



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0066098
(43) 공개일자 2022년05월23일

- | | |
|---|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 <i>A61K 47/54</i> (2017.01) <i>A61K 49/00</i> (2006.01)
 <i>A61K 51/04</i> (2006.01) <i>A61P 35/00</i> (2006.01)
 <i>C07D 401/14</i> (2006.01) <i>C07D 403/14</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
 <i>A61K 47/545</i> (2017.08)
 <i>A61K 49/0043</i> (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2022-7012076
 (22) 출원일자(국제) 2020년09월17일
 심사청구일자 없음
 (85) 번역문제출일자 2022년04월12일
 (86) 국제출원번호 PCT/US2020/051328
 (87) 국제공개번호 WO 2021/055641
 국제공개일자 2021년03월25일
 (30) 우선권주장
 62/901,792 2019년09월17일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인
 퍼듀 리서치 파운데이션
 미국, 인디애나 47906, 웨스트 라파예트 파운드리
 드라이브 101</p> <p>(72) 발명자
 로우, 필립 스텐어트
 미국 47906 인디애나주 웨스트 라파예트 팜 릿지
 로드 5850
 스리니바사라오, 맞두리
 미국 47906 인디애나주 웨스트 라파예트 마르웁
 스트리트 975
 무카말라, 라메쉬
 미국 47906 인디애나주 웨스트 라파예트 예거 로
 드 2550 #5-09</p> <p>(74) 대리인
 양영준, 김영</p> |
|---|--|

전체 청구항 수 : 총 39 항

(54) 발명의 명칭 **섬유모세포 활성화 단백질 (FAP)-표적화 영상화 및 암 및 다른 섬유화 및 염증성 질환의 요법**

(57) 요약

섬유모세포 활성화 단백질 (FAP)-표적화 화합물 (예를 들어, 접합체); 암 또는 섬유증을 영상화하는 방법; 및 염증성 질환/장애 및 암을 치료하는 방법이 제공된다.

(52) CPC특허분류

A61K 49/0052 (2013.01)

A61K 51/0446 (2013.01)

A61K 51/0497 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

C07D 401/14 (2013.01)

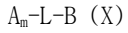
C07D 403/14 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

화학식 (X)의 구조에 의해 나타내어지는 화합물:



여기서

A는 섬유모세포 활성화 단백질 알파 (FAP α) 리간드의 라디칼이고;

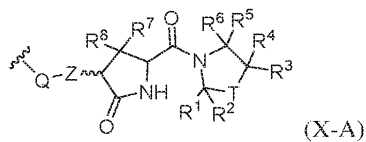
L은 1개 이상의 A 기를 B에 연결하는 링커이고;

B는 광학 염료, 광역학 치료제, 방사선-영상화제, 방사선요법제, 화학요법제, 항섬유화제 또는 항암제의 라디칼이고;

m은 1-6이다.

청구항 2

제1항에 있어서, A가 화학식 (X-A)의 구조를 갖는 것인 화합물:



여기서

Q는 아릴, 헤테로아릴 또는 헤테로시클릴이고;

Z는 결합, 치환 또는 비치환된 C_1-C_3 알킬렌, 치환 또는 비치환된 헤테로알킬렌, 아미노, -O-, 또는 -S-이고;

T는 치환 또는 비치환된 메틸렌, 치환 또는 비치환된 아미노, -O-, 또는 -S-이고;

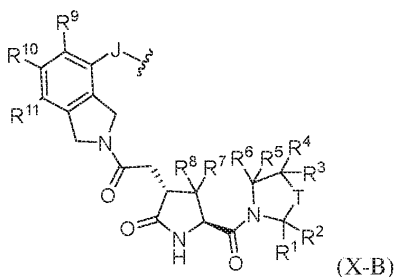
R^1 및 R^2 는 각각 독립적으로 -H, -CN, -CHO, -B(OH) $_2$, -C(O)알킬, -C(O)아릴-, -C=C-C(O)아릴, -C=C-S(O) $_2$ 아릴, -CO $_2$ H, -SO $_3$ H, -SO $_2$ NH $_2$, -PO $_3$ H $_2$, -SO $_2$ F, -CONH $_2$, 및 5-테트라졸릴로 이루어진 군으로부터 선택되고;

R^3 및 R^4 는 각각 독립적으로 -H, -OH, F, Cl, Br, I, -C $_1-6$ 알킬, -O-C $_1-6$ 알킬, 및 -S-C $_1-6$ 알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

R^5 , R^6 , R^7 , 및 R^8 은 각각 독립적으로 H, 알킬, 및 할로로 이루어진 군으로부터 선택된다.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, A가 화학식 (X-B)의 구조를 갖는 것인 화합물:



여기서

Q는 아릴, 헤테로아릴 또는 헤테로시클릴이고;

T는 치환 또는 비치환된 메틸렌, 치환 또는 비치환된 아미노, -O-, 또는 -S-이고;

J는 $C(R^J)_2$ 이고, 여기서 각각의 R^J 는 독립적으로 H 또는 알킬이거나, 또는 R^J 둘 다가 함께 옥소를 형성하고;

R^1 및 R^2 는 각각 독립적으로 -H, -CN, -CHO, -B(OH)₂, -C(O)알킬, -C(O)아릴-, -C=C-C(O)아릴, -C=C-S(O)₂아릴, -CO₂H, -SO₃H, -SO₂NH₂, -PO₃H₂, -SO₂F, -CONH₂, 및 5-테트라졸릴로 이루어진 군으로부터 선택되고;

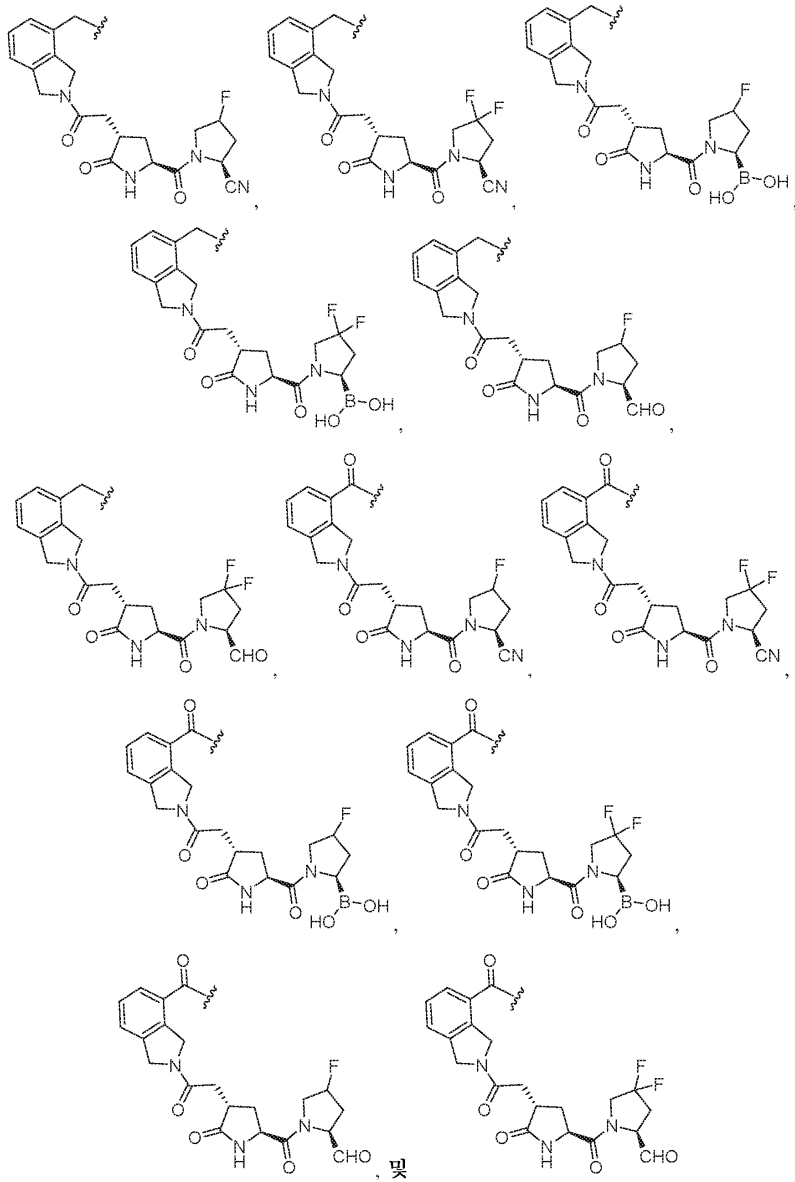
R^3 및 R^4 는 각각 독립적으로 -H, -OH, F, Cl, Br, I, -C₁₋₆알킬, -O-C₁₋₆알킬, 및 -S-C₁₋₆알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

R^5 , R^6 , R^7 , 및 R^8 은 각각 독립적으로 H, 알킬, 및 할로로 이루어진 군으로부터 선택되고;

R^9 , R^{10} , 및 R^{11} 은 각각 독립적으로 H, -C₁₋₆알킬, -C₁₋₆할로알킬, -O-C₁₋₆알킬, -S-C₁₋₆알킬, F, Cl, Br 및 I로 이루어진 군으로부터 선택된다.

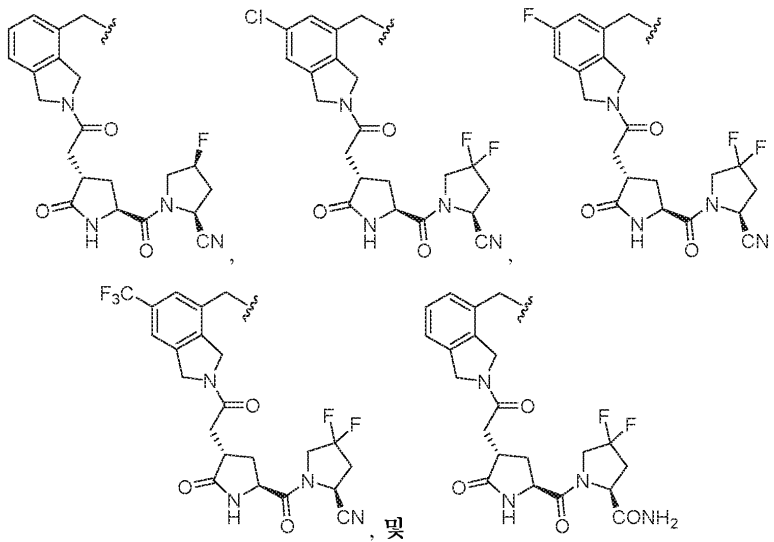
청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, A가 하기로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 화합물:



청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, A가 하기로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 화합물:



청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, A가 FAP α에 대해 약 1 nM 내지 약 25 nM의 결합 친화도를 갖는 것인 화합물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, L이 하나 이상의 링커 기를 포함하고, 각각의 링커 기가 독립적으로 알킬(렌), 헤테로알킬(렌), 헤테로시클로알킬(렌), 헤테로아릴, 아릴, 알콕시, 티오에테르, 디설파이드, 카르복실산, 무수물, 카르보네이트, 카르바메이트, 티오에테르, 당 및 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 화합물.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, L이 하나 이상의 링커 기를 포함하고, 각각의 링커 기가 독립적으로 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 알킬(렌), 디설파이드, 아마이드, 카르복실산, 무수물, 카르보네이트, 에스테르, 카르바메이트, 티오에테르, 페닐 및 트리아졸로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 화합물.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, L이 하나 이상의 링커 기를 포함하고, 각각의 링커 기가 독립적으로 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 알킬(렌), 디설파이드, 아마이드, 카르복실산, 카르보네이트 및 에스테르로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 화합물.

청구항 10

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, L이 방출성 링커인 화합물.

청구항 11

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, L이 하나 이상의 링커 기를 포함하고, 각각의 링커 기가 독립적으로 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 알킬(렌), 아마이드, 페닐 및 트리아졸로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 화합물.

청구항 12

제1항 내지 제8항 및 제11항 중 어느 한 항에 있어서, L이 비-방출성 링커인 화합물.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

L이 $(L^1)_o-Y-(L^2)_p$ 이고, 여기서

각각의 L^1 은 제1 링커이고;

각각의 L^2 는 제2 링커이고;

Y는 제3 링커이고;

o는 1-5의 정수이고;

p는 1-5의 정수인

화합물.

청구항 14

제13항에 있어서, 각각의 L^1 및 L^2 가 독립적으로 하나 이상의 링커 기를 포함하고, 각각의 링커 기가 독립적으로 알킬(렌), 헤테로알킬(렌), 헤테로시클로알킬(렌), 헤테로아릴, 아릴, 알콕시, 티오에테르, 디설파이드, 카르복실산, 무수물, 카르보네이트, 카르바메이트, 티오에테르, 당 및 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 화합물.

합물.

청구항 15

제13항에 있어서, 각각의 L^1 및 L^2 가 독립적으로 하나 이상의 링커 기를 포함하고, 각각의 링커 기가 독립적으로 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 알킬(렌), 디설피드, 아마이드, 카르복실산, 무수물, 카르보네이트, 에스테르, 카르바메이트, 티오에테르, 페닐 및 트리아졸로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 화합물.

청구항 16

제13항에 있어서, 각각의 L^1 및 L^2 가 독립적으로 하나 이상의 링커 기를 포함하고, 각각의 링커 기가 독립적으로 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 알킬(렌), 디설피드, 아마이드, 카르복실산, 카르보네이트 및 에스테르로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 화합물.

청구항 17

제13항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 L^1 및 L^2 가 독립적으로 하나 이상의 링커 기를 포함하고, 각각의 링커 기가 독립적으로 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 알킬(렌), 아마이드, 페닐, 및 트리아졸로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 화합물.

청구항 18

제13항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, Y가 아민 코어, 방향족 코어를 갖는 것인 화합물.

청구항 19

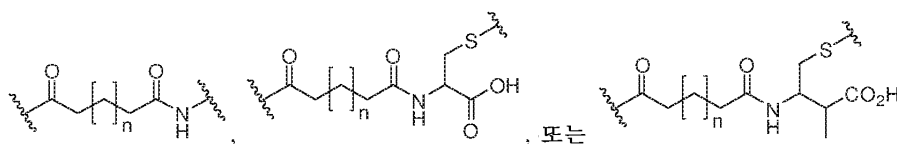
제13항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, Y가 아민 코어, 방향족 코어 알킬렌 코어를 갖는 것인 화합물.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, L, L^1 , L^2 , 또는 그의 임의의 조합이 독립적으로 15-200 옹스트롬 (Å)의 길이를 갖는 것인 화합물.

청구항 21

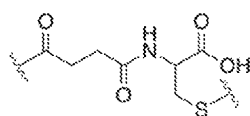
제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, L, L^1 , L^2 , 또는 그의 임의의 조합이 독립적으로 하기 구조를 갖는 적어도 하나의 링커 기를 포함하는 것인 화합물:



여기서 n은 0 내지 10이다.

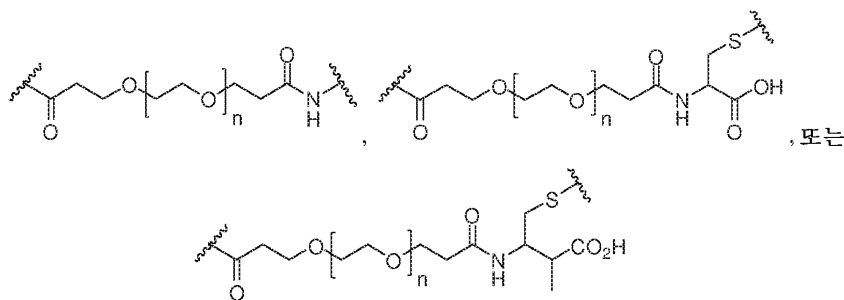
청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, L, L^1 , L^2 , 또는 그의 임의의 조합이 독립적으로 하기 구조를 갖는 적어도 하나의 링커 기를 포함하는 것인 화합물:



청구항 23

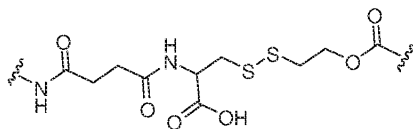
제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, L, L¹, L², 또는 그의 임의의 조합이 하기 구조를 갖는 적어도 하나의 링커 기를 포함하는 것인 화합물:



여기서 n은 1 내지 32이다.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, L이 하기 구조를 갖는 것인 화합물:



청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, B가 (예를 들어, 형광) 염료의 라디칼인 화합물.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물이 영상화제이고, B가 형광 염료의 라디칼인 화합물.

청구항 27

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, B가 항암제 또는 항섬유화제의 라디칼인 화합물.

청구항 28

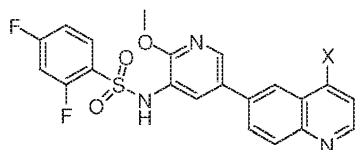
제1항 내지 제24항 및 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물이 화학요법제이고, B가 항섬유화제 또는 항암제의 라디칼인 화합물.

청구항 29

제1항 내지 제24항, 제27항 및 제28항 중 어느 한 항에 있어서, B가 포스포이노시티드 3-키나제 (PI3K) 억제제의 라디칼인 화합물.

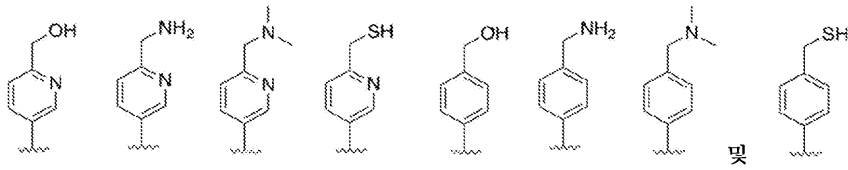
청구항 30

제1항 내지 제24항 및 제27항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, B가 하기 화학식에 의해 나타내어지는 라디칼의 구조를 갖는 것인 화합물:



여기서

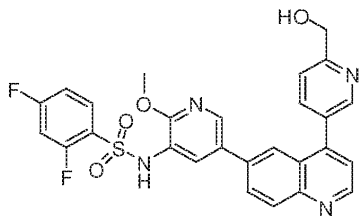
X는



로 이루어진 군으로부터 선택된다.

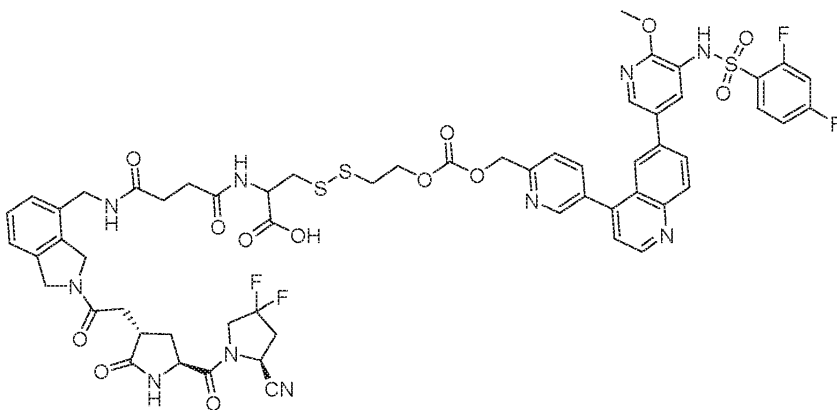
청구항 31

제1항 내지 제24항 및 제27항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, B가 하기 구조의 라디칼인 화합물:



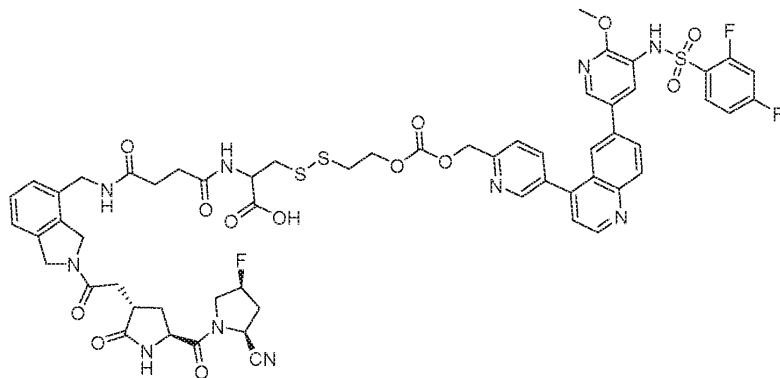
청구항 32

하기 구조의 화합물:



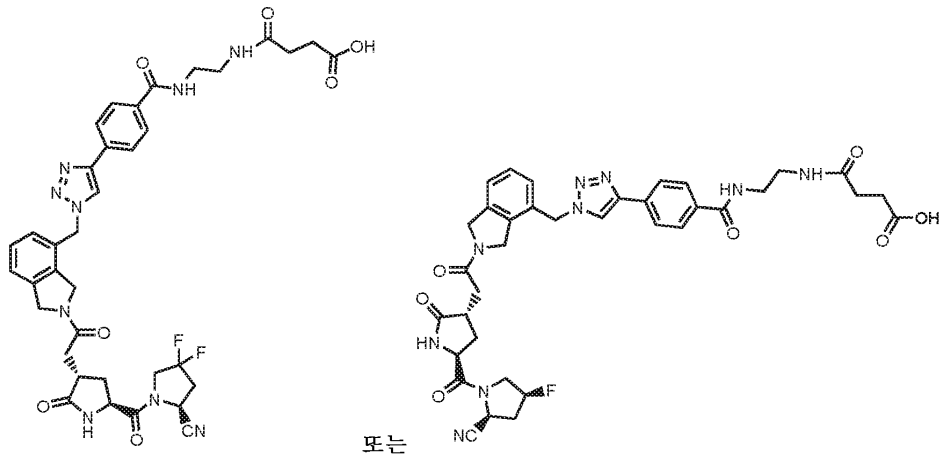
청구항 33

하기 구조의 화합물:



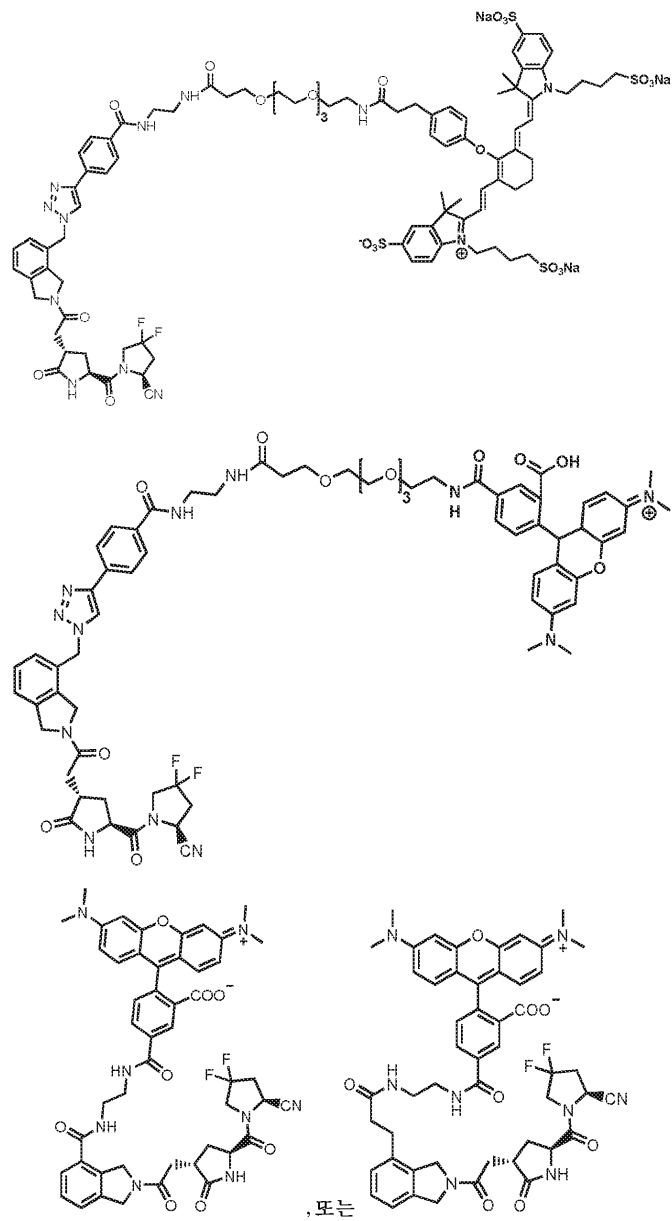
청구항 34

하기 구조의 화합물:



청구항 35

하기 구조의 화합물:



청구항 36

제1항 내지 제35항 중 어느 한 항의 화합물 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물.

청구항 37

암 또는 섬유증의 영상화를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 제1항 내지 제26항 및 제35항 중 어느 한 항의 화합물을 투여하는 것을 포함하는, 암 또는 섬유증을 갖는 대상체에서 암 또는 섬유증을 영상화하는 방법.

청구항 38

염증성 질환 또는 장애의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 제1항 내지 제35항 중 어느 한 항의 화합물을 투여하는 것을 포함하는, 염증성 질환 또는 장애를 치료하는 방법.

청구항 39

암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 제1항 내지 제35항 중 어느 한 항의 화합물을 투여하는 것을 포함하는, 암을 치료하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호-참조

[0002] 본 출원은 2019년 9월 17일에 출원된 미국 특허 가출원 번호 62/901,792를 우선권 주장하며, 이는 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0003] 기술 분야

[0004] 본 개시내용은 섬유모세포 활성화 단백질 (FAP- α) 표적화 리간드와 같은 특정 화학적 화합물 및 라디칼의 개발에 관한 것이다. 일부 경우에, 라디칼은 약물 또는 영상화제에 연결된다. 특정 경우에, 이러한 연결된 화합물 (본원에서 "접합체"로도 지칭됨)은 (예를 들어, FAP-양성) 암, 섬유화 질환 및/또는 염증성 장애의 치료 및/또는 영상화 등 다양한 방법에 이용된다. 일부 경우에, (예를 들어, 치료 및/또는 영상화 방법에서) 특이적으로 표적화되는 것은 (예를 들어, 암 및/또는 다른 섬유화 및 염증성 질환에서의) 암-연관 섬유모세포 (CAF) 및/또는 활성화된 근섬유모세포이다. 일부 경우에, 본원에 제공된 화학적 화합물 및/또는 리간드는 종양 및 다른 이환 부위에서 우수하거나 개선된 내재화 및 체류 시간을 갖는다.

배경 기술

[0005] 다양한 암, 섬유화 장애 및 염증성 질환에 대해 방사선- 및 화학-요법이 고려된다. 종종, 이러한 요법은 초래될 수 있는 유해 (예를 들어, 전신) 효과 때문에 1차 요법으로 고려되지 않는다.

[0006] 결과적으로, 오프-타겟 또는 전신 효과를 최소화하거나 감소시키면서, 이환 세포 및 조직을 표적화하기에 적합한 방사선- 및/또는 화학-요법제를 사용하여 질환 (예를 들어, 암, 섬유화 질환, 및/또는 염증성 질환)을 치료하는 표적화 요법이 필요하다.

[0007] 일부 경우에, 특정 종양의 생존 및 증식은 종양 기질의 백분율 (TSP)에 좌우된다. 높은 TSP는 낮은 TSP에 비해 (각각 >50% vs. $\leq$ 50%), 보다 불량한 장기 환자 생존과 연관될 수 있다. TSP는 또한 종양 재발, 성장 및 전이에 대한 유의한 예후 인자일 수 있다.

[0008] 특정 경우에, 종양 기질에 암-연관 섬유모세포 (CAF)가 풍부하고, 이는 종양발생을 촉진하는 여러 중요한 기능을 수행한다. 이러한 기능은, 비제한적 예로서, 시토키인 분비 및/또는 세포외 매트릭스 (ECM) 생산 및 재형성을 포함한다. 일부 경우에, 이러한 효과는 종양 성장을 촉진하는 혈관신생, 화학요법저항성을 증가시키는 신호 전달 인자, 면역억제 환경을 생성하는 보다 조밀한 ECM, 전이를 유도하는 세포 운동성 증진을 가져온다. 일부 경우에, 이러한 과정은 섬유화 질환에서의 병원성 섬유모세포의 거동과 동등하다.

[0009] 일부 경우에, CAF의 우세한 마커는 섬유모세포 활성화 단백질 알파 (FAP α)이다. 또한, FAP α 는 섬유화 질환, 염증성 질환 및/또는 암 (예를 들어, 섬유증, 류마티스 관절염, 상처 치유 및 암)과 같은 이환 세포 및 조직에

서의 활성화된 섬유모세포의 세포 표면 상에서 (주로) 발견되는 세린 프로테아제이다. 상피 암종의 90% 초과는 면역조직화학적 (IHC) 염색에서 FAP α 발현을 나타낸다. 원발성 신경교종 세포 배양물 및 종양-연관 대식세포 (TAM)의 하위세트에서 추가의 FAP α 발현이 발견되었다. 그러나, 대부분의 성인 조직에서 FAP α 발현은 매우 낮거나 존재하지 않는다. 따라서, 발현은 암종 등 이환 세포의 표면으로 제한되기 때문에, FAP α는 리간드-표적화를 통해 종양에 약리요법제를 선택적으로 전달하기 위한 수용체로서 특유하게 적격화된다.

발명의 내용

- [0010] 화학식 X의 화합물 (예를 들어, 접합체)이 제공된다:
- [0011] $A_m-L-B(X)$
- [0012] 여기서
- [0013] A는 섬유모세포 활성화 단백질 알파 (FAP α) 리간드 (표적화 모이어티) (예를 들어, 10,000 미만의 분자량을 가짐)의 라디칼이고;
- [0014] L은 (예를 들어, L을 A에 연결하는 제1 공유 결합 및 L을 B에 연결하는 제2 공유 결합을 통해) 1개 이상의 A 기를 B에 연결하는 (예를 들어, 이관능화된) 링커이고;
- [0015] B는 영상화제, 광역학 치료제, 방사선-영상화제, 방사선요법제, 화학요법제, 항섬유화제 또는 항암제 (예를 들어, 암 세포 또는 암-연관 섬유모세포, 근섬유모세포 또는 다른 종양 미세환경 인자에 대해 효과적인 항암제) (예를 들어, 그의 라디칼)이고;
- [0016] m은 1-6이다.
- [0017] 또한, 화학식 I의 화합물 (예를 들어, 접합체)이 제공된다:
- [0018] $A-L-B(I)$
- [0019] 여기서
- [0020] A는 FAP α 리간드 (예를 들어, 표적화 모이어티)(예를 들어, 그의 라디칼)를 포함하고;
- [0021] L은 1개 이상의 A 기를 B에 연결하는 (예를 들어, 이관능화된) 링커를 포함하고;
- [0022] B는 광학 영상화제, 광역학 치료제, 방사선-영상화제, 방사선요법제, 화학요법제, 항섬유화제 또는 항암제 (예를 들어, 암 세포 또는 암-연관 섬유모세포, 근섬유모세포 또는 다른 종양 미세환경 인자에 대해 효과적인 항암제)(예를 들어, 그의 라디칼)를 포함한다.
- [0023] 암 또는 섬유증의 영상화를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 화합물을 투여하는 것을 포함하는, 암 또는 섬유증을 갖는 대상체에서 암 또는 섬유증을 영상화하는 방법이 추가로 제공된다.
- [0024] 추가로, 염증성 질환 또는 장애를 앓고 있는 대상체에게 치료 유효량의 화합물을 투여하는 것을 포함하는, 염증성 질환 또는 장애를 치료하는 방법이 제공된다.
- [0025] 또한, 암을 앓고 있는 대상체에게 치료 유효량의 화합물을 투여하는 것을 포함하는, 암을 치료하는 방법이 제공된다.

도면의 간단한 설명

- [0026] 도면은 일반적으로, 비제한적 예로서 본 문헌에서 논의된 다양한 실시양태를 예시한다.
- 도 1은 섬유모세포 활성화 단백질 (FAP) 표적화 리간드의 역합성을 보여준다.
- 도 2는 표적 리간드를 갖는 표적화 화합물의 구조를 보여준다.
- 도 3은 고농도의 섬유모세포 활성화 단백질 (FAP)을 갖는 섬유모세포에 대한, 표적화 리간드의 농도 증가에 따른 (예를 들어, 50 nM (A), 25 nM (B), 12.5 nM (C), 및 6.25 nM (D)) 증가된 결합을 보여준다.
- 도 4는 높은 표면 농도의 FAP를 갖는 섬유모세포에 대한, 단일 농도 표적화 리간드의 1시간 (A), 8시간 (B), 24시간 (C) 및 48시간 (D) 동안의 인큐베이션 후 결합을 보여준다.
- 도 5는 적어도 100배 과량의 경쟁 리간드 존재 하에, 높은 표면 농도의 FAP를 갖는 섬유모세포에 대한 표적화

리간드의 1시간 동안의 결합 (예를 들어, A: 25 nM 표적화 리간드, 2.5 μ M 경쟁자; B: 25 nM 표적화 리간드, 5 μ M 경쟁자)을 보여준다.

도 6은 높은 표면 농도의 FAP가 없는 유사한 섬유모세포에 대한 표적화 리간드의 결합 (예를 들어, 100 nM (A) 및 200 nM (B))을 보여준다.

도 7은 높은 표면 농도의 FAP를 갖는 섬유모세포 (또는 FAP 섬유모세포)에 대한 표적화 리간드의 결합 곡선을 보여준다.

도 8은 FAP 섬유모세포 (표적화 리간드 단독 (원) 및 표적화 리간드 및 경쟁자 (정사각형)) 및 FAP 섬유모세포 (삼각형)에 대한 표적화 리간드의 결합 곡선을 보여준다.

도 9a는 FAP-풍부 환경을 갖는 종양을 갖는 포유동물에의 투여 후 표적화 리간드의 생체내 종양-특이적 표적화를 입증하는 2시간 내지 32시간에 대한 영상화 결과를 도시한다.

도 9b는 FAP-풍부 환경을 갖는 종양을 갖는 포유동물에의 투여 후 표적화 리간드의 생체내 종양-특이적 표적화를 입증하는 48시간 내지 122시간에 대한 영상화 결과를 도시한다.

도 9c는 FAP-풍부 환경을 갖는 종양을 갖는 포유동물 (MDA-MB-231 이종이식 마우스)에의 투여 후 표적화 리간드의 122시간 후의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장 및 위에서의 생체분포를 도시한다. 영상에서 흑색 또는 백색 타원 또는 원은 표적화 리간드가 존재하는 곳을 강조한다. 타원 또는 원 내의 보다 어두운 음영은 타원 또는 원 내의 보다 밝은 음영보다 표적화 리간드의 농도가 보다 높음을 나타낸다.

도 10은 FAP-풍부 환경을 갖는 종양을 갖는 포유동물 (MDA-MB-231 이종이식 마우스)에의 투여 후 표적화 리간드의 2시간 및 6시간 후의 생체내 영상화 (비표지된 경쟁자의 존재 (우측) 및 부재 (좌측)의 두 경우 모두)를 보여준다. 영상에서 흑색 타원 또는 원은 표적화 리간드가 존재하는 곳을 강조한다. 타원 또는 원 내의 보다 어두운 음영은 타원 또는 원 내의 보다 밝은 음영보다 표적화 리간드의 농도가 보다 높음을 나타낸다.

도 11a는 FAP-풍부 환경을 갖는 또 다른 종양을 갖는 포유동물 (KB 이종이식 마우스)에의 투여 후 표적화 리간드의 2시간 내지 32시간에 대한 생체내 영상화를 보여준다.

도 11b는 FAP-풍부 환경을 갖는 또 다른 종양을 갖는 포유동물 (KB 이종이식 마우스)에의 투여 후 표적화 리간드의 48시간 내지 122시간에 대한 생체내 영상화를 보여준다.

도 11c는 FAP-풍부 환경을 갖는 종양을 갖는 포유동물에의 투여 후 표적화 리간드의 122시간에서의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장 및 위에서의 생체분포를 도시한다. 영상에서 흑색 타원 또는 원은 표적화 리간드가 존재하는 곳을 강조한다. 타원 또는 원 내의 보다 어두운 음영은 타원 또는 원 내의 보다 밝은 음영보다 표적화 리간드의 농도가 보다 높음을 나타낸다.

도 12는 FAP-풍부 환경을 갖는 또 다른 종양을 갖는 포유동물 (KB 이종이식 마우스)에의 투여 후 표적화 리간드의 2시간 및 6시간 후의 생체내 영상화 (비표지된 경쟁자의 존재 (우측) 및 부재 (좌측)의 두 경우 모두)를 보여준다. 영상에서 흑색 타원 또는 원은 표적화 리간드가 존재하는 곳을 강조한다. 타원 또는 원 내의 보다 어두운 음영은 타원 또는 원 내의 보다 밝은 음영보다 표적화 리간드의 농도가 보다 높음을 나타낸다.

도 13은 FAP-풍부 환경을 갖는 또 다른 종양을 갖는 포유동물 (KB 이종이식 마우스)에의 투여 후 2시간, 4시간, 6시간, 6시간 (신장 커버 (KC)), 15시간, 24시간 및 122시간의 시점에서의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장 및 위에서의 표적화 리간드의 생체분포를 보여준다. 영상에서의 흑색 또는 백색 화살표, 타원 또는 원은 표적화 리간드가 존재하는 곳을 강조한다. 화살촉에 인접하거나 또는 타원 또는 원 내에서의 보다 어두운 음영은 보다 밝은 음영보다 표적화 리간드의 농도가 보다 높음을 나타낸다.

도 14a는 FAP-풍부 환경을 갖는 또 다른 종양을 갖는 포유동물 (FADu 이종이식 마우스 M1, M2, M3)에의 투여 후 표적화 리간드의 주사 6시간 후의 생체내 영상화를 보여준다.

도 14b는 6시간 후의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장, 근육 및 위에서의 FAP-표적화 화합물의 생체분포를 도시한다.

도 14c는 FAP-풍부 환경을 갖는 또 다른 종양을 갖는 포유동물 (FADu 이종이식 마우스 M1, M2 및 M3)에 대한 주사 6시간 후의, 예시적 FAP-표적화 화합물과 비표지 경쟁자 사이의 경쟁 실험의 생체내 영상화를 나타낸다.

도 14d는 6시간 후의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장, 근육 및 위에서의 FAP-표적화 화합물의 생체분포를

도시한다. 영상에서의 흑색 또는 백색 화살표, 타원 또는 원은 표적화 리간드가 존재하는 곳을 강조한다. 화살촉에 인접하거나 또는 타원 또는 원 내에서의 보다 어두운 음영은 보다 밝은 음영보다 표적화 리간드의 농도가 보다 높음을 나타낸다.

도 15a는 FAP-풍부 환경을 갖는 또 다른 종양을 갖는 포유동물 (HT29 이종이식 마우스, M1, M2 및 M3)에의 투여 후 표적화 리간드의 생체내 영상화를 보여준다.

도 15b는 6시간 후의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장, 근육 및 위에서의 FAP-표적화 화합물의 생체분포를 도시한다. 도 15c는 투여 후 표적화 리간드와 비표지된 경쟁자 사이의 경쟁 실험의 생체내 영상화를 보여준다.

도 15c는 6시간 후의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장, 근육 및 위에서의 FAP-표적화 화합물의 생체분포를 도시한다. 영상에서의 흑색 또는 백색 화살표, 타원 또는 원은 표적화 리간드가 존재하는 곳을 강조한다. 화살촉에 인접하거나 또는 타원 또는 원 내에서의 보다 어두운 음영은 보다 밝은 음영보다 표적화 리간드의 농도가 보다 높음을 나타낸다.

도 15d는 6시간 후의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장, 근육 및 위에서의 FAP-표적화 화합물의 생체분포를 도시한다. 영상에서의 흑색 또는 백색 화살표, 타원 또는 원은 표적화 리간드가 존재하는 곳을 강조한다. HT29 이종이식 마우스에서 화살촉에 인접하거나 또는 타원 또는 원 내에서의 보다 어두운 음영은 보다 밝은 음영보다 표적화 리간드의 농도가 보다 높음을 나타낸다.

도 16a는 FAP-풍부 환경을 갖는 종양을 갖는 포유동물 (KB 종양 이종이식 마우스 (예를 들어, M1, M2 및 M3))에의 투여 후 표적화 리간드의 생체내 영상화를 보여준다.

도 16b는 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장, 근육 및 위에서의 생체분포를 도시한다.

도 16c는 FAP-풍부 환경을 갖는 종양을 갖는 포유동물 (KB 종양 이종이식 마우스 (예를 들어, M1, M2 및 M3))에의 투여 후 표적화 리간드와 비표지된 경쟁자 사이의 경쟁 실험의 생체내 영상화를 보여준다.

도 16d는 경쟁 연구에서의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장, 근육 및 위에서의 생체분포를 도시한다. 영상에서의 흑색 또는 백색 화살표, 타원 또는 원은 표적화 리간드가 존재하는 곳을 강조한다. 화살촉에 인접하거나 또는 타원 또는 원 내에서의 보다 어두운 음영은 보다 밝은 음영보다 표적화 리간드의 농도가 보다 높음을 나타낸다.

도 17a는 FAP-풍부 환경을 갖는 종양을 갖는 포유동물 (MDA-MB-231 종양 이종이식 마우스 (예를 들어, M1, M2 및 M3))에의 투여 후 표적화 리간드의 생체내 영상화를 보여준다.

도 17b는 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장, 근육 및 위에서의 FAP-표적화 화합물의 생체분포를 도시한다.

도 17c는 표적화 리간드와 비표지된 경쟁자 500 nmoI 사이의 경쟁 실험의 생체내 영상화를 도시한다.

도 17d는 경쟁 연구에서의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장, 근육 및 위에서의 FAP-표적화 화합물의 생체분포를 도시한다. 영상에서의 흑색 또는 백색 화살표, 타원 또는 원은 표적화 리간드가 존재하는 곳을 강조한다. 화살촉에 인접하거나 또는 타원 또는 원 내에서의 보다 어두운 음영은 보다 밝은 음영보다 표적화 리간드의 농도가 보다 높음을 나타낸다.

도 18a는 FAP-풍부 환경을 갖는 또 다른 종양을 갖는 포유동물 (U87MG 종양 이종이식 마우스 (예를 들어, M1, M2 및 M3))에의 투여 후 표적화 리간드의 생체내 영상화를 보여준다.

도 18b는 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장, 근육 및 위에서의 FAP-표적화 화합물의 생체분포를 도시한다.

도 18c는 표적화 리간드와 비표지된 경쟁자 사이의 경쟁 실험의 생체내 영상화를 보여준다.

도 18d는 경쟁 연구에서의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장, 근육 및 위에서의 생체분포를 도시한다. 영상에서의 흑색 또는 백색 화살표, 타원 또는 원은 표적화 리간드가 존재하는 곳을 강조한다. 화살촉에 인접하거나 또는 타원 또는 원 내에서의 보다 어두운 음영은 보다 밝은 음영보다 표적화 리간드의 농도가 보다 높음을 나타낸다.

도 19a는 FAP 풍부 환경을 갖는 또 다른 종양을 갖는 포유동물 (PANC1 종양 이종이식 마우스 (예를 들어, M1, M2 및 M3))에의 투여 후 표적화 리간드의 생체내 영상화를 보여준다.

도 19b는 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장, 근육 및 위에서의 FAP-표적화 화합물의 생체분포를 도시한다.

도 19c는 본원에 제공된 표적화 리간드와 비표지된 경쟁자 사이의 경쟁 실험의 생체내 영상화를 보여준다.

도 19d는 경쟁 연구에서의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장, 근육 및 위에서의 생체분포를 예시한다. 영상에서의 흑색 또는 백색 화살표, 타원 또는 원은 표적화 리간드가 존재하는 곳을 강조한다. 화살촉에 인접하거나 또는 타원 또는 원 내에서의 보다 어두운 음영은 보다 밝은 음영보다 표적화 리간드의 농도가 보다 높음을 나타낸다.

도 20a는 FAP-풍부 환경을 갖는 또 다른 종양을 갖는 포유동물 (4T1 종양 이종이식 마우스)에의 투여 후 표적화 리간드의 주사 2시간 후의 생체내 영상화를 보여준다.

도 20b는 6시간 후의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장, 근육 및 위에서의 FAP-표적화 화합물의 생체분포를 도시한다. 영상에서의 흑색 또는 백색 화살표, 타원 또는 원은 표적화 리간드가 존재하는 곳을 강조한다. 화살촉에 인접하거나 또는 타원 또는 원 내에서의 보다 어두운 음영은 보다 밝은 음영보다 표적화 리간드의 농도가 보다 높음을 나타낸다.

도 20c는 6시간 후의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장, 근육 및 위에서의 FAP-표적화 화합물의 생체분포를 도시한다. 영상에서의 흑색 또는 백색 화살표, 타원 또는 원은 표적화 리간드가 존재하는 곳을 강조한다. 4T1 이종이식 마우스에서 화살촉에 인접하거나 또는 타원 또는 원 내에서의 보다 어두운 음영은 보다 밝은 음영보다 표적화 리간드의 농도가 보다 높음을 나타낸다.

도 21은 HEK-FAP 세포에서의 표적화 리간드에 대한 치환 결합 곡선을 보여준다.

도 22는 HEK-FAP 세포에서의 표적화 리간드에 대한 치환 결합 곡선을 보여준다.

도 23은 포스포이노시티드 3-키나제 억제제 (PI3Ki) 또는 본원에 제공된 표적화 화합물의 처리 (예를 들어, 1 nM, 10 nM 또는 100 nM의 농도) 후 형질전환 성장 인자 (TGF)- β -자극된 인간 폐 섬유모세포에서의 Akt (단백질 키나제 B)의 인산화 수준에 대한 웨스턴 블롯을 보여준다.

도 24는 포스포이노시티드 3-키나제 억제제 (PI3Ki) 또는 본원에 제공된 표적화 화합물의 처리 (예를 들어, 1 nM, 10 nM, 또는 100 nM의 농도) 후 형질전환 성장 인자 (TGF)- β -자극된 인간 폐 섬유모세포에서의 콜라겐 1A1 mRNA의 발현의 상대 변화를 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0027] 정의

[0028] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 과학 용어는 화학 및 생물학적 기술분야의 통상의 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 추가로, 본 명세서 및 첨부된 청구범위에 사용된 단수 형태는 문맥이 달리 명백하게 지시하지 않는 한 복수 지시대상을 포함한다. 따라서, 예를 들어, 화합물/조성물이 "단수 형태" 알킬 또는 아릴로 치환된 경우, 화합물/조성물은 하나 이상의 알킬 및/또는 하나 이상의 아릴로 임의로 치환된다. 또한, 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 용어 "약"은 백분율에 대해 플러스 또는 마이너스 10% 값의 범위, 및 단위 값에 대해 플러스 또는 마이너스 1.0 단위 값의 범위를 지칭하고, 예를 들어 약 1.0은 0.9 내지 1.1의 값의 범위를 지칭한다.

[0029] 치료에서의 사용과 관련한 화합물의 "치료 유효량" (또는 "유효량")은, (포유동물, 예컨대 인간에게) 목적하는 투여 요법의 일부로서 투여되는 경우에, 치료될 장애 또는 상태 또는 미용 목적에 대해 임상적으로 허용되는 표준에 따라, 예를 들어 임의의 의학적 치료에 적용가능한 합리적인 이익/위험 비로, 증상을 완화시키거나, 상태를 호전시키거나, 또는 질환 상태의 발병을 늦추는, 제제 중에서의 화합물의 양을 지칭한다.

[0030] 용어 "예방적 또는 치료적" 치료는 관련 기술분야에 인식되어 있으며, 본 개시내용의 하나 이상의 화합물을 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 원치 않는 상태 (예를 들어, 숙주 동물의 질환 또는 다른 원치 않는 상태)의 임상적 징후 이전에 투여되는 경우, 치료는 예방적이며 (즉, 원치 않는 상태의 발생에 대해 숙주를 보호함), 한편 원치 않는 상태의 징후 이후에 투여되는 경우, 치료는 치료적이다 (즉, 기존의 원치 않는 상태 또는 그의 부작용을 감소, 개선 또는 안정화시키도록 의도됨).

[0031] 용어 "환자", "개체" 또는 "대상체"는 특정한 치료를 필요로 하는 포유동물을 지칭한다. 환자 또는 대상체는 영장류, 개, 고양이 또는 말일 수 있다. 환자 또는 대상체는 조류일 수 있다. 조류는 축화계, 예컨대 닭일 수 있다. 조류는 가금류일 수 있다. 환자 또는 대상체는 인간일 수 있다.

- [0032] "옥소"는 =O 라디칼을 지칭한다.
- [0033] "알킬"은 일반적으로 탄소 및 수소 원자만으로 이루어진, 예컨대 1 내지 15개의 탄소 원자를 갖는 직쇄형 또는 분지형 탄화수소쇄 라디칼을 지칭한다 (예를 들어, C₁-C₁₅ 알킬). 본원에 제공된 "알킬"의 개시내용은 달리 언급되지 않는 한 포화 "알킬"의 독립적인 인용을 포함하는 것으로 의도된다. 알킬은 1 내지 13개의 탄소 원자를 포함할 수 있다 (예를 들어, C₁-C₁₃ 알킬). 알킬은 1 내지 8개의 탄소 원자를 포함할 수 있다 (예를 들어, C₁-C₈ 알킬). 알킬은 1 내지 5개의 탄소 원자를 포함할 수 있다 (예를 들어, C₁-C₅ 알킬). 알킬은 1 내지 4개의 탄소 원자를 포함할 수 있다 (예를 들어, C₁-C₄ 알킬). 알킬은 1 내지 3개의 탄소 원자를 포함할 수 있다 (예를 들어, C₁-C₃ 알킬). 알킬은 1 내지 2개의 탄소 원자를 포함할 수 있다 (예를 들어, C₁-C₂ 알킬). 알킬은 1개의 탄소 원자를 포함할 수 있다 (예를 들어, C₁ 알킬). 알킬은 5 내지 15개의 탄소 원자를 포함할 수 있다 (예를 들어, C₅-C₁₅ 알킬). 알킬은 5 내지 8개의 탄소 원자를 포함할 수 있다 (예를 들어, C₅-C₈ 알킬). 알킬은 2 내지 5개의 탄소 원자를 포함할 수 있다 (예를 들어, C₂-C₅ 알킬). 알킬은 3 내지 5개의 탄소 원자를 포함할 수 있다 (예를 들어, C₃-C₅ 알킬). 다른 실시양태에서, 알킬 기는 메틸, 에틸, 1-프로필 (n-프로필), 1-메틸에틸 (이소-프로필), 1-부틸 (n-부틸), 1-메틸프로필 (sec-부틸), 2-메틸프로필 (이소-부틸), 1,1-디메틸에틸 (tert-부틸), 1-펜틸 (n-펜틸)로부터 선택된다. 알킬은 단일 결합에 의해 분자의 나머지에 부착된다.
- [0034] "알콕시"는 화학식 -O-알킬의 산소 원자를 통해 결합된 라디칼을 지칭하며, 여기서 알킬은 상기 정의된 바와 같은 알킬쇄이다.
- [0035] "알킬렌" 또는 "알킬렌쇄"는 일반적으로 분자의 나머지를, 예컨대 1 내지 12개의 탄소 원자를 갖는 라디칼 기에 연결하는 직쇄형 또는 분지형 2가 알킬 기, 예를 들어 메틸렌, 에틸렌, 프로필렌, i-프로필렌, n-부틸렌 등을 지칭한다.
- [0036] "아릴"은 고리 탄소 원자로부터 수소 원자를 제거함으로써 방향족 모노시클릭 또는 멀티시클릭 탄화수소 고리계로부터 유도된 라디칼을 지칭한다. 방향족 모노시클릭 또는 멀티시클릭 탄화수소 고리계는 수소 및 5 내지 18개의 탄소 원자의 탄소만을 함유하며, 여기서 고리계 내의 고리 중 적어도 하나는 완전 불포화이고, 즉 이는 휘켈 이론에 따른 시클릭 비편재화 (4n+2) π -전자계를 함유한다. 아릴 기가 유도되는 고리계는 벤젠, 플루오렌, 인단, 인텐, 테트라린 및 나프탈렌 등의 기를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0037] "아르알킬" 또는 "아릴-알킬"은 화학식 -R^c-아릴의 라디칼을 지칭하고, 여기서 R^c는 상기 정의된 바와 같은 알킬렌쇄, 예를 들어 메틸렌, 에틸렌 등이다. 아르알킬 라디칼의 알킬렌쇄 부분은 알킬렌쇄에 대해 상기 기재된 바와 같이 임의로 치환된다.
- [0038] "카르보시클릴" 또는 "시클로알킬"은 3 내지 15개의 탄소 원자를 갖는 융합 또는 가교된 고리계를 포함하는, 탄소 및 수소 원자만으로 이루어진 안정한 비-방향족 모노시클릭 또는 폴리시클릭 탄화수소 라디칼을 지칭한다. 카르보시클릴은 3 내지 10개의 탄소 원자를 포함할 수 있다. 카르보시클릴은 5 내지 7개의 탄소 원자를 포함할 수 있다. 카르보시클릴은 단일 결합에 의해 분자의 나머지에 부착된다. 카르보시클릴 또는 시클로알킬은 포화 (즉, 단일 C-C 결합만을 함유함) 또는 불포화 (즉, 1개 이상의 이중 결합 또는 삼중 결합을 함유함)이다. 포화 시클로알킬의 예는, 예를 들어 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로헥실, 시클로헵틸 및 시클로옥틸을 포함한다. 불포화 카르보시클릴은 또한 "시클로알케닐"로 지칭된다. 모노시클릭 시클로알케닐의 예는, 예를 들어 시클로펜테닐, 시클로헥세닐, 시클로헵테닐 및 시클로옥테닐을 포함한다. 폴리시클릭 카르보시클릴 라디칼은, 예를 들어 아다만틸, 노르보르닐 (즉, 비시클로[2.2.1]헵타닐), 노르보르네닐, 데칼리닐, 7,7-디메틸-비시클로[2.2.1]헵타닐 등을 포함한다.
- [0039] "카르보시클릴알킬"은 화학식 -R^c-카르보시클릴의 라디칼을 지칭하고, 여기서 R^c는 상기 정의된 바와 같은 알킬렌쇄이다.
- [0040] "할로" 또는 "할로겐"은 브로모, 클로로, 플루오로 또는 아이오도 치환기를 지칭한다.
- [0041] "할로알킬"은 상기 정의된 바와 같은 하나 이상의 할로겐 라디칼에 의해 치환된 상기 정의된 바와 같은 알킬 라디칼, 예를 들어 트리플루오로메틸, 디플루오로메틸, 플루오로메틸, 2,2,2-트리플루오로에틸, 1-플루오로메틸-2-플루오로에틸 등을 지칭한다.

- [0042] 용어 "헤테로알킬"은 알킬의 1개 이상의 골격 탄소 원자가 헤테로원자로 치환된 상기 정의된 바와 같은 알킬 기를 지칭한다 (적절한 수의 치환기 또는 원자가로 - 예를 들어, $-CH_2-$ 가 $-NH-$ 또는 $-O-$ 로 대체될 수 있음). 예를 들어, 각각의 치환되는 탄소 원자는 독립적으로 헤테로원자로 치환되고, 예컨대 여기서 탄소는 질소, 산소, 셀레늄, 또는 다른 적합한 헤테로원자로 치환된다. 일부 경우에, 각각의 치환되는 탄소 원자는 산소, 질소 (예를 들어, $-NH-$, $-N(알킬)-$ 또는 $-N(아릴)-$ 또는 본원에서 고려되는 또 다른 치환기를 가짐) 또는 황 (예를 들어, $-S-$, $-S(=O)-$ 또는 $-S(=O)_2-$)으로 독립적으로 치환된다. 헤테로알킬은 헤테로알킬의 탄소 원자에서 분자의 나머지에 부착된다. 헤테로알킬은 헤테로알킬의 헤테로원자에서 분자의 나머지에 부착된다. 헤테로알킬은 C_1-C_{18} 헤테로알킬이다. 헤테로알킬은 C_1-C_{12} 헤테로알킬이다. 헤테로알킬은 C_1-C_6 헤테로알킬이다. 헤테로알킬은 C_1-C_4 헤테로알킬이다. 헤테로알킬은 본원에 정의된 바와 같은 알콕시, 알콕시알킬, 알킬아미노, 알킬아미노알킬, 아미노알킬, 헤테로시클로알킬, 헤테로시클로알킬 및 헤테로시클로알킬알킬을 포함할 수 있다.
- [0043] "헤테로알킬렌"은 분자의 한 부분을 분자의 또 다른 부분에 연결하는 상기 정의된 2가 헤테로알킬 기를 지칭한다.
- [0044] "헤테로시클릴"은 2 내지 12개의 탄소 원자, 및 질소, 산소 및 황으로부터 선택된 1 내지 6개의 헤테로원자를 포함할 수 있는 안정한 3- 내지 18-원 비-방향족 고리 라디칼을 지칭한다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 헤테로시클릴 라디칼은 모노시클릭, 비시클릭, 트리시클릭 또는 테트라시클릭 고리계이고, 이는 임의로 방향족, 융합된 및/또는 가교된 고리계를 포함한다. 헤테로시클릴 라디칼 내의 헤테로원자는 임의로 산화된다. 헤테로시클릴 라디칼은 부분적으로 또는 완전히 포화된다. 본원에 제공된 "헤테로시클릴"의 개시내용은 달리 언급되지 않는 한 방향족 및 비-방향족 고리 구조를 포함하는 헤테로시클릴의 독립적인 인용을 포함하는 것으로 의도된다. 헤테로시클릴은 고리(들)의 임의의 원자를 통해 분자의 나머지에 부착된다. 이러한 헤테로시클릴 라디칼의 예는 디옥솔라닐, 티에닐[1,3]디티아닐, 테카히드로이소퀴놀릴, 이미다졸리닐, 1,3-벤조디옥솔릴, 1,4-벤조디옥사닐, 테트라히드로퀴놀리닐, 5,6,7,8-테트라히드로퀴나졸리닐, 5,6,7,8-테트라히드로벤조[4,5]티에노[2,3-d]피리미디닐, 6,7,8,9-테트라히드로-5H-시클로헵타[4,5]티에노[2,3-d]피리미디닐, 5,6,7,8-테트라히드로피리도[4,5-c]피리다지닐, 인돌리닐, 이소인돌리닐, 이미다졸리디닐, 이소티아졸리디닐, 이속사졸리디닐, 모르폴리닐, 옥타히드로인돌릴, 옥타히드로이소인돌릴, 2-옥소피페라지닐, 2-옥소피페리디닐, 2-옥소피롤리디닐, 옥사졸리디닐, 피페리디닐, 피페라지닐, 4-피페리도닐, 피롤리디닐, 피라졸리디닐, 퀴누클리디닐, 티아졸리디닐, 테트라히드로푸릴, 트리티아닐, 테트라히드로피라닐, 티오모르폴리닐, 티아모르폴리닐, 1-옥소-티오모르폴리닐 및 1,1-디옥소-티오모르폴리닐을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0045] "N-헤테로시클릴" 또는 "N-부착 헤테로시클릴"은 적어도 1개의 질소를 함유하는 상기 정의된 바와 같은 헤테로시클릴 라디칼을 지칭하고, 여기서 분자의 나머지에 대한 헤테로시클릴 라디칼의 부착 지점은 헤테로시클릴 라디칼 내의 질소 원자를 통한다. 이러한 N-헤테로시클릴 라디칼의 예는 1-모르폴리닐, 1-피페리디닐, 1-피페라지닐, 1-피롤리디닐, 피라졸리디닐, 이미다졸리닐 및 이미다졸리디닐을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0046] "헤테로아릴"은 2 내지 17개의 탄소 원자, 및 질소, 산소 및 황으로부터 선택된 1 내지 6개의 헤테로원자를 포함할 수 있는 3- 내지 18-원 방향족 고리 라디칼로부터 유도된 라디칼을 지칭한다. 본원에 사용된 헤테로아릴 라디칼은 모노시클릭, 비시클릭, 트리시클릭 또는 테트라시클릭 고리계이고, 여기서 고리계 내의 고리 중 적어도 하나는 완전 불포화이고, 즉 이는 휘켈 이론에 따른 시클릭 비편재화 $(4n+2) \pi$ -전자계를 함유한다. 헤테로아릴은 융합된 또는 가교된 고리계를 포함한다. 헤테로아릴 라디칼 내의 헤테로원자(들)는 임의로 산화된다. 1개 이상의 질소 원자는, 존재하는 경우에, 임의로 4급화된다. 헤테로아릴은 고리(들)의 임의의 원자를 통해 분자의 나머지에 부착된다. 헤테로아릴의 예는 아제피닐, 아크리디닐, 벤즈이미다졸릴, 벤즈인돌릴, 벤조푸라닐, 벤조옥사졸릴, 벤조[d]티아졸릴, 벤조티아디아졸릴, 벤조[b][1,4]디옥세피닐, 벤조[b][1,4]옥사지닐, 벤조나프토프라닐, 벤조사졸릴, 벤조디옥솔릴, 벤조디옥시닐, 벤조피라닐, 벤조피라노닐, 벤조푸라닐, 벤조푸라노닐, 벤조티에닐 (벤조티오페닐), 벤조티에노[3,2-d]피리미디닐, 벤조트리아졸릴, 벤조[4,6]이미다조[1,2-a]피리디닐, 카르바졸릴, 신놀리닐, 시클로헵타[d]피리미디닐, 6,7-디히드로-5H-시클로헵타[4,5]티에노[2,3-d]피리미디닐, 5,6-디히드로벤조[h]퀴나졸리닐, 5,6-디히드로벤조[h]신놀리닐, 6,7-디히드로-5H-벤조[6,7]시클로헵타[1,2-c]피리다지닐, 디벤조푸라닐, 디벤조티오페닐, 푸라닐, 푸라노닐, 푸로[3,2-c]피리디닐, 5,6,7,8,9,10-헥사히드로시클로옥타[d]피리미디닐, 5,6,7,8,9,10-헥사히드로시클로옥타[d]피리다지닐, 5,6,7,8,9,10-헥사히드로시클로옥타[d]피리디닐, 이소티아졸릴, 이미다졸릴, 인다졸릴, 인돌릴, 인다졸릴, 이소인돌릴, 이소퀴놀릴, 인돌리지닐, 이속사졸릴, 5,8-메타노-5,6,7,8-테트라히드로퀴나졸리닐, 나프티리디닐, 1,6-나프티리디노닐, 옥사디아졸릴, 2-옥소아제피닐, 옥사졸릴, 옥시라닐, 5,6,6a,7,8,9,10,10a-옥타히드로벤조

[h]퀴나졸리닐, 1-페닐-1H-피롤릴, 페나지닐, 페노티아지닐, 페녹사지닐, 프탈라지닐, 프테리디닐, 퓨리닐, 피롤릴, 피라졸릴, 피라졸로[3,4-d]피리미디닐, 피리디닐, 피리도[3,2-d]피리미디닐, 피리도[3,4-d]피리미디닐, 피라지닐, 피리미디닐, 피리다지닐, 피롤릴, 퀴나졸리닐, 퀴녹살리닐, 퀴놀리닐, 이소퀴놀리닐, 티아졸릴, 티아디아졸릴, 트리아졸릴, 테트라졸릴, 트리아지닐, 티에노[2,3-d]피리미디닐, 티에노[3,2-d]피리미디닐, 티에노[2,3-c]피리디닐 및 티오펜일 (즉, 티에닐)을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0047] 본원에 개시된 화합물은 1개 이상의 비대칭 중심을 함유할 수 있고, 따라서 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 및 절대 입체화학의 관점에서 (R)- 또는 (S)-로서 정의되는 기타 입체이성질체 형태를 생성할 수 있다. 달리 언급되지 않는 한, 본원에 개시된 화합물의 모든 입체이성질체 형태가 본 개시내용에 의해 고려되는 것으로 의도된다. 본원에 기재된 화합물이 알켄 이중 결합을 함유하는 경우, 달리 명시되지 않는 한, 본 개시내용은 E 및 Z 기하 이성질체 (예를 들어, 시스 또는 트랜스) 둘 다를 포함하는 것으로 의도된다. 마찬가지로, 모든 가능한 이성질체, 뿐만 아니라 그의 라세미 및 광학적으로 순수한 형태, 및 모든 호변이성질체 형태가 또한 포함되는 것으로 의도된다. 용어 "기하 이성질체"는 알켄 이중 결합의 E 또는 Z 기하 이성질체 (예를 들어, 시스 또는 트랜스)를 지칭한다. 용어 "위치 이성질체"는 중앙 고리 둘레의 구조 이성질체, 예컨대 벤젠 고리 둘레의 오르토-, 메타-, 및 파라- 이성질체를 지칭한다.

[0048] 본원에 사용된 용어 "링커"는 일반적으로 A (예를 들어, 결합 리간드) 및/또는 B (예를 들어, 치료제 또는 영상화제)와 화학 결합을 형성하는 화합물의 부분을 지칭한다. 특히, "링커"는 분자의 2개 이상의 기능적 부분을 연결하여 본원에 제공된 화합물을 형성할 수 있다. 예시적으로, 링커는 C, N, O, S, Si 및 P; C, N, O, S 및 P; 또는 C, N, O 및 S로부터 선택된 원자를 포함할 수 있다. 링커는 화합물, 예컨대 FAP 리간드 및 PI3K 억제제의 상이한 기능적 능력을 연결할 수 있다. 링커는 예를 들어 연속된 백본에 약 2 내지 약 100개 원자 범위의 여러 개의 링커 기를 포함할 수 있다. 링커는 방출성 링커일 수 있다. 링커는 비-방출성 링커일 수 있다.

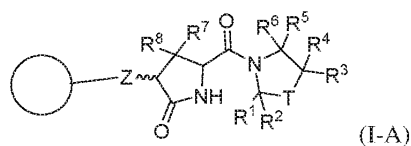
[0049] 화합물은 1가 접합체 (예를 들어, 1개의 결합 리간드 (본원의 다른 곳에 기재된 바와 같음, 예를 들어, 1개의 FAP-결합 리간드)를 포함하는 화합물)일 수 있다. 화합물은 2가 접합체 (예를 들어, 치료제 또는 영상화제에 (예를 들어, 링커를 통해)(본원의 다른 곳에 기재된 바와 같음) 접합된 1개 이상의 결합 리간드 (본원의 다른 곳에 기재된 바와 같음, 예를 들어 1개 이상의 FAP-결합 리간드)를 포함하는 화합물)일 수 있다. 화합물은 다가 접합체 (예를 들어, 다중점 링커에 접합된 2개 이상의 결합 리간드 (본원의 다른 곳에 기재된 바와 같음, 예를 들어, 2개 이상의 FAP-결합 리간드)를 포함하는 화합물)일 수 있다.

[0050] 결합 리간드 (본원에서 표적화 리간드 또는 표적화 모이어티로도 지칭됨)는 특정한 세포, 조직, 기관 등에 국제화된 생물학적 분자 (예를 들어, 폴리펩티드 (예를 들어, 효소))에 결합하는 화합물 (또는 그의 라디칼)일 수 있다. 결합 리간드는 섬유모세포 활성화 단백질 (FAP) 리간드 (또는 그의 라디칼)일 수 있다. 결합 리간드는 섬유모세포 활성화 단백질 알파 (FAP α) 리간드 (또는 그의 라디칼)일 수 있다.

[0051] 치료제 (또는 그의 라디칼)는 바람직한 생리학적 반응을 생성할 수 있는 임의의 실체일 수 있다. 치료제 (또는 그의 라디칼)는 항섬유화제, 항암제, 화학요법제, 방사선요법제 등일 수 있다. 치료제는 암 세포 또는 섬유화 유발 세포 (예를 들어, 암-연관 섬유모세포, 근섬유모세포 등 (예를 들어, 다른 종양 미세환경 인자))에 대해 효과적인 (예를 들어, 그의 제거, 파괴, 감소 (예를 들어, 그의 양의 감소) 또는 그의 영향의 감소에 효과적인) 화합물 (예를 들어, 또는 그의 라디칼)일 수 있다. 치료제 (또는 그의 라디칼)의 예는 광역학 치료제, 방사선요법제, 화학요법제, 항섬유화제 및 항암제를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 본원에 제공된 치료제는 포스포이노시티드-3-키나제 (PI3K) 억제제 (또는 그의 라디칼)일 수 있다. 치료제는 항암제 (또는 그의 라디칼)일 수 있다. 치료제는 항섬유화제 (또는 그의 라디칼)일 수 있다. 치료제는 종양 성장 인자 (TGF) β /Smad 억제제, Wnt/ β -카테닌 억제제, 키나제 억제제 (예를 들어, 혈관 내피 성장 인자 수용체 (VEGFR)에 대한 키나제 억제제, 섬유모세포 성장 인자 수용체 (FGFR)에 대한 키나제 억제제, 혈소판-유래 성장 인자 수용체 (PDGFR)에 대한 키나제 억제제, 초점 부착 키나제 (FAK)에 대한 키나제 억제제, 또는 Rho-연관 단백질 키나제 (ROCK)에 대한 키나제 억제제), 톨-유사 수용체 효능제 (TLR), 활성화 B 세포의 핵 인자 카파-경쇄-증진제 (NF- κ B) 억제제, 콜라겐 합성의 억제제, 및 포스포이노시티드-3-키나제 (PI3K) 억제제로부터 선택된 화합물 (또는 그의 라디칼)일 수 있다. 치료제는 포스포이노시티드-3-키나제 (PI3K) 억제제 (또는 그의 라디칼)일 수 있다.

[0052] 영상화제는 검출가능한 신호 (예를 들어, 전자기 신호 (예를 들어, 라디오 신호, 형광 신호, 감마선) 또는 질량)를 방출하는 화합물 (또는 그의 라디칼)일 수 있다. 영상화제의 예는 방사성-영상화제 (예를 들어, PET 영상화제 또는 SPECT 영상화제), 형광 영상화제 (예를 들어, 형광 염료) 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

- [0053] 화합물
- [0054] 화학식 X의 화합물 (예를 들어, 접합체)이 제공된다:
- [0055] A_m-L-B (X)
- [0056] 여기서
- [0057] A는 섬유모세포 활성화 단백질 알파 (FAP α) 리간드 (표적화 모이어티) (예를 들어, 10,000 미만의 분자량을 가짐)의 라디칼이고;
- [0058] L은 (예를 들어, L을 A에 연결하는 제1 공유 결합 및 L을 B에 연결하는 제2 공유 결합을 통해) 1개 이상의 A 기를 B에 연결하는 (예를 들어, 이관능화된) 링커이고;
- [0059] B는 광학 영상화제, 광역학 치료제, 방사선-영상화제, 방사선요법제, 화학요법제, 항섬유화제 또는 항암제 (예를 들어, 암 세포 또는 암-연관 섬유모세포, 근섬유모세포 또는 다른 종양 미세환경 인자에 대해 효과적인 항암제)(예를 들어, 그의 라디칼)이고;
- [0060] m은 1-6이다.
- [0061] A는 10,000 미만, 7,500 미만, 5,000 미만, 2,500 미만, 1,000 미만, 760 미만, 500 미만; 약 500 내지 약 10,000 g/mol, 약 1,000 내지 약 7,500 g/mol, 약 750 g/mol 내지 약 1,500 g/mol, 약 1000 내지 약 5,000 g/mol 또는 약 500 내지 약 2,500 g/mol의 분자량을 갖는 FAP α 리간드의 라디칼일 수 있다.
- [0062] m은 1일 수 있다. m은 2일 수 있다. m은 3일 수 있다. m은 4일 수 있다. m은 5일 수 있다. m은 6일 수 있다. m은 1 내지 3, 2 내지 4, 1 내지 5일 수 있다.
- [0063] 본 개시내용은 또한 화학식 I의 화합물 (예를 들어, 접합체)에 관한 것이다:
- [0064] $A-L-B$ (I)
- [0065] 여기서
- [0066] A는 FAP α 리간드 (예를 들어, 표적화 모이어티)(예를 들어, 그의 라디칼)를 포함하고;
- [0067] L은 1개 이상의 A 기를 B에 연결하는 (예를 들어, 이관능화된) 링커를 포함하고;
- [0068] B는 광학 영상화제, 광역학 치료제, 방사선-영상화제, 방사선요법제, 화학요법제, 항섬유화제 또는 항암제 (예를 들어, 암 세포 또는 암-연관 섬유모세포, 근섬유모세포 또는 다른 종양 미세환경 인자에 대해 효과적인 항암제)(예를 들어, 그의 라디칼)를 포함한다.
- [0069] 표적화 모이어티는 FAP α 를 발현하는 활성화된 섬유모세포에 결합할 수 있고, 이러한 활성화된 섬유모세포는 암 또는 염증성 질환에 관여한다. 표적화 모이어티는 10,000 미만의 분자량을 가질 수 있다. L은 이관능성 링커를 포함할 수 있다. (예를 들어, 생물관능화된) 링커는 A 및 B와 화학 결합을 형성할 수 있다. L은 (예를 들어, L을 A에 연결하는 제1 공유 결합 및 L을 B에 연결하는 제2 공유 결합을 통해) 1개 이상의 A 기를 B에 연결하는 (예를 들어, 이관능화된) 링커일 수 있다. B는 영상화제, 방사선-영상화제, 광역학 치료제, 화학요법제, 항섬유화제 및/또는 방사선요법제 (예를 들어, 그의 라디칼)를 포함할 수 있으며, 여기서 B는 암 세포 또는 암-연관 섬유모세포, 근섬유모세포 또는 다른 종양 미세환경 인자에 대해 효과적인 항암제이다.
- [0070] A는 화학식 I-A에 의해 나타내어지는 구조, 뿐만 아니라 그의 입체이성질체 및 제약상 허용되는 염을 가질 수 있다:



[0071]

[0072] 여기서



[0073] 은 관능화된 5- 내지 10-원 N-함유 방향족 또는 비-방향족 모노- 또는 비시클릭 헤테로사이클이고, 상

기 헤테로사이클은 산소, 질소 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 추가로 포함하고;

[0074] Z는 결합, 치환 또는 비치환된 알킬렌 (예를 들어, $-\text{CH}_2-$), 치환 또는 비치환된 아미노 (예를 들어, $-\text{NH}-$), $-\text{O}-$ 또는 $-\text{S}-$ 이고;

[0075] T는 치환 또는 비치환된 메틸렌 ($-\text{CH}_2-$), 치환 또는 비치환된 아미노 ($-\text{NH}-$), $-\text{O}-$ 또는 $-\text{S}-$ 이고;

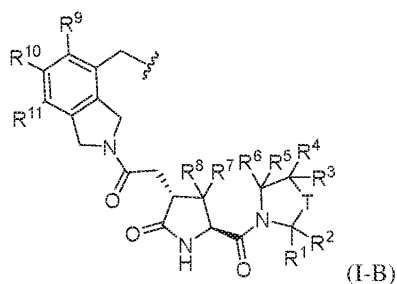
[0076] R^1 및 R^2 는 각각 독립적으로 $-\text{H}$, $-\text{CN}$, $-\text{CHO}$, $-\text{B}(\text{OH})_2$, $-\text{C}(\text{O})$ 알킬, $-\text{C}(\text{O})$ 아릴, $-\text{C}=\text{C}-\text{C}(\text{O})$ 아릴, $-\text{C}=\text{C}-\text{S}(\text{O})_2$ 아릴, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{SO}_2\text{NH}_2$, $-\text{PO}_3\text{H}_2$, $-\text{SO}_2\text{F}$ 및 5-테트라졸릴로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0077] R^3 및 R^4 는 각각 독립적으로 $-\text{H}$, $-\text{OH}$, F, Cl, Br, I, $-\text{C}_{1-6}$ 알킬, $-\text{O}-\text{C}_{1-6}$ 알킬, 및 $-\text{S}-\text{C}_{1-6}$ 알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0078] R^5 , R^6 , R^7 , 및 R^8 은 각각 독립적으로 H, 알킬 및 할로로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0079] 은 FAP α 결합 리간드의 부착 지점 (예를 들어, 링커 L을 통해, 또는 영상화제/치료제 모이어티 B)이고, 여기서 부착 지점은 5- 내지 10-원 N-함유 방향족 또는 비-방향족 모노- 또는 비시클릭 헤테로사이클의 임의의 탄소 원자 또는 1° , 2° 아민을 통하거나 또는 관능화된 알킬 또는 시클로알킬 모티프를 통한 것일 수 있다.

[0080] A는 화학식 I-B에 의해 나타내어지는 구조를 가질 수 있다:



[0081]

[0082] T는 치환 또는 비치환된 메틸렌 ($-\text{CH}_2-$), 치환 또는 비치환된 아미노 ($-\text{NH}-$), $-\text{O}-$ 또는 $-\text{S}-$ 이고;

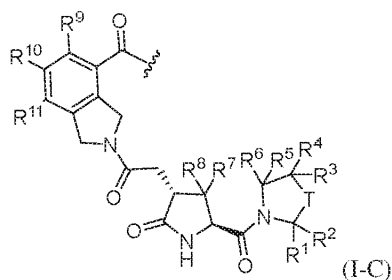
[0083] R^1 및 R^2 는 각각 독립적으로 $-\text{H}$, $-\text{CN}$, $-\text{CHO}$, $-\text{B}(\text{OH})_2$, $-\text{C}(\text{O})$ 알킬, $-\text{C}(\text{O})$ 아릴, $-\text{C}=\text{C}-\text{C}(\text{O})$ 아릴, $-\text{C}=\text{C}-\text{S}(\text{O})_2$ 아릴, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{SO}_2\text{NH}_2$, $-\text{PO}_3\text{H}_2$, $-\text{SO}_2\text{F}$ 및 5-테트라졸릴로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0084] R^3 및 R^4 는 각각 독립적으로 $-\text{H}$, $-\text{OH}$, F, Cl, Br, I, $-\text{C}_{1-6}$ 알킬, $-\text{O}-\text{C}_{1-6}$ 알킬, 및 $-\text{S}-\text{C}_{1-6}$ 알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0085] R^5 , R^6 , R^7 , 및 R^8 은 각각 독립적으로 H, 알킬 및 할로로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0086] R^9 , R^{10} , 및 R^{11} 은 각각 독립적으로 H, $-\text{C}_{1-6}$ 알킬, $-\text{O}-\text{C}_{1-6}$ 알킬, $-\text{S}-\text{C}_{1-6}$ 알킬, F, Cl, Br 및 I로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0087] A는 화학식 I-C에 의해 나타내어지는 구조를 가질 수 있다:



[0088]

[0089] T는 치환 또는 비치환된 메틸렌 (-CH₂-), 치환 또는 비치환된 아미노 (-NH-), -O- 또는 -S-이고;

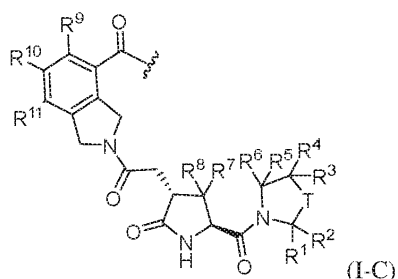
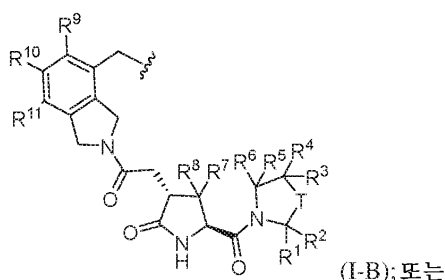
[0090] R¹ 및 R²는 각각 독립적으로 -H, -CN, -CHO, -B(OH)₂, -C(O)알킬, -C(O)아릴-, -C=C-C(O)아릴, -C=C-S(O)₂아릴, -CO₂H, -SO₃H, -SO₂NH₂, -PO₃H₂, -SO₂F, 및 5-테트라졸릴로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0091] R³ 및 R⁴는 각각 독립적으로 -H, -OH, F, Cl, Br, I, -C₁₋₆알킬, -O-C₁₋₆알킬, 및 -S-C₁₋₆알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0092] R⁵, R⁶, R⁷, 및 R⁸은 각각 독립적으로 H, 알킬 및 할로로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0093] R⁹, R¹⁰, 및 R¹¹은 각각 독립적으로 H, -C₁₋₆알킬, -O-C₁₋₆알킬, -S-C₁₋₆알킬, F, Cl, Br 및 I로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0094] A는 하기 화학식에 의해 나타내어지는 구조를 가질 수 있다:



[0095]

[0096] 여기서 T는 치환 또는 비치환된 메틸렌 (-CH₂-), 치환 또는 비치환된 아미노 (-NH-), -O-, 또는 -S-이고;

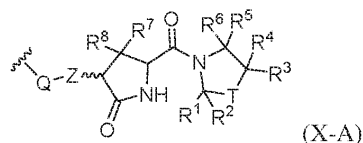
[0097] R¹ 및 R²는 각각 독립적으로 -H, -CN, -CHO, -B(OH)₂, -C(O)알킬, -C(O)아릴-, -C=C-C(O)아릴, -C=C-S(O)₂아릴, -CO₂H, -SO₃H, -SO₂NH₂, -PO₃H₂, -SO₂F, 및 5-테트라졸릴로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0098] R³ 및 R⁴는 각각 독립적으로 -H, -OH, F, Cl, Br, I, -C₁₋₆알킬, -O-C₁₋₆알킬, 및 -S-C₁₋₆알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0099] R⁵, R⁶, R⁷, 및 R⁸은 각각 독립적으로 H, 알킬 및 할로로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0100] R^9 , R^{10} , 및 R^{11} 은 각각 독립적으로 H, $-C_{1-6}$ 알킬, $-O-C_{1-6}$ 알킬, $-S-C_{1-6}$ 알킬, F, Cl, Br 및 I로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0101] A는 화학식 X-A에 의해 나타내어지는 구조를 가질 수 있다:



[0102]

[0103] 여기서

[0104] Q는 아릴, 헤테로아릴 또는 헤테로시클릴 (예를 들어, 아릴 및 비-아릴 고리 구조를 포함함)(예를 들어, 5- 내지 10-원 N-함유 방향족 또는 비-방향족 모노- 또는 비시클릭 헤테로사이클, 상기 헤테로사이클은 O, N 및 S로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 추가로 포함함)이고;

[0105] Z는 결합, 치환 또는 비치환된 C_1-C_3 알킬렌 (예를 들어, $-CH_2-$), 치환 또는 비치환된 헤테로알킬 (예를 들어, 1-3개 원자의 길이), 아미노 (예를 들어, NH), $-O-$ 또는 $-S-$ 이고;

[0106] T는 치환 또는 비치환된 메틸렌 ($-CH_2-$), 치환 또는 비치환된 아미노 ($-NH-$), $-O-$, 또는 $-S-$ 이고 (예를 들어, 여기서 T의 치환은 C_1-C_3 알킬, 할로알킬, 또는 할로임);

[0107] R^1 및 R^2 는 각각 독립적으로 $-H$, $-CN$, $-CHO$, $-B(OH)_2$, $-C(O)$ 알킬, $-C(O)$ 아릴, $-C=C-C(O)$ 아릴, $-C=C-S(O)_2$ 아릴, $-CO_2H$, $-SO_3H$, $-SO_2NH_2$, $-PO_3H_2$, $-SO_2F$, $-CONH_2$, 및 5-테트라졸릴로 이루어진 군으로부터 선택되고;

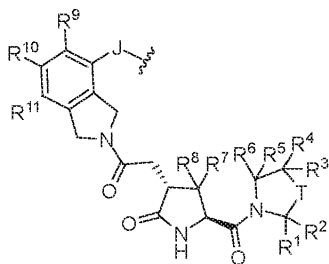
[0108] R^3 및 R^4 는 각각 독립적으로 $-H$, $-OH$, F, Cl, Br, I, $-C_{1-6}$ 알킬, $-O-C_{1-6}$ 알킬, 및 $-S-C_{1-6}$ 알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0109] R^5 , R^6 , R^7 , 및 R^8 은 각각 독립적으로 H, 알킬, 및 할로로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0110] Q는 L (예를 들어, L 또는 L1)에 부착될 수 있다. Q는 아릴, 헤테로아릴 또는 헤테로시클릴일 수 있다. 헤테로시클릴은 아릴 및 비-아릴 고리 구조를 포함할 수 있다. Q는 Q의 헤테로알킬, 알킬 또는 아릴 위치에서 L에 부착될 수 있다. Q는 Q의 아릴 위치에서 L에 부착될 수 있다. Q는 (예를 들어, L의) 질소 원자를 통해 L에 부착될 수 있다. Q는 (예를 들어, L의) 트리아졸릴 또는 아미드를 통해 L에 부착될 수 있다. 헤테로아릴은 아릴 및 비-아릴 고리 구조를 포함할 수 있다. 헤테로아릴 또는 헤테로시클릴은 O, N 및 S로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로원자를 포함할 수 있다. 헤테로시클릴은 O, N 및 S로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로원자를 포함할 수 있다. Q는 5- 내지 10-원 N-함유 방향족 또는 비-방향족 모노- 또는 비시클릭 헤테로사이클 (예를 들어, 아릴 및 비-아릴 고리 구조를 임의로 포함함)일 수 있다. Q는 N-부착 헤테로시클릴 (예를 들어, 임의로 아릴 및 비-아릴 고리 구조를 포함함)일 수 있다. Q는 C_6-C_9 -N-부착 헤테로시클릴 (예를 들어, 임의로 아릴 및 비-아릴 고리 구조를 포함함)일 수 있다. N-부착된 헤테로시클릴은 N-헤테로시클로알킬을 통해 Z에 부착된다. Q는 (예를 들어, N-부착된) 이소인돌리닐 (예를 들어, 여기서 N은 Z에 부착됨)일 수 있다.

[0111] Z는 결합, 치환 또는 비치환된 C_1-C_3 알킬렌, 치환 또는 비치환된 헤테로알킬렌 (예를 들어, 1-3개 원자의 길이), 아미노 (예를 들어, NH), $-O-$, 또는 $-S-$ 일 수 있다. Z는 결합일 수 있다. Z는 치환된 메틸렌일 수 있다. Z는 $-CH_2-$ 일 수 있다. Z는 치환된 에틸렌일 수 있다. Z는 옥소로 치환된 에틸렌일 수 있다. Z는 $-C(CO)CH_2-$ 일 수 있다. Z는 $-CH_2CH_2-$ 일 수 있다. Z는 C_1-C_3 헤테로알킬렌일 수 있다.

[0112] A는 화학식 X-B에 의해 나타내어지는 구조를 가질 수 있다:



[0113]

[0114] 여기서

[0115] Q는 아릴, 헤테로아릴 또는 헤테로시클릴 (예를 들어, 아릴 및 비-아릴 고리 구조를 포함함); (예를 들어, 5-내지 10-원 N-함유 방향족 또는 비-방향족 모노- 또는 비시클릭 헤테로사이클, 상기 헤테로사이클은 O, N 및 S로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로원자를 임의로 추가로 포함함)이고,

[0116] T는 치환 또는 비치환된 메틸렌 ($-\text{CH}_2-$), 치환 또는 비치환된 아미노 ($-\text{NH}-$), $-\text{O}-$, 또는 $-\text{S}-$ 이고 (예를 들어, 여기서 T의 치환은 C_1-C_3 알킬, 할로알킬, 또는 할로임);

[0117] J는 $\text{C}(\text{R}^{\text{J}})_2$ 이고, 여기서 각각의 R^{J} 는 독립적으로 H 또는 알킬이거나, 또는 R^{J} 둘 다가 함께 옥소를 형성하고;

[0118] R^1 및 R^2 는 각각 독립적으로 $-\text{H}$, $-\text{CN}$, $-\text{CHO}$, $-\text{B}(\text{OH})_2$, $-\text{C}(\text{O})$ 알킬, $-\text{C}(\text{O})$ 아릴-, $-\text{C}=\text{C}-\text{C}(\text{O})$ 아릴, $-\text{C}=\text{C}-\text{S}(\text{O})_2$ 아릴, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{SO}_2\text{NH}_2$, $-\text{PO}_3\text{H}_2$, $-\text{SO}_2\text{F}$, $-\text{CONH}_2$, 및 5-테트라졸릴로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0119] R^3 및 R^4 는 각각 독립적으로 $-\text{H}$, $-\text{OH}$, F, Cl, Br, I, $-\text{C}_{1-6}$ 알킬, $-\text{O}-\text{C}_{1-6}$ 알킬, 및 $-\text{S}-\text{C}_{1-6}$ 알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0120] R^5 , R^6 , R^7 , 및 R^8 은 각각 독립적으로 H, 알킬, 및 할로로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0121] R^9 , R^{10} , 및 R^{11} 은 각각 독립적으로 H, $-\text{C}_{1-6}$ 알킬, $-\text{C}_{1-6}$ 할로알킬, $-\text{O}-\text{C}_{1-6}$ 알킬, $-\text{S}-\text{C}_{1-6}$ 알킬, F, Cl, Br 및 I로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0122] J는 L (예를 들어, L 또는 L1)에 부착될 수 있다. J는 질소 원자를 통해 L에 부착될 수 있다. J는 (예를 들어, L의) 트리아졸릴 또는 아미드를 통해 L에 부착될 수 있다. J는 $\text{C}(\text{R}^{\text{J}})_2$ 일 수 있고, 여기서 각각의 R^{J} 는 독립적으로 H 또는 알킬이거나, 또는 R^{J} 둘 다가 함께 옥소를 형성한다. J는 C_1-C_3 알킬일 수 있다. J는 $-\text{CH}_2-$ 일 수 있다. J는 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 일 수 있다. J는 $\text{C}=\text{O}$ 일 수 있다.

[0123] T는 치환 또는 비치환된 메틸렌 (예를 들어, $-\text{CH}_2-$), 치환 또는 비치환된 아미노 (예를 들어, $-\text{NH}-$), $-\text{O}-$ 또는 $-\text{S}-$ 일 수 있다. T의 치환은 C_1-C_3 알킬, C_1-C_3 할로알킬, 또는 (메틸렌의 경우) 할로일 수 있다. T는 $(-\text{CH}_2-)$ 일 수 있다. T의 치환은 C_1-C_3 알킬, 할로알킬 또는 할로일 수 있다. T는 비치환될 수 있다.

[0124] R^1 및 R^2 는 각각 독립적으로 $-\text{H}$, $-\text{CN}$, $-\text{CHO}$, $-\text{B}(\text{OH})_2$, $-\text{C}(\text{O})$ 알킬, $-\text{C}(\text{O})$ 아릴-, $-\text{C}=\text{C}-\text{C}(\text{O})$ 아릴, $-\text{C}=\text{C}-\text{S}(\text{O})_2$ 아릴, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{SO}_2\text{NH}_2$, $-\text{PO}_3\text{H}_2$, $-\text{SO}_2\text{F}$, $-\text{CONH}_2$, 및 5-테트라졸릴로 이루어진 군으로부터 선택된다. R^1 및 R^2 는 각각 독립적으로 H, $-\text{CN}$, $-\text{CHO}$, 및 $-\text{B}(\text{OH})_2$ 으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. R^1 및 R^2 는 각각 독립적으로 H, $-\text{CN}$, $-\text{CHO}$, 및 $-\text{CONH}_2$ 으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. R^1 은 H일 수 있다. R^2 는 $-\text{CN}$, $-\text{CHO}$, $-\text{B}(\text{OH})_2$, 또는 $-\text{CONH}_2$ 일 수 있다. R^1 은 H일 수 있고, R^2 는 $-\text{CN}$, $-\text{CHO}$, $-\text{B}(\text{OH})_2$, 또는 $-\text{CONH}_2$ 일 수 있다. R^1 은 H일 수 있고, R^2 는 $-\text{CN}$ 일 수 있다. R^1 은 H일 수 있고, R^2 는 $-\text{CHO}$ 일 수 있다. R^1 은 H일 수 있고, R^2 는 $-\text{B}(\text{OH})_2$ 일 수 있다.

수 있다. R^1 은 H일 수 있고, R^2 는 $-\text{CONH}_2$ 일 수 있다.

[0125] R^3 및 R^4 는 각각 독립적으로 $-\text{H}$, $-\text{OH}$, F , Cl , Br , I , $-\text{C}_{1-6}$ 알킬, $-\text{O}-\text{C}_{1-6}$ 알킬, 및 $-\text{S}-\text{C}_{1-6}$ 알킬로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. R^3 및 R^4 는 각각 독립적으로 $-\text{H}$ 또는 $-\text{F}$ 일 수 있다. R^3 은 H일 수 있고, R^4 는 $-\text{F}$ 일 수 있다. R^3 은 F일 수 있고, R^4 는 $-\text{F}$ 일 수 있다.

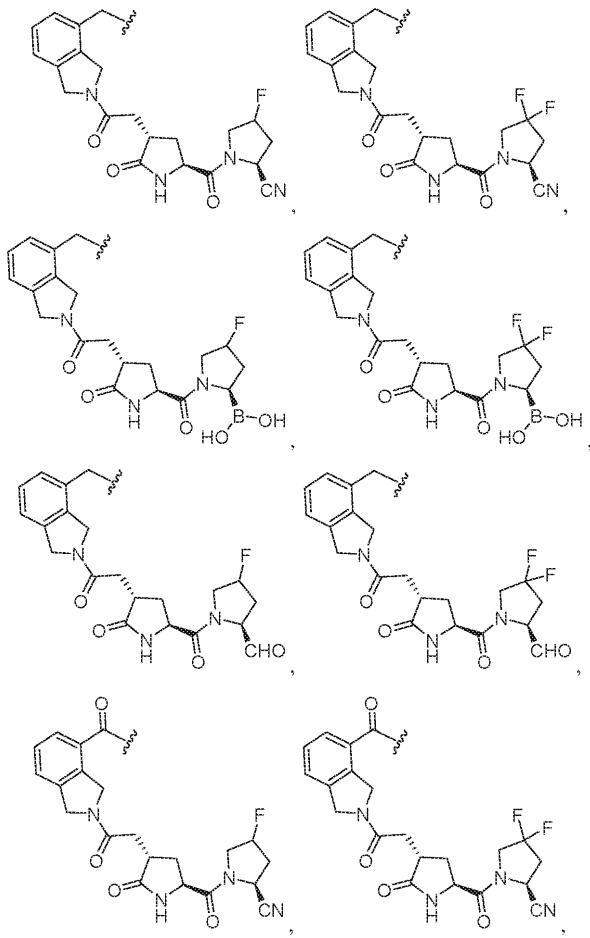
[0126] R^1 은 H일 수 있고, R^2 는 $-\text{CN}$ 일 수 있고, R^3 은 H일 수 있고, R^4 는 $-\text{F}$ 일 수 있다. R^1 은 H일 수 있고, R^2 는 $-\text{CN}$ 일 수 있고, R^3 은 F일 수 있고, R^4 는 $-\text{F}$ 일 수 있다. R^1 은 H일 수 있고, R^2 는 $-\text{CHO}$ 일 수 있고, R^3 은 H일 수 있고, R^4 는 $-\text{F}$ 일 수 있다. R^1 은 H일 수 있고, R^2 는 $-\text{CHO}$ 일 수 있고, R^3 은 F일 수 있고, R^4 는 $-\text{F}$ 일 수 있다. R^1 은 H일 수 있고, R^2 는 $-\text{B}(\text{OH})_2$ 일 수 있고, R^3 은 H일 수 있고, R^4 는 $-\text{F}$ 일 수 있다. R^1 은 H일 수 있고, R^2 는 $-\text{B}(\text{OH})_2$ 일 수 있고, R^3 은 F일 수 있고, R^4 는 $-\text{F}$ 일 수 있다. R^1 은 H일 수 있고, R^2 는 $-\text{CONH}_2$ 일 수 있고, R^3 은 H일 수 있고, R^4 는 $-\text{F}$ 일 수 있다. R^1 은 H일 수 있고, R^2 는 $-\text{CONH}_2$ 일 수 있고, R^3 은 F일 수 있고, R^4 는 $-\text{F}$ 일 수 있다.

[0127] R^5 , R^6 , R^7 및 R^8 은 각각 독립적으로 H, 알킬 및 할로로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. R^5 , R^6 , R^7 및 R^8 은 각각 H일 수 있다.

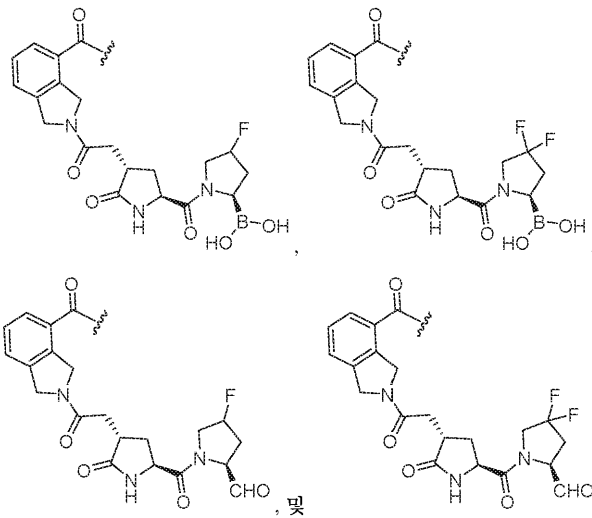
[0128] R^9 , R^{10} 및 R^{11} 은 각각 독립적으로 H, $-\text{C}_{1-6}$ 알킬, $-\text{C}_{1-6}$ 할로알킬, $-\text{O}-\text{C}_{1-6}$ 알킬, $-\text{S}-\text{C}_{1-6}$ 알킬, F , Cl , Br 및 I 로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. R^9 , R^{10} 및 R^{11} 은 각각 독립적으로 H, $-\text{C}_{1-6}$ 할로알킬, F 및 Cl 로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. R^9 및 R^{11} 은 H일 수 있고, R^{10} 은 H, $-\text{C}_{1-6}$ 할로알킬, F 또는 Cl 일 수 있다. R^9 및 R^{11} 은 H일 수 있고, R^{10} 은 H, $-\text{CF}_3$, F 또는 Cl 일 수 있다. R^9 및 R^{11} 은 H일 수 있고, R^{10} 은 $-\text{CF}_3$ 일 수 있다. R^9 및 R^{11} 은 H일 수 있고, R^{10} 은 F일 수 있다. R^9 및 R^{11} 은 H일 수 있고, R^{10} 은 Cl 일 수 있다. R^9 , R^{10} , 및 R^{11} 은 H일 수 있다.

[0129] A는 (예를 들어, L의) 질소 원자를 통해 L에 부착될 수 있다. A는 (예를 들어, L의) 트리아졸릴 또는 아미드를 통해 L에 부착될 수 있다.

[0130] A는 하기로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다:

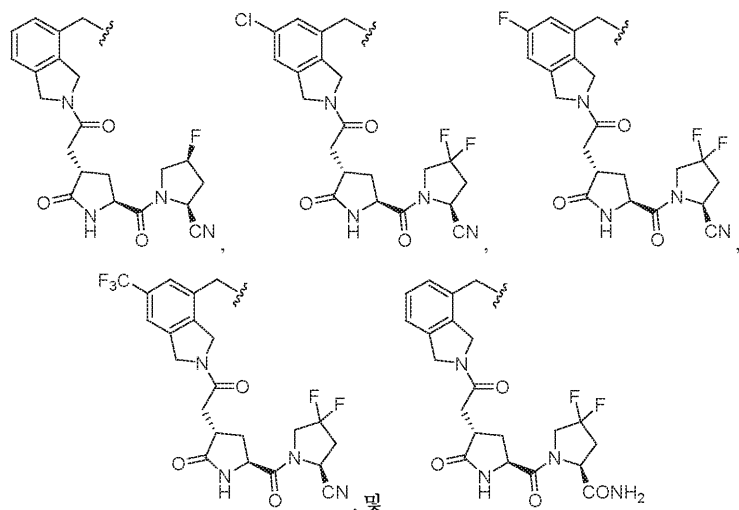


[0131]



[0132]

[0133] A는 하기로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다:



[0134]

[0135] A (예를 들어, FAP α 결합 리간드)는 FAP (예를 들어, FAP α)에 대해 약 1 nM 내지 약 25 nM, 예컨대 1 nM 내지 약 25 nM 또는 약 1 nM 내지 25 nM 범위의 결합 친화도를 가질 수 있다.

[0136] L은 링커, 예컨대 임의의 적합한 링커일 수 있다. L은 비-방출성 링커일 수 있다. L은 방출성 링커일 수 있다.

[0137] L은 하나 이상의 링커 기를 포함할 수 있고, 각각의 링커 기는 독립적으로 알킬(렌), 헤테로알킬(렌), 헤테로시클로알킬(렌), 헤테로아릴, 아릴, 알콕시, 티오에테르, 디설피드, 카르복실산, 무수물, 카르보네이트, 카르바메이트, 티오에테르, 당 및 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택된다. L은 하나 이상의 링커 기를 포함할 수 있고, 각각의 링커 기는 독립적으로 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 알킬(렌), 디설피드, 아마이드, 카르복실산, 무수물, 카르보네이트, 에스테르, 카르바메이트, 티오에테르, 트리아졸, 당 및 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택된다. L은 하나 이상의 링커 기를 포함할 수 있고, 각각의 링커 기는 독립적으로 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 알킬(렌), 디설피드, 아마이드, 카르복실산, 카르보네이트, 에스테르, 페닐, 트리아졸 및 카르바메이트로 이루어진 군으로부터 선택된다. L은 하나 이상의 링커 기를 포함할 수 있고, 각각의 링커 기는 독립적으로 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 알킬(렌), 디설피드, 아마이드, 카르복실산, 페닐, 트리아졸, 에스테르 및 카르보네이트로 이루어진 군으로부터 선택된다. L은 하나 이상의 링커 기를 포함할 수 있고, 각각의 링커 기는 독립적으로 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 알킬(렌), 디설피드 및 아마이드로 이루어진 군으로부터 선택된다. L은 하나 이상의 링커 기를 포함할 수 있고, 각각의 링커 기는 독립적으로 알킬(렌), 디설피드 및 아마이드로 이루어진 군으로부터 선택된다. L은 하나 이상의 링커 기를 포함할 수 있고, 각각의 링커 기는 독립적으로 아마이드, 알킬(렌), PEG, 페닐 및 트리아졸로 이루어진 군으로부터 선택된다. L은 하나 이상의 링커 기를 포함할 수 있고, 각각의 링커 기는 독립적으로 PEG, 알킬(렌) 및 아마이드로 이루어진 군으로부터 선택된다. L은 하나 이상의 링커 기를 포함할 수 있고, 각각의 링커 기는 독립적으로 알킬(렌) 및 아마이드로 이루어진 군으로부터 선택된다. L은 하나 이상의 링커 기를 포함할 수 있고, 각각의 링커 기는 독립적으로 PEG 및 아마이드로 이루어진 군으로부터 선택된다. 링커는 하나 이상의 트리아졸 링커 기를 포함할 수 있다. 링커는 하나 이상의 디설피드 링커 기를 포함할 수 있다. 링커는 하나 이상의 아마이드 링커 기를 포함할 수 있다. 링커는 하나 이상의 PEG 링커 기를 포함할 수 있다.

[0138] L은 하나 이상의 방출성 기를 포함할 수 있다.

[0139] L은 아마이드 링커 기를 통해 A에 (공유적으로) 부착될 수 있다. L은 아마이드 링커 기를 통해 B에 (공유적으로) 부착될 수 있다. L은 아마이드 링커 기를 통해 A 및 B에 독립적으로 (공유적으로) 부착될 수 있다.

[0140] L은 트리아졸 링커 기를 통해 A에 (공유적으로) 부착될 수 있다. L은 트리아졸 링커 기를 통해 B에 (공유적으로) 부착될 수 있다. L은 독립적으로 트리아졸 링커 기를 통해 A 및 B에 (공유적으로) 부착될 수 있다.

[0141] L은 트리아졸 링커 기를 통해 A에 (공유적으로) 부착될 수 있다. L은 아마이드 링커 기를 통해 B에 (공유적으로) 부착될 수 있다. L은 트리아졸 링커 기를 통해 A에 부착되고, 아마이드 링커 기를 통해 B에 부착될 수 있다.

[0142] L은 아마이드 링커 기를 통해 A에 (공유적으로) 부착될 수 있다. L은 카르바메이트 링커 기를 통해 B에 (공유적

으로) 부착될 수 있다. L은 아마이드 링커 기를 통해 A에 부착되고 카르바메이트 링커 기를 통해 B에 부착될 수 있다.

[0143] 링커는 2가 링커 (예를 들어, 단일 A를 단일 B에 연결함)일 수 있다. 링커는 다가 링커 (예를 들어, 2개 이상의 A를 단일 B에 연결함)일 수 있다. 링커는 방출성 링커일 수 있다. 링커는 비-방출성 링커일 수 있다.

[0144] L은 $(L^1)_o - Y - (L_2)_p$ 일 수 있고, 여기서

[0145] 각각의 L^1 은 제1 링커이고;

[0146] 각각의 L^2 는 제2 링커이고;

[0147] Y는 제3 링커이고;

[0148] o는 1-5의 정수이고;

[0149] p는 1-5의 정수이다.

[0150] L^1 및 L^2 는 동일할 수 있다. L^1 및 L^2 는 상이할 수 있다. 각각의 L^1 은 A 기 (및 Y 기)에 연결될 수 있다. 각각의 L^2 는 B 기 (및 Y 기)에 연결될 수 있다. o 및 m은 동일하거나, 예컨대 1-6, 1-3 또는 1일 수 있다. p는 1일 수 있다. o는 1일 수 있다. p 및 o는 각각 1일 수 있다.

[0151] 각각의 L^1 및 L^2 는 독립적으로 올리고에틸렌 글리콜 (쇄), 폴리에틸렌 글리콜 (쇄), 알킬 (쇄), 올리고펩티드 (쇄), 또는 폴리펩티드 (쇄)를 포함한다. 각각의 L^1 및 L^2 는 독립적으로 올리고에틸렌 글리콜 (쇄) 또는 폴리에틸렌 글리콜 (쇄)을 포함한다.

[0152] 각각의 L^1 및 L^2 는 독립적으로 트리아졸 또는 아마이드를 포함한다.

[0153] 각각의 L^1 및 L^2 는 독립적으로 올리고펩티드 (쇄) 또는 폴리펩티드 (쇄)를 포함한다. 각각의 L^1 및 L^2 는 독립적으로 펩티도글리칸 (쇄)을 포함한다.

[0154] 각각의 L^1 및 L^2 는 독립적으로 올리고프롤린 또는 올리고피페리딘을 포함한다.

[0155] 각각의 L^1 및 L^2 는 독립적으로 15-200 옹스트롬 (Å)의 길이일 수 있다.

[0156] o는 1-5의 정수일 수 있다. o는 1-3의 정수일 수 있다. o는 1일 수 있다.

[0157] p는 1-5의 정수일 수 있다. p는 1-3의 정수일 수 있다. p는 1일 수 있다.

[0158] 또한, 화학식 II를 갖는 다가 접합체가 제공된다:

[0159] $(A-S)_m Y - L - B$

[0160] 여기서

[0161] A는 FAP α 리간드 (표적화 모이어티)(예를 들어, 10,000 미만의 분자량을 가짐)의 라디칼이고;

[0162] S는 스페이서 (예를 들어, 다가 표적화 리간드 (예를 들어, 약물)의 아암이 표적 세포 상의 다수의 인접한 FAP에 도달하기 위한 길이를 가짐)이고;

[0163] Y는 링커이고;

[0164] L은 (예를 들어, L을 A에 연결하는 제1 공유 결합 및 L을 B에 연결하는 제2 공유 결합을 통해) 1개 이상의 A기를 B에 연결하는 (예를 들어, 이관능화된) 링커이고;

[0165] B는 형광 염료, 광역학 치료제, 방사선-영상화제, 방사선요법제, 화학요법제, 항섬유화제 또는 항암제 (예를 들어, 암 세포 또는 암-연관 섬유모세포, 근섬유모세포 또는 다른 종양 미세환경 인자에 대해 효과적인 항암제)의 라디칼이고;

[0166] m은 2-6이다.

[0167] 스페이서는 다가 약물의 아암이 표적 (예를 들어, 암 또는 섬유화유발) 세포 상의 다수의 인접한 FAP에 도달하기 위한 최적 길이일 수 있다.

[0168] S는 올리고에틸렌, 폴리에틸렌글리콜, 알킬 쇠, 올리고펩티드 또는 폴리펩티드를 포함할 수 있다. S는 올리고에틸렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜일 수 있다.

[0169] S는 올리고펩티드 또는 폴리펩티드일 수 있다.

[0170] S는 펩티도글리칸일 수 있다.

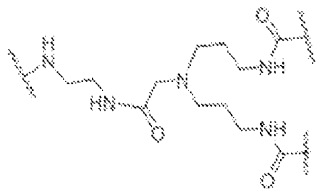
[0171] 스페이서는 강성 링커일 수 있다. S는 강성 링커, 예를 들어, 올리고프롤린 또는 올리고피페리딘일 수 있다.

[0172] S는 적어도 15 옹스트롬 (Å)의 길이를 가질 수 있다. S는 최대 200 옹스트롬 (Å)의 길이를 가질 수 있다. S는 15-200 옹스트롬 (Å)의 길이를 가질 수 있다.

[0173] Y는 화합물의 다중 아암을 연결하는 링커 (예를 들어, 접합체)일 수 있다. Y는 반복 구조를 가질 수 있다. Y는 방출성 결합을 포함할 수 있다. L은 디설피드 결합을 포함할 수 있다. Y는 하나 이상의 시트르산 기 (또는 그의 라디칼)를 포함할 수 있다. Y는 하나 이상의 트리아졸을 포함할 수 있다. Y는 하나 이상의 아민을 포함할 수 있다. Y는 하나 이상의 아미드를 포함할 수 있다. Y는 방향족 코어 (예를 들어, 아릴 코어 또는 헤테로아릴 코어)를 가질 수 있다. Y는 알킬(렌) 코어를 가질 수 있다. Y는 아민 코어를 가질 수 있다. Y는 $N(L^1)_3$ (예를 들어, 여기서 L^1 은 본원의 다른 곳에 기재된 바와 같을 수 있음)일 수 있다. Y는 3개의 L^1 로 치환된 페닐 (예를 들어, 여기서 L^1 은 본원의 다른 곳에 기재된 바와 같음)일 수 있다. Y는 $C(L^1)_4$ (예를 들어, 여기서 L^1 은 본원의 다른 곳에 기재된 바와 같을 수 있음)일 수 있다.

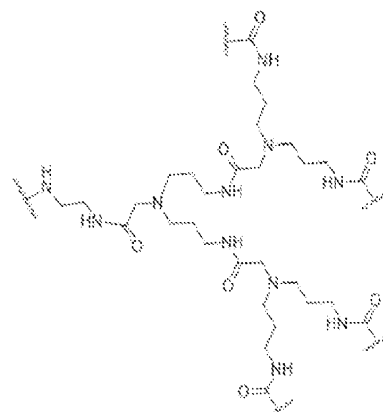
[0174] Y는 단일 L^1 에 부착될 수 있다. Y는 단일 L^2 에 부착될 수 있다. Y는 단일 L^1 및 단일 L^2 에 부착될 수 있다. Y는 독립적으로 각각의 L^1 및 L^2 에 아미드 결합에 의해 연결될 수 있다. Y는 L에 부착될 수 있다.

[0175] Y는 화합물 (예를 들어, 접합체)의 다중 아암을 연결하는 링커 (예를 들어, 다가 링커)일 수 있다. Y는 반복 구조를 가질 수 있다. Y는 하나 이상의 시트르산 기 (또는 그의 라디칼)를 포함할 수 있다. 링커는 하기 구조를 가질 수 있다:



[0176]

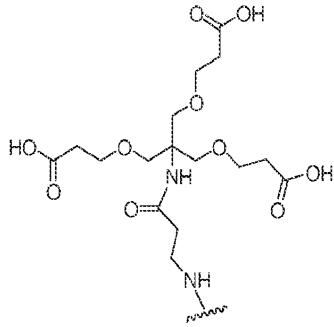
[0177] Y는 화합물 (예를 들어, 접합체)의 다중 아암을 연결하는 링커 (예를 들어, 다가 링커)일 수 있고, 하기 구조의 링커 (예를 들어, 반복 단위)를 포함할 수 있다:



[0178]

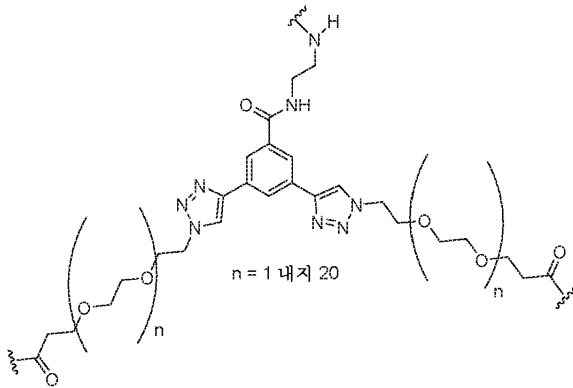
[0179] Y는 화합물 (예를 들어, 접합체)의 다중 아암을 연결하는 링커일 수 있고, 시트르산-기재 링커를 가질 수 있다. Y는 화합물 (예를 들어, 접합체)의 다중 아암을 연결하는 링커 (예를 들어, 다가 템플릿)일 수 있고, 하기 구조

의 (예를 들어, 시트르산-기재) 링커를 가질 수 있다:



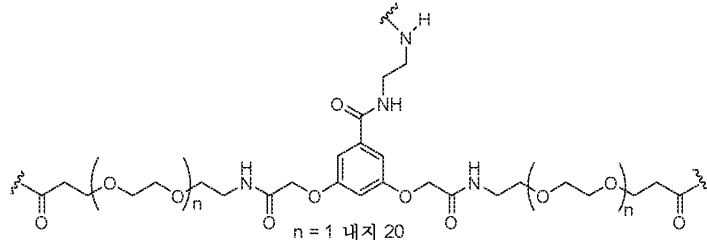
[0180]

[0181] Y는 화합물 (예를 들어, 접합체)의 다중 아암을 연결하는 링커 (예를 들어, 다가 링커)일 수 있고, 하기 구조의 (예를 들어, 시트르산-기재) 링커를 가질 수 있다:



[0182]

[0183] Y는 화합물 (예를 들어, 접합체)의 다중 아암을 연결하는 링커 (예를 들어, 다가 링커)일 수 있고, 하기 구조의 (예를 들어, 시트르산-기재) 링커를 가질 수 있다:

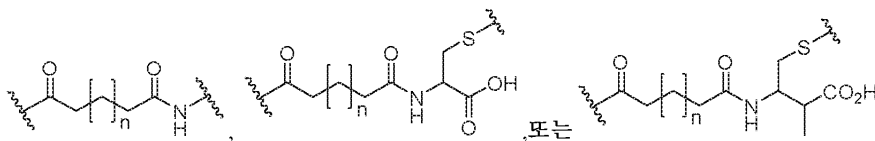


[0184]

[0185] L은 적어도 하나의 링커 기를 포함할 수 있으며, 각각의 링커 기는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 알킬, 당 및 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택된다. 링커는 폴리에틸렌 글리콜-(PEG-) (예를 들어, PEG화-), 알킬-, 당-, 및 펩티드-기재 이중 링커일 수 있다.

[0186] L은 (예를 들어, B 및 A에 2가로 (예를 들어, 공유적으로) 부착된) 비-방출성 링커일 수 있다. L은 (예를 들어, B 및 A에 2가로 (예를 들어, 공유적으로) 부착된) 방출성 링커일 수 있다.

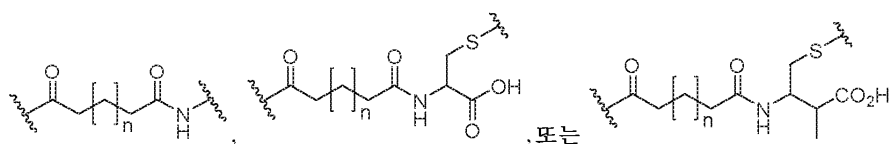
[0187] L, L1, L2, 또는 그의 임의의 조합은 하기 구조를 갖는 하나 이상의 링커 기를 포함할 수 있다:



[0188]

[0189] 여기서 n은 0 내지 10이다.

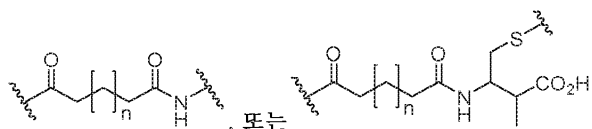
[0190] L은 하기 구조를 갖는 하나 이상의 링커 기를 포함할 수 있다:



[0191]

[0192] 여기서 n은 0 내지 10이다.

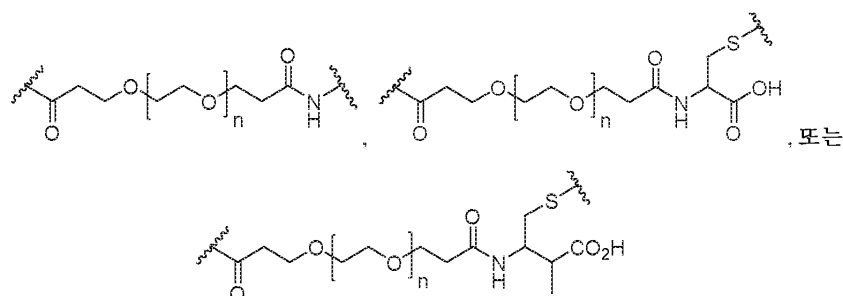
[0193] L은 하기 구조를 갖는 하나 이상의 링커 기를 포함할 수 있다:



[0194]

[0195] 여기서 n은 0 내지 10이다.

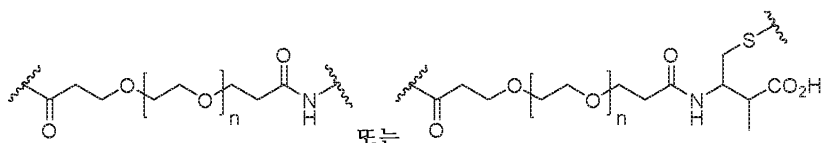
[0196] L은 하기 구조를 갖는 하나 이상의 링커 기를 포함할 수 있다:



[0197]

[0198] 여기서 n은 1 내지 32이다.

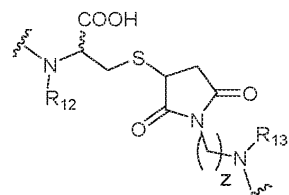
[0199] L은 하기 구조를 갖는 하나 이상의 링커 기를 포함할 수 있다:



[0200]

[0201] 여기서 n은 1 내지 32이다.

[0202] L은 하기 구조를 갖는 하나 이상의 링커 기를 포함할 수 있다:



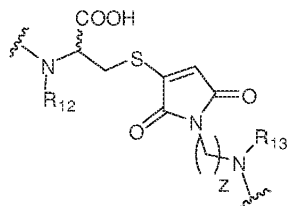
[0203]

[0204] 여기서

[0205] R₁₂ 및 R₁₃은 각각 독립적으로 H 또는 C₁-C₆ 알킬일 수 있고;

[0206] z는 1 내지 8의 정수이다.

[0207] L은 하기 구조를 갖는 하나 이상의 링커 기를 포함할 수 있다:



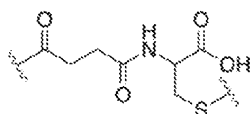
[0208]

[0209] 여기서

[0210] R₁₂ 및 R₁₃은 각각 독립적으로 H 또는 C₁-C₆ 알킬일 수 있고;

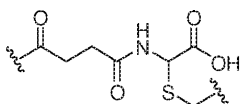
[0211] z는 1 내지 8의 정수이다.

[0212] L, L¹, L², 또는 그의 임의의 조합은 하기 구조를 갖는 하나 이상의 링커 기를 포함할 수 있다:



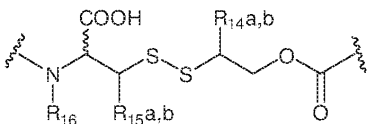
[0213]

[0214] L은 하기 구조를 갖는 하나 이상의 링커 기를 포함할 수 있다:



[0215]

[0216] L은 하기 구조를 갖는 하나 이상의 링커 기를 포함할 수 있다:



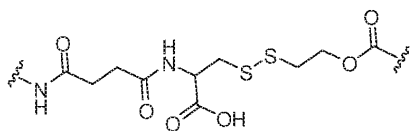
[0217]

[0218] 여기서

[0219] R₁₆은 H 또는 C₁-C₆ 알킬이고;

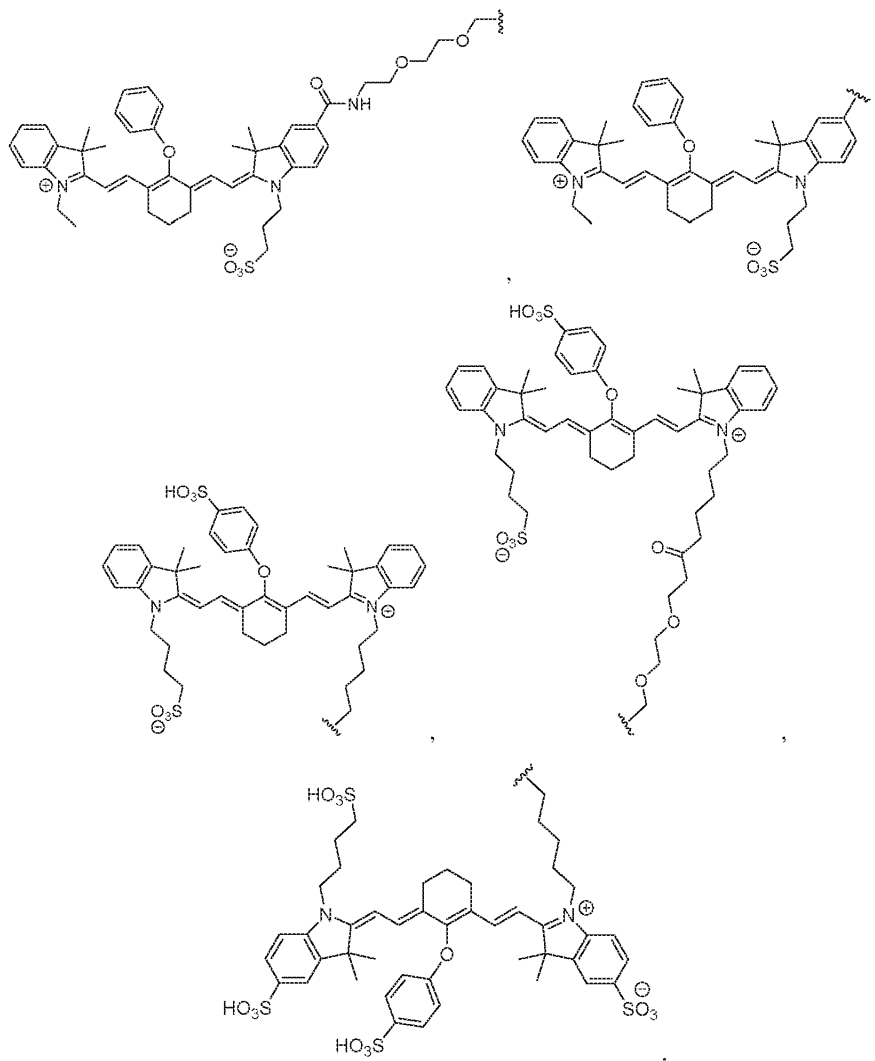
[0220] R_{14a}, R_{14b}, 및 R_{15a}, R_{15b}는 각각 독립적으로 H 또는 C₁-C₆ 알킬일 수 있다.

[0221] L은 하기 구조를 가질 수 있다:

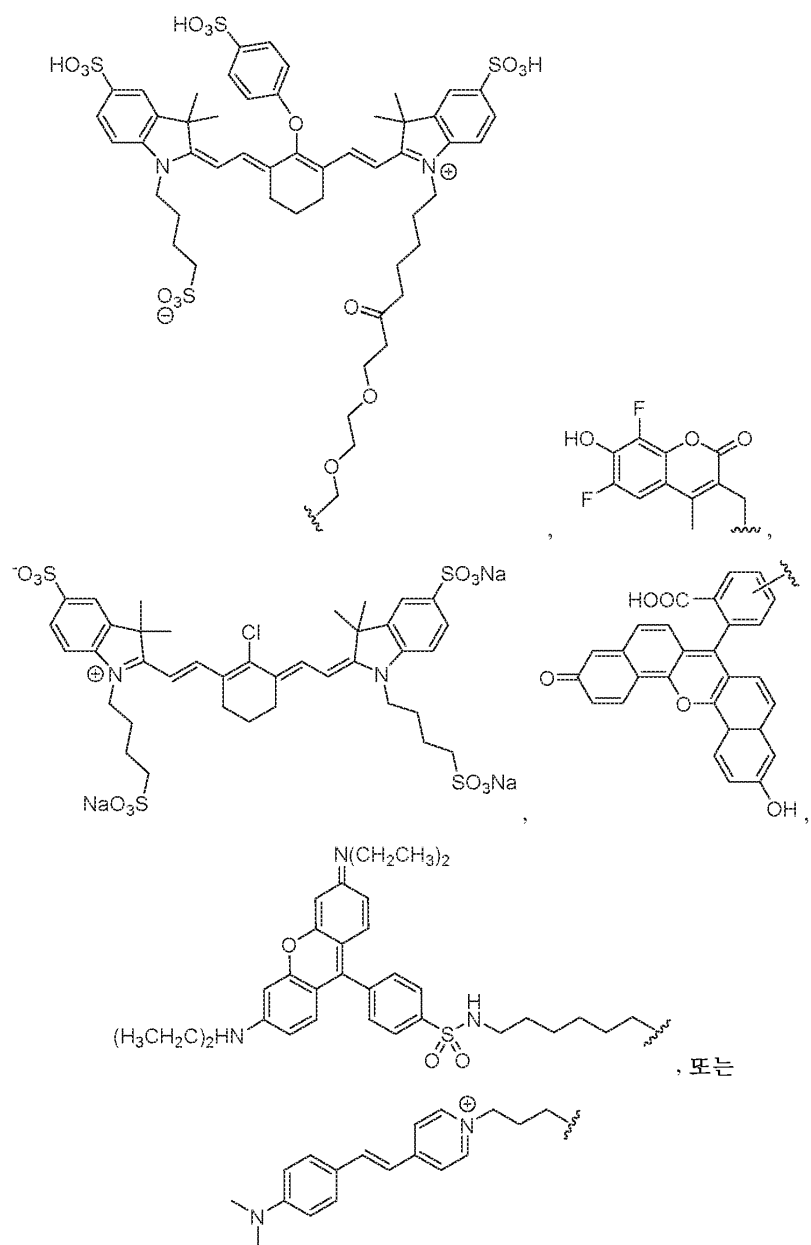


[0222]

[0229] B는 하기 구조를 갖는 형광 염료 기 (또는 그의 라디칼)일 수 있다:



[0230]

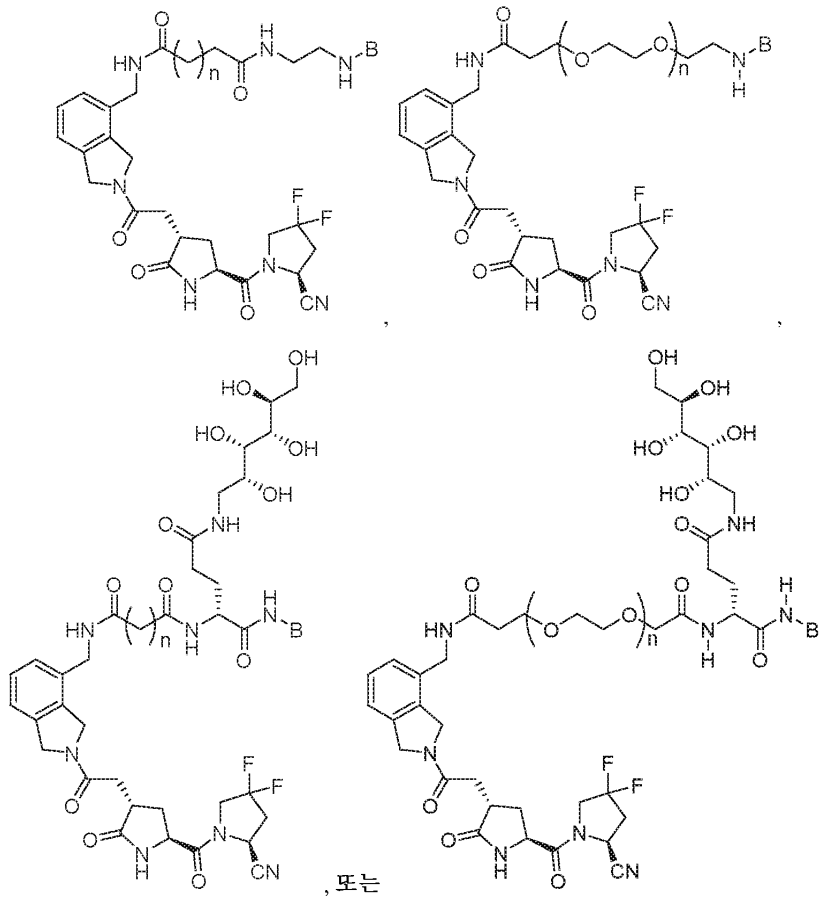


[0231]

[0232]

화합물은 하나 이상의 링커 기를 포함하는 링커에 부착된 FAP-표적화 리간드 (또는 그의 라디칼)일 수 있으며, 각각의 링커 기는 알킬, PEG화 및 펩티도글리칸으로부터 선택되고, 여기서 링커는 본원에 기재된 형광 염료에 추가로 부착될 수 있다.

[0233] A-L-B는 하기 구조를 가질 수 있다:

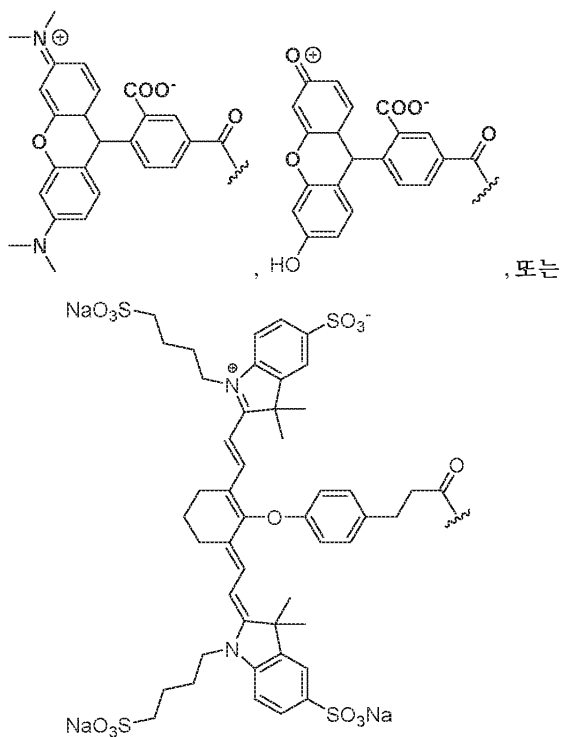


[0234]

[0235] 여기서

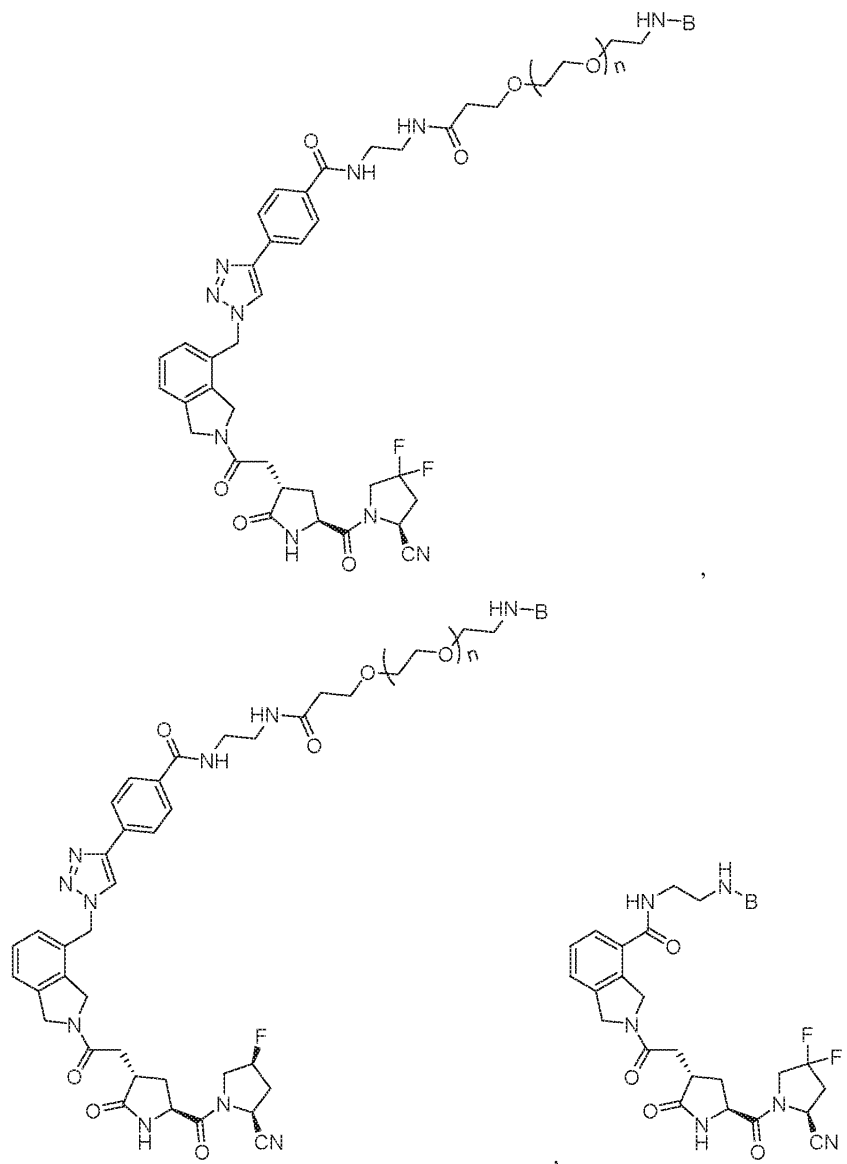
[0236] n은 1-5의 정수이고;

[0237] B는 하기이다:

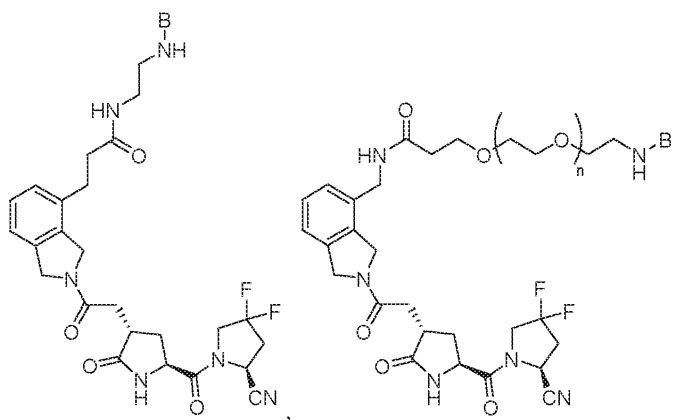


[0238]

[0239] A-L-B는 하기 구조를 가질 수 있다:



[0240]

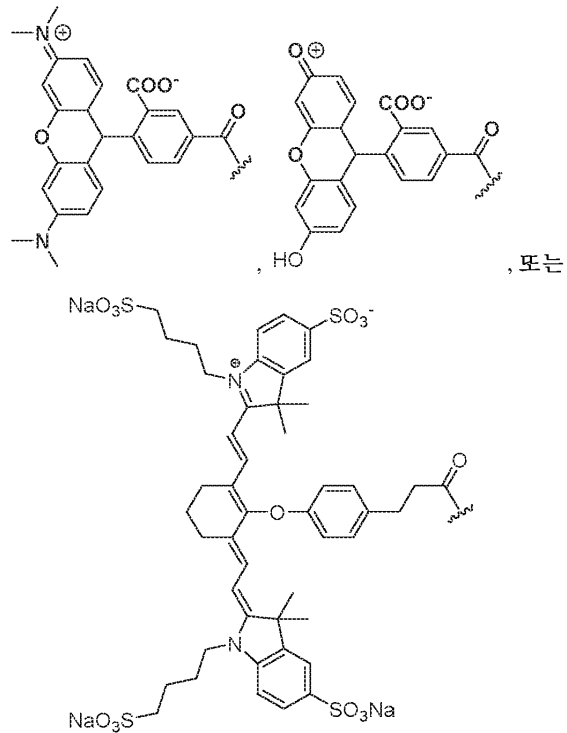


[0241]

[0242] 여기서

[0243] n은 1-5의 정수이고;

[0244] B는 하기이다:



[0245]

[0246]

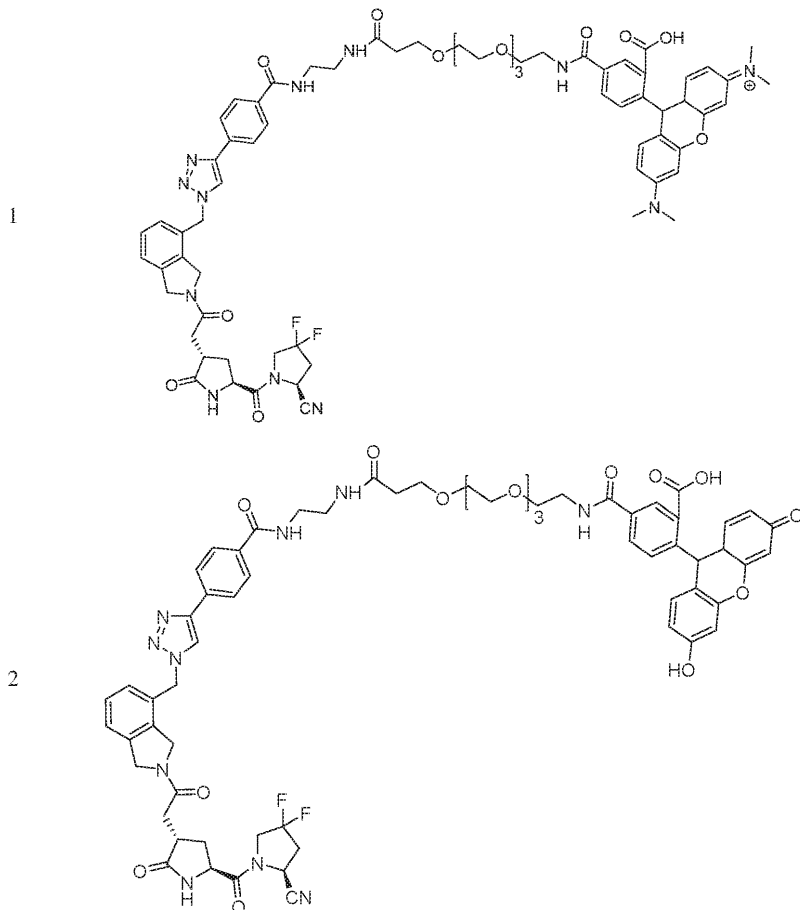
화합물 (예를 들어, 접합체)은 하기 구조를 가질 수 있다:

[0247]

표 1:

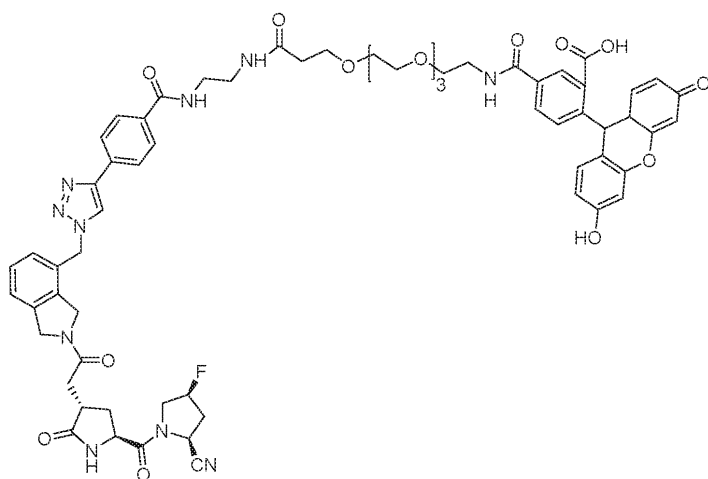
화합물

구조

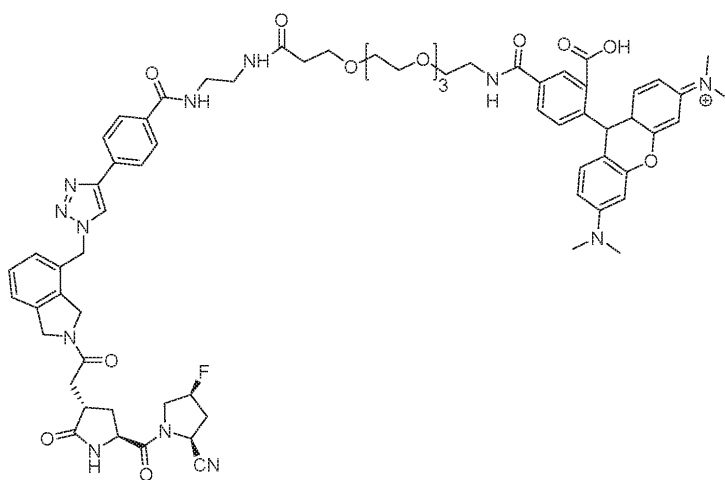


[0248]

3

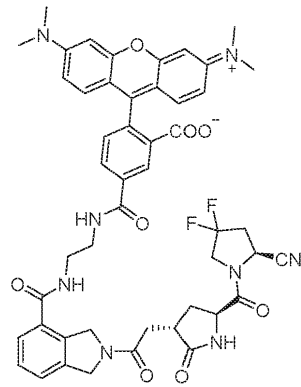


4

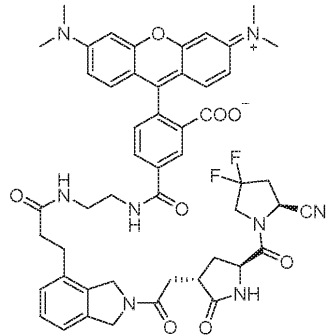


[0249]

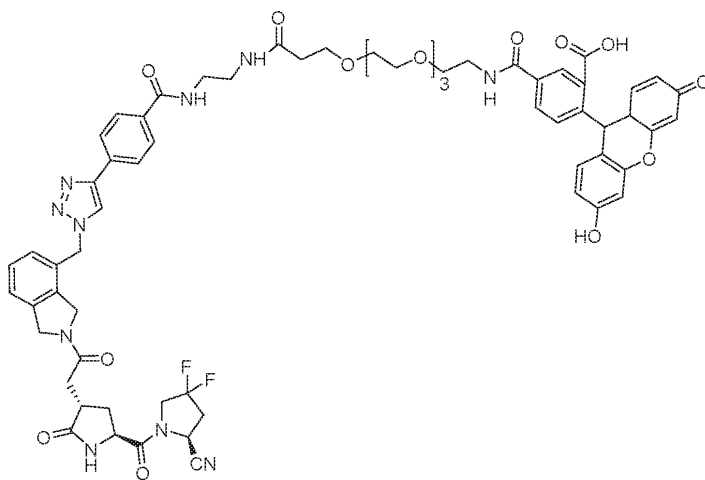
5



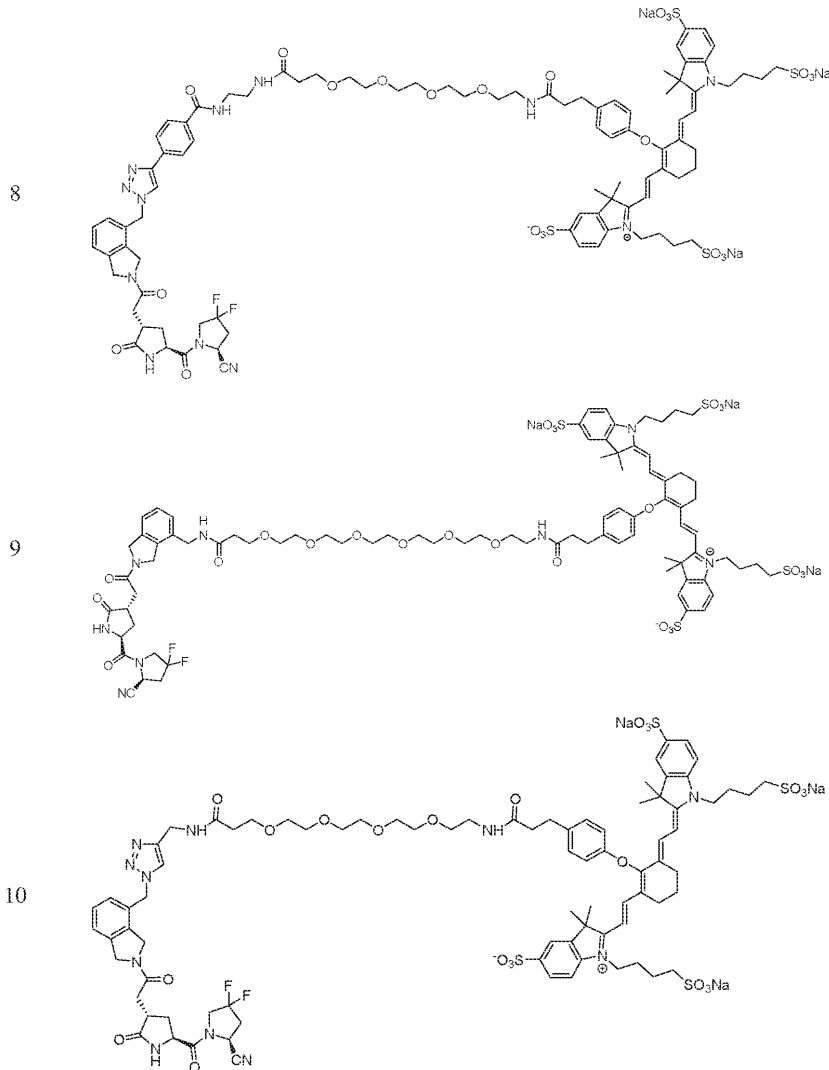
6



7



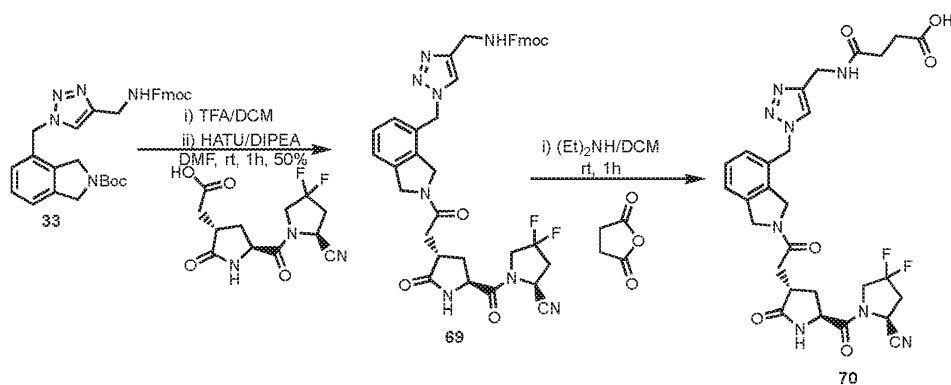
[0250]



[0251]

[0252]

하기는 본원의 실시예 및 도면에 사용된 바와 같은 비-표지된 (경쟁) FAP 리간드를 제조하는 방법을 예시하는 반응식이다:



[0253]

[0254]

특정 치료제 (예를 들어, 화학요법제 또는 방사선요법제)의 결점은, 이러한 작용제가 원치 않는 독성 및/또는 치사 (예를 들어, 전신) 효과를 또한 제공하지 않으면서 표적 위치에서 (예를 들어, 암, 종양 또는 섬유화 조직에서) 작용제의 치료 유효 농도를 달성 및/또는 유지하지 못하는 것이다. 이러한 작용제의 일반적 전신 또는 국부 투여 (예를 들어, 경로-특이적일 수 있지만, 표적-조직 특이적이 아닐 수 있음)로도, 일부 경우에, 치료제의 오프-타겟 문제를 유발하여, 부작용을 증가시킨다. 일부 경우에, 페이로드 (예를 들어, 치료제)를 표적 부위 (예를 들어, 종양 또는 섬유화 조직)에 국재화시키는 화합물 (예를 들어, 예컨대 표적화 리간드를 포함하는 화합물)은 표적 부위에서의 페이로드의 체류 시간을 개선시킬 수 있다. 일부 경우에, 표적 위치에서의 치료 페

이로드의 체류 시간의 증가는, 저용량에서도 또는 허용 용량에서, 치료제의 증가되고/거나 효과적인 농도를 용이하게 한다. 일부 경우에, 표적 위치에서의 활성 페이로드의 유효 농도가 (예를 들어, 허용 용량에서 및/또는 유리 페이로드가 유사하게 투여된 경우 치료 농도를 달성하기에 충분하지 않을 용량에서) 치료 농도를 달성하기에 충분한 시간 동안 및/또는 (예를 들어, 유리 페이로드의 투여에 필요한 것에 비해) 투여 빈도를 감소시키기에 충분한 시간 동안 유지된다. 더욱이, 표적 위치에서의 치료 페이로드의 체류 시간의 증가는, 일부 경우에, 오프-타겟 효과가 감소될 수 있다는 것을 의미한다 (예를 들어, 활성제가 표적 위치에서 유지되기 때문임). 일부 경우에, 화합물은 활성제 또는 페이로드의 투여를, 예를 들어 (예를 들어, 달리 유사한 유리 활성제 또는 페이로드의 투여에 비해) 감소된 투여 빈도, 감소된 부작용 또는 그의 조합으로 용이하게 한다.

[0255] 본원에 제공된 표적화 리간드는 도 1에 제시된 역합성 반응식에 따라 합성된다. 도 1의 역합성 반응식은 도 2에 제시된 화합물을 합성하는 데 사용된다. 그러나, 임의의 적합한 합성 반응식 또는 방법을 사용하여 화합물을 생성할 수 있다. 예를 들어, 특정 합성 반응식이 실시예에 예시된다. 모든 이러한 합성 반응식은 임의의 공정, 단계 또는 화합물 (예를 들어, 반응식의 최종 생성물, 반응식의 중간체 및/또는 반응식의 시약)에 대해 본원의 상세한 설명에 포함된다.

[0256] 화합물은 FAP (예를 들어, FAP5)를 발현하는 세포를 표적화한다 (예를 들어, 그에 국제화됨). 화합물은 세포 (예를 들어, 암 세포 또는 섬유화유발 세포)에 의해 발현되는 (예를 들어, 세포 막 내에 포매된) FAP (예를 들어, FAP5)에 결합한다. 예를 들어, 도 3, 도 4, 도 5 및 도 6에서 회색 음영으로 나타낸 바와 같이, 화합물 1 (다양한 농도, 예를 들어 50 nM, 25 nM, 12.5 nM 및 6.5 nM (도 3)에서)은 FAP5를 발현하는 세포 (예를 들어, HT1080-FAP 세포)에 국제화된다. 또한, 화합물 1은 리간드를 FAP5-발현 세포의 막 (예를 들어, FAP5가 위치하는 곳)에 국제화 및 내재화되고, (예를 들어, 12.5 nM의 농도로 투여될 때) 적어도 1시간 (예를 들어, 1시간, 8시간, 24시간, 또는 그 초과) 동안 세포에 국제화 및 내재화된 채로 유지된다 (예를 들어, 도 4).

[0257] 도 3은 (FAP HT1080) 세포에 대한 (예를 들어, 50 nM (A), 25 nM (B), 12.5 nM (C), 및 6.25 nM (D)에서의) 표적화 리간드의 1시간 동안의 결합을 보여준다. 표적화 리간드의 농도가 증가함에 따라 표면 결합이 보다 많음이 입증된다. 도 4는 FAP HT1080 세포에 대한 (예를 들어, 12.5 nM에서의) 표적화 리간드의 1시간 (A), 8시간 (B), 24시간 (C) 및 48시간 (D) 동안의 결합을 보여준다. 초기 시점에서는, 화합물 (표적화 리간드)이 세포의 표면 상에서 관찰되며, 화합물은 시간 경과에 따라 세포 내로 내재화된다. 도 5는 적어도 100배 과량의 경쟁 리간드 존재 하에 FAP HT1080 세포에 대한 표적화 리간드의 1시간 동안의 결합 (예를 들어, A: 25 nM 표적화 리간드, 2.5 μ M 경쟁자; B: 25 nM 표적화 리간드, 5 μ M 경쟁자)을 보여준다. 도 6은 비-FAP HT1080 세포에 대한 표적화 리간드의 결합 (예를 들어, 100 nM (A) 및 200 nM (B))을 보여준다. 비교가능한 시점들에서, 1시간 후 이러한 세포의 표면 상에서 화합물 (표적화 리간드)이 거의 관찰되지 않는다 (심지어 훨씬 더 낮은 농도에서도, 높은 FAP 표면 농도를 갖는 세포에 대해 유사한 시간 후에 화합물의 우수한 표면 결합을 나타내는 도 3-5와 비교됨).

[0258] 화합물은 FAP (예를 들어, FAP5) 발현 세포에 대해 강한 (예를 들어, 결합) 친화도를 가질 수 있다. 일부 경우에, 이러한 강한 결합 친화도는, 화합물이 FAP (예를 들어, FAP5) 발현 세포에 장기간 동안 (예를 들어, 관심 조직 (예를 들어, 종양 또는 섬유화 조직)에 국제화된 화합물로부터의 신호를 측정하거나 또는 페이로드 (예를 들어, 치료제)를 전달하기에 충분한 기간 동안) 국제화되도록 한다. 화합물은 0.01 nM 내지 1 μ M의, FAP (예를 들어, FAP5) 발현 세포에 대한 결합 친화도를 가질 수 있다. 예를 들어, 화합물 1은 FAP5 발현 세포에서 5 nM 내지 15 nM의 K_d 를 갖는다 (도 7). 또한, 도 8에 나타낸 바와 같이, 화합물 1은 FAP5를 발현하지 않는 HT1080 세포에 결합하지 않고, 화합물 1은 비표지된 FAP5 리간드 (예를 들어, 화합물 8)의 존재 하에서는 FAP5를 발현하는 HT1080 세포에 결합하지 않는다.

[0259] 도 7은 HT1080-FAP 세포에 대한 표적화 리간드의 결합 곡선을 보여준다. 도 8은 HT1080-FAP 세포 (표적화 리간드 단독 (원) 및 표적화 리간드 및 경쟁자 (정사각형)) 및 HT1080 세포 (삼각형)에 대한 표적화 리간드의 결합 곡선을 보여준다.

[0260] 화합물은 암 세포 (예를 들어, 또는 종양)를 표적화할 수 있다. 본원에 제공된 화합물은 최소의 오프-타겟 효과로 종양을 표적화할 수 있다. 화합물은 신속하게 축적될 수 있고, 장기간 동안 종양에서 그의 농도를 유지할 수 있다. 예시된 바와 같이, 리간드는 표적 위치 (종양)에서 우수한 축적을 나타내는 반면, 오프-타겟 위치에서는 제한된 축적을 나타낸다. 추가로 예시된 바와 같이, 비-종양 기관에서 화합물 (FAP 리간드 접합체)의 축적은 거의 또는 전혀 없다. 구체적으로, 예시된 바와 같이, 일부 경우에, 심장, 간, 폐, 비장, 위 또는 장 내의 임의의 지점에서 축적이 거의 또는 전혀 없으면서, 장기간 (예를 들어, 5일 이상까지) 동안 표적 위치 (예를

들어, 종양)에서 고농도의 화합물이 달성될 수 있다. 짧은 기간 동안 신장에 일부 축적이 있지만, 이는 15시간까지 대부분 제거된다 (예를 들어, 수일 동안 표적 위치에서 고농도를 갖는 것과 비교됨). 특정 경우에, 이는, 표적화 리간드 부재 하에는 치료 농도를 유지하고/거나 치료 효과를 제공하기 위해 (이러한 결과가 허용되지 않는 부작용 및/또는 사망 없이도 얻어질 수 있다면) 1일 1회 또는 2회 투여해야 하는 특정 요법이, 본원에 제공된 형태로는 훨씬 덜 빈번한 비율로 (예를 들어, 1주 1회 또는 2회) 투여될 수 있음을 의미한다. 더욱이, 언급된 바와 같이, 본원에 제공된 화합물의 오프-타겟 축적은 거의 없으며, 이는 이러한 화합물을 유효량으로 투여하는 것에 대한 내약성을 나타낸다. 일부 경우에, 화합물은 대상체의 신장에 축적된다. 일부 경우에, (예를 들어, 신장에서의) 화합물의 축적은 최대 6시간이다. 일부 경우에, 화합물은 24시간 (예를 들어, 24시간, 15시간 등)까지 기관 (예를 들어, 신장)으로부터 유의하게 제거된다. 일부 경우에, 화합물은 적어도 1일 (예를 들어, 1일 이상, 2일 이상, 3일 이상, 4일 이상, 5일 이상 등) 동안 종양에 국재화되어 유지된다.

[0261] 예를 들어, 도 9a - 도 20c는 화합물 (예를 들어, 화합물 8)이 종양 (예를 들어, MDA-MB-231 이종이식 마우스 (예를 들어, 도 9a-10 및 도 17a-17d), KB 이종이식 마우스 (예를 들어, 도 11a-13d 및 도 16a-16d), FADu 이종이식 마우스 (예를 들어, 도 14a-14d), HT29 이종이식 마우스 (예를 들어, 도 15a-15d), U87MG 종양 이종이식 마우스 (예를 들어, 도 18a-18d), PANC1 이종이식 마우스 (예를 들어, 도 19a-19d), 및 4T1 종양 이종이식 마우스 (예를 들어, 도 20a-20c)에서의 FAP5를 발현하는 종양)에 국재화된다는 것을 보여준다. 이 데이터는 본원에 제공된 화합물이 적어도 1일, 2일, 3일, 4일, 5일 또는 그 초과 동안 (예를 들어, 여러 종양 유형에서) (오로지) 종양에 국재화된다는 것을 보여준다. 또한, 화합물 (예를 들어, 화합물 8)은 신장에서 일부 축적을 나타내지만 (예를 들어, 일반적으로 2시간에 시작함), 신장에서의 피크 축적은 6시간에 나타나며, 그 후 급속하게 감소 및 클리어런스가 이루어진다. 예를 들어, 신장 노출의 유의한 감소가 단지 15시간 후에 달성되며, 24시간까지 거의 완전한 클리어런스가 이루어진다. 대조적으로, 화합물은 신속하게 흡수되고 (예를 들어, 2시간까지), 신장에서의 그의 존재보다 훨씬 더 길게 (예를 들어, 1일, 2일, 3일, 4일, 5일 초과 등) 종양에서 유지된다. 종합하면, 이들 생체내 데이터는 본원에 제공된 접합체가 신장을 표적화하여, 장기간 동안 (예를 들어, 수일 동안) 페이로드 (예를 들어, 영상화제 또는 화학요법제)의 전달을 가능하게 한다는 것을 보여준다.

[0262] 도 9a 및 도 9b는 MDA-MB-231 이종이식 마우스 (400 mm^3 의 종양 크기를 가짐)에 대한 본원에 제공된 표적화 리간드 (예를 들어, 10 nmoI의 용량)의 2시간 내지 122시간에 대한 생체내 영상화를 보여준다. 122시간 후의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장 및 위에서의 생체분포가 도 9c에서 제시된다. 영상에서 흑색 또는 백색 타원 또는 원은 표적화 리간드가 존재하는 곳을 강조한다. 타원 또는 원 내의 보다 어두운 음영은 타원 또는 원 내의 보다 밝은 음영보다 표적화 리간드의 농도가 보다 높음을 나타낸다. 보다 일반적으로, 도 9a 및 도 9b는 FAP-풍부 환경을 갖는 종양을 갖는 포유동물에의 투여 후 표적화 리간드의 생체내 종양-특이적 표적화를 입증하는, 2시간 내지 122시간에 대한 영상화 결과를 도시한다. 도 9c는 FAP-풍부 환경을 갖는 종양을 갖는 포유동물에의 투여 후 표적화 리간드의, 122시간 후의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장 및 위에서의 생체분포를 도시한다. 알 수 있는 바와 같이, 일반적으로 포유동물 또는 구체적으로 포유동물의 기관을 관찰할 때 (i) 수일 동안 및 (ii) 다른 곳에서 발견되는 화합물이 거의 없거나 전혀 없이, 종양의 우수한 표적화가 존재한다.

[0263] 도 10은 비표지된 경쟁자의 존재 및 부재의 두 경우 모두에서, MDA-MB-231 이종이식 마우스에 대한 본원에 제공된 표적화 리간드의 2시간 내지 6시간에 대한 생체내 영상화를 보여준다. 경쟁자 부재 하의 연구에서, 10 nmoI의 표지된 리간드를 마우스에 투여하였다. 경쟁자 존재 하의 연구에서는, 10 nmoI의 표지된 리간드 및 1,000 nmoI의 비표지된 리간드를 마우스에 투여하였다. 각각의 시점에 대해, 최좌측 마우스는 표적화 리간드만으로 처리된 마우스를 나타내는 한편, 최우측 마우스는 표적화 리간드 및 비표지된 경쟁자로 처리된 마우스를 나타낸다. 영상에서 흑색 타원 또는 원은 표적화 리간드가 존재하는 곳을 강조한다. 타원 또는 원 내의 보다 어두운 음영은 타원 또는 원 내의 보다 밝은 음영보다 표적화 리간드의 농도가 보다 높음을 나타낸다. 알 수 있는 바와 같이, FAP 경쟁자 부재 하에는, 2 및 6시간 후에 종양 위치의 우수한 표적화가 달성된다. 대조적으로, FAP 경쟁자의 존재는 화합물의 종양 표적화를 제한하였고, 이는 일부 경우에 화합물이 목적하는 위치를 표적화할 수 있기 위해서는 FAP를 표적화하는 화합물의 능력이 중요하다는 것을 입증한다. 또한, 일부 경우에, 이러한 정보는 FAP-풍부 위치가 아닌 위치에 표적화 화합물의 불균형하거나 원치 않는 축적이 이루어질 것으로 예상되지 않음을 입증한다.

[0264] 도 11a 및 도 11b는 KB 이종이식 마우스 (600 mm^3 의 종양 크기를 가짐)에 대한 본원에 제공된 표적화 리간드 (예를 들어, 5 nmoI의 용량)의 2시간 내지 122시간에 대한 생체내 영상화를 보여준다. 122시간에서의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장 및 위에서의 생체분포가 도 11c에서 제시된다. 영상에서 흑색 타원 또는 원은 표

적화 리간드가 존재하는 곳을 강조한다. 타원 또는 원 내의 보다 어두운 음영은 타원 또는 원 내의 보다 밝은 음영보다 표적화 리간드의 농도가 보다 높음을 나타낸다. 고농도의 활성제가 5일 이상 동안 종양 위치에서 나타난다. 대조적으로, 다른 기관에는 FAP-표적화 화합물이 명백히 없다. 또한, 이들 데이터는 도 9의 MDA-MB-231 이종이식 마우스 및 도 11의 KB 이종이식 마우스를 비롯한 상이한 시스템에서 유사한 효과를 입증한다.

[0265]

도 12는 비표지된 경쟁자의 존재 및 부재의 두 경우 모두에서, KB 이종이식 마우스에 대한 본원에 제공된 표적화 리간드의 2시간 내지 6시간에 대한 생체내 영상화를 보여준다. 경쟁자 부재 하의 연구에서, 10 nmol의 표지된 리간드를 마우스에 투여하였다. 경쟁자 존재 하의 연구에서는, 10 nmol의 표지된 리간드 및 1,000 nmol의 비표지된 리간드를 마우스에 투여하였다. 각각의 시점에 대해, 좌측 마우스는 표적화 리간드만으로 처리된 마우스를 나타내는 한편, 우측 마우스는 표적화 리간드 및 비표지된 경쟁자로 처리된 마우스를 나타낸다. 영상에서 흑색 타원 또는 원은 표적화 리간드가 존재하는 곳을 강조한다. 타원 또는 원 내의 보다 어두운 음영은 타원 또는 원 내의 보다 밝은 음영보다 표적화 리간드의 농도가 보다 높음을 나타낸다. 알 수 있는 바와 같이, FAP 경쟁자 부재 하에는, 2 및 6시간 후에 종양 위치의 우수한 표적화가 달성된다. 대조적으로, FAP 경쟁자의 존재는 화합물의 종양 표적화를 제한하였으며, 이는 일부 경우에 본원에 제공된 화합물이 목적하는 위치를 표적화할 수 있기 위해서는 FAP를 표적화하는 화합물의 능력이 중요하다는 것을 입증한다. 또한, 일부 경우에, 이러한 정보는 FAP-풍부 위치가 아닌 위치에 표적화 화합물의 불균형하거나 원치 않는 축적이 이루어질 것으로 예상되지 않음을 입증한다. 또한, 이들 데이터는 도 10의 MDA-MB-231 이종이식 마우스 및 도 12의 KB 이종이식 마우스를 비롯한 상이한 시스템에서 유사한 효과를 입증한다.

[0266]

도 13은 (10 nmol의 용량으로 꼬리 정맥에 주사된) 표적화 리간드의 (KB 종양-보유 마우스에서의), 2시간, 4시간, 6시간, 6시간 (신장 커버 (KC)), 15시간, 24시간 및 122시간에서의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장 및 위에서의 생체분포를 나타낸다. 영상에서의 흑색 또는 백색 화살표, 타원 또는 원은 표적화 리간드가 존재하는 곳을 강조한다. 화살촉에 인접하거나 또는 타원 또는 원 내에서의 보다 어두운 음영은 보다 밝은 음영보다 표적화 리간드의 농도가 보다 높음을 나타낸다.

[0267]

도 14a는 주사 6시간 후의 FADu 이종이식 마우스 (예를 들어, M1, M2, 및 M3)에 대한 표적화 리간드 (예를 들어, 5 nmol의 용량)의 생체내 영상화 (전신 분포)를 나타낸다. 6시간 후의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장, 근육 및 위에서의 생체분포가 도 14b에서 제시된다. 도 14c는 주사 6시간 후의 FADu 이종이식 마우스 (예를 들어, M1, M2, 및 M3)에 대한 표적화 리간드 (예를 들어, 5 nmol의 용량)와 비표지된 경쟁자 500 nmol 사이의 경쟁 실험의 생체내 영상화 (전신 분포)를 보여준다. 6시간 후의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장, 근육 및 위에서의 생체분포가 도 14d에서 제시된다. 영상에서의 흑색 또는 백색 화살표, 타원 또는 원은 표적화 리간드가 존재하는 곳을 강조한다. 화살촉에 인접하거나 또는 타원 또는 원 내에서의 보다 어두운 음영은 보다 밝은 음영보다 표적화 리간드의 농도가 보다 높음을 나타낸다. 도 14a 및 도 14b에서 볼 수 있는 바와 같이, FAP-표적화 화합물은 오프-타겟 축적이 거의 없이 종양을 표적화한다. 도 14c 및 도 14d는 FAP-표적화 경쟁자의 존재 하에서는, 종양에서의 FAP-표적화 화합물의 축적이 더 적다는 것을 입증하고 (예를 들어, FAP에 대한 경쟁으로 인한), 도 14d는 FAP에 대한 경쟁이 있을 때 오프-타겟 효과가 더 많다는 것을 입증한다 (예를 들어, 위 및 신장에서).

[0268]

또한, 도 13 및 도 14b에서 볼 수 있는 바와 같이, 고농도의 활성제가 5일 이상 동안 종양 위치에서 나타난다. 대조적으로, 다른 기관에는 FAP-표적화 화합물이 명백히 없다. 신장에 활성제의 일부 축적이 있는 것으로 보이지만, 이러한 축적은 약 6시간에 피크에 달하는 것으로 보이며, 신장에서의 농도의 유의한 감소가 15시간까지 관찰되고, 24시간까지 거의 완전한 클리어런스가 이루어진다. 일부 경우에, 활성 페이로드를 전달하기 위한 표적화 리간드의 사용은 우수한 (예를 들어, 거의 없거나 또는 전혀 없는) 오프-타겟 효과 또는 부작용으로 페이로드의 표적 위치로의 우수한 전달을 용이하게 한다. 더욱이, 일부 경우에, 단일 투여로 수일 동안 표적 위치에서의 전달을 유지하는 능력은 덜 빈번한 치료 투여, 개선된 환자 순응도 (예를 들어, 덜 빈번한 투여 요건을 통해), 감소된 부작용 (예를 들어, 덜 빈번한 투여는 오프 타겟/부작용을 추가로 감소시킴), 및/또는 다른 이익을 용이하게 한다.

[0269]

도 15a는 주사 6시간 후의 HT29 이종이식 마우스 (예를 들어, M1, M2 및 M3)에 대한 표적화 리간드 (5 nmol)의 생체내 영상화 (전신 분포)를 보여준다. 6시간 후의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장, 근육 및 위에서의 생체분포가 도 15b에서 제시된다. 도 15c는 주사 6시간 후의 HT29 이종이식 마우스 (예를 들어, M1, M2 및 M3)에 대한 표적화 리간드 (5 nmol)와 비표지된 경쟁자 (500 nmol) 사이의 경쟁 실험의 생체내 영상화 (전신 분포)를 보여준다. 6시간 후의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장, 근육 및 위에서의 생체분포가 도 15d에서 제시된다. 영상에서의 흑색 또는 백색 화살표, 타원 또는 원은 표적화 리간드가 존재하는 곳을 강조한다. 화

살측에 인접하거나 또는 타원 또는 원 내에서의 보다 어두운 음영은 보다 밝은 음영보다 표적화 리간드의 농도가 보다 높음을 나타낸다. 도 16a는 주사 6시간 후의 KB 종양 이종이식 마우스 (예를 들어, M1, M2 및 M3)에 대한 표적화 리간드 (5 nmol)의 생체내 영상화 (전신 분포)를 보여준다. 6시간 후의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장, 근육 및 위에서의 생체분포가 도 16b에서 제시된다. 도 16c는 주사 6시간 후의 KB 종양 이종이식 마우스 (예를 들어, M1, M2 및 M3)에 대한 표적화 리간드 (5 nmol)와 비표지된 경쟁자 (500 nmol) 사이의 경쟁 실험의 생체내 영상화 (전신 분포)를 보여준다. 6시간 후의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장, 근육 및 위에서의 생체분포가 도 16d에서 제시된다. 영상에서의 흑색 또는 백색 화살표, 타원 또는 원은 표적화 리간드가 존재하는 곳을 강조한다. 화살측에 인접하거나 또는 타원 또는 원 내에서의 보다 어두운 음영은 보다 밝은 음영보다 표적화 리간드의 농도가 보다 높음을 나타낸다. 도 17a는 주사 6시간 후의 MDA-MB-231 종양 이종이식 마우스 (예를 들어, M1, M2, 및 M3)에 대한 본원에 제공된 표적화 리간드 (예를 들어, 5 nmol의 농도)의 생체내 영상화 (전신 분포)를 보여준다. 6시간 후의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장, 근육 및 위에서의 생체분포 (예를 들어, M1, M1 신장 커버 (KC), M2, 및 M3)가 도 17b에서 제시된다. 도 17c는 주사 6시간 후의 MDA-MB-231 종양 마우스 (예를 들어, M1, M2, 및 M3)에 대한 표적화 리간드 (예를 들어, 5 nmol의 농도)와 비표지된 경쟁자 (500 nmol) 사이의 경쟁 실험의 생체내 영상화 (전신 분포)를 보여준다. 6시간 후의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장, 근육 및 위에서의 생체분포가 도 17d에서 제시된다. 영상에서의 흑색 또는 백색 화살표, 타원 또는 원은 표적화 리간드가 존재하는 곳을 강조한다. 화살측에 인접하거나 또는 타원 또는 원 내에서의 보다 어두운 음영은 보다 밝은 음영보다 표적화 리간드의 농도가 보다 높음을 나타낸다. 도 18a는 주사 6시간 후의 U87MG 종양 이종이식 마우스 (예를 들어, M1, M2 및 M3)에 대한 표적화 리간드 (5 nmol)의 생체내 영상화 (전신 분포)를 보여준다. 6시간 후의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장, 근육 및 위에서의 생체분포 (예를 들어, M1, M1 신장 커버 (KC), M2, M3 KC, 및 M3)가 도 18b에서 제시된다. 도 18c는 주사 6시간 후의 U87MG 종양 마우스 (예를 들어, M1, M2 및 M3)에 대한 표적화 리간드 (5 nmol)와 비표지된 경쟁자 (500 nmol) 사이의 경쟁 실험의 생체내 영상화 (전신 분포)를 보여준다. 6시간 후의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장, 근육 및 위에서의 생체분포가 도 18d에서 제시된다. 영상에서의 흑색 또는 백색 화살표, 타원 또는 원은 표적화 리간드가 존재하는 곳을 강조한다. 화살측에 인접하거나 또는 타원 또는 원 내에서의 보다 어두운 음영은 보다 밝은 음영보다 표적화 리간드의 농도가 보다 높음을 나타낸다. 도 19a는 주사 6시간 후의 PANC1 종양 이종이식 마우스 (예를 들어, M1, M2, 및 M3)에 대한 본원에 제공된 표적화 리간드 (예를 들어, 5 nmol의 용량)의 생체내 영상화 (전신 분포)를 보여준다. 6시간 후의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장, 근육 및 위에서의 생체분포 (예를 들어, M1, M1 신장 커버 (KC), M2 KC, M2, M3 KC, 및 M3)가 도 18b에서 제시된다. 도 18c는 주사 6시간 후의 PANC1 종양 마우스 (예를 들어, M1, M2, 및 M3)에 대한 표적화 리간드 (예를 들어, 5 nmol의 용량)와 비표지된 경쟁자 (500 nmol) 사이의 경쟁 실험의 생체내 영상화 (전신 분포)를 보여준다. 6시간 후의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장, 근육 및 위에서의 생체분포가 도 18d에서 제시된다. 영상에서의 흑색 또는 백색 화살표, 타원 또는 원은 표적화 리간드가 존재하는 곳을 강조한다. 화살측에 인접하거나 또는 타원 또는 원 내에서의 보다 어두운 음영은 보다 밝은 음영보다 표적화 리간드의 농도가 보다 높음을 나타낸다. 도 20a는 주사 2시간 후의 4T1 종양 이종이식 마우스에 대한 표적화 리간드 (예를 들어, 5 nmol의 용량) 단독 대 표적화 리간드 및 비표지된 경쟁자의 생체내 영상화 (전신 분포)를 보여준다. 도 20b는 주사 6시간 후의 4T1 종양 이종이식 마우스에 대한 표적화 리간드 (예를 들어, 5 Nmol의 용량) 단독 대 표적화 리간드 및 비표지된 경쟁자의 생체내 영상화 (전신 분포)를 보여준다. 6시간 후의 종양, 심장, 간, 폐, 비장, 신장, 장, 근육 및 위에서의 생체분포 (예를 들어, 표적화, 표적화 신장 커버 (KC), 및 경쟁)가 도 20c에서 제시된다. 영상에서의 흑색 또는 백색 화살표, 타원 또는 원은 표적화 리간드가 존재하는 곳을 강조한다. 화살측에 인접하거나 또는 타원 또는 원 내에서의 보다 어두운 음영은 보다 밝은 음영보다 표적화 리간드의 농도가 보다 높음을 나타낸다. 이러한 결과는 다른 도면에 제시된 결과와 일치하며, 다양한 종양 유형 및/또는 모델에 대한 결과의 일관성을 추가로 입증한다.

[0270] 또한, 도 21-22는 여러 화합물 (예를 들어, 화합물 21, 화합물 1, 화합물 5, 및 화합물 6)이 FAP (예를 들어, FAP5)를 발현하는 세포를 (매우 높은 친화도 (예를 들어, 1 nM 내지 10 nM)로) 표적화한다는 것을 보여준다.

[0271] 또한, 화합물이 표적 부위에 국재화됨을 보여주는 도 9a 내지 도 22와 함께, 도 23 및 도 24는 화합물 (예를 들어, 화합물 11)이 FAP (예를 들어, FAP5) 발현 세포에 대해 효능 (예를 들어, 섬유화 반응을 감소시킴)을 갖는 것을 보여준다. 예를 들어, 화합물 (예를 들어, 화합물 11)은 병리학적 생물학적 반응을 감소시키는 데 있어서, 예를 들어, TGF- β -자극된 인간 폐 섬유모세포에서 Akt의 인산화를 감소시키는 데 있어서 (도 23), 및 TGF- β -자극된 인간 폐 섬유모세포에서 콜라겐 1A1 mRNA의 상대적 발현을 감소시키는 데 있어서 (도 24), PI3Ki 단독과 대등한 효능을 갖는다. 따라서, 페이로드 (예를 들어, PI3Ki) 단독이 병원성 생물학적 반응을 효과적인

로 감소시키기는 하지만, 본원에 제공된 화합물은 병원성 생물학적 반응을 효과적으로 감소시키고, 표적 부위 (예를 들어, 종양 또는 섬유화 조직)에서의 체류 시간을 증가시켜, 궁극적으로 표적 부위에서의 페이로드의 유효 농도를 증가시킨다 (예를 들어, 부작용을 감소시키고, 투여를 감소시키는 등).

[0272] B는 영상화제일 수 있다. B는 방사성-영상화제일 수 있다. B는 광역학 치료제일 수 있다. B는 화학요법제일 수 있다. B는 항섬유화제일 수 있다. B는 방사선요법제일 수 있다. B는 항암제일 수 있다. B는 암 세포 또는 암-연관 섬유모세포, 근섬유모세포, 또는 다른 종양 미세환경 인자에 대해 효과적인 항암제일 수 있다.

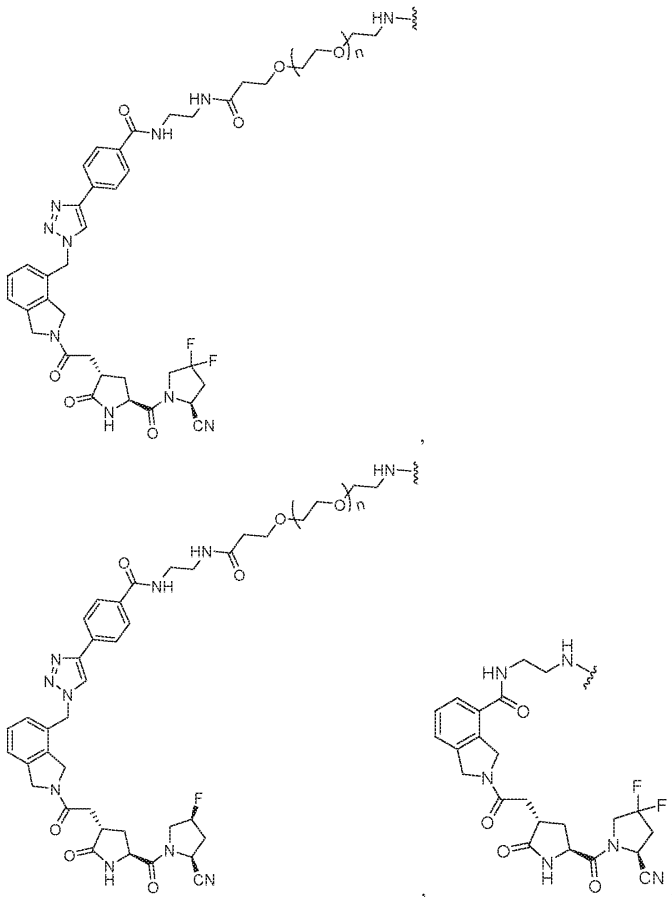
[0273] B는 방사성-영상화 핵종을 포함할 수 있다. 방사성-영상화 핵종은 임의의 적합한 방사성-영상화 핵종일 수 있다. 방사성-영상화 핵종은 ^{99m}Tc , ^{111}In , ^{18}F , ^{68}Ga , ^{124}I , ^{125}I , 및 ^{131}I 로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0274] B는 방사선요법 핵종을 포함할 수 있다. 방사선요법 핵종은 ^{177}Lu , ^{90}Y , 및 ^{211}At 로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

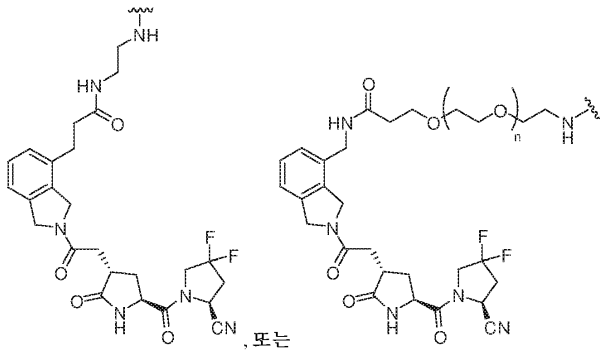
[0275] B는 킬레이터일 수 있고, 방사선치료 핵종의 경우 B는 핵종을 킬레이팅할 수 있다.

[0276] B는 방사성표지된 보결분자단 (또는 그의 라디칼)을 포함할 수 있다. 방사성표지된 보결분자단은 ^{18}F , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I , 및 ^{211}At 로 이루어진 군으로부터 선택된 방사성동위원소를 포함할 수 있다.

[0277] A-L-은 하기 구조를 갖는다:



[0278]



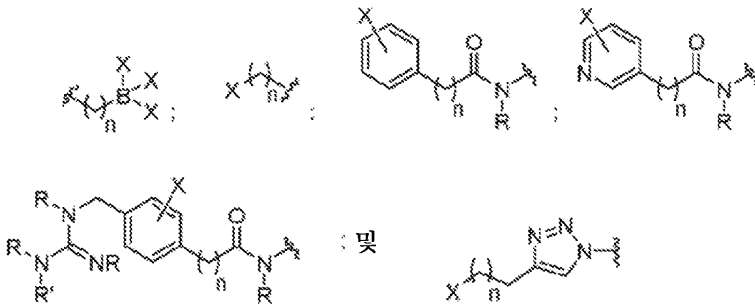
[0279]

[0280]

[0281]

여기서 n은 1-5의 정수이다.

B (예를 들어, 방사성표지된 보결분자단 (또는 그의 라디칼))는 하기 구조를 갖는다:



[0282]

[0283]

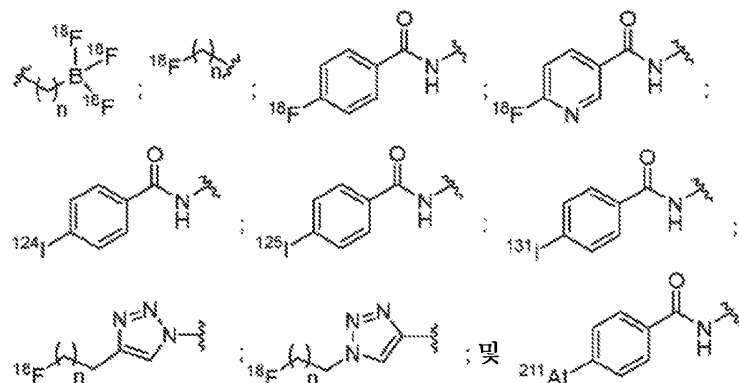
여기서

각각의 X는 독립적으로 ^{18}F , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I , 및 ^{211}At 로 이루어진 군으로부터 선택된 방사성동위원소이고;

각각의 R 또는 R'은 독립적으로 H, 알킬, 치환된 알킬, 시클로알킬, 치환된 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 또는 치환된 헤테로아릴이고;

각각의 n은 독립적으로 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 및 20으로 이루어진 군으로부터 선택된 정수이다.

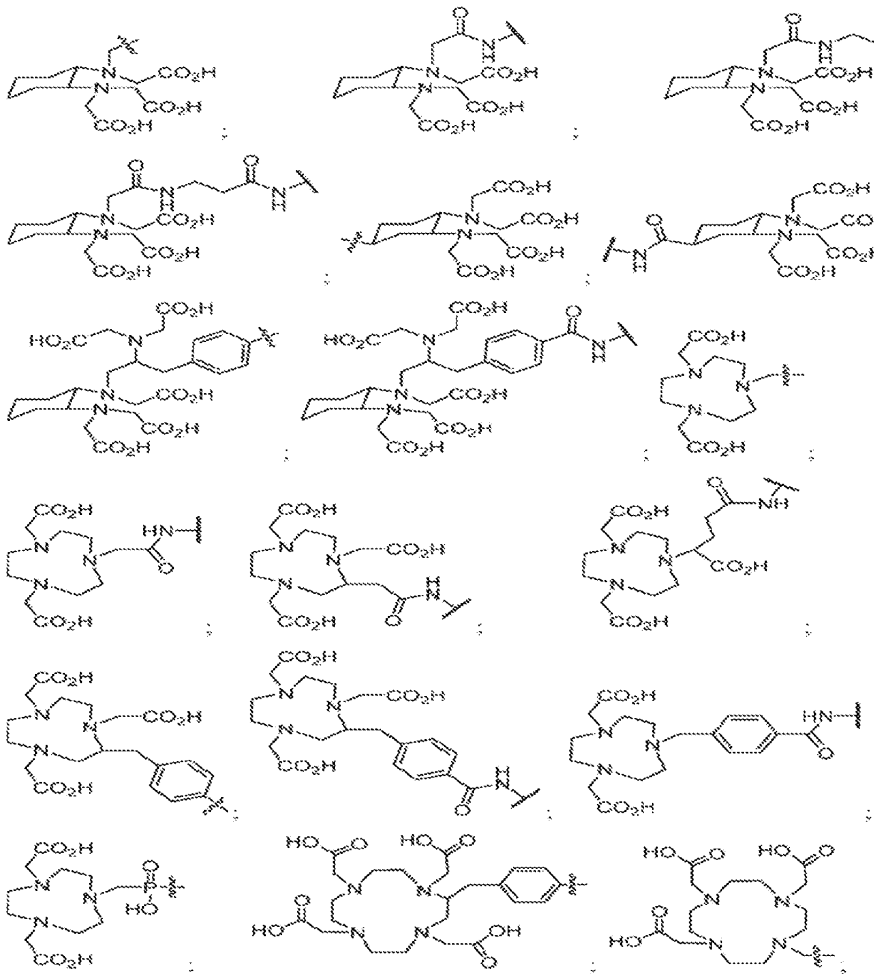
대표적인 방사성표지된 보결분자단 (예를 들어, B)은 하기를 포함하나 이에 제한되지는 않는다:



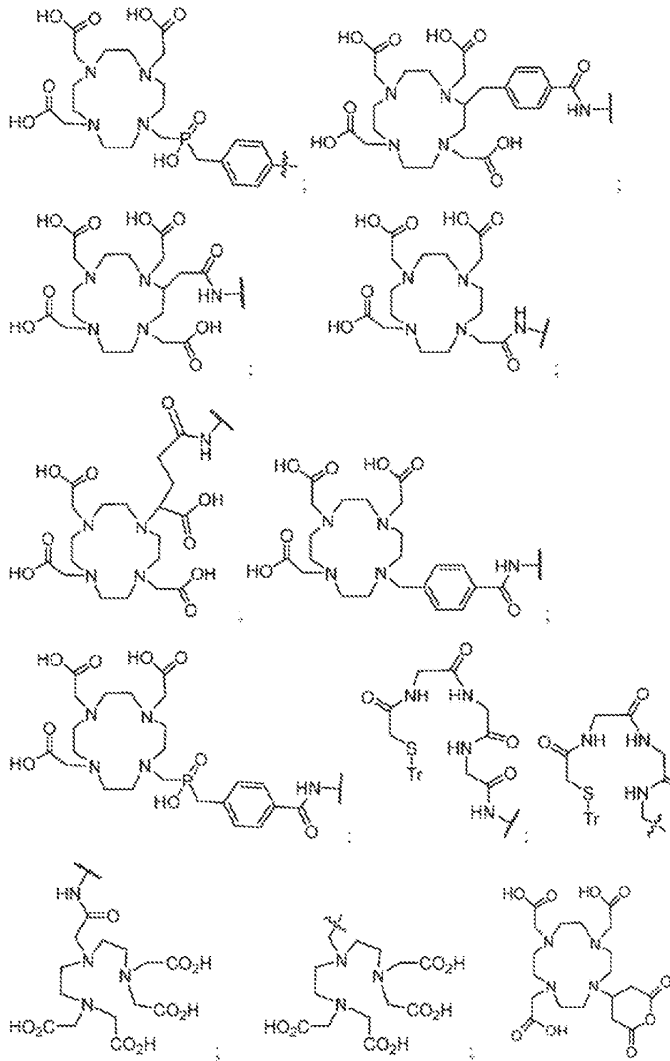
[0288]

[0289]

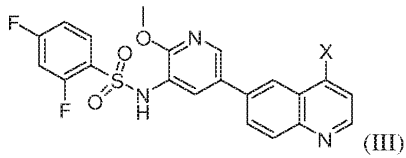
B는 킬레이트화 기 (예를 들어, 킬레이트화제 (또는 그의 라디칼))일 수 있다. 대표적인 킬레이트화 기는 하기를 포함하나 이에 제한되지는 않는다 (그의 유리 염기 포함, 예컨대 여기서 1개 이상의 CO_2H (COOH)의 양성자 (H^+)가 제거되어 COO^- 를 형성함):



[0290]

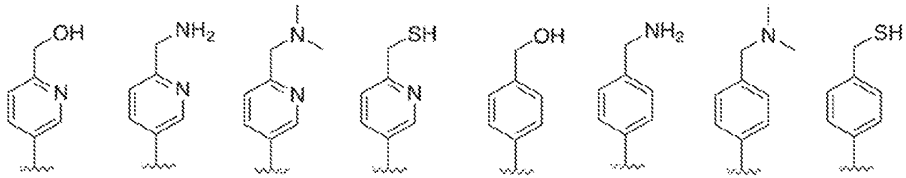


- [0291]
- [0292] B는 항섬유화제 또는 그의 라디칼일 수 있다.
- [0293] B는 PI-3 키나제 억제제 또는 그의 라디칼일 수 있다.
- [0294] B는 전환 성장 인자 베타 (TGF β)/Smad 억제제 또는 그의 라디칼일 수 있다.
- [0295] B는 윙리스(Wingless)-관련 통합 부위 (Wnt)/ β -카테닌 억제제 또는 그의 라디칼일 수 있다.
- [0296] B는 혈관 내피 성장 인자 수용체 (VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3), 섬유모세포 성장 인자 수용체 (FGFR1 또는 FGFR2), 또는 혈소판-유래 성장 인자 수용체 (PDGFR)에 대한 키나제 억제제 또는 그의 라디칼일 수 있다.
- [0297] B는 국소 부착 키나제 (FAK) 또는 (Rho)-연관 단백질 키나제 (ROCK)에 대한 키나제 억제제, 또는 그의 라디칼일 수 있다.
- [0298] B는 톨-유사 수용체 (TLR)의 효능제 또는 그의 라디칼일 수 있다.
- [0299] B는 NF- κ B (활성화된 B 세포의 핵 인자 카파-경쇄-인핸서)의 억제제, 또는 그의 라디칼일 수 있다.
- [0300] B는 콜라겐 합성의 억제제, 또는 그의 라디칼일 수 있다.
- [0301] B는 히드록실 라디칼을 통해 L에 부착된다.
- [0302] PI-3 키나제 억제제 (또는 그의 라디칼)(예를 들어, PI-3 키나제 억제제 (또는 그의 라디칼)를 포함하는 화합물 또는 접합체)는 화학식 III의 구조를 가질 수 있다:



여기서

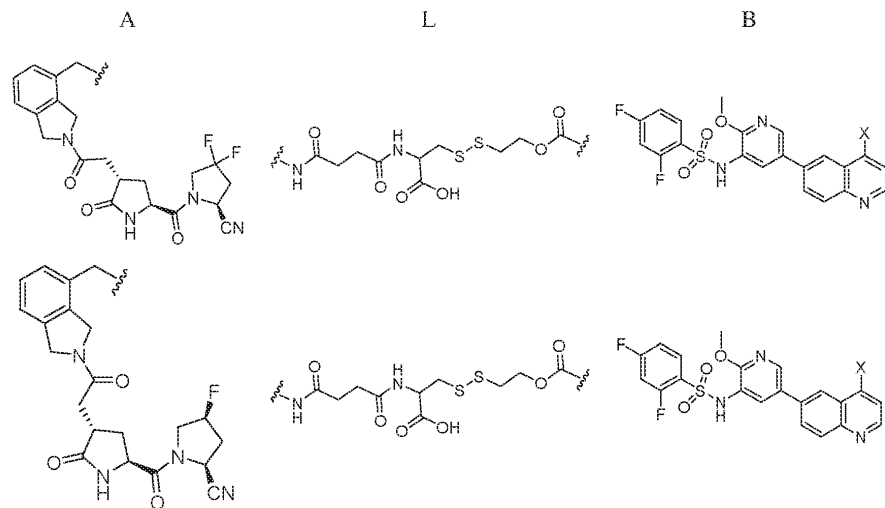
X는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된다:



X는 B의 라디칼일 수 있다 (예를 들어, 여기서 라디칼은 헤테로원자 (예를 들어, X의 S, N 또는 O) 상에 있음). B는 X (예를 들어, X의 히드록실 라디칼)를 통해 L에 부착될 수 있다.

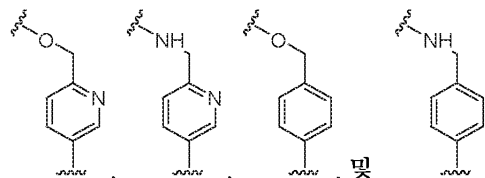
화합물 (예를 들어, 접합체)은 하기 구조를 가질 수 있다:

표 2

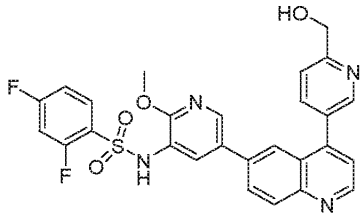


여기서

X는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된다:



PI-3 키나제 억제제 (또는 그의 라디칼)(예를 들어, PI-3 키나제 억제제 (또는 그의 라디칼)를 포함하는 화합물 또는 접합체)는 하기 구조를 가질 수 있다:



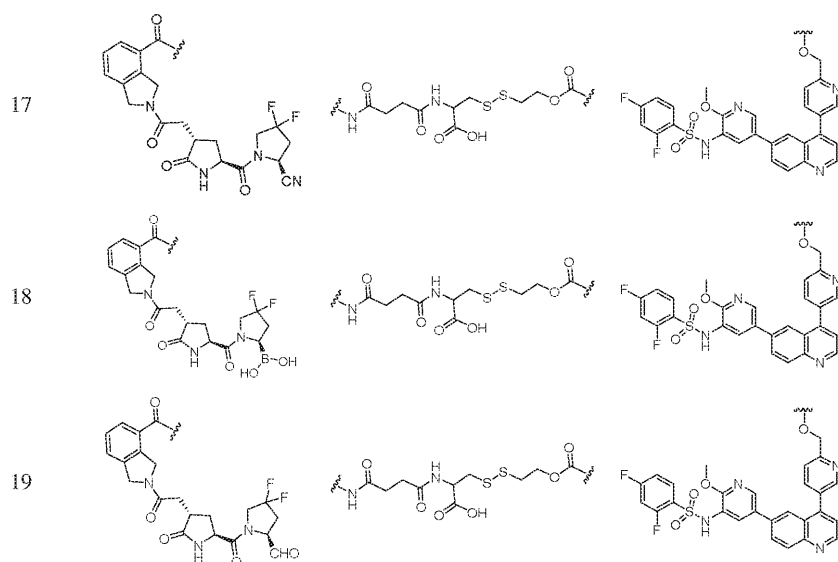
[0315]

[0316] 화합물 (예를 들어, 접합체)은 하기 구조를 가질 수 있다:

[0317] 표 3

실시예	A	L	B
11			
12			
13			
14			
15			
16			

[0318]



[0319]

[0320] 화합물 (예를 들어, 접합체)은 하기 구조를 가질 수 있다:

[0321]

丑 4

화합물

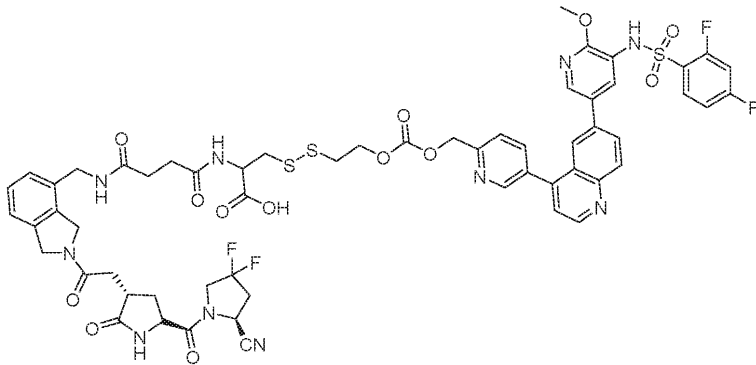
구조

20

21

[0322]

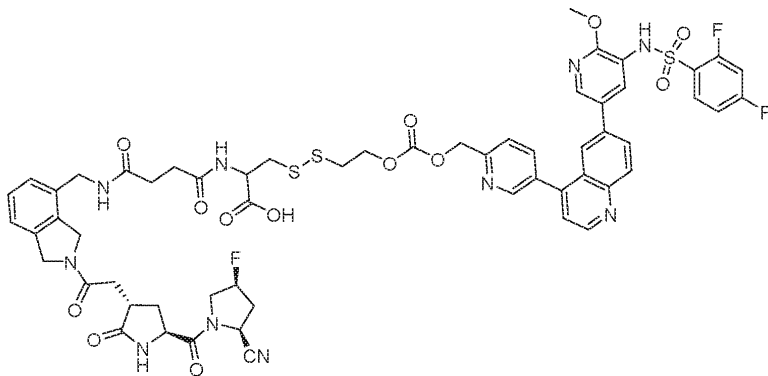
[0323] 화합물 (예를 들어, 접합체)은 하기 구조를 가질 수 있다:



[0324]

[0325]

화합물 (예를 들어, 접합체)은 하기 구조를 가질 수 있다:



[0326]

[0327]

치료 방법

[0328]

염증성 질환 또는 장애를 치료하는 방법이 또한 제공된다. 활성화된 섬유모세포의 활성을 조정함으로써 염증성 질환 또는 장애를 치료하는 방법. 방법은 본원에 제공된 임의의 화학식 (예를 들어, 화학식 (I), 화학식 (I-A), 화학식 (I-B), 화학식 (I-C), 화학식 (II), 화학식 (III), 화학식 (X), 화학식 (X-A), 화학식 (X-B), 표 2, 표 3, 또는 표 4)의 화합물 (예를 들어, 접합체)을 투여하는 것을 포함할 수 있다.

[0329]

암을 치료하는 방법이 제공된다. 암을 치료하는 방법은 활성화된 섬유모세포의 활성을 조정함으로써 이루어질 수 있다. 방법은 본원에 제공된 임의의 화학식 (예를 들어, 화학식 (I), 화학식 (I-A), 화학식 (I-B), 화학식 (I-C), 화학식 (II), 화학식 (III), 화학식 (X), 화학식 (X-A), 화학식 (X-B), 표 2, 표 3, 또는 표 4)의 화합물 (예를 들어, 접합체)을 포함할 수 있다. 방법은 암-활성화 섬유모세포 (CAF)(예를 들어, 암 환자의 CAF)를 본원에 제공된 임의의 화학식 (예를 들어, 화학식 (I), 화학식 (I-A), 화학식 (I-B), 화학식 (I-C), 화학식 (II), 화학식 (III), 화학식 (X), 화학식 (X-A), 화학식 (X-B), 표 2, 표 3, 또는 표 4)의 화합물 (예를 들어, 접합체)과 접촉시키는 것을 포함할 수 있다.

[0330]

섬유증을 치료하는 방법이 또한 제공된다. 섬유증을 치료하는 방법은 활성화된 섬유모세포의 활성을 조정함으로써 이루어질 수 있다. 방법은 본원에 제공된 임의의 화학식 (예를 들어, 화학식 (I), 화학식 (I-A), 화학식 (I-B), 화학식 (I-C), 화학식 (II), 화학식 (III), 화학식 (X), 화학식 (X-A), 화학식 (X-B), 표 2, 표 3, 또는 표 4)의 화합물 (예를 들어, 접합체)을 투여하는 것을 포함할 수 있다.

[0331]

방법은 화학요법 또는 방사선요법일 수 있다.

[0332]

암 또는 섬유증을 갖는 대상체에서 암 또는 섬유증을 영상화하는 방법이 제공된다.

[0333]

광학 영상화를 위한 조성물 및 방법이 또한 제공된다. 조성물 및 방법은 형광-유도 수술을 위한 것일 수 있다. 조성물 및 방법은 방사선-영상화를 위한 것일 수 있다.

[0334]

상기 방법은 접합체 A-L-B의 제약 유효량을 그를 필요로 하는 환자에게 제공하는 단계를 포함하며, 여기서 A는 10,000 미만의 분자량을 갖는 섬유모세포 활성화 단백질 알파 (FAP α) 표적화 모이어티를 포함하고; L은 A 및 B와 화학 결합을 형성할 수 있는 이중-관능화된 링커를 포함하고; B는 광학 염료 (예를 들어, 형광 염료), 광역학 치료제, 방사성-영상화제, 방사선요법제, 화학요법제, 항섬유화제, 또는 암 세포 또는 암-연관 섬유모세포에

대해 효과적인 항암제, 근섬유모세포 또는 다른 종양 미세환경 인자를 포함한다.

- [0335] 제약 조성물, 투여 경로 및 투여
- [0336] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 화합물 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물에 관한 것이다. 특정 실시양태에서, 제약 조성물은 복수의 화합물 및 제약상 허용되는 담체를 포함한다.
- [0337] 특정 실시양태에서, 제약 조성물은 적어도 1종의 추가의 제약 활성제를 추가로 포함한다. 적어도 1종의 추가의 제약 활성제는 허혈-재관류 손상의 치료에 유용한 작용제일 수 있다.
- [0338] 제약 조성물은 1종 이상의 화합물을 제약상 허용되는 담체 및 임의로 1종 이상의 추가의 제약 활성제와 조합함으로써 제조될 수 있다.
- [0339] 상기 언급된 바와 같이, "유효량"은 목적하는 생물학적 효과를 달성하기에 충분한 임의의 양을 지칭한다. 본원에 제공된 교시와 조합하여, 다양한 활성 화합물 및 가중 인자, 예컨대 효력, 상대적 생체이용률, 환자 체중, 유해 부작용의 중증도 및 투여 방식을 선택함으로써, 실질적인 원치 않는 독성을 유발하지 않으면서 특정한 대상체를 치료하는 데 효과적인 예방적 또는 치유적 치료 요법이 계획될 수 있다. 임의의 특정한 적용을 위한 유효량은 치료될 질환 또는 상태, 투여될 특정한 화합물, 대상체의 크기, 또는 질환 또는 상태의 중증도 등의 인자에 따라 달라질 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 과도한 실험을 필요로 하지 않으면서 특정한 화합물 및/또는 다른 치료제의 유효량을 경험적으로 결정할 수 있다. 최대 용량, 즉 일부 의학적 판단에 따른 최고 안전 용량이 사용될 수 있다. 화합물의 적절한 전신 수준을 달성하기 위해 1일에 다중 용량이 고려될 수 있다. 적절한 전신 수준은, 예를 들어 약물에 대한 환자의 피크 또는 지속적인 혈장 수준을 측정하여 결정할 수 있다. "용량" 및 "투여량"은 본원에서 상호교환가능하게 사용된다.
- [0340] 일반적으로, 화합물의 1일 경구 용량은, 인간 대상체에 대해, 1일에 약 0.01 밀리그램/kg 내지 1일에 1,000 밀리그램/kg이다. 0.5 내지 50 밀리그램/kg 범위의 경구 용량으로 1일에 1회 이상 투여하면 치료 결과를 얻을 수 있다. 투여량은 국부 또는 전신의 목적하는 약물 수준을 달성하도록, 투여 방식에 따라 적절하게 조정될 수 있다. 예를 들어, 정맥내 투여는 1일에 한 자릿수 내지 여러 자릿수 더 낮은 용량으로 달라질 수 있다. 이러한 용량에서 대상체의 반응이 불충분한 경우, 환자 내성이 허용하는 정도 내에서 훨씬 더 높은 용량 (또는 상이한, 보다 국제화된 전달 경로에 의해 효과적인 더 높은 용량)이 사용될 수 있다. 화합물의 적절한 전신 수준을 달성하기 위해 1일에 다중 용량이 고려된다.
- [0341] 임의의 화합물에 대해, 치료 유효량은 초기에 동물 모델로부터 결정될 수 있다. 치료 유효 용량은 또한 인간에서 시험된 화합물 및 기타 관련 활성제 등 유사한 약리학적 활성을 나타내는 것으로 공지된 화합물에 대한 인간 데이터로부터 결정될 수 있다. 비경구 투여에는 더 높은 용량이 요구될 수 있다. 적용되는 용량은 투여되는 화합물의 상대 생체이용률 및 효력에 기초하여 조정될 수 있다. 상기 기재된 방법 및 관련 기술분야에 널리 공지된 바와 같은 기타 방법에 기초하여, 최대 효능을 달성하기 위해 용량을 조정하는 것은 통상적인 숙련된 통상의 기술자의 능력 내에 있다.
- [0342] 임상 용도를 위해, 임의의 화합물은 1일에 대상체의 체중 킬로그램 (kg)당 화합물 0.2-2,000 밀리그램 (mg)과 동등하거나 등가인 양으로 투여될 수 있다. 화합물은 1일에 대상체의 체중 kg당 화합물 2-2,000 mg과 동등하거나 등가인 용량으로 투여될 수 있다. 화합물은 1일에 대상체의 체중 kg당 화합물 20-2,000 mg과 동등하거나 등가인 용량으로 투여될 수 있다. 화합물은 1일에 대상체의 체중 kg당 화합물 50-2,000 mg과 동등하거나 등가인 용량으로 투여될 수 있다. 화합물은 1일에 대상체의 체중 kg당 화합물 100-2,000 mg과 동등하거나 등가인 용량으로 투여될 수 있다. 화합물은 1일에 대상체의 체중 kg당 화합물 200-2,000 mg과 동등하거나 등가인 용량으로 투여될 수 있다. 화합물의 전구체 또는 전구약물이 투여되는 경우에, 이는 화합물의 상기 언급된 양과 등가인, 즉 이를 전달하기에 충분한 양으로 투여된다.
- [0343] 화합물의 제제는 인간 대상체에게 치료 유효량으로 투여될 수 있다. 전형적 용량 범위는 1일에 약 0.01 마이크로그램/kg 내지 약 2 mg/kg 체중이다. 투여될 약물의 투여량은 장애의 유형 및 정도, 특정한 대상체의 전반적 건강 상태, 투여될 구체적 화합물, 화합물을 제제화하는 데 사용된 부형제 및 그의 투여 경로 등의 변수에 따라 달라질 수 있다. 상용 실험을 사용하여 임의의 특정한 화합물에 대한 용량 및 투여 빈도를 최적화할 수 있다.
- [0344] 화합물은 약 0.001 마이크로그램/kg 내지 약 500 mg/kg 초과 범위의 농도로 투여될 수 있다. 예를 들어, 농도는 0.001 μ g/kg, 0.01 μ g/kg, 0.05 μ g/kg, 0.1 μ g/kg, 0.5 μ g/kg, 1.0 μ g/kg, 10.0 μ g/kg, 50.0 μ g/kg, 100.0 μ g/kg, 500 μ g/kg, 1.0 mg/kg, 5.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, 15.0 mg/kg, 20.0 mg/kg, 25.0 mg/kg, 30.0 mg/kg, 35.0 mg/kg, 40.0 mg/kg, 45.0 mg/kg, 50.0 mg/kg, 60.0 mg/kg, 70.0 mg/kg, 80.0 mg/kg, 90.0

mg/kg, 100.0 mg/kg, 150.0 mg/kg, 200.0 mg/kg, 250.0 mg/kg, 300.0 mg/kg, 350.0 mg/kg, 400.0 mg/kg, 450.0 mg/kg, 내지 약 500.0 mg/kg 초과 또는 그의 임의의 증분 값일 수 있다. 이들 값과 범위 사이의 모든 값 및 범위는 포괄되는 것으로 의미하는 것으로 이해되어야 한다.

[0345] 화합물은 약 0.2 밀리그램/kg/일 내지 약 100 mg/kg/일 초과 범위의 투여량으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 투여량은 0.2 mg/kg/일 내지 100 mg/kg/일, 0.2 mg/kg/일 내지 50 mg/kg/일, 0.2 mg/kg/일 내지 25 mg/kg/일, 0.2 mg/kg/일 내지 10 mg/kg/일, 0.2 mg/kg/일 내지 7.5 mg/kg/일, 0.2 mg/kg/일 내지 5 mg/kg/일, 0.25 mg/kg/일 내지 100 mg/kg/일, 0.25 mg/kg/일 내지 50 mg/kg/일, 0.25 mg/kg/일 내지 25 mg/kg/일, 0.25 mg/kg/일 내지 10 mg/kg/일, 0.25 mg/kg/일 내지 7.5 mg/kg/일, 0.25 mg/kg/일 내지 5 mg/kg/일, 0.5 mg/kg/일 내지 50 mg/kg/일, 0.5 mg/kg/일 내지 25 mg/kg/일, 0.5 mg/kg/일 내지 20 mg/kg/일, 0.5 mg/kg/일 내지 15 mg/kg/일, 0.5 mg/kg/일 내지 10 mg/kg/일, 0.5 mg/kg/일 내지 7.5 mg/kg/일, 0.5 mg/kg/일 내지 5 mg/kg/일, 0.75 mg/kg/일 내지 50 mg/kg/일, 0.75 mg/kg/일 내지 25 mg/kg/일, 0.75 mg/kg/일 내지 20 mg/kg/일, 0.75 mg/kg/일 내지 15 mg/kg/일, 0.75 mg/kg/일 내지 10 mg/kg/일, 0.75 mg/kg/일 내지 7.5 mg/kg/일, 0.75 mg/kg/일 내지 5 mg/kg/일, 1.0 mg/kg/일 내지 50 mg/kg/일, 1.0 mg/kg/일 내지 25 mg/kg/일, 1.0 mg/kg/일 내지 20 mg/kg/일, 1.0 mg/kg/일 내지 15 mg/kg/일, 1.0 mg/kg/일 내지 10 mg/kg/일, 1.0 mg/kg/일 내지 7.5 mg/kg/일, 1.0 mg/kg/일 내지 5 mg/kg/일, 2 mg/kg/일 내지 50 mg/kg/일, 2 mg/kg/일 내지 25 mg/kg/일, 2 mg/kg/일 내지 20 mg/kg/일, 2 mg/kg/일 내지 15 mg/kg/일, 2 mg/kg/일 내지 10 mg/kg/일, 2 mg/kg/일 내지 7.5 mg/kg/일, 또는 2 mg/kg/일 내지 5 mg/kg/일일 수 있다.

[0346] 화합물은 약 0.25 밀리그램/kg/일 내지 약 25 mg/kg/일 범위의 투여량으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 투여량은 0.25 mg/kg/일, 0.5 mg/kg/일, 0.75 mg/kg/일, 1.0 mg/kg/일, 1.25 mg/kg/일, 1.5 mg/kg/일, 1.75 mg/kg/일, 2.0 mg/kg/일, 2.25 mg/kg/일, 2.5 mg/kg/일, 2.75 mg/kg/일, 3.0 mg/kg/일, 3.25 mg/kg/일, 3.5 mg/kg/일, 3.75 mg/kg/일, 4.0 mg/kg/일, 4.25 mg/kg/일, 4.5 mg/kg/일, 4.75 mg/kg/일, 5 mg/kg/일, 5.5 mg/kg/일, 6.0 mg/kg/일, 6.5 mg/kg/일, 7.0 mg/kg/일, 7.5 mg/kg/일, 8.0 mg/kg/일, 8.5 mg/kg/일, 9.0 mg/kg/일, 9.5 mg/kg/일, 10 mg/kg/일, 11 mg/kg/일, 12 mg/kg/일, 13 mg/kg/일, 14 mg/kg/일, 15 mg/kg/일, 16 mg/kg/일, 17 mg/kg/일, 18 mg/kg/일, 19 mg/kg/일, 20 mg/kg/일, 21 mg/kg/일, 22 mg/kg/일, 23 mg/kg/일, 24 mg/kg/일, 25 mg/kg/일, 26 mg/kg/일, 27 mg/kg/일, 28 mg/kg/일, 29 mg/kg/일, 30 mg/kg/일, 31 mg/kg/일, 32 mg/kg/일, 33 mg/kg/일, 34 mg/kg/일, 35 mg/kg/일, 36 mg/kg/일, 37 mg/kg/일, 38 mg/kg/일, 39 mg/kg/일, 40 mg/kg/일, 41 mg/kg/일, 42 mg/kg/일, 43 mg/kg/일, 44 mg/kg/일, 45 mg/kg/일, 46 mg/kg/일, 47 mg/kg/일, 48 mg/kg/일, 49 mg/kg/일, 또는 50 mg/kg/일일 수 있다.

[0347] 화합물 또는 그의 전구체는 0.01 마이크로몰 내지 500 마이크로몰 이상 범위의 농도로 투여될 수 있다. 예를 들어, 용량은 0.01 마이크로몰, 0.02 마이크로몰, 0.05 마이크로몰, 0.1 마이크로몰, 0.15 마이크로몰, 0.2 마이크로몰, 0.5 마이크로몰, 0.7 마이크로몰, 1.0 마이크로몰, 3.0 마이크로몰, 5.0 마이크로몰, 7.0 마이크로몰, 10.0 마이크로몰, 15.0 마이크로몰, 20.0 마이크로몰, 25.0 마이크로몰, 30.0 마이크로몰, 35.0 마이크로몰, 40.0 마이크로몰, 45.0 마이크로몰, 50.0 마이크로몰, 60.0 마이크로몰, 70.0 마이크로몰, 80.0 마이크로몰, 90.0 마이크로몰, 100.0 마이크로몰, 150.0 마이크로몰, 200.0 마이크로몰, 250.0 마이크로몰, 300.0 마이크로몰, 350.0 마이크로몰, 400.0 마이크로몰, 450.0 마이크로몰 내지 약 500.0 마이크로몰 초과 또는 그의 임의의 증분 값일 수 있다. 이들 값과 범위 사이의 모든 값 및 범위는 포괄되는 것으로 의미하는 것으로 이해되어야 한다.

[0348] 화합물 또는 그의 전구체는 0.10 마이크로그램/mL 내지 500.0 마이크로그램/mL 범위의 농도로 투여될 수 있다. 예를 들어, 농도는 0.10 µg/mL, 0.50 µg/mL, 1 µg/mL, 2.0 µg/mL, 5.0 µg/mL, 10.0 µg/mL, 20 µg/mL, 25 µg/mL, 30 µg/mL, 35 µg/mL, 40 µg/mL, 45 µg/mL, 50 µg/mL, 60.0 µg/mL, 70.0 µg/mL, 80.0 µg/mL, 90.0 µg/mL, 100.0 µg/mL, 150.0 µg/mL, 200.0 µg/mL, 250.0 g/mL, 250.0 µg/mL, 300.0 µg/mL, 350.0 µg/mL, 400.0 µg/mL, 450.0 µg/mL, 내지 약 500.0 µg/mL 초과 또는 그의 임의의 증분 값일 수 있다. 이들 값과 범위 사이의 모든 값 및 범위는 포괄되는 것으로 의미하는 것으로 이해되어야 한다.

[0349] 제제는 제약상 허용되는 농도의 염, 완충제, 보존제, 상용성 담체, 아주반트, 및 임의로 다른 치료 성분을 상용적으로 함유할 수 있는 제약상 허용되는 용액으로 투여될 수 있다. 요법에서의 용도를 위해, 유효량의 화합물은 화합물을 목적하는 표면에 전달하는 임의의 방식에 의해 대상체에게 투여될 수 있다. 제약 조성물의 투여는 통상의 기술자에게 공지된 임의의 수단에 의해 달성될 수 있다. 투여 경로는 정맥내, 근육내, 복강내, 방광내(방광), 경구, 피하, 직접 주사(예를 들어, 종양 또는 농양 내로), 점막(예를 들어, 눈으로 국소), 흡입 및

국소를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

- [0350] 정맥내 및 기타 비경구 투여 경로의 경우에, 화합물은 동결건조 제제로서, 리포솜-삽입 또는 -캡슐화 활성 화합물의 동결건조 제제로서, 수성 현탁액 중 지질 복합체로서, 또는 염 복합체로서 제제화될 수 있다. 동결건조 제제는 일반적으로 투여 직전에 적합한 수용액, 예를 들어 멸균수 또는 염수 중에 재구성된다.
- [0351] 경구 투여의 경우에, 화합물은 활성 화합물(들)을 관련 기술분야에 널리 공지된 제약상 허용되는 담체와 조합함으로써 용이하게 제제화될 수 있다. 이러한 담체는 화합물이 치료될 대상체에 의한 경구 섭취를 위해 정제, 환제, 당의정, 캡슐, 액체, 겔, 시럽, 슬러리, 현탁액 등으로서 제제화될 수 있게 한다. 경구 사용을 위한 제약 제제는 고체 부형제로서 얻어질 수 있고, 생성된 혼합물을 임의로 분쇄하고, 원하는 경우에 적합한 보조제를 첨가한 후에 과립의 혼합물을 가공하여, 정제 또는 당의정 코어를 수득할 수 있다. 적합한 부형제는, 특히, 충전제, 예컨대 락토스, 수크로스, 만니톨, 또는 소르비톨을 비롯한 당; 셀룰로스 제제, 예컨대 예를 들어, 옥수수 전분, 밀 전분, 쌀 전분, 감자 전분, 젤라틴, 트라가칸트 검, 메틸 셀룰로스, 히드록시프로필메틸-셀룰로스, 소듐 카르복시메틸셀룰로스, 및/또는 폴리비닐피롤리돈 (PVP)이다. 원하는 경우, 붕해제, 예컨대 가교 폴리비닐 피롤리돈, 한천, 또는 알긴산 또는 그의 염 예컨대 알긴산나트륨이 첨가될 수 있다. 임의로 경구 제제는 또한 염수 또는 완충제, 예를 들어 내부 산 조건을 중화시키기 위한 EDTA 중에서 제제화될 수 있거나, 또는 임의의 담체 없이 투여될 수 있다.
- [0352] 화합물의 경구 투여 형태가 또한 고려된다. 화합물은 유도체의 경구 전달이 효과적이라도 화학적으로 변형될 수 있다. 일반적으로, 고려되는 화학적 변형은 화합물 그 자체에 대한 적어도 하나의 모이어티의 부착이며, 여기서 상기 모이어티는 (a) 산 가수분해의 억제; 및 (b) 위 또는 장에서 혈류 내로의 흡수를 허용한다. 화합물의 전반적인 안정성의 증가 및 체내 순환 시간의 증가가 또한 바람직하다. 이러한 모이어티의 예는 폴리에틸렌 글리콜, 에틸렌 글리콜과 프로필렌 글리콜의 공중합체, 카르복시메틸 셀룰로스, 텍스트란, 폴리비닐 알콜, 폴리비닐 피롤리돈 및 폴리프롤린을 포함한다. 문헌 [Abuchowski and Davis, "Soluble Polymer-Enzyme Adducts," In: Enzymes as Drugs, Hocenberg and Roberts, eds., Wiley-Interscience, New York, N.Y., pp. 367-383 (1981); Newmark et al., J Appl Biochem 4:185-189 (1982)]. 사용될 수 있는 다른 중합체는 폴리-1,3-디옥솔란 및 폴리-1,3,6-티옥소칸이다. 제약 용법의 경우, 상기 나타난 바와 같이, 폴리에틸렌 글리콜 모이어티가 적합하다.
- [0353] 화합물의 방출 위치는 위, 소장 (십이지장, 공장 또는 회장) 또는 대장일 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 위에서 용해되지 않지만 십이지장 또는 장의 다른 곳에서 물질을 방출하는 제제를 이용할 수 있다. 방출은, 화합물을 보호하거나 또는 위장 환경을 지나서, 예컨대 장에서 화합물을 방출함으로써 위 환경의 유해 효과를 피할 수 있다.
- [0354] 완전한 위 저항성을 보장하기 위해, 적어도 pH 5.0에 대해 불투과성인 코팅이 필수적이다. 장용 코팅으로서 사용되는 보다 통상적인 불활성 성분의 예는 셀룰로스 아세테이트 트리멜리테이트 (CAT), 히드록시프로필메틸셀룰로스 프탈레이트 (HPMCP), (HPMCP) 50, HPMCP 55, 폴리비닐 아세테이트 프탈레이트 (PVAP), 유드라짓 (Eudragit) L30D, 아쿠아테릭(Aquateric), 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트 (CAP), 유드라짓 L, 유드라짓 S 및 셀락이다. 이들 코팅은 혼합 필름으로서 사용될 수 있다.
- [0355] 코팅 또는 코팅의 혼합물이 또한 위에 대한 보호를 의도하지 않은 정제에 사용될 수 있다. 여기에는 당 코팅이나, 또는 정제를 삼키기 쉽게 만드는 코팅이 포함될 수 있다. 캡슐은 건식 치료제 (예를 들어, 분말)의 전달을 위한 경질 쉘 (예컨대 젤라틴)로 이루어질 수 있고; 액체 형태의 경우, 연질 젤라틴 쉘이 사용될 수 있다. 카세트의 쉘 물질은 농후 전분 또는 다른 식용 종이일 수 있을 것이다. 환제, 로젠지, 성형 정제 또는 습제 정제의 경우, 습식 매싱 기법을 사용할 수 있다.
- [0356] 치료제는 입자 크기가 약 1 mm인 과립 또는 펠릿 형태의 미세 다중-미립자로서 제제에 포함될 수 있다. 캡슐 투여를 위한 물질의 제제는 또한 분말로서, 약간 압축된 플러그로서 또는 정제로서도 존재할 수 있다. 치료제는 압축에 의해 제조될 수 있다.
- [0357] 착색제 및 향미제가 모두 포함될 수 있다. 예를 들어, 화합물이 (예컨대 리포솜 또는 마이크로구체 캡슐화에 의해) 제제화된 다음, 착색제 및 향미제를 함유하는 냉장 음료 등의 식용 제품 내에 추가로 함유될 수 있다.
- [0358] 불활성 물질로 치료제의 부피를 증가시키거나 희석할 수 있다. 이러한 희석제는 탄수화물, 특히 만니톨, α-락토스, 무수 락토스, 셀룰로스, 수크로스, 개질된 텍스트란 및 전분을 포함할 수 있다. 삼인산칼슘, 탄산마그네슘 및 염화나트륨을 포함한 특정 무기 염이 또한 충전제로서 사용될 수 있다. 일부 상업적으로 입수가 가능한 희

석제는 패스트-플로(Fast-Flo), 엠덱스(Emdex), (STA)-Rx 1500, 엠컴프레스(Emcompress) 및 아비셀(Avicell)이다.

- [0359] 봉해제는 고체 투여 형태로의 치료제의 제제화에 포함될 수 있다. 봉해제로서 사용되는 물질은 전분을 기재로 하는 상업용 봉해제인 엑스플로탭(Explotab)을 비롯한 전분을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 소듐 스타치 글리콜레이트, 앰버라이트(Amberlite), 소듐 카르복시메틸셀룰로스, 울트라밀로펙틴, 알긴산나트륨, 젤라틴, 오렌지 껍질, 산성 카르복시메틸 셀룰로스, 천연 스폰지 및 벤토나이트가 모두 사용될 수 있다. 봉해제의 또 다른 형태는 불용성 양이온 교환 수지이다. 분말 검이 봉해제로서 및 결합제로서 사용될 수 있고, 이들은 한천, 카라야 또는 트라가칸트 등의 분말 검을 포함할 수 있다. 알긴산 및 그의 나트륨 염이 또한 봉해제로서 유용하다.
- [0360] 결합제는 치료제를 함께 유지하여 경질 정제를 형성하는 데 사용될 수 있고, 아카시아, 트라가칸트, 전분 및 젤라틴과 같은 천연 생성물로부터의 물질을 포함한다. 기타로는 메틸 셀룰로스 (MC), 에틸 셀룰로스 (EC) 및 카르복시메틸 셀룰로스 (CMC)가 포함된다. 폴리비닐 피롤리돈 (PVP) 및 히드록시프로필메틸 셀룰로스 (HPMC)는 둘 다 치료제를 과립화하기 위해 알콜성 용액에 사용될 수 있다.
- [0361] 향마찰제가 제제화 과정 동안 점착을 방지하기 위해 치료제의 제제화에 포함될 수 있다. 윤활제가 치료제와 다이 벽 사이의 층으로서 사용될 수 있고, 이들은 스테아르산 (그의 마그네슘 및 칼슘 염 포함), 폴리테트라플루오로에틸렌 (PTFE), 액체 파라핀, 식물성 오일 및 왁스를 포함할 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 가용성 윤활제, 예컨대 소듐 라우릴 술페이트, 마그네슘 라우릴 술페이트, 다양한 분자량의 폴리에틸렌 글리콜, 카르보 왁스(Carbowax) 4000 및 6000이 또한 사용될 수 있다.
- [0362] 제제화 동안 약물의 유동 특성을 개선시키고 압축 동안 재배열을 보조할 수 있는 활택제가 첨가될 수 있다. 활택제는 전분, 활석, 열분해법 실리카 및 수화 실리코알루미네이트를 포함할 수 있다.
- [0363] 치료제의 수성 환경으로의 용해를 돕기 위해, 계면활성제가 습윤제로서 첨가될 수 있다. 계면활성제는 음이온성 세제, 예컨대 소듐 라우릴 술페이트, 디옥틸 소듐 술포숙시네이트 및 디옥틸 소듐 술포네이트를 포함할 수 있다. 사용될 수 있는 양이온성 세제는 벤즈알코늄 클로라이드 및 벤제토늄 클로라이드를 포함한다. 계면활성제로서 제제에 포함될 수 있는 잠재적 비이온성 세제는 라우로마크로콜 400, 폴리옥실 40 스테아레이트, 폴리옥시에틸렌 수소화 피마자 오일 10, 50 및 60, 글리세롤 모노스테아레이트, 폴리소르베이트 40, 60, 65 및 80, 수크로스 지방산 에스테르, 메틸 셀룰로스 및 카르복시메틸 셀룰로스를 포함한다. 이들 계면활성제는 화합물 또는 그의 유도체의 제제 중에 단독으로 또는 상이한 비의 혼합물로서 존재할 수 있다.
- [0364] 경구로 사용될 수 있는 제약 제제는 젤라틴으로 제조된 푸시-피트(push-fit) 캡슐, 및 젤라틴 및 가소제, 예를 들어 글리세롤 또는 소르비톨로 제조된 연질 밀봉 캡슐을 포함한다. 푸시-피트 캡슐은 활성 성분을 충전제, 예컨대 락토스, 결합제, 예컨대 전분, 및/또는 윤활제, 예컨대 활석 또는 스테아르산마그네슘, 및 임의로 안정화제와의 혼합물로 함유할 수 있다. 연질 캡슐에서, 활성 화합물은 적합한 액체, 예컨대 지방 오일, 액체 파라핀 또는 액체 폴리에틸렌 글리콜 중에 용해 또는 현탁될 수 있다. 또한, 안정화제가 첨가될 수 있다. 경구 투여를 위해 제제화된 마이크로구체가 또한 사용될 수 있다. 이러한 마이크로구체는 관련 기술분야에 익히 정의되어 있다. 경구 투여를 위한 모든 제제는 이러한 투여에 적합한 투여량이어야 한다.
- [0365] 협측 투여의 경우, 조성물은 통상적인 방식으로 제제화된 정제 또는 로젠지의 형태를 취할 수 있다.
- [0366] 국소 투여의 경우, 화합물은 관련 기술분야에 널리 공지된 바와 같은 용액, 겔, 연고, 크림, 현탁액 등으로서 제제화될 수 있다. 전신 제제에는 주사에 의한 투여, 예를 들어 피하, 정맥내, 근육내, 척수강내 또는 복강내 주사를 위해 고안된 것들 뿐만 아니라, 경피, 경점막, 경구 또는 폐 투여를 위해 고안된 것들이 포함된다.
- [0367] 흡입에 의한 투여의 경우, 화합물은 적합한 추진제, 예를 들어 디클로로디플루오로메탄, 트리클로로플루오로메탄, 디클로로테트라플루오로에탄, 이산화탄소 또는 다른 적합한 기체를 사용하여 가압 팩 또는 네블라이저로부터의 에어로졸 스프레이 제공물의 형태로 편리하게 전달될 수 있다. 가압 에어로졸의 경우, 투여 단위는 계량된 양을 전달하기 위한 밸브를 제공함으로써 결정될 수 있다. 예를 들어 흡입기 또는 취입기에 사용하기 위한 젤라틴의 캡슐 및 카트리지는 화합물 및 적합한 분말 베이스, 예컨대 락토스 또는 전분의 분말 믹스를 함유하여 제제화될 수 있다.
- [0368] 화합물 (또는 그의 염)의 폐 전달이 또한 고려된다. 화합물은 흡입 동안 포유동물의 폐로 전달되고, 폐 상피 내층을 가로질러 혈류로 이동한다. 흡입 분자에 대한 다른 보고는 문헌 [Adjei et al., Pharm Res 7:565-569 (1990); Adjei et al., Int J Pharmaceutics 63:135-144 (1990) (류프롤리드 아세테이트); Braquet et al., J

Cardiovasc Pharmacol 13(suppl. 5):143-146 (1989) (엔도텔린-1); Hubbard et al., Annal Int Med 3:206-212 (1989) (a1-항트립신); Smith et al., 1989, J Clin Invest 84:1145-1146 (a-1-프로테이나제); Oswein et al., 1990, "Aerosolization of Proteins," Proceedings of Symposium on Respiratory Drug Delivery II, Keystone, Colorado, March, (제조합 인간 성장 호르몬); Debs et al., 1988, J Immunol 140:3482-3488 (인터페론-감마 및 중앙 피사 인자 알파) 및 Platz et al., 미국 특허 번호 5,284,656 (과립구 콜로니 자극 인자; 참고로 포함됨)]을 포함한다. 전신 효과를 위한 약물의 폐 전달을 위한 방법 및 조성물은 1995년 9월 19일에 허여된 왕(Wong) 등의 미국 특허 번호 5,451,569 (그에 관한 그의 개시내용이 구체적으로 참조로 포함됨)에 기재되어 있다.

- [0369] 네블라이저, 계량 용량 흡입기 및 분말 흡입기를 포함하나 이에 제한되지는 않는, 치료 제품의 폐 전달을 위해 설계된 광범위한 기계적 장치가 사용을 위해 고려되며, 이들 모두는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 익숙하다.
- [0370] 제약 조성물의 비강 전달이 또한 고려된다. 비강 전달은 폐에서의 제품의 침착을 필요로 하지 않으며, 코에의 치료 제품의 투여 직후 제약 조성물의 혈류로의 통과를 허용한다. 비강 전달용 제제는 텍스트란 또는 시클로텍스트란이 포함된 것을 포함한다.
- [0371] 화합물을 전신으로 전달하는 것이 바람직한 경우, 화합물은 주사에 의한, 예를 들어 볼루스 주사 또는 연속 주입에 의한 비경구 투여용으로 제제화될 수 있다. 주사용 제제는 보존제가 투여된 단위 투여 형태, 예를 들어 앰플 또는 다중-용량 용기로 제공될 수 있다. 조성물은 유성 또는 수성 비히클 중의 현탁액, 용액 또는 에멀전과 같은 형태를 취할 수 있고, 제제화제, 예컨대 현탁화제, 안정화제 및/또는 분산제를 함유할 수 있다.
- [0372] 비경구 투여용 제약 제제는 수용성 형태의 활성 화합물의 수성 용액을 포함한다. 추가적으로, 활성 화합물의 현탁액이 적절한 유성 주사 현탁액으로서 제조될 수 있다. 적합한 친지성 용매 또는 비히클은 지방성 오일, 예컨대 참깨 오일, 또는 합성 지방산 에스테르, 예컨대 에틸 올레이트 또는 트리글리세리드 또는 리포솜을 포함한다. 수성 주사 현탁액은 현탁액의 점도를 증가시키는 물질, 예컨대 소듐 카르복시메틸셀룰로스, 소르비톨 또는 텍스트란을 함유할 수 있다. 임의로, 현탁액은 또한 화합물의 적합한 안정화제, 또는 용해도를 증가시켜 고도로 농축된 용액의 제조를 가능하게 하는 작용제를 함유할 수 있다.
- [0373] 대안적으로, 활성 화합물은 사용 전에 적합한 비히클, 예를 들어 멸균 발열원-무함유 물로 구성하기 위한 분말 형태일 수 있다.
- [0374] 화합물은 또한, 예를 들어 통상적인 좌제 베이스, 예컨대 코코아 버터 또는 다른 글리세리드를 함유하는 직장 또는 질 조성물, 예컨대 좌제 또는 정제 관장제로 제제화될 수 있다.
- [0375] 상기 기재된 제제 이외에도, 화합물은 또한 데포 제제로서 제제화될 수 있다. 이러한 장기-작용 제제는 적합한 중합체 또는 소수성 물질 (예를 들어 허용되는 오일 중의 에멀전으로서) 또는 이온 교환 수지를 사용하여, 또는 난용성 유도체, 예를 들어 난용성 염으로서 제제화될 수 있다.
- [0376] 또한, 제약 조성물은 적합한 고체 또는 겔 상 담체 또는 부형제를 포함할 수 있다. 이러한 담체 또는 부형제의 예는 탄산칼슘, 인산칼슘, 다양한 당, 전분, 셀룰로스 유도체, 젤라틴, 및 중합체, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0377] 적합한 액체 또는 고체 제약 제제 형태는 예를 들어 흡입용 수용액 또는 염수 용액, 마이크로캡슐화된 것, 엔코킬레이트화된 것, 미세 금 입자 상에 코팅된 것, 리포솜 내에 함유된 것, 네블라이징된 것, 에어로졸, 피부 이식용 펠릿, 또는 피부에 스크래칭하는 예리한 물체 상에 건조된 것이다. 제약 조성물은 과립, 분말, 정제, 코팅 정제, (마이크로)캡슐, 좌제, 시럽, 에멀션, 현탁액, 크림, 점적제, 또는 활성 화합물이 자연 방출되는 제제를 또한 포함하고, 이의 제조에서 부형제 및 첨가제 및/또는 보조제 예컨대 붕해제, 결합제, 코팅제, 팽윤제, 윤활제, 향미제, 감미제 또는 가용화제가 상기 기재된 바와 같이 관련적으로 사용된다. 이러한 제약 조성물은 다양한 약물 전달 시스템에서 사용하기에 적절하다. 약물 전달 방법의 간단한 검토를 위해, 문헌 [Langer R, Science 249:1527-1533 (1990)]을 참조한다.
- [0378] 화합물 및 임의로 1종 이상의 다른 치료제는 그 자체로 (순수하게) 또는 제약상 허용되는 염의 형태로 투여될 수 있다. 의약에서 사용되는 경우, 염은 제약상 허용되는 것일 수 있지만, 제약상 허용가능하지 않은 염을 사용하여 그의 제약상 허용되는 염을 편리하게 제조할 수 있다. 이러한 염에는 하기 산으로부터 제조된 것들이 포함되나 이로 제한되지 않는다: 염산, 브로민화수소산, 황산, 질산, 인산, 말레산, 아세트산, 살리실산, p-톨루엔 술폰산, 타르타르산, 시트르산, 메탄 술폰산, 포름산, 말론산, 숙신산, 나프탈렌-2-술폰산, 및 벤젠 술폰

산. 또한, 이러한 염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토류 염, 예컨대 카르복실산 기의 나트륨, 칼륨 또는 칼슘 염으로서 제조될 수 있다.

[0379] 적합한 완충제는 아세트산 및 염 (1-2% w/v); 시트르산 및 염 (1-3% w/v); 붕산 및 염 (0.5-2.5% w/v); 및 인산 및 염 (0.8-2% w/v)을 포함한다. 적합한 보존제는 벤즈알코늄 클로라이드 (0.003-0.03% w/v); 클로로부탄올 (0.3-0.9% w/v); 파라벤 (0.01-0.25% w/v) 및 티메로살 (0.004-0.02% w/v)을 포함한다.

[0380] 제약 조성물은 유효량의 본원에 기재된 바와 같은 화합물 및 임의로 제약상 허용되는 담체 중에 포함된 1종 이상의 다른 치료제를 함유한다. 용어 "제약상 허용되는 담체"는 인간 또는 다른 척추동물에게 투여하기에 적합한 하나 이상의 상용성 고체 또는 액체 충전제, 희석제 또는 캡슐화 물질을 의미한다. 용어 "담체"는 투여를 용이하게 하기 위해 활성 성분과 조합되는 천연 또는 합성의 유기 또는 무기 성분을 나타낸다. 제약 조성물의 성분들은 또한 목적하는 제약 효율을 실질적으로 손상시키는 상호작용이 없도록 하는 방식으로 화합물들과 및 서로 혼합될 수 있다.

[0381] 구체적으로 화합물을 포함하나 이에 제한되지는 않는 치료제(들)는 입자로 제공될 수 있다. 본원에 사용된 "입자"는 본원에 기재된 바와 같은 화합물 또는 다른 치료제(들)로 전부 또는 일부 이루어질 수 있는 나노입자 또는 마이크로입자 (또는 일부 경우에 보다 큰 입자)를 의미한다. 입자는, 장용 코팅을 포함하나 이에 제한되지는 않는 코팅에 의해 둘러싸인 코어에 치료제(들)를 함유할 수 있다. 치료제(들)는 또한 입자 전체에 걸쳐 분산될 수 있다. 치료제(들)는 또한 입자 내에 흡착될 수 있다. 입자는 0차 방출, 1차 방출, 2차 방출, 지연 방출, 지속 방출, 즉시 방출, 및 그의 임의의 조합 등을 포함한 임의의 차수의 방출 동역학을 가질 수 있다. 입자는 치료제(들)에 더하여, 침식성, 비침식성, 생분해성 또는 비생분해성 물질 또는 그의 조합을 포함하나 이에 제한되지는 않는, 제약 및 의약 분야에서 상용적으로 사용되는 임의의 물질을 포함할 수 있다. 입자는 용액 또는 반고체 상태의 화합물을 함유하는 마이크로캡슐일 수 있다. 입자는 사실상 임의의 형상일 수 있다.

[0382] 비-생분해성 및 생분해성 중합체 물질 둘 다가 치료제(들)를 전달하기 위한 입자의 제조에 사용될 수 있다. 이러한 중합체는 천연 또는 합성 중합체일 수 있다. 중합체는 방출이 요구되는 기간에 따라 선택된다. 특히 관심있는 생체접착성 중합체는 문헌 [Sawhney et al., Macromolecules 26:581-587 (1993)]에 기재된 생체침식성 히드로겔을 포함하며, 그의 교시내용은 구체적으로 본원에 참조로 포함된다. 이들은 폴리히알루론산, 카세인, 젤라틴, 글루틴, 폴리무수물, 폴리아크릴산, 알기네이트, 키토산, 폴리(메틸 메타크릴레이트), 폴리(에틸 메타크릴레이트), 폴리(부틸메타크릴레이트), 폴리(이소부틸 메타크릴레이트), 폴리(헥실메타크릴레이트), 폴리(이소데실 메타크릴레이트), 폴리(라우릴 메타크릴레이트), 폴리(페닐 메타크릴레이트), 폴리(메틸 아크릴레이트), 폴리(이소프로필 아크릴레이트), 폴리(이소부틸 아크릴레이트) 및 폴리(옥타데실 아크릴레이트)를 포함한다.

[0383] 치료제(들)는 제어-방출 시스템에 함유될 수 있다. 용어 "제어 방출"은 제제로부터의 약물 방출의 방식 및 프로파일 제어되는 임의의 약물-함유 제제를 나타내도록 의도된다. 이는 즉시 방출 제제뿐만 아니라 비-즉시 방출 제제를 지칭하며, 비-즉시 방출 제제는 지속 방출 및 지연 방출 제제를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 용어 "지속 방출" ("연장 방출"로도 지칭됨)은 그의 통상적인 의미로, 연장된 기간에 걸쳐 약물의 점진적 방출을 제공하고, 연장된 기간에 걸쳐 약물의 실질적으로 일정한 혈액 수준을 가져올 수 있는 약물 제제를 지칭하는 것으로 사용된다. 용어 "지연 방출"은 그의 통상적인 의미로, 제제의 투여와 그로부터의 약물의 방출 사이에 시간 지연이 존재하는 약물 제제를 지칭하기 위해 사용된다. "지연 방출"은 연장된 기간에 걸친 약물의 점진적 방출을 수반하거나 수반하지 않을 수 있고, 따라서 "지속 방출"일 수도 있고 아닐 수도 있다.

[0384] 장기 지속 방출 이식물의 사용은 만성 상태의 치료에 특히 적합할 수 있다. 본원에 사용된 "장기" 방출은 이식물이 적어도 7일 및 최대 30-60일 동안 치료 수준의 활성 성분을 전달하도록 구축되고 배열되는 것을 의미한다. 장기 지속 방출 임플란트는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 익히 공지되어 있고, 상기 기재된 방출 시스템을 일부 포함한다.

[0385] 관련 기술분야의 통상의 기술자는 본원에 기재된 조성물 및 방법에 대한 다른 적합한 변형 및 적합화가 통상의 기술자에게 공지된 정보의 관점에서 본원에 포함된 설명으로부터 용이하게 명백하며, 본 개시내용의 범주 또는 그의 임의의 실시양태로부터 벗어나지 않으면서 이루어질 수 있음을 이해할 것이다. 지금까지 본 개시내용을 상세하게 기재하였는데, 이는 단지 예시 목적으로 본원에 포함된 것이며, 이는 본 개시내용을 제한하는 것으로 의도되지 않는 하기 실시예를 참조하여 보다 명확하게 이해될 것이다.

[0386] 실시예

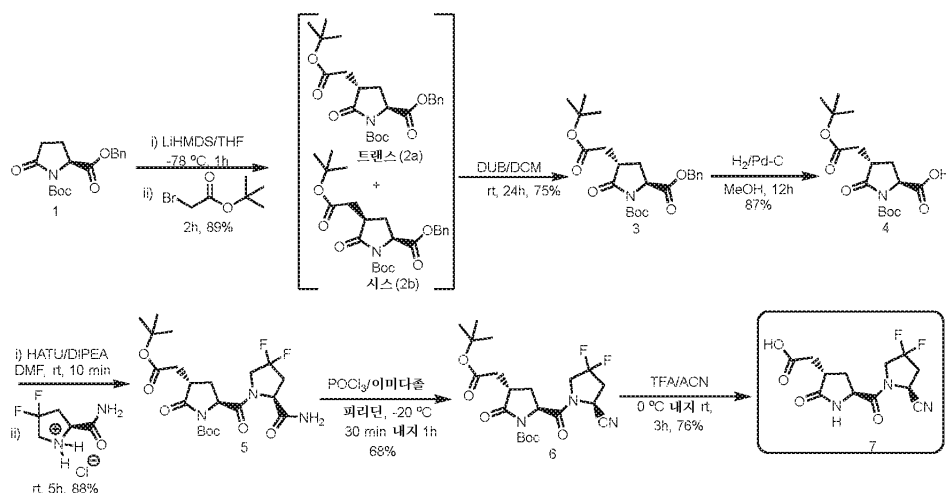
[0387] 화학적 실시예:

[0388] 실시예 1:

[0389] 트랜스-2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세트산의 합성:

[0390] 트랜스-2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세트산을 반응식 1에 따라 합성하였다.

[0391] 반응식 1



[0392]

[0393] 단계-I:

[0394] 벤질 (2S)-N-tert-부톡실카르보닐피로글루타메이트 (화합물 1, 5 그램 (g), 15.67 밀리몰 (mmol))를 테트라히드로푸란 (THF, 75 밀리리터 (mL)) 중에 용해시키고, 질소 하에 교반하면서 -78°C로 냉각시켰다. 리튬 비스(트리메틸실릴)아미드 (LiHMDS)(THF 중 1.0 M, 34.5 mL, 34.5 mmol)를 5분 (min)에 걸쳐 적가하고, 교반을 1시간 (h) 동안 계속하였다. tert-부틸 브로모아세테이트 (4.36 mL, 31.34 mmol)를 5분에 걸쳐 적가하고, 교반을 -78°C에서 추가로 2시간 동안 계속하였다. 반응 혼합물을 포화 수성 염화암모늄 (100 mL)으로 켄칭하고, 에틸아세테이트 (2x100 mL)로 추출하였다. 유기 층을 물 및 포화 수성 염화나트륨으로 세척한 다음, 무수 황산마그네슘 상에서 건조시켰다 (MgSO₄). 용매를 진공 하에 제거하여 갈색 오일을 수득하였으며, 이를 실리카 겔 크로마토그래피 상에서 콤비 플래쉬 (헥산/EtOAc로 용리함)에 의해 정제하여 화합물 2a (트랜스-2-벤질 1-(tert-부틸)(2S,4S)-4-(2-(tert-부톡시)-2-옥소에틸)-5-옥소피롤리딘-1,2-디카르복실레이트) 및 화합물 2b (시스-2-벤질 1-(tert-부틸)(2S,4S)-4-(2-(tert-부톡시)-2-옥소에틸)-5-옥소피롤리딘-1,2-디카르복실레이트)의 혼합물 (6.2 gm, 89%)을 점착성 액체로서 수득하였다.

[0395] 단계-II:

[0396] 화합물 2a/2b의 혼합물 (6 g, 13.85 mmol)을 CH₂Cl₂ (90 mL) 중에 용해시키고, 0°C로 냉각시켰다. DBU (6.2 mL, 41.55 mmol)를 적가하고, 혼합물을 0°C에서 30분 동안 교반한 다음, 실온에서 24시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 CH₂Cl₂ (20 mL)로 희석하고, 물 (100 mL)로 세척하였다. 유기 층을 MgSO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켜 조 생성물을 수득하였으며, 이를 단계 I에 기재된 바와 같이 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 트랜스-2-벤질 1-(tert-부틸)(2S,4S)-4-(2-(tert-부톡시)-2-옥소에틸)-5-옥소피롤리딘-1,2-디카르복실레이트 (화합물 3, 4.5 g, 75%)를 연황색 액체로서 수득하였다.

[0397] 단계-III:

[0398] MeOH (40 mL) 중 화합물 3 (4 g, 9.23 mmol)의 용액에 질소의 분위기 하에 5% Pd/C (400 mg)를 첨가하였다. 혼합물을 수소의 분위기 하에 실온에서 12시간 동안 격렬히 교반하였다. 혼합물을 셀라이트 패드를 통해 여과하고, 진공 하에 농축시켜 트랜스-(2S,4S)-4-(2-(tert-부톡시)-2-옥소에틸)-1-(tert-부톡시카르보닐)-5-옥소피롤리딘-2-카르복실산 (화합물 4, 2.7 g, 87%)을 백색 고체로서 수득하였다.

[0399] 단계-IV:

[0400] 건조 DMF (20 mL) 중 화합물 4 (2.5 g, 7.28 mmol)의 교반 용액에 HATU (3.3 g, 8.7 mmol), DIPEA (3.6 mL, 21.84 mmol)를 첨가하고, 여기서 산 관능기의 활성화를 위해 10분 동안 교반을 계속하였다. (S)-4,4-디플루오로피롤리딘-2-카르복시아미드히드로클로라이드 (1.3 g, 8.736 mmol)에 이어서 DIPEA (1.46 mL, 8.73 mmol)를 상기 반응 혼합물에 첨가하고, 교반을 실온에서 질소 분위기 하에 5시간 동안 계속하였다. 반응 혼합물을 물 (30 mL), 염수 (30 mL)로 희석하고, 에틸 아세테이트 (2x50 mL)로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 무수 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 여과물을 감압 하에 증발시키고, 수득된 조 잔류물을 콤비 플래쉬에 의해 이동상으로서 DCM/MeOH를 사용하여 정제하여 트랜스-tert-부틸 (3S,5S)-3-(2-(tert-부톡시)-2-옥소에틸)-5-((S)-2-카르바모일-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-1-카르복실레이트 (5, 2.4 g 88%)를 점착성 고체로서 수득하였다.

[0401] 단계-V:

[0402] -20°C로 냉각시킨 피리딘 (13 mL) 중 화합물 5 (2 g, 4.21 mmol) 및 이미다졸 (333 밀리그램 (mg), 4.73 mmol)의 혼합물에 질소 하에 포스포릴 클로라이드 (POCl₃) (1.02 mL, 10.94 mmol)를 첨가하였다. -20°C에서 30분 내지 1시간 동안 교반한 후, 혼합물을 진공 하에 증발 건조시켰다. 생성된 갈색 고체를 CH₂Cl₂ (40 mL) 중에 용해시키고, 1.0 N 수성 시트르산 (40 mL)으로 세척하였다. 유기 상을 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 조 물질을 점성 오일로서 수득하였다. 조 물질을 콤비 플래쉬 (헥산/EtOAc로 용리시킴)에 의해 정제하여 트랜스-tert-부틸 (3S,5S)-3-(2-(tert-부톡시)-2-옥소에틸)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-1-카르복실레이트 (화합물 6, 1.3 g, 68%)를 백색 고체로서 수득하였다.

[0403] 단계-VI:

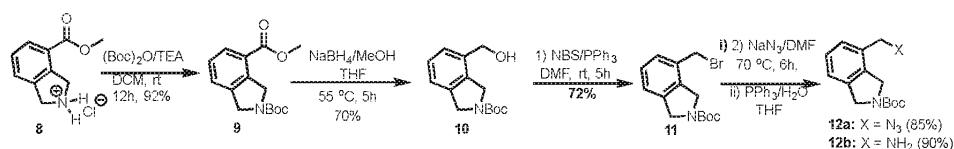
[0404] 0°C에서 아세토니트릴 (CH₃CN) (5 mL) 중 화합물 6 (1.0 g, 2.1 mmol)의 용액에 TFA (5 mL)를 5분에 걸쳐 적가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 진공 하에 농축시키고, 에틸 아세테이트 (EA)/에테르로부터 결정화하여 트랜스-2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세트산 (화합물 7, 500 mg, 76%)을 백색 분말로서 수득하였다.

[0405] 실시예 2:

[0406] tert-부틸 4-(아지도메틸)이소인돌린-2-카르복실레이트 및 tert-부틸 4-(아미노메틸)이소인돌린-2-카르복실레이트의 합성:

[0407] tert-부틸 4-(아지도메틸)이소인돌린-2-카르복실레이트 및 tert-부틸 4-(아미노메틸)이소인돌린-2-카르복실레이트를 반응식 2에 따라 합성하였다.

[0408] 반응식 2



[0409]

[0410] 단계-I

[0411] 실온에서 DCM (20 mL) 중 이소인돌린 메틸에스테르 히드로클로라이드 (화합물 8, 1.00 g, 5.64 mmol)의 교반 용액에 Boc₂O (4.9 mL, 22.59 mmol)를 한번에 첨가한 후, 트리에틸아민 (2.9 mL, 22.59 mmol)을 적가하였다. 교반을 12시간 동안 계속하고, 반응 혼합물을 물 (30 mL)로 희석하고, DCM (2x25 mL)으로 추출하였다. 유기 층을 무수 MgSO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 여과물을 감압 하에 증발시켰다. 수득된 조 잔류물을 콤비 플래쉬에 의해 이동상으로서 헥산 및 에틸 아세테이트를 사용하여 정제하여 2-(tert-부틸) 4-메틸 이소인돌린-2,4-디카르복실레이트 (화합물 9, 1.2 g, 92%)를 백색 무색 점착성 액체로서 수득하였다. LC-MS (m/z); [M+H]⁺ 계산치 C₁₅H₂₀NO₄ 실험치: 278.13 g/mol.

[0412] 단계-II:

[0413] 실온에서 THF (10.0 mL) 중 2-(tert-부틸) 4-메틸 이소인돌린-2,4-디카르복실레이트 (화합물 9, 1.0 g, 3.61

mmol)의 교반 용액에 질소의 분위기 하에 수소화붕소나트륨 (1.37 g, 36.101 mmol)을 첨가하였다. 교반 혼합물에, 메탄올 (MeOH, 10 mL)을 5분에 걸쳐 적가하였다. 반응물을 55℃로 가온하고, 5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0℃로 냉각시키고, 포화 수성 염화암모늄으로 천천히 킨칭하고, EtOAc (60 mL)로 추출하였다. 유기 상을 수집하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 용매를 증류시켜 조 잔류물을 수득하였으며, 이를 콤비 플래쉬에 의해 정제하여 tert-부틸 4-(히드록시메틸)이소인돌린-2-카르복실레이트 (화합물 10, 700 mg, 70%)를 백색 점착성 고체로서 수득하였다. LC-MS (m/z): [M+H]⁺: 계산치: C₁₄H₂₀NO₃ 실측치: 250.14 g/mol.

[0414] 단계-III:

[0415] tert-부틸 4-(히드록시메틸)이소인돌린-2-카르복실레이트 (화합물 10, 500 mg, 2.00 mmol)를 DMF (10 mL)에 용해시키고, 이어서 PPh₃ (790 mg, 3.01 mmol) 및 새로 재결정화된 NBS (532 mg, 3.01 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 질소 분위기 하에 실온에서 4 내지 5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 물 (40 mL)로 희석하고, 에틸 아세테이트 (2x25 mL)로 추출하고, 유기 층을 물 및 염수로 세척하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하였다. 여과물을 감압 하에 증발시키고, 콤비 플라스크에 의해 정제하여 tert-부틸 4-(브로모메틸)이소인돌린-2-카르복실레이트 (화합물 11, 450 mg, 72%)를 백색 고체로서 수득하였다. LC-MS (m/z): [M+H]⁺ 계산치: C₁₄H₁₉BrNO₂ 실측치: 312.05 g/mol.

[0416] 단계-IV:

[0417] DMF 중 tert-부틸 4-(브로모메틸)이소인돌린-2-카르복실레이트 (화합물 11, 400 mg, 1.286 mmol)의 교반 용액에 NaN₃ (420 mg, 6.430 mmol)를 첨가한 다음, 교반을 65℃에서 6시간 동안 계속하였다. 반응 혼합물을 물로 희석하고, 에틸 아세테이트로 추출하고, 유기 층을 물 및 염수로 세척하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하였다. 여과물을 감압 하에 증발시키고, 콤비 플라스크에 의해 정제하여 tert-부틸 4-(아지도메틸)이소인돌린-2-카르복실레이트 (화합물 12a, 300 mg, 85%)를 무색 점착성 액체로서 수득하였다. LC-MS (m/z): [M+H]⁺ 계산치 C₁₄H₁₉N₄O₂ 실측치: 274.14 g/mol.

[0418] 단계-V:

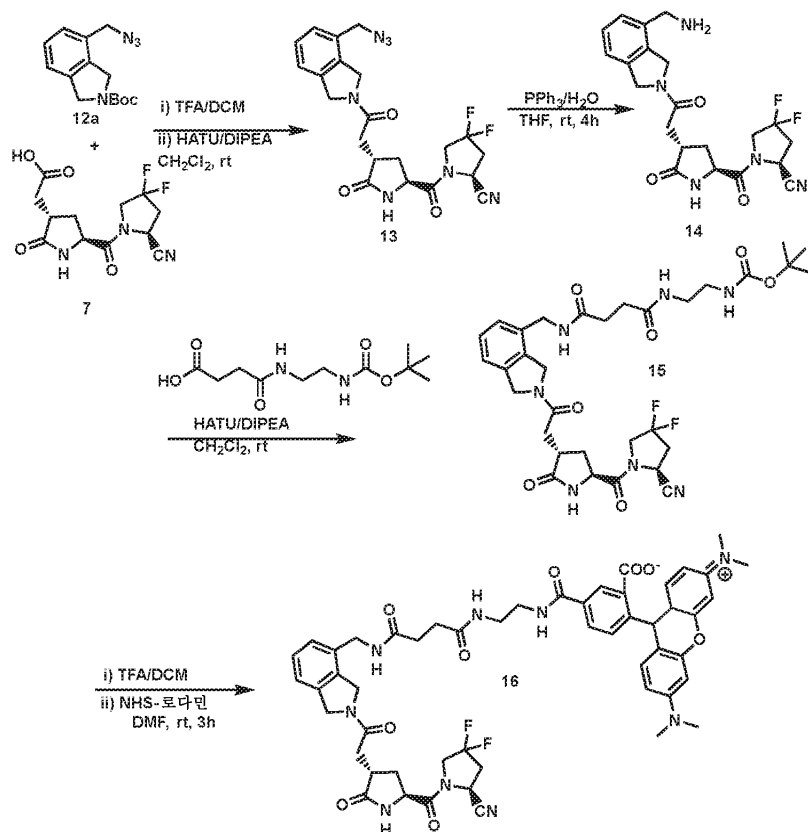
[0419] tert-부틸 4-(아지도메틸)이소인돌린-2-카르복실레이트 (화합물 12a, 1.0 당량 (당량))의 교반 용액에 THF에 이어서 PPh₃ (1.5 당량) 및 물 (3.0 당량)을 첨가하고, 교반을 실온에서 12시간 동안 계속하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 증발시키고, 수득된 조 잔류물을 콤비 플라스크를 사용하여 이동상으로서 메탄올 및 디클로로메탄을 사용하여 정제하여 tert-부틸 4-(아미노메틸)이소인돌린-2-카르복실레이트 (화합물 12b, 85%)를 백색 고체로서 수득하였다. LC-MS (m/z): [M+H]⁺ 계산치 C₁₄H₂₁N₂O₂ 실측치: 249.15 g/mol.

[0420] 실시예 3:

[0421] 5-((2-(4-(((2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-일)메틸)아미노)-4-옥소부탄아미도)에틸)카르바모일)-2-(6-(디메틸아미노)-3-(디메틸이미노)-9,9a-디히드로-3H-크산텐-9-일)벤조에이트를 반응식 3에 따라 합성하였다.

[0422] 5-((2-(4-(((2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-일)메틸)아미노)-4-옥소부탄아미도)에틸)카르바모일)-2-(6-(디메틸아미노)-3-(디메틸이미노)-9,9a-디히드로-3H-크산텐-9-일)벤조에이트의 합성:

[0423] 반응식 3



[0424]

[0425] 단계-I

[0426] DCM 중 tert-부틸 4-(아지도메틸)이소인돌린-2-카르복실레이트 (화합물 12a)의 교반 용액에 트리플루오로아세트산 (TFA)을 첨가하고, 교반을 1시간 동안 계속하였다. 또 다른 플라스크에서, 트랜스-2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세트산 (화합물 7)을 DMF 중에 용해시키고, 이어서 산 관능기의 예비-활성화를 위해 HATU (1.3 당량) 및 DIPEA (3.0 당량)를 첨가하였다. 생성된 아민을 예비-활성화된 산을 포함하는 혼합물에 첨가하고, 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 물로 희석하고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기 층을 증발시키고, 수득된 조 잔류물을 콰리플래쉬에 의해 이동상으로서 메탄올 및 DCM을 사용하여 정제하여 (S)-1-((2S,4S)-4-(2-(4-(아지도메틸)이소인돌린-2-일)-2-옥소에틸)-5-옥소피롤리딘-2-카르보닐)-4,4-디플루오로피롤리딘-2-카르보닐트릴 (화합물 13)을 수득하였다. LC-MS (m/z): 계산치 C₂₁H₂₂F₂N₇O₃ 실측치: 458.17.

[0427] 단계-II:

[0428] 실시예 2, 단계 V에 제공된 것과 동일한 절차를 사용하여, (S)-1-((2S,4S)-4-(2-(4-(아지도메틸)이소인돌린-2-일)-2-옥소에틸)-5-옥소피롤리딘-2-카르보닐)-4,4-디플루오로피롤리딘-2-카르보닐트릴 (화합물 13)을 트리페닐포스핀 (PPh₃), 물, 및 테트라히드로푸란과 반응시켜 (S)-1-((2S,4S)-4-(2-(4-(아미노메틸)이소인돌린-2-일)-2-옥소에틸)-5-옥소피롤리딘-2-카르보닐)-4,4-디플루오로피롤리딘-2-카르보닐트릴 (화합물 14)을 수득하였으며, 이를 후속 단계에 정제 없이 사용하였다. (S)-1-((2S,4S)-4-(2-(4-(아미노메틸)이소인돌린-2-일)-2-옥소에틸)-5-옥소피롤리딘-2-카르보닐)-4,4-디플루오로피롤리딘-2-카르보닐트릴 (화합물 14)을 4-((2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)에틸)아미노)-4-옥소부탄산, HATU (1.3 당량), DIPEA (3.0 당량), 및 DCM과 반응시켜 tert-부틸 (2-(4-((2-((2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-일)메틸)아미노)-4-옥소부탄아미도)에틸)카르바메이트 (화합물 15)를 수득하였다.

[0429] 단계-III

[0430] DCM 중 tert-부틸 (2-(4-((2-((2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-일)메틸)아미노)-4-옥소부탄아미도)에틸)카르바메이트 (화합물 15)의 교반 용액에

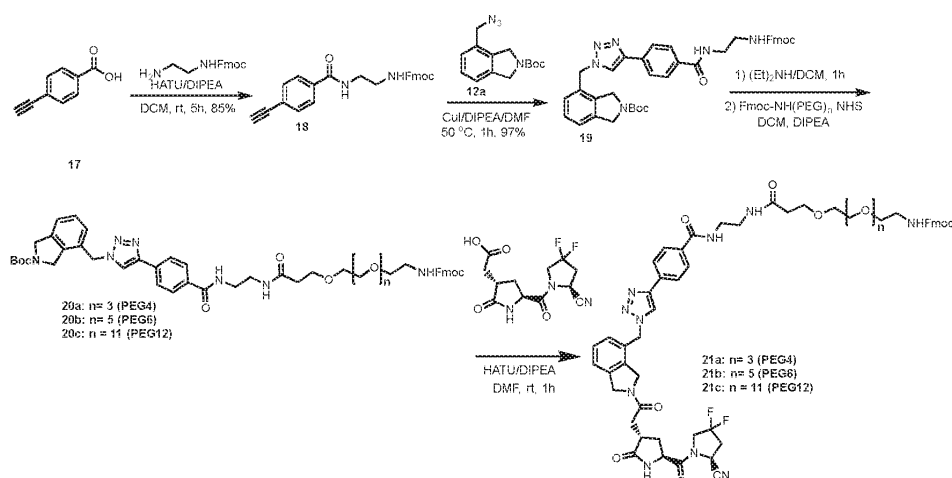
TFA를 첨가하고, 교반을 10분 동안 계속하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 증발시키고, 수득된 조 잔류물을 DMF 중 NHS 로다민 (1.0 당량) 및 DIPEA (2.0 당량)로 1시간 동안 처리하였다. 반응 혼합물을 물로 희석하고, UHPLC (A = 20 mM 아세트산암모늄 완충제 (pH = 7), B = 아세트오니트릴, 60분 내 용매 구배 5% B → 95%)에 의해 정제하여 5-((2-(4-(((2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-일)메틸)아미노)-4-옥소부탄아미도)에틸)카르바모일)-2-(6-(디메틸아미노)-3-(디메틸이미노)-9,9a-디히드로-3H-크산텐-9-일)벤조에이트 (화합물 16)를 수득하였다. LC-MS (m/z): [M+H]⁺ 계산치 C₅₂H₅₆F₂N₉O₉ 실측치: 988.41 g/mol.

[0431] 실시예 4:

[0432] N-(9-(2-카르복시-4-(((1-(4-(1-((2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)페닐)-1,6-디옥소-9,12,15,18-테트라옥사-2,5-디아자이코산-20-일)카르바모일)페닐)-6-(디메틸아미노)-9,9a-디히드로-3H-크산텐-3-일리텐)-N-메틸메탄아미늄 및 5-(((1-(4-(1-((2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)페닐)-1,6-디옥소-9,12,15,18-테트라옥사-2,5-디아자이코산-20-일)카르바모일)-2-(6-히드록시-3-옥소-9,9a-디히드로-3H-크산텐-9-일)벤조산을 반응식 4a 및 4b에 따라 합성하였다.

[0433] N-(9-(2-카르복시-4-(((1-(4-(1-((2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)페닐)-1,6-디옥소-9,12,15,18-테트라옥사-2,5-디아자이코산-20-일)카르바모일)페닐)-6-(디메틸아미노)-9,9a-디히드로-3H-크산텐-3-일리텐)-N-메틸메탄아미늄 및 5-(((1-(4-(1-((2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)페닐)-1,6-디옥소-9,12,15,18-테트라옥사-2,5-디아자이코산-20-일)카르바모일)-2-(6-히드록시-3-옥소-9,9a-디히드로-3H-크산텐-9-일)벤조산의 합성:

[0434] 반응식 4a



[0435]

[0436] 단계-I

[0437] 질소 분위기 하에 실온에서 건조 DCM (10 mL) 중 4-에티닐벤조산 (화합물 17, 500 mg, 3.424 mmol)의 교반 용액에 HATU (1.4 gm, 3.76 mmol)에 이어서 DIPEA (1.7 mL, 10.27 mmol)를 첨가하고, 산의 활성화를 위해 교반을 10분 동안 계속하였다. N-Fmoc-에틸렌디아민 (1.0 g, 3.76 mmol)을 반응 혼합물에 첨가하고, 교반을 추가로 3 시간 동안 계속하였다. 반응 혼합물을 DCM (20 mL)으로 희석하고, 수득된 침전물을 부호너 깔때기를 통해 여과하였다. 생성된 백색 고체를 DCM (2x20 mL)으로 다시 세척하고, 진공 하에 1시간 동안 건조시켜 (9H-플루오렌-9-일)메틸 (2-(4-에티닐벤즈아미도)에틸)카르바메이트 (화합물 18, 1.2 g, 85%)를 수득하였다. LRMS-LC/MS (m/z): [M+H]⁺ 계산치 C₂₆H₂₃N₂O₃ 실측치 411.16.

[0438] 단계-II:

[0439] 건조 DMF (5.0 mL) 중 tert-부틸 4-(아지도메틸)이소인돌린-2-카르복실레이트 (화합물 12a, 200 mg, 0.729 mmol) 및 (9H-플루오렌-9-일)메틸 (2-(4-에티닐벤즈아미도)에틸)카르바메이트 (화합물 18, 360 mg, 0.874

mmol)의 혼합물에 아이오딘화구리 (CuI, 70 mg, 0.364 mmol)에 이어서 DIPEA (0.3 mL, 1.458 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 질소 분위기 하에 50℃에서 5시간 동안 교반하고, 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 물 (20 mL)로 희석하고, 15분 동안 격렬히 교반하였다. 반응 혼합물 중에 형성된 고체 잔류물을 여과하고, 물 2x20 mL로 세척하고, 진공 하에 1시간 동안 건조시켜 tert-부틸 4-((4-(4-((2-((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)에틸)카르바모일)페닐)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)메틸)이소인돌린-2-카르복실레이트 (화합물 19, 480 mg, 96%)를 갈색 고체로서 수득하였으며, 이를 추가 단계에 정제 없이 사용하였다. LRMS-LC/MS (m/z): [M+H] 계산치 C₄₀H₄₁N₆O₅ 실측치 684.31.

[0440] 단계-III:

[0441] DCM 및 MeOH (1:0.5 mL) 중 화합물 tert-부틸 4-((4-(4-((2-((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)에틸)카르바모일)페닐)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)메틸)이소인돌린-2-카르복실레이트 (화합물 19, 400 mg, 0.584 mmol)의 교반 용액에 (Et)₂NH (1 mL)를 첨가하고, 교반을 2시간 동안 계속하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 증발시키고, 수득된 조 잔류물을 디에틸 에테르 (3x10 mL)로 처리하였다. 잔류물 스크래칭을 사용하여 고체를 생성하였다. 디에틸 에테르를 경사분리하고, 수득된 고체를 진공 하에 1시간 동안 건조시킨 후, 후속 단계로 진행하였다. 아민 화합물을 DCM (1 mL, 1 mmol)에 이어서 Fmoc-NH(PEG)_n NHS 에스테르 (1.2 당량, n = 3, 5, 및 11)에 이어서 DIPEA (2.0 당량) 중에 용해시키고, 반응 혼합물을 질소 분위기 하에 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 증발시키고, 수득된 조 잔류물을 콤비 플래쉬에 의해 이동상으로서 DCM 및 MeOH를 사용하여 정제하여 화합물 20a-c를 70-80% 수율로 수득하였다.

[0442] i) 20a에 대한 LCMS: LC/MS (m/z): [M+H] 계산치 C₅₁H₆₂N₇O₁₀ 실측치: 931.45.

[0443] ii) 20b에 대한 LCMS: LC/MS (m/z): [M+H] 계산치 C₅₅H₆₉N₇O₁₂ 실측치: 1020.50.

[0444] iii) 20c에 대한 LCMS: LC/MS (m/z): [M+H] 계산치 C₆₇H₉₃N₇O₁₈ 실측치:1284.66.

[0445] 단계-IV:

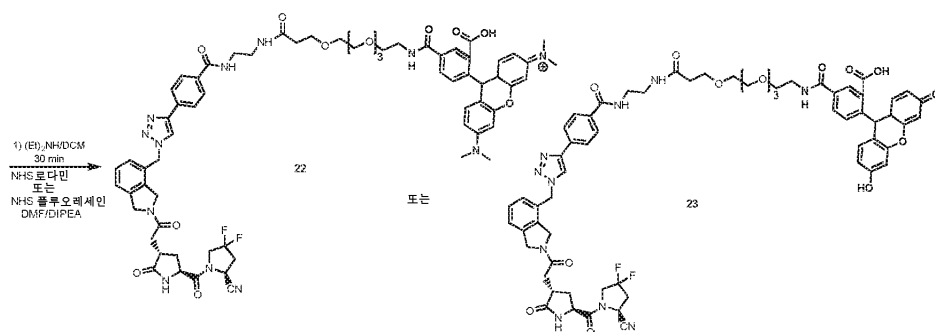
[0446] 실온에서 DCM (1.0 mL) 중 화합물 20a, 20b, 또는 20c (1.0당량)의 교반 용액에 TFA (10 당량)를 첨가하고, 교반을 30분 동안 계속하였다. 반응 혼합물을 진공 하에 증발 및 건조시켰다. 별도의 둥근 바닥 플라스크에서, 트랜스-2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세트산 (화합물 7, 1.2 당량)을 DMF (0.5 mL)에 이어서 HATU (1.3 당량) 및 DIPEA (5.0 당량) 중에 용해시키고, 반응 혼합물을 질소 분위기 하에 실온에서 10분 동안 교반하여 화합물 7의 산 관능기를 활성화시켰다. 화합물 20a-c의 Fmoc 탈보호로부터 수득된 아민을 상기 반응 혼합물에 첨가된 DCM (1 mL) 중에 용해시키고, 교반을 추가로 2시간 동안 계속하였다. 반응 혼합물을 물 (15 mL)로 희석하고, 에틸 아세테이트 (2x15 mL)로 추출하였다. 유기 추출물을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 수득된 조 잔류물을 콤비 플래쉬에 의해 이동상으로서 DCM 및 MeOH를 사용하여 정제하여 목적 화합물 (9H-플루오렌-9-일)메틸 (1-(4-(1-((2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)페닐)-1,6-디옥소-9,12,15,18-테트라옥사-2,5-디아자이코산-20-일)카르바메이트, (9H-플루오렌-9-일)메틸 (1-(4-(1-((2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)페닐)-1,6-디옥소-9,12,15,18,21,24-헥사옥사-2,5-디아자헥사코산-26-일)카르바메이트, 및 (9H-플루오렌-9-일)메틸 (1-(4-(1-((2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)페닐)-1,6-디옥소-9,12,15,18,21,24,27,30,33,36,39,42-도데카옥사-2,5-디아자테트라콘탄-44-일)카르바메이트를 40-60% 수율로 수득하였다.

[0447] i) 화합물 21a에 대한 LCMS: LC/MS (m/z): [M+H] 계산치: C₅₈H₆₅F₂N₁₀O₁₁ 실측치: 1115.47.

[0448] ii) 화합물 21b에 대한 LCMS: LC/MS (m/z): [M+H] 계산치: C₆₂H₇₂F₂N₁₀O₁₃ 실측치: 1203.52.

[0449] iii) 화합물 21c에 대한 LCMS: LC/MS (m/z): [M+H] 계산치: C₇₄H₉₇F₂N₁₀O₁₉ 실측치: 1467.68.

[0450] 반응식 4b



[0451]

[0452] 단계-V:

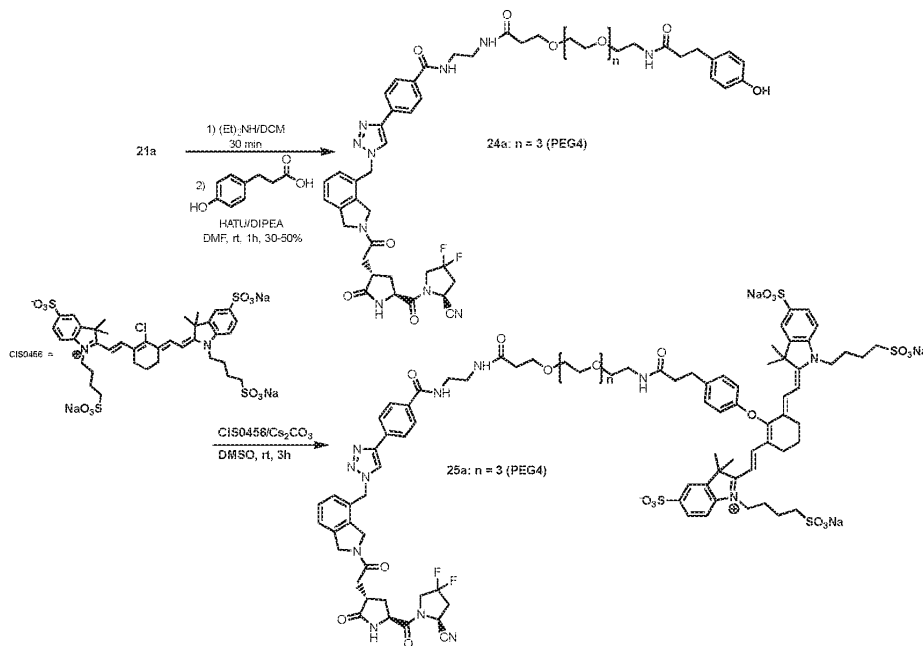
[0453] 화합물 21a-c에서의 Fmoc 관능기의 탈보호는 실시예 4, 단계-III에 제공된 바와 동일한 절차를 따랐다. 화합물 21a로부터 수득된 유리 아민을 DIPEA (1.1 당량)의 존재 하에 DMF 중 NHS 로다민 (1.1 당량) 또는 1.1 당량의 NHS FITC로 30분 동안 처리한 다음, 정제된 UHPLC (A = 20 mM 아세트산암모늄 완충제 (pH = 7), B = 아세트니트릴, 60분 내 용매 구배 5% B → 95%)에 의해 각각 표적화 로다민 화합물 22 또는 FITC (23) 접합체를 정량적 수율로 수득하였다. 화합물 22에 대한 LCMS: LC/MS (m/z): [M+H]⁺ 계산치: C₆₈H₇₈F₂N₁₂O₁₃ 실측치 1308.57 g/mol. 화합물 23에 대한 LCMS: LC/MS (m/z): [M+H]⁺ 계산치: C₆₄H₆₇F₂N₁₀O₁₅ 실측치: 1253.47 g/mol.

[0454] 실시예 5:

[0455] 소듐 2-((E)-2-((E)-2-(4-(1-(4-(1-((2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)페닐)-1,6,21-트리옥소-9,12,14,17-테트라옥사-2,5,20-트리아자트리코산-23-일)페녹시)-3-(2-((E)-3,3-디메틸-5-술포네이트-1-(4-술포네이트부틸)인돌린-2-일리덴)에틸리덴)시클로헥스-1-엔-1-일)비닐)-3,3-디메틸-1-(4-술포네이트부틸)-3H-인돌-1-일-5-술포네이트를 반응식 5에 따라 합성하였다.

[0456] 소듐 2-((E)-2-((E)-2-(4-(1-(4-(1-((2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)페닐)-1,6,21-트리옥소-9,12,14,17-테트라옥사-2,5,20-트리아자트리코산-23-일)페녹시)-3-(2-((E)-3,3-디메틸-5-술포네이트-1-(4-술포네이트부틸)인돌린-2-일리덴)에틸리덴)시클로헥스-1-엔-1-일)비닐)-3,3-디메틸-1-(4-술포네이트부틸)-3H-인돌-1-일-5-술포네이트의 합성:

[0457] 반응식 5



[0458]

[0459] 단계-I:

[0460] 실시예 4, 단계-III에서 제공된 바와 같이, 디에틸 아민을 사용하여 환원 화합물 21a로부터 수득된 아민 (1.0 당량)을 DMF 중에 용해시켰다. 3-(4-히드록시페닐)프로피온산 (1.2 당량), HATU (1.3 당량) 및 DIPEA (3.0 당량)를 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 2시간 내지 3시간 동안 교반하고, 이어서 감압 하에 증발시켰다. 수득된 조 잔류물을 UHPLC (A = 20 Mm 아세트산암모늄 완충제 (pH = 7), B = 아세토니트릴, 60분 내 용매 구배 5% B → 95%)를 사용하여 정제하여 목적 화합물 24a를 수득하였다. LRMS-LC/MS (m/z): [M+H]⁺ 계산치 C₅₀H₅₉F₂N₁₀O₁₀, 실측치: 997.43.

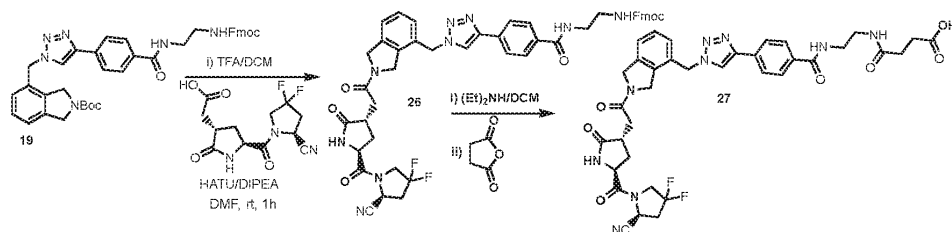
[0461] 단계-II

[0462] 아르곤 분위기 하에 실온에서 무수 DMSO 중 화합물 24a의 교반 용액에 ClS0456 염료 (1.0 당량)에 이어서 Cs₂CO₃ (5.0 당량)를 첨가하고, 교반을 추가로 3시간 내지 4시간 동안 계속하고, 반응의 진행을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 물로 희석하고, UHPLC (A = 20 Mm 아세트산암모늄 완충제 (pH = 7), B = 0 아세토니트릴, 60분 내 용매 구배 5% B → 35%)를 사용하여 정제하여 소듐 2-((E)-2-((E)-2-(4-(1-(4-(1-((2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)페닐)-1,6,21-트리옥사-9,12,14,17-테트라옥사-2,5,20-트리아자트리코산-23-일)페녹시)-3-(2-((E)-3,3-디메틸-5-술포네이트-1-(4-술포네이트부틸)인돌린-2-일리덴)에틸리덴)시클로헥스-1-엔-1-일)비닐)-3,3-디메틸-1-(4-술포네이트부틸)-3H-인돌-1-일-5-술포네이트 (화합물 25a)를 수득하였다. 25a에 대한 LC-MS: LC/MS (m/z): [M+H]⁺ 계산치 C₉₀H₁₀₅F₂N₁₂Na₃O₂₃S₄: 1957.60.

[0463] 실시예 6:

[0464] 4-((2-(4-(1-((2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)벤즈아미도)에틸)아미노)-4-옥소부탄산을 반응식 6에 따라 합성하였다.

[0465] 4-((2-(4-(1-((2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)벤즈아미도)에틸)아미노)-4-옥소부탄산의 합성:



[0468] 단계-I

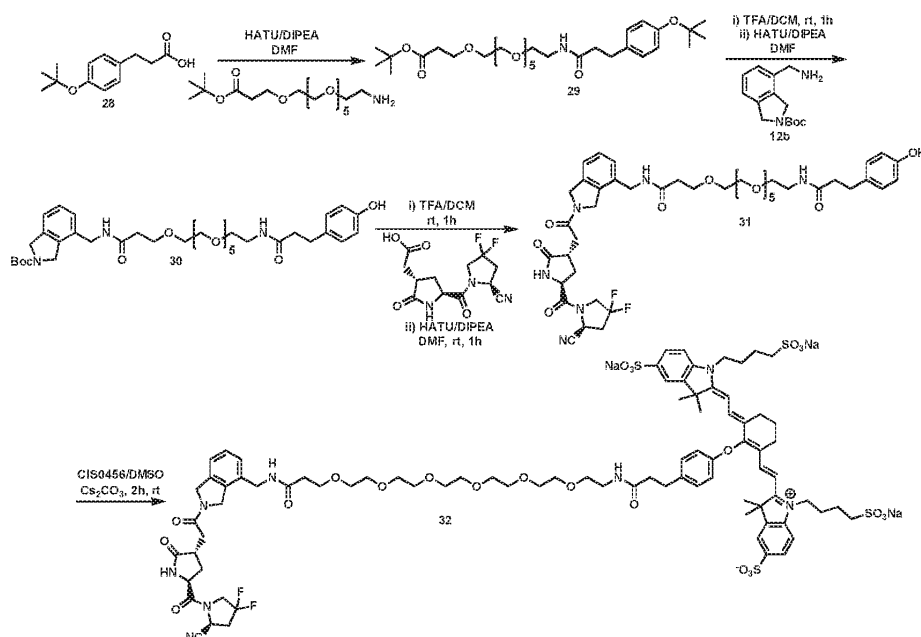
[0469] (9H-플루오렌-9-일)메틸 (2-(4-(1-((2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)벤즈아미도)에틸)카르바메이트 (화합물 26)의 합성은 실시예 4, 단계-IV에 대해 제공된 것과 유사한 절차에 따랐다 (LC/MS (m/z): [M+H]⁺ 계산치: C₄₇H₄₄F₂N₉O₆ 실험치: 868.33). 실시예 4, 단계-III에서 제공된 유사한 절차를 사용하여 환원 화합물 26으로부터 수득된 유리 아민을 DCM 중에 용해시키고, 이어서 숙신산 무수물 (1.5 당량) 및 DIPEA (2.0 당량)를 첨가하였다. 용액을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 증발시키고, 수득된 조 잔류물을 UHPLC (A = 20 mM 아세트산암모늄 완충제 (pH = 7), B = 아세토니트릴, 60분 내 용매 구배 5% B → 95%)에 의해 정제하여 4-(2-(4-(1-((2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)벤즈아미도)에틸)아미노)-4-옥소부탄산 (화합물 27)을 수득하였다. LC/MS (m/z): [M+H]⁺ 계산치: C₃₆H₃₈F₂N₉O₇ 실험치: 746.28.

[0470] 실시예 7:

[0471] 소듐 2-((E)-2-((E)-2-(4-(1-(2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-일)-3,25-디옥소-6,9,12,15,18,21-헥사옥사-2,24-디아자헵타코산-27-일)페녹시)-3-(2-((E)-3,3-디메틸-5-술포네이트-1-(4-술포네이트부틸)인돌린-2-일리덴)에틸리덴)시클로헥스-1-엔-1-일)비닐)-3,3-디메틸-1-(4-술포네이트부틸)-3H-인돌-1-일-5-술포네이트를 반응식 7에 따라 합성하였다.

[0472] 소듐 2-((E)-2-((E)-2-(4-(1-(2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-일)-3,25-디옥소-6,9,12,15,18,21-헥사옥사-2,24-디아자헵타코산-27-일)페녹시)-3-(2-((E)-3,3-디메틸-5-술포네이트-1-(4-술포네이트부틸)인돌린-2-일리덴)에틸리덴)시클로헥스-1-엔-1-일)비닐)-3,3-디메틸-1-(4-술포네이트부틸)-3H-인돌-1-일-5-술포네이트의 합성:

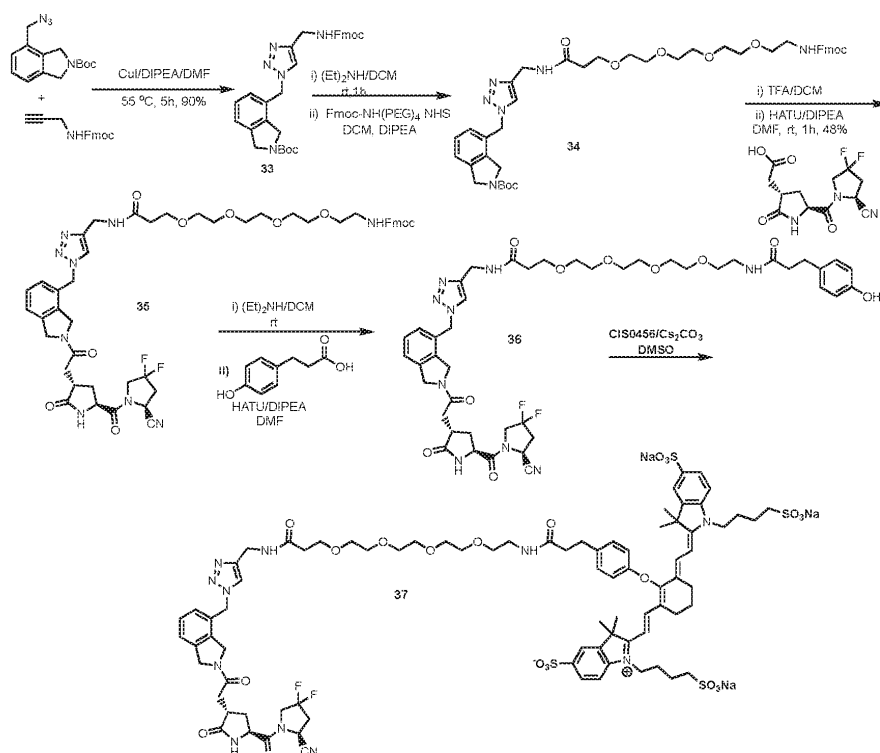
[0473] 반응식 7



[0474]

- [0475] 단계-I:
- [0476] 건조 DMF 중 3-(4-(tert-부톡시)페닐)프로판산 (화합물 28)의 교반 용액에 HATU (1.3 당량) 및 DIPEA (3.0 당량)에 이어서 아미노-PEG6-t-부틸 에스테르 (1.2 당량)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 물로 희석한 다음, 에틸 아세테이트 (2x20 mL)로 추출하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 여과물을 감압 하에 증발시켰다. 조 잔류물을 콤비 플래쉬를 사용하여 이동상으로서 메탄올 및 디클로로메탄을 사용하여 정제 하여 tert-부틸 3-(2-(2-(3-(4-(tert-부톡시)페닐)프로판아미도)에톡시)에톡시)프로판노에이트 (화합물 29)를 점착성 액체로서 수득하였다. LC/MS (m/z): [M+H]⁺: 계산치: C₃₂H₅₆N₂O₁₀ 실측치: 614.38.
- [0477] 단계-II:
- [0478] tert-부틸 3-(2-(2-(3-(4-(tert-부톡시)페닐)프로판아미도)에톡시)에톡시)프로판노에이트 (화합물 29)를 DCM 중 에 용해시켰다. 트리플루오로아세트산 무수물을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 증발시키고, 수득된 조 잔류물을 DMF 중에 용해시켰다. DIPEA (5.0 당량) 및 HATU (1.3 당량)를 첨가하고, 이어서 tert-부틸 4-(아미노메틸)이소인돌린-2-카르복실레이트 (화합물 12b, 1.1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 물로 희석하고, 에틸 아세테이트 (2x20 mL)로 추출하고, 유기 층을 증발시키고, 조 잔류물을 콤비 플래쉬를 사용하여 이동상으로서 메탄올 및 디클로로 메탄을 사용하여 정제하여 tert-부틸 4-(27-(4-히드록시페닐)-3,25-디옥소-6,9,12,15,18,21-헥사옥사-2,24-디아자헵타코실)이소인돌린-2-카르복실레이트 (화합물 30)를 점착성 액체로서 수득하였다. LC/MS (m/z): [M+H]⁺: 계산치 C₃₈H₅₈N₃O₁₁ 실측치: 732.40.
- [0479] 단계-III & 단계-IV:
- [0480] N-((2-(2-((3S,5R)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인 돌린-4-일)메틸)-1-(3-(4-히드록시페닐)프로판아미도)-3,6,9,12,15,18-헥사옥사헩레니코산-21-아미드 (화합물 31) & 소듐 2-((E)-2-((E)-2-(4-(1-(2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소 피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-일)-3,25-디옥소-6,9,12,15,18,21-헥사옥사-2,24-디아자헵타코산-27-일)페녹 시)-3-(2-((E)-3,3-디메틸-5-술포네이트-1-(4-술포네이트부틸)인돌린-2-일리덴)에틸리덴)시클로헥스-1-엔-1- 일)비닐)-3,3-디메틸-1-(4-술포네이트부틸)-3H-인돌-1-옴-5-술포네이트 (화합물 32)를 각각 실시예 4, 단계-IV 및 실시예 5, 단계-II에 제공된 것과 유사한 절차를 사용하여 합성하였다. 화합물 31의 LCMS: LC/MS (m/z): [M+H]⁺ 계산치 C₄₅H₆₁F₂N₆O₁₂, 실측치: 915.42 화합물 32의 LCMS: LC/MS (m/z): [M+H]⁺ 계산치: C₈₃H₁₀₄F₂N₈Na₃O₂₄S₄ 실 측치: 1831.56.
- [0481] 실시예 8:
- [0482] 소듐 2-((E)-2-((E)-2-(4-(1-(1-((2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소 피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)-3,19-디옥소-6,9,12,15-테트라옥사- 2,18-디아자헩레니코산-21-일)페녹시)-3-(2-((E)-3,3-디메틸-5-술포네이트-1-(4-술포네이트부틸)인돌린-2-일리 덴)에틸리덴)시클로헥스-1-엔-1-일)비닐)-3,3-디메틸-1-(4-술포네이트부틸)-3H-인돌-1-옴-5-술포네이트를 반응 식 8에 따라 합성하였다.
- [0483] 소듐 2-((E)-2-((E)-2-(4-(1-(1-((2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소 피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)-3,19-디옥소-6,9,12,15-테트라옥사- 2,18-디아자헩레니코산-21-일)페녹시)-3-(2-((E)-3,3-디메틸-5-술포네이트-1-(4-술포네이트부틸)인돌린-2-일리 덴)에틸리덴)시클로헥스-1-엔-1-일)비닐)-3,3-디메틸-1-(4-술포네이트부틸)-3H-인돌-1-옴-5-술포네이트의 합성:

[0484] 반응식 8



[0485]

[0486] 단계-I

[0487] 건조 DMF (5.0 mL) 중 tert-부틸 4-(아지도메틸)이소인돌린-2-카르복실레이트 (화합물 12a, 1.0 당량) 및 Fmoc 프로파르길 아민 (1.2 당량)의 혼합물에 CuI (0.5 당량)에 이어서 DIPEA (2.0 당량)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 질소 분위기 하에 50℃에서 5시간 동안 교반한 다음, 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 물 (20 mL)로 희석하고, 15분 동안 격렬히 교반하였다. 반응 혼합물 중에 형성된 고체 잔류물을 여과하고, 물 2x20 mL로 세척하고, 진공 하에 1시간 동안 건조시켜 tert-부틸 4-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)메틸)이소인돌린-2-카르복실레이트 (화합물 33, 96%)를 고체로서 수득하였으며, 이를 추가 단계에 추가 정제 없이 사용하였다.

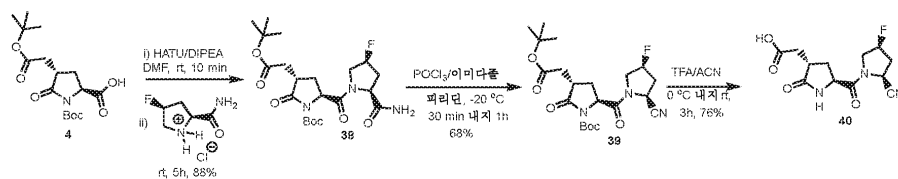
[0488] DCM (5 mL) 중 화합물 33 (1 mmol)의 교반 용액에 (Et)₂NH (2 mL)를 첨가하고, 2시간 동안 교반을 계속하면서, 반응의 진행을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 증발시키고, 수득된 조 잔류물을 디에틸 에테르로 처리하였다. 에테르 층을 경사분리하고, 고체 화합물을 진공 하에 건조시킨 다음, DCM 중에 용해시켰다. 이 반응 혼합물에 Fmoc-NH(PEG4) NHS 에스테르 (1.2 당량) 및 DIPEA (3.0 당량)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하고, 감압 하에 증발시키고, 조 잔류물을 콤비 플래쉬를 사용하여 이동상으로서 메탄올 +DCM을 사용하여 정제하여 화합물 34를 수득하였다.

[0489] 실시예 9:

[0490] 2-((3S,5S)-5-((2S,4S)-2-시아노-4-플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세트산을 반응식 9에 따라 합성하였다.

[0491] 2-((3S,5S)-5-((2S,4S)-2-시아노-4-플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세트산의 합성:

[0492] 반응식 9



[0493]

[0494] 단계-I:

[0495] 건조 DMF 중 (2S,4S)-4-(2-(tert-부톡시)-2-옥소에틸)-1-(tert-부톡시카르보닐)-5-옥소피롤리딘-2-카르복실산 (화합물 4, 1.0 당량)의 교반 용액에 HATU (1.3), DIPEA (3.0 당량)를 첨가하고, 4에서의 산 관능기의 활성화를 위해 교반을 10분 동안 계속하였다. 4-시스-플루오로-L-프롤린아미드 히드로클로라이드 (1.2) 및 DIPEA (2.0 당량)를 혼합물에 첨가하고, 질소 분위기 하에 실온에서 5시간 동안 교반을 계속하였다. 반응 혼합물을 물 및 염수로 희석하고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하였다. 여과물을 감압 하에 증발시키고, 수득된 조 잔류물을 콤비 플래쉬에 의해 이동상으로서 DCM/MeOH를 사용하여 정제하여 tert-부틸 (3S,5S)-3-(2-(tert-부톡시)-2-옥소에틸)-5-((2S,4S)-2-카르바모일-4-플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-1-카르복실레이트 (화합물 38)를 점착성 고체로서 수득하였다.

[0496] 단계-II:

[0497] -20°C로 냉각시킨 피리딘 중 tert-부틸 (3S,5S)-3-(2-(tert-부톡시)-2-옥소에틸)-5-((2S,4S)-2-카르바모일-4-플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-1-카르복실레이트 (화합물 38, 1.0 당량) 및 이미다졸 (1.2 당량)의 혼합물에 포스포릴 클로라이드 (POCl₃) (1.0 당량)를 질소 하에 첨가하였다. -20°C에서 30분 내지 1시간 동안 교반한 후, 혼합물을 진공 하에 증발 건조시켰다. 생성된 갈색 고체를 CH₂Cl₂ (40 mL) 중에 용해시키고, 1.0 N 수성 시트르산 (40 mL)으로 세척하였다. 유기 상을 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 조 물질을 점성 오일로서 수득하였다. 조 물질을 콤비 플래쉬 (헥산/EtOAc로 용리시킴)에 의해 정제하여 tert-부틸 (3S,5S)-3-(2-(tert-부톡시)-2-옥소에틸)-5-((2S,4S)-2-시아노-4-플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-1-카르복실레이트 (화합물 39)를 백색 고체로서 수득하였다.

[0498] 단계-III:

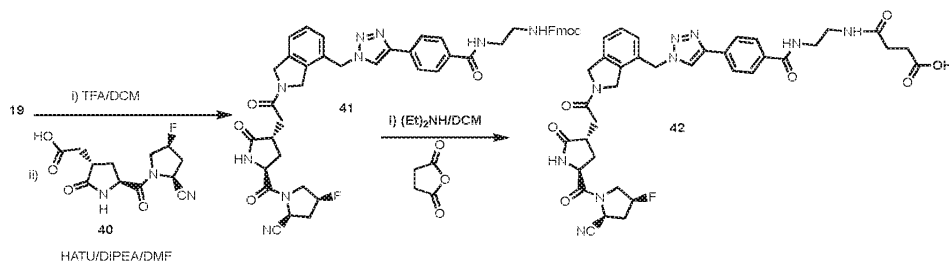
[0499] 0°C에서 CH₃CN (5 mL) 중 tert-부틸 (3S,5S)-3-(2-(tert-부톡시)-2-옥소에틸)-5-((2S,4S)-2-시아노-4-플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-1-카르복실레이트 (화합물 39, 1 mmol)의 용액에 TFA (5 mL)를 5분에 걸쳐 적가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 진공 하에 농축시키고, EA/에테르로 결정화하여 2-((3S,5S)-5-((2S,4S)-2-시아노-4-플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세트산 (화합물 40)을 백색 분말로서 수득하였다. LC/MS (m/z): 계산치 C₁₂H₁₅FN₃O₄ 실측치 284.10.

[0500] 실시예 10:

[0501] 4-((2-(4-(1-((2-(2-((3S,5S)-5-((2S,4S)-2-시아노-4-플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)벤즈아미도)에틸)아미노)-4-옥소부탄산을 반응식 10에 따라 합성하였다.

[0502] 4-((2-(4-(1-((2-(2-((3S,5S)-5-((2S,4S)-2-시아노-4-플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-일)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)벤즈아미도)에틸)아미노)-4-옥소부탄산의 합성:

[0503] 반응식 10



[0504]

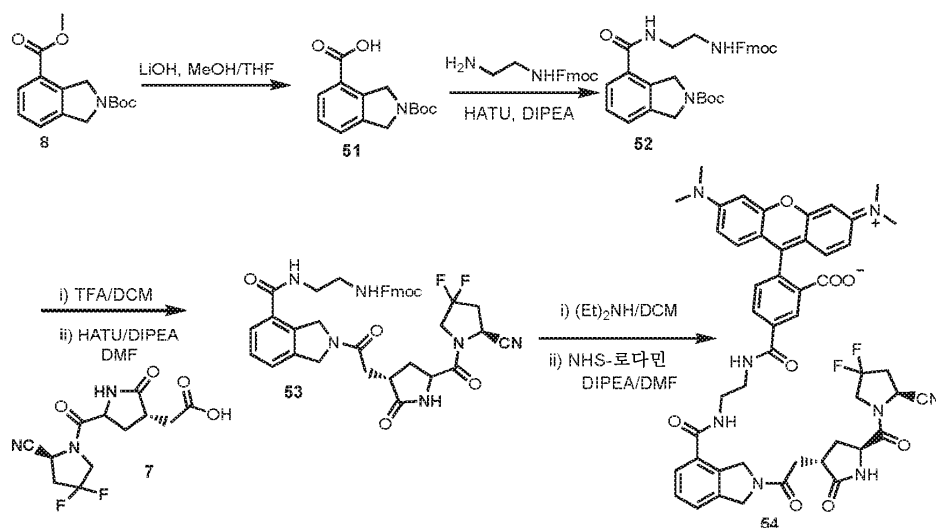
[0505] TFA (10 당량)를 실온에서 DMF (1.0 mL) 중 화합물 19 (1.0당량)의 교반 용액에 첨가하고, 교반을 30분 동안 계속하였다. 반응 혼합물을 진공 하에 증발 및 건조시켰다. 별도의 둥근 바닥 플라스크에서, 화합물 40 (1.2 당량)을 DMF (0.5 mL)에 이어서 HATU (1.3 당량) 및 DIPEA (5.0 당량) 중에 용해시키고, 반응 혼합물을 질소 분위기 하에 실온에서 10분 동안 교반하여 화합물 40의 산 관능기를 활성화시켰다. 화합물 19로부터 수득된 아민을 DMF (1 mL) 중에 용해시키고, 상기 반응 혼합물에 첨가하고, 교반을 추가로 2시간 동안 계속하였다. 반응 혼합물을 물 (15 mL)로 희석하고, 에틸 아세테이트 (2x15 mL)로 추출하였다. 유기 추출물을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 농축시키고, 수득된 조 잔류물을 콤비 플래쉬에 의해 이동상으로서 DCM 및 MeOH를 사용하여 정제하여 목적 화합물 41을 수득하였다. 화합물 41의 LCMS: LC/MS (m/z): [M+H] 계산치 C₄₇H₄₅FN₉O₆ 실측치: 850.34. 화합물 42의 화합물의 LCMS: LC/MS (m/z): [M+H] 계산치 C₃₆H₄₀FN₉O₇ 실측치 728.29 g/mol.

[0506] 실시예 11:

[0507] 5-((2-(2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이 소인돌린-4-카르복스아미도)에틸)카르바모일)-2-(6-(디메틸아미노)-3-(디메틸이미노)-3H-크산텐-9-일)벤조에이트를 반응식 11에 따라 합성하였다.

[0508] 5-((2-(2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이 소인돌린-4-카르복스아미도)에틸)카르바모일)-2-(6-(디메틸아미노)-3-(디메틸이미노)-3H-크산텐-9-일)벤조에이트의 합성:

[0509] 반응식 11



[0510]

[0511] 단계-I

[0512] LiOH (172.8 mg, 7.2 mmol, 10 당량)를 MeOH/THF/H₂O (0.2 mL/0.6 mL/0.2 mL) 중 2-(tert-부틸) 4-메틸 이소인돌린-2,4-디카르복실레이트 (화합물 8, 200 mg, 0.72 mmol)의 교반 용액에 첨가하였다. 혼합물을 5시간 동안 교반하였다. 용매를 감압 하에 제거하고, 혼합물을 물 (1 mL) 중에 용해시키고, 시트르산 (1 M)을 사용하여 pH를 7로 조정하였다. 생성물을 EA (3 mL X 3)로 추출하였다. 유기 층을 합하고, 황산나트륨으로 건조시키고,

감압 하에 농축시켜 2-(tert-부톡시카르보닐)이소인돌린-4-카르복실산 (화합물 51)을 수득하였으며, 이를 후속 단계에 추가 정제 없이 사용하였다.

[0513] 단계-II

[0514] HATU (456 mg, 1.2 mmol, 1.2 당량) 및 DIPEA (258 mg, 2 mmol, 2.0 당량)를 DMF (5 mL) 중 2-(tert-부톡시카르보닐)이소인돌린-4-카르복실산 (화합물 51, 263 mg, 1.0 mmol, 1.0 당량)의 용액에 첨가하였다. 혼합물을 10 분 동안 교반한 다음, (9H-플루오렌-9-일)메틸 (2-아미노에틸)카르바메이트 히드로클로라이드 염 (350.9 mg, 1.1 mmol, 1.1 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 에틸 아세테이트 (2 mL)로 희석하고, H₂O (2 mL X 3)로 세척하였다. 유기 층을 합하고, 황산나트륨으로 건조시키고, 감압 하에 농축시켰다. 나머지 오일을 콤비 플래쉬 크로마토그래피에 의해 용리액으로서 헥산/에틸 아세테이트를 사용하여 정제하여 tert-부틸 4-((2-((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)에틸)카르바모일)이소인돌린-2-카르복실레이트 (화합물 52)를 백색 고체로서 352.5 mg 수율로 수득하였다.

[0515] 단계-III

[0516] TFA (10 당량)를 DMF (1.0 mL) 중 화합물 52 (1.0당량)의 교반 용액에 실온에서 첨가하고, 교반을 30분 동안 계속하였다. 반응 혼합물을 진공 하에 증발 및 건조시켰다. 별도의 둥근 바닥 플라스크에서, 산 화합물 7 (1.2 당량)을 DMF (0.5 mL)에 이어서 HATU (1.3 당량) 및 DIPEA (5.0 당량) 중에 용해시키고, 반응 혼합물을 질소 분위기 하에 실온에서 10분 동안 교반하여 화합물 7의 산 관능기를 활성화시켰다. 화합물 52로부터 수득된 아민을 DMF (1 mL) 중에 용해시키고, 상기 반응 혼합물에 첨가하고, 교반을 추가로 2시간 동안 계속하였다. 반응 혼합물을 물 (15 mL)로 희석하고, 에틸 아세테이트 (2x15 mL)로 추출하였다. 유기 추출물을 무수 황산나트륨 상에서 건조시켰다. 추출물을 농축시키고, 수득된 조 잔류물을 콤비플래쉬에 의해 이동상으로서 DCM 및 MeOH를 사용하여 정제하여 목적 화합물 53을 수득하였다. (Et)₂NH를 화합물 53 DCM의 용액에 첨가하고, 실온에서 1시간 동안 교반하고, 감압 하에 증발시키고, 조 잔류물을 디에틸 에테르로 처리하고, 건조시키고, 후속 단계에 정제 없이 사용하였다.

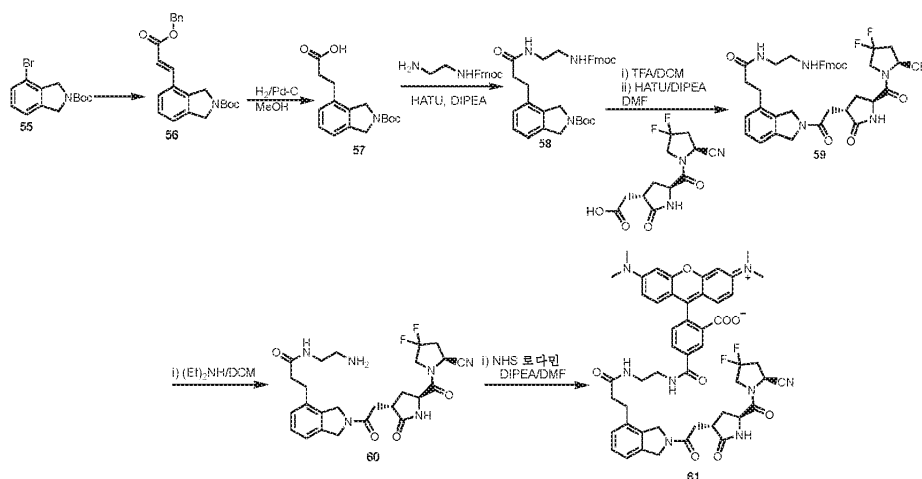
[0517] N-(2-아미노에틸)-2-(2-((3S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-카르복사미드 (10.0 mg, 0.02 mmol, 1.0 당량)를 DMF (1 mL) 중에 용해시킨 다음, 로다민-NHS (12.9 mg, 0.024 mmol, 1.2 당량)를 첨가하고, 이어서 DIPEA (3.87 mg, 0.03 mmol, 1.5 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 물로 희석하고, UHPLC (A = 20 mM 아세트산암모늄 완충제 (pH = 7), B = 아세토니트릴, 60분 내 용매 구배 5% B → 95%)를 사용하여 정제하여 5-((2-(2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-카르복사미드)에틸)카르바모일)-2-(6-(디메틸아미노)-3-(디메틸이미노)-3H-크산텐-9-일)벤조에이트 (화합물 54)를 수득하였다. LC/MS (m/z): [M+H]⁺ 계산치 C₄₈H₄₆F₂N₈O₈, 실측치 901.3 g/mol.

[0518] 실시예 12:

[0519] 5-((2-(3-(2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-일)프로판아미드)에틸)카르바모일)-2-(6-(디메틸아미노)-3-(디메틸이미노)-3H-크산텐-9-일)벤조에이트를 반응식 12에 따라 합성하였다.

[0520] 5-((2-(3-(2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-일)프로판아미드)에틸)카르바모일)-2-(6-(디메틸아미노)-3-(디메틸이미노)-3H-크산텐-9-일)벤조에이트의 합성:

[0521] 반응식 12



[0522]

[0523] 단계-I

[0524] DMF (1 mL) 중 tert-부틸 4-브로모이소인돌린-2-카르복실레이트 (화합물 55)(297 mg, 1 mmol, 1.0 당량)의 용액에 아르곤 분위기 하에 벤질 아크릴레이트 (486 mg, 3 mmol, 3.0 당량), Pd(OAc)₂ (22.3 mg, 0.1 mmol, 0.1 당량), P(o-Tol)₃ (60.8 mg, 0.2 mmol, 0.2 당량) 및 DIPEA (387 mg, 3.0 mmol, 3.0 당량)를 첨가하였다. 생성된 혼합물을 100℃에서 8시간 동안 가열하였다. 완결된 후, 반응물을 물 (3 mL)로 채웠다. 수성 층을 EA (10 mL X 3)로 추출하고, 유기 상을 합하고, 황산나트륨으로 건조시켰다. 유기 층을 감압 하에 농축시키고, 잔류물을 콤비 플래쉬 크로마토그래피에 의해 용리액으로서 헥산/에틸 아세테이트를 사용하여 정제하여 tert-부틸 (E)-4-(3-(벤질옥시)-3-옥소프로프-1-엔-1-일)이소인돌린-2-카르복실레이트 (화합물 56)를 148 mg 황색빛 오일로서 추가 정제 없이 수득하였다. 화합물 56을 MeOH 중 Pd/C를 사용하여 수소 분위기 하에 8시간 동안 수소화시켜 3-(2-(tert-부톡시카르보닐)이소인돌린-4-일)프로판산 (화합물 57)을 수득하였다. 57에 대한 LC/MS: LC/MS (m/z) [M+H]⁺ 계산치 C₁₆H₂₂NO₄ 실측치 292.15.

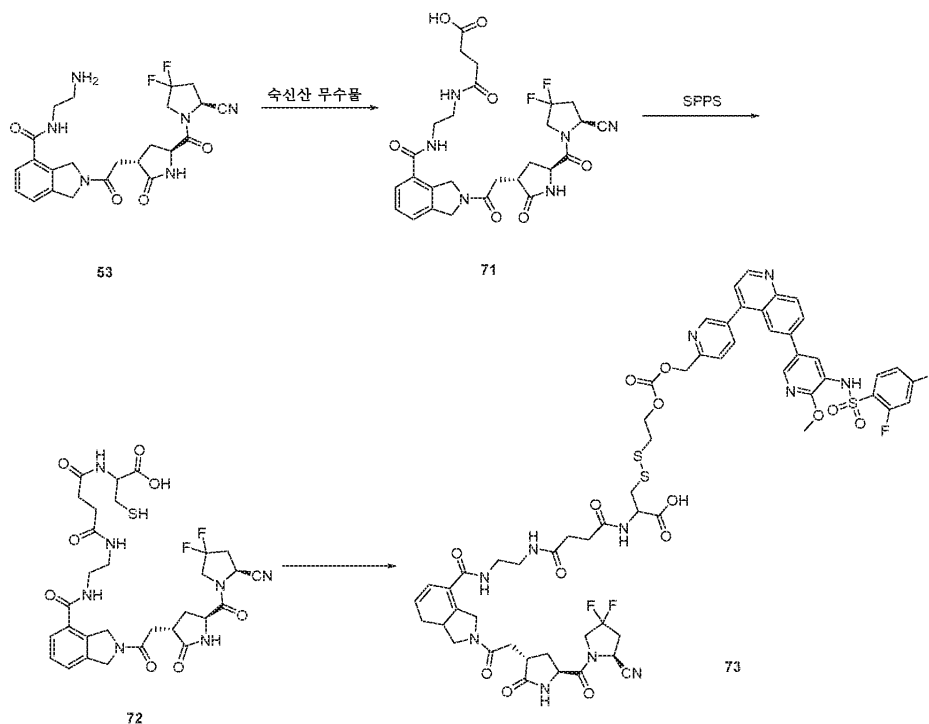
[0525] 화합물 58-61을 실시예 11에 제공된 것과 유사한 방식으로 합성하여 5-((2-(3-(2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-일)프로판아미도)에틸)카르바모일)-2-(6-(디메틸아미노)-3-(디메틸이미노)-3H-크산텐-9-일)벤조에이트를 수득하였다. 화합물 61에 대한 LC/MS (m/z): [M+H]⁺ 계산치 C₅₀H₅₁F₂N₈O₈, 실측치 929.3 g/mol.

[0526] 실시예 13

[0527] N-(4-((2-(2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)-2,3,7,7a-테트라히드로-1H-이소인돌-4-카르복스아미도)에틸)아미노)-4-옥소부타노일)-S-((2-((5-(6-(5-((2,4-디플루오로페닐)술폰아미도)-6-메톡시피리딘-3-일)퀴놀린-4-일)피리딘-2-일)메톡시)카르보닐)옥시)에틸)티오)시스테인을 반응식 13에 따라 합성하였다.

[0528] N-(4-((2-(2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)-2,3,7,7a-테트라히드로-1H-이소인돌-4-카르복스아미도)에틸)아미노)-4-옥소부타노일)-S-((2-((5-(6-(5-((2,4-디플루오로페닐)술폰아미도)-6-메톡시피리딘-3-일)퀴놀린-4-일)피리딘-2-일)메톡시)카르보닐)옥시)에틸)티오)시스테인의 합성:

[0529] 반응식 13



[0530]

[0531]

N-(2-아미노에틸)-2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-카르복사미드 (화합물 53, 97.6 mg, 0.2 mmol, 1.0 당량)를 DCM (2 mL) 중에 용해시킨 다음, 숙신산 무수물 (24 mg, 0.24 mmol, 1.2 당량)을 첨가하고, 이어서 DIPEA (51.6 mg, 0.4 mmol, 2 당량)를 첨가하였다. 생성된 혼합물을 8시간 동안 유지하였다. 용매를 감압 하에 제거하였다. 잔류물을 정제용 RP-HPLC [A = 2 mM 아세트산암모늄 완충제 (pH 7.0), B = 아세토니트릴, 60분 동안 용매 구배 5% B → 55% B]에 의해 정제하여 4-((2-(2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-카르복사미도)에틸)아미노)-4-옥소부탄산 (화합물 71)을 수득하였다. LC/MS (m/z): [M+H]⁺ 정확한 질량: 588.21 g/mol.

4-((2-(2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-카르복사미도)에틸)아미노)-4-옥소부탄산 (화합물 71, 117.6 mg, 0.2 mmol, 1.0 당량)을 H-Cys(Trt)-2-Cl-Trt (1.2 당량)를 사용하여 HATU (91.2 mg, 0.24 mmol, 1.2 당량) 및 DIPEA (51.6 mg, 0.4 mmol, 2.0 당량)와 함께 고체 상 펩티드 커플링 조건에 도입하였다. 최종 생성물을 TFA:물:TIPS:에탄디티올 (95%: 2.5%: 2.5%: 2.5%)의 각테일 용액을 사용하여 수지로부터 절단하였다. 조 화합물을 에테르 중에 침전시켜 4-((2-(2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-카르복사미도)에틸)아미노)-4-옥소부타노일)시스테인 (화합물 72)을 수득하였다. LC/MS (m/z): [M+H]⁺ 정확한 질량: 691.22.

(5-(6-(5-((2,4-디플루오로페닐)술폰아미도)-6-메톡시피리딘-3-일)퀴놀린-4-일)피리딘-2-일)메틸 (2-메르캅토에틸) 카르보네이트 (7.46 mg, 0.01 mmol) 및 4-((2-(2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)이소인돌린-4-카르복사미도)에틸)아미노)-4-옥소부타노일)시스테인 (화합물 72, 6.91 mg, 0.01 mmol)을 DMF (1 mL) 중에 용해시키고, 교반하였다. 반응이 완결된 후, 조 생성물을 정제용 RP-HPLC [A = 2mM 아세트산암모늄 완충제 (pH 7.0), B = 아세토니트릴, 60분 동안 용매 구배 5% B → 75% B]에 의해 정제하여 N-(4-((2-(2-(2-((3S,5S)-5-((S)-2-시아노-4,4-디플루오로피롤리딘-1-카르보닐)-2-옥소피롤리딘-3-일)아세틸)-2,3,7,7a-테트라히드로-1H-이소인돌-4-카르복사미도)에틸)아미노)-4-옥소부타노일)-S-((2-((5-(6-(5-((2,4-디플루오로페닐)술폰아미도)-6-메톡시피리딘-3-일)퀴놀린-4-일)피리딘-2-일)메톡시)카르보닐)옥시)에틸)티오)시스테인 (화합물 73)을 수득하였다. LRMS-LCMS (m/z): [M + H]⁺ 계산치 C₆₀H₅₈F₄N₁₁O₁₄S₃, 1328.3; 실측치 1328.2).

[0532] 세포 배양

[0533]

FaDu, HT29, MDA-MB231, KB,4T1 PANC1, U87MG, LaNCap 및 인간 FAP-형질감염된 HEK-FAP 및 HT1080-FAP 세포를 RPMI 1640, DMEM 및 EMEM, 10% FBS, 1% 페니실린-스트렙토마이신, 1% 2 mM 글루타민으로 이루어진 배지에서 37

℃에서 5% CO₂ 및 95% 가습 분위기 하에 배양하였다. 본 연구에 사용된 세포는 ATCC로부터 구입한 원래 세포주로부터 보관된 마스터 스톱으로부터의 동결된 바이알을 해동시킴으로써 개시되었다. 모든 실험은 세포의 해동 후 2 내지 5 세대 내에서 수행하였다. 어떠한 세포주에 대해서도 미코플라스마 시험은 수행하지 않았다.

[0534] 시험동물 사육

[0535] 5-6주령 암컷 무흉선 nu/nu 마우스를 하틀란 레보리토리즈(Harlan Laboratories)로부터 구입하고, 정상 설치류 사료 및 물에 자유롭게 접근하도록 하였다. 동물을 표준 12시간 명암 주기로 유지하였다. 모든 동물 절차는 퍼듀 동물 실험 윤리 위원회(Purdue Animal Care and Use Committee)에 의해 승인되었다.

[0536] FAP-표적화 리간드의 공초점 결합 연구

[0537] 방법 1: HT1080-FAP 세포 (100000개 세포/웰)를 4-웰 공초점 플레이트에 시딩하였다. 세포를 37℃에서 24시간에 걸쳐 단층으로서 성장시키고, 37℃에서 1시간 동안 PBS 중 1% FBS 중 3.0 nM (최저) 내지 25 nM (최고) 범위의 다양한 농도의 접합체와 함께 인큐베이션하였다. 세포를 1% FBS (3x500 μL)로 세척하고, 세포를 1% FBS 500 μL 중에 두고, 공초점 현미경검사로 영상을 획득하였다. 다시, 세포에서 PBS를 성장 배지로 교체하고, 세포를 37℃에서 8 내지 48시간 동안 재인큐베이션하였다. 37℃에서 화합물의 상이한 농도에서 획득한 영상들도 3에 제시하고, 상이한 시점에서 획득한 영상들도 4에 제시하고, 100배 과량의 경쟁 리간드를 사용한 영상들도 5에 제시한다.

[0538] 방법 2: 인간 FAP-형질감염된 HT1080-FAP 세포 (100,000)를 4-웰 공초점 플레이트 상에 플레이트하고, 상이한 농도 (50 nM, 25 nM, 12.5 nM, 6.25 nM, 3.125 nM 및 1.65 nM)의 화합물과 함께 37℃에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 세포를 배지로 3x 세척함으로써 미결합 형광을 제거하고, 올림푸스(Olympus) 공초점 현미경을 사용하여 세포-결합 형광을 영상화하였다. 실험을 삼중으로 수행하였다.

[0539] 결합 검증

[0540] 방법 1: HT1080-FAP 세포 (200000개 세포/웰)를 24-웰 플레이트에 시딩하였다. 세포를 24시간에 걸쳐 단층으로서 성장시키고, 과량의 경쟁 리간드 (염료가 없는 리간드)의 존재 또는 부재 하에 다양한 농도의 FAP-표적화 리간드 접합체와 함께 인큐베이션하였다. 4℃에서 1시간 동안 인큐베이션한 후, 세포를 PBS로 3회 세척하여 미결합 형광을 제거하였다. 이어서 세포를 1% SDS 중에 용해시키고, 세포-결합된 형광을 Neo2 플레이트 판독기를 사용하여 측정하였다. 결과를 도 6에 나타내었다.

[0541] 방법 2: 100,000개의 HT1080-hFAP 및 HT1080 세포를 아민-코팅된 24-웰 플레이트에 시딩하여 세포 부착을 보장하였다. 단층의 형성시, 세포를 과량의 비표지된 리간드의 존재 또는 부재 하에 다양한 농도의 화합물과 함께 인큐베이션하였다. 1시간 동안 인큐베이션한 후, 세포를 배지로 3회 세척하여 미결합 형광을 제거하고, 1% SDS 중에 용해시켰다. 세포-결합된 형광을 $\lambda_{ex} = 555 \text{ nm}$ 및 $\lambda_{em} = 575 \text{ nm}$ 로 설정된 형광 분광광도계 (NeO2 플레이트 판독기)를 사용하여 측정하였다. 세포-결합된 형광을 다양한 농도에 대해 플롯팅하고, 겘보기 K_d 를 그래프패드 프리즘7(GraphPad prism7)에서의 1-부위 결합 (쌍곡선) 곡선 피트를 사용하여 결정하였다. 실험을 삼중으로 수행하였다.

[0542] 생체의 형광 영상화 및 생체분포:

[0543] 암컷 nu/nu 무흉선 (5-6주령) 마우스에게 5×10^6 KB, MDA-MB231, HT29, U87MG, FaDu, PANC1 (20% 매트릭셀 포함)를 피하 주사하고, BalbC 마우스에게 0.1 mL 멸균 PBS 중 4T1 세포를 피하 주사하였다. 영상화 연구를 개시하기 전에 종양을 대략 250-600 mm³로 성장시켰다. 각각의 종양-보유 마우스에게 5 nmol 내지 10 nmol의 화합물을, 10 내지 500배 과량의 비표지된 리간드의 존재 또는 부재 하에 정맥내로 주사하였다 (꼬리 정맥을 통해). 모든 종양에 대해 2개의 상이한 시점 (주사 2시간 후 및 6시간 후)에 AMI 기기를 사용하여 전신 영상을 획득한 후, CO₂ 질식을 사용하여 안락사시켰다. 전신 영상화를 수행한 후, 관심 기관을 수거하고 영상화하여 형광 측정을 정량화하였다. 영상 획득 파라미터는 하기와 같았다: i) 램프 수준-높음; ii) 여기-745 nm; iii) 방출-810; iv) 비닝 (M) 4M; (v) f-스톱-4; (vi) FOV-12.5; (vii) 획득 시간, 5 s; (viii) 파워 55. 영상을 2시간, 6시간, 8시간, 24시간, 32시간, 48시간, 72시간, 96시간 및/또는 122시간에 획득하였다.

[0544] 웨스턴 블롯(Western Blot) 분석:

[0545] 24시간의 공동-인큐베이션 후에, 상청액을 제거하고, 세포를 포스페이트-완충 염수 (PBS)로 세척하였다. 세포

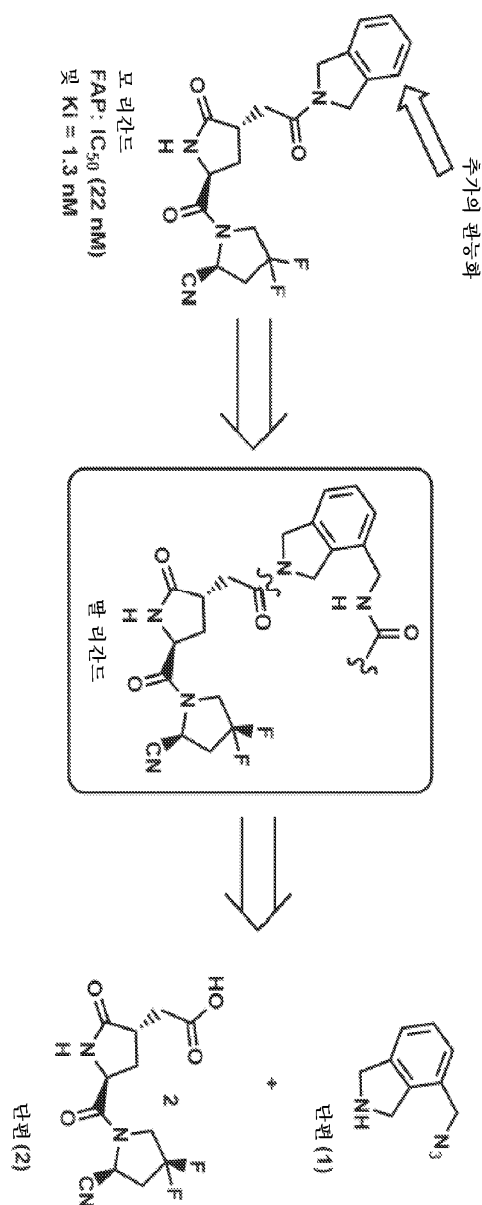
를 수거하고, 웨스턴 블롯 분석을 위해 용해시켰다. 10% 소듐 도데실 술페이트 폴리아크릴아미드 겔을 사용하였고, 샘플을 겔 전기영동 후 블로킹을 통해 분석하였다. 이어서 니트로셀룰로스 막을 항체와 함께 인큐베이션하여 인산화 Akt^{Ser473} 및 알파 액틴을 검출하고, 신호를 오디세이(Odyssey) CLx 영상화 시스템에 의해 시각화하였다 (도 23).

[0546] 정량적 PCR

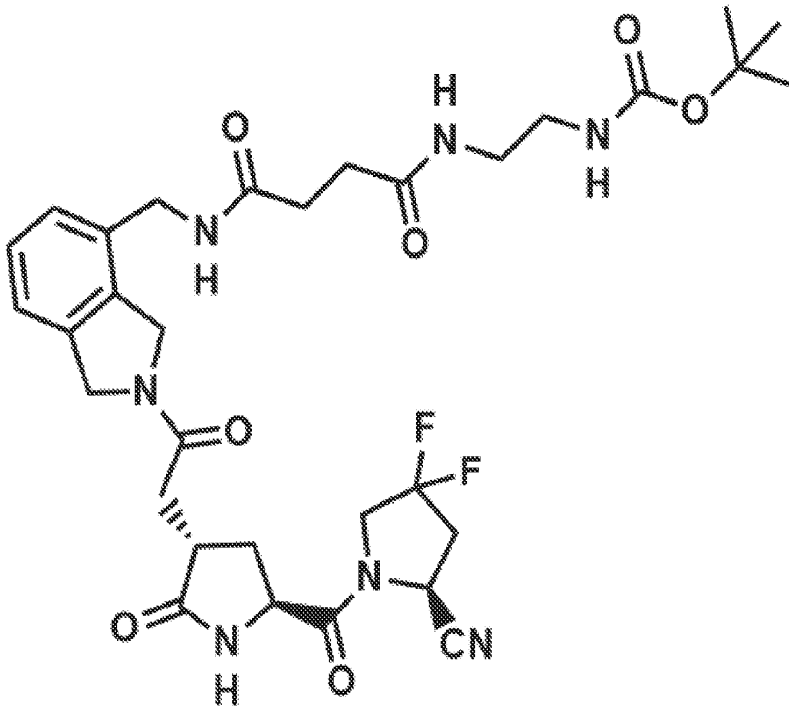
[0547] RNA를 제조업체의 설명서 (자이모 리서치(Zymo Research); 카탈로그 번호 R1050)에 기초하여 퀵-RNA 마이크로프랩 키트(Quick-RNA Microprep Kit)를 사용하여 추출하였다. 추출된 RNA를 키트에서 공급된 DNase I와 함께 실온에서 15분 동안 인큐베이션하였다. RNA는 제조업체의 설명서 (써모 피셔(Thermo Fisher); 카탈로그 번호 4368814)에 따라 고품질 cDNA 역전사 키트에 의해 역전사를 거쳤다. 이어서 cDNA를 사이버-그린 슈퍼믹스(Cyber-green supermix) 및 인간 콜라겐 1a1 및 인간 알파 평활근 액틴에 대한 프라이머와 혼합하여 정량적 PCR을 수행하여 이들 2종의 섬유화유발 마커의 발현을 분석하였다 (도 24).

도면

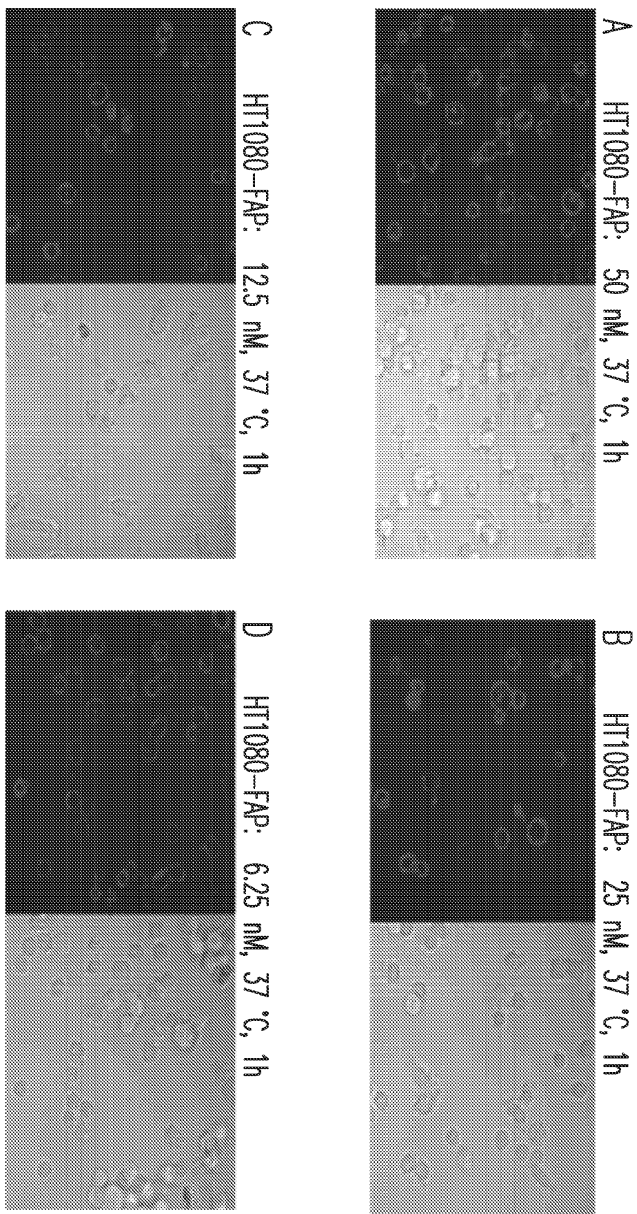
도면1



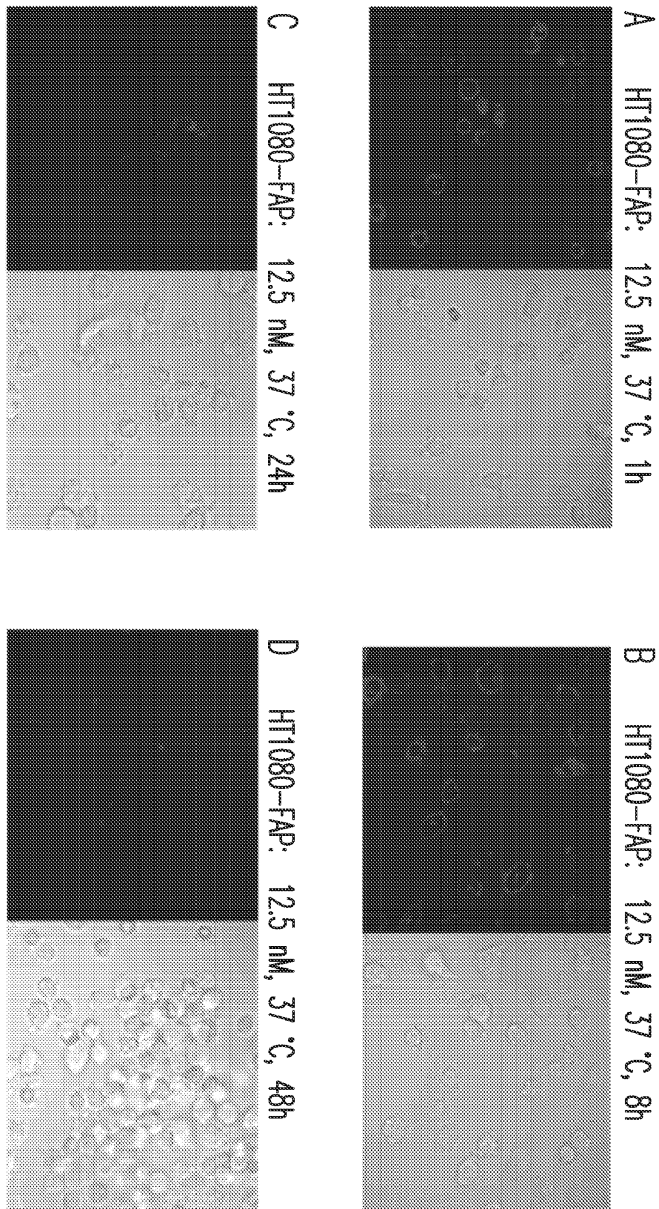
도면2



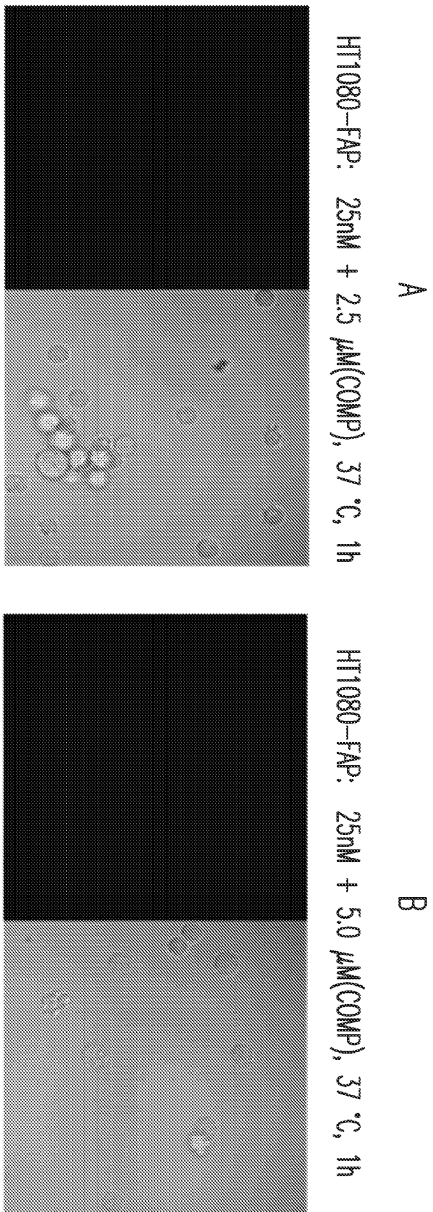
도면3



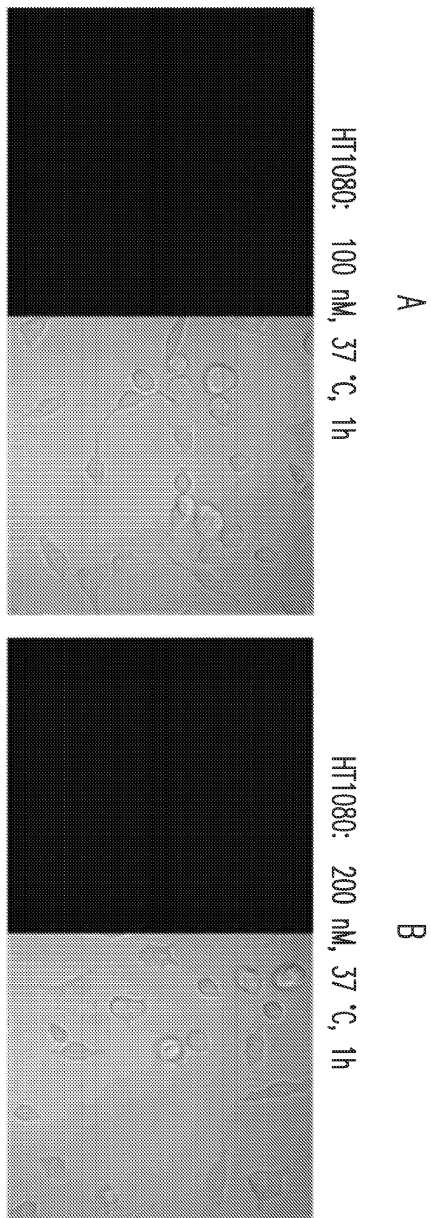
도면4



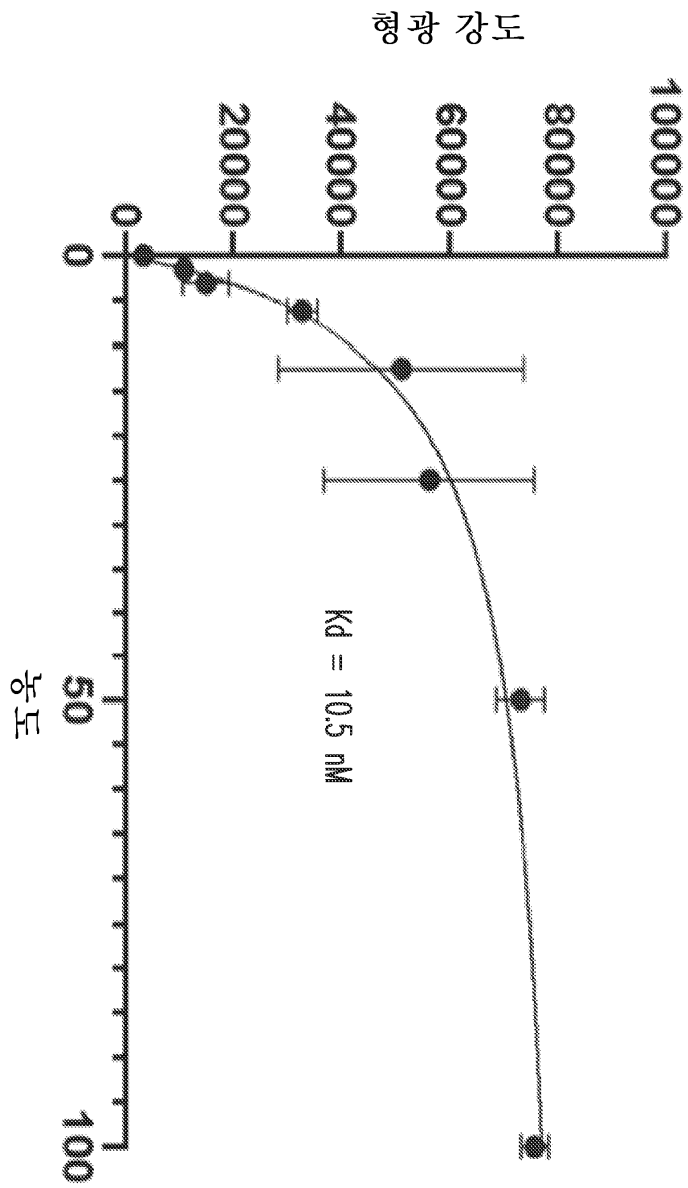
도면5



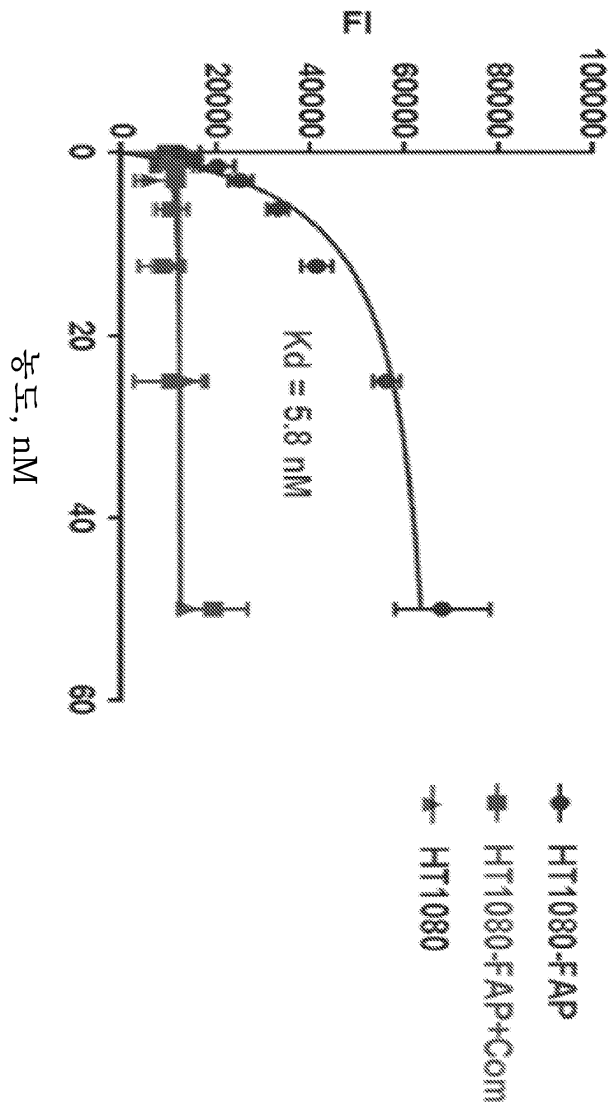
도면6



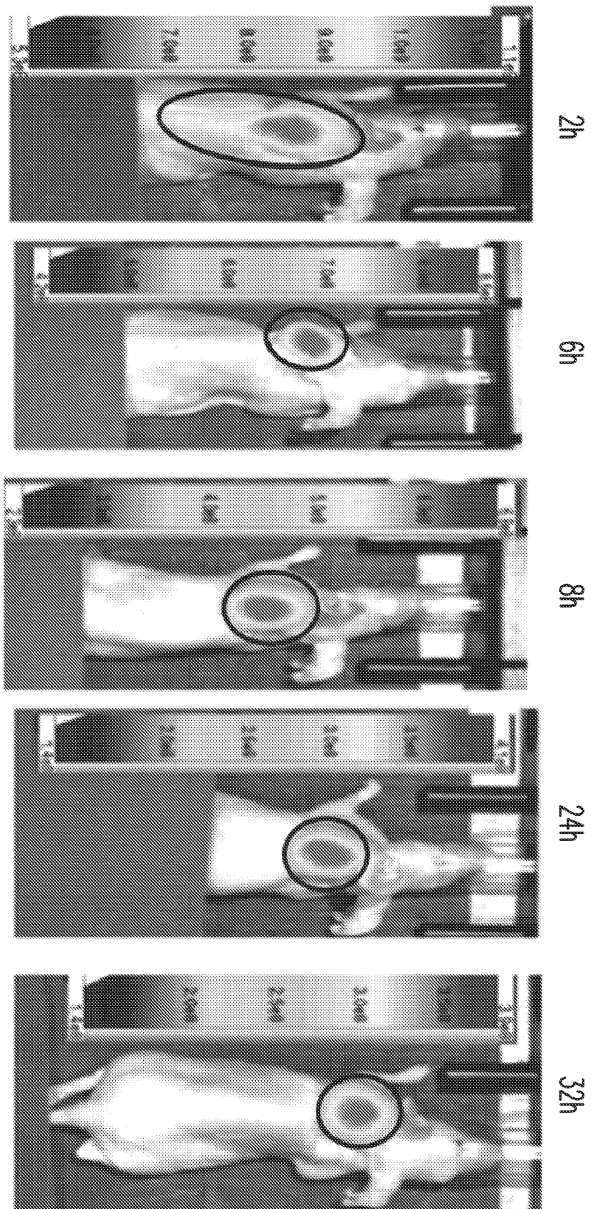
도면7



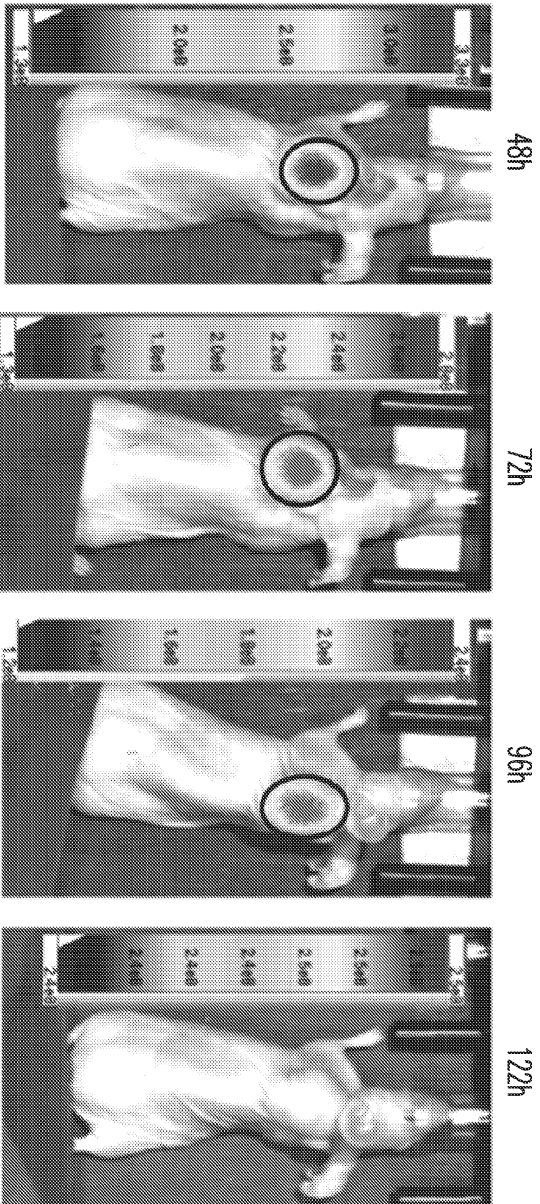
도면8



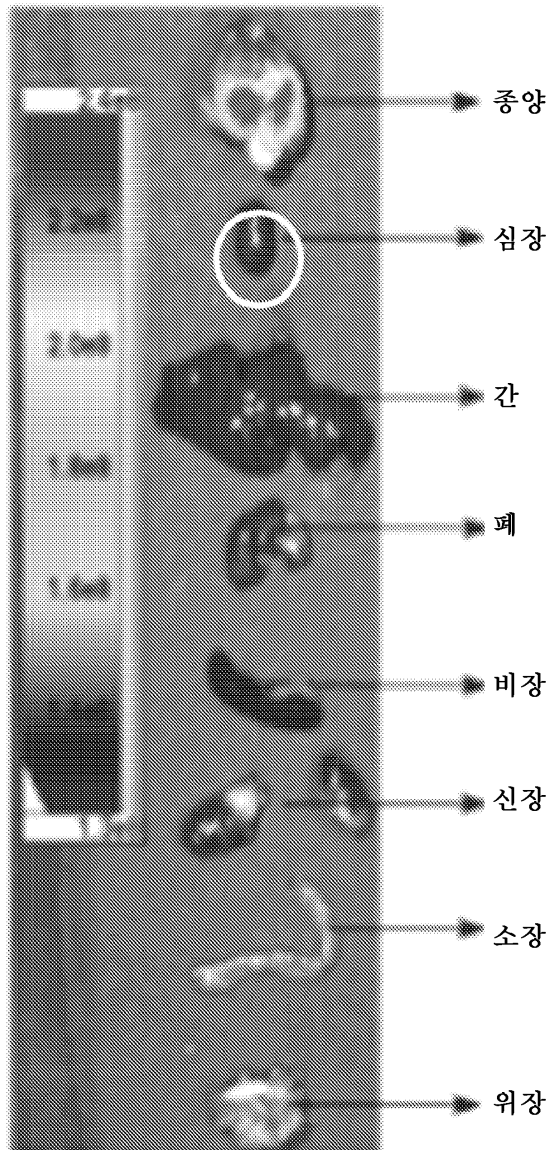
도면9a



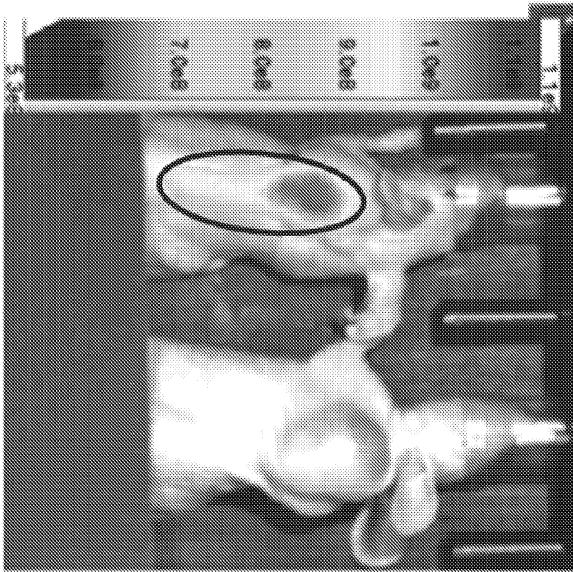
도면9b



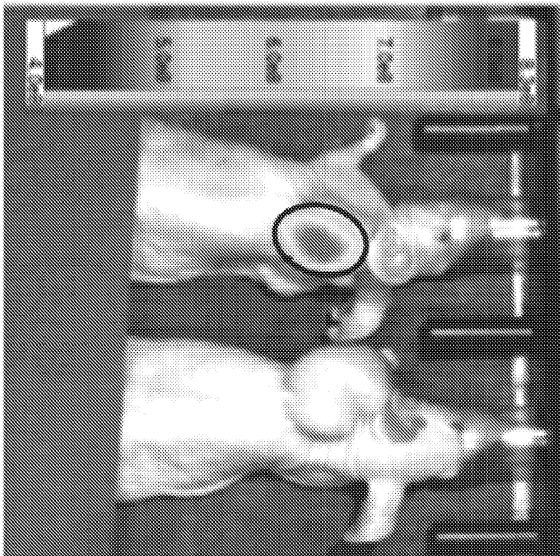
도면9c



도면10

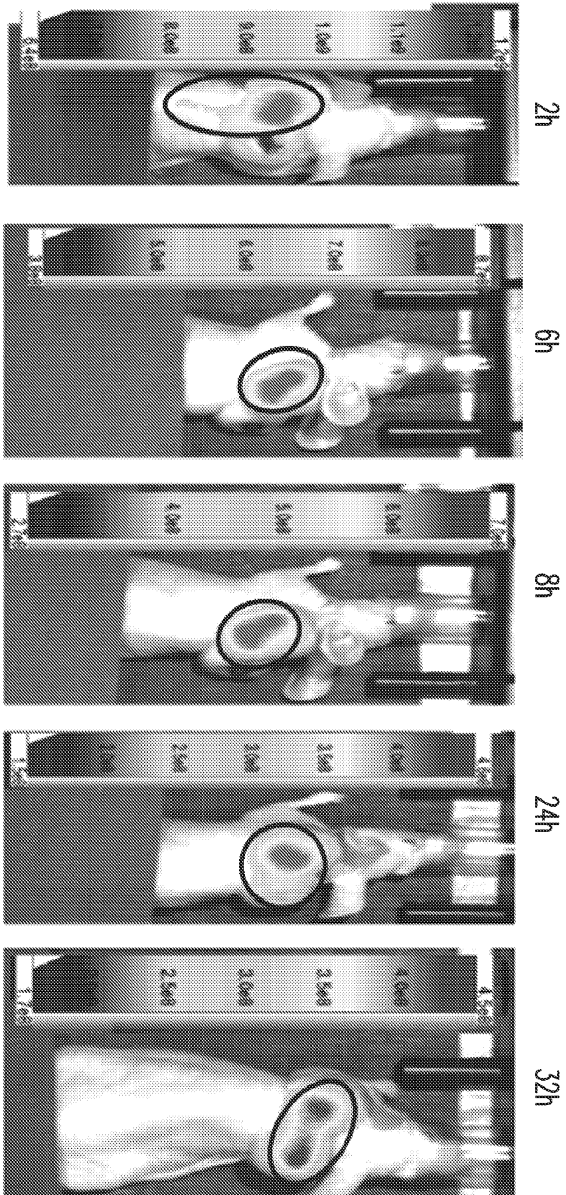


2h

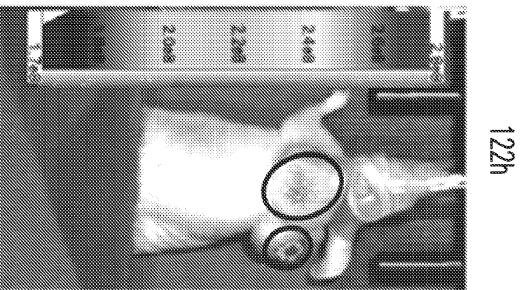
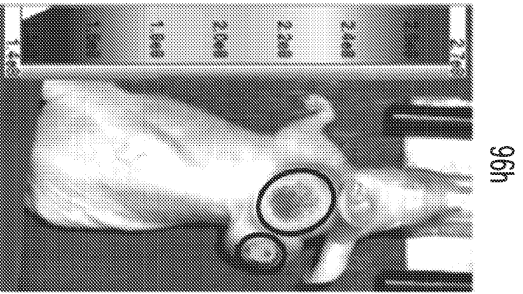
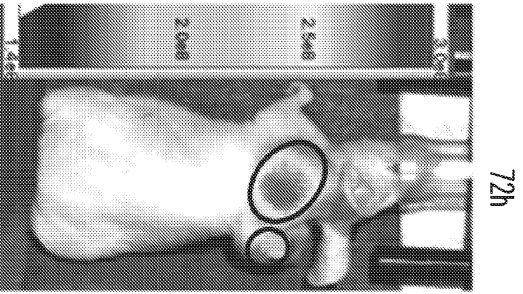
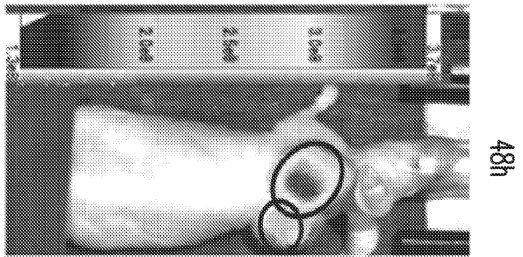


6h

도면11a

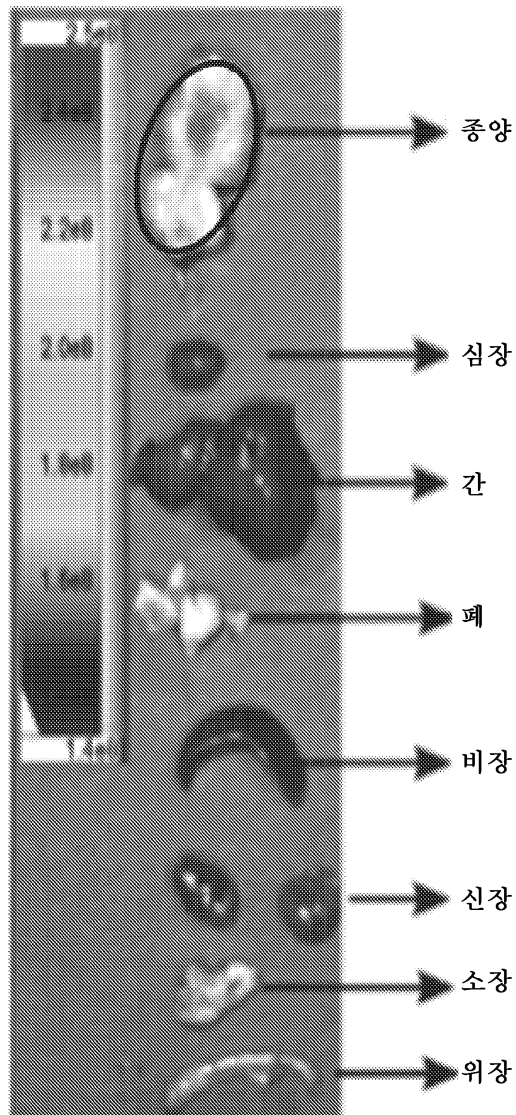


도면11b

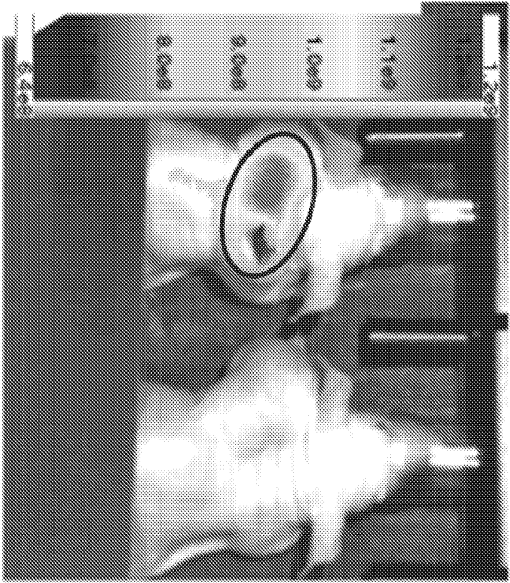


도면11c

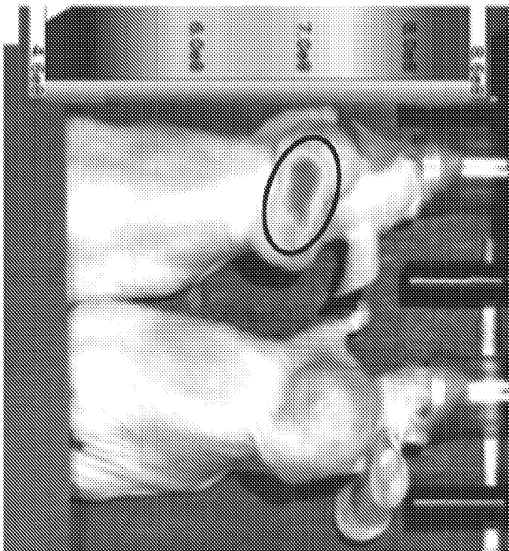
122시간에서의 생체분포
KB 종양



도면12

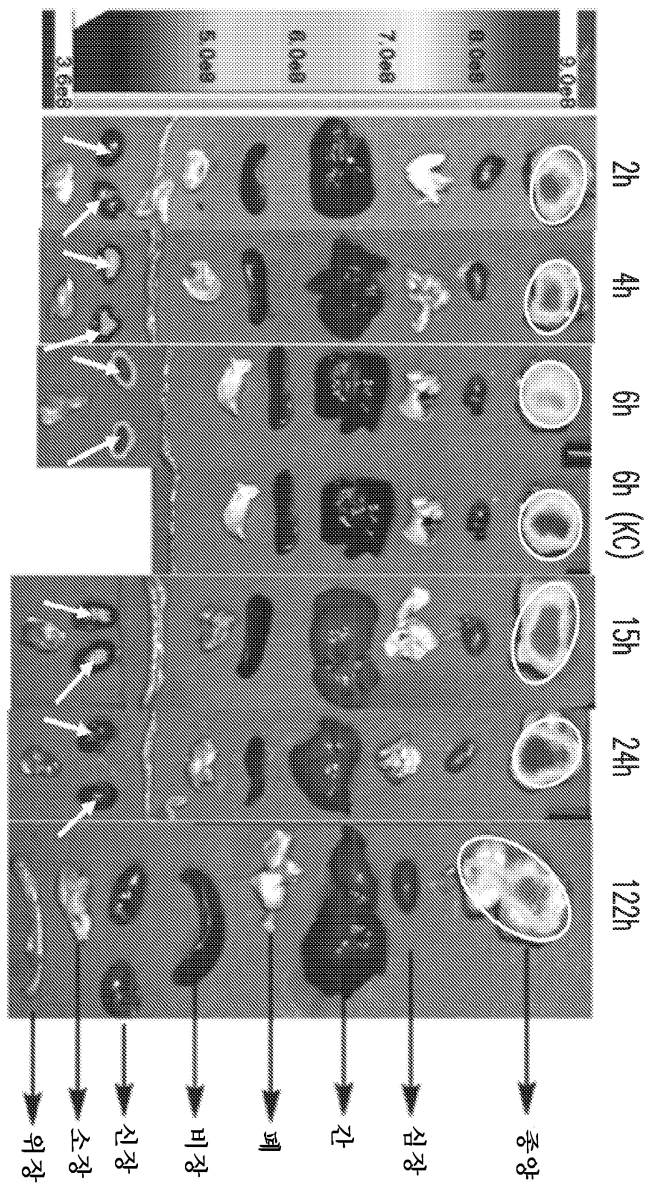


2h

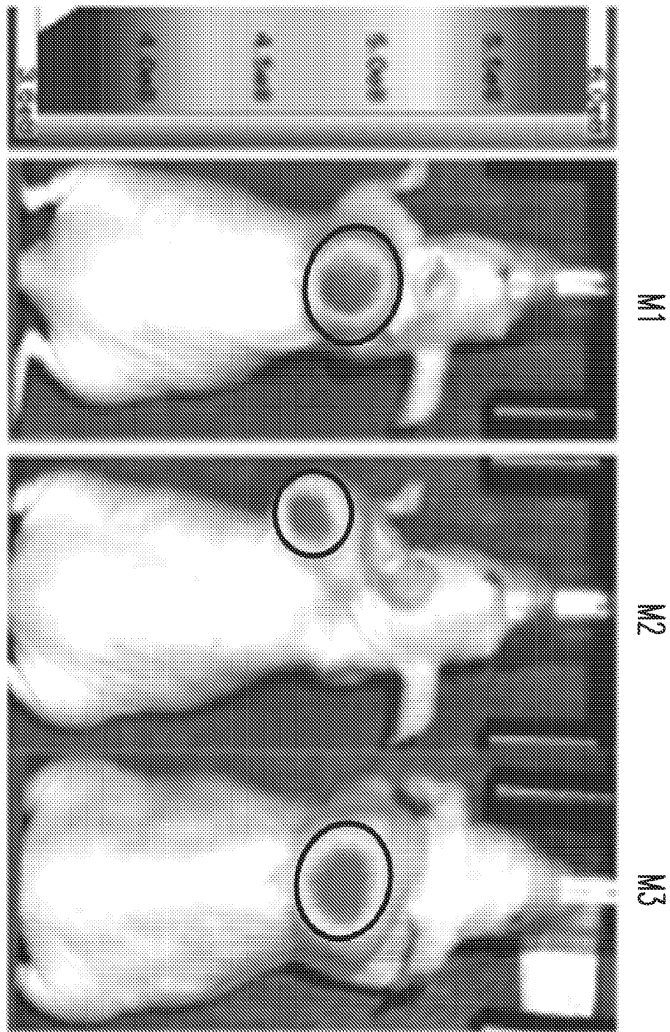


6h

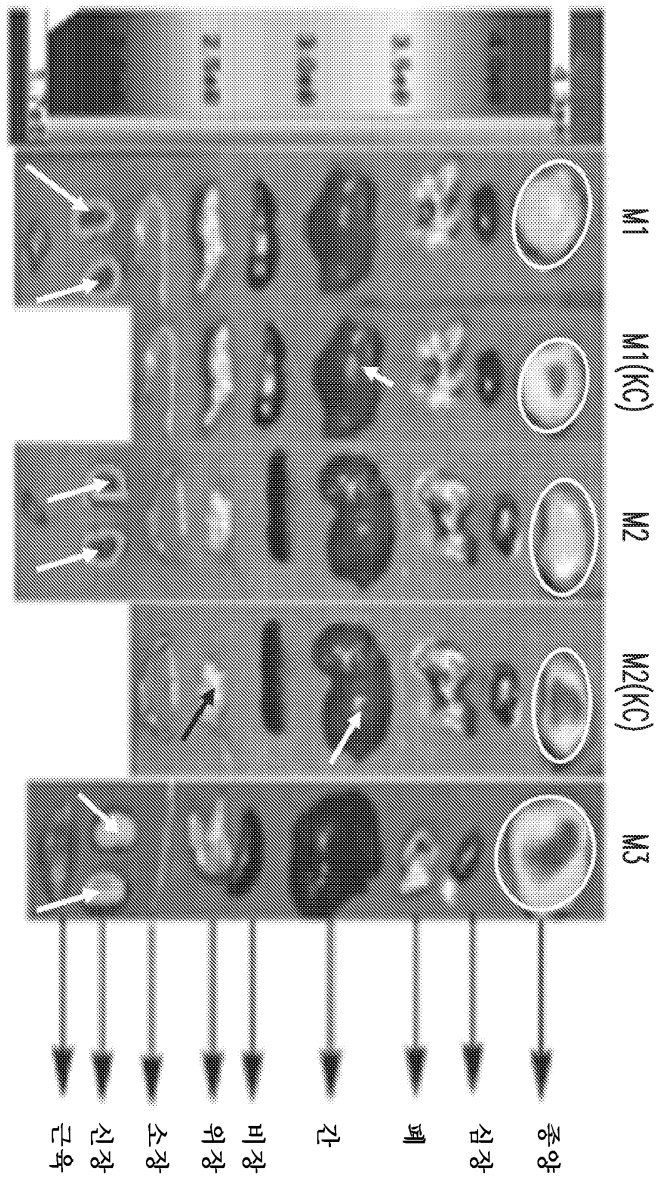
도면13



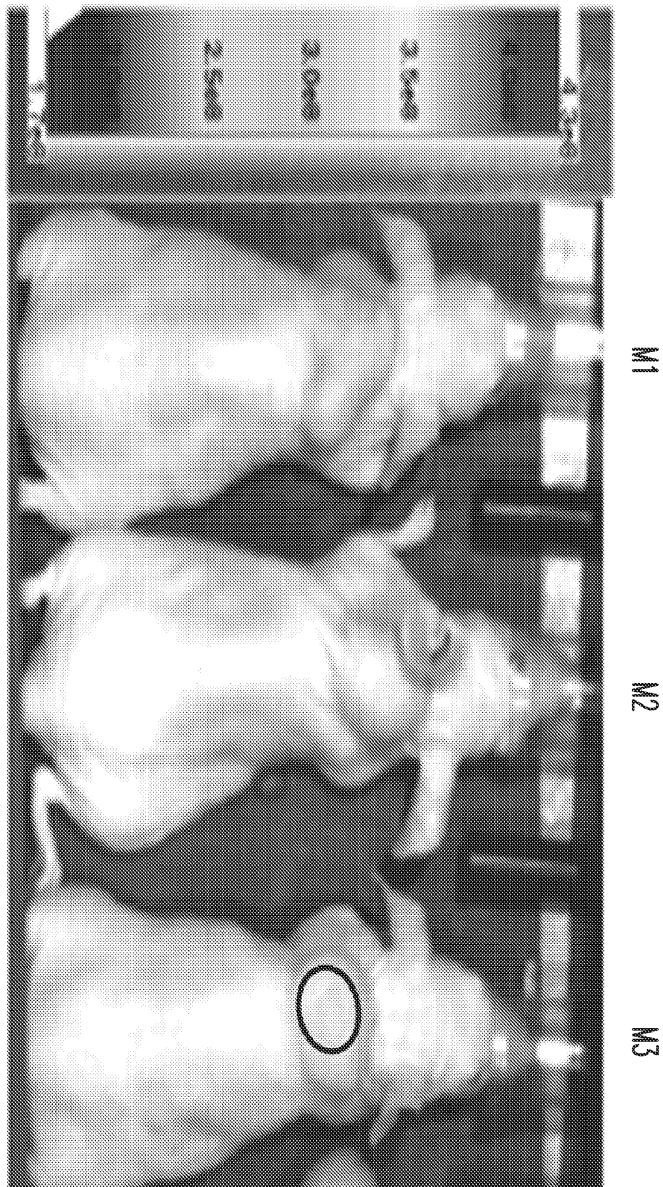
도면14a



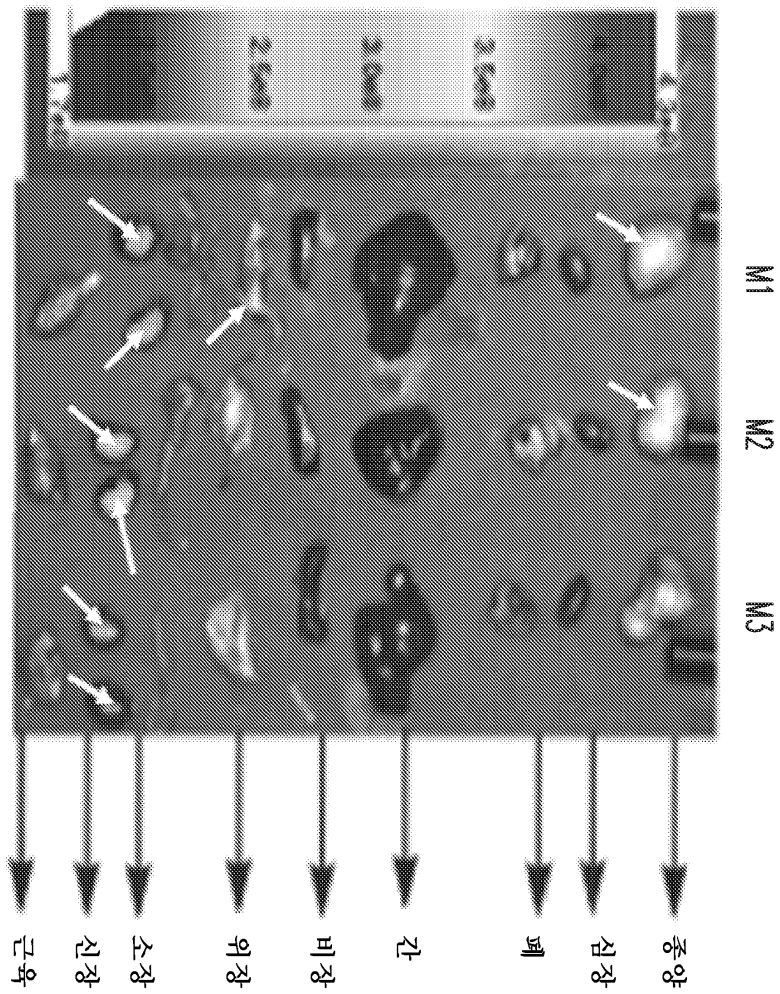
도면14b



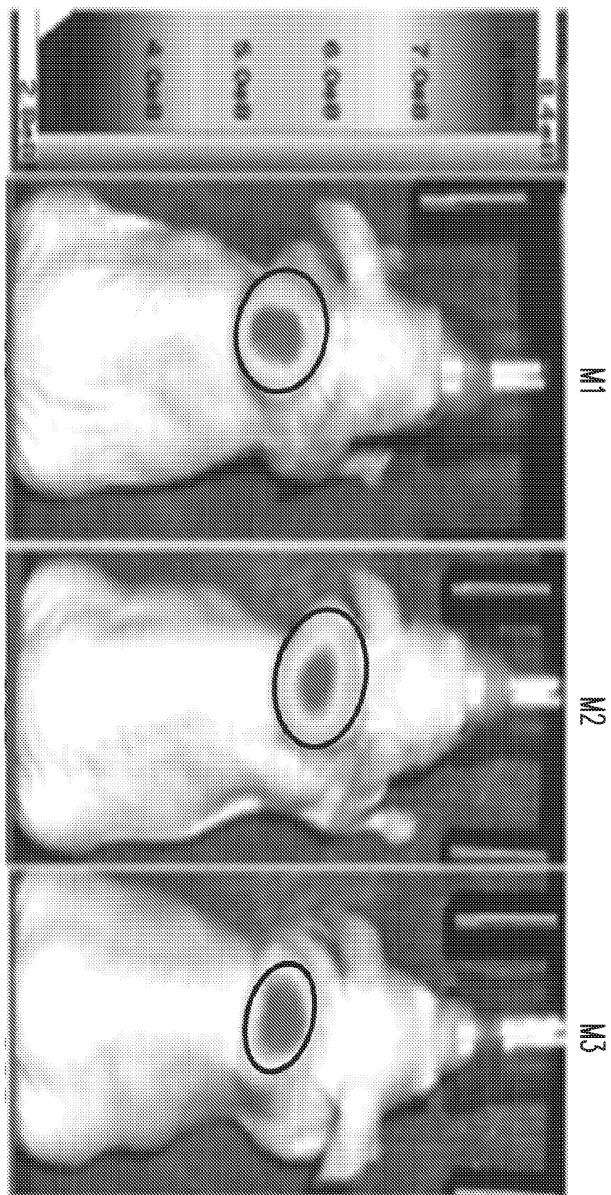
도면14c



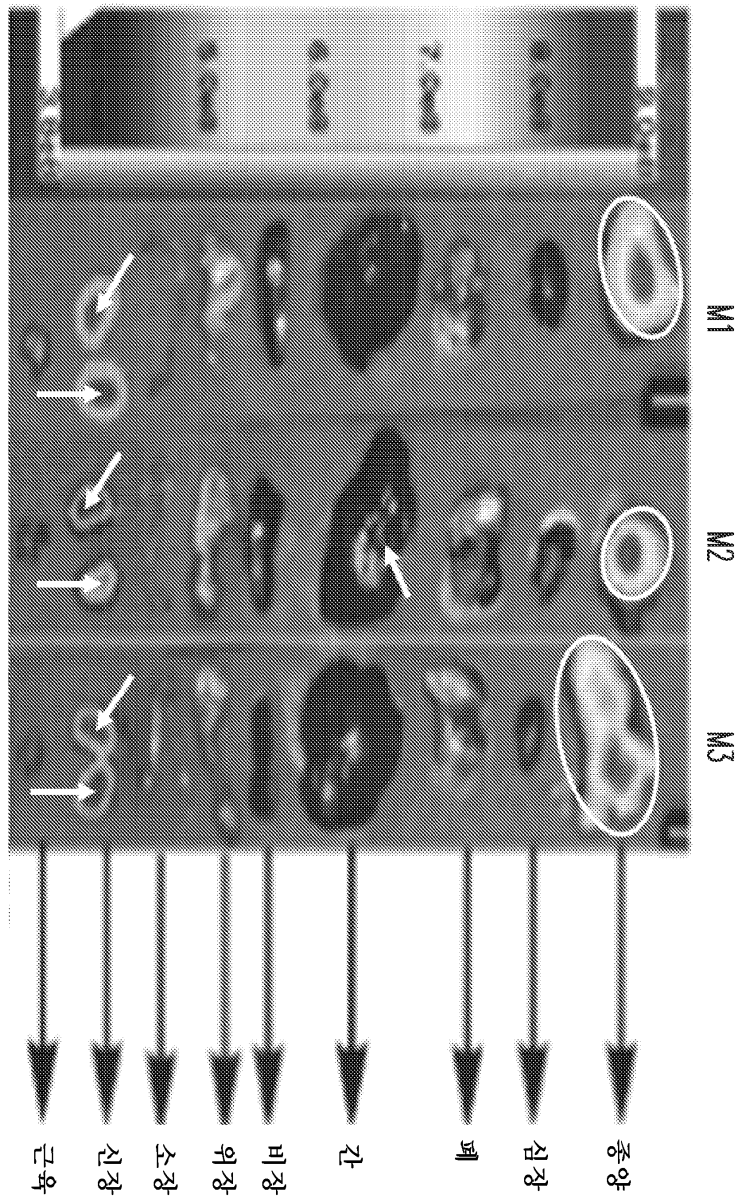
도면14d



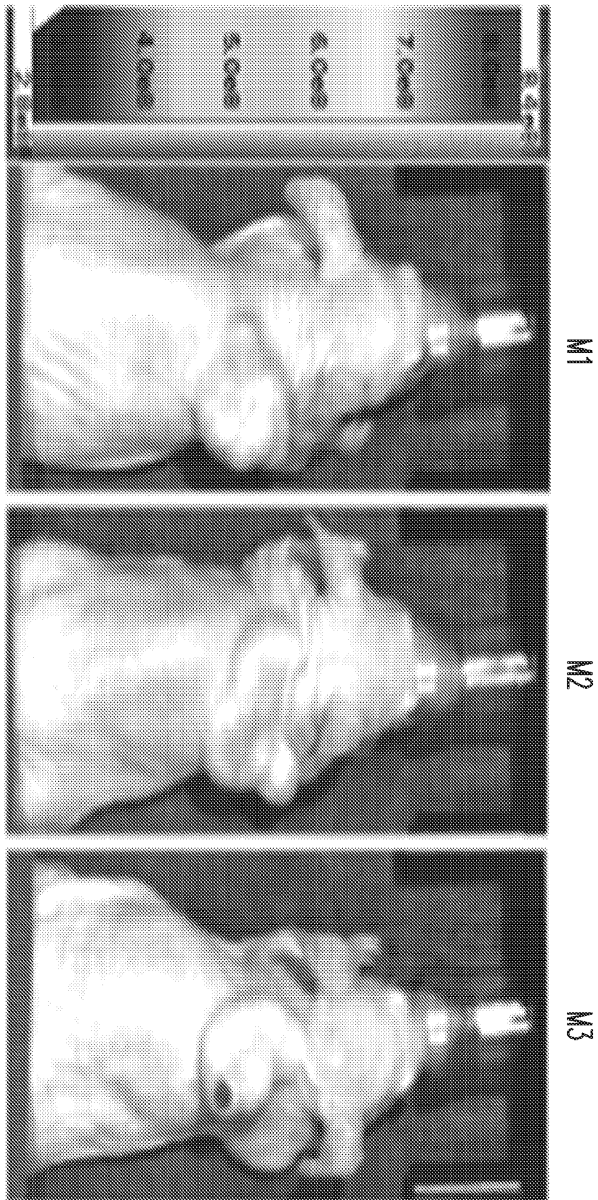
도면 15a



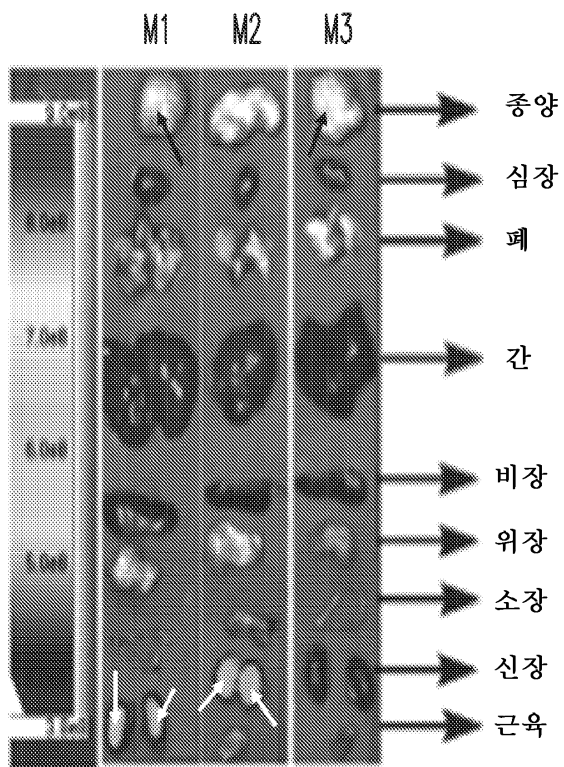
도면15b



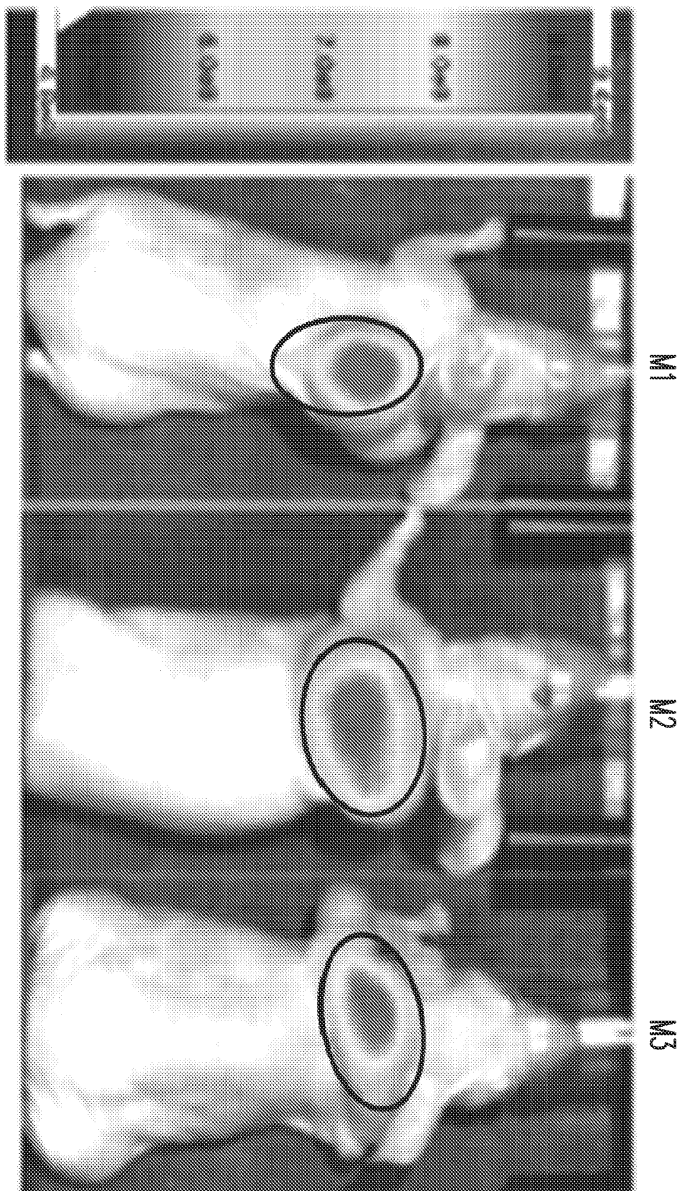
도면15c



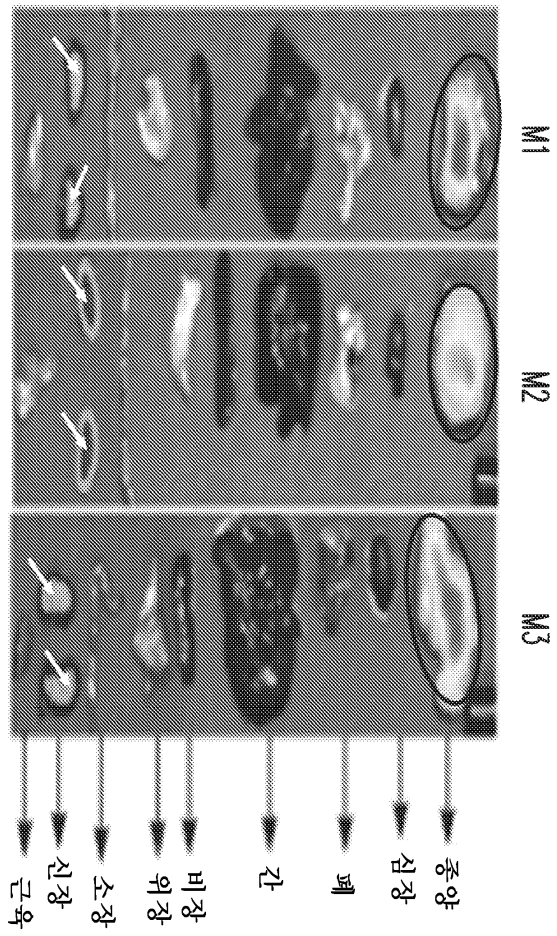
도면15d



도면16a



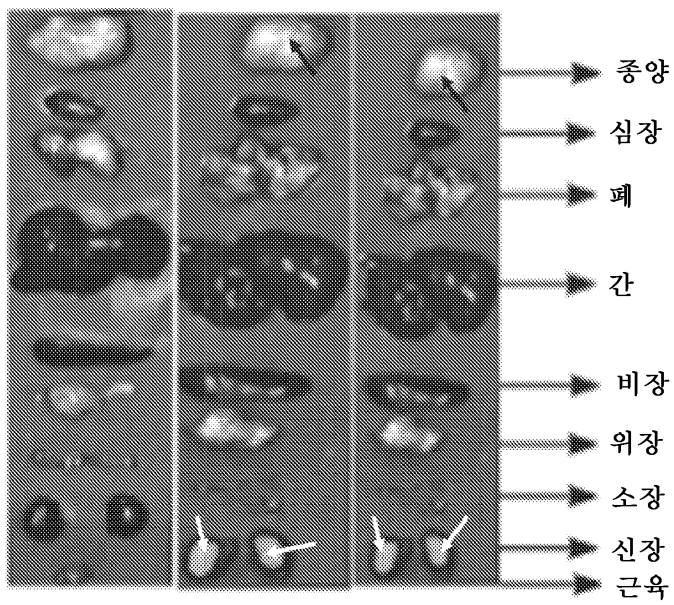
도면16b



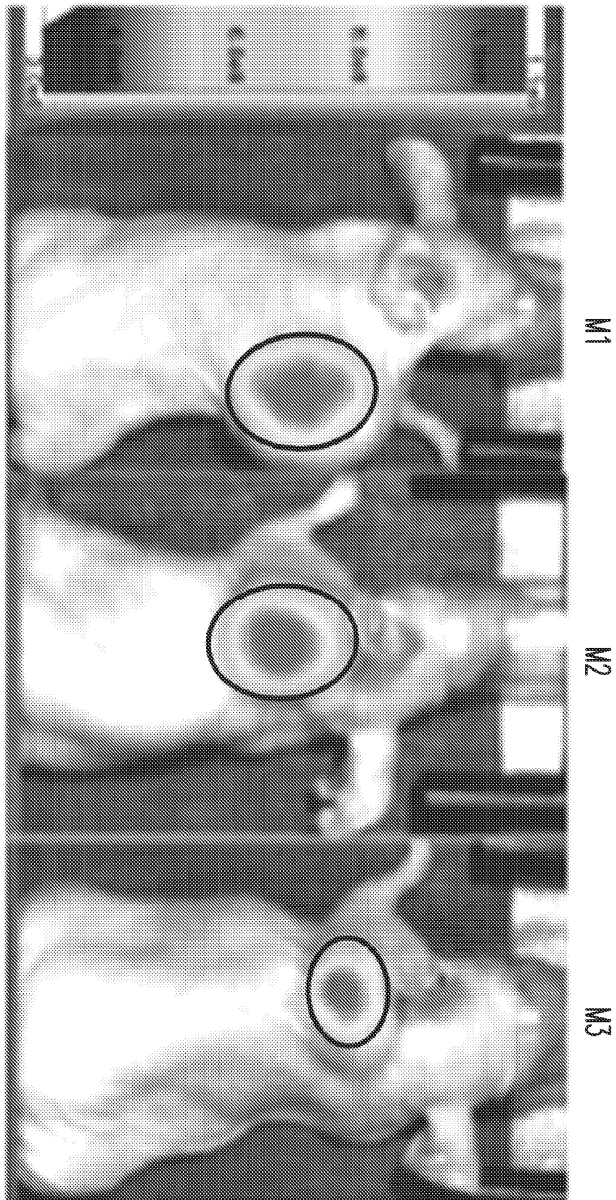
도면16c



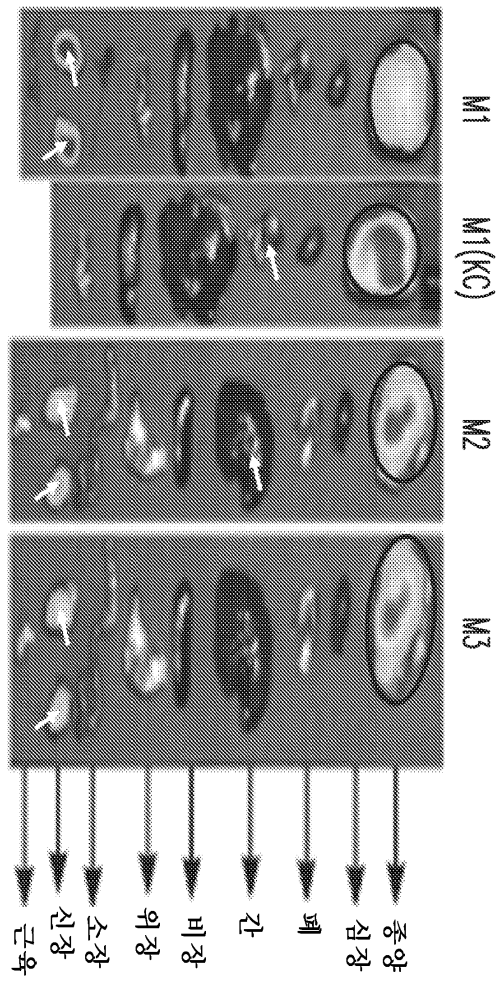
도면16d



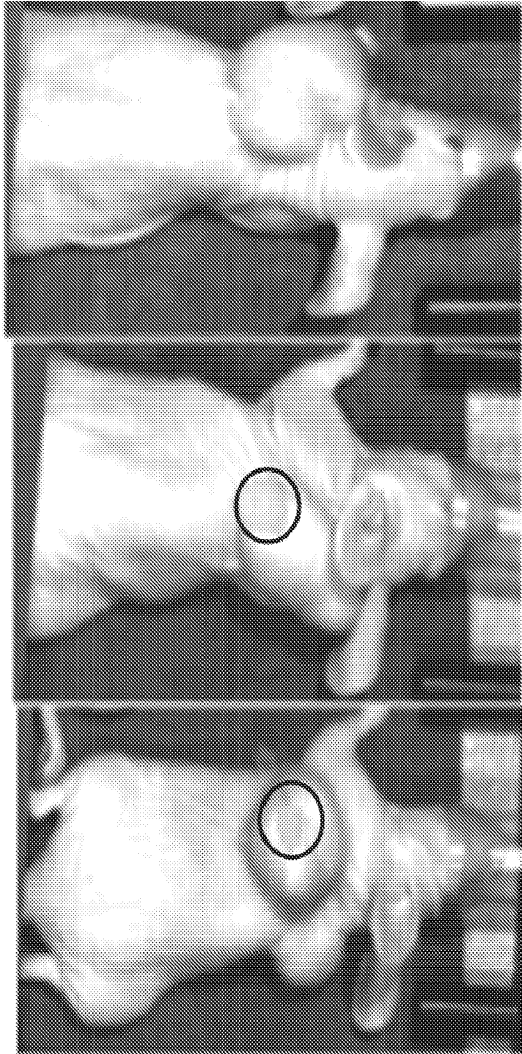
도면17a



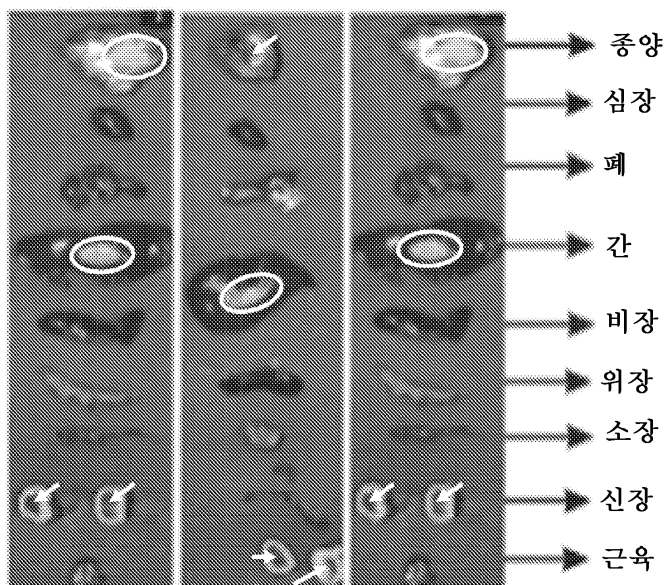
도면17b



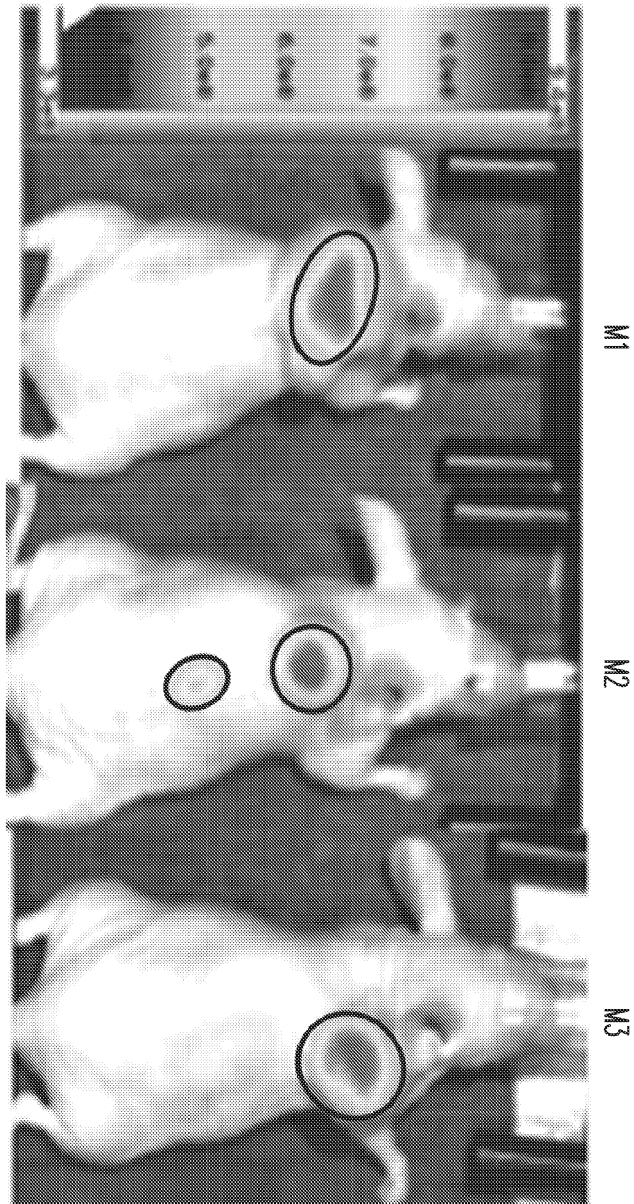
도면17c



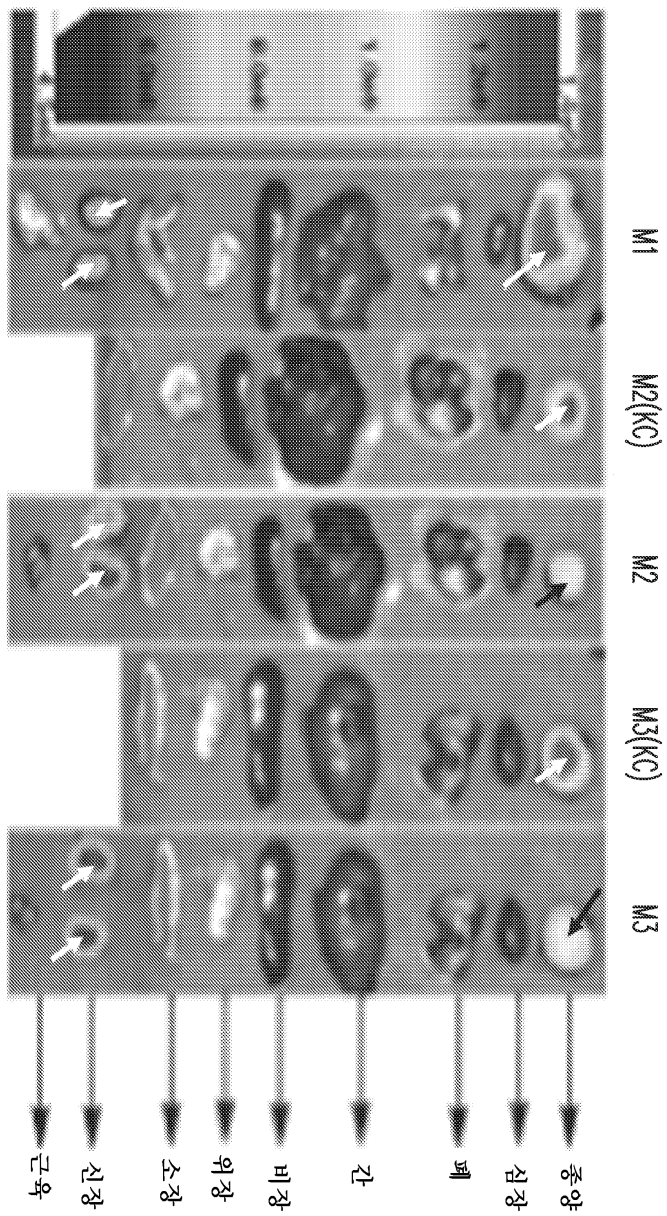
도면17d



도면18a



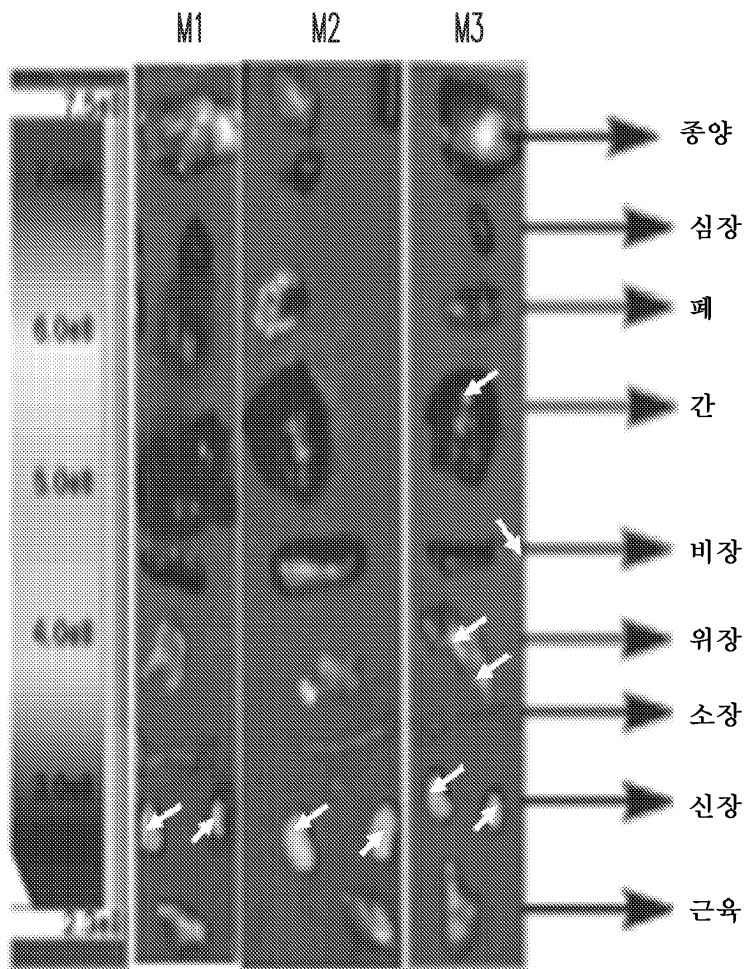
도면18b



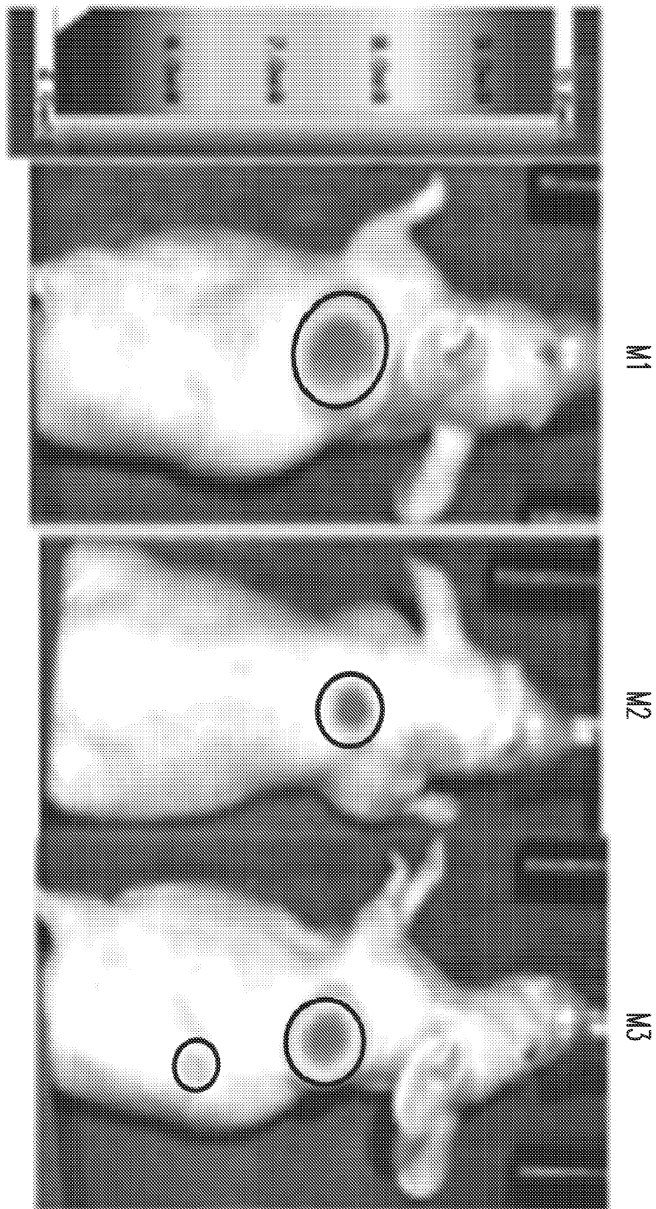
도면18c



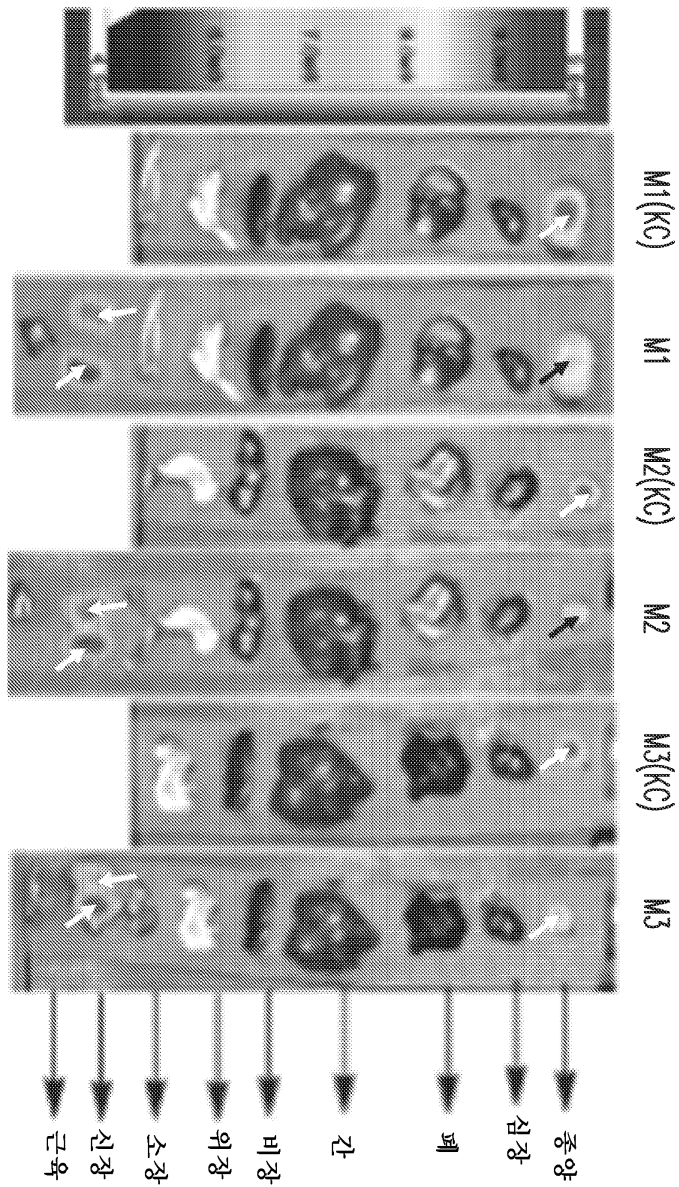
도면18d



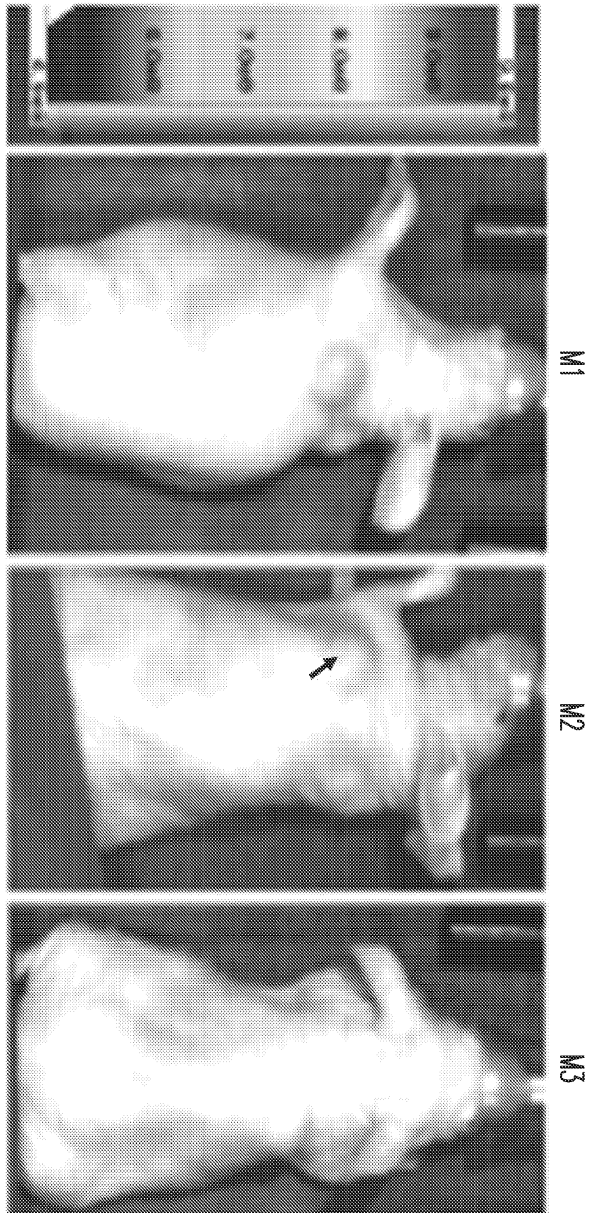
도면19a



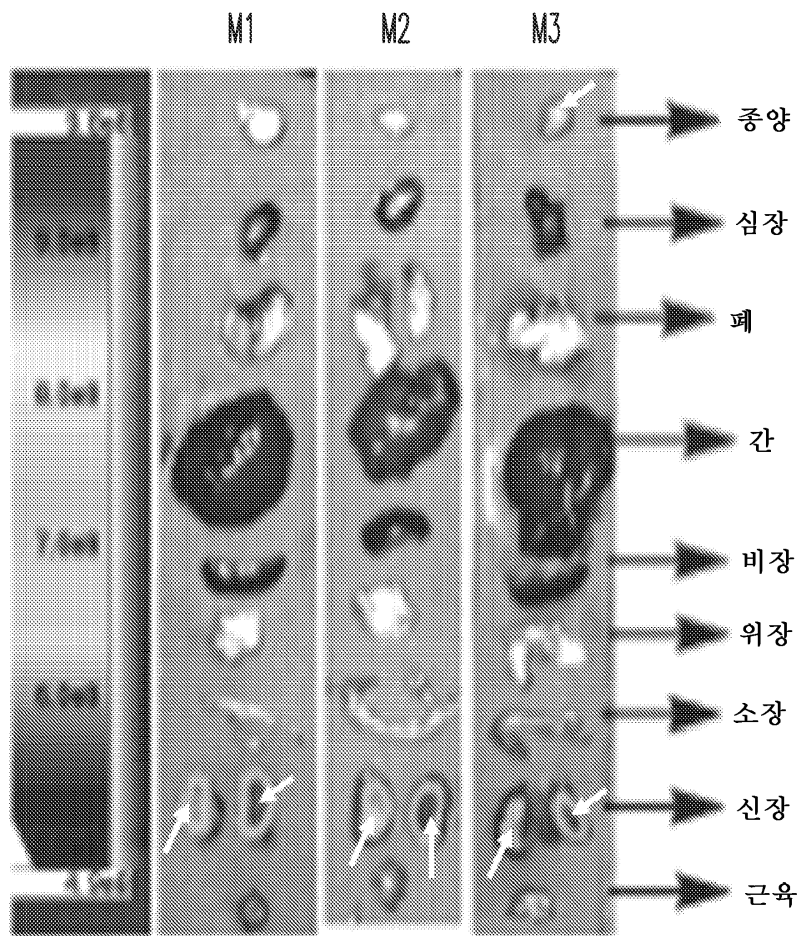
도면19b



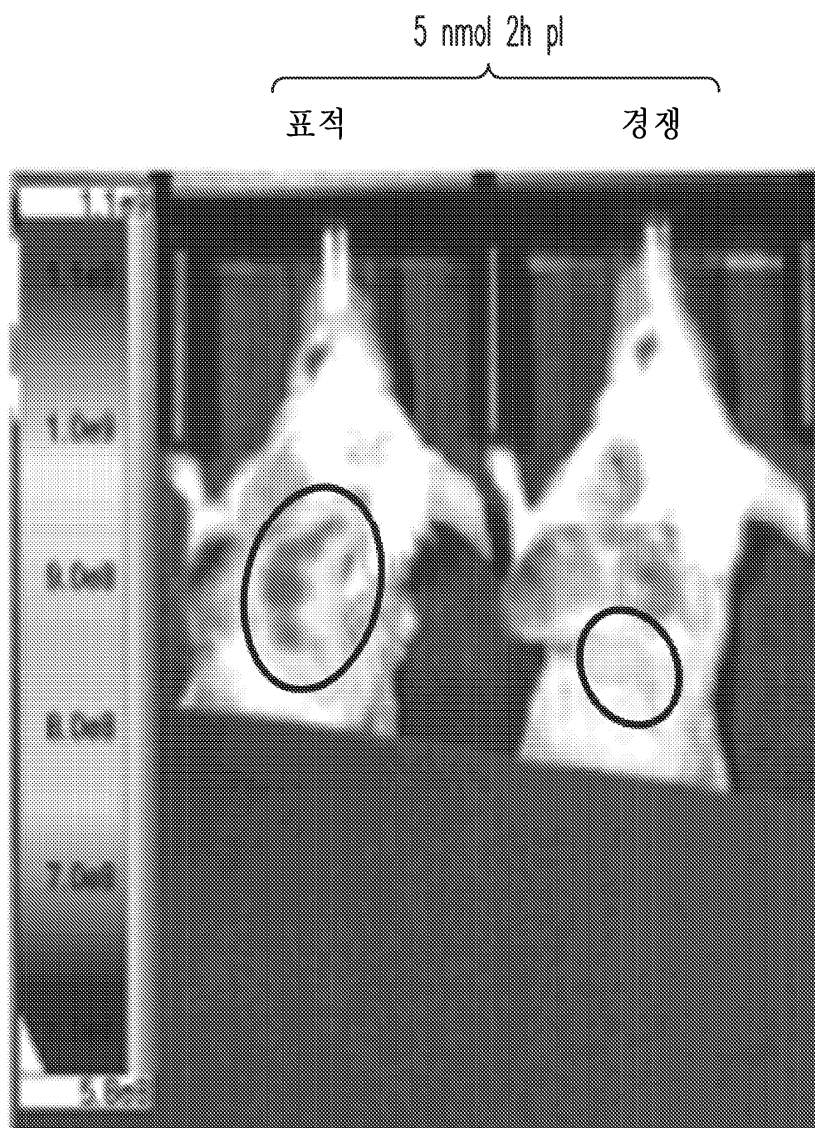
도면19c



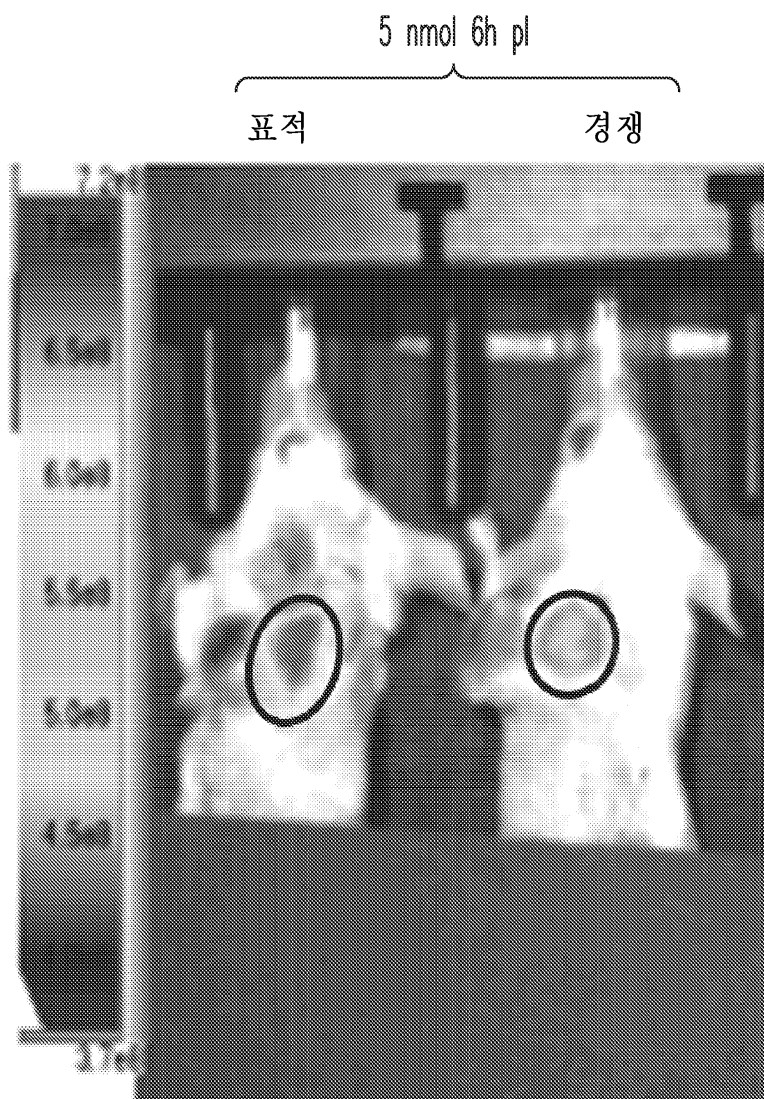
도면19d



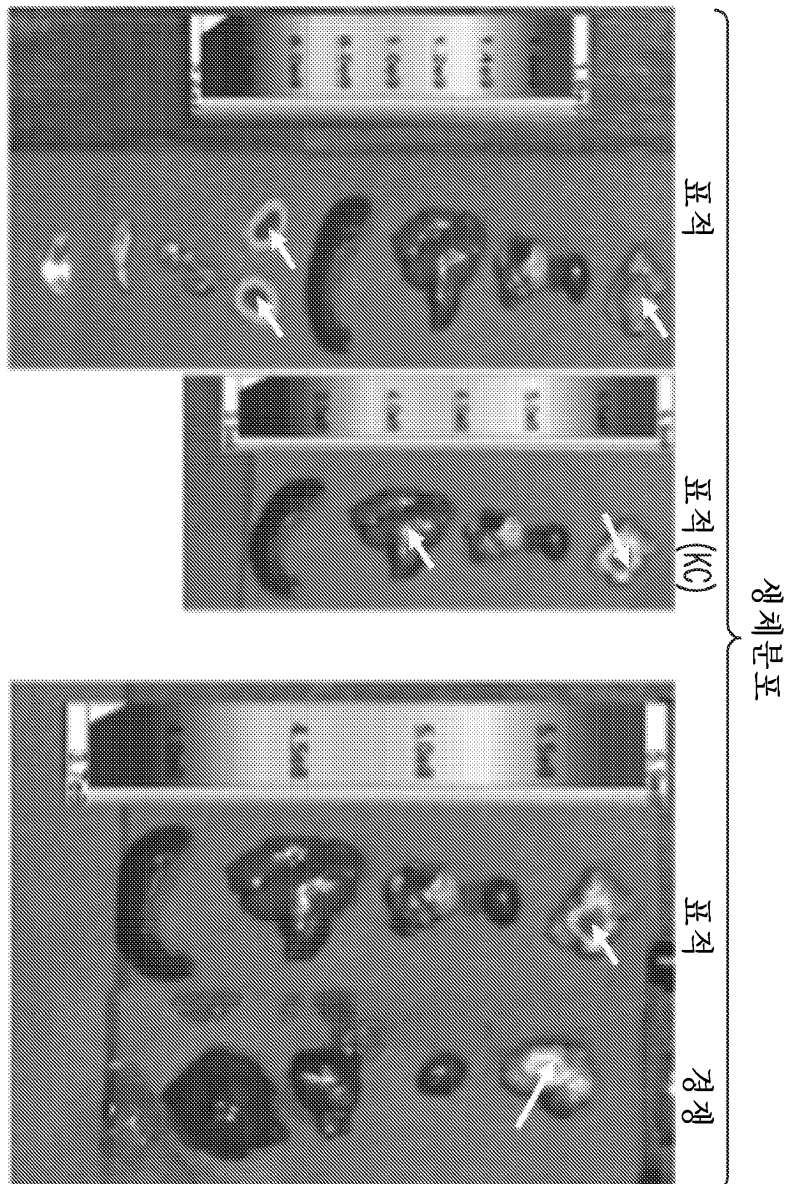
도면 20a



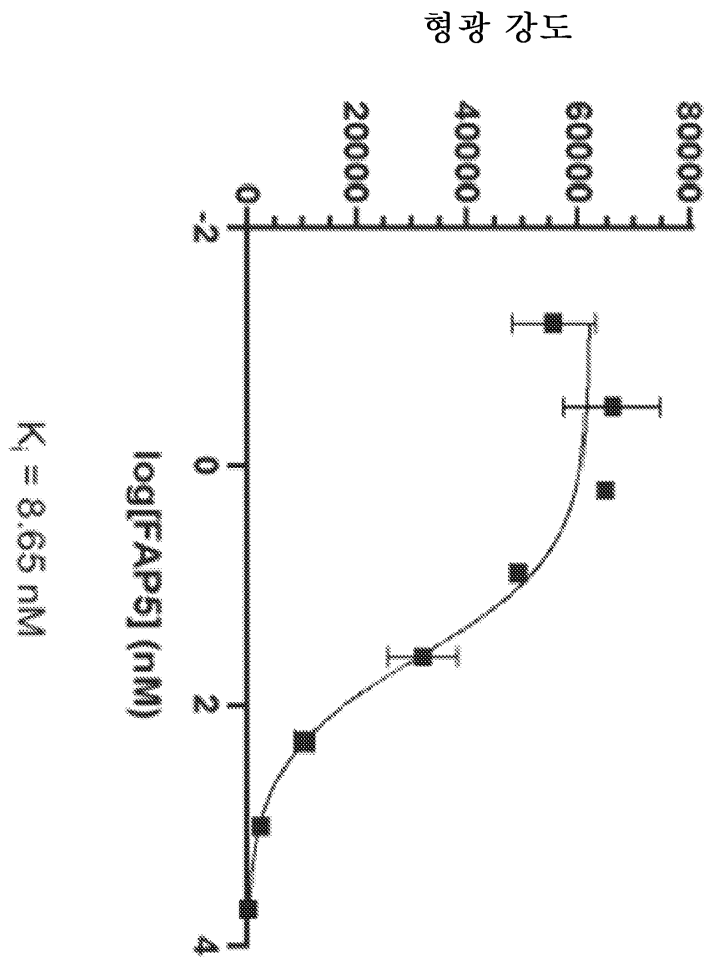
도면20b



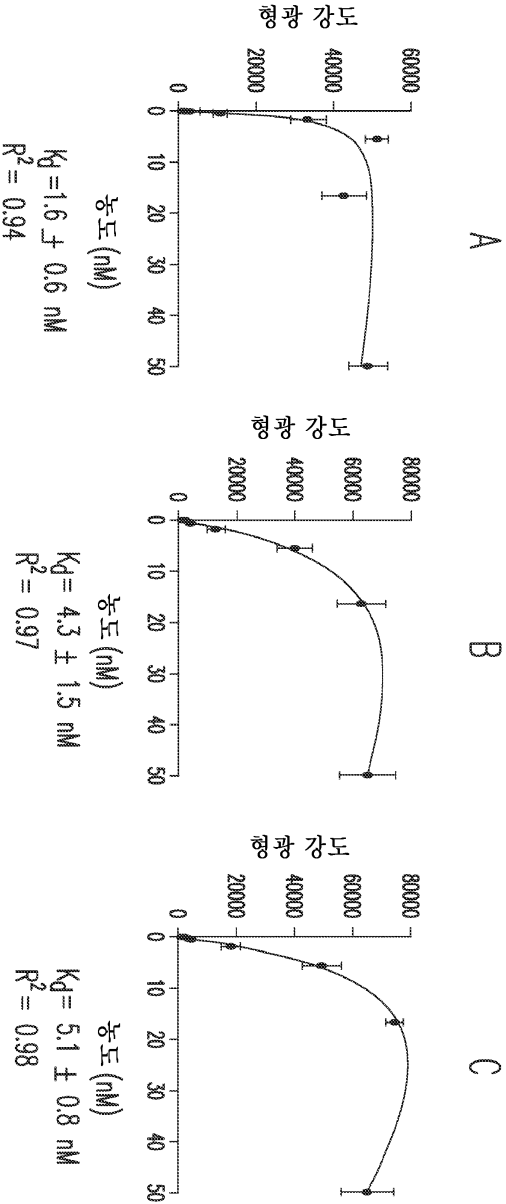
도면20c



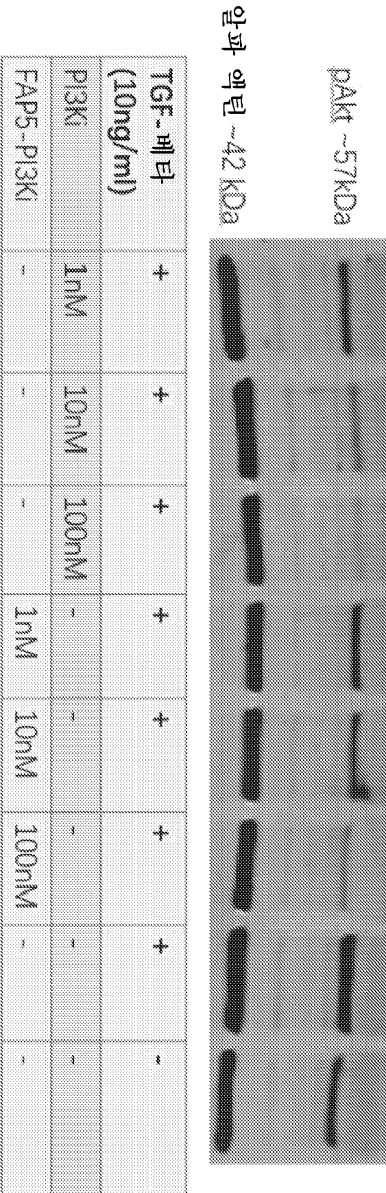
도면21



도면22



도면23



도면24

