



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0143389
(43) 공개일자 2020년12월23일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 487/04 (2006.01) A61K 31/5517 (2006.01)
A61K 47/68 (2017.01) A61P 35/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07D 487/04 (2013.01)
A61K 31/5517 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7029312
- (22) 출원일자(국제) 2019년04월12일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2020년10월13일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2019/059404
- (87) 국제공개번호 WO 2019/197602
국제공개일자 2019년10월17일
- (30) 우선권주장
1806022.8 2018년04월12일 영국(GB)

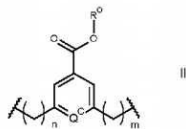
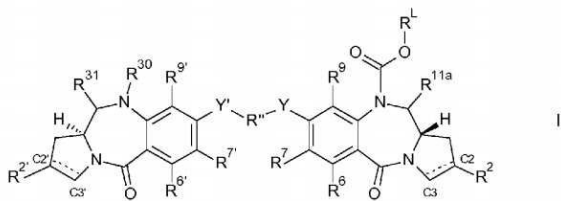
- (71) 출원인
메드임룬 리미티드
영국 씨비 21 6 지에이치 케임브리지 그랜타파크 밀스테인 빌딩
- (72) 발명자
하워드, 필립, 윌슨
영국 씨비 21 6 지에이치 케임브리지 케임브리지셔 그랜타파크 밀스테인 빌딩
디킨슨, 닐, 존
영국 씨비 21 6 지에이치 케임브리지 케임브리지셔 그랜타파크 밀스테인 빌딩
- (74) 대리인
이처영, 장제환

전체 청구항 수 : 총 24 항

(54) 발명의 명칭 항종양제로서 피롤로벤조디아제핀 및 그것의 콘주게이트

(57) 요약

하기 식 I: (I)을 갖는 화합물 및 이들의 염과 용매화물로서, 상기에서 R"는 식 II:(II)의 기이고 여기에서 n 및 m 각각은 1, 2 및 3에서 독립적으로 선택된다:



(52) CPC특허분류

A61K 47/6803 (2017.08)

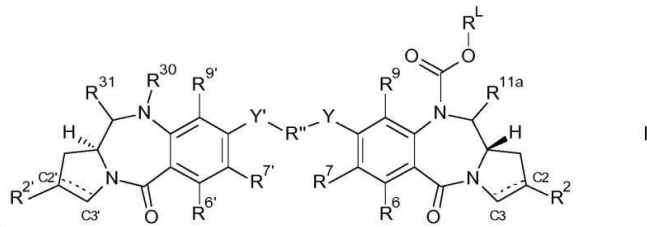
A61P 35/00 (2018.01)

명세서

청구범위

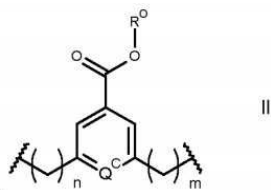
청구항 1

하기 식 I을 갖는 화합물:



및 이들의 염과 용매 화합물로서, 상기에서:

R''은 식 II의 기이고:



상기에서 n 및 m 각각은 1, 2 및 3에서 독립적으로 선택되고;

R⁰는 H, 메틸, 에틸, 이소-프로필 및 벤질로 구성된 군으로부터 선택되고;

Q는 N 및 CH로부터 선택되고;

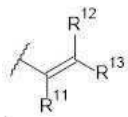
Y 및 Y'는 O, S 또는 NH로부터 선택되고;

C2와 C3 사이에 이중 결합이 있을 경우, R²는 하기로 구성된 군으로부터 선택되고:

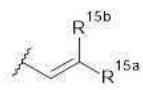
(ia) 할로, 니트로, 시아노, 에테르, 카복시, 에스테르, C₁₋₇ 알킬, C₃₋₇ 헤테로사이클릴 및 비스-옥시-C₁₋₃ 알킬렌을 포함하는 군으로부터 선택된 하나 이상의 치환체에 의해 선택적으로 치환된 C₅₋₁₀ 아릴 기;

(ib) C₁₋₅ 포화 지방족 알킬;

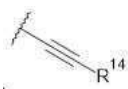
(ic) C₃₋₆ 포화 사이클로알킬;



(id) , 상기에서 각각의 R¹¹, R¹² 및 R¹³은 H, C₁₋₃ 포화 알킬, C₂₋₃ 알케닐, C₂₋₃ 알키닐 및 사이클로프로필로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 R² 기에서 탄소 원자의 총수는 5이하임;

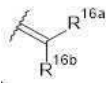


(ie) , 상기에서 R^{15a} 및 R^{15b} 중 하나는 H이고 다른 것은 할로, 메틸, 메톡시로부터 선택된 기에 의해 선택적으로 치환된 페닐; 피리딜; 및 티오펜으로부터 선택됨; 및



(if) , 상기에서 R¹⁴는 H; C₁₋₃ 포화 알킬; C₂₋₃ 알케닐; C₂₋₃ 알키닐; 사이클로프로필; 할로, 메틸,

메톡시로부터 선택된 기에 의해 선택적으로 치환된 페닐; 피리딜; 및 티오펜으로부터 선택됨;
C2와 C3 사이에 존재하는 단일 결합이 있을 경우,

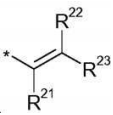
R^2 는 H 또는  이고, 상기에서 R^{16a} 및 R^{16b} 는 H, F, C₁₋₄ 포화 알킬, C₂₋₃ 알케닐로부터 독립적으로 선택되고, 알킬 및 알케닐 기는 C₁₋₄ 알킬 아미도 및 C₁₋₄ 알킬 에스테르로부터 선택된 기에 의해 선택적으로 치환되거나; 또는, R^{16a} 및 R^{16b} 중 하나는 H이고, 다른 것은 니트릴 및 C₁₋₄ 알킬 에스테르로부터 선택되고;

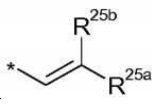
C2'과 C3' 사이에 존재하는 단일 결합이 있을 경우, $R^{2'}$ 는 하기로 구성된 군으로부터 선택되고:

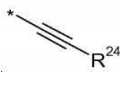
(iia) 할로, 니트로, 시아노, 에테르, 카복시, 에스테르, C₁₋₇ 알킬, C₃₋₇ 헤테로사이클릴 및 비스-옥시-C₁₋₃ 알킬렌을 포함하는 군으로부터 선택된 하나 이상의 치환체에 의해 선택적으로 치환된 C₅₋₁₀ 아릴 기;

(iib) C₁₋₅ 포화 지방족 알킬;

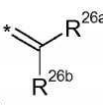
(iic) C₃₋₆ 포화 사이클로알킬;

(iid) , 상기에서 각각의 R^{21} , R^{22} 및 R^{23} 은 H, C₁₋₃ 포화 알킬, C₂₋₃ 알케닐, C₂₋₃ 알킬닐 및 사이클로프로필로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 $R^{2'}$ 기에서 탄소 원자의 총수는 5이하임;

(iie) , 상기에서 R^{25a} 및 R^{25b} 중 하나는 H이고 다른 것은 할로, 메틸, 메톡시로부터 선택된 기에 의해 선택적으로 치환된 페닐; 피리딜; 및 티오펜으로부터 선택됨; 및

(iif) , 상기에서 R^{24} 는 H; C₁₋₃ 포화 알킬; C₂₋₃ 알케닐; C₂₋₃ 알킬닐; 사이클로프로필; 할로, 메틸, 메톡시로부터 선택된 기에 의해 선택적으로 치환된 페닐; 피리딜; 및 티오펜으로부터 선택됨;

C2'과 C3' 사이에 존재하는 단일 결합이 있을 경우,

$R^{2'}$ 은 H 또는  이고, 상기에서 R^{26a} 및 R^{26b} 는 H, F, C₁₋₄ 포화 알킬, C₂₋₃ 알케닐로부터 독립적으로 선택되며, 알킬 및 알케닐 기는 C₁₋₄ 알킬 아미도 및 C₁₋₄ 알킬 에스테르로부터 선택된 기에 의해 임의로 치환되고; 또는 R^{26a} 및 R^{26b} 중 하나가 H인 경우, 다른 하나는 니트릴 및 C₁₋₄ 알킬 에스테르로부터 선택되고;

R^6 및 R^9 는 H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR', 니트로, Me₃Sn 및 할로로부터 독립적으로 선택되고;

여기서 R 및 R'는 임의로 치환된 C₁₋₁₂ 알킬, C₃₋₂₀ 헤테로사이클릴 및 C₅₋₂₀ 아릴 기로부터 독립적으로 선택되고;

R^7 은 H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NHRR', 니트로, Me₃Sn 및 할로로부터 선택되고;

$R^{6'}$, $R^{7'}$, $R^{9'}$ 는 각각 R^6 , R^7 및 R^9 와 동일한 기로부터 선택되고;

R^{11a} 는 OH, OR^A 및 SO₂M에서 선택되며, 여기서 R^A는 C₁₋₄ 알킬이고, z는 2 또는 3이고 M은 1가의 약화적으로 허용 가능한 양이온이며;

그리고

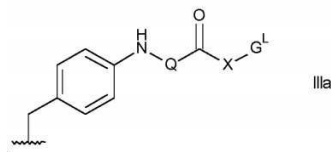
(a) R^{30} 은 H이고, R^{31} 은 OH, OR^A 이되, 여기서 R^A 는 C_{1-4} 알킬이거나;

(b) R^{30} 및 R^{31} 은 이들이 결합된 질소와 탄소 원자 사이에 질소-탄소 이중 결합을 형성하거나; 또는

(c) R^{30} 은 H이고 R^{31} 은 SO_2M 이되, 여기서 z 는 2 또는 3이고 M은 1가의 약학적으로 허용가능한 양이온이고, 여기서 R^{11a} 및 R^{31} 이 SO_2M 인 경우, M은 2가의 약학적으로 허용가능한 양이온을 나타낼 수 있고

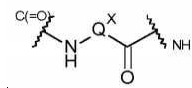
R^L 은 하기로부터 선택되는 세포 결합제에 연결하기 위한 링커이고:

(iiia):



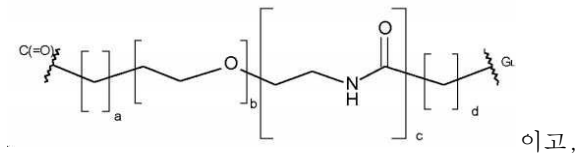
상기에서

Q는:



이때, 여기서 Q^X 는 Q가 아미노산 잔기, 디펩타이드 잔기 또는 트리펩타이드 잔기가 되도록 하는 것이고;

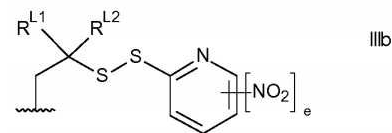
X는:



여기서 $a = 0$ 내지 5, $b = 0$ 내지 16, $c = 0$ 또는 1, $d = 0$ 내지 5이고;

G^L 은 리간드 단위에 연결하기 위한 링커임; 및

(iiib):



상기에서 R^{L1} 및 R^{L2} 는 H 및 메틸로부터 독립적으로 선택되거나, 또는 이들이 결합되는 탄소 원자와 함께 사이클로프로필렌 또는 사이클로부틸렌 기를 형성하고;

e 는 0 또는 1임.

청구항 2

제1항 있어서, Y 및 Y'는 0인, 화합물.

청구항 3

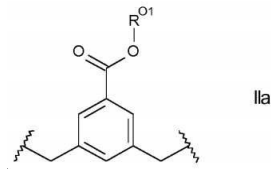
제1항 또는 제2항에 있어서, R⁰는 H인, 화합물.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, R⁰는 메틸인, 화합물.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서, Rⁿ는 하기 식 IIa를 갖는, 화합물:



상기에서 R⁰¹은 H 및 메틸로 구성되는 군으로부터 선택됨.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, R⁶, R⁹, R^{6'} 및 R^{9'}는 H이고, R⁷ 및 R^{7'}는 메톡시인, 화합물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, R^{11a}는 OH인, 화합물.

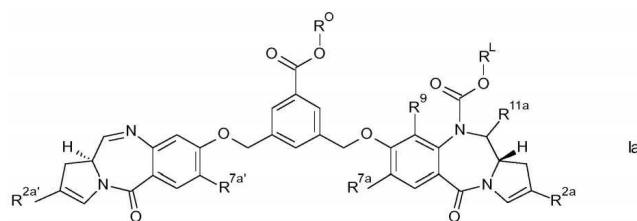
청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, R³⁰ 및 R³¹은 이들이 결합되는 질소와 탄소 원자 사이에 질소-탄소 이중 결합을 형성하는, 화합물.

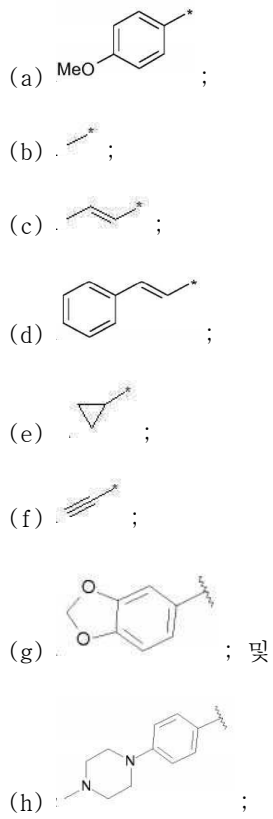
청구항 9

제1항에 있어서, 하기 식을 갖는, 화합물:

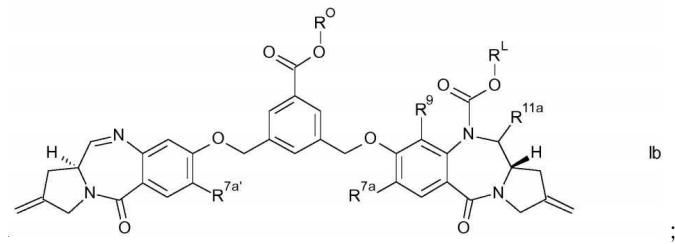
(i) 하기 식 Ia:



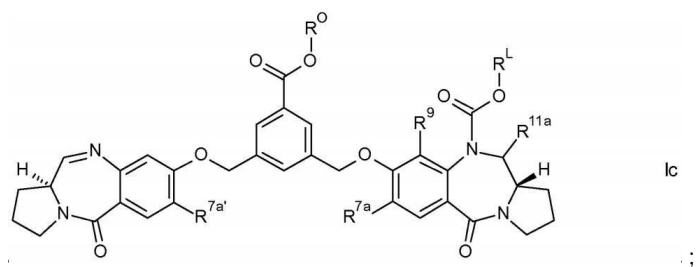
상기에서 R^{2a} 및 R^{2a'}는 동일하고 하기로부터 선택됨:



(ii) 하기 식 Ib:



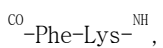
(iii) 하기 식 Ic:

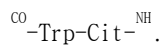
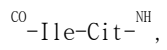
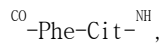
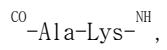
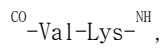


상기에서 R^{7a} 및 R^{7a'}는 동일하고 메톡시 및 벤질옥시로부터 선택됨.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, R^L은 식 IIIa을 갖고, Q는 하기로부터 선택된 디펩타이드 잔기인, 화합물:




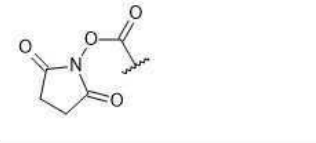

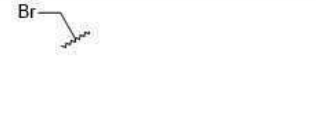
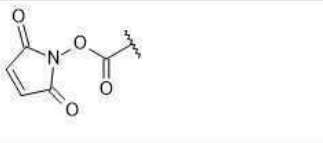
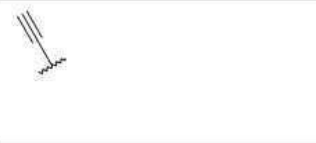
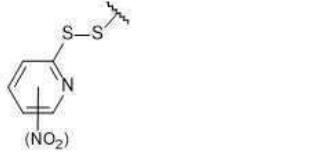

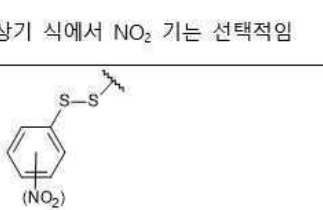
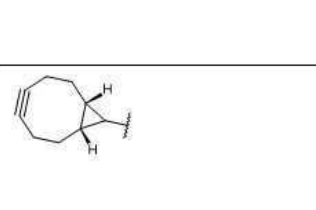
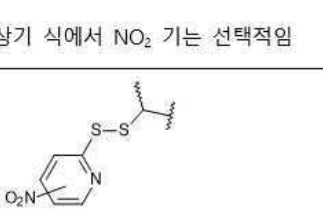
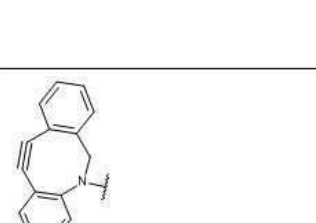


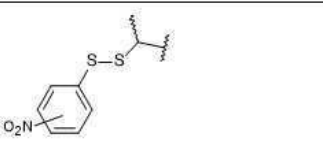
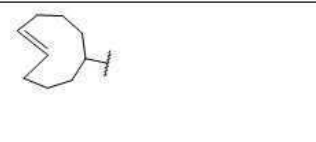
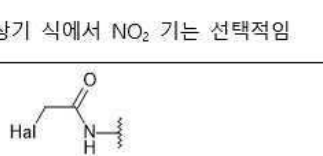
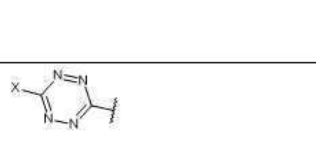
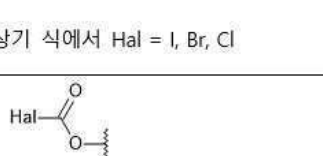
청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, R^L은 식 IIIa을 갖고, a는 0이고, c는 1이고 d는 2이고, 그리고 b는 0 내지 8인, 화합물.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, R¹은 식 IIIa을 갖고, G¹은 하기로부터 선택되는, 화합물

(G ^{L1-1})		(G ^{L6})	
(G ^{L1-2})		(G ^{L7})	
(G ^{L2})		(G ^{L8})	
(G ^{L3-1})	 상기 식에서 NO ₂ 기는 선택적임	(G ^{L9})	
(G ^{L3-2})	 상기 식에서 NO ₂ 기는 선택적임	(G ^{L10})	
(G ^{L3-3})	 상기 식에서 NO ₂ 기는 선택적임	(G ^{L11})	

(G ^{L3-4})	 상기 식에서 NO ₂ 기는 선택적임	(G ^{L12})	
(G ^{L4})	 상기 식에서 Hal = I, Br, Cl	(G ^{L13})	
(G ^{L5})			

상기에서 Ar은 C₅₋₆ 아릴렌 기, 예를 들어 페닐렌을 나타내고, X는 C₁₋₄ 알킬을 나타냄.

청구항 13

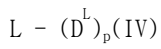
제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, R^L은 식 IIIb을 갖는, 화합물.

청구항 14

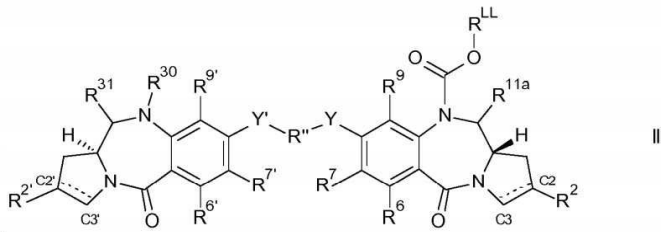
리간드 단위에 연결된, 제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 따른 식 I의 화합물, 또는 이들의 약제학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물을 포함하는 콘주게이트.

청구항 15

하기 식 IV:



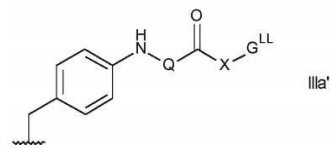
또는 이들의 약제학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물의 콘주게이트로서, 상기에서 L은 리간드 단위이고, D^L은 하기 식 III을 갖는, 콘주게이트:



상기에서 R², R⁶, R⁷, R⁹, R^{11a}, Y, R'', Y', R^{2'}, R^{6'}, R^{7'}, R^{9'}, R³⁰ 및 R³¹은 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에서 정의된 것이고;

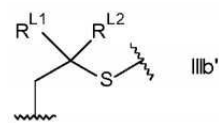
R^{LL}은 하기로부터 선택된 세포 결합제에 연결하기 위한 링커이고,

(iia):



상기에서 Q 및 X는 제1항, 제10항 및 제11항 중 어느 한 항에서 정의된 것이고 G^{LL}은 리간드 단위에 연결된 링커 입; 및

(iib):

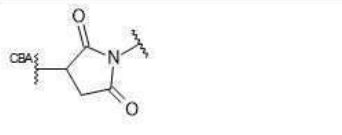
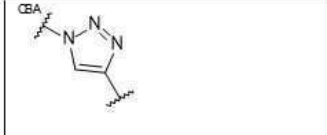
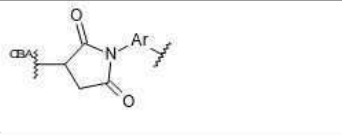
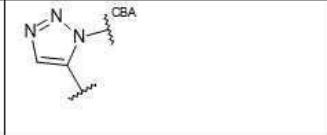
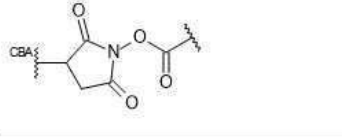
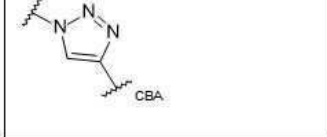





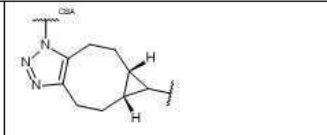
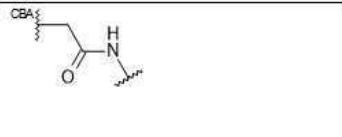
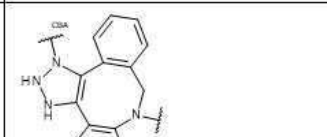
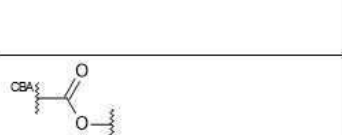
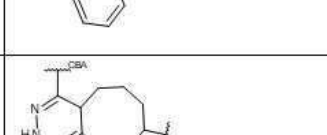

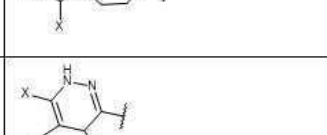

상기에서 R^{L1} 및 R^{L2}은 제1항에서 정의된 바와 같음;

상기에서 p는 1 내지 20의 정수임.

청구항 16

제15항에 있어서, G^{LL}은 하기로부터 선택되는, 콘주게이트:

(G ^{LL1-1})		(G ^{LL8-1})	
(G ^{LL1-2})		(G ^{LL8-2})	
(G ^{LL2})		(G ^{LL9-1})	
(G ^{LL3-1})		(G ^{LL9-2})	

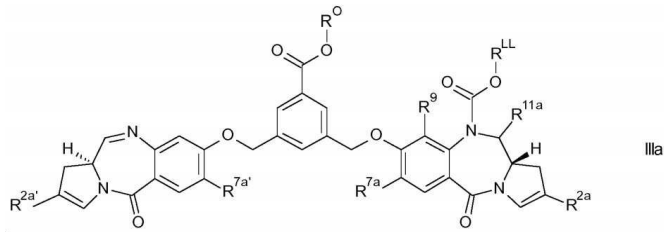
(G ^{LL3-2})		G ^{L10}	
(G ^{LL4})		G ^{L11}	
(G ^{LL5})		G ^{L12}	
(G ^{LL6})		G ^{L13}	
(G ^{LL7})			

상기에서 Ar은 C₅₋₆ 아릴렌 기, 예를 들어 페닐렌을 나타내고, X는 C₁₋₄ 알킬을 나타냄.

청구항 17

제15항에 있어서, D^L은 하기의 것인, 콘주게이트:

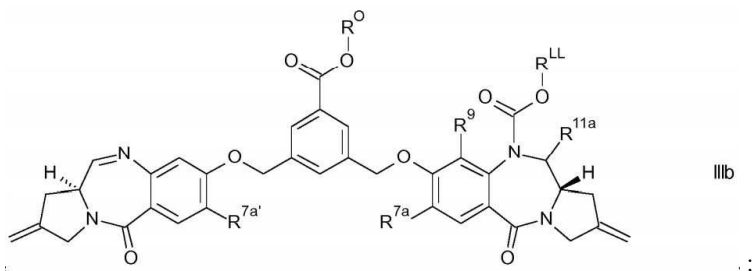
(i) 하기 식 IIIa:



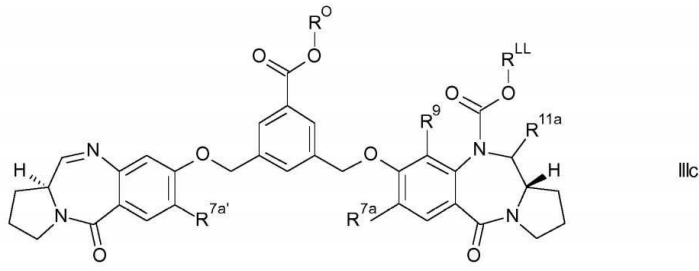
상기에서 R^{2a} 및 R^{2a'}는 동일하고 하기로부터 선택됨:

- (a) ;
- (b) ;
- (c) ;
- (d) ;
- (e) ;
- (f) ;
- (g) ; 및
- (h) ;

(ii) 하기 식 IIIb:



(iii) 하기 식 IIIc:



상기에서 R^{7a} 및 R^{7a'}는 동일하고 메톡시 및 벤질옥시로부터 선택됨.

청구항 18

제14항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 리간드 단위는 항체 또는 이의 활성 단편인, 콘주게이트.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 단편은 하기 (1)-(88)로부터 선택된 하나 이상의 종양-관련된 항원 또는 세포-표면 수용체에 결합하는 항체인, 콘주게이트:

- (1) BMPR1B;
- (2) E16;
- (3) STEAP1;
- (4) 0772P;
- (5) MPF;
- (6) Napi3b;
- (7) Sema 5b;
- (8) PSCA hlg;
- (9) ETBR;
- (10) MSG783;
- (11) STEAP2;
- (12) TrpM4;
- (13) CRIPTO;
- (14) CD21;
- (15) CD79b;
- (16) FcRH2;
- (17) HER2;
- (18) NCA;
- (19) MDP;
- (20) IL20R-알파;
- (21) 브레비칸(Brevican);
- (22) EphB2R;

- (23) ASLG659;
- (24) PSCA;
- (25) GEDA;
- (26) BAFF-R;
- (27) CD22;
- (28) CD79a;
- (29) CXCR5;
- (30) HLA-DOB;
- (31) P2X5;
- (32) CD72;
- (33) LY64;
- (34) FcRH1;
- (35) IRTA2;
- (36) TENB2;
- (37) PSMA - FOLH1;
- (38) SST;
- (38.1) SSTR2;
- (38.2) SSTR5;
- (38.3) SSTR1;
- (38.4) SSTR3;
- (38.5) SSTR4;
- (39) ITGAV;
- (40) ITGB6;
- (41) CEACAM5;
- (42) MET;
- (43) MUC1;
- (44) CA9;
- (45) EGFRvIII;
- (46) CD33;
- (47) CD19;
- (48) IL2RA;
- (49) AXL;
- (50) CD30 - TNFRSF8;
- (51) BCMA - TNFRSF17;
- (52) CT Ags - CTA;
- (53) CD174 (루이스 Y) - FUT3;

- (54) CLEC14A;
- (55) GRP78 - HSPA5;
- (56) CD70;
- (57) 줄기 세포 특이적 항원;
- (58) ASG-5;
- (59) ENPP3;
- (60) PRR4;
- (61) GCC - GUCY2C;
- (62) Liv-1 - SLC39A6;
- (63) 5T4;
- (64) CD56 - NCMA1;
- (65) CanAg;
- (66) FOLR1;
- (67) GPNMB;
- (68) TIM-1 - HAVCR1;
- (69) RG-1/전립선 종양 표적 민딘 - 민딘/RG-1;
- (70) B7-H4 - VTCN1;
- (71) PTK7;
- (72) CD37;
- (73) CD138 - SDC1;
- (74) CD74;
- (75) 크라우딘 - CLs;
- (76) EGFR;
- (77) Her3;
- (78) RON - MST1R;
- (79) EPHA2;
- (80) CD20 - MS4A1;
- (81) 테나스신 C - TNC;
- (82) FAP;
- (83) DKK-1;
- (84) CD52;
- (85) CS1 - SLAMF7;
- (86) 엔도글린 - ENG;
- (87) 아넥신 A1 - ANXA1;
- (88) V-CAM (CD106) - VCAM1.

청구항 20

제15항 내지 제19항 중 어느 한 항에 따른 콘주게이트의 혼합물을 포함하는 조성물로, 상기 콘주게이트 화합물의 혼합물에서 평균 p는 약 1 내지 약 8인, 조성물.

청구항 21

치료법에 사용하기 위한, 제14항 내지 제19항 중 어느 한 항에 따른 콘주게이트.

청구항 22

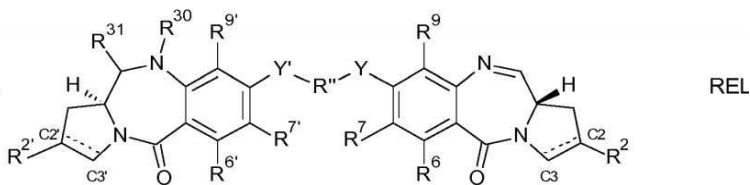
제14항 내지 제19항 중 어느 한 항에 따른 콘주게이트 및 약제학적으로 허용가능한 희석제, 담체 또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 23

대상체에서 증식성 질환의 치료에 사용하기 위한, 제14항 내지 제19항 중 어느 한 항에 따른 콘주게이트 또는 제22항에 따른 약제학적 조성물.

청구항 24

하기 식 REL:



을 갖되, 상기에서 R^2 , R^6 , R^7 , R^9 , Y , R'' , Y' , $R^{2'}$, $R^{6'}$, $R^{7'}$, $R^{9'}$, R^{30} 및 R^{31} 은 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에서 정의된 바와 같은, 화합물 및 이들의 염과 용매화물.

발명의 설명

기술 분야

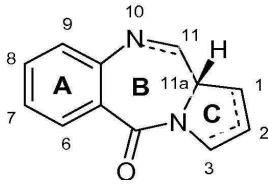
[0001] 본 발명은 피롤로벤조디아제핀 (PBD), 및 표적화된 콘주게이트에 그것의 함입에 관한 것이다. 본 발명의 PBD는 2개의 PBD 모이어티를 연결하는 기가 카복시 또는 에스테르기에 의해 치환된 벤젠 또는 피리딘 고리를 포함하는 이량체이다.

배경 기술

[0002] 피롤로벤조디아제핀

[0003] 일부 피롤로벤조디아제핀 (PBD)은 DNA의 특이적 서열을 인식하고, 그에 결합하는 능력을 가지며; 바람직한 서열은 PuGpu이다. 최초의 PBD 항종양 항생제인 안트라마이신은 1965년에 발견되었다 (Leimgruber 등, *J. Am. Chem. Soc.*, **87**, 5793-5795 (1965); Leimgruber 등, *J. Am. Chem. Soc.*, **87**, 5791-5793 (1965)). 그때 이후로, 다수의 천연적으로 존재하는 PBD가 보고되었으며, 10개 이상의 합성 경로는 다양한 유사체를 개발하였다 (Thurston 등, *Chem. Rev.* **1994**, 433-465 (1994)). 패밀리 구성원에는 아베이마이신 (abbeymycin) (Hochlowski 등, *J. Antibiotics*, **40**, 145-148 (1987)), 치카마이신 (chicamycin) (Konishi 등, *J. Antibiotics*, **37**, 200-206 (1984)), DC-81 (일본 특허 58-180 487; Thurston 등, *Chem. Brit.*, **26**, 767-772

(1990); Bose 등, *Tetrahedron*, **48**, 751-758 (1992)), 마제트라마이신 (mazethramycin) (Kuminoto 등, *J. Antibiotics*, **33**, 665-667 (1980)), 네오프라마이신 (neothramycins) A 및 B (Takeuchi 등, *J. Antibiotics*, **29**, 93-96 (1976)), 포로트라마이신 (porothramycin) (Tsunakawa 등, *J. Antibiotics*, **41**, 1366-1373 (1988)), 프로트라카르신 (prothracarcin) (Shimiz 등, *J. Antibiotics*, **29**, 2492-2503 (1982); Langley 및 Thurston, *J. Org. Chem.*, **52**, 91-97 (1987)), 시바노마이신 (sibanomicin) (DC-102) (Hara 등, *J. Antibiotics*, **41**, 702-704 (1988); Itoh 등, *J. Antibiotics*, **41**, 1281-1284 (1988)), 시비로마이신 (sibiromycin) (Leber 등, *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 2992-2993 (1988)) 및 토마마이신 (tomamycin) (Arima 등, *J. Antibiotics*, **25**, 437-444 (1972))이 포함된다. PBD는 하기의 일반 구조를 갖는다:



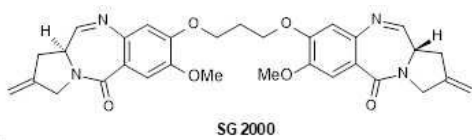
[0004]

[0005]

이들은 이들의 방향족 A 고리 및 피롤로 C 고리 둘 모두에서 치환체의 수, 종류 및 위치가 상이하고 C 고리의 포화도가 상이하다. B-고리에는 DNA를 알킬화하는데 책임이 있는 친전자성 중심인 N10-C11 위치에 이민 (N=C), 카비놀아민 (NH-CH(OH)), 또는 카비놀아민 메틸 에테르 (NH-CH(OMe))가 존재한다. 공지된 천연 생성물은 모두 C 고리로부터 A 고리 쪽으로 볼 때 우측으로의 트위스트를 갖는 생성물을 제공하는 것으로 키랄 C11a 위치에서 (S)-배열을 갖는다. 이것은 이들에게, 결합 부위에서 적합한 스너그 (snug)를 유도하도록 B-형태 DNA의 작은 그루브를 갖는 이소헬리시티 (isohelicity)를 위해서 적절한 삼차원 형상을 제공한다 (Kohn, In *Antibiotics III*. Springer-Verlag, New York, pp. 3-11 (1975); Hurley 및 Needham-VanDevanter, *Acc. Chem. Res.*, **19**, 230-237 (1986)). 작은 그루브 내에 부가물을 형성하는 그들의 능력은 이들이 DNA 처리를 저해하고, 따라서 이들의 용도가 항종양제가 될 수 있도록 한다.

[0006]

특히 유리한 피롤로벤조디아제핀 화합물은 화합물 1로 Gregson 등 (*Chem. Commun.* **1999**, 797-798)에 의해, 그리고 화합물 4a로 Gregson 등 (*J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 1161-1174)에 의해 기술되어 있다. SG2000으로도 알려진, 이 화합물은 아래에 도시되어 있다:



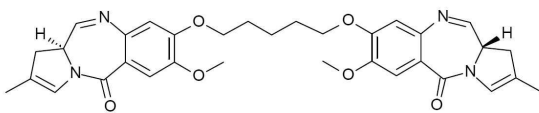
[0007]

[0008]

WO 2007/085930은 세포 결합제, 예컨대 항체에 연결하기 위한 링커를 갖는 이량체 PBD 화합물의 제조에 관해 기재하고 있다. 링커는 이량체 내의 단량체 PBD 단위를 연결하는 브리지 내에 있다.

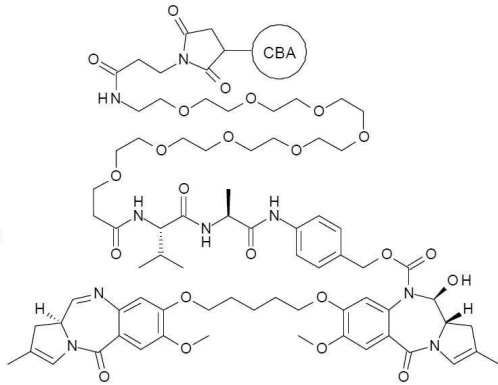
[0009]

세포 결합제, 예컨대 항체에 연결하기 위한 링커를 갖는 이량체 PBD 화합물은, WO 2011/130598에 기재되어 있다. 이들 화합물 중의 링커는 이용가능한 N10 위치 하나에 부착되고, 일반적으로 링커기에서 효소의 작용으로 절단된다. 보다 최근에, 단두:



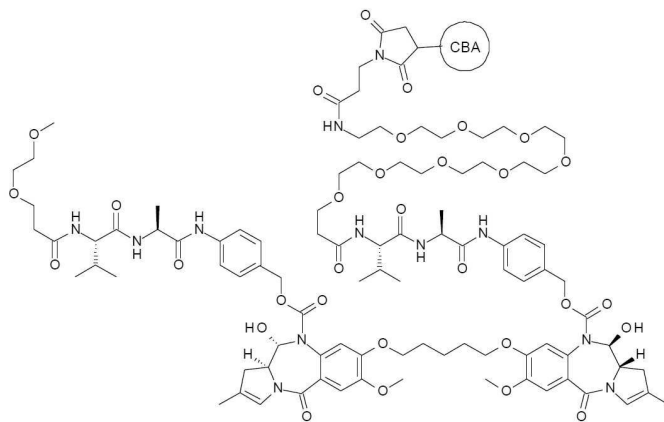
[0010]

[0011] 가 약물 링커 및 항체-약물 콘주게이트에 사용되었다. WO 2014/057074는 하기를 기술한다:



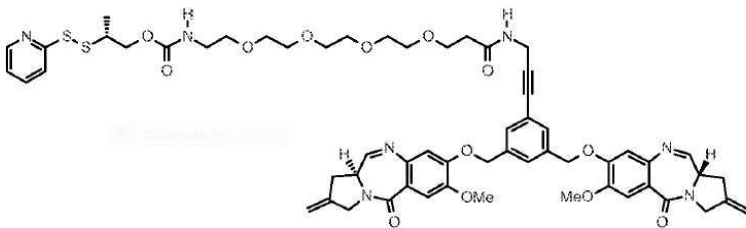
[0012]

[0013] WO2015/052322는 하기를 기술한다:



[0014]

[0015] US2014/155590, WO2014/159981, WO2014/140862, 및 WO 2016/038383과 같은 다수의 개시내용은 WO 2014/159981의 화합물 33



[0016]

[0017] 과 같은 테더 내의 방향족 기로부터 연결된 PBD 이량체뿐만 아니라 그것의 합성에서의 중간 생성물을 개시한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

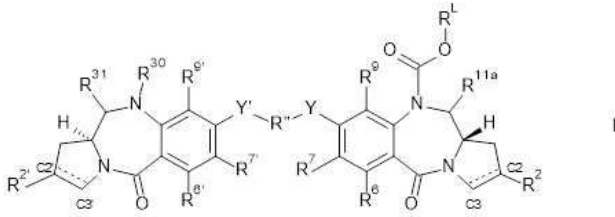
과제의 해결 수단

[0018] 본 발명은 2개의 PBD 모이어티를 연결하는 기가 약물 링커로서 카복시 또는 에스테르 기에 의해 치환된 벤젠 또는 피리딘 고리를 포함하는 PBD 이량체, 및 이러한 약물 링커뿐만 아니라 방출된 약물로부터 제조된 콘주게이트를 제공한다.

[0019] 카복시 기 또는 에스테르 기의 존재는 비치환된 유사 약물 링커 및 탄두에 비해 약물 링커 및 탄두의 활성을 감소시켜야 한다. 그러나, 에스테르 기를 갖는 콘주게이트는 유사한 비치환된 콘주게이트에 비교할만한 수준의 시

협관내 및 생체내에서 우수한 활성을 나타낸다. 이론에 구속됨이 없이, 카복시 기는 접합되지 않은 경우 세포에 들어가는 탄두의 능력을 제한할 수 있다고 생각된다.

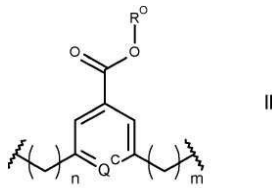
[0020] 본 발명의 제1 양태는 하기 식 I을 갖는 화합물 :



[0021]

[0022] 및 이들의 염과 용매 화합물을 포함하며, 상기에서:

[0023] R''은 식 II의 기이고:



[0024]

[0025] 상기에서 n 및 m 각각은 1, 2 및 3에서 독립적으로 선택되고;

[0026] R⁰는 H, 메틸, 에틸, 이소-프로필 및 벤질로 구성된 군으로부터 선택되고;

[0027] Q^C는 N 및 CH로부터 선택되고;

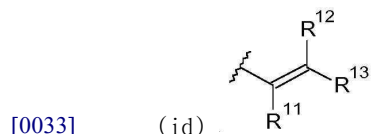
[0028] Y 및 Y'는 O, S 또는 NH로부터 선택되고;

[0029] C2와 C3 사이에 존재하는 이중 결합이 있는 경우, R²는 이하의 것들로 이루어지는 군으로부터 선택되고:

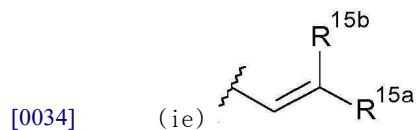
[0030] (ia) 할로, 니트로, 시아노, 에테르, 카복시, 에스테르, C₁₋₇ 알킬, C₃₋₇ 헤테로사이클릴 및 비스-옥시-C₁₋₃ 알킬 렌을 포함하는 군으로부터 선택된 하나 이상의 치환체에 의해 선택적으로 치환된 C₅₋₁₀ 아릴기;

[0031] (ib) C₁₋₅ 포화 지방족 알킬;

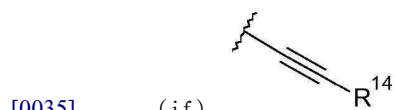
[0032] (ic) C₃₋₆ 포화 사이클로알킬;



[0033] (id) , 여기서, R¹¹, R¹² 및 R¹³의 각각은 H, C₁₋₃ 포화 알킬, C₂₋₃ 알케닐, C₂₋₃ 알키닐 및 사이클로프로필로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 R² 기 내의 탄소 원자의 총 수는 5개 이하임;

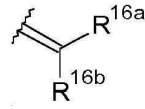


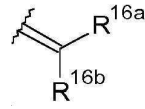
[0034] (ie) , 여기서, R^{15a} 및 R^{15b} 중 하나는 H이고, 다른 하나는 페닐로부터 선택되며, 이때 페닐은 할로, 메틸, 메톡시; 피리딜; 및 티오펜일로부터 선택된 기에 의해 선택적으로 치환됨; 및



[0035] (if) , 여기서, R¹⁴는 H; C₁₋₃ 포화 알킬; C₂₋₃ 알케닐; C₂₋₃ 알키닐; 사이클로프로필; 페닐로부터 선택되고, 이때 페닐은 할로, 메틸, 메톡시; 피리딜; 및 티오펜일로부터 선택된 기에 의해 선택적으로 치환됨;

[0036] C2와 C3 사이에 단일 결합이 있는 경우,



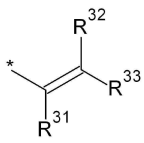
[0037] R²는 H 또는  이고, 여기에서 R^{16a} 및 R^{16b}는 H, F, C₁₋₄ 포화 알킬, C₂₋₃ 알케닐로부터 독립적으로 선택되며, 이때 알킬 및 알케닐기는 C₁₋₄ 알킬 아미도 및 C₁₋₄ 알킬 에스테르로부터 선택된 기에 의해 선택적으로 치환되거나; 또는 R^{16a} 및 R^{16b} 중 하나가 H인 경우, 다른 하나는 니트릴 및 C₁₋₄ 알킬 에스테르로부터 선택되고;

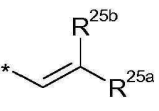
[0038] C2'와 C3' 사이에 존재하는 이중 결합이 있는 경우, R^{2'}는 이하의 것들로 이루어진 군으로부터 선택되고:

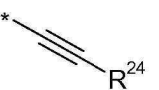
[0039] (iia) 할로, 니트로, 시아노, 에테르, 카복시, 에스테르, C₁₋₇ 알킬, C₃₋₇ 헤테로사이클릴 및 비스-옥시-C₁₋₃ 알킬렌을 포함하는 군으로부터 선택된 하나 이상의 치환체에 의해 선택적으로 치환된 C₅₋₁₀ 아릴기;

[0040] (iib) C₁₋₅ 포화 지방족 알킬;

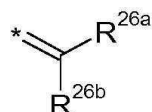
[0041] (iic) C₃₋₆ 포화 사이클로알킬;

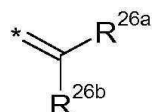
[0042] (iid) , 여기에서, R²¹, R²² 및 R²³의 각각은 H, C₁₋₃ 포화 알킬, C₂₋₃ 알케닐, C₂₋₃ 알키닐 및 사이클로프로필로부터 독립적으로 선택되고, 여기에서 R^{2'} 기 내의 탄소 원자의 총 수는 5개 이하임;

[0043] (iie) , 여기에서, R^{25a} 및 R^{25b} 중 하나는 H이고, 다른 하나는 페닐로부터 선택되며, 이때 페닐은 할로, 메틸, 메톡시; 피리딜; 및 티오펜으로부터 선택된 기에 의해 선택적으로 치환됨; 및

[0044] (iif) , 여기에서, R²⁴는 H; C₁₋₃ 포화 알킬; C₂₋₃ 알케닐; C₂₋₃ 알키닐; 사이클로프로필; 페닐로부터 선택되고, 이때 페닐은 할로, 메틸, 메톡시; 피리딜; 및 티오펜으로부터 선택된 기에 의해 선택적으로 치환됨;

[0045] C2'와 C3' 사이에 존재하는 단일 결합이 있는 경우,



[0046] R^{2'}는 H 또는  이고, 여기에서 R^{26a} 및 R^{26b}는 H, F, C₁₋₄ 포화 알킬, C₂₋₃ 알케닐로부터 독립적으로 선택되고, 이때 알킬 및 알케닐기는 C₁₋₄ 알킬 아미도 및 C₁₋₄ 알킬 에스테르로부터 선택된 기에 의해 선택적으로 치환되거나; 또는 R^{26a} 및 R^{26b} 중 하나가 H인 경우, 다른 하나는 니트릴 및 C₁₋₄ 알킬 에스테르로부터 선택되고;

[0047] R⁶ 및 R⁹는 H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR', 니트로, Me₃Sn 및 할로로부터 독립적으로 선택되고;

[0048] 여기에서, R 및 R'는 선택적으로 치환된 C₁₋₁₂ 알킬, C₃₋₂₀ 헤테로사이클릴 및 C₅₋₂₀ 아릴기로부터 독립적으로 선택되고;

[0049] R⁷은 H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NHRR', 니트로, Me₃Sn 및 할로로부터 선택되고;

[0050] R^{6'}, R^{7'}, R^{9'}는 각각 R⁶, R⁷, 및 R⁹와 동일한 기로부터 선택되며;

[0051] R^{11a} 는 OH, OR^A 및 SO_2M 에서 선택되며, 여기서 R^A 는 C_{1-4} 알킬이고, z 는 2 또는 3이고 M 은 1가의 약학적으로 허용 가능한 양이온이며;

[0052] 그리고

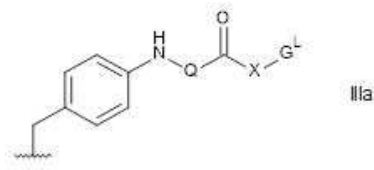
[0053] (a) R^{30} 은 H이고, R^{31} 은 OH, OR^A 이되, 여기서 R^A 는 C_{1-4} 알킬이거나;

[0054] (b) R^{30} 및 R^{31} 은 이들이 결합된 질소와 탄소 원자 사이에 질소-탄소 이중 결합을 형성하거나; 또는

[0055] (c) R^{30} 은 H이고 R^{31} 은 SO_2M 이되, 여기서 z 는 2 또는 3이고 M 은 1가의 약학적으로 허용가능한 양이온이고, 여기서 R^{11a} 및 R^{31} 이 SO_2M 인 경우, M 은 2가의 약학적으로 허용가능한 양이온을 나타낼 수 있고

[0056] R^L 은 하기로부터 선택되는 세포 결합제에 연결하기 위한 링커이고:

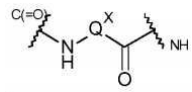
[0057] (iia):



[0058]

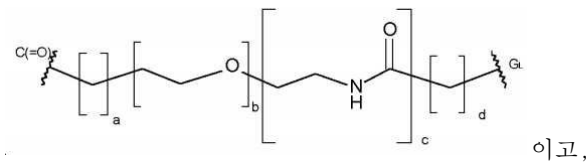
[0059] 상기에서

[0060] Q는:



[0061] 이며, 여기서 Q^x 는 Q가 아미노산 잔기, 디펩타이드 잔기 또는 트리펩타이드 잔기가 되도록 하는 것이고;

[0062] X는:

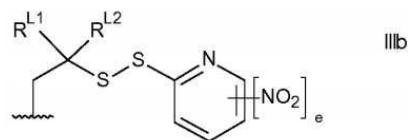


[0063] 이고,

[0064] 여기서 $a = 0$ 내지 5, $b = 0$ 내지 16, $c = 0$ 또는 1, $d = 0$ 내지 5이고;

[0065] G^L 은 리간드 단위에 연결하기 위한 링커이고; 그리고

[0066] (iiib):



[0067]

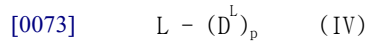
[0068] 여기서 R^{L1} 및 R^{L2} 는 H 및 메틸로부터 독립적으로 선택되거나, 또는 이들이 결합되는 탄소 원자와 함께 사이클로프로필렌 또는 사이클로부틸렌 기를 형성하고;

[0069] e 는 0 또는 1이다.

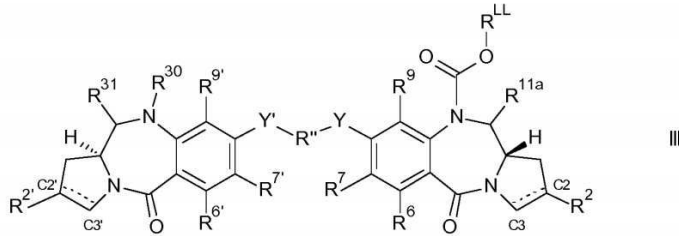
[0070] 본 발명의 제2 양태는 아래 제시된 방법 단계 중 적어도 하나를 포함하는 본 발명의 제1 양태의 화합물을 제조하는 방법을 제공한다.

[0071] 제3 양태에서, 본 발명은 리간드 단위/표적화제에 연결된 PBD의 이량체를 포함하는 콘주게이트에 관한 것으로, 여기서 상기 PBD 이량체는 식 I의 유도체, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 또는 용매 화합물이다.

[0072] 일부 구현예에서, 하기 식 IV를 갖는 콘주게이트:



[0074] 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 또는 용매 화합물로, 여기서 L은 리간드 단위 (즉, 표적화제)이고, D^L 은 하기 식 III의 PBD 이량체인 약물 링커 단위이다:

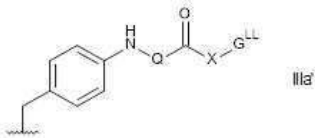


[0075]

[0076] 상기에서 $R^2, R^6, R^7, R^9, R^{11a}, Y, R'', Y', R^{2'}, R^{6'}, R^{7'}, R^{9'}, R^{30}$ 및 R^{31} 은 본 발명의 제1 양태에서 정의된 것이고;

[0077] R^{LL} 은 하기로부터 선택된 세포 결합제에 연결하기 위한 링커이고,

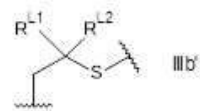
[0078] (iiia):



[0079]

[0080] 상기에서 Q 및 X는 제1 양태에서 정의된 것이고 G^{LL} 은 리간드 단위에 연결하기 위한 링커이고; 그리고

[0081] (iiib):



[0082]

[0083] 상기에서 R^{L1} 및 R^{L2} 은 제1 양태에서 정의된 것이고;

[0084] 상기에서 p는 1 내지 20의 정수이다.

[0085] 따라서, 상기 콘주게이트는 링커 단위에 의해 적어도 하나의 약물 단위에 공유적으로 연결된 리간드 단위를 포함한다. 아래에 더 자세하게 기술된 리간드 단위는 표적 부분에 결합하는 표적화제이다. 리간드 단위는 예를 들어 세포 성분 (세포 결합제) 또는 기타 관심 있는 표적 분자에 특이적으로 결합할 수 있다. 따라서, 본 발명은 또한, 예를 들어, 다양한 암 및 자가 면역 질환의 치료를 위한 방법을 제공한다. 이들 방법은 리간드 단위가 표적 분자에 특이적으로 결합하는 표적화제인 콘주게이트의 사용을 포함한다. 리간드 단위는, 예를 들어, 단백질, 폴리펩타이드 또는 펩타이드, 예컨대 항체, 항체의 항원-결합 단편, 또는 기타 결합제, 예컨대 Fc 융합 단백질일 수 있다.

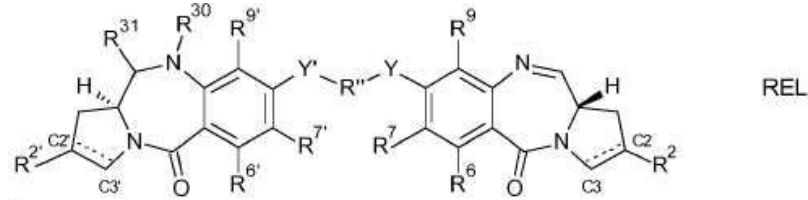
[0086] 약물 로딩은 리간드 단위 (예를 들어, 항체) 당 약물 분자의 수인 p로 표시된다. 약물 로딩은 리간드 단위 (를 들어, Ab 또는 mAb) 당 1 내지 20 약물 단위 (D)의 범위일 수 있다. 조성물의 경우, p는 조성물에서 콘주게이트의 평균 약물 로딩을 나타내고, p는 1 내지 20의 범위이다.

[0087] 본 발명의 제4 양태는 증식성 질환을 치료하기 위한 약제의 제조에서 본 발명의 제3 양태의 콘주게이트의 사용을 제공한다. 제4 양태는 또한 증식성 질환의 치료에 사용하기 위한 본 발명의 제3 양태의 콘주게이트를 제공한

다.

[0088] 당업자는 후보 화합물이 임의의 특정 세포 유형에 대한 증식성 병태를 치료하는지 여부를 쉽게 결정할 수 있다. 예를 들어, 특정 화합물에 의해 제공되는 활성을 평가하기 위해 편리하게 사용될 수 있는 분석이 하기 실시예에 기술되어 있다.

[0089] 본 발명의 추가 양태는 하기 식 REL을 갖는 화합물 :



[0090] 및 이의 염과 용매 화합물을 제공하며, 모든 치환체는 상기에 정의된 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0092] 정의

[0093] 약학적으로 허용가능한 양이온

[0094] 약학적으로 허용가능한 1가 및 2가 양이온의 예는 Berge, *et al.*, *J. Pharm. Sci.*, **66**, 1-19 (1977)에 기술되어 있으며, 이는 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0095] 약학적으로 허용가능한 양이온은 무기 또는 유기일 수 있다.

[0096] 약학적으로 허용가능한 1가 무기 양이온의 예는 Na⁺ 및 K⁺와 같은 알칼리 금속 이온을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 약학적으로 허용가능한 2가 무기 양이온의 예는 Ca²⁺ 및 Mg²⁺와 같은 알칼리 토류 양이온을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 약학적으로 허용가능한 유기 양이온의 예는 암모늄 이온 (즉, NH⁴⁺) 및 치환된 암모늄 이온 (예를 들어, NH₃R⁺, NH₂R₂⁺, NHR₃⁺, NR₄⁺)을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 일부 적합한 치환된 암모늄 이온의 예는 에틸아민, 디에틸아민, 디사이클로헥실아민, 트리에틸아민, 부틸아민, 에틸렌디아민, 에탄올아민, 디에탄올아민, 피페라진, 벤질아민, 페닐벤질아민, 콜린, 메글루민 및 트로메타민뿐만 아니라 아미노산, 예컨대 라이신 및 아르기닌으로부터 유도된 것들이다. 일반적인 4차 암모늄 이온의 예는 N(CH₃)₄⁺이다.

[0097] 치환체

[0098] 본원에서 사용된 어구 "선택적으로 치환된"은, 비치환 또는 치환될 수 있는 모 기(parent group)에 관한 것이다.

[0099] 달리 특정된 바 없는 경우, 본원에서 사용된 용어 "치환된"은, 하나 이상의 치환체를 포함하는 모 기에 관한 것이다. 용어 "치환체"는 본원에서 종래의 의미로 사용되며, 모 기에 공유적으로 부착되거나, 적절한 경우 모 기에 융합된 화학적 모이어티를 지칭한다. 다양한 치환체가 잘 알려져 있는데, 이들의 형성 방법 및 다양한 모 기에 대한 도입 방법도 또한 잘 알려져 있다.

[0100] 치환체의 예는 이하에서 더욱 상세하게 기재된다.

[0101] C₁₋₁₂ 알킬: 본원에서 사용된 용어 "C₁₋₁₂ 알킬"은, 1 내지 12개의 탄소 원자를 갖는 탄화수소 화합물의 탄소 원자로부터 수소 원자를 제거함으로써 취득되는 1가 모이어티에 관한 것으로, 이는 지방족 또는 지환족일 수 있고, 포화 또는 불포화 (예를 들어, 부분 불포화, 완전 불포화)될 수 있다. 본원에서 사용된 용어 "C_{1-n} 알킬"은, 1 내지 n개의 탄소 원자를 갖는 탄화수소 화합물의 탄소 원자로부터 수소 원자를 제거함으로써 취득되는 1가 모이어티에 관한 것으로, 이는 지방족 또는 지환족일 수 있고, 포화 또는 불포화 (예를 들어, 부분 불포화, 완전 불포화)될 수 있다. 따라서, 용어 "알킬"은 이하에서 논의되는 하위-부류 알케닐, 알킬닐, 사이클로알킬 등을 포함한다.

[0102] 포화 알킬기의 예는 메틸 (C₁), 에틸 (C₂), 프로필 (C₃), 부틸 (C₄), 펜틸 (C₅), 헥실 (C₆) 및 헵틸 (C₇)을 포함

하나, 이에 제한되지 않는다.

- [0103] 포화 선형 알킬기의 예는 메틸 (C₁), 에틸 (C₂), n-프로필 (C₃), n-부틸 (C₄), n-펜틸 (아밀) (C₅), n-헥실 (C₆) 및 n-헵틸 (C₇)을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0104] 포화 분지형 알킬기의 예는 이소-프로필 (C₃), 이소-부틸 (C₄), sec-부틸 (C₄), tert-부틸 (C₄), 이소-펜틸 (C₅), 및 네오-펜틸 (C₅)을 포함한다.
- [0105] C₂₋₁₂ 알케닐: 본원에서 사용된 용어 "C₂₋₁₂ 알케닐"은, 하나 이상의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 알킬기에 관한 것이다.
- [0106] 불포화 알케닐기의 예는 에테닐 (비닐, -CH=CH₂), 1-프로페닐 (-CH=CH-CH₃), 2-프로페닐 (알릴, -CH=CH=CH₂), 이소프로페닐 (1-메틸비닐, -C(CH₃)=CH₂), 부테닐 (C₄), 펜테닐 (C₅), 및 헥세닐 (C₆)을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0107] C₂₋₁₂ 알키닐: 본원에 사용된 용어 "C₂₋₁₂ 알키닐"은, 하나 이상의 탄소-탄소 3중 결합을 갖는 알킬기에 관한 것이다.
- [0108] 불포화 알키닐기의 예는 에티닐 (-C≡CH) 및 2-프로피닐 (프로파르길, -CH₂-C≡CH)를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0109] C₃₋₁₂ 사이클로알킬: 본원에서 사용된 용어 "C₃₋₁₂ 사이클로알킬"은, 또한 사이클릴 기이기도 한 알킬기에 관한 것으로; 즉, 사이클릭 탄화수소 (카보사이클릭) 화합물의 지환족 고리 원자로부터 수소 원자를 제거함으로써 수득되는 1가 모이어티인데, 상기 모이어티는 3 내지 7개의 고리 원자를 포함하는 3 내지 7개의 탄소 원자를 갖는다.
- [0110] 사이클로알킬기의 예는 이하로부터 유도된 것들을 포함하나, 이에 제한되지 않는다:
- [0111] 포화 단환 탄화수소 화합물:
- [0112] 사이클로프로판 (C₃), 사이클로부탄 (C₄), 사이클로펜탄 (C₅), 사이클로헥산 (C₆), 사이클로헵탄 (C₇), 메틸사이클로프로판 (C₄), 디메틸사이클로프로판 (C₅), 메틸사이클로부탄 (C₅), 디메틸사이클로부탄 (C₆), 메틸사이클로펜탄 (C₆), 디메틸사이클로펜탄 (C₇) 및 메틸사이클로헥산 (C₇);
- [0113] 불포화 단환 탄화수소 화합물:
- [0114] 사이클로프로펜 (C₃), 사이클로부텐 (C₄), 사이클로펜텐 (C₅), 사이클로헥센 (C₆), 메틸사이클로프로펜 (C₄), 디메틸사이클로프로펜 (C₅), 메틸사이클로부텐 (C₅), 디메틸사이클로부텐 (C₆), 메틸사이클로펜텐 (C₆), 디메틸사이클로펜텐 (C₇) 및 메틸사이클로헥센 (C₇); 및
- [0115] 포화 다환 탄화수소 화합물:
- [0116] 노르카란 (C₇), 노르피난 (C₇), 노르보르난 (C₇).
- [0117] C₃₋₂₀ 헤테로사이클릴: 본원에서 사용된 용어 "C₃₋₂₀ 헤테로사이클릴"은, 헤테로사이클릭 화합물의 고리 원자로부터 수소 원자를 제거함으로써 수득되는 1가 모이어티에 관한 것인데, 상기 모이어티는 3 내지 20개의 고리 원자를 갖고, 이들 중 1 내지 10 개는 고리 헤테로원자이다. 바람직하게는, 각 고리는 3 내지 7개의 고리 원자를 갖고, 이들 중 1 내지 4개는 고리 헤테로원자이다.
- [0118] 이러한 맥락에서, 접두사 (예를 들어, C₃₋₂₀, C₃₋₇, C₅₋₆ 등)은 탄소 원자 또는 헤테로원자이든 간에, 고리 원자의 수, 또는 고리 원자의 수의 범위를 나타낸다. 예를 들어, 본원에서 사용된 용어 "C₅₋₆ 헤테로사이클릴"은, 5개 또는 6개의 고리 원자를 갖는 헤테로사이클릴기에 관한 것이다.
- [0119] 단환 헤테로사이클릴기의 예는 이하로부터 유도된 것들을 포함하나, 이에 제한되지 않는다:
- [0120] N₁: 아지리딘 (C₃), 아제티딘 (C₄), 피롤리딘 (테트라히드로피롤) (C₅), 피롤린 (예를 들어, 3-피롤린, 2,5-디히

드로피롤) (C₅), 2H-피롤 또는 3H-피롤 (이소피롤, 이소아졸) (C₅), 피페리딘 (C₆), 디히드로피리딘 (C₆), 테트라히드로피리딘 (C₆), 아제핀 (C₇);

[0121] O₁: 옥시란 (C₃), 옥세탄 (C₄), 옥솔란 (테트라히드로푸란) (C₅), 옥솔 (디히드로푸란) (C₅), 옥산 (테트라히드로피란) (C₆), 디히드로피란 (C₆), 피란 (C₆), 옥세핀 (C₇);

[0122] S₁: 티이란 (C₃), 티에탄 (C₄), 티오란 (테트라히드로티오펜) (C₅), 티안 (테트라히드로티오피란) (C₆), 티에판 (C₇);

[0123] O₂: 디옥솔란 (C₅), 디옥산 (C₆), 및 디옥세판 (C₇);

[0124] O₃: 트리옥산 (C₆);

[0125] N₂: 이미다졸리딘 (C₅), 피라졸리딘 (디아졸리딘) (C₅), 이미다졸린 (C₅), 피라졸린 (디히드로피라졸) (C₅), 피페라진 (C₆);

[0126] N₁O₁: 테트라히드로옥사졸 (C₅), 디히드로옥사졸 (C₅), 테트라히드로이속사졸 (C₅), 디히드로이속사졸 (C₅), 모르폴린 (C₆), 테트라히드로옥사진 (C₆), 디히드로옥사진 (C₆), 옥사진 (C₆);

[0127] N₁S₁: 티아졸린 (C₅), 티아졸리딘 (C₅), 티오모르폴린 (C₆);

[0128] N₂O₁: 옥사디아진 (C₆);

[0129] O₁S₁: 옥사티올 (C₅) 및 옥사티안 (티옥산) (C₆); 및

[0130] N₁O₁S₁: 옥사티아진 (C₆).

[0131] 치환된 단환 헤테로사이클릭기의 예는 고리 형태의 다당류로부터 유도된 것들, 예를 들어, 푸라노오스 (C₅), 예컨대 아리비도푸라노오스, 릭스포라노오스, 리보푸라노오스 및 자일로푸라노오스; 및 피라노오스 (C₆), 예컨대 알로피라노오스, 알트로피라노오스, 글루코피라노오스, 만노피라노오스, 갈로피라노오스, 이도피라노오스, 갈락토피라노오스, 및 탈로피라노오스를 포함한다.

[0132] C₅₋₂₀ 아릴: 본원에 사용된 용어 "C₅₋₂₀ 아릴"은, 방향족 화합물의 방향족 고리 원자로부터 수소 원자를 제거함으로써 획득되는 1가 모이어티에 관한 것으로, 상기 모이어티는 3 내지 20개의 고리 원자를 갖는다. 본원에 사용된 용어 "C₅₋₇ 아릴"은, 방향족 화합물의 방향족 고리 원자로부터 수소 원자를 제거함으로써 획득되는 1가 모이어티에 관한 것으로, 상기 모이어티는 5 내지 7개의 고리 원자를 갖고, 본원에 사용된 용어 "C₅₋₁₀ 아릴"은, 방향족 화합물의 방향족 고리 원자로부터 수소 원자를 제거함으로써 획득되는 1가 모이어티에 관한 것으로, 상기 모이어티는 5 내지 10개의 고리 원자를 갖는다. 바람직하게는, 각 고리는 5 내지 7개의 고리 원자를 갖는다.

[0133] 이러한 맥락에서, 접두사 (예를 들어, C₃₋₂₀, C₅₋₇, C₅₋₆, C₅₋₁₀ 등)은 탄소 원자 또는 헤테로원자이든 간에, 고리 원자의 수, 또는 고리 원자의 수의 범위를 나타낸다. 예를 들어, 본원에 사용된 용어 "C₅₋₆ 아릴"은, 5 또는 6개의 고리 원자를 갖는 아릴기에 관한 것이다.

[0134] 고리 원자는 "카보아릴기"에서와 같이 모든 탄소 원자일 수 있다.

[0135] 카보아릴기의 예는 벤젠 (즉, 페닐) (C₆), 나프탈렌 (C₁₀), 아줄렌 (C₁₀), 안트라센 (C₁₄), 페난트렌 (C₁₄), 나프타센 (C₁₈), 및 피렌 (C₁₆)으로부터 유도된 것들을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0136] 융합된 고리를 포함하며, 이들 중 적어도 하나는 방향족 고리인 아릴기의 예는, 인단 (예를 들어, 2,3-디히드로-1H-인덴) (C₉), 인덴 (C₉), 이소인덴 (C₉), 테트라린 (1,2,3,4-테트라히드로나프탈렌 (C₁₀), 아세나프텐 (C₁₂), 플루오렌 (C₁₃), 페날렌 (C₁₃), 아세페난트렌 (C₁₅), 및 아세안트렌 (C₁₆)으로부터 유도된 것들을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

- [0137] 대안적으로, 고리 원자는 "헤테로아릴기"에서와 마찬가지로, 하나 이상의 헤테로원자를 포함할 수 있다. 단환 헤테로아릴기의 예는 이하로부터 유도된 것들을 포함하나, 이에 제한되지 않는다:
- [0138] N₁: 피롤 (아졸) (C₅), 피리딘 (아진) (C₆);
- [0139] O₁: 푸란 (옥솔) (C₅);
- [0140] S₁: 티오펜 (티올) (C₅);
- [0141] N₁O₁: 옥사졸 (C₅), 이속사졸 (C₅), 이속사진 (C₆);
- [0142] N₂O₁: 옥사디아졸 (푸라잔) (C₅);
- [0143] N₃O₁: 옥사트리아졸 (C₅);
- [0144] N₁S₁: 티아졸 (C₅), 이소티아졸 (C₅);
- [0145] N₂: 이미다졸 (1,3-디아졸) (C₅), 피라졸 (1,2-디아졸) (C₅), 피리다진 (1,2-디아진) (C₆), 피리미딘 (1,3-디아진) (C₆) (예를 들어, 시토신, 티민, 우라실), 피라진 (1,4-디아진) (C₆);
- [0146] N₃: 트리아졸 (C₅), 트리아진 (C₆); 및
- [0147] N₄: 테트라졸 (C₅).
- [0148] 융합된 고리를 포함하는 헤테로아릴의 예는, 이하의 것들을 포함하나, 이에 제한되지 않는다:
- [0149] 벤조푸란 (O₁), 이소벤조푸란 (O₁), 인돌 (N₁), 이소인돌 (N₁), 인돌리진 (N₁), 인돌린 (N₁), 이소인돌린 (N₁), 푸린(N₄) (예를 들어, 아데닌, 구아닌), 벤즈이미다졸 (N₂), 인다졸 (N₂), 벤족사졸 (N₁O₁), 벤즈이속사졸 (N₁O₁), 벤조디아옥솔 (O₂), 벤조푸라잔 (N₂O₁), 벤조트리아졸 (N₃), 벤조티오펜 (S₁), 벤조티아졸 (N₁S₁), 벤조티아디아졸 (N₂S)로부터 유도된 (2개의 융합된 고리를 갖는) C₉;
- [0150] 크로멘 (O₁), 이소크로멘 (O₁), 크로만 (O₁), 이소크로만 (O₁), 벤조디아옥산 (O₂), 퀴놀린 (N₁), 이소퀴놀린 (N₁), 퀴놀리진 (N₁), 벤족사진 (N₁O₁), 벤조디아진 (N₂), 피리도피리딘 (N₂), 퀴녹살린 (N₂), 퀴나졸린 (N₂), 신놀린 (N₂), 프탈라진 (N₂), 나프티리딘 (N₂), 프페리딘 (N₄)으로부터 유도된 (2개의 융합된 고리를 갖는) C₁₀;
- [0151] 벤조디아제핀 (N₂)으로부터 유도된 (2개의 융합된 고리를 갖는) C₁₁;
- [0152] 카바졸 (N₁), 디벤조푸란 (O₁), 디벤조티오펜 (S₁), 카볼린 (N₂), 페리미딘 (N₂), 피리도인돌 (N₂)로부터 유도된 (3개의 융합된 고리를 갖는) C₁₃; 및
- [0153] 아크리딘 (N₁), 잔텐 (O₁), 티오잔텐 (S₁), 옥산트렌 (O₂), 페녹사티인 (O₁S₁), 페나진 (N₂), 페녹사진 (N₁O₁), 페노티아진 (N₁S₁), 티안트렌 (S₂), 페난트리딘 (N₁), 페난트롤린 (N₂), 페나진 (N₂)으로부터 유도된 (3개의 융합된 고리를 갖는), C₁₄.
- [0154] 상기 기는, 다른 치환체 단독 또는 이의 일부이든 간에, 이들 자체 및 이하에 열거된 추가의 치환체로부터 선택된 하나 이상의 기에 의해 선택적으로 치환될 수 있다.
- [0155] 할로: -F, -Cl, -Br, 및 -I.
- [0156] 히드록시: -OH.
- [0157] 에테르: -OR, 여기서 R은 에테르 치환체, 예를 들어, C₁₋₇ 알킬기 (또한, 이하 C₁₋₇ 알콕시기라고도 지칭됨), C₃₋₂₀ 헤테로사이클릴기 (또한, C₃₋₂₀ 헤테로사이클릴옥시기라고도 지칭됨), 또는 C₅₋₂₀ 아릴기 (또한, C₅₋₂₀ 아릴옥시기라고도 지칭됨), 바람직하게는 C₁₋₇ 알킬기이다.

- [0158] 알콕시: -OR, 여기에서 R은 알킬기로, 예를 들어, C₁₋₇ 알킬기이다. C₁₋₇ 알콕시기의 예는 -OMe (메톡시), -OEt (에톡시), -O(nPr) (n-프로폭시), -O(iPr) (이소프로폭시), -O(nBu) (n-부톡시), -O(sBu) (sec-부톡시), -O(iBu) (이소부톡시), 및 -O(tBu) (tert-부톡시)를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0159] 아세탈: -CH(OR¹)(OR²), 여기에서 R¹ 및 R²는 독립적으로 아세탈 치환체, 예를 들어, C₁₋₇ 알킬기, C₃₋₂₀ 헤테로사이클릴기, 또는 C₅₋₂₀ 아릴기, 바람직하게는 C₁₋₇ 알킬기이거나, 또는 "사이클릭" 아세탈 기의 경우, R¹ 및 R²는 이들이 부착된 2개의 산소 원자; 및 이들이 부착된 탄소 원자와 함께 4 내지 8개의 고리 원자를 갖는 헤테로사이클릭 고리를 형성한다. 아세탈기의 예는, -CH(OMe)₂, -CH(OEt)₂, 및 -CH(OMe)(OEt)를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0160] 헤미아세탈: -CH(OH)(OR¹), 여기에서 R¹은 헤미아세탈 치환체, 예를 들어, C₁₋₇ 알킬기, C₃₋₂₀ 헤테로사이클릴기, 또는 C₅₋₂₀ 아릴기, 바람직하게는 C₁₋₇ 알킬기이다. 헤미아세탈기의 예는 -CH(OH)(OMe), 및 -CH(OH)(OEt)를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0161] 케탈: -CR(OR¹)(OR²), 여기에서 R¹ 및 R²는 아세탈에 대해 정의된 것이고, R은 수소 이외의 케탈 치환체, 예를 들어 C₁₋₇ 알킬기, C₃₋₂₀ 헤테로사이클릴기, 또는 C₅₋₂₀ 아릴기, 바람직하게는 C₁₋₇ 알킬기이다. 케탈기의 예는, -C(Me)(OMe)₂, -C(Me)(OEt)₂, -C(Me)(OMe)(OEt), -C(Et)(OMe)₂, -C(Et)(OEt)₂, 및 -C(Et)(OMe)(OEt)를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0162] 헤미케탈: -CR(OH)(OR¹), 여기에서 R¹은 헤미아세탈에 대해 정의된 것이고, R은 수소 이외의 헤미케탈 치환체, 예를 들어 C₁₋₇ 알킬기, C₃₋₂₀ 헤테로사이클릴기, 또는 C₅₋₂₀ 아릴기, 바람직하게는 C₁₋₇ 알킬기이다. 헤미아세탈기의 예는, -C(Me)(OH)(OMe), -C(Et)(OH)(OMe), -C(Me)(OH)(OEt), 및 -C(Et)(OH)(OEt)를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0163] 옥소 (케토, -온): =O.
- [0164] 티온 (티오케톤): =S.
- [0165] 이미노 (이민): =NR, 여기에서 R은 이미노 치환체, 예를 들어, 수소, C₁₋₇ 알킬기, C₃₋₂₀ 헤테로사이클릴기, 또는 C₅₋₂₀ 아릴기, 바람직하게는 수소 또는 C₁₋₇ 알킬기이다. 에스테르기의 예는 =NH, =NMe, =NEt, 및 =NPh를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0166] 포르밀 (카르브알데히드, 카르복알데히드): -C(=O)H.
- [0167] 아실 (케토): -C(=O)R, 여기에서 R은 아실 치환체, 예를 들어, C₁₋₇ 알킬기 (또한, C₁₋₇ 알킬아실 또는 C₁₋₇ 알카노일이라고도 지칭됨), C₃₋₂₀ 헤테로사이클릴기 (또한, C₃₋₂₀ 헤테로사이클릴아실이라고도 지칭됨), 또는 C₅₋₂₀ 아릴기 (또한, C₅₋₂₀ 아릴아실이라고도 지칭됨), 바람직하게는 C₁₋₇ 알킬기이다. 아실기의 예는, -C(=O)CH₃ (아세틸), -C(=O)CH₂CH₃ (프로피오닐), -C(=O)C(CH₃)₃ (t-부틸), 및 -C(=O)Ph (벤조일, 페논)를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0168] 카복시 (카르복실산): -C(=O)OH.
- [0169] 티오카복시 (티오카르복실산): -C(=S)SH.
- [0170] 티올로카복시 (티올로카르복실산): -C(=O)SH.
- [0171] 티오노카복시 (티오노카르복실산): -C(=S)OH.
- [0172] 이미드산: -C(=NH)OH.
- [0173] 히드록삼산: -C(=NOH)OH.
- [0174] 에스테르 (카르복실레이트, 카르복실산 에스테르, 옥시카보닐): -C(=O)OR, 여기에서 R은 에스테르 치환체, 예를 들어, C₁₋₇ 알킬기, C₃₋₂₀ 헤테로사이클릴기, 또는 C₅₋₂₀ 아릴기, 바람직하게는 C₁₋₇ 알킬기이다. 에스테르 기의

예는, $-C(=O)OCH_3$, $-C(=O)OCH_2CH_3$, $-C(=O)OC(CH_3)_3$, 및 $-C(=O)OPh$ 를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0175] 아실옥시 (리버스 에스테르): $-OC(=O)R$, 여기에서 R은 아실옥시 치환체, 예를 들어, C_{1-7} 알킬기, C_{3-20} 헤테로사이클릴기, 또는 C_{5-20} 아릴기, 바람직하게는 C_{1-7} 알킬기이다. 아실옥시기의 예는 $-OC(=O)CH_3$ (아세트옥시), $-OC(=O)CH_2CH_3$, $-OC(=O)C(CH_3)_3$, $-OC(=O)Ph$, 및 $-OC(=O)CH_2Ph$ 를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

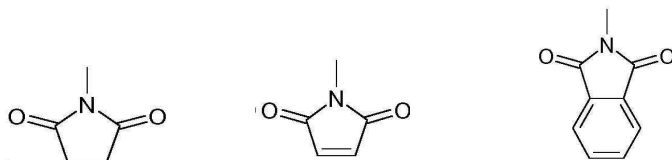
[0176] 옥시카보일옥시: $-OC(=O)OR$, 여기에서 R은 에스테르 치환체, 예를 들어, C_{1-7} 알킬기, C_{3-20} 헤테로사이클릴기, 또는 C_{5-20} 아릴기, 바람직하게는 C_{1-7} 알킬기이다. 에스테르기의 예는 $-OC(=O)OCH_3$, $-OC(=O)OCH_2CH_3$, $-OC(=O)OC(CH_3)_3$, 및 $-OC(=O)OPh$ 를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0177] 아미노: $-NR^1R^2$, 여기에서 R^1 및 R^2 는 독립적으로 아미노 치환체, 예를 들어, 수소, C_{1-7} 알킬기 (또한, C_{1-7} 알킬 아미노 또는 디 C_{1-7} 알킬아미노라고도 지칭함), C_{3-20} 헤테로사이클릴기, 또는 C_{5-20} 아릴기, 바람직하게는 H 또는 C_{1-7} 알킬기이거나, 또는 "사이클릭" 아미노기의 경우, R^1 및 R^2 는 이들이 부착된 질소 원자와 함께, 4 내지 8개의 고리 원자를 갖는 헤테로사이클릭 고리를 형성한다. 아미노기는 1차 ($-NH_2$), 2차 ($-NHR^1$), 또는 3차 ($-NHR^1R^2$)일 수 있고, 양이온 형태로는 4차 ($-NR^1R^2R^3$)일 수 있다. 아미노기의 예는 $-NH_2$, $-NHCH_3$, $-NHC(CH_3)_2$, $-N(CH_3)_2$, $-N(CH_2CH_3)_2$, 및 $-NHPh$ 를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 사이클릭 아미노기의 예는 아지리디노, 아제티디노, 피롤리디노, 피페리디노, 피페라지노, 모르폴리노, 및 티오모르폴리노를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0178] 아미도 (카바모일, 카바밀, 아미노카보닐, 카복사아미드): $-C(=O)NR^1R^2$, 여기에서 R^1 및 R^2 는 아미노기에서 정의된 바와 같이, 독립적으로 아미노 치환체이다. 아미도기의 예는 $-C(=O)NH_2$, $-C(=O)NHCH_3$, $-C(=O)N(CH_3)_2$, $-C(=O)NHCH_2CH_3$, 및 $-C(=O)N(CH_2CH_3)_2$ 뿐만 아니라 R^1 및 R^2 가 이들이 부착된 질소 원자와 함께 예를 들어, 피페리디노카보닐, 모르폴리노카보닐, 티오모르폴리노카보닐, 및 피페라지노카보닐에서와 같이 헤테로사이클릭 구조를 형성하는 아미도기를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0179] 티오아미도 (티오카바밀): $-C(=S)NR^1R^2$, 여기에서 R^1 및 R^2 는 아미노기에서 정의된 바와 같이, 독립적으로 아미노 치환체이다. 아미도기의 예는 $-C(=S)NH_2$, $-C(=S)NHCH_3$, $-C(=S)N(CH_3)_2$ 및 $-C(=S)NHCH_2CH_3$ 을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0180] 아실아미도 (아실아미노): $-NR^1C(=O)R^2$, 여기에서 R^1 은 아미드 치환체, 예를 들어, 수소, C_{1-7} 알킬기, C_{3-20} 헤테로사이클릴기, 또는 C_{5-20} 아릴기, 바람직하게는 수소 또는 C_{1-7} 알킬기이고, R^2 는 아실 치환체, 예를 들어, C_{1-7} 알킬기, C_{3-20} 헤테로사이클릴기, 또는 C_{5-20} 아릴기, 바람직하게는 수소 또는 C_{1-7} 알킬기이다. 아실아미드기의 예는, $-NHC(=O)CH_3$, $-NHC(=O)CH_2CH_3$, 및 $-NHC(=O)Ph$ 를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. R^1 및 R^2 는 함께 예를 들어, 석신이미딜, 말레이미딜, 및 프탈이미딜에서와 같이 사이클릭 구조를 형성할 수 있다:



[0181]

[0182]

[0183]

석신이미딜

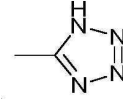
말레이미딜

프탈이미딜

아미노카보닐옥시: $-OC(=O)NR^1R^2$, 여기에서 R^1 및 R^2 는 아미노기에 대해 정의된 바와 같이 독립적으로 아미노 치환체이다. 아미노카보닐옥시기의 예는, $-OC(=O)NH_2$, $-OC(=O)NHMe$, $-OC(=O)NMe_2$, 및 $-OC(=O)NEt_2$ 를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0184] 우레이도: $-N(R^1)CONR^2R^3$, 여기에서, R^2 및 R^3 은 아미노기에 대해 정의된 바와 같이 독립적으로 아미노 치환체이고, R^1 은 우레이도 치환체, 예를 들어, 수소, C_{1-7} 알킬기, C_{3-20} 헤테로사이클릴기, 또는 C_{5-20} 아릴기, 바람직하게는 수소 또는 C_{1-7} 알킬기이다. 우레이도기의 예는, $-NHCONH_2$, $-NHCONHMe$, $-NHCONHEt$, $-NHCONMe_2$, $-NHCONEt_2$, $-NMeCONH_2$, $-NMeCONHMe$, $-NMeCONHEt$, $-NMeCONMe_2$ 및 $-NMeCONEt_2$ 를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0185] 구아니디노: $-NH-C(=NH)NH_2$.



[0186] 테트라졸릴: 4개의 질소 원자 및 1개의 탄소 원자를 갖는 5원 방향족 고리,

[0187] 이미노: $=NR$, 여기에서 R은 이미노 치환체, 예를 들어, 수소, C_{1-7} 알킬기, C_{3-20} 헤테로사이클릴기, 또는 C_{5-20} 아릴기, 바람직하게는 H 또는 C_{1-7} 알킬기이다. 이미노기의 예는, $=NH$, $=NMe$, 및 $=NEt$ 를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0188] 아미딘 (아미디노): $-C(=NR)NR_2$, 여기에서 각각의 R은 아미딘 치환체, 예를 들어, 수소, C_{1-7} 알킬기, C_{3-20} 헤테로사이클릴기, 또는 C_{5-20} 아릴기, 바람직하게는 H 또는 C_{1-7} 알킬기이다. 아미딘기의 예는, $-C(=NH)NH_2$, $-C(=NH)NMe_2$, 및 $-C(=NMe)NMe_2$ 를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0189] 니트로: $-NO_2$.

[0190] 니트로소: $-NO$.

[0191] 아지도: $-N_3$.

[0192] 시아노 (니트릴, 카보니트릴): $-CN$.

[0193] 이소시아노: $-NC$.

[0194] 시아나토: $-OCN$.

[0195] 이소시아나토: $-NCO$.

[0196] 티오시아노 (티오시아나토): $-SCN$.

[0197] 이소티오시아노 (이소티오시아나토): $-NCS$.

[0198] 설프히드릴 (티올, 머캡토): $-SH$.

[0199] 티오에테르 (설프아이드): $-SR$, 여기에서 R은 티오에테르 치환체, 예를 들어, C_{1-7} 알킬기 (또한, C_{1-7} 알킬티오기라고도 지칭됨), C_{3-20} 헤테로사이클릴기, 또는 C_{5-20} 아릴기, 바람직하게는 C_{1-7} 알킬기이다. C_{1-7} 알킬티오기의 예는, $-SCH_3$ 및 $-SCH_2CH_3$ 을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0200] 디설프아이드: $-SS-R$, 여기에서, R은 디설프아이드 치환체, 예를 들어, C_{1-7} 알킬기, C_{3-20} 헤테로사이클릴기, 또는 C_{5-20} 아릴기, 바람직하게는 C_{1-7} 알킬기 (또한, C_{1-7} 알킬 디설프아이드라고도 지칭됨)이다. C_{1-7} 알킬 디설프아이드기의 예는, $-SSCH_3$ 및 $-SSCH_2CH_3$ 을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0201] 설프 (설프닐, 설프시드): $-S(=O)R$, 여기에서 R은 설프 치환체, 예를 들어, C_{1-7} 알킬기, C_{3-20} 헤테로사이클릴기, 또는 C_{5-20} 아릴기, 바람직하게는 C_{1-7} 알킬기이다. 설프기의 예는, $-S(=O)CH_3$ 및 $-S(=O)CH_2CH_3$ 을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0202] 설프 (설프닐): $-S(=O)_2R$, 여기에서 R은 설프 치환체, 예를 들어, C_{1-7} 알킬기, C_{3-20} 헤테로사이클릴기, 또는 C_{5-20} 아릴기, 바람직하게는 C_{1-7} 알킬기이고, 예를 들어, 플루오르화 또는 퍼플루오르화 C_{1-7} 알킬기를 포함한다. 설프기의 예는, $-S(=O)_2CH_3$ (메탄설프닐, 메실), $-S(=O)_2CF_3$ (트리플릴), $-S(=O)_2CH_2CH_3$ (에실), $-S(=O)_2C_4F_9$ (노

나플릴), $-S(=O)_2CH_2CF_3$ (트레실), $-S(=O)_2CH_2CH_2NH_2$ (타우릴), $-S(=O)_2Ph$ (페닐설포닐, 베실), 4-메틸페닐설포닐 (토실), 4-클로로페닐설포닐 (클로실), 4-브로모페닐설포닐 (브로실), 4-니트로페닐 (노실), 2-나프탈렌설포네이트 (나프실), 및 5-디메틸아미노-나프탈렌-1-일 설포네이트 (단실)을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

- [0203] 설펜산 (설펜노): $-S(=O)OH$, $-SO_2H$.
- [0204] 설펜산 (설펜): $-S(=O)_2OH$, $-SO_3H$.
- [0205] 설펜네이트 (설펜산 에스테르): $-S(=O)OR$, 여기에서, R은 설펜네이트 치환체, 예를 들어, C_{1-7} 알킬기, C_{3-20} 헤테로사이클릴기, 또는 C_{5-20} 아릴기, 바람직하게는 C_{1-7} 알킬기이다. 설펜네이트기의 예는, $-S(=O)OCH_3$ (메톡시설펜닐; 메틸 설펜네이트) 및 $-S(=O)OCH_2CH_3$ (에톡시설펜닐; 에틸 설펜네이트)를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0206] 설펜네이트 (설펜산 에스테르): $-S(=O)_2OR$, 여기에서, R은 설펜네이트 치환체, 예를 들어, C_{1-7} 알킬기, C_{3-20} 헤테로사이클릴기, 또는 C_{5-20} 아릴기, 바람직하게는 C_{1-7} 알킬기이다. 설펜네이트기의 예는, $-S(=O)_2OCH_3$ (메톡시설펜포닐; 메틸 설펜네이트) 및 $-S(=O)_2OCH_2CH_3$ (에톡시설펜포닐; 에틸 설펜네이트)를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0207] 설펜닐옥시: $-OS(=O)R$, 여기에서 R은 설펜닐옥시 치환체, 예를 들어, C_{1-7} 알킬기, C_{3-20} 헤테로사이클릴기, 또는 C_{5-20} 아릴기, 바람직하게는 C_{1-7} 알킬기이다. 설펜닐옥시기의 예는, $-OS(=O)CH_3$ 및 $-OS(=O)CH_2CH_3$ 을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0208] 설펜닐옥시: $-OS(=O)_2R$, 여기에서, R은 설펜닐옥시 치환체, 예를 들어, C_{1-7} 알킬기, C_{3-20} 헤테로사이클릴기, 또는 C_{5-20} 아릴기, 바람직하게는 C_{1-7} 알킬기이다. 설펜닐옥시기의 예는, $-OS(=O)_2CH_3$ (메실레이트) 및 $-OS(=O)_2CH_2CH_3$ (에실레이트)를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0209] 설펜레이트: $-OS(=O)_2OR$, 여기에서, R은 설펜레이트 치환체, 예를 들어, C_{1-7} 알킬기, C_{3-20} 헤테로사이클릴기, 또는 C_{5-20} 아릴기, 바람직하게는 C_{1-7} 알킬기이다. 설펜레이트 기의 예는, $-OS(=O)_2OCH_3$ 및 $-SO(=O)_2OCH_2CH_3$ 을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0210] 설펜아미드 (설펜아모일; 설펜산 아마이드; 설펜아미드): $-S(=O)NR^1R^2$, 여기에서, R^1 및 R^2 는 아미노기에 대해 정의된 바와 같이 독립적으로 아미노 치환체이다. 설펜아미드기의 예는 $-S(=O)NH_2$, $-S(=O)NH(CH_3)$, $-S(=O)N(CH_3)_2$, $-S(=O)NH(CH_2CH_3)$, $-S(=O)N(CH_2CH_3)_2$ 및 $-S(=O)NHPh$ 를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0211] 설펜아미도 (설펜아모일; 설펜산 아마이드; 설펜아미드): $-S(=O)_2NR^1R^2$, 여기에서, R^1 및 R^2 는 아미노기에 대해 정의된 바와 같이 독립적으로 아미노 치환체이다. 설펜아미도 기의 예는 $-S(=O)_2NH_2$, $-S(=O)_2NH(CH_3)$, $-S(=O)_2N(CH_3)_2$, $-S(=O)_2NH(CH_2CH_3)$, $-S(=O)_2N(CH_2CH_3)_2$ 및 $-S(=O)_2NHPh$ 를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0212] 설펜아미노: $-NR^1S(=O)_2OH$, 여기에서, R^1 은 아미노기에서 정의된 바와 같은 아미노 치환체이다. 설펜아미노기의 예는 $-NHS(=O)_2OH$ 및 $-N(CH_3)S(=O)_2OH$ 를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0213] 설펜아미노: $-NR^1S(=O)_2R$, 여기에서, R^1 은 아미노기에서 정의된 바와 같은 아미노 치환체이고, R은 설펜아미노 치환체, 예를 들어, C_{1-7} 알킬기, C_{3-20} 헤테로사이클릴기, 또는 C_{5-20} 아릴기, 바람직하게는 C_{1-7} 알킬기이다. 설펜아미노기의 예는 $-NHS(=O)_2CH_3$ 및 $-N(CH_3)S(=O)_2C_6H_5$ 를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0214] 설펜아미노: $-NR^1S(=O)R$, 여기에서, R^1 은 아미노기에서 정의된 바와 같은 아미노 치환체이고, R은 설펜아미노 치환체, 예를 들어, C_{1-7} 알킬기, C_{3-20} 헤테로사이클릴기, 또는 C_{5-20} 아릴기, 바람직하게는 C_{1-7} 알킬기이다. 설펜아미노기의 예는 $-NHS(=O)CH_3$ 및 $-N(CH_3)S(=O)C_6H_5$ 를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0215] 포스포노 (포스포): $-PR_2$, 여기에서, R은 포스포노 치환체, 예를 들어, $-H$, C_{1-7} 알킬기, C_{3-20} 헤테로사이클릴기,

또는 C₅₋₂₀ 아릴기, 바람직하게는 -H, C₁₋₇ 알킬기, 또는 C₅₋₂₀ 아릴기이다. 포스피노기의 예는, -PH₂, -P(CH₃)₂, -P(CH₂CH₃)₂, -P(t-Bu)₂, 및 -P(Ph)₂를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0216] 포스포: -P(=O)₂.

[0217] 포스피닐 (포스핀 옥사이드): -P(=O)R₂, 여기에서, R은 포스피닐 치환체, 예를 들어, C₁₋₇ 알킬기, C₃₋₂₀ 헤테로사이클릴기, 또는 C₅₋₂₀ 아릴기, 바람직하게는 C₁₋₇ 알킬기 또는 C₅₋₂₀ 아릴기이다. 포스피닐기의 예는 -P(=O)(CH₃)₂, -P(=O)(CH₂CH₃)₂, -P(=O)(t-Bu)₂, 및 -P(=O)(Ph)₂를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0218] 포스포산 (포스포노): -P(=O)(OH)₂.

[0219] 포스포네이트 (포스포노 에스테르): -P(=O)(OR)₂, 여기에서, R은 포스포네이트 치환체, 예를 들어, -H, C₁₋₇ 알킬기, C₃₋₂₀ 헤테로사이클릴기, 또는 C₅₋₂₀ 아릴기, 바람직하게는 -H, C₁₋₇ 알킬기, 또는 C₅₋₂₀ 아릴기이다. 포스포네이트기의 예는, -P(=O)(OCH₃)₂, -P(=O)(OCH₂CH₃)₂, -P(=O)(O-t-Bu)₂, 및 -P(=O)(OPh)₂를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0220] 인산 (포스포노옥시): -OP(=O)(OH)₂.

[0221] 포스페이트 (포스포노옥시 에스테르): -OP(=O)(OR)₂ 여기에서, R은 포스페이트 치환체, 예를 들어, -H, C₁₋₇ 알킬기, C₃₋₂₀ 헤테로사이클릴기, 또는 C₅₋₂₀ 아릴기, 바람직하게는 -H, C₁₋₇ 알킬기, 또는 C₅₋₂₀ 아릴기이다. 포스페이트 기의 예는, -OP(=O)(OCH₃)₂, -OP(=O)(OCH₂CH₃)₂, -OP(=O)(O-t-Bu)₂, 및 -OP(=O)(OPh)₂를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0222] 아인산: -OP(OH)₂.

[0223] 포스파이트: -OP(OR)₂, 여기에서, R은 포스파이트 치환체, 예를 들어, -H, C₁₋₇ 알킬기, C₃₋₂₀ 헤테로사이클릴기, 또는 C₅₋₂₀ 아릴기, 바람직하게는 -H, C₁₋₇ 알킬기, 또는 C₅₋₂₀ 아릴기이다. 포스파이트 기의 예는, -OP(OCH₃)₂, -OP(OCH₂CH₃)₂, -OP(O-t-Bu)₂, 및 -OP(OPh)₂를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0224] 포스포르아미다이트: -OP(OR¹)-NR²₂, 여기에서, R¹ 및 R²는 포스포르아미다이트 치환체, 예를 들어, -H, (선택적으로 치환된) C₁₋₇ 알킬기, C₃₋₂₀ 헤테로사이클릴기, 또는 C₅₋₂₀ 아릴기, 바람직하게는 -H, C₁₋₇ 알킬기, 또는 C₅₋₂₀ 아릴기이다. 포스포르아미다이트 기의 예는, -OP(OCH₂CH₃)-N(CH₃)₂, -OP(OCH₂CH₃)-N(i-Pr)₂, 및 -OP(OCH₂CH₂CN)-N(i-Pr)₂를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0225] 포스포르아미데이트: -OP(=O)(OR¹)-NR²₂, 여기에서, R¹ 및 R²는 포스포르아미데이트 치환체, 예를 들어, -H, (선택적으로 치환된) C₁₋₇ 알킬기, C₃₋₂₀ 헤테로사이클릴기, 또는 C₅₋₂₀ 아릴기, 바람직하게는 -H, C₁₋₇ 알킬기, 또는 C₅₋₂₀ 아릴기이다. 포스포르아미데이트 기의 예는 -OP(=O)(OCH₂CH₃)-N(CH₃)₂, -OP(=O)(OCH₂CH₃)-N(i-Pr)₂, 및 -OP(=O)(OCH₂CH₂CN)-N(i-Pr)₂를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0226] 알킬렌

[0227] C₃₋₁₂ 알킬렌: 본원에 사용된 용어 "C₃₋₁₂ 알킬렌"은, (달리 특정된 바 없는 경우), 지방족 또는 지환족일 수 있고, 포화, 부분 불포화, 또는 완전 불포화될 수 있는 3 내지 12개의 탄소 원자를 갖는 탄화수소 화합물의 동일한 탄소 원자로부터 2개의 수소 원자를 모두 제거하거나, 또는 2개의 상이한 탄소 원자 각각으로부터 하나의 수소 원자를 제거함으로써 수득되는 2자리(bidentate) 모이어티에 관한 것이다. 따라서, 용어 "알킬렌"은 이하에서 논의될 하위-부류 알케닐렌, 알키닐렌, 사이클로알킬렌 등을 포함한다.

[0228] 선형 포화 C₃₋₁₂ 알킬렌기의 예는, -(CH₂)_n- (여기에서, n은 3 내지 12의 정수임), 예를 들어, -CH₂CH₂CH₂- (프로필렌), -CH₂CH₂CH₂CH₂- (부틸렌), -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂- (펜틸렌) 및 -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂- (헵틸렌)을 포함하나,

이에 제한되지 않는다.

[0229] 분지형 포화 C₃₋₁₂ 알킬렌기의 예는, -CH(CH₃)CH₂-, -CH(CH₃)CH₂CH₂-, -CH(CH₃)CH₂CH₂CH₂-, -CH₂CH(CH₃)CH₂-, -CH₂CH(CH₃)CH₂CH₂-, -CH(CH₂CH₃)-, -CH(CH₂CH₃)CH₂-, 및 -CH₂CH(CH₂CH₃)CH₂-를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0230] 선형 부분 불포화 C₃₋₁₂ 알킬렌기 (C₃₋₁₂ 알케닐렌, 및 알키닐렌 기)의 예는, -CH=CH-CH₂-, -CH₂-CH=CH₂-, -CH=CH-CH₂-CH₂-, -CH=CH-CH₂-CH₂-CH₂-, -CH=CH-CH=CH-, -CH=CH-CH=CH-CH₂-, -CH=CH-CH=CH-CH₂-CH₂-, -CH=CH-CH₂-CH=CH-, -CH=CH-CH₂-CH=CH-, 및 -CH₂-C≡C-CH₂-를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

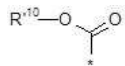
[0231] 분지형 부분 불포화 C₃₋₁₂ 알킬렌기 (C₃₋₁₂ 알케닐렌 및 알키닐렌 기)의 예는, -C(CH₃)=CH-, -C(CH₃)=CH-CH₂-, -CH=CH-CH(CH₃)- 및 -C≡C-CH(CH₃)-를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0232] 지환족 포화 C₃₋₁₂ 알킬렌기 (C₃₋₁₂ 사이클로알킬렌)의 예는, 사이클로펜틸렌 (예를 들어, 사이클로펜트-1,3-일렌), 및 사이클로헥실렌 (예를 들어, 사이클로헥센-1,4-일렌)을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0233] 지환족 부분 불포화 C₃₋₁₂ 알킬렌기 (C₃₋₁₂ 사이클로알킬렌)의 예는, 사이클로펜테닐렌 (예를 들어, 4-사이클로펜텐-1,3-일렌), 사이클로헥세닐렌 (예를 들어, 2-사이클로헥센-1,4-일렌; 3-사이클로헥센-1,2-일렌; 2,5-사이클로헥사디엔-1,4-일렌)을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0234] 비스-옥시-C₁₋₃ 알킬렌: 본 명세서에서 사용된 바와 같은, 용어 "비스-옥시-C₁₋₃ 알킬렌"은 식 -O-(CH₂)_q-O-의 두 자리 모이어티에 관련되며, 여기서 q는 1 내지 3, 즉 -OCH₂CH₂CH₂O-, -OCH₂CH₂O-, -OCH₂O-이다.

[0235] 카바메이트 질소 보호기: 용어 "카바메이트 질소 보호기"는 이민 결합에서 질소를 차폐하는 모이어티에 관련되고, 이들은 당해 기술에 공지되어 있다. 이들 기는 하기 구조를 갖는다:



[0236]

[0237] 상기에서 R¹⁰은 상기에서 정의된 R이다. 다수의 적합한 기는, 본 명세서에 참고로 포함된, Greene, T.W. and Wuts, G.M., Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd Edition, John Wiley & Sons, Inc., 1999의 페이지 503 내지 549에 기재되어 있다.

[0238] 헤미-아미달 질소 보호기: 용어 "헤미-아미달 질소 보호기"는 하기 구조를 갖는 기에 속한다:



[0239]

[0240] 상기에서 R¹⁰은 상기에서 정의된 바와 같은 R이다. 다수의 적합한 기는, 본 명세서에 참고로 포함된, Greene, T.W. and Wuts, G.M., Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd Edition, John Wiley & Sons, Inc., 1999의 아미드 보호기로 페이지 633 내지 647에 기재되어 있다.

[0241] 그룹 카바메이트 질소 보호기 및 헤미-아미달 질소 보호기는 공동으로 "합성을 위한 질소 보호기"로 명명될 수 있다.

[0242] 다른 형태를 포함함

[0243] 달리 구체화되지 않는 한, 이들 치환체의 잘 알려진 이온성, 염, 용매화물, 및 보호된 형태가 상기에 포함된다. 예를 들어, 카복실산 (-COOH)에 대한 언급은 또한 이들의 음이온성 (카복실레이트) 형태 (-COO⁻), 염 또는 용매화물뿐만 아니라 통상적인 보호된 형태를 포함한다. 유사하게, 아미노 기에 대한 언급은 아미노 기의 양성자화된 형태 (-NH⁺HR¹R²), 염 또는 용매화물, 예를 들어, 아미노 기의 염산염뿐만 아니라 통상적인 보호된 형태를 포함한다. 유사하게, 하이드록실 기에 대한 언급은 또한 이들의 음이온성 형태 (-O⁻), 염 또는 용매화물뿐만 아니라 통상적인 보호된 형태를 포함한다.

[0244] **염**

[0245] 활성 화합물의 상응하는 염, 예를 들어, 약제학적으로-허용가능한 염을 제조, 정제 및/또는 취급하는 것이 편리하거나 또는 바람직할 수 있다. 약제학적으로 허용가능한 염의 예는 Berge, *et al.*, *J. Pharm. Sci.*, **66**, 1-19 (1977)에 논의되어 있다.

[0246] 예를 들어, 화합물이 음이온성이거나, 또는 음이온성일 수 있는 (예를 들어 -COOH는 -COO⁻일 수 있음) 작용기를 갖는 경우, 염은 적합한 양이온으로 형성될 수 있다. 적합한 무기 양이온의 예는 비제한적으로, 알칼리 금속 이온 예컨대 Na⁺ 및 K⁺, 알칼리토 양이온 예컨대 Ca²⁺ 및 Mg²⁺, 및 다른 양이온 예컨대 Al³⁺을 포함한다. 적합한 유기 양이온의 예는 비제한적으로, 암모늄 이온 (즉 NH₄⁺) 및 치환된 암모늄 이온 (예를 들어 NH₃R⁺, NH₂R₂⁺, NHR₃⁺, NR₄⁺)을 포함한다. 일부 적합한 치환된 암모늄 이온의 예는: 에틸아민, 디에틸아민, 디사이클로헥실아민, 트리에틸아민, 부틸아민, 에틸렌디아민, 에탄올아민, 디에탄올아민, 피페라진, 벤질아민, 페닐벤질아민, 콜린, 메글루민, 및 트로메타민뿐만 아니라 아미노산, 예컨대 라이신 및 아르기닌으로부터 유래된 것들이다. 일반적인 사차 암모늄 이온의 예는 N(CH₃)₄⁺이다.

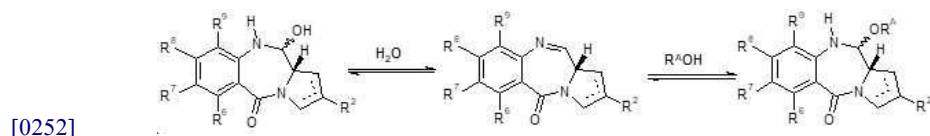
[0247] 화합물이 양이온성이거나, 또는 양이온성일 수 있는 (예를 들어 -NH₂는 -NH₃⁺일 수 있음) 작용기를 갖는 경우, 염은 적합한 음이온으로 형성될 수 있다. 적합한 무기 음이온의 예는, 비제한적으로, 하기 무기 산으로부터 유래된 것들을 포함한다: 염산, 브롬화수소산, 요오드화수소산, 황산, 아황산, 질산, 아질산, 인산, 및 인.

[0248] 적합한 유기 음이온의 예는, 비제한적으로, 하기 유기 산으로부터 유래된 것들을 포함한다: 2-아세트옥시벤조산, 아세트산, 아스코르브산, 아스파르트산, 벤조산, 캄포르실폰산, 신남산, 시트르산, 에데트산, 에탄디실폰산, 에탄설포산, 푸마르산, 글루크헵톤산, 글루콘산, 글루탐산, 글라이콜산, 하이드록시말레산, 하이드록시나프탈렌 카복실, 이세티온산, 락트산, 락토바이온산, 라우르산, 말레산, 말산, 메탄설포산, 뮤신산, 올레산, 옥살산, 팔미트산, 파모산, 판토텐산, 페닐아세트산, 페닐설포산, 프로피온산, 피루브산, 살리실산, 스테아르산, 석신산, 설파닐산, 타르타르산, 툴루엔설포산, 트리플루오로아세트산 및 발레르산. 적합한 폴리머 유기 음이온의 예는, 비제한적으로, 하기 폴리머산으로부터 유래된 것들을 포함한다: 탄닌산, 카복시메틸 셀룰로스.

[0249] **용매화물**

[0250] 활성 화합물의 상응하는 용매화물을 제조, 정제 및/또는 취급하는 것이 편리하거나 또는 바람직할 수 있다. 용어 "용매화물"은 용질 (예를 들어 활성 화합물, 활성 화합물의 염) 및 용매의 복합체를 지칭하는 통상적인 의미로 본 명세서에서 사용된다. 용매가 물인 경우, 용매화물은 수화물, 예를 들어, 일-수화물, 이-수화물, 삼-수화물 등으로 편리하게 지칭될 수 있다.

[0251] 본 발명은 용매가 PBD 모이어티의 이민 결합에 걸쳐 부가되는 화합물을 포함하며, 이것은 용매가 물 또는 알코올 (R^AOH, 여기서 R^A는 C₁₋₄ 알킬임)인 경우 하기에 예시되어 있다:



[0253] 이들 형태는 (상기 R¹⁰에 관한 섹션에서 기재된 바와 같이) PBD의 카비놀아민 및 카비놀아민 에테르 형태로 지칭될 수 있다. 이들 평형상태의 밸런스는 화합물이 발견되는 조건뿐만 아니라 모이어티 자체의 특성에 좌우된다.

[0254] 이들 특정 화합물은, 예를 들어, 동결건조에 의해 고체 형태로 단리될 수 있다.

[0255] **이성질체**

[0256] 본 발명의 특정 화합물은 하나 이상의 특정 기하학적, 광학, 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 에피머, 아트로픽, 입체이성질체, 호변이성질체성, 형태적, 또는 아노머성 형태로, 비제한적으로, 시스- 및 트랜스-형태; E- 및 Z-형태; c-, t-, 및 r- 형태; 엔도- 및 엑소-형태; R-, S-, 및 메소-형태; D- 및 L-형태; d- 및 l-형태; (+) 및 (-) 형태; 케토-, 엔올-, 및 에놀레이트-형태; 유사- 및 항-형태; 향사- 및 배사-형태; α- 및 β-형태;

축 및 적도방향 형태; 보트-, 의자-, 트위스트-, 외피-, 및 반의자-형태를 포함하는 것; 및 이들의 조합으로 존재할 수 있으며, 이하에서 집합적으로 "이성질체" (또는 "이성질체 형태")로 칭한다.

[0257] 용어 "키랄"은 거울상 파트너의 비-포개짐의 특성을 갖는 분자를 지칭하는 반면, 용어 "비키랄"은 그것의 거울상 파트너 상에 포개 수 있는 분자를 지칭한다.

[0258] 용어 "입체이성질체"는 동일한 화학 구성을 갖지만, 공간에서 원자 또는 기의 배열에 관하여 상이한 화합물을 지칭한다.

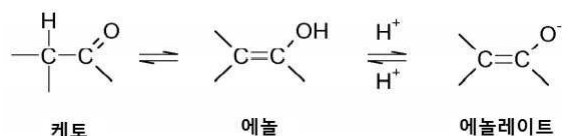
[0259] "부분입체이성질체"는 2 또는 그 초과 키랄성 중심을 가지고 그 분자는 서로 거울상이 아닌 입체이성질체를 지칭한다. 부분입체이성질체는 상이한 물리적 특성, 예를 들어 용융점, 비점, 스펙트럼 특성, 및 반응성을 갖는다. 부분입체이성질체의 혼합물은 고해상도 분석 절차 예컨대 전기영동 및 크로마토그래피 하에서 분리할 수 있다.

[0260] "거울상이성질체"는 서로 포개 수 없는 거울상인 화합물의 2개 입체이성질체를 지칭한다.

[0261] 본 명세서에서 사용된 입체화학적 정의 및 규약은 일반적으로 S. P. Parker, Ed., *McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms* (1984) McGraw-Hill Book Company, New York; 및 Eliel, E. 및 Wilen, S., "Stereochemistry of Organic Compounds", John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994을 따른다. 본 발명의 화합물은 비대칭 또는 키랄 중심을 함유할 수 있고, 따라서 상이한 입체이성질체 형태로 존재할 수 있다. 비제한적으로, 부분입체이성질체, 거울상이성질체 및 회전장애이성질체뿐만 아니라 이들의 혼합물 예컨대 라세미 혼합물을 포함하는 본 발명의 화합물의 모든 입체이성질체 형태는 본 발명의 일부를 형성한다는 것이 의도된다. 많은 유기 화합물은 광학 활성 형태로 존재하며, 즉, 이들은 평면-편광의 면에서 회전하는 능력을 갖는다. 광학적으로 활성 화합물을 기술함에 있어서, 접두어 D 및 L, 또는 R 및 S는 그것의 키랄 중심(들)에 대한 분자의 절대 배열을 나타내기 위해 사용된다. 접두어 d 및 l 또는 (+) 및 (-)는 화합물에 의한 평면-편광의 회전의 부호를 지정하기 위해 이용되며, (-) 또는 l로는 화합물이 좌측회전성이라는 것을 의미한다. (+) 또는 d로 접두어가 붙은 화합물은 우측회전성이다. 주어진 화학 구조에 대해, 이들 입체이성질체는 그들이 서로의 거울상이라는 것을 제외하고는 동일하다. 특이적 입체이성질체는 또한 거울상이성질체로 지칭될 수 있고, 이러한 이성질체의 혼합물은 종종 거울상이성질체 혼합물로 불린다. 거울상이성질체의 50:50 혼합물은 라세미 혼합물 또는 라세미체로 지칭되며, 이것은 화학 반응 또는 과정에서 입체선택 또는 입체특이성이 없는 경우에 발생할 수 있다. 용어들 "라세미 혼합물" 및 "라세미체"는 광학 활성을 결여한, 2개의 거울상이성질체 종의 등몰 혼합물을 지칭한다.

[0262] 본 명세서에서 사용된 바와 같은, 용어 "이성질체"로부터 구체적으로 배제된, 호변이성질체 형태에 대해 아래에서 논의되는 것을 제외하고는 구조적 (또는 구성적) 이성질체 (즉, 단순히 공간에서의 원자의 위치에 의해서가 아니라 원자 사이의 연결이 다른 이성질체)임에 유의한다. 예를 들어, 메톡시기인 -OCH₃에 대한 언급은 그것의 구조 이성질체, 하이드록시메틸기인 -CH₂OH에 대한 언급으로 해석되지 않는다. 유사하게, 오르토-클로로페닐에 대한 언급은 그것의 구조 이성질체, 메타-클로로페닐에 대한 언급으로 해석되지 않는다. 그러나, 구조의 부류에 대한 언급은 그 부류 내에 속하는 구조적으로 이성질체 형태를 역시 포함할 수 있다 (예를 들어 C₁₋₇ 알킬은 n-프로필 및 이소-프로필을 포함하고; 부틸은 n-, 이소-, sec-, 및 tert-부틸을 포함하고; 메톡시페닐은 오르토-, 메타-, 및 파라-메톡시페닐을 포함한다).

[0263] 상기 배제는, 예를 들어, 하기 호변이성질체 쌍: 케토/에놀 (하기에 예시됨), 이민/엔아민, 아미드/이미노 알코올, 아미딘/아미딘, 니트로소/옥심, 티오케톤/엔에티올, N-니트로소/하이록시아조, 및 니트로/아지-니트로에 서로 같이, 호변이성질체 형태, 예를 들어, 케토-, 에놀-, 및 에놀레이트-형태에 속하지 않는다.



[0264]

[0265] 용어 "호변이성질체" 또는 "호변이성질체 형태"는 낮은 에너지 장벽을 통해 상호전환가능한 상이한 에너지의 구조 이성질체를 지칭한다. 예를 들어, 양성자 호변이성질체 (양성자성 호변이성질체로도 알려져 있음)는 케토-에놀 및 이민-엔아민 이성질체화와 같은 양성자의 이동을 통한 상호전환을 포함한다. 원자가 호변이성질체는 결합 전자 중 일부의 재구성에 의한 상호전환을 포함한다.

[0266] 하나 이상의 동위원소 치환을 갖는 화합물이 용어 "이성질체"에 구체적으로 포함된다는 것에 유의한다. 예를 들어, H는 ^1H , ^2H (D), 및 ^3H (T)를 포함한 임의의 동위원소 형태로 될 수 있고; C는 ^{12}C , ^{13}C , 및 ^{14}C 를 포함한 임의의 동위원소 형태로 될 수 있고; O는 ^{16}O 및 ^{18}O 를 포함한 임의의 동위원소 형태로 될 수 있고; 그리고 기타 등이다.

[0267] 본 발명의 화합물에 포함될 수 있는 동위원소의 예는 수소, 탄소, 질소, 산소, 인, 불소, 및 염소의 동위원소, 예컨대, 비제한적으로 ^2H (중수소, D), ^3H (삼중수소), ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl , 및 ^{125}I 를 포함한다. 본 발명의 다양한 동위원소로 표지된 화합물, 예를 들어 그 안에 방사성 동위원소 예컨대 ^3H , ^{13}C , 및 ^{14}C 가 포함된 것들. 그와 같은 동위원소로 표지된 화합물은 대사 연구, 반응 동력학 연구, 검출 또는 이미징 형성 기술, 예컨대 약물 또는 기질 조직 분포 검정을 포함한 양전자 방출 단층촬영 (PET) 또는 단일-광자 방출 전산화단층촬영법 (SPECT), 또는 환자의 방사성 치료에서 유용할 수 있다. 본 발명의 중수소 표지된 또는 치환된 치료 화합물은 분포, 대사, 및 배출 (ADME)에 관한 개선된 DMPK (약물 대사 및 약동학) 특성을 가질 수 있다. 더 무거운 동위원소 예컨대 중수소로의 치환은 보다 큰 대사 안정성, 예를 들어 증가된 생체내 반감기 또는 감소된 투약량 요건을 초래하는 특정 치료적 이점을 부여할 수 있다. ^{18}F 표지된 화합물은 PET 또는 SPECT 연구에 대해 유용할 수 있다. 본 발명의 동위원소로 표지된 화합물 및 이들의 전구약물은 일반적으로 비-동위원소로 표지된 시약에 대해 쉽게 이용가능한 동위원소로 표지된 시약을 치환함에 의해 하기에 기재된 반응식에 또는 실시예 및 제조에서 개시된 절차를 수행함에 의해 제조될 수 있다. 또한, 더 무거운 동위원소, 특히 중수소 (즉, ^2H 또는 D)로의 치환은 더 큰 대사 안정성, 예를 들어 증가된 생체내 반감기 또는 감소된 투약량 요건 또는 치료 지수에서의 개선을 초래하는 특정 치료적 이점을 부여할 수 있다. 이 문맥에서 중수소는 치환체로 간주된다는 것이 이해된다. 이러한 더 무거운 동위원소, 구체적으로 중수소의 농도는 동위원소 농축 인자에 의해 정의될 수 있다. 본 발명의 화합물에서 특정 동위원소로 구체적으로 지정되지 않은 임의의 원자는 그 원자의 임의의 안정한 동위원소를 나타내기 위한 것이다.

[0268] 달리 구체화되지 않는 한, 특정 화합물에 대한 언급은 (전체적으로 또는 부분적으로) 라세미 및 다른 이들의 혼합물을 포함한 모든 그와 같은 이성질체 형태를 포함한다. 이러한 이성질체 형태의 제조 (예를 들어 비대칭 합성) 및 분리 (예를 들어 단편적인 결정화 및 크로마토그래피 수단)를 위한 방법은 당업계에서 알려져 있거나 또는 본 명세서에서 개시된 방법, 또는 알려진 방법을 적용함에 의해 알려진 방식에서 쉽게 수득된다.

[0269] **리간드 단위**

[0270] 리간드 단위는 임의의 종류일 수 있고, 표적 분자에 특이적으로 결합하는 단백질, 폴리펩타이드, 펩타이드 및 비-펩타이드 제제를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 리간드 단위는 단백질, 폴리펩타이드 또는 펩타이드일 수 있다. 일부 구현예에서, 리간드 단위는 환형 폴리펩타이드일 수 있다. 이들 리간드 단위는 표적에 특이적으로 결합할 수 있는 적어도 하나의 표적 분자-결합 부위, 림포카인, 호르몬, 성장 인자, 또는 임의의 다른 세포 결합 분자 또는 서브스틴스를 함유하는 항체 또는 항체의 단편을 포함할 수 있다.

[0271] 용어들 "특이적으로 결합한다" 및 "특이적 결합"은 사전결정된 분자 (예를 들어, 항원)에 대한 항체 또는 다른 단백질, 폴리펩타이드 또는 펩타이드의 결합을 지칭한다. 전형적으로, 항체 또는 다른 분자는 적어도 약 $1 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ 의 친화도로 결합하고, 사전결정된 분자 또는 밀접하게-관련된 분자 이외의 비-특이적 분자 (예를 들어, BSA, 카세인)에 결합에 대한 그것의 친화력보다 적어도 2-배 더 큰 친화도로 사전결정된 분자에 결합한다.

[0272] 리간드 단위의 예는 본 명세서에 포함된 WO 2007/085930에서 사용하기 위해 기재된 제제들을 포함한다.

[0273] 일부 구현예에서, 리간드 단위는 세포 상의 세포외 표적에 결합하는 세포 결합제이다. 이러한 세포 결합제는 단백질, 폴리펩타이드, 펩타이드 또는 비-펩타이드 제제일 수 있다. 일부 구현예에서, 세포 결합제는 단백질, 폴리펩타이드 또는 펩타이드일 수 있다. 일부 구현예에서, 세포 결합제는 환형 폴리펩타이드일 수 있다. 세포 결합제는 또한 항체 또는 항체의 항원-결합 단편일 수 있다. 따라서, 일 구현예에서, 본 발명은 항체-약물 콘주게이트 (ADC)를 제공한다.

[0274] **세포 결합제**

[0275] 세포 결합제는 임의의 종류일 수 있고, 펩타이드 및 비-펩타이드를 포함한다. 이들은 적어도 하나의 결합 부위, 림포카인, 호르몬, 호르몬 모방체, 비타민, 성장 인자, 영양소-수송 분자, 또는 임의의 다른 세포 결합 분자 또는 서브스틴스를 함유하는 항체 또는 항체의 단편을 포함할 수 있다.

- [0276] 펩타이드
- [0277] 일 구현예에서, 세포 결합체는 4-30개, 바람직하게는 6-20개의 인접 아미노산 잔기를 포함하는 선형 또는 환형 펩타이드이다. 이 구현예에서, 바람직하게는, 하나의 세포 결합체는 하나의 단량체 또는 이량체 피롤로벤조디아제핀 화합물에 연결된다.
- [0278] 일 구현예에서 세포 결합체는 인테그린 $\alpha_v\beta_6$ 을 결합하는 펩타이드를 포함한다. 펩타이드는 $\alpha_v\beta_6$ 에 대해 선택적일 수 있다.
- [0279] 일 구현예에서 세포 결합체는 A20FMDV-Cys 폴리펩타이드를 포함한다. A20FMDV-Cys는 서열: NAVPNLRGDLQVLQAQKVARTC를 갖는다. 대안적으로, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산 잔기가 또 다른 아미노산 잔기로 치환된 A20FMDV-Cys 서열의 변이체가 사용될 수 있다. 또한, 폴리펩타이드는 서열 NAVXXXXXXXXXXXXXXXXXRTC를 가질 수 있다.
- [0280] 항체
- [0281] 본 명세서에서 용어 "항체"는 최광의 개념으로 사용되고, 목적하는 생물학적 활성을 나타내는 한, 구체적으로 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 이량체, 다량체, 다중특이적 항체 (예를 들어, 이중특이적 항체), 다가 항체 및 항체 단편을 포함한다 (Miller 등 (2003) *Jour. of Immunology* 170:4854-4861). 항체들은 쥐 항체, 인간 항체, 인간화된 항체, 키메라 항체 또는 기타 종류로부터 유래된 항체일 수 있다. 항체는 특이적 항원을 인식 및 결합할 수 있는 면역계에 의해 생성된 단백질이다 (Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immuno Biology, 5th Ed.*, Garland Publishing, New York). 표적 항원은 일반적으로 다중 항체에서 CDR에 의해 인식되는 많은 결합 위치 (이른바, 에피토프)를 갖는다. 상이한 에피토프에 특이적으로 결합하는 각각의 항체는 상이한 구조를 갖는다. 따라서, 1종의 항원은 1종 이상의 상응하는 항체를 가질 수 있다. 항체는 전장의 면역글로불린 분자 또는 전장의 면역글로불린 분자의 면역 활성 부분, 즉 목적 표적 항원 또는 이의 일부에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 위치를 포함하는 분자를 포함하고, 상기 표적은, 이들로 제한하는 것은 아니나, 자가면역 질환과 관련된 자가면역 항체를 생산하는 암세포 또는 세포들을 포함한다. 면역글로불린은 임의의 유형 (예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD, 및 IgA), 면역글로불린 분자의 부류 (예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 하위 부류일 수 있다. 상기 면역글로불린은 인간, 쥐 또는 토끼 기원을 비롯한 임의의 종류로부터 유래될 수 있다.
- [0282] "항체 단편"은 전장 항체의 부분, 일반적으로 이들의 항원 결합 또는 가변 영역을 포함한다. 항체 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab')₂, 및 scFv 단편; 디아바디; 선형 항체; 암 세포 항원, 바이러스 항원 또는 미생물 항원, 단일-사슬 항체 분자에 면역특이적으로 결합하는 Fab 발현 라이브러리, 항-개체특이형 (항-Id) 항체, CDR (상보성 결정 영역), 및 상기 중 어느 하나의 에피토프-결합 단편에 의해 생산된 단편; 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함한다.
- [0283] 본 명세서에서 사용된 바와 같은 용어 "단클론성 항체"는 실질적으로 동종 항체의 모집단으로부터 획득된 항체를 지칭하며, 즉 모집단을 포함하는 개별 항체는 소량으로 존재할 수 있는 가능한 자연 발생 돌연변이를 제외하고 동일하다. 단클론성 항체는 고도로 특이적이어서, 단일 항원성 부위에 대해 지향된다. 또한, 상이한 결정인자 (에피토프)에 대해 지향된 상이한 항체를 포함하는 다클론성 항체 제제에 대조적으로, 각각의 단클론성 항체는 항원 상의 단일 결정인자에 대해 지향된다. 그것의 특이성에 부가하여, 단클론성 항체는 이들이 다른 항체에 의해 오염되지 않고 합성될 수 있다는 점에서 유리하다. 개질제 "단클론성"은 실질적으로 동종 항체의 모집단으로부터 획득되는 항체의 특성을 나타내고, 임의의 특정 방법에 의해 항체의 생산을 요하는 것으로 해석되지 않는다. 예를 들어, 본 발명에 따라 사용되는 단클론성 항체는 먼저 Kohler *et al* (1975) *Nature* 256:495에 의해 기재된 하이브리도마 방법에 의해 제작될 수 있거나, 또는 제조할 DNA 방법 (US 4816567 참고)에 의해 제작될 수 있다. 단클론성 항체는 또한 Clackson *et al* (1991) *Nature*, 352:624-628; Marks *et al* (1991) *J. Mol. Biol.*, 222:581-597에 기재된 기술을 사용하여 파아지 항체 라이브러리로부터 단리되거나 또는 완전 인간 면역글로불린 시스템을 수반하는 형질전환 마우스 (Lonberg (2008) *Curr. Opinion* 20(4):450-459)로부터 단리될 수 있다.
- [0284] 본 명세서에서 단클론성 항체는 구체적으로 키메라 항체, 인간화된 항체 및 인간 항체를 포함한다.
- [0285] 세포 결합체의 예는, 본 명세서에 포함된, WO 2007/085930에서 사용하기 위해 기재된 제제들을 포함한다.
- [0286] 본 발명의 구현예에서 사용하기 위한 종양-관련 항원 및 동족 항체는 아래 열거되고, 본원에 편입되는, WO

2017/186894의 페이지 14 내지 86에서 더욱 상세히 기재된다.

- [0287] (1) BMPR1B (뼈 형태 형성 단백질 수용체-유형 IB)
- [0288] (2) E16 (LAT1, SLC7A5)
- [0289] (3) STEAP1 (전립샘의 6개의 막투과성 상피 항원)
- [0290] (4) 0772P (CA125, MUC16)
- [0291] (5) MPF (MPF, MSLN, SMR, 거핵세포 효력 증가 인자, 메소텔린)
- [0292] (6) Napi3b (NAPI-3B, NPTIIb, SLC34A2, 용질 담체 패밀리 34 (소듐 포스페이트), 구성원 2, 유형 II 나트륨-의존적 인산염 수송체 3b)
- [0293] (7) 세마 5b (FLJ10372, KIAA1445, Mm.42015, SEMA5B, SEMAG, 세마포린 5b Hlog, 25개의 세마 도메인, 7개의 트롬보스폰딘 반복체 (유형 1 및 유형 1-유사), 막투과성 도메인 (TM) 및 짧은 세포질 도메인, (세마포린) 5B)
- [0294] (8) PSCA hlg (2700050C12Rik, C530008016Rik, RIKEN cDNA 2700050C12, RIKEN cDNA 2700050C12 유전자)
- [0295] (9) ETBR (엔도텔린 유형 B 수용체)
- [0296] (10) MSG783 (RNF124, 가상 단백질 FLJ20315)
- [0297] (11) STEAP2 (HGNC_8639, IPCA-1, PCANAP1, STAMP1, STEAP2, STMP, 전립샘 암 관련 유전자 1, 전립샘 암 관련 단백질 1, 전립샘 2의 6개의 막투과성 상피 항원, 6개의 막투과성 전립샘 단백질)
- [0298] (12) TrpM4 (BR22450, FLJ20041, TRPM4, TRPM4B, 일과성 수용체 전위 양이온 5 채널, 서브패밀리 M, 구성원 4)
- [0299] (13) CRIPTO (CR, CR1, CRGF, CRIPTO, TDGF1, 기형암종-유래 성장 인자)
- [0300] (14) CD21 (CR2 (보체 수용체 2) 또는 C3DR (C3d/엡스타인 바 바이러스 수용체) 또는 Hs.73792)
- [0301] (15) CD79b (CD79B, CD79β Igb (면역글로불린 관련 베타), B29)
- [0302] (16) FcRH2 (IFGP4, IRTA4, SPAP1A (SH2 도메인 함유 포스파타아제 앵커 단백질 1a), SPAP1B, SPAP1C)
- [0303] (17) HER2 (ErbB2)
- [0304] (18) NCA (CEACAM6)
- [0305] (19) MDP (DPEP1)
- [0306] (20) IL20R-알파 (IL20Ra, ZCYTOR7)
- [0307] (21) 브레비칸 (BCAN, BEHAB)
- [0308] (22) EphB2R (DRT, ERK, Hek5, EPHT3, Tyro5)
- [0309] (23) ASLG659 (B7h)
- [0310] (24) PSCA (전립샘 줄기 세포 항원 전구체)
- [0311] (25) GEDA
- [0312] (26) BAFF-R (B 세포-활성 인자 수용체, BlyS 수용체 3, BR3)
- [0313] (27) CD22 (B-세포 수용체 CD22-B 동형, BL-CAM, Lyb-8, Lyb8, SIGLEC-2, FLJ22814)
- [0314] (27a) CD22 (CD22 분자)
- [0315] (28) CD79a (CD79A, CD79알파), 면역글로불린-관련 알파, B 세포-특이적 단백질로, Ig 베타 (CD79B)와 공유적으로 상호작용하고, 표면에서 Ig M 분자와 복합체를 형성하고, B-세포분화에 관여하는 신호를 전달함), pI: 4.84, MW: 25028 TM: 2[P] 유전자 염색체: 19q13.2).
- [0316] (29) CXCR5 (버킷 림프구 수용체 1, G 단백질-결합 수용체로, CXCL13 케모카인에 의해 활성화되고, 림프구 이동 및 체액성 방어에서 기능하며, HIV-2 감염 및 아마도 AIDS, 림프종, 골수종, 및 백혈병의 진행에서 10 역할을 수행함); 372 aa, pI: 8.54 MW: 41959 TM: 7 [P] 유전자 염색체: 11q23.3,

- [0317] (30) HLA-DOB (펩티드를 결합시키고, 20개는 이들을 CD4+ T 림프구에 제공하는 베타 서브유니트의 MHC 클래스 II 분자 (Ia 항원)); 273 aa, pI: 6.56, MW: 30820.TM: 1 [P] 유전자 염색체: 6p21.3)
- [0318] (31) P2X5 (푸린 수용체 P2X 리간드-게이트 이온 채널 5, 세포 등 ATP에 의한 게이트 이온 채널은 시냅스 전달 및 신경 발생에 포함될 수 있고, 결합은 특발성 배뇨근 불안정을 초래할 수 있음); 422 aa), pI: 7.63, MW: 47206 TM: 1 [P] 유전자 염색체: 17p13.3).
- [0319] (32) CD72 (B-세포 분화 항원 CD72, Lyb-2); 359 aa, pI: 8.66, MW: 40225, TM: 15 [P] 유전자 염색체: 9p13.3).
- [0320] (33) LY64 (림프구 항원 64 (RP105), 류신 풍부 반복체 (LRR) 패밀리의 유형 I 막 단백질은 B-세포 활성화 및 세포사멸을 조절하고, 기능의 손실은 전신 홍반성 낭창 환자에서 질환 활성의 증가와 관련됨); 661 aa, pI: 6.20, MW: 74147 TM: 1 [P] 유전자 염색체: 5q12).
- [0321] (34) FcRH1 (Fc 수용체-형 단백질 1, C2 유형 Ig-유사 및 ITAM 도메인을 포함하는 면역글로불린 Fc 도메인의 추정 수용체는 B-림프구 20 분화에서 역할을 가질 수 있음); 429 aa, pI: 5.28, MW: 46925 TM: 1 [P] 유전자 염색체: 1q21-1q22)
- [0322] (35) IRTA 2 (면역글로불린 슈퍼패밀리 수용체 전좌 관련 2, B 세포 발달 및 림프종 발달에서 가능한 역할을 갖는 추정 면역수용체; 전좌에 의한 유전자의 규제완화가 일부 B 세포 악성종양에서 발생함); 977 aa, pI: 6.88, MW: 106468, TM: 1 [P] 유전자 염색체: 1q21)
- [0323] (36) TENB2 (TMEFF2, 토모레클린, TPEF, HPP1, TR, 추정 막투과성 35 프로테오글리칸, 폴리스타틴 및 성장 인자의 EGF/헤레클린 패밀리 관련); 374 aa)
- [0324] (37) PSMA - FOLH1 (엽산 가수분해효소 (전립샘-특이적 막 항원) 1)
- [0325] (38) SST (소마토스타틴 수용체; 주의: 5 하위유형 존재)
- [0326] (38.1) SSTR2 (소마토스타틴 수용체 2)
- [0327] (38.2) SSTR5 (소마토스타틴 수용체 5)
- [0328] (38.3) SSTR1
- [0329] (38.4) SSTR3
- [0330] (38.5) SSTR4
- [0331] **AvB6 - 양쪽 서브유니트 (39+40)**
- [0332] (39) ITGAV (인테그린, 알파 V)
- [0333] (40) ITGB6 (인테그린, 베타 6)
- [0334] (41) CEACAM5 (암태아성 항원-관련 세포 부착 분자 5)
- [0335] (42) MET (met 원발암유전자; 간세포 성장 인자 수용체)
- [0336] (43) MUC1 (뮤신 1, 세포 표면 관련)
- [0337] (44) CA9 (탄산 무수화효소 IX)
- [0338] (45) EGFRvIII (상피 성장 인자 수용체 (EGFR), 전사 변이체 3,
- [0339] (46) CD33 (CD33 분자)
- [0340] (47) CD19 (CD19 분자)
- [0341] (48) IL2RA (인터루킨 2 수용체, 알파); NCBI 참조 서열: NM_000417.2);
- [0342] (49) AXL (AXL 수용체 티로신 키나아제)
- [0343] (50) CD30 - TNFRSF8 (종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리, 구성원 8)
- [0344] (51) BCMA (B-세포 성숙 항원) - TNFRSF17 (종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리, 구성원 17)

- [0345] (52) CT Ags - CTA (암 교환 항원)
- [0346] (53) CD174 (루이스 Y) - FUT3 (푸코실트랜스퍼라아제 3 (갈락토시드 3(4)-L-푸코실트랜스퍼라아제, 루이스 혈액형)
- [0347] (54) CLEC14A (C-유형 렉틴 도메인 패밀리 14, 구성원 A; 유전자은행 수탁 번호 NM175060)
- [0348] (55) GRP78 - HSPA5 (열 충격 70kDa 단백질 5 (당-조절 단백질, 78kDa)
- [0349] (56) CD70 (CD70 분자) L08096
- [0350] (57) 줄기 세포 특이적 항원. 예를 들어:
 - [0351] ● 5T4 (엔트리 (63) 참조)
 - [0352] ● CD25 (엔트리 (48) 참조)
 - [0353] ● CD32
 - [0354] ● LGR5/GPR49
 - [0355] ● 프로미닌/CD133
- [0356] (58) ASG-5
- [0357] (59) ENPP3 (엑토뉴클레오티드 피로포스파타아제/포스포디에스테라아제 3)
- [0358] (60) PRR4 (프롤린 풍부 4 (눈물샘))
- [0359] (61) GCC - GUCY2C (구아닐레이트 시클라아제 2C (열 무변성 엔테로톡신 수용체)
- [0360] (62) Liv-1 - SLC39A6 (용질 담체 패밀리 39 (아연 수송체), 구성원 6)
- [0361] (63) 5T4, 영양아층 당단백질, TPBG - TPBG (영양아층 당단백질)
- [0362] (64) CD56 - NCMA1 (신경 세포 부착 분자 1)
- [0363] (65) CanAg (종양 관련 항원 CA242)
- [0364] (66) FOLR1 (엽산 수용체 1)
- [0365] (67) GPNMB (당단백질 (막투과성) nmb)
- [0366] (68) TIM-1 - HAVCR1 (A형 간염 세포 수용체 1)
- [0367] (69) RG-1/전립샘 종양 표적 민딘 - 민딘/RG-1
- [0368] (70) B7-H4 - VTCN1 (V-세트 도메인 함유 T-세포 활성화 억제제 1)
- [0369] (71) PTK7 (PTK7 단백질 티로신 키나아제 7)
- [0370] (72) CD37 (CD37 분자)
- [0371] (73) CD138 - SDC1 (신데칸 1)
- [0372] (74) CD74 (CD74 분자, 주요 조직적합성 복합체, 클래스 II 불변 사슬)
- [0373] (75) 클라우딘 - CLs (클라우딘)
- [0374] (76) EGFR (상피 성장 인자 수용체)
- [0375] (77) Her3 (ErbB3) - ERBB3 (v-erb-b2 적아세포 백혈병 바이러스 암유발유전자 상동체 3 (조류))
- [0376] (78) RON - MST1R (대식세포 자극 1 수용체 (c-met-관련 티로신 키나아제))
- [0377] (79) EPHA2 (EPH 수용체 A2)
- [0378] (80) CD20 - MS4A1 (막-폭 4-도메인, 서브패밀리 A, 구성원 1)
- [0379] (81) 테나신 C - TNC (테나신 C)

- [0380] (82) FAP (섬유아세포 활성 단백질, 알파)
- [0381] (83) DKK-1 (디코프 1 상동체 [제노푸스 래비스])
- [0382] (84) CD52 (CD52 분자)
- [0383] (85) CS1 - SLAMF7 (SLAM 패밀리 구성원 7)
- [0384] (86) 엔도글린-ENG (엔도글린)
- [0385] (87) 아넥신 A1-ANXA1 (아넥신 A1)
- [0386] (88) V-CAM (CD106) - VCAM1 (혈관 세포 부착 분자 1)
- [0387] 세포 결합체는, 예를 들어, 편입 이전에 콘주게이트, 또는 콘주게이트의 일부로서 제제의 검출 또는 정제를 보조하기 위해 표지될 수 있다. 표지는 바이오틴 표지될 수 있다. 또 다른 구현예에서, 세포 결합체는 방사성 동위원소로 표지될 수 있다.
- [0388] *리간드 단위에 대한 링커 단위의 연결*
- [0389] 리간드 단위는 디설파이드 결합을 통해 링커 단위에 연결될 수 있다.
- [0390] 일 구현예에서, 리간드 단위와 약물 링커 사이의 연결은 리간드 단위 시스테인 잔기의 티올기와 약물 링커 단위의 말레이미드기 사이에 형성된다.
- [0391] 리간드 단위의 시스테인 잔기는 연결을 형성하기 위해 링커의 작용기와의 반응에 대해 이용가능할 수 있다. 다른 구현예에서, 예를 들면, 리간드 단위가 항체인 경우, 항체의 티올기는 사슬간 디설파이드 결합에 참여할 수 있다. 이들 사슬간 결합은 예를 들면 링커 단위의 작용기와의 반응 이전에 DTT로의 항체의 처리에 의해 유리 티올기로 변환될 수 있다.
- [0392] 일부 구현예에서, 시스테인 잔기는 항체의 중쇄 또는 경쇄에 도입된다. 항체 중쇄 또는 경쇄에 의한 치환에 의한 시스테인 삽입을 위한 위치는 공개된 미국출원번호 제2007-009294호 및 국제특허공보 WO2008070593에 기재된 것을 포함하고, 이는 본원에 편입된다.
- [0393] 치료 방법
- [0394] 본 발명의 화합물은 요법의 방법에서 사용될 수 있다. 또한, 치료적 유효량의 화학식 II의 콘주게이트를 치료를 필요로 하는 피험체에게 투여하는 단계를 포함하는 치료 방법이 제공된다. 용어 "치료적 유효량"은, 환자에 대한 장점을 나타내기엔 충분한 양이다. 이와 같은 장점은 적어도 하나의 증상의 적어도 완화될 수 있다. 투여되는 실제 양 및 투여의 속도 및 시간-경과는 치료되는 대상의 특징 및 중증도에 좌우될 것이다. 치료의 처방, 예를 들면 복용량에 대한 결정은 일반 종사자 및 다른 의사의 책임 내에 있다.
- [0395] 콘주게이트는 치료되는 질병에 따라 동시에 또는 순차적으로 단독 또는 다른 치료와 병용하여 투여될 수 있다. 치료 및 요법의 예는, 화학요법 (활성제 예를 들면 약물의 투여); 수술; 및 방사선 요법을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0396] 본 발명에 따른 그리고 본 발명의 따라 사용하기 위한 약학적 조성물은 활성 성분 이외에, 즉, 화학식 I의 콘주게이트, 약제학적으로 허용가능한 부형제, 담체, 버퍼, 안정제 또는 당업자에게 알려진 다른 물질을 포함할 수 있다. 이러한 물질은 무독성이어야 하고, 활성 성분의 효능을 방해하지 않아야 한다. 담체 또는 다른 물질의 정확한 특징은 경구, 또는 주사, 예를 들면 피부, 피하, 또는 정맥내일 수 있는 투여 경로에 좌우될 것이다.
- [0397] 경구 투여를 위한 약학적 조성물은 정제, 캡슐, 분말 또는 액체 형태일 수 있다. 정제는 고형 담체 또는 아쥘반트를 포함할 수 있다. 액체 약학적 조성물은 일반적으로 액체 담체 예컨대 물, 석유, 동물 또는 식물성 오일, 광유 또는 합성 오일을 포함한다. 생리적 염수 용액, 텍스트로오스 또는 다른 당류 용액 또는 글리콜 예컨대 에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜이 포함될 수 있다. 캡슐은 젤라틴과 같은 고형 담체를 포함할 수 있다.
- [0398] 정맥내, 피부 또는 피하 주사, 또는 고통의 부위에서의 주사의 경우에, 활성 성분은 무발열원이고, 적합한 pH, 등장성 및 안정성을 갖는 비경구로 허용가능한 수용액의 형태일 것이다. 본 기술분야에서의 당업자는 예를 들면, 등장의 비히클 예컨대 염화나트륨 주사, 링거 주사, 락테이트화된 링거 주사를 사용하여 적합한 용액을 적절하게 제조할 수 있다. 보존제, 안정제, 버퍼, 산화방지제 및/또는 다른 첨가제는 요구되는 경우에 포함될 수

있다.

[0399] 상기 콘주게이트는 증식성 질환 및 자가면역 질환을 치료하기 위해 사용될 수 있다. 용어 "증식성 질환"은, 바람직하지 않은, 예컨대, *시험관내* 또는 *생체내*와 무관하게 신생물성 또는 과형성 성장일 수 있는 과도한 또는 비정상 세포의 원치 않는 또는 조절되지 않는 세포 증식에 관한 것이다.

[0400] 증식성 병태의 예는, 비제한적으로, 양성, 전암성, 및 악성 세포 증식을 포함하고, 이는 비제한적으로 신생물 및 종양 (예를 들면, 조직구종, 신경아교종, 성상 세포종, 골종), 암 (예를 들면 폐암, 소세포 폐암, 위장 암, 장암, 결장암, 유방 암종, 난소 암종, 전립선암, 고환암, 간암, 신장암, 방광암, 췌장암, 뇌암, 육종, 골육종, 카포시 육종, 흑색종), 백혈병, 건선, 뼈 질환, 섬유증식성 장애 (예를 들면 결합 조직의 것), 및 죽상경화증을 포함한다. 관심 대상의 다른 암은, 비제한적으로, 혈액암; 악성종양 예컨대 백혈병 및 림프종, 예컨대 비-호지킨 림프종, 및 하위유형 예컨대 DLBCL, 변연부, 외투세포, 및 여포성, 호지킨 림프종, AML, 및 B 또는 T 세포 기원의 다른 암을 포함한다. 비제한적으로, 폐, 위장 (예를 들어 창자, 결장을 포함함), 유방 (유선), 난소, 전립선, 간 (간), 신장 (신장), 방광, 췌장, 뇌, 및 피부를 포함한 임의의 유형의 세포가 처리될 수 있다.

[0401] 자가면역 질환의 예는 하기를 포함한다: 류마티스성 관절염, 자가면역 탈수초 질환 (예를 들면, 다발성 경화증, 알리지성 뇌척수염), 건선성 관절염, 내분비 눈병증, 포도막막염, 전신 홍반성 낭창, 중증 근무력증, 그레이브스병, 사구체신염, 자가면역 간장 장애, 염증성 장 질환 (예를 들면, 크론병), 과민증, 알리지성 반응, 쇼그렌 증후군, I형 진성 당뇨병, 원발성 담도성 간경변증, 베게너 육아종증, 섬유근육통, 다발성근염, 피부근염, 다중 내분비 부전, 슈미트 증후군, 자가면역 포도막염, 애디슨병, 부신염, 갑상선염, 하시모토 갑상선염, 자가면역 갑상선 질환, 악성 빈혈, 위 위축증, 만성 간염, 유낭창 간염, 죽상경화증, 아급성 피부 홍반성 낭창, 부갑상선기능저하증, 드레슬러 증후군, 자가면역 혈소판감소증, 특발성 혈소판감소성 자반병, 용혈성 빈혈, 심상성 천포창, 천포창, 포진성 피부염, 원형 탈모증, 유사천포창, 경피증, 진행성 전신 경화증, CREST 증후군 (석회증, 레이노 증후군 현상, 식도 운동성장애, 가락피부경화증, 및 모세혈관확장증), 남성 및 여성 자가면역 불임, 강직성 척추염, 궤양성 대장염, 혼합된 결합 조직 질환, 결절 다발 동맥염, 전신 괴사성 혈관염, 아토피 피부염, 아토피성 비염, 굼파스투어 증후군, 샤가스 질환, 유육종증, 류마티스성 열, 천식, 재발성 낙태, 항-인지질 증후군, 농부폐병, 홍반 다형성, 심장수술후 증후군, 쿠싱 증후군, 자가면역 만성 활동 간염, 새-사육가 폐, 독성 표피 괴사성용해, 알포트 증후군, 폐포염, 알리지성 폐포염, 섬유성 폐포염, 사이질 폐 질환, 결절 홍반, 괴저성 농피증, 수혈 반응, 다카야수 동맥염, 류마티스성 다발근육통, 일시적 동맥염, 주혈협착증, 거대세포 동맥염, 회충증, 아스페르길루스증, 샴프터 증후군, 습진, 림프종모양 육아종증, 베체트병, 카플란 증후군, 가와사키병, 땀기열, 뇌척수염, 심내막염, 심내막심근 섬유증, 내안구염, 지속시간 용기 홍반, 건선, 태아적모구증, 호산구 근막염, 술만 증후군, 펠티 증후군, 사상충증, 모양체염, 만성 모양체염, 헤테로만성 모양체염, 푸치스 모양체염, IgA 신병증, 헨노흐-손라인 자반병, 이식편대 숙주 질환, 이식 거부, 심근병증, 이튼-람베르트 증후군, 재발 다연골염, 한성글로불린혈증, 발덴스트롬 거대글로불린혈증, 이반 증후군, 및 자가면역 성선부전증.

[0402] 일부 구현예에서, 자가면역 질환은 B 림프구의 장애 (예를 들면, 전신 홍반성 낭창, 굼파스투어 증후군, 류마티스성 관절염, 및 I형 당뇨병), Th1-림프구 (예를 들면, 류마티스성 관절염, 다발성 경화증, 건선, 쇼그렌 증후군, 하시모토 갑상선염, 그레이브스병, 원발성 담도성 간경변증, 베게너 육아종증, 결핵, 또는 이식편대 숙주 질환), 또는 Th2-림프구 (예를 들면, 아토피 피부염, 전신 홍반성 낭창, 아토피성 천식, 비결막염 알리지성 비염, 오픈 증후군, 전신 경화증, 또는 만성 이식편 대 숙주 질환)이다. 일반적으로, 수지상 세포와 관련된 장애는 Th1-림프구 또는 Th2-림프구의 장애와 관련된다. 일부 구현예에서, 자가면역 장애는 T 세포-매개된 면역학적 장애이다.

[0403] **치료 방법**

[0404] 본 발명의 콘주게이트는 요법의 방법에 사용될 수 있다. 치료를 요하는 대상체에게 본 발명의 치료적으로-유효량의 콘주게이트 화합물을 투여하는 것을 포함하는 치료 방법이 또한 제공된다. 용어 "치료 유효량"은 환자에게 이점을 나타내기엔 충분한 양이다. 그와 같은 이점은 적어도 하나의 증상의 적어도 개선일 수 있다. 투여된 실제 양 및 투여의 속도와 시간경과는 치료되어 지는 것의 특성과 중증도에 의존할 것이다. 치료의 처방전, 예를 들어 투약량에 대한 결정은 일반 의사 및 기타 의사의 책임 내에 있다.

[0405] 본 발명의 화합물은 단독으로 또는 다른 치료와 조합하여, 치료될 병태에 좌우되어 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다. 치료 및 요법의 예는, 비제한적으로, 화학요법 (예를 들어 약물, 예컨대 화학치료제를 포함함, 활성제의 투여); 수술; 및 방사선 요법을 포함한다.

[0406] "화학치료제"는 작용 기전에 무관하게 암의 치료에 유용한 화합물이다. 화학치료제의 부류는 알킬화제, 항대사제, 스펀들 독 식물성 알칼로이드, 세포독성/항종양 항생제, 토포이소머라제 억제제, 항체, 광감작제, 및 키나제 억제제를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 화학치료제는 "표적 요법" 및 통상적인 화학요법에서 사용된 화합물을 포함한다.

[0407] 화학치료제의 예는 하기를 포함한다: 에를로티닙 (TARCEVA®, Genentech/OSI Pharm.), 도세탁셀 (TAXOTERE®, Sanofi-Aventis), 5-FU (플루오로우라실, 5-플루오로우라실, CAS No. 51-21-8), 겐시타빈 (GEMZAR®, Lilly), PD-0325901 (CAS No. 391210-10-9, Pfizer), 시스플라틴 (시스-디아민, 디클로로백금(II), CAS No. 15663-27-1), 카보플라틴 (CAS No. 41575-94-4), 파클리탁셀 (TAXOL®, Bristol-Myers Squibb Oncology, 뉴저지주 프린스턴 소재), 트라스투주맙 (HERCEPTIN®, Genentech), 테모졸로마이드 (4-메틸-5-옥소-2,3,4,6,8-펜타자바이사이클로 [4.3.0] 노나-2,7,9-트리엔-9-카복사미드, CAS No. 85622-93-1, TEMODAR®, TEMODAL®, Schering Plough), 타목시펜 ((Z)-2-[4-(1,2-디페닐부트-1-에닐)페녹시]-N,N-디메틸에탄아민, NOLVADEX®, ISTUBAL®, VALODEX®), 및 독소루비신 (ADRIAMYCIN®), Akti-1/2, HPPD, 및 라파마이신.

[0408] 화학치료제의 더 많은 예는 하기를 포함한다: 옥살리플라틴 (ELOXATIN®, Sanofi), 보르테조미드 (VELCADE®, Millennium Pharm.), 수텐트 (SUNITINIB®, SU11248, Pfizer), 레트로졸 (FEMARA®, Novartis), 이마티닙 메실레이트 (GLEEVEC®, Novartis), XL-518 (Mek 억제제, Exelixis, WO 2007/044515), ARRY-886 (Mek 억제제, AZD6244, Array BioPharma, Astra Zeneca), SF-1126 (PI3K 억제제, Semafore Pharmaceuticals), BEZ-235 (PI3K 억제제, Novartis), XL-147 (PI3K 억제제, Exelixis), PTK787/ZK 222584 (Novartis), 폴베스트란트 (FASLODEX®, AstraZeneca), 류코보린 (폴린산), 라파마이신 (시롤리무스, RAPAMUNE®, Wyeth), 라파티닙 (TYKERB®, GSK572016, Glaxo Smith Kline), 로나파르닙 (SARASAR™, SCH 66336, Schering Plough), 소라페닙 (NEXAVAR®, BAY43-9006, Bayer Labs), 게피티닙 (IRESSA®, AstraZeneca), 이리노테칸 (CAMPTOSAR®, CPT-11, Pfizer), 티코파르닙 (ZARNESTRA™, Johnson & Johnson), ABRAXANE™ (크레모포어-유리), 파클리탁셀의 알부민-조작된 나노입자 제형 (American Pharmaceutical Partners, 일리노이주 삼버그 소재), 반데타닙 (rINN, ZD6474, ZACTIMA®, AstraZeneca), 클롤르암부실, AG1478, AG1571 (SU 5271; Sugen), 탐시롤리무스 (TORISEL®, Wyeth), 파조파닙 (GlaxoSmithKline), 칸포스파마이드 (TELCYTA®, Telik), 티오테파 및 사이클로스포스파마이드 (CYTOXAN®, NEOSAR®); 알킬 설포네이트 예컨대 부셀판, 임프로셀판 및 피포셀판; 아지리딘 예컨대 벤조도파, 카보쿤, 메투레도파, 및 우레도파; 에틸렌이민 및 메틸아멜라민으로 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포르아미드, 트리에틸렌티오포스포르아미드 및 트리메틸로멜라민 포함; 아세토게닌 (특히 블라타신 및 블라타시논); 캄프토테신 (합성 유사체 토포테칸 포함); 브리오스타틴; 칼리스트아틴; CC-1065 (그것의 아도젤레신, 카르젤레신 및 바이젤레신 합성 유사체 포함); 크립토파이신 (특히 크립토파이신 1 및 크립토파이신 8); 둘라스타틴; 듀오카르마이신 (합성 유사체, KW-2189 및 CB1-TM1 포함); 엘류테로빈; 판크라티스타틴; 사르코닥티인; 스폰지스타틴; 질소 머스타드 예컨대 클로르암부실, 클로르나파진, 클로로포스파마이드, 에스트라무스틴, 이포스파마이드, 메클로르에타민, 메클로르에타민 옥사이드 하이드로클로라이드, 멜팔란, 노벤비친, 펜에스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파마이드, 우라실 머스타드; 니트로소우레아 예컨대 카무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴, 및 라님누스틴; 항생제 예컨대 엔딘인 항생제 (예를 들어 칼리키아마이신, 칼리키아마이신 감마II, 칼리키아마이신 오메가I1 (*Angew Chem. Int'l. Ed. Engl.* (1994) 33:183-186); 다이네마이신, 다이네마이신 A; 비스포스포네이트, 예컨대 클로드르네이트; 에스페라마이신; 뿐만 아니라 네오카르지노스타틴 발색단 및 관련된 색소단백질 엔딘인 항생제 발색단), 아클라시노마이신, 악티노마이신, 오프트라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 캅티노마이신, 카라비신, 카르미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이시니스, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-디아조-5-옥소-L-노르류신, 모폴리노-독소루비신, 시아노모폴리노-독소루비신, 2-피롤리노-독소루비신 및 테옥시독소루비신), 에피루비신, 에소루비신, 이다루비신, 네모루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신 예컨대 미토마이신 C, 마이코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 페플로마이신, 포르피로마이신, 퓨로마이신, 쿠엘라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투베르시딘, 우베니멕스, 지노스타틴, 조루비신; 항-대사물 예컨대 메토크세이트 및 5-플루오로우라실 (5-FU); 엽산 유사체 예컨대 데노프테린, 메토크세이트, 프테로프테린, 트리메트렉세이트; 퓨린 유사체 예컨대 플루다라빈, 6-머캅토피리딘, 티아미프린, 티오구아닌; 피리미딘 유사체 예컨대 안시타빈, 아자시티딘, 6-아자우리딘, 카모푸르, 사이타라빈, 디데옥시우리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈, 플록수리딘; 안드로겐 예컨대 칼루스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 에피티오스타놀, 메피티오스탄, 테스토라톤; 항-아드레날 예컨대 아미노글루테티미드, 미토탄, 트릴로스탄; 엽산 보충물 예컨대 프롤린산; 아세글라톤; 알도포스파마이드 글리코사이드; 아미노레벨린산; 에닐루라실; 암사크린; 베스트라부실; 비스안트렌; 에다트랙세이트; 테포파민; 데메콜신; 디아지쿠온; 엘포르니틴; 엘립티늄 아세테이트; 에포틸론; 에토글루시드; 갈륨 니트레이트; 하이드록시우레아; 렌티난; 로니다이닌;

메이탄시노이드 예컨대 메이탄신 및 안사미토신; 미토구아존; 미톡산트론; 모피단몰; 니트라에린; 펜토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 로소크산트론; 포도필린산; 2-에틸하이드라자이드; 프로카바진; PSK® 다당류 복합체 (JHS Natural Products, 오레곤주 유진 소재); 락산; 라이족신; 시조피란; 스피로게르마늄; 테누아진산; 트리 아지쿠온; 2,2',2"-트리클로로트리에틸아민; 트리코테센 (특히 T-2 독소, 베라쿠린 A, 로리딘 A 및 안구이딘); 우레탄; 빈데신; 다카바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미토락톨; 피포브로만; 가시토신; 아라비노시드 ("Ara-C"); 사이클로포스파마이드; 티오테파; 6-티오구아닌; 머캅토피린; 메토티렉세이트; 백금 유사체 예컨대 시스플 라틴 및 카보플라틴; 빈블라스틴; 에토포시드 (VP-16); 이포스파마이드; 미톡산트론; 빈크리스틴; 비노렐빈 (NAVELBINE®); 노반트론; 테니포시드; 데다트렉세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 카페시타빈 (XELODA®, Roche); 이반드로네이트; CPT-11; 토포이소머라제 억제제 RFS 2000; 디플루오로메틸오르니틴 (DMFO); 레티노이 드 예컨대 레티산; 및 상기 중 임의의 것의 약제학적으로 허용가능한 염, 산 및 유도체.

[0409] 또한 "화학치료제"의 정의에 하기의 것이 포함된다: (i) 예를 들어, 타목시펜 (NOLVADEX®; 타목시펜 시트레이 트), 탈록시펜, 드롤록시펜, 4-하이드록시타목시펜, 트리옥시펜, 케녹시펜, LY117018, 오나프리스톤, 및 FARESTON® (토레미핀 시트레이트)를 포함한, 항-에스트로겐 및 선택적 에스트로겐 수용체 조절물질 (SERM)과 같은 중앙에 대해 호르몬 작용을 조절하거나 억제하는 작용을 하는 항-호르몬제; (ii) 부신에서 에스트로겐 생 산을 조절하는, 효소인 방향화효소를 억제하는 방향화효소 억제제, 예컨대, 예를 들어, 4(5)-이미다졸, 아미노 글루테티미드, MEGASE® (메게스트롤 아세테이트), AROMASIN® (엑세메스탄; Pfizer), 포르메스타니, 파드로졸, RIVISOR® (보로졸), FEMARA® (레트로졸; Novartis), 및 ARIMIDEX® (아나스트로졸; AstraZeneca); (iii) 항- 안드로겐 예컨대 플루타미드, 닐루타마이드, 바이칼루타마이드, 류프롤라이드, 및 고세렐린; 뿐만 아니라 트록 사시타빈 (1,3-디옥솔란 뉴클레오사이드 시토신 유사체); (iv) 단백질 키나제 억제제 예컨대 MEK 억제제 (WO 2007/044515); (v) 지질 키나제 억제제; (vi) 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 특히 비정상적인 세포 증식에 연 루된 신호전달 경로에서 유전자의 발현을 억제하는 것들, 예를 들어, PKC-알파, Raf 및 H-Ras, 예컨대 오블리메 르센 (GENASENSE®, Genta Inc.); (vii) 리보자임 예컨대 VEGF 발현 억제제 (예를 들어, ANGIOZYME®) 및 HER2 발현 억제제; (viii) 백신 예컨대 유전자 요법 백신, 예를 들어, ALLOVECTIN®, LEUVECTIN®, 및 VAXID®; PROLEUKIN® rIL-2; 토포이소머라제 1 억제제 예컨대 LURTOTECAN®; ABARELIX® rmRH; (ix) 항-혈관신생제 예 컨대 베바시주맵 (AVASTIN®, Genentech); 및 상기 중 임의의 것의 약제학적으로 허용가능한 염, 산 및 유도체.

[0410] 또한 "화학치료제"의 정의에 치료적 항체 예컨대 알렘투주맵 (캄파쓰), 베바시주맵 (AVASTIN®, Genentech); 세 특시맵 (ERBITUX®, Imclone); 파니투주맵 (VECTIBIX®, Amgen), 리특시맵 (RITUXAN®, Genentech/Biogen Idec), 페르투주맵 (OMNITARG™, 2C4, Genentech), 트라스투주맵 (HERCEPTIN®, Genentech), 토시투모맵 (백사 르, 코릭시아), 및 항체 약물 콘주게이트, 쟈투주맵 오조가미신 (MYLOTARG®, Wyeth)이 포함된다.

[0411] 본 발명의 콘주게이트와 조합하여 화학치료제로서 치료 잠재성을 갖는 인간화된 단클론성 항체는 하기를 포함한 다: 알렘투주맵, 아폴리주맵, 아셀리주맵, 아틀리주맵, 바피뉴주맵, 베바시주맵, 비바투주맵 메르탄신, 칸투주 맵 메르탄신, 세렐리주맵, 세르톨리주맵 페골, 시드푸시투주맵, 시드투주맵, 다클리주맵, 에컬리주맵, 에팔리주 맵, 에프라투주맵, 에블리주맵, 펠비주맵, 폰톨리주맵, 쟈투주맵 오조가미신, 이노투주맵 오조가미신, 이펠리무 맵, 라베투주맵, 린투주맵, 마투주맵, 메폴리주맵, 모타비주맵, 모토비주맵, 나탈리주맵, 니모투주맵, 놀로비주 맵, 누마비주맵, 오크렐리주맵, 오말리주맵, 팔리바주맵, 파스콜리주맵, 펙푸시투주맵, 펙투주맵, 페르투주맵, 펙셀리주맵, 칼리비주맵, 라니비주맵, 레슬리비주맵, 레슬리주맵, 레시비주맵, 로벨리주맵, 루폴리주맵, 시브로 투주맵, 시폴리주맵, 손투주맵, 타카투주맵 테트라세탄, 타도시주맵, 탈리주맵, 테피바주맵, 토실리주맵, 토랄 리주맵, 트라스투주맵, 투코투주맵 셀모류킨, 투쿠시투주맵, 우마비주맵, 우르톡사주맵, 및 비실리주맵.

[0412] 본 발명에 따른, 및 본 발명에 따라 사용하기 위한 약제학적 조성물은, 활성 성분, 즉 콘주게이트 화합물에 부 가하여, 약제학적으로 허용가능한 부형제, 담체, 완충액, 안정제 또는 당업자에게 잘 알려진 다른 물질을 포함 할 수 있다. 이러한 물질은 무독성이어야 하고 활성 성분의 효능을 방해하지 않아야 한다. 담체 또는 다른 물질 의 정확한 특성은 경구일 수 있거나, 또는 주입, 예를 들어 피부, 피하, 또는 정맥내에 의할 수 있는, 투여 경 로에 의존할 것이다.

[0413] 경구 투여용 약제학적 조성물은 정제, 캡슐, 파우더 또는 액체 형태로 될 수 있다. 정제는 고체 담체 또는 아쥬 반트를 포함할 수 있다. 액체 약제학적 조성물은 일반적으로 액체 담체 예컨대 물, 석유, 동물 또는 식물성 오 일, 광유 또는 합성 오일을 포함한다. 생리적 염수 용액, 텍스트로스 또는 다른 당류 용액 또는 글리콜 예컨대 에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜이 포함될 수 있다. 캡슐은 젤라틴 같은 고체 담체를 포함할 수 있다.

- [0414] 정맥내, 피부 또는 피하 주입, 또는 고통의 부위에 주입의 경우, 활성 성분은 무발열원이고 적합한 pH, 등장성 및 안정성을 갖는 비경구로 허용가능한 수용액의 형태 내에 있을 것이다. 당업계에서 관련된 기술의 것들은, 예를 들어, 등장성 비히클 예컨대 염화나트륨 주입, 링거 주입, 락테이트화된 링거 주입을 사용하여 적합한 용액을 잘 제조할 수 있다. 보존제, 안정제, 완충액, 산화방지제 및/또는 다른 첨가제가 요구되는 바와 같이 포함될 수 있다.
- [0415] **제형**
- [0416] 콘주게이트 화합물이 단독으로 사용되는 (예를 들어, 투여되는) 것이 가능하지만, 종종 이것은 조성물 또는 제형으로 제공하는 것이 바람직하다.
- [0417] 일 구현예에서, 본 조성물은 본 명세서에서 기재된 바와 같은 콘주게이트 화합물, 및 약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제, 또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물 (예를 들어, 제형, 제제, 약제)이다.
- [0418] 일 구현예에서, 본 조성물은, 비제한적으로, 약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제, 부형제, 아췌반트, 충전제, 완충액, 보존제, 산화방지제, 윤활제, 안정제, 가용화제, 계면활성제 (예를 들어, 습윤제), 차단제, 착색제, 향료 제제, 및 감미제를 포함하여, 당업자에게 잘 알려진 하나 이상의 다른 약제학적으로 허용가능한 성분과 함께, 본 명세서에서 기재된 바와 같은 적어도 하나의 콘주게이트 화합물을 포함하는 약제학적 조성물이다.
- [0419] 일 구현예에서, 본 조성물은 다른 활성제, 예를 들어, 다른 치료제 또는 예방제를 추가로 포함한다.
- [0420] 적합한 담체, 희석제, 부형제 등이 표준 약제학적 교과서에서 발견될 수 있다. 예를 들어, Handbook of Pharmaceutical Additives, 2nd Edition (eds. M. Ash 및 I. Ash), 2001 (Synapse Information Resources, Inc., Endicott, New York, USA), Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th edition, pub. Lippincott, Williams & Wilkins, 2000; 및 Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2nd edition, 1994를 참고한다.
- [0421] 본 발명의 또 다른 양태는, 예를 들어, 담체, 희석제, 부형제, 등과 같이, 당업자에게 잘 알려진 하나 이상의 다른 약제학적으로 허용가능한 성분과 함께, 본 명세서에서 정의된 바와 같은 적어도 하나의 [¹¹C]-방사선표지된 콘주게이트 또는 콘주게이트-유사 화합물을 혼합하는 것을 포함하는 약제학적 조성물을 제조하는 방법에 관한 것이다. 별개의 단위 (예를 들어, 정제, 등)로 제형화된 경우, 각각의 단위는 사전결정된 양 (투약량)의 활성 화합물을 함유한다.
- [0422] 본 명세서에서 사용된 바와 같은, 용어 "약제학적으로 허용가능한"은 합리적인 이익/유해 비율에 비례하여, 과도한 독성, 자극, 알러지성 반응, 또는 다른 문제 또는 합병증 없이 문제 대상체 (예를 들어, 인간)의 조직과 접촉하여 사용하기에 적합한, 건전한 의료 판단의 범위 내에 있는 화합물, 성분, 물질, 조성물, 투약 형태, 등에 관한 것이다. 각각의 담체, 희석제, 부형제, 등은 또한 제형의 다른 성분과 양립가능한 관점에서 "허용가능"하여야 한다.
- [0423] 제형은 조제의 기술 분야에서 잘 알려진 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 이러한 방법은 하나 이상의 부속 성분을 구성하는 담체와 활성 화합물을 연관시키는 단계를 포함한다. 일반적으로, 제형은 활성 화합물을 담체 (예를 들어, 액체 담체, 미세하게 분쇄된 고체 담체 등)와 균일하고 친밀하게 연관시키는 단계와, 그 다음 필요하면 생성물을 형상화하는 단계에 의해 제조된다.
- [0424] 제형은 신속한 또는 서방형; 즉각적인, 지연된, 적시의, 또는 지속 방출; 또는 이들의 조합을 제공하도록 제조될 수 있다.
- [0425] 비경구 투여 (예를 들어, 주입으로)에 적합한 제형은, 활성 성분이 용해되거나, 현탁되거나, 또는 달리 (예를 들어, 리포솜 또는 다른 미세미립자에) 제공된, 수성 또는 비-수성, 등장성, 무발열원, 멸균 액체 (예를 들어, 용액, 현탁액)를 포함한다. 이러한 액체는 다른 약제학적으로 허용가능한 성분, 예컨대 산화방지제, 완충액, 보존제, 안정제, 정균제, 현탁화제, 증점제, 및 용질을 추가로 함유할 수 있으며, 이것은 의도된 수형체의 혈액 (또는 다른 관련된 체액)과 제형 등장성을 부여한다. 부형제의 예는, 예를 들어, 물, 알코올, 폴리올, 글리세롤, 식물성 오일, 및 기타 동종의 것을 포함한다. 이러한 제형에 사용하기 위한 적합한 등장성 담체의 예는 염화나트륨 주입, 링거액, 또는 락테이트화된 링거 주입을 포함한다. 전형적으로, 액체에서 활성 성분의 농도는 약 1 ng/mL 내지 약 10 µg/ml, 예를 들어 약 10 ng/mL 내지 약 1 µg/ml이다. 제형은 단위-용량 또는 다중-용량 밀봉된 용기, 예를 들어, 앰플 및 바이알에 제시될 수 있고, 사용하기 직전에 멸균 액체 담체, 예를 들어 주사용 물의 첨가만을 요하는 냉동건조된 (동결건조된) 조건에서 보관될 수 있다. 즉석 주입 용액 및 현탁

액이 멸균 파우더, 과립, 및 정제로부터 제조될 수 있다.

투약량

- [0426] **투약량**
- [0427] 콘주게이트 화합물, 및 콘주게이트 화합물을 포함하는 조성물의 적절한 투약량은 환자에서 환자로 다양할 수 있다는 것이 당해 분야의 숙련가에 의해 인정될 것이다. 최적의 투약량을 결정하는 것은 일반적으로 어떤 위험 또는 유해한 부작용에 대하여 치료적 이점의 수준을 균형 맞추는 것을 포함할 것이다. 선택된 투약량 수준은, 비제한적으로, 특정한 화합물의 활성, 투여 경로, 투여 시간, 화합물의 배출 속도, 치료 기간, 조합하여 사용된 다른 약물, 화합물, 및/또는 물질, 병태의 중증도, 및 환자의 중, 성별, 연령, 체중, 병태, 일반적인 건강, 및 이전 병력을 포함한 다양한 인자에 의존할 것이다. 화합물의 양 및 투여 경로는 궁극적으로 의사, 수의사, 또는 임상사의 재량일 것이지만, 일반적으로 투약량은 실질적인 유해하거나 또는 유해한 부작용을 야기함이 없이 원하는 효과를 달성하는 작용 부위에서의 국소 농도를 달성하도록 선택될 것이다.
- [0428] 투여는 치료 과정 전반에 걸쳐 연속 또는 간헐적으로 (예를 들어, 적절한 간격으로 분할된 용량으로) 1회 용량으로 수행될 수 있다. 가장 효과적인 투여 수단 및 투약량을 결정하는 방법은 당업자에게 잘 알려져 있으며, 요법에 사용되는 제형, 요법의 목적, 치료할 표적 세포(들) 및 치료되고 있는 대상체에 따라 다양할 것이다. 치료 의사, 수의사, 또는 임상사에 의해 선택된 용량 수준 및 패턴으로 단일 또는 다중 투여가 수행될 수 있다.
- [0429] 일반적으로, 활성 화합물의 적합한 용량은 1일당 대상체의 킬로그램 체중당 약 100 ng 내지 약 25 mg (더욱 전형적으로 약 1 µg 내지 약 10 mg)의 범위이다. 활성 화합물이 염, 에스테르, 아미드, 전구약물 등인 경우, 투여되는 양은 모 화합물을 기준으로 계산되고 따라서 사용되는 실제 중량은 비례적으로 증가된다.
- [0430] 일 구현예에서, 활성 화합물은 하기 투약량 요법: 약 100 mg, 1일 3회에 따라 인간 환자에 투여된다.
- [0431] 일 구현예에서, 활성 화합물은 하기 투약량 요법: 약 150 mg, 1일 2회에 따라 인간 환자에 투여된다.
- [0432] 일 구현예에서, 활성 화합물은 하기 투약량 요법: 약 200 mg, 1일 2회에 따라 인간 환자에 투여된다.
- [0433] 그러나 일 구현예에서, 콘주게이트 화합물은 하기 투약량 요법: 약 50 또는 약 75 mg, 1일 3 또는 4회에 따라 인간 환자에 투여된다.
- [0434] 일 구현예에서, 콘주게이트 화합물은 하기 투약량 요법: 약 100 또는 약 125 mg, 1일 2회에 따라 인간 환자에 투여된다.
- [0435] 상기 기재된 투약량은 콘주게이트 (항체에 대한 PBD 모이어티 및 링커 포함) 또는 제공된 PBD 화합물의 유효량, 예를 들어 링커의 절단 후 방출가능한 화합물의 양에 적용할 수 있다.
- [0436] 질환의 예방 또는 치료를 위해, 본 발명의 ADC의 적절한 투약량은 분자가 예방적 또는 치료적 목적으로 투여되는지 여부에 관계없이, 상기 정의된 바와 같이 치료될 질환의 유형, 질환의 중증도 및 과정, 이전 요법, 환자의 임상 이력 및 항체에 대한 반응, 및 주치의의 재량에 따라 달라질 것이다. 분자는 한꺼번에 또는 일련의 치료에 걸쳐 환자에게 적절하게 투여된다. 질환의 유형 및 중증도에 따라, 예를 들어, 하나 이상의 별도의 투여에 의하든, 또는 연속적 주입에 의하든 간에, 약 1 µg/kg 내지 15 mg/kg (예를 들어 0.1-20 mg/kg)의 분자가 환자에게 투여하기 위한 초기 후보 투약량이다. 전형적인 1일 투약량은 상기에 언급된 인자에 의존하여 약 1 µg/kg 내지 100 mg/kg 이상의 범위일 수 있다. 환자에게 투여되는 ADC의 예시적인 투약량은 환자 체중당 약 0.1 내지 약 10mg/kg 범위이다. 며칠 이상에 걸쳐 반복 투여하는 경우, 상태에 따라 원하는 질환 증상의 역제가 발생할 때까지 치료는 지속된다. 예시적인 투약 레지멘은 약 4 mg/kg의 초기 장입 용량을 투여하고 이어서 매주, 2주 또는 3주에 ADC의 추가의 용량을 투여하는 과정을 포함한다. 다른 투약 요법이 유용할 수 있다. 이 요법의 진행은 통상적인 기술 및 분석법으로 용이하게 모니터링된다.
- [0437] **약물 부하**
- [0438] 약물 부하 (p)는 세포 결합체, 예를 들어 항체당 평균 PBD 약물의 수이다. 본 발명의 화합물이 시스테인에 결합되는 경우, 약물 부하는 세포 결합체당 1 내지 8 약물 (D)의 범위일 수 있으며, 즉 여기서 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 및 8 약물 모이어티가 공유적으로 세포 결합체에 부착된다. 접합체의 조성물은 세포 결합체의 집합체, 예를 들어 1 내지 8 범위의 약물과 접합된 항체를 포함한다. 본 발명의 화합물이 라이신에 결합된 경우, 약물 부하는 40, 20, 10 또는 8의 상한이 바람직할 수 있지만, 세포 결합체당 1 내지 80 약물 (D)의 범위일 수 있다. 접합체의 조성물은 세포 결합체의 집합체, 예를 들어 1 내지 80, 1 내지 40, 1 내지 20, 1 내지 10 또는 1 내지 8 범위의 약물과 접합된 항체를 포함한다.

- [0439] 콘주게이션 반응으로부터 ADC의 제제에서 항체당 평균 약물의 수는 통상적인 수단 예컨대 UV, 역상 HPLC, HIC, 질량 분광법, ELISA 검정, 및 전기영동에 의해 특성화될 수 있다. p의 관점에서 ADC의 정량적 분포가 또한 결정될 수 있다. ELISA에 의해, ADC의 특정 제제에서 p의 평균 값이 결정될 수 있다 (Hamblett 등 (2004) Clin. Cancer Res. 10:7063-7070; Sanderson 등 (2005) Clin. Cancer Res. 11:843-852). 그러나, p (약물) 값의 분포는 ELISA의 검출 한계와 항체-항원 결합에 의해 식별가능 하지않다. 또한, 항체-약물 콘주게이트의 검출을 위한 ELISA 검정은 약물 모이어티가 항체, 예컨대 중쇄 또는 경쇄 단편, 또는 특정한 아미노산 잔기에 부착되는 위치를 결정하지 않는다. 일부 경우에, p가 다른 약물 부하를 갖는 ADC로부터의 특정 값인 동종 ADC의 분리, 정제, 및 특성규명은 역상 HPLC 또는 전기영동과 같은 수단에 의해 달성될 수 있다. 이러한 기술은 또한 다른 유형의 콘주게이트에 적용할 수 있다.
- [0440] 일부 항체-약물 콘주게이트의 경우, p는 항체에 대한 부착 부위 수에 의해 제한될 수 있다. 예를 들어, 항체는 단 하나의 또는 몇 개의 시스테인 티올기를 가질 수 있거나, 또는 이를 통해 링커가 부착될 수 있는 단 하나의 또는 몇 개의 충분히 반응성 티올기를 가질 수 있다. 더 높은 약물 부하, 예를 들어 $p > 5$ 는 특정 항체-약물 콘주게이트의 응집, 불용해성, 독성, 또는 세포 투과성의 손실을 유발할 수 있다.
- [0441] 전형적으로, 이론적인 최대의 약물 모이어티보다 적은 수가 콘주게이션 반응 동안 항체에 접합된다. 항체는, 예를 들어, 약물 링커와 반응하지 않는 많은 라이신 잔기를 포함할 수 있다. 가장 반응성인 라이신기만이 아민-반응성 링커 시약과 반응할 수 있다. 또한, 가장 반응성인 시스테인 티올기만이 티올-반응성 링커 시약과 반응할 수 있다. 일반적으로, 항체는 약물 모이어티에 연결될 수 있는 유리 및 반응성 시스테인 티올기를, 있더라도, 많이 함유하지 않는다. 화합물의 항체에서 대부분의 시스테인 티올 잔기는 디설파이드 브릿지로 존재하고 부분적인 또는 전체적인 환원 조건하에서 환원제 예컨대 디티오트레이톨 (DTT) 또는 TCEP로 환원되어야 한다. ADC의 장입 (약물/항체 비)은 (i) 항체에 대한 몰 과잉의 약물 링커 제한, (ii) 콘주게이션 반응 시간 또는 온도의 제한, 및 (iii) 시스테인 티올 변형에 대한 부분적 또는 제한적 환원 조건을 포함하는 몇개의 상이한 방식으로 제어될 수 있다.
- [0442] 특정 항체는 환원가능한 사슬간 디설파이드, 즉 시스테인 브릿지를 갖는다. 항체는 환원제 예컨대 DTT (디티오트레이톨)로 처리에 의해 링커 시약과 콘주게이션에 대해 반응성일 수 있다. 각각의 시스테인 브릿지는 따라서, 이론적으로, 2개의 반응성 티올 친핵체들을 형성한다. 추가의 친핵성 기는 티올로 아민의 전환을 초래하는 2-이미노티올란 (트라우트 시약)과 라이신의 반응을 통해 항체 안으로 도입될 수 있다. 반응성 티올기는 1, 2, 3, 4, 또는 그 초과 시스테인 잔기를 조작 (예를 들어, 하나 이상의 비-자연 시스테인 아미노산 잔기를 포함하는 돌연변이체 항체를 제조)함에 의해 항체 (또는 이의 단편) 안으로 도입될 수 있다. US 7521541은 반응성 시스테인 아미노산의 도입에 의해 항체를 조작하는 것을 교시한다.
- [0443] 시스테인 아미노산은 항체에서의 반응성 부위에서 조작될 수 있고 사슬내 또는 분자간 디설파이드 연결기를 형성하지 않는다 (Junutula, 등, 2008b Nature Biotech., 26(8):925-932; Dornan 등 (2009) Blood 114(13):2721-2729; US 7521541; US 7723485; W02009/052249). 조작된 시스테인 티올은 티올-반응성, 친전자성 기 예컨대 말레이미드 또는 알파-할로 아미드를 가져 시스테인 조작된 항체 및 PBD 약물 모이어티를 갖는 ADC를 형성하는 본 발명의 링커 시약 또는 약물-링커 시약과 반응할 수 있다. 따라서 약물 모이어티의 위치가 설계, 제어, 및 알려질 수 있다. 조작된 시스테인 티올기는 전형적으로 티올-반응성 링커 시약 또는 약물-링커 시약과 고수율로 반응하기 때문에 약물 부하가 제어될 수 있다. 중쇄 또는 경쇄 상의 단일 부위에서 치환에 의해 시스테인 아미노산을 도입하기 위해 IgG 항체를 조작하는 것은 대칭 항체에 대해 2개의 신규한 시스테인을 제공한다. 2 근처의 약물 부하가 콘주게이션 생성물 ADC의 거의 동종성으로 달성될 수 있다.
- [0444] 1 초과 친핵성 또는 친전자성 기의 항체가 약물-링커 중간체, 또는 링커 시약과, 이어서 약물 모이어티 시약과 반응하는 경우, 수득한 생성물은, 예를 들어 1, 2, 3, 등의, 항체에 부착된 약물 모이어티의 분포를 갖는 ADC 화합물의 혼합물이다. 액체 크로마토그래피 방법 예컨대 폴리머 역상 (PLRP) 및 소수성 상호작용 (HIC)은 약물 부하 값에 의해 혼합물에서 화합물을 분리할 수 있다. 단일 약물 부하 값 (p)을 갖는 ADC의 제조는 단리될 수 있지만, 이들 단일 부하 값 ADC는 약물 모이어티가 링커를 통해 항체 상의 다른 부위에 부착될 수 있기 때문에 여전히 이종 혼합물일 수 있다.
- [0445] 따라서 본 발명의 항체-약물 콘주게이트 조성물은 항체가 하나 이상의 PBD 약물 모이어티를 갖고 상기 약물 모이어티가 다양한 아미노산 잔기에서 항체에 부착될 수 있는 항체-약물 콘주게이트 화합물의 혼합물을 포함한다.
- [0446] 일 구현예에서, 세포 결합제당 이량체 피롤로벤조디아제핀 기의 평균 수는 1 내지 20의 범위이다. 일부 구현예

에서 상기 범위는 1 내지 8, 2 내지 8, 2 내지 6, 2 내지 4, 및 4 내지 8로부터 선택된다.

[0447] 일부 구현예에서, 세포 결합제당 하나의 이량체 피롤로벤조디아제핀 기가 있다.

[0448] 일반적인 합성 경로

[0449] PBD 화합물의 합성은 하기 참고문헌에 광범위하게 논의되어 있으며, 그 논의는 본 명세서에 참고로 포함된다:

[0450] a) WO 00/12508 (페이지 14 내지 30);

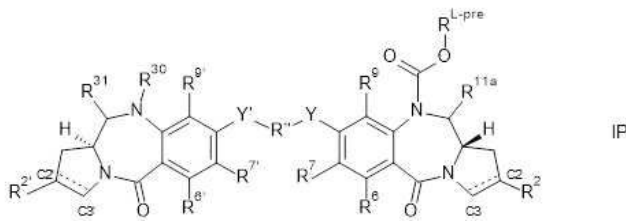
[0451] b) WO 2005/023814 (페이지 3 내지 10);

[0452] c) WO 2004/043963 (페이지 28 내지 29); 및

[0453] d) WO 2005/085251 (페이지 30 내지 39).

[0454] 합성 경로

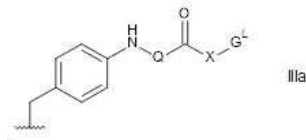
[0455] 식 I의 본 발명의 화합물은 하기 식 IP의 화합물로부터 합성될 수 있다:



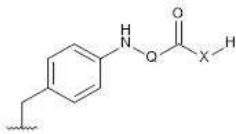
[0456]

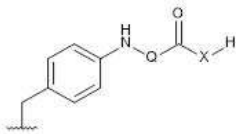
[0457] 상기에서 R^{L-pre}는 그룹 R^L에 대한 전구체를 나타낸다. R⁰이 H인 경우, 카복시 기는 합성 동안 보호될 수 있으며 (예를 들어 tert-부틸 에스테르), 최종 단계에서 제거될 수 있다.

[0458] 예를 들어, R^L이 하기 기일 때:

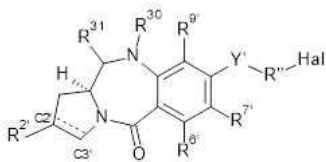


[0459]



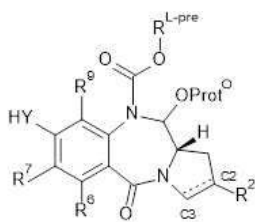
[0460] R^{L-pre}은: , 또는 이들의 보호된 버전일 수 있다. G^L의 첨가는 종래의 수단에 의해 달성될 수 있다. R30 및 R31은 또한 각각 질소 보호기 및 OProt⁰일 수 있고, Prot⁰가 합성에 대해 산소 보호기를 나타낼 때, 이것은 적절하게 제거된다.

[0461] 대안적으로, 식 IP의 화합물은 식 2 및 3의 화합물을 커플링함에 의해 합성될 수 있다:



[0462]

식 2



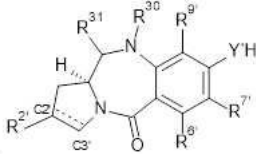
[0463]

식 3

[0464] 상기에서 Hal은 I, Cl, 및 Br으로부터 선택되고, Prot⁰는 합성을 위한 산소 보호기를 나타내고, 이어서 표준 조건하에서 Prot⁰ 기의 제거가 따른다.

[0465] 커플링은, 예를 들어, 염기, 예컨대 K₂CO₃와 함께 아세톤을 환류하여 달성될 수 있다.

[0466] 식 2의 화합물은 하기 식 5의 화합물을 커플링함에 의해 하기 식 4의 화합물로부터 합성될 수 있다:

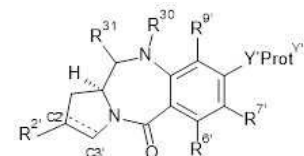


[0467] 식 4

[0468] Hal-R''-Q 식 5

[0469] 상기에서 Q는 I, Cl, 및 Br으로부터 선택되고, 반응은, 예를 들어, 염기, 예컨대 K₂CO₃와 함께 아세톤을 환류하여 달성될 수 있다. 원하는 생성물을 달성하기 위해 과잉의 식 5의 화합물이 필요하다.

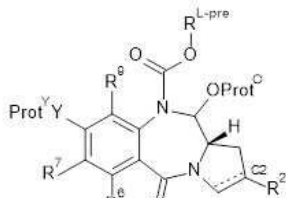
[0470] 식 4의 화합물은 식 6의 화합물로부터 합성될 수 있다:



[0471] 식 6

[0472] 상기에서 Prot^{Y'}는 화합물에서 다른 보호기에 직교하는 Y'에 대한 보호기이다. 합성은 표준 조건하에서 Y'의 탈보호에 의해 달성된다.

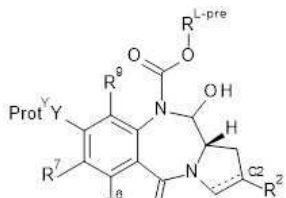
[0473] 식 3의 화합물은 하기 식 7의 화합물로부터 합성될 수 있다:



[0474] 식 7

[0475] 상기에서 Prot^Y는 화합물에서 다른 보호기에 직교하는 Y에 대한 보호기이다. 합성은 표준 조건하에서 Y의 탈보호에 의해 달성된다.

[0476] 식 7의 화합물은, 표준 조건하에서 Prot⁰로 OH 기를 보호함에 의해, 하기 식 8의 화합물로부터 합성될 수 있다:



[0477] 식 8

[0478] 식 8의 화합물은 산화에 의해 하기 식 9의 화합물로부터 합성될 수 있다:



[0479] 식 9

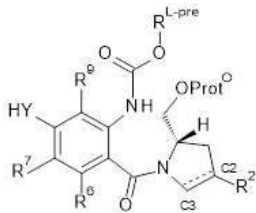
[0480] 산화는, 예를 들어, 데스-마틴 페리오디난 (또는 대안적으로 TPAP/NMO, TFAA/DMSO, SO₃.피리딘 착물/DMSO, PDC, PCC, BAIB/TEMPO 또는 Swern 조건하에서) 수행될 수 있다.

[0481] 식 9의 화합물은, 표준 조건하에서 OH 기의 탈보호에 의해, 하기 식 10의 화합물로부터 합성될 수 있다:



[0482] 식 10

[0483] 식 10의 화합물은 또한 하기 식 11의 화합물을 제조하기 위해 사용될 수 있으며:



[0484] 식 11

[0485] 이것은 고리화에 이어서 식 2의 화합물에 커플링될 수 있다.

[0486] R"을 포함하는 기에 대한 2개의 PBD (또는 pre-PBD) 모이어티의 커플링은 어떤 순서로든 수행될 수 있다.

[0487] 약물 컨주게이트의 합성

[0488] 컨주게이트는 앞서 기재된 바와 같이 제조될 수 있다. 항체는 Doronina 등, Nature Biotechnology, 2003, 21, 778-784에 기재된 바와 같은 약물 링커 화합물에 컨주게이트화될 수 있다. 간단하게는, pH 7.4에서 50 mM 나트륨 보레이트를 함유하는 PBS 중의 항체 (4-5 mg/mL)는 37°C에서 트리스(카복시에틸)포스핀 하이드로클로라이드 (TCEP)로 환원된다. 사슬간 디설파이드를 환원시키는 반응의 진행은 5,5'-디티오비스(2-니트로벤조산)과의 반응으로 모니터링되고, 티올/mAb의 원하는 수준이 달성될 때까지 진행될 수 있게 한다. 환원된 항체는 이후 0°C로 냉각되고, 항체 티올 당 1.5 당량의 말레이미드 약물-링커로 알킬화된다. 1 시간 후, 반응은 5 당량의 N-아세틸시스테인의 첨가에 의해 켄칭된다. 켄칭된 약물 링커는 PD-10 칼럼에 걸쳐 겔 여과에 의해 제거된다. ADC는 이후 0.22μm 시린지 필터를 통해 멸균-여과된다. 단백질 농도는 각각 280nm 및 329nm에서의 스펙트럼 분석, 및 280nm에서의 약물 흡광도의 기여도에 대한 보정에 의해 결정될 수 있다. 크기 배제 크로마토그래피는 항체 응집의 정도를 결정하기 위해 사용될 수 있고, RP-HPLC는 NAC-켄칭된 약물-링커의 수준을 결정하기 위해 사용될 수 있다.

[0489] 추가적인 참조사항

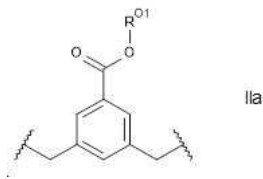
[0490] 하기 참조사항은 상기에 기재된 바와 같은 본 발명의 모든 양태에 적용할 수 있거나, 또는 단일 양태에 관련할 수 있다. 참조사항은 임의의 조합으로 함께 조합될 수 있다.

[0491] R^{6'}, R^{7'}, R^{9'}, 및 Y'는 각각 R⁶, R⁷, R⁹ 및 Y와 동일한 기로부터 선택된다. 일부 구현예에서, R^{6'}, R^{7'}, R^{9'}, 및 Y'는 각각 R⁶, R⁷, R⁹ 및 Y와 동일하다.

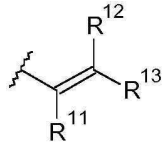
[0492] 일부 구현예에서, R^{2'}는 R²와 동일하다.

- [0493] 이량체 링커
- [0494] Y 및 Y'는 바람직하게는 O이다.
- [0495] 일부 구현예에서, n은 1이다. 다른 구현예에서, n은 2이다. 다른 구현예에서, n은 3이다.
- [0496] 일부 구현예에서, m은 1이다. 다른 구현예에서, m은 2이다. 다른 구현예에서, m은 3이다.
- [0497] 특정 구현예에서, n 및 m은 동일하다. 이들 구현예 중 일부에서, n 및 m은 1이다. 이들 구현예 중 다른 것에서, n 및 m은 2이다. 이들 구현예 중 다른 것에서, n 및 m은 3이다.
- [0498] 일부 구현예에서, Q는 N이다. 다른 구현예에서, Q는 CH이다.
- [0499] 일부 구현예에서, R⁰는 H이다. 다른 구현예에서, R⁰는 메틸이다. 다른 구현예에서, R⁰는 에틸이다. 다른 구현예에서, R⁰는 이소-프로필이다. 다른 구현예에서, R⁰는 벤질이다.

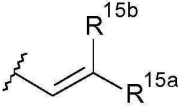
[0500] 특정 구현예에서, R"은 식 IIa의 것이다:



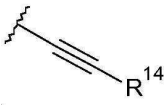
- [0501]
- [0502] 상기에서 R⁰¹은 H 및 메틸로 구성되는 군으로부터 선택된다.
- [0503] R⁶ 내지 R⁹
- [0504] 일부 구현예에서, R⁹는 H이다.
- [0505] 일부 구현예에서, R⁶은 H, OH, OR, SH, NH₂, 니트로 및 할로로부터 선택되고, H 또는 할로로부터 선택될 수 있다. 일부 구현예에서, R⁶은 H이다.
- [0506] 일부 구현예에서, R⁷은 H, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR', 및 할로로부터 선택된다. 일부 구현예에서, R⁷은 H, OH 및 OR로부터 선택되고, 여기에서 R은 선택적으로 치환된 C₁₋₇ 알킬, C₃₋₁₀ 헤테로사이클릴 및 C₅₋₁₀ 아릴기로부터 선택된다. R은 더욱 바람직하게는 치환 또는 비치환될 수 있는 C₁₋₄ 알킬기일 수 있다. 관심 치환체는 C₅₋₆ 아릴기 (예를 들어, 페닐)이다. 7-위치에서 특히 바람직한 치환체는 OMe 및 OCH₂Ph이다. 특히 관심있는 다른 치환체는 디메틸아미노 (즉, -NMe₂); -(OC₂H₄)_qOMe (여기에서, q는 0 내지 2임); 질소-함유 C₆ 헤테로사이클릴 (모르폴리노, 피페리디닐 및 N-메틸-피페라지닐을 포함)이다.
- [0507] 이들 구현예 및 참조사항은 R⁹, R⁶ 및 R⁷ 각각에 적용된다.
- [0508] R²
- [0509] C2와 C3 사이에 존재하는 이중 결합이 있는 경우, R²는 이하의 것들로부터 선택되고:
- [0510] (a) 할로, 니트로, 시아노, 에테르, C₁₋₇ 알킬, C₃₋₇ 헤테로사이클릴 및 비스-옥시-C₁₋₃ 알킬렌을 포함하는 군으로부터 선택된 하나 이상의 치환체에 의해 선택적으로 치환된 C₅₋₁₀ 아릴기;
- [0511] (b) C₁₋₅ 포화 지방족 알킬;
- [0512] (c) C₃₋₆ 포화 사이클로알킬;



[0513] (d) , 여기에서, R¹¹, R¹² 및 R¹³은 각각 H, C₁₋₃ 포화 알킬, C₂₋₃ 알케닐, C₂₋₃ 알키닐 및 사이클로프로필로부터 독립적으로 선택되고, 여기에서 R² 기 내의 탄소 원자의 총 수는 5개 이하이다;



[0514] (e) , 여기에서, R^{15a} 및 R^{15b} 중 하나는 H이고, 다른 하나는 페닐로부터 선택되고, 이때 페닐은 할로 메틸, 메톡시; 피리딜; 및 티오펜으로부터 선택된 기에 의해 선택적으로 치환되고; 및



[0515] (f) , 여기에서, R¹⁴는 H; C₁₋₃ 포화 알킬; C₂₋₃ 알케닐; C₂₋₃ 알키닐; 사이클로프로필; 페닐로부터 선택되고, 이때 페닐은 할로 메틸, 메톡시; 피리딜; 및 티오펜으로부터 선택된 기에 의해 선택적으로 치환된다.

[0516] R²가 C₅₋₁₀ 아릴기인 경우, 이는 C₅₋₇ 아릴기일 수 있다. C₅₋₇ 아릴기는 페닐기 또는 C₅₋₇ 헤테로아릴기, 예를 들어 푸라닐, 티오펜 및 피리딜일 수 있다. 일부 구현예에서, R²는 바람직하게는 페닐이다. 다른 구현예에서, R²는 바람직하게는 티오펜, 예를 들어, 티오펜-2-일 및 티오펜-3-일이다.

[0517] R²가 C₅₋₁₀ 아릴기인 경우, 이는 C₈₋₁₀ 아릴, 예를 들어 퀴놀리닐 또는 이소퀴놀리닐기일 수 있다. 퀴놀리닐 또는 이소퀴놀리닐기는 어느 이용가능한 고리 위치를 통해 PBD 코어에 결합할 수 있다. 예를 들어, 퀴놀리닐은 퀴놀린-2-일, 퀴놀린-3-일, 퀴놀린-4-일, 퀴놀린-5-일, 퀴놀린-6-일, 퀴놀린-7-일 및 퀴놀린-8-일일 수 있다. 물론, 퀴놀린-3-일 및 퀴놀린-6-일이 바람직할 수 있다. 이소퀴놀리닐은 이소퀴놀린-1-일, 이소퀴놀린-3-일, 이소퀴놀린-4-일, 이소퀴놀린-5-일, 이소퀴놀린-6-일, 이소퀴놀린-7-일 및 이소퀴놀린-8-일일 수 있다. 물론, 이소퀴놀린-3-일 및 이소퀴놀린-6-일이 바람직할 수 있다.

[0518] R²가 C₅₋₁₀ 아릴기인 경우, 임의의 수의 치환체를 가질 수 있다. 이는 바람직하게는 1 내지 3개의 치환체를 포함하고, 1 및 2가 더욱 바람직하고, 단일 치환된 기가 가장 바람직하다. 치환체는 임의의 위치에 있을 수 있다.

[0519] R²가 C₅₋₇ 아릴기인 경우, 단일 치환체는 바람직하게는 화합물의 나머지에 대한 결합에 인접하지 않는데, 즉, 이는 바람직하게는 화합물의 나머지에 대한 결합에 β 또는 γ가 되는 고리 원자 상에 있다. 따라서, C₅₋₇ 아릴기가 페닐인 경우, 치환체는 바람직하게는 메타- 또는 파라-위치에 있고, 더욱 바람직하게는 파라-위치에 있다.

[0520] R²가 C₈₋₁₀ 아릴기, 예를 들어 퀴놀리닐 또는 이소퀴놀리닐인 경우, 이는 퀴놀린 또는 이소퀴놀린 고리의 임의의 위치에 임의의 수의 치환체를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 이는 1, 2 또는 3개의 치환체를 포함할 수 있으며, 이들은 가까운 고리 및 먼 고리, 또는 (하나 이상의 치환체가 있는 경우) 이들 모두 중 어느 것일 수 있다.

[0521] R²가 C₅₋₁₀ 아릴기인 경우, R² 치환체

[0522] R²가 C₅₋₁₀ 아릴기일 때 R² 상의 치환체가 할로인 경우, 이는 바람직하게는 F 또는 Cl, 더욱 바람직하게는 Cl이다.

[0523] R²가 C₅₋₁₀ 아릴기일 때 R² 상의 치환체가 에테르인 경우, 이는 일부 구현예에서 알콕시기, 예를 들어, C₁₋₇ 알콕시기 (예를 들어, 메톡시, 에톡시)일 수 있거나, 또는 일부 구현예에서는 C₅₋₇ 아릴옥시기 (예를 들어 페녹시, 피리딜옥시, 푸라닐옥시)일 수 있다. 알콕시기는 그 자체로, 예를 들어 아미노기 (예를 들어, 디메틸아미노)에 의해 추가로 치환될 수 있다.

[0524] R^2 가 C_{5-10} 아릴기일 때 R^2 상의 치환체가 C_{1-7} 알킬인 경우, 이는 바람직하게는 C_{1-4} 알킬기 (예를 들어, 메틸, 에틸, 프로필, 부틸)일 수 있다.

[0525] R^2 가 C_{5-10} 아릴기일 때 R^2 상의 치환체가 C_{3-7} 헤테로사이클릴인 경우, 이는 일부 구현예에서 C_6 질소 함유 헤테로사이클릴기, 예를 들어, 모르폴리노, 티오모르폴리노, 피페리디닐, 피페라지닐일 수 있다. 이들 기는 질소 원자를 통해 PBD 모이어티의 나머지에 결합될 수 있다. 이들 기는 예를 들어, C_{1-4} 알킬기에 의해 추가로 치환될 수 있다. C_6 질소 함유 헤테로사이클릴기가 피페라지닐인 경우, 상기 추가의 치환체는 제2 질소 고리 원자 상에 있을 수 있다.

[0526] R^2 가 C_{5-10} 아릴기일 때 R^2 상의 치환체가 비스-옥시- C_{1-3} 알킬렌인 경우, 이것은 바람직하게는 비스-옥시-메틸렌 또는 비스-옥시-에틸렌이다.

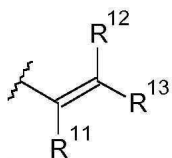
[0527] R^2 가 C_{5-10} 아릴기일 때 R^2 상의 치환체가 에스테르인 경우, 이것은 바람직하게는 메틸 에스테르 또는 에틸 에스테르이다.

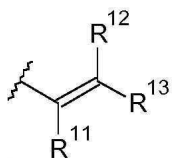
[0528] R^2 가 C_{5-10} 아릴기인 경우 특히 바람직한 치환체는 메톡시, 에톡시, 플루오로, 클로로, 시아노, 비스-옥시-메틸렌, 메틸-피페라지닐, 모르폴리노 및 메틸-티오펜을 포함한다. R^2 에 대한 특히 바람직한 다른 치환체는 디메틸아미노프로필옥시 및 카복시이다.

[0529] R^2 가 C_{5-10} 아릴기인 경우 특히 바람직한 치환된 R^2 기는, 4-메톡시-페닐, 3-메톡시페닐, 4-에톡시-페닐, 3-에톡시-페닐, 4-플루오로-페닐, 4-클로로-페닐, 3,4-비스옥시메틸렌-페닐, 4-메틸티오펜, 4-시아노페닐, 4-페녹시페닐, 퀴놀린-3-일 및 퀴놀린-6-일, 이소퀴놀린-3-일 및 이소퀴놀린-6-일, 2-티에닐, 2-푸라닐, 메톡시나프틸, 및 나프틸을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 또 다른 가능한 치환된 R^{12} 기는 4-니트로페닐이다. 관심있는 특정 R^{12} 기는 4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐 및 3,4-비스옥시메틸렌-페닐을 포함한다.

[0530] R^2 가 C_{1-5} 포화 지방족 알킬인 경우, 이는 메틸, 에틸, 프로필, 부틸 또는 펜틸일 수 있다. 일부 구현예에서, 이는 메틸, 에틸 또는 프로필 (n-펜틸 또는 이소프로필)일 수 있다. 일부 구현예에서, 이는 메틸일 수 있다. 다른 구현예에서, 이는 부틸 또는 펜틸일 수 있으며, 선형 또는 분기형일 수 있다.

[0531] R^2 가 C_{3-6} 포화 사이클로알킬인 경우, 이는 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸 또는 사이클로헥실일 수 있다. 일부 구현예에서, 이는 사이클로프로필일 수 있다.



[0532] R^2 가 인 경우, R^{11} , R^{12} 및 R^{13} 각각은 H, C_{1-3} 포화 알킬, C_{2-3} 알케닐, C_{2-3} 알킬 및 사이클로프로필로부터 독립적으로 선택되고, 이 때 R^2 기 상의 탄소 원자의 총 수는 5개 이하이다. 일부 구현예에서, R^2 기 상의 탄소 원자의 총 수는 4개 이하, 또는 3개 이하이다.

[0533] 일부 구현예에서, R^{11} , R^{12} 및 R^{13} 중 하나는 H이고, 다른 2개의 기는 H, C_{1-3} 포화 알킬, C_{2-3} 알케닐, C_{2-3} 알킬 및 사이클로프로필로부터 선택된다.

[0534] 다른 구현예에서, R^{11} , R^{12} 및 R^{13} 중 둘은 H이고, 다른 하나의 기는 H, C_{1-3} 포화 알킬, C_{2-3} 알케닐, C_{2-3} 알킬 및 사이클로프로필로부터 선택된다.

[0535] 일부 구현예에서, H가 아닌 기는 메틸 및 에틸로부터 선택된다. 일부 구현예에서, H가 아닌 기는 메틸이다.

[0536] 일부 구현예에서, R^{11} 은 H이다.

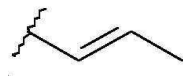
[0537] 일부 구현예에서, R¹²는 H이다.

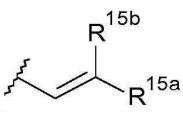
[0538] 일부 구현예에서, R¹³은 H이다.

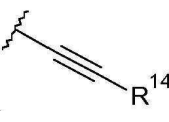
[0539] 일부 구현예에서, R¹¹ 및 R¹²는 H이다.

[0540] 일부 구현예에서, R¹¹ 및 R¹³은 H이다.

[0541] 일부 구현예에서, R¹² 및 R¹³은 H이다.

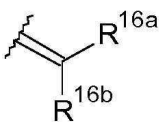
[0542] 특정 관심 R² 기는  이다.

[0543] R²가  인 경우, R^{15a} 및 R^{15b} 중 하나는 H이고, 다른 하나는 페닐로부터 선택되며, 이때 페닐은 할로, 메틸, 메톡시; 피리딜; 및 티오펜일로부터 선택된 기에 의해 선택적으로 치환된다. 일부 구현예에서, H가 아닌 기는 선택적으로 치환된 페닐이다. 페닐 선택적인 치환체가 할로인 경우, 이는 바람직하게는 플루오로이다. 일부 구현예에서, 페닐기는 비치환된다.

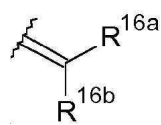
[0544] R²가  인 경우, R¹⁴는 H; C₁₋₃ 포화 알킬; C₂₋₃ 알케닐; C₂₋₃ 알키닐; 사이클로프로필; 페닐로부터 선택되고, 이때 페닐은 할로 메틸, 메톡시; 피리딜; 및 티오펜일로부터 선택된 기에 의해 선택적으로 치환된다. 페닐 선택적인 치환체가 할로인 경우, 이는 바람직하게는 플루오로이다. 일부 구현예에서, 페닐기는 비치환된다.

[0545] 일부 구현예에서, R¹⁴는 H, 메틸, 에틸, 에테닐 및 에티닐로부터 선택된다. 일부 구현예에서, R¹⁴는 H 및 메틸로부터 선택된다.

[0546] C2와 C3 사이의 단일 결합이 있는 경우,

[0547] R²는 H 또는  인데, 여기에서 R^{16a} 및 R^{16b}는 H, F, C₁₋₄ 포화 알킬, C₂₋₃ 알케닐로부터 독립적으로 선택되며, 이때 알킬 및 알케닐기는 C₁₋₄ 알킬 아미도 및 C₁₋₄ 알킬 에스테르로부터 선택된 기에 의해 선택적으로 치환되거나; 또는 R^{16a} 및 R^{16b} 중 하나가 H일 때, 다른 하나는 니트릴 및 C₁₋₄ 알킬 에스테르로부터 선택된다.

[0548] 일부 구현예에서, R²는 H이다.

[0549] 일부 구현예에서, R²는  이다.

[0550] 일부 구현예에서, R^{16a} 및 R^{16b}는 모두 H인 것이 바람직하다.

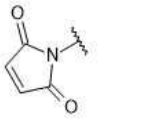
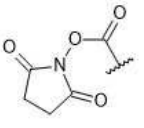
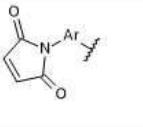
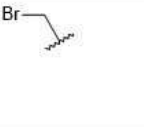
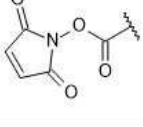

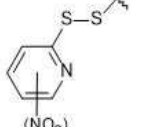
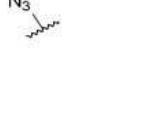
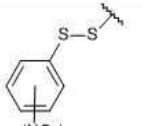
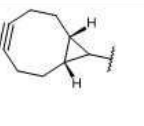
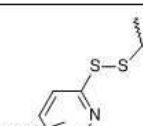
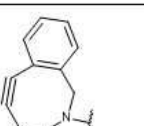
[0551] 다른 구현예에서, R^{16a} 및 R^{16b}는 모두 메틸인 것이 바람직하다.

[0552] 추가 구현예에서, R^{16a} 및 R^{16b} 중 하나는 H이고, 다른 하나는 C₁₋₄ 포화 알킬, C₂₋₃ 알케닐로부터 선택되며, 이때 알킬 및 알케닐기는 선택적으로 치환된 것이 바람직하다. 이들 추가 구현예에서, H가 아닌 기가 메틸 및 에틸

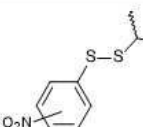
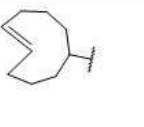
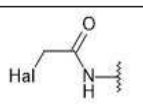
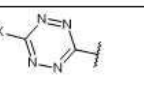
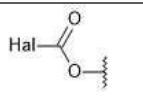
로부터 선택되는 것이 더욱 바람직할 수 있다.

- [0553] $R^{2'}$
- [0554] $R^{2'}$ 에 대한 상기 참조사항은 $R^{2'}$ 에 대해 동등하게 적용한다.
- [0555] R^{11a}
- [0556] 일부 구현예에서, R^{11a} 는 OH이다.
- [0557] 일부 구현예에서, R^{11a} 는 OR^A 이다. 이들 구현예 중 일부에서, R^A 는 메틸이다.
- [0558] 일부 구현예에서, R^{11a} 는 OH, OR^A , 및 SO_2M 으로부터 선택되고, 여기서 R^A 는 C_{1-4} 알킬이고, z 는 2 또는 3이고 그리고 M 은 1가의 약제학적으로 허용가능한 양이온이다.
- [0559] R^{30} 및 R^{31}
- [0560] 일부 구현예에서, R^{30} 은 H이고, R^{31} 은 OH이다. 다른 구현예에서, R^{30} 은 H이고, R^{31} 은 OR^A 이다. 이들 구현예 중 일부에서, R^A 는 메틸이다.
- [0561] 다른 구현예에서, R^{30} 및 R^{31} 은 이들이 결합되는 질소와 탄소 원자 사이에 질소-탄소 이중 결합을 형성한다.
- [0562] 다른 구현예에서, R^{30} 은 H이고 R^{31} 은 SO_2M 이며, 여기서 z 는 2 또는 3이고 M 은 1가의 약제학적으로 허용가능한 양이온이다.
- [0563] M 및 z
- [0564] 바람직하게는, M 은 1가의 약제학적으로 허용가능한 양이온이고, 더 바람직하게는 Na^+ 이다.
- [0565] z 는 바람직하게는 3이다.
- [0566] 링커 (R^L)
- [0567] 일부 구현예에서, R^L 은 식 IIIa의 것이다.
- [0568] 일부 구현예에서, R^{LL} 은 식 IIIa'의 것이다.
- [0569] G^L

[0570] G^L 은 하기로부터 선택될 수 있다

(G ^{L1-1})		(G ^{L6})	
(G ^{L1-2})		(G ^{L7})	
(G ^{L2})		(G ^{L8})	
(G ^{L3-1})	 상기 식에서 NO ₂ 기는 선택적임	(G ^{L9})	
(G ^{L3-2})	 상기 식에서 NO ₂ 기는 선택적임	(G ^{L10})	
(G ^{L3-3})	 상기 식에서 NO ₂ 기는 선택적임	(G ^{L11})	

[0571]

(G ^{L3-4})	 상기 식에서 NO ₂ 기는 선택적임	(G ^{L12})	
(G ^{L4})	 상기 식에서 Hal = I, Br, Cl	(G ^{L13})	
(G ^{L5})			

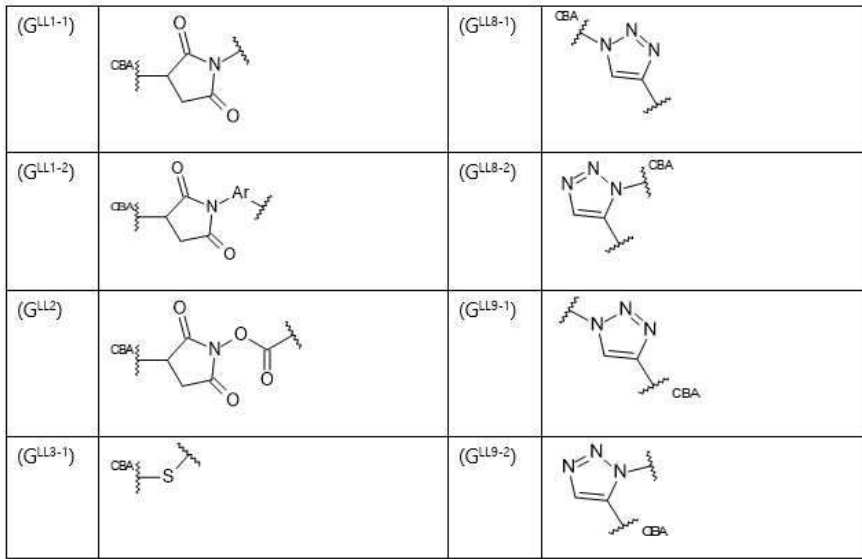
[0572]

[0573] 상기에서 Ar은 C₅₋₆ 아릴렌 기, 예를 들어 페닐렌을 나타내고, X는 C₁₋₄ 알킬을 나타낸다.

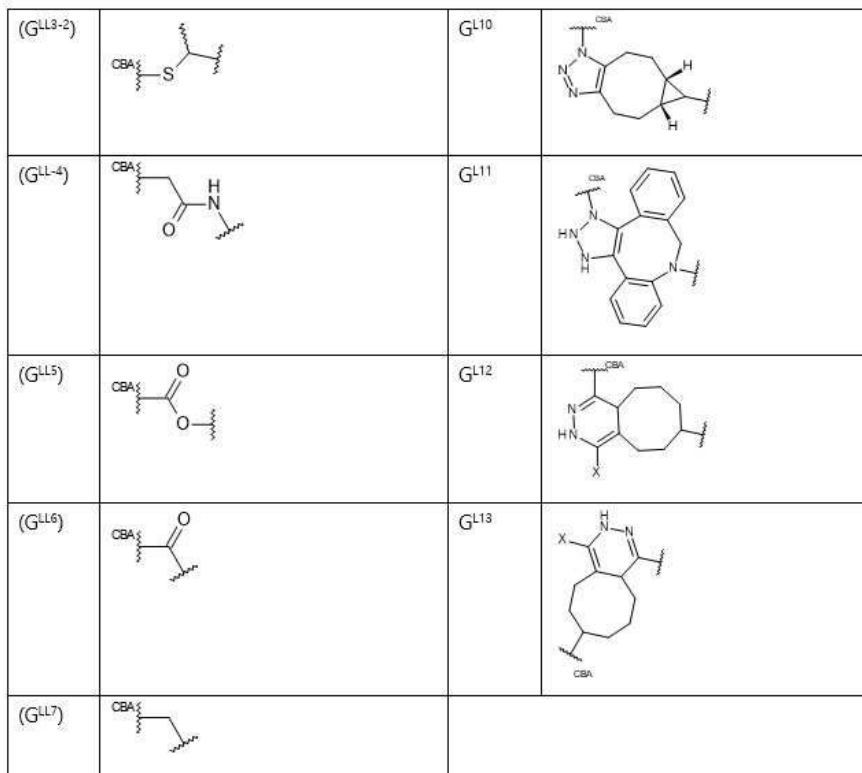
[0574] 일부 구현예에서, G^L 은 G^{L1-1} 및 G^{L1-2} 로부터 선택된다. 이들 구현예 중 일부에서, G^L 은 G^{L1-1} 이다.

[0575] G^{LL}

[0576] G^{LL} 은 하기로부터 선택될 수 있다:



[0577]



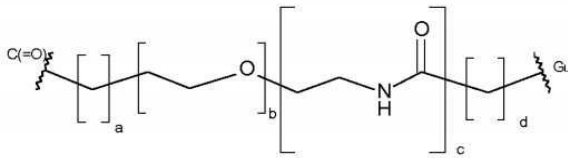
[0578]

[0579] 상기에서 Ar은 C₅₋₆ 아릴렌기, 예를 들어 페닐렌을 나타내고, X는 C₁₋₄ 알킬을 나타낸다.

[0580] 일부 구현예에서, G^{LL} 은 G^{LL1-1} 및 G^{LL1-2} 로부터 선택된다. 이들 구현예 중 일부에서, G^{LL} 은 G^{LL1-1} 이다.

[0581] X

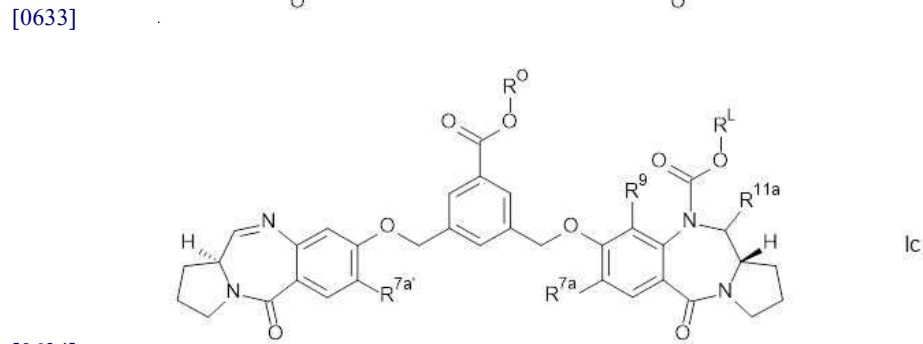
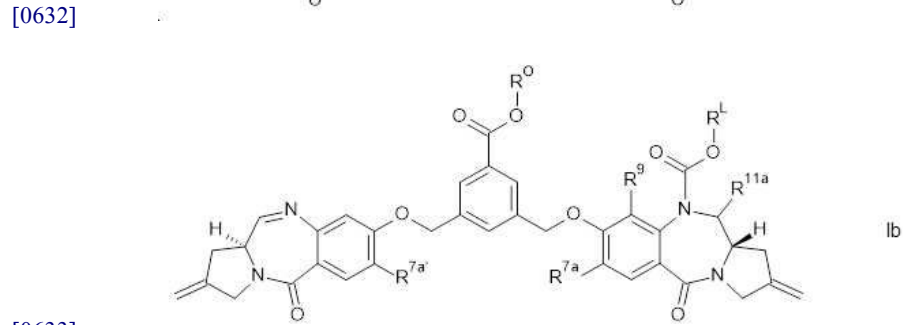
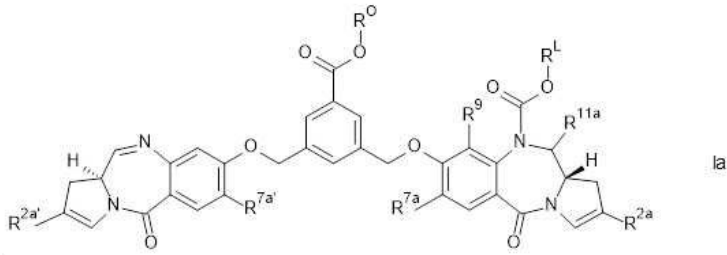
[0582] X는 하기이다:



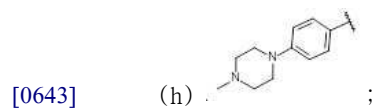
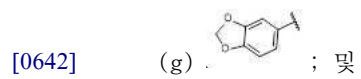
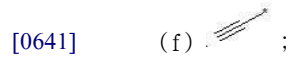
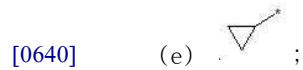
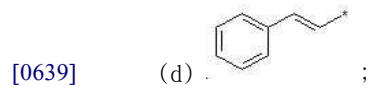
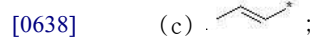
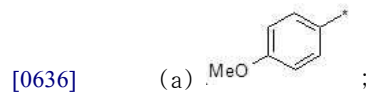
- [0583]
- [0584] 여기에서, a = 0 내지 5, b = 0 내지 16, c = 0 또는 1, d = 0 내지 5.
- [0585] a는 0, 1, 2, 3, 4 또는 5일 수 있다. 일부 구현예에서, a는 0 내지 3이다. 일부 구현예에서, a는 0 또는 1이다. 추가 구현예에서, a는 0이다.
- [0586] b는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16일 수 있다. 일부 구현예에서, b는 0 내지 12이다. 일부 구현예에서, b는 0 내지 8이고, 0, 2, 4 또는 8일 수 있다.
- [0587] c는 0 또는 1일 수 있다.
- [0588] d는 0, 1, 2, 3, 4 또는 5일 수 있다. 일부 구현예에서, d는 0 내지 3이다. 일부 구현예에서, d는 1 또는 2이다. 추가 구현예에서, d는 2이다.
- [0589] X의 일부 구현예에서, a는 0이고, c는 1이고, d는 2이고, b는 0 내지 8일 수 있다. 일부 구현예에서, b는 0, 4 또는 8이다.
- [0590] Q
- [0591] 하나의 구현예에서, Q는 아미노산 잔기이다. 아미노산은 천연 아미노산 또는 비-천연 아미노산일 수 있다.
- [0592] 하나의 구현예에서, Q는 Phe, Lys, Val, Ala, Cit, Leu, Ile, Arg, 및 Trp로부터 선택되며, 여기에서 Cit은 시트룰린이다.
- [0593] 하나의 구현예에서, Q는 디펩티드 잔기를 포함한다. 디펩티드 내의 아미노산은 천연 아미노산과 비-천연 아미노산의 어느 조합일 수 있다. 일부 구현예에서, 디펩티드는 천연 아미노산을 포함한다. 링커가 카텝신 불안정 링커인 경우, 디펩티드는 카텝신-매개 절단을 위한 작용 부위이다. 디펩티드는 이후 카텝신에 대한 인식 부위이다.
- [0594] 하나의 구현예에서, Q는 이하의 것들로부터 선택되는데:
- [0595] $^{CO}-Phe-Lys-^{NH}$,
- [0596] $^{CO}-Val-Ala-^{NH}$,
- [0597] $^{CO}-Val-Lys-^{NH}$,
- [0598] $^{CO}-Ala-Lys-^{NH}$,
- [0599] $^{CO}-Val-Cit-^{NH}$,
- [0600] $^{CO}-Phe-Cit-^{NH}$,
- [0601] $^{CO}-Leu-Cit-^{NH}$,
- [0602] $^{CO}-Ile-Cit-^{NH}$,
- [0603] $^{CO}-Phe-Arg-^{NH}$, 및
- [0604] $^{CO}-Trp-Cit-^{NH}$;
- [0605] 여기에서, Cit는 시트룰린이다.
- [0606] 바람직하게는, Q는 이하의 것들로부터 선택된다:

- [0607] $^{\text{CO}}\text{-Phe-Lys-}^{\text{NH}}$,
- [0608] $^{\text{CO}}\text{-Val-Ala-}^{\text{NH}}$,
- [0609] $^{\text{CO}}\text{-Val-Lys-}^{\text{NH}}$,
- [0610] $^{\text{CO}}\text{-Ala-Lys-}^{\text{NH}}$,
- [0611] $^{\text{CO}}\text{-Val-Cit-}^{\text{NH}}$.
- [0612] 가장 바람직하게, Q는 $^{\text{CO}}\text{-Phe-Lys-}^{\text{NH}}$, $^{\text{CO}}\text{-Val-Cit-}^{\text{NH}}$ 및 $^{\text{CO}}\text{-Val-Ala-}^{\text{NH}}$ 로부터 선택된다.
- [0613] 다른 관심 디펩티드 조합은 이하의 것들을 포함한다:
- [0614] $^{\text{CO}}\text{-Gly-Gly-}^{\text{NH}}$,
- [0615] $^{\text{CO}}\text{-Pro-Pro-}^{\text{NH}}$, 및
- [0616] $^{\text{CO}}\text{-Val-Glu-}^{\text{NH}}$.
- [0617] 본원에 참고로 포함된 Dubowchik 등, Bioconjugate Chemistry, 2002, 13, 855-869에 기술된 것들을 포함하는 다른 디펩티드 조합이 사용될 수 있다.
- [0618] 일부 구현예에서, Q^x는 트리펩티드 잔기이다. 트리펩티드 내의 아미노산은 천연 아미노산과 비-천연 아미노산의 어느 조합일 수 있다. 일부 구현예에서, 트리펩티드는 천연 아미노산을 포함한다. 링커가 카텝신 불안정 링커인 경우, 트리펩티드는 카텝신-매개 절단을 위한 작용 부위이다. 트리펩티드는 이후 카텝신에 대한 인식 부위이다.
- [0619] 하나의 구현예에서, 아미노산 측쇄는 적절한 경우 화학적으로 보호된다. 측쇄 보호기는 이하에서 논의될 기일 수 있다. 보호된 아미노산 서열은 효소에 의해 절단가능하다. 예를 들어, Boc 측쇄-보호된 Lys 잔기를 포함하는 디펩티드 서열은 카텝신에 의해 절단가능하다.
- [0620] 아미노산 측쇄를 위한 보호기는 당업계에서 잘 알려져 있고, Novabiochem Catalog에 기재되며, 상기에서 기술되었다.
- [0621] 일부 구현예에서, R^L은 식 IIIb의 것이다.
- [0622] 일부 구현예에서, R^{LL}은 식 IIIb'의 것이다.
- [0623] R^{L1} 및 R^{L2}는 H 및 메틸로부터 독립적으로 선택되거나, 또는 이들이 결합되는 탄소 원자와 함께 사이클로프로필렌 또는 사이클로부틸렌 기를 형성한다.
- [0624] 일부 구현예에서, R^{L1} 및 R^{L2} 둘 모두는 H이다.
- [0625] 일부 구현예에서, R^{L1}은 H이고 R^{L2}는 메틸이다.
- [0626] 일부 구현예에서, R^{L1} 및 R^{L2} 둘 모두는 메틸이다.
- [0627] 일부 구현예에서, R^{L1} 및 R^{L2}는 이들이 결합되는 탄소 원자와 함께 사이클로프로필렌 기를 형성한다.
- [0628] 일부 구현예에서, R^{L1} 및 R^{L2}는 이들이 결합되는 탄소 원자와 함께 사이클로부틸렌 기를 형성한다.
- [0629] IIIb 기에서는, 일부 구현예에서, e는 0이다. 다른 구현예에서, e는 1이고, 니트로기는 고리의 이용가능한 어느 위치에 있을 수 있다. 일부 구현예에서, 이는 오쏘 위치에 있다. 다른 추가 구현예에서, 이는 파라 위치에 있다.
- [0630] 일 특정 구현예에서, 본 발명의 제1 양태는 하기의 화합물을 포함한다

[0631] 일부 구현예에서 본 발명의 제1 양태는 하기 식 Ia, Ib 또는 Ic의 것이다:



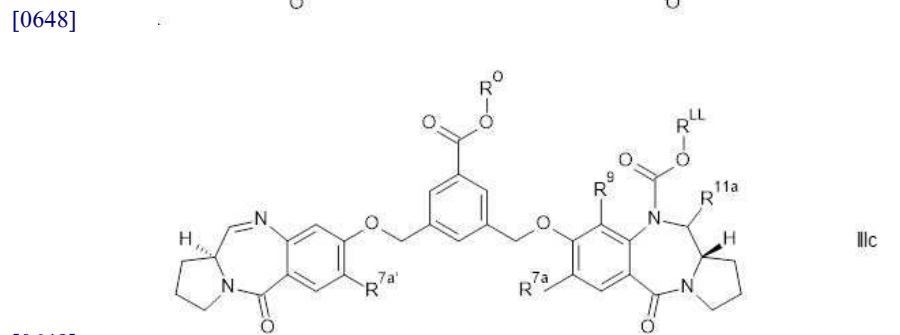
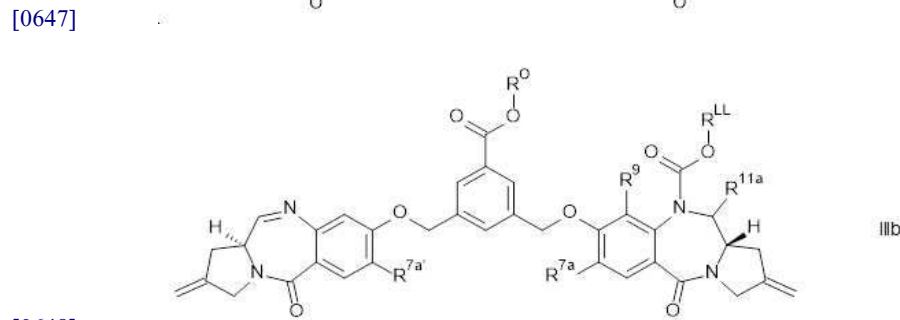
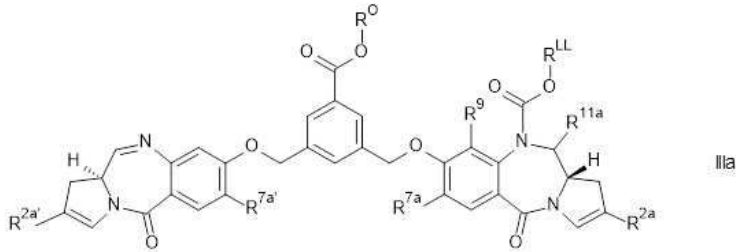
[0634] [0635] 상기에서 R^{2a} 및 R^{2a'}는 동일하고 하기로부터 선택된다:



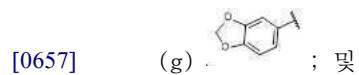
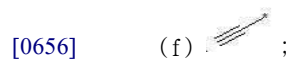
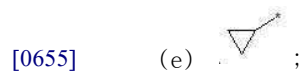
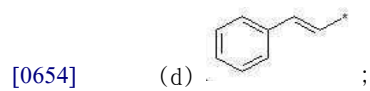
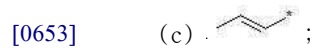
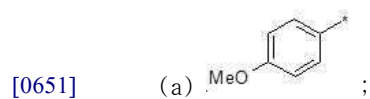
[0644] R^{7a} 및 $R^{7a'}$ 는 동일하고 메톡시 및 벤질옥시로부터 선택되고;

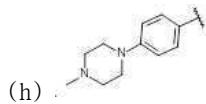
[0645] R^0 , R^{L1} 및 R^{11a} 는 상기에 정의된 것이다.

[0646] 본 발명의 제3 양태의 일부 구현예에서, 약물 링커 (D^L)는 하기 식 IIIa, IIIb 또는 IIIc의 것이다:



[0649] 상기에서 R^{2a} 및 $R^{2a'}$ 는 동일하고 하기로부터 선택된다:





- [0658] (h) ;
- [0659] R^{7a} 및 $R^{7a'}$ 는 동일하고 메톡시 및 벤질옥시로부터 선택된다;
- [0660] R^0 , R^{11a} 및 $R^{11a'}$ 는 상기에 정의된 것이다.

[0661] **실시예**

[0662] 일반적인 정보

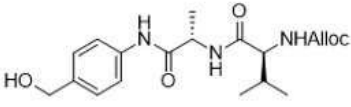
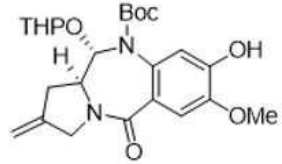
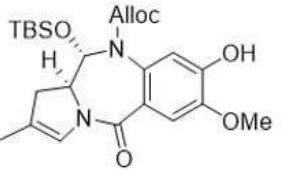
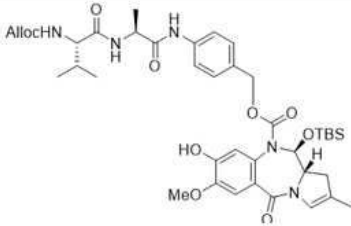

[0663] 플래시 크로마토그래피는 모든 UV 활성 구성요소가 칼럼으로부터 용출될 때까지 표시된 바와 같은 헥산/EtOAc 또는 CH_2Cl_2 /MeOH 혼합물로 구배 용출을 사용한 Biotage Isolera 1™을 사용하여 수행되었다. 구배는 UV 활성 물질의 실질적인 용출이 관측될 때마다 수작업으로 유지되었다. 분획은 알루미늄 플레이트 상에 형광 인디케이터를 갖는 Merck Kieselgel 60 F254 실리카겔을 사용한 박층 크로마토그래피 (TLC)를 사용하여 순도에 대해 확인되었다. TLC의 시각화는 달리 언급되지 않는 한 UV 광 또는 요오드 증기로 달성되었다. 추출 및 크로마토그래피 용매는 VWR U.K로부터 구매되고 추가 정제없이 사용되었다. 모든 정밀 화학물질은 Sigma-Aldrich 또는 VWR로부터 구매되었다.

[0664] 분석 LC/MS 조건 (반응 모니터링 및 순도 결정을 위함)은 아래와 같다: 양성 방식 전기분무 질량 분광분석법은 Shimadzu Nexera®/Prominence® LCMS-2020을 사용하여 수행되었다. 사용된 이동상은 용매 A (0.1% 포름산을 갖는 H_2O) 및 용매 B (0.1% 포름산을 갖는 CH_3CN)였다.

[0665] LCMS-A: 3-분 실행을 위한 구배: 초기 조성물 5% B를 25초에 걸쳐 유지하고, 그 다음 1분 35초의 기간에 걸쳐 5% B로부터 100% B로 증가시켰다. 조성물은 100% B에서 50초 동안 유지되었고, 그 다음 5초 내에 5% B로 복원되고 5초 유지되었다. 구배 실행의 총 기간은 0.8 mL/분의 유속에서 3.0분이었다. 칼럼: Waters Acquity UPLC® BEH Shield RP18 VanGuard 예비-칼럼, 130A, 1.7 μm , 2.1 mm x 5 mm가 구비된 50°C에서 Waters Acquity UPLC® BEH Shield RP18 1.7 μm 2.1 x 50 mm

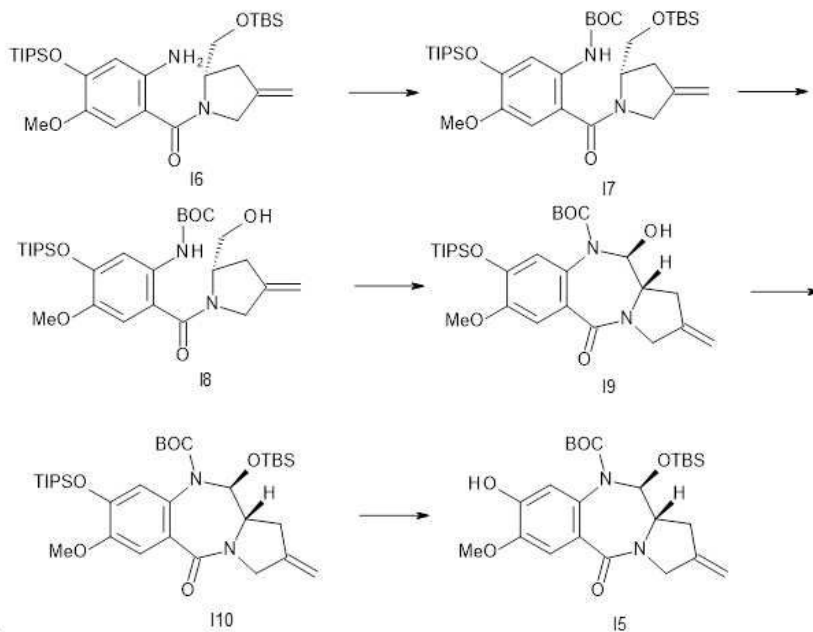
[0666] LCMS-B: 15-분 실행을 위한 구배: 초기 조성물 5% B를 1분에 걸쳐 유지하고, 그 다음 9분의 기간에 걸쳐 5% B로부터 100% B로 증가시켰다. 조성물은 100% B에서 2분 동안 유지되었고, 그 다음 10초 내에 5% B로 복원되고 2분 50초 유지되었다. 구배 실행의 총 기간은 0.6 mL/분의 유속에서 15.0분이었다. 검출은 254 nm, 223 nm 및 214 nm에서 모니터링되었다. Waters Acquity UPLC® BEH Shield RP18 VanGuard 예비-칼럼, 130A, 1.7 μm , 2.1 mm x 5 mm가 구비된 ACE Excel 2 C18-AR, 2 μ , 3.0 x 100mm.

[0667] 중간체

구조	참고문헌
	WO2011/130598; 화합물 8
	WO2014/159981; 화합물 1
	WO2013/053872; 화합물 26
	WO2013/053872; 화합물 32
	하기 참고

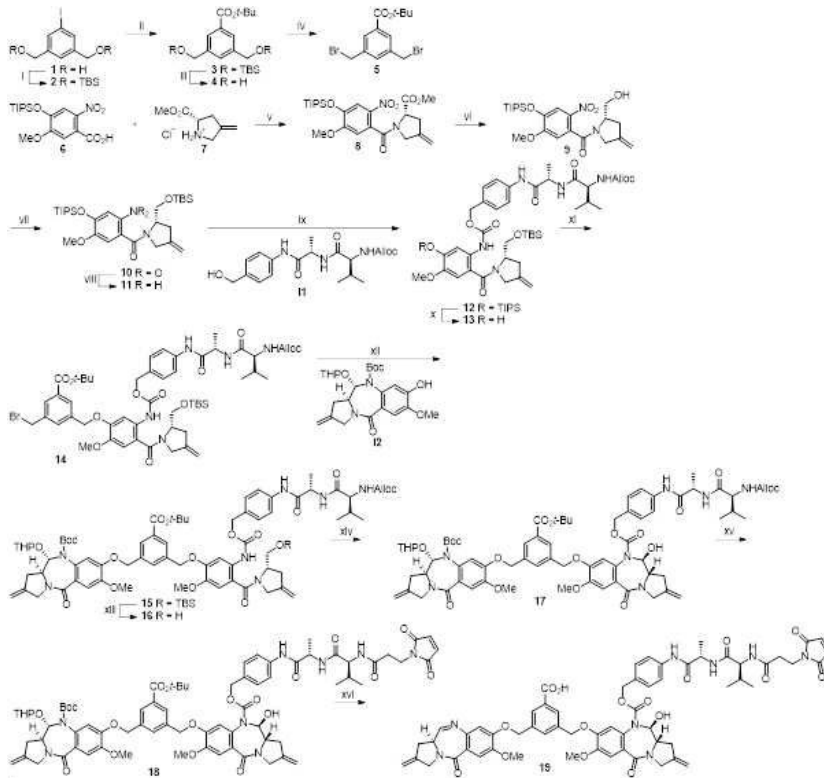
[0668]

[0669] tert-부틸 (11S,11aS)-11-((tert-부틸디메틸실릴)옥시)-8-하이드록시-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-10(5H)-카복실레이트 (15)의 합성



[0670]

- [0671] I6은 WO 2018/182341의 화합물 152이다
- [0672] (i) tert-부틸 (S)-(2-(2-(((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)-4-메틸렌파이롤리딘-1-카보닐)-4-메톡시-5-((트리이소프로필실릴)옥시)페닐)카바메이트 (I7)
- [0673] I6 (400 g, 1 당량), CH₂Cl₂ (4 L) 및 Boc₂O (206.7 g, 1.3 당량)을 반응기에 첨가하고 70°C에서 20시간 동안 교반하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고 진공에서 농축시켜서 I7 (450 g, 95%)을 얻어 추가 정제없이 사용하였다.
- [0674] (ii) tert-부틸 (S)-(2-(2-(하이드록시메틸)-4-메틸렌파이롤리딘-1-카보닐)-4-메톡시-5-((트리이소프로필실릴)옥시)페닐)카바메이트 (I8)
- [0675] I7 (210 g, 1.0 당량) THF (76 mL), MeOH (76 mL) AcOH (533 mL) 및 H₂O (151 mL)를 반응기에 첨가하고 20시간 동안 교반하였다. 혼합물을 EtOAc (30 V) 및 H₂O (20 V)로 희석하고 혼합물을 격렬하게 교반했다. 유기상을 포화 NaHCO₃ 용액 (20 V)과, 그 다음 염수 (20 V)로 세정하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. 플래시 칼럼 크로마토그래피 (8:1 - 2:1 석유 에테르/EtOAc)로 정제하여 I8을 백색 고체로 얻었다 (150 g, 87%).
- [0676] (iii) tert-부틸 ((1S,11aS)-11-하이드록시-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-8-((트리이소프로필실릴)옥시)-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-10(5H)-카복실레이트 (I9)
- [0677] (COCl)₂ (28.5 g, 1.0 당량)를 N₂ 하에서 반응기 내 CH₂Cl₂ (900 mL)에 첨가하고 혼합물은 -80°C로 냉각시켰다. CH₂Cl₂ (600 mL) 내 I8의 용액 (120 g, 1.0 당량)을 30분에 걸쳐 적가하였고, 그 다음 Et₃N (113.5 g, 5.0 당량)을 30분에 걸쳐 적가하였다. 혼합물을 실온으로 가온시키고 5시간 동안 교반하고 5% 수성 시트르산 (10 V)의 첨가로 켄칭하였다. 유기상을 포화 NaHCO₃ (5 V) 및 H₂O (5 V)로 연속으로 세정하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. 조 생성물은 90°C에서 헵탄 (10 V) 내에서 교반하고 0-5°C로 냉각시켰다. 얻어진 백색 침전물을 여과로 분리하고 진공 오븐에서 50°C에서 건조하여 I9 (105 g, 88%)를 얻었다.
- [0678] (iv) tert-부틸 ((1S,11aS)-11-((tert-부틸디메틸실릴)옥시)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-8-((트리이소프로필실릴)옥시)-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-10(5H)-카복실레이트 (I10)
- [0679] I9 (150 g, 1.0 당량) 및 CH₂Cl₂ (1.5 L, 10 V)를 반응기에 충전하고 혼합물을 0-5°C로 냉각시켰다. 루티딘 (120.6 g, 4.0 당량), 그 다음 TBSOTf (223.2 g, 3.0 당량)를 첨가하고 혼합물을 10분 동안 0-10°C에서, 그 다음 4 h 실온에서 교반하였다. 반응을 5% 수성 시트르산 (5 V)의 첨가로 켄칭하고 유기상을 포화 NaHCO₃ (5 V), H₂O (5 V)로 연속으로 세정하고 그 다음 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켜서 5 (179 g, 98%)를 오렌지색 오일로 얻었다.
- [0680] (v) tert-부틸 ((1S,11aS)-11-((tert-부틸디메틸실릴)옥시)-8-하이드록시-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-10(5H)-카복실레이트 (I5)
- [0681] DMF (1.83 L, 1 V), H₂O (37.4 mL, 0.2 V) 및 I10 (187 g, 1.0 당량)을 반응기에 충전하였다. LiOAc (19.1 g, 1.0 당량)를 첨가하고 혼합물 20 h 동안 10-20°C에서 교반하였다. 반응 혼합물을 냉수 (10 V) 및 EtOAc (20 V)로 희석하였다. 수성상을 EtOAc (10 V)로 세정하고, 유기상을 조합하고, 연속으로 5% 수성 시트르산 (10 V), 5% 수성 NaHCO₃ (10 V) 및 H₂O (10 V)로 세정하고 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. 수득한 조물질을 EtOAc (6 V)에 77°C에서 용해시키고, 헵탄 (12 V)을 첨가하고 혼합물을 0-5°C로 냉각시키고, 백색 침전물을 여과로 수집하고 50°C에서 진공 오븐에서 건조하여 6을 얻었다 (101 g, 71%).
- [0682] 실시예 1: 3-(((1S,11aS)-10-(((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파이롤-1-일)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질)옥시)카보닐)-11-하이드록시-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,10,11,11a-헥사하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)-5-(((S)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)벤조산 (19)



[0683]

[0684]

[0685]

[0686]

[0687]

[0688]

[0689]

[0690]

[0691]

(i) (((5-아이오도-1,3-페닐렌)비스(메틸렌))비스(옥시))비스(*tert*-부틸디메틸실란) (2)

둥근바닥 플라스크에 자석 교반기 막대, DMF (100 mL), 디올 **1** (10.0 g, 37.87 mmol, 1.0 당량), TBSCl (17.1 g, 113.6 mmol, 3.0 당량) 이미다졸 (15.5 g, 227.2 mmol, 6.0 당량)을 충전하고 혼합물을 20분 동안 교반하고, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물을 여과하고, EtOAc로 희석하고, 물로 세정하고, 유기상을 MgSO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. Isolera (헥산 내 0-8% EtOAc)로 정제 하여 원하는 생성물을 무색 오일로 얻었다 (17.9 g, 96%). LCMS-A: 2.29분 (ES+) 이온화 없음.

(ii) *tert*-부틸 3,5-*H*/스(((*tert*-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)벤조에이트 (3)

오븐-건조된 3-구 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기 막대 무수 톨루엔 (7.5 mL)을 충전하고 플라스크를 Ar로 퍼 지하고 플라스크를 -10°C로 냉각시켰다. BuLi (5.6 mL의 헥산 내 2.5 M 용액, 14.00 mmol, 2.0 당량), 그 다음 느리게 BuMgCl (3.5 mL의 THF 내 2.0 M 용액, 7.000 mmol, 1.0 당량)을 첨가하고 30분 동안 교반하였다. 무수 톨루엔 (15 mL) 내 **2** (8.21 g, 16.67 mmol, 2.4 당량)를 느리게 첨가하고 -10°C에서 2시간 동안 교반했다. 무 수 톨루엔 (7.5 mL) 내 Boc₂O (4.55 g, 20.84 mmol, 3.0 당량)를 -10°C에서 느리게 첨가하고 1시간 동안 교반하 고, 그 다음 차가운 10% 시트르산에 부었다. 수성상을 EtOAc로 추출하고, 유기물을 합하고, MgSO₄ 상에서 건조 시키고 진공에서 농축시켰다. Isolera 정제 (헥산 내 0-20% EtOAc를 하여 생성물을 무색 오일로 얻었다 (7.39 g, 95%). LCMS-A: 1.48분 (ES+) 이온화 없음.

(iii) *tert*-부틸 3,5-*H*/스(하이드록시메틸)벤조에이트 (4)

둥근바닥 플라스크에 자석 교반기, **3** (7.39 g, 15.83 mmol, 1.0 당량) 및 THF (75 mL)를 충전하였다. TBAF (31.7 mL의 1M 용액, 31.70 mmol, 2.0 당량)를 주사기로 첨가하고 20분 동안 교반하고 이에 의해 LCMS는 반응 이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물은 EtOAc로 희석하고, H₂O로 세정하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고 진 공에서 농축시켜서 생성물을 백색 결정성 고체로 얻었다 (3.29 g, 87%). LCMS-A: 1.24분 (ES+) 이온화 없음.

(iv) *tert*-부틸 3,5-*H*/스(브로모메틸)벤조에이트 (5)

둥근바닥 플라스크에 자석 교반기, **4** (3.29 g, 15.83 mmol, 1.0 당량), CH₂Cl₂ (200 mL)를 충전하고 -78°C로 냉 각시켰다. PPh₃ (17.4 g, 66.34 mmol, 4.2 당량)를 첨가하고, 그 다음 CBr₄ (23.1 g, 69.65 mmol, 4.4 당량)를 나누어서 첨가하고 반응을 rt로 가온되도록 하였다. 반응물을 SiO₂ (CH₂Cl₂/헥산)를 통해 여과하고 isolera (헥

산 내 0-20% EtOAc)로 정제하여 생성물을 백색 고체로서 얻었다 (1.43 g, 26%). LCMS-A: 1.81분 (ES+) 이온화 없음.

[0692] (v) 메틸 (S)-1-(5-메톡시-2-니트로-4-((트리이소프로필실릴)옥시)벤조일)-4-메틸렌피롤리딘-2-카복실레이트 (8)

[0693] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기, THF (15 mL), **6** (1.89 g, 5.118 mmol, 1.0 당량), HOBt (761 mg, 5.630 mmol, 1.1 당량), DIC (872 μ L, 5.630 mmol, 1.1 당량) 및 *i*-Pr₂NEt (1.96 mL, 11.26 mmol, 2.2 당량)를 충전하고 혼합물을 10분 동안 교반하였다. **7** (1.00 g, 5.630 mmol, 1.1 당량)을 나누어서 첨가하고 반응 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. 반응물을 CH₂Cl₂로 희석하고, 0.2N HCl 용액으로 세정하고, 유기물을 MgSO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. 플래시 칼럼 크로마토그래피 (헥산 20-30% EtOAc)로 정제하여 원하는 생성물을 황색 오일로서 얻었다 (1.19 g, 47%). LCMS-A: 2.00분 (ES+) m/z 493 [M + H]⁺, 515 [M + Na]⁺

[0694] (vi) (S)-(2-(하이드록시메틸)-4-메틸렌피롤리딘-1-일)(5-메톡시-2-니트로-4-((트리이소프로필실릴)옥시)페닐)메탄올 (9)

[0695] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기, THF (15 mL), **8** (1.17 g, 2.383 mmol, 1.0 당량)를 충전하였고 교반 혼합물을 0°C로 냉각시켰다. 조심스럽게, LiBH₄ (156 mg, 7.149 mmol, 3.0 당량)를 첨가하고 혼합물을 1시간 동안 0°C에서, 그리고 추가로 1.5시간 실온에서 교반하였다. 반응을 빙랭 H₂O의 첨가로 퀸칭하고 1N HCl로 pH를 약 6으로 조정했다. 수성 혼합물을 CH₂Cl₂로 추출하고, 유기물을 합하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켜서 원하는 생성물을 황색 포옴으로 얻어 (1.06 g, 96%) 추가 정제없이 사용하였다. LCMS-A: 1.92분 (ES+) m/z 465 [M + H]⁺, 487 [M + Na]⁺

[0696] (vii) (S)-(2-(((*tert*-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)-4-메틸렌피롤리딘-1-일)(5-메톡시-2-니트로-4-((트리이소프로필실릴)옥시)페닐)메탄올 (10)

[0697] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기, CH₂Cl₂ (10 mL), **9** (1.06 g, 2.281 mmol, 1.0 당량), 이미다졸 (467 mg, 6.858 mmol, 3.0 당량) TBSCl (517 mg, 3.429 mmol, 1.5 당량)을 충전하고 1시간 동안 교반하여, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물을 여과하고, 여액을 H₂O, 염수로 세정하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. 플래시 칼럼 크로마토그래피 (헥산 내 20-30% EtOAc)로 정제하여 원하는 생성물을 황색 오일로서 얻었다 (1.27 g, 96%). LCMS-A: 2.30분 (ES+) m/z 579 [M + H]⁺, 601 [M + Na]⁺

[0698] (viii) (S)-(2-아미노-5-메톡시-4-((트리이소프로필실릴)옥시)페닐)(2-(((*tert*-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)-4-메틸렌피롤리딘-1-일)메탄올 (11)

[0699] 3-구 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기, **10** (10.0 g, 17.27 mmol, 1.0 당량), EtOH (170 mL), Zn (23.6 g, 345.4 mmol, 20 당량)을 충전하고 0°C로 냉각시켰다. EtOH 내 5% HCO₂H (340 mL)를 적하 깔때기로 적가하고 30분 동안 교반하여, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물은 EtOAc (200 mL)로 희석하고 셀라이트를 통해 여과하였다. 수성상의 pH가 염기성이 될 때까지 포화 NaHCO₃ 용액을 여과물에 첨가하였다. 상을 분리하고, 수성상은 EtOAc (2 x 100 mL)로 세정하고, 유기상을 조합하고 염수로 세정하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켜서 추가 정제없이 사용되는 황색 오일을 얻었다 (8.99 g, 95%). LCMS-A: 2.23분 (ES+) m/z 549 [M + H]⁺, 571 [M + Na]⁺

[0700] (ix) 4-((S)-2-((S)-2-((알릴옥시)카보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질 (2-((S)-2-(((*tert*-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)-4-메틸렌피롤리딘-1-카보닐)-4-메톡시-5-((트리이소프로필실릴)옥시)페닐)카바메이트 (12)

[0701] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기, **11** (8.99 g, 16.38 mmol, 1.0 당량), THF (90 mL), Et₃N (5.4 mL, 35.90 mmol, 2.2 당량)을 충전하고, 플라스크를 Ar로 퍼지하고 혼합물을 -10°C로 냉각시켰다. 트리포스겐 (1.75 g, 5.897 mmol, 0.36 당량)을 Ar의 흐름 상에서 한번에 첨가하였다. 5분 후, LCMS는 (MeOH 퀸칭 및 메틸 카바메이트의 관찰 방식에 의해) 이소시아네이트 형성이 완료되었다는 것을 나타냈다. **I1** (9.27 g, 24.57 mmol, 1.5 당량)은 Ar의 흐름 상에서 한번에 첨가하였고 반응 혼합물은 실온으로 가온시키고 24시간 동안 교반하였다. 반응

혼합물을 여과하고, 진공에서 SiO₂ 상에서 농축하고 플래시-칼럼 크로마토그래피 (CH₂Cl₂ 내 0-3% MeOH)로 정제하여 생성물을 얻었다 (10.9 g, 70%). LCMS-A: 2.20분 (ES+) *m/z* 952 [M + H]⁺, 974 [M + Na]⁺

[0702] (x) 4-((S)-2-((S)-2-(((알릴옥시)카보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질 (2-((S)-2-(((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)-4-메틸렌파이롤리딘-1-카보닐)-5-하이드록시-4-메톡시페닐)카바메이트 (13)

[0703] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기, 실릴 에테르 **12** (10.9 g, 11.47 mmol, 1.0 당량) DMF (85 mL), H₂O (1.7 mL) 및 LiOAc (1.17 g, 11.47 mmol, 1.0 당량)를 충전하였다. 반응 혼합물은 16시간 동안 교반하였으며, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물은 EtOAc (150 mL)로 희석하고 H₂O (50 mL) 및 염수 (50 mL)로 연속으로 세정하였다. 유기상은 MgSO₄ 상에서 건조시키고 Isolera 크로마토그래피 (CH₂Cl₂ 내 0-4% MeOH)로 정제하여 생성물을 황색 포움으로 얻었다 (6.65 g, 73%). LCMS-A: 1.78분 (ES+) *m/z* 796 [M + H]⁺, 818 [M + Na]⁺

[0704] (xi) tert-부틸 3-((5-(((4-((S)-2-((S)-2-(((알릴옥시)카보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질)옥시)카보닐)아미노)-4-((S)-2-(((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)-4-메틸렌파이롤리딘-1-카보닐)-2-메톡시페녹시)메틸)-5-(브로모메틸)벤조에이트 (14)

[0705] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기, 페놀 **13** (1.09 g, 1.364 mmol, 1 당량), 비스 브로모 **5** (1.43 g, 4.093 mmol, 3.0 당량), DMF (10 mL) 및 K₂CO₃ (207 mg, 1.500 mmol, 1.1 당량)를 충전하였고 반응물을 2.5시간 동안 35°C에서 교반하여, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물을 H₂O로 희석하고 CH₂Cl₂로 세정하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. Isolera 정제 (헥산 내 10-50% EtOAc)로 정제하여 생성물을 황백색 포움으로 얻었다 (946 mg, 64%). LCMS-A: 2.06분 (ES+) *m/z* 1100.20 [M + Na]⁺

[0706] (xii) (11S,11aS)-8-((3-((5-(((4-((S)-2-((S)-2-(((알릴옥시)카보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질)옥시)카보닐)아미노)-4-((S)-2-(((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)-4-메틸렌파이롤리딘-1-카보닐)-2-메톡시페녹시)메틸)-5-(tert-부톡시카보닐)벤질)옥시)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-11-((테트라하이드로-2H-피란-2-일)옥시)-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-10(5H)-카복실레이트 (15)

[0707] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기, **14** (946 mg, 0.8766 mmol, 1.0 당량), **12** (444 mg, 0.9643 mmol, 1.1 당량), DMF (12 mL) 및 K₂CO₃ (133 mg, 0.9643 mmol, 1.1 당량)를 충전하여 3.5시간 동안 35°C에서 교반하여, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물은 H₂O로 희석하고, EtOAc로 세정하고 유기상은 MgSO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. Isolera 정제 (헥산 내 40-100% EtOAc로 생성물을 백색 포움으로 얻었다 (1.04 g, 82%). LCMS-A: 2.11분 (ES+) *m/z* 1458.20 [M + H]⁺, 1480.35 [M + Na]⁺

[0708] (xiii) tert-부틸 (11S,11aS)-8-((3-((5-(((4-((S)-2-((S)-2-(((알릴옥시)카보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질)옥시)카보닐)아미노)-4-((S)-2-(하이드록시메틸)-4-메틸렌파이롤리딘-1-카보닐)-2-메톡시페녹시)메틸)-5-(tert-부톡시카보닐)벤질)옥시)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-11-((테트라하이드로-2H-피란-2-일)옥시)-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-10(5H)-카복실레이트 (16)

[0709] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기, **15**(1.04 g, 0.7129 mmol, 1.0 당량), THF (40 mL) AcOH (82 μL, 1.430 mmol, 2.0 당량) 및 TBAF (2.1 mL의 1M 용액, 2.100 mmol, 3.0 당량)를 충전하였고 반응물을 1시간 동안 교반하여 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물은 CHCl₃로 희석하고 포화 NaHCO₃로 세정하고, 유기상을 MgSO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. Isolera 정제 (CH₂Cl₂ 내 0-4% MeOH)로 정제하여 생성물을 백색 포움으로 얻었다 (961 mg, 100%). LCMS-A: 1.86분 (ES+) *m/z* 1344.70 [M + H]⁺, 1366.85 [M + Na]⁺

[0710] (xiv) 4-((S)-2-((S)-2-(((알릴옥시)카보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질 (11S,11aS)-8-((3-((tert-부톡시카보닐)-5-(((11S,11aS)-10-(tert-부톡시카보닐)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-11-((테트라하이드로-2H-피란-2-일)옥시)-2,3,5,10,11,11a-헥사하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메

틸)벤질)옥시)-11-하이드록시-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-10(5H)-카복실레이트 (17)

[0711] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기, **16** (961 mg, 0.7150 mmol, 1.0 당량) DMSO (7 mL) 및 IBX (489 mg, 0.7865, 1.1 당량)를 충전하였고 반응 혼합물을 35°C에서 16시간 동안 교반하였다. IBX (50 mg, 80.35 μmol, 0.11 당량)를 반응 혼합물에 첨가하고 48시간 동안 교반하고, 이에 의해 반응 혼합물을 물에 부었고 CH₂Cl₂ 내 10% MeOH로 세정하고, 유기층을 조합하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. Isolera 정제 (CH₂Cl₂ 내 0-4% MeOH)로 정제하여 생성물을 백색 포움으로 얻었다 (492 mg, 51%). 혼합된 분획을 isolera (CH₂Cl₂ 내 0-2.5% MeOH)에 의해 다시 정제하여 생성물을 백색 고체로서 얻었다 (302 mg, 31%). 양 깨끗한 분획을 조합하여 생성물을 백색 포움으로 얻었다 (794 mg, 83%). LCMS-A: 1.83분 (ES+) *m/z* 1364.55 [M + Na]⁺

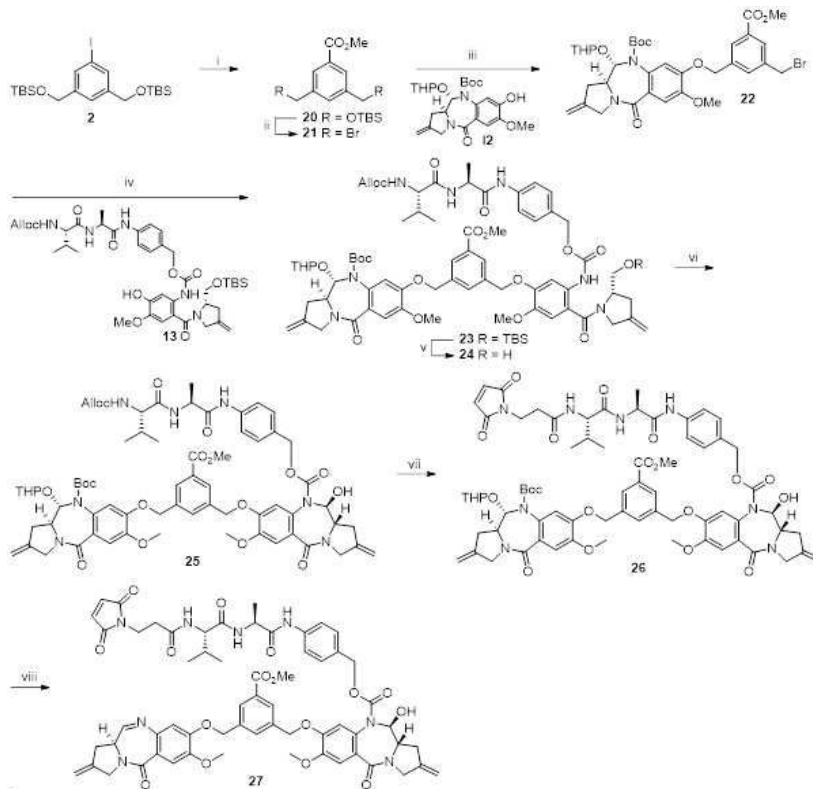
[0712] (xv) tert-부틸 (11S,11aS)-8-((3-(tert-부톡시카보닐)-5-(((11S,11aS)-10-((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파이롤-1-일)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질)옥시)카보닐)-11-하이드록시-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,10,11,11a-헥사하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)벤질)옥시)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-11-((테트라하이드로-2H-피란-2-일)옥시)-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-10(5H)-카복실레이트 (18)

[0713] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기, **17** (794 mg, 0.5914 mmol, 1.0 당량), CH₂Cl₂ (50 mL), 파이롤리딘 (121 μL, 1.479 mmol, 2.5 당량)을 충전하였고 플라스크를 Ar로 퍼지하였다. Pd(PPh₃)₄ (34 mg, 29.58 μmol, 0.050 당량)를 Ar의 흐름 하에서 첨가하였고 반응 혼합물을 10분 동안 교반하여, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물은 진공에서 밤새 철저히 농축시켜 파이롤리딘 흔적을 제거하였다. 수득한 잔류물은 CH₂Cl₂ (10 mL)에 용해시키고 말레이미드 프로피온산 (78 mg, 0.4612, 1.1 당량), EDCI.HCl (880 mg, 0.4589 mmol, 1.1 당량) 및 *i*-Pr₂NEt (218 μL, 1.252 mmol, 3.0 당량)를 첨가하고 혼합물을 5시간 동안 교반하여, 이에 의해 LCMS는 반응이 불완전하였다는 것을 나타냈다. 추가의 0.1 당량의 EDCI.HCl, 0.1 당량의 말레이미드 프로피온산 및 0.3 당량의 *i*-Pr₂NEt를 첨가하고 혼합물을 16시간 동안 교반하여, 이에 의해 LCMS는 반응이 불완전하였다는 것을 나타냈다. 추가의 0.2 당량의 EDCI.HCl, 0.2 당량의 말레이미드 프로피온산 및 0.6 당량의 *i*-Pr₂NEt를 첨가하고 혼합물을 24시간 동안 교반하고, CH₂Cl₂ (20 mL)로 희석하고, H₂O (10 mL)로 세정하고 유기상을 MgSO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. Isolera 크로마토그래피 (CH₂Cl₂ 내 2-6% MeOH)로 정제하여 원하는 생성물을 얻었다 (205 mg, 35%). LCMS-A: 1.77분 (ES+) *m/z* 1410 [M + H]⁺, 1431 [M + Na]⁺

[0714] (xvi) 3-(((11S,11aS)-10-((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파이롤-1-일)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질)옥시)카보닐)-11-하이드록시-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,10,11,11a-헥사하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)-5-(((S)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)벤조산 (19)

[0715] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기, **18** (205 mg, 0.1454 mmol, 1.0 당량)을 충전하여 약 -5°C로 냉각시켰다. 95:5 v/v TFA/H₂O를 약 -20°C로 냉각시키고 반응 플라스크에 첨가하고 75분 동안 교반하고, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물의 pH는 포화 NaHCO₃의 조심스러운 첨가에 의해 약 7로 조정되어, 이에 의해 침전물이 형성되었다. 수성 혼합물은 CH₂Cl₂ 내 10% MeOH로 추출하고 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. 분취 HPLC (B 내 15-70% A)로 정제하여 생성물을 백색 고체로서 얻었다 (52 mg, 31%, QC=94%). A = 아세토니트릴 내 0.05% 포름산. B = 물 내 0.05% 포름산 LCMS-B: 7.13분 (ES+) *m/z* 1151 [M + H]⁺

[0716] 실시예 2: 4-((S)-2-((S)-2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파이롤-1-일)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질 (11S,11aS)-11-하이드록시-7-메톡시-8-((3-(((S)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)-5-(메톡시카보닐)벤질)옥시)-2-메틸렌-5-옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-10(5H)-카복실레이트 (27)



[0717]

[0718]

(i) 메틸 3,5-*H*/스((*tert*-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)벤조에이트 (20)

[0719]

오븐-건조된 3-구 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기 막대 무수 톨루엔 (15 mL)을 충전하였고 플라스크를 Ar로 퍼지하고 플라스크를 -10°C로 냉각시켰다. BuLi (9.9 mL의 헥산 내 2.5 M 용액, 24.86 mmol, 2.0 당량), 그 다음 느리게 BuMgCl (6.2 mL의 THF 내 2.0 M 용액, 12.40 mmol, 1.0 당량)을 첨가하고 30분 동안 교반하였다. 무수 톨루엔 (30 mL) 내 2 (14.7 g, 29.84 mmol, 2.4 당량)를 느리게 첨가하고 2시간 동안 -10°C에서 교반하였다. 무수 톨루엔 (15 mL) 내 ClCO₂Me (2.9 mL, 37.29 mmol, 3.0 당량)를 -50°C에서 느리게 첨가하고 2시간 동안 교반하고, 그 다음 차가운 10% 시트르산에 부었다. 수성상을 EtOAc로 추출하고, 유기물을 합하고, NaHCO₃로 세정하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. Isolera 정제 (헥산 내 0-20% EtOAc로 정제하여 생성물을 옅은-황색 오일로서 얻었다 (11.5 g, 91%). LCMS-A: 2.18분 (ES+) m/z 425 [M + H]⁺

[0720]

(ii) 메틸 3,5-*H*/스(브로모메틸)벤조에이트 (21)

[0721]

둥근바닥 플라스크에 자석 교반기, AcOH (15 mL), 20 (1.00 g, 2.354 mmol, 1.0 당량) 및 HBr (AcOH 내 33%) (10 mL)을 충전하고 혼합물을 2시간 동안 50°C에서 교반하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 빙랭수에 부었고, 얻어진 침전물을 여과로 수집하고, CH₂Cl₂에 용해시키고, MgSO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. Isolera (헥산 내 0-50% CH₂Cl₂)로 정제하여 원하는 생성물을 황백색 고체로서 얻었다 (460 mg, 61%). LCMS-A: 1.59분 (ES+) 이온화 없음

[0722]

(iii) *tert*-부틸 ((1*S*,11*aS*)-8-((3-(브로모메틸)-5-(메톡시카보닐)벤질)옥시)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-11-((테트라하이드로-2*H*-피란-2-일)옥시)-2,3,11,11*a*-테트라하이드로-1*H*-벤조[e]피롤로[1,2-*a*][1,4]디아제핀-10(5*H*)-카복실레이트 (22)

[0723]

둥근바닥 플라스크에 자석 교반기, DMF (20 mL), 12 (256 mg, 0.5559 mmol, 1.0 당량) 21 (716 mg, 2.224 mmol, 4.0 당량) 및 K₂CO₃ (84.5 mg, 0.6115 mmol, 1.1 당량)를 충전하였다. 혼합물을 1시간 45분 동안 교반하여, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. DMF는 진공에서 제거하였고, 수득한 잔류물은 CH₂Cl₂에 용해시키고 포화 NH₄Cl 용액으로 세정하였다. 유기상을 수집하였고, MgSO₄ 상에서 건조시키고 isolera (헥산 내 10-60% EtOAc)로 정제하여 원하는 생성물을 백색 고체로서 얻었다 (234 mg, 60%). LCMS-A: 1.77분 (ES+) m/z 701 [M + H]⁺, 723 [M + Na]⁺

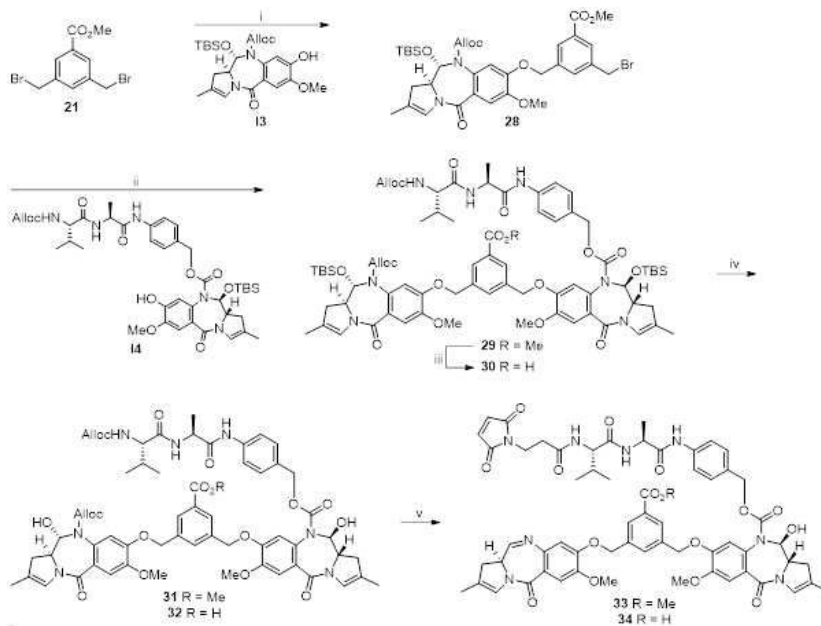
- [0724] (iv) tert-부틸 (11S,11aS)-8-((3-((5-(((4-((S)-2-((S)-2-((알릴옥시)카보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질)옥시)카보닐)아미노)-4-((S)-2-((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)-4-메틸렌파이롤리딘-1-카보닐)-2-메톡시페녹시)메틸)-5-(메톡시카보닐)벤질)옥시)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-11-((테트라하이드로-2H-피란-2-일)옥시)-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-10(5H)-카복실레이트 (23)
- [0725] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기, DMF (2 mL), **22** (234 mg, 0.3335 mmol, 1.0 당량), **13** (292 mg, 0.3669 mmol, 1.1 당량) 및 K₂CO₃ (51 mg, 0.3690 mmol, 1.1 당량)를 충전하였다. 혼합물을 4시간 동안 교반하여 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. DMF는 진공에서 제거하고 수득한 잔류물은 CH₂Cl₂에 용해시키고 포화 NH₄Cl 용액으로 세정하였다. 유기상을 수집하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고 isolera (CH₂Cl₂ 내 0-3% MeOH)로 정제하여 원하는 생성물을 백색 고체로서 얻었다 (450 mg, 95%). LCMS-A: 2.00분 (ES+) *m/z* 1416 [M + H]⁺, 1438 [M + Na]⁺
- [0726] (v) tert-부틸 (11S,11aS)-8-((3-((5-(((4-((S)-2-((S)-2-((알릴옥시)카보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질)옥시)카보닐)아미노)-4-((S)-2-(하이드록시메틸)-4-메틸렌파이롤리딘-1-카보닐)-2-메톡시페녹시)메틸)-5-(메톡시카보닐)벤질)옥시)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-11-((테트라하이드로-2H-피란-2-일)옥시)-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-10(5H)-카복실레이트 (24)
- [0727] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기, THF (18 mL), **23** (450 mg, 0.3176 mmol, 1.0 당량), AcOH (36.3 μL, 0.6352 mmol, 2.0 당량) 및 TBAF (953 μL의 THF 내 1M 용액, 0.9530 mmol, 3.0 당량)를 충전하였다. 혼합물을 7시간 동안 실온에서 교반하고, 그 다음 몇 방울의 TBAF를 첨가하고 실온에서 추가의 3시간 동안 교반하여, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물은 EtOAc로 희석하고 H₂O, 그 다음 염수로 세정하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. Isolera (CH₂Cl₂ 내 0-4% MeOH)로 정제하여 분리불가능 혼합물로 Bu₄N⁺ 염을 갖는 원하는 생성물을 얻었다. 수득한 물질은 추가 정제없이 사용했다. LCMS-A: 1.73분 (ES+) *m/z* 1302 [M + H]⁺, 1324 [M + Na]⁺
- [0728] (vi) 4-((S)-2-((S)-2-((알릴옥시)카보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질 (11S,11aS)-8-((3-(((11S,11aS)-10-(tert-부톡시카보닐)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-11-((테트라하이드로-2H-피란-2-일)옥시)-2,3,5,10,11,11a-헥사하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)-5-(메톡시카보닐)벤질)옥시)-11-하이드록시-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-10(5H)-카복실레이트 (25)
- [0729] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기, DMSO (3 mL), **24** (대략 0.3176 mmol, 1.0 당량) 및 IBX (45% wt.) (237 mg, 0.3811 mmol, 1.2 당량)를 충전하였다. 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하였고 그 다음 나이프로인트의 IBX를 첨가하고 35°C에서 24시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O로 희석하고 CHCl₃로 추출하였다. 유기물을 합하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. Isolera (CH₂Cl₂ 내 0-4% MeOH)로 정제하여 원하는 생성물을 백색 고체로서 얻었다 (333 mg, 81% (2 단계)). LCMS-A: 1.71분 (ES+) *m/z* 1300 [M + H]⁺, 1323 [M + Na]⁺
- [0730] (vii) tert-부틸 (11S,11aS)-8-((3-(((11S,11aS)-10-(((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파이롤-1-일)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질)옥시)카보닐)-11-하이드록시-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,10,11,11a-헥사하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)-5-(메톡시카보닐)벤질)옥시)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-11-((테트라하이드로-2H-피란-2-일)옥시)-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-10(5H)-카복실레이트 (26)
- [0731] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기, CH₂Cl₂ (19 mL), **25** (333 mg, 0.2561 mmol, 1.0 당량), 파이롤리딘 (42.1 μL, 0.5122 mmol, 2.0 당량) 및 Pd(PPh₃)₄ (7.4 mg, 6.403 μmol, 0.025 당량)를 충전하였다. 반응 혼합물을 20분 동안 교반하여, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물을 철저히 진공에서 밤새 농축시켜서 파이롤리딘 흔적을 제거하였다. 수득한 잔류물을 CH₂Cl₂ (3.5 mL) 및 말레이미드 프로피온산 NHS 에스테르 (82 mg, 0.3080 mmol, 1.2 당량)에 용해시키고 *i*-Pr₃NEt (53.5 μL, 0.3073 mmol, 1.2 당량)를 첨가하고 혼합물을 2시간 동안 교반하여, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물을 진공에서 농축시키고 isolera (CH₂Cl₂ 내 0-4% MeOH)로 정제하여 원하는 생성물을 백색 고체로서 얻었다 (150 mg,

43%). LCMS-A: 1.65분 (ES+) m/z 1368 [M + H]⁺, 1389 [M + Na]⁺

[0732] (viii) 4-((S)-2-((S)-2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파이롤-1-일)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질 (11S,11aS)-11-하이드록시-7-메톡시-8-((3-(((S)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)-5-(메톡시카보닐)벤질)옥시)-2-메틸렌-5-옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-10(5H)-카복실레이트 (27)

[0733] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기, **26** (150 mg, 0.1097 mmol, 1.0 당량)을 충전하고 0°C로 냉각시켰다. H₂O 내 95% TFA를 -20°C로 냉각시키고 반응 플라스크에 한번에 첨가하고 혼합물을 30분 동안 교반하여, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물을 빙랭된 포화 NaHCO₃ 용액에 부었고 pH가 대략 중성이 될 때까지 고체 NaHCO₃를 첨가하였다. 수성 혼합물을 CH₂Cl₂ 내 10% MeOH로 추출하고, 유기물을 합하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. isolera (CH₂Cl₂ 내 0-5% MeOH)로 정제하여 원하는 생성물을 백색 고체로서 얻었다 (52.8 mg, 41% 수율, 98.1% QC). LCMS-A: 7.95분 (ES+) m/z 1165 [M + H]⁺

[0734] 실시예 3: 4-((S)-2-((S)-2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파이롤-1-일)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질 (11S,11aS)-11-하이드록시-7-메톡시-8-((3-(((S)-7-메톡시-2-메틸-5-옥소-5,11a-디하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)-5-(메톡시카보닐)벤질)옥시)-2-메틸-5-옥소-11,11a-디하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-10(5H)-카복실레이트 (**33**) 및 3-(((11S,11aS)-10-(((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파이롤-1-일)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질)옥시)카보닐)-11-하이드록시-7-메톡시-2-메틸-5-옥소-5,10,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)-5-(((S)-7-메톡시-2-메틸-5-옥소-5,11a-디하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)벤조산 (**34**)



[0735]

[0736] (i) 알릴 (11S,11aS)-8-((3-(브로모메틸)-5-(메톡시카보닐)벤질)옥시)-11-((tert-부틸디메틸실릴)옥시)-7-메톡시-2-메틸-5-옥소-11,11a-디하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-10(5H)-카복실레이트 (**28**)

[0737] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기, DMF (15 mL), **13** (184 mg, 0.3883 mmol, 1.0 당량) **21** (500 mg, 1.553 mmol, 4.0 당량), K₂CO₃ (59 mg, 0.4271 mmol, 1.1 당량) 및 TBAI (3.6 mg, 9.708 μmol, 0.025 당량)를 충전하고 혼합물을 65°C에서 16시간 동안 교반하였다. DMF는 진공에서 제거하고, 수득한 잔류물을 EtOAc에 용해시키고 1N HCl 용액으로 세정하였다. 유기상은 MgSO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. 플래시 칼럼 크로마토그래피 (헥산 내 0-30% EtOAc)로 정제하여 원하는 생성물을 얻었다 (183 mg, 69%). LCMS-A: 2.06분 (ES+) m/z 714 [M + H]⁺, 737 [M + Na]⁺

[0738] (ii) 알릴 (11S,11aS)-8-((3-(((11S,11aS)-10-(((4-((S)-2-((S)-2-((알릴옥시)카보닐)아미노)-3-메틸부탄아

미도)프로판아미도)벤질)옥시)카보닐)-11-((tert-부틸디메틸실릴)옥시)-7-메톡시-2-메틸-5-옥소-5,10,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)-5-(메톡시카보닐)벤질)옥시)-11-((tert-부틸디메틸실릴)옥시)-7-메톡시-2-메틸-5-옥소-11,11a-디하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-10(5H)-카복실레이트 (29)

[0739] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기, DMF (1 mL) **28** (128 mg, 0.1788 mmol, 1.0 당량), **I4** (353 mg, 0.4446 mmol, 2.5 당량), K₂CO₃ (27 mg, 0.1967 mmol, 1.1 당량) 및 TBAI (1.7 mg, 4.470 μmol, 0.025 당량)를 충전하고 혼합물을 20시간 동안 65°C에서 교반하였다. DMF는 진공에서 제거하였고 수득한 잔류물은 EtOAc에 용해시키고 H₂O, 그 다음 염수로 세정하였다. 유기상은 MgSO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. 플래시 칼럼 크로마토그래피 (CH₂Cl₂ 내 0-3% MeOH)로 정제하여 원하는 생성물을 얻었다 (117 mg, 46%). ^{LCMS-A}: 2.20분 (ES+) *m/z* 1428 [M + H]⁺, 1450 [M + Na]⁺

[0740] (iii) 3-(((11S,11aS)-10-((알릴옥시)카보닐)-11-((tert-부틸디메틸실릴)옥시)-7-메톡시-2-메틸-5-옥소-5,10,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)-5-(((11S,11aS)-10-(((4-((S)-2-((S)-2-((알릴옥시)카보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질)옥시)카보닐)-11-((tert-부틸디메틸실릴)옥시)-7-메톡시-2-메틸-5-옥소-5,10,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)벤조산 (30)

[0741] 마이크로파 바이알에 자석 교반기, CHCl₃ (1 mL) **29** (100 mg, 0.06999 mmol, 1.0 당량) SnMe₃OH (127 mg, 0.6999 mmol, 10 당량)를 충전하여 100°C에서 10시간 동안 조사하였다. 반응 혼합물을 Celite®를 통해 여과하고 여액을 진공에서 농축시켰다. 수득한 잔류물은 THF (1 mL) 및 H₂O (1 mL)에 용해시키고, K₂CO₃ (20 mg, 0.1400 mmol, 2.0 당량) 및 알릴 클로로포르메이트 (14 μL, 0.1400 mmol, 2.0 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 2시간 동안 교반하여, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물을 희석하고 (EtOAc), 1N HCl 용액으로 세정하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. 플래시 칼럼 크로마토그래피 (헥산 내 70-100% EtOAc, 0.1% AcOH)로 정제하여 원하는 생성물을 얻었다 (67 mg, 68%). ^{LCMS-A}: 2.13분 (ES+) *m/z* 1414 [M + H]⁺, 1436 [M + Na]⁺

[0742] (iv-a) 알릴 (11S,11aS)-8-((3-(((11S,11aS)-10-(((4-((S)-2-((S)-2-((알릴옥시)카보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질)옥시)카보닐)-11-하이드록시-7-메톡시-2-메틸-5-옥소-5,10,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)-5-(메톡시카보닐)벤질)옥시)-11-하이드록시-7-메톡시-2-메틸-5-옥소-11,11a-디하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-10(5H)-카복실레이트 (31)

[0743] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기, THF (10 mL), **29** (200 mg, 0.1400 mmol, 1.0 당량), AcOH (32 μL, 0.5600 mmol, 4.0 당량)를 충전하고 TBAF (560 μL의 1M 용액, 0.5600 mmol, 4.0 당량)를 첨가하고 반응물을 실온으로 점진적으로 가온하면서 16시간 동안 교반하여, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물을 CH₂Cl₂로 희석하고, 포화 NH₄Cl로 세정하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. 플래시 칼럼 크로마토그래피 (CHCl₃ 내 3% MeOH)로 정제하여 원하는 생성물을 얻었다 (140 mg, 83%). ^{LCMS-A}: 1.62분 (ES+) *m/z* 1200 [M + H]⁺, 1222 [M + Na]⁺

[0744] (iv-b) 3-(((11S,11aS)-10-((알릴옥시)카보닐)-11-하이드록시-7-메톡시-2-메틸-5-옥소-5,10,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)-5-(((11S,11aS)-10-(((4-((S)-2-((S)-2-((알릴옥시)카보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질)옥시)카보닐)-11-하이드록시-7-메톡시-2-메틸-5-옥소-5,10,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)벤조산 (32)

[0745] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기, THF (10 mL), **30** (135 mg, 0.09542 mmol, 1.0 당량)를 충전하고, 0°C로 냉각시키고 10분 동안 교반하였다. AcOH (21.9 μL, 0.3817 mmol, 4.0 당량) 및 TBAF (429 μL의 1M 용액, 0.4290 mmol, 4.0 당량)를 첨가하고 반응물을 실온으로 점진적으로 가온하면서 16시간 동안 교반하여, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물을 CH₂Cl₂로 희석하고, 포화 NH₄Cl로 세정하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. 플래시 칼럼 크로마토그래피 (CH₂Cl₂ 내 0-5% MeOH)로 정제하여 Bu₄N⁺ 염으로 오염된 생성물을 얻었다. 수득한 생성물을 추가 정제없이 사용였고 수율은 100%인 것으로 추정되었

다. LCMS-A: 1.63분 (ES+) m/z 1186 [M + H]⁺, 1208 [M + Na]⁺

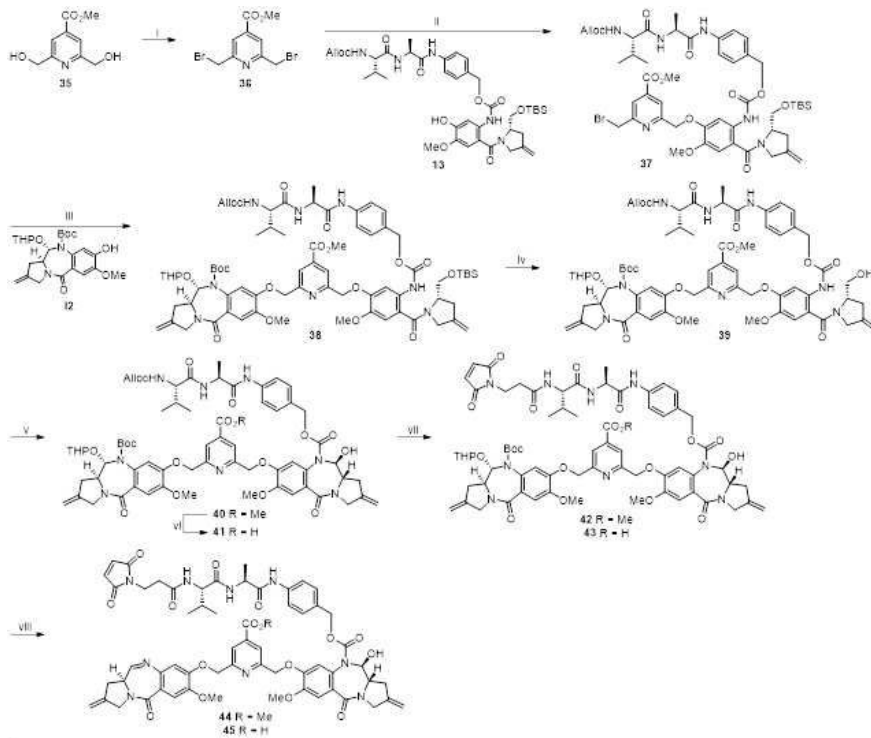
[0746] (v-a) 4-(((S)-2-((S)-2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파이롤-1-일)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질 (11S,11aS)-11-하이드록시-7-메톡시-8-(((3-(((S)-7-메톡시-2-메틸-5-옥소-5,11a-디하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)-5-(메톡시카보닐)벤질)옥시)-2-메틸-5-옥소-11,11a-디하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-10(5H)-카복실레이트 (33)

[0747] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기, CH₂Cl₂ (10 mL), **31** (120 mg, 99.98 μmol, 1.0 당량), 파이롤리딘 (21 μL, 250 μmol, 2.5 당량) 및 Pd(PPh₃)₄ (5.8 mg, 4.999 μmol, 0.050 당량)를 충전하였다. 혼합물을 Ar 하에서 30 분 동안 교반하여, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물을 철저히 진공에서 밤새 농축시켜 파이롤리딘 흔적을 제거했다. 수득한 잔류물을 CH₂Cl₂ (3.5 mL)에 용해시키고 말레이미드 프로피온산 (14.9 mg, 88.31 μmol, 1.0 당량) 및 EDCI.HCl (13.7 mg, 88.31 μmol, 1.0 당량)을 첨가하고 혼합물을 2 시간 동안 교반하여, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물을 진공에서 농축시키고 플래시 칼럼 크로마토그래피 (CH₂Cl₂ 내 3-5% MeOH) 및 그 다음 분취 HPLC (B 중 A 15-90%)로 정제하여 원하는 생성물을 황색 고체로서 얻었다 (10 mg, 9.7% 수율). A = 아세토니트릴 내 0.05% 포름산. B = 물 내 0.05% 포름산. LCMS-B: 6.78분 (ES+) m/z 1165 [M + H]⁺, 1187 [M + Na]⁺

[0748] (v-b) 3-(((11S,11aS)-10-(((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파이롤-1-일)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질)옥시)카보닐)-11-하이드록시-7-메톡시-2-메틸-5-옥소-5,10,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)-5-(((S)-7-메톡시-2-메틸-5-옥소-5,11a-디하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)벤조산 (34)

[0749] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기, CH₂Cl₂ (8 mL) **32** (이전의 단계로부터의 조물질 대략 95.42 μmol, 1.0 당량) 파이롤리딘 (19.6 μL, 238.6 μmol, 2.5 당량), Pd(PPh₃)₄ (5.5 mg, 4.771 μmol, 0.050 당량)를 충전하고 혼합물을 30분 동안 Ar 하에서 교반하여, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물을 CHCl₃로 희석하고, 포화 NH₄Cl로 세정하고, 유기물을 합하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. 수득한 잔류물을 THF (7 mL)에 용해시키고 NaHCO₃ (1 mL의 0.1M 용액) 및 말레이미드 프로피온산 NHS 에스테르 (28 mg, 105 μmol, 1.1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 20시간 동안 교반하고, CHCl₃로 희석하고, 포화 NH₄Cl 용액으로 세정하고 진공에서 농축시켰다. 분취 HPLC (B 내 15-70% A)로 정제하여 원하는 생성물을 황색 고체로서 얻었다 (6.4 mg, 5.8% 수율, 84.6% QC). A = 아세토니트릴 내 0.05% 포름산. B = 물 내 0.05% 포름산. LCMS-B: 6.52분 (ES+) m/z 1151 [M + H]⁺

[0750] 실시예 4: 4-(((S)-2-((S)-2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파이롤-1-일)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질 (11S,11aS)-11-하이드록시-7-메톡시-8-((6-(((S)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)-4-(메톡시카보닐)피리딘-2-일)메톡시)-2-메틸렌-5-옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-10(5H)-카복실레이트 (44) 및 2-(((11S,11aS)-10-(((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파이롤-1-일)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질)옥시)카보닐)-11-하이드록시-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,10,11,11a-헥사하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)-6-(((S)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)이소니코틴산 (45)



[0751]

[0752] (i) 메틸 2,6-비스(브로모메틸)이소니코티네이트 (36)

[0753] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기 막대, 아세토니트릴 (46 mL), **35** (924 mg, 4.686 mmol, 1.0 당량)을 충전하고 혼합물을 0°C로 냉각시켰다. PPh₃ (3.96 g, 14.06 mmol, 3.0 당량), 그 다음 느리게 CBr₄ (4.66 g, 14.06 mmol, 3.0 당량)을 첨가하고 혼합물을 또는 30분 교반했다. 반응 혼합물을 진공에서 농축시키고 isolera (헥산 내 0-100% EtOAc)로 정제하여 원하는 생성물을 얻었다 (1.01 g, 67%). LCMS-A: 1.46분 (ES+) *m/z* 321 [M + H]⁺

[0754] (ii) 메틸 2-((5-(((4-((S)-2-((S)-2-((알릴옥시)카보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질)옥시)카보닐)아미노)-4-((S)-2-((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)-4-메틸렌파이롤리딘-1-카보닐)-2-메톡시페녹시)메틸)-6-(브로모메틸)이소니코티네이트 (37)

[0755] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기 막대, DMF (10 mL), **13** (814 mg, 1.022 mmol, 1.0 당량), **36** (1.32 g, 4.087 mmol, 4.0 당량) 및 K₂CO₃ (155 mg, 1.124 mmol, 1.1 당량)를 충전하고 40분 동안 35°C에서 교반하여, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. DMF는 진공에서 제거하였고 수득한 잔류물은 EtOAc에 용해시키고, H₂O, 염수로 세정하고 MgSO₄ 상에서 건조시켰다. Isolera (헥산 내 50-100% EtOAc)로 정제하여 원하는 생성물을 얻은 황색 포움으로서 얻었다 (750 mg, 71%). LCMS-A: 1.90분 (ES+) *m/z* 1037 [M + H]⁺

[0756] (iii) tert-부틸 (11S,11aS)-8-((6-((5-(((4-((S)-2-((S)-2-((알릴옥시)카보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질)옥시)카보닐)아미노)-4-((S)-2-((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)-4-메틸렌파이롤리딘-1-카보닐)-2-메톡시페녹시)메틸)-4-(메톡시카보닐)피리딘-2-일)메톡시)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-11-((테트라하이드로-2H-피란-2-일)옥시)-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-10(5H)-카복실레이트 (38)

[0757] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기 막대, DMF (6 mL), **37** (750 mg, 0.7225 mmol, 1.0 당량), **12** (333 mg, 0.7225 mmol, 1.0 당량) 및 K₂CO₃ (100 mg, 0.7235 mmol, 1.0 당량)를 충전하고 80분 동안 35°C에서 교반하여, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. DMF는 진공에서 제거하였고 수득한 잔류물을 EtOAc에 용해시키고, H₂O로 세정하고 MgSO₄ 상에서 건조시켰다. 진공에서 농축하여 원하는 생성물을 얻은-황색 포움으로 얻었다 (979 mg, 96%). LCMS-A: 1.99분 (ES+) *m/z* 1417 [M + H]⁺

[0758] (iv) tert-부틸 (11S,11aS)-8-((6-((5-(((4-((S)-2-((S)-2-((알릴옥시)카보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질)옥시)카보닐)아미노)-4-((S)-2-(하이드록시메틸)-4-메틸렌파이롤리딘-1-카보닐)-2-메톡시페녹

시)메틸)-4-(메톡시카보닐)피리딘-2-일)메톡시)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-11-((테트라하이드로-2H-피란-2-일)옥시)-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-10(5H)-카복실레이트 (39)

[0759] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기 막대, THF (9 mL) **38** (879 mg, 0.6200 mmol, 1.0 당량) TBAF (1.24 mL의 THF 내 1M 용액, 1.240 mmol, 2.0 당량)를 충전하고 혼합물을 80분 동안 교반하여 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물을 진공에서 농축시키고 isolera (CH₂Cl₂ 내 0-4% MeOH)로 정제하여 원하는 생성물을 얻었다 (746 mg, 83%). LCMS-A: 1.71분 (ES+) *m/z* 1303 [M + H]⁺, 1325 [M + Na]⁺

[0760] (v) 4-(((S)-2-((S)-2-(((알릴옥시)카보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질 (11S,11aS)-8-((6-(((11S,11aS)-10-(tert-부톡시카보닐)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-11-((테트라하이드로-2H-피란-2-일)옥시)-2,3,5,10,11,11a-헥사하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)-4-(메톡시카보닐)피리딘-2-일)메톡시)-11-하이드록시-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-10(5H)-카복실레이트 (40)

[0761] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기 막대, 아세트니트릴 (13 mL), **39** (64 mg, 0.4956 mmol, 1.0 당량), Stahl 호기성 산화 TEMPO 용액 (248 μL의 아세트니트릴 내 0.2M 용액, 0.04960 mmol, 0.10 당량), Cu(MeCN)₄Otf (18.7 mg, 0.04956 mmol, 0.10 당량)를 충전하고 혼합물을 3일 동안 공기 풍선하에서 교반했다. 반응 혼합물을 진공에서 농축시키고 isolera (CH₂Cl₂ 내 0-4% MeOH)로 정제하여 원하는 생성물을 백색 고체로서 얻었다 (523 mg, 81%). LCMS-A: 1.69분 (ES+) *m/z* 1301 [M + H]⁺, 1323 [M + Na]⁺

[0762] (vi) 2-(((11S,11aS)-10-(((4-((S)-2-((S)-2-(((알릴옥시)카보닐)아미노)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질)옥시)카보닐)-11-하이드록시-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,10,11,11a-헥사하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)-6-(((11S,11aS)-10-(tert-부톡시카보닐)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-11-((테트라하이드로-2H-피란-2-일)옥시)-2,3,5,10,11,11a-헥사하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)이소니코틴산 (41)

[0763] 마이크로파 바이알에 자석 교반기 막대, (CH₂Cl)₂ (0.5 mL) **40** (100 mg, 64.62 μmol, 1.0 당량), SnMe₃OH (35.1 mg, 193.9 μmol, 3.0 당량)를 충전하고 바이알을 밀봉했다. 혼합물을 80°C로 4시간 동안 가열시키고, 실온으로 냉각시키고, H₂O에 부었고, CH₂Cl₂ 내 10% MeOH로 추출하고, 유기물을 합하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. Isolera (CH₂Cl₂ 내 5-15% MeOH)로 정제하여 원하는 생성물을 얻었다 (53 mg, 64%). LCMS-A: 분 (ES+) *m/z* 1287 [M + H]⁺, 1309 [M + Na]⁺

[0764] (vii-a) tert-부틸 (11S,11aS)-8-((6-(((11S,11aS)-10-(((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파이롤-1-일)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질)옥시)카보닐)-11-하이드록시-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,10,11,11a-헥사하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)-4-(메톡시카보닐)피리딘-2-일)메톡시)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-11-((테트라하이드로-2H-피란-2-일)옥시)-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-10(5H)-카복실레이트 (42)

[0765] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기 막대, **40** (100 mg, 76.84 μmol, 1.0 당량) CH₂Cl₂ (6 mL), 파이롤리딘 (12.6 μL, 153.7 μmol, 2.0 당량) 및 Pd(PPh₃)₄ (2.2 mg, 1.921 μmol, 0.025 당량)를 충전하였다. 혼합물을 Ar 하에서 25분 동안 교반하여, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물을 철저히 진공에서 밤새 농축시켜 파이롤리딘 흔적을 제거하였다. 수득한 잔류물을 CH₂Cl₂ (1 mL)에 용해시키고 말레이미드 프로피온산 NHS 에스테르 (24.5 mg, 92.21 μmol, 1.2 당량) 및 *i*-Pr₂NEt (16.1 μL, 92.21 μmol, 1.2 당량)을 첨가하고 혼합물을 3.5시간 동안 교반하여, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물을 진공에서 농축시키고 isolera (CH₂Cl₂ 내 0-4% MeOH)로 정제하여 원하는 생성물을 백색 고체로서 얻었다 (89.5 mg, 85%). LCMS-A: 1.62분 (ES+) *m/z* 1368 [M + H]⁺, 1390 [M + Na]⁺

[0766] (vii-b) 2-(((11S,11aS)-10-(tert-부톡시카보닐)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-11-((테트라하이드로-2H-피란-2-일)옥시)-2,3,5,10,11,11a-헥사하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)-6-(((11S,11aS)-10-(((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파이롤-1-일)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질)옥시)카보닐)-11-하이드록시-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,10,11,11a-헥사하

이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)이소니코틴산 (43)

[0767] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기 막대, CH₂Cl₂ (3 mL), **41** (53 mg, 41.17 μmol, 1.0 당량), 파이롤리딘 (10.1 μmol, 122.8 mmol, 3.0 당량) Pd(PPh₃)₄ (1.2 mg, 1.024 μmol, 0.025 당량)를 충전하고 혼합물을 Ar 하에서 30분 동안 교반하여 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물을 CH₂Cl₂로 희석하고, NH₄Cl로 세정하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. 반응 혼합물을 철저히 진공에서 밤새 농축시켜 파이롤리딘 흔적을 제거했다. 수득한 잔류물을 THF (3 mL)에 용해시키고 말레이미드 프로피온산 NHS 에스테르 (13.1 mg, 49.13 μmol, 1.2 당량) 및 NaHCO₃ (0.43 mL의 100 mM 용액)을 첨가하고 혼합물을 5시간 동안 교반하여, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물은 EtOAc로 희석하고, NH₄Cl로 세정하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. Isolera (CH₂Cl₂ 내 2-10% MeOH)로 정제하여 원하는 생성물을 얻었다 (39.9 mg, 72% 수율). LCMS-A: 1.58분 (ES+) *m/z* 1354 [M + H]⁺, 1376 [M + Na]⁺

[0768] (viii-a) 4-(((S)-2-(((S)-2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파이롤-1-일)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질 (11S,11aS)-11-하이드록시-7-메톡시-8-(((S)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)-4-(메톡시카보닐)피리딘-2-일)메톡시)-2-메틸렌-5-옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-10(5H)-카복실레이트 (44)

[0769] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기 막대, **42** (90 mg, 65.77 μmol, 1.0 당량)를 충전하고 0°C로 냉각시켰다. H₂O 내 95% TFA (3.5 mL)를 -20°C로 냉각시키고 한번에 첨가했다. 반응 혼합물을 30분 동안 교반하여, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물을 H₂O (10 mL)에 부었고, NaHCO₃로 pH를 약 5로 조정하고 수성 혼합물을 CH₂Cl₂ 내 10% MeOH로 추출하고, 유기물을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. Isolera 정제 (CH₂Cl₂ 내 0-8% MeOH)와 그 다음 분취 HPLC (B 내 15-70% A)로 정제하여 원하는 생성물을 백색 고체로서 얻었다 (7 mg, 9.2% 수율, 98.4% QC). A = 아세토니트릴 내 0.05% 포름산. B = 물 내 0.05% 포름산. LCMS-B: 7.61분 (ES+) *m/z* 11.66 [M + H]⁺

[0770] (viii-b) 2-((((11S,11aS)-10-(((4-(((S)-2-(((S)-2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파이롤-1-일)프로판아미도)-3-메틸부탄아미도)프로판아미도)벤질)옥시)카보닐)-11-하이드록시-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,10,11,11a-헥사하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)-6-(((S)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)이소니코틴산 (45)

[0771] 둥근바닥 플라스크에 자석 교반기 막대, **43** (37 mg, 27.32 μmol, 1.0 당량)을 충전하고 0°C로 냉각시켰다. H₂O 내 95% TFA (2 mL)를 -20°C로 냉각시키고 한번에 첨가했다. 반응 혼합물을 30분 동안 교반하여, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물을 H₂O (10 mL)에 부었고, NaHCO₃로 pH를 약 5로 조정하였다. 용액을 SPE 카트리지를 (SCX-2, 10 g) 상으로 장입하고, H₂O (2 x 10 mL)로 세정하고 그 다음 공기로 취입 건조시켰다. 유기물을 MeOH로 칼럼으로부터 용출하고 진공에서 농축시켰다. 분취 HPLC (B 내 15-70% A)로 정제하여 원하는 생성물을 황백색 고체로서 얻었다 (5 mg, 16% 수율, 92.5% QC). A = 아세토니트릴 내 0.05% 포름산. B = 물 내 0.05% 포름산. LCMS-B: 6.93분 (ES+) *m/z* 1152

[0772] **실시예 5 - 콘주게이션**

[0773] **화합물 19**를 갖는 **항체-약물 콘주게이트**, *ConjA*

[0774] 포스페이트-완충 식염수 pH 7.4 (PBS) 내에 DL-디티오프로판아미드 (DTT)의 50 mM 용액을 PBS 및 1 mM 에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA)을 함유하는 환원 완충액 내에 항체 트라스투주맙 (45 mg, 300 나노몰)의 7.5 mL 용액과 4.0 mg/mL의 최종 항체 농도로 첨가했다 (40 몰 당량/항체, 12 마이크로몰, 240 μL).

[0775] 환원 혼합물을 실온에서 17시간 동안 (또는 UHPLC에 의해 완전한 환원이 관찰될 때까지) 회전식 진탕기에서 부드럽게 (60 rpm) 흔들면서 반응시켰다. 환원된 항체는 스핀 필터 원심분리를 통해 PBS 및 1 mM EDTA를 함유하는 재산화 완충액으로 완충액 교환하여 모든 과잉 환원제를 제거했다. DMSO 내 50 mM 용액의 데하이드로아스코르브산 (DHAA, 15 몰 당량/항체, 4.5 마이크로몰, 90 μL)를 첨가하고 재산화 혼합물은 2-3시간 동안 실온에서 부

드럽게 (50 rpm) 흔들면서 1.5 mg/mL의 항체 농도에서 반응시켰다 (또는 더 많은 DHAA를 첨가하고 UHPLC에 의해 사슬-간 시스테인 디설파이드를 재형성하기 위한 시스테인 티올의 완전한 재산화가 관찰될 때까지 더 오래 반응이 남아 있음). 재산화 혼합물을 그 다음 멸균-여과하고 2.0 mg/mL의 최종 항체 농도를 위해 PBS 및 1 mM EDTA를 함유하는 콘주게이션 완충액에 희석하였다. 화합물 19를 10% (v/v) 최종 DMSO 농도를 위해 10.0 mL의 이 재산화된 항체 용액 (13.5 mg, 90 나노몰)에 DMSO 용액 (1.0 mL DMSO 내, 10 몰 당량/항체, 0.9 마이크로몰)으로 첨가했다. 용액은 실온에서 2시간 동안 실온에서 부드럽게 흔들면서 반응시켰다. 그 다음 콘주게이션을 *N*-아세틸 시스테인 (4.5 마이크로몰, 100 mM에서 45 μ L)의 첨가로 켄칭하고, 그 다음 15 mL Amicon Ultracell 50 kDa MWC0 스펀 필터를 사용한 스펀 여과에 의해 정제하고, 멸균-여과하고 분석하였다.

[0776] 280 nm 및 330 nm에서 ConjA (화합물 19 특이적)의 환원된 샘플에 물과 아세토니트릴의 구배로 용리하는 Thermo Scientific MAbPac 50 mm x 2.1 mm 칼럼을 사용하는 Shimadzu Prominence 시스템 상의 UHPLC 분석은 비접합된 경쇄 및 비접합된 중쇄와 화합물 19의 단일 분자에 부착된 중쇄의 혼합물을 나타내어, 항체당 화합물 19의 1.89 분자의 약물-당-항체 비 (DAR)와 일치한다.

[0777] 280 nm에서 ConjA의 샘플에 200 mM 인산칼륨 pH 6.95, 250 mM 칼륨 클로라이드 및 10% 이소프로판올 (v/v)을 함유하는 0.3 mL/분 멸균-여과된 SEC 완충액으로 용리하는 Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 μ m 4.6 x 150 mm 칼럼 (4 μ m 3.0 x 20 mm 가드 칼럼을 가짐)을 사용하는 Shimadzu Prominence 시스템 상의 UHPLC 분석은 96%의 단량체 순도를 나타낸다. UHPLC SEC 분석은 8.0 mL 내에 1.39 mg/mL로 최종 ConjA의 농도를 제공하고, ConjA의 수득된 질량은 11.15 mg이다 (74% 수율).

[0778] 화합물 27을 갖는 항체-약물 콘주게이트, *ConjB*

[0779] 포스페이트-완충 식염수 pH 7.4 (PBS) 내에 DL-디티오프레이톨 (DTT)의 50 mM 용액을 PBS 및 1 mM 에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA)을 함유하는 환원 완충액 내에 항체 트라스투주맙 (100 mg, 0.67 마이크로몰)의 25 mL 용액과 4.0 mg/mL의 최종 항체 농도로 첨가했다 (40 몰 당량/항체, 27 μ mol, 536 μ L).

[0780] 환원 혼합물을 실온에서 17시간 동안 (또는 UHPLC에 의해 완전한 환원이 관찰될 때까지) 회전식 진탕기에서 부드럽게 (60 rpm) 흔들면서 반응시켰다. 실온으로 냉각 후, 환원된 항체는 PBS pH 7.4 및 1 mM EDTA를 함유하는 재산화 완충액으로, 115 cm² 표면적을 갖는 mPES, MidiKros[®] 30 kDa 섬유 필터를 사용하여 접선 유동 여과 장치 (TFF)를 통해 완충액 교환하여 모든 과잉 환원제를 제거했다. 환원된 항체를 3분 동안 4000 rpm에서 원심분리하고 그 다음 0.22 μ M 멤브레인 필터를 사용하여 여과했다. DMSO 내 50 mM 용액의 데하이드로아스코르브산 (DHAA, 20 몰 당량/항체, 12 마이크로몰, 240 μ L)를 첨가하고 재산화 혼합물은 2-3시간 동안 실온에서 부드럽게 (50 rpm) 흔들면서 ~ 1.7 mg/mL의 항체 농도에서 반응시켰다 (또는 더 많은 DHAA를 첨가하고 UHPLC에 의해 사슬-간 시스테인 디설파이드를 재형성하기 위한 시스테인 티올의 완전한 재산화가 관찰될 때까지 더 오래 반응이 남아 있음). 재산화 혼합물을 그 다음 멸균-여과하고 1.7 mg/mL의 최종 항체 농도를 위해 PBS 및 1 mM EDTA를 함유하는 콘주게이션 완충액에 희석하였다. 화합물 27을 10% (v/v) 최종 DMSO 농도를 위해 15.0 mL의 이 재산화된 항체 용액 (15.3 mg, 0.1 μ moles)에 DMSO 용액 (1.5 mL DMSO 내, 12 몰 당량/항체, 1.2 마이크로몰)으로 첨가했다. 용액은 실온에서 2시간 동안 실온에서 부드럽게 흔들면서 반응시켰다. 그 다음 콘주게이션을 *N*-아세틸 시스테인 (6.0 마이크로몰, 100 mM에서 60 μ L)의 첨가로 켄칭하고, 그 다음 15 mL Amicon Ultracell 50 kDa MWC0 스펀 필터를 사용한 스펀 여과에 의해 정제하고, 멸균-여과하고 분석하였다.

[0781] 280 nm 및 330 nm에서 ConjB (화합물 27 특이적)의 환원된 샘플에 물과 아세토니트릴의 구배로 용리하는 Thermo Scientific MAbPac 50 mm x 2.1 mm 칼럼을 사용하는 Shimadzu Prominence 시스템 상의 UHPLC 분석은 비접합된 경쇄 및 비접합된 중쇄와 화합물 27의 단일 분자에 부착된 중쇄의 혼합물을 나타내어, 항체당 화합물 27의 1.69 분자의 약물-당-항체 비 (DAR)와 일치한다.

[0782] 280 nm에서 ConjB의 샘플에 200 mM 인산칼륨 pH 6.95, 250 mM 칼륨 클로라이드 및 10% 이소프로판올 (v/v)을 함유하는 0.3 mL/분 멸균-여과된 SEC 완충액으로 용리하는 Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 μ m 4.6 x 150 mm 칼럼 (4 μ m 3.0 x 20 mm 가드 칼럼을 가짐)을 사용하는 Shimadzu Prominence 시스템 상의 UHPLC 분석은 99%의 단량체 순도를 나타낸다. UHPLC SEC 분석은 5.8 mL 내에 2.31 mg/mL로 최종 ConjB의 농도를 제공하고, ConjB의 수득된 질량은 13.4 mg이다 (67% 수율).

[0783] 화합물 33을 갖는 항체-약물 콘주게이트, *ConjC*

[0784] 포스페이트-완충 식염수 pH 7.4 (PBS) 내에 DL-디티오프레이톨 (DTT)의 50 mM 용액을 PBS 및 1 mM 에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA)을 함유하는 환원 완충액 내에 항체 (30 mg, 200 나노몰)의 7.5 mL 용액과 4.0 mg/mL

의 최종 항체 농도로 첨가했다 (125 μL 당량/항체, 25 마이크로몰, 500 μL).

- [0785] 환원 혼합물을 실온에서 3-4시간 동안 (또는 UHPLC에 의해 완전한 환원이 관찰될 때까지) 회전식 진탕기에서 부드럽게 (60 rpm) 흔들면서 반응시켰다. 환원된 항체는 스핀 필터 원심분리를 통해 PBS 및 1 mM EDTA를 함유하는 재산화 완충액으로 완충액 교환하여 모든 과잉 환원제를 제거했다. DMSO 내 50 mM 용액의 데하이드로아스코르브산 (DHAA, 20 μL 당량/항체, 4 마이크로몰, 80 μL)를 첨가하고 재산화 혼합물은 16시간 동안 실온에서 부드럽게 (50 rpm) 흔들면서 2.5 mg/mL의 항체 농도에서 반응시켰다 (또는 더 많은 DHAA를 첨가하고 UHPLC에 의해 사슬-간 시스테인 디설파이드를 재형성하기 위한 시스테인 티올의 완전한 재산화가 관찰될 때까지 더 오래 반응이 남아 있음). 재산화 혼합물을 그 다음 멸균-여과하고 2.0 mg/mL의 최종 항체 농도를 위해 PBS 및 1 mM EDTA를 함유하는 콘주게이션 완충액에 희석하였다. 화합물 **33**을 10% (v/v) 최종 DMSO 농도를 위해 6.75 mL의 이 재산화된 항체 용액 (15 mg, 100 나노몰)에 DMSO 용액 (0.75 mL DMSO 내, 10 μL 당량/항체, 1 마이크로몰)으로 첨가했다. 용액은 4시간 동안 실온에서 혼합하고 (용해성을 돕기 위해 2시간 후 0.5-1.0 mL 프로필렌 글리콜을 첨가함), 그 다음 콘주게이션을 *N*-아세틸 시스테인 (5 마이크로몰, 100 mM에서 50 μL)의 첨가로 쉐킷하고, 그 다음 15 mL Amicon Ultracell 50 kDa MWCO 스핀 필터를 사용한 스핀 여과에 의해 정제하고, 멸균-여과하고 분석하였다.
- [0786] 280 nm 및 330 nm에서 ConjC (화합물 **33** 특이적)의 환원된 샘플에 물과 아세토니트릴의 구배로 용리하는 Thermo Scientific MAbPac 50 mm x 2.1 mm 칼럼을 사용하는 Shimadzu Prominence 시스템 상의 UHPLC 분석은 비접합된 경쇄 및 비접합된 중쇄와 화합물 **33**의 단일 분자에 부착된 중쇄의 혼합물을 나타내어, 항체당 화합물 **33**의 1.63 분자의 약물-당-항체 비 (DAR)와 일치한다.
- [0787] 280 nm에서 ConjC의 샘플에 200 mM 인산칼륨 pH 6.95, 250 mM 칼륨 클로라이드 및 10% 이소프로판올 (v/v)을 함유하는 0.3 mL/분 멸균-여과된 SEC 완충액으로 용리하는 Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 μm 4.6 x 150 mm 칼럼 (4 μm 3.0 x 20 mm 가드 칼럼을 가짐)을 사용하는 Shimadzu Prominence 시스템 상의 UHPLC 분석은 99%의 단량체 순도를 나타낸다. UHPLC SEC 분석은 7.0 mL 내에 1.89 mg/mL로 최종 ConjC의 농도를 제공하고, ConjC의 수득된 질량은 13.2 mg이다 (88% 수율).
- [0788] 화합물 **34**를 갖는 항체-약물 콘주게이트, *ConjD*
- [0789] 포스페이트-완충 식염수 pH 7.4 (PBS) 내에 DL-디티오트레이톨 (DTT)의 50 mM 용액을 PBS 및 1 mM 에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA)을 함유하는 환원 완충액 내에 항체 트라스투주맙 (105 mg, 700 나노몰)의 26.25 mL 용액과 4.0 mg/mL의 최종 항체 농도로 첨가했다 (40 μL 당량/항체, 28 마이크로몰, 560 μL).
- [0790] 환원 혼합물을 실온에서 20시간 동안 (또는 UHPLC에 의해 완전한 환원이 관찰될 때까지) 회전식 진탕기에서 부드럽게 (60 rpm) 흔들면서 반응시켰다. 환원된 항체는 0.5-1.0 바의 막관통 압력 (TMP)으로 PBS 내 50 mL/분에서 30 kDa MWCO, 115 cm² 표면적 중공 섬유 필터 모듈을 갖는 Spectrum Labs KrosFlo Research IIi 시스템을 사용하여 접선 유동 여과 (TFF)를 통해, PBS 및 1 mM EDTA를 함유하는 재산화 완충액으로 완충액 교환하여 모든 과잉 환원제를 제거하고, 97 mg (667 나노몰)를 회수했다. DMSO 내 50 mM 용액의 데하이드로아스코르브산 (DHAA, 20 μL 당량/항체, 12.9 마이크로몰, 259 μL)를 첨가하고 재산화 혼합물은 17시간 동안 실온에서 부드럽게 (50 rpm) 흔들면서 1.5 mg/mL의 항체 농도에서 반응시켰다 (또는 더 많은 DHAA를 첨가하고 UHPLC에 의해 사슬-간 시스테인 디설파이드를 재형성하기 위한 시스테인 티올의 완전한 재산화가 관찰될 때까지 더 오래 반응이 남아 있음). 재산화 혼합물을 그 다음 멸균-여과하고 1.0 mg/mL의 최종 항체 농도를 위해 PBS 및 1 mM EDTA를 함유하는 콘주게이션 완충액에 희석하였다. 화합물 **34**를 10% (v/v) 최종 DMSO 농도를 위해 12.6 mL의 이 재산화된 항체 용액 (14 mg, 93 나노몰)에 DMSO 용액 (1.4 mL DMSO 내, 15 μL 당량/항체, 1.4 마이크로몰)으로 첨가했다. 용액을 2시간 동안 실온에서 혼합하고, +4°C에서 16시간 동안 보관하고, 그 다음 콘주게이션을 *N*-아세틸 시스테인 (3.7 마이크로몰, 100 mM에서 37 μL)의 첨가로 쉐킷하였다. 반응 혼합물을 15 mL Amicon Ultracell 50 kDa MWCO 스핀 필터를 사용한 스핀 여과에 의해 정제하고, TFF에 의해 추가로 정제하고 (800 mL 침투됨), 멸균-여과하고 분석하였다. 280 nm 및 330 nm에서 ConjD (화합물 **34** 특이적)의 환원된 샘플에 물과 아세토니트릴의 구배로 용리하는 Phenomenex Aeris 3.6u XB-C18 150 mm x 2.1 mm 칼럼을 사용하는 Shimadzu Prominence 시스템 상의 UHPLC 분석은 비접합된 경쇄 및 비접합된 중쇄와 화합물 **34**의 단일 분자에 부착된 중쇄의 혼합물을 나타내어, 항체당 화합물 **34**의 1.81 분자의 약물-당-항체 비 (DAR)와 일치한다.
- [0791] 280 nm에서 ConjD의 샘플에 200 mM 인산칼륨 pH 6.95, 250 mM 칼륨 클로라이드 및 10% 이소프로판올 (v/v)을 함유하는 0.3 mL/분 멸균-여과된 SEC 완충액으로 용리하는 Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 μm 4.6 x 150 mm 칼럼 (4 μm 3.0 x 20 mm 가드 칼럼을 가짐)을 사용하는 Shimadzu Prominence 시스템 상의 UHPLC

분석은 97%의 단량체 순도를 나타낸다. UHPLC SEC 분석은 5.5 mL 내에 0.49 mg/mL로 최종 ConjD의 농도를 제공하고, ConjD의 수득된 질량은 2.59 mg이다 (19% 수율).

- [0792] 화합물 44를 갖는 항체-약물 콘주게이트, *ConjE*
- [0793] 포스페이트-완충 식염수 pH 7.4 (PBS) 내에 DL-디티오프레이톨 (DTT)의 50 mM 용액을 PBS 및 1 mM 에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA)을 함유하는 환원 완충액 내에 항체 (100 mg, 0.67 마이크로몰)의 25 mL 용액과 4.0 mg/mL의 최종 항체 농도로 트라스투주맵을 첨가했다 (40 몰 당량/항체, 27 μ mol, 536 μ L).
- [0794] 환원 혼합물을 실온에서 17시간 동안 (또는 UHPLC에 의해 완전한 환원이 관찰될 때까지) 회전식 진탕기에서 부드럽게 (60 rpm) 흔들면서 반응시켰다. 실온으로 냉각 후, 환원된 항체는 115 cm^2 표면적을 갖는 mPES, MidiKros[®] 30 kDa 섬유 필터를 사용하여 접선 유동 여과 (TFF)를 통해, PBS pH 7.4 및 1 mM EDTA를 함유하는 재산화 완충액으로 완충액 교환하여 모든 과잉 환원제를 제거하였다. 환원된 항체는 4000 rpm에서 3분 동안 원심분리하고 그 다음 0.22 μ M 멤브레인 필터를 사용하여 여과했다. DMSO 내 50 mM 용액의 데하이드로아스코르브산 (DHAA, 20 몰 당량/항체, 12 마이크로몰, 240 μ L)를 첨가하고 재산화 혼합물은 2-3시간 동안 실온에서 부드럽게 (50 rpm) 흔들면서 ~ 1.7 mg/mL의 항체 농도에서 반응시켰다 (또는 더 많은 DHAA를 첨가하고 UHPLC에 의해 사슬-간 시스테인 디설파이드를 재형성하기 위한 시스테인 티올의 완전한 재산화가 관찰될 때까지 더 오래 반응이 남아 있음). 재산화 혼합물을 그 다음 멸균-여과하고 1.7 mg/mL의 최종 항체 농도를 위해 PBS 및 1 mM EDTA를 함유하는 콘주게이션 완충액에 희석하였다. 화합물 44를 10% (v/v) 최종 DMSO 농도를 위해 15.0 mL의 이 재산화된 항체 용액 (15.3 mg, 0.1 μ moles)에 DMSO 용액 (1.5 mL DMSO 내, 10 몰 당량/항체, 1.0 마이크로몰)으로 첨가했다. 용액은 실온에서 2시간 동안 실온에서 부드럽게 흔들어 반응시켰다. 그 다음 콘주게이션을 *N*-아세틸 시스테인 (5 마이크로몰, 100 mM에서 50 μ L)의 첨가로 켄칭하고, 그 다음 15 mL Amicon Ultracell 50 kDa MWC0 스핀 필터를 사용한 스핀 여과에 의해 정제하고, 멸균-여과하고 분석하였다.
- [0795] 280 nm 및 330 nm에서 ConjE (화합물 44 특이적)의 환원된 샘플에 물과 아세트니트릴의 구배로 용리하는 Thermo Scientific MAbPac 50 mm x 2.1 mm 칼럼을 사용하는 Shimadzu Prominence 시스템 상의 UHPLC 분석은 비접합된 경쇄 및 비접합된 중쇄와 화합물 44의 단일 분자에 부착된 중쇄의 혼합물을 나타내어, 항체당 화합물 44의 1.85 분자의 약물-당-항체 비 (DAR)와 일치한다.
- [0796] 280 nm에서 ConjE의 샘플에 200 mM 인산칼륨 pH 6.95, 250 mM 칼륨 클로라이드 및 10% 이소프로판올 (v/v)을 함유하는 0.3 mL/분 멸균-여과된 SEC 완충액으로 용리하는 Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 μ m 4.6 x 150 mm 칼럼 (4 μ m 3.0 x 20 mm 가드 칼럼을 가짐)을 사용하는 Shimadzu Prominence 시스템 상의 UHPLC 분석은 99%의 단량체 순도를 나타낸다. UHPLC SEC 분석은 6.8 mL 내에 2.06 mg/mL로 최종 ConjE의 농도를 제공하고, ConjE의 수득된 질량은 14 mg이다 (70% 수율).
- [0797] 화합물 45를 갖는 항체-약물 콘주게이트, *ConjF*
- [0798] 포스페이트-완충 식염수 pH 7.4 (PBS) 내에 DL-디티오프레이톨 (DTT)의 50 mM 용액을 PBS 및 1 mM 에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA)을 함유하는 환원 완충액 내에 항체 트라스투주맵 (100 mg, 0.67 마이크로몰)의 25 mL 용액과 4.0 mg/mL의 최종 항체 농도로 첨가했다 (40 몰 당량/항체, 27 마이크로몰, 536 μ L).
- [0799] 환원 혼합물을 실온에서 17시간 동안 (또는 UHPLC에 의해 완전한 환원이 관찰될 때까지) 회전식 진탕기에서 부드럽게 (60 rpm) 흔들면서 반응시켰다. 실온으로 냉각 후, 환원된 항체는 115 cm^2 표면적을 갖는 mPES, MidiKros[®] 30 kDa 섬유 필터를 사용하여 접선 유동 여과 (TFF)를 통해, PBS pH 7.4 및 1 mM EDTA를 함유하는 재산화 완충액으로 완충액 교환하여 모든 과잉 환원제를 제거하였다. 환원된 항체는 4000 rpm에서 3분 동안 원심분리하고 그 다음 0.22 μ M 멤브레인 필터를 사용하여 여과했다. DMSO 내 50 mM 용액의 데하이드로아스코르브산 (DHAA, 20 몰 당량/항체, 12 마이크로몰, 240 μ L)를 첨가하고 재산화 혼합물은 2-3시간 동안 실온에서 부드럽게 (50 rpm) 흔들면서 ~ 1.7 mg/mL의 항체 농도에서 반응시켰다 (또는 더 많은 DHAA를 첨가하고 UHPLC에 의해 사슬-간 시스테인 디설파이드를 재형성하기 위한 시스테인 티올의 완전한 재산화가 관찰될 때까지 더 오래 반응이 남아 있음). 재산화 혼합물을 그 다음 멸균-여과하고 1.7 mg/mL의 최종 항체 농도를 위해 PBS 및 1 mM EDTA를 함유하는 콘주게이션 완충액에 희석하였다. 화합물 45를 10% (v/v) 최종 DMSO 농도를 위해 15.0 mL의 이 재산화된 항체 용액 (15.3 mg, 0.1 μ moles)에 DMSO 용액 (1.5 mL DMSO 내, 10 몰 당량/항체, 1.0 마이크로몰)으로 첨가했다. 용액은 실온에서 2시간 동안 실온에서 부드럽게 흔들어 반응시켰다. 그 다음 콘주게이션을 *N*-아세틸 시스테인 (5 마이크로몰, 100 mM에서 50 μ L)의 첨가로 켄칭하고, 그 다음 15 mL Amicon Ultracell

50 kDa MWC0 스핀 필터를 사용한 스핀 여과에 의해 정제하고, 멸균-여과하고 분석하였다.

[0800] 280 nm 및 330 nm에서 ConjF (화합물 45 특이적)의 환원된 샘플에 물과 아세토니트릴의 구배로 용리하는 Thermo Scientific MABPac 50 mm x 2.1 mm 칼럼을 사용하는 Shimadzu Prominence 시스템 상의 UHPLC 분석은 비접합된 경쇄 및 비접합된 중쇄와 화합물 45의 단일 분자에 부착된 중쇄의 혼합물을 나타내어, 항체당 화합물 45의 1.72 분자의 약물-당-항체 비 (DAR)와 일치한다.

[0801] 280 nm에서 ConjF의 샘플에 200 mM 인산칼륨 pH 6.95, 250 mM 칼륨 클로라이드 및 10% 이소프로판올 (v/v)을 함유하는 0.3 mL/분 멸균-여과된 SEC 완충액으로 용리하는 Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 μm 4.6 x 150 mm 칼럼 (4 μm 3.0 x 20 mm 가드 칼럼을 가짐)을 사용하는 Shimadzu Prominence 시스템 상의 UHPLC 분석은 99%의 단량체 순도를 나타낸다. UHPLC SEC 분석은 6.7 mL 내에 2.02 mg/mL로 최종 ConjF의 농도를 제공하고, ConjF의 수득된 질량은 13.5 mg이다 (68% 수율).

[0802] 화합물 19를 갖는 항체-약물 콘주게이트, *ConjA*^{*}

[0803] R347 항체 (30 mg)를 고품 지지체 상으로 장입하고 환원시키고, 재산화시키고, 화합물 19에 접합하고, 정제하고, 수지로부터 방출시키고 그리고 특허 # US 2014/036111 A1에 따라 25 mM 히스티딘, 200 mM 수크로스, Tween-20 0.02%, pH 6.0으로 제형화하였다.

[0804] 214 nm 및 330 nm에서 콘주게이트 (화합물 19 특이적)의 환원된 샘플에 물과 아세토니트릴의 구배로 용리하는 Thermo Scientific MABPac 50 mm x 2.1 mm 칼럼을 사용하는 Shimadzu Prominence 시스템 상의 UHPLC 분석은 비접합된 경쇄 및 비접합된 중쇄와 화합물 19의 단일 분자에 부착된 중쇄의 혼합물을 나타내어, 항체당 화합물 19의 1.9 분자의 약물-당-항체 비 (DAR)와 일치한다.

[0805] 280 nm에서 ADC의 샘플에 200 mM 인산칼륨 pH 6.95, 250 mM 칼륨 클로라이드 및 10% 이소프로판올 (v/v)을 함유하는 0.3 mL/분 멸균-여과된 SEC 완충액으로 용리하는 Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 μm 4.6 x 150 mm 칼럼 (4 μm 3.0 x 20 mm 가드 칼럼을 가짐)을 사용하는 Shimadzu Prominence 시스템 상의 UHPLC 분석은 97%의 단량체 순도를 나타낸다. Nanodrop UV-Vis 분석은 107 mL 내에 2.0 mg/mL로 최종 ADC의 농도를 제공하고, ADC의 수득된 질량은 214 mg이다 (71% 수율).

[0806] **실시예 6 - 시험관내 세포독성 검정**

[0807] T75 플라스크에서 하위-융합성 (80-90% 밀집도) 세포 배양으로부터의 배지를 흡인하고 플라스크를 PBS (약 20 ml)로 린스하고 비웠다. 트립신-EDTA (5 ml)을 첨가하고, 플라스크를 최대 약 5분 동안 37C 가스가 있는 인큐베이터로 되돌린 다음 급격히 두드려 플라스틱에서 세포를 분리하고 해리시켰다. 세포 현탁액을 멸균된 50ml 스크류-탑 원심분리 튜브로 옮기고 성장 배지로 최종 부피 15 ml로 희석하고 그 다음 원심분리 (5분 동안 400 g)했다. 상청액을 흡인하고 펠릿을 10 ml 배양 배지에 재현탁시켰다. 단분산 세포 현탁액을 생성하기 위해 반복된 피펫팅이 필요할 수 있다. 세포 농도와 생존력은 트립판 블루 염색 및 LUNA-II™ 자동화 세포 계수기를 사용한 계수에 의해 측정한다. 세포를 2x10⁵/ml로 희석하고, 96-웰 평평한 바닥 플레이트에 분배하고 (50 μl/웰) 사용하기 전에 밤새 인큐베이션했다.

[0808] 항체 약물 콘주게이트 (ADC) (20 μg/ml)의 모액 (1 ml)은 필터-멸균된 ADC를 세포 배양 배지에 희석하여 만들었다. 스톱 ADC의 8x 10-배 희석의 세트는 900 μl의 세포 배양 배지 안으로 100 μl의 연속 이송에 의해 24-웰 플레이트에서 만들었다. ADC 희석물을 전날 접종된 50 μl 세포 현탁액을 함유하는, 96-웰 플레이트의 4개의 복제 웰들에 분배했다 (50 μl/웰). 대조군 웰들은 50 μl 세포 배양 배지를 수용했다. 세포와 ADC를 함유하는 96-웰 플레이트를 노출 시간 동안 CO₂-가스가 있는 인큐베이터에서 37C에서 인큐베이션했다.

[0809] 인큐베이션 기간의 종단에서, MTS 검정에 의해 세포 생존력을 측정했다. MTS (Promega)를 각 웰에 분배하고 (웰당 20 μl) CO₂-가스가 있는 인큐베이터에서 37C에서 4시간 동안 인큐베이션했다. 웰 흡광도를 490 nm에서 측정했다. 세포 생존 백분율은 4개의 대조군 미처리 웰들에서 평균 흡광도 (100%)와 비교하여 4개의 ADC-처리 웰들의 평균 흡광도로부터 계산되었다. IC₅₀은 비-선형 곡선 적합 알고리즘: 에스자형 용량 반응을 사용하는 GraphPad Prism을 사용하여 용량-반응 데이터로부터 결정되었고, X는 로그(농도)이다. ADC 인큐베이션 시간은 MDA MB 468 및 NCI N87에 대해 각각 4일 및 7일이었다. MDA MB 468에 대한 세포 성장 배지는 10% (v/v) HyClone™ 우태 혈청인, 글루타맥스를 갖는 RPMI 1640이었고 NCI N87의 경우는 10% (v/v) HyClone™ 우태 혈청인, 글루타맥스를 갖는 RPMI 1640이었다.

EC ₅₀ (µg/ml)	NCI-N87	MDA-MB-468
ConjA	0.00661	~27500
ConjB	0.000670	10.4
ConjC	0.00135	0.829
ConjD	0.00783	~1.35
ConjE	0.0124	~1.69
ConjF	0.000968	2.62

[0810]

[0811]

[0812]

[0813]

[0814]

[0815]

[0816]

[0817]

[0818]

[0819]

[0820]

[0821]

[0822]

실시예 7 - 생체내 검정

마우스

암컷 중증 복합성 면역-결핍 마우스 (Fox Chase SCID®, C.B-17/Icr-Prkdcscid, Charles River)는 연구의 1일차에 8 내지 12주령이었다. 동물들에게 선택적으로 물 (역삼투, 1 ppm Cl) 및 18.0% 조 단백질, 5.0% 조 지방 및 5.0% 조 섬유유로 구성된 NIH 31 Modified and Irradiated Lab Diet®를 공급했다. 마우스는 20-22°C (68-72°F) 및 40-60% 습도에서 12-시간의 광 주기로 고정 마이크로 절연체에 조사된 Enricho'cobs™ 실험실 동물 침구 상에 수용했다. CR Discovery Services는 구축, 사육, 수술 절차, 사료 및 체액 조절, 수의학 관리와 관련하여 실험실 동물의 관리 및 사용에 대한 가이드의 권장 사항을 특히 준수한다. CR Discovery Services의 동물 관리 및 사용 프로그램은 실험실 동물의 관리 및 사용에 대한 허용된 표준을 준수하는 것을 보장하는 국제 실험실 동물 관리의 평가 및 신입 연합 (AAALAC)에 의해 인증을 받았다.

종양 세포 배양

인간 NCI-N87 위 암종 림프종 세포는 10% 우태 혈청, 2 mM 글루타민, 100 units/mL 페니실린, 100 µg/mL 스트렙토마이신 설페이트 및 25 µg/mL 겐타마이신이 보충된 RPMI-1640 배지에서 배양하였다. 세포는 5% CO₂ 및 95% 공기의 분위기에서 37°C에서 가슴된 인큐베이터 내 조직 배양 플라스크에서 성장되었다.

생체내 이식 및 종양 성장

이식을 위해 사용된 NCI-N87 세포는 대수 증식 성장 동안 수확하고 50% Matrigel™ (BD Biosciences)을 함유하는 인산염 완충 식염수 (PBS)에 재현탁시켰다. 종양 이식의 당일, 각각의 테스트 마우스를 오른쪽 옆구리에 1 x 10⁷ 세포 (0.1 mL 세포 현탁액)로 피하로 주입하고 평균 크기가 100 내지 150 mm³의 목표 범위에 가까워짐에 따라 종양 성장을 모니터링했다. 연구의 1일차로 지정된 11일 후, 마우스를 계산된 종양 크기에 따라 10마리의 동물 및 동등한 그룹 평균 종양 부피로 구성된 그룹으로 각각 분류하였다. 종양은 캘리퍼스를 사용하여 2차원으로 측정하였고 부피는 하기 식을 사용하여 계산하였다:

$$\text{종양 부피 (mm}^3\text{)} = 0.5 (w^2 \times l)$$

상기에서 *w* = 폭이고 *l* = 길이로, 종양의 mm 단위이다. 종양 중량은 1 mg이 종양 부피 1 mm³와 동등하다는 가정으로 추정될 수 있다.

치료

연구의 1일차에, 확립된 NCI-N87 이종이식편을 담지하는 암컷 SCID 마우스를 그룹으로 분류하고 (n = 10), 투약을 아래에서 나타낸 바와 같이 개시했다. 모든 제제는 1일 1회 (qd x 1) 꼬리 정맥 주입을 통해 정맥내로 (i.v.) 투여하였다. 투약 부피는 20그램의 체중 당 0.2 mL (10 mL/kg)이고, 각각의 개별 동물의 체중에 따라 조정되었다. 비히클-처리된 그룹은 효능 분석을 위한 대조군 그룹으로 사용하였다. 종양은 주당 2회 캘리퍼스를 사용하여 측정하였고, 각각의 동물은 그것의 종양이 800 mm³의 종점 부피에 도달하거나 연구 종료 (85일차) 중 먼저 도래하는 시점에 안락사시켰다.

치료 결과는 로그랭크 생존 분석을 사용하여 P ≤ 0.05에서 통계적으로 유의한 것으로 간주되는 그룹 간의 차이와 함께, 처리된 마우스 대 대조군 마우스에 대한 종양 TTE에서의 퍼센트 증가로 정의된 퍼센트 종양 성장 지연 (%TGD)으로부터 결정되었다. 치료는 동물에서 종양의 부분적인 퇴행 (PR) 또는 완전한 퇴행 (CR)을 유발할 수 있다. PR 반응에서 종양 부피는 연구 과정 동안 3회 연속적인 측정에 대해 그것의 1일차 부피의 50% 또는 그 미만이었, 이들 3회 측정 중 하나 이상에 대해 13.5 mm³ 이상이었다. CR 반응에서, 종양 부피는 연구 과정 동안

3회 연속적인 측정에 대해 13.5 mm³ 미만이었다.

[0823] 치료 내성은 체중 측정과 치료-관련된 부작용의 징후에 대한 빈번한 관찰에 의해 평가되었다. 치료 내성은 체중 측정과 치료-관련된 부작용의 징후에 대한 빈번한 관찰에 의해 평가되었다.

[0824] 모든 레지멘은 허용가능하게 용인되었다. 비히클-처리된 대조군에 대한 중앙 TTE는 33.5일이었으며, 85-일 연구에 대해 51.5일의 최대 가능한 TGD (154%)를 확립하였다.

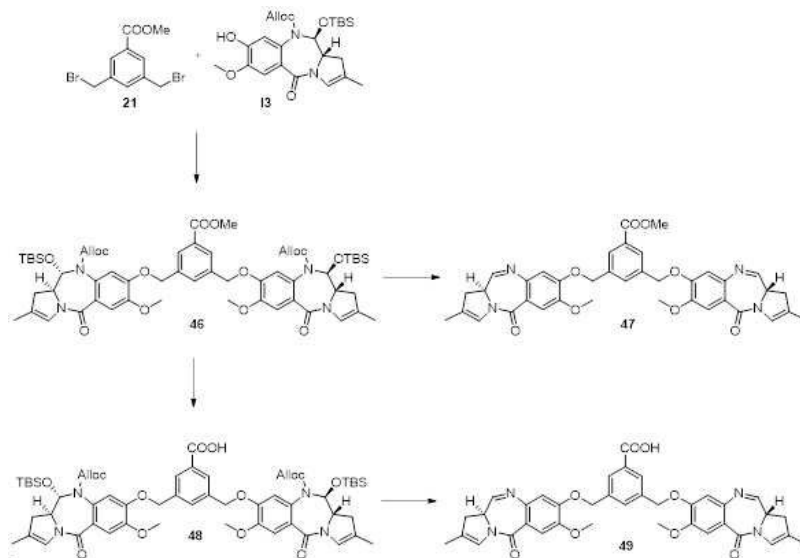
[0825] 모든 ADC 처리는 비히클-처리된 대조군과 유의미하게 상이한 TGD 결과 (P < 0.001)를 생산했다.

	용량	% TGD	PR	CR	TFS
ConjA	1 mg/kg	154	0	0	0
ConjB	1 mg/kg	154	9	0	0
ConjC	1 mg/kg	154	7	1	1
ConjE	1 mg/kg	117	0	0	0
ConjF	1 mg/kg	154	8	0	0

[0826]

[0827] **실시예 8 - 약물 페이로드의 합성**

[0828] A:



[0829]

[0830] (i) 디알릴 8,8'-(((5-(메톡시카보닐)-1,3-페닐렌)비스(메틸렌))비스(옥시))(11S,11aS,11'S,11a'S)-비스(11-((tert-부틸디메틸실릴)옥시)-7-메톡시-2-메틸-5-옥소-11,11a-디하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-10(5H)-카복실레이트) (46)

[0831] 페놀 **13** (240 mg, 0.5 mmol, 2 당량) 및 디브로모-*m*-자일렌 **21** (81 mg, 0.253 mmol, 1 당량)을 건조 DMF (20 mL) 내에서 용해시키고 나서 TBAI (11 mg, 0.03 mmol, 0.1 당량) 및 K₂CO₃ (70 mg, 0.5 mmol, 2 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 1시간 동안 60°C로 가열시키고 이 시점에서 반응이 완료되었다. DMF를 진공 하에서 제거하고 조 생성물을 Biotage 크로마토그래피에 의해 정제하여 순수한 생성물 **46**을 수득하였다 (273 mg, 97% 수율). LCMS-A: r.t. = 2.24분, [M+H]⁺ = 1109.

[0832] (ii) 메틸 3,5-비스(((S)-7-메톡시-2-메틸-5-옥소-5,11a-디하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)벤조에이트 (47)

[0833] 글러브박스에서, 에스테르 **46** (60mg, 0.054 mmol, 1 당량)을 CH₂Cl₂ (5 mL) 내에서 용해시키고 나서 PdP(Ph₃)₄ (3.5 mg, 0.003 mmol, 0.05 당량) 및 파이롤리딘 (11 μL, 0.135 mmol, 2.5 당량)을 첨가하고 완료될 때까지

혼합물을 교반하였다. 유기물을 CH_2Cl_2 로 희석하고 포화 $\text{NH}_4\text{Cl}_{(\text{aq})}$, 물 및 염수로 세정하고 나서 MgSO_4 로 건조시키고, 여과하고 휘발성 물질을 진공에서 제거했다. 조 물질을 Biotage 크로마토그래피로 정제하여 순수한 생성물 **47**를 수득하였다 (17.8 mg, 48% 수율). LCMS-A: r.t. = 1.42분, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 677$; LCMS²: r.t. = 6.35분, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 677$.

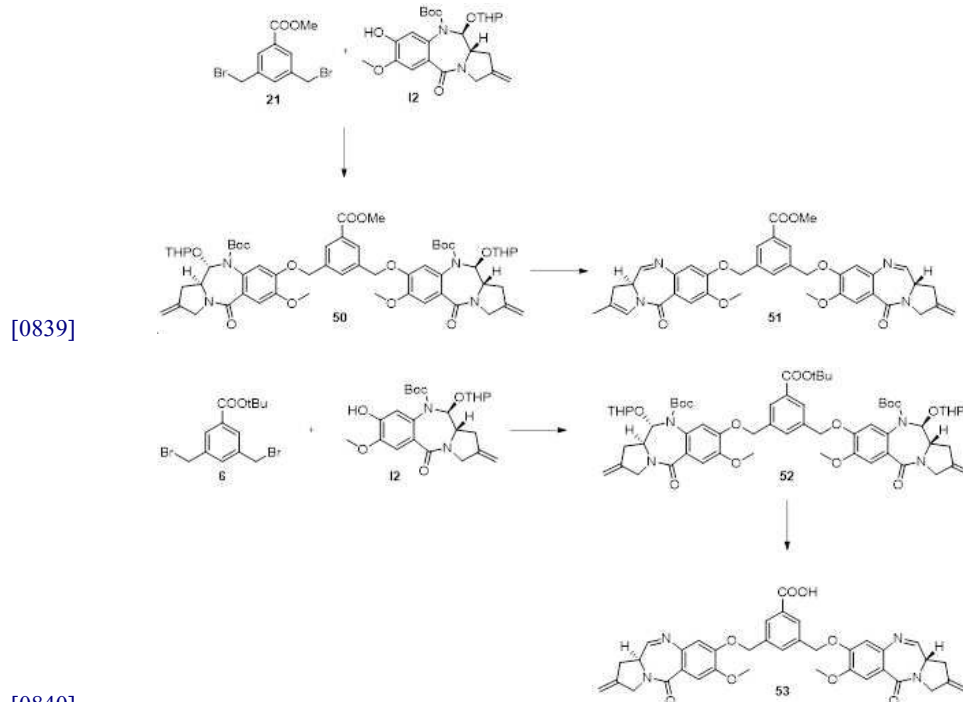
[0834] (iii) 3,5-*h*/스(((11*S*,11*aS*)-10-((알릴옥시)카보닐)-11-((*tert*-부틸디메틸실릴)옥시)-7-메톡시-2-메틸-5-옥소-5,10,11,11*a*-테트라하이드로-1*H*-벤조[e]피롤로[1,2-*a*][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)벤조산 (48)

[0835] 에스테르 **46** (185 mg, 0.17 mmol, 1 당량)을 THF/H₂O/MeOH (10 mL)의 1:1:1 혼합물에 용해시키고 혼합물을 15 시간 동안 교반하고 워크업 후, 생성물 **48** (59 mg, 32% 수율)을 단리하였다. LCMS-A: r.t. = 2.15분, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 1095$.

[0836] (iv) 3,5-*h*/스(((*S*)-7-메톡시-2-메틸-5-옥소-5,11*a*-디하이드로-1*H*-벤조[e]피롤로[1,2-*a*][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)벤조산 (49)

[0837] 글러브박스에서, 에스테르 **48** (59mg, 0.054 mmol, 1 당량)을 CH_2Cl_2 (5 mL)에 용해시키고 나서 $\text{PdP}(\text{Ph}_3)_4$ (3.5 mg, 0.003 mmol, 0.05 당량) 및 파이롤리딘 (11 μL , 0.135 mmol, 2.5 당량)을 첨가하고 완료될 때까지 혼합물을 교반하였다. 유기물을 더 많은 CH_2Cl_2 로 희석하고 포화 $\text{NH}_4\text{Cl}_{(\text{수생})}$, 물 및 염수로 세정하고 나서 MgSO_4 로 건조시키고, 여과하고 휘발성 물질을 진공에서 제거했다. 조 물질을 Biotage 크로마토그래피로 정제하여 순수한 생성물 **49**를 수득하였다 (17.08 mg, 48% 수율). LCMS-A: r.t. = 1.35분, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 663$; LCMS-B: r.t. = 5.70분, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 663$.

[0838] B:



[0840] .

[0841] (i) 디-*tert*-부틸 8,8'-(((5-(메톡시카보닐)-1,3-페닐렌)비스(메틸렌))비스(옥시))((11*S*,11*aS*,11'*S*,11*a'**S*)-비스(7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-11-((테트라하이드로-2*H*-피란-2-일)옥시))-2,3,11,11*a*-테트라하이드로-1*H*-벤조[e]피롤로[1,2-*a*][1,4]디아제핀-10(5*H*)-카복실레이트) (50)

[0842] 페놀 **12** (100 mg, 0.2171 mmol, 2.0 당량), 브로마이드 **21** (35 mg, 0.1086 mmol, 1.0 당량), TBAI (1 mg, 0.002715 mmol, 0.025 당량) 및 K_2CO_3 (31.5 mg, 22.81 mmol, 2.1 당량)을 DMF (1.5 mL)에 용해시키고 혼합물을 35°C에서 16시간 동안 교반하며, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물을 진공에서 농축시키고 isolera 크로마토그래피 (핵산 내 50-80% EtOAc)로 정제하여 **50**을 오일로서 얻었다 (98.3 mg,

84%). LCMS-A: r.t. = 1.93, $[M+H]^+$ = 1103

[0843] (ii) 메틸 3,5-비스(((S)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)벤조에이트 (51)

[0844] 50 (86.6 mg, 80.09 μ mol, 1.0 당량)을 95% 수성 TFA (0.5 mL)에 0°C에서 용해시키고 혼합물을 40분 동안 교반하며, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 빙랭수를 반응 혼합물에 첨가하고 pH가 약간 염기성이 될 때까지 고체 NaHCO_3 을 첨가하였다. 수성물을 CHCl_3 으로 추출하고, 합쳐진 유기물을 MgSO_4 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. HPLC (A* 내 20-60% B)로 정제하여 51을 황색 고체로서 얻었다 (6.2 mg, 11%). *A = H_2O 내 0.1% HCO_2H . B = MeCN 내 0.1% HCO_2H . LCMS-B: r.t. = 6.37분, $[M+H]^+$ = 677.

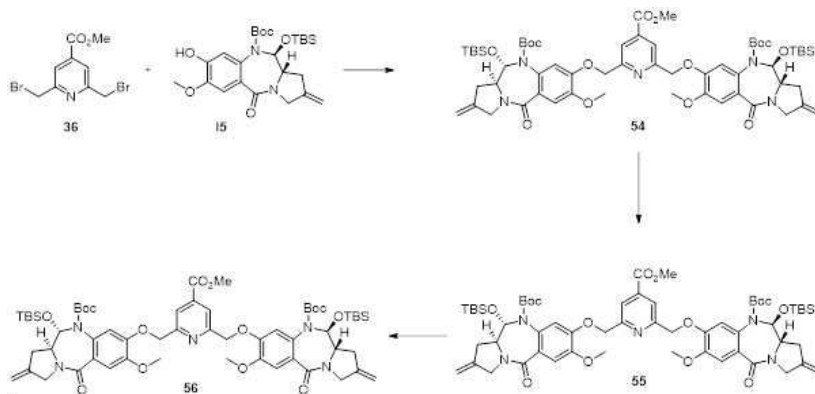
[0845] (iii) 디-tert-부틸 8,8'-(((5-(tert-부톡시카보닐)-1,3-페닐렌)비스(메틸렌))비스(옥시))((1S,11aS,11'S,11a'S)-비스(7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-11-((테트라하이드로-2H-피란-2-일)옥시))-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-10(5H)-카복실레이트) (52)

[0846] 페놀 12 (100 mg, 0.2171 mmol, 2.0 당량), 브로마이드 6 (39.5 mg, 0.1086 mmol, 1.0 당량), TBAI (1 mg, 0.002715 mmol, 0.025 당량) 및 K_2CO_3 (31.5 mg, 22.81 mmol, 2.1 당량)을 DMF (1.5 mL)에 용해시키고 혼합물을 35°C에서 16시간 동안 교반하며, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물을 진공에서 농축시키고 isolera 크로마토그래피 (헥산 내 50-80% EtOAc)로 정제하여 52를 오일로서 얻었다 (120 mg, 98%). LCMS-A: r.t. = 2.03, $[M+H]^+$ = 1145

[0847] (iv) 3,5-비스(((S)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,5,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)벤조산 (53)

[0848] 52 (106 mg, 94.36 μ mol, 1.0 당량)를 0°C에서 95% 수성 TFA (0.5 mL)에 용해시키고 혼합물을 40분 동안 교반하였다. 빙랭수를 반응 혼합물에 첨가하고 pH가 중성이 될 때까지 고체 NaHCO_3 을 첨가하였다. 수성물을 CHCl_3 으로 추출하였다. 수성상의 pH는 약 pH 3으로 조정하였고 CHCl_3 으로 추출하였다. 합쳐진 유기물을 MgSO_4 상에서 건조시키고 진공에서 농축시켰다. HPLC (A* 내 20-60% B)로 정제하여 53을 황색 고체로서 얻었다 (3.8 mg, 6.1%). *A = H_2O 내 0.1% HCO_2H . B = MeCN 내 0.1% HCO_2H . LCMS-B: r.t. = 5.68, $[M+H]^+$ = 663

[0849] C:



[0850]

[0851] (i) 디-tert-부틸 8,8'-(((4-(메톡시카보닐)피리딘-2,6-디일)비스(메틸렌))비스(옥시))((1S,11aS,11'S,11a'S)-비스(11-((tert-부틸디메틸실릴)옥시))-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-10(5H)-카복실레이트) (54)

[0852] 페놀 15 (668 mg, 1.362 mmol, 2.2 당량), 브로마이드 36 (200 mg, 0.6192 mmol, 1.0 당량) 및 K_2CO_3 (188 mg, 1.362 mmol, 2.2 당량)을 DMF (3 mL)에 용해시키고 혼합물을 실온에서 3시간 동안, 그 다음 40°C에서 2시간 동안 교반하며, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물을 진공에서 농축시키고 isolera 크로마토그래피 (CH_2Cl_2 내 0-5% MeOH)로 정제하여 54를 백색 고체로서 얻었다 (610 mg, 86%). LCMS-A:

r.t. = 2.17, [M+Na]⁺ = 1164

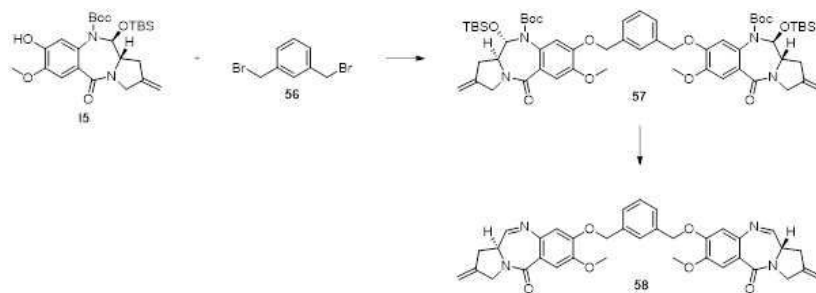
[0853] (ii) 메틸 2,6-비스(2,3,5,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)이소니코티네이트 (55)

[0854] 54 (200 mg, 0.1751 mmol, 1.0 당량)를 0℃에서 95% 수성 TFA (14 mL)에 용해시키고 혼합물을 30분 동안 교반했다. 빙랭수를 반응 혼합물에 첨가하고 pH가 중성 내지 약간 염기성이 될 때까지 고체 NaHCO₃을 첨가했다. 수성물을 CHCl₃으로 추출하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고 농축하였다. Isolera 크로마토그래피 (CH₂Cl₂ 내 0-4% MeOH)로 정제하여 55를 얻었다 (61.4 mg, 52%). LCMS-A: r.t. = 5.43분, [M+H]⁺ = 678

[0855] (iii) 2,6-비스(2,3,5,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-8-일)옥시)메틸)이소니코틴산 (56)

[0856] 55 (55 mg, 81.16 μmol, 1.0 당량) 및 SnMe₃OH (58.7 mg, 324.6 μmol, 4.0 당량)를 (CH₂Cl)₂ (0.6 mL)에 용해시키고 혼합물 80℃로 가온시키고 2.5시간 동안 교반하며, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물을 CH₂Cl₂로 희석하고, 셀라이트를 통해 여과하고 진공에서 농축시켰다. HPLC (A* 내 5-70% B)로 정제하여 56을 얻었다 (20 mg, 37%). * A = H₂O 내 0.1% HCO₂H, B = MeCN 내 0.1% HCO₂H. LCMS-B: r.t. = 5.50분, [M+H]⁺ = 664

[0857] D:



[0858] .

[0859] (i) 디-tert-부틸 8,8'-((1,3-페닐렌비스(메틸렌))비스(옥시))(11S,11aS,11'S,11a'S)-비스(11-((tert-부틸디메틸실릴)옥시)-7-메톡시-2-메틸렌-5-옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-10(5H)-카복실레이트) (57)

[0860] 페놀 15 (400 mg, 0.8152 mmol, 2.1 당량), 브로마이드 56 (103 mg, 0.3902 mmol, 1.0 당량) 및 K₂CO₃ (115 mg, 0.8321 mmol, 2.1 당량)을 MEK (5 mL)에 용해시키고 혼합물을 40℃에서 2시간, 그 다음 90℃에서 2시간 동안 교반하며, 이에 의해 LCMS는 반응이 불완전하였다는 것을 나타냈다. KI (knifep.)를 첨가하고 혼합물을 90℃에서 2시간 동안 교반하며, 이에 의해 LCMS는 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 반응 혼합물을 진공에서 농축시키고 isolera 크로마토그래피 (이소헥산 내 10-25% EtOAc)로 정제하여 57을 황백색 포움으로서 얻었다 (391 mg, 92%). LCMS-A: r.t. = 2.47분, [M+H]⁺ = 1084

[0861] (ii) (11aS,11a'S)-8,8'-((1,3-페닐렌비스(메틸렌))비스(옥시))비스(7-메톡시-2-메틸렌-1,2,3,11a-테트라하이드로-5H-벤조[e]피롤로[1,2-a][1,4]디아제핀-5-온) (58)

[0862] 57 (98 mg, 0.09045 mmol, 1.0 당량)을 0℃에서 95% 수성 TFA (2 mL)에 용해시키고 혼합물을 30분 동안 교반하였다. 빙랭수를 반응 혼합물에 첨가하고 pH가 중성 내지 약간 염기성이 될 때까지 고체 NaHCO₃을 첨가하였다. 수성물을 CHCl₃으로 추출하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고 농축하였다. Isolera 크로마토그래피 (CH₂Cl₂ 내 0-4% MeOH)로 정제하여 58 (27.9 mg, 50%)을 옅은-황색 고체로서 얻었다. LCMS-B: r.t. = 7.55min, [M+H]⁺ = 619.

[0863] K562 검정

[0864] PBD 분자의 각각의 효력은 암종 세포주 K562에서 시험관내 세포독소 검정을 통하여 측정하였다.

- [0865] 고체 PBD 물질을 2 mM 모액으로 DMSO에 용해시키며, 이로부터 8개의 연속 희석물을 DMSO에서 1:10 비로 제조하고 사용시까지 -20℃에서 보관하였다.
- [0866] 부착 K562 세포를 D-PBS로 세정하고 트립신-EDTA로 탈착하고, 세포 밀도 및 생존력을 그 다음 자동화 세포 계수기 (LUNA-II™)를 사용하여 트립판 블루 배제 검정에 의해 반복하여 결정하였다. 세포 현탁액을 성장 배지 (Glutamax + 10% (v/v) HyClone™ 우태 혈청을 갖는 RPMI 1640)에서 1×10^5 세포/ml로 희석하고 와동하고 나서 멸균 3 mL 폴리프로필렌 플레이트 안으로 웰 당 2mL로 분배시켰다. 탄두 희석물을 그 다음 10 μ l/웰로 적절한 웰들 안으로 분배시키고 반복 피펫팅함에 의해 혼합하였다. 대조군 웰의 경우 10 μ l의 DMSO를 2 mL 세포 현탁액 상으로 분배시키고 철저하게 혼합하였다. 100 μ l의 각각의 샘플을 그 다음 멸균 평평한 96-웰 마이크로플레이트의 2개의 복제 웰들 안으로 분취하고 37℃ CO₂-가스가 있는 (5%) 인큐베이터에서 인큐베이션하였다. 인큐베이션 기간 (4일)의 종단에서, 세포 생존력을 CellTiter 96® Aqueous One (MTS) 검정에 의해 측정하였고, 이것을 20 μ l/웰로 분배시키고 37℃, 5% CO₂에서 4시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 그 다음 490 nm에서 흡광도를 사용하여 EnVision® 멀티-라벨 플레이트 리더 (Perkin Elmer) 상에서 판독하였다.
- [0867] 세포 생존 백분율은 각각의 샘플에 대해 2개의 복제 웰들의 평균 흡광도로부터 계산되었고, DMSO 단독 (100%)으로 처리된 2개의 대조군 웰에서의 평균 흡광도에 비교하였다. IC₅₀은 GraphPad Prism 소프트웨어 (캘리포니아주 샌디에고 소재) 상의 비-선형 곡선 적합 알고리즘을 사용한 가변성 기울기를 갖는 에스자형 용량- 반응 곡선으로 설정된 각각의 데이터를 피팅함에 의해 결정되었다.
- [0868] 이 보고서에서의 모든 실험은 3개의 독립적인 실험으로 수행되고 시험되었다. 데이터는 3개의 독립적인 복제의 평균으로 보고되었다.
- [0869] *NCI-N87 검정*
- [0870] PBD 분자의 각각의 효력은 암종 세포주 NCI-N87에서 *시험관내* 세포독성 검정을 통하여 측정하였다.
- [0871] 고체 PBD 물질을 2 mM 모액으로 DMSO에 용해시키며, 이로부터 8개의 연속 희석물을 DMSO에서 1:10 비로 제조하고 사용시까지 -20℃에서 보관하였다.
- [0872] 부착 NCI-N87 세포를 D-PBS로 세정하고 트립신-EDTA로 탈착하고, 세포 밀도 및 생존력을 그 다음 자동화 세포 계수기 (LUNA-II™)를 사용하여 트립판 블루 배제 검정에 의해 반복하여 결정하였다. 세포 현탁액을 성장 배지 (Glutamax + 10% (v/v) HyClone™ 우태 혈청을 갖는 RPMI 1640)에서 1×10^5 세포/ml로 희석하고 와동하고 나서 멸균 3 mL 폴리프로필렌 플레이트 안으로 웰 당 2mL로 분배시켰다. 탄두 희석물을 그 다음 10 μ l/웰로 적절한 웰들 안으로 분배시키고 반복 피펫팅함에 의해 혼합하였다. 대조군 웰의 경우 10 μ l의 DMSO를 2 mL 세포 현탁액 상으로 분배시키고 철저하게 혼합하였다. 100 μ l의 각각의 샘플을 그 다음 멸균 평평한 96-웰 마이크로플레이트의 2개의 복제 웰들 안으로 분취하고 37℃ CO₂-가스가 있는 (5%) 인큐베이터에서 인큐베이션하였다. 인큐베이션 기간 (7일)의 종단에서, 세포 생존력을 CellTiter 96® Aqueous One (MTS) 검정에 의해 측정하였고, 이것을 20 μ l/웰로 분배시키고 37℃, 5% CO₂에서 4시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 그 다음 490 nm에서 흡광도를 사용하여 EnVision® 멀티-라벨 플레이트 리더 (Perkin Elmer) 상에서 판독하였다.
- [0873] 세포 생존 백분율은 각각의 샘플에 대해 2개의 복제 웰들의 평균 흡광도로부터 계산되었고, DMSO 단독 (100%)으로 처리된 2개의 대조군 웰에서의 평균 흡광도에 비교하였다. IC₅₀은 GraphPad Prism 소프트웨어 (캘리포니아주 샌디에고 소재) 상의 비-선형 곡선 적합 알고리즘을 사용한 가변성 기울기를 갖는 에스자형 용량- 반응 곡선으로 설정된 각각의 데이터를 피팅함에 의해 결정되었다.
- [0874] 이 보고서에서의 모든 실험은 3개의 독립적인 실험으로 수행되고 시험되었다. 데이터는 3개의 독립적인 복제의 평균으로 보고되었다.

	K562 (nM)	NCI-N87 (nM)
47	0.162	
49	1.84	
51		0.06848
53		4.309
55		0.0168
56		20.7
59		0.0172

[0875]

[0876] 이들 결과는 산 페이로드가 에스테르보다 훨씬 낮은 시험관내 활성을 가지고, 에스테르 기의 첨가가 페이로드의 활성을 약간 감소시킨다는 것을 보여준다,

[0877] **실시예 9 - 콘주게이트의 독성**

[0878] 단일 용량 nonGLP 독성 연구를 ConjA*에 대해 수행하였다.

[0879] 수컷 스프래그 다우리 랫트 (Envigo, Inc)는 ADC와 함께 꼬리 정맥을 통한 느린 볼러스 정맥내 주입에 의해 1회 투약하였다. 사용된 희석용 비히클은 25 mM 히스티딘-HCl, 7% 수크로스, 0.02% 폴리소르베이트 80, pH 6.0이었다. 연구 중에 평가된 파라미터는 사망률, 신체 검사, 케이지측 관찰, 체중, 체중 변화, 임상 병리학 (임상 화학, 혈액학 및 응고), 총 병리학 결과를 포함했다. 모든 동물은 연구 일수 (SD) 29에서 종결되었다.

[0880] ConjA*

그룹	용량 (mg/kg)	N
1	1.2	4
2	2	4

[0881]

[0882] 두 용량의 투여로 인해 조기 사망을 초래하지는 않았다. 혈액학 데이터에서의 테스트 항목-관련 변화는 골수 독성을 나타내며 모든 세포 계통 (대부분의 투약 그룹에서 적혈구, 망상적혈구, 혈소판, 중성구, 림프구, 단핵구 및 호산구에서 감소를 포함했다. 값은 일반적으로 후속적 간격에서 증가하여, 가역성을 나타냈다.

[0883] 응고 데이터에서, 감소된 알부민 및 A/G 비와 관련하여 29일차에서 증가된 피브리노겐, 및 증가된 글로불린은 급성 전신 염증 반응과 일치하였다.

[0884] 그룹 2에서, 8일차에 평균 ALT가 증가했으며 이는 그 그룹에서 증가된 간 중량 및 약간의 다초점 간세포 비대와 상관이 있었다. 이들 효소의 활성은 15일차 및 29일차에 후속적인 수집에서 대조군 그룹과 비슷하거나 그보다 낮았다. 더 작은 크기의 ALP의 증가가 단지 8일차에서 그룹 1에서 관찰되었다. 총 콜레스테롤 및 트리글리세라이드는 또한 15일차 및/또는 29일차에 두 그룹 모두에서 상승했으며, 이는 지질 대사의 변화와 일치하고 간 효소 및 해부 병리학적 발견과 관련이 있을 가능성이 높다. 현미경적 변화는 모든 그룹 2 동물에서 무작위로 지향된 약간의 다초점 간세포 비대를 포함했다. 이 간 변화는 증가된 간 중량 및 증가된 간 효소와 상관이 있었다.

[0885] 골수에서의 유의미한 변화는 두 그룹에서 관찰되지 않아, 피롤로벤조디아제핀 이량체와 관련된 전형적인 프로파일과 대조된다.

[0886] **약어**

[0887] Ac 아세틸

[0888] Acm 아세트아미도메틸

[0889] Alloc 알릴옥시카보닐

[0890] Boc 디-tert-부틸 디카보네이트

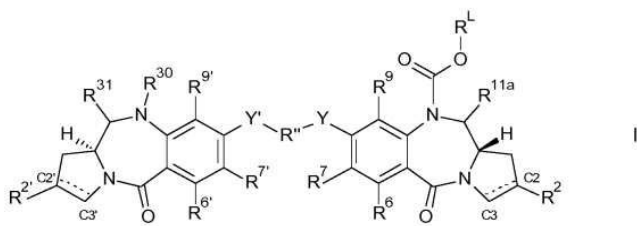
[0891] t-Bu tert-부틸

[0892] Bzl 벤질, 여기서 Bzl-OMe는 메톡시벤질이고 Bzl-Me는 메틸벤젠임

- [0893] Cbz 또는 Z 벤질옥시-카보닐, 여기서 Z-Cl 및 Z-Br은 각각 클로로- 및 브로모벤질옥시 카보닐임
- [0894] DMF *N,N*-디메틸포름아미드
- [0895] Dnp 디니트로페닐
- [0896] DTT 디티오프레이틀
- [0897] Fmoc 9*H*-플루오렌-9-일메톡시카보닐
- [0898] imp *N*-10 이민 보호기: 3-(2-메톡시에톡시)프로파노에이트-Val-Ala-PAB
- [0899] MC-OSu 말레이미도카프로일-0-*N*-석신이미드
- [0900] Moc 메톡시카보닐
- [0901] MP 말레이미도프로판아미드
- [0902] Mtr 4-메톡시-2,3,6-트리메틸벤젠설포닐
- [0903] PAB 파라-아미노벤질옥시카보닐
- [0904] PEG 에틸렌옥시
- [0905] PNZ *p*-니트로벤질 카바메이트
- [0906] Psec 2-(페닐설포닐)에톡시카보닐
- [0907] TBDMS tert-부틸디메틸실릴
- [0908] TBDPS tert-부틸디페닐실릴
- [0909] Teoc 2-(트리메틸실릴)에톡시카보닐
- [0910] Tos 토실
- [0911] Troc 2,2,2-트리클로로에톡시카보닐 클로라이드
- [0912] Trt 트리틸
- [0913] Xan 크산틸

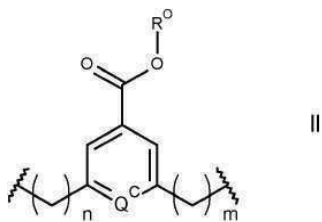
본 발명의 넘버링된 서술

1. 하기 식 I을 갖는 화합물:



및 이들의 염과 용매 화합물, 상기에서:

R''은 하기 식 II의 기이고:



상기에서 n 및 m 각각은 1, 2 및 3에서 독립적으로 선택되고;

[0921] R^0 는 H, 메틸, 에틸, 이소-프로필 및 벤질로 구성된 군으로부터 선택되고;

[0922] Q^c 는 N 및 CH로부터 선택되고;

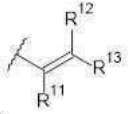
[0923] Y 및 Y'는 O, S 또는 NH로부터 선택되고;

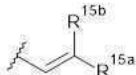
[0924] C2와 C3 사이에 이중 결합이 있는 경우 R^2 는 하기로 구성된 군으로부터 선택되고:

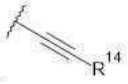
[0925] (ia) 할로, 니트로, 시아노, 에테르, 카복시, 에스테르, C_{1-7} 알킬, C_{3-7} 헤테로사이클릴 및 비스-옥시- C_{1-3} 알킬렌을 포함하는 군으로부터 선택된 하나 이상의 치환체에 의해 선택적으로 치환된 C_{5-10} 아릴 기;

[0926] (ib) C_{1-5} 포화 지방족 알킬;

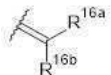
[0927] (ic) C_{3-6} 포화 사이클로알킬;

[0928] (id)  , 상기에서 각각의 R^{11} , R^{12} 및 R^{13} 은 H, C_{1-3} 포화 알킬, C_{2-3} 알케닐, C_{2-3} 알키닐 및 사이클로프로필로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 R^2 기에서 탄소 원자의 총수는 5이하임;

[0929] (ie)  , 상기에서 R^{15a} 및 R^{15b} 중 하나는 H이고 다른 것은 페닐로, 이 페닐은 할로, 메틸, 메톡시로부터 선택된 기에 의해 선택적으로 치환된 페닐; 피리딜; 및 티오펜으로부터 선택됨; 및

[0930] (if)  , 상기에서 R^{14} 는 H; C_{1-3} 포화 알킬; C_{2-3} 알케닐; C_{2-3} 알키닐; 사이클로프로필; 페닐로, 이 페닐은 할로, 메틸, 메톡시로부터 선택된 기에 의해 선택적으로 치환된 페닐; 피리딜; 및 티오펜으로부터 선택됨;

[0931] C2와 C3 사이에 존재하는 단일 결합이 있을 경우,

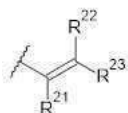
[0932] R^2 는 H 또는  이고, 상기에서 R^{16a} 및 R^{16b} 는 H, F, C_{1-4} 포화 알킬, C_{2-3} 알케닐로부터 독립적으로 선택되고, 알킬 및 알케닐 기는 C_{1-4} 알킬 아미도 및 C_{1-4} 알킬 에스테르로부터 선택된 기에 의해 선택적으로 치환되거나; 또는, R^{16a} 및 R^{16b} 중 하나는 H이고, 다른 것은 니트릴 및 C_{1-4} 알킬 에스테르로부터 선택되고;

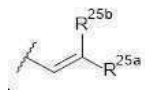
[0933] C2'과 C3' 사이에 존재하는 이중 결합이 있을 경우, $R^{2'}$ 는 하기로 구성된 군으로부터 선택되고:

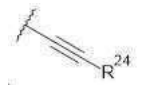
[0934] (iia) 할로, 니트로, 시아노, 에테르, 카복시, 에스테르, C_{1-7} 알킬, C_{3-7} 헤테로사이클릴 및 비스-옥시- C_{1-3} 알킬렌을 포함하는 군으로부터 선택된 하나 이상의 치환체에 의해 선택적으로 치환된 C_{5-10} 아릴 기;

[0935] (iib) C_{1-5} 포화 지방족 알킬;


[0936] (iic) C_{3-6} 포화 사이클로알킬;

[0937] (iid)  , 상기에서 각각의 R^{21} , R^{22} 및 R^{23} 은 H, C_{1-3} 포화 알킬, C_{2-3} 알케닐, C_{2-3} 알키닐 및 사이클로프로필로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 $R^{2'}$ 기에서 탄소 원자의 총수는 5이하임;

[0938]  , 상기에서 R^{25a} 및 R^{25b} 중 하나는 H이고 다른 것은 할로, 메틸, 메톡시로부터 선택된 기에 의해 선택적으로 치환된 페닐; 피리딜; 및 티오펜으로부터 선택됨; 및

[0939]  , 상기에서 R²⁴는 H; C₁₋₃ 포화 알킬; C₂₋₃ 알케닐; C₂₋₃ 알키닐; 사이클로프로필; 할로, 메틸, 메톡시로부터 선택된 기에 의해 선택적으로 치환된 페닐; 피리딜; 및 티오펜으로부터 선택됨;

[0940] C2'과 C3' 사이에 존재하는 단일 결합이 있을 경우,

[0941]  이고, 상기에서 R^{26a} 및 R^{26b}는 H, F, C₁₋₄ 포화 알킬, C₂₋₃ 알케닐로부터 독립적으로 선택되며, 알킬 및 알케닐 기는 C₁₋₄ 알킬 아미도 및 C₁₋₄ 알킬 에스테르로부터 선택된 기에 의해 임의로 치환되고; 또는 R^{26a} 및 R^{26b} 중 하나가 H인 경우, 다른 하나는 니트릴 및 C₁₋₄ 알킬 에스테르로부터 선택되고;

[0942] R⁶ 및 R⁹는 H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR', 니트로, Me₃Sn 및 할로로부터 독립적으로 선택되고;

[0943] 여기서 R 및 R'는 임의로 치환된 C₁₋₁₂ 알킬, C₃₋₂₀ 헤테로사이클릴 및 C₅₋₂₀ 아릴 기로부터 독립적으로 선택되고;

[0944] R⁷은 H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NHRR', 니트로, Me₃Sn 및 할로로부터 선택되고;

[0945] R^{6'}, R^{7'}, R^{9'}는 각각 R⁶, R⁷ 및 R⁹와 동일한 기로부터 선택되고;

[0946] R^{11a}는 OH, OR^A 및 SO₂M에서 선택되며, 여기서 R^A는 C₁₋₄ 알킬이고, z는 2 또는 3이고 M은 1가의 약학적으로 허용 가능한 양이온이며;

[0947] 그리고

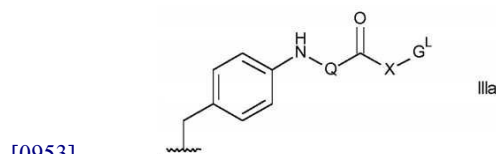
[0948] (a) R³⁰은 H이고, R³¹은 OH, OR^A이되, 여기서 R^A는 C₁₋₄ 알킬이거나;

[0949] (b) R³⁰ 및 R³¹은 이들이 결합된 질소와 탄소 원자 사이에 질소-탄소 이중 결합을 형성하거나; 또는

[0950] (c) R³⁰은 H이고 R³¹은 SO₂M이고, 여기서 z는 2 또는 3이고 M은 1가의 약학적으로 허용가능한 양이온이고, 여기서 R^{11a} 및 R³¹이 SO₂M인 경우, M은 2가의 약학적으로 허용가능한 양이온을 나타낼 수 있고

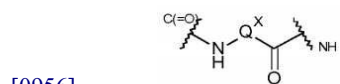
[0951] R^L은 하기로부터 선택되는 세포 결합제에 연결하기 위한 링커이고:

[0952] (iiia):



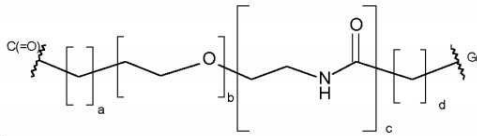
[0954] 상기에서

[0955] Q는:



[0956] 이며, 여기서 Q^x는 Q가 아미노산 잔기, 디펩타이드 잔기 또는 트리펩타이드 잔기가 되도록 하는 것이고;

[0957] X는:

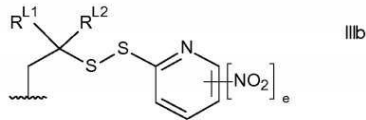


[0958] 이고,

[0959] 여기서 a = 0 내지 5, b = 0 내지 16, c = 0 또는 1, d = 0 내지 5이고;

[0960] G^L은 리간드 단위에 연결하기 위한 링커임; 및

[0961] (iiib):



[0962]

[0963] 상기에서 R^{L1} 및 R^{L2}는 H 및 메틸로부터 독립적으로 선택되거나, 또는 이들이 결합되는 탄소 원자와 함께 사이클로프로필렌 또는 사이클로부틸렌 기를 형성하고;

[0964] e는 0 또는 1임.

[0965] 2. Y 및 Y'는 0인, 서술 1에 따른 화합물.

[0966] 3. n은 1인 서술 1 또는 서술 2에 따른 화합물.

[0967] 4. n은 2인 서술 1 또는 서술 2에 따른 화합물.

[0968] 5. n은 3인 서술 1 또는 서술 2에 따른 화합물.

[0969] 6. m은 1인 서술 1 내지 5 중 임의의 하나에 따른 화합물.

[0970] 7. m은 2인 서술 1 내지 5 중 임의의 하나에 따른 화합물.

[0971] 8. m은 3인 서술 1 내지 5 중 임의의 하나에 따른 화합물.

[0972] 9. Q^c는 N인 서술 1 내지 8 중 임의의 하나에 따른 화합물.

[0973] 10. Q^c는 CH인 서술 1 내지 8 중 임의의 하나에 따른 화합물.

[0974] 11. R⁰는 H인 서술 1 내지 10 중 임의의 하나에 따른 화합물.

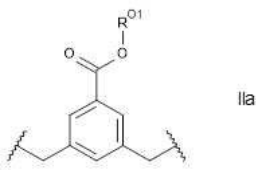
[0975] 12. R⁰는 메틸인 서술 1 내지 10 중 임의의 하나에 따른 화합물.

[0976] 13. R⁰는 에틸인 서술 1 내지 10 중 임의의 하나에 따른 화합물.

[0977] 14. R⁰는 이소-프로필인 서술 1 내지 10 중 임의의 하나에 따른 화합물.

[0978] 15. R⁰는 벤질인 서술 1 내지 10 중 임의의 하나에 따른 화합물.

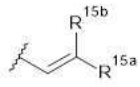
[0979] 16. R"는 식 IIa의 것인 서술 1 또는 서술 2에 따른 화합물:



[0980]

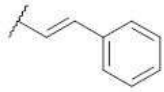
[0981] 상기에서 R^{O1}은 H 및 메틸로 구성되는 군으로부터 선택됨.

- [0982] 17. R^9 및 $R^{9'}$ 은 H인 서술 1 내지 16 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [0983] 18. R^6 및 $R^{6'}$ 은 H 및 할로로부터 독립적으로 선택되는 서술 1 내지 17 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [0984] 19. R^6 및 $R^{6'}$ 은 H인 서술 18에 따른 화합물.
- [0985] 20. R^7 및 $R^{7'}$ 은 H, OH 및 OR로부터 독립적으로 선택되는 서술 1 내지 19 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [0986] 21. R^7 및 $R^{7'}$ 은 독립적으로 C_{1-4} 알콕시 기인, 서술 20에 따른 화합물.
- [0987] 22. R^7 및 $R^{7'}$ 은 메톡시인, 서술 21에 따른 화합물.
- [0988] 23. C2와 C3 사이에 이중 결합이 있고, R^2 는 C_{5-7} 아릴 기인 서술 1 내지 22 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [0989] 24. R^2 는 페닐인 서술 23에 따른 화합물.
- [0990] 25. C2와 C3 사이에 이중 결합이 있고, R^2 는 C_{8-10} 아릴 기인 서술 1 내지 22 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [0991] 26. R^2 는 1 내지 3개의 치환체 기를 구비하는 서술 23 내지 25 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [0992] 27. 치환체는 메톡시, 에톡시, 플루오로, 클로로, 시아노, 비스-옥시-메틸렌, 메틸-피페라지닐, 모폴리노 및 메틸-티오펜일로부터 선택되는 서술 23 내지 26 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [0993] 28. C2와 C3 사이에 이중 결합이 있고, R^2 는 C_{1-5} 포화 지방족 알킬 기인 서술 1 내지 22 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [0994] 29. R^2 는 메틸, 에틸 또는 프로필인 서술 28에 따른 화합물.
- [0995] 30. C2와 C3 사이에 이중 결합이 있고, R^2 는 C_{3-6} 포화 사이클로알킬 기인 서술 1 내지 22 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [0996] 31. R^2 는 사이클로프로필인 서술 30에 따른 화합물.
- [0997] 32. C2와 C3 사이에 이중 결합이 있고, R^2 는 하기 식의 기인 서술 1 내지 22 중 임의의 하나에 따른 화합물:
-
- [0998]
- [0999] 33. R^2 기에서 탄소 원자의 총수는 4개 이하인 서술 32에 따른 화합물.
- [1000] 34. R^2 기에서 탄소 원자의 총수는 3개 이하인 서술 32에 따른 화합물.
- [1001] 35. R^{11} , R^{12} 및 R^{13} 중 하나는 H이고, 다른 2개의 기는 H, C_{1-3} 포화 알킬, C_{2-3} 알케닐, C_{2-3} 알키닐 및 사이클로프로필로부터 선택되는 서술 32 내지 34 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [1002] 36. R^{11} , R^{12} 및 R^{13} 중 2개는 H이고, 다른 기는 H, C_{1-3} 포화 알킬, C_{2-3} 알케닐, C_{2-3} 알키닐 및 사이클로프로필로부터 선택되는 서술 32 내지 34 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [1003] 37. C2와 C3 사이에 이중 결합이 있고, R^2 는 하기 식의 기인 서술 1 내지 22 중 임의의 하나에 따른 화합물:



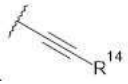
[1004]

[1005] 38. R²는 하기의 기인 서술 37에 따른 화합물:



[1006]

[1007] 39. C2와 C3 사이에 이중 결합이 있고, R²는 하기 식의 기인 서술 1 내지 22 중 임의의 하나에 따른 화합물:



[1008]

[1009] 40. R¹⁴는 H, 메틸, 에틸, 에테닐 및 에티닐로부터 선택되는 서술 39에 따른 화합물.

[1010] 41. R¹⁴는 H 및 메틸로부터 선택되는 서술 40에 따른 화합물.

[1011] 42. C2와 C3 사이에 단일 결합이 있고, R²는 H인 서술 1 내지 22 중 임의의 하나에 따른 화합물.

[1012]

43. C2와 C3 사이에 단일 결합이 있고, R²는 이고, R^{16a} 및 R^{16b} 둘 모두는 H인 서술 1 내지 22 중 임의의 하나에 따른 화합물.

[1013]

44. C2와 C3 사이에 단일 결합이 있고, R²는 이고, R^{16a} 및 R^{16b} 둘 모두는 메틸인 서술 1 내지 22 중 임의의 하나에 따른 화합물.

[1014]

45. C2와 C3 사이에 단일 결합이 있고, R²는 이고, R^{16a} 및 R^{16b} 중 하나는 H이고 다른 것은 C₁₋₄ 포화 알킬, C₂₋₃ 알케닐로부터 선택되며, 알킬 및 알케닐 기는 선택적으로 치환되는 서술 1 내지 22 중 임의의 하나에 따른 화합물.

[1015]

46. C2'과 C3' 사이에 이중 결합이 있고, R^{2'}는 C₅₋₇ 아릴 기인 서술 1 내지 45 중 임의의 하나에 따른 화합물.

[1016]

47. R^{2'}는 페닐인 서술 46에 따른 화합물.

[1017]

48. C2'과 C3' 사이에 이중 결합이 있고, R^{2'}는 C₈₋₁₀ 아릴 기인 서술 1 내지 45 중 임의의 하나에 따른 화합물.

[1018]

49. R^{2'}는 1 내지 3 치환체 기를 구비하는 서술 46 내지 48 중 임의의 하나에 따른 화합물.

[1019]

50. 치환체는 메톡시, 에톡시, 플루오로, 클로로, 시아노, 비스-옥시-메틸렌, 메틸-피페라지닐, 모폴리노 및 메틸-티오페닐로부터 선택되는 서술 46 내지 49 중 임의의 하나에 따른 화합물.

[1020]

51. C2'과 C3' 사이에 이중 결합이 있고, R^{2'}는 C₁₋₅ 포화 지방족 알킬 기인 서술 1 내지 45 중 임의의 하나에 따른 화합물.

[1021]

52. R^{2'}는 메틸, 에틸 또는 프로필인 서술 51에 따른 화합물.

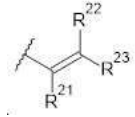
[1022]

53. C2'과 C3' 사이에 이중 결합이 있고, R^{2'}는 C₃₋₆ 포화 사이클로알킬 기인 서술 1 내지 45 중 임의의 하나에

따른 화합물.

[1023] 54. R^{2'}는 사이클로프로필인 서술 53에 따른 화합물.

[1024] 55. C2'과 C3' 사이에 이중 결합이 있고, R^{2'}는 하기 식의 기인 서술 1 내지 45 중 임의의 하나에 따른 화합물:



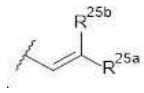
[1025] 56. R^{2'} 기에서 탄소 원자의 총수는 4 이하인 서술 55에 따른 화합물.

[1027] 57. R^{2'} 기에서 탄소 원자의 총수는 3 이하인 서술 56에 따른 화합물.

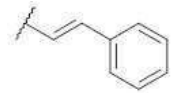
[1028] 58. R²¹, R²² 및 R²³ 중 하나는 H이고, 다른 2개 기는 H, C₁₋₃ 포화 알킬, C₂₋₃ 알케닐, C₂₋₃ 알키닐 및 사이클로프로필로부터 선택되는 서술 55 내지 57 중 임의의 하나에 따른 화합물.

[1029] 59. R²¹, R²² 및 R²³ 중 2개는 H이고, 다른 기는 H, C₁₋₃ 포화 알킬, C₂₋₃ 알케닐, C₂₋₃ 알키닐 및 사이클로프로필로부터 선택되는 서술 55 내지 57 중 임의의 하나에 따른 화합물.

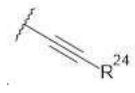
[1030] 60. C2'와 C3' 사이에 이중 결합이 있고, R^{2'}는 하기 식의 기인 서술 1 내지 45 중 임의의 하나에 따른 화합물:



[1031] 61. R^{2'}는 하기의 기인 서술 60에 따른 화합물:



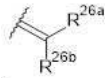
[1032] 62. C2'와 C3' 사이에 이중 결합이 있고, R^{2'}는 하기 식의 기인 서술 1 내지 45 중 임의의 하나에 따른 화합물:

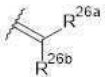


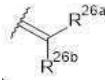
[1033] 63. R²⁴는 H, 메틸, 에틸, 에테닐 및 에티닐로부터 선택되는 서술 62에 따른 화합물.

[1037] 64. R²⁴는 H 및 메틸로부터 선택되는 서술 63에 따른 화합물.

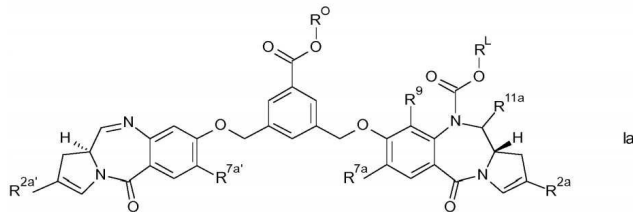
[1038] 65. C2'와 C3' 사이에 단일 결합이 있고, R^{2'}는 H인 서술 1 내지 45 중 임의의 하나에 따른 화합물.

[1039] 66. C2'와 C3' 사이에 단일 결합이 있고, R^{2'}는  이고, R^{26a} 및 R^{26b} 둘 모두는 H인 서술 1 내지 45 중 임의의 하나에 따른 화합물.

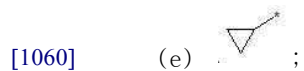
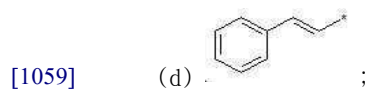
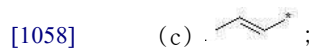
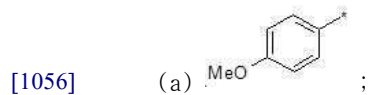
[1040] 67. C2'와 C3' 사이에 단일 결합이 있고, R^{2'}는  이고, R^{26a} 및 R^{26b} 둘 모두는 메틸인 서술 1 내지 45 중 임의의 하나에 따른 화합물.





- [1041] 68. C2'와 C3' 사이에 단일 결합이 있고, R^{2'}는 이고, R^{26a} 및 R^{26b} 중 하나는 H이고, 다른 것은 C₁₋₄ 포화 알킬, C₂₋₃ 알케닐로부터 선택되고, 알킬 및 알케닐 기는 선택적으로 치환되는 서술 1 내지 45 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [1042] 69. R^{11a}는 OH인 서술 1 내지 68 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [1043] 70. R^{11a}는 OR^A인 서술 1 내지 68 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [1044] 71. R^A는 메틸인 서술 70에 따른 화합물.
- [1045] 72. R^{11a}는 SO₂M인 서술 1 내지 68 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [1046] 73. M은 Na⁺이고 z는 3인 서술 72에 따른 화합물.
- [1047] 74. R³⁰은 H이고 R³¹은 OH인 서술 1 내지 73 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [1048] 75. R³⁰은 H이고 R³¹은 OR^A인 서술 1 내지 73 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [1049] 76. R^A는 메틸인 서술 75에 따른 화합물.
- [1050] 77. R³⁰ 및 R³¹은 이들이 결합되는 질소와 탄소 원자 사이에 질소-탄소 이중 결합을 형성하는 서술 1 내지 73 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [1051] 78. R³⁰은 H이고 R³¹은 SO₂M인 서술 1 내지 73 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [1052] 79. M은 Na⁺이고 z는 3인 서술 78에 따른 화합물.
- [1053] 80. 식 Ia의 서술 1에 따른 화합물:

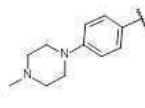


- [1054]
- [1055] 상기에서 R^{2a} 및 R^{2a'}는 동일하고 하기로부터 선택되고:



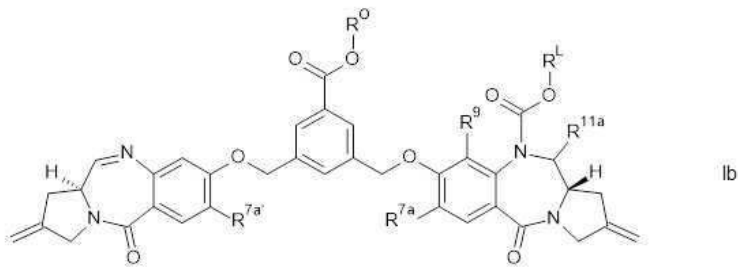
[1061] (f)  ;

[1062] (g)  ; 및

[1063] (h)  ;

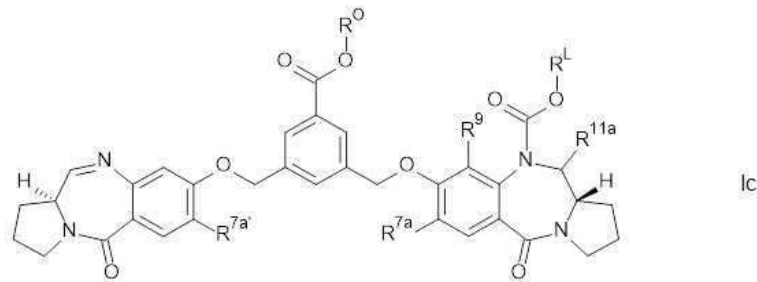
[1064] R^{7a} 및 $R^{7a'}$ 는 동일하고 메톡시 및 벤질옥시로부터 선택됨.

[1065] 81. 식 Ib의 서술 1에 따른 화합물:



[1066] .
 [1067] 상기에서 R^{7a} 및 $R^{7a'}$ 는 동일하고 메톡시 및 벤질옥시로부터 선택됨.

[1068] 82. 식 Ic의 서술 1에 따른 화합물:



[1069] .
 [1070] 상기에서 R^{7a} 및 $R^{7a'}$ 는 동일하고 메톡시 및 벤질옥시로부터 선택됨.

[1071] 83. R^L 은 식 IIIa의 것이고, Q는 Phe, Lys, Val, Ala, Cit, Leu, Ile, Arg, 및 Trp로부터 선택된 아미노산 잔기인 서술 1 내지 82 중 임의의 하나에 따른 화합물.

[1072] 84. R^L 은 식 IIIa의 것이고, Q는 하기로부터 선택된 디펩타이드 잔기인 서술 1 내지 82 중 임의의 하나에 따른 화합물:

[1073] $^{CO}-Phe-Lys-^{NH}$,

[1074] $^{CO}-Val-Ala-^{NH}$,

[1075] $^{CO}-Val-Lys-^{NH}$,

[1076] $^{CO}-Ala-Lys-^{NH}$,

[1077] $^{CO}-Val-Cit-^{NH}$,

[1078] $^{CO}-Phe-Cit-^{NH}$,

- [1079] $^{\text{CO}}\text{-Leu-Cit}^{\text{NH}}$,
- [1080] $^{\text{CO}}\text{-Ile-Cit}^{\text{NH}}$,
- [1081] $^{\text{CO}}\text{-Phe-Arg}^{\text{NH}}$, 및
- [1082] $^{\text{CO}}\text{-Trp-Cit}^{\text{NH}}$.
- [1083] 85. Q는 $^{\text{CO}}\text{-Phe-Lys}^{\text{NH}}$, $^{\text{CO}}\text{-Val-Cit}^{\text{NH}}$ 및 $^{\text{CO}}\text{-Val-Ala}^{\text{NH}}$ 로부터 선택되는 서술 84에 따른 화합물.
- [1084] 86. R^{L} 은 식 IIIa의 것이고, Q는 트리펩타이드 잔기인 서술 1 내지 82 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [1085] 87. R^{L} 은 식 IIIa의 것이고, a는 0 내지 3인 서술 1 내지 86 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [1086] 88. a는 0인 서술 87에 따른 화합물.
- [1087] 89. R^{L} 은 식 IIIa의 것이고, b는 0 내지 12인 서술 1 내지 88 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [1088] 90. b는 0 내지 8인 서술 89에 따른 화합물.
- [1089] 91. R^{L} 은 식 IIIa의 것이고, d는 0 내지 3인 서술 1 내지 90 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [1090] 92. d는 2인 서술 91에 따른 화합물.
- [1091] 93. R^{L} 은 식 IIIa의 것이고, a는 0이고, c는 1이고 d는 2이고, 그리고 b는 0 내지 8인 서술 1 내지 86 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [1092] 94. b는 0, 4 또는 8인 서술 93에 따른 화합물.

[1093] 95. R¹은 식 IIIa의 것이고, G¹은 하기로부터 선택되는 서술 1 내지 94 중 임의의 하나에 따른 화합물

(G ^{L1-1})		(G ^{L6})	
(G ^{L1-2})		(G ^{L7})	
(G ^{L2})		(G ^{L8})	
(G ^{L3-1})		(G ^{L9})	
	상기 식에서 NO ₂ 기는 선택적임		
(G ^{L3-2})		(G ^{L10})	
	상기 식에서 NO ₂ 기는 선택적임		
(G ^{L3-3})		(G ^{L11})	
	상기 식에서 NO ₂ 기는 선택적임		

[1094]

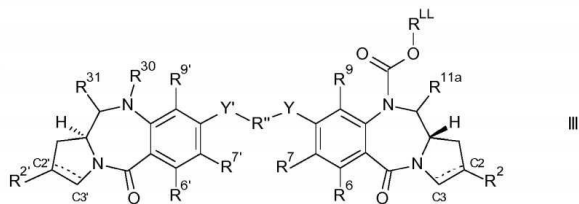
(G ^{L3-4})		(G ^{L12})	
	상기 식에서 NO ₂ 기는 선택적임		
(G ^{L4})		(G ^{L13})	
	상기 식에서 Hal = I, Br, Cl		
(G ^{L5})			

[1095]

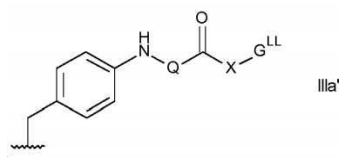
[1096] 상기에서 Ar은 C₅₋₆ 아릴렌 기, 예를 들어 페닐렌을 나타내고, X는 C₁₋₄ 알킬을 나타냄.

[1097] 96. Ar은 페닐렌 기인 서술 95에 따른 화합물.

- [1098] 97. G^L 은 G^{L1-1} 및 G^{L1-2} 로부터 선택되는 서술 95 또는 서술 96에 따른 화합물.
- [1099] 98. G^L 은 G^{L1-1} 인 서술 97에 따른 화합물.
- [1100] 99. R^L 은 식 IIIb의 것이고, R^{L1} 및 R^{L2} 둘 모두는 H인 서술 1 내지 82 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [1101] 100. R^L 은 식 IIIb의 것이고, R^{L1} 은 H이고 R^{L2} 는 메틸인 서술 1 내지 82 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [1102] 101. R^L 은 식 IIIb의 것이고, R^{L1} 및 R^{L2} 둘 모두는 메틸인 서술 1 내지 82 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [1103] 102. R^L 은 식 IIIb의 것이고, R^{L1} 및 R^{L2} 는 이들이 결합하는 탄소 원자와 함께 사이클로프로필렌 기를 형성하는 서술 1 내지 82 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [1104] 103. R^L 은 식 IIIb의 것이고, R^{L1} 및 R^{L2} 는 이들이 결합하는 탄소 원자와 함께 사이클로부틸렌 기를 형성하는 서술 1 내지 82 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [1105] 104. R^L 은 식 IIIb의 것이고, e는 0인 서술 1 내지 82 및 99 내지 103 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [1106] 105. R^L 은 식 IIIb의 것이고, e는 1인 서술 1 내지 82 및 99 내지 103 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [1107] 106. 니트로 기는 파라 위치에 있는 서술 105에 따른 화합물.
- [1108] 107. 증식성 질환을 치료하기 위한 약제의 제조에 서술 1 내지 106 중 임의의 하나에 따른 화합물의 사용.
- [1109] 108. 증식성 질환의 치료에 사용하기 위한 서술 1 내지 106 중 임의의 하나에 따른 화합물.
- [1110] 109. 리간드 단위에 연결된, 서술 1 내지 106 중 임의의 하나에 따른 식 I의 화합물, 또는 이들의 약제학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물을 포함하는 콘주게이트.
- [1111] 110. 하기 식 IV의 콘주게이트:
- [1112] $L - (D^L)_p$ (IV)
- [1113] 또는 이들의 약제학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물로서, 상기에서 L은 리간드 단위이고, D^L 은 식 III의 것임:

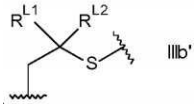


- [1114]
- [1115] 상기에서 R^2 , R^6 , R^7 , R^9 , R^{11a} , Y, R'' , Y' , $R^{2'}$, $R^{6'}$, $R^{7'}$, $R^{9'}$, R^{30} 및 R^{31} 은 서술 1 내지 79 중 임의의 하나에서 정의된 것이고;
- [1116] R^{LL} 은 하기로부터 선택된 세포 결합제에 연결하기 위한 링커이고,
- [1117] (iiia):



- [1118]
- [1119] 상기에서 Q 및 X는 서술 1 및 83 내지 86 중 임의의 하나에서 정의된 것이고 G^{LL} 은 리간드 단위에 연결하기 위한 링커임; 및

[1120] (iiib):



[1121]

[1122] 상기에서 R^{L1} 및 R^{L2}은 서술 1 및 99 내지 103 중 임의의 하나에서 정의된 바와 같음;

[1123] 상기에서 p는 1 내지 20의 정수임.

[1124] 111. G^{LL}은 하기로부터 선택되는 서술 110에 따른 콘주게이트:

(G ^{LL1-1})		(G ^{LL8-1})	
(G ^{LL1-2})		(G ^{LL8-2})	
(G ^{LL2})		(G ^{LL9-1})	
(G ^{LL3-1})		(G ^{LL9-2})	

[1125]

(G ^{LL3-2})		G ^{L10}	
(G ^{LL4})		G ^{L11}	
(G ^{LL5})		G ^{L12}	
(G ^{LL6})		G ^{L13}	
(G ^{LL7})			

[1126]

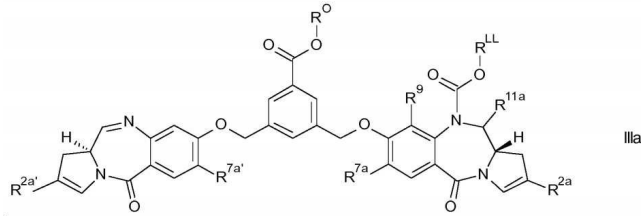
[1127] 상기에서 Ar은 C₅₋₆ 아릴렌 기, 예를 들어 페닐렌을 나타내고, X는 C₁₋₄ 알킬을 나타냄.

[1128] 112. Ar은 페닐렌 기인 서술 111에 따른 콘주게이트.

[1129] 113. G^{LL} 은 G^{LL1-1} 및 G^{LL1-2} 로부터 선택되는 서술 111 또는 서술 112에 따른 화합물.

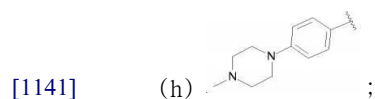
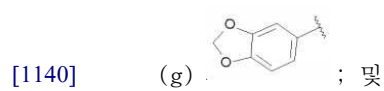
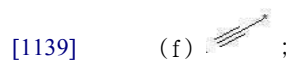
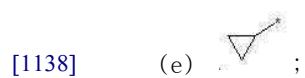
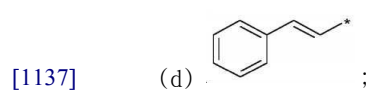
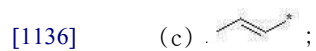
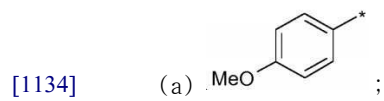
[1130] 114. G^{LL} 은 G^{LL1-1} 인 서술 112에 따른 화합물.

[1131] 115. D^L 은 식 IIIa의 것인 서술 110에 따른 콘주게이트:



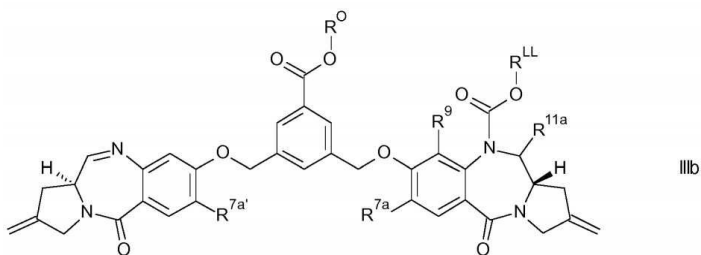
[1132]

[1133] 상기에서 R^{2a} 및 $R^{2a'}$ 는 동일하고 하기로부터 선택되고:



[1142] R^{7a} 및 $R^{7a'}$ 는 동일하고 메톡시 및 벤질옥시로부터 선택됨.

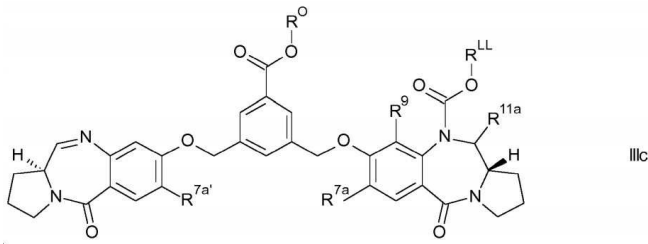
[1143] 116. D^L 은 식 IIIb의 것인 서술 110에 따른 콘주게이트:



[1144]

[1145] 상기에서 R^{7a} 및 $R^{7a'}$ 는 동일하고 메톡시 및 벤질옥시로부터 선택됨.

[1146] 117. D^L은 식 IIIc의 것인 서술 110에 따른 콘주게이트:



[1147]

[1148] 상기에서 R^{7a} 및 R^{7a'}는 동일하고 메톡시 및 벤질옥시로부터 선택됨.

[1149] 118. 리간드 단위는 항체 또는 이의 활성 단편인 서술 109 내지 117 중 임의의 하나에 따른 콘주게이트.

[1150] 119. 항체 또는 항체 단편은 종양-관련된 항원에 대한 항체 또는 항체 단편인 서술 118에 따른 콘주게이트.

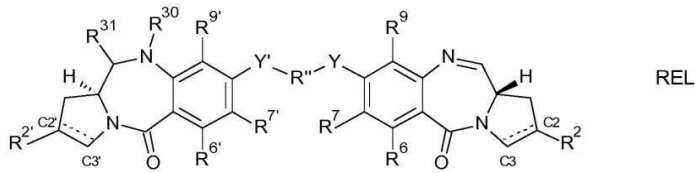
[1151] 120. 항체 또는 항체 단편은 하기 (1)-(88)로부터 선택된 하나 이상의 종양-관련된 항원 또는 세포-표면 수용체에 결합하는 항체인 서술 119에 따른 콘주게이트:

- [1152] (1) BMPR1B;
- [1153] (2) E16;
- [1154] (3) STEAP1;
- [1155] (4) 0772P;
- [1156] (5) MPF;
- [1157] (6) Napi3b;
- [1158] (7) Sema 5b;
- [1159] (8) PSCA hlg;
- [1160] (9) ETBR;
- [1161] (10) MSG783;
- [1162] (11) STEAP2;
- [1163] (12) TrpM4;
- [1164] (13) CRIPTO;
- [1165] (14) CD21;
- [1166] (15) CD79b;
- [1167] (16) FcRH2;
- [1168] (17) HER2;
- [1169] (18) NCA;
- [1170] (19) MDP;
- [1171] (20) IL20R-알파;
- [1172] (21) 브레비칸(Brevican);
- [1173] (22) EphB2R;
- [1174] (23) ASLG659;
- [1175] (24) PSCA;

- [1176] (25) GEDA;
- [1177] (26) BAFF-R;
- [1178] (27) CD22;
- [1179] (28) CD79a;
- [1180] (29) CXCR5;
- [1181] (30) HLA-DOB;
- [1182] (31) P2X5;
- [1183] (32) CD72;
- [1184] (33) LY64;
- [1185] (34) FcRH1;
- [1186] (35) IRTA2;
- [1187] (36) TENB2;
- [1188] (37) PSMA - FOLH1;
- [1189] (38) SST;
- [1190] (38.1) SSTR2;
- [1191] (38.2) SSTR5;
- [1192] (38.3) SSTR1;
- [1193] (38.4) SSTR3;
- [1194] (38.5) SSTR4;
- [1195] (39) ITGAV;
- [1196] (40) ITGB6;
- [1197] (41) CEACAM5;
- [1198] (42) MET;
- [1199] (43) MUC1;
- [1200] (44) CA9;
- [1201] (45) EGFRvIII;
- [1202] (46) CD33;
- [1203] (47) CD19;
- [1204] (48) IL2RA;
- [1205] (49) AXL;
- [1206] (50) CD30 - TNFRSF8;
- [1207] (51) BCMA - TNFRSF17;
- [1208] (52) CT Ags - CTA;
- [1209] (53) CD174 (Lewis Y) - FUT3;
- [1210] (54) CLEC14A;
- [1211] (55) GRP78 - HSPA5;

- [1212] (56) CD70;
- [1213] (57) 줄기 세포 특이적 항원;
- [1214] (58) ASG-5;
- [1215] (59) ENPP3;
- [1216] (60) PRR4;
- [1217] (61) GCC - GUCY2C;
- [1218] (62) Liv-1 - SLC39A6;
- [1219] (63) 5T4;
- [1220] (64) CD56 - NCMA1;
- [1221] (65) CanAg;
- [1222] (66) FOLR1;
- [1223] (67) GPNMB;
- [1224] (68) TIM-1 - HAVCR1;
- [1225] (69) RG-1/전립선 종양 표적 민딘 - 민딘/RG-1;
- [1226] (70) B7-H4 - VTCN1;
- [1227] (71) PTK7;
- [1228] (72) CD37;
- [1229] (73) CD138 - SDC1;
- [1230] (74) CD74;
- [1231] (75) 크라우딘 - CLs;
- [1232] (76) EGFR;
- [1233] (77) Her3;
- [1234] (78) RON - MST1R;
- [1235] (79) EPHA2;
- [1236] (80) CD20 - MS4A1;
- [1237] (81) 테나스신 C - TNC;
- [1238] (82) FAP;
- [1239] (83) DKK-1;
- [1240] (84) CD52;
- [1241] (85) CS1 - SLAMF7;
- [1242] (86) 엔도글린 - ENG;
- [1243] (87) 아넥신 A1 - ANXA1;
- [1244] (88) V-CAM (CD106) - VCAM1.
- [1245] 121. 항체 또는 항체 단편은 시스테인-조작된 항체인 서술 118 내지 120 중 임의의 하나의 콘주게이트.
- [1246] 122. p는 정수 1 내지 8인 서술 110 내지 121 중 임의의 하나에 따른 콘주게이트.
- [1247] 123. p는 1, 2, 3, 또는 4인 서술 122에 따른 콘주게이트.

- [1248] 124. 콘주게이트 화합물의 혼합물에서 평균 p는 약 1 내지 약 8인 서술 110 내지 123 중 임의의 하나에 따른 콘주게이트의 혼합물을 포함하는 조성물.
- [1249] 125. 치료법에 사용하기 위한 서술 109 내지 123 중 임의의 하나에 따른 콘주게이트.
- [1250] 126. 서술 109 내지 123 중 임의의 하나의 콘주게이트 및 약제학적으로 허용가능한 희석제, 담체 또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물.
- [1251] 127. 대상체에서 증식성 질환의 치료에 사용하기 위한, 서술 109 내지 123 중 임의의 하나에 따른 콘주게이트 또는 서술 126에 따른 약제학적 조성물.
- [1252] 128. 치료되는 질환이 암인 서술 127에 따른 사용을 위한 콘주게이트.
- [1253] 129. 의료 치료의 방법에 서술 109 내지 123 중 임의의 하나에 따른 콘주게이트 또는 서술 126에 따른 약제학적 조성물의 사용.
- [1254] 130. 서술 126의 약제학적 조성물을 환자에게 투여하는 것을 포함하는 의료 치료의 방법.
- [1255] 131. 의료 치료의 방법은 암을 치료하기 위한 것인 서술 130의 방법.
- [1256] 132. 콘주게이트와 조합하여 화학치료제를 환자에게 투여하는 서술 131의 방법.
- [1257] 133. 증식성 질환의 치료를 위한 약제의 제조 방법에 서술 109 내지 123 중 임의의 하나에 따른 콘주게이트의 사용.
- [1258] 134. 서술 109 내지 123 중 임의의 하나에 따른 콘주게이트 또는 서술 126에 따른 약제학적 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 증식성 질환이 있는 포유동물을 치료하는 방법.
- [1259] 135. 하기 식 **REL**을 갖는 화합물:



- [1260] 및 이들의 염 및 용매화물로서, 상기에서 R², R⁶, R⁷, R⁹, Y, R^{9'}, R^{6'}, R^{7'}, R^{9'}, R³⁰ 및 R³¹은 서술 1 내지 79 중 임의의 하나에서 정의된 바와 같음.
- [1261]