피 = $\pi/6 \times (\text{길이}) \times (\text{폭})^2$. 사망, 종양 크기가 2000mm³ 초과하거나, 체중의 >20% 손실로 인한 경우, 해당 동물을 연구에서 제외시켰다. 아래 표는 다양한 치료군의 분량투여 일정을 보여준다.

그룹	치료	분량투여	분량투여 일정	투여 경로	마우스 숫자
1	비히클 (구연산염 완충액 중 5% 만니톨)	NA	0-3 일차, 5일차 및 16-19일차	i.p.	8
2	화합물 13	5 mg/kg	0-3 일차, 5일차 및 16-19일차	i.p.	8

[0704]

[0705] 도 10A에서는 HT-29 결장직장 암 옆구리 종양을 보유하고 있는 누드 마우스에게 5mg/kg의 화합물 13을 분량투여한 후 결과되는 평균 종양 부피를 플롯한 것을 보여준다. 동물들에게 0-3일, 5일 및 16-19일차 시점에 1일 1회 복막내로 분량투여되었다.

[0706] 도 10B는 본 연구에서 동물의 체중 변화율을 도시한다. 데이터는 평균 $\pm$ SEM로 나타낸다.

[0707] 화합물 13이 분량투여된 동물들에서는 체중 변화를 경험하지 않았다. 이들 데이터는 화합물 13이 전-임상 결장직장 암 모델에서 강력한 항-종양 활성 및 안전성을 입증한다는 것을 실증한다.

[0708] **실시예 K: HT-29 결장직장 이종이식편 모델에서 화합물 7의 효과**

[0709] 6-주령 암컷 무흉선 누드 *Foxn^{nu}* 마우스를 Taconic Labs(Cat# NCRNU-F)에서 구입하여, 일회용 케이지 시스템의 Alpha-Dri 침구 위에 케이지당 5 마리씩 사육했다. 결장직장암에서 유래된 인간 HT-29 세포를 Phenol Red-없는 Matrigel에 1:1로 희석하였고, 100 μ L 중 2.5×10^6 세포 밀도로 각 마우스의 왼쪽 옆구리에 피하 이식했다. 이종 이식편의 평균 부피가 100-200mm³에 도달하면 마우스를 무작위로 그룹으로 나누고, 아래 표에 설명된 대로 처리했다. 마우스에게 비히클 또는 40 또는 80mg/kg의 화합물 7을 복강내(IP) 분량투여로 투여하였다. 분량투여는 구연산염 완충액 중 5% 만니톨에 0.1mg/ μ L DMSO 스톱을 희석하여 준비되었으며, 12mL/kg (25g의 마우스당 300 μ L)의 부피로 2주 동안 QDx4/주 투여되었다. 이종이식편 종양을 캘리퍼로 측정하였고, 타원체 부피에 대한 방

정식을 사용하여 부피를 산출했다: 부피 = $\pi/6 \times (\text{길이}) \times (\text{폭})^2$. 사망, 종양 크기가 2000mm³ 초과하거나, 체중의 >20% 손실로 인한 경우, 해당 동물을 연구에서 제외시켰다. 아래 표는 다양한 치료군의 분량투여 일정을 보여준다.

그룹	치료	분량투여	분량투여 일정	투여 경로	마우스 숫자
1	비히클 (구연산염 완충액 중 5% 만니톨)	NA	QDx4/wk x 2 wks	i.p.	8
2	화합물 7	40 mg/kg	QDx4/wk x 2 wks	i.p.	8
3	화합물 7	80 mg/kg	QDx4/wk x 2 wks	i.p.	8

[0710]

[0711] 도 11A에서는 HT-29 결장직장 암 옆구리 종양을 보유하고 있는 누드 마우스에게 40mg/kg 및 80mg/kg의 화합물 7을 분량투여한-후, 결과되는 평균 종양 부피를 플롯한 것을 보여준다. 동물들에게 2주에 걸쳐 4 연속일 동안 1일 1회 복막내로 분량투여되었다.

[0712] 도 11B는 본 연구에서 동물의 체중 변화율을 도시한다. 데이터는 평균±SEM로 나타낸다.

[0713] 이들 데이터는 화합물 7이 두 접합체의 서로 상이한 방출 프로파일과 일치하여, 화합물 13에 비해 더 높은 분량투여에서 HT-29 모델에서 효능 및 안전성을 입증한다는 것을 입증한다.

[0714] **실시예 L: 마우스 모델에서 화합물 13, 화합물 1, 및 화합물 2의 조직 약동학**

[0715] 동물 분량투여(Dosing)

[0716] 6-주령 암컷 무흉선 누드 *Foxn*^{nu} 마우스를 Taconic Labs(Cat# NCRNU-F)에서 구입하여, 일회용 케이지 시스템(Innovive)의 Alpha-Dri 침구 위에 케이지당 5 마리씩 사육했다. 결장직장에서 유래된 인간 HCT116 암세포를 Phenol Red-없는 Matrigel에 1:1로 희석하였고, 100 µL 중 2.5x10⁶ 세포 밀도로 각 마우스의 왼쪽 옆구리에 피하 이식했다. 이종이식편이 최소 부피 300mm³에 도달했을 때, 마우스에게 시트레이트에서 5% 만니톨의 비히클로 제조된 10mg/kg의 화합물 13, 화합물 1, 또는 화합물 2를 단일 복강내 주사했다. 화합물 투여-후, 4시간 및 24시간 시점에 종양을 수거하였다. 종양 내 MMAE 농도는 LCMS에 의해 결정되었고, 펩티드 농도는 ELISA에 의해 결정되었다.

[0717] 조직 MMAE 농도의 LC-MS/MS 결정

[0718] 젖은 얼음 위에 보관된 해동된 조직 샘플을 조직 중량을 기준으로 PBS를 사용하여 100mg/mL로 조정했다. 샘플을 Precellys Evolution 기계에서 7200rpm으로 2 x 30초 주기 동안 균질화시켰으며, 각 주기 사이에 10초의 휴지 시간을 두었다. 균질액을 4℃에서 5분 동안 14,000rpm으로 원심분리하였고, 상층액을 깨끗한 2mL LoBind Eppendorf 튜브로 옮겼다. 100 µL 부피의 균질액을 깨끗한 2mL 96-웰 폴리프로필렌 플레이트에 추가한 다음 75 µL의 포름산암모늄 완충액(pH 6.9) 및 25 µL의 작업 내부 표준(WIS)을 추가했다. 이중 블랭크 대조군에는 내부 표준 없이, 물:아세트니트릴:포름산(1:1:0.001, v:v:v) 75 µL가 주입되었다. 강화된 샘플을 실리кон 캡 매트릭스로 덮고, 700rpm에서 2분 동안 와동시켰다. 음압 매니폴드에서 작업하면서, 200 µL의 강화된 매트릭스 샘플을 지원 액체 추출(SLE) 플레이트에 추가했고, 샘플을 최대 1-분 동안 ~650-700 torr의 음압으로 플레이트 프릿을 통해 여과되도록 하였다. 샘플들이 5분 동안 상기 SLE 플레이트에 완전히 흡수되도록 두었다. 샘플 용리-전, 2-mL 96-웰 TrueTaper 수집 플레이트를 수집 용기로 진공 매니폴드 내에 배치했다. 샘플을 40℃의 가열된 질소 유동 하에서 증발시켰고, 150 µL의 아세트니트릴:물:200mM 포름산 암모늄 (90:5:5, v:v:v)에서 재구성했다. 상기 수집 플레이트를 실리кон 캡 매트릭스로 덮고, 900rpm에서 2분 동안 와동시켰다. 최종 샘플을 4℃에서 5분 동안 3000rpm으로 원심분리시켰으며, LC-MS/MS 시스템에 2 µL을 주입하여 분석을 수행하였다.

[0719] 총 펩티드 조직 농도의 ELISA 측정

- [0720] 96-웰 플레이트를 0.2M 탄산-중탄산염 완충액(pH 9.4)에서 제조된 0.1 μ M BSA 표지 펩티드 100 μ L/웰로 코팅하였고, 4°C에서 밤새 항온처리했다. 플레이트를 ELISA 세척 완충액(PBS + 0.05% Tween 20)으로 4회 세척했고, 차단 완충액(PBS + 5% 분유 + 0.05% Tween 20)(300 μ L/웰)을 사용하여 실온에서 2시간 동안 항온처리했고, ELISA 세척 완충액으로 4회 다시 세척했다. 동시에, 2x 아우리스타틴-접합체 표준(각각의 조직 매트릭스에서) 또는 항체 희석제(PBS + 2% 분유 + 0.05% Tween 20)로 희석된 샘플 종양 균질액을 1-10ng/mL의 Pv1 펩티드에 특이적인 일차 항체를 실온에서 30분 동안 사전-항온처리하였다. 사전-항온처리된 샘플을 사전-코팅된, 사전-차단된 분석 플레이트에 100 μ L/웰로 첨가하였고, 실온에서 1시간 동안 항온처리하였다. 플레이트를 ELISA 세척 완충액으로 4회 세척하였고, 100 μ L/웰의 2차 염소 항-마우스 IgG HRP 항체(항체 희석제 중 1:5,000)와 함께 실온에서 1시간 동안 항온처리하였다. 플레이트를 ELISA 세척 완충액으로 4회 세척하고 1분 동안 가볍게 흔들면서 실온에서 100 μ L/웰의 SuperSignal 기질과 함께 항온처리하였다. BioTek Cytation 5 플레이트 판독기의 플레이트에서 발광성을 판독했다.
- [0721] 도 12A에서는 HCT116 결장직장 종양을 보유하고 있는 암컷 누드 마우스에게 화합물 13, 화합물 1, 또는 화합물 2를 단일 10mg/kg 복막내 분량투여한-후 결과되는 종양에서 펩티드 농도를 플롯한 것을 나타낸다 (데이터는 평균 $\pm$ SEM로 나타낸다).
- [0722] 도 12B에서는 HCT116 결장직장 종양을 보유하고 있는 암컷 누드 마우스에게 화합물 13, 화합물 1, 또는 화합물 2를 단일 10mg/kg 복막내 분량투여한-후 결과되는 종양에서 MMAE 농도를 플롯한 것을 나타낸다 (데이터는 평균 $\pm$ SEM로 나타낸다).
- [0723] 데이터는 접합체가 종양에 유사하게 삽입되는 반면, 화합물 1과 화합물 2는 화합물 13에 비해 중간 수준의 MMAE를 방출한다는 것을 보여준다.
- [0724] **실시예 M: 마우스 모델에서 화합물 13, 화합물 7, 화합물 5 및 화합물 6의 조직 약동학**
- [0725] *동물 분량투여(Dosing)*
- [0726] 6-주령 암컷 무흉선 누드 *Foxn^{nu}* 마우스를 Taconic Labs(Cat# NCRNU-F)에서 구입하여, 일회용 케이지 시스템(Innovive)의 Alpha-Dri 침구 위에 케이지당 5 마리씩 사육했다. 결장직장에서 유래된 인간 HCT116 암세포를 Phenol Red-없는 Matrigel에 1:1로 희석하였고, 100 μ L 중 2.5×10^6 세포 밀도로 각 마우스의 왼쪽 옆구리에 피하 이식했다. 이종이식편이 최소 부피 300mm³에 도달했을 때, 마우스에게 시트레이트에서 5% 만니톨의 비히클로 제조된 10mg/kg의 화합물 13, 화합물 7, 화합물 5 또는 화합물 6을 단일 복강내 주사했다. 화합물 투여-후, 4시간 및 24시간 시점에 종양을 수거하였다. 종양 내 MMAE 농도는 LCMS에 의해 결정되었고, 펩티드 농도는 ELISA에 의해 결정되었다.
- [0727] *조직 MMAE 농도의 LC-MS/MS 결정*
- [0728] 젖은 얼음 위에 보관된 해동된 조직 샘플을 조직 중량을 기준으로 PBS를 사용하여 100mg/mL로 조정했다. 샘플을 Precellys Evolution 기계에서 7200rpm으로 2 x 30초 주기 동안 균질화시켰으며, 각 주기 사이에 10초의 휴지 시간을 두었다. 균질액을 4°C에서 5분 동안 14,000rpm으로 원심분리하였고, 상층액을 깨끗한 2mL LoBind Eppendorf 튜브로 옮겼다. 100 μ L 부피의 균질액을 깨끗한 2mL 96-웰 폴리프로필렌 플레이트에 추가한 다음 75 μ L의 포름산암모늄 완충액(pH 6.9) 및 25 μ L의 작업 내부 표준(WIS)을 추가했다. 이중 블랭크 대조군에는 내부 표준 없이, 물:아세트니트릴:포름산(1:1:0.001, v:v:v) 75 μ L가 주입되었다. 강화된 샘플을 실리콘 캡 매트릭스로 덮고, 700rpm에서 2분 동안 와동시켰다. 음압 매니폴드에서 작업하면서, 200 μ L의 강화된 매트릭스 샘플을 지원 액체 추출(SLE) 플레이트에 추가했고, 샘플을 최대 1-분 동안 ~650-700 torr의 음압으로 플레이트 프릿을 통해 여과되도록 하였다. 샘플들이 5분 동안 상기 SLE 플레이트에 완전히 흡수되도록 두었다. 샘플 용리-전, 2-mL 96-웰 TrueTaper 수집 플레이트를 수집 용기로 진공 매니폴드 내에 배치했다. 샘플을 40°C의 가열된 질소 유동 하에서 증발시켰고, 150 μ L의 아세트니트릴:물:200mM 포름산 암모늄 (90:5:5, v:v:v)에서 재구성했다. 상기 수집 플레이트를 실리콘 캡 매트릭스로 덮고, 900rpm에서 2분 동안 와동시켰다. 최종 샘플을 4°C에서 5분 동안 3000rpm으로 원심분리시켰으며, LC-MS/MS 시스템에 2 μ L 샘플을 주입하여 분석을 수행하였다.
- [0729] *총 펩티드 조직 농도의 ELISA 측정*
- [0730] 96-웰 플레이트를 0.2M 탄산-중탄산염 완충액(pH 9.4)에서 제조된 0.1 μ M BSA 표지 펩티드 100 μ L/웰로 코팅하였고, 4°C에서 밤새 항온처리했다. 플레이트를 ELISA 세척 완충액(PBS + 0.05% Tween 20)으로 4회 세척했고, 차

단 완충액(PBS + 5% 분유 + 0.05% Tween 20)(300 μ L/웰)을 사용하여 실온에서 2시간 동안 항온처리했고, ELISA 세척 완충액으로 4회 다시 세척했다. 동시에, 2x 아우리스타틴-접합체 표준(각각의 조직 매트릭스에서) 또는 항체 희석제(PBS + 2% 분유 + 0.05% Tween 20)로 희석된 샘플 종양 균질액을 1-10ng/mL의 Pv1 펩티드에 특이적인 일차 항체를 실온에서 30분 동안 사전-항온처리하였다. 사전-항온처리된 샘플을 사전-코팅된, 사전-차단된 분석 플레이트에 100 μ L/웰로 첨가하였고, 실온에서 1시간 동안 항온처리하였다. 플레이트를 ELISA 세척 완충액으로 4회 세척하였고, 100 μ L/웰의 2차 염소 항-마우스 IgG HRP 항체(항체 희석제 중 1:5,000)와 함께 실온에서 1시간 동안 항온처리하였다. 플레이트를 ELISA 세척 완충액으로 4회 세척하고 1분 동안 가볍게 흔들면서 실온에서 100 μ L/웰의 SuperSignal 기질과 함께 항온처리하였다. BioTek Cytation 5 플레이트 판독기의 플레이트에서 발광성을 판독했다.

[0731] 도 13A에서는 HCT116 결장직장 종양을 보유하고 있는 암컷 누드 마우스에게 화합물 13, 화합물 7, 화합물 5, 또는 화합물 6을 단일 10mg/kg 복막내 주사한 후, ELISA 및 LCMS로 측정하였을 때 마우스 종양에서 펩티드 수준을 플롯한 것을 나타낸다 (데이터는 평균 $\pm$ SEM로 나타낸다).

[0732] 도 13B에서는 HCT116 결장직장 종양을 보유하고 있는 암컷 누드 마우스에게 화합물 13, 화합물 7, 화합물 5, 또는 화합물 6을 단일 10mg/kg 복막내 주사한 후, ELISA 및 LCMS로 측정하였을 때 마우스 종양에서 접합안된 MMAE의 수준을 플롯한 것을 나타낸다 (데이터는 평균 $\pm$ SEM로 나타낸다).

[0733] 상기 데이터는 접합체가 종양에 유사하게 삽입되는 동안, 이들은 광범위한 동역학으로 탄두를 종양에 방출한다는 것을 보여준다.

[0734] 실시예 N: HCT116 결장직장 이중이식편 모델에서 화합물 5의 효과

[0735] 6-주령 암컷 무흉선 누드 *Foxn^{nu}* 마우스를 Taconic Labs(Cat# NCRNU-F)에서 구입하여, 일회용 케이지 시스템의 Alpha-Dri 침구 위에 케이지당 5 마리씩 사육했다. 결장직장암에서 유래된 인간 HCT116 세포를 Phenol Red-없는 Matrigel에 1:1로 희석하였고, 100 μ L 중 2.5×10^6 세포 밀도로 각 마우스의 왼쪽 옆구리에 피하 이식했다. 이중 이식편의 평균 부피가 100-200mm³에 도달하면 마우스를 무작위로 그룹으로 나누고, 아래 표에 설명된 대로 처리했다. 마우스에게 비히클 또는 1, 5, 또는 10mg/kg의 화합물 5를 복강내(IP) 분량투여로 투여하였다. 분량투여는 구연산염 완충액 중 5% 만니톨에 0.1mg/ μ L DMSO 스톱을 희석하여 준비되었으며, 12mL/kg (25g의 마우스당 300 μ L)의 부피로 3주 동안 QDx2/주 투여되었다. 이중이식편 종양을 캘리퍼로 측정하였고, 타원체 부피에 대한 방정식을 사용하여 부피를 산출했다: 부피 = $\pi \times (\text{길이}) \times (\text{폭})^2$. 사망, 종양 크기가 2000mm³ 초과하거나, 체중의 >20% 손실로 인한 경우, 해당 동물을 연구에서 제외시켰다. 아래 표는 다양한 치료군의 분량투여 일정을 보여준다.

그룹	치료	분량투여	분량투여 일정	투여 경로	마우스 숫자
1	비히클 (구연산염 완충액 중 5% 만니톨)	NA	QDx4	i.p.	8
2	화합물 5	1 mg/kg	QDx4	i.p.	8
3	화합물 5	5 mg/kg	QDx4	i.p.	8
4	화합물 5	10 mg/kg	QDx4	i.p.	8

[0736]

[0737] 도 14A에서는 HCT116 결장직장 암 옆구리 종양을 보유하고 있는 누드 마우스에게 1mg/kg, 5mg/kg 및 10mg/kg의 화합물 5를 분량투여한 후, 결과되는 평균 종양 부피를 플롯한 것을 보여준다. 동물들에게 4 연속일 동안 1일 1회 복막내로 분량투여되었다.

[0738] 도 14B는 본 연구에서 동물의 체중 변화율을 도시한다. 데이터는 평균 $\pm$ SEM로 나타낸다.

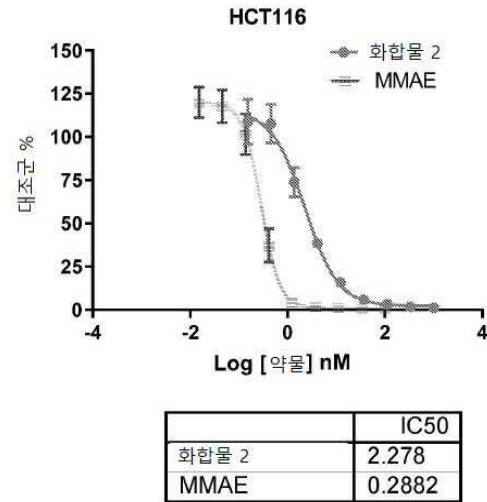
[0739] 이들 데이터는 화합물 5가 HCT116 모델에서 용량 반응 효능을 입증한다는 것을 실증한다.

[0740] 본 명세서에 설명된 것들에 추가하여, 본 발명의 다양한 변형은 전술한 설명으로부터 당업자에게 자명할

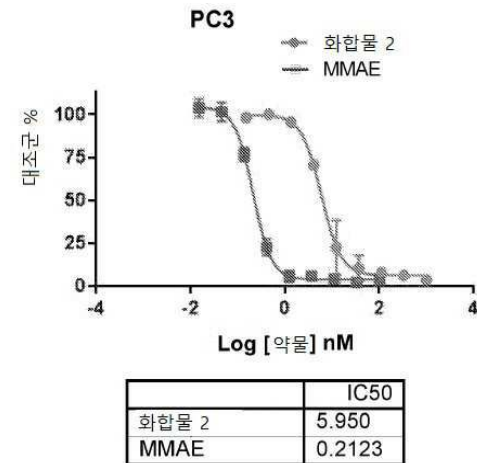
것이다. 이러한 변형은 또한 첨부된 청구항의 범위 내에 포함되도록 의도된다. 본 출원에 인용된 모든 특허, 특허 출원 및 간행물을 포함하는, 그러나 이에 국한되지 않는, 각 참고 문헌은 그 전체가 본원에 참고로 편입된다.

도면

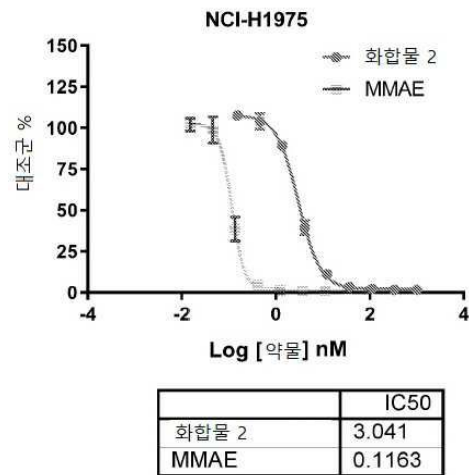
도면1a



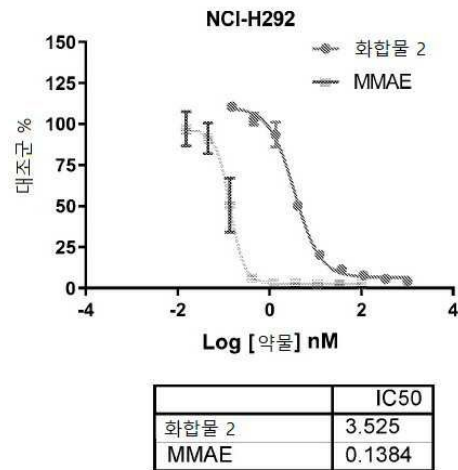
도면1b



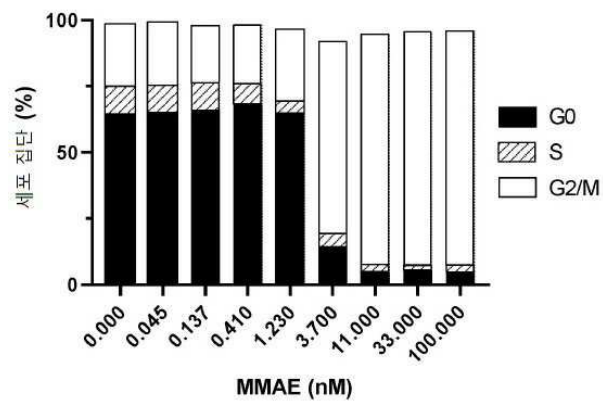
도면1c



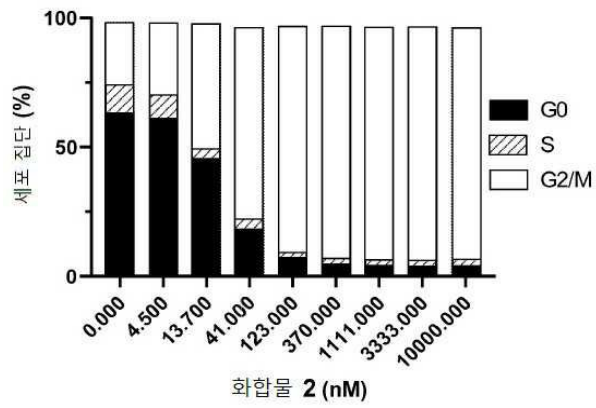
도면1d



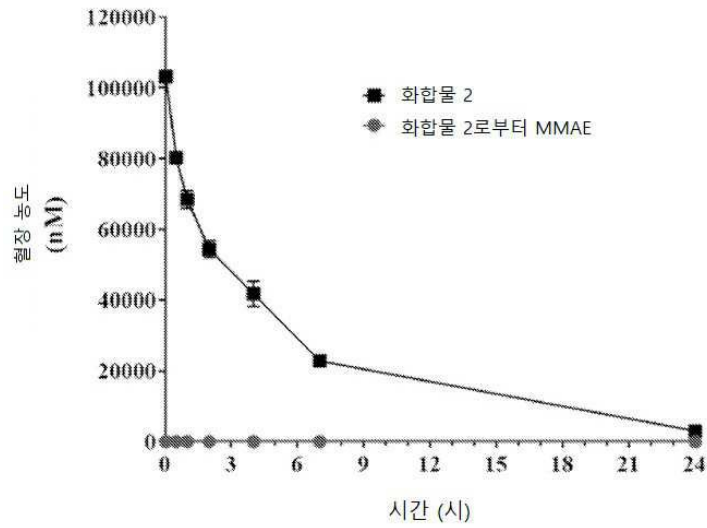
도면2a



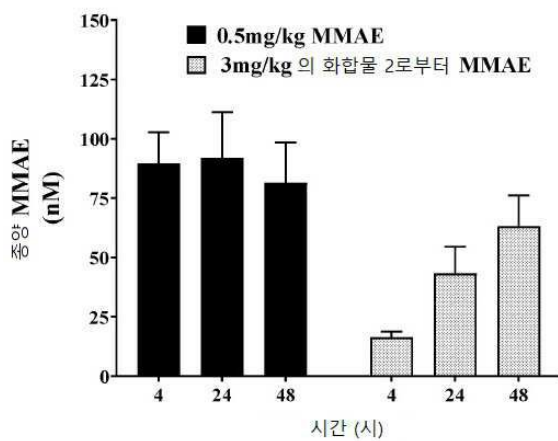
도면2b



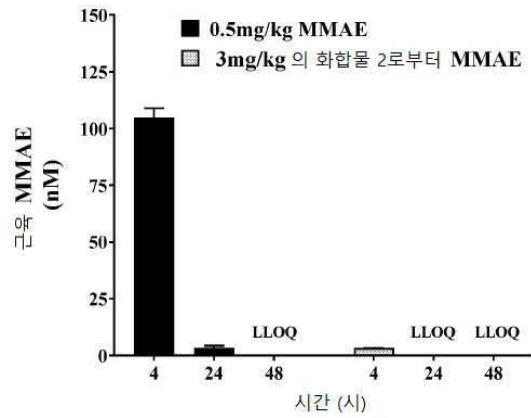
도면3



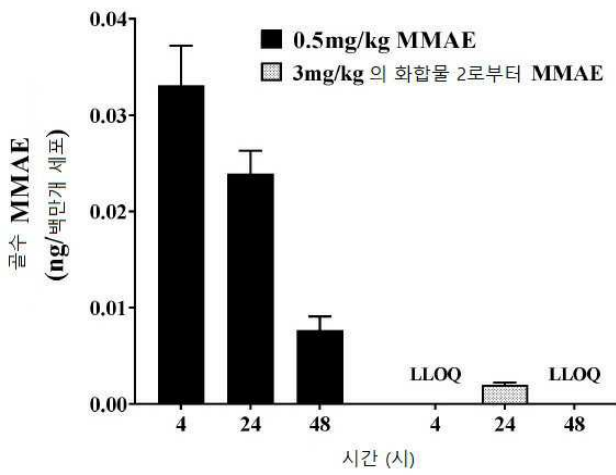
도면4a



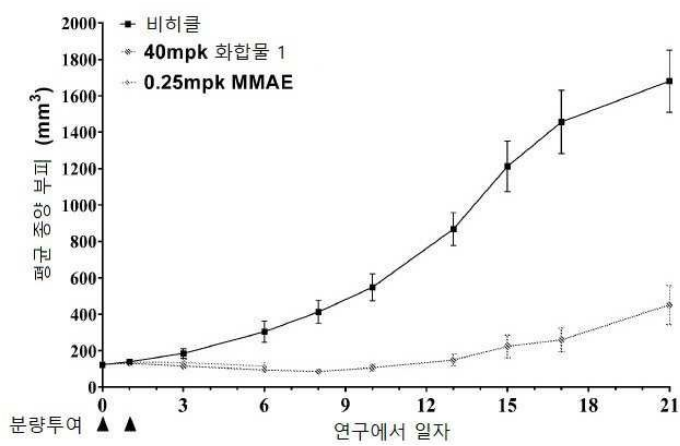
도면4b



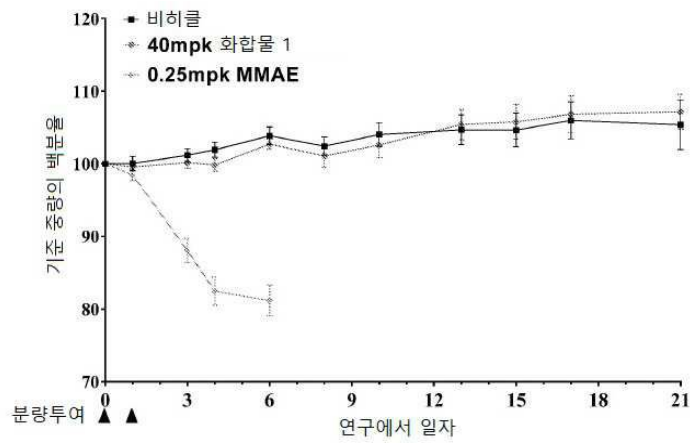
도면4c



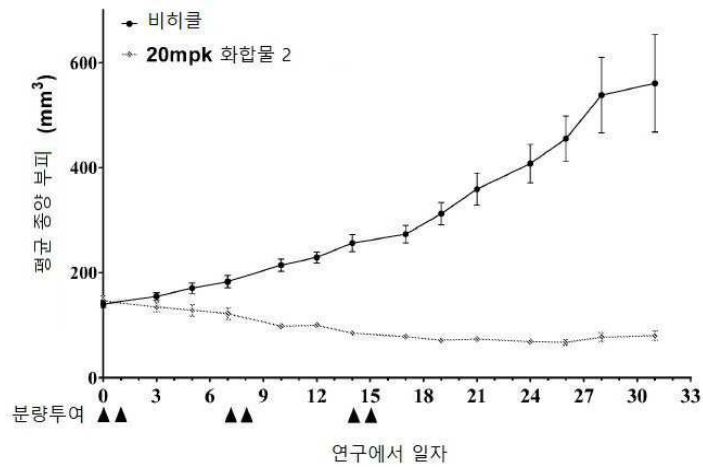
도면5a



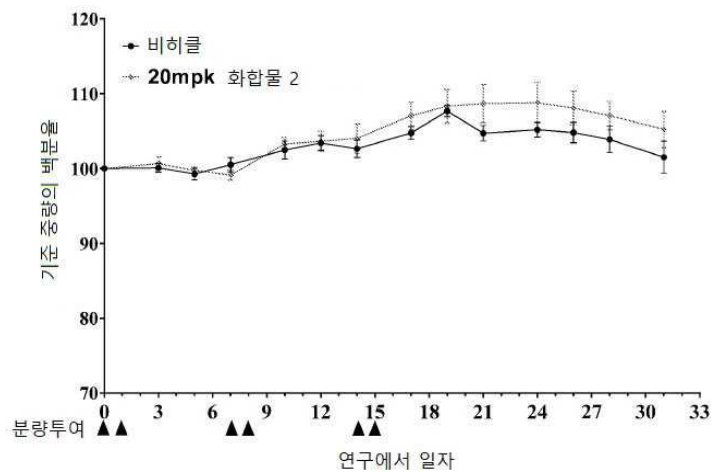
도면5b



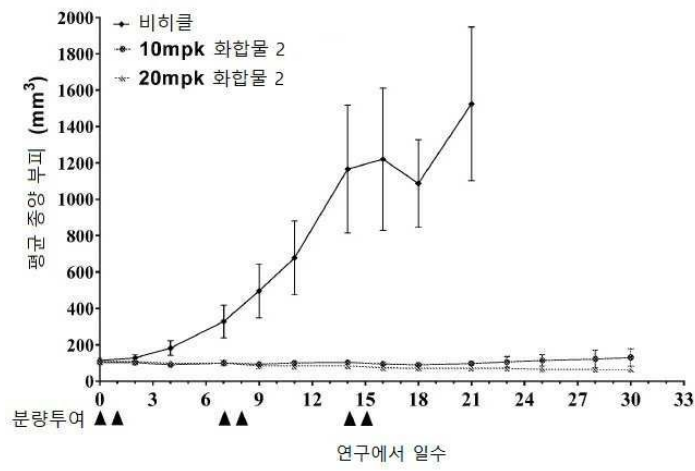
도면6a



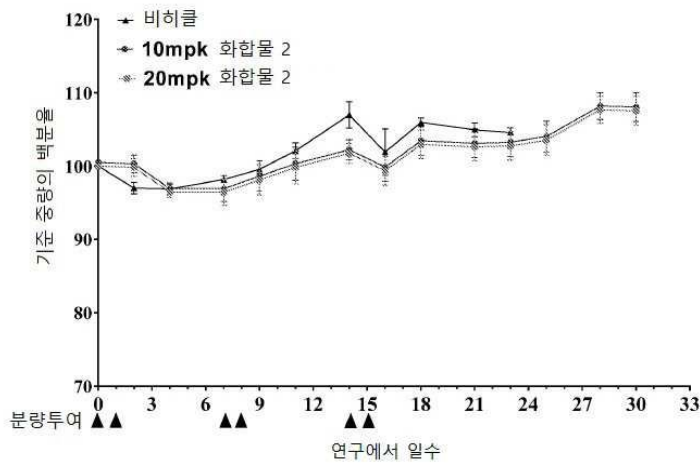
도면6b



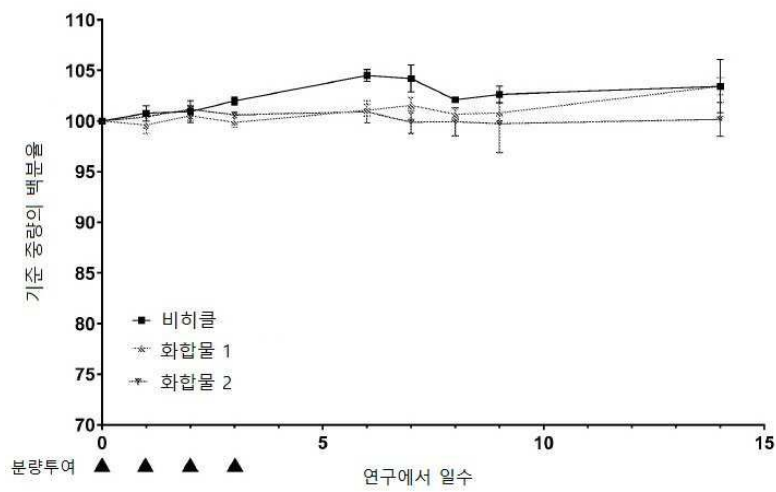
도면7a



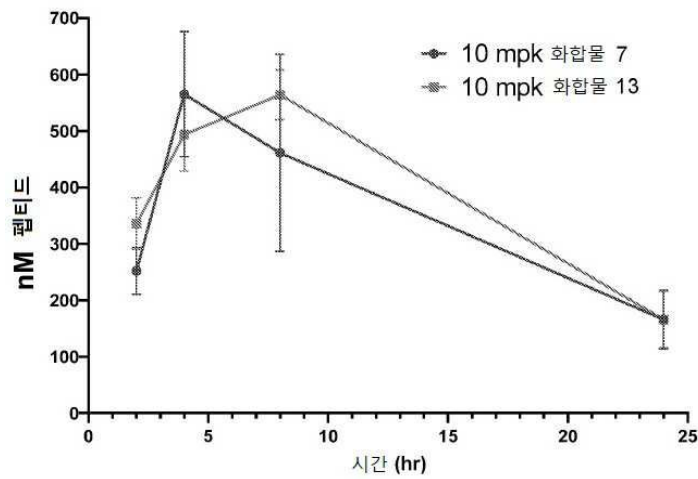
도면7b



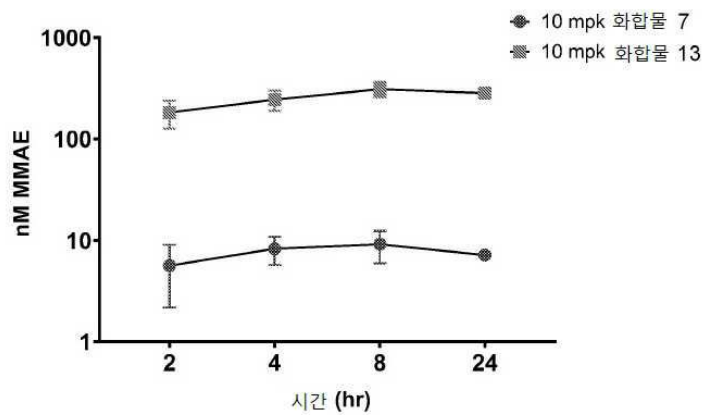
도면8



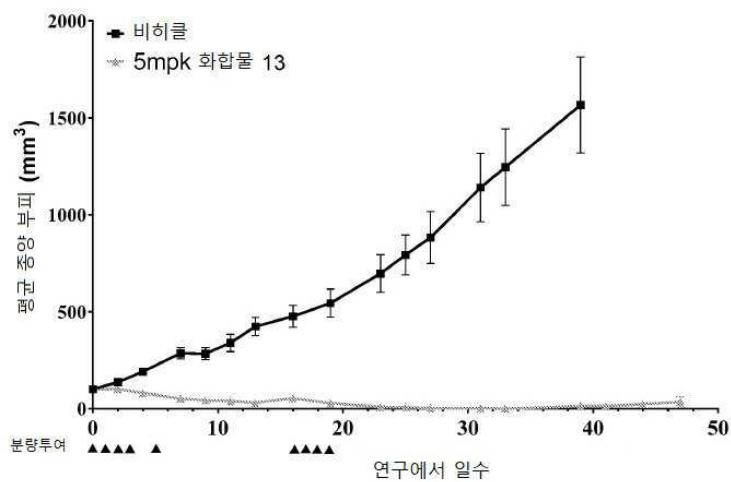
도면9a



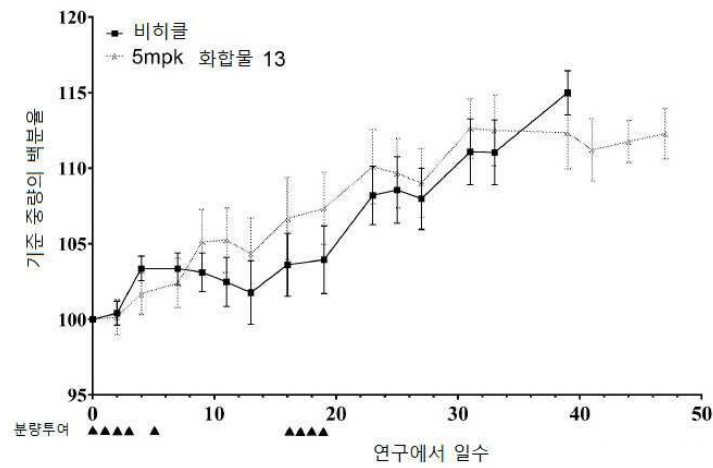
도면9b



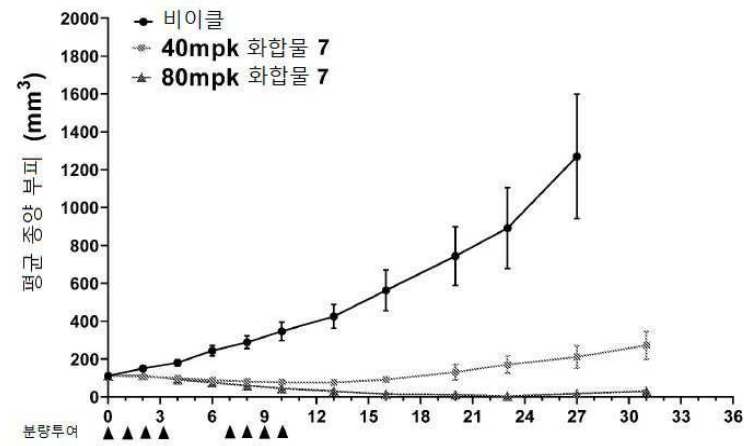
도면10a



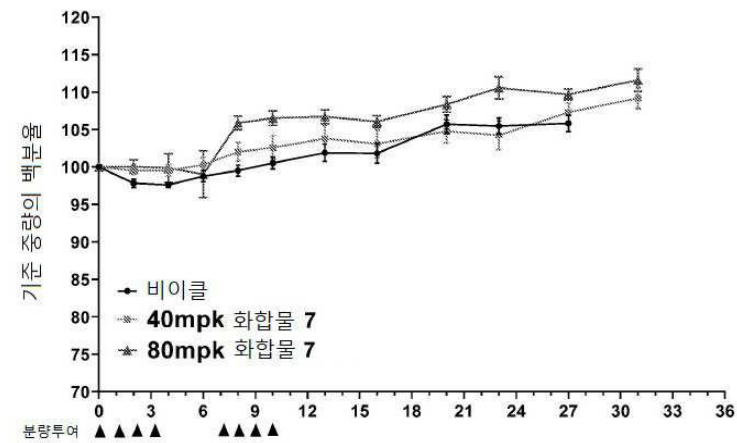
도면10b



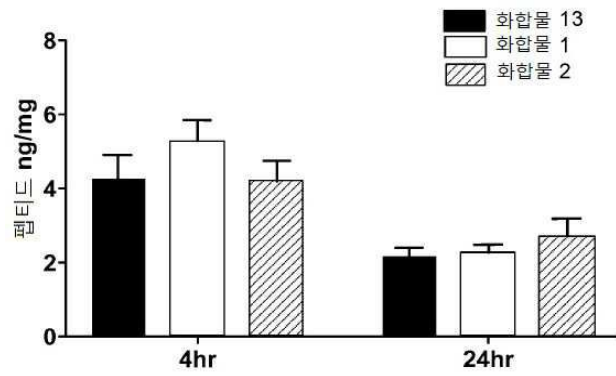
도면11a



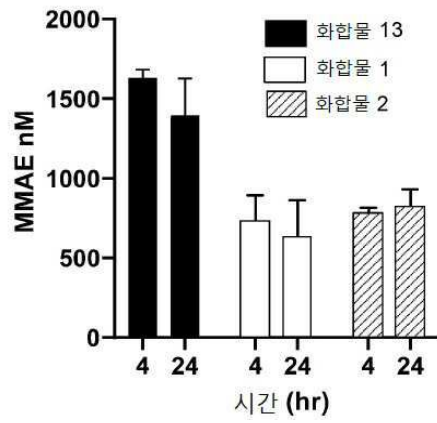
도면11b



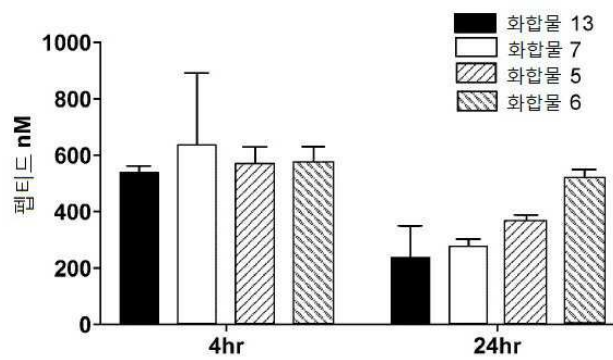
도면12a



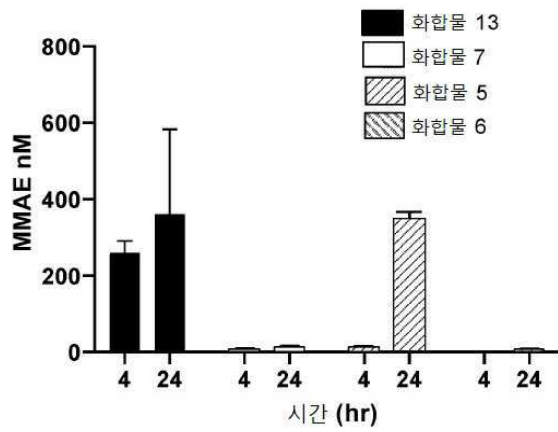
도면12b



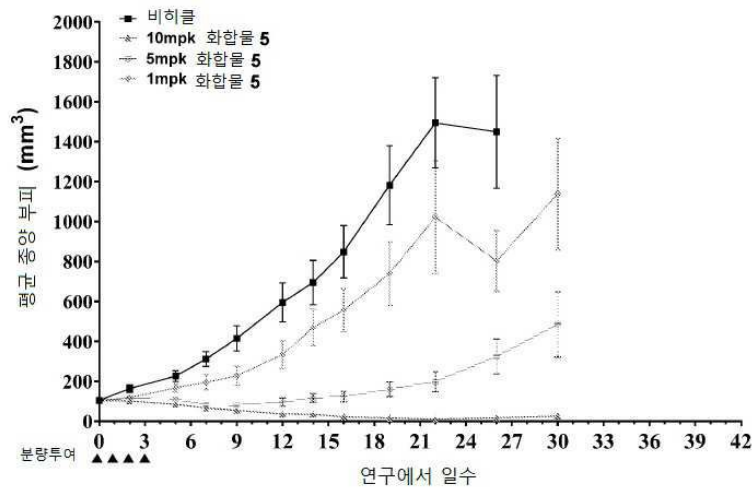
도면13a



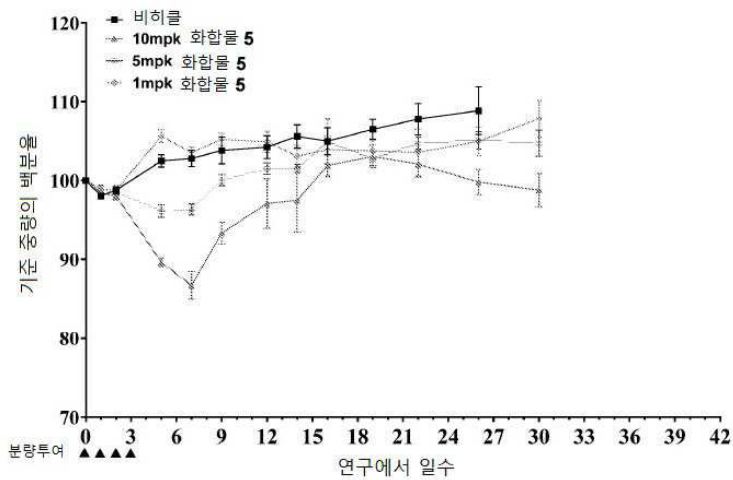
도면13b



도면14a



도면14b



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.