



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 공개특허공보(A)**

(11) 공개번호 10-2017-0106304  
 (43) 공개일자 2017년09월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*A61K 47/54* (2017.01) *A61K 31/337* (2006.01)  
*A61K 31/395* (2006.01) *A61K 31/537* (2006.01)  
*A61K 31/665* (2006.01)

(52) CPC특허분류  
*A61K 47/548* (2017.08)  
*A61K 31/337* (2013.01)

(21) 출원번호 10-2017-7016519  
 (22) 출원일자(국제) 2015년11월06일  
 심사청구일자 없음  
 (85) 번역문제출일자 2017년06월15일  
 (86) 국제출원번호 PCT/US2015/059382  
 (87) 국제공개번호 WO 2016/081203  
 국제공개일자 2016년05월26일

(30) 우선권주장  
 62/080,436 2014년11월17일 미국(US)

(71) 출원인  
**셀렉타 바이오사이언시스, 인코퍼레이티드**  
 미국, 위스콘신주 53716, 매디슨, 애그리컬처 드  
 라이브 3301

(72) 발명자  
**웨이커트, 자메이, 피.**  
 미국, 위스콘신 53716, 매디슨, 아그리컬처 드  
 이브 3301  
**핀추크, 아나톨리**  
 미국, 위스콘신 53711, 피치버그, 나니베리 드  
 이브 5212  
 (뒷면에 계속)

(74) 대리인  
**김순용**

전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 **암-표적화 약물 운송수단으로서의 인지질 에테르 유사체**

**(57) 요약**

본 발명은 암세포 및 암 줄기세포를 표적화할 수 있는 치료 화합물에 관한 것이다. 나아가, 본 발명은 이들 치료 화합물을 포함하는 조성물, 및 이들 치료 화합물을 투여하는 단계를 포함하는 암 치료 방법에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

*A61K 31/395* (2013.01)

*A61K 31/537* (2013.01)

*A61K 31/665* (2013.01)

*A61K 47/544* (2017.08)

(72) 발명자

**코자크, 케빈**

미국, 위스콘신 53716, 매디슨, 아그리컬처 드라이  
브 3301

**론지노, 마르크**

미국, 위스콘신 53716, 매디슨, 아그리컬처 드라이  
브 3301

**그루드진스키, 요셉**

미국, 위스콘신 53716, 매디슨, 아그리컬처 드라이  
브 3301

**티츠, 벤자민**

미국, 위스콘신 53716, 매디슨, 아그리컬처 드라이  
브 3301

**파크, 초롬**

미국, 위스콘신 53716, 매디슨, 아그리컬처 드라이  
브 3301

**스텔레, 나단**

미국, 위스콘신 53716, 매디슨, 아그리컬처 드라이  
브 3301

**명세서**

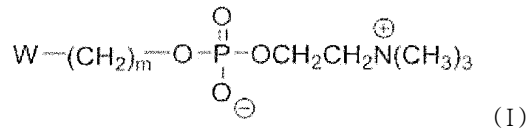
**청구범위**

**청구항 1**

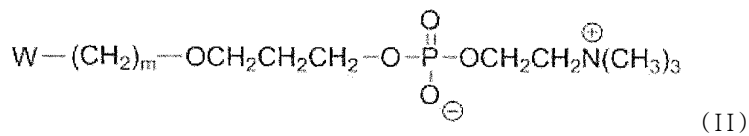
식 A-B-D를 포함하는 치료 화합물로서,

상기 식 A-B-D에서,

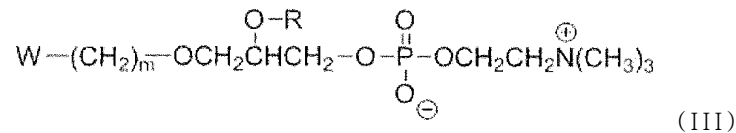
A는 식 (I)의 적어도 하나의 화합물,



식 (II)의 적어도 하나의 화합물,



식 (III)의 적어도 하나의 화합물,



또는 이들의 조합이며,

여기서, W는 아릴, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬, 알케닐, 임의로 치환된 C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> 사이클로알킬 및 임의로 치환된 C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> 헤테로사이클로알킬로 이루어진 군으로부터 선택되며, R은 H 또는 알킬이고, m은 12 내지 24의 정수이며;

B는 링커 화합물이고;

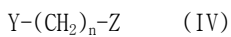
D는 항암 약물이며,

A : D의 비율은 1:2 내지 2:1인, 치료 화합물.

**청구항 2**

제1항에 있어서,

링커 화합물이 결합 또는 식 (IV)의 화합물이며,



상기 식 (IV)에서,

Y가 A에 결합되며;

Z가 D에 결합되며;

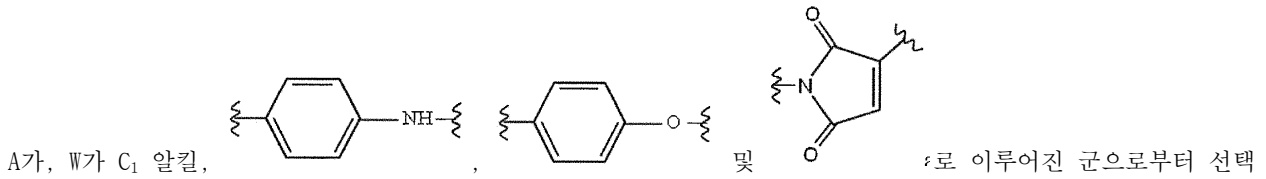
Y가 결합, O, NH, C=O, NHSO<sub>2</sub> 및 OC(=O)O로 이루어진 군으로부터 선택되며;

Z가 O, NH, C=O, C(=O)O, C(=O)NH, SO<sub>2</sub>, OC(=O)OCH<sub>2</sub> 및 -S-S-로 이루어진 군으로부터 선택되고;

n이 0 내지 6의 정수인, 치료 화합물.

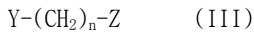
**청구항 3**

제1항에 있어서,



되고, m이 18인 식 (I)의 화합물이며;

B가 결합 및 식 (III)의 화합물로부터 선택되는 링커 화합물이며,

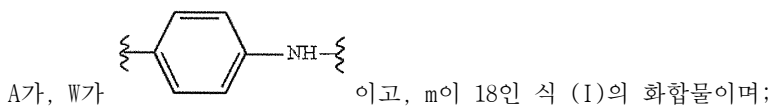


상기 식 (III)에서, n이 0 내지 6의 정수이고, Y가 A에 결합되며, Z가 D에 결합되며, Y가 결합 및 C=O로 이루어진 군으로부터 선택되고, Z가 NH, C=O, C(=O)NH 및 C(=O)O로 이루어진 군으로부터 선택되고;

D가 파클리탁셀, 이리노테칸, 토포테칸, 겐시타빈, 시스플라틴, 겐다나마이신 및 머탄신으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 치료 화합물.

**청구항 4**

제3항에 있어서,



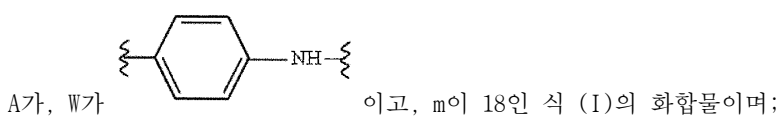
B가, Y가 C=O이고, Z가 C=O, C(=O)NH 또는 C(=O)O이고, n이 3 또는 4인 식 (III)의 화합물이며;

D가 파클리탁셀이고,

A : D의 비율이 1:1인, 치료 화합물.

**청구항 5**

제3항에 있어서,



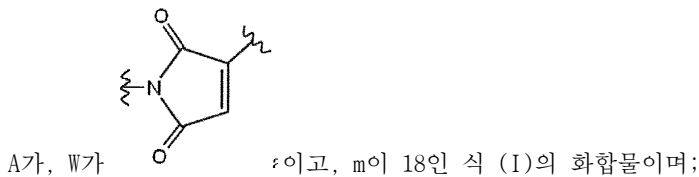
B가 결합, 또는 Y가 C=O이며, Z가 NH이고, n이 1 또는 3인 식 (IV)의 화합물이며;

D가 겐다나마이신이고,

A : D의 비율이 1:1인, 치료 화합물.

**청구항 6**

제3항에 있어서,

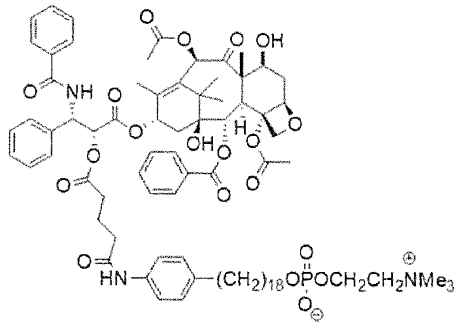


B가 결합이며;

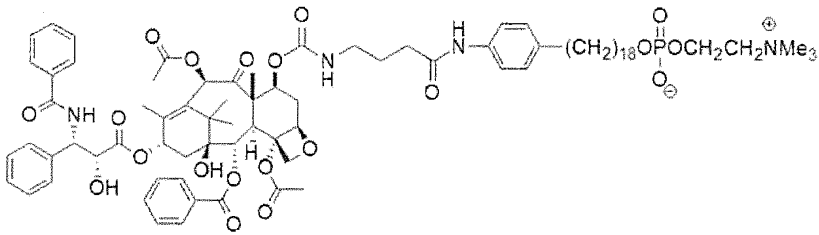
D가 머탄신이고,

A : D의 비율이 1:1인, 치료 화합물.

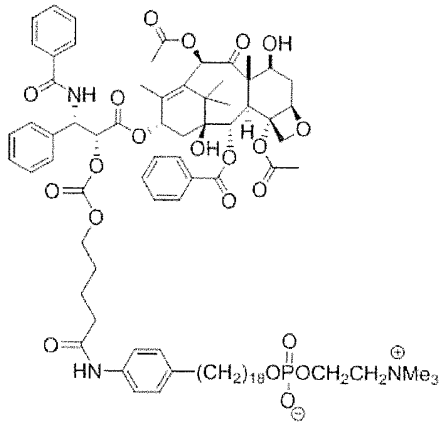
청구항 7



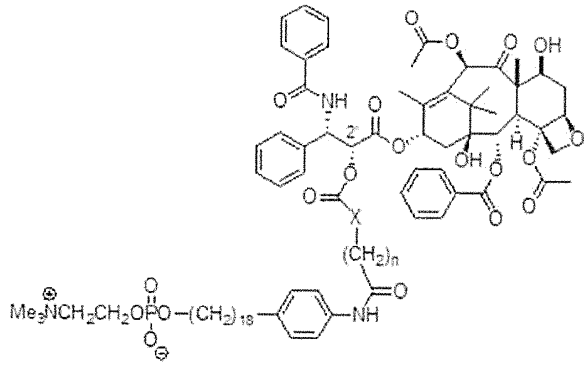
;



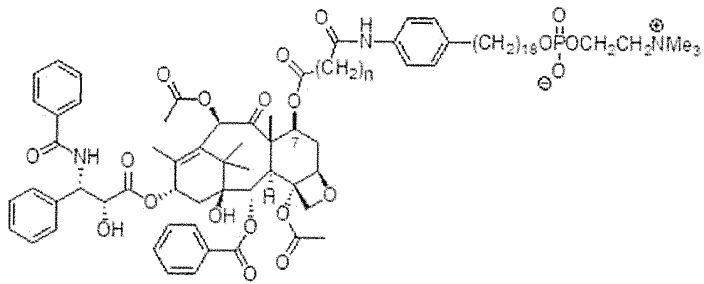
;



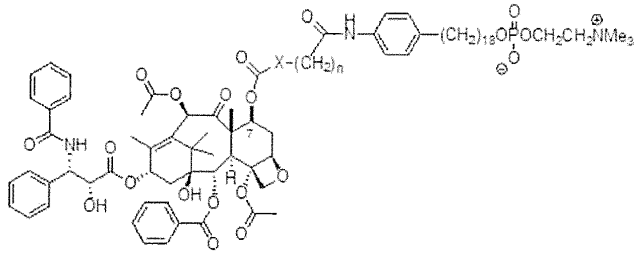
;



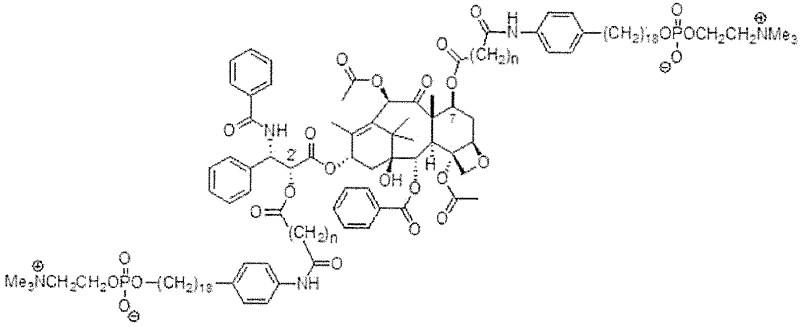
;



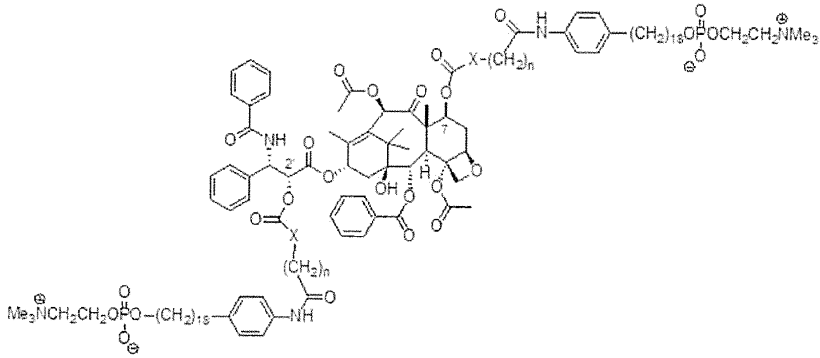
;



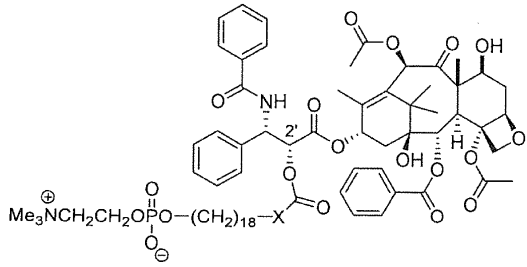
;



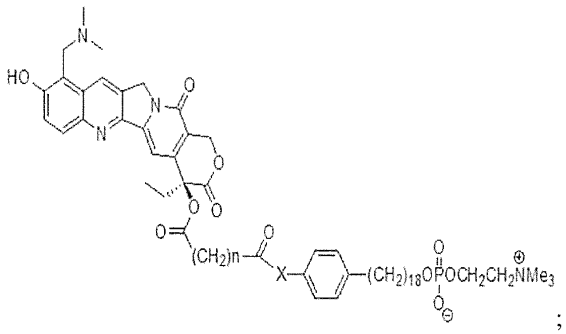
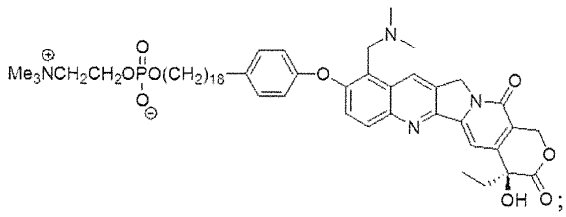
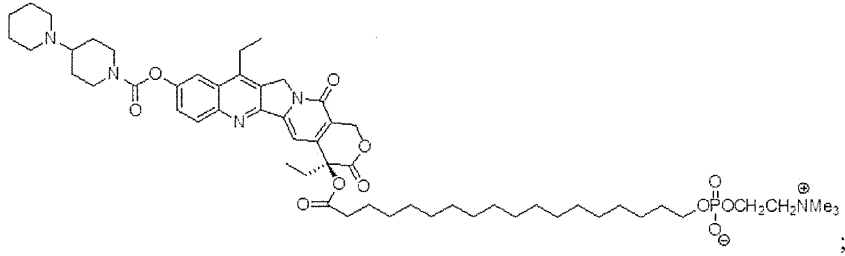
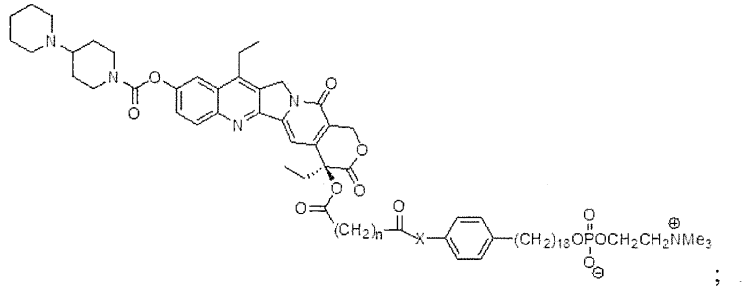
;

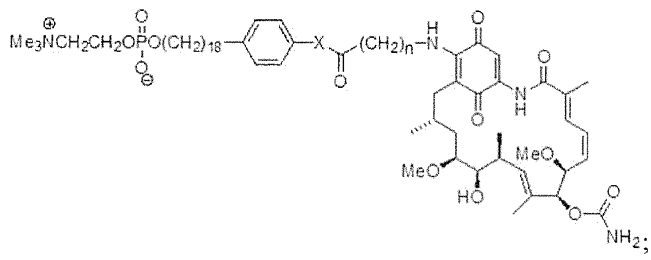
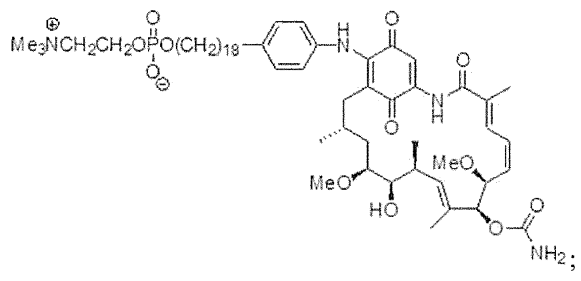
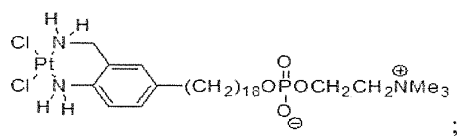
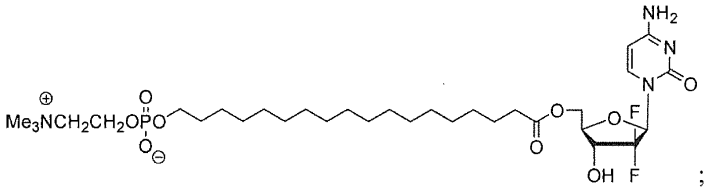
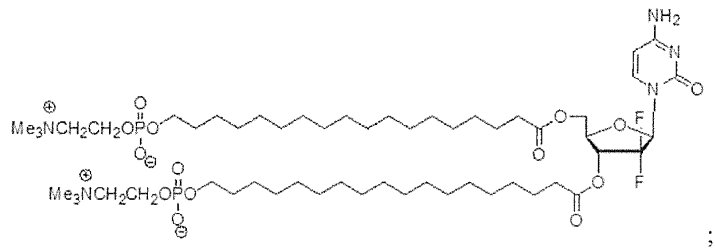


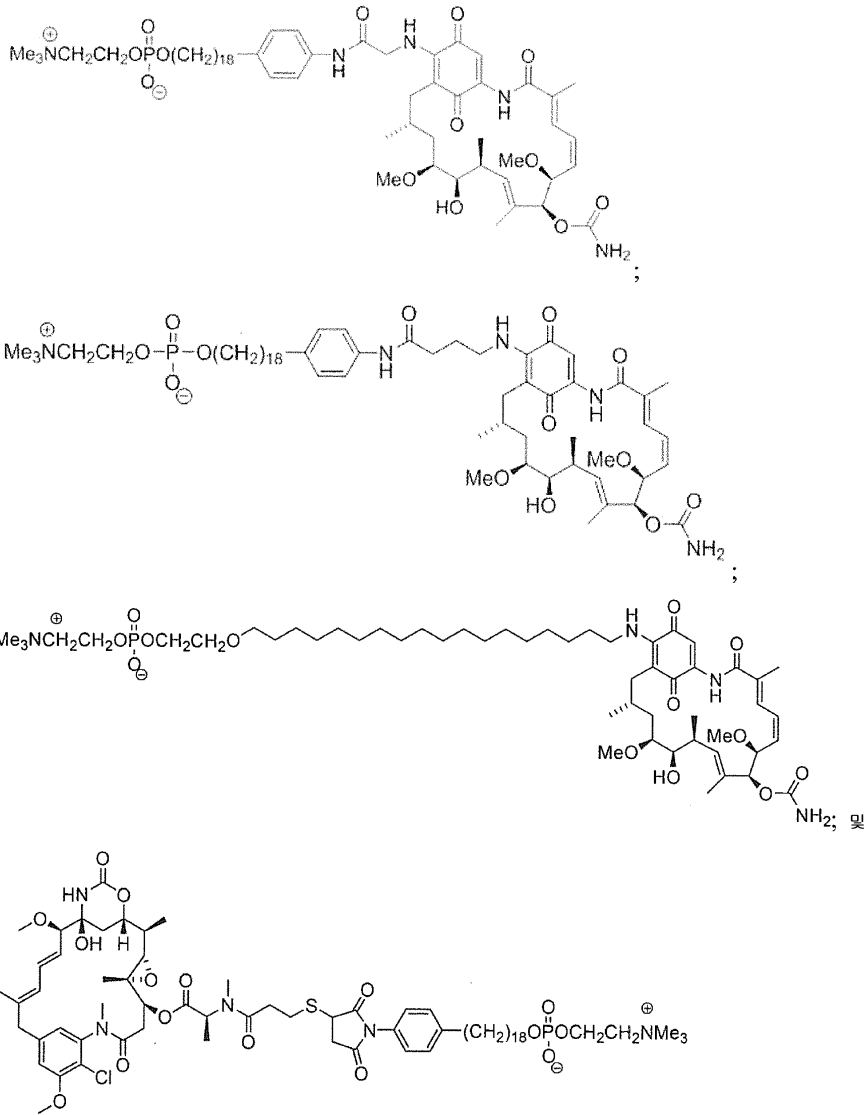
;



;







로 이루어진 군으로부터 선택되는 치료 화합물로서,  
여기서, n은 0 내지 6의 정수이고, X는 O 또는 NH인, 치료 화합물.

**청구항 8**

식 (V)의 치료 화합물:



성 종양은 조직 유형들 사이의 자연적인 경계를 가로지를 수 없다. 한편, 악성 종양은 근접한 조직을 침범하거나 혈류로 들어가 상이한 위치까지 전이될 수 있다. 악성 종양만이 암성으로 간주된다. 침윤하고 전이시키는 이 능력이 암을 이러한 죽음의 질병으로 만드는 것이다.

[0005] 암에 대한 투쟁을 더 복잡하게 하기 위해, 악성 종양은 별개의 세포 유형을 가진다. 특히 다루기 힘든 하나의 유형은 암 줄기세포("CSC")이다. CSC는 자가-재생하고, 악성 종양에서 발견되는 별개의 유형의 암세포로 분화할 수 있다. 따라서, CSC는 종양의 전이 능력에서 주요한 인자이다. CSC는 종종 방사선 및 화학요법에서 살아남는다. 방사선 및 화학요법 후 암의 재발은, 모든 CSC를 살해하지는 못하는 방사선 및 화학요법의 무능력과 새로운 종양을 구축하는 CSC의 능력이 조합된 결과인 것으로 가정된다.

[0006] 특히 다루기 힘든 유형의 암은 뇌암이다. 뇌암, 예컨대 고 등급 신경교종은 종종 수술 및 후속적인 방사선요법에 의해 치료된다. 뇌종양 수술은 종종 매우 복잡하다. 외과의는, 임의의 근접한 뇌 조직의 손상에 의해 신체적 장애 또는 인지적 장애가 초래될 수 있기 때문에 이러한 손상 없이 종양을 제거해야 한다. 외과의는 종종, 건강한 조직에 접촉해 있는 종양의 경계부를 제거할 수 없다. 이들 잔여 암세포를 살해하기 위해 종종 방사선요법이 사용된다. 그러나, 방사선 선량은 건강한 뇌 조직에의 잠재적인 손상에 의해 제한된다. 유감스럽게도, 뇌암은 통상 화학요법에 내성이다. 이러한 내성은 대체로 뇌혈관장벽("BBB")으로 인한 것이다. BBB는 뇌를 둘러싼 체액을 혈류 내의 혈액 세포 및 다른 구성성분들로부터 분리하는 물리적 장벽이다. 대부분의 항암 약물들은 BBB를 통과하지 못한다.

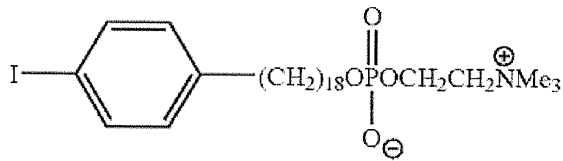
[0007] 하나의 뇌암 치료 방법은 종양 크기 진행에 필수적인 새로운 혈관의 성장을 저해하는 것이다. 상표명 Avastin<sup>®</sup> (Avastin은 Genentech, Inc.사의 등록된 상표명임) 하에 판매되는 베바시주맙(Bevacizumab)은 종양 혈관 형성을 중단시키고 심지어 상기 혈관 형성을 역행시키는 데 사용된다. 그러나, 문헌[Canc Res, 2006, 66, 7843]에서, Rich J. 등은, 신경교종 줄기세포 유래의 뇌종양을 치료하기 위해 Avastin<sup>®</sup>을 사용하였을 때, 저산소증 및 pH 저하가 초래되었음을 발견하였다(문헌[Sathornsumetee S., Phase II trial of bevacizumab and erlotinib in patients with recurrent malignant glioma, *Neuro-Oncol*, 2010, Dec, 12(12), 1300-1310]). 저산소증 및 pH 저하는 둘 다 CSC 증식(propagation)을 유발하는 것으로 알려져 있으며, CSC-구동 종양 재발을 촉진할 수 있다.

[0008] 화학요법은, 세포독성 항암 약물의 사용을 포함하는 특정한 유형의 암 치료를 설명하는 데 사용되는 용어이다. 화학요법 동안에 사용되는 세포독성 약물은 알킬화제, 대사 길항 물질, 항종양 항생제, 토포이소머라제 저해제 및 유사분열 저해제를 포함한 몇몇 주요 범주들로 나뉘질 수 있다. 세포독성 항암 약물은 전형적으로 세포 분열을 중단시켜, 암성 조직 뿐만 아니라 건강한 조직에도 영향을 미친다. 알킬화제는 암세포의 DNA에 손상을 줌으로써 암세포 분열을 중단시킨다. 암 치료에 사용되는 일부 보편적인 알킬화제들은, 질소 머스타드(예, 사이클로포스파미드 (Cytosan<sup>®</sup>; Cytosan은 Baxter International사의 등록된 상표명임), 니트로소우레아, 알킬 설포네이트, 트리아제인(triazine) 및 에틸렌이민이 있다. 백금 약물, 예컨대 시스플라틴 및 카르보플라틴은 알킬화제와 유사하게 작동한다. 대사 길항 물질은 DNA 합성 및 RNA 합성을 저해함으로써 암세포 분열을 중단시킨다. 암 치료에 사용되는 일부 보편적인 대사 길항 물질은, 6-머캅토피린, 겐시타빈(Gemzar<sup>®</sup>; Gemzar는 Eli Lilly and Company사의 등록된 상표명임), 메토티렉세이트 및 페메트렉세드(pemetrexed)(Alimta<sup>®</sup>; Alimta는 Eli Lilly and Company사의 등록된 상표명임)가 있다. 토포이소머라제 저해제는, 토포이소머라제 효소가 복제용 DNA를 분리하지 못하게 함으로써 암세포 분열을 중단시킨다. 일부 보편적인 토포이소머라제 저해제는, 토포테칸, 이리노테칸, 에토포사이드 및 테니포사이드가 있다. 유사분열 저해제는 주요 세포 분열 효소들을 저해함으로써 암세포 분열을 중단시킨다. 일부 보편적인 유사분열 저해제는, 탁산(예, 파클리탁셀(Taxol<sup>®</sup>; Taxol은 Bristol-Myers Squibb Company사의 등록된 상표명임) 및 도세탁셀(Taxotere<sup>®</sup>; Taxotere는 Aventis Pharma SA사의 등록된 상표명임)), 에포틸론(epothilone) 및 빈카 알칼로이드가 있다.

[0009] 이들 항암 약물 모두의 한가지 단점은 건강한 조직에의 손상이다. 상기 약물이 정상 세포의 기능을 저해함으로써 암을 치료하기 때문에, 혈액 세포, 점막 표면 및 피부와 같이 끊임없는 세포 분열에 의존하는 건강한 조직 역시 심각한 손상을 입을 수 있다. 이러한 손상은 상당한 사망률을 초래하며, 안전하게 전달될 수 있는 화학요법의 양을 제한할 수 있다. 화학요법 치료 동안 발생하는 부작용의 예는, 낮은 혈구 계수, 탈모, 근육 및 관절 통증, 메스꺼움, 구토, 설사, 구강점막 질환(mouth sore), 발열 및 오한이 있다. 이러한 문제점을 극복하기 위해, 암세포에서만 발생하는 단백질 및 세포성 기능에 영향을 미치는 약물이 개발되고 있다. 이들 특이적인 암

약물들 중 일부는, 이마티닙(imatinib)(Gleevec<sup>®</sup>; Gleevec은 Novartis AG사의 등록된 상표명임), 게피티닙(gefitinib)(Iressa<sup>®</sup>, Iressa는 AstraZeneca UK Limited사의 등록된 상표명임), 수니티닙(sunitinib)(Sutent<sup>®</sup>; Sutent는 C.P. Pharmaceuticals, International C.V.사의 등록된 상표명임) 및 보르테조미프(bortezomib)(Velcade<sup>®</sup>; Velcade는 Millennium Pharmaceuticals, Inc.사의 등록된 상표명임)이 있다. 그러나, 이들 약물은 모든 유형의 암 치료에 승인을 받은 것은 아니며, 일반적으로 치료 내성의 발달과 연관되어 있다. 따라서, 당해 기술분야에서는, 건강한 세포에 의한 약물의 실질적인 섭취(uptake)를 피하면서도, CSC를 포함한 암세포에 강력하며 효과적이고 광범위한 스펙트럼을 가진 항암 약물을 전달할 수 있는 항암 약물 전달 수단이 요망되고 있다. 부가적으로, 항암 약물 전달 수단은 BBB를 가로지를 수 있고 뇌의 암 세포에 항암 약물을 전달할 수 있어야 한다.

[0010] 현재, 암세포를 우선적으로 표적화하는 몇몇 화학적 화합물들이 존재한다. 이러한 하나의 화합물은 CLR1404이다. 일반적으로, CLR1404는 몇몇 종양 치료 약상들의 치료 반응을 모니터링하는 데 사용되는 새로운 유망한 종양-선택적 진단용 영상제(diagnostic imaging agent)이다. 다음의 구조



를 가진 2세대 인지질 에테르("PLE") 유사체인 방사성 요오드화된 CLR1404는, 55/60개의 이중 이식, 동소 및 유전자 이식 암 및 암 줄기세포 유래의 동물 모델에서 뚜렷한 종양 선택성을 나타내었으며, 코어 분자를 항암 약물 전달 수단을 위한 이상적인 플랫폼이 되도록 하였다. 미국 특허 8535641; 미국 특허 출원 공개 2014/0030187 및 문헌[Weichert, J.P., et al., Alkylphosphocholine analogs for broad-spectrum cancer imaging and therapy, *Sci Transl Med*, 2014, Jun 11, 6(240), 240ra75]를 참조하며; 이들은 각각 그 전체가 원용에 의해 본 명세서에 포함된다.

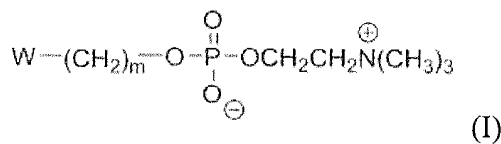
[0011] 암세포 및 암 줄기세포에 의해 선택적으로 격리되고 보유되는 화합물이 항암 약물을 이와 동일한 암세포 및 줄기세포들에 전달할 수 있는 지에 대해서는 알려져 있지 않다. 나아가, 이러한 화합물이 BBB를 가로질러 항암 약물을 수송하여 뇌암을 치료할 수 있는지도 알려져 있지 않다. 마지막으로, 이러한 화합물 또는 유사한 화합물이 암세포로 하여금, 종양을 근절하고 추가적인 성장 및 전이를 방지하기에 충분한 양 및 충분한 기간 동안 항암 약물을 보유하게 할 수 있는지도 알려져 있지 않다. 본 발명은 CLR1404 코어 분자를, 뇌암 세포를 포함한 암세포 및 암 줄기세포에 항암 약물을 표적화할 수 있는 항암 약물 전달 수단으로서 사용하기 위해 조정한다. 나아가, 본 발명의 화합물은 암세포 내에 보유된다.

**발명의 내용**

[0012] 본 발명은 뇌종양 세포를 포함한 암세포 및 암 줄기세포를 표적화할 수 있는 치료 화합물에 관한 것이다. 본 발명은 또한, 암을 치료하고 전이 및 재발을 방지하기에 충분한 양 및 충분한 기간 동안, 뇌종양 세포를 포함한 암세포 및 암 줄기세포에 의해 격리되고 보유될 수 있는 치료 화합물에 관한 것이다.

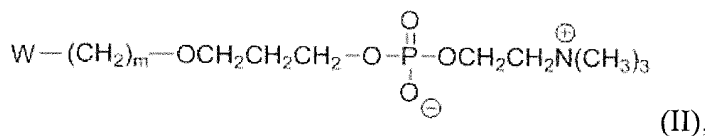
[0013] 일 실시형태에서, 본 발명은 식 A-B-D의 치료 화합물에 관한 것이며, 상기 식 A-B-D에서,

[0014] A는 식 (I)의 적어도 하나의 화합물,



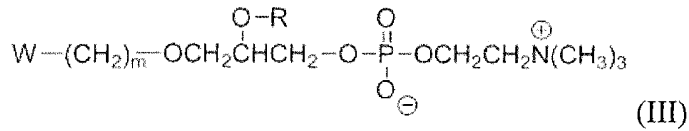
[0015]

[0016] 식 (II)의 적어도 하나의 화합물,



[0017]

[0018] 식 (III)의 적어도 하나의 화합물,



[0019]

[0020] 또는 이들의 조합이며,

[0021] 여기서, W는 아릴, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬, 알케닐, 임의로 치환된 C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> 사이클로알킬 및 임의로 치환된 C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> 헤테로사이클로알킬로 이루어진 군으로부터 선택되며, R은 H 또는 알킬이고, m은 12 내지 24의 정수이며;

[0022] B는 링커 화합물, 바람직하게는 결합 또는 식 (IV)의 화합물이며,

[0023] Y-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-Z (IV),

[0024] 여기서, Y는 A에 결합되며;

[0025] Z는 D에 결합되며;

[0026] Y는 결합, O, NH, C=O, NHSO<sub>2</sub> 및 OC(=O)O로 이루어진 군으로부터 선택되며;

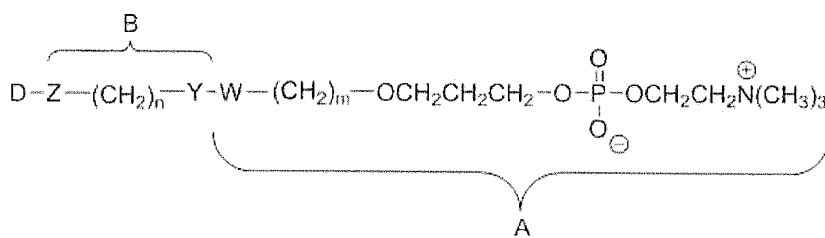
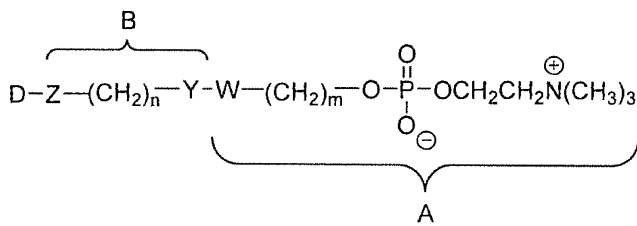
[0027] Z는 O, NH, C=O, C(=O)O, C(=O)NH, SO<sub>2</sub>, OC(=O)OCH<sub>2</sub> 및 -S-S-로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0028] n은 0 내지 6의 정수이고;

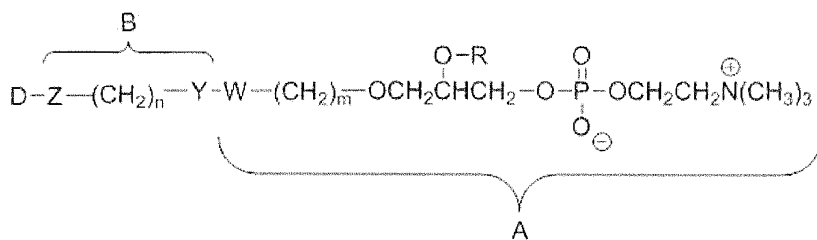
[0029] D는 항암 약물이며,

[0030] 여기서, A : D의 비율은 1:2 내지 2:1이다.

[0031] 또 다른 실시형태에서, 본 발명은



[0032]

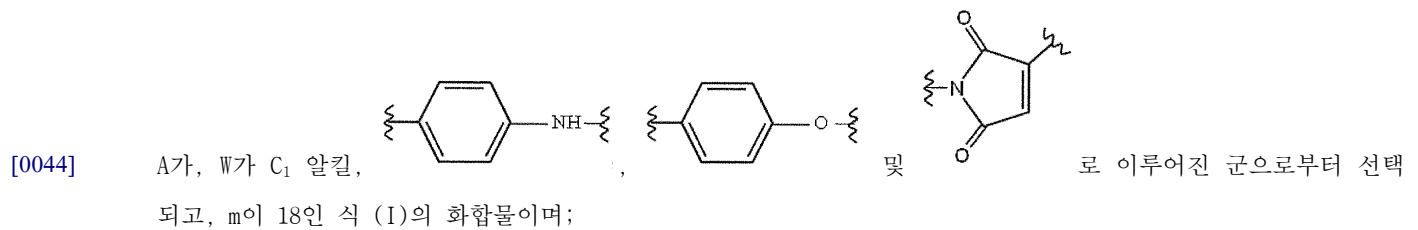


[0033]

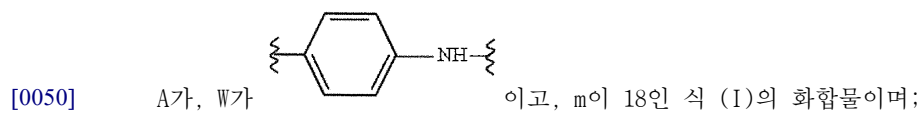
[0034] 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 식 A-B-D의 치료 화합물에 관한 것이며,

[0035] 여기서, W는 아릴, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬, 알케닐, 임의로 치환된 C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> 사이클로알킬 및 임의로 치환된 C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> 헤테로사이클로알킬로 이루어진 군으로부터 선택되며;

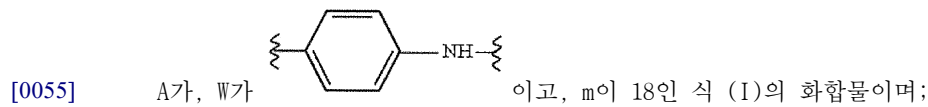
- [0036] R은 H 또는 알킬이며;
- [0037] m은 12 내지 24의 정수이며;
- [0038] Y는 결합, O, NH, C=O, NHSO<sub>2</sub> 및 OC(=O)O로 이루어진 군으로부터 선택되며;
- [0039] Z는 O, NH, C=O, C(=O)O, C(=O)NH, SO<sub>2</sub>, OC(=O)OCH<sub>2</sub> 및 -S-S-로 이루어진 군으로부터 선택되며;
- [0040] n은 0 내지 6의 정수이고;
- [0041] D는 향암 약물이며,
- [0042] B는 임의로, A와 D 사이의 결합이다.
- [0043] 바람직한 실시형태에서, 본 발명은,



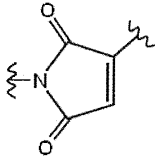
- [0045] B가 결합 및 식 (IV)의 화합물로부터 선택되는 링커 화합물이며,
- [0046] Y-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-Z (IV)
- [0047] 상기 식 (IV)에서, n이 0 내지 6의 정수이고, Y가 A에 결합되며, Z가 D에 결합되며, Y가 결합 및 C=O로 이루어진 군으로부터 선택되고, Z가 NH, C=O, C(=O)NH 및 C(=O)O로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0048] D가 파클리탁셀, 이리노테칸, 토포테칸, 겐시타빈, 시스플라틴, 겐다나마이신(geldanamycin) 및 머탄신(mertansine)으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 식 A-B-D의 치료 화합물에 관한 것이다.
- [0049] 보다 바람직한 실시형태에서, 본 발명은,



- [0051] B가, Y가 C=O이고, Z가 C=O, C(=O)NH 또는 C(=O)O이고, n이 3 또는 4인 식 (IV)의 화합물이며;
- [0052] D가 파클리탁셀이고,
- [0053] A : D의 비율이 1:1인, 식 A-B-D의 치료 화합물에 관한 것이다.
- [0054] 또 다른 보다 바람직한 실시형태에서, 본 발명은,



- [0056] B가 결합, 또는 Y가 C=O이며, Z가 NH이고, n이 1 또는 3인 식 (IV)의 화합물이며;
- [0057] D가 겐다나마이신이고,
- [0058] A : D의 비율이 1:1인, 식 A-B-D의 치료 화합물에 관한 것이다.
- [0059] 또 다른 보다 바람직한 실시형태에서, 본 발명은,



- [0060] A가, W가 이고, m이 18인 식 (I)의 화합물이며;
- [0061] B가 결합이며;
- [0062] D가 머탄신이고,
- [0063] A : D의 비율이 1:1인, 식 A-B-D의 치료 화합물에 관한 것이다.
- [0064] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본 발명의 화합물을 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 담체와 조합하여 함유하는 약학적 조성물을 제공한다.
- [0065] 또 다른 양태에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 치료 화합물을 암에 걸린 대상에게 투여하는 단계를 포함하는, 암 치료 방법을 제공한다.
- [0066] 일 실시형태에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 치료 화합물을 암에 걸린 대상에게 투여하는 단계를 포함하는 암 치료 방법을 제공하며, 여기서, 상기 암은 암 줄기세포를 포함한다.
- [0067] 또 다른 실시형태에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 치료 화합물을 암에 걸린 피험자에게 투여하는 단계를 포함하는 암 치료 방법을 제공하며, 여기서, 상기 암은 재발성이다.

**도면의 간단한 설명**

- [0068] 도 1. 인지질 에테르("PLE") 유사체가 지질 뗏목(lipid raft)을 통해 격리되어 있다.
- 도 2. 암세포에 의한 CLR1501의 우선적인 흡수. (A) 및 (C) 내지 (F)에서 암세포주에 의한 CLR1501의 흡수를 (B)에서 정상 세포와 비교한다. (A) 신장암(Caki-2). (B) 정상적인 인간 피부 섬유아세포. (C) 난소암(OVcar-3). (D) 췌장암(Panc-1). (E) 흑색종(A-375). (F) 전립선암(PC-3).
- 도 3. SCID 마우스에서 인간 RL-251 종양 이종 이식편에 의한 <sup>131</sup>I-CLR1404의 연장된 체류.
- 도 4. <sup>125</sup>I-NM404를 사용한, 래트 뇌에서의 C6-신경교종의 검출. (A) 허위 대조군 래트 뇌의 바이오스캔. (B) 정상 뇌 조직에서 <sup>125</sup>I-NM404의 백그라운드 수준을 보여주는, 디지털 사진에 중첩된 (A)의 래트 뇌의 바이오스캔 영상. (A') <sup>125</sup>I-NM404 주사 후 4일째에 C6-신경교종을 가진 래트 뇌의 디지털 사진. (B') (A')의 래트 뇌의 바이오스캔 영상. (C') 종양에서 NM404의 집중적인 국소화(localization)를 보여주기 위해 중첩된 (A') 및 (B')의 위치 및 크기-매칭된 영상. (D') 종양의 존재를 확인시켜 주는 H&E 염색된 시료.
- 도 5. 광범위한 악성 종양에서의 <sup>124</sup>I-CLR1404 흡수. (A) 내지 (I)는 인간 암 이종 이식편을 가진 설치류 모델이다. (J) 내지 (M)은 설치류 암 모델이다. (A) 동소 신경교종 U87(래트). (B) 결장 HCT-116. (C) 결장 HT-29. 화살표는 종양의 위치를 가리킨다. (D) 유방 MDA-MB-231. 화살표는 종양의 위치를 가리킨다. (E) 전립선 PC-3. (F) 전이성 PC-3. (G) PC-3 경골 이종 이식. (H) 췌장 BxPC3. 하측 화살표는 종양의 위치를 가리킨다. 상측 화살표는 간 전이를 가리킨다. (I) 유잉 육종(Ewing's sarcoma). 화살표는 종양의 위치를 가리킨다. (J) 마우스 SV40 방광. (K) 마우스 유방 4T1. (L) 마우스 췌장 c-myc. (M) 래트 뇌 CNS-1.
- 도 6. <sup>131</sup>I-CLR1404를 사용한, 인간 환자에서의 비소세포폐암("NSCLC") 종양의 검출. (A)는 <sup>131</sup>I-CLR1404 주사 후 4일째 및 11일째에 환자 1의 감마 카메라 영상을 보여준다. NSCLC 종양에서 CLR1404의 집중적이고 연장된 체류를 주목하라(화살표). (B 및 C)는 좌측 폐(A)에서의 3 cm의 국소 병변의 위치 및 크기를 보여주고, 우측 폐(B)에서의 큰 침윤성 덩어리의 위치 및 크기를 보여준다(화살표). (D 및 E)는 <sup>131</sup>I-CLR1404 정맥내 투여 후 1일, 2일 및 4일째에 환자 2의 전신 평면 핵의학 영상을 보여준다. (F 및 G)는 크기가 6 cm로 큰 NSCLC 종양의 위치를 가리키는(화살표) 축 CT 스캔(F) 및 관상 CT 스캔(G)을 보여준다.
- 도 7. <sup>124</sup>I-CLR1404를 사용한, NSCLC 환자에서의 이전에 알려지지 않은 3개의 뇌종양 전이의 검출. 화살표는 암

세포에 의한 <sup>124</sup>I-CLR1404의 흡수 후, PET/CT를 사용하여 영상화된 종양의 위치를 가리킨다.

도 8. <sup>124</sup>I-CLR1404를 사용한, 우측 전대뇌검(frontal falcine) 전이의 종양 재발의 검출. (A) 방사선수술 후 뇌의 MRI. 화살표는 방사선 괴사로서 해석되었던 병변을 가리킨다. (B) <sup>124</sup>I-CLR1404를 사용한 PET 영상은 병변에 의한 <sup>124</sup>I-CLR1404의 흡수를 보여준다. (C) 정위 방사선수술 후 8개월째의 뇌의 MRI는 병변의 크기 증가를 보여주며 이는 재발 가능성을 가리킨다.

도 9. MDA-MB-468에 대한 PLE-파클리탁셀 컨쥬게이트 IC<sub>50</sub>. (A) 유리(free) 파클리탁셀, (B) CLR1601 및 (C) CLR1603.

도 10. NCI-H1299에 대한 PLE-파클리탁셀 컨쥬게이트 IC<sub>50</sub>. (A) 유리 파클리탁셀, (B) CLR1601 및 (C) CLR1603.

도 11. NCI-H460에 대한 PLE-파클리탁셀 컨쥬게이트 IC<sub>50</sub>. (A) 유리 파클리탁셀, (B) CLR1601 및 (C) CLR1603.

도 12. Capan-2에 대한 PLE-파클리탁셀 컨쥬게이트 IC<sub>50</sub>. (A) 유리 파클리탁셀, (B) CLR1601 및 (C) CLR1603.

도 13. MiaPaCa-1에 대한 PLE-파클리탁셀 컨쥬게이트 IC<sub>50</sub>. (A) 유리 파클리탁셀, (B) CLR1601 및 (C) CLR1603.

도 14. HT29에 대한 PLE-파클리탁셀 컨쥬게이트 IC<sub>50</sub>. (A) 유리 파클리탁셀, (B) CLR1601 및 (C) CLR1603.

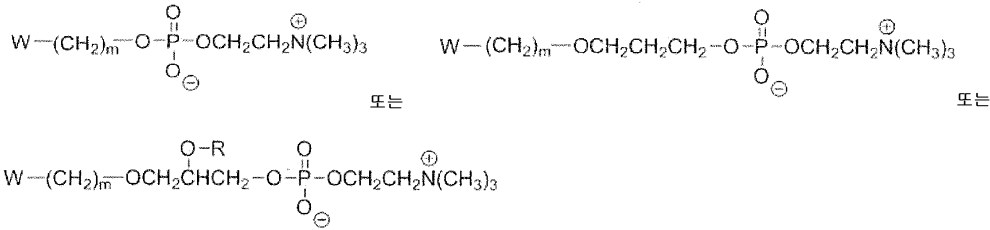
도 15. HCT116에 대한 PLE-파클리탁셀 컨쥬게이트 IC<sub>50</sub>. (A) 유리 파클리탁셀, (B) CLR1601 및 (C) CLR1603.

도 16. PC-3에 대한 PLE-파클리탁셀 컨쥬게이트 IC<sub>50</sub>. (A) 유리 파클리탁셀, (B) CLR1601 및 (C) CLR1603.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0069] 정의
- [0070] 본원에 사용된 용어 "치료하는"은, 암의 진행 또는 재발을 감소시키는, 억제하는 및 저해하는 것을 포함하여 예방적인 치료뿐만 아니라 장애 이장성(remittent) 치료 역시 포함한다. 본원에 사용된 용어 "감소시키는", "억제하는" 및 "저해하는"은 약화 또는 저하와 같이 이들의 보편적으로 이해되는 의미를 가진다. 본원에 사용된 용어 "진행"은 범위 또는 중증도의 증가, 진전, 성장 또는 악화를 의미한다. 본원에 사용된 용어 "재발" 및 "재발성"은 차도(remission) 후 질환의 복귀를 지칭한다.
- [0071] 본원에 사용된 용어 "투여하는"은, 환자, 조직, 기관 또는 세포를 본 발명의 항암 화합물과 접촉시키는 것을 지칭한다. 본원에 사용된 투여는 in vitro(즉, 시험관 내에서) 또는 in vivo(즉, 인간과 같은 살아있는 유기체의 세포 또는 조직 내에서) 달성될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 본 발명은 본 발명에서 유용한 화합물을 환자 또는 대상에게 투여하는 것을 수반한다. "환자" 또는 "대상"은 본원에서 동등하게 사용되며, (1) PLE 화합물을 사용하는 항암 성분의 투여에 의해 치유가능하거나 치료가능한 장애를 가지거나, (2) 본 발명의 항암 화합물을 투여함으로써 예방가능한 장애에 취약한 포유류, 바람직하게는 인간을 지칭한다.
- [0072] 본원에 사용된 용어 "유효량"은 요망되는 생물학적 효과, 예컨대 비제한적으로 질환 또는 장애의 증상 또는 징후의 예방, 축소, 개선 또는 제거를 포함한 유익한 결과에 영향을 미치기에 충분한 양을 지칭한다. 따라서, 약학적 조성물 또는 방법의 각각의 활성 구성성분의 총 양은 의미 있는 대상 이득을 보여주기에 충분하다. 따라서, "유효량"은 이것이 투여되는 전후사정(context)에 따라 다를 것이다. 유효량은 하나 이상의 예방적 또는 치료적 투여로 투여될 수 있다.
- [0073] 본원에 사용된 용어 "치료 화합물"은 암 치료를 제공할 수 있는 임의의 화학적 화합물을 지칭한다.
- [0074] 본원에 사용된 용어 "암"은 전이할 수 있는 세포의 비-제어된 분열로 인한 임의의 질환을 지칭한다.
- [0075] 용어 "화학요법 약물", "항암 약물" 및 "항종양 약물"은 명세서 전체에서 상호호환적으로 사용된다.
- [0076] 용어 "악성 종양 세포" 및 "암세포"는 명세서 전체에서 상호호환적으로 사용된다. 용어 "악성 종양 줄기세포" 및 "암 줄기세포"는 명세서 전체에서 상호호환적으로 사용된다.
- [0077] 본원에 사용된 용어 "조성물"은 명시된 성분을 명시된 양으로 포함하는 산물 (product)뿐만 아니라 명시된 양의 명시된 성분들의 조합으로부터 직접적으로 또는 간접적으로 유래되는 임의의 산물을 포함하는 것이다.

[0078] 본원에 사용된 용어 "A"는 식



[0079]

[0080] 의 인지질 에테르를 지칭한다.

[0081] 본원에 사용된 용어 "W"는 아릴, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬, 알케닐, 임의로 치환된 C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> 사이클로알킬 및 임의로 치환된 C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> 헤테로사이클로알킬을 지칭한다.

[0082] 본원에 사용된 용어 "아릴"은 페닐기를 포함한 방향족 고리를 지칭한다.

[0083] 본원에 사용된 용어 "알킬"은, 다르게 명시되지 않는 한, 1개 내지 24개의 탄소 원자(C<sub>1</sub>-C<sub>24</sub>)를 가진 포화된 탄화수소 기로 이루어진 분쇄 또는 직쇄 알킬을 지칭한다. 알킬기는 환식 또는 비환식일 수 있다.

[0084] 본원에 사용된 용어 "알케닐"은 탄소-탄소 이중 결합을 지칭한다.

[0085] 본원에 사용된 용어 "사이클로알킬"은 3개 내지 24개의 탄소 원자(C<sub>3</sub>-C<sub>24</sub>)를 가진 환식 알킬기를 지칭한다.

[0086] 본원에 사용된 용어 "헤테로사이클로알킬"은 탄소, 질소, 황, 포스페이트 및 산소로부터 선택되는 3개 내지 24개의 원자(C<sub>3</sub>-C<sub>24</sub>)를 가진 환식 기를 지칭하며, 여기서, 적어도 하나의 원소가 탄소이다.

[0087] 일반적으로, 용어 "임의로"가 선행하든지 또는 선행하지 않든지 간에, 용어 "치환된"은, 지정된 모이어티의 하나 이상의 수소가 적합한 치환기로 대체된 것을 의미한다. 다르게 지시되지 않는 한, "임의로 치환된" 기는 해당 기의 각각의 치환가능한 위치에 적합한 치환기를 가질 수 있고, 임의의 주어진 구조에서 1개 초과 위치가 명시된 군으로부터 선택되는 1개 초과 위치로 치환될 수 있는 경우, 이러한 치환기는 모든 위치에서 동일하거나 상이할 수 있다. 본 발명에서 구상되는 치환기들의 조합은 바람직하게는, 안정한 화합물 또는 화학적으로 실현가능한 화합물의 형성을 초래하는 조합이다.

[0088] 본원에 사용된 용어 "R"은 수소(H) 또는 알킬을 지칭한다.

[0089] 본원에 사용된 용어 "m"은 12 내지 24의 정수를 지칭한다.

[0090] 본원에 사용된 용어 "n"은 0 내지 6의 정수를 지칭한다.

[0091] 본원에 사용된 용어 "B"는 링커 화합물을 지칭한다. 본원에 사용된 용어 "링커 화합물"은, 모든 화합물들이 단일의 더 큰 화합물을 형성하도록 2개 이상의 다른 구별되는 화학적 화합물들과 화학 결합을 형성할 수 있는 임의의 화학적 화합물 또는 화합물들을 지칭한다. 일 실시형태에서, 링커 화합물은 결합이다. 다수의 링커 화합물들이 더 큰 화합물의 형성에 사용될 수 있다. 구체적인 실시형태에서, 용어 링커 화합물은 결합, 또는 식 Y-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-Z의 화합물이다.

[0092] 본원에 사용된 용어 "Y"는 결합, O, NH, C=O, NHSO<sub>2</sub>O 또는 OC(=O)O를 지칭한다.

[0093] 본원에 사용된 용어 "Z"는 O, NH, C=O, C(=O)O, C(=O)NH, SO<sub>2</sub>, OC(=O)OCH<sub>2</sub> 및 -S-S-를 지칭한다.

[0094] 본원에 사용된 용어 "D"는 현재 공지되어 있거나 개발중인 임의의 항암 약물을 지칭한다.

[0095] 본원에 정의된 바와 같이, 용어 "이성질체"는, 광학 이성질체 및 유사체, 구조 이성질체 및 유사체, 형태 이성질체 및 유사체 등을 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니다. 일 실시형태에서, 본 발명은, 본 발명의 상이한 광학 이성질체들의 사용을 수반한다. 당업자는, 본 발명에 유용한 항암 화합물이 적어도 하나의 입체 중심을 가질 수 있음을 이해할 것이다. 이에, 본 발명의 방법에 사용되는 화합물은 광학적-활성 형태 또는 라세미 형태로 존재할 수 있고, 분리될 수 있다. 일부 화합물들은 다형성(polymorphism)을 나타낼 수도 있다.

[0096] 본 발명은 임의의 라세미 형태, 광학적-활성 형태, 다형성 형태 또는 입체이성질체 형태 또는 이들의 혼합물의 사용을 수반할 수 있으며, 이러한 형태는 본원에 기재되고 청구되는 암-관련 병태의 치료에 유용한 특성을 가진

을 이해해야 한다. 일 실시형태에서, 향암 화합물은 순수한 (R)-이성질체를 포함할 수 있다. 또 다른 실시형태에서, 향중양 화합물은 순수한 (S)-이성질체를 포함할 수 있다. 또 다른 실시형태에서, 본 화합물은 (R) 이성질체와 (S) 이성질체의 혼합물을 포함할 수 있다. 또 다른 실시형태에서, 본 화합물은 (R) 이성질체 및 (S) 이성질체를 둘 다 포함하는 라세미 혼합물을 포함할 수 있다. (예, 재결정화 기술에 의한 라세미 형태의 분할, 광학적-활성 출발 물질로부터의 합성, 키랄 합성, 또는 키랄 고정상을 이용하는 크로마토그래피 분리에 의한) 광학적-활성 형태의 제조 방법은 당업계에 잘 알려져 있다.

[0097] 본 발명은 아미노-치환된 화합물의 유기산 및 무기산, 예컨대 시트르산 및 염산과의 약학적으로 허용가능한 염의 사용을 포함한다. 본 발명은 또한, 본원에 기재된 화합물의 아미노 치환기의 N-옥사이드를 포함한다. 약학적으로 허용가능한 염은 또한, 소듐 하이드록사이드와 같은 무기 염기의 처리에 의해 페놀 화합물로부터 제조될 수 있다. 또한, 페놀 화합물의 에스테르는 지방족 카르복실산 및 방향족 카르복실산으로 제조될 수 있으며, 예를 들어, 아세트산 에스테르 및 벤조산 에스테르가 있다. 본원에 사용된 용어 "약학적으로 허용가능한 염"은 기본(base) 화합물과 동일한 약학적 효과를 실질적으로 달성하는 베이스 화합물로부터 제형화된 화합물을 지칭한다.

[0098] 본 발명은 향암 화합물의 유도체를 추가로 포함한다. 용어 "유도체"는, 에테르 유도체, 산 유도체, 아미드 유도체, 에스테르 유도체 등을 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니다. 또한, 본 발명은 향중양 화합물의 하이드레이트의 이용 방법을 추가로 포함한다. 용어 "하이드레이트"는, 헤미하이드레이트, 모노하이드레이트, 다이하이드레이트, 트리하이드레이트 등을 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니다.

[0099] 본 발명은 향암 화합물의 대사 산물을 추가로 포함한다. 용어 "대사 산물"은 대사 또는 대사 과정에 의해 또 다른 성분으로부터 생성되는 임의의 성분을 의미한다.

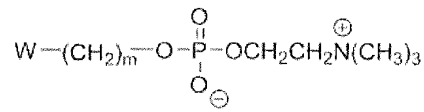
[0100] 본 발명의 화합물을 사용하여 치료될 수 있는 암은, 남성 유방암을 포함한 유방암; 항문암, 맹장암, 간외담관암, 위장 유암종, 결장암, 식도암, 담낭암, 위암, 위장 간질성 종양("gist"), 섬세포 종양, 성인 원발성 간암, 소아 간암, 췌장암, 직장암, 소장암 및 위장(stomach)(위(gastric))암을 포함한 소화계/위장 암; 췌장 선암종, 부신피질 암종, 췌장 신경내분비 종양, 메르켈 세포(Merkel cell) 암종, 비소세포 폐 신경내분비 종양, 소세포 폐 신경내분비 종양, 부갑상선암, 크롬 친화성 세포종, 뇌하수체 종양 및 갑상선암을 포함한 내분비암 및 신경내분비암; 안내 흑색종 및 망막아종을 포함한 안암(eye cancer); 방광암, 신장(신세포)암, 음경암, 전립선암, 이행세포 신장 골반 및 수뇨관 암, 고환암, 요도암 및 빌름스 종양(Wilms tumor)을 포함한 비노생식기 암; 소아 중추신경계 암, 소아 두개외 생식 세포 종양, 성선의 생식 세포 종양, 난소 생식 세포 종양 및 고환암을 포함한 생식 세포 암; 자궁경부암, 자궁내막암, 임신 영양막 종양, 난소 상피 암, 난소 생식 세포 종양, 자궁 육종, 질암 및 회음부암을 포함한 부인과 암(gynecologic cancer); 하인두암(hypopharyngeal cancer), 후두암, 입술 및 구강의 암, 잠복 원발성(occult primary)을 가진 전이성 편평 경부암(squamous neck cancer), 구강암(mouth cancer), 비인두암, 구강인두암, 부비강 및 비강의 암, 부갑상선암, 인두암, 침샘암 및 인후암을 포함한 두경부암; 성인 급성 림프아구성 백혈병, 소아 급성 림프아구성 백혈병, 성인 급성 골수성 백혈병, 소아 급성 골수성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 만성 골수기원성 백혈병 및 모양 세포성 백혈병을 포함한 백혈병; AIDS-관련 림프종, 피부 t-세포 림프종, 성인 호지킨 림프종, 소아 호지킨 림프종, 임신중 호지킨 림프종, 균상 식육종(mycosis fungoides), 성인 비-호지킨 림프종, 소아 비-호지킨 림프종, 임신중 비-호지킨 림프종, 원발성 중추신경계 림프종, 시자리 증후군(Sezary syndrome) 및 발덴스트롬 마크로글로불린혈증(Waldenstrom macroglobulinemia)을 포함한 림프종; 유잉 육종, 골의 골육종 및 악성 섬유 조직구종, 소아 횡문근육종 및 연조직 육종을 포함한 근골격계 암; 성인 뇌종양, 소아 뇌종양, 성상세포종, 뇌간 신경교종, 중추신경계 비정형 기형/횡문근양 종양, 중추신경계 배아성 종양, 두개인두종(craniopharyngioma), 뇌실막세포종, 신경아세포종, 원발성 중추신경계(CNS) 림프종을 포함한 신경학적 암; 비소세포폐암, 소세포폐암, 악성 중피종, 흉선종 및 흉선 암종을 포함한 호흡계/흉곽 암; 및 카포시 육종, 흑색종 및 편평세포암종을 포함한 피부암 등을 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니다.

[0101] 본 발명의 식 (I)의 화합물은 암 줄기세포에 의해 격리되는 것으로 입증되어 있다. 2에서 Weichert J.P. 등 (2014), 도 2를 참조한다(CLR1404 형광 유사체인 CLR-1501이 정상 인간 성상세포 및 인간 태아 신경 줄기세포와 비교하여 인간 교아종 줄기-유사 세포 및 혈청-배양된 인간 교아종 세포에 의해 증강된 흡수를 가짐을 언급하고 있음). 암 줄기세포는 전부는 아니라도 대부분의 주요 암 유형들과 연관이 있다. 종양 저산소증은 암 줄기세포 번식을 자극하여, 내성 및 전이성의 잠재력을 증가시킨다. 이와 같이, 암 줄기세포는 화학요법 및 방사선요법 후 화학요법 내성, 종양 재성장 및 전이와 연관이 있다. 따라서, 본 발명의 화합물은 전형적인 치료 요법에 내

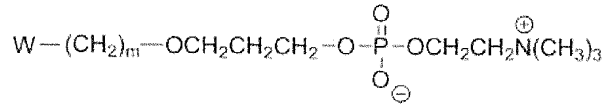
성인 것으로 입증된 다양한 형태의 암들을 치료하는 잠재성을 가진다.

[0102] 본 발명의 화합물

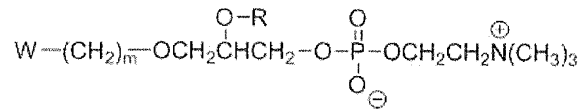
[0103] 본 발명에 유용한 약물 전달 수단은, 식 (I)의 화합물,



[0104] (I), 또는 식 (II)의 화합물,



[0105] (II), 또는 식 (III)의 화합물



[0106] (III), 또는 이들의 조합 등을 포함하지만, 이들로 한정되

는 것은 아니며,

[0107] 여기서, W는 아릴, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬, 알케닐, 임의로 치환된 C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> 사이클로알킬 및 임의로 치환된 C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> 헤테로사이클로알킬로 이루어진 군으로부터 선택되며, R은 H 또는 알킬이고, m은 12 내지 24의 정수이다.

[0108] 본 발명의 화합물의 선택적인 종양 표적화의 근간은 대부분의 정상 세포의 원형질 막과 비교하여 암세포의 원형질 막의 차이에 있다. 구체적으로는, 암세포 막에는 "지질 뗏목"이 고도로 농화되어 있다. 암세포는 건강한 세포보다 5배 내지 10배 더 많은 지질 뗏목을 가진다. 지질 뗏목은 콜레스테롤 및 스핑고지질을 고농도로 함유하고 세포 표면 및 세포내 신호전달 분자(예, 성장 인자 및 사이토카인 수용체, 포스포타이로시놀 3-키나제(PI3K)/Akt 생존 경로)를 구조화하는 역할을 하는, 막 인지질 이중층의 특수화된 영역이다. 데이터는, 지질 뗏목이 PLE에 대한 도입구(portals of entry)로서의 역할을 함을 제시한다. 비-암세포와 비교하여 암세포에 대한 이들 화합물의 두드러진 선택성은 암세포에서 콜레스테롤에 대한 PLE의 높은 친화성 및 콜레스테롤-풍부 지질 뗏목의 풍부함으로 인한 것이다. 지질 뗏목에 의해 나타나는 증추적인 역할은, 지질 뗏목 구조의 붕괴가 암세포 내로의 PLE의 흡수를 억제한다는 사실에 의해 강조된다. 지질 뗏목의 형성이 차단된 경우, PLE의 흡수가 60%만큼 감소하는 것으로 나타났다(실시예 2 및 도 1 참조).

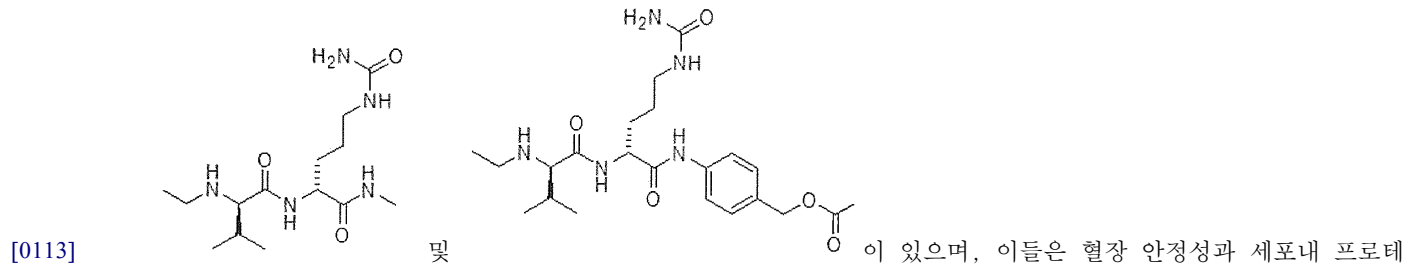
[0109] 55개가 넘는 이중 이식 종양 및 자발성 종양 모델에서 획득된 예비 결과는 일반적으로, CLR1404가 종양에서 선택적 흡수 및 연장된 체류를 수행함을 보여주었다. 상기 제제가 간에서 어느 정도 대사되기 때문에, 본 발명자들은 간에서의 높은 백그라운드 방사성 수준으로 인해 간 종양 모델에서는 사전의 화합물 평가를 피하였다.

[0110] CLR1404는 PLE이다. 다양한 종양 모델들에서 획득된 결과는, CLR1404가 암세포 및 암 줄기세포에 의해 격리되고 선택적으로 보유됨을 가리킨다. 사실상, CLR1404는 암세포에서 20일까지 동안 잔존하는 것으로 나타났다. 도 3을 참조한다. CLR1404는 림프절에서 발견되는 것들을 포함하여 해부학적 위치와는 상관없이 원발성 병변 및 전이성 병변 둘 다에 국소화된다(localize). 실시예 3 내지 실시예 8을 참조한다. CLR1404의 백그라운드에 대한 종양의 높은 친화력(avidity) 및 종양 선택성은, 코어 분자가 항암 약물 전달 수단으로서 사용되기에 적절함을 제시한다.

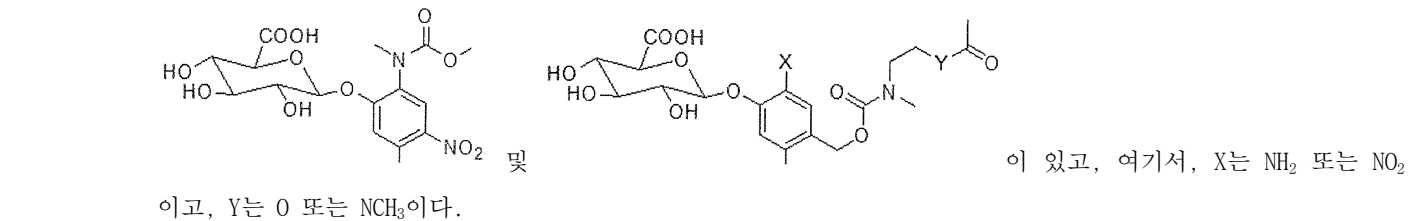
[0111] 본 발명에 유용한 링커 화합물은 본 발명의 약물 전달 수단을 본 발명의 항암 약물에 결합시킬 수 있는 임의의 화학적 링커를 포함한다. 본 발명에 유용한 링커 화합물은 절단형 링커 및 비-절단형 링커를 둘 다 포함한다. 일 실시형태에서, 본 발명에 유용한 링커 화합물은, 아미노부티라미드, 아미노산, 글루타람산(glutaramic acid), 다이카르복실산, 카르복산, 카르보닐, 9,10-안트라센다이카르복실산, 비페닐-3,3',5,5'-테트라카르복실산, 비페닐-3,4',5-트리카르복실산, 5-브로모이소프탈산, 5-시아노-1,3-벤젠다이카르복실산, 2,2'-다이아미노-4,4'-스틸벤다이카르복실산, 2,5-다이아미노테레프탈산, 2,5-다이하이드록시테레프탈산, 5-에티닐-1,3-벤젠다이카르복실산, 2-하이드록시테레프탈산, 이미다졸, 2-메틸이미다졸, 2,6-나프탈렌다이카르복실산, 옥살산 디하이드레이트, 테레프탈산, [1,1':4',1'']터페닐- 3,3'',5,5''-테트라카르복실산, 3,3',5,5'-테트라카르복시다이페닐메탄, 1,2,4,5-테트라키스(4-카르복시페닐)벤젠, 4,4',4''-s-트리아진-2,4,6-트리일-트리벤조산, 트리메스산(trimesic acid), 1,3,5-트리스(4'-카르복시[1,1'-비페닐]-4-일)벤젠, 1,3,5-트리스(4-카르복시페닐)벤젠 및

1,3,5-트리스카르복시페닐에티닐벤젠 등을 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니다.

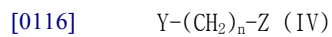
[0112] 또 다른 실시형태에서, 본 발명에 유용한 링커 화합물은 또한, 아닐린-기반 자가-희생(self-immolative) 단편을 가지거나 가지지 않은 리소솜 프로테아제 민감성 링커 등을 포함하지만 이로 한정되는 것은 아니다. 리소솜 프로테아제 민감성 링커의 비제한적인 예로는,



[0114] 또 다른 실시형태에서, 본 발명에 유용한 링커 화합물은 β-글루쿠로니다제에 의해 절단되는 자가-희생 링커 등을 포함하지만, 이로 한정되는 것은 아니다. β-글루쿠로니다제는 암세포를 둘러싼 괴사성 영역에 고농도로 존재한다. 문헌[Tranoy-Opalinski I., β-glucuronidase-responsive prodrugs for selective cancer chemotherapy: An update, *Eur J Med Chem*, 2014 Mar 3, 74, 302-313]을 참조하며, 상기 문헌은 그 전체가 원용에 의해 본 명세서에 포함된다. β-글루쿠로니다제-절단성 자가-희생 링커의 비제한적인 예는,



[0115] 본 발명의 바람직한 링커 화합물은 결합 또는 식 (IV)의 화합물이며,



[0117] 상기 식 (IV)에서,

[0118] Y는 A에 결합되며;

[0119] Z는 D에 결합되며;

[0120] Y는 결합, O, NH, C=O, NHSO<sub>2</sub> 및 OC(=O)O로 이루어진 군으로부터 선택되며;

[0121] Z는 O, NH, C=O, C(=O)O, C(=O)NH, SO<sub>2</sub>, OC(=O)OCH<sub>2</sub> 및 -S-S-로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0122] n은 0 내지 6의 정수이다.

[0123] 본 발명의 보다 바람직한 링커 화합물은 결합, 또는 n이 0 내지 6의 정수이고, Y가 A에 결합되며, Z가 D에 결합되며, Y가 결합 및 C=O로 이루어진 군으로부터 선택되고, Z가 NH, C=O, C(=O)NH 및 C(=O)O로 이루어진 군으로부터 선택되는 식 (IV)의 화합물이다.

[0124] 본 발명에 유용한 항암 약물은, 파클리탁셀, 이리노테칸, 토포테칸, 겐시타빈, 시스플라틴, 젤다나마이신, 머탄신, 아비라테론(abiraterone), 아파티닙(afatinib), 아미노레블린산, 아프레피탄트(aprepitant), 악시티닙(axitinib), 아자시티딘(azacitidine), 벨리노스탯(belinostat), 벤다무스틴(bendamustine), 벅사로텐(bexarotene), 블레오마이신(bleomycin), 보르테조미, 보수티닙(bosutinib), 부술판, 카바지탁셀(cabazitaxel), 카보잔티닙(cabozantinib), 카페시타빈(capecitabine), 카르보플라틴, 카르필조미(carfilzomib), 카무스틴(carmustine), 세리티닙(ceritinib), 세톡시맵(cetuximab), 클로람부실(chlorambucil), 클로파라빈(clofarabine), 크리조티닙(crizotinib), 사이클로포스파미드, 시타라빈

(cytarabine), 다브라페닙(dabrafenib), 다카르바진(dacarbazine), 닥티노마이신(dactinomycin), 다사티닙(dasatinib), 다우노루비신(daunorubicin), 데시타빈(decitabine), 데노수맙(denosumab), 텍스라족산(dexrazoxane), 도세탁셀, 돌라스타틴(dolastatin)(예, 모노메틸 아우리스타틴 E), 독소루비신(doxorubicin), 엔잘루타미드(enzalutamide), 에피루비신(epirubicin), 에리볼린 메실레이트(eribulin mesylate), 에를로티닙(erlotinib), 에토포사이드, 에베롤리무스(everolimus), 플록수리딘(floxuridine), 플루다라빈 포스페이트(fludarabine phosphate), 플루오로우라실, 가네테스킵(ganetespib), 게피티닙, 겐투주맙 오조가미신(gemtuzumab ozogamicin), 헥사메틸멜라민, 하이드록시우레아, 이브리투모맙 티옥세탄(ibritumomab tiuxetan), 이브리티닙(ibrutinib), 이델랄리십(idelalisib), 이포스파미드, 이마티닙, 이필리무맙(ipilimumab), 익사베필론(ixabepilone), 라파티닙(lapatinib), 류코보린 칼슘(leucovorin calcium), 로무스틴(lomustine), 메이탄시노이드(maytansinoid), 메클로레타민(mechlorethamine), 멜팔란(melphalan), 머캅토포린, 메스나(mesna), 메트트렉세이트, 미토마이신 C, 미토탄(mitotane), 미톡산트론(mitoxantrone), 넬라라빈(nelarabine), 넬피나비르(nelfinavir), 닐로티닙(nilotinib), 오비누투주맙(obinutuzumab), 오파투무맙(ofatumumab), 오마세탁신 메페속시네이트(omacetaxine mepesuccinate), 옥살리플라틴(oxaliplatin), 파니투무맙(panitumumab), 파조파닙(pazopanib), 페가스파가제(pegaspargase), 펌브롤리주맙(pembrolizumab), 페메트렉세드, 펜토스타틴(pentostatin), 페르투주맙(pertuzumab), 플리카나이신(plicancin), 포말리도마이드(pomalidomide), 포나티닙 하이드로클로라이드(ponatinib hydrochloride), 프랄라트렉세이트(pralatrexate), 프로카바진(procarbazine), 라툼 223 다이클로라이드, 라무시루맙(ramucirumab), 레고라페닙(regorafenib), 레타스피마이신(retaspimycin), 룩솔리티닙(ruxolitinib), 세무스틴(semustine), 실투시맙(siltuximab), 소라페닙(sorafenib), 스트렙토조신(streptozocin), 수니티닙 말레이트, 타네스피마이신(tanespimycin), 테모졸로마이드(temozolomide), 템시롤리무스(temsirolimus), 테니포사이드, 탈리도마이드(thalidomide), 티오구아닌, 티오테파(thiotepa), 토레미펜(toremifene), 트라메티닙(trametinib), 트라스투주맙(trastuzumab), 반데타닙(vandetanib), 베무라페닙(vemurafenib), 빈블라스틴(vinblastine), 빈크리스틴(vincristine), 비노렐빈(vinorelbine), 비스모데깁(vismodegib), 보리노스탯(vorinostat) 및 지브-아플리베르셉트(ziv-aflibercept) 등을 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니다. 현재 공지되어 있거나 또는 항암 약물로서 작용할 수 있는 임의의 화합물 또한, 본 발명에 유용하다.

[0125] 본 발명의 PLE 약물 전달 수단은 단독으로 또는 다수로, 임의의 수의 가능한 안정한 부착 부위에서 링커 화합물을 통해 또는 직접적으로 항암 약물에 부착될 수 있다.

[0126] 본 발명의 조성물

[0127] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본 발명의 화합물을 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 담체와 조합하여 함유하는 약학적 조성물을 제공한다. 바람직한 양태에서, 약학적 조성물에는 Kolliphor® EL(Kolliphor는 BASF SE사의 등록된 상표명임)이 없다. Kolliphor® EL은 이전에 Cremophor® EL(Cremophor는 BASF SE사의 등록된 상표명임)로서 알려져 있다.

[0128] 본 발명의 치료 조성물 내 활성 성분의 실제 투약 수준은, 특정한 환자, 조성물 및 투여 방식에 대해 요망되는 치료적 반응을 달성하기에 효과적인, 활성 화합물(들)의 양을 수득하도록 변할 수 있다. 선별된 투약 수준은 특정한 화합물의 활성, 투여 경로, 치료를 받는 병태의 중증도, 및 치료를 받는 환자의 병태 및 과거 병력에 따라 다를 것이다. 그러나, 요망되는 치료 효과를 달성하는 데 필요한 것보다 더 낮은 수준에서 화합물의 투여량을 시작하고, 요망되는 효과가 달성될 때까지 투약량을 점차 증가시키는 것은 당업자의 기량 내에 있다.

[0129] 본 발명의 화합물의 "치료적 유효량"이라는 구는, 임의의 의학적 치료에 적용가능한 합리적인 위험편익비(benefit/risk ratio)에서 장애를 치료하기에 충분한 상기 화합물의 양을 의미한다. 그러나, 본 발명의 화합물 및 조성물의 총 일일 사용량은 타당한 의학적 판단 범위 내에서 담당의에 의해 결정될 것으로 이해될 것이다. 임의의 특정한 환자에 대한 구체적인 치료적 유효 투여량 수준은, 치료를 받는 장애 및 상기 장애의 중증도; 이용되는 특정 화합물의 활성; 이용되는 특정 조성물; 환자의 연령, 체중, 일반적인 건강상태, 성별 및 식이요법; 이용되는 특정 화합물의 투여 시간, 투여 경로 및 배출 속도; 치료 기간; 이용되는 특정 화합물과 조합되거나 동시에 사용되는 약물; 및 의학 분야에 잘 알려진 유사 인자들을 포함한 다양한 인자들에 따라 다를 것이다. 예를 들어, 요망되는 치료 효과를 달성하는 데 필요한 것보다 더 낮은 수준에서 화합물의 투여량을 시작하고, 요망되는 효과가 달성될 때까지 투약량을 점차 증가시키는 것은 당업자의 기량 내에 있다.

[0130] 인간 또는 하등 동물에게 투여되는 본 발명의 화합물의 총 일일 투여량은 약 0.0001 mg/kg/day 내지 약 1000 mg/kg/day의 범위일 수 있다. 경구 투여를 위해, 보다 바람직한 투여량은 약 0.001 mg/kg/day 내지 약 5

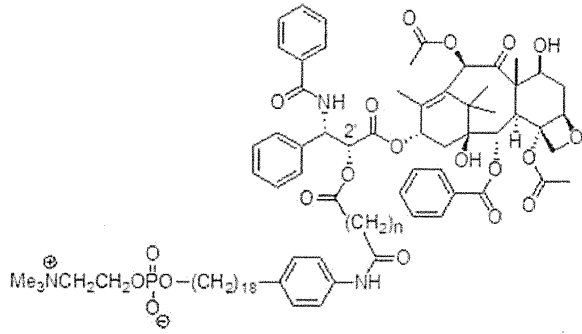
mg/kg/day의 범위일 수 있다. 요망된다면, 유효 일일 투여량은 투여를 위해 다수의 투여량으로 나뉘질 수 있으며; 결과적으로, 단일 투여량 조성물은 이러한 양 또는 이의 하위다수량(submultiple)을 함유하여, 일일 투여량을 이룰 수 있다.

- [0131] 본 발명은 또한, 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 담체와 함께 제형화된 본 발명의 화합물을 포함하는 약학적 조성물을 제공한다. 약학적 조성물은 고체 형태 또는 액체 형태의 경구 투여용, 비경구 투여용 또는 직장 투여용으로 특수하게 제형화될 수 있다.
- [0132] 본 발명의 약학적 조성물은 인간 및 다른 포유류에 경구, 직장내, 비경구, 수조내(intracisternally), 질내, 경피(예, 패치 사용), 경점막, 설하, 폐내, 복강내, 국소(분말, 연고 또는 점적액으로서), 협측(bucally) 투여되거나, 경구 또는 비내 스프레이로서 투여될 수 있다. 본원에 사용된 용어 "비경구" 또는 "비경구로"는 정맥내, 근육내, 복강내, 흉골내(intrasternal), 피하 및 관절내 주사 및 주입을 포함한 투여 방식을 지칭한다.
- [0133] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본 발명의 구성성분 및 생리학적으로 용인가능한 희석제를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다. 본 발명은, 특히 비경구 주사용, 비내 전달용, 고체 형태 또는 액체 형태의 경구 투여용, 직장 투여용 또는 국소 투여용의, 본원에서 희석제로서 총칭되는 하나 이상의 생리학적으로 용인가능하거나 허용가능한 희석제, 담체, 보조제 또는 운송수단과 함께 조성물로 제형화된 상기 기재된 바와 같은 하나 이상의 화합물을 포함한다.
- [0134] 비경구 주사에 적합한 조성물은 생리학적으로 허용가능한, 멸균된 수성 또는 비수성 용액, 분산액, 현탁액 또는 에멀전, 및 멸균 주사용 용액 또는 분산액으로 재구성되기 위한 멸균 분말을 포함할 수 있다. 적합한 수성 및 비수성 담체, 희석제, 용매 또는 전달수단의 예는, 물, 에탄올, 폴리올(프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 글리세롤 등), 식물성 오일(예, 올리브 오일), 주사용 유기 에스테르, 예컨대 에틸 올레에이트 및 이들의 적합한 혼합물이 있다.
- [0135] 이들 조성물은 또한, 보존제, 습윤제, 유화제 및 분배제(dispensing agent)와 같은 보조제를 함유할 수 있다. 미생물 작용의 예방은 다양한 항균제 및 항진균제, 예를 들어 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 소르브산 등에 의해 보장될 수 있다. 또한, 등장화제, 예를 들어 당류, 소듐 클로라이드 등을 포함하는 것이 바람직할 수 있다. 주사용 약학적 형태의 연장된 흡수는 흡수 지연제, 예를 들어 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴의 사용에 의해 유도될 수 있다.
- [0136] 활성 화합물 외에도 현탁액은 현탁화제, 예를 들어, 에톡실화된 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 및 소르비탄 에스테르, 미세결정질 셀룰로스, 알루미늄 메타하이드록사이드, 벤토나이트, 아가-아가(agar-agar) 및 트라가칸트 또는 이들 성분의 혼합물 등을 함유할 수 있다.
- [0137] 주사용 데포트 형태는 생분해성 중합체, 예컨대 폴리락타이드-폴리글리콜라이드에서 약물의 마이크로인캡슐(microencapsule) 매트릭스를 형성함으로써 제조된다. 중합체에 대한 약물의 비율 및 이용되는 특정 중합체의 성질에 따라, 약물 방출 속도는 제어될 수 있다. 다른 생분해성 중합체의 예는, 폴리(오르토에스테르) 및 폴리(무수물)이 있다. 데포트 주사용 제형은 또한, 신체 조직과 상용성인 리포솜 또는 마이크로에멀전 내에 약물을 가둠으로써 제조된다.
- [0138] 주사용 제형은 예를 들어, 박테리아-포착(retaining) 필터를 통한 여과에 의해 멸균되거나, 또는 사용 직전에 멸균수 또는 다른 멸균 주사용 배지에 용해 또는 분산될 수 있는 멸균 고체 조성물 형태의 멸균제를 혼입함으로써 멸균될 수 있다.
- [0139] 경구 투여용 고체 투약량 형태는, 캡슐, 정제, 알약, 분말 및 과립이 있다. 이러한 고체 투약량 형태에서, 활성 화합물은 적어도 하나의 불활성, 약학적으로 허용가능한 부형제 또는 담체, 예컨대 소듐 시트레이트 또는 다이칼슘 포스페이트 및/또는 a) 충전제 또는 증량제(extender), 예컨대 전분, 락토스, 수크로스, 글루코스, 만니톨 및 규산; b) 결합제, 예컨대 카르복시메틸셀룰로스, 알기네이트, 젤라틴, 폴리비닐피롤리돈, 수크로스 및 아카시아; c) 보습제, 예컨대 글리세롤; d) 붕괴제, 예컨대 아가-아가, 칼슘 카르보네이트, 감자 또는 타피오카 전분, 알긴산, 소정의 실리케이이트 및 소듐 카르보네이트; e) 용액 지연제(solution retarding agent), 예컨대 파라핀; f) 흡수 가속화제, 예컨대 4차 암모늄 화합물; g) 습윤제, 예컨대 세틸 알코올 및 글리세롤 모노스테아레이트; h) 흡수제, 예컨대 카올린 및 벤토나이트 클레이, 및 i) 윤활제, 예컨대 탈크, 칼슘 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 고체 폴리에틸렌 글리콜, 소듐 라우릴 설페이트 및 이들의 혼합물과 혼합될 수 있다. 캡슐, 정제 및 알약의 경우, 투약량 형태는 또한, 완충제를 포함할 수 있다.
- [0140] 유사한 유형의 고체 조성물은 또한, 락토스 또는 유당과 같은 부형제뿐만 아니라 고분자량 폴리에틸렌 글리콜

등을 사용하여 연결-충전된 젤라틴 캡슐 및 경질-충전된 젤라틴 캡슐에서 충전제로서 이용될 수 있다.

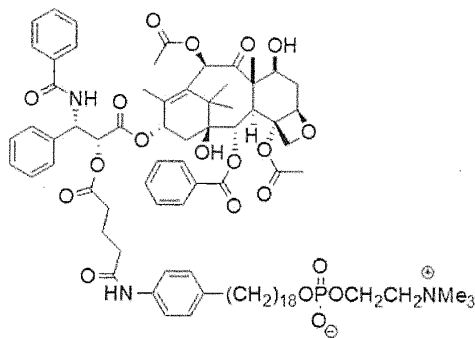
- [0141] 정제, 당제(dragee), 캡슐, 알약 및 과립의 고체 투약량 형태는 코팅 및 셸, 예컨대 장용 코팅(enteric coating) 및 약학적 제형 분야에 잘 알려진 다른 코팅과 함께 제조될 수 있다. 이러한 투약량 형태들은 선택적으로, 불투명화제를 함유할 수 있고, 장관(intestinal tract)의 소정의 부분에서 활성 성분(들)을 단독으로 또는 우선적으로, 선택적으로는 지연된 방식으로 방출시키는 조성물일 수 있다. 사용될 수 있는 포매 조성물(embedding composition)의 예는, 중합체 성분 및 왁스가 있다.
- [0142] 활성 화합물은 또한, 적절하다면 상기 언급된 부형제들 중 하나 이상과 함께 마이크로-캡슐화된 형태로 존재할 수 있다.
- [0143] 경구 투여용 액체 투약량 형태는, 약학적으로 허용가능한 예멀전, 용액, 현탁액, 시럽 및 엘릭서가 있다. 활성 화합물 외에도, 액체 투약량 형태는 당업계에서 보편적으로 사용되는 불활성 희석제, 예컨대 물 또는 다른 용매, 가용화제 및 유화제, 예컨대 에틸 알코올, 이소프로필 알코올, 에틸 카르보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸렌 글리콜, 다이메틸 포름아미드, 오일(특히, 면실유, 땅콩유, 옥수수유, 배아유, 올리브유, 피마자유 및 참기름), 글리세롤, 테트라하이드로푸르푸릴 알코올, 폴리에틸렌 글리콜, 소르비탄의 지방산 에스테르 및 이들의 혼합물을 함유할 수 있다.
- [0144] 불활성 희석제 외에도, 경구 조성물은 또한, 보조제, 예컨대 습윤제, 유화제, 현탁화제, 감미제, 풍미제 및 방향제를 포함할 수 있다.
- [0145] 직장 투여용 조성물 또는 질 투여용 조성물은 바람직하게는, 본 발명의 화합물을 적합한 비-자극성 부형제 또는 담체, 예컨대 코코아 버터, 폴리에틸렌 글리콜 또는 좌제 왁스와 혼합함으로써 제조될 수 있는 좌제이며, 이러한 좌제는 실온에서는 고체이지만 체온에서 액체이고, 따라서, 직장 또는 질 강(cavity)에서 용융되어, 활성 화합물을 방출시킨다.
- [0146] 본 발명의 화합물은 또한, 리포솜 형태로 투여될 수 있다. 당업계에 알려진 바와 같이, 리포솜은 일반적으로 인지질 또는 다른 지질 성분으로부터 유래된다. 리포솜은 수성 배지 내에 분산되는 모노-라멜라(mono-lamellar) 또는 멀티-라멜라 수화된 액체 결정에 의해 형성된다. 리포솜을 형성할 수 있는 임의의 생리학적으로 허용가능하고 대사가능한 지질이 사용될 수 있다. 리포솜 형태의 본 조성물은 본 발명의 화합물 외에도, 안정화제, 보존제, 부형제 등을 함유할 수 있다. 바람직한 지질은 개별적으로 또는 함께 사용되는 천연 및 합성 인지질 및 포스파티딜 콜린(레시틴)이다. 리포솜의 형성 방법은 당업계에 알려져 있다. 예를 들어, 문헌[Prescott, Ed., *Methods in Cell Biology*, Volume XIV, Academic Press, New York, N.Y. (1976), p. 33 *et seq*]을 참조한다. 이러한 조성물은 물리적 상태, 용해성, 안정성, 생체내 방출 속도 및 생체내 청소 속도(rate of *in vivo* clearance)에 영향을 미칠 것이다.
- [0147] 본 발명의 일 방법에서, 약학적 조성물은 제어된 방출 시스템에서 전달될 수 있다. 예를 들어, 제제는 정맥내 주입, 이식가능한 삼투 펌프, 경피 패치, 리포솜 또는 다른 투여 방식을 사용하여 투여될 수 있다. 일 실시형태에서, 펌프가 사용될 수 있다(상기 Langer; 문헌[Sefton, *CRC Crit. Ref. Biomed. Eng.* 14:201 (1987); Buchwald et al., *Surgery* 88:507 (1980); Saudek et al., *N. Engl. J. Med.* 321:574 (1989)] 참조). 또 다른 실시형태에서, 중합체성 물질이 사용될 수 있다. 보다 다른 실시형태에서, 제어된 방출 시스템은 치료 표적, 예를 들어 간과 근접하게 위치될 수 있으며, 따라서, 전신 투여량의 일부만 필요로 할 수 있다(예, 문헌[Goodson, in *Medical Applications of Controlled Release*, supra, vol. 2, pp. 115-138 (1984)] 참조). 다른 제어된 방출 시스템들은 Langer에 의한 리뷰에 고찰되어 있다(문헌[*Science* 249:1527-1533 (1990)]).
- [0148] 또 다른 양태에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 화합물을 대상에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상에서의 질환 또는 병태의 치료 방법에 관한 것이다.
- [0149] 일반적으로, 본 발명은 임의의 특정 질환 또는 병태의 치료에 한정되지 않지만, 질환 또는 병태의 메커니즘이 본 발명의 화합물에 의해 영향을 받을 수 있는 임의의 질환 또는 병태의 치료를 수반한다.
- [0150] 대표적인 실시형태
- [0151] 파클리탁셀-CLR1404 컨쥬게이트
- [0152] 본 발명의 일 실시형태에서, 치료 화합물은 다이카르복실산 링커에 의해 CLR1404 코어 화합물에 연결된 파클리탁셀이며, 여기서, 다이카르복실산 링커는 아마이드 결합을 통해 CLR1404 코어 화합물에 부착되고, 2'-OH 기에서

에스테르 결합을 통해 파클리탁셀에 부착된다.



[0153]

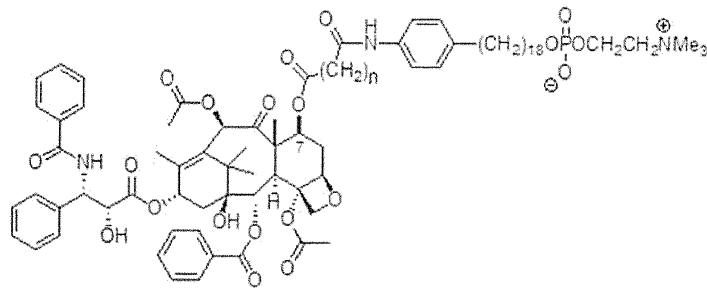
[0154] 본 발명의 바람직한 실시형태에서, 치료 화합물은 글루타람산 링커에 의해 CLR1404 코어 화합물에 연결된 파클리탁셀이며, 여기서, 글루타람산 링커는 아마이드 결합을 통해 CLR1404 코어 화합물에 부착되고, 2'-OH 기에서 에스테르 결합을 통해 파클리탁셀에 부착된다.



[0155]

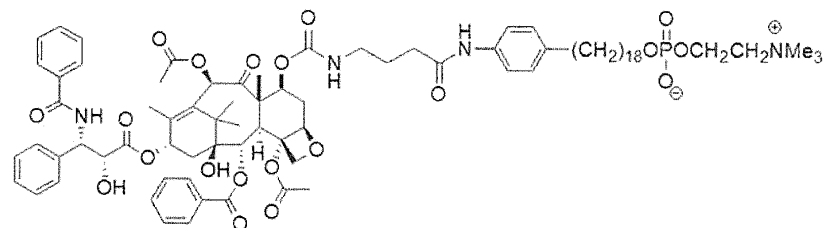
CLR1601 컨쥬게이트

[0156] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 치료 화합물은 다이카르복실산 링커에 의해 CLR1404 코어 화합물에 연결된 파클리탁셀이며, 여기서, 다이카르복실산 링커는 아마이드 결합을 통해 CLR1404 코어 화합물에 부착되고, 7-OH 기에서 에스테르 결합을 통해 파클리탁셀에 부착된다.



[0157]

[0158] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 치료 화합물은 카르복산 링커에 의해 CLR1404 코어 화합물에 연결된 파클리탁셀이며, 여기서, 카르복산 링커는 아마이드 결합을 통해 CLR1404 코어 화합물에 부착되고, 7-OH 기에서 에스테르 결합을 통해 파클리탁셀에 부착된다.

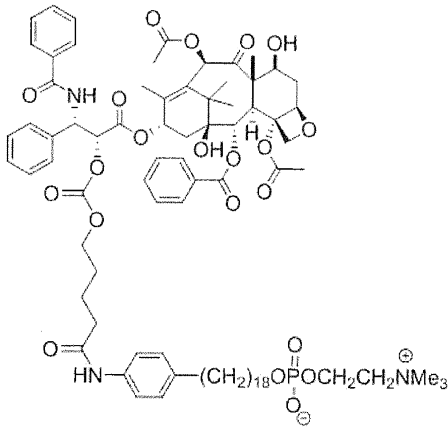


CLR1602

[0159] 컨쥬게이트

[0160] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 치료 화합물은 카르보닉-카르복실산 링커에 의해 CLR1404 코어 화합물에 연결

된 파클리탁셀이며, 여기서, 카르보닉-카르복실산 링커는 아마이드 결합을 통해 CLR1404 코어 화합물에 부착되고, 7-OH 기에서 에스테르 결합을 통해 파클리탁셀에 부착된다.

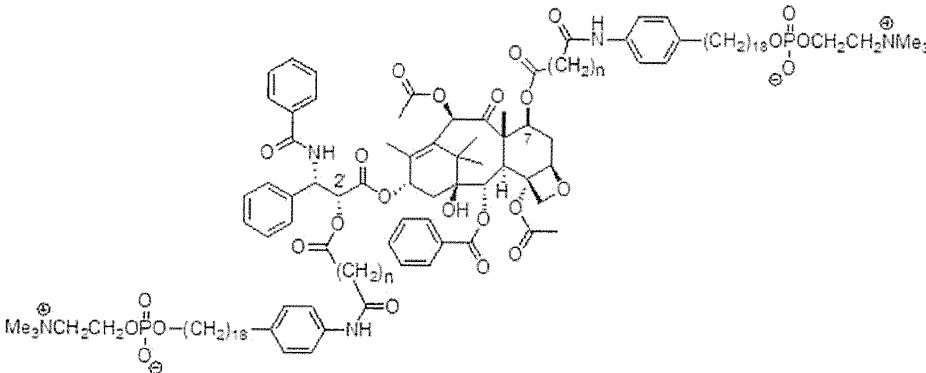


CLR1603 컨쥬게이트

[0161]

[0162]

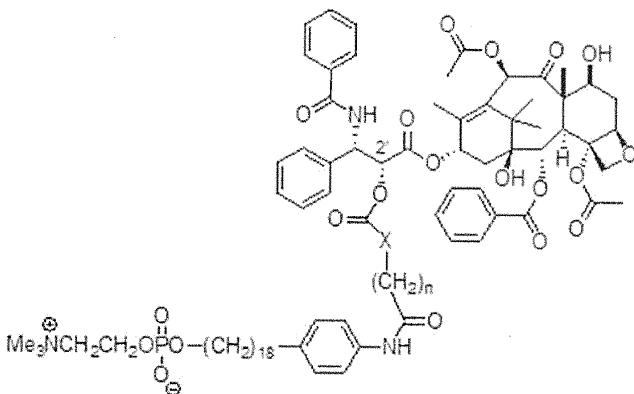
본 발명의 또 다른 실시형태에서, 치료 화합물은 다이카르복실산 링커들에 의해 2개의 CLR1404 코어 화합물들에 연결된 파클리탁셀이며, 여기서, 다이카르복실산 링커들은 아마이드 결합을 통해 CLR1404 코어 화합물들에 부착되고, 2'-OH 기 및 7-OH 기 둘 다에서 에스테르 결합을 통해 파클리탁셀에 부착된다.



[0163]

[0164]

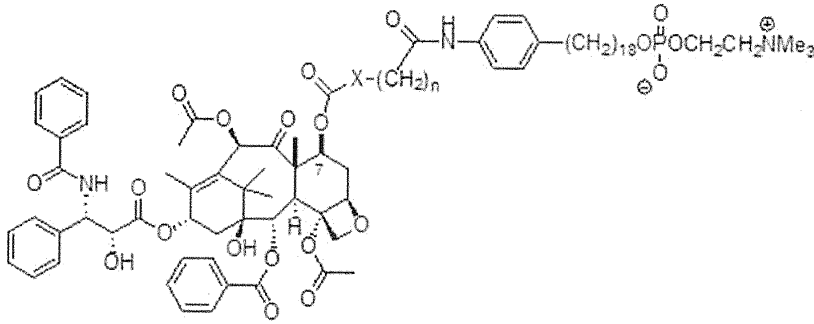
본 발명의 또 다른 실시형태에서, 치료 화합물은 다이카르복실산 링커에 의해 CLR1404 코어 화합물에 연결된 파클리탁셀이며, 여기서, 다이카르복실산 링커는 아마이드 결합을 통해 CLR1404 코어 화합물에 부착되고, 2'-OH 기에서 카르보네이트 결합 또는 카르바메이트 결합을 통해 파클리탁셀에 부착된다.



[0165]

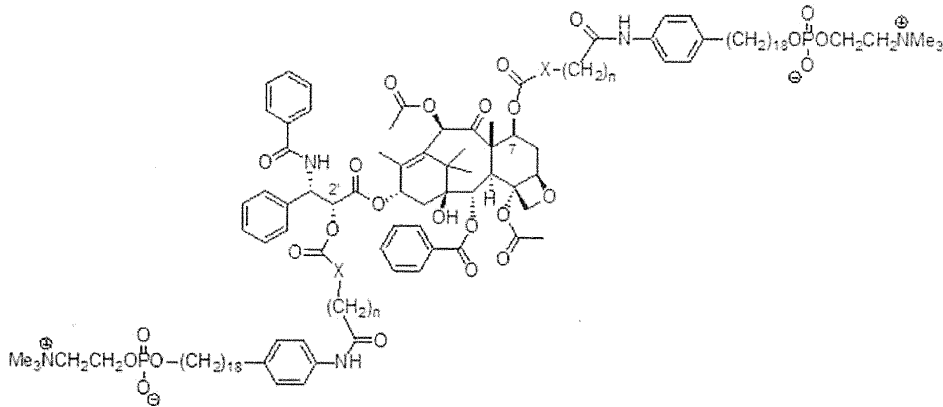
[0166]

본 발명의 또 다른 실시형태에서, 치료 화합물은 다이카르복실산 링커에 의해 CLR1404 코어 화합물에 연결된 파클리탁셀이며, 여기서, 다이카르복실산 링커는 아마이드 결합을 통해 CLR1404 코어 화합물에 부착되고, 7-OH 기에서 카르보네이트 결합 또는 카르바메이트 결합을 통해 파클리탁셀에 부착된다.



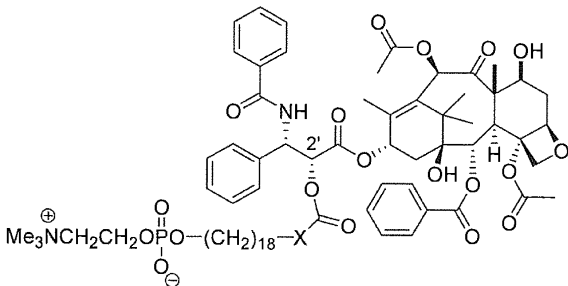
[0167]

[0168] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 치료 화합물은 다이카르복실산 링커들에 의해 2개의 CLR1404 코어 화합물들에 연결된 파클리탁셀이며, 여기서, 다이카르복실산 링커들은 아마이드 결합을 통해 2개의 CLR1404 코어 분자들에 부착되고, 2'-OH 기 및 7-OH 기 둘 다에서 카르보네이트 결합 또는 카르바메이트 결합을 통해 파클리탁셀에 부착된다.



[0169]

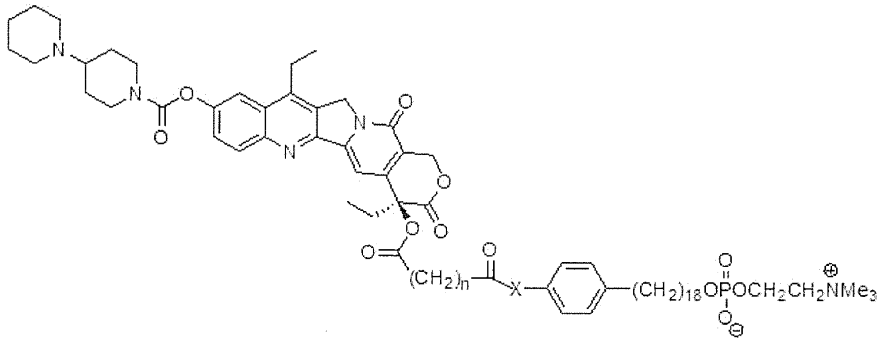
[0170] 본 발명의 일 실시형태에서, 치료 화합물은 카르복실릭 링커에 의해 C<sub>18</sub> 알킬 포스포콜린 화합물에 연결된 파클리탁셀이며, 여기서, 카르복실릭 링커는 아마이드 결합 또는 카르보네이트 결합을 통해 C<sub>18</sub> 알킬 포스포콜린 화합물에 부착되고, 2'-OH 기에서 카르보네이트 결합 또는 카르바메이트 결합을 통해 파클리탁셀에 부착된다.



[0171]

[0172] *이리노테칸-CLR1404 컨쥬게이트*

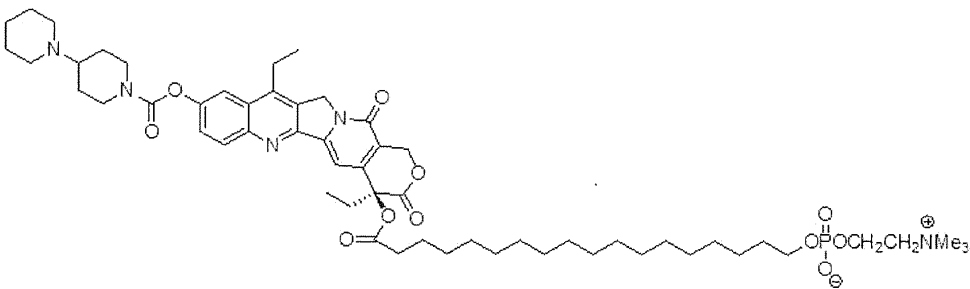
[0173] 본 발명의 일 실시형태에서, 치료 화합물은 다이카르복실산 링커에 의해 CLR1404 코어 화합물에 연결된 이리노테칸이며, 여기서, 다이카르복실산 링커는 카르보네이트 결합 또는 카르바메이트 결합을 통해 CLR1404 코어 화합물에 부착되고, 에스테르 결합을 통해 이리노테칸에 부착된다.



[0174]

[0175] *이리노테칸-C18 알킬 포스포콜린 컨쥬게이트*

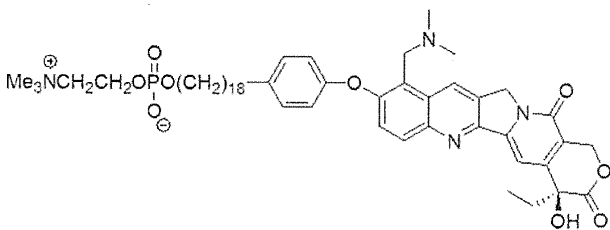
[0176] 본 발명의 일 실시형태에서, 치료 화합물은 카르보닐 링커에 의해 C<sub>18</sub> 알킬 포스포콜린 화합물에 연결된 이리노테칸이며, 여기서, 카르보닐 링커는 탄소-탄소 결합을 통해 C<sub>18</sub> 알킬 포스포콜린 화합물에 부착되고, 에스테르 결합을 통해 이리노테칸에 부착된다.



[0177]

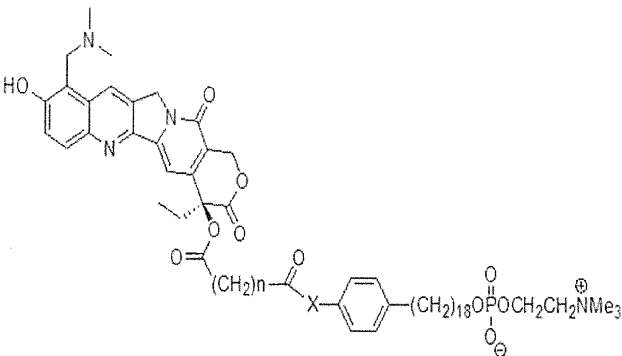
[0178] *토포테칸-CLR1404 컨쥬게이트*

[0179] 본 발명의 일 실시형태에서, 치료 화합물은 비-가수분해성 페닐 에테르에 의해 CLR1404 코어 화합물에 연결된 토포테칸이다.



[0180]

[0181] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 치료 화합물은 다이카르복실산 링커에 의해 CLR1404 코어 화합물에 연결된 토포테칸이며, 여기서, 다이카르복실산 링커는 카르보네이트 결합 또는 카르바메이트 결합을 통해 CLR1404 코어 화합물에 부착되고, 에스테르 결합을 통해 토포테칸에 부착된다.

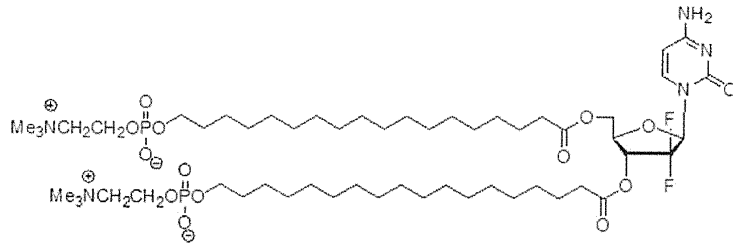


[0182]

[0183] *캠시타빈-C18 알킬 포스포콜린 컨쥬게이트*

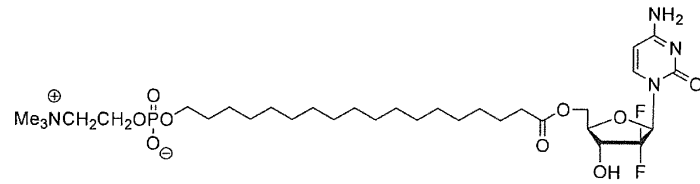
[0184] 본 발명의 일 실시형태에서, 치료 화합물은 카르보닐 링커들에 의해 2개의 C<sub>18</sub> 알킬 포스포콜린 화합물들에 연

결된 겐시타빈이며, 여기서, 카르보닐 링커들은 탄소-탄소 결합을 통해 C18 알킬 포스포콜린 화합물들에 부착되고, 에스테르 결합을 통해 겐시타빈에 부착된다.



[0185]

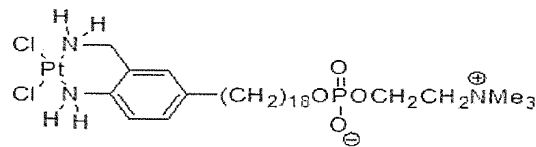
[0186] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 치료 화합물은 카르보닐 링커에 의해 C18 알킬 포스포콜린 화합물에 연결된 겐시타빈이며, 여기서, 카르보닐 링커는 탄소-탄소 결합을 통해 C18 알킬 포스포콜린 화합물에 부착되고, 에스테르 결합을 통해 겐시타빈에 부착된다.



[0187]

[0188] 시스플라틴-CLR1404 코어 컨쥬게이트

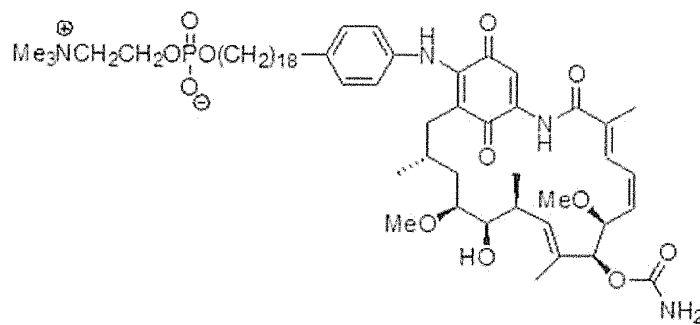
[0189] 본 발명의 일 실시형태에서, 치료 화합물은 CLR1404 코어 화합물에 직접 연결된 시스플라틴이다.



[0190]

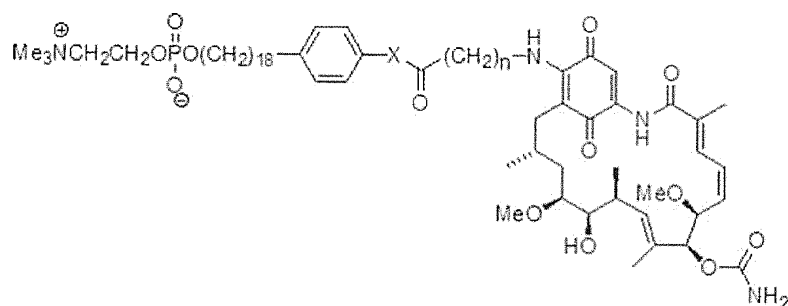
[0191] 겐다나마이신-CLR1404 컨쥬게이트

[0192] 본 발명의 일 실시형태에서, 치료 화합물은 CLR1404 코어 화합물에 직접 연결된 겐다나마이신이다.



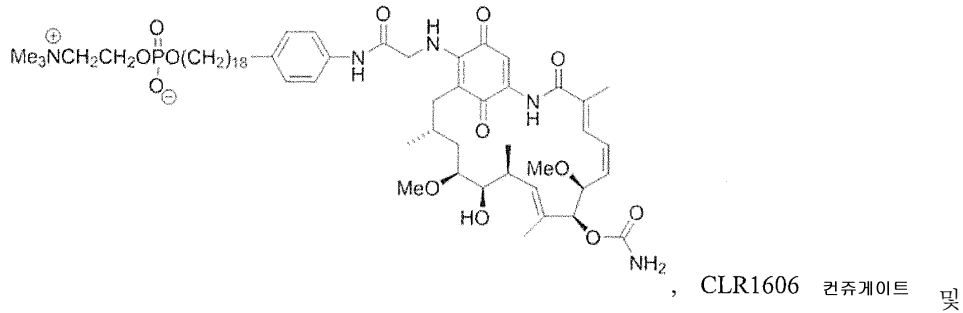
[0193]

[0194] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 치료 화합물은 짧은 아미노산 링커에 의해 CLR1404 코어 화합물에 연결된 겐다나마이신이며, 여기서, 아미노산 링커는 카르보네이트 결합 또는 카르바메이트 결합을 통해 CLR1404 코어 화합물에 연결되고, 아마이드 결합을 통해 겐다나마이신에 연결된다.

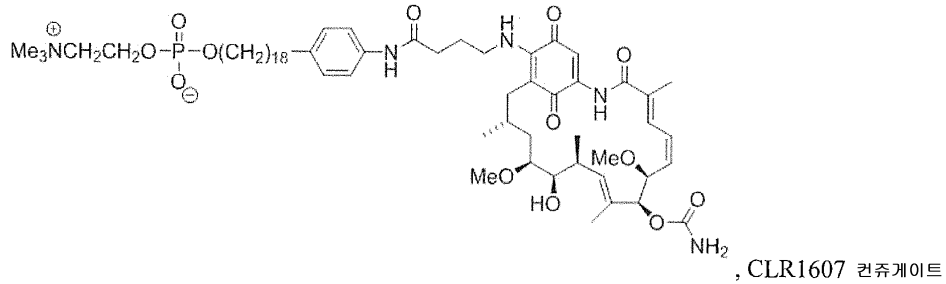


[0195]

[0196] 본 발명의 바람직한 실시형태에서, 치료 화합물은 아미노부티라미드 링커에 의해 CLR1404 코어 화합물에 연결된 겔다나마이신이며, 여기서, 아미노부티라미드 링커는 카르바메이트 결합을 통해 CLR1404 코어 화합물에 연결되고, 아마이드 결합을 통해 겔다나마이신에 연결된다.



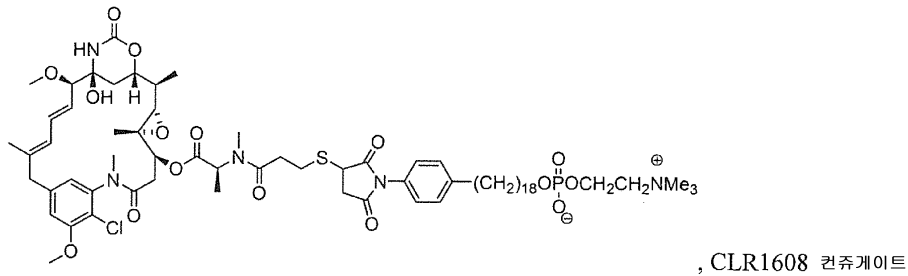
[0197]



[0198]

[0199] *머탄신-CLR1404 컨쥬게이트*

[0200] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 치료 화합물은 말레이미드 링커에 의해 CLR1404 코어 화합물에 연결된 머탄신이며, 여기서, 말레이미드 링커는 아마이드 결합을 통해 CLR1404 코어 화합물에 부착되고, 탄소-황 결합을 통해 머탄신에 부착된다.

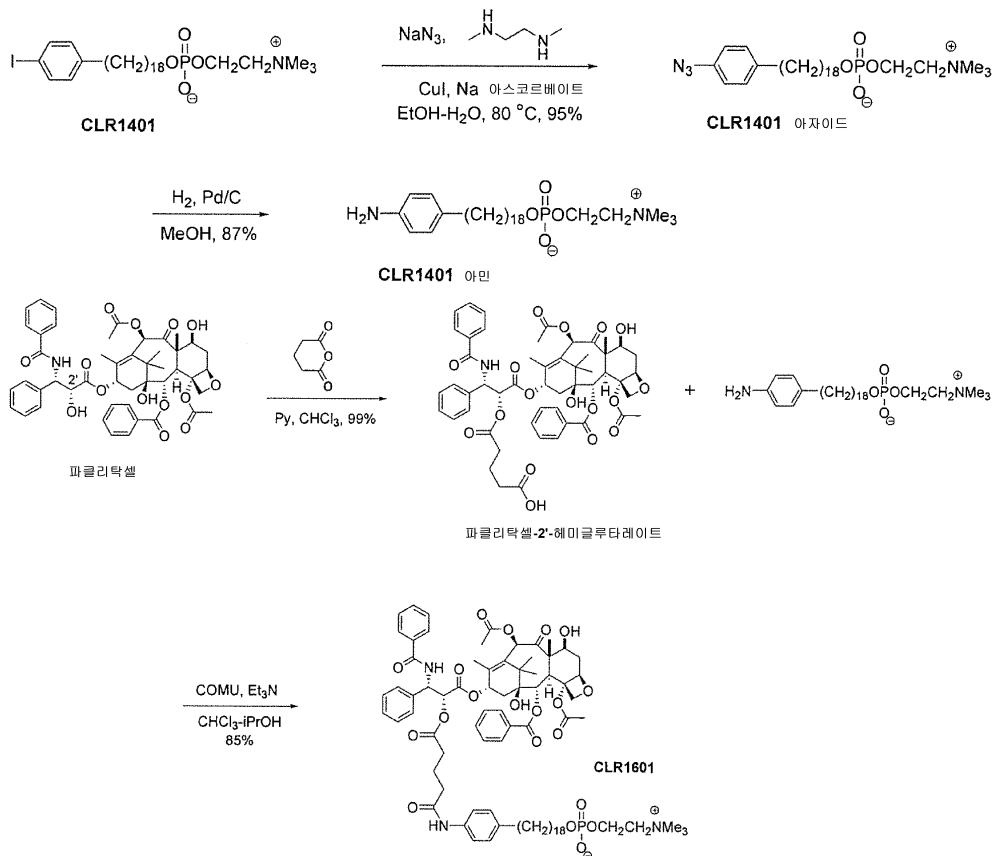


[0201]

[0202] 모든 대표적인 실시형태들에서, n은 2 내지 6의 정수이고, X는 O 또는 NH이다.

[0203] 실시예

[0204] 실시예 1-퀸슈게이트의 합성



[0205]

[0206] I. CLR1601의 합성

[0207] A. CLR1401 아자이드의 합성

[0208] 18-(p-요오도페닐)옥타데실 포스포콜린(4.01 g, 6.3 mmol), 소듐 아자이드(818 mg, 12.6 mmol) 및 소듐 아스코르베이트(140 mg, 0.71 mmol)를 반응 용기 내에서, 탈기된 에탄올(28 ml)과 물(12 ml)의 혼합물에 용해시켰다. 요오드화구리 (I) (120 mg, 0.63 mmol) 및 N,N'-다이메틸-에틸렌디아민(0.1 ml, 0.94 mmol)을 반응 혼합물에 첨가하였다. 반응 용기를 단단히 닫고, 상기 혼합물을 80°C에서 45분 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 물(60 ml)을 첨가하고, 상기 혼합물을 공기중에 개방한 채 30분 동안 교반하였다. 혼합물을 분별 깔때기로 옮기고, 클로로포름(80 ml) 및 메탄올(52 ml)을 첨가하고, 흔들어서 추출을 수행하였다. 클로로포름 층을 제거하고, 추출을 반복하였다(2 x 80 ml의 클로로포름). 조합된 클로로포름 추출물들을 0.01 N HCl로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 사용하여 건조한 다음, 여과하고, 증발 건조하였다. 잔여물을 클로로포름(4 ml)에 용해시키고, 아세톤(170 ml)을 교반하면서 서서히 첨가하였다. 혼합물을 30분 동안 교반하고, 여과하였다. 산물을 필터 상에서 아세톤을 사용하여 행구고, 고 진공 하에 건조하여, 18-(p-아지도페닐)옥타데실 포스포콜린 3.31 g(95%)을 수득하였다.

[0209] B. CLR1401 아민의 합성

[0210] 18-(p-아지도페닐)옥타데실 포스포콜린(3.116 g)을 파르 압력 병(Parr pressure bottle)에 넣고, 메탄올(30 ml) 및 촉매 10% Pd/C(100 mg)를 첨가하였다. 수소화 반응을 수소 압력(55 psi) 하에 흔들면서 24시간 동안 수행하였다. 상기 병을 감압시키고, 클로로포름 및 메탄올을 첨가하여, 침전된 일부 반응 산물을 용해시키고, 혼합물을 여과하여, 촉매를 제거하였다. 여과물을 증발 건조하고, 잔여물을 따뜻한 클로로포름-메탄올(1:1) 혼합물 (10 ml)에서 용해시켰다. 뜨거운 아세톤(150 ml)을 교반하면서 서서히 첨가하고, 상기 혼합물을 주위 온도까지 교반하면서 냉각시키고, 여과하였다. 산물을 필터 상에서 아세톤을 사용하여 행구고, 고 진공 하에 건조하였다. 18-(p-아미노페닐)옥타데실 포스포콜린의 수율: 2.597 g (87%).

[0211] C. 파클리탁셀-2'-헤미글루타레이트의 합성

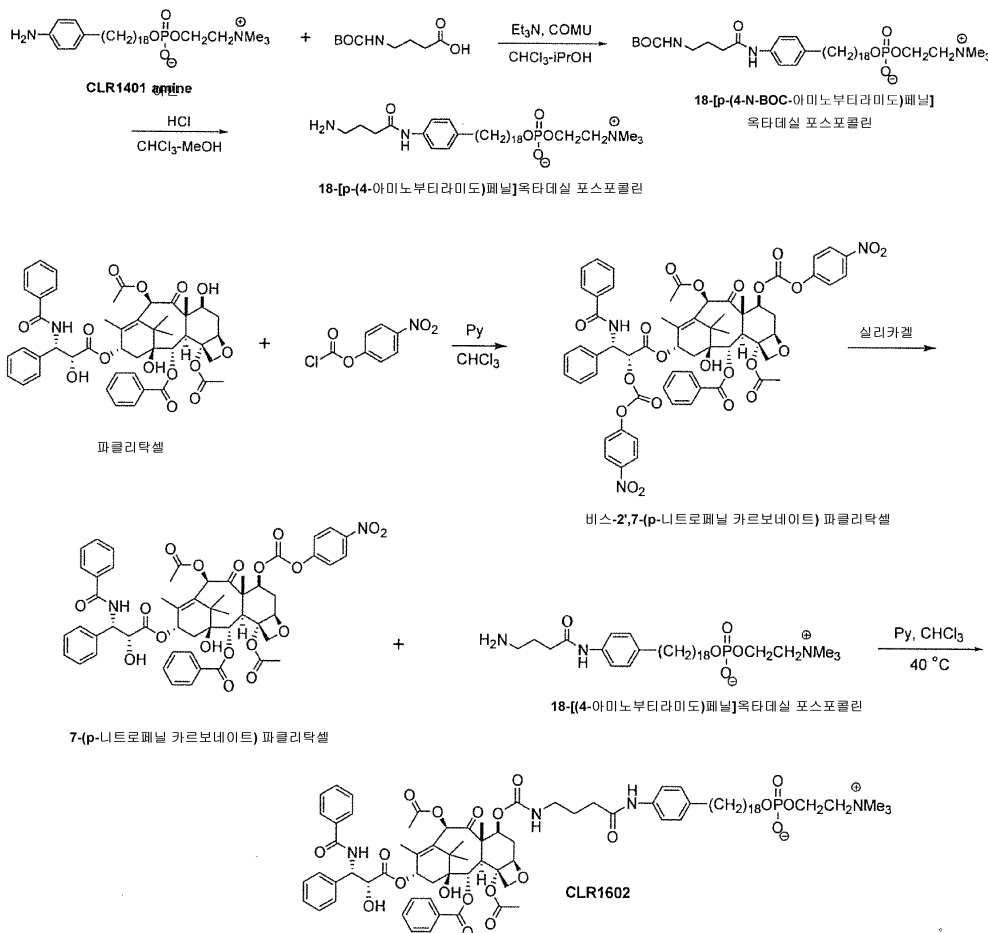
[0212] 파클리탁셀(404 mg, 0.437 mmol) 및 글루타르산 무수물(67 mg, 0.588 mmol)을 클로로포름(8 ml)에 용해시키고,

피리딘(0.5 ml)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 24시간 동안 교반하고, 증발 건조하였다. 잔여물을 고진공 하에 1.5시간 동안 유지시켜, 잔여 피리딘을 제거하였다. 미정제 산물을 클로로포름-메탄올(98:2로부터 95:5까지의 구배) 내에서 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하여, 파클리탁셀-2'-헤미글루타레이트 452 mg(99%)을 수득하였다.

[0213] D. CLR1601의 합성

[0214] 파클리탁셀-2'-헤미글루타레이트(947 mg, 0.978 mmol) 및 18-(p-아미노페닐)옥타데실 포스포콜린(492 mg, 0.934 mmol)을 클로로포름(40 ml)과 이소프로판올(1.2 ml) 혼합물에 현탁시켰다. 이 현탁액에, 트리메틸아민(0.27 ml, 1.957 mmol) 및 COMU(419 mg, 0.978 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 20시간 동안 교반하였으며, 이때쯤 상기 혼합물은 투명해지고 균질하게 되었다. 반응 혼합물을 분별 깔때기로 옮기고, 클로로포름(40 ml), 메탄올(80 ml) 및 냉수(72 ml)와 혼합하였다. 클로로포름 층을 제거하고, 추출을 반복하였다(2 x 80 ml의 클로로포름). 조합된 클로로포름 추출물들을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 사용하여 건조하고, 여과한 다음, 증발 건조하였다. 잔류한 잔여물을 클로로포름-메탄올(9:1로부터 5:5까지의 구배)을 이용한 실리카 겔 상에서의 크로마토그래피에 의해 정제하고, 후속해서 마지막으로 클로로포름-메탄올-물(65:25:4)을 사용하여 용리하였다. 용매를 증발시킨 후, 산물을 고진공 하에 건조하여, CLR1601 1.167 g(85%)을 수득하였다.

[0215] II. CLR1602의 합성



[0216]

[0217] A. 8-[p-(4-N-BOC-아미노부티라미도)페닐]옥타데실 포스포콜린의 합성

[0218] 18-(p-아미노페닐)옥타데실 포스포콜린(76 mg, 0.144 mmol) 및 4-N-BOC-아미노부티르산(38 mg, 0.188 mmol)을 클로로포름(5 ml) 및 이소프로판올(0.15 ml)에 현탁시키고, 그런 다음, 트리에틸아민(0.05 ml, 0.38 mmol)을 첨가하고, 후속해서 COMU(80 mg, 0.188 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 24시간 동안 교반하고, 포화된 NaHCO<sub>3</sub> 수용액 2 ml을 사용하여 ?칭(quenching)하였다. ?칭된 반응 혼합물을 분별 깔때기로 옮기고, 클로로포름(35 ml), 메탄올(40 ml) 및 냉수(36 ml)와 혼합하였다. 클로로포름 층을 제거하고, 추출을 반복하였다(2 x 40 ml의 클로로포름). 조합된 클로로포름 추출물들을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 사용하여 건조하고, 여과한 다음, 증발 건조하였

다. 잔여물을 클로로포름-메탄올(9:1로부터 5:5까지의 구배)을 이용한 실리카 겔 상에서의 크로마토그래피에 의해 정제하고, 후속해서 마지막으로 클로로포름-메탄올-물(65:25:4)을 사용하여 용리하였다. 용매를 증발시킨 후, 산물을 따뜻한 클로로포름-메탄올 혼합물(1.5 ml)에 용해시키고, 아세톤을 사용하여 침전시켰다. 산물을 여과 및 고 진공 하에서의 건조에 의해 수집하여, 백색 분말(100 mg, 97%)을 수득하였다.

[0219] B. 18-[p-(4-아미노부티라미도)페닐]옥타데실 포스포콜린의 합성

[0220] 18-[(4-N-BOC-아미노부티라미도) 페닐]옥타데실 포스포콜린(98 mg, 0.138 mmol)을 클로로포름(4 ml), 메탄올(2 ml) 및 진한 HCl(0.2 ml)의 혼합물에 용해시켰다. 반응 혼합물을 주위 온도에서 밤새 교반한 다음, 포화된 NaHCO<sub>3</sub> 수용액(3 ml)을 서서히 첨가하여 ?청시켰다. ?청된 반응 혼합물을 분별 깔때기로 옮기고, 클로로포름(40 ml), 메탄올(40 ml) 및 냉수(36 ml)와 혼합하였다. 클로로포름 층을 제거하고, 추출을 반복하였다(2 x 40 ml의 클로로포름). 조합된 클로로포름 추출물들을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 사용하여 건조하고, 여과한 다음, 증발 건조하였다. 산물을 클로로포름-메탄올(100:65)을 사용한 실리카 겔 상에서의 크로마토그래피에 의해 정제하고, 마지막으로 클로로포름-메탄올-농축 NH<sub>4</sub>OH(aq)(100:65:15)를 사용하여 용리하였다. 용매를 증발시킨 후, 산물을 고 진공 하에 건조하여, 18-[p-(4-아미노부티라미도) 페닐]옥타데실 포스포콜린 50 mg(60%)을 수득하였다.

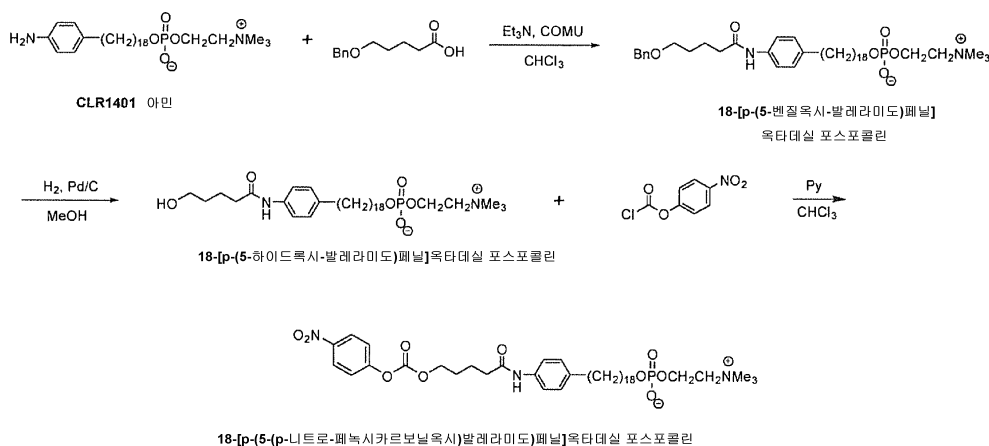
[0221] C. 7-(p-니트로페닐 카르보네이트) 파클리탁셀의 합성

[0222] 파클리탁셀(100 mg, 0.117 mmol)을 클로로포름(4.5 ml)에 용해시키고, 피리딘 8 방울을 첨가하고, 용액을 얼음 배쓰(ice bath)에서 냉각시켰다. 고체 p-니트로페닐 클로로포름레이트(200 mg, 1 mmol)를 한꺼번에 첨가하였다. 반응 혼합물을 주위까지 가온시키고, 24시간 동안 교반한 다음, 물(1 ml)을 사용하여 ?청하고, 15분 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 클로로포름을 사용하여 추출하고, 추출물을 물로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 사용하여 건조하고, 여과한 다음, 증발 건조하였다. 미정제 비스-2',7-(p-니트로페닐 카르보네이트) 파클리탁셀을 클로로포름에 용해시키고, 실리카 겔 컬럼 상에 로딩하였다. 미정제 산물을 상기 컬럼 상에 72시간 동안 방치하여, 2'-위치에서 p-니트로페닐 카르보네이트의 가수분해를 완결시켰다. 컬럼을 다이클로로메탄 - 에틸 아세테이트(98:2로부터 90:10까지의 구배)를 사용하여 용리하였다. 용매를 증발시킨 후, 산물을 헥산을 사용하여 침전시키고, 고 진공 하에 건조하여, 7-(p-니트로페닐 카르보네이트) 파클리탁셀 63 mg(53%)을 수득하였다. 문헌[Arpicco S., et al., Int J Pharm, 2013, 454, 653-659]를 참조한다.

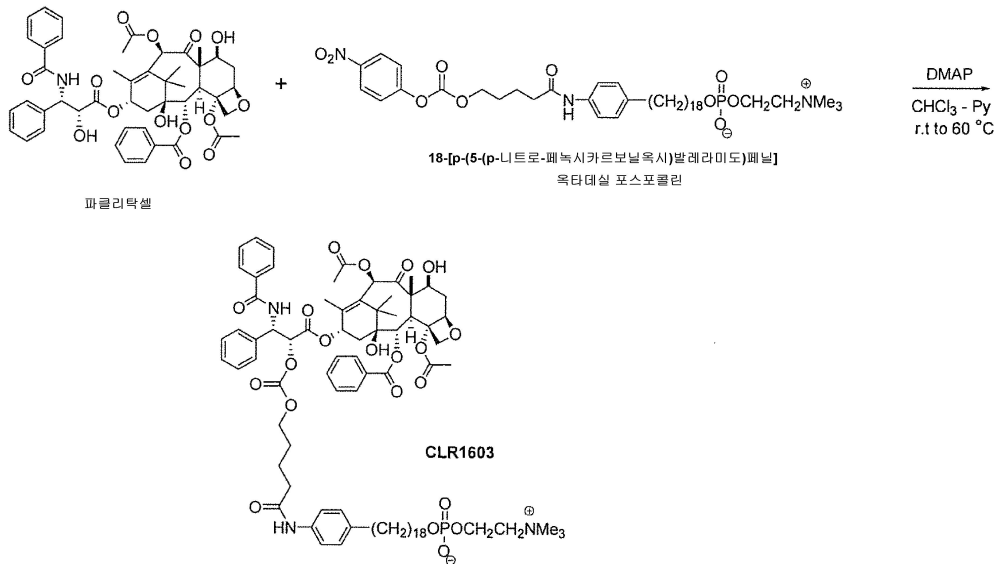
[0223] D. CLR1602의 합성

[0224] 7-(p-니트로페닐 카르보네이트) 파클리탁셀(53 mg, 0.052 mmol) 및 18-[p-(4-아미노부티라미도) 페닐]옥타데실 포스포콜린(47 mg, 0.077 mmol)을 클로로포름(2 ml) 및 피리딘(0.5 ml)에 현탁시키고, 40°C에서 5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 증발 건조하고, 잔여물을 클로로포름-메탄올(9:1로부터 5:5까지의 구배)을 이용한 실리카 겔 상에서의 크로마토그래피에 의해 정제하고, 후속해서 마지막으로 클로로포름-메탄올-물(65:25:4)을 사용하여 용리하였다. 용매를 증발시킨 후, 화합물을 고 진공 하에 건조하여, 고체 CLR1602 67 mg(86%)을 수득하였다.

[0225] III. CLR1603의 합성



[0226]



[0227]

[0228]

A. 18-[p-(5-벤질옥시-발레라미도)페닐]옥타데실 포스포콜린의 합성

[0229]

18-(p-아미노페닐)옥타데실 포스포콜린(760 mg, 1.443 mmol) 및 5-벤질옥시발레르산(361 mg, 1.732 mmol; 문헌 [Can J Chem, 1992, 70, 1472-1445] 및 문헌[Org Lett, 2014, 16, 516-519]에 따라 합성됨)을 클로로포름(25 ml)에 현탁시키고, 트리에틸아민(0.3 ml, 2.164 mmol)을 첨가하고, 후속해서 고체 COMU(741 mg, 1.732 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 24시간 동안 교반하고, 완료 후, 상기 혼합물을 분별 깔때기로 옮기고, 클로로포름(55 ml), 메탄올(80 ml) 및 냉수(72 ml)와 혼합하였다. 클로로포름 층을 제거하고, 추출을 반복하였다(2 x 80 ml의 클로로포름). 조합된 클로로포름 추출물들을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 사용하여 건조하고, 여과한 다음, 증발 건조하였다. 잔여물을 클로로포름-메탄올(9:1로부터 5:5까지의 구배)을 이용한 실리카 겔 상에서의 크로마토그래피에 의해 정제하고, 후속해서 마지막으로 클로로포름-메탄올-물(65:25:3)을 사용하여 용리하였다. 용매를 증발시키고 고 진공 하에 건조한 후, 산물을 따뜻한 클로로포름-메탄올 혼합물(3 ml)에 용해시키고, 뜨거운 아세톤(75 ml)을 교반하면서 서서히 첨가하였다. 혼합물을 주위 온도까지 교반하면서 냉각시키고, 여과하였다. 수집된 산물을 고 진공 하에 건조하여, 18-[p-(5-벤질옥시-발레라미도)페닐]옥타데실 포스포콜린(887 mg, 86%)을 백색 분말로서 수득하였다.

[0230]

B. 18-[p-(하이드록시-발레라미도)페닐]옥타데실 포스포콜린의 합성

[0231]

18-[p-(5-벤질옥시-발레라미도)페닐]옥타데실 포스포콜린(868 g)을 메탄올(15 ml)에 용해시키고, 파르 압력 병으로 옮긴 다음, 10% Pd/C(75 mg) 촉매를 첨가하였다. 수소화 반응을 수소 압력(55 psi) 하에 흔들면서 24시간 동안 수행하였다. 상기 병을 감압시키고, 혼합물을 여과하여, 촉매를 제거하였다. 여과물을 증발 건조하고, 잔여물을 따뜻한 클로로포름-메탄올 혼합물(3 ml 내지 4 ml)에 용해시켰다. 뜨거운 아세톤(75 ml)을 교반하면서 서서히 첨가하였다. 상기 혼합물을 주위 온도까지 교반하면서 냉각시키고, 여과하였다. 수집된 산물을 고 진공 하에 건조하여, 18-[p-(5-하이드록시-발레라미도)페닐]옥타데실 포스포콜린(718 mg, 95%)을 백색 분말로서 수득하였다.

[0232]

C. 18-[p-(5-(p-니트로-페녹시카르보닐옥시)발레라미도)페닐]옥타데실 포스포콜린의 합성

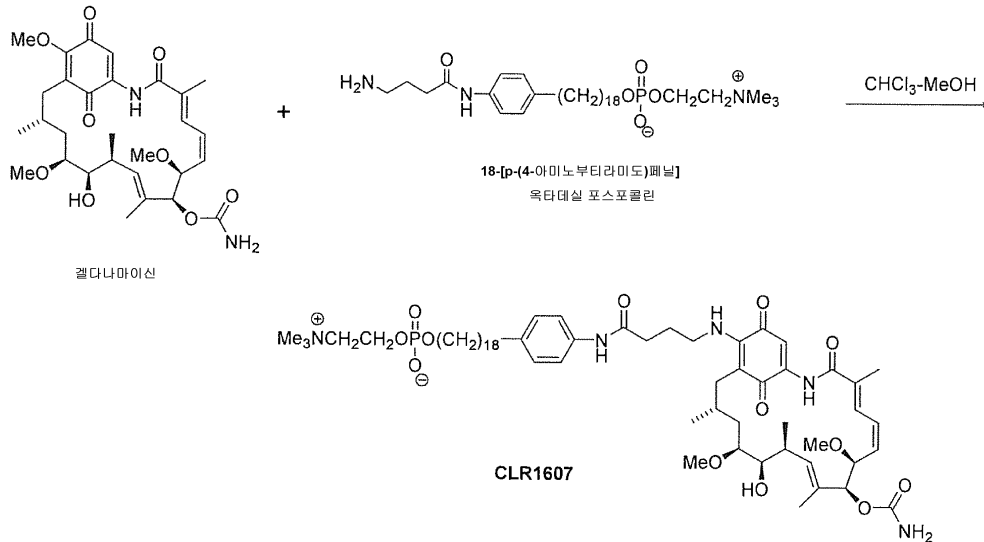
[0233]

18-[p-(5-하이드록시-발레라미도)페닐]옥타데실 포스포콜린(40 mg, 0.064 mmol) 및 p-니트로페닐 클로로포르메이트(25 mg, 0.124 mmol)를 클로로포름(3 ml)에 현탁시키고, 피리딘(0.2 ml)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 24시간 동안 교반하였다. 부가적인 부분의 p-니트로페닐 클로로포르메이트(15 mg)를 첨가하고, 교반을 1.5시간 더 계속하였다. 반응은 TLC 분석에 의해 완성되었다. 반응 혼합물을 1 N HCl 1 ml을 사용하여 ?청하고, 클로로포름(20 ml), 메탄올(20 ml) 및 냉수(15 ml)와 함께 분별 깔때기로 옮겼다. 추출을 반복하였다(3 x 20 ml의 클로로포름). 조합된 클로로포름 추출물들을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 사용하여 건조하고, 여과한 다음, 증발 건조하였다. 잔여물을 클로로포름-메탄올(9:1로부터 5:5까지의 구배)을 이용한 실리카 겔 상에서의 크로마토그래피에 의해 정제하고, 후속해서 마지막으로 클로로포름-메탄올-물(65:25:4)을 사용하여 용리하였다. 용매의 증발 및 아세톤을 사용한 침전 후, 잔여물을 고 진공 하에 건조하여, 고체 물질 48 mg(95%)을 수득하였다.

[0234] D. CLR1603의 합성

[0235] 파클리탁셀(46 mg, 0.054 mmol) 및 18-[p-(5-(p-니트로-페녹시카르보닐옥시)발레라미도)페닐]옥타데실 포스포콜린(43 mg, 0.054 mmol)을 반응 바이얼에서 클로로포름(2 ml) 및 피리딘(0.5 ml)에 현탁시켰다. DMAP(8 mg, 0.065 mmol)를 첨가하고, 상기 바이얼을 단단히 닫고, 내용물을 60°C에서 48시간 동안 교반하였다. 추가적인 양의 파클리탁셀(20 mg)을 첨가하고, 반응을 60°C에서 48시간 더 계속하였다. 반응 혼합물을 농축시키고, 잔여물을 클로로포름-메탄올(9:1로부터 5:5까지의 구배)을 사용한 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제하고, 후속해서 마지막으로 클로로포름-메탄올-물(65:25:2) 및 클로로포름-메탄올-물(65:25:4)을 사용하여 용리하였다. 용매의 증발 및 고 진공 하에서의 건조는 CLR1603(50 mg, 62%)을 제공하였다.

[0236] IV. CLR1607의 합성



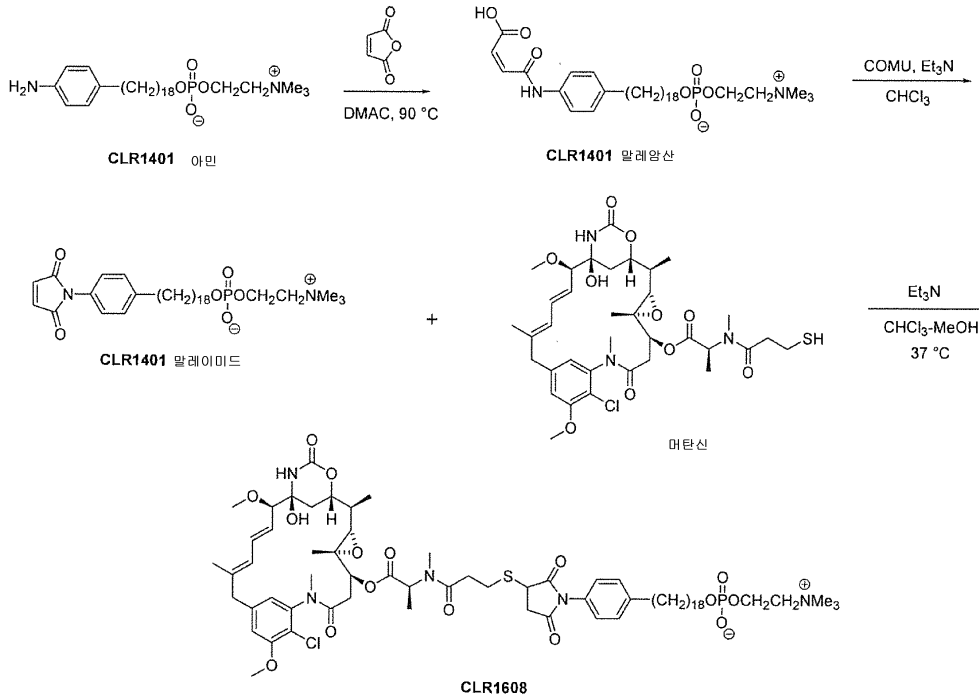
[0237]

[0238] 겔다나마이신(111 mg, 0.198 mmol) 및 18-[p-(4-아미노부티라미도) 페닐]옥타데실 포스포콜린(110 mg, 0.18 mmol)을 클로로포름(3.5 ml) 및 메탄올(1 ml)에 용해시켰다. 트리에틸아민 1 방울을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 24시간 동안 교반하였다. TLC는 반응의 약 80% 완료를 보여주었다. 추가적인 겔다나마이신(10 mg)을 첨가하고, 교반을 24시간 더 계속하였다. 상기 반응 혼합물을 농축시키고, 잔여물을 클로로포름-메탄올(9:1로부터 5:5까지의 구배)을 사용한 실리카 겔 크로마토그래피에 의해 정제한 다음, 후속해서 마지막으로 클로로포름-메탄올-물(65:25:2), 클로로포름-메탄올-물(65:25:3) 및 클로로포름-메탄올-물(65:25:4)을 사용하여 용리하였다. 용매의 증발 및 고 진공 하에서의 건조 후, 아세톤을 첨가하고, 상기 혼합물을 증발시켰다. CLR1607을 보라색 고체(174 mg, 85%)로서 수득하였다.

[0239] 각각의 분리된 산물에 대한 아이덴티티(identity)를 <sup>1</sup>H-nmr 및 질량 스펙트럼 분석에 의해 확인하였다.

[0240] 실시예 2 내지 실시예 8은 다양한 암 유형들에 의해 격리 및 보유되며, 한편 이와 동시에 건강한 조직으로부터 제거되는 CLR1404 및 관련된 분자의 능력을 나타낸다.

[0241] V. CLR1608의 합성



[0242]

[0243] A. CLR1401 말레아민의 합성

[0244] CLR1401 아민(300 mg, 0.57 mmol)을 N,N-다이메틸아세트아미드(12 ml)에 90°C에서 용해시키고, 말레산 무수물(61 mg, 0.627 mmol)을 한꺼번에 첨가하였다. 반응 혼합물을 90°C에서 1시간 동안 교반하고, 실온까지 냉각시킨 다음, 24시간 동안 교반하였다. 아세톤(25 ml)을 교반하면서 서서히 첨가하고, 상기 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 침전된 산물을 여과하고, 필터 상에서 아세톤을 사용하여 행군 다음, 고 진공 하에 건조하였다. 수율: 327 mg(92%).

[0245] B. CLR1401 말레이미드의 합성

[0246] CLR1401 말레아민(100 mg, 0.16 mmol)을 에탄올-무함유 클로로포름(5 ml)에 현탁시킨 다음, 트리에틸아민(0.05 ml, 0.352 mmol) 및 COMU(75 mg, 0.176 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 24시간 동안 교반한 다음, 분별 깔때기로 옮기고, 클로로포름(40 ml), 메탄올(40 ml) 및 냉수(36 ml)와 혼합하였다. 클로로포름 층을 제거하고, 추출을 반복하였다(2 x 40 ml의 클로로포름). 조합된 클로로포름 추출물들을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 사용하여 건조하고, 여과한 다음, 증발 건조하였다. 잔류한 잔여물을 클로로포름-메탄올(9:1로부터 5:5까지의 구배)을 이용한 실리카 겔 상에서의 크로마토그래피에 의해 정제하고, 후속해서 마지막으로 클로로포름-메탄올-물(65:25:4)을 사용하여 용리하였다. 용매를 증발시킨 후, 산물을 아세톤을 사용하여 침전시키고, 수집한 다음, 고 진공 하에 건조하여, CLR1401 말레이미드 87 mg(90%)을 수득하였다.

[0247] C. CLR1608의 합성

[0248] CLR1401 말레이미드(40 mg, 0.066 mmol) 및 머탄신(53 mg, 0.072 mmol)을 클로로포름(1.7 ml)과 메탄올(0.3 ml)의 혼합물에 용해시켰다. 트리에틸아민(0.08 ml)을 첨가하고, 상기 혼합물을 37°C에서 24시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 농축시키고, 잔여물을 클로로포름-메탄올(9:1로부터 5:5까지의 구배)을 이용한 실리카 겔 상에서의 크로마토그래피에 의해 정제하고, 후속해서 마지막으로 클로로포름-메탄올-물(65:25:3)을 사용하여 용리하였다. 용매를 증발시킨 후, 산물을 고 진공 하에 건조하여, CLR1608 62 mg(70%)을 수득하였다.

[0249] 실시예 2-CLR1501은 지질 뗏목을 통해 암세포에 의해 우선적으로 격리된다.

[0250] 재료 및 방법:

[0251] PC-3 세포를 2 μg/ml 필리핀 III(filipin III) 또는 운송수단으로 15분 동안 전처리한 다음, 세척하고, 2 μCi의 <sup>125</sup>I-CLR1404와 함께 1시간 동안 인큐베이션하였다. 배지를 제거하고, 세포를 0.1% 소 혈청 알부민을 함유하는 포스페이트 완충 식염수로 세척하고, 트립신처리한 다음, DNA 함량에 의한 세포 수(세포주 특이적인 표준 곡

선과 비교한  $A_{280}$ ) 및 감마 계수기(Perkin Elmer)를 사용한 1분 당 계수의 확인을 위해 2개의 시료로 분할하였다.

[0252] 결과:

[0253] 콜레스테롤을 격리시키고 지질 뗏목을 붕괴시키는 제제인 필리핀 III로 PC-3 세포를 전처리하면, 비처리된 대조군 세포와 비교하여  $^{125}\text{I}$ -CLR1404의 흡수가 거의 40% 감소하였다(도 1). 이는, CLR1404가 암세포 내로의 도입구로서 지질 뗏목을 사용한다는 가정을 뒷받침한다. 주목할만하게는, 더 높은 필리핀 III의 농도는 세포독성이며, 따라서, 완전한 지질 뗏목 제거(및 짐작컨대 CLR1404 유사체 흡수의 완전한 저해)는 입증될 수 없었다.

[0254] 실시예 3-건강한 세포보다 암세포에 의한 CLR-1501의 우선적인 흡수

[0255] 재료 및 방법:

[0256] 인간 암세포주를 아메리칸 타입 컬처 컬렉션(American Type Culture Collection; ATCC)으로부터 구매하였다. 이들 세포주는, Caki-2(신장; 투명 세포 암종), HCT-116(결장직장 암종); MES-SA/Dx5(자궁 육종)[모두 10% 태아 소 혈청(FBS)이 보충된 McCoy's 5a 배지에서 유지됨], Ovar-3(난소 선암종)[20% FBS가 보충된 RPMI 배지에서 유지됨], U87-MG(신경교종)[10% FBS가 보충된 최소 필수 배지에서 유지됨], Mia Paca-2(췌장 암종)(10% FBS가 보충된 Dulbecco's modified Eagle's 배지에서 유지됨), PC-3(전립선 암종)(10% FBS가 보충된 F-12K 배지에서 유지됨), MDA-MB-231(삼중-음성 유선 선암종)(10% FBS가 보충된 Leibovitz's 배지에서 유지됨) 및 A549(비소세포폐암종)(10% FBS가 보충된 F-12 배지에서 유지됨)가 있었다. 정상적인 인간 피부 섬유아세포를 ATCC로부터 구매하고, 혈청-무함유 키트(섬유아세포 성장 키트-혈청-무함유 PCS-201-040)가 보충된 섬유아세포 기본 배지 PCS-201-030에서 성장시켰다. 모든 배지들(MDA-MB-231 세포주용 배지 제외)은 또한, 페니실린(100 U/ml) 및 스트렙토마이신(100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )을 함유하였으며, 5%  $\text{CO}_2$ 가 포함된 공기 중에서 37°C에서 유지시켰다.

[0257] 모든 세포들을 10% FBS가 보충된 적절한 배지에서 5%  $\text{CO}_2$ , 37°C에서 유지시켰다. 영상촬영 전, 세포를 0.25% 트립신을 사용하여 플라스크로부터 제거하고, 마이크로슬라이드 VI(Ibidi) 상에서 밤새 성장시켰다. 다음날, 세포를 포스페이트-완충 식염수(PBS)로 세척하고, 적절한 혈청-무함유 배지에서 5  $\mu\text{M}$  또는 7.5  $\mu\text{M}$ (지시된 바와 같음)의 CLR1501과 함께 24시간 동안 인큐베이션하였다. CLR1501은 형광 표지된 CLR1404 유사체이다. CLR1501을 0.4%의 폴리소르베이트 20, 2%의 에탄올 및 식염수와 함께 제형화하였다. PBS로 완전히 세척한 후, 세포를, 1-s 노출 시간을 이용해 Bio-Rad Radianc 2100 MP Rainbow 레이저 주사(laser scanning)/다광자 공초점 현미경을 사용하여 영상촬영하였다. 대안적으로는, 세포를 Nikon A1R 공초점 현미경(Keck 실험실, 위스콘신 대학교-매디슨 캠퍼스)을 사용하여 시각화하였다. CLR1501의 방출 신호를 Alexa Fluor 488 필터(ex/em 480/520 nm)를 사용하여 검출하였다.

[0258] 결과:

[0259] CLR1501을 in vitro 5개의 상이한 암세포주들(신장암, 난소암, 췌장암, 흑색종 및 전립선암) 및 정상적인 인간 피부 섬유아세포주에 투여하였다. 24시간 후, CLR1501은 in vitro 정상 섬유아세포와 비교하여 이들 암세포주에서 5배 내지 9배 더 우선적인 흡수를 나타내었다(도 2). 보유한 CLR1501은 혈장 및 세포소기관 막들과 연관성이 있었다.

[0260] 실시예 4-랫트 신경교종 모델

[0261] 재료 및 방법: 모든 동물들을 위스콘신 대학교의 연구 동물 자원 센터(Research Animal Resources Center)의 가이드라인에 따라 사육하고 취급하였다. 랫트 C6 신경교종 세포를 10% 열-비활성화된 FBS(BioWhittaker, 미국 메릴랜드주 워커스빌), 100 U/ml 페니실린 G, 100 mg/ml 스트렙토마이신 및 0.01 M HEPES(Life Technologies, 미국 메릴랜드주 게이터스버그)가 보충된 DMEM 배지(Life Technologies, 미국 메릴랜드주 게이터스버그)에서 증식시켰다. 두개내 종양 이식을 이전에 기재된 바와 같이 수행하였다(문헌[Cohen JD, et al., Intracranial C6 glioma model in adult Wistar-Furth rats. *J Neuro Oncol* 1990 8(1):95-6]). 간략하게는,  $1 \times 10^6$ 개의 C6 세포를 5 ml 1.2% 메틸셀룰로스에 재현탁시키고, 마취된 암컷 Wistar 랫트(Harlan, 미국 인디애나주 인디애나폴리스)의 전두엽에 주사하였다. 모의-수술(Sham-operated) 동물에게 종양 세포 없이 동일한 부피의 메틸셀룰로스를 두개내 주사하였다.

[0262] 영상촬영 연구: 이식 후 10일째에, 두개내 종양의 존재를 MRI에 의해 확인하였다. 간략하게는, 마취된 랫트(6)에게 2 ml의 가도다이아미드(Gd, Omniscan 287 mg/ml, Nycomed, 미국 뉴저지주 프린스턴)를 복강내 투여하고,

10분 후 1.5 Tesla 임상 MR 시스템(GE Signa LX) 및 GE 위상 배열 말단부 코일(phased array extremity coil)을 사용하여 영상촬영하였다. 각각의 래트의 전체 뇌를 커버링하는 T1-중량의(TR=500 ms, TE=16.5 ms) 다중절편 시퀀스(multislice sequence)들을 조사하여, NM404 주사를 위해 종양 크기가 다양한 종양-소지(bearing) 래트 및 모의-수술된 래트를 선별하였다.

[0263] NM404[18-(4-요오도페닐)-옥타데실포스포콜린](100mg)를, 피발산 용융물 중 Na<sup>125</sup>I와의 동위 원소 교환을 통해 <sup>125</sup>I를 사용하여 방사성요오드화하였다(문헌[Weichert, et al. *Int J Appl Rad Isotopes*. 1986; 37:907-913]). NM404는, <sup>124</sup>I 또는 <sup>131</sup>I 대신 <sup>125</sup>I로 방사성요오드화된 점을 제외하고는, CLR1404와 동일한 화학적 구조를 가진다. HPLC 정제 후, NM404를 2% 폴리소르베이트 20 수용액에 용해시킨 후, 4마리의 종양-소지 래트 및 3마리의 모의-수술 래트의 꼬리 정맥에 주사(5-20 μCi/200 g 래트)하였다. NM404 주사 후 1일(n=1), 2일(n=1) 및 4일(n=2)째에, 동물들을 안락사시키고(CO<sub>2</sub>), 뇌를 절제하고, 변형된 바이오스캔 AR2000 라디오-TLC 스캐너(2 min 획득/레인에서 1 mm 증분(increment) 및 1 mm 고해상 시준기(collimator)) 상에서 영상촬영하였다. 또한, 정상 뇌, 혈액, 신장, 간, 비장, 갑상선 및 종양 조직을 칭량하고, 방사성을 감마 계수기에서 계수하였다. 그런 다음, 방사성의 조직 분포를 뇌 조직학과 상관관계를 지었다.

[0264] 결과 및 고찰: NM404를 사용한 초기 영상촬영 결과는, 3 mm 내지 5 mm 직경 범위의 모든 신경교종들에서의 현저한 흡수 및 연장된 체류를 가리켰다. 정상 뇌 조직에서의 방사성은 모의 수술 대조군 동물에서 최소인 반면(도 4a 및 도 4b), NM404는 신경교종에서 강하게 집중되었다(도 4a' 내지 도 4d'). C6 신경교종-소지 래트에서 뇌에 대한 종양의 비율(% 주사된 투여량/g)은 24시간, 48시간 및 96시간째에 각각 10.5, 12.2 및 6.7이었다. 이전의 세포 배양 연구 및 생체내 동물 모델 연구에서 관찰된 바와 같이, NM404는 명백히 대사되고 정상 세포로부터 제거되지만, 종양 세포 막에서는 대사 작용에 의해(metabolically) 포획된다. 다른 종양 모델에서의 이전의 자가 방사선촬영(autoradiography) 실험은, 정상 조직 또는 괴사 조직이 아닌 오로지 살아있는 종양 세포만이 NM404를 축적시킬 수 있음을 제시한 바 있다. 흥미롭게는, 직경이 수 mm에 불과한 작은 종양이라도 NM404 투여 후에 검출되었다. 이들 예비 발견들은, CLR1404 또한, 작은 침범성 종양 포커스의 시각화에 유용할 수 있음을 제시한다.

[0265] 결론:

[0266] 이전에 검사된 모든 종양 모델들에서의 경우와 같이, NM404는 본 연구에서 평가된 래트 C6-신경교종에 의한 선택적이고 연장된 체류를 나타내었다.

[0267] 실시예 5-다양한 악성 종양들에서의 <sup>124</sup>I-CLR1404 흡수

[0268] 재료 및 방법:

[0269] 모든 기재된 동물 연구들을 실험동물윤영위원회(Institutional Animal Care and Use Committee)에 의해 승인을 받은 동물 프로토콜에 따라 수행하였다. 약 4주령 내지 5주령의 16 g 내지 18 g의 암컷 무흉선 누드 마우스(Hsd:무흉선 누드-Foxn1nu 또는 CrI:NU-Foxn1nu, Charles River Laboratories)(n = 6)를 인간 종양 이종 이식 연구에 사용하였다. 마우스를 이소플루란을 사용하여 마취시키고, 100 μl의 Dulbecco's PBS(또는 신경교종 세포의 경우, 50 ml의 PBS) 중 살아있는 종양 세포를 우측 옆구리에 피하 주사하였다. 접종물 크기는 1 x 10<sup>6</sup>개(신장, 난소, 신경교종, 췌장, 전립선 및 NSCLC 모델의 경우), 2 x 10<sup>6</sup>개(결장직장 및 자궁 모델의 경우) 또는 3 x 10<sup>6</sup>개(유방)이었다.

[0270] 결과:

[0271] 방사성요오드화된 <sup>124</sup>I-CLR1404를 60개의 상이한 자발성, 유전자 이식, 인간 및 설치류 악성 세포주 및 종양 유형의 피하 및 동소 이종 이식편에서 시험하였다. 정맥내 투여 후, <sup>124</sup>I-CLR1404는 해부학적 위치와는 상관없이 대부분의 원발성 악성 종양 및 전이성 악성 종양에 위치하였다. 대표적인 예는, 인간 종양(도 5a 내지 도 5i) 및 설치류 종양(도 5j 내지 도 5m)이 있다.

[0272] 표 1. 광범위한 암 유형에서의 <sup>124</sup>I-CLR1404의 흡수

표 1

	종양 모델	종	범주	섭취*
1	전립선 PC-3	SCID 마우스	선암종	있음
2	폐 A-549 (NSCLC)	SCID 마우스	선암종	있음
3	폐 NCI H-69 (연맥 세포(Oat cell))	SCID 마우스	소세포암종	있음
4	부신 H-295	SCID 마우스	선암종	있음
5	부신 RL-251	SCID 마우스	선암종	있음
6	결장-51	SCID 마우스	선암종	있음
7	결장 LS180	SCID 마우스	선암종	있음
8	결장 DLD1	SCID 마우스	선암종	있음
9	결장 HT-29	SCID 마우스	선암종	있음
10	결장 LS-180	누드 마우스	선암종	있음
11	교아종 U87	누드 마우스 및 NOD-SCID	신경교종	있음
12	흑색종 A-375	누드 마우스	선암종	있음
13	다발성 골수종 MM.1S	누드 마우스	골수종	있음
14	신경아세포종 SK-N-AS	누드 마우스	신경아세포종	있음
15	신경아세포종 NB1691	누드 마우스	신경아세포종	있음
16	신경아세포종 CHLA-20	누드 마우스	신경아세포종	있음
17	신경아세포종 Lan5	누드 마우스	신경아세포종	있음
18	난소 HTB-77	누드 마우스	선암종	있음
19	난소 Ovar-3	누드 마우스	선암종	있음
20	췌장 BXPC3	누드 마우스	선암종	있음
21	췌장 Mia Paca-2	누드 마우스	암종	있음
22	췌장 Capan-1	누드 마우스	선암종	있음
23	신세포 Caki-2	누드 마우스 (동소)	투명 세포 암종	있음
24	신세포 ACHN	누드 마우스 (동소)	선암종	있음
25	육종 (Meth-A)	누드 마우스	섬유육종	있음
26	두경부 SCC1	누드 마우스	편평세포암종	있음
27	두경부 SCC6	누드 마우스	편평세포암종	있음
28	전립선 LNCap	마우스	선암종	있음
29	전립선 LuCap	마우스	선암종	있음
30	유방 MCF-7	랫	선암종	있음
31	삼중 음성 유방 MDA-MB231	누드 마우스	선암종	있음
32	자궁 MES SA/Dx5	누드 마우스	육종	있음
33	교아종 22 GSC	NOD-SCID 마우스 (동소)	신경교종	있음
34	교아종 105 GSC	NOD-SCID 마우스 (동소)	신경교종	있음
35	유방 4T1	내생 마우스 (동소)	선암종	있음
36	방광 SV40	마우스 (동소)	선암종	있음
37	전립선 MatLyLu	랫	선암종	있음
38	Walker256	랫	암종	있음
39	TRAMP 전립선	내생 마우스	선암종	있음
40	결장 CT26	SCID 마우스	선암종	있음
41	결장 Pirc	자생 Pirc 랫	선암종	있음
42	Min 마우스 장	내생 마우스	선암종	있음
43	흑색종	마우스	선암종	있음
44	유선 SCC	ApcMin/+ 마우스	편평세포암종	있음
45	유선 AC	ApcMin/+ 마우스	선암종	있음
46	간세포 암종	내생 마우스	선암종	있음
47	신경교종 L9	랫 이중 이식	신경교종	있음
48	신경교종 C6	랫 이중 이식	신경교종	있음
49	신경교종 CNS1	랫 이중 이식	신경교종	있음

[0273]

50	신경교종 RG2	랫 이중 이식	신경교종	있음
51	망막아종	내생 마우스	아세포종	있음
52	췌장 c-myc	내생 마우스	선암종	있음
53	췌장 Kras	내생 마우스	선암종	있음
54	자궁경부-HPV	내생 마우스	선암종	있음
55	식도	내생 마우스	선암종	있음
56	장 폴립	내생 마우스	선종 (양성)	없음
57	유선 알베올라(alveolar) 과 형성	내생 마우스	과형성 (양성)	없음
58	간종양 Hep-3B	누드 마우스	암종	없음
59	간종양 Hep-G2	누드 마우스	암종	없음
60	Pirc 랫 결장 선종	Pirc 랫	선종	없음

[0274]

[0275]

\*근육에 대한 종양의 비율이 3 초과인 경우, 종양 흡수를 양성으로 간주하였다. 종양:근육 비가 2 이하인 것은

음성으로 간주하였다.

- [0276] 실시예 6-CLR1404를 사용하여 비소세포폐암중("NSCLC") 환자를 평가하는 임상 시험
- [0277] CLR1404는 55/60개의 이중 이식 및 자발성 설치류 모델에서 선택적이고 연장된 종양 체류를 나타내긴 하였으나, IND의 임상시험의뢰자인 임상되는, CLR1404가 인간에서도 유사한 종양 흡수 및 체류 특성을 나타낼 것인지 확인하기 위해 4기 인간 NSCLC 환자에서 상기 제제의 임상 평가를 개시하였다. 현재까지, 1 mCi 미만의 <sup>131</sup>I-CLR1404의 주사 후, 진행된 NSCLC를 앓고 있는 2명의 환자를 영상촬영하였다. 혈액 및 소변 시료를 예정된 시점에서 수집하고, 투여 후 몇몇 시점에서 감마 영상촬영을 수행하였다. 도 6에서 관찰되는 바와 같이, 두 환자 모두에서, CLR1404의 유의한 종양 흡수 및 체류가 원발성 폐 종양에서 나타났다. 이전에 이의 1세대 전신(predecessor)인 NM324를 사용하여 관찰된 높은 간 흡수 값과 비교하여, 간 활성 및 복부 활성은 CLR1404를 사용한 경우 훨씬 더 낮으며, 이는, 이러한 제제를 체장암, 결장암 및 전립선암을 포함한 다른 복부 암에서도 평가할 수 있는 가능성을 제시한다.
- [0278] 재료 및 방법: 요오드-131 표지된 CLR1404(1 mCi/20 µg)를 정맥내 주사한 후, 진행된 NSCLC를 앓고 있는 환자를 3시간, 6시간, 24시간, 48시간, 96시간 및 7일 및 11일째에 GE Maxxus dual Head SPECT 스캐너 상에서 스캐닝하였다. 약동학적 분석뿐만 아니라 임상적 혈액, 신장 및 간 생분석을 위해 혈액 시료 및 소변 시료를 수집하였다.
- [0279] 결과: 초기 정성적 영상촬영 결과는, 요오드-131 표지된 CLR1404가 주사 후 이르게는 24시간째에 양쪽 폐 덩어리에서 명확하게 위치하게 되고, 이들 종양에서 11일 넘게 선택적으로 보유된다는 것을 가리킨다. 더욱이, 간, 및 방광, 신장 및 장을 포함한 하복부 영역에서의 백그라운드 방사성은 이전에 이의 전신인 NM324에서 관찰된 것보다 상당히 더 낮았다. 어떤 환자에서도 부작용은 관찰되지 않았다.
- [0280] 결론: 이들 예비 발견은, CLR1404가 이전에 설치류 모델에서 관찰된 바와 같이 인간 NSCLC에서도 유사한 종양 흡수 및 체류 특성을 나타냄을 제시한다. 이때 오로지 2명의 환자를 기반으로 하긴 하였지만, CLR1404는 인간 비소세포폐암에 사실상 위치하고, 상기 암에서 선택적이고 연장된 종양 체류를 이행하는 것으로 보인다.
- [0281] 환자 1: 양쪽 3 cm 좌엽 및 침윤성 우엽 NSCLC 및 뇌 전이 및 작은 우측 부신 덩어리를 가진 55세 남성. 상기 환자는 다수의 표준 및 실험 치료 섭생에 참여하였다. 영상은 도 6a 내지 도 6c에 나타나 있다.
- [0282] 환자 2: 6 cm 상엽(upper lobe) 비소세포폐암중, 5 cm 간 덩어리, 장골 전이 및 매우 작은 뇌 전이를 최근에 진단받은 70세 남성. 상기 환자는, CLR1404 시험을 개시하기 전 주에 최근에 장골 및 뇌 전이에 대해 저용량의 카르보플라틴/택솔 화학요법 및 완화용 방사선요법을 완료하였다. 영상은 도 6d 내지 도 6g에 나타나 있다.
- [0283] 실시예 7-<sup>124</sup>I-CLR1404를 사용한, NSCLC 환자에서의 이전에 알려지지 않은 3개의 뇌종양 전이의 검출
- [0284] 재료 및 방법:
- [0285] 90-분 동적 획득 시퀀스(2D, 10분마다 9개의 프레임, VIP 리스트 모드 온)를 사용하여 약 5 mCi의 <sup>124</sup>I-CLR1404의 주사 후 다수의 시점에서 64-슬라이스 PET/CT 스캐너(Discovery VCT, General Electric) 상에서 인간 PET 뇌 스캔을 획득하고, 재구성하였다[Advantage Workstation 버전 AW4.4, General Electric, 30 cm DFOV (디스플레이 시야(display field of view)), 128 x 128, OSEM VUE Point, 2개의 반복(iteration)을 가진 10개의 서브셋, 표준 z 축, 감쇠 보정 및 부동 시간(dead time), 스캐터(scatter) 및 붕괴 보정(decay correction)].
- [0286] 결과:
- [0287] <sup>124</sup>I-CLR1404 PET/CT를 사용하여, 신경학적 징후가 없는 NSCLC 환자에서 예비 결과를 수득하였다. 영상촬영을 통해, 이전에 알려지지 않은 전이가 매우 의심되는 뇌 병변들이 드러났으며, 후속해서 상기 병변들을 가돌리늄-증강 MRI에 의해 확인하였다(도 7).
- [0288] 실시예 8-<sup>124</sup>I-CLR1404를 사용한, 우측 전대뇌경 전이의 종양 재발의 검출
- [0289] 악성 흑색종을 앓고 있는 60세 여성에서의 재발성 뇌 전이. 우측 전대뇌경 전이의 종양 재발에 대한 자기 공명("MR")(도 8a), <sup>124</sup>I-CLR1404 PET 영상(도 8b) 및 정위 방사선수술 후 8개월째의 영상(도 8c)은 CLR1404를 사용하여, 비정상적인 활성의 포커스를 보여준다(화살표). 초기 MR 영상촬영에서의 상응하는 증강 포커스는 가능한

재발에 대한 방사선 괴사로서 해석되었다. 후속적인 MR 영상은, 병소주위 부종 증가와 함께 비특이적인 증강 병변의 크기 증가를 추가로 보여주었으며, 악성 종양의 재발을 가리킨다. 이들 결과는, <sup>124</sup>I-CLR1404가 방사선수술에 내성이고 결국 재발성 종양을 구축한 암세포에 의해 격리되었음을 가리킨다.

[0290] 본 발명의 화합물은 CLR1404 코어 분자에 연결된 항암 약물을 포함한다. 이들 화합물은 뇌암세포를 포함한 암세포 및 암 줄기세포를 표적화할 수 있으며, 따라서, 항암 약물은 암세포에 의해 격리되고 보유된다. 이들 화합물은 암을 치료하고 전이 및 재발을 예방하기 위해, 광범위한 항암 약물들을 암세포에 특이적으로 투여하도록 조정될 수 있는 제1 표적화된 암 치료를 제공한다.

[0291] 실시예 9-다양한 암세포주들에 대한 파클리탁셀-컨쥬게이트 및 IC<sub>50</sub>

[0292] 방법

[0293] MDA-MB-468(유방), NCI-H1299(폐), NCI-H460(폐), Capan-2(췌장), MiaPaCa-1(췌장), HT29(결장직장), HCT116(결장직장) 및 PC-3(전립선)을 포함한 암세포주에 연속적인 농도의 파클리탁셀 및 CLR1404-파클리탁셀 컨쥬게이트(즉, CLR1601, CLR1602 및 CLR1603)를 처리하였다. 그런 다음, 상기 세포주들에서 세포 생존율을 측정하고, 각각의 처리에 대한 IC<sub>50</sub>으로서 기록하였다.

[0294] 결과

[0295] CLR1601 및 CLR1603은 MDA-MB-468(유방), NCI-H1299(폐), NCI-H460(폐) Capan-2(췌장), MiaPaCa-1(췌장), HT29(결장직장), HCT116(결장직장) 및 PC-3(전립선) 암세포주 각각에 대해 세포 생존율을 감소시킬 수 있었다. 각각 도 9 내지 도 16을 참조한다. 각각의 파클리탁셀-1404 컨쥬게이트(즉, CLR1601 및 CLR1603) 및 파클리탁셀에 대한 IC<sub>50</sub>을 표 2에 기록한다. CLR1602에 대한 IC<sub>50</sub>은 나타나 있지 않으나, CLR1602는 비-가수분해성이기 때문에, CLR1602는 암세포주의 생존율을 유의하게 감소시킬 수 없었다. 생체내 유리 파클리탁셀은, 상기 파클리탁셀의 비-특이적인 흡수 성질로 인해 훨씬 더 낮은 속도로 암성 종양 세포에 의해 흡수된다. 따라서, in vivo 암세포 사멸에 필요한 PLE-파클리탁셀 컨쥬게이트의 양은 파클리탁셀의 양과 유사하거나 그보다 적어야 하고, 비-암세포에 대해 크게 감소된 독성을 초래할 수 있다.

[0296] 표 2. CLR1601, CLR1603 및 파클리탁셀에 대한 IC<sub>50</sub>

표 2

	CLR1601	CLR1603	파클리탁셀
MDA-MB-468 (유방)	3.77 nM	3.42 nM	1.9 nM
NCI-H1299 (폐)	60.3 nM	108 nM	1.82 nM
NCI-H460 (폐)	29.5 nM	171.1 nM	1.66 nM
Capan-2 (췌장)	56.7 nM	83.6 nM	7.91 nM
MiaPaCa-1 (췌장)	37.3 nM	38.9 nM	1.32 nM
HT29 (결장직장)	92.2 nM	70.6 nM	1.07 nM
HCT116 (결장직장)	7.6 nM	11 nM	0.87 nM
PC-3 (전립선)	34.4 nM	29.5 nM	0.9 nM

[0297]

[0298] 실시예 10-유세포분석 검정법

[0299] 방법

[0300] 유세포분석에 의한 아넥신 V 및 PI(포스파티딜이노시타이드) 염색을 이용하여, 살아있는 세포, 조기 세포자멸사 세포, 후기 세포자멸사 세포 및 괴사성 세포의 백분율을 확인하였다. 간략하게는, 세포에 세포독성제를 처리하고, 상기 세포를 아넥신 V/PI 표지화 키트(Life Technologies)를 사용하여 염색하였다. 상기 세포를 LSRII 유세포분석기(BD Biosciences) 상에서 분석하였다. 표 3 내지 표 9에 나타난 바와 같이, 세포를, 살아있는 세포(아넥신 V 음성, PI 음성), 조기 세포자멸사 세포(아넥신 V 양성, PI 음성), 후기 세포자멸사 세포(아넥신 V 양성, PI 양성) 및 괴사성 세포(아넥신 V 음성, PI 양성)로서 분류하였다. 대표적인 산점도(스캐터 plot)는 도 17에서, 5 μM의 CLR1601을 사용하여 72시간 동안 처리된 MDA-MB-468 세포에 대해 나타나 있다. 아넥신 V(AlexaFluor 488에 부착되어 있음)은 x-축 상에 나타나 있으며, 한편, PI는 y-축 상에 나타나 있다. 하위 좌측 사분면(quadrant)은 살아있는 세포를 가리키고, 상위 좌측 사분면은 괴사성 세포를 가리키며, 상위 우측 사분면은 후기 세포자멸사 세포를 가리키고, 하위 우측 사분면은 조기 세포자멸사 세포를 가리킨다. 찌꺼기는 이 분석

에서 제외되었다.

[0301] 결과

[0302] 삼중 음성 유방 암세포주인 MDA-MB-468 세포에 CLR 컨쥬게이트(CLR1601 및 CLR1603)를 72시간 동안 처리하고, 파클리탁셀("PTX")을 24시간 동안 처리하였다. 표 3을 참조한다. 또한, MDA-MB-468 세포에 CLR 컨쥬게이트(CLR1606 및 CLR1607)를 72시간 동안 처리하고, 겔다나마이신("GEL")을 48시간 동안 처리하였다. 표 4를 참조한다. PTX 컨쥬게이트의 경우, 1  $\mu$ M CLR1601, 5  $\mu$ M CLR1601, 1  $\mu$ M CLR1603, 5  $\mu$ M CLR1603, 100 nM PTX 및 1  $\mu$ M PTX로 처리한 후, 세포 생존율이 61.1%(약물 비처리)로부터 각각 17.0%, 17.8%, 22.2%, 19.7%, 53.8% 및 48.9%까지 감소하였다. 표 3을 참조한다. GEL 컨쥬게이트의 경우, 1  $\mu$ M CLR1606, 10  $\mu$ M CLR1606, 1  $\mu$ M CLR1607, 10  $\mu$ M CLR1607 및 1  $\mu$ M GEL로 처리한 후, 세포 생존율이 61.1%로부터 각각 58.8%, 42.7%, 52.7%, 56.9% 및 26.2%까지 감소하였다. 표 4를 참조한다.

[0303] 표 3. 파클리탁셀 컨쥬게이트로 72시간 동안 처리한 MDA-MB-468

**표 3**

MDA-MB-468 (총 세포의 %)	72시간 약물 비 처리	CLR1601 (1 $\mu$ M)	CLR1601 (5 $\mu$ M)	CLR1603 (1 $\mu$ M)	CLR1603 (5 $\mu$ M)	PTX (100 nM)	PTX (1 $\mu$ M)
살아있는 세포	61.1	17	17.8	22.2	19.7	53.8	48.9
괴사성 세포	2.83	15.8	21.6	22	22.5	8.89	10.8
후기 세포자멸 사 세포	20.5	57.5	57.9	49.1	55.2	31.4	34.8
조기 세포자멸 사 세포	15.5	9.83	2.71	6.74	2.65	5.9	5.5

[0304]

[0305] 표 4. 겔다나마이신 컨쥬게이트로 72시간 동안 처리한 MDA-MB-468 세포

**표 4**

MDA-MB-468 (총 세포의 %)	72시간 약물 비 처리	CLR1606 (1 $\mu$ M)	CLR1606 (10 $\mu$ M)	CLR1607 (1 $\mu$ M)	CLR1607 (10 $\mu$ M)	GEL (1 $\mu$ M)
살아있는 세포	61.1	58.8	42.7	52.7	56.9	26.2
괴사성 세포	2.83	2.31	19.4	1.62	1.63	16.3
후기 세포자멸 사 세포	20.5	25.7	33.8	25.1	26.4	37.9
조기 세포자멸 사 세포	15.5	13.2	4.13	20.6	15.1	19.6

[0306]

[0307] 흑색종 세포주인 COLO 829 세포에 GEL 컨쥬게이트(CLR1606 및 CLR1607)를 72시간 동안 처리하고, GEL을 48시간 동안 처리하였다. 표 5를 참조한다. 1  $\mu$ M CLR1606, 10  $\mu$ M CLR1606, 1  $\mu$ M CLR1607, 10  $\mu$ M CLR1607, 100 nM GEL 및 1  $\mu$ M GEL로 처리한 후, 세포 생존율이 80.8%(약물 비처리)로부터 각각 70.4%, 21.1%, 67.9%, 54.3%, 32.4% 및 18.6%까지 감소하였다. 표 5를 참조한다.

[0308] 표 5. 겔다나마이신 컨쥬게이트로 72시간 동안 처리한 COLO 829 세포

표 5

COLO 829 (총 세포의 %)	72시간 약물 비 처리	CLR1606 (1uM)	CLR1606 (10uM)	CLR1607 (1uM)	CLR1607 (10uM)	GEL (100 nM)	GEL (1uM)
살아있는 세포	80.8	70.4	21.1	67.9	54.3	32.4	18.6
괴사성 세포	1.74	1.59	28.6	2.36	16.1	4.9	6.42
후기 세포자멸 사 세포	4.18	6.7	40.1	9.05	20.9	40.8	53.7
조기 세포자멸 사 세포	13.3	21.3	10.2	20.7	8.69	21.9	21.4

[0309]

[0310] 췌장암 세포주인 PANC-1 세포에 GEL 컨쥬게이트(CLR1606 및 CLR1607)를 72시간 동안 처리하고, GEL을 48시간 동안 처리하였다. 표 6을 참조한다. 1 μM CLR1606, 10 μM CLR1606, 1 μM CLR1607, 10 μM CLR1607, 100 nM GEL 및 1 μM GEL로 처리한 후, 세포 생존율이 44.2%(약물 비처리)로부터 각각 42.0%, 21.5%, 44.0%, 33.0%, 23.3% 및 18.9%까지 감소하였다. 표 6을 참조한다.

[0311] 표 6. 겔다나마이신 컨쥬게이트로 72시간 동안 처리한 PANC-1 세포

표 6

PANC-1 (총 세포의 %)	72시간 약물 비 처리	CLR1606 (1uM)	CLR1606 (10uM)	CLR1607 (1uM)	CLR1607 (10uM)	GEL (100 nM)	GEL (1uM)
살아있는 세포	44.2	42	21.5	44	33	23.3	18.9
괴사성 세포	47.9	46.8	65.3	48.1	54.7	59.4	66.4
후기 세포자멸 사 세포	5.65	8.63	12.6	4.83	9.81	12.6	12.8
조기 세포자멸 사 세포	2.23	2.59	0.63	3.1	2.43	4.68	1.93

[0312]

[0313] 전립선암 세포주인 22RV1 세포에 GEL 컨쥬게이트(CLR1606 및 CLR1607)를 72시간 동안 처리하고, GEL을 48시간 동안 처리하였다. 표 7을 참조한다. 약물 비처리, 1 μM CLR1606, 10 μM CLR1606, 1 μM CLR1607, 10 μM CLR1607, 100 nM GEL 및 1 μM GEL의 처리 후, 세포 생존율이 각각 20.3%, 21.3%, 16.0%, 21.9%, 15.7%, 19.4% 및 28.1%이었다. 표 7을 참조한다. 기저 세포 사멸은 이 세포주에서 높았으며; 상기 세포는 세포 수집 방법에 양호하게 반응하지 않았다.

[0314] 표 7. 겔다나마이신으로 72시간 동안 처리한 22RV1 세포

표 7

22RV1 (총 세포의 %)	72시간 약물 비 처리	CLR1606 (1uM)	CLR1606 (10uM)	CLR1607 (1uM)	CLR1607 (10uM)	GEL (100 nM)	GEL (1uM)
살아있는 세포	20.3	21.3	16	21.9	15.7	19.4	28.1
괴사성 세포	49.5	51.7	57.7	55.2	59.1	47.1	46.6
후기 세포자멸 사 세포	26.2	23.4	22.9	20.7	23.1	28.4	19.1
조기 세포자멸 사 세포	4.1	3.63	3.44	2.27	2.19	5.09	6.22

[0315]

[0316] CLR 컨쥬게이트는 세포 사멸을 유도하기 위해서는 해당 세포와 더 긴 처리 기간을 필요로 하는 것으로 보인다. MDA-MB-468 세포에 1 μM CLR1601 및 1 μM CLR1603을 48시간 동안 처리하면, 세포 생존율이 86.2%(약물 비처리)로부터 각각 79.4% 및 81.4%까지 감소하였다. 표 8을 참조한다. COLO 829 세포에 1 μM CLR1606 및 1 μM

CLR1607을 48시간 동안 처리하면, 세포 생존율이 91.7%(약물 비처리)로부터 각각 90.1% 및 82.7%까지 감소하였다. 표 9를 참조한다.

[0317] 표 8. 파클리탁셀 컨쥬게이트로 48시간 동안 처리한 MDA-MB-468

표 8

MDA-MB-468 (총 세포의 %)	48시간 약물 비 처리	CLR1601 (1uM)	CLR1603 (1uM)	PTX (100 nM)	PTX (1uM)
살아있는 세포	86.2	79.4	81.4	77.9	73.3
괴사성 세포	2.87	13.1	12.4	14.1	15.6
후기 세포자멸 사 세포	8.33	6	4.78	5.54	9.18
조기 세포자멸 사 세포	2.56	1.49	1.4	2.47	1.97

[0318]

[0319] 표 9. 겔다나마이신 컨쥬게이트로 48시간 동안 처리한 COLO 829 세포

표 9

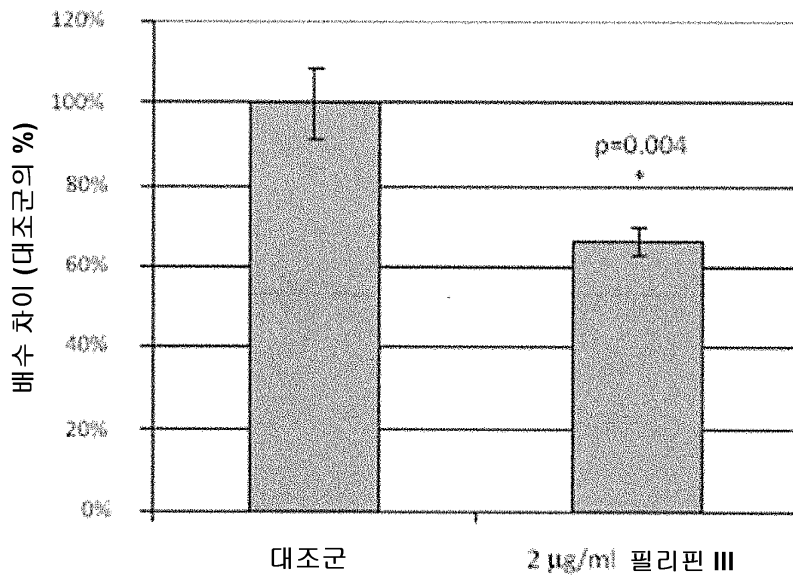
COLO 829 (총 세포의 %)	48시간 약물 비 처리	CLR1606 (1uM)	CLR1607 (1uM)	GEL (100 nM)	GEL (1uM)
살아있는 세포	91.7	90.1	82.7	36.1	24.6
괴사성 세포	5.96	6.91	8.94	22.7	22.7
후기 세포자멸 사 세포	1.67	2.2	5.54	29	38.3
조기 세포자멸 사 세포	0.72	0.79	2.77	12.2	14.4

[0320]

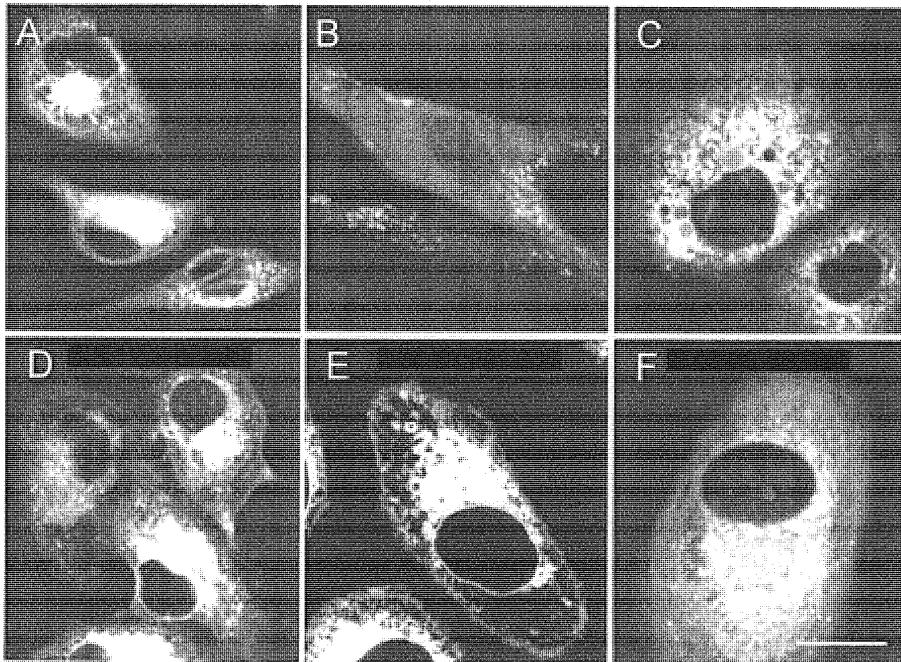
[0321] 전반적으로, PLE-파클리탁셀 및 PLE-겔다나마이신 컨쥬게이트는 다양한 종양 유형들에 대해 세포 사멸을 유도하는 것을 포함하여, 종양 세포의 생존율을 감소시킬 수 있는 것으로 나타났다.

도면

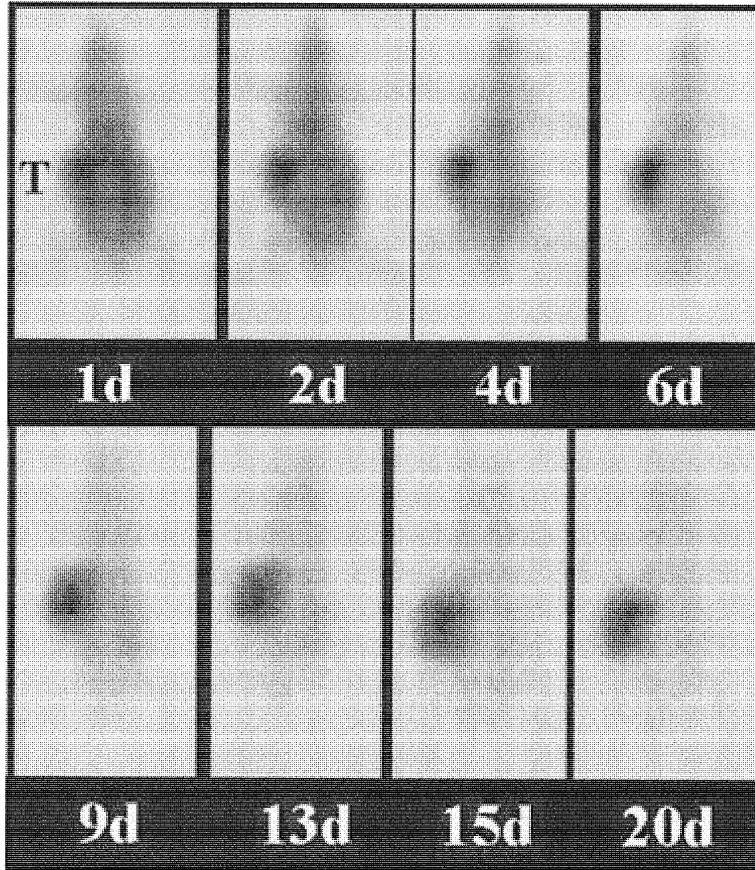
도면1



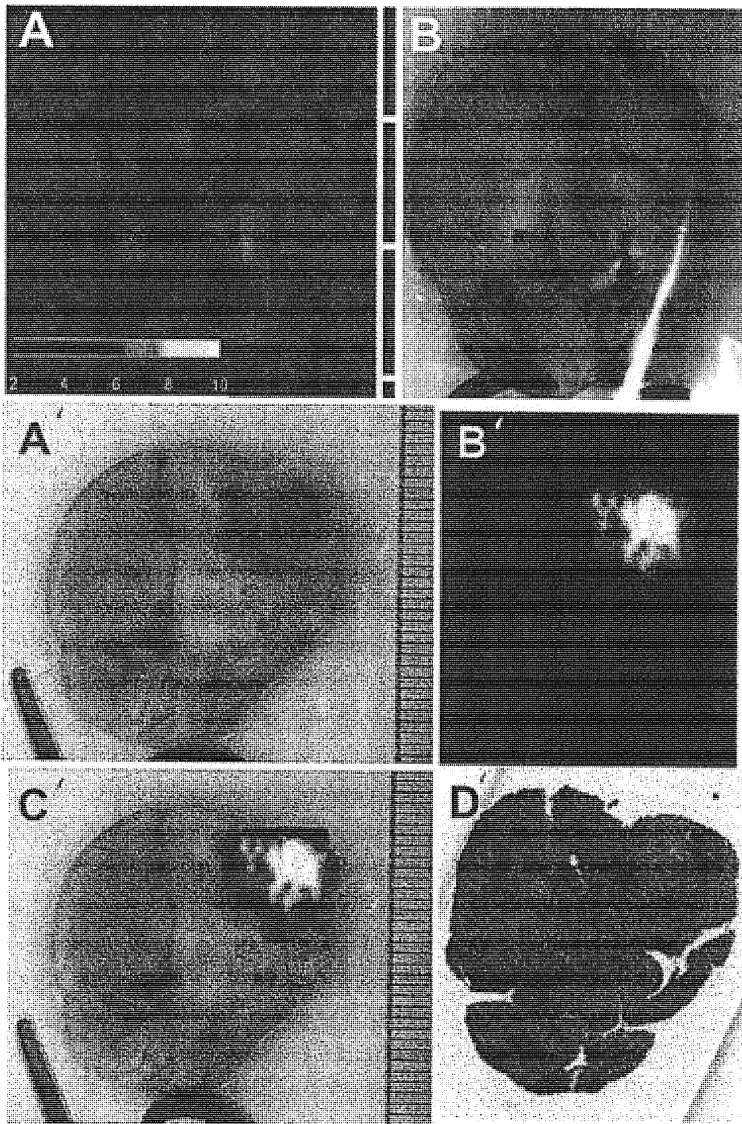
도면2



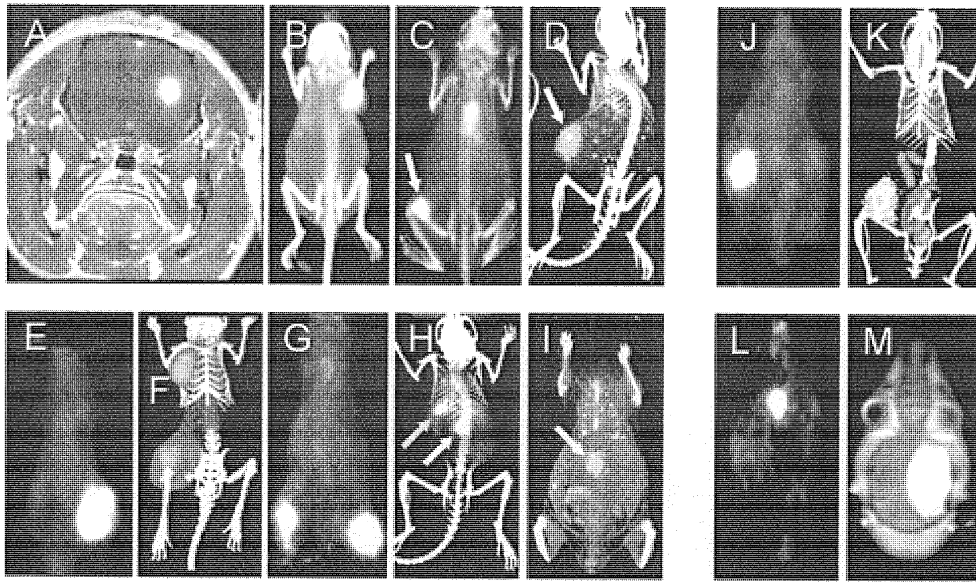
도면3



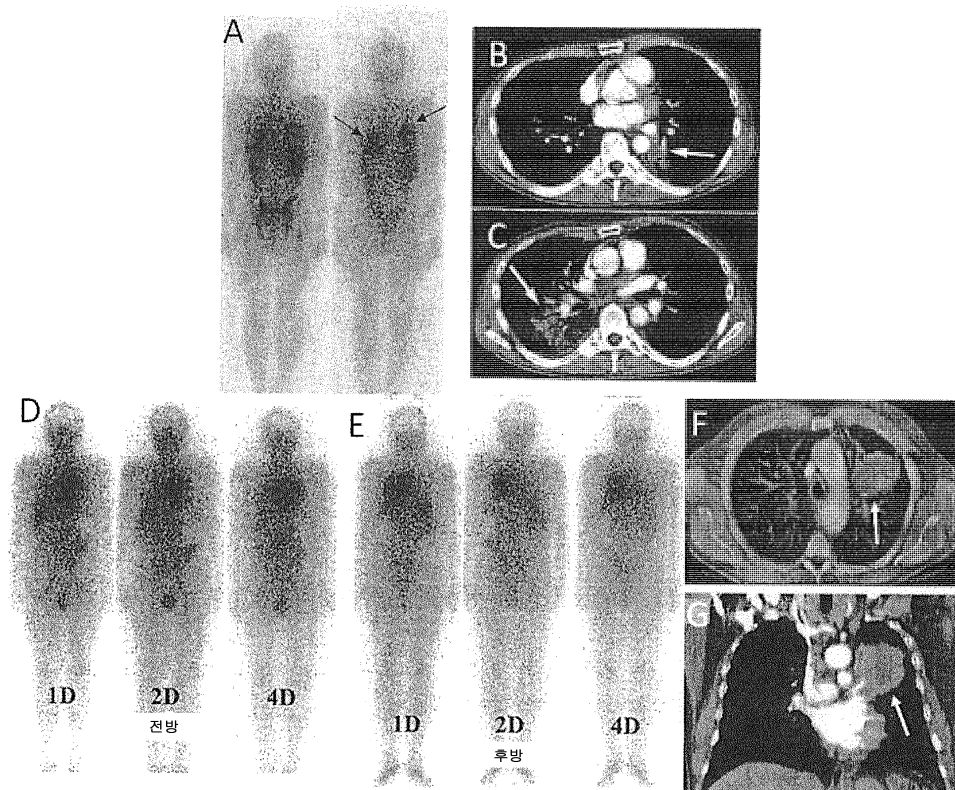
도면4



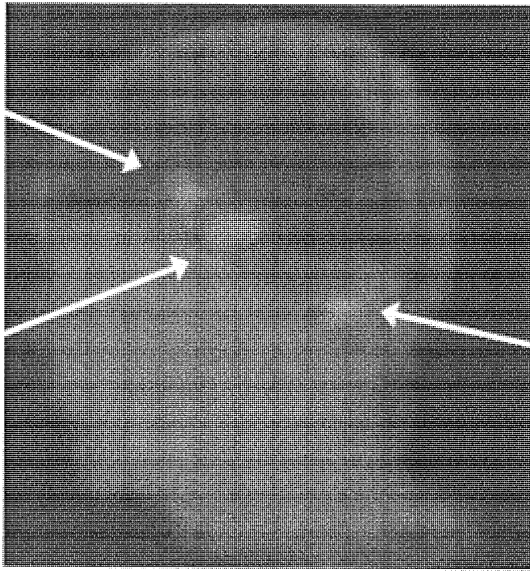
도면5



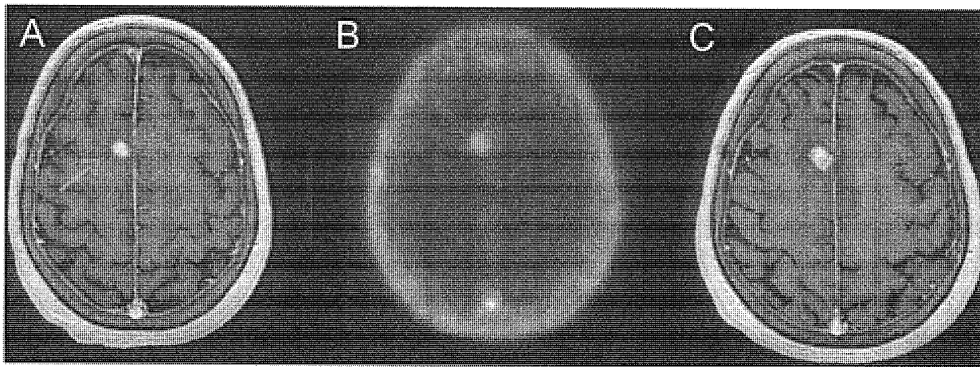
도면6



도면7

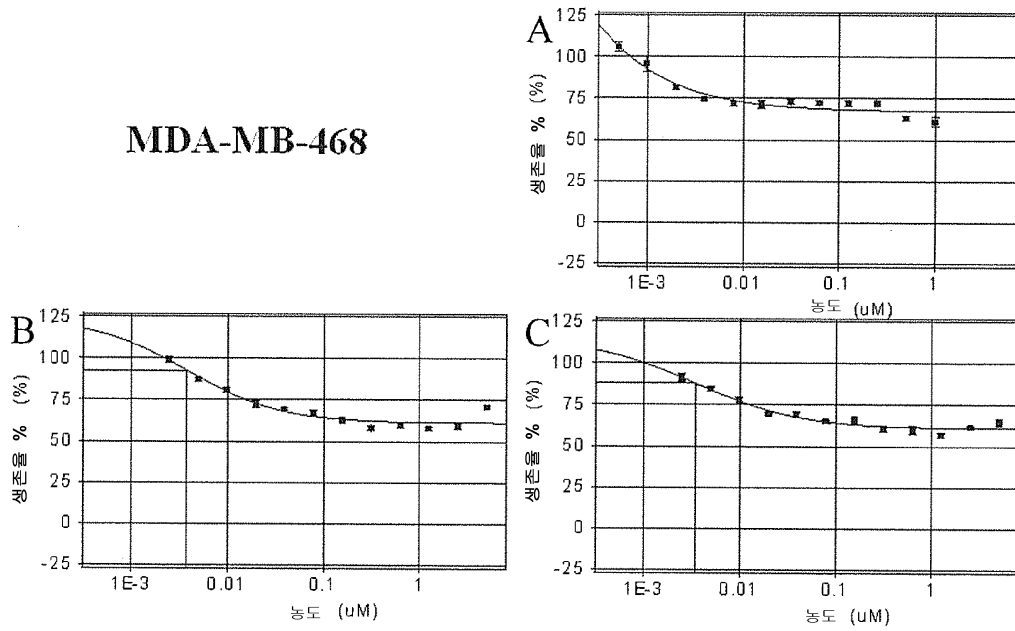


도면8



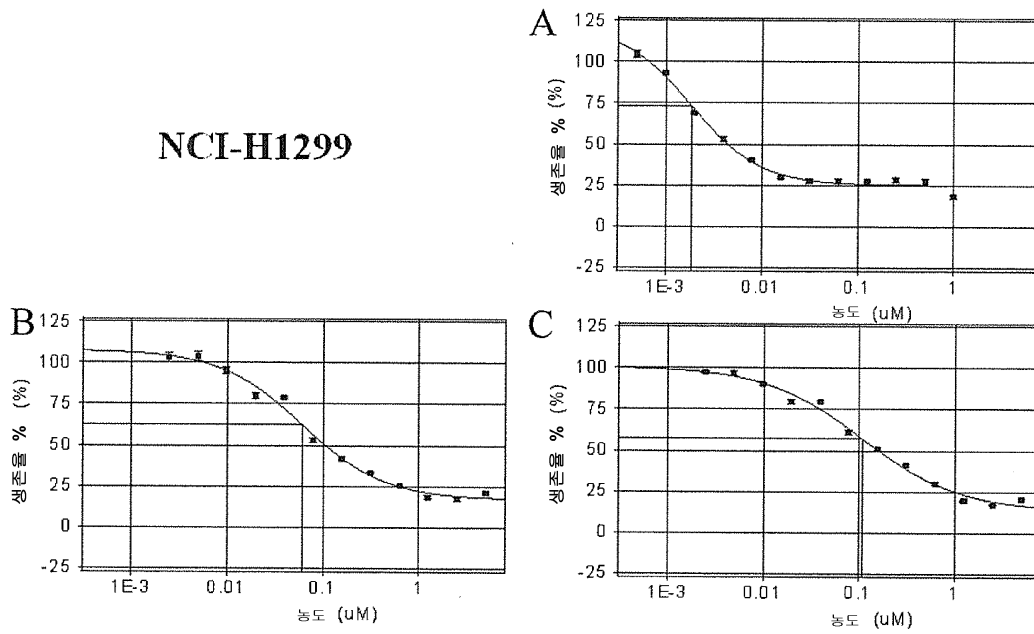
도면9

MDA-MB-468

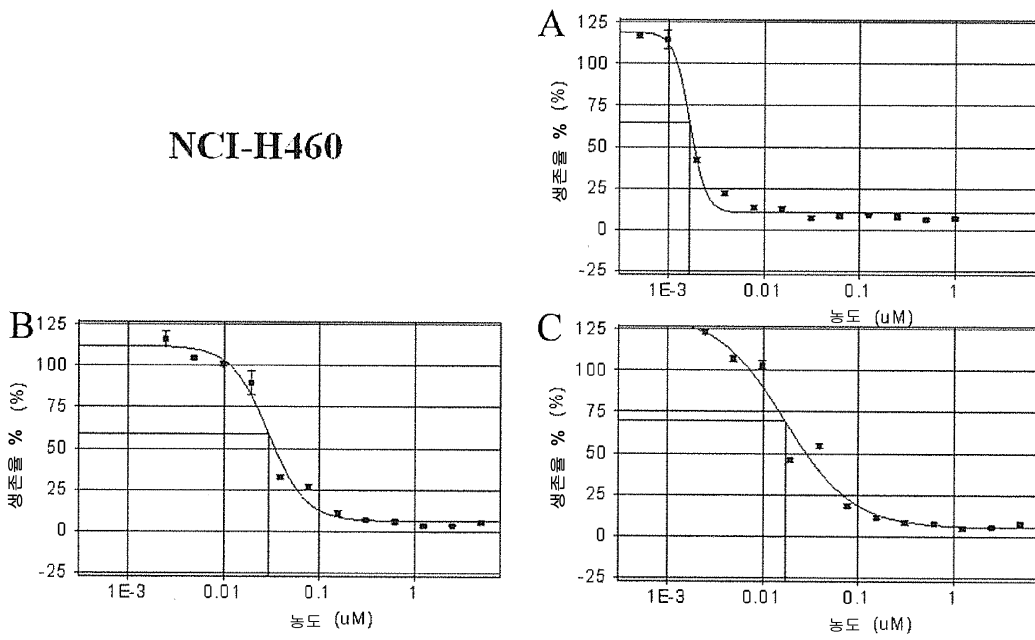


도면10

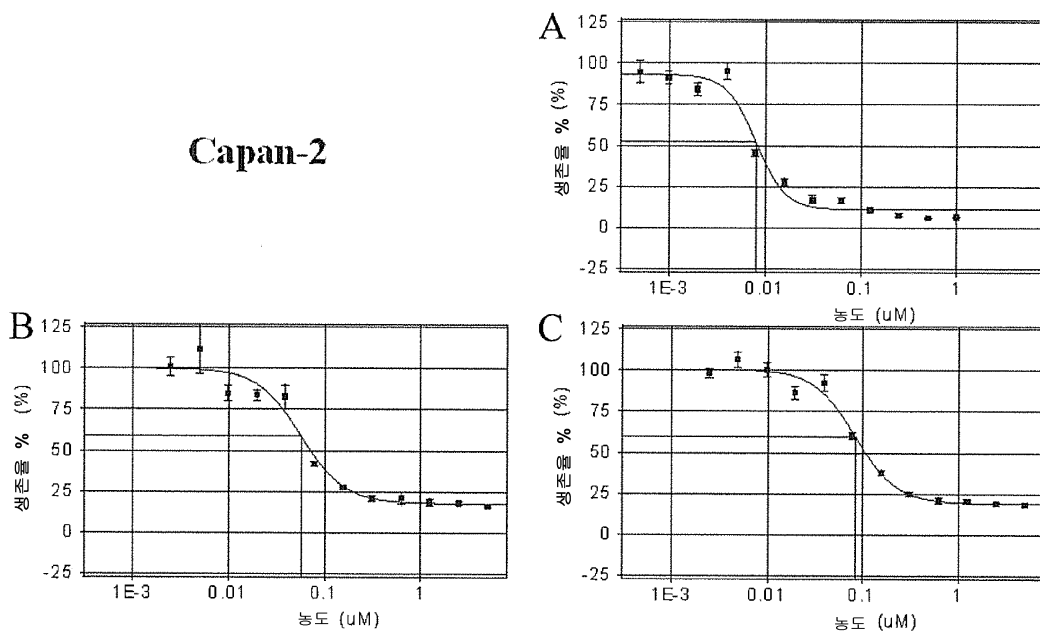
NCI-H1299



도면11

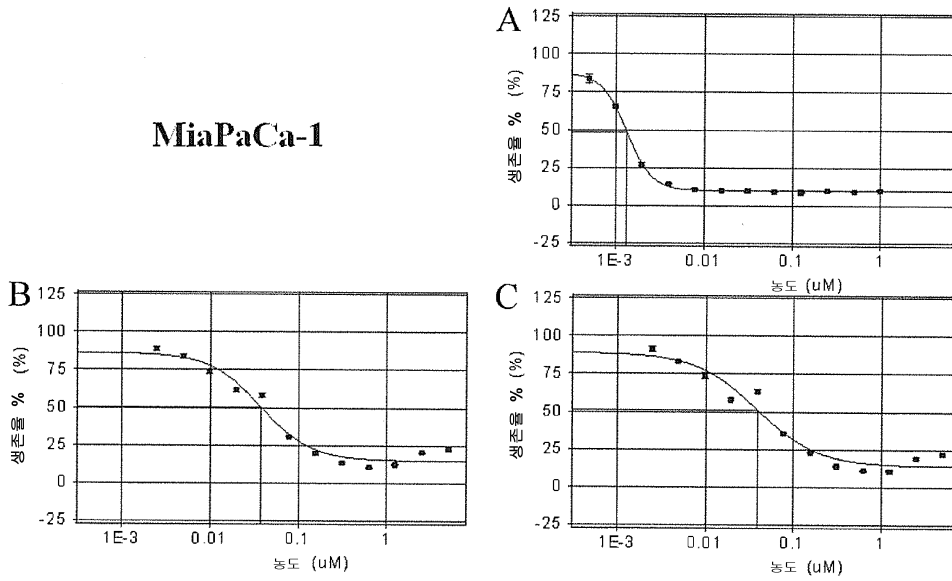


도면12



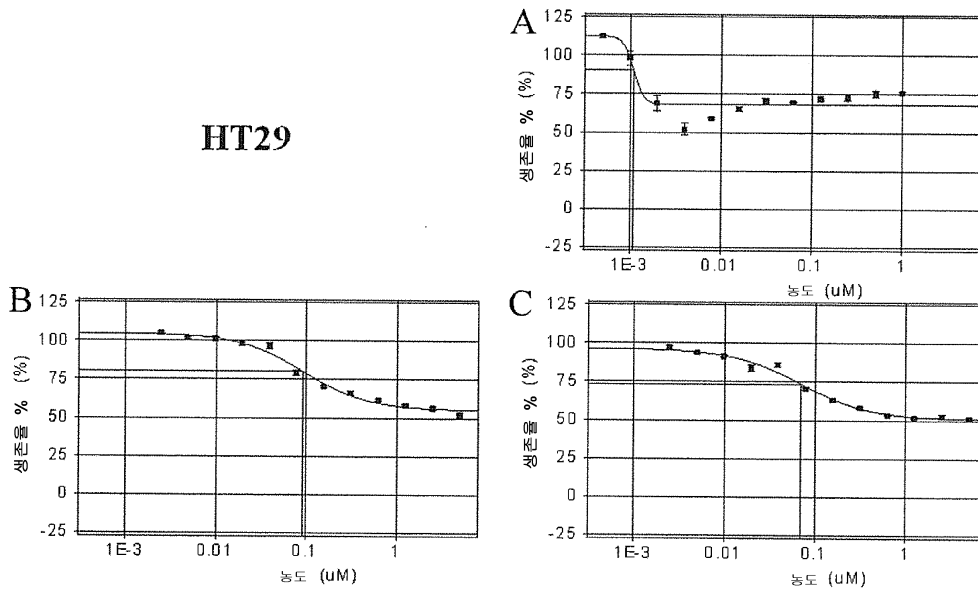
도면13

MiaPaCa-1



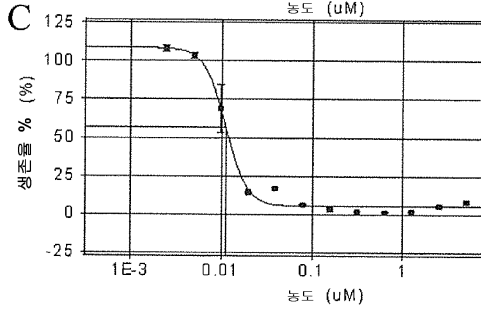
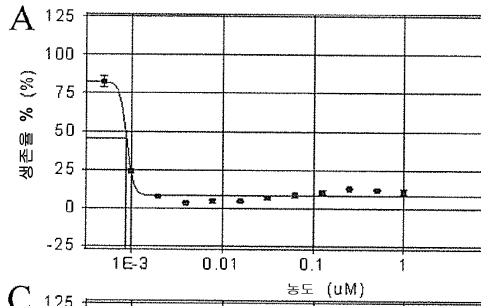
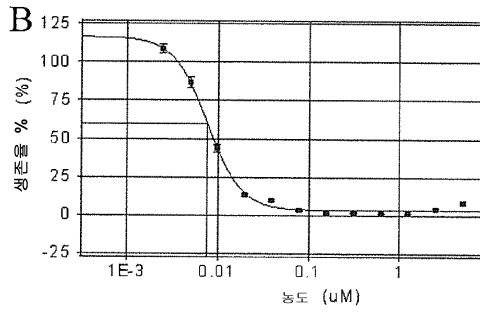
도면14

HT29



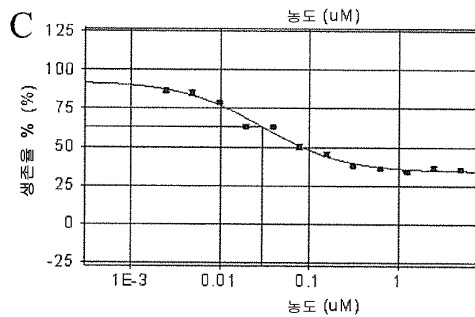
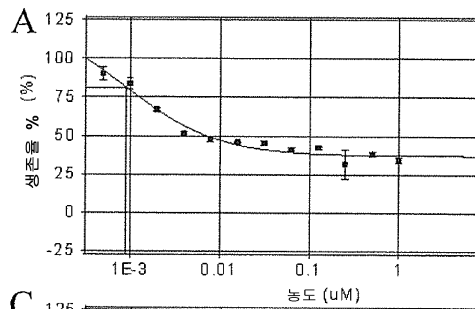
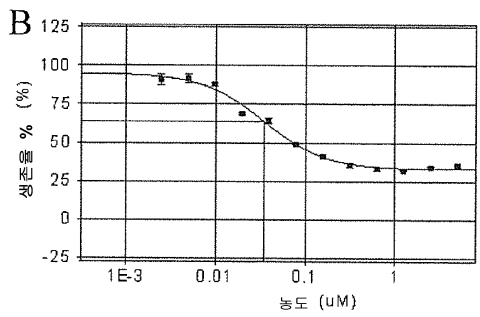
도면15

HCT116



도면16

PC-3



도면17

