(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0118891
(43) 공개일자 2023년08월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 495/22 (2006.01) *A61K 31/4743* (2006.01)
A61K 31/4745 (2006.01) *A61K 47/68* (2017.01)
A61P 35/00 (2006.01) *C07D 491/22* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 495/22 (2013.01)
A61K 31/4743 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7022556
(22) 출원일자(국제) 2021년12월09일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년07월03일
(86) 국제출원번호 PCT/CN2021/136769
(87) 국제공개번호 WO 2022/121981
국제공개일자 2022년06월16일
(30) 우선권주장
202011463704.4 2020년12월11일 중국(CN)

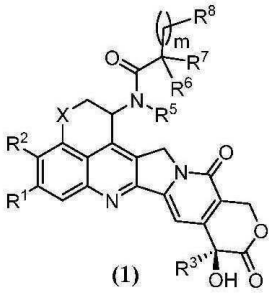
(71) 출원인
위겐 바이오메더슨 테크널러지 (상하이) 컴퍼니 리미티드
중국, 상하이 201203, 장지앙 하이테크파크, 리빙 로드 67, 빌딩 11
(72) 발명자
시에, 유리
중국, 상하이 201203, 푸동 뉴 에어리어, 파일럿 프리 트레이드존, 리빙 로드, 레인 67, 넘버 11
카오, 강
중국, 상하이 201203, 푸동 뉴 에어리어, 파일럿 프리 트레이드존, 리빙 로드, 레인 67, 넘버 11
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인뉴코리아

전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 **신규한 캄프토테신 유도체, 이를 포함하는 조성물 및이의 용도**

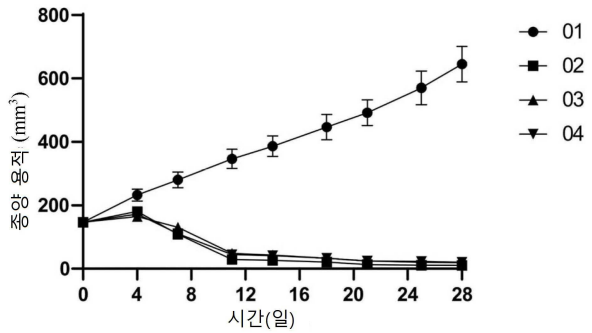
(57) 요 약

본 발명은 캄프토테신 유도체, 이를 포함하는 조성물 및 이의 용도를 제공한다. 구체적으로, 본 발명은 일반식(1)의 화합물 및 이를 위한 제조 방법 및 암을 치료하기 위한 약물의 제조에서의 일반식(1)의 화합물 및 그의 광학 이성질체, 결정 형태 및 약제학적으로 수용가능한 염의 용도를 제공한다.



(1)

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61K 31/4745 (2013.01)
A61K 47/68037 (2023.08)
A61P 35/00 (2018.01)
C07D 491/22 (2013.01)
(72) 발명자
판, 후씽
중국, 상하이 201203, 푸동 뉴 에어리어, 파일럿 프리 트레이드존, 리빙 로드, 레인 67, 넘버 11

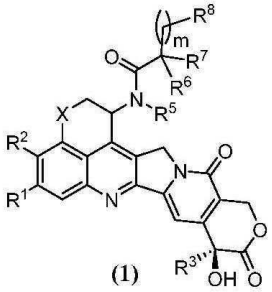
취앤, 리후이
중국, 상하이 201203, 푸동 뉴 에어리어, 파일럿 프리 트레이드존, 리빙 로드, 레인 67, 넘버 11

명 세 서

청구범위

청구항 1

일반식(1)의 캄프토테신 유도체 화합물 또는 이의 광학 이성질체, 결정 형태, 약제학적으로 수용가능한 염, 수화물 또는 용매화물:



(1)

여기에서, 일반식(1)에서:

m이 0, 1 또는 2의 정수이고;

X가 -O-, -S-, -S(O)-, -S(O_2)- 및 -N(R^4)-로부터 선택되고;

R^1 및 R^2가 독립적으로 H, 할로겐, OH, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알콕시, C_{1-6} 할로알킬, C_{3-6} 사이클로알킬, NH_2, NO_2 및 CN으로부터 선택되거나, R^1 및 R^2가, 이들에 부착되는 페닐 고리와 함께, 고리화에 의해  또는 을 형성하고;

R^3이 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{1-3} 알콕시-치환 C_{1-3} 알킬 및 C_{1-6} 할로알킬로부터 선택되고;

R^4가 H, C_{1-6} 알킬 및 C_{1-6} 할로알킬로부터 선택되고;

R^5가 H, C_{1-6} 알킬 및 C_{3-6} 사이클로알킬로부터 선택되고;

R^6 및 R^7이 독립적으로 H, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬 및 C_{3-6} 사이클로알킬로부터 선택되거나; R^6 및 R^7이, 이들에 부착되는 탄소 원자와 함께, 고리화에 의해 C_{3-6} 사이클로알킬 또는 4원 내지 7원 헤테로사이클로알킬을 형성하거나; R^6 및 R^5가 연결되어 5원 내지 7원 락탐 고리를 형성하고, R^7이 H, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬 및 C_{3-6} 사이클로알킬로부터 선택되고;

R^8이 OH 및 NR^9R^{10}으로부터 선택되고, R^9 및 R^{10}이 독립적으로 H, C_{1-6} 알킬 및 C_{3-6} 사이클로알킬로부터 선택되거나; R^9 및 R^{10}이, 이들에 부착되는 N 원자와 함께, 고리화에 의해 4원 내지 7원 헤테로사이클로알킬을 형성하고, 4원 내지 7원 헤테로사이클로알킬이 미치환되거나 다음으로부터 선택되는 1 내지 3개의 기로 치환됨: C_{1-6} 알킬, 할로겐, OH, CN 및 NH_2.

청구항 2

제1항에 있어서, 여기에서 일반식(1)에서, R^8이 OH인, 일반식(1)의 캄프토테신 유도체 화합물 또는 그의 광학 이성질체, 결정 형태, 약제학적으로 수용가능한 염, 수화물 또는 용매화물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 여기에서 일반식(1)에서, R^1 및 R^2가 독립적으로 H, 할로겐, OH, Me, Et, OMe, OEt, CF_3, NH_2, NO_2 및 CN으로부터 선택되거나; R^1 및 R^2가, 이들에 부착되는 페닐 고리와 함께, 고리화에 의해  또는 을 형성하는, 일반식(1)의 캄프토테신 유도체 화합물 또는 그의 광학 이성질체, 결정 형태, 약제학적으로 수용가능한 염, 수화물 또는 용매화물.

청구항 4

제1항 내지 제3항들 중의 어느 한 항에 있어서, 여기에서 일반식(1)에서, R^3이 Me, Et, , , , , ,  및 로부터 선택되는, 일반식(1)의 캄프토테신 유도체 화합물 또는 그의 광학 이성질체, 결정 형태, 약제학적으로 수용가능한 염, 수화물 또는 용매화물.

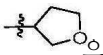
청구항 5

제1항 내지 제4항들 중의 어느 한 항에 있어서, 여기에서 일반식(1)에서, X가 -O-, -S-, -S(O)-, $-S(O_2)-$, -N(H)- 및 -N(Me)-로부터 선택되는, 일반식(1)의 캄프토테신 유도체 화합물 또는 그의 광학 이성질체, 결정 형태, 약제학적으로 수용가능한 염, 수화물 또는 용매화물.

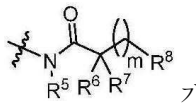
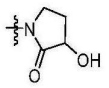
청구항 6

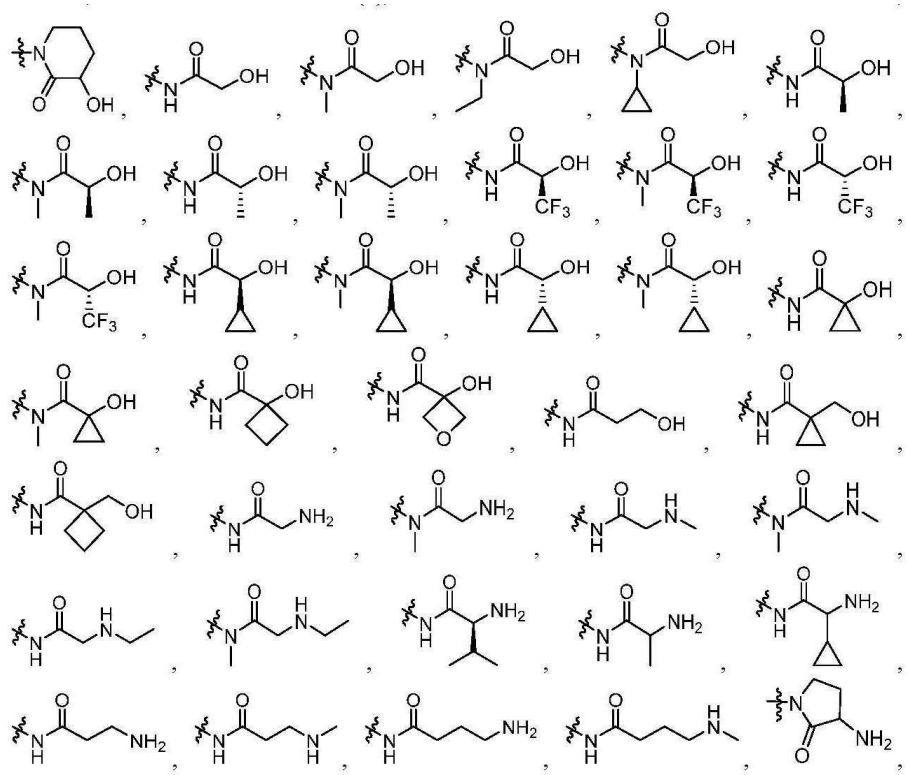
제1항 내지 제5항들 중의 어느 한 항에 있어서, 여기에서 일반식(1)에서, R^5가 H, Me, Et 및 으로부터 선택되는, 일반식(1)의 캄프토테신 유도체 화합물 또는 그의 광학 이성질체, 결정 형태, 약제학적으로 수용가능한 염, 수화물 또는 용매화물.

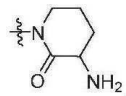
청구항 7

제1항 내지 제6항들 중의 어느 한 항에 있어서, 여기에서 일반식(1)에서, R^6 및 R^7이 독립적으로 H, Me, Et, CHF_2, CF_3, CH_2CF_3, , , , , ,  및 으로부터 선택되는, 일반식(1)의 캄프토테신 유도체 화합물 또는 그의 광학 이성질체, 결정 형태, 약제학적으로 수용가능한 염, 수화물 또는 용매화물.

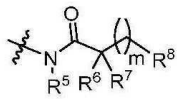
청구항 8

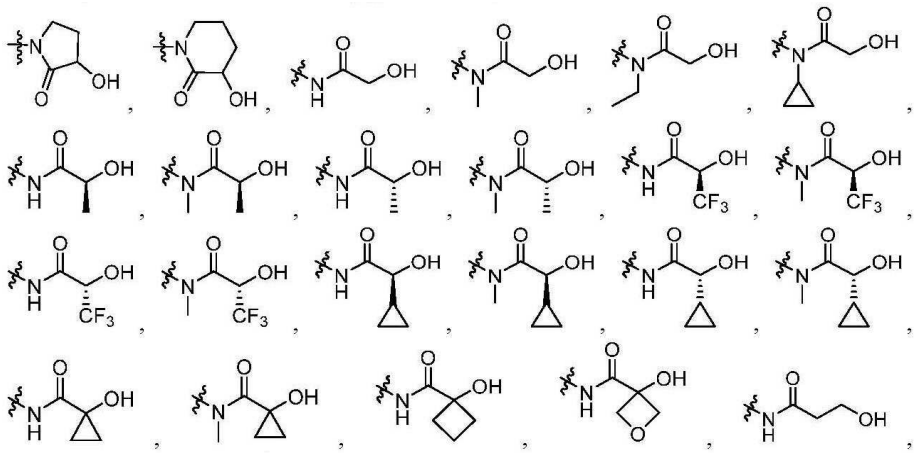
제1항에 있어서, 여기에서 일반식(1)에서,  가 ,

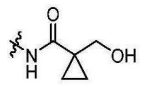
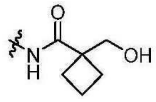


 로부터 선택되는, 일반식(1)의 캄프토테신 유도체 화합물 또는 그의 광학 이성질체, 결정 형태, 약제학적으로 수용가능한 염, 수화물 또는 용매화물.

청구항 9

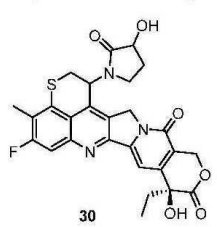
제2항에 있어서, 여기에서 일반식(1)에서, R^8이 OH이고,  이

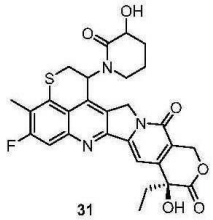


 및  로부터 선택되는, 일반식(1)의 캄프토테신 유도체 화합물 또는 그의 광학 이성질체, 결정 형태, 약제학적으로 수용가능한 염, 수화물 또는 용매화물.

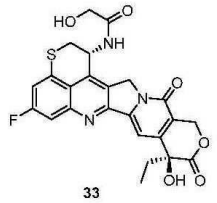
청구항 10

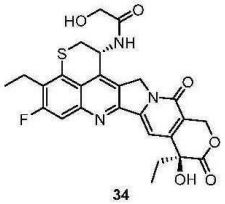
제1항 내지 제9항들 중의 어느 한 항에 있어서, 여기에서 화합물이 하기 구조들 중의 어느 하나를 갖는, 일반식(1)의 캄프토테신 유도체 화합물 또는 그의 광학 이성질체, 결정 형태, 약제학적으로 수용가능한 염, 수화물 또는 용매화물:

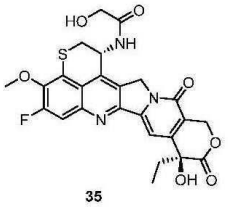

30

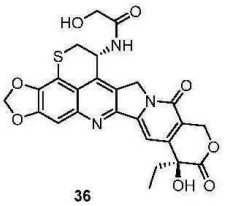

31


32-2

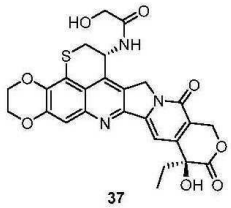

33


34

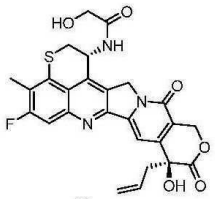

35



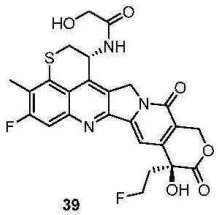
36



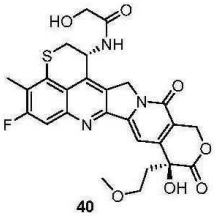
37



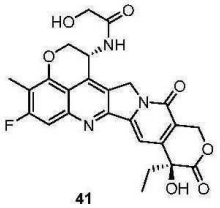
38



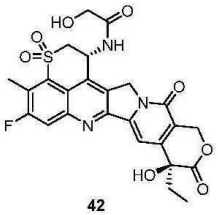
39



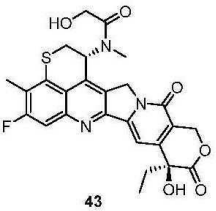
40



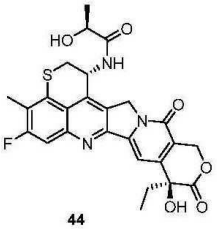
41



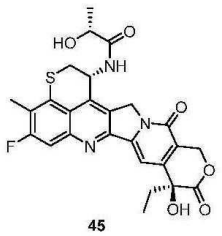
42



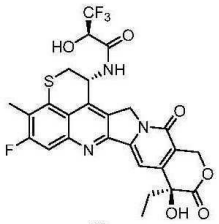
43



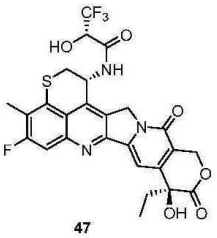
44



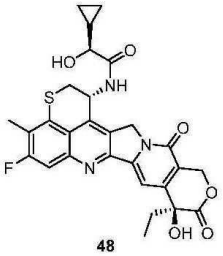
45



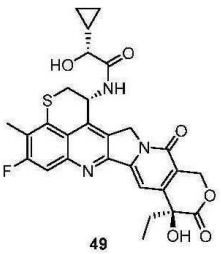
46



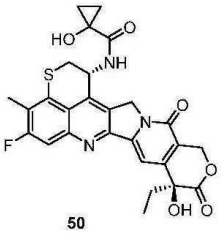
47



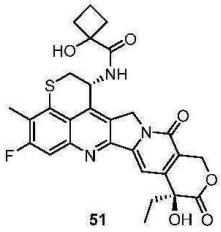
48

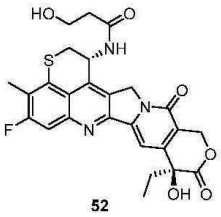


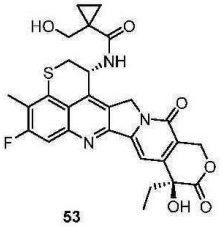
49

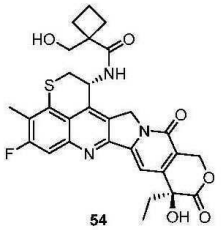


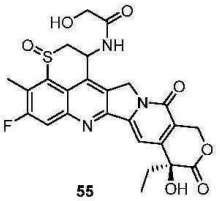
50

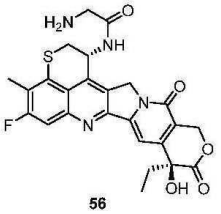

51

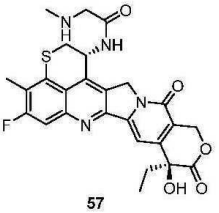

52

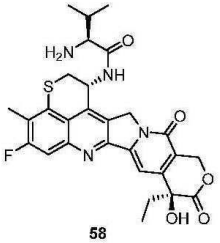

53

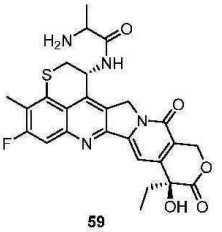

54

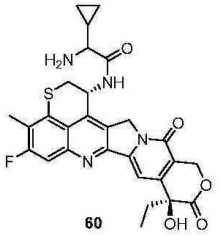

55

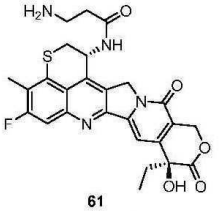

56

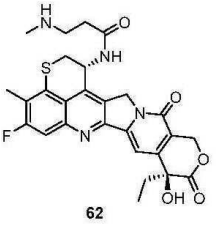

57

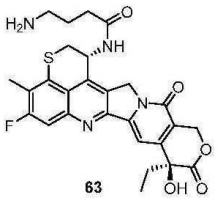

58

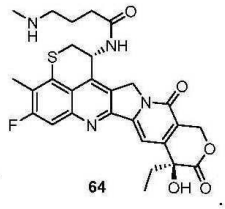

59


60


61


62

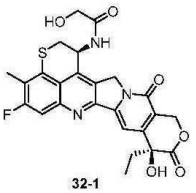

63


64

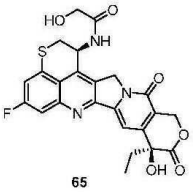
및

청구항 11

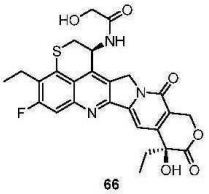
제1항 내지 제9항들 중의 어느 한 항에 있어서, 여기에서 화합물이 하기 구조들 중의 어느 하나를 갖는, 일반식 (1)의 캄프토테신 유도체 화합물 또는 그의 광학 이성질체, 결정 형태, 약제학적으로 수용가능한 염, 수화물 또는 용매화물:



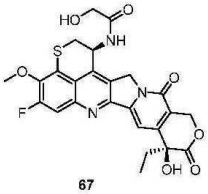
32-1



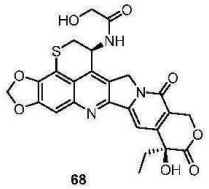
65



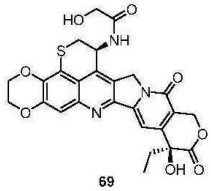
66



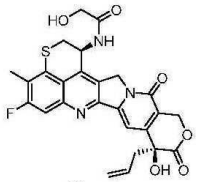
67



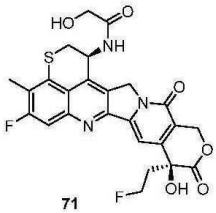
68



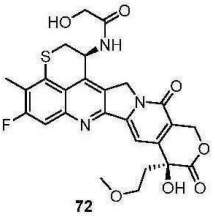
69



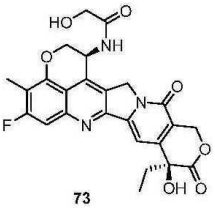
70



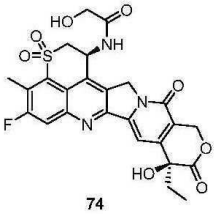
71



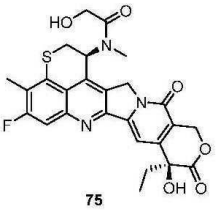
72



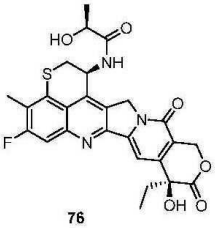
73



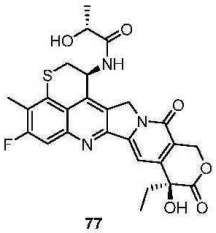
74



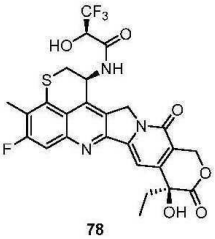
75



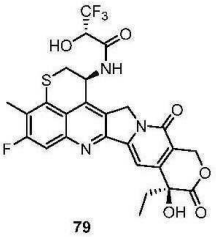
76



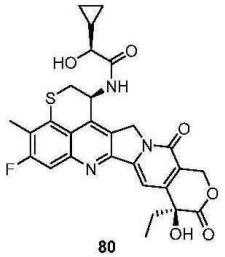
77

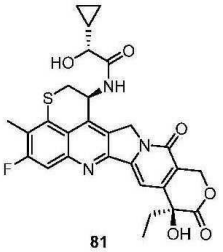


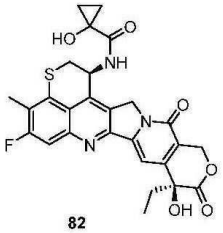
78

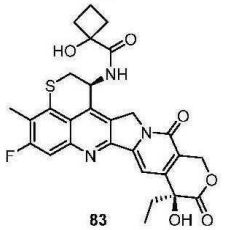


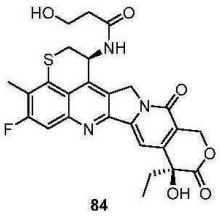
79

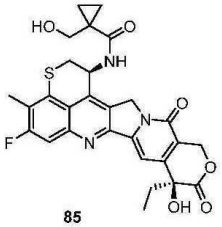

80

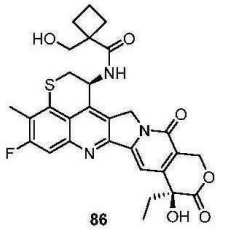

81

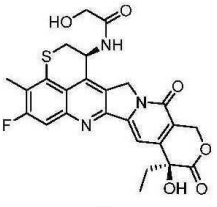

82

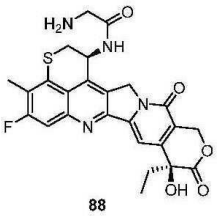

83

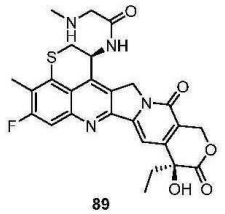

84

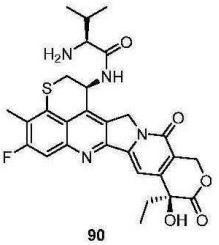

85

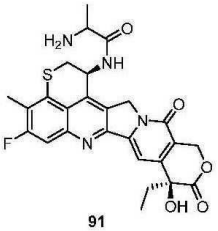

86

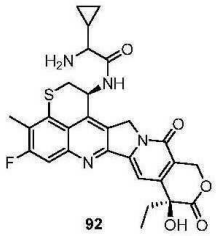

87

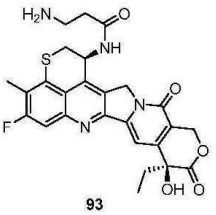

88

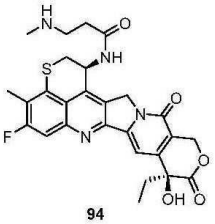

89

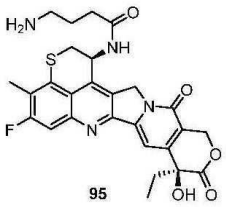

90

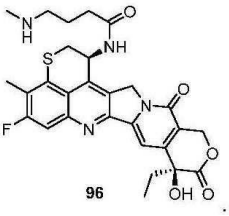

91


92


93


94

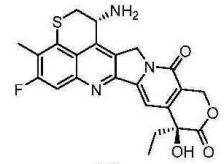

95


96

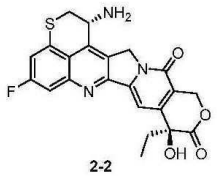
및

청구항 12

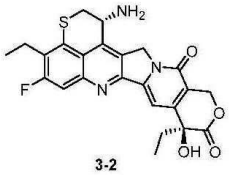
화합물이 하기 구조들 중의 어느 하나를 갖는, 캄프토테신 유도체 화합물 또는 그의 광학 이성질체, 결정 형태, 약제학적으로 수용가능한 염, 수화물 또는 용매화물:



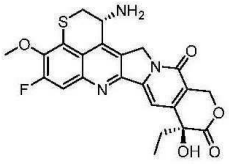
1-2



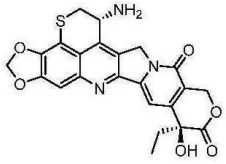
2-2



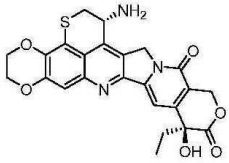
3-2



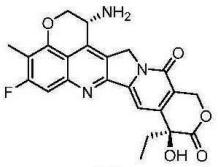
4-2



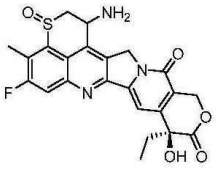
5-2



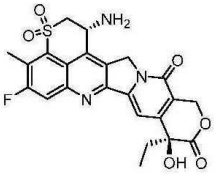
6-2



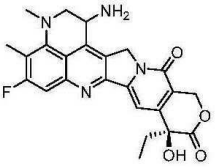
7-2



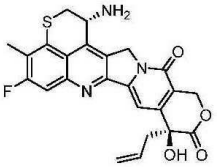
8



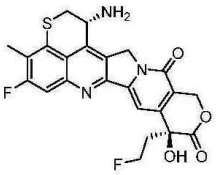
9-2



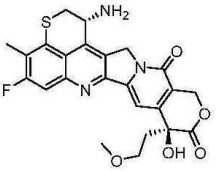
10



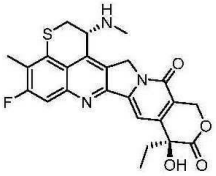
11-2



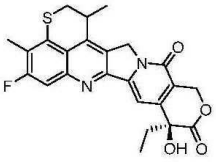
12-2



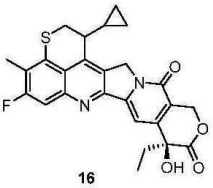
13-2



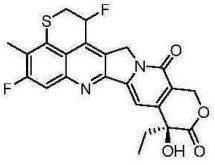
14-2



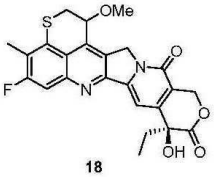
15



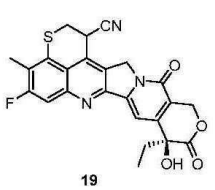
16

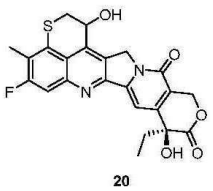


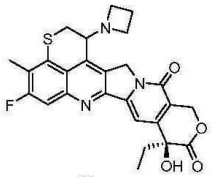
17

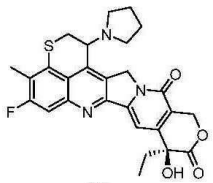


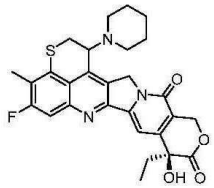
18

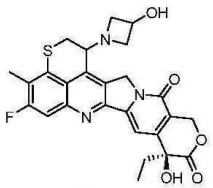

19

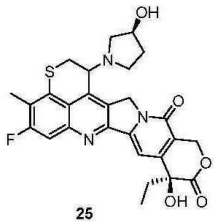

20

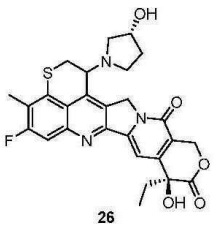

21

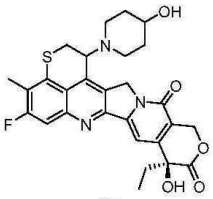

22

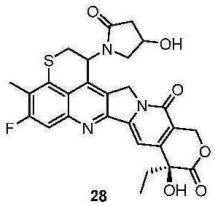

23

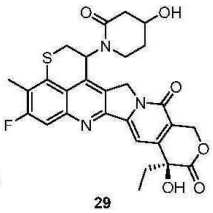

24


25


26

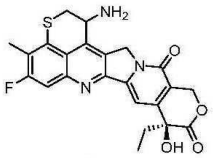

27

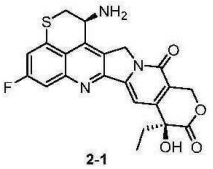

28

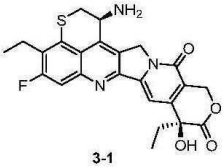

29

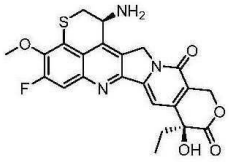
청구항 13

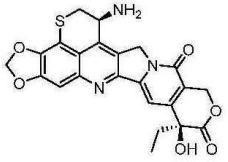
화합물이 하기 구조들 중의 어느 하나를 갖는, 캄프토테신 유도체 화합물 또는 그의 광학 이성질체, 결정 형태, 약제학적으로 수용가능한 염, 수화물 또는 용매화물:

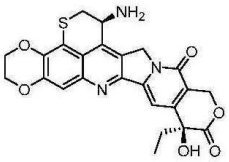

1

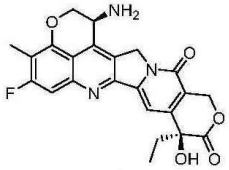

2-1

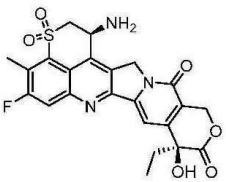

3-1

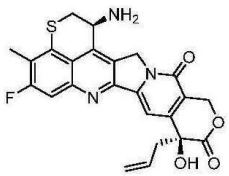

4-1

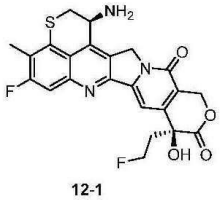

5-1

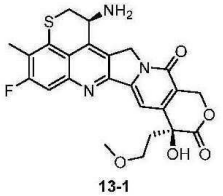

6-1

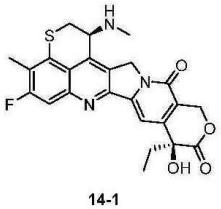

7-1


9-1


11-1


12-1


13-1


14-1

청구항 14

항체-약물 접합체의 제조에서 소분자 독소로서의 제1항 내지 제13항들 중의 어느 한 항에 따른 일반식(1)의 캄프토테신 유도체 화합물 또는 그의 광학 이성질체, 결정 형태, 약제학적으로 수용가능한 염, 수화물 또는 용매화물의 용도.

청구항 15

약제학적으로 수용가능한 부형제 또는 담체, 및 활성 성분으로서 제1항 내지 제13항들 중의 어느 한 항에 따른 일반식(1)의 캄프토테신 유도체 화합물 또는 그의 광학 이성질체, 결정 형태, 약제학적으로 수용가능한 염, 수화물 또는 용매화물을 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 16

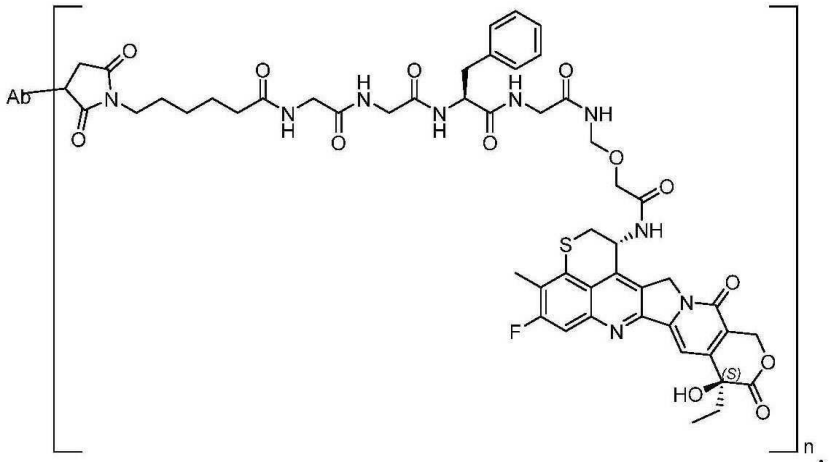
암 질환을 치료하기 위한 약물의 제조에서의 제1항 내지 제13항 중의 어느 한 항에 따른 일반식(1)의 캄프토테신 유도체 화합물 또는 그의 광학 이성질체, 결정 형태, 약제학적으로 수용가능한 염, 수화물 또는 용매화물; 또는 제15항에 따른 약제학적 조성물;의 용도.

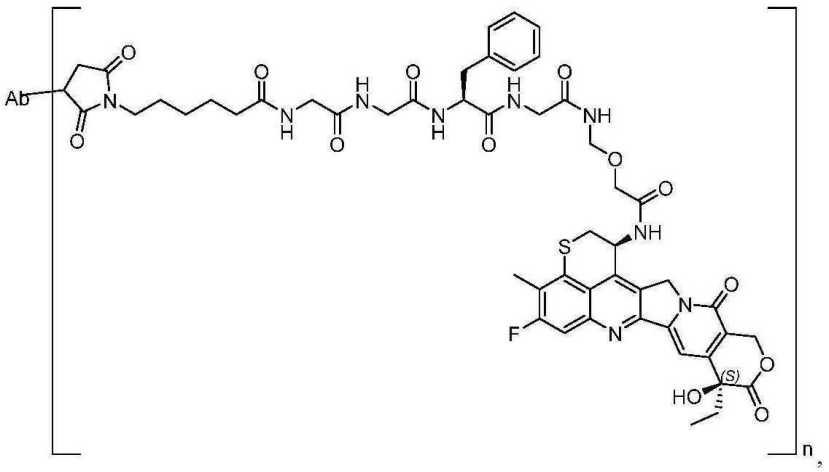
청구항 17

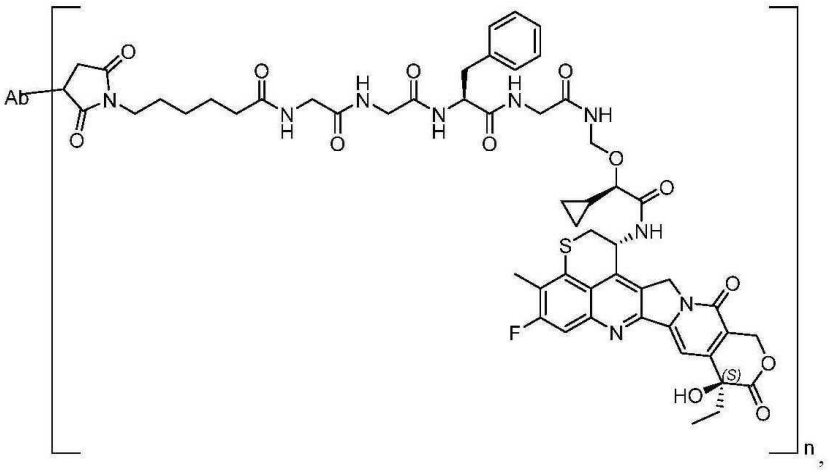
항체, 소분자 독소 및 링커를 포함하고, 여기에서 소분자 독소가 제1항 내지 제13항 중의 어느 한 항에 따른 일반식(1)의 캄프토테신 유도체 화합물 또는 그의 광학 이성질체, 결정 형태, 약제학적으로 수용가능한 염, 수화물 또는 용매화물이고, 링커가 공유 결합을 통해 항체와 소분자 독소를 연결하는, 항체-약물 접합체.

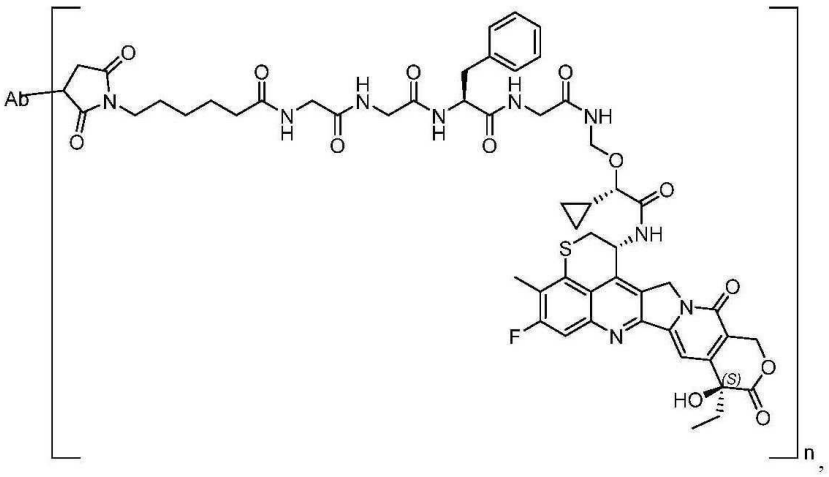
청구항 18

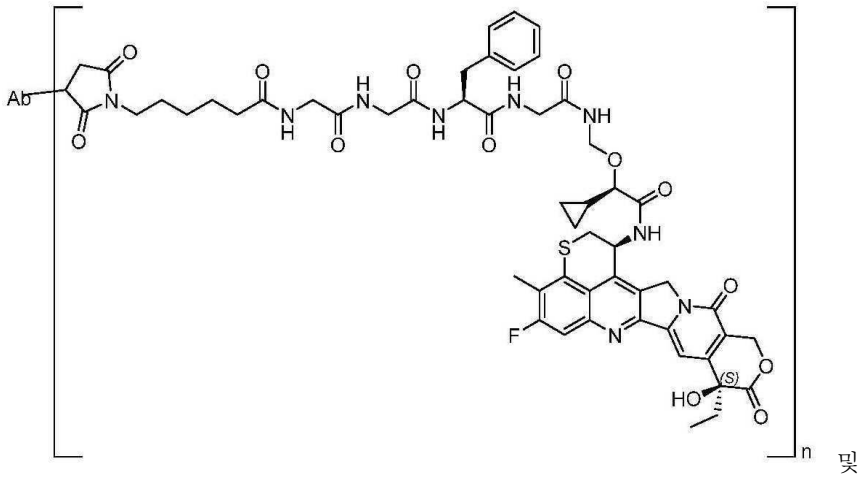
제17항에 있어서, 여기에서 항체-약물 접합체가 아래의 구조들 중의 어느 하나를 갖는, 항체-약물 접합체:



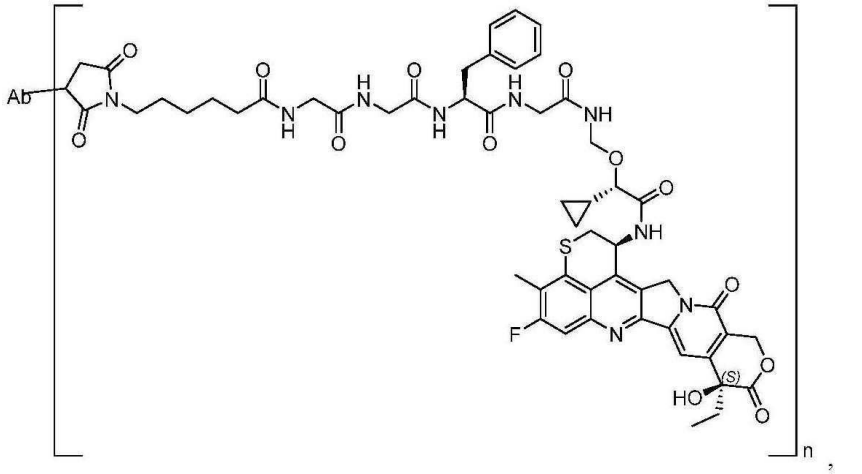








및



,

여기에서 Ab가 모노클로날 항체, 바람직하게는 항-her2 항체, 그리고 보다 바람직하게는 트라스트주마브를 나타내고; n이 2 내지 8, 바람직하게는 4 내지 8 그리고 보다 바람직하게는 7 내지 8의 수임.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본원은 2020년 12월 11일자로 출원된 중국 특허 출원 제2020114637044호의 우선권을 주장하며, 그의 전체가 본 명세서에 참조로 통합된다.

[0002] **기술분야**

[0003] 본 발명은 제약 화학의 분야, 특히 신규한 캄프토테신 유도체, 이를 포함하는 조성물 및 이의 용도에 관한 것이다.

배 경 기 술

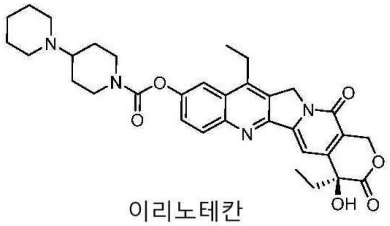
[0004] DNA 위상이성질체화효소는 기질로서 DNA를 수반하는 세포의 핵에 위치하고, 따라서 세포의 복제, 전사 및 유사분열에 관여한다. 위상이성질체화효소의 주요 역할은 DNA의 슈퍼코일 구조를 분해하는 것이다. 위상이성질체화효소는 위상이성질체화효소 I(Topo I) 및 위상이성질체화효소 II(Topo II)로 분류된다. 위상이성질체화효소의 억제는 종양 세포에의 다량의 파괴된 DNA의 축적을 야기하고, 그에 의해 종양 세포 사멸을 유도한다. DNA 위상이성질체화효소 I 억제제는 캄프토테신 및 그 유도체를 포함하고, 악성 종양의 치료를 위해 임상적으로 사용된다.

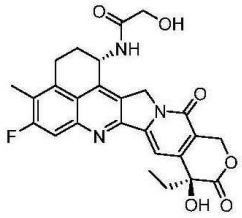
[0005] 캄프토테신이 먼저 희수나무(*Camptotheca acuminata Decne* ; 닛사과(*Nyssaceae*))로부터 분리된다. 캄프토테신은 세포독성이 비교적 강하고, 소화기계 종양(위암, 결장암 및 직장암), 간암, 유방암, 방광암 및 백혈병과 같

은 악성 종양에 양호한 치료 효과를 갖는다. 캄프토테신은 상대적으로 낮은 용해성과 안정성 그리고 높은 독성이라는 단점을 가지고 있어 임상 응용에서의 사용이 제한된다. 캄프토테신 유도체는 수용성 기를 도입하거나 전구약물을 제조함으로써 수 용해도를 증가시킬 수 있고 그에 의해 약물 가능성(druggability)을 향상시킬 수 있다. 토포테칸 및 그의 카바메이트 전구약물 이리노테칸과 같이 크게 향상된 용해도를 갖는 여러 캄프토테신 유도체가 시판되었다.

[0006] 종양을 치료하기 위한 화학요법 약물로서 사용되는 것에 더해, 캄프토테신 유도체는 또한 항체-약물 접합체(ADCs: antibody-drug conjugates)를 위한 소분자 독소(탑재체)로서 항체에 접합하는 데 사용된다. ADC는 항체와 소분자 독소를 접합한다. ADC는 종양 세포의 표면 항원과 결합하기 위한 항체의 특이성과 종양 세포를 억제하고 사멸하기 위한 세포독성 약물의 높은 활성 둘 모두를 가지고 있다. 전통적인 화학요법 약물에 비해, ADC는 종양 세포를 보다 정확하게 사멸사킬 수 있고, 따라서 정상 세포에 대한 영향이 감소된다. 최근, 소분자 독소로서 캄프토테신 유도체를 선택하는 ADC가 크게 개발되고 있다. DS-8201a(트라스투주마브 데룩스테칸(Trastuzumab Deruxtecan))은 일본의 Daiichi Sankyo가 개발한 최초의 ADC이고 시판을 위한 승인을 받았다. ADC는 캄프토테신 유도체 데룩스테칸을 소분자 독소로 선택하고 카텝신 B에 의해 가수분해될 수 있고 자가-분해 구조인 링커로서 GGFG 테트라펩티드를 사용한다.


토포테칸


이리노테칸


데룩스테칸

[0007]

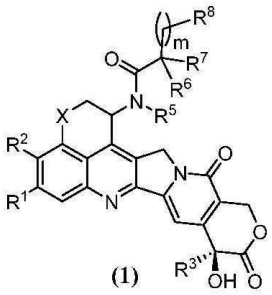
[0008] 그러나, 소분자 독소로서 캄프토테신 유도체를 사용하는 ADC는 전형적으로 비교적 큰 약물-대-항체 비율(DAR: drug-to-antibody ratio)을 필요로 하고, 생산하기 어렵고, 불안정해지는 경향이 있다. 따라서, 더 높은 활성을 갖는 신규한 캄프토테신 유도체는 ADC의 항-종양 약물 또는 소분자 독소로서 광범위한 응용 전망을 갖는다. 데룩스테칸과 같이 공지된 화합물에 비해, 본 발명에서 제공되는 신규한 캄프토테신 유도체는 크게 개선된 세포 활성을 가지며, 이는 신규한 항-종양 약물 및 ADC의 개발에 중요한 의의를 갖는다.

발명의 내용

해결하려는 과제

과제의 해결 수단

[0009] 본 발명은 일반식(1)의 캄프토테신 유도체 화합물 또는 그의 광학 이성질체, 결정 형태, 약제학적으로 수용가능한 염, 수화물 또는 용매화물을 제공한다:

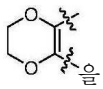

(1)

[0010]

[0011] 여기에서, 일반식(1)에서:

[0012] m이 0, 1 또는 2의 정수이고;

[0013] X가 -O-, -S-, -S(O)-, $-S(O_2)-$ 및 $-N(R^4)-$로부터 선택되고;

[0014] R^1 및 R^2가 독립적으로 H, 할로겐, OH, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알콕시, C_{1-6} 할로알킬, C_{3-6} 사이클로알킬, NH_2, NO_2 및 CN으로부터 선택되거나, R^1 및 R^2가, 이들에 부착되는 페닐 고리와 함께, 고리화에 의해  또는 을 형성하고;

[0015] R^3이 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{1-3} 알콕시-치환 C_{1-3} 알킬 및 C_{1-6} 할로알킬로부터 선택되고;

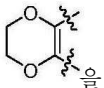
[0016] R^4가 H, C_{1-6} 알킬 및 C_{1-6} 할로알킬로부터 선택되고;

[0017] R^5가 H, C_{1-6} 알킬 및 C_{3-6} 사이클로알킬로부터 선택되고;

[0018] R^6 및 R^7이 독립적으로 H, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬 및 C_{3-6} 사이클로알킬로부터 선택되거나; R^6 및 R^7이, 이들에 부착되는 탄소 원자와 함께, 고리화에 의해 C_{3-6} 사이클로알킬 또는 4원 내지 7원 헤테로사이클로알킬을 형성하거나; R^6 및 R^5가 연결되어 5원 내지 7원 락탐 고리를 형성하고, R^7이 H, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬 및 C_{3-6} 사이클로알킬로부터 선택되고;

[0019] R^8이 OH 및 NR^9R^{10}으로부터 선택되고, R^9 및 R^{10}이 독립적으로 H, C_{1-6} 알킬 및 C_{3-6} 사이클로알킬로부터 선택되거나; R^9 및 R^{10}이, 이들에 부착되는 N 원자와 함께, 고리화에 의해 4원 내지 7원 헤테로사이클로알킬을 형성하고, 4원 내지 7원 헤테로사이클로알킬이 미치환되거나 하기들로부터 선택되는 1 내지 3개의 기로 치환됨: C_{1-6} 알킬, 할로겐, OH, CN 및 NH_2.

[0020] 다른 바람직한 구현예에서, 일반식(1)에서, R^8은 OH이다.

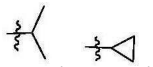
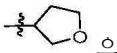
[0021] 다른 바람직한 구현예에서, 일반식(1)에서, R^1 및 R^2가 독립적으로 H, 할로겐, OH, Me, Et, OMe, OEt, CF_3, NH_2, NO_2 및 CN으로부터 선택되고; R^1 및 R^2가 독립적으로 바람직하게는 H, F, Cl, Me, Et, OMe, OEt 또는 CF_3이고; R^1 및 R^2가 독립적으로 보다 바람직하게는 H, F, Me, Et 또는 OMe이고; R^1 및 R^2가 독립적으로 보다 바람직하게는 F 또는 Me이거나; R^1 및 R^2가, 이들에 부착되는 페닐 고리와 함께, 고리화에 의해  또는 을 형성한다.

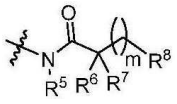
[0022] 다른 바람직한 구현예에서, 일반식(1)에서, R^3은 Me, Et, , , , , ,  및 로부터 선택되고; R^3은 바람직하게는 Et, ,  또는 이고; R^3은 보다 바람직하게는 Et이다.

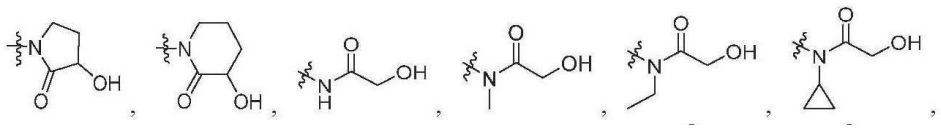
[0023] 다른 바람직한 구현예에서, 일반식(1)에서, X는 -O-, -S-, -S(O)-, -S(O_2)-, -N(H)- 및 -N(Me)-로부터 선택되고; X는 바람직하게는 -O-, -S-, -S(O)-, -S(O_2)- 또는 -N(Me)-이고; X는 보다 바람직하게는 -S-이다.

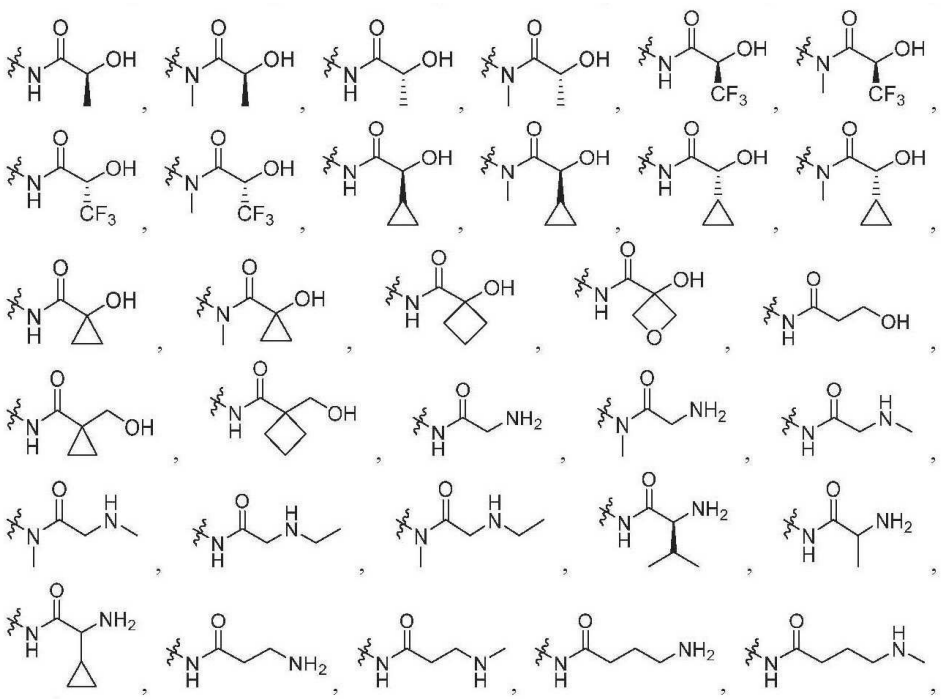
[0024] 다른 바람직한 구현예에서, 일반식(1)에서, R^5는 H, Me, Et 및 으로부터 선택되고; R^5는 바람직하게는 H 또는 Me이고; R^5는 보다 바람직하게는 H이다.

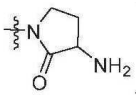
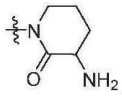
[0025] 다른 바람직한 구현예에서, 일반식(1)에서, R^6 및 R^7은 독립적으로 H, Me, Et, CHF_2, CF_3, CH_2CF_3, ,

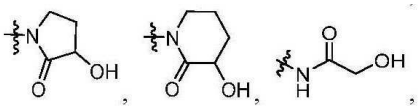

, , , ,  및  으로부터 선택되고; R^6 및 R^7은 독립적으로 바람직하게는 H, Me, CF_3,  또는 이고; R^6 및 R^7은 독립적으로 보다 바람직하게는 H 또는 이고; R^6 및 R^7은 독립적으로 보다 바람직하게는 H이고; R^6 및 R^7은 독립적으로 보다 바람직하게는 이다.

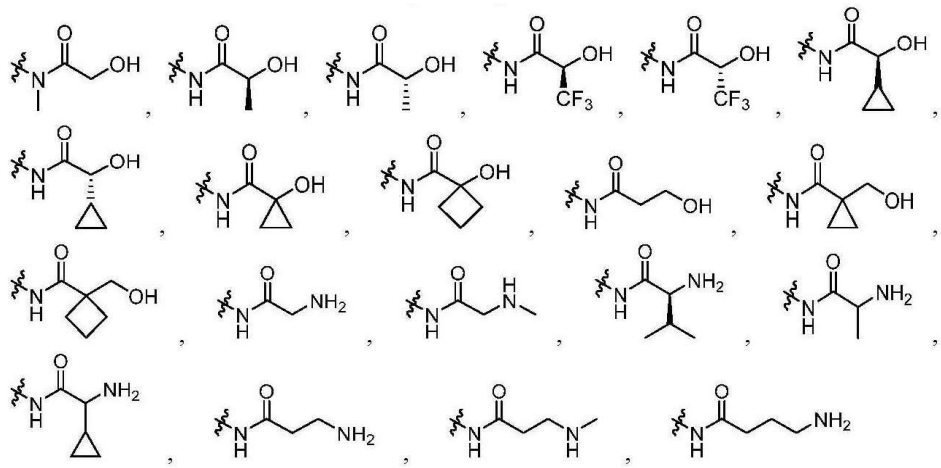
[0026] 다른 바람직한 구현예에서, 일반식(1)에서,  는

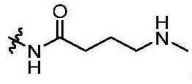
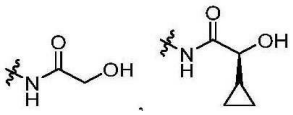
[0027] 

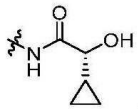
[0028] 

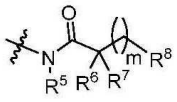
[0029]  및  로부터 선택되고, 바람직하게는

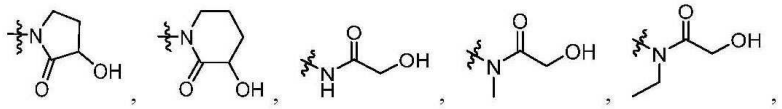
[0030] 

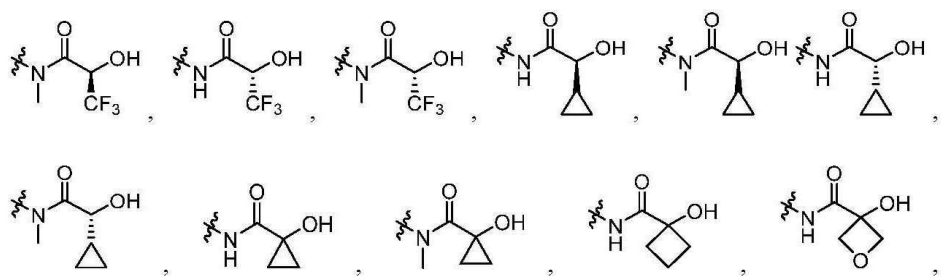
[0031] 

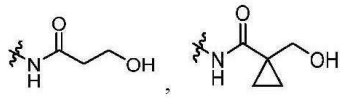
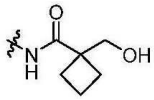
[0032] 또는 , 그리고 보다 바람직하게는 .

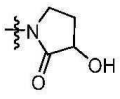
[0033] 또는  이다.

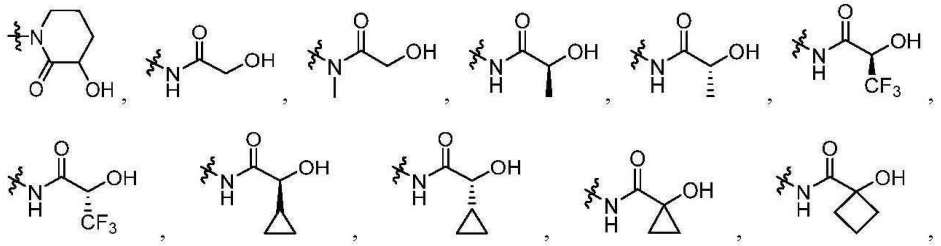
[0034] 다른 바람직한 구현예에서, 일반식(1)에서, R^8은 OH이고,  은

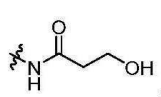
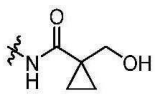
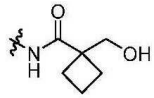
[0035] 

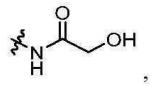
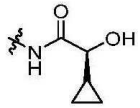
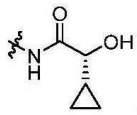
[0036] 

[0037]  및  로부터 선택되고, 바람직하게는

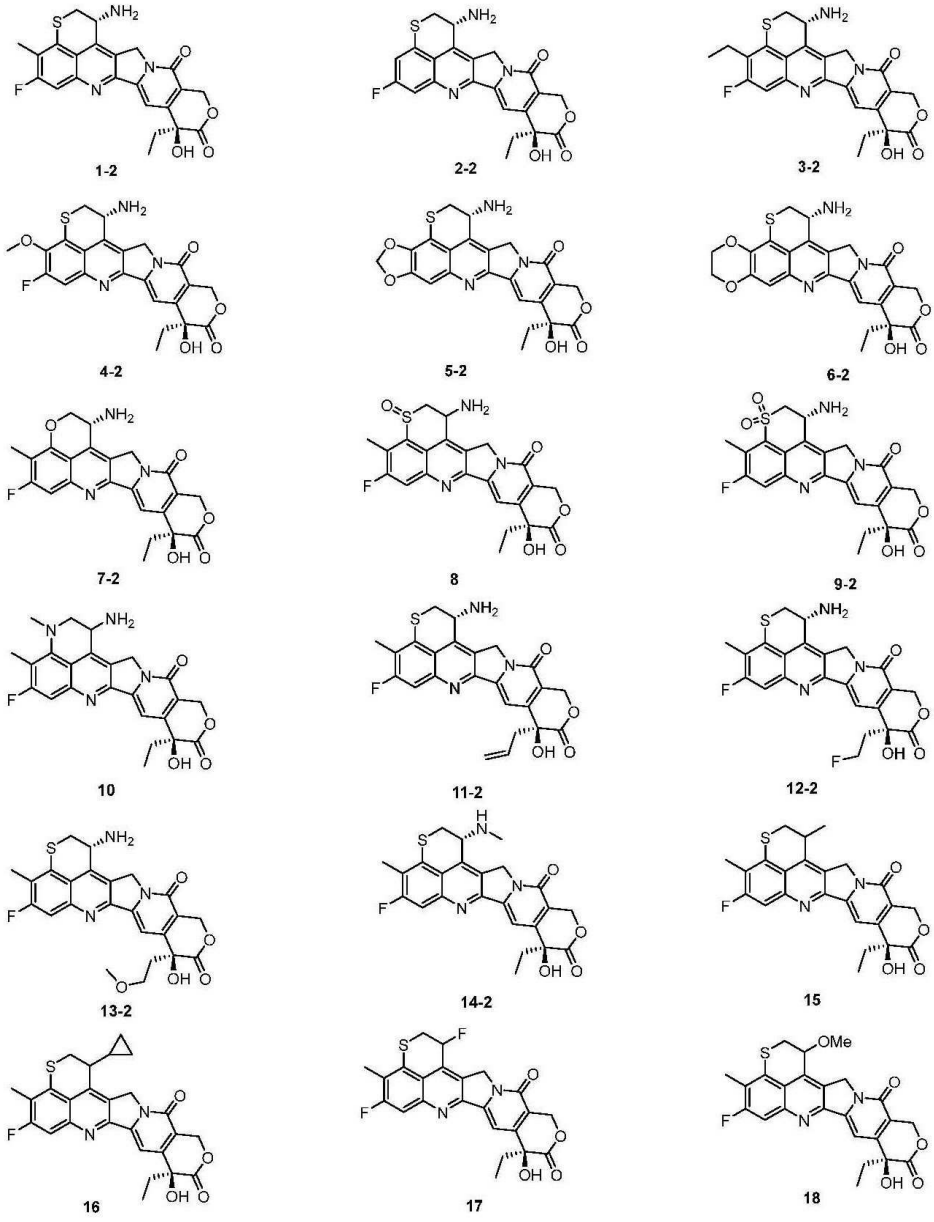
[0038] .

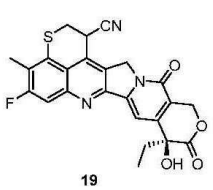
[0039] 

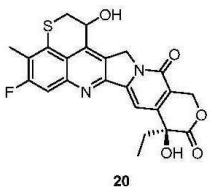
[0040]   또는 , 그리고 바람직하게는

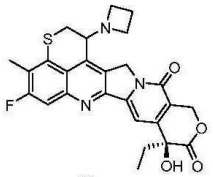
[0041]   또는  이다.

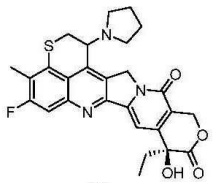
[0042] 본 발명의 일부 구현예에서, 캄프토테신 유도체 화합물 또는 그의 약제학적으로 수용가능한 염이 제공되고, 여기에서 화합물은 하기 구조들 중의 어느 하나를 갖는다:

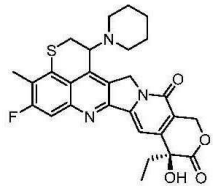
[0043] 

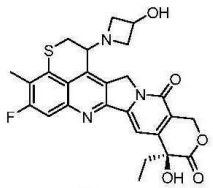

19

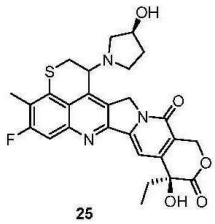

20

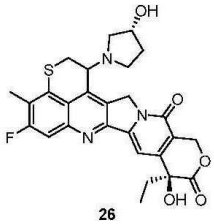

21

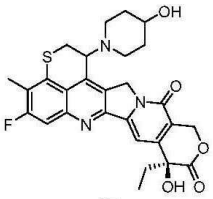

22

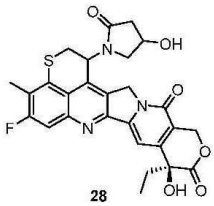

23

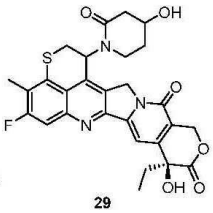

24


25


26


27

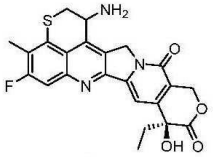

28

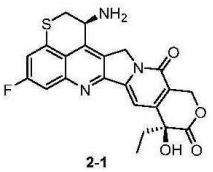

29

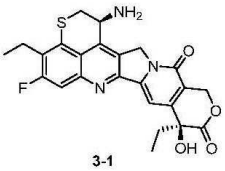
[0044]

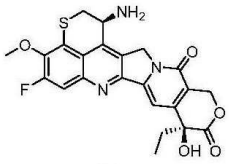
[0045] 본 발명의 일부 구현예에서, 캄프토테신 유도체 화합물 또는 그의 약제학적으로 수용가능한 염이 제공되고, 여기에서 화합물은 하기 구조들 중의 어느 하나를 갖는다:

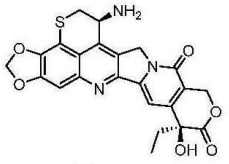
[0046]

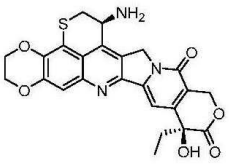

1

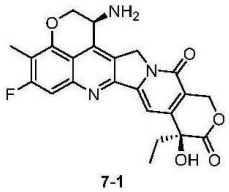

2-1

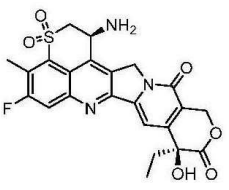

3-1

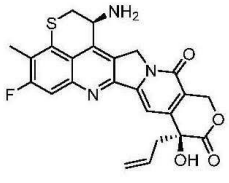

4-1

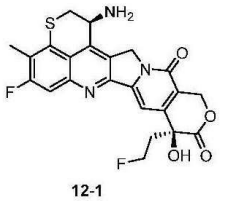

5-1

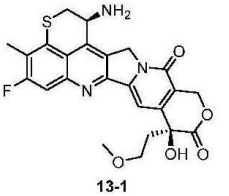

6-1

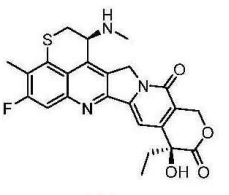

7-1


9-1


11-1


12-1

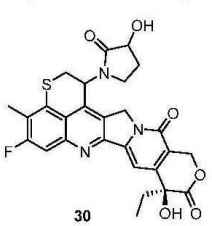

13-1

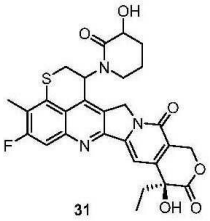

14-1

[0047]

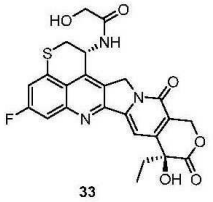
[0048] 본 발명의 일부 구현예에서, 일반식(1)의 화합물 또는 그의 이성질체 또는 약제학적으로 수용가능한 염은 하기 구조들 중의 어느 하나를 갖는다:

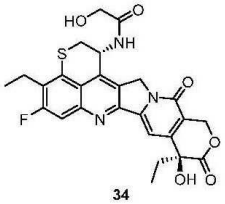
[0049]

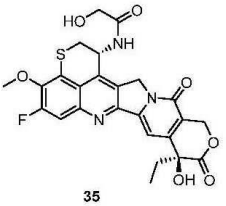

30

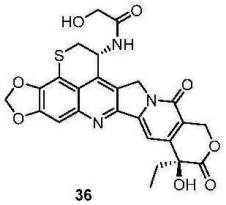

31

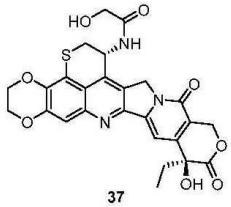

32-2

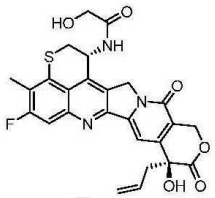

33

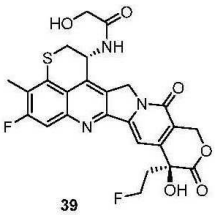

34

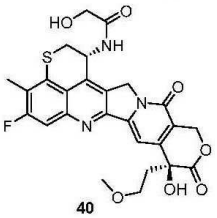

35

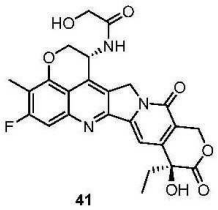

36

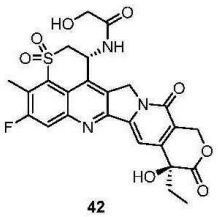

37

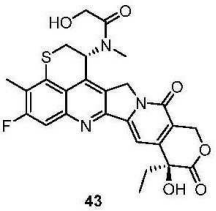

38

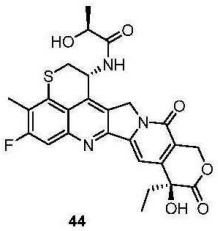

39

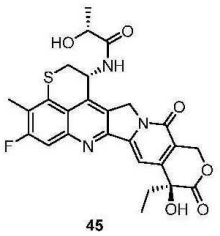

40

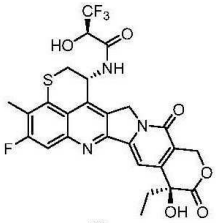

41

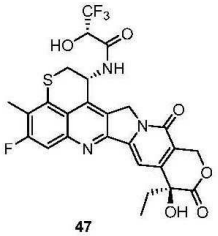

42

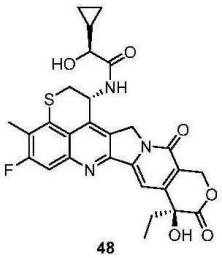

43

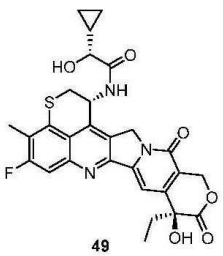

44

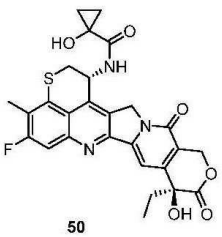

45


46

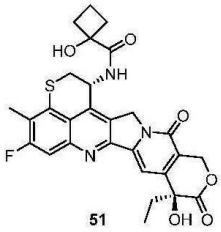

47

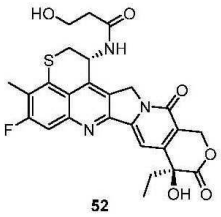

48

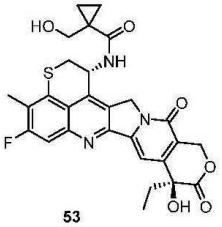

49

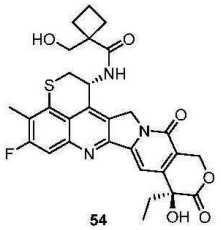

50

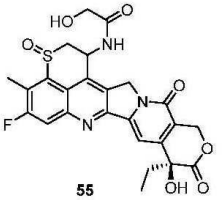
[0050]

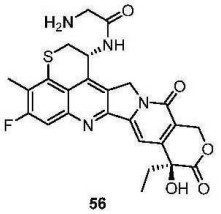

51

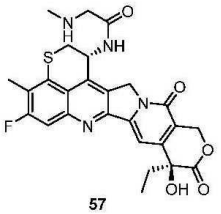

52

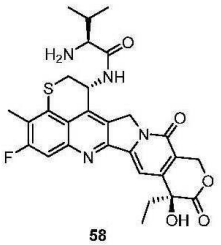

53

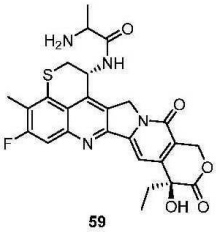

54

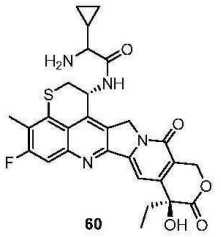

55

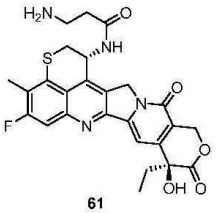

56

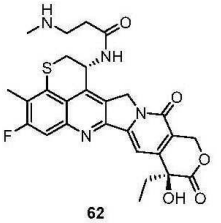

57

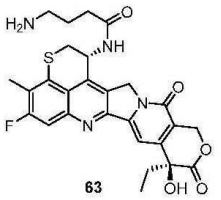

58


59

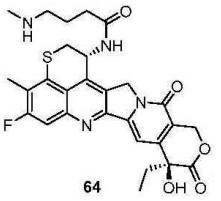

60


61


62


63

및


64

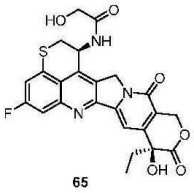
.

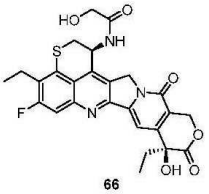
[0051]

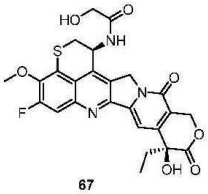
.

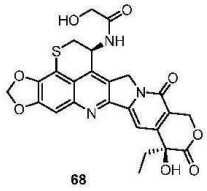
[0052] 본 발명의 일부 구현예에서, 일반식(1)의 화합물 또는 그의 이성질체 또는 약제학적으로 수용가능한 염은 하기 구조들 중의 어느 하나를 갖는다:

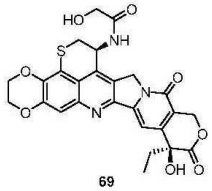

32-1

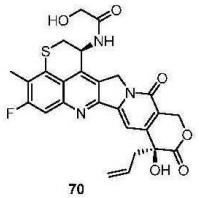

65

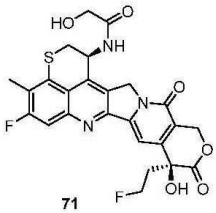

66

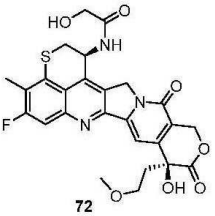

67

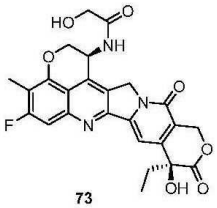

68

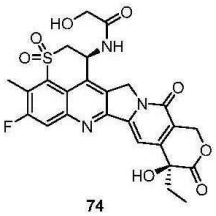

69

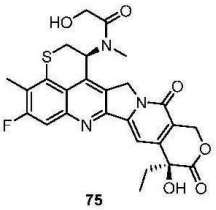

70

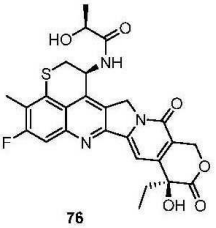

71

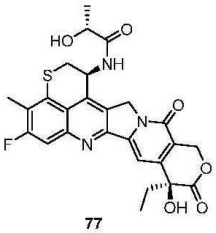

72

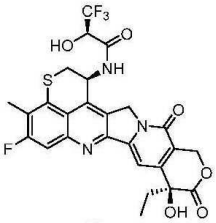

73

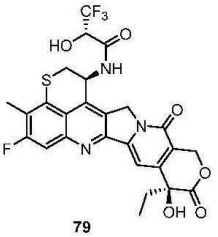

74


75

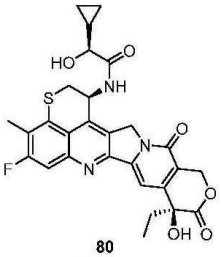

76

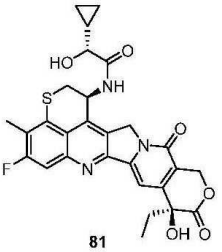

77

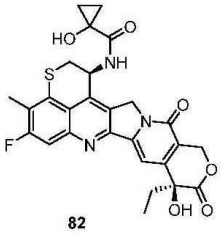

78

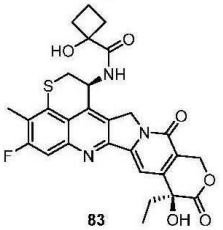

79

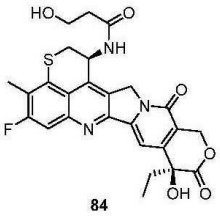
[0053]

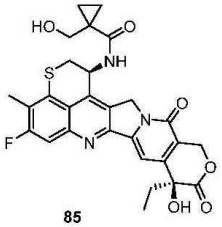

80

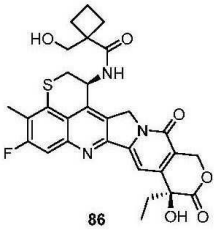

81

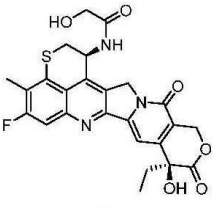

82

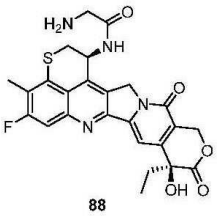

83

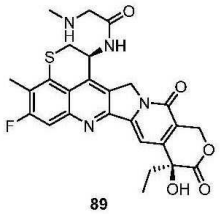

84

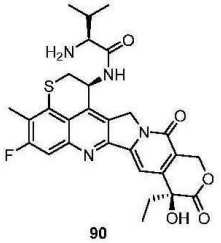

85

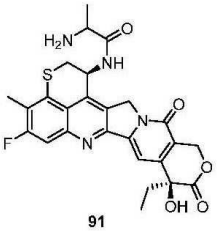

86

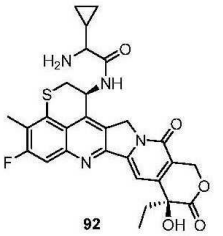

87

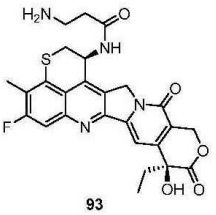

88

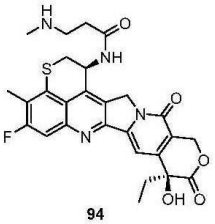

89


90

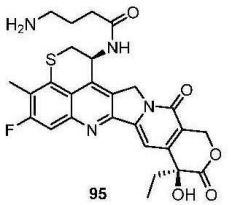

91


92

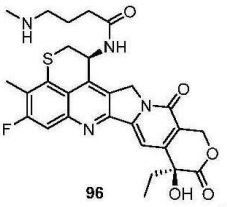

93


94

[0054]

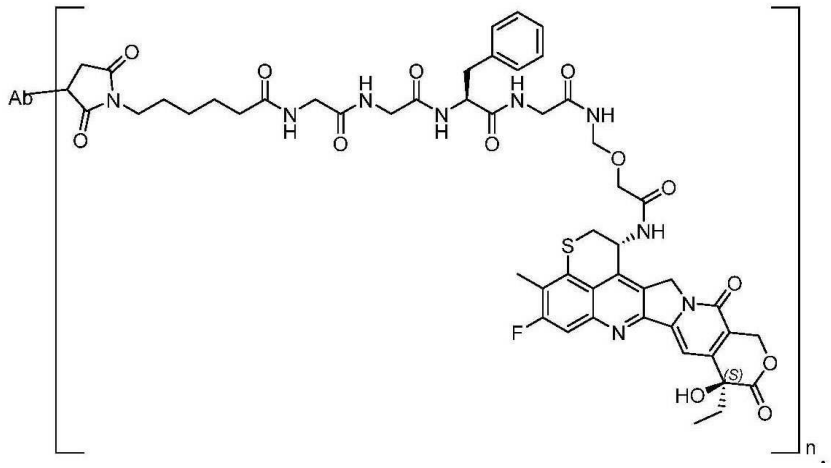

95

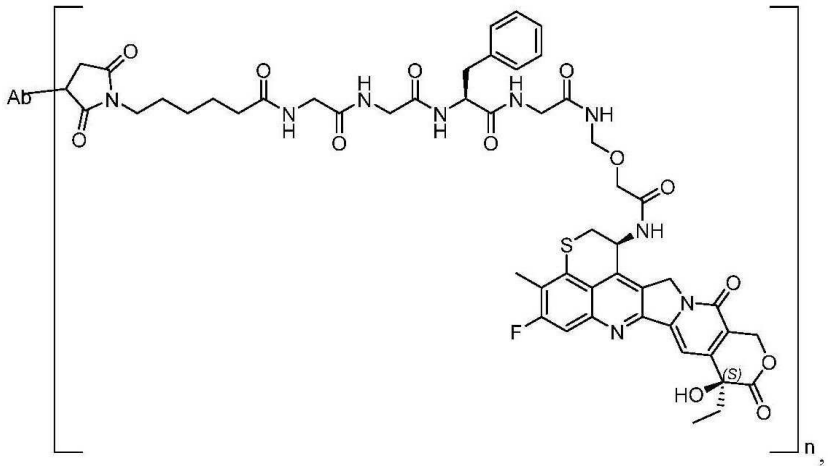
및

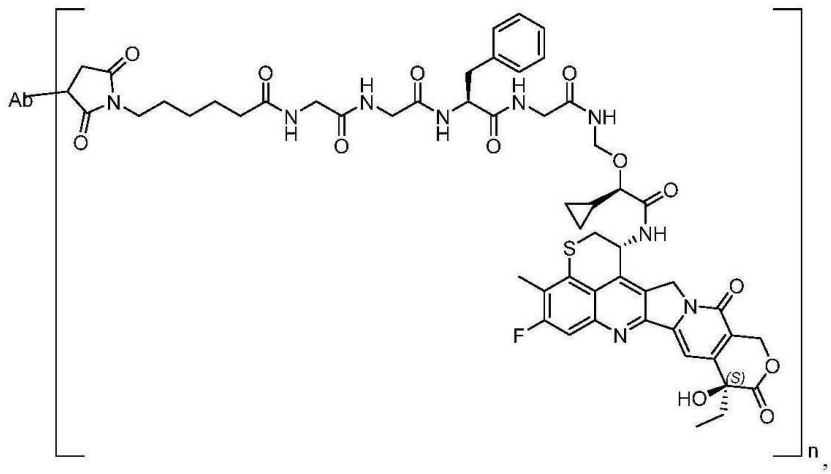

96

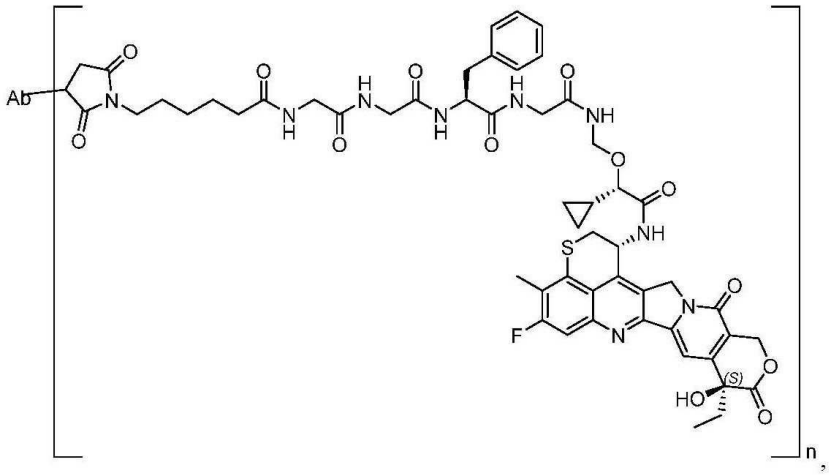
[0055]

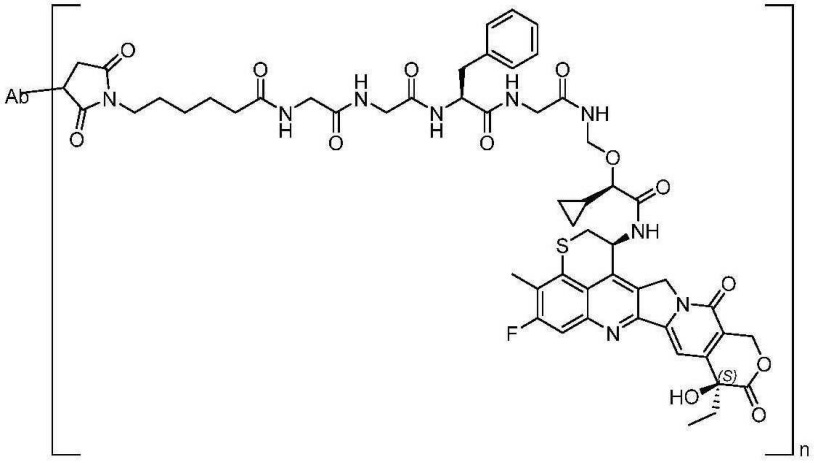
[0056] 본 발명의 일부 구현예에서, 본 발명은 항체-약물 접합체를 제공하고, 여기에서 항체-약물 접합체는 하기 구조들 중의 어느 하나를 갖는다:

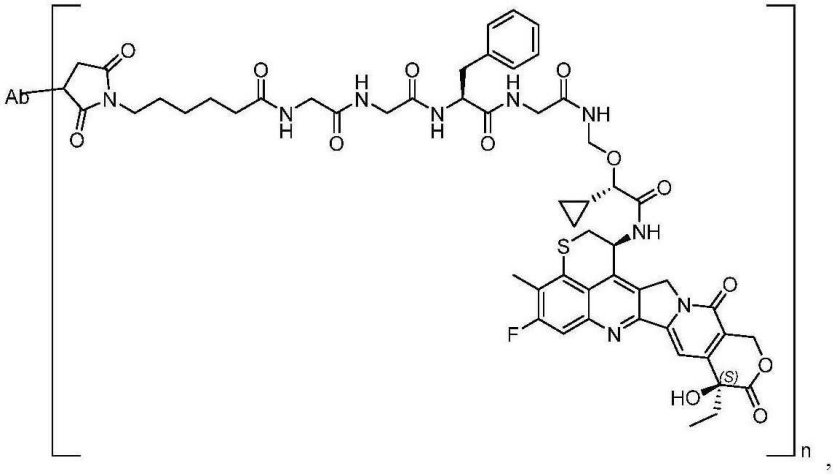
[0057] 

[0058] 

[0059] 

[0060] 

[0061]  및

[0062] 

[0063] 여기에서 Ab가 모노클로날 항체, 바람직하게는 항-her2 항체, 그리고 보다 바람직하게는 트라스트주마브를 나타내고; n이 2 내지 8, 바람직하게는 4 내지 8 그리고 보다 바람직하게는 7 내지 8, 예를 들어, 7.2 또는 7.3의 수임.

[0064] 본 발명의 목적은 항체-약물 접합체(ADC)의 제조에서의 소분자 독소로서의 본 발명의 화합물 또는 그의 광학 이성질체, 결정 형태, 약제학적으로 수용가능한 염, 수화물 또는 용매화물의 용도를 제공하는 것이다.

[0065] 본 발명의 다른 목적은 약제학적으로 수용가능한 부형제 또는 담체 및 활성 성분으로서 본 발명의 화합물 또는 그의 광학 이성질체, 약제학적으로 수용가능한 무기 또는 유기 염을 포함하는 약제학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0066] 본 발명의 또 다른 목적은 종양 및 연관 질환을 치료하기 위한 약물의 제조에서의 본 발명의 화합물 또는 그의

광학 이성질체 또는 약제학적으로 수용가능한 무기 또는 유기 염 또는 약제학적 조성물의 용도를 제공하는 것이다.

[0067] 본 발명의 또 다른 목적은 종양 및 연관 질환의 치료를 위한 약물의 제조에서의 본 발명의 화합물 또는 그의 광학 이성질체 또는 약제학적으로 수용가능한 무기 또는 유기 염의 용도를 제공하는 것이다.

[0068] 본 발명의 또 다른 목적은 항체-약물 접합체(ADC)를 제공하는 것이며, 여기에서 항체-약물 접합체는 항체, 소분자 독소 및 링커를 포함하고; 소분자 독소가 본 발명의 화합물이고, 링커가 공유 결합을 통해 항체와 소분자 독소를 연결한다.

[0069] 본 발명의 위의 일반적인 설명 및 아래의 상세한 설명 둘 모두가 예시적이고 설명적인 것이며, 특허청구된 본 발명의 추가의 설명을 제공하기 위한 것으로 의도된다는 것은 이해되어야 한다.

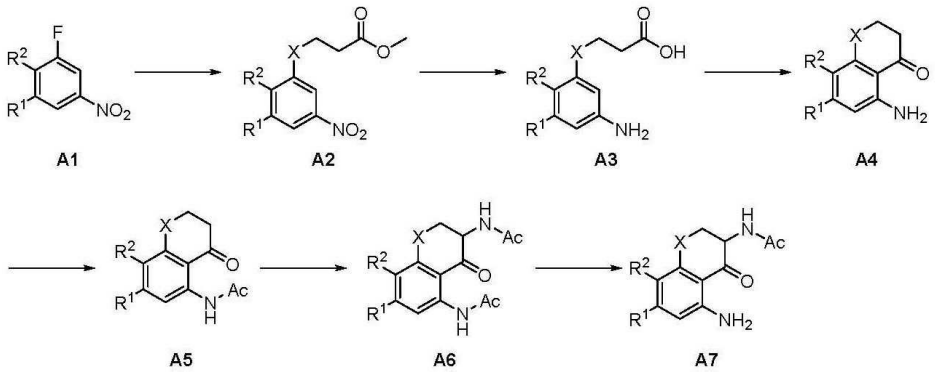
[0070] **화합물의 합성**

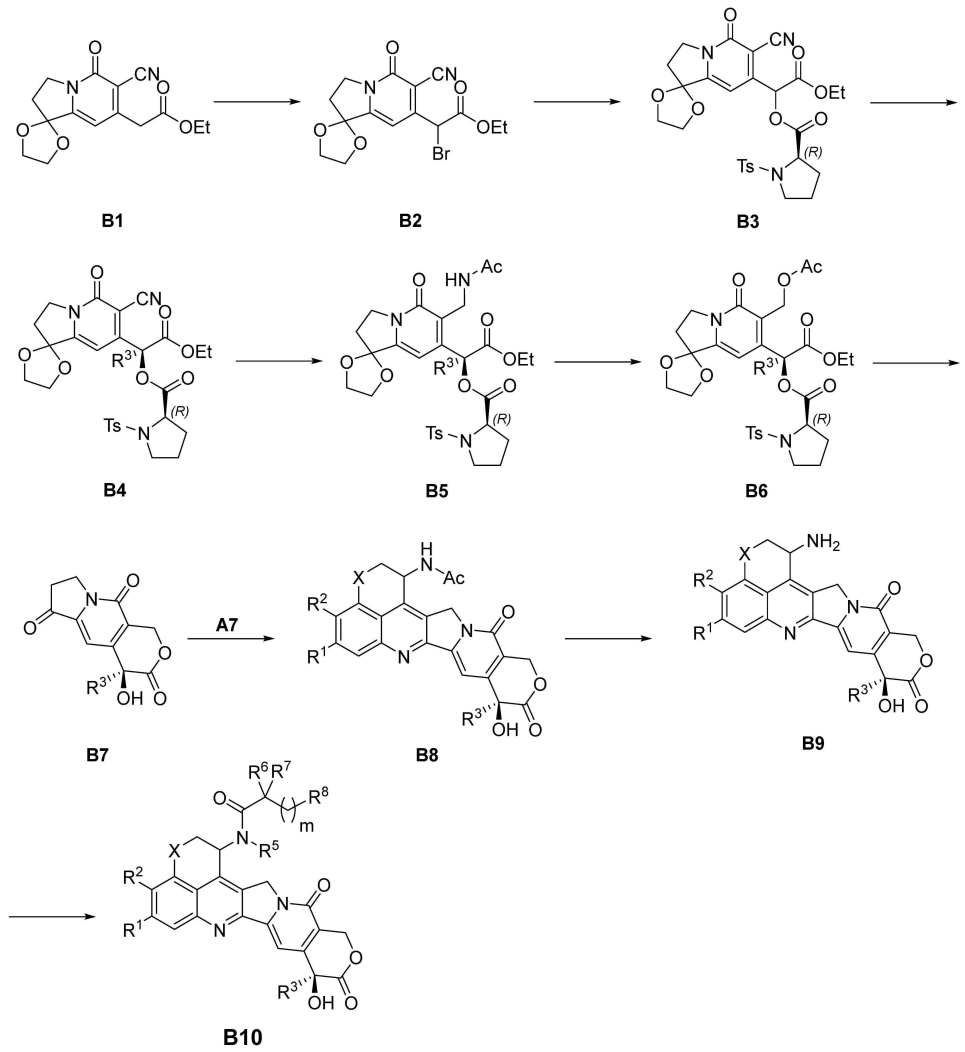
[0071] 본 명세서에 기술되는 일반식(1)의 화합물의 제조를 위한 방법이 아래에 구체적으로 기술되나, 이러한 구체적인 방법은 어떠한 방법으로도 본 발명을 제한하는 것은 아니다.

[0072] 위에서 기술되는 일반식(1)의 화합물은 본 명세서에 기술된 방법과 조합하여 표준 합성 기술 또는 충분히 공지된 기술을 사용하여 합성될 수 있다. 게다가, 본 명세서에 언급되는 용매, 온도 및 기타 반응 조건들은 다양할 수 있다. 화합물의 합성을 위한 출발 물질은 합성하거나 상업적으로 수득될 수 있다. 본 명세서에 기술되는 화합물 및 상이한 치환체를 갖는 다른 연관된 화합물이 March, Advanced Organic Chemistry, 4th Ed., (Wiley 1992); Carey and Sundberg, Advanced Organic Chemistry, 4th Ed., Vols. A and B (Plenum 2000, 2001) 및 Green and Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd Ed., (Wiley 1999)에서 발견되는 방법을 포함하여 충분히 공지된 기술 및 출발 물질을 사용하여 합성될 수 있다. 화합물을 제조하기 위한 일반적인 방법은 본 명세서에 제공되는 화학식 내로 상이한 기를 도입하기 위한 적절한 시약 및 조건을 사용함으로써 변경될 수 있다.

[0073] 하나의 양태에서, 본 명세서에 기술되는 화합물은 당해 기술분야에서 충분히 공지된 방법에 따라 제조된다. 그러나, 반응물, 용매, 염기, 사용되는 화합물의 양, 반응 온도 및 반응에 필요한 시간과 같이 반응에 연관되는 조건은 아래의 설명으로 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 화합물은 또한 본 명세서에 기술되거나 당해 기술분야에서 공지된 여러 합성 방법을 임의선택적으로 조합함으로써 편리하게 제조될 수 있으며, 이러한 조합은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 기술자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 하나의 양태에서, 본 발명은 또한 아래의 일반 반응식 1을 사용하여 제조되는 일반식(1)의 화합물을 제조하기 위한 방법을 제공한다.

[0074] **일반 반응식 1**

[0075] 



[0076]

[0077] 여기에서 R^1, R^2, R^3, R^5, R^6, R^7, R^8 및 X는 위에서 정의되는 바와 같다.

[0078] 화합물 A1이 출발 물질로서 사용되고 친핵성 치환 반응에 적용되어 화합물 A2를 수득하고, 화합물 A2가 철 분말 및 염산의 조건 하에서 질소 환원에 적용되어 화합물 A3을 수득하고, 화합물 A3이 Friedel-Crafts 아실화 반응에 적용되어 화합물 A4를 수득하고, 화합물 A4가 아세틸화되어 화합물 A5를 수득하고, 화합물 A5가 니트로소화, 환원 및 아세틸화에 적용되어 화합물 A6을 수득하고, 화합물 A6이 아닐린 상의 아세틸을 제거하여 중간 화합물 A7을 수득한다.

[0079] 화합물 B1이 출발 물질로서 사용되고 브롬화에 적용되어 화합물 B2를 수득하고, 화합물 B2가 키랄 아미노산과 반응하여 화합물 B3을 수득하고, 화합물 B3이 친화성 치환 반응에 적용되어 화합물 B4를 수득하고, 화합물 B4가 시아노 환원에 적용되어 화합물 B5를 수득하고, 화합물 B5가 디아조화 및 친핵성 반응에 적용되어 화합물 B6을 수득하고, 화합물 B6이 종국적으로 고리화되어 중간 화합물 B7을 수득한다.

[0080] 중간 화합물 A7과 중간 화합물 B7이 고리화되어 중간 화합물 B8을 수득하고, 중간 화합물 B8이 탈아세틸화되어 화합물 B9를 수득하고, 화합물 B9가 종국적으로 아미노 변성 또는 관능 기 전환에 적용되어 본 발명의 표적 화합물을 수득한다.

[0081] **화합물의 추가 형태**

[0082] 본 명세서에서 "약제학적으로 수용가능한"은 화합물의 생물학적 활성 또는 특성이 손실되지 않도록 하는 담체 또는 희석제와 같은 물질을 의미한다. 이는 상대적으로 비-독성이며; 예를 들어, 개인에게 어떤 물질이 주어지는 경우, 원치 않는 생물학적 영향을 야기하거나 그 안에 포함되는 임의의 성분과도 해로운 방식으로 상호작용하지 않을 수 있다.

[0083] 용어 "약제학적으로 수용가능한 염"은 약물 투여에 대해 유기체에 상당한 자극을 야기하거나 화합물의 생물학적

활성 및 특성을 제거하지 않는 화합물의 형태를 의미한다. 특정한 구체적인 양태에서, 약제학적으로 수용가능한 염은 일반식(1)의 화합물을 산, 예를 들어, 염산, 브롬화수소산, 불화수소산, 황산, 인산, 질산, 인산 등과 같은 무기산, 포름산, 아세트산, 프로피온산, 옥살산, 트리플루오로아세트산, 말론산, 숙신산, 푸마르산, 말레산, 젖산, 말산, 타르타르산, 시트르산, 피크르산, 메탄술폰산, 벤젠술폰산, 파라-톨루엔술폰산 등과 같은 유기산 및 아스파르트산, 글루탐산 등과 같은 산성 아미노산과의 반응에 적용시킴으로써 수득된다.

[0084] 약제학적으로 수용가능한 염에 대한 언급에는 용매 첨가 형태 또는 결정 형태, 특히 용매화물 또는 다형체가 포함되는 것으로 이해되어야 한다. 용매화물에는 화학양론적 또는 비-화학양론적인 양의 용매가 포함되며 물 및 에탄올과 같은 약제학적으로 수용가능한 용매로의 결정화 동안 선택적으로 형성된다. 수화물은 용매가 물인 경우에 형성되거나, 알코올화물은 용매가 에탄올인 경우에 형성된다. 본 명세서에 기술되는 방법에 따라 일반식(1)의 화합물의 용매화물이 편리하게 제조되거나 형성된다. 예를 들어, 일반식(1)의 화합물의 수화물은 물/유기 용매의 혼합 용매로부터의 재결정화에 의해 편리하게 제조되며, 여기에서 사용되는 유기 용매에는 테트라하이드로퓨란, 아세톤, 에탄올 또는 메탄올이 포함되나, 이에 한정되는 것은 아니다. 더욱이, 본 명세서에 언급되는 화합물은 비-용매화 형태 및 용매화 형태 둘 모두로 존재할 수 있다. 일반적으로, 용매화 형태는 본 명세서에 제공되는 화합물 및 방법의 목적상 비-용매화 형태와 동등한 것으로 간주된다.

[0085] 다른 구체적인 예에서, 일반식(1)의 화합물은 비정질 형태, 분말화 형태 및 나노입자 형태를 포함하나 이에 한정되지 않는 상이한 형태로 제조된다. 게다가, 일반식(1)의 화합물에는 결정 형태가 포함되며, 또한 다형체일 수 있다. 다형체에는 화합물의 동일한 원소의 상이한 격자 배열이 포함된다. 다형체는 일반적으로 상이한 X-선 회절 스펙트럼, 적외선 스펙트럼, 용융점, 밀도, 경도, 결정 형태, 광학 특성 및 전기적 특성, 안정성 및 용해도를 갖는다. 재결정화 용매, 결정화 속도 및 저장 온도와 같은 다양한 요인이 단결정 형태가 지배적이 되도록 할 수 있다.

[0086] 다른 양태에서, 일반식(1)의 화합물은 키랄 중심 및/또는 축방향 키랄성을 가질 수 있으며, 따라서 라세미체, 라세미 혼합물, 단일의 거울상 이성질체, 부분입체 이성질 화합물, 단일의 부분입체 이성질체 및 시스-트랜스 이성질체의 형태로 존재할 수 있다. 각 키랄 중심 또는 축방향 키랄성은 독립적으로 2가지 광학 이성질체를 생성할 수 있으며, 모든 가능한 광학 이성질체, 부분입체 이성질체 혼합물 및 순수하거나 부분적으로 순수한 화합물이 본 발명의 범주에 포함된다. 본 발명은 이러한 화합물의 모든 이러한 이성질체를 포함하는 것으로 의도된다.

[0087] 본 발명의 화합물은 화합물을 구성하는 하나 이상의 원자에서 비정상적인 비율의 원자 동위원소를 포함할 수 있다. 예를 들어, 화합물은 삼중수소(^{3}H), 요오드-125(^{125}I) 및 C-14(^{14}C)와 같은 방사성 동위원소로 표지될 수 있다. 다른 예로, 중수소가 수소 원자를 치환하여 중수소화 화합물을 형성할 수 있고, 중수소와 탄소에 의해 형성되는 결합은 통상의 수소와 탄소에 의해 형성된 결합 보다 더 강하고, 중수소화 약물에 비해, 중수소화 약물은 일반적으로 독성 및 부작용을 감소시키고, 약물 안정성을 증가시키고, 치료 효과를 향상시키고, 약물의 생체 내 반감기를 연장하는 등의 장점을 갖는다. 본 발명의 화합물의 모든 동위원소 변형은, 방사성이건 방사성이 아니건 간에, 본 발명의 범주 내에 포함되는 것으로 의도된다.

[0088] **용어**

[0089] 달리 언급되지 않는 한, 상세한 설명 및 특허청구범위의 용어를 포함하여 본원에서 사용되는 용어는 아래와 같이 정의된다. 상세한 설명 및 첨부되는 특허청구범위에서, 단수형 "하나(a)" 및 "하나(an)"는 달리 명확하게 표시되지 않는 한 복수의 의미를 포함한다는 것에 유의해야 한다. 달리 언급되지 않는 한, 질량 분석법, 핵자기 공명 분광분석법, HPLC, 단백질 화학, 생화학, 재조합 DNA 기술 및 약리학에 대한 전통적인 방법이 사용된다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "또는" 또는 "및"은 달리 언급되지 않는 한 "및/또는"을 의미한다.

[0090] 달리 특정되지 않는 한, "알킬"은 1 내지 6개의 탄소 원자를 포함하는 선형 및 분지형 기를 포함하여 포화 지방족 탄화수소 기를 의미한다. 메틸, 에틸, 프로필, 2-프로필, 노말-부틸, 이소부틸 또는 3차-부틸과 같은 1 내지 4개의 탄소 원자를 포함하는 저급 알킬이 바람직하다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "알킬"은 미치환된 알킬 및 치환된 알킬, 특히 하나 이상의 할로겐으로 치환된 알킬을 포함한다. 바람직한 알킬은 CH_3, CH_3CH_2, CF_3, CHF_2, CF_3CH_2, $CF_3(CH_3)CH$, ^{i}Pr, ^{n}Pr, ^{i}Bu, ^{n}Bu 및 ^{t}Bu로부터 선택된다.

[0091] 달리 특정되지 않는 한, "알킬렌"은 위에서 정의되는 바와 같은 2가 알킬을 의미한다. 알킬렌의 예에는 메틸렌 및 에틸렌이 포함되나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0092] 달리 특정되지 않는 한, "알케닐"은 1 내지 14개의 탄소 원자를 포함하는 선형 또는 분지형 기를 포함하여 탄소-탄소 이중 결합을 포함하는 불포화 지방족 탄화수소 기를 의미한다. 비닐, 1-프로페닐, 1-부테닐 또는 2-메틸프로페닐과 같은 1 내지 4개의 탄소 원자를 포함하는 저급 알케닐이 바람직하다.

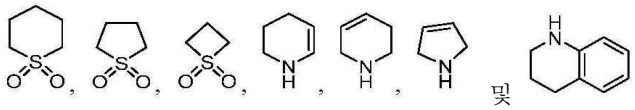
[0093] 달리 특정되지 않는 한, "알키닐"은 1 내지 14개의 탄소 원자를 포함하는 선형 또는 분지형 기를 포함하여 탄소-탄소 삼중 결합을 포함하는 불포화 지방족 탄화수소 기를 의미한다. 에티닐, 1-프로피닐 또는 1-부티닐과 같은 1 내지 4개의 탄소 원자를 포함하는 저급 알키닐이 바람직하다.

[0094] 달리 특정되지 않는 한, "사이클로알킬"은 비-방향족 탄화수소 고리 시스템(단환, 2환 또는 다환)을 의미하고, 부분적으로 불포화된 사이클로알킬은 탄소고리 시스템이 적어도 하나의 이중 결합을 포함하는 경우 "사이클로알케닐"로 또는 탄소고리가 적어도 하나의 삼중 결합을 포함하는 경우 "사이클로알키닐"로 언급될 수 있다. 사이클로알킬은 단환 기 또는 다환 기 및 스피로 고리(예를 들어, 2, 3 또는 4개의 축합된 고리를 갖는)를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 사이클로알킬은 단환이다. 일부 구현예에서, 사이클로알킬은 단환 또는 2환이다. 사이클로알킬의 고리 탄소 원자는 임의선택적으로 산화되어 옥소 기 또는 술피도 기를 형성할 수 있다. 사이클로알킬은 추가로 사이클로알킬렌을 포함한다. 일부 구현예에서, 사이클로알킬은 0, 1 또는 2개의 이중 결합을 포함한다. 일부 구현예에서, 사이클로알킬은 1 또는 2개의 이중 결합(부분적으로 불포화된 사이클로알킬)을 포함한다. 일부 구현예에서, 사이클로알킬은 아릴, 헤테로아릴, 사이클로알킬 및 헤테로사이클로알킬과 축합될 수 있다. 일부 구현예에서, 사이클로알킬은 아릴, 사이클로알킬 및 헤테로사이클로알킬과 축합될 수 있다. 일부 구현예에서, 사이클로알킬은 아릴 및 헤테로사이클로알킬과 축합될 수 있다. 일부 구현예에서, 사이클로알킬은 아릴 및 사이클로알킬과 축합될 수 있다. 사이클로알킬의 예에는 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 사이클로헵틸, 사이클로펜테닐, 사이클로헥세닐, 사이클로헥사디에닐, 사이클로헵타트리에닐, 노르캄파닐, 노르피난일, 노르카르닐, 바이사이클로[1.1.1]펜틸, 바이사이클로[2.1.1]헥실 등이 포함된다.

[0095] 달리 특정되지 않는 한, "알콕시"는 에테르 산소 원자를 통해 분자의 나머지 부분에 결합하는 알킬 기를 의미한다. 대표적인 알콕시 기는 메톡시, 에톡시, 프로폭시, 이소프로폭시, 부톡시, 이소부톡시, 2차-부톡시 및 3차-부톡시와 같이 1 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 것이다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "알콕시"에는 미치환된 알콕시 및 치환된 알콕시, 특히 하나 이상의 할로겐으로 치환된 알콕시가 포함된다. 바람직한 알콕시가 OCH_3, OCF_3, CHF_2O, CF_3CH_2O, ^{i-}PrO, ^{n-}PrO, ^{i-}BuO, ^{n-}BuO 및 ^{t-}BuO로부터 선택된다.

[0096] 달리 특정되지 않는 한, "아릴"은 방향족 탄화수소 기를 의미하고, 이는 단환 또는 다환이고; 예를 들어, 단환 아릴 고리는 하나 이상의 탄소고리 방향족 기와 축합될 수 있다. 아릴의 예에는 페닐, 나프틸 및 페난트릴이 포함되나, 이로 한정되는 것은 아니다.

[0097] 달리 특정되지 않는 한, "헤테로사이클로알킬"은 비-방향족 고리 또는 고리 시스템을 의미하며, 이는 붕소, 인, 질소, 황, 산소 및 인으로부터 독립적으로 선택되는 적어도 하나의 헤테로원자 고리 부재를 갖는 고리 구조의 부분으로서 하나 이상의 알케닐렌을 임의선택적으로 포함할 수 있다. 부분적으로 불포화된 헤테로사이클로알킬은 헤테로사이클로알킬이 적어도 하나의 이중 결합을 포함하는 경우 "헤테로사이클로알케닐"로 또는 헤테로사이클로알킬이 적어도 하나의 삼중 결합을 포함하는 경우 "헤테로사이클로알키닐"로 언급될 수 있다. 헤테로사이클로알킬에는 단환, 2환, 스피로 고리 또는 다환 시스템(예를 들어, 2개의 축합되거나 가교된 고리를 갖는)이 포함될 수 있다. 일부 구현예에서, 헤테로사이클로알킬은 질소, 황 및 산소로부터 독립적으로 선택되는 1, 2 또는 3개의 헤테로원자를 갖는 단환 기이다. 헤테로사이클로알킬의 고리 탄소 원자 및 헤테로원자는 임의선택적으로 산화되어 옥소 또는 술피드 기 또는 기타 산화된 결합(예를 들어, C(O), S(O), C(S) 또는 $S(O)_2$, N-옥사이드 등)을 형성하거나, 질소 원자가 4차화될 수 있다. 헤테로사이클로알킬은 고리 탄소 원자 또는 고리 헤테로원자를 통해 부착될 수 있다. 일부 구현예에서, 헤테로사이클로알킬은 0 내지 3개의 이중 결합을 포함한다. 일부 구현예에서, 헤테로사이클로알킬은 0 내지 2개의 이중 결합을 포함한다. 또한 헤테로사이클로알킬의 정의에는 헤테로사이클로알킬 고리에 축합된(즉, 하나의 결합을 공유하는) 하나 이상의 방향족 고리를 갖는 부분, 예를 들어, 피페리딘, 몰포린, 아제핀, 티에닐 등의 벤조-유도체가 포함된다. 축합된 방향족 고리를 포함하는 헤테로사이클로알킬은 축합된 방향족 고리의 고리 원자를 포함하여 임의의 고리 원자를 통해 부착될 수 있다. 헤테로사이클로알킬의 예에는 아제티디닐, 아제피닐, 디하이드로벤조퓨릴, 디하이드로퓨릴, 디하이드로피라닐, *N*-몰포리닐, 3-옥사-9-아자스피로[5.5]운데실, 1-옥사-8-아자스피로[4.5]데실, 피페리디닐, 피페라지닐, 옥소피페라지닐, 피라닐, 피롤리디닐, 퀴닌일, 테트라하이드로퓨릴, 테트라하이드로피라닐, 1,2,3,4-테트라하이드로퀴놀리닐, 트로파닐, 4,5,6,7-테트라하이드로티아졸로[5,4-c]피리디닐, 4,5,6,7-테트라하이드로-1*H*-이미다조[4,5-c]피리딘, *N*-메틸피페리디닐, 테트라하이드로이미다졸릴, 피라졸리디닐, 부티로락탐, 발레로락탐, 이미

다졸리디노닐, 히단토이닐, 디옥솔라닐, 프탈이미딜, 피리미딘-2,4(1*H*,3*H*)-디온, 1,4-디옥사닐, 몰폴리닐, 티오몰폴리닐, 티오몰폴리닐-*S*-옥사이드, 티오몰폴리닐-*S*,*S*-옥사이드, 피페라지닐, 피라닐, 피리도닐, 3-피롤리닐, 티오피라닐, 파이로닐, 테트라하이드로티에닐, 2-아자스피로[3.3]헵타닐, 인돌리닐, , 및 이 포함되나, 이로 한정되는 것은 아니다.

[0098] 달리 특정되지 않는 한, "할로겐"(또는 할로)은 불소, 염소, 브롬 또는 요오드를 의미한다. 기 명칭 앞의 용어 "할로"(또는 "할로겐화된")는 그 기가 부분적으로 또는 완전히 할로겐화, 즉, F, Cl, Br 또는 I로, 바람직하게는 F 또는 Cl로 임의의 조합으로 치환된다는 것을 나타낸다.

[0099] "임의선택적" 또는 "임의선택적으로"는 후속적으로 기술되는 사건 또는 상황이, 반드시 발생해야 하는 것은 아니지만, 발생할 수 있다는 것을 의미하며, 설명에는 사건 또는 상황이 발생하는 경우와 발생하지 않는 경우가 포함된다.

[0100] 치환체 "-O-CH_2-O-"는 치환체 중의 2개의 산소 원자가 헤테로사이클로알킬, 아릴 또는 헤테로아릴의 2개의 인접하는 탄소 원자에 연결되어 있다는 것, 예를 들어:  을 의미한다.

[0101] -$(CH_2)_0$-와 같이 링커 기의 수가 0인 경우, 이는 링커 기가 단일 결합이라는 것을 의미한다.

[0102] 화학 결합에서 변수들 중의 어느 하나가 선택되는 경우, 2개의 기들이 이 변수에 의해 직접적으로 연결된다는 것을 의미한다. 예를 들어, X-L-Y 중의 L이 화학 결합을 나타내는 경우, 이는 구조가 실제로 X-Y라는 것을 의미한다.

[0103] 달리 언급되지 않는 한, 입체발생 중심의 절대적인 배치는 쐐기형 실선 결합()과 쐐기형 점선 결합()으로 표현되고, 입체발생 중심의 상대적인 배치는 직선형 실선 결합() 및 직선형 점선 결합()으로 표현된다. 파형 선()은 쐐기형 실선 결합() 또는 쐐기형 점선 결합()을 나타내거나, 파형 선()은 직선형 실선 결합() 또는 직선형 점선 결합()을 나타낸다.

[0104] 달리 언급되지 않는 한, 단일 결합 또는 이중 결합은 으로 표현된다.

[0105] **구체적인 약제학 및 의학 용어**

[0106] 용어 "수용가능한"은, 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 화학식 성분 또는 활성 성분이 일반 치료 표적의 건강에 과도하게 악영향을 미치지 않는다는 것을 의미한다.

[0107] 용어 "치료", "치료 과정" 또는 "요법"에는, 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 질환의 증후군 또는 상태를 완화하거나, 억제하거나 개선하는 것; 합병증의 발달을 억제하는 것; 내재하는 대사 증후군을 개선하는 것 또는 방지하는 것; 질환 또는 증후군의 발달을 억제하는 것, 예를 들어, 질환 또는 상태의 진전을 제어하는 것; 질환 또는 증후군을 완화하는 것; 질환 또는 증후군을 가라앉히는 것; 질환 또는 증후군에 의해 야기되는 합병증을 완화하는 것 또는 질환 또는 증후군에 의해 야기되는 징후를 방지하거나 치료하는 것이 포함된다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 화합물 또는 약제학적 조성물은, 투여되는 경우, 질환, 증후군 또는 상태를 개선할 수 있고, 특히 중증도를 개선하거나, 발병을 지연시키거나, 진전을 늦추거나 질환의 지속 시간을 단축시키는 것을 의미한다. 고정 또는 일시적인 투여 또는 지속적 또는 간헐적 투여가 관리에 기여하거나 연관될 수 있다.

[0108] "활성 성분"은 일반식(1)의 화합물 및 일반식(1)의 약제학적으로 수용가능한 무기 또는 유기 염을 의미한다. 본 발명의 화합물은 하나 이상의 비대칭 중심(키랄 중심 또는 축방향 키랄성)을 포함할 수 있고 따라서 라세미체, 라세미 혼합물, 단일의 거울상 이성질체, 부분입체 이성질 화합물 및 단일의 부분입체 이성질체의 형태로 발생될 수 있다. 존재할 수 있는 비대칭 중심은 분자 상의 여러 치환체의 속성에 의존적이다. 이러한 비대칭 중심 각각은 독립적으로 2가지 광학 이성질체를 생성할 수 있으며, 모든 가능한 광학 이성질체, 부분입체 이성질체 혼합물 및 순수하거나 부분적으로 순수한 화합물이 본 발명의 범주에 포함된다. 본 발명은 이러한 화합물의 모든 이러한 이성질체를 포함하는 것으로 의도된다.

[0109] "화합물", "조성물", "약제" 또는 "의약 또는 약물"과 같은 용어는 본 명세서에서 상호호환적으로 사용되며 모

두, 개체(인간 또는 동물)에 투여되는 경우, 국소 및/또는 전신적인 작용에 의해 소정의 약리학적 및/또는 생리학적 반응을 유도할 수 있는 화합물 또는 조성물을 의미한다.

[0110] 용어 "투여되는, 투여하는 또는 투여"는 본 명세서에서 화합물 또는 조성물의 직접적인 투여 또는 활성 화합물의 전구약물, 유도체, 유사체 등의 투여를 의미한다.

[0111] 비록 본 발명의 넓은 범주를 정의하는 수치 범위 및 매개변수들이 근사치이기는 하나, 구체적인 예에서 정의되는 관련 수치값은 본 명세서에서는 가능한 한 정밀하게 제공된다. 그러나, 임의의 수치값에는 본질적으로 특정한 시험의 방법으로 인해 필연적으로 발생하는 표준 편차가 포함된다. 본 명세서에서, "약"은 일반적으로 실제 수치값 또는 범위의 ± 10%, 5%, 1% 또는 0.5% 이내임을 의미한다. 달리, 용어 "약"은, 당해 기술분야에서 통상의 기술자에 의해 고려되는 바와 같이, 실제 수치값이 평균의 수용가능한 표준 오차 이내에 들어간다는 것을 나타낸다. 본 명세서에서 사용되는 모든 범위, 양, 수치값 및 백분율(예를 들어, 재료의 양, 시간의 길이, 온도, 운전 조건, 정량적인 비율 등을 기술하기 위한)은, 실험예 또는 달리 명시적으로 표시되는 경우를 제외하고는, 단어 "약"에 의해 수정되는 것으로 이해되어야 한다. 따라서, 달리 반대로 언급되지 않는 한, 상세한 설명 및 첨부되는 특허청구범위에서 규정되는 수치 매개변수는 모두 원하는 대로 달라질 수 있는 근사값이다. 최소한, 이러한 수치 매개변수는 표시된 유의미한 숫자 또는 통상의 반올림 규칙을 사용하여 얻어지는 수치값으로 이해되어야 한다.

[0112] 상세한 설명에서 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용되는 과학적 및 기술적 용어는 당해 기술분야에서 통상의 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 더욱이, 상세한 설명에서 사용되는 단수 명사는, 문맥에 의해 모순되지 않는 한, 복수 형태를 포함하고; 사용되는 복수 명사 또한 단수 형태를 포함한다.

[0113] **치료 용도**

[0114] 본 발명은 암을 포함하나 이로 한정되지 않는 질환을 본 발명의 화합물, 항체-약물 접합체 또는 약제학적 조성물로 치료하기 위한 방법을 제공한다.

[0115] 일부 구현예에서, 필요로 하는 개체에 앞서의 화합물 및 항체-약물 접합체 중의 어느 하나의 약제학적 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 암을 치료하기 위한 방법이 제공된다. 다른 구현예에서, 암은 백혈병, 유방암, 폐암, 췌장암, 결장암, 방광암, 뇌암, 요로상피암, 전립선암, 간암, 난소암, 두경부암, 위암, 중피종 또는 모든 전이암을 포함하나 이로 한정되지 않는 혈액암 및 고형암이다.

[0116] **투여의 경로**

[0117] 본 발명의 화합물 및 그의 약제학적으로 수용가능한 염이 안전하고 유효한 양의 본 발명의 화합물 또는 그의 약제학적으로 수용가능한 염 및 약제학적으로 수용가능한 부형제 또는 담체를 포함하는 여러 제제로 제조될 수 있으며, 여기에서 "안전하고 유효한 양"은 화합물의 양이 심각한 부작용을 야기함이 없이 상태를 유의미하게 개선하기에 충분하다는 것을 의미한다. 화합물의 안전하고 유효한 양은 치료 대상체의 연령, 상태, 치료 과정 및 기타 특정 조건에 따라 결정된다.

[0118] "약제학적으로 수용가능한 부형제 또는 담체"는 인간이 사용하기에 적합하고 충분한 순도 및 충분히 낮은 독성이어야 하는 하나 이상의 호환가능한 고체 또는 액체 충진제 또는 겔 물질을 의미한다. "호환가능한"은 조성물의 성분이 화합물의 약제학적 효능을 현저하게 저하시키지 않으면서도 본 발명의 화합물과 그리고 서로에 대해 혼합될 수 있다는 것을 의미한다. 약제학적으로 수용가능한 부형제 또는 담체의 예에는 셀룰로오스 및 그의 유도체(예를 들어, 소듐 카르복시메틸셀룰로오스, 소듐 에틸셀룰로오스 또는 셀룰로오스 아세테이트), 젤라틴, 활석, 고체 활제(예를 들어, 스테아르산 또는 마그네슘 스테아레이트), 황산칼슘, 식물성 오일(예를 들어, 대두유, 참기름, 땅콩유 또는 올리브유), 폴리올(예를 들어, 프로필렌 글리콜, 글리세롤, 만니톨 또는 소르비톨), 에멀젼화제(예를 들어, Tween®), 적심제(예를 들어, 소듐 라우릴 술페이트), 착색제, 향미제, 안정화제, 항산화제, 방부제, 발열원 제거수 등이 포함된다.

[0119] 본 발명의 화합물이 투여되는 경우, 본 발명의 화합물은 경구로, 직장으로, 비경구적으로(정맥 내로, 근육 내로 또는 피하로) 또는 국소적으로 투여될 수 있다.

[0120] 경구 투여를 위한 고체 투여량 형태에는 캡슐, 정제, 알약, 가루 및 과립이 포함된다. 이러한 고체 투여량 형태에서, 활성 화합물은 소듐 시트레이트 또는 디칼슘 포스페이트와 같은 적어도 하나의 통상적인 비활성 부형제(또는 담체)와 또는 아래의 성분들과 혼합된다: (a) 전분, 락토오스, 슈크로스, 글루코스, 만니톨 및 규산과 같

은 충진제 또는 증량제; (b) 하이드록시메틸 셀룰로오스, 알긴산염, 젤라틴, 폴리비닐피롤리돈, 슈크로스 및 아카시아와 같은 결합제; (c) 글리세롤과 같은 습윤제; (d) 한천, 탄산칼슘, 감자 또는 타피오카 전분, 알긴산, 특정한 복합 규산염 및 탄산나트륨과 같은 붕해제; (e) 파라핀과 같은 용액 지연제; (f) 4차 암모늄 화합물과 같은 흡수 촉진제; (g) 세틸 알코올 및 글리세롤 모노스테아레이트와 같은 적심제; (h) 카올린과 같은 흡착제; 및 (i) 활석, 칼슘 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 고체 폴리에틸렌 글리콜 및 소듐 라우릴 술페이트 또는 이들의 혼합물과 같은 활제. 캡슐, 정제 및 알약의 경우, 투여량 형태는 완충제를 추가로 포함할 수 있다.

[0121] 정제, 당의정, 캡슐, 알약 및 과립과 같은 고체 투여량 형태는 장용 코팅 및 당해 기술분야에서 충분히 공지된 기타 물질과 같은 코팅 및 쉘을 사용하여 제조될 수 있다. 이들은 유백화제를 포함할 수 있으며, 이러한 조성물 중의 활성 화합물 또는 화합물은 소화관의 특정 부분에서 지연되는 방식으로 방출될 수 있다. 사용될 수 있는 매립 성분의 예로는 고분자 재료 및 왁스-기반 재료가 있다. 필요한 경우, 활성 화합물은 또한 하나 이상의 앞서 언급된 부형제를 수반하는 마이크로캡슐 형태일 수 있다.

[0122] 경구 투여를 위한 액체 투여량 형태에는 약제학적으로 수용가능한 에멀젼, 용액, 현탁액, 시럽 및 엘릭서가 포함된다. 활성 화합물에 더해, 액체 투여량 형태는 물 또는 기타 용매, 가용화제 및 에멀젼화제, 예를 들어, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부탄디올, 디메틸포름아미드 및 오일, 특히 면실유, 땅콩유, 옥배유, 올리브유, 피마자유 및 참기름 또는 이들 물질들의 혼합물과 같이 당해 기술분야에서 통상적으로 사용되는 비활성 희석제를 포함할 수 있다.

[0123] 이러한 비활성의 희석제 외에도, 조성물은 적심제, 에멀젼화제, 현탁제, 감미제, 향미제 및 방향제와 같은 보조제를 추가로 포함할 수 있다.

[0124] 현탁액은, 활성 화합물에 더해, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 및 소르비탄 에스테르, 미정질 셀룰로오스, 알루미늄 메실레이트 및 한천 또는 이들 물질들의 혼합물과 같은 현탁제를 포함할 수 있다.

[0125] 비경구적 주입을 위한 조성물은 생리학적으로 수용가능한 멸균 수용액 또는 무수 용액, 분산액, 현탁액 또는 에멀젼 및 멸균의 주입가능한 용액 또는 분산액 내로 재용해하기 위한 멸균 분말을 포함할 수 있다. 적합한 수성 및 비-수성 담체, 희석제, 용매 또는 부형제에는 물, 에탄올, 폴리올 및 이들의 적합한 혼합물이 포함된다.

[0126] 본 발명의 화합물의 국소 투여를 위한 투여량 형태에는 연고, 가루, 패치, 스프레이 및 흡입제가 포함된다. 활성 성분은 멸균 조건 하에서 필요한 경우 요구될 수 있는 생리학적으로 수용가능한 담체 및 임의의 방부제, 완충제 또는 추진제와 혼합된다.

[0127] 본 발명의 화합물은 단독으로 또는 다른 약제학적으로 수용가능한 화합물과 조합으로 투여될 수 있다. 약제학적 조성물이 사용되는 경우, 안전하고 유효한 양의 본 발명의 화합물이 치료되어야 할 포유동물(인간과 같은)에 투여되며, 여기에서 투여량은 약제학적으로 유효한 투여량이다. 체중이 60 kg인 인간의 경우, 1일 투여량은 일반적으로 1 내지 2000 ㎎, 바람직하게는 50 내지 1000 ㎎이다. 특정한 투여량을 결정함에 있어서, 투여의 경로, 환자의 건강 상태 등과 같은 요소 또한 고려될 수 있으며, 이는 숙련된 의사에게 충분히 공지되어 있다.

[0128] 본 발명에서 언급되는 위의 특징들 또는 실시예에서 언급되는 특징들은 임의로 조합될 수 있다. 본 상세한 설명에서 기술되는 모든 특징들은 임의의 구성 형태로 사용될 수 있으며, 본 상세한 설명에서 기술되는 여러 특징들은 동일하거나, 동등하거나 유사한 목적을 제공하는 임의의 대안의 특징들로 대체될 수 있다. 따라서, 달리 특별히 언급되지 않는 한, 기술된 특징들은 단순히 동등하거나 유사한 특징들의 일반적인 예이다.

도면의 간단한 설명

[0129] 도 1은 본 발명에 따른 실시예 11의 마우스에서의 항-종양 활성의 결과를 나타내고 있다.

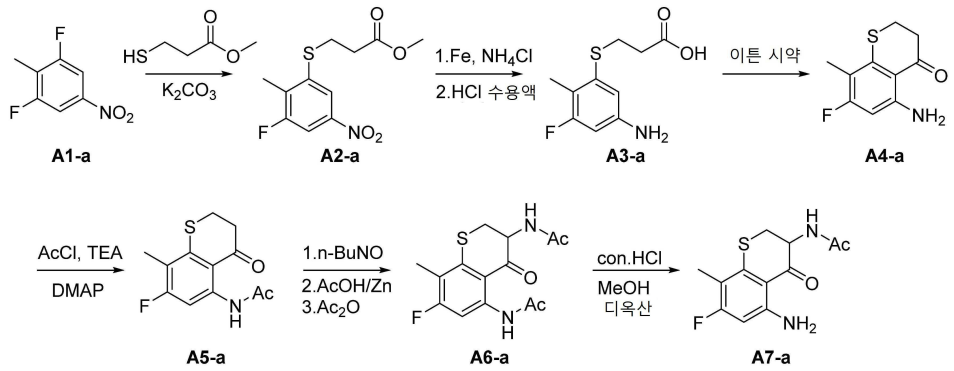
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0130] 위에서 기술되는 화합물, 방법 및 약제학적 조성물의 여러 구체적인 양태들, 특징들 및 장점들이 아래의 설명에서 상세하게 설명될 것이며, 이는 본 발명의 내용을 아주 명확하게 할 것이다. 아래의 상세한 설명 및 실시예가 단지 참조를 위한 구체적인 구현예를 기술한다는 것은 이해되어야 한다. 본 발명의 상세한 설명을 읽은 후, 당해 기술분야에서 통상의 기술자는 여러 변경 또는 수정을 할 수 있으며, 이러한 등가물 또한 본 명세서에서 정의되는 본 발명의 범주 내에 속한다.

[0131] 모든 실시예들에서, ^{1}H-NMR 스펙트럼은 Varian Mercury 400 핵자기 공명 분광분석기로 기록되었으며, 화학적 이동은 δ(ppm)로 표현되었고; 특정되지 않은 경우, 분리를 위한 실리카 겔은 200 내지 300 메쉬(mesh) 실리카 겔이었고, 용리액의 비율은 용적비이었다.

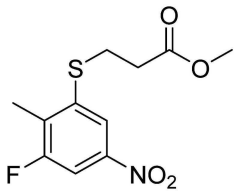
[0132] 본 발명에서, 아래의 약어들이 사용되었다: 실온(RT, rt); 수용액(aq.); 석유 에테르(PE); 에틸아세테이트(EA); 디클로로메탄(DCM); 1,4-디옥산(dioxane); 메탄올(MeOH); 메틸 3차-부틸 에테르(MTBE); 에탄올(EtOH); 테트라하이드로퓨란(THF); 디메틸포름아미드(DMF); *N*-메틸피롤리돈(NMP); 디메틸 술폭사이드(DMSO); 트리에틸아민(TEA); 디이소프로필에틸아민(DIPEA); 4-디메틸아미노피리딘(DMAP); 사염화탄소(CCl_4); 탄소 상의 팔라듐(Pd/C); 이튼 시약(Eaton reagent, 메탄술폰산 중의 오산화인 7.7 중량%); 철 분말(Fe); 아연 분말(Zn); 라니 니켈(Ranyi Ni); 염화아세틸(AcCl); 아세트산(AcOH); 아세트산 무수물(Ac_2O); 메타-클로로퍼옥시벤조산(m-CPBA); 아질산부틸(n-BuNO); 아질산나트륨($NaNO_2$); 수소화 나트륨(NaH); 황산마그네슘($MgSO_4$); *N*-브로모숙신이미드(NBS); 파라-톨루엔술폰산 1수화물($TsOH \cdot H_2O$); 탄산나트륨(Na_2CO_3); 탄산칼륨(K_2CO_3); 당량(eq); 그램/밀리그램(g/mg); 몰/밀리몰(mol/mmol); 리터/밀리리터(ℓ/mℓ); 분(min(s)); 시간(h, hr, hrs); 질소(N_2); 핵자기 공명(NMR); 액체-질량 분광분석기(LC-MS); 박층 크로마토그래피(TLC); 조제용 액체 크로마토그래피(pre-HPLC).

[0133] **제조예 1: *N*-(5-아미노-7-플루오로-8-메틸-4-옥소티오크로만-3-일)아세트아미드(A7-a)의 합성**



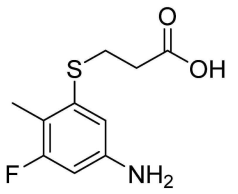
[0134]

[0135] 단계 1: 메틸 3-((3-플루오로-2-메틸-5-니트로페닐)티오)프로파노에이트의 합성

[0136] 

[0137] 50-mℓ 3-목 플라스크에 **A1-a**(1.73 g, 10 mmol, 1 당량), 메틸 3-머캅토프로파노에이트(1.8 g, 15 mmol, 1.5 당량) 및 NMP(10 mℓ)를 첨가하고, 시스템을 용해시킨 후, 탄산칼륨(2 g, 15 mmol, 1.5 당량)을 첨가하고 60℃에서 8시간 동안 아르곤의 분위기 하에서 교반하였다. 시스템을 실온까지 냉각시킨 후, 물(30 mℓ)을 첨가하여 시스템을 희석시키고, 침전된 고체를 여과하고 물로 세척하였다. 여과 케이크를 컬럼 크로마토그래피(PE/EA = 1/12 내지 1/7)로 분리하여 황색 고체 **A2-a**(1.55 g, 56.8% 수율)를 수득하였다, LC-MS: 274.2 $[M+H]^+$.

[0138] 단계 2: 3-((3-플루오로-2-메틸-5-아미노페닐)티오)프로피온산의 합성

[0139] 

[0140] 250-mℓ 3-목 플라스크에 **A2-a**(1.55 g, 5.67 mmol, 1 당량), 철 분말(1.27 g, 22.69 mmol, 4 당량), 에탄올(80 mℓ) 및 염화암모늄 수용액(2.8 M, 28 mℓ, 5 당량)을 첨가하고, 시스템을 90℃에서 16시간 동안 아르곤의 분위기 하에서 교반하였다. 시스템을 실온까지 냉각시킨 후, 시스템을 셀라이트를 통해 여과하고 에탄올로 세척하였다.

여액을 원심분리하고, 조 생성물을 물(30 ml)로 희석시키고 EA(30 ml X 2)로 추출하였다. 유기상을 포화 염수로 세척하고 황산나트륨 상에서 건조시키고 농축시켜 조 생성물(1.5 g, 동등량의 수율)을 수득하였다. LC-MS: 244.3 $[M+H]^+$.

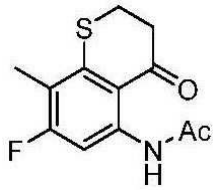
[0141] 50-ml 3-목 플라스크에 위의 조 생성물(1.5 g, 5.67 mmol, 1 당량) 및 1,4-디옥산(15 ml)을 첨가하고, 시스템을 용해시킨 후, 농염산(37%, 10 ml)을 첨가하고 65℃에서 4시간 동안 아르곤의 분위기 하에서 교반하였다. 시스템을 실온까지 냉각시키고, 3 N 탄산나트륨 용액을 첨가하여 pH를 5로 조정하였다. 시스템을 EA(30 ml X 2)로 추출하고, 유기상을 포화 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고 농축시켰다. 조 생성물을 슬러리화(EA/PE = 1/5)하여 백색 고체 **A3-a**(985 mg, 2 단계에 걸쳐 75.8% 수율)를 수득하였다, LC-MS: 228.2 $[M-H]^-$.

[0142] 단계 3: 5-아미노-7-플루오로-8-메틸티오크로만-4-온의 합성

[0143] 

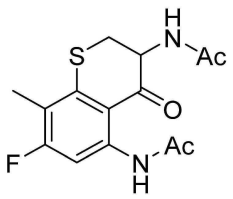
[0144] 50-ml 3-목 플라스크에 **A3-a**(985 mg, 4.3 mmol, 1 당량) 및 이튼 시약(15 ml)을 첨가하고, 시스템을 60℃에서 1시간 동안 아르곤의 분위기 하에서 교반하였다. 시스템을 실온까지 냉각시킨 후, 반응 용액을 빙수에 부어넣고, 3 N 탄산나트륨 용액을 첨가하여 pH를 8로 조정하였다. 시스템을 EA(30 ml X 2)로 추출하고, 유기상을 포화 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고 농축시켜 조 생성물 **A4-a**(1.05 g, 동등량의 수율)를 수득하였다, LC-MS: 212.3 $[M+H]^+$.

[0145] 단계 4: *N*-(7-플루오로-8-메틸-4-옥소티오크로만-5-일)아세트아미드의 합성

[0146] 

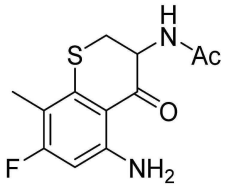
[0147] 50-ml 3-목 플라스크에 **A4-a**(1.05 g, 4.3 mmol, 1 당량), DMAP(52.5 mg, 0.43 mmol, 0.1 당량) 및 DCM(15 ml)을 첨가하고, 염화아세틸(674 mg, 8.6 mmol, 2 당량) 및 트리에틸아민(869 mg, 8.6 mmol, 2 당량)을 순차적으로 빙욕 하에서 첨가하였다. 시스템을 자연적으로 실온까지 되돌리고 계속해서 1시간 동안 출발 물질이 완전히 소모될 때까지 교반하였다. 시스템을 물(20 ml)로 퀀칭시킨 후, 분리하였다. 수성상을 DCM(20 ml X 2)으로 추출하고, 유기상을 결합하고, 포화 염수로 세척하고, 건조시키고 농축시켰다. 잔사를 컬럼 크로마토그래피(EA/PE = 1/1)에 적용시켜 황색 고체 **A5-a**(910 mg, 2 단계에 걸쳐 89% 수율)를 수득하였다, LC-MS: 254.3 $[M+H]^+$.

[0148] 단계 5: *N*,*N*'-(7-플루오로-8-메틸-4-옥소티오크로만-3,5-디일)디아세트아미드의 합성

[0149] 

[0150] 50-ml 3-목 플라스크에 포타슘 3차-부톡사이드(191 mg, 1.7 mmol, 1.1 당량) 및 무수 THF(5 ml)를 첨가하고, **A5-a**(375 mg, 1.48 mmol, 1 당량) 및 아질산부틸(190 mg, 1.85 mmol, 1.25 당량)을 순차적으로 -20℃에서 첨가하였다. 시스템을 5℃까지 가열하고 계속해서 2시간 동안 출발 물질이 완전히 소모될 때까지 교반하였다. 시스템에 MTBE(15 ml)를 첨가하여 희석하고 여과하고, 고체를 아세트산(5 ml)에 용해시키고, 아연 분말(200 mg, 3.1 mmol, 2.1 당량)을 첨가하고, 실온에서 5분 동안 교반하고, 아세트산 무수물(1 ml)을 첨가하고 2시간 동안 교반하였다. 시스템을 MeOH/DCM(3/30 ml)으로 세척하고 농축시키고, 조 생성물을 컬럼 크로마토그래피(EA/DCM = 1/10 내지 1/5)로 분리하여 밝은 갈색 고체 **A6-a**(175 mg, 41%)를 수득하였다, LC-MS: 311.1 $[M+H]^+$.

[0151] 단계 6: *N*-(5-아미노-7-플루오로-8-메틸-4-옥소티오크로만-3-일)아세트아미드의 합성



A7-a

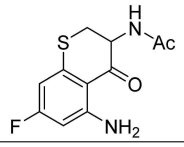
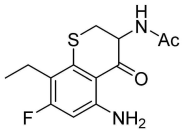
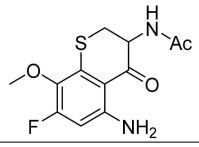
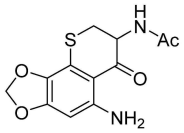
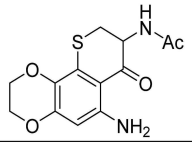
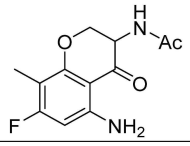
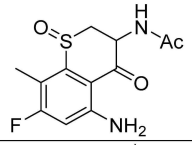
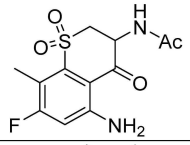
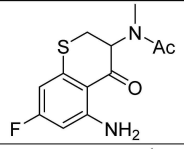
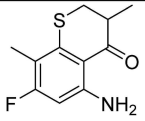
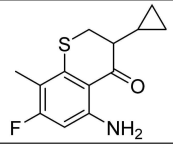
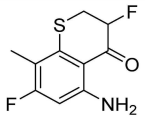
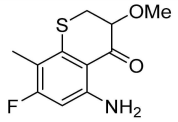
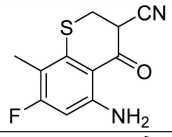
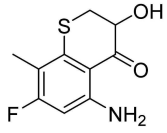
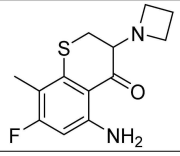
[0152]

[0153] 50-㎖ 3-목 플라스크에 **A6-a**(175 ㎎, 0.56 ㎜ol, 1 당량) 및 메탄올/1,4-디옥산(4/8 ㎖)을 첨가하고, 시스템을 용해시킨 후, 농염산(37%, 4 ㎖)을 첨가하고 40℃에서 2시간 동안 아르곤의 분위기 하에서 교반하였다. 시스템을 실온까지 냉각시킨 후, 3 N 탄산나트륨 용액을 첨가하여 pH를 8로 조정하였다. 시스템을 여과하고, 고체를 건조시켜 **A7-a**(137 ㎎, 91% 수율)를 수득하였다. LC-MS: 269.2 $[M+H]^+$.

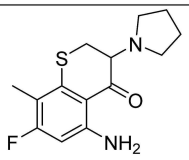
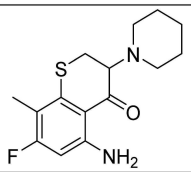
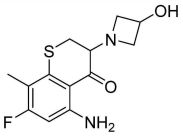
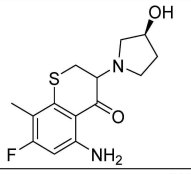
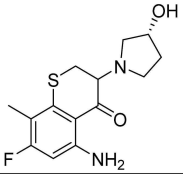
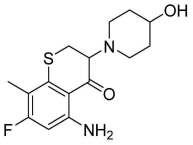
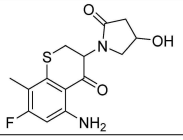
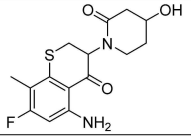
[0154] **A7-a**의 합성과 유사하게, 아래의 표에 나열된 중간체들이 수득될 수 있다:

[0155] [표 1]

[0156] 중간체 A7-b 내지 A7-y

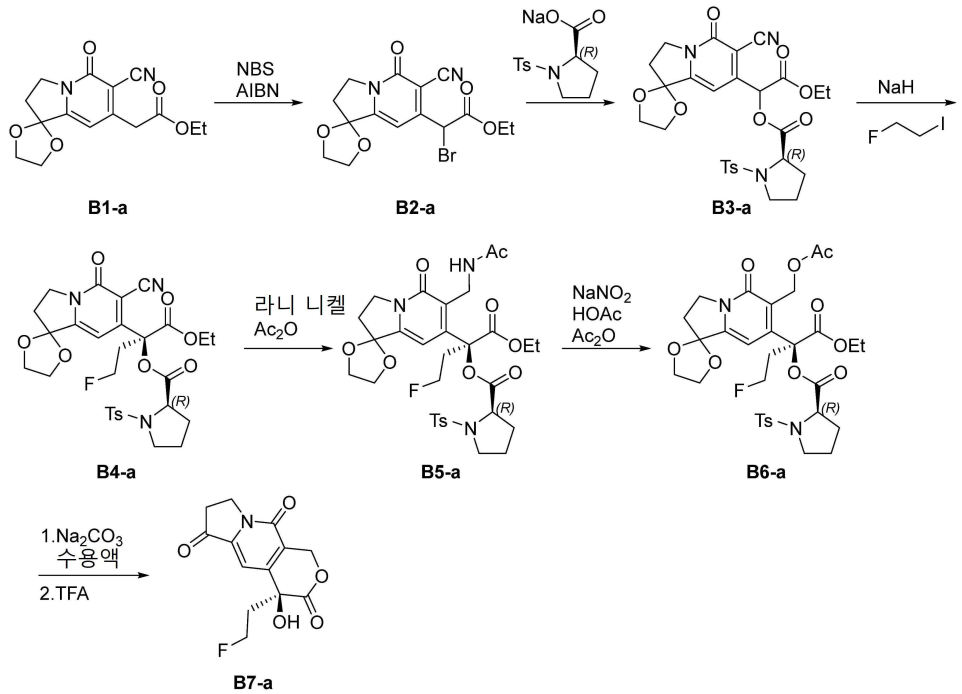
번호	구조	MS $[M+H]^+$	번호	구조	MS $[M+H]^+$
A7-b		255.2	**A7-c**		283.1
A7-d		285.1	**A7-e**		281.1
A7-f		295.1	**A7-g**		253.2
A7-h		285.2	**A7-i**		301.2
A7-j		269.1	**A7-k**		226.2
A7-l		252.1	**A7-m**		230.1
A7-n		242.2	**A7-o**		237.1
A7-p		228.3	**A7-q**		267.2

[0157]

A7-r		281.2	A7-s		295.2
A7-t		283.2	A7-u		297.2
A7-v		297.2	A7-w		311.2
A7-x		311.1	A7-y		325.1

[0158]

[0159] **제조예 2: (*S*)-4-(2-플루오로에틸)-4-하이드록시-7,8-디하이드로-1*H*-피라노[3,4-*f*]인돌리진-3,6,10(4*H*)-트리온 (B7-a)의 합성**



[0160]

[0161] 단계 1: 에틸 2-브로모-2-(6-시아노-5-옥소-2,3-디하이드로-5*H*-스피로[인돌리진-1,2'-[1,3]디옥솔란]-7-일)아세테이트의 합성

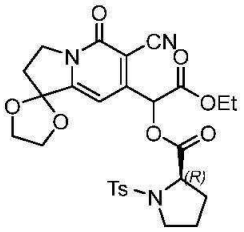


[0162]

[0163] **B1-a**(3 g, 9.9 mmol, 1 당량)을 DMF(75 ㎖)에 용해시키고, NBS(1.5 g, 12 mmol, 1.2 당량) 및 m-CPBA(170 mg, 1 mmol, 0.1 당량)을 첨가하고, 시스템을 실온에서 밤새도록 교반하고, 계속해서 500 ㎖의 빙수에 부어넣고, 여과하였다. 고체를 물로 세척하고 건조시켜 회색 고체 **B2-a**(3.8 g, 동등량의 수율)를 수득하였다, LC-MS: 383.2

$[M+H]^+$.

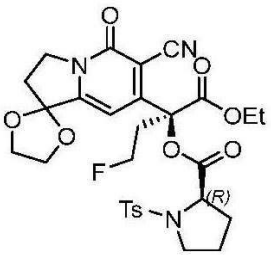
[0164] 단계 2: 1-(6-시아노-5-옥소-2,3-디하이드로-5*H*-스피로[인돌리진-1,2'-[1,3]디옥솔란]-7-일)-2-에톡시-2-옥소에틸 토실-*D*-프롤리네이트의 합성



[0165]

[0166] **B2-a**(1 g, 2.6 mmol, 1 당량), 소듐 토실-*D*-프롤리네이트(1 g, 3.9 mmol, 1.5 당량) 및 K_2CO_3(362 mg, 2.6 mmol, 1 당량)을 DMF(20 mℓ) 중에 용해시키고, 시스템을 65℃에서 2시간 동안 아르곤의 분위기 하에서 출발 물질이 완전히 소모될 때까지 교반하였다. 시스템에 물(100 mℓ)을 첨가하여 희석시키고 EA(100 mℓ X 3)로 추출하고, 유기상을 결합하고 물로 2회 세척하고, 포화 염수로 세척하고, 건조시키고 농축시켰다. 잔사를 컬럼 크로마토그래피(EA/DCM = 1/6)로 분리하여 백색 고체 **B3-a**(1.1 g, 74% 수율)를 수득하였다, LC-MS: 572.2 $[M+H]^+$.

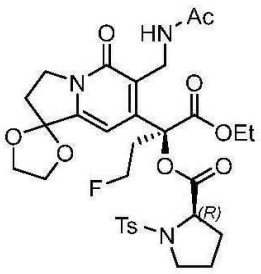
[0167] 단계 3: (*S*)-2-(6-시아노-5-옥소-2,3-디하이드로-5*H*-스피로[인돌리진-1,2'-[1,3]디옥솔란-7-일)-1-에톡시-4-플루오로-1-옥소부탄-2-일 토실-*D*-프롤리네이트의 합성



[0168]

[0169] **B3-a**(1 g, 1.7 mmol, 1 당량)를 DMF(20 mℓ)에 용해시키고, NaH(101 mg, 60%, 2.5 mmol, 1.5 당량)를 빙욕 하에서 첨가하였다. 시스템을 실온까지 되돌리고, 1시간 동안 교반하고, 계속해서 2-플루오로이오도에탄(1.5 g, 8.6 mmol, 5 당량)을 빙욕 하에서 첨가하고, 자연적으로 실온까지 되돌리고, 밤새도록 교반하였다. 반응이 완결된 후, 시스템을 빙수(100 mℓ)에 부어넣고 EA(100 mℓ X 3)로 추출하고, 유기상을 결합하고, 물로 2회 세척하고, 포화 염수로 세척하고, 건조시키고 농축시켰다. 잔사를 컬럼 크로마토그래피(EA/DCM = 1/6)로 분리하여 743 mg의 조 생성물을 수득하고, 이를 조제용-HPLC에 적용시켜 백색 고체 **B4-a**(150 mg, 70%에서, 15% 수율)를 수득하였다, LC-MS: 618.2 $[M+H]^+$.

[0170] 단계 4: (*S*)-2-(6-(아세트아미도메틸)-5-옥소-2,3-디하이드로-5*H*-스피로[인돌리진-1,2'-[1,3]디옥솔란]-7-일)-1-에톡시-4-플루오로-1-옥소부탄-2-일 토실-*D*-프롤리네이트의 합성

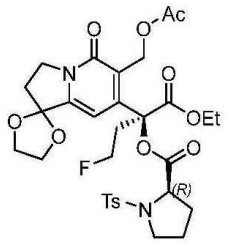


[0171]

[0172] 50-mℓ 3-목 플라스크에 라니 니켈(600 mg, 50%의 물 함량)을 첨가하고, 시스템을 HOAc로 3회 세척하고, **B4-a**(150 mg, 0.24 mmol, 1 당량)의 Ac_2O/HOAc(4/1 mℓ) 중의 용액을 아르곤의 분위기 하에서 첨가하고, 수소로 3회 퍼지시키고, 65℃에서 3시간 동안 반응시키고 여과하였다. 고체를 AcOH로 세척하고, 여액을 농축시키고 컬럼 크로마토그래피(MeOH/DCM = 1/20)로 분리하여 무색의 오일같은 용액 **B5-a** (130 mg, 83% 수율)을 수득하였다, LC-

MS: 664.2 $[M+H]^+$.

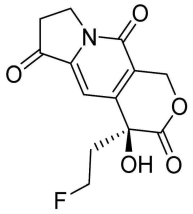
[0173] 단계 5: (*S*)-2-(6-(아세트옥시메틸)-5-옥소-2,3-디하이드로-5*H*-스피로[인돌리진-1,2'-[1,3]디옥솔란]-7-일)-1-에톡시-4-플루오로-1-옥소부탄-2-일 토실-*D*-프롤리네이트의 합성



[0174]

[0175] **B5-a**(130 mg, 0.2 mmol, 1 당량)를 Ac_2O/HOAc(3/1 mℓ)에 용해시키고, $NaNO_2$(68 mg, 1 mmol, 5 당량)을 빙욕 하에서 첨가하였다. 시스템을 실온까지 되돌리고 1시간 동안 교반하였다. 반응이 완결된 후, 시스템을 여과하고, 고체를 AcOH로 세척하고, 여액을 농축시키고, CCl_4(15 mℓ)를 첨가하고, 환류 하에서 밤새도록 교반하였다. 시스템을 물로 세척하고, 포화 염수로 세척하고, 건조시키고 농축시켰다. 잔사를 컬럼 크로마토그래피(MeOH/DCM = 1/20)로 분리하여 90 mg의 무색의 오일같은 용액을 수득하고, 이를 조제용-HPLC에 적용시켜 백색 고체 **B6-a**(90 mg, 69% 수율)를 수득하였다, LC-MS: 665.2 $[M+H]^+$.

[0176] 단계 6: (*S*)-4-(2-플루오로에틸)-4-하이드록시-7,8-디하이드로-1*H*-피라노[3,4-*f*]인돌리진-3,6,10(4*H*)-트리온의 합성



B7-a

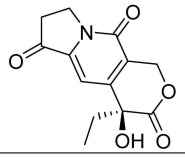
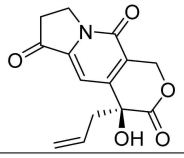
[0177]

[0178] **B6-a**(90 mg, 0.14 mmol, 1 당량)를 EtOH(3 mℓ)에 용해시키고, 1 N 탄산나트륨 수용액(1 mℓ)을 첨가하였다. 시스템을 실온에서 1시간 동안 출발 물질이 완전히 소모될 때까지 교반하고, 계속해서 실온에서 농축하고 동결건조시켰다. 조 생성물을 85% TFA 수용액(5 mℓ)에 용해시키고 85℃에서 1시간 동안 교반하였다. 반응이 완결된 후, 시스템을 농축시키고, 조 생성물을 조제용-HPLC로 분리하여 백색 고체 **B7-a**(7 mg, 17% 수율, 68%에서)를 수득하였다, LC-MS: 282.2 $[M+H]^+$.

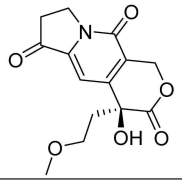
[0179] **B7-a**의 합성과 유사하게, 아래의 표에 나열된 중간체들이 수득될 수 있다:

[0180] [표 2]

[0181] 중간체 **B7-b** 내지 **B7-d**

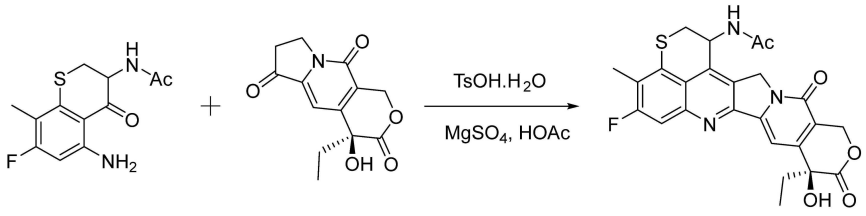
번호	구조	MS $[M+H]^+$	번호	구조	MS $[M+H]^+$
B7-b		264.1	**B7-c**		276.1

[0182]

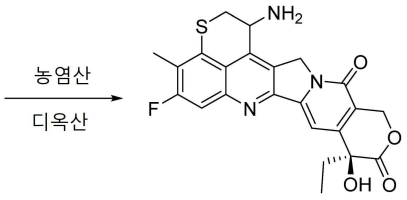
B7-d		294.1			

[0183]

[0184] **실시예 1: (9*S*)-1-아미노-9-에틸-5-플루오로-9-하이드록시-4-메틸-1,9,12,15-테트라하이드로-13*H*-피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-*b*]티오피라노[4,3,2-*de*]퀴놀린-10,13(2*H*)-디온(화합물 1)의 합성**



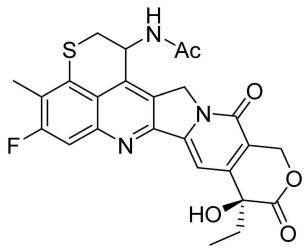
A7-a B7-b B8-a



1

[0185]

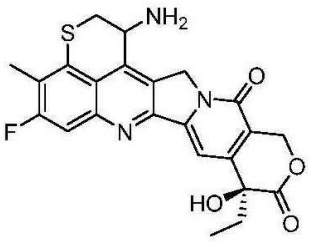
[0186] 단계 1: *N*-((9*S*)-9-에틸-5-플루오로-9-하이드록시-4-메틸-10,13-디옥소-1,2,9,10,13,15-헥사하이드로-12*H*-피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-*b*]티오피라노[4,3,2-*de*]퀴놀린-1-일)아세트아미드의 합성



[0187]

[0188] 50-㎖ 3-목 플라스크에 **A7-a**(108 mg, 0.4 mmol, 1 당량), **B7-b**(156 mg, 0.6 mmol, 1.5 당량), 파라-톨루엔술폰산 1수화물(45 mg, 0.24 mmol, 0.6 당량), 무수 황산마그네슘(1 g) 및 아세트산(10 ㎖)을 첨가하고, 시스템을 105℃에서 24시간 동안 아르곤의 분위기 하에서 출발 물질이 완전히 소모될 때까지 교반하였다. 시스템을 여과하고, 여과 케이크를 EA로 세척하고 농축시켰다. 조 생성물을 컬럼 크로마토그래피(MeOH/DCM = 1/40 내지 1/20)로 분리하여 밝은 갈색 고체 **B8-a**(131 mg, 67%)를 수득하였다, LC-MS: 496.2 $[M+H]^+$.

[0189] 단계 2: (9*S*)-1-아미노-9-에틸-5-플루오로-9-하이드록시-4-메틸-1,9,12,15-테트라하이드로-13*H*-피라노[3',4':6,7]인돌리지노[1,2-*b*]티오피라노[4,3,2-*de*]퀴놀린-10,13(2*H*)-디온의 합성



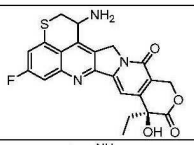
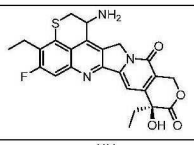
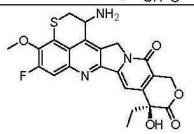
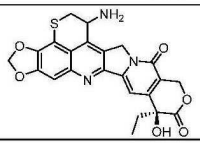
[0190]

[0191] 50-㎖ 3-목 플라스크에 **B8-a**(131 mg, 0.26 mmol, 1 당량) 및 1,4-디옥산(5 ㎖)을 첨가하고, 시스템을 용해한 후, 농염산(37%, 5 ㎖)을 첨가하고 80℃에서 24시간 동안 아르곤의 분위기 하에서 교반하였다. 시스템을 실온까지 냉각시키고 계속해서 농축시켰다. 조 생성물을 ACN/EA(1/1)로 슬러리화하여 갈색 고체 **1**(염산염) (107 mg, 84.6% 수율)을 수득하였다, LC-MS: 454.2 $[M+H]^+$.

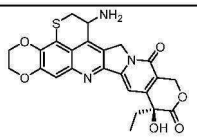
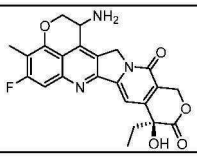
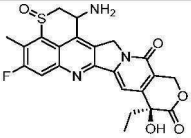
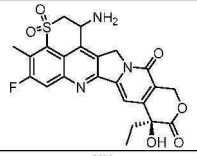
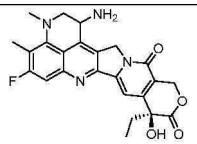
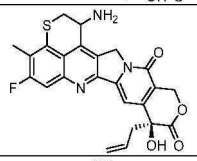
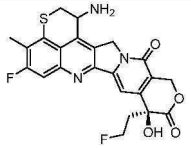
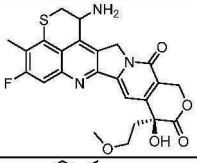
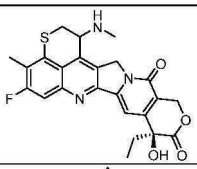
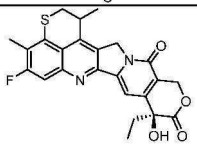
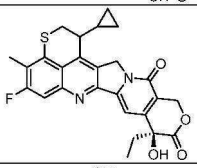
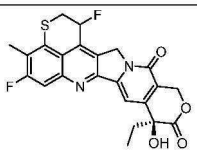
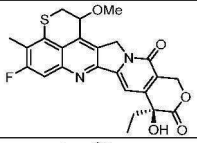
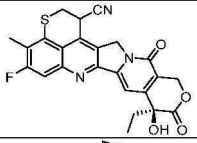
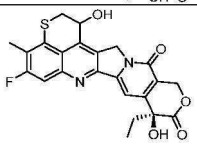
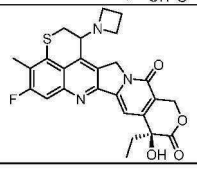
[0192] 화합물 **1**의 합성과 유사하게, 아래의 표에 나열된 화합물들이 수득될 수 있다:

[0193] [표 3]

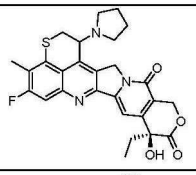
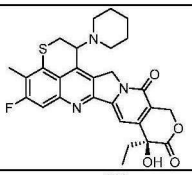
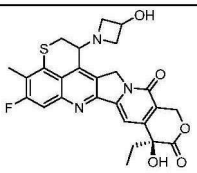
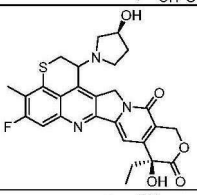
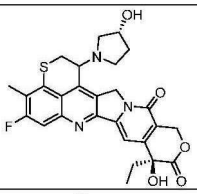
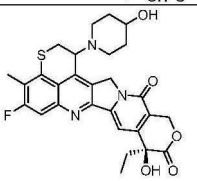
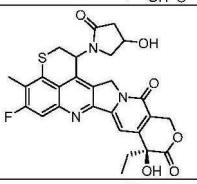
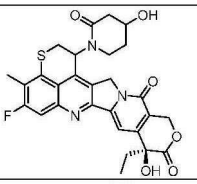
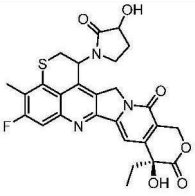
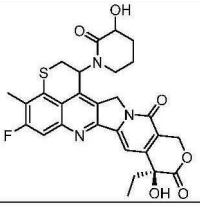
[0194] 화합물 2 내지 31의 목록

번호	구조	MS [M+H]+	번호	구조	MS [M+H]+
2		440.1	3		468.2
4		470.2	5		466.1

[0195]

6		480.2	7		438.2
8		470.2	9		486.1
10		451.2	11		466.1
12		472.1	13		484.2
14		468.2	15		453.2
16		479.2	17		457.1
18		469.2	19		464.1
20		455.1	21		494.2

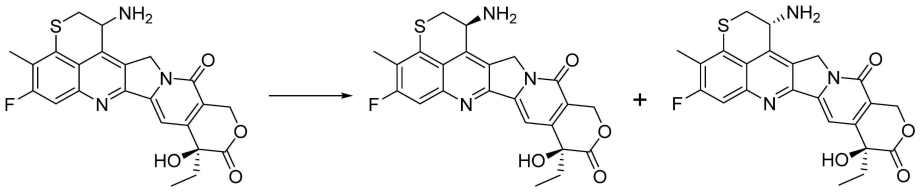
[0196]

22		508.2	**23**		522.2
24		510.1	**25**		524.2
26		524.2	**27**		538.2
28		538.2	**29**		552.2
30		538.2	**31**		552.2

[0197]

[0198] **실시예 2: 화합물 1의 키랄 분리**

[0199] 화합물 **1**은 부분입체 이성질체 혼합물의 쌍이고, 화합물 **1**의 2가지 부분입체 이성질체 1-1 및 1-2는 염화 및 재결정 또는 조제용-HPLC로의 분리 및 정제 방법을 채택함으로써 수득될 수 있다.



1

1-1 짧은 보류 시간을 갖는 성분
1-2 긴 보류 시간을 갖는 성분

[0200]

[0201] 크로마토그래피를 위한 조건: Shimadzu LC-20AP가 구비된 조제용 액체 크로마토그래피; 크로마토그래피 컬럼: Waters SunFire Prep C18 OBD (50 X 150 ㎜, 5 ㎛); 이동상: 아세토니트릴-0.5‰ 트리플루오로아세트산 수용액 = 66:34; 유속: 48.0 ㎖/분; 검출 파장: 254 ㎚; 주입 용적: 3000 ㎕.

[0202] 실험 절차는 다음과 같다: 적당량의 화합물 **1**을 취하여 50% 아세토니트릴 수용액을 사용하여 특정 용적으로 만들었다. 25 ㎎/㎖ 농도를 갖는 시험 샘플 용액을 준비하였다. 시험 샘플 용액을 취하여 본 발명의 크로마토그래피를 위한 조건에 따른 검출을 위한 조제용 액체 크로마토그래피에 위치시키고 계속해서 데이터를 기록하였다.

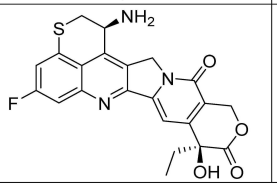
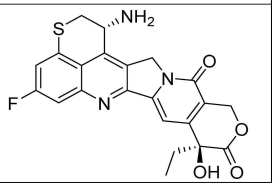
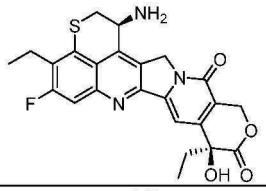
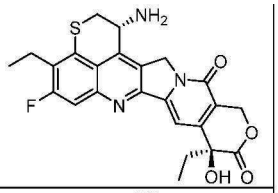
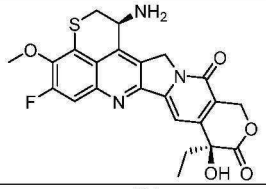
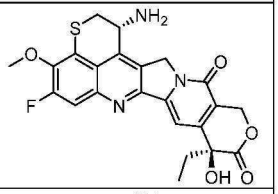
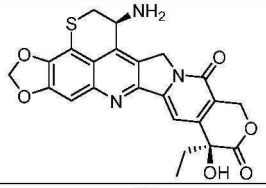
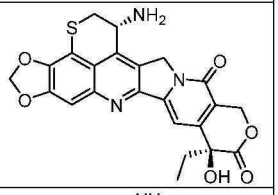
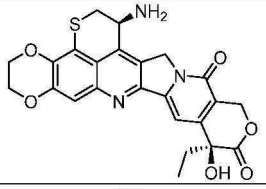
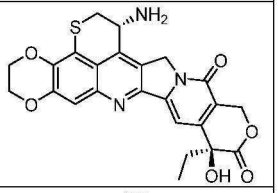
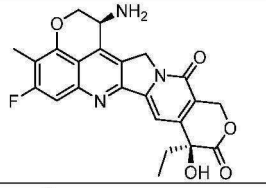
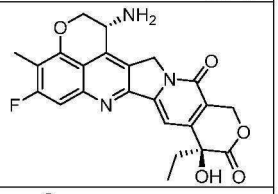
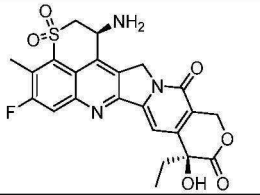
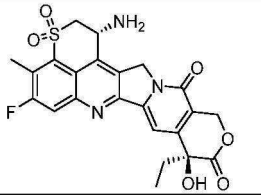
[0203] 그 결과, 위의 용액을 조제용-HPLC로 분리하여 **1-1**(33 ㎎) 및 **1-2**(31 ㎎)를 수득하였다. 2가지 성분의 보류 시간은 각각 5.419 분 및 7.614 분이었으며, 이들의 순도는 각각 99.38% 및 99.21%이었다.

[0204] 화합물 1의 합성과 유사하게, 아래의 표에 나열된 화합물들이 수득될 수 있다:

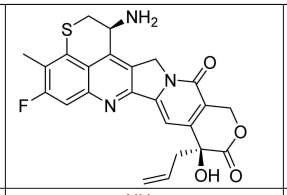
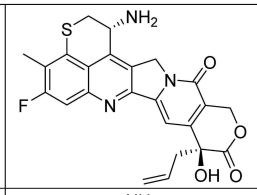
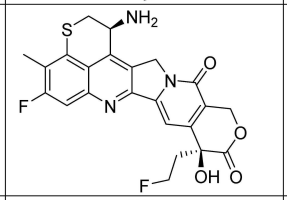
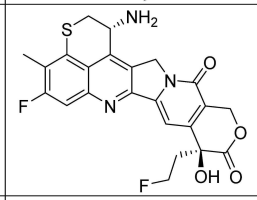
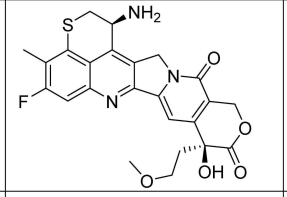
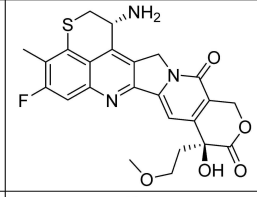
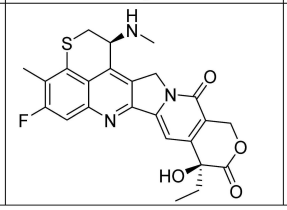
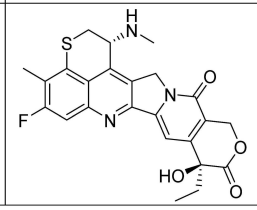
[0205] [표 4]

[0206] 조제용-HPLC에 의한 화합물들의 분리

[0207]

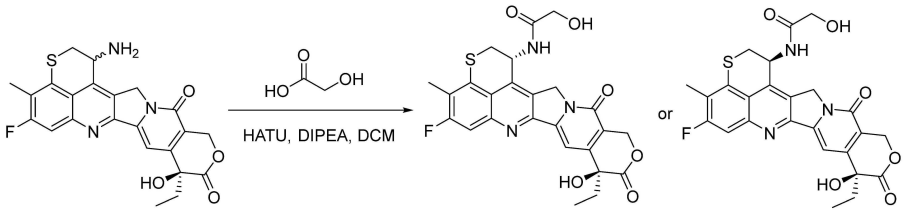
번호	구조	번호	구조
2-1		2-2	
3-1		3-2	
4-1		4-2	
5-1		5-2	
6-1		6-2	
7-1		7-2	
9-1		9-2	

[0208]

11-1		11-2	
12-1		12-2	
13-1		13-2	
14-1		14-2	

[0209]

[0210] **실시예 3: 화합물 32-1 및 화합물 32-2의 합성**



[0211]

[0212] 50-㎖ 3-목 플라스크에 긴 보류 시간을 갖는 화합물 **1-2**(98 mg, 0.2 mmol, 1 당량), 2-하이드록시아세트산(18.4 mg, 0.24 mmol, 1.2 당량) 및 무수 DCM(5 ㎖)을 첨가하고, HATU(84 mg, 0.3 mmol, 1.5 당량) 및 DIPEA(90.3 mg, 0.7 mmol, 3.5 당량)을 순차적으로 빙욕 하에서 첨가하였다. 온도를 0.5시간 동안 유지시킨 후, 시스템에 물(5 ㎖)을 첨가하여 희석한 다음 액체를 분리하고 DCM(5 ㎖ X 2)으로 추출하였다. 유기상을 포화 염수로 세척하고, 건조시키고 농축시켰다. 잔사를 컬럼 크로마토그래피(MeOH/DCM = 1/40)에 적용시켜 화합물 **32-2**(75 mg, 73% 수율)를 수득하였다.

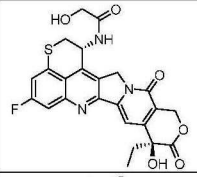
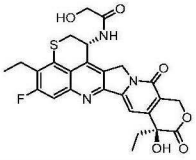
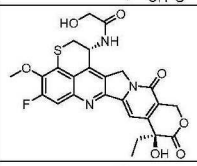
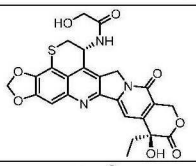
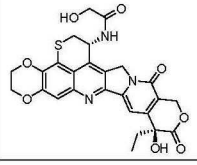
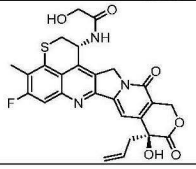
[0213] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 8.21 (dd, J = 13.3, 8.5 Hz, 1H), 7.78 (d, J = 10.6 Hz, 1H), 7.31 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 6.53 (s, 1H), 5.89 내지 5.79 (m, 1H), 5.56 내지 5.49 (m, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.38 (s, 1H), 5.31 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 3.90 (d, J = 4.7 Hz, 2H), 3.50 내지 3.35 (m, 3H), 2.44 (s, 3H), 1.91-1.80 (m, 2H), 0.87 (t, J = 6.5 Hz, 3H), LC-MS: 512.2 $[M+H]^+$.

[0214] 화합물 **32-2**의 합성과 유사하게, 화합물 **32-2**의 부분입체 이성질체 **32-1**이 짧은 보류 시간을 갖는 다른 성분 **1-1**을 사용하여 수득될 수 있다.

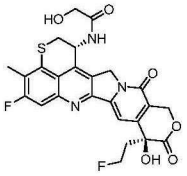
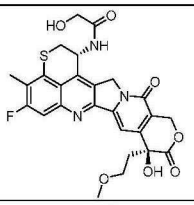
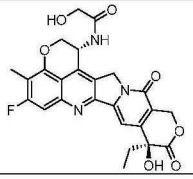
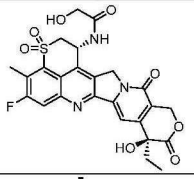
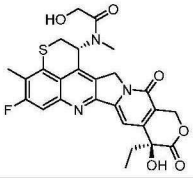
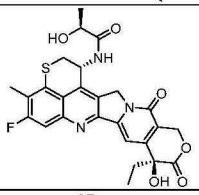
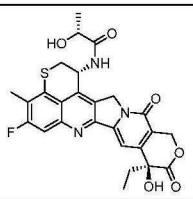
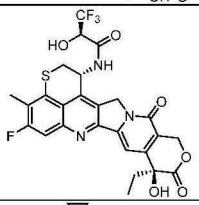
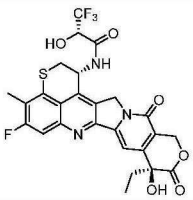
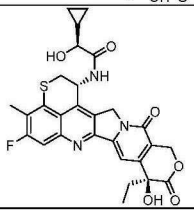
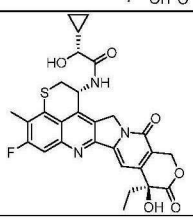
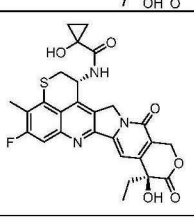
[0215] 화합물 **32-1** 및 화합물 **32-2**의 합성과 유사하게, 아래의 표에 나열된 화합물들이 상이한 중간체들을 사용하여 수득될 수 있다:

[0216] [표 5]

[0217] 화합물 33 내지 96의 목록

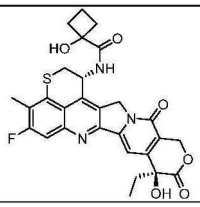
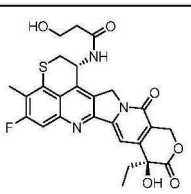
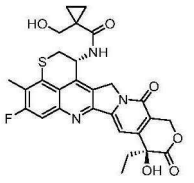
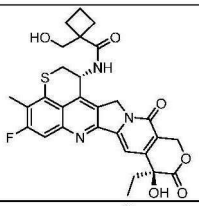
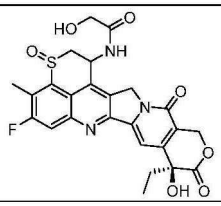
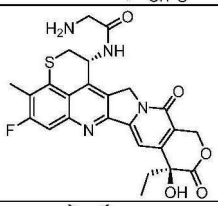
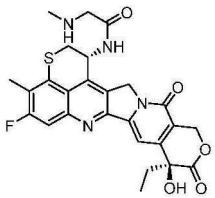
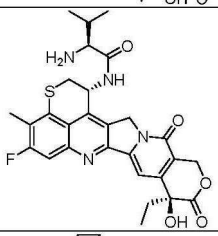
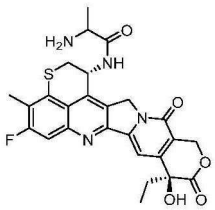
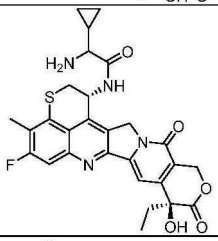
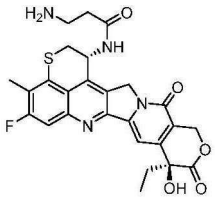
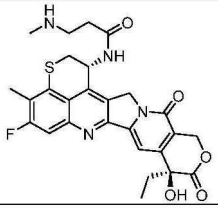
번호	구조	MS [M+H]+	번호	구조	MS [M+H]+
33		498.1	34		526.2
35		528.1	36		524.1
37		538.1	38		524.1

[0218]

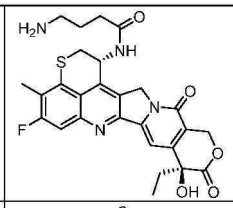
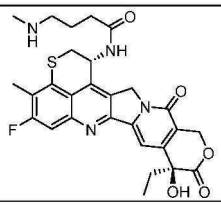
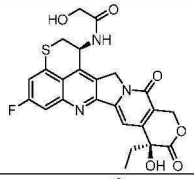
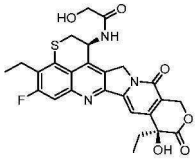
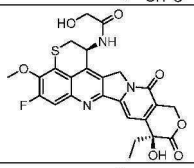
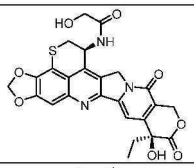
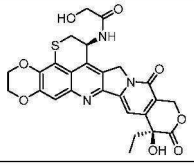
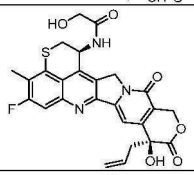
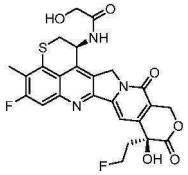
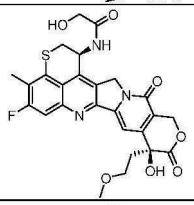
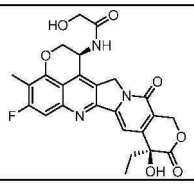
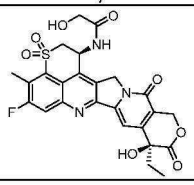
39		530.1	40		542.1
41		496.2	42		544.1
43		526.2	44		526.2
45		526.2	46		580.1
47		580.1	48		552.2
49		552.2	50		538.2

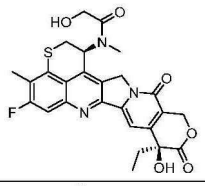
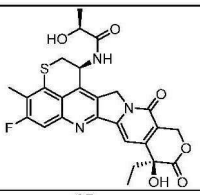
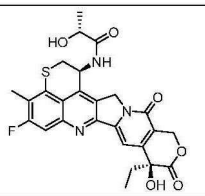
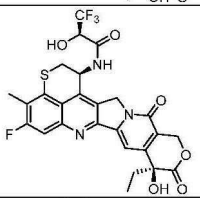
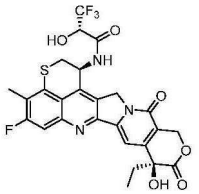
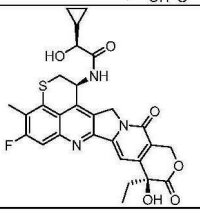
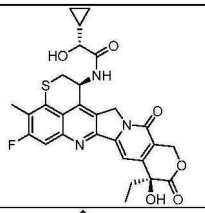
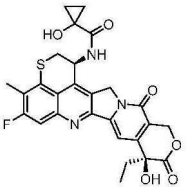
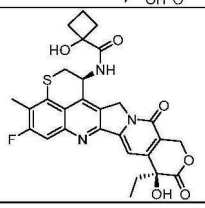
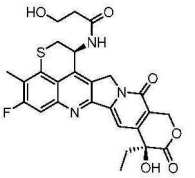
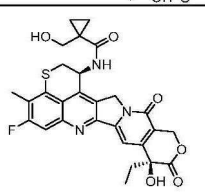
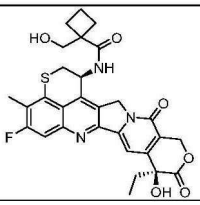
[0219]

[0220]

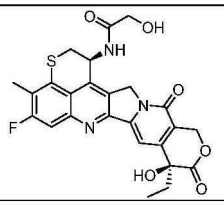
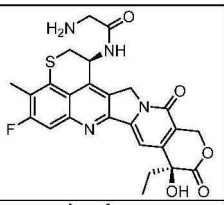
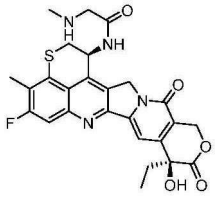
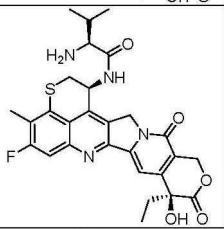
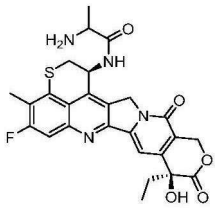
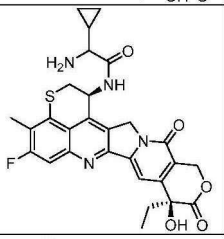
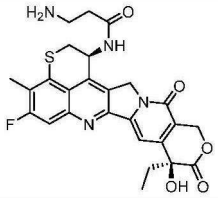
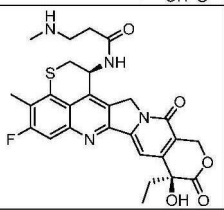
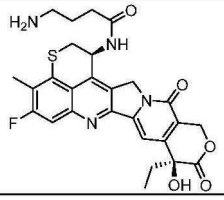
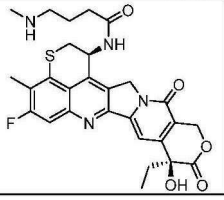
51		552.2	**52**		526.2
53		552.2	**54**		566.2
55		528.1	**56**		511.1
57		525.2	**58**		553.2
59		525.2	**60**		551.2
61		525.2	**62**		539.2

[0221]

63		539.2	**64**		553.2
65		498.1	**66**		526.2
67		528.1	**68**		524.1
69		538.1	**70**		524.1
71		530.1	**72**		542.1
73		496.2	**74**		544.1

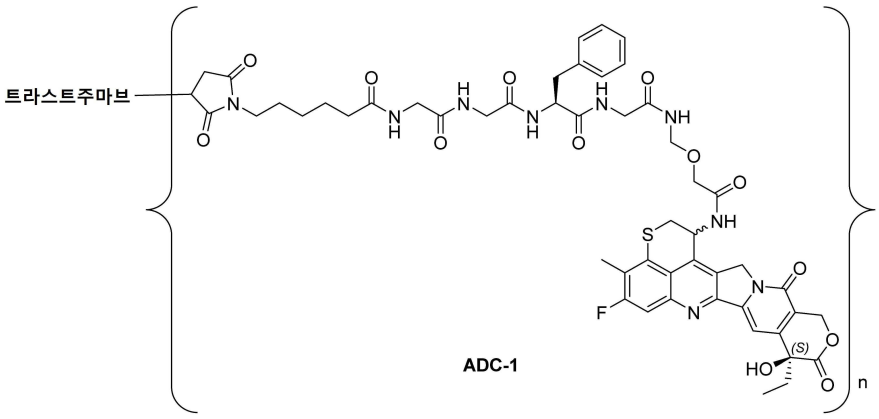
75		526.2	**76**		526.2
77		526.2	**78**		580.1
79		580.1	**80**		552.2
81		552.2	**82**		538.2
83		552.2	**84**		526.2
85		552.2	**86**		566.2

[0222]

87		512.2	**88**		511.1
89		525.2	**90**		553.2
91		525.2	**92**		551.2
93		525.2	**94**		539.2
95		539.2	**96**		553.2

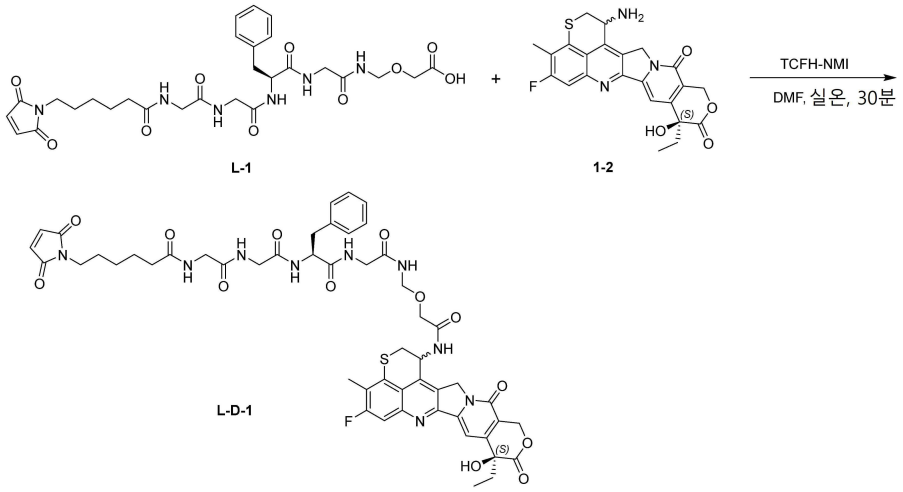
[0223]

[0224] 실시예 4: 항체-약물 접합체(ADC-1)의 제조



[0225]

[0226] 단계 1: 화합물 **L-D-1**의 제조



[0227]

[0228] 50-㎖ 1-목 플라스크에 **L-1**(76 ㎎, 0.12 mmol, 1.0 당량), 긴 보류 시간을 갖는 성분 화합물 **1-2**(55 ㎎, 0.12 mmol, 1.0 당량), NMI(50.6 ㎎, 0.62 mmol, 5.0 당량) 및 DMF(2 ㎖)를 첨가하고, 시스템을 충분히 교반하고 0 ℃까지 냉각시켰다. 반응 용액에 TCFH(41.5 ㎎, 0.15 mmol, 1.2 당량)를 첨가하고 30분 동안 교반한 후, LC-MS로 검출하였다. 반응이 완결된 후, 반응 용액을 역상 C18 컬럼 크로마토그래피(MeCN/물 = 0 내지 60%)로 정제하고, 표적 물질의 분획을 동결건조시켜 황색 고체 **L-D-1**(80 ㎎, 61.5% 수율)을 수득하였다.

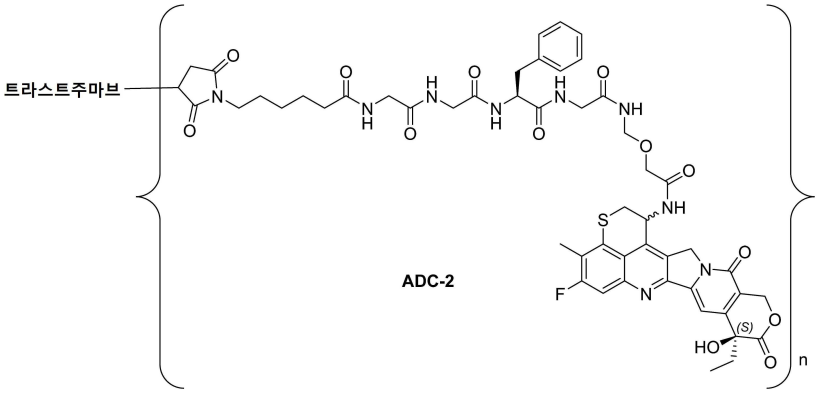
[0229] ^{1}H-NMR (400 ㎒, DMSO-d_6) δ: 8.56 (t, J = 6.4 ㎐, 1H), 8.30 (dd, J = 14.0, 8.3 ㎐, 2H), 8.11 (d, J = 7.9 ㎐, 1H), 8.06 (t, J = 5.7 ㎐, 1H), 7.99 (t, J = 5.7 ㎐, 1H), 7.76 (d, J = 10.7 ㎐, 1H), 7.31 (d, J = 2.8 ㎐, 1H), 7.27 내지 7.12 (m, 5H), 6.98 (s, 2H), 6.54 (d, J = 1.8 ㎐, 1H), 5.84 내지 5.83 (m, 1H), 5.49 내지 5.31 (m, 3H), 5.27 내지 5.21 (m, 1H), 4.66 내지 4.53 (m, 2H), 4.48 내지 4.41 (m, 1H), 3.98 (s, 2H), 3.75 내지 3.54 (m, 6H), 3.42 (s, 2H), 3.36 내지 3.35 (m, 2H), 3.04-2.98 (m, 1H), 2.80 내지 2.74 (m, 1H), 2.42 (s, 3H), 2.08 (t, J = 7.4, 2H), 1.93 내지 1.79 (m, 2H), 1.50 내지 1.41 (dd, J = 13.2, 5.9 ㎐, 4H), 1.25 내지 1.12 (m, 2H), 0.88 내지 0.84 (m, 3H), LC-MS: 1052.1 $[M+H]^+$, 1050.1 $[M-H]^-$.

[0230] 단계 2: **ADC-1**의 제조

[0231] 항체 트라스트주마브의 수성 PBS 완충제(pH = 6.5의 0.05 PBS 완충제; 2.5 ㎖, 9.96 ㎎/㎖, 0.168 nmol)에 제조된 트리스(2-카르복시에틸)포스파인의 수용액(10 mM, 0.082 ㎖) 37℃에서 첨가하고, 시스템을 수욕 진탕기에 위치시키고, 진탕시키고 37℃에서 3시간 동안 반응시킨 후 반응을 중단시키고; 반응 용액을 25℃까지 수욕 하에서 냉각시키고 5.0 ㎎/㎖까지 희석시켰다.

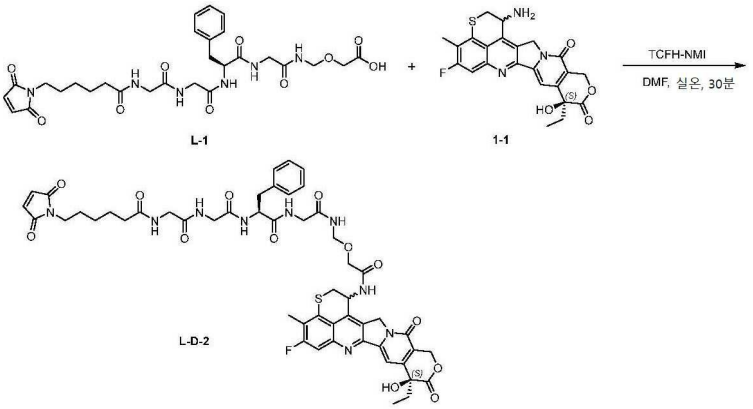
[0232] 화합물 **L-D-1**(2.02 nmol)을 DMSO(0.10 ㎖)에 용해시키고 위의 용액 2.0 ㎖에 첨가하고, 시스템을 수욕 진탕기에 위치시키고, 진탕시키고 25℃에서 3시간 동안 반응시킨 후 반응을 중단시켰다. 반응 용액을 탈염시키고 Sephadex G25 겔 컬럼(용리상: pH 6.5의 0.05 M PBS 완충제, 0.001 M EDTA를 함유)을 통해 정제하여 ADC의 PBS 완충제(5.0 ㎎/㎖, 1.1 ㎖)를 수득하고, 이를 동결시키고 4℃에서 저장하였다. UV-HPLC에 의해 산출된 평균: n = 7.2.

[0233] **실시예 5: 항체-약물 접합체(ADC-2)의 제조**



[0234]

[0235] 단계 1: 화합물 **L-D-2**의 제조



[0236]

[0237] 50-mℓ 1-목 플라스크에 **L-1**(76 mg, 0.12 mmol, 1.0 당량), 짧은 보류 시간을 갖는 성분 화합물 **1-1**(55 mg, 0.12 mmol, 1.0 당량), NMI(50.6 mg, 0.62 mmol, 5.0 당량) 및 DMF(2 mℓ)를 첨가하고, 시스템을 충분히 교반하고 0℃까지 냉각시켰다. 반응 용액에 TCFH(41.5 mg, 0.15 mmol, 1.2 당량)를 첨가하고 30분 동안 교반한 후, LC-MS로 검출하였다. 반응이 완결된 후, 반응 용액을 역상 C18 컬럼 크로마토그래피(MeCN/물 = 0 내지 60%)로 정제하고, 표적 물질의 분획을 동결건조시켜 황색 고체 **L-D-2**(80 mg, 61.5% 수율)를 수득하였다.

[0238] ^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6) ^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 8.56 (t, J = 6.4 Hz, 1H), 8.30 (dd, J = 14.0, 8.3 Hz, 2H), 8.11 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.06 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 7.99 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 7.76 (d, J = 10.7 Hz, 1H), 7.31 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 7.30 내지 7.16 (m, 5H), 6.98 (s, 2H), 6.54 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 5.90 내지 5.86 (m, 1H), 5.46 내지 5.30 (m, 3H), 5.26 내지 5.21 (m, 1H), 4.68 내지 4.53 (m, 2H), 4.46 내지 4.41 (m, 1H), 3.98 (s, 2H), 3.75-3.54 (m, 6H), 3.42 (s, 2H), 3.36 내지 3.35 (m, 2H), 3.04 내지 2.98 (m, 1H), 2.80 내지 2.74 (m, 1H), 2.42 (s, 3H), 2.08 (t, J = 7.4, 2H), 1.93 내지 1.79 (m, 2H), 1.50 내지 1.41 (dd, J = 13.2, 5.9 Hz, 4H), 1.25 내지 1.12 (m, 2H), 0.88 내지 0.84 (m, 3H), LC-MS: 1052.1 $[M+H]^+$, 1050.1 $[M-H]^-$.

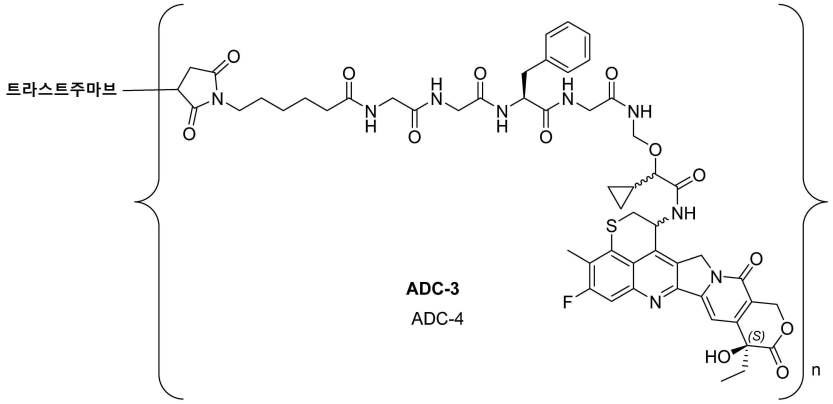
[0239] 단계 2: **ADC-2**의 제조

[0240] 항체 트라스트주마브의 수성 PBS 완충제(pH = 6.5의 0.05 PBS 완충제; 2.5 mℓ, 9.96 mg/mℓ, 0.168 nmol)에 제조된 트리스(2-카르복시에틸)포스파인의 수용액(10 mM, 0.082 mℓ) 37℃에서 첨가하고, 시스템을 수욕 진탕기에 위치시키고, 진탕시키고 37℃에서 3시간 동안 반응시킨 후 반응을 중단시키고; 반응 용액을 25℃까지 수욕 하에서 냉각시키고 5.0 mg/mℓ까지 희석시켰다.

[0241] 화합물 **L-D-2**(2.02 nmol)을 DMSO(0.10 mℓ)에 용해시키고 위의 용액 2.0 mℓ에 첨가하고, 시스템을 수욕 진탕기에 위치시키고, 진탕시키고 25℃에서 3시간 동안 반응시킨 후 반응을 중단시켰다. 반응 용액을 탈염시키고 Sephadex G25 겔 컬럼(용리상: pH 6.5의 0.05 M PBS 완충제, 0.001 M EDTA를 함유)을 통해 정제하여 ADC의 PBS 완충제(5.0 mg/mℓ, 1.1 mℓ)를 수득하고, 이를 동결시키고 4℃에서 저장하였다. UV-HPLC에 의해 산출된 평균: n

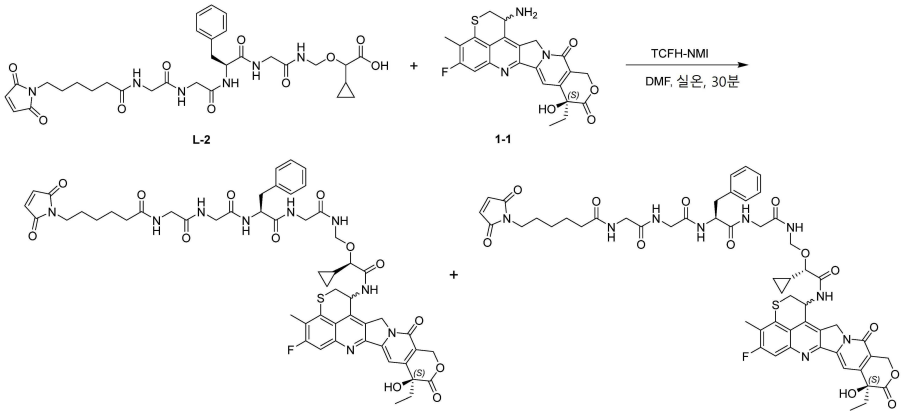
= 7.2.

[0242] **실시예 6: 항체-약물 접합체(ADC-3 및 ADC-4)의 제조**



[0243]

[0244] 단계 1: 화합물 **L-D-3** 및 **L-D-4**의 제조



[0245]

[0246] 50-㎖ 1-목 플라스크에 **L-2**(80 mg, 0.12 mmol, 1.0 당량), 짧은 보류 시간을 갖는 성분 화합물 **1-1**(55 mg, 0.12 mmol, 1.0 당량), NMI(50.6 mg, 0.62 mmol, 5.0 당량) 및 DMF(2 ㎖)를 첨가하고, 시스템을 충분히 교반하고 0℃까지 냉각시켰다. 반응 용액에 TCFH(41.5 mg, 0.15 mmol, 1.2 당량)를 첨가하고 30분 동안 교반한 후, LC-MS로 검출하였다. 반응이 완결된 후, 반응 용액을 역상 C18 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 짧은 보류 시간을 갖는 분획인 L-D-3 및 긴 보류 시간을 갖는 분획인 L-D-4를 수반하는 2가지 분획을 수득하였다. 표적 물질의 분획을 동결건조시켜 황색 고체 **L-D-3**(20 mg) 및 **L-D-4**(25 mg)를 수득하였다, LC-MS: 1092.4 $[M+H]^+$.

[0247] 크로마토그래피를 위한 조건: Thermo Fisher로부터의 반-조제용 액체 크로마토그래피 U3000; 크로마토그래피 컬럼: Welch Ultimate XB-Phenyl; 이동상: 0.1% 포름산-0.1% 수성 포름산 = 50:50을 포함하는 아세토니트릴; 유속: 30.0 ㎖/분; 검출 파장: 370 nm; 주입량: 100 ㎕.

[0248] 실험 절차는 다음과 같다: 적당량의 **L-D-3** 및 **L-D-4**의 혼합물을 취하여 DMF에 용해시켰다. 10 mg/㎖ 농도를 갖는 시험 샘플 용액을 준비하였다. 시험 샘플 용액을 취하여 본 발명의 크로마토그래피를 위한 조건에 따른 검출을 위한 조제용 액체 크로마토그래피에 위치시키고 계속해서 데이터를 기록하였다. 주입을 복수 회로 실행하였다.

[0249] 그 결과, 조제용-HPLC로 **L-D-3** 및 **L-D-4**로 분리하였으며, 여기에서 두 성분들의 보류 시간은 각각 5.29분 및 5.87분이었며, 이들의 순도는 각각 99.38% 및 99.21%이었다.

[0250] 단계 2: **ADC-3** 및 **ADC-4**의 제조

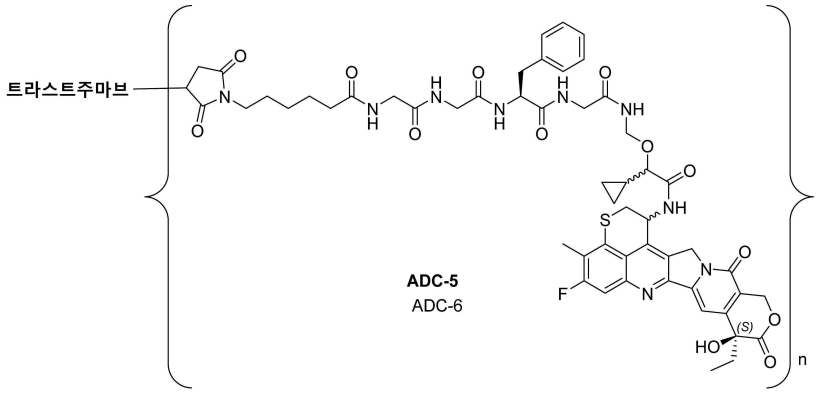
[0251] 항체 트라스트주마브의 수성 PBS 완충제(pH = 6.5의 0.05 PBS 완충제; 2.5 ㎖, 9.96 mg/㎖, 0.168 nmol)에 제조된 트리스(2-카르복시에틸)포스파인의 수용액(10 mM, 0.082 ㎖) 37℃에서 첨가하고, 시스템을 수욕 진탕기에 위치시키고, 진탕시키고 37℃에서 3시간 동안 반응시킨 후 반응을 중단시키고; 반응 용액을 25℃까지 수욕 하에

서 냉각시키고 5.0 mg/mℓ까지 희석시켰다. 2가지 분액을 이중으로 준비하였다.

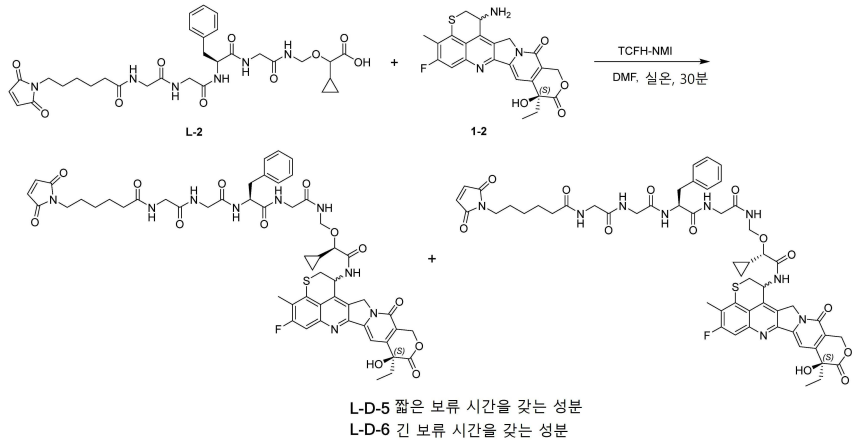
[0252] 화합물 **L-D-3**(2.0 nmol)을 DMSO(0.10 mℓ)에 용해시키고 위의 용액 2.0 mℓ에 첨가하고, 시스템을 수욕 진탕기에 위치시키고, 진탕시키고 25℃에서 3시간 동안 반응시킨 후 반응을 중단시켰다. 반응 용액을 탈염시키고 Sephadex G25 겔 컬럼(용리상: pH 6.5의 0.05 M PBS 완충제, 0.001 M EDTA를 함유)을 통해 정제하여 ADC의 PBS 완충제(5.0 mg/mℓ, 1 mℓ)를 수득하고, 이를 동결시키고 4℃에서 저장하였다. UV-HPLC에 의해 산출된 평균: n = 7.3.

[0253] 동일한 방식으로 화합물 **L-D-4**를 사용하여 **ADC-4**를 제조하였으며, 여기에서 n = 7.3이다.

[0254] **실시예 7: 항체-약물 접합체(ADC-5 및 ADC-6)의 제조**

[0255] 

[0256] 단계 1: 화합물 **L-D-5** 및 **L-D-6**의 제조

[0257] 

[0258] 50-mℓ 1-목 플라스크에 **L-2**(80 mg, 0.12 mmol, 1.0 당량), 긴 보류 시간을 갖는 성분 화합물 **1-2**(55 mg, 0.12 mmol, 1.0 당량), NMI(50.6 mg, 0.62 mmol, 5.0 당량) 및 DMF(2 mℓ)를 첨가하고, 시스템을 충분히 교반하고 0℃까지 냉각시켰다. 반응 용액에 TCFH(41.5 mg, 0.15 mmol, 1.2 당량)를 첨가하고 30분 동안 교반한 후, LC-MS로 검출하였다. 반응이 완결된 후, 반응 용액을 역상 C18 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 짧은 보류 시간을 갖는 분획인 L-D-5 및 긴 보류 시간을 갖는 분획인 L-D-6을 수반하는 2가지 분획을 수득하였다. 표적 물질의 분획을 동결건조시켜 황색 고체 **L-D-5**(20 mg) 및 **L-D-6**(23 mg)을 수득하였다.

[0259] LC-MS: 1092.4 $[M+H]^+$.

[0260] 크로마토그래피를 위한 조건: Thermo Fisher로부터의 반-조제용 액체 크로마토그래피 U3000; 크로마토그래피 컬럼: Welch Ultimate XB-Phenyl; 이동상: 0.1% 포름산-0.1% 수성 포름산 = 50:50을 포함하는 아세토니트릴; 유속: 30.0 mℓ/분; 검출 파장: 370 nm; 주입량: 100 μℓ.

[0261] 실험 절차는 다음과 같다: 적당량의 **L-D-5** 및 **L-D-6**의 혼합물을 취하여 DMF에 용해시켰다. 10 mg/mℓ 농도를 갖는 시험 샘플 용액을 준비하였다. 시험 샘플 용액을 취하여 본 발명의 크로마토그래피를 위한 조건에 따른 검출을 위한 조제용 액체 크로마토그래피에 위치시키고 계속해서 데이터를 기록하였다. 주입을 복수 회로 실행하였다.

[0262] 그 결과, 조제용-HPLC로 **L-D-5** 및 **L-D-6**으로 분리하였으며, 여기에서 두 성분들의 보류 시간은 각각 6.04분 및 6.48분이었며, 이들의 순도는 각각 98.58% 및 99.13%이었다.

[0263] 단계 2: **ADC-5** 및 **ADC-6**의 제조

[0264] 항체 트라스트주마브의 수성 PBS 완충제(pH = 6.5의 0.05 PBS 완충제; 2.5 ㎖, 9.96 ㎎/㎖, 0.168 ㎚ol)에 제조된 트리스(2-카르복시에틸)포스파인의 수용액(10 ㎜, 0.082 ㎖) 37℃에서 첨가하고, 시스템을 수욕 진탕기에 위치시키고, 진탕시키고 37℃에서 3시간 동안 반응시킨 후 반응을 중단시키고; 반응 용액을 25℃까지 수욕 하에서 냉각시키고 5.0 ㎎/㎖까지 희석시켰다. 2가지 분액을 이중으로 준비하였다.

[0265] 화합물 **L-D-5**(2.0 ㎚ol)을 DMSO(0.10 ㎖)에 용해시키고, 위의 용액 2.0 ㎖에 첨가하고, 시스템을 수욕 진탕기에 위치시키고, 진탕시키고 25℃에서 3시간 동안 반응시킨 후 반응을 중단시켰다. 반응 용액을 탈염시키고 Sephadex G25 겔 컬럼(용리상: pH 6.5의 0.05 M PBS 완충제, 0.001 M EDTA를 함유)을 통해 정제하여 ADC의 PBS 완충제(5.0 ㎎/㎖, 1.1 ㎖)를 수득하고, 이를 동결시키고 4℃에서 저장하였다. UV-HPLC에 의해 산출된 평균: n = 7.3.

[0266] 동일한 방식으로 화합물 **L-D-6**을 사용하여 **ADC-6**을 제조하였으며, 여기에서 n = 7.3이다.

[0267] **실시예 8: 다른 ADC들**

[0268] **L-D-1, L-D-2, L-D-3, L-D-4, L-D-5** 또는 **L-D-6**과 유사한 다른 화합물들(본원의 캄프토테신 유도체가 소분자 독소임)이 동일한 방식으로 제조될 수 있다. **L-D-1, L-D-2, L-D-3, L-D-4, L-D-5** 또는 **L-D-6** 및 유사한 화합물들이 항체 트라스트주마브 또는 다른 유사한 항체와 추가로 결합되어 소분자 독소로서 본원의 캄프토테신 유도체를 포함하는 항체-약물 접합체를 제조할 수 있다.

[0269] **실시예 9: SK-BR-3 세포에 대한 항증식 활성에 대한 분석**

[0270] 소분자 독소로서 캄프토테신 유도체의 SK-BR-3 세포에 대한 시험관 내 항증식 활성에 대한 분석에 의해 본 발명의 항체-약물 접합체의 활성이 결정될 수 있다.

[0271] SK-BR-3 세포를 384-웰 플레이트(Fisher 142762) 내에 웰 당 3000 세포로 파종하였다. 다음 날, 일련의 희석된 화합물들을 첨가하고, 첨가 72시간 후, CellTiter-Lumi(Beyotime C0068XL)를 첨가하여 세포 내 ATP 함량을 측정하였다. 세포의 성장을 평가하고, 세포 성장에 대한 화합물의 상대적인 IC_{50} 값을 산출하였다. 선별 결과를 표 6에 나타내었다.

[0272] [표 6]

[0273] SK-BR-3 세포에 대한 본 발명의 조성물의 항증식 활성

[0274]

번호	IC_{50} (nM)	번호	IC_{50} (nM)
1	2.98	**1-1**	5.81
1-2	1.73	**3-2**	2.85
4-2	2.74	**7-2**	2.68
14-2	4.13	**20**	5.83
32	4.30	**34**	5.84
35	6.53	**39**	4.78
41	6.47	**44**	6.29
48	6.73	**49**	7.32
엑사테칸	5.35	**데룩스테칸**	13.61
토포테칸	58.30		

[0275] 시판되고 있는 캄프토테신 약물인 엑사테칸, 데룩스테칸 및 토포테칸에 비해, 본 발명의 화합물은 SK-BR-3 세포에 대한 강한 시험관 내 항증식 활성, 특히 일반식(1)에서 X가 S 또는 O인 경우, 세포에 대한 강한 항증식 활성을 갖는다. 예를 들어, 화합물 **1-2**는 엑사테칸 보다 2배 더 활성이고, 화합물 **32**는 데룩스테칸 보다 3배 더 활성이다. 특히, 측쇄 내 OH 또는 NH_2와 같은 쉽게 부착되는 기를 포함하고 강한 세포 활성을 갖는 일반식(1)의 화합물이 ADC의 소분자 독소로서 사용되기에 적합하다.

[0276] **실시예 10: 본 발명의 항체-약물 접합체의 시험관 내 항-종양 활성**

[0277] HER2의 높은 발현을 수반하는 SK-BR-3 세포를 실험에서 시험관 내 활성 검출을 위한 세포 균주로서 선정하고 세포 살해에 대한 본 발명의 항체-약물 접합체(ADC)의 투여량-효과 관계를 평가하기 위해 사용하였다. 각 유형의 세포에 대한 플레이팅 밀도는 초기에는 1500 내지 2000 세포/웰이 되도록 선택하였으며, 12시간 후 세포 독성에 대한 분석을 수행하였고; ADC를 출발 농도로서 10 nM에서 3 내지 10배로 일련의 희석으로 최종 농도가 얻어질 때까지 첨가하였고, 계속해서 사멸 효과를 144시간 동안 관찰하고, 화학발광 염색을 위해 CellTiter-Glo@ Luminescent Cell Viability Assay를 사용했고, 형광 데이터를 판독한 후 IC_{50}을 산출하였다.

[0278] 활성 시험 결과로부터, 모든 ADC들이 특정 항-종양 활성을 나타냈으며, 일부 ADC들의 활성이 DS-8201a 보다 더 컸다.

[0279] [표 7]

[0280] SK-BR-3 세포에 대한 본 발명의 항체-약물 접합체의 항증식 활성

샘플	IC_{50} (nM)
ADC-1	0.26
ADC-2	0.13
ADC-3	0.08
ADC-4	0.06
ADC-5	0.02
ADC-6	0.10
엑사테칸	0.73
DS-8201a	0.09

[0281]

[0282] 활성 시험의 결과로부터, 모든 ADC들이 특정 항-종양 활성을 나타냈으며, 일부 ADC들의 활성이 DS-8201a 보다 더 컸다.

[0283] **실시예 11: 본 발명의 항체-약물 접합체의 생체 내 항-종양 활성**

[0284] 100 ㎕의 PBS 용액에 용해된 인간 위암 세포(NCI-N87)를 6 내지 8주령의 암컷 Balb/c 누드 마우스의 목의 우측 또는 등에 피하로 주입하였다. 평균 종양 용적이 약 150 내지 200 mm^3이 되었을 때, 32개체의 누드 마우스를 종양 크기에 따라 각 그룹에 8개체씩 무작위로 4개의 그룹으로 나누고, 미정맥을 통해 주사 투여를 실시하였으며, 여기에서 01은 블랭크 대조군, 02는 DS-8201a(4.5 mg/kg) 군, 03은 ADC-1(4.5 mg/kg) 군, 그리고 04는 ADC-2(4.5 mg/kg) 군이었다. 실험 동물의 체중 및 종양 용적을 매주 2회 측정하고 실험 과정에서의 동물의 생존 상태를 관찰하였으며, 여기에서 각 그룹의 종양 용적에서의 변화의 구체적인 결과를 도 1에 나타냈다.

[0285] 도 1에서 볼 수 있는 바와 같이, 본 발명의 ADC 샘플 둘 모두가 DS-8201a에 비해 생체 내 항-종양 활성을 나타냈다.

[0286] 비록 본 발명의 구체적인 구현예들이 위에서 기술되기는 하였으나, 이러한 구현예는 단순히 예시적인 것이며, 본 발명의 원리 및 정신을 벗어나지 않고도 이러한 구현예에 대해 많은 변경 또는 수정이 이루어질 수 있다는 것은 당해 기술분야에서 통상의 기술자에게 인식될 수 있다. 따라서 본 발명의 보호의 범주는 첨부된 특허청구범위에 의해 정의된다.

도면

도면1

