



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2014년08월07일
(11) 등록번호 10-1428112
(24) 등록일자 2014년08월01일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 487/04 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2008-7020594
(22) 출원일자(국제) 2007년01월22일
심사청구일자 2011년11월22일
(85) 번역문제출일자 2008년08월22일
(65) 공개번호 10-2008-0097435
(43) 공개일자 2008년11월05일
(86) 국제출원번호 PCT/IB2007/000142
(87) 국제공개번호 WO 2007/085930
국제공개일자 2007년08월02일
(30) 우선권주장
06290154.1 2006년01월25일
유럽특허청(EPO)(EP)
(56) 선행기술조사문헌
W02005040170 A2
W02005085250 A1
W02005110423 A2

(73) 특허권자
사노피
프랑스 75008 파리 튀 라 보에티에 54
(72) 발명자
가우지, 로렌스
프랑스 에프-75013 파리 애비뉴 드 프랑스 174 사
노피-아벤티스 내 패턴트 디파트먼트
자오, 로버트
미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 시드니 스트리
트 128
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 심미성, 양영환

전체 청구항 수 : 총 11 항

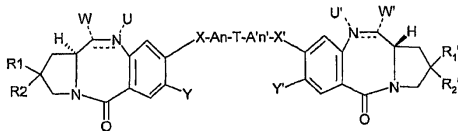
심사관 : 박형달

(54) 발명의 명칭 신규 토메이마이신 유도체를 포함하는 세포독성제 및 그의 치료적 용도

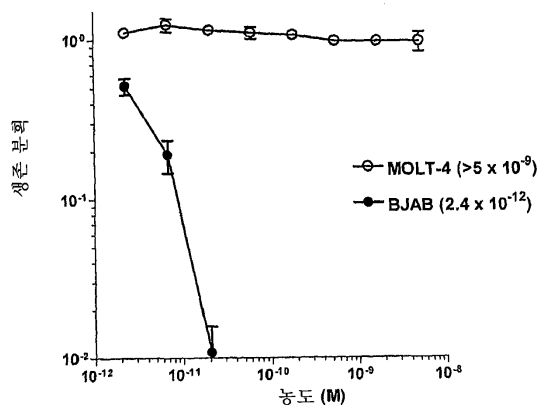
(57) 요약

본 발명은 하기 화학식 I의 신규 토메이마이신 유도체, 그의 제조 방법 및 그의 치료적 용도에 관한 것이다.

<화학식 I>



대표도 - 도1a



(72) 발명자

덩, 융홍

미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 시드니 스트리트 128

리, 웨이

미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 시드니 스트리트 128

부샤드, 에르베

프랑스 에프-75013 파리 애비뉴 드 프랑스 174 사
노피-아벤티스 내 패턴트 디파트먼트

차리, 라비, 브이.제이.

미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 시드니 스트리트 128

코머콘, 알라인

프랑스 에프-75013 파리 애비뉴 드 프랑스 174 사
노피-아벤티스 내 패턴트 디파트먼트

특허청구의 범위

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

8,8'-{5-[3-(4-메틸-4-메틸디술폰닐-펜타노일아미노)프로필옥시]-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시))-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온];

8,8'-[5-아세틸티오메틸-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시))-비스[(S)-2-메틸렌-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-

5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온];

8,8'-[3-(2-아세틸티오에틸)-1,5-펜탄디일비스(옥시)]-비스[(S)-2-메틸렌-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온];

8,8'-[5-(N-4-메르캅토-4,4-디메틸부타노일)아미노-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온];

8,8'-[5-(N-4-메틸디티오-4,4-디메틸부타노일)-아미노-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온];

8,8'-[5-(N-메틸-N-(2-메르캅토-2,2-디메틸에틸)아미노-1,3-벤젠디일(메틸렌옥시)]-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온];

8,8'-[5-(N-메틸-N-(2-메틸디티오-2,2-디메틸에틸)아미노-1,3-벤젠디일(메틸렌옥시)]-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온];

8,8'-[(4-(2-(4-메르캅토-4-메틸)-펜탄아미도-에톡시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온];

8,8'-[(4-(2-(4-메틸-4-메틸디술폰닐)-펜탄아미도-에톡시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온];

8,8'-[(1-(2-(4-메틸-4-메틸디술폰닐)-펜탄아미도-에톡시)-벤젠-3,5-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온];

8,8'-[(4-(3-(4-메틸-4-메틸디술폰닐)-펜탄아미도-프로폭시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온];

8,8'-[(4-(4-(4-메틸-4-메틸디술폰닐)-펜탄아미도-부톡시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온];

8,8'-[(4-(3-[4-(4-메틸-4-메틸디술폰닐)-펜타노일]-피페라진-1-일]-프로필)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온];

8,8'-[(1-(3-[4-(4-메틸-4-메틸디술폰닐)-펜타노일]-피페라진-1-일]-프로필)-벤젠-3,5-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온];

8,8'-[(4-(2-{2-[2-(4-메틸-4-메틸디술폰닐)-펜타노일아미노]-에톡시}-에톡시)-에톡시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온];

8,8'-[(1-(2-{2-[2-(2-{2-[2-(4-메틸-4-메틸디술폰닐)-펜타노일아미노]-에톡시}-에톡시}-에톡시)-에톡시]-에톡시)-벤젠-3,5-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온];

8,8'-[(1-(2-{2-[2-(4-메틸-4-메틸디술폰닐)-펜타노일아미노]-에톡시}-에톡시)-에톡시)-벤젠-3,5-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온];

8,8'-[(4-(2-{2-[2-(2-{2-[2-(4-메틸-4-메틸디술폰닐)-펜타노일아미노]-에톡시}-에톡시}-에톡시)-에톡시]-에톡시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온];

8,8'-[(1-(2-[메틸-(2-메틸-2-메틸디술폰닐)-프로필]-아미노)-에톡시)-벤젠-3,5-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온];

8,8'-[(4-(3-[메틸-(4-메틸-4-메틸디술폰닐)-펜타노일]-아미노)-프로필)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온];

8,8'-[(4-(3-[메틸-(2-메틸-2-메틸디술폰닐)-프로필]-아미노)-프로필)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]; 또는

8,8'-[(1-(4-메틸-4-메틸디술폰닐)-펜탄아미도)-벤젠-3,5-디메틸]-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]

으로부터 선택되는 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염, 수화물 또는 수화된 염, 또는 그의 광학이성질체, 라세미체, 부분입체이성질체 또는 거울상이성질체.

청구항 16

8,8'-[4-(3-tert-부톡시카르보닐아미노프로필옥시)-2,6-피리딘디일비스(메틸렌옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온];

8,8'-[5-(3-아미노프로필옥시)-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]; 또는

8,8'-[5-(N-메틸-3-tert-부톡시카르보닐아미노프로필)-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]

으로부터 선택되는 화합물.

청구항 17

티오에테르 링커를 통해 세포 결합체에 공유 결합되는 하나 이상의 제15항 또는 제16항의 화합물을 포함하며, 세포 결합체는 가교제에 의해 변형된 펩티드 또는 항체이고, 여기서 가교제가 N-숙신이미딜 3-(2-피리딜디티오)프로피오네이트, N-숙신이미딜 4-(2-피리딜디티오)펜타노에이트, 4-숙신이미딜-옥시카르보닐- α -메틸- α -(2-피리딜디티오)톨루엔, N-숙신이미딜-3-(2-피리딜디티오)부티레이트, 숙신이미딜 피리딜-디티오프로피오네이트, 4-(2-피리딜디티오)부탄산 N-히드로숙신이미드 에스테르, 숙신이미딜 4-[N-말레이미도메틸]시클로헥산-1-카르복실레이트, N-술포숙신이미딜-3-(2-(5-니트로-피리딜디티오)부티레이트, 2-이미노티올란 또는 S-아세틸숙신산 무수물인, 컨쥬게이트(conjugate).

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 세포 결합체가 세포 결합체의 반응성을 개선시키도록 가교제에 의해 변형된 것인 컨쥬게이트.

청구항 19

제17항에 있어서, 상기 세포 결합체가, 하나 이상의 결합 부위, 림포카인, 호르몬, 성장 인자 또는 영양소-수송 분자를 함유하는 것인 컨쥬게이트.

청구항 20

제17항에 있어서, 상기 세포 결합체가 단일클론성 항체; 키메라 항체; 인간화 항체; 완전 인간화된 항체; 단일쇄 항체; 항체의 단편; 인터페론; 펩티드; 림포카인; 호르몬, 스테로이드 호르몬; 성장 인자 및 집락-자극 인자; 비타민으로부터 선택되는 것인 컨쥬게이트.

청구항 21

화합물 또는 이의 전구체를 세포 결합체와 반응시켜 화합물 및 세포 결합체가 링커를 통해 서로 결합되도록 하는 단계를 포함하는, 제17항에 정의된 바와 같은 컨쥬게이트의 제조 방법.

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

제21항에 있어서, 상기 화합물을 티오에테르 결합을 통해, N-숙신이미딜 4-(말레이미도메틸)시클로헥산카르복실레이트, N-숙신이미딜-4-(N-말레이미도메틸)시클로헥산-1-카르복시-(6-아미도-카프로에이트), N-숙신이미딜-4-(요오도아세틸)-아미노벤조에이트, N-숙신이미딜 요오도아세테이트, N-숙신이미딜 브로모아세테이트 또는 N-숙신이미딜 3-(브로모아세트아미도)프로피오네이트에 의해 변형된 항체 또는 세포 결합체에 결합시키는 방법.

청구항 26

제21항에 있어서, 컨쥬게이트를 표준 크로마토그래피 기법, 투석 또는 정용여과(diafiltration)에 의해 정제하는 방법.

청구항 27

제26항에 있어서, 크로마토그래피 기법이 HPLC, 크기별 배제 크로마토그래피, 흡착 크로마토그래피, 이온 교환 크로마토그래피, 소수성 상호작용 크로마토그래피, 친화성 크로마토그래피 또는 세라믹 수산화인회석 상의 크로마토그래피인 방법.

청구항 28

유효량의 제15항 또는 제16항에 정의된 바와 같은 화합물을 포함하는, 암을 치료하기 위한 제약 조성물.

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

명세서

기술분야

- [0001] 본 발명은 신규 세포독성제 및 그의 치료적 용도에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 토메이마이신(tomaymycin) 유도체를 포함하는 신규 세포독성제 및 그의 치료적 용도에 관한 것이다. 이러한 신규 세포독성제는 토메이마이신 유도체를 세포 결합제에 화학적으로 결합시킴으로써 토메이마이신 유도체를 특정 세포 집단에 표적화된 방식으로 전달한 결과로서 치료적 용도를 갖는다.

배경기술

- [0002] 단일클론성 항체-약물 컨쥬게이트(conjugate)를 사용하여 시도된 종양 세포의 특이적 표적화에 대한 많은 보고서가 발표되었다 (문헌 [Sela et al, Immunoconjugates, 189-216 (C. Vogel, ed. 1987)]; [Ghose et al, Targeted Drugs 1-22 (E. Goldberg, ed. 1983)]; [Diener et al, Antibody mediated delivery systems, 1-23 (J. Rodwell, ed. 1988)]; [Pietersz et al, Antibody mediated delivery systems, 25-53 (J. Rodwell, ed. 1988)]; [Bumol et al, Antibody mediated delivery systems, 55-79 (J. Rodwell, ed. 1988)]; [G.A. Pietersz & K. Krauer, 2, J. Drug Targeting, 183-215 (1994)]; [R. V. J. Chari, 31 Adv. Drug Delivery Revs., 89-104 (1998)]; [W.A. Blattler & R.V.J. Chari, Anticancer Agents, Frontiers in Cancer Chemotherapy, 317-338, ACS Symposium Series 796]; 및 [I. Ojima et al eds, American Chemical Society 2001]). 본원에서 인용된 모든 문헌 및 특허는 본원에 참고로 도입되어 있다.
- [0003] 세포독성 약물, 예컨대 메토틱세이트, 다우노루비신, 독소루비신, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 멜팔란, 미토마이신 C 및 클로람부실은 다양한 류린 단일클론성 항체에 컨쥬게이션된다. 일부 경우, 약물 분자는 혈청 알부민 (문헌 [Garnett et al, 46, Cancer Res. 2407-2412 (1986)]; [Ohkawa et al 23, Cancer Immunol. Immunother. 81-86 (1986)]; [Endo et al, 47 Cancer Res. 1076-1080 (1980)]), 텍스트란 (문헌 [Hurwitz et al, 2 Appl. Biochem. 25-35 (1980)]; [Manabi et al, 34 Biochem. Pharmacol. 289-291 (1985)]; [Dillman et al, 46 Cancer Res., 4886-4891 (1986)]; [Shoval et al, 85, Proc. Natl. Acad. Sci., 8276-8280 (1988)]) 또는 폴리글루탐산 (문헌 [Tsukada et al, 73, J. Natl. Canc. Inst, 721-729 (1984)]; [Kato et al 27 J. Med. Chem., 1602-1607 (1984)]; [Tsukada et al, 52, Br. J. Cancer, 111-116 (1985)])과 같은 중개 담체 분자를 통해 항체 분자에 결합된다.
- [0004] 광범위한 링커(linker) 기술이 그러한 면역컨쥬게이트의 제조에 사용되고 있으며, 분해가능한 링커 및 분해가능하지 않은 링커 둘 다가 연구되고 있다. 그러나, 대부분의 경우, 표적 부위에서 약물 분자가 변형되지 않은 형태로 컨쥬게이트로부터 방출될 수 있는 경우에만 약물의 충분한 세포독성 포텐셜이 관찰될 수 있다.
- [0005] 항체-약물 컨쥬게이트의 제조에 사용되는 분해가능한 링커들 중 하나는 수용체-매개된 세포내이입(endocytosis) 동안 나타나는 엔도솜 및 리소솜과 같은, 상이한 세포내 구획의 산성 환경을 이용하는 시스-아코니트산을 기재로 한 산-불안정성 링커이다. 셴(Shen) 및 라이저(Ryser)는 다우노루비신과 거대분자 담체와의 컨쥬게이트를 제조하기 위해 이러한 방법을 도입하였다 (문헌 [102 Biochem. Biophys. Res. Commun., 1048-1054 (1981)]). 양(Yang) 및 라이스펠트(Reisfeld)는 상기 기법을 사용하여 다우노루비신을 항-흑색종 항체에 컨쥬게이션시켰다 (문헌 [80 J. Natl. Canc. Inst. 1154-1159 (1988)]). 또한, 딜만(Dillman) 등은 유사한 방식으로 산-불안정성 링커를 사용하여 다우노루비신과 항-T 세포 항체와의 컨쥬게이트를 제조하였다 (문헌 [48 Cancer Res. 6097-6102 (1988)]).
- [0006] 트로이트(Trouet) 등에 의해 탐구된 다른 접근법은 펩티드 스페이서 암(spacer arm)을 통해 다우노루비신을 항

체에 결합시키는 것을 포함한다 (문헌 [79 Proc. Natl. Acad. Sci. 626-629 (1982)]). 이는 유리 약물이 리소솜 펩티드분해효소의 작용에 의해 상기 컨쥬게이트로부터 방출될 수 있다는 전제 하에서 행해진다.

[0007] 그러나, 시험관 내 세포독성 시험에서, 항체-약물 컨쥬게이트는 컨쥬게이션되지 않은 유리 약물과 같은 세포독성 효능을 좀처럼 달성하지 못하는 것으로 밝혀졌다. 이는 약물 분자가 항체로부터 방출되는 메카니즘이 매우 비효율적일 수 있음을 시사한다. 면역독소 분야에서, 단일클론성 항체와 촉매적으로 활성인 단백질 독소 사이의 디설파이드 브릿지를 통해 형성된 컨쥬게이트는 다른 링커를 함유하는 컨쥬게이트보다 더 높은 세포독성을 갖는 것으로 입증되었다 (문헌 [Lambert et al, 260 J. Biol. Chem. 12035-12041 (1985)]; [Lambert et al, immunotoxins 175-209 (A. Frankel, ed. 1988)]; [Ghetie et al, 48, Cancer Res. 2610-2617 (1988)] 참조). 이는 항체 분자와 독소 사이의 디설파이드 결합을 효율적으로 절단하는데 기여하는 글루타티온의 높은 세포내 농도에 기인한다. 그럼에도 불구하고, 디설파이드 브릿지를 이용한 약물과 거대분자 사이의 컨쥬게이트의 제조에 대해 보고된 예는 별로 없다. 문헌 [Shen et al, 260, J. Biol. Chem. 10905-10908 (1985)]에는 메토티렉세이트의 메르캅토에틸아미드 유도체로의 전환에 이어서 디설파이드 결합을 통한 폴리-D-리신과의 컨쥬게이션이 기재되어 있다. 또다른 문헌 [Hinman et al., 53 Cancer Res. 3336-3342 (1993)]에는 트리설파이드를 함유하는 독성 약물 칼리케아마이신과 항체와의 컨쥬게이트의 제조가 기재되어 있다.

[0008] 디설파이드-결합된 항체-약물 컨쥬게이트가 부족한 한 이유는, 디설파이드 브릿지를 통해 항체에 약물을 결합시키는 데 손쉽게 사용될 수 있는 항 원자-함유 잔기를 갖는 세포독성 약물을 이용할 수 없기 때문이다. 추가로, 현존하는 약물의 화학적 변형은 그들의 세포독성 포텐셜을 낮추지 않고는 어렵다.

[0009] 현존하는 항체-약물 컨쥬게이트가 갖는 또다른 주요 결점은 표적화된 항원의 수의 제한, 및 메토티렉세이트, 다우노루비신 및 빈크리스틴과 같은 암억제성(cancerostatic) 약물의 비교적 중간정도의 세포독성 때문에, 충분한 농도의 약물을 표적 부위로 전달할 수 없다는 점이다. 유의한 세포독성을 달성하기 위해서는, 항체에 직접적으로 또는 중합체성 담체 분자를 통한 수많은 약물 분자의 결합이 요구된다. 그러나, 이러한 무겁게 변형된 항체는 흔히 표적 항원에 대한 결합의 손상, 및 혈류로부터 빠른 생체 내 청소소를 보인다.

[0010] 상기-기재된 난점에도 불구하고, 세포-결합 잔기, 및 메이탄시노이드로 알려진 세포독성 약물군을 포함하는 유용한 세포독성제가 보고되었다 (USP 5,208,020, USP 5,416,064 및 문헌 [R. V. J. Chari, 31 Advanced Drug Delivery Reviews 89-104 (1998)]). 유사하게, 세포-결합 잔기, 및 효능적인 항종양성 항생제인 CC-1065의 유사체 및 유도체를 포함하는 유용한 세포독성제가 또한 보고되었다 (USP 5,475,092, USP 5,585,499 및 USP 6,756,397).

[0011] 토메이마이신 유도체는 DNA의 좁은 홈(minor groove) 안에서 구아닌의 N2에 공유 결합함으로써 생물학적 특성을 나타내는, 공지된 화합물 부류인 피롤로[1,4]벤조디아제핀 (PBD)이다. PBD는 안트라마이신, 네오티라마이신 및 DC-81과 같이 다수의 좁은 홈 바인더를 포함한다. 그러나, 토메이마이신 항종양 활성은 정상 세포에 대한 그의 비-특이적 독성 때문에 제한된다. 따라서, 토메이마이신 화합물의 치료적 활성을 증가시키고, 비-특이적 독성 효과를 감소시킬 필요가 있다. 본 발명자들은 이러한 요구가 토메이마이신 화합물의 세포 결합제와의 결합에 의해 이들의 전달을 표적화시킴으로써 충족될 수 있음을 입증하였다. 또한, 수용액 중에서 가용성이고 안정한 토메이마이신 유도체를 개발할 필요가 있다. 추가로, 토메이마이신은 세포 결합제와의 컨쥬게이트에서 사용되도록 충분히 효능적이지는 않다.

[0012] 최근, 몇몇 신규한 PBD 유도체 및 전임상 모델에서의 그의 항종양 활성이 개시되었다 (WO 00/12508 및 WO2005/085260). 그러나, 인간에서의 초기 임상 시험에서, 인간에게 투여될 수 있는 매우 낮은 투여량에 기초하여, 상기 부류의 화합물이 독성이 강한 것으로 제시되었다 (문헌 [I. Puzanov, Proc. AACR-NCI-EORTC International Conference, Philadelphia, USA 2005, Abstract #B117]). 따라서, 보다 효능적이고/거나 세포 결합제에 결합될 수 있는 다른 유도체를 제공할 필요가 있다.

[0013] 따라서, 세포독성의 손상 없이 부작용이 감소된, 토메이마이신 유도체를 사용하여 질환을 치료하는 방법이 크게 요구된다.

[0014] 발명의 요약

[0015] 제1 실시양태에 개시된 바와 같이, 본 발명의 한 목적은 독성이 높으면서 여전히 많은 질환의 치료에 효과적으로 사용될 수 있는 토메이마이신 유도체를 제공하는 것이다.

[0016] 본 발명의 또다른 목적은 세포 결합제에 임의로 결합될 수 있거나 결합된 신규 토메이마이신 유도체를 제공하는

것이다.

[0017] 제2 실시양태에서, 본 발명은

[0018] (A) 세포 결합제에 임의로 결합될 수 있거나 결합된 유효량의 하나 이상의 토메이마이신 유도체 및

[0019] (B) 제약상 허용되는 담체, 희석제 또는 부형제를 포함하는 치료용 조성물을 제공한다.

[0020] 제3 실시양태에서, 본 발명은 표적 세포 또는 표적 세포를 함유하는 조직을, 세포 결합제에 임의로 결합될 수 있거나 결합된 하나 이상의 토메이마이신 유도체를 포함하는 세포독성량의 세포독성제와 접촉시키는 것을 포함하는, 선택된 세포 집단을 사멸시키는 방법을 제공한다.

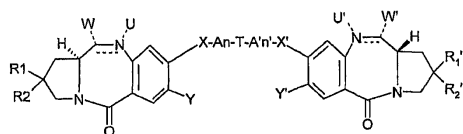
발명의 상세한 설명

[0021] 본 발명은 높은 세포독성을 보유하고, 세포 결합제에 효과적으로 결합될 수 있는 신규 토메이마이신 유도체의 합성을 기초로 한다. 분해가능한 결합, 예컨대 디설파이드 결합을 사용하여 높은 세포독성의 약물을 항체에 결합시키는 것이 세포 내부에서 충분히 활성인 약물의 방출을 보장하고, 이러한 컨쥬게이트가 항원 특이적 방식으로 세포독성적이라는 것은 이미 입증되었다 (US 6,340,701; US 6,372,738; US 6,436,931). 그러나, 이러한 기술은 세포독성 포텐셜을 감소시키지 않고는 현존하는 약물을 변형시키는 것이 매우 어려운 것으로 입증되었다. 개시된 본 발명은 화학적 잔기로 개시된 토메이마이신 유도체를 변형시킴으로써 이러한 문제점을 극복한다. 그 결과, 개시된 신규 토메이마이신 유도체는 토메이마이신 유도체의 세포독성 효능을 보존하며, 일부 경우에는 증진시킬 수도 있다. 세포 결합제-토메이마이신 유도체 복합체는 토메이마이신 유도체의 세포독성 작용이 원치 않는 세포에 대해서만 표적화된 방식으로 최대한 적용될 수 있도록 하여, 비-표적화된 건강한 세포에서의 손상으로 인한 부작용을 피할 수 있게 한다. 따라서, 본 발명은 종양 세포 (특히, 고형 종양 세포)와 같이 사멸 또는 용해되어야 하는 질환에 걸린 세포 또는 비정상 세포를 제거하는데 유용한 작용제를 제공한다.

[0022] 본 발명에 따른 세포독성제는 연결기(linking group)를 통해 세포 결합제에 임의로 결합될 수 있거나 결합된 하나 이상의 토메이마이신 유도체를 포함한다. 연결기는 통상의 방법을 통해 토메이마이신 유도체에 공유 결합된 화학적 잔기의 부분이다. 바람직한 실시양태에서, 화학적 잔기는 디설파이드 결합을 통해 토메이마이신 유도체에 공유 결합될 수 있다.

[0023] 본 발명에서 유용한 토메이마이신 유도체는 하기에 제시된 화학식 I의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 수화물 또는 수화된 염, 또는 이들 화합물의 다형성 결정 구조, 또는 그의 광학이성질체, 라세미체, 부분입체 이성질체 또는 거울상이성질체를 갖는다:

화학식 I



[0024]

[0025] 상기 식에서,

[0026] ----는 임의의 단일 결합을 나타내고;

[0027] ≡≡≡는 단일 결합 또는 이중 결합을 나타내며;

[0028] 단, ≡≡≡가 단일 결합을 나타내는 경우, 동일하거나 상이한 U 및 U'는 독립적으로 H를 나타내고, 동일하거나 상이한 W 및 W'는 OH, 에테르 (예컨대 -OR), 에스테르 (예컨대 -OCOR, 예를 들어, 아세테이트), 카르보네이트 (예컨대 -OCOOR), 카르바메이트 (예컨대 -OCONRR'), 시클릭 카르바메이트 (N10 및 C11이 사이클의 일부임), 우레아 (예컨대 -NRCONRR'), 티오카르바메이트 (예컨대 -OCSNHR), 시클릭 티오카르바메이트 (N10 및 C11이 사이클의 일부임), -SH, 술폰 (예컨대 -SR), 술폰사이드 (예컨대 -SOR), 술폰 (예컨대 -SOOR), 술폰네이트 (예컨대 -SO₃⁻), 술폰아미드 (예컨대 -NRSOOR), 아민 (예컨대 -NRR'), 임의로는 시클릭 아민 (N10 및 C11이 사이클의 일부임), 히드록실아민 유도체 (예컨대 -NROR'), 아마이드 (예컨대 -NRCOR), 아지도 (예컨대 -N₃), 시아노, 할로, 트리알킬- 또는 트리아릴포스포늄, 아미노산-유도된 기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며; 바람직하게

는, W 및 W'는 동일하거나 상이하고, OH, OMe, OEt, NHCONH₂ 또는 SMe이고;

[0029] --- 가 이중 결합을 나타내는 경우, U 및 U'는 존재하지 않고, W 및 W'는 H를 나타내고;

[0030] · R1, R2, R1' 및 R2'는 동일하거나 상이하고 하나 이상의 Hal, CN, NRR', CF₃, OR, 아릴, Het 또는 S(O)_qR에 의해 임의로 치환된 알킬 또는 할라이드로부터 독립적으로 선택되거나, 또는 R1과 R2 및 R1'과 R2'는 함께, 각각 이중 결합 함유 기 =B 및 =B'를 형성하고

[0031] [바람직하게는, R1과 R2 및 R1'과 R2'는 함께, 각각 이중 결합 함유 기 =B 및 =B'를 형성한다];

[0032] · B 및 B'는 동일하거나 상이하고 하나 이상의 Hal, CN, NRR', CF₃, OR, 아릴, Het 또는 S(O)_qR에 의해 임의로 치환된 알케닐로부터 독립적으로 선택되거나, 또는 B 및 B'는 산소 원자를 나타내고

[0033] [바람직하게는, B=B'이다.

[0034] 보다 바람직하게는, B=B' =CH₂ 또는 =CH-CH₃이다];

[0035] · X 및 X'는 동일하거나 상이하고, 하나 이상의 -O-, -NR-, -(C=O)- 또는 -S(O)_q-로부터 독립적으로 선택되고

[0036] [바람직하게는, X=X'이다.

[0037] 보다 바람직하게는, X=X'=O이다];

[0038] · A 및 A'는 동일하거나 상이하고, 임의로 산소, 질소 또는 황 원자를 함유하고 하나 이상의 Hal, CN, NRR', CF₃, OR, S(O)_qR, 아릴, Het, 알킬, 알케닐에 의해 임의로 치환된 알킬 또는 알케닐로부터 독립적으로 선택되고

[0039] [바람직하게는, A=A'이다.

[0040] 보다 바람직하게는, A=A'=비치환된 선형 알킬이다];

[0041] · Y 및 Y'는 동일하거나 상이하고, H 또는 OR로부터 독립적으로 선택되고

[0042] [바람직하게는, Y=Y'이다.

[0043] 보다 바람직하게는, Y=Y'=O알킬, 보다 바람직하게는 O메틸이다];

[0044] · T는 -NR-, -O-, -S(O)_q-이거나, 또는 하나 이상의 Hal, CN, NRR', CF₃, R, OR, S(O)_qR 및/또는 링커(들)에 의해 임의로 치환된 4 내지 10-원 아릴, 시클로알킬, 헤테로시클릭 또는 헤테로아릴, 또는 하나 이상의 Hal, CN, NRR', CF₃, OR, S(O)_qR 및/또는 링커(들)에 의해 임의로 치환된 분지형 알킬, 또는 하나 이상의 Hal, CN, NRR', CF₃, OR, S(O)_qR 및/또는 링커(들)에 의해 치환된 선형 알킬이고

[0045] [바람직하게는, T는 하나 이상의 링커(들)에 의해 임의로 치환된 4 내지 10-원 아릴 또는 헤테로아릴, 보다 바람직하게는 페닐 또는 피리딜이다.

[0046] 상기 링커는 연결기를 포함한다. 적합한 연결기는 당업계에서 잘 알려져 있으며, 티올, 술폰아이드, 디술폰아이드 기, 티오에테르 기, 산-불안정성 기, 광-불안정성 기, 펩티드분해효소-불안정성 기 및 에스테라제-불안정성 기를 포함한다. 디술폰아이드 기 및 티오에테르 기가 바람직하다.

[0047] 연결기가 티올, 술폰아이드 (또는 소위 티오에테르 -S-) 또는 디술폰아이드 (-S-S-)를 함유하는 기인 경우, 티올, 술폰아이드 또는 디술폰아이드 기를 보유한 측쇄는 선형, 분지형, 방향족 또는 헤테로시클릭일 수 있다. 당업자는 적합한 측쇄를 손쉽게 확인할 수 있다.

[0048] 바람직하게는, 상기 링커는 하기 화학식을 갖는다:

[0049] -G-D-(Z)_p-S-Z'

[0050] 식 중,

[0051] G는 단일 또는 이중 결합, -O-, -S- 또는 -NR-이고;

[0052] D는 단일 결합, -E-, -E-NR-, -E-NR-F-, -E-O-, -E-O-F-, -E-NR-CO-, -E-NR-CO-F-, -E-CO-, -CO-E-, -E-CO-F-, -E-S-, -E-S-F-, -E-NR-C-S- 또는 -E-NR-CS-F-이고;

- [0053] 여기서, E 및 F는 동일하거나 상이하고, 선형 또는 분지형 $-(OCH_2CH_2)_i$ 알킬 $(OCH_2CH_2)_j-$, $-알킬(OCH_2CH_2)_i-알킬-$, $-(OCH_2CH_2)_i-$, $-(OCH_2CH_2)_i$ 시클로알킬 $(OCH_2CH_2)_j-$, $-(OCH_2CH_2)_i$ 헤테로시클릭 $(OCH_2CH_2)_j-$, $-(OCH_2CH_2)_i$ 아릴 $(OCH_2CH_2)_j-$, $-(OCH_2CH_2)_i$ 헤테로아릴 $(OCH_2CH_2)_j-$, $-알킬-(OCH_2CH_2)_i$ 알킬 $(OCH_2CH_2)_j-$, $-알킬-(OCH_2CH_2)_i-$, $-알킬-(OCH_2CH_2)_i$ 시클로알킬 $(OCH_2CH_2)_j-$, $-알킬(OCH_2CH_2)_i$ 헤테로시클릭 $(OCH_2CH_2)_j-$, $-알킬-(OCH_2CH_2)_i$ 아릴 $(OCH_2CH_2)_j-$, $-알킬(OCH_2CH_2)_i$ 헤테로아릴 $(OCH_2CH_2)_j-$ (여기서, 동일하거나 상이한 i 및 j 는 정수이고, 0 및 1 내지 2000으로부터 독립적으로 선택됨), $-시클로알킬-알킬-$, $-알킬-시클로알킬-$, $-헤테로시클릭-알킬-$, $-알킬-헤테로시클릭-$, $-알킬-아릴-$, $-아릴-알킬-$, $-알킬-헤테로아릴-$ 또는 $-헤테로아릴-알킬-$ 로부터 독립적으로 선택되고;
- [0054] Z는 선형 또는 분지형 $-알킬-$ 이고;
- [0055] p는 0 또는 1이고;
- [0056] Z'는 H, 티올 보호기, 예컨대 COR, R_{20} 또는 SR_{20} (여기서, R_{20} 은 H, 메틸, 알킬, 임의로 치환된 시클로알킬, 아릴, 헤테로아릴 또는 헤테로시클릭을 나타냄)을 나타내되, 단, Z'가 H인 경우, 상기 화합물은 PBD 잔기들 중 하나의 이민 결합 ($-NH=$) 상에 티올기 ($-SH$)의 첨가로 인한 분자내 고리화반응에 의해 형성된 상응하는 화합물과 평형상태에 있다];
- [0057] · 동일하거나 상이한 n 및 n'은 0 또는 1이고;
- [0058] · q는 0, 1 또는 2이고;
- [0059] · R 및 R'은 동일하거나 상이하고, H, 또는 Hal, CN, NRR' , CF_3 , R, OR, $S(O)_qR$, 아릴 또는 Het에 의해 임의로 치환된 알킬 또는 아릴로부터 독립적으로 선택된다.
- [0060] 본 발명은 하기 바람직한 실시양태, 또는 이들 각각의 임의의 조합에 관한 것이다:
- [0061] - G는 단일 결합 또는 $-O-$ 또는 $-NR-$ 이고;
- [0062] - G는 $-O-$ 이고;
- [0063] - D는 단일 결합, $-E-$, $-E-NR-CO-$, $-ECO-$ 또는 $-CO-E-$ 이고;
- [0064] - D는 $-E-$ 또는 $-E-NR-CO-$ 이고;
- [0065] - D는 $-E-NR-CO-$ 이고;
- [0066] - E는 선형 또는 분지형 $-알킬-$, $-(OCH_2CH_2)_i-$ 또는 $-알킬-헤테로시클릭$ 이고;
- [0067] - E는 선형 또는 분지형 $-알킬-$ 이고;
- [0068] - Z는 $-(CH_2)_2-C(CH_3)_2-$ 이고;
- [0069] - p는 0 또는 1이고;
- [0070] - Z'는 H 또는 SR_{20} (여기서, R_{20} 은 알킬, 아릴, 헤테로시클릭 또는 헤테로아릴을 나타냄)이고;
- [0071] - Z'는 H 또는 SR_{20} (여기서, R_{20} 은 알킬을 나타냄)이다.
- [0072] 티올-, 술폰아이드- 또는 디술폰아이드-함유 링커의 특정 예로는
- [0073] $-(CR_{13}R_{14})_t(CR_{15}R_{16})_u(OCH_2CH_2)_ySZ'$, $-(CR_{13}R_{14})_t(CR_{17}=CR_{18})(CR_{15}R_{16})_y(OCH_2CH_2)_ySZ'$,
 $-(CR_{13}R_{14})_t(NR_{19}CO)(CR_{15}R_{16})_u(OCH_2CH_2)_ySZ'$, $-(CR_{13}R_{14})_t(OCO)(R_{15}R_{16})_u(OCH_2CH_2)_ySZ'$,
 $-(CR_{13}R_{14})_t(CO)(CR_{15}R_{16})_u(OCH_2CH_2)_ySZ'$, $-(CR_{13}R_{14})_t(CONR_{19})(CR_{15}R_{16})_u(OCH_2CH_2)_ySZ'$, $-(CR_{13}R_{14})_t-페닐-$
 $CO(CR_{15}R_{16})_uSZ'$, $-(CR_{13}R_{14})_t-푸릴-CO(CR_{15}R_{16})_uSZ'$, $-(CR_{13}R_{14})_t-옥사졸릴-CO(CR_{15}R_{16})_uSZ'$, $-(CR_{13}R_{14})_t-티아졸릴-$
 $CO(CR_{15}R_{16})_uSZ'$, $-(CR_{13}R_{14})_t-티에닐-CO(CR_{15}R_{16})_uSZ'$, $-(CR_{13}R_{14})_t-이미다졸릴-CO(CR_{15}R_{16})_uSZ'$, $-(CR_{13}R_{14})_t-모르폴리-$
 $노-CO(CR_{15}R_{16})_uSZ'$, $-(CR_{13}R_{14})_t-피페라지노-CO(CR_{15}R_{16})_uSZ'$, $-(CR_{13}R_{14})_t-N-메틸피페라진-CO(CR_{15}R_{16})_uSZ'$,
 $-(CR_{13}R_{14})_t-페닐-QSZ'$, $-(CR_{13}R_{14})_t-푸릴-QSZ'$, $-(CR_{13}R_{14})_t-옥사졸릴-QSZ'$, $-(CR_{13}R_{14})_t-티아졸릴-QSZ'$, $-(CR_{13}R_{14})_t-$

티에닐-QSZ', $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t$ -이미다졸릴-QSZ', $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t$ -모르폴리노-QSZ', $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t$ -피페라지노-QSZ', $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t$ -N-메틸피페라지노-QSZ', 또는

[0074] $-\text{O}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, $-\text{O}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{NR}_{19}\text{CO})(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, $-\text{O}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{17}=\text{CR}_{18})(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, -O-페닐-QSZ', -O-푸릴-QSZ', -O-옥사졸릴-QSZ', -O-티아졸릴-QSZ', -O-티에닐-QSZ', -O-이미다졸릴-QSZ', -O-모르폴리노-QSZ', -O-피페라지노-QSZ', -O-N-메틸피페라지노-QSZ', 또는

[0075] $-\text{OCO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{NR}_{19}\text{CO})(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, $-\text{OCO}-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{17}=\text{CR}_{18})(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, $-\text{OCONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, -OCO-페닐-QSZ', -OCO-푸릴-QSZ', -OCO-옥사졸릴-QSZ', -OCO-티아졸릴-QSZ', -OCO-티에닐-QSZ', -OCO-이미다졸릴-QSZ', -OCO-모르폴리노-QSZ', -OCO-피페라지노-QSZ', -OCO-N-메틸피페라지노-QSZ', 또는

[0076] $-\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, $-\text{CO}-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{17}=\text{CR}_{18})(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, $-\text{CONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, -CO-페닐-QSZ', -CO-푸릴-QSZ', -CO-옥사졸릴-QSZ', -CO-티아졸릴-QSZ', -CO-티에닐-QSZ', -CO-이미다졸릴-QSZ', -CO-모르폴리노-QSZ', -CO-피페라지노-QSZ', -CO-피페리디노-QSZ', -CO-N-메틸피페라지노-QSZ', 또는

[0077] $-\text{NR}_{19}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, $-\text{NR}_{19}\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, $-\text{NR}_{19}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{17}=\text{CR}_{18})(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, $-\text{NR}_{19}\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{17}=\text{CR}_{18})(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, $-\text{NR}_{19}\text{CONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, $-\text{NR}_{19}\text{CONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{17}=\text{CR}_{18})(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, -NR₁₉-CO-페닐-QSZ', -NR₁₉-CO-푸릴-QSZ', -NR₁₉-CO-옥사졸릴-QSZ', -NR₁₉-CO-티아졸릴-QSZ', -NR₁₉-CO-티에닐-QSZ', -NR₁₉-CO-이미다졸릴-QSZ', -NR₁₉-CO-모르폴리노-QSZ', -NR₁₉-CO-피페라지노-QSZ', -NR₁₉-CO-피페리디노-QSZ', -NR₁₉-CO-N-메틸피페라지노-QSZ', -NR₁₉-페닐-QSZ', -NR₁₉-푸릴-QSZ', -NR₁₉-옥사졸릴-QSZ', -NR₁₉-티아졸릴-QSZ', -NR₁₉-티에닐-QSZ', -NR₁₉-이미다졸릴-QSZ', -NR₁₉-모르폴리노-QSZ', -NR₁₉-피페라지노-QSZ', -NR₁₉-피페리디노-QSZ', -NR₁₉-N-메틸피페라지노-QSZ', -NR₁₉-CO-NR₁₂-페닐-QSZ', -NR₁₉-CO-NR₁₂-옥사졸릴-QSZ', -NR₁₉-CO-NR₁₂-티아졸릴-QSZ', -NR₁₉-CO-NR₁₂-티에닐-QSZ', -NR₁₉-CO-NR₁₂-피페리디노-QSZ', 또는

[0078] $-\text{S}(\text{O})_q(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, $-\text{S}(\text{O})_q(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{17}=\text{CR}_{18})(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, $-\text{SCONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, -SCO-모르폴리노-QSZ', -SCO-피페라지노-QSZ', -SCO-피페리디노-QSZ' 및 -SCO-N-메틸피페라지노-QSZ'

[0079] (식 중, Z'는 H, 티올 보호기, 예컨대 COR, R₂₀' 또는 SR₂₀'이고, 여기서, R₂₀'은 H, 알킬, 아릴, 헤테로시클릭 또는 헤테로아릴을 나타내고,

[0080] Q는 직접 결합이거나, 또는 1 내지 10개의 탄소 원자를 갖는 선형 알킬 또는 분지형 알킬이거나 또는 2 내지 20개의 에틸렌 옥시 반복 단위를 갖는 폴리에틸렌 글리콜 스페이서(spacer)이고,

[0081] R₁₉ 및 R₁₂는 동일하거나 상이하고, 1 내지 10개의 탄소 원자를 갖는 선형 알킬, 분지형 알킬 또는 시클릭 알킬이거나 또는 비치환 또는 치환된 아릴 또는 헤테로시클릭이며, R₁₂는 또한 H일 수도 있고,

[0082] R₁₃, R₁₄, R₁₅ 및 R₁₆은 동일하거나 상이하고, H이거나 또는 1 내지 4개의 탄소 원자를 갖는 선형 또는 분지형 알킬이고,

[0083] R₁₇ 및 R₁₈은 H 또는 알킬이고,

[0084] u는 1 내지 10의 정수이며, 또한 0일 수도 있고,

[0085] t는 1 내지 10의 정수이며, 또한 0일 수도 있고,

[0086] y는 1 내지 20의 정수이며, 또한 0일 수도 있음)가 포함된다.

- [0087] 화학식 I의 화합물이 이온 형태 (예를 들어, 술포네이트)인 경우, 반대이온 (예를 들어, Na^+ 또는 K^+)이 존재할 수 있다.
- [0088] 바람직한 측면에 따라, 본 발명의 화합물은 T가 하나 이상의 Hal, CN, NRR', CF_3 , R, OR, $\text{S(O)}_q\text{R}$ 및/또는 링커 (들)에 의해 임의로 치환된 아릴이고, A, A', X, X', U, U', W, W', m, m', n, n', --- 및 --- 가 상기에서와 같이 정의된 화학식 I의 화합물이다.
- [0089] 또다른 바람직한 측면에 따라, 본 발명의 화합물은
- [0090] 8,8'-[1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0091] 8,8'-[5-메톡시-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0092] 8,8'-[1,5-펜탄디일비스(옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0093] 8,8'-[1,4-부탄디일비스(옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0094] 8,8'-[3-메틸-1,5-펜탄디일비스(옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0095] 8,8'-[2,6-피리딘디일비스(옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0096] 8,8'-[4-(3-tert-부톡시카르보닐아미노프로필옥시)-2,6-피리딘디일비스(메틸렌옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0097] 8,8'-[5-(3-아미노프로필옥시)-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0098] 8,8'-[5-(N-메틸-3-tert-부톡시카르보닐아미노프로필)-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0099] 8,8'-{5-[3-(4-메틸-4-메틸디술폰닐-펜타노일아미노)프로필옥시]-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)}-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0100] 8,8'-[5-아세틸티오메틸-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[(S)-2-메틸렌-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0101] 비스-{2-[(S)-2-메틸렌-7-메톡시-5-옥소-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-8-일옥시]-에틸}-카르바산 tert-부틸 에스테르,
- [0102] 8,8'-[3-(2-아세틸티오에틸)-1,5-펜탄디일비스(옥시)]-비스[(S)-2-메틸렌-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0103] 8,8'-[5-(N-4-메르캅토-4,4-디메틸부타노일)아미노-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0104] 8,8'-[5-(N-4-메틸티오-4,4-디메틸부타노일)아미노-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0105] 8,8'-[5-(N-메틸-N-(2-메르캅토-2,2-디메틸에틸)아미노-1,3-벤젠디일(메틸렌옥시)]-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0106] 8,8'-[5-(N-메틸-N-(2-메틸티오-2,2-디메틸에틸)아미노-1,3-벤젠디일(메틸렌옥시)]-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0107] 8,8'-[(4-(2-(4-메르캅토-4-메틸)-펜탄아미도-에톡시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐

-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],

[0108] 8,8'-[(1-(2-(4-메틸-4-메틸디술폰닐)-펜탄아미도-에톡시)-벤젠-3,5-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],

[0109] 8,8'-[(4-(3-(4-메틸-4-메틸디술폰닐)-펜탄아미도-프로폭시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],

[0110] 8,8'-[(4-(4-(4-메틸-4-메틸디술폰닐)-펜탄아미도-부톡시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],

[0111] 8,8'-[(4-(3-[4-(4-메틸-4-메틸디술폰닐)-펜타노일)-피페라진-1-일]-프로필)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],

[0112] 8,8'-[(1-(3-[4-(4-메틸-4-메틸디술폰닐)-펜타노일)-피페라진-1-일]-프로필)-벤젠-3,5-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],

[0113] 8,8'-[(4-(2-{2-[2-(4-메틸-4-메틸디술폰닐)-펜타노일아미노]-에톡시}-에톡시)-에톡시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],

[0114] 8,8'-[(1-(2-{2-[2-(2-{2-[2-(4-메틸-4-메틸디술폰닐)-펜타노일아미노]-에톡시}-에톡시)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-벤젠-3,5-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],

[0115] 8,8'-[(1-(2-{2-[2-(4-메틸-4-메틸디술폰닐)-펜타노일아미노]-에톡시}-에톡시)-에톡시)-벤젠-3,5-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],

[0116] 8,8'-[(4-(2-{2-[2-(2-{2-[2-(4-메틸-4-메틸디술폰닐)-펜타노일아미노]-에톡시}-에톡시)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-에톡시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],

[0117] 8,8'-[(1-(2-[메틸-(2-메틸-2-메틸디술폰닐)-프로필)-아미노]-에톡시)-벤젠-3,5-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],

[0118] 8,8'-[(4-(3-[메틸-(4-메틸-4-메틸디술폰닐)-펜타노일)-아미노]-프로필)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],

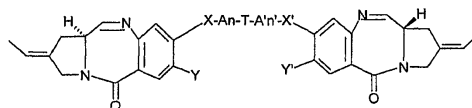
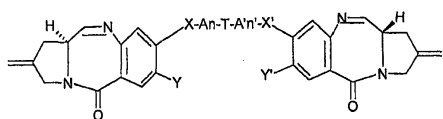
[0119] 8,8'-[(4-(3-[메틸-(2-메틸-2-메틸디술폰닐)-프로필)-아미노]-프로필)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],

[0120] 8,8'-[(1-(4-메틸-4-메틸디술폰닐)-펜탄아미도)-벤젠-3,5-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온] 및

[0121] 상응하는 메르캡토 유도체, 또는

[0122] 그의 제약상 허용되는 염, 수화물 또는 수화된 염, 또는 이들 화합물의 다형성 결정 구조, 또는 그의 광학이성질체, 라세미체, 부분입체이성질체 또는 거울상이성질체로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0123] 바람직한 화합물은 화학식



또는

(식 중, X, X', A, A', Y, Y', T, n 및 n'은 상기와 같이 정의됨)의 화합물이다.

[0124] 본원 상기 또는 하기에서 사용되는 Alk는 알킬, 알켄 또는 알킨을 나타낸다.

[0125] "알킬"은 쇠에 1 내지 20개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 또는 분지형, 또는 3 내지 10개의 탄소 원자를 갖는 시클

릴 수 있는 지방족 탄화수소 기를 의미한다. 바람직한 알킬기는쇄에 1 내지 12개의 탄소 원자를 갖는다. "분지형"은 하나 이상의 메틸, 에틸 또는 프로필과 같은 저급 알킬기가 선형 알킬쇄에 부착된 것을 의미한다. 예시적 알킬기로는 메틸, 에틸, n-프로필, i-프로필, n-부틸, t-부틸, n-펜틸, 3-펜틸, 옥틸, 노닐, 데실, 시클로펜틸 및 시클로헥실이 포함된다.

[0126] "알켄"은 탄소-탄소 이중 결합을 함유하고,쇄에 2 내지 15개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 또는 분지형일 수 있는 지방족 탄화수소 기를 의미한다. 바람직한 알케닐기는쇄에 2 내지 12개의 탄소 원자를 가지고, 보다 바람직하게는쇄에 약 2 내지 4개의 탄소 원자를 갖는다. 예시적 알케닐기로는 에테닐, 프로페닐, n-부테닐, i-부테닐, 3-메틸부트-2-에닐, n-펜테닐, 헵테닐, 옥테닐, 노네닐, 데세닐이 포함된다.

[0127] "알킨"은 탄소-탄소 삼중 결합을 함유하고,쇄에 2 내지 15개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 또는 분지형일 수 있는 지방족 탄화수소 기를 의미한다. 바람직한 알키닐기는쇄에 2 내지 12개의 탄소 원자를 가지고, 보다 바람직하게는쇄에 2 내지 4개의 탄소 원자를 갖는다. 예시적 알키닐기로는 에티닐, 프로피닐, n-부티닐, 2-부티닐, 3-메틸부티닐, n-펜티닐, 헵티닐, 옥티닐 및 데시닐이 포함된다.

[0128] "할로겐 원자"는 불소, 염소, 브롬 또는 요오드 원자, 바람직하게는 불소 및 염소 원자를 지칭한다.

[0129] "아릴"은 6 내지 14개의 탄소 원자, 바람직하게는 6 내지 10개의 탄소 원자를 갖는 방향족 모노시클릭 또는 다중시클릭 탄화수소 고리계를 의미한다. 예시적 아릴기로는 페닐 또는 나프틸이 포함된다.

[0130] "Het"는 헤테로사이클 또는 헤테로아릴을 의미한다.

[0131] 본원에서 사용되는 용어 "헤테로사이클" 또는 "헤테로시클릭"은 고리 중 적어도 하나의 구성원이 헤테로원자인 포화되거나, 부분적으로 불포화되거나 또는 불포화된 안정한 비-방향족 3 내지 14원, 바람직하게는 5 내지 10원 모노, 바이 또는 다중시클릭 고리를 지칭한다. 통상적으로, 헤테로원자로는 산소, 질소, 황, 셀레늄 및 인 원자가 포함되나 이에 제한되지 않는다. 바람직한 헤테로원자는 산소, 질소 및 황이다.

[0132] 적합한 헤테로사이클은 또한, 본원에 참고로 도입된 문헌 [The Handbook of Chemistry and Physics, 76th Edition, CRC Press, Inc., 1995-1996, p. 2-25 to 2-26]에 개시되어 있다.

[0133] 바람직한 비-방향족 헤테로시클릭으로는 피롤리디닐, 피라졸리디닐, 이미다졸리디닐, 옥시라닐, 테트라히드로푸라닐, 디옥솔라닐, 테트라히드로피라닐, 디옥사닐, 피페리딜, 피페라지닐, 모르폴리닐, 피라닐, 이미다졸리닐, 피롤리닐, 피라졸리닐, 티아졸리디닐, 테트라히드로티오피라닐, 디티아닐, 티오모르폴리닐, 디히드로-피라닐, 테트라히드로피라닐, 디히드로피라닐, 테트라히드로피리딜, 디히드로피리딜, 테트라히드로피리니디닐, 디히드로티오피라닐, 아제파닐뿐만 아니라, 페닐기와의 축합으로부터 야기된 융합된 고리계가 포함되나 이에 제한되지 않는다.

[0134] 본원에서 사용되는 용어 "헤테로아릴" 또는 방향족 헤테로사이클은 5 내지 14원, 바람직하게는 5 내지 10원 방향족 모노-, 바이- 또는 다중시클릭 헤테로고리를 지칭한다. 예로는 피롤릴, 피리딜, 피라졸릴, 티에닐, 피리미디닐, 피라지닐, 테트라졸릴, 인돌릴, 퀴놀리닐, 퓨리닐, 이미다졸릴, 티아졸릴, 벤조티아졸릴, 푸라닐, 벤조푸라닐, 1,2,4-티아디아졸릴, 이소티아졸릴, 트리아졸릴, 테트라졸릴, 이소퀴놀릴, 벤조티에닐, 이소벤조푸릴, 카르바졸릴, 벤즈이미다졸릴, 이속사졸릴, 피리딜-N-옥시드뿐만 아니라, 페닐기와의 축합으로부터 야기된 융합된 고리계가 포함된다.

[0135] "알킬", "시클로알킬", "알케닐", "알키닐", "아릴", "헤테로아릴", "헤테로사이클" 등은 또한, 2개의 수소 원자의 제거에 의해 형성된 상응하는 "알킬렌", "시클로알킬렌", "알케닐렌", "알키닐렌", "아릴렌", "헤테로아릴렌", "헤테로사이클렌" 등을 지칭한다.

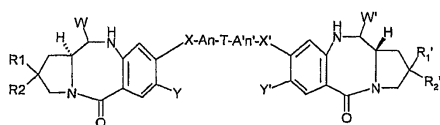
[0136] 본원에서 사용되는 표현 "세포 결합제에 결합될 수 있는"은 세포 결합제에 결합시키기 적합한, 하나 이상의 연결기 또는 그의 전구체를 포함하는 토메이마이신 유도체를 지칭하며, 바람직한 연결기는 티올, 술폰아이드 또는 디술폰아이드 결합, 또는 그의 전구체이다.

[0137] 본원에서 사용되는 표현 "세포 결합제에 결합된"은 적합한 연결기 또는 그의 전구체를 통해 세포 결합제에 결합된 하나 이상의 토메이마이신 유도체를 포함하는 컨쥬게이트 분자를 지칭하며, 바람직한 연결기는 티올 또는 디술폰아이드 결합, 또는 그의 전구체이다.

[0138] 본원에서 사용되는, 제시된 기의 "전구체"는 임의의 탈보호, 화학적 변형 또는 커플링 반응에 의해 제시된 기를 유도할 수 있는 임의의 기를 지칭한다.

- [0139] 본원에서 사용되는 용어 "환자"는 본원에 기재된 하나 이상의 질환 및 증상을 앓고 있거나 또는 이를 앓게 될 가능성이 있는 동물, 예컨대 사육, 친교 또는 보존 목적상 가치있는 동물, 또는 바람직하게는 인간 또는 유아를 지칭한다.
- [0140] 본원에서 사용되는 "치료적 유효량"은 본원에 기재된 질환 및 증상의 징후를 예방, 감소, 제거, 치료 또는 제어 하는데 효과적인 본 발명의 화합물의 양을 지칭한다. 용어 "제어하는"은 본원에 기재된 질환 및 증상의 진행이 서행, 방해, 정지 또는 저지될 수 있는 모든 과정을 지칭하는 것으로 의도되나, 반드시 모든 질환 및 증상의 징후의 총체적 제거를 나타내는 것은 아니며 예방적 치료를 포함하는 것으로 의도된다.
- [0141] 본원에서 사용되는 용어 "제약상 허용되는"은 안전 의료 평가의 범위 내에 있는, 합리적인 유익/유해 비율에 상응하도록 하여 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응 또는 다른 심각한 합병증 없이 인간 및 동물의 조직과의 접촉에 적합한 화합물, 물질, 부형제, 조성물 또는 투여 형태를 지칭한다.
- [0142] 본원에서 사용되는 "제약상 허용되는 염"은 모 화합물이 그의 산 또는 염기 염의 제조에 의해 변형된 개시된 화합물의 유도체를 지칭한다. 제약상 허용되는 염은 예를 들어, 무독성 무기 또는 유기 산으로부터 형성된 모 화합물의 통상의 무독성 염 또는 4급 암모늄 염을 포함한다. 예를 들어, 상기 통상의 무독성 염으로는 염산, 브롬화수소산, 황산, 술판산, 인산, 질산 등과 같은 무기 산으로부터 유도된 염; 및 아세트산, 프로피온산, 숙신산, 타르타르산, 시트르산, 메탄술폰산, 벤젠술폰산, 글루콘산, 글루탐산, 벤조산, 살리실산, 툴루엔술폰산, 옥살산, 푸마르산, 말레산, 락트산 등과 같은 유기 산으로부터 제조된 염이 포함된다. 추가의 부가염으로는 트로메타민, 메글루민, 에폴아민 등과 같은 암모늄 염, 및 나트륨, 칼륨, 칼슘, 아연 또는 마그네슘과 같은 금속 염이 포함된다.
- [0143] 본 발명의 제약상 허용되는 염은 통상의 화학적 방법에 의해 염기성 또는 산성 잔기를 함유하는 모 화합물로부터 합성될 수 있다. 일반적으로, 이러한 염은 물 또는 유기 용매, 또는 이 둘의 혼합물 중에서, 유리 산 또는 염기 형태의 본 발명의 화합물을 화학량론적 양의 적절한 염기 또는 산과 반응시켜 제조할 수 있다. 일반적으로, 에테르, 에틸 아세테이트, 에탄올, 이소프로판올 또는 아세토니트릴과 같은 비-수성 매질이 바람직하다. 적합한 염의 목록은 본원에 참고로 도입된 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1985, p. 1418]에서 발견된다.
- [0144] 기하이성질체 및 입체이성질체를 갖는 화학식 I의 화합물은 또한 본 발명의 부분이다.
- [0145] 화학식 I의 토메이마이신 유도체의 N-10, C-11 이중 결합은 물, 알콜, 티올, 1급 또는 2급 아민, 우레아 및 다른 친핵체의 존재 하에서 가역 방식으로 상응하는 이민 부가물로 손쉽게 전환될 수 있는 것으로 알려져 있다. 이러한 공정은 가역적이며, 탈수화제의 존재 하에서, 비-양성자성 유기 용매 중에서, 진공 하에 또는 고온에서 상응하는 토메이마이신 유도체를 손쉽게 재생성할 수 있다 (문헌 [Z. Tozuka, 36, J. Antibiotics, 276 (1983)]).
- [0146] 따라서, 본 발명은 또한 하기 화학식 II의 토메이마이신 유도체의 가역적 유도체를 제공한다:

화학식 II



- [0147]
- [0148] 상기 식에서,
- [0149] A, X, Y, n, T, A', X', Y', n', R1, R2, R1' 및 R2'는 화학식 I에서와 같이 정의되고,

- [0150] W 및 W'는 동일하거나 상이하고, OH, 에테르 (예컨대 -OR), 에스테르 (예컨대 -OCOR, -COOR, 예를 들어, 아세테이트), 카르보네이트 (예컨대 -OCOOR), 카르바메이트 (예컨대 -OCONRR'), 시클릭 카르바메이트 (N10 및 C11이 사이클의 일부임), 우레아 (예컨대 -NRCONRR'), 티오카르바메이트 (예컨대 -OCSNHR), 시클릭 티오카르바메이트 (N10 및 C11이 사이클의 일부임), -SH, 술파이드 (예컨대 -SR), 술폭시드 (예컨대 -SOR), 술폰 (예컨대 -SOOR), 술포네이트 (예컨대 -SO₃⁻), 술폰아미드 (예컨대 -NRSOOR), 아민 (예컨대 -NRR'), 임의로는 시클릭 아민 (N10 및 C11이 사이클의 일부임), 히드록실아민 유도체 (예컨대 -NROR'), 아마이드 (예컨대 -NRCOR,

-NRCONRR'), 아지도 (예컨대 $-N_3$), 시아노, 할로, 트리알킬- 또는 트리아릴포스포늄, 아미노산-유도된 기로 이루어진 군으로부터 선택되며; 바람직하게는, W 및 W'는 동일하거나 상이하고, OH, OMe, OEt, $NHCONH_2$ 또는 SMe 이다.

[0151] 따라서, 화학식 II의 화합물은 용매가 물인 경우, 물을 포함하는 용매화물로서 간주될 수 있으며, 이러한 용매 화물은 특히 유용할 수 있다.

[0152] 추가의 목적에 따라, 본 발명은 또한 화학식 I의 화합물의 제조 방법에 관한 것이다.

[0153] 본 발명의 화합물은 당업자에게 잘 알려진 다수의 방식으로 제조될 수 있다. 본 발명의 화합물은 예를 들어, 하기 기재된 방법을 적용 또는 개조하거나, 또는 당업자에 의해 인지된 바와 같은 이에 대한 변형에 의해 합성할 수 있다. 적절한 변형 및 치환은 손쉽게 명백해질 것이고, 당업자에게 잘 알려져 있거나 또는 과학 문헌으로부터 손쉽게 획득할 수 있다.

[0154] 구체적으로, 이러한 방법은 문헌 [R.C. Larock, Comprehensive Organic Transformations, Wiley-VCH Publishers, 1999]에서 발견될 수 있다.

[0155] 본 발명의 화합물은 하나 이상의 비대칭적으로 치환된 탄소 원자를 함유할 수 있으며, 광학적으로 활성인 형태 또는 라세미 형태로 분리될 수 있는 것으로 인지될 것이다. 따라서, 특정 입체화학 또는 이성질체 형태가 구체적으로 제시되지 않는다면, 모든 키랄, 부분입체이성질체, 라세미 형태, 및 모든 기하이성질체 형태의 구조가 의도된다. 광학적으로 활성인 형태를 어떻게 제조하고 분리할 것인지는 당업계에 잘 알려져 있다. 예를 들어, 비제한적으로, 라세미 형태의 분할, 정상, 역상 및 키랄 크로마토그래피, 선택적 염 형성, 재결정화 등을 비롯한 표준 기법에 의해, 또는 키랄 출발 물질로부터의 키랄 합성 또는 표적 키랄 중심의 의도적인 합성에 의해 입체이성질체들의 혼합물이 분리될 수 있다.

[0156] 본 발명의 화합물은 다양한 합성 경로에 의해 제조될 수 있다. 시약 및 출발 물질은 상업적으로 입수가가능하거나, 또는 당업자에게 잘 알려진 기법에 의해 손쉽게 합성된다. 달리 제시되지 않는다면, 모든 치환기는 상기 정의된 바와 같다.

[0157] 하기 기재된 반응에서, 반응성 관능기, 예를 들어, 히드록시, 아미노, 이미노, 티오 또는 카르복시기이 최종 생성물에서 요망되는 경우, 반응 중에 이들의 원치않는 참여를 피하기 위해 이들을 보호할 필요가 있을지도 모른다. 통상적 보호기가 표준 지침에 따라 사용될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [T.W. Greene and P. G. M. Wuts, Protective Groups in Organic Chemistry, 3rd ed., John Wiley and Sons, 1999]; [J. F. W. McOmie, Protective Groups in Organic Chemistry, Plenum Press, 1973] 참조).

[0158] 일부 반응은 염기의 존재 하에 수행될 수 있다. 이 반응에서 사용되는 염기의 특성에 대해 특정한 제약은 없으며, 이러한 유형의 반응에서 통상적으로 사용되는 임의의 염기가 여기서도 동등하게 사용될 수 있되, 단, 분자의 다른 부분에 대해 불리한 영향을 미치지 않아야 한다. 적합한 염기의 예로는 수산화나트륨, 탄산칼륨, 트리에틸아민, 알칼리 금속 수소화물 (예컨대, 나트륨 히드라이드 및 칼륨 히드라이드), 알킬리튬 화합물 (예컨대, 메틸리튬 및 부틸리튬) 및 알칼리 금속 알콕사이드 (예컨대, 나트륨 메톡사이드 및 나트륨 에톡사이드)가 포함된다.

[0159] 통상적으로, 반응은 적합한 용매 중에서 수행된다. 다양한 용매가 사용될 수 있되, 단, 반응 또는 관련된 시약에 대해 불리한 영향을 미치지 않아야 한다. 적합한 용매의 예로는 방향족, 지방족 또는 지환족일 수 있는 탄화수소, 예컨대 헥산, 시클로헥산, 벤젠, 톨루엔 및 크실렌; 아미드, 예컨대 디메틸포름아미드; 알콜, 예컨대 에탄올 및 메탄올; 및 에테르, 예컨대 디에틸 에테르 및 테트라히드로푸란이 포함된다.

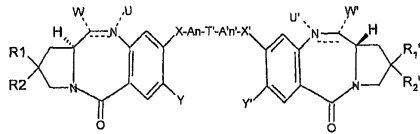
[0160] 반응은 광범위한 온도에 걸쳐 일어날 수 있다. 통상적으로, -20°C 내지 150°C (보다 바람직하게는, 약 실온 내지 100°C)의 온도에서 반응을 수행하는 것이 편리한 것으로 밝혀졌다. 반응에 요구되는 시간은 또한 다수의 요인, 특히 반응 온도 및 시약의 특성에 따라 폭넓게 달라질 수 있다. 그러나, 반응이 상기 개략된 바람직한 조건 하에서 수행된다면, 3시간 내지 20시간의 기간이 통상적으로 충분할 것이다.

[0161] 이와 같이 제조된 화합물은 통상의 수단에 의해 반응 혼합물로부터 회수될 수 있다. 예를 들어, 화합물은 반응 혼합물로부터 용매를 증류제거하거나, 또는 필요한 경우, 반응 혼합물로부터 용매를 증류제거한 후에 잔류물을 물에 부은 다음 물과 혼화되지 않는 유기 용매로 추출하고 추출물로부터 용매를 증류제거함으로써 회수할 수 있다. 또한, 생성물은 필요한 경우, 다양한 잘 알려진 기법, 예컨대 재결정화, 재침전화 또는 다양한 크로마토그래피 기법, 특히 컬럼 크로마토그래피 또는 분취용 박층 크로마토그래피에 의해 추가로 정제될 수 있다.

[0162] 본 발명의 화학식 I의 화합물의 제조 방법은 본 발명의 추가의 목적이다.

[0163] 제1 측면에 따라, 화학식 I의 화합물의 제조 방법은 상응하는 화학식 III의 화합물을 탈보호하는 단계를 포함한다:

화학식 III



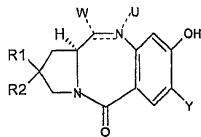
[0164]

[0165] (식 중, Y, Y', X, A, A', X', n, n', W, W', U, U', ----, R1, R2, R1', R2' 및 ----는 화학식 I에서와 같이 정의되고, T'는 관능기(들)이 보호된 T에 상응함).

[0166] 바람직하게는, SH 관능기가 보호되고, 보호기는 아세틸, 벤조일, 메탄술포닐, 메틸티오, 피리딜티오, 니트로피리딜티오, 트리이소프로필실릴 (TIPS)이다. 통상적으로, 탈보호 단계는 아세틸, 벤조일 및 메탄술포닐 보호기를 제거하기 위해서는 염기, 메틸티오 보호기를 제거하기 위해서는 디티오프로판 또는 트리스(2-카르복시에틸)포스핀 (TCEP)과 같은 환원제, 또는 TIPS를 제거하기 위해서는 화합물과 암모늄 플루오라이드와의 공지된 반응에 의한 전형적 조건을 사용하여 수행된다.

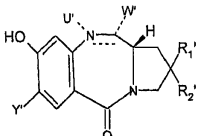
[0167] 화학식 II의 화합물은 상응하는 화학식 IV, IV' 및 V의 화합물의 커플링으로부터 획득할 수 있다:

화학식 IV



[0168]

[0169] [화학식 IV']



[0170]

화학식 V

Lg-An-T'-A'n'-Lg

[0171]

[0172] (식 중, Y, Y', A, A', n, n', T', W, W', U, U', ----, ----, R1, R2, R1' 및 R2'는 화학식 III에서와 같이 정의되고, Lg는 이탈기, 예컨대 할로젠, OMs, OTs 또는 $OPPh_3^+$ (미쯔노부(Mitsunobu) 반응에서 형성된 중간체임)).

[0173] 화학식 IV 및 IV'의 화합물은 예를 들어, 특허 공개 WO 00/12508, WO 00/12507, WO 2005/040170, WO 2005/085260에 개시된 바와 같이 일반적으로 공지되어 있거나, 또는 상업적으로 입수가능하고/거나 진합성 (문헌 [M. Mori et al, 42 Tetrahedron, 3793-3806, 1986])에 의해 입수가능하거나, 또는 스트렙토마이세스 (Streptomyces) 종에 의해 생성되거나 (특히, 프랑스 특허 제1,516,743호의 절차에 따름) 또는 실시예에 제시된 예시적 절차의 적용 또는 개조에 의해 제조될 수 있다.

[0174] 화학식 V의 화합물은 상응하는 화학식 VI의 화합물로부터 획득할 수 있다:

화학식 VI

HO-An-T'-A'n'-OH

[0175]

[0176] (식 중, A, A', n, n' 및 T'는 화학식 III에서와 같이 정의됨).

[0177] 이 반응은 일반적으로 PPh_3 및 CH_2I_2 의 존재 하에서 수행되거나, 또는 트리에틸아민 또는 수산화칼륨, 바람직하게는 트리에틸아민과 같은 염기의 존재 하에서 클로로술포네이트와의 반응에 의해 수행된다.

[0178] 화학식 VI의 화합물은 상응하는 화학식 VII의 화합물로부터 획득할 수 있다:

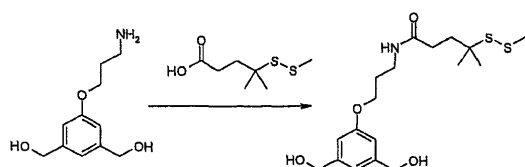
화학식 VII

[0179] HO-An-T''-A'n'-OH

[0180] (식 중, A, A', n 및 n'은 화학식 III에서와 같이 정의되고, T''는 T의 전구체 기임).

[0181] T의 전구체 기는 임의의 탈보호, 화학적 변형 또는 커플링에 의해 T를 유도할 수 있는 임의의 기를 지칭한다. 바람직하게는, T는 T'를 상보적인 부분과 커플링시켜 획득되며, 여기서, T' 및 상보적인 부분은 서로 반응성인 관능기를 포함 (예를 들어, T'는 아민 관능기를 포함하고 상보적인 부분은 산 관능기를 포함)한다.

[0182] 이러한 반응에 대한 대표적인 예는 다음과 같다:

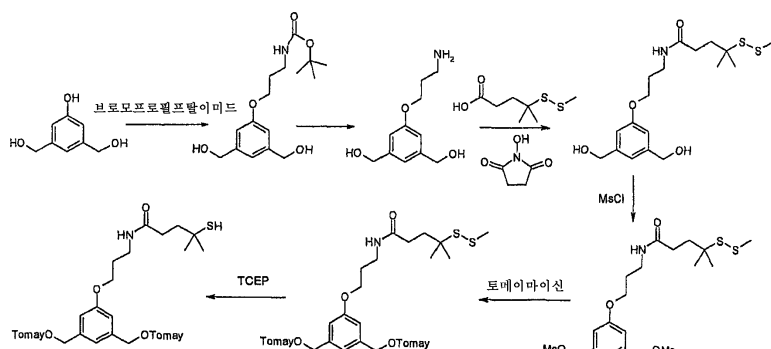


[0183]

[0184] 통상적으로, 이 반응은 N-히드록시숙신이미드 및 HOBT의 존재 하에서 수행된다.

[0185] 화학식 VII의 화합물은 상업적으로 입수가능하거나, 또는 공지된 방법을 개조 또는 적용하거나, 또는 실시예에 따라 제조할 수 있다.

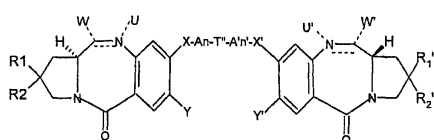
[0186] 본 발명의 방법의 이러한 실시양태에 대한 비-제한적인 예시적 반응식은 하기에 제시된다:



[0187]

[0188] 제2 측면에 따라, 화학식 I의 화합물은 상응하는 화학식 III'의 화합물로부터 획득할 수 있다:

[0189] [화학식 III']



[0190]

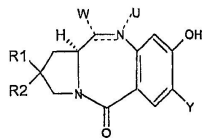
[0191] (식 중, Y, Y', X, A, A', X', n, n', W, W', U, U', --- , --- , R1, R2, R1' 및 R2'는 화학식 I에서와 같이 정의되고, T''는 T의 임의로 보호된 전구체 기임).

[0192] T의 전구체 기는 화학적 변형 또는 커플링에 의해 T를 유도할 수 있는 임의의 기를 지칭한다. 바람직하게는, T는 T'를 상응하는 상보적인 부분과 커플링시켜 획득되며, 여기서, T' 및 상보적인 부분은 서로 반응성인 관능기를 포함 (예를 들어, T'는 아민 관능기를 포함하고 상보적인 부분은 산 관능기를 포함)한다.

[0193] 통상적으로, 이 반응은 N-히드록시숙신이미드 및 HOBT의 존재 하에서 수행된다.

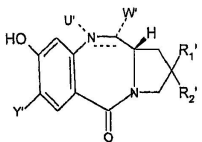
[0194] 화학식 III'의 화합물은 상응하는 화학식 IV, IV' 및 V'의 화합물의 커플링으로부터 수득할 수 있다:

[0195] <화학식 IV>



[0196]

[0197] <화학식 IV'>



[0198]

[0199] <화학식 V'>

[0200] **Lg-An-T''-A'n'-Lg**

[0201] (식 중, Y, Y', A, A', n, n', W, W', U, U', ----, ----, R1, R2, R1' 및 R2'는 화학식 III'에서와 같이 정의되고, T''는 T의 임의로 보호된 전구체 기이고, Lg는 이탈기, 예컨대 할로젠, OMs, OTs 또는 $OPPh_3^+$ (미쯔노부 반응에서 형성된 중간체)임).

[0202] 화학식 IV 및 IV'의 화합물은 일반적으로 공지되어 있거나, 또는 전합성 (문헌 [M. Mori et al, 42 Tetrahedron, 3793-3806, 1986])에 의해 입수가능하거나 또는 스트랩토마이세스 종에 의해 생성된다 (특히, 프랑스 특허 제1,516,743호의 절차에 따름).

[0203] 화학식 V'의 화합물은 상응하는 화학식 VII의 화합물로부터 수득할 수 있다:

[0204] <화학식 VII>

[0205] **HO-An-T''-A'n'-OH**

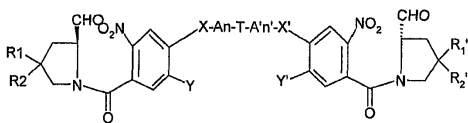
[0206] (식 중, A, A', n 및 n'은 화학식 I에서와 같이 정의되고, T''는 T'의 임의로 보호된 전구체 기임).

[0207] 이 반응은 일반적으로 PPh_3 및 $CHAl_4$ 의 존재 하에서 수행된다.

[0208] 화학식 VII의 화합물은 상업적으로 입수가능하거나, 공지된 방법을 개조 또는 적용하거나 또는 실시예에 따라 제조될 수 있다.

[0209] 제3 측면에 따라, 화학식 I의 화합물의 제조 방법은 상응하는 화학식 VIII의 화합물을 고리화시키는 단계를 포함한다:

화학식 VIII



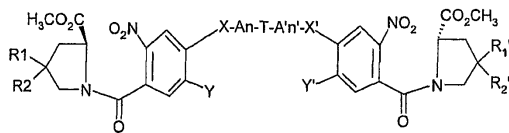
[0210]

[0211] (식 중, Y, Y', X, A, A', X', n, n', R1, R2, R1', R2' 및 T는 화학식 I에서와 같이 정의됨).

[0212] 통상적으로, 이 반응은 THF 및 물의 혼합물과 같은 적절한 용매 중에서 차아황산나트륨 ($Na_2S_2O_4$)과 같은 시약의 존재 하에 수행된 다음, 메탄올 및 $AcCl$ 을 첨가하여 수행된다.

[0213] 화학식 VIII의 화합물은 상응하는 화학식 IX의 화합물로부터 수득할 수 있다:

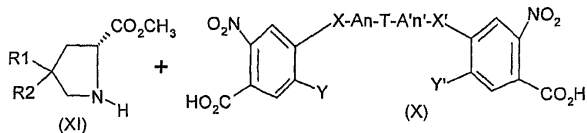
화학식 IX



(식 중, Y, Y', A, A', n, n', R1, R2, R1', R2' 및 T는 화학식 I에서와 같이 정의됨).

통상적으로, 이 반응은 톨루엔과 같은 적절한 용매 중에서 DIBAL-H와 같은 시약의 존재 하에 수행된다.

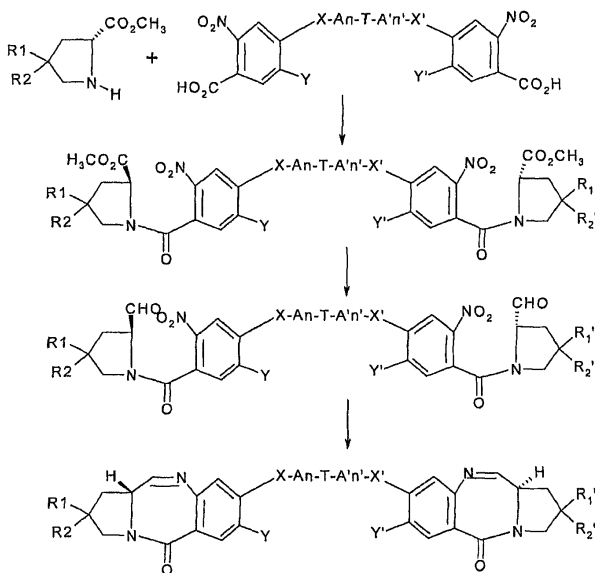
화학식 IX의 화합물은 상응하는 화학식 X 및 XI의 화합물의 커플링으로부터 수득할 수 있다:



(식 중, Y, Y', A, A', n, n', R1, R2, R1', R2' 및 T는 화학식 I에서와 같이 정의됨).

통상적으로, 이 반응은 DMF와 같은 적절한 용매 중의 옥살릴 클로라이드 시약을 (X)에 첨가한 후에, THF와 같은 적절한 용매 중의 (XI)를 첨가하여 수행된다.

대표적 반응식은 하기에 제시된다:



상기 반응들은 본원 하기의 실시예에 예시된 방법을 적용 또는 개조함으로써 당업자에 의해 수행될 수 있다.

추가로, 본 발명의 방법은 또한, 화학식 I 및 II의 화합물을 단리시키는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 이는 임의의 공지된 통상의 수단, 예컨대 상기 기재된 회수 방법으로 당업자에 의해 수행될 수 있다.

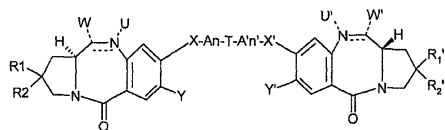
출발 생성물은 상업적으로 입수가가능하거나, 또는 임의의 공지된 방법 또는 실시예에 기재된 방법을 적용 또는 개조하여 수득할 수 있다.

합성은 또한 다성분 반응으로서 원 쏫(one pot)으로 수행될 수 있다.

추가 목적에 따라, 본 발명은 연결기를 통해 세포 결합체에 공유 결합되는 하나 이상의 토메이마이신 유도체를 포함하는 컨쥬게이트 분자에 관한 것이다. 상기 컨쥬게이트는 -S- 또는 -S-S-와 같은 연결기를 포함하는 링커를 갖는, 본 발명에 따른 하나 이상의 토메이마이신 유도체를 포함한다. 그러한 연결기는 세포 결합체를 토메이마이신 유도체의 링커와 공유 결합시킨다. 바람직한 측면에 따라, 연결기를 통해 세포 결합체에 공유 결합되는 토메이마이신 유도체는 하기 화학식 I'의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염, 수화물 또는 수화된 염, 또는 이들 화합물의 다형성 결정 구조, 또는 그의 광학이성질체, 라세미체, 부분입체이성질체 또는 거울상이성

질체이다:

[화학식 I']



상기 식에서,

----는 임의의 단일 결합을 나타내고;

====는 단일 결합 또는 이중 결합을 나타내며;

단, ----가 단일 결합을 나타내는 경우, 동일하거나 상이한 U 및 U'는 독립적으로 H를 나타내고, 동일하거나 상이한 W 및 W'는 OH, 에테르 (예컨대 -OR), 에스테르 (예컨대 -OCOR, 예를 들어, 아세테이트), 카르보네이트 (예컨대 -OCOR), 카르바메이트 (예컨대 -OCONRR'), 시클릭 카르바메이트 (N10 및 C11이 사이클의 일부임), 우레아 (예컨대 -NRCONRR'), 티오카르바메이트 (예컨대 -OCSNHR), 시클릭 티오카르바메이트 (N10 및 C11이 사이클의 일부임), -SH, 술파이드 (예컨대 -SR), 술폭시드 (예컨대 -SOR), 술폰 (예컨대 -SOOR), 술포네이트 (예컨대 -SO₃⁻), 술폰아미드 (예컨대 -NRSOOR), 아민 (예컨대 -NRR'), 임의로는 시클릭 아민 (N10 및 C11이 사이클의 일부임), 히드록실아민 유도체 (예컨대 -NROR'), 아마이드 (예컨대 -NRCOR), 아지도 (예컨대 -N₃), 시아노, 할로, 트리알킬- 또는 트리아릴포스포늄, 아미노산-유도된 기로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며; 바람직하게는, W 및 W'는 동일하거나 상이하고, OH, OMe, OEt, NHCONH₂ 또는 SMe이고;

====가 이중 결합을 나타내는 경우, U 및 U'는 존재하지 않고, W 및 W'는 H를 나타내고;

· R1, R2, R1' 및 R2'는 동일하거나 상이하고 하나 이상의 Hal, CN, NRR', CF₃, OR, 아릴, Het 또는 S(O)_qR에 의해 임의로 치환된 알킬 또는 할라이드로부터 독립적으로 선택되거나, 또는 R1과 R2 및 R1'과 R2'는 함께, 각각 이중 결합 함유 기 =B 및 =B'를 형성하고

[바람직하게는, R1과 R2 및 R1'과 R2'는 함께, 각각 이중 결합 함유 기 =B 및 =B'를 형성한다];

· B 및 B'는 동일하거나 상이하고 하나 이상의 Hal, CN, NRR', CF₃, OR, 아릴, Het 또는 S(O)_qR에 의해 임의로 치환된 알케닐로부터 독립적으로 선택되거나, 또는 B 및 B'는 산소 원자를 나타내고

[바람직하게는, B=B'이다.

보다 바람직하게는, B=B'= =CH₂ 또는 =CH-CH₃이다];

· X 및 X'는 동일하거나 상이하고, 하나 이상의 -O-, -NR-, -(C=O)- 또는 -S(O)_q-로부터 독립적으로 선택되고

[바람직하게는, X=X'이다.

보다 바람직하게는, X=X'=O이다];

· A 및 A'는 동일하거나 상이하고, 임의로 산소, 질소 또는 황 원자를 함유하고 하나 이상의 Hal, CN, NRR', CF₃, OR, S(O)_qR, 아릴, Het, 알킬, 알케닐에 의해 임의로 치환된 알킬 또는 알케닐로부터 독립적으로 선택되고

[바람직하게는, A=A'이다.

보다 바람직하게는, A=A'=비치환된 선형 알킬이다];

· Y 및 Y'는 동일하거나 상이하고, H 또는 OR로부터 독립적으로 선택되고

[바람직하게는, Y=Y'이다.

보다 바람직하게는, Y=Y'=O알킬, 보다 바람직하게는 O메틸이다];

- [0249] · T는 -알킬-, -NR-, -O-, -S(O)_q-이거나, 또는 하나 이상의 Hal, CN, NRR', CF₃, R, OR, S(O)_qR 및 링커에 의해 임의로 치환된 4 내지 10-원 아릴, 시클로알킬, 헤테로시클릭 또는 헤테로아릴이고
- [0250] [바람직하게는, T는 하나 이상의 링커(들)에 의해 임의로 치환된 4 내지 10-원 아릴 또는 헤테로아릴, 보다 바람직하게는 페닐 또는 피리딜이다.
- [0251] 상기 링커는 연결기를 포함한다. 적합한 연결기는 당업계에 잘 알려져 있으며, 티올, 술폰아이드, 디술폰아이드 기, 티오에테르 기, 산-불안정성 기, 광-불안정성 기, 펩티드분해효소-불안정성 기 및 에스테라제-불안정성 기를 포함한다. 디술폰아이드 기 및 티오에테르 기가 바람직하다.
- [0252] 연결기가 티올-, 술폰아이드- 또는 디술폰아이드-함유 기인 경우, 티올 또는 디술폰아이드 기를 보유한 측쇄는 선형, 분지형, 방향족 또는 헤테로시클릭일 수 있다. 당업자는 적합한 측쇄를 손쉽게 확인할 수 있다.
- [0253] 바람직하게는, 상기 링커는 하기 화학식을 갖는다:
- [0254] -G-D-(Z)_p-S-Z'
- [0255] 식 중,
- [0256] G는 단일 또는 이중 결합, -O-, -S- 또는 -NR-이고;
- [0257] D는 단일 결합, -E-, -E-NR-, -E-NR-F-, -E-O-, -E-O-F-, -E-NR-CO-, -E-NR-CO-F-, -E-CO-, -CO-E-, -E-CO-F-, -E-S-, -E-S-F-, -E-NR-C-S- 또는 -E-NR-CS-F-이고;
- [0258] 여기서, E 및 F는 동일하거나 상이하고, 선형 또는 분지형 -(OCH₂CH₂)_i알킬(OCH₂CH₂)_j-, -알킬(OCH₂CH₂)_i-알킬-, -(OCH₂CH₂)_i-, -(OCH₂CH₂)_i시클로알킬(OCH₂CH₂)_j-, -(OCH₂CH₂)_i헤테로시클릭(OCH₂CH₂)_j-, -(OCH₂CH₂)_i아릴(OCH₂CH₂)_j-, -(OCH₂CH₂)_i헤테로아릴(OCH₂CH₂)_j-, -알킬-(OCH₂CH₂)_i알킬(OCH₂CH₂)_j-, -알킬-(OCH₂CH₂)_i-, -알킬-(OCH₂CH₂)_i시클로알킬(OCH₂CH₂)_j-, -알킬(OCH₂CH₂)_i헤테로시클릭(OCH₂CH₂)_j-, -알킬-(OCH₂CH₂)_i아릴(OCH₂CH₂)_j-, -알킬(OCH₂CH₂)_i헤테로아릴(OCH₂CH₂)_j- (여기서, 동일하거나 상이한 i 및 j는 정수이고, 0 및 1 내지 2000으로부터 독립적으로 선택됨), -시클로알킬-알킬-, -알킬-시클로알킬-, -헤테로시클릭-알킬-, -알킬-헤테로시클릭-, -알킬-아릴-, -아릴-알킬-, -알킬-헤테로아릴- 또는 -헤테로아릴-알킬-로부터 독립적으로 선택되고;
- [0259] Z는 선형 또는 분지형 -알킬-이고;
- [0260] p는 0 또는 1이고;
- [0261] Z'는 H, 티올 보호기, 예컨대 COR, R₂₀ 또는 SR₂₀ (여기서, R₂₀은 H, 메틸, 알킬, 임의로 치환된 시클로알킬, 아릴, 헤테로아릴 또는 헤테로시클릭을 나타냄)을 나타내되, 단, Z'가 H인 경우, 상기 화합물은 PBD 잔기들 중 하나의 이민 결합 (-NH=) 상에 티올기 (-SH)의 첨가로 인한 분자내 고리화반응에 의해 형성된 상응하는 화합물과 평형상태에 있다];
- [0262] · 동일하거나 상이한 n 및 n'은 0 또는 1이며, m=m' 및 n=n'이고;
- [0263] · q는 0, 1 또는 2이고;
- [0264] · R 및 R'은 동일하거나 상이하고, H, 또는 Hal, CN, NRR', CF₃, R, OR, S(O)_qR, 아릴 또는 Het에 의해 임의로 치환된 알킬 또는 아릴로부터 독립적으로 선택된다.
- [0265] 바람직하게는, 링커는 티올, 술폰아이드 또는 디술폰아이드 결합에 대해 반응성인 관능기를 통해 세포 결합제에 결합된다.
- [0266] 본 발명은 하기 바람직한 실시양태, 또는 이들 각각의 임의의 조합에 관한 것이다:
- [0267] - G는 단일 결합 또는 -O- 또는 -NR-이고;
- [0268] - G는 -O-이고;
- [0269] - D는 단일 결합, -E-, -E-NR-, -E-NR-CO-, -ECO- 또는 -CO-E-이고;
- [0270] - D는 -E-, -E-NR-CO-, -CO-E- 또는 -E-CO-이고;

- [0271] - D는 -E-NR-CO-이고;
- [0272] - E는 선형 또는 분지형 -알킬-, $-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i-$ 또는 -알킬-헤테로시클릭이고;
- [0273] - E는 선형 또는 분지형 -알킬-이고;
- [0274] - Z는 $-(\text{CH}_2)_2-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$ 이고;
- [0275] - p는 0 또는 1이고;
- [0276] - Z'는 H 또는 SR_{20} (여기서, R_{20} 은 알킬, 아릴, 헤테로시클릭 또는 헤테로아릴을 나타냄)이고;
- [0277] - Z'는 H 또는 SR_{20} (여기서, R_{20} 은 알킬을 나타냄)이다.
- [0278] 티올-, 술폰아이드- 또는 디술폰아이드-함유 링커의 특정 예로는
- [0279] $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{17}=\text{CR}_{18})(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_y(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$,
 $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{NR}_{19}\text{CO})(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{OCO})(\text{R}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$,
 $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CO})(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CONR}_{19})(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t$ -페닐-
 $\text{CO}(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u\text{SZ}'$, $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t$ -푸릴- $\text{CO}(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u\text{SZ}'$, $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t$ -옥사졸릴- $\text{CO}(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u\text{SZ}'$, $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t$ -티아졸릴-
 $\text{CO}(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u\text{SZ}'$, $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t$ -티에닐- $\text{CO}(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u\text{SZ}'$, $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t$ -이미다졸릴- $\text{CO}(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u\text{SZ}'$, $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t$ -모르폴리
 $\text{노}-\text{CO}(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u\text{SZ}'$, $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t$ -피페라지노- $\text{CO}(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u\text{SZ}'$, $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t$ -N-메틸피페라진- $\text{CO}(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u\text{SZ}'$,
 $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t$ -페닐-QSZ', $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t$ -푸릴-QSZ', $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t$ -옥사졸릴-QSZ', $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t$ -티아졸릴-QSZ', $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t$ -
 $\text{티에닐-QSZ}'$, $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t$ -이미다졸릴-QSZ', $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t$ -모르폴리노-QSZ', $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t$ -피페라지노-QSZ',
 $-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t$ -N-메틸피페라지노-QSZ', 또는
- [0280] $-\text{O}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, $-\text{O}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{NR}_{19}\text{CO})(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$,
 $-\text{O}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{17}=\text{CR}_{18})(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_t(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, $-\text{O}$ -페닐-QSZ', $-\text{O}$ -푸릴-QSZ', $-\text{O}$ -옥사졸릴-QSZ', $-\text{O}$ -티아졸릴-
 QSZ' , $-\text{O}$ -티에닐-QSZ', $-\text{O}$ -이미다졸릴-QSZ', $-\text{O}$ -모르폴리노-QSZ', $-\text{O}$ -피페라지노-QSZ', $-\text{O}$ -N-메틸피페라지노-
 QSZ' ,
- [0281] $-\text{OCO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{NR}_{19}\text{CO})(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, $-\text{OCO}-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{17}=\text{CR}_{18})(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$,
 $-\text{OCONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, $-\text{OCO}$ -페닐-QSZ', $-\text{OCO}$ -푸릴-QSZ', $-\text{OCO}$ -옥사졸릴-QSZ', $-\text{OCO}$ -티아졸릴-
 QSZ' , $-\text{OCO}$ -티에닐-QSZ', $-\text{OCO}$ -이미다졸릴-QSZ', $-\text{OCO}$ -모르폴리노-QSZ', $-\text{OCO}$ -피페라지노-QSZ', $-\text{OCO}$ -N-메틸
 $\text{피페라지노-QSZ}'$, 또는
- [0282] $-\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, $-\text{CO}-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{17}=\text{CR}_{18})(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$,
 $-\text{CONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, $-\text{CO}$ -페닐-QSZ', $-\text{CO}$ -푸릴-QSZ', $-\text{CO}$ -옥사졸릴-QSZ', $-\text{CO}$ -티아졸릴-
 QSZ' , $-\text{CO}$ -티에닐-QSZ', $-\text{CO}$ -이미다졸릴-QSZ', $-\text{CO}$ -모르폴리노-QSZ', $-\text{CO}$ -피페라지노-QSZ', $-\text{CO}$ -피페리디노-
 QSZ' , $-\text{CO}$ -N-메틸피페라지노-QSZ',
- [0283] $-\text{NR}_{19}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, $-\text{NR}_{19}\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$,
 $-\text{NR}_{19}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{17}=\text{CR}_{18})(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_t(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, $-\text{NR}_{19}\text{CO}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{17}=\text{CR}_{18})(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_t(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$,
 $-\text{NR}_{19}\text{CONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_u(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, $-\text{NR}_{19}\text{CONR}_{12}(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_t(\text{CR}_{17}=\text{CR}_{18})(\text{CR}_{15}\text{R}_{16})_t(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{SZ}'$, $-\text{NR}_{19}\text{CO}$ -페닐-
 QSZ' , $-\text{NR}_{19}\text{CO}$ -푸릴-QSZ', $-\text{NR}_{19}\text{CO}$ -옥사졸릴-QSZ', $-\text{NR}_{19}\text{CO}$ -티아졸릴-QSZ', $-\text{NR}_{19}\text{CO}$ -티에닐-QSZ', $-\text{NR}_{19}\text{CO}$ -이미다
 $\text{졸릴-QSZ}'$, $-\text{NR}_{19}\text{CO}$ -모르폴리노-QSZ', $-\text{NR}_{19}\text{CO}$ -피페라지노-QSZ', $-\text{NR}_{19}\text{CO}$ -피페리디노-QSZ', $-\text{NR}_{19}\text{CO}$ -N-메틸피페라
 $\text{지노-QSZ}'$, $-\text{NR}_{19}$ -페닐-QSZ', $-\text{NR}_{19}$ -푸릴-QSZ', $-\text{NR}_{19}$ -옥사졸릴-QSZ', $-\text{NR}_{19}$ -티아졸릴-QSZ', $-\text{NR}_{19}$ -티에닐-QSZ',
 $-\text{NR}_{19}$ -이미다졸릴-QSZ', $-\text{NR}_{19}$ -모르폴리노-QSZ', $-\text{NR}_{19}$ -피페라지노-QSZ', $-\text{NR}_{19}$ -피페리디노-QSZ', $-\text{NR}_{19}$ -N-메틸피
 $\text{페라지노-QSZ}'$, $-\text{NR}_{19}\text{CO}$ -NR₁₂-페닐-QSZ', $-\text{NR}_{19}\text{CO}$ -NR₁₂-옥사졸릴-QSZ', $-\text{NR}_{19}\text{CO}$ -NR₁₂-티아졸릴-QSZ', $-\text{NR}_{19}\text{CO}$ -
 NR_{12} -티에닐-QSZ', $-\text{NR}_{19}\text{CO}$ -NR₁₂-피페리디노-QSZ',

- [0284] $-S(O)_q(CR_{13}R_{14})_t(CR_{15}R_{16})_u(OCH_2CH_2)_ySZ'$, $-S(O)_q(CR_{13}R_{14})_t(CR_{17}=CR_{18})(CR_{15}R_{16})_t(OCH_2CH_2)_ySZ'$,
 $-SCONR_{12}(CR_{13}R_{14})_t(CR_{15}R_{16})_u(OCH_2CH_2)_ySZ'$, $-SCO$ -모르폴리노-QSZ', $-SCO$ -피페라지노-QSZ', $-SCO$ -피페리디노-QSZ'
 및 $-SCO$ -N-메틸피페라지노-QSZ'
- [0285] (식 중, Z'는 H, 티올 보호기, 예컨대 COR, R₂₀' 또는 SR₂₀'이고, 여기서, R₂₀'은 알킬, 아릴, 헤테로시클릭 또는 헤테로아릴을 나타내고,
- [0286] Q는 직접 결합이거나, 또는 1 내지 10개의 탄소 원자를 갖는 선형 알킬 또는 분지형 알킬이거나 또는 2 내지 20개의 에틸렌 옥시 반복 단위를 갖는 폴리에틸렌 글리콜 스페이서이고,
- [0287] R₁₉ 및 R₁₂는 동일하거나 상이하고, 1 내지 10개의 탄소 원자를 갖는 선형 알킬, 분지형 알킬 또는 시클릭 알킬이거나 또는 비치환 또는 치환된 아릴 또는 헤테로시클릭이며, R₁₂는 또한 H일 수도 있고,
- [0288] R₁₃, R₁₄, R₁₅ 및 R₁₆은 동일하거나 상이하고, H이거나 또는 1 내지 4개의 탄소 원자를 갖는 선형 또는 분지형 알킬이고,
- [0289] R₁₇ 및 R₁₈은 H 또는 알킬이고,
- [0290] u는 1 내지 10의 정수이며, 또한 0일 수도 있고,
- [0291] t는 1 내지 10의 정수이며, 또한 0일 수도 있고,
- [0292] y는 1 내지 20의 정수이며, 또한 0일 수도 있음)가 포함된다.
- [0293] 이러한 목적에 따라, 화학식 I'의 대표적 화합물은
- [0294] 8,8'-[5-[3-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일아미노)프로필옥시]-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0295] 8,8'-[5-아세틸티오메틸-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[(S)-2-메틸렌-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0296] 8,8'-[3-(2-아세틸티오에틸)-1,5-펜탄디일비스(옥시)]-비스[(S)-2-메틸렌-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0297] 8,8'-[5-(N-4-메르캅토-4,4-디메틸부타노일)아미노-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0298] 8,8'-[5-(N-4-메틸디티오-4,4-디메틸부타노일)-아미노-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0299] 8,8'-[5-(N-메틸-N-(2-메르캅토-2,2-디메틸에틸)아미노-1,3-벤젠디일(메틸렌옥시)]-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0300] 8,8'-[5-(N-메틸-N-(2-메틸디티오-2,2-디메틸에틸)아미노-1,3-벤젠디일(메틸렌옥시)]-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0301] 8,8'-[(4-(2-(4-메르캅토-4-메틸)-펜탄아미도-에톡시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0302] 8,8'-[(1-(2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜탄아미도-에톡시)-벤젠-3,5-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0303] 8,8'-[(4-(3-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜탄아미도-프로폭시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0304] 8,8'-[(4-(4-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜탄아미도-부톡시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0305] 8,8'-[(4-(3-[4-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일)-피페라진-1-일]-프로필)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],

- [0306] 8,8'-[(1-(3-[4-(4-메틸-4-메틸디술폰닐-펜타노일)-피페라진-1-일]-프로필)-벤젠-3,5-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0307] 8,8'-[(4-(2-{2-[2-(4-메틸-4-메틸디술폰닐-펜타노일아미노)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0308] 8,8'-[(1-(2-{2-[2-(2-{2-[2-(4-메틸-4-메틸디술폰닐-펜타노일아미노)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-에톡시]-에톡시}-벤젠-3,5-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0309] 8,8'-[(1-(2-{2-[2-(4-메틸-4-메틸디술폰닐-펜타노일아미노)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-벤젠-3,5-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0310] 8,8'-[(4-(2-{2-[2-(2-{2-[2-(4-메틸-4-메틸디술폰닐-펜타노일아미노)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0311] 8,8'-[(1-(2-[메틸-(2-메틸-2-메틸디술폰닐-프로필)-아미노]-에톡시)-벤젠-3,5-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0312] 8,8'-[(4-(3-[메틸-(4-메틸-4-메틸디술폰닐-펜타노일)-아미노]-프로필)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0313] 8,8'-[(4-(3-[메틸-(2-메틸-2-메틸디술폰닐-프로필)-아미노]-프로필)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온],
- [0314] 8,8'-[(1-(4-메틸-4-메틸디술폰닐)-펜타아미도)-벤젠-3,5-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온] 및
- [0315] 상응하는 메르캡토 유도체, 또는
- [0316] 그의 제약상 허용되는 염, 수화물 또는 수화된 염, 또는 이들 화합물의 다형성 결정 구조, 또는 그의 광학이성질체, 라세미체, 부분입체이성질체 또는 거울상이성질체이다.
- [0317] 세포 결합제는 임의의 유형일 수 있으며, 펩티드 및 비-펩티드를 포함할 수 있다. 통상적으로, 이들은 하나 이상의 결합 부위, 림포카인, 호르몬, 성장 인자, 영양소-수송 분자 (예컨대, 트랜스페린), 또는 임의의 다른 세포 결합 분자 또는 물질을 함유하는 항체 (특히, 단일클론성 항체) 또는 항체의 단편일 수 있다. 사용될 수 있는 세포 결합제의 보다 구체적인 예로는 단일클론성 항체; 키메라 항체, 인간화 항체; 완전 인간화된 항체; 단일쇄 항체; 항체의 단편, 예컨대 Fab, Fab', F(ab')₂ 및 F_v {문헌 [Parham, 131 J. Immunol. 2895-2902 (1983)]; [Spring et al, 113 J. Immunol. 470-478 (1974)]; [Nisonoff et al, 89 Arch. Biochem. Biophys. 230-244 (1960)]}; 인터페론; 펩티드; 림포카인, 예컨대 IL-2, IL-3, IL-4, IL-6; 호르몬, 예컨대 인슐린, TRH (갑상선 자극 호르몬 방출 호르몬), MSH (멜라닌세포 자극 호르몬), 스테로이드 호르몬, 예컨대 안드로겐 및 에스트로겐; 성장 인자 및 집락-자극 인자, 예컨대 EGF, TGF α , 인슐린 유사 성장 인자 (IGF-I, IGF-II) G-CSF, M-CSF 및 GM-CSF {문헌 [Burgess, 5 Immunology Today 155-158 (1984)]}; 비타민, 예컨대 엽산 및 트랜스페린 {문헌 [O'Keefe et al, 260 J. Biol. Chem. 932-937 (1985)]}이 포함된다.
- [0318] 본원에 포함된 표현 "세포 결합제"는 또한 변형된 세포 결합제를 포함하며, 여기서, 상기 세포 결합제는 토메이마이신 유도체의 링커의 연결기에 대한 그의 반응성을 개선시키도록 변형제(modifying agent)에 의해 변형된다. 이러한 변형제로는 하기에 논의된 바와 같은 N-술폰숙신이미드-4-(5-니트로-2-피리딜디티오)부타노에이드(SSNPB), 숙신이미드 4-[N-말레이미도메틸]시클로헥산-1-카르복실레이트 (SMCC), 4-(2-피리딜디티오)부탄산 N-히드록시숙신이미드 에스테르 (SPDB) 등이 포함된다.
- [0319] 단일클론성 항체 기술은 특이적 단일클론성 항체 형태의 고도로 선택적인 세포 결합제의 생성을 가능케 한다. 특히, 마우스, 래트, 햄스터 또는 임의의 다른 포유동물을 관심 항원, 예컨대 무손상 표적 세포, 표적 세포로부터 단리된 항원, 전바이러스, 약화된 전바이러스 및 바이러스 단백질, 예컨대 바이러스 외피 단백질로 면역화시켜 생성되는 단일클론성 항체의 제조에 대한 기술이 당업계에 잘 알려져 있다.

- [0320] 적절한 세포 결합체의 선택은 표적화되어질 특정 세포 집단에 따른 선택의 문제이지만, 일반적으로는, 적절한 것이 입수가 가능한 경우 단일클론성 항체가 바람직하다.
- [0321] 예를 들어, 단일클론성 항체 MY9는 CD33 항원에 특이적으로 결합하는 무린 IgG₁ 항체이며 {문헌 [J.D. Griffin et al 8 Leukemia Res., 521 (1984)]}, 표적 세포가 급성 골수성 백혈병 (AML) 질환에서와 같이 CD33을 발현하는 경우에 사용될 수 있다. 유사하게, 단일클론성 항체 항-B4는 B 세포 상에서 CD19 항원에 결합하는 무린 IgG₁ 이며 {문헌 [Nadler et al, 131 J. Immunol. 244-250 (1983)]}, 표적 세포가 비-호지킨 림프종 또는 만성 림프모구 백혈병에서와 같이 상기 항원을 발현하는 B 세포 또는 병든 세포인 경우 사용될 수 있다. 상기 제시된 바와 같이, MY9 및 항-B4 항체는 무린, 키메라, 인간화 또는 완전 인간화될 수 있다.
- [0322] 또한, 골수 세포에 결합하는 GM-CSF는 급성 골수성 백혈병으로부터 병든 세포에 대한 세포 결합체로서 사용될 수 있다. 활성화된 T-세포에 결합하는 IL-2는 이식편 거부반응의 예방, 이식편-대-숙주 질환의 치료 및 예방, 및 급성 T-세포 백혈병의 치료를 위해 사용될 수 있다. 멜라닌세포에 결합하는 MSH는 흑색종의 치료에 사용될 수 있다.
- [0323] 본 발명의 컨쥬게이트 분자는 임의의 기술을 사용하여 형성될 수 있다. 본 발명의 토메이마이신 유도체는 산-불안정성 링커 또는 광-불안정성 링커를 통해 항체 또는 다른 세포 결합체에 결합될 수 있다. 이러한 유도체는 적합한 서열을 갖는 펩티드와 축합되고 후속적으로 세포 결합체에 결합되어 펩티드분해효소-불안정성 링커를 생성할 수 있다. 유도체는 1급 히드록실기를 함유하도록 제조될 수 있는데, 이것이 숙시닐화된 다음 세포 결합체에 결합되어, 세포내 에스테라제에 의해 절단되어 유리 유도체를 유리시킬 수 있는 컨쥬게이트를 생성할 수 있다. 바람직하게는, 유도체는 유리 또는 보호된 티올기를 함유하도록 합성되어, 하나 이상의 디설파이드- 또는 티올-함유 유도체가 각각 디설파이드 결합 또는 티오에테르 결합을 통해 세포 결합체에 공유 결합된다.
- [0324] 수많은 컨쥬게이션 방법이 USP 5,416,064 및 USP 5,475,092에 교시되어 있다. 토메이마이신 유도체는 유리 아미노기를 수득하도록 변형된 후에 산-불안정성 링커 또는 광-불안정성 링커를 통해 항체 또는 다른 세포 결합체에 결합될 수 있다. 유리 아미노 또는 카르복실기를 갖는 토메이마이신 유도체는 펩티드와 축합되고 후속적으로 세포 결합체에 결합되어 펩티드분해효소-불안정성 링커를 생성할 수 있다. 링커에 유리 히드록실기를 갖는 토메이마이신 유도체는 숙시닐화된 다음 세포 결합체에 결합되어, 세포내 에스테라제에 의해 절단되어 유리 약물을 유리시킬 수 있는 컨쥬게이트를 야기할 수 있다. 보다 바람직하게는, 토메이마이신 유도체는 유리 또는 보호된 티올기를 생성하도록 처리된 다음, 디설파이드- 또는 티올-함유 토메이마이신 이량체가 디설파이드 결합을 통해 세포 결합체에 결합된다.
- [0325] 본 발명의 대표적 컨쥬게이트는 항체-토메이마이신 유도체, 항체 단편-토메이마이신 유도체 표피 성장 인자 (EGF)-토메이마이신 유도체, 멜라닌세포 자극 호르몬 (MSH)-토메이마이신 유도체, 갑상선 자극 호르몬 (TSH)-토메이마이신 유도체, 에스트로겐-토메이마이신 유도체, 에스트로겐 유사체-토메이마이신 유도체, 안드로겐-토메이마이신 유도체, 안드로겐 유사체-토메이마이신 유도체 및 엽산-토메이마이신 유도체이다.
- [0326] 항체, 항체 단편, 단백질 또는 펩티드 호르몬, 단백질 또는 펩티드 성장 인자 및 기타 단백질의 토메이마이신 유도체 컨쥬게이트는 공지된 방법에 의해 동일한 방식으로 제조된다. 예를 들어, 펩티드 및 항체는 공지된 방법에 의해 가교제, 예컨대 N-숙신이미드 3-(2-피리디디티오)프로피오네이트, N-숙신이미드 4-(2-피리디디티오)펜타노에이트 (SPP), 4-숙신이미드-옥시카르보닐- α -메틸- α -(2-피리디디티오)톨루엔 (SMPT), N-숙신이미드-3-(2-피리디디티오)부티레이트 (SDPB), 숙신이미드 피리디-디티오프로피오네이트 (SPDP), 4-(2-피리디디티오)부탄산 N-히드로숙신이미드 에스테르 (SPDB), 숙신이미드 4-[N-말레이미도메틸]시클로헥산-1-카르복실레이트 (SMCC), N-술포숙신이미드-3-(2-(5-니트로-피리디디티오)부티레이트 (SSNPB), 2-이미노티올란 또는 S-아세틸숙신산 무수물을 사용하여 변형시킬 수 있다 (문헌 [Carlsson et al, 173 Biochem. J. 723-737 (1978)]; [Blattler et al, 24 Biochem. 1517-1524 (1985)]; [Lambert et al, 22 Biochem. 3913-3920 (1983)]; [Klotz et al, 96 Arch. Biochem. Biophys. 605 (1962)]; 및 [Liu et al, 18 Biochem. 690 (1979), Blakey and Thorpe, 1 Antibody, Immunoconjugates & Radio-pharmaceuticals, 1-16 (1988), Worrell et al 1 Anti-Cancer Drug Design 179-184 (1986)] 참조). 이어서, 이와 같이 유도된 유리 또는 보호된 티올-함유 세포 결합체를 디설파이드- 또는 티올-함유 토메이마이신 유도체와 반응시켜 컨쥬게이트를 생성한다. 컨쥬게이트는 HPLC 또는 겔 여파에 의해 정제될 수 있다.
- [0327] 바람직하게는, 단일클론성 항체- 또는 세포 결합체-토메이마이신 유도체 컨쥬게이트는 토메이마이신 유도체를 전달할 수 있는, 상기 논의된 바와 같이 디설파이드 결합을 통해 결합된 것이다. 이러한 세포 결합 컨쥬게이트

는 공지된 방법에 의해, 예컨대 숙신이미딜 피리딜-디티오프로피오네이트 (SPDP)를 사용한 단일클론성 항체의 변형에 의해 제조된다 (문헌 [Carlsson et al, 173 Biochem. J. 723-737 (1978)]). 이어서, 생성된 티오피리딜기를 티올-함유 토메이마이신 유도체로의 처리에 의해 대체하여 디숄파이드가 결합된 컨쥬게이트를 생성한다. 별법으로, 아틸디티오-토메이마이신 유도체의 경우, 세포 결합 컨쥬게이트의 형성은 항체 분자 안에 도입되기 전에 토메이마이신 유도체의 아틸-티올을 술폰히드릴기로 직접 대체함으로써 수행된다. 디숄파이드 브릿지를 통해 결합된 1 내지 10개의 토메이마이신 유도체 약물을 함유하는 컨쥬게이트는 다른 방법에 의해 손쉽게 제조된다.

[0328] 보다 구체적으로, 2 mM EDTA를 함유하는 pH 7.5의 0.05 M 칼륨 인산염 완충액 중 2.5 mg/ml 농도의 디티오-니트로피리딜 변형된 항체 용액을 티올-함유 토메이마이신 유도체 (1.3 몰 당량/디티오피리딜기)로 처리한다. 변형된 항체로부터 티오-니트로피리딘의 방출을 325 nm에서 분광광도학적으로 모니터링하고, 약 16시간 안에 완료한다. 항체-토메이마이신 유도체 컨쥬게이트를 정제하고, 세파덱스(Sephadex) G-25 또는 세파크릴(Sephacryl) S300 컬럼을 통해 겔 여과하여 미반응 약물 및 기타 저분자량 물질을 제거한다. 230 nm 및 275 nm에서의 흡광도 비를 측정하여 항체 분자 당 결합된 토메이마이신 유도체 잔기의 수를 측정할 수 있다. 평균 1 내지 10개의 토메이마이신 유도체 분자/항체 분자가 상기 방법에 의해 디숄파이드 결합을 통해 결합될 수 있다.

[0329] 항원-발현하는 세포와의 결합 친화도에 대한 컨쥬게이션의 효과는 문헌 [Liu et al., 93 Proc. Natl. Acad. Sci 8618-8623 (1996)]에 이미 기재된 방법을 사용하여 측정될 수 있다. 세포주에 대한 토메이마이신 유도체 및 그의 항체 컨쥬게이트의 세포독성은 문헌 [Goldmacher et al, 135 J. Immunol. 3648-3651 (1985)]에 기재된 바와 같은 세포 증식 곡선의 역-외삽법(back-extrapolation)으로 측정될 수 있다. 부착성 세포주에 대한 이들 화합물의 세포독성은 문헌 [Goldmacher et al, 102 J. Cell Biol. 1312-1319 (1986)]에 기재된 바와 같은 클론 원성 분석으로 측정될 수 있다.

[0330] 본 발명의 대표적 컨쥬게이트는 토메이마이신 유도체와, 항체, 항체 단편, 표피 성장 인자 (EGF), 멜라닌세포 자극 호르몬 (MSH), 갑상선 자극 호르몬 (TSH), 에스트로겐, 에스트로겐 유사체, 안드로겐 및 안드로겐 유사체와의 컨쥬게이트이다.

[0331] 유도체 및 세포 결합제의 다양한 컨쥬게이트의 제조에 대한 대표적 예는 하기에 기재된다.

[0332] 디숄파이드 링커:

[0333] 예를 들어, 단일클론성 항체 MY9는 CD33 항원에 특이적으로 결합하는 뮤린 IgG₁ 항체이며 {문헌 [J.D. Griffin et al 8 Leukemia Res., 521 (1984)]}, 표적 세포가 급성 골수성 백혈병 (AML) 질환에서와 같이 CD33을 발현하는 경우에 사용될 수 있다. 유사하게, 단일클론성 항체 항-B4는 B 세포 상에서 CD19 항원에 결합하는 뮤린 IgG₁ 이며 {문헌 [Nadler et al, 131 J. Immunol. 244-250 (1983)]}, 표적 세포가 비-호지킨 림프종 또는 만성 림프모구 백혈병에서와 같이 상기 항원을 발현하는 B 세포 또는 병든 세포인 경우 사용될 수 있다.

[0334] 또한, 골수 세포에 결합하는 GM-CSF는 급성 골수성 백혈병으로부터 병든 세포에 대한 세포 결합제로서 사용될 수 있다. 활성화된 T-세포에 결합하는 IL-2는 이식편 거부반응의 예방, 이식편-대-숙주 질환의 치료 및 예방, 및 급성 T-세포 백혈병의 치료를 위해 사용될 수 있다. 멜라닌세포에 결합하는 MSH는 흑색종의 치료에 사용될 수 있다.

[0335] 항체 또는 다른 세포 결합제는 문헌 [J. Carlsson, H. Drevin & R. Axen, Biochem. J., 173:723 (1978)]에 이미 기재된 바와 같이 N-숙신이미딜-3-피리딜디티오 프로피오네이트를 사용하여 변형되어 보통 항체 분자 당 4개의 피리딜디티오기를 도입한다. 변형된 항체는 티올-함유 유도체와 반응하여 디숄파이드-결합된 컨쥬게이트를 생성한다.

[0336] 별법으로, 컨쥬게이트는 교시내용이 본원에 참고로 도입된 W02004/103272에 개시되어 있는 방법을 적용하고/거나 개조하여 제조할 수 있다.

[0337] 티오에테르 링커:

[0338] 본 발명의 티올-함유 유도체는 이전에 기재된 바와 같이 (미국 특허 제5,208,020호) 티오에테르 결합을 통해 항체 및 다른 세포 결합제에 결합될 수 있다. 항체 또는 다른 세포 결합제는 상업적으로 입수가능한 화합물, 예컨대 N-숙신이미딜 4-(말레이미도메틸)시클로헥산카르복실레이트 (SMCC), SMCC의 "장쇄" 유사체인 N-숙신이미딜-4-(N-말레이미도메틸)시클로헥산-1-카르복시-(6-아미도-카프로에이트) (LC-SMCC)를 사용하여 변형시킬 수

있다. 이러한 가교제는 말레이미도계 잔기로부터 유도된 비-분해가능한 링커를 형성한다.

- [0339] 할로아세틸계 잔기를 포함하는 가교제로는 N-숙신이미딜-4-(요오도아세틸)-아미노벤조에이트 (SIAB), N-숙신이미딜 요오도아세테이트 (SIA), N-숙신이미딜 브로모아세테이트 (SBA) 및 N-숙신이미딜 3-(브로모아세트아미도) 프로피오네이트 (SBAP)가 포함된다. 이러한 가교제는 할로아세틸계 잔기로부터 유도된 비-분해가능한 링커를 형성한다.
- [0340] 산-불안정성 링커:
- [0341] 본 발명의 아미노기-함유 유도체는 문헌 [W. A. Blattler et al, Biochemistry 24, 1517-1524 (1985)]; 미국 특허 제4,542,225호, 동 제4,569,789호, 동 제4,618,492호 및 동 제4,764,368호에 이미 기재된 바와 같이 산에 불안정한 링커를 통해 항체 및 다른 세포 결합제에 결합될 수 있다.
- [0342] 유사하게, 본 발명의 히드라지도기-함유 유도체는 산에 불안정한 히드라존 링커를 통해 항체의 탄수화물 부분 및 다른 세포 결합제에 결합될 수 있다 (히드라존 링커의 예에 대해서는 문헌 [B. C. Laguzza et al, J. Med. Chem., 32, 548-555 (1989); R. S. Greenfield et al, Cancer Res., 50, 6600-6607 (1990)] 참조).
- [0343] 광-불안정성 링커:
- [0344] 본 발명의 아민기-함유 유도체는 문헌 [P. Senter et al, Photochemistry and Photobiology, 42, 231-237 (1985)] 및 미국 특허 제4,625,014호에 이미 기재된 바와 같이 광-불안정성 링커를 통해 항체 및 다른 세포 결합제에 결합될 수 있다.
- [0345] 펩티드분해효소-불안정성 링커:
- [0346] 본 발명의 아민기-함유 유도체는 또한 펩티드 스페이서를 통해 세포 결합제에 결합될 수 있다. 약물과 거대분자 단백질 담체 사이의 짧은 펩티드 스페이서는 혈청에서는 안정하지만 세포내 펩티드분해효소에 의해 쉽게 가수분해되는 것으로 이미 입증되었다 (문헌 [A. Trouet et al, Proc. Natl. Acad. Sci., 79, 626-629 (1982)]). 1-에틸-3-(3-디메틸아미노-프로필)카르보디이미드-HCl (EDC-HCl)과 같은 축합화제를 사용하여 아미노기-함유 유도체를 펩티드와 축합시켜 세포 결합제에 결합될 수 있는 펩티드 유도체를 제공할 수 있다.
- [0347] 에스테라제-불안정성 링커:
- [0348] 히드록시 알킬기를 갖는 본 발명의 유도체는 숙신산 무수물로 숙시닐화된 다음 세포 결합제에 결합되어, 세포내 에스테라제에 의해 절단되어 유리 약물을 유리시킬 수 있는 컨쥬게이트를 생성할 수 있다 (예를 들어, 문헌 [E. Aboud-Pirak et al, Biochem Pharmacol., 38, 641-648 (1989)] 참조).
- [0349] 상기 방법으로 제조된 컨쥬게이트는 표준 크로마토그래피 기법, 예컨대 비제한적으로, 이온 교환, 소수성 상호작용 크로마토그래피, 친화성 크로마토그래피, 세라믹 수산화인회석 또는 포라팩(Porapak) 상의 크로마토그래피를 비롯한 크기별 배제, 흡착 크로마토그래피에 의하거나 또는 HPLC에 의해 정제될 수 있다. 투석 또는 정용여과(diafiltration)에 의한 정제가 또한 사용될 수 있다.
- [0350] 바람직하게는, 단일클론성 항체 또는 세포 결합제와 본 발명의 유도체 사이의 컨쥬게이트는 상기 논의된 바와 같이 디숄파이드 결합을 통해 결합된 것이다. 이러한 세포 결합 컨쥬게이트는 공지된 방법에 의해, 예컨대 숙신이미딜 피리딜-디티오프로피오네이트 (SPDP)를 사용한 단일클론성 항체의 변형에 의해 제조된다 (문헌 [Carlsson et al, 173 Biochem. J. 723-737 (1978)]). 이어서, 생성된 티오피리딜기를 티올-함유 유도체로의 처리에 의해 대체하여 디숄파이드가 결합된 컨쥬게이트를 생성한다. 디숄파이드 브릿지를 통해 결합된, 1 내지 10개의 유도체를 함유하는 컨쥬게이트는 이 방법에 의해 손쉽게 제조된다. 이러한 방법에 의한 컨쥬게이션은 참고로 도입된 미국 특허 제5,585,499호에 전체적으로 기재되어 있다.
- [0351] 바람직한 측면에 따라, 세포 결합제는 항체, 특히 단일클론성 항체이다.
- [0352] 또다른 바람직한 측면에 따라, 세포 결합제는 항원 특이적 항체 단편, 예컨대 sFV, Fab, Fab' 또는 F(ab')₂이다.
- [0353] 추가의 목적에 따라, 본 발명은 또한 본 발명의 컨쥬게이트 분자 또는 상기 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물을 제약상 허용되는 담체와 함께 포함하는 제약 조성물에 관한 것이다.
- [0354] 추가의 목적에 따라, 본 발명은 또한 표적 세포 또는 표적 세포를 함유하는 조직을, 유효량의 본 발명에 따른 제약 조성물과 접촉시키는 것을 포함하는, 세포, 바람직하게는 선택된 세포 집단을 사멸시키거나 또는 이의 성

장을 억제하는 방법에 관한 것이다.

- [0355] 선택된 세포 집단은 암성 및/또는 증식성 세포이다.
- [0356] 추가의 목적에 따라, 본 발명은 또한 유효량의 본 발명에 따른 제약 조성물을 암의 치료가 필요한 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 암의 치료, 바람직하게는 선택적 치료 방법에 관한 것이다.
- [0357] 본 발명에 따라, "암의 선택적 치료"는 정상 및/또는 비-증식성 세포의 사멸 없이 실질적으로 암성 및/또는 증식성 세포의 사멸을 지칭한다.
- [0358] 추가의 목적에 따라, 본 발명은 또한 암의 치료용 약제 제조를 위한, 본 발명의 컨쥬게이트 분자 또는 상기 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물의 용도에 관한 것이다.
- [0359] 선택된 세포 집단의 성장을 억제하는 방법은 시험관 내, 생체 내 또는 생체 외에서 실시될 수 있다.
- [0360] 시험관 내 사용의 예는 표적 항원을 발현하지 않는 요망되는 변이체를 제외한 모든 세포를 사멸시키기 위하거나, 또는 요망되지 않는 항원을 발현하는 변이체를 사멸시키기 위한 세포 배양의 처치를 포함한다.
- [0361] 비-임상적 시험관 내 사용의 조건은 당업자에 의해 손쉽게 결정된다.
- [0362] 생체 외 사용의 예는 병들거나 악성인 세포를 사멸시키기 위해 환자에의 이식 전에 자가 골수의 처치, 즉, 적격 T-세포를 사멸하여 이식편-대-숙주병 (GVHD)을 예방하기 위한 골수 이식 이전의 골수의 처치를 포함한다.
- [0363] 암 치료 또는 자가면역 질환의 치료에서 자가 이식 전에 골수로부터 종양 세포 또는 림프계 세포를 제거하기 위하거나, 또는 GVHD를 예방하기 위해 이식 전에 동종이형 골수 또는 조직으로부터 T 세포 및 다른 림프계 세포를 제거하기 위한 임상적 생체 외 처치는 하기와 같이 수행될 수 있다. 골수를 환자 또는 다른 개체로부터 수거한 다음, 약 10 μ M 내지 1 pM 농도의 본 발명의 세포독성제가 첨가된 혈청을 함유하는 배지 중에서 약 30분 내지 약 48시간 동안 약 37°C에서 인큐베이션시켰다. 인큐베이션 (=투여량)의 농도 및 시간의 정확한 조건은 당업자에 의해 손쉽게 결정된다. 인큐베이션시킨 후, 골수 세포를 혈청을 함유한 배지로 행구고, 공지된 방법에 따라 정맥주사에 의해 환자에게 되돌려 주었다. 환자가 골수의 수거 시간과 처치된 세포의 재주입 사이에서 다른 치료, 예컨대 절제적(ablative) 화학요법 과정 또는 전신 방사선조사를 받는 경우, 처치된 골수는 표준 의료 장치를 사용하여 액체 질소 중에 동결된 상태로 저장된다.
- [0364] 임상적 생체 내 사용의 경우, 본 발명의 세포독성제는 무균성 및 내독소 수준에 대해 시험된 용액으로서, 또는 주사용 멸균수 중에 재용해될 수 있는 동결건조된 고체로서 공급될 것이다. 컨쥬게이트 투여의 적합한 프로토콜의 예는 하기와 같다. 컨쥬게이트를 정맥주사용 볼루스로서 6주 동안 주 1회 제공하였다. 볼루스 투여량은 인간 혈청 알부민 (예를 들어, 인간 혈청 알부민의 농축된 용액 0.5 내지 1 mL, 100 mg/mL)이 첨가될 수 있는 생리 식염수 50 내지 400 mL로 제공된다. 투여는 주 1회 체중 kg 당 약 50 μ g 내지 10 mg/kg의 정맥주사 (주입 당 10 μ g 내지 100 mg/kg의 범위)일 것이다. 처치 6주 후, 환자는 제2 치료 과정을 받을 수 있었다. 투여 경로, 부형제, 희석제, 투여량, 시간 등에 대한 특정한 임상적 프로토콜은 임상적 상황 권한에 따라 당업자에 의해 결정될 수 있다.
- [0365] 선택된 세포 집단을 사멸시키는 생체 내 또는 생체 외 방법에 따라 치료될 수 있는 의학적 증상의 예로는 예를 들어, 폐암, 유방암, 결장암, 전립선암, 신장암, 췌장암, 난소암 및 림프 기관의 암을 비롯한 임의의 유형의 악성종양; 흑색종; 자가면역질환, 예컨대 전신성 루푸스, 류마티스 관절염 및 다발경화증; 이식편 거부반응, 예컨대 신장 이식 거부, 간 이식 거부, 폐 이식 거부, 심장 이식 거부 및 골수 이식 거부; 이식편-대-숙주병; 바이러스 감염, 예컨대 CMV 감염, HIV 감염, AIDS 등; 세균성 감염; 및 기생충 감염, 예컨대 편모충증, 아메바증, 주혈흡충증, 및 당업자에 의해 결정된 바와 같은 그 밖의 다른 것이 포함된다.
- [0366] 본원에 기재된 질환 및 증상의 치료가 필요한 대상체의 식별은 당업자의 능력 및 지식 내에 있다. 당업계에서 숙련된 의사 또는 의사는 그러한 치료가 필요한 대상체를 임상 시험, 신체 평가, 병력/가족력, 또는 생물학적 및 진단학적 시험을 사용하여 손쉽게 식별할 수 있다.
- [0367] 치료적 유효량은 통상적 기법을 사용하고, 유사한 상황에서 획득한 결과를 관찰함으로써 당업자와 같은 주치의의 진단에 의해 손쉽게 결정될 수 있다. 치료적 유효량을 결정하는데 있어, 비제한적으로, 대상체의 종; 그 크기, 연령 및 전반적 건강상태; 관련된 특정 질환; 질환의 관련 정도 또는 중증도; 각 대상체의 반응; 투여되어질 특정 화합물; 투여 방식; 투여되는 제제의 생체이용률 특성; 선택된 투여요법; 약제의 동시 사용; 및 기타 관련 상황을 비롯하여 주치의의 진단에 의해 다수의 요인이 고려된다.

- [0368] 목적하는 생물학적 효과를 달성하는데 요구되는 화학식 I의 화합물 또는 컨쥬게이트의 양은 사용되는 화합물의 화학적 특성 (예를 들어, 소수성), 화합물의 효능, 질환의 유형, 환자가 속한 종, 환자의 질환 상태, 투여 경로, 선택된 경로에 의한 화합물의 생체이용률, 및 요구되는 투여량, 전달성 및 투여요법에 영향을 미치는 모든 요인들을 비롯한 다수의 요인에 따라 달라질 것이다.
- [0369] "제약적으로" 또는 "제약상 허용되는"은 동물, 또는 적절하다면 인간에게 투여될 때 유해한 반응, 알레르기 반응 또는 다른 바람직하지 않은 반응을 야기하지 않는 분자 물질 및 조성물을 지칭한다.
- [0370] 본원에서 사용되는 "제약상 허용되는 부형제"는 임의의 담체, 희석제, 보조제 또는 비히클, 예컨대 보존제 또는 항산화제, 충전제, 붕해제, 습윤제, 유화제, 현탁화제, 용매, 분산 매질, 코팅제, 항균제 및 항진균제, 등장성 및 흡수 지연제 등을 포함한다. 제약 활성 물질에 대해 이러한 매질 및 작용제의 사용은 당업계에 잘 알려져 있다. 임의의 통상의 매질 또는 작용제가 활성 성분과 상용적이지 않는 경우를 제외하고, 치료적 조성물 중에도 그의 사용이 고려된다. 추가의 활성 성분이 또한 적합한 치료적 조합물로서 조성물 내에 혼입될 수 있다.
- [0371] 본 발명의 맥락에서, 본원에서 사용되는 용어 "치료하는" 또는 "치료"는 상기 용어가 적용되는 장애 또는 증상, 또는 이러한 장애 또는 증상의 하나 이상의 징후의 진행을 역전, 완화 또는 억제하거나, 또는 예방하는 것을 의미한다.
- [0372] "치료적 유효량"은 본원에서 언급된 병리학적 증상의 예방 또는 치료에 효과적인 본 발명에 따른 화합물/약제의 양을 의미한다.
- [0373] 본 발명에 따라, 용어 "환자" 또는 "치료가 필요한 환자"는 본원에서 언급된 병리학적 증상을 앓고 있거나 또는 이를 앓게 될 가능성이 있는 동물 또는 인간으로 의도된다. 바람직하게는, 환자는 인간이다.
- [0374] 일반적 용어에서, 본 발명의 화합물은 비경구 투여를 위해 0.1 내지 10% w/v의 화합물을 함유하는 생리적 완충 수용액으로 제공될 수 있다. 통상적인 투여량 범위는 매일 체중 kg 당 1 μ g 내지 0.1 g이고, 바람직한 투여량 범위는 매일 체중 kg 당 0.01 mg 내지 10 mg 또는 아동에서의 등가의 투여량이다. 투여되는 약물의 바람직한 투여량은 질환 또는 장애의 유형 및 진행 정도, 특정 환자의 전반적 건강 상태, 선택된 화합물의 상대적인 생물학적 효능, 화합물의 제제화, 투여 경로 (정맥내, 근육내, 또는 기타), 선택된 전달 경로에 의한 화합물의 약동학 특성, 및 투여 속도 (볼루스 또는 지속적 주입) 및 투여 계획 (주어진 시간에서 반복된 횟수)과 같은 변수에 따라 다를 것이다.
- [0375] 본 발명의 화합물은 또한 단위 투여량 형태로 투여될 수 있으며, 여기서, 용어 "단위 투여량"은 환자에게 투여될 수 있고, 활성 화합물 그 자체를 포함하는 물리적으로 및 화학적으로 안정한 투여 단위로서 또는 하기 기재된 바와 같은 제약상 허용되는 조성물로서 용이하게 취급 및 포장될 수 있는 단일 투여량을 의미한다. 이에 따라, 통상적인 총 일일 투여량 범위는 체중 kg 당 0.01 내지 100 mg이다. 일반적 지침에 의하면, 인간의 경우 단위 투여량 범위는 매일 1 mg 내지 3000 mg이다. 바람직하게는, 단위 투여량 범위는 일일 1회 내지 6회 투여되는 1 내지 500 mg이고, 훨씬 보다 바람직하게는 일일 1회 10 mg 내지 500 mg이다. 본원에서 제공된 화합물은 1종 이상의 제약상 허용되는 부형제와 혼합하여 제약 조성물로 제제화될 수 있다. 이러한 단위 투여 조성물은 경구 투여로, 특히 정제, 단순 캡슐제 또는 연질 젤 캡슐제 형태로; 또는 비강내로, 특히 분말제, 점비제 또는 에어로졸 형태로; 또는 피부로, 예를 들어 연고, 크림, 로션, 젤 또는 스프레이, 또는 경피 패치를 통한 국소로 사용하기 위해 제조될 수 있다.
- [0376] 조성물은 단위 투여 형태로 편리하게 투여될 수 있으며, 제약 업계에 잘 알려진 임의의 방법에 의해, 예를 들어 문헌 [Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th ed.; Gennaro, A. R., Ed.; Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, PA, 2000]에 기재된 바와 같이 제조될 수 있다.
- [0377] 바람직한 제제는 본 발명의 화합물이 경구 또는 비경구 투여용으로 제제화된 제약 조성물을 포함한다.
- [0378] 경구 투여의 경우, 정제, 환제, 분말제, 캡슐제, 트로키제 등은 결합제, 예컨대 미정질 셀룰로스 또는 고무 트라가칸트; 희석제, 예컨대 전분 또는 락토스; 붕해제, 예컨대 전분 및 셀룰로스 유도체; 윤활제, 예컨대 마그네슘 스테아레이트; 활택제, 예컨대 콜로이드 이산화규소; 감미제, 예컨대 수크로스 또는 사카린; 또는 향미제, 예컨대 페퍼민트 또는 메틸 살리실레이트 중 하나 이상, 또는 이와 유사한 특성을 갖는 화합물을 함유할 수 있다. 캡슐제는 일반적으로 가소제와 함께 임의로 블렌딩된 젤라틴 블렌드로부터 제조된 경질 캡슐제 또는 연질 캡슐제 형태뿐만 아니라 전분 캡슐제 형태일 수 있다. 또한, 투여 단위 형태는 투여 단위의 물리적 형태를 변형시키는 다양한 다른 물질, 예를 들어 당의, 셀락 또는 장용제를 함유할 수 있다. 다른 경구 투여 형태인 시

럽제 또는 엘릭시르제는 감미제, 보존제, 염료, 착색제 및 향미제를 함유할 수 있다. 또한, 활성 화합물은 빠르게 용해하거나, 또는 변형된 방출 또는 지연된 방출 제제 및 제형 안에 혼입될 수 있으며, 여기서, 상기 지연된 방출 제제는 바람직하게는 이봉성(bimodal)이다. 바람직한 정제는 임의의 조합으로 락토스, 옥수수전분, 규산마그네슘, 크로스카르멜로스 나트륨, 포비돈, 마그네슘 스테아레이트 또는 활석을 함유한다.

[0379] 비경구 투여용 액상 제제로는 멸균 수용액제 또는 비-수용액제, 현탁액제 및 에멀전이 포함된다. 액상 조성물은 또한 결합제, 완충제, 보존제, 킬레이트화제, 감미제, 향미제 및 착색제 등을 포함할 수 있다. 비-수성 용매로는 알콜, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 식물성 오일 (예컨대, 올리브 오일) 및 유기 에스테르 (예컨대, 에틸 올레이트)가 포함된다. 수성 담체로는 알콜과 물, 완충 매질 및 염수와의 혼합물이 포함된다. 특히, 생체적합한 생물분해성 락티드 중합체, 락티드/글리콜리드 공중합체 또는 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 공중합체가 활성 화합물의 방출을 제어하는데 유용한 부형제일 수 있다. 정맥내 비히클은 유체 및 영양소 보충물, 전해질 보충물 (예컨대, 링거 텍스트로스-기재의 것) 등을 포함할 수 있다. 이러한 활성 화합물에 대해 다른 유용할 수 있는 비경구 전달 시스템은 에틸렌-비닐 아세테이트 공중합체 입자, 삼투성 펌프, 삽입할 수 있는 주입 시스템 및 리포솜을 포함한다.

[0380] 다른 투여 방식은 건조 분말제, 에어로졸 또는 점적약제와 같은 수단을 포함하는 흡입용 제제를 포함한다. 이들은 예를 들어 폴리옥시에틸렌-9-라우릴 에테르, 글리코콜레이트 및 데옥시콜레이트를 함유하는 수용액제이거나, 또는 점비제 형태로 또는 비강내로 적용되는 겔로서 투여하기 위한 유성 용액제일 수 있다. 구강 투여용 제제로는 예를 들어, 로젠지제 또는 향정이 포함되며, 이는 또한 향미 기재 (예컨대, 수크로스 또는 아카시아) 및 다른 부형제 (예컨대, 글리코콜레이트)를 포함할 수 있다. 직장 투여에 적합한 제제는 바람직하게는, 코코아 버터와 같은 고체 기재 담체를 갖는 단위 투여 좌제로서 제공되며, 이는 살리실레이트를 포함할 수 있다. 피부에 대한 국소 도포용 제제는 바람직하게는 연고, 크림, 로션, 젤, 스트레이, 에어로졸 또는 오일 형태를 취한다. 사용될 수 있는 담체로는 석유 젤리, 라놀린, 폴리에틸렌 글리콜, 알콜, 또는 이들의 조합이 포함된다. 경피 투여에 적합한 제제는 개별적 패치로서 제공될 수 있으며, 이는 중합체 또는 접착제 중에 용해되고/거나 분산된 호지성 에멀전 또는 완충된 수용액제일 수 있다.

실시예

[0390] 실험 부분

[0391] · 방법 A1: 고압 액체 크로마토그래피-질량 분석법 (LCMS)

[0392] 마이크로매스 매스린스(Micromass MassLynx) 소프트웨어를 사용하였고, 분석은 0.8 mL/분의 유속으로 (A) 아세토니트릴 및 (B) 물/0.1% 포름산의 혼합물로의 구배 용리 (구배: 5분에 걸쳐 5% A : 95% B → 95% A : 5% B, 0.5분 동안 95% A : 5% B, 1분에 걸쳐 95% A : 5% B → 5% A : 95% B, 0.5분 동안 5% A : 95% B)를 사용한 테르모 하이퍼실 골드(THERMO Hypersil Gold) C18 3 μ m 컬럼 (50 x 3 mm)이 장착된 아길런트(Agilent) 1100 시리즈 HPLC; 워터스-마이크로매스 플랫폼(Waters-Micromass Platform) I, 플랫폼 II 또는 ZQ 분광계 및 전기분무 (양성 및 음성 이온화); 정렬 다이오드 어레이 (190-490 nm); 보조 검출기 세데레(Sedere) (프랑스) 모델 섉덱스(SEDEX) 65 증기화 광산란 (ELS) 검출기 상에서 수행하였다.

[0393] · 방법 A2: 고압 액체 크로마토그래피-질량 분석법 (LCMS)

[0394] 마이크로매스 매스린스 소프트웨어를 사용하였고, 분석은 1.1 mL/분의 유속으로 (A) 메탄올 및 (B) 물/0.1% 포름산의 혼합물로의 구배 용리 (구배: 10분에 걸쳐 5% A : 95% B → 95% A : 5% B, 1분에 걸쳐 95% A : 5% B → 5% A : 95% B, 2분 동안 5% A : 95% B)를 사용한 워터스 엑스브리지(WATERS XBridge) C18 3.5 μ m 컬럼 (100 x 3 mm)이 장착된 워터스 알리언스(Waters Alliance) HPLC; 워터스-마이크로매스 플랫폼 II 분광계 및 전기분무 (양성 및 음성 이온화); 정렬 다이오드 어레이 (190-500 nm); 보조 검출기 세데레 (프랑스) 모델 섉덱스 85 증기화 광산란 (ELS) 검출기 상에서 수행하였다.

[0395] · 방법 A3: 고압 액체 크로마토그래피-질량 분석법 (LCMS)

[0396] 마이크로매스 매스린스 소프트웨어를 사용하였고, 분석은 1.1 mL/분의 유속으로 (A) 아세토니트릴 및 (B) 물/0.1% 포름산의 혼합물로의 구배 용리 (구배: 5분에 걸쳐 5% A : 95% B → 100% A, 0.5분 동안 100% A, 1분에 걸쳐 100% A → 5% A : 95% B, 0.5분 동안 5% A : 95% B)를 사용한 엑스브리지 C18 2.5 μ m 컬럼 (50 x 3 mm)이 장착된 아길런트 1100 시리즈 HPLC; 워터스-마이크로매스 ZQ 분광계 및 전기분무; 정렬 다이오드 어레이 (210-254 nm) 상에서 수행하였다.

- [0397] · 방법 B: 고압 액체 크로마토그래피 (HPLC) 정제
- [0398] HPLC 정제는 15 mL/분의 유속 (방법 B1) 또는 20 mL/분의 유속 (방법 B2)으로 (A) 아세트니트릴 및 (B) 물의 혼합물 (구배: 5분 동안 5% A : 95% B, 20분에 걸쳐 5% A : 95% B → 100% A, 8분 동안 100% A, 1분에 걸쳐 100% A → 5% A : 95% B, 11분 동안 5% A : 95% B)로 용리하는 마케레이 나겔 뉴클레오두르 (Macherey Nagel Nucleodur) C18 그래비티(Gravity) 5 μ m 컬럼 (21 x 100 mm, 카탈로그 번호 762101) 상에서 수행하였다.
- [0399] · 방법 C: 전자 이온화 (EI) 질량 스펙트럼
- [0400] EI 질량 스펙트럼은 핀니간(Finnigan) SSQ 7000 질량 분광계 (EI 모드: 70 eV, 공급원 온도 = 150 $^{\circ}$ C, 직접 도입)를 사용하여 기록하였다.
- [0401] · 방법 D: 화학적 이온화 (CI) 질량 스펙트럼
- [0402] CI 질량 스펙트럼은 핀니간 SSQ 7000 질량 분광계 (암모니아)를 사용하여 기록하였다.
- [0403] · 방법 E: ^1H 핵 자기 공명 (NMR) 스펙트럼
- [0404] ^1H NMR 스펙트럼은 브루커 아반스(Bruker Avance) Drx-500, 브루커 아반스 Drx-400 또는 브루커 아반스 DRX-300 분광계로 기록하였다.
- [0405] · 방법 F: 고압 액체 크로마토그래피 (HPLC) 정제
- [0406] HPLC 정제는 70 mL/분의 유속으로 (A) 아세트니트릴 및 (B) 물/0.01 M HCOONH₄/NH₄OH (9 내지 10의 pH)의 혼합물 (구배: 3분 동안 10% A : 90% B, 37분에 걸쳐 10% A : 90% B → 95% A : 5% B, 8분 동안 95% A : 5% B, 1분에 걸쳐 95% A : 5% B → 10% A : 90% B, 1분 동안 10% A : 90% B)로 용리하는 마케레이 나겔 VP 250/40 mm 뉴클레오두르 그래비티 100-10 C18 (카탈로그 번호 762250) 상에서 수행하였다.
- [0407] · 방법 G1: 고압 액체 크로마토그래피-질량 분석법 (LCMS)
- [0408] 마이크로매스 매스린스 소프트웨어를 사용하였고, 분석은 1.1 mL/분의 유속으로 (A) 아세트니트릴 및 (B) 물/0.1% 포름산의 혼합물로의 구배 용리 (구배: 4.7분에 걸쳐 5% A : 95% B → 95% A : 5% B, 0.5분에 걸쳐 95% A : 5% B → 5% A : 95% B, 0.8분 동안 5% A : 95% B)를 사용한 액퀴티(Acquity) UPLC BEH C18 1.7 μ m 컬럼 (2.1 x 100 mm)이 장착된 액퀴티 UPLC; 쿼트로 프레미에르(Quattro Premier) 분광계 및 전기분무; 정렬 다이오드 어레이 (210-400 nm) 상에서 수행하였다.
- [0409] · 방법 G2: 고압 액체 크로마토그래피-질량 분석법 (LCMS)
- [0410] 마이크로매스 매스린스 소프트웨어를 사용하였고, 분석은 0.6 mL/분의 유속으로 (A) 아세트니트릴 및 (B) 물/0.1% 포름산의 혼합물로의 구배 용리 (구배: 10분에 걸쳐 5% A : 95% B → 95% A : 5% B, 1분에 걸쳐 95% A : 5% B → 5% A : 95% B, 2분 동안 5% A : 95% B)를 사용한 액퀴티 UPLC BEH C18 1.7 μ m 컬럼 (2.1 x 100 mm)이 장착된 액퀴티 UPLC; 쿼트로 프레미에르 분광계 및 전기분무; 정렬 다이오드 어레이 (210-400 nm) 상에서 수행하였다.
- [0411] · 방법 H: 고압 액체 크로마토그래피 (HPLC) 정제 방법
- [0412] HPLC 정제는 20 mL/분의 유속으로 (A) 물 및 (B) 아세트니트릴의 혼합물로 용리하는 크로마실(Kromasil) 16 μ m C18 컬럼 (250 x 21.2 mm, PN A0490-250x212, Lot. No. DT0259, SN 9772196)을 사용한 바리안(Varian) HPLC 상에서 수행하였다. 수집 크기는 80초였다. 화합물의 질량 스펙트럼은 브루커 에스콰이어(Esquire) 3000 기기 상에서 얻었다. NMR 스펙트럼은 400 MHz에서 작동하는 브루커 아반스 분광계로 기록하였다.
- [0413] 컬럼 용리에 대한 구배:
- [0414] 1. 8,8'-[5-(N-4-메틸디티오-4,4-디메틸부타노일)아미노-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]의 정제
- [0415] 8분 동안 55% A : 45% B, 14분에 걸쳐 55% A : 45% B → 50% A : 50% B, 4분에 걸쳐 50% A : 50% B → 10% A : 90% B, 5분 동안 10% A : 90% B, 1분에 걸쳐 10% A : 90% B → 55% A : 45% B, 3분 동안 55% A : 45% B.

[0416] 2. 8,8'-[5-(N-4-메르캅토-4,4-디메틸부타노일)아미노-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]의 정제

[0417] 4분 동안 60% A : 40% B, 5분에 걸쳐 60% A : 40% B → 55% A : 45% B, 4분 동안 55% A : 45% B, 13분에 걸쳐 55% A : 45% B → 50% A : 50% B, 10초에 걸쳐 50% A : 50% B → 10% A : 90% B, 5분 동안 10% A : 90% B, 10초에 걸쳐 10% A : 90% B → 60% A : 40% B, 3분 동안 60% A : 40% B.

[0418] 3. 8,8'-[5-(N-메틸-N-(2-메틸디티오-2,2-디메틸에틸)아미노-1,3-벤젠디일(메틸렌옥시)]-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]의 정제

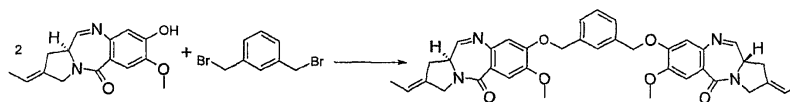
[0419] 8분 동안 60% A : 40% B, 16분에 걸쳐 60% A : 40% B → 45% A : 55% B, 2분에 걸쳐 45% A : 55% B → 10% A : 90% B, 5분 동안 10% A : 90% B, 1분에 걸쳐 10% A : 90% B → 60% A : 40% B, 3분 동안 60% A : 40% B.

[0420] 4. 8,8'-[5-(N-메틸-N-(2-메르캅토-2,2-디메틸에틸)아미노-1,3-벤젠디일(메틸렌옥시)]-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]의 정제

[0421] 8분에 걸쳐 65% A : 35% B → 60% A : 40% B, 19분에 걸쳐 60% A : 40% B → 50% A : 50% B, 10초에 걸쳐 50% A : 50% B → 10% A : 90% B, 5분 동안 10% A : 90% B, 10초에 걸쳐 10% A : 90% B → 65% A : 35% B, 3분 동안 65% A : 35% B.

[0422] 실시예 1:

[0423] 8,8'-[1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]



[0424]

[0425] 디메틸포름아미드 (0.5 mL) 중 예비-토메이마이신 (15 mg)의 교반 용액에 탄산칼륨 (22.8 mg), α, α'-디브로모-m-크실렌 (7.3 mg) 및 칼륨 요오다이드 (9.1 mg)를 첨가하였다. 반응물을 30℃에서 20시간 동안 교반하였다. 고체를 여과제거하고, 디메틸포름아미드 (0.2 mL)로 2회 세척한 다음 버렸다. 합한 디메틸포름아미드 용액에 물 (0.4 mL)을 첨가하고, 생성된 용액을 방법 B1에 따라 HPLC 정제를 위해 주입하였다. 적절한 분획을 합하고, 조우안 모델(Jouan Model) RC10.10. 장치에서 원심 증발에 의해 농축시켜 백색 분말로서 8,8'-[1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온] (3.33 mg)을 수득하였다:

[0426] LC/MS (방법 A1, 플랫폼 II): ES: m/z = 647 MH⁺

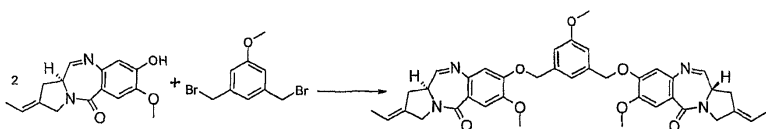
[0427] 체류 시간 = 3.53분

¹H N.M.R. (500 MHz, CDCl₃-d₁, δ (ppm)): 1,75 (d, J = 7,0 Hz, 6H); 2,96 (m, 4H); 3,89 (m, 2H); 3,96 (s, 6H); 4,27 (넓은 s, 4H); 5,17 (d, J = 12,5 Hz, 2H); 5,23 (d, J = 12,5 Hz, 2H); 5,60 (m, 2H); 6,85 (s, 2H); 7,36-7,43 (m, 3H); 7,51 (넓은 s, 1H); 7,53 (s, 2H); 7,63 (d, J = 4,5 Hz, 2H).

[0428]

[0429] 실시예 2:

[0430] 8,8'-[5-메톡시-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]



[0431]

[0432] 8,8'-[5-메톡시-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]은 1,3-비스-브로모메틸-5-메톡시-벤젠에서부터 출발하여 8,8'-

[1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온] (실시예 1)의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

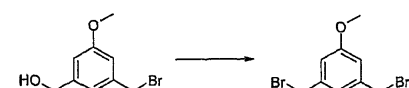
[0433] LC/MS (방법 A1, 플랫폼 II): ES: $m/z = 677 \text{ MH}^+$

[0434] 체류 시간 = 4.17분

$^1\text{H N.M.R.}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$, δ (ppm)): 1,75 (d, $J = 7,0 \text{ Hz}$, 6H); 2,96 (m, 4H); 3,81 (s, 3H); 3,89 (m, 2H); 3,96 (s, 6H); 4,26 (넓은 s, 4H); 5,14 (d, $J = 12,5 \text{ Hz}$, 2H); 5,21 (d, $J = 12,5 \text{ Hz}$, 2H); 5,60 (m, 2H); 6,82 (s, 2H); 6,95 (넓은 s, 2H); 7,07 (넓은 s, 1H); 7,53 (s, 2H); 7,63 (d, $J = 4,5 \text{ Hz}$, 2H).

[0435]
[0436] 1,3-비스-브로모메틸-5-메톡시-벤젠은 하기와 같이 제조할 수 있었다:

[0437]



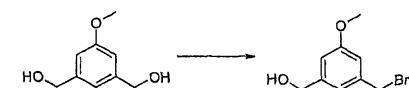
[0438] 무수 디클로로메탄 (10 mL) 중 1-브로모메틸-3-히드록시메틸-5-메톡시-벤젠 (420 mg)의 교반 용액에 아르곤 하에서 사브롬화탄소 (663 mg)를 첨가하였다. 생성된 용액을 0°C로 냉각시킨 후, 무수 디클로로메탄 (10 mL) 중 트리페닐포스핀 (500 mg)의 용액을 적가하였다. 반응 혼합물을 20시간 동안 실온에서 교반한 후에 진공 하에 농축시켜 잔류물을 얻었다. 상기 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피 (머크 수퍼바리오플래쉬(Merck SuperVarioFlash) 30 g 컬럼, Si60 15-40 μm , 40:60의 디클로로메탄/헵탄으로 용리함)에 의해 정제하여 1,3-비스-브로모메틸-5-메톡시-벤젠 (170 mg)을 제공하였다:

[0439] EI (방법 C): $m/z = 292 \text{ M}^+$. $m/z = 213 [\text{M} - \text{Br}]^+$. $m/z = 134 [213 - \text{Br}]^+$.

$^1\text{H N.M.R.}$ (400 MHz, DMSO-d_6 , δ (ppm)): 3,77 (s, 3H); 4,65 (s, 4H); 6,98 (넓은 s, 2H); 7,10 (넓은 s, 1H)

[0440]
[0441] 1-브로모메틸-3-히드록시메틸-5-메톡시-벤젠은 하기와 같이 제조할 수 있었다:

[0442]



[0443] 무수 디클로로메탄 (16 mL) 중 1,3-디히드록시메틸-5-메톡시-벤젠 (800 mg)의 교반 용액에 아르곤 하에서 사브롬화탄소 (3.47 g)를 첨가하였다. 생성된 용액을 0°C로 냉각시킨 후, 무수 디클로로메탄 (16 mL) 중 트리페닐포스핀 (2.68 g)의 용액을 적가하였다. 반응 혼합물을 20시간 동안 실온에서 교반한 후에 진공 하에 농축시켜 잔류물을 얻었다. 상기 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피 (머크 수퍼바리오프랩(Merck SuperVarioPrep) 90 g 컬럼, Si60 15-40 μm , 4:96의 메탄올/디클로로메탄으로 용리함)에 의해 정제하여 1-브로모메틸-3-히드록시메틸-5-메톡시-벤젠 (420 mg)을 제공하였다:

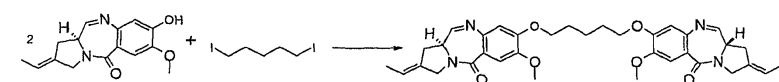
[0444] EI (방법 C): $m/z = 230 \text{ M}^+$. $m/z = 151 [\text{M}-\text{Br}]^+$.

$^1\text{H N.M.R.}$ (400 MHz, DMSO-d_6 , δ (ppm)): 3,75 (s, 3H); 4,46 (넓은 d, $J = 5,5 \text{ Hz}$, 2H); 4,65 (s, 2H); 5,22 (넓은 t, $J = 5,5 \text{ Hz}$, 1H); 6,83 (넓은 s, 1H); 6,88 (넓은 s, 1H); 6,97 (넓은 s, 1H)

[0445]
[0446] 실시예 3:

[0447] 8,8'-[1,5-벤젠디일비스(옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]

[0448]



[0449] 디메틸포름아미드 (0.5 mL) 중 예비-토메이마이신 (15 mg)의 교반 용액에 탄산칼륨 (22.8 mg) 및 1,5-디요오도

펜탄 (8.2 μ L)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 20시간 동안 교반하고, 추가 분량의 탄산칼륨 (8 mg)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 추가 20시간 동안 교반하였다.

[0450] 고체를 여과제거하고, 디메틸포름아미드 용액을 방법 B2에 따라 HPLC 정제를 위해 주입하였다. 적절한 분획을 합하고, 조우안 모델 RC10.10. 장치에서 원심 증발에 의해 농축시켜 백색 분말로서 8,8'-[1,5-펜탄디일비스(옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온] (4 mg)을 수득하였다:

[0451] LC/MS (방법 A2): ES: $m/z = 613 \text{ MH}^+$

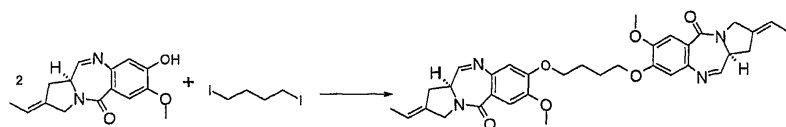
[0452] 체류 시간 = 9.04분

$^1\text{H N.M.R. (500 MHz, CDCl}_3\text{-d}_1, \delta \text{ (ppm))}$: 1,66 (부분적으로 가려진 m, 2H); 1,75 (넓은 d, $J = 7,0 \text{ Hz}$, 6H); 1,96 (m, 4H); 2,97 (넓은 d, $J = 7,0 \text{ Hz}$, 4H); 3,89 (m, 2H); 3,94 (s, 6H); 4,06 (m, 2H); 4,13 (m, 2H); 4,26 (넓은 s, 4H); 5,60 (m, 2H); 6,80 (s, 2H); 7,50 (s, 2H); 7,66 (d, $J = 4,5 \text{ Hz}$, 2H)

[0453]

[0454] 실시예 4:

[0455] 8,8'-[1,4-부탄디일비스(옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]



[0456]

[0457] 8,8'-[1,4-부탄디일비스(옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]은 1,4-디요오도부탄에서부터 출발하여 8,8'-[1,5-펜탄디일비스(옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온] (실시예 3)의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

[0458] LC/MS (방법 A1, 플랫폼 II): ES: $m/z = 599 \text{ MH}^+$. $m/z = 318,5 \text{ (M+H+K)}^{2+}/2$

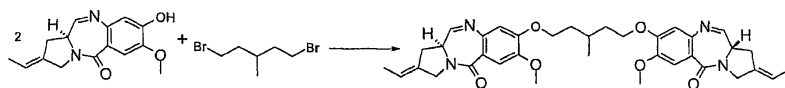
[0459] 체류 시간 = 3.23분

$^1\text{H N.M.R. (500 MHz, CDCl}_3\text{-d}_1, \delta \text{ (ppm))}$: 1,75 (넓은 d, $J = 7,0 \text{ Hz}$, 6H); 2,10 (m, 4H); 2,98 (넓은 d, $J = 7,0 \text{ Hz}$, 4H); 3,90 (m, 2H); 3,93 (s, 6H); 4,11 (m, 2H); 4,20 (m, 2H); 4,27 (넓은 s, 4H); 5,60 (m, 2H); 6,82 (s, 2H); 7,50 (s, 2H); 7,66 (d, $J = 4,5 \text{ Hz}$, 2H)

[0460]

[0461] 실시예 5:

[0462] 8,8'-[3-메틸-1,5-펜탄디일비스(옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]



[0463]

[0464] 8,8'-[3-메틸-1,5-펜탄디일비스(옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]은 1,5-디브로모-3-메틸펜탄에서부터 출발하여 8,8'-[1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온] (실시예 1)의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

[0465] LC/MS (방법 A1, 플랫폼 II): ES: $m/z = 627 \text{ MH}^+$

[0466] 체류 시간 = 3.92분

[0467] 실시예 6:

[0468] 8,8'-[2,6-피리딘디일비스(옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]



[0470] 8,8'-[2,6-피리딘디일비스(옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]은 2,6-비스-브로모메틸-피리딘에서부터 출발하여 8,8'-[1,3-벤젠-디일비스(메틸렌옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온] (실시예 1)의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

[0471] LC/MS (방법 A1, ZQ): ES: $m/z = 648 \text{ MH}^+$

[0472] 체류 시간 = 3.21분

$^1\text{H N.M.R.}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$, δ (ppm)): 1,75 (넓은 d, $J = 6,5 \text{ Hz}$, 6H); 2,94 - 2,99 (m, 4H); 3,90 (m, 2H); 3,99 (s, 6H); 4,27 (넓은 s, 4H); 5,32 (s, 4H); 5,60 (m, 2H); 6,86 (s, 2H); 7,48 (d, $J = 8,0 \text{ Hz}$, 2H); 7,56 (s, 2H); 7,64 (d, $J = 4,5 \text{ Hz}$, 2H); 7,74 (t, $J = 8,0 \text{ Hz}$, 1H).

[0473]

[0474] 실시예 7:

[0475] 8,8'-[4-(3-tert-부톡시카르보닐아미노프로필옥시)-2,6-피리딘-디일비스(메틸렌옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]은 하기와 같이 제조할 수 있었다:



[0477] 디메틸포름아미드 (0.5 mL) 중 예비-토메이마이신 (30 mg)의 교반 용액에 탄산칼륨 (45.7 mg), 디메틸포름아미드 (0.5 mL) 중 4-(3-tert-부톡시카르보닐아미노-프로폭시)-2,6-비스-(토실옥시메틸)-피리딘 (41 mg)의 용액 및 칼륨 요오다이드 (18.3 mg)를 첨가하였다. 반응물을 30°C에서 20시간 동안 교반하였다. 고체를 여과제거하고, 디메틸포름아미드 (0.2 mL)로 세척하였다. 합한 디메틸포름아미드 용액에 물 (0.5 mL)을 첨가하고, 침전물이 완전히 용해될 때까지 포름산을 첨가하였다. 생성된 용액을 방법 B1에 따라 HPLC 정제를 위해 주입하였다. 적절한 분획을 합하고, 조우안 모델 RC10.10. 장치에서 원심 증발에 의해 농축시켜 8,8'-[4-(3-tert-부톡시카르보닐아미노프로필옥시)-2,6-피리딘-디일비스(메틸렌옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온] (8.3 mg)을 수득하였다:

[0478] LC/MS (방법 A1, 플랫폼 I): ES: $m/z = 857 \text{ MH}^+ + 2\text{H}_2\text{O}$.

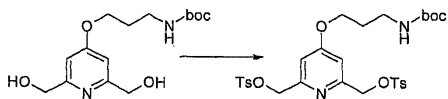
[0479] $m/z = 839 \text{ MH}^+ + \text{H}_2\text{O}$. $m/z = 821 \text{ MH}^+$. $m/z = 721 [\text{M-C}_5\text{O}_2\text{H}_8] + \text{H}^+$

[0480] 체류 시간 = 3.67분

$^1\text{H N.M.R.}$ (500 MHz, $\text{CD}_3\text{CO}_2\text{D-d}_4$, δ (ppm)): 1,41 (s, 9H); 1,71 (d, $J = 6,5 \text{ Hz}$, 6H); 2,08 (m, 2H); 2,95 (m, 4H); 3,34 (m, 2H); 3,90 (s, 6H); 4,06 (m, 2H); 4,18 (m, 2H); 4,24 - 4,36 (m, 4H); 4,43 (t, $J = 6,0 \text{ Hz}$, 2H); 5,50 (넓은 s, 4H); 5,61 (m, 2H); 6,80 - 7,70 (매우 넓은 m, 2H); 6,95 (넓은 s, 2H); 7,48 - 7,58 (m, 4H).

[0481]

[0482] 4-(3-tert-부톡시카르보닐아미노-프로폭시)-2,6-비스-(토실옥시메틸)-피리딘은 하기와 같이 제조할 수 있었다:



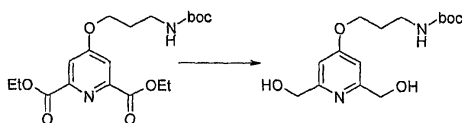
[0483]

[0484] 디클로로메탄 (0.7 mL) 중 4-(3-tert-부톡시카르보닐아미노-프로폭시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘 (76 mg)의 예비냉각된 (0°C) 용액에 물 (0.3 mL) 중 수산화칼륨 (30 mg)의 용액을 첨가하였다. 토실 클로라이드 (93.7 mg)를 첨가하고, 생성된 불균질 혼합물을 1시간 동안 격렬하게 진탕시킨 다음, 분별 깔때기에서 디클로로메탄 및 물을 사용하여 세척하였다. 층을 분리하고, 수성 층을 디클로로메탄으로 3회 추출하였다. 합한 유기 용액을 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켜 잔류물을 얻었다. 상기 잔류물을 헵탄 (A) 및 에틸 아세테이트 (B)의 혼합물로의 구배 용리 (구배: 90% A : 10% B → 50% A : 50% B)를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피 (인터크롬 푸리플래쉬(Interchrom Puriflash) 10 g 컬럼, SiOH 15-35 μm)에 의해 정제하여 4-(3-tert-부톡시카르보닐아미노-프로폭시)-2,6-비스-(토실옥시메틸)-피리딘 (56 mg)을 제공하였다:

[0485] LC/MS (방법 A1, 플랫폼 I): ES: m/z = 621 MH⁺

[0486] 체류 시간 = 4.90분

[0487] 4-(3-tert-부톡시카르보닐아미노-프로폭시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘은 하기와 같이 제조할 수 있었다:



[0488]

[0489] 무수 에탄올 (5 mL) 중 4-(3-tert-부톡시카르보닐아미노-프로폭시)-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르 (150 mg)의 용액에 나트륨 보로하이드라이드 (43 mg) 및 염화칼슘 (128 mg)을 첨가하였다. 4시간 동안 교반한 후, 수소 발생이 중지되었고, 물을 사용하여 반응물을 키펠링시켰다. 용매를 감압 하에 증발시켰다. 이어서 잔류물을 분별 깔때기에서 디클로로메탄 및 물을 사용하여 세척하였다. 층을 분리하고, 수성 층을 디클로로메탄으로 3회 추출하였다. 합한 유기 용액을 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켜 4-(3-tert-부톡시카르보닐아미노-프로폭시)-2,6-비스-(히드록시메틸)피리딘 (80 mg)을 제공하였다:

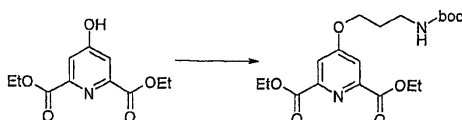
[0490] LC/MS (방법 A1, ZQ): ES: m/z = 313 MH⁺

[0491] 체류 시간 = 1.90분

¹H N.M.R. (400 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)): 1,37 (s, 9H); 1,84 (m, 2H); 3,08 (q, J = 6,5 Hz, 2H); 4,05 (t, J = 6,5 Hz, 2H); 4,45 (d, J = 6,0 Hz, 4H); 5,32 (t, J = 6,0 Hz, 2H); 6,84 (s, 2H); 6,90 (넓은 t, J = 6,5 Hz, 1H).

[0492]

[0493] 4-(3-tert-부톡시카르보닐아미노-프로폭시)-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르는 하기와 같이 제조할 수 있었다:



[0494]

[0495] 켈리담산의 디에틸 에스테르 (문헌 [Scrimin, P.; Tecilla, P.; Tonellato, U.; Vendrame, T. J. Org. Chem. 1989, 54, 5988]) (150 mg)를 무수 디메틸포름아미드 (2 mL) 중에 용해시켰다. 3-(tert-부톡시-아미노)-프로필 브로마이드 (164 mg) 및 탄산칼륨 (130 mg)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 70°C에서 15시간 동안 교반하였다. 포화 염화암모늄 수용액을 사용하여 반응물을 키펠링시킨 후에 분별 깔때기에서 에틸 아세테이트를 사용하여 세척하였다. 층을 분리하고, 수성 층을 에틸 아세테이트로 3회 추출하였다. 합한 유기 용액을 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켜 잔류물을 얻었다. 상기 잔류물을 헵탄 (A) 및 에틸 아세테이트 (B)의 혼합물로의 구배 용리 (구배: 60% A : 40% B → 50% A : 50% B)를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피 (머크 수퍼바리오플래쉬 30 g 컬럼, Si60 15-40 μm)에 의해 정제하여 4-(3-tert-부톡시카르보닐아미노-프로폭시)-피

리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르 (150 mg)를 제공하였다:

[0496]

CI (방법 D): $m/z = 397 \text{ MH}^+$

^1H N.M.R. (400 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): 1,34 (t, $J = 7,0$ Hz, 6H); 1,36 (s, 9H); 1,86 (m, 2H); 3,10 (q, $J = 6,5$ Hz, 2H); 4,21 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H); 4,37 (q, $J = 7,0$ Hz, 4H); 6,89 (넓은 m, 1H); 7,71 (s, 2H)

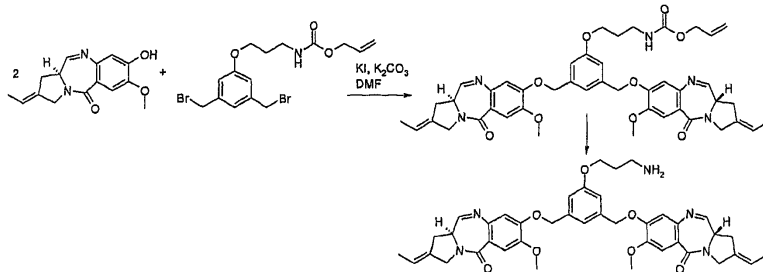
[0497]

실시예 8:

[0498]

[0499]

8,8'-[5-(3-아미노프로필옥시)-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]은 하기와 같이 제조할 수 있었다:



[0500]

[0501]

디메틸포름아미드 (0.7 mL) 중 예비-토메이마이신 (21 mg)의 교반 용액에 탄산칼륨 (32 mg), 1-(3-알릴옥시카르보닐아미노-프로필옥시)-3,5-비스-(브로모메틸)-벤젠 (16.2 mg) 및 칼륨 요오다이드 (12.8 mg)를 첨가하였다. 반응물을 30°C에서 20시간 동안 교반하였다. 고체를 여과제거하고, 디메틸포름아미드 (0.2 mL)로 2회 세척한 다음 버렸다. 합한 디메틸포름아미드 용액에 물 (0.5 mL)을 첨가하고, 생성된 침전물을 여과제거하고, 물로 세척하고, 조우안 모델 RC10.10. 장치에서 원심 증발에 의해 건조시켰다.

[0502]

디메틸포름아미드 (0.8 mL) 중에 용해된 상기 조 혼합물 (27 mg)에 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐 (2 mg), 트리페닐포스핀 (0.9 mg) 및 피롤리딘 (5.6 μL)을 첨가하였다. 30°C에서 15시간 동안 교반한 후, 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐 (2 mg), 트리페닐포스핀 (1 mg) 및 피롤리딘 (2.8 μL)을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 추가 15시간 동안 교반하였다. 상기 디메틸포름아미드 용액에 물 (0.4 mL)을 첨가하고, 침전물이 완전히 용해될 때까지 포름산을 첨가하였다. 생성된 용액을 방법 B1에 따라 HPLC 정제를 위해 주입하였다. 적절한 분획을 합하고, 조우안 모델 RC10.10. 장치에서 원심 증발에 의해 농축시켜 8,8'-[5-(3-아미노프로필옥시)-1,3-벤젠디일비스-(메틸렌옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온] (0.2 mg)을 수득하였다.

[0503]

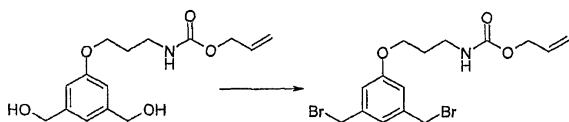
LC/MS (방법 A1, 플랫폼 II): ES: $m/z = 800 \text{ MH}^+$

[0504]

체류 시간 = 2.84분

[0505]

1-(3-알릴옥시카르보닐아미노-프로필옥시)-3,5-비스-(브로모메틸)-벤젠은 하기와 같이 제조할 수 있었다:



[0506]

[0507]

디클로로메탄 (3 mL) 중 1-(3-알릴옥시카르보닐아미노-프로필옥시)-3,5-비스-(히드록시-메틸)-벤젠 (70 mg)의 현탁액에 사브롬화탄소 (248 mg) 및 디클로로메탄 (2 mL) 중 트리페닐포스핀 (199 mg)의 용액을 첨가하였다. 3시간 동안 환류한 후, 반응 혼합물을 실리카 겔 크로마토그래피 (머크 수퍼마리오플래쉬 25 g 컬럼, Si60 15-40 μm , 디클로로메탄으로 용리함)에 의해 정제하여 1-(3-알릴옥시카르보닐아미노-프로필옥시)-3,5-비스-(브로모메틸)-벤젠 (52 mg)을 제공하였다:

[0508]

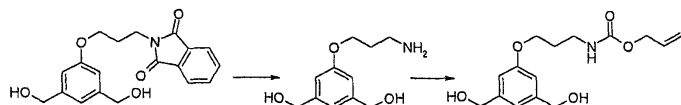
LC/MS (방법 A1, 플랫폼 II): ES: $m/z = 420 \text{ MH}^+$

[0509] 체류 시간 = 4.50분

^1H N.M.R. (400 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)) : 1,85 (m, 2H) ; 3,15 (q, J = 6,5 Hz, 2H) ; 3,99 (t, J = 6,5 Hz, 2H) ; 4,46 (넓은 d, J = 5,5 Hz, 2H) ; 4,65 (s, 4H) ; 5,16 (넓은 d, J = 11,0 Hz, 1H) ; 5,26 (넓은 d, J = 17,5 Hz, 1H) ; 5,90 (m, 1H) ; 6,96 (d, J = 1,5 Hz, 2H) ; 7,09 (t, J = 1,5 Hz, 1H) ; 7,29 (넓은 t, J = 6,5 Hz, 1H).

[0510]

[0511] 1-(3-알릴옥시카르보닐아미노-프로필옥시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠은 하기와 같이 제조할 수 있었다:



[0512]

[0513] 5-(3-프탈이미도-프로필옥시)-1,3-비스-(히드록시메틸)-벤젠 (1.45 g)을 디클로로메탄 및 에탄올의 혼합물 (25 mL, 25:75) 중에 용해시켰다. 히드라진 수화물 (0.62 mL)을 첨가하고, 반응 혼합물을 1시간 동안 환류하였다. 용매를 진공 하에 제거하고, 잔류물을 디클로로메탄 중에 용해시켰다. 불용성 잔류물을 여과제거하고, 실리카 겔 크로마토그래피 (머크 수퍼바리오프랩 70 g 컬럼, Si60 15-40 μm , 20:80의 메탄올/디클로로메탄에 이어서 0.5:25:75의 수산화암모늄/메탄올/디클로로메탄으로 용리함)에 의해 정제하여 추가의 전환에 적합한 1-(3-아미노-프로필옥시)-3,5-비스-(히드록시-메틸)-벤젠 (1 g)을 제공하였다.

[0514]

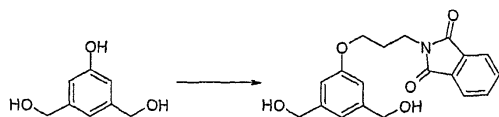
1-(3-아미노-프로필옥시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠 샘플 (100 mg)을 메탄올 (5 mL) 중에 용해시켰다. 냉각된 (0°C) 용액에 물 (5 mL) 중 탄산나트륨 (120 mg)의 용액 및 알릴 클로로포르메이트 (42 μL)를 첨가하였다. 0°C에서 30분 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 추가 15시간 동안 실온에서 교반하였다. 용매를 진공 하에 제거하였다. 이어서 잔류물을 분별 깔때기에서 에틸 아세테이트 및 물을 사용하여 세척하였다. 층을 분리하고, 수성 층을 에틸 아세테이트로 2회 추출하였다. 합한 유기 용액을 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켜 5-(3-알릴옥시카르보닐아미노-프로필옥시)-2,6-비스-(히드록시메틸)벤젠 (75 mg)을 제공하였다:

[0515] EI (방법 C): $m/z = 295$ M^+ . $m/z = 142$ ($\text{M}-\text{C}_8\text{H}_9\text{O}_3$) $^+$. $m/z = 41$ C_3H_5^+

^1H N.M.R. (300 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)) : 1,85 (m, 2H) ; 3,14 (q, J = 6,5 Hz, 2H) ; 3,96 (t, J = 6,5 Hz, 2H) ; 4,41 - 4,48 (m, 6H) ; 5,11 (부분적으로 가려진 t, J = 5,5 Hz, 2H) ; 5,16 (qd, J = 1,5 및 10,5 Hz, 1H) ; 5,26 (qd, J = 1,5 및 17,0 Hz, 1H) ; 5,90 (m, 1H) ; 6,72 (넓은 s, 2H) ; 6,83 (넓은 s, 1H) ; 7,26 (넓은 t, J = 6,5 Hz, 1H)

[0516]

[0517] 5-(3-프탈이미도-프로필옥시)-1,3-비스-(히드록시메틸)-벤젠은 하기와 같이 제조할 수 있었다:



[0518]

[0519] 3,5-비스-히드록시메틸페놀 (문헌 [Felder, D.; Gutierrez Nava, M.; del Pilar Carreon, M.; Eckert, J.F.; Luccisano, M.; Schall, C; Masson, P.; Gallani, J.L.; Heinrich, B.; Guillon, D.; Nierengarten, J.F. Helv. Chimica Acta 2002, 85, 288]) (2.35 g), N-(3-브로모-프로필)-프탈이미드 (4.49 g) 및 탄산칼륨 (10.53 g)을 아세토니트릴 (25 mL) 중에서 혼합하고, 12시간 동안 환류하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 용매를 감압 하에 제거하였다. 잔류물을 디클로로메탄 중에 재용해시키고, 불용성 잔류물을 여과제거하였다. 여과물을 물로 세척하고, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켜 잔류물을 얻었다. 상기 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피 (머크 수퍼바리오프랩 90 g 컬럼, Si60 15-40 μm , 4:96의 메탄올/디클로로메탄으로 용리함)에 의해 정제하여 5-(3-프탈이미도-프로필옥시)-1,3-비스-(히드록시메틸)벤젠 (1,45 g)을 제공하였다:

[0520] LC/MS (방법 A1, 플랫폼 II): ES: $m/z = 342$ MH^+ . $m/z = 324$ ($\text{MH}^+-\text{H}_2\text{O}$)

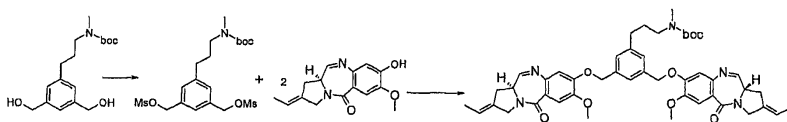
[0521] 체류 시간 = 2.90분

^1H N.M.R. (300 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)) : 2,05 (m, 2H) ; 3,76 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H) ; 3,99 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H) ; 4,40 (d, $J = 5,5$ Hz, 4H) ; 5,09 (t, $J = 5,5$ Hz, 2H) ; 6,59 (넓은 s, 2H) ; 6,82 (넓은 s, 1H) ; 7,80 - 7,90 (m, 4H)

[0522]

[0523] 실시예 9:

[0524] 8,8'-[5-(N-메틸-3-tert-부톡시카르보닐아미노프로필)-1,3-벤젠다이일비스(메틸렌옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]은 하기와 같이 제조할 수 있었다:



[0525]

[0526] 디클로로메탄 (2 mL) 중 5-(N-메틸-3-tert-부톡시카르보닐아미노프로필)-1,3-비스-(히드록시메틸)-벤젠 (50 mg) 및 트리에틸아민 (113 μL)의 냉각된 (0°C) 용액에 메탄술포닐 클로라이드 (26 μL)를 첨가하였다. 30분 후, 반응 혼합물을 물로 2회 세척하고, 생성된 디클로로메탄 용액을 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켜 점성 오일 (50.3 mg)을 수득하였다.

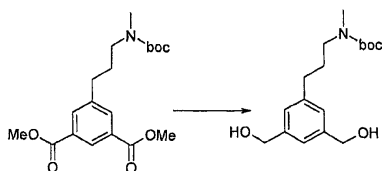
[0527] 디메틸포름아미드 (0.5 mL) 중 예비-토메이마이신 (15 mg)의 용액을 상기 조 화합물 (13 mg), 탄산칼륨 (23 mg) 및 칼륨 요오다이드 (9 mg)의 혼합물에 첨가하였다. 반응 혼합물을 30°C에서 20시간 동안 교반하였다. 또다른 조 화합물 샘플 (6 mg)을 첨가하고, 반응 혼합물을 30°C에서 추가 20시간 동안 교반하였다. 고체를 여과제거하고, 디메틸포름아미드 (0.2 mL)로 세척한 다음 버렸다. 상기 혼합한 디메틸포름아미드 용액에 물 (0.4 mL), 포름산 1 방울 및 추가의 물 (1.5 mL)을 첨가하였다.

[0528] 생성된 현탁액 샘플 (2 mL)을 여과하고, 생성된 고체를 진공 하에서 건조시켜 8,8'-[5-(N-메틸-3-tert-부톡시카르보닐-아미노프로필)-1,3-벤젠다이일비스(메틸렌옥시)]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온] (3.1 mg)을 제공하였다:

[0529] LC/MS (방법 A1, 플랫폼 II): ES: $m/z = 818 \text{ MH}^+$

[0530] 체류 시간 = 4.11분

[0531] 5-(N-메틸-3-tert-부톡시카르보닐아미노프로필)-1,3-비스-(히드록시메틸)-벤젠은 하기와 같이 제조할 수 있었다:



[0532]

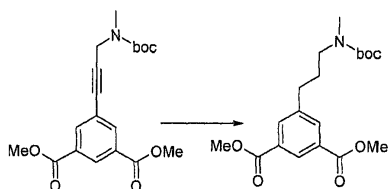
[0533] 테트라히드로푸란 (2 mL) 중 5-(N-메틸-3-tert-부톡시카르보닐아미노프로필)-벤젠-1,3-디카르복실산 디에틸 에스테르 (100 mg)의 냉각된 (-5°C) 용액에 디에틸 에테르 중의 1 M 리튬 알루미늄 히드라이드 용액 (0.55 mL)을 천천히 첨가하였다. 첨가 종료 10분 후, 기체 발생이 중지될 때까지 황산나트륨 데카히드레이트를 첨가하였다. 고체를 여과제거하고, 에틸 아세테이트로 2회 세척하고, 혼합한 유기 용액을 진공 하에 농축시켜 점성 오일로서 5-(N-메틸-3-tert-부톡시카르보닐아미노프로필)-1,3-비스-(히드록시메틸)-벤젠 (66.8 mg)을 제공하였다:

[0534] CI (방법 D): $m/z = 327 \text{ MNH}_4^+$. $m/z = 310 \text{ MH}^+$. $m/z = 271 (\text{MNH}_4^+ - \text{C}_4\text{H}_8)$

^1H N.M.R. (300 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)) : 1,37 (넓은 s, 9H) ; 1,75 (m, 2H) ; 2,45 - 2,54 (가려진 m, 2H) ; 2,77 (s, 3H) ; 3,18 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H) ; 4,45 (d, $J = 5,5$ Hz, 4H) ; 5,08 (t, $J = 5,5$ Hz, 2H) ; 7,00 (넓은 s, 2H) ; 7,08 (넓은 s, 1H)

[0535]

[0536] 5-(N-메틸-3-tert-부톡시카르보닐아미노프로필)-벤젠-1,3-디카르복실산 디에틸 에스테르는 하기와 같이 제조할 수 있었다:



[0537]

[0538] 메탄올 (10 mL) 중 5-(N-메틸-3-tert-부톡시카르보닐아미노프로핀-1-일)-벤젠-1,3-디카르복실산 디에틸 에스테르 (890 mg)의 용액에 탄소 상의 10% 팔라듐 (89 mg)을 첨가하고, 상기 용액을 수소 분위기 (1 bar)하에서 18 시간 동안 실온에서 교반하였다. 고체를 여과제거하고, 용매를 진공 하에 제거하여 황색 오일로서 5-(N-메틸-3-tert-부톡시카르보닐아미노프로필)-벤젠-1,3-디카르복실산 디에틸 에스테르 (767 mg)를 수득하였다:

[0539]

EI (방법 C): $m/z = 365 \text{ M}^+$. $m/z = 309 \text{ (M-C}_4\text{H}_8\text{)}^+$.

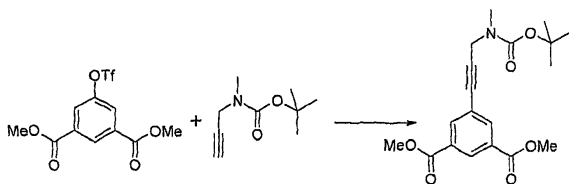
[0540]

$m/z = 265 \text{ (} m/z = 309\text{-CO}_2\text{)}^+$. $m/z = 57 \text{ C}_4\text{H}_9^+$. $m/z = 44 \text{ C}_2\text{H}_6\text{N}^+$

$^1\text{H N.M.R. (400 MHz, DMSO-d}_6\text{, } \delta \text{ (ppm))}$: 1,32 (넓은 s, 9H); 1,79 (m, 2H); 2,70 (t, $J = 7,0 \text{ Hz}$, 2H); 2,76 (s, 3H); 3,16 (m, 2H); 3,87 (s, 6H); 8,06 (d, $J = 2,0 \text{ Hz}$, 2H); 8,32 (t, $J = 2,0 \text{ Hz}$, 1H)

[0541]

[0542] 5-(N-메틸-3-tert-부톡시카르보닐아미노프로핀-1-일)-벤젠-1,3-디카르복실산 디에틸 에스테르는 하기와 같이 제조할 수 있었다:



[0543]

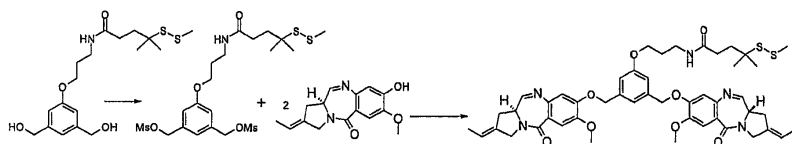
[0544] 5-트리플루오로메탄술포닐옥시-이소프탈산 디메틸 에스테르 (문헌 [Bodwell, G.J.; Fleming, J.J.; Mannion, M.R.; Miller, D.O. J. Org. Chem. 2000, 65(17), 5360]) (1 g)를 아세트니트릴 2 mL 중에 용해시켰다. N-메틸-N-tert-부톡시카르보닐-프로파글아민 (문헌 [Bradbury, B.J.; Baumgold, J.; Jacobsen, K.A. J. Med. Chem. 1990, 33(2), 741]) (643 mg), 비스(트리페닐포스핀)팔라듐 클로라이드 (205 mg), 구리 요오다이드 (56 mg) 및 트리에틸아민 (591 mg)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 실온에서 15시간 동안 교반하였다. 용매를 감압 하에 증발시켜 제거한 다음, 잔류물을 분별 깔때기에서 에틸 아세테이트 및 물을 사용하여 세척하였다. 층을 분리하고, 수성 층을 에틸 아세테이트로 1회 추출하였다. 합한 유기 용액을 포화 염화나트륨 수용액으로 세척하고, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켜 잔류물을 얻었다. 상기 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피 (바이오태그 플래쉬(Biotage FLASH) 40+M 100 g 컬럼, SiOH 32-63 μm , 20:80의 에틸 아세테이트/헵탄으로 용리함)에 의해 정제하여 5-(N-메틸-3-tert-부톡시카르보닐아미노프로핀-1-일)-벤젠-1,3-디카르복실산 디에틸 에스테르 (896 mg)를 제공하였다:

$^1\text{H N.M.R. (300 MHz, DMSO-d}_6\text{, } \delta \text{ (ppm))}$: 1,43 (s, 9H); 2,90 (s, 3H); 3,90 (s, 6H); 4,30 (s, 2H); 8,16 (d, $J = 1,5 \text{ Hz}$, 2H); 8,42 (t, $J = 1,5 \text{ Hz}$, 1H)

[0545]

[0546] 실시예 10:

[0547] 8,8'-{5-[3-(4-메틸-4-메틸디술포닐-펜타노일아미노)-프로필옥시]-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)}-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]은 하기와 같이 제조할 수 있었다:



[0548]

[0549]

디클로로메탄 (1.5 mL) 중 1-[3-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일아미노)-프로필옥시]-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠 (45 mg) 및 트리에틸아민 (49 μ L)의 냉각된 (0℃) 용액에 메탄술포닐 클로라이드 (19 μ L)를 첨가하였다. 30분 후, 반응 혼합물을 물로 2회 세척하고, 생성된 디클로로메탄 용액을 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켜 점성 오일 (39 mg)을 얻었다.

[0550]

디메틸포름아미드 (0.9 mL) 중 예비-토메이마이신 (26 mg)의 용액에 탄산칼륨 (40 mg), 칼륨 요오다이드 (16 mg) 및 상기 조 화합물 샘플 (31 mg)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 30℃에서 20시간 동안 교반하였다. 또다른 조 화합물 샘플 (6 mg)을 첨가하고, 반응 혼합물을 30℃에서 추가 20시간 동안 교반하였다. 고체를 여과제거하고, 디메틸포름아미드 (0.3 mL)로 세척한 다음 버렸다. 상기 합한 디메틸포름아미드 용액에 물 (1.6 mL)을 첨가하고, 생성된 고체를 여과하고, 물로 세척하고, 진공 하에서 건조시켜 잔류물을 제공하였다. 상기 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피 (인터크롬 푸리플래쉬 2 g 컬럼, SiOH 15-35 μ m, 95:5의 디클로로메탄/메탄올로 용리함)에 의해 정제한 후에 실리카 겔 크로마토그래피 (크로마본드(Chromabond) OH 2 g 컬럼, 45 μ m, 디클로로메탄으로 용리함)에 의해 추가로 정제하여 8,8'-{5-[3-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일아미노)프로필옥시]-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)}-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온] (0.2 mg)을 제공하였다:

[0551]

LC/MS (방법 A1, 플랫폼 I): ES: $m/z = 896 \text{ MH}^+$

[0552]

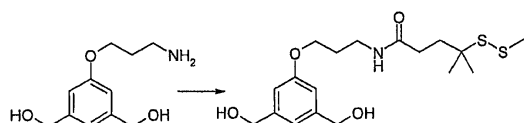
체류 시간 = 4.09분

^1H N.M.R. (500 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$, δ (ppm)): 1,29 (s, 6H); 1,75 (d, $J = 6,5$ Hz, 6H); 1,92 - 2,03 (m, 4H); 2,28 (m, 2H); 2,39 (s, 3H); 2,97 (m, 4H); 3,45 (q, $J = 6,0$ Hz, 2H); 3,89 (q, $J = 5,5$ Hz, 2H); 3,96 (s, 6H); 4,04 (t, $J = 5,0$ Hz, 2H); 4,27 (넓은 s, 4H); 5,14 (d, $J = 12,5$ Hz, 2H); 5,20 (d, $J = 12,5$ Hz, 2H); 5,60 (m, 2H); 5,84 (넓은 t, $J = 6,0$ Hz, 1H); 6,83 (s, 2H); 6,94 (s, 2H); 7,09 (s, 1H); 7,53 (s, 2H); 7,64 (d, $J = 5,0$ Hz, 2H).

[0553]

[0554]

1-[3-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일아미노)-프로필옥시]-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠



[0555]

[0556]

디메틸포름아미드 (1 mL) 중 1-(3-아미노-프로필옥시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠 (50 mg)의 용액에 4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜탄산 (44 mg), N,N'-디이소프로필카르보디이미드 (35 mL) 및 1-히드록시벤조트리아졸 히드레이트 (5.8 mg)를 첨가하였다. 실온에서 15시간 후, 상기 반응 혼합물에 물을 첨가하고, 수용액을 에틸 아세테이트로 2회 추출하였다. 합한 유기 용액을 포화 염화나트륨 수용액으로 세척하고, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켜 잔류물을 얻었다. 상기 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피 (인터크롬 푸리플래쉬 5 g 컬럼, SiOH 15-35 μ m), 5:95의 메탄올/디클로로메탄으로 용리함)에 의해 정제하여 1-[3-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일아미노)-프로필옥시]-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠 (48 mg)을 제공하였다:

[0557]

LC/MS (방법 A1, ZQ): ES: $m/z = 388 \text{ MH}^+$

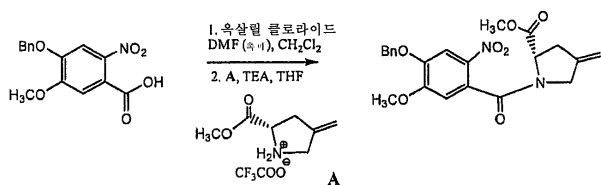
[0558]

체류 시간 = 3.03분

^1H N.M.R. (300 MHz, DMSO-d_6 , δ (ppm)): 1,24 (s, 6H); 1,76 - 1,87 (m, 4H); 2,16 (m, 2H); 2,40 (s, 3H); 3,19 (q, $J = 6,5$ Hz, 2H); 3,95 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H); 4,44 (넓은 d, $J = 5,5$ Hz, 4H); 5,12 (d, $J = 5,5$ Hz, 2H); 6,73 (넓은 s, 2H); 6,83 (넓은 s, 1H); 7,92 (넓은 t, $J = 5,5$ Hz, 1H)

[0559]

[0560] 실시예 11: 출발 생성물 및/또는 중간체의 제조



[0561]

[0562]

무수 디클로로메탄 (80 mL) 및 THF (5 mL) 중 4-벤질옥시-5-메톡시-2-니트로벤조산 (4.8 g, 16 mmol)의 용액에 실온에서 옥살릴 클로라이드 (2.8 mL, 32 mmol) 및 DMF (30 μ L, 0.38 mmol)를 첨가하였다. DMF의 첨가 후에 다량의 버블이 형성되었다. 상기 혼합물을 밤새 교반한 다음, 용매를 진공 하에서 회전 증발에 의해 제거하였다. 무수 디클로로메탄을 첨가하여 잔류물을 한번 더 공-증발시켜 황색 고체로서 아세틸 클로라이드를 제공하였다.

[0563]

무수 THF (80 mL) 중 4-메틸렌-L-프롤린 메틸 에스테르 (화합물 A, 3.95 g, 15.5 mmol)의 용액에 0°C에서 트리 에틸아민 (6.7 mL, 48 mmol)을 첨가하였다. 2분 후, 무수 THF (80 mL) 중 상기 아세틸 클로라이드를 상기 온도에서 캐놀라를 통해 10분 안에 빠르게 첨가하였다. 수득된 황색의 탁한 용액을 30분 동안 0 내지 5°C에서 교반한 후에 4시간 동안 실온에서 교반하였다. 반응 용액을 에틸 아세테이트 및 물로 희석하였다. 수성 층을 에틸 아세테이트로 2회 추출하고, 합한 유기 층을 2% HCl 용액 및 염수로 세척하고, 무수 황산마그네슘 상에서 건조시켰다. 여과하고, 용매를 제거하였다. 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피 (헥산/AcOEt, 1:1, 1:1.5)에 의해 정제하여 황색 고체로서 (2S)-4-(메틸렌)-1-[5-메톡시-2-니트로-4-(페닐메톡시)벤조일]-2-피롤리딘카르복실산 메틸 에스테르 (5.6 g, 수율 = 85%)를 제공하였다.

^1H NMR (400 Hz, CDCl_3): 화합물은 한 쌍의 뚜렷한 회전 이성질체로 나타남.

δ 7.76 (s, 0.7H), 7.73 (s, 0.3H), 7.43-7.29 (m, 5H), 6.83 (s, 0.7H), 6.80 (s, 0.3H), 5.17 (s, 1.4H), 5.16 (s, 0.6H), 5.10-4.89 (m, 2.7H), 4.57 (d, J = 16 Hz, 0.3H), 4.19-4.12 (m, 0.7H), 3.95-3.77 (m, 6.3H), 3.57 (s, 1H), 3.06-2.96 (m, 1H), 2.73-2.62 (m, 1H); ^{13}C NMR (400 Hz, CDCl_3): 171.8, 171.7, 166.5, 166.2, 154.9, 154.4, 148.25, 148.18, 141.7, 141.3, 137.19, 137.13, 135.3, 135.2, 128.7, 128.43, 128.41, 127.5, 127.3, 109.5, 109.1, 109.0, 108.9, 71.3, 60.6, 58.1, 56.7, 56.5, 52.39, 52.37, 52.0, 50.2, 37.1, 35.5; MS (ESI): m/z 449.3 (M + Na) $^+$.

[0564]



[0565]

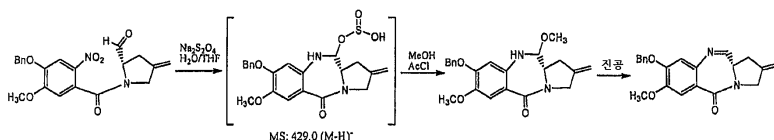
[0566]

무수 디클로로메탄 (9 mL) 및 톨루엔 (27 mL) 중 상기 에스테르 (3.15 g, 7.39 mmol)의 용액에 DIBAL-H (15 mL, 톨루엔 중의 1.0 M)를 -78°C에서 시린지 펌프를 통해 30분 동안 적가하였다. 상기 혼합물을 2시간 동안 -78°C에서 계속 교반하였고, TLC (헥산/AcOEt, 1:1.5)는 모든 출발 물질이 소비되었음을 보여주었다. 78°C에서 메탄올 (0.3 mL, 7.4 mmol)을 사용하여 반응물을 킨칭시키고, 5% HCl (20 mL)을 첨가한 후에 AcOEt (50 mL)를 첨가하였다. 건조 아이스/아세톤 배스(bath)를 제거하고, 상기 혼합물을 0°C로 가온하고 15분 동안 교반하였다. 수성 층을 AcOEt로 2회 추출하고, 합한 유기 층을 냉각된 5% HCl 및 염수로 세척하고, 무수 황산 나트륨 상에서 건조시켰다. 셀라이트를 통해 여과하고, 용매를 제거하였다. 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피 (헥산/AcOEt, 1:1, 1:1.5, 1:2, 1:3, 1:5, 100% AcOEt)에 의해 정제하여 숨틸 모양의 황색 고체로서 (2S)-4-(메틸렌)-1-[5-메톡시-2-니트로-4-(페닐메톡시)벤조일]-2-피롤리딘카르복스알데히드 (2.69 g, 수율 = 92%)를 제공하였다.

¹H NMR

(400 Hz, CDCl₃): 화합물은 한 쌍의 뚜렷한 회전 이성질체로 나타남. δ 9.75 (s, 0.7H), 9.32 (s, 0.3H), 7.76 (s, 0.7H), 7.69 (s, 0.3H), 7.45-7.31 (m, 5H), 6.85 (s, 0.7H), 6.80 (s, 0.3H), 5.19-4.82 (m, 4.7H), 4.56 (d, J = 16 Hz, 0.3H), 4.14-3.79 (m, 5H), 2.99-2.68 (m, 2H); ¹³C NMR (400 Hz, CDCl₃): 198.3, 197.1, 167.1, 155.0, 154.6, 148.4, 141.3, 140.4, 137.2, 135.2, 128.7, 128.5, 128.4, 127.5, 126.9, 126.6, 109.8, 109.4, 109.3, 109.2, 109.1, 71.3, 66.6, 64.3, 56.7, 56.6, 52.2, 50.6, 33.2, 31.9; MS (ESI): m/z 419.2 (M + Na)⁺.

[0567]



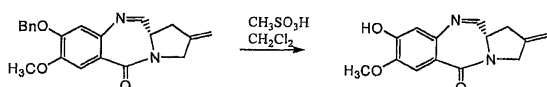
[0568]

[0569]

절차 1: THF/H₂O (v/v, 1.7:1, 0.03 M) 중 (2S)-4-(메틸렌)-1-[5-메톡시-2-니트로-4-(페닐메톡시)벤조일]-2-피롤리딘카르복스알데히드 (1.0 당량)의 용액에 차아황산나트륨 (5 내지 8 당량)을 실온에서 2분 이내에 분획식으로 첨가하였다. 상기 혼합물을 6 내지 20시간 동안 더 교반하였고, TLC (1:2의 헥산/AcOEt 및 5:1의 CH₂Cl₂/MeOH)에 의해 모니터링하였다. 알데히드가 거의 소비된 후, 메탄올 (사용된 THF와 대략 같은 부피)을 사용하여 반응물을 켄칭시켰다. 용매를 진공 하에서 회전 증발에 의해 제거하고 (40℃ 미만의 온도), 남아있는 고체를 고진공 하에 두어 완전히 건조되도록 하였다. 상기 고체를 무수 메탄올 (0.03 M) 중에 현탁시키고, AcCl (8 내지 10 당량)을 실온에서 적가하였다. 15분 동안 교반한 후, 탁한 용액을 여과하고, 고체를 무수 메탄올로 세척하였다. 맑은 황색 여과물을 1 내지 2시간 동안 실온에서 교반한 다음, 포화 중탄산나트륨을 사용하여 켄칭시켰다. 메탄올의 대부분을 회전 증발에 의해 제거한 후, 잔류물을 디클로로메탄 및 물로 희석하였다. 수성 층을 AcOEt로 추출하였다. 합한 유기 층을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하였다. 용매를 제거하고, 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피 (헥산/AcOEt, 1:3, 1:5)에 의해 정제하여 70% 내지 85%의 수율로 (11aS)-7-메톡시-2-메틸렌-8-(페닐메톡시)-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온을 제공하였다. NMR 스펙트럼은 보고된 문헌과 일치하였다. MS (ESI): m/z 371.2 (M+Na)⁺. MS (ESI, CH₃OH 함유): m/z 403.3 (M+CH₃OH+Na)⁺. MS (ESI, H₂O 함유): m/z 389.2 (M+H₂O+Na)⁺.

[0570]

절차 2: MeOH/H₂O (v/v, 3.2:1, 0.03 M) 중 (2S)-4-(메틸렌)-1-[5-메톡시-2-니트로-4-(페닐메톡시)벤조일]-2-피롤리딘카르복스알데히드 (1.0 당량)의 용액에 차아황산나트륨 (6 내지 8 당량)을 실온에서 2분 이내에 분획식으로 첨가하였다. 상기 혼합물을 12 내지 20시간 동안 더 교반하였고, TLC (1:2의 헥산/AcOEt 및 5:1의 CH₂Cl₂/MeOH)에 의해 모니터링하였다. 중간체 [MS (ESI): 459.0 (M-H)⁻]가 거의 소비된 후, 포화 중탄산나트륨을 사용하여 반응물을 5 내지 6의 pH로 켄칭시켰다. 용매를 진공 하에서 회전 증발에 의해 제거하고 (40℃ 미만의 온도), 남아있는 고체를 고진공 하에 두어 완전히 건조되도록 하였다. 상기 고체를 무수 메탄올 (0.03 M) 중에 현탁시키고, AcCl (8 내지 10 당량)을 실온에서 적가하였다. 15분 동안 교반한 후, 탁한 용액을 여과하고, 고체를 무수 메탄올로 세척하였다. 맑은 황색 여과물을 1 내지 2시간 동안 실온에서 교반한 다음, 포화 중탄산나트륨을 사용하여 켄칭시켰다. 메탄올의 대부분을 회전 증발에 의해 제거한 후, 잔류물을 디클로로메탄 및 물로 희석하였다. 수성 층을 AcOEt로 추출하였다. 합한 유기 층을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하였다. 용매를 제거하고, 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피 (헥산/AcOEt, 1:3, 1:5)에 의해 정제하여 65% 내지 80%의 수율로 (11aS)-7-메톡시-2-메틸렌-8-(페닐메톡시)-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온을 제공하였다.



[0571]

[0572]

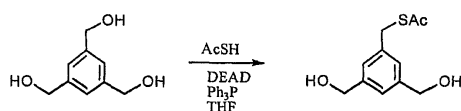
무수 디클로로메탄 (2 mL) 중 출발 물질 (98 mg, 0.28 mmol)의 용액에 실온에서 새로 혼합된 무수 디클로로메탄 (4 mL) 중 메탄술폰산 (2 mL)의 용액을 첨가하였다. 상기 혼합물을 1.5시간 동안 실온에서 교반하고, 아이스 (대략 30 g) 상에 붓고, 포화 NaHCO₃을 사용하여 켄칭시키고, 디클로로메탄으로 희석하였다. 수성 층을 디클로로메탄으로 1회 추출하고, 합한 유기 층을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 용매를 제거하였다.

잔류물을 플래쉬 크로마토그래피 (15:1의 CH₂Cl₂/MeOH)에 의해 정제하여 황색 고체로서 생성물 (29 mg)을 제공하였다. 상기 수성 층을 밤새 실온에서 교반한 다음, 디클로로메탄 및 AcOEt로 추출하였다. 합한 디클로로메탄 및 AcOEt를 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 용매를 제거하여 (11aS)-8-히드록시-7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온 (25 mg)을 제공하였다. 총 수율은 74 %였다.

¹H NMR (400 Hz, CDCl₃): δ 7.65 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 7.48 (s, 1H), 6.87 (s, 1H), 6.35 (bs, 1H), 5.17 (t, J = 1.6 Hz, 1H), 5.14 (7, J = 1.6Hz, 1H), 4.26 (s, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.87-3.83 (m, 1H), 3.12-3.05 (m, 1H), 2.91 (d, J = 16 Hz, 1H); MS (ESI): *m/z* 281.0 (M + Na)⁺. MS (ESI, 물 함유): *m/z* 258.9 (M + H)⁺, *m/z* 299.1 (M + H₂O + Na)⁺.

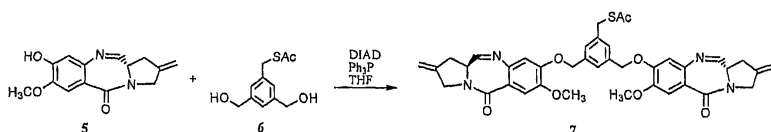
실시예 12:

8,8'-[5-아세틸티오메틸-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[(S)-2-메틸렌-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]



무수 THF (5 mL) 중 트리페닐포스핀 (577 mg, 2.2 mmol)의 용액에 디에틸 아조디카르복실레이트 (톨루엔 중의 2.2 M, 791 μL, 1.7 mmol)를 0℃에서 적가하였다. 50분 동안 0℃에서 교반한 후, 무수 THF (4 mL) 중 1,3,5-트리(히드록시메틸)벤젠 (269 mg, 1.6 mmol, THF 중의 리튬 알루미늄 히드라이드를 사용하여 트리메틸 1,3,5-벤젠트리카르복실레이트를 환원시켜 제조하고, 무수 벤젠과 함께 공-증발시키고, 고진공 하에서 2시간 동안 건조시킨 후 사용함) 및 티오아세트산 (108 μL, 1.45 mmol)의 용액을 적가하였다. 1시간 후, 아이스/물 배스를 제거하고, 반응물을 15시간 동안 실온에서 교반하였다. 용매를 진공 하에서 회전 증발에 의해 제거하였다. 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 무색 고체로서 5-아세틸티오메틸-1,3-비스(히드록시메틸)-벤젠 (110 mg)을 제공하였다.

¹H NMR (400 Hz, CDCl₃): δ 7.13-6.99 (m, 3H), 4.45 (apt, J = 20.4 Hz, 4H), 3.98 (apt, J = 20.4 Hz, 4H), 3.73 (bs, 2H), 2.24 (apt, J = 20.4 Hz, 3H); MS (ESI): *m/z* 249.0 (M + Na)⁺.



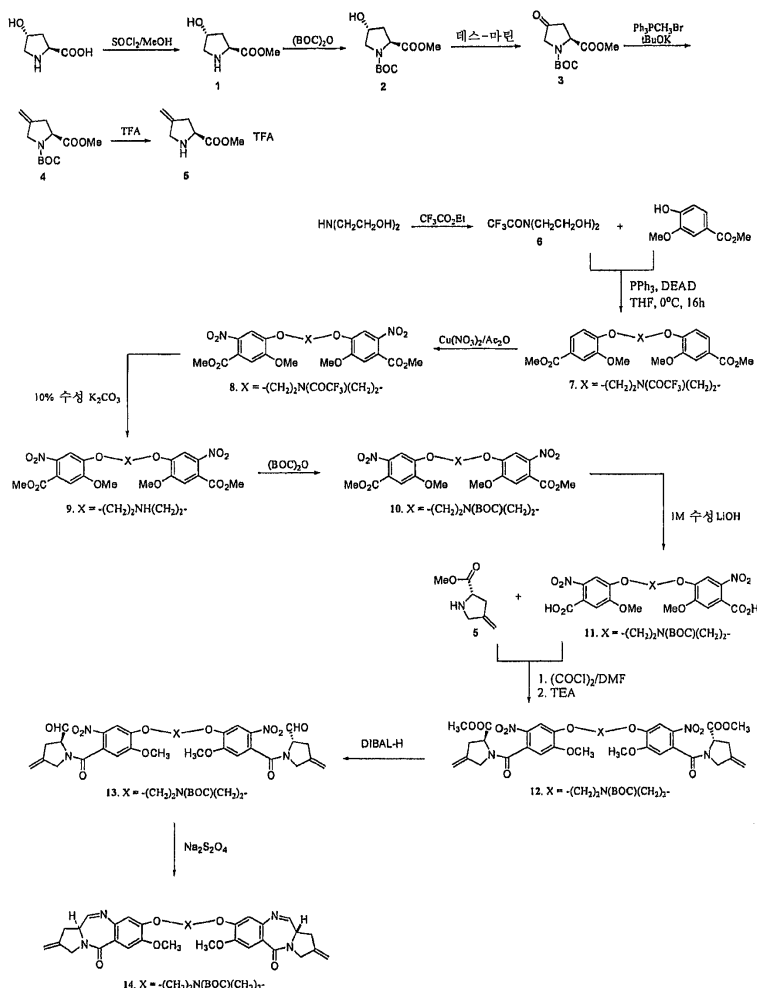
무수 THF (0.3 mL) 중 트리페닐포스핀 (28 mg, 0.1 mmol)의 용액에 디이소프로필 아조디카르복실레이트 (19 μL, 0.09 mmol)를 0℃에서 적가하였다. 35분 동안 0℃에서 교반한 후, 무수 THF (0.2 mL) 중 (11aS)-8-히드록시-7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온 (화합물 5, 18 mg, 0.07 mmol, 무수 벤젠과 함께 공-증발시키고, 고진공 하에서 2시간 동안 건조시킨 후 사용함)의 용액을 첨가하였다. 상기 혼합물을 10분 동안 계속 교반한 후에 무수 THF (0.2 mL) 중 5-아세틸티오메틸-1,3-비스(히드록시메틸)-벤젠 (화합물 6, 6.6 mg, 0.03 mmol, 무수 벤젠과 함께 공-증발시키고, 고진공 하에서 2시간 동안 건조시킨 후 사용함)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 35분 동안 0℃에서 교반하였다. 아이스/물 배스를 제거하고, 상기 용액을 21시간 동안 실온에서 교반하였다. 용매를 진공 하에서 회전 증발에 의해 제거하였다. 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 조 생성물을 수득하였고, 이를 분취용 HPLC (C18 컬럼, CH₃CN/H₂O)에 의해 추가로 정제하여 8,8'-[5-아세틸티오메틸-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[(S)-2-메틸렌-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온] (화합물 7) 0.7 mg을 제공하였다.

MS (ESI, H₂O 함유): *m/z* 765.3 (M + 2H₂O + Na)⁺, 747.3 (M + H₂O + Na)⁺, 729.2 (M + Na)⁺, 707.3 (M + H)⁺, 663.2 (M - Ac)⁻.

실시예 13: 비스-{2-[(S)-2-메틸렌-7-메톡시-5-옥소-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제

핀-8-일옥시]-에틸}-카르바산 tert-부틸 에스테르

반응식 1



[0583]

[0584]

화합물 1. 티오닐 클로라이드 (5.6 mL, 76.3 mmol)를 무수 메탄올 (76 mL)에 -20°C에서 적가한 다음 트랜스-4-히드록시-L-프롤린 (5.0 g, 38.1 mmol)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 실온으로 가온하고 20시간 동안 교반하였다. 용매를 감압 하에 제거하고, 잔류물을 고진공 하에서 추가로 건조시켜 백색 고체로서 트랜스-4-히드록시-L-프롤린 메틸 에스테르 1을 제공하였다:

[0585]

[0586]

화합물 2. 무수 DMF (42 mL) 중 트랜스-4-히드록시-L-프롤린 메틸 에스테르 1 (4.48 g, 30.9 mmol) 및 중탄산 나트륨 (1.56 g, 18.5 mmol)의 용액에 DMF 중 (BOC)₂O의 용액 (20 mL)을 아르곤 하에서 0°C에서 첨가하였다. 실온에서 밤새 교반한 후, 0°C의 H₂O 100 mL를 첨가하여 반응물을 퀀칭시키고, EtOAc (4 x 80 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수 (100 mL)로 세척하고, 건조 (MgSO₄)시키고, 여과하고, 회전농축기를 사용하여 농축시켰다. 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피 (실리카 겔, 1:1의 헥산/EtOAc)에 의해 정제하여 무색 오일로서 N-BOC 보호된 트랜스-4-히드록시-L-프롤린 메틸 에스테르 2를 제공하였다:

[0587]

[0588]

¹HNMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 2.18 – 2.23 (m, 2H), 3.06 (m, 1H), 3.32 – 3.36 (m, 2H), 3.76 (s, 3H), 4.42 (br. s, 1H), 4.48 (dd, *J* = 5.4, 8.1 Hz, 1H), 5.56 (br. s, 1H); EIMS *m/z* 146 ([M]⁺+1).

¹HNMR (300 MHz, CDCl₃, 회전 이성질체) δ 1.38 및 1.43 (2 x s, 9H), 2.04 – 2.07 (m, 1H), 2.23 – 2.27 (m, 2H), 3.54 – 3.63 (m, 2H), 3.70 (s, 3H), 4.34 – 4.38 (m, 1H), 4.46 (br. s, 1H).

화합물 3. (문헌 [Franco Manfre, Jean-Marc Kern, and Jean-Francois Biellmann J. Org. Chem. 1992, 57,

2060-2065]). N-BOC 보호된 트랜스-4-히드록시-L-프롤린 메틸 에스테르 화합물 **2** (3.24 g, 13.2 mmol)를 CH_2Cl_2 (132 mL) 중에 용해시키고, 0°C로 냉각시켰다. 피리딘 및 데스-마틴(Dess-Martin) 퍼요오디난을 첨가하고, TLC가 남아있는 SM이 없는 것으로 나타날 때까지 계속 교반하였다. 반응 혼합물을 CH_2Cl_2 로 희석하고, 10% 수성 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (3 x 50 mL), 1 N 수성 HCl (50 mL), 포화 수성 NaHCO_3 (50 mL) 및 염수 (50 mL)로 세척하고, MgSO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피 (실리카 겔, 7:3의 헥산/EtOAc)에 의해 정제하여 연황색 오일로서 N-BOC 보호된 4-옥소-L-프롤린 메틸 에스테르 **3**을 제공하였다:

¹HNMR (300 MHz, CDCl_3 , 회전이성질체)

δ 1.44 (s, 9H), 2.53 – 2.57 (m, 1H), 2.85 – 2.96 (m, 1H), 3.72 및 3.74 (2 x s, 3H), 3.85 – 3.87 (m, 2H), 4.67 – 4.77 (m, 1H).

[0589]

화합물 **4**. (문헌 [Kuei-Ying Lin, Mark Matteucci US 5414077]). 무수 THF (40 mL) 중 칼륨-t-부톡사이드 (2.51 g, 22.3 mmol)의 용액을 THF (40 mL) 중 메틸트리페닐포스포늄 브로마이드 (7.99 g, 22.3 mmol)의 현탁액에 0°C에서 첨가하였다. 생성된 황색 일리드 현탁액을 2시간 동안 0°C에서 교반한 후, THF (32 mL) 중 N-BOC 보호된 4-옥소-L-프롤린 메틸 에스테르 **3** (2.72 g, 11.2 mmol)의 용액을 첨가하였다. 1시간 동안 실온에서 교반한 후, 반응 혼합물을 EtOAc (100 mL)로 희석하고, H_2O (80 mL) 및 염수 (80 mL)로 세척하고, 건조 (MgSO_4)시키고, 농축시켰다. 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피 (실리카 겔, 9:1의 헥산/EtOAc)에 의해 정제하여 무색 오일로서 N-BOC 보호된 4-메틸렌-L-프롤린 메틸 에스테르 (화합물 **4**)를 수득하였다:

¹HNMR (300

MHz, CDCl_3 , 회전이성질체) δ 1.40 및 1.45 (2 x s, 9H), 2.58 – 2.62 (m, 1H), 2.88 – 2.98 (m, 1H), 3.69 및 3.70 (2 x s, 3H), 4.03 – 4.06 (m, 2H), 4.36 – 4.49 (m, 1H), 4.97 – 4.99 (m, 2H); EIMS m/z 264 ($[\text{M}]^+ + \text{Na}$).

[0591]

화합물 **5**. N-BOC 보호된 4-메틸렌-L-프롤린 메틸 에스테르 (화합물 **4**, 0.8 g, 3.31 mmol)를 CH_2Cl_2 (6.5 mL) 중에 용해시키고, 0°C로 냉각시켰다. CH_2Cl_2 (6.5 mL) 중 트리플루오로아세트산 (6.5 mL)의 용액을 적가하고, 생성된 혼합물을 1.5시간 동안 실온에서 교반하였다. 회전농축기를 사용하여 휘발성 용매를 제거한 후, 갈색 잔류물을 H_2O 10 mL 중에 용해시키고, Et_2O (3 x 5 mL)로 세척하였다. 수용액을 농축시키고, 고진공 하에서 추가로 건조시켜 TFA 염으로서 4-메틸렌-L-프롤린 메틸 에스테르 **5**를 수득하였다:

¹HNMR (300 MHz, CDCl_3 , 회전이성질체) δ 2.83 – 2.87 (m, 1H), 3.05 – 3.11 (m, 1H), 3.80 및 3.81 (2 x s, 3H), 4.00 – 4.10 (m, 2H), 4.55 (dd, $J = 5.7$, 5.7 Hz, 1H), 5.17 – 5.21 (m, 2H); ¹³CNMR δ 34.0, 49.1, 53.8, 59.3, 111.7, 137.6, 169.8; EIMS m/z 142 ($[\text{M}]^+ + 1$).

[0593]

화합물 **6**. (문헌 [Kamal, A.; et al J. Med. Chem. 2002, 45, 4679-4688]). 디에탄올아민 (3.57 g, 34 mmol)을 메탄올 (20 mL) 중에 용해시키고, 실온에서 20분 동안 Et_3N (4.7 mL, 34 mmol) 및 에틸 트리플루오로아세테이트 (4.90 g, 34 mmol)로 처리한 다음, CF_3COOEt 1 mL를 더 첨가하였다. 20시간 후, 휘발성 용매를 고진공 하에서 제거하여 연황색 오일로서 N-트리플루오로아세틸-디에탄올아민 (화합물 **6**)을 수득하였고, 추가의 정제 없이 사용하였다.

[0594]

화합물 **7**. 무수 THF (57 mL) 중 메틸 바닐레이트 (7.30 g, 40.1 mmol) 및 트리페닐포스핀 (15.67 g, 59.7 mmol)의 교반 용액에 0°C에서 디에틸 아조디카르복실레이트 (7.66 g, 44 mmol)를 적가하고, 생성된 혼합물을 이 온도에서 1시간 동안 교반한 후에 무수 THF (20 mL) 중 N-트리플루오로아세틸-디에탄올아민 **6** (7.30 g, 40.1 mmol)의 용액을 첨가하였다. 실온에서 밤새 교반한 후, H_2O (100 mL)를 사용하여 반응물을 침전시키고, Et_2O (3 x 80 mL)로 추출하였다. 합한 Et_2O 층을 염수 (100 mL)로 세척하고, 건조 (MgSO_4)시키고, 농축시켰다. 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피 (실리카 겔, 8:2 → 7:3 헥산/EtOAc)에 의해 정제하여 백색 고체로서 N-트리플루오로세틸-N,N-디[2-(4-메톡시카르보닐-2-메톡시-페녹시)에틸]아민 (화합물 **7**)을 수득하였다:

[0595]

¹HNMR (300 MHz, CDCl₃) δ 3.81 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 4.04 – 4.08 (m, 4H), 4.28 – 4.32 (m, 4H), 6.84 및 6.85 (2 x d, J = 6.3 Hz, 2H), 7.50 및 7.51 (2 x d, J = 1.5 Hz, 2H), 7.61 (dd, J = 1.5, 6.3 Hz, 2H).

[0596]

[0597] 화합물 8. 아세트산 무수물 (50 mL) 중 N-트리플루오로세틸-N,N-디[2-(4-메톡시카르보닐-2-메톡시-페닐옥시)에틸]아민 7 (2.62 g, 4.96 mmol)의 교반 용액에 0℃에서 고체 Cu(NO₃)₂·xH₂O (2.33 g, 12.41 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 1시간 동안 0℃에서 교반한 다음 2시간 동안 실온에서 교반한 후에 빙수 200 mL에 부었다. 1시간 동안 더 교반하였다. 생성된 황색 침전물을 여과에 의해 수집하였다. 플래쉬 크로마토그래피 (실리카 겔, 6:4의 헥산/EtOAc)로 추가로 정제하여 연황색 고체로서 N-트리플루오로세틸-N,N-디[2-(4-메톡시카르보닐-2-메톡시-5-니트로-페닐옥시)에틸]아민 (화합물 8)을 수득하였다:

¹HNMR (300 MHz, CDCl₃) δ 3.86 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 3.886 (s, 3H), 3.890 (s, 3H), 4.04 – 4.09 (m, 4H), 4.30 – 4.35 (m, 4H), 6.98 및 6.99 (2 x s, 2H), 7.37 및 7.40 (2 x s, 2H).

[0598]

[0599] 화합물 9. THF-MeOH (1:2, 48 mL) 중 N-트리플루오로세틸-N,N-디[2-(4-메톡시카르보닐-2-메톡시-5-니트로-페닐옥시)에틸]아민 8 (2.58 g, 4.16 mmol)의 용액을 실온에서 12시간 동안 10% 수성 K₂CO₃ (16 mL)으로 처리하였다. 회전농축기를 사용하여 휘발성 물질을 제거한 후, 잔류물을 H₂O 100 mL로 희석하고, EtOAc (3 x 100 mL)로 추출하였다. 합한 EtOAc 층을 염수 (100 mL)로 세척하고, 건조 (MgSO₄)시키고, 농축시켜 황색 고체로서 N,N-디[2-(4-메톡시카르보닐-2-메톡시-5-니트로-페닐옥시)에틸]아민 (화합물 9)을 수득하였고, 추가의 정제 없이 사용하였다:

¹HNMR (300 MHz, CDCl₃) δ 3.17 (t, J = 3.9 Hz, 4H), 3.89 (s, 6H), 3.93 (s, 6H), 4.19 (t, J = 3.9 Hz, 4H), 7.05 (s, 2H), 7.47 (s, 2H).

[0600]

[0601] 화합물 10. N,N-디[2-(4-메톡시카르보닐-2-메톡시-5-니트로페닐-옥시)에틸]아민 (화합물 9, 조, 4.16 mmol) 및 NaHCO₃ (210 mg, 2.50 mmol)을 THF 중에 현탁시키고, 0℃에서 (BOC)₂O (999 mg, 4.58 mmol)로 처리하고, 3시간 동안 실온에서 교반을 계속하였다. THF를 제거한 후, 잔류물을 H₂O와 EtOAc (100/100 mL) 사이에 분배하였다. 수성 층을 EtOAc (2 x 50 mL)로 추가로 추출하였다. 합한 EtOAc 층을 염수 (80 mL)로 세척하고, 건조 (MgSO₄)시키고, 농축시켰다. 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피 (실리카 겔, 6:4의 헥산/EtOAc)에 의해 정제하여 연황색 고체로서 N-tert-부톡시카르보닐-N,N-디[2-(4-메톡시카르보닐-2-메톡시-5-니트로-페닐옥시)에틸]아민 (화합물 10)을 수득하였다:

¹HNMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.44 (s, 9H), 3.77 (m, 4H), 3.83, 3.86 및 3.87(3 x s, 12H), 4.20 및 4.26 (2 x t, J = 3.9 Hz, 4H), 6.97 및 6.99 (2 x s, 2H), 7.36 및 7.40 (2 x s, 2H); EIMS m/z 646 ([M]⁺+Na).

[0602]

[0603] 화합물 11. N-tert-부톡시카르보닐-N,N-디[2-(4-메톡시카르보닐-2-메톡시-5-니트로-페닐옥시)에틸]아민 (화합물 10, 2.11 g, 3.39 mmol)을 THF-MeOH-H₂O (3:1:1, 65 mL) 중에 현탁시키고, 3시간 동안 실온에서 1 M 수성 LiOH (14 mL)로 처리하였다. 휘발성 용매를 제거한 후, 잔류물을 H₂O (25 mL)로 희석하였다. 생성된 수용액을 농축된 HCl을 사용하여 대략 1의 pH로 산성화시켰다. 침전된 N-tert-부톡시카르보닐-N,N-디[2-(4-카르복시-2-메톡시-5-니트로-페닐옥시)에틸]아민 (화합물 11)을 여과에 의해 수집하고, H₂O로 세척하고, 추가로 고진공 하에서 건조시켰다:

¹HNMR (300

MHz, CDCl₃, 회전이성질체) δ 1.39 (s, 9H), 3.70 (m, 4H), 3.88 및 3.89(2 x s, 6H), 4.29 (m, 4H), 7.29 및 7.31 (2 x s, 2H), 7.63 (s, 2H), 13.60 (br. s, 2H); ¹³CNMR δ 27.8, 46.2 및 46.6, 56.3 및 56.4, 67.2, 79.2, 107.9 및 108.0, 111.3, 141.4 및 141.5, 149.1, 151.7, 154.5, 165.9; HRMS *m/z* C₂₅H₂₉N₃O₁₄Na에 대한 계산치 618.1547, 실측치 618.1552 ([M]⁺+Na).

[0604]

[0605]

화합물 12. 무수 THF (6.5 mL) 중 N-tert-부톡시카르보닐-N,N-디[2-(4-카르복시-2-메톡시-5-니트로-페닐옥시)에틸]아민 11 (194 mg, 0.33 mmol) 및 옥살릴 클로라이드 (72.7 μL, 0.81 mmol)의 용액에 촉매량의 DMF (2 방울)를 첨가하고, 생성된 혼합물을 밤새 실온에서 교반하였다. 회전농축기를 사용하여 과잉의 THF 및 옥살릴 클로라이드를 제거하였다. 아세틸 클로라이드를 새로운 THF (4 mL) 중에 재현탁시키고, THF (1 mL) 중 4-메틸렌-L-프롤린 메틸 에스테르 5 (206.7 mg, 0.81 mmol), Et₃N (0.19 mL, 1.39 mmol) 및 H₂O (0.4 mL)의 용액에 아르곤 하에서 0°C에서 적가하였다. 반응 혼합물을 실온으로 가온하고 2시간 동안 교반을 계속하였다. THF를 제거한 후, 잔류물을 H₂O와 EtOAc (10/10 mL) 사이에 분배하였다. 수성 층을 EtOAc (2 x 8 mL)로 추가로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수 (10 mL)로 세척하고, 건조 (MgSO₄)시키고, 농축시켰다. 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피 (실리카 겔, 2:8의 헥산/EtOAc)에 의해 정제하여 연황색 오일로서 비스{2-[5-메톡시-2-니트로-4-[(S)-4-메틸렌-2-메톡시카르보닐-1-피롤리딘카르보닐]-페닐옥시]-에틸}-카르바산 tert-부틸 에스테르 12 (회전이성질체)를 수득하였다:

¹HNMR (300 MHz, CDCl₃, 회전이성질체) δ 1.46 (s, 9H), 2.68 – 2.75 (m, 2H), 2.99 – 3.10 (m, 2H), 3.60 – 4.28 (m, 24H), 4.56 – 5.12 (m, 6H), 6.78 – 6.83 (m, 2H), 7.63 – 7.71 (m, 2H); EIMS *m/z* 864 ([M]⁺+Na).

[0606]

[0607]

화합물 13. 무수 톨루엔 (2.4 mL) 중 비스{2-[5-메톡시-2-니트로-4-[(S)-4-메틸렌-2-메톡시카르보닐-1-피롤리딘카르보닐]-페닐옥시]-에틸}-카르바산 tert-부틸 에스테르 12 (100 mg, 0.12 mmol)의 격렬하게 교반되는 용액에 DIBAL-H 용액 (톨루엔 중의 1 M 용액 480 μL)을 아르곤 분위기 하에서 -78°C에서 적가하였다. 상기 혼합물을 45분 동안 더 교반한 후, 메탄올 5 방울을 첨가한 다음 5% HCl (4 mL)을 첨가하여 과잉의 시약을 분해시켰다. 생성된 혼합물을 0°C로 가온하였다. 층을 분리하고, 수성 층을 CH₂Cl₂ (3 x 3 mL)로 추가로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 건조 (MgSO₄)시키고, 농축시켰다. 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피 (실리카 겔, 95:5의 CHCl₃/MeOH)에 의해 정제하여 연황색 오일로서 비스{2-[5-메톡시-2-니트로-4-[(S)-4-메틸렌-2-포르밀-1-피롤리딘카르보닐]-페닐옥시]-에틸}-카르바산 tert-부틸 에스테르 13 (84 mg, 91%)을 수득하였다.

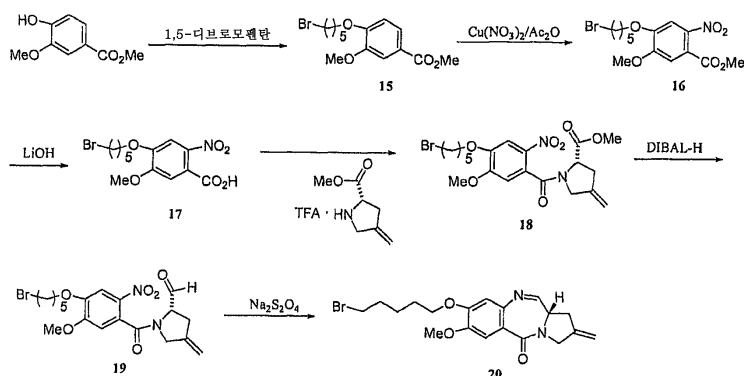
[0608]

화합물 14. 비스{2-[5-메톡시-2-니트로-4-[(S)-4-메틸렌-2-포르밀-1-피롤리딘카르보닐]-페닐옥시]-에틸}-카르바산 tert-부틸 에스테르 13 (180 mg, 0.23 mmol), Na₂S₂O₄ (1.84 mmol, 8 당량), THF 3.5 mL 및 H₂O 2.2 mL의 혼합물을 20시간 동안 실온에서 교반하였다. 용매를 고진공 하에서 제거하였다. 잔류물을 MeOH (30 mL) 중에 재현탁시키고, pH가 대략 2가 될 때까지 AcCl을 적가하였다. 생성된 혼합물을 1시간 동안 실온에서 교반하였다. MeOH의 대부분을 제거하여 반응물을 후처리한 후에 EtOAc (25 mL)로 희석하였다. EtOAc 용액을 포화 수성 NaHCO₃ 및 염수로 세척하고, 건조 (MgSO₄)시키고, 농축시켰다. 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피 (실리카 겔, 97:3의 CHCl₃/MeOH)에 의해 정제하여 백색 고체로서 비스-{2-[(S)-2-메틸렌-7-메톡시-5-옥소-1,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-8-일옥시]-에틸}-카르바산 tert-부틸 에스테르 14 (86 mg, 50%)를 수득하였다.

[0609]

실시예 14: (11aS)-7-(5-브로모펜틸옥시)-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온

반응식 2



[0610]

[0611]

화합물 15. 아세톤 (200 mL) 중 메틸 바닐레이트 (9.109 g, 50 mmol)의 용액에 K_2CO_3 (27.64 g, 200 mmol) 및 1,5-디브로모펜탄 (20.4 mL, 150 mmol)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 환류 온도로 가열하였다. 6시간 후, TLC는 남아있는 출발 물질이 없음을 보여주었다. 상기 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 고체를 여과에 의해 제거하였다. 여과물을 농축시켰다. 플래쉬 크로마토그래피 (실리카 겔, 8:2의 헥산/EtOAc)에 의해 정제하여 백색 고체로서 4-(5-브로모펜틸옥시)-3-메톡시-벤조산 메틸 에스테르 15 (13.65 g, 82%)를 수득하였다:

[0612]

[0613]

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.60 – 1.66 (m, 2H), 1.85 – 1.97 (m, 4H), 3.42 (t, J = 5.0 Hz, 2H), 3.87 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 4.06 (t, J = 5.0 Hz, 2H), 6.85 (d, J = 6.3 Hz, 1H), 7.52 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 7.63 (dd, J = 6.3, 1.5 Hz, 1H); EIMS m/z 353 및 355 ($[\text{M}]^+ + \text{Na}$).

화합물 16. 아세트산 무수물 (81 mL) 중 4-(5-브로모펜틸옥시)-3-메톡시-벤조산 메틸 에스테르 15 (5.36 g, 16.18 mmol)의 교반 용액에 0°C에서 고체 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (3.64 g, 19.42 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 1 시간 동안 0°C에서 교반한 다음 2 시간 동안 실온에서 교반한 후에 빙수 200 mL에 부었다. 추가 1 시간 동안 교반을 계속하였다. 생성된 황색 침전물을 여과에 의해 수집하고, 물로 세척하였다. 추가로 고진공 하에서 건조시켜 연황색 고체로서 4-(5-브로모펜틸옥시)-5-메톡시-2-니트로-벤조산 메틸 에스테르 (화합물 16, 5.98 g)를 수득하였고, 이를 다음 단계에 바로 사용하였다:

[0614]

[0615]

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.59 – 1.70 (m, 2H), 1.85 – 1.98 (m, 4H), 3.43 (t, J = 5.1 Hz, 2H), 3.89 (s, 3H), 3.94 (s, 3H), 4.08 (t, J = 4.8 Hz, 2H), 7.05 (s, 1H), 7.42 (s, 1H). EIMS m/z 398 및 400 ($[\text{M}]^+ + \text{Na}$).

화합물 17. 4-(5-브로모펜틸옥시)-5-메톡시-2-니트로-벤조산 메틸 에스테르 16 (5.98 g, 15.9 mmol)을 THF-MeOH- H_2O (3:1:1, 157 mL) 중에 현탁시키고, 5시간 동안 실온에서 1 M 수성 LiOH (31 mL)로 처리하였다. 휘발성 용매를 제거한 후, 잔류물을 H_2O (70 mL)로 희석하였다. 생성된 수용액을 농축된 HCl 을 사용하여 대략 2의 pH로 산성화시켰다. 침전된 4-(5-브로모펜틸옥시)-5-메톡시-2-니트로-벤조산 17을 여과에 의해 수집하고, H_2O 로 세척하고, 추가로 고진공 하에서 건조시켰다 (5.47 g):

[0616]

[0617]

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.64 – 1.68 (m, 2H), 1.87 – 1.98 (m, 4H), 3.43 (t, J = 4.8 Hz, 2H), 4.08 (s, 3H), 4.10 (t, J = 5.1 Hz, 2H), 7.21 (s, 1H), 7.35 (s, 1H), 13.60 (br. s, 1H); EIMS m/z 384 및 386 ($[\text{M}]^+ + \text{Na}$).

화합물 18. 무수 THF (7.5 mL) 중 4-(5-브로모펜틸옥시)-5-메톡시-2-니트로-벤조산 17 (270 mg, 0.74 mmol) 및 옥살릴 클로라이드 (80 μL , 0.89 mmol)의 용액에 촉매량의 DMF (2 방울)를 첨가하고, 생성된 혼합물을 밤새 실온에서 교반하였다. 회전농축기를 사용하여 과잉의 THF 및 옥살릴 클로라이드를 제거하였다. 아세틸 클로라이드를 새로운 THF (6 mL) 중에 재현탁시키고, THF (1.5 mL) 중 4-메틸렌-L-프롤린 메틸 에스테르 5 (228 mg, 0.89 mmol), Et_3N (0.32 mL, 2.31 mmol) 및 H_2O (0.15 mL)의 용액에 아르곤 하에서 0°C에서 적가하였다. 반응 혼합물을 실온으로 가온하고 4시간 동안 교반을 계속하였다. THF를 제거한 후, 잔류물을 H_2O 와 EtOAc (20/20

mL) 사이에 분배하였다. 수성 층을 EtOAc (3 x 10 mL)로 추가로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수 (20 mL)로 세척하고, 건조 (MgSO₄)시키고, 농축시켰다. 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피 (실리카 겔, 6:4의 헥산/EtOAc)에 의해 정제하여 연황색 오일로서 1-[4-(5-브로모펜틸옥시)-5-메톡시-2-니트로-벤조일]-4-메틸렌-L-프롤린 메틸 에스테르 **18** (회전이성질체)을 수득하였다:

¹HNMR (300 MHz, CDCl₃, 회전이성질체) δ 1.62 – 1.68 (m, 2H), 1.86 – 1.98 (m, 4H), 2.64 – 2.75 (m, 1H), 2.99 – 3.08 (m, 1H), 3.43 (t, J = 5.1 Hz, 2H), 3.59 – 3.96 (m, 7H), 4.05 – 4.21 (m, 3H), 4.57 – 4.61 및 4.90 – 5.12 (m, 3H), 6.80 및 6.83 (2 s, 1H), 7.64 및 7.67 (2 s, 1H); EIMS *m/z* 507 및 509 ([M]⁺+Na).

[0618]

화합물 **19**. 무수 톨루엔-CH₂Cl₂ (3:1, 2.5 mL) 중 1-[4-(5-브로모펜틸옥시)-5-메톡시-2-니트로-벤조일]-4-메틸렌-L-프롤린 메틸 에스테르 **18** (61 mg, 0.12 mmol)의 격렬하게 교반되는 용액에 DIBAL-H 용액 (톨루엔 중의 1 M 용액 188 μL)을 아르곤 분위기 하에서 -78℃에서 적가하였다. 상기 혼합물을 45분 동안 더 교반한 후, 메탄올 3 방울을 첨가한 다음 5% HCl (2 mL)을 첨가하여 과잉의 시약을 분해시켰다. 생성된 혼합물을 0℃로 가온하였다. 층을 분리하고, 수성 층을 CH₂Cl₂ (3 x 2 mL)로 추가로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 건조 (MgSO₄)시키고, 농축시켰다. 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피 (실리카 겔, 1:1의 헥산/EtOAc)에 의해 정제하여 연황색 오일로서 (S)-1-[4-(5-브로모펜틸옥시)-5-메톡시-2-니트로-벤조일]-4-메틸렌-2-피롤리딘카르복스알데히드 **19** (44 mg, 80%)를 수득하였다.

[0620]

화합물 **20**. (S)-1-[4-(5-브로모펜틸옥시)-5-메톡시-2-니트로-벤조일]-4-메틸렌-2-피롤리딘카르복스알데히드 **19** (43.7 mg, 0.096 mmol), Na₂S₂O₄ (0.58 mmol, 6 당량), THF 1.5 mL 및 H₂O 0.9 mL의 혼합물을 18시간 동안 실온에서 교반하였다. 용매를 고진공 하에서 제거하였다. 잔류물을 MeOH (6 mL) 중에 재현탁시키고, pH가 대략 2가 될 때까지 AcCl을 적가하였다. 생성된 혼합물을 1시간 동안 실온에서 교반하였다. MeOH의 대부분을 제거하여 반응물을 후처리한 후에 EtOAc (20 mL)로 희석하였다. EtOAc 용액을 포화 수성 NaHCO₃ 및 염수로 세척하고, 건조 (MgSO₄)시키고, 농축시켰다. 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피 (실리카 겔, 98:2의 CHCl₃/MeOH)에 의해 정제하여 연황색 오일로서 (11aS)-7-(5-브로모펜틸옥시)-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온 **20** (31 mg, 74%)을 수득하였다:

¹HNMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.58 – 1.66 (m, 2H), 1.84 – 1.99 (m, 4H), 2.91 – 2.95 (m, 1H), 3.08 – 3.14 (m, 1H), 3.42 (t, J = 5.1 Hz, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.87 – 4.27 (m, 5H), 5.15 (br s, 1H), 5.18 (br s, 1H), 6.84 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.71 (d, J = 4.0 Hz, 1H); EIMS *m/z* 429 및 431 ([M]⁺+Na).

[0621]

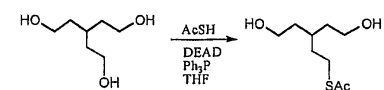
이어서, 화합물 **20**을 실시예 11에서와 같이 제조된 PBD 잔기와 커플링시켜 본 발명의 화합물을 형성할 수 있다.

[0622]

실시예 15:

[0623]

8,8'-[3-(2-아세틸티오에틸)-1,5-펜탄다이일비스(옥시)]-비스[(S)-2-메틸렌-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]

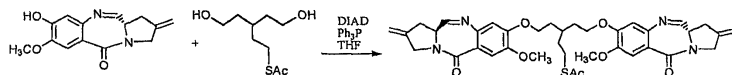


[0625]

무수 THF (15 mL) 중 트리페닐포스핀 (1.77 g, 6.8 mmol)의 용액에 디에틸 아조디카르복실레이트 (톨루엔 중의 2.2 M, 2.4 mL, 5.4 mmol)를 0℃에서 적가하였다. 55분 동안 0℃에서 교반한 후, 무수 THF (7 mL) 중 3-(2-히드록시에틸)펜탄-1,5-디올 (740 mg, 5 mmol) 및 티오아세트산 (335 μL, 4.5 mmol)의 용액을 적가하였다. 1시간 후, 아이스/물 배스를 제거하고, 반응물을 16시간 동안 실온에서 교반하였다. 용매를 진공 하에서 회전 증발에 의해 제거하였다. 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피 (CHCl₃/MeOH, 20:1, 15:1, 10:1, 4:1)에 의해 정제하여 백색 고체로서 3-(2-아세틸티오에틸)펜탄-1,5-디올 (350 mg)을 제공하였고, 출발 물질인 트리올 (406 mg)을 회수하였다:

[0626]

^1H NMR (400 Hz, CDCl_3): δ 3.65-3.63 (m, 4H), 3.45 (bs, 2H), 2.84-2.80 (m, 2H), 2.28 (s, 3H), 1.73-1.67 (m, 1H), 1.55-1.49 (m, 6H). MS (ESI): m/z 229.0 ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$.

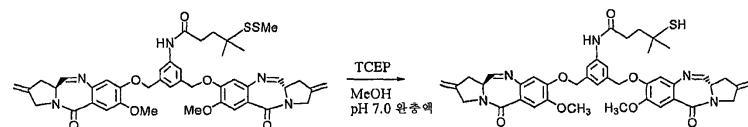


무수 THF (0.4 mL) 중 트리페닐포스핀 (53 mg, 0.2 mmol)의 용액에 디이소프로필 아조디카복실레이트 (36 μ L, 0.17 mmol)를 0°C에서 적가하였다. 25분 동안 0°C에서 교반한 후, 무수 THF (0.2 mL) 중 (11aS)-8-히드록시-7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온의 PBD 단량체 (38 mg, 0.14 mmol, 무수 벤젠과 함께 공-증발시키고, 고진공 하에서 2시간 동안 건조시킨 후 사용함)의 용액을 첨가하였다. 상기 혼합물을 10분 동안 계속 교반한 후에 무수 THF (0.2 mL) 중 티오아세테이트 화합물 (12 mg, 0.058 mmol, 무수 벤젠과 함께 공-증발시키고, 고진공 하에서 2시간 동안 건조시킨 후 사용함)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 35분 동안 0°C에서 교반하였다. 아이스/물 배스를 제거하고, 상기 용액을 12시간 동안 실온에서 교반하였다. 용매를 진공 하에서 회전 증발에 의해 제거하였다. 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피 ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, 100:1, 50:1, 25:1, 20:1)에 의해 정제하여 8,8'-[3-(2-아세틸티오에틸)-1,5-펜탄디일비스(옥시)]-비스[(S)-2-메틸렌-7-메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온] (19 mg, 수율 = 47%)을 수득하였다.

^1H NMR (400 Hz, CDCl_3): δ 7.66 (d, $J = 4.4$ Hz, 2H), 7.46 (s, 2H), 6.78 (s, 2H), 5.17 (s, 2H), 5.14 (s, 2H), 4.26 (s, 4H), 4.17-4.09 (m, 4H), 3.88 (s, 6H), 3.87-3.83 (m, 2H), 3.13-3.06 (m, 2H), 2.94-2.90 (m, 4H), 2.29 (s, 3H), 1.95 (bs, 3H), 1.68 (bs, 4H). MS (ESI, H_2O 함유): m/z 745.3 ($\text{M} + 2\text{H}_2\text{O} + \text{Na}$) $^+$, 727.3 ($\text{M} + \text{H}_2\text{O} + \text{Na}$) $^+$, 709.2 ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$.

실시예 16:

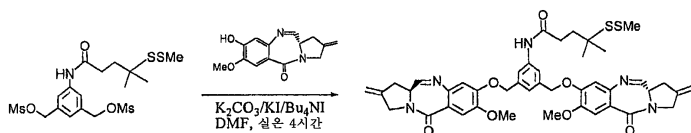
8,8'-[5-(N-4-메르캅토-4,4-디메틸부타노일)아미노-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]은 하기와 같이 제조할 수 있었다:



물 (0.3 mL) 중 트리스(2-카복시에틸)포스핀 히드록로라이드 (TCEP, 52 mg, 0.18 mmol)의 현탁액에 포화 중탄산나트륨 (대략 0.6 mL)을 적가하여 pH를 6 내지 7로 조정하였다. 이어서 인산염 완충액 (pH 7.0, 10 mM, $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{H}_3\text{PO}_4$, 0.5 mL)을 상기에 첨가하였다. 이와 같이 수득된 TCEP 용액을 메탄올 (2.2 mL) 중 8,8'-[5-(N-4-메틸디티오-4,4-디메틸부타노일)-아미노-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온] (29 mg, 0.036 mmol)의 혼합물에 첨가하고, 3시간 동안 실온에서 교반하였다. 인산염 완충액 (pH 6.5)을 사용하여 반응물을 켄칭시키고, 디클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 용매를 감압 하에 제거하여 백색 고체를 제공하였다. 상기 고체를 디클로로메탄/ MeOH (2:1) 중에 용해시키고, 다시 증발시켰다. 디클로로메탄을 첨가하고 증발시켰다. 잔류물을 고진공 하에 두고, 역상 C18 컬럼 ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, 고체를 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (3:1, 2 mL) 중에 용해시키고, 30분 동안 교반한 후에 컬럼에 로딩함)에 의해 정제하여 백색 고체로서 8,8'-[5-(N-4-메르캅토-4,4-디메틸부타노일)-아미노-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온] (11 mg)을 수득하였다 (방법 H).

MS (ESI): m/z = 786.3 MNa^+ . m/z = 804.2 $\text{MNa}^+ + \text{H}_2\text{O}$

8,8'-[5-(N-4-메틸디티오-4,4-디메틸부타노일)아미노-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]은 하기와 같이 제조할 수 있었다:



[0637]

[0638]

무수 DMF (2 mL) 중에 용해된 5-(N-4-메틸디티오-4,4-디메틸부타노일)-아미노-1,3-비스-(메실옥시메틸)-벤젠 (89 mg, 0.18 mmol) 용액에 8-히드록시-7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온 (93 mg, 0.36 mmol), 탄산칼륨 분말 (100 mg, 0.72 mmol), 칼륨 요오다이드 분말 (15 mg, 0.09 mmol) 및 테트라부틸암모늄 요오다이드 (13 mg, 0.036 mmol)를 실온에서 첨가하였다. 상기 혼합물을 1시간 동안 교반한 후, 제2 분량의 8-히드록시-7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온 (22 mg, 0.085 mmol)을 첨가하였다. 상기 용액을 추가 3시간 동안 실온에서 계속 교반하였다. 이어서 물을 사용하여 반응물을 킨칭시키고, 디클로로메탄으로 희석하였다. 유기 층을 분리하고, 수성 층을 디클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시켰다. 여과하고, 여과물을 감압 하에 증발시킨 후 고진공 하에서 증발시켜 잔류 DMF를 제거하였다. 잔류물을 역상 C18 컬럼 (CH₃CN/H₂O)에 의해 정제하여 백색 고체로서 8,8'-[5-(N-4-메틸디티오-4,4-디메틸부타노일)아미노-1,3-벤젠디일 비스(메틸렌옥시)]-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온] (29 mg)을 수득하였다 (방법 H).

[0639]

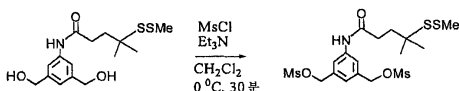
MS (ESI): $m/z = 832.2 \text{ MNa}^+$. $m/z = 850.2 \text{ MNa}^+ + \text{H}_2\text{O}$

¹H NMR (400 Hz, CDCl₃-d₁, δ (ppm)): 7.67 (bs, 2H), 7.58-7.26 (m, 5H), 6.82 (s, 2H), 5.21-5.14 (m, 8H), 4.30 (s, 4H), 4.02-3.88 (m, 9H), 3.16-3.10 (m, 2H), 2.97-2.93 (m, 2H), 2.45-2.40 (m, 5H), 2.09-2.03 (m, 2H), 1.34 (s, 6H)

[0640]

[0641]

5-(N-4-메틸디티오-4,4-디메틸부타노일)아미노-1,3-비스-(메실옥시메틸)-벤젠은 하기와 같이 제조할 수 있었다:



[0642]

[0643]

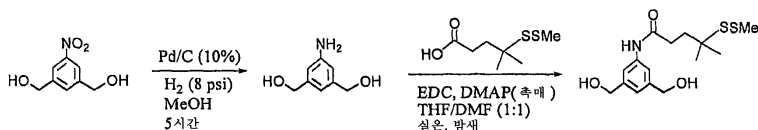
무수 디클로로메탄 (7 mL) 중 5-(N-4-메틸디티오-4,4-디메틸부타노일)-아미노-1,3-비스-(히드록시메틸)-벤젠 (329 mg, 1.0 mmol)의 현탁액에 트리에틸아민 (348 μ L, 2.5 mmol)을 첨가한 다음, -2°C에서 10분에 걸쳐 메탄술포닐 클로라이드 (193 μ L, 2.5 mmol)를 적가하였다. 상기 용액을 추가 30분 동안 0°C에서 교반한 후에 아이스와 물의 혼합물을 사용하여 킨칭시켰다. 상기 혼합물을 냉각된 디클로로메탄으로 추출하고, 합한 디클로로메탄 층을 냉각수로 세척하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시켰다. 여과하고, 여과물을 진공 하에서 회전 증발에 의해 증발시켰다. 잔류물을 실리카 겔 단결럼 (1:2:4의 디클로로메탄/헥산/에틸 아세테이트)에 의해 신속하게 정제하여 무색 오일로서 5-(N-4-메틸디티오-4,4-디메틸부타노일)-아미노-1,3-비스-(메실옥시메틸)-벤젠 (410 mg)을 수득하였다.

[0644]

MS (ESI): $m/z = 508.0 \text{ MNa}^+$. $m/z = 483.9 \text{ M-H}$. $m/z = 519.9 \text{ M-H} + 2\text{H}_2\text{O}$

[0645]

5-(N-4-메틸디티오-4,4-디메틸부타노일)-아미노-1,3-비스-(히드록시메틸)-벤젠은 하기와 같이 제조할 수 있었다:



[0646]

[0647]

메탄올 (50 mL) 중 5-니트로-m-크실렌- α , α' -디올 (890 mg, 5.4 mmol)의 용액에 Pd/C (10%, 287 mg)를 첨가하였다. 수소 분위기를 도입하고, 상기 혼합물을 실온에서 5시간 동안 압력 (H₂, 5 내지 8 psi) 하에서 수소화시켰다. 상기 용액을 셀라이트를 통해 여과하고, 여과물을 진공 하에서 회전 증발에 의해 증발시켜 5-아미노-m-크실렌- α , α' -디올을 제공한 다음, 이를 THF (10 mL)/DMF (15 mL) 중에 용해시켰다. THF (5 mL) 중에 용해된 4-메틸디티오-4,4-디메틸 부탄산 (1.05 g, 5.4 mmol)을 실온에서 첨가한 후에 1-(3-디메틸아미노프로필)-

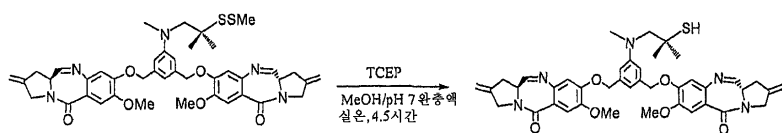
3-에틸카르보디이미드 히드로클로라이드 (2.1 g, 10.8 mmol) 및 4-디메틸아미노 피리딘 (66 mg, 0.54 mmol)을 첨가하였다. 수득된 혼합물을 밤새 실온에서 교반한 후에 10% 염화암모늄을 사용하여 켄칭시키고, 에틸 아세테이트로 추출하고, 세척 및 건조시켰다. 여과하고, 용매를 진공 하에서 회전 증발에 의해 제거하였다. 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 15:1, 10:1, 7:1)에 의해 정제하여 백색 고체로서 5-(N-4-메틸디티오-4,4-디메틸부타노일)-아미노-1,3-비스-(히드록시메틸)-벤젠 (729 mg)을 수득하였다.

MS (ESI): $m/z=352.1$ MNa^+

^1H NMR (400 Hz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$, δ (ppm)): 7.47 (s, 2H), 7.10 (s, 1H), 4.58 (s, 4H), 2.52-2.47 (m, 2H), 2.42 (s, 3H), 2.02-1.98 (m, 2H), 1.34 (s, 6H).

실시예 17:

8,8'-[5-(N-메틸-N-(2-메르캅토-2,2-디메틸에틸)아미노-1,3-벤젠디일(메틸렌옥시))-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]은 하기와 같이 제조할 수 있었다:

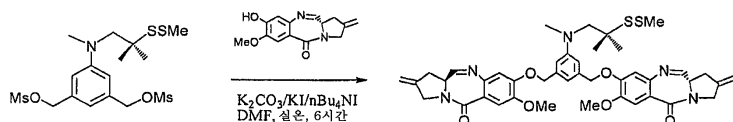


물 (0.05 mL) 중 트리스(2-카르복시에틸)포스핀 히드로클로라이드 (TCEP, 64 mg, 0.22 mmol)의 현탁액에 포화 중탄산나트륨 (대략 0.7 mL)을 적가하여 pH를 6 내지 7로 조정하였다. 이어서 인산염 완충액 (pH 7.0, 10 mM, $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{H}_3\text{PO}_4$, 0.8 mL)을 상기에 첨가하였다. 이와 같이 수득된 TCEP 용액을 메탄올 (5 mL) 중 8,8'-[5-(N-메틸-N-(2-메틸디티오-2,2-디메틸에틸)아미노-1,3-벤젠디일(메틸렌옥시))-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온] (35 mg, 0.045 mmol)의 혼합물에 첨가하고, 4.5시간 동안 실온에서 교반하였다. 인산염 완충액 (pH 6.5)을 사용하여 반응물을 켄칭시키고, 디클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 용매를 감압 하에 제거하여 백색 고체를 제공하였다. 상기 고체를 디클로로메탄/ MeOH (2:1) 중에 용해시키고, 다시 증발시켰다. 디클로로메탄을 첨가하고 증발시켰다. 잔류물을 고진공 하에 두고, 역상 C18 컬럼 ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, 고체를 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (3:1, 2 mL) 중에 용해시키고, 30분 동안 교반한 후에 컬럼에 로딩함)에 의해 정제하여 백색 고체로서 8,8'-[5-(N-메틸-N-(2-메르캅토-2,2-디메틸에틸)아미노-1,3-벤젠디일(메틸렌옥시))-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온] (10.5 mg, 수율 = 32%)을 수득하였다 (방법 H).

MS (ESI): $m/z = 758.2$ MNa^+ .

$m/z = 776.2$ $\text{MNa}^+ + \text{H}_2\text{O}$. $m/z = 794.3$ $\text{MNa}^+ + 2\text{H}_2\text{O}$

8,8'-[5-(N-메틸-N-(2-메틸디티오-2,2-디메틸에틸)아미노-1,3-벤젠디일(메틸렌옥시))-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]은 하기와 같이 제조할 수 있었다:



무수 DMF (2.5 mL) 중 5-(N-메틸-N-(2-메틸디티오-2,2-디메틸에틸)아미노-1,3-비스-(메실옥시메틸)-벤젠 (105 mg, 0.23 mmol)의 용액에 8-히드록시-7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온 (119 mg, 0.46 mmol), 탄산칼륨 분말 (127 mg, 0.92 mmol), 칼륨 요오다이드 분말 (20 mg, 0.12 mmol) 및 테트라부틸암모늄 요오다이드 (17 mg, 0.046 mmol)를 실온에서 첨가하였다. 상기 혼합물을 1.5시간 동안 교반한 후, 제2 분량의 8-히드록시-7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온 (23 mg, 0.089 mmol)을 첨가하였다. 상기 용액을 4.5시간 동안 실온에서 계속 교반하였다. 이어서 물을 사용하여 반응물을 켄칭시키고, 디클로로메탄으로 회석하였다. 유기 층을 분리하고, 수성 층을 디클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시켰다. 상기 용액

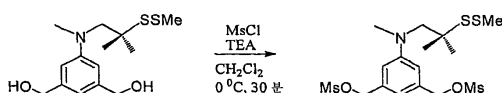
을 여과하고, 여과물을 감압 하에 증발시킨 후 고진공을 가하여 잔류 DMF를 제거하였다. 잔류물을 CH₃CN/H₂O (10:1) 중에 현탁시키고, 여과하였다. 여과물을 증발시키고, 조 생성물을 역상 C18 컬럼 (CH₃CN/H₂O)에 의해 정제하여 백색 고체로서 8,8'-[5-(N-메틸-N-(2-메틸디티오-2,2-디메틸에틸)아미노-1,3-벤젠디일(메틸렌옥시))-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피콜로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온] (39 mg)을 수득하였다 (방법 H).

[0658] MS (ESI): $m/z = 804.2 \text{ MNa}^+$.

[0659] $m/z = 822.2 \text{ MNa}^+ + \text{H}_2\text{O}$. $m/z = 840.2 \text{ MNa}^+ + 2\text{H}_2\text{O}$.

¹H NMR (400 Hz, CDCl₃-d₁, δ (ppm)): 7.64 (bs, 2H), 7.50 (s, 2H), 6.83-6.76 (m, 5H), 5.18-5.10 (m, 8H), 4.27 (s, 4H), 3.95 (s, 6H), 3.90-3.84 (m, 3H), 3.51 (s, 2H), 3.13-3.07 (m, 2H), 3.01 (s, 3H), 2.94-2.90 (m, 2H), 2.41 (s, 3H), 1.30 (s, 6H)

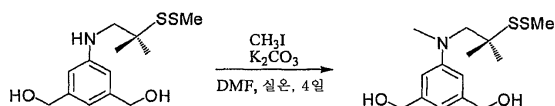
[0661] 5-(N-메틸-N-(2-메틸디티오-2,2-디메틸에틸)아미노-1,3-비스-(메실옥시메틸)-벤젠은 하기와 같이 제조할 수 있었다:



[0663] 무수 디클로로메탄 (3 mL) 중 5-(N-메틸-N-(2-메틸디티오-2,2-디메틸에틸)아미노-1,3-비스-(히드록시메틸)-벤젠 (135 mg, 0.45 mmol)의 용액에 트리에틸아민 (153 μ L, 1.1 mmol)을 첨가한 다음, -2°C에서 10분에 걸쳐 메탄술폰닐 클로라이드 (87 μ L, 1.1 mmol)를 적가하였다. 상기 용액을 추가 30분 동안 0°C에서 교반한 후에 아이스/물을 사용하여 켄칭시켰다. 상기 혼합물을 냉각된 디클로로메탄으로 추출하고, 합한 디클로로메탄 층을 냉각수로 세척하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시켰다. 이어서 여과하고, 여과물을 진공 하에서 회전 증발에 의해 증발시켰다. 잔류물을 분취용 TLC 플레이트 (1:1.5의 헥산/에틸 아세테이트)에 의해 정제하여 무색 오일로서 5-(N-메틸-N-(2-메틸디티오-2,2-디메틸에틸)아미노-1,3-비스-(메실옥시메틸)-벤젠 (105 mg)을 수득하였다.

[0664] MS (ESI): $m/z = 480.0 \text{ MNa}^+$.

[0665] 5-(N-메틸-N-(2-메틸디티오-2,2-디메틸에틸)아미노-1,3-비스-(히드록시메틸)-벤젠은 하기와 같이 제조할 수 있었다:

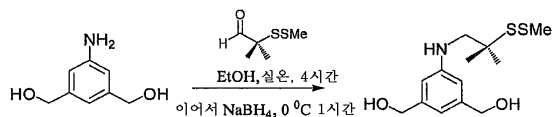


[0667] DMF (4 mL) 중 5-(N-(2-메틸디티오-2,2-디메틸에틸)아미노-1,3-비스-(히드록시메틸)-벤젠 (226 mg, 0.78 mmol)의 용액에 요오도메탄 (149 μ L, 2.4 mmol)을 첨가한 다음 탄산칼륨 분말 (108 mg, 0.78 mmol)을 첨가하였다. 4일 동안 실온에서 교반한 후, 포화 염화암모늄을 사용하여 상기 혼합물을 켄칭시킨 다음 디클로로메탄으로 희석하였다. 유기 층을 분리하고, 수성 층을 디클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시켰다. 상기 용액을 여과하고, 여과물을 감압 하에 증발시켰다. 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피 (1:2의 헥산/에틸 아세테이트)에 의해 정제하여 무색 포말체로서 5-(N-메틸-N-(2-메틸디티오-2,2-디메틸에틸)아미노-1,3-비스-(히드록시메틸)-벤젠 (152 mg)을 수득하였다.

[0668] MS (ESI): $m/z = 324.1 \text{ MNa}^+$

¹H NMR (400 Hz, CDCl₃-d₁, δ (ppm)): 6.70 (s, 2H), 6.66 (s, 1H), 4.06 (s, 4H), 3.54 (s, 2H), 3.04 (s, 3H), 2.46 (s, 3H), 1.37 (s, 6H)

[0670] 5-(N-(2-메틸디티오-2,2-디메틸에틸)아미노-1,3-비스-(히드록시메틸)-벤젠은 하기와 같이 제조할 수 있었다:



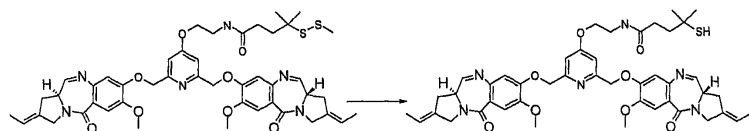
[0671]

[0672] 무수 에탄올 (25 mL) 중 5-아미노-1,3-비스-히드록시메틸-벤젠 (765 mg, 5 mmol)의 용액에 2-(메틸디티오)-이소부티르알데히드 (751 mg, 5 mmol)를 첨가하였다. 4시간 동안 실온에서 교반한 후, 아이스/물 배스를 사용하여 상기 용액을 0°C로 냉각시키고, 나트륨 보로히드라이드 (220 mg, 5.8 mmol)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 1시간 동안 0°C에서 계속 교반한 후에 냉각된 5% 염산을 사용하여 켄칭시키고, 디클로로메탄으로 희석하였다. 포화 중탄산나트륨을 첨가하여 용액이 약간 염기성이 되도록 하였다. 유기 층을 분리하고, 수성 층을 디클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시켰다. 상기 용액을 여과하고, 여과물을 감압 하에 증발시켰다. 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피 (CH₂Cl₂/MeOH, 15:1, 10:1)에 의해 정제하여 무색 오일로서 5-(N-(2-메틸디티오-2,2-디메틸에틸)아미노-1,3-비스-(히드록시메틸)-벤젠 (832 mg)을 수득하였다.

[0673] MS (ESI): m/z = 310.0 MNa⁺

[0674] 실시예 18:

[0675] 8,8'-[(4-(2-(4-메르캅토-4-메틸)-펜탄아미도-에톡시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]은 하기와 같이 제조할 수 있었다:



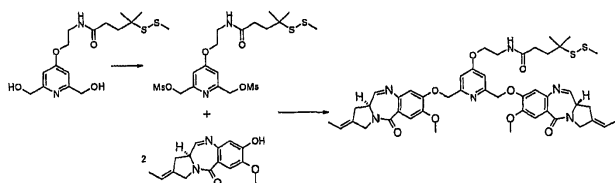
[0676]

[0677] 메탄올 (1.6 mL) 중 8,8'-[(4-(2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜탄아미도-에톡시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온] (60 mg)의 용액에 DMF (0.2 mL), 및 물 0.2 mL 중 트리스(2-카르복시에틸)포스핀 히드록로라이드 (48 mg)의 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 18시간 동안 교반하고, 용매를 진공 하에 제거하여 잔류물을 제공하였고, 이를 메탄올 (A) / 9:1의 디클로로메탄/아세트니트릴 (B)의 혼합물로의 구배 용리 (구배: 100% B → 10% A : 90% B)를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피 (머크 수퍼바리오플래쉬 10 g 컬럼, Si60 15-40 μm)에 의해 정제하여 8,8'-[(4-(2-(4-메르캅토-4-메틸)-펜탄아미도-에톡시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온] (17 mg)을 제공하였다:

[0678] LC/MS (방법 A1, ZQ): ES: m/z = 855 MH⁺ + H₂O. m/z = 837 MH⁺

[0679] 체류 시간 = 3.70분

[0680] 8,8'-[(4-(2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜탄아미도-에톡시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]은 하기와 같이 제조할 수 있었다:



[0681]

[0682] 디클로로메탄 (4 mL) 중 4-(2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜탄아미도-에톡시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘 (360 mg) 및 트리에틸아민 (810 μL)의 냉각된 (0°C) 용액에 디클로로메탄 (4 mL) 중 메탄술포닐 클로라이드 (298 μL)의 용액을 첨가하였다. 2시간 후, 물을 첨가하였다. 층을 분리하고, 수성 층을 디클로로메탄으로 2회 추출하였다. 합한 유기 용액을 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켜 잔류물을 얻었다. 상

기 잔류물을 메탄올 (A) / 디클로로메탄 (B)의 혼합물로의 구배 용리 (구배: 100% B → 3% A : 97% B)를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피 (인터크롬 푸리플래쉬 20 g 컬럼, SiOH 15-35 μ m)에 의해 정제하여 메실레이트 화합물 280 mg을 제공하였다. 디메틸포름아미드 (4 mL) 중 예비-토메이마이신 (120 mg)의 용액에 탄산칼륨 (244 mg), 칼륨 요오다이드 (147 mg) 및 상기 메실레이트 화합물 샘플 (137 mg)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 30℃에서 20시간 동안 교반하였다. 물 (20 mL)을 첨가하고, 생성된 고체를 여과하고, 물로 세척하고, 진공 하에 건조시켜 잔류물을 제공하였다. 상기 잔류물을 메탄올 (A) / 디클로로메탄 (B)의 혼합물로의 구배 용리 (구배: 100% B → 6% A : 94% B)를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피 (인터크롬 푸리플래쉬 20 g 컬럼, SiOH 15-35 μ m)에 의해 정제하여 조 화합물을 제공하였고, 이를 1:1의 물/아세트니트릴 중에 용해시킨 후에 진공 하에 농축시켜 8,8'-[(4-(2-(4-메틸-4-메틸디술파닐)-펜탄아미도-에톡시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온] (120 mg)을 제공하였다:

[0683] LC/MS (방법 A1, ZQ): ES: $m/z = 919 \text{ MH}^+ + 2\text{H}_2\text{O}$.

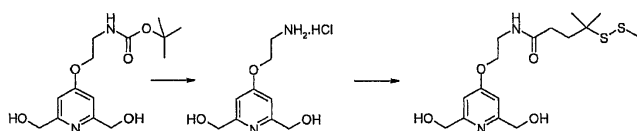
[0684] $m/z = 901 \text{ MH}^+ + \text{H}_2\text{O}$. $m/z = 883 \text{ MH}^+$

[0685] 체류 시간 = 3.82분

^1H N.M.R. (500 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$, δ (ppm)): $\delta = 1,28$ (s, 6H); 1,75 (d, J = 6,5 Hz, 6H); 1,94 (m, 2H); 2,29 (m, 2H); 2,39 (s, 3H); 2,97 (m, 4H); 3,50 - 4,20 (m, 6H); 4,00 (s, 6H); 4,27 (s, 4H); 5,27 (m, 4H); 5,61 (m, 2H); 5,87 (넓은 t, J = 5,5 Hz, 1H); 6,83 (s, 2H); 6,97 (s, 2H); 7,55 (s, 2H); 7,64 (d, J = 4,5 Hz, 2H).

[0686]

[0687] 4-(2-(4-메틸-4-메틸디술파닐)-펜탄아미도-에톡시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘은 하기와 같이 제조할 수 있었다:



[0688]

[0689] 디옥산 (3.5 mL) 중 4-(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에톡시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘 (656 mg)의 용액에 디옥산 중의 4 N 염산 용액 (5.5 mL)을 첨가하였다. 실온에서 20시간 후, 반응 혼합물을 진공 하에 농축시켜 잔류물 (603 mg)을 얻었다.

[0690] 디메틸포름아미드 (3.5 mL) 중 상기 잔류물 샘플 (150 mg)의 용액에 트리에틸아민 (267 μ L), 4-메틸-4-메틸디술파닐-펜탄산 (149 mg), N,N'-다이소프로필카르보디이미드 (119 μ L) 및 1-히드록시벤조트리아졸 수화물 (49 mg)을 첨가하였다. 실온에서 15시간 후, 물을 상기 반응 혼합물에 첨가하고, 수용액을 에틸 아세테이트로 3회 추출하였다. 합한 유기 용액을 포화 염화나트륨 수용액으로 세척하고, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켜 잔류물을 얻었다. 상기 잔류물을 메탄올 (A) / 디클로로메탄 (B)의 혼합물로의 구배 용리 (구배: 100% B → 10% A : 90% B)를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피 (인터크롬 푸리플래쉬 20 g 컬럼, SiOH 15-35 μ m)에 의해 정제하여 4-(2-(4-메틸-4-메틸디술파닐)-펜탄아미도-에톡시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘 (81 mg)을 제공하였다:

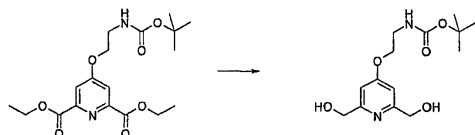
[0691] LC/MS (방법 A3): ES: $m/z = 375 \text{ MH}^+$. $m/z = 156 \text{ C}_7\text{H}_{10}\text{NO}_3^+$

[0692] 체류 시간 = 2.2분

^1H N.M.R. (400 MHz, DMSO-d_6 , δ (ppm)): $\delta = 1,22$ (s, 6H); 1,79 (m, 2H); 2,19 (m, 2H); 2,39 (s, 3H); 3,43 (q, J = 5,5 Hz, 2H); 4,06 (t, J = 5,5 Hz, 2H); 4,45 (넓은 d, J = 6,0 Hz, 4H); 5,33 (d, J = 6,0 Hz, 2H); 6,84 (s, 2H); 8,13 (넓은 t, J = 5,5 Hz, 1H).

[0693]

[0694] 4-(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에톡시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘



[0695]

[0696] 4-(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에톡시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘은 4-(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에톡시)-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르에서부터 출발하여 4-(3-tert-부톡시카르보닐아미노-프로폭시)-2,6-비스-(히드록시메틸)피리딘의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

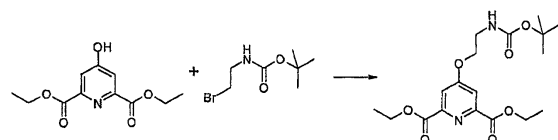
[0697] LC/MS (방법 A3): ES: $m/z = 299 \text{ MH}^+$. $m/z = 156 \text{ C}_7\text{H}_{10}\text{NO}_3^+$

[0698] 체류 시간 = 1.7분

$^1\text{H N.M.R. (300 MHz, DMSO-d}_6, \delta \text{ (ppm))}$: $\delta = 1,39 \text{ (s, 9H)}$; $3,32 \text{ (부분적으로 가려진 m, 2H)}$; $4,03 \text{ (t, J = 6,0 Hz, 2H)}$; $4,46 \text{ (d, J = 6,0 Hz, 4H)}$; $5,30 \text{ (t, J = 6,0 Hz, 2H)}$; $6,83 \text{ (s, 2H)}$; $7,00 \text{ (넓은 t, J = 6,0 Hz, 1H)}$.

[0699]

[0700] 4-(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에톡시)-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르



[0701]

[0702] 4-(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에톡시)-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르는 2-tert-부톡시카르보닐아미노-에틸 브로마이드를 사용하여 4-(3-tert-부톡시카르보닐아미노-프로폭시)-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

[0703] LC/MS (방법 A3): ES: $m/z = 383 \text{ MH}^+$. $m/z = 240 \text{ C}_{11}\text{H}_{14}\text{NO}_5^+$

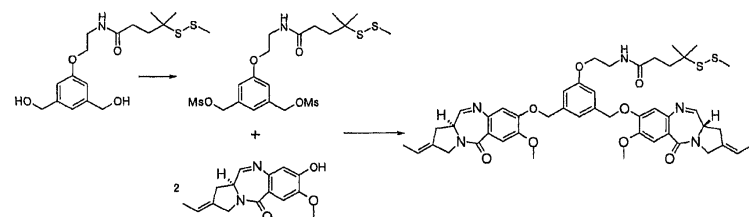
[0704] 체류 시간 = 3.6분

$^1\text{H N.M.R. (300 MHz, DMSO-d}_6, \delta \text{ (ppm))}$: $\delta = 1,23 \text{ (t, J = 7,0 Hz, 6H)}$; $1,37 \text{ (s, 9H)}$; $3,33 \text{ (부분적으로 가려진 m, 2H)}$; $4,22 \text{ (t, J = 5,5 Hz, 2H)}$; $4,38 \text{ (q, J = 7,0 Hz, 4H)}$; $7,01 \text{ (넓은 t, J = 5,5 Hz, 1H)}$; $7,71 \text{ (s, 2H)}$.

[0705]

[0706] 실시예 19:

[0707] 8,8'-[(1-(2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜탄아미도-에톡시)-벤젠-3,5-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]



[0708]

[0709] 8,8'-[(1-(2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜탄아미도-에톡시)-벤젠-3,5-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]은 1-(2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜탄아미도-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠에서부터 출발하여 8,8'-[(4-(2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜탄아미도-에톡시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

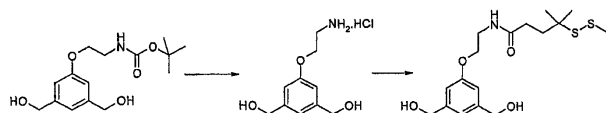
[0710] LC/MS (방법 A1, 플랫폼 I): ES: $m/z = 882 \text{ MH}^+$

[0711] 체류 시간 = 4.13분

$^1\text{H N.M.R.}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$, δ (ppm)): 1,30 (s, 6H); 1,75 (d, $J = 6,5 \text{ Hz}$, 6H); 1,96 (m, 2H); 2,31 (m, 2H); 2,40 (s, 3H); 2,97 (m, 4H); 3,66 (m, 2H); 3,89 (m, 2H); 3,97 (s, 6H); 4,04 (t, $J = 5,5 \text{ Hz}$, 2H); 4,27 (넓은 s, 4H); 5,14 (d, $J = 12,5 \text{ Hz}$, 2H); 5,19 (d, $J = 12,5 \text{ Hz}$, 2H); 5,61 (m, 2H); 5,93 (t, $J = 6,0 \text{ Hz}$, 1H); 6,82 (s, 2H); 6,94 (넓은 s, 2H); 7,09 (넓은 s, 1H); 7,53 (s, 2H); 7,64 (d, $J = 4,5 \text{ Hz}$, 2H).

[0712]

[0713] 1-(2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜탄아미도-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠



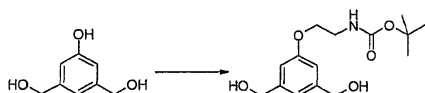
[0714]

[0715] 1-(2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜탄아미도-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠은 1-(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠을 사용하여 4-(2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜탄아미도-에톡시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

$^1\text{H N.M.R.}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$, δ (ppm)): $\delta = 1,22$ (s, 6H); 1,80 (m, 2H); 2,20 (m, 2H); 2,39 (s, 3H); 3,40 (q, $J = 6,0 \text{ Hz}$, 2H); 3,95 (t, $J = 6,0 \text{ Hz}$, 2H); 4,44 (d, $J = 6,0 \text{ Hz}$, 4H); 5,11 (넓은 t, $J = 6,0 \text{ Hz}$, 2H); 6,73 (넓은 s, 2H); 6,84 (넓은 s, 1H); 8,09 (넓은 t, 1H).

[0716]

[0717] 1-(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠



[0718]

[0719] 1-(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠은 2-tert-부톡시카르보닐아미노에틸 브로마이드를 사용하여 5-(3-프탈이미도-프로폭시)-1,3-비스-(히드록시메틸)-벤젠의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

[0720] LC/MS (방법 A3): ES: $m/z = 298 \text{ MH}^+$.

[0721] $m/z = 242$ ($\text{M} + 2\text{H} - \text{tBu}$) $^+$. $m/z = 224$ ($m/z = 242 - \text{H}_2\text{O}$) $^+$.

[0722] $m/z = 206$ ($m/z = 224 - \text{H}_2\text{O}$) $^+$. $m/z = 162$ ($m/z = 206 - \text{CO}_2$) $^+$

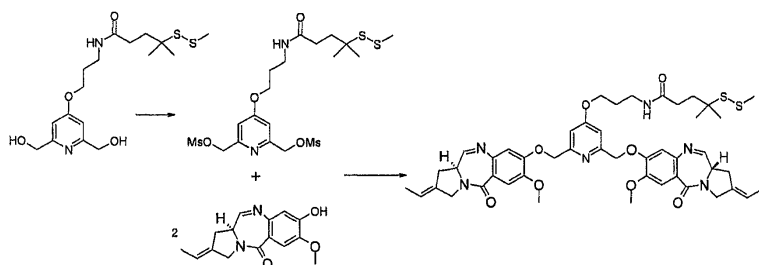
[0723] 체류 시간 = 2.7분

$^1\text{H N.M.R.}$ (500 MHz, DMSO-d_6 , δ (ppm)): $\delta = 1,39$ (s, 9H); 3,28 (q, $J = 6,0 \text{ Hz}$, 2H); 3,91 (t, $J = 6,0 \text{ Hz}$, 2H); 4,44 (d, $J = 6,0 \text{ Hz}$, 4H); 5,14 (t, $J = 6,0 \text{ Hz}$, 2H); 6,72 (넓은 s, 2H); 6,83 (넓은 s, 1H); 7,01 (넓은 t, $J = 7,0 \text{ Hz}$, 1H).

[0724]

[0725] 실시예 20:

[0726] 8,8'-[(4-(3-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜탄아미도-프로폭시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]은 하기와 같이 제조할 수 있었다:



[0727]

[0728]

디클로로메탄 (2 mL) 중 4-(3-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜탄아미도-프로폭시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘 (55 mg) 및 트리에틸아민 (99 μ L)의 냉각된 (0°C) 용액에 메탄술폰닐 클로라이드 (36 μ L)를 첨가하였다. 30 분 후, 물을 첨가하였다. 층을 분리하고, 수성 층을 디클로로메탄으로 2회 추출하였다. 합한 유기 용액을 황 산마그네슘 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켜 잔류물 (95 mg)을 얻었다.

[0729]

디메틸포름아미드 (0.75 mL) 중 예비-토메이마이신 (50 mg)의 교반 용액에 탄산칼륨 (114 mg), 디메틸포름아미드 (1 mL) 중 상기 잔류물 (55 mg)의 용액 및 칼륨 요오다이드 (46 mg)를 첨가하였다. 반응물을 30°C에서 20시간 동안 교반하였다. 고체를 여과제거하고, 디메틸포름아미드로 세척하였다. 물을 상기 합한 디메틸포름아미드 용액에 첨가하고, 침전물이 완전히 용해될 때까지 포름산을 첨가하였다. 생성된 용액을 방법 B에 따라 HPLC 정제를 위해 주입하였다. 적절한 분획을 합하고, 조우안 모델 RC10.10. 장치에서 원심 증발에 의해 농축시켜 8,8'-[4-(3-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜탄아미도-프로폭시)-피리딘-2,6-디메틸]-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온] (13.5 mg)을 수득하였다.

[0730]

LC/MS (방법 A3): ES: $m/z = 897 \text{ MH}^+$

[0731]

$m/z = 664 \text{ (M - C}_{10}\text{H}_{20}\text{NOS}_2 + 2\text{H})^+$. $m/z = 234 \text{ C}_{10}\text{H}_{20}\text{NOS}_2^+$

[0732]

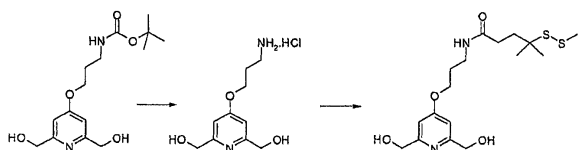
체류 시간 = 3.7분

$^1\text{H N.M.R. (500 MHz, CD}_3\text{COOD-}d_4, \delta \text{ (ppm))}$: $\delta = 1.25 \text{ (s, 6H)}$; $1.60 - 2.20 \text{ (부분적으로 가려진 m, 10H)}$; 2.35 (m, 5H) ; $2.80 - 4.44 \text{ (m, 14H)}$; 3.91 (s, 6H) ; 5.40 (s, 4H) ; 5.62 (m, 2H) ; $6.83 - 7.95 \text{ (m, 8H)}$.

[0733]

[0734]

4-(3-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜탄아미도-프로폭시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘



[0735]

[0736]

4-(3-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜탄아미도-프로폭시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘은 4-(3-tert-부톡시카르보닐아미도-프로폭시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘을 사용하여 4-(2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜탄아미도-에톡시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

[0737]

LC/MS (방법 A3): ES: $m/z = 389 \text{ MH}^+$

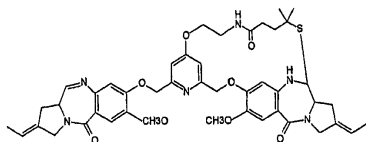
[0738]

$m/z = 234 \text{ (M - C}_7\text{H}_8\text{NO}_3)^+$. $m/z = 156 \text{ C}_7\text{H}_{10}\text{NO}_3^+$

[0739]

체류 시간 = 2.3분

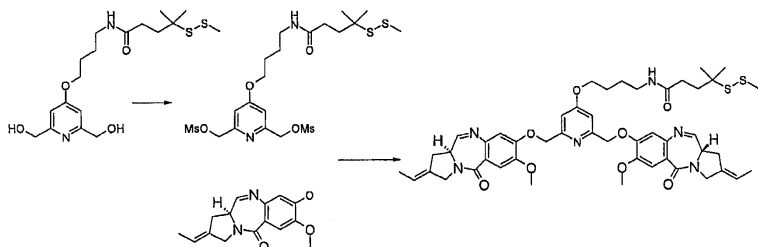
[0740] 실시예 20의 화합물로부터 유도된 티올 (SH) 유도체는 하기 화학식의 화합물과 평형 상태에 있다:



[0741]

[0742] 실시예 21:

[0743] 8,8'-[(4-(4-(4-메틸-4-메틸디술과닐)-펜탄아미도-부톡시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]



[0744]

[0745] 8,8'-[(4-(4-(4-메틸-4-메틸디술파닐)-펜탄아미도-부톡시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]은 4-(4-(4-메틸-4-메틸디술파닐)-펜탄아미도-부톡시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘을 사용하여 8,8'-[(4-(3-(4-메틸-4-메틸디술파닐)-펜탄아미도-프로폭시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

[0746] LC/MS (방법 A1, 플랫폼 II): ES: $m/z = 947 \text{ MH}^+ + 2\text{H}_2\text{O}$

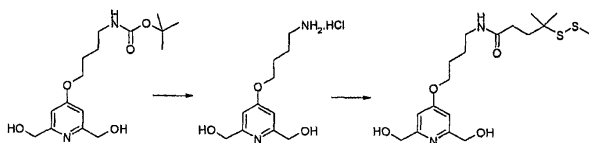
[0747] $m/z = 929 \text{ MH}^+ + \text{H}_2\text{O}$. $m/z = 911 \text{ MH}^+$

[0748] 체류 시간 = 3.74분

¹H N.M.R. (500 MHz, CD₃COOD-d₄, δ (ppm)): δ = 1,26 (s, 6H); 1,59 – 1,76 (m, 8H); 1,81 – 1,94 (m, 4H); 2,35 (m, 5H); 2,80 – 4,40 (m, 14H); 3,92 (s, 6H); 5,39 (m, 4H); 5,50 (m, 2H); 6,72 – 7,95 (m, 8H).

[0749]

[0750] 4-(4-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜탄아미도-부톡시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘



[0751]

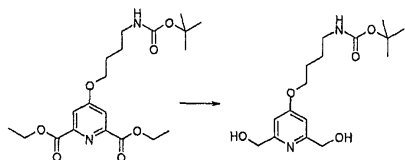
[0752] 4-(4-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜탄아미도-부톡시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘은 4-(4-tert-부톡시카르보닐아미노-부톡시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘을 사용하여 4-(2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜탄아미도-에톡시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

[0753] LC/MS (방법 A3): ES: $m/z = 403$ MH⁺.

[0754] $m/z = 248$ ($M - C_7H_8NO_3$)⁺. $m/z = 156$ $C_7H_{10}NO_3$ ⁺

[0755] 체류 시간 = 2.3분

[0756] 4-(4-tert-부톡시카르보닐아미노-부톡시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘



[0757]

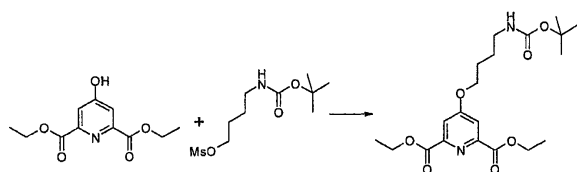
[0758] 4-(4-tert-부톡시카르보닐아미노-부톡시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘은 4-(4-tert-부톡시카르보닐아미노-부톡시)-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르에서부터 출발하여 4-(3-tert-부톡시카르보닐아미노-프로폭시)-2,6-비스-(히드록시메틸)피리딘의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

[0759] LC/MS (방법 A3): ES: $m/z = 411 \text{ MH}^+$.

[0760] $m/z = 355 \text{ (M} + 2\text{H} - \text{tBu})^+$. $m/z=240 \text{ C}_{11}\text{H}_{14}\text{NO}_5^+$

[0761] 체류 시간 = 3.9분

[0762] 4-(4-tert-부톡시카르보닐아미노-부톡시)-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르



[0763]

[0764] 4-(4-tert-부톡시카르보닐아미노-부톡시)-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르는 메탄술폰산 4-tert-부톡시카르보닐아미노-부틸 에스테르를 사용하여 4-(3-tert-부톡시카르보닐아미노-프로폭시)-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다 (문헌 [Cazenave Gassiot, A.; Charton, J.; Girault-Mizzi, S.; Gilleron, P.; Debreu-Fontaine, M-A.; Sergheraert, C.; Melnyk, P. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2005, 15(21), 4828]):

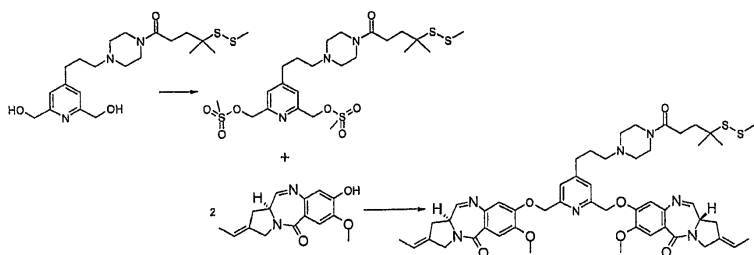
[0765] LC/MS (방법 A3): ES: $m/z = 327 \text{ MH}^+$.

[0766] $m/z = 271 \text{ (M} + 2\text{H} - \text{tBu})^+$. $m/z = 156 \text{ C}_7\text{H}_{10}\text{NO}_3^+$

[0767] 체류 시간 = 2.0분

[0768] 실시예 22:

[0769] 8,8'-[(4-(3-[4-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일)-피페라진-1-일]-프로필)-피리딘-2,6-디메틸]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]



[0770]

[0771] 8,8'-[(4-(3-[4-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일)-피페라진-1-일]-프로필)-피리딘-2,6-디메틸]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]은 4-(3-[4-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일)-피페라진-1-일]-프로필)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘을 사용하여 8,8'-[(4-(3-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜타노일)-피페라진-1-일)-프로폭시]-피리딘-2,6-디메틸]-비스[(S)-2-에트-

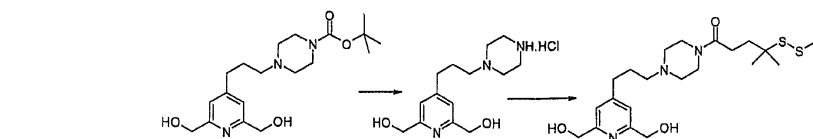
(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피콜로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

[0772] LC/MS (방법 A1, 플랫폼 II): ES: $m/z = 950 \text{ MH}^+$

[0773] 체류 시간 = 3.32분

[0774] $^1\text{H N.M.R.}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): $\delta = 1.32$ (s, 6H); 1.76 (d, $J = 6.5$ Hz, 6H); 1.80 (m, 2H); 1.94 (m, 2H); 2.27 - 2.46 (m, 11H); 2.67 (m, 2H); 2.97 (m, 4H); 3.40 - 3.70 (m, 4H); 3.90 (m, 2H); 4.00 (s, 6H); 4.27 (넓은 s, 4H); 5.29 (넓은 s, 4H); 5.60 (넓은 q, $J = 6.5$ Hz, 2H); 6.86 (s, 2H); 7.30 (s, 2H); 7.56 (s, 2H); 7.65 (d, $J = 4.5$ Hz, 2H).

[0775] 4-(3-[4-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일)-피페라진-1-일]-프로필)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘은 하기와 같이 제조할 수 있었다:



[0777] 디옥산 (10 mL) 중 4-(3-(4-tert-부톡시카르보닐-피페라진-1-일)-프로필)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘 (610 mg)의 용액에 디옥산 중의 4 N 염산 용액 (2.5 mL)을 첨가하였다. 실온에서 4시간 후, 반응 혼합물을 진공 하에 농축시켜 잔류물 (560 mg)을 얻었다.

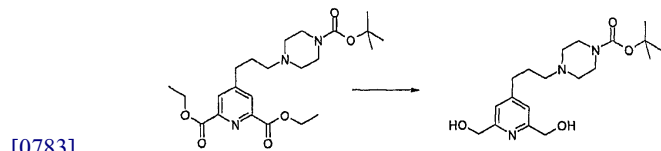
[0778] 디메틸포름아미드 (2.5 mL) 중 상기 잔류물 샘플 (160 mg)의 용액에 N,N-디이소프로필에틸아민 (181 μL), 4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜탄산 (158 mg), N,N'-디이소프로필카르보디이미드 (88 μL) 및 1-히드록시벤조트리아졸 수화물 (15 mg)을 첨가하였다. 실온에서 15시간 후, 고체를 여과제거하고, 디메틸포름아미드 용액을 방법 F에 따라 HPLC 정제를 위해 주입하였다. 적절한 분획을 합하고, 동결-건조에 의해 농축시켜 4-(3-[4-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일)-피페라진-1-일]-프로필)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘 (105 mg)을 수득하였다:

[0779] LC/MS (방법 A3): ES: $m/z = 442 \text{ MH}^+$. $m/z = 266 (\text{M} + 2\text{H} - \text{C}_7\text{H}_{13}\text{OS}_2)^+$

[0780] 체류 시간 = 2.3분

[0781] $^1\text{H N.M.R.}$ (400 MHz, DMSO-d_6 , δ (ppm)): $\delta = 1.27$ (s, 6H); 1.70 - 1.83 (m, 4H); 2.25 - 2.39 (m, 8H); 2.40 (s, 3H); 2.63 (m, 2H); 3.43 (m, 4H); 4.49 (s, 4H); 5.28 (넓은 m, 2H); 7.18 (s, 2H).

[0782] 4-(3-(4-tert-부톡시카르보닐-피페라진-1-일)-프로필)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘



[0784] 4-(3-(4-tert-부톡시카르보닐-피페라진-1-일)-프로필)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘은 4-[3-(4-tert-부톡시카르보닐-피페라진-1-일)-프로필]-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르에서부터 출발하여 4-(3-tert-부톡시카르보닐아미노-프로폭시)-2,6-비스-(히드록시메틸)피리딘의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

[0785] LC/MS (방법 A3): ES: $m/z = 366 \text{ MH}^+$

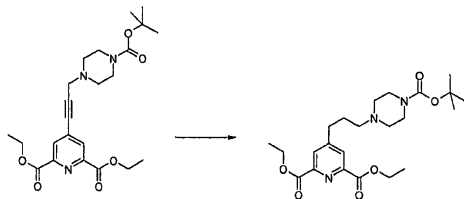
[0786] $m/z = 310 (\text{M} + 2\text{H} - \text{tBu})^+$. $m/z = 266 (\text{M} + 2\text{H} - \text{CO}_2\text{tBu})^+$

[0787] 체류 시간 = 0.5분

¹H N.M.R. (400 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)): δ = 1,39 (s, 9H); 1,73 (m, 2H); 2,29 (m, 6H); 2,61 (m, 2H); 3,30 (부분적으로 가려진 m, 4H); 4,49 (d, J = 6,0 Hz, 4H); 5,30 (넓은 t, J = 6,0 Hz, 2H); 7,18 (s, 2H).

[0788]

[0789] 4-[3-(4-tert-부톡시카르보닐-피페라진-1-일)-프로필]-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르



[0790]

[0791] 4-[3-(4-tert-부톡시카르보닐-피페라진-1-일)-프로프-1-이닐]-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르는 4-[3-(4-tert-부톡시카르보닐-피페라진-1-일)-프로프-1-이닐]-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르에서부터 출발하여 5-(3-tert-부톡시카르보닐-N-메틸-아미노-프로필)-벤젠-1,3-디카르복실산 디에틸 에스테르의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

[0792] LC/MS (방법 A3): ES: m/z = 450 MH⁺

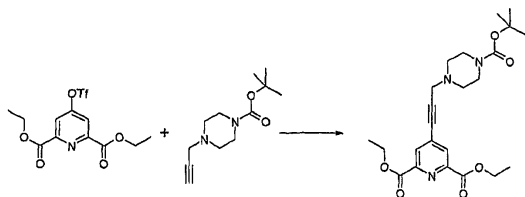
[0793] m/z = 394 (M + 2H - tBu)⁺. m/z = 350 (M + 2H - CO₂tBu)⁺

[0794] 체류 시간 = 2.4분

¹H N.M.R. (400 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)): δ = 1,35 (t, J = 7,0 Hz, 6H); 1,39 (s, 9H); 1,79 (m, 2H); 2,27 (m, 6H); 2,80 (m, 2H); 3,29 (m, 4H); 4,39 (q, J = 7,0 Hz, 4H); 8,12 (s, 2H).

[0795]

[0796] 4-[3-(4-tert-부톡시카르보닐-피페라진-1-일)-프로프-1-이닐]-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르



[0797]

[0798] 4-[3-(4-tert-부톡시카르보닐-피페라진-1-일)-프로프-1-이닐]-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르는 4-트리플루오로메탄술포닐옥시-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르 및 tert-부틸-4-프로파길-피페라진-1-카르복실레이트에서부터 출발하여 5-(3-tert-부톡시카르보닐-N-메틸-아미노-프로판-1-일)-벤젠-1,3-디카르복실산 디에틸 에스테르의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다 (문헌 [Zheng, H.; Weiner, L.M.; Bar-Am, O.; Epsztejn, S.; Cabantchik, Z.I.; Warshawsky, A.; Youdim, M.B.H.; and Fridkin, M. Bioorg. Med. Chem. 2005, 3, 773]):

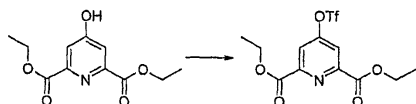
[0799] EI (방법 C): m/z = 445 M⁺. m/z = 388 (M - C₄H₉)⁺

[0800] m/z = 344 (m/z = 388 - CO₂)⁺. m/z = 57 C₄H₉⁺

¹H N.M.R. (400 MHz, CDCl₃-d₁, δ (ppm)): δ = 1,46 (t, J = 7,0 Hz, 6H); 1,48 (s, 9H); 2,60 (넓은 m, 4H); 3,52 (넓은 m, 4H); 3,62 (넓은 s, 2H); 4,49 (q, J = 7,0 Hz, 4H); 8,23 (s, 2H).

[0801]

[0802] 4-트리플루오로메탄술포닐옥시-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르는 하기와 같이 제조할 수 있었다:



[0803]

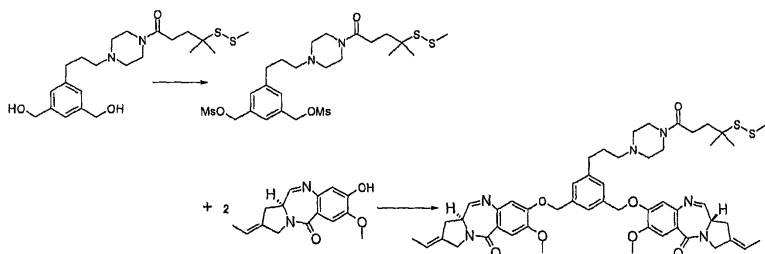
[0804] 피리딘 (35 mL) 중 켈리담산 디에틸 에스테르 (문헌 [Chaubet, F.; Nguyen van duong, M.; Gref, A.; Courtieu, J.; Crumbliss, A.L.; Gaudemer, A. Tetrahedron Lett. 1990, 31(40), 5729-5732]) (3.5 g)의 냉각된 (0°C) 용액에 트리플루오로메탄술포닐 클로라이드 (2.6 mL)를 적가하였다. 이어서 반응물을 3시간 동안 실온에서 교반하였다. 물 및 에틸 아세테이트를 첨가하였다. 층을 분리하고, 수성 층을 에틸 아세테이트로 2회 추출하였다. 합한 유기 용액을 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켜 잔류물을 얻었다. 상기 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피 (머크 수퍼마리오프랩 90 g 컬럼, Si60 15-40 μm, 디클로로메탄으로 용리함)에 의해 정제하여 4-트리플루오로메탄술포닐옥시-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르 (4.2 g)를 제공하였다.

[0805] LC/MS (방법 A1, 플랫폼 I): ES: $m/z = 372 \text{ MH}^+$

[0806] 체류 시간 = 4.38분

[0807] 실시예 23:

[0808] 8,8'-[(1-(3-[4-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일)-피페라진-1-일]-프로필)-벤젠-3,5-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]



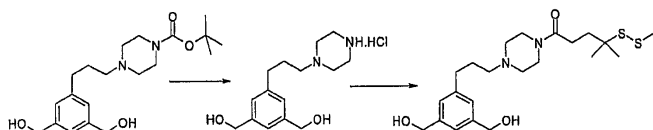
[0809]

[0810] 8,8'-[(1-(3-[4-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일)-피페라진-1-일]-프로필)-벤젠-3,5-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]은 1-(3-[4-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일)-피페라진-1-일]-프로필)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠을 사용하여 8,8'-[(4-(3-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜타나미도-프로폭시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

[0811] LC/MS (방법 A3): ES: $m/z = 949 \text{ MH}^+$, $m/z = 475,3 \text{ (M} + 2\text{H)}^{2+}/2$

[0812] 체류 시간 = 3.3분

[0813] 1-(3-[4-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일)-피페라진-1-일]-프로필)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠



[0814]

[0815] 1-(3-[4-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일)-피페라진-1-일]-프로필)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠은 1-(3-(4-tert-부톡시카르보닐-피페라진-1-일)-프로필)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠에서부터 출발하여 4-(3-[4-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일)-피페라진-1-일]-프로필)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

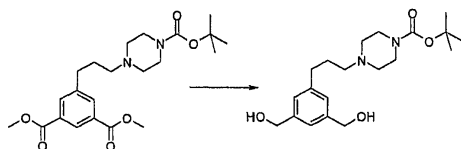
[0816] LC/MS (방법 A3): ES: $m/z = 441 \text{ MH}^+$

[0817] 체류 시간 = 2.4분

^1H N.M.R. (400 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): δ = 1,26 (s, 6H); 1,71 (m, 2H); 1,79 (m, 2H); 2,22 - 2,40 (m, 8H); 2,39 (s, 3H); 2,58 (m, 2H); 3,44 (m, 4H); 4,45 (d, J = 6,0 Hz, 4H); 5,09 (t, J = 6,0 Hz, 2H); 7,00 (넓은 s, 2H); 7,08 (넓은 s, 1H).

[0818]

[0819] 1-(3-(4-tert-부톡시카르보닐-피페라진-1-일)-프로필)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠



[0820]

[0821] 1-(3-(4-tert-부톡시카르보닐-피페라진-1-일)-프로필)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠은 5-[3-(4-tert-부톡시카르보닐-피페라진-1-일)-프로필]-이소프탈산 디메틸 에스테르에서부터 출발하여 5-(3-tert-부톡시카르보닐-N-메틸-아미노-프로필)-1,3-비스-(히드록시메틸)-벤젠의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

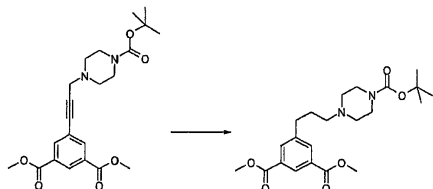
[0822] LC/MS (방법 A3): ES: m/z = 365 MH^+ . m/z = 309 ($\text{M} + 2\text{H} - \text{tBu}$) $^+$

[0823] 체류 시간 = 2.0분

^1H N.M.R. (300 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): δ = 1,39 (s, 9H); 1,71 (m, 2H); 2,28 (m, 6H); 2,57 (m, 2H); 3,29 (부분적으로 가려진 m, 4H); 4,44 (d, J = 6,0 Hz, 4H); 5,08 (t, J = 6,0 Hz, 2H); 7,00 (넓은 s, 2H); 7,08 (넓은 s, 1H).

[0824]

[0825] 5-[3-(4-tert-부톡시카르보닐-피페라진-1-일)-프로필]-이소프탈산 디메틸 에스테르



[0826]

[0827] 5-[3-(4-tert-부톡시카르보닐-피페라진-1-일)-프로필]-이소프탈산 디메틸 에스테르는 5-[3-(4-tert-부톡시카르보닐-피페라진-1-일)-프로프-1-이닐]-이소프탈산 디메틸 에스테르에서부터 출발하여 5-(3-tert-부톡시카르보닐-N-메틸-아미노-프로필)-벤젠-1,3-디카르복실산 디메틸 에스테르의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

[0828] LC/MS (방법 A3): ES: m/z = 421 MH^+ .

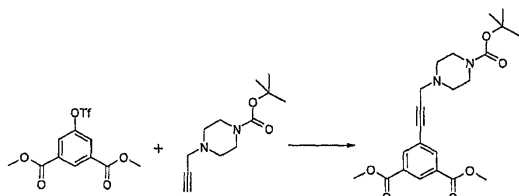
[0829] m/z = 365 ($\text{M} + 2\text{H} - \text{tBu}$) $^+$. m/z = 321 ($\text{M} + 2\text{H} - \text{CO}_2\text{tBu}$) $^+$

[0830] 체류 시간 = 2.7분

^1H N.M.R. (400 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): δ = 1,39 (s, 9H); 1,74 (m, 2H); 2,28 (m, 6H); 2,75 (m, 2H); 3,30 (부분적으로 가려진 m, 4H); 3,89 (s, 6H); 8,08 (d, J = 2,0 Hz, 2H); 8,32 (t, J = 2,0 Hz, 1H).

[0831]

[0832] 5-[3-(4-tert-부톡시카르보닐-피페라진-1-일)-프로프-1-이닐]-이소프탈산 디메틸 에스테르



[0833]

[0834] 5-[3-(4-tert-부톡시카르보닐-피페라진-1-일)-프로프-1-이닐]-이소프탈산 디메틸 에스테르는 tert-부틸-4-프로파릴-피페라진-1-카르복실레이트에서부터 출발하여 5-(3-tert-부톡시카르보닐-N-메틸-아미노-프로판-1-일)-벤젠-1,3-디카르복실산 디에틸 에스테르의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

[0835] LC/MS (방법 A3): ES: $m/z = 417$ MH⁺.

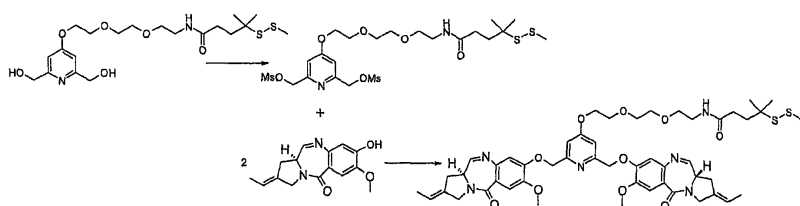
[0836] $m/z = 361$ ($M + 2H - tBu$)⁺. $m/z = 317$ ($M + 2H - CO_2tBu$)⁺

[0837] 체류 시간 = 3.1분

¹H N.M.R. (400 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)) : δ = 1,40 (s, 9H) ; 2,50 (가려진 m, 4H) ; 3,35 (m, 4H) ; 3,61 (s, 2H) ; 3,90 (s, 6H) ; 8,14 (넓은 s, 2H) ; 8,40 (넓은 s, 1H) .

[0839] 실시예 24:

[0840] 8,8'-[(4-(2-{2-[2-(4-메틸-4-메틸디술폰닐-펜타노일아미노)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-피리딘-2,6-디메틸)-디
 옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]



[0841]

[0842] 8,8'-[(4-(2-{2-[2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일아미노)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]은 4-(2-{2-[2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일아미노)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘을 사용하여 8,8'-[(4-(3-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜탄아미도-프로폭시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

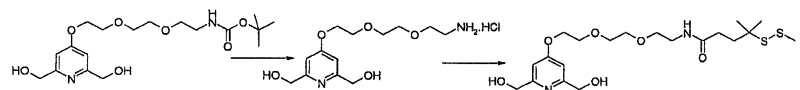
[0843] LC/MS (방법 A3): ES: $m/z = 971$ MH⁺. $m/z = 486.3$ (M + 2H)²⁺/2

[0844] 체류 시간 = 3.60분

¹H N.M.R. (500 MHz, CDCl₃-d₁, δ (ppm)) : δ = 1,28 (s, 6H) ; 1,76 (d, J = 6,5 Hz, 6H) ; 1,94 (m, 2H) ; 2,26 (m, 2H) ; 2,40 (s, 3H) ; 2,98 (m, 4H) ; 3,36 – 3,95 (m, 12H) ; 4,00 (s, 6H) ; 4,18 (m, 2H) ; 4,28 (넓은 s, 4H) ; 5,27 (m, 4H) ; 5,61 (m, 2H) ; 5,97 (넓은 m, 1H) ; 6,84 (s, 2H) ; 7,01 (넓은 s, 2H) ; 7,56 (s, 2H) ; 7,64 (d, J = 4,5 Hz, 2H).

[0845]

[0846] 4-(2-{2-[2-(4-메틸-4-메틸디술폰닐-펜타노일아미노)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘



[0847]

[0848] 4-(2-{2-[2-(4-메틸-4-메틸디술파닐-펜타노일아미노)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘은 4-(2-{2-[2-tert-부톡시카르보닐아미노-에톡시]-에톡시}-에톡시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘에서부터 출발하여 4-(3-[4-(4-메틸-4-메틸디술파닐-펜타노일)-피페라진-1-일]-프로필)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

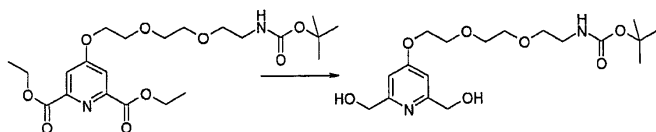
[0849] LC/MS (방법 A3): ES: $m/z = 463$ MH⁺

[0850] 체류 시간 = 2.3분

^1H N.M.R. (400 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): δ = 1,22 (s, 6H); 1,79 (m, 2H); 2,15 (m, 2H); 2,39 (s, 3H); 3,18 (q, J = 6,0 Hz, 2H); 3,40 (t, J = 6,0 Hz, 2H); 3,52 (m, 2H); 3,60 (m, 2H); 3,76 (m, 2H); 4,18 (m, 2H); 4,45 (s, 4H); 5,32 (넓은 m, 2H); 6,85 (s, 2H); 7,90 (넓은 t, J = 6,0 Hz, 1H).

[0851]

[0852] 4-(2-{2-[2-tert-부톡시카르보닐아미노-에톡시]-에톡시}-에톡시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘



[0853]

[0854] 4-(2-{2-[2-tert-부톡시카르보닐아미노-에톡시]-에톡시}-에톡시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘은 4-(2-{2-[2-tert-부톡시카르보닐아미노-에톡시]-에톡시}-에톡시)-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르에서부터 출발하여 4-(3-tert-부톡시카르보닐아미노-프로폭시)-2,6-비스-(히드록시메틸)피리딘의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

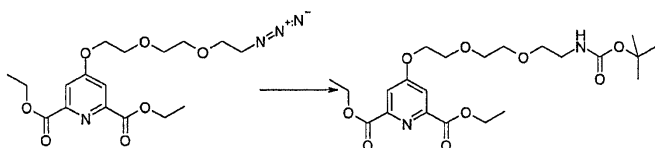
[0855] LC/MS (방법 A3): ES: m/z = 387 MH^+ . m/z = 331 ($\text{M} + 2\text{H} - \text{tBu}$) $^+$

[0856] 체류 시간 = 2.0분

^1H N.M.R. (400 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): δ = 1,37 (s, 9H); 3,07 (q, J = 6,0 Hz, 2H); 3,39 (t, J = 6,0 Hz, 2H); 3,51 (m, 2H); 3,59 (m, 2H); 3,73 (m, 2H); 4,18 (m, 2H); 4,45 (d, J = 6,0 Hz, 4H); 5,31 (t, J = 6,0 Hz, 2H); 6,73 (넓은 t, J = 6,0 Hz, 1H); 6,85 (s, 2H).

[0857]

[0858] 4-(2-{2-[2-tert-부톡시카르보닐아미노-에톡시]-에톡시}-에톡시)-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르는 하기와 같이 제조할 수 있었다:



[0859]

[0860] 에틸 아세테이트 (18 mL) 중 4-(2-{2-[2-아지도-에톡시]-에톡시}-에톡시)-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르 (문헌 [Roy, B.C.; Santos, M.; Mallik, S.; D. Campiglia, A.D. J. Org. Chem. 2003, 68(10), 3999]) (900 mg)의 용액에 디-tert-부틸-디카르보네이트 (545 mg) 및 탄소 상의 10% 팔라듐 (73 mg)을 첨가하였다. 상기 용액을 실온에서 18시간 동안 수소 분위기 (2 bar) 하에서 교반하였다. 고체를 여과제거하고, 용매를 진공 하에 제거하여 잔류물을 얻었다. 상기 잔류물을 디클로로메탄 (A) 및 메탄올 (B)의 혼합물로의 구배 용리 (구배: 100% A $\rightarrow$ 97.5% A : 2.5% B)를 사용한 실리카 겔 크로마토그래피 (아날로직스 슈퍼플래쉬(Analogix SuperFlash) SiO_2 SF25-34 g)에 의해 정제하여 4-(2-{2-[2-tert-부톡시카르보닐아미노-에톡시]-에톡시}-에톡시)-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르 (760 mg)를 제공하였다:

[0861] LC/MS (방법 A3): ES: m/z = 471 MH^+

[0862] m/z = 415 ($\text{M} + 2\text{H} - \text{tBu}$) $^+$. m/z = 371 ($\text{M} + 2\text{H} - \text{CO}_2\text{tBu}$) $^+$

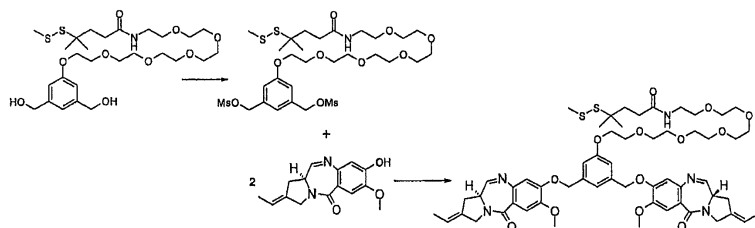
[0863] 체류 시간 = 3.6분

^1H N.M.R. (300 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)): δ = 1,32 (t, J = 7,0 Hz, 6H); 1,36 (s, 9H); 3,04 (q, J = 6,0 Hz, 2H); 3,38 (t, J = 6,0 Hz, 2H); 3,51 (m, 2H); 3,59 (m, 2H); 3,79 (m, 2H); 4,25 (가려진 m, 2H); 4,29 (q, J = 7,0 Hz, 4H); 6,70 (넓은 t, J = 6,0 Hz, 1H); 7,73 (s, 2H).

[0864]

[0865] 실시예 25:

[0866] 8,8'-[(1-(2-{2-[2-(2-{2-[2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일아미노)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-에톡시]-에톡시)-벤젠-3,5-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]



[0867]

[0868] 8,8'-[(1-(2-{2-[2-(2-{2-[2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일아미노)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-에톡시]-에톡시)-벤젠-3,5-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]은 1-(2-{2-[2-(2-{2-[2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일아미노)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-에톡시]-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠을 사용하여 8,8'-[(4-(3-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜타아미도-프로폭시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

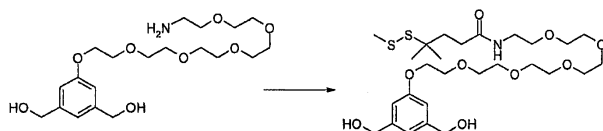
[0869] LC/MS (방법 A1, 플랫폼 II): ES: $m/z = 1102 \text{ MH}^+$

[0870] 체류 시간 = 4.49분

$^1\text{H N.M.R.}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$, δ (ppm)): $\delta = 1,30$ (s, 6H); 1,75 (d, $J = 6,5$ Hz, 6H); 1,95 (m, 2H); 2,28 (m, 2H); 2,41 (s, 3H); 2,97 (m, 4H); 3,33 - 3,96 (m, 24H); 3,96 (s, 6H); 4,12 (m, 2H); 4,27 (넓은 s, 4H); 5,07 - 5,24 (m, 4H); 5,60 (m, 2H); 6,21 (넓은 m, 1H); 6,81 (s, 2H); 6,96 (s, 2H); 7,07 (s, 1H); 7,51 (s, 2H); 7,65 (d, $J = 4,5$ Hz, 2H).

[0871]

[0872] 1-(2-{2-[2-(2-{2-[2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일아미노)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-에톡시]-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠



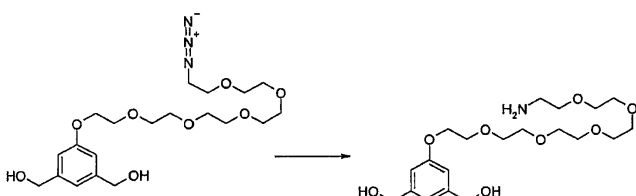
[0873]

[0874] 1-(2-{2-[2-(2-{2-[2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일아미노)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-에톡시]-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠은 1-(2-{2-[2-(2-{2-[2-(4-아미노-에톡시)-에톡시]-에톡시)-에톡시]-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠에서부터 출발하여 1-(3-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜타아미도-프로폭시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

[0875] LC/MS (Method G1): ES: $m/z = 594 \text{ MH}^+$

[0876] 체류 시간 = 1.9분.

[0877] 1-(2-{2-[2-(2-{2-[2-(4-아미노-에톡시)-에톡시]-에톡시)-에톡시]-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠은 하기와 같이 제조할 수 있었다:



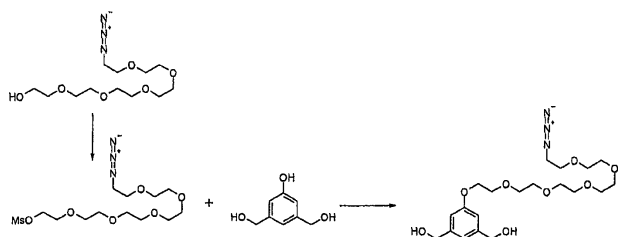
[0878]

[0879] THF (5.5 mL) 중 1-(2-(2-[2-(2-[2-(2-아지도-에톡시)-에톡시]-에톡시)-에톡시]-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠 (540 mg)의 용액에 트리페닐포스핀 (320 mg) 및 물 (22 μ L)을 첨가하였다. 상기 용액을 18 시간 동안 실온에서 교반하고, 용매를 진공 하에 제거하여 잔류물을 얻었다. 상기 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피 (머크 수퍼바리오플래쉬 30 g 컬럼, Si60 15-40 μ m, 95:5의 디클로로메탄/메탄올에 이어서 75:25:2.5의 디클로로메탄/메탄올/ NH_4OH 로 용리함)에 의해 정제하여 1-(2-(2-[2-(2-[2-(2-아미노-에톡시)-에톡시]-에톡시)-에톡시]-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠 (430 mg)을 제공하였다:

[0880] LC/MS (방법 A3): ES: $m/z = 418 \text{ MH}^+$

[0881] 체류 시간 = 1.3분 및 1.7분

[0882] 1-(2-(2-[2-(2-[2-(2-아지도-에톡시)-에톡시]-에톡시)-에톡시]-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠은 하기와 같이 제조할 수 있었다:



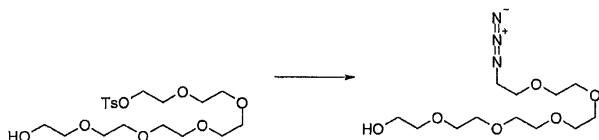
[0883]

[0884] 디클로로메탄 (40 mL) 중 2-[2-(2-[2-(2-[2-(2-아지도-에톡시)-에톡시]-에톡시)-에톡시]-에톡시)-에탄올 (1.6 g) 및 트리에틸아민 (1.45 mL)의 냉각된 (0°C) 용액에 메탄술포닐 클로라이드 (617 μ L)를 첨가하였다. 1시간 후, 물을 첨가하였다. 층을 분리하고, 유기 층을 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켜 잔류물 (1.83 g)을 얻었다.

[0885] 상기 잔류물 샘플 (1.4 g), 3,5-비스-히드록시메틸페놀 (510 mg) 및 탄산칼륨 (686 mg)을 디메틸포름아미드 (8 mL) 중에서 혼합하고, 15시간 동안 70°C에서 가열하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 물을 첨가하고, 수용액을 에틸 아세테이트로 3회 추출하였다. 합한 유기 용액을 포화 염화나트륨 수용액으로 세척하고, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켜 잔류물을 얻었다. 상기 잔류물을 메탄올 (A)/디클로로메탄 (B)의 혼합물 (구배: 2% A : 98% B $\rightarrow$ 10% A : 90% B)로 용리하는 실리카 겔 크로마토그래피 (머크 수퍼바리오플래쉬 70 g 컬럼, Si60 15-40 μ m)에 의해 정제하여 1-(2-(2-[2-(2-[2-(2-아지도-에톡시)-에톡시]-에톡시)-에톡시]-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠 (540 mg)을 제공하였다:

[0886] CI (방법 D): $m/z = 461 \text{ MNH}_4^+$

[0887] 2-[2-(2-[2-(2-[2-(2-아지도-에톡시)-에톡시]-에톡시)-에톡시]-에톡시)-에탄올은 하기와 같이 제조할 수 있었다:



[0888]

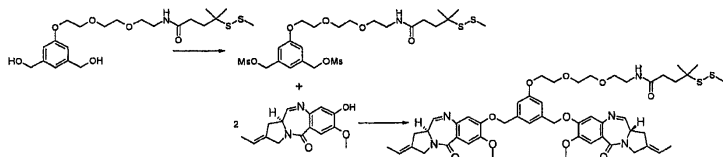
[0889] 디메틸포름아미드 (30 mL) 중 2-[2-(2-[2-(2-[2-(2-토실옥시-에톡시)-에톡시]-에톡시)-에톡시]-에톡시)-에탄올 (문헌 [Loiseau, F. A.; Hii, K. K.; Hill, A. M. J. Org. Chem. 2004, 69, 639]) (4.5 g)의 용액에 나트륨 아지드 (0.89 g)를 첨가하였다. 상기 용액을 18시간 동안 70°C에서 교반한 후에 용매를 진공 하에 제거하여 잔류물을 얻었다. 디클로로메탄을 첨가하고, 생성된 침전물을 여과제거하였다. 유기 층을 진공 하에 농축시켜 2-[2-(2-[2-(2-[2-(2-아지도-에톡시)-에톡시]-에톡시)-에톡시]-에톡시)-에탄올 (3.1 g)을 제공하였다:

[0890] CI (방법 D): $m/z = 325 \text{ MNH}_4^+$

[0891] 실시예 26:

[0892] 8,8'-[(1-(2-(2-[2-(4-메틸-4-메틸디술폰과닐-펜타노일아미노)-에톡시]-에톡시)-에톡시)-벤젠-3,5-디메틸)-디옥

시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]



[0893]

[0894]

8,8'-[(1-(2-{2-[2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일아미노)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-벤젠-3,5-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]은 1-(2-{2-[2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일아미노)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠을 사용하여 8,8'-[(4-(3-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜타나미도-프로폭시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

[0895]

LC/MS (방법 A1, 플랫폼 II): ES: $m/z = 970 \text{ MH}^+$

[0896]

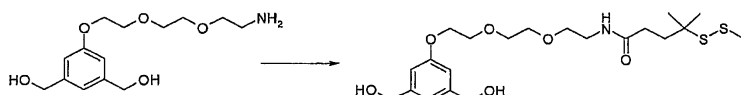
체류 시간 = 3.89분

^1H N.M.R. (500 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$, δ (ppm)): $\delta = 1,27$ (s, 6H); 1,75 (d, $J = 6,5$ Hz, 6H); 1,94 (m, 2H); 2,26 (m, 2H); 2,40 (s, 3H); 2,98 (m, 4H); 3,35 - 3,92 (m, 12H); 3,96 (s, 6H); 4,15 (m, 2H); 4,28 (넓은 s, 4H); 5,10 - 5,23 (m, 4H); 5,60 (넓은 q, $J = 6,5$ Hz, 2H); 6,05 (넓은 t, $J = 6,0$ Hz, 1H); 6,81 (s, 2H); 6,98 (s, 2H); 7,09 (s, 1H); 7,53 (s, 2H); 7,64 (d, $J = 4,5$ Hz, 2H).

[0897]

[0898]

1-(2-{2-[2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일아미노)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠



[0899]

[0900]

1-(2-{2-[2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일아미노)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠은 1-(2-{2-[2-아미노-에톡시]-에톡시}-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠에서부터 출발하여 1-(3-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜타나미도-프로폭시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

[0901]

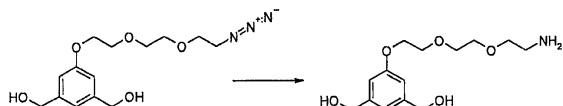
LC/MS (방법 A3): ES: $m/z = 462 \text{ MH}^+$. $m/z = 444$ ($\text{M} + \text{H} - \text{H}_2\text{O}$) $^+$

[0902]

체류 시간 = 3.0분

[0903]

1-(2-{2-[2-아미노-에톡시]-에톡시}-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠



[0904]

[0905]

1-(2-{2-[2-아미노-에톡시]-에톡시}-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠은 1-(2-{2-[2-아지도-에톡시]-에톡시}-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠에서부터 출발하여 1-(2-{2-[2-(2-{2-[2-아미노-에톡시]-에톡시]-에톡시}-에톡시)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

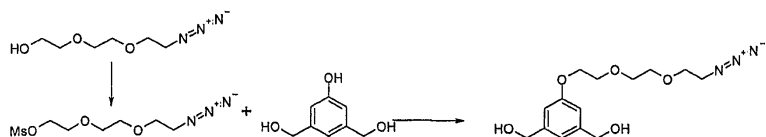
[0906]

LC/MS (방법 A3): ES: $m/z = 286 \text{ MH}^+$. $m/z = 268$ ($\text{M} + \text{H} - \text{H}_2\text{O}$) $^+$

[0907]

체류 시간 = 0.8분

[0908] 1-(2-{2-[2-아지도-에톡시]-에톡시}-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠



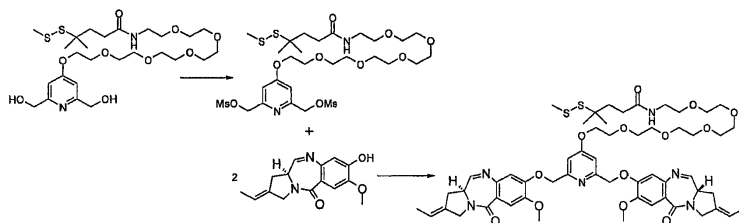
[0909]

[0910] 1-(2-{2-[2-아지도-에톡시]-에톡시}-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠은 2-[2-(2-아지도-에톡시)-에톡시]-에탄올에서부터 출발하여 1-(2-{2-[2-(2-{2-[2-아지도-에톡시]-에톡시}-에톡시)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다 (문헌 [Roy, B.C; Santos, M.; Mallik, S.; Campiglia, A.D. J. Org. Chem. 2003, 68(10), 3999]):

[0911] CI (방법 D): $m/z = 329 \text{ MNH}_4^+$.

[0912] 실시예 27:

[0913] 8,8'-[(4-(2-{2-[2-(2-{2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일아미노)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-에톡시)-에톡시]-에톡시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]



[0914]

[0915] 8,8'-[(4-(2-{2-[2-(2-{2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일아미노)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-에톡시)-에톡시)-에톡시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]은 4-(2-{2-[2-(2-{2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일아미노)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-에톡시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘을 사용하여 8,8'-[(4-(3-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜타나미도-프로폭시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

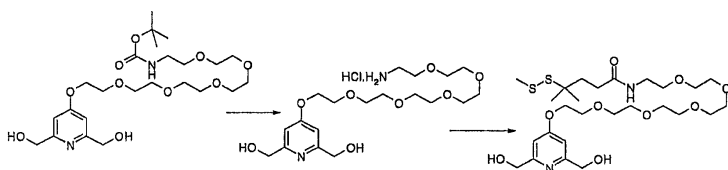
[0916] LC/MS (방법 A3): ES: $m/z = 1103 \text{ MH}^+$. $m/z = 552 \text{ (M} + 2\text{H)}^{2+}/2$

[0917] 채류 시간 = 3.7분

$^1\text{H N.M.R. (500 MHz, CDCl}_3\text{-d}_1, \delta \text{ (ppm))}$: $\delta = 1,29 \text{ (s, 6H)}$; $1,75 \text{ (d, J = 6,5 Hz, 6H)}$; $1,94 \text{ (m, 2H)}$; $2,28 \text{ (m, 2H)}$; $2,40 \text{ (s, 3H)}$; $2,97 \text{ (m, 4H)}$; $3,33 - 3,95 \text{ (m, 24H)}$; $3,99 \text{ (s, 6H)}$; $4,18 \text{ (m, 2H)}$; $4,28 \text{ (넓은 s, 4H)}$; $5,27 \text{ (m, 4H)}$; $5,60 \text{ (m, 2H)}$; $6,19 \text{ (넓은 m, 1H)}$; $6,82 \text{ (s, 2H)}$; $7,00 \text{ (넓은 s, 2H)}$; $7,55 \text{ (s, 2H)}$; $7,64 \text{ (d, J = 4,5 Hz, 2H)}$.

[0918]

[0919] 4-(2-{2-[2-(2-{2-[2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일아미노)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-에톡시]-에톡시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘



[0920]

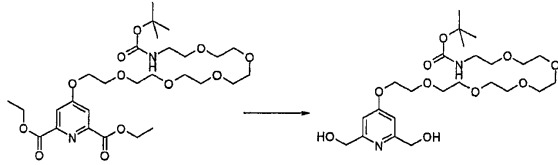
[0921] 4-(2-{2-[2-(2-{2-[2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일아미노)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-에톡시]-에톡시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘은 4-(2-{2-[2-(2-{2-[2-tert-부톡시카르보닐아미노)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-에톡시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘에서부터 출발하여 4-(3-[4-(4-메틸-4-메틸디술팜

닐-펜타노일)-피페라진-1-일]-프로필)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

[0922] LC/MS (방법 A3): ES: $m/z = 596 \text{ MH}^+$

[0923] 체류 시간 = 2.4분

[0924] 4-(2-{2-[2-(2-{2-[2-tert-부톡시카르보닐아미노-에톡시]-에톡시}-에톡시)-에톡시]-에톡시}-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘



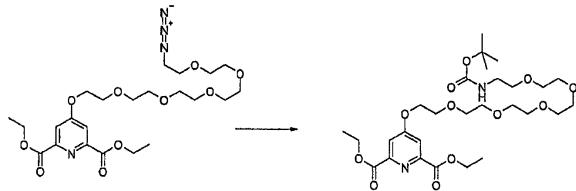
[0925]

[0926] 4-(2-{2-[2-(2-{2-[2-tert-부톡시카르보닐아미노-에톡시]-에톡시}-에톡시)-에톡시]-에톡시}-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘은 4-{2-[2-(2-{2-[2-(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에톡시)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-에톡시]-에톡시}-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르에서부터 출발하여 4-(3-tert-부톡시카르보닐아미노-프로폭시)-2,6-비스-(히드록시메틸)피리딘의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

[0927] LC/MS (방법 A3): ES: $m/z = 519 \text{ MH}^+$

[0928] 체류 시간 = 2.2분

[0929] 4-{2-[2-(2-{2-[2-(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에톡시)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-에톡시]-에톡시}-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르



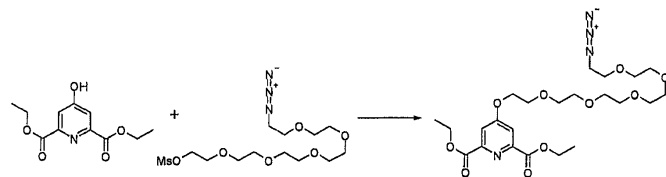
[0930]

[0931] 4-{2-[2-(2-{2-[2-(2-tert-부톡시카르보닐아미노-에톡시)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-에톡시]-에톡시}-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르는 4-{2-[2-(2-{2-[2-(2-아지도-에톡시)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-에톡시]-에톡시}-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르에서부터 출발하여 4-(2-{2-[2-tert-부톡시카르보닐아미노-에톡시]-에톡시}-에톡시)-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

[0932] LC/MS (방법 A3): ES: $m/z = 603 \text{ MH}^+$, $m/z = 271 (\text{M} + 2\text{H} - \text{CO}_2\text{tBu})^+$

[0933] 체류 시간 = 3.6분

[0934] 4-{2-[2-(2-{2-[2-(2-아지도-에톡시)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-에톡시]-에톡시}-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르는 하기와 같이 제조할 수 있었다:



[0935]

[0936] 디메틸포름아미드 (10 mL) 중 켈리담산 디에틸 에스테르 (1.03 g)의 용액에 메탄술폰산 2-[2-(2-{2-[2-(2-아지도-에톡시)-에톡시]-에톡시}-에톡시)-에톡시]-에틸 에스테르 (1.82 g) 및 탄산칼륨 (893 mg)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 15시간 동안 70℃에서 가열한 후 실온으로 냉각시켰다. 물을 첨가하고, 수용액을 에틸 아세테이트로 3회 추출하였다. 합한 유기 용액을 포화 염화나트륨 수용액으로 세척하고, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켜 잔류물을 얻었다. 상기 잔류물을 메탄올 (A)/디클로로메탄 (B)의 혼합물 (구배: 3% A

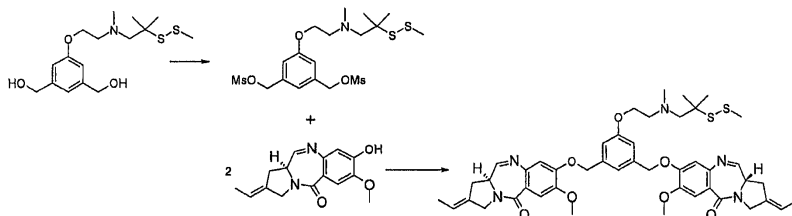
: 97% B → 5% A : 95% B)로 용리하는 실리카 겔 크로마토그래피 (머크 수퍼바리오프랩 70 g 컬럼, Si60 15-40 μm)에 의해 정제하여 4-{2-[2-(2-{2-[2-(2-아지도-에톡시)-에톡시]-에톡시]-에톡시]-에톡시}-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르 (2.19 g)를 제공하였다:

[0937] LC/MS (방법 A3): ES: $m/z = 529 \text{ MH}^+$

[0938] 체류 시간 = 3.4분

[0939] 실시예 28:

[0940] 8,8'-[(1-(2-[메틸-(2-메틸-2-메틸디술팜닐-프로필)-아미노]-에톡시)-벤젠-3,5-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]



[0941]

[0942] 8,8'-[(1-(2-[메틸-(2-메틸-2-메틸디술팜닐-프로필)-아미노]-에톡시)-벤젠-3,5-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]은 1-(2-[메틸-(2-메틸-2-메틸디술팜닐-프로필)-아미노]-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠을 사용하여 8,8'-[(4-(3-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜탄아미도-프로폭시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리덴-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

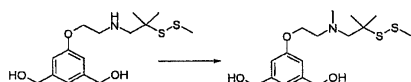
[0943] LC/MS (방법 A1, 플랫폼 I): ES: $m/z = 872 \text{ MH}^+ + \text{H}_2\text{O}$. $m/z = 854 \text{ MH}^+$

[0944] 체류 시간 = 3.40분

^1H N.M.R. (500 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$, δ (ppm)): $\delta = 1,31$ (s, 6H); 1,75 (d, J = 6,5 Hz, 6H); 2,39 (s, 3H); 2,45 (s, 3H); 2,62 (s, 2H); 2,92 (t, J = 6,5 Hz, 2H); 2,97 (m, 4H); 3,89 (m, 2H); 3,96 (s, 6H); 4,06 (t, J = 6,5 Hz, 2H); 4,26 (넓은 s, 4H); 5,12 (d, J = 12,5 Hz, 2H); 5,19 (d, J = 12,5 Hz, 2H); 5,60 (넓은 q, J = 6,5 Hz, 2H); 6,82 (s, 2H); 6,95 (넓은 s, 2H); 7,06 (넓은 s, 1H); 7,52 (s, 2H); 7,64 (d, J = 4,5 Hz, 2H).

[0945]

[0946] 1-(2-[메틸-(2-메틸-2-메틸디술팜닐-프로필)-아미노]-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠은 하기와 같이 제조할 수 있었다:



[0947]

[0948] 포름알데히드 (228 μL) 중 1-(2-(2-메틸-2-메틸디술팜닐-프로필)-아미노)-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠 (280 mg)의 냉각된 (5°C) 현탁액에 포름산 (319 μL)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 1시간 15분 동안 100°C에서 가열한 후 실온으로 냉각시켰다. 물 및 아이스를 첨가한 다음, pH가 12가 될 때까지 수산화나트륨 수용액을 첨가하였다. 생성된 수용액을 에틸 아세테이트로 3회 추출하고, 합한 유기 용액을 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켜 잔류물을 얻었다. 상기 잔류물을 메탄올 (A)/디클로로메탄 (B)의 혼합물 (구배: 2% A : 98% B → 5% A : 95% B)로 용리하는 실리카 겔 크로마토그래피 (머크 수퍼바리오플래쉬 25 g 컬럼, Si60 15-40 μm)에 의해 정제하여 1-(2-[메틸-(2-메틸-2-메틸디술팜닐-프로필)-아미노]-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠 (210 mg)을 제공하였다:

[0949] LC/MS (방법 A3): ES: $m/z = 346 \text{ MH}^+$.

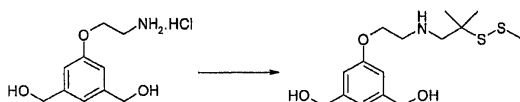
[0950] $m/z = 212$ ($\text{M} + 2\text{H} - \text{C}_5\text{H}_{11}\text{S}_2$) $^+$. $m/z = 135$ $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{S}_2$ $^+$

[0951] 체류 시간 = 2.1분

^1H N.M.R. (400 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)) : δ = 1,27 (s, 6H) ; 2,39 (s, 3H) ; 2,40 (s, 3H) ; 2,60 (s, 2H) ; 2,85 (t, J = 6,0 Hz, 2H) ; 4,02 (t, J = 6,0 Hz, 2H) ; 4,44 (d, J = 6,0 Hz, 4H) ; 5,10 (t, J = 6,0 Hz, 2H) ; 6,72 (넓은 s, 2H) ; 6,82 (넓은 s, 1H) .

[0952]

[0953] 1-(2-(2-메틸-2-메틸디술팜닐-프로필)-아미노-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠은 하기와 같이 제조할 수 있었다:



[0954]

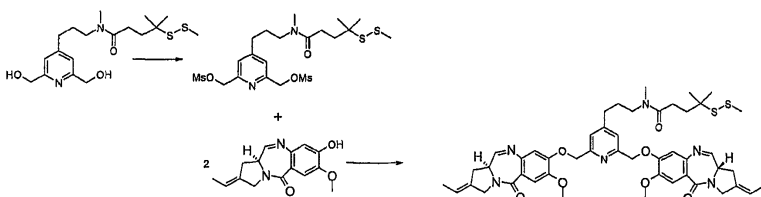
[0955] 테트라히드로푸란 (4.5 mL) 중 1-(2-아미노-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠 히드록로라이드 (900 mg) 의 현탁액에 트리에틸아민 (1.07 mL)을 첨가하였다. 15분 동안 교반한 후, 2-(메틸디티오)이소부티르알데히드 (530 μL) 및 티탄 이소프로폭시드 (1.42 mg)를 첨가하고, 생성된 혼합물을 2시간 동안 실온에서 교반하였다. 에탄올 (9 mL) 및 나트륨 시아노보로하이드라이드 (242 mg)를 첨가하고, 새로운 혼합물을 18시간 동안 실온에서 교반하였다. 고체를 여과제거하고, 여과물을 진공 하에 농축시켜 잔류물을 얻었다. 이어서 상기 잔류물을 에틸 아세테이트로 희석하고, 생성된 고체를 여과제거하였다. 이어서 유기 용액을 물 및 포화 염화나트륨 수용액 으로 세척하고, 마그네슘 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켜 새로운 잔류물을 얻었고, 이를 메탄올 (A)/디 클로로메탄 (B)의 혼합물 (구배: 4% A : 96% B $\rightarrow$ 10% A : 90% B)로 용리하는 실리카 겔 크로마토그래피 (머크 수퍼마리오플래쉬 30 g 컬럼, Si60 15-40 μm)에 의해 정제하여 1-(2-(2-메틸-2-메틸디술팜닐-프로필)-아미노-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠 (290 mg)을 제공하였다:

^1H N.M.R. (400 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)) : δ = 1,27 (s, 6H) ; 1,82 (넓은 m, 1H) ; 2,39 (s, 3H) ; 2,67 (s, 2H) ; 2,91 (t, J = 6,0 Hz, 2H) ; 4,00 (t, J = 6,0 Hz, 2H) ; 4,43 (d, J = 6,0 Hz, 4H) ; 5,10 (t, J = 6,0 Hz, 2H) ; 6,73 (넓은 s, 2H) ; 6,83 (넓은 s, 1H).

[0956]

[0957] 실시예 29:

[0958] 8,8'-[(4-(3-[메틸-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일)-아미노]-프로필)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]



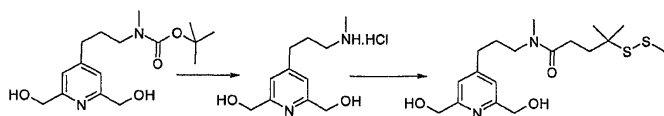
[0959]

[0960] 8,8'-[(4-(3-[메틸-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일)-아미노]-프로필)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]은 4-(3-[메틸-(4-메틸-4-메틸디술팜닐-펜타노일)-아미노]-프로필)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘을 사용하여 8,8'-[(4-(3-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜타나미도-프로폭시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

^1H N.M.R. (500 MHz, CDCl_3 - d_1 , δ (ppm)) : δ = 1,32 (s, 6H) ; 1,75 (d, J = 6,5 Hz, 6H) ; 1,94 (m, 4H) ; 2,20 - 4,30 (m, 18H) ; 4,00 (s, 6H) ; 4,27 (넓은 s, 4H) ; 5,21 - 5,68 (m, 6H) ; 6,80 - 7,70 (m, 8H) .

[0961]

[0962] 4-(3-[메틸-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜타노일]-아미노)-프로필)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘



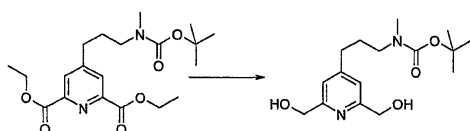
[0963]

[0964] 4-(3-[메틸-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-아미노]-프로필)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘은 4-(3-(tert-부톡시카르보닐-메틸-아미노)-프로필)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘을 사용하여 4-(2-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜탄아미도-에톡시)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

[0965] LC/MS (방법 A3): ES: $m/z = 387 \text{ MH}^+$

[0966] 체류 시간 = 2.5분

[0967] 4-(3-(tert-부톡시카르보닐-메틸-아미노)-프로필)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘

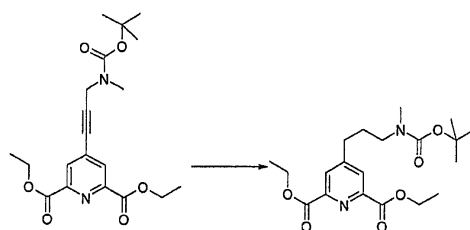


[0968]

[0969] 4-(3-(tert-부톡시카르보닐-메틸-아미노)-프로필)-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘은 4-(3-(tert-부톡시카르보닐-메틸-아미노)-프로필)-피리딘-2,6-비스-디카르복실산 디에틸 에스테르를 사용하여 4-(3-(tert-부톡시카르보닐-아미노-프로포кси)-2,6-비스-(히드록시메틸)피리딘의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

[0970] CI (방법 D): $m/z = 311 \text{ MH}^+$

[0971] 4-(3-(tert-부톡시카르보닐-메틸-아미노)-프로필)-피리딘-2,6-비스-디카르복실산 디에틸 에스테르



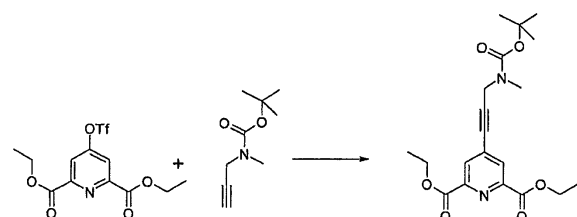
[0972]

[0973] 4-(3-(tert-부톡시카르보닐-메틸-아미노)-프로필)-피리딘-2,6-비스-디카르복실산 디에틸 에스테르는 4-[3-(tert-부톡시카르보닐-메틸-아미노)-프로프-1-이닐]-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르에서부터 출발하여 5-(3-tert-부톡시카르보닐-N-메틸-아미노-프로필)-벤젠-1,3-디카르복실산 디에틸 에스테르의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

[0974] LC/MS (방법 G2): ES: $m/z = 395 \text{ MH}^+$. $m/z = 339 (\text{M} + 2\text{H} - \text{tBu})^+$

[0975] 체류 시간 = 7.5분

[0976] 4-[3-(tert-부톡시카르보닐-메틸-아미노)-프로프-1-이닐]-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르



[0977]

[0978] 4-[3-(tert-부톡시카르보닐-메틸-아미노)-프로프-1-이닐]-피리딘-2,6-디카르복실산 디에틸 에스테르는 tert-부톡시카르보닐-N-메틸-프로파글아민에서부터 출발하여 5-(3-tert-부톡시카르보닐-N-메틸-아미노-프로핀-1-일)-벤

젠-1,3-디카르복실산 디에틸 에스테르의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

[0979]

CI (방법 D): $m/z = 391 \text{ MH}^+$

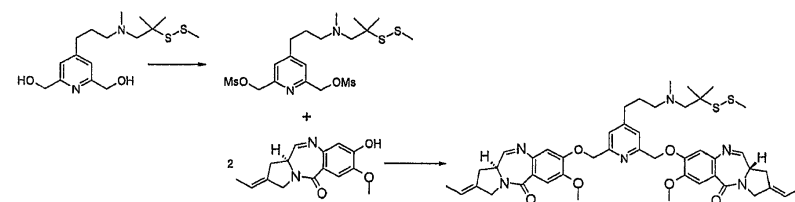
[0980]

실시예 30:

[0981]

8,8'-[(4-(3-[메틸-(2-메틸-2-메틸디술팜닐-프로필)-아미노]-프로필)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]

[0982]



[0983]

8,8'-[(4-(3-[메틸-(2-메틸-2-메틸디술팜닐-프로필)-아미노]-프로필)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]은 4-{3-[메틸-(2-메틸-2-메틸디술팜닐-프로필)-아미노]-프로필}-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘을 사용하여 8,8'-[(4-(3-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜탄아미도-프로폭시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

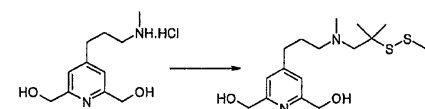
[0984]

^1H N.M.R. (500 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$, δ (ppm)): $\delta = 1,28$ (s, 6H) ; 1,65 (부분적으로 가려진 m, 2H) ; 1,75 (d, $J = 6,5$ Hz, 6H) ; 2,29 (s, 3H) ; 2,38 (s, 3H) ; 2,46 (m, 4H) ; 2,65 (m, 2H) ; 2,97 (m, 4H) ; 3,89 (m, 2H) ; 4,00 (s, 6H) ; 4,27 (넓은 s, 4H) ; 5,29 (s, 4H) ; 5,60 (넓은 q, $J = 6,5$ Hz, 2H) ; 6,86 (s, 2H) ; 7,30 (s, 2H) ; 7,55 (s, 2H) ; 7,64 (d, $J = 4,5$ Hz, 2H) .

[0985]

4-{3-[메틸-(2-메틸-2-메틸디술팜닐-프로필)-아미노]-프로필}-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘

[0986]



[0987]

4-{3-[메틸-(2-메틸-2-메틸디술팜닐-프로필)-아미노]-프로필}-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘은 4-{3-[메틸-아미노]-프로필}-2,6-비스-(히드록시메틸)-피리딘을 사용하여 1-(2-(2-메틸-2-메틸디술팜닐-프로필)-아미노-에톡시)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

[0988]

LC/MS (방법 A1, 플랫폼 II): ES: $m/z = 345 \text{ MH}^+$

[0989]

체류 시간 = 1.15분

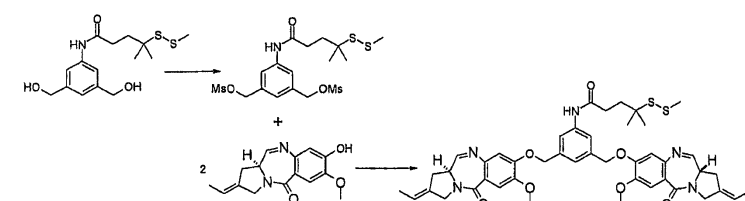
[0990]

실시예 31:

[0991]

8,8'-[(1-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜탄아미도)-벤젠-3,5-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]은 하기와 같이 제조할 수 있었다:

[0992]



[0993]

8,8'-[(1-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜탄아미도)-벤젠-3,5-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]은 (1-(4-메틸-4-메틸디술팜닐)-펜탄아미도)-3,5-비스-(히드록시메틸)-벤젠에서부터 출발하여 8,8'-[(4-(2-(4-메틸

-4-메틸디술파닐)-펜탄아미도-에톡시)-피리딘-2,6-디메틸)-디옥시]-비스[(S)-2-에트-(E)-일리텐-7-디메톡시-1,2,3,11a-테트라히드로-피콜로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온]의 제조에 대한 절차에 따라 제조할 수 있었다:

[0994] LC/MS (방법 A1, 플랫폼 I): ES: $m/z = 838 \text{ MH}^+$

[0995] 체류 시간 = 4.11분

$^1\text{H N.M.R.}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$, δ (ppm)): $\delta = 1,33$ (s, 6H); 1,76 (d, $J = 6,5$ Hz, 6H); 2,03 (m, 2H); 2,43 (s, 3H); 2,46 (m, 2H); 2,97 (m, 4H); 3,89 (m, 2H); 3,95 (s, 6H); 4,27 (넓은 s, 4H); 5,14 (d, $J = 12,5$ Hz, 2H); 5,19 (d, $J = 12,5$ Hz, 2H); 5,60 (q, $J = 6,5$ Hz, 2H); 6,81 (s, 2H); 7,20 - 7,60 (m, 6H); 7,64 (d, $J = 4,5$ Hz, 2H)

[0996]

[0997] 실시예 19 내지 31의 화합물의 상응하는 메르캅토 유도체는 실시예 18에 기재된 절차를 사용하여 제조할 수 있었다.

[0998] 실시예 A: 컨쥬게이트 제조에 대한 일반적 절차

[0999] 토메이마이신 유도체의 컨쥬게이션을 위해, 인간 림프종 세포의 표면 상에서 우선적으로 발현되는 CD19 항원에 결합하는 항-B4 항체를 선별하였다.

[1000] 제1 단계에서, 상기 항체를 변형제인 N-술포숙신이미드 5-니트로-2-피리딜디티오부타노에이트 (SSNPB)와 반응시켜 니트로피리딜디티오기를 도입하였다. huC242 항체 용액 (0.05 M 인산칼륨, 0.05 M 염화나트륨 및 2 mM 에틸렌디아민테트라-아세트산 (EDTA)을 함유하는 pH 6.5의 수성 완충액 (65.6 mL) 중 8 mg/mL의 농도)을 8배 물 과량의 디메틸아세트아미드 (DMA) 중 SSNPB의 용액으로 처리하였다. 반응 혼합물을 90분 동안 실온에서 교반한 후, 0.05 M 인산칼륨, 0.05 M 염화나트륨 및 2 mM EDTA를 함유하는 pH 7.5의 수성 완충액으로 사전 평형화된 세파덱스 G25 겔 여과 컬럼 (50 mm x 35.5 mm) 상에 로딩하였다. 변형 항체-함유 분획을 수집하고 모아서 생성물을 수득하였다. 적은 분취량의 변형 항체를 디티오프레이톨로 처리하여 니트로-피리딜 디술파이드를 절단하고, 방출된 니트로-피리딘-2-티온을 분광광도법에 의해 분석하였다 ($\epsilon_{323\text{nm}} = 4,299 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, $\epsilon_{280\text{nm}} = 565 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (화합물에 대해), 및 $\epsilon_{280\text{nm}} = 217,560 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (항체에 대해)). 통상적으로, 항체 분자 당 평균 4 내지 6개의 니트로-피리딜디술파이드 분자가 결합되었다.

[1001] 변형 항체를 상기 완충액 (pH 7.5) 중에서 2.5 mg/mL로 희석시킨 후에 DMA 중 토메이마이신 유도체의 용액으로 처리하여 완충액 중 DMA의 최종 농도가 20%가 되도록 하였다. 컨쥬게이션 혼합물을 16시간 동안 실온에서 교반하였다. pH 6.5의 인산염 완충 염수 (PBS) 완충액으로 사전 평형화된 세파크릴 S300 겔 여과 컬럼 (50 mm x 42 cm)을 통해 통과시켜 반응 혼합물을 정제하였다. 단량체성 항체-토메이마이신 유도체 컨쥬게이트를 함유하는 분획을 모으고, PBS 완충액으로 투석하였다. 각각의 토메이마이신 유도체에 대해 개별적으로 측정된 흡광계수를 사용하여 분광광도법에 의해 최종 컨쥬게이트를 분석하였다.

[1002] 본 발명의 화합물의 SPDB-PBD 및 SMCC-PBD 컨쥬게이트

[1003] huB4-SPDB - 실시예 16의 화합물

[1004] 실시예 A1: 토메이마이신 유도체의 컨쥬게이션을 위해, 인간 림프종 세포의 표면 상에서 우선적으로 발현되는 CD19 항원에 결합하는 항-B4 항체를 선별하였다.

[1005] 상기 항체를 먼저 4-(2-피리딜디티오)부탄산 N-히드록시숙신이미드 에스테르 (SPDB)로 변형시켜 피리딜디티오기를 도입하였다. 50 mM 인산칼륨, 50 mM 염화나트륨 및 2 mM 에틸렌디아민테트라-아세트산 (EDTA)을 함유하는 pH 6.5의 수성 완충액 (0.95 mL) 중 huB4 (8 mg, 0.055 μmol)의 용액에 4.5배 물 과량의 디메틸아세트아미드 (DMA) 중 SPDB (0.25 μmol , 81.1 μg)를 첨가하였다. 최종 단백질 농도는 완충액 중 5% DMA로 8 mg/mL이었다. 90분 동안 실온에서 회전하여 변형시킨 후, 50 mM 인산칼륨, 50 mM 염화나트륨 및 2 mM EDTA를 함유하는 pH 7.5의 수성 완충액으로 평형화된 세파덱스 G25 겔 여과 컬럼 상에서 정제하였다. 적은 분취량의 변형 항체를 디티오프레이톨 (DTT)로 처리하여 피리딜디술파이드기를 절단하였다. 변형 항체 및 방출된 피리딘 티올을 분광광도법에 의해 분석하였다 ($\epsilon_{343} = 8,080 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (방출된 피리딘 티올에 대해), $\epsilon_{280} = 5100 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (변형된 피리딜디티오기에 대해) 및 $\epsilon_{280} = 222,960 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (항체에 대해)). 항체 분자 당 평균 3.36개의 피리딜디술파

이드 분자가 결합되었다.

[1006] 변형 항체 (2.29 mg, 0.016 μmol)를 상기 완충액 (pH 7.5, 732.8 μL) 및 DMA (91.6 μL , 10% v/v) 중에서 희석시킨 후에 DMA (91.6 μL , 10% v/v) 중 8,8'-[5-(N-4-메르캅토-4,4-디메틸부타노일)아미노-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온] (실시예 16의 화합물) (0.157 μmol , 0.12 mg)의 용액으로 처리하였다. 최종 단백질 농도는 완충액 중 20% DMA로 2.5 mg/mL이었다. 컨쥬게이션을 밤새 실온에서 회전시킨 다음, 침강에 의해 (4분 동안 13,200 RPM) 정제하였다. 이어서 pH 6.5의 인산염 완충 염수 (PBS) 완충액으로 평형화된 세파덱스 G25 겔 여과 컬럼 상에서 상등액을 정제하였다. 정제된 컨쥬게이트를 pH 6.5의 PBS 완충액으로 4번 교체하면서 투석하였다 (대략 1:650 희석). 컨쥬게이트를 0.22 μm 시린지 필터를 통해 정제하고, 분광광도법에 의해 분석하였다 ($\epsilon_{280} = 7743 \text{ M}^{-1} \text{cm}^{-1}$, $\epsilon_{318} = 9137 \text{ M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ (PBD에 대해) 및 $\epsilon_{280} = 222,960 \text{ M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ (항체에 대해)). 항체 분자 당 평균 1.76개의 PBD 분자 (실시예 16의 화합물)가 결합되었다.

[1007] huB4-SMCC - 실시예 16의 화합물

[1008] 실시예 A2: 토메이마이신 유도체의 컨쥬게이션을 위해, 인간 림프종 세포의 표면 상에서 우선적으로 발현되는 CD19 항원에 결합하는 항-B4 항체를 선별하였다.

[1009] 제1 단계에서, 상기 항체를 변형제인 숙신이미드 4-[N-말레이미도메틸]시클로헥산-1-카복실레이트 (SMCC)와 반응시켜 말레이미드기를 도입하였다. huB4 항체 용액 (0.05 M 인산칼륨, 0.05 M 염화나트륨 및 2 mM 에틸렌디아민테트라-아세트산 (EDTA)을 함유하는 pH 6.7의 수성 완충액 (1 mL) 중 6 mg/mL의 농도)을 6.5배 물 과량의 디메틸아세트아미드 (DMA) 중 SMCC의 용액으로 처리하였다. 반응 혼합물을 90분 동안 실온에서 교반한 후, 0.10 M N-(2-히드록시에틸)-피페라진-N'-2-에탄술포산 (헤페스(HEPES))을 함유하는 pH 8.0의 수성 완충액으로 사전 평형화된 세파덱스 G25 겔 여과 컬럼 (NAP10) 상에 로딩하였다. 변형 항체-함유 분획을 수집하고 모아서 생성물을 수득하였다. 적은 분취량의 변형 항체를 10분 동안 β -메르캅토 에탄올로 처리한 다음 5,5'-디티오비스-2-니트로벤조산 (DTNB)을 첨가하여 남아있는 티올을 분석하였다 ($\epsilon_{412\text{nm}} = 14,150 \text{ M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ (5-티오-2-니트로벤조산 (TNB)에 대해) 및 $\epsilon_{280\text{nm}} = 222,960 \text{ M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ (항체에 대해)). 항체 상에서의 말레이미드와의 반응에서 소비된 티올의 양은 (항체가 없는 대조군과 비교하여) 항체에 부착된 말레이미드의 몰 수와 동일하다 (감산 엘만 분석법(subtractive Ellman's assay)). 항체 당 대략 3.2개의 반응성 말레이미드기가 결합되었다.

[1010] 변형 항체 (3 mg, 0.021 μmol)를 pH 8.0의 헤페스 완충액 중에서 3.0 mg/mL로 희석시킨 후에 DMA (5 mM) 중 실시예 16의 화합물의 용액으로 처리하여, 완충액 중 DMA의 최종 농도가 15%가 되도록 하였다. 3 몰 당량의 8,8'-[5-(N-4-메르캅토-4,4-디메틸부타노일)아미노-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온] (실시예 16의 화합물)을 링커 당 첨가하였다 (항체 당 9.6 당량, 0.202 μmol , 149 μg). 컨쥬게이션 혼합물을 20시간 동안 실온에서 교반하였다. 0.05 M 인산칼륨 (KPi), 0.05 M NaCl, 0.002 M EDTA 완충액 (pH 6.7)으로 사전 평형화된 G25 컬럼 (NAP 5)을 통해 통과시켜 반응 혼합물을 정제하였다. huB4-실시예 16의 화합물 컨쥬게이트를 함유하는 분획을 모으고, 3번의 교체 동안 KPi 완충액으로 투석하였다 (24시간). 실시예 16의 화합물에 대해 측정된 흡광 계수 ($\epsilon_{318\text{nm}} = 9,137 \text{ M}^{-1} \text{cm}^{-1}$, $\epsilon_{280\text{nm}} = 7,743 \text{ M}^{-1} \text{cm}^{-1}$) 및 B4 항체에 대해 측정된 흡광 계수 ($\epsilon_{280\text{nm}} = 222,960 \text{ M}^{-1} \text{cm}^{-1}$)를 사용하여 분광광도법에 의해 최종 컨쥬게이트 (2.2 mg, 2.3 mg/ml)를 분석하였다. 항체 분자 당 평균 2.8개의 PBD 분자 (실시예 16의 화합물)가 결합되었다.

[1011] huB4-SPDB - 실시예 17의 화합물

[1012] 실시예 A3: 토메이마이신 유도체의 컨쥬게이션을 위해, 인간 림프종 세포의 표면 상에서 우선적으로 발현되는 CD19 항원에 결합하는 항-B4 항체를 선별하였다.

[1013] 상기 항체를 먼저 4-(2-피리딜디티오)부탄산 N-히드록시숙신이미드 에스테르 (SPDB)로 변형시켜 피리딜디티오기를 도입하였다. 50 mM 인산칼륨, 50 mM 염화나트륨 및 2 mM EDTA를 함유하는 pH 6.5의 수성 완충액 (0.475 mL) 중 huB4 (4 mg, 0.028 μmol)의 용액에 4.5배 물 과량의 DMA (25 μL) 중 SPDB (0.124 μmol , 40.6 μg)를 첨가하였다. 최종 단백질 농도는 완충액 중 5% DMA로 8 mg/mL이었다. 90분 동안 실온에서 회전하여 변형시킨 후, 50 mM 인산칼륨, 50 mM 염화나트륨 및 2 mM EDTA를 함유하는 pH 7.5의 수성 완충액으로 평형화된 세파덱스

G25 겔 여과 컬럼 상에서 정제하였다. 적은 분취량의 변형 항체를 DTT로 처리하여 피리딜디술피이드기를 절단하였다. 변형 항체 및 방출된 피리딘 티올을 분광광도법에 의해 분석하였다 ($\epsilon_{343} = 8,080 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (방출된 피리딘 티올에 대해), $\epsilon_{280} = 5100 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (변형된 피리딜디티오기에 대해) 및 $\epsilon_{280} = 222,960 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (항체에 대해)). 항체 분자 당 평균 3.31개의 피리딜디술피이드 분자가 결합되었다.

[1014] 변형 항체 (3.06 mg, 0.021 μmol)를 상기 완충액 (pH 7.5, 0.976 mL) 및 DMA (122 μL , 10% v/v) 중에서 희석시킨 후에 DMA (122 μL , 10% v/v) 중 8,8'-[5-(N-메틸-N-(2-메르캅토-2,2-디메틸에틸)아미노-1,3-벤젠디일(메틸렌옥시))-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온] (실시예 17의 화합물) (0.209 μmol , 0.154 mg)의 용액으로 처리하였다. 최종 단백질 농도는 완충액 중 20% DMA로 2.5 mg/mL이었다. 컨쥬게이션을 밤새 실온에서 회전시킨 다음, 침강에 의해 (4분 동안 13,200 RPM) 정제하였다. 이어서 pH 6.5의 PBS 완충액으로 평형화된 세파텍스 G25 겔 여과 컬럼 상에서 상등액을 정제하였다. 정제된 컨쥬게이트를 pH 6.5의 PBS 완충액으로 3번 교체하면서 투석하였다 (대략 1:1200 희석). 컨쥬게이트를 0.22 μm 시린지 필터를 통해 정제하고, 분광광도법에 의해 분석하였다 ($\epsilon_{280} = 10736 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, $\epsilon_{318} = 12053 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (PBD에 대해) 및 $\epsilon_{280} = 222,960 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (항체에 대해)). 항체 분자 당 평균 3.05개의 PBD 분자 (실시예 17의 화합물)가 결합되었다.

[1015] huB4-SMCC - 실시예 17의 화합물

[1016] 실시예 A4: 토메이마이신 유도체의 컨쥬게이션을 위해, 인간 림프종 세포의 표면 상에서 우선적으로 발현되는 CD19 항원에 결합하는 항-B4 항체를 선별하였다.

[1017] 제1 단계에서, 상기 항체를 변형제인 숙신이미딜 4-[N-말레이미도메틸]시클로헥산-1-카복실레이트 (SMCC)와 반응시켜 말레이미드기를 도입하였다. huB4 항체 용액 (0.05 M 인산칼륨, 0.05 M 염화나트륨 및 2 mM 에틸렌디아민테트라-아세트산 (EDTA)을 함유하는 pH 6.7의 수성 완충액 (1 mL) 중 6 mg/mL의 농도)을 7배 물 과량의 디메틸아세트아미드 (DMA) 중 SMCC의 용액으로 처리하였다. 반응 혼합물을 90분 동안 실온에서 교반한 후, 0.10 M N-(2-히드록시에틸)-피페라진-N'-2-에탄술포산 (헤페스)을 함유하는 pH 8.0의 수성 완충액으로 사전 평형화된 세파텍스 G25 겔 여과 컬럼 (NAP10) 상에 로딩하였다. 변형 항체-함유 분획을 수집하고 모아서 생성물을 수득하였다. 적은 분취량의 변형 항체를 10분 동안 β -메르캅토 에탄올로 처리한 다음 5,5'-디티오비스-2-니트로벤조산 (DTNB)을 첨가하여 남아있는 티올을 분석하였다 ($\epsilon_{412\text{nm}} = 14,150 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (5-티오-2-니트로벤조산 (TNB)에 대해) 및 $\epsilon_{280\text{nm}} = 222,960 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (항체에 대해)). 항체 상에서의 말레이미드와의 반응에서 소비된 티올의 양은 (항체가 없는 대조군과 비교하여) 항체에 부착된 말레이미드의 몰 수와 동일하다 (감산 엘만 분석법). 항체 당 대략 3.7개의 반응성 말레이미드기가 결합되었다.

[1018] 변형 항체 (4.4 mg, 0.03 μmol)를 pH 8.0의 헤페스 완충액 중에서 8.7 mg/mL로 희석시킨 후에 DMA (5.4 mM) 중 실시예 17의 화합물의 용액으로 처리하여, 완충액 중 DMA의 최종 농도가 20%가 되도록 하였다. 2 몰 당량의 8,8'-[5-(N-메틸-N-(2-메르캅토-2,2-디메틸에틸)아미노-1,3-벤젠디일(메틸렌옥시))-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온] (실시예 17의 화합물)을 링커 당 첨가하였다 (항체 당 7.4 당량, 0.222 μmol , 164 μg). 컨쥬게이션 혼합물을 20시간 동안 실온에서 교반하였다. 0.05 M 인산칼륨 (KPi), 0.05 M NaCl, 0.002 M EDTA 완충액 (pH 6.7)으로 사전 평형화된 G25 컬럼 (NAP 5)을 통해 통과시켜 반응 혼합물을 정제하였다. huB4-실시예 17의 화합물 컨쥬게이트를 함유하는 분획을 모으고, 3번의 교체 동안 KPi 완충액으로 투석하였다 (24시간). 실시예 17의 화합물에 대해 측정된 흡광 계수 ($\epsilon_{318\text{nm}} = 12,053 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, $\epsilon_{280\text{nm}} = 10,736 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 및 B4 항체에 대해 측정된 흡광 계수 ($\epsilon_{280\text{nm}} = 222,960 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)를 사용하여 분광광도법에 의해 최종 컨쥬게이트 (2.25 mg, 2.25 mg/mL)를 분석하였다. 항체 분자 당 평균 2.8개의 PBD 분자 (실시예 17의 화합물)가 결합되었다.

[1019] huMy9-6-SPDB - 실시예 16의 화합물

[1020] 실시예 A5: 상기 항체를 먼저 4-(2-피리딜디티오)부탄산 N-히드록시숙신이미드 에스테르 (SPDB)로 변형시켜 피리딜디티오기를 도입하였다. 50 mM 인산칼륨, 50 mM 염화나트륨 및 2 mM EDTA를 함유하는 pH 6.5의 수성 완충액 (0.950 mL) 중 huMy9-6 (8 mg, 0.055 μmol)의 용액에 4.5배 몰 과량의 DMA (50 μL) 중 SPDB (0.246 μmol)를 첨가하여, 완충액 중 DMA의 최종 농도가 20%가 되도록 하였다. 반응 혼합물을 90분 동안 실온에서 교반한 후, 0.10 M N-(2-히드록시에틸)-피페라진-N'-2-에탄술포산 (헤페스)을 함유하는 pH 8.0의 수성 완충액으로 사전 평형화된 세파텍스 G25 겔 여과 컬럼 (NAP10) 상에 로딩하였다. 변형 항체-함유 분획을 수집하고 모아서 생성물을 수득하였다. 적은 분취량의 변형 항체를 10분 동안 β -메르캅토 에탄올로 처리한 다음 5,5'-디티오비스-2-니트로벤조산 (DTNB)을 첨가하여 남아있는 티올을 분석하였다 ($\epsilon_{412\text{nm}} = 14,150 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (5-티오-2-니트로벤조산 (TNB)에 대해) 및 $\epsilon_{280\text{nm}} = 222,960 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (항체에 대해)). 항체 상에서의 말레이미드와의 반응에서 소비된 티올의 양은 (항체가 없는 대조군과 비교하여) 항체에 부착된 말레이미드의 몰 수와 동일하다 (감산 엘만 분석법). 항체 당 대략 3.7개의 반응성 말레이미드기가 결합되었다.

mol, 80.1 μ g)를 첨가하였다. 최종 단백질 농도는 완충액 중 5% DMA로 8 mg/mL이었다. 90분 동안 실온에서 회전하여 변형시킨 후, 50 mM 인산칼륨, 50 mM 염화나트륨 및 2 mM EDTA를 함유하는 pH 8.5의 수성 완충액으로 평형화된 세파텍스 G25 겔 여과 컬럼 상에서 정제하였다. 적은 분취량의 변형 항체를 DTT로 처리하여 피리딘디설파이드기를 절단하였다. 변형 항체 및 방출된 피리딘 티올을 분광광도법에 의해 분석하였다 ($\epsilon_{343} = 8,080 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (방출된 피리딘 티올에 대해), $\epsilon_{280} = 5100 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (변형된 피리딘디티오기에 대해) 및 $\epsilon_{280} = 206,460 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (항체에 대해)). 항체 분자 당 평균 3.32개의 피리딘디설파이드 분자가 결합되었다.

[1021] 변형 항체 (3.05 mg, 0.0208 μ mol)를 상기 완충액 (pH 8.5, 976 μ L) 및 DMA (122 μ L, 10% v/v) 중에서 희석시킨 후에 DMA (122 μ L, 10% v/v) 중 8,8'-[5-(N-4-메르캅토-4,4-디메틸부타노일)아미노-1,3-벤젠디일비스(메틸렌옥시)]-비스[7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라히드로-5H-피롤로[2,1-c][1,4]벤조디아제핀-5-온] (실시에 16의 화합물) (0.207 μ mol, 0.158 mg)의 용액으로 처리하였다. 최종 단백질 농도는 완충액 중 20% DMA로 2.5 mg/mL이었다. 컨쥬게이션을 밤새 실온에서 회전시킨 다음, 침강에 의해 (4분 동안 13,200 RPM) 정제하였다. 이어서 pH 6.5의 PBS 완충액으로 평형화된 세파텍스 G25 겔 여과 컬럼 상에서 상등액을 정제하였다. 정제된 컨쥬게이트를 pH 6.5의 PBS 완충액으로 3번 교체하면서 투석하였다 (대략 1:600 희석). 컨쥬게이트를 0.22 μ m 시린지 필터를 통해 정제하고, 분광광도법에 의해 분석하였다 ($\epsilon_{280} = 7743 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, $\epsilon_{318} = 9137 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (PBD에 대해) 및 $\epsilon_{280} = 206,460 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (항체에 대해)). 항체 분자 당 평균 2.58개의 PBD 분자 (실시에 16의 화합물)가 결합되었다.

[1022] 실시예 B: 결합 분석

[1023] 항원-발현 라모스 세포에 대한 항-B4 항체 및 그의 토메이마이신 컨쥬게이트의 상대 결합 친화도를 형광-기재 분석법을 사용하여 측정하였다. 각 농도에 대해 2개씩 존재하도록, 항체-토메이마이신 컨쥬게이트 및 네이키드(naked) 항체 (1×10^{-7} M의 출발 농도)를 96-웰 둥근바닥 플레이트에 첨가하고, 3배 계열 희석액을 사용하여 적정하였다. 다양한 농도의 항체 또는 컨쥬게이트를 함유하는 각각의 웰 및 대조군 웰에 웰 당 50,000개의 라모스 세포를 첨가하였다. 플레이트를 3시간 동안 아이스 상에서 인큐베이션시켰다. 인큐베이션 기간 후, 플레이트의 세포를 행구고, 항-B4와 같은 인간화된 IgG에 결합하는 형광-표지된 제2 항체를 첨가하고, 플레이트를 아이스 상에서 1시간 동안 인큐베이션시켰다. 인큐베이션 기간 후, 플레이트를 다시 행구고, 세포를 1% 포름알데히드/PBS 용액으로 고정시켰다. 벡톤 디킨슨 팩스칼리버(Becton Dickinson FACSCalibur) 형광 분석기를 사용하여 플레이트의 각 웰에서의 형광도를 판독하였다. 최고 농도의 항체 또는 컨쥬게이트에서 얻어진 최대 형광도 %로 데이터를 플로팅하였다.

[1024] 실시예 C: 토메이마이신 유도체 또는 토메이마이신 유도체 컨쥬게이트의 시험관 내 효능 및 특이성

[1025] 사용되는 일반적 프로토콜:

[1026] 유리 토메이마이신 유도체 또는 토메이마이신 유도체 컨쥬게이트 샘플을 96-웰 평평한 바닥 조직 배양 플레이트에 첨가하고, 1×10^{-12} M 내지 3×10^{-7} M의 계열 희석액을 사용하여 적정하였다. 각각의 세포주마다 각각의 약물 농도에 대해 샘플이 3개씩 존재하도록, 항원 양성 종양 세포 또는 항원 음성 종양 세포를 웰에 첨가하였다. 플레이트를 5% CO₂의 분위기 하에서 4일 동안 37°C에서 인큐베이션시켰다.

[1027] 인큐베이션 기간의 말기에, 20 μ L의 테트라졸륨 시약 WST-8 (2-(2-메톡시-니트로페닐)-3-(4-니트로페닐)-5-(2,4-디술포페닐)-2-테트라졸륨, 모노나트륨 염)을 각 웰에 첨가하고, 플레이트를 2시간 동안 다시 인큐베이션시켰다. 이어서 몰레큘라 디바이시스(Molecular Devices) 플레이트 판독기를 사용하여 플레이트의 각 웰에서 450 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 토메이마이신 유도체 또는 컨쥬게이트의 각각의 농도에서의 세포 생존 분획을 플로팅하였다.

화합물	A549 (IC ₅₀)	KB (IC ₅₀)	MCF7 (IC ₅₀)
실시에 5	7×10^{-11} M	1×10^{-10} M	1×10^{-10} M
실시에 1	$<10^{-12}$ M	$<10^{-12}$ M	$<10^{-12}$ M
실시에 2	$<10^{-12}$ M	$<10^{-12}$ M	$<10^{-12}$ M

[1028]

[1029] MOLT-4 및 BJAB 또는 HL60/GC 및 라모스 세포주에 대해 본 발명의 화합물 대 컨쥬게이트의 세포독성 특이성을

시험하였다. 결과는 도 1a-c, 2a-c 및 3a-b에 도시하였다.

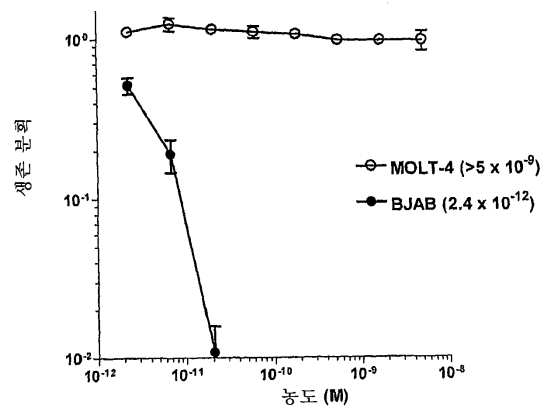
- [1030] 도 1a는 항원 양성인 BJAB 세포 및 항원 음성인 MOLT-4 세포에 대한 huB4-SPDB - 실시예 16의 화합물의 시험관 내 효능을 나타낸다.
- [1031] 도 1b는 항원 양성인 BJAB 세포 및 항원 음성인 MOLT-4 세포에 대한 huB4-SMCC - 실시예 16의 화합물의 시험관 내 효능을 나타낸다.
- [1032] 도 1c는 BJAB 및 MOLT-4 세포에 대한 실시예 16의 유리 화합물의 시험관 내 효능을 나타낸다.
- [1033] 도 2a는 항원 양성인 BJAB 세포 및 항원 음성인 MOLT-4 세포에 대한 huB4-SPDB - 실시예 17의 화합물의 시험관 내 효능을 나타낸다.
- [1034] 도 2b는 항원 양성인 BJAB 세포 및 항원 음성인 MOLT-4 세포에 대한 huB4-SMCC - 실시예 17의 화합물의 시험관 내 효능을 나타낸다.
- [1035] 도 2c는 BJAB 및 MOLT-4 세포에 대한 실시예 17의 유리 화합물의 시험관 내 효능을 나타낸다.
- [1036] 도 3a는 항원 양성인 HL60/GC 세포 및 항원 음성인 라모스 세포에 대한 huMy9-6-SPDB - 실시예 16의 화합물의 시험관 내 효능을 나타낸다.
- [1037] 도 3b는 HL60/GC 및 라모스 세포에 대한 실시예 16의 유리 화합물의 시험관 내 효능을 나타낸다.
- [1038] 실시예 D: 토메이마이신 유도체 또는 토메이마이신 유도체 컨쥬게이트의 생체 내 효능
- [1039] 이 시험은 huB4를 항체로서 사용하고 라모스 및 라지이 부르키트(Rajii Burkitt) 림프종 세포주와 같은 적절한 항원 양성 세포주를 사용하여, WO 2004/103272에 기재된 프로토콜을 적용하고/거나 개조하여 수행할 수 있었다.

도면의 간단한 설명

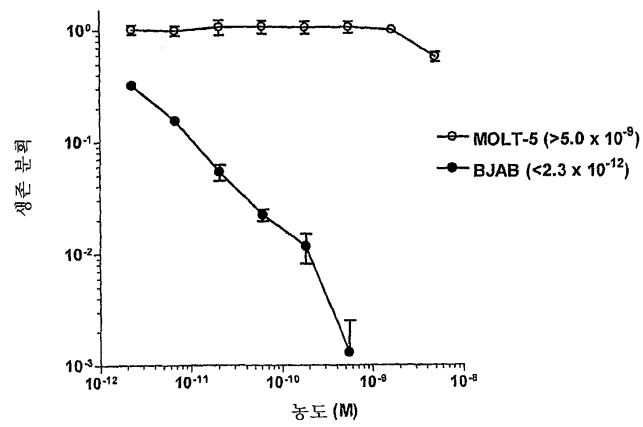
- [0381] 도 1a는 항원 양성인 BJAB 세포 및 항원 음성인 MOLT-4 세포에 대한 huB4-SPDB - 실시예 16의 화합물의 시험관 내 효능을 나타낸다.
- [0382] 도 1b는 항원 양성인 BJAB 세포 및 항원 음성인 MOLT-4 세포에 대한 huB4-SMCC - 실시예 16의 화합물의 시험관 내 효능을 나타낸다.
- [0383] 도 1c는 BJAB 및 MOLT-4 세포에 대한 실시예 16의 유리 화합물의 시험관 내 효능을 나타낸다.
- [0384] 도 2a는 항원 양성인 BJAB 세포 및 항원 음성인 MOLT-4 세포에 대한 huB4-SPDB - 실시예 17의 화합물의 시험관 내 효능을 나타낸다.
- [0385] 도 2b는 항원 양성인 BJAB 세포 및 항원 음성인 MOLT-4 세포에 대한 huB4-SMCC - 실시예 17의 화합물의 시험관 내 효능을 나타낸다.
- [0386] 도 2c는 BJAB 및 MOLT-4 세포에 대한 실시예 17의 유리 화합물의 시험관 내 효능을 나타낸다.
- [0387] 도 3a는 항원 양성인 HL60/GC 세포 및 항원 음성인 라모스(Ramos) 세포에 대한 huMy9-6-SPDB - 실시예 16의 화합물의 시험관 내 효능을 나타낸다.
- [0388] 도 3b는 HL60/GC 및 라모스 세포에 대한 실시예 16의 유리 화합물의 시험관 내 효능을 나타낸다.
- [0389] 본 발명은 하기 실시예의 설명에 의해 추가로 예시되지만 이에 의해 제한되지는 않는다.

도면

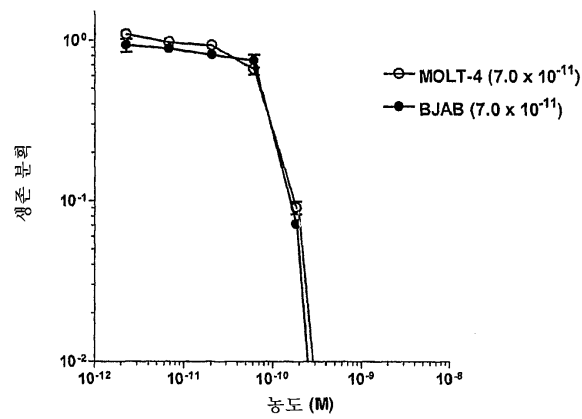
도면1a



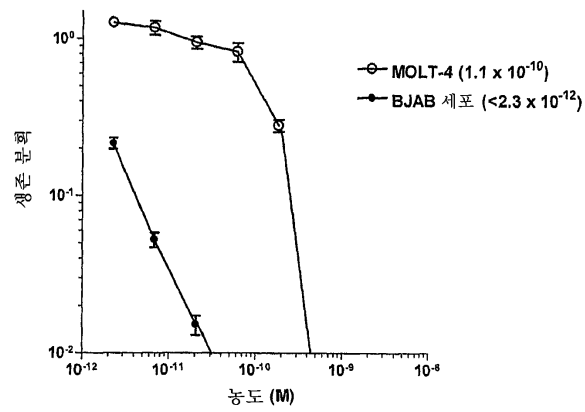
도면1b



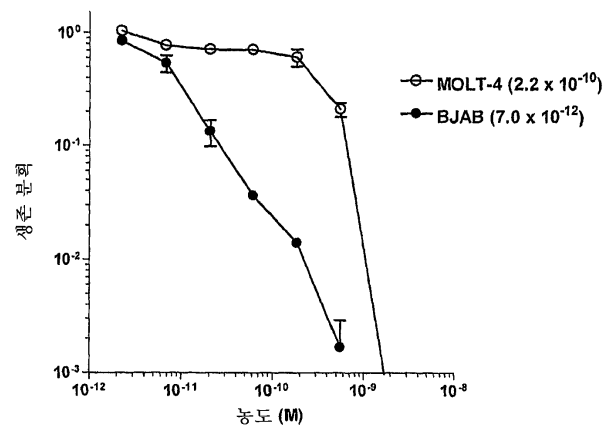
도면1c



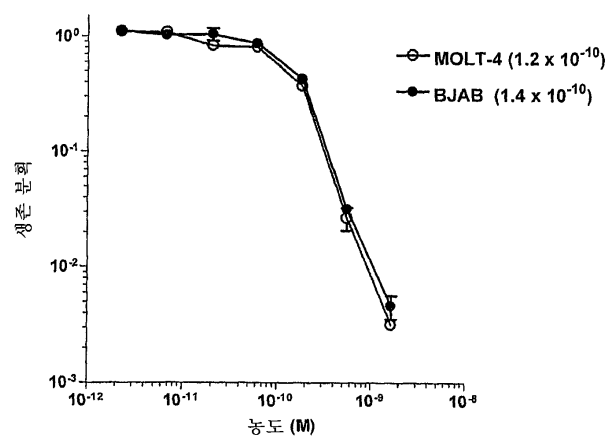
도면2a



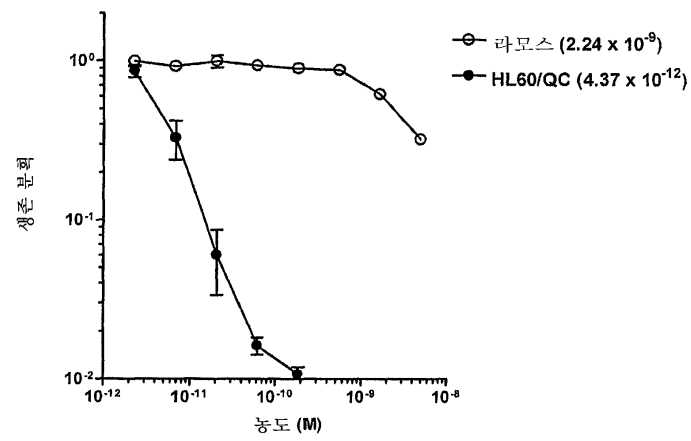
도면2b



도면2c



도면3a



도면3b

